

第79回 コーガアイソトープ WEBセミナー

# 滅菌保証と微生物試験(実践編)

滅菌線量設定試験、滅菌線量監査試験、微生物の特性付け



2024年11月22日

株式会社コーガアイソトープ

松本 敦

(ISO/TC198 WG2国内主査)



# 目次

1. 滅菌とは
2. 滅菌の保証
3. 滅菌線量設定試験と監査試験
4. 製品ファミリーの考え方
5. 微生物の特性付け

# 1. 滅菌とは

# 滅菌と殺菌・消毒の違い

## 日本薬局方解説書

- 滅菌 : 物質からすべての微生物を殺滅または除去すること
- 殺菌 : 微生物を殺すこと
- 消毒 : 病原菌等人に対し有害な微生物を除去、死滅、無害化すること

殺菌、消毒の定義には、定量性がない  
滅菌の定義には定量性がある

# 滅菌とは

日本薬局方  
被滅菌物の中の**全ての微生物を殺滅または除去**  
すること

ヘルスケア製品の滅菌に関するISO規格  
製品を生育可能な**微生物が存在しない状態**にするため  
に用いるバリデートされたプロセス

全ての微生物を殺滅または除去  
微生物が存在しない状態

= **微生物が存在しない**  
**ことを証明する**

# 微生物について

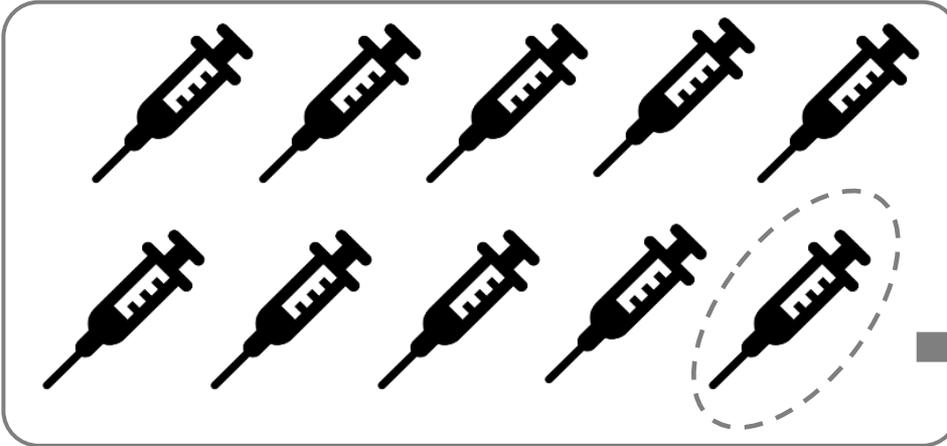
医療機器を滅菌するときに対象としている微生物は、細菌と真菌です。

（原生動物系やウイルスは対象外）

医療機器、製薬、化粧品業界では、  
バイオバーデン (bioburden) と呼ばれている。

# 抜き取り試験で無菌を保証できる？

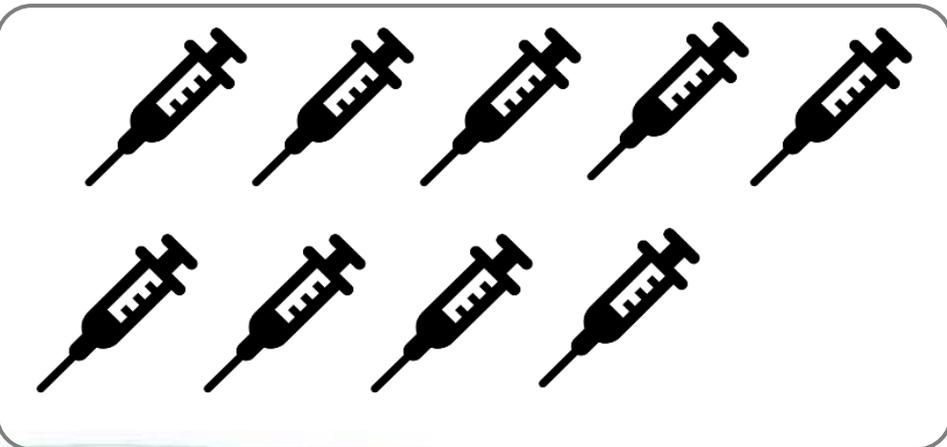
ガンマ線照射した製品



抜き取って無菌試験⇒陰性



残りの製品は無菌と言える？

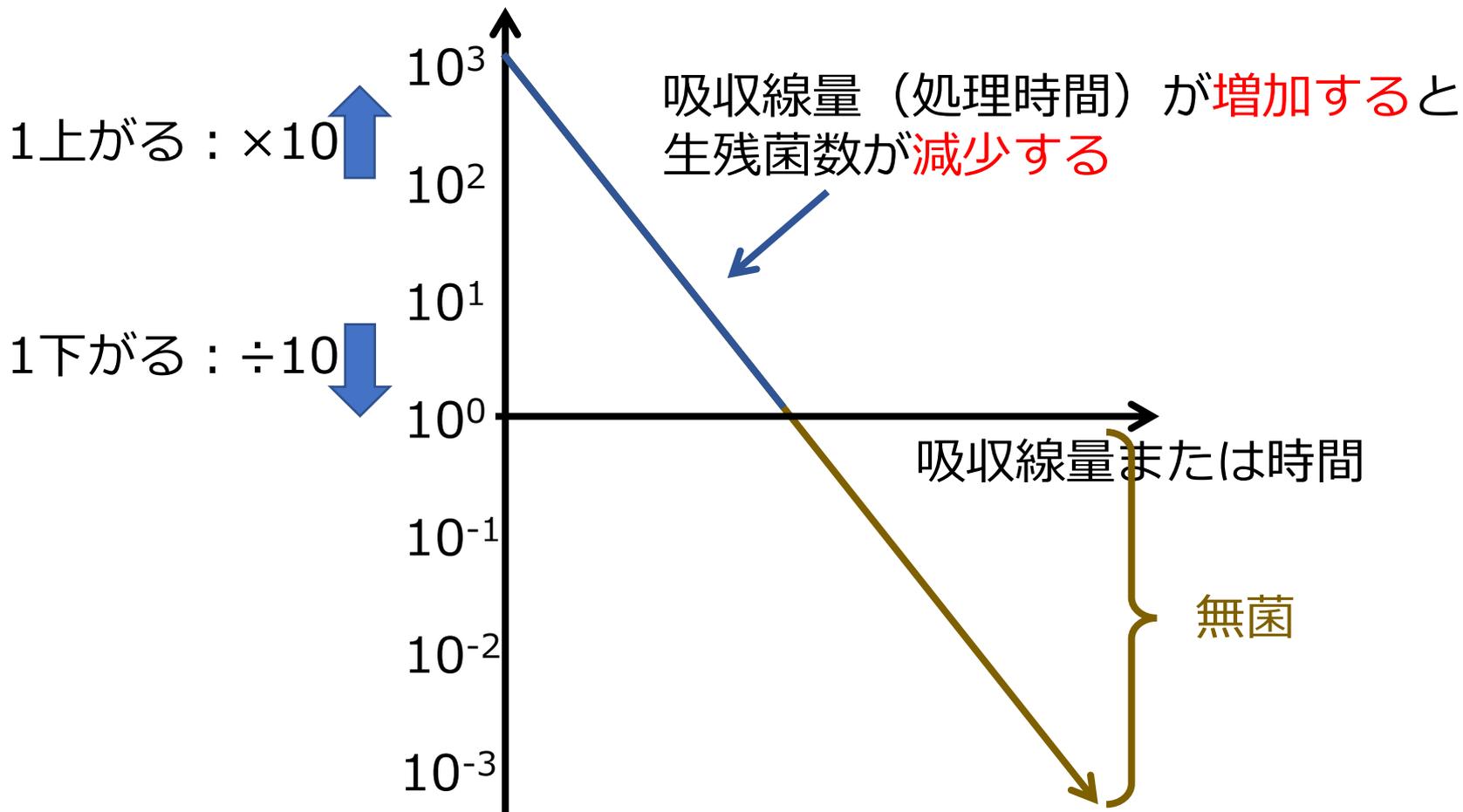


試験した製品が無菌  
だったことは証明できるが、  
残りの製品が無菌である  
保証はありません！

## 2. 滅菌の保証

# 滅菌処理と菌数の変化

製品1個に付着している菌数の変化（生残曲線）



「ゼロ」にならない

# どのように無菌を保証するか？

ゼロ（無菌）であることを証明することは不可能！

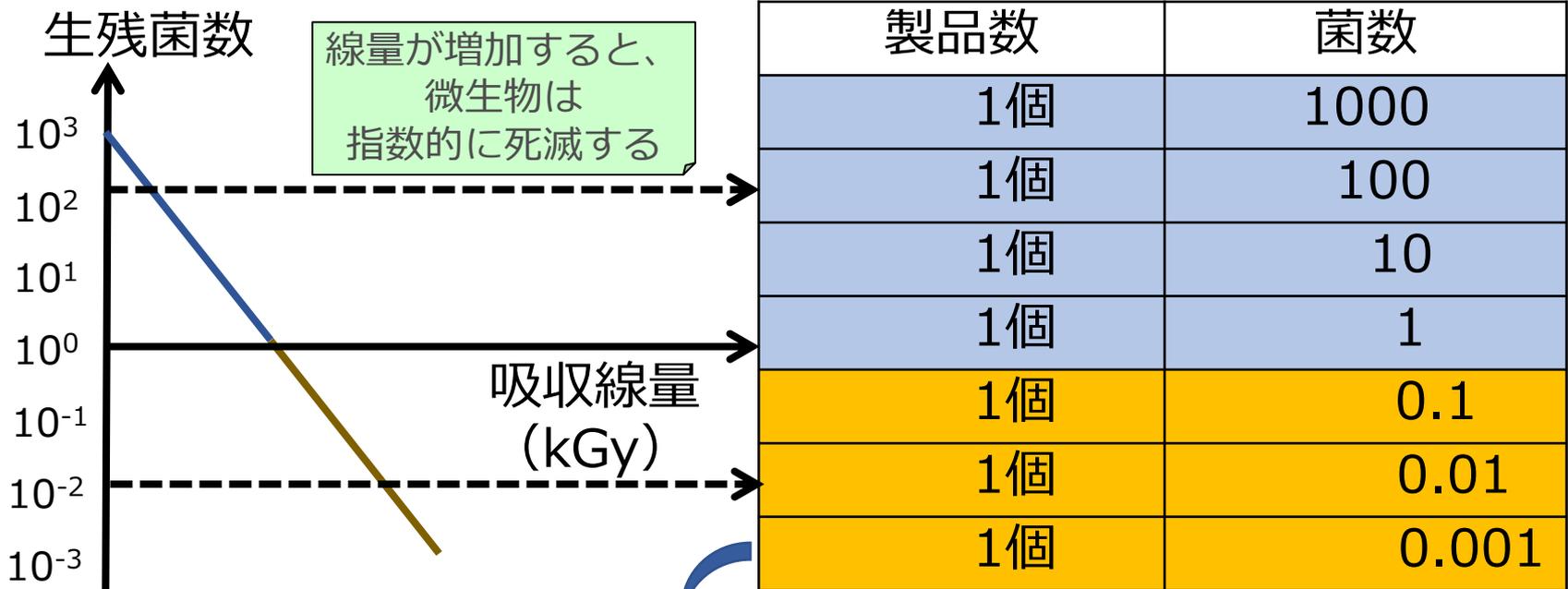
したがって、無菌の達成状況を**確率的**に考えます。

## 無菌性保証水準(SAL)

生存している1個の微生物が、製品上に存在する確率。  
通常 $10^{-n}$ で表されます。

(SAL: Sterility Assurance Level)

# 無菌性保証水準(SAL)



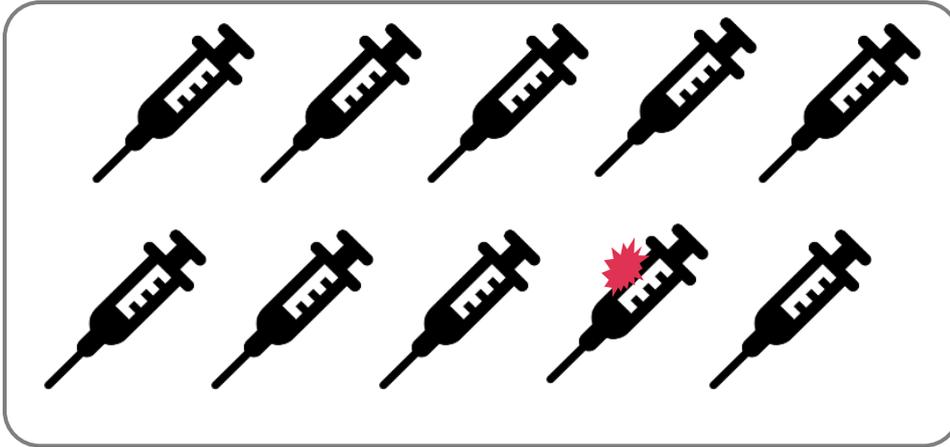
製品数を増やすことで菌数を1にする  
 製品100個中に1個の菌が存在している確率  
 (SAL = 10<sup>-2</sup>)

10個	1
100個	1
1000個	1

無菌レベル

$$SAL = 10^{-1}$$

製品10個

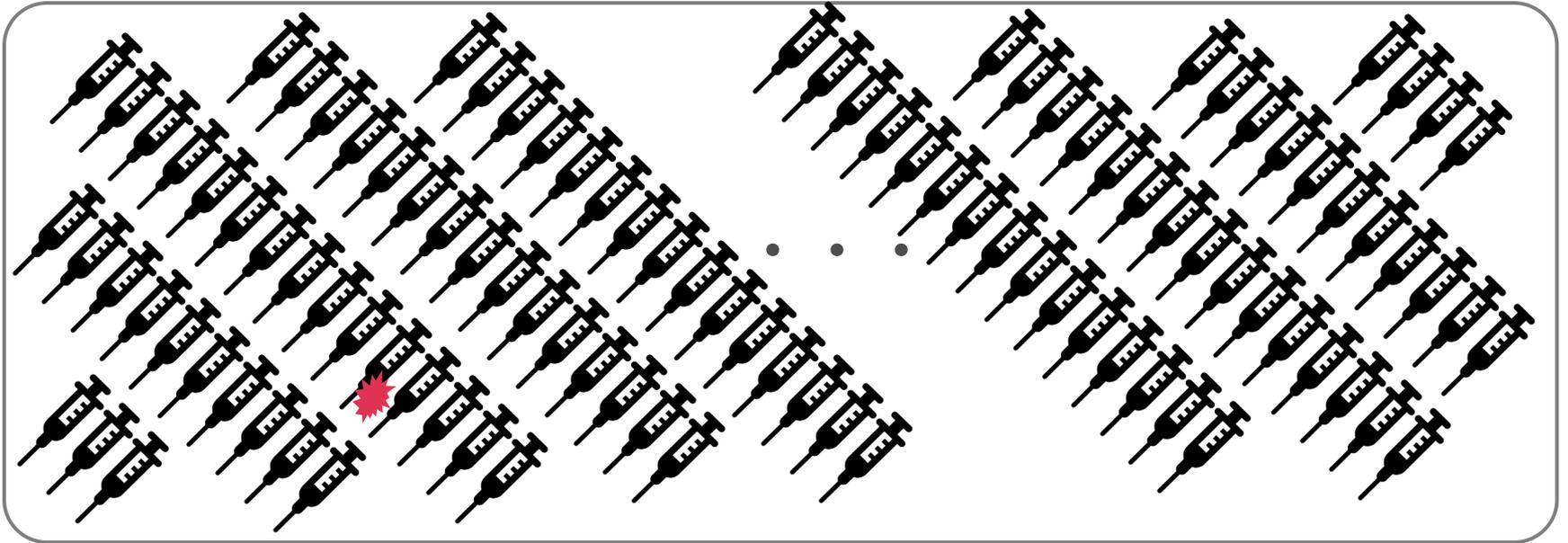


この中に微生物が1個生存している確率 =  $10^{-1}$

$$= \frac{1}{10}$$

$$SAL = 10^{-3}$$

製品1,000個

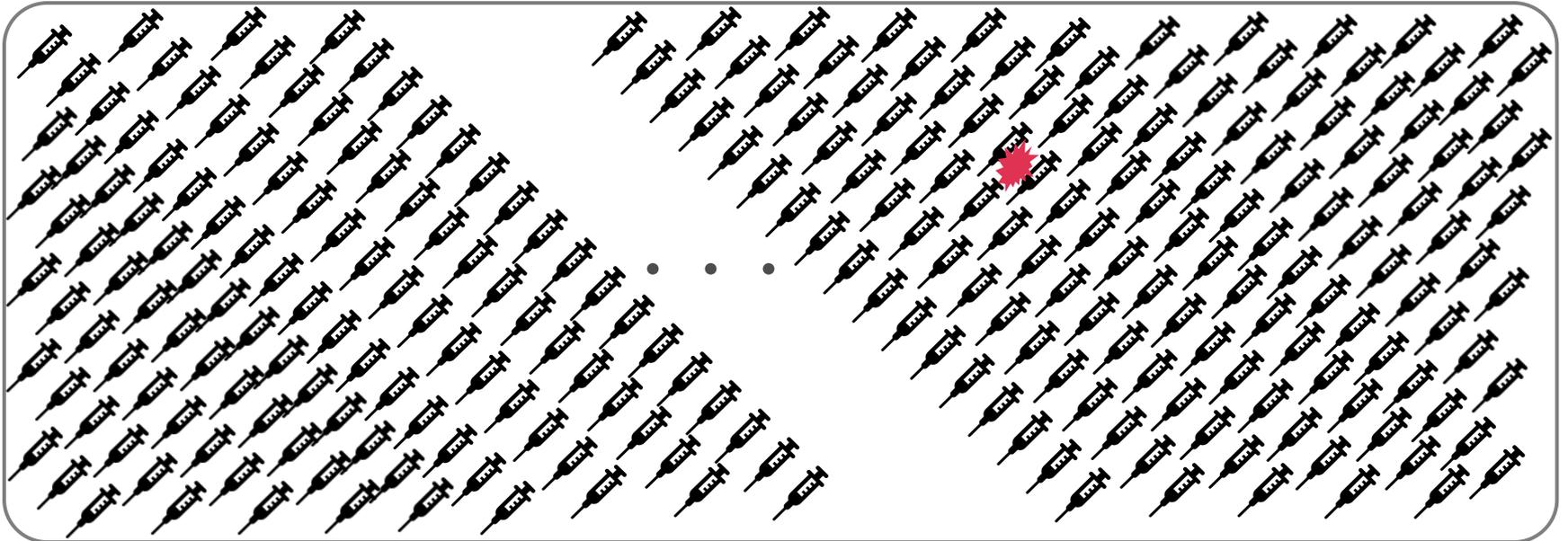


この中に微生物が1個生存している確率 =  $10^{-3}$

$$= \frac{1}{1000}$$

$$SAL = 10^{-6}$$

製品1,000,000個 (百万個)



$$\begin{aligned} \text{この中に微生物が1個生存している確率} &= 10^{-6} \\ &= \frac{1}{1,000,000} \end{aligned}$$

# 「滅菌」を保証する

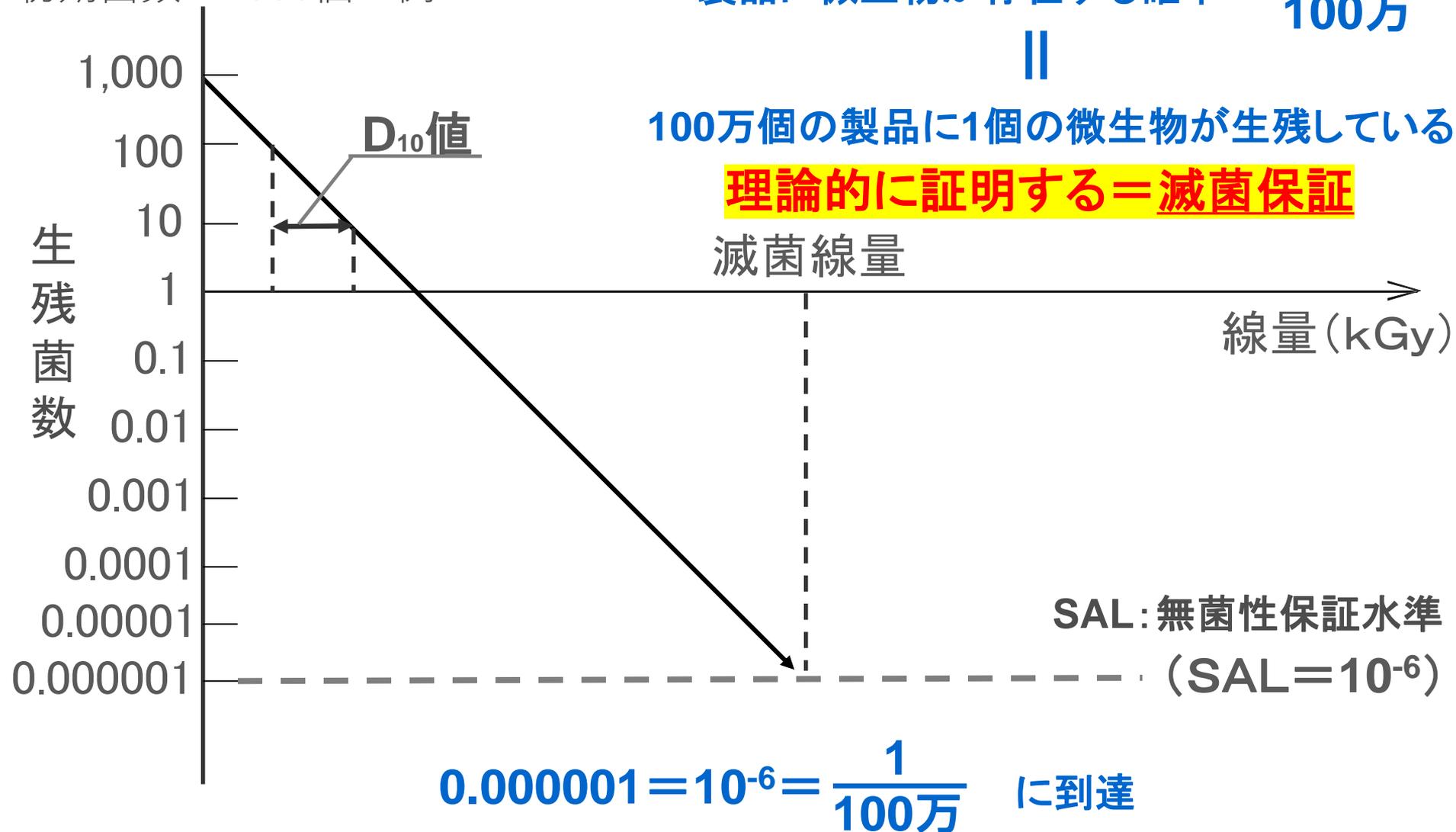
初期菌数 = 1000個の例

$$\text{製品に微生物が存在する確率} = \frac{1}{100\text{万}}$$

||

100万個の製品に1個の微生物が生残している

**理論的に証明する = 滅菌保証**



# SAL = 10<sup>-6</sup> を保証するには？



1000万個製造した製品から100万個を抜き取り、無菌性の試験を実施。

陽性数が1個以下であることを確認し、

残りの900万個をSAL = 10<sup>-6</sup>であることを保証する？

理論上は正しいかもしれませんが、

**現実的に実施するのは不可能です！**

では、どうやって SAL = 10<sup>-6</sup>

を保証するのでしょうか？

# 3. 滅菌線量設定試験 と監査試験

# 滅菌バリデーション

## 滅菌バリデーションの実施方法

- ・ ハーフサイクル法
- ・ オーバーキル法
- ・ バイオバーデン/BI併用法
- ・ 絶対バイオバーデン法

被滅菌物から検出されたバイオバーデンの数、滅菌法に対する抵抗性に基づいて設定する方法

## 放射線滅菌の場合

ISOまたはJIS規格を参考にした絶対バイオバーデン法  
ISO 11137-2 (JIS T 0806-2) , ISO13004

# 放射線滅菌に関する規格

ISO 11137-2:2013 Amd.2:2022 (JIS T 0806-2)

ヘルスケア製品の滅菌—放射線—

第2部：滅菌線量の確立

ISO 13004:2022 (JIS化への手続き中)

選択した滅菌線量の実証：VDmaxSD法

ISO 11737-1:2018

第1部：製品上の微生物群の測定方法

(バイオバーデン試験)

ISO 11737-2:2019

第2部：滅菌プロセスの定義、バリデーション及び

維持において実施する無菌性の試験

# 放射線滅菌に関する規格の関係

滅菌バリデーション基準  
薬生監麻発1021第5号 (令和4年10月21日)

ISO11137-1  
JIS T 0806-1  
放射線滅菌の要求事項

ISO11137-2  
JIS T 0806-2  
滅菌線量の確立

ISO 13004  
JIS T 0806-2附属書JA  
滅菌線量の確立(拡張VDmax)

ISO11137-3  
JIS T 0806-3  
線量測定の手引

ISO/TS 11137-4  
TSのためJISなし  
照射プロセス管理の手引

ISO11737-1  
JIS T 11737-1  
バイオバーデン測定

ISO11737-2  
JIS T 11737-2  
無菌性の試験

滅菌バリデーション基準  
要求事項

要求事項

手引

# ISO11137's と JISの最新動向

年/月	ISO規格 (版)	年/月	JIS規格
2013/05	ISO/TS 13004:2013(1)	2014/09	JIS T 0806-2:2014附属書へ
2013/06	ISO11137-2:2013(3)	2014/09	JIS T 0806-2:2014
2013/07	ISO11137-1:2006(1)Amd.1	2015/10	JIS T 0806-1:2015
2017/06	ISO11137-3:2017(2)	2022/10	JIS T 0806-3:2022
2018/11	ISO11137-1:2006(1)Amd.2	2022/10	JIS T 0806-1:2022
2020/06	ISO/TS11137-4:2020(1)	-	TS規格のため、予定なし
2022/06	ISO11137-2:2013(3)Amd.1		2023年6月、JIS化手続開始 2025年12月末 JIS化見込み
2022/10	ISO13004:2022(1)		2023年6月、JIS化手続開始 2025年12月末 JIS化見込み
2024/XX	ISO11137-1:20XX		2023年6月、JIS化手続開始 2025年12月末 JIS化見込み

遅  
れ  
て  
い  
ま  
す

青字 : 2024年11月19日現在 有効規格

# 滅菌線量を決める方法

ISO11137-2(JIS T 0806-2)、ISO13004

方法		内容
方法1		製品のバイオバーデンとSDRを持つ微生物群の抵抗性を比較して設定
方法2 (2A or 2B)		製品バイオバーデンの抵抗性により設定
VDmax	15 or 25	製品のバイオバーデンとSDRを持つ微生物群の抵抗性を比較して設定
	SD	

VDmaxは方法1の考え方を、簡略化した方法です。

SDR＝標準抵抗性分布(後ほど説明します)

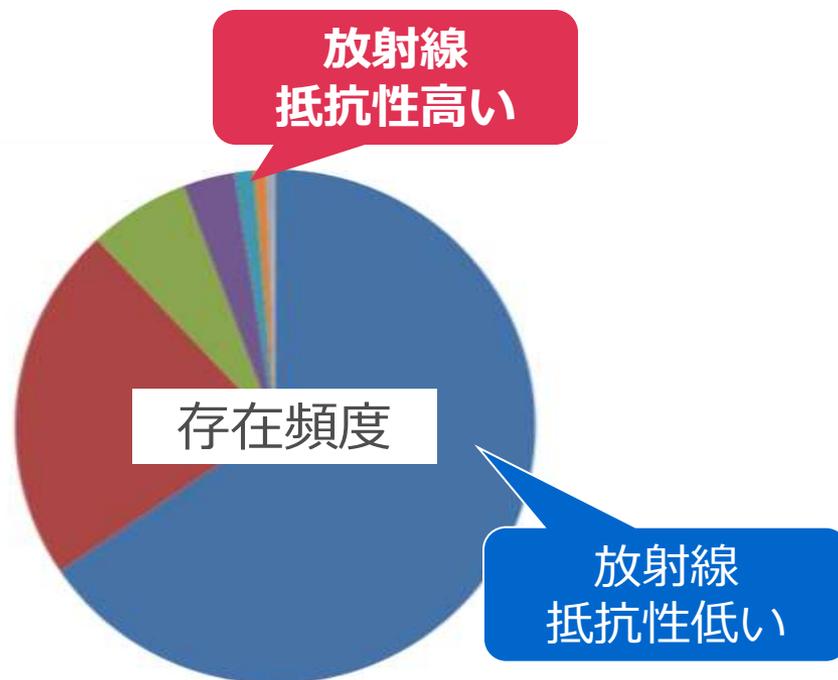
# 標準抵抗性分布(SDR)

D <sub>10</sub> 値 (kGy)	存在頻度 (%)
1.0	65
1.5	22
2.0	6
2.5	3
2.8	1
3.1	0.8
3.4	0.4
3.7	0.1
4.0	0.1
4.2	0.01

D<sub>10</sub>値(菌数が1/10になる線量)

## モデル製品に

各D<sub>10</sub>値の微生物が表の割合で存在していると仮定する。



1979年、外科用ガウンから分離したBBに由来し、放射線抵抗性が高くなるように評価したもの。

# 製品のバイオバーデンとSDRを持つ微生物群の抵抗性の比較(イメージ)



バイオバーデン:100

菌数はわかったが、どのような菌かわかならい。



SDRの割合で存在していると仮定する

D <sub>10</sub> 値 (kGy)	存在頻度 (%)
1.0	65
1.5	22
2.0	6
2.5	3
2.8	1
3.1	0.8
3.4	0.4
3.7	0.1
4.0	0.1
4.2	0.01

# SDRの規定のSALを達成する線量(kGy)

平均バイオ パーデン	無菌性保証水準 SAL					平均バイオ パーデン	無菌性保証水準 SAL				
	10 <sup>-2</sup>	10 <sup>-3</sup>	10 <sup>-4</sup>	10 <sup>-5</sup>	10 <sup>-6</sup>		10 <sup>-2</sup>	10 <sup>-3</sup>	10 <sup>-4</sup>	10 <sup>-5</sup>	10 <sup>-6</sup>
1.0	3.0	5.2	8.0	11.0	14.2	55	7.2	10.2	13.4	16.7	20.3
1.5	3.3	5.7	8.5	11.5	14.8	60	7.3	10.3	13.5	16.9	20.4
2.0	3.6	6.0	8.8	11.9	15.2	65	7.4	10.4	13.6	17.0	20.5
2.5	3.8	6.3	9.1	12.2	15.6	70	7.5	10.5	13.7	17.1	20.6
3.0	4.0	6.5	9.4	12.5	15.8	75	7.6	10.6	13.8	17.2	20.7
3.5	4.1	6.7	9.6	12.7	16.1	80	7.7	10.7	13.9	17.3	20.8
32	6.6	9.4	12.6	15.9	19.4	550	10.2	13.4	16.7	20.3	23.9
34	6.6	9.5	12.7	16.0	19.5	575	10.2	13.4	16.8	20.3	24.0
36	6.7	9.6	12.8	16.1	19.6	600	10.3	13.5	16.9	20.4	24.0
38	6.8	9.7	12.8	16.2	19.7	650	10.4	13.6	17.0	20.5	24.2
40	6.8	9.7	12.9	16.2	19.8	700	10.5	13.7	17.1	20.6	24.3
42	6.9	9.8	13.0	16.3	19.8	750	10.6	13.8	17.2	20.7	24.4
44	6.9	9.9	13.0	16.4	19.9	800	10.7	13.9	17.3	20.8	24.5
46	7.0	9.9	13.1	16.5	20.0	850	10.8	14.0	17.4	20.9	24.6
48	7.0	10.0	13.2	16.5	20.0	900	10.8	14.1	17.5	21.0	24.7
50	7.1	10.0	13.2	16.6	20.1	950	10.9	14.1	17.5	21.1	24.8
1 000	11.0	14.2	17.6	21.2	24.9	6 200	13.5	16.9	20.4	24.1	27.8
1 050	11.0	14.3	17.7	21.3	24.9	6 500	13.6	17.0	20.5	24.2	27.9
1 100	11.1	14.4	17.8	21.3	25.0	6 800	13.7	17.0	20.6	24.2	28.0

初期菌数による生残曲線が計算できます

1 350	11.4	14.6	18.1	21.7	25.3	8 500	14.0	17.4	20.9	24.6	28.4
1 400	11.4	14.7	18.1	21.7	25.4	9 000	14.1	17.5	21.0	24.7	28.5

ISO11137-2(JIS T 0806-2)

# VDmax<sub>SD</sub> 法

ISO/TS 13004 から JIS T 0806-2 附属書JA に取り入れられました。2022年10月、ISO 13004へ格上げしました。

線量(kGy)	上限BB
17.5	9.0
20	45
22.5	220
27.5	5,000
30	23,000
32.5	100,000
35	440,000

15kGy / 1.5

VDmax<sup>15</sup>

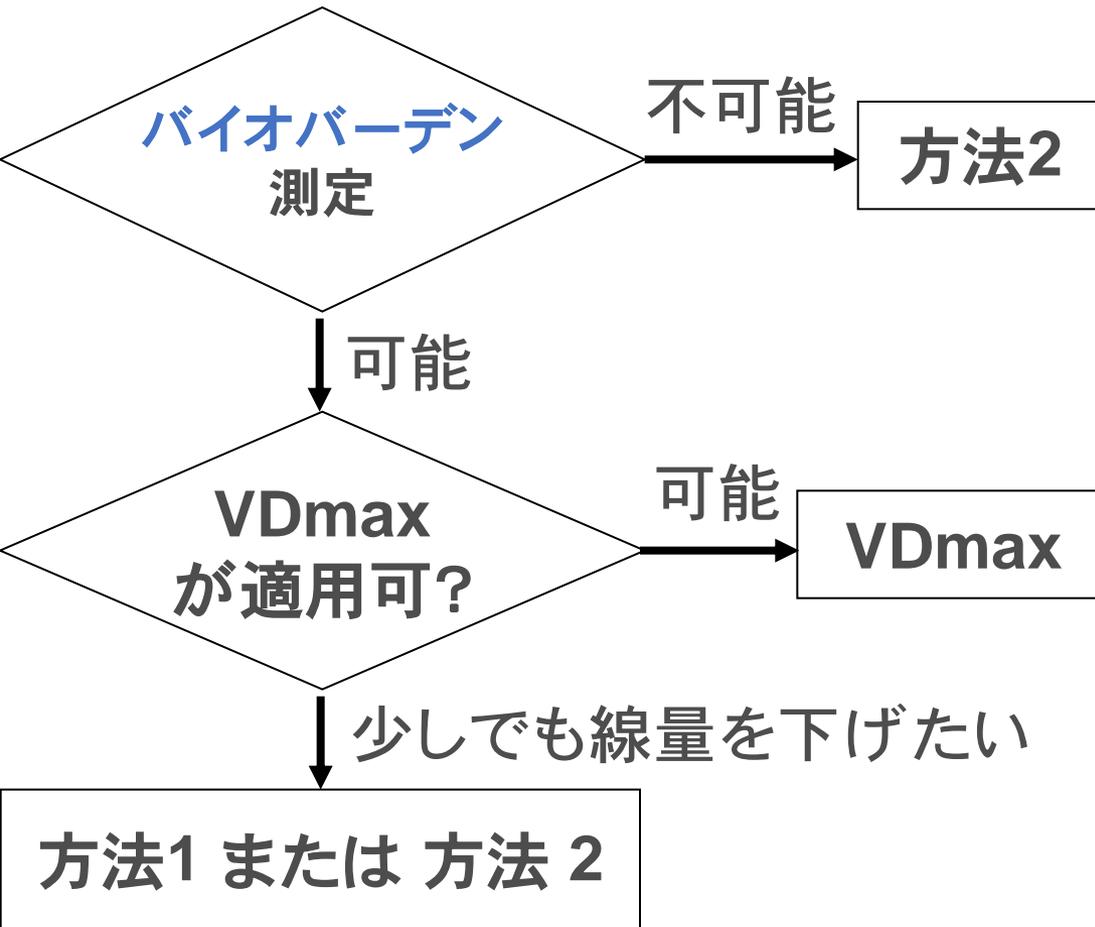
25kGy / 1,000

VDmax<sup>25</sup>

ISO11137-2

※この規格を取り入れていない国もあるため、輸出する際には注意が必要です！

# 滅菌線量設定法の選択



## 【方法2】

- 適切な滅菌線量が設定できる
- ×線量設定コストが高い

## 【VDmax】

線量と上限バイオバーデンが決められている。  
例) 25kGy・・・1,000個以下

○線量設定コストが安い

×安全マージンを確保するため、過剰な滅菌線量が設定される。

## 【方法1】

- △安全マージンを確保しながら線量を設定
- △線量設定コストはVDmaxより割高

# 滅菌線量の設定方法

## 方法 1 (Method 1)

製品のバイオバーデンとSDRを持つ微生物群の抵抗性を比較して設定

$VD_{\max}$

製品のバイオバーデンとSDRを持つ微生物群の抵抗性を比較して設定（方法1の代替法）

## 方法 2 (Method 2)

製品バイオバーデンの抵抗性により設定

# 滅菌線量の設定方法

## 方法1 (Method 1)

製品のバイオバーデンとSDRを持つ微生物群の抵抗性を比較して設定

$VD_{\max}$

製品のバイオバーデンとSDRを持つ微生物群の抵抗性を比較して設定 (方法1の代替法)

## 方法2 (Method 2)

製品バイオバーデンの抵抗性により設定

# 滅菌線量の設定方法①

バイオバーデン試験



検定線量照射



無菌性の試験



滅菌線量設定

製品のバイオバーデンとSDRを持つ微生物群の抵抗性を比較して設定する方法

- ・方法1 (Method 1)
- ・ $VD_{max}$ 法

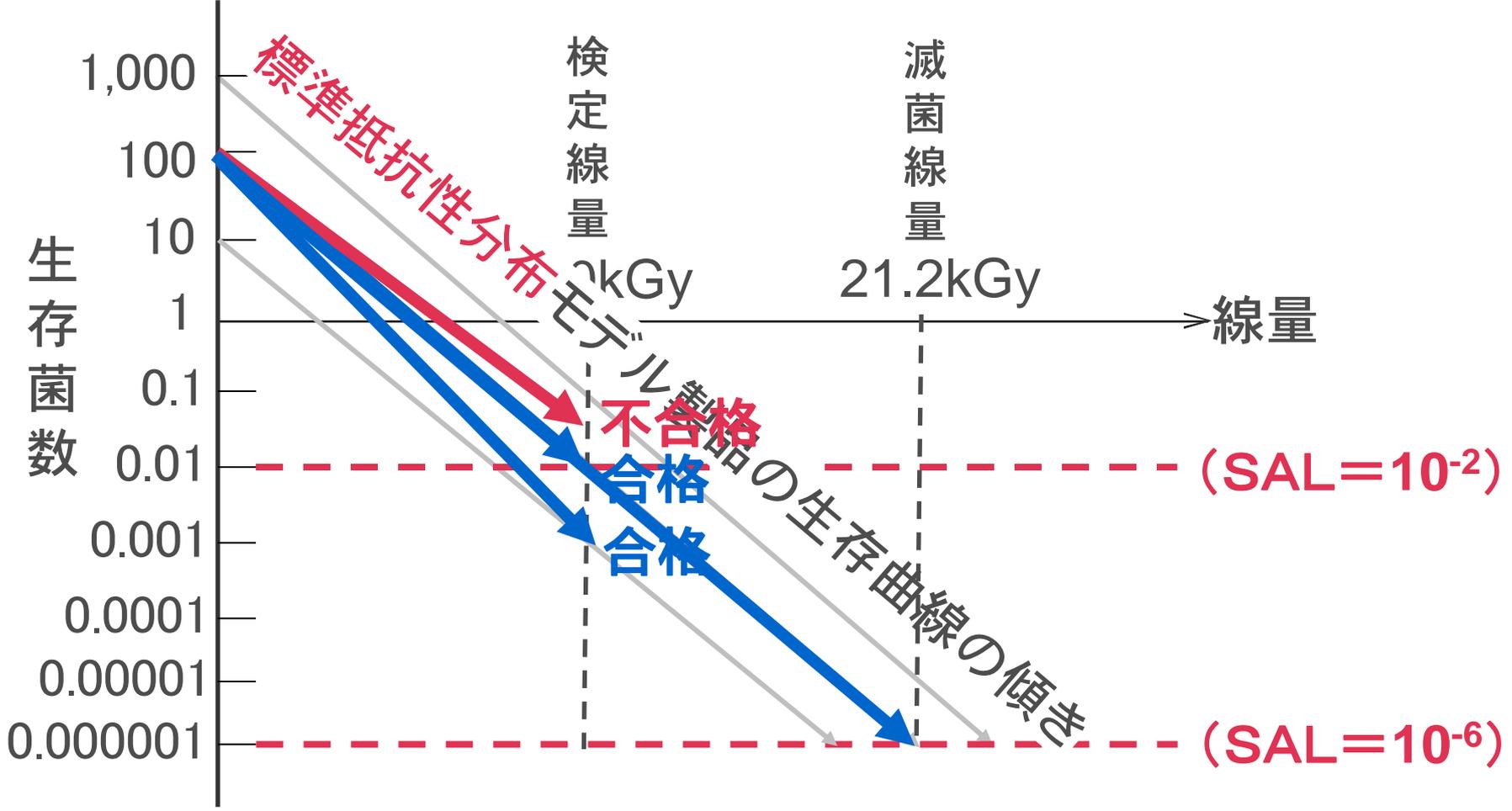
実施するためのコストが安価

適用できない製品がある

- バイオバーデン試験ができない製品
- $VD_{max}$ の適用条件を満たさない製品

# 滅菌線量設定の概要(方法1)

製品のBBが100だったとして・・・



標準抵抗性分布と対象製品の抵抗性分布を比較して滅菌線量を決定する。

# 滅菌線量の設定方法

## 方法1 (Method 1)

製品のバイオバーデンとSDRを持つ微生物群の抵抗性を比較して設定

$VD_{\max}$

製品のバイオバーデンとSDRを持つ微生物群の抵抗性を比較して設定 (方法1の代替法)

## 方法2 (Method 2)

製品バイオバーデンの抵抗性により設定

# 滅菌線量の設定方法②

累加線量照射



無菌性の試験



$D^*$ 線量照射



無菌性の試験



滅菌線量設定

製品バイオバーデンの抵抗性により  
設定

・方法2 (Method 2)

全ての製品に対して適用できる

実施するためのコストが高価  
試験数が多い  
必要試料数が多い

# 滅菌線量設定法の比較

設定法	滅菌線量 (kGy)	製造バッチ	必要な試料数 (個)
方法 1	11.0 ~ 36.3	複数	130
		単一	110
VD <sub>max</sub>	15~35 (2.5 kGy刻み)	複数	40
		単一	20
方法 2	8.2 ~	複数	640

最初にVD<sub>max</sub>法を検討し、  
適用できない場合は他の方法を検討することを推奨

# 製造頻度による設定方法の適用方法

## ◆ 単一製造バッチ (製造頻度の目安: 3か月間隔)

製造バッチ毎に線量設定を実施します。



## ◆ 複数製造バッチ (日常生産品)

次回改正のISO11137-1では、検体採取が4ヶ月以内となる予定です。

初回に線量設定を実施し、3カ月毎 (条件によっては1カ月毎) にバイオバーデン測定と線量監査を実施します。



# $VD_{\max}^{25}$ を用いた滅菌線量設定方法

バイオバーデン試験

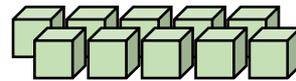
検定線量照射

無菌性の試験

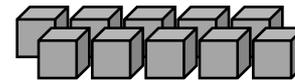
滅菌線量設定

## ① 製品サンプルの入手

3つのバッチから10個ずつ  
製品試料を採取する（1回目）。



バッチA



バッチB



バッチC

## ② 平均バイオバーデンの決定

バッチ毎にバイオバーデン試験  
を実施し、平均バイオバーデンを  
求める

$$\text{平均バイオバーデン} = 10$$

# VD<sub>max</sub><sup>25</sup>を用いた滅菌線量設定方法

バイオバーデン試験



検定線量照射



無菌性の試験



滅菌線量設定

## ③ 検定線量 (VD<sub>max</sub><sup>25</sup>) の取得

平均バイオバーデン	SIP=10VD <sub>max</sub> <sup>25</sup> (kGy)	SIP検定減少回数	平均バイオバーデン	SIP=10VD <sub>max</sub> <sup>25</sup> (kGy)	SIP検定減少回数
5.0	0.0	0	40	0.0	3.20
5.25	0.0	0	45	0.0	3.27
5.5	1.4	0	50	0.0	3.34
5.75	1.8	0	55	0.0	3.41
6.0	2.2	0	60	0.0	3.48
6.25	2.6	0	65	0.0	3.55
6.5	3.0	0	70	0.1	3.62
6.75	3.4	0	75	0.1	3.69
7.0	3.8	0	80	0.2	3.76
7.25	4.2	0	85	0.3	3.83
7.5	4.6	0	90	0.3	3.90
7.75	5.0	0	95	0.4	3.97
8.0	5.4	0	100	0.4	4.04
8.25	5.8	0	105	0.5	4.11
8.5	6.2	0	110	0.5	4.18
8.75	6.6	0	115	0.6	4.25
9.0	7.0	0	120	0.6	4.32
9.25	7.4	0	125	0.7	4.39
9.5	7.8	0	130	0.7	4.46
9.75	8.2	0	135	0.8	4.53
10.0	8.6	0	140	0.8	4.60
10.25	9.0	0	145	0.9	4.67
10.5	9.4	0	150	0.9	4.74
10.75	9.8	0	155	1.0	4.81
11.0	10.2	0	160	1.0	4.88
11.25	10.6	0	165	1.1	4.95
11.5	11.0	0	170	1.1	5.02
11.75	11.4	0	175	1.2	5.09
12.0	11.8	0	180	1.2	5.16
12.25	12.2	0	185	1.3	5.23
12.5	12.6	0	190	1.3	5.30
12.75	13.0	0	195	1.4	5.37
13.0	13.4	0	200	1.4	5.44
13.25	13.8	0	205	1.5	5.51
13.5	14.2	0	210	1.5	5.58
13.75	14.6	0	215	1.6	5.65
14.0	15.0	0	220	1.6	5.72
14.25	15.4	0	225	1.7	5.79
14.5	15.8	0	230	1.7	5.86
14.75	16.2	0	235	1.8	5.93
15.0	16.6	0	240	1.8	6.00
15.25	17.0	0	245	1.9	6.07
15.5	17.4	0	250	1.9	6.14
15.75	17.8	0	255	2.0	6.21
16.0	18.2	0	260	2.0	6.28
16.25	18.6	0	265	2.1	6.35
16.5	19.0	0	270	2.1	6.42
16.75	19.4	0	275	2.2	6.49
17.0	19.8	0	280	2.2	6.56
17.25	20.2	0	285	2.3	6.63
17.5	20.6	0	290	2.3	6.70
17.75	21.0	0	295	2.4	6.77
18.0	21.4	0	300	2.4	6.84
18.25	21.8	0	305	2.5	6.91
18.5	22.2	0	310	2.5	6.98
18.75	22.6	0	315	2.6	7.05
19.0	23.0	0	320	2.6	7.12
19.25	23.4	0	325	2.7	7.19
19.5	23.8	0	330	2.7	7.26
19.75	24.2	0	335	2.8	7.33
20.0	24.6	0	340	2.8	7.40
20.25	25.0	0	345	2.9	7.47
20.5	25.4	0	350	2.9	7.54
20.75	25.8	0	355	3.0	7.61
21.0	26.2	0	360	3.0	7.68
21.25	26.6	0	365	3.1	7.75
21.5	27.0	0	370	3.1	7.82
21.75	27.4	0	375	3.2	7.89
22.0	27.8	0	380	3.2	7.96
22.25	28.2	0	385	3.3	8.03
22.5	28.6	0	390	3.3	8.10
22.75	29.0	0	395	3.4	8.17
23.0	29.4	0	400	3.4	8.24
23.25	29.8	0	405	3.5	8.31
23.5	30.2	0	410	3.5	8.38
23.75	30.6	0	415	3.6	8.45
24.0	31.0	0	420	3.6	8.52
24.25	31.4	0	425	3.7	8.59
24.5	31.8	0	430	3.7	8.66
24.75	32.2	0	435	3.8	8.73
25.0	32.6	0	440	3.8	8.80
25.25	33.0	0	445	3.9	8.87
25.5	33.4	0	450	3.9	8.94
25.75	33.8	0	455	4.0	9.01
26.0	34.2	0	460	4.0	9.08
26.25	34.6	0	465	4.1	9.15
26.5	35.0	0	470	4.1	9.22
26.75	35.4	0	475	4.2	9.29
27.0	35.8	0	480	4.2	9.36
27.25	36.2	0	485	4.3	9.43
27.5	36.6	0	490	4.3	9.50
27.75	37.0	0	495	4.4	9.57
28.0	37.4	0	500	4.4	9.64
28.25	37.8	0	505	4.5	9.71
28.5	38.2	0	510	4.5	9.78
28.75	38.6	0	515	4.6	9.85
29.0	39.0	0	520	4.6	9.92
29.25	39.4	0	525	4.7	9.99
29.5	39.8	0	530	4.7	10.06
29.75	40.2	0	535	4.8	10.13
30.0	40.6	0	540	4.8	10.20
30.25	41.0	0	545	4.9	10.27
30.5	41.4	0	550	4.9	10.34
30.75	41.8	0	555	5.0	10.41
31.0	42.2	0	560	5.0	10.48
31.25	42.6	0	565	5.1	10.55
31.5	43.0	0	570	5.1	10.62
31.75	43.4	0	575	5.2	10.69
32.0	43.8	0	580	5.2	10.76
32.25	44.2	0	585	5.3	10.83
32.5	44.6	0	590	5.3	10.90
32.75	45.0	0	595	5.4	10.97
33.0	45.4	0	600	5.4	11.04
33.25	45.8	0	605	5.5	11.11
33.5	46.2	0	610	5.5	11.18
33.75	46.6	0	615	5.6	11.25
34.0	47.0	0	620	5.6	11.32
34.25	47.4	0	625	5.7	11.39
34.5	47.8	0	630	5.7	11.46
34.75	48.2	0	635	5.8	11.53
35.0	48.6	0	640	5.8	11.60
35.25	49.0	0	645	5.9	11.67
35.5	49.4	0	650	5.9	11.74
35.75	49.8	0	655	6.0	11.81
36.0	50.2	0	660	6.0	11.88
36.25	50.6	0	665	6.1	11.95
36.5	51.0	0	670	6.1	12.02
36.75	51.4	0	675	6.2	12.09
37.0	51.8	0	680	6.2	12.16
37.25	52.2	0	685	6.3	12.23
37.5	52.6	0	690	6.3	12.30
37.75	53.0	0	695	6.4	12.37
38.0	53.4	0	700	6.4	12.44
38.25	53.8	0	705	6.5	12.51
38.5	54.2	0	710	6.5	12.58
38.75	54.6	0	715	6.6	12.65
39.0	55.0	0	720	6.6	12.72
39.25	55.4	0	725	6.7	12.79
39.5	55.8	0	730	6.7	12.86
39.75	56.2	0	735	6.8	12.93
40.0	56.6	0	740	6.8	13.00
40.25	57.0	0	745	6.9	13.07
40.5	57.4	0	750	6.9	13.14
40.75	57.8	0	755	7.0	13.21
41.0	58.2	0	760	7.0	13.28
41.25	58.6	0	765	7.1	13.35
41.5	59.0	0	770	7.1	13.42
41.75	59.4	0	775	7.2	13.49
42.0	59.8	0	780	7.2	13.56
42.25	60.2	0	785	7.3	13.63
42.5	60.6	0	790	7.3	13.70
42.75	61.0	0	795	7.4	13.77
43.0	61.4	0	800	7.4	13.84
43.25	61.8	0	805	7.5	13.91
43.5	62.2	0	810	7.5	13.98
43.75	62.6	0	815	7.6	14.05
44.0	63.0	0	820	7.6	14.12
44.25	63.4	0	825	7.7	14.19
44.5	63.8	0	830	7.7	14.26
44.75	64.2	0	835	7.8	14.33
45.0	64.6	0	840	7.8	14.40
45.25	65.0	0	845	7.9	14.47
45.5	65.4	0	850	7.9	14.54
45.75	65.8	0	855	8.0	14.61
46.0	66.2	0	860	8.0	14.68
46.25	66.6	0	865	8.1	14.75
46.5	67.0	0	870	8.1	14.82
46.75	67.4	0	875	8.2	14.89
47.0	67.8	0	880	8.2	14.96
47.25	68.2	0	885	8.3	15.03
47.5	68.6	0	890	8.3	15.10
47.75	69.0	0	895	8.4	15.17
48.0	69.4	0	900	8.4	15.24
48.25	69.8	0	905	8.5	15.31
48.5	70.2	0	910	8.5	15.38
48.75	70.6	0	915	8.6	15.45
49.0	71.0	0	920	8.6	15.52
49.25	71.4	0	925	8.7	15.59
49.5	71.8	0	930	8.7	15.66
49.75	72.2	0	935	8.8	15.73
50.0	72.6	0	940	8.8	15.80
50.25	73.0	0	945	8.9	15.87
50.5	73.4	0	950	8.9	15.94
50.75	73.8	0	955	9.0	16.01
51.0	74.2	0	960	9.0	16.08
51.25	74.6	0	965	9.1	16.15
51.5	75.0	0	970	9.1	16.22
51.75	75.4	0	975	9.2	16.29
52.0	75.8	0	980	9.2	16.36
52.25	76.2	0	985	9.3	16.43
52.5	76.6	0	990	9.3	16.50
52.75	77.0	0	995	9.4	16.57
53.0	77.4	0	1000	9.4	16.64

平均バイオバーデン	VD <sub>max</sub> <sup>25</sup> (kGy)
8.0	6.9
8.5	7.0
9.0	7.0
9.5	7.1
10	7.1
11	7.2

平均バイオバーデン10に対応する検定線量 = 7.1 kGy  
 →製品に7.1 kGy照射するとSAL=10<sup>-1</sup>になる。

# VD<sub>max</sub><sup>25</sup>を用いた滅菌線量設定方法

バイオバーデン試験



検定線量照射



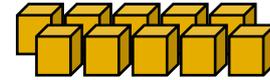
無菌性の試験



滅菌線量設定

## ④ 検定線量試験の実施

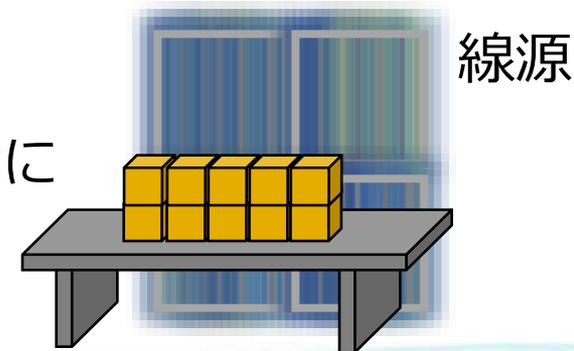
1つのバッチから10個の製品試料を採取する（2回目）。



バッチA, B, C or D(第4のバッチ)  
いずれのバッチでもOK

採取した製品試料に対して、  
検定線量を照射する。

吸収線量が7.1 kGyに  
なるように照射



# $VD_{\max}^{25}$ を用いた滅菌線量設定方法

バイオバーデン試験



検定線量照射



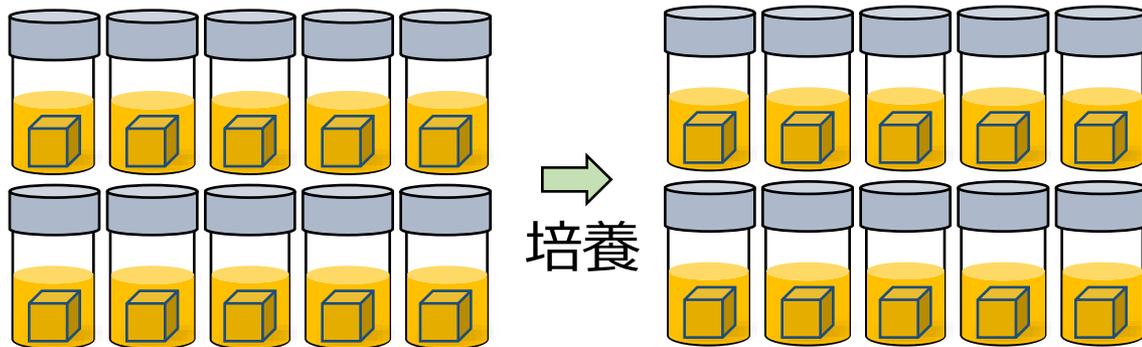
無菌性の試験



滅菌線量設定

## ④ 検定線量試験の実施

検定線量を照射した10試料に対して無菌性の試験を実施する  
( $SAL=10^{-1}$ を検証)



陽性数を記録する

10個中0個陽性

# $VD_{\max}^{25}$ を用いた滅菌線量設定方法

バイオバーデン試験



検定線量照射



無菌性の試験



滅菌線量設定

## ⑤ 結果の判定

陽性数1個以下 = 合格

滅菌線量が25 kGyとなる

陽性数3個以上 = 不合格

他の方法で滅菌線量を設定する

陽性数2個 = 再試験

確認検定線量試験を実施する。

「検定線量試験」をもう一度

実施する

# 滅菌線量監査について

滅菌線量設定時の条件で、引き続き滅菌することが可能かどうかを評価する。

実施頻度（ $VD_{\max}^{25}$ の場合） 通常3ヶ月毎に実施する

実施する試験

バイオバーデン試験

製品上に存在する微生物数と、あらかじめ定めたバイオバーデンの限度との関係を監視するため

滅菌線量監査（検定線量照射と無菌性の試験）

製品上に存在するバイオバーデンの放射線抵抗性を監視するため

# 滅菌線量監査の方法

バイオバーデン試験



検定線量照射



無菌性の試験



滅菌線量設定

## ① 製品サンプルの入手

1つのバッチから10個の製品試料を採取する



バッチE

## ② 平均バイオバーデンの決定

バッチ毎にバイオバーデン試験を実施し、平均バイオバーデンを求め、バイオバーデンのトレンド分析等に用いる。

# 滅菌線量監査の方法

バイオバーデン試験



検定線量照射



無菌性の試験



滅菌線量設定

設定試験時に  
決定された検定線量

## ④ 検定線量試験の実施

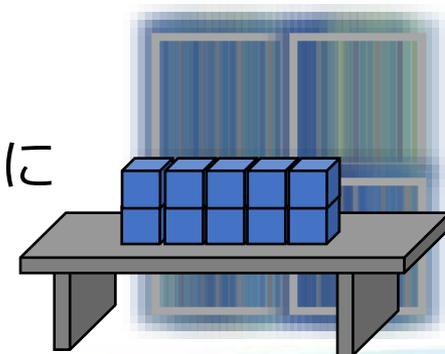
1つのバッチから10個の  
製品試料を採取する



バッチE

採取した製品試料に対して、  
検定線量を照射する。

吸収線量が7.1 kGyに  
なるように照射



線源

# 滅菌線量監査の方法

バイオバーデン試験



検定線量照射



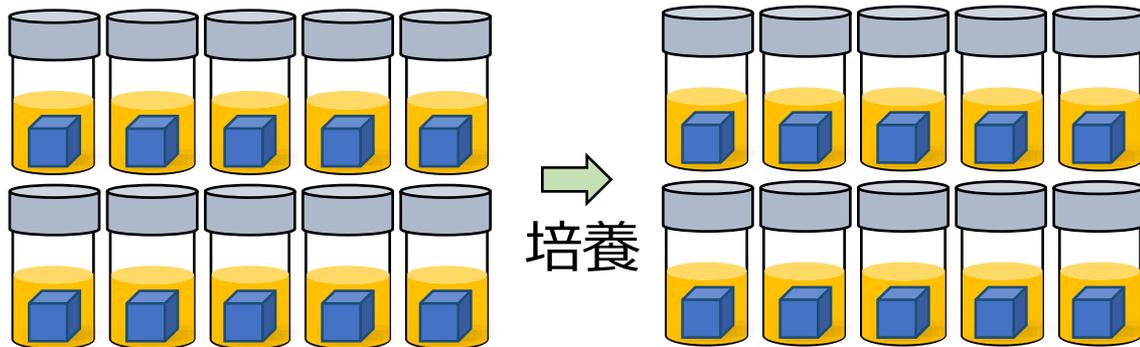
無菌性の試験



滅菌線量設定

## ④ 検定線量試験の実施

検定線量を照射した10試料に対して無菌性の試験を実施する  
(SAL=10<sup>-1</sup>を検証)



陽性数を記録する

10個中0個陽性

# 滅菌線量監査の方法

バイオバーデン試験



検定線量照射



無菌性の試験



滅菌線量設定

## ⑤ 結果の判定

陽性数1個以下 = 合格  
監査試験に合格

陽性数3個以上 = 不合格  
監査試験に不合格

陽性数2個 = 再試験  
確認検定線量試験を実施する。  
「検定線量試験」をもう一度  
実施する

# 滅菌線量監査試験で不合格となった場合

一時的に滅菌線量増加措置を実施し、新たに滅菌線量を設定する。

滅菌線量監査試験で不合格とならないために

製品のバイオバーデンの状態を一定に保つ

(バイオバーデンの状態 = 菌数及び菌の種類)

不合格とならないための仕組みを構築することが重要

## 4. 製品ファミリーの考え方

# 製品ファミリーの考え方

製品毎に滅菌線量の確立を実施する必要がある？



いいえ。製品ファミリーを定義し、代表製品でOK！

## 【留意点】

- 製品ファミリーと代表製品の根拠を文書化すること。
- 各製品のバイオーバーデンの変動要因を検討すること。
- **製品ファミリーの代表製品が不合格になった場合、製品ファミリーすべてが不合格になるリスクがあります。**



製品ファミリーと代表製品の選定が重要(次項参照)

# 参考資料：製品ファミリー【JIS T 0806-2:2014 4項】

製品を製品ファミリーにまとめて、滅菌線量の確立、滅菌線量監査を実施して良い【4.1】。

製品ファミリーを定義するための基準を文書化しなければならない【4.2.1】。

**注意！**

製品ファミリーの代表製品が滅菌線量の設定・監査に不合格になった場合、製品ファミリーのすべてが不合格になります【4.5】

**製品BBの変動要因【4.2.1】検討が必要**

- a) 原材料の性質・供給源
- b) 構成部品
- c) 製品設計・寸法
- d) 製造プロセス
- e) 製造機器
- f) 製造環境
- g) 製造場所

**製品を製品ファミリーに含めるとき**

- ・製品に関連した変動要因が類似し、適正に管理されている【4.2.2】
- ・バイオバーデンが類似の微生物の数・放射線抵抗性で構成されている【4.2.3】
- ・複数個所で製造されている場合は、明確な根拠を示し、記録を残す【4.2.4】
  - a) 製造場所間の地理・気候条件の差異
  - b) 製造プロセス・環境の差異
  - c) 原材料の供給源・生産副資材(水など)

についてBBIに及ぼす影響を考慮する

バイオバーデン測定と、菌種同定の実施を推奨いたします。

**製品ファミリーを代表する製品**

製品に存在する微生物の数・放射線抵抗性を基準とする【4.3.1.1】。

次のいずれかで代表する【4.3.1.2】

- a) マスタ製品
- b) 類似製品
- c) 模擬製品

次の事項に留意する【4.3.1.3】

- a) 微生物の数
- b) 微生物の放射線抵抗性
- c) 微生物が発生する環境
- d) 製品寸法
- e) 構成部品の数
- f) 製品の複雑性
- g) 製品製造の自動化の程度
- h) 製造環境

- a) 微生物が多い製品
- b) 放射線抵抗性の強い菌が付着している製品
- c) 微生物が多い環境で製造された製品
- d) より大きなサイズの製品
- e) 構成部品が多い製品
- f) より複雑な製品
- g) 人手を多く入っている製品
- h) 微生物が多い環境で製造された製品

**マスタ製品【4.3.2】**

他のメンバー製品より大きな耐滅菌性をもつ製品

**類似製品【4.3.3】**

同一の耐滅菌性をもつ製品

- a) 無作為で選択
- b) ?

**模擬製品【4.3.4】**

耐滅菌性が同等以上の模擬製品

【4.3.1.3】項に留意して代表製品を選ぶ必要があります。通常はマスタ製品を選択します。

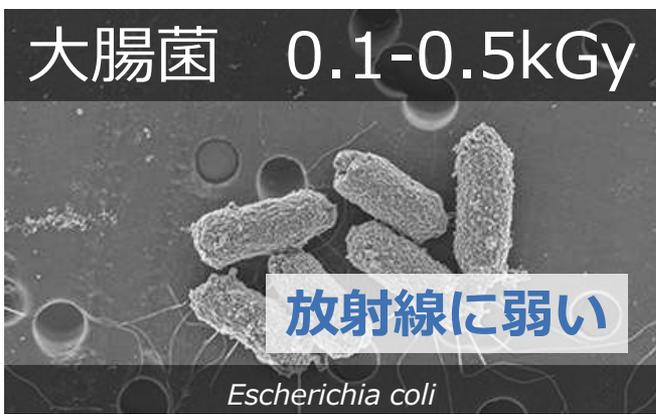
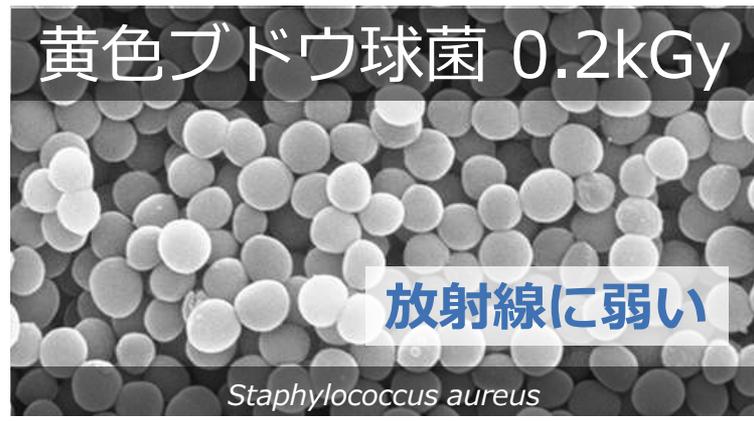
その際、各製品のバイオバーデン情報(数・菌種)を把握しておくことを推奨いたします。その情報は、代表製品を選択した根拠・記録として活用できます。

# 5. 微生物の特性付け

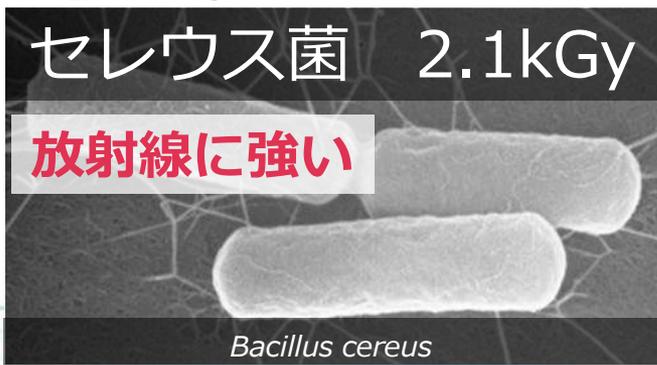
# 様々な微生物のD<sub>10</sub>値

D<sub>10</sub>値：菌数が1/10になる線量

微生物の種類により放射線抵抗性が異なります。

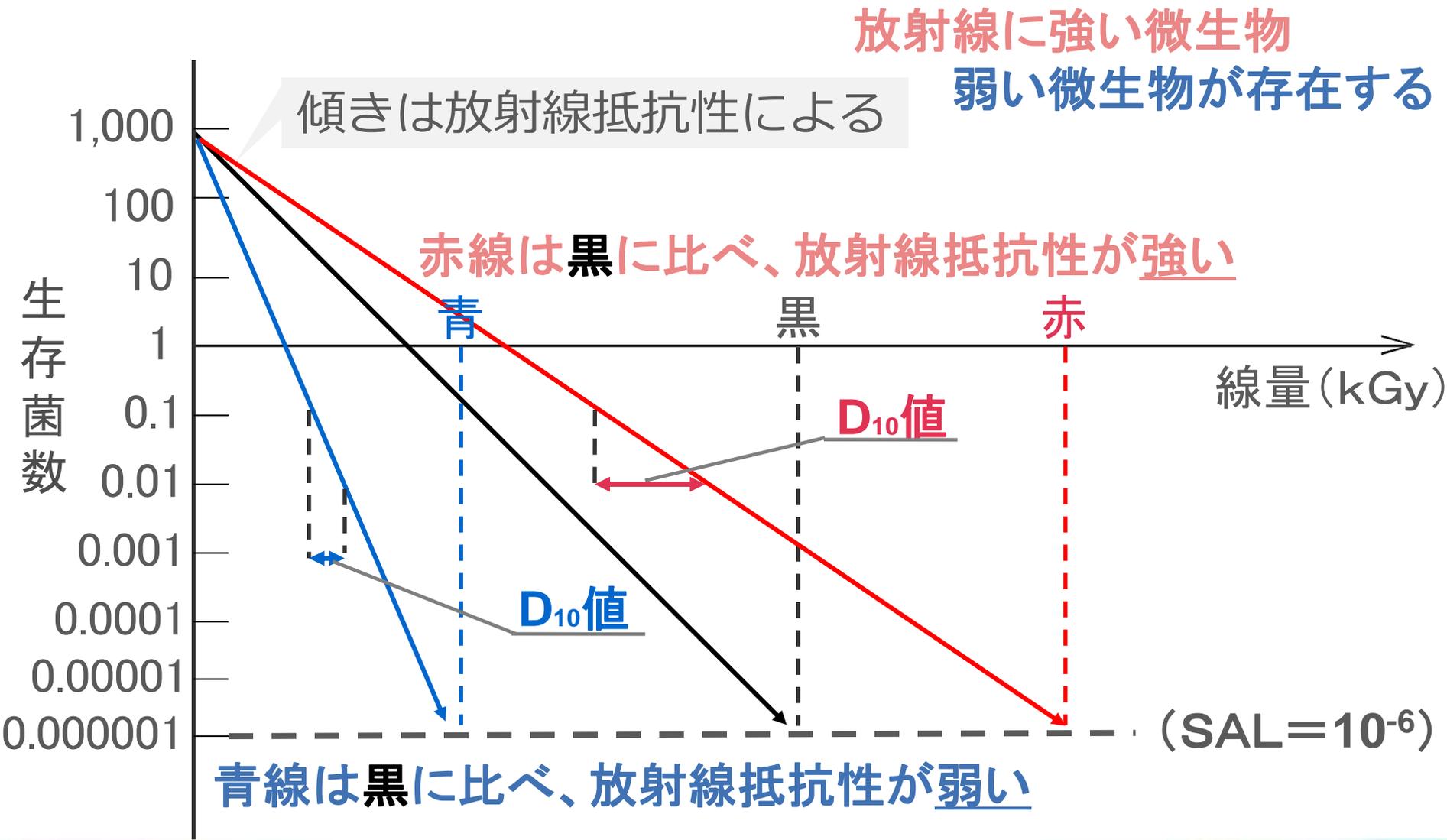


芽胞形成菌



写真：ヤクルト中央研究所HPより  
D<sub>10</sub>値：放射線滅菌の現状と展望（Ⅲ.生薬・漢方）より

# 菌種による滅菌線量の変化



# 微生物の特性付け JIS T 11737-1(ISO11737-1)

## 6. バイオバーデンの測定及び微生物学的特性付けの方法

6.2.1 微生物学的特性付けには、適切な方法を選択しなければならない。

注記 微生物学的特性付けは、バイオバーデンデータの利用（例えば、滅菌プロセスの確立）の幾つかの面に影響を与えるような製品の微生物相の変化を検出するために必要である。

## 8. 日常のバイオバーデン測定及びデータの解釈

8.3 バイオバーデンの微生物学的特性付けは、バイオバーデンの測定から得られるデータの使用目的に応じて実施しなければならない。

微生物の特性付けは、微生物の同定が最も効果的です。

# 微生物同定

製品に存在する微生物を同定しておくことが重要です。



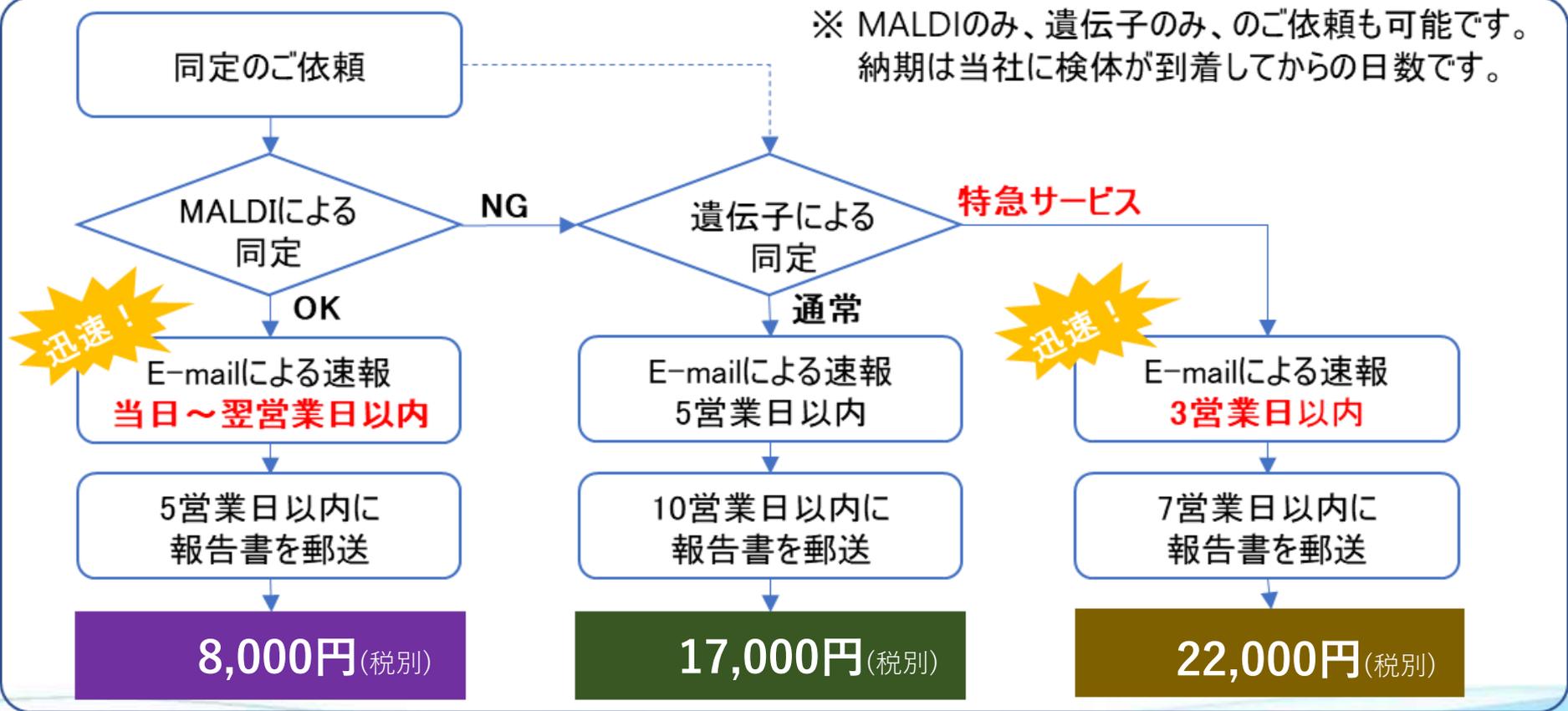
**迅速**  
**低価格**  
**豊富な当社実績**

**MALDI TOF-MS**



**高精度の同定**  
**信頼性**

**遺伝子同定**



# 同定菌の参考情報

同定報告書速報と同時に弊社のデータベースに記載のある菌については、以下の情報を参考として送付いたします。

- ・ 菌の情報
- ・ 菌名の日本語読み
- ・ 放射線抵抗性（D値）
- ・ BSL（日本細菌学会のバイオセーフティレベル）

## 同定菌の参考情報

<p><b><i>Acinetobacter baylii</i></b>（アシネトバクター・バイリイ）            D値：— kGy、BSL分類：記載なし            大きさ1.0~1.5×1.5~2.5μmの球桿菌で、発育に酸素を必要とし、運動性はない。カタラーゼ試験陽性、オキシダーゼ試験陰性で、ブドウ糖非発酵型のグラム陰性菌である。</p>
<p><b><i>Staphylococcus epidermidis</i></b>（スタフィロкокカス・エピデルミディス）            D値：— kGy、BSL分類：BSL1*            グラム陽性の球菌でコアグラール陰性のブドウ球菌である。人間の皮膚表面、鼻腔などの最も普遍的な常在菌であり、表皮ブドウ球菌と言われる。通常は非病原性であり、他の病原菌から表皮を守るバリアとしての役割が知られるが、体内に侵入すると病原性を発することもある。酸素のあるところでも酸素のないところでも増殖できる適性嫌気性菌である。比較的乾燥に強い菌である。空中浮遊菌としても検出される。</p>
<p><b><i>Stenotrophomonas maltophilia</i></b>（ステノトロホモナス・マルトフィリア）            D値：— kGy、BSL分類：BSL1*            本菌は、土壌、水、植物などのさまざまな環境で見られる好気性のグラム陰性菌でブドウ糖非発酵型菌でもある。鞭毛を有するため運動性がある。また、病院環境でも発生し、血流感染症、呼吸器感染症、尿路感染症、手術部位感染症を引き起こす可能性がある。細胞の大きさは、幅1.5μmで長さ1.5~2.5μmである。一般的な栄養寒天培地でのコロニーの色調は、淡い黄色である。カタラーゼ及びオキシダーゼ試験は陽性である。生育温度は20~42℃で、最適温度は30~35℃である。pHは5~9で最適pHは6~7である。</p>
<p><b><i>Bacillus horneckiae</i></b>（パチルス・ホルネキアエ）            D値：— kGy、BSL分類：記載なし            本菌はケネディ宇宙センターのクリーンルームより分離された<i>Bacillus</i>属の芽胞形成菌である。好気性のグラム陽性桿菌（幅が1~1.5μm、長さが4~6μm）で、運動性がある。細胞の末端に横円形の芽胞を形成する。生育温度は5~40℃で、最適温度は30℃であり、pHは7~10で、最適pHは7であった。NaCl塩濃度は10%の存在下でも生育できた。ソイビーンカゼインディジェスト寒天培地で32℃で24時間培養後のコロニーは、黄色がかった無地で、直径は3mmで、コロニーの縁は不規則な形であった。芽胞は紫外線に対して抵抗性であった。芽胞は熱、紫外線、放射線、化学薬品に対して抵抗性を示す。</p>
<p><b><i>Bacillus horikoshii</i></b>（パチルス・ホリコシイ）            D値：— kGy、BSL分類：記載なし            本菌は、土壌より分離された好アルカリ性菌で、<i>Bacillus</i>属の芽胞形成菌である。好気性の桿菌（幅が2~0.7μm、長さが0.7~4μm）でグラム陽性菌である。細胞の末端に横円形の芽胞を形成する。芽胞形成期細胞は幾分膨化する。生育温度は10~40℃であり、pHは7~8で、最適pHは8であった。NaCl塩濃度は2~9%の存在下で生育できた。コロニーは小さい円形で、縁全体が光沢のある表面で、色調は光沢のある白色である。芽胞は熱、紫外線、放射線、化学薬品に対して抵抗性を示す。</p>
<p>無断で本資料の一部を複製して使用しないでください。            BSL分類は「BSL1*」以上の菌種を記載しています。「BSL1*」は日和見病原体を意味します。            本資料は、当社の知見、WEB資料、保有する文献・データを参考に作成しています。            本資料の取り扱いにより生じた不利益については、当社は責任を負いません。            参考資料としてご利用ください。</p>

# MALDI迅速同定法

規格、基準等には新しい同定技術としてMALDI迅速同定法が記載されています。

●第17改正日本薬局方 参考情報 G4. 微生物関連 微生物迅速試験法にて「質量分析法」として記載

●ISO 11737-1:2018 6.2 バイオバーデンの微生物学的特性付けにて「バイオバーデンは、次の技術の一つ以上使用して特性付けしなければならない」とあり、  
「g) プロテオーム法、例えば、質量分析法」として記載



# MALDI迅速同定と遺伝子同定の比較

様々な研究者が、MALDI迅速同定と遺伝子同定との比較を行い概ね**遺伝子同定と同等の結果**が得られる、との報告があります。

(下記JOURNAL OF CLINICAL MICROBIOLOGY, June 2008, p. 1946–1954、Nonfermenting Bacteriaで比較)

- ・ 非発酵菌を80菌株について遺伝子同定と比較し、**種レベルの一致が85%**だった。

Evaluation of Matrix-Assisted Laser Desorption Ionization–Time-of-Flight Mass Spectrometry in Comparison to 16S rRNA Gene Sequencing for Species Identification of Nonfermenting Bacteria , A. Mellmann, J. Cloud, T. Maier, U. Keckevoet, I. Ramminger, P. Iwen, J. Dunn, G. Hall, D. Wilson, P. LaSala, M. Kostrzewa, and D. Harmsen , JOURNAL OF CLINICAL MICROBIOLOGY, June 2008, p. 1946–1954

- ・ 720菌株を遺伝子同定と比較し、**種レベルの一致が94%**だった。

Comparison of Two Matrix-Assisted Laser Desorption Ionization–Time of Flight Mass Spectrometry Methods with Conventional Phenotypic Identification for Routine Identification of Bacteria to the Species Level , Abdessalam Cherkaoui, Jonathan Hibbs, Ste ´ phane Emonet, Manuela Tangomo, Myriam Girard, Patrice Francois, and Jacques Schrenzel, JOURNAL OF CLINICAL MICROBIOLOGY, Apr. 2010, p. 1169–1175

- ・ Streptococcus属を386菌株について遺伝子同定と比較し、**種レベルが100%一致**した。

Evaluation of Matrix-Assisted Laser Desorption Ionization–Time of Flight Mass Spectrometry for Rapid Identification of Beta-Hemolytic Streptococci, Abdessalam Cherkaoui, Ste ´ phane Emonet, Jose ´ Fernandez, Didier Schorderet, and Jacques Schrenzel, Beta-Hemolytic Streptococci , JOURNAL OF CLINICAL MICROBIOLOGY, Aug. 2011, p. 3004–3005

# 最後に・・・

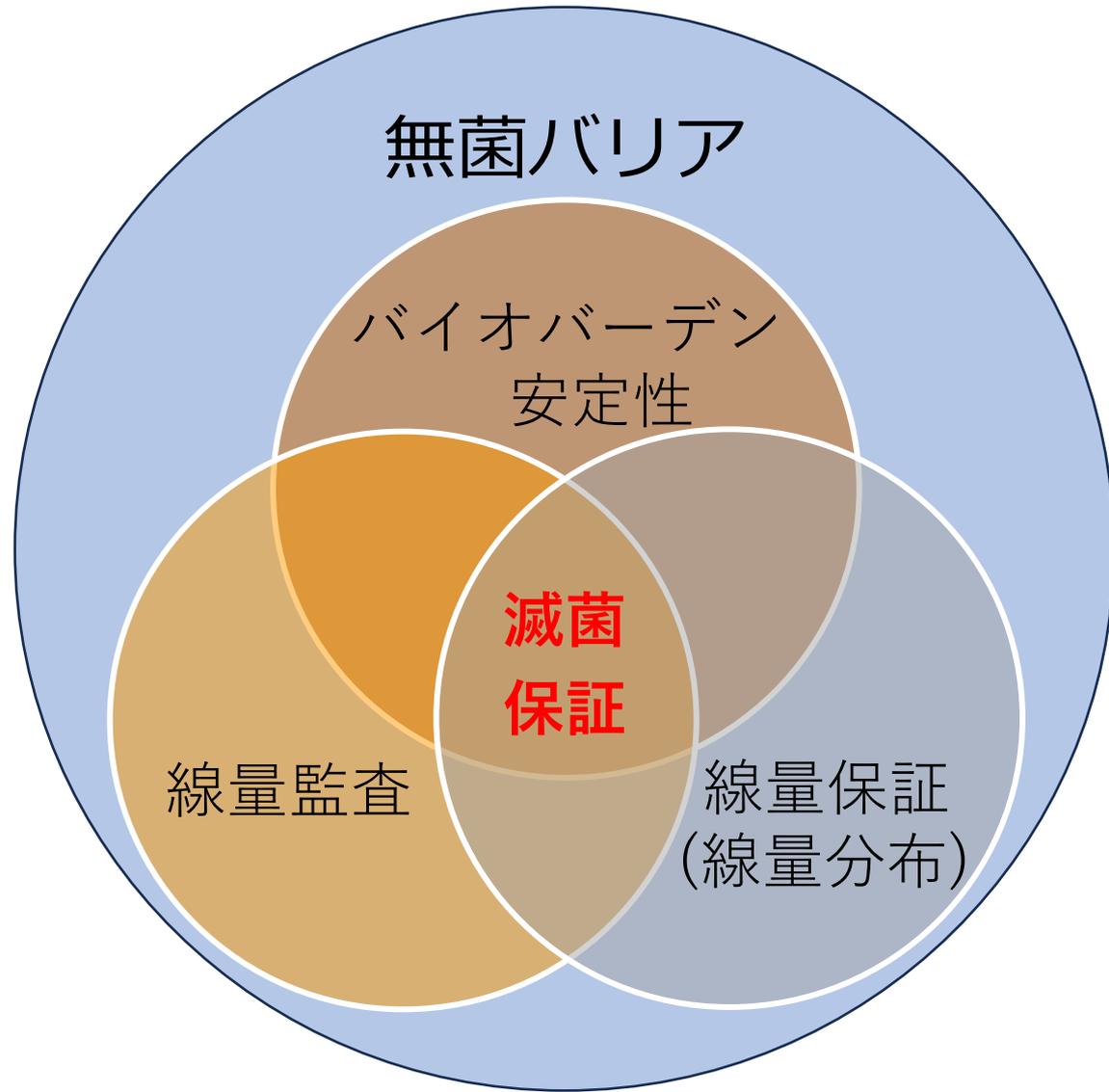
## 「滅菌保証」する条件

### 【製造業者】

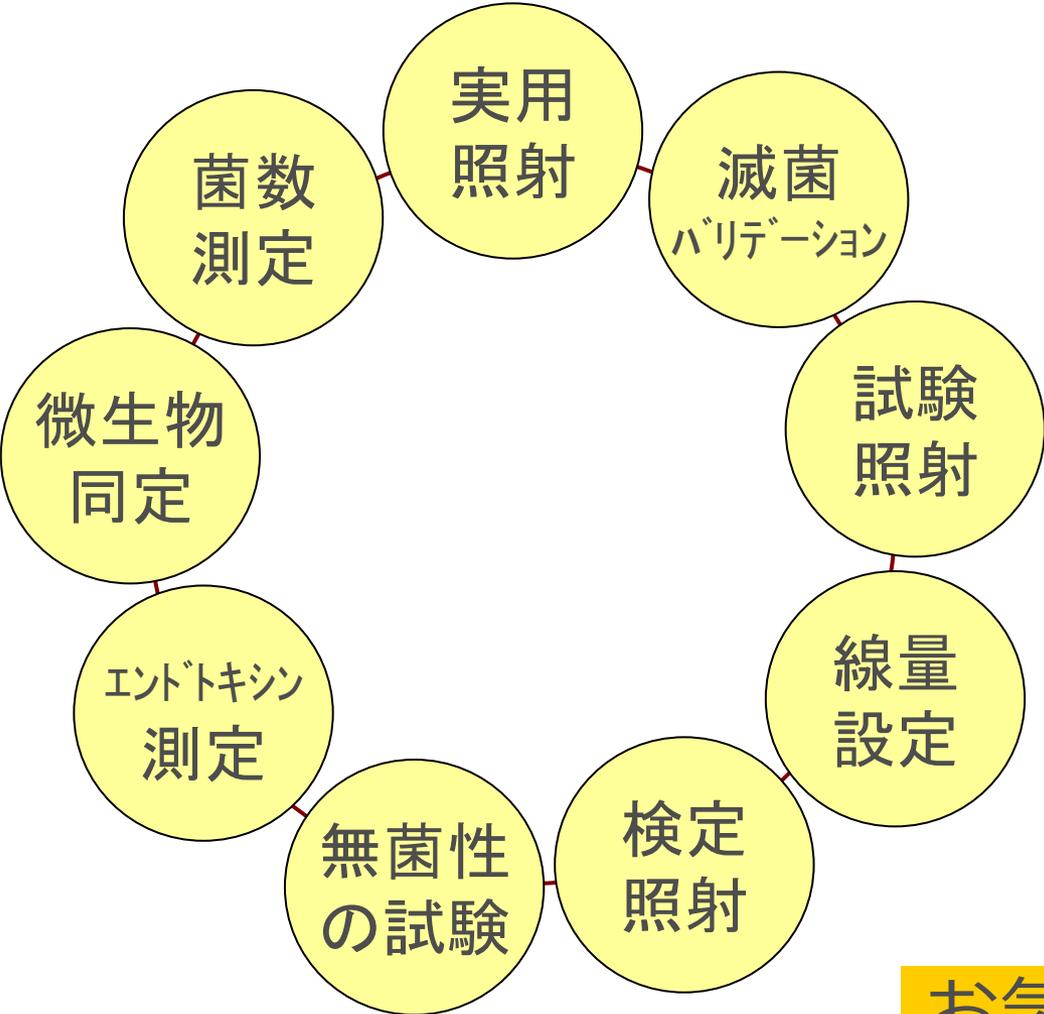
- 一次包装の無菌バリア
- バイオバーデン安定性
- 線量監査

### 【照射会社】

- 線量保証（線量分布）



# 微生物試験から実用照射まで



微生物試験から  
ガンマ線照射まで  
**トータルサービス**  
を提供いたします。

お気軽にご相談ください！

# ありがとうございました

お問い合わせは・・・

(工場見学、お打ち合わせ、WEB会議)

**株式会社コーガアイソトープ**

営業部 松本 敦

E-mail : [matsumoto@koga-isotope.co.jp](mailto:matsumoto@koga-isotope.co.jp)

まで、お願いします。

