

9206 无菌检查用隔离系统验证和应用指导原则

本指导原则是为药典要求无菌的药品、生物制品、原料、辅料、及其他品种无菌检查用隔离系统的验证和应用提供指导。

无菌检查用隔离器是为产品无菌检查试验提供无菌环境的一种设备。封闭式隔离器不直接与外界环境相连，使用无菌接口或快速转移通道进行物质传递，一般用于无菌检查；开放式隔离器允许材料通过舱门进入，舱门内有一定的压力阻止微生物的进入。物品可通过无菌传递进入隔离器，整个传递过程中可保持隔离器内部空间和外部环境完全隔离。隔离器内部能够反复进行灭菌，内壁可用灭菌剂处理，以去除所有的生物负载，灭菌完成后，隔离器通过高效空气过滤器（HEPA）或更高级别的空气过滤器向其内部输送洁净空气来维持内部的无菌环境。隔离器的使用从根本上避免了操作人员与实验用物品的直接接触，操作人员无需穿着专用洁净服，而是通过隔离器上的操作手套或半身操作服对舱内物品、仪器进行操作。手套、袖套组件或半身操作服是隔离器舱体不可分割的一部分，它们由柔软的材料制成且与所采用的灭菌剂兼容。因此，使用隔离器进行无菌检验，可以避免实验用物品和辅助设备被污染，提高了无菌试验结果的准确性。

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，表面灭菌程序的有效性，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，相关的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、确认、使用、监测、维护和周期性回顾等工作流程中。

一、无菌检查用隔离器系统的结构

隔离器一般是由不锈钢、玻璃、硬质塑料或软质塑料（如聚氯乙烯）建成。

隔离器的结构一般包括：

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；在表面灭菌完成后，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表面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表面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。

1. 空气处理系统

——用于无菌检测的隔离器 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，~~隔离器~~内部环境的洁净度要求应达到我国药品生产质量管理规范(GMP)现行版中 A 级空气洁净度的要求。当隔离器与外界环境有直接开口时 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~~隔离器~~内部的无菌环境。

2. 传递接口及传递门装置

灭菌后的培养基、稀释液和实验用品可以通过带传递功能的灭菌器有表面灭菌功能的传递舱直接无菌传递到~~隔离器~~操作舱内。此外，不同的隔离器系统舱体也可以通过专门设计的快速传递门（Rapid Transfer Ports,RTP）连接，以实现将实验物品在两个或多个~~隔离器~~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器系统

内。

3. 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。灭菌蒸汽剂发生器可集成于隔离系统中，也可独立于隔离系统，灭菌气体发生器独立设计的灭菌系统与隔离器隔离系统之间的气体管路的连接，应确保其密封性。在接近隔离器的部位，进气管路上应分别安装有阀门，当气体发生器与隔离器的连接、分离或隔离器进行无菌维持时，进、排气管路阀门应予以关闭。灭菌气体剂应通过高效空气过滤器（HEPA）有效过滤后进入隔离器隔离系统内，灭菌结束后须对灭菌气体剂进行排空，保证在进行无菌检测前，隔离器内部的灭菌气体浓度低于一定值，消除灭菌气体对无菌检测的影响。

4. 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 隔离器隔离系统内部安装无菌检查使用的配套设备与辅助设施，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。及连续环境监控设备，其运行不得对隔离器的内部环境造成影响，配套设备上的电机等关键部件及排气口设计应置于隔离器的外部，以防运转时产生的扰动气流、排出的废气对隔离器的环境产生破坏，并防止其内部受到化学灭菌剂的腐蚀而产生安全隐患。

二、隔离器隔离系统安装位置的选择

无菌检查用隔离器隔离系统建议安装环境的洁净度要求建议不低于我国现行 GMP 中 D 级空气洁净度要求在 D 级洁净度区域，如安装在受控非洁净区域，应进行相关的风险评估支持。安装隔离器的房间应限制无关人员出入。应保证隔离器，安装地点应有足够的建筑承重，周围有足够的空间，以便于隔离器的移动、物品的输送和正常维护。

用户应充分考虑隔离系统与安装环境之间的相互影响、为保证操作及人员的安全性与舒适性，在设计中应采取措施降低运行风险。安装隔离器的房间内应能

~~控制温湿度。对于某些灭菌技术，温湿度的控制是至关重要的。隔离器隔离系统~~
应避免安装在房间通风口直吹的地方，否则可能导致~~隔离器隔离系统~~舱体部分区域被冷却，从而造成灭菌过程中灭菌气体在~~隔离器舱体~~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，~~隔离器隔离系统~~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。~~

~~三、~~隔离系统验证

~~——无菌检查用隔离系统的验证是保证无菌检查所需无菌环境的必要条件，隔离系统验证在完成安装验证后应定期进行以下验证。——~~

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；评估材质和结构设计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. 操作验证~~（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~~、证明~~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. ~~隔离器完整性验证~~隔离器 (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。~~通过泄漏测试来验证设备完整性是否达到制造商的要求。为避免外来污染，正常操作时隔离器维持在正压下，压差范围为 20-50Pa。应验证隔离器在动态条件下维持正压差的能力。同时，隔离器的高效空气过滤器（HEPA）也需定期进行完整性检测。完整性测试~~通常包括：已安装的高效空气过滤器的检漏、舱体的完整性、及手套-袖套组件和半身服的完整性。

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日常设定的最高工作压力的 2 倍。

手套-袖套组件和半身服完整性泄漏测试，在目视检查的基础上，手套-袖套组件采用手套检漏仪或其他经验证的方法进行物理检测，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（例如氦气）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，可由实验人员在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。此外，在灭菌剂排出阶段，适当的风速和换气次数可改善排残效果。

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。气流流型测试可用于确认灭菌剂的分布情况。

（5）表面灭菌循环确认

该过程的目的在于确认所执行的表面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表面灭菌方法，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。

在表面灭菌完成后，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。

~~3. 灭菌验证~~

性能确认

隔离系统性能确认一般包含以下内容：

（1）表面灭菌效果确认

隔离器系统舱体内表面、隔离器内部的设备及进入隔离器舱体的各种物料都应经过处理以降低微生物负载。用于隔离器隔离系统、实验试验物品的表面灭菌方法应能达到或超过使生物指示剂下降 3~6 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。完全灭菌法应采用每单位 10^6 孢子数的生物指示剂，而阴性对照应该采用每单位孢子数不少于 10^6 孢子数的生物指示剂。使用合适充分数量的生物指示剂进行试验可以从统计学上证明表面灭菌效果是可以

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。~~隔离器隔离系统~~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，确定隔离系统表面再灭菌的频率（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。在表面灭菌完成后，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。

~~4. 灭菌循环验证运行一个灭菌循环，以确认灭菌循环各阶段实际运行值与其设定值是否相符。~~

5. 隔离器内部洁净度验证

（3）隔离系统内部洁净度确认

隔离器系统舱体内部的洁净环境应进行验证确认，其悬浮粒子（静态的），沉降菌，浮游菌和表面微生物应达到我国现行 GMP 中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。

~~在灭菌气体灭菌完成后，通过监测灭菌气体的浓度，保证在无菌检测前隔离器内的灭菌气体残留量低于可接受值。~~

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。

~~6. 仪器仪表的验证需对隔离器配置的仪器仪表，比如 H₂O₂ 传感器、温湿度传感器、压力传感器等进行定期校验。隔离器一般还应进行日常验证，如操作验证、隔离器完整性验证等。~~

~~当隔离器出现运行异常、舱体环境监控异常或变更运行程序、运行参数、无菌检查隔离器安装场地变更等应进行再验证。再验证应按照文件化的程序及规定~~

~~的可接受标准实施。再验证的结果应形成记录并保存。~~

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。

四、~~隔离器~~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。

~~1.~~包装完整性验证

~~隔离器~~隔离系统常用的~~灭菌气体~~汽化灭菌剂在表面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，灭菌气体剂对某些透析包装物会产生不利影响，可能~~造成对抑制~~微生物生长的抑制。操作人员应通过验证试验来证实暴露于灭菌气体中的供试品包装容器及无菌检查过程中所用的器材、稀释剂、培养基，~~不会由于灭菌气体的渗透而影响供试品中低水平微生物污染的检出。当灭菌气体存在渗入产品容器、实验辅助材料、培养基或稀释液的潜在风险时，~~为避免假阴性风险，操作人员可采取适当的措施，如选用能够耐受灭菌剂渗透的包装材料~~包装或将材料放入无菌的密闭容器中或~~其它适宜的方法，以~~尽量~~减少灭菌剂~~进~~浸入包装~~或向容器中渗透内~~，但所采取的措施应避免造成表面灭菌不彻底。在某种程度上，也可通过降低灭菌剂的浓度及缩短表面灭菌周期，来降低灭菌剂~~浸入包装和容器内~~的渗透风险，但相应的表面灭菌循环应进行充分验证。

~~在进行无菌检验之前，通常在试验物品放入舱体之前，有时也会使用灭菌剂~~

处理产品包装表面来减少进入隔离器的对物品包装表面进行预处理,以减少微生物的负荷量,在使用杀菌剂处理产品包装时,应证明该过程没有对存在于产品中的低水平污染的微生物造成影响,不会影响检验结果。无论是预处理还是表面灭菌循环过程,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来检测测试包装物对污染灭菌剂渗透的抵制能力。经过隔离器全部的灭菌过程后,需进行杀菌剂抑制细菌和真菌情况的验证[参照无菌检查法(通则 1101)]。微生物试验时应使用至少经过一轮完整表面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。

2. 隔离器隔离系统内部环境的无菌维持

隔离器隔离系统内部环境在操作周期内的无菌维持需要经过能力可通过执行微生物监测程序进行验证。隔离器内的微生物监控,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表面可通过对灭菌后的第一天和无菌保维持期的最后一天的进行采样,并对采样进行培养。通过周期性的采样分析,可以实现隔离器对舱内无菌保维持情况的验证。因隔离系统出现故障或者由于偶然因素引起的微生物污染必须进行检测调查。

除浮游菌和沉降菌外,隔离器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进行微生物监控,由于培养基残留会使隔离器隔离系统产生染菌的风险,因此,最好在检验完成后进行微生物监测,如果试验中有在检验过程中进行采样,需及时清理培养基残留,应清理干净。

检验用具和样品供试品进入舱内隔离器的过程最可能造成微生物的污染,所有进入隔离器内部物品的无菌验证是非常重要的,另外,垫圈应定期检查,确保其完整,避免微生物的进入所以应确保进入隔离系统物品及传递过程的无菌性。

手套和半身衣可能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。选择手套时应考虑手套的穿刺抗性、耐磨性及较好的触感；试验用的手套应保持其完整性，手套上微小的破损很难检查出来，但使用时，在拉伸情况下，即可发现手套上微小的破损；用户使用检测仪对手套进行检测时，检测条件要尽可能与手套使用时的条件一致，微生物检测可补充物理检测，检测时，将手套浸入 0.1% 的蛋白胨水溶液中，然后采用薄膜过滤法过滤 0.1% 的蛋白胨水溶液，取出滤膜进行培养，根据是否生长微生物判定检测手套的完整性，本法可以检测出其他方法检测不出的泄露。

采用隔离器舱体内部进行连续的尘埃悬浮粒子检测，可快速检测到过滤器的泄露，也可使用便携式的尘埃悬浮粒子检测器进行周期检测，尘埃悬浮粒子和微生物检测取采样不能对舱体隔离器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，保障表面灭菌效果。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的清洁效果，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。

3. 无菌检验结果的解释

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，且隔离器内部空间及表面已经过高水平的灭菌工艺处理，操作人员与无菌检查环境没有直接接触，而且系统的完整性经过验证，因此，在那么在经过验证且功能运行正常的隔离器隔离系统内进行无菌检测检查，出现假阳性结果的概率很低。尽管如此，隔离器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。

4. 安全与培训

——操作人员在使用隔离系统进行无菌检查之前，应接受特定操作规程、日常维护及安全等相关知识的培训，并经考核合格后方可上岗，培训内容及培训考核成绩应记录在每个操作人员的个人培训记录中。操作人员必须遵守化学去污试剂贮存及安全注意事项的规定，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）。在隔离系统使用前，需要对隔离器及相关设备安全性进行检查并作好使用记录。