

3. 製造作業および試験検査作業のガイドライン

項目	基準	BSLレベル		
		1	2	3
安全キャビネット	微生物エアロゾルが発生する作業	不要	クラスIIA	クラスIIA
排気装置	HEPAフィルターの要否	不要	不要*	要
空気の再循環		可	可	不可

*：排出される空気から当該微生物を充分除去する。

4. 廃棄物の処理

レベル	基準
BSL1	管理区域内において、移動の途中で、内容物が飛散・流出する恐れのない容器に入れ、管理区域外に搬出し、製造所内で焼却処理する。（焼却の委託は可）
BSL2	管理区域内において、移動の途中で、内容物が飛散・流出する恐れのない容器に入れ、当該容器の外表面を消毒後、管理区域外に搬出し、製造所内で焼却処理する。（不活可後の焼却の委託は可）
SLS3	管理区域内で、薬剤消毒又は加熱滅菌後、移動の途中で、内容物が飛散・流出する恐れのない容器に入れ、当該容器の外表面を消毒後、管理区域外に搬出し、製造所内で焼却処理する。（焼却の委託は不可）

5. 廃液の処理

レベル	基準
BSL1	微生物を含む廃液又は微生物に直接接触した廃液については、薬剤消毒又は加熱滅菌後に排水する。
BSL2及びBSL3	：微生物を含む廃液又は微生物に直接接触した廃液については、管理区域内のタンクにおいて、薬剤消毒又は加熱滅菌後に排水する。

6. 緊急時の対策

- 1) 作業員の救急処置
- 2) 汚染除去に関する作業手順
- 3) 緊急時の連絡体制

7. 新型インフルエンザワクチン製造におけるバイオセーフティ（例）

7-1 施設

- 7.1.1 その他区域と明確に区分された構造とする。
- 7.1.2 セキュリティ（IDカード、指紋式、静脈パルスなど）
- 7.1.3 管理区域は、BSLレベル、管理者名、緊急時の連絡先を記載した標識。
- 7.1.4 密閉構造保持のため、天井、壁、床の表面は、なめらかで、ひび割れがなく、塵埃の発生が無く消毒剤を使用出来る材質とする。
- 7.1.5 作業室の出入口には、前室を設け、二重扉とし、双方が同時に開かない構造とする。
- 7.1.6 交叉汚染防止のため、作業員及び物の動線は、可能な限り一方向とする。

- 7.1.7 物の搬入口には、外部からの汚染を防止するため、二重扉などの構造とする。
- 7.1.8 ウイルスを取扱う作業室及び保冷室は、ウイルスの漏出を防止する構造とする。
- 7.1.9 手洗い・流し台の蛇口は、自動式とする。
- 7.1.10 作業室には、ウイルスが暴露（漏出）した場合の対応が出来るよう消毒装置を設置する。
- 7.1.11 ウイルスを取扱出口は、作業員が直接被曝した場合の薬剤シャワー装置を設置する。
- 7.1.12 保管庫には、鍵をかける。
- 7.1.13 排水系には、逆流防止装置を設置する。

7.2 空調設備

- 7.2.1 空調設備は独立した物を設置する。
- 7.2.2 ウイルスを取扱う管理区域は、陰圧環境であり、エアロゾルが発生する作業室は、もう一段低い陰圧環境である。10～15 Pa 程度の室間差圧を必要とする。
- 7.2.3 室間の空気の流れは、警報のついた差圧計を用いてモニタリングする。
- 7.2.4 ウイルスを取扱作業室は、給排気系統にHEPAフィルターを設置する。
- 7.2.5 ホルマリンガスなどによる滅菌が可能な構造とする。
- 7.2.6 緊急時に備えて、非常電源を確保する。

7.3 ウイルスの漏出防止

- 7.3.1 ウイルスの接種又は採取は、安全キャビネット（ⅡB以上）で行い、排出される空気は、HEPAフィルターを通して直接外部に排気する。
- 7.3.2 ウイルス接種後、消毒する機能がなければならない。
- 7.3.3 ウイルスのエアロゾルが発生する作業は、安全キャビネット（ⅡB以上）で行い、排出される空気は、HEPAフィルターを通して直接外部に排気する。
- 7.3.4 管理区域で使用する製造用機器（遠心機等）は、ウイルスが漏出しないよう密閉型のものを使用する。

7.4 廃棄物の処理

- 7.4.1 ウイルスで汚染された廃棄物は、管理区域内で消毒又は加熱滅菌後、製造所内の焼却施設で焼却する。

7.5 排水の処理

- 7.5.1 ウイルスを含む廃液は、加熱滅菌処理を行った後、施設外に排出する。

7.6 滅菌・消毒

- 7.6.1 滅菌又は消毒の方法は、ウイルスの死滅がバリデートされていること。

7.7 作業服

7.3.1 感染防御用作業服

顔面フード付電動ファンにより、頭部内を陽圧に保った作業服

7.3.2 緊急時の作業服

事故など汚染が生じた場合、除去作業のために、空気ボンベ付の気密作業服を備える。

7.8 安全キャビネット (参考)

7.8.1 安全キャビネットの分類

7.8.2 クラスⅡTYPE A、クラスⅡTYPE B1、クラスⅡTYPE B2、

7.8.3 安全キャビネットの点検

7.8.4 安全キャビネットの使用方法

8. 組換えDNA実験指針 (文部科学省告示；H14.1.31)

8.1 適用範囲

1. 認定宿主-ベクター系 (別表1)

2. 原核生物及び真菌の安全度分類 (別表2)

3. 原虫の安全度分類 (別表3)

4. 真核生物のウイルスおよびウイロイドの安全度分類 (別表4)

5. DNA供与体で安全が確認されている宿主-ベクター系 (別表5)

6. 機関承認実験が出来るウイルス (別表6)

7. 教育目的でDNA実験に用いることが出来る宿主-ベクター系 (別表7)

別表添付略

8.2 封じ込め (Containment) 設備と設計

8.2.1 物理的封じ込め (20L以下)

1. P1レベル：通常の微生物学的実験室の程度で設計されている。

2. P2レベル

1) 組換え体の処理を行うため、ブレンダー、凍結乾燥機、超音波細胞破碎装置、遠心分離機等は、汚染エアロゾルが漏出しないよう工夫する。安全キャビネットを使用することが望ましい。

2) 建物内に、汚染物及び廃棄物の処理のための高圧蒸気滅菌機を置く。

3. P3レベル

1) 組換え体を取り扱う場合、封じ込めの設備として安全キャビネットを設置する。
2) 安全キャビネットは、定期検査、HEPAフィルターの交換、ホルムアルデヒドによる燻蒸が実施可能な構造である。

設置直後ア～ウの検査を行い、年1回以上定期的にア、イの検査を行う。

ア 風速・風量試験、イHEPAフィルター性能試験、ウ密閉度試験

3) 実験室の設計

- ① 実験区域を設け、前室は、前後の扉が同時に開かない構造とし、更衣室を設置。
- ② 実験区域には、汚染物及び廃棄物の処理のための高圧蒸気滅菌機を置く。
- ③ 実験区域内の床、壁天井の表面は、容易に洗浄及び燻蒸が実施可能な構造材質。
- ④ 実験区域の出口には、自動式の手洗い装置を設置。
- ⑤ 実験区域の窓は密閉状態とする。
- ⑥ 真空吸引装置は、別に独立した専用の物とし、吸引口にフィルターを設置。
- ⑦ 実験区域は、空気の流れを前室から実験区域に向かうよう設計された排出換気装置を設置。実験室からの排気は、ろ過その他処理をした後排出する。
- ⑧ 実験室の扉は、自動的に閉じる構造とする。

4.P4レベル

- 1) 組換え体を取り扱う場合、封じ込めの設備としてクラスⅢの安全キャビネットを設置する。ただし、生命維持装置により換気され、陽圧に維持された実験衣を着用する場合は、クラスⅡの安全キャビネットを設置出来る。
- 2) 安全キャビネットは、定期検査、HEPAフィルターの交換、ホルムアルデヒドによる燻蒸が実施可能な構造である。

設置直後ア～ウの検査を行い、年1回以上定期的にア、イの検査を行う。

ア 風速・風量試験、イHEPAフィルター性能試験、ウ密閉度試験

3) 実験室の設計

- ア) 実験区域を設け、前室は、前後の扉が同時に開かない構造とし、更衣室及びシャワー室を設置。
当該区域に実験者以外の者がちかづかないことを制限出来る構造とする。
- イ) 更衣室を経由することなく、試料その他の物を実験区域に搬入する場合、紫外線を付けた前後の扉が同時に開かない構造のパスボックスを設置。
- ウ) 実験区域内の床、壁天井の表面は、容易に洗浄及び燻蒸が実施可能な構造材質で虫、げっ歯類の侵入を防ぐ構造であるとともに、蒸気状態の消毒剤を恒圧状態で閉じ込め得るものである。
- エ) 実験区域の出口には、自動式の手洗い装置を設置。
- オ) 実験区域の窓は密閉状態とする。
- カ) 中央真空系統装置は、実験区域内専用の物とし、各使用場所および点検コックの出来るだけ近くにHEPAフィルターを設置。当該HEPAフィルターは、設置したままで滅菌又は交換性能が検査出来る様にする。
- キ) 実験区域内に供給される水、ガス等の配管は、逆流を防ぐ装置を備える。
- ク) 実験室の扉は、自動的に閉じる構造とする。
- ケ) 実験区域から搬出するもので、加熱滅菌が不適切な物を消毒するために、前後の扉が同時に開かない構造の消毒室を設置する。
- コ) 実験区域から搬出するために、前後の扉が同時に開かない構造の、汚染物及び廃棄物の処理のための高圧蒸気滅菌機を置く。
- サ) 実験区域内に専用の吸排気装置を設置し、外部の空気が流入する場合、危険度の高くなる区域に流れるよう差圧を維持し、空気の逆流を防ぐ設計とする。
また、装置の故障・誤作動を知らせる警報装置を設置する。
- シ) 個々の実験室での空気の再循環はHEPAフィルターを設置する。
- ス) 実験区域からの排気は、HEPAフィルターでろ過した後、近くにある建物や空気の取り入れ口を避けて拡散するよう排出する。
HEPAフィルターは、設置したままで滅菌又は交換性能が検査出来る様にする。
- セ) クラスⅢの安全キャビネットから排出された空気は、屋外にだすこと。
クラスⅡ（クラスⅠ）の排気は、空気のバランスを保つ限り、実験室内に排出できる。
- ソ) 実験室内の特別管理区画
 - ①生命維持装置は警報装置及び緊急用の空気タンクを備えること。
 - ②入口に気密によるエアロックを設けること。
 - ③着衣に付着した汚染物を退出時に除去するため、化学薬品シャワー室を設けること。

- ④当該区画からの排気は、HEPAフィルターで二段ろ過する。
- ⑤安全のため排気用換気装置を二系統とする。
- ⑥緊急用の動力源、灯火、通信装置を備える。
- ⑦当該区域外の実験室に対して常に陰圧を保持する。
- ⑧当該区域外へ排出する汚染物を滅菌するための高圧蒸気滅菌機を備える。

8.2.2大量培養実験に係る物理的封じ込め

ア) LS-Cの設備・設計

- ・培養装置及びその他の装置および機器は、整備された状態を保持する。
- ・培養装置の排気ガスは、組換え体の漏出を最小とするよう設計する。

イ) LS-1レベルの設備・設計

- ・組換え体の漏出を最小とするよう設計するとともに、閉じた状態のまま、滅菌操作を行いうる培養装置を設置する。
- ・培養装置は、設置直後及び年1回以上定期的に密閉度及び性能の検査を行う。
- ・組換え体の処理を行うため、ブレンダー、凍結乾燥機、超音波細胞破碎装置、遠心分離機等は、汚染エアロゾルが漏出しないよう安全キャビネットを設置する。
安全キャビネットは、設置直後及び年1回以上定期的に性能の検査を行う。
- ・組換え体培養装置の排気ガスは、除菌フィルターを通してのみ排出する。
除菌フィルターは、設置直後及び年1回以上定期的に性能の検査を行う。
- ・装置及び機器について、封じ込めに関係する部分を改造又は交換を行った場合は、当該装置の密閉度及び性能の検査を行う。

ウ) LS-2レベルの設備・設計

- ・組換え体の漏出を最小とするよう設計するとともに、閉じた状態のまま、滅菌操作を行いうる培養装置を設置する。
特に、培養装置に接続する回転シール、配管弁、等の部品は、漏出に配慮した構造とする。
- ・培養装置は、設置直後、大量培養実験の都度密閉度検査を行う。
- ・組換え体の処理を行うため、ブレンダー、凍結乾燥機、超音波細胞破碎装置、遠心分離機等を使用する時は、クラスIIの安全キャビネットを使用する。
- ・組換え体培養装置の排気ガスは、除菌フィルター（除菌効率がHEPAフィルターと同等以上）を通してのみ排出する。
除菌フィルターは、設置直後及び年1回以上定期的に性能の検査を行う。
- ・安全キャビネットは、定期検査、HEPAフィルターの交換、ホルムアルデヒドによる燻蒸が実施可能な構造である。
設置直後ア～ウの検査を行い、年1回以上定期的にア、イの検査を行う。
ア 風速・風量試験、イHEPAフィルター性能試験、ウ密閉度試験
- ・安全キャビネット等封じ込め設備には、密閉度監視するための装置を備える。
- ・全ての機器に一連の番号を付し、この番号を試験記録、操作記録を含む全ての記録に記載する。
- ・高圧蒸気滅菌機を建物内に備える。機器改造時密閉度及び性能検査を行う。

8.2.3 生物学的封込め

ア) B1レベル (別表1の1)

遺伝学的、生理学的、生態学的性質に基づいて、人に対する安全性が高いと認められる宿主-ベクター系

イ) B2レベル (別表1の2)

自然環境下で、生存能力が特に低い宿主と宿主依存性が高いベクターを組み合わせ使用し、環境への影響を防止する。

ウ) その他の宿主-ベクター系

病原性、毒素産性能、発癌性、薬剤耐性、生態系への影響、宿主依存性等を考慮して決定する。

8.2.4 安全キャビネット及びHEPAフィルターの規格

ア) クラスⅠ構造規格

前面開口部と排気口を有し、前面開口部からの流入空気が汚染エアロゾルの流出を防ぎ、排気はHEPAフィルターで処理後、キャビネット外に放出する。

平均流入風速が0.40m/sec以上

イ) クラスⅡ構造規格

生物学を目的としたTypeAと有害化学物質などの除去を目的としたTypeBがある。前面開口部と排気口を有し、前面開口部からの流入空気が汚染エアロゾルの流出を防ぎ、作業空間には、HEPAフィルターを通過させた層流の清浄空気を供給する。

排気はHEPAフィルターで処理後、キャビネット外に放出する。

TypeBは、ダクト接続し、室外に排気する。

規格：

- ・ 密閉度：空気により50mm水柱に加圧したとき30分後の内圧の低下が10%以下
- ・ 作業者の安全性試験、試料保護試験、試料間の汚染防止試験：
枯草菌芽胞によるチャレンジテスト、3回連続、5分間で、5個以下。
- ・ 吹出し速度：15cm以内の格子での速度は、平均値の±20%以内（設計条件）
- ・ 平均流入風速：0.40m/sec以上、TypeBは0.5m/sec以上
- ・ 送風機：圧損20%アップの時、処理風速の低下25%以内
- ・ 気流方向：スモーク煙は滑らかに下に流れる。煙はキャビネットから漏出しない。
- ・ 温度上昇：4時間連続運転後8℃以下
- ・ 騒音レベル：67dBa以下、振動：5µmRMS以下、照度：800～1,200lux

清掃と滅菌に対する考慮

- ・ 液体とその飛沫により汚染された表面は、工具を用いずに清掃出来る。
- ・ 作業台及び作業空間の隅部は、曲面処理すること。
- ・ 本体を移動せずにホルムアルデヒドガス滅菌出来る構造である。
- ・ 床と安全キャビネットの最下面との間隔は、80mm以上又は密着シールする。

ウ) クラスⅢ構造規格

- ・ 密閉型のキャビネットで、吸排気口にそれぞれHEPAフィルターを設置する。
- ・ 排気はHEPAフィルターで二段ろ過するか、焼棄却滅菌装置を通過させてから排気する。
- ・ 作業空間は、作業室に対して15mm水柱以上
- ・ 作業用の手袋、試料、器具の出入用の高圧蒸気滅菌機又は消毒液槽を備える。

HEPAフィルターの性能

- ・一次側に試験エアゾルを負荷して検査した時、二次側への透過率は、0.01%を超えない。
- ・粒子計数機を使用し、等速吸引に近い条件で、走査試験した時、0.3 μ mのエアゾル透過率は、0.01%を超えないこと。

8.3実験実施規定

8.3.1教育目的組換えDNA実験実施規定

- ①実験中は、窓及び扉を閉めておく
- ②実験室内での飲食、喫煙、食品の保存はしない。
- ③実験室を出るときは手を洗う。
- ④口で行うピペット操作はしない。
- ⑤組換え体の保管又は運搬を行うとき他の微生物又は組換え体と混同しないよう管理する。
- ⑥実験終了後は、消毒液の投入等の処置により組換え体の滅菌をおこなう。
- ⑦組換え体の付着した器具類は、消毒又は滅菌する。
- ⑧実験室は整理し、清潔を保つ。
- ⑨指導者の定める事項を遵守する。

8.3.2実験実施要領

ア) P1レベル

- ・実験中は、窓及び扉を閉めておく。
- ・実験台は、毎日実験終了時に消毒する。実験中汚染が生じた場合は、直ちに、消毒する。
- ・実験に係る全ての廃棄物は、廃棄の前に滅菌する。使用した器具は、再使用又は廃棄の前に消毒又は滅菌する。
- ・口を使うピペット操作は、行わない。
- ・実験室内での飲食、喫煙、食品の保存はしない。
- ・実験室を出るときは手を洗う。
- ・全ての操作において、エアゾルの発生を最小限にするように注意する。
- ・汚染した物質の汚れを実験室外で除去する場合、堅固で漏れのない容器に入れ、搬出する。
- ・実験室の昆虫、げっ歯類の防除を行う。
- ・注射器の使用は避ける。
- ・実験室は整理し、常に清潔を保つ。
- ・被服等の使用は、実験責任者の指示に従う。
- ・その他実施責任者の定める事項を遵守する。

イ) P2レベル

- ・実験中は、窓及び扉を閉めておく。
- ・実験台及び安全キャビネットは、毎日実験終了時に消毒する。実験中汚染が生じた場合は、直ちに、消毒する。
- ・実験に係る全ての廃棄物は、廃棄の前に滅菌する。使用した器具は、再使用又は

廃棄の前に消毒又は滅菌

- ・機械式ピペットを使用する。
- ・実験室内での飲食、喫煙、食品の保存はしない。
- ・実験室を出るときは手を洗う。
- ・全ての操作において、エアロゾルの発生を最小限にするように注意する。
- ・汚染した物質の汚れを実験室外で除去する場合、堅固で漏れのない容器に入れ、搬出する。
- ・実験室の昆虫、げっ歯類の防除を行う。
- ・注射器の使用は避ける。
- ・実験室は整理し、常に清潔を保つ。
- ・実験室内では、専用の被服等を着用し、退出時これを脱ぐ。
- ・実験室内には、実施責任者の許可なく部外者を入れない。
- ・実験室入口、保管場所、冷凍庫などにP2レベルの表示をする。
- ・安全キャビネットのHEPAフィルターは、交換直前及び検査時に安全キャビネットを密閉し、 $10\text{g}/\text{m}^3$ のホルムアルデヒド燻蒸により汚染を除去する。
- ・P1レベルの実験を同じ実験室で同時に行う場合、明確に区画を設定する。
- ・その他実施責任者の定める事項を遵守する。

ウ) P3レベル

- ・実験中は、窓及び扉を閉めておく。
- ・実験台及び安全キャビネットは、毎日実験終了時に消毒する。実験中汚染が生じた場合、直ちに消毒する。
- ・実験に係る全ての廃棄物は、廃棄の前に滅菌する。使用した器具は、再使用又は廃棄の前に消毒又は滅菌する
- ・機械式ピペットを使用する。
- ・実験室内での飲食、喫煙、食品の保存はしない。
- ・実験室を出るときは手を洗う。
- ・全ての操作において、エアロゾルの発生を最小限にするように注意する。
- ・汚染した物質の汚れを実験室外で除去する場合、堅固で漏れのない容器に入れ、搬出する。
- ・実験室の昆虫、げっ歯類の防除を行う。
- ・注射器の使用は避ける。
- ・実験室は整理し、常に清潔を保つ。
- ・実験室内では、専用の被服等を着用し、退出時これを脱ぐ。
- ・実験室内には、実施責任者の許可なく部外者を入れない。
- ・実験室入口、保管場所、冷凍庫などにP3レベルの表示をする。
- ・安全キャビネットのHEPAフィルターは、交換直前及び検査時に安全キャビネットを密閉し、 $10\text{g}/\text{m}^3$ のホルムアルデヒド燻蒸により汚染を除去する。
- ・試料を取り扱う場合、実験用手袋を着用する。使用後の手袋は、消毒する。
- ・P2レベル以下の実験を同じ実験室で同時に行わない。
- ・その他実施責任者の定める事項を遵守する。

エ) P4レベル (除くP1～P3の注意事項)

- ・クラスⅢの安全キャビネット又は実験区域からの生物試料の生きたままの状態、搬出入は、堅固で漏れのない容器に入れ、燻蒸消毒槽を通す。
- ・クラスⅢの安全キャビネット又は実験区域からの搬出は、堅固で漏れのない容器に入れ、高圧蒸気滅菌機を通す。
- ・実験区域への出入りは前室を通して行い。出入りに際してはシャワーを浴びる。
- ・実験区域では、下着、ズボン、シャツ、作業衣、靴、帽子、手袋からなる実験衣を着用し、実験区域からの退出時には、シャワー室に入る前にこれを脱ぎ、収納箱におさめる。
- ・実験室入口、保管場所、冷凍庫などに国際的に使用されている生物的危険表示をする。
- ・実験区域には、実験に関係のないものを置かない。
- ・安全キャビネット及び実験室の流しからの排水は、加熱滅菌する。
- ・シャワー及び手洗い装置からの排水は、滅菌又は化学薬剤で消毒する。
- ・P3レベル以下の実験を同じ実験室で同時に行わない。

(了)

-無菌医薬品GMPの基礎知識-

- 1 医薬品の投与経路
- 2 無菌製品の製造工程
- 3 無菌と無菌の保証レベル
- 4 無菌管理区域 (APA)
- 5 オーバーキルアプローチ
- 6 バイオバーデン
- 7 エンドトキシン (内毒素)
- 8 完全性試験
- 9 環境モニタリングプログラム
- 10 アクションレベル アラートレベル
- 11 環境管理のサンプリング頻度
- 12 設備の設計と特性
- 13 更衣無菌作業時の注意事項
- 14 無菌区域の清掃と消毒
- 15 備品の注意点
- 16 照査によるフォローアップ調査
- 17 管理区域における空気清浄度レベル
- 18
 1. 環境管理における機器及び設備表面の清浄度レベル
 2. 環境管理における作業者服装の清浄度レベル
- 19 培地充てん許容基準 (設備据え付け時)
- 20 アクション基準を超えた場合の処置
- 21 無菌化技術のための教育訓練
- 22 無菌管理のポイント

JPC研究所

バリデーション・GMP

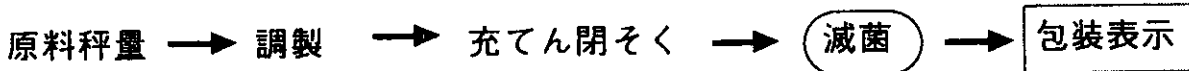
中村 菊治

医薬品の投与経路

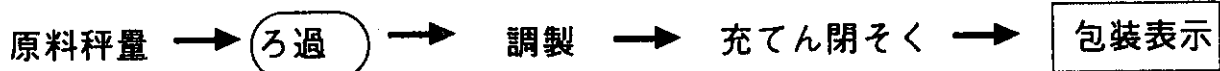
区 分	投与経路	主な剤型
内 用 (Oral)	経 口	散剤、錠剤、カプセル剤、シロップ剤、懸濁剤
	口腔内	トローチ、舌下錠
<u>注 射</u> (Injection)	皮内注射	ツベルクリン反応等
	皮下注射	(経口時の50%の量で同じ効果を現す)
	筋肉注射	(経口時の30%の量で同じ効果を現す)
	静脈注射	(速効性があり、大量投与が可能)
	腔内注射	局所麻酔等
外 用 (External)	皮 膚	軟膏剤、パップ剤、クリーム剤、ローション剤
	直 腸	小児用(老人用)解熱鎮痛剤、抗生物質等
	気道、肺	エアゾール剤、全身麻酔剤
	粘 膜	<u>点眼</u> 、点鼻、点耳、

無菌製品の製造工程

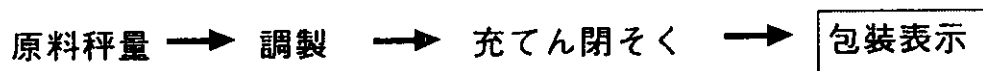
1. 最終滅菌有の無菌製品



2. ろ過により無菌化する無菌製品



3. 無菌操作により製する無菌製品



無菌と無菌の保証レベル

1.無菌 (Sterile)

生菌の存在しない状態

註：無菌状態の完全な証明は、現実的に不可能である。

2.無菌の保証レベル (Sterility Assurance Level)

1×10^{-6} (1,000,000 ml 中の生菌数 1 個以下)

を保証するのが一般的な考え方。

このレベルは、無菌試験の保証限度を超えるものであり、プロセスバリデーションの実施により始めて保証される。

無菌管理区域 (Aseptic Process Area : APA)

環境菌／塵埃を許容基準レベル以下に抑えるため、空気

の供給、資材、設備や人の動きを制限し、ゾーニング

(管理区域の区分けA、B、C、D) により管理された環境

をいう。

無菌の調製、充てん、閉そく操作が行われる区域。

オーバーキルアプローチ

オーバーキルアプローチとは、初期菌数の調査を必要としない滅菌条件をいう。

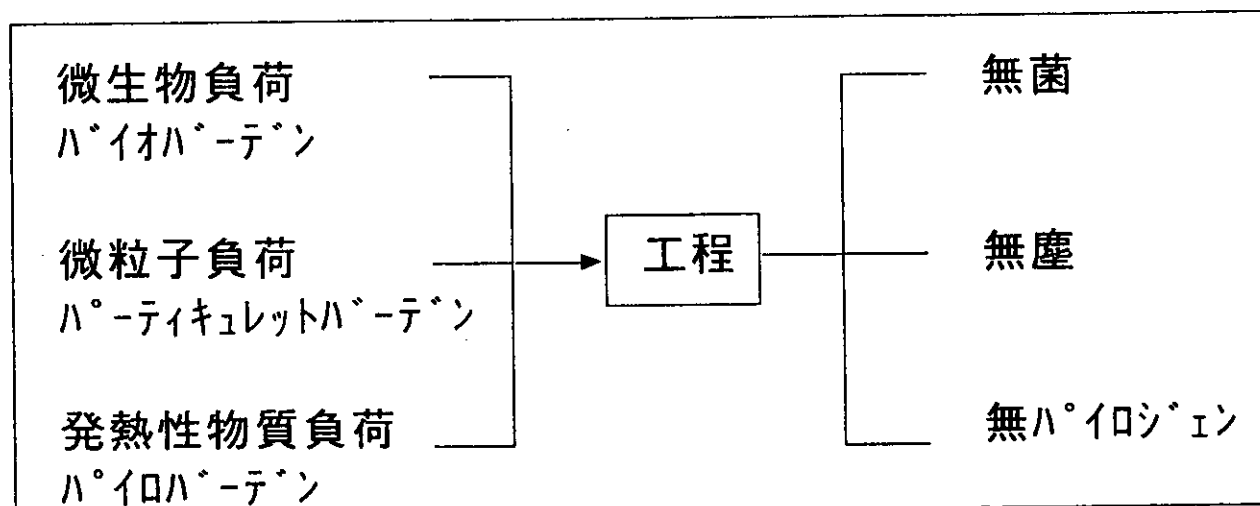
- 菌数の減少が $12\log$ (10^{-12} 桁) 以上
- 滅菌後の到達菌数が 10^{-6} /ml又はg以下

を満足する。

例	飽和水蒸気	121℃	12分以上
	乾熱	170℃	30分以上

バイオーバーデン

滅菌処理前に物品中に検出された微生物の総菌数
(USP)



チャレンジテスト、ワーストケース

エンドトキシン（内毒素）

エンドトキシンとは、グラム陰性菌の外膜を構成成分
リポ多糖（多糖 + リピドA）である。

パイロジェンと同義語として用いられている。

エンドトキシンは、菌体の形状保持だけでなく、外部からの攻撃にたいして、細胞内部を保護する役目を有している。

エンドトキシンの混在した注射剤を静脈投与すると発熱し、その毒性により、致死に至ることがある。

エンドトキシンは熱に安定であり、通常の無菌化処理では除去できないので、原料段階から汚染管理が必要である。

リムルス試験*により、混入の有無が判定される。

* カプトガニの血液成分をエンドトキシンと混合すると凝固することを
応用した試験

ろ過滅菌（完全性試験）

フィルターの性能を保証推定する非破壊試験。

薬液ろ過：フィルター孔径；0.2 μm

Pseudomonas diminuta

（ATCC No.19146）を菌数 10^2 で処理し
洩れのない事を確認する。

HEPA FILTER：

ホットDOP試験*； 0.3 μm 以上の粒子補集する確率
99.997%以上

コールドDOP試験*； 設置後除去効率（99.97%以上）

*：日本空気清浄協会規格

環境モニタリングプログラム

1. モニタリング項目

微生物数（同定、カビ及び酵母）、微粒子数

2. 手順書の内容

1) モニタリング頻度

製品品質への重要度合

2) モニタリング種類

3) モニタリング場所

室内の空気、床、壁、機器表面、ガス類等

4) アラート及びアクションレベル

5) 規格を超えた場合の処置手順

註：同定；常在菌叢と汚染菌を区別する。

製品に直接接触する窒素ガス、炭酸ガスもモニタリングの対象となる。

アクションレベル アラートレベル

1 アクションレベル

微生物／塵埃の基準レベルを設定し、測定値がその基準を超えた場合、直ちに調査し、必要な場合、改善措置を実施する。

2 アラートレベル

微生物／塵埃の基準レベルを設定し、測定値がその基準を超えた場合、早期に予知される問題点を警告する。

3 設定条件

設備稼働開始時、数週間分のデータを照査し、アクションレベル・アラートレベルのベースラインを確立する。ただし、アクションレベル・アラートレベルはISO14644-1等の基準値を超えて設定してはならない。

管理環境のサンプリング頻度*

番号	サンプリング領域	サンプリング頻度
1	M3.5の領域	各シフトごと
2	M3.5のサポート領域 (M5.5の領域)	毎日
3	2以外のサポート領域 (M6.5の領域)	2回/週
4	製品/容器と接触の 可能性のある領域	2回/週
5	製品と接触のない領域 (M6.5の領域)	1回/週
6	最終滅菌がある医薬品* 製品と接触領域 製品と非接触領域	1回/週 1回/2週

* : バイオバーデン調査と解析が行われている場合 USP

設備の設計と特性

1. 清掃のしやすさ、壁床等の消毒剤の耐性力
2. 塵埃の堆積や気流の乱れの原因となる表面上の凹凸を避ける。
3. 更衣室、休憩室、作業服保管室、掃除用具保管室、手洗い場、汚れた作業服の処理室のスペースを確保する。
4. 前室、パスボックス等の十分なエリアを確保する。
5. 扉の同時開を避けるため、インターロック装置を付ける。
6. 温度湿度の許容範囲を定め、継続的にモニターする。
7. 機器の配置は、作業の操作性と設備のメンテナンスを考慮して行う。
8. 人、物（原料、容器、栓等）の流れを一方向に制限することで、微生物汚染や交叉汚染を防ぐ。
9. 室内の層流（気流パターン）を管理する。
10. 無菌室間の差圧を管理する。
11. 空調にはHEPAフィルターを設置する。
12. HEPAフィルターは、据え付け時及び定期的にDOPテストをおこなえるように設置する。

更衣・無菌作業時の注意事項

- 1 作業者は、エアーロックを通して更衣区域に入る。
- 2 専用の服と靴を着用する。
- 3 頭髪ネットは、必要に応じて、エアーロックの段階で取り付ける。
- 4 無菌管理区域内の作業者は、定められた作業区域内で、作業を行う。
- 5 充てん区域の作業者は、他の作業を同時に行わない。
- 6 原料や容器の準備作業者は、充てん区域に出入しない。
- 7 暴露状態にある原料、製品、容器の上に手の延ばしたりしない。
- 8 作業者は床、壁、機器の表面に不用意に触れない。
- 9 気流の乱れを防ぐため unnecessary な動作をしない。
- 10 作業者同志の会話もなるべく避ける。
- 11 化粧品・アクセサリーの使用を禁止する。
- 12 更衣手順について正しく出来るかテストする。
- 13 発熱や皮膚に生傷を負った作業者は無菌区域内の作業から除く。
- 14 年1回培地充てん試験に参加する。

無菌区域の清掃と消毒

- 1 清掃と消毒は定期的に行うべきである。
- 2 洗剤は、最終製品と接触しない区域にのみ使用する。
- 3 環境菌をモニタリングし、使用する消毒剤の適合性を確認する。
- 4 消毒剤は、使用前に滅菌処理を行う。
- 5 消毒剤は、ロット毎に管理し、有効期限を表示し、詰め替えはしない。
- 6 耐菌性の観点から、違う種類の消毒剤と交替使用を検討すべきである。
- 7 カビ、酵母が発生した場合、孢子殺滅薬剤の使用を検討すべきである。
- 8 製品接触面で消毒剤の残留が無いことを確認する。
- 9 定められた条件に従って、消毒剤を保管する。

備品の注意点

保管庫の構造	<ul style="list-style-type: none"> ・ 棚の隅にごみのたまらない構造 ・ 棚は網状で空気が通り抜ける構造 ・ FFU（ファンフィルターユニット）使用が望ましい ・ 扉のないもの ・ 掃除がしやすい
材 質	<ul style="list-style-type: none"> ・ 錆びのでないもの（ステンレス、プラスチック） ・ 消毒剤・滅菌剤に耐性のあるもの
テーブル	<ul style="list-style-type: none"> ・ 角に丸みのあるもの ・ 引き出しのないもの ・ 棚は網状で空気が通り抜ける構造が望ましい
椅子	<ul style="list-style-type: none"> ・ クッションから発塵のないもの ・ オイルレスベアリング
無塵衣 ロッカー	<ul style="list-style-type: none"> ・ FFU（ファンフィルターユニット）使用のロッカーが望ましい ・ 何着も同じハンガーにつり下げない ・ 私物は持ち込まない

照査によるフォローアップ調査

- 1 清掃・消毒の記録
- 2 運転上の制御パラメータの記録
- 3 作業者の訓練記録
- 4 追加サンプリングの必要性
- 5 追加の清掃・消毒の必要性
- 6 製品の追加試験の必要性
- 7 追加の培地充てん試験の必要性
- 8 環境菌叢（フローラ）の変化の有無
- 9 データの傾向解析（Trend）

管理区域における空気清浄度レベル

スリットサンプラーあるいはそれに相当する機器を使用*

クラス		
SI	cfu/m ³	cfu/ft ³
M3.5	3未満	0.1未満
M5.5	20未満	0.5未満
M6.5	100未満	2.5未満

*：定常的な結果を得るためには、十分な空気量をサンプリングすべきである。

USP

1環境管理における機器及び設備表面の清浄度レベル

SI	cfu/接触面*1
M3.5	3
M5.5	5
	10 (床)

*1：接触面は、24~30cm²とばらついている。

測定は、24~30cm²とすべきである。

2環境管理における作業着の清浄度レベル

SI	手袋 (5指)	cfu/接触面*2
M3.5	3	5
M5.5	20	10

*2：接触面は*1と同じ、対象はマスク、ブーツ、無菌衣

USP指導基準

培地充てん許容基準（設備据え付け時）（単位：本）

ロットサイズ	最小試験回数	総充てん数	ALL *1	ACL *2
500以下	10回	5,000	1本以上	1回で2本以上 又は2回で1本
500- 2,999	3回	5,000	同上	同上
3,000- 5,000	3,000本 以上で3回	9,000	同上	同上
5,000 以上	同上	9,000	別表	別表

*1：原因調査2回の追加試験

*2：試験の中止原因調査後再試験

アクション基準を超えた場合の処置
95%信頼限界において、0.1%以下の汚染率を達成するための陽性本数

総本数	陽性本数
3,000	1
4,750	1
6,300	2
7,750	2
9,150	3
10,510	4
11,840	4
13,150	5