滅菌保証と微生物試験（実践編）

2021年10月21日

滅菌研究センター　福山　貞伸

本日の内容

- 医療機器の滅菌

- 滅菌保証について

- ガンマ線滅菌
  ー滅菌線量設定試験と監査試験ー

- 確実な滅菌のために
  ー微生物の動態管理ー

医療機器の滅菌

滅菌とよく似た言葉

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

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。

滅菌する時に必要な微生物試験

・製品に微生物が付着しているかどうかを調べる試験

無菌性の試験、無菌試験

・製品に付着している微生物の数を測定する試験

バイオバーデン試験、生菌数試験

・微生物の種類を調べる試験

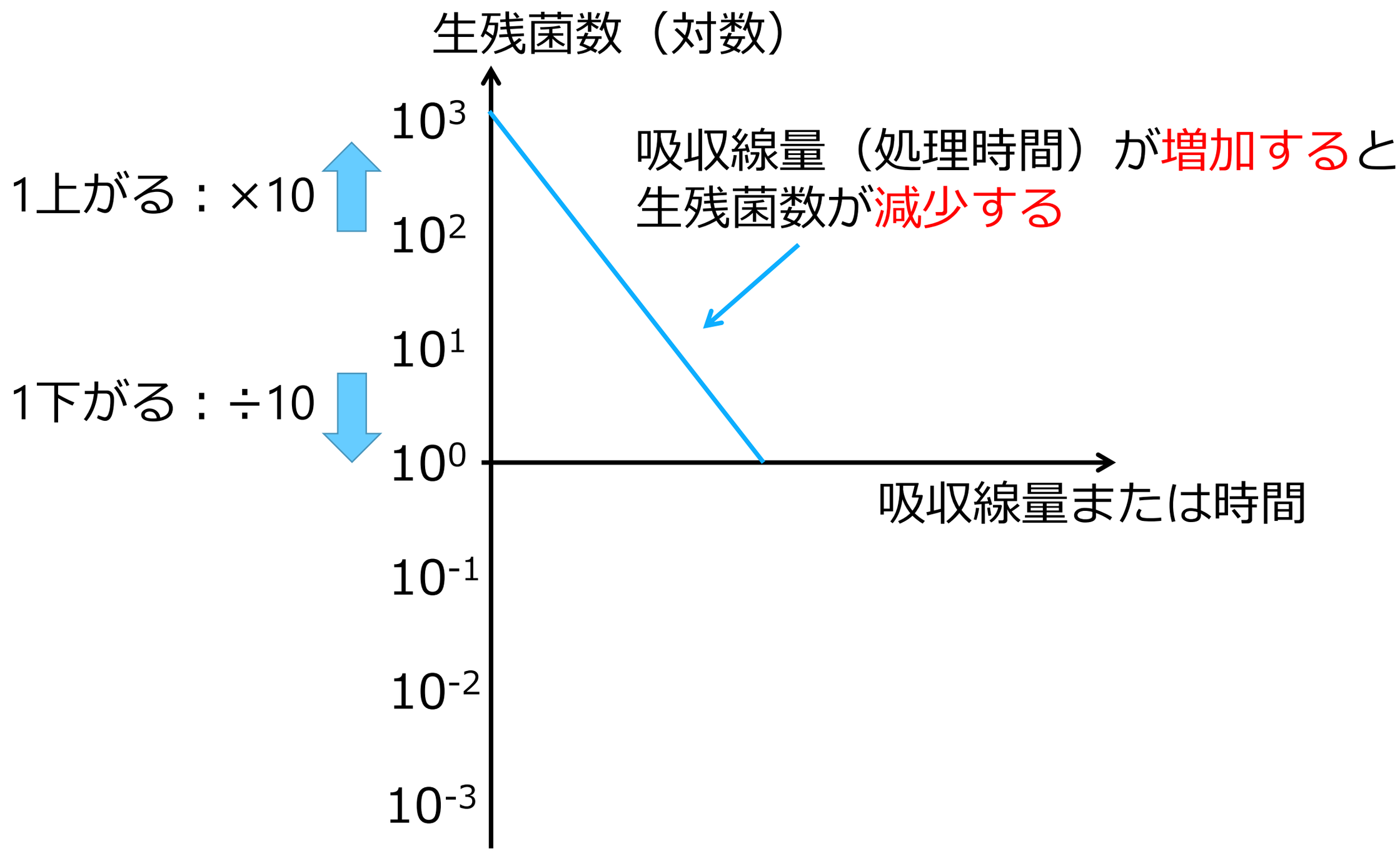
微生物の特性付け、微生物の同定

これらの試験を組み合わせて滅菌を保証する。

滅菌保証について

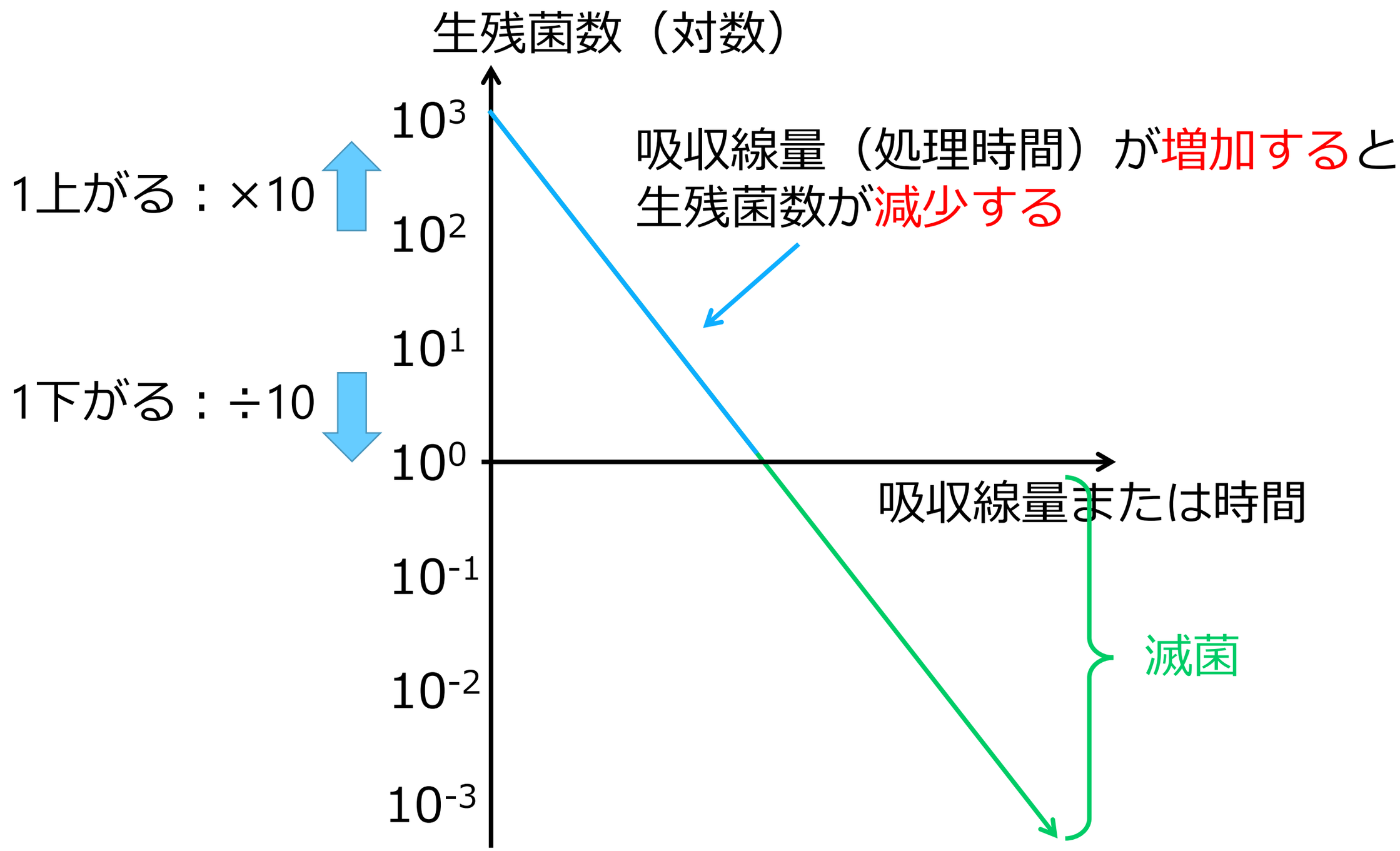
滅菌処理と菌数の変化

製品1個に付着している菌数の変化（生残曲線）

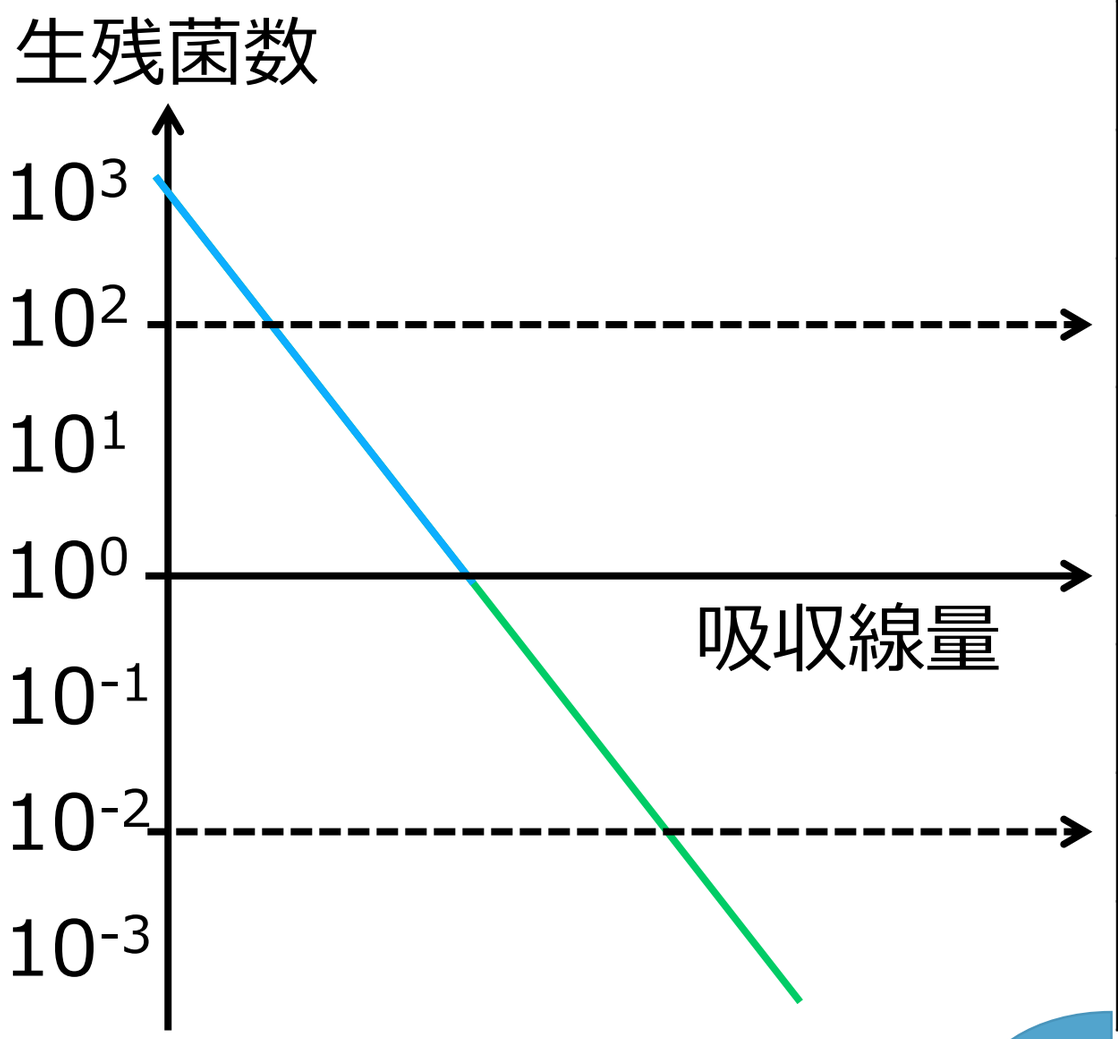


滅菌処理と菌数の変化

製品1個に付着している菌数の変化（生残曲線）



滅菌の概念図



製品数	菌数
1個	1000
1個	100
1個	10
1個	1
1個	0.1
1個	0.01
1個	0.001

製品数を増やすことで
菌数を1にする

10個	1
100個	1
1000個	1

製品100個中に1個の菌が
存在している状態

無菌性保証水準（SAL）

滅菌に求められる無菌性保証水準

ヘルスケア製品の滅菌に関するISO規格では、
規定されていない

滅菌バリデーション基準は、
10^{-6}を達成することを無菌性の保証としている。

日本では10^{-6}以下を滅菌としている

滅菌とは、
　　無菌性保証水準（SAL）＝10^{-6}以下にすること

滅菌を保証するためには、
　　SAL＝10^{-6}以下を証明する必要がある

ガンマ線滅菌
滅菌線量設定試験と監査試験

ガンマ線滅菌に関する規格

JIS T 0806-2:2014
（ISO 11137-2:2013、ISO/TS 13004:2013）
ヘルスケア製品の滅菌ー放射線ー
第２部：滅菌線量の確立

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

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

製品に付いている菌数に基づいて滅菌線量を設定する方法

- 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

製品に付いている菌の放射線抵抗性に基づいて滅菌線量を設定する方法

・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_{max}	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_{max}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

製造バッチについて

単一製造バッチ

一度、製造すると3ヶ月以上製造しない

一度、設定した滅菌線量は、その製造分のみに適用される。

複数製造バッチ

3ヶ月の間に、2回以上製造する

一度、滅菌線量を設定すると、その後、製造した全ての製品に対して適用できる。

$VD_{max}{}^{25}$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

↓

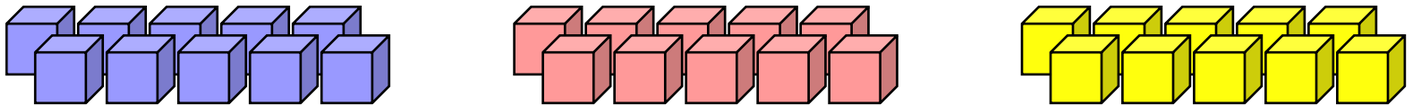
無菌性の試験

↓

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

平均バイオバーデン＝10

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

③ VD_{max}^{25}の取得

平均バイオバーデン	SIP＝1.0 VD_{max}^{25} kGy	SIP 線量減少係数 kGy	平均バイオバーデン	SIP＝1.0 VD_{max}^{25} kGy	SIP 線量減少係数 kGy
≦0.1	0.0	a)	40	8.6	3.29
0.15	0.9	a)	45	8.7	3.27
0.20	1.4	a)	50	8.8	3.25
0.25	1.8	a)	55	8.9	3.23
0.30	2.2	a)	60	8.9	3.21
0.35	2.5	a)	65	9.0	3.20
0.40	2.7	a)	70	9.1	3.19
0.45	2.9	a)	75	9.1	3.17
0.50	3.1	a)	80	9.2	3.15
0.60	3.4	a)	85	9.1	3.11
0.70	3.6	a)	90	9.1	3.08
0.80	3.8	a)	95	9.1	3.05
0.90	4.0	a)	100	9.0	3.01
1.0	4.2	4.17	110	9.0	2.96
1.5	4.8	4.05	120	9.0	2.91
2.0	5.2	3.97	130	8.9	2.86
2.5	5.5	3.91	140	8.9	2.83
3.0	5.7	3.86	150	8.9	2.79
3.5	5.9	3.82	160	8.8	2.76
4.0	6.1	3.79	170	8.8	2.72
4.5	6.2	3.76	180	8.8	2.69
5.0	6.3	3.73	190	8.7	2.67
5.5	6.5	3.71	200	8.7	2.64
6.0	6.6	3.69	220	8.7	2.60
6.5	6.7	3.67	240	8.6	2.56
7.0	6.7	3.65	260	8.6	2.52
7.5	6.8	3.64	280	8.6	2.49
8.0	6.9	3.62	300	8.6	2.46
8.5	7.0	3.61	325	8.5	2.43
9.0	7.0	3.59	350	8.5	2.40
9.5	7.1	3.58	375	8.5	2.37
10	7.1	3.57	400	8.4	2.34
11	7.2	3.55	425	8.4	2.32
12	7.3	3.53	450	8.4	2.30
13	7.4	3.51	475	8.4	2.28
14	7.5	3.50	500	8.4	2.26
15	7.6	3.48	525	8.3	2.24
16	7.6	3.47	550	8.3	2.22
17	7.7	3.46	575	8.3	2.21
18	7.8	3.45	600	8.3	2.19
19	7.8	3.43	650	8.3	2.16
20	7.9	3.42	700	8.2	2.14
22	8.0	3.40	750	8.2	2.12
24	8.1	3.39	800	8.2	2.09
26	8.1	3.37	850	8.2	2.07
28	8.2	3.36	900	8.1	2.05
30	8.3	3.34	950	8.1	2.04
35	8.4	3.31	1 000	8.1	2.02

平均バイオバーデン	VD_{max}^{25} (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VD_{max}^{25}＝7.1 kGy

→製品に7.1 kGy照射すると$SAL=10^{-1}$になる。

$VD_{max}{}^{25}$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

↓

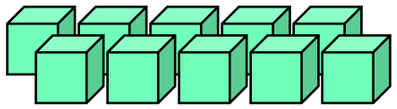
無菌性の試験

↓

滅菌線量設定

④ 検定線量試験の実施

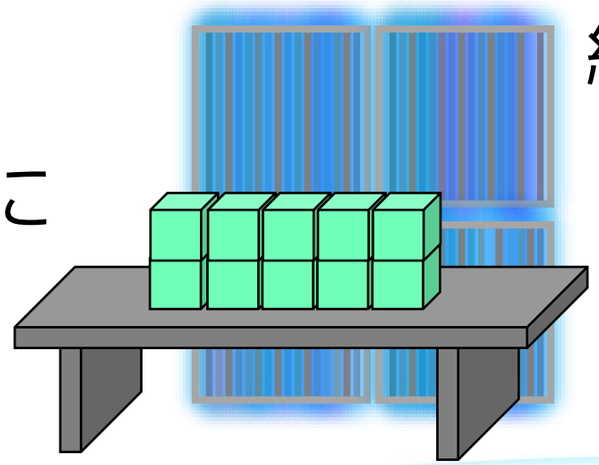
１つのバッチから10個の製品試料を採取する（2回目）。



バッチD

採取した製品試料に対して、$VD_{max}{}^{25}$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

⇩

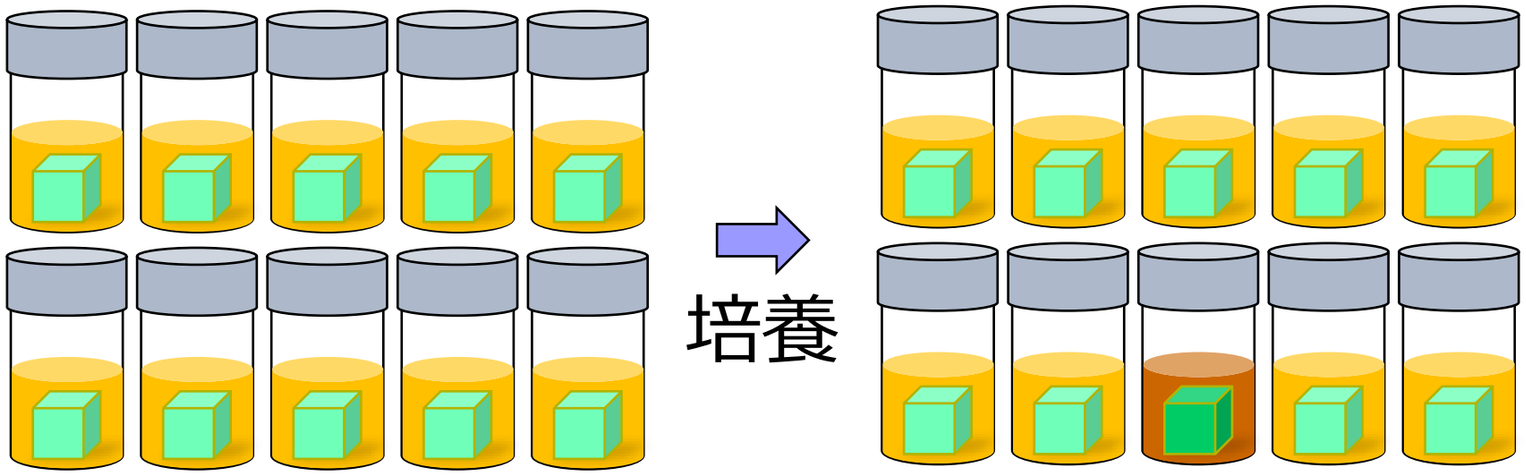
無菌性の試験

⇩

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1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。
「④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。

単一製造バッチで設定した場合は、実施不要

実施する試験

バイオバーデン試験

検定線量照射（VD_{max}^{25}:7.1 kGy）と無菌性の試験

通常3ヶ月毎に実施する

滅菌線量監査の方法

バイオバーデン試験

↓

検定線量照射

↓

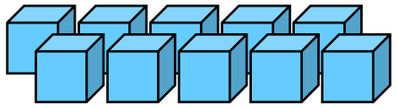
無菌性の試験

↓

滅菌線量設定

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

↓

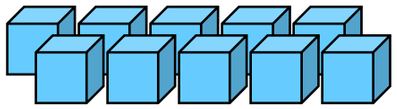
無菌性の試験

↓

滅菌線量設定

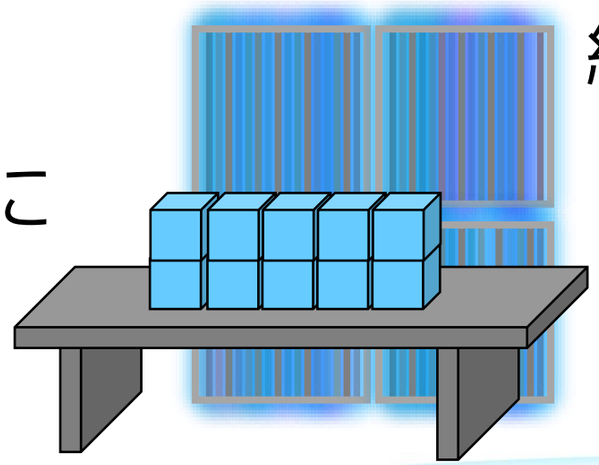
④ 検定線量試験の実施

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、VD_{max}^{25}を照射する。



線源

吸収線量が7.1 kGyになるように照射

設定試験時に決定されたVD_{max}^{25}

滅菌線量監査の方法

バイオバーデン試験

↓

検定線量照射

⇩

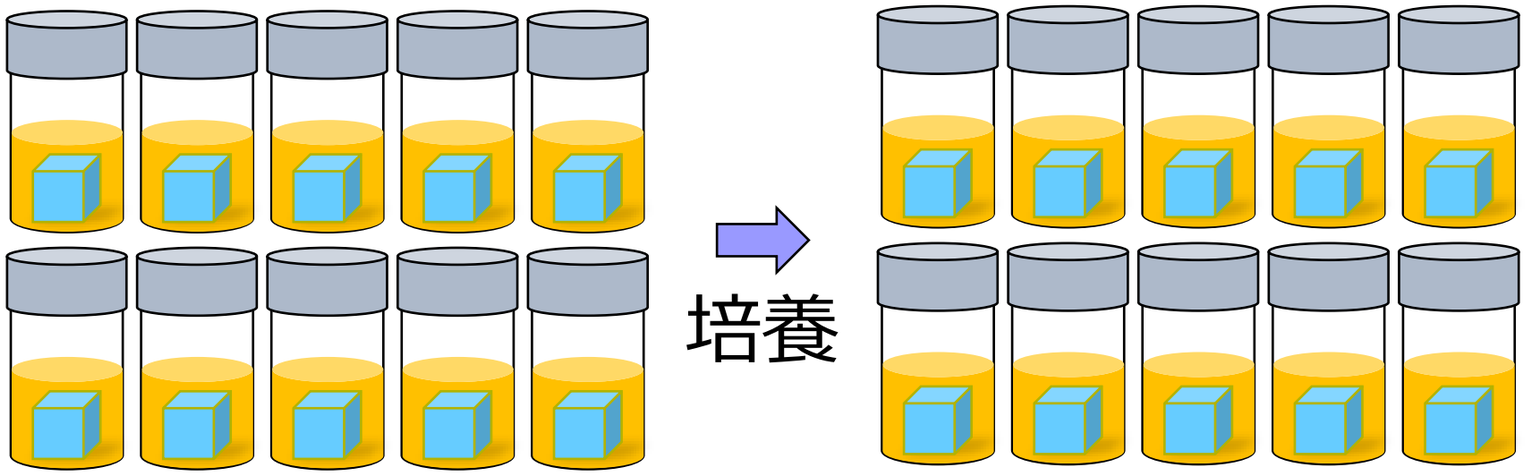
無菌性の試験

⇩

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^{-1}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。
「④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

確実な滅菌のために
微生物の動態管理

製品のバイオバーデン

バイオバーデンは、
原料、構成部品の製造、組立プロセス、製造環境、
組立て/製造の補助物、洗浄プロセス、包装 等
これらを発生源とする微生物の総和である

これらは、異常が発生した場合の調査対象

「異常がある」をどのようにして認識しますか？

・バイオバーデンの限度値の超過
・監査試験における不合格の結果

規格に定められた通りでは手遅れの可能性

異常原因を特定する問題点

・正常値がわからない
・原因の絞り込みができない
・サンプルが残っておらず、検証できない

何となく怪しい箇所に絞って対応することとなり、
根本的な問題解決にならない

異常原因を解消できないと、すでに販売されている
製品の回収または、製造を再開できないことによる
滅菌中止となる。

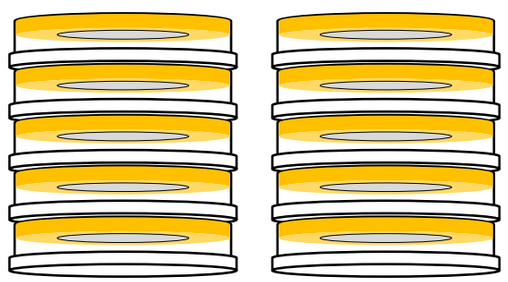
微生物の動態管理

原材料、各工程産物、最終製品に付着している
バイオバーデンを調査し、原材料から製品に至るまでの微生物の変遷をモニタリングすること

製造工程フロー

原材料
↓
組立工程
↓
洗浄工程
↓
包装工程
↓
最終製品

バイオバーデンを調査



菌数測定

＋

菌種同定

監査試験実施時に合わせて実施しモニタリング

⇩

「異常がない」データを蓄積

動態管理の導入することで得られる情報

工程	4月		7月		10月		1月		明らかになること
	種類	菌数	種類	菌数	種類	菌数	種類	菌数	
原材料	A菌 B菌 C菌 合計	30 0 0 30	A菌 B菌 C菌 合計	20 0 0 20	A菌 B菌 C菌 合計	40 0 0 40	A菌 B菌 C菌 合計	20 0 0 20	A菌のみを検出
組立工程	A菌 B菌 C菌 合計	30 20 20 70	A菌 B菌 C菌 合計	20 10 20 50	A菌 B菌 C菌 合計	40 30 30 100	A菌 B菌 C菌 合計	20 20 10 50	A菌は原材料と同等 新たにB、C菌を検出
洗浄工程	A菌 B菌 C菌 合計	5 0 0 5	A菌 B菌 C菌 合計	0 0 5 5	A菌 B菌 C菌 合計	10 5 0 15	A菌 B菌 C菌 合計	0 0 0 0	組立工程と比較し、 A、B、C菌による汚染が減少
包装工程 (最終製品)	A菌 B菌 C菌 合計	5 0 0 5	A菌 B菌 C菌 合計	0 0 5 5	A菌 B菌 C菌 合計	10 5 0 15	A菌 B菌 C菌 合計	0 0 0 0	洗浄工程と比較し、 A、B、C菌による汚染は同等 菌数が15以下

各工程の菌の種類と数をモニタリング

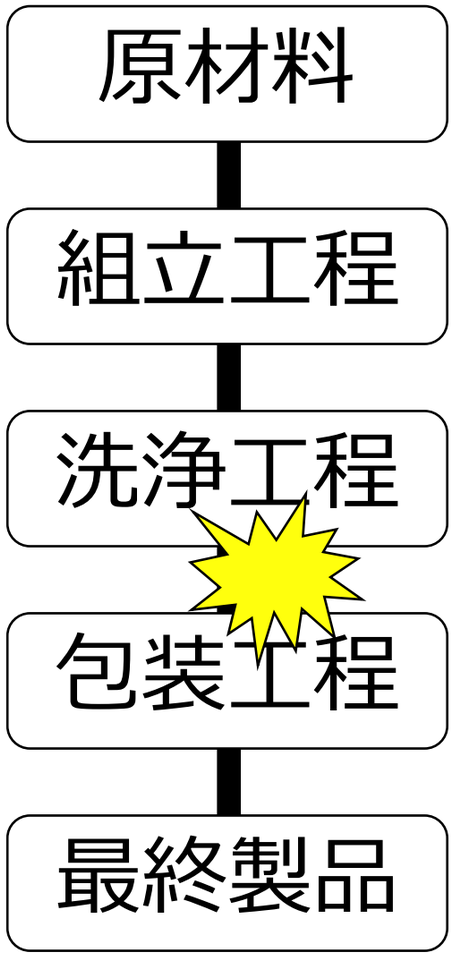
動態管理導入による原因究明（事例）

工程	4月		7月		10月		1月			4月	
	種類	菌数	種類	菌数	種類	菌数	種類	菌数		種類	菌数
原材料	A菌	30	A菌	20	A菌	40	A菌	20		A菌	20
	B菌	0	B菌	0	B菌	0	B菌	0		B菌	0
	C菌	0	C菌	0	C菌	0	C菌	0		C菌	0
	合計	30	合計	20	合計	40	合計	20		合計	20
組立工程	A菌	30	A菌	20	A菌	40	A菌	20		A菌	20
	B菌	20	B菌	10	B菌	30	B菌	20		B菌	30
	C菌	20	C菌	20	C菌	30	C菌	10		C菌	10
	合計	70	合計	50	合計	100	合計	50		合計	60
洗浄工程 **異常発生**	A菌	5	A菌	0	A菌	10	A菌	0		A菌	5
	B菌	0	B菌	0	B菌	5	B菌	0		B菌	5
	C菌	0	C菌	5	C菌	0	C菌	0		C菌	0
	合計	5	合計	5	合計	15	合計	0		X菌	60
										合計	70
包装工程 (最終製品)	A菌	5	A菌	0	A菌	10	A菌	0		A菌	5
	B菌	0	B菌	0	B菌	5	B菌	0		B菌	5
	C菌	0	C菌	5	C菌	0	C菌	0		C菌	0
	合計	5	合計	5	合計	15	合計	0		X菌	60
										合計	70

洗浄工程で普段見られないX菌が検出された

動態管理導入の効果

製造工程フロー



洗浄工程に異常発生

・異常を早期に発見できる

製造途中で異常を発見

・異常が発生した場所を特定できる

調査対象の絞り込み

調査対象を減らすことによる

コスト低減

滅菌中止となるリスクを回避できる

動態管理導入のまとめ

微生物の動態管理を導入することで、

・製造工程内の異常の早期発見、迅速な原因の特定

・監査試験不合格の予防、製品回収や製造中止の回避

・適切な是正措置の実施と早急な製造再開

安心して放射線滅菌を継続していくための方法として、
微生物の動態管理を導入を推奨いたします。

最後に

放射線滅菌は、
滅菌前の製品に付着している菌の数と菌の種類を
常に一定に保つことが重要です。

今回の講演が、皆様のお役に立てば幸いです。

お問い合わせは・・・・

株式会社　コーガアイソトープ
滅菌研究センター
福山　貞伸

E-mail　fukuyama@koga-isotope.co.jp
TEL　0748-88-3121
FAX　0748-88-3123

どうぞ宜しくお願いいたします。