



設施、設備、 環境管制與監控

國璽幹細胞應用技術股份有限公司
品保處 張朝亮



本講座資料僅為執行經驗分享，
相關法令之解釋仍以衛生主管機關為主。

人體細胞/組織優良操作規範 (GTP)

肆、設施或場所

- 十六. 製造設施或場所應有**適當之空間、結構及地點**，以便於清潔、**維修及操作**；並應有良好保養，充足之照明、通風、給水、排水、清洗及衛生設備。
- 十七. 製造設施或場所應劃分成**各獨立工作區域或設置管制機制**，以避免產品之不當標示、混雜、污染、交叉污染或意外暴露於傳染病原。
- 十八. 清潔與衛生
 - (一) 製造設施或場所應保持清潔、衛生及秩序。
 - (二) 污水、垃圾或其他廢棄物之清理，應注意時效、安全及衛生。
 - (三) 機構應建立清潔衛生工作之作業程序，該程序應分派相關工作，並描述具體工作方法與時間表。
 - (四) 主要的清潔及衛生工作，**均應製作並保存相關紀錄**。

人體細胞/組織優良操作規範 (GTP)

伍、環境管制與監控

- 十九. 當環境可能對產品之功能與完整性發生不良影響，或引起產品、設備之污染或交叉污染，或使產品意外曝露於傳染病原，則應建立並維持有關環境管制、監控及提供適當操作環境之作業程序。該程序應視情況提供下列管制及監控機制：
 - (一) 溫度與濕度控制。**
 - (二) 通風與空氣濾淨。**
 - (三) 工作房與設備之清潔、消毒，以確保無菌操作。**
 - (四) 無菌操作環境控制設備之維護保養。**
 - (五) 環境中生物 (organisms) 之監控。**
- 二〇. 環境管制機制應定期檢查，評核其妥適性及功能。必要時，應採取適當補救措施。
- 二一. 執行環境管制及監控，應製作並保存相關紀錄。



人體細胞/組織優良操作規範 (GTP)

- 機構應就製造人體細胞組織物之所有重要步驟，建立並維持相關作業程序。前項程序應注意確保產品不含相關的傳染病病原、產品於製程中未受污染、產品之效用與完整性未因不當製程而受損，以避免因使用產品而增加導入、傳播及散佈傳染病之風險。



GTP實驗室？

符合GTP規範之實驗室

- 執行人類細胞治療產品臨床試驗案，負責生產試驗用細胞治療用藥品
 - ⇒ 以臨床試驗計畫案(clinical trial)列管
- 完成設置登記並通過實地履勘之人體器官保存庫，負責處理及保存人體器官及組織
 - ⇒ 以設置場所 / 設施列管

實驗室設計考量 - 風險評估

- 計畫性質
 - 處理來源
 - 處理方式
 - 貯存及運送需求
- 實驗室類型
 - 單一計畫專用
 - 多計畫共用
- 資源
 - 人力與經費



處理來源

■ 細胞/組織來源

➤ 同種/自體：考量人類傳染性疾病

- ✓ 人類免疫缺乏病毒第一型與第二型
- ✓ A型肝炎病毒、B型肝炎病毒、C型肝炎病毒
- ✓ 巨細胞病毒
- ✓ 人類T細胞白血病毒第一型與第二型
- ✓ EB病毒(Epstein-Barr virus, EBV)
- ✓ 人類腺病毒
- ✓ B19微小病毒(parvovirus B19)
- ✓ 人類疱疹病毒第六型、第七型和第八型

➤ 異種：考量人畜共通傳染性疾病

- ✓ 牛外來病毒測試、prion
- ✓ 豬外來病毒測試(如*porcine parvovirus*、*porcine circovirus*)

處理方式

■ 開放式處理



■ 封閉式系統



貯存及運送需求

■ 貯存需求

- 必要性：小批次生產或建立細胞庫
- 容積：凍存數量、樓地板載重
- 條件：-196 °C 、-80 °C 、2-8°C

■ 運送需求

- 無菌性、生物安全
- 運送距離、運送時間、運送環境

實驗室類型

■ 單一計畫專用

- 使用需求單純
- 較不易混雜
- 動線設計較容易

■ 多計畫共用

- 依不同計畫有不同需求
- 應注意標示避免混雜
- 動線設計較複雜

資源

■ 外部資源

- 資金或經費
- 政府法規

■ 內部資源

- 人力
- 知識
- 製程規劃

設計管制

■ 潔淨實驗室

■ 無菌無塵實驗室

■ 生物安全實驗室



潔淨實驗室

- 能以文件資料提供科學化數據證明潔淨程度。
- 製造設施或場所應有**適當之空間、結構及地點**，以便於清潔、維修及操作：並應有良好保養，充足之照明、通風、給水、排水、清洗及衛生設備。(GTP第十六條)
- 製造設施或場所應劃分成各**獨立工作區域或設置管制機制**，以避免產品之不當標示、混雜、污染、交叉污染或意外暴露於傳染病原。(GTP第十七條)

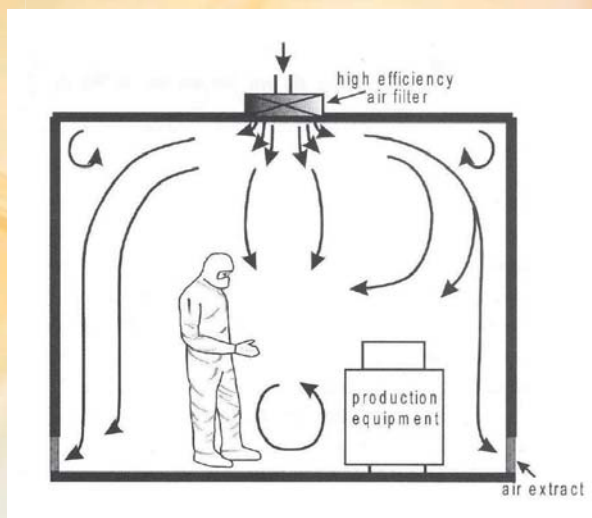
無塵室



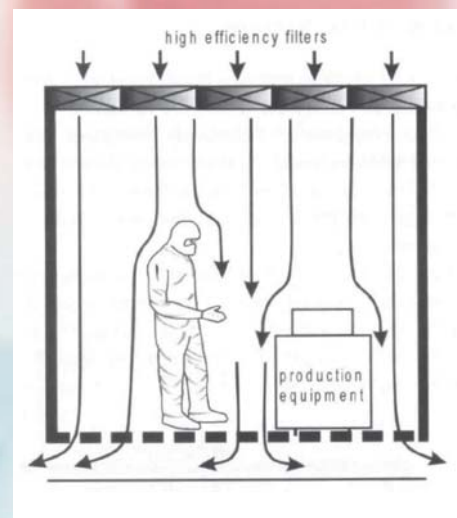
無塵室的型式

- 紊流通風式 (Turbulently ventilated) 或傳統式
 - 由位於天花板的擴散口供應過濾空氣
 - 通氣置換次數 (air change) 通常在每小時20次以上
- 單向氣流式 (Unidirectional flow) 或層流式 (laminar flow)
 - 空氣使用量較大
 - 較不易有渦流，減少污染物散佈的機會

無塵室的型式

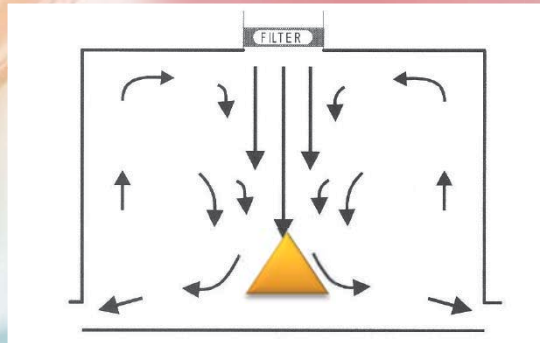
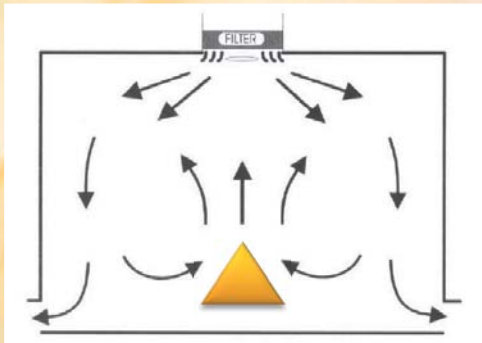


紊流通風式

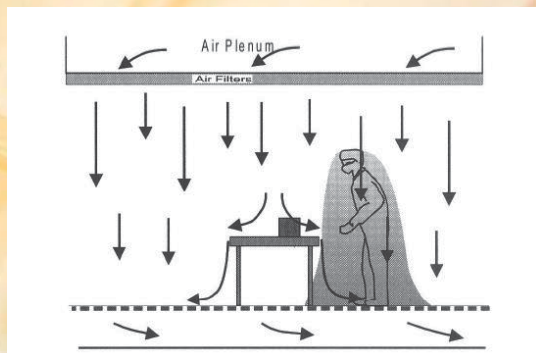


單向氣流式

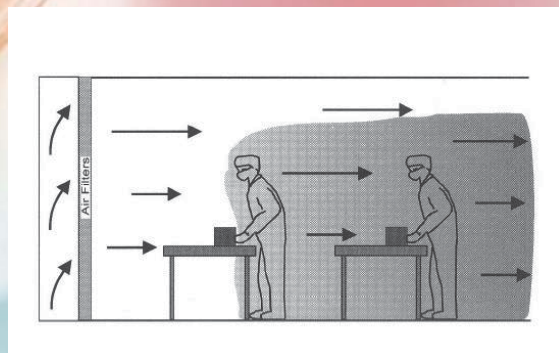
紊流通風式氣流形態



單向氣流式氣流形態

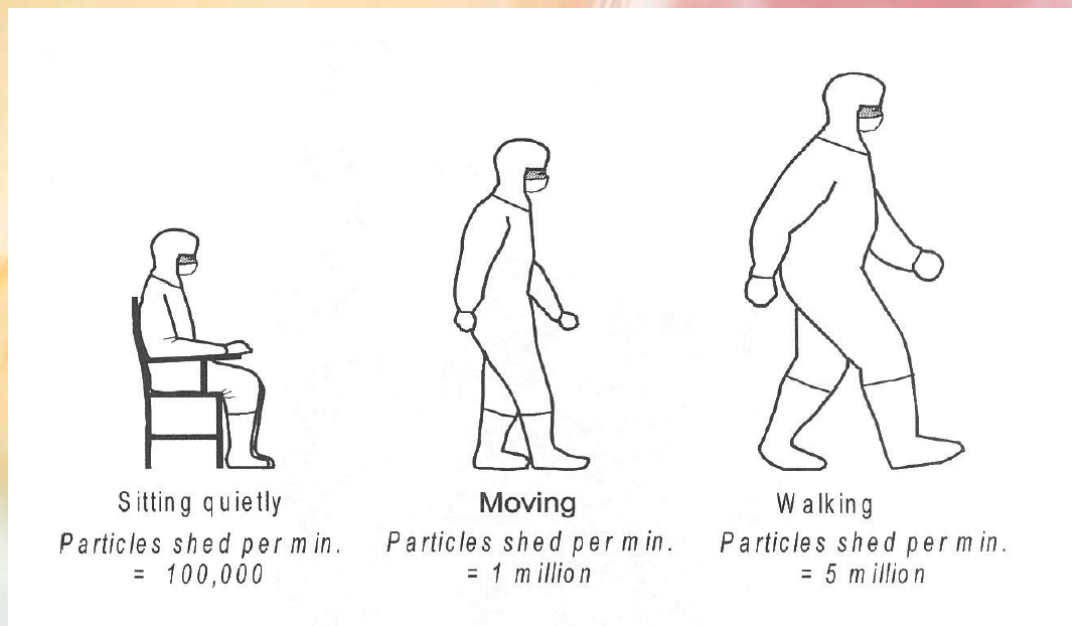


垂直氣流式



水平氣流式

微粒來源



徐~行~慢~移~~~~

空氣過濾裝置

■ 空氣過濾裝置依據其功能分成二種型式：

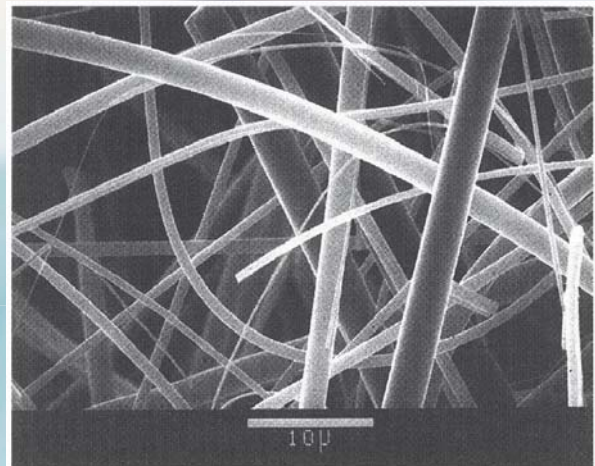
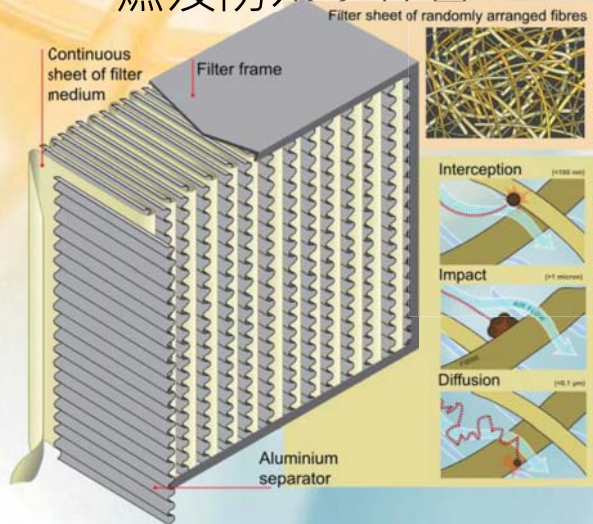
1. 於污染源產生的區域，所用來分離及捕集，通常使用於塵埃密度高的區域。
2. 於潔淨區域，提供潔淨空氣到一個被控制的環境，以防止外界污染。

■ 過濾器的性能取決於：

1. 捕集效率及等級
2. 風量與其壓損
3. 使用壽命
4. 捕集或集塵容量

HEPA過濾器

- 全名高效率過濾器，能夠濾除小至 $0.3\ \mu\text{m}$ 之粒子
- 濾材由極細（ $0.1\ \mu\text{m}$ ）玻璃纖維組成，具有耐燃及防水之性質

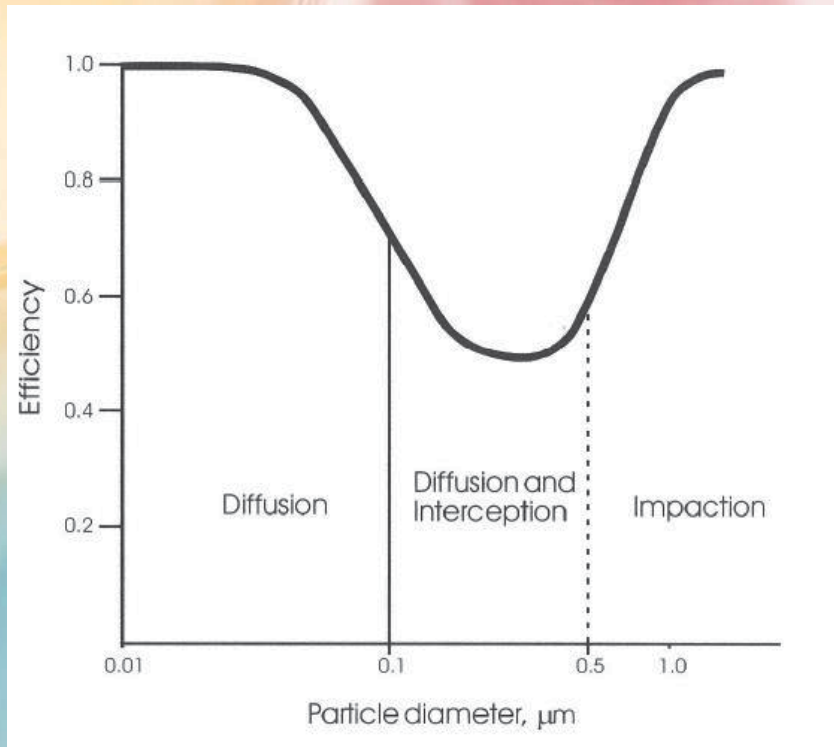
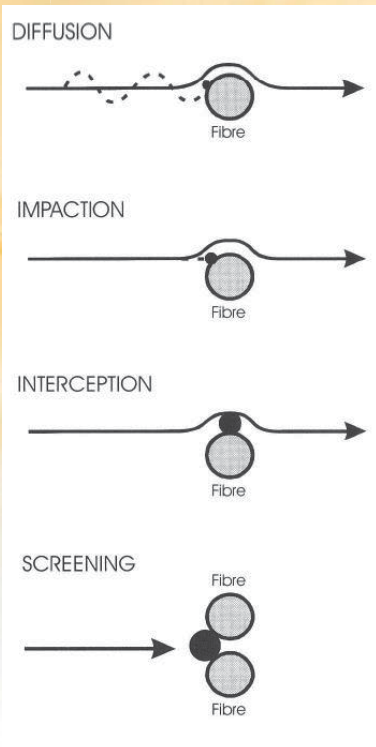


HEPA過濾器

■ HEPA過濾器的基本組件是：

- 框架：粒子板、鋼（鍍鋅或鍍鎳）、電鍍鋁、塑膠及不鏽鋼
- 過濾器介質：大部份為玻璃微纖維，玻璃石棉及石棉纖維已停止使用
- 隔離板：鋁及塑膠
- 黏著劑：含高固體成份，如熱熔化的黏著劑及胺基鉀酸脂泡沫
- 襯墊：大部份使用氯丁橡膠

HEPA過濾器



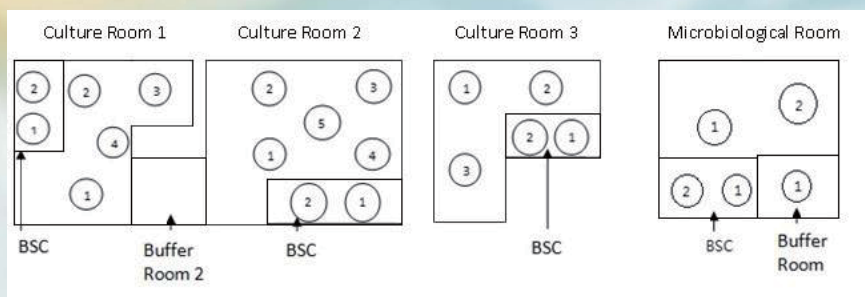
HEPA過濾器洩漏測試

- 目的是確認HEPA過濾設備安裝妥當，沒有旁通洩漏，過濾器沒有損壞及小漏洞
- 引進指定的空氣懸浮微粒至過濾器的上游，用光度計的感測棒，掃描過濾器下游部分以找出洩漏
- 測試時要點：
 - 探棒的位置應距離過濾器表面約2.5 cm (1 in) 的地方
 - 使用方形 (長寬1.2 in $\times$ 1.2 in) 探棒時，移動速率不要超過3 m/min (10 ft/min)
 - 使用長方形感測棒時，最大面積掃描率不要超過0.093 m²/min (1.0 ft²/min)
 - 利用感測棒部分重疊的作掃描動作，掃描每個過濾器全部表面
 - 同樣，掃描每個過濾器周圍，找出過濾器組具和框架間接合處，及框架和方格結構間密封處的洩漏
 - 應避免延長過濾器暴露在測試液滴懸浮微粒的時間

空氣懸浮微粒計數

■ 測試點的數量和位置選擇要點：

- 選用的微粒計數器之偵測粒徑的限值
- 取樣的風量
- 房間的大小
- 結構配置及設備陳設
- 關鍵製程位置



空氣懸浮微粒計數

■ 空氣懸浮微粒計數報告應包含項目：

- 測試人姓名
- 粒徑大小範圍
- 取樣空氣的風量
- 微粒量
- 時間
- 取樣點的位置
- 允收標準
- 判定與審核
- 原始測試數據

潔淨室 / 區

■ 剛完工 → 備用中 (靜態) → 操作中 (動態)

初級測試

- ◆ 風速、風量 (均勻性) 與空氣換氣數測試
- ◆ HEPA過濾器洩漏測試
- ◆ 空氣懸浮微粒計數
- ◆ 房間壓差測試
- ◆ 氣流平行性測試 (必要時，如無菌製劑區)

第二級測試 (自選)

- ◆ 溫度、濕度均勻性測試
- ◆ 潔淨區隔完整性測試
- ◆ 回復測試
- ◆ 微粒落塵計數

各作業場所清淨度之區分

清淨度	作業場所	落下菌數	濕度 (R.H.)	溫度	Class
一 區	注射劑、無菌製劑、點眼劑、生物學製劑等直接充填藥品場所	層流裝置下1以下	60%以下	23±4℃	100
二 區	無菌作業場所 (包括Class100製劑之調製場所、秤量室) 無菌更衣室、無菌準備室等	—	60%以下	23±4℃	10,000
三 區	與藥品直接接觸之作業場所 (如秤量室、顆粒室、檢查室、PTP包裝室、分裝 (裝瓶) 室、鋁箔紙包裝室)	—	60%以下	23±4℃	100,000
	與藥品直接接觸之作業場所 (如液體製劑、軟膏、栓劑、洗瓶、洗滌室等)	—	—	23±4℃	100,000
四 區	與藥品無直接接觸之作業場所 (如包裝室、檢品室、原料倉庫、化驗室、洗瓶清淨室、走廊等)	—	—	23±4℃	—

空氣等級

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。

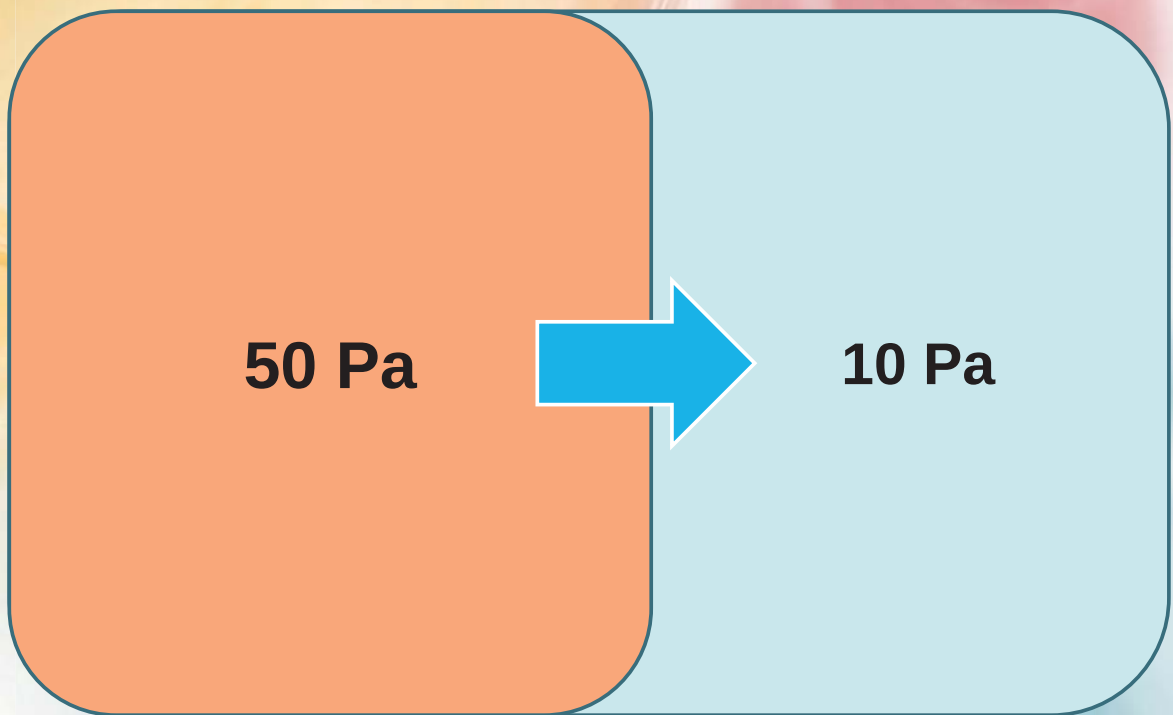
^e 正常情況下，100 級區(ISO 5 級區)環境之樣本應無微生物生長。

空氣等級 – 落塵 (PIC/S規範)

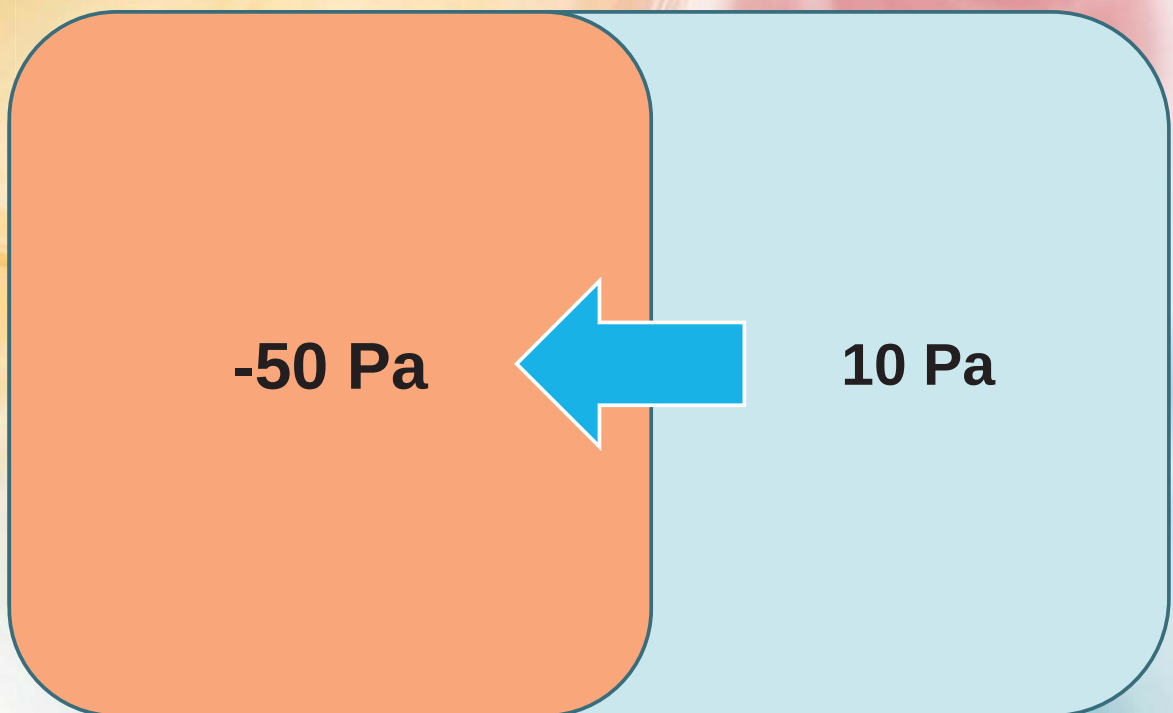
表 2 – 空氣等級(國際醫藥品稽查協約組織藥品優良製造準則, PIC/S)

	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)

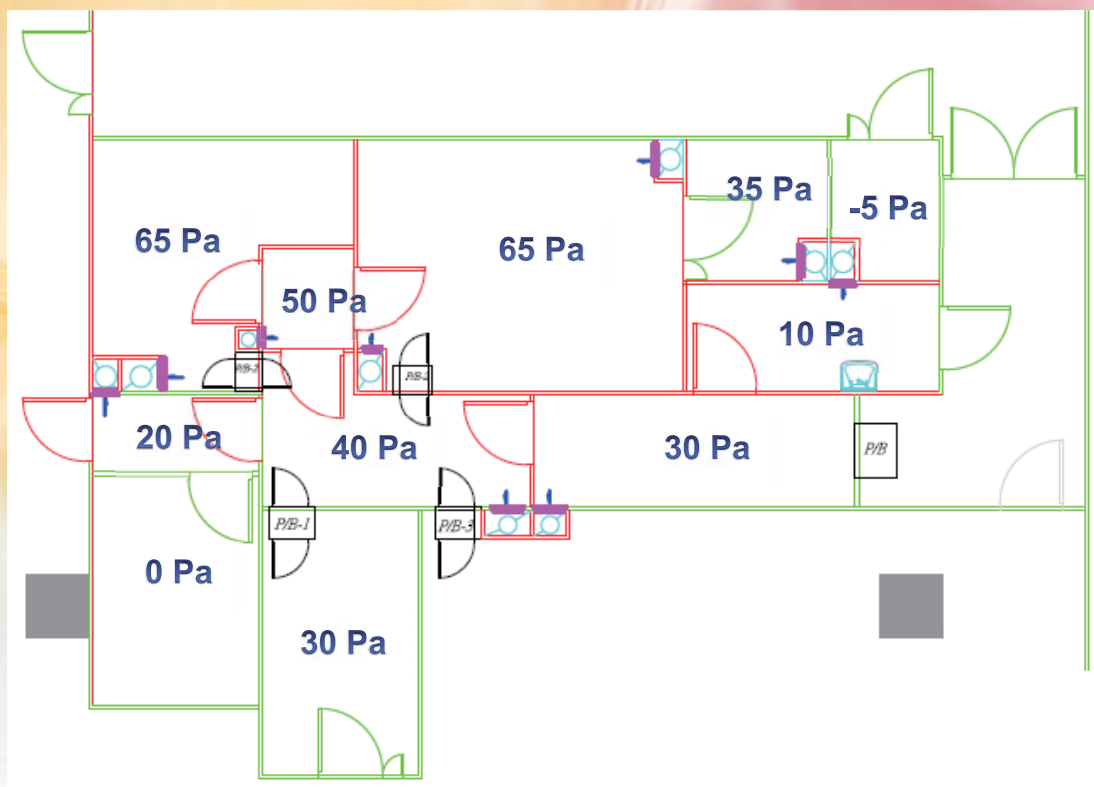
定向氣流 – 正壓差



定向氣流 – 負壓差



臨床治療用細胞實驗室壓力圖



潔淨區之分隔

- 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
- 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
- 當房門開啟時，往外的氣流應足以將入侵的污染減至最低
- 應嚴格管制房門維持於微開狀態的時間
- 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

房間壓差測試

- 在執行本測試時，需關閉所有的門
- 測量並記錄潔淨室和緩衝室（如果有的話）之間的壓差，和緩衝室與外面環境的差壓
- 如果沒有緩衝室，則測量並記錄潔淨室與外部環境的壓差
- 如果潔淨空間被細分成很多房間，則依序從最裡面的房間和次一個房間開始測量
- 允收標準：不同清淨度之二室間至少須大於10 Pa

無菌控制

- 使用無菌器具接觸無菌原物料
- 緩慢且審慎的移動
- 身體避開於單向空氣流的路徑之外
- 以不會損害產品之無菌性的方法進行必要的操作
- 維持適當的工作服裝管制
- 經訓練及合格授權方得被許可進入無菌製造區

落菌法

- 評定在一設定時間內，可能沉落在產品或物品表面上微生物數量的一種直接方法
- 採樣前先檢測採樣培養基是否有受到污染
- 避免將資料記在採樣盤蓋上，因蓋子移走或對調而易產生錯誤
- 將採樣盤移至前述採樣區，要有適當轉移程序
- 打開內含瓊脂培養基之陪替氏培養皿(直徑約90 mm)，暴露在一設定時間讓負載微生物之粒子沉落在瓊脂培養基上
- 無法確定採樣期間內污染程度之變化，但允許在一定工作期間內進行連續採樣

落菌法

- 若採樣時間過長，培養基表面會有乾涸狀況
- 採樣位置地點必須確定是需管控之環境以及可能遭受微生物污染之所在，應以「最差狀況」的條件來監測
- 採樣結束後，利用合適消毒劑（如無菌的70%酒精）清洗放置採樣盤處，清除任何可能污染潔淨室之微量培養基或冷凝物

清淨度等級	落下菌（動態）cfu/4hrs 時 （90mm）（無菌製劑區）	落下菌（動態）cfu/1hr 時 （90mm）（無菌製劑區）
Class 100,000	< 100	< 20
Class 10,000	< 50	< 5
Class 100	< 5	< 1

※行政院衛生署公告之「執行確效作業參考標準」

空氣取樣法

- 利用其足夠高速來吸或吹氣流，致使空氣樣品中的微生物碰觸所選用的培養基
- 較常見之採樣儀器：
 - 離心採樣器：空氣之樣本由渦輪推進器吸進採樣頭端，使導入之空氣附在一層環繞著採樣頭端的瓊脂條帶
 - 單篩瓊脂採樣器：以固定速度，將空氣收集通過一個具特殊篩孔狀之固定蓋後，直接導入含有瓊脂培養基之培養皿或水溶性薄膜
- 需考慮樣品的數量與體積，依據監測區間的大小及等級決定樣品的數量，整體上，至少需取樣1000 L (1 m³)

清淨度等級	空氣中浮游菌（動態） （無菌製劑區）
Class 100,000	< 100 cfu/m ³
Class 10,000	< 20 cfu/m ³
Class 100	< 3 cfu/m ³

※行政院衛生署公告之「執行確效作業參考標準」

人體細胞/組織優良操作規範 (GTP)

陸、設備

- 二十二、供製造使用之設備，應依其預定功能妥為設計、安裝，並置於適當地點以便操作（含清潔與維護），且應不致對產品產生不良影響。供檢查、測量或測試使用之自動化、機械式、電子式、電腦或其他設備，**應能產生有效結果**。
- 二十三、為避免故障、污染、交叉污染、發生使產品暴露於傳染病病原之意外事件或其他對產品效用與完整性有不良影響之事件，就設備之清潔、消毒及保養工作，應建立並維持其作業程序。**設備之清潔、消毒及保養，應依既定時間表實施**。
- 二十四、供檢查、測量或測試使用之自動化、機械式、電子式、電腦或其他設備，應依既定作業程序及時間表實施校準。校準作業程序，應包括明確之說明，及有無可供適用之準確度與精密度限值。當校準未達到準確度與精密度之限值時，應採取補救措施重新設定限值，並評估其對產品之不良影響。
- 二十五、應定期檢查設備之潔淨度、衛生與校準，以確保設備保養工作按表落實。
- 二十六、本章規定之**保養、清潔、衛生、校準等工作，均應製作並保存相關紀錄**。最近期間之紀錄應置於各該設備處供查閱。設備之使用紀錄（包括該設備所製造產品之辨識碼），應予保存。

人類細胞治療產品查驗登記審查基準

(四) 儀器設備

應表列出製造細胞治療產品時使用的所有儀器設備，例如：細胞分離器材。若有衛生福利部食品藥物管理署核准上市的儀器設備，則可採用此儀器設備製備細胞治療產品。

若採用未核准上市的儀器設備，應於製程確效時驗證其儀器設備適用於該製程，以確保所製造的細胞品質。

並提供各種儀器設備的下列資訊：**1. 賣方/供應商 2. 品質相關文件**

使用的儀器設備，最好具有耐變性，並且須**定期校正與維護**，確保細胞治療產品檢測結果的一致性。

對於製程中用以分析關鍵性參數的儀器(例如：MACS)應執行檢測品質的驗證，亦應有適當的清潔驗證，避免不同細胞治療產品間的交叉汙染。

儀器設備採購要點

- 採購前應做好詳實需求評估，確認儀器設備可滿足使用者需求(設計及開發驗證，DQ)
- 應進行供應商評估，確認具有足夠履約及維護能力
- 應能提供品質確效文件(IQ/OP/PQ)

儀器設備管理要點

- 完成確效驗收前，不得使用
- 應建立標準作業程序及相關資料，並置於操作場所明顯可取得處
- 操作儀器設備前應有適當訓練、考核及授權，並做成紀錄
- 建議設置專人管理，未完成訓練、考核及授權不得使用
- 關鍵性儀器設備建議應有備援，如有異常應有適當之標示及通報流程

儀器設備保養及校正要點

- 建議保養及校正排程應於事前通知使用單位，並有適當配套措施
- 依儀器設備之使用頻率與特性訂定校驗標準作業程序及週期，並做成紀錄
- 儀器設備之清潔、消毒及保養，應依標準作業程序及既定時間表實施，並做成紀錄
- 校驗人員應有適當訓練及能力考核，使用之標準件也應具追溯性



參考資料

- 人體細胞組織優良操作規範, 2002
- 人類細胞治療產品臨床試驗申請作業與審查基準, 2014
- 人類細胞治療產品查驗登記審查基準, 2015
- 西藥藥品優良製造規範 (第一部、附則), 2015
- 無菌操作作業指導手冊, 2007
- 空調系統確效作業指導手冊, 2002
- GTP實驗室設計規劃與維護之生物安全管制措施, 王德原, 2008



感謝聆聽，請多指教！