

11.2 滅菌バリデーション

滅菌工程の適格性確認では、医療機器に対する「滅菌バリデーション基準」(平成23年3月30日、薬食監麻発0330第5号)が役立つ。「滅菌バリデーション基準」と本指針間の適格性確認方法に本質的な齟齬がある場合には、滅菌バリデーション基準を優先させる。

1121.1 要求仕様の明確化

滅菌装置の設計又は調達を行う前に、要求仕様を明確にすることが重要である。滅菌プロセスの設計構築と同様に要求仕様の明確化にあたっては、滅菌装置の機能性や滅菌装置の持つ限界、異なる製品特性、作業者の関与、環境条件、環境や滅菌状態の測定システムなどに内在する変動を予測するとともにその影響度も十分に考慮すべきである。

また、製品要求として製品ごとの要求仕様も明確にしておくこと。以下にその例を示したがこれに限定されないこと。

- 1) 滅菌後の製品要求
- 2) 生産計画に基づくプロセス要求
- 3) 滅菌プロセス曝露における容器の密封性を保証する方法。
- 4) 直接容器を包装した状態で最終滅菌を行う製品の場合、包装に関する詳細な情報。

11.2.2 設計時適格性評価

設計時にはユーティリティ、機器材質、操作原理、能力特性はその使用目的にふさわしいか否かをもとに選定されている必要がある。

滅菌装置の設計又は調達業務の適切な段階で、納入される滅菌装置の仕様が、要求仕様を満足することを確認し、文書化すること。

- 1) 設計時適格性評価に先立ち、実施のタイミング、実施方法、実施者、判定基準等を定めた計画書を作成すること。
- 2) 設計時適格性評価の結果を文書化し、責任者が適切に承認すること。

11.2.3 設備適格性評価

設備適格性の評価は、一般的に設備据付時適格性評価と運転時適格性評価の2つの段階に分けて捉えられる。各適格性評価項目のくりや実施の順番、及びどの段階で実施するか等については、実施企業の裁量によって決められるが、他の検証項目の結果や判定に影響を与える可能性のある項目については、その項目の実施前に検証されていなければならない。

1) 設備据付時適格性評価(IQ)

滅菌装置の設備据付時適格性評価においては、仕様通りの装置が、予め定められた位置に、適切な状態で据え付けられていることを装置メーカーの検査要領書/報告書、据付要領書/報告書や製作仕様に照らして検証すること。

滅菌装置の設備据付時適格性評価項目の一般的な例を以下に示す。各種要領書/報

告書が適格性評価の組織で承認されている場合には、装置メーカーの工場出荷検査記録や現場工事記録書の一部の確認を以て、現地で実施する評価に代えても良い。

- ・ 据付検査
- ・ 外観，寸法検査
- ・ 配管ラインチェック
- ・ チャンバー及びサニタリー配管，扉ガスケット等，滅菌装置の基本性能に影響を及ぼす部品の材質検査
- ・ 滅菌媒体の配管溶接検査
- ・ 滅菌媒体及び排水管等，滅菌性能に影響を与える配管の勾配検査
- ・ チャンバー及び配管の気密検査
- ・ 滅菌装置に対するユーティリティ接続及び供給確認
- ・ 一般的な電気検査を含む計装ループチェック
- ・ 重要計器の校正

2) 運転時適格性評価(OQ)

滅菌装置の運転時適格性評価においては、機能仕様に照らして、運転動作の確認と、無負荷状態における温度分布の均一性の検証を行う。

滅菌装置の運転時適格性評価項目の一般的な例を以下に示す。

- ・ 扉，搬送装置等，各部の単体動作の確認
- ・ 無負荷状態におけるチャンバー内の温度分布の確認
- ・ 異常処理シーケンスを含むプログラム動作の確認
- ・ 滅菌装置のプログラムによるチャンバーリークテスト
- ・ 他設備との連動動作の確認

なお、運転時適格性評価においては、上記の項目に加えて、目標真空度に到達するまでの所要時間等、メンテナンスプログラムの基礎となる運転データを採取することが望ましい。

- ①運転時適格性評価を開始する前に十分な試運転調整を行い、基本的な運転パラメータを確定し、文書化しておくこと。
- ②想定される異常や誤操作に対する動作を可能な範囲で検証すること。特に滅菌温度異常に対する動作に関しては、製品の滅菌保証方法に照らして、注意深く検証すること。
- ③温度分布測定ポイントの数と位置は、缶体の大きさと形状に応じて適切に決定すること。チャンバー内寸法に合わせた格子状の支持具等を用い、そこに熱電対など仮設の温度計を固定して、温度を測定する方法が一般的である。
- ④温度分布の測定に用いる評価用の温度計は、試験の前後で校正を行うこと。

11.2.4 性能評価検討

熱浸透性試験を行う前に、滅菌工程の性能評価試験を行い、滅菌対象物の種類及び載荷形態毎に、滅菌装置の操作条件、工程パラメータ、並びに滅菌対象物の取扱手順等を決定する。これ

らの条件は全て、実際の製造において高い信頼性と再現性を持つものとして確立されなければならない。

1) 一般事項として以下の各項目を決定すること。

- ① 滅菌サイクルの設定値と、期待される工程パラメータ及びその許容範囲。許容範囲については、測定計器の誤差や、工程パラメータの挙動特性を考慮し、合理性を以て定めること。
- ② 滅菌対象物の具体的な種類と載荷量、載荷時の滅菌チャンバー内での場所、配置、製品支持の方法。
- ③ 滅菌工程への曝露後、無菌状態を維持するために、製品自体やその1次包装に対して何らかの処理が要求される場合は、その手順。

2) 1)に加えて、湿熱滅菌工程に特有の事項として、以下の各項目を各載荷パターンに対して決定すること。

- ① 運転サイクルの各段階における滅菌チャンバー内の最低、最高温度と、それらを示す位置。また、運転サイクルの各段階における温度、圧力のプロフィール。
- ② 運転サイクルの各段階における製品内の最小、最大温度とそれらを示す位置。また、運転サイクルの各段階における温度のプロフィール。
- ③ ②のデータに基づく、単位製品の中のコールドスポットと載荷形態全体の中のコールドスポットの特定。コールドスポットの特定に当たっては、必要に応じて F_0 値換算による等価評価を行うこと。
- ④ 滅菌工程の有効性を検証するために用いられる参照負荷に関する詳細な情報。
- ⑤ 滅菌工程の実行を監視するための計器と測定値の評価方法。
- ⑥ 滅菌工程の有効性について微生物学的手法を用いる場合に、規定された位置で達成すべき滅菌能力。

品温センサーを制御又は管理用として使用する場合は、その使用方法。

3) 製品及び容器の耐熱性を考慮して、滅菌条件を設定すること。

11.2.5 稼働性能適格性評価(PQ)

高圧蒸気滅菌装置の稼働性能適格性評価は、滅菌負荷に関する熱浸透性、滅菌チャンバーの熱分布、及びBIを使用する滅菌能力の検証からなる。

これらの評価項目は、ひとつの試験運転の中で同時に検証することが望ましい。

1) 熱浸透性試験は、原則として実際の製品を用いて行うこと。

ただし、参照負荷の物性データを元に、その妥当性が科学的に示される場合は、温度測定用サンプルを除き、参照負荷を用いても良い。

2) 最大負荷形態毎に最低3回ずつ行い安定して滅菌状態が再現できることを示すこと。最小負荷形態に対する評価は、必要に応じて行うこと。

検証を行った各負荷形態が分かる図又は写真を記録として残すこと。

- 3) 滅菌対象製品の種類及び特性, 滅菌のバッチサイズに応じて, 製品や載荷形態のグルーピングを行った上で熱浸透性試験を行っても良い。
- 4) 検証用の温度計は製品のコールドスポットに設置すること。
- 5) コールドスポットにおいて, 所定の滅菌条件が達成されていることを温度計によって確認すること。
- 6) コールドスポットにおける滅菌の達成を, バイオロジカルインジケータ(BI)によって検証すること。
- 7) 製品のバイオバーデンに基づいて滅菌サイクルを確立する場合, BIの菌数, 抵抗性, 評価方法は, 予想あるいは確立されたバイオバーデンを考慮して決定すること。
- 8) 滅菌工程の確立において無菌性の試験を実施する場合は, 日本薬局方の無菌試験法を準用すること。
- 9) 確立された滅菌サイクルで, 容器を含めた製品の健全性を確認すること。
- 10) 滅菌サイクルの所要時間が, 実際の生産タイムスケジュールにおいて, 許容されるものであることを確認すること。
- 11) 温度分布の測定に用いる温度計は, 試験の前後で校正を行うこと。

11.3 日常管理

製造を行う中でプロセスがバリデートされた状態あることを継続的に保証するために日常管理が求められる。日常管理の基本原則, 一般要件及び方法に関しては, 3章の要件に従うこと。加えて, 高圧蒸気滅菌工程に特有の事項として, 以下に留意すること。製造管理方針には原材料と滅菌機のモニタリングについて含めること。

11.3.1 日常管理の一般要件

- 1) 供給される蒸気, 水, 空気などのユーティリティが仕様通りであることの確認。
- 2) 湿熱滅菌工程を正常に機能させるために必要な循環ポンプ, ボイラーなどが正常に機能していることの確認。
- 3) 配管からの漏れがないことの確認
- 4) 滅菌器に付属する機器が校正され, 期限内であることの確認等

11.3.2 日常管理の方法

- 1) 工程パラメータの達成を立証するためのデータを記録すること。このデータは各滅菌サイクルに対し滅菌チャンバー内の圧力, 温度を含むこと。また, 真空到達時間や昇温時間等, 装置性能及び工程の傾向分析に有用なデータも合わせて記録することが望ましい。
- 2) 滅菌工程が規定の許容範囲内で達成されたことを立証するために, 直接的な方法で工程パラメータとして設定した変数を測定し記録すること。必要な場合にはBIや, CIをこれに含めること。

- 3) 一連の滅菌サイクルの温度や圧力のプロファイルの確認を行うこと。
滅菌サイクルに蒸気浸透のための空気排除工程がある場合には、定期的リーク試験を実施すること。また乾燥等滅菌以外の性能確認が必要な場合は、文書化された方法に従い評価し記録すること。

11.4 製品出荷

- 1) 製品出荷の手順を定めておくこと。手順には製品が滅菌プロセスに合格したと判定するための要求事項を含めること。
- 2) 滅菌処理済みと未処理の製品を明確に区別するシステムを定めること。

11.5 継続的な工程検証

滅菌プロセスは製品が市場にある限り適格性評価に適合した時点の状態を維持しなければならない。

- 1) あらかじめ定めた手順書にのっとり定期的な間隔で適格性の再評価を行わなければならない。
- 2) あらゆる変更は変更手順書にのっとり品質への影響を評価した上で適切な適格性評価を行うこと。

考慮すべき変更には次の事項を含まなければならない。

- ① 工程パラメータに変化を起こす可能性のある部品交換
- ② 滅菌チャンバーへの漏れ増加を引起す可能性のある部品交換
- ③ 滅菌チャンバーの中の負荷の変更
- ④ 工程の管理手順の変更、装置に関するソフトウェア及びハードウェアの変更や交換
- ⑤ すべての包装及び／又は包装手順の変更すべての製品材質、原料の起源又は設計の変更

11.6 保守管理

施設、ユーティリティや製造機器の保守管理は製造プロセスが管理された状態であることを確認するための重要な側面をもつ。適格性評価された時点の状態は日常のモニタリング、保守、校正を通して維持されている必要がある。

- 1) 施設や製造機器の適格性評価の結果は定期的に評価し再適確性評価行うべきかを決定すること。
- 2) 保守の手順を文書化し実施すること。
- 3) 校正記録及び保守記録を保管し、予め定められた職員による定期的なレビューを行うこと。
- 4) 滅菌プロセスの制御、指示及び記録のための計器類は定期的に校正を行うこと。

12. 放射線滅菌(ガンマ線, 電子線)

主な放射線滅菌は, コバルト60又はセシウム137から放出されるガンマ線, 又は電子加速器から放出される電子線による滅菌である. 現状では, 医薬品についての放射線滅菌の国際規格はないが, ヘルスケア製品の分野では, 1994年に放射線滅菌の国際規格(ISO11137)が制定され, 2006年に改訂された. この改訂版が翻訳JIS(JIS T 0806s)として2010年に出版された. したがって, JIS T 0806sを参考に, 放射線滅菌に必要とされる基本的な管理要件やバリデーション及び維持管理について示す.

12.1.1 線源の種類

医薬品の最終滅菌工程で使用する線源(放射線)の種類を定めること. コバルト 60 やセシウム 137 からのガンマ線は, 物質(医薬品)を放射化するだけのエネルギーはない. しかしながら 10MeV 以上の電子線を用いた場合, 医薬品及びその包装材を含め放射化を検証すること.

12.2 設備

滅菌に使用する照射設備及びその運転手順を文書化すること. これには以下の項目を含め, 設備の使用期間中, 適切に保管すること.

- 1) 照射設備の位置を含む建屋図面
- 2) 未照射品と照射済品の分離, 区分方法
- 3) 照射設備及び搬送コンベアの構造, 運転方法及びメンテナンス方法
- 4) コンベアの経路及びコンベア速度の範囲
- 5) 照射容器の寸法, 材質及び構造
- 6) 使用する放射性同位元素の種類及び数量並びに位置(ガンマ線滅菌の場合)
- 7) ビーム特性(電子エネルギー, ビーム電流, 走査幅)(電子線滅菌の場合)
- 8) 線源の位置又はビーム発生を表示する方法
- 9) システムが故障した場合, 線源の貯蔵/ビームの停止及びコンベアの停止に関すること

また, プロセス管理及び監視に使用するコンピュータソフトウェアは, 使用に先立ち設計意図に適合して機能することを確認し, 文書化すること.

12.3 製品の定義

12.3.1 最大許容線量

医薬品及びその包装材を含め許容される最大線量を定めること. 最大許容線量で処理した場合でも, 医薬品の有効期間中, 所要の効能・効果等が維持されること. 医薬品自体にラジカル発生による不純物の増加や新規物質の誘発, また, 包装材では構造面の変化により材質の劣化, 着色等が起こることが多い.

12.3.2 滅菌線量

10⁻⁶の無菌性保証水準(SAL)を達成する滅菌線量を定めること。

12.4 滅菌線量の決定方法

医薬品に高い線量を照射すると品質劣化等を来たすことがあるため、出来るだけ低い線量でのSAL10⁻⁶達成を検討する必要がある。そのため絶対バイオバーデン法が適用される。JIS T0806-2(ISO11137-2)では、システムチックに滅菌線量を決定する方法が規定されており、その概略は以下のとおりである。

1) バイオバーデン情報を用いる方法(方法1)。

この方法は、製品に付着するバイオバーデンの放射線抵抗性が規定された標準抵抗性分布を持つ微生物群の抵抗性に比べ同等以下であることを検証する。

2) 累加線量照射した製品の無菌性の試験をして、その陽性率を用いる方法(方法2)

この方法は、第1段階で累加線量照射試験からD値を推定する。第2段階で100個の製品中1個が非滅菌(すなわち、SAL10⁻²)になる線量を推定し、この両者から所要の無菌性保証水準まで外挿することで滅菌線量を求める。

3) 標準抵抗性分布から演繹された方法(VDmax法)

この方法は、製品に付着するバイオバーデンが選択した滅菌線量でSAL10⁻⁶を与える最大抵抗性を持つ微生物群よりも放射線抵抗性が小さいことを検証する。

医療機器の多くは乾燥状態で滅菌するものが多いが、水封のダイアライザーや真空採血針等についても適用することができる。

12.5 バリデーション

12.5.1 設備据付時適格性評価(IQ)

据え付けが完了した照射設備は、設計仕様書どおりに据え付けられているかを確認し、記録すること。確認の方法はあらかじめ文書化すること。放射線滅菌を委託する場合、IQは照射業者が実施する。

12.5.2 運転時適格性評価(OQ)

IQが終了した照射設備について、測定、監視、制御、表示、及び記録に使用する機器を校正すること。線量測定機器は、国際又は国家計量標準にトレースが可能であること。

OQの第1段階では、線源の装填又はビームを発生しない状態(コールドラン)で設計仕様どおりに稼働することを確認し、記録する。第2段階では、線源の装填又はビームを発生した状態(ホットラン)で設計仕様どおりに照射できるかを確認し、記録する。ホットランでは、設計仕様であらかじめ定めた処理能力、透過力等を確認するため、設計仕様の最大重量のダミーを用いて線量分布評価を実施すること。コールドラン及びホットランとも確認の方法はあらかじめ文書化すること。放射線滅菌を委託する場合、OQは照射業者が実施する。

12.5.3 稼働性能適格性評価 (PQ)

OQが終了した照射設備について、最終滅菌が行えるか否か実際の医薬品もしくはダミー品を用いて稼働性能適格性評価を実施すること。稼働性能適格性評価の目的とするところは、当該医薬品が該当照射設備で滅菌線量以上、最大許容線量未満の線量で照射できるか否かを確認するために線量分布評価を実施することである。放射線滅菌を委託する場合、PQは委託者及び照射業者が共同で実施する。結果は、製品に関する情報を含めて以下の項目を記録し、責任者がレビューすること。

- 1) 滅菌用梱包箱の寸法、密度、梱包内での製品の並べ方
- 2) 滅菌用梱包箱の照射容器への載荷形態
- 3) 使用する施設又はコンベア経路(複数ある場合)
- 4) 線量分布評価での最大線量及び最小線量とそれらの位置並びにその変動幅
- 5) 製品の最大許容線量及び滅菌線量
- 6) 製品の温度管理と照射完了までの時間(必要な場合)
- 7) 線量監視点の位置及び線量監視点の線量と最小/最大線量との関係並びにこれらから求まる線量監視点での合格線量範囲
- 8) 滅菌前後の輸送状態の確認(放射線滅菌を委託する場合)

製品が異なっても線量分布の観点から分布が同様と見なせるもの(例えば、滅菌用梱包箱の寸法、重量が同一で、製品の薬剤成分が異なる製品等)については、その根拠を記録したうえで、同類の線量分布データを使用することが出来る(処理カテゴリという)。

12.6 日常管理

照射前後の保管を含め、照射方法等を文書化すること。これには以下の項目を含めること。放射線滅菌では、バイオロジカルインジケータ(BI)の使用は要求されておらず、ケミカルインジケータ(CI)の使用も任意である。

- 1) 滅菌した対象物について、その滅菌状況がトレースできるような適切な識別方法(例えば、滅菌ロット番号)
- 2) 照射前後の製品数量の確認方法
- 3) 未照射品と照射済品の分離、区分方法
- 4) 製品の照射容器への載荷形態
- 5) 線量監視点の位置と線量計の貼付頻度
- 6) 線源の減衰に応じたコンベア速度の調整方法(ガンマ線滅菌の場合)
- 7) 線源の位置、コンベア速度、照射容器の移動状況の監視及び記録(ガンマ線滅菌の場合)
- 8) 電子ビーム特性、コンベア速度の監視及び記録(電子線滅菌の場合)
- 9) プロセス中断や不具合が発生したときの措置と記録
- 10) 製品の温度管理と照射完了までの時間(必要な場合)

12.7 ドジメトリックリリース

滅菌プロセスが適正に行われたことを認定するための項目を特定し、出荷判定方法を文書化すること。特定する項目にはPQで記録した項目を含めること。これらを満足し、線量監視点での線量が規定範囲内であれば、製品の無菌性を保証し、出荷判定を合格とすることができる。この前提として、品質システムが有効に機能していること、及びバイオバーデンが定めた限度範囲内で、かつ滅菌線量の有効性を確認していることが必須条件である。

12.8 有効性の評価

12.8.1 滅菌線量の有効性

最初に決定した滅菌線量が継続して有効であることの確認方法、確認時期を文書化すること。最初に決定したときのバイオバーデンの数とその抵抗性が、所要の時間経過後も同等以下であればその滅菌線量は有効である。滅菌線量の有効性の評価方法はJIS T0806-2(ISO11137-2)に規定されている。その概略は以下のとおりである。

- 1) 低バイオバーデン品(平均1.5個未満/製品)の測定間隔は、最大1か月とし、それ以外のバイオバーデン品の測定間隔は、最大3か月とする。
- 2) バイオバーデンの数があらかじめ定めた限度を超えた場合、直ちに滅菌線量監査(バイオバーデンの放射線抵抗性試験)を実施する。
- 3) 通常の滅菌線量監査は3か月とする。
- 4) 少なくとも3か月毎に実施するバイオバーデン数の結果が安定して限度内であり、バイオバーデンの特徴づけ(コロニー又は細胞の形態、染色特性等、同定は不要)をしており、かつ4回連続して滅菌線量監査に成功した場合には、最大12か月まで滅菌線量監査が延長できる。

12.8.2 設備の有効性

- 1) 滅菌プロセスの監視、制御、表示、記録に使用する機器の再校正を計画し、実施し、記録すること。
- 2) 設備の予防的メンテナンスを計画し、実施し、記録すること。
- 3) 線量及び線量分布に影響を及ぼす可能性のある設備の変更は、あらかじめ影響の程度と範囲を評価し、責任者が承認すること。必要に応じてIQ、OQ、又はPQの一部又は全部を再度実施すること。

【参考情報】

本参考情報に示している内容は、指針を補完する情報であり、A1. パラメトリックリリースを適用する場合には、予め規制当局の承認が必要であり、A2. 低 Fo 最終滅菌製剤の無菌性保証は、熱処理により容器及び製剤に悪影響を及ぼす最終滅菌製剤に適用される滅菌例であり、製品の耐熱性に問題がない一般の医薬品の滅菌には適用しない。

A 1. パラメトリックリリース

本章には、最終滅菌法による無菌医薬品のパラメトリックリリースにおける一般的な製造管理のあり方を示すと共に、湿熱滅菌によるパラメトリックリリースの具体的な要件を示した。湿熱滅菌によるパラメトリックリリースを行う場合は、原則としてこれらの考え方を適用する。ただし、パラメトリックリリースを適用する場合には、予め規制当局の承認を得ること。

A 1. 1 パラメトリックリリースの一般的要件

最終滅菌法を用いて製造される無菌医薬品には、通常 10^{-6} 以下の無菌性保証水準(SAL: Sterility Assurance Level)が求められる。SAL 10^{-6} は最低保証条件であり、液剤の滅菌バリデーションは SAL 10^{-8} レベルで実施するのが望ましい。培地充てん試験による汚染検出率は 10^{-3} 、無菌試験による汚染検出率は 10^{-1} 程度である。最終滅菌工程を十分にバリデートし、包括的かつ一貫した工程管理を行うことにより、無菌試験に比べてはるかに高い製品の無菌性を保証できる。このように、高い無菌性保証水準を示す最終滅菌製剤にパラメトリックリリースを適用することは、科学的にも合理的である。

最終滅菌医薬品にパラメトリックリリースを適用する場合、本指針に定める要件を整備し遵守することにより、製品の恒常的な無菌性を保証すること。

A 1. 2 パラメトリックリリースが適用可能な滅菌方法

以下の項目を満たしている場合、パラメトリックリリースの適用が可能な滅菌方法と考えることができる。

- ① 滅菌の作用機序が十分解明されていること。
- ② 滅菌工程の重要な物理的工工程パラメータが明らかで、それらの値が測定可能であること。
- ③ 滅菌工程を適切なBIを用いて微生物学的にバリデートできること。
- ④ 滅菌操作を効果的かつ再現性よく実施できること。

A 1. 3 滅菌バリデーション

- 1) 適切なバリデーションを実施し 10^{-6} 以下の SAL を科学的に証明できる滅菌パラメータを決定すること。
- 2) 滅菌サイクルの途中で停電などの理由により一時的に滅菌条件の逸脱が発生した場合を想定し、許容される逸脱の範囲と、補完の条件についてもバリデートしておくことが望ましい。
- 3) 製品載荷形態毎、滅菌装置毎に定期的な再バリデーションの有効期限を定め、定期的な再バリデーションを実施し、決定した滅菌パラメータの有効性を確認すること。
- 4) 製品の無菌性保証に影響があるような変更管理を行う場合、事前に滅菌バリデーションを実施し、変更後も 10^{-6} 以下の無菌性保証水準が可能であることを示すこと。無菌性に影響する変更には、滅菌対象物の組成、容量、医薬品容器形態、医薬品容器の包装形態、製造工程、載荷形態、滅菌媒体の供給条件、及び滅菌装置の構造等の変更が含まれる。

A 1. 4 日常管理

A 1. 4. 1 日常管理の一般要件

- 1) 滅菌対象製品については、未滅菌のものと滅菌済のものが混同されないように適切な措置を講じること。
- 2) 滅菌済みの製品については、再汚染を防止するための措置を講じること。
- 3) 滅菌に関連する工程管理、保守管理、ガス、空気、水などの供給、滅菌確認等に関する手順や管理項目等は全て文書化すること。
- 4) 最終滅菌条件を定めるために行われたバリデーションの結果に基づき、滅菌工程の実施に関する詳細な手順を定めて文書化し、これを遵守すること。これらの手順書には、以下の項目を含むこと。
 - ① 日常の滅菌管理に必要な工程パラメータ、管理項目とその許容値。
 - ② 滅菌工程がその要求事項に合致していることの判定方法と判断条件。
 - ③ 各種記録とその保管に関する手順を規定すること。
 - ④ 逸脱が発生した場合の処置方法。
 - ⑤ バッチ式滅菌装置の場合は製品ごとの載荷形態。
- 5) 定期的再バリデーション、保守管理、校正、装置のテスト項目等とその具体的な手順及び頻度と共に文書化すること。
- 6) バイオバーデン試験方法及び当該滅菌方法に対して抵抗性が強い微生物の検出方法を定め文書化すること。
- 7) 当該滅菌方法に対して抵抗性が強い微生物を検出した場合の処置方法を定め文書化すること。
- 8) 工程の確認に参照負荷を使用する場合は、仕様、有効性、使用方法の妥当性等を検証し、文書化すること。

A 1. 4. 2 日常管理の方法

- 1) 日常管理は、定められた手順に従い滅菌バッチごとに実施すること。
- 2) 滅菌工程が規定の許容範囲内で達成されたことを立証するための全てのデータを記録すること。また各記録は責任者により確認、承認を受けること。
 - ① 滅菌工程を実施した日付、工程の開始及び終了時刻
 - ② 使用した滅菌装置
 - ③ 適用した滅菌条件
 - ④ 滅菌工程の物理的記録
 - ⑤ 滅菌の判定基準と判定結果
 - ⑥ 滅菌物の特定
 - ⑦ 滅菌工程を施した職員の氏名
- 3) 設定された手順、警報基準値、処置基準値、パラメータの許容範囲等を逸脱した場合は、定められた手順に従い、適切に処置を行うこと。
- 4) 滅菌工程及び滅菌工程を支援するシステムの維持管理に関する記録を採り、管理すること。
- 5) 滅菌サイクルの重要パラメータの制御、計測、記録に使用される装置は校正対象機器とし、その校正頻度及び許容誤差を定め、公的標準に結びつく標準器による校正を行うこと。また滅菌工程を支援する制御、計測機器についても同様に扱うこと。
- 6) 滅菌後の製品の保管はその品質を損なうものでないこと。保管場所、保管方法、保管環境、保管期間等を予め定め、それに従い適正に管理すること。

A 1. 4. 3 滅菌物の出荷判定

最終滅菌法で製造された医薬品の無菌性保証には、滅菌パラメータの記録の照査が含まれる。予め重要パラメータを定め、その許容範囲内で滅菌が行われたことを確認した上で、出荷判定を行う手順を定めて文書化しておかなければならない。

パラメトリックリリースによる出荷判定で行われる製品の無菌性確認には、以下の項目を含むこと。

- 1) 製造バッチ記録
- 2) 滅菌記録を照査し、時間、温度、圧力等の重要パラメータの記録が許容範囲にあること。
- 3) 滅菌記録あるいは製造バッチ記録を照査し、定められた製品載荷形態で滅菌がおこなわれていること。
- 4) 滅菌サイクルの重要パラメータの制御、計測、記録に使用される装置の校正が行われており、校正の有効期限内であること。
- 5) 定められた定期的再バリデーションの有効期限内であること。
- 6) 設定された手順、警報基準値、処置基準値、パラメータの許容範囲等を逸脱した場合に採られた処置とその結果が適切であること。
- 7) 必要に応じて原料のバイオバーデンデータの確認を行うこと。

- 8) 滅菌前製品のバイオバーデン試験は、バッチ毎とする。
- 9) 必要に応じて製造環境の微生物評価データの確認を行うこと。
- 10) 必要に応じて当該滅菌法に対して抵抗性の強い微生物の検出試験が行われていること。
- 11) 滅菌前製品のバイオバーデンから、滅菌バリデーションで用いられた滅菌指標体以上の抵抗性を有する微生物が検出された場合は、定められた手順に従い、予め定めた許容D値内にあるかどうかを判断する。
- 12) 参照負荷の試験結果をもって出荷判定する場合は、そのデータが規定の範囲内であること。また、参照負荷の形態、配置が規定どおりであったことを示す記録の確認を行うこと。
- 13) 重要パラメータの許容範囲を逸脱したときには、予め定めた手順に従い、原因の調査を含めた適切な処置(再滅菌、バッチ破棄等)を行うこと。許容範囲からの逸脱があった場合、他の判定方法(例えば無菌試験)によって出荷することは認められない。

A 1. 5 湿熱滅菌のパラメトリックリリース

A 1. 5. 1 パラメトリックリリースの適用条件

湿熱滅菌による最終滅菌医薬品にパラメトリックリリースを適用するに当たっては、バイオバーデン試験は滅菌前の充てん・閉そく済み製品に対して実施する。

A 1. 5. 2 最終滅菌医薬品へのパラメトリックリリースの適用時の留意点

パラメトリックリリース適用時、湿熱滅菌工程に特有の事項として、以下に留意すること。

1) プロセス要求としての滅菌条件設定時の留意点

滅菌及び無菌性保証に影響を及ぼすプロセスの管理項目としては、温度、圧力、時間、熱履歴、滅菌前製品中のバイオバーデン等がある。これらの管理項目が恒常的に管理並びに保証されている場合には、パラメトリックリリースの採用を考慮することが可能である。滅菌工程の設計(確立)方法として、オーバーキル法と F_0 管理法がある。 F_0 管理法を採用する場合には、以下の方法を参考にすること。

- ① $8 \leq F_0 < 15$ 滅菌製品にパラメトリックリリースを採用する場合には、規定した適切なパラメータにより、設定 F_0 を証明し、保証される SAL を明らかにすること。
- ② $2 \leq F_0 < 8$ 滅菌製品にパラメトリックリリースを採用する場合には、規定した適切なパラメータにより設定 F_0 を証明するとともに、バイオバーデン管理が重要なため、表 A-1を参考とすること。

2) 滅菌バリデーションにおける留意点

- ① 滅菌バリデーションを行うに当たっては、日本薬局方参考情報「最終滅菌医薬品の無菌性保証」及び本指針で定める滅菌バリデーションの項を参照して、適切なバリデーションを実施し 10^{-6} 以下の SAL を科学的に証明できるパラメータを決定すること。
- ② 滅菌サイクルの途中で停電などの理由により一時的に滅菌温度が低下した場合を

想定し、許容される滅菌条件(温度、時間など)と、再加熱の条件についてもバリデートしておくことが望ましい。

3) 日常管理における留意点

- ① 温度、圧力、時間等、滅菌サイクルに影響を及ぼす重要パラメータを定め、その許容変動幅を定め文書化すること。
- ② 定期的リークテストを行い、チャンバーの漏れ量を確認すること。
- ③ 滅菌工程及び滅菌工程を支援するシステム(圧縮空気、蒸気、水等)の維持管理に関する記録を採り、管理すること。
- ④ 停電などの理由により滅菌サイクルの途中で一時的に滅菌温度が低下した場合、予めバリデートされた範囲であれば再加熱して滅菌サイクルを継続することが許容される。

4) 滅菌物の出荷判定における留意点

パラメトリックリリースにより滅菌物を出荷判定する場合は、特に下記の点を確認すること。

- ① 必要に応じて湿熱抵抗性の強い微生物の検出試験が行われていること。詳細については、A3. バイオバーデン試験法を参照のこと。
- ② 滅菌前製品のバイオバーデンから、滅菌バリデーションで用いられた滅菌指標体以上の湿熱抵抗性がある微生物が検出された場合は、当該微生物の D 値と数から、製品の無菌性を評価し、製品出荷の可否又は製品の回収について判断する手順を定めること。

低 Fo 最終滅菌製剤の無菌性保証

A2.1 序論

最終滅菌法による無菌医薬品製造において、その無菌性保証水準を達成するために、BI とバイオバーデン併用法若しくは絶対バイオバーデン法を採用している製品が存在する。これらの医薬品は、その製品特性により高い熱量に曝露することができないため、高い耐熱性を示す芽胞菌を検出しない製造環境で製造することを前提にしている。滅菌前製品や製造環境から検出される菌の中で最も熱抵抗性を有する菌の D 値と滅菌前製品のバイオバーデン数を基に $F_0 < 8$ の比較的低い滅菌条件を設定し、日常のバイオバーデン管理のもとで無菌性を保証している。

これら低 F_0 での最終滅菌製剤を製造する際の基本的な考え方は、微生物汚染のリスクを最小化するよう製造管理し、滅菌前製品のバイオバーデンを、表 A-1 に示す基準で製造管理し、 10^{-6} 以下の無菌性保証水準を達成することである。

ただし、新規に最終滅菌法を適用する医薬品には、熱処理による容器及び製剤への悪影響が認められない限り、 $F_0 \geq 2.0$ で処方設計すること。

なお、これらの無菌医薬品の製造工程の検証においては、プロセスシミュレーション(培地充てん)を要求するものではない。

表 A-1 低 Fo 滅菌条件

| 条件 | 熱負荷量 | 平均許容 生菌数 ^{注1} (/容器) | バイオバーデン試験 ^{注2} | | |
|----|------------------|------------------------------------|-------------------------|-------|----------|
| | | | 生菌数試験 | 菌種同定 | 滅菌抵抗性試験 |
| 1 | $4 \leq F_0 < 8$ | 5 cfu | 毎バッチ | 生菌検出時 | 芽胞形成菌検出時 |
| 2 | $2 \leq F_0 < 4$ | 1 cfu | 毎バッチ | 生菌検出時 | 芽胞形成菌検出時 |

注1 ただし、“A3.3 バイオバーデン許容基準値”に従い定めた基準値を超えないこと。

注2 菌種同定は、通常、芽胞菌かどうかでよい。芽胞菌の同定を行わない場合には、熱抵抗性試験を実施すること。

A2.2 製造環境

- 1) 充てん・閉そく区域の清浄度レベルは、グレード A とする。
- 2) 直接支援区域の清浄度レベルは、グレード B で管理する。
- 3) 充てん・閉そく区域内で作業する場合は、バイオバーデン管理のために、滅菌あるいは消毒された作業衣、靴、オーバーシューズ、手袋、ゴーグル、マスクを着用すること。
- 4) 充てん・閉そく区域及び直接支援区域において使用する HEPA フィルターの性能試験は、適切な方法・頻度で実施すること。

A2.3 バイオバーデンの管理

滅菌前製品のバイオバーデンは、日本薬局方「微生物限度試験法」の生菌数試験に準じて、総好気性微生物数を測定すること。

A2.3.1 一般要求事項

- 1) 環境モニタリング(製造環境, 設備)
「8章 環境モニタリング」に準じ、設定した清浄度に応じた環境モニタリングを実施すること。
- 2) ろ過前調製液のバイオバーデン管理
リスクアセスメントに基づき、必要があれば、ろ過前薬液のバイオバーデンレベルを設定し、適切な頻度で確認すること。
- 3) 容器, 栓のバイオバーデン管理
容器, 栓のバイオバーデンは、製造ロット毎又は資材ロット毎に測定し、管理すること。
- 4) 薬液充てんライン
薬液充てんラインの清浄度を適切に管理し、通過する調製液の微生物汚染を防止すること。

A2.3.2 バイオバーデン検出時の措置

環境モニタリング、ろ過前薬液、容器・栓、滅菌前製品においてバイオバーデンを検出した場合は、検出菌の熱抵抗性を調査し、製品の無菌性への影響を評価すること。

A2.4 滅菌条件の確立

以下の2種類の中から適切な滅菌条件を採用すること。

1) BI(バイオロジカルインジケータ)とバイオバーデン併用法

BIとしては、通例、*Bacillus subtilis* “5230”, ATCC #35021 など滅菌抵抗性が公知の菌株を選択する。

2) 絶対バイオバーデン法

被滅菌物や製造環境から検出された最耐熱性菌を用いる方法である。*Bacillus subtilis* “5230”, ATCC #35021 ほどの耐熱性菌が見つからない場合には、検出菌が◎◎¹よりも耐熱性が低いことを確認しながら、◎◎を用いて滅菌工程の微生物学的バリデーションを実施してもよい。

A2.5 バイオロジカルインジケータ(BI)

BIは、*Bacillus subtilis* “5230”, ATCC #35021 や◎◎など滅菌抵抗性が公知の菌株を選択すること。

A2.5.1 滅菌抵抗性の測定方法

1) BIのD値測定は、ISO11138-1に示す生残曲線法、部分生残法に準じること。

2) BIのD値測定は、生物指標評価装置(BIER: Biological Indicator Evaluation Resistrometer)を用いる。ただし、簡便法としてオイルパスを用いてもよい。

バイオバーデン試験

いかなる最終滅菌法においても、 10^{-6} 以下の無菌性保証水準を立証することが必要である。滅菌前製品の微生物数、種類及び性質を把握することは、採用した滅菌条件の科学的妥当性を立証するために重要である。

本項では、滅菌前製品に存在する微生物の把握、すなわちバイオバーデンについて実施すべき要求事項を示す。

A3.1 バイオバーデン・モニタリング

¹ 2012年3月までに具体的菌名を入れる予定。それが無理な場合には、“各社で使用している熱抵抗性指標菌”などの表記にする予定。

A 3.1.1 モニタリング頻度

バイオバーデン測定は、滅菌前の製品について、適切に計画された間隔で実施すること。

A3.1.2 サンプルング

最終充てん容器を試料としてサンプルングする。サンプルングは、ワーストケースあるいはバッチの代表(例えば、充てん開始時、充てん中間時、及び充てん終了時)であることを基本とする。サンプルング量については、バイオバーデン実績データ、製造工程、バッチサイズ、製造頻度、使用原材料、バイオバーデン値のばらつきなどの要因をもとに汚染のリスクを評価し、適切に定めること。また、バイオバーデン測定用検体の保管については、試験開始まで実製造工程と近似させること。

A3.2 バイオバーデン試験

A3.2.1 生菌数試験

当該試験は、試料の採取時点から当該医薬品の滅菌工程開始までの時間を考慮して行うこと。当該医薬品の最終充てん容器について A3.1.2 で決定した量を試験する。試験は、無菌的管理のもとで、規定された採取単位量の全量を用いて実施すること。試料全量を用いて試験を行うことが困難な場合は、その理由を明確にする。尚、培養条件は、日本薬局方「微生物限度試験法」の生菌数試験に準じること。

A3.2.2 菌種同定

滅菌に対して強い抵抗性を持つ菌のほとんどが芽胞形成菌であり、芽胞形成菌を正確に同定できることが必要である。同定方法には、表現形質による同定方法、簡易同定キットによる同定方法及び分子構造や遺伝子情報を利用した同定方法(化学分類、遺伝子解析)などがある。同定は少なくとも属を明らかにし、その特徴を情報として捉える。また、得られた同定結果は、滅菌抵抗性試験、混入経路の推定及びバイオバーデン低減のための制御に活用する。

A3.2.3 滅菌抵抗性試験

バイオバーデン菌を同定した結果が芽胞形成菌であった場合は、適切な芽胞形成培地を選択し、芽胞を形成させる。形成芽胞を用いて芽胞液を調製し、製品中における滅菌抵抗性(D 値、必要によりZ 値)の測定を行う。D 値の測定は、ISO11138 に従って、製品の滅菌温度について実施する。なお、製品よりも高いD 値が得られる溶液があらかじめ分かっている場合は、その溶液をD 値測定に使用してもよい。

A3.3 バイオバーデン許容基準値

バイオバーデン許容基準値を、バイオバーデン数と滅菌抵抗性(D 値)について、各製品に対して決定しておくこと。バイオバーデンの許容基準は、滅菌条件を基礎とすべきであり、 10^{-6} の無菌性保証水準を満たさなければならない。許容基準値は、滅菌条件設定時に使用した指標菌の D

値をもとに、予測されるバイオバーデン数に安全率を考慮した値とする。この安全率には、試験法バリデーション時に得られた微生物回収率なども含める。また、バイオバーデン許容基準値の警報基準値と処置基準値を確立しておくこと。

A3.4 許容基準値外時の対応

湿熱滅菌において、バイオバーデン許容基準外の場合は、バイオバーデン菌の滅菌抵抗性結果と合わせて、 10^{-6} の無菌保証レベルを満たすかどうか(例えば、 $\text{Log}(\text{バイオバーデン数}) + 6 < \text{滅菌時間} / \text{D 値}$ であること)を評価する。また、バイオバーデン菌の混入経路を調査し、バッチ全体において、測定したサンプルよりも多くのバイオバーデン数が存在するリスクについても調査すること。

バイオバーデン菌のD値が、指標菌よりも高い場合は、新たにバイオバーデン菌を指標菌として、11.2.5 に従い湿熱滅菌機のコールドスポットにおける滅菌の達成を検証すること。その結果を踏まえて指標菌を更新する。その場合、新たに指標菌とするバイオバーデン菌の同定を種レベルまで行い、菌株保存機関に寄託することが望ましい。あるいは、すでに菌株保存機関から入手可能な菌から、D 値がバイオバーデン菌と同等以上の菌を指標菌としてもよい。また、バイオバーデンの低減を行い、指標菌よりも高い D 値を示したバイオバーデン菌が恒常的に出現しないことが保証できれば、従来通りの指標菌を使用しても差し支えない。

A3.5 バイオバーデン試験結果の出荷への反映

オーバーキル滅菌以外では、出荷前のバイオバーデン試験の結果から芽胞形成菌が検出された場合は、滅菌抵抗性がバリデーションで用いた指標菌よりも低いことを証明しておくこと。バイオバーデン基準値を逸脱した場合は、A3.4 に示した対応の結果を踏まえて、製品の出荷の可否を決定する。

A4. 滅菌条件設計法

以下 a)~d)のいずれかの方法により、製品の無菌性保証水準を保証すること。

- a) ハーフサイクル法
- b) オーバーキル法
- c) BIとバイオバーデン併用法
- d) 絶対バイオバーデン法

a) ハーフサイクル法

オーバーキルアプローチの一種である。初期菌数 10^6 CFU を有するバイオリジカルインジケータを製品やPCD内又は滅菌装置内で最も滅菌困難な場所に設置し、バイオリジカルインジケータが全て死滅する時間の2倍の時間を滅菌時間とする方法である。オーバーキル法が12Dの時間を滅菌時間とするのに対して、ハーフサイクル法では14D~16Dの時間

を滅菌時間とする。初期菌数 10^6 CFU を有するバイオロジカルインジケータの生残確率は、7Dで10%、8Dで1%となるので、 $(7D \sim 8D) \times 2 = 14D \sim 16D$ となる。ハーフサイクル法は、オーバーキル法と比較して一般的に滅菌時間が延長する。

b) オーバーキル法

オーバーキル法の基本的な考え方は、ヘルスケア製品（医療機器、医薬品、体外診断薬等）の滅菌に関する国際規格用語集（ISO/TS 11139）にあるように、“製品のバイオバーデンと同等以上の抵抗性のあるバイオロジカルインジケータに対して、少なくとも12芽胞対数減少（SLR）を与えることが証明されている滅菌工程”（Sterilization process that is demonstrated as delivering at least a 12 Spore Log Reduction (SLR) to a biological indicator having a resistance equal to or greater than the product bioburden）である。すなわち、オーバーキル法とは 10^{-6} の無菌性保証水準（SAL）を確保する滅菌条件として12Dの滅菌を設定する方法である。各滅菌工程に使用するBIについても国際規格で表A-2のように定められている。

表 A-2. 各種滅菌工程に使用する BI の規格

| 滅菌法 | EO 滅菌 | 湿熱滅菌 | 乾熱滅菌 | 低温蒸気およびホルムアルデヒド滅菌 |
|--------|--|---|--|---|
| 指標菌 | <i>Bacillus atrophaeus</i> ATCC9372 等 | <i>Geobacillus stearothermophilus</i> ATCC7953 等 | <i>Bacillus atrophaeus</i> ATCC9372 等 | <i>Geobacillus stearothermophilus</i> ATCC7953 等 |
| 菌数 | 1.0×10^6 CFU 以上 | 1.0×10^5 CFU 以上 | 1.0×10^6 CFU 以上 | 1.0×10^5 CFU 以上 |
| D値 | 2.5 分間以上 (54℃) 12.5 分間以上 (30℃) | 1.5 分間以上(121℃) | 2.5 分間以上 (160℃) | 6 分間以上(60℃) |
| z 値 | — | 6℃以上 | 20℃以上 | — |
| ISO 規格 | ISO 11138-1, 2 | ISO 11138-1, 3 | ISO 11138-1, 4 | ISO 11138-1, 5 |

湿熱滅菌に関する国際規格（ISO 17665-1）では、BIとして *Geobacillus stearothermophilus* を示しているが、その付属書には、*Clostridium sporogenes* や *Bacillus coagulans* も提示している。USP<1035> BIOLOGICAL INDICATORS FOR STERILIZATION には、上記 BI の他に *Bacillus subtilis* も示されている。オーバーキル法の場合、基本的には *G. stearothermophilus* を使用することになるが、他の滅菌条件を設定する場合には、*G. stearothermophilus* 以外の BI や各社が製品や製造環境から分離した最強の熱抵抗性菌を BI として使用することになる。

USP<1035>では、*G. stearothermophilus* の D_{121} の最低値を 1.5 分間、最大値を 3.0 分間としている。

例えば、 $D_{121}=2.0$ 分の *G. stearothermophilus* を BI として 12 SLR の滅菌を行うと、 $2.0 \times 12 = 24$ 分の滅菌時間が必要である。実製品を用いた場合、D 値が BI の表示 D 値より高くなることも多く、単純に 12D の滅菌条件を設定すると製品や容器への影響が懸念される。

一方、被滅菌物内部の温度測定技術の向上により、 F_0 による滅菌工程の管理方法が発展し、理論的に D_{121} 値 = 1 分間の菌数を 12 log 減少させる $F_0 \geq 12$ もオーバーキル条件としている (ISO/TS 17665-2)。

c) BI とバイオバーデン併用法

バイオバーデン/BI 併用法は、一般にオーバーキル条件より熱負荷が少なく、絶対バイオバーデン法よりも被滅菌物に熱負荷をかけることができる場合に採用される。この方法は、BI とバイオバーデン法を組み合わせて無菌性の保証を行うものであり、あらかじめ BI の情報 (菌数、D 値、z 値) 及びバイオバーデンから得られた最も高い熱抵抗性を示す菌の D 値を確認しておく。

この手法は、バイオバーデンから得られた熱抵抗性菌の D 値よりも BI の D 値が高いことが前提となり、通例、以下の式に基づき、滅菌時間を設定する。

$$\text{滅菌時間} = D \times \log N_0 / N$$

D : BI の D_{121} 値

N : 生存許容菌数 (10^{-6})

N_0 : 初期菌数

初期菌数は、最大バイオバーデンに相当する菌数であり、平均バイオバーデン数にその標準偏差の 3 倍を加えたものあるいは 1 log ないし 2 log の余裕を持たせたものになる。オーバーキル法が 12D の熱負荷量になるのに対し、バイオバーデンと BI の併用法は、通例、6 ~ 7 D の熱負荷量となる。

バイオバーデンと BI の併用法では、バイオバーデンから得られた最も強い耐熱性菌の D 値よりも高い D 値を有する BI を選定 (一般に *C. sporogenes*, *B. coagulans*, *B. subtilis*, *G. stearothermophilus* を使用) し、算出されたバイオバーデンの生存確率が 10^{-6} 以下になることを確認する必要がある。ただし、バイオバーデン菌を生物指標として用いる場合もある。バイオバーデンの抵抗性は、後述の絶対バイオバーデン法と同様、ISO 11138-1 に従い、生残曲線法あるいはフラクションネガティブ法で BIER (BI 評価装置) を用いて測定される。チャレンジする BI は、死滅する必要はなく、チャレンジした BI の菌数減少から得られたバイオバーデンの生存確率が、目的とする SAL (無菌性保証水準) に達していることを証明する。

例として、バイオバーデンを調査し、初期菌数 (推定値) が 10^2 個、スクリーニングより得られた最も強い耐熱性菌の D 値が 0.2 分であったと仮定とする。そこで、実際の滅菌サイクルに D 値の明らかな BI ($D_{121} = 0.5$) をチャレンジし、4 log 減少の結果が得られたとすると、微生物学的 F_0 値は、 $F_{0\text{ BIO}} = 4 \times D_{121} = 4 \times 0.5 = 2.0$ となる。