

初始污染菌和微粒污染控制验证方案

1. 目的

通过设计试验确认 XX 半成品的储存环境和存放有效期。其可能存在的环节如下：

- (1) 在内包装封口前初始污染菌是否满足控制要求（定期监控）；
- (2) 等待灭菌的产品，密封严实存放在外包间，其初始污染菌随储存时间变化。

2. 适用范围

本验证方案适用于本产品，通过试验研究，以确定在各种情况下的储存有效期。

3. 发放范围

管理者代表、生产部和质量部等有关部门及人员。

4. 规范性引用文件

《中华人民共和国药典》2015 版 附录 微生物限度检查法

5. 组织和职责

根据验证工作量的大小，本公司成立验证组，由公司管理者代表任组长，生产部、质量部、有关部门及人员任组员。验证小组职责：

- 负责验证方案的起草、批准；
- 负责验证的协调工作，以保证验证方案规定项目的顺利实施；
- 负责验证数据结果的审核；
- 负责验证报告的审批；
- 负责发放验证证书；
- 负责确定该项验证的再验证周期。

5.1 主责部门

本方案的主责部门为公司管理者代表，其职责为：负责审批验证方案和验证报告，颁发验证证书。

5.2 相关部门

本方案的相关部门为质量部，其职责为：按标准操作规程及验证方案进行各项确认，及时报告确认结果，形成验证报告；负责操作培训和现场监督。

6. 步骤和方法

6.1 计划及进度

本验证由质量部提出完整的验证计划，经验证小组批准后实施，由质量部完成，整个验证活动分为两个阶段完成：

运行确认 (OQ) 从 _____ 年 _____ 月 _____ 日到 _____ 年 _____ 月 _____ 日
性能确认 (PQ) 从 _____ 年 _____ 月 _____ 日到 _____ 年 _____ 月 _____ 日

6.2 初始污染菌和微粒检测方法及其可接受标准

6.2.1 抽样方法和抽样规律

以每一个生产批为产品抽样批，随机抽取样品 1 片（长宽约 5cm×2cm）记为 1 单位，在洁净条件下精确称重，并标记。

需要临时或长期存放时间预计不超过 30 天（1 个月），综合细菌的生长规律及可能存在的存放天数，其抽样检测的时间设计为存入后：第 1 天、第 2 天、第 3 天、第 5 天、第 7 天、第 15 天、第 30 天。

6.2.2 供试液制备

- 1) 取 0.9% 的生理盐水溶液 10ml，盛于已灭菌的试管内；
- 2) 将取样依次投入试管，充分摇匀。

6.2.3 接种与培养

- 1) 取上述供试液 1ml 加入 9ml 生理盐水溶液，稀释成 1:10；取上述稀释液 2ml，分别注入 2 个已灭菌的平皿内(每个平皿注入 1 ml)；
- 2) 同时取 1ml 加入盛有 9ml 生理盐水溶液的试管中，稀释成 1:100，再取此稀释液 2ml，分别注入 2 个已灭菌平皿内(每个平皿注入 1 ml)；
- 3) 用已灭菌的营养琼脂培养基，融化待冷却到 40~50℃，分别倾注 15ml 上述 4 个平皿，盖好上盖，并以顺时针或逆时针方向快速转动平皿，使供试液与培养基充分混匀。
- 4) 以上平皿做好标记，以免混淆。
- 5) 待培养基凝固后，将平皿移入 37℃ 的培养箱中培养不少于 48±2 小时。

6.2.4 菌落计数

- 1) 当菌落数大于 300 CFU 时，应将原液稀释成 1:1000，即取供试液 1ml 加入 0.9% 的氯化钠溶液 9ml 中取得，然后重新接种及培养。
- 2) 当细菌生长呈片状、花点样菌落，该平皿不以计数。
- 3) 若片状菌落不到平皿中的一半，而其余一半中菌落数分布又很均匀，则可将此半个平皿菌落计数后乘以 2，以代表全平皿菌落数。
- 4) 计数方法

$$\text{菌落数/质量 (g)} = \frac{\text{平均数值} \times \text{稀释倍数}}{\text{质量}}$$

- a) 首先选取平均菌落数在 30~300 之间的平皿，作为菌落总数测定的范围。
- b) 如只有一个稀释级平均菌落数在 30~300 之间，则菌落数为该稀释级的菌落数乘以稀释倍数。
- c) 如有两个相邻稀释级的平均菌落数在 30~300 之间，则先计算两稀释级菌落数的比值。

$$\text{比值} = \frac{\text{高稀释级的平均平板菌落数} \times \text{稀释倍数}}{\text{低稀释级的平均平板菌落数} \times \text{稀释倍数}}$$

当比值 ≤ 2 时，则以 2 个稀释级的平均菌落数均值报告。当比值 > 2 时，则以低稀释级的平均菌落数乘以稀释倍数报告。

d) 如各稀释级平均菌落数均在 300 以上，则按最高平均菌落数乘以稀释倍数报告；如各稀释级平均菌落数均在 30 以下，则按最低平均菌落数乘以稀释倍数报告。

e) 如各稀释级平均菌落数均不在 30~300 之间，则以最接近 30 或 300 的稀释级平均菌落数乘以稀释倍数报告。

f) 如各稀释级平均菌落数均无菌落生长或最低稀释级平均菌落数小于 1 时，应报告菌数为 <10 个/g。

g) 如有 3 个稀释级平均菌落数均在 30~300 之间，则以后 2 级计算级间比值报告。

h) 菌落计数的报告，菌落数在 10 以内时，按实有数值报告。大于 100 时，采用二位有效数字，在两位有效数值后面，应以四舍五入法计算。在报告菌落数为“不可计”时，应表明样品的稀释度。

例：

例次	不同稀释度的平均菌落数			两相邻稀释度菌数之比	菌落总数个/g	报告方式个/g
	10 ⁻¹	10 ⁻²	10 ⁻³			
1	1365	164	20	-	16400	16000 或 1.6×10 ⁴
2	2760	295	46	1.6	38000	38000 或 3.8×10 ⁴
3	2890	271	60	2.2	27100	27000 或 2.7×10 ⁴
4	不可计	4650	513	-	513000	510000 或 5.1×10 ⁵
5	27	11	5	-	270	270 或 2.7×10 ²

i) 总稀释倍数计算时应包括取样时的10ml，即已稀释10倍。

6.2.5 可接受标准

初始污染菌和微粒控制值： ≤ 100 CFU/单位

6.3 验证内容

6.3.1 包装封口前的半成品

生产批号	初始污染菌检测均值 (CFU/单位)	结果评价
结论：灭菌前初始污染菌_____		
主检：	复检：	日期： 年 月 日

6.3.2 等待灭菌的半成品

存放时间	初始污染菌检测均值 (CFU/单位)	评价
第 1 天		
第 2 天		
第 3 天		
第 7 天		
第 15 天		
第 30 天		
结论：半成品初始污染菌_____		
主检：	复检：	日期： 年 月 日

以上记录要三次生产批。

7. 批准结论

验证组组长对验证报告进行审查、批准、并出具合格证明（合格验证报告）。

8. 再验证周期

- a) 常规再验证周期一年；
- b) 定期对初始污染菌和微粒的检测，定期汇总并进行趋势分析；

