

主编 潘友文



现代医药工业 微生物实验室 质量管理与验证技术

XIANDAIYIYAOGONGYE
WEISHENGWUSHIYANSHIZHILIANG
GUANLIYUYANZHENGJISHU

中国协和医科大学出版社

现代医药工业微生物 实验室质量管理与验证技术

主 编 潘友文

副主编 钱维清 熊家娟

中国协和医科大学出版社

图书在版编目 (CIP) 数据

现代医药工业微生物实验室质量管理与验证技术 / 潘友文著. —北京: 中国协和医科大学出版社, 2004.3

ISBN 7-81072-506-8

I. 现… II. 潘… III. ①医药学: 微生物学-实验室-质量管理②医药学: 微生物学-实验室-质量-验证 IV. R37-33

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (2004) 第 013463 号

现代医药工业微生物实验室质量管理与验证技术

主 编: 潘友文

责任编辑: 陈永生

出版发行: 中国协和医科大学出版社

(北京东单三条九号 邮编 100730 电话 65260378)

网 址: www.pumcp.com

经 销: 新华书店总店北京发行所

印 刷: 北京丽源印刷厂

开 本: 787×1092 毫米 1/16 开

印 张: 15.75

字 数: 300 千字

版 次: 2004 年 4 月第一版 2004 年 4 月第一次印刷

印 数: 1—4200

定 价: 60.00 元

ISBN 7-81072-506-8/R·501

(凡购本书, 如有缺页、倒页、脱页及其他质量问题, 由本社发行部调换)

前 言

随着我国全面进入小康社会步伐的加快,国民对药品、食品的安全性从来没有像今天这样关注。近年来,“疯牛病”、“艾滋病”、“非典”等的发生与传播,更警示我们必须高度加强对药品、食品微生物的监督。显然,在环境污染尚没有得到有效控制的今天,高水平、高质量的微生物监控体系对药品、食品安全乃至人类健康就显得尤为重要。

20世纪80年代中后期以来,伴随我国改革开放步伐的加快,国内医药、食品行业逐步引入、推广和实施GMP管理。然而,现今我国医药、食品和相关行业尚缺乏实施GMP并与国际接轨的微生物监控体系所需的现代微生物实验室质量管理与验证技术的工具书。笔者根据学习和工作经验,尤其是在跨国制药企业所接受系统的技术和管理培训、长期的实验室实践基础上,以我国GMP、欧美等先进国家GMP和相关微生物验证技术为指南,全面、系统地阐述了现代医药工业微生物实验室质量管理与验证技术。

没有管理就谈不上质量。每一项控制措施、每一种检验方法以及每一台设备的状态和性能是否有效、准确、可靠,都必须通过适当的监控手段和科学、合理的验证试验来确认。因此,管理加验证是GMP的精髓,也是本书编写的核心内容。

为了顺应医药、食品工业的迅猛发展及药品、食品的安全,质量控制措施及验证技术正在不断变革,这在微生物学控制方面显得更为突出。希望本书的出版在向医药、食品工业推荐和介绍这一领域的最新技术和进展方面起到积极作用。

本书分三篇共十九章,第一篇系统阐述微生物实验室的质量管理,主要阐述微生物实验室的规范,对实验设施与设备、标准品、菌毒种、试剂、培养基、消毒剂以及文件、人员培训、偏差、变更、质量审核等方面的管理要求。第二篇着重阐述生物、医药行业生产工艺的微生物控制及检验方法的验证,主要包括生物及医药工业洁净室(区)、无菌隔离系统、灭菌和去热原工艺、无菌生产工艺、制药用水系统、微生物检查(无菌检查、微生物限度检查法等)、无菌药品密封完好性等方面的控制和验证技术。第三篇介绍生物医药行业微生物学控制和发展的最新发展,主要包括微生物鉴别、数据的趋势分析和工艺的统计学控制、以及灭菌产品参数放行的理论与实践。

尽管编者已经尽了最大努力减少和避免错误,但鉴于现代微生物实验室质量管理与验证技术的复杂性,疏漏及不妥之处在所难免,恳请读者批评指正。

华瑞制药有限公司的崔强先生、熊海元女士、范君女士和阿斯利康制药有限公司的肖志坚先生为本书的编写提出了许多有价值的建议,对此深表谢意。

编者

2003年12月

目 录

第一篇 微生物实验室质量管理

第一章 实验室设施与设备的保证和管理	(3)
第一节 实验室设施	(3)
一、相关的法规要求	(3)
二、具体功能设施	(4)
第二节 实验室设备	(11)
一、相关的法规要求	(11)
二、实验室仪器设备的管理原则	(11)
三、医药工业微生物实验室主要设备仪器的质量保证和管理要求	(12)
第二章 标准品/对照品的使用及管理	(20)
第一节 概述	(20)
一、标准品和对照品的来源	(20)
二、标准品、对照品的保管	(20)
三、标准品、对照品的存储和领用	(21)
四、标准品/对照品的销毁及使用记录	(21)
五、定期对标准品/对照品进行抽样检查	(21)
六、特殊的标准品——菌种	(21)
第二节 抗生素标准品	(21)
一、使用与保存	(21)
二、效价复核	(22)
三、数据的统计学分析举例	(23)
第三节 菌种的保存与管理	(25)
一、制定菌种保藏管理程序	(25)
二、菌种的来源	(26)
三、菌种的接收与复活	(26)
四、菌种的传代和保藏	(27)
五、菌种的几种常用保藏方法	(28)
六、标签要求	(29)
七、菌种的质量控制	(30)
八、其他相关事项	(30)

九、相关记录·····	(31)
第四节 生物指示剂·····	(32)
一、定义·····	(32)
二、组成形式·····	(32)
三、制备·····	(34)
四、生物指示剂的选择和使用·····	(34)
第五节 细菌内毒素标准品·····	(35)
一、细菌内毒素国家标准品和工作标准品·····	(35)
二、内毒素挑战品·····	(38)
第三章 培养基、缓冲液和试剂·····	(41)
第一节 制备·····	(41)
第二节 储存·····	(42)
第三节 质量控制·····	(42)
一、外观检查·····	(42)
二、pH 值检查·····	(42)
三、无菌性检查·····	(43)
四、培养基的灵敏度检查 (促菌生长性) ·····	(43)
第四节 文件管理·····	(48)
第五节 标签·····	(49)
第六节 有效期的确认·····	(49)
第七节 培养基的融化程序确认·····	(50)
第四章 消毒剂的使用及效力验证·····	(51)
第一节 微生物控制和控制用试剂的分类·····	(51)
一、卫生洗涤剂·····	(51)
二、消毒剂及抗菌剂·····	(51)
三、化学灭菌剂·····	(52)
第二节 消毒剂的选择和交替使用·····	(52)
第三节 消毒剂的组成·····	(52)
第四节 消毒剂的效力等级·····	(53)
第五节 制药工业常用的消毒剂·····	(54)
一、醇类·····	(54)
二、酚类化合物·····	(54)
三、季铵盐类化合物·····	(54)
四、液体灭菌剂和杀芽胞剂·····	(55)
第六节 影响消毒剂效力的主要因素·····	(56)
一、pH·····	(56)
二、温度·····	(56)
三、有机物·····	(56)

四、水·····	(56)
第七节 消毒剂发挥作用的方式·····	(57)
一、破坏细胞膜类·····	(57)
二、阻断食物摄取和废物排泄·····	(57)
三、钝化关键酶类·····	(57)
第八节 细菌对消毒剂的耐受性·····	(57)
一、具耐受性的细菌和不能完全致死的消毒剂剂量·····	(58)
二、生物膜的形成·····	(58)
三、清洁剂之间的交互作用·····	(58)
四、精确的剂量·····	(58)
第九节 培训和安全·····	(59)
第十节 消毒剂的效力确认·····	(59)
一、确认时需要考虑的因素·····	(59)
二、现场考察·····	(59)
三、实验室考察·····	(60)
第十一节 消毒剂稀释液的效期确认·····	(62)
第十二节 结束语·····	(63)
第五章 文件管理·····	(64)
第一节 指令性文件·····	(64)
一、原则要求·····	(64)
二、文件的产生及控制程序·····	(64)
三、分类·····	(65)
第二节 记录文件·····	(70)
一、记录的原则·····	(70)
二、原始数据的处理和保存·····	(72)
三、检验结果的计算·····	(72)
第三节 结束语·····	(73)
第六章 变更管理·····	(74)
第一节 定义·····	(74)
第二节 分类·····	(74)
第三节 变更的级别·····	(74)
第四节 变更的程序·····	(75)
第七章 偏差管理·····	(77)
第一节 计划性偏差·····	(77)
第二节 意外性偏差·····	(77)
第三节 偏差与变更的界定·····	(78)
第四节 异常或超标结果的处理·····	(78)
一、异常或超标结果的调查·····	(78)

二、生产过程调查	(80)
三、取样调查	(80)
四、调查报告	(81)
第五节 偏差案例	(81)
一、案例一 (实验室偏差)	(81)
二、案例二 (生产偏差)	(82)
三、案例三 (取样偏差)	(83)
第八章 人员培训	(85)
第一节 微生物室岗位培训	(85)
第二节 培训的一般程序	(86)
一、理论学习和操作训练	(86)
二、操作考核	(86)
三、书面考核	(86)
四、再培训	(86)
五、培训证书	(86)
第三节 培训官	(87)
第四节 培训方案与计划	(87)
一、工作评价和再培训的必要性	(88)
二、责任	(88)
第五节 文档管理	(89)
第六节 交叉培训	(89)
第七节 范例	(89)
一、目的	(90)
二、培训对象及考核频率	(90)
三、培训	(90)
第九章 实验室质量系统的内审	(93)
第一节 内部审计	(93)
第二节 检查清单	(93)

第二篇 医药工业微生物学控制与验证

第十章 医药工业洁净室 (区) 的环境控制与评价	(101)
第一节 术语定义	(101)
一、洁净区 (室) clean zone (cleanroom)	(101)
二、粒子及空气悬浮粒子 particle & airborne particulate	(101)
三、粒径或粒子尺寸 (particle size)	(101)
四、洁净度或洁净级别 (cleanliness class)	(101)
五、换气次数 (air changes)	(101)
六、菌落单位 (colony forming units, CFU)	(102)

七、单向流 (unidirectional air flow)	(102)
八、非单向流 (non - unidirectional air flow)	(102)
九、空态洁净室 (设施) (as - built cleanroom (facility)	(102)
十、静态洁净室 (设施) (at - rest cleanroom (facility)	(102)
十一、动态洁净室 (设施) (operational cleanroom) (facility)	(102)
十二、非等动力取样 (anisokinetic sampling)	(102)
十三、等动力取样 (isokinetic sampling)	(102)
十四、置信上限 (upper confidence limit, UCL)	(102)
十五、过滤器的完整性 (filter integrity)	(102)
十六、无菌生产工艺 (aseptic processing)	(103)
十七、产品接触区 (product contact areas)	(103)
十八、趋势分析 (trend analysis)	(103)
第二节 洁净室 (区) 洁净级别的划分	(103)
一、级区的划分	(103)
二、医药用洁净环境的控制要求	(103)
三、相关的法规标准	(104)
第三节 洁净区环境控制与评价的原则	(104)
一、实行全面监控	(104)
二、制定系统的环境监测方案	(105)
三、实行动态监控	(105)
四、及时处理异常或超标结果	(105)
五、定期进行趋势分析	(106)
六、定期进行再验证	(106)
第四节 取样计划	(106)
第五节 取样点、取样量及监测结果的计算与评价	(108)
一、空气悬浮粒子监测	(108)
二、空气浮游菌监测	(109)
三、沉降菌监测	(110)
四、表面微生物监测	(111)
五、人员卫生监测	(111)
第六节 警戒限度和纠偏限度	(112)
第七节 监测方法	(113)
一、空气悬浮粒子监测	(114)
二、空气微生物监测 (沉降菌和浮游菌)	(114)
三、表面微生物监测和人员卫生监测	(117)
第八节 培养基及培养条件	(117)
第九节 无菌检查用隔离系统的环境监控	(118)
第十节 环境微生物的鉴别	(119)

第十一节 监测方法的确认	(119)
第十二节 人员培训和更衣	(120)
第十三节 动态下的无菌灌装区及其他环境控制区的微生物学评价	(121)
第十四节 结束语	(121)
第十一章 无菌检查用隔离器和隔离系统验证	(123)
第一节 隔离器的组成及各部分的功能	(123)
一、概述	(123)
二、隔离器的基本组成	(124)
第二节 隔离器位置的选择	(130)
第三节 隔离系统的验证	(130)
一、安装确认 (IQ)	(131)
二、运行确认 (OQ)	(131)
三、性能确认 (PQ)	(134)
四、包装完整性确认	(134)
五、隔离器内无菌状态的维持和环境监测	(135)
六、无菌试验结果的分析	(135)
七、培训与安全	(135)
第十二章 热力灭菌工艺的微生物学验证	(137)
第一节 术语定义	(137)
第二节 热力学灭菌工艺的基本原理	(138)
一、热对微生物细胞的效应	(138)
二、影响灭菌效果的因素	(138)
三、热力学灭菌工艺原理简介	(139)
四、无菌的影响因素	(140)
五、热力学灭菌的动力学原理	(140)
六、灭菌值 (F 值)	(142)
七、生物指示剂	(143)
第三节 灭菌工艺开发	(143)
一、确立灭菌终点	(143)
二、控制灭菌前含菌量的灭菌工艺	(144)
三、过热灭菌及去热原工艺	(145)
第四节 灭菌工艺验证	(146)
一、概述	(146)
二、验证试验	(147)
第五节 湿热灭菌工艺的生物学验证	(148)
一、验证的标准	(148)
二、过热灭菌工艺	(148)
三、残存概率灭菌工艺	(150)

四、讨论·····	(150)
第六节 残存曲线法测定 D 值 ·····	(151)
一、试验用仪器及材料·····	(151)
二、试验用芽胞悬浮液的制备·····	(152)
三、确定试验参数·····	(153)
四、线性回归分析法·····	(153)
五、试验步骤·····	(154)
六、Z 值的测定和计算 ·····	(155)
七、数据分析·····	(155)
八、D 值测定试验记录 ·····	(155)
第十三章 无菌生产工艺验证·····	(157)
第一节 无菌工艺验证的前提条件·····	(157)
一、做好充分准备工作·····	(157)
二、选择适当的验证方法·····	(157)
第二节 非培养基灌装验证·····	(158)
第三节 培养基灌装验证·····	(158)
一、培养基灌装试验的频率·····	(158)
二、模拟试验中必须注意的方面·····	(158)
三、培养基的选择·····	(159)
四、无菌培养基的制备·····	(159)
五、无菌灌装·····	(160)
六、培养条件和计数检查·····	(161)
七、污染菌的鉴别·····	(161)
八、培养基灵敏度检查·····	(161)
九、环境控制·····	(162)
十、结果评价·····	(162)
十一、偏差调查及纠偏措施·····	(163)
第四节 与无菌工艺验证相关的重要因素·····	(164)
一、环境设施的消毒·····	(164)
二、设备的清洗和灭菌·····	(164)
三、过滤器的验证和完好性检查·····	(164)
四、容器及其密封件的灭菌·····	(165)
五、包装容器的密封完好性检查·····	(165)
六、气体过滤器的完好性检查·····	(165)
七、成品的无菌检查·····	(165)
第十四章 制药用水系统的微生物学控制和验证·····	(166)
第一节 水的处理与消毒·····	(166)
一、水处理系统与微生物的相关性·····	(166)

二、水系统的消毒	(167)
三、有机物的处理	(167)
第二节 水的微生物质量监控	(168)
一、取样	(168)
二、微生物检测	(169)
三、检测量的确定	(172)
四、微生物鉴别	(173)
五、警戒限度和纠偏限度	(173)
第三节 制药用水的总有机碳 (TOC) 测定和电导率测定	(174)
一、总有机碳 (TOC) 测定	(174)
二、电导率的测定	(175)
第四节 检验规程和数据分析	(176)
第五节 水系统的验证	(177)
一、验证策略	(177)
二、验证程序	(177)
三、注意事项	(178)
第六节 制药用水系统的 GMP 认证/检查要点	(178)
第十五章 药品微生物学检验方法的验证	(179)
第一节 验证试验的关键要素	(179)
一、验证试验用挑战微生物	(179)
二、试验条件	(180)
第二节 验证策略	(183)
一、试验原理——微生物恢复生长的比较	(183)
二、验证的合格标准	(183)
三、无菌检查方法验证	(184)
第三节 验证试验结果的评价	(185)
第四节 验证试验报告	(185)
第五节 结束语	(185)
范例 1 无菌检查方法的验证 (薄膜过滤法)	(186)
范例 2 微生物限度检查方法的验证 (平皿菌落计数法)	(189)
第十六章 无菌药品包装的密封完整性评估	(192)
第一节 概述	(192)
一、产品研发阶段的完整性测试	(192)
二、常规生产时的完整性测试	(192)
三、成品稳定性考察的完整性测试	(193)
四、微生物检测和物理检测方法的对比	(193)
五、评估方法的选择	(193)
第二节 物理检测法	(194)

一、起泡试验·····	(194)
二、氯气质谱法·····	(194)
三、高电压泄漏检测 (HVLD) ·····	(194)
四、液体示踪剂检测·····	(195)
五、包装顶部气体分析·····	(195)
六、残留气体的电离测试·····	(195)
七、真空/压力衰减测试 ·····	(196)
八、真空/压力保持测试 ·····	(196)
第三节 微生物挑战试验法·····	(196)
一、空气浮游菌挑战测试法·····	(196)
二、液体浸没法·····	(197)
第四节 微生物挑战试验——液体浸没法实例·····	(198)
一、试验方法·····	(198)
二、试验记录·····	(200)

第三篇 医药工业微生物分析的发展

第十七章 微生物鉴定·····	(205)
第一节 微生物鉴定程序·····	(205)
一、原则·····	(205)
二、细菌鉴定检索表·····	(206)
第二节 基本定向生化试验·····	(207)
一、革兰染色试验·····	(207)
二、3%氢氧化钾试验 ·····	(208)
三、接触酶试验 (过氧化氢酶试验) ·····	(208)
四、葡萄糖氧化/发酵试验 ·····	(209)
五、细胞色素氧化酶试验·····	(209)
第三节 数值分类鉴定技术 (API) ·····	(210)
一、数值鉴定的基本原理·····	(210)
二、API 鉴定系统的组成 ·····	(212)
三、数值鉴定的使用·····	(212)
四、API 操作程序 ·····	(215)
五、实验室常用的 API 鉴定试验条·····	(215)
第四节 微生物自动化分析仪·····	(216)
一、VITEK 全自动微生物分析系统工作原理·····	(216)
二、仪器构造·····	(217)
三、操作程序·····	(217)
四、具体使用指导·····	(218)
五、结果的分析与验证·····	(218)

六、利用自动分析仪软件资料对环境、工艺中的污染进行监控·····	(219)
七、自动化仪器的局限性·····	(219)
第五节 结束语·····	(219)
第十八章 数据的趋势分析和工艺的统计学控制·····	(220)
第一节 数据的趋势分析·····	(220)
第二节 工艺的统计学控制·····	(221)
第三节 工艺的性能分析·····	(222)
第四节 工艺的统计学控制的意义·····	(224)
第五节 统计学控制在微生物检测数据中的应用·····	(225)
第六节 微生物学数据分析中的共性问题·····	(227)
第七节 结束语·····	(227)
第十九章 最终灭菌产品的参数放行·····	(228)
第一节 概述·····	(228)
第二节 参数放行的理论基础·····	(228)
一、无菌是一个概率函数·····	(228)
二、在一定的灭菌方式下微生物的死亡呈几何级数变化·····	(228)
三、微生物数量与灭菌条件的相关性·····	(229)
第三节 实行参数放行的意义·····	(229)
一、它是灭菌工艺验证的自然结果·····	(229)
二、可以克服成品无菌检查的统计学局限性和不精确结果·····	(229)
三、减少质量控制成本·····	(230)
四、缩短生产周期、降低库存压力·····	(230)
第四节 参数放行的实施概况·····	(231)
第五节 参数放行的实践要求·····	(231)
一、实施参数放行须得到政府部门的批准·····	(231)
二、严格控制和监测灭菌前产品中的微生物污染状况·····	(231)
三、严格控制灭菌工艺·····	(232)
四、须用指示剂监控每个灭菌批·····	(233)
五、须有区分已灭菌和未灭菌产品的系统·····	(233)
六、容器的密封完好性验证·····	(234)
第六节 无菌保证的放行程序·····	(234)
主要参考文献·····	(235)

第 一 篇

微生物实验室质量管理

第一章 实验室设施与设备的保证和管理

开展微生物学检验必须的设施与设备可归类如下：

保证实验无菌环境的设施——洁净室（无菌室）、无菌隔离系统、净化工作台。

保证实验用品无菌（灭菌）的设备——高压蒸气灭菌器、电热恒温干烤箱。

保证适合微生物生长和保存的温控设备——培养箱、冰箱。

实验操作仪器——全封闭薄膜过滤装置、电动匀浆仪、电热恒温水浴箱、离心机、显微镜，及刻度吸管、试管、三角烧瓶、双碟培养皿等常用玻璃仪器。

管理上首先应注意建立室内每台主要设施、设备、仪器的明细目录，内容包括名称、型号、生产厂商、购买日期，以及具有贯穿其整个使用周期的质量保证档案：

购买发票→安装验收或开箱验收记录→调试记录→计量检定或运行校验合格证→指定专人负责→制订标准操作规程（SOP）→建立使用登记册→维修、保养记录→改造或更新记录→直至报废记录。

医药工业微生物实验室主要设施、设备、的质量保证和管理要求分述如下。

第一节 实验室设施

一、相关的法规要求

国家药品监督管理局于2000年9月颁布的《药品检验所实验室质量管理规范（试行）》中涉及微生物实验室的要求是：

“第十八条 无菌检查、微生物限度检查与抗生素微生物检定的实验室，应严格分开。无菌检查、微生物限度检查实验室分无菌操作间和缓冲间。无菌操作间应具备相应的空调净化设施和环境，采用局部百级措施时，其环境应符合万级洁净度要求。进入无菌操作间应有人员净化和物流净化的设施。无菌操作间应根据检验品种的需要，保持对邻室的相对正压或相对负压，并定期检测洁净度。无菌操作间内禁放杂物，并应制定地面、门窗、墙壁、设施等的定期清洁、灭菌规程。

“抗生素微生物检定实验室分为半无菌操作间和缓冲间。半无菌操作间设有紫外灯；操作台宜稳固，并保持水平。实验室内应光线明亮，并有控制温度、湿度的设备。实验室内应注意防止抗生素的交叉污染。”

中国药典2000版附录XⅡ H中对无菌检查法的相关要求：

无菌检查在洁净度100级单向流空气区域内进行，其全过程应严格遵守无菌操作，防止微生物污染。单向流空气区与工作台面，必须进行洁净度验证。

中国药典2000版附录XⅡ J中对微生物限度检查法的相关要求：

检查的全过程，均应遵守无菌操作，严防再污染。