出國報告（出國類別：訓練進修）

赴美國華盛頓特區參加 PDA「2013Aseptic processing」第 5 梯次及「Validation of Biotechnology-Related Cleaning Processes」訓練報告

服務機關：衛生福利部食品藥物管理署

姓名職稱：傅淑卿 技正

派赴國家：美國

出國期間：

1.無菌製程第 5 梯次：

第 1 週 102 年 10 月 12~21 日、第 2 週 102 年 11 月 2~11 日

2.Validation of Biotechnology-Related Cleaning Processes：

102 年 10 月 27 日~11 月 1 日

報告日期：102 年 12 月 30 日

目　　次

摘要 ……3
第一章 目的 ……4
第二章 過程 ……5
第三章 課程摘要 ……8
第四章 心得及建議……15

摘　要

食品藥物管理署於2013年1月1日領先中、日、韓成為PIC/S會員後，從今年1月以來，製藥業之出口產值已看到明顯成長，而我國行政院在促進、協助與輔導生技製藥產業發展所投入之努力，於近年已逐漸步入開花結果階段，因此可以預見不久的未來，無菌製劑與生物製劑製造廠之查核需求將大幅成長，故派稽查員赴美國無菌製劑協會（Parenteral Drug Association, PDA）接受無菌操作與生物製劑產品清潔確效的課程。美國無菌製劑協會（Parenteral Drug Association, 簡稱PDA）之訓練與研發中心（Training and Research Institute, 簡稱TRI）每年因應製藥廠與製藥技術發展趨勢之需求，舉辦多樣化之訓練，其中「Aseptic processing(無菌製程)」課程因需求高，且受限於進入潔淨區實做之人數，每年舉辦5梯次，而「Validation of Biotechnology-Related Cleaning Processes」則因應產業需求而開課，以協助政府及製藥廠等產官學機構，訓練生產、品管與品保等相關操作與管理階層人員，協助提升生產無菌製劑與生物製劑之相關專業技術與知識；美國FDA亦與其合作，用以訓練其稽查員（Investigator）或討論無菌相關法規等。

本次無菌製程訓練內容包含環境監控樣本之微生物相關試驗之技巧、潔淨室操作原理與概念等課程及實務操作，參與學員共23名，來自Amgen、Genetech、Merck、GSK等跨國性製藥廠與研發單位，除了美國本土之外，亦有來自台灣、荷蘭、巴西等國，受訓者於其機構內負責之工作包括研發、現場操作、品質檢驗與品保等管理階層人員。而生技相關清潔確效之參與學員共11名，來自Eli Lilly、Genetech、Bristol-Myers Squibb、Bavarian NordicA/S、NovoNordisk A/S、Samsung Biologics等跨國性製藥廠與研發單位，除了美國本土之外，亦有來自台灣、丹麥、波多黎各、韓國等國，受訓者於其機構內負責之工作包括製程研發、確效與品質部門等管理人員。本訓練計劃可以攜回無菌操作與生物製劑產品清潔確效的新趨勢，使稽查員具備相關之知識與稽查技巧，以輔導國產藥廠，提升其技術並持續符合最新之國際GMP，對於國內外藥廠GMP查核作業與藥品品質管理等相關業務均有所助益。

壹、目　的

製藥工業在人口持續成長且壽命不斷延長的趨勢下，經濟產值年年創新高，此外，對抗各式新舊疾病的新藥、學名藥研發亦逢勃發展；為使藥品品質提升以確保民眾用藥安全，負責管理的各國衛生主管機關透過合作，即時交換安全訊息與法規趨勢，達到全球協和化的目的，而產業界亦經由導入Quality by Design、確效、風險管理、教育訓練等種種state in art的理念或工具，共同為用藥安全與有效性努力不懈。而藥品的製造技術可以依產品類別與製造所需設備概分為非無菌、無菌與生物製劑三類；無菌製劑與生物製劑相較於非無菌製劑，除了須在操作環境的潔淨度與管控投入更多人物力以外，於避免微生物污染、交叉污染等範疇則須無菌操作技術支持，包括設備與操作人員都須基於“保護產品以避免微生物污染”的前提下進行設計；設施設備一旦經適當設計、驗證與維護後，即可將微生物污染的風險降至很低，但是，在潔淨室中活動的操作員，因人性習慣使然，即須透過正確的觀念、無菌操作技術與不斷的教育訓練，以避免來自人為操作不當所造成的微生物污染。另，近年生物製劑蓬勃發展，生物製劑之特性不同於一般小分子藥物，須確保製程無菌性與避免交叉污染，加以生物製劑的物化特性不同於小分子藥品，通常黏性高、對熱敏感、不耐酸鹼，故其生產過程中各項設備之清潔有效性乃為非常重要的關鍵點之一，其清潔程序的設計須將上述因子納入評估，始能有效清潔以及避免殘留。

因此，本次派員赴美國無菌製劑協會接受「Aseptic processing」與「Validation of Biotechnology-Related Cleaning Processes」訓練之主要目的包括:(1)汲取最新之無菌製程新知，使稽查員具備相關之知識與稽查技巧、(2)了解設計生物製劑清潔確效之注意事項，以輔導國內製造廠持續符合最新之國際GMP；綜上，對國內外藥廠GMP查核作業均有所助益，且可以提升國內製藥廠GMP之水準，刺激外匯之成長。

貳、過 程

一、 行程

出國人員衛生福利部食品藥物管理署傅淑卿技正，經奉派於102年10月12日起程赴美國參加PDA於2013年舉辦之第5梯次「Aseptic processing」及「Validation of Biotechnology-Related Cleaning Processes」訓練，並於11月10日返抵國門，訓練內容包括上課與實際操作。行程與工作紀要如下表：

日期	行程/活動
第 1 階段	
10月12日	起程（台北-美國洛杉磯，洛杉磯-休士頓）
10月13日	起程（休士頓-華盛頓）
10月14~18日	第5梯次「Aseptic processing」Week 1訓練
10月19日	返程（華盛頓-紐約）
10月20~21日	返程（美國紐約-台北）
第 2 階段	
10月27日	起程（台北-美國洛杉磯，洛杉磯-休士頓）
10月28日	起程（休士頓-華盛頓）
10月29~31日	「Validation of Biotechnology-Related Cleaning Processes」訓練
11月1~3日	蒐集與彙整無菌作業訓練課程相關資料
11月4~8日	第5梯次「Aseptic processing」Week 2訓練
11月8日	返程（華盛頓-紐約）
11月9~10日	返程（美國紐約-台北）

二、 訓練課程

（一）第5梯次「Aseptic processing」Week 1 & 2

學員23名再分為兩組，各為11與12名，上課與實務操作視實驗室與潔淨室空間依組別輪流進行，第一、二週課程各5天共10天，每日上課與實務操作之內容詳如下表：

Week 1	
第1天 10月14日	
0730~0800	報到
0800~0900	場地與課程介紹

0900~0945	Basic Facility Design (上課)
1000~1400	Velocity testing, Airflow studies (級區潔淨室)
1400~1530	Basic Microbiology (上課)
1545~1815	EM & Pass Through SOP(實驗室)
1815~1830	Wrap up and information for next day
第2天 10月15日	
0800~1015	Water Fill (Transfer & sterile filtration) (級區潔淨室)
1030~1245	Filtration (上課、實驗室)
1330~1545	Environmental Monitoring (上課、實驗室)
1600~1815	Facility Cleaning & Sanitization(上課、級區潔淨室)
1815~1830	Wrap up and information for next day
第3天 10月16日	
0800~0900	Gowning Commodities (上課)
0915~1200	Aseptic Qualification (Broth studies) (實驗室)
1230~1515	Gowning Training & Qualification (實驗室、級區潔淨室)
1530~1830	Performing Aseptic Processing Simulations (上課)
第4天 10月17日	
0800~0900	Media fill documentation (上課)
0900~1100	Particulate Monitoring systems (上課)
1115~1315	Isolators use and Sanitization (上課)
1400~1815	Media fill (級區潔淨室)
1815~1830	Wrap up and information for next day
第5天 10月18日	
0800~0930	EU/US Regulations (上課)
0945~1115	Evaluate Media Fill (實驗室)
1115~1130	Wrap up and Course Evaluation
Week 2	
第1天 11月4日	
0800~0845	Define Managers
0845~1015	Read Media fill and other Micro plate(實驗室)
1030~1230	Product Formulation(實驗室)
1330~1530	Water fill(級區潔淨室)
1545~1745	EM Trending(上課)
第2天 11月5日	
0800~1000	CIP Lecture & Lab (上課、實驗室)
1015~1215	Manufacture Documentation/QC plan(上課)
1245~1445	Media Fill Investigation(實驗室)
1500~1700	Rapid Microbial ID(上課、實驗室)

第3天 11月6日	
0800~1000	Emerging Micro Technologies(上課)
1015~1215	Media Fill Investigation(實驗室)
1245~1315	Personnel Monitoring Programe(上課)
1315~1600	Preparation for Presentation to Product sponsor(上課)
1615~1730	Presentation to Product sponsor Representative(上課)
第4天 11月7日	
0800~1245	Media Fill(級區潔淨室)
1315~1530	Endotoxin(上課、實驗室)
1545~1800	Lyophilization(上課)
第4天 11月8日	
0800~0915	Liquid Particulate Testing(上課)
0930~1045	Sterility Testing(上課、實驗室)
1045~1245	Current FDA Perspectives(上課)

（二）「Validation of Biotechnology-Related Cleaning Processes」

第1天 10月29日	
0900~1030	Cleaning process design & Development Cleaning process Coverage testing
1045~1115	Cleaning process design & Development Equipment Design Consideration Coverage Testing
1115~1145	Lab Module 1: Coverage Testing (Riboflavin)
1145~1215	Soil Evaluation, Coupon studies, Process Parameter Determination and Design space
1315~1400	Lab Module 3A: Cleaning Agent Selection
1400~1420	Soil Evaluation, Coupon studies, Process Parameter Determination and Design space (cont`d)
1435~1530	Acceptance Limits
1530~1600	Lab Module 5: Residual Limits
第2天 10月30日	
0830~0900	Acceptance Limits(cont`d)
0900~0930	Lab Module 3B: Cycle development (coupons)
0930~1000	Lab Module 3C: Rinse time
1000~1200	Sampling Method Selection
1300~1400	Lab Module 4: Visual testing

1400~1430	Sampling Method Selection-Swab Technique Review
1445~1600	Lab Module 2: Swab Recovery
第3天 10月31日	
0830~0900	Review of Swab Recovery Data
0900~1015	Analytical methods
1030~1100	Cleaning Validation Protocol & Worst cases
1100~1200	Lab Module 3D: Soil tank
1300~1415	Lab Module 6: Manual cleaning
1430~1600	Maintenance of the Validation State, Special Considerations and Regulatory Issues

參、「Aseptic processing」Week 1 & 2課程摘要

一、 環境監控樣本之微生物相關試驗之技巧、潔淨室操作原理與概念

(一)潔淨室操作原理與概念

1. 人員更衣與動作

戴Gloves時須注意非無菌的手只能碰手套的內層；Coverall避免碰觸外層，拿取時以接觸內層為限，上身從內部腰身處拿取往外捲縮短以使腿伸入時，褲管不會碰觸地板；戴Goggles時須調整Face mask、Hood使臉部皮膚不會露出，Goggles選擇不易起霧、易調整鬆緊之款式。評核人員的更衣能力外，更需要定期驗證人員的更衣動作。

2. 無菌層流與 Air flow study

以氮氣產生器加水後製造白色煙霧由具多個側孔之塑膠硬管送出，可清楚看到於HEPA下之空氣層流型式，例如於兩片HEPA交接處有亂流，但HEPA下方約10公分開始即為層流，在接近工作表面時，層流以約45度角流向B級區，開門動作太快會造成亂流，層流一旦遭阻擋即失去保護功能。

圖片來源:http://www.mspcorp.com/images/products/MSP-PI2001-2010_Rev%20B%20PI%20Foggers.pdf

3. 模擬充填

設有A/B級區容許人數之上下限，指定pump及needle setup team，包括vial、stopper、cap、boarder之loading均以2人一組方式進行，一人為dirty，負責開第一層包裝，另一人為Clean，負責開第一層包裝並裝設設備與取樣，打開時應於HEPA下方並與身體保持距離，以利層流通過；須避免頭部進入critical area、手臂越過turn table、conveyer、stopper bowl及cap bowl；在clean room中移動速度應比平常走路速度更慢以避免影響層流、造成亂流；重要介入後須至exit airlock進行finger print之sampling。

4. 進入清淨區的無塵衣通常可分為重複使用型或拋棄式，其中以產生較少微粒的材質較佳，如 Reusable Polyester、Coated and Laminated Polypropylene 等。除了微粒子外，某些區域的無塵衣需要滅菌，因此須設定可承受滅菌之次數，再以編號或以 bar code 方式管理與記錄。

二、 Filtration

對於無法進行最終滅菌的液態藥品，例如疫苗與蛋白質產品，以孔徑0.22μm的濾膜進行過濾（將微生物滯留在濾膜的上游）是提供無菌保證性的方法，常見親水性濾膜之材質包括Nylon, PES及modified PVDF。

確保濾膜完整性是無菌過濾製程的關鍵步驟，歐洲GMP（或PIC/S GMP Annex 1 第113條）對無菌製備所用濾膜之規範：使用前應證明滅菌過之濾器的完整性，且應在使用後，立即以適當的方法，例如起泡點、擴散流或持壓試驗確認。起泡點、擴散流或持壓試驗之規格應視所用液體與環境而定。使用連續之兩個濾膜時，建議兩個使用前都測，使用後測其中1個，若失敗再測第2個。

惟，目前「使用前應證明滅菌過之濾器的完整性（Pre-Use Post Sterilization Integrity Test, PUPSIT）」作法仍有爭議，究竟是否要執行PUPSIT，大家仍有不同的看法，唯一的共識係以風險評估的方式去考量PUPSIT的執行與否，例如有充分的證據證明濾膜在妥善控制的蒸氣滅菌過程中其受損機率很低，或是濾膜接受完整性測試後受損、污染的機率大為提升，可以考量不執行PUPSIT。

三、 Facility Cleaning & Sanitization

導致污染之原因，通常來自環境，包括空氣、水及人，有時產品也是來源之一，其中以人為最大來源，因此人是管制的首要目標。

廠房定期清潔(clean)、去污染(decontamination)或消毒(disinfectant)是控制之必要方法，清潔步驟是成功達成消毒的必要步驟之一，清潔時以有detergent功能的液體擦拭表面以移除微粒子與微生物，於表面乾掉之前再以乾布移除液體，等待表面乾了後再進行去污/消毒，在殺孢劑或消毒劑風乾後，再以WFI(熱的)或IPA擦拭關鍵區域與設備；殘留於表面的殺孢劑/消毒劑可能抑制RODAC微生物之生長，久了以後可能造成消毒能力下降而妨礙消毒。

消毒方式包括Spray、Wipe、Mop及燻蒸，為了避免微生物對消毒劑產生抗性，應輪流使用殺孢劑或消毒劑，執行時應留有記錄，操作人員應經訓練。

四、 Environmental Monitoring

環境監控可以提供資訊以了解製造廠房中微生物與微粒子的控制狀態。主動式浮游微生物取樣器之設計型式，有離心式、過濾式、裂縫式、篩網式（搭配固態培養基使用）與沖擊型式（搭配液態培養基），包括落下菌、swab與RODAC之取樣技巧，首重避免污染培養基，其次，操作swab時，取樣頭沾濕後應去除多餘液體，而RODAC亦應施以適當壓力，如此方能有效將微生物帶離表面。

五、 Media filling（模擬充填）

根據FDA於2011年更新的”Process validation Guidance”，肯定製程確效對產品品質的貢獻，導入”Product lifecycle”之思維，將其分為三部曲，包括Process Design，Process Qualification及Continues Verification。

造成產品無菌性試驗失敗的主要因素，從高至低依序來自：人、製程、儀器、設備設施及滅菌失敗等；因此，模擬充填應以科學性方法辨識與挑戰製程的弱點，而不是用來確效無菌製程、確認製程管制、測定Sterility Assurance Level、驗證與訓練潔淨室操作員、驗證支援系統、驗證不正確的無菌操作技巧及縮減部分應執行之活動。執行模擬充填時應基於實際製程再加上各項介入，如除了定義現場最多人數外，亦應挑戰容許之最少人數，並以平常狀況執行，避免通知其他區域的人配合減少WFI使用等，方能真正深入了解製程之耐受性。

六、 Isolator與cRABS

兩者非常相似，主要差異可分兩點:

第一，硬體方面，Isolator的供氣是循環式的，而cRABS則排至其背景中，亦即Isolator必須完全密閉（以執行持壓測試之方式進行確認），雖須保持層流但不一定要維持對背景（C或D級區）的壓差，而cRABS除須保持層流外，仍須維持對背景的壓差（B級區），可以設計成密閉以利進行VHP，但生產前執行持壓測試則不一定是必要措施。

第二，使用方面，Isolator由於背景僅為C或D級區，一旦滅完菌，直到操作完畢均不可打開屏蔽，僅能透過RTP（rapid transfer port）傳遞所需物品與維修，因此，若故障無法排除，有可能需要中斷或放棄該次或其後之充填作業，造成最終原液或相關耗材的損失；而cRABS由於背景為B級區，必要時仍可於HEPA保護下開啟屏蔽進行故障排除，可將最終原液或相關耗材的損失降至最低。

七、 Formulation調液

純化過程與調液往往影響到生物製劑的安定性。而影響生物製劑安定性之主要原因包括：Deamidation、Oxidation及Aggregation；脫醯胺是一種水解反應，所以在水溶液中的反應遠大於固型製劑（如錠劑或凍乾製劑）；氧化反應更為複雜，可以導致氧化反應的來源包括金屬離子、H_2O_2、光及賦形劑等；Aggregation係原本均勻分散於溶液中之蛋白質，聚集在一起形成可溶或不溶性的微粒，造成Aggregation的原因包括蛋白質受到Shear、經過凍結與解凍及Surface interface reactivity等，Shear force會隨著黏度、流速及trans membrane pressure的增加而增加。

控制下列因子可將蛋白質的安定性予以最適化，如pH值、溫度、蛋白質濃度、添加賦形劑及離子強度，得透過Pre-Formulation studies探討最適組合以訂定調液配方。

八、 環境監測

環境監測計畫必須是meaningful、manageable及defendable。其目的係為生產中無菌操作環境之品質提供關鍵資訊、避免有汙染疑慮的批次及經由監測負面趨勢避免未來發生污染。環境監測有助於確保可提供持續符合規定的製造環境，亦為評估管制效益的工具，此外，亦有助於提升無菌保證程度進而確保產品之品質。

九、 微生物快速鑑別

分離自環境、無菌試驗、負荷菌試驗、微生物限量試驗、水系統及

模擬充填之微生物均須執行鑑別（環境微生物得依製造廠定義，例如超過限值或來自級區A與B者始執行鑑別試驗）。鑑別方法有Phenotypic與Genotypic兩種，Phenotypic如傳統選擇性培養基，以手動或透過自動化設備進行，其中VITEK系統係始於執行外太空任務時所需而發展出來；而Genotypic方法為DNA定序或Ribotyping。

製藥廠應建立廠內常見菌種之資料庫，並於評估後選擇適當菌株做為培養基Growth promotion試驗的陽性標準菌株。

十、 無菌作業熱門議題

Quality Risk Management（QRM）已成為美國FDA對製藥業實施GMP查核時必備的要求之一，而業者也可利用QRM，作為投入資源與產出之評估，以更有效率地製造出更安全之產品，需注意“Risk Based Approach”並不是用來減少testing的工具。一般人對風險管理的態度可以分為5個階段，懷疑Scepticism、知道Awareness、了解Understanding & Application、嵌入Embedding & Integration及勵行Robust Risk Management，當一個製藥廠的文化已屬於嵌入與勵行階段時，代表已經將風險管理內化到工作之中。

PDA曾在2006年對會員做問卷，結果發現最需要進行風險評估的領域，前3名依序為無菌操作、設施及滅菌；而導致無菌性失敗的前3名為人、無菌製程及設備。做風險評估時，講師舉例：一般人以為檢驗萬能，什麼都可以驗出來，在QC的人員加入後，才反映出抽樣的局限性與檢驗靈敏度的受限，所以在組成風險評估小組時，應儘可能包括廠內品質相關各領域的人，且以6~7人的團隊進行為最佳。另外，講師亦提到在訂定完成Capping前須有A級空氣保護之規定時，曾有辯論，後來考量因為加膠塞後，科學證據顯示膠塞被capper撞到而彈開的機會與風險是存在的，使得反對者無法再對抗，而納入條文之中。其他熱門議題尚包括提升微生物偵測的有效性、缺藥問題等。

十一、 無菌試驗注意事項

曾有產品經以多種方法試驗均無法使Bacillius生長，加拿大與美國衛生主管機關基於實際研究結果，核准該產品可以不用符合藥典規定之無菌試驗。目前無規範要求檢體須於多久內執行無菌試驗，如容許不須馬上做，應驗證Hold time。以濾膜法進行無菌試驗時，通入產品前必須先潤溼濾膜。觀察到陽性反應須立即取出進行鑑別試驗，以避免微生物因代謝物濃度太高而死亡。細菌培養用培養基FTG，中間自培養箱取出觀

察時避免搖動以保持微厭氧狀態。廠內篩選出來的菌株，繼代時不宜超過5代。

十二、 其他

美國FDA認為執行清潔確效時，消毒劑有效性所用代表性微生物應涵蓋廠內常見菌。模擬充填之時間，如為手動充填則應該涵蓋例行生產之時間，如為自動充填則不用。美國定義“靜態”潔淨區內無人、機器靜止，此部分與我國及有些國家不同，而PIC/S條文經改版後亦未說明靜態時機器需運轉。充填線變更時執行再驗證，smoke study的錄影因未包括動態曾遭美國FDA給予483 warning letter。

肆、「Validation of Biotechnology-Related Cleaning Processes」課程摘要

一、清潔確效的目的

事實上食品工業比製藥工業更早開始使用 CIP 系統，例如牛奶與果汁工業，其系統規模往往更大、管路更長與複雜；製藥工業執行清潔確效的目的包括：(1)降低產品可能的污染、(2)證明清潔程序可移除殘留物與來自環境的污染物、(3) 證明清潔程序的一致性與重複性及(4)提供可安全重複使用的設備。

二、清潔的方式

清潔的方式分為自動的 CIP(Clean-In-Place)、結合人工與自動的 COP(Clean-Out-of-Place)及純人工的手洗(Manual)，自動與人工兩類清潔方式之特性比較如下表。

自動與人工清潔方式之特性比較表

自動	人工
具一致性 可 Robust control 可監控性	須詳細的操作指示 須操作員高度的注意、控制與技巧

自動的 CIP 清潔系統係由 3 部分組合而成，包括管線、Tank/設備及 CIP/COP；管線應有足夠斜率以助液體完全排除、以適當的時間與速度（>5 feet/second 以產生亂流）沖洗且保持足夠壓力，並注意支管的長度直徑比須小於 2 以避免死角，或設計成清潔液亦可通過支管。

清潔用噴頭，須確認無 shadowed areas/blindspots、清潔用液體可完全排空、高度平滑，並定期檢查其液體出口無阻塞，更換時亦須證明其功能與原有相當。

三、清潔程序

首先定義清潔程序的目標，再針對每一清潔步驟欲達到的功能，設定控制參數(inputs)，透過檢驗結果(outputs)以判斷是否達到預期目標。

清潔程序的常見控制參數(inputs)或關鍵操作參數(Critical Process Parameters, CPPs) 包括 TACT(Time, Action, Concentration/Chemistry and

Temperature)；而 IPC 或 on-lines 之檢驗結果(output)如導電度、pH 值或 TOC，及 Bioburden、Endotoxin 及 Visual inspection 都可用於判斷清潔之有效性；inputs 之關鍵參數與常見的 outputs 檢驗項目整理如下表。

清潔程序的 inputs 與 outputs 常見參數與檢驗項目表

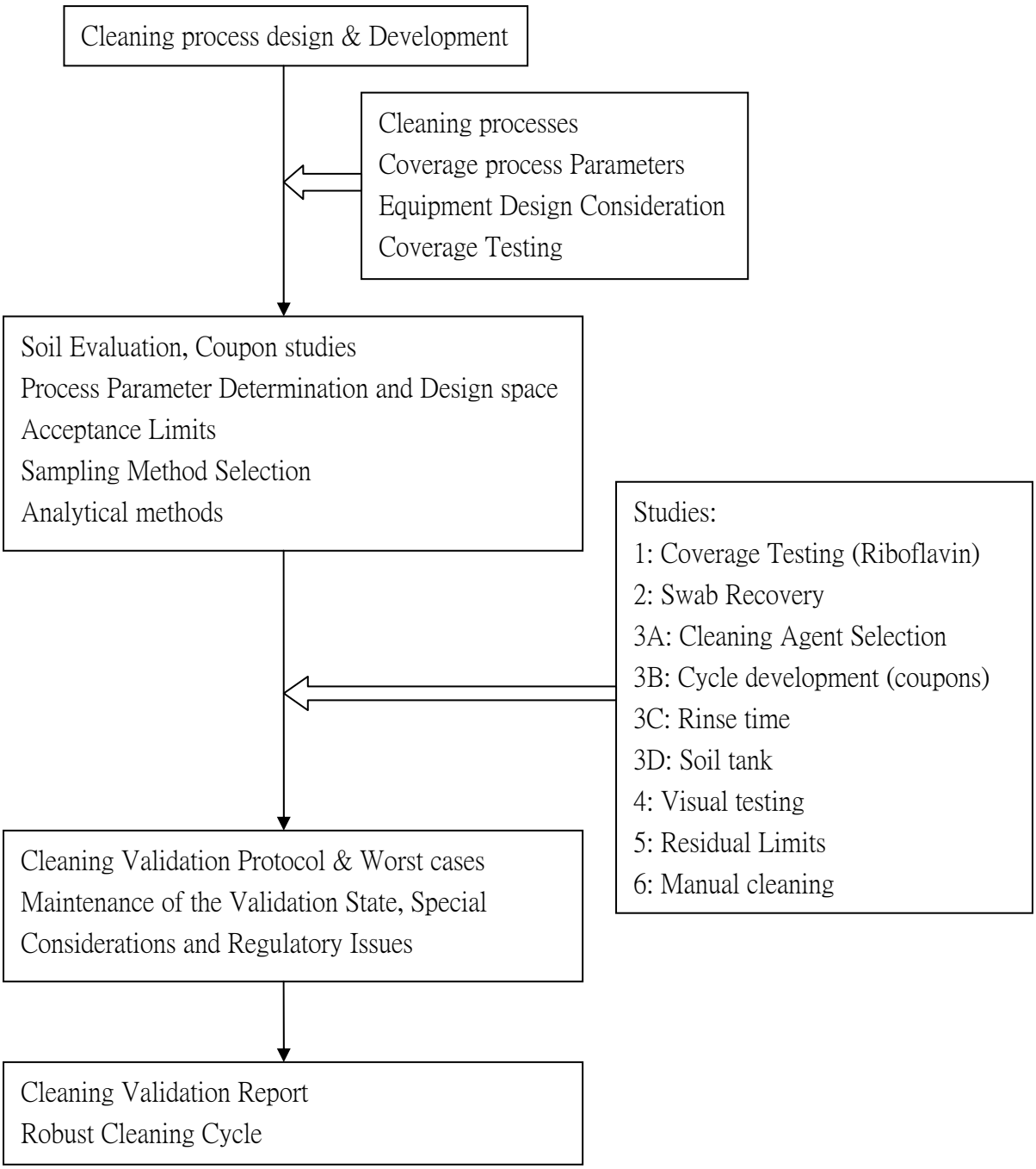
Inputs/CPPs	outputs	
Time	IPC 或 on/at-lines	Off-line
Action Concentration/Chemistry Temperature	導電度 pH 值 TOC	Bioburden Endotoxin Visual inspection

清潔程序通常含 Pre-Rinse(通常不循環)、鹼洗(通常會循環)、水洗(通常不循環)、酸洗(通常會循環)、最後水洗(通常不循環)及吹乾等階段，各步驟均應考量之參數包括洗液之：

- 濃度：洗液種類包括 PW、WFI、酸液、鹼液、界面活性劑等；應以最適濃度進行，太低效果不足，太濃不易移除，不一定濃度高效果就好；所用洗液的體積，可以控制實際體積或透過流速等方式控制；酸洗有 mild passavation 功能。
- 溫度：應以最適溫度進行，須注意一般蛋白質性原料或產品於高溫時會變性，反而不易移除，因此 Pre-Rinse 通常為室溫之水，不宜使用熱水；而最後步驟使用高溫反而可加速 TANK/設備之乾燥。
- 時間：洗液接觸、排空與循環所需時間應為最適長度；使用界面活性劑時會有“Cloud point”，接觸時間應盡量縮短。
- 動作：包括浸泡、亂流、擦拭、刮除或攪拌。

執行清潔確效時應以 Worst case 進行，測試到清潔為此的作法仍無法被接受。導入新的髒污（新產品）至已確效之清潔系統中時，應驗證原有清潔系統對新產品的清潔有效性，可以 lab coupon experiments 測試之，比較新的與原有髒污的清潔難度與限制，若原本有 grouping，則與原有 grouping 比較，透過以上評估以了解是否須重新確效並訂定可接受之規格；但有些 inspector 仍認為應執行確效，除非能證明髒污的相似性。

雖然 grouping 較常見於小分子藥物，但生物製劑並非全然不可，例如當產品僅是蛋白質 folding 的方式不同，經過分解後事實上是相同的 peptide，仍可接受 grouping。而對於 Dirty hold time 之評估，有些對微生物而言營養很豐富的生物製劑，在未乾燥的環境下放置 24 小時即可得到 TNTC 之結果，因此仍應予以注意。



一般清潔程序與確效之發展過程圖

四、Acceptance Limits

可接受的限量值必須 Practical、Achievable 及 Verifiable，得應用於 bulk manufacturing、formulation 與 final filling 等製程階段，限量值主要基於毒性資料與 Carryover 的計算，並取其較嚴的。惟，以往 10 ppm 的標準已非唯一的目標，鑒於檢驗方法靈敏度與清潔設備效能的提升，美國 FDA 認為若可行且趨勢顯示可以達到，製造廠應該調降殘留的限量值，例如 2ppm，事實上已有生物製劑廠因此被美國 FDA 列為缺失。若是臨床試驗中的產品，因尚無毒性資料，可使用提高 safety factor 或參考類似化合物數據等方式因應之。

五、取樣

Visual inspection 視為 direct sampling，實務上有其限制，例如死角或管線，其改善方式包括使用可遙控的內視鏡等光學設備，但微量的髒污仍須要有適當角度的光源方能看見，且焦距不對時容易誤判；Visual inspection 之 LOD 通常介於 1~4 $\mu g/cm^2$，若做為輔助 Rinse 與 Swab sampling 之用，可不用訂定 Visual inspection 之 LOD。

Rinse 與 Swab 視為 indirect sampling，有些生物製技製造廠原本只使用 Rinse sampling，但亦開始使用 Swab sampling，或至少於確效階段執行 Swab sampling，並證明 Rinse 與 Swab sampling 的相關性；Swab 的選擇不建議使用棉花材質，因為會影響 TOC 的檢驗結果，使用 polyester 或 nylon 材質時須注意溶劑的性質，以避免被溶解。為了解 Bioburden 之品質，其可行的取樣方法如 Rinse sampling、Swab sampling 及 contact plates，而 endotoxin 則以 Rinse sampling 居多。取樣者應經適當訓練與 qualify，包括如何沾溼 swab 頭並移除過多液體、須使用多大的壓力、swab 的動作（直向加橫向、路徑是否重疊等）及應該 swab 多大的面積等，並定義再訓練再驗證之時機。

Recovery studies 通常以 Worst case 於實驗室進行，Swab sampling 的一般要求在 70%以上，若介於 50~70%的，應設法 optimization（例如併用乾與溼的 Swab，先乾後溼、先溼後乾或增加 Swab 數量等），若小於 50%應該 optimization 或將為何無法 optimization 的合理原因文件化，佐以”factor”調整，且應訂定 Recovery 的上限，如 TOC 之上限為 NMT110%；另，一般而言可接受之 variation 則為 10~15%。肇於即使利用產孢微生物進行 studies，仍無法克服乾燥過程所造成之微生物死亡，而 endotoxin 之溶出不易、使用超音波又可能使 endotoxin 變小造成測定值上升等等因素，目前不強制執行 Bioburden 與 endotoxin 之 Recovery。

六、分析方法

一般清潔確效時所用之分析方法係非特異性，如 TOC、conductivity、visual inspection 及 total protein；TOC 用於測定來自蛋白質產品之 crabon，須預防檢體於取樣與檢驗過程中被汙染，並避免來自實驗相關物料包括裝檢體之容器之污染；Conductivity 做為評估清潔劑殘留層度之指標，讀值與檢體溫度相關；透過適當清潔與保存設備以管制 Bioburden，是確保後續之消毒或滅菌可以達到預定之無菌保證程度之重要管制點。清潔確效時所用之分析方法若使用藥典方法，在未超過藥典規定的參數範圍之前提下，可不需重新確效。

除非證明主成分在清潔過程中不會被清潔劑分解，才可使用特異性方法（Specific method，如 HPLC、ELISA、SDS PAGE 及 PCR），而且仍須使用上述非特異性方法；加拿大官方認為可能的話應使用特異性方法之要求被視為過時之規定。

七、其他

層析用管柱之清潔方法因 resin 而異，詳細可參考 PDA TR14，一般而言除了 resin 是產品專用外，Frits 與 Sieves 建議亦專用；Tangential Flow Filtration 系統常見用於澄清、分離、濃縮、純化及透析(去鹽、緩衝液置換)等，其清潔方式可參考 PDA TR15；Microcarriers 建議使用拋棄式。

緩衝溶液用設備可採 grouping 方式進行清潔確效，因緩衝溶液多為水溶性，使用 visually inspection 及 conductivity 做為清潔指標可能已足夠，若緩衝溶液具促進微生物生長之特性可加做 bioburden；培養基用設備亦常見使用 grouping 方式進行清潔確效，清潔劑最好包括鹼性溶液，並注意可能有不溶性鹽類沉澱，清潔指標除了 visually inspection，可能還應涵蓋 TOC、conductivity、bioburden 及 endotoxin，使用 rinse sampling 可能已足夠，但對 bioburden 而言，swab sampling 可能更具代表性。

凍乾機亦須執行清潔確效，但其表面不會納入 carryover 的計算，通常以 WFI 進行清潔，swab sampling 較 rinse sampling 更為適用，清潔指標以 visually inspection、TOC 為主，bioburden 可於確效時執行。二級包裝執行清潔但不進行確效，除非有毒性物質洩漏之疑慮。

病毒通常不會列在清潔確效的範圍內，與黴漿菌及 Prions 在病毒清除階段進行評估，且應於採購原料時即排除可能的汙染，例如 TSE。

伍、心得與建議

一、持續輔導無菌製劑廠並鼓勵業者派員參與國內外技術訓練

「知其所以然」係讓操作員對正確無菌技術可以遵行不悖之無上法則，所以透過在 HEPA 下的 smoke study、微生物試驗等實際操作，可以了解各項無菌操作技巧之背後原因與目的，達到有效的教育訓練，並可以不斷精進，誠如像 Merck、Genetech、GlaxoSmithKline 這些在無菌製劑、生物製劑生產已經非常有經驗的跨國性大藥廠，仍然持續派員參加無菌操作與清潔確效課程；因此，應持續鼓勵業者派員參與實務訓練，以強化其無菌操作的概念，必要時可由業者、官方等共同贊助或成立基金，透過甄選等方式派員赴國外受訓，這些被受訓的人回國後，即使換工作，但其所學依然可以回饋給國產製藥廠，進而逐步強化國產無菌製劑廠之技術與水準，除可以保障國人用藥安全，並刺激外匯之成長。

二、增加稽查員教育訓練中實務或演練與生物製劑相關課程之比重

一般稽查員之培訓或持續教育訓練多採上課之教授方式，如能增加實習或演練之比重，將可使同仁更了解法規訂定之意涵，於赴廠查核時，除能及時指出製造廠做法不正確或不足以外，更能與製造廠做正面溝通，進而有助全面提升國內製藥廠 GMP 之水準與落實度；此外，我國在促進、協助與輔導生技製藥產業發展所投入之努力，於近年已逐漸步入開花結果階段，因應未來生物製劑製造廠之查核需求，應盡速增加稽查員在生物製劑範疇之訓練。

三、持續派員參加國際藥品相關訓練以建立合作管道與專業形象

派稽查員參與國際會議與訓練，除學習新知、了解各國 GMP 管理現況、建立合作管道外，亦能讓其他參加國家的官方與業者了解到我國對藥品 GMP 稽查法規是與國際接軌的，而且非常重視稽查員的培訓與在職訓練，間接宣示想輸入台灣的藥品須接受以國際水準進行檢查，而台灣輸出的藥品亦是以相同的標準生產出來的，建立我國藥品品質與稽查專業的形象，進而幫助國內製藥業拓展國際市場，提升我國在國際組織之地位與重要性。