

如何依据 ISO14644-1 (2015) 进行洁净室分级测试

ISO 14644-1 (14644-1:2015)最新版本 (第二版) 已经于 2015 年 12 月发布, 根据 EU, PIC/S 以及中国现行 GMP 的要求, 洁净室与洁净空气设备需根据现行的 ISO 14644-1 进行分级。本文将就新版本 ISO 标准的主要变化及其对洁净室确认的分级测试的影响进行深入讨论。

ISO 14644-1:2015 有三大主要改变 :

一 . 用于定义空气洁净度的 ISO 等级表的改变 (见表 1)

表 1 : 基于粒子浓度进行空气洁净度分级的 ISO 等级

| ISO 等级 (N) | 大于或等于该粒径的最大粒子浓度限值 (粒子/m ³) | | | | | |
|-----------------|---|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|---------|
| | 0.1 μm | 0.2 μm | 0.3 μm | 0.5 μm | 1 μm | 5 μm |
| 1 | 10 ^b | d | d | d | d | e |
| 2 | 100 | 24 ^b | 10 ^b | d | d | e |
| 3 | 1000 | 237 | 102 | 35 ^b | d | e |
| 4 | 10 000 | 2 370 | 1 020 | 352 | 83 ^b | e |
| 5 | 100 000 | 23 700 | 10 200 | 3 520 | 832 | d,e,f |
| 6 | 1 000 000 | 237 000 | 102 000 | 35 200 | 8 320 | 293 |
| 7 | c | c | c | 352 000 | 83 200 | 2 930 |
| 8 | c | c | c | 3 520 000 | 832 000 | 29 300 |
| 9g | c | c | c | 35 200 000 | 8 320 000 | 293 000 |

与上一版本相比, 在 ISO 等级中的第 5 级, 对于粒径等于和大于 5μm 的粒子, 最大容许浓度(粒子/m³)已不再是 29 。表格中 d,e,f 的解释分别如下 :

d : 低浓度粒子在取样与统计方面的局限性导致分级不当。

e : 由于取样系统的潜在粒子损失, 低浓度粒子和粒径大于 1μm 粒子的样本收集的局限性导致在该粒径大小的分级不当。

f : 为了确定这个粒径的粒子属于 ISO 中的第 5 级, 大粒子 (M 描述符) 可与至少一个其他粒径的粒子配合使用。

为了符合 GMP 要求(见表 2), 粒径大于等于 5µm (≥5µm) 的粒子也需要检测, 但应参照 ISO 14644 - 1:2015 附录 C 的要求, 采取防止大粒子损失的措施。

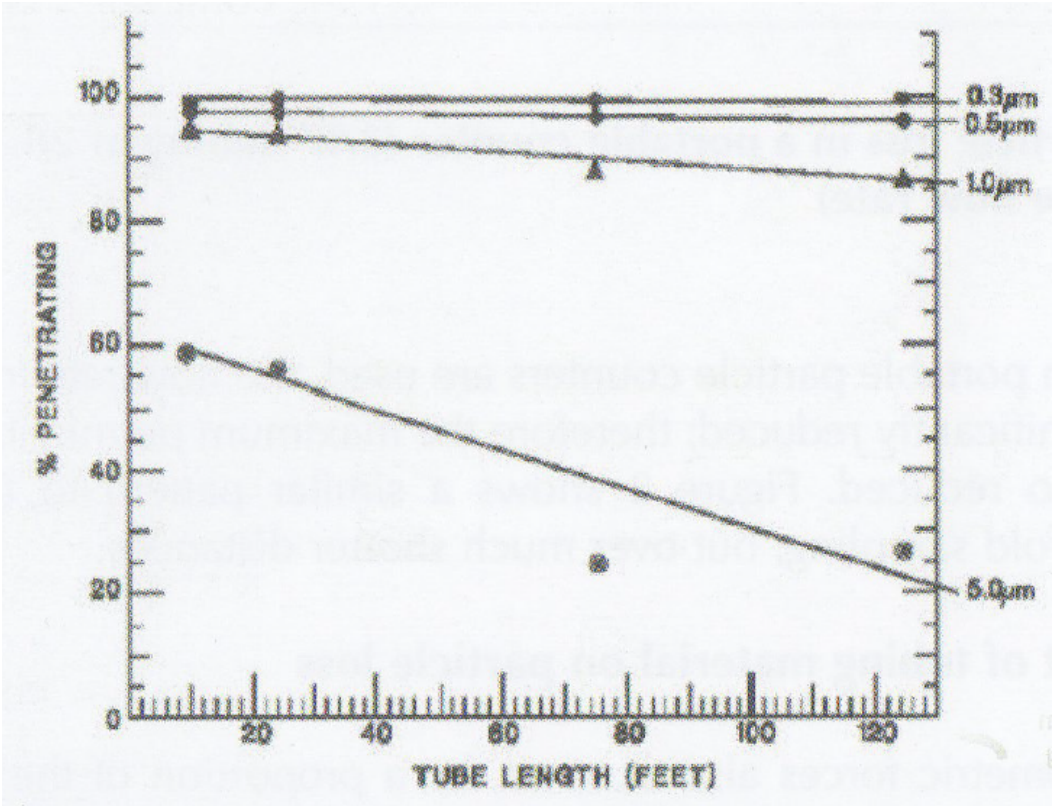
表 2：EU GMP 附录 1 中的洁净室分级

| GMP 洁净等级 | 大于或等于该粒径的粒子的每立方米最大粒子限值 | | | |
|----------|------------------------|--------|-----------|--------|
| | 静态 | | 动态 | |
| | 0.5 µm | 5.0 µm | 0.5 µm | 5.0 µm |
| A | 3 520 | 20 | 3 520 | 20 |
| B | 3 520 | 29 | 352 000 | 2 900 |
| C | 352 000 | 2 900 | 3 520 000 | 29 000 |
| D | 3 520 000 | 29 000 | 无 | 无 |

为什么我们需要更加关注粒径大于等于 5µm 的粒子呢？当采集一个样品时，样品从取样头通过取样管才能到达粒子计数器，从取样点到达测量点时，在传输管内会产生粒子损失的现象。损失量取决于该管的类型、管内空气流速、管径和管长。大粒子损失有两个因素导致：在管道底部的重力沉降以及拐弯时在管壁上的惯性沉积。

从图 1 我们可以看到在很短的距离内粒径大于等于 5µm 的粒子有明显的损失。

图 1:取样管中的粒子损失



(图片来源：Pharmaceutical and Healthcare Sciences Society – Technical Monograph No. 16)

二．选用了更为一致的统计方法来选择取样点位置和定义取样点数量 (NL)(见表 3)

表 3：取样点数值

| 洁净室面积 (m ²) ≤ | 测试取样点的最小值需测试的最少取样点数(N _L) -第二版 (2015) | 需测试的最少取样点数测试取样点的最小值(N _L) -第一版 (1999) |
|--|---|---|
| 2 | 1 | 2 |
| 4 | 2 | 2 |
| 6 | 3 | 3 |
| 8 | 4 | 3 |
| 10 | 5 | 4 |
| 24 | 6 | 5 |
| 28 | 7 | 6 |
| 32 | 8 | 6 |
| 36 | 9 | 6 |
| 52 | 10 | 8 |
| 56 | 11 | 8 |
| 64 | 12 | 8 |
| 68 | 13 | 9 |
| 72 | 14 | 9 |
| 76 | 15 | 9 |
| 104 | 16 | 11 |
| 108 | 17 | 11 |
| 116 | 18 | 11 |
| 148 | 19 | 13 |
| 156 | 20 | 13 |
| 192 | 21 | 14 |
| 232 | 22 | 16 |
| 276 | 23 | 17 |
| 352 | 24 | 19 |
| 436 | 25 | 21 |
| 636 | 26 | 26 |
| 1 000 | 27 | 32 |
| > 1 000 | $N_L = 27 \times \left(\frac{A}{1\,000} \right)$ | $N_L = \sqrt{A}$ |
| 标注 1：若洁净室面积在表中两个值之间，则选取较大值。 标注 2：在单向气流的情况下，该区域可以看作是垂直气流方向的截面；在其他的所有情况中，可能会被视为洁净室或洁净区的水平投影面积 | | |
| | NL 为向上圆整的最少取样点数 A 为洁净室面积 (m ²) | NL 为取样点的最小值 (四舍五入) A 为洁净室或洁净区面积 (m ²) |

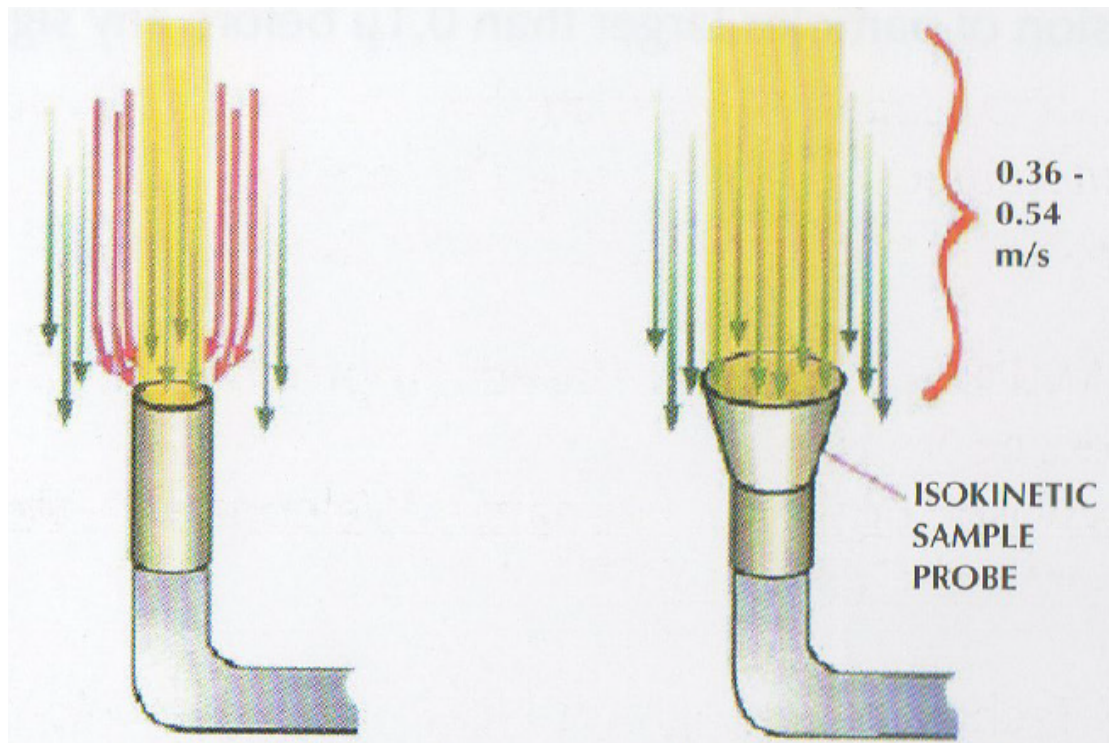
三. 评估已收集数据方面的改变

日后将不再需要计算所有取样点粒子浓度的 95%置信上限(UCL), 然而 ISO 14644 - 1:2015 要求在每个取样点的每次取样, 其粒子浓度(每立方米的粒子数)都需要进行评价。如果在同一取样点进行多次重复取样, 应计算粒子浓度的平均值, 并评价每个取样点的平均粒子浓度。

为了实施 ISO 14644 - 1:2015 更新的要求以满足 GMP 规范, 可能需要更新以下 GMP 文件:

- 洁净室用户需求规范(更新验收测试的要求)
- 用于在 A 级环境下测量粒径大于 5 μm 粒子的粒子计数器用户需求规范 (如: 取样流量 $\geq 28.3 \text{ L} / \text{min}$, 等速取样探头 (见下图), 采用最短的取样管长度(长度不超过 1 米, 详见 ISO 14644 - 1:2015 章节 C.4.1.2 和章节 F.2 中的详细要求)
- 洁净室分级测试规程(取样点的数量, 测量数据的评估以及大粒子的测试程序)

图 2: 非等速取样 (左) 和等速取样 (右)



(图片来源: Pharmaceutical and Healthcare Sciences Society – Technical Monograph No. 16)

为了实施 ISO 14644 - 1:2015 中洁净室分级测试的新要求并符合 GMP 规范, 这里就测试过程进行讨论。以下测试程序可以作为洁净室的验收测试、初始确认及持续的确认。

执行一次符合 GMP 和 ISO 14644 - 1:2015 要求的洁净室分级测试，可以遵循以下步骤：

- A. 准备测试
- B. 确定取样点的数量
- C. 进行取样点定位
- D. 确定单次取样量和在每个取样点的取样时间
- E. 记录和解释结果
- F. 准备测试报告

为测试做好充分的准备，应考虑以下几个方面：

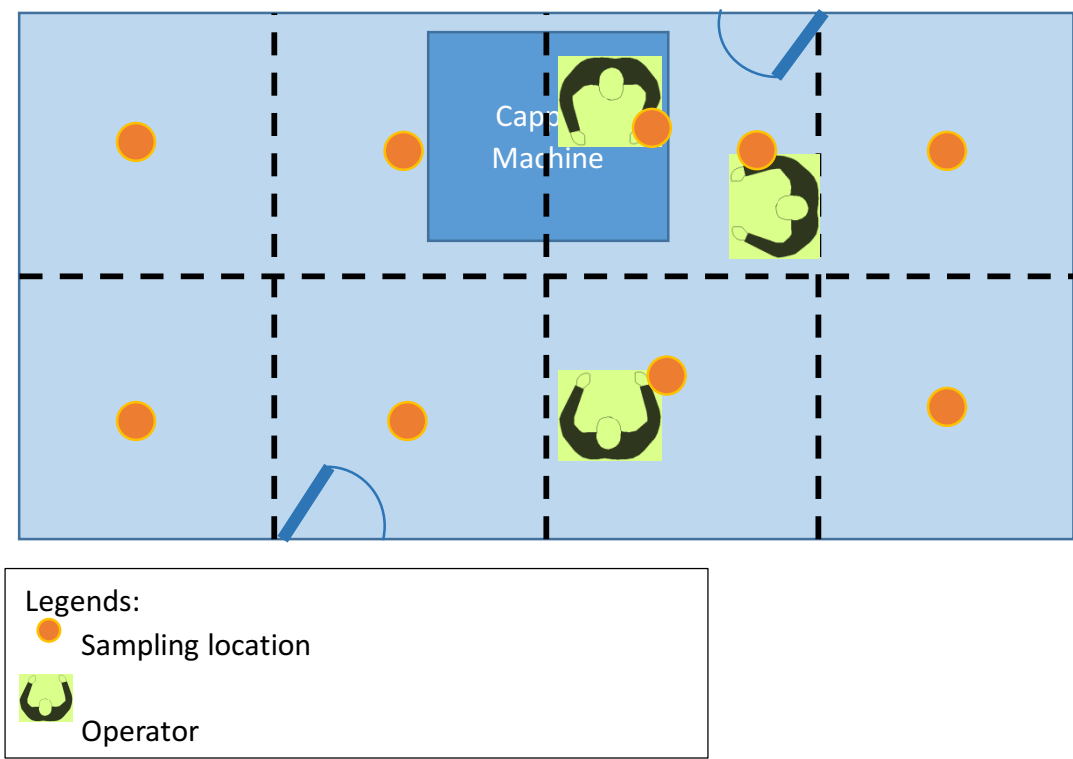
- 正确选择粒子计数器的类型(光散射悬浮粒子计数器通常用于空气洁净度分级测试)。粒子计数器应满足下列条件：
 - 能够显示、记录和打印测试数据
 - 能够检测对应粒径的粒子总浓度 (如：粒子粒径 $\geq 0.5\mu\text{m}$ 和 $5\mu\text{m}$)
 - 有足够的准确度(准确的粒子计数和取样量控制)
- 确保洁净室在适当的状态下运行，并且已成功完成以下测试：
 - 已安装过滤器的完整性测试
 - 风量或风速测试
 - 压差测试
 - 温度和湿度测试
 - 洁净室内设备的运行确认 (将空气吸入洁净室或将洁净室空气排出室外的设备应在正常状态下运行)

在开始测试前，需在确认方案中确认前提条件是否满足，并将测试仪器的校准证书作为附件附在方案后。

应使用表 3 来确定取样点数量，同时要注意该表中取样点的数量只是最小值。进行洁净室确认测试(静态和动态)时，取样点的总数应基于污染的风险。对认为是关键的区域，可增加额外的取样点。例如，对于一个 30 平方米的 B 级洁净室，根据表 3 至少需要 8 个取样点。从理论上讲，这个区域可以分为 8 个相同大小的部分(分区)，并将取样头布置在每个分区中央的工作面高度。如果这时一个分区内有 2 个工位(在进行人员干预)可能会造成产品污染(关键位置)，那么在这个分区内应考虑增加 1 个取样点，靠近关键位置取样。洁净室确认方案中应阐述并澄清增加取样点的原因以及合理性。

确认方案中须定义所选择的关键取样位置和取样点数。可使用带有取样点布置的洁净室布局图来帮助测试的执行。

图 3:采样地点和关键位置的选择



(图片来源：德恩)

每个取样点的取样体积(V_s)仍然和 ISO 14644 - 1:1999 中要求的一样，取样体积计算的公式也适用于大粒子(如：粒度 $\geq 5\mu\text{m}$)。下表列出了每一级的取样量以满足 GMP 要求：

| 等级 | 每个取样点的最小取样量 (L) | |
|----|-----------------|------|
| | 静态 | 动态 |
| A | 1000 | 1000 |
| B | 689.7 | 6.9 |
| C | 6.9 | 0.7 |
| D | 0.7 | 无 |

假设粒子计数器的正常流速是 28.3 升/分钟，则取样时间分别为:

| 等级 | 取样时间(分钟)，基于 28.3 升/分钟的样本流速 | |
|----|----------------------------|------|
| | 静态 | 动态 |
| A | 35.4 | 35.4 |
| B | 24.4 | 1 |
| C | 1 | 1 |
| D | 1 | 无 |

各公司可自行决定每个取样点需进行重复取样的次数。当在同一取样点进行两次或两次以上的重复取样，需计算和记录每个取样点处每个粒径粒子的平均粒子浓度。

如果每个取样点的粒子平均浓度(每立方米的粒子数)不超过限制，则一般认为洁净室或洁净区符合指定的空气洁净度分级要求。若出现超出限制的情况，应进行调查，并将调查结果和纠正措施记录在测试报告中。取样数据可用下表方式记录：

粒子大小:_____ (例如≥0.5μm)

| 取样点 | 第 1 次取样 (每 28.3L) | 第 2 次取样 (每 28.3L) | 第...次取样 (每 28.3L) | 该取样点粒 子平均值 (每 28.3L) | 该取样点粒 子平均值 (m³) | ISO 限度 | 通 过 / 未通过 |
|-----|----------------------|----------------------|----------------------|----------------------------|-----------------------|--------|--------------|
| | | | | | | | |
| | | | | | | | |
| | | | | | | | |

包含取样位置、取样量和粒子数信息的原始数据打印记录都需要收集起来附到确认方案里，同时应确保取样数量、取样位置到测试数据的可追溯性。实际取样点应在取样图纸上（例如：洁净室布局图）标记出来，如果实际取样位置有别于原计划，还应在方案中写明原因。

- 当完成了所有数据的收集，则需编写包含以下信息的测试报告:
- 已测试的洁净室或洁净区的具体地址
 - 所有取样点的描述（可借助图示表达）
 - 取样条件（静态或动态）
 - 针对每个粒径的粒子，每次取样及每个取样点的测试结果
 - 由测试结果得出的结论

关于德恩 - GMP 专家

德恩(广州)认证咨询有限公司 (gemex China, 简称德恩) 是德国 gempex 有限公司的全资子公司, 总部位于德国曼海姆, 是欧洲最大的 GMP 咨询公司之一。德恩的前身为 2005 年建立的 gemro-Services Ltd.。

十多年以来, 德恩为化学、制药、生物、食品、饲料等行业提供了大量专业的 GMP 符合性咨询服务。



扫一扫,
GMP 干货都在德恩公众号

GMP Knowledge

issued by gempex China

若想获得更多 GMP 方面的支持以及德恩的信息, 请联系:

唐小姐: k-tang@gempex.com, 或致电: 020-8736-0156