ICS 13.040.30
C 10

中华人民共和国国家标准

GB/T 16292～16294—1996

医药工业洁净室(区)悬浮粒子、浮游菌和沉降菌的测试方法

Test method for airborne particles, airborne microbe and settling microbe in clean room (area) of the pharmaceutical industry

1996-04-10发布　　1996-10-01实施

国家技术监督局　发布

需要全本请访问 www.ertongbook.com

目　　次

GB/T 16292—1996　医药工业洁净室(区)悬浮粒子的测试方法 …… 1
GB/T 16293—1996　医药工业洁净室(区)浮游菌的测试方法 …… 8
GB/T 16294—1996　医药工业洁净室(区)沉降菌的测试方法 …… 16

前　言

本标准等效采用美国联邦标准 FS-209E—1992《洁净室和洁净区内空气浮游粒子洁净等级》，并参考 JGJ 71—90《洁净室施工及验收规范》制定的。

悬浮粒子和微生物的测试是评价医药工业洁净室(区)空气洁净度的主要指标。本标准用悬浮粒子的测试来评价洁净室(区)空气中的尘粒数。

医药工业洁净室(区)的悬浮粒子测试方法，应采用本标准。

本标准从生效之日起，废止 YY/T 0141—93。

本标准的附录 A 是标准的附录。

本标准的附录 B 是提示的附录。

本标准由国家医药管理局提出并归口。

本标准起草单位：上海医药管理局药品测试所。

本标准主要起草人：纪炜、徐进庆、沈建华。

需要全本请访问 www.ertongbook.com

中华人民共和国国家标准

医药工业洁净室(区)悬浮粒子的测试方法

GB/T 16292—1996

Test method for airborne particles in clean room(area) of the pharmaceutical industry

1 范围

本标准规定了医药工业洁净室(区)中悬浮粒子的测试方法和就悬浮粒子而言的空气洁净度的评定。

本标准适用于医药工业洁净室(区)中悬浮粒子洁净度的监测和洁净度等级的验证。

2 引用标准

下列标准所包含的条文,通过在本标准中引用而构成为本标准的条文。本标准出版时,所示版本均为有效,所有标准都会被修订,使用本标准的各方应探讨使用下列标准最新版本的可能性。

JGJ 71—90 洁净室施工及验收规范

3 定义

本标准采用下列定义。

3.1 洁净室(区) clean room(area)

对尘粒及微生物污染规定需进行环境控制的房间或区域。其建筑结构、装备及其使用均具有减少对该区域内污染源的介入、产生和滞留的功能。

3.2 局部空气净化 localized air purification

仅使室内工作区域特定的局部空间的空气含悬浮粒子浓度达到规定的空气洁净度级别,这种方式称局部空气净化。

3.3 粒子 particle

一般尺寸为 0.001～1 000 μm 的固态和液态物质。

3.4 洁净度 cleanliness

洁净环境内单位体积空气中含大于或等于某一粒径的悬浮粒子的允许统计数。

3.5 单向流 unidirectional air flow(曾称为层流 laminar flow)

沿着平行流线,以一定流速、单一通路、单一方向流动的气流。

3.6 非单向流 nonunidirectional air flow(曾称为乱流 turbulent flow)

具有多个通路循环特性或气流方向不平行的,不满足单向流定义的气流。

3.7 t 分布 t distribution

正态总体中的一种抽样分布,其分布函数为

$$t = \frac{\text{总体平均值} - \text{样本平均值}}{\text{标准误差}} \qquad \cdots\cdots(1)$$

3.8 置信上限(UCL) upper confidence limit

国家技术监督局 1996-04-10 批准　　1996-10-01 实施

从正态分布抽样得到的实际均值按给定的置信度(此处为95%)计算得到的估计上限将大于此实际均值,则称计算得到的这一均值估计上限为置信上限。

3.9 静态测试 at-rest test

洁净室(区)净化空气调节系统已处于正常运行状态,工艺设备已安装,洁净室(区)内没有生产人员的情况下进行的测试。

3.10 动态测试 operational test

洁净室(区)已处于正常生产状态下进行的测试。

4 测试方法

4.1 方法提要

本测试方法采用计数浓度法,即通过测定洁净环境内单位体积空气中含大于或等于某粒径的悬浮粒子数,来评定洁净室(区)的悬浮粒子洁净度等级。

4.2 仪器

a) 光散射粒子计数器(用于粒径大于或等于0.5 μm的悬浮粒子计数);

b) 滤膜显微镜(用于粒径大于或等于5 μm的悬浮粒子计数)。

4.2.1 光散射粒子计数器原理

空气中的悬浮粒子在光的照射下产生光散射现象,散射光的强度与粒子的表面积成正比。

4.2.2 光散射粒子计数器使用要点

使用仪器时应严格按照仪器说明书操作。

4.2.2.1 仪器开机,预热至稳定后,方可按说明书的规定对仪器进行校正。

4.2.2.2 采样管口置采样点采样时,在确认计数稳定后方可开始连续读数。

4.2.2.3 采样管必须干净,严禁渗漏。

4.2.2.4 采样管的长度应根据仪器的允许长度。除另有规定外,长度不得大于1.5 m。

4.2.2.5 计数器采样口和仪器工作位置应处在同一气压和温度下,以免产生测量误差。

4.2.2.6 必须按照仪器的检定周期,定期对仪器作检定。以保证测试数据的可靠性。

5 测试规则

5.1 测试条件

5.1.1 温度和湿度

洁净室(区)的温度和相对湿度应与其生产及工艺要求相适应(温度控制在18℃～24℃,相对湿度控制在45%～60%之间为宜)。

5.1.2 压差

空气洁净度不同的洁净室(区)之间的压差应≥4.9 Pa,空气洁净度级别要求高的洁净室(区)对相邻的空气洁净度级别低的洁净室(区)一般要求呈相对正压。

5.2 测试状态

有静态测试和动态测试。

静态测试时,室内测试人员不得多于2人。

测试报告中应标明测试时所采用的状态。

5.3 测试时间

5.3.1 对单向流,测试应在净化空气调节系统正常运行时间不少于10 min后开始。

5.3.2 对非单向流,测试应在净化空气调节系统正常运行时间不少于30 min后开始。

5.4 悬浮粒子计数

5.4.1 采样点数目及其布置

悬浮粒子洁净度监测的采样点数目及其布置应根据产品的生产及工艺关键操作区设置。采样点布置规则见附录 A(标准的附录)。

悬浮粒子洁净度等级验证的采样点数目应按 5.4.1.1 和 5.4.1.2 布置。

5.4.1.1 最少采样点数目

悬浮粒子洁净度测试的最少采样点数目可查表 1 确定。

表 1 最少采样点数目

面积 m^2	洁净度级别		
	100	10 000	100 000
<10	2～3	2	2
≥10～<20	4	2	2
≥20～<40	8	2	2
≥40～<100	16	4	2
≥100～<200	40	10	3
≥200～<400	80	20	6
≥400～<1 000	160	40	13
≥1 000～<2 000	400	100	32
2 000	800	200	63

注：表中的面积，对于单向流洁净室，指的是送风面积；对非单向流洁净室，指的是房间面积。

5.4.1.2 采样点的位置

a) 采样点一般在离地面 0.8 m 高度的水平面上均匀布置。

b) 采样点多于 5 点时，也可以在离地面 0.8 m～1.5 m 高度的区域内分层布置，但每层不少于 5 点。

5.4.2 采样点的限定

对任何小洁净室或局部空气净化区域，采样点的数目不得少于 2 个，总采样次数不得少于 5 次。每个采样点的采样次数可以多于 1 次，且不同采样点的采样次数可以不同。

5.4.3 采样量

不同洁净度级别每次最小的采样量见表 2。

表 2 最小采样量

洁净度级别	采样量，L/次	
	≥0.5 μm	≥5 μm
100	5.66	—
10 000	2.83	8.5
100 000	2.83	8.5

5.4.4 采样注意事项

5.4.4.1 在确认洁净室(区)送风量和压差达到要求后，方可进行采样。

5.4.4.2 对于单向流，计数器采样管口朝向应正对气流方向，对于非单向流，采样管口宜向上。

5.4.4.3 布置采样点时，应避开回风口。

5.4.4.4 采样时，测试人员应在采样口的下风侧。

6 结果计算

悬浮粒子浓度的采样数据应按下述步骤作统计计算：

6.1 采样点的平均粒子浓度

$$A = \frac{C_1 + C_2 + \cdots + C_N}{N} \qquad \cdots\cdots(2)$$

式中：A——某一采样点的平均粒子浓度，粒/m³；

C_i——某一采样点的粒子浓度($i=1,2,\cdots,N$)，粒/m³；

N——某一采样点上的采样次数，次。

6.2 平均值的均值

$$M = \frac{A_1 + A_2 + \cdots + A_L}{L} \qquad \cdots\cdots(3)$$

式中：M——平均值的均值，即洁净室(区)的平均粒子浓度，粒/m³；

A_i——某一采样点的平均粒子浓度($i=1,2,\cdots,L$)，粒/m³；

L——某一洁净室(区)内的总采样点数，个。

6.3 标准误差

$$SE = \sqrt{\frac{(A_1 - M)^2 + (A_2 - M)^2 + \cdots + (A_L - M)^2}{L(L-1)}} \qquad \cdots\cdots(4)$$

式中：SE——平均值均值的标准误差，粒/m³。

6.4 置信上限

$$UCL = M + t \times SE \qquad \cdots\cdots(5)$$

式中：UCL——平均值均值的95%置信上限，粒/m³；

t——95%置信上限的t分布系数，见表3。

表3 95%置信上限的t分布系数

采样点数 L	2	3	4	5	6	7	8	9	>9
t	6.31	2.92	2.35	2.13	2.02	1.94	1.90	1.86	—
注：当采样点数多于9点时，不需要计算UCL。									

7 结果评定

判断悬浮粒子洁净度级别应依据下述二个条件。

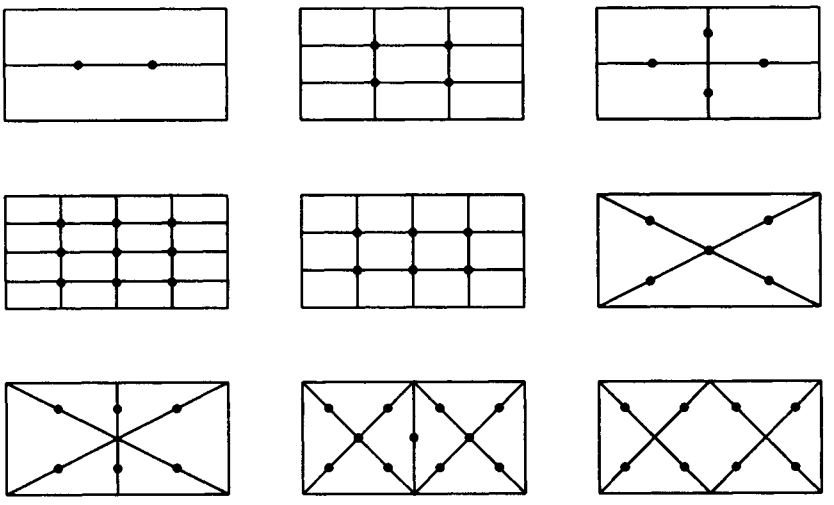
7.1 每个采样点的平均粒子浓度必须低于或等于规定的级别界限，即$A_i \leqslant$级别界限。

7.2 全部采样点的粒子浓度平均值均值的95%置信上限必须低于或等于规定的级别界限，即$UCL \leqslant$级别界限。

需要全本请访问 www.ertongbook.com

附 录 A
（标准的附录）
洁净室(区)采样点布置

A1 洁净室(区)采样点布置力求均匀，避免采样点在某局部区域过于稀疏。下列采样点的图示可作参考。



注：·为采样点。

图 A1

A2 洁净棚(层流罩)，洁净工作台等局部空气净化设施的采样点布置：

A2.1 水平单向流

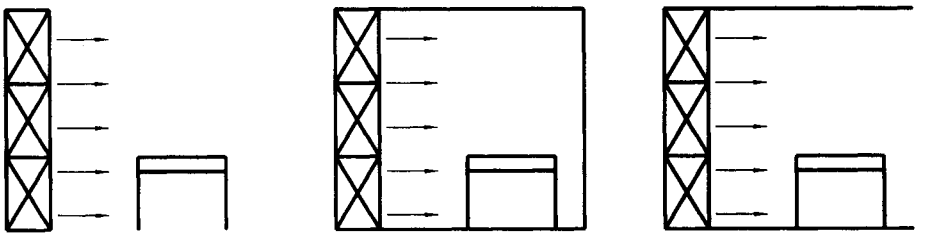


图 A2

A2.2 垂直单向流

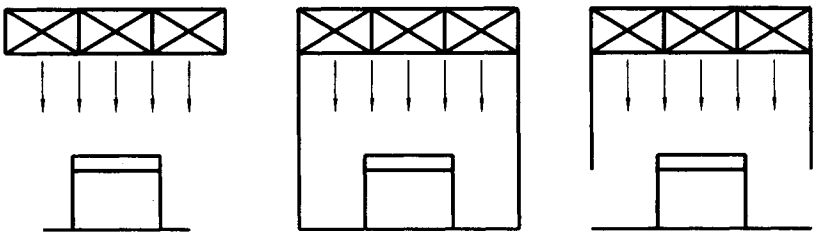


图 A3

采样点数参见 5.4.1.1，采样点一般在工作台面上 0.2 m 高度的平面上均匀布置。

附 录 B
（提示的附录）
国内外有关悬浮粒子的测定的标准

洁净度级别	中国卫生部 GMP（1992 年修订）		美国联邦标准 FS-209E		世界卫生组织(WHO)及欧共体(EC)GMP	
	尘粒数/m^3		等级限值/m^3		尘粒的最大允许数/m^3	
	≥0.5 μm	≥5 μm	≥0.5 μm	≥5 μm	≥0.5 μm	≥5 μm
100	≤3 500	0	3 530	—	3 500	—
10 000	≤350 000	≤2 000	353 000	2 470	350 000	2 000
100 000	≤3 500 000	≤20 000	3 530 000	24 700	3 500 000	20 000

前　言

本标准依照国内外《药品生产管理规范》(GMP)的要求，非等效采用美国国家航空及宇宙航行局NASA 标准 NHB5340-2《关于洁净室和洁净工作台微生物的控制标准》，并参考 JGJ 71—90《洁净室施工验收规范》制定的。

悬浮粒子和微生物的测试是评价医药工业洁净室和洁净区空气洁净度的主要指标。本标准用浮游菌评价洁净室和洁净区空气中的微生物。

医药工业洁净室(区)浮游菌的测试应采用本标准的规定。

本标准的附录 A、附录 B、附录 C 都是标准的附录。

本标准的附录 D 是提示的附录。

本标准由国家医药管理局提出并归口。

本标准起草单位：中美上海施贵宝制药有限公司、上海医药局药品测试所、上海四药股份有限公司。

本标准主要起草人：顾锋、钱周、步伯荪、唐小珍。

中华人民共和国国家标准

医药工业洁净室(区)浮游菌的测试方法

GB/T 16293—1996

Test method for airborne microbe in clean room(area) of the pharmaceutical industry

1 范围

本标准规定了医药工业洁净室和洁净区中浮游菌测试条件、测试方法。

本标准适用于医药工业洁净室和洁净区,无菌室或无菌区域(包括洁净工作台)的浮游菌的测定和环境的验证。

2 引用标准

下列标准包含的条文,通过在本标准中引用而构成为本标准的条文。本标准出版时,所示版本均为有效。所有标准都会被修订,使用本标准的各方应探讨使用下列标准最新版本的可能性。

YY/T 0188.6—1995 药品检验操作规程 第6部分:药品生物测定法

3 定义

本标准采用下列定义。

3.1 洁净室(区) clean room(area)

对尘粒及微生物污染规定需进行环境控制的房间或区域。其建筑结构、装备及其使用均具有减少对该区域内污染源的介入、产生和滞留的功能。

3.2 洁净工作台 cleaning work station

一种工作台或者与之类似的一个封闭围挡工作区。其特点是自身能够供给经过过滤的空气或气体,如垂直层流罩、水平层流罩、垂直层流洁净工作台、水平层流洁净工作台、自净器等。

3.3 菌落 colony forming units

细菌培养后,由一个或几个细菌繁殖而形成的一细菌集落,简称CFU。通常用个数表示。

3.4 浮游菌 airborne microbe

用本标准提及的方法收集悬浮在空气中的活微生物粒子,通过专门的培养基,在适宜的生长条件下繁殖到可见的菌落数。

3.5 浮游菌浓度 airborne microbe concentration

单位体积空气中含浮游菌菌落数的多少,以计数浓度表示,单位是个/m^3 或个/L。

3.6 悬浮粒子 airborne particles

可悬浮在空气中的尺寸一般在0.001 μm～1 000 μm之间的固体、液体或两者的混合物质,包括生物性粒子和非生物性粒子。

3.7 洁净度 cleanliness

洁净环境内单位体积空气中含大于或等于某一粒径的悬浮粒子的允许统计数。

国家技术监督局1996-04-10批准 1996-10-01实施

3.8 单向流 unidirectional air flow(曾称为层流 laminar flow)

沿着平行流线,以单一通路以一定流速向单一方向流动的气流。

3.9 非单向流 nonunidirectional air flow(曾称为乱流 turbulent flow)

具有多个通路循环特性或气流方向不平行的,不满足单向流定义的气流。

3.10 静态测试 at-rest test

洁净室(区)净化空气调节系统已处于正常运行状态,工艺设备已安装,洁净室(区)内没有生产人员的情况下进行的测试。

3.11 动态测试 operational test

洁净室(区)已处于正常生产状态下进行的测试。

4 测试方法

4.1 方法提要

本方法采用计数浓度法,即通过收集悬游在空气中的生物性粒子于专门的培养基,经若干时间,在适宜的生长条件下让其繁殖到可见的菌落进行计数,从而判定洁净环境内单位体积空气中的活微生物数,以此来评定洁净室(区)的洁净度。

4.2 所用的仪器、设备和培养基

a) 浮游菌采样器;

b) 真空抽气泵;

c) 培养皿;

d) 培养基;

e) 恒温培养箱。

4.3 浮游菌采样器

浮游菌采样器宜采用撞击法机理的采样器,一般采用狭缝式采样器或离心式采样器。

4.3.1 采用的浮游菌采样器必须要有流量计和定时器。

4.3.2 狭缝式采样器的原理

狭缝式采样器由附加的真空抽气泵抽气,通过采样器的缝隙式平板,将采集的空气喷射并撞击到缓慢旋转的平板培养基表面上,附着的活微生物粒子经培养后形成菌落,予以计数。

4.3.3 离心式采样器的原理

离心式采样器由于内部风机的高速旋转,气流从采样器前部吸入从后部流出,在离心力的作用下,空气中的活微生物粒子有足够的时间撞击到专用的固形培养条上,经培养后形成菌落,予以计数。

4.3.4 狭缝式采样器的使用要点

应严格按仪器说明书的要求进行操作。

4.3.4.1 校验

采样器必须按仪器的检定周期,定期对仪器作检定,以保证测试数据的可靠性。校验的项目有:定时器、转盘转速、流量计。

4.3.4.2 每次测试前应按说明书上的规定,先接通电源,启动真空抽气泵,然后调节流量计及定时器。

4.3.4.3 空气采样量根据需要选定。已知采样器的流量(L/min),设定采样时间(min),两者相乘即采样量(L)。

4.3.4.4 注意事项

4.3.4.4.1 采样口必须用便于消毒及化学性能稳定的材料制造。

4.3.4.4.2 采样管严禁渗漏,内壁应光滑。

4.3.4.4.3 采样管的长度应根据测点的高度定,尽量减少弯曲。

4.4 真空抽气泵

4.4.1 真空抽气泵的排气量应与采样器匹配。

4.4.2 宜采用无油真空抽气泵，必要时可在排气口安装气体过滤器。

4.4.3 真空抽气泵安装的位置必须适当，一般装在采样器下面。

4.5 培养皿

4.5.1 狭缝式采样器一般采用 ϕ150 mm×15 mm、ϕ90 mm×15 mm、ϕ65 mm×15 mm 三种规格的硼硅酸玻璃培养皿。可根据所选用采样器选择合适的培养皿。

4.5.2 离心式采样器采用专用的固形培养条。

4.6 培养基

普通肉汤琼脂培养基或其他药典认可的培养基。其配制方法见附录 A(标准的附录)。

4.7 恒温培养箱

必须定期对培养箱的温度计进行检定。

4.8 测试步骤

4.8.1 测试前仪器、培养皿表面必须严格消毒。

4.8.1.1 采样器进入被测房间前先用消毒房间的消毒剂灭菌，用于 100 级洁净室的采样器宜一直放在被测房间内。

4.8.1.2 用消毒剂擦净培养皿的外表面。

4.8.1.3 采样前，先用消毒剂消毒采样器的顶盖、转盘以及罩子的内外面，采样结束，再用消毒剂轻轻喷射罩子的内壁和转盘。

4.8.1.4 采样口及采样管，使用前必须高温灭菌。如用消毒剂对采样管的外壁及内壁进行消毒时，应将管中的残留液倒掉并晾干。

4.8.1.5 采样者应穿戴与被测洁净区域相应的工作服，在转盘上放入或调换培养皿前，双手用消毒剂消毒。

4.8.2 狭缝式采样器的采样程序

4.8.2.1 仪器经消毒后先不放入培养皿，开动真空泵抽气，使仪器中的残余消毒剂蒸发，时间不少于 5 min，并调好流量、转盘转速。

4.8.2.2 关闭真空泵，放入培养皿，盖上盖子后调节采样器缝隙高度。

4.8.2.3 置采样口于采样点后，依次开启采样器、真空泵，转动定时器，根据采样量设定采样时间。

4.8.3 培养

4.8.3.1 全部采样结束后，将培养皿倒置于恒温培养箱中培养。

4.8.3.2 在 30℃～35℃培养箱中培养，时间不少于 48 h。

4.8.3.3 每批培养基应有对照试验，检验培养基本身是否污染。可每批选定 3 只培养皿作对照培养。

4.8.4 菌落计数

4.8.4.1 用肉眼直接计数、标记或在菌落计数器上点计，然后用 5～10 倍放大镜检查，有否遗漏。

4.8.4.2 若平板上有 2 个或 2 个以上的菌落重叠，可分辨时仍以 2 个或 2 个以上菌落计数。

4.8.5 注意事项

4.8.5.1 使用前应仔细检查每个培养皿的质量，培养基及培养皿有变质、破损或污染的不能使用。

4.8.5.2 采取一切措施防止采样管的污染和其他人为对样本的污染。

4.8.5.3 对培养基、培养条件及其他参数作详细的记录。

4.8.5.4 由于细菌种类繁多，差别甚大，计数时一般用透射光于培养皿背面或正面仔细观察，不要漏计培养皿边缘生长的菌落，并须注意细菌菌落或培养基沉淀物的区别，必要时用显微镜鉴别。

5 测试规则

5.1 测试状态

5.1.1 浮游菌测试前，被测试洁净室（或洁净区）温、湿度须达到规定的要求，静压差、换气次数、空气流速必须控制在规定值内。

5.1.2 浮游菌测试前，被测试洁净室（或洁净区）已经过消毒。

5.1.3 测试状态有静态和动态两种，测试状态的选择必须符合生产的要求，并在报告中注明测试状态。

5.2 测试人员

5.2.1 测试人员必须穿戴符合环境级别的工作服。

5.2.2 静态测试时，室内测试人员不得多于2人。

5.3 测试时间

5.3.1 对单向流，如100级净化房间及层流工作台，测试应在净化空调系统正常运行不少于10 min后开始。

5.3.2 对非单向流，如10 000级、100 000级以上的净化房间，测试应在净化空调系统正常运行不少于30 min后开始。

5.4 浮游菌浓度计算

5.4.1 采样点数量及其布置

5.4.1.1 最少采样点数目

浮游菌测试的最少采样点数目分为日常监测及环境验证两种情况，见表1。

表1 最少采样点数目

面积 m^2	洁净度级别					
	100		10 000		100 000	
	验证	监测	验证	监测	验证	监测
<10	2～3	1	2	1	2	
≥10～<20	4	2	2	1	2	
≥20～<40	8	3	2	1	2	
≥40～<100	16	4	4	1	2	
≥100～<200	40		10		3	
≥200～<400	80		20		6	
400	160		40		13	

注：1）表1中的面积，对于100级的单向流洁净室（包括层流工作台），指的是送风口表面积；对于10 000级，100 000级的非单向流洁净室，指的是房间面积。

2）日常监测的采样点数目由生产工艺的关键操作点来确定。

a）对每个100级洁净操作区域（如层流罩、层流工作台），可在离药物敞开口处30 cm处设测点，每班一次。

b）对每个10 000级洁净工作区域（如药物开口工作区）可在工作面处设测点，每班一次。

5.4.1.2 采样点的位置

采样点位置可以同悬浮粒子测试点。

a）工作区测点位置离地0.8 m～1.5 m左右（略高于工作面）。

b）送风口测点位置离开送风面30 cm左右。

c）可在关键设备或关键工作活动范围处增加测点。

采样点布置的规则见附录B（标准的附录）。

5.4.2 最小采样量

采样量根据日常检测及环境验证定，每次最小采样量见表2。

表2 最小采样量

洁净度级别	采样量,L/次	
	日常监测	环境验证
100级	600	1 000
10 000级	400	500
100 000级	50	100

5.4.3 采样次数

每个采样点一般采样一次。

5.4.4 采样注意事项

5.4.4.1 对于单向流或送风口，采样器采样管口朝向应正对气流方向；对于非单向流，采样管口向上。

5.4.4.2 布置采样点时，至少应离开尘粒较集中的回风口1 m以上。

5.4.4.3 采样时，测试人员应站在采样口的下风侧。

5.5 记录

测试报告中应记录房间温度、相对湿度、压差及测试状态。

测试报告的编写见附录C(标准的附录)。

5.6 结果计算

5.6.1 用计数方法得出各个培养皿的菌落数。

5.6.2 每个测点的浮游菌平均浓度的计算，见式(1)。

$$\text{平均浓度(个/m}^3\text{)} = \frac{\text{菌落数}}{\text{采样量}} \quad \cdots\cdots(1)$$

例1：某测点采样量为400 L，菌落数为1，则：

$$\text{平均浓度} = \frac{1}{0.4} = 2.5 \text{ 个/m}^3$$

例2：某测点采样量为2 m³，菌落数为3，则：

$$\text{平均浓度} = \frac{3}{2} = 1.5 \text{ 个/m}^3$$

5.7 结果评定

用浮游菌平均浓度判断洁净室(区)空气中的微生物。

5.7.1 每个测点的浮游菌平均浓度必须低于所选定的评定标准中关于细菌浓度的界限。

5.7.2 若某测点的浮游菌平均浓度超过评定标准，则必须对此区域先行消毒，然后重新采样两次，两次测试结果必须合格。

需要全本请访问 www.ertongbook.com