

前 言

本标准依照国内外《药品生产管理规范》(GMP)的要求,非等效采用美国国家航空及宇宙航行局 NASA 标准 NHB5340-2《关于洁净室和洁净工作台微生物的控制标准》,并参考 JGJ 71—90《洁净室施工验收规范》制定。

悬浮粒子和微生物的测试是评价医药工业洁净室和洁净区空气洁净度的主要指标。本标准用沉降菌评价洁净室和洁净区空气中的微生物。

医药工业洁净室(区)沉降菌的测试应采用本标准的规定。

本标准的附录 A、附录 B、附录 C 都是标准的附录。

本标准的附录 D 是提示的附录。

本标准由国家医药管理局提出并归口。

本标准起草单位:上海市医药管理局药品测试所。

本标准主要起草人:钱周、步伯荪、沈建华、顾锋、唐小珍。

中华人民共和国国家标准

医药工业洁净室(区)沉降菌的 测试方法

GB/T 16294—1996

Test method for settling microbe in clean
room(area) of the pharmaceutical industry

1 范围

本标准规定了医药工业洁净室和洁净区中沉降菌的测试条件、测试方法。

本标准适用于医药工业洁净室和洁净区,无菌室或无菌区域(包括洁净工作台)的沉降菌的测定和环境的验证。

2 引用标准

下列标准所包含的条文,通过在本标准中引用而构成为本标准的条文。本标准出版时,所示版本均为有效。所有标准都会被修订,使用本标准的各方应探讨使用下列标准最新版本的可能性。

YY/T 0188.6—1995 药品检验操作规程 第6部分:药品生物测定法

3 定义

本标准采用下列定义。

3.1 洁净室(区) clean room(area)

对尘粒及微生物污染规定需进行环境控制的房间或区域。其建筑结构、装备及其使用均具有减少对该区域内污染源的介入、产生和滞留的功能。

3.2 洁净工作台 cleaning work station

一种工作台或者与之类似的一个封闭围挡工作区。其特点是自身能够供给经过过滤的空气或气体,如垂直层流罩、水平层流罩、垂直层流洁净工作台、水平层流洁净工作台、自净器等。

3.3 洁净度 cleanliness

洁净环境内单位体积空气中含有大于或等于某一粒径的悬浮粒子的允许统计数。

3.4 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,简称CFU。通常用个数表示。

3.5 沉降菌 settling microbe

用本标准提及的方法收集到的活微生物粒子,通过专用的培养基,在适宜的生长条件下繁殖到可见的菌落数。

3.6 悬浮粒子 airborne particulate

可悬浮在空气中的尺寸一般在 $0.001\ \mu\text{m}\sim 1\ 000\ \mu\text{m}$ 之间的固体、液体或两者的混合物质,包括生物性粒子和非生物性粒子。

3.7 单向流 unidirectional air flow(曾称为层流 laminar flow)

沿着平行流线,以单一通路以一定流速向单一方向流动的气流。

国家技术监督局1996-04-10批准

1996-10-01实施

3.8 非单向流 nonunidirectional air flow(曾称为乱流 turbulent flow)

具有多个通路循环特性或气流方向不平行的,不满足单向流定义的气流。

3.9 静态测试 at-rest test

洁净室(区)净化空气调节系统已处于正常运行状态,工艺设备已安装,洁净室(区)内没有生产人员的情况下进行的测试。

3.10 动态测试 operational test

洁净室(区)已处于正常生产状态下进行的测试。

4 测试方法

4.1 方法概述

本测试方法采用沉降法,即通过自然沉降原理收集在空气中的生物粒子于培养基平皿,经若干时间,在适宜的条件下让其繁殖到可见的菌落进行计数,以平板培养皿中的菌落数来判定洁净环境内的活微生物数,并以此来评定洁净室(区)的洁净度。

4.2 所用的仪器和设备

4.2.1 高压消毒锅

使用时应严格按照仪器说明书操作。

4.2.2 恒温培养箱

必须定期对培养箱的温度计进行检定。

4.2.3 培养皿

一般采用 $\phi 90\text{ mm} \times 15\text{ mm}$ 的硼硅酸玻璃培养皿。

4.2.4 培养基

普通肉汤琼脂培养基或其他药典认可的培养基。其配制方法见附录 A(标准的附录)。

4.3 测试步骤

4.3.1 采样方法

将已制备好的培养皿按 5.4.1.2 的要求放置,打开培养皿盖,使培养基表面暴露 0.5 h,再将培养皿盖盖上后倒置。

4.3.2 培养

4.3.2.1 全部采样结束后,将培养皿倒置于恒温培养箱中培养。

4.3.2.2 在 $30^{\circ}\text{C} \sim 35^{\circ}\text{C}$ 培养箱中培养,时间不少于 48 h。

4.3.2.3 每批培养基应有对照试验,检验培养基本身是否污染。可每批选定 3 只培养皿作对照培养。

4.3.3 菌落计数

4.3.3.1 用肉眼直接计数,标记或在菌落计数器上点计,然后用 5~10 倍放大镜检查,有否遗漏。

4.3.3.2 若培养皿上有 2 个或 2 个以上的菌落重叠,可分辨时仍以 2 个或 2 个以上菌落计数。

4.4 注意事项

4.4.1 测试用具要作灭菌处理,以确保测试的可靠性、正确性。

4.4.2 采取一切措施防止人为对样本的污染。

4.4.3 对培养基、培养条件及其他参数作详细的记录。

4.4.4 由于细菌种类繁多,差别甚大,计数时一般用透射光于培养皿背面或正面仔细观察,不要漏计培养皿边缘生长的菌落,并须注意细菌菌落与培养基沉淀物的区别,必要时用显微镜鉴别。

4.4.5 采样前应仔细检查每个培养皿的质量,如发现变质、破损或污染的应剔除。

5 测试规则

5.1 测试状态

5.1.1 沉降菌测试前,被测试洁净室(区)的温湿度须达到规定的要求,静压差、换气次数、空气流速必须控制在规定值内。

5.1.2 沉降菌测试前,被测试洁净室(区)已经过消毒。

5.1.3 测试状态有静态和动态两种,测试状态的选择必须符合生产的要求,并在报告中注明测试状态。

5.2 测试人员

5.2.1 测试人员必须穿戴符合环境洁净度级别的工作服。

5.2.2 静态测试时,室内测试人员不得多于二人。

5.3 测试时间

5.3.1 对单向流,如100级净化房间及层流工作台,测试应在净化空调系统正常运行不少于10 min后开始。

5.3.2 对非单向流,如10 000级、100 000级以上的净化房间,测试应在净化空调系统正常运行不少于30 min后开始。

5.4 沉降菌计数

5.4.1 采样点数目及其布置

5.4.1.1 最少采样点数目

沉降法的最少采样点数可按表1确定。

表1 最少采样点数目

面 积 m ²	洁 净 度 级 别		
	100	10 000	100 000
<10	2~3	2	2
≥10~<20	4	2	2
≥20~<40	8	2	2
≥40~<100	16	4	2
≥100~<200	40	10	3
≥200~<400	80	20	6
≥400~<1 000	160	40	13
≥1 000~<2 000	400	100	32
2 000	800	200	63

注:表中的面积,对于单向流洁净室,是指送风面面积。对于非单向流洁净室是指房间的面积。

在满足最少测点数的同时,还宜满足最少培养皿数,见表2。

表2 最少培养皿数

洁净度级别	所需φ90 mm培养皿数(以沉降0.5 h计)
100	14
10 000	2
100 000	2

5.4.1.2 采样点的布置

采样点的位置可以同悬浮粒子测试点。

a) 工作区采样点的位置离地0.8 m~1.5 m左右(略高于工作面)。

b) 可在关键设备或关键工作活动范围处增加采样点。

采样点位置的详细规则见附录 B(标准的附录)。

5.5 记录

测试报告中应记录房间温度、相对湿度、压差及测试状态。

测试报告的编写见附录 C(标准的附录)。

5.6 结果计算

5.6.1 用计数方法得出各个培养皿的菌落数。

5.6.2 平均菌落数的计算,见式(1)。

$$\text{平均菌落数 } \bar{M} = \frac{M_1 + M_2 + \dots + M_n}{n} \dots\dots\dots(1)$$

式中: \bar{M} ——平均菌落数;

M_1 ——1号培养皿菌落数;

M_2 ——2号培养皿菌落数;

M_n —— n 号培养皿菌落数;

n ——培养皿总数。

5.7 结果评定

用平均菌落数判断洁净室(区)空气中的微生物。

5.7.1 洁净室(区)内的平均菌落数必须低于所选定的评定标准。

5.7.2 若某洁净室(区)内的平均菌落数超过评定标准,则必须对此区域先进行消毒,然后重新采样两次,测试结果均须合格。

附录 A
(标准的附录)
培养基的准备及灭菌

A1 培养基的准备

培养基可以外购或自行配制。自行配制方法见 YY/T 0188.6—1995 第 6 章无菌检查部分中关于此类培养基的配方和操作步骤。其他符合药典灵敏度要求的培养基亦可以自行配制。

A2 培养基平皿的制备

A2.1 将 $\phi 90$ mm 的培养皿置于 121°C 湿热灭菌 20 min 或 180°C 干热灭菌 2 h。

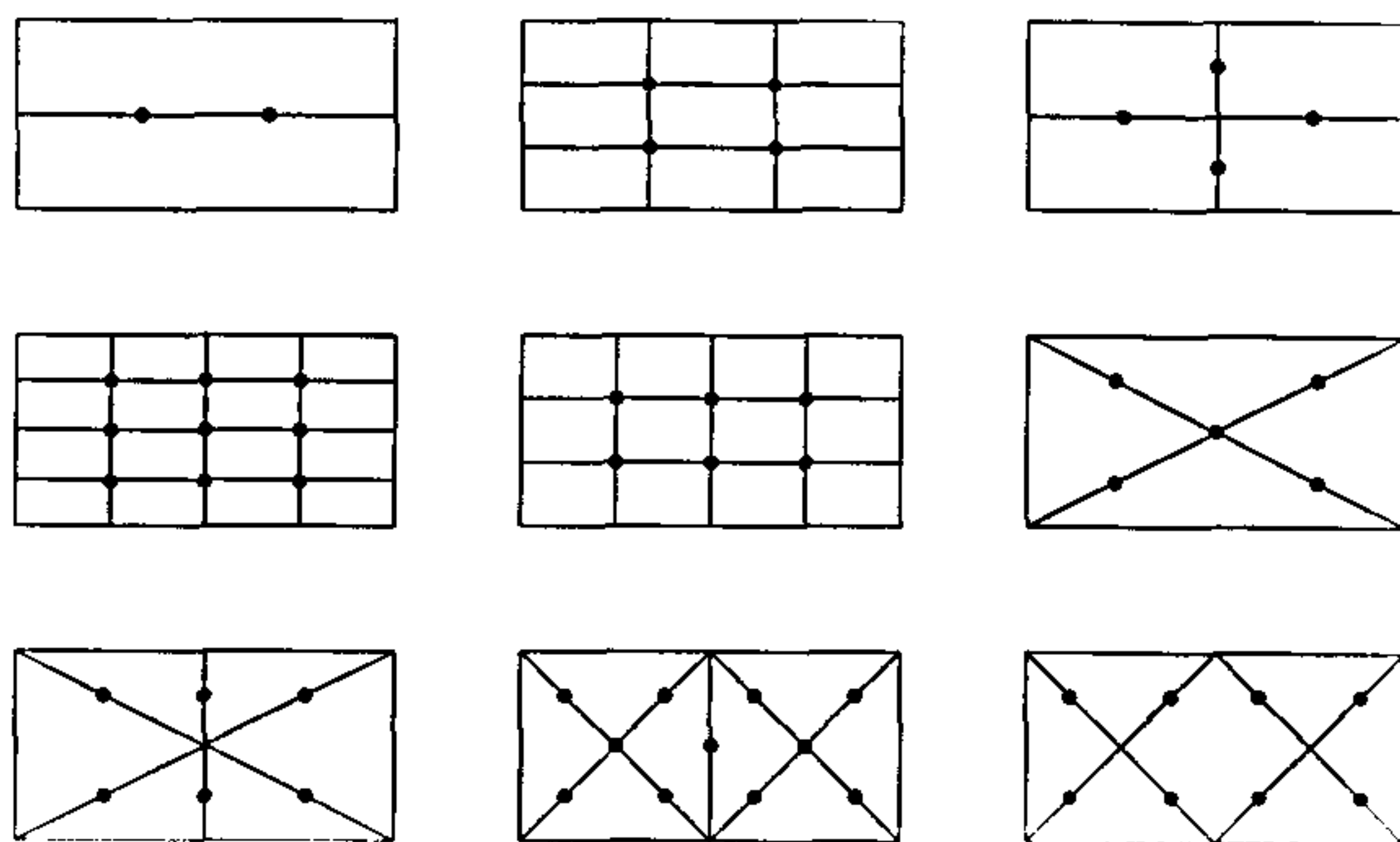
A2.2 将培养基加热溶化,冷至 45°C 时,在无菌操作要求下将培养基注入培养皿,每皿约 15 mL。

A2.3 待琼脂凝固后,将培养基平皿倒置于 $30^{\circ}\text{C}\sim 35^{\circ}\text{C}$ 恒温培养箱中培养 48 h,若培养基平皿上确无菌落生长,即可供采样用。

注:制备好的培养基平皿宜在 $2^{\circ}\text{C}\sim 8^{\circ}\text{C}$ 的环境中存放。

附录 B
(标准的附录)
采样点布置

洁净室和洁净区采样点的布置力求均匀,避免采样点在某局部区域过于集中,某局部区域过于稀疏。下列采样点布置的图示可作参考。



注:·为采样点。

图 B1

附录 C
(标准的附录)
沉降菌测试报告

编号 _____ 测试单位 _____
 测试依据 _____ 测试状态 _____
 环境温度 _____ °C 相对湿度 _____ % 静压差 _____ Pa
 培养基批号 _____ 培养温度 _____ °C
 检测日期 _____ 报告日期 _____

菌落数 区域	平皿				平均数	级别	备注
	1	2	3	4			

评定标准 _____ 结论 _____
 检验者 _____ 复核者 _____

附录 D
(提示的附录)
国内外有关沉降菌测定的标准

表 D1

洁净度级别	美国 NASA 标准 NHB5340-2	日本制药协会	中国化学制药工业协会
	个/(φ90mm·1h)	个/(φ90mm·1h)	个/(φ90mm·0.5h)
100	0.49	1	≤1
10 000	2.45	5	≤3
100 000	12.2	20	≤10

中 华 人 民 共 和 国
国 家 标 准
医药工业洁净室(区)悬浮粒子、
浮游菌和沉降菌的测试方法
GB/T 16292~16294—1996

*

中国标准出版社出版
北京复兴门外三里河北街16号
邮政编码:100045
电 话:68522112

中国标准出版社秦皇岛印刷厂印刷
新华书店北京发行所发行 各地新华书店经售
版权专有 不得翻印

*

开本 880×1230 1/16 印张 1 $\frac{3}{4}$ 字数 44 千字
1996年9月第一版 1996年9月第一次印刷
印数 1—6 000

*

书号: 155066·1-13165

*

标 目 297—74