

国家食品药品监督管理局
药品包装材料生产厂房洁净室（区）
测试标准
(试行)

YBB00412004

药品包装材料生产厂房洁净室（区）的测试方法
Yaopin Baozhuangcailiao Shengchanchangfang Jiejingshi(qu)
de Ceshifangfa
Test methods for clean room to produce pharmaceutical
packaging materials

本标准适用于药品包装材料生产厂房洁净室（区）的测试。

【定义】(1) 洁净室 *Clean room* 对空气悬浮粒子及微生物浓度受控的房间或区域。

它的建筑结构、装备和使用应具有减少室内诱入、产生及滞留污染源的功能。室内其他有关参数如温度、湿度、压力等按要求进行控制。

(2) 单向流 *unidirectional airflow* 沿单一方向呈平行流线并且横断面上风速一致的气流。与水平面垂直的叫垂直单向流 (*vertical unidirectional airflow*)，与水平面平行的叫水平单向流 (*horizontal unidirectional airflow*)。

(3) 非单向流 *non-unidirectional airflow* 具有多个通路循环特性或气流方向不平行的气流。

(4) 悬浮粒子 *Airborne particle* 用于空气洁净度分级的空气悬浮粒子尺寸范围在 $0.1 \sim 5 \mu\text{m}$ 的固体和液体粒子。

(5) 洁净度 *cleanliness* 以单位体积空气中某一粒径粒子的数量来区分的洁净程度。

(6) 粒径 *particle size* 由给定的粒子尺寸测定仪相当量于被测粒子等效的球体直径。对离散粒子计数，光散射仪器采用当量光学直径。

(7) *t* 分布 *t distribution* 正态总体中的一种抽样分布，其分布函数为：

$$t = \frac{\text{总体平均值} - \text{样本平均值}}{\text{标准误差}}$$

(8) 置信上限 UCL *upper confidence limit* 从正态分布抽样得到的实际均值按给定的置信度(本标准为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。

(9) 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,缩写为CFU,通常用个数表示。

(10) 浮游菌 *airborne microbe* 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计数。

(11) 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 。

(12) 沉降菌 *settling microbe* 通过自然沉降原理收集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计数。

(13) 洁净工作区 *clean working area* 指洁净室(区)内离地面高度0.8~1.5m(除工艺特殊要求外)的区域。

(14) 洁净工作台 *clean bench* 能够保持操作空间所需洁净度的工作台,或与之类似的一个封闭围挡工作区。

(15) 洁净工作服 *clean working garment* 为把工作人员产生的粒子限制在最小程度所使用的发尘量少的洁净服装。

(16) 空态 *as-built* 设施已经建成,所有动力接通并运行,但无生产设备,材料及人员。

(17) 静态 *as-rest* 设施已经建成,生产设备已经安装,空调净化系统已运行,但无生产人员。

(18) 动态 *operational* 设施以规定的状态运行,有规定的人员在场,并在规定的状况下进行工作。

(19) 检漏试验 *leakage test* 检查空气过滤器及其与安装框架连接部位等的密封性试验。

(20) 高效空气过滤器 *HEPA (high efficiency particulate air filter)* 在额定的风量下,对粒径大于等于 $0.3\mu\text{m}$ 粒子的捕集效率在99.9%以上以及气流阻力在250Pa以下的空气过滤器。

(21) 自净时间 *cleanliness recovery characteristic* 洁净室被污染后,净化空调系统开始运行至恢复到稳定的规定室内洁净度等级的时间。

(22) 验证 *Validation* 证明任何程序、生产过程、设备、物料、活动或系统确实能达到预期结果的有文件证明的一系列活动。

(23) 再验证 *Revalidation* 为了重新确定工艺的可靠性而重复进行的一部分或全部的验证试验。

(24) 启动线 *Action Levels* 对于受控的洁净室(区),由使用者自行设定微生物含量等级。当测试结果超过该等级时,应启动监测程序对该区域的微生物污染情况立即进行跟踪。

(25) 报警线 *Alert Levels* 对于受控的洁净室(区),由使用者自行设定一个微生物含量等级,从而给定了一个与正常状态相比最早报警的偏差值。当超过该最早报警的偏差值时,应启动保证工艺或环境不受影响的程序及相关措施。

【人员的职责及培训】 所有的工作人员,包括与测试、维护有关的人员,应该定期接受与洁净室(区)生产有关的培训,其中包含涉及到的卫生知识和基本微生物知识。如果没有接受过这种训练的外来人员(包括建筑或维护的人员)必须进入洁净室(区),那么必须对他们进行指导和监督。

参与动物组织或微生物试验的人员一般情况下不宜进入洁净室(区),除非有相应的严密措施和明确的规程指导。对进入洁净室(区)的人员应有相应的卫生标准,所有工作人员应随时报告非正常的污染(身体灰尘或疾病),并进行每年一次的体检。

洁净室(区)的测试人员应进行本专业的培训并获得相应资格后才能履行对洁净室(区)测试的职责。

【仪器设备】 (1) 在适当的情况下,对洁净室(区)的测试仪器的需求和功能进行评估,减少潜在的测试隐患;在测试仪器的采购过程中宜增加技术人员的参与度;并对所有采购、运输、安装、使用和维护等人员进行全员的培训,其中对测试人员的培训应增加有针对性的项目;

(2) 测试仪器必须满足有效操作及使用精度要求、满足测试的重现性、满足性能与环境条件的关系,满足校验的要求和便于维护保养;

(3) 若必需,则对测试仪器安装预警系统,有安全防护措施和明确的标识。

(4) 在用的测试仪器必须校验合格,且在使用有效期内。

【人员和物品的出入限制】 (1) 在洁净室(区)内,所需工作人员在不影响生产的条件下应考虑最小数量,以避免人员的活动对环境的影响;

(2) 不得在洁净室(区)内佩戴腕表和饰物、不得化妆;

(3) 洁净工作服的选材、式样及穿戴方式应与生产操作的空气洁净度等级要求相适应,为了保护产品不受污染,不得混用。推荐以下穿着方式:

100级~10000级:头套应该把头发、鬓角完全遮盖,而且塞进衣服内;应戴口罩来防止脱发或落尘,手套和鞋套必须是不发尘并经过消毒的;裤脚管要塞进鞋套内,外衣的袖子要塞进手套里;洁净服必须是不脱落纤维和碎屑而且可以吸附从人身上掉落的碎屑;

100000级:头发、胡须应该遮盖(相关部位),应该穿一套或两套不脱落纤维和碎屑的洁净工作服,覆盖到手腕和颈部,必须有合适的鞋子或鞋套,它们也必须是不脱落纤维和颗粒物;必须有恰当地措施来避免从洁净室(区)以外的区域带来的污染;

300000级:头发、胡须应该遮盖(相关部位),应该穿一般的不脱落纤维和碎屑的洁净工作服,有合适的鞋子或鞋套,必须有恰当地措施来避免从洁净室(区)以外的区域带来的污染;

(4) 更衣应遵守规定,外面的衣服不能带进100000级以上的区域;

(5) 洗衣应根据衣服材质选择合适的洗涤干燥程序,不正确的洗涤会损害衣服纤维,可能增加落尘的危险;洗衣设施的隔离也是必要的,以防止集聚和传播污染;

(6) 物品进出洁净区域应设置缓冲设施,宜采用气闸或连锁装置。

【测试指导原则】 (1) 在进行测试之前,应先确定待测区域、测试状态、仪器设备、测试规程、采样点位置、评价标准以及相关注意事项;

(2) 建立环境监测程序,这样才能证实设备以及产品的接触环境是洁净和卫生的,并可以确定潜在的污染物是否能被控制到适当水平,确保消毒剂保持对正常微生物群的效力;书面的监测程序应有科学的取样时间表,包括采样点位置及频次,此外,最高微生物限度和发现样品超过这一限度时采取行动的明确过程均应确定;

(3) 所有仪器设备在未进入被测区域时,应保证其符合性、有效性和已完成清洁,或在相应的洁净室内准备和存放(用保护罩或其它适当地外罩保护仪器);测试人员在测试时必须穿戴符合被测环境级别的洁净工作服;

(4) 在操作或搬动灵敏度高的仪器或零件时,应带手套、使用镊子或其他机械隔离设备防止皮肤接触金属零件,以避免肤屑、微生物或人体皮肤上的油污染这些零件,避免用手接触能

溶解的物质，因很多能溶解的物质会除掉人体皮肤上的油脂而引起脱皮或掉肤质过多；

(5) 在 100 级洁净室内用纸时，上面应蒙上一张透明不沾尘的覆盖物，在 100 级洁净室内不能用铅笔和橡皮。

【测试方法】 (1) 温度与相对湿度的测试

1.1 测试之前空气净化系统应至少已连续运行 24 小时，且系统处于稳定和正常运行的状态。测试人员在采样时也应注意站在测试仪器的下风侧，并应尽量少活动；

1.2 若局部为恒温恒湿区域，则必须在测试记录中注明，并按规定布置采样点和计算偏差。采样点布置如下：若非恒温恒湿洁净室（区），则采样点为离地 0.8m、距墙 0.5m 的室内中心位置；若为恒温恒湿度洁净室（区），则应符合以下规定：

- a: 每次测试间隔不大于 30 分钟，并不少于 48 小时
- b: 室内采样点布置应包括送回风口处、恒温工作区具有代表性的地点（例如沿着工艺设备周围布置或等距离布置）；
- c: 采样点一般应布置在距外墙表面大于 0.5m，离地面 0.8m 的同一高度上；也可以根据恒温区的大小，分别布置在离地不同高度的几个平面上；
- d: 采样点数应符合表 1 规定：

表 1 温度与相对湿度采样点数

波动范围	室面积≤50m ²	每增加 20~50 m ²
$\Delta t=\pm 0.5\sim\pm 2^{\circ}\text{C}$	5 个	增加 3~5 个
$\Delta RH=\pm 5\%\sim\pm 10\%$		
$\Delta t\leq\pm 0.5^{\circ}\text{C}$	采样点间距不应大于 2m，采样点数不应少于 3 个	
$\Delta RH\leq\pm 5\%$		

1.3 采用直接读数法，从而评定该洁净室（区）的温度与相对湿度。若使用电子元件支持的数字式温度与相对湿度计，则仪器开机预热至稳定后，方可按仪器说明书的规定对仪器进行校正；并选定相应的测试量程范围；宜将温度和相对湿度计的测试探头尽量与采样点保持水平面一致，在确认读数稳定后方可开始测试。

1.4 应同时测试室外的温度和相对湿度值。

1.5 对于无恒温恒湿要求的洁净室(区),温度与相对湿度的采样数据与标准对比后得出合格与否的结论。对于有恒温恒湿要求的洁净室(区),判断温度与相对湿度是否符合标准应同时满足:室温波动范围按各采样点的各次温度测试数据中偏差控制点温度的最大值,占采样点总数的百分比整理成累积统计曲线,若90%以上的采样点的偏差值在室温波动范围内,则为符合规定,反之则不合格。相对湿度的波动范围可按室温波动范围的规定执行。

1.6 若同时测试两个项目以上时,温度和相对湿度的测试宜在最先进行,有利于综合评估温度与相对湿度对其他项目的影响;太低的相对湿度会导致静电问题,使灰尘吸附在金属表面,而相对湿度过高时,微生物污染的风险显著增大;对于洁净室(区)的加湿处理,应使用高质量的水以避免污染。

(2) 换气次数的测试

2.1 对于非单向流洁净室(区),对每个送风口测试送风量来换算出换气次数。换气次数的计算公式如下:

$$\text{换气次数(次/h)} = \frac{\text{洁净室(区)送风量(m}^3\text{/h)}}{\text{洁净室(区)体积(m}^3\text{)}}$$

2.2 采用空气平衡热辐射测量仪,直接读出每个送风口的送风量值($\text{m}^3\text{/小时}$),洁净室(区)内所有送风口的送风量之和即为洁净室(区)送风量;

2.3 对于非单向流洁净室(区),也可采用风口法或风管法确定送风量,做法如下:

a: 风口法是在安装有高效过滤器的送风口处,根据送风口形状连接辅助风管进行测量。即用镀锌钢板或其他不产尘材料做成与风口形状及内截面相同,长度等于2倍风口长边长的直管段,连接于风口外部,在辅助风管的出口平面上,按最小采样点数不小于6点均匀布置采样点,用风速仪测定各采样点风速。采样点范围为送风口边界内0.05m以内的面积,以所有采样点风速读数的算术平均值作为平均风速;然后,以求取的送风口截面平均风速乘以送风口净截面积求取风量。

b: 对于风口上风侧有较长的矩形支管段,且已经或可以钻孔时,可以用风管法确定风量。测量断面应位于大于或等于局部阻力部件前3倍管径或管径长边长的部位,也可以是局部阻力部件后5倍管径或管径长边长的部位;对于圆形风管,应根据管径大小将截面划分成若干个面

积相同的同心圆环，每个圆环设 4 个采样点，圆环数量不宜少于 3 个；以所有采样点风速读数的算术平均值作为平均风速；对于矩形风管，可将风管截面划分成若干个小截面，每个小截面尽可能接近正方形，边长最好不大于 200mm，以每个正方形的中心点作为采样点测试风速值，但整个截面上的采样点数不少于 3 个，以所有采样点风速读数的算术平均值作为平均风速；然后，以送风口截面平均风速乘以送风口净截面积求取送风量。

c: 截面平均风速换算成送风量的公式如下：

截面平均风速 $\bar{v}$ ：

$$\bar{v} = \frac{\sum_{i=1}^n v_i}{n}$$

式中： $\bar{v}$ ——截面平均风速，m/s；

v_i ——某一采样点的风速 ($i=1, 2, \dots, n$)，m/s；

n ——采样次数，次。

某一送风口的送风量 S ：

$$S = \bar{v} \times 3600 \times \text{风口截面积}$$

2.4 测试数据经过计算整理后，可以与标准值比较后得出结论。

(3) 截面平均风速的测试

采用风速计直接测试。

3.1 对于垂直单向流洁净室，测试时取离高效过滤器 0.3m 垂直于气流处的截面作为采样截面，测试时采样点应取在距送风面 0.5m 的垂直截面上，截面上的采样点间距不宜大于 0.6m，均匀布点；采样点数应不少于 5 个；

3.2 测试风速时，宜用测定架固定风速仪，以避免人体干扰；若不得不用手持风速仪测试时，手臂应伸至最长位置，尽量使人体远离采样点；在具体操作时要注意的是，测试截面风速时测试仪器的测试元件前后不能有遮挡物，否则就会导致数据失准或者干脆测不出风速。

3.3 以所有测点的风速读数的算术平均值作为截面平均风速，并以截面平均风速的数值与标准对比得出合格与否得结论。截面平均风速 $\bar{v}$ 按本标准“测试方法”项下第二项“换气次数的测试”中的“截面平均风速 $\bar{v}$ ”进行；

3.4 截面风速不均匀度 B_v 应按下式计算：

$$\beta_v = \frac{\sqrt{\frac{\sum (v_i - \bar{v})^2}{n-1}}}{\bar{v}}$$

式中: β_v ——截面风速不均匀度;

V_i ——某一采样点的风速 ($i=1, 2, \dots, n$), m/s;

n ——采样次数, 次。

$\bar{v}$ ——截面平均风速: m/s;

截面风速不均匀度 β_v 不大于 0.25。

(4) 压差的测试

本标准定义的压差值为被测洁净室(区)与相邻区域或相邻室外大气的气体压力。

4.1 若使用指针型微压差计, 则采用直接读数法, 并根据测试的压差值评定该洁净室(区)与相邻区域的气体压力; 若使用其他微压差计, 则必须先进行水平调试, 确认符合测试条件后方可进行; 若使用电子元件支持的数字式微压差计, 则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; 并选定相应的测试量程范围;

4.2 若可能, 宜将微压差计的连接管尽量与采样点水平面一致, 采样点位置离地 $0.8 \pm 0.05\text{m}$ 高度的水平面上, 选择在无涡流无回风口的位置, 在确认读数稳定后可开始测试。

4.3 压差的测试应在所有的门都关闭的条件下, 由洁净级别高的房间向洁净级别低的房间、由平面布置上与外界最远的里间房间开始, 依次向外测试; 有孔洞相通的不同等级相邻的洁净室(区), 其洞口处宜有合理的气流流向。气流流向的测试可以采用发烟或悬挂轻质丝线的方法, 进行观察测试, 或以影像记录, 然后标注在采样点位置图上;

4.4 压差值的采样数据与标准比较得出合格与否的结论; 测试压差的同时应结合被测洁净室(区)的换气次数或截面风速的测试, 有利于对洁净室(区)进行综合评价, 100级(ISO Class 5)以上洁净级别的洁净室(区)在开门时, 若必需, 则要监控门内 0.6m 处的悬浮粒子的浓度。

(5) 悬浮粒子的测试

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, 来评定该洁净室(区)的洁净度等级。

5.1 光散射粒子计数器或激光尘埃粒子计数器都可采用。它们具有分辨各种粒径的粒子的反应能力。光散射粒子计数器的采样原理是通过空气中的悬浮粒子在光的照射下产生光散射现象, 散射光的强度与悬浮粒子的表面积成正比; 激光尘埃粒子计数器的采样原理是空气中的各种悬浮粒子在通过激光束的照射后被测量出微粒的体积, 然后换算为各种等效粒径以及计数。

宜采用采样速率大于 2.83 升/分的仪器进行测试, 仪器选用时应考虑粒径鉴别能力、悬浮粒子的浓度适用范围和计数效率;

5.2 任何洁净室(区)的采样点不得少于 2 个; 除受洁净室(区)内的设备限制之外, 采样点应在整个洁净室(区)内均匀布置; 每个选定的采样点至少采样一次; 在一个区域内至少采样 5 次, 不同采样点的采样次数可以不同; 工作区的采样点位置宜在离地 0.8m 高度的水平面上, 采样点多于 5 点时, 也可以在离地面 0.8~1.5m 高度的区域内分层布置, 但每层不少于 5 点;

5.3 采样管必须干净, 连接处不得有渗漏, 采样管的长度应根据允许长度确定, 如果无规定时, 不宜大于 1.5m。对于单向流洁净室(区), 粒子计数器的采样管口朝向应正对气流方向, 对于非单向流洁净室(区), 采样器的采样管口向上; 采样时应适当避开尘粒较集中的回风口; 测试人员在采样时也应应在粒子计数器采样管口的下风侧, 并尽量少活动;

5.4 采样管口置于采样点采样时, 宜在粒子计数器确认计数稳定后方可开始连续读数; 粒子计数器的采样管口与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; 采样完毕后, 宜对采样仪器进行自净;

5.5 应采取一切措施防止采样过程的污染。对 100 级洁净室(区), 测试应在净化空调系统正常运行不少于 10 分钟后开始; 对 10000 级以上的非单向流洁净室(区), 测试应在净化空调系统正常运行不少于 30 分钟后开始;

5.6 最少采样点数目可以按照 ISO 14644.1 Cleanrooms and associated controlled environments—Part 1: Classification of air cleanliness 中附录 B 的方法进行, 即:

$$N_L = \sqrt{A}$$

式中: N_L ——最少采样点, 向上取整

A ——洁净室(区)的面积, 以 m^2 为单位

注: 在水平单向流情况下, 面积 A 为垂直于气流方向的横截面积。

也可按表 2 确定:

表 2 悬浮粒子最少采样点数目

面积 m^2	洁净度级别				
	100	1000	10000	100000	300000
<10	2~3	2	2	2	2
≥ 10 或 <20	4	4	2	2	2
≥ 20 或 <40	8	8	2	2	2
≥ 40 或 <100	16	16	4	2	2
≥ 100 或 <200	40	40	10	3	3
≥ 200 或 <400	80	80	20	6	6
≥ 400 或 <1000	160	160	40	13	13
≥ 1000 或 <2000	400	400	100	32	32
≥ 2000	800	800	200	63	63

注：1) 对于 100 级的单向流洁净室（区），包括 100 级超净台，面积指的是送风口表面积；对于 1000 级以上的非单向流洁净室（区），面积指的是房间面积；
2) 对 1000 级的洁净室（区）的采样点作为参考数据。

悬浮粒子最小采样量可按表 3 确定：

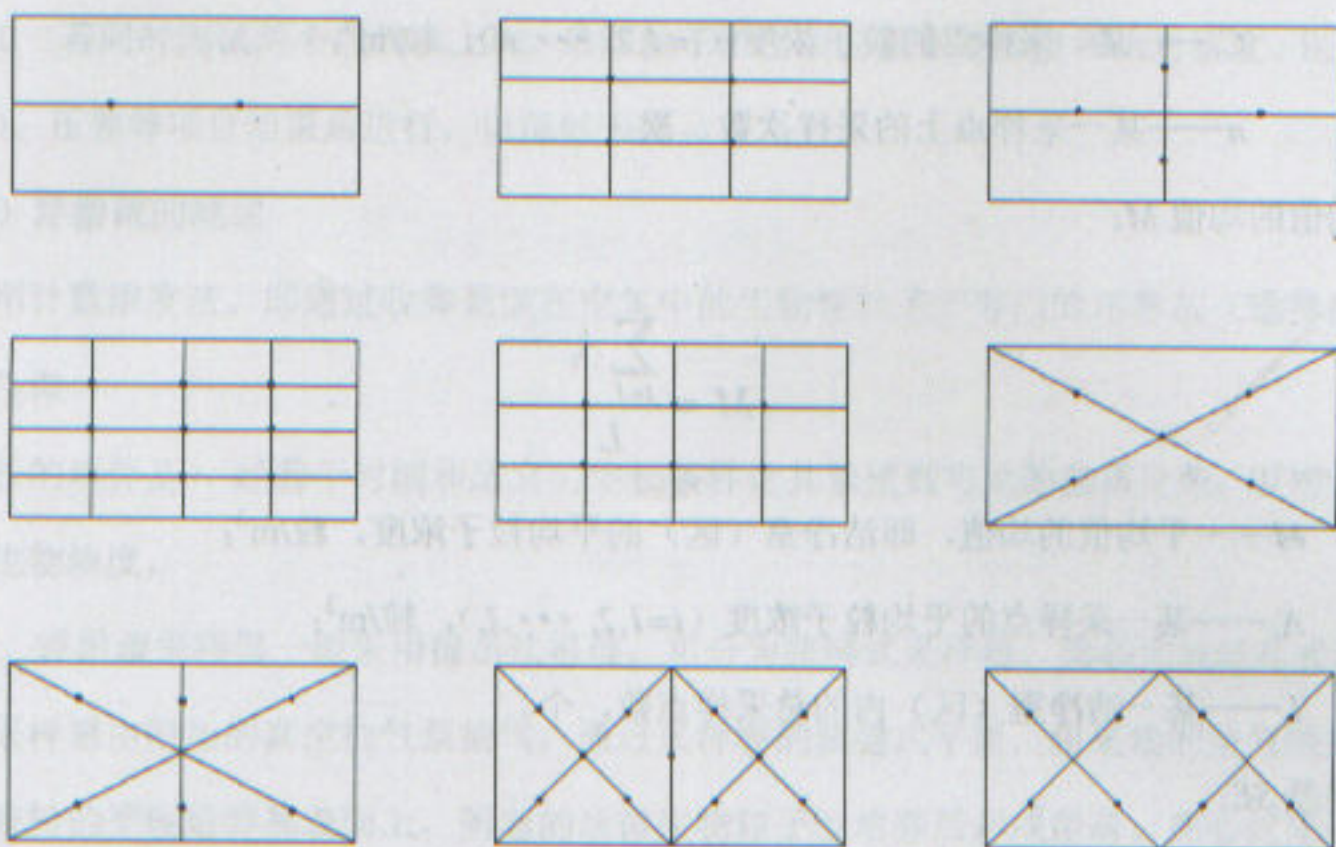
表 3 悬浮粒子最小采样量

最小采样量 升/分	洁净度级别				
	100	1000	10000	100000	300000
$\geq 0.5 \mu m$	5.66	5.66	2.83	2.83	2.83
$\geq 5 \mu m$	—	—	8.5	8.5	5.66

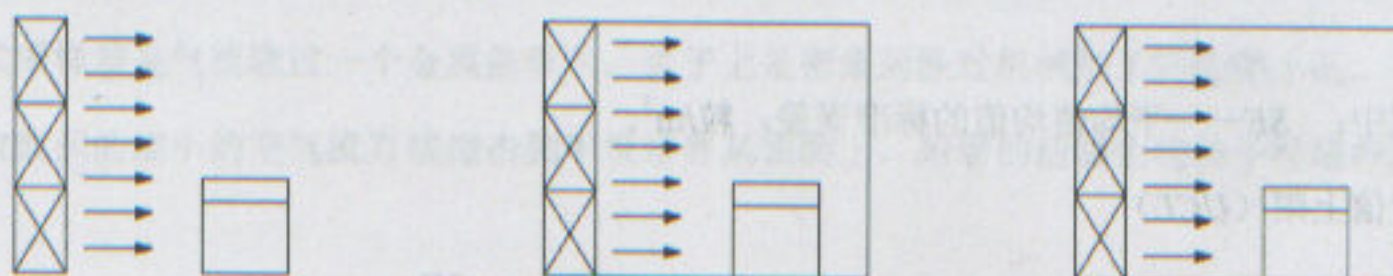
注：对 1000 级的洁净室（区）的最小采样量作为参考数据。

最少采样点和最小采样量在每次测试时应同时满足。

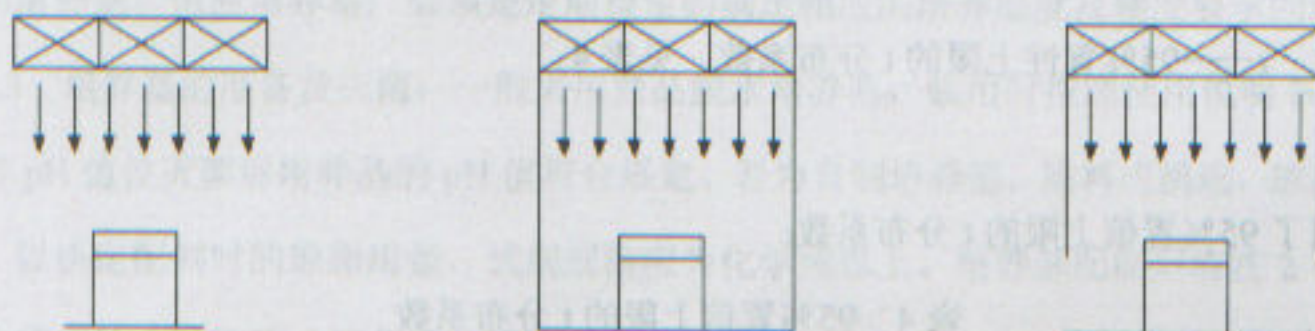
5.7 以下采样点的布置图可作参考：



水平单向流



垂直单向流



5.8 悬浮粒子的采样数据应按下述步骤进行统计计算:

采样点的平均粒子浓度 A :

$$A = \frac{\sum_{i=1}^n C_i}{n}$$

式中: A ——某一采样点的平均粒子浓度, 粒/ m^3 ;

C_i ——某一采样点的粒子浓度 ($i=1,2,\dots,n$), 粒/ m^3 ;

n ——某一采样点上的采样次数, 次。

平均值的均值 M :

$$M = \frac{\sum_{i=1}^L A_i}{L}$$

式中: M ——平均值的均值, 即洁净室(区)的平均粒子浓度, 粒/ m^3 ;

A_i ——某一采样点的平均粒子浓度 ($i=1,2,\dots,L$), 粒/ m^3 ;

L ——某一洁净室(区)内的总采样点数, 个。

标准误差 SE :

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

式中: SE ——平均值均值的标准误差, 粒/ m^3 。

置信上限 (UCL)

$$UCL = M + t \times SE$$

式中: UCL ——平均值均值的 95% 置信上限, 粒/ m^3 ;

t ——95% 置信上限的 t 分布系数, 见表 4。

表 4 列出了 95% 置信上限的 t 分布系数:

表 4 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 。

5.9 判断悬浮粒子的洁净度级别应同时满足以下两个条件:

a: 每个采样点的平均悬浮粒子浓度必须不大于规定的级别界限, 即 $A_i \leq$ 级别界限

b: 全部采样点的悬浮粒子浓度平均值均值的 95% 置信上限必须不大于规定的级别界限,

即 $UCL \leq$ 级别界限

5.10 若同时测试两个项目以上时,悬浮粒子浓度的测试宜在温度和相对湿度、送风量(换气次数)、压差等项目结束后进行,以降低干扰。

(6) 浮游菌的测试

采用计数浓度法。即通过收集悬浮在空气中的生物性粒子于专门的培养基(选择能证实它能够支持微生物生长的培养基),经若干时间和适宜的生长条件让其繁殖到可见的菌落计数,以判定该洁净室的微生物浓度。

6.1 浮游菌采样器一般采用撞击法机理,可分为狭缝式采样器、离心式或针孔式采样器。狭缝式采样器由附加的真空抽气泵抽气,通过采样器的狭缝式平板,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。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,附着的活微生物粒子经培养后形成菌落。针孔式采样器是气流通过一个金属盖吸入,盖子上是密集的经过机械加工的特制小孔,通过风机将收集到的细小的空气流直接撞击到平板培养基表面上,附着的活微生物粒子经培养后形成菌落;

6.2 浮游菌采样器一般采用 $\phi 150 \times 15\text{mm}$ 、 $\phi 90 \times 15\text{mm}$ 、 $\phi 65 \times 15\text{mm}$ 等规格的平板培养皿,也可根据所选用的采样器选择合适的培养皿。培养基为肉汤琼脂培养基或其它中国药典认可的培养基。恒温培养箱:必须是定期检定的满足相应的培养温度及精度要求的培养箱;

6.3 培养基的准备及灭菌:一般采用商品脱水培养基,临用时按照使用说明书进行配制,并调节pH值使灭菌后培养基的pH值符合规定。若为自制培养基,原料应挑选,琼脂凝固力应测定,以决定配制时的琼脂用量,试剂规格应为化学纯以上。培养基配制后应在2小时内按中国药典规定的方法灭菌,避免细菌繁殖;

6.4 培养皿的制备:空白培养皿在注入培养基前应为无菌状态,然后将配制灭菌后的培养基加热熔化,冷却至 45°C 左右时,在无菌操作的要求下将培养基注入培养皿,直径为 150mm 的培养皿不少于 60ml 培养基,直径为 90mm 的培养皿不少于 20ml 培养基;

6.5 培养皿使用前的培养:待琼脂凝固后,将培养皿倒置于 $30\sim 35^{\circ}\text{C}$ 的恒温培养箱中培养48小时以上,若培养皿上确无菌落生长,即可供采样用;

6.6 洁净室(区)浮游菌采样点的布置应遵循均匀全面的原则,避免采样点在某局部区域过于集中,除非是为了特殊的目的。工作区的采样点位置离地 $0.8\sim 1.5\text{m}$ 左右,离开送风面 30cm

以上，动态测试时也可在关键设备或关键工序处增加采样点。采样点的位置可以与悬浮粒子的采样点相同，也可以按最少采样点数均匀布置，即按表 5 确定：

表 5 浮游菌最少采样点数目

面积 m ²	洁净度级别				
	100	1000	10000	100000	300000
<10	2~3	2	2	2	2
≥10 或<20	4	4	2	2	2
≥20 或<40	8	8	2	2	2
≥40 或<100	16	16	4	2	2
≥100 或<200	40	40	10	3	3
≥200 或<400	80	80	20	6	6
≥400	160	160	40	13	13

注：1) 对于 100 级的单向流洁净室（区），包括 100 级超净台，面积指的是送风口表面积；对于 1000 级以上的非单向流洁净室（区），面积指的是房间面积；
2) 对 300000 级的洁净室（区）浮游菌的采样点可按照工艺要求确定。对 1000 级的洁净室（区）的采样点作为参考数据。

浮游菌最小采样量可按表 6 确定：

表 6 浮游菌最小采样量

洁净度级别	最小采样量（升/次）
100	1000
1000	1000
10000	500
100000	100
300000	100

每个采样点至少采样一次，最少采样点和最小采样量在每次测试时应同时满足。

6.7 对于单向流洁净室（区），采样器的采样管口朝向应正对气流方向，对于非单向流洁净室（区），采样器的采样管口向上；采样时应适当避开尘粒较集中的回风口；测试人员在采样时也应站在采样器采样管口的下风侧；

6.8 应采取一切措施防止采样过程的污染和其它可能对样本的污染。测试状态有静态和动

态两种，必须在测试记录中注明。静态测试时，室内测试人员不得多于2人。对100级洁净室（区），测试应在净化空调系统正常运行不少于10分钟后开始；对10000级以上的非单向流洁净室（区），测试应在净化空调系统正常运行不少于30分钟后开始；

6.9 在进行测试之前，应先对所用的培养皿进行检查，确认没有气泡、无凹陷、无细菌生长并在使用有效期内；培养皿在使用前必须用消毒剂擦净外表面；

6.10 采样器的采样头及盖子应采用可以灭菌的材料制成，在进入洁净室（区）测试前也应采用适当方式消毒。若必须进入100级洁净室（区）采样，整个设备要有措施保护，然后才能带入相关洁净室（区）。在开始采样准备前，采样器的采样头的内外表面宜用消毒剂擦拭；狭缝式和离心式采样器应检查采样器的采样管，严禁渗漏，内壁应光滑；采样管的应根据采样点的高度来确定，尽量减少弯曲；采样管的内外壁都要消毒；检查采样器的流量显示，并选定合适的采样时间；仪器在消毒后，先不放入培养皿，开启采样器一段时间驱赶消毒剂的残留物；

6.11 测试人员在采样时应避免接触采样头和采样管的内表面，在采样器内放入培养皿后，取下培养皿的盖子，避免被水滴和其它浮游物质污染，然后开启采样器；采样过程结束后，盖上培养皿的盖子，取下培养皿；在采样器上调换培养皿时，测试人员双手宜消毒；也可带无菌手套操作；每一个培养皿上都应作标识；

6.12 全部采样结束后，将肉汤琼脂培养皿倒置于30~35℃的恒温培养箱中培养48小时以上，用透射光于培养皿背面或正面肉眼仔细观察，直接计数、标记，或在菌落计数器上点计，然后用5~10倍放大镜检查以免遗漏，不要漏计培养皿边缘生长的菌落；若培养皿上有2个或2个以上菌落重叠时，可分辨时仍以2个或2个以上计数；

6.13 用计数方法得出各个培养皿的菌落数后，用下式计算每个采样点浮游菌的平均浓度：

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

若某个采样点的平均浓度大于级别上限，则必须对该区域重新消毒，再采样2次，2次必须均合格后才能判定合格；

6.14 对于浮游菌的监控，宜设定启动线和报警线，以保证洁净室（区）的微生物浓度受到控制。应定期测试以检查微生物负荷以及消毒剂的效力，并作倾向分析。静态和动态的监控都可以采用以上方法；

6.15 若同时测试两个项目以上时，浮游菌浓度的测试宜在其他项目结束后进行，以降低干扰；

6.16 培养皿在用于测试时，宜同时进行空白试验校正，避免培养皿运输或搬动过程造成

的影响。每次或每个区域取 1 个对照皿，然后与采样后的培养皿（肉汤琼脂）一起放入 35±2℃ 的培养箱内培养 48 小时以上，结果应无细菌生长；

6.17 浮游菌采样时，由于气流以每秒几十米的速度从缝隙或细孔中吹向培养基表面，时间过久就会使培养基水分减少导致灵敏度降低，因此采样时间宜控制在 20 分钟之内。

(7) 沉降菌的测试

采用沉降法，即通过自然沉降原理收集空气中的生物性粒子于培养皿（选择能证实其能够支持微生物生长的培养基），经若干时间和适宜的生长条件让其繁殖到形成一个独立可见的菌落为计数依据，以判定该洁净室（区）的微生物浓度。

7.1 沉降菌测试一般采用 $\phi 90 \times 15\text{mm}$ 、 $\phi 65 \times 15\text{mm}$ 等规格的平板培养基平皿，也可根据工艺要求选择合适的培养皿。培养基为肉汤琼脂培养基或其它中国药典认可的培养基，需要一个满足相应的培养温度及精度要求的电热或蒸汽培养箱，必须定期检定；

7.2 培养基的准备及灭菌、培养皿的制备、培养皿使用前的培养采用与本标准“测试方法”项下第 6 项“浮游菌的测试”相同的方法制备。

7.3 洁净室（区）沉降菌采样点的布置应遵循均匀全面的原则，避免采样点在某局部区域过于集中，除非是为了特殊的目的。工作区的采样点位置离地 0.8~1.5m 左右，离开送风面 30cm 以上，动态测试时也可在关键设备或关键工序处增加采样点。采样点的位置可以与悬浮粒子的采样点相同，也可以按最少采样点数均匀布置，可按表 7 确定：

表 7 沉降菌最少采样点数目

面积 m^2	洁净度级别				
	100	1000	10000	100000	300000
<10	2~3	2	2	2	2
≥ 10 或 <20	4	4	2	2	2
≥ 20 或 <40	8	8	2	2	2
≥ 40 或 <100	16	16	4	2	2
≥ 100 或 <200	40	40	10	3	3
≥ 200 或 <400	80	80	20	6	6
≥ 400 或 <1000	160	160	40	13	13
≥ 1000 或 <2000	400	400	100	32	32
≥ 2000	800	800	200	63	63
注：1) 对于 100 级的单向流洁净室（区），包括 100 级超净台，面积指的是送风口表面积；对于 1000 级以上的非单向流洁净室（区），面积指的是房间面积； 2) 对 1000 级的洁净室（区）的采样点作为参考数据。					

最少采样皿数目可按表 8 确定:

表 8 最少采样皿数目

洁净度级别	所需 $\phi 90\text{mm}$ 培养皿数 (个)
100	14
1000	14
10000	2
100000	2
300000	2

每个采样点至少采样一次, 最少采样点和最少采样皿数在每次测试时应同时满足。

7.4 对于单向流洁净室(区), 采样时应正对气流方向, 对于非单向流洁净室(区), 采样时培养基平皿打开向上; 采样时应适当避开尘粒较集中的回风口; 测试人员在采样时也应站在采样器采样管口的下风侧;

7.5 在进行测试之前, 应先对所用的培养皿进行检查, 确认没有气泡、无凹陷、无细菌生长并在使用有效期内; 培养皿在使用前必须用消毒剂擦净外表面;

7.6 应采取一切措施防止采样过程的污染和其它可能对样本的污染。静态测试时, 室内测试人员不得多于 2 人。沉降菌采样时应按事先确定的采样点位置从里到外放置好培养皿, 然后从里到外取下培养皿的盖子, 同时避免被水滴和其它浮游物质污染, 采样过程结束后, 从外到里盖上培养皿的盖子; 也可带无菌手套操作; 每一个培养皿上都应作标识;

7.7 对 100 级洁净室(区), 测试应在净化空调系统正常运行不少于 10 分钟后开始; 对 10000 级以上的非单向流洁净室(区), 测试应在净化空调系统正常运行不少于 30 分钟后开始;

7.8 全部采样结束后, 将肉汤琼脂培养皿倒置于 $30\sim 35^{\circ}\text{C}$ 的恒温培养箱中培养 48 小时以上, 或真菌培养皿在 $20\sim 25^{\circ}\text{C}$ 的恒温培养箱中培养 168 小时以上, 用透射光于培养皿背面或正面肉眼仔细观察, 直接计数、标记, 或在菌落计数器上点计, 然后用 5~10 倍放大镜检查以免遗漏, 不要漏计培养皿边缘生长的菌落; 若培养皿上有 2 个或 2 个以上菌落重叠时, 可分辨时仍以 2 个或 2 个以上计数。

7.9 用计数方法得出各个培养基平皿的菌落数后,用下式计算沉降菌的平均浓度:

$$M(CFU/皿) = \frac{\sum_{i=1}^n M_i}{n}$$

式中: M ——平均菌落数: CFU/皿;

M_i ——某一编号培养皿的菌落数: CFU/皿;

n ——培养皿总数

7.10 若沉降菌平均浓度大于级别上限,则必须对该区域重新消毒,再采样2次,2次必须均合格后才能判定合格;

7.11 对于沉降菌的监控,宜设定启动线和报警线,以保证洁净室(区)的微生物数量受到控制。应定期测试以检查微生物负荷以及消毒剂的效力,并作倾向分析。静态和动态的监控都可以采用以上方法;

7.12 若同时测试两个项目以上时,沉降菌浓度的测试宜在其他项目结束后进行,以降低干扰;沉降菌测试时,在放置培养皿时应注意尽量防止人员走动引起的气流扰动影响检测结果。

7.13 培养皿在用于测试时,宜同时进行空白试验校正,避免培养皿运输或搬动过程造成的影响。每次或每个区域取1个对照皿,然后与采样后的培养皿(肉汤琼脂)一起放入 $35 \pm 2^\circ\text{C}$ 的培养箱内培养48小时以上,结果应无细菌生长。

(8) 照度的测试

本标准定义的照度值为被测洁净室(区)的室内最低照度值。采用直接读数法,即通过测定洁净环境内各点的照度值,并从中筛选出最低照度值,从而评定该洁净室(区)的照度。若必需,也可根据测试的照度值计算出照度均匀度。

8.1 照度测试应在光源输出趋于稳定,例如新日光灯和新白炽灯必须已使用超过10小时,旧日光灯则已点亮15分钟、旧白炽灯已点亮5分钟之后,并且尽量避开自然采光的情况下进行;若有局部照明,则必须在测试记录中注明动态测试时的局部照明位置和局部照明的照度值;照度测试时应确认所有光源的工作状态处于正常,否则则必须详细记录光源状况;应注意测试者的投影以及服装的反射不致影响测试结果;

8.2 应在测试出被测洁净室(区)的温度值后再进行照度测试。照度测试仪器开机、预热至稳定后,方可按说明书的规定对仪器进行校正;并选定相应的测试量程范围;

8.3 应将照度计的受光面尽量与测试点相应水平面一致,在确认读数稳定后方可开始测试;

8.4 照度测试时的采样点布置: 任何洁净室(区)的采样点不得少于 2 个; 除受洁净室(区)内的设备限制之外, 采样点应在整个洁净室(区)内均匀布置; 采样点距墙 1m (小面积房间 0.5m), 按 1~2m 间距布点。每个选定的采样点之间间距不超过 2m, 不刻意在灯下或避开灯下选点, 至少采样一次; 在一个区域内至少采样 5 次, 不同采样点的采样次数可以不同。如无特别规定者, 采样点位置离地 0.8m 高度的水平面上, 若以室内工作台为对象面时, 测试面定为其面上 0.05m 的水平面;

8.5 最低照度值的采样数据应按下述步骤进行统计计算:

$$B = A_{\min}$$

式中: B ——洁净室(区)的照度值, Lx ;

$A_{\min}$ ——某一采样点的最低照度值 ($i=1, 2, \dots, N$), Lx ;

照度均匀度按下述步骤进行统计计算:

平均照度 B_{Avg} :

$$B_{\text{Avg}} = \frac{\sum_{i=1}^n A_i}{n}$$

式中: B_{Avg} ——平均照度, Lx ;

A_i ——某一采样点的照度 ($i=1, 2, \dots, n$), m/s ;

n ——采样次数, 次。

照度均匀度 B_{U} :

$$B_{\text{U}} = \frac{B}{B_{\text{Avg}}}$$

8.6 判断照度是否符合标准应同时满足:

a: 洁净室(区)内主要工作区的最低照度值必须大于规定的范围, 即 $B \geq 300Lx$; 有局部照明的除外;

b: 若必须, 洁净室(区)内主要工作区的照度均匀度宜大于 0.7。

8.7 备用照明和应急照明的测试不在本标准规定的范围内。

【结果评价】(1) 在测试过程中, 与洁净室(区)有关的环境参数和观察结果都应作记录。这些参数可能包括(但不仅限于此): 室外空气的温度和相对湿度、采样点的位置(必要的话,

再注明采样点高度)、与相邻区域的压差、并记录洁净室(区)的位置,必要时注明相邻的区域,注明采样点的特定编号和示意图等,还有动态测试时设备和人员的活动情况等,以便在结果评价和分析时参考。

(2) 对于浮游菌和沉降菌测试的取样频次,如果出现下列情况应考虑修改,在评估以下情况后,也应确定其它项目的测试频次:

- 连续超过报警限和启动限;
- 停工时间比预计延长;
- 关键区域内发现有传染的试剂;
- 在生产期间,空气净化系统进行任何重大的维修;
- 日常操作记录反映出倾向性的数据;
- 净化和消毒规程的改变;
- 引起生物污染的事故等。

【注意事项】(1) 合理的布局、合适的空气净化系统的配置对生产环境的控制可以达到理想的效果:通过对墙体、地板、屋顶、管线、水源、照明、通风和温度湿度等功能设计达到内部的洁净环境,通过空气的三级过滤使进入洁净室的空气是符合要求的,它能够通过人员和物料的净化程序隔绝或消除外来污染,通过气流组织、压差和换气次数等参数抑制微生物、悬浮粒子的污染,它能够排除由于光、味道、相对湿度等导致的任何质量损害,通过严格的工艺纪律达到避免交叉污染的目的。

(2) 控制悬浮粒子污染的途径:利用洁净室的空气压力有效地阻止室外的污染侵入室内(或防止室内污染逸出室外);通过良好的气流组织迅速有效地排除室内已经发生的污染;通过洁净室的有效管理控制污染源,减少污染发生量;还可以用测试自净时间这个项目来检查洁净室(区)的恢复能力。

(3) 适宜的监测频次:保证洁净室(区)始终处于受控状态。关键区域在正常使用期间,应规定定期测试的频次,以检查洁净室(区)的以上八个控制参数值背离正常水平的一切变化,若出现了不正常的状况,应进行调查并采取措施。静态和动态的监控都可以采用以上方法。

(4) 适宜的清洁消毒和检查:包括洁净工作服的定期清洗和消毒等,保证洁净室(区)的微生物污染处于受控状态。

(5) 验证:洁净室(区)投入运行之前应对其综合性能进行验证。例如系统运行以后,设

计值与安装竣工后输出的数据之间的对照可以通过静态或动态的测试来获得。验证工作贯穿整个过程，包括施工前期设计、工程准备及承包商的选择；以及整个施工周期的监控；项目竣工后静态运行阶段的测试（包括高效过滤器的检漏试验和自净时间等）；实际生产时的动态测试等等。

常规的验证工作有以下几个步骤：设立验证的组织机构（验证小组等）；制定验证计划，确定所需的设备、系统、过程和时间表；制定验证方案，必须确定为达到预期目的的具有可操作性的验证方法；包括验证目的、适用范围、系统或设备、验证方法、可接受标准、实施步骤等，按照验证方案实施；收集验证数据出具验证报告，包括验证结果、验证评价和建议，再验证周期等。

药品包装材料生产厂房洁净室（区）的测试方法

质量标准的起草说明

一、概况

安全和有效是生产直接接触药品、不洗即用的药包材的通用要求，因此药包材要在控制的制造条件下生产，特别是对于产品的事后检查或检验所不能充分鉴定其结果的工艺，其效能无法通过产品的检查或检验以确证，由于这个原因，生产的环境条件应在使用前进行验证，并履行常规的监控和维护保养。

本标准提供有关药包材生产厂房洁净室（区）测试的基本要点和指导原则。本标准适用于直接接触药品、不洗即用的药包材生产厂房洁净室（区）的测试和监控，虽然本标准并不包括非直接接触药包材的生产厂房，但所述及的原则对这些机构的使用者也可能有用。

二、关于标准项目设立及要求的说明

1、定义 明确地界定洁净室（区）测试中用到的专业术语。

2、人员的职责及培训 根据洁净室（区）的测试要求，明确了对参与洁净室（区）的测试人员应具备相应的专业知识及操作技能。

3、仪器设备 为使测试有效，并保证测试数据的准确性和可溯源性，对测试所用的仪器设备作出了规定。

4、人员和物品的出入限制 洁净室使用中和测试前必须考察是否符合规定，其中人员及其活动对洁净室（区）的性能影响很大，因此列出了人员的出入限制。

5、测试指导原则 该条列出了测试前的准备工作和相关的测试项目。

6、测试方法 该条列出了温度与相对湿度、换气次数、截面风速、压差、悬浮粒子、浮游菌、沉降菌和照度的测试以及计算方法。

7、注意事项 洁净室的有效运转取决于对污染的控制情况，本条款列出了对洁净室（区）布局、监测、消毒及验证方面的要求。

三、参考标准

(1) 药品生产质量管理规范（1998年修订）

(2) 直接接触药品的包装材料和容器管理办法

(3) Code of GMP for Medicinal Products (Draft, 2003, FDA)

(4) Australian Code of GMP for Medicinal Products (16 August 2002)

(5) Code of GMP for Medicinal Products (2003, EU)

(6) ISO 14644.1 Cleanrooms and associated controlled environments—Part 1: Classification of air cleanliness

(7) ISO 14644.2 Cleanrooms and associated controlled environments—Part 2: Classification of air cleanliness

(8) ISO 14644.4 Cleanrooms and associated controlled environments—Part

4: Design, construction and start-up

(9) ISO 14698.1 Cleanrooms and associated controlled environments—Biocontamination control—Part 1: General principles and methods

(10) ISO 14698.2 Cleanrooms and associated controlled environments—Biocontamination control—Part 2: Evaluation and interpretation data

(11) ISO 9001—2000 质量管理体系

(12) GB 50243—2002 通风与空调工程施工质量验收规范

(13) GB 50073—2001 洁净厂房设计规范

(14) JGJ 71—90 洁净室施工及验收规范

(15) ISO GUIDE 51—1999 Safety aspects—Guidelines for their inclusion in standards

(6) ISO 15161—2001 Guidelines on the application of ISO 9001: 2000 for the food and drink industry

(17) ISO 14971—2000 Medical devices — Application of risk management to medical devices

(18) ISO 14971—2003 Medical devices — Application of risk management to medical devices AMENDMENT 1: Rationale for requirements

(19) USP 27-1116 Microbiological Evaluation of Clean Rooms and Other Controlled Environments

(20) PDA Bethesda, Maryland, USA — Microbiological Risk Assessment in Pharmaceutical Clean Rooms

(21) CNS 5065 照度测定法