

最終滅菌作業指導手冊

行政院衛生署
中華民國九十六年二月

序

藥品品質攸關國民健康，為了維護國民用藥安全及建構西藥製造業持續的競爭優勢，並配合行政院「加強生物技術產業推動方案」，衛生署將提昇我國 GMP 管理層次及國產製藥品質列為施政首要目標。自民國 71 年 5 月公布實施「優良藥品製造標準(GMP)」以來，國內藥廠製藥水準已有極大幅度的提升。隨著科技的進步與技術的發展，GMP 作業的要求與規範也愈趨嚴格，茲為持續提升國內製藥水準，確保藥品品質，衛生署於民國 84 年推動無菌製劑確效作業，更於民國 88 年 10 月 21 日公告「藥品確效作業實施表」，將藥品確效作業擴及一般製劑，分三階段推動實施全面確效作業，推動迄今國內 163 家製藥工廠已全面通過 cGMP 三階段確效作業之評鑑，製藥品質與技術與世界先進國家同步。

無菌操作是製藥工業中要求最嚴格之作業之一，為維持一貫無菌標準的製造能力，本署已於民國 84 年 11 月編訂「滅菌過程確效指導手冊」，供業者執行無菌確效之參考。隨著製藥技術及水準不斷提升，對於生產高風險性無菌製劑產品品質之要求也漸趨嚴謹，國際藥品品質觀念不斷進步更新，GMP 的要求由原本為避免傷害而提出政策性規範，到基於科學性思考、風險考量及涵蓋完整生命週期之品質管理系統的建立，更有效的、持續的確保藥品品質，方能提升競爭力。

本「最終滅菌作業指導手冊」係主要參考 FDA、PIC/S GMP Guide 等相關國際規範，並參酌國內相關資料制訂，目的在於提供無菌作業之各作業程序及實務要求，協助以最終滅菌製造無菌藥物及生物製劑之製造業者，俾能符合現行藥品優良製造規範之規定。本指導手冊係原則上之建議，藥廠亦可採用其他具適當科學理論依據的方法來執行無菌操作作業。

行政院衛生署藥物食品檢驗局

中華民國九十六年二月

目 錄

第一章 前言.....	1
第二章 背景.....	2
一、法規層面.....	2
二、技術層面.....	2
第三章 範圍.....	5
第四章 建築物與設施.....	6
一、重要區域(100級區，ISO第5級區).....	7
二、支援之潔淨區域.....	8
三、潔淨區之分隔.....	9
四、空氣過濾.....	9
(一) 薄膜過濾.....	9
(二) 高效率空氣過濾器.....	9
(三) 空氣調節處理系統 (HVAC)	11
五、設計.....	12
六、水系統.....	14
(一) 純水系統.....	14
(二) 注射用水系統.....	15
七、滅菌設備.....	16
(一) 滅菌器.....	16
(二) 溫度監控設備.....	17
(三) 滅菌程序及確效作業.....	17
八、過濾設備.....	18
(一) 過濾器的選擇.....	18
(二) 系統使用的技術要求.....	19
九、充填/封蓋設備.....	20
(一) 充填機.....	20
(二) 密封設備.....	21
(三) 容器密封性檢查.....	21
第五章 人員訓練、資格認證、及監測.....	22
一、人員.....	22
二、實驗室人員.....	23
三、人員監測計畫.....	23
第六章 組成物與容器/封蓋.....	24
一、組成物.....	24
二、容器與封蓋.....	24
(一) 製備.....	24

(二) 容器封蓋系統的檢視.....	25
第七章 內毒素管制.....	26
第八章 時間界限.....	27
第九章 最終滅菌作業程序	28
一、清潔作業.....	28
(一) 原位清潔系統的設計.....	28
(二) 原位清潔系統的確效作業.....	28
(三) 合格標準.....	28
二、滅菌作業.....	29
三、過濾作業.....	30
四、驗證作業.....	30
(一) 微生物控制.....	30
(二) 監控標準.....	31
(三) 監控方法.....	31
(四) 澄明度.....	32
第十章 結語	33
詞彙.....	34
附錄一.....	38
附錄二.....	39
附錄三.....	40
附錄四.....	41
參考資料.....	43

第一章 前言

本指導手冊之編訂旨在協助以最終滅菌製造無菌藥物及生物製劑之製造業者，俾能符合行政院衛生署所頒行的攸關現行藥品優良製造規範之規定。

本指導手冊中各作業程序及實務所敘述之要旨，將有助於提升無菌藥物之製造能力，以符合涉及現行藥品優良製造規範之規定，諸如設計能力、設備適用性、製程確效及品質管制等。

本指導手冊主要參考相關國際規範之內容，並參酌國內相關資料制訂，係原則上之建議。本指導手冊所列者並非最終滅菌作業之唯一方式，業者尚可採用其他具適當科學理論依據的方法來執行最終滅菌製造作業。

第二章 背景

本章係就法規及技術兩個層面簡要說明行政院衛生署制訂本指導手冊之理由。

一、法規層面

依據藥品優良製造規範規定，為避免人用藥品無菌製劑受到微生物污染，應訂有書面作業程序並確實遵守，這些作業程序應包括滅菌作業過程。滅菌作業確效是根據一系列的實驗計畫書及實驗結果（參數）來確認滅菌過程的有效性，其結果應顯示此滅菌過程及相關的管制及操作標準，可以用來重覆製造出符合無菌品質的藥品。

二、技術層面

- (一) 滅菌作業需包括裝載型式、最大裝載量的確效；最低滅菌條件測定其最不易滅菌地方，以確保成品無菌。此外，滅菌作業的再確效、再滅菌的規定、產品負荷菌的規格及管制計畫、容器封蓋組合密封性等，以及滅菌過程對藥品物理性或化學性的影響等均是滅菌作業要素。滅菌過程的確效可以用適當的媒介物代替，不需一定要用實際的產品試驗三批來判定；但其狀況及條件應與實際生產時一樣，如此取得之資料才能代表並證明實際產品的無菌性。
- (二) 最終滅菌之產品其相關的組成物/元件與大多數產品的製備，應至少在潔淨度 100,000 級區之環境中執行，以便管控過濾與滅菌之微生物與微粒子污染，最終滅菌之產品的充填，至少應要在潔淨度 10,000 級區之環境中執行。（潔淨度分級以 Fed. Std. 209E 為依據，參見表 2-1）

表 2-1 潔淨度 CLASS 表示之對應

規格	美國聯邦規格 Fed. Std. 209E*	日本規格 JIS B9920	ISO 規格 14644-1	EU-GMP 規格 (非作業時)	WHO-GMP 規格 (非作業時)	PIC/S 規格 (靜態)	台灣現行 常用標準
粒徑 $\geq 0.5 \mu\text{m}$ 粒子濃度 \leq 個/ m^3	CLASS	CLASS	CLASS	CLASS	CLASS	CLASS	潔淨度
350	CLASS10	CLASS 4	CLASS 4				
3,500	CLASS100	CLASS 5	CLASS 5	CLASS A	CLASS A	A	一區
3,500	CLASS100	CLASS 5	CLASS 5	CLASS B	CLASS B	B	
35,000	CLASS1,000	CLASS 6	CLASS 6				
350,000	CLASS10,000	CLASS 7	CLASS 7	CLASS C	CLASS C	C	二區
3,500,000	CLASS100,000	CLASS 8	CLASS 8	CLASS D	CLASS D	D	三區

* 美國於 2001 年 11 月 29 日正式廢止使用 209E，改採 ISO 14644(ISO 14644-1、14644-2)。

- (三) 所有設備如滅菌器、空氣過濾系統、水處理系統（包括蒸餾水）均應按計畫進行驗證、維護和監控。
- (四) 如有新作業程序被使用前應經過確效；並應執行是否維持於確效狀態之評估；設備或作業程序有重大變更時應進行再確效。
- (五) 任何滅菌方法在正式使用前，該方法對產品的適用性以及每一裝載方式下被滅菌的產品是否達到規定滅菌要求，都應經過確效，且應定期進行再確效，每年至少一次。
- (六) 蒸氣滅菌之實施，有過度滅菌法與非過度滅菌法。

最終滅菌（蒸氣滅菌為主）醫藥品之微生物污染率要求達到 10^{-6} ，為了殺滅微生物，必須給予一定量以上之熱量，這就關係到溫度與時間。但微生物因種類不同，對熱之耐受性有強弱之別。

不論多強之微生物存在，設定可殺滅之條件，且能證明致死效果者，為過度滅菌法。

限定微生物種類，能證明殺菌效果者，為非過度滅菌法。

若能採用過度滅菌法，滅菌確效較容易。微生物之外，醫藥品本身對熱之耐受性也有強弱不同，醫藥品本身對熱之耐受性強之場合，應採用過度滅菌法，對熱之耐受性弱之場合，滅菌時降低溫度，評估非過度滅菌法之適用條件。對熱非常不安定醫藥品，則宜以無菌操作，防止菌之污染，這種場合，無菌性保證只有 10^{-3} 。

過度滅菌法係以D值 1 以上之菌，來設定使其生存菌數成為 $1/10^{12}$ 之條件。D=1 之場合， 121°C 12 分鐘則 $\text{SAL}=10^{-12}$ ，通常以 20 分鐘~30 分鐘執行過度滅菌法滅菌，這是假設最強之菌D值以 2~3 來考慮，事實上通常之菌D值都在 1 以下，因此採用本法時，遵照滅菌機設計被運轉的話，不管何種菌存在，都足以保證具 $\text{SAL}=10^{-6}$ 之能力。

製品之滅菌等，若從藥劑之安定性考量，可以 115°C 30 分鐘之條件實施蒸氣滅菌，但這樣的非過度滅菌法滅菌，必須能證明其滅菌處理之溫度與加熱時間足以使滅菌後微生物降低至一定程度，因此必須調查負荷菌，故本法別名：bioburden 法。負荷菌之對象包括製品（原料、賦形劑）、直接容器等，以其中最具耐熱性之菌作為指標菌。

過度滅菌法要求指標菌減少 10^{12} ，非過度滅菌法現在並無規定數值。

通常指標菌以 (1) 10^{12} (2) 10^6 (3) 「負荷菌 $\times 10^3$ 」之菌數減少的條件而被採用，如以其中條件最緩和的 (3) 負荷菌 $\times 10^3$ 為例：

滅菌前之小瓶或安瓿內之菌數為 100 個/瓶時，則以可滅菌 $100 \times 10^3 = 10^5$ 之指標菌為條件（此為參考例）。

正確實行非過度滅菌法必須調查負荷菌，探知其中具最高 D 值之菌。通常以顯示耐熱性之芽孢為對象。據知可形成芽孢之菌有六屬，以 *Bacillus* 屬與嫌氣性之 *Clostridium* 為主，其他幾近不存在之菌無妨忽略之。

其中最具耐熱性之芽孢菌 *Bacillus stearothermophilus* ATCC 7953 之孢子若僅只以 115°C 30 分鐘執行蒸氣滅菌，並不能完全致死，因為本菌比其他種類的芽胞更具耐熱性，在日常之微生物管理使用時要特別提高警覺，尤其在對象是熱不安定之水性注射劑時，本菌不適宜被採用作為指標菌，最好使用 D 值明確之。

第三章 範圍

最終滅菌作業除適用於大型輸注液（容量大於或等於 100mL 之靜脈點滴輸注液）之滅菌外，其他產品（如醫療器材）、包材、或原料以單獨或合併方式利用高壓蒸氣、環氧乙烷或伽瑪放射線滅菌時亦適用之。

本指導手冊中範例是以大型輸注液之蒸氣滅菌說明之。

第四章 建築物與設施

依現行藥品優良製造規範之規定，最終滅菌或無菌場所必須在適當管制下、並有分隔的作業區域，以達到依各作業特性所需之不同等級的空氣品質。應基於滿足區域內設備、組成物、暴露的產品、以及在該區內所進行之特定作業所要求之微生物學的 (microbiological) 與微粒子的明確標準來進行該區域的設計。

最終滅菌或無菌操作作業之重要區域及其相關的支援區域應予分級，並以驗證研究過程中所獲得的微生物學的與微粒子的數據來證實其等級。雖然首次的潔淨室驗證應包括某些完工時(as-built)及靜態條件下之空氣品質的評定，但最終之房間或區域的等級則應由動態條件(亦即：人員在場、設備就位、作業進行中)下所產生的數據，予以確定。最終滅菌或無菌操作場所的監測計畫亦應包括在動態條件下，例行地評定各場所符合其特定潔淨區域等級之情形。

潔淨區域之空氣等級摘要如下表：

表 4-1 空氣等級^a

潔淨區域等級 (0.5µm 微粒子數/立方呎)	ISO 等級標準 ^b	≥0.5µm 微粒子數/立方公尺	浮游微生物行動水準 ^c (cfu/立方公尺)	落菌培養皿微生物行動水準 ^{c,d} (直徑90mm; cfu/4 小時)
100	5	3,520	1 ^e	1 ^e
1000	6	35,200	7	3
10,000	7	352,000	10	5
100,000	8	3,520,000	100	50

^a 所有等級均係基於活動期間暴露之原物料/物品之鄰近區域的量測數據。

^b ISO 14644-1 等級標準提供多類產業潔淨室之統一微粒子濃度值。ISO 5 級之微粒子濃度與 100 級相等，且與歐盟之 A 級近乎相等。

^c 這些數值代表環境品質的建議水準。業者可以依作業的特性訂定適當的替代性微生物水準。

^d 採用落菌培養皿試驗是一個選項。

^e 正常情況下，100 級區 (ISO 5 級區) 環境之樣本應無微生物生長。

表 4-2 空氣等級(國際醫藥品稽查協約組織藥品優良製造準則, PIC/S)

等級	靜態 ^(b)		動態 ^(b)	
	微粒最大允許量 ^(a) / m ³			
	≥0.5 µm ^(d)	≥5 µm	≥0.5 µm ^(d)	≥5 µm
A	3,500	1 ^(e)	3,500	1 ^(e)
B	3,500	1 ^(e)	350,000	2,000
C	350,000	2,000	3,500,000	20,000
D	3,500,000	20,000	未界定 ^(f)	未界定 ^(f)

註：

- (a) 以離散浮游微粒子計數儀 (discrete air borne particle counter) 之使用為基礎的微粒子測量法，去測量等於或大於規定門檻之指定大小的微粒子濃度。連續的量測系統應使用於監測 A 級區中的微粒子濃度，而且也是建議使用於周圍的 B 級區。對於例行測試，對 A 級與 B 級區的總樣品容量不得少於 1 立方公尺，對 C 級區，最好也是這個容量。
- (b) 對於“靜態”狀態，表中所提供的微粒子條件，應在操作完成後的 15-20 分鐘 (指引值) 之短期“清除”期間之後的無人狀態中達到。對於“動態”的 A 級區，表中所提供的微粒子條件，每當產品或開口容器暴露於環境時，應在其鄰近圍繞產品的區域中予以維持之。當充填操作正在進行時，由於來自產品本身的微粒子或小液滴的產生，可能不是常常可以在充填點上展現符合微粒子標準時，是可以被接受的。
- (c) 為了要達到 B、C 及 D 級，空氣交換次數應與潔淨室大小及潔淨室中所存在的設備與人員互為關連。空氣系統應裝備適當的終端濾器，例如對 A、B 及 C 級為 HEPA 濾器。
- (d) 對於在“靜態”以及“動態”條件所允許的最大微粒子數所提供的指引，是大約相當於 EN/ISO 14644-1 中在 0.5 μ m 微粒子大小的清淨度等級。EN/ISO 14644-1 是指 BSI 1999 年版的 Cleanrooms and associated controlled environments. Classification of air cleanliness
- (e) 這些區域是期望要完全沒有大於 5 μ m 大小的微粒子。因為確認微粒子之不存在並具有任何統計意義，是不可能的，所以，將其限量設定為每立方公尺 1 個。在潔淨室驗證期間，應顯示這些區域可以維持在所界定的限量之內。
- (f) 這些要求與限量，將依所執行的操作之本質而定。

對於無菌產品品質特別重要的兩個區域為：重要區域及與其相關的支援潔淨區域。

一、重要區域(Critical area)(100 級區，ISO 第 5 級區)

重要區域是為保持暴露之已滅菌藥物、容器及封蓋之無菌狀態所需之環境條件而設計的區域。在此區域內進行的活動，包括充填前、充填中及封蓋作業中的無菌原物料操作(例如：無菌組裝、無菌有效成分之添加)。

本區之所以具重要性，係因產品裝於直接容器之後不再有進一步的作業、而且也極易遭致污染。為維持產品的無菌性，進行無菌操作(例如：設備之組裝、調整、充填)的環境應具適當的品質。空氣中微粒子含量是環境品質的一個項目。微粒子之所以重要係因它們自身可以侵入並污染產品、也可以充當微生物媒介而以生物學的方式進入並污染產品。重要區域的微粒子含量應以適當設計的空氣處理系統將其降至最低。

緊鄰已滅菌容器/封蓋暴露區域、及充填/封蓋作業區域的空氣，需具適當的微粒子品質；其品質標準為：於充填/封蓋作業中之氣流內、通常在不超過工作點一英尺範圍內之代表性位置取樣，其每立方公尺中等於及大於 0.5 μ m 之微粒子數不得大於 3,520 個；此空氣潔淨度水準亦即已知的 100 級(ISO 5 級)。對於偏離前述重要區域監測參數的情形，其發生原因及重要性均需有文件資料以資證明。

測量最終滅菌或無菌操作作業地區之空氣潔淨度時，應將微粒子計數器之探針定位於進氣氣流方向、且對於暴露的已滅菌產品與容器/封蓋最具潛在風險的位置。每個工作班次

的工作期間均應執行定期的監測。以遠端計數系統對於非活性微粒子的監測，通常比使用攜帶式計數器較不會受到侵入、且可提供最全面性的數據。詳細資料請見第十章第五節之“微粒子監測”。

某些粉末充填作業可能產生大量的粉末微粒子，依其特性，這些粉末微粒子並無造成產品污染之風險。此種狀況下，不可能在一英尺距離內量測空氣品質，而仍能將粉末微粒子的數量自空氣污染物中區分出來。此時，應儘可能在空氣取樣方法方面設法使取得之空氣樣本能代表產品暴露之環境空氣中，外來微粒子污染的真正水準。例如：在無實際粉末充填作業情況下所做的動態條件潔淨區初期認證，應可提供因作業而產生之非產品微粒子的背景資料。

重要區域內的空氣應經 HEPA 過濾器以層流方式供應至使用點、空氣的速度應足以將充填/封蓋區的微粒子排除、並維持作業過程中的單向氣流。每個加工作業線的既定空氣速度參數之合理性應經確認，並適於在該界定的空間內，維持動態條件下的單向氣流及空氣品質。

最終滅菌或無菌操作作業線或潔淨區的空氣應有適當的設計與管制，以防止產生亂流或停滯。一旦建立相關參數之後，即應評估氣流型態，以免產生亂流或渦流的氣流型態；亂流或渦流的氣流型態會成為空氣污染物(例如：來自相鄰較低潔淨區之污染物)聚集的管道或貯藏區。應進行氣流型態分析或煙霧試驗研究，以證明其為單向氣流，且該氣流能於動態條件下、向產品上方擴散後離開，而將污染物排除。這些研究應以附有書面結論的詳細文件以資證明，其內容應包括氣流型態對於無菌操作的影響。已知錄影帶或其他記錄裝置可用於對初期氣流進行評定，亦可使後續的設備配置變更評估更為順利。然而，要注意的是，即使經過成功驗證的系統也可能因不良的操作、維護、或人員的疏失而受到損害。

正常情況下，重要區域空氣的監測應不會有發現微生物污染物的結果。此環境如有污染應即刻仔細調查。

二、 支援之潔淨區域

支援潔淨區域具有不同的等級及用途。許多支援潔淨區域係供非無菌原料、調配後的產品、製程中物料、設備，及容器/封蓋之準備、暫存、移轉等作業之地區。這些支援區域的環境設計應能使最終產品之微粒子污染減至最低，並管制需經後續滅菌處理之物品及原料的微生物負荷量。

應依各支援潔淨區域內之作業的特性決定該區的潔淨度等級。100,000 級(ISO 8 級)區可用於諸如設備之初期準備等較非關鍵性的作業。緊鄰無菌操作作業線的區域，則在動態條件下至少應符合 10,000 級(ISO 7 級)的標準；製造業者亦可依作業的需求，將此區域定為 1,000 級(ISO 6 級)，甚或維持整個無菌操作充填室為 100 級(ISO 5 級)。

三、潔淨區之分隔

作業區域的適當分隔，是防止污染的重要方法之一。要維持較高潔淨區的空氣品質，則需注意對其相鄰的較低潔淨區，要達到適當的氣流與正壓差。較高潔淨度等級的房間對其相鄰的較低潔淨度等級的房間應有實質的正壓差；例如：分級區與不分級區之分界面至少應維持 10-15 帕(Pa)的正壓差；而當房門關閉時，如為無菌操作作業室與其相鄰的房間亦應維持相同的適當正壓差。當房門開啟時，往外的氣流應足以將入侵的污染減至最低；此外，可讓房門維持於微開狀態的時間，應予嚴格管制。各潔淨室之間的壓差應於整個工作班次期間持續監測，並頻繁記錄；如有偏離既定管制界限之情形，則應予以調查。

應訂定潔淨室的適當換氣速率。對於 100,000 級(ISO 8 級)的支援房間，足以達到每小時 20 次換氣數的氣流，通常可被接受。對於較高空氣潔淨度的區域，顯著地提高換氣速率，將可增加空氣的淨化程度。

應建立作業場所的監測系統，以快速地檢出會損害作業場所環境的異常變動。作業條件應於達到行動水準之前，即將其復原至既定的、驗證過的水準；例如：壓差規格應能於出現低壓問題時，即可立即警示而檢出，以免造成不分級區空氣侵入分級區的房間。

四、空氣過濾

(一) 薄膜過濾

壓縮氣體應具無油及無水氣等適當純度，且其微生物學的與微粒子的品質應相等於甚或優於引入該氣體之環境的空氣。諸如空氣、氮氣、及二氧化碳等壓縮氣體常於潔淨室使用，且頻繁地使用於清潔或置換等作業。

薄膜過濾器可將壓縮氣體過濾至符合適當的高品質標準。使用薄膜過濾器產生無菌壓縮氣體，以供進行諸如無菌原料、無菌設備等無菌組成物之相關作業；例如：高壓蒸氣滅菌機之空氣管路、凍晶乾燥機之真空斷路器(breaks)、及已滅菌原物料之貯存桶，均應使用無菌薄膜過濾器。已滅菌之貯存桶及其所盛裝的液體，均應於持續的正壓下貯存，以防止微生物污染；並應於適當位置裝設安全裝置，以防止由於壓力改變造成非無菌空氣或液體逆流而產生污染。

包括通氣過濾器等氣體過濾器應保持乾燥；氣體過濾器的冷凝液可能引致堵塞或微生物污染。故宜使用疏水性過濾器、並於適當情況時採用加熱處理，以防止困擾的濕氣殘留問題。過濾器應於安裝時、及安裝後(包括於使用終點)定期地執行完整性試驗；完整性試驗失敗時應予調查，且過濾器應每隔適當時間即予更換。

(二) 高效率空氣過濾器

維持 HEPA 過濾器完整性是確保無菌條件的基本要務。HEPA 過濾器應於安裝時即執行洩漏試驗，以檢出密封墊周圍、整個框架、或整片濾膜材質之各個點的破裂。如為無菌操作場所之 HEPA 過濾器在安裝測試之後，應每隔適當時間間隔即再執行洩漏試驗；例

如：無菌操作作業房間應每年執行兩次此種試驗。此外，當發現空氣品質不可接受、因場所翻修而可能造成天花板或牆壁結構鬆動、或配合培養基充填失敗或產品無菌性失敗之調查需要等情況時，皆應再追加試驗。在各種過濾器中，安裝於一般用以去除玻璃小瓶熱原之隧道式乾熱除熱原滅菌器的過濾器，亦應做洩漏試驗。

任何使用於 HEPA 過濾器挑戰試驗的煙霧劑，均需符合諸如黏度等關鍵性生化品質特性規格；例如 Dioctylphthalate (DOP)及 Poly-alpha-olefin (PAO)均是適當的洩漏試驗用煙霧劑。某些替代性煙霧劑因會導致被試驗環境之微生物污染風險，而造成問題。工廠應確保所使用的任何煙霧劑替代品均不會促進微生物生長。

過濾器之洩漏試驗與有效性試驗，兩者之間有很大的不同。有效性試驗係僅用於確定過濾器等級的一般試驗。一個完好無損的 HEPA 過濾器，應能將直徑大於 0.3 μm 的微粒子，至少濾除 99.97%。

在另一方面，定期執行洩漏試驗之目的是在於檢出過濾器材質、過濾器框架、或密封位置的洩漏。進行此種挑戰試驗應使用含有不同粒子大小的多分散性煙霧劑，組成該種煙霧劑之粒子大小，通常是在可用光掃描的、平均直徑在次微米大小的範圍、包括足量的逼近 0.3 μm 的微粒子。執行洩漏試驗時，如未於過濾器上游引入足量的已知大小之挑戰微粒子，則無法檢出洩漏。例如：依光譜儀的精密度，DOP 挑戰試驗時，應依過濾器之原設計氣流等級，於過濾器上游引入每公升空氣中約含 25 至 100 μg 濃度範圍的 DOP。洩漏試驗應於過濾器安裝之現場、用適當的光譜儀探針在過濾器的下游，以每分鐘至少一立方英尺的速率掃描過濾器表面。然後計算所測得之洩漏到下游的煙霧劑佔上游挑戰煙霧劑之百分比。掃描時，應於過濾器表面下方約一至二英尺位置對整個過濾器表面及框架進行掃描。所有這些 HEPA 過濾器的掃描作業應有完整文件以資證明。

挑戰試驗結果下游之單支探針讀數到達上游讀數的 0.01%時，應被認為顯著洩漏的徵象，同時應考慮 HEPA 過濾器的更換，或適當的局部修補。任何修補的區域均需執行後續的再試驗確認。

單獨的 HEPA 過濾器洩漏試驗並不足以監測過濾器的性能。此試驗通常僅每半年做一次。重要的是要進行定期的諸如橫跨整個過濾器(及與其相關的鄰近過濾器)之速度均勻性等過濾器品質特性的監測。速度的變化通常會增加污染的機率，因為這些諸如速度下降等的改變可能影響單向氣流(unidirectional airflow)。重要區域內 HEPA 過濾器的氣流速度應在距離過濾器表面六英尺、且在與緊鄰之工作檯面的規定距離內測定。定期的速度監測可提供執行無菌操作作業之潔淨區的有用數據。HEPA 過濾器應於檢出過濾器表面之某個區域空氣速度不均勻時、或氣流型態可能有不良影響時，即予更換。

雖然供應商常提供這些服務，但藥物製造業者應負責確保這些基本的認證活動均已充分執行。

(三) 空氣調節處理系統(HVAC)：以最終滅菌作業為例，說明應採取的措施。

1. 經高效率空氣過濾器淨化的空氣以層流形式送風，以保證充填區的清淨環境。高效率空氣過濾器往往都安裝在清淨廠房天花板的進風口；現代化的充填設備本身也配有高效率空氣過濾器。
2. 充填區環境均應為 10,000 級，對 100,000 級等低級區的壓差一般在 10-15 Pa（1.0-1.5 mm 水柱）。
3. 由空氣調節處理系統確保生產環境所需要的溫濕度條件。
4. 人流、物流動線各自獨立，分別通過各自的緩衝室進入清淨區，以防止交叉污染。每個高效率空氣過濾器應進行洩漏試驗，煙霧劑的粒徑約 $0.3\mu\text{m}$ 。此外通往 10,000 級區的更衣室，應有壓差顯示。
5. 廠房清淨度確認的關鍵在空調淨化系統，它包括 5 個關鍵要素：
 - 5-1 高效率空氣過濾器的完整性測試
 - 5-2 微粒子及微生物的控制(參見表 4-3)
 - 5-3 氣流方向及送風量(換氣數)測試
 - 5-4 房間壓差的測試及調節
 - 5-5 溫度與濕度的控制

表 4-3 動態潔淨區之微生物監測的建議限量 (PIC/S)

等級	微生物污染的建議限量 ^(a)			
	空氣樣品 cfu/m ³	落菌培養皿 (直徑 90mm)， cfu/4 小時 ^(b)	接觸培養皿 (直徑 55mm)， cfu/培養皿	手套指印 印 5 根手指/手套 cfu/手套
A	<1	<1	<1	<1
B	10	5	5	5
C	100	50	25	-
D	200	100	50	-

注：^(a)這些都是平均值

^(b)個別的落菌培養皿暴露時間可少於 4 小時

6. 廠房及空調淨化系統確認應當確立系統正常運作的名稱參數，如房間的壓差、高效率空氣過濾器二側的壓差及總送風量/風速等，同時在生產運作時應將系統列入日常監控計畫。
7. 某一運作參數的改變都會對作業環境帶來不利的影響，例如：高效率空氣過濾器在長期使用阻力增大，致送風量減少，房間壓差雖可以保持，但此房間的換氣數將變少，系統的自淨能力減弱，空氣品質惡化；此外，在夏季換氣次數的下降，還可能導致房間的室溫難以維持在既定的溫度範圍等問題。

8. 環境管理要素如下：

8-1 潔淨室壓差：所有運轉條件，對周圍區域使維持正壓，通常級別間(class)壓差使維持在 10-15 Pa（1.0 mm 水柱~1.5 mm 水柱）較適當。

8-2 溫度/濕度：一般室溫使維持 20°C~23°C，濕度使維持在 40%~60%較適當。

8-3 換氣回數：每小時 20 回以上較適當。（參見圖 4-1）

利用室內換氣次數 20 作為房間的分級

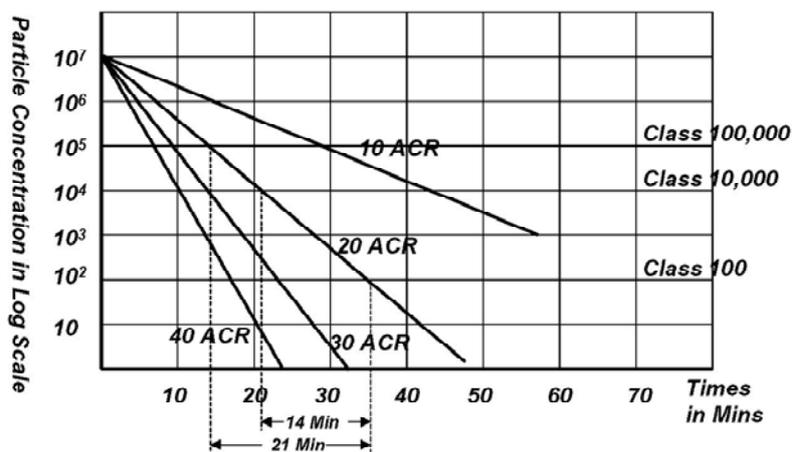


圖 4-1 潔淨度分級規劃與改善措施規劃考量

五、設計

設計無菌製程的目的，是要在製造作業中，將無菌物品因暴露而引致的可能污染風險降至最低，以減少最終滅菌之負荷菌。限制各無菌產品成分的暴露時間、提供最佳的環境管制、製造流程的最佳化、以及防止較低品質空氣混入 100 級(ISO 5 級)潔淨區之設備的設計，均是達到高無菌性保證的方法。

應將人流與物流最佳化以防範不需要的活動，因那些不需要的活動可能會提高將污染物引入暴露之產品、容器/封蓋系統、或周遭環境的可能性。設備的配置應考量使作業人員感覺最舒適與最方便移動的人體工學。在無菌操作作業室的人數應減至最少。人員行動路線的設計應能限制人員的流動頻率，此設計可經由人員進出無菌操作作業室(尤其最重要的是室內之重要區域)必須以登記的方法來達成。就重要區域而言，應將物料轉移至隔離設施內或傳統潔淨室之重要區域內的次數減至最少。為防止氣流變動而引入較低品質的空氣，應適當限制在重要區域附近範圍內的活動。

無菌過程中的任何干擾或中斷，都有可能增加污染的風險。使用於無菌操作作業之設備的設計，應限制人員以無菌操作方法介入無菌過程的複雜性與次數；例如：可將重量核對裝置整合於作業線上以取消重要區域內的重覆手工操作，從而減少人員的介入。不採取滅菌後再行無菌組裝，而採預先組裝再以原位滅菌(SIP)技術進行滅菌的方法，亦可免除重

要的無菌操作步驟。使用包括諸如機器人等技術的其他作業步驟自動化方法，可進一步降低對於產品的風險。

產品的移轉，應於適當的潔淨室環境下進行。例如：冷凍乾燥過程包括已完成無菌充填的產品到已完成半封蓋的容器所進行移轉；為防止污染，這些半封蓋的無菌產品應僅能在重要區域內移轉；其場所之設計應確保充填作業線與凍晶乾燥機之間、以及輸送與裝載作業均能有 100 級(ISO 5 級)的保護。

無菌產品、容器、封蓋均應以適當設計的設備予以保護。應於適當的位置使用精心設計的簾幕、堅固的塑膠屏障、或其他的隔離區，以達到無菌操作作業線的明確隔離。使用隔離設施系統可進一步提高產品的保護。

由於最終滅菌或無菌操作作業場所內各房間均相互獨立，因此必須仔細界定及管制經許可的各潔淨室之間的往來活動。產品的流程通常是由較低級區流往較高級區，使用雙門式或整合型的滅菌器，會有利於確保產品適當的直接流向。氣鎖室及連鎖門可使整個無菌操作作業場所的空氣平衡得到更好的管制。氣鎖室應安裝於無菌操作作業區入口及與該區相鄰之非管制區之間。其他諸如人員進出區或原物料移轉區等分界位置，也均適合安裝氣鎖室。對於諸如製程中補給供應品、設備、器具等原物料，由較低管制區移往較高管制區時，應非常注意適當的管制以防止污染物的流入。例如：應於書面作業程序中詳述原物料應該如何移入無菌操作作業室，以確保房間的環境條件不會遭到破壞；要達到這個目的，原物料就應依適當的作業程序予以消毒。

潔淨室通常是依特定目的之功能需求而設計。精心設計的潔淨室是以易於清潔及消毒的材料所建造。例如：無接縫且為圓弧狀的牆壁與地板接合線、易於清潔處理的牆角，均是適當的設計特色。地板、牆壁、及天花板表面須平滑且堅硬，以易於清潔。高效率微粒子空氣過濾器與天花板接合處之設計，應能防止無菌原物料受到污染。潔淨室內亦不應存有不需要之設備、工具、夾具、或原物料。

加工作業設備及系統應配備衛生級配件及閥門。除了很少的例外，列入潔淨室等級的無菌操作作業場所，並不適合裝設排水設施。

設備應經適當的設計，使其易於以適用的滅菌方法進行滅菌。易於安裝以利無菌組裝，也是設備的重要考量。設備設計對於潔淨室環境的影響應予強調。水平的表面及凸出牆壁的壁架均易積存微粒子物質，應予避免。設備不應阻礙氣流，重要區域的設備之設計，不應造成氣流的擾亂。

偏差或變更管制系統中，應詳述空氣處理系統或其他共用設施停止運轉所致之異常狀況的處理、並要敘明廠房構築活動對場所管制的影響。

六、水系統（純水及注射用水）

（一）純水系統

可由下圖（圖 4-2）中瞭解其設計及安裝要求。

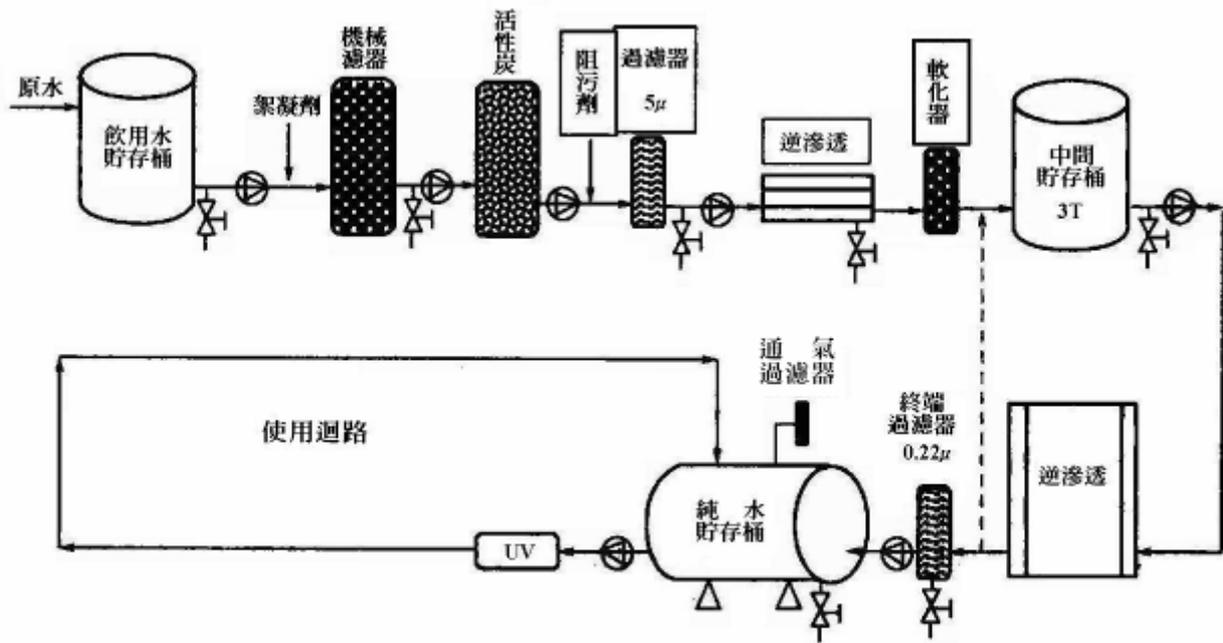


圖 4-2 純化水系統流程圖

1. 紫外燈滅菌最佳波長 254nm，常用在使用回路中，也可以預處理回路的適當位置，以控制微生物的增長。但仍須注意紫外燈在使用過程的老化現象，況且它的穿透性差，不能殺死生物膜內（Biofilm）的微生物。
2. 石英砂及活性炭過濾器分別用於初濾，除去較大不溶性微粒、某些有機物及熱原。逆滲透用高壓及逆滲透膜將水純化，除去水中鹽類、有機物及內毒素。二級逆滲透進一步除去水中帶電的無機離子、有機物及內毒素。應當注意，活性炭在吸附水中餘氯的同時，使自身也成了微生物滋生的場所，從而加重了後道逆滲透的負擔並會縮短他的使用壽命。因此，在活性炭柱設巴氏消毒裝置是非常必要的。使用巴氏消毒定期對活性炭柱進行處理，其作用有兩個方面：一是殺滅微生物；二是某種意義上的再生，巴氏消毒使活性炭發了解吸附作用，經反沖後增強了其處理能力，常見程序是 80°C 以上，消毒 1 小時，可有效的控制微生物污染，在純化水系統的使用回路也使用巴氏消毒器，其消毒程序是 80°C 以上 2 小時。

(二) 注射用水系統

一般以純水為原料水，用蒸餾機製備而得。也可以以軟水(硬度 $< 0.2\text{DH}$)為原料水製備。注射用水系統參見圖 4-3。系統的設計和安裝中應特別注意材質在高壓下的惰性，結構及安裝利於清潔與滅菌要求。注射用水須監測內毒性及微生物含量；一般取樣量應為 100 至 300mL，不得低於 100mL。

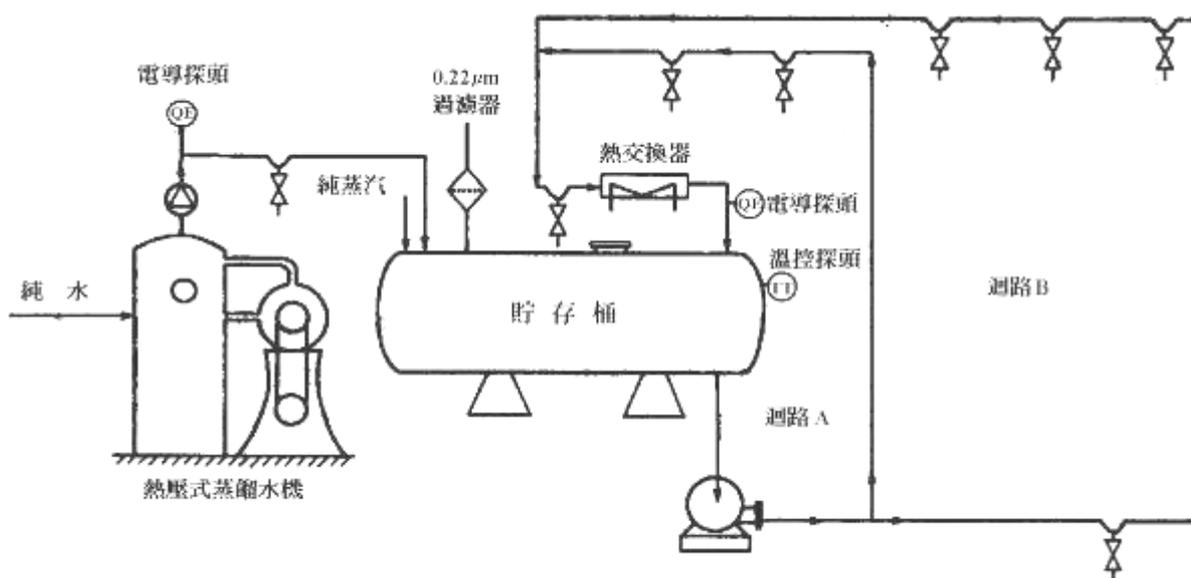


圖 4-3 注射用水系統圖

1. 管路系統

- 管路應以電解拋光、鈍化等方法進行內表面處理，宜用 316、316L 或同類等級不銹鋼材質。
- 管路之焊接宜用氣弧焊接，管路應適度傾斜，且在管路低處應設排水閥，以便必要時將系統內的水全部排空。
- 管路應為獨立的系統，即儲水槽和各使用點構成的循環回路中，在任何使用點（如洗瓶機）都不允許和熱水管路或其他管路以閥門分隔的形式共用管道。
- 循環泵應當採用機械密封方式，並用注射用水作潤滑劑及隔離液。
- 回路保持 80°C 以上循環，在使用點上安裝熱交換器，以備供應冷水。
- 系統應能使用純蒸氣進行滅菌處理。

2. 貯水桶

- 不銹鋼材料其要求與管路系統相同。
- 外有保溫層，並有溫度、水位及導電度的自控系統。
- 通氣處宜安裝 $0.22\mu\text{m}$ 或更小之疏水性除菌過濾器，以防冷凝水或積水堵塞等問題，導致系統運作中貯存桶呈現負壓，致使污染的空氣從使用點進入注射用水系統，造成整個系統的污染。

3. 控制微生物的特殊措施

- 水系統中的水應始終處於循環狀態，以避免死水造成生物膜（Biofilm）的存在，此粘膜狀的物質往往是造成水系統監測結果偶發性或週期性異常的因素。最經濟簡單的方法是用 $2.5 \times 10^{-4} \sim 3.5 \times 10^{-4}$ 的氯水沖洗配水管路，如發現水已經混濁，則說明生物膜已形成，必須立即清除。
- 避免盲管：循環管路上其長度不宜使用大於直徑 6 倍的支管或閘門，該處因水的流動性小，特別容易長菌。
- 加熱滅菌：對純水系統而言，因是一個冷系統，其循環方式不足於控制微生物污染，比較合理的滅菌方法，一般為紫外燈、臭氧、巴氏消毒，其雖不能將芽孢殺死，但對營養細胞而言是有效的。

對注射用水系統，其系統保持在巴斯德滅菌溫度 80°C 以上，已被普遍使用。但亦有「高溫貯存（ 85°C ）較低溫循環（ 80°C ）」之設計，亦能達到控制微生物污染之目的，從安全及節約能源角度是有其優點的。

4. 系統的確效驗證

依公定藥典規定執行（參見水系統確效作業指導手冊）。

七、滅菌設備

（一）滅菌器

滅菌器是無菌產品生產中的關鍵設備，故應理解其結構，並進行研究，瞭解運作原理、功能及設計與為符合 cGMP 和生產作業要求所採取的特殊方法，是做好驗證工作的重要先決條件。

1. 滅菌設備的驗證工作，往往需要和產品的滅菌條件結合起來同時進行。滅菌器的基本滅菌程序為：

- 裝載→升溫、進蒸氣置換空氣→滅菌→排氣→預熱水冷卻→卸載。
- 滅菌過程中，同一時間滅菌器內不同部位的溫度及加熱程度中的升溫或冷卻過程中的降溫速度是有差異存在的（參見圖 4-4）。要使產品達到 F_0 值大於或等於 8 的要求，應當適當延長滅菌時間或提高滅菌溫度。

以下是 $F_0 \geq 8$ 的可以選用條件的例子：

110°C	110min	116°C	25min	119°C	12.6min
113°C	50min	117°C	20min	120°C	10min
115°C	31min	118°C	16min	121°C	8min

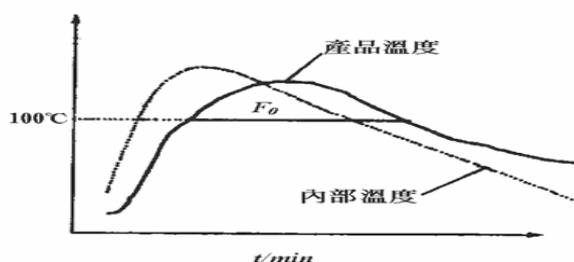


圖 4-4 滅菌器內部溫度曲線圖

2. 滅菌設備的驗證基本上包括安裝/操作/性能三部分，新設備應考量納入設計驗證(DQ)。(參考圖 4-5)

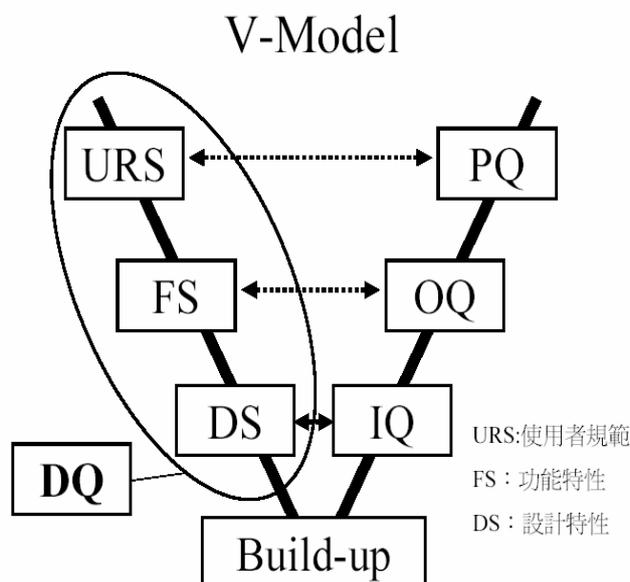


圖 4-5

(二) 溫度監控設備

溫度和時間是滅菌程序中最為重要的工作參數。溫度監控設備由二大部分組成，一是溫度感應器，一是溫度記錄器。

1. 溫度感應器一般採用熱電偶和熱電阻。蒸氣滅菌使用的熱電偶應非常耐用，一般為銅材質；熱電阻一般為鉑電阻，這兩種溫度感應器其精密度應達到 $\pm 0.5^{\circ}\text{C}$ ，這是因為溫度如有 $\pm 0.5^{\circ}\text{C}$ 誤差，將會導致 F_0 值 2.3% 的偏差。同時應在 0°C 和 121°C 二溫度分別進行校正工作， 0°C 的點可以用冰點槽， 121°C 的點可用恆溫油浴。
2. 由於驗證作業中監控滅菌器內不同時段不同位置溫度變化的測溫點往往多達 10-20 個以上，所以最好選用數字顯示並配自動記錄的多點溫度記錄儀，但必須有校正標準作業程序。

(三) 滅菌程序及確效作業

應當依據產品之屬性與種類(如耐熱性)及影響滅菌的因素(如熱穿透性)，與裝載的方式等因子來設定滅菌的程序。

1. 熱分佈(Heat Distribution)試驗是調查滅菌性能的一項重要試驗，以為熱滲透(Heat Penetration)試驗提供實驗數據。
 - 1-1 因最終滅菌其滅菌設備體積較大，故宜選用 10-20 支熱電偶作溫度感應器；先編號後依標準作業程序規定(SOP)，其安放位置應包括可能的高溫點(如蒸氣入口)，及低溫點(如冷凝水排放口)，另外一支放置於溫度控制處，一支放置於靠近溫度記錄控制處，其餘則均勻分佈於滅菌艙內，以使溫度的監測具有好的代表性。

- 1-2 熱分佈試驗中將採用的各個參數及裝載方式應與正常生產採用的相同，且每種裝載方式至少應進行連續3次重覆性試驗。
- 1-3 試驗前後都要將溫度感應端子放入冰點槽和油浴做校正。一般在空載試驗時初步確定冷點位置後，進行最大和最小的裝載試驗，如產品有 1,000mL，500mL，250mL 及 100mL 4種，僅作 1,000mL 及 100mL 二種規格的試驗，最冷點和滅菌艙內之平均溫度差值不得超過 $\pm 2.5^{\circ}\text{C}$ ，若超過表示性能太差或存在某種故障。
2. 熱滲透試驗：是滅菌器及滅菌程度對產品適用性的一項試驗。熱滲透試驗的步驟及要求與裝載的熱分佈試驗大致相同，其主要差別在於熱電偶放置方式不同，即應放置於待滅菌的產品中，而產品應放置下述位置：
- 由熱分佈試驗確定的冷點與其他高溫點位置或蒸氣入口處，或滅菌器之溫度控制點附近。
 - 另需有記錄滅菌艙內溫度之熱電偶，此電阻不置於產品中，其位置在溫度控制點附近。
 - 熱滲透同樣需進行連續3次，使用前後均同樣需做校正工作。
3. 生物指示劑驗證作業/負荷菌試驗：對熱滲透試驗結果的統計分析，可得出滅菌程度的參數，從而確定了用某個滅菌器對某一產品的滅菌條件。所謂的生物指示劑驗證，是將已知D值的微生物孢子定量的放入產品中，然後依產品的滅菌條件滅菌，以證明滅菌條件是否確實能達到該產品所設定的 F_0 值。

以下是一般滅菌條件（僅供參考）：

無菌工作服	121 $^{\circ}\text{C}$	35min
瓶塞/鋁蓋	121 $^{\circ}\text{C}$	40 min
過濾器	121 $^{\circ}\text{C}$	40 min
可拆洗的大容量注射劑及小針充填組件等	121 $^{\circ}\text{C}$	40 min

八、過濾設備

藥品生產中，過濾系統通常用於最終滅菌產品及無菌過濾產品的生產。前一種情況目的在降低產品之污染(負荷菌)，屬大型輸注液生產中，作業控制的一項重要措施，後一種則是產品的過濾滅菌。

(一) 過濾器的選擇

選擇一種滅菌等級的過濾器需考慮許多重要的問題，諸如，結構材質及其與產品的配伍性。它的選擇還需要考慮到製程的特徵，包括所要過濾之藥液的容量、流速、壓差、溫度以及製品的化學特徵等。

(二) 系統使用的技術要求

在選擇滅菌級過濾器時，有一些特徵必須要加以考慮。過濾器與製程的配伍性主要是取決於濾膜的結構材料、上游端與下游端的支柱體、製成濾囊的材料以及過濾圓筒密封用的彈性物(O-環與墊片)。除了結構材料之外，在滅菌過濾器上還有一些其他特徵也必須加以考慮。有些特徵會影響到一個過濾器與一定製程的配伍性。過濾器會有某些可抽取物並且在初期可能會脫落粒子。但是，製程相容性有助於使之減至最低。認識到這一點，過濾器製造者通常都建議在使用之前，將過濾器加以沖洗。此外，過濾器必須可用所選定的方法加以滅菌。在有些情況下，過濾器必須要能夠耐受多重的滅菌週期。過濾器必須對其所意圖之應用包括滅菌與流體流向操作在內，加以驗證。所有濾器組成物(組件)都必須符合適用的法定要求。

會影響到過濾器之正確執行的能力之其他物理特徵包括有物理尺寸大小、組態、末端蓋設計(過濾圓筒)與末端連接物(濾囊)等。這些物理特徵，不但從安裝考慮上是很重要的，而且，因為無法捉摸的差異會產生可能導致製程污染的額外(迂迴)問題(Bypass Problems)。

1. 過濾器非破壞性物理完整性試驗

一個非破壞性的物理完整性試驗的主要目標是要在沒有破壞過濾器下測定會損及一定過濾器之滯留能力的過大濾孔或缺陷的存在。此外，完整性試驗還可以協助確立在製程相關條件下，試驗濾器與驗證過的濾器，對於阻留細菌挑戰物的相似性。這種完整性試驗程序，必須要與細菌的滯留互為關聯。細菌的滯留試驗是一種破壞性的試驗，不能夠被用於將要使用在生產上之過濾器去確認其完整性。

過濾器或過濾器系統要例行執行其使用之前與使用之後的完整性試驗，這通常視為是 CGMP 上之要求。

如果一種過濾器對於一個特定的製品已經做好驗證達成滅菌，那麼，這個單一滅菌過濾器就必須要在使用之前與使用之後都滿意地通過完整性試驗。不過，為確保防止由於滅菌級過濾器之可能的失敗而造成製品的損失，許多製藥廠都在其串聯式過濾器中選用一個附加的滅菌級過濾器。這個附加的過濾器必須要通過使用之前的滿意的測試。但是，不需要有使用之後的完整性試驗，除非串聯式過濾器中的主要滅菌級過濾器失敗。在該情況下，這個附加的次要過濾器，如要當作滅菌級過濾器使用，就必須在滅菌之前以及使用之後都要滿意地通過完整性試驗。

用於確認滅菌級過濾器之完整性的非破壞性試驗，傳統上，包括有起泡點、擴散性流動/前進流動以及壓力保持/消退（它是擴散性流動/前進流動的另一種變化）。這些試驗方法可以兼用於親水性與疏水性的濾膜過濾器，並可用手工或自動化的完整性試驗儀器去執行。每一種完整性試驗都有它的優點與缺點。

(1) 起泡點試驗

起泡點試驗是用於測定試驗氣體通過濾膜中最大濾孔而有本體流動（Bulk Flow）時的壓力，它是液體被置換的第一個壓力。因為所檢測出的起泡點是濕潤液體之表面張力、接觸角以及濾膜濾孔大小的函數，所以，對於每一種濾膜聚合物／表面化學、結構、濕潤流體組合、方法、設備與表面積其結果是專一性的。

(2) 擴散性 / 前進性流動試驗

本試驗方法通常是用在具有巨大表面積的薄膜過濾器系統，諸如，具有多個過濾元件的摺疊過濾器系統。在加壓下的一個濕潤的濾膜，氣體分子會在低於起泡點的壓差經由依循 Fick 擴散定律的一個擴散過程而移動通過充滿液體的濾孔。一種過濾器的總擴散性流速是與所施予的壓力、濾膜表面積、厚度以及試驗氣體在濕潤液體中的溶解度與擴散性成正比。在小面積的濾器上，例如，扁平圓片濾器，這種氣體流動可能會太慢以致無法被檢測出。在大面積的濾器系統上，氣體的流動是很顯著的並可以加以量測，藉以執行一個靈敏的完整性試驗。

(3) 壓力保持 / 消退試驗

壓力保持 / 壓力消退試驗是過濾器上游端之擴散性 / 前進性流動試驗的一個間接的方法。在這個方法之中，過濾器套 (Housing) 是被加壓到一預為設定的壓力，然後，就將壓力源隔離。在特定的時間間隔中，將通過濾膜的氣體流動，以壓力的消退量予以定量地量測。本試驗是透過它與擴散性流動 / 前進流動試驗的關係而被間接地關聯到細菌的滯留上。

(4) 自動化完整性試驗儀器

目前有許多在製藥工業上可以使用的自動化完整性試驗儀。這種自動化完整性試驗裝置是使用增量性的壓力保持 / 消退試驗去測定起泡點的壓力值。

2. 微生物挑戰試驗

微生物挑戰試驗是當作過濾器製造者對於濾膜的分類與過濾器的批次放行所做的試驗之基礎。過濾器滯留能力的驗證需要用挑戰試驗去檢測挑戰細菌的通過。因為這樣的試驗不能夠在意圖使用在生產上的過濾器去執行，所以，它與非破壞性物理完整性試驗的關聯性，就要在實驗室中去建立。

滅菌薄膜用 *B. diminuta* ATCC19146 或原有負荷菌的有效挑戰，必須要達到每 cm^2 的有效過濾表面積流入最低 107cfu 的總挑戰水準並且要展示出一個無菌的流出液 (濾液)

原有負荷菌必須要展現其特徵並加以量化，必要時要加以鑑識。因為這些微生物可能會有穿透滅菌級過濾器的潛在性。負荷菌的量化可提供確認藥劑製造過程之中真實挑戰的一個計算基礎。

九、 充填/封蓋設備

(一) 充填機

1. 應充分考量產品及作業要求，如用於易氧化產品的充填，須具有抽真空或充氮氣的功能，且應做充填頭的一致性驗證。
2. 在材料的選用，在設備結構及加工等方面需充分考量易拆易清潔的要求，以減少產品的污染機率。
3. 接觸藥液產品的部分需能接受滅菌處理。

4. 可移動的組件需有適當的保護罩，以避免在充填過程中，這些組件對產品的作業環境造成不良影響。
5. 充填機的安裝驗證作業內容和其他設備驗證的要求相似。在設備驗證 (3Q) 完成後，應制訂出不同容量下的充填速度及其充填量可以接受差異範圍。影響充填準確度的因素很多，如粘度、溫度、相對密度、溶解的氣體、容量等。

(二) 密封設備

無菌產品的無菌保證不應僅依賴於過濾、滅菌等作業的可靠性，且一併考量到產品的密封性，例如：針劑小瓶及大型輸注液等。為了確保產品的密封性，壓塞及封蓋是二大關鍵作業，在驗證過程中必須調整好封蓋機彈簧壓力，並在壓塞作業中保持合宜的壓力範圍，壓力低於範圍時，產品的密封性不良；壓力高於範圍時，有可能造成瓶口破裂損。

(三) 容器密封性檢查

封蓋的扭力矩檢測數據並不能完全說明容器壓塞封蓋之封口的完整性。以確保注射劑無菌狀態的觀點來看，微生物挑戰試驗是一個比較直接有效的驗證方法，所使用的生物指示劑是綠膿桿菌或大腸桿菌；比較簡便的試驗是微生物浸泡試驗法。

第五章 人員訓練、資格認證、及監測

一、人員

精心設計的無菌過程可將人員的介入減至最低。最終滅菌或無菌操作作業過程中，操作人員的活動增加，則對最終產品之無菌性的風險也隨著增加。為確保產品之無菌性的維護，參與最終滅菌或無菌操作之作業人員應於作業之全程，均確實遵守無菌技術的基本原則。

每一位人員在被許可進入最終滅菌或無菌操作作業區並執行操作之前，應經適當的訓練。訓練的內容應包括無菌技術、潔淨室行為、微生物學、衛生、更衣程序、應無菌而未無菌之產品對患者安全之風險之認知、以及最終滅菌或無菌操作作業區之特別的書面作業程序等等。人員經初始訓練之後，仍應依持續的訓練計畫實施定期訓練，以提升其水準。督導人員應定期評估每一位作業人員在實際作業中符合書面作業程序的情形。同樣的，品質管制單位亦應在製造作業過程中，對作業人員是否確實遵守既定的書面作業程序及基本無菌技術進行例行的監視。

下列為一些維持無菌物品及無菌表面之無菌性的技術：

(一) 僅能使用無菌器具接觸無菌原物料：

應始終使用諸如無菌鑷子等無菌器具處理經過滅菌的原物料。器具在經使用之後、於下次再使用之前，應僅能放置於經過滅菌的容器。器具應於整個作業過程中有需要更換時即予更換。一旦更衣之後，無菌手套即應經常消毒以將污染減至最低。人員不應直接接觸無菌產品、容器、封蓋、或關鍵性組件的表面。

(二) 緩慢且審慎的移動：

快速的移動會在重要地區產生不可接受的亂流。快速的移動會擾亂無菌的場所，而引致潔淨室原來之設計及管制參數無法負荷的困擾。於整個潔淨室內均應遵循緩慢而且細心移動的原則。

(三) 將整個身體避開於單向空氣流的路徑之外：

設計單向空氣流的目的是在於保護無菌設備表面、容器封蓋系統、以及產品。人員不應擾亂無菌操作作業地區之單向空氣流的路徑。

(四) 以不會損害產品之無菌性的方法進行必要的操作：

為維護鄰近作業位置之無菌原物料的無菌性，在垂直式單向空氣流下作業時，應採用經由產品旁側、而非經由產品上方接近產品的正確無菌操作方法。此外，如果操作人員在直接接近無菌操作作業線時，亦應克制談話。

(五) 維持適當的工作服裝管制：

在進行無菌作業之前及整個作業過程中，作業人員不應從事任何會引致工作服裝受到不當的污染風險之活動。

應僅有經資格認證及適當著裝的人員，方得被許可進入最終滅菌或無菌操作作業區。無菌操作作業區的工作服裝應能在身體與暴露的、經滅菌的原物料之間提供一個屏障，並能防止源自身體產生的微粒子、以及身體釋出的微生物所造成的污染。無菌操作之服裝應無菌、且其材質不會脫落纖維，並應能覆蓋皮膚及毛髮(因此，面罩、頭罩、鬍鬚護罩、護目鏡、彈性手套、潔淨室靴、以及鞋套等，均是工作服裝的組件)。書面的作業程序中，應詳述以無菌方法穿戴每一工作服裝組件的方法。在工作服裝各組件之間應以互疊方式(例如：以手套疊覆衣袖)以產生適當的屏障。如發現任一工作服裝組件有撕裂或有缺陷，應即予更換。

應有既定的計畫以定期評鑑或稽查人員對於相關無菌製造規定的符合情形。無菌操作之更衣的認證計畫應包括評鑑潔淨室作業人員在完成更衣程序之後，仍能維持工作服裝品質的能力。更衣程序的認證應包括於工作服裝上，諸如手套之指套、面罩、前臂、胸部等數個部位的表面微生物取樣。經初次的更衣程序評鑑之後應有定期再認證，該定期再認證應在不同的更衣場所監測達適當的時間，以確保無菌更衣技術可持續被接受。對於人員參與至最低的自動化作業，每半年或每年一次的再認證應已足夠。

為保護暴露的、業經滅菌的產品，應要求人員維持工作服裝的品質，並嚴格遵守適當的無菌方法。書面程序中應充分地說明人員應在何種情況下予以再訓練、再認證、或重新指派到其他工作區域。

二、 實驗室人員

無菌製造作業人員之訓練、無菌技術、及資格認證的基本原則亦適用於執行無菌取樣與微生物學實驗室分析的人員。如果實驗室產生之數據的有效性遭到質疑，則實驗室的過程及系統不能被認定是在管制之中、也不能被認定具有再現性。

三、 人員監測計畫

人員對無菌產品作業之環境品質具有重大的影響，因此應建立具有警示與反應的人員監測計畫。應取得每天、或與每批產品相關之作業人員手套的表面樣本，並應以適當的取樣頻率取得其他工作服裝上經選定之關鍵部位的樣本，以達到監測的目的。品質管制單位應對於參與特殊勞力密集作業(諸如需要重覆或複雜之無菌操作)的作業人員，建立更完整的監測計畫。

無菌狀態是無菌操作作業的基本原則。於整個作業過程中維持無污染的手套，是無菌操作作業室內之製造作業人員所應持續堅持的目標。於正要取樣之前將手套消毒的行為並不適當，因為如此則無法取得無菌操作過程中實際上存在於手套上的微生物。當作業人員之監測結果超過既定的水準、或呈現不良趨勢時，應立即進行調查。其後續的行動可包括加強取樣、加強觀察、再訓練、更衣程序再認證，並於某些情況下，可將相關人員指派到無菌操作作業區外面工作。

第六章 組成物與容器/封蓋

一、組成物

無菌操作或最終滅菌生產的藥品，在使用一種或多種遭受微生物或內毒素污染的組成物（例如：主成分、賦形劑、注射用水）時會遭到污染。描述每一可能被污染的組成物的微生物特徵，且根據負荷菌資料來建立適當的容許界限是很重要的。負荷菌的了解對評估滅菌過程是否合適是很關鍵的。

在無菌操作或最終滅菌，每一組成物可以是各別滅菌，或是數個組成物合併形成混合物後再一起滅菌。滅菌組成物的方法有多種（參閱第九節的相關討論）。一種廣泛使用的方法是將組成物溶解於溶劑中，如藥典注射用水，形成溶液後加以過濾。溶液經過一個滅菌的薄膜或濾芯過濾器。當組成物是可溶解的，且熱對該組成物有不良的影響時，可用過濾方法滅菌。這方法的一種變異過程是將過濾的液體進行無菌結晶及沉澱（或凍晶）使該組成物成為無菌粉末。然而，這種方法牽涉到更多的操作與處理，所以在過程中污染可能性較高。如果組成物不會受熱的不良影響，且具溶解性時，它可調製成液體後再進行蒸氣滅菌，通常是在高壓蒸氣滅菌器或在一個固定加壓的原位滅菌(SIP)容器內滅菌。

組成物如果對熱安定或是不溶時，乾熱滅菌是一適當的方法。然而，因為粉末具有隔熱效果，所以粉末的滅菌應執行謹慎設計的熱滲透及熱分佈試驗。

環氧乙烷曝露法常用於表面的滅菌及某些用多孔性包裝紙包裝的物品的滅菌。如果用此種方法滅菌粉末，應小心地控制及確效，評估此滅菌劑是否能達到一致的滲透效果而且能將環氧乙烷的殘留及副產品減到最低。

注射劑產品是要做到無熱原的。應有有書面的程序及合適的規格來接受或拒絕每一批可能含有內毒素的組成物。任何組成物不能符合所規定的內毒素限量時應拒收。

二、容器與封蓋

（一）製備

容器與封蓋的製備是要使它們成為無菌，而且，當它們用於注射藥品時更應將熱原除去。所使用的滅菌或去熱原過程的類型主要是根據容器及/或封蓋的性質。對此過程的確效研究應足以證明此過程能使物料達到無菌及無熱原的能力。如有需要，書面程序必需詳細說明這些過程再確效的頻率及保存無菌、無熱原容器與封蓋的期限。

玻璃容器滅菌前的製備通常涉及一連串的清洗與潤洗的週期。這些清潔週期在移除異物中扮演重要的角色。潤洗用的水必需是高品質才不致於污染容器。對注射劑產品，最終潤洗的水必需符合藥典注射用水的規格。

去熱原過程的適合性，可用添加已知量的內毒素在容器或封蓋，經過去熱原過程，再測量內毒素含量來加以評估。此挑戰性試驗必需使用稀釋的內毒素溶液直接塗抹在試驗品的表面，然後於空氣中乾燥。必需使用陽性對照組以測量在此試驗內毒素回收的百分比。確效研究的數據應證明去熱原過程可降低含量百分之九十九點九（三個對數）以上之內毒素含量。

玻璃容器通常使用乾熱來滅菌及去熱原。乾熱滅菌及去熱原的確效應包含合適的熱分佈及熱滲透試驗，同時使用滅菌及去熱原過程週期中的最差狀況，容器特性（如質量），及代表實際生產操作時特定的裝載型式等狀況來執行確效研究。

附在塑膠容器的熱原通常可用多次注射用水潤洗法除去。塑膠容器可用適當的氣體，放射線，或其他合適的方法加以滅菌。使用的氣體例如環氧乙烷，環氧乙烷滅菌週期的條件及界限（例如溫度，壓力，濕度，氣體濃度，曝露時間，排氣，通入空氣及殘留物的測定）應詳加說明及密切的監測。生物指示劑在證明環氧乙烷及其他氣體滅菌過程的效果特別重要。

橡膠封蓋（例如膠塞及針筒柱塞）可以在最終蒸氣或放射線滅菌之前，用清洗與潤洗多次週期來清潔。清洗過程的初次潤洗，在注射劑產品必需使用低內毒素含量的純水，接著用藥典注射用水作最後潤洗。通常用熱的注射用水潤洗多次，可達到去熱原的效果。清洗，乾燥（適當時）及滅菌之時間間隔應縮短，因為殘留於膠塞的水分能支持微生物的生長及產生內毒素。因為膠塞是熱的不良導體，於製程確效時，要特別注意熱滲透到膠塞裝載的內部。由清洗程序的確效數據應證明可以由膠塞成功的移去熱原。

一個可能的污染來源是膠塞的加砂作業。使用於膠塞製備的砂應符合適當的品質管制標準，而且對藥品的安全、品質、純度無不良影響。

依 PIC/S 規範，當產品是處於來自環境的污染之異常危險性時，例如由於充填操作緩慢時、或容器為廣口時、或者是在密封之前要暴露數秒鐘的時間時，則其充填就應在具有至少 C 級(ISO 7 級)背景的 A 級區(ISO 5 級)中執行。

接受委託執行滅菌及/或去熱原的工廠一樣要根據相同的要求來建立廠內的操作程序。最終劑型的製造廠要負責評估及核准合約廠的確效計畫書及最後的確效報告。

（二） 容器封蓋系統的檢視

一個會讓空氣或微生物滲入的容器封蓋系統，不適用於無菌產品。在檢視最終密封的產品時，任何損壞或瑕疵的單位應該被檢出及移除。必需執行保護措施，嚴格防止可能缺乏容器封蓋完整性的產品於運送時導致非無菌性的狀況發生。設備適合性的問題或容器封蓋的瑕疵都會造成容器封蓋系統失去完整性。例如，無法檢測由於缺失的設備裝置所造成的裂瓶，或對中間製品的操作失誤都曾造成藥品的回收。如果損害無法很快速的被檢出將會導致容器封蓋系統完整性的喪失，此時應立即實施改善程序來預防並檢出此種不良品。

傳輸用醫療器材的功能性缺失（例如，注射器的缺失，傳輸容量）也會造成產品品質的問題，應透過適當的製程中試驗來加以監測。

在製程中及最終檢視時如發現有任何超出規格的缺失或結果時，應根據進行調查。

第七章 內毒素管制

注射產品遭到內毒素污染是不當的 GMP 管制所造成的。某些病患群體（例如新生兒），當患者同時接受其他注射劑，或是注射非慣例的大量或劑量時，所預期的熱原反應的風險會較根據正常健康成人體重所建立的限量更大。這樣的臨床考量加強了適當的 GMP 管制以避免產生內毒素的需求。藥品的組成物，容器封蓋，設備，以及保存時間的期限是建立內毒素管制所涉及的一些領域。

設備經過適當的清潔，乾燥及儲存可控制負荷菌和避免產生內毒素。設備的設計應是容易組裝及拆卸，清潔，滅菌，及/或滅菌。在無菌過濾的前後所有與產品接觸的表面應控制其內毒素。

在設備表面的內毒素可用高溫乾熱來去除它的活性，或用已確效的清潔方法從設備表面移除。一些原位清潔的程序，使用適當高純度的水及/或清潔劑（例如，酸，鹼，界面活性劑）做初始的潤洗，再用熱的注射用水作最後潤洗。設備清洗後應隨即乾燥。滅菌級的過濾器及濕熱滅菌並無移除內毒素的效果。去熱原的製程應要證明它能降低內毒素三個對數。

第八章 時間界限

最終滅菌或無菌操作的每一階段都要建立時間界限。時間界限應包括，例如，從產品調製開始到過濾的期間，產品在生產線曝露的期間，及已滅菌設備，容器與封蓋的保存期間。在不同生產階段的製程品質的維護應有數據來證實。當建立各階段如調製階段的時間界限時要評估其負荷菌及內毒素的量。

產品過濾的總時間必需加以限制，其限制乃根據已建立之可預防微生物滲出濾器的最大限度。這樣的時間界限同時也應考慮避免在濾器上方的負荷菌及內毒素的量有顯著的增加。滅菌級的濾器在每一製造批後通常都應加以替換。因為濾器可提供微生物附著的基質，那些使用在上游，使溶液澄清或用於移除粒子的濾器可使用的最長時限也應建立並加以證明。

第九章 最終滅菌作業程序

本章節重點在討論滅菌作業，並論及相關生產設備/系統相關的清潔作業，舉例說明之。

一、清潔作業

藥品生產過程清潔佔有特殊的地位；在滅菌作業過程中如清除活性成分的交叉污染、清除異物/不溶性微粒、降低或清除微生物及熱原對注射劑的污染等事宜，清潔作業都佔有關鍵的影響力。

設備的清潔通常依其特性選擇適當的清潔方法，有些組件必須徹底拆洗，才能確保清潔效果，如充填機之充填頭及軟管等。大型固定設備系統通常需要採用一種特殊的清潔方式，即原位清潔(CIP, clean-in place)：在一個預定的時間內，將一定溫度的清潔液和潤洗液以控制的流速通過待清潔的系統循環而達到清潔目的稱在線清潔；這種方法適用於充填系統、調配系統及過濾系統等。

(一) 原位清潔系統的設計

- 1-1 一個穩定的原位清潔系統在於優良的設計，而設計的首要任務是根據待清潔系統的實際情況來確定合適的清潔程序，包括清潔條件的確定、清潔劑的選擇、清潔工具的選擇或設計，並根據原位清潔過程中待監測的關鍵參數和條件(如時間、溫度、導電度、pH和流量)來確定採用什麼樣的控制、監控及紀錄儀表等。
- 1-2 清潔設備的設計及建造應當遵循的原則是便於維護及保養，設備所用的材料與產品及清潔劑不發生反應。清潔工具應便於安裝或拆除。另外，原位清潔還涉及微生物污染方面的問題，尤其是清潔後不再作進一步消毒或滅菌的系統，應特別注意避免微生物污染的風險，如系統的管路應有適當的傾斜度以避免積水、清潔設備及所用的清潔劑應保持良好的衛生狀態等。
- 1-3 清潔劑的選擇取決於待清潔設備的表面及表面污染物的性質。在大型輸注液生產中，碳酸氫鈉可作為注射劑的原料、氫氧化鈉則常用來調節注射劑的 pH，它們兼備去污力強及易被沖洗的特點，因而成為原位清潔中首選的清潔劑。

(二) 原位清潔系統的確效作業

應包括系統的的驗證作業與系統清潔方法確效作業。

(三) 合格標準

- 3-1 物理標準：最終沖洗水需做澄清晰度檢查及不溶性微粒檢查。
- 3-2.化學標準：原位清潔的合格標準隨產品而異，不能一概而論。對共用生產設備或系統而言，原位清潔是去除及降低活性成分的殘留、消除不同產品間交叉污染的重要方法。具體標準應當以科學依據為基礎，依產品來制定並考量清潔劑之殘留。

二、滅菌作業

系統設計驗證作業

1. 滅菌作業系統的驗證應由系統設計開始，在設計時就應考量到滅菌的要求，系統中應有合適的空氣與冷凝水排放口，可能的冷點處需設置溫度探測器等要素均應予考慮。
2. 驗證作業必須包括設備與作業流程二方面。
 - 2-1 安裝驗證 (IQ) 作業：應先了解設計規格需求，依設計文件核對系統的安裝情況。特別強調的是對關鍵儀表的檢查，如溫度計、熱電偶、圖譜記錄及控制儀、計時器、數據採集儀、壓力表等均應按一定的標準校驗並有記錄存檔。
 - 2-2 操作驗證 (OQ) 作業：重點內容是確定系統冷點的位置並採取矯正措施。如系統中積留冷凝水或存在空氣時可能造成冷點，或蒸氣有可能無法穿透二個串聯的過濾器，致而造成冷點或系統中位置較低的地區亦可能是冷點位置。一旦確定冷點位置後，即可採取適當的措施，如：
 - 延長滅菌時間
 - 分段滅菌或改變蒸氣的途徑
 - 變更設計
 - 將輸水器或排放點保溫來減少冷點
 - 將控制用的電阻式溫度控制探頭遷移至冷點位置，利用此冷點來控制滅菌程序
 - 2-3 性能驗證 (PQ) 作業：此驗證作業是為確認滅菌程序的可靠性和重現性。一般可採用物理法、生物法或二者結合作為驗證作業也頗常見。
 - 物理法：

將熱電偶安裝在各個有代表性的位置，如管路系統，可安裝在管路外壁，其外側再用保溫材料包紮，使熱電偶依條件達到設定溫度，則管內的溫度就不會低於此溫度，再以溫度/時間的數據計算 F0 值，並做出評估。
 - 生物法：

將一定濃度和耐熱性的嗜熱脂肪桿菌(Bacillus Steorothermophilus) 膜放置滅菌系統各個有代表性的位置，依滅菌作業程序進行滅菌工程，然後將菌膜取出做無菌檢查後進行培養、計算。如所有菌膜均無存活孢子，則可根據滅菌前膜片中嗜熱脂肪桿菌的孢子數及 D 值計算系統中各個點的 F0 值；如尚有少數菌膜在滅菌後仍有孢子存活，則可依公式 $F_0 = D(\log N_0 - \log N)$ 計算冷點 F0 值。其中 N_0 及 N 分別為滅菌前及滅菌後每片菌膜存活的孢子數。
3. 合格標準
 - 3-1 大多數系統的滅菌作業其 F0 值不低於 15
 - 3-2 至少連續三次作業均能達到預定之 F0 值

三、過濾作業

此作業同清潔與滅菌一樣，均為關鍵性作業，在投入生產使用前應當進行驗證工作。

無菌保證及對數 F 降值

1. 蒸氣滅菌作業中，D 被定義為一定溫度下將微生物孢子殺死，使其數值下降一個對數所需的時間。如果滅菌溫度為 121°C，Z=10°C，則一個滅菌流程賦予待滅菌產品的標準滅菌所需的時間 F₀ 值為：

$$F_0 = D_{121^\circ\text{C}} \times (\log A - \log B)$$

A 為初始的微生物數

B 為滅菌後微生物存活概率

D_{121°C} 為污染菌在 121°C 的 D 值

此式中 (log A - log B) 值的大小反映了滅菌效果，其數值愈大，滅菌愈徹底。

2. 對數下降值 (Log Reduction Value)，係指藥液過濾前負荷菌與過濾後負荷菌比的常用對數值，即

$$\frac{\log A}{\log B} = \log A - \log B$$

A 為過濾前藥液的負荷菌

B 為過濾後藥液的負荷菌

例如：如要求做最終滅菌注射劑的無菌保證為 0.999999，假設藥液每升的微生物數為 100，過濾器的對數下降值 10.76，試計算溶液的過濾量為多少升？

無菌保證度 = 1 - 非無菌概率

$$(\log \text{PNs}) \text{非無菌概率} = 1 - 0.999999 = 10^{-6}$$

$$\log N_0 = \log \text{PNs} + \text{Lrv} = -6 + 10.76 = 4.76, N_0 = 57544 \text{ 個微生物}$$

$$N_0 = C \times V$$

$$V = N_0 / C = 57544 / 100 = 575.44 \text{ 升}$$

N₀ 為產品的負荷菌

C 為單位體積的負荷菌

V 為藥液體積

四、驗證作業（以大型輸注液為例）

（一）微生物控制

1. 產品滅菌前微生物監控是國際規範的要求，世界衛生組織 (WHO) GMP 1992 版規定應盡可能降低產品滅菌前微生物污染的程度，且應制訂污染的控制標準，這一標準與所採用滅菌方法的有效性及熱原污染的風險相關。如大型輸注液應在充填前使用除菌過濾器進行過濾。
2. 控制滅菌前微生物污染的程度是控制產品熱原污染的重要手段。

(二) 監控標準

原則上無菌產品其污染低於 10^{-6} 的要求及熱原檢查符合藥典規定是為最低目標，目前國際上採用標準如下：

- 每 100mL 藥液中污染菌不得超過 100cfu。
- 在設定的滅菌條件下，污染菌的耐熱性(即D值)，不導致滅菌後產品微生物污染的機率大於 10^{-6} 。

(三) 監控方法

1. 取樣：在正常生產過程中，從每批產品充填開始、中間及結尾各取一瓶充填好的產品做滅菌前微生物監控檢查。應當使用事先滅菌瓶並做好標記的瓶子取樣。

2. 試驗方法：

2-1 污染水平檢查：先用滅菌的 5% Tween (Polysorbate, 油酸聚醇山梨酯) 充分濕潤 0.45 μm 濾膜，然後定量過濾藥液，將此濾膜移至營養瓊脂平板上，在 30~35°C 培養 3~7 天計數。

2-2 耐熱性檢查：另用一張 0.45 μm 濾膜，經滅菌的 5% Tween (Polysorbate, 油酸聚醇山梨酯) 充分濕潤後，過濾負荷菌檢查所剩餘的藥液樣品。將此濾膜轉移入裝有無菌的待監測產品的試管中，在沸水浴上煮沸 30 分鐘，然後在 30~35°C 下在硫醇乙酸鹽培養中培養，觀察是否有耐熱菌生長。

2-3 討論：由於最終滅菌產品所用的膠塞是滅菌的，而玻璃瓶則採用當天洗、當天用的辦法，在充填前不滅菌，清潔過的瓶子仍然存在不同程度的微生物污染，因此，取樣瓶應當使用滅菌瓶，否則監測的結果超出限度時，將無法判斷污染來自生產系統(如配置系統、充填系統及相應的線上滅菌系統)還是來自污染了的瓶子，並由此延誤採取矯正措施的時間。因為經清潔後的玻璃瓶仍然存在不同程度的微生物污染，因此，應當對瓶子清潔的效果進行微生物監控。

當 2-2 微生物污染水平超過標準時，應對污染菌進行鑑別，調查污染菌的來源並取相應矯正措施。當耐熱性檢查發現藥液存在耐熱菌污染時，應測定污染菌的 D 值或採用定時沸騰法將它和已知生物指示劑的 D 值做比較，然後根據滅菌的 F0 值及污染菌的耐熱性對產品無菌做出評價。

有些微生物在藥液中繁殖速度很快，如在 25~29°C 條件下，革蘭氏陽性不動桿菌革蘭氏陽性芽孢桿菌在脂肪乳劑中，經 3 小時後分別增長 4~11 倍，如果樣品不在產品滅菌同時做微生物檢查，樣品將喪失其生物學的代表性，因此，滅菌前產品的微生物監控試驗應在取樣後盡快完成。如因故無法在取樣當天完成，應將樣品放入冰箱冷藏，並在取樣的 12 小時內完成。

無菌試驗並不能保證最終滅菌產品的無菌狀態。這種狀況也反映在 GMP 規範的有關條款中。如 1992 版世界衛生組織 GMP 第 17.88 款明確規定，應當把成品的無菌試驗看做確保無菌的一系列控制措施中最後一項措施。因此，滅菌前產品的微生物控制應當作為大型輸注液生產中最重要品質保證措施和正常生產的先決條件，方能確立最終滅菌產品之無菌狀態。

(四) 澄明度

提高藥液澄明度有三個重要環節：

- 以配製藥液的回濾(即用泵把製備槽中的藥液不斷經過濾器進行內循環，直到澄明度檢查合格)。
- 充填線的沖洗。
- T形膠塞自動供塞軌道的清潔。

目視檢查的重點是瓶子破損、鋁蓋鬆動及藥液中雜物，應當對目視檢查中觀察到的各種缺陷進行分類統計，以瞭解不同運作參數/條件對結果的影響。

第十章 結語

1. 雖然每個生產工廠的產品、設備及人員的經驗及資格存在著差異，但只要瞭解 cGMP 原則要求的意義，產品的生產作業條件、設備的性能及維修保養的要求，如系統的、全面的生產確效作業將可為產品品質提供可靠的保證。
2. 國際間對 cGMP 要求愈趨嚴謹，各國家及國際組織都不斷的更新 GMP 準則，以求建立 cGMP 國際標準一致化之共識。本指導手冊內所敘之規格/參考標準，宜隨國際 cGMP 規範日新月異，同步升級。

詞彙

1. 環境管制區 (Controlled Environment Area)：指無菌產品之製造、加工、包裝及處理的區域，此區域內之環境因素如溫度、濕度、空氣微粒及微生物，均需加以管制；如秤量室、調製室、充填室均須作環境管制。
2. D 值：微生物耐熱參數，係指一定溫度下將微生物致死 90% 或使之下降一個對數單位所需的時間（以分鐘計算）。D 值的大小直接反應微生物的耐熱性，如 *B. Stearothermophilus* 的孢子在 121°C 下的 D 值在 1.5-3 分鐘之間。不同的溫度下，不同的微生物在不同的環境條件下具有不相同的 D 值。（參見圖 1）

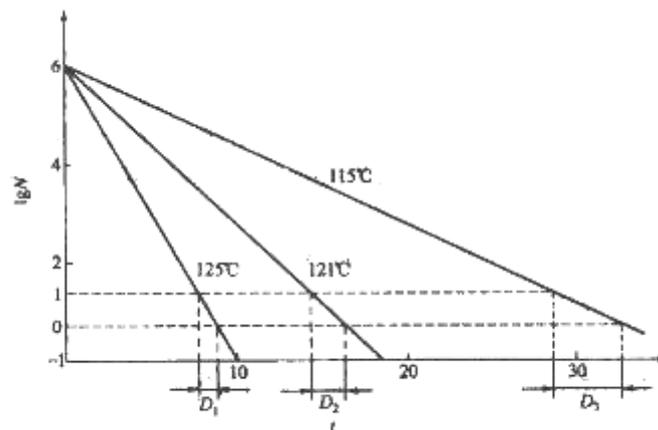


圖 1 D 值與滅菌溫度關係

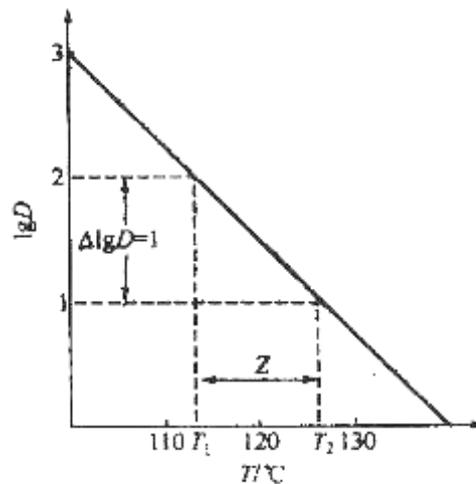


圖 2 Z 值定義圖

3. Z 值：滅菌溫度係數：係指使某一種微生物的 D 值變化一個對數單位，其滅菌溫度升高或下降的度數。（參見圖 2）在沒有特定要求時，Z 值通常都取 10，以簡化計算。Z 值常用於描述孢子對滅菌溫度變化的敏感度，Z 值愈大，孢子對溫度變化的敏感性愈弱。（參見表 1）

表 1 不同Z值下， $D_{121^{\circ}\text{C}}=1.5$ 的孢子在不同溫度下的D值表

滅菌溫度 / °C	Z=7°C		Z=10°C		Z=12°C	
	D/mim	lgD	D/mim	lgD	D/mim	lgD
105	300.00	2.477	60.00	1.788	32.61	1.513
110	57.69	1.761	18.99	1.278	12.4	1.093
115	10.97	1.033	5.97	0.776	4.75	0.676
120	2.08	0.318	1.89	0.276	1.82	0.260
121	1.50	0.176	1.50	0.176	1.50	0.176

4. Fo 值：標準滅菌時間指在 121°C 或 250 °F溫度滅菌過程中，傳熱達到滅菌效果的時間（以分鐘計算）。一般是以 121°C 及 Z=10°C 作為標準依據。

5. L 值：滅菌率，係指在某一溫度 T (°C) 下滅菌 1 分鐘與標準滅菌效果比值。L 沒有單位。（參見表 2）

表 2 Z=10°C 時不同溫度下的滅菌率和 121°C 下滅菌 1min 時所相當的 T (°C) 滅菌時間

溫度 T / °C	滅菌率 $L = F_0 / F_T = D_{121^{\circ}\text{C}} / D_T$	121°C 下滅菌 1min 時所相當的 T (°C) 滅菌時間 $F_T = F_0 / L$
121	1.00	1.00
120	0.794	1.259
118	0.501	1.995
116	0.316	3.162
114	0.199	5.012
112	0.126	7.943
110	0.079	12.600
說明	116°C 下滅菌 1min 對芽孢殺滅效果只有標準滅菌狀態下的 32%，110°C 下 1min，僅為標準滅菌狀態下的 7.9%	121°C 下滅菌 1min 相當於 110°C 下滅菌滅菌 12.6min；112°C 下滅菌 7.943min；114°C 下滅菌 5.012min

6. 層流 (Laminar Flow)：指一個固定空間內之整體空氣沿平行流線作均勻速度的流動。如在充填 (100 級) 區其層流空氣系統，應在作業位置上提供 $0.45\text{m/s} \pm 20\%$ 之均質的空氣流速 (PIC/S Annex 1 Grade A)

7. 微粒物質 (Particulate Matter)：非氣泡而能移動且不溶解的物質。

8. 熱原 (Pyrogen)：會引起患者發熱反應的物質。

9. 熱分佈 (Heat Distribution)：指對滅菌過程中滅菌器內滅菌媒 (Sterilizing Medium) 之均勻分佈狀況。

10. 熱滲透 (Heat Penetration)：指滅菌過程中產品對熱源吸收之狀況。
11. 靜態 (At Rest)：係指生產區具有安裝齊全之生產設備，並且在運轉中，但是沒有操作人員在場的狀態。
12. 作業中 (In Operation)：係指生產區是在所設定的操作模式中運轉，並有特定數目的操作人員在場的狀態。
13. 潔淨區 (Cleaning Area)：藥品生產潔淨室的空氣清淨度依需求而分級別，謂之潔淨區；空氣清淨度是指環境中空氣含微粒多少的程度。國際單位之空氣清淨度級別以每立方公尺空氣中粒徑 $\geq 0.5\mu\text{m}$ 微粒子的最大允許微粒數來確定；英制單位則用每立方呎 (ft^3) 空氣中粒徑 $\geq 0.5\mu\text{m}$ 微粒子的最大允許微粒數來確定。
14. 菌落形成單位 (CFU)：細菌培養時，由一個或幾個細菌繁殖而成的一細菌群稱之 (細菌形成單元數)，浮游菌用每立方米的計算濃度表示 (CFU/m^3)，落下菌用落下菌濃度表示 ($\text{CFU}/(\text{皿}\cdot\text{H})$)。(參見表 3)

表 3 執行確效作業參考標準(May 24, 2000) / 衛生署

確效項目		參考標準	
空氣調節系統確效	風速	Lamina Flow	每分鐘 90 呎 \pm 20%
	過濾效率(無菌製劑區)	Pre filters	不限定
		Bag filters	不限定
		Terminal HEPA filters/Laminar Flow Unit HEPA	至少 99.97% (DOP Test) (構造規格)
壓差(房間)(無菌製劑區)	不同清淨度之二室間	> 10 (Pa) (1mm 水柱)	
作業場所環境管制	落下菌(動態) Cfu/4hrs 時(90mm) (無菌製劑區)	Class 100,000	<100 50
		Class 10,000	<50 5
		Class 100	<5 1
	落下菌(動態) Cfu/1hrs 時(90mm) (無菌製劑區)	Class 100,000	<20
		Class 10,000	<5
		Class 100	<1

15. 生物指示劑 (Bioindicator)：一種特定的微生物菌株，用於測試滅菌過程的有效性。其確認熱不安定物質之滅菌過程時所使用生物指示劑之目的在測量滅菌過程所產生之致死率。生物指示劑的特性包括每一載體中耐熱孢子的數量以及在實際使用條件下的 D 值和 Z 值。一般生物指示劑是使用 *Bacillus Stearothermophilus*。
16. 無菌保證程度 (SAL)：係指滅菌工程達到產品無菌保證的程度。對最終滅菌產品而言 (蒸氣滅菌) 其條件為 121°C，15 分鐘，其 SAL 值為 10⁻⁶ 即為一百萬個已滅菌產品中，活菌的數量不得超過一個。

17. 熱電偶 (Thermocouple) : 適合滅菌條件之絕緣金屬線可插入滅菌鍋內。
18. 負荷菌 (Bioburden) : 產品在滅菌前生存的微生物總數目 (殘存機率) total number of viable micro-organisms on or in a health care product prior to sterilization。
(於特定品項中在滅菌之前的微生物數量)
19. 滅菌過程 (Sterilization Process) : 指以適當的物理或化學方法, 將一定數量活的微生物完全殺死, 並使其生命活動產生不可逆轉的操作過程。在製藥業中無菌是指滅菌作業使一批產品中非無菌品的機率符合藥典規定無菌要求的狀態。
20. 過度滅菌(Over Kill): 不論多強之微生物存在, 設定可殺滅之條件且能證明致死效果者。
21. 非過度滅菌 (Non-Over Kill) : 限定微生物種類, 且能證明殺菌效果者。

附錄 一

案例 1：將細菌培養至 2.0×10^9 /ml，取 5ml 放入試管裡，置於 111°C 之油浴槽 4 分鐘後，將試管內 (5ml) 之細菌做培養，長出 25 菌落，其 D_{121} 值為多少？

$$\log N = \log N_0 - F_{111} / D_{111}$$

$$\log 25 = \log(2 \times 10^9 \times 5) - 4/D$$

$$1.4 = 10 - 4/D$$

$$D_{111} = 0.465$$

$$\begin{aligned} D_{121} &= D_{111} \times 10^{(111-121)/10} \\ &= 0.465 \times 10^{-1} \\ &= 0.0465 \end{aligned}$$

例 2：某非過度滅菌過程，其最低 F_0 值 (冷點) 為 5 分鐘，如選擇生物指示劑，其數量為 10^4 (N_0)，要全部致死 (N 值是 10^{-1} ；亦可用 10^{-2}) 則 D_{121} 值為多少？

$$\log N = \log N_0 - F / D$$

$$\log 10^{-2} = \log 10^4 - 5/D$$

$$D = 5/6$$

$$= 0.83$$

例 3：某產品濕熱滅菌中，已知 F_0 值 = 4 分鐘，滅菌前藥液含耐熱孢子量為 20 個/100ml，成品為 500ml 瓶裝，相應的 $D_{121^\circ\text{C}} = 0.4$ 分鐘，求滅菌後該微生物存活率？

$$\log P = \log N - F_0 / D_{121^\circ\text{C}}$$

$$\begin{aligned} \log(20\text{CFU}/100\text{mL} \times 500\text{mL}) - 4/0.4 &= 2 - 10 \\ &= -8 \end{aligned}$$

即該批產品提供的無菌保證值為 8，微生物存活率為 $1/10^8$ 。

案例 4：已知某產品適宜的滅菌溫度為 $116-117^\circ\text{C}$ ，假設從該產品中分離出來的污染菌的 D_{121} 不超過 1 分鐘， $Z = 10^\circ\text{C}$ ，如果升溫和冷卻階段 F_0 值可忽略，求達到 $F_0 = 8$ 所需滅菌時間？

從表查得 $L_{116} = 0.316$ ， $L_{117} = 0.398$ ，代入 $L = F_0/FT$

$$F = F_0 / L_{116^\circ\text{C}} = 8/0.316 = 25\text{min}$$

$$F = F_0 / L_{117^\circ\text{C}} = 8/0.398 = 20\text{min}$$

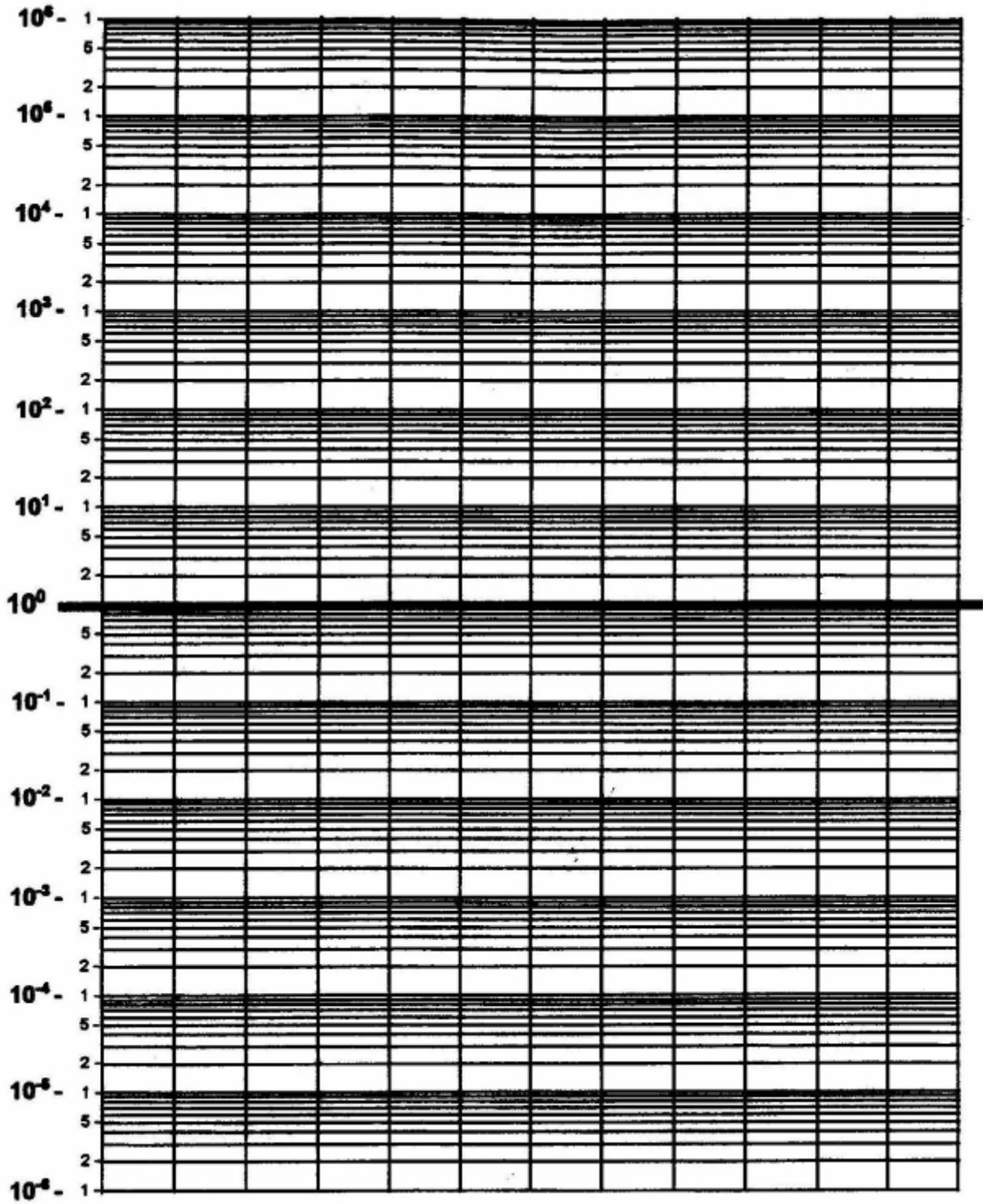
則 $F_0 = 8$ 所需的滅菌時間分別為： 116°C 25min、 117°C 20min。

附錄二

濕熱滅菌中不同溫度和Z值下的滅菌率(L)數據

T/°C	L 值					
	Z=7	Z=8	Z=9	Z=10	Z=11	Z=12
100	0.001	0.002	0.006	0.008	0.012	0.018
101	0.001	0.003	0.006	0.010	0.015	0.022
102	0.002	0.004	0.008	0.013	0.019	0.026
103	0.003	0.006	0.010	0.016	0.023	0.032
104	0.004	0.007	0.013	0.020	0.028	0.038
105	0.005	0.010	0.017	0.025	0.035	0.046
106	0.007	0.013	0.022	0.032	0.043	0.056
107	0.010	0.018	0.028	0.040	0.053	0.068
108	0.014	0.024	0.036	0.050	0.066	0.083
109	0.019	0.032	0.046	0.063	0.081	0.100
110	0.026	0.042	0.060	0.079	0.100	0.121
111	0.037	0.056	0.077	0.100	0.123	0.147
112	0.052	0.075	0.100	0.126	0.152	0.178
113	0.072	0.100	0.129	0.158	0.187	0.215
114	0.100	0.133	0.167	0.200	0.231	0.261
114.5	0.118	0.154	0.190	0.224	0.257	0.287
115	0.139	0.178	0.215	0.251	0.285	0.316
115.5	0.164	0.205	0.245	0.282	0.316	0.348
116	0.193	0.237	0.278	0.316	0.351	0.383
116.5	0.228	0.274	0.316	0.355	0.390	0.422
117	0.268	0.316	0.359	0.398	0.433	0.464
117.5	0.316	0.365	0.408	0.447	0.481	0.511
118	0.373	0.422	0.464	0.501	0.534	0.562
118.5	0.439	0.489	0.527	0.562	0.593	0.619
119	0.518	0.562	0.599	0.631	0.658	0.681
119.5	0.611	0.649	0.681	0.708	0.731	0.750
120	0.720	0.750	0.774	0.794	0.811	0.825
120.5	0.848	0.866	0.880	0.891	0.901	0.909
121	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00
121.5	1.18	1.16	1.14	1.12	1.11	1.10
122	1.39	1.33	1.29	1.25	1.23	1.21
122.5	1.64	1.54	1.47	1.41	1.37	1.33
123	1.93	1.78	1.67	1.59	1.52	1.47
123.5	2.28	2.05	1.90	1.78	1.69	1.62
124	2.68	2.37	2.15	2.00	1.87	1.78
125	4.39	3.16	2.78	2.82	2.31	2.15
126	5.18	4.22	3.59	3.16	2.85	2.61
127	7.20	5.62	4.64	3.98	3.51	3.16
128	10.0	7.50	6.00	5.01	4.33	3.83
129	13.9	10.0	7.74	6.31	5.34	4.64
130	19.3	13.3	10.0	7.94	6.58	5.62

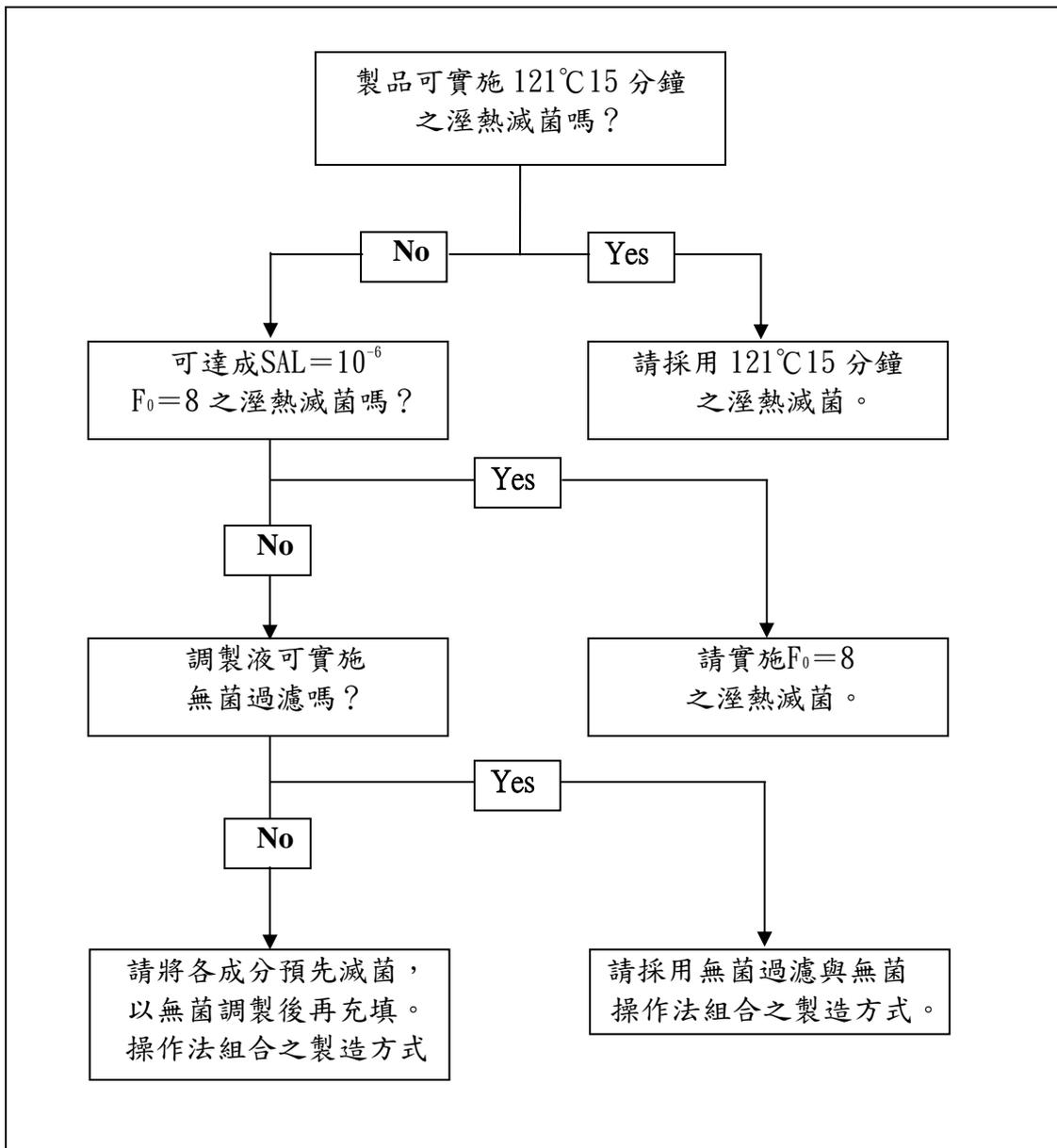
附錄三



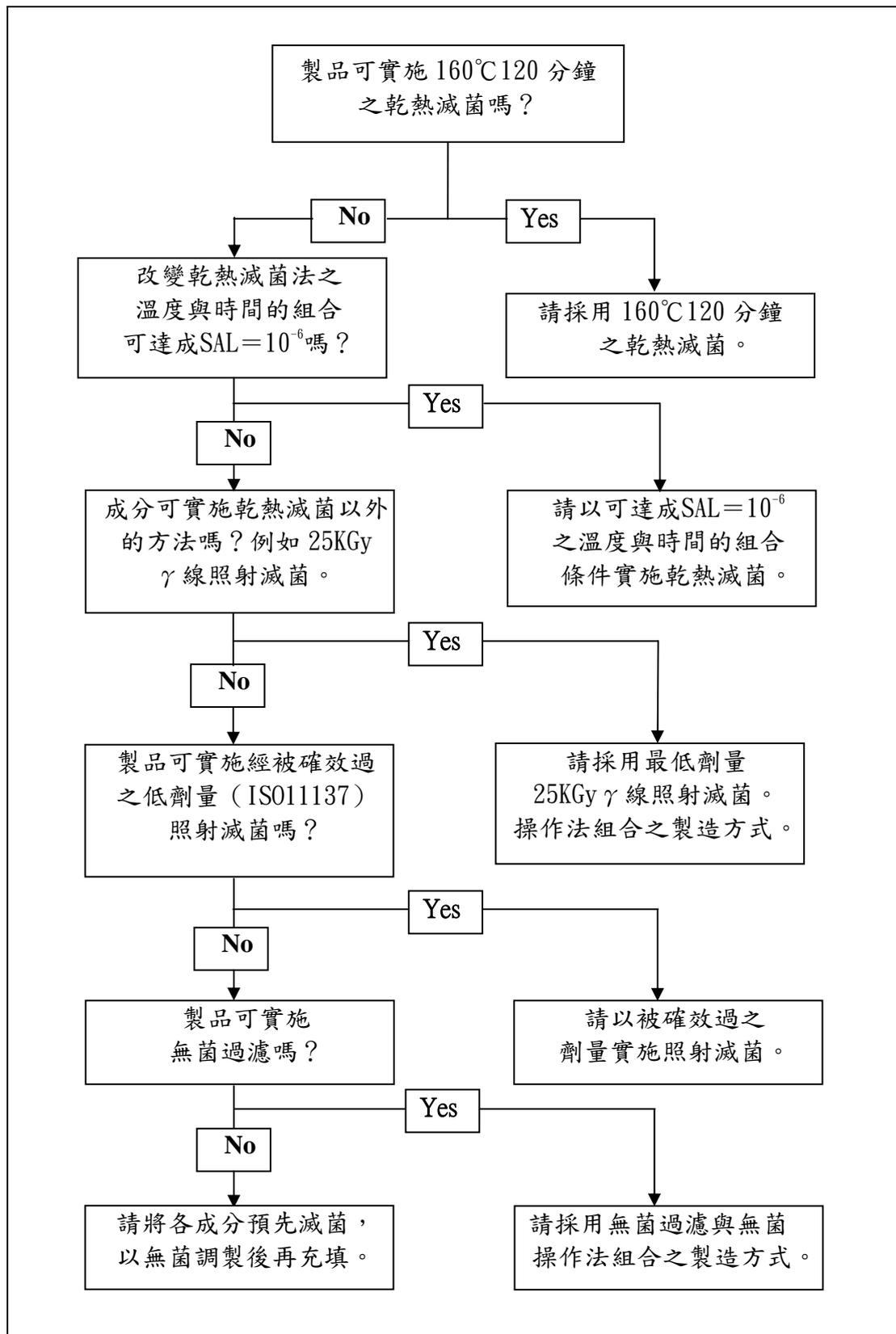
附錄四 無菌製造法之選擇順序

EMEA (The European Agency for the Evaluation of Medical Products: 歐洲醫藥品審查機構) 之 CPMP (Committee for Propriety Medicinal Products: 醫藥品委員會) 於 1996 年發行「攸關最終製劑製造之指導手冊 (Note for Guidance on Manufacture of the Finished Dosage Form, CPMP/QWP/486/95)」中, 記載如下所示之醫藥品滅菌法適用方針 (依劑型別):

液劑無菌製造法之選擇順序



乾燥製劑無菌製造法之選擇順序



參考資料

1. 滅菌過程確效指導手冊/行政院衛生署
2. 注射劑製造指引/行政院衛生署
3. 藥品優良製造規範/行政院衛生署
4. 藥品優良製造確效作業基準/行政院衛生署
5. 現行藥品優良製造規範：水系統確效作業指導手冊/行政院衛生署
6. 現行藥品優良製造規範：空調系統確效作業指導手冊/行政院衛生署
7. 現行藥品優良製造規範：清潔確效作業指導手冊/行政院衛生署
8. Guidance for Industry on Sterile Drug Products Produced by Aseptic Processing / FDA, September 2004
9. Draft Guidance on WHO Supplementary Guideline for GMP : Validation / WHO, 2003
10. Aseptic Processing of Health Care Products — Part 1 : General Requirements (ISO/ DIS 13408-1)
11. Technical Report No.26 : Sterilizing Filtration of Liquids / PDA, 1998
12. Fundamentals of D.F. and Z values / PDA, Sep. 1997
13. Technical Report No.4 : Design Concept for the Validation of a Water for Injection System / PDA, 1983
14. Guide to Good Manufacturing Practice for Medicinal products/ PIC/S, 2003
15. Manufacture of Sterile Medicinal Products/ PIC/S Annex1, 2003
16. Media Fill Validation : Environmental, Monitoring during Aseptic Processing/ 2001, Michael Jahnke
17. 藥品生產驗證指南/大陸現代生物技術與醫藥科技出版中心, 2003
18. 中華藥典第 5 版, 中華民國 89 年
19. USP 27–NF 22, Jan. 2004
20. 滅菌過程確效作業手冊/ Dr. Simon Rusmin
21. PDA Journal of Pharmaceutical Science and Technology, Technical Monograph No. 1, 2002 Revision, Industrial Moist Heat Sterilization In Autoclaves, 2003 Supplement Volume 57 Number X
22. Sterilization of Health Care Products -- Biological Indicators-- Part 3: Biological Indicators for Moist Heat Sterilization (ISO/ DIS 11138-3)