

11. 微生物殺滅法

微生物殺滅法は、医薬品の製造機器及び製造環境並びに医薬品各条に規定された、微生物関連試験法等を実施する際に必要な微生物の殺滅方法について示すものであって、「最終滅菌法及び滅菌指標体」に示す「最終滅菌法」及び「ろ過法」とは異なる。したがって、本法を適用する目的によって、推測される微生物殺滅効果又は無菌性保証水準は大きく異なり、消毒法及び滅菌法における処理条件も一義的に規定することはできない。一般に、本法を適用するものの性質及び汚染状態（汚染微生物の種類及び汚染程度）に応じて、その適切な選択と操作及び条件の適正化を検討してから、通例、次に示す方法を単独で又は併用して行う。

ただし、本法を医薬品の製造工程に適用するにあたっては、「最終滅菌法及び滅菌指標体」に準じる滅菌バリデーションが必要である。

1. 消毒法

生存する微生物の数を減らすために用いられる処置法で、必ずしも微生物を全て殺滅したり除去するものではない。一般に、消毒法は化学薬剤（消毒剤）を用いる化学的消毒法と湿熱や紫外線などを用いる物理的消毒法に分けられる。

1.1 化学的消毒法

化学薬剤を用いて微生物を殺滅する方法をいう。化学薬剤の微生物を死滅させる機序及び効果は、使用する化学薬剤の種類、濃度、作用温度、作用時間、消毒対象物の汚染度、微生物の種類・状態（例えば、栄養型細菌及び芽胞細菌）などによって異なる。本法を適用するにあたっては、調製化学薬剤の無菌性及び有効貯蔵期間、適用箇所からの耐性菌出現の防止、残存化学薬剤の製品に与える影響等について注意を要する。化学薬剤を選択するにあたっては、その使用目的によって以下に示すことを考慮に入れ、適切なものを選ぶ。

- 1) 抗菌スペクトルの範囲
- 2) 微生物の死滅に要する作用時間
- 3) 作用の持続性
- 4) たん白質存在下での効果
- 5) 人体に対する影響
- 6) 水に対する溶解性
- 7) 消毒対象物への影響
- 8) 臭気
- 9) 使用方法の簡便性
- 10) 廃棄処理方法の容易性
- 11) 廃棄に伴う環境への影響
- 12) 耐性菌の出現頻度

1.2 物理的消毒法

化学薬剤を用いずに微生物を殺滅する方法をいう。

(i) 流通蒸気法：加熱水蒸気を直接流通させることによって微生物を殺滅する方法をいう。本法は、高圧蒸気法によって変質するおそれのあるものに用いる。通例、当該物を 100 °C の流通蒸気中に 30 ～ 60 分間放置する。

(ii) 煮沸法：沸騰水中に沈め、加熱することによって微生物を殺滅する方法をいう。本法は、高圧蒸気法によって変質するおそれのあるものに用いる。通例、当該物を沸騰水中に沈め、15 分間以上煮沸する。

(iii) 間けつ法：80 ～ 100 °C の水中又は流通水蒸気中で 1 日 1 回、30 ～ 60 分間ずつ 3 ～ 5 回加熱を繰り返すことによって微生物を殺滅する方法をいう。本法は、高圧蒸気法によって変質するおそれのあるものに用いる。なお、60 ～ 80 °C で同様に加温を繰り返す低温間けつ法もある。加熱又は加温の休止中は、20 °C 以上の微生物の発育に適切な温度に保つこと。

(iv) 紫外線法：通例、254 nm 付近の波長を持つ紫外線を照射することによって微生物を殺滅する方法をいう。本法は、比較的平滑な物品表面、施設、設備又は水、空気などで、紫外線照射に耐えるものに用いる。本法は、化学的消毒法で見られる耐性菌出現の心配もなく、細菌、真菌及びウイルスに対して殺滅効果を示すが、人体に対して直接照射すると目や皮膚に障害を受けるので注意を要する。

2. 滅菌法

2.1 加熱法

加熱法を行うとき、温度又は圧力などが規定の条件に至るまでの加熱時間は、本法が適用されるものの性質、容器の大きさ及び収納状態などにより異なる。なお、本法を行う時間は、本法が適用されるものの全ての部分が規定の温度に達してから起算する。

(i) 高圧蒸気法：適当な温度及び圧力の飽和水蒸気中で加熱することによって、微生物を殺滅する方法をいう。本法は、主としてガラス製、磁製、金属製、ゴム製、プラスチック製、紙製若しくは繊維製の物品、水、培地、試薬・試液又は液状の試料などで、熱に安定なものに用いる。通例、高圧蒸気法の場合は次の条件で滅菌を行う。

115 ～ 118 °C	30 分間
121 ～ 124 °C	15 分間
126 ～ 129 °C	10 分間

(ii) 乾熱法：乾熱空气中で加熱することによって微生物を殺滅する方法をいう。本法は、主としてガラス製、磁製、金属製の物品、鉱油、油脂類又は粉体の試料など、熱に安定なものに用いる。ガス又は電気により直接加熱するか、加熱した空気を循環させる方式などがある。通例、乾熱法の場合は、次の条件で滅菌を行う。

160 ～ 170 °C	120 分間
170 ～ 180 °C	60 分間
180 ～ 190 °C	30 分間

2.2 照射法

(i) 放射線法：放射線同位元素から放出するガンマ線又は電子加速器から発生する電子線や制御放射線を照射することによって微生物を殺滅する方法をいう。本法は、主としてガラス製、磁製、ゴム製、プラスチック製又は繊維製の物品などで、放射線照射に耐えるものに用いる。本法が適用されるものの材質、性状又は汚染状況などによって線量を調節して行うが、適用後の品質の変化には特に注意する。

(ii) 高周波法：高周波を直接照射し、発生する熱によって微生物を殺滅する方法をいう。本法は、主として水、培地又は試液などで高周波の照射に耐えるものに用いる。通例、2450 ± 50 MHz の高周波が用いられる。

2.3 ガス法

滅菌用ガスを用いて微生物を殺滅する方法をいう。滅菌用ガスとしては、酸化エチレンガス、ホルムアルデヒドガス、過酸

化水素ガス及び二酸化塩素ガスなどが用いられる。ガスの種類によって、滅菌時の温度、湿度、ガス濃度、滅菌時間が異なり、更に人体に悪影響をもたらすものもあるので、使用環境及び残留ガス濃度については厳重な注意が必要である。ガス法の中には、滅菌後の微生物の死滅を定量的に測定又は推測できないものもある。

2.4 ろ過法

適当なるろ過装置を用いてろ過し、微生物を除去する方法をいう。本法は、主として気体、水又は可溶性で熱に不安定な物質を含有する培地・試液などに用いる。通例、滅菌用フィルターには孔径 0.22 μm 以下のフィルターが用いられるが、本法においては、孔径 0.45 μm 以下のフィルターの使用も許容される。

12. 非無菌医薬品の微生物学的品質特性

非無菌医薬品は汚染微生物の増殖を許容する可能性があり、その結果、当該医薬品の薬効を損ね、患者の健康に悪影響をもたらす危険性がある。そのため、医薬品製造者は非無菌医薬品の品質、安全性、有効性を確保するために、最終製剤、医薬品原料、直接の容器又は直接の包装の微生物汚染を可能な限り低く抑える責務がある。本指針は、非無菌医薬品及び医薬品原料中に存在する増殖能力を有する微生物（細菌及び真菌）の限度の目安を基準値として示したものである。対象微生物の生菌数試験法、特定微生物（大腸菌、サルモネラ、緑膿菌及び黄色ブドウ球菌等）の検出法並びにその同定法は、「微生物限度試験法」に準拠して行う。非無菌医薬品に対して生菌数試験及び特定微生物試験を実施するに当たっては、微生物管理計画を確立し、それを当該医薬品の品質保証システムの重要な一部として位置づけなければならない。また、試験実施者及び責任者は、微生物の取扱い技術及びデータ解釈について専門知識を有していなければならない。

1. 定義

1.1 非無菌医薬品

日本薬局方の医薬品各条に記載されているもので無菌でないもの及び中間製品や最終製品で無菌でないもの。

1.2 医薬品原料

原薬、添加剤を含む医薬品製造に用いる全ての物質。ただし、医薬品製造用水及びガス類は除く。

1.3 バイオバーデン

非無菌医薬品中に生存する微生物（細菌及び真菌）の数と種類。

1.4 処置基準値

直ちに調査を行い、必要に応じて是正措置をとらなければならないバイオバーデンに対して設定した基準値。

1.5 警報基準値

予知される問題点を早急に警告するものとして、直ちに是正措置をとる必要はないが、調査は行う必要があるバイオバーデンに対して設定した基準値。

1.6 品質保証システム

品質管理を実施するために必要となる製造業者の組織構造（責任、権限及び相互関係）及び実施手順。

2. 試験の適用除外

抗菌活性を有する非無菌医薬品には、通例、生菌数試験及び特定微生物試験を適用しないが、適応菌種以外の微生物については試験を行う。生菌を有効成分とする非無菌医薬品には、通例、生菌数試験を適用しない。

3. 試料の採取方法及び試験の実施頻度

3.1 試料の採取方法

一般に、非無菌医薬品や医薬品原料ロット中の微生物汚染は均一でない。偏りのある試料採取方法では、正確なバイオバーデン値を推測できない場合もある。したがって、回顧的又は同時的バリデーションで得られたバイオバーデンデータの解析に基づいて、非無菌医薬品又は医薬品原料ロットを代表できる採取方法を確立する必要がある。通例、同一製造番号の非無菌医薬品又は医薬品原料の任意に選択した異なる数箇所（少なくとも3箇所以上）から試料をほぼ同量ずつ採取し、それらを合わせたものを被験試料とする。

また、清浄度管理環境下での試料採取が困難な場合には、採取環境や採取器材に注意を払い、採取した試料のバイオバーデンが不注意による汚染によって影響されないようにしなければならない。乾燥又は非水性の非無菌医薬品や医薬品原料においては、採取試料中のバイオバーデンの変化しないことが確認されている場合、微生物限度試験を試料採取直後に行う必要はない。

3.2 試験の実施頻度

試験の実施頻度は、別に規定されている場合を除き、種々の要因を考慮して設定しなければならない。これらの要因には次のものがある。

- a) 非無菌医薬品の剤形（用法）
- b) 製造方法
- c) 製造頻度
- d) 医薬品原料の特性（天然物より製したもの、化学合成で製したもの等）
- e) ロットサイズ
- f) バイオバーデン値のばらつき（ロット間、季節変動等）
- g) バイオバーデンに影響を及ぼす変更事項（製造工程の変更、医薬品原料の入手先の変更、医薬品原料ロットの変更等）
- h) その他

医薬品の製造初期段階においては、医薬品原料や当該医薬品の微生物学的品質特性を把握するために、一般に高頻度に微生物限度試験を行う必要がある。しかし、回顧的又は同時的バリデーション等のデータを蓄積することによって、例えば、季節ごと、一定期間ごと、数ロットごと等、試験頻度を少なくすることができる。

4. 微生物管理計画書

非無菌医薬品に「微生物限度試験法」を適用する場合には、当該医薬品からの微生物の回収法、培養法、計測法の妥当性を検証した上で、次の事項を定めた微生物管理計画書を作成しなければならない。

- a) 試験対象医薬品名（品目名）
- b) 試料採取頻度及び試験実施頻度
- c) 試料の採取方法（採取者、採取量、採取環境等を含む）
- d) 採取試料の試験室への移動（試験実施までの保存条件を含む）