

$Fo_{BIO} = D_{121} \times (\log_{10} A - \log_{10} B)$ の式を変形すると $\log_{10} B = \log_{10} A - Fo_{BIO} / D_{121}$ となり、初期菌数である $A = 10^2$ 、バイオバーデンから得られた $D_{121} = 0.2$ (分) を代入すると $\log_{10} B = \log_{10} 10^2 - 2/0.2 = -8$ となり、 B は 10^{-8} 、つまり、バイオバーデンの生存確率は 10^{-8} という結果が得られる。この結果から、無菌性の確保に必要な 10^{-6} 以下のレベルを満足していることになる。

また、バイオバーデン/BI 併用法は、日常的なバイオバーデン調査を行い、バイオバーデンの菌数及び耐熱性菌の熱抵抗性の確認を継続的に実施する必要がある。

d) 絶対バイオバーデン法

絶対バイオバーデン法は、熱負荷をかけると製品、包装品が不安定になるものや容器が熱により変形するものなどで前述のオーバーキル法、バイオバーデン/BI 併用法が適用できない場合に採用される。被滅菌物（原材料を含む）のバイオバーデンから得られた菌に対して、スクリーニングテスト（通例、80～100℃で10～15分のヒートショックを与える）を実施することにより、最も強い耐熱性菌を調査する。製品からのバイオバーデンの回収方法は、ISO11737-1に従い実施する。絶対バイオバーデン法は、バイオバーデンから得られた最も強い耐熱性菌の生存確率が 10^{-6} 以下であることを証明する手法である。この手法では、BIの使用は不必要である。

例として、バイオバーデンで得られた最も強い耐熱性菌の D 値と温度の関係が図 A-1 に示す結果になったと仮定する。

その耐熱性菌の D_{121} 値は、図 A-1 から $D_{121} = 10^{-0.1 \times 121 + 11.5} = 0.25$ (分) となり、その耐熱性菌が 10^6 から 10^{-6} まで減少するのに必要な Fo 値は、以下の式で求めることができる。

$$Fo = D_{121} \times (\log_{10} A - \log_{10} B)$$

この式に $A = 10^6$ 、 $B = 10^{-6}$ 、 $D_{121} = 0.25$ を代入すると、 $Fo = 0.25 \times (6 + 6) = 3.0$ となる。ここで得られた $Fo = 3.4$ が滅菌条件設定の目標値となるものであり、滅菌条件を設定し、熱浸透試験を実施した後、最も滅菌が困難な場所（コールドポイント）で $Fo \geq 3.0$ を十分に満たしていることを確認しなければならない。管理されている製造施設で観測されるバイオバーデンは、実際には 10^6 よりもはるかに少なく、例えば最大のバイオバーデン数が 10^2 であることが証明された場合、 10^2 から 10^{-6} まで死滅させる所要最低 Fo 値は、 $Fo = 0.25 \times (2 + 6) = 2.0$ となり、無菌性保証として $Fo \geq 2.0$ を必要とすることになる。

実際には、 10^6 個のバイオバーデンをコールドポイントにチャレンジし、確実に死滅することを無菌性の試験で確認し、無菌性保証水準である 10^{-6} 以下とする滅菌時間を設定し、無菌性保証を行う。この際安全係数を考慮する必要があるのは当然である。

また、バイオバーデン法では、バリデーション後も継続的かつ頻繁にバイオバーデン調査を行い、より熱抵抗性の強い菌が認められた場合には、再バリデーションを行うことが必要であるとともに、すでに出荷した製品への影響を評価する必要がある。

なお、これらの微生物学的評価、すなわちバイオバーデンの見積もりならびに無菌性の

試験等の実施に当たっては該当する ISO 11737 シリーズを適用する必要がある。

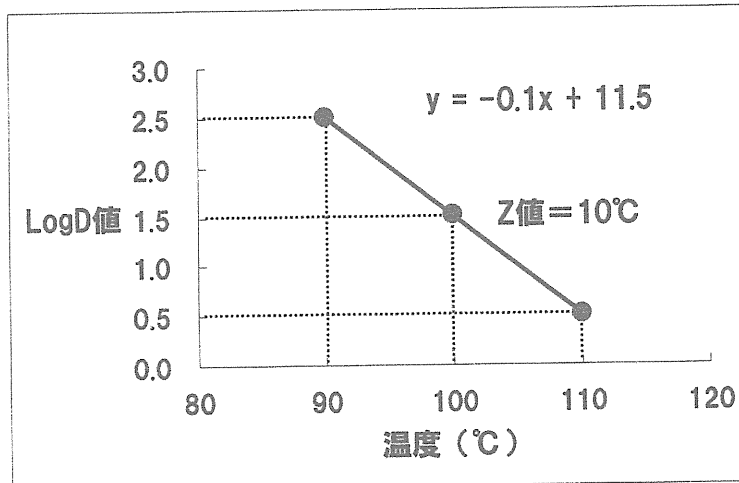


図 A-1. D値と温度の関係

参考資料

- 1) ISO 11138-1:2006 Sterilization of health care products — Biological indicators — Part 1: General requirements
- 2) ISO 11138-2:2006 Sterilization of health care products — Biological indicators — Part 2: Biological indicators for ethylene oxide sterilization processes
- 3) ISO 11138-3:2006 Sterilization of health care products — Biological indicators — Part 3: Biological indicators for moist heat sterilization processes
- 4) ISO 11138-4:2006 Sterilization of health care products — Biological indicators — Part 4: Biological indicators for dry heat sterilization processes
- 5) ISO 11138-5:2006 Sterilization of health care products — Biological indicators — Part 5: Biological indicators for low temperature steam and formaldehyde sterilization processes
- 6) ISO/TS 11139:2006 Sterilization of health care products— Vocabulary
- 7) ISO 11737-1:2007 Sterilization of medical devices—Microbiological methods—Determination of a population of microorganisms on products
- 8) ISO 11737-2:2009 Sterilization of medical devices—Microbiological methods—Tests of sterility performed in the validation of a sterilization process
- 9) 無菌操作法による無菌医薬品の製造指針. 平成 23 年 4 月 20 日, 監視指導麻薬対策課より事務連絡
- 10) 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.

11) ISO/JIS 規格準拠 ヘルスケア製品の滅菌及び滅菌保証 日本規格協会
(2011) .

別添4

研究成果の刊行に関する一覧表

書籍

著者氏名	論文タイトル名	書籍全体の編集者名	書籍名	出版社名	出版地	出版年	ページ
棚元憲一	食品添加物の法規制と食品安全基本法	日本食品化学会、義平邦利、棚元憲一他編	食品添加物活用ハンドブック	産業調査会、辞典出版センター	日本	2009	17-23
Sasaki T. & Takeda M.	Advanced aseptic processing technologies in Japan	Agalloco J.P and Akers J.	Advanced Aseptic Processing Technologies	Informa	米国	2010	378-390
佐々木次雄	無菌試験法	(財)日本公定書協会	JPTI	じほう	日本	2010	68-73
佐々木次雄	非無菌医薬品の微生物学的品質特性	(財)日本公定書協会	JPTI	じほう	日本	2010	92-95
佐々木次雄	ISO/TC 198 (ヘルスケア製品の滅菌)	ISO	ISO/TC 198	日本規格協会	日本	2010	1649-1658
山口進康、那須正夫	蛍光染色による細菌数の迅速測定法	(財)日本公定書協会	JPTI	じほう	日本	2010	102-105
佐々木次雄	第3節 ワクチン製造所における微生物管理試験	技術情報協会	ワクチンの市場動向と開発・製造実務集	技術情報協会	日本	2012	1-32
佐々木次雄	非無菌医薬品の微生物学的品質特性	技術情報協会	ワクチンの市場動向と開発・製造実務集	技術情報協会	日本	2012	1-25
室井正志、棚元憲一	IRAK-1 による TRAF6 の分解を介した TLR シグナリングの抑制的調節	日本エンドトキシン・自然免疫研究会	エンドトキシン・自然免疫研究	医学図書出版	日本	2011	7-10

雑誌

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Ohnishi T., Muroi M., Tanamoto K.	Inhibitory effects of soluble MD-2 and soluble CD14 on bacterial growth	Microbiol. Immunol.	54	74-80	2010

Sugiyama K., Muroi M., Tanamoto K., Nishijima M., Sugita-Konishi Y.	Deoxynivalenol and nivalenol inhibit lipopolysaccharide-induced nitric oxide production by mouse macrophage cells	Toxicol Lett.	192	150-154	2010
Shioiri T., Muroi M., Hatao F., Nishida M., Ogawa T., Mimura Y., Seto Y., Kaminishi M., Tanamoto K.	Caspase-3 is activated and rapidly released from human umbilical vein endothelial cells in response to lipopolysaccharide	Biochim. Biophys. Acta	1792	1011-1018	2009
Tanamoto K., Muroi M., Nakagawa Y., Shima K., Ichimura K.:	日本薬局方指定菌株の特性と保存管理法に関する研究	Pharm. Regul. Sci.	40	520-524	2009
Kawasaki H, Furusho N, Tatebe C, Kubota H, Yanagi T, Yasukouchi Y, Mori Y, Yamashita Y, Iizuka T, Takahata K, Takahashi J, Sato K, Tanamoto K.	Analysis of hexachlorobenzene in Food Red Nos. 104 (phloxine) and 105 (rose Bengal) by GC-ECD	J. Food. Hyg. Soc. Japan	50	6-9	2009
Tada A, Sugimoto N, Sato K, Akiyama T, Asanoma M, Yun YS, Yamazaki T, Tanamoto K.	Examination of original plant of Jamaica quassia extract, a natural bittering agent, based on composition of the constituents	J. Food. Hyg. Soc. Japan	50	16-21	2009
Kawamura Y, Mutsuga M, Yamauchi T, Ueda S, Tanamoto K.	Migration tests of cadmium and lead from paint film of baby toys	J. Food. Hyg. Soc. Japan	50	93-96	2009
Ito Y., Sugimoto N., Akiyama T., Yamazaki T. & Tanamoto K.	Cepaic acid, a novel xanthylum pigment from the dried outer scales of the yellow onion <i>Allium cepa</i> .	Tetrahedron Lett.	50	4084-4086	2009
田原麻衣子、杉本直樹、末松孝子、有福和紀、斎藤剛、井原俊英、吉田雄一、多田敦子、久保田領志、清水久美子、山崎壮、棚元憲一、中澤裕之、西村哲治	qNMRに基づく有機リン系農薬イソキサチオンオキシソンの品質管理	日本食品化学学会誌	16	28-33	2009
多田敦子、杉本直樹、古庄紀子、石附京子、佐藤恭子、山崎壮、棚元憲一	既存添加物オゾケライトの成分調査	日本食品化学学会誌	16	92-96	2009
Tatebe C.,	Analysis of residual solvent in	Japn. J.	16	78-83	2009

Kawasaki H., Kubota H., Sato K., Tanamoto K. & Kawamura Y.	thickeners by headspace gas chromatography using a standard addition method	Food Chem. Safety			
Mutsuga M, Lee YK, Kawamura Y, Tanamoto K.	Analysis of primary aromatic amines in paper products	Shokuhin Eiseigaku Zasshi	50	160-166	2009
岡本晃典, 山口進康, 馬場貴志, 高木達也, 那須正夫	細菌数測定法における誤差分布の推定	医薬品研究	40	1-8	2009
山口進康, 一條知昭, 永瀬裕康, 馬場貴志, 那須正夫	閉鎖生態系生命維持システム (CELSS) における水の衛生微生物学的安全性評価システムの開発	Space Utiliz, Res.	25	86-89	2009
Takashi Baba, Nobuyasu Yamaguchi, Rie Matsumoto and Masao Nasu	Bacterial population dynamics in a reverse-osmosis water purification system determined by fluorescent staining and PCR-denaturing gradient gel electrophoresis	Microbes Environ.	24	163-167	2009
Nobuyasu Yamaguchi, Yasuo Motoyama, Mami Matsumoto, Tomoaki Ichijo, Hideto, Nagumo, Noboru Kagami, Yoshihiko Tani, Masahiro Satake and Masao Nasu	<i>Staphylococcus epidermidis</i> forms floating micro-colonies in platelet concentrates at the early stage of contamination	J. Health Sci.	55	726-731	2009
Nobuyasu Yamaguchi, Masafumi Ikeda and Masao Nasu	Rapid on-chip flow cytometric detection of <i>Listeria monocytogenes</i> in milk	J. Health Sci.	55	851-856	2009
Nobuyasu Yamaguchi, Makoto Sasada and Masao Nasu	Rapid detection of starved <i>Escherichia coli</i> with respiratory activity in potable water by signal-amplified in situ hybridization following formazan reduction	Microbes Environ.	24	286-290	2009
Nobuyasu Yamaguchi, Hatsuki Hieda and Masao Nasu	Simple and reliable swabbing procedure for monitoring microbes in the international space station	Eco-Engineering	22	27-30	2010
Horino A., Kenri T., Sasaki Y., Okamura N., and Sasaki T.	Identification of a site-specific tyrosine recombinase that mediates promoter inversion of phase-variable <i>mpl</i> lipoprotein genes in <i>Mycoplasma penetrans</i>	Microbiology	155	1241-1249	2009
神谷茂, 蔵田訓, 佐々木次雄, 柳田修, 跡見裕	<i>Helicobacter pylori</i> とマイコプラズマの重複感染	Helicobacter Research	14	33-38	2010

佐々木次雄	国際調和を踏まえた無菌試験法の改正	医薬品研究	40	432-441	2009
Muroi M., Shima K., Nakagawa Y., and Tanamoto K.	Application of matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry for discrimination of <i>Escherichia</i> strains possessing highly conserved ribosomal RNA gene sequences	Biol. Pharm. Bull.	34	430-432	2011
Yoshida, T., Yoshioka, Y., Fujimura, M., Kayamuro, H., Yamashita, K., Higashisaka, K., Nakanishi, R., Morishita, Y., Nabeshi, H., Yamashita, T., Muroi, M., Tanamoto, K., Nagano, K., Abe, Y., Kamada, H., Kawai, Y., Mayumi, T., Itoh, N., Yoshikawa, T., Tsunoda, S., Tsutsumi, Y.	Urban aerosols induce pro-inflammatory cytokine production in macrophages and cause airway inflammation <i>in vivo</i>	Biol. Pharm. Bull.	33	780-783	2010
秋山卓美、佐々木亮、山崎壮、棚元憲一、山形一雄、河村葉子	SDS-PAGE による既存添加物酵素のたんぱく質分離パターン	日本食品化学学会誌	17	88-95	2010
Akiyama T, Hayashi A, Yamazaki T, Tada A, Sugimoto N, Yun YS, Kunugi A, Tanamoto K, Kawamura Y.	Identification methods of terpenoid gum bases using TLC and GC/MS	食品衛生学雑誌	51	264-272	2010
Akiyama T, Yamazaki T, Tanamoto K.	Analysis of thickening polysaccharides by the improved diethyldithioacetal derivatization method	J. Food. Hyg. Soc. Japan	52	40-46	2011
Tanamoto K., Muroi M., Igarashi M., Shima K., Nakagawa Y., Fujiwake H.	日本薬局方指定菌株の特性と保存管理法に関する研究 III	医薬品医療機器レギュラトリーサイエンス	41	890-894	2010
Tomoaki Ichijo, Yoko Izumi, Nobuyasu Yamaguchi and Masao Nasu	Rapid enumeration of respiratory active mycobacteria with fluorescent double staining	J. Microbiol. Method	82	327-329	2010
Sasaki T.	Compedial Requirements for	PDA J. GMP	11	49-55	2010

	Detection of Mycoplasma Contamination in Cell Cultures	& Validation			
Muroi M, Tanamoto K.	IRAK-1-mediated negative regulation of Toll-like receptor signaling through proteasome-dependent downregulation of TRAF6	Biochim. Biophys. Acta	1823	255-263	2012
Nakamura K, Ohtsuki T, Mori, Hoshino H, Hoque A, Oue A, Kano F, Sakagami H, Tanamoto K, Ushijima H, Kawasaki N, Akiyama H, Ogawa H.	Novel anti-HIV-1 activity produced by conjugating unsulfated dextran with polyL-lysine	Antiviral Res.	94	89-97	2012
Nobuyasu Yamaguchi, Masashi Torii, Yuko Uebayashi, and Masao Nasu	Rapid, semiautomated quantification of bacterial cells in freshwater by using a microfluidic device for on-chip staining and counting	Appl. Environ. Microbiol.	77	1536-1539	2011
Nobuyasu Yamaguchi, Kouichi Tanaka, Takashi Baba, Norihide Amano and Masao Nasu	Rapid enumeration of low numbers of moulds in tea based drinks using an automated system	Int. J. Food Microbiol.	145	365-369	2011
Nobuyasu Yamaguchi, Takashi Baba, Katsuji Tani, and Masao Nasu	Inactivation of bacteria in freshwater by momentary decompression following high pressurization	Microbes and Environments	26	92-94	2011
山口進康, 稗田はつき, 一條知昭, 那須正夫	国際宇宙ステーションから回収した機器における細菌の現存量	第27回宇宙利用シンポジウム 発表論文集		221-223	2010
山口進康, 那須正夫	微生物迅速検出法の現状と応用 (総説)	ソフト・ドリンク技術資料	165	19-36	2011
Shigeo Kojima, Satoshi Okada, Tsuguo Sasaki, Tetsuya Oba, Akihiko Fujise, Kumiko Kusuyama	Reliability Study for Membrane-Processed Water for Injection (WFI)	PDA J. of GMP and Validation in Japan	13	47-55	2011

