

生物药生产过程中风险管理及控制措施专题培训_问答整理

问题 1:

老师, 进入 C 级、D 级的工作服是否也需要做清洁确认(损坏和/或被纤维或微粒污染), 括最大洗衣和灭菌循环次数?

回复: GMP 法规没有明确规定。工作服清洁确认的主要目的是证明洁净区所用工作服的清洗和处理方式应当能够保证其不携带污染物, 应基于风险评估以及 CCS 控制策略来判断是否需要开展。

如 B+A 中的工作服是建议开展的, 因为其接触到产品的风险会更大; 对于一些硬件控制比较好的条件, 如产品暴露区在隔离器的环境, 与产品直接接触的工器具使用呼吸袋形式转移等, 产生的污染可控的条件下, 只是在日常整衣的时候做检查也是可以的。

如果 C 级是无菌药品配液的背景区域, 建议执行其工作服的清洁确认; D 级洁净服则一般不需要。

问题 2:

老师, 在洁净室终端过滤器更换之后(同厂家, 同型号, 同材质等都一样), 那么洁净室是否需要进行了再确认? 再确认至少包括哪些内容? 我看欧盟要求是需要做较多, 这个是否有必要做那么多?

回复: 需要进行再确认。法规原文是 **at least**, 至少需要包含所有的测试, 但是测试点数量和范围可以根据风险评估进行判断。"**Appropriate requalification consisting of at least the above tests should also be carried out following completion of remedial action implemented to rectify an out of compliance equipment or facility condition or after changes to equipment, facility or processes as appropriate.**"

比如 HEPA 更换后应当评估一下更换 HEPA 的数量以及其影响范围。比如洁净区各相关房间整体 HEPA 更换, 可以设置一个比例, 低于比例的在更换后进行工程测试测完整性, 高于比例的则完成再确认后才能投入使用等。测试点可能是受 HEPA 更换活动影响的区域。

问题 3:

老师, 如何理解:

Air velocity test (Note: For grade B, C and D the air velocity test should be performed according to a risk assessment documented as part of the CCS. However, it is required for filling zones supplied with unidirectional airflow (e.g. when filling terminally sterilised products or background to grade A and RABS). For grades with non-unidirectional airflow, a measurement of recovery testing should replace velocity testing)

比如最终灭菌罐装时或 A 级和 RABS 的背景区，那么问题来了，无菌工艺，RABS 的背景区是单向流？做风速确认？

回复：对于单向流的层流，包括 RABS，需要开展风速检测，以证明层流可以对产品进行保护。对于非单向流，主要是对其自净能力检测即可，测试风速的意义不大。如果是 B+A 环境中，企业往往在 B 级设计有拓展层流（一般是物料传递处）。对于拓展层流，也应该开展风速确认，结合烟雾测试于干预测试，确认环境的空气不会进入 A 级区域。

问题 4:

老师，A 级所用手套，每次使用前是否都要进行了机械及化学抗性研究？还是每买一批次，抽一副做？定期做？老师如何理解。

回复：法规要求应有相应的证明，所以应基于风险考虑（如基于对供应商的评估）确定是否要进行测试。建议从相供应商处获得证明。如果来自于一些行业里面比较大的品牌，且供应商资质齐全，一般情况下可以参考供应商测试结果。对于医药企业而言，更多需要在日常使用过程中生产前后或者合适的周期下开展完整性测试。

问题 5:

老师，伙伴有个疑问：为什么隔离器的手套要求每批前后进行完整性测试，而 RABS 的手套只需定期进行？对于 RABS 要求反而降低了？老师如何理解的

回复：RABS 的背景级别一般是 B 级，而隔离器允许在 C/D 级运行，从风险上看，隔离器手套完整性失效后，人员/洁净服/背景污染产品所造成的风险都比 RABS 严重。

问题 6:

老师，A 级区，确定级别的话，采样多少体积？1000L？29L？还是多少合适？还是更具 14644 那个公式进行计算？这个行业内有 3 种说法，老师如何理解的。

回复：对于粒子，中国现行 GMP 无菌附录明确提到为确认 A 级洁净区的级别，每个采样点的采样量不得少于 1 立方米。对于浮游菌的采样体积，药典里面提到的是依据《医药工业洁净室(区)浮游菌的测试方法》GB16293 进行，故行业内如按照最严格的方法进行定级，通常会选择 1000L。

问题 7:

老师，关于压差监测，A→B，B→C 要求连续监测，那么无菌产品的生产 C→D 是否有必要也要进行连续监测？听说有审查官因 C→D 没有采用连续监测落了缺陷，这个缺陷合理吗，老师如何理解。

另外，关于压差监测位点，我见到的很多企业都是放在门口旁边的，这样是合理的吗？因为理论上来说放在门口其实不是很合理，而欧盟也要求应进行风险评估以决定位置。老师见的企业更多一些，是否见过不放在门口的企业的。

回复：法规未明确要求 C/D 需要进行连续监测，但是应基于对风险的判断进行监测，这个部分需要在 CCS 中进行概述。如果房间/区域之间压差非常关键，比如病毒区与非病毒区之间，连续的压差监测是更为推荐的。

关于检测位点，通常大部分企业选择安装在门口。安装门口的考虑点一般是：方便人员进出观察压差；门打开的时候也是需要维持一定的正压，方便人员观察。当然也有不放在门口的，但这种一般是 EMS 监控，带有自动报警功能。

问题 8：

老师，无菌工艺进入洁区的顺序，是否一定要 D→C→B→A 的顺序，因为看欧盟是这么要求的，但是国内和同行交流，有较多企业直接 C→B→A，老师如何理解。

回复：如果可以，建议采用 D→C→B→A 的顺序，对于污染控制更为稳妥。欧盟附录 1 没有强制要求一定要按 D→C→B→A 的顺序，比如在 Annex 1 Section 4.12 (i) 中，D→C→B→A 的顺序更多是一种举例、推荐的描述。当然，在瑞士当局有解读文件推荐 D→C→B→A 的顺序传入物料，如果要跨区域（如 CNC→C→B→A），应该有可靠合理的工艺、措施以及硬件等支持污染控制，并在 CCS 中进行评估和定义。

问题 9：

老师，对于用于直接灭菌物料或产品接触表面的纯蒸汽，蒸汽冷凝水应符合相关药典的现行 WFI 各论，但蒸汽冷凝水的微生物为什么可以不检测？老师如何理解

回复：USP <1231> 有解释这个点 “Finally, because Pure Steam is lethal to microbes, monitoring of microbial control within a steam system is unnecessary, as is microbial analysis of the steam condensate” 纯蒸汽对于微生物是致命性的，一般不需要监测微生物指标。但内毒素一般不能被湿热灭菌破坏，内毒素还是需要监测的。

问题 10：

老师，关于无菌产品的轧盖的环境要求，中国 GMP 与欧盟差别很大，中国要求 C 级环境即可，但是欧盟要求要 A 级层流。老师如何理解。

回复：中国 GMP 原文（见下图）提到基于压紧的密封性等进行考虑，要求是 C/D 背景下的 A 级送风。关于欧盟的要求也是类似的，曾与欧盟 QP 沟通交流，QP 认为需要给轧盖提供 A 级送风，并不是完全等同于 A 级环境。因此有企业静态按照 A 级环境管理，动态基于风险评估制定监测策略，并在 CCS 中进行概述、评估。比如有企业在动态时，悬浮粒子按照 A 级管理，微生物介于 A 与 B 之间的管理模式。

洁净度级别	非最终灭菌产品的无菌生产操作示例
B 级背景下的 A 级	1. 处于未完全密封 ⁽¹⁾ 状态下产品的操作和转运，如产品灌装（或灌封）、分装、压塞、轧盖 ⁽²⁾ 等； 2. 灌装前无法除菌过滤的药液或产品的配制； 3. 直接接触药品的包装材料、器具灭菌后的装配以及处于未完全密封状态下的转运和存放； 4. 无菌原料药的粉碎、过筛、混合、分装。
B 级	1. 处于未完全密封 ⁽¹⁾ 状态下的产品置于完全密封容器内的转运； 2 直接接触药品的包装材料、器具灭菌后处于密闭容器内的转运和存放。
C 级	1. 灌装前可除菌过滤的药液或产品的配制； 2. 产品的过滤。
D 级	直接接触药品的包装材料、器具的最终清洗、装配或包装、灭菌。

注：

(1) 轧盖前产品视为处于未完全密封状态。

(2) 根据已压塞产品的密封性、轧盖设备的设计、铝盖的特性等因素，轧盖操作可选择在 C 级或 D 级背景下的 A 级送风环境中进行。A 级送风环境应当至少符

合 A 级区的静态要求。

问题 11：

老师，对于无菌器具存放时间验证来说，理想状态是取样进行无菌检查，但针对不可移动的储液罐等设备，无法存放在 A 级层流下，只能在 C 级或 B 级环境下取样，这个条件下取样应该执行背景环境的微生物限度要求吗？还是有其他更好的建议？

回复：这个问题描述得有点不清晰，我们理解这个问题可能是想了解无菌设备在 C/B 级下敞口取样的风险，可能导致假阳性，更严重的后果是设备本身无菌性有问题，但在调查时把错误地问题归结到环境上。以下是基于该理解进行回复。

首先建议可以采用无菌接管技术，且该无菌接管步骤是经过验证的，一般来说可以经过风险评估不需要做实时的背景环境监测；

其次看是否可以通过密闭管道输送，将取样动作放在 A 级的灌装区域中，在无菌环境下进行取样。

再者建议可以包含在无菌工艺模拟中进行确认。比如在灭菌有效期末端开展 APS，以及在前期调整装量时，将接触了管道内表面的料液一并培养观察，以确认整个无菌设备的无菌情况。

问题 12:

老师，临床的成品留样，如果涉及无菌的检项，无菌样品的留样也是 2 倍吗？GMP 正文里面，描述一般”般至少应当能够确保按照注册批准的质量标准完成两次全检（无菌检查和热原检查等除外），但是临床附录是里面写的是”留样数量一般至少应当能够确保按照相应质量标准完成两次全检，并至少保留一件最小包装的成品“，里面没有说”无菌及热原检项“除外（征求意见稿有，后来正式的时候删了把这个给删了），按照大法高于低法，后法优先于前法的原则，那么涉及无菌的检项的留样是否也要包含无菌检测的 2 倍呢？

回复：根据法规要求，EU 需要，FDA 不需要，中国商业化不需要但临床需要。

问题 13:

老师，你好，对于直接连接 CNC 区的换鞋/一更/物气锁此类洁净房间，房间内有非洁净鞋，消毒前的物品存放，不是标准的洁净区管理，假如微生物超标，原因也明确，但是没有很好的解决办法，这样的情况老师的建议是？

回复：需要确认微生物超标的区域，因为不是房间内所有的点都需要按照洁净要求进行监测，行业内常规的监测见下图。假如直接与 CNC 区相连的一更间，里面是 C 级，这个房间设置微生物监测，目的不是监测换鞋之前的区域是否有多少菌，而是靠近二更的区域，已经完成更鞋、洗手的区域含菌的情况，这个区域情况的标准可以基于风险制定。

GMP 空气净化系统

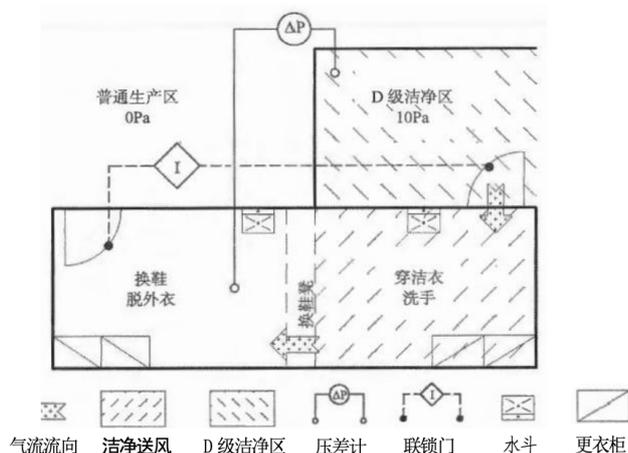


图3-91 国外普遍采用的净化更衣设置——普通区进入D 级洁净区

说明：国外普遍采用的进入洁净区的更衣设计（以进入D 级为例），只有一个更衣房间，中间由换鞋凳分成前后两部分，前段换鞋、脱外衣，洗手后通过换鞋凳进入后段，穿上洁净衣、鞋、帽之后，进入D 级生产区。换鞋凳后段送经过HEPA 过滤的洁净风，房间的气流由更衣后段流向前段。后段的静态级别相当于D 级。整个房间按气锁设计，两道门互锁。气锁两侧设置压差计监控相邻压差和气流方向。

如果是后端经过净化的区域产生微生物，则需要考量净化程序是否合理，是否需要额外的措施去保证微生物得到控制。建议至少对以下方面进行合理的设计和控制：

1) 更衣流程设计，不同的活动在合理的功能间

- 2) 级别过渡设计
- 3) 使用的消毒剂类型, 消毒频率

问题 14:

我们一个产品, 2 个产品共线, 那么假如现在产品不变, 清洁方法不变, 只共用其中几台设备 (以下提及的设备假设接触面积都一样), 比原来共用的设备少 (比如原来共用 10 台设备, 现在只共用 5 台), 理论来说, 清洁允许限度的标准变大了 2 倍。那么现在, 进行清洁取样, 我们的清洁取样的结果变大了 (单位表面积超过原来的限度, 但没有超过现在的限度), 老师这个有问题吗, 能否放行使用呢?

如果可以, 说明原来的清洗工艺有问题。如果不可以的话, 按照这个逻辑也有争议, 比如原来共线 100 台设备, 限度标准是 100ppm, 现在共线 1 台设备, 限度标准是 10000ppm, 那么清洁后取样, 现在检测结果为 200ppm, 现在结果是否可行呢?

按照这个逻辑推理, 假如原来共线 200 台设备, 300 台设备, 400 台设备, 500 台设备呢.....按照这个逻辑, 清洁限度是无限缩小的?

老师如何理解这个问题。

回复: 首先, 对于清洁工艺未变更但清洁效果下降的情况, 需要调查回顾是否影响到 10 台设备时的生产, 需要识别清洁效果下降的原因以及在什么时候开始的。若在使用 10 台设备时, 实际的残留已经是超标了, 那么对于之前产品的交叉污染风险是可能存在的。

当批量和毒理学数据不变的前提, 允许残留至下一批的最大残留量是固定不变的, 不受共线面积影响。清洁验证一般都有个前提假设, 就是残留物会分布到所有的共线面积中, 因此共线面积需要平摊了允许残留量, 共线面积越大, 清洁限度越小, 也就越严格。对于清洁限度“无限缩小”的假想, 当设备数量增加, 一般产品批量通常也是相应变大的, 也就是残留携带量也会上来。同时, 对于大量共线设备的情况, 也需要看实际共线的数量是多少。比如, 可能字面上有 100 台设备都用于生产两个产品, 但可能在生产过程中只会用到 50 台, 剩下 50 台是个备用状态。

问题 15:

请问淋洗取样是否需要做回收率研究?

回复: 需要的, 淋洗取样和擦拭取样均需要开展回收率研究, 一些微溶于水的产品, 淋洗取样会比擦拭取样回收率低。淋洗法回收率研究同擦拭回收率研究相似, 将目标残留物溶液涂布在材质试样上后干燥。对于淋洗取样, 可采用在实验室中模拟淋洗程序进行回收率研究, 模拟冲洗的条件, 如淋洗溶剂、淋洗溶剂温度、淋洗剂量、淋洗方式、淋洗时间的选择等, 尽可能同实际的设备冲洗条件相同或者基于评估的最差淋洗条件。

问题 16:

老师，我们做在清洁验证/确认的时候，是否需要考虑上各产品中的基因毒杂质的残留吗？CFDI 指南中说也要考虑上个产品基因毒杂质的残留，这个是否有必要呢？

因为如果有基因毒，它本身已经在上个产品中是合格的，那么它残留到设备上，到下一个产品中，肯定更小啊。还是说有一种可能，同一个基因毒杂质在不同的产品中的允许残留限度有可能不一样？

据我了解，类似这样的问题，在欧美是不允许共线的，老师如何理解的呢。

回复：可以参考一下 ICH Q7 12.70 Cleaning procedures should normally be validated. In general, cleaning validation should be directed to situations or process steps where **contamination or carryover** of materials poses the **greatest risk to API quality**. For example, in early production it may be unnecessary to validate equipment cleaning procedures where residues are removed by subsequent purification steps.

一般而言，活性残留的评估中应该考虑上一产品主成分、代谢产物，以及相关主要杂质的残留，尤其是涉及杂质毒性较高的情况下。

问题 17:

清洁验证的合格标准一般如何确定呢？比如发酵液存储的不锈钢罐体，一般末道采用 WFI 淋洗，那么 TOC、电导、pH 的合格标准是不是应该用药典中 WFI 合格标准呢？因为作为不锈钢罐体，洗干净的话末道淋洗水应该能达到 WFI 的水质哈

回复：限度的计算在课程中有详细讲解，这里不再赘述。

非专属性检验方法的限度制定也是需要经过风险评估的。

对于 TOC 指标，一般可以根据计算出的残留限度，结合所测物质的含碳量转化到 TOC 值。如果使用 WFI 值，需要把计算的限度与 WFI 的标准进行对比，若 WFI 的标准更严格，可以采用 WFI 的标准。

对于电导和 pH，这两者更多时候是为了检测清洁剂（比如酸、碱）是否去除干净，其使用的前提是经过风险评估论述清洁剂较为安全且可被有效去除等。

问题 18:

师，临床阶段，做清洁确认，第一次清洁不合格，又继续再清洁，直到清洁合格。第一次清洁时，不合格没有进行调查，被欧盟检查官开缺陷了，这合理吗？

老师的理解呢？还在临床阶段啊，还在清洁方法开发阶段啊，为什么要开偏差呢，这不是太合理吧。

回复：因为不了解问题中所提及缺陷的背景，这里的回复可能不准确但可以作为参考。

- 是否对所有生产过程使用的设备开展了清洁确认？如果存在多个相同的设备，且只有部份设备做了清洁确认，在个别设备出现残留量不合格后，其他未开展清洁确认的设备能否真的被清洗干净是未知的，存在一定的风险。

- 在清洁工艺开发阶段，也包含需要收集清洁过程发生异常然后处理的过程，是符合计划>执行>检查>处理的这个 PDCA 持续改善过程的，所以检查出了异常需要处理，这样可以最终建立有效可靠的清洁工艺。
- 假如真实原因是取样方法（或其他非清洁工艺本身）的不当导致不合格（假阳性），如果不经过调查，可能怎么清洗后都发现结果不合格，这样也是不合适的。

问题 19:

老师，我们注射液生产在配料罐之后用了三级 0.22 的滤芯，一级滤芯之后有一个暂存罐，二级滤芯为冗余过滤，三级为主过滤器，这样的过滤系统需要在配料罐之后进行生物负载检测吗？还是只在无菌过滤之前检测生物负载就可以呢？如果需要在配料之后检测生物负载，限度设置为 1000cfu/100ml？老师的建议是？

回复：降低生物负荷是要尽可能实现的要求，除菌过滤前 10cfu/100ml 是典型的要求，如果采用更多级的除菌滤芯，可以对前一端微生物载荷设定限值（应当基于风险建立，比如设定 1000cfu/100ml 这种比较异常的值，就应当充分说明依据，论证应当充分考虑配液用原辅料、配制工艺和环境）。

作为参考，可以看一下 USP<1119>草稿和 PDA TR69，都有提到纯化阶段的微生物负荷可以是 100CFU/10ml(近似 1000CFU/100ml)。但问题中是配料后已经是很后的工序的，在 USP<1119>草稿可能推荐是 ≤ 1 CFU/10 mL，PDA 则推荐是 $\leq 1\sim 10$ CFU/10 mL，问题中的限度可能是较高的。

问题 20:

老师，您好，刚才讲到在除菌过滤前需要进行微生物限度的监控，在培养基模拟灌装的时候，这一步有必要对除菌过滤前的培养基进行微生物限度的检测吗？

回复：不需要，因为 APS 考察应该是无菌生产过程所涉及到的工艺、设备、人员以及操作时限，对除菌过滤前的微生物限度检测必要性不是很大。如果用无菌配制的方式倒是可以设置为无菌。事实上不少公司还要特别撇开除菌过滤这一块的模式而采用灭菌后的培养基，APS 主要是要考虑无菌工艺的有效性和重现性，如果把除菌过滤环节的风险考虑进去失败风险会增加不少。

问题 21:

- 1) 生物药原液阶段残留限度计算时，需要采用毒理数据、10ppm、1/1000 最低日剂量三种方式都计算吗？

回复：如果是已有经验算法，后续才加上毒理数据算法的，国内一般推荐都保留，取最严格的。建议要审视一下毒理数据计算是否有资质的毒理学专家背书，是否经得起推敲、挑战。

- 2) 另外根据 EMA 及 PIC/S 等指南，蛋白类多肽类采用碱液清洗时候 API 会降解，不适合用毒理数据计算，同理的，API 都降解了，那 10ppm 和 1/1000 日剂量的方法也不再适用了，因为这两种也是基于 API，老师是什么看法？

回复：会看到企业有更保险的做法是用经验方法都算一下，对于蛋白质，往往算出来的结果是比默认值更加宽松的，这样再使用默认值会更加保险。因为默认值目前的来源只有行业指南，不同的检察员可能有不同的看法和挑战。

- 3) 原液阶段计算的时候是采用整个设备链面积计算，还是采用最后一步纯化后的设备共用表面积计算？

回复：一般是需要考虑整个设备链，因为法规要求需要考虑设备链的累积效应。不过 ICH Q7 有提到，如果有数据证明后续的工艺能有效去除前面的杂质或者残留，前面的清洁工艺可以不纳入清洁验证。但这个结论可能受挑战的概率更大，需要有充分的研究试验说明。

- 4) 清洁验证的时候是否需要考虑原辅料的毒性与残留？

回复：需要，一般在前期选择目标残留物的时候需要评估。