

用水側が熱媒体に汚染されないように、圧力は用水側が常に熱媒体側より高くなるようにし、その圧力差を監視できる計器を設けること。

7) ユースポイントとサンプリングポイント

以下のことに留意し、適切な設計と管理を行う必要がある。

- 1) ユースポイントの滅菌フィルターは、システム中の微生物汚染レベルを不明にし、捕捉された微生物の死骸からエンドトキシンが放出されるので、原則として使用しないこととし、やむを得ずフィルターを使用するときは、交換頻度のバリデーションを実施した上で設定すること。
- 2) ユースポイントでサンプリングできない場合は、できるだけその近傍にサンプリング口を設置すること。
- 3) サンプリング作業が容易にできる場所からサンプリングし、放流方法やサンプリング容器の制約を受けないように、考慮すること。
- 4) 各サンプリング箇所のサンプリング頻度は、水質レベル、使用量、季節変動などの諸要因を考慮の上、適切に決めること。

8) バルブ・計器類

製薬用水設備に設置するバルブ、計器、検出器、などは、液溜り部やデッドセクションがないダイヤフラム式などのサニタリー構造仕様とする。水の化学的品質をタイムリーにモニタリング可能とするため、インラインのTOC計(可能であれば導電率計兼用機種が望ましい)を設置することが望ましく、検出計器の取付け位置は、配管内の水質が局部的にワーストポイントとなる場所を選定すること。

9) ポンプ

汚染防止が可能なシール構造を持つサニタリー仕様とし、熱水殺菌やピュアスチームによる滅菌を考慮したものとする。一般的にはステンレス製遠心ポンプが多用されるが、揚程、吐出能力、水接触面粗度(表面の平滑度)、シール性などの選定は、水の最大及び最小瞬間消費量、水質のグレード、水槽・配管装置からユースポイントまでのライン構成、配管系と設定最小線速度などを勘案して行うことが望ましい。

10) UV(紫外線)殺菌・滅菌用ランプ

殺菌や有機物分解のために、流水配管中にUVランプの設置も可能であるが、UVランプの能力には限界があるため、その原理を良く理解した上で使用すること。設計上の留意点を以下に示す。

- 1) 目的が有機物分解のときは185nmで照射すること。
- 2) 目的が殺菌のときは254nmで照射するが、照射近傍のみ殺菌効果があることに注意すること。殺菌効率は温度、流速、照射強度、対象への照射時間、対象とする微生物の種類な

どにより変動することにも注意すること。通常、常温では90%程度であり、微生物は完全に死滅しないことを認識すること。

- 3) 微生物の殺菌を目的とするときのUVランプの設置位置は、循環ループ内のユースポイントより前の位置とすること。
- 4) 有機物の分解を目的としてUVランプを使用するときは、負荷を下げるためROで前処理を行う。水が長期間使用されず循環が繰り返されると、有機物の分解により導電率が上昇して水質が劣化する可能性があるため、その場合はUVランプの使用は慎重に行う必要がある。

A2.2 製薬用水のバリデーション

バリデーションとは、システム、設備及び工程を科学的根拠、妥当性をもって設計し、それらが所期の目的どおり機能していること、すなわち期待される一定の品質特性を有する生成物を常に生み出すということを検証し、それを文書化する手順である。バリデーションは、重要なプロセスパラメータとその操作（運転）範囲を明確にするものであり、製薬用水設備のバリデーションプログラムは、機器の設計、据付、操作及び性能の適格性を確認するものである。製薬用水のバリデーションのプロセスは通例次の諸段階からなり、これらにおいて最も重要なのは、「基準の明確化」と「結果と基準の対比」である。

- 1) 製薬用水の品質特性の決定
- 2) 利用する原水から、望んでいる品質の水を得るために適切なシステムの決定
- 3) 機器、工程管理及びモニタリング技術の選定
- 4) 設計された設備・機器の妥当性の検証(DQ)
- 5) 据付時の適格性確認(IQ)

IQには、次の項目を含めること。

- ・機器のキャリブレーション
- ・仕様通りの設備・機器が図面に基づき据え付けられ、製薬用水システムが運転可能な状況であることの確認

- 6) 運転時の適格性確認(OQ)

OQは、予想される作業範囲全体にわたってシステムが意図通りの性能を有することを確認する作業であり、以下の項目を含めること。

- ・設備・機器の機能、アラートシステム、制御が信頼性をもって運転されることを確認するための試験や検査
- ・適切な警報基準値及び処置基準値が確立されていることを確認するための試験や検査

- 7) 稼働性能の適格性確認(PQ)

PQでは重要な工程のパラメータが適切に定められていることを確認する。長期にわたってシステムが安定的に機能し、規格に適合する製薬用水が再現性よく製造可能なことを確認する。バリデーションのこの段階で、重要な品質特性及び運転パラメータに対

する警報基準値 (Alert Level) 及び処置基準値 (Action Level) を設定し、確認する。通例、PQ は 2 段階に分けて実施するが、初期の段階 (Phase 1) では要求される品質の製薬用水の安定的な製造・供給が可能なこと、警報基準値/処置基準値の設定、日常管理の SOP の確立を目的とする。なお、確認開始時に、注射用水・精製水関連の設備では重要工程の全ユースポイント、原水関連の設備では各サブループ及び重要工程に使用するユースポイントで、少なくとも連続 3 日間から 1 週間程度、規格に適合する水が製造できていることを確認する。引き続き、同じ確認項目について季節変動の把握や安定稼働確認のため、設定された手順書と管理基準に基づき、1 年間にわたる PQ (Phase 2) を実施する。この際、機器等の交換頻度の調査も行い、日常管理方法の問題点も抽出する。Phase 2 が終了後、季節変動による水の品質の傾向分析により、要求される品質の製薬用水が安定して製造されていることを確認し、それらを報告書にまとめ、システム全体を評価する。

8) バリデーシヨンの保全プログラム(バリデーシヨンライフサイクルとも呼ばれる)の実施

以下の項目が含まれるバリデーシヨン保全プログラムを作成し、実施すること。

- ・製薬用水システムの変更時の管理方法
- ・再校正
- ・予防的保全スケジュールの確立
- ・重要な工程のパラメータに対するモニタリング・プログラム
- ・是正・予防措置プログラム(CAPA: Corrective Action and Preventive Action)

9) システムの性能と適格性の定期的再検証(System Review)

システムが正常に稼働していることを確認するために、定期的な点検計画を作成し、点検結果の再検証を実施すること。

⑩ 上記ステップ①～⑨の文書化

A2.3 製薬用水の日常管理

A2.3.1 概要

日常及び定期的管理の実施は、初期バリデーシヨンが十分に実証されていることが必須条件である。日常管理項目については、導電率と全有機体炭素 (TOC) の管理が必須であり、定期的管理項目については、製薬用水の使用目的によって、上記に加えていくつかの化学物質、生菌数、エンドトキシン、微粒子数などを管理する。これらの測定頻度は、水質の安定性を考慮して決定する。

A2.3.2 サニタイゼーション

サニタイゼーション(殺菌消毒)処理は、許容されるレベルにまで微生物汚染を減少させ、それを保持する能力を実証するバリデーシヨンが必要である。熱的方法によるサニタイゼーションでは、温度がシステム全体に行き渡ることを実証するための熱分布試験を含める

こと。薬剤法によるサニタイゼーションでは、システム全体が適正な薬剤濃度に達していることの実証が必要であり、サニタイゼーション終了後、残存薬剤が効果的に除去されていることを実証しなければならない。

サニタイゼーションの頻度は、一般的にシステムのモニタリング結果によって決定し、そのシステムが微生物学的管理状態において運転されており、警報基準値を超えないように確立すること。

A2. 3. 3 サンプルング

製薬用水システムが管理下にあり、許容される品質の水を連続的に製していることを確実にする十分な頻度で、製薬用水システムをモニタリングすること。サンプルは、その工程及び分配システム内の代表的な箇所から採取し、バリデーションデータに基づきサンプルング頻度を確立し、それは重要な領域をカバーすること。サンプルング計画は、採取する水の所望品質特性を考慮すること。例えば、注射用水のシステムは、より厳しい微生物学的要求性により、より高いサンプルング頻度が必要となる。

製薬用水システムからサンプルングする場合は、そのサンプルが製薬用水システムを代表していることに特に注意すること。採取口は、消毒し、サンプルング前に十分にフラッシングする。消毒用薬剤を含むサンプルは、微生物学的な分析を行う前に中和すること。微生物学的分析用のサンプルは、直ちに試験するか、あるいは分析を始めるまでそのサンプルを適切に保管すること。

流水サンプルは、その製薬用水システムに存在する浮遊性微生物濃度の指標にしかない。バイオフィームとして水槽や配管等の内壁に付着した微生物は、一般的には多数存在し、浮遊性微生物集団の発生源となる。バイオフィーム中の微生物は、連続的汚染源として存在し、そのバイオフィームをサンプルングすることやその菌数を測定することは困難である。したがって、浮遊性微生物集団が、製薬用水システムの汚染レベルの指標として使用され、製薬用水システムの警報基準値設定の基礎となる。浮遊性微生物の菌数レベルが一貫して高く出現することは、バイオフィームが進展した指標であり、矯正管理が必要である。

A2. 3. 4 警報基準値と処置基準値

製薬用水システムにおいては、その設計仕様内で運転を続けたときに、許容される品質の水が製造されていることを確かめるために、微生物その他の品質をモニタリングする。得られたモニタリングデータは確立したプロセスパラメータ又は製した水の規格、中間品と製品規格と比較する。また、警報基準値及び処置基準値を日本薬局方参考情報に示された基準を参考に適切に設定し、適否の判定というよりもむしろプロセスの制御のために使用する。

警報基準値の定義

この値を超えたときには、プロセスがその正常な運転状態から逸脱するおそれがあることを示すものである。警報基準値は、警告を与えるものであり、そのレベルを超えても是正措置は必ずしも必要としない。

処置基準値の定義

この値を超えたときには、プロセスがその正常な運転範囲内から逸脱したことを示すレベルであるので、原因究明により正常な運転範囲内へ引き戻すための是正措置を早急に講じなければならない。

A2.3.5 微生物モニタリング

製薬用水システムの微生物モニタリング・プログラムの主目的は、製造した水の微生物学的品質悪化を事前に予知し、製品の品質に悪影響を及ぼすことを防ぐことである。微生物の適正な管理レベルは、データの傾向分析を用い、特定の禁忌すべき菌を制御することによって維持できる。したがって、存在する微生物の全てを検出する必要はないが、成長の遅い微生物を含めできるだけ広範囲の菌を検出できるようなモニタリング手法を採用する。

製薬用水の微生物限度値は日本薬局方参考情報に示された基準を参考に適切に設定する。バリデーション中や日常管理において設定した処置基準値を超えた場合には、検出された分離菌の性状検査を行い、特定の水棲菌が多く検出されるようになったら、製薬用水システム中にバイオフィームが形成されている可能性があるため、システムの殺菌・消毒を施す必要がある。

A2.3.6 製薬用水の導電率と全有機体炭素（TOC）のモニタリング

処置基準値と警報基準値の定義は微生物限度値のそれに準じ、処置基準値を超えたときには、設備停止などを行い、原因究明を行って、改善を実施する。警報基準値を超えた場合、試験頻度を増加するなどして、水質を基準値内に安定して確保するために、必要な手段を講じる。

なお、導電率と TOC による管理を行っている場合は、通例、個々の重金属や無機イオンなどの試験は実施しないが、処置基準値や警報基準値を超えた場合には、その原因究明のために実施することが有用である。

A2.4 製薬用水設備従事者への教育訓練

製薬用水の製造と品質の管理に際しては、規定品質の製薬用水を恒常的に製造するために、構造設備の運転、保守点検、品質試験を担当する関係者に製薬用水に関する教育と訓練を実施し、記録に残す必要がある。

主な教育項目を以下に示す。

- 1) 製薬用水の品質と各種製薬用水別の対象製剤との関係
- 2) 製薬用水設備と水質の関係

- 3) 製薬用水設備の管理方法(消毒, 殺菌, 滅菌方法などを含む)
- 4) 製薬用水の試験法と管理基準
- 5) 設備内での微生物の生態(残留塩素濃度, バイオフィーム, エンドトキシン, 殺菌など)
- 6) サンプルング手順とその注意事項
- 7) 製薬用水設備におけるバリデーション及び変更管理と逸脱管理

A2.5 製薬用水設備の保守点検

水のシステムを管理状態に保つ事を確実にするために予防的保全計画を確立すべきであり, そのプログラムには, 次のような事項を含めること.

- 1) システムを運転するための方法
- 2) 重要な品質特性と運転条件のモニタリング・プログラム
- 3) 定期的なサニタイゼーションのスケジュール
- 4) システム構成要素の予防的メンテナンスと機器の較正
- 5) 機械的なシステム及び運転条件に対する変更管理
- 6) 超ろ過膜処理装置の一時停止と再稼動時の手順

A2.6 変更管理

設備の改造, 増設又は運転方法が変更になった場合には, その変更が製薬用水システムに与える影響を評価すること. その変更により, システムの再評価が必要であるかどうかを決定し, 再評価が必要と判断される場合には, その内容に応じシステムの導入時と同様にバリデーション計画に記載した段階に従い再評価を実施する必要がある. バリデーション保全プログラムの一環として, これら変更時の管理方法を定めておくこと.

A2.7 逸脱管理

製薬用水設備のモニタリングを実施するとき, 警報基準値及び処置基準値を超えた場合にとるべき手順を予め定め, 適切な逸脱管理によって実施することが必要である. 逸脱管理として必要な項目を以下に示す.

- 1) 再サンプルングと再試験の手順
- 2) 報告の手順
- 3) 製造された製薬用水並びに製薬用水を使用した中間品と製品の処置の手順
- 4) 予防措置
- 5) 是正措置
- 6) モニタリング方法と警報基準値及び処置基準値の見直し

A 3 バイオハザード対策

A3.1 バイオセーフティレベル

微生物を医薬品原料とする場合には、使用微生物の病原性の程度により、バイオセーフティレベル（以下「BSL」という。）を定め、それに適した構造設備とすること。BSLは以下のように区分される。ただし、当該微生物の不活化又は除去後の工程については、一般医薬品と同様の扱いとする。尚、本ガイドラインで、BSLの高いものに対する要件を満たしている場合には、BSLのより低いものに対する要件を満たしているものとして取り扱って差し支えないこと。

- 1) BSL1：微生物取扱者及び地域社会に対する危険度は皆無か極めて低い（例：弱毒麻疹ウイルス、弱毒風疹ウイルス、弱毒おたふくかぜウイルス、弱毒水痘ウイルス、弱毒ポリオウイルス、BCG等）
- 2) BSL2：微生物取扱者に対する危険度は中程度、地域社会に対する危険度は低い（例：百日咳菌、ジフテリア菌、破傷風菌、コレラ菌、インフルエンザウイルス、日本脳炎ウイルス等）
- 3) BSL3：微生物取扱者に対する危険度は高い、地域社会に対する危険度は低い（例：炭疽菌、ペスト菌、新型インフルエンザウイルス等）
- 4) BSL4：微生物取扱者及び地域社会に対する危険度は高い（例：医薬品製造に用いることはない）

A3.2 管理区域

BSL に応じて微生物の取扱いを安全上管理する区域（以下「管理区域」という。）を設置し、当該区域の出入口にその旨標識を付すこと。また、必要に応じて取り扱う微生物名、BSL レベル、管理者、緊急時の連絡先等を記載したバイオハザード標識を表示する。

A3.3 BSL 1 施設に対する一般要件

- 1) 構造設備に係わる要件は適用しない。
- 2) 微生物に汚染された廃棄物（動物の死体を含む。以下同じ）は、以下の方法によること。

適切な薬剤消毒又は加熱滅菌等の処理後に管理区域外へ搬出、または、移動の途中で内容物が飛散・流出するおそれのない容器に入れ、当該容器の外部を消毒後、管理区域外に搬出し、製造所内の焼却施設で焼却する。尚、滅菌済みの廃棄物は焼却を外部委託することもできる。

A3.4 BSL2 施設に対する一般要件

- 1) 微生物のエアロゾルが発生する可能性のある作業については、HEPA フィルターを装備した密閉構造の装置、安全キャビネット（クラスⅡA以上）又はこれらと同等の封じ込め設備で行い、当該装置又は設備から排出される空気から当該微生物を十分除去すること。

- 2) 管理区域内において微生物のエアロゾルの発生する可能性の高い場合には、HEPA フィルターを通して外部へ排出すること。
- 3) 微生物に汚染された廃棄物は、次のいずれかの方法によること。尚、滅菌済みの廃棄物は焼却を外部委託することもできる。
 - ① 適切な薬剤消毒又は加熱滅菌等の処理後に管理区域外へ搬出し、製造所内の焼却施設で焼却する。
 - ② 移動の途中で内容物が飛散・流出するおそれのない容器に入れ、当該容器の外部を消毒後、管理区域外に搬出し、製造所内の焼却施設で焼却する。
 - ③ 閉鎖系の適切に管理された方法により管理区域内から直接焼却炉へ搬送するか、又は直接滅菌機へ搬送し、製造所内で焼却処理すること。
- 4) 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、管理区域内又は管理区域外のタンク等において、適切な薬剤消毒又は加熱滅菌等の処理後に排水すること。
- 5) 痘そう病原体、急性灰白髄炎病原体、有芽胞病原菌又は結核菌を取り扱う作業室及び空調設備は専用であること。また、器具機械は、製品の種類ごとに標識を付すとともに、専用であること。さらに、独立した空調設備と給排気系統にはHEPA フィルターを設置すること。

A3.5 BSL3 施設に対する一般要件

- 1) 当該微生物を取扱う管理区域は、その他の区域と明確に区分される構造とすること。
- 2) 管理区域内への立ち入りを制限するためには、立ち入り制限の表示及び立ち入りの許可等の手順を定め管理すること。その他に、セキュリティ扉等による物理的な立ち入り制限を設けること。
- 3) 管理区域内は、密閉構造保持のため、天井、壁及び床の表面は、滑らかでひび割れがなく、かつ塵埃の発生がなく、化学薬品及び消毒剤を使用できる材質とする。
- 4) 管理区域内の差圧のある作業室の出入り口には、前室を設け、気密性のある二重扉を設置し、双方が同時に開かないような構造とする。
- 5) 交差汚染対策として作業員及び物の動線に関しては、可能な限り一方向動線とする。
- 6) 管理区域内の施設は培養中又は保管中の病原体の漏出を防ぐ構造とし、病原体が漏出した場合には、対応できるように消毒装置又は器具を設置すること。
- 7) 手洗い、流し台等の蛇口は、相互汚染を防ぐため自動又は肘式もしくは足踏み式とする。
- 8) 作業中の事故防止のために、管理区域内の作業スペースは十分確保すること。
- 9) 管理区域内の差圧を設けている室間の空気の流れは、差圧計等を用いモニタリングすること。
- 10) 空調設備は、ホルマリン等のガスによる滅菌が可能な構造とすること。

- 1 1) 微生物のエアロゾルが発生する可能性のある作業については、HEPA フィルターを装備した安全キャビネット（Ⅱ B 以上）またはこれらと同等の封じ込め設備で行い、当該設備から排出される空気は HEPA フィルターを通して直接外部へ排気すること。
- 1 2) 管理区域内の空気については、独立した空調設備と給排気系統に HEPA フィルターを設置し、循環させないこと。
- 1 3) 空調設備の故障等不測の事態が発生し停止した場合に、管理区域内の微生物が漏出しないよう物理的封じ込めが維持できる構造設備とすること。
- 1 4) 停電等の緊急時に備え、空調設備の連続稼働のための非常電源を確保すること。
- 1 5) 排水系には逆流防止装置を設置すること。
- 1 6) 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、管理区域内又は管理区域外のタンク等において、適切な薬剤消毒又は加熱滅菌等の処理後に排水すること。
- 1 7) 微生物に汚染された廃棄物は、次の①又は②のいずれかの方法によること。
 - ① 適切な薬剤消毒又は加熱滅菌等の処理後に管理区域外へ搬出し、製造所内の焼却施設で焼却すること。
 - ② 閉鎖系の適切に管理された方法により管理区域内から直接焼却炉へ搬送するか、又は直接滅菌機へ搬送し、製造所内で焼却処理すること。
- 1 8) 作業員は、感染防御用作業服を着用し、適切な着脱を行うこと。また必要に応じて、加圧型防護服など更に安全性の高い服を着用すること。

A3.6 緊急時の安全対策

当該微生物のエアロゾルの漏出、培養液の流出、火事、自然災害等の緊急時に備え、次の各項目についてあらかじめ文書化すること。

- 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

A3.7 教育訓練

バイオセーフティに係わる教育訓練には、以下のものが含まれる。

- 1) 取り扱う微生物の性質（BSL、感染様式）
- 2) 管理区域への入退室時における手順
- 3) 管理区域内の設備及び器具の取扱い方法並びに作業手順
- 4) 感染性廃棄物等の処理方法
- 5) 緊急時の安全対策

A4 ケミカルハザード対策

A4.1 ハザード管理レベルの分類

医薬品は基本的に薬理活性を有する物質であり、日常的にこうした医薬品あるいは医薬品原料粉末を取扱う作業員について、8時間の作業時間における暴露限度を管理する必要がある。

本指針のハザード管理レベル例を以下に示す。

暴露管理レベル		レベル1	レベル2	レベル3	レベル4	レベル5
許容濃度 (μg/m ³)		1000~5000	100~1000	1~100	1以下	検出しない
活性評価	1日許容量 (mg/day)	>100	10~100	0.1~10	<0.1	<0.1
毒性	経口毒性 (mg/kg)	>2000	500~2000	50~500	5~50	<5
		低毒性	低毒性	弱毒性	有毒	強毒性
	静注毒性 (mg/kg)	>100 低毒性		7~100 有毒		<7 強毒性
その他	発癌性*	-	-	-	2A, 2B	1
	過敏症	低	低~中	中	中~高	高
アイソレータ/ PPEの要否		否	否	要	要	要

*：(社)日本産業衛生学会の発癌性評価による

ケミカルハザードを封じ込める設備にはさまざまな方式があり、適切な設備の選択を行うこと。取扱う医薬品(ケミカルハザード)の特性を把握し、ハザード管理レベルを設定しなければならない。

A4.2 許容濃度の算出

1) 1日許容量

ケミカルハザードの1日許容量は以下の式で数学的に求めることができる。

$$\text{無影響量} = \text{LD50} \times 0.0005$$

(0.0005：膨大な毒性学のデータベースから経験的に求められた値)

$$\text{1日許容量} = \text{無影響量} / \text{安全ファクター} \times \text{体重 (kg)}$$

安全ファクター：一般的には100程度が用いられる

2) 1日の吸入量

理論的な吸入量は以下の計算で求めることができ、1日吸入量が1日許容量を越えてはならない。

$$\text{1日の吸入量} = \text{呼気容積} \times \text{1分当たりの呼吸回数} \times \text{作業時間(分)} \times \text{ケミカルハザード濃度}$$

呼気容積：約2L

呼吸回数：通常14回程度

アイソレータを陽圧で使用した場合のケミカルハザード濃度はアイソレータの一般的なリーク限度規格(0.5%/Hr)に基づき、通常作業時の0.0001倍以下になる。

A4.3 ケミカルハザード対応設備の要件

- 1) レベル1の医薬品を扱う施設はGMPに準拠した設備であること。
- 2) レベル2の医薬品を扱う施設はレベル1と比べ、より厳格にGMPに準拠した設備であること。
- 3) レベル3の医薬品を扱う施設は閉鎖システム（バリアまたはアイソレータシステム）であること。
- 4) レベル4の医薬品を扱う施設は閉鎖システムでなければならない。
- 5) レベル5の医薬品を扱う施設は閉鎖システム、かつ手動操作や作業員の介入がないこと。ロボットによる作業や遠隔操作を行うこと。閉鎖システム内部は周囲環境に対して陰圧であること。
- 6) バリアシステムはグレードC以上の清浄度レベルの部屋に設置し、内部から作業員に向かうエアフローがないこと。
- 7) レベル5の医薬品を扱う場合を除き、アイソレータシステムでは内部を陽圧に管理することができる。
- 8) アイソレータ内部を設置環境に対して陰圧に管理する場合はグレードC以上の清浄度レベルの部屋に設置すること。

A4.4 ケミカルハザード対策に対する一般要件

- 1) 製造施設への立ち入りを制限するためには、立ち入り制限の表示及び立ち入りの許可等の手順を定め管理すること。その他に、セキュリティ扉等による物理的な立ち入り制限を設けること。
- 2) 密閉構造保持のため、天井、壁及び床の表面は、滑らかでひび割れがなく、かつ塵埃の発生がなく、化学薬品及び洗浄剤を使用できる材質とする。
- 3) 差圧のある作業室の出入り口には前室を設け、気密性のある二重扉を設置し、双方が同時に開かないような構造とする。
- 4) 交差汚染対策として作業員及び物の動線に関しては、可能な限り一方向動線とする。
- 5) 手洗い、流し台等の蛇口は、相互汚染を防ぐため自動又は肘式もしくは足踏み式とする。
- 6) 作業中の事故防止のために、作業スペースは十分確保すること。
- 7) 排気・排水系にはハザードを対象とした捕集装置または不活性化装置を設置し、専用の排水系とすること。
- 8) 空調設備は、独立した設備とすること。
- 9) 給排気系統には、HEPA フィルターを設置し、循環させないこと。
- 10) 停電等の緊急時に備え、空調設備の連続稼働のための非常電源を確保すること。
- 11) 作業員は、汚染防御用作業服を着用し、適切な着脱を行うこと。また必要に応じて、

加圧型防護服など更に安全性の高い服を着用すること。

A4.5 教育訓練

- 1) ケミカルハザードに係わる教育訓練には、以下のものが含まれる。
 - a) 取り扱う医薬品の毒性（急性毒性，慢性毒性）
 - b) 管理区域への入退室時における手順
 - c) 管理区域内の設備及び器具の取扱い方法並びに作業手順
 - d) 活性廃棄物等の処理方法
 - e) 緊急時の安全対策
- 2) 緊急時対策の教育訓練には、以下のものが含まれる。
 - a) 作業員の救急処置
 - b) 汚染除去に関する作業手順
 - c) 緊急時の連絡体制

A5 試験検査

A5.1 エンドトキシン

A5.1.1 一般要件

- 1) 注射剤製造用の原料，容器，栓，製薬用水並びに製造設備はエンドトキシンについて適切な管理を行うこと。また，注射剤についてはその用法並びに点眼剤についても，エンドトキシン汚染によるリスクを考慮した適切な管理水準を考慮すること。
- 2) 注射剤製造用の設備機器は，適切なバイオバーデンの管理を行い，エンドトキシンの負荷を少なくすること。特に，無菌ろ過の前後で製品に接触する全ての表面について十分な注意を払うこと。また，機器は容易に分解，組み付け，洗浄，滅菌または消毒できること。
- 3) 注射剤製造用の原料と製薬用水については，管理試験を適切に実施すること。製造プロセスに膜ろ過などのエンドトキシン除去プロセスのある注射剤製造用の原料についても管理試験を適切に実施し，限度を定めて適切に管理を行うこと。
- 4) 注射剤製造用設備機器や容器，栓の洗浄を精製水で行うときは，最終リンス水を蒸留法注射用水または膜ろ過法注射用水とし，十分なリンス水量を用いて反復リンスを行うこと。また，洗浄完了後から滅菌までの時間は微生物の増殖を防止するため，最小限にとどめるよう注意を払うこと。
- 5) エンドトキシン試験法は日局に準拠し，試験法の記述には，抑制及び増強試験，非抑制濃度の測定と有効希釈濃度を明確にすること。
- 6) リムルス試験法によってエンドトキシン試験が実施できない製剤については，日局に準拠した，ウサギによる発熱性試験法を実施すること。

A5.1.2 バリデーション

- 1) エンドトキシンの除去を洗浄、熱処理、膜ろ過、吸着などによって実施する場合は、予めエンドトキシンの負荷量を測定し、処理による除去効率を求め、処理後のエンドトキシン残存量が限度内であることをバリデーションで検証すること。バリデーションに際しては、ワーストケースを想定し、チャレンジテストを実施すること。除去効率は少なくとも 99.9%、3Log 以上の減少であること。また、エンドトキシンの除去に関する定期的再バリデーションの手順を定めること。
- 2) エンドトキシン試験については、適切な試験バリデーションを実施し、試薬などの管理を適切に実施すること。

A5.2 不溶性微粒子

A5.2.1 一般要件

- 1) 注射剤用容器と栓の洗浄方法を確立し、容器と栓由来の微粒子を定量的に把握しておくこと。
- 2) 無菌ろ過工程以降の注射剤製造設備について、接薬部の洗浄方法を確立し、設備由来の微粒子を定量的に把握しておくこと。
- 3) 注射剤製造用原料、副原料、製薬用水について、調製前、調製後無菌ろ過前の薬液並びに調製液の無菌ろ過後の微粒子を定量的に把握しておくこと。
- 4) 凍結乾燥によって製造する注射剤については、真空乾燥時に凍結乾燥バルクに吸着する可能性のある揮発成分について十分な配慮をおこなうこと。
- 5) 容器及び栓と薬液の相互作用、たん白など高分子成分の凝集などによって、製造後、経時的に発生する微粒子について十分な配慮をおこない、長期保存試験で確認を行うこと。
- 6) 日局に準拠した注射剤の不溶性微粒子試験法を実施すること。

A5.2.2 バリデーション

微粒子測定装置については、試験法バリデーションを実施し、標準粒子などを用いた日常の管理と定期的なメーカー校正の方法を定めておくこと。

A5.3 容器完全性

A5.3.1 一般要件

- 1) 無菌製剤の容器は、日常の管理試験または全数検査によって、密封されており、使用に至るまで無菌性が保たれていることを保証すること。そのために有効期限の期間、完全性を保証できることを示す経時試験を行うこと。
- 2) 完全性試験の方法は、容器と栓に対応して適切に定められること。製造直後においては密封性が保たれているが、経時的に、あるいは保管温度の変動、包装や輸送時の振動、

衝撃、及び空輸時における気圧変動などで、クラックの成長あるいはかん合や締め付けに緩みが生じて、密封性が保たれない恐れがある場合は、あらかじめ検査によってそれらを除去する方法を講じておくこと。

3) 容器完全性試験については、感度を明確にしておくこと。

A5.3.2 バリデーション

- 1) 採用した容器完全性試験についてバリデーションを実施すること。
- 2) 想定される保管温度の変動、包装や輸送時の振動、衝撃、及び空輸時における気圧変動などに関するチャレンジテストを実施すること。

A5.4 外観検査

A5.4.1 一般要件

- 1) 外観検査により容器完全性不適合の製品を除いて無菌性を保証する場合は、外観と容器完全性の対応関係を適切に定め、日局に準拠し、以下に述べる検査標準を確立すること。
- 2) 外観検査の判定基準を、JIS, MIL などにしたがって、不良項目ごとに定めること。異物については、日局の基準に準拠すること。
- 3) 外観検査の判定に使用される標準品サンプルを作成する場合は、そのサンプルについて品質部門等の審議、承認を受けること。
- 4) 検査作業標準書・手順書、検査作業教育訓練標準書・手順書、検査能力バリデーション標準書・手順書などを整備すること。
- 5) 検査作業標準書・手順書に際しては、検査方法を設定すること。

人による目視検査では、例えば次のような条件を定める。

- ・ 検査手順、検査ピッチ、単位検査対象あたりの所要時間、休憩のインターバル
- ・ 検査台、検査ベルト、検査燈、検査の治工具（拡大鏡）、検査姿勢（椅子）
- ・ 検査台の照度、検査室の照度、背景の色

自動検査機による検査では、例えば次のような条件を定める。

- ・ 検査機の機種、検査ピッチ、単位検査対象あたりの所要時間
- ・ 開始、終了時、その他定期的な標準品サンプル等による検査機の検査能力の確認方法
- ・ キャリブレーション

- 6) 検査員の教育訓練は、必要な手順書を準備し、標準品サンプル等によって訓練を実施し、結果の評価をおこなうこと。
- 7) 例を見ない特異的な不良品が発見された場合の手順を定め、それらの評価と本質及び発生原因をつきとめること。また、不良品の水準が異常に上昇した場合は、除去率の再評価を行うこと。

A5.4.2バリデーション

- 1) 人による検査では，標準品サンプル等によって，検査員が所定の検査能力に達していることを確認すること。この検査能力の確認は視力検査とともに定期的実施すること。
- 2) 検査機のバリデーションにおいては，標準品サンプル等によって，所定の検査，除去能力を有することを確認すること。

F. 参考論文、学会発表

参考論文

1. 谷佳津治、山口進康、那須正夫：蛍光染色によるシングルセルレベルでの細菌の検出。衛生化学、43: 145-154、1997.
2. 谷佳津治、山口進康、那須正夫：微生物生態学の手法にみる90年代の進展。Microb. Environ., 12: 41-56, 1997.
3. Kawai, M., N. Yamaguchi, and M. Nasu. Rapid enumeration of physiologically active bacteria in purified water used in the pharmaceutical manufacturing process. *J. Appl. Microbiol.*, 86: 496-504 (1999)
4. Kawai, M., E. Matsutera, H. Kanda, N. Yamaguchi, K. Tani and M. Nasu. 16S ribosomal DNA-based analysis of bacterial diversity in purified water used in pharmaceutical manufacturing processes by PCR and denaturing gradient gel electrophoresis. *Appl. Environ. Microbiol.*, 68: 699-704 (2002)
5. 見坂武彦、那須正夫：環境中の細菌を迅速に検出する。ファルマシア、39: 137-141、2003.
6. Kawai, M., J. Yamagishi, N. Yamaguchi, K. Tani and M. Nasu. Bacterial population dynamics and community structure in a pharmaceutical manufacturing water supply system determined by real-time PCR and PCR-denaturing gradient gel electrophoresis. *J. Appl. Microbiol.*, 97: 1123-1131 (2004)
7. Nakajima, K., K. Nonaka, K. Yamamoto, N. Yamaguchi, K. Tani and M. Nasu. Rapid monitoring of microbial contamination on herbal medicines by fluorescent staining method. *Lett. Appl. Microbiol.*, 40: 128-132 (2005)
8. Yamaguchi, N., C. Sakamoto, M. Nasu. Rapid and simple quantification of bacterial cells using a microfluidic device. *Appl. Environ. Microbiol.*, 71: 1117-1121 (2005)
9. Reasoner, D. J., and E. E. Geldreich: A new medium for the enumeration and subculture of bacteria from potable water. *Appl. Environ. Microbiol.*, 49: 1-7 (1985)
10. Kitaguchi, A., N. Yamaguchi, and M. Nasu: Enumeration of respiring milk spoilage bacteria within six hours by fluorescence in situ hybridization following formazan reduction. *Appl. Environ. Microbiol.*, in press.

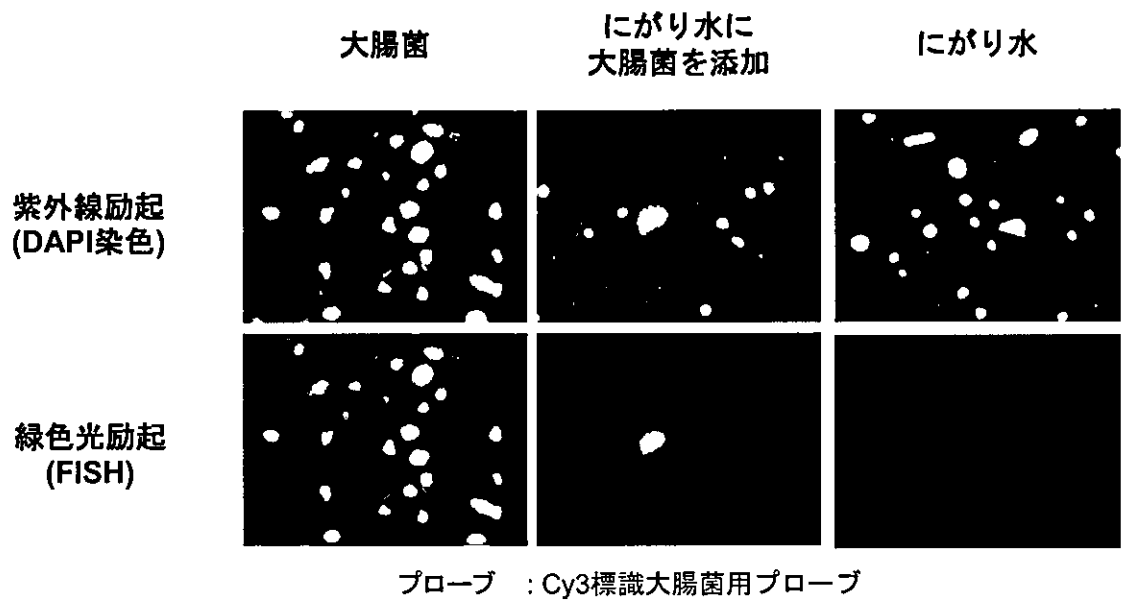


図5. 蛍光 in situ ハイブリダイゼーション (FISH) 法による大腸菌マイクロコロニーの特異的検出.

マイクロコロニー法のプロトコール

必要な試薬・装置

蛍光顕微鏡等の細胞計数機器、
フィルターろ過装置、
孔径 0.20 μm のポリカーボネートフィルターまたはセラミックフィルター、
真空ポンプ、
スライドガラス、カバーガラス、封入剤
次亜塩素酸ナトリウム溶液、
無菌水、
培地、
蛍光染色剤：DAPI (4,6-diamidino-2-phenylindole)、SYBR Gold 等の核酸染色剤、
蛍光抗体、
蛍光プローブ

操作

- 1) ろ過装置を無菌水で洗浄後、孔径 0.20 μm のフィルターをセットし、試料を注ぎ、あまり強く引きすぎないように真空ポンプで吸引ろ過する。
- 2) フィルターを培地上に静置し、数時間から 1 日培養し、マイクロコロニーを形成させる。
- 3) マイクロコロニーを保存する場合は、4%のホルマリンを浸み込ませたろ紙の上にもろ過面を上にしてフィルターを約 10 分間静置し、マイクロコロニーを固定する。固定後のマイクロコロニーは冷蔵保存が可能である。
- 3) 蛍光染色剤を浸み込ませたろ紙の上にもろ過面を上にしてフィルターを数分間静置し、マイクロコロニーを染色する。
- 4) 無菌水を浸み込ませたろ紙の上にもろ過面を上にしてフィルターを数分間静置し、余分な蛍光染色剤を洗浄除去した後、フィルターを自然乾燥する。
- 5) スライドガラスに封入剤を 1 滴落とし、ろ過面を上にしてフィルターを置く。フィルターの上に封入剤を 1 滴落とし、気泡が入らないように注意しながらカバーガラスを掛ける。
- 6) 蛍光顕微鏡等の細胞計数機器で観察する。

蛍光顕微鏡を用いた目視計数の場合は、以下の式により試料 1 ml あたりのマイクロコロニー形成細菌数を算出する。

$$\frac{(\text{菌数測定結果 [平均値]}) \times (\text{ろ過面積})}{(\text{ろ過量}) \times (\text{鏡検面積})}$$

注意点

- 1) 培養を開始する前に、対物レンズ 40 倍使用時の顕微鏡 1 視野あたりの全細菌数が 200 個以上であることを確認する。
不足している場合は 1 視野あたりの細菌数が 200 個以上となるように再度ろ過をする。
- 2) フィルター上の菌体分布のバラつきによる影響を防ぐために、20 視野以上を観察し、計数する。
- 3) 1 視野あたりの平均細胞数が 2 個以下の場合、または 1 視野あたりの細胞数が 0 個の視野が 5 視野以上ある場合は、検出限界以下とする。
- 4) 蛍光染色剤を扱った用具（ピペット等）については、次亜塩素酸ナトリウム溶液で処理する。

厚生科学研究費補助金（医薬安全総合研究事業）

分担研究報告書

防腐剤無添加製剤の無菌性保証に関する研究

分担研究者 佐々木学 社団法人北里研究所 生物製剤研究所品質部門長
共同研究者 佐々木次雄 国立感染症研究所細菌部室長
五反田亨（社団法人北里研究所 生物製剤研究所製造第2部門長）
服部信章（社団法人北里研究所 生物製剤研究所品質保証部門長）
吉野千春（社団法人北里研究所 生物製剤研究所品質部門長補佐）
岩崎電気株式会社

研究要旨：本研究は、厚生労働科学研究（棚元班）「無菌医薬品製造に関する国際規格の国内導入に関する研究」の一環として「防腐剤無添加剤の無菌性保証に関する研究」に係わる研究として実施したもので、パルス光滅菌によるインフルエンザ HA ワクチンの無菌性保証及び有効性に関して、国立感染症研究所（佐々木次雄）、岩崎電気とともに考察した。

A. 研究目的

1. ワクチンの製造は、微生物を培養・精製工程等を経てワクチンの有効成分である抗原を不活化し、ワクチンとなる。ただし、有効成分は蛋白を主とした抗原であり、熱に対しては弱く加熱滅菌法等が適用できなく、ろ過後に無菌充填を行う無菌操作法による製造方法となっている。
2. 本研究においては、パルス光滅菌法という新しい最終滅菌技術として注目されている滅菌法が、ワクチンの最終滅菌法として適用できるかどうかを検証することとした。ただし、短時間ではあるが多少熱が発生するため、比較的熱に強く短期間に大量生産が求められる、インフルエンザHAワクチンを用い、パルス光滅菌法による、無菌性保証（チャレンジテスト）及び有効性に関して検証することとした。

B. 研究方法

1. ①ワクチンは、平成16年度のインフルエンザHAワクチンを用い検証する。
- ②容器に関しては、平成15年度の研究結果から、ポリプロピレン容器は十分透過するが、ガラス容器は透過しないことから、ポリプロピレン容器を選択した。
- ③光量は500J、1000J、1500Jとし及び照射条件の確認を行うこととした。
- ④ワクチンは、熱に弱いことから熱を発生する波長を、フィルターにより最小限にとどめるようパルス光滅菌装置を工夫し照射することとした。
- ⑤無菌性保証の検証（チャレンジテスト）は、パルス光滅菌法ということを考慮し5種の菌を選択し行うこととした。また、滅菌効果を確認するために対象の試験品（生理食塩水）用い行うこととした。
- ⑥有効性の確認として、インフルエンザHAワクチンの力価試験（SRD法）を