微生物殺滅法を次のように改める.

消毒法及び除染法

本参考情報は，医薬品の製造所において清浄度の管理が必要な清浄区域又は無菌操作区域における構造設備，及び同区域での製造管理及び製造作業に従事する職員(作業者)の衛生管理のうち，化学薬剤を用いて生存する微生物の数をあらかじめ設定したレベルまで減少させる処置法を示す.

なお，医薬品各条に規定された微生物関連試験法を実施する場合，医薬品の製造における製品等及び資材の微生物による汚染を防止するために必要な措置を講ずる場合，及び薬局において微生物管理が必要な場合等についても本参考情報を参考に適切な対応を図ること.

1. 用語の定義

本参考情報で用いる用語の定義は，次のとおりである.

・微生物：細菌，真菌，原虫，ウイルス等の総称であり，本参考情報では細菌及び真菌を指す.

・消毒：一般的には，病原菌など有害な微生物を除去，死滅，無害化することであり，本参考情報では対象物又は対象物の表面等の局所的な部位に生存する微生物を減少させることを指す.

・除染：空間や作業室を含む構造設備に生存する微生物をあらかじめ指定された菌数レベルにまで減少させることを指す.

・対数減少量：処理前の微生物数と一定処理後の微生物数との対数値の差.

・消毒剤のローテーション：使用中の消毒剤に抵抗性を示す微生物が検出された場合に，有効性の異なる消毒剤を用い，その微生物が検出されなくなるまで使用する，又は一定期間ごとに作用機作の異なる消毒剤を交互に使用する消毒プログラムを指す．本法が有効かどうかについては，あらかじめ検証する必要がある.

2. 消毒法

本法には，化学薬剤を用いて清拭，噴霧，浸漬等の方法があり，設備，床，壁又は清浄区域や無菌操作区域に搬入する容器及び環境モニタリング用培地を梱包した資材の表面等の局所的な部位に生存する微生物を減少させるのに用いられる．本法を適用する表面の消毒剤に対する腐食性などの性質，及び汚染微生物の種類や数などの汚染状態を考慮し，通例，表1に示す消毒剤を単独又は併用して用いる．本法は，対象物又は局所的な部位に生存する微生物を全て死滅させたり，除去したりするものではないが，適用に当たっては有効性が確認された消毒剤を採用すること．また，消毒剤として使用する化学薬剤の微生物に対する効果は，使用濃度，作用温度，接触時間，表面の汚染状態等によって異なる．本法を適用するに当たっては，消毒剤の使用期限，消毒剤の汚染，残存した化学物質の医薬品品質に与える影響，及び対象となる資材の変色，変形，腐食などの劣化について注意を要する.

2.1. 消毒剤

汎用される消毒剤とその濃度，また各消毒剤の微生物に対する有効性の例を表1に示す．なお，ここに示した消毒剤以外，あるいは使用濃度以外でも，その有効性及び安全性が確認された消毒剤は使用することができる.

表1　消毒剤の種類，使用濃度例，作用機作

分類	消毒剤	使用濃度例	作用機作
酸化剤	過酢酸	0.3 w/v%	酸化作用
	過酸化水素	3 w/v%	
	次亜塩素酸ナトリウム	0.02～0.05 %	
アルコール系	イソプロパノール	50～70 %	タンパク質や核酸の変性
	エタノール	76.9～81.4 vol %	
界面活性剤系	ベンザルコニウム塩化物 ベンゼトニウム塩化物	0.05～0.2 %	タンパク質の変性
	アルキルジアミノエチルグリシン塩酸塩	0.05～0.5 %	細胞膜機能の障害，タンパク質の凝固・変性
ビグアナイド系	クロルヘキシジングルコン酸塩	0.05～0.5 %	細菌の酵素阻害や細胞質膜を変質・損傷

2.2. 評価法

清浄区域及び無菌操作区域等に消毒法を適用する場合は，消毒剤の濃度，作用時間，消毒対象となる表面の材質，その消毒剤で減少させたい微生物の種類等を考慮し，その条件の有効性を確認する．以下に評価法の例を示す．なお，科学的に正しいことが立証できれば，例示した評価法以外の方法を採用しても差し支えない.

2.2.1. 試験菌懸濁法

実際に使用する希釈液(精製水，水道水，他)を用いて，実際に使用する濃度の消毒剤を調製する．調製した消毒剤1 mL当たり10^5～10^6 CFUの試験菌を接種する．規定時間(通例，5～15分間)作用させた後，消毒剤を希釈，又は除去(ろ過)する．希釈液又はろ過後の洗浄液には，必要に応じてレシチン，ポリソルベート80，チオ硫酸ナトリウムなどの不活化剤を含有する液を用いて消毒剤を中和[1-3]する．接種した菌数及び消毒後の菌数の計測は，微生物限度試験法〈*4.05*〉Ⅰ．3.4. 製品存在下での測定法の適合性の要件を満たす条件で実施する．消毒剤作用前後の試験菌数から対数減少量を算出し，細菌及び真菌では3 Log以上，芽胞では2 Log以上の減少を認めた場合，各々の対象微生物に対して有効であると判断する．有効性の評価に使用する試験菌は表2を参照し，必要な菌種を選定する．これらの試験菌は微生物限度試験法〈*4.05*〉に記載されている条件で培養及び希釈して評価に使用する．ただし，*Bacillus subtilis*については抗生物質の微生物学的力価試験法〈*4.02*〉を参考に芽胞懸濁液を調製して評価に使用する．なお，試験の目的にかなえばその菌種を使用することができる.

2.2.2. 硬質表面キャリアー法

約5 cm×5 cmの各種表面材質のキャリアー(担体)を適切な精度が得られる数量準備する．10^5～10^6 CFUの試験菌をキャリアーの広範囲に接種し，乾燥させた後，実際に使用する濃度の消毒剤を滴下する．規定時間(通例，5～15分間)作用させた後，回収液で希釈しながら，キャリアー上の試験菌を回収する．回収液には，必要に応じてレシチン，ポリソルベート80，チオ硫酸ナトリウムなどの不活化剤を含有する液を用いて消毒剤を中和[1-3]する．回収方法はJIS T11737-1[4]を参考にストマック法，振とう法，スワブ法等を採用する．接種した試験菌数及び回収した試験菌数は，微生物限度試験法〈*4.05*〉Ⅰ.非無菌製品の微生物学的試験：生菌数試験3.4. 製品存在下での測定法の適合性

の要件を満たす試験条件で計測する．消毒剤作用前後の試験菌数から対数減少量を算出し，2.2.1 試験菌懸濁法に規定された減少量と同等の効果を認めた条件を各々の対象微生物に対して有効であると判断する．有効性の評価に使用する試験菌は表2を参照し，必要な菌種を選定するほか，環境モニタリングで検出頻度の高い代表菌1～2株を追加することが望ましい．なお，試験の目的にかなえばその菌種を使用することができる．試験菌の培養及び希釈等については2.2.1 試験菌懸濁法の規定を参考にする，また，清浄区域又は無菌操作区域で使用される各種表面の材質の例を表3に示すが，評価においては実際に使用する状況を考慮の上，適宜追加する．

表2　試験菌

分類	試験菌
細菌	*Escherichia coli* ATCC 8739, NBRC 3972
	Staphylococcus aureus ATCC 6538, NBRC 13276
	Pseudomonas aeruginosa ATCC 9027, NBRC 13275
	Bacillus subtilis ATCC 6633, NBRC 3134
真菌	*Candida albicans* ATCC 10231, NBRC 1594
	Aspergillus brasiliensis ATCC 16404, NBRC 9455

表3　消毒対象となる材質例

材質	適用例
ステンレス	作業台，タンク，機器類
ガラス	窓，遮蔽板
ポリカーボネート	遮蔽板，容器
化粧ケイ酸カルシウム	壁，天井
エポキシ樹脂コート	床
塩化ビニル	床，カーテン，ビニル袋
硬質ウレタンゴム	床
ニトリルゴム	手袋

3.　除染法

本法は，化学薬剤を気化又は噴霧させるなどで除染を行い，無菌医薬品の製造工程で用いるアイソレーター，RABS (Restricted Access Barrier System)や清浄区域又は無菌操作区域の空間や作業室を含む構造設備に生存する微生物をあらかじめ指定された菌数レベルまで減少させるのに用いられる．

本法を無菌医薬品の製造における構造設備に適用する場合は，除染剤及び除染条件の有効性に関するバリデーションを実施すると共に，作業者の安全性を確保すること．

3.1.　除染剤

汎用される除染剤を以下に示す．ここに示した除染剤以外でも，その有効性と安全性が確認された除染剤は使用することができる．

3.1.1.　過酸化水素

過酸化水素(30)を蒸発させ，拡散することで除染を行う．ヒーターで気化した過酸化水素をアイソレーター内部や作業室に拡散させ，過酸化水素が持つ酸化力により，微生物を死滅させる方法である．無菌操作用アイソレーター内部を除染する場合のように高度な微生物学的清浄度を達成することが必要な場合は，指標菌の芽胞を6 Log以上，作業室を除染する場合は3 Log以上減少させる条件で実施する．常温で実施することの可能な方法であるが，材質によっては過酸化水素の強い酸化力の影響で変色，変形，腐食などの劣化を生じたり，過酸化水素を分解したりすることがあるため，事前に適合性を検討する必要がある．なお，アイソレーター内部に，製品接触面が存在する場合は内部の除染と製品接触面の無菌性保証を同時に達成させる必要がある．このような場合は，参考情報「滅菌法及び滅菌指標体」の項を参照し，滅菌前のバイオバーデン，パラメーター，ユーティリティなど，滅菌法としての管理を行う．

3.1.2.　過酢酸

例えば0.2 %過酢酸水溶液をミスト状にして噴霧し，拡散することで除染を行う．作業室の清浄化に利用され，指標菌の芽胞を3 Log以上減少させる条件で実施する．過酢酸の酸化力により微生物を死滅させる方法である．常温で実施することの可能な方法であるが，材質によっては過酢酸の強い酸化力の影響で変色，変形，腐食などの劣化を生じることがあるため，事前に適合性を検討する必要がある．

3.1.3.　ホルムアルデヒド

ホルムアルデヒドを36.0～38.0 %含む水溶液であるホルマリンを加熱により気化，若しくはパラホルムアルデヒドを加熱により昇華させ，拡散することで除染を行う．ホルムアルデヒド分子中のアルデヒド基(-CHO)がタンパク質を変性させることで微生物を死滅させる方法である．作業室の清浄化に利用され，指標菌の芽胞を3 Log以上減少させる条件で実施する．ホルムアルデヒドは人体に有害であり，毒物及び劇物取締法で劇物に指定されているため，強制排気装置を備えた作業空間で取り扱う必要がある．また，薬剤の廃棄処理に際しても無害化が必要である．

3.2.　評価法

通例，バイオロジカルインジケーターを用いて，除染効果を評価する方法が採用される．除染剤に対して抵抗性を有するバイオロジカルインジケーターを，空間や作業室を含む構造設備の各所に配置し，除染を行う．除染後にバイオロジカルインジケーターを回収し，培養法により，生残菌の有無を確認する方法が一般的である．また，培養法以外にも、同等以上の方法であれば迅速法などを使用することができる．なお，過酸化水素によるアイソレーターの除染において，10^6 CFUのバイオロジカルインジケーターを用いて指標菌の芽胞が6 Log以上減少することを実証する場合，除染後のバイオロジカルインジケーターを全数死滅させることが要件ではない．バイオロジカルインジケーターを回収し，培養法により生残菌数を測定し，指標菌の対数減少量を算出することで効果を評価する方法や統計学的解析手法の活用により，芽胞の6 Log減少に適切な除染条件を確立することも可能である．

上述した過酸化水素及びホルムアルデヒドについては *Geobacillus stearothermophilus* ATCC 7953，12980の芽胞は抵抗性が強いことが知られており，指標体として使用することが可能である．また作業室を対象とした除染については，環境微生物の代表として，*Bacillus atrophaeus* ATCC 9372の芽胞を指標菌として使用することも可能である．

4.　留意事項

4.1.　作業者の安全性

消毒剤及び除染剤は人体に少なからず影響を及ぼす，すなわち毒性を有する化学薬剤である．したがって，その使用においては，用法・用量を守り，必要に応じて保護具等を正しく使用すると共に適宜，残留量を確認する必要がある．

4.2.　医薬品製造環境に用いる消毒剤及び除染剤の選択

医薬品製造環境で使用する消毒剤及び除染剤を選択する際は，その使用目的によって以下に示すことを考慮し，適切なものを選択する．また，消毒剤及び除染剤をより安全かつ的確に使用

するために，以下に示す(1)～(13)を考慮する必要がある．

(1) 対象とする微生物の種類と数

(2) 抗菌スペクトルの範囲

(3) 化学薬剤の使用方法，濃度，接触時間，使用期限

(4) 無菌操作区域で使用する場合における無菌化を含めた消毒剤の調製方法

(5) 消毒剤及び除染剤の対象物に対する材質適合性(劣化の程度等)

(6) タンパク質等の有機物の存在下での効果

(7) 作用の持続性

(8) 人体に対する影響(安全性)

(9) 洗浄剤等との適合性

(10) 消毒剤のローテーションの要否及び必要な場合はその方法

(11) 化学薬剤による医薬品の汚染を避けるために必要な手段(不活化の方法，残留量の確認等)

(12) 廃棄処理方法の容易性(中和，不活化)

(13) 廃棄に伴う環境への影響

参考資料

1) US Pharmacopeia 37(2014), 〈1072〉DISINFECTANTS AND ANTISEPTICS

2) The European standard, EN 1276. Chemical disinfectants and antiseptics －. Quantitative suspension test for the evaluation of bactericidal activity of chemical disinfectants and antiseptics used in food, industrial, domestic and institutional areas. Test method and requirements (phase 2/step 1)

3) The European standard, EN 13697. Chemical disinfectants and antiseptics. Quantitative non-porous surface test for the evaluation of bactericidal and/or fungicidal activity of chemical disinfectants used in food, industrial, domestic and institutional areas. Test method and requirements. (phase 2/step 2)

4) 日本工業規格JIS T 11737-1(2013)，医療機器の滅菌－微生物学的方法－第1部：製品上の微生物群の測定方法(ISO 11737-1：2006)