

事前質問

Q&A

2022年10月21日（金曜日）





滅菌バリデーションの無菌性試験で、直接法が採用できず、微生物を取り出す方法を採用している場合に、回収率が低いとどのようなリスクがあり、リスクを回避するためにはどのような方法がありますでしょうか。

A 回収率が100%でない場合、偽陰性のリスクがどうしても残り、試験の妥当性の立証がなかなか難しいと考えられます。

規格では回収率を測定し、回収率によるリスク評価の実施が求められています（ISO11737-2:2019 6.4.b）。

なるべく直接法が使用できるように無菌的に製品を分解するなどしてから検定照射するなどをご検討ください。



コーガアイソトープで回収法を採用している場合、
菌の播種箇所はどのように設定しているか？

A 素材の種類にあわせて均等に播種しています。



微生物同定試験について、バクテリア/遺伝子の塩基配列を用いた同定試験/MicroSEQで得られる結果は、rRNAのどの部分の塩基配列ですか。
また、上記の試験では、種レベルの同定をする場合の信頼性はどの程度でしょうか。

A 日本薬局方の参考情報にも記載されている方法として、例えば細菌では16S rRNAの遺伝子の約50個の塩基を用いて同定しています。
ここでは、データベースと90%以上が合致し、上位にランクされた菌種は、同一種または、近縁種とすることができるとされています。
但し、50個の塩基のみで判断しているため、複数の結果が得られた場合には、菌の特長を確認して選択することも重要と考えます



γ線滅菌業者を変更する際の注意点、製品の劣化（実老化）方法等について

A

ISO11137-1 8.4.1に別種の線源に移転する場合には影響について立証が必要とされていますが8.4.2.1にガンマ線同士の移転であれば、不要とあります。

ただし、線量率が1桁違う場合などは改めて材質試験を検討されたほうが良いと思います。主に酸化劣化が重要になりますので、酸化劣化しやすいポリプロピレンなどは注意が必要です



25kGy以上で2年とされている製品が多いですが、ガンマ線滅菌品の最大保管年数は、何年になるでしょうか。



滅菌バリデーションにおける最大許容線量の設定試験で、最大線量を照射した製品の経時劣化を確認する必要があります。

その試験で、確認できた経過時間が使用期限になりますので、製造販売業者がどれだけの期間を試験されたかにより、最大保管年数が決まります。



MALDIによる同定精度はどんな感じでしょうか？
環境や製品のバイオバーデンは正確に同定されていますか？（同定菌種がでてきますか？同定不能は多くありませんか？）

A これまでの経験から、80%程度は菌種名まで得られています。また、多くの研究で比較されており、遺伝子同定とそん色ないとされています。

●1. 規格、基準等での記載

最新の規格、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を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と遺伝子同定の比較

• 2. 論文による評価

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、あるいは微生物の種類によっては遺伝子同定よりも正確な結果が得られる、との報告

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

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

よくある質問

Q&A

2022年8月25日（木曜日）





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 μ m、長さが2~3 μ 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



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。



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。



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

原則的には再設定が望ましいですが、BB測定と滅菌線量監査は必ず実施する必要があります。



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。

❓ 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。

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。

通常は②を選択します。

❓ 再生医療等製品の照射を依頼できる？

A 2021年9月に製造業許可を取得しました。

是非、ご相談ください。

❓ 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=10⁻⁶）が必要と考えます。

❓ 照射依頼できないものは？

A

- ・ 食品（研究目的をのぞく）
- ・ 危険物（爆発、発火のおそれ）
- ・ 他の照射依頼製品に影響を与える物（生物、埃・匂い・汚れのひどい物）

はお断りしています。

❓ ガンマ線照射した製品は安全ですか？

A ガンマ線は光と同じ電磁波ですので、透過後なにも残りません。製品が放射線を出す能力を持つこと（放射化）もありません。



滅菌したい品物は、どのような状態で送付すればいいですか？

A

滅菌対象物は、密封（シール包装）してください。

対象物は、輸送に耐えられる梱包で送付して下さい。



10～20kGyはどうして水・土曜日しかできないの？

A

同じ照射時間（サイクルタイム）の製品を連続的に処理しており、切り替え時は空の照射容器で押し出す必要があります。

効率的な照射のために曜日毎にスケジュールを設定しています。



照射後の製品試験（強度・着色などの適格性）は実施可能？

A

残念ながら、照射後の製品試験は受託しておりません。
お客様で試験実施をお願いいたします。

微生物試験（菌数測定・無菌性の試験・菌の同定試験）は可能です。

❓ 医薬品の照射を依頼できる？

A 医薬品製造業許可を持ち、GMP品質管理体制を整えていますので、是非ご依頼をご相談ください。

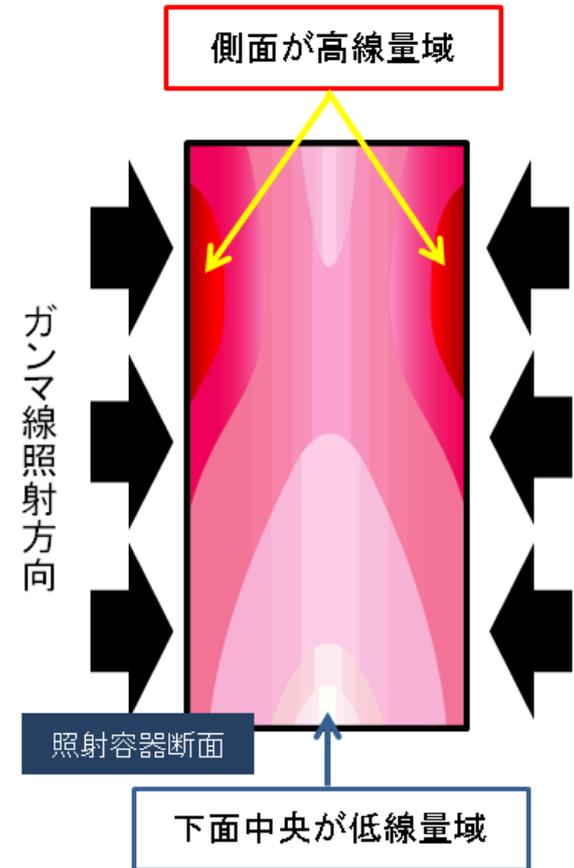
❓ 化粧品の照射を依頼できる？

A 化粧品製造業許可を取得済みです。
是非、ご依頼をご相談ください。

❓ なぜ均一な線量にならないの？
最小～最大線量の差が生じるの？

A

線量とは、ガンマ線照射による吸収エネルギーです（吸収線量）。線源からの距離や、製品自体の遮蔽により、吸収量の差が生じます。



❓ 食品の殺菌に、ガンマ線照射を利用できる？

A 食品衛生法第11条に基づき、「食品に放射線を照射してはならない」ことが規定されています。
国内では唯一、馬鈴薯の発芽防止目的の照射が認められています。
海外では香辛料などに多く用いられています。



照射中の温度上昇はある？

A

ガンマ線エネルギーの吸収と、線源の放出熱により、製品の温度は若干上昇します。およそ、室温 + 10～15℃程度です。

(参考)

$$1 \text{ 【Gy】} = 1 \text{ 【J/kg】} = 239 \text{ 【cal/g】}$$

❓ 耐放射線材料を紹介してもらえますか？

A 素材により異なりますが、耐放射線材料、包材とともに商社を紹介できます。

お気軽にお問い合わせください。



照射費用は？

A

線量により異なり、照射容器単価
となります。

依頼頻度・数量により、別途相談
させていただきます。

また、輸送費は別途実費となりま
す。



電子回路が入った機器を滅菌したいが、
ガンマ線滅菌は適用可能？

A

残念ながら、照射により電子部品は
破損します。
ガンマ線滅菌は適用できない可能性が
高いです。



ガンマ線が透過できない物質はある？
例えば、鉛は透過できないですね？

A

透過できない物質はありません。
密度により透過する量が変化します。

鉛も透過できます。
鉛15cmで、コバルト60のガンマ線は1万分
の1が透過します。

❓ 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。

❓ 照射依頼できる最小単位は？

A 封筒1通でもご依頼ください。
ただし、1照射容器分の費用が必要になります。

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ントフ。

KOGA ISOTOPE LTD.