21. 培地充てん試験法

次のように改める.

21. 培地充てん試験（プロセスシミュレーション）

本法は，無菌操作法で製造される医薬品の無菌性保証の適切性を充てん医薬品の代わりに無菌培地などを用いて検証するプロセスバリデーションの一方法である．したがって，充てん・閉塞工程，作業環境，作業操作，作業従事者などについては，実製品の製造工程を用い，かつ最悪ケースを想定したものでなければならない．また本法は，充てん・閉塞工程以外の無菌操作工程の無菌性検証にも適用可能である．

１．培地充てん試験の実施頻度

1.1　初期評価

初期評価の対象は，それぞれ初めて使用する設備，装置，工程及び異なった容器デザイン（同じ容器デザインでサイズの異なるものは除く）などである．表１を参考に，それぞれの充てんラインでの実製造を反映できる十分な個数の容器を用い，培地充てん試験を少なくとも連続３回，別々の日に実施する．

1.2　再評価

1）表２を参考に，それぞれの充てんラインでの実製造を反映できる十分な個数の容器を用い，それぞれの充てんラインの各作業シフトについて少なくとも半年ごとに培地充てん試験を実施する．無菌重要工程作業者は，無菌操作に関する教育訓練を受け，少なくとも年１回の頻度で培地充てん試験に参加することが必要である．

2）充てんラインを 6 箇月以上使用しなかった場合は，その充てんラインを再使用する前に初期評価に準じる回数の培地充てん試験を実施する．

3）無菌性保証に影響を与える工程，設備又は装置の変更（標準部品の交換は再評価の対象にならない），ラインの配置変更，無菌重要工程作業者の変更（例えば，作業者の大きな変更），環境微生物試験結果の異常，最終製品の無菌試験で汚染製品が認められた場合には，必要に応じて初期評価に準じる回数の培地充てん試験を実施する．

２．培地充てん試験の許容基準

初期評価及び再評価において，充てん容器数に関係なく汚染容器数はゼロとする．汚染が認められた場合には，表１及び表２に示した行動をとる．

2.1　汚染原因の調査

培地充てん試験において，汚染原因の調査を行うに当たって，必要な評価対象要因としては以下のものが含まれる．

1）環境微生物モニタリングデータ
2）環境微粒子モニタリングデータ
3）作業従事者の微生物モニタリングデータ（作業終了時，無塵衣や手袋表面などに付着している微生物のモニタリング）
4）培地，器材，装置等の滅菌サイクルデータ
5）滅菌装置のキャリブレーションデータ
6）滅菌機材の保存状態の適切性
7）HEPA フィルターの評価（微粒子の捕捉性能，流速など）
8）使用前及び使用後のフィルター完全性試験結果（フィルターハウジング組立ての適切性も含む）
9）無菌エリアでの空気の流れと圧力の適切性
10）培地充てん試験中に起こった通常と異なった出来事
11）汚染微生物の諸性状検査結果
12）衛生管理方法とそのトレーニング内容の適切性
13）作業従事者のガウニングとそのトレーニング内容の適切性
14）作業従事者の無菌操作技術とそのトレーニング内容の適切性
15）作業従事者の健康状態（特に，呼吸器系疾患による咳やくしゃみなどの影響）
16）その他，無菌性に影響を及ぼす要因

３．培地充てん試験におけるデータ管理

それぞれの培地充てん試験において，下記の事項を詳細なデータとして記録する．

1）試験実施日時
2）試験実施充てん室，充てんラインの識別
3）容器，栓の種類とサイズ

4）充てん容量
5）充てん速度
6）滅菌フィルターの形式と完全性試験成績（ろ過滅菌した場合）
7）充てん培地の種類
8）充てん容器数
9）培養しなかった充てん容器数とその理由
10）培養容器数
11）陽性容器数
12）培養温度と培養期間
13）実際の製造工程のあるステップを模倣するために使われた方法（例えば，模擬凍結乾燥，又はバイアルガス置換など）
14）培地充てん試験開始前及び試験実施中に得られた微生物学的モニタリングデータ
15）培地充てん試験参加者リスト
16）充てん培地の性能試験結果（粉末充てんの場合は，微生物発育阻止活性の試験成績も必要）
17）陽性容器から検出された微生物の同定及び性状検査結果
18）総合評価
19) 当該培地充てん試験でカバーする医薬品リスト
20) 汚染容器の認められた又は失敗に帰した培地充てん試験の原因調査

４．培地充てん試験の方法

液状製品，粉末製品及び凍結乾燥製品の無菌製造工程を検証する方法について示す．基本的には，液状製品に対する培地充てん試験を応用することによって，他の剤形の医薬品の無菌性検証が可能である．

4.1　培地の選択と性能試験

ソイビーン・カゼイン・ダイジェスト培地，又は適当な他の培地を使用する．使用培地の性能試験用菌株としては，微生物限度試験法に指定されている菌株及び必要に応じて環境モニタリングで検出頻度の高い代表菌を 1 ～ 2 株用いる．各菌を培地充てん試験用培地に 100CFU 以下接種し，あらかじめ定めた温度で培養した時 5 日間以内に，明らかな増殖を示さなければならない．

4.2　培地の滅菌

あらかじめバリデーションの行われた方法に従って滅菌する．

4.3　培養及び観察

培養に先立ち，容器に漏れが認められたもの，又は損傷したものを除去し，記録にとどめる．20 ～ 35℃で 14 日間以上培養する．これ以外の温度で培養する場合には，その妥当性を示すこと．異なる二つの温度で培養する場合には，低い温度で 7 日間以上，次いで高い温度で 7 日間以上培養する．設定培養温度は，±2.5℃以内で維持すること．培養最終日に菌の発育の有無を観察する．汚染が認められた容器については，汚染菌の同定及び性状検査を実施する．汚染菌の同定には，参考情報「遺伝子解析による微生物の迅速同定法」や適切な市販の細菌同定システムキットなどが適用できる．

A．液状製品

培地充てん手順

施設，装置等の清掃は通常どおりに行い，容器，栓，充てん装置部品，トレイなどは標準操作手順書に従って洗浄，滅菌する．培地充てん試験は，最悪ケース（例えば，打栓ラインの修正，充てん針/チューブの修理又は交換，充てんラインのフィルター交換等の介在作業，最長製造時間，最大バッチサイズ，最多作業者数など）を考慮に入れ，実施する．ただし，１回の培地充てん試験に想定しうる全ての最悪ケースを組み入れる必要はないが、計画的に全ての最悪ケースを評価する．多くの製造ラインは高度に自動化されており，比較的高速で稼働し，作業員の介在も限定するように設計されている一方，かなりの頻度で作業員が介在するラインもある．実際の製造におけるバッチサイズを用い，実際の工程時間で充てんするのが最も正確なプロセスシミュレーションになるが，これ以外の適切なバッチサイズと充てん時間でも，当該ラインの無菌性を正当に評価することはできる．滅菌容器に適量の培地を製品の開放時間を考慮した充てん速度で充てんし，閉塞する．適当な方法で培地を容器の内表面全体に接触させ，あらかじめ定めた温度で培養する．

B．粉末製品

B.1　充てん粉末の選択と微生物発育阻止活性試験

実製品又はプラセボ粉末を用いる．プラセボ粉末としては，一般に乳糖，D-マンニトール，ポリエチレングリコール 6000，カルボキシルメチルセルロース塩，粉末培地などを用いる．あらかじめ，充てん粉末が微生物に対して発育阻止活性を有するかどうか調べなければならない．粉末培地は精製水で，他の滅菌粉末は培地で培地充てん試験濃度

に希釈し，4.1 項に定める培地性能試験用各菌を 1 培地当たり 100CFU 未満接種する．あらかじめ定めた温度で 5 日間培養したとき，明らかな増殖が認められれば，充てん粉末には微生物発育阻止活性がないものとみなし，本試験に使用できる．

B.2　充てん粉末の滅菌法

プラセボ粉末を適当な容器（例えば，二重に熱シールされたポリエチレン袋）に入れ，放射線滅菌を行う．

B.3　充てん粉末の無菌性確認

無菌試験法に従い無菌試験を行うとき，適合しなければならない．ただし，用いた滅菌法のバリデーションが行われている場合には，無菌試験を省略することができる．

B.4　培地充てん手順

下記の中から適当なものを選ぶ．

1）適当な方法で容器に滅菌液体培地を充てん後，粉末充てん機を用い，実製品又は滅菌プラセボ粉末を充てんする．プラセボ粉末として滅菌粉末培地を用いる場合は，滅菌液体培地の代わりに滅菌した精製水を充てんする．

2）液体培地を容器に充てん後，高圧蒸気滅菌する．この容器を充てんエリアに移動し，粉末充てん機を用いて実製品又は滅菌プラセボ粉末を充てんする．

3）粉末充てん機を用い，容器に実製品又は滅菌プラセボ粉末を充てん後，適当な方法で滅菌液体培地を充てんする．プラセボ粉末として滅菌粉末培地を用いた場合は，滅菌液体培地の代わりに滅菌した精製水を充てんする．

C．凍結乾燥製品

凍結乾燥製品の場合，培地充てん試験を凍結乾燥製品の実製造工程と全く同じ条件下で行うことはできない．凍結及び乾燥を行うと，汚染菌を死滅させる可能性がある上，培地の特性も変えてしまう．また，復圧ガスとして不活性ガスを使用すると，好気性菌や真菌の発育を阻害する可能性がある．そのため，通常，凍結及び乾燥を避け，復圧ガスとしては空気が用いられる．ただし，嫌気条件下で製造される医薬品には，嫌気性菌用培地を用いて培地充てん試験を実施する場合もある．その場合には，復圧ガスとしては窒素ガスなどを用いる．

培地充てん手順

下記の方法によるか，又はこれに相当する方法を用いる．

1）製品充てん機を用い，容器に培地を充てん後，半打栓状態にし，滅菌トレイに集める．

2）トレイを凍結乾燥機にセット後，扉を閉め，製造工程に準じて凍結乾燥の操作を行う．ただし，凍結は行わず，充てん液が突沸しないような減圧下に適当な時間保持する．

3）減圧保持完了後，復圧し，打栓する．

4）適当な方法で培地を内表面全体に接触させ，あらかじめ定めた温度で培養する．

表 1　初期評価

最少試験回数	1 回当たりの最少充てん容器数	3 回の培地充てん試験における汚染容器総数	必要な行動
3	< 5000	≧ 1	汚染原因の調査，是正処置，初期評価を繰り返す
3	5000～10000	1	汚染原因の調査，培地充てん試験を 1 回繰り返すことを検討
		> 1	汚染原因の調査，是正処置，初期評価を繰り返す
3	> 10000	1	汚染原因の調査
		> 1	汚染原因の調査，是正処置，初期評価を繰り返す

表２　定期的再評価

実施頻度	1 回当たりの最少 充てん容器数	汚染容器数	必要な行動
半年ごと	< 5000	1	汚染原因の調査後，必要に応じて初期評価を実施
	5000～10000	1	汚染原因の調査，培地充てん試験を繰り返すことを検討する
		> 1	汚染原因の調査，是正処置後，必要に応じて初期評価を実施
	> 10000	1	汚染原因の調査
		> 1	汚染原因の調査，是正処置後，必要に応じて初期評価を実施

参考資料

ISO13408-1 (2008): Aseptic processing of health care products：Generals.