



Microbiological contamination risk management in aseptic room environment by three dimensional air flow analysis and microbiological risk characteristics

Katayama, Hirohito

(Degree)

博士 (工学)

(Date of Degree)

2008-09-25

(Date of Publication)

2012-03-30

(Resource Type)

doctoral thesis

(Report Number)

甲4414

(URL)

<https://hdl.handle.net/20.500.14094/D1004414>

※ 当コンテンツは神戸大学の学術成果です。無断複製・不正使用等を禁じます。著作権法で認められている範囲内で、適切にご利用ください。



氏 名	片山 博仁
博士の専攻分野の名称	博士（工学）
学 位 記 番 号	博い第 547 号
学位授与の 要 件	学位規則第 5 条第 1 項該当
学位授与の 日 付	平成 20 年 9 月 25 日

【 学位論文題目 】

Microbiological contamination risk management in aseptic room environment by three dimensional air flow analysis and microbiological risk characteristics(無菌室環境における微生物汚染リスクの制御と微生物汚染リスクの特長について)

審 査 委 員

主 査	教 授	大村 直人
	教 授	西山 覚
	教 授	上田 裕清
	准教授	山地 秀樹

無菌操作法は医薬品を、滅菌された原材料、資材を用いて微生物再汚染が無いように無菌環境において1 ppm以下の汚染率を目指して製造する方法であるが、1 ppm以下を保証する直接的な方法は存在しない。各製造ロット毎に抜き取り無菌試験でのサンプル数はごく一部にしかならず、無菌性の保証は間接的におこなうしかない。そこで、検出能の不足を補完するため、無菌操作法では生産や培地充填において様々な微生物学的な試験が何重にも準備されることになる。そのひとつに、工程実施中の無菌環境が完全であったことを証明する微生物環境モニタリングがある。しかしながら、微生物環境モニタリングは培地を使った微生物試験法の検出感度の低さ、制御すべき無菌環境の広さと時間に比して、サンプル量、サンプル箇所、サンプル時間の不十分さが問題になり、求められるリスクに対して、検出能はやはり十分とは言い切れない。特に人が関与する無菌操作では、その時々への行動に多様性、不確実性があるため、サンプリングにふさわしい箇所がどこであるかを合理的に決めることは非常に困難である。しかしながら、もし最も微生物が検出される可能性の高いサンプリング箇所、いわゆる”Hot Spot”を科学的に特定することが出来れば、微生物検出能の低さを補完し、無菌室の微生物環境制御の信頼性を高めることが出来ると考えられる。

そこで、本研究においては、無菌室における微生物汚染リスクの評価のための信頼性の高い”Hot Spot”を特定するため、三次元風速計を用いた無菌室全体の気流解析を行い、視覚化された気流の特徴と、実測微生物環境モニタリング結果から、”Hot Spot”の特定を試みている。ここで、微粒子の測定も平行して行った。また、実測の

三次元気流解析の再現性の確認、コンピュータシミュレーションとの一致性も確認し、コンピュータによる”Hot Spot”の推定が有用であることを示している。また実験結果として、これまで知見の無かった視覚的な気流の特徴と微生物環境モニタリング結果の関係を示すデータ解析を紹介した。

また、本研究では、近年約10年の無菌操作法をおこなう施設の進歩と、近年陳腐化しつつある医薬品製造にかかわるガイダンス等に対して、米国規制当局を始めとしたリスクと科学に基づく新しいパラダイム構築の国際的な動きに呼応して、新技術から従来技術までの微生物制御のリスク分析を行い、3つのカテゴリー分類をおこなった。本研究で確立した微生物環境制御が最も有効である高度化された無菌室、および従来型無菌室と、新しい無菌操作施設であるアイソレーターでは、実測の微生物学的な培地充填や環境モニタリングのデータも合わせてそのギャップの考察を試みた。結果として、人の介在をゼロにした無菌操作法が可能なアイソレーターでは、微生物汚染制御の能力は極めて高く、培地充填や微生物環境モニタリングに変わってより施設の完全性を示す物理的な制御因子で無菌操作の信頼性を担保すべきであるとした。一方、高度化した無菌室、従来型無菌室では、気流解析によって、信頼性の高い施設のリスク評価が可能であり、これによって培地充填などのパレードの頻度、微生物環境モニタリングの頻度やサンプリング箇所数もリスクに応じて差をつけてしかるべきであるといえる。

大規模な実生産施設を評価し、大量の微生物環境モニタリングを実施して気流解析とモニタリングデータの関連性を考察した。”Hot Spot”を判りやすくするために、非無菌状態の工事直後の微生物負荷が大きい環境下でモニタリングを行った。その結果、第2章同様のいくつかの特徴的な気流のまとまりが見られることを観察していることに加えて、この無菌室は広い面積において床付近に一方向流的な気流が確

認でき、その床面は非常に清浄であり、微生物が検出されにくいこと、また、床面一方向流が収束する排気ダクトのカバーであるステンレスパンチング表面において、最も微生物の回収が多く、“Hot Spot”と考えられること、空中の微生物はほとんど補足出来ないことなどが明らかとなった。また、実測三次元気流解析とコンピュータシミュレーション結果の一致性を詳細に解析し、結果的に微生物汚染リスクを考察し、最適な環境モニタリングの“Hot Spot”を推定する上では、コンピュータシミュレーションによる空気齢の視覚化が有効であることを示した。また、シミュレーションによる空気齢の分布からは、無菌室の清浄な空気の流れパターン、混合パターンをの異なるゾーンを読み取ることができ、乱流の部屋の中においてもその清浄化の特徴の違いが解析できることを示した。

さらに、近年発達してきたリスクアセスメント手法のうち、無菌操作に適用できる Akers 法、Whyte 法を用いて、現存する無菌室を 3 つのカテゴリに分類することを提唱した。結果的にアイソレーターでは、微生物学的なモニタリング手法では意味ある情報が得られないばかりか、むしろ無菌操作リスクを高めるのみである。アイソレーターにおいては無菌保証の新たな工程管理手法の枠組みを模索すべきであると結論付ける一方、高度化した無菌室、コンベンショナルな無菌室では、本研究でまとめた“Hot Spot”の特定方法と無菌化清掃前の負荷状態での微生物環境モニタリング結果を用いて、リスクアセスメントを行い、リスクに応じたモニタリングプログラムを策定することが出来ることを示した。

氏名	片 山 博 仁		
論文 題目	Microbiological contamination risk management in aseptic room environment by three dimensional air flow analysis and microbiological risk characteristics (無菌室環境における微生物汚染リスクの制御と微生物汚染リスクの特長について)		
審査委員	区 分	職 名	氏 名
	主 査	教 授	大 村 直 人
	副 査	教 授	上 田 裕 清
	副 査	教 授	西 山 覚
	副 査	准教授	山 地 秀 樹
	副 査		
要 旨			
無菌操作法は医薬品を、滅菌された原材料、資材を用いて微生物再汚染が無いように無菌環境において 1 ppm 以下の汚染率を目指して製造する方法であるが、1 ppm 以下を保証する直接的な方法は存在しない。各製造ロット毎に抜き取り無菌試験でのサンプル数はごく一部にしかならず、無菌性の保証は間接的におこなうしかない。そこで、検出能の不足を補完するため、無菌操作法では生産や培地充填において様々な微生物学的な試験が何重にも準備されることになる。そのひとつに、工程実施中の無菌環境が完全であったことを証明する微生物環境モニタリングがある。しかしながら、微生物環境モニタリングは培地を使った微生物試験法の検出感度の低さ、制御すべき無菌環境の広さと時間に比して、サンプル量、サンプル箇所、サンプル時間の不十分さが問題になり、求められるリスクに対して、検出能はやはり十分とは言いつれない。特に人が関与する無菌操作では、その時々への行動に多様性、不確実性があるため、サンプリングにふさわしい箇所がどこであるかを合理的に決めることは非常に困難である。しかし、もし最も微生物が検出される可能性の高いサンプリング箇所、いわゆる“Hot Spot”を科学的に特定することが出来れば、微生物検出能の低さを補完し、無菌室の微生物環境制御の信頼性を高めることが出来ると考えられる。 そこで、本研究においては、無菌室における微生物汚染リスクの評価のための信頼性の高い“Hot Spot”を特定するため、三次元風速計を用いた無菌室全体の気流解析を行い、視覚化された気流の特徴と、実測微生物環境モニタリング結果から、“Hot Spot”の特定を試みている。ここで、微粒子の測定も平行して行っている。また、実測の三次元気流解析の再現性の確認、コンピュータシミュレーションとの一致性も確認し、コンピュータによる“Hot Spot”の推定が有用であることを示している。また実験結果として、これまで知見の無かった視覚的な気流の特徴と微生物環境モニタリング結果の関係を示すデータ解析を紹介している。また、近年約 10 年の無菌操作法をおこなう施設の進歩と、近年陳腐化しつつある医薬品製造にかかわるガイダンス等に対して、米国規制当局を始めとしたリスクと科学に基づく新しいパラダイム構築の国際的な動きに呼応して、新技術から従来技術までの微生物制御のリスク分析を行い、3 つのカテゴリ分類をおこなっている。本研究で確立した微生物環境制御が最も有効である高度化された無菌室、および従来型無菌室と、新しい無菌操作施設であるアイソレーターでは、実測の微生物学的な培地充填や環境モニタリングのデータも合わせてそのギャップの考察を試みている。結果として、人の介入をゼロにした無菌操作法が可能なアイソレーターでは、微生物汚染制御の能力は極めて高く、培地充填や微生物環境モニタリングに変わってより施設の完全性を示す物理的な制御因子で無菌操作の信頼性を担保すべきであるとしている。一方、高度化した無菌室、従来型無菌室では、気流解析によって、信頼性の高い施設のリスク評価が可能であり、これによって培地充填などのバリデーションの頻度、微生物環境モニタリングの頻度やサンプリング箇所数もリスクに応じて差をつけてしかるべきであると主張している。 各章毎の構成は以下になっている。 第 1 章 序論； 背景として、無菌保証、無菌操作法の特徴と課題を整理し、近年の技術の変化、規制当局の変化、業界の志向性の変化などをまとめている。その中で無菌室の環境の重要性、無菌室の微生物モニタリングの重要性と検出感度の課題を整理し、本研究の目的、研究構成の概略を説明している。 第 2 章 小規模実験施設での実測三次元気流解析による気流の視覚化と微生物、微粒子の環境モニタリング結果の関連付け；治験薬を製造する小規模な無菌室を使って、水平面 50 cm グリッド、縦方向 50, 100, 200cm 位置での三次元風速計を用いた実測三次元気流解析によるを 2 回行い、気流の視覚化と再現性の確認をおこなっている。視覚化された気流の断面を解析し、従来均一と近似的に想定された来た乱流型無菌			

氏名	片 山 博 仁
室の室内空間が、いくつかの特徴的なまとまりに分類でき、それぞれ異なる微生物汚染リスクが予想されることを示している。また、微粒子と微生物のデータからの考察も加え、矛盾のないことを示している。 第3章 大規模実生産施設1での実測三次元気流解析とコンピュータシミュレーション、および微生物、微粒子の環境モニタリング結果の考察；第2章同様の手法で、大規模な実生産施設1を評価し、大量の微生物環境モニタリングを実施して気流解析とモニタリングデータの関連性を考察している。”Hot Spot”を判りやすくするために、非無菌状態の工事直後の微生物負荷が大きい環境下でモニタリングを行っている。その結果、第2章同様のいくつかの特徴的な気流のまとまりが見られることを観察していることに加えて、この無菌室は広い面積において床付近に一方向流的な気流が確認でき、その床面は非常に清浄であり、微生物が検出されにくいこと、また、床面一方向流が収束する排気ダクトのカバーであるステンレスパンチング表面において、最も微生物の回収が多く、”Hot Spot”と考えられること、空中の微生物はほとんど補足出来ないことなどが考察されている。また、第2章、第3章とも、使用された無菌室は換気回数を 60・80 回/時に高めて高度化したものであり、このような無菌室では、通常は微生物を検出することが出来ず、従来の換気回数 30・40 回/時程度の無菌室とは違って格段に微生物汚染リスクが低いことが示唆されている。 第4章 大規模実生産施設2での実測三次元気流解析とコンピュータシミュレーション結果の一致性の解析とコンピュータシミュレーションによる空気齢の利用についての考察；第2章同様の手法で、大規模な実生産施設2を評価し、実測三次元気流解析とコンピュータシミュレーション結果の一致性を詳細に解析している。結果的に微生物汚染リスクを考察し、最適な環境モニタリングの”Hot Spot”を推定する上では、コンピュータシミュレーションによる空気齢の視覚化が有効であることを示している。また、シミュレーションによる空気齢の分布からは、無菌室の清浄な空気の流入パターン、混合パターンをの異なるゾーンを読み取ることができ、乱流の部屋の中においてもその清浄化の特徴の違いが解析できることを示している。 第5章 無菌操作法の施設のハードウェア技術に応じたリスクカテゴリー分類と培地充填、微生物環境モニタリングの考察；無菌操作法を直接的な人手を介さずに行うことが出来るアイソレーターは、従来の人による無菌操作とはその微生物汚染リスクの点で大きく異なると考えられる。本研究では近年発達してきたリスクアセスメント手法のうち、無菌操作に適用できる Akers 法、Whyte 法を用いて、現存する無菌室を3つのカテゴリーに分類することを提唱している。結果的にアイソレーターでは、微生物学的なモニタリング手法では意味ある情報が得られないばかりか、むしろ無菌操作リスクを高めるのみである点が指摘されている。アイソレーターにおいては無菌保証の新たな工程管理手法の枠組みを模索すべきであると結論付けける一方、高度化した無菌室、コンベンショナルな無菌室では、本研究でまとめた”Hot Spot”の特定方法と無菌化清掃前の負荷状態での微生物環境モニタリング結果を用いて、リスクアセスメントを行い、リスクに応じたモニタリングプログラムを策定することを提唱している。 第6章 逸脱と異常に対する GMP の取り組みの考察；無菌操作法においては、社会的に求められる安全性に対して、高いレベルでの無菌保証が達成されていると推定される一方で、目に見えない微生物の制御を製品製造ごとに行うためには微生物環境モニタリングの検出感度の低さや、結果を出すまでの時間が課題であることが指摘される。直接証明する手段のない無菌の信頼性を維持してゆくためには、わずかなリスクの発生をいち早く発見し、改善して行く仕組みが必要になる。あるいは逸脱が発生し、製品が保証できているかどうかの判断、異常が発生した後、生産が開始できるかどうかの判断を、正しく実行できるシステムの整備が重要である。この章では、GMP (good manufacturing practice) の CAPA (corrective action preventive action) を整備することで、科学的にはカバーしきれない部分の信頼性を補完する方法をまとめている。 第7章 まとめ；無菌操作法における無菌室のリスクに基づく微生物学的な環境管理手法として、三次元気流解析と負荷状態の集中的な微生物環境モニタリングを活用した初期評価が有効であることをまとめている。 このように、本研究は国際的な規制のリスクと科学に基づくパラダイムシフトに際し、無菌操作における施設のリスクカテゴリー分類をおこなった上で、現存する無菌操作をおこなう施設では最も多いタイプの無菌室における”Hot Spot”の科学的な特定の手法を三次元気流解析を使って確立し、また微生物試験法の限界を踏まえて GMP 管理による逸脱と異常への対応を示すことで、無菌室の微生物管理の一つの手法として完結したものを提案しており、生物化学工学、医薬品工学における価値ある成果といえる。よって、学位申請者の片山博仁は、博士（工学）の学位を得る資格があると認める。	