

97年GTP訓練課程

# GTP實驗室設計規劃 與維護之生物安全管 制措施

王德原 博士

行政院衛生署藥物食品檢驗局

藥物生物學組

血液製劑與體外診斷試劑科

97年8月12日 台北科技大樓



# GTP實驗室



## ■ 何謂GTP實驗室（設施）

□ 不正確稱呼

# 符合GTP規範之實驗室

## ■ 符合GTP規範之實驗室（設施）

- 目前：核准執行體細胞治療人體試驗之處理細胞實驗室（及其他相關設施）
  - 以計畫（clinical trial）列管
- 未來：完成設置登記並通過實地履勘之人體器官保存庫（及其他相關設施）
  - 以設施（establishment）列管

# 如何選擇適合的實驗室

## ■ 風險評估

## ■ 評估內容

### □ 計畫性質

- 細胞來源
- 處理方式
- 貯存與運送

### □ 實驗室性質

- 單一計畫專用
- 多計畫共用

### □ 資源

- 人力與經費

# 細胞來源

## ■ 傳染病病原汙染管控

### □ 同種：人類傳染病

- HIV, HBV, HCV, CJD/vCJD/TSE
- HTLV, CMV
- *Syphilis, Gonorrhea*
- Dengue, WNV
- Sepsis

□ 自體

□ 異體（自體+異體）

### □ 異種（同種+異種）：人畜共通傳染病

# 處理方式

## ■ 無菌操作流程管控

### □ 封閉式系統

- Plasmapheresis system, ClinMax

### □ 開放式處理

- 無菌操作
- 無菌培養
- 生物安全管控

# 貯存與運送

## ■ 效用與完整性管控

□ 貯存條件>>穩定的溫度環境

□ 運送條件>>安全的包裝容器

■ 無菌

■ 無菌+生物安全

# 設計管制



- 乾淨實驗室
- 無菌無塵實驗室
- 生物安全實驗室

# 乾淨實驗室

- 只要能以文件資料提供科學化數據證明~
  - 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。16
  - 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。17

# 無菌無塵實驗室

## ■ 無塵室規範

- ☐ ISO, FDA, PIC/S
- ☐ 落塵管控>>進氣經HEPA濾網過濾（0.3  $\mu\text{m}$ 顆粒濾除99.97%）
- ☐ 壓差管控>>越乾淨區域之絕對或相對正壓越大（1.2~1.5 mmH<sub>2</sub>O）
- ☐ 環境監控（定期測試落塵、微生物量）
- ☐ 定期清潔、消毒、性能再驗證

## ■ 積體電路工廠無塵室

- ☐ 落塵管控+壓差管控

## ■ 生技醫藥工廠無塵室

- ☐ 微生物管控+落塵管控+壓差管控

# 空氣等級~落塵 (PIC/S)



|     | 靜態 <sup>(b)</sup>                       |                  | 動態 <sup>(b)</sup>      |                    |
|-----|-----------------------------------------|------------------|------------------------|--------------------|
| 等 級 | 微粒最大允許量 <sup>(a)</sup> / m <sup>3</sup> |                  |                        |                    |
|     | ≥0.5 μm <sup>(d)</sup>                  | ≥5 μm            | ≥0.5 μm <sup>(d)</sup> | ≥5 μm              |
| A   | 3,500                                   | 1 <sup>(e)</sup> | 3,500                  | 1 <sup>(e)</sup>   |
| B   | 3,500                                   | 1 <sup>(e)</sup> | 350,000                | 2,000              |
| C   | 350,000                                 | 2,000            | 3,500,000              | 20,000             |
| D   | 3,500,000                               | 20,000           | 未界定 <sup>(f)</sup>     | 未界定 <sup>(f)</sup> |

# 空氣等級~微生物 (PIC/S)



動態潔淨區之微生物監測的建議限量

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

註：(a) 這些都是平均值。

(b) 個別的落菌培養皿暴露時間得少於4小時。

# 潔淨區域空氣等級及微生物品質的建議行動水準 (ISO/FDA)

| 潔淨區域等級<br>(0.5μm 微粒子<br>數/立方呎) | ISO<br>等級標準 <sup>b</sup> | ≥0.5μm<br>微粒子數/立<br>方公尺 | 浮游微生物<br>行動水準 <sup>c</sup><br>(cfu/立方公<br>尺) | 落菌培養皿微生物<br>行動水準 <sup>c,d</sup> (直<br>徑 90mm; cfu/4<br>小時) |
|--------------------------------|--------------------------|-------------------------|----------------------------------------------|------------------------------------------------------------|
| 100                            | 5                        | 3,520                   | 1 <sup>e</sup>                               | 1 <sup>e</sup>                                             |
| 1000                           | 6                        | 35,200                  | 7                                            | 3                                                          |
| 10,000                         | 7                        | 352,000                 | 10                                           | 5                                                          |
| 100,000                        | 8                        | 3,520,000               | 100                                          | 50                                                         |

<sup>a</sup> 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。

<sup>b</sup> 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。

<sup>c</sup> 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。

<sup>d</sup> 採用落菌培養皿試驗是一個選項。

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

# Requirement for Facility Monitoring (Microbiological Organisms)



|             | FDA                                                             |                                                                  | PIC/S        |                                                                 |                                                                  |
|-------------|-----------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------|--------------|-----------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------|
| Clean Level | Micro-biological Active Air Action Levels (cfu/m <sup>3</sup> ) | Micro-biological Settling Plates Action Levels (90mm: cfu/4 hrs) | Clean Level  | Micro-biological Active Air Action Levels (cfu/m <sup>3</sup> ) | Micro-biological Settling Plates Action Levels (90mm: cfu/4 hrs) |
| 100         | 1                                                               | 1                                                                | A / B (Rest) | < 1 / < 10                                                      | < 1 / < 5                                                        |
| 1,000       | 7                                                               | 3                                                                | NA           |                                                                 |                                                                  |
| 10,000      | 10                                                              | 5                                                                | C (Rest)     | 100                                                             | 50                                                               |
| 100,000     | 100                                                             | 50                                                               | D (Rest)     | 200                                                             | 100                                                              |

# 何謂生物安全？



**BIOHAZARD**

# 生物性危害物質/感染性生物材料

行政院衛生署  
藥物食品檢驗局  
B.F.D.A.

## ■ 定義：（biohazardous materials）

- 對人體產生危害效果（deleterious effect）之生物性來源物質。
  - 具有潛在感染環境中人體、動物體與其他生物體特性的細菌、病毒與其他微生物。
  - 生物危險物具有在宿主體內複製的特性，或具有在宿主體內主動引發疾病或潛伏性疾病的特性。
  - 生物危險物亦可能潛藏於生物性危害物質中，例如人體血液與體液。
- 例如：微生物（microorganisms），或衍生自微生物與高等動植物之毒素（toxins）和過敏原（allergens）。

# 感染性生物材料危險群分類

一、病原體依致病危險程度，以危險群（Risk Group，簡稱 RG）予以分級。

| 危險群等級   | 說 明                                                                                                          |
|---------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 第一級／RG1 | 與人類健康成人之疾病無關或不會引起健康成人疾病，例如不產生內孢子之 <i>Bacillus licheniformis</i> 及 <i>Escherichia coli</i> -K12 等。            |
| 第二級／RG2 | 較少引起人類嚴重疾病，通常有預防及治療方法，例如 <i>Escherichia coli</i> （所有腸致病性、腸毒素性、腸侵襲性及攜帶有 K1 抗原之菌株，包括 <i>E. coli</i> O157：H7）等。 |
| 第三級／RG3 | 可引起人類嚴重或致死疾病，可能有預防及治療方法，例如 SARS-associated Coronaviruses 及 <i>Mycobacterium tuberculosis</i> 等。              |
| 第四級／RG4 | 可引起人類嚴重或致死疾病，目前無預防及治療方法，以及國內尚未發現或已宣佈根除之病原微生物，例如 Ebola virus 及 Marburg virus 等。                               |

# 生物安全/實驗室生物安全

## ■ 生物安全（biological safety, biosafety）

- 生物安全係為一種為了可以適當處理、操作生物性危害物質/生物危險物的特殊規定。

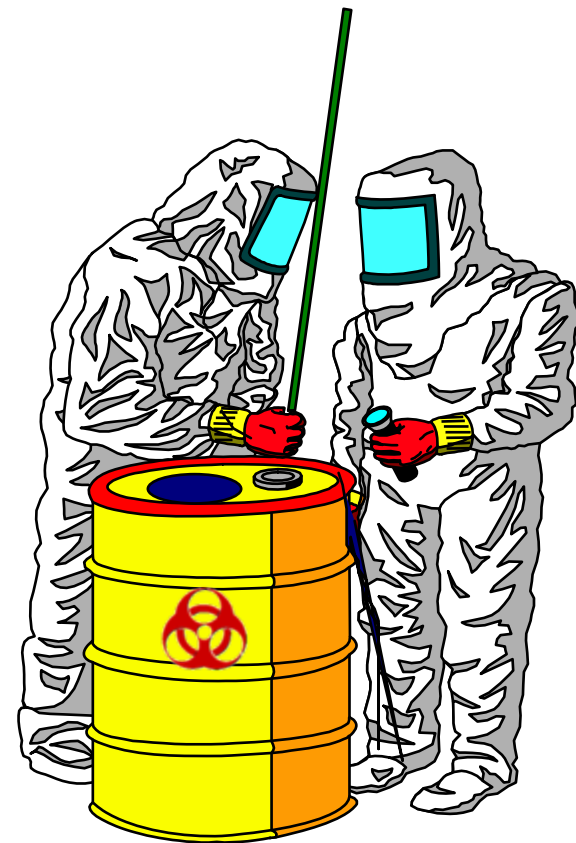
## ■ 實驗室生物安全（laboratory biosafety）

- 實驗室生物安全係當操作、處理具潛在感染性微生物（或其他生物性危害物質/生物危險物）時，結合實驗室規範與程序、實驗室設施及安全配備的整體性應用。

# 實驗室生物安全

## ■ 目的：保護

- ☐ 檢體或產品的安全。
- ☐ 操作者與協同人員的安全。
- ☐ 實驗室其他人員的安全。
- ☐ 實驗室內外環境的安全。



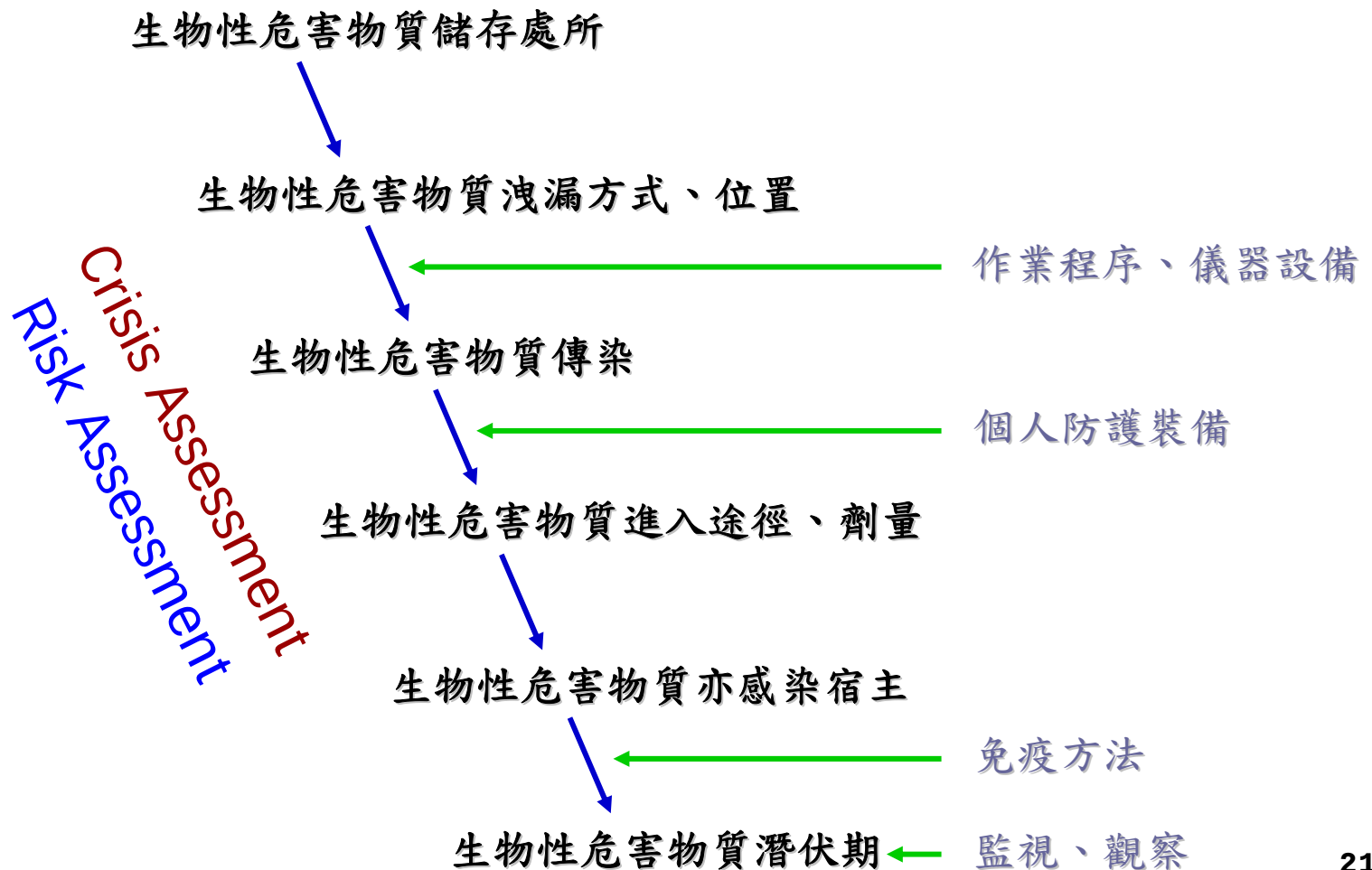
# 實驗室生物安全



## ■ 如何達成？

- ☐ 優良微生物操作規範（Good microbiology technique）
- ☐ 安全配備（Safety equipments）
- ☐ 實驗室設施（Laboratory facilities）

# 實驗室感染事件之風險管理



# 生物實驗室基本必備要件

- 具備相關知識的監督管理者
- 具備相關知識的員工
- 察覺潛在危害物
- 熟悉各種程序與技術

# 生物實驗室基本必備要件

- 定義實驗室生物安全等級 (biosafety levels, BSLs)

**實驗室生物安全等級：BSL-3**



**生物危害**  
**BIOHAZARD**

僅准許經授權人員進入  
ADMITTANCE TO AUTHORIZED PERSONNEL

實驗室名稱 生物安全第三等級實驗室

實驗室負責人：  電話   
 手機

實驗室管理人：  電話   
 手機

緊急連絡人：  電話   
 手機

操作人員：

操作病原體名稱：

使用時間：

行政院衛生署藥物食品檢驗局

# 生物實驗室基本必備要件

- 制定實驗室特有之生物安全手冊  
(biosafety manual)
- 訂定實驗室特定規範與技術
  - 標準作業規範 (例：離開實驗室前須洗手)
  - 特殊作業規範 (例：操作產生氣膠試驗佩戴N95口罩)



# 生物實驗室基本必備要件



## ■ 備妥安全裝備（初級屏障）



OR



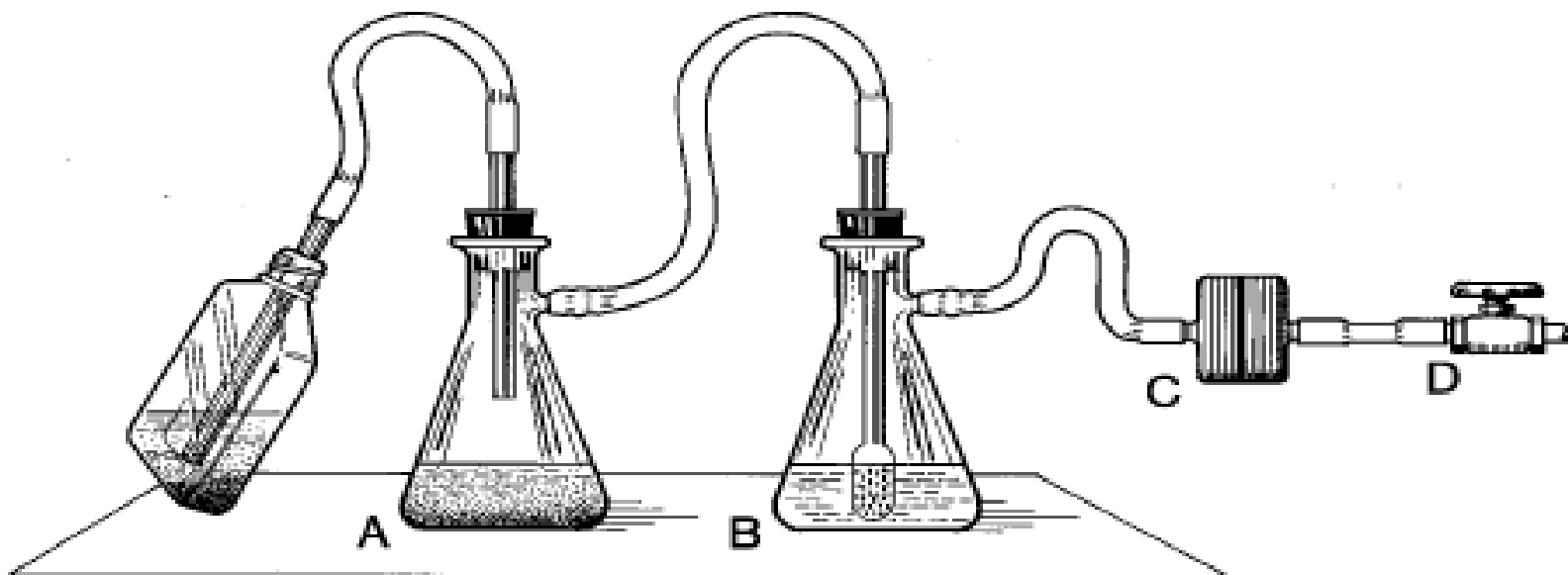
# 生物實驗室基本必備要件

- 在生物安全第二等級以上實驗室需使用適合之個人防護裝備  
(personal protective clothing, PPE)
  - 手套 (手部防護)
  - 防護衣 (身體防護)
  - 眼罩與面罩 (眼睛與臉部防護)



# 生物實驗室基本必備要件

- 使用適當之液體抽吸裝置 (pipetting & suction devices)



# 生物實驗室基本必備要件

- 離心機使用具防止液體、氣膠飛濺之安全性離心座與離心轉子 (safety centrifuge cups and rotors)



# 生物實驗室基本必備要件



## ■ 設計與建置妥適的實驗室設施（次級屏障）

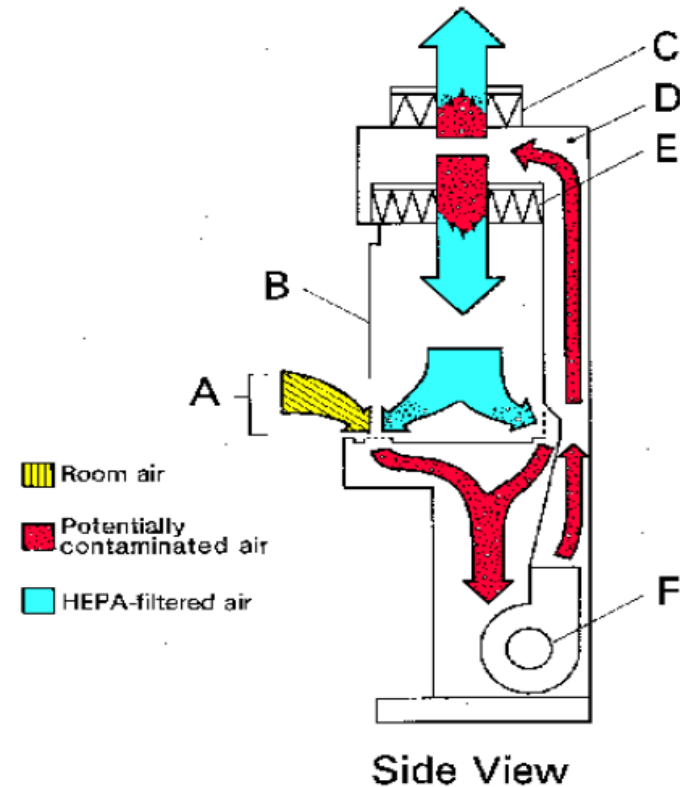
- ☐ 易於清潔（cleaning）
- ☐ 易於消毒（decontamination）



# 生物實驗室基本必備要件



- 在生物安全第二等級以上實驗室使用生物安全操作櫃  
(biosafety cabinets, BSCs)
- 使用生物安全操作櫃處理RG-2以上生物材料



# 生物安全等級實驗室

- 實驗室設施被指定為基礎實驗室—生物安全第一等級，基礎實驗室—生物安全第二等級，防護實驗室—生物安全第三等級及最高防護實驗室—生物安全第四等級。
- 生物安全等級係根據因應來自不同危險群微生物所需之實驗室設計特點、建築構造、防護設施、設備、操作及實驗過程等綜合因素指定之。

WHO (2004) Laboratory biosafety manual, 3rd eds.

# 危險群相對應之生物安全等級、操作及設備



| 危險群等級 | 生物安全等級           | 實驗室型態          | 實驗室操作                             | 安全裝置                                                 |
|-------|------------------|----------------|-----------------------------------|------------------------------------------------------|
| 第一級   | 基礎實驗室—生物安全第一等級   | 基礎教學、研究        | GMT                               | 不需要；開放式實驗台                                           |
| 第二級   | 基礎實驗室—生物安全第二等級   | 初級衛生服務；診斷服務、研究 | GMT 加防護衣、生物危害標識                   | 開放式實驗台，此外需 BSC 用於防護可能生成之氣膠                           |
| 第三級   | 防護實驗室—生物安全第三等級   | 特殊診斷服務、研究      | 於生物安全第二等級防護上增加特殊防護衣、入口管制、定向氣流     | BSC 及 / 或其他所有實驗室工作需要之基本設備                            |
| 第四級   | 最高防護實驗室—生物安全第四等級 | 危險病原體單位        | 於生物安全第三等級防護上增加氣鎖入口、出口淋浴、污染物品之特殊處理 | III 級 BSC 或配合 II 級 BSC 並穿著正壓連身衣、雙門高壓滅菌器（穿牆式）、經過過濾之空氣 |

BSC：生物安全櫃；GMT：優良微生物操作技術（見本手冊第四部分）。

WHO (2004) Laboratory biosafety manual, 3rd eds.

# 危險群相對應之生物安全等級、操作及設備



| 危險群<br>RISK<br>GROUP | 生物安全等級<br>BIOSAFETY<br>LEVEL | 實驗室類型<br>LABORATORY<br>TYPE                                                    | 實驗室操作規範<br>LABORATORY<br>PRACTICES                                                                       | 安全設備<br>SAFETY EQUIPMENT                                                               |
|----------------------|------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------|
| 第一級<br>1             | 第一等級<br>Biosafety Level<br>1 | 基礎教學、研究<br>Basic teaching,<br>research                                         | 優良微生物學技術<br>GMT                                                                                          | 無，開放式工作檯<br>None; open bench work                                                      |
| 第二級<br>2             | 第二等級<br>Biosafety Level<br>2 | 初級衛生服務、診斷服務、研究<br>Primary health<br>services; diagnostic<br>services, research | 優良微生物學技術加上防護衣、生物危害標誌<br>GMT plus protective<br>clothing, biohazard sign                                  | 開放式工作檯加上防止氣霧外流之生物安全櫃<br>Open bench plus BSC for<br>potential aerosols                  |
| 第三級<br>3             | 第三等級<br>Biosafety Level<br>3 | 特殊診斷服務、研究<br>Special diagnostic<br>services, research                          | 同第二等級加上特殊防護衣、進入管制及定向氣流<br>As Level 2 plus special<br>clothing, controlled access,<br>directional airflow | 生物安全櫃及（或）其他所有實驗室工作所需要之基本防護裝備<br>BSC and/or other primary<br>devices for all activities |
| 第四級<br>4             | 第四等級<br>Biosafety Level<br>4 | 具危險性之病原體<br>Dangerous pathogen<br>units                                        | 同第三等級加上氣密門、出口淋浴及廢棄物之特殊處理<br>As Level 3 plus airlock                                                      | 三級生物安全櫃或二級生物安全櫃並穿著正壓防護衣、雙門高壓蒸氣滅菌器（穿牆式）及經過濾之空氣                                          |

行政院衛生署94.9.26署授疾字第0940000614 號令：  
感染性生物材料管理與傳染病病人檢體採檢辦法

# 危險群相對應之生物安全等級、 操作及設備



| 生物安全等級     | 實驗室類型                | 實驗室操作規範                                   | 安全設備及設施                                                                                |
|------------|----------------------|-------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------|
| 第一等級／BSL-1 | 基礎教學或研究              | 遵循優良微生物學技術。                               | 無特別需求，一般為開放式工作檯。                                                                       |
| 第二等級／BSL-2 | 基層衛生服務、診斷服務或研究       | 遵循優良微生物學技術，工作人員穿著工作服（或實驗衣），實驗室門口應有生物危害標誌。 | 開放式工作檯及生物安全櫃。                                                                          |
| 第三等級／BSL-3 | 特殊診斷服務或研究            | 同 BSL-2 實驗室要求，加上工作人員穿著特殊防護衣、進入管制。         | 生物安全櫃及實驗操作所需之安全設備、雙門高壓蒸氣滅菌器（穿牆式）、氣鎖門、設施內負壓且為定向氣流、設施內氣體經高效率過濾網過濾後排放。                    |
| 第四等級／BSL-4 | 從事高危險性或不明病原體之診斷服務或研究 | 同 BSL-3 實驗室要求。                            | 三級生物安全櫃（或二級生物安全櫃並穿著正壓防護衣）、雙門高壓蒸氣滅菌器（穿牆式）、氣鎖及氣密門、設施內負壓、設施內氣體經雙層高效率過濾網過濾後排出、出口淋浴裝置及廢污處理。 |

行政院衛生署97.5.8署授疾字第0970000111 號預告修正  
感染性生物材料管理與傳染病病人檢體採檢辦法附表一 34

# 生物安全等級之設施需求

|                       | 生物安全等級 |     |                     |     |
|-----------------------|--------|-----|---------------------|-----|
|                       | 一      | 二   | 三                   | 四   |
| 實驗室隔離 <sup>a</sup>    | 不需要    | 不需要 | 需要                  | 需要  |
| 房間可密閉消毒               | 不需要    | 不需要 | 需要                  | 需要  |
| 通風                    |        |     |                     |     |
| —向內之氣流                | 不需要    | 最好有 | 需要                  | 需要  |
| —管控之通風設備              | 不需要    | 最好有 | 需要                  | 需要  |
| —HEPA 過濾排氣            | 不需要    | 不需要 | 需要/不需要 <sup>b</sup> | 需要  |
| 雙門入口                  | 不需要    | 不需要 | 需要                  | 需要  |
| 氣鎖                    | 不需要    | 不需要 | 不需要                 | 需要  |
| 附淋浴設施之氣鎖              | 不需要    | 不需要 | 不需要                 | 需要  |
| 前室                    | 不需要    | 不需要 | 需要                  | —   |
| 附淋浴設施之前室              | 不需要    | 不需要 | 需要/不需要 <sup>c</sup> | 不需要 |
| 污水處理                  | 不需要    | 不需要 | 需要/不需要 <sup>c</sup> | 需要  |
| 高壓滅菌器                 |        |     |                     |     |
| —現場                   | 不需要    | 最好有 | 需要                  | 需要  |
| —實驗室內                 | 不需要    | 不需要 | 最好有                 | 需要  |
| —雙門                   | 不需要    | 不需要 | 最好有                 | 需要  |
| 生物安全櫃                 | 不需要    | 最好有 | 需要                  | 需要  |
| 人員安全監控功能 <sup>d</sup> | 不需要    | 不需要 | 最好有                 | 需要  |

<sup>a</sup> 與一般人員進出，作環境及功能上之隔離

<sup>b</sup> 取決於排氣位置（見第四章）

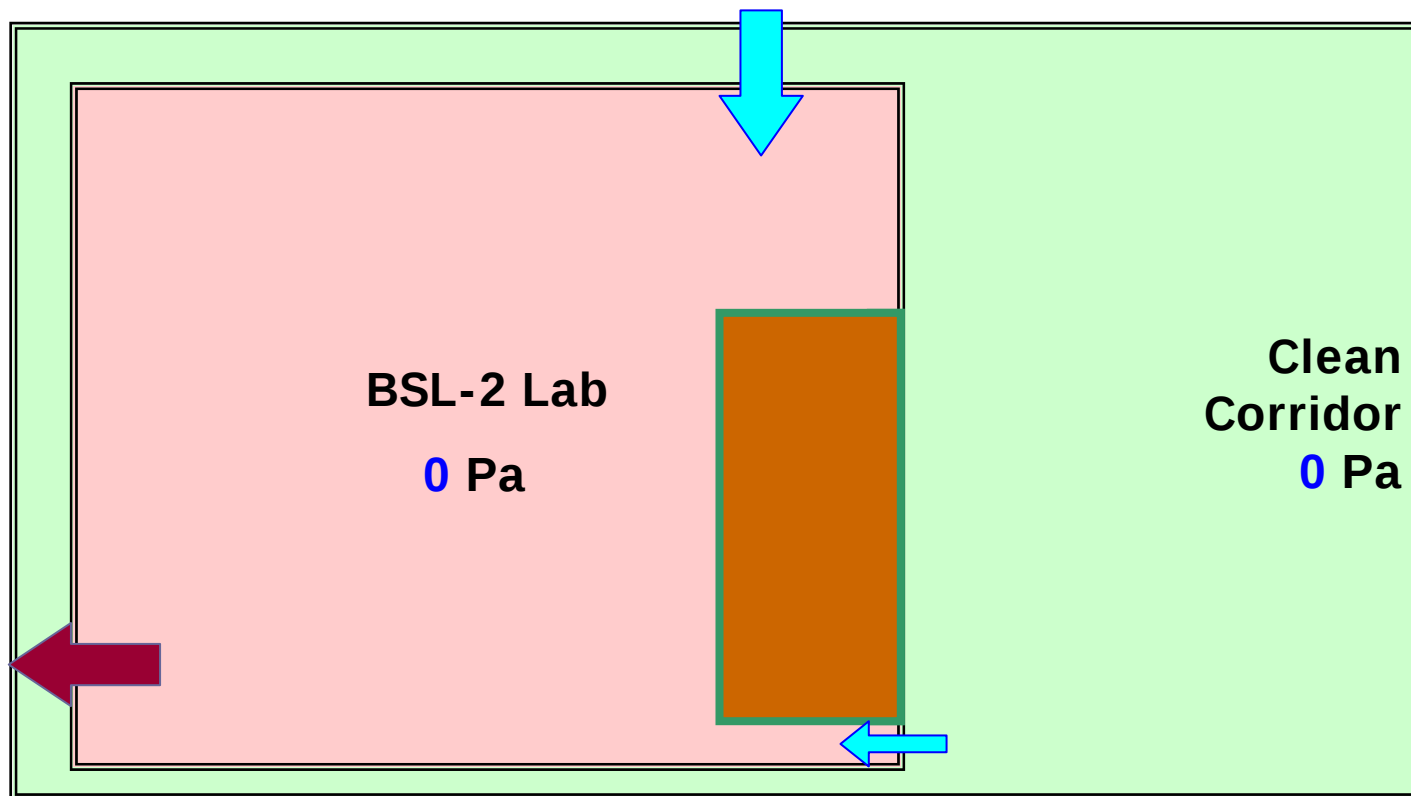
<sup>c</sup> 取決於實驗室中所使用之微生物種類

<sup>d</sup> 例如：觀察窗、閉路電視、雙向通訊設備

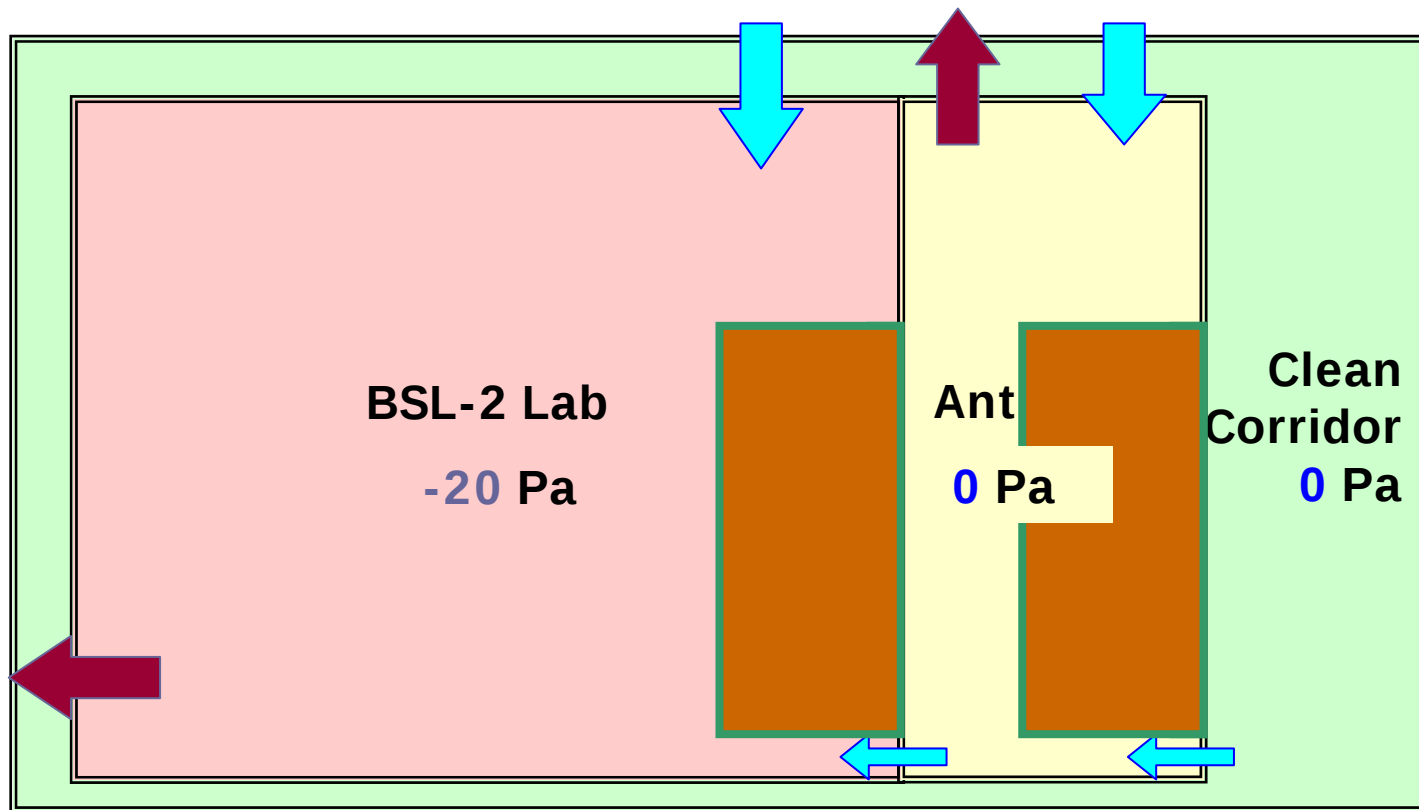
# 生物安全第二等級基礎型實驗室

- 診斷及衛生保健實驗室（以公共衛生、臨床或醫院為基礎）必須設計成生物安全第二等級或第二等級以上。
- 由於沒有一個實驗室能夠完全控制所接收之檢體，故實驗室操作人員可能會接觸比預期更高等級之危險群微生物，因此，在制訂生物安全計畫及政策時要注意到這種可能性。

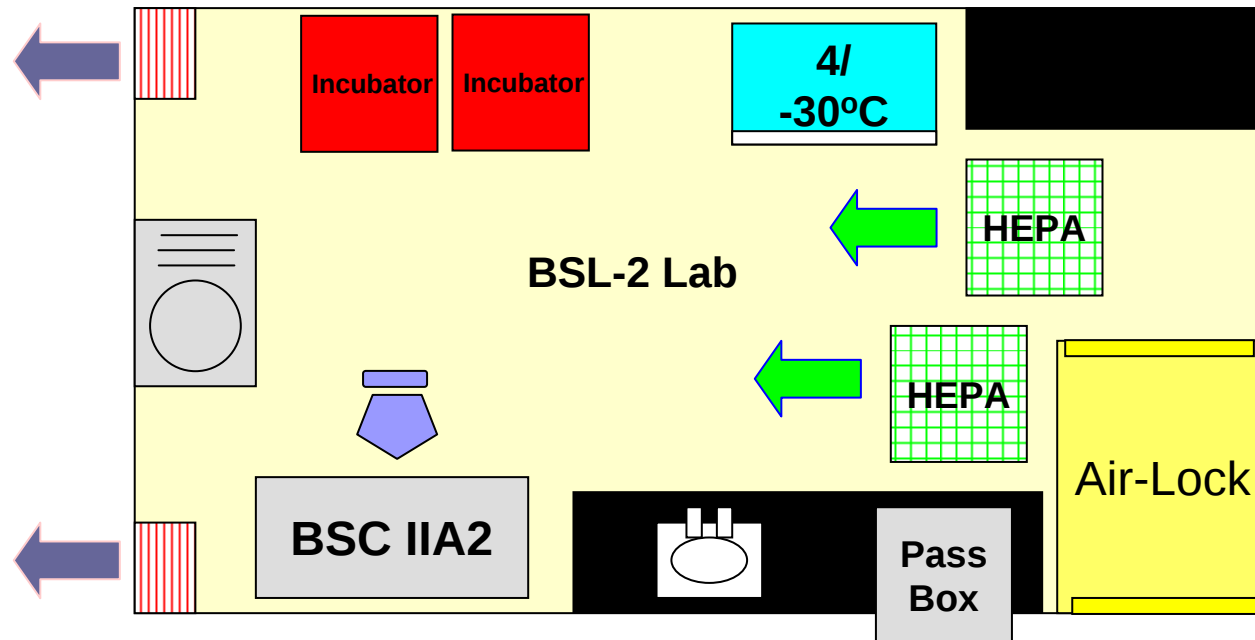
# 向內之氣流～負壓實驗室



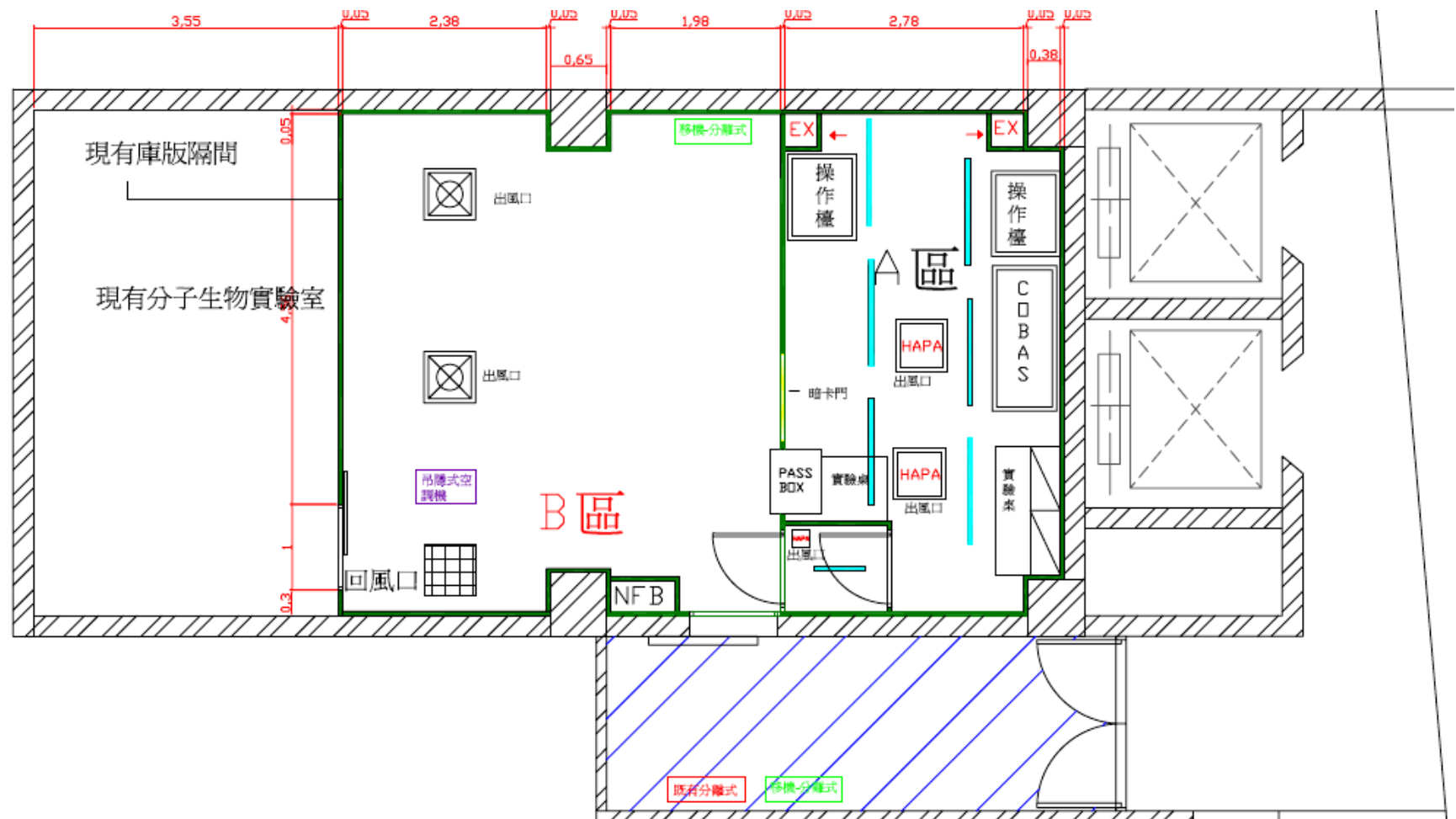
# 向內之氣流～負壓實驗室



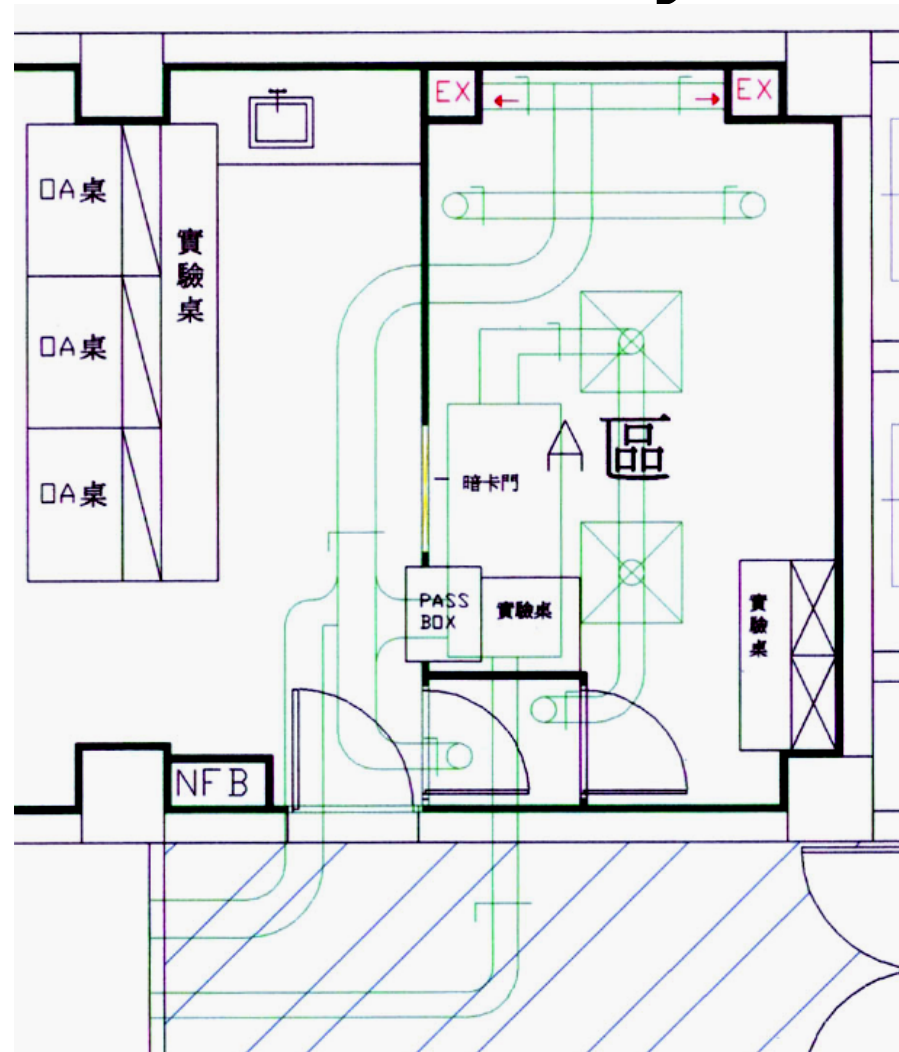
# 生物安全第二等級基礎型實驗室



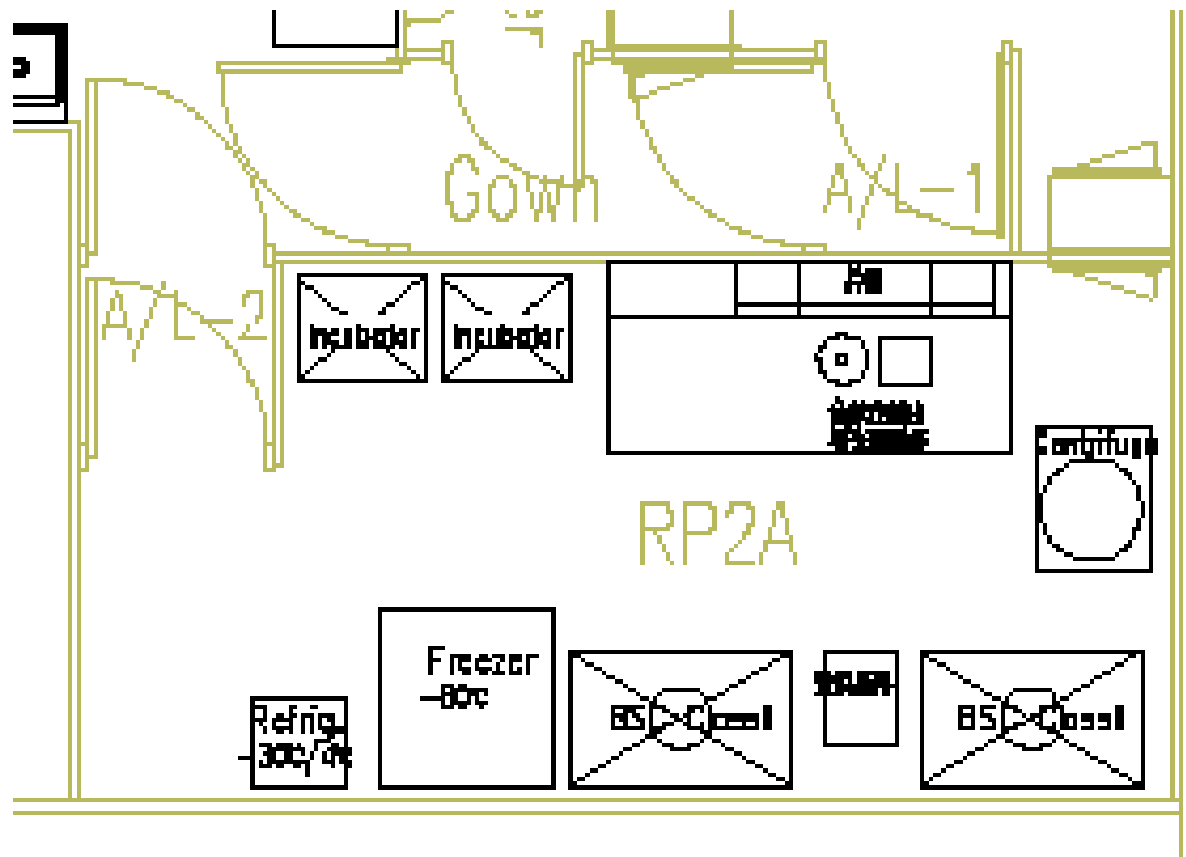
# A BSL-2 Viral Nuclear Acid Extraction Laboratory in BFDA



# A BSL-2 Viral Nuclear Acid Extraction Laboratory in BFDA



# A BSL-2 Virus Laboratory in BFDA



# 生物安全實驗室VS無菌無塵實驗室



## ■ 生物安全實驗室

- ☐ 定向氣流、相對負壓
- ☐ 避免污染物向外擴散
- ☐ 排氣HEPA過濾
- ☐ 氣密、易清潔實驗室
- ☐ 產生氣膠之操作須在生物安全櫃（BSC）中進行

## ■ 無菌無塵實驗室

- ☐ 定向氣流、相對正壓
- ☐ 避免污染物向內入侵
- ☐ 進氣HEPA過濾
- ☐ 氣密、易清潔實驗室
- ☐ 無菌操作之作業須在無菌操作台（LF）中進行

# 人體細胞組織VS 生物安全實驗室&無菌無塵實驗室



## ■ 生物安全實驗室

- ☐ 操作感染性donor的細胞
- ☐ 避免donor的病原污染他人細胞、操作人員與環境
- ☐ 避免不同donor間細胞交叉汙染
- ☐ 避免微生物污染donor的細胞
- ☐ 需使用防護衣、手套、口罩、眼罩等PPE
- ☐ 人員需熟練無菌操作技術及生物安全管控技術

## ■ 無菌無塵實驗室

- ☐ 操作非感染性donor的細胞
- ☐ 避免不同donor間細胞交叉汙染
- ☐ 避免微生物污染donor的細胞
- ☐ 需有使用無塵室衣手套、口罩、眼罩等不產生落塵裝備
- ☐ 人員需熟練無菌操作技術

# 德國海德堡大學細胞治療臨床實驗室 室環境監控案例介紹



Referenced from Dr. Doris Herrmann's Presentation in 2008 ISCT Annual Meeting

2008/8/11

# 幹細胞處理實驗室



# 細胞組織產品之研發與臨床應用

行政院衛生署  
藥物食品檢驗局  
B.F.D.A.

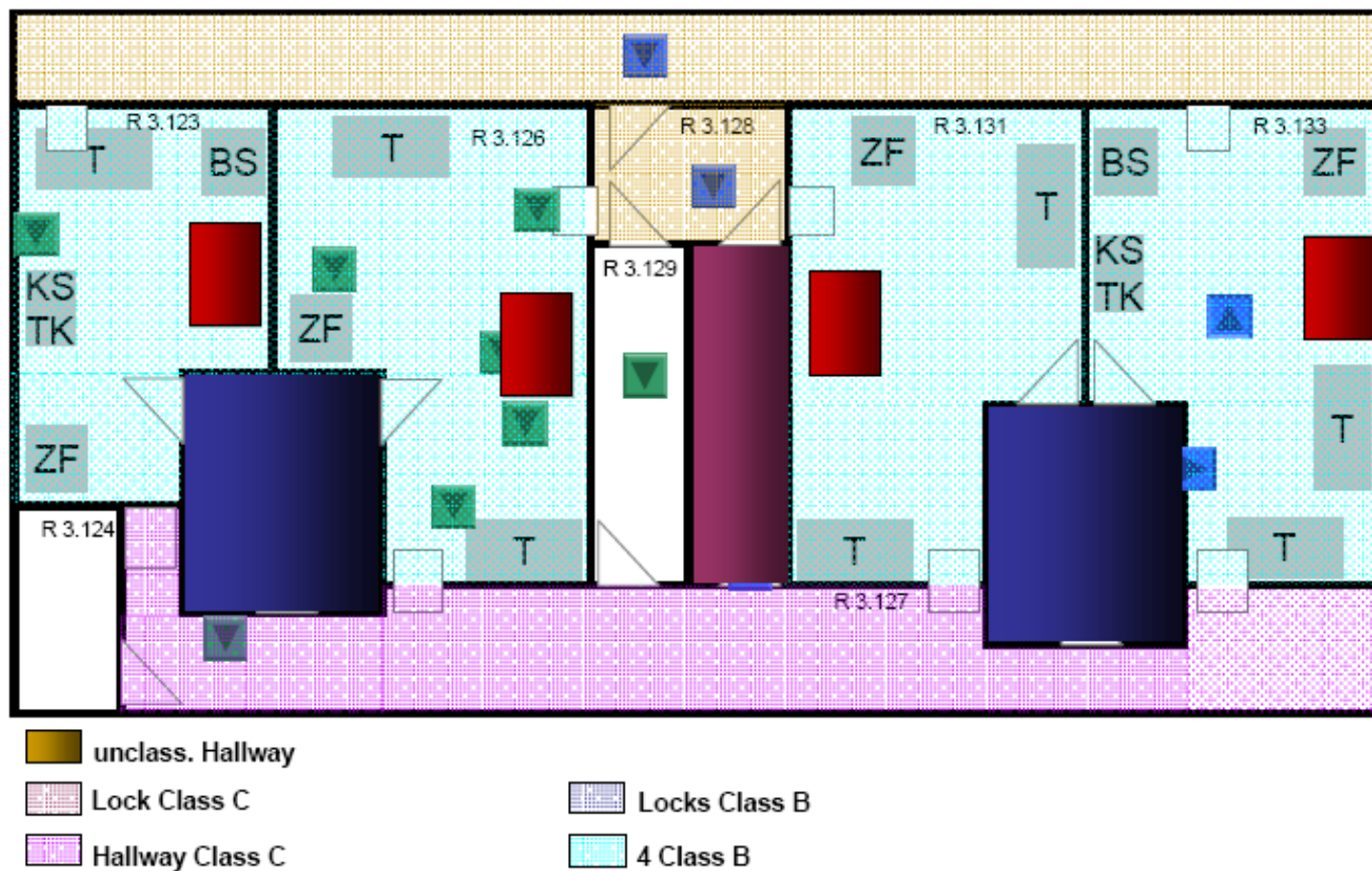
## ■ Indications, Applications

- ☐ Cancer, Immunodeficiencies, Autoimmune diseases
- ☐ Cardiovascular disorders
- ☐ Liver failure, metabolic disorders
- ☐ Diabetes

## ■ Products and Therapies

- ☐ Blood, Bone marrow SCs, MSCs transplantation, DCs, CIK cells, Lymphocytes
- ☐ Bone marrow SC-, multipotent SC infusion
- ☐ Isolated hepatocytes, hepatocyte SCs
- ☐ Pancreatic islet cells, SC derived islet cells

# Lab Design



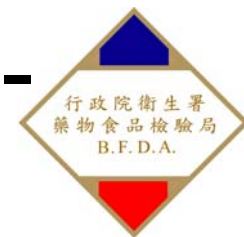
# Entrance/Dressing



# Operation



# Environmental Control for a Multi-functional, Multi-product Facility



- During manufacturing of cellular therapeutics “Routine Monitoring” of particles and germs should ensure the constant **suitability of the cleanroom facilities** and the **hygienic appropriateness of the personnel**. It should be demonstrated that there is no risk of contamination originating from the premises and personnel for the products **in operation conditions**.
- Cleanroom and clean air devices should be classified in accordance with EN DIN ISO 14644, classification should be clearly differentiated from operational EM.
- Cleanroom and clean air devices should be routinely monitored **in operation** and the monitoring locations based on a formal **risk analysis** study and the **results** obtained during the **classification** of rooms...”
- In operation = Routine Manufacturing or Media Fills
- **Annex 1, Medicinal Products for Human Use, EU GMP Guide, August 2007**

# Cleanroom Monitoring



## ■ For Grade A Zone:

- Particle monitoring for full duration of **critical processing**, including equipment assembly except where justified by contaminants in the process (damage of particle counter) or present a hazard, sampling methods used should not interfere with zone protection, results should be considered for finished product release.

## ■ For Grade B Zone:

- Similar system, sample size can be decreased

## ■ For Grade C and D:

- Performance in accordance with the principles of quality risk management, dependent on the nature of operations carried out (Physical parameters: temp, humidity → HVAC)

## ■ Annex 1, Medicinal Products for Human Use, EU GMP Guide, August 2007

# Limits for Air Borne Particles

European Medicine Agency August 2007



| ISO | European                                            | US<br>(Particles per cubic foot)               | Max. Particles per cubic meter<br>(in operation) |                   | Particles<br>(at rest)   |        |
|-----|-----------------------------------------------------|------------------------------------------------|--------------------------------------------------|-------------------|--------------------------|--------|
|     |                                                     |                                                | > 0,5 $\mu\text{m}$                              | > 5 $\mu\text{m}$ | > 0,5                    | > 5    |
| 5   | A                                                   | 100                                            | 3500                                             | 1 → 20            | 3520                     | 1 → 20 |
| 6   | B                                                   | 1000                                           | 352.000                                          | 2000 → 2.900      | 3521                     | 1 → 29 |
| 7   | C                                                   | 10.000                                         | 3.520.000                                        | 20.000 → 29.000   | 352.000                  | 2000 → |
| 8   | D                                                   | 100.000                                        | n.d.                                             | n.d.              |                          | 2900   |
|     | Classification according to European GMP guidelines | Classification according to FDA GMP guidelines |                                                  |                   | * Mean of Several Values |        |

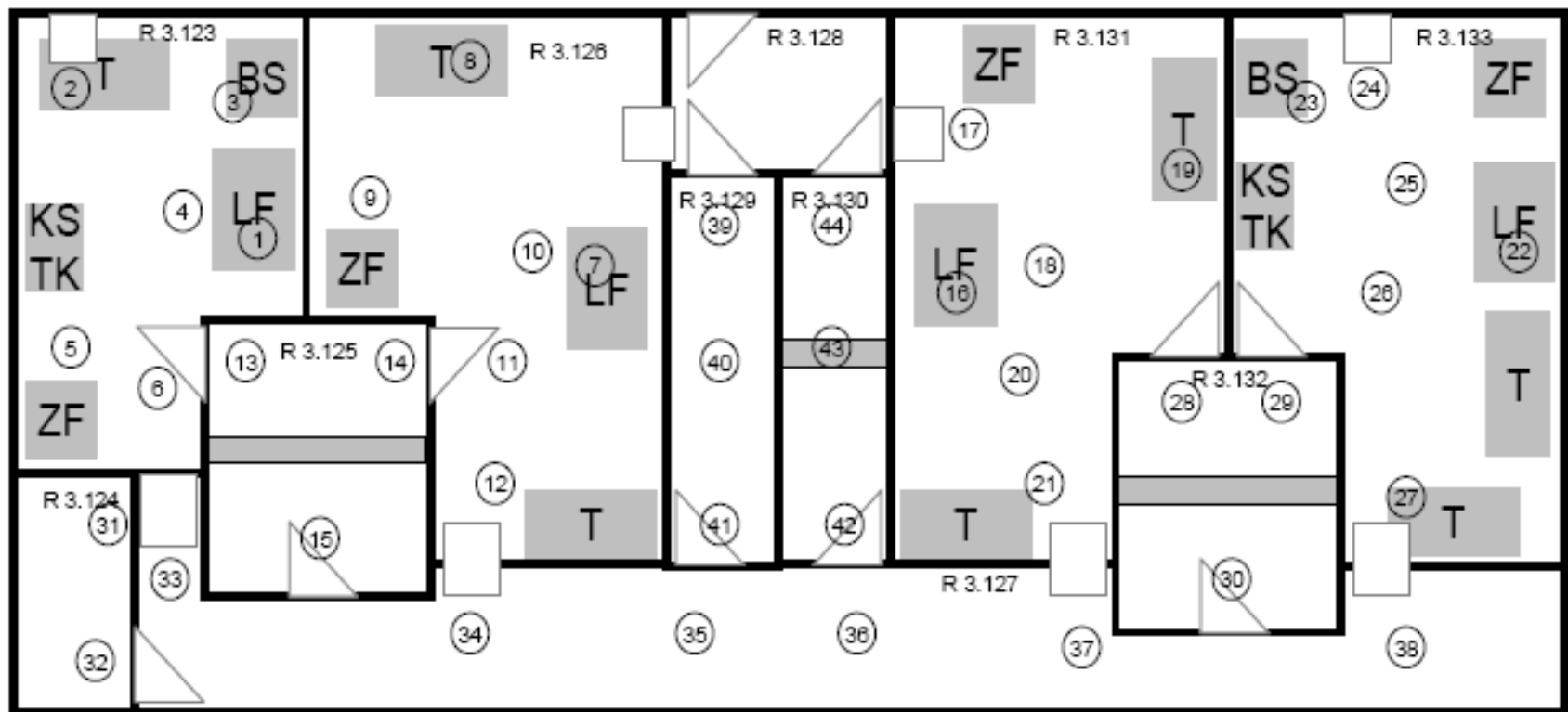
# Limits for Microbial Contamination

Surface and personnel monitored after critical operations



| European Grades             | Air samples<br>cfu/m <sup>3</sup> | Settle Plates<br>(diameter 90mm)<br><br>Cfu /4 hours (b)    | Contact plates<br>(diam 55mm)<br><br>Cfu/plate | Glove prints<br>5 fingers<br><br>Cfu/glove |
|-----------------------------|-----------------------------------|-------------------------------------------------------------|------------------------------------------------|--------------------------------------------|
| A                           | < 1                               | < 1                                                         | < 1                                            | < 1                                        |
| B                           | 10                                | 5                                                           | 5                                              | 5                                          |
| C                           | 100                               | 50                                                          | 25                                             |                                            |
| D                           | 200                               | 100                                                         | 50                                             |                                            |
| a) These are average values |                                   | b) Individual settle plates maybe exposed less than 4 hours |                                                |                                            |

# Measuring Points: Particles

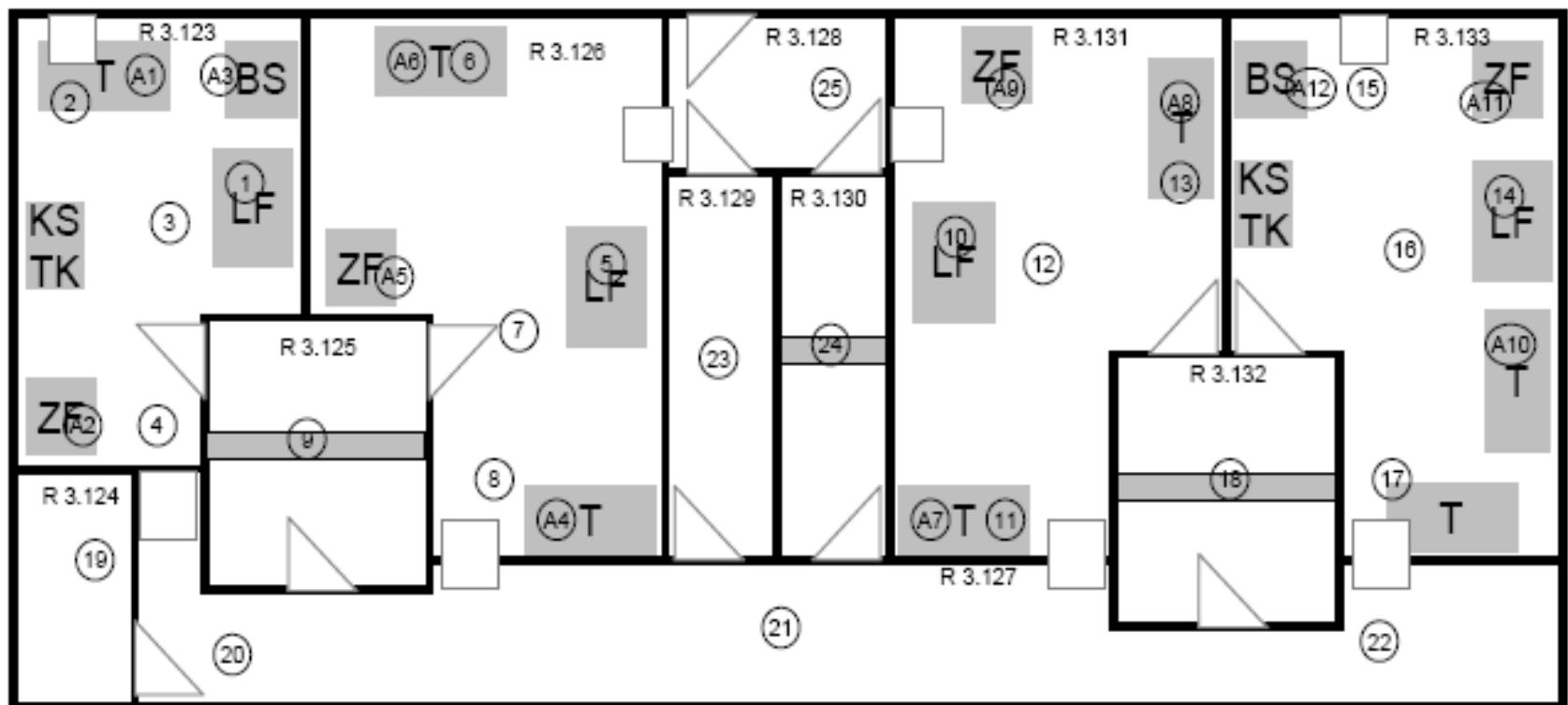


T: Table BS: Incubator ZF: Centrifuge  
 LF: Laminar Flow  
 KS: Refridgerator

Square root of surface in  $m^2$   
 In working height: 10 cm over work area,  
 not directly under supply air

# Measuring Points: Microbiology

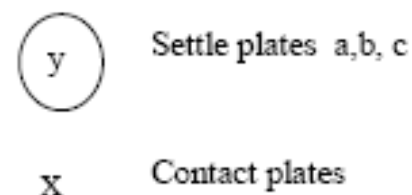
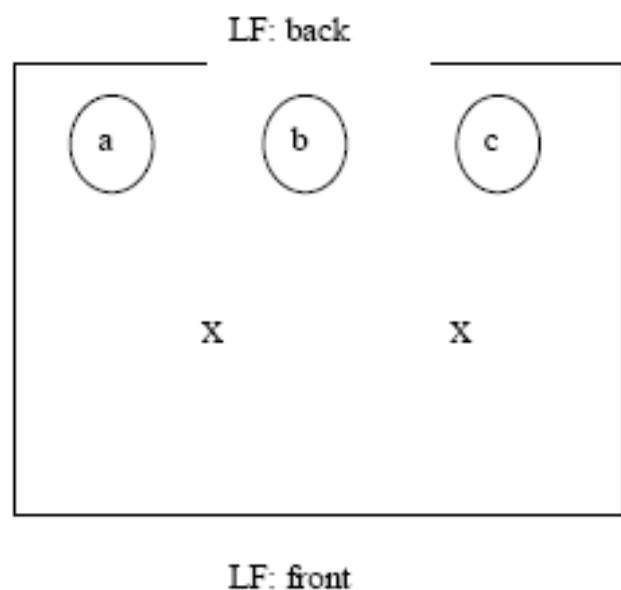
行政院衛生署  
動物食品檢驗局  
B.F.D.A.



T: Table   BS: Incubator   LF: Laminar Flow  
KS: Refrigerator  
ZF: Centrifuge

Air germs, Contact plates

# Positioning of Settle Plates and Contact plates in A



# Testing Frequencies According to Previous Testing Values (in operation)



| Grades  | Particles         | Air germs<br>Settle plates<br>Incubation:<br>3-5 d RT<br>3-5 d at 32,5°C<br>+2,5° C | Air germs<br>Air sampler<br>Incubation:<br>3-5 d RT<br>3-5 d at 32,5°C<br>+2,5° C | Contact plates<br>Incubation:<br>3-5 d at RT<br>3-5 d at 30-35°C | Personnel<br>Incubation:<br>3-5 d at RT<br>3-5 d at 30-35°C |
|---------|-------------------|-------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------|
| A       | During processing | During processing                                                                   |                                                                                   | After process                                                    | Hand, Forarm                                                |
| B       | During process    | -                                                                                   | 1/Month                                                                           | After process                                                    | After process                                               |
| C       | 1/Month           | -                                                                                   | 1/Month                                                                           |                                                                  |                                                             |
| Unclass | -                 | -                                                                                   | 1/Month                                                                           |                                                                  |                                                             |

# Alert (discussion of cause)

## Actions limits (corrective actions)



| Particles/m <sup>3</sup><br>„MetOne“ | >0,5μ >5μ    | >0,5μ >5μ    |
|--------------------------------------|--------------|--------------|
|                                      | Alert limit  | Action limit |
| Class A                              | 1000/1       | 3500/1       |
| Class B                              | 50.000/500   | 100.000/1000 |
| Class C                              | 500.000/5000 | 1 Mio/10.000 |

# Alert & Actions limits



|                                                             |             |              |
|-------------------------------------------------------------|-------------|--------------|
| Settle plates<br>Columbia-Bloodagar<br>Ø 90 mm, max 4 hours | CFU/plate   | CFU/plate    |
| 3 measuring points                                          | Alert limit | Action limit |
| Class A                                                     | 1           | 3            |

# Alert & Actions limits



| Air born germs<br>RCS High flow air<br>sampler with Agar<br>Strips TC- $\gamma$ | CFU/m <sup>3</sup> | CFU/m <sup>3</sup> |
|---------------------------------------------------------------------------------|--------------------|--------------------|
|                                                                                 | Alert limit        | Action limit       |
| Class B                                                                         | 5                  | 10                 |
| Class C                                                                         | 20                 | 100                |

# Alert & Actions limits



| Contact plates<br>Contact agar with<br>Lecithin/Tween 80,<br>Ø 55 mm | CFU/plate   | CFU/plate    |
|----------------------------------------------------------------------|-------------|--------------|
|                                                                      | Alert limit | Action limit |
| Class B                                                              | 2           | 5            |
| Class A                                                              | 1           | 3            |
| The postions need to<br>be cleaned after<br>sample drawing !!        |             |              |

# Alert & Actions limits



- Reaching Alert Limits:
  - Discussion of cause with all the employees
- Reaching Action Limit:
  - Directly repetition of sampling where possible, if again
  - over limit:
  - Investigations and Deviation report to find reasons of
  - contamination:
    - -Instruments on/off
    - -Arrangements for new Cleaning and Disinfection
    - -Check of coating and channeling into the cleanrooms
    - -Testing of supply air filters
    - -Testing of instrument for measuring
    - -Check of lot of culture media
    - -Check of processing
    - -Retraining of personnel

# Product Impact



- Corrective and preventive Action results should lead to:
  - Acceptability of operations or products processed ?
    1. Review of manufacturing records (how many products ?)
    2. Repeat product sterility testing
    3. How many quarantine products
    4. Discarding of products (discussions with responsible physicians !)
    5. How many products of these infused already ?
    6. Notify physicians, recipient, follow up of clinical investigations
    7. Risk Analysis

# Product Impact



- Corrective and preventive Action results should lead to:
  - Acceptability of operations or products processed ?
    1. Review of manufacturing records (how many products ?)
    2. Repeat product sterility testing
    3. How many quarantine products
    4. Discarding of products (discussions with responsible physicians !)
    5. How many products of these infused already ?
    6. Notify physicians, recipient, follow up of clinical investigations
    7. Risk Analysis

Any  
Question?

