

细胞制剂车间设计 要点与问题分析

张叔人

中国医学科学院、北京协和医学院
肿瘤医院肿瘤研究所

Good Manufacture Practice (GMP)

良好操作规范

- GMP是世界卫生组织（WHO），对所有制药企业质量管理体系的具体要求，1992年实施。
- 我国《药品生产质量管理规范》（Good Manufacture Practice of Medical Products, GMP）根据《中华人民共和国药品管理法》、《中华人民共和国药品管理法实施条例》，制定本规范。1999年8月1日起施行（导致1112家企业倒闭）。
- 新版《药品生产质量管理规范（2010年修订）》自2011年3月1日起施行（500家中小企业关停）。
新版GMP已经与世界卫生组织药品GMP一致。

Good Manufacture Practice (GMP)

良好操作规范

- GMP三大要素是人员、硬件和软件。

人员是关键，硬件是基础，软件是保证。

优秀的机构人员、与生产质量相适应的硬件、完善可行的软件构成了生产合格药品的基本保证

- 1997年发布《医药工业洁净厂房设计规范》（简称GMP 设计规范）；2009年实施《医药工业洁净厂房设计规范》GB50457-2008；《药品生产质量管理规范（2010年修订）》2011年3月1日起施行。

干细胞临床研究管理办法（试行）

国家卫生计生委会同食品药品监管总局联合
国卫科教发〔2015〕48号2015年07月20日 发布

■ 第十七条

干细胞制剂的制备应当符合《药品生产质量管理规范》（GMP）的基本原则和相关要求，配备具有适当资质的人员、适用的设施设备.....最大限度地降低制备过程中的污染、交叉污染，确保持续稳定地制备符合预定用途和质量要求的干细胞制剂。

体细胞制剂特点

- 规模小：个体化制剂（或批量制剂）
- 多批样品同期制备，增加交叉污染和混肴差错几率。
- 理、化因素对制剂影响大，终产品不能灭菌处理。
- 有些含有冻存和复苏程序。
- 有些终制剂进入人体前不能完成所有检测。
- 终制剂有效期短。

细胞制剂与其他生物制剂的不同点

细胞制剂	抗体、因子、多肽、中药等生物制剂
开始制备就要在A级下操作	有些制剂在制备初期在D级或C级操作
终产品无法过滤或高温除菌	可过滤或高温除菌消毒处理
有些属于个体化制剂 一批只供一人	每批可供成千上万人
终产品通常保存时间短	终产品保存时间长

自体血液骨髓来源的细胞与 异体组织来源的干细胞制剂的不同点

自体血液骨髓细胞	异体组织来源的干细胞 (脐带、胎盘)
自体来源	异体来源
无菌采集	空气中开放暴露
污染机率低	污染机率相对高
自体一人使用	可供多人使用
体内存活长	体内存活短
出问题影响一人	影响多人

体细胞制剂室位置的选择

- 应建立在自然环境良好的区域，应远离空气严重污染、水质严重污染或病原微生物（含未知或无检测手段的病原微生物）丰富的场所，应远离振动或噪声干扰的区域；
- 独立或相对独立
- 应建立并实施防虫、防鼠、防花粉等措施，防止无关动植物进入关键区域。

空气净化

《医药工业洁净厂房设计规范》 GB50457-2008

空气洁净 度等级	悬浮粒子最大允许数（个/m ³ ）		微生物最大允许数	
	≥0.5 μm	≥5 μm	浮游菌（cfu/m ³ ）	沉降菌（cfu/皿）
100	3500	0	5	1
10000	350000	2000	100	3
100000	3500000	20000	500	10
300000	10500000	60000	——	15

新版各级别空气悬浮粒子的标准

2010年新版GMP 附录1无菌药品

GMP不同国家有不同标准，ISO国际统一标准

洁净度级别	悬浮粒子最大允许数/立方米			
	静态		动态(3)	
	$\geq 0.5\mu\text{m}$	$\geq 5.0\mu\text{m}$ (2)	$\geq 0.5\mu\text{m}$	$\geq 5.0\mu\text{m}$
A级(1)	3,520	20	3,520	20
B级	3,520	29	352,000	2,900
C级	352,000	2900	3,520,000	29,000
D级	3,520,000	29,000	不作规定	不作规定

注：（1）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。A级洁净区空气悬浮粒子的级别为ISO 4.8，以 $\geq 5.0\mu\text{m}$ 的悬浮粒子为限度标准。B级洁净区（静态）的空气悬浮粒子的级别为ISO 5，同时包括表中两种粒径的悬浮粒子。对于C级洁净区（静态和动态）而言，空气悬浮粒子的级别分别为ISO 7和ISO 8。对于D级洁净区（静态）空气悬浮粒子的级别为ISO 8。测试方法可参照ISO14644-1。（2）在确认级别时，应当使用采样管较短的便携式尘埃粒子计数器，避免 $\geq 5.0\mu\text{m}$ 悬浮粒子在远程采样系统的长采样管中沉降。在单向流系统中，应当采用等动力学的取样头。（3）动态测试可在常规操作、培养基模拟灌装过程中进行，证明达到动态的洁净度级别，但培养基模拟灌装试验要求在“最差状况”下进行动态测试。

98年版与2010年版GMP洁净区各级别空气 悬浮粒子标准对照

洁 净 度 级 别	2010年版 GMP	相当于ISO 标准	98年版GMP	相当于ISO标准
	A	动态IS05	100级	IS05
		静态IS05		
	B	动态IS07		
		静态IS05		
	C	动态IS08	10000级	IS07
		静态IS07		
	D	不作规定	100000级	IS08
		静态IS08		

洁净区微生物监测的动态标准⁽¹⁾

洁净度级别	浮游菌 cfu/m ³	沉降菌 (ϕ 90mm) cfu /4小时 ⁽²⁾	表面微生物	
			接触 (ϕ 55mm) cfu /碟	5指手套 cfu /手套
A级	<1	<1	<1	<1
B级	10	5	5	5
C级	100	50	25	—
D级	200	100	50	—

注：（1）表中各数值均为平均值。（2）单个沉降碟的暴露时间可以少于4小时，同一位置可使用多个沉降碟连续进行监测并累积计数。

《GMP附录-细胞治疗产品》征求意见稿

食品药品审核查验中心

洁净度级别	细胞治疗产品生产操作示例
B级背景下的局部A级	1. 处于未完全密封状态下产品的生产操作和转移； 2. 无法除菌过滤的溶液、培养基的配制； 3. 病毒载体除菌过滤后的分装。
C级背景下的A级送风	1. 生产过程中采用注射器对处于完全密封状态下的产品、生产用溶液进行取样； 2. 后续可除菌过滤的溶液配制； 3. 病毒载体的接种、除菌过滤； 4. 质粒的除菌过滤。
C级	1. 产品在培养箱中的培养； 2. 质粒的提取、层析。
D级	1. 采用密闭管路转移产品、溶液或培养基； 2. 采用密闭设备、管路进行的生产操作、取样； 3. 制备质粒的工程菌在密闭罐中的发酵。

空气净化

细胞制剂制备质量管理自律规范（中国医药生物技术协会）

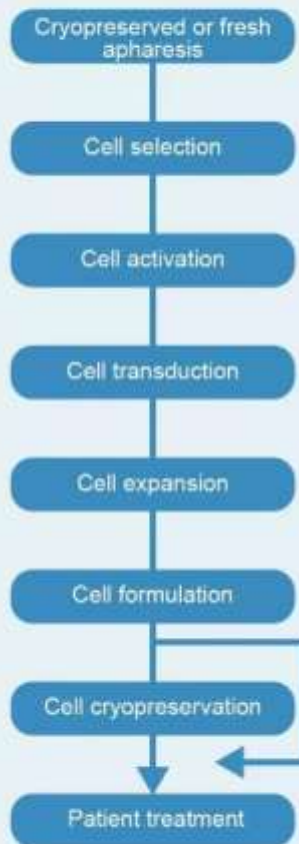
- **干细胞制剂**：第三十五条 应按照工艺规程设计相应操作区的洁净度级别，非完全密封状态下的细胞操作（如分离、培养、灌装等）以及与细胞直接接触的无法终端灭菌的试剂和器具的操作，应在 **B 级背景下的 A 级** 环境中进行。
- 在隔离系统或密闭自动制备系统可采用 **C+A**。
- **干细胞** 有些来源于暴露于外环境的组织（如**脐带**、**胎盘**等），应有**独立的预处理间**，检测合格后再进入生产制备区。

密闭隔离操作系统 可以采用C级制备间



CliniMACS™ Prodigy System

Mastering the complexity of cell processing



CliniMACS™ Prodigy

Meeting All Your Needs in
CAR T Production

全自动多功能细胞处理系统

德国美天旌
生物技术有限公司

可在C级制备间
制备

洁净室内的温度和湿度应符合下列规定

GB50457-2008

- ◆生产工艺对温度和湿度无特殊要求时，以穿着洁净工作服不产生不舒服感为宜。
- ◆100级、10000级区域：温度为 $20\sim 24^{\circ}\text{C}$ ，
（A级 C级） 相对湿度为 $45\sim 60\%$ 。
- ◆100000级区域： 温度为 $18\sim 28^{\circ}\text{C}$ ，
（D级） 相对湿度为 $50\sim 65\%$ 。

噪音控制

GB50457-2008

- 非单向流医药洁净室的噪声级不应大于60dB，单向流和混合流医药洁净室的噪声级不应大于65dB。

单向流：百级风幕下方为回风系统。

洁净室内应保持一定的新鲜空气量

- 室内每人新鲜空气量不应小于 $40\text{m}^3/\text{h}$ 。
- 实际使用中减少新风，以节约能耗，但前提是要保证人员舒适度，不能觉得闷。也可选用总风量的15%左右作为新风量。
- 新风口过滤网要经常更换，应易于更换。

洁净室必须维持一定的正压

- 不同空气洁净度的洁净区之间以及洁净区与非洁净区之间的静压差**不应小于10Pa**。
- 同级别制备间和洁净走廊前者压力高于后者。
- 要考虑外排式生物安全柜开启后，增加的排气量对压差的影响。

工艺设计

- 体细胞生产的工艺流程不同于传统药物，规模小，多批同时进行，人为操作多，为了防止交叉错误，一个制备间同期只制备同一批样品为好。
- 分别设置人员和物料的进出口通道。
- 制备区不设上下水。如一更室设洗手池，则排出的洁净空气不要回风，直接外排不参加再循环为好。
- 涉及病毒污染样品，或应用病毒转基因细胞制剂，应考虑人和物单向流。

其他考虑

- 消毒设施（臭氧、UV灯、过氧化氢等）。
- CO₂管路，接口阀门。
- 闭路监视系统，压差、细胞库氮气监控。
- 尘埃粒子监控
- 对讲系统
- 物料、试剂、耗材等库房（待检、合格区）。
- 双路供电。
- 消防：消防设备，消防通道。
- 防鼠和蚊虫
- 污水处理
- 纯水制备

密闭
安全门
或
设备门





制备病毒转染细胞制剂

生物安全柜为外排式

压差监控



温湿度监控



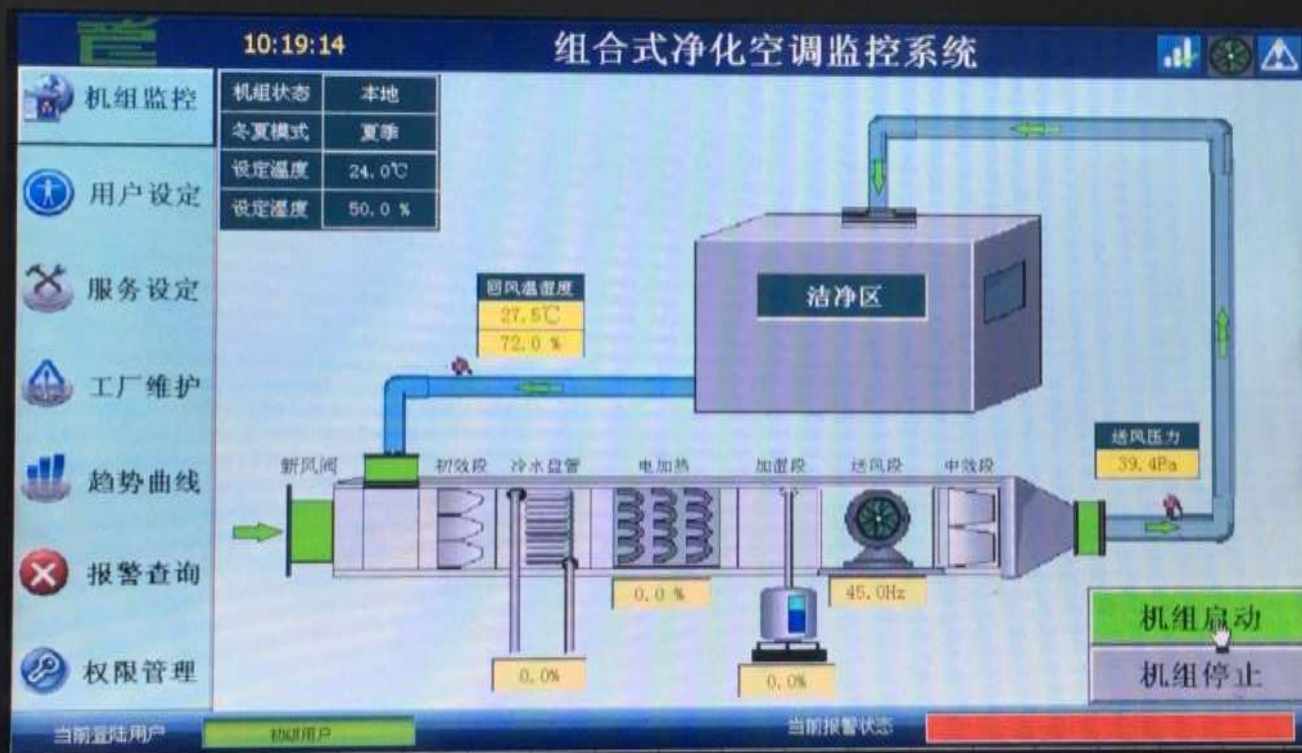
温湿度悬浮粒子监控



组合式净化空调监控系统

MCGS

净化机组 JJ-3



细胞库液氮罐储存区氧气气体监控报警，空气外排



干细胞临床研究备案 单位抽查中发现细胞 制剂车间存在的问题

依据细胞制剂特性和生产制备工艺考虑 细胞制剂间设计框架

- 1、非病毒细菌污染个体化细胞制备间，可与同级别洁净走廊直接相通。垃圾可在洁净走廊设统一的污物传递窗。
- 2、病毒阳性细胞，以及病毒转基因细胞制备间最好采用人和物单向流，从洁净走廊进入制备间不再返回。生物安全柜采用外排式。
- 3、外界暴露过的组织细胞样品（脐带、胎盘等）进行批量制备生产，应设立预处理间。预处理间、人流、物流为独立机组。经检验合格的样品再传入生产制备区。
- 4、洗消间人流、物流可设为独立区域机组。细胞制剂不同于常规生物制药，通常采用一次性耗材，无需天天高温消毒物品，不用不开，可节省能源。

有些属于个人看法仅供大家讨论参考

谢谢！

祝我国体细胞治疗健康快速发展！

联系电话：18059820736

中国人大网公布了《中华人民共和国药品管理法（修订草案）》

第三十八条 开办药品生产企业，必须具备以下条件：

- （一）具有依法经过资格认定的药学技术人员、工程技术人员及相应的技术工人；
- （二）具有与其药品生产相适应的厂房、设施和卫生环境；
- （三）具有能对所生产药品进行质量管理和质量检验的机构、人员以及必要的仪器设备；
- （四）具有保证药品质量的规章制度，并符合国务院药品监督管理部门依据本法制定的药品生产质量管理规范要求。