

- 2) 消毒用エタノール（70%）を含ませた不織布で内部及び外部を清拭する。（汚れがひどい場合は2回行う）
- 3) 内部が乾燥するように蓋を開けておく。
- 4) 使用済みの不織布は感染性廃棄物として処理する。

#### (2) 交叉汚染防止

遠心を行うチューブや遠心管等の蓋がしっかりと閉まっているかを確認し、遠心作業を行う。また、同日に試験が重なり、異なる細胞を使用する場合は作業を行う時間を分け、交叉汚染防止に努めている。

#### 4. CO<sub>2</sub> インキュベータ

##### (1) 作業員による日常及び定期清掃・消毒

作業後作業員による文書化された手順に従い下記の如く日常清掃・消毒を行っている。今回（栄養成分の違い）種々の培地（DMEM等）を用いて模擬操作を実施し、インキュベータ内で培養した。作業としては、

- 1) CO<sub>2</sub> インキュベータ開閉時に内部を確認し、加湿用バット以外の場所に水滴等を確認した場合は水滴を不織布で拭き取り、その後消毒用エタノール（70%）を含ませた不織布で外部を清拭する。
- 2) 半年ごとにCO<sub>2</sub> インキュベータ内棚、ネジを含め取り外しが可能なものは全て取り外す。取り外した内装は消毒用エタノール（70%）で清拭後、局法収載滅菌処理方法

である乾熱滅菌法にて滅菌する。

内装を取り外した後のCO<sub>2</sub> インキュベータは内部を確認し、水滴等を不織布で拭き取った後に滅菌蒸留水を含ませた不織布にて拭き上げる。拭き上げる際にはCO<sub>2</sub> インキュベータ内部のみではなく、内扉及び外扉等についても実施する。蒸留水で拭き上げた後、消毒用エタノール（70%）を含ませた不織布にて清拭する。

- 3) CO<sub>2</sub> インキュベータ下部に設置されているCO<sub>2</sub> インキュベータ用加湿バットの加湿用水は滅菌蒸留水を使用しており、1か月ごとに交換している。交換の際にはバット内の加湿用水を廃棄し、残っているバットの水分を拭き取った後、滅菌蒸留水で浸した不織布で拭き、消毒用エタノール（70%）を含ませた不織布にて清拭する。
- 4) 使用しているCO<sub>2</sub> インキュベータはドアの開閉時に一定時間、加湿用水に殺菌灯が照射される形式のものを使用している。殺菌灯の照射は加湿用水のみに照射され、培養中の細胞への影響はない。
- 5) 使用済みの不織布は感染性廃棄物として処理する。

##### (2) 定期清掃・消毒

清掃・消毒の専門業者によるCO<sub>2</sub> インキュベータの清掃・消毒作業を年に1回に実施する。清掃・消毒は内部のみだけでなく、外装及び内装についても実施している。消毒剤として、6%次亜塩素酸ナトリウム液を0.1%に希釈して

使用し、その後 75%エタノールで清拭・残留薬剤除去を実施している。

### (3) 環境モニタリング方法

定期清掃・消毒時に専門業者が、日常清掃・消毒作業は品質管理試験室の作業員自らが、作業前後に施設の環境モニタリングを実施している。

環境モニタリングは、第十六改正日本薬局方 参考情報 G4「無菌医薬品製造区域の環境モニタリング法」に従って培地を選定後（一般細菌：SCD 寒天培地、真菌：CP 加ポテトデキストロース寒天培地）、各微生物検査（浮遊菌、表面付着菌、落下菌）を実施している。

### (4) 環境モニタリング結果

年に 1 回の清掃・消毒の専門業者による CO<sub>2</sub> インキュベータの清掃・消毒作業、及び 2 ヶ月に 1 回の施設の清掃・消毒作業前後の環境モニタリングにて、施設の清浄度に応じた日本薬局方の環境微生物の許容基準に適合しており、許容基準値以上の菌は認められなかった。また、加湿用水にかび等も発生しておらず、培養細胞のコンタミネーションも認められていなかった。

### (5) 交叉汚染防止

CO<sub>2</sub> インキュベータでの交叉汚染を防止するために、CO<sub>2</sub> インキュベータを数台設置し、培養目的に応じて使用する CO<sub>2</sub> インキュベータを区別しており、物理的な隔離処置を施している。

## 【考察】

CPC のような解放系の室内での交叉汚染防止に、安全キャビネット、遠心機及び CO<sub>2</sub> インキュベータの清掃・消毒作業の

適格性を検討したところ、現在実施している方法において、環境微生物の許容基準値に不適合な菌の増殖は認められず、交叉汚染リスクを低減することができていると考えられた。

今後より清浄度の維持が可能で、効果的な交叉汚染防止を可能とするため、以下の方法を提言する。

### (1) 安全キャビネット

1) 作業終了時の消毒作業に加え、年に 1 回、定期清掃は、次亜塩素酸ナトリウム 6% を 0.1% に希釈して消毒作業を行い、70%エタノールで清拭・残留薬剤除去を行うことにより、作業領域の清浄度の維持が可能である。

2) 試験実施時（平均週 1 回）に 1 回の施設の環境モニタリングを実施することにより、汚染の早期発見、対応が可能である。

3) 安全キャビネット内の清浄度の維持に、安全キャビネット内の表面付着菌のモニタリングを行うが、コンタクトプレート法では培地成分が付着する可能性がある。安全キャビネット内の表面付着菌のモニタリングは、表面付着菌の有無をさらに調べるため清拭できない部位を中心にスワブ法で実施することが望ましい。

### (2) 遠心機

1) ローター等の取り外し可能な部品は、滅菌処理が可能な材質のものを選択する。

- 2) 遠心機の消毒手順に係る効果及び頻度を、環境モニタリングプログラムを通して確立する。
- 3) 環境モニタリングによる測定ポイント及び測定箇所は、リスクアセスメントに基づいて作成する。
- 4) 遠心機内部は入り組んでいるため、表面付着菌のモニタリング方法はスワブ法を採用する。

### (3) CO<sub>2</sub> インキュベータ

作業員及び清掃・消毒の専門業者による日常清掃・消毒作業が適切に行われていたが、今後は下記の事項を検討実施することにより、インキュベータ内の清浄度の維持が可能であり、汚染の早期発見、対応が可能となる。

- 1) 清掃・消毒の専門業者による CO<sub>2</sub> インキュベータの清掃・消毒作業を年に 1 回に実施する。使用薬剤は次亜塩素酸ナトリウム 6% を 0.1% に希釈して使用し、75% エタノールで清拭・残留薬剤を除去する。
- 2) 半年ごとに CO<sub>2</sub> インキュベータ内棚、ネジを含め取り外しが可能なものは全て外し、局法収載滅菌処理方法である乾熱滅菌法にて滅菌する。その際、内部及び外装についても清掃・消毒作業を実施する。
- 3) 環境モニタリングによる測定ポイ

ント及び測定箇所は、リスクアセスメントに基づいて作成し、消毒・滅菌手順に係る効果及び頻度を確立する。

- 4) 加湿用水には滅菌蒸留水を使用し、定期的に交換及び殺菌灯の照射などの滅菌処理を行うことにより、インキュベータ内の汚染リスクを低減する。
- 5) 表面付着菌のモニタリング方法は清掃・消毒専門業者と相談しながらスワブ法も検討する。

安全キャビネット、CO<sub>2</sub> インキュベータ、遠心機などの消毒・滅菌は、交叉汚染を防止する為にも、菌の検出がないということが前提であり、必須である。現在我々が行っている消毒方法で問題は生じていないが、もし菌が検出された場合は、菌を同定し専門業者による消毒・滅菌とその後のモニタリングを実施し、無菌を確認したのち、作業を再開する。その後も同様の菌などが検出した場合は、対策を講じるが、リスクの削減に要する費用(消毒作業の繰り返し)に比べて削減効果が少ない場合によっては機器の破棄を含めて検討する。これらの方策はあらかじめ規定した清掃手順書に従って実施する。

以上

## 6. autoclave及び乾熱滅菌を用いた滅菌法のvalidationのための滅菌操作実施と解析

担当責任者：郷 正博

公益財団法人 先端医療振興財団 細胞療法研究開発センター

### 研究要旨

先端医療振興財団における再生医療等製品の製造施設では、滅菌として autoclave（オートクレーブ）滅菌と乾熱滅菌を行っている。生物等汚染リスク低減のためには、オートクレーブ及び乾熱滅菌を用いた滅菌法が有効であるが、滅菌の実作業を行った結果を下記に提言する。

1. オートクレーブ滅菌は、簡易滅菌パウチ、もしくは滅菌袋で包装することによって被滅菌物の滅菌を行うべきである。また、廃液ボトルは蓋を開けた状態で簡易滅菌パウチにより包装し滅菌を行うことが適切と考えられる。
2. 乾熱滅菌は、庫内の位置や容器の形態にかかわらず滅菌され、想定されている滅菌条件において滅菌が完全であった。

以上より、乾熱滅菌の信頼性は高いが、オートクレーブ滅菌は微細な条件の違いによって、滅菌が不完全であることが確認された。オートクレーブ滅菌においては、積載パターンを含めて、滅菌条件の詳細を常に意識する必要がある。また、機器バリデーション実施等、機器管理も重要である。

### 【目的】

生物等汚染リスク低減のためには、オートクレーブ滅菌及び乾熱滅菌を用いた滅菌法が有効であるが、実際どの程度滅菌出来ているのか、滅菌バリデーションを行う必要がある。Biological indicator（バイオロジカルインジケーター）等を用いた、滅菌の実作業を行い、結果を提言にまとめる。

### 【内容】

先端医療振興財団が実施中の医師主導治験における治験製品製造施設では、滅菌としてオートクレーブ滅菌と乾熱滅菌を

行っている。再生医療製品の製造工程に使用する資材は、一般的には消耗品であるため、施設における滅菌の重要性は高くない。しかし、すべての資材を消耗品にすることが可能とは限らないため、滅菌及び滅菌バリデーションは重要である。エンドトキシンを不活化できることから、可能な限り乾熱滅菌することが望ましいが、材質によっては不可能な物も多い。そのため、オートクレーブ滅菌と乾熱滅菌を使い分ける必要がある。以下に、当財団が実施した、それぞれの滅菌バリデーションについて簡単にまとめた。

## 1. オートクレーブ滅菌のバリデーション

### (1) 目的

121℃、20 分の条件でオートクレーブを作動させた場合に、被滅菌物が適正に滅菌されるための、被滅菌物の包装方法とチャンバー内の場所等の条件を検証すること。

### (2) 機器

高圧蒸気（オートクレーブ）滅菌器 平山製作所 HV-50

### (3) 実施方法

以下の条件における、滅菌の効果を確認する。

条件：

#### 1) 被滅菌物の包装方法

- ・（蓋のある容器の場合は）蓋を閉じる、または緩めて閉じ、容器全体は包装しない。
- ・滅菌用の袋（簡易滅菌パウチ等）で包装する。
- ・アルミホイルで包装する。

#### 2) オートクレーブチャンバー位置

- ・上
- ・下

バイオロジカルインジケータを被滅菌物内に設置し、121℃、20 分の条件で滅菌を行う。滅菌後、バイオロジカルインジケータを 57.5℃のインキュベータで 24 時間培養する。また、陽性コントロールとして、未滅菌のバイオロジカルインジケータを同じインキュベータで培養する。

使用したバイオロジカルインジケータ：

ACE test / 福沢商事 / H3723 / Lot:130503 / Exp.2014.11.03

### (4) 評価項目および基準

- 1) バイオロジカルインジケータに含まれている培地の色調変化により、各条件の滅菌効果を確認する。滅菌が完全であれば、培地の色調は紫から変化しない。滅菌が不完全であれば、指標菌が繁殖し、培地が酸性になり紫から黄色へ変化する。
- 2) 陽性コントロールの培地の色調が紫から黄色に変化することを確認する。

(5) 結果および評価

1) 1回目

1回目は①から⑥までの条件を検討した。各条件におけるバイオロジ

カルインジケーターの色調を表 1 に示す(紫:滅菌適合、黄:滅菌不適合)。

表 1 オートクレーブ滅菌下の各条件と結果 (1回目)

条件 No.	被滅菌物 (対象物) の種類	被滅菌物の包装方法	チャンバー内設置場所	結果
①	ステン角型ポット	蓋を閉める	上	黄
②	/	簡易滅菌パウチ	下	紫
③		簡易滅菌パウチ	上	紫
④	廃液ボトル	緩めた状態で蓋をする	上	黄
⑤	採血管立て	簡易滅菌パウチ	上	紫
⑥	陽性コントロールのため滅菌なし			黄

⑥の結果より、使用したバイオインジケーターが有効であることが示され、②、③の結果よりチャンバー

上下どちらに設置しても完全に滅菌されていることが示された。図 1 に実施時の写真を示した。


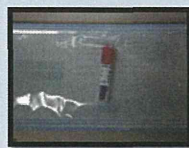



①ステン角型ポット内	②オートクレーブ下段	③オートクレーブ上段	④廃液ボトル内	⑤簡易滅菌パウチ内 (採血管立て入り)
				
滅菌 -	+	+	-	+

図 1 オートクレーブ滅菌後のインジケーター写真

以上の結果、ステン角型ポット内と廃液ボトル内は滅菌が不完全であ

ったため、以下の⑦から⑬までの条件で2回目の検討を行った。

2) 2回目

表2 オートクレーブ滅菌下の各条件と結果 (2回目)

条件 No.	被滅菌物 (対象物) の種類	被滅菌物の包装方法	チャンバー内設置場所	結果
⑦	エアサンプラー蓋	アルミホイルで覆う	上	紫
⑧	エアサンプラー蓋	アルミホイルで覆いステン角型ポットに入れ蓋を閉める	上	黄
⑨	ステン角型ポット	蓋を閉める	上	黄
⑩	廃液ボトル	蓋は閉めずアルミホイルで口を覆う	上	黄
⑪	廃液ボトル	蓋を開けた状態で簡易滅菌パウチへ入れる	上	紫
⑫	メガネ	滅菌袋	上	紫
⑬	陽性コントロールのため滅菌なし			黄

2回目の検討より、ステン型ポット内に入れ蓋を閉めた状態で滅菌を行ったものと廃液ボトルの蓋を閉じた状態で滅菌を行ったものは、1回目の検討同様、滅菌が不完全であることが示された。

(6) 結論

蓋を閉めた状態のステン角型ポット内や、アルミホイル等で口を塞いだ廃液ボトル内は滅菌が不完全であった。すなわち、ステン角型ポット内に被滅菌物を入れ滅菌を行うことは、滅菌条件として適切でないことが結論された。したがって、簡易滅菌パウチ、もしくは滅菌袋で包装することによって被滅菌物の滅菌を行うべきである。また、廃液ボトルは蓋を開けた状態で簡易滅菌パウチにより包装し滅菌を行うことが適切と考えられる。

2. 乾熱滅菌のバリデーション

(1) 目的

250°C、30分の条件で乾熱滅菌器を稼働させた場合、包装方法、庫内の位置に関わらず、被滅菌物が滅菌されているかどうかを検証する。

(2) 機器

乾熱滅菌器 東京理化器械 NDS-420

(3) 実施方法

以下の条件における、滅菌の効果を確認する。

条件：

- 1) 乾熱滅菌器、庫内の位置
  - ・上段 (左奥、右奥、左手前、右手前)
  - ・下段 (左奥、右奥、左手前、右手前)
- 2) 被滅菌物の包装方法
  - ・(蓋のある容器の場合は)蓋をし、容器全体を包装しない。
  - ・ガラス器具の口はアルミホイルで覆う。

表 3 乾熱滅菌下の各条件と結果

条件 No.	被滅菌物 (対象物) の種類	被滅菌物の包装方法	庫内設置場所	結果
①	(バイオロジカルインジケーターのみ)	アルミホイルで覆う	上段 左奥	—
②	同上	同上	上段 右奥	—
③	同上	同上	上段 左手前	—
④	同上	同上	上段 右手前	—
⑤	同上	同上	下段 左奥	—
⑥	同上	同上	下段 右奥	—
⑦	同上	同上	下段 左手前	—
⑧	同上	同上	下段 右手前	—
⑨	ステン型ポット	蓋を閉める	下段	—
⑩	ビーカー	口をアルミホイルで覆う	上段	—
⑪	メスシリンダー	同上	上段	—
⑫	陽性コントロールのため滅菌なし			+

バイオロジカルインジケーターのアンプレを被滅菌物内に設置し、250℃、30分の条件で滅菌を行う。尚、庫内の位置による滅菌効果を確認する目的で、バイオロジカルインジケーターのアンプレを準備し、滅菌の際はバイオロジカルインジケーターのアンプレをアルミホイルで覆った状態にする。

滅菌後、バイオロジカルインジケーターのアンプレを割り、芽胞菌の付いたガラス線維ろ紙を取り出し、寒天培地(ソイビーン・カゼイン・ダイジェストブロス培地)に接種し、インキュベータ35.0℃設定で7日間培養を行う。また、陽性コントロールとして、未滅菌のバイオロジカルインジケーターから取り出した芽胞菌の付いたガラス線維ろ紙を、同様にインキュベータで培養する。

使用したバイオロジカルインジケーター：

ACE test / 福沢商事 / H6302 / Lot:130207 / Exp.2014.08.07

(4) 評価項目および基準

- 1) ガラス線維ろ紙の周辺に芽胞菌由来コロニーが検出されなければ、滅菌は完全に行われているとみなす。滅菌が不完全であればコロニーは検出される。
- 2) 陽性コントロールを接種した培地からコロニーが検出される。

(5) 結果および評価

培地における菌増殖の有無(+)、(-)を表3に示した。

(+ : 菌増殖有 → 滅菌不適合、- : 菌増殖無 → 滅菌適合)

⑫の結果より使用したバイオロジカルインジケーターが有効であることが示され、①から⑧の結果より庫内上下段、場所に関わらず滅菌されていることが示された。またステン角型ポット内、ビ



ーカー内、メスシリンダー内においても検討時の包装方法で滅菌されていることが示された。

#### (6) 結論

庫内上下段、場所に関わらず滅菌された。ステン角型ポット内は蓋を閉めた状態でも中は滅菌され、ビーカー、メスシリンダーにおいても口をアルミホイルで覆っていても中は滅菌されていた。したがって、想定されている滅菌条件において滅菌が完全であることが結論され

た。

以上より、乾熱滅菌の信頼性は高いが、オートクレーブ滅菌は微細な条件の違いによって、滅菌が不完全であることが確認された。オートクレーブ滅菌においては、積載パターンを含めて、滅菌条件の詳細を常に意識する必要がある。また、機器バリデーション実施等、機器管理も重要である。

以上

## 7. 適切なガウニングの材料、手順、クリーニング方法提示

担当責任者：鹿村 真之

担当協力者：笹尾 真理

公益財団法人 先端医療振興財団 細胞療法研究開発センター

### 研究要旨

再生医療等製品を製造する細胞培養センター（CPC：Cell Processing Center）には、第十六改正日本薬局方に示されている「重要区域（グレードA）」「重要区域に隣接する清浄区域（グレードB）」及び「他の清浄区域（グレードC, D）」にて製造するため、作業員の靴を含む専用の作業衣等の着用及びクリーニングにも特別な配慮が必要である。CPC 清浄度区域の環境を汚染しないため、作業員（及びCPCに立入る者すべて）は立ち居振る舞い、ガウニングに特別な配慮が必要となる。以下に、適切と思われるガウニングの材料、手順、クリーニング方法の一例を提示する。当財団では手順書によりガウニングの手順を定め、表面付着菌等による確認を実施している。

各清浄度を維持管理し最終製品への交叉汚染を防止するためには、職員により持ち込まれた細菌が、製造工程や最終製品を汚染することのないように、ガウニングは適切な教育プログラムによって運用されることが非常に重要である。そして、清浄区域への入室の承認を受けた職員のスキルの維持のためにも、毎年正しい方法でガウニングが行われているかを再評価することが大事である。

### 【目的】

再生医療等製品を製造するCPCには、第十六改正日本薬局方に示されている「重要区域（グレードA）」「重要区域に隣接する清浄区域（グレードB）」及び「他の清浄区域（グレードC, D）」にて製造するため、作業員の靴を含む専用の作業衣等の着用及びクリーニングにも特別な配慮が必要である。当財団では手順書にてガウニングの手順を定め、表面付着菌等による確認を実施している。

また、GCTP 省令の第十一条三十項には下記のような記載がある。

- イ 製造作業に従事する職員に、消毒された作業衣、作業用のはき物、作業帽、作業マスク及び作業手袋を着用させること
- ロ 製造作業に従事する職員が清浄度管理区域又は無菌操作等区域へ立入る際には、当該区域の管理の程度に応じて、更衣等を適切に行わせること

このように、CPCの環境を汚染しないため、作業員（及びCPCに立入る者すべて）は立ち居振る舞い、ガウニングに特別な配慮が必要となる。以下に、適切と思わ

れるガウニングの材料、手順、クリーニング方法の一例を提示する。

## 【内容】

### 1. ガウニング材料

専用の更衣等とその品質は作業区域のグレードに応じて決められるべきで、ガウン等はそれ自体が原因となって環境や製品を汚染してはならない。そのため作業性や防塵性能に優れたものを選定する必要がある。

ガウニング材料の選定には以下の事項に留意する。

- (1) 一般環境用シューズ：清潔さを保つため洗浄、クリーニングに耐えられる素材を選定する。
- (2) インナーウェア：クリーニングに耐えられるもの。体毛等の脱落を防止するため裾が絞られているもの、2重になっているもの等が望ましい。
- (3) ヘアネット：ヘアネットはすべての髪および耳を完全に覆うものとする。
- (4) 滅菌衣：できるだけ使い捨てが望ましい。リユースの場合、滅菌方法のバリデーションを必要とする。
- (5) 手袋：扱う予定の殺菌剤その他の化学薬品に耐性のあるものを選定すること。防塵性を考慮し、パウダーフリーのものとする。

### 2. ガウニング手順

当財団におけるガウニングは、全ての段階で、作業衣等に汚れや破れ等がないかを手順に従って確認している。

なお、これらの更衣手順はイラストや写真の掲示により、作業員他 CPC に出入り

する全ての者が正しい更衣を行えるよう配慮することが望ましい。

#### (1) 一般環境：更衣レベル 1

専用区域に入る前に、専用の靴に履きかえる。さらにロッカーで清潔なインナーウェア、ヘアネット等を着用する。必要であればあご髭カバーの使用も考慮すること。衣服の異物は接着性ローラーを使って除去する。

#### (2) グレード D：更衣レベル 2

グレード D に入る前に、滅菌衣、手袋、フェースマスクと清浄度管理区域専用靴を着用する。(オーバーシューズも可)

#### (3) グレード C、B：更衣レベル 3

(2)に加え、滅菌済みの手袋(2重手袋)、フード付き無塵衣(オーバーガウン)、滅菌あるいは消毒済みの靴に履きかえるか靴カバーとゴーグルを着用し、体表面の露出を極力抑えるものとする。フードの裾、上着の裾、ズボンの裾、袖はそれぞれ無塵衣、靴、手袋等に入れること。ゴーグルを使用しない場合でも飛沫を避けるためフェースマスクは必須とする。安全キャビネットで作業する場合はアームカバーを着用するものとする。

これらは原則として入退室の都度、交換する。

脱衣の前に、作業に用いた無塵衣等の微生物汚染に関する検査を行う。

#### (4) 脱衣

脱衣室で全ての使い捨ての着衣等を袋に入れ、まとめて感染性廃棄物として産廃業者にて処理する。脱衣の際にガウンの外側に付着した感染性物質

が脱衣室内、作業者を汚染しないよう配慮する。廃棄物は必要に応じ、施設から搬出する前にオートクレーブ等の滅菌処理を行う。滅菌して再利用するものがある場合はオートクレーブバッグから回収し、持ち出す。靴を交換し、使用後の靴は UV 付きのロッカーで殺菌する。

### 3. ガウニングの認定

作業員を含む CPC に入退室する全ての関係職員に対して、無菌操作区域に持ち込まれる汚染を最小限にとどめるために、適切な更衣手順等について教育訓練を実施することが重要である。具体的には微生物の基礎知識、無菌操作、搬出入、入退室、クリーニング等の基礎教育が必要である。また、指導者がついてガウニング手順の訓練を行なったのち、訓練の実効性について、浮遊微粒子測定及び微生物学的方法により確認することが望ましい。この確認の結果は職員本人に知らせることも必要である。

実際に我々の行っているガウニングの教育及び認定を下記に示す。

- (1) 衛生管理、微生物学等の必要な知識の取得
- (2) 資格のあるトレーナーの監督の下でグレード D へのアクセスの評価
- (3) グレード B へのアクセスの許可は、トレーナーの監督の下で数日間連続して着衣ののち、指、手首、腕、マスク、肩、首回り、胸の表面付着菌をサ

ンプルングして検出される菌が合計で規定された数以下である。

### 4. クリーニング

CPC 中の無菌操作等区域では原則としてガウン等は入室の都度交換しており、一般環境及びグレード D、C の管理区域で使用する作業衣は外部のクリーニング業者を利用している。クリーニング業者の外部委託に関しては産廃業者と同様に、訪問監査にてサービスの品質保証体制及び実施状況について確認し、適切に実施し得る能力を有し、それを恒常的に維持、向上できるマネジメントシステムが社内に構築された企業であるかの評価を行った上で業務を委託することとしている。

#### 【結論及び考察】

再生医療等製品を製造する CPC は、薬局方という「重要区域 (グレード A)」「重要区域に隣接する清浄区域 (グレード B)」及び「他の清浄区域 (グレード C, D)」を含み、その清浄度を維持管理し最終製品への交叉汚染を防止しなければならない。ガウニングは、職員により持ち込まれた細菌が、製造工程や最終製品を汚染することのないように、適切な教育プログラムによって運用されることが非常に重要である。そして、清浄区域への入室の承認を受けた職員のスキルの維持のためにも、毎年正しい方法でガウニングが行われているかを再評価することが大事である。

以上

## 8. 作業員の教育メニューの提示

担当責任者：鹿村 真之

担当協力者：山我 美佳

公益財団法人 先端医療振興財団 細胞療法研究開発センター

### 研究要旨

「GCTP 省令」に、製造業者等は、製造管理及び品質管理を適正かつ円滑に実施するため、トップマネジメントは職員を教育訓練し、経験を積ませる義務があると明記されており、PIC/s GMP でも強調されている。

職員に対し教育訓練を実施し経験を積ませることは、製品の安全及び品質の維持向上に直接影響するものであり、特に細胞培養センター（CPC：Cell Processing Center）のような清浄度に応じた環境を維持した中での作業では、職員は規定された清浄度区域の環境を破らないような配慮のもと作業を行い、汚染を防止しなければならない。清浄度区域に応じた CPC への入退室から始まり、一つ一つの作業を SOP で取り決め、培養技術および分析技術を標準化し、職員の訓練を継続して行うことが大事である。

当財団では、教育訓練のシステムは、トップマネジメントの品質宣言、教育訓練責任者の指名、職員の作業内容・能力に応じた教育訓練の年間計画の策定と承認、個々の教育訓練及び各職員の教育が年間計画通りに進捗しているかを教育担当者が評価し、職員の知識や経験が向上するように努めている。

品質試験に関わる職員を今回例示として挙げた。品質試験特有の教育と実地訓練（無菌試験、エンドトキシン試験等）に関して教育担当者の監視下のもと実作業を行い、合格した者に資格を与えている。

### 【目的】

「再生医療等製品の製造管理及び品質管理の基準に関する省令（平成 26 年厚生労働省令第 93 号）」（以下「GCTP 省令（Good Cell/Tissue Practice）」という。）に、製造業者等は、製造管理及び品質管理を適正かつ円滑に実施するため、トップマネジメントは職員を教育訓練し、経験を積ませる義務があると明記されており、PIC/s GMP でも強調されている。

職員に対し教育訓練を実施し経験を積ませることは、製品の安全及び品質の維持向上に直接影響するものであり、これはトップマネジメントの重要なタスクである。

この章では、当財団で実施している教育システムを通し、より適切な教育プログラムについて提示する。

### 【内容】

再生医療等製品の製造および管理をす

るにあたり、実作業を行う職員に対し、適切な教育・訓練をトップマネジメントの監督のもと実行されなければならないということは、各種の GMP および ICH 等に明記されている。

GCTP 省令第 21 条(教育訓練)には、①教育訓練の計画的な実施、②衛生管理、微生物学、医学、獣医学等の教育訓練の実施、③微生物等による汚染防止措置に関する教育訓練の実施、と実施に関する製造管理者への文書報告と、記録の保管を義務づけている。

### 1. 教育訓練に対する基本的考え方

当財団は教育訓練プログラムを構築するにあたり、下記の考え方を基本としている。

- (1) 教育訓練に関する手順を製造所ごとに作成する。
- (2) 職員の健康管理に配慮する。
- (3) 職員の教育訓練を通して業務の経験を積み、失敗のない製造作業及び適切な品質試験を行う。
- (4) 職員は業務に関する基礎知識や周辺知識を得る。
- (5) 職員の製造工程や品質評価に影響のある健康状態又は不適切な服装、飲食物の持ち込みをしないように文書化して各人の理解の差を少なくする。
- (6) 適切な教育プログラムの実現によって、後に続く逸脱や回収などが事前に回避でき、製品の品質の向上に大きく貢献できる。
- (7) さらに職員各々が、適切な作業を適切な判断にて対処することが可能と

なる。

### 2. 再生医療等製品を製造する環境での教育訓練

CPC のような清浄度に応じた環境を維持した中での作業では、職員は規定された清浄度区域の環境を破らないような配慮のもと作業を行い、汚染を防止しなければならない。清浄度区域に応じた CPC への入退室から始まり、一つ一つの作業を SOP で取り決め、培養技術および分析技術を標準化し、職員の訓練を継続して行うことが大事である。

作業者に対して実施資格を与えることも一つの解決策である。資格要件の中には、培養技術だけでなく、適切な入退室及びガウニングができることも含まれ、職員が装着した作業着の表面付着菌検査等の結果を評価項目に加えることも推奨される。

教育訓練のシステムは、まずトップマネジメントが品質宣言を行うことから始まり、組織の教育訓練責任者を指名し、職員の作業内容、能力に応じた教育訓練の年間計画を立て QA の承認を受ける。個々の教育訓練及び各職員の教育が年間計画通りに進捗しているかを教育担当者が評価し、職員の知識や経験が向上するように努めなければならない。

### 3. 当財団で行っている教育訓練

当財団で行っている教育訓練を、品質試験に関わる職員を例にとって具体的に述べる。

- (1) 教育責任者による年間計画の作成と承認：QA の中で教育責任者を選任し、教育年間計画を立てる。全員

が対象となる教育（衛生管理、法規制、微生物・医学、文書管理、手順書の体系生物学など）と、製造、品質試験特有の教育を個々の能力に応じて作成し QA マネージャーの承認を受ける。

- (2) 新人教育（講義）：(1)の教育計画を基に、初期教育として、清浄度区域、入退室手順、微生物汚染の防止などの衛生管理、品質体系及び文書体系など、作業を適正かつ円滑に実施するための基本事項について講義を行う。
- (3) 品質試験特有の教育と実地訓練（無菌試験、エンドトキシン試験等）：
  - 1) 基本的事項の講義後、実際に行う品質管理試験についての講義を行う。
  - 2) 講義後に実作業の見学を行う。  
実作業の見学は受講者が作業を理解するまで行い、教育担当者が合否の判断を行う。
- (4) (3) の合格者は、教育担当者の監視下のもと実作業を行う。
  - 1) 各試験には試験成立条件（陽性対照や陰性対照の反応の有無等）が設定されており、試験成立条件全ての成立及び実作業動作に問題がなければ合格とする。

(5) 教育訓練に合格した者は品質試験の実施資格が与えられ、以後、品質試験の実施及び記録書の確認者としての作業が可能となる。

(6) 教育責任者による教育訓練の進捗状況を行い、年末に達成度の評価と翌年の教育計画を立てる。

#### 【結論及び考察】

再生医療等製品の製造および品質管理をするにあたり、当財団の教育訓練プログラム構築の考え方、CPC のような特殊な環境における作業での教育訓練、及び品質試験に関わる職員の教育訓練の実例を提示した。

GMP では、職員に教育、訓練、経験蓄積を行い、その記録を残し、教育訓練効果を評価し、個人のレベル認定をトップダウンにより実施することが教育訓練であると示している。今後も、個人の能力と適性を適切に把握し評価することによって、効果的な教育訓練システムを機能的に運用することによって、職員のスキルが向上し、製品の安全と品質の維持向上に大きく寄与することが可能となると考えている。

以上

## 9. CPC等の閉鎖環境における労働が身体・精神に及ぼす影響を調査するための問診

担当責任者：橋本 尚子

公益財団法人 先端医療振興財団 細胞療法研究開発センター

### 研究要旨

無菌性製品の品質を高め、効率的な工程管理を行うため、製品の品質に影響する要因のうち、作業側側の要因を抽出する目的で、CPC環境が作業者にどのような負荷があるかをアンケート調査した。(調査期間：2015/2/1-2/28、対象：細胞製造または品質試験に従事した7名、細胞処理室及びQC室での作業後に①職業性ストレス簡易調査票、及びCPC作業環境に特化した質問を加えた②メンタルヘルス改善意識調査票によるアンケートを実施し、CPC作業環境における職業性ストレスについて解析した。)

### 結果及び考察

- (1) 全ての作業員が 何らかの職業性ストレス要因を有していたが 重篤なストレスにさらされている者は見られなかった。
- (2) ストレス要因としては 作業の量、質が最も頻度が高く、細胞製品製造の特殊性が示唆された。
- (3) CPC環境は、現在の状況で概ね良好であったが、空間の狭さ、バックアップ人員不足などが改善すべき項目として挙げられた。また室温についてもコストの面から今後改善策が必要と考えられた。
- (4) 調査期間中の作業スケジュールの問題から、調査対象人数が少なかったため、さらに多くの人数での調査が必要と考えられた。
- (5) 職場環境の向上に、リスクアセスメントを行い、潜在リスクを特定し提言していくことが重要である。

### 【目的】

2014年11月から施行された「医薬品医療機器等法」により、再生医療等製品においては、条件及び期限付承認の項目が追加された。また、「再生医療等安全確保法」により、医療機関から企業への、細胞製品の製造・加工の外部委託が可能となった。この新体制は世界中の再生医療に関わる

企業の注目を集め、日本における再生医療製品等の開発、製造は今後飛躍的に増加することが予想される。しかし、上記の法の施行によって 細胞製品開発製造における安全性保証に対する要求が低くなったわけではなく、逆にグローバル企業の参入により、PIC/S GMP等に対応する高い品質保証システムが求められている。今回



我々は、無菌性製品の品質を高め、効率的な工程管理を行うため、製品の品質に影響する要因のうち、作業側側の要因を抽出する目的で、CPC環境が作業者にどのような負荷を与えているかについてアンケート調査を行った。

【方法】

先端医療振興財団 細胞療法開発センター内のCPC, QC室において、調査期間(2015/02/1~2015/02/28)内に細胞の製造または品質検査に従事した技術者7名を対象とし、CPC (Cell processing room, QC room) 内での作業後に ①職業性ス

トレス簡易調査票(添付資料1;平成14~16年度厚労科研費補助金労働安全衛生総合研究報告書より引用)ならびに、CPC作業環境に特化した質問を加えた②メンタルヘルス改善意識調査票(添付資料2;産業医科大学高度研究、MIRRORを用いた職場改善の取り組みから引用、一部改変)の2種類のアンケートに答えてもらい、CPC作業環境における職業性ストレスについて解析した。

なお、本研究は先端医療センター内倫理委員会にて承認を得ており、対象者に対し説明を行い文書によるインフォームド・コンセントを得ている。

【結果】

(1) CPC環境 : (表1)

	温度	湿度	面積	室圧 (最大)	ガウニング	アンケート 対象作業者
CPC area 1 (Processing Room)	22±3℃	50%±15%	16~20 m <sup>2</sup>	35 Pa	清潔上下+ディスプレイつなぎタイプ(2重)	製造5名 (女性)
CPC area 2 (Processing Room and QC room)	19±3℃	50%±15%	16~20 m <sup>2</sup>	35 Pa	清潔上下+ディスプレイエプロン+ディスプレイつなぎ(3重)	QC 2名 (男性)

当施設には2つのCPCエリアに6区画(各々Cell processing room, QC room等含む)と1つの独立したQCエリアが現在稼働中であるが、今回の対象となった作業者は表1で示される区画のどちらかで作業を行っていた。いずれの区画も作業部屋の広さはほぼ16~20 m<sup>2</sup>、室圧差も最大35 Pa、最低は0 Paであった。室温

はガウニングの違いもあり22℃と19℃の2種類であった。

(2) 作業状況

表2に示すようにCPC内での作業時間は平均1日4時間、週あたり平均15時間程度に調整されていた。

(表 2) CPC 内での作業時間

作業時間 最大/日	作業時間 平均/日	作業時間 最大/週	作業時間 平均/週
7hr ± 2hr	4hr ± 1 hr	26hr ± 4 hr	15hr ± 5 hr

### (3) 従事者の年齢及び経験

従事者は、20代5人、30代2人で、経験は半年～4年と比較的若く CPC 内作業の経験も4年以内であった。

### (4) 職業的ストレス状況及び CPC 環境改善要望 (表 3)

- 1) 職業的ストレス簡易調査表より、陽性ストレス因子を抽出し、作業者が感じているストレスの強さで点数化した (\*)。また、「ストレスによる心身の反応」の内容、ストレスとなった要因について作業者ごとに抽出した。また、②メンタルヘルス改善意識調査票からは、CPC 環境内での作業に関連する改善希望項目を抽出した。  
その結果、全員何らかのストレスを有していたが、6人中1人のみが中等度のストレス状態で、その他の5人は強いストレスのかかっている状況ではなかった。また、6人中5人で「仕事の量あるいは質」がストレスの要因の一つであることが挙げられた。さらに、①のアンケートでは環境要因はストレスの要因としては抽出されなかったにも関わらず、個別で改善要求を調査する②のアンケートでは、CPC 環境について改善希望が見られた。

### 【考察】

今回期間内に行われた作業が限定されていたため、調査対象が7名で、そのうち評価可能であったものが6名と少なく、統計学的解析には至らなかったが、職業的ストレス状況については、全員が何らかのストレス要因を有しストレスによる心身症状を示していた。(表 3) このうち5名については比較的軽度なストレス状態であったが1名 (CP-3) は中等度以上の心身症状を示していた。ストレス要因としては仕事内容 (量、質) に関するものが5/6に、対人関係、仕事のコントロール、上司のサポートがそれぞれ1/3にみられた。再生医療等製品製造、品質管理の作業は低分子化合物の製造とは違い、原材料が生物であることから、そもそも潜在的感染のリスクを持っていること、性質が不均一であること、些細な逸脱、規格外が患者さんのリスクに直結することなどから作業工程が複雑であったり、取り扱いに細心の注意を要求されたりするケースがしばしばあり、作業者にとっては作業の量や質が大きな負担になることがこのアンケートの結果からも推察された。また②のアンケートでは、急な体調不良等が発生しても代替りの作業者がいないことについてストレスを感じている作業者も見られ、医薬品、医療機器としての細胞及び関連製品の製造、

(表3) 職業的ストレス状況 及び CPC 環境改善要望

	陽性ストレス因子点数*	ストレスによる心身の反応	ストレスとなった要因	CPC 環境、作業関連改善希望点
CP-1	4	抑うつ感	仕事の質、量、働きがい コントロールできやすさ	音
CP-2	3	なし	仕事の質、対人環境	なし
CP-3	12	身体愁訴、抑うつ感、不安感、イライラ感	仕事の量、対人環境、満足度	空間の広さ、室圧、匂い、不規則な勤務、開始時間
CP-4	8	身体愁訴、抑うつ感	仕事の質、家族サポート	急な休みのバックアップ
QC-1	2	不安	上司のサポート	空間の広さ、急な休みのバックアップ、裁量性
QC-2	7	イライラ感	仕事の量、上司のサポート コントロールできやすさ 適正	空間の広さ、急な休みのバックアップ、裁量性

(\*) ストレス因子として抽出されたもののうち、「やや高い / 多い」を 1 点、「高い / 多い」を 2 点とし（低いほうがストレス要因となる場合はこの逆）合計した。

品質保証作業はまだまだ新しい分野であり、十分な技量のある技術者が少ないことや、機械化が十分でないことが示唆された。

一方、作業環境については、この職業性ストレス簡易調査票ではいずれの作業員においてもストレス要因としては検出されなかった。この理由として、1 回の作業時間が比較的短く設定されており、また 1 週間当たりの作業も適切にコントロールされていること、表 1 に示す作業環境が比較的良好であることなどが推察されたが、CPC 作業環境に特化した質問項目を加えたメンタルヘルス改善意識調査票(改変版)による結果では、職業性ストレス簡

易調査票では作業環境がストレスの要因ではなかったにも関わらず 6 名中 4 名が空間、音、室圧、臭いなどについて改善が必要と答えていた。職業性ストレス簡易調査票では環境に関する質問は 1 文のみであるため、比較的重大でない環境要因を拾い出すことが出来ない可能性も考えられた。

CPC 作業環境は、通常多数の機器が据え付けられ、すれ違いすら制限されるような狭い空間内で 2 重 3 重のガウニングを行い、高い室圧差の中で作業を行うことを要求される。今回作業員の半分に空間が狭いと感じており、快適な作業空間を確保す

るためには、機器のコンパクト化、作業動線のシンプル化、交叉汚染を防ぎつつ部屋毎の機能の分業化集約化などが必要と考えられた。また、室温は今回の調査では、無塵衣+1重ガウニング+女性作業員の状況では21℃で、無塵衣+2重ガウニング+男性作業員の状況では19℃で、問題なく、適正であったと考えられたが、室温を2度下げるとはCPC運営コストに大きな影響を与えると予想され、製品の品質を保ちつつ、コストの削減を行うためには、状況に応じた作業場温度の設定、無塵衣、ガウン、手袋などの素材の改良等が必要と考えられた。

#### 【結語】

1. CPC作業環境が作業員に与える影響を調べるため、先端医療振興財団 細胞療法開発センターで細胞製品製造、品質検査に従事する作業員を対象に職業性ストレス調査を行った。

2. 全ての作業員が何らかの職業性ストレス要因を有していたが、重篤なストレスにさらされている者は見られなかった。
3. ストレス要因としては作業の量、質が最も頻度が高く、細胞製品製造の特殊性が示唆された。
4. CPC環境は、現在の状況で概ね良好であったが、空間の狭さ、バックアップ人員不足などが改善すべき項目として挙げられた。また室温についてもコストの面から今後改善策が必要と考えられた。
5. 調査期間中の作業スケジュールの問題から、調査対象人数が少なかったため、さらに多くの人数での調査が必要と考えられた。
6. 職場環境の向上に、リスクアセスメントを行い、潜在リスクを特定し提言していくことが重要である。