

生物制品生产环境监测的现场检查要点和常见问题分析

杨敬鹏¹, 颜若曦^{1*}, 赵嵩月²

1. 国家药品监督管理局食品药品审核查验中心, 北京 100076

2. 云南省食品药品审核查验中心, 云南 昆明 650200

摘要: 生物制品属于较高染菌风险的品种, 生产多涉及无菌生产过程, 因此需要制定环境监测要求。生物制品生产环境监测现场检查要点包括环境监测风险评估、环境监测程序文件的制定和实施过程控制、A/B 级区域的环境监测、环境监测结果的定期回顾。环境监测检查发现的典型缺陷主要集中在监测点位与频次风险评估、回顾与趋势分析、监测报警与偏差处理、日常监测与操作规范性、数据可靠性方面。对生物制品生产环境监测现场检查要点进行分析, 并对国内各类检查中发现的常见问题进行分析总结, 旨在为生物制品企业、生物制品检查员进一步做好药品生产洁净环境监测、检查提供参考和借鉴。

关键词: 生物制品; 生产环境监测; 现场检查要点; 典型缺陷

中图分类号: R971 文献标志码: A 文章编号: 1674 - 5515(2025)07 - 1815 - 05

DOI: 10.7501/j.issn.1674-5515.2025.07.035

Key points of on-site inspection and typical deficiencies analysis of environmental monitoring in biological products inspection

YANG Jingpeng¹, YAN Ruoxi¹, ZHAO Songyue²

1. Center for Food and Drug Inspection of NMPA, Beijing 100076, China

2. Center for Food and Drug Inspection of Yunnan Province, Kunming 650200, China

Abstract: Biological products belong to varieties with high risk of bacterial contamination, and their production often involves aseptic production processes, therefore environmental monitoring requirements need to be formulated. The key points for on-site inspection of environmental monitoring in the biological products production include environmental monitoring risk assessment, development and implementation process control of environmental monitoring procedure documents, environmental monitoring of A/B-level areas, and regular review of environmental monitoring results. The typical defects found in environmental monitoring inspections mainly focus on monitoring point location and frequency risk assessment, review and trend analysis, monitoring alarm and deviation handling, daily monitoring and operational standardization, and data reliability. This article analyzes the key points of on-site inspection for monitoring the production environment of biological products, and summarizes the common problems found in various inspections in China, to provide reference and guidance for biological product enterprises and biological product inspectors to further monitor and inspect the clean environment of drug productions.

Key words: biological product; environmental monitoring; key point of on-site inspection; typical deficiency

生物制品生产涉及生物原材料和生物培养过程, 培养过程中使用的材料和处理条件预期为靶细胞和微生物的生长提供条件, 但同时也是污染微生物生长的良好培养基; 很多生物材料无法通过热、气体或辐射进行最终灭菌, 某些活疫苗、佐剂疫苗

可能无法通过除菌过滤进行灭菌, 上述特殊性决定了生物制品属于较高染菌风险的品种^[1]。因此生物制品的生产多涉及无菌生产过程, 无菌药品生产过程中的污染控制要点包括了人员污染控制、设备与组件污染控制、设施环境污染控制、物料污染控制、

收稿日期: 2025-03-09

作者简介: 杨敬鹏 (1981—), 男, 副主任药师, 硕士, 从事药品质量管理、药品检查研究。E-mail: yangjp@cfdi.org.cn

*通信作者: 颜若曦 (1983—), 男, 主任药师, 硕士, 从事药品质量管理、药品检查研究。E-mail: yanrx@cfdi.org.cn

生产工艺过程污染控制等^[2-3],其中设施设备微生物污染监测有利于评价清洁消毒程序的有效性,对洁净区的使用和进出人员的管理起到了重要的监督作用。鉴于洁净区环境检测对无菌药品的重要程度,国内外药品生产质量管理规范(GMP)对于药品生产环境监测均有明确规定,尽管其中对于洁净级别的分类存在微小差异,但总体原则和要求是相似的^[4]。多数国家和国际组织的GMP均以ISO14644系列标准为基础^[5],结合药品生产特性,制定了药品生产环境的分级、监测计划和程序、各级别监测项目、标准等相关法规。其中2022年版欧盟GMP附录1《无菌药品生产》(以下简称欧盟GMP附录1)^[6]是由世界卫生组织(WHO)、欧洲药品管理局(EMA)和国际药品检查合作组织(PIC/S)联合起草的,对制药工业有深远的影响。本文对GMP无菌药品附录、《药品生产质量管理规范(2010版)》无菌药品附录^[7](简称我国GMP附录1)关于环境监测的要求进行比对,对生物制品生产环境监测现场检查要点进行分析,并对国内各类检查中发现的常见问题进行分析总结,旨在为生物制品企业、生物制品检查员进一步做好药品生产洁净环境监测、检查提供参考和借鉴。

1 欧盟GMP附录1、我国GMP附录1对环境监测的要求

欧盟GMP附录1明确了应基于全面的风险分析,建立全面的环境监测计划。日常环境监测的项目主要包括总粒子数、活性粒子、温度、相对湿度和其他具体特性、无菌工艺模拟(仅用于无菌生产的产品)。我国GMP附录1亦明确要求应当对悬浮粒子和微生物进行动态监测,评估无菌生产的微生物状况。

1.1 悬浮粒子监测及其标准

1.1.1 洁净室分级与确认 欧盟GMP附录1、我国GMP附录1均主要依据空气悬浮粒子标准对洁净室进行分级,分级包括A、B、C、D 4个级别。我国GMP附录1未单独区分洁净室分级确认标准和日常监测标准,欧盟GMP附录1则将它们进行了区分,在“厂房”章节中明确了洁净室分级确认各级别允许的最大总微粒浓度标准、在“环境监测与工艺监测”章节明确了监测最大允许的总粒子浓度标准。在洁净室分级和确认方面,两者均对A、B、C级 $\geq 0.5 \mu\text{m}$ 悬浮粒子静态动态分布的最大限度进行了规定,且标准值均一致,D级环境的动态

悬浮粒子标准在我国GMP附录1中为“不作规定”,欧盟GMP附录1为“未预先确定”,要求根据风险评估和适用的常规数据建立动态限度。对于 $\geq 5 \mu\text{m}$ 悬浮粒子,A级静态和动态、B级静态中我国GMP附录1的要求分别为20、29个/ m^3 ,而欧盟GMP附录1要求在污染控制策略或历史趋势中有说明的情况下,可以考虑包括 $5 \mu\text{m}$ 微粒的分级。从上述标准的差异可见,欧盟GMP附录更加体现了基于风险、基于历史数据的管理理念。

欧盟GMP附录1明确了A、B级区再确认的最长时间间隔为6个月,C、D级区再确认的最长时间间隔为12个月。在纠正设备或设施缺陷而采取的整改措施完成后,或设备、设施或工艺的变更后,还应视情况进行适当的再确认。

1.1.2 日常监测 日常监测方面,欧盟GMP附录1规定A级静态和动态 $\geq 5 \mu\text{m}$ 悬浮粒子最大限度标准为29个/ m^3 ,我国GMP最大限值为20个/ m^3 ;欧盟GMP附录1规定D级静态 $\geq 5 \mu\text{m}$ 悬浮粒子最大限度为29 300,我国GMP附录1规定为29 000;D级环境的动态悬浮粒子标准在我国GMP附录1标准中为“不作规定”,欧盟GMP附录1标准中为“未预先确定”,要求根据风险评估和适用的常规数据建立动态限度。

1.2 微生物监测及其标准

1.2.1 洁净室分级与确认 洁净室环境微生物方面,我国GMP附录1未明确在洁净室分级与确认时需开展微生物监测,欧盟GMP附录1则明确了在洁净室分级与确认时需要进行浮游菌、沉降菌和表面微生物接触碟监测等。沉降菌的检出能直观反映出该部位的污染情况和规律,而浮游菌则主动采集附近气流,可以代表某区域的污染情况和规律^[8]。且2022版欧盟GMP附录1将A级微生物监测标准定为无生长,还强调了沉降碟的暴露时间应基于回收率研究。

1.2.2 日常监测 日常监测方面,欧盟GMP附录1和我国GMP附录1均要求应该对微生物进行动态监测,欧盟GMP附录1将A级微生物监测标准定为无生长,其余微生物监测标准无差异。我国GMP附录1除A级的微生物监测的标准为 $< 1 \text{CFU}$ 外,其余标准均与欧盟GMP附录1相同。

2 环境监测现场检查关注要点

2.1 环境监测风险评估

欧盟GMP附录1明确了应基于对工艺输入和

最终产品、设施、设备、具体工艺和步骤的关键性、所涉及的操作、常规监测数据、确认期间获得的监测数据的详细知识，以及对环境中分离的典型微生物菌群的知识等开展全面的风险分析，建立全面的环境监测计划^[8]。

环境监测计划的制定应基于风险评估，风险评估应重点关注：（1）取样点数量、位点的确定。依据国标和相关指导原则，按照洁净室面积计算最少取样点数量；分析厂房图纸，对于同一洁净区内不同级别的洁净室，利用网格密度与洁净级别关联起来^[9]，根据网格化风险分析，综合考虑关键工序、通道、难以清洁区域的风险，或与公用设施、排水沟、人流、物料流、存储区、气流流动方向、被设施设备覆盖等区域的风险，识别出风险点，在最少取样点数量基础上增加取样点，样本采集位点应包含风险最高的位置。（2）取样频率的确定。监控频率取决于产品工艺和污染风险，频率太低可能导致污染不能及时发现，频率过度则可能带来污染的风险。通常在完成洁净厂房和空调系统设计后需进行“静态和动态”确认，日常监测频次应根据产品特性、洁净级别、工艺步骤、人员活动等进行初步确定。后续日常监测点位、检测频率应结合历史数据、设备与设施如空调系统、高效过滤器的性能和可靠性、功能间和设备的变更、实时数据趋势分析等内容进行及时的调整。（3）关键区域进行动态监测。关键区域动态监测风险评估除需考虑上述位点、频次选择原则外，还应包括对空气可视化研究等其他信息的考虑。当进行无菌操作时，应采用多种方法经常进行微生物监测，所使用的采样方法的合理性应在污染控制策略中进行论证，并证明不会对 A 级和 B 级的气流模式造成不利影响。在无菌操作的全过程中，包括设备组装（无菌安装）和关键操作，应当对 A 级进行连续的空气活性粒子监测（如空气采样或沉降碟）。对于 B 级洁净室，应基于对无菌工艺的影响风险，考虑合理的方式。

2.2 环境监测程序文件的制定和实施过程控制

建立环境监测计划后，应计划风险评估的内容建立对应的程序文件，程序文件内容应明确环境监测的参数和标准，包括悬浮粒子、微生物、压差、温湿度、风速等，明确具体监测的方法、监测频率、监测位点、数据记录和报告方式、趋势分析要求、偏差处理流程、监测设备的校准、维护要求等。关键区域的温湿度、压差、悬浮粒子、风速等数据应

考虑采用在线连续监测的方式；微生物采样程序应明确采样方式和操作细节、微生物培养和观察相关要求；如表面微生物采样接触时间、接触面积、培养基去除方法，浮游菌采集时间点、采样流量和体积，沉降碟的更换时间等。悬浮粒子监测程序中需重点关注采样管长度、弯管半径和采样体积。监测位点应以图例的形式表述为佳。趋势分析应明确分析周期，警戒线与纠偏线制定原则，洁净区的环境监测数据和趋势分析数据应作为产品批次认证/放行的一部分进行审核。偏差处理流程应明确异常数据的定义，出现提示洁净度恶化或失控时所采集到的微生物或难以控制的微生物，如形成孢子的微生物和霉菌时的处理措施等。

环境监测实施过程涉及了采样、培养、结果判定等，由于该过程可信息化记录的数据较少，检查过程应重点关注全过程的数据可靠性。物料平衡的角度，重点关注培养皿购买、领用、使用、移交、培养、结果判定、废弃培养皿的物料平衡情况。在过程控制方面，培养皿使用前应确认其灵敏度、使用过程和培养过程均应确定标记原则，并进行规范的标记；采样环节的控制，可通过视频观察的方法确认采样过程的规范性，如接触时间、接触面积的规范性、消毒剂在采样点附近的使用情况等；培养结果的判定应设双人复核等措施，确保观察结果与记录的一致性。

2.3 A、B 级区域的环境监测

A、B 级区多为无菌操作核心区，实施动态监测为人员行为评价、最终产品放行提供必要的依据。日常生产操作前，要检查、控制好 A、B 级区域内的温度、湿度和压差，温度、湿度控制须避开常见微生物的适宜生长温湿度区间，同时应考虑操作人员的舒适度；不同级别的洁净区间应保持大于 10 Pa 的压差，A、B 级区的压差应进行实时监测，并设置报警功能，为了避免正常操作（如开门）造成的报警，可适当增加报警延时装置，但具体的延时时间应根据验证数据得出。在生产过程中，要监测沉降菌、浮游菌、悬浮粒子和风速等情况，A 级区对悬浮粒子、微生物的要求最高，需要全过程监测悬浮粒子和沉降菌，浮游菌的监测应涵盖关键操作工序，B 级区可基于风险评估采用略低的监测频率；在关键操作完成后，要监测设施、设备的表面和人员表面微生物的情况；微生物采样过程如果是由生产人员进行常规监测，则应由质量部门进行定

期监督；A、B 级区检出的微生物应鉴定到种，并应评估此类微生物对产品质量（每个相关批次）和整体受控状态的潜在影响。此外，欧盟 GMP 附录提出了初始气流的概念，对于 A 级洁净区，除日常环境监测应按要求布点外，还应进行气流模式验证。验证重点是对临界区的确认，要证明气流不会从低级别区流入高级别区，即气流模式在 A 级区、临界区、背景区都要验证^[10]。

2.4 环境监测结果的定期回顾

环境监测数据是某一时间阶段环境状态的呈现，对历史环境监测数据定期回顾，并开展趋势分析，利于及时发现问题，并采取有效的措施，同时也为污染控制措施的改进提供依据。应根据法规指南确定行动限，通过定期回顾数据、运用控制图或统计分析等方法进行分析，确定警戒限，根据定期回顾的数据对警戒限进行必要的调整；在出现警戒限不良趋势或超过纠偏限的情况时，应及时启动调查，并采取措施降低风险。定期对环境和人员监测中的分离菌进行微生物鉴定，获得数据构成的检出菌库，在消毒剂效力验证、培养基模拟灌装等验证中增加环境菌相关验证，评估清洁消毒效果的有效性和洁净区的环境情况。

3 环境监测的常见问题和案例分析

收集近年来国内各类检查提出的环境监测类缺陷 150 余项，显示环境监测检查发现的典型缺陷主要集中在监测点位与频次风险评估、回顾与趋势分析、监测报警与偏差处理、日常监测与操作规范性、数据可靠性方面。

监测点位与频次风险评估存在不足，典型问题为：（1）未能结合生产工艺、人流、厂房设备布局等因素，基于风险确定环境监测点位，取样代表性缺乏合理评估。如环境监测点位的设置未考虑人员操作干扰集中的点位；未结合洁净区气流流型合理设置监测点位；部分表面微生物采样随机选择部分点位轮换采样。（2）采样点位置设置不合理。灌装区、分装区悬浮粒子采样口远高于操作面，所采集的样本代表性较差。（3）未基于风险评估制定洁净区合理的环境监测时间。如灌装岗位浮游菌开启时间在生产前 1 h，未考虑生产关键工序时间因素；未按照要求在每批半成品最终除菌过滤时进行动态环境监测和人员、设备表面微生物监测。

环境监测回顾与趋势分析方面存在的典型问题为：（1）定期对环境监测数据进行回顾，但未进

行趋势分析。（2）环境监测趋势分析报告数据统计不全。如统计数据未包含日常静态检测数据、无菌工艺模拟动态监测情况、检出菌的情况等。（2）趋势分析不充分。如仅选择部分房间或区域内监测结果最差的点位绘制趋势图和质量分析，可能存在某一个监测点连续有菌生长但均不是最差结果而不进行趋势分析的情况。（3）警戒限和行动限制定不合理。直接使用法定限的 80%、60% 作为行动限和警戒限，未基于历史数据的情况对限度的合理性进行评估，不利于及时发现环境监测的不良趋势。

监测报警与偏差处理方面存在的典型问题为：

（1）关键区域与人员多次检出微生物，监测结果均未超出限度和标准，企业未针对单点/同一人员多次出现微生物启动调查，未进行菌种鉴定。（2）悬浮粒子监测点位在整个分装过程中持续报警，进行了处理但未启动偏差调查。（3）对环境监测到的高风险微生物未及时调查和启动纠正和预防措施。如在检出霉菌或芽孢杆菌后，未能及时通知相关车间启动调查，并及时采取必要的清洁消毒措施；分析结果显示检出优势污染菌，但未用现行的消毒剂和环检出的优势菌进行消毒效果确认。（4）报警处理时间设置不合理。如文件规定制剂车间洁净环境在线监测系统房间压差和关门监测报警持续 30 min 以上时才需要记录并采取行动。

日常监测与操作规范性方面存在的典型问题为：（1）B 级区环境监测相关工作由现场操作人员进行，缺乏过程监督机制。（2）人员采样未按照操作规程执行，如表面微生物采样接触时间不足、部分人员采样在手部消毒后进行、人员生产过程喷洒消毒剂在沉降碟附近进行等。（3）未考虑采样过程可能带来的污染，如完成器具组装后人员进行了表面微生物采样，但未及时进行清洁。

数据可靠性方面存在的典型问题为：（1）视频显示生产结束后操作人员未按程序规定进行表面微生物监测，但记录中却显示了对应项目的监测。（2）洁净区环境监测相关记录沉降菌摆皿起止时间与视频时间不一致。（3）平皿上实际生长的均落数与记录不一致的情形。

4 结语

污染是药品安全性最大的威胁之一，历史上发生的多起药害事件均涉及无菌药品的污染^[11]。污染控制策略是基于对现有产品和工艺的理解，为确保工艺性能和产品质量，针对微生物、细菌内毒素/热

原和颗粒物提出的一系列有计划的控制措施^[8]。药品生产洁净环境监测是药品生产污染控制策略的重要组成部分,是无菌药品检查的关键内容。尤其对于参数放行的无菌药品,洁净环境监测计划是其放行无菌保障计划必要内容之一^[12]。

本文对新版欧盟、我国 GMP 无菌药品附录中环境监测的要求进行了梳理,提出现场检查关注点,并结合检查工作实际梳理企业在监测环节存在的问题,发现企业存在的问题主要集中在监测点位与频次风险评估、回顾与趋势分析、监测报警与偏差处理、日常监测与操作规范性、数据可靠性方面。药品生产企业可以借鉴相关内容,结合实际情况,对洁净环境监测工作进行全面评估,进一步完善相关措施,为产品的放行提供了有力的数据支持,进而更好地保证药品质量。同时希望为药品检查工作提供参考和借鉴,药品检查员可参考相关风险,以环境监测为切入点之一开展无菌保障相关检查,帮助企业提升无菌保障水平。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] WHO. Technical Report Series999 Annex 2: WHO good manufacturing practices for biological products [S]. Issued 2016. <https://www.who.int/publications/m/item/annex-2-trs-no-999-WHO-gmp-for-biological-products>.
- [2] 颜若曦. 无菌药品污染控制策略要点探析 [J]. 医药导报, 2023, 42(9): 1424-1429.
- [3] 胡敬峰, 刘荣, 周勇, 等. 生物制品无菌保证的特殊性分析与探讨 [J]. 中国医药工业杂志, 2024, 55(10): 1426-1429.
- [4] 颜若曦. 药品生产洁净环境监测要点的研究与分析 [J]. 中国医药工业杂志, 2023, 54(10): 1510-1516.
- [5] International Organization for Standardization. ISO14644 Cleanrooms and associated controlled environments [S/OL]. Issued 2015. <https://www.iso.org/standard/53394.html>.
- [6] EU. Guidelines for Good Manufacturing Practice for Medicinal Products for Human and Veterinary Use, Annex1: Manufacture of Sterile Medicinal Products [EB/OL]. [2022-08-25]. https://health.ec.europa.eu/system/files/2022-08/20220825_gmp-an1_en_0.pdf.
- [7] 中华人民共和国卫生部. 药品生产质量管理规范(2010年修订) [EB/OL]. (2011-01-17) [2023-03-04]. <http://www.linjec.com/download/2013121838310173.pdf>.
- [8] 吕洪浩, 姚辉. 关于医药工业洁净室测试中浮游菌与沉降菌的关系及应用 [J]. 天津药学, 2006, 18(3): 72-73.
- [9] Summers A. Sterile basics of compounding: contamination control strategies, part 1 [J]. *Int J Pharm Compd*, 2022, 26(5): 411-418.
- [10] 忻运, 王杰, 魏佳鸣, 等. 洁净室污染控制策略的研究 [J]. 中国医药工业杂志, 2024, 55(5): 731-735.
- [11] 武雅文, 王莹, 车阳, 等. 国际微生物污染相关药品召回回顾分析(2013—2019) [J]. 中国现代应用药学, 2021, 38(15): 1870-1877.
- [12] 汤平, 蒋芙蓉, 陈超, 等. 污染控制策略在无菌药品参数放行中的应用探讨 [J]. 中南药学, 2024, 22(7): 1957-1962.

【责任编辑 解学星】