

無菌操作作業指導手冊

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」，衛生署將提升我國 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「無菌操作作業指導手冊」係主要參考 FDA Guidance for Industry on Sterile Drug Products Produced by Aseptic Processing (September, 2004) 之內容，並參酌 PIC/S GMP Guide 及國內相關資料制訂，目的在於提供無菌作業之各作業程序及實務要求，協助以無菌操作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.....	3
第 四 章	建築物與設施.....	4
	一、重要區域(100 級區，ISO 第 5 級區).....	5
	二、支援之潔淨區域.....	6
	三、潔淨區之分隔.....	7
	四、空氣過濾.....	7
	(一) 薄膜過濾.....	7
	(二) 高效率空氣過濾器過濾.....	8
	五、設計.....	9
第 五 章	人員訓練、資格認證、及監測.....	12
	一、人員.....	12
	二、實驗室人員.....	13
	三、人員監測計畫.....	13
第 六 章	組成物與容器/封蓋.....	15
	一、組成物.....	15
	二、容器與封蓋.....	15
	(一) 製備.....	15
	(二) 容器封蓋系統的檢視.....	16
第 七 章	內毒素管制.....	18
第 八 章	時間界限.....	19
第 九 章	無菌製程及滅菌之確效.....	20
	一、製程模擬.....	20
	(一) 研究設計.....	20
	(二) 測試頻率及次數.....	21
	(三) 進行期間.....	21
	(四) 測試批量.....	22
	(五) 線上作業速度.....	22
	(六) 環境條件.....	22
	(七) 培養基.....	22
	(八) 培養基充填之培養及檢查.....	23
	(九) 試驗結果之闡釋.....	24

二、	過濾效能.....	25
三、	設備、容器與封蓋的滅菌.....	26
第 十 章	實驗室管制.....	28
一、	環境監測.....	28
(一)	一般的書面作業計畫.....	28
(二)	建立限度與趨勢分析作業計畫.....	28
(三)	消毒作業的效能.....	29
(四)	監測方法.....	29
二、	微生物培養基與鑑定.....	30
三、	過濾前的生物負荷.....	31
四、	替代的微生物學的試驗方法.....	31
五、	微粒子的監測.....	31
第 十 一 章	無菌試驗.....	32
一、	方法選擇.....	32
二、	培養基.....	32
三、	人員.....	32
四、	取樣與培養.....	32
五、	無菌試驗呈現陽性結果的調查.....	33
第 十 二 章	檢視批次紀錄：處理管制文件系統.....	35
詞彙.....		36
參考資料.....		41

第一章 前言

本指導手冊之編訂旨在協助以無菌操作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 FDA Guidance for Industry on Sterile Drug Products Produced by Aseptic Processing (September, 2004) 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無菌操作作業之唯一方式，業者尚可採用其他具適當科學理論依據的方法來執行無菌操作作業。

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

以無菌操作製造無菌藥物/生物製劑時，應符合相關的現行藥品優良製造規範。現行藥品優良製造規範無列管之藥物，其所適用的特別規範應優於現行藥品優良製造規範。

二、技術層面

以無菌操作法及以最終滅菌法生產無菌產品，兩者之間存在著基本差異。

最終滅菌法通常在高品質的環境條件下，進行產品充填及產品容器之密封。在此種環境下將產品充填及密封，可將製程中產品的微生物及微粒子含量降至極低，並有助於後續滅菌過程的成功。大多數的最終滅菌生產方法，其產品、容器、及封蓋之負荷菌甚低，但並非無菌。盛裝於最終容器之產品需再經過加熱或輻射的滅菌過程加以滅菌。

而無菌操作法則係先將藥物、容器、及封蓋分別以適當的滅菌方法滅菌後再予組合。因產品盛裝於最終容器後，並不再經滅菌過程處理，所以在極高品質環境下進行產品充填及密封就非常重要。無菌操作法比最終滅菌法具有更多變數。在無菌組裝成最終產品之前，最終產品的個別組件通常要經過不同的滅菌過程；例如：玻璃容器經過乾熱、膠塞經過濕熱、而藥液則經過濾。這些製造的每一個過程均需經確效與管制。每一個過程都有可能產生錯誤，最後可能導致受到污染的產品被運銷。已滅菌之藥物、組成物、容器、或封蓋在無菌製造前或無菌製造過程中的任何一個手工或機械操作，都有污染的風險，因而需加以詳盡的管制。但就最終滅菌而言，最終滅菌產品係將密封的容器經過最後的滅菌，因而限制產生錯誤的可能性。

無菌藥物製造業者對於可能影響民眾健康的未完全滅菌產品，應有深切的警覺性。製造場所之違反現行藥品優良製造規範的行為，最終可能造成對病患生命威脅的健康風險。

第三章 範圍

本指導手冊僅探討一些精選出來的議題，並未論及所有無菌操作的層面。例如：本指導手冊著重於論述最終產品之現行藥品優良製造規範事項，而關於上游之作業步驟的資訊則甚為有限。本指導手冊主要在論述人員資格認定、潔淨室設計、製程設計、品質管制、環境監測、及生產紀錄覆核等方面。本指導手冊也討論隔離裝置之應用。

雖然本指導手冊討論組成物、容器、及封蓋之相關現行藥品優良製造規範事項，但未論及產品之最終滅菌。只有在最終滅菌法不適宜(not feasible)時，方可採用無菌操作法製造無菌藥物，是一項廣為接受的原則。然而，一些可以提供某些獨特與實質優點的最終包裝（例如：某些雙腔室注射器(dual-chamber syringes) ）不可能採用最終滅菌；此種場合，製造業者可設法選用其他輔助加工步驟，以增加無菌保證的信賴度。

第四章 建築物與設施

依現行藥品優良製造規範之規定，無菌操作場所內，經分隔的或經界定的作業區域，應予適當管制，以達到依各作業特性所需之不同等級的空氣品質。一個特定區域的設計，要包括滿足該區域內設備、組成物、暴露的產品、以及在該區內所執行之作業活動所要求之微生物學的(microbiological)與微粒子的明確標準。

潔淨區的管制參數應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予支持。雖然潔淨室的首次驗證有包括完工時(as-built)及靜態條件下之空氣品質的評定，但區域的驗證與分級，所最需強調的則是動態條件(亦即：人員在場、設備就位、作業進行中)下所產生的數據。適當的無菌操作場所監測計畫亦宜包括在動態條件下，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及微生物品質的建議行動水準摘要如下表：

表 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行動水準。

^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 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)

	靜態 ^(b)		動態 ^(b)	
等 級	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。空調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)

重要區域是指已滅菌藥物、容器、及封蓋所暴露的區域；為保持產品無菌，該區的環境條件必需加以特別設計。在此類區域內進行的活動，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，係因經過暴露的產品極易遭致污染，且裝於直接容器之後不再有後續的滅菌作業。為維持產品的無菌性，將執行無菌操作(例如：設備之組裝、調整、充填)的環境控制並維持於適當的品質，就顯得相當重要。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本身就可以侵入產品的外來污染源、而且也可以充當微生物媒介而以生物學的方式產生污染。經過適當設計的空氣處理系統可將重要區域的微粒子含量降至最低。

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)。

我們建議測量重要區域之空氣潔淨度時，應選擇對於暴露的已滅菌產品與容器/封蓋最具潛在風險的位置。應將微粒子計數器之探針定位於經過證明能得到具有意義之樣本的位置。每個生產班次的工作期間均應執行定期的監測。我們建議以遠端計數系統執行非活性微粒子的監測，這些計數系統能夠收集更全面性的數據，且通常比使用攜帶式微粒子計數器較不會受到侵入。有關微粒子監測的其他指引請見第十章第五節。

某些作業可能產生大量的產品(例如：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，可以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驗證，可提供因作業而產生之非產品微粒子的背景資料。

供應重要區域內的空氣應經 HEPA 過濾器過濾，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，並適於該重要區域內，維持動態條件下的單向氣流及空氣品質。

適當的設計與管制，可防止重要區域的空氣產生亂流及停滯。一旦建立相關參數之後，最重要的就是氣流型態的評估，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)的管道或貯藏區。應於重要區域之現場執行氣流型態分析，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，其內容並應包括氣流型態對於無菌操作(例如：干擾)及設備設計的影響。已知錄影帶或其他記錄裝置有助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。另外，很重要的是要注意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樣本應不會有發現微生物污染物的結果。我們建議對於此環境發生的污染，即予適當的調查。

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。正確地設計這些支援區域的環境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。台灣現行的

分級是 100 級區(ISO 5 級)，10,000 級區(ISO 7 級)及 10 萬級區(ISO 8 級)。FDA 建議緊鄰無菌操作線的區域，在動態條件下至少應符合 10,000 級(ISO 7 級)的標準(見表 1)；製造業者亦可將此區域定為 1,000 級(ISO 6 級)，甚或維持整個無菌充填室為 100 級(ISO 5 級)。被區分為 100,000 級(ISO 8 級)空氣潔淨度水準的區域，可用於諸如設備清潔等較非關鍵性的作業。至於歐洲 PIC/S 的標準，請參考表 2。

三、潔淨區之分隔

作業區域的適當分隔，是防止污染的一個重要事項。要維持空氣的品質，則從較高潔淨區流往其相鄰的較低潔淨區的空氣應達到適當的氣流。而極其重要的是：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：當房門關閉時，相鄰的不同等級的房間之間應維持至少 10-15 帕(Pa)的正壓差；而當房門開啟時，往外的氣流應足以將入侵的污染減至最低；此外，非常重要的一點是：可讓房門維持於微開狀態的時間，亦應予嚴格管制。

某些情況下，無菌作業室與其相鄰的潔淨室會具有相同的潔淨度等級。將無菌作業室與這些相鄰的房間之間，在房門關閉情況下保持正壓差，可得到有利的分隔。對於緊鄰無菌作業室之任何未分級房間的場所設計，應使無菌作業室對這些未分級房間經常保持實質的正壓(例如：至少 10-15 帕)，以防止污染。如果此壓差低於最下限，則必須將無菌作業室的環境品質復原、並予再確認。

管理當局(the Agency)建議各潔淨室之間的壓差應於整個工作班次期間持續監測，並經常記錄。所有警示(alarms)必須予以記錄，如有偏離既定管制界限之情形，則應予以調查。

換氣速率是另一個潔淨室設計的重要參數。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。10,000 級與 100 級的區域，則正常情況下，應有明顯的較高換氣速率。

適當的作業場所的監測系統，可快速地檢出會損害作業場所環境的異常變動。一個有效的系統，有利於當作業條件達到行動水準之前，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

壓縮氣體應具適當的純度(例如：無油)，且經過濾後，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，且經常地使用於清洗或空氣置換。

薄膜過濾器可用於將壓縮氣體過濾至符合適當的高品質標準。這些過濾器經常被使用於產製無菌壓縮氣體，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：我們建議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，均應於正壓下或予適當地密封貯存，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；氣體過濾器內的冷凝液可能造成使用時堵塞或使微生物生長。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。我們建議使用於無菌過濾(sterile boundaries)或供應無菌氣體、對產品有影響的過濾器，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，同時也建議對於可能會損傷過濾器之作業，於作業完成後也執行完整性試驗；完整性試驗失敗時應予調查，且過濾器應每隔適當的、規定的時間即予更換。

(二) 高效率空氣過濾器過濾

HEPA 過濾器之完整性應予維持，以確保無菌條件。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。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：無菌操作作業室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藥瓶熱原之隧道式乾熱除熱原滅菌器及乾熱滅菌烘箱的過濾器，亦應做洩漏試驗。如經證明可行，則亦可使用其他方法以測試這些隧道式乾熱除熱原滅菌器或乾熱滅菌烘箱之高溫區的 HEPA 過濾器。

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。因此，任何煙霧劑替代品的評估需包括確保該替代品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 μ m 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。此種挑戰試驗包括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 μ m 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。很重要：在過濾器上游引入的煙霧劑的濃度，應配合量測煙霧劑之光譜儀的精密度。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。適當的掃描方法，應於過濾器表面下方約一至二英吋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，會被認為是顯著洩漏的徵象，而要求 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。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。速度的變化會引起亂流，從而增加污染的機率。重要區域內 HEPA 過濾器之單向氣流的速率，應在距離過濾器表面六英吋、且在與緊鄰之工作檯面的規定距離內測定。適當時間間隔的速率監測，可提供執行無菌操作作業之重要區域的有用數據。這些量測應與執行就地(in situ)空氣型態分析研究當時所建立的速率範圍有所關聯。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。

雖然接受委託檢測之廠商(contractors)常提供這些服務，但藥物製造業者應負責確保設備規格、測試方法、及合格標準業經確定，而且這些基本的認證活動均已充分執行。

五、設計

註：本節所討論的內容並未涵蓋所有的設計概念。如有其他可以增進無菌保證的適當技術，則亦可予以採用。

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。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，應將物料轉移至傳統潔淨室之重要區域內或隔離裝置內的次數減至最少。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。

產品應於適當的潔淨室環境下進行移轉。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能有 100 級(ISO 5 級)的保護。輸送與裝載作業也應有相同程度的保護。

無菌產品及其容器、封蓋均應以適當設計的設備予以保護。可於適當的位置使用屏障(barriers)，以達到無菌操作作業線的隔離，而精心設計的簾幕與堅固的塑膠屏障則是較為適用的屏障。使用隔離裝置系統可進一步提高產品的保護。

由於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，可幫助確保產品適當的直接流向。氣鎖室及連鎖門有利於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製造區入口及與該區相鄰之非分級區之間。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，由較低分級區移往較高分級區時，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，原物料就應按照適當的作業程序予以消毒；於重要區域使用的原物料，則應以適當的方法使其無菌。

當已加瓶塞但未封瓶蓋之藥瓶，要移出無菌作業區或無菌作業室以進行封蓋作業時，應有適當的措施以保護產品；例如完成封蓋之前的局部保護即是一種保護措施。使用可檢出瓶塞密封不良的線上裝置，能提供更進一步的保證。

潔淨室通常是依特定目的之功能需求而設計。潔淨室的建材需能確保易於清潔及消毒。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、及天花板表面應平滑且堅硬，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的設備、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，100,000

級(ISO 8 級)區以外的所有列入潔淨室等級的無菌操作作業場所，如裝設排水設施會被認為不適當。另外，很重要的是安裝於無菌作業場所的任何排水均需有適當的設計。

設備應經適當的設計，以利於容易以適用的滅菌方法進行滅菌。另外，很重要的是要確保易於安裝以利無菌組裝。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，不應造成單向氣流的擾亂。

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。應於書面程序中詳述設施停止運轉後回復正常作業條件的措施。

第五章 人員訓練、資格認證、及監測

一、人員

精心設計的、維護的、運作的無菌過程可將人員的介入減至最低。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，很關鍵的事項是：參與無菌作業之作業人員應於作業之全程，均使用無菌技術。

每一位人員在被許可進入無菌製造區之前，應經適當的訓練。基本的訓練項目應包括無菌技術、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、以及無菌製造區之特別的書面作業程序等等。人員經初始訓練之後，仍應參與定期的持續訓練計畫。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：

應始終使用無菌器具處理經過滅菌的原物料。無菌器具在經使用之後、於下次再使用之前，應存於 100 級(ISO 5 級)環境條件下，並保持於防止污染的狀態(例如：置於滅過菌的容器內)。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或適時更換，以將污染減至最低。人員之服裝或手套的任何部位均不得直接接觸無菌產品、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。快速的移動會擾亂單向氣流，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。重要區域內之單向空氣流的路徑一旦受到擾亂，則會產生產品的無菌性風險。

（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，操作人員在直接接近重要區域時，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，方得被許可進入無菌製造區。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。管理當局(the Agency)建議工作服裝應無菌、且其材質不會脫落纖維，並能覆蓋皮膚及毛髮(因此，面罩、頭罩、鬍鬚護罩、護目鏡、及彈性手套，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。手套應經常予以衛生處理(sanitized)。

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；我們建議這種評鑑要包括於工作服裝上，諸如手套之指套、面罩、前臂、胸部的表面微生物取樣。取樣的位置應經證明具合理性。經初次的更衣程序評鑑之後的定期再認證，可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程度、且有監測數據呈現環境管制狀態的自動化作業，每年一次的再認證應已足夠。任何無菌操作之作業，如發生不良環境條件之情形，則可另加再驗證、或增加再驗證之頻率。

為保護暴露的、業經滅菌的產品，人員維持工作服裝的品質，並嚴格遵守適當的無菌技術。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。有關微生物趨勢分析系統、及異常趨勢影響之評鑑等，於第十章“實驗室管制”中，有更詳盡的討論。

第 六 章 組成物與容器/封蓋

一、組成物

無菌操作生產的藥品，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，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。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。

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

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 無菌製程及滅菌之確效

本章主要在討論例行性驗證與確效研究的一些建議。變更管制程序僅簡短提到，但變更管制是一家公司所建立的品質系統中重要的一部分如前所註釋，設備、製程、檢驗方法或系統之變更應透過書面變更管制計畫評估，是否應再確效與再驗證評估。

一、製程模擬

為確保無菌產品之無菌性，滅菌過程及無菌充填和密封之操作皆應執行適當之確效。產品組成物(藥物、容器、封蓋)即使經由效果最好之滅菌製程處理過，如組裝時的環境受污染，亦無法達到無菌程度；同樣的，如產品組成物於組裝時並非無菌，則產品之無菌性將大打折扣。

無菌操作製程之確效應包括微生物學的生長培養基代替產品的操作，此過程稱為培養基充填或製程模擬。在一般培養基充填模擬過程中，培養基應暴露於與產品接觸之設備表面、容器封蓋系統、關鍵環境，且操作時密切地模擬產品相同的暴露情況。再將封口後之培養基進行培養，以觀察微生物污染之情況。其結果可用以判斷單元產品在實際製程操作過程(如：初始階段、無菌成份添加、無菌連接、充填、封蓋)中受到污染的可能性。由製程模擬之環境監測數據亦可提供製程評估有用之資料。

(一) 研究設計

培養基充填計畫的建議事項，應包含產品線上可能發生污染之風險因素，並對製程控制的狀態做出正確的判定。培養基充填應盡可能模擬無菌製程操作的情況，並包含最差狀況的模擬。培養基充填計畫應涵蓋下列項目：

- 製程線上可容許之最長時間之相關因素。
- 正常情況下之作業人為介入次數及其種類，不正常情況之人為介入、突發事件(例如維修保養)、停工、設備的調整或搬遷。
- 凍晶乾燥(如製程中有使用才需要)。
- 設備之無菌組裝(例如製程起始階段或製程中之組裝)。
- 人員數量及其活動。
- 無菌添加之次數(例如容器封蓋之填加或無菌成分之添加)。
- 輪班、中斷、更衣(視製程需要)。
- 無菌設備組裝與拆卸之次數與種類。
- 無菌取樣。
- 生產線速度與組態。

- 人工重量檢測。
- 作業人員疲勞。
- 容器封蓋系統(例如: 大小、型態、與設備之相容性)
- 與無菌製程相關之操作標準書之特殊規定(例如生產線清理前之容許狀況)。

每次培養基充填應有書面批次記錄，記載製造的條件及模擬的活動。其應警戒的項目應與例行生產時相同。培養基充填不應用於證明不合格操作之正當性。

(二) 測試頻率及次數

生產線初次驗證時應重複足夠次數之培養基充填，以確定其結果為有意義且具有一致性。此點非常重要，因為單一測試可能不具決定性，而如多次測試所得為分歧結果，表示製程並未處於控制中的狀態。在驗證生產線時應有至少連續三次成功之測試。後續應每半年對個別生產線執行驗證，以評估無菌製程之控制狀態。其驗證試驗之設計應包含每班之代表性活動和人為介入及換班的情形。例如：每一輪班之評估應提出其獨特之時間相關性及操作上之特性。所有進入無菌操作作業室的人員，包含技術人員與維修人員，至少應每年參與一次培養基充填測試。其參與過程應與例行生產時每位操作人員的工作職責性質一致。每次產品或生產線之變更應經由書面之變更管制系統評估。任何有可能影響無菌製程去污染能力之變更或事件時，應經由額外之培養基充填加以評估，例如設施與設備之修改，生產線組態修改，顯著之人員異動，異常之環境監測結果，容器封蓋系統之變更，或是最終產品無菌測試顯示受污染，都構成系統再確效之原因。

當培養基充填之數據顯示製程可能失控，應執行全盤性、書面的調查以確定污染之起源與問題的範圍。一但著手改正措施，應重複執行製程模擬測試以確認程序中之缺失已被改正，且可使製程回歸控制之狀態。如調查無法得到證實之失敗原因，應再執行三批連續且成功之培養基充填測試，並增加其製程之嚴密度(例如額外之監督管理與監控)。

(三) 進行期間

無菌製程操作之進行時間為決定培養基充填測試批量大小之主要考量因素。雖然最精確的模擬模式為全批量及期間，因為其模擬最接近實際製程，但其他合適的模式被認可時，亦可採用。在任何研究計畫書中，進行期間及全部的研究設計皆應適當模擬最差狀況之操作，並涵蓋在實際製程操作上所有的操作情形。在此考量下，經常發生的人為介入應例行性地加以模擬。

雖然傳統之生產線為高度自動化且為高速進行，其設計上亦限制操作人員之介入，但是仍然有些製程含括大量的人工作業。當無菌製程採用人工充填或封蓋，或大量的手工操作時，其製程模擬的時間不可少於實際製程時間以模擬因操

作人員污染之風險。

執行培養基凍晶乾燥時，未封口之容器從暴露狀態至微氣密應縮短艙室中真空時間，以模擬製程中之狀態；已充填之藥瓶不可冷凍，冷凍可能會抑制微生物的生長。

（四）測試批量

模擬測試之批量大小應適當模擬商業生產之情況並精確評估商業生產批次污染之可能性。充填數量應基於其製程受污染之風險，且須足以精確的模擬製程中之代表性活動。一般可接受之最少量為 5,000 到 10,000 個充填單元。如實際生產批量少於 5,000 者，其培養基充填量應與生產線之最大批量相同。

當污染之可能性高於製程之設計(例如人工密集之生產線)，應採用較大之測試量，通常為(或接近)最大生產批量。相反地，如製程在密閉的隔離裝置，因沒有人員之直接干涉而使污染之風險降低，可以較少批量進行模擬測試。

當製程批次需經多次輪班才能完成，或是批量非常大時，培養基模擬之批量及期間相當重要。這些因素在設計試驗時應仔細考慮以包含操作時之條件及任何潛在風險。

（五）線上作業速度

培養基充填模擬計畫應指出生產線上作業速度之範圍(例如：總括所有藥瓶大小及充填量)，每一培養基充填測試應評估單一最差狀況之線上速度，其速度之選擇應有合理之理由。例如：評估經常有人為介入或人工操作程度高之製程時，作業速度應較快，而當無菌產品及容器封蓋於無菌區域暴露時間較長時，其評估應採用較慢的作業速度。

（六）環境條件

培養基充填應可代表實際製程操作時之條件。使用較潔淨的環境或進行模擬準備工作時採取更多的生產管制或預防措施，都會造成錯誤之評估結果。如操作標準書容許有強制性之操作條件，培養基充填時應模擬類似之挑戰以支持其研究之有效性。

（七）培養基

一般微生物培養之培養基應使用大豆分解蛋白質-乾酪素培養基，在特殊情況下則使用厭氣性細菌培養基(如硫醇乙酸鹽培養基)。培養基之選用應證明可使藥典之指標性微生物、環境監測、人員監控、及無菌試驗陽性反應中分離得出之菌種生長。陽性對照組應以 < 100 CFU 之挑戰接種並培養之。如生長測試失敗，應調查模擬過程中發現之所有污染來源，並馬上重做培養基充填測試。

製程應以培養基及最佳微生物污染偵測條件精確模擬。每一單元應以適當培養基及適當量進行充填，使其與容器及封蓋之內部表面接觸(當容器倒置時或搖晃時)，並容許肉眼可觀察微生物之生長。

部份製造業者表示擔心在培養基充填試驗時使用之營養液可能對設備及設施造成污染。然而如果培養基經適當處理，且立即將設備清潔、滅菌及必要時滅菌，應不致影響後續處理之產品。

(八) 培養基充填之培養及檢查

培養基充填應於適當條件下培養以觀察微生物之生長情形，並依下列指導原則建立培養條件：

- 培養溫度應適用於生物負荷及環境中分離出之微生物培養，並不可超出 20~35°C 之範圍，且維持在與目標溫度 2.5°C 之差距之內
- 培養時間不可少於 14 天;如使用兩種溫度進行培養，每種溫度下之樣品應培養至少 7 天。

每個培養單元應由經適當教育訓練且有微生物經驗之人員觀察微生物之生長情況，並有品質管理單位監督。透明的容器(或其他相同物理性質者)應用於代替琥珀色或不透明之容器以便利以肉眼觀察微生物生長。

當公司完成培養基充填之最終產品檢驗時，所有完整未破損之單元皆應培養；與完整性無關之缺陷品(例如外觀缺陷)亦應培養，缺乏完整性者應丟棄。誤丟之單元應馬上歸回並一同培養。

培養進行中如有發現破損之單元，其數據應含於培養基充填測試中，由於此乃模擬產品販售至市場之情況。捨棄任何單元(例如不完整)之決定皆應有正當理由並於培養基充填報告中解釋偏差。如果微生物污染與不易偵測破損之間有關聯性時，應執行徹底之調查以決定原因。

關於無菌製程之人為介入的書面程序應定義清楚及明確(例如介入的類型；移除單元之數量)，以使生產作業有一致性且於培養基充填時評估此生產作業。如果有適當的書面程序及批次文件，這些因人為介入而被移除單元可不進行培養基充填試驗之培養；如無具體之書面程序，則無充足之理由不將人為介入時移除的單元進行培養。例如:製造程序要求添加瓶塞過程之人為介入時，需移除 10 個單元，批次紀錄(製造或培養基充填)上之記載即應與程序相同。任何狀況下，培養基充填時移除之單元數決不可比製程時應移走之單元數還多。培養基充填模擬之偵測潛在污染之能力不可因大規模之生產線清除而做出讓步，因為如此可能將不相關之事件或人為介入所造成之陽性反應單元移除。如確實無法避免，應預作適當之安排以彌補此類事件。產率及合理的範圍應建立適當的標準。培養基充填記錄數量一致性的文件應包括所有的數量及該批捨棄的數量。

（九）試驗結果之闡釋

製程模擬之進行應加以觀察，受污染之單元應可被核對出大約的發生時間及模擬之活動。以錄影方式記錄培養基充填之模擬過程有助於指認對無菌操作造成負面影響之人為動作。

任何受污染之單元應被認為不能接受，且應加以全面調查，並鑑定出微生物至種的層級。如培養基充填試驗失敗，應進行全面性的調查所有可能造成污染的原因。而對從前一次成功培養基充填之後該生產線上所生產之產品的影響亦應加以評估。

只要當培養基充填試驗中有污染現象發生，無論測試批量之大小，就代表有潛在之無菌保證的問題。受污染的數量不應預期與培養基充填之數量成直接正比的關係。測試結果應為可忠實且可一再的顯示該無菌製程之操作生產之單元為無菌。在適當設計之設施下的現代無菌操作已被證明可達到趨近於零之污染率，因而正常情況下不應造成培養基充填之污染。以下建議為評估無菌生產線管制狀態之標準：

- 當充填數量少於 5000 單元時，不可偵測到有污染單元。
 - 發現一個污染單元時應進行調查並考慮執行再確效。
- 當充填數量介於 5000 到 10000 單元時：
 - 發現一個污染單元時應進行調查並考慮重做培養基充填。
 - 發現二個污染單元時應進行調查並考慮執行再確效。
- 當充填數量超過 10000 單元時：
 - 發現一個污染單元時應進行調查。
 - 發現二個污染單元時應進行調查並考慮執行再確效。

任何批量下之培養基充填測試如斷斷續續的發生微生物污染之現象，表示有持續存在之低量污染問題，應進行調查。個別生產線之培養基充填測試如有一再發生污染之現象，無論是否在可接受範圍內，表示無菌製程線有惡化之趨勢，應找出其問題點並加以矯正及再確效。

一家公司所採行之培養基充填接受標準容許偶發之污染，並不表示其售出聲稱為無菌之產品可含有非無菌之單元。無菌製程之目的為防止任何的污染，製造商如運出任何非無菌之單元，應負全責，因為此種行為為法規所禁止。行政院衛生署也認為確效對於確認一控制系統在排除污染之精確性與準確性上，可能有些科學及技術上的限制。

在執行任何確效時，重要的是須注意培養基充填測試被判為無效應為極罕見之現象。只有在書面程序中要求需以與商業生產批次相同方式處理之情況下，才可以中止培養基充填測試；此種情況應有合理之理由與文件支持。

二、過濾效能

過濾為液體藥物滅菌之常用方法，適當滅菌等級的濾膜可重複地除去製程中所有之微生物，使流經濾膜之液體無菌；這類濾膜的孔徑通常在 0.22micron 或更小。無論使用何種濾膜或其組合，其確效皆應包含微生物挑戰試驗，根據濾液中微生物大小及完整性測試結果模擬最差狀況之製程情況。挑戰試驗使用之微生物需小到可以挑戰濾膜之孔徑以及模擬製造過程中可能發現之最小微生物。屬於最小的細菌之一的 *Brevundimonas diminuta* (ATCC 19146) 經適當生長、收集及使用，可達到此一目的(其平均直徑為 0.3 micron)。未滅菌前之溶液的負荷菌應加以測量，以找出潛在污染菌種之特性趨向。在若干情況下，如可證實以分離出之菌種進行試驗與使用 *Brevundimonas diminuta* 有相同效果，或更好時，可將之用於微生物滯留實驗。挑戰試驗中使用的菌數十分重要，因為濾膜中可能有一些孔徑比其規定等級更大，因而可能讓微生物通過濾膜。此種情況的機率會隨待濾液中的微生物數量增加而提高。挑戰試驗通常使用每平方公分之有效過濾面積通過至少濃度有 10^7 之 *B. diminuta* 來執行；商業生產批次之待過濾的負荷菌不可超過確效研究所考慮之微生物大小與/或濃度。

直接接種到藥物配方中可用以評估藥物作用於濾膜基質和挑戰之微生物的效果，然而將 *B. diminuta* 直接接種到有殺菌作用或油性配方中會導致錯誤的結論。如有充分的證明，藥物配方對於濾膜完整性之作用可以由其他適當替代方法評估。例如：藥品可以以模擬最差狀況製程與條件的情況下過濾，再以相同條件過濾挑戰試驗用的微生物一段時間，但使用修改過的產品作為載體(例如不加入抗菌之防腐劑或其他抑菌成分)。任何與實際產品或製程不同條件之模擬試驗皆應有其充分合理的解釋。

影響過濾效能的因素包括：(1) 濾液的黏度，(2) pH，(3) 原料或配方成分與濾膜本身的相容性，(4) 壓力，(5) 流速，(6) 最長使用時間，(7) 溫度，(8) 滲透壓，(9) 水液壓之效應。在設計確效計劃時，應提到在極限製程操作因子下對濾膜滅菌過濾能力之影響性。濾膜確效時應以最差狀況下執行，例如最長之使用時間與最大壓力。濾膜確效實驗(含微生物挑戰試驗)，並不需要在實際的生產區執行之。但基本條件為實驗室的試驗需模擬實際生產的條件。在濾膜確效研究中應評估量產批次使用之濾膜型式。如果濾膜確效之複雜度超過使用者能力，可由委外之實驗室或濾膜製造商來執行。然而，濾膜使用者應有責任審核確效的數據，以及濾膜滅菌過濾的功效。該數據需可適用於使用者的產品及使用情況，因為濾膜之功效因不同條件與不同產品而有顯著差異。在針對產品、製程、與濾膜之過濾製程確效後，需確保製造過程中使用其他之同型濾膜(膜型或柱型)有相同的效能。無菌濾膜在一批的製程後應例行性的丟棄；一般，將濾膜組裝完畢並滅菌後，在製程開始前，應先執行完整性測試；在過濾完成後亦應執行完整性測試，以檢查濾膜在過濾過程中是否有滲漏或破洞。適當之 forward flow 及起泡點測試為兩個可行之完整性測試辦法。製造用濾膜之完整性測試規格應與過濾效果研究所得之數據一

致。

我們建議你考慮使用串聯在一起的滅菌級濾膜，這是常見的做法。

三、設備、容器與封蓋的滅菌

為了維持無菌性，直接接觸到無菌藥品之設備表面或滅過菌後的容器或封蓋表面亦應為無菌，以免改變藥品的品質；至於非直接接觸但接近無菌產品或容器封口的表面，因為有造成污染之潛在可能性，也應為無菌。用於這些關鍵設備之滅菌程序亦應經適當確效，因其將用於進行藥品、容器、封蓋之滅菌。溼熱滅菌與乾熱滅菌是使用最廣泛的方法，也是本文主要討論的程序；本文中所討論用於高溫滅菌之原則也可適用於其他滅菌方法。

無菌製程設備之無菌性應由逐批之滅菌加以保存；在設備、容器、封蓋滅菌後，其運送與組裝亦應遵循嚴格的無菌方法以保護並維持產品之無菌性。

（一）滅菌設備的驗證與確效

執行確效時應證明滅菌週期之有效性，並定期進行再驗證研究。無論確效研究或例行生產時，都應使用特定之裝載配置，並記錄於批次紀錄中。

未被抽離之空氣由於其絕緣特性，會阻止高壓濕熱的蒸氣穿透來加熱材料，而無法達到類似飽和蒸氣之殺菌力。因而，這樣的過程，在裝載中被隔絕位置所產生的乾熱，其熱移轉速度與殺菌速度都很低。因此在高壓滅菌週期，抽去滅菌器中的空氣是很重要的。

在眾多滅菌法中，應注意待滅菌材料之特性或形式，以及滅菌過程中生物指示劑擺放的位置。生物指示劑的 D 值會因待滅菌物質不同而有很大的變化。針對滅菌設備的裝載或設備串聯(用於原位滅菌時)等熱能不易到達的地方，應先行評估，例如：在管線中安裝過濾器可能使其兩端形成壓差，造成下端明顯的溫度下降。生物指示劑應放置於設備下端的適當位置以決定此溫度下降現象是否影響這些位置之熱能輸入。針對這些最難穿透或加熱的區域，應持續進行再驗證及再確效。(例如：緊包覆或密集包裝的物品、綁的很牢固的物件、長管、無菌過濾裝置、疏水性濾膜、膠塞等最差狀況的裝載)

正規的定期再確效計畫應考慮滅菌設備的使用年數及過去的表現情況；變更管制應提出諸如裝載配置或滅菌設備的修改等問題。

驗證：空槽

在空載之滅菌設備(如滅菌釜或烘箱)或設備串聯列(如大型槽罐或固定管線)的許多不同位置，進行溫度分佈研究，重點是需評估在滅菌設備中，不同位置下之溫度均一性，以找出可能未獲得充足之熱能而無法達到無菌的冷點。這些熱均

一度，或稱溫度分佈圖的研究，應使用校正過的溫度測量儀器設備，放在滅菌空間中不同位置進行測量。

確效：裝載狀態

應利用已以建立好的滅菌裝載方式進行熱滲透研究。其滅菌過程之確效可驗證裝載後，對滅菌物品之熱能輸入功率的影響，並可找出因溫度不足而達不到無菌的冷點。在裝載物中同時放置一些生物指試劑，包括最難滅菌的位置，可直接證明滅菌的效果；一般做法可將熱電偶放在生物指示劑附近以評估熱能輸入與其對微生物殺菌力之相關性。在判定最難滅菌的物品時，應特別注意濾膜的滅菌。

最後，此類滅菌法滅菌週期之規格是根據可使充足的熱能輸入到加熱最慢位置的條件。無菌製程的無菌保證至少需達到 10^{-6} 或更好。

(二) 設備控制與儀器校正

無論是確效或例行製程控制，由滅菌週期監控儀器獲得之數據的可靠度是最重要的，該儀器應例行校正，並有書面程序以維持其在校正狀態，例如：

- 高溫滅菌設備之溫度監控儀器應在適當時間間隔以及在確效前後加以校正。
- 滅菌設備用來監控之計時器(dwelling)應定期性的校正。
- 微生物數目與生物指試劑的 D 值在確效前應加以確認。
- 細菌內毒素挑戰試驗樣品應由實驗室適當地準備與測量。
- 判定蒸氣純度的儀器應適時地校正。
- 隧道式乾熱去熱原設備、用於量測輸送帶速度的儀器(例如感應器與發送器)應例行校正。

為確保健全的製程管控，滅菌設備應有適當設計，需注意到的特性，例如可使用殺菌劑到達的程度、管線傾斜度、或是可適當移除冷凝物的特色；在可快速偵測到製程變異之風險管制點放置測量儀器，以確保設備之管控。當滅菌操作中需要使用人工控制閥門時，這些步驟應列於製造程序之中。滅菌設備應適當的加以維護以提供穩定且符合要求之功能。由滅菌溫度達到平衡時間等效能評定之研究將有助於滅菌設備是否持續適當運轉的評估依據。

第十章 實驗室管制

一、環境監測

(一) 一般的書面作業計畫

在無菌操作中，建立環境監測作業計畫是實驗室整理重要的工作項目之一。此監測作業提供了生產時的無菌操作環境（當批次生產時）以及該生產區域環境品質趨勢的重要訊息。一個適當的作業計畫可鑑別潛在的污染途徑，以利於在產品發生污染前即可進行矯正措施。

評估潔淨室環境的空氣與表面品質，必須從經充分界定的書面作業計畫與已經確效的方法開始。此監測作業計畫必須包括所有生產之輪班作業，包括空氣、地板、牆壁以及含括與產品及容器或封蓋接觸之關鍵的機器裝備表面。書面的程序必須包含採樣地點的明細。採樣時機、頻率及地點都需依據執行作業之相關性審慎地選擇。採樣必須利用適當的、科學的採樣步驟、標準與試驗限度，遍及無菌作業設施（例如：無菌走廊、更衣室）。

對產品有高度微生物學風險的區域，是作業計畫中重要的部分。監測無菌作業潔淨區的微生物學的品質尤其重要，它可確定在充填與密封的作業是否維持在無菌條件下進行。和無菌產品接觸的關鍵表面必須是無菌的。關鍵表面的採樣必須於無菌作業結束後進行，以避免直接接觸無菌表面。空氣與表面的樣品必須確實在工作場所及生產過程中有顯著活動或產品暴露的地點採集。

環境監測方法不會總是再呈現採樣區域當時的微生物狀況。尤其低程度的污染更難察覺。因為連續性生長結果之偽陰性的可能性，只是不利傾向的一種。在一定的期間內污染出現的頻率比正常時高，是一種必須追蹤的顯著趨勢。

在沒有不利的趨勢下，一個高於行動水準的結果，必須進行評估並決定是否有適當的矯正措施。所有等級的房間都必須執行矯正措施，以回應不利的傾向。

所有的環境監測地點必須在標準作業程序（SOPs）中詳細地說明，以便提供在同一地點採樣的評估。書面的標準作業程序也必須提出（1）採樣頻率；（2）採樣時機（例如生產作業中或結束後）；（3）採樣持續時間；（4）採樣量（例如表面積、空氣量）；（5）特殊的採樣儀器設備與技術；（6）警戒與行動水準；以及（7）與警戒與行動水準偏離時的適當處置。

(二) 建立水準與趨勢分析作業計畫

必須依據與作業相關的採樣點建立微生物學的監測程度。此程度必須根據足夠的微生物學的控制遍及所有無菌製造的設施。同時，亦須考量過去環境監測的數據、培養基充填、潔淨室的驗證與消毒程序的研究來製訂監測程度。從類似

作業已發表過的數據，尤其對新的作業方式，有助於訂定行動與警戒水準。

微生物環境監測必須包括警戒及行動水準，每一個樣品的結果必須評估其與警戒及行動水準的比較，數據平均的結果會掩蓋無法接受的侷限條件。警戒水準可引起對接近達行動條件的注意。超出行動水準的結果必須進行全面的調查。必須建立書面的程序詳細說明數據評估的頻率、污染物的鑑定、以及如何行動。品質管制單位必須提供近期（每天、每週、每月或每季）與長期趨勢分析的環境與人員監測數據之監督途徑。

趨勢報告必須包括地點、變動、批次、房間、作業員或其他研究參數所產生的數據。品質管制單位有責任建立限定範圍的數據報告（例如：區分自年度之特定非典型的研究），以利調查超出既定水準的結果與確定適當的後續行動。此外，超出警戒與行動水準的微生物數量，在潔淨室環境發現的非典型微生物都必須進行調查，並執行適當的矯正行動。

書面的程序必須界定一系統，藉以使最高的權責管理者能定期得到與更新趨勢分析及調查進度。

（三）消毒作業的效能

用於潔淨區域的消毒劑之合適性、有效性與使用限制必須加以評估。消毒作業的效果也必須藉由其能力予以估計，以確保潛在的污染物可以充分地從表面被移除。（例如：藉由取得之消毒前後的樣品。）

消毒劑的配製必須確認為無菌的，且須在一定的時間內使用，這些都應有書面的程序資料。經常使用的消毒劑必須對一般得自於設施的微生物有效。許多一般的消毒劑對孢子沒有效果，例如 70%的異丙醇對芽孢桿菌屬（*Bacillus*, spp.）的孢子沒有作用。因此，有效的消毒(disinfectant)計畫應包括殺孢子劑的使用，殺孢子劑的使用時機應依據已建立的書面程序與當環境中的數據顯示有可形成孢子之微生物存在時。

消毒步驟必須詳盡描述（例如，準備工作，工作順序與接觸時間）使能有再現性。一旦步驟建立後，它用於例行性的環境監測作業的適當性必須被評估。

（四）監測方法

被核准用於監測環境微生物品質的方法包括：

1. 表面監測

環境監測必須包括各種表面的微生物學上的品質試驗。例如，與產品接觸的表面、地板、牆壁、天花板與機器設備的表面，必須定期試驗。常用在此試驗的方法如觸摸平板法（touch plates）、塗抹擦拭法（swabs）與接觸平板法（contact plates）。

2. 主動的空氣監測

評估空氣中微生物學的品質之方法需使用主動的設備例如劃於瓊脂培養（Slit to agar）採樣器、液體浸入法（liquid impingement）與薄膜過濾法或離心採樣器。雖然這些設備都可以定量出每單位空氣體積中的微生物含量，但每一設備都有某些優點與缺點。在無菌區域審慎地選擇地點，使用這些設備以評估每一生產變動的環境是必要的。製造者必須意識到設備的空氣監測最大容量，且必須評估空氣採樣器用於依據不同清淨度的無菌環境之適用性、可否被滅菌及是否會受單向氣流的干擾。因為設備的不同，使用者在使用這些監測設備前必須評估其適用性。

3. 被動的空氣監測（落菌法）

另一種方法為使用被動式空氣採樣器，例如落菌法（將含有營養生長培養基的培養皿暴露在環境中）。這種方法缺少定量空氣監測的價值，因為只有掉落在瓊脂培養基上的微生物方可被察覺。它在關鍵區域作為定性指示劑的價值，可將這些培養皿定點放在產品高風險污染的地點。在方法確效部分，品管實驗室必須評估何種培養基在暴露的條件下，對少量的環境分離有最佳的再呈現。必須預防脫水現象（例如，因長時間採樣或較高的氣流），它會抑制微生物的回復效果。當其他形式的空氣採樣器得到的之結果，與此被動式空氣採樣得到的數據並用時將非常有用。

二、微生物學的培養基與鑑定

環境監測計畫中回收微生物特性描述是很重要的觀念，環境分離菌經常與從培養基充填或產品無菌性試驗失敗相關聯，及環境全貌提供調查很有價值的資訊。關鍵與緊鄰環繞的區域及人員之監測，必須包括鑑定微生物到種（或鑑定到屬）的例行性作業。由有些環境趨勢的數據顯示，微生物可由非管制區或較少管制區中遷移到無菌作業房間。為調查此傾向，一個區分較少管制環境中（例如 100,000 級區）微生物鑑定作業必須加以建立。至少，這個作業程序必須要求對來自輔助環境中常發現的微生物做到種（或屬）的微生物鑑定，以建立一有效及現行的操作場所污染源資料庫（也可表示清潔與消毒作業持續有效）。

快速基因型法（Rapid genotypic methods）被推薦做菌種鑑別，因其比生化的及表現型的（phenotypic）技術準確及精密。

微生物學的監測之目標是以觀察環境管制現狀之可重現的微生物調查。一致性的方法可提供一有利於比較與說明數據的資料庫。用於環境監測的微生物培養基必須確認它們對細菌與真菌（例如酵母菌與黴菌）的捕獲能力，以及適當的培養溫度與時間。在 30°C 到 35°C 培養 48 至 72 小時可以得到好氧性微生物之總生菌數；在 20°C 到 25°C 培養 5 至 7 天，一般可以得到酵母菌與黴菌的總生菌數。

許多新的環境監測用培養基必須有陽性與陰性對照組。所有配製的培養基應進行培養基效能試驗。必要時須配合使用不活化劑，以避免潔淨室使用之殺菌劑或產品殘留(如抗生素)抑制了微生物的生長。

三、過濾前的負荷菌

任何注射劑的製造過程，過濾前的負荷菌必須最低。高程度的負荷菌會釋放出內毒素或不純物到產品中，且會增加對無菌過濾器的挑戰。必須建立每一個產品製程中之負荷菌限度（一般從無菌過濾前端採樣）。

四、替代的微生物學的試驗方法

其他適當的微生物學的實驗方法〈如快速試驗法〉，可被考慮用於製程管制及產品放行試驗。我們建議被採用的試驗方法在評估後呈現增加精確度、靈敏度及再現性。

五、微粒子的監測

例行的微粒子監測應用於調查從已驗證程序標準中的空氣潔淨度（例如潔淨區域的分類）之的顯著偏離是有用的。如果在一特定點發現其結果超出既定規格需要調查，其調查必須包含偏離的嚴重性及趨勢分析評估。應執行適當的矯正行動以預防未來的偏離。

第十一章 無菌試驗

某些無菌試驗概念非常重要，包括試驗環境的管制、瞭解試驗的極限以及陽性試驗結果引出的製造系統之調查。

無菌試驗實驗室的环境必須使用可與充填/封蓋作業匹配的設施及管制。拙劣或有缺陷的設施或管制可導致高比例的失敗試驗。如果生產設施及管制明顯地優於無菌試驗，會有歸因於有缺點的實驗室所導致無菌試驗陽性結果的危險，即使試驗的產品本身並非無菌。因此，有些製造缺失可能無法偵測出來。在隔離裝置進行無菌試驗已被認為可使偽陽性結果降至最低。

一、方法選擇

無菌試驗方法被要求準確與可再現。選擇的方法必須呈現最低的偽陽性。如果可行薄膜過濾法為最佳選擇。

如同方法確效的一部份，適當的抑細菌性/抑黴菌性試驗必須被執行。此試驗必須證明每一具代表性微生物的回復方法有再現性。研究的文件資料必須包括在相似完整的培養時間裡，從培養的對照樣品與產品樣品是否能做為微生物回復的評估。如果生長被抑制（如增加稀釋倍數、增加薄膜過濾的清洗次數或加入去活性劑），則需進行方法的改善，以最優化其回復性。最後，方法確效研究必須證明使用的方法不會有偽陰性出現的機會。

二、培養基

使用於無菌試驗的培養基必須是無菌的且被證實可促進生長。

三、人員

操作無菌試驗的人員必須具有資格且已經接受該工作訓練的人員。書面計畫必須恰當，以定期更新人員的訓練並確認可接受的無菌試驗操作。

四、取樣與培養

無菌試驗在偵測低程度污染的能力有其極限。例如，統計評估指出美國藥典中描述「美國藥典的無菌試驗取樣計畫，一批有 10% 污染的樣品中，在十次的試驗裡將近有九次無法偵測出來。」進一步地說明，如果有 0.1% 污染程度的 10,000 單位批次中，取 20 單位作無菌試驗，有 98% 的機會使該批通過試驗。

這個有限的靈敏度使得以批次放行為目的時，適當的試驗數量是必須的，並且樣品需均勻地表示：

- 全部的樣品
樣品必須自無菌作業操作開始、中段與結束時取得。
- 批次過程的環境
樣品必須配合製程中斷或偏離取得。

因為此試驗有限的靈敏度，任何呈現陽性的結果都被認為是嚴重的 cGMP 議題，並且必須進行全面性的調查。

五、無菌試驗呈現陽性結果的調查

必須謹慎地進行無菌試驗，以阻止任何可能使樣品污染的活動。當觀察到有微生物生長時，該批產品應被考慮為非無菌。若因再試驗顯示沒有微生物生長，即認為是實驗室的錯誤，是不適當的。呈現陽性結果之無菌試驗的評估必須包括全面性的調查，以決定觀察到的微生物生長是源自產品的污染或來自實驗室的錯誤。

雖然此方法被認為無法絕對肯定地作判定，但是它仍可能獲得有說服性的證據足以說明導因於實驗室錯誤是不存在的。當可用的證據沒有決定性時，則該批產品將因無法符合無菌要求而被拒用。

要判定呈現陽性結果的無菌試驗為無效將是件困難的事。只有具決定性與清楚的文件證明指出污染發生在試驗時，才會進行新的試驗。

在考慮所有有關產品製造與樣品的試驗之因素後，總結的書面報告必須包括明確的結論與界定矯正的行動。污染源具說服性的調查證據至少必須依據下列事項：

（一）無菌試驗中發現的微生物之鑑定：

無菌試驗的分離菌必須鑑定。應檢查微生物監測的數據，以判定該菌種是否也在實驗室與製造環境、人員或產品的負荷菌中發現。

（二）實驗室試驗與偏離報告：

檢查實驗室發現的傾向，可以幫助實驗室是否排除或涉及為污染源。如果某一微生物罕見於實驗室環境，則可能是產品的污染。如果該微生物在實驗室與生產環境發現，則表示為產品的污染。

合適的偏離管理是實驗室管制的必要觀念。當無菌試驗有偏離發生時，必須文件記錄、調查與補救。如果偏離已被認為會危害無菌試驗的完整性，必須馬上判定試驗無效，無須培養。

必須定期（例如每一季或每年）評估偏離與無菌試驗呈陽性的趨勢，以提供操作運轉的整體回顧。無菌的陽性結果可被視為生產或實驗室問題的陳述，也

必須進行全面性的調查，因為這樣的問題常會延伸超過單批以上。

為了要更精確地監測可能的污染源，個別保留產品、容器形式、充填線、與人員的趨勢資料是很有用的。最終滅菌的產品與無菌作業的產品之無菌試驗樣品控制程度是相似的，高比例的啟始無菌失敗將會顯示為無菌作業生產的問題。

實驗室環境與人員加班的微生物監測也可揭露大量資料的傾向。實驗室微生物負載為向上的趨勢時，必須迅速地進行原因的調查與矯正行動。某些例子，這個趨勢可以呈現實驗室的錯誤是無菌試驗失敗的來源。

當實驗室有好的錯誤追溯報告體系，他的歷史資料可以幫助實驗室從污染源中移除，因為從生產來的污染機會較高。然而，反過來就不一定真實。更具體地說，當實驗室的追溯報告體系較差時，公司不應假設污染問題歸因於實驗室的錯誤，而不理會起因於生產的問題。因此，所有無菌的陽性結果都必須進行全面性的調查。

（三）生產區域的環境監測：

關鍵與其相鄰區域的微生物趨勢分析是非常重要的。微生物趨勢是調查產品無菌失敗來源的重要工具。對監測與可疑批量有關的批、天或工作時段之生產環境的結果而言，環境負荷菌的考量是沒有極限的。例如，少量或沒有微生物生長的結果；尤其當在發現相反的趨勢或異常的高微生物量之前後；會使人誤解。所以觀察短時間與長時間的趨勢分析是很重要的。

（四）人員的監測：

必須檢視人員每天的監測與相關之趨勢分析數據，某些案例中這個檢視工作還可以顯示污染來源。充分的人員練習與訓練也應被考慮。

（五）產品滅菌前的負荷菌：

必須檢視產品的負荷菌趨勢（包括數量與鑑定）。在調查時，發生在實驗失敗期間之相反的負荷菌趨勢必須考慮。

（六）檢視生產紀錄：

必須檢視完成的批次與生產管制紀錄，以察覺是否有可能與產品無菌有關的失敗或異常現象。例如，共用/支援系統（例如，空氣調節系統、注射用水）功能是否正常運轉的批次與傾向之評估調查。生產線的空氣品質監測報告必須顯示不正確的空氣平衡、不正常之大數量的微粒子等等發生的時間。

（七）製造歷史紀錄：

調查中，必須檢視產品或類似的產品的製造歷史紀錄。過去的偏離、問題或變更紀錄可提供問題來源的部分因素。

第十二章 檢視批次紀錄：處理管制文件系統

對於無菌作業的操作過程，必須進行每日的維修保養與環境的控制。在決定無菌作業批次最後放行前，檢視所有批次紀錄及資料是否與書面程序、使用參數與產品規格相符合的要求，稱為「對整個製造循環中的製程與系統表現的整體審核」。批次紀錄文件必須包括所有中間製程數據。檢視環境監測的數據及其他有關於支援系統輸出之接受度與機器設備適當之功能的數據，應被視為批次放行決定的基本要素。

當介入與/或停工被正常地記錄在批次紀錄中，用文件證明這些事件的方式可不同。尤其，生產線發生停工及任何無計畫的介入必須被充分地記錄在批次裡，包括事件相關的時間與期間。一般，產品在最嚴謹的區域停留時間增長及廣大外力介入，均增加污染危險。無菌失敗被認為是對無菌作業中已發生反常或被廣泛介入的非預期事件之反應。建立書面的程序，以描述在某些介入事件發生（譬如機器的調整與維修）後的必須進行的線上清理工作。這些介入事件必須比小事件記錄得更詳細。介入事件將導致大量的活動，直接暴露產品或容器封蓋或持續的超出合理的暴露時間，將引起區域或整個線上的清理工作。

在無菌作業中，任何的電源中斷（不管是否瞬間），都是一個製程的偏離事件且必須包括在批次紀錄中。

詞彙

1. 氣鎖室 (Airlock)

用以維持相鄰房間 (一般為不同潔淨度標準) 的氣壓所建構裝有互鎖門的小房間。無菌作業區氣鎖室的目的是避免懸浮微粒和微生物從較少管制的區域進入而造成污染。

2. 警戒水準 (Alert level)

一個已制定的微生物或空氣懸浮微粒等級, 此數值可提供從正常運作狀態可能變化的早期警訊, 促使進行適當的檢查, 進而提出潛在的問題。一般警戒水準比行動水準低。

3. 行動水準 (Action level)

一個已制定的微生物或空氣懸浮微粒等級, 當超此限度時, 將引起適當的調查和根據其調查結果進行矯正行動。

4. 無菌操作製造區 (Aseptic manufacturing area)

由製造區劃分出來的無菌操作及附帶的清潔室部分。在本文中其他章節所用的無菌操作場所之名稱是一樣的意思。

5. 無菌作業場所 (Aseptic Processing Facility)

規範包含氣體供應、物品和設備等, 以控制微生物與微粒子污染的建築物。

6. 無菌作業室 (Aseptic Processing Room)

執行一個或數個無菌操作或無菌作業的房間。

7. 無菌狀態 (Asepsis)

利用無菌工作區域及進行防止暴露的無菌產品被微生物污染的方法而獲得的控制狀態。

8. 負荷菌 (Bioburden)

於特定品項中在滅菌之前的微生物數量。

9. 隔離區 (Barrier)

一個實質的隔間, 用來提供可與週遭環境區隔的無菌製造保護區。

10. 生物指示劑 (Biological Indicator; BI)

被接種在適當介質 (例如, 溶液、容器或封蓋) 的定量微生物分佈數量, 放置在適當的滅菌器內, 以決定滅菌週期的物理或化學過程效能。挑戰微生物的選擇, 應依據該滅菌方法之耐受性, 隨後所得的 D 值與微生物總量可決定微生物指示劑的品質。

11. 潔淨區域 (Clean Area)

一被定義符合空氣懸浮微粒與微生物潔淨標準的區域。

12. 潔淨室 (Cleanroom)

一個被設計、維持與管制的房間以防止藥物產品被微粒子與微生物污染。此被指定的房間可一再地符合適當的清淨度分級。

13. 組成物 (Component)

任何用在一種藥物產品製造的成分,包括那些可能不會出現在最終藥物產品上。

14. 菌落形成單位 (Colony Forming Unit ; 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/m³),落下菌用落下菌濃度表示(CFU/(皿·H))。(參見下表)

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±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
		Class 10,000	<50
		Class 100	<5
	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. 重要區域 (Critical area)

一個被設計來維持無菌物品無菌狀態的區域。無菌產品、容器或封蓋以及設備可能被暴露在重要區域。

16. 潔淨區 (Clean Zone)

見潔淨區域

17. 重要的表面 (Critical surfaces)

指會接觸或直接影響無菌產品或其容器或封蓋的表面。在製造流程的開始和被維持全程無菌之前,重要的表面應為無菌。

18. 去污染 (Decontamination)

利用殺死孢子的化學藥劑來除去活的負荷菌的過程。

19. 去熱原 (Depyrogenation)

用來破壞或移除熱原的過程 (例如：內毒素)。

20. D 值 (D value)

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。(參見下圖)

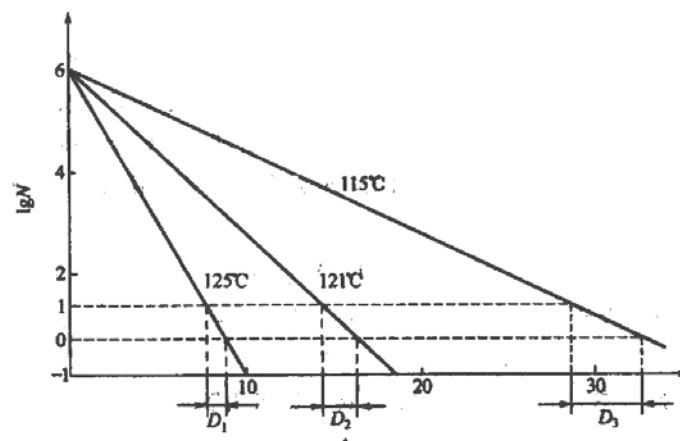


圖 D 值與滅菌溫度關係

21. 動態 (Dynamic)

在正常生產情況下有關潔淨區域分級的狀態。

22. 內毒素 (Endotoxin)

一種存在於細菌細胞壁的發熱性物質 (例如：脂多醣體)。內毒素可能導致患者在注射後發生發熱到死亡的反應。

23. 更衣驗證 (Gowning Qualification)

用來確立個人以無菌方法完成無菌更衣能力 (含啟始與定期) 的作業計畫。

24. 高效率空氣過濾器 (High Efficiency Particulate Air filter ; HEPA filter)

捕集 0.3 微米粒子效能達到最低百分之 99.97 的高效率微粒子空氣過濾器。

25. 空氣調節處理系統 (Heating Ventilation and Air Condition System ; HVAC)

加熱，通風以及空氣調節。

26. 介入 (Intervention)

發生在重要區域的無菌操作或活動。

27. 隔離裝置 (Isolator)

處於 100 級 (ISO 5) 或更高空氣等級之條件下的無污染操作單元，可維持其內部與外界環境（例如：例如週遭之潔淨室與人員）連續且穩定的隔離；隔離裝置可分為兩種：

密閉之隔離裝置系統：藉由與無菌連結之附屬裝置完成物料移轉，以排除外界對隔離操作箱之重要區域的污染，而非經由與周圍環境相通的通道；可於整個操作過程中保持密閉環境。

開放之隔離箱操作系統：設計為可容許於操作過程中經由一個或多個通道進行連續或半連續之物料進出，其通道可經由操控管制（例如連續式加壓）以排除外部污染物進入隔離操作箱。

28. 層流(Laminar flow)

自始至終在一直線向量，以各層平行且固定流速流動的氣流。

29. 操作人員 (Operator)

任何參與無菌作業操作的人員，包含生產線裝配、充填、維護保養或與無菌生產線活動相關的其他員工。

30. 過度滅菌作業 (Overkill sterilization process)

在D值為一分鐘時足以降低至少 10^{12} 的微生物之滅菌作業程序。

31. 熱原 (Pyrogen)

會引起患者發熱反應的物質。

32. 無菌產品(Sterile product)

本指引中所提及之無菌產品指藥品本身成份、容器、封蓋等元件，暴露在無菌條件下充填，且其最終產品為無菌狀態之藥品。

33. 滅菌級過濾器 (Sterilizing grade filter)

經適當之確效後，可將所有微生物從流動的液體中移除，以產出無菌流出物的過濾器等級。

34. 品質管制單位 (Quality control unit)

製造廠內一個具有權利義務的組織部門。

35. 單向氣流(Unidirectional flow)

單一方向、速度足夠的強烈均一氣流，用以重複性地將管制操作區或檢驗區內的粒子清除。

36. 最終滅菌 (Terminal sterilization)

應用致死手段對已密封的藥物產品，達到一個業已決定之少於 10^{-6} 無菌保證水準 (SAL) 的目的之過程。(即高於百萬分之一的非無菌單位的可能性)

37. 超低穿透空氣過濾器 (Ultra Low Penetration Air filter ; ULPA filter)

捕集最小為 0.3 微米微粒子達 99.999%效能的超低穿透空氣過濾器。

38. 確效 (Validation)

係指有文件證明的行動，能證實程序、製程、機械設備、原材料或系統確實能持續穩定的導致預期之效果。

39. 最差狀況 (Worst case)

為最能導致製程或產品的失敗條件，包含製程與環境之最高與最低極限條件，以及處於標準操作程序內最能引起製程或產品失敗之條件。

參考資料

1. FDA Guidance for Industry : Sterile Drug Products Produced by Aseptic Processing — Current Good Manufacturing Practice, September 2004
2. PIC/S Guide to good manufacturing practice for medicinal products : Annex 1— Manufacture of Sterile Medicinal Products, September 2003