

# 事前質問

# Q&A

2025年3月19日（水）





微生物試験の事を聞きたいと思っております。クリーンルームの浮遊菌の微生物の同定など行われているようでしたら、こちらが微生物の生えたシャーレを送るところから～検査結果がでるところまでがどのような流れなのか知りたいです。

A

①培養した菌のコロニーの直径が2mm程度になりましたら、シャーレに識別の表示を行い、常温にて滅菌研究センターに送付願います。

②同時に「微生物迅速同定試験申込書（Excelシート）」をご記入いただき、同申込書に記載されたメールアドレスへご送付ください。また、同申込書を検体と共に添付願います。

\* 申込書はHPからダウンロードできます。

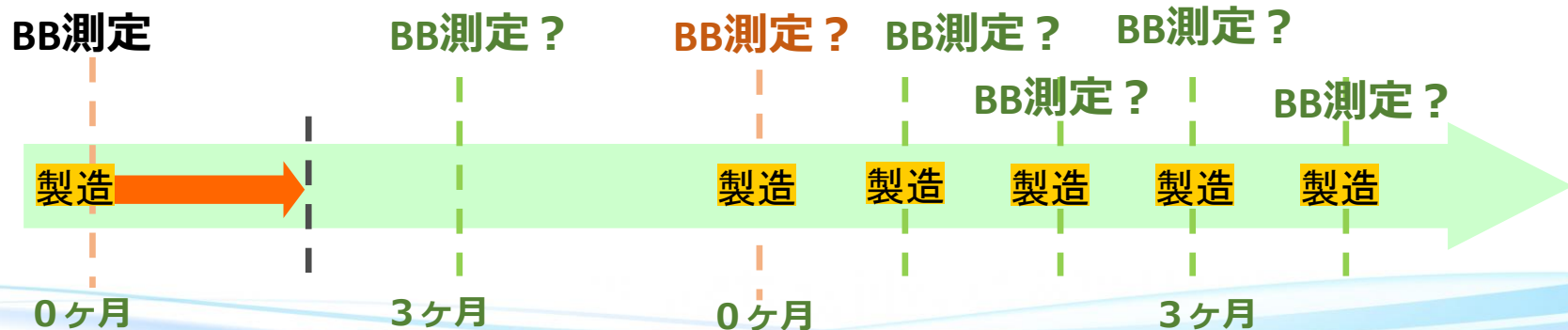
弊社ではMALDI、遺伝子同定の2つで同定を承っております。検体到着から、

- ・ MALDIのみ：翌営業日
  - ・ MALDI+ 遺伝子：特急 3 営業日、通常納期5営業日
- で速報をお送りいたします。



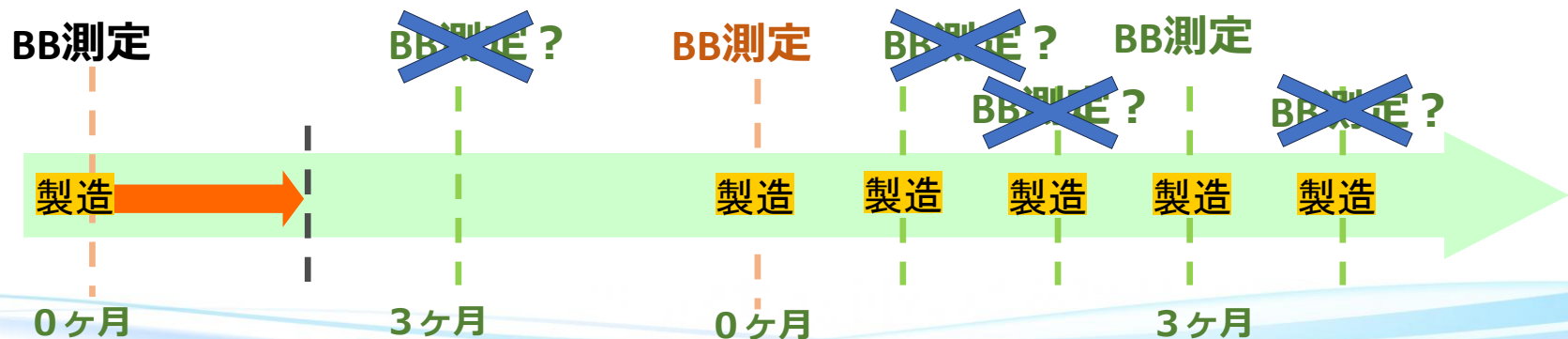
# 滅菌監査について質問させてください。

- ① ISO11137-1 : 2006では試験頻度についてバイオバーデンの測定頻度で平均BBが1.5以上の製品で次の測定までの最大時間間隔を3か月としていた場合に、次のBB測定までに生産がなくBB測定ができなかった場合には、生産バッチごとの測定に移行しなければならないと解釈できるのですが、
- ② ISO13004ではISO11137-1 : 2006に従うとしながらも、製品が生産されていない期間中には、滅菌線量監査は必要とされないと記載があるのですが、この滅菌線量監査が必要とされないのはVDmax法で管理されている場合のみなのでしょうか。



# A

- ① 「生産バッチごとの測定」とは、生産されていない期間が終了した最初の生産バッチで実施すればよい解釈となります。  
今年5月に改正されるISO11137-1:2025では、誤解を防ぐために「特定された最大間隔よりも長い場合には、バイオバーデンの決定は、次の生産バッチに実施しなければならない。」の表現に修正されます。
- ② ISO11137-1：2006の12.1.3.4にバイオバーデンの決定頻度と同様に「生産バッチごと・・・」の表現となり、すべての方法において、休止終了の次の生産バッチが適用されます。





- ③ また、方法1や2で管理していた場合で最大時間間隔を3か月としていた場合に、3か月以内に生産がなくBB測定ができなかった場合には、次回生産時から即座に生産バッチごとの測定に移行しなければいけないのでしょうか。
- もしくは過去の測定実績をもって、測定の空白期間があっても3か月に1回の測定を維持できるものなのでしょうか。

A

- ③ 3か月以内に生産がなくBB測定ができなかった場合には、次回生産時の生産バッチでの評価で問題ありません。次回規格改正には、「年4回でかつ、4ヶ月を超えない」の記述がありますので、その次は、再開した生産バッチから決められた間隔で年4回になるように実施することになります。
- 注意が必要なのは、3か月を過ぎていますので、監査を3か月ごとにしていた場合、監査を合格してからでないと出荷できません。
- また、過去の実績は現在の保証にはならないと思いますので再開生産バッチで確認する必要があると思います。



ISO11137-1の改正案では、BB決定は菌数に加えて同定することが要求されると聞いております。検出菌数が多くてもすべてを同定する必要があるのでしょうか？



同定の目的は、製品に付着しているバイオバーデンの主要な菌種、放射線耐性菌の確認、および変動の確認になりますので、

- 可能であれば全て同定することが望ましい
- コロニーまたは顕微鏡観察でグループ化できればその代表を同定する
- 全体からランダムに一定の割合でサンプリングし、おおよその全体像を把握する

などが考えられます（審査官を納得させられるか？が重要です）

# よくある質問

## Q&A

2025年3月19日（水）





定期的に測定するバイオーバーデンは同定すべき？

A

- ①設定時と菌叢があまり変わっていない。
- ②放射線抵抗性菌種（バチルス セレウス、バチルス メガテリウム、デイノコッカス ラディオデュランス）などが検出されない。
- ③グラム陰性菌が多く存在していないか？
- ④汚染源の特定と改善のヒント

滅菌線量監査に合格するため、これらのことを定期的に確認することは重要です。



# A

当社で同定いただくと、ご要望が多かった、同定された菌の情報、バイオセーフティレベル、放射線滅菌のD値などの参考情報を添付するようにしました。ぜひ菌管理の参考にしていただければ幸いです。

## 同定菌の参考情報

### *Bacillus subtilis* (バチルス・サブティリス)

D値 : 1.68 kGy , BSL分類 : 記載なし

本菌は、土壌や植物に普遍的に存在し、空気中に飛散している浮遊菌の一つであり、頻繁に検出される*Bacillus*属の芽胞形成菌である。好気性のグラム陽性桿菌(幅が0.7~0.8 $\mu$ m、長さが2~3 $\mu$ m)で、運動性がある。細胞の末端に楕円形の芽胞を形成する。芽胞形成期細胞は膨化しない。生育温度は5~50 $^{\circ}$ Cであり、最適温度は28~30 $^{\circ}$ Cである。NaCl塩は生育に必要なが、7%以下の塩濃度で生育できる。寒天培地でのコロニーの形状は、円形、あるいは不規則な形で表面が鈍く、厚くなり不透明でシワがある。色調はクリーム色、あるいは茶色になる。芽胞は熱、紫外線、放射線、化学薬品に対して抵抗性を示す。

### *Corynebacterium mucifaciens* (コリネバクテリウム・ムシファシエンス)

D値 : 1程度 kGy , BSL分類 : BSL1\*

ヒトの臨床検体から分離されたコリネ型細菌である。グラム陽性の非抗酸菌であり、運動性もなく、芽胞も形成しない多形性コリネ菌である。通性嫌気性菌でカタラーゼ試験は陽性であった。血液寒天培地で24時間培養後のコロニーは、円形で凸状で、きらめき、わずかに黄色がかって粘調性があった。コロニーの直径は約1~1.5mmであった。ブドウ糖から酸を産生した。

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。





滅菌線量監査試験の省略はできる？

A

滅菌線量の監査試験（検定照射＋無菌性試験）の省略については、11137-1 12.1.3.2に記載があります。

- ①4回監査に合格する
- ②この4回のバイオバーデンが限度値内で安定していて、全て菌の特徴づけ（同定など）ができています
- ③製品のバイオバーデンが管理できており、その有効性が立証されている。

⇒12か月まで延長可能

バイオバーデンの測定と特徴づけは省略できない  
限度値を超えた場合直ちに監査を実施  
万が一不合格になると12か月分の回収となる



VDmaxSD法において、例えば平均バイオバーデン数が2であった場合に、バイオバーデンの変動を考慮して100に相当する検定線量を照射して評価する、という方法は妥当でしょうか。

A

いいえ。その方法は不当です。

それでは、製品の抵抗性と、標準抵抗性分布の抵抗性を比較することができません。

その製品のBBに応じた検定線量を使用することにより、正しく抵抗性を比較することが可能になります。



治験薬など、年に数回しか製造しない製品の場合、製造キャンペーンまたは製造ロットごとに定期監査（バイオバーデン数測定、検定線量照射、無菌性試験）を実施する必要があるでしょうか。

A

その場合には、単一製造バッチの考え方で滅菌線量設定する必要があります。

単一



複数





滅菌線量設定試験でのバイオバーデン測定は、一次包装の内側まで測定が必要？

A

バイオバーデン測定は、包装システムから取り出した製品で実施し、包装システムは除外しても問題ありません。



複数個検出されたバイオバーデンは全て同定すべき？

A

同定の目的は、製品に付着しているバイオバーデンの主要な菌種、放射線耐性菌の確認、および変動の確認になりますので、

- ・ 可能であれば全て同定することが望ましい
- ・ コロニーまたは顕微鏡観察でグループ化できればその代表を同定する
- ・ 全体からランダムに一定の割合でサンプリングし、おおよその全体像を把握する

などが考えられます。



滅菌線量設定後、何カ月毎にバイオバーデン測定が必要？

A

VDmax15、VDmax17.5、方法1で15kGy以下に設定した場合は、1カ月毎の測定が必要です。

上記以外は3カ月毎に測定が必要です。

これらは必要最小数です。滅菌線量監査不合格を防ぐためには、もう少し増やしたほうが良いでしょう。



半年に1回、5日間だけ製品を製造する。  
製造日ごとにロットが変わるが、複数製造バッチ  
で滅菌線量設定が必要？

A

滅菌線量設定におけるバッチは、「定められた製造プロセスで生産され、特性及び品質が均一であることを意図したもの、又はみなすことができる定められた量の製品」です。

各々の製造ロット製品が、この考え方で1バッチになるのであれば、単一製造バッチでの滅菌線量設定で良いです。

製造者が定める「ロット」と、滅菌線量設定時の「バッチ」は、必ずしも同一でなくても構いません。





製品の一次包装を変更した場合、滅菌線量の再設定が必要？

A

再設定が必要です。



日常生産品（複数バッチ）で線量設定した製品が半年間製造を中止する。  
その間でも3か月毎の線量監査は必要？

A

不要です。  
製造を再開する際に実施すれば問題ありません（但し試験が終わるまでの1か月ほどは出荷できませんのでご注意ください）。



製品ファミリーを設定したときに注意することは？

A

滅菌線量監査で不合格になったとき、ファミリー全体の製品が不合格になります。

製品ファミリー、代表製品の設定の妥当性を年1回のレビューで検証することが必要です。



製品ファミリーの代表製品は、同種の中で最も大きな製品にする必要がある？

A

代表製品を選択する際には、BB数、菌種、製品寸法、構成部品数、製品の複雑さ、製造の自動化の程度、製造環境に留意する必要があります。

同じ製品ファミリーに属する他のメンバ製品よりも大きな耐滅菌性をもつことが認められた場合だけマスタ製品とみなすことができます（JIS T 0806-2 4.3.2）。

最も大きな製品は小さな製品よりBB数が多いと考えられ、他製品より耐滅菌性をもつことが考えられます。ただし、寸法だけでなく他の要因もあるため、必ずしも最も大きな製品が耐滅菌性が大きいとは限りません。



分割試料（SIP）はどんな製品にも適用できる？

A

平均BBが0.9未満の製品には適用できません。

SIPを適用する場合は、妥当性を立証しなければなりません。

20 個の SIP について無菌性の試験を行い、少なくとも 17 個の無菌性の試験が陽性になるか、20 個以上の SIP について少なくとも 85 %で 1 以上のバイオーバーデンが見つからなければなりません。



バイオバーデン測定で検出された菌の放射線抵抗性（D値）の情報が文献等で入手できない場合、御社でD値を測定して頂くことは可能でしょうか。



はい。可能です。ご相談ください。

❓ 製品に抗菌性がある場合のバイオバーデン測定方法は？

A

以下のような方法が考えられます。

- ・ 洗い出し法を選択し、濾過して抗菌性物質と微生物を分離する。
- ・ 抗菌性物質に対する中和剤を添加する。
- ・ 抗菌性物質が不活化するまで希釈する



1包装に5個の同じ製品が入っている場合、この1包装を製品1個とする？

A

ふたつの考え方があります。

①1包装を製品1個とする。

SAL= $10^{-6}$ は1包装に対して達成できる。

(5個を同時に使用するのであれば、こちらを選択)

②包装から取り出した製品を1個とする。

SAL= $10^{-6}$ は製品1個に対して達成できるが、1包装に対してはSAL= $10^{-6}$ は達成できない。

(5個を個別に使用するのであれば、こちらでも可)



❓ 細胞培養に使用する使い捨て資材には滅菌保証が必要？

A 製品の無菌性に与える影響の大き  
さで決定することになります。

再生医療等製品の無菌製造法に関する指針の質疑応答集より

当社では、製品に触れる資材は滅菌保証（SAL=10<sup>-6</sup>）が必要と考えます。

❓ ガンマ線滅菌の有効期限はどうやって決めるの？

A 最大許容線量が照射された試験品が定められた期間において問題ないことが確認できれば、有効期限が設定できます。  
一次包装を含んだ試験が必要です。



定期的に測定するバイオバーデンの限度値はどうやって決める？

JIS T0806-1:2015 12.1.1

確立した滅菌線量の有効性が継続していることを、次の事項を実施して立証しなければならない。

a) 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のバイオバーデンの決定

A

VDmaxを適用している場合には、いったん初回測定時の3ロットのBB（の標準偏差）を元に設定できると下記に記載があります。年間のデータが蓄積された時点で、傾向からバイオバーデン限度値を改めて定めるのが良いと考えます。

(ISO11737-1:2019のA8.6 バイオバーデンレベル)

日本規格協会 ヘルスケア製品の滅菌及び滅菌保証 12.1.9にシューハートの管理図を用いた設定方法が紹介されています。

その他、疑問・質問がありましたら、  
お気軽にお問い合わせください。



株式会社コーガアイソトープ。

KOGA ISOTOPE LTD.