



無菌製剤の無菌性維持管理における新しい容器完全性試験法と製造環境管理に関する研究

須藤, 浩孝

(Degree)

博士 (工学)

(Date of Degree)

2014-03-25

(Date of Publication)

2015-03-01

(Resource Type)

doctoral thesis

(Report Number)

甲第6092号

(URL)

<https://hdl.handle.net/20.500.14094/D1006092>

※ 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。



博士論文

無菌製剤の無菌性維持管理における
新しい容器完全性試験法と製造環境管理に関する研究

平成 26 年 1 月

神戸大学大学院工学研究科

須 藤 浩 孝

目次

略号	3
第1章 序論	4
1.1 はじめに	4
1.2 無菌化と維持管理法	4
1.3 注射剤製造における課題	7
第2章 ヘッドスペースアナライザーを使ったエタノールベースアンプル製剤の非破壊リークテストの開発	11
2.1 緒言	11
2.2 実験の部	12
2.2.1 使用機器	12
2.2.2 実験方法	12
2.3 結果および考察	17
2.3.1 リークテスターとしての HSA 法に関する予備検討	17
2.3.2 Bombing プロセスの評価	21
2.3.3 HSA 法と真空染色法の検知能力の比較評価	22
2.4 結論	25
第3章 空中浮遊微生物の迅速モニタリング法の評価検討	27
3.1 緒言	27
3.1.1 背景	27
3.1.2 微生物環境モニタリングの必要性	28
3.1.3 測定対象	29
3.1.4 検討の目的	30
3.2 実験の部	31
3.2.1 使用機器	31
3.2.2 実験方法	32
3.3 結果および考察	33
3.4 結論	35
第4章 微粒子可視化技術を用いた封じ込めアイソレータのリークリスクマネジメントの検	

討	37
4.1 緒言	37
4.1.1 背景	37
4.1.2 微粒子可視化システムの測定原理	37
4.1.3 微粒子可視化技術によるリークリスクマネジメントへの活用	40
4.2 実験の部	40
4.2.1 使用機器	40
4.2.2 実験方法	41
4.3 結果および考察	44
4.3.1 発塵源からアイソレータ内部への拡散	44
4.3.2 リークポイントからアイソレータ外部への拡散	59
4.4 結論	60
第5章 総括	62
謝辞	66

略号

AS	:	Air Sampler
ATP	:	Adenosine Tri-Phosphate
BP	:	Bio-particle
CCD	:	Charge Coupled Device : 電荷結合素子
CFU	:	Colony Forming Unit
FTG	:	Fluid Thioglycollate Medium
HEPA	:	High Efficiency Particulate Air
HSA	:	Head Space Analyzer
IMD	:	Instantaneous Microbial Detection System (IMD-A)
IOM	:	Institute of Occupational Medicine : 英国産業医学研究所
ISPE	:	International Society for Pharmaceutical Engineering
OEL	:	Occupational Exposure Limit : 許容暴露管理量
PDA	:	Parenteral Drug Association
p(s)	:	number of particles at section s at the moment
p(total)	:	total number of particles at the moment
RABS	:	Restricted Access Barrier System
Rs	:	Ratio of Particles at section s at the moment [%]
SAL	:	Sterility Assurance Level: 無菌保証水準
SCD	:	Soybean Casein Digest Medium
SMEPAC	:	The Standardized Measurement of Particulate Airborne Concentration : 空中浮遊微粒子濃度の標準化測定
ULPA	:	Ultra Low Penetration Air

第1章 序論

1.1 はじめに

注射剤は静脈内あるいは皮内、皮下、筋肉等、体内に薬物を直接適応する剤形である。経口、経皮、経肺などの他の投与ルートと異なり、薬剤が直接体内に薬投与されるため、製剤が微生物に汚染されていた場合は、重大な健康被害が引き起こされる可能性がある。注射剤は無菌であることが必須である。ここで、「無菌」とは単に病原微生物が生存していないという意味でなく、あらゆる微生物が存在しないということである。

各国のガイドライン¹⁻³⁾における注射剤製造指針には、注射剤を製する際には微生物による汚染に十分に注意し、薬液調製から充填閉塞、滅菌に至る操作は注射剤の組成や貯法を考慮してできるだけ速やかに行う旨の記載がある。注射剤の滅菌方法に関し、製法別に見ると、密封後の容器ごと滅菌する最終滅菌製剤と、薬液を無菌化した後に滅菌済み容器に充てん、密封する無菌操作製剤が規定されている。この無菌操作製剤は、微生物汚染のリスクが最終滅菌製剤に比べ大きいことから、最終滅菌製剤を第一選択として、熱に不安定な場合やその他の製剤特性から必要な場合は、無菌操作による製造を選択することが一般的である⁴⁾。無菌操作製剤を選択する場合は、製造環境や製造方法をはじめ、製造時の管理に留意して適切に行う必要がある。

本論文では、製造工程の無菌化法およびその維持管理法を纏めるとともに、理論が確立された無菌化法に比べて、改善の余地の残された維持管理法について、課題点を列挙し、それに対する新たな対応法を提言する。

1.2 無菌化と維持管理法

前述のとおり、注射剤はすべて無菌の製剤である必要がある。無菌とは、製剤中に微生物が存在しないことであるが、一方、無菌性を評価する試験は、容器を開封して実施する試験、即ち破壊試験であるため、個々の製品に対して、直接的に無菌性を検証することは現実的ではない。そこで同一製造ロットより一部の製剤を抜き取り、無菌試験を実施する。ロットあたりの製造個数は製剤によって様々だが、十万本以上のものもある。これに対し日本薬局方に規定のある20容器の無菌試験だけで、全容器の無菌性を保証するのは不可能である。つまり、無菌試験は製造ロット全体の無菌性を示す為の一つの証拠に過ぎず、それ以外の無菌性に関連する項目が製剤の無菌性に大きく関連する。

製剤の無菌性に関連する項目を表 1.1 に纏める。

表 1.1 製剤の無菌性に関する項目

項目	内容
原料/容被材料のバイオバーデン管理	<p>バイオバーデン（滅菌前の原料及び資材等に生存する微生物の数と種類）を管理することにより、後工程である滅菌工程で十分にその微生物を除去できるか保証することができる。予め定められた頻度でバイオバーデンの測定を実施し、規格値内であることを確認する必要がある¹⁾。</p>
無菌化工程管理	<p>微生物の存在確率は無菌性保証水準（Sterility Assurance Level; SAL）で表現される。滅菌は、通例、10^{-6}以下のSALが得られる条件において行う。但し、SALは、理論上／説明上の数値にすぎず、10^6（100万個に1個）の非無菌の製品があってもよいということではない。最終滅菌を行うのが第一選択肢だが、耐熱性の小さい特性の製剤では、無菌操作が選択される⁴⁾。この場合、ろ過滅菌が一般的に選択される。滅菌法については、表 1.2 に示す。</p>
製造環境管理	<p>無菌医薬品の製造において、製造環境の微生物学的管理は重要な品質保証の要件である。その為、無菌医薬品における環境微生物管理は、製造が行われる空間が絶えず適切な清浄度に維持されていることを確認する極めて重要なリスク低減措置である。</p> <p>無菌医薬品製造における環境微生物の管理基準は、日米欧のガイダンス、ガイドラインなどに示されている¹⁻³⁾。</p> <p>環境モニタリングによって得られるのは、環境のバイオバーデンの代表的な値である。環境微生物モニタリングでは、製造環境に存在するすべての微生物汚染を検出することはできないが、無菌製造の作業中に適切な環境を維持していたかどうかを判断できるように、モニタリングの位置・頻度・タイミング・方法を選ぶことが重要である。また施設の空調設備、エアロック、製造機械などが設計通りの能力を発揮しているかどうかを、休止状態のモニタリングで、確認することも重要である。新しい施設ではまず無菌室の初期状態における評価として、広範囲のモニタリングを行い医薬品の微生物学的品質に最も悪影響を及ぼすリスクがある箇所・要因を見つけ出し、評価結果から医薬品の製造管理区域の傾向を把握する。ここで得た対象無菌室の菌数や菌種のトレンドから製品の無菌性に影響を与えない各製造区域の基準値と、これを管理するために適切な環境モニタリング方法、頻度、サンプリングポイントを決めてプログラムを設定する。</p>

表 1.1 製剤の無菌性に関する項目（前頁より続く）

<p>容器の密封性管理</p>	<p>容器の密封性を維持することで、無菌環境での充填、閉塞より、流通段階、患者への投与までの微生物汚染を防ぐことができる。容器完全性試験は全ての容器に対し実施し、その方法はバリデートされている必要がある。</p>
<p>無菌操作製剤のプロセスシミュレーションテスト</p>	<p>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実際の薬液を充填する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1つの方法である。培地は一般的に、SCD培地が用いられているが、嫌気条件下で製造される医薬品の場合や、環境モニタリングまたは液状チオグリコール酸（FTG）培地を用いた無菌試験において嫌気性菌が頻度高く検出される場合には、FTG培地を用いての培地充填試験も検討しなければならない。SCD培地の場合にはガスを置換せずに空気存在下で培養するが、嫌気性菌検出を目的にFTG培地を使用する場合は、必要に応じて培地充填後、容器内の嫌気度を保持するために窒素ガスを充填することを検討すべきである。培地の性能試験は、無菌試験法に準じて行う。培地性能試験は、培地充てん試験前または培地充てん試験と並行して行う。培地充てん容器を2週間培養後、培養した培地を使ってさらに培地性能試験を行う場合もある。培地を充てんした容器は培養前に容器を転倒もしくは軽く振って容器内表面を一様に培地で濡らす。破損した容器、転倒した際に濡れが認められた容器は培養前に取り除くか、またはそのことを記録した上で培養する。異物、汚れ、傷等の認められる容器なども識別できるようにして培養する。培地充てん作業中に通常の製造では取り除かれるような状態にあった容器については培養する必要は無いが、あらかじめそのような容器を培養から除外することが文書化されていなければならない。培養期間は14日間以上とし、通常、20～35℃の間で培養する。異なる2つの温度で培養する際には、低い方の温度から始め、それぞれ7日間以上培養する。</p>

表 1.2 注射剤製造に用いられる各種滅菌法

方法	詳細分類
加熱法	湿熱（高圧蒸気）滅菌
	乾熱滅菌
照射法	放射線滅菌（ γ 線，電子線）
	高周波滅菌
ガス法	滅菌用ガス法
除菌法	ろ過滅菌

1.3 注射剤製造における課題

前述の通り，注射剤は無菌性の担保が最も重要であるが，製品全てに対して非破壊で直接的に無菌を証明することはできない為，表 1.1 に示した無菌性に関する全ての項目が正常に管理出来たかを評価し，当該製品ロットの無菌性を保証している。ひとつの要因でも期待通りの結果を満たさないと，市場に当該製品を供給できない可能性もある。また，無菌性に関する項目は，無菌化する方法と無菌化した後の維持管理法に分類できる（表 1.3）。

表 1.3 無菌化法と無菌維持管理法

無菌化工程	加熱法
	照射法
	ガス法
	ろ過法
無菌性維持管理	原料/容被材料のバイオバーデン管理*
	製造環境管理
	容器の密封性管理
	無菌操作の管理(シミュレーション)

*無菌化前のバイオバーデン管理は，無菌維持管理としてだけでなく，無菌化工程の一部とも考えられる。

無菌化については，加熱法ならば湿熱滅菌，乾熱滅菌法，照射法ならば放射線滅菌（ γ 線，電子線），高周波滅菌，ガス法ならば酸化エチレンガス滅菌， $0.2\mu\text{m}$ の孔径のフィルターでのろ過滅菌法など総じて理論は確立されている。一方，維持管理については，その目的は特定できるが，それを達成するための手段は多様である。

例えば，注射剤の製造環境については，当該環境が満たすべき基準は示されているが¹⁻³⁾，どのような手法でその基準を満たし，維持管理していくかは，医薬品製造業者が自ら考えなければならない。同じグレード A の環境を作る場合でも，アイソレータという物理的に隔離された清浄な空間を使用する場合，RABS（Restricted Access Barrier System）という一部物理的に隔離された空間を使う場合，堅牢な物理的隔離ではなくエアフローとカーテンで区切っているコンベンショナルな無菌室の場合で，それぞれの維持管理方法は異なる。アイソレータの場合，作業者が無菌区域に直接アクセスすることは出来ず，アイソレータに付属しているグローブを用いるのが一般的である。この場合は，そのグローブの管理が非常に重要であり，日常的に目視による管理に加え，圧

力変化式専用装置を用いた管理も一般的に行われている。一方、コンベンショナルな無菌室では、アクセスする際の作業手順や、アクセスする作業者のアクセス部位の微生物管理が非常に重要となってくる。そこで、本論文では、まだ改善の余地の多い無菌性の維持管理方法についての課題に焦点を絞って論じることとした。

無菌性を維持管理するためには、まず、製造中に微生物を混入させないこと、また一次容器に充填・密封した後、患者に投与されるまで外部からの微生物汚染を防ぐことなどの条件がある。前者の管理項目としては、より精度の高い製造環境管理であり、後者のそれは、堅牢な容器完全性試験の構築に他ならない。そこで本論文では無菌性維持管理の中でも製造環境管理と容器の密封性管理について論じたいと考える。精度の高い製造環境管理とは、製品に対する微生物汚染の発生を漏れなく検知できることである。堅牢な容器完全性試験の構築も同様に、微生物汚染が起こりうる不完全な容器を漏れなく検知できることである。

まず、注射剤の一次容器の完全性（密封性）の確認方法について検討を行った。一次容器の完全性は無菌性を維持するための基本であり、無菌的に製剤を製しても、容器の完全性が担保できなければ患者への投与までの間に微生物汚染のリスクがある。容器の完全性試験は、主にその容器の材質ならびに形状、内容物などによって決定される。注射剤の場合、容器としてはガラス製アンプル、バイアル、シリンジおよびプラスチック製アンプル、バイアル、シリンジ、バッグなどが一般的である。内容物は凍結乾燥製剤などの固形物と液体の場合があり、液体の場合はさらに導電性液体と非導電性液体に分けられる。容器の完全性を非破壊で確認するリークテスターとしては高電圧式検査法が最も感度が良いと言われているが、内容物が導電性の液体で無いと適用できない。高電圧検査方式の検査感度は、条件によって左右されるため、文献によって記載は異なるが、5-10 μm のピンホールなら100%検知できるというものもある⁵⁾。別に、圧力変化を見る方式や色素液に浸漬させて容器内部に色素が浸入するかを見る方法がある。圧力変化を検知する方法は精度の点で改善の余地があり、色素液に浸漬させる方法は、色素の容器内への残留の懸念や意図せぬ容器の破損等も散見されるため、非導電性液体製剤のより良いリークテスターの開発が求められている。そこで、本研究では、新しい容器完全性検査方式として、非導電性薬液が入ったガラス製アンプル製剤を例に取り、新しい検査法の開発に取り組むとともに、より安全で高感度な方法を確立することを目的とする。

続いて、製造環境管理における、新しい無菌製剤製造環境測定法の開発に取り組んだ。容器の完全性が保たれていることに加え、製造環境における微生物汚染を防ぐことは、注射剤製造において無菌維持管理の観点から非常に重要な要件である。現在採用されている微生物関連の試験では、培養期間を伴うため迅速に結果を得ることができず、製造後数日～数週間後まで判定を待つこととなる。もし製造後ではなく製造中に迅速に微生物汚染の兆候を知ることが出来れば、製造時に適切な対応も可能となる。また、汚染範囲の特定にも役立つため、高価な医薬品を製造する場合などは経済的でもある。そこで本研究では空中浮遊微生物の迅速測定を例に取り、測定原理の異なる2つの微生物迅速

測定機器をその特徴を生かし、どのような管理をすれば、有用な環境モニタリングが実行可能かを考察した。

更に、製造環境管理の特殊な事例として、高生理活性無菌医薬品の製造を行う設備の構築に関する検討を行った。この例の場合、製剤の無菌性確保の観点だけでなく、製造作業に従事する作業者の安全性を確保する観点から設備を設計する際に留意が必要な事例である。無菌性確保の為には最も高い清浄度を要求される製造エリアを最も高い圧力に設定し、そこに周囲の低い清浄度の空気が入り込まないように設定するのが一般的である。一方、非無菌製剤製造の場合、高生理活性薬物などは取り扱う場所を低い圧力に設定し、周囲に薬物が飛散しないようにするのが一般的である。このような考えのものと高生理活性無菌製剤の封じ込めという課題について、どのように管理すれば無菌と封じ込めを両立できるかを考えた。現行では封じ込めが必要であっても無菌製剤なら陽圧管理のアイソレータ内で製造するのが一般的である。そこで本研究では高活性物質が陽圧アイソレータ内部からどのように漏れるか、またそれを把握できた後、どのように管理すれば、無菌性管理だけでなく、作業者にとって安全な高活性物質の漏れ管理が出来るかを考えた。実際には模擬製剤（ラクトース）を用いて本研究を実施した。以上、無菌性の維持管理に関連する3つの技術的課題に取り組んだ（表 1.4）。

表 1.4 無菌性維持管理法と本論文で取り組む課題

原料/容被材料のバイオバーデン管理	—
無菌化工程管理	—
容器の密封性管理	(1) 非導電性溶液製剤の容器の完全性試験方法
製造環境管理	(2) 空中浮遊微生物の迅速モニタリング法の評価検討
	高活性無菌医薬品製造のための製造環境管理の例として、 (3) 微粒子可視化技術を用いた封じ込めアイソレータのリークリスクマネジメントの検討
無菌操作の管理（シミュレーション）	—

参考文献

1. 平成 22 年度厚生労働科学研究 医薬品の微生物学的品質確保のための新規試験法導入に関する研究 無菌操作法による無菌医薬品の製造に関する指針
2. FDA, Guidance for Industry Sterile Drug Products Produced by Aseptic Processing — Current Good Manufacturing Practice, 2004
3. EU Guidelines to Good Manufacturing Practice Medicinal Products for Human and Veterinary Use Annex 1 Manufacture of Sterile Medicinal Products, 2008
4. EMEA Committee for proprietary medicinal products, Decision Trees for the selection of sterilization Methods, 2000
5. F. Möll, D. L. Doyle, M. Haerer, et al. “Validation of a High Voltage Leak Detector for Use With Pharmaceutical Blow-Fill-Seal Containers—A Practical Approach”, PDA Journal of Pharmaceutical Science and Technology”, 52(1998), 215-227

第2章 ヘッドスペースアナライザーを使ったエタノールベースアンプル製剤の非破壊リークテストの開発¹⁾

2.1 緒言

無菌製剤である注射剤の製造ならびに輸送の両工程に於いて、製剤中への微生物の汚染を防ぐために注射剤容器の完全性を保証することは不可欠である。3極のガイドラインには、破損した製品の検知に失敗すれば、製品のリコールにも繋がるため、十分な精度を持った検知方法の確立が必要である旨の記載がある。また、その方法はバリデートされた全数検査法であることが求められている²⁻⁴⁾。

一般的な容器完全性試験法として、真空染色法⁵⁾、圧力降下型リーク検査法⁶⁻⁸⁾、高電圧式検査法⁷⁾などがある。真空染色法は古くから医薬品用密封包装製品に使われてきた方法で、染色と浸透を助けるために着色活性剤を添加した溶液中に密封製品を水没させた後に外圧や真空圧を加え、リーク箇所から浸透した染液を肉眼で検査する方法である。この方法では、大量の製品を同時に浸漬させて全数検査を行うことが可能であるが、内容薬物のpHにより染液の色が変化する場合もある。ならびに、内容物が着色物の場合は、検査が困難である。また、肉眼による検査のため、検査漏れ製品が発生した場合、二次汚染された製品が市場に供給されてしまう危険がある。加えて、バイアル容器を使う製品の場合、キャップとゴム栓の間に染液が残存してしまう可能性もあるため、主にアンプル製品に用いられる。また、意図せぬ容器の破損等も散見されるのも事実である。一方、圧力降下型リーク検査法は、減圧環境下に置かれた製品から漏れ出したエアールによる差圧変化を高感度に検出し良否判定を行うものである。本方法は容器形態の制限は無く、バイアルでもアンプルでも適用可能であるが、クラックの位置や設定条件によって感度も大きく左右される。高電圧式検査法は、製品に高電圧を加えクラックやピンホールが存在した場合の放電による電流値変化を検知し、良否判定を行うものである。この方法は、前述の方法に比べ高感度であり、インライン式で全数検査が可能であるが、内容物が導電性溶液である必要がある。導電性溶液の場合は、高電圧式検査法が最も高感度な方法であるが、アンプル容器に充填された非導電性薬液の場合、この方法を用いることはできない。

そこで本研究では、アンプル容器に充填された非導電性溶液の高感度な容器完全性試験法について取り組んだ。尚、我々が本研究に用いた製剤は、実際に販売されているものであり、エタノールベースの非導電性溶液がアンプル容器に充填されているものである。また、薬液の酸化分解を防ぐため、アンプルの空間部が窒素で置換されており、その酸素濃度は、1%程度である。このように酸化分解が懸念される製剤は、アンプル空間部を窒素置換することは一般的であり、設計された通りの窒素置換が達成されているかを製造中確認することが重要である。通常、薬液充填後の製剤を定期的に抜き取り、ガスクロマトグラフィー等で試験を実施する。ただし、これらはアンプルを破壊しないと、

その空間部の窒素置換率（酸素濃度）を測定できないので、最近では、非破壊で測定できるレーザーを用いた酸素濃度測定装置ヘッドスペースアナライザー（HSA）が広く採用されるようになってきた。

我々は、アンプルにクラックが存在した場合、そこから空気がアンプル内部に流入し、酸素濃度が上昇することを利用して、酸素濃度測定装置であるHSAを用いた容器完全性試験法を構築できるのではないかと考えた。まずHSAをリークテスターとして使用するための予備検討を実施し、その後、HSAを用いた方法とコンベンショナルな真空染色法を感度の観点から比較し、HSA法の有用性を示すこととした。

2.2 実験の部

2.2.1 使用機器

HSA（WILCOMAT HSA-P, Lab tester, 090022）はWilco (Wohlen, Switzerland) 製を使用した。真空染色法装置は独自で開発した。Helium Mass Spectrometer (UL200) は LEYBOLD INFICON (Köln, Germany) 製を使用した。2mLアンプルは、塩谷硝子(株)製(大阪)を使用した。2.2.2に示すような2種類の不良アンプルを準備した。一つはアンプルにキャピラリーを挿入したもので、もう一つは故意にクラックをつけたアンプルである。キャピラリーの方は、Bombing工程の効果を評価する実験に用いた。クラックをつけたアンプルは、それ以外の検討に用いた。尚、Bombingとは、外圧をかけてクラックやピンホールがあった場合に速やかにアンプル空間部の酸素濃度を上昇させ、短時間でより検知しやすくさせる方法のことである。

2.2.2 実験方法

不良アンプルの準備方法：2mLアンプルを用いた2種類の不良アンプル、一つは故意にクラックをつけたアンプル、もう一つはアンプルにキャピラリーを挿入し、ピンホールを模したものを準備した。

クラックアンプルは、先ずエタノールベースの薬液が包含されたアンプル表面を綺麗に拭き、続いてダイヤモンドカッターでクラックを作る箇所（アンプル頭部もしくはアンプル胴部）に傷を付ける。その後、酸水素バーナーで加熱し、意図的に作った傷部分にマイクロシリンジで水滴を垂らし急冷しヒートショックを起こしクラックを作成した。キャピラリーアンプルは、先ず小さな穴を空アンプルの底に開ける。その後、9 μ m径のキャピラリーと12 μ m径のキャピラリーを準備し、それぞれ12mm、38mmの長さに切断する。キャピラリーはアンプル底の穴より挿入し、エポキシ樹脂でしっかりとシールする。続いて薬液を1mL充てんし、アンプル空間部の窒素置換後、熔封する。9 μ m径12mmの長さのキャピラリーアンプルは、アンプルの胴部より下の部分、すなわち薬液に触れている部分にピンホールがあった場合を、また12 μ m径38mmの長さのキャピラリーアンプルは薬液に触れないアンプル空間部にピンホールがあった場合をシミ

ュレートすることを目的として作成された（図 2.1）。Mass Helium Spectrometer を用い、
 熔封前に予め両キャピラリーのリーク率を評価した結果、両キャピラリーとも 1.1×10^{-4}
 $\text{mbar} \cdot \text{l}/\text{sec}$ で同等のリーク率であることが確認できた。またハーゲンポアズイユの式か
 らもこの 2 つのキャピラリーは同等のリーク率であることが計算上も示唆された。

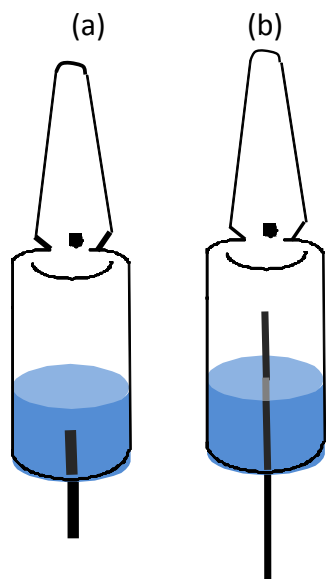


図 2.1 リークテスト試験用サンプル

(a) 液に触れている部分にピンホールがあることを模擬した 1mL 充填アンプル、(b) アンプルヘッドスペースにピンホールがあることを模擬した 1mL 充填アンプル

真空染色法：真空染色法の条件は、US Pharmacopeia /European Pharmacopeia に記載のある方法に基づいて設定した⁶⁾。但し、全てのパラメータをそのまま使用したのではなく最適化を実施した。US Pharmacopeia /European Pharmacopeia に記載のあるメチレンブルーは、エタノールベースの溶液とは相性が良くないことが判明したので、ブリリアントブルーを選択した。加えて、テストチャンバーは減圧ではなく加圧を実施した。これはHSAのBombing工程と整合性を持たせるためである。US Pharmacopeia /European Pharmacopeia の記載の方法と本実験で用いた方法の比較表を示す（表2.1）。

表 2.1 真空染色法試験条件

テスト方法	USP/EP	本実験
色素	1g/L Methylene Blue solution	1g/L brilliant blue solution
圧力条件	-27kPa	+200kPa
加圧時間	10min	30min

表 2.1 真空染色法試験条件（前頁より続く）

常圧での処理時間	30min	30min
色素の認識方法	目視検査	目視検査

色素が滲入したか否かを確認する目視検査では、市販品の検査において認定された検査員のみが参加した。尚、更に検査員は、濃度の異なる色素溶液を用いて追加の資格認定を行った。概略を表 2.2 に示す。50 本の色素溶液入りアンプルを、色素溶液が入っていない 200 本のアンプルとをランダムに混ぜてテストを実施した。検査員は 250 本のアンプルに対し目視検査を実施した。結果、0.1ppm の色素溶液までは確実に検知できることが確認できた。

表 2.2 目視検査による色素の検出可能濃度

色素濃度 [ppm]	10	3	1	0.3	0.1	0.03	0.01	0.003	0.001
試験アンプル数	5	5	5	5	6	6	6	6	6
検出アンプル数	5/5	5/5	5/5	5/5	6/6	1/6	0/6	0/6	0/6

HSA 法：HSA法の模式図を図 2.2に示す。HSAはアンプル空間部の酸素濃度を測定するために使用される。酸素分子に760nmの光が当たると、酸素分子は励起される。この為、760nmのレーザー光を酸素分子に当てると、直進するレーザー光が減衰する。減衰したレーザー光を受光器で受けることによって酸素量を測定する機器である。

測定前には、HSAは既知の酸素濃度の空気（1%酸素ガス）が封入されたスタンダードアンプルを用いキャリブレーションを実施した。

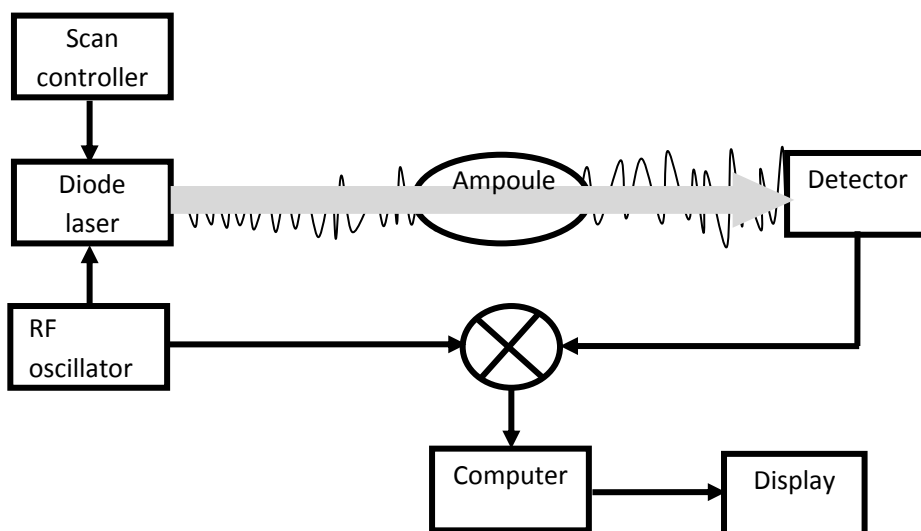


図 2.2 HSA の測定原理

レーザー（760 nm）がアンプルヘッドスペースを通過する際、レーザー光の強度は酸素原子に吸収されて減衰される。検知部で検知したレーザー光は電気信号に変換され、酸素濃度が定量的に測定できる。

詳細な運転パラメータを以下に示す。

Optical path through gas [1/100mm]: 1201, Number of scan: 400, Min. transmission [%]: 40,
Number of Digits: 2, Delay Measuring [cycles]: 3

本検討に使用されるアンプル（2mL充填用アンプル）には1mLのエタノールベース薬液が充てんされており、且つアンプル空間部には窒素置換が行われている（1%程度の酸素濃度）。クラックやピンホールがアンプルに開いていると外気が拡散により時間と共にアンプル内部に流入して来る為、アンプル空間部の酸素濃度が上昇する。この為、HSAでクラックやピンホールがある不良品を検出できる。アンプル内に外気が流入するのを促進させるため、図 2.3に示すように、前処理としてbombingプロセスという加圧プロセス（200kPaで30分間の処理）を追加した。

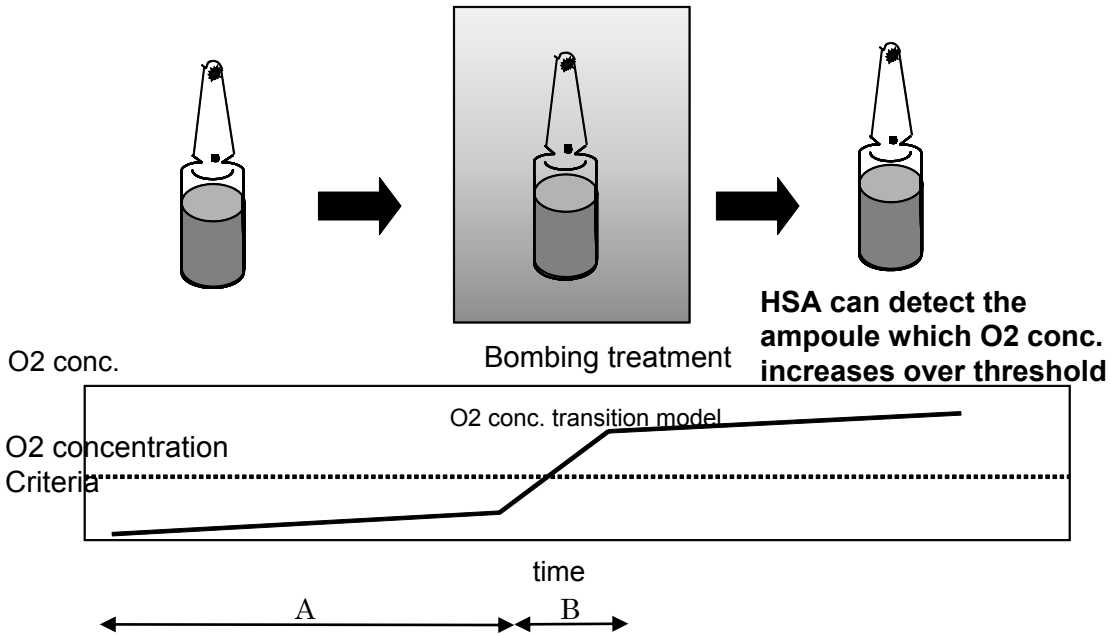


図 2.3 HSA リークテスターの概要

アンプルの酸素濃度は約 1%に管理されている。クラックを通じて拡散によりアンプル内に外気が流入し酸素濃度が徐々に上昇する(Process A)。続いて、アンプルを加圧し、強制的に外気を流入させる bombing process を行う (Process B)。

リークテスターとしてHSAを利用する為の予備検討：HSA法が堅牢な容器完全性を確認するための試験法となり得るかを確かめるため、3種類の予備評価を行った。エタノールベースの薬液がアンプルの表面（内側，外側）に存在した場合の測定精度への影響，アンプル空間部内での酸素濃度のばらつき（図 2.4），また測定精度に対する温度の影響について評価した。測定は各実験条件につき10回ずつ行った。

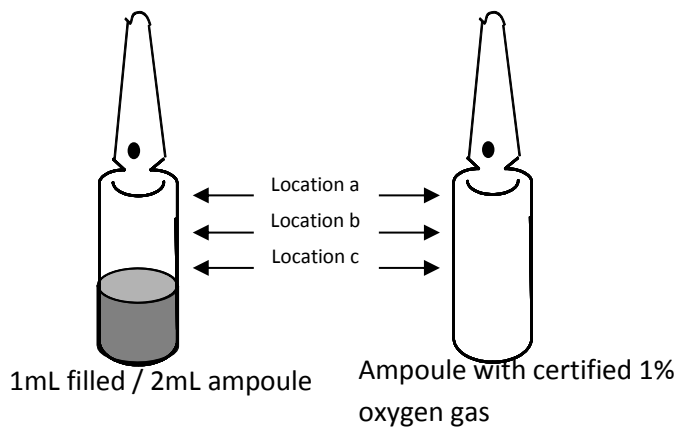


図 2.4 アンプル空間部内での酸素濃度の均一性確認

加えて、種々の既知酸素濃度のアンプルを用い、測定することによって本HSA法の直線性、正確さ、精度についても評価した。

Bombingプロセスの評価：Bombingプロセスについて評価するため、本実験は2つの種類のキャピラリー挿入アンプルを使用した。一つは、短いキャピラリーを挿入したものである。これは、アンプルの液面以下にピンホールが存在するため、外気は一旦薬液に溶解し、その後、アンプル空間部内の気体との気液平衡状態に到達することによって徐々にアンプル空間部の酸素濃度が上昇していく現象をシミュレートするために準備されたものである。二つ目のキャピラリー挿入アンプルは比較的長いキャピラリーをアンプル底部から空間部まで貫通させたものである。キャピラリーアンプルはBombingチャンバーに格納され、200kPaまで圧縮空気で加圧し、5分毎、30分までアンプル空間部の酸素濃度を測定した。

HSA法と真空染色法の検知能力の比較評価：本実験は、商用生産で製造されたアンプル製剤の表面に人工的にクラックを作ったものを用いてサンプルとした。それぞれのテストサンプルについて、HSAにて初期酸素濃度を測定した。その後、Bombingプロセス遂行のため、Bombingチャンバーに格納され、200kPa、30分まで圧縮空気で加圧し、アンプル空間部の酸素濃度を測定した。その後、当該サンプルを真空染色法に供し、染色法で処理後、アンプルの外表面を洗浄後、アンプル内部に色素が滲入しているか否かの目視検査を実施した。

2.3 結果および考察

2.3.1 リークテスターとしてのHSA法に関する予備検討

HSAの基礎検討として、既知の酸素濃度ガス（0.1%、1.0%及び20.4%）が封入されたアンプルを用い、直線性、正確さ、精度について評価した。直線性について、フルオペレーションレンジ、すなわち0%から20.4%の酸素濃度域の気体、での相関係数は0.999であった（図 2.5）。つまり、本測定法は高い直線性を有していることが分かった。

また、この測定での標準偏差は各10回の測定の結果から計算すると0.1%、1.0%、20.4%のアンプルでそれぞれ0.06、0.1、0.1であった。真値（証明書に記載されている酸素濃度）と平均値の乖離はそれぞれ-0.02、0、-0.1であった（表 2.3）。このように基礎検討の結果、HSAは酸素濃度を高い直線性を持って正確に測定できる装置であることが示唆された。

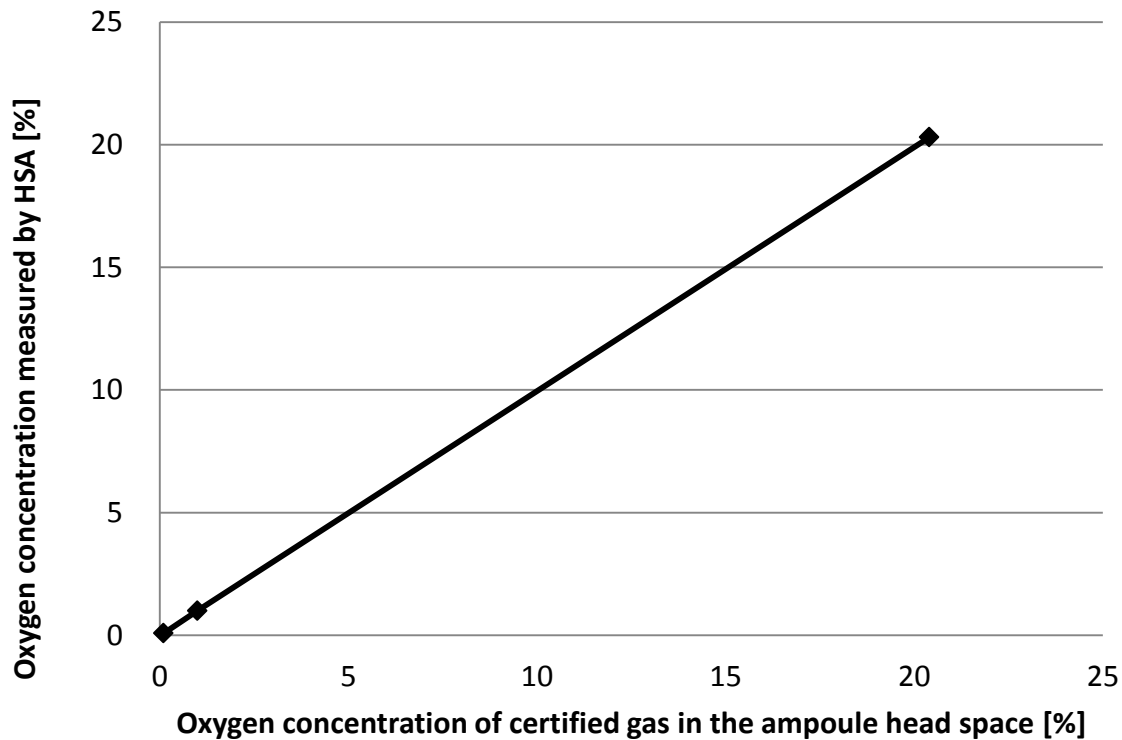


図 2.5 空間部が既知酸素濃度のアンプルを用いたHSA測定値の直線性

表 2.3 空間部が既知酸素濃度のアンプルを用いたHSA測定値

(a) 0.1%既知酸素濃度アンプル (b) 1.0%既知酸素濃度アンプル (c) 20.4%既知酸素濃度アンプル

サンプル#	(a) 酸素濃度[%]	(b) 酸素濃度[%]	(c) 酸素濃度[%]
1	0.03	1.03	20.32
2	0.08	0.97	20.30
3	0.15	1.06	20.20
4	0.10	1.00	20.50
5	0.14	0.94	20.34
6	0.06	0.93	20.24
7	0.13	1.01	20.34
8	-0.01	0.88	20.14
9	0.12	0.91	20.35
10	0.02	1.24	20.28
最小値	-0.01	0.88	20.14
最大値	0.15	1.24	20.50
平均値	0.08	1.00	20.30
SD	0.06	0.10	0.10

続いてHSAリークテスターの予備検討として、1) エタノールベースの薬液がアンプル内表面、外表面に存在した時の測定精度への影響、2) アンプル空間部内での酸素濃度の均一性、3) 温度の測定精度への影響を実施した。

アンプル内表面、外表面の薬液滴の影響について、2mLアンプルに1mLの薬液を充填した製剤を用いて実験を実施した。結果、液が付着した場合の平均値は、液が付着していない場合の平均値±0.1の範囲内にあることが分かった。この結果より、HSAのレーザーが通過するところに液滴が存在しても酸素濃度測定への影響は殆ど無いことが分かった(図 2.6)。

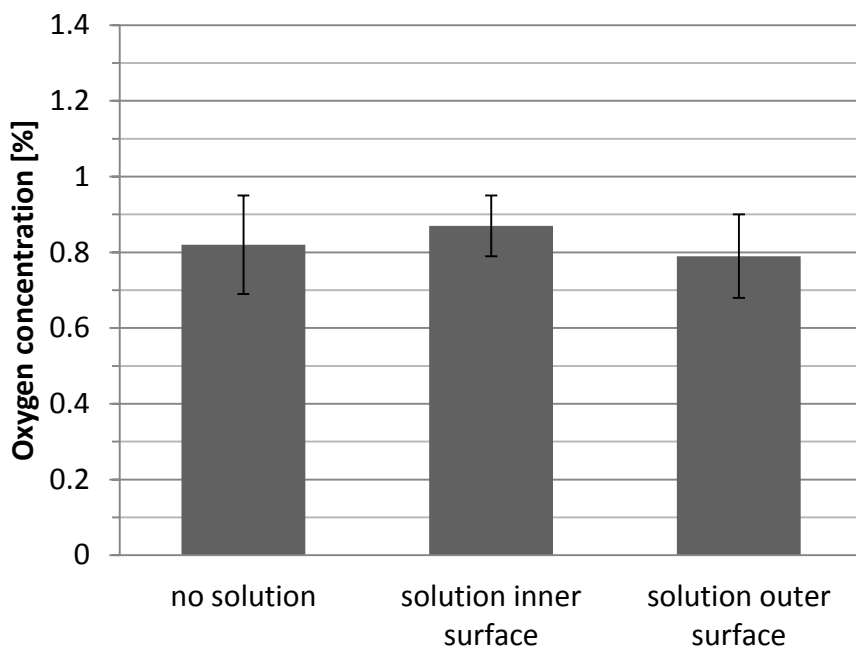
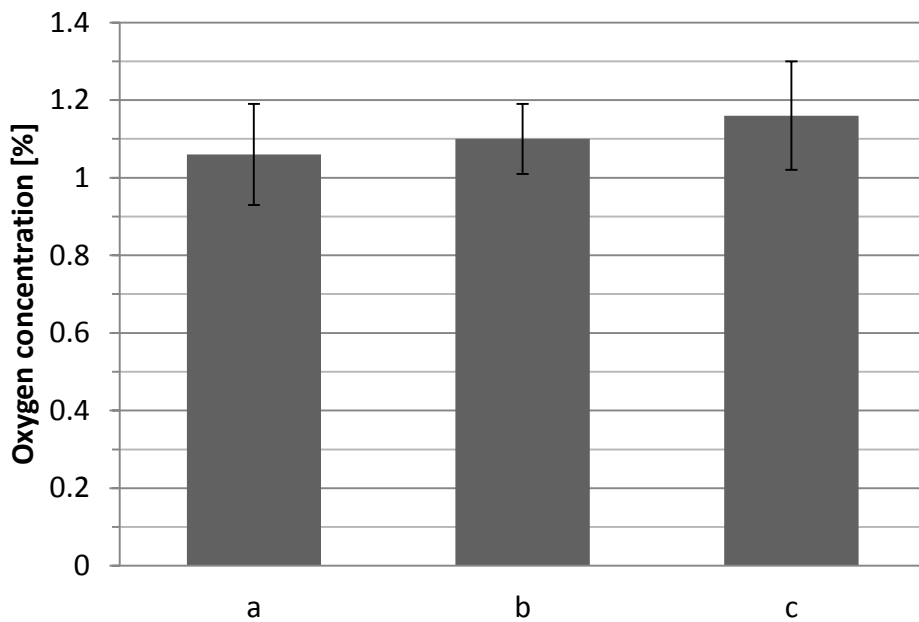


図 2.6 レーザー光通過箇所にエタノールベース薬液が付着していた場合の測定精度への影響
アンプルの内側/外側に薬液が付着している2mLアンプルに1mLのエタノールベース薬液を充填したアンプルを1本用いた。初めに、アンプル表面に薬液が付着していない場合のアンプル空間部酸素濃度測定を実施した(n=10)。続いてアンプル内表面に薬液が付着していた場合を模擬するために同一アンプルを反転させ、その後薬液が流れ落ちる前に、HSAで測定を実施した(n=10)。次にアンプルの外側に薬液を塗ってHSAで測定を実施した(n=10)。

アンプル空間部内の酸素濃度の均一性について評価した結果、それぞれの測定結果は平均値±0.1の範囲内にあることが分かった。この結果より、アンプル空間部内の酸素濃度は均一であることが分かった(図2.7(a), 2.7(b))。また、既知酸素濃度アンプルとの酸素濃度の乖離は、Cの部分で平均値として、0.16%であった。

(a)



(b)

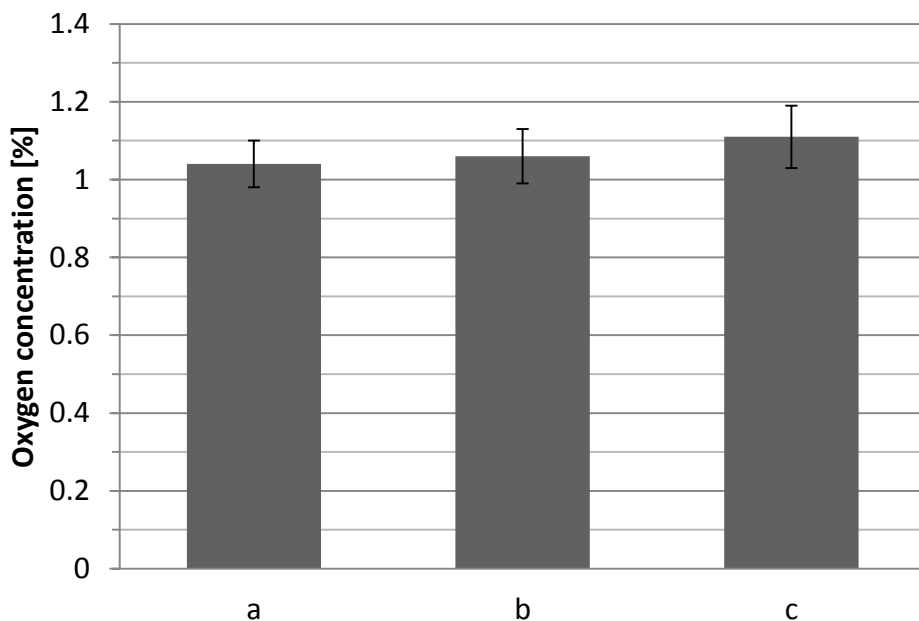


図 2.7 アンフル空間部酸素濃度の均一性

既知空間部酸素濃度のアンフルを測定したもの (a), 1mL のエタノールベース薬液が 2ml アンフルに充填されたもの (b)が使われた。測定は図 2.4 に示された a, b, c の箇所についてそれぞれ 10 回ずつ測定された。

測定環境温度の測定精度への影響について16°Cから35°Cの温度範囲で繰り返し測定を実施した。結果、それぞれの測定結果は平均値±0.2の範囲内にあることが分かった。

この結果より測定環境の温度の影響は他の因子より大きい為、 厳重な管理が必要であることがわかった (図 2.8)。尚、 一般的には医薬品製造環境の温度は $22\pm 3^{\circ}\text{C}$ に管理されているので影響はより限定的と考えられた。以上、 予備検討の結果を纏めるとHSAは容器完全性試験法としての堅牢であることが示唆された。

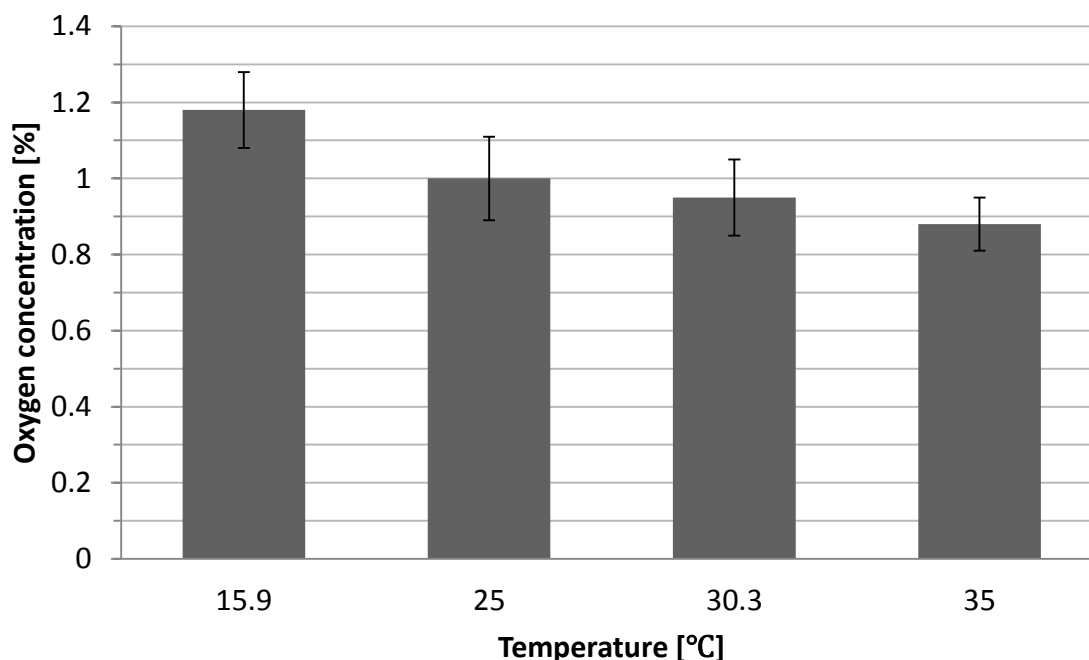


図 2.8 測定精度への温度の影響

2mL アンプルに 1mL のエタノールベース薬液を充填したアンプルを 1 本を用い各温度に 20 分放置して測定前に温度が安定させる ($16^{\circ}\text{C} \sim 35^{\circ}\text{C}$)。各温度での平均値と標準偏差を示した。

2.3.2 Bombingプロセスの評価

Bombing処理は加圧することによってクラック、ピンホールなどの不良アンプルへ酸素の流入を加速させるプロセスである。このBombingプロセスの効果を確認する為に、既知口径の2種類のキャピラリーを挿入したアンプルを用いて実験を行った。これらのキャピラリーは窒素を通過させた際のリーク率は同等であり、且つ計算上も同等のリーク率であることを事前に確認した。

まず、当該キャピラリーアンプルのアンプル空間部の酸素濃度を測定し、続いてBombingチャンバーにアンプルを格納し、200kPaまで加圧を行った。その後、5分毎にチャンバーからアンプルを取り出し、アンプル空間部の酸素濃度を測定し、再びチャンバーに戻し、200kPaまで加圧するという作業を30分まで継続した。結果、空間部の酸素濃度はBombing処理の時間と共に迅速に上昇し、最終的にはプラトーになった。また、アンプル空間部にピンホールがあるとシミュレートしたアンプルの方がアンプル空間部の酸素濃度の上昇は早く、外気が速やかに流入していたことが示唆された。ただし、ア

サンプル胴部にピンホールがあるとシミュレートしたアンプルも、30分後には空間部をシミュレートしたアンプルの値の97%まで酸素濃度が上昇し、同等となった（図 2.9）。

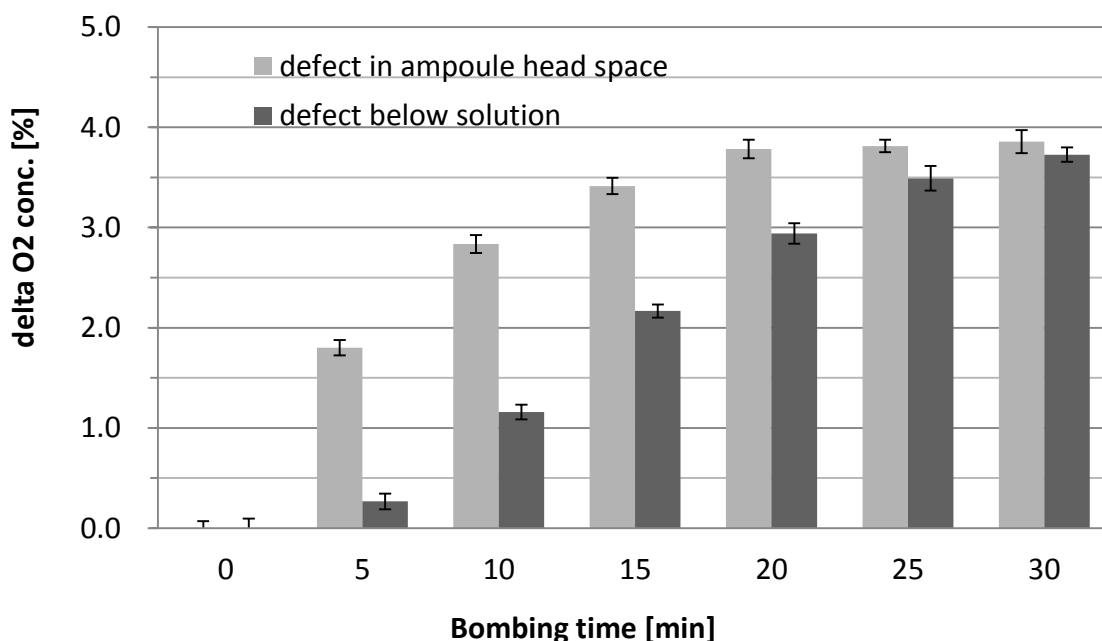


図 2.9 アンプルにキャピラリーを付属させたサンプルを用いた bombing process の効果
2mL アンプルに 1mL の薬液を充填しキャピラリーを付属させたサンプルの初期酸素濃度を測定した。続いて、圧縮空気で 200kPa に陽圧保持した bombing チャンバーに合計で 30 分間格納して、酸素濃度の上昇を確認した。アンプルはチャンバーから 5 分毎に取り出し合計 30 分間加圧を行った。データは酸素濃度の上昇分を delta O₂ conc.として、Bombing 時間との相関をプロットした。

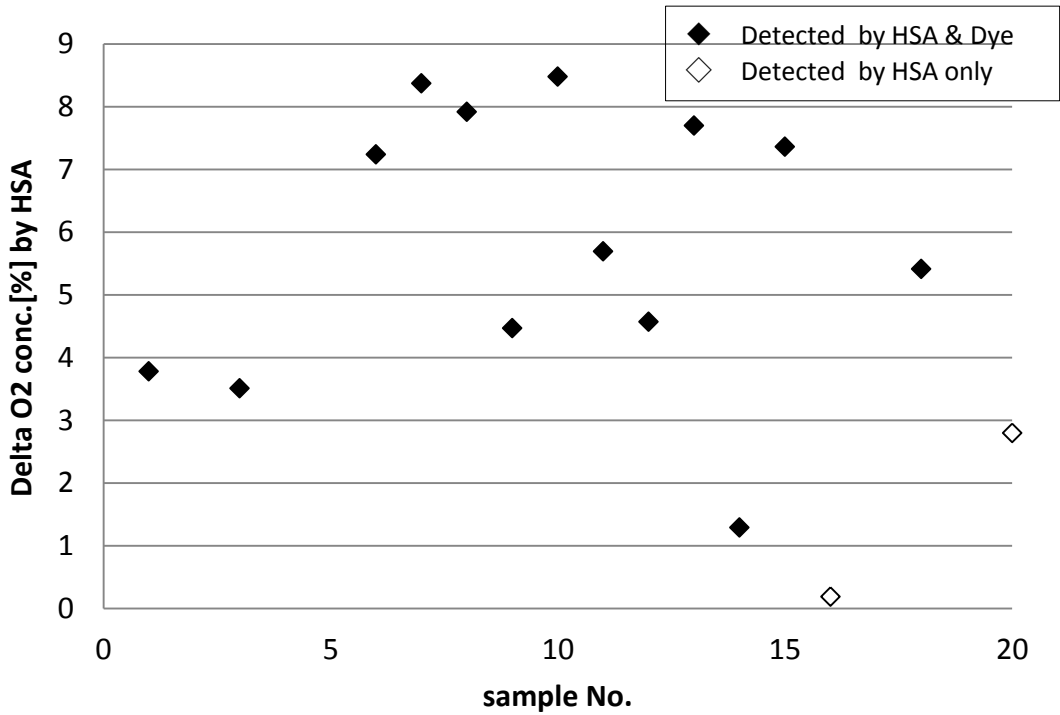
この結果より、Bombingプロセスはピンホールやクラックからアンプル内へ酸素を流入させる有効な手段であることが分かった。

HSA法の測定原理からすると温度が上がると見かけ上の酸素濃度は上がる。これは、温度が上がることにより酸素分子の運動が活発になり、検出部であるレーザーによりカウントされる確率が上がるためである。一方、測定環境の圧力が上がると酸素分子の運動が制限されるため、見かけ上の酸素濃度は下がる。しかし、2.3.1の予備検討および2.3.2のBombingプロセスの検討の結果より、これらの要因は我々の実験環境、即ち200kPaまでの圧力下、温度範囲16から35℃、では測定精度に大きく影響を与えないことが分かった。また、ピンホールの位置、即ち薬液が入っている部分にピンホールが存在するか、もしくはアンプル空間部に存在するか、によってアンプル内への酸素流入速度が異なることも示唆された。ただし、200kPaで30分間の加圧を行うとアンプル空間部の酸素濃度は同等となることがわかった。

2.3.3 HSA 法と真空染色法の検知能力の比較評価

HSA法と真空染色法の比較実験として、薬液が入っている胴部分にクラックが存在するアンプルとアンプル空間部にクラックが存在するアンプルを両方準備し、不良品の検知率を比較した。クラックがアンプル胴部の薬液が入っている部分に存在する場合、まず始めに当該クラックから薬液に外気の酸素が溶け込んで、その後、液中の酸素濃度とアンプル空間部の酸素濃度が平衡に達すると考えられた。一方、アンプル空間部にクラックが存在する場合は、直接的に外気が拡散によりアンプル空間部に流入して平衡に達すると推察できた。つまりクラックがアンプル胴部に存在する場合の方が、アンプル空間部に存在する場合に比べて、アンプル空間部の酸素濃度が上昇するまでに時間がかかると予測出来た。前述したキャピラリーサンプルを用いたBombing効果の実験でもこの推察に基づいた結果が得られている。従って、クラックがアンプル胴部に存在する方をより慎重に実験する為、多くのクラックサンプルを準備し、HSA法と真空染色法の検知能力の比較実験を実施した。Bombingプロセス前の酸素濃度と、Bombingプロセスを経た後の酸素濃度の差異を $\Delta O_2 \text{ conc.}$ とし、HSA法のみで検知できたサンプルとHSA法および真空染色法の両方で検知できたものをプロットした。アンプル空間部にクラックが存在するサンプルでは、準備した20本のクラックアンプルのうち、2本が真空染色法では検知できなかったがHSA法では検知できた(図 2.10(a))。同様の実験をクラックがアンプル胴部に存在するサンプルについても行った。結果、400本のクラックサンプルのうち、真空染色法とHSA法の両方で検知できたサンプルは48本あったが、そのうちHSA法のみで検知できたものは19本あった(図.2.10(b))。何れの場合も、真空染色法で検知できて、HSA法で検知できないものは存在しなかった。 $\Delta O_2 \text{ conc.}$ はクラックサイズが大きくなるにつれ大きくなると考えられ、HSA法では比較的小さなクラックも検知できていると推察できる。この為、例えば薬液部分にクラックが存在する検知しにくい場合であっても、Bombingプロセスを経ることによってHSA法は真空染色法より高感度であることが示唆された。

(a) Cracks in the ampoule head space



(b) Cracks in the ampoule body

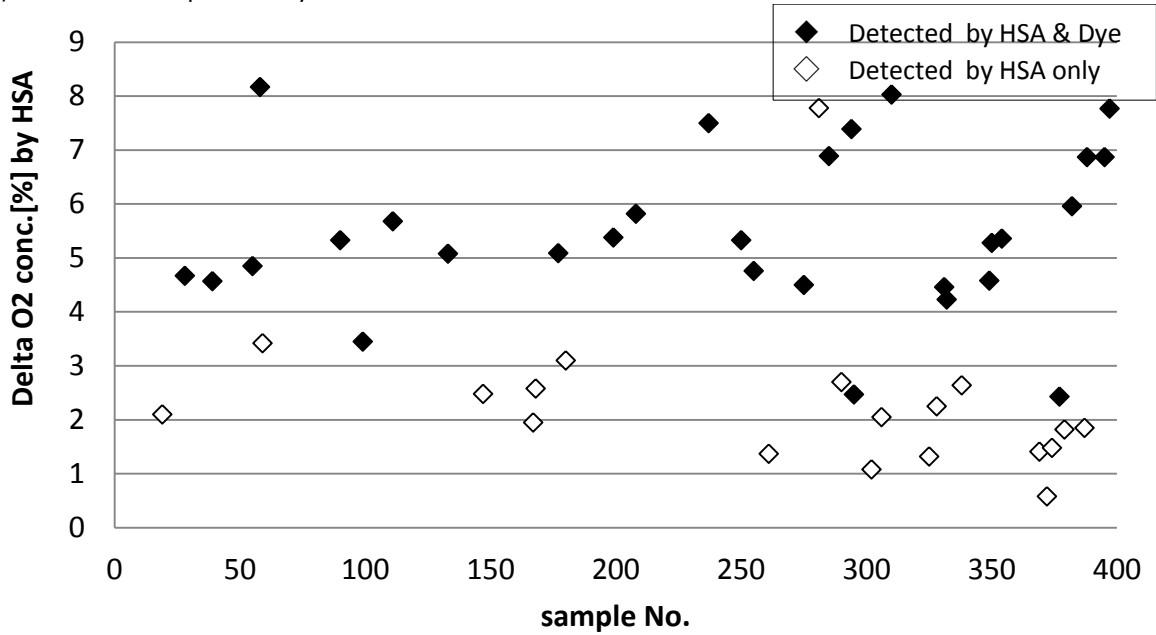


図 2.10 HSA 法と真空染色法の検知精度の比較

20本のアンプルのヘッドスペースにクラックをつけたもの (a), 400本のアンプルのアンプル胴部にクラックをつけたもの (b) を準備した。クラックをつける前のアンプル空間部の酸素濃度は約1%である。初めにbombingプロセスを含めたHSA測定を行い(Bombing pressure: 200kPa, bombing time: 30min), 引き続き真空染色法での測定を行った(Dye: 0.1%

brilliant blue aqueous solution, Test Pressure: 200kPa, Pressure time: 30min)。HSAで検知基準は、酸素濃度がbombing前後（delta O₂ conc.）で1%以上上昇したもの、酸素濃度の絶対値が2%以上であったものである。

以上の検討の結果、エタノールベースの薬液が充てんされ、空間部が窒素置換されたアンプル製剤の場合、クラックが何処の部位に存在しても HSA 法は真空染色法より高感度でリーク品を検出できることがわかった。

2.4 結論

実験結果によりエタノールベースの薬液が充てんされ、空間部が窒素置換されたアンプル製剤の場合、HSA法は有効なリークテスト法であることが示唆された。この方法は理論的には、アンプル空間部が窒素置換された凍結乾燥製剤にも適用できる。また、HSA法は真空色素法と比較し高感度で非破壊検査法としての利点がある。しかし、HSA法はアンプル空間部が窒素置換されていないと利用できないという制限もある。加えて、Bombingプロセスの最適化をする必要があるだけでなく、製造プロセス全体を鑑みて人、ものの動線を考えなければならない。しかし、HSA法は高感度で100%自動検査システム構築が可能となり得る大変興味深い技術である。

参考文献

1. H. Sudo, A. Mori, K. Sako, et al. "Development of a Nondestructive Leak Testing Method Utilizing the Head Space Analyzer for Ampoule Products Containing Ethanol-Based Solutions", " PDA Journal of Pharmaceutical Science and Technology" 2012, 66 434-444
2. FDA, Guidance for Industry Sterile Drug Products Produced by Aseptic Processing — Current Good Manufacturing Practice, 2004
3. EU Guidelines to Good Manufacturing Practice Medicinal Products for Human and Veterinary Use Annex 1 Manufacture of Sterile Medicinal Products, 2008
4. Japan, Guidance for Industry Sterile Drug Products Produced by Aseptic Processing, 2011
5. Heinz Wolf, Tony Stauffer, Shu-Chen Y. Chen, et al. "Vacuum Decay Container/Closure Integrity Testing Technology. Part 2. Comparison to Dye Ingress Tests", " PDA Journal of Pharmaceutical Science and Technology" 2009, 63 489-498
6. Heinz Wolf, Tony Stauffer, Shu-Chen Y. Chen, et al. "Vacuum Decay Container/Closure Integrity Testing Technology. Part 1. ASTM F2338-09 Precision and Bias Studies", " PDA Journal of Pharmaceutical Science and Technology" 2009, 63 472-488
7. F. Möll, D. L. Doyle, M. Haerer, et al. "Validation of a High Voltage Leak Detector for Use With Pharmaceutical Blow-Fill-Seal Containers -A Practical Approach", "PDA Journal of Pharmaceutical Science and Technology", 52 (1998), 215-227
8. Lee E Kirsch, Lida Nguyen, et al. "Pharmaceutical Container/Closure Integrity V: An Evaluation of the WILCO "LFC" Method for Leak Testing Pharmaceutical Glass-stoppered Vials", "PDA Journal of Pharmaceutical Science and Technology", 53 (1999), 235-239

第3章 空中浮遊微生物の迅速モニタリング法の評価検討¹⁾

3.1 緒言

3.1.1 背景

医薬品の製造環境は、予期せぬ微生物の混入により、製品の品質を損なうことの無いように、適切に管理されなければならない。特に無菌医薬品の製造環境では無菌保証を行う為に、環境微生物管理の重要性は非無菌医薬品より格段に高くなる。

第1章でも述べた通り、無菌医薬品に微生物汚染があってはならないが、現時点では、全ての製品に微生物の汚染がないことを直接証明することはできない。無菌試験の結果からだけでは、当該バッチの無菌性を保証するという観点から、検出力は極めて低い。例えば、汚染率0.1%のロットから、無菌試験に必要な20個の検体を用いて、無菌試験を実施したとする20個中1個でも菌が存在したら検出可能という前提でも、無菌試験によって汚染検体に遭遇出来る確率は、計算上1.98%であり、感度は極めて低いことがわかる。そこで、無菌医薬品の無菌性を保証する為には、微生物の汚染が起こる可能性を網羅してリスクを分析し、微生物汚染が起こり得ないプロセスを構築することが重要となる。そのうえで、製造環境モニタリングデータなどの客観的情報を持って、許容できるところまで徹底的にリスク低減を行う必要がある。このため、無菌医薬品製造における環境微生物管理は、製造が行われる空間が絶えず適正な清浄度に維持されていることを確認するとともに、極めて重要なリスク低減措置と考えられる²⁾。

無菌製剤の製造施設に関しては、昨今では、無菌操作法における最大の汚染源であるヒトを製造における重要管理区域から排除したアイソレータやRABS (Restricted Access Barrier System) が採用されており、汚染のリスクはコンベンショナルな無菌室に比べ格段に小さくなっているのも事実である。アイソレータは、除染した後にHEPAフィルター又はULPAフィルターによりろ過した空気を供給し、外部環境からの汚染の危険性を防ぎながら連続して使用することができる装置である。また、RABSとはグローブを備えたハードウォールなどの物理的な障壁と、HEPAフィルターを介して供給される一方向気流、適切な管理運用システム等を主要な要素とするハードとソフトを融合した無菌操作区域 (重要区域) を有するシステムをいう³⁾。片山らの研究では、アイソレータ、RABS、コンベンショナルな無菌室でのあるモデルでの無菌操作プロセスについて、Akers-Agaloccoモデルで評価した場合、アイソレータ、RABSのリスクスコアはそれぞれ 10^{-1} 、 10^0 と小さいのに対し、コンベンショナルな無菌室では 10^6 と格段に高くなった。同時に実際の微生物モニタリングの結果に於いてもアイソレータ、RABSに比べ従来の無菌室では汚染率が顕著に高かった⁴⁾。

また、環境微生物のモニタリングは、ある時点のデータのみではなく、連続的なデータであることが望ましい。その為にも、迅速に測定結果が判定できる、いわゆる迅速モニタリングが必要である。これを達成することで、よりレベルの高い保証ができ、また汚

染リスクを即座に捉えることで、医薬品製造中の微生物汚染による廃棄リスクを低減させることも可能となる。更には工程データに基づいて、工程内製品及び／又は最終製品の品質を評価し直ちに出荷するリアルタイムリリースの可能性も生まれてくると考える。

本研究では、各グレードの医薬品製造環境に求められるモニタリングの要件を整理し、最適な迅速モニタリングツールの利用方法を考案した。また本報では特にグレードAでの採用が可能かを確認する為に、実際の医薬品製造現場での基礎的な調査を実施した。

3.1.2 微生物環境モニタリングの必要性

製造環境については、それぞれ実施する作業に応じてカテゴリ分けされている。その分類は表 3.1のとおりである³⁾。

表 3.1 製造環境の清浄度

分類	内容
重要区域 (グレードA)	重要区域は、滅菌された製品等及び資材並びにこれらと直接接する面が環境に暴露される製造作業を行う区域である。
直接支援区域 (グレードB)	直接支援区域は、重要区域のバックグラウンドとして定義される。重要区域内の運転操作及び運転監視を行う職員の作業区域となる。重要区域に滅菌後の製品等及び資材を搬入する、又は重要区域から無菌製品を搬出する経路としても使用される。後者の場合においては、滅菌後の物が環境に直接暴露されることのないように適切な防護策を講じることが要求される。
その他の支援区域 (グレードC及びグレードD)	その他の支援区域は、滅菌前の製品等及び資材が、環境に暴露される製造作業を行う域である。無菌操作に使用する装置、器具等を洗浄する区域等からなる。

それぞれのグレードは、対象となる作業が異なることから、求められる清浄度、つまり許容される微生物レベルの限界値も異なってくる。EUのガイダンスに拠るとグレードAでは空中浮遊微生物の場合、1CFU/m³未満であり、厳しく管理する必要があるのに対し、グレードB, C, Dの推奨基準値は、それぞれ10, 100, 200CFU/m³となっている⁵⁾。

また、各清浄度に求められる微生物環境モニタリングの要件は表 3.2のように纏めることができる。

表 3.2 各クリーンルームへの環境モニタリングに関する要求事項（日本PDA製薬学会主催 第1回「医薬品製造現場における微生物管理」フォーラム（2010年11月24日）の発表資料より抜粋）⁶⁾

グレード 項目	A	B※	C-D
求められる 清浄度管理	製品汚染に直結するため、厳格な生菌0管理 汚染を正確に検出	インターベンション時にグレードAの清浄度に影響を与えないレベルで管理 影響度から管理方法を決め管理	上位グレードの清浄度に影響を与えないレベルで管理 異常な環境悪化を感知 ◆製品が直接暴露するエリア ：バイオバーデン管理面で考慮 影響度から管理方法を決め管理
正確さ	◎	○	△
ゼロ点	○	—	—
生菌数	0/1判別 高い検出感度	トレンドとしての管理 が必要 (作業シフト毎)	工程によってはトレンドとしての管理が必要。
精度 微粒子	正確	ある程度の誤差は許容	ラフ
管理対象となる 時間・空間	リスクを網羅	代表点	代表点

微生物環境モニタリングは、製造環境が設計されたグレードを製造中に維持していたことを確認するためのものである。特に、グレードAにおいては瞬間毎の異常の発生が個々の製品の品質に影響する可能性があることから、リスクを網羅する為に「連続性」、 「高感度」が要求される。またグレードAにおける微生物の生菌検出は理論上、ゼロであるべきで、微生物の有無（0か1か）が正確に測定できる必要がある。同様に、グレードBにも連続性と迅速性は求められるが、そのレベルはグレードAより低い。更に、グレードCならびにDにおけるモニタリングは、中長期的なトレンド管理の意味合いがある。また、検出される微生物は必然的に多くなるため、必要とされる連続性ならびに迅速性のレベルは低い。

3.1.3 測定対象

現在の技術で、リアルタイムに空気中の生菌のみを正確に捉えられるツールは存在しない。リアルタイム微生物検出器『IMD-A（Instantaneous Microbial Detection System）』（IMDと称す）BioVigilant Systems社（(株)山武）は、レーザー光に拠る散乱光ならびに細胞内／代謝物質励起計測に拠る生体由来物質判定機能を有している。具体的には、微生物が持つ呼吸代謝物のNADHや細胞内のリボフラビンの自家蛍光発光を光学的にリアルタイム連続検出することにより、微生物由来のパーティクル（バイオパーティクル）：

BP) を検出するものである。但し、その原理上、生菌に加えて死菌も測定される特徴もある。高感度微生物ATP (Adenosine Tri-Phosphate) 測定装置 (ATP測定装置) は、ATP発光を利用した計測器であり、死菌を分別し、生菌のみのATP量 (amol) を検出することが出来る。

上記測定対象を表 3.3に纏める。

表 3.3 各モニタリング方法とその測定対象

	モニタリング対象			
	生菌 (培養可能菌)	生菌 (培養不能菌)	死菌	微生物由来ではない微粒子
微粒子カウンター	○	○	○	○
IMD	○	○	○	×
ATP測定装置	○	○	×	×
培養法	○	×	×	×

3.1.4 検討の目的

本実験では、グレードAにてどのように「連続性」があり、「高感度」な測定を達成するかを検討した。

グレードAでは、正確に生菌の有無をとらえる必要がある。連続性を求めるならリアルタイムに結果が得られるIMDを適用するのが望ましい。しかし、IMDは死菌もカウントしてしまう為、IMDだけでモニタリングをすると、偽陽性が増加してしまう可能性が増えることになる。そこで、IMDで常時、「連続性」をもってモニタリングし、バイオパーティクルの反応が有った場合に、生菌か否かを「高感度」に判別する為にATP測定装置で調査するという組み合わせを考案した (図3.1)。

本実験では図 3.1のようなシステムを検討するための予備調査として、実際の医薬品製造環境下でIMDおよびATP測定装置の個々の有用性を評価することを目的とした。

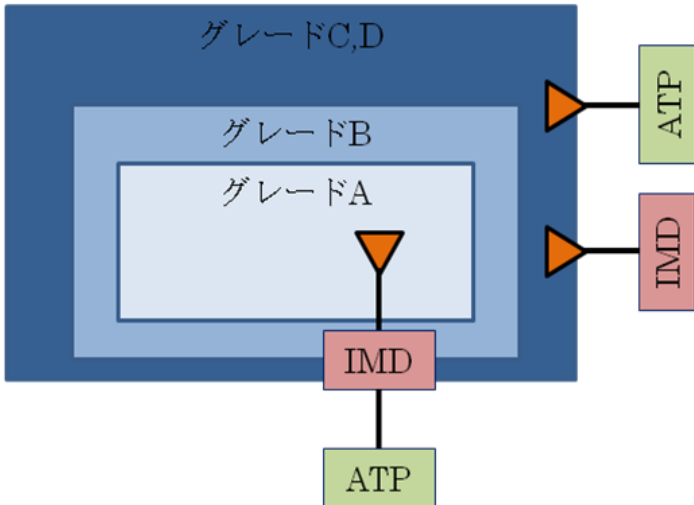


図 3.1 測定装置の概念図

具体的には、グレードAでのIMD測定では、漏れなく生菌の有無を捉える必要があるの
 で、偽陰性がないことが重要である。ただし、余りにも多くの死菌やノイズが常にカウ
 ントされているような状態だと、生菌を正確にとらえるのが困難となり、生菌の有無を
 判別使用することは難しい。一方、IMDと併用することを前提とした場合、ATP測定装
 置は生菌1個の有無を識別できることが必要である。

このような背景により本実験では、表 3.4のような検討を考えた。

表 3.4 グレードAで迅速モニタリングを行うための条件と確認方法

	グレードAで使用するための必要条件	具体的な確認方法
IMD	偽陽性が限定的であること	グレードAで測定した場合、ノイズや多くの死菌が検知されないこと。
	偽陰性がないこと	低微生物汚染状態(生菌が数CFU存在する程度の環境)で培養法よりも感度良く検知できること。
ATP測定装置	生菌の有無が0/1で判別できること	低微生物汚染状態(生菌が数CFU存在する程度の環境)で培養法よりも感度良く検知できること。

3.2 実験の部

3.2.1 使用機器

リアルタイム微生物検出器『IMD-A (Instantaneous Microbial Detection System)』(IMD) BioVigilant Systems社 (株山武), 高感度微生物ATP測定装置 (プロト機) (日立プラントテクノロジー) を迅速測定装置として使用した。尚, 現行法である培養法の結果と比較する為に, 現空中浮遊微生物サンプリング装置『MD8エアースキャン (ザルトリウス社製)』, 『エアージェイアル3P (シメックス社製)』 (何れもASと略す) も使用した。また, 微粒子可視化装置 (新日本空調株) を用いて, 各測定器の吸引する空気がお互い干渉し合わないかを確認した。

3.2.2 実験方法

製薬会社3社の製造関連施設にて, 表3.5に示す各清浄度 (グレードA, C及び更衣室) の施設を用い, 表3.6, 表3.7の条件にて環境測定を実施した。各測定における空気吸引量は 1m^3 とし, それぞれの測定装置は同じ環境の空気を吸引すべく近傍に設置した (図3.2)。尚, B社では微粒子可視化装置を利用して, 互いの測定装置の吸引が干渉し合わないことを確認した。

表 3.4 実験エリア

	対象エリア	詳細説明	測定装置
A社	グレードA, C, 更衣室	運用前治験薬製造施設	IMD, ATP測定装置, AS
B社	グレードA, C, 更衣室	微生物試験施設	IMD, ATP測定装置, AS
C社	グレードA, C, 更衣室	微生物試験施設	IMD, AS

表 3.5 各社での測定回数

	A社			B社			C社		
	グレードA	グレードC	更衣室	グレードA	グレードC	更衣室	グレードA	グレードC	更衣室
パーティクル (個/ m^3)	3	3	3	6	6	6	10	10	10
BP (個/ m^3)	3	3	3	6	6	6	10	10	10
ATP量 (amol/ m^3)	3	3	3	6	5	6	0	0	0
コロニー数 (CFU/ m^3)	3	3	3	6	6	6	10	10	10

表 3.6 測定条件

項目	測定装置	吸引量(/回)
パーティクル (個/m ³)	IMD	1m ³
BP(個/m ³)	IMD	1m ³
ATP量 (amol/m ³)	ATP測定装置	1m ³
コロニー数 (CFU/m ³)	AS	1m ³

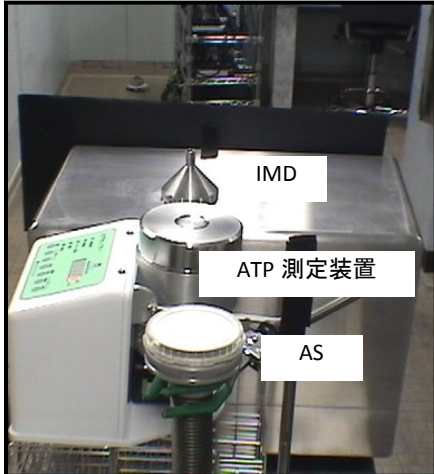


図 3.2 各モニタリング装置の配置

3.3 結果および考察

各社のグレードAの工場における測定結果を図 3.3に示す。

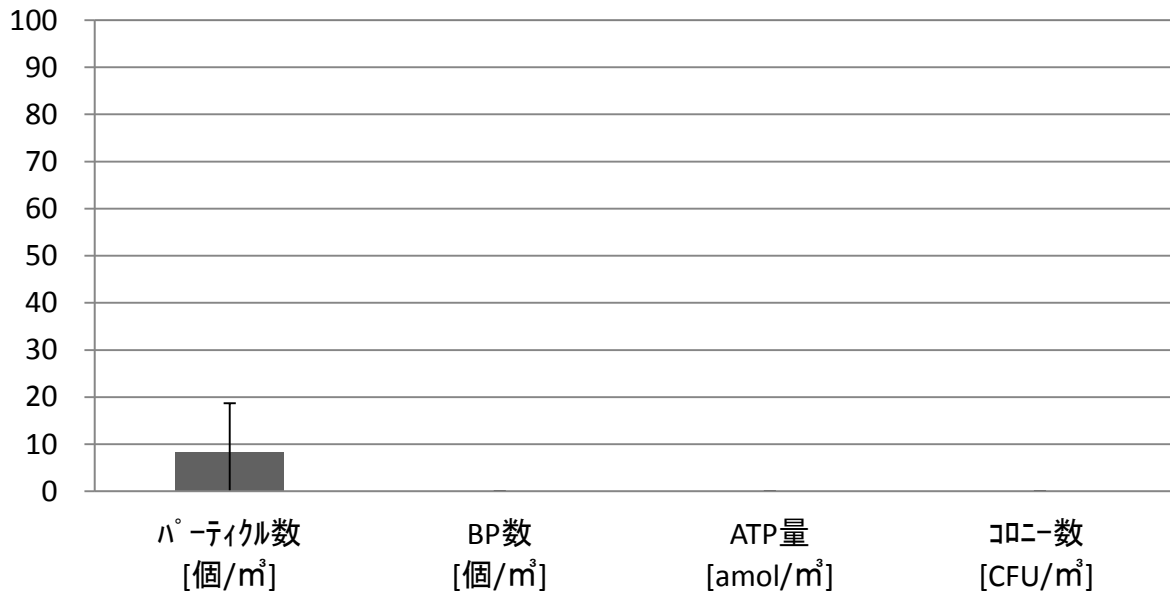


図3.3 測定結果（グレードA）

パーティクル数(個): サンプル数n=19, 平均値 8個, SD:10.4

BP数(個): サンプル数n=19, 平均値0個

ATP量(amol): サンプル数n=9, 平均値0amol

コロニー数(CFU): サンプル数 n=19, 平均値0個

グレードAでの測定結果より、IMDより得られたBP数の結果は全て0個であった。これにより、この環境には死菌が存在せず、装置のノイズ等の影響もなかったことが示唆された。尚、ATP量およびコロニー数もそれぞれ全て検出限界以下と0個であったことからグレードAの環境は実際に微生物汚染がなかったと推測できた。これによりIMDはグレードA環境で偽陽性を示すことなく用いることができると考えられた。

続いて、各社のグレードCあるいは更衣室の測定結果より、ASでのコロニー数が10個以下の低汚染状態だった時のデータを抽出し、IMDとATP測定装置の結果を確認した（図3.4）。

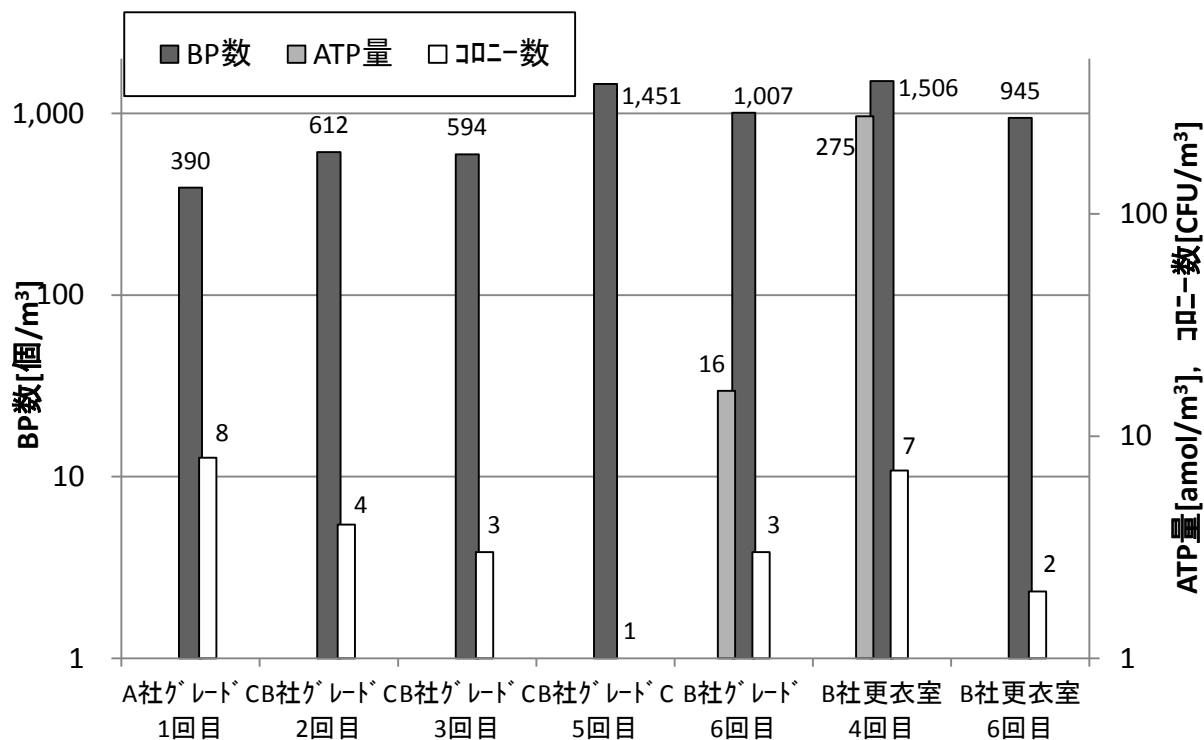


図 3.4 低微生物汚染状況下でのIMDとATPの測定結果

IMDによるBP数は何れもASのコロニー数より大きく、培養法より高感度で検知しており、汚染があったことを見逃すリスクは少ないことが示唆された。つまり、IMDは実際に汚染があった場合、偽陰性を示すことなく微生物を検知できることがわかった。一方、ATP測定装置については、低汚染状態でASによるコロニーが確認されているにも関わらず、ATP量が検出限界以下で、生菌の存在が確認出来ない場合も有った。本実験で用い

たATP測定装置は、一般的なATP測定装置では定量限界が数百amolとされている中、定量限界が数amolとされている高感度タイプである^{7,8)}。そのATP測定装置をもってしても検出できなかったことはATP測定装置の更なる改良が必要と考える。

今回の結果よりIMDは、ノイズ等に起因した誤検知の発生はなく（偽陽性なし）、実際に生菌が存在した場合には現行法よりも高感度にカウント出来ることが分った。これらの結果より、グレードAでIMDの使用は可能で有る。一方、ATP測定装置は偽陰性が示唆されたことから、今回測定に用いたATP測定装置の性能では、グレードAにおける生菌の1/0判別は難しく、今後更なる感度の改善が期待される。

3.4 結論

本研究では、まず製造環境の清浄度グレードに応じた空中浮遊微生物測定への迅速測定法適用の為の必要条件を整理し、測定原理と対象の異なるいくつかの方法の中から、その要件に合致する方法について考察した。グレードAでは、「連続性」があり、「高感度」な測定をする必要がある為 IMD と ATP 測定装置の組み合わせたシステムを考案した。今回は、そのシステムを検討するための予備調査として、実際の医薬品製造環境下で IMD および ATP 測定装置の個々の有用性を評価することを目的とした。

製薬3社で実際にデータを取得し、評価した結果、グレードAに於いてIMDは偽陽性を示さず、また低微生物汚染環境中で、ASによる培養法より微生物を高感度に検知できることが確認できた。一方、ATP測定装置については、偽陽性反応は示さなかったが、今回の測定においては、培養法より感度が低い場合があることが判明した。この点が更に改善されれば、本来の測定対象である生菌のみを迅速に測定できるというATP法のメリットが十分活用でき、グレードAにも適用可能であると考ええる。

参考文献

1. 片山 博仁, 葭原 鶴二, 須藤 浩孝ら, 空中浮遊微生物の迅速モニタリング法の評価検討, PDA Journal of GMP and Validation in Japan Vol. 14, No.2 (2012) 43-47
2. 佐々木次雄, 棚元憲一, 川村邦夫 編; 新 GMP 微生物試験法 (株じほう) 16 章 (2008)
3. 平成 22 年度厚生労働科学研究 医薬品の微生物学的品質確保のための新規試験法導入に関する研究 無菌操作法による無菌医薬品の製造に関する指針
4. H. Katayama, A. Toda, et al. “Proposal for a New Categorization of Aseptic Processing Facilities Based on Risk Assessment Scores.”, PDA Journal of Pharmaceutical Science and Technology”2008, 62 235-243.
5. EU Guidelines to GMP Medicinal Products for Human and Veterinary Use Annex 1 Manufacture of Sterile Medicinal Products
6. 日本 PDA 製薬学会主催 第 1 回「医薬品製造現場における微生物管理」フォーラム (2010 年 11 月 24 日) の発表資料
7. 後藤田龍介: 医薬品無菌製造施設における環境微生物検査—ATP 法を用いた空中浮遊菌測定装置の開発—, クリーンテクノロジー, pp62-66 (2011.10)
8. 飯島義雄 防菌防黴 2009.37.2.pp105-112 「簡易・迅速微生物試験法・測定法の基礎知識」

第4章 微粒子可視化技術を用いた封じ込めアイソレータのリークリスクマネジメントの検討¹⁾

4.1 緒言

4.1.1 背景

抗がん剤や免疫抑制剤などの高生理活性物質を取り扱う際には、当該薬物の毒性／危険度を評価し封じ込め対応をする必要があり、その封じ込めは労働安全衛生、環境保護、および医薬品の品質確保の3つの観点から総合的な検討が必要である²⁾。非無菌製剤の粉体を封じ込める場合は、一般的にアイソレータ内を周囲の環境より陰圧に管理することで達成される。一方、陰圧管理は、周囲からの誘引物でアイソレータ内が汚染されることが懸念されるので、注射剤を製造するような厳しい菌管理が求められる無菌製剤用アイソレータではその採用は難しい³⁾。無菌医薬品製造用アイソレータの差圧は設置室に対して最低 17.5Pa 程度の陽圧管理を求めていることに加え、如何なる場合であってもケミカルハザード対策を理由として、製品の無菌保証レベルが低下したり、曖昧になったりすることがあってはならないことも事実である⁴⁾。すなわちアイソレータを陽圧管理すると同時に、封じ込めを高度に管理するという相反する二つの要素を達成することが要求される。実際に、凍結乾燥製剤のバイアルの破損等により発生した高生理活性物質の粉体は、アイソレータ内で封じ込めがなされるが、内部が陽圧であるため、ひとたびリークが生じた場合、アイソレータ外に飛散するリスクを含んでいる。このような背景から、注射剤に使用する陽圧型アイソレータからの漏れ封じ込めの評価は、陰圧管理の場合に比べ、リスクベースの観点からより高度なシステムチックなアプローチで進める必要がある。

製薬機器の封じ込め性能評価に関しては SMEPAC (The Standardized Measurement of Particulate Airborne Concentration : 空中浮遊微粒子濃度の標準化測定) ガイドが ISPE (International Society for Pharmaceutical Engineering) より 2005 年に公開されており、その中に漏れ評価の為のサンプリング位置の例示はあるものの、アイソレータはユニークな設計であることが多く、例示した IOM (Institute of Occupational Medicine : 英国産業医学研究所) サンプラーの位置はある特定なシステムに関して述べたことである、とありユーザー自身で適切な測定位置を決める必要性が記述されている⁵⁾。しかし、これまでの技術では粒子の漏れる方向を立体的にダイナミックに捉えることは難しい為、現在はその位置を決める手法は確立されていない。

4.1.2 微粒子可視化システムの測定原理

微粒子可視化システムとは、文字通り空間中に浮遊する微粒子を可視化することを目的に開発されたものである^{6,7)}。このシステムは、空間中に光の膜状のレーザーシートを生成し、そのレーザーシート上の粒子からの散乱光をカメラで捉えることで、空間中に

浮遊する粒子の挙動を数 cm^2 ～数 m^2 といった比較的広い範囲でリアルタイムに観察することを実現するものである。微粒子可視化システムの構成は、レーザーシートを生成する光源システム、レーザーシート上の浮遊粒子からの微弱な散乱光を捉える撮像システム、及び粒子の画像の表示または処理を行う画像処理システムから成る。微粒子可視化システムの構成を図 4.1 に示す。

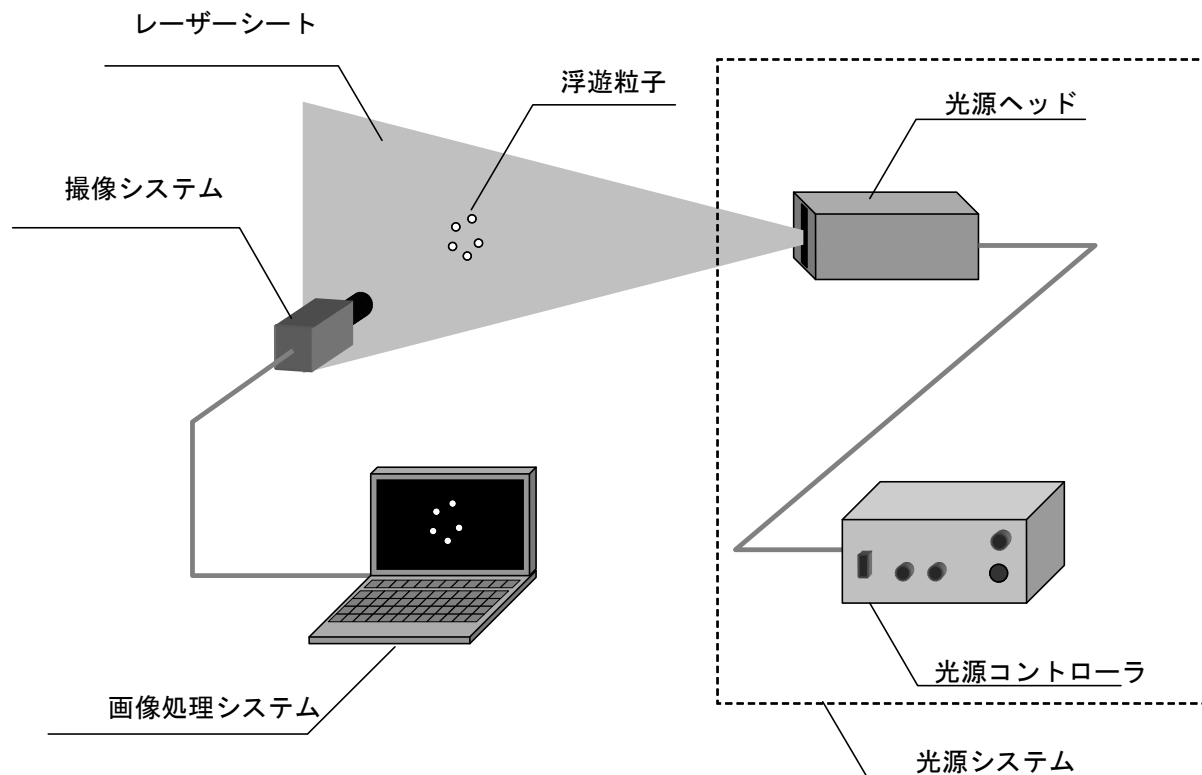


図 4.1 微粒子可視化システムの構成図

光源システムは、レーザー光をスキャニングミラーにより走査し広範囲にほぼ均一な強度のレーザーシートを生成する。またスキャニングミラーの走査幅は可変となっており観察対象領域の大きさに合わせ調整することが可能となっている。撮像システムは、高感度カメラと、照射レーザー光と同波長の光のみ透過し、 S/N を低下させる要因となる周囲から環境光の影響を低減するする干渉フィルターからなる。微粒子の可視化に際して、レーザーシートとカメラの位置関係はミー散乱 (Mie Scattering : 光の波長程度以上の大きさの球形粒子による光の散乱現象) を考慮して配置する必要がある^{7,8)}。屈折率 $m=1.59-0i$ 、粒径 $0.5\mu\text{m}$ の球形粒子に波長 532nm の偏光されていない自然光を照射した時、各方向にどのような強度分布で光が散乱されるかを図 4.2 に示す。

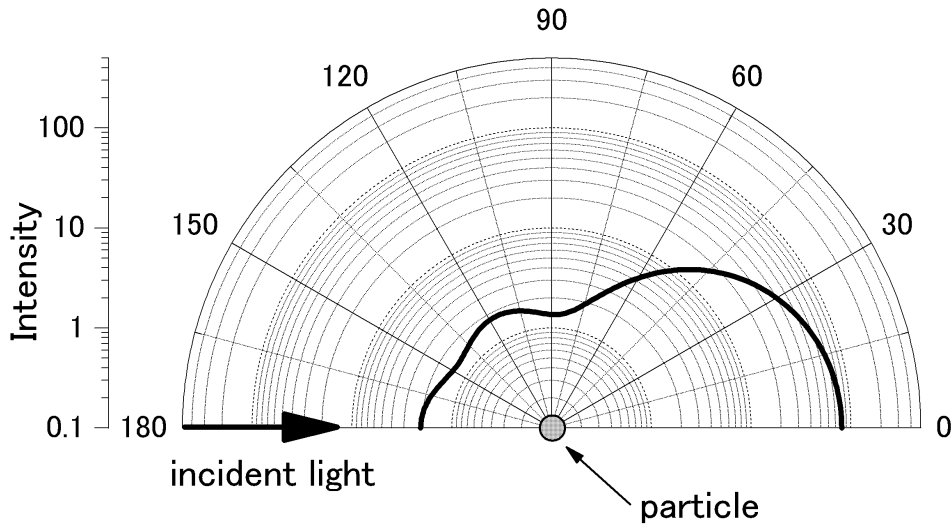


図 4.2 光散乱の強度分布 ($m=1.59-0i$, $\lambda=532\text{nm}$)

図 4.2 においてレーザー光は 180° の方向から中央の粒子に照射される。この図からわかるように散乱光はどの方向にも一様な強度で散乱されるわけではなく、 $0\sim 90^\circ$ の前方において強いことがわかる。ここで、光散乱においては散乱角 $0\sim 90^\circ$ を前方、 $90\sim 180^\circ$ を後方と呼ぶ。このことからより感度良く微粒子を観察するためには CCD (Charge Coupled Device : 電荷結合素子) カメラをレーザーシートに対して直角に配置するのではなく、図 4.3 に示すように前方に配置した方がより強い散乱光を得られ望ましいことがわかる。

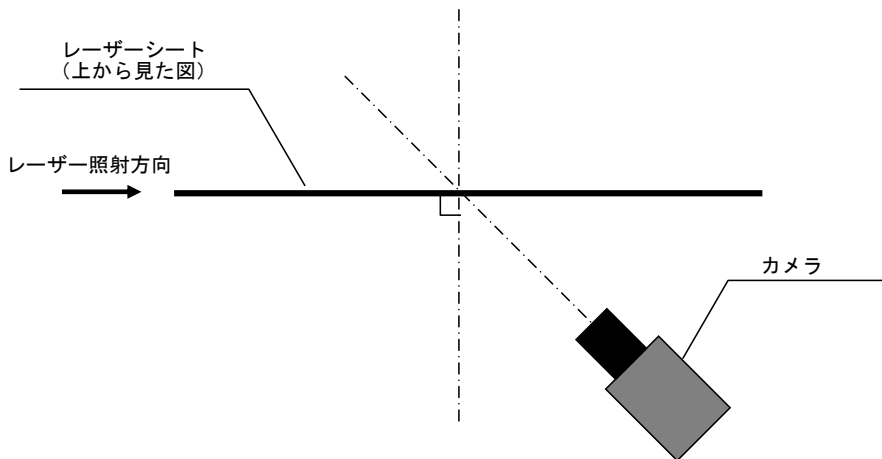


図 4.3 前方散乱光を捕らえるためのカメラの配置

ただし、このような配置にした場合、レーザーシートと当該カメラが直角でないため、観察範囲のうち一部にしかカメラレンズの焦点が合わないことになる。そのため、今回用いた高感度カメラにはレンズマウント部を傾け図 4.3 のような配置でも観察領域全体に焦点を合わせることを可能にするチルト機構を付加した。画像処理システムでは撮像システムから送られてきた画像の表示、録画及び背景減算等の画像処理が可能となっている。また、画像中の任意の領域に映し出された粒子の数をリアルタイムにカウントするカウンティング機能も有している。すなわち本微粒子可視化システムの特徴は、比較的広範囲に浮遊する粒子を動画像としてリアルタイムに捉えることが出来る点、また動画像として粒子を捉えるため粒子の有無だけではなくその粒子の挙動の方向性も把握することが出来る点に加え、モニタリングポイントにパーティクルカウンタのようなプローブを設置し吸引する必要がないため気流を阻害することなく、実際の空間中の粒子状況を実態に即してモニタリング可能な優れた特徴を有する。また空間中に浮遊粒子が存在すれば粒子を可視化することで気流の可視化も可能となる。

4.1.3 微粒子可視化技術によるリークリスクマネジメントへの活用

本論文では、アイソレータの何処から漏れるリスクが高いのか、且つもし漏れた場合、どの位置にサンプラーを設置しておくのが良いのかをシステムチックに見極めることを目的とした。そこで、粉体の漏れを確実に捉える新モニタリング手法として微粒子可視化装置を用い、陽圧型アイソレータ内で、代表的な粉体であるラクトースを噴霧することにより、粉体が噴霧された際にどのような飛散挙動を示すのか、さらに、実際に粉体をリークさせた際に周囲にどのように飛散して行くのかを確認することとした。

4.2 実験の部

4.2.1 使用機器

陽圧型封じ込めアイソレータ 型式：PETF9012（澁谷工業(株)製：図 4.4）の中に噴霧器（澁谷工業(株)製：図 4.5）を設置した。また、微粒子可視化装置（新日本空調(株)製）でアイソレータ内部を観察できる位置に配置した。また、外部に漏れたラクトースを分析する為に、高速液体クロマトグラフィ（蛍光検出器型）型式：FP-2025（日本分光製）、カラム Finepak GEL SA-121 を用いた。尚、ラクトースの捕集は IOM サンプラー 型式：225-70A（SKC 社製）、IOM サンプラー用フィルターカセット (Cat.No.225-3-01)（(株)アイデック）で実施した。加えて、アイソレータ内の気流確認をクリモマスター風速計 MODEL6543（日本カノマックス社製）を用いて実施した。

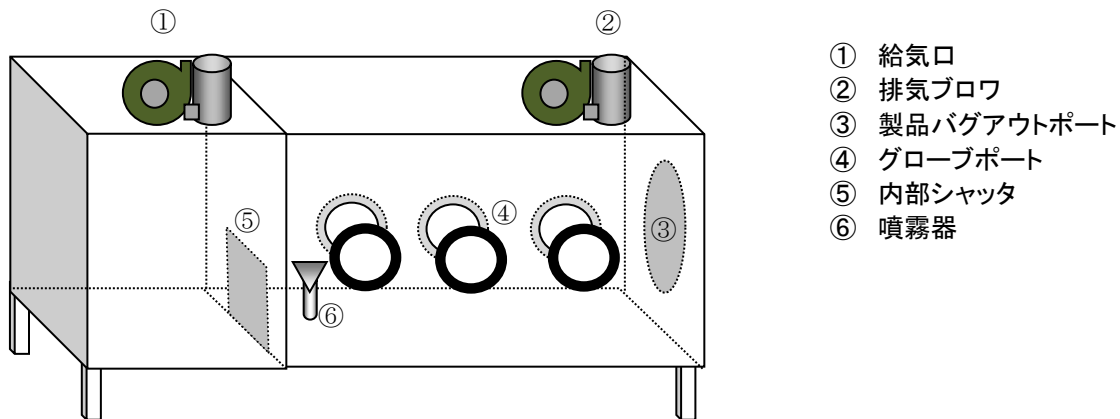


図 4.4 陽圧保持型アイソレータ

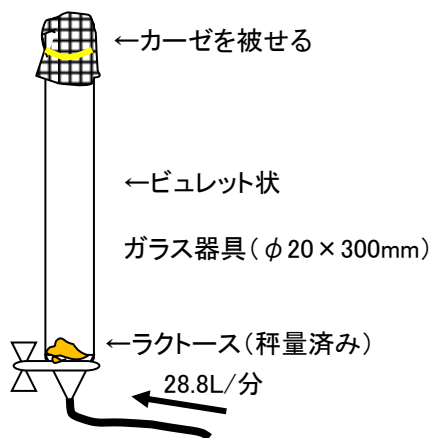


図 4.5 ラクトース噴霧器

試料

ラクトース lactohale® LH300 (Batch No.600483) d50 : 約 5 μ m

ラクトース Pharmatose® 450M (Batch No.10558805) d50 : 約 20 μ m

ラクトース Pharmatose® 150M (Batch No.10474420) d50 : 約 50 μ m

(全て DMV-Fontera Excipients GmbH & Co. KG 社製)

4.2.2 実験方法

発塵源からアイソレータ内部への拡散：アイソレータ内でラクトースを噴霧した際の飛散挙動を微粒子可視化装置によって確認した。微粒子可視化装置により飛散挙動を網羅的に確認する為、3種類の粒径の異なるラクトースを用い、アイソレータ内を同等の面

積で 9 断面に分割して、微粒子数の測定を実施した。(図 4.6)

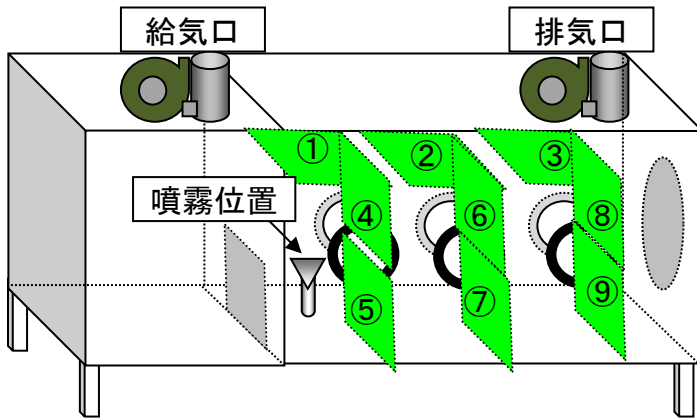


図 4.6 アイソレータ内各断面の微粒子可視化装置による測定

まずアイソレータ内に、ラクトースを入れた噴霧器をセットした。続いて、微粒子可視化のレーザーを対象の断面にセットした。その後、噴霧を 10 秒間実施し、微粒子可視化装置で微粒子数のカウントを 10 分間実施した。実験条件は、表 4.1 に示す。ある瞬間に各断面で得られた微粒子のカウント数を式(1)によって計算し、断面での分布割合 R_s (%) を求めた (対象断面 s でカウントされた粒子数を $p(s)$, 全断面でカウントされた粒子の合計数を $p(\text{total})$ とする)

$$R_s(\%) = p(s) * 100 / p(\text{total}) \quad \dots (1)$$

表 4.1 実験条件

アイソレータ内 部圧力	ラクトース噴霧条件			
50±10Pa (外部 に対して陽圧)	噴霧量 : 10mg/ 断面	噴霧時間 : 10 秒	噴霧時の圧空流 量 : 28.8L/分	lactohale®LH300, Pharmatose®450M, Pharmatose®150M

リークポイントからアイソレータ外部への拡散：構造上および運用上アイソレータから漏れやすい個所に故意にピンホールを造り、そこからアイソレータ内に充満させたラクトースが周囲へどのように漏れるか微粒子可視化装置を用い、確認した。続いて、漏れが確認された方向に IOM サンプラーを設置し、捕集を実施した。リファレンスとして SMEPAC ガイドに例示されている位置にも IOM サンプラーを設置し、同時に捕集を実施した。

実際には製品等をアイソレータ内部から外部に搬出する目的で設置しているバグアウトポート並びに筐体に取り付けられたグローブをリスクポイントとし，そこに任意の穴をあけた後，0.3mm のピンホールを開けたステンレス（SUS304）板を貼り付けた（図 4.7(a),(b)）

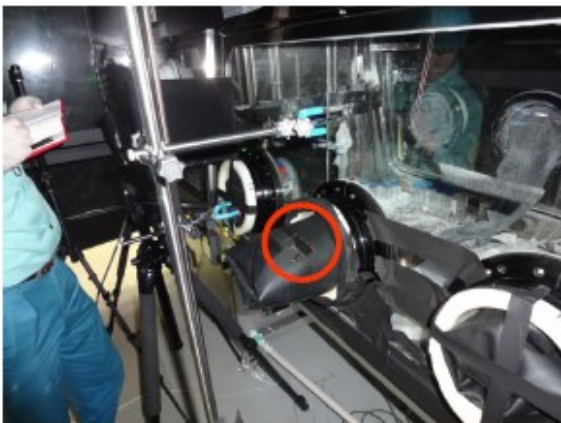


図 4.7(a) アイソレータグローブの全体図と近接図

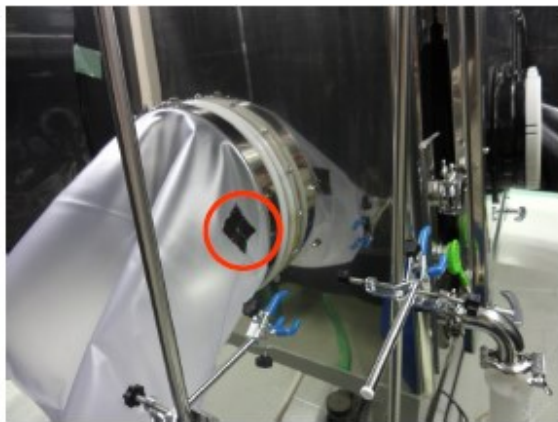


図 4.7(b) バグアウトポートの全体図と近接図

まずアイソレータ内にラクトースを噴霧し，リスクポイントからラクトースがどの方向に漏れるのかを微粒子可視化装置を用いて確認した。続いて，微粒子可視化装置で漏れが確認された方向に IOM サンプラーを設置した。並びに SMEPAC ガイドに例示されている位置にも IOM サンプラーを設置した。続いて，アイソレータ内にラクトースを充填させ，ラクトースの捕集を 4 時間連続で実施した。また実験を行った周囲の環境にラクトースが存在しなかったかを確認するために，故意に作ったピンホールを塞いだ状態で，IOM サンプラーを同様の位置に設置して 8 時間連続で捕集を実施した。実験条件は，表 4.2 に示す。高速液体クロマトグラフィにて捕集したラクトースの定量分析を実施した。

表 4.2 実験条件

アイソレータ内部圧力	ラクトース噴霧条件			
50±10Pa(外部に対して陽圧)	噴霧量:リーク有りの場合:6g/時間×4時間,リークなしの場合:6g/時間×8時間	噴霧時間:10分間/時間(リーク有りの場合,計4回噴霧,無しの場合,計8回噴霧)	噴霧時の圧空流量:28.8L/分	lactohale®LH300, Pharmatose®150M

4.3 結果および考察

4.3.1 発塵源からアイソレータ内部への拡散

この実験では、封じ込め用陽圧アイソレータの中で約 5 μ m, 20 μ m, 50 μ m の粒径のラクトースを噴霧させた場合、アイソレータの中でどのような飛散挙動を示すかを確認した。これを把握することによって、それぞれの粒径のラクトースがどのようなスピードでアイソレータ内の各ポイントに達するかを把握でき、アイソレータのある断面付近に漏れがあった場合、各粒径のラクトースがアイソレータ内からその断面に到達して外部に漏れるリスクはどの程度かを掴むことができた。

アイソレータ内で飛散させた 5 μ m, 20 μ m, 50 μ m の粒径のラクトースを噴霧させた場合、各評価断面でカウントされた粒子数を図 4.8(a) ~ (i) に示す。

断面1(手前水平面)

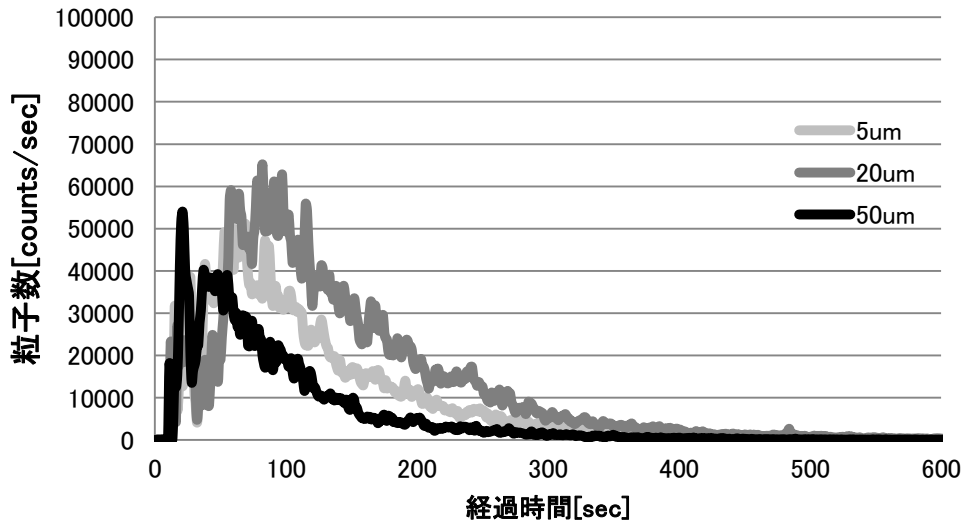


図 4.8 (a) 断面 1 (アイソレータ内圧力; 57 Pa, 流速; 28.8 L/min, テスト時間; 600 seconds)
ラクトース噴霧量: 10 mg/断面, ラクトース噴霧時間: 10 秒/断面
使用ラクトース: lactohale® LH300, Pharmatose® 450M, Pharmatose® 150M

断面2(中央水平面)

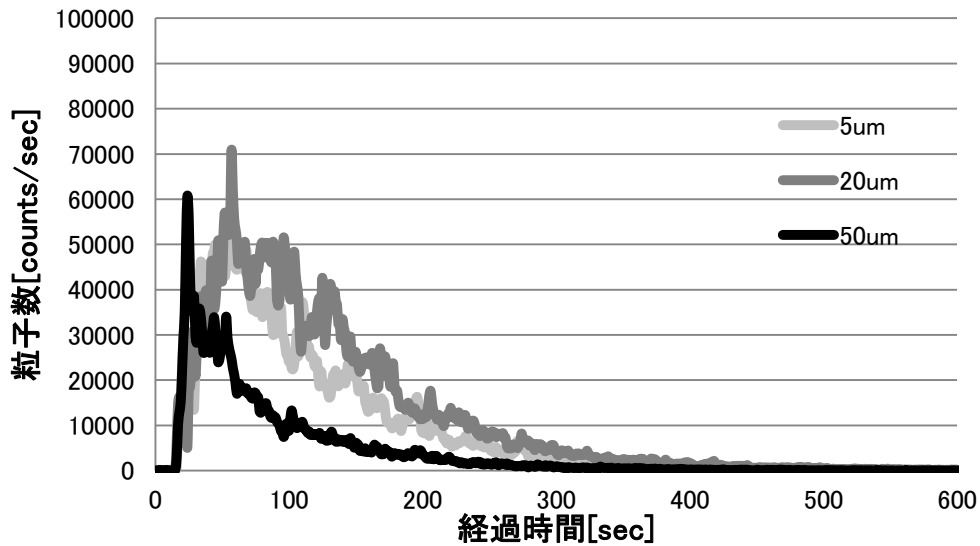


図 4.8 (b) 断面 2 (アイソレータ内圧力; 50 Pa, 流速; 28.8 L/min, テスト時間; 600 seconds)
ラクトース噴霧量: 10 mg/断面, ラクトース噴霧時間: 10 秒/断面
使用ラクトース: lactohale® LH300, Pharmatose® 450M, Pharmatose® 150M

断面3(奥水平面)

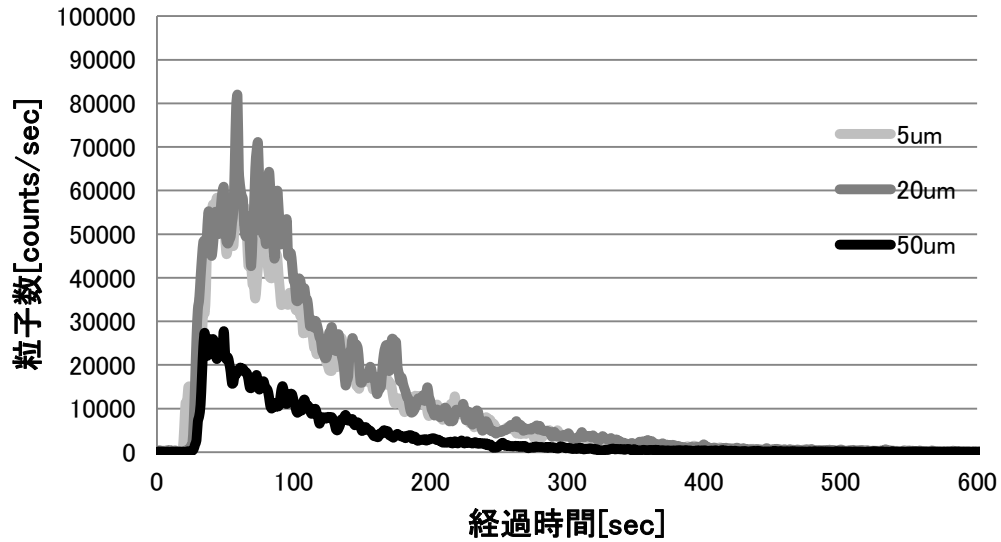


図 4.8 (c) 断面 3 (アイソレータ内圧力; 53 Pa, 流速; 28.8 L/min, テスト時間; 600 seconds)
ラクトース噴霧量 : 10 mg/断面, ラクトース噴霧時間 : 10 秒/断面
使用ラクトース : lactohale® LH300, Pharmatose® 450M, Pharmatose® 150M

断面4(手前上段)

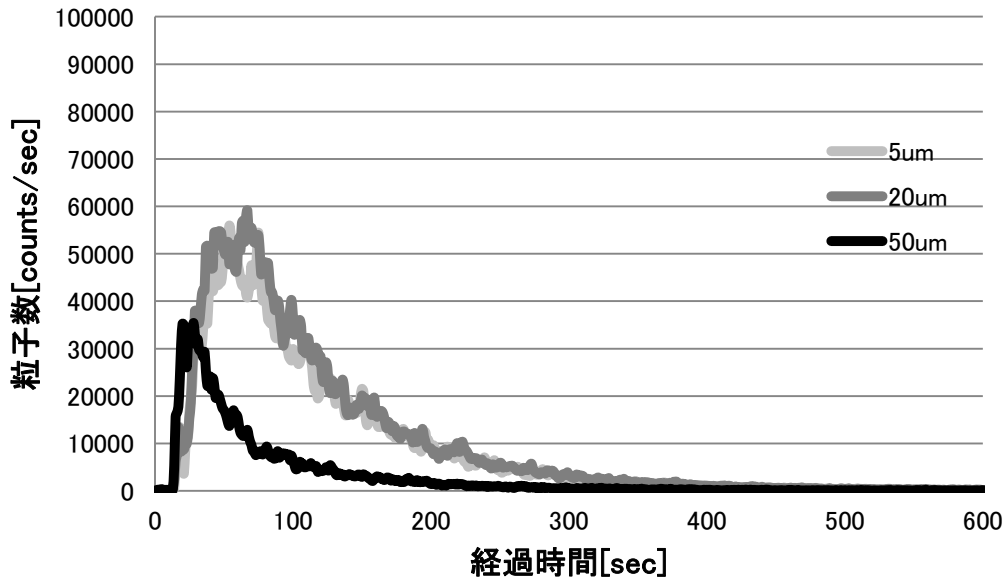


図 4.8 (d) 断面 4 (アイソレータ内圧力; 48 Pa, 流速; 28.8 L/min, テスト時間; 600 seconds)
ラクトース噴霧量 : 10 mg/断面, ラクトース噴霧時間 : 10 秒/断面
使用ラクトース : lactohale® LH300, Pharmatose® 450M, Pharmatose® 150M

断面5(手前下段)

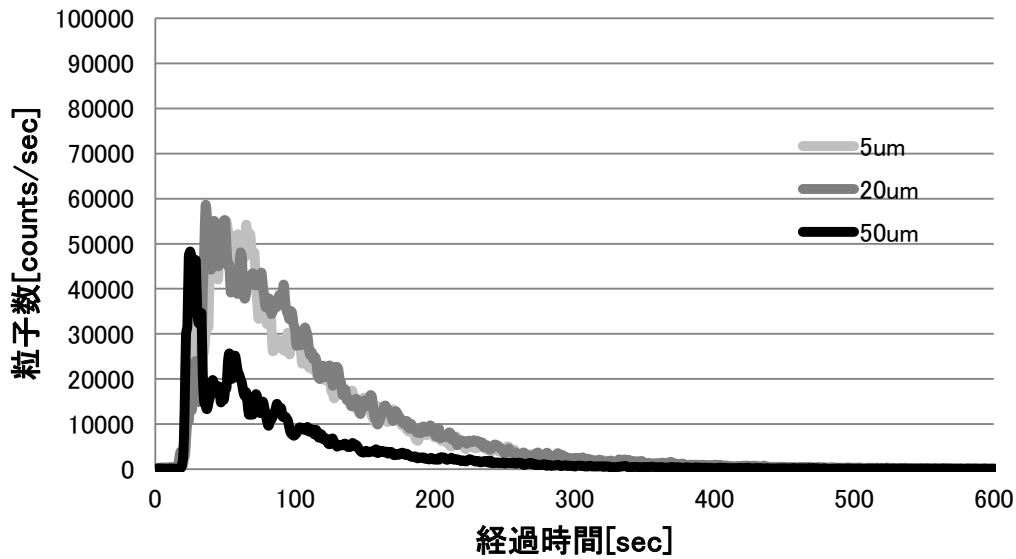


図 4.8 (e) 断面 5 (アイソレータ内圧力; 50 Pa, 流速; 28.8 L/min, テスト時間; 600 seconds)
ラクトース噴霧量: 10 mg/断面, ラクトース噴霧時間: 10 秒/断面
使用ラクトース: lactohale® LH300, Pharmatose® 450M, Pharmatose® 15

断面6(中央上段)

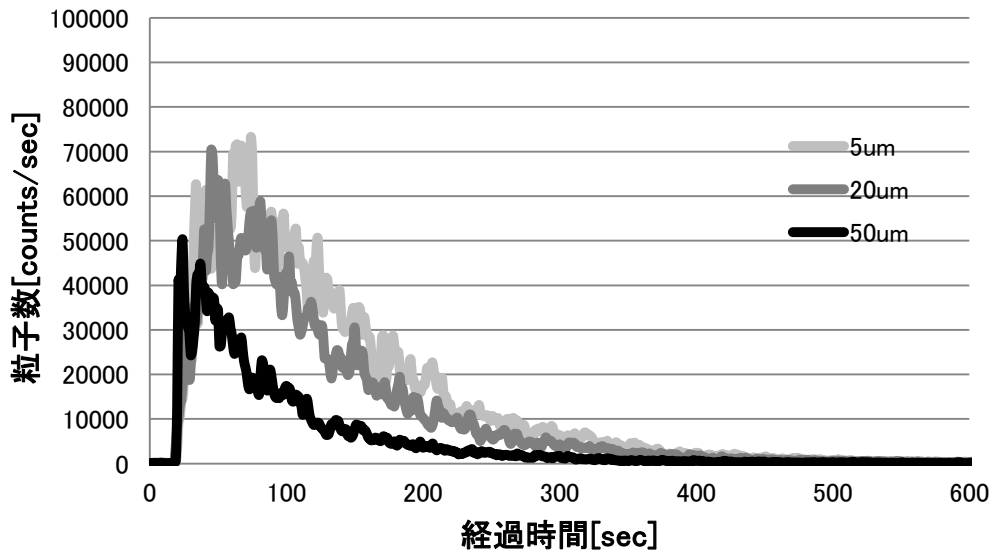


図 4.8 (f) 断面 6 (アイソレータ内圧力; 45 Pa, 流速; 28.8 L/min, テスト時間; 600 seconds)
ラクトース噴霧量: 10 mg/断面, ラクトース噴霧時間: 10 秒/断面
使用ラクトース: lactohale® LH300, Pharmatose® 450M, Pharmatose® 150M

断面7(中央下段)

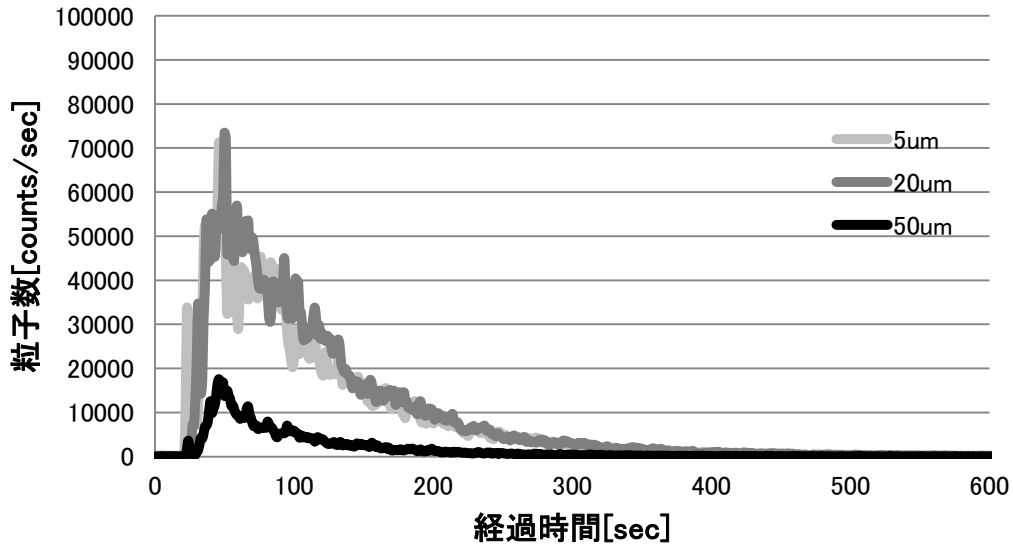


図 4.8 (g) 断面 7 (アイソレータ内圧力; 53 Pa, 流速; 28.8 L/min, テスト時間; 600 seconds)
 ラクトース噴霧量 : 10 mg/断面, ラクトース噴霧時間 : 10 秒/断面
 使用ラクトース : lactohale® LH300, Pharmatose® 450M, Pharmatose® 150M

断面8(奥上段)

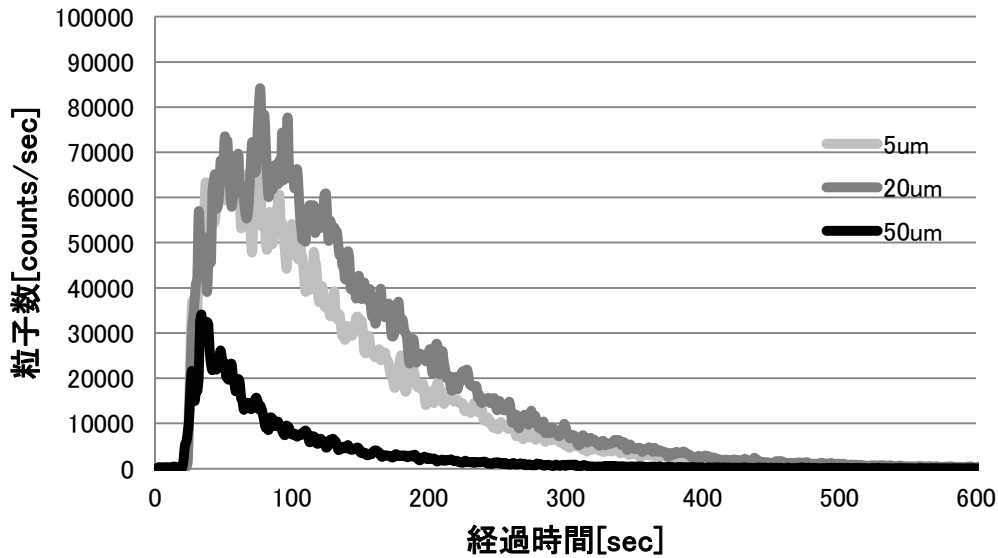


図 4.8 (h) 断面 8 (アイソレータ内圧力; 56 Pa, 流速; 28.8 L/min, テスト時間; 600 seconds)
 ラクトース噴霧量 : 10 mg/断面, ラクトース噴霧時間 : 10 秒/断面
 使用ラクトース : lactohale® LH300, Pharmatose® 450M, Pharmatose® 150M

断面9(奥下段)

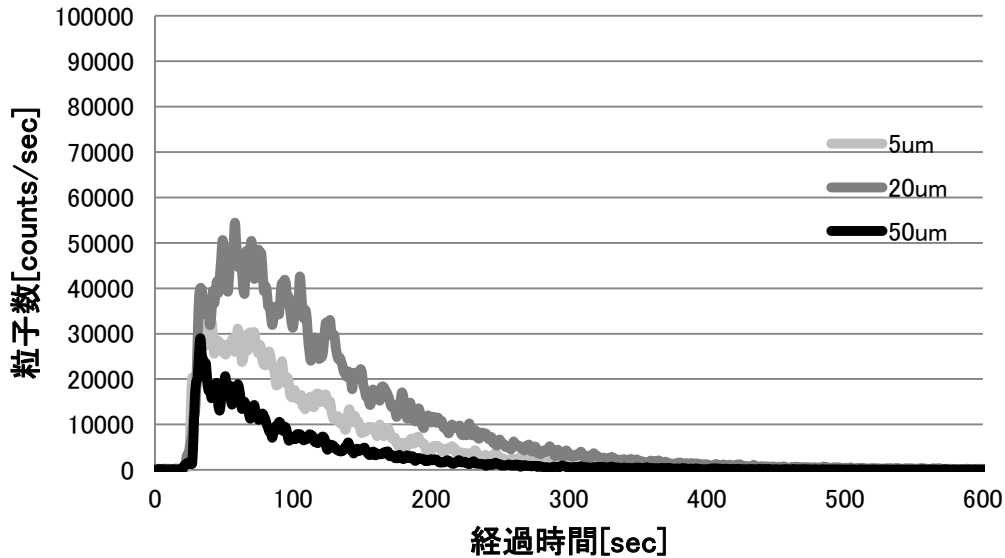


図 4.8 (i) 断面 9 (アイソレータ内圧力; 51 Pa, 流速; 28.8 L/min, テスト時間; 600 seconds)
 ラクトース噴霧量 : 10 mg/断面, ラクトース噴霧時間 : 10 秒/断面
 使用ラクトース : lactohale® LH300, Phartatose® 450M, Phartatose® 150M

また、本実験では、5 μ m, 20 μ m, 50 μ m の粒径のラクトースを約 10mg ずつ噴霧した為、各断面で捉えられた粒子数を比較するのではなく、ある瞬間にそれぞれの断面に到達した粒子の割合を相対比較することで、飛散挙動を考察する。

それに先立ち、先ず飛散挙動に大きく関与する当該アイソレータの気流を解析することとした。

アイソレータ内の気流：アイソレータの各ポイント (A~H) に於ける各高さ (1~3) の風速を測定した (図 4.9)。

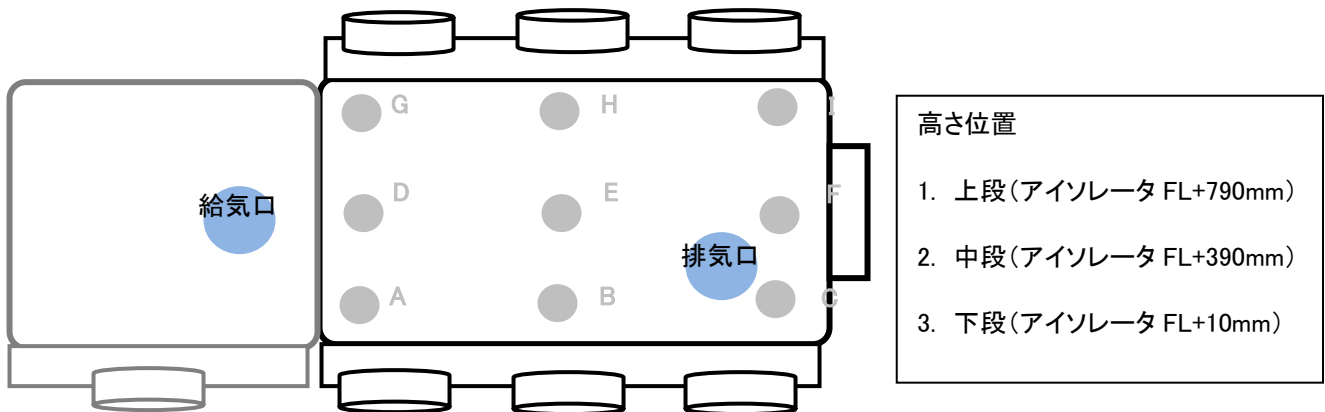


図 4.9 アイソレータ内流速測定ポイント

結果を図 4.10(a) ~ (c) に示す。全体の傾向としては給気口から排気口に向かって手前 (A, B, C 側) のグローブ側に偏って気流は形成されている。風速は中段 (アイソレータ作業面より 390mm) が最も早いことが示唆された。高さ 2 中段に於いては、図 4.11 のように流れていることが推察された。

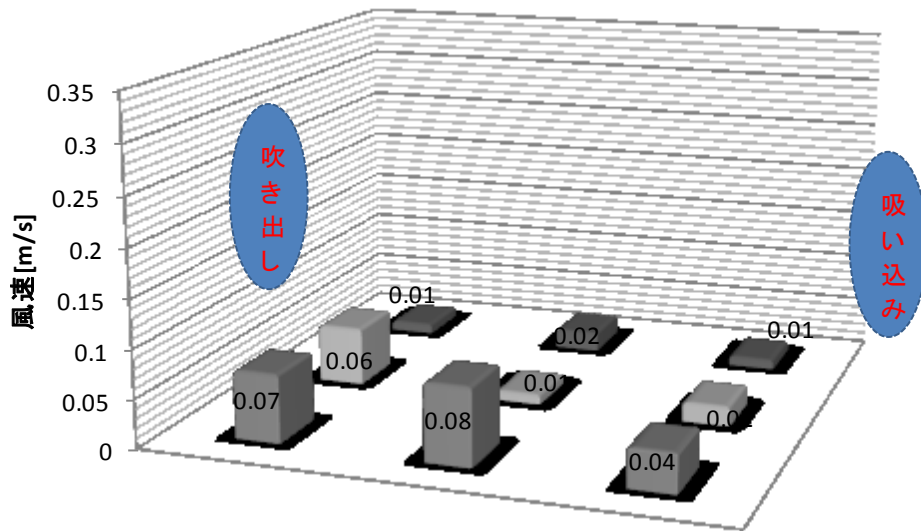


図 4.10 (a) 各垂直位置での風速 (上面)

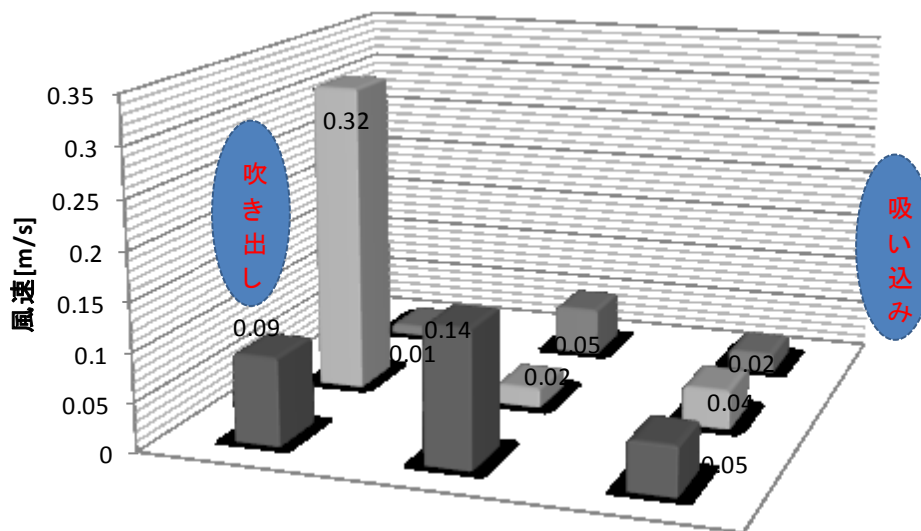


図 4.10 (b) 各垂直位置での風速 (中面)

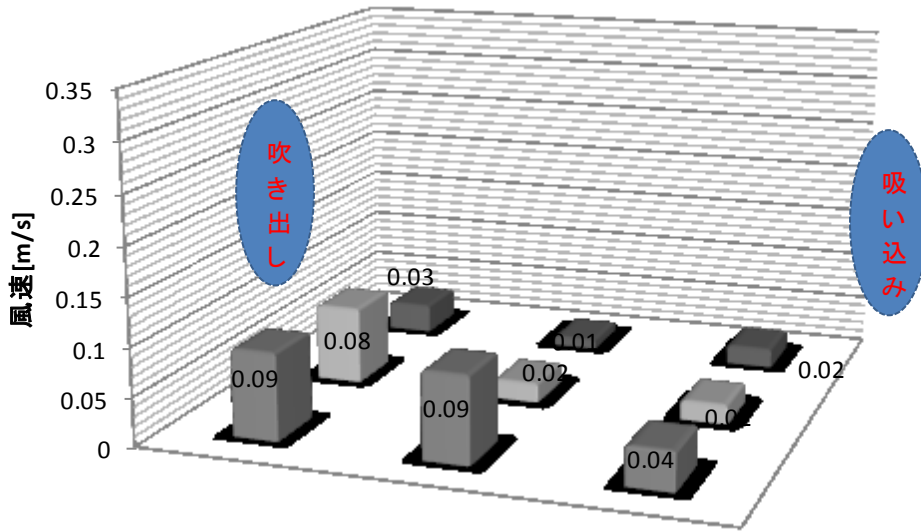


図 4.10 (c) 各垂直位置での風速（底面）

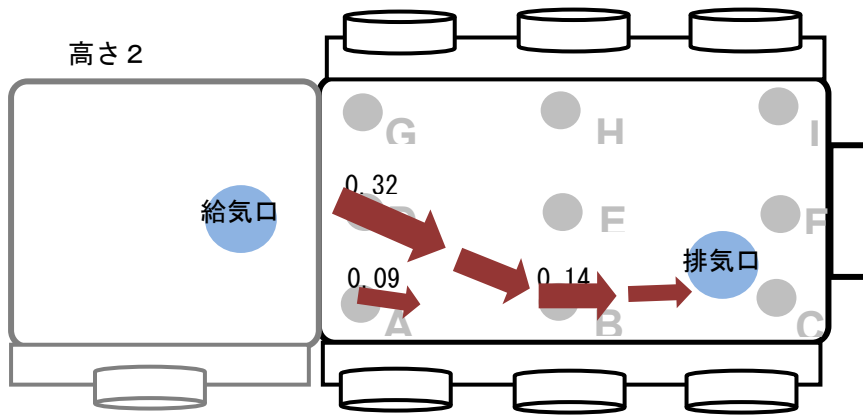


図 4.11 中面での推定エアフロー

各粒径のラクトースの飛散挙動：各断面で得られた微粒子のカウント数を式(1)によって計算し、断面での分布割合 R_s (%) を求めた（対象断面 s でカウントされた粒子数を $p(s)$ 、全断面でカウントされた粒子の合計数を $p(\text{total})$ とする）

$$R_s(\%) = p(s) * 100 / p(\text{total}) \quad \dots (1)$$

各瞬間にそれぞれの断面に到達した粒子の割合 R_s (%) を図 4.12(a) ~ (i) に示す。

断面1(手前水平面)

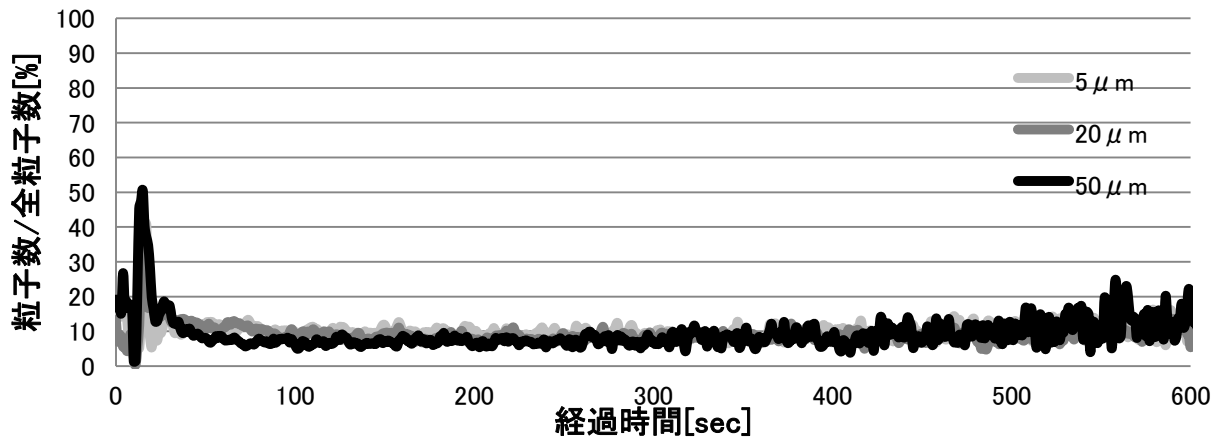


図 4.12 (a) 断面 1 における粒子の存在割合

(アイソレータ内圧力; 57 Pa, 流速; 28.8 L/min, テスト時間; 600 seconds)

ラクトース噴霧量: 10 mg/断面, ラクトース噴霧時間: 10 秒/断面, 使用ラクトース: lactohale® LH300, Pharmatose® 450M, Pharmatose® 150M

断面2(中央水平面)

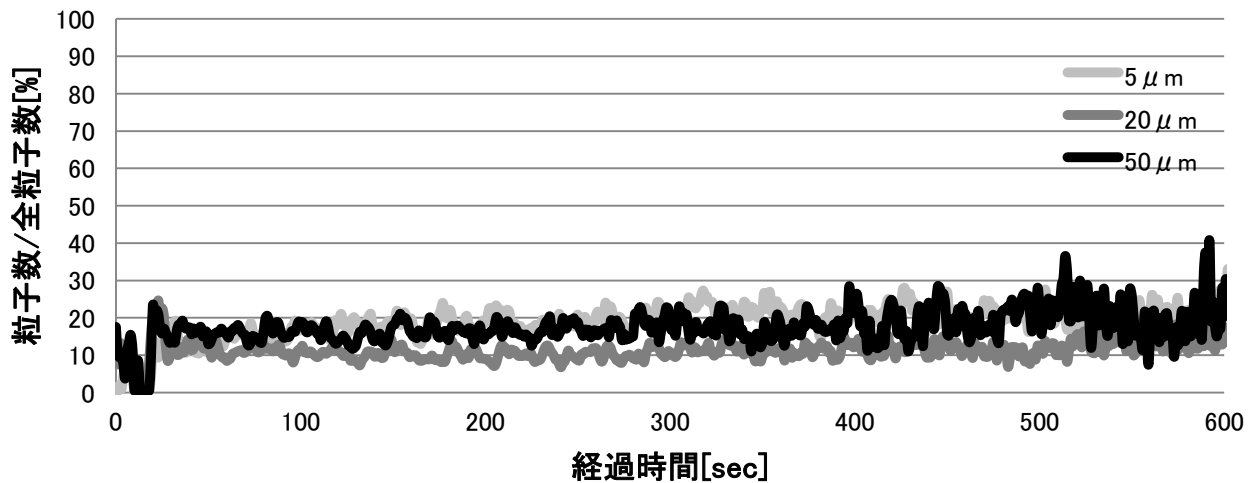


図 4.12 (b) 断面 2 における粒子の存在割合

(アイソレータ内圧力; 50 Pa, 流速; 28.8 L/min, テスト時間; 600 seconds)

ラクトース噴霧量: 10 mg/断面, ラクトース噴霧時間: 10 秒/断面, 使用ラクトース: lactohale® LH300, Pharmatose® 450M, Pharmatose® 150M

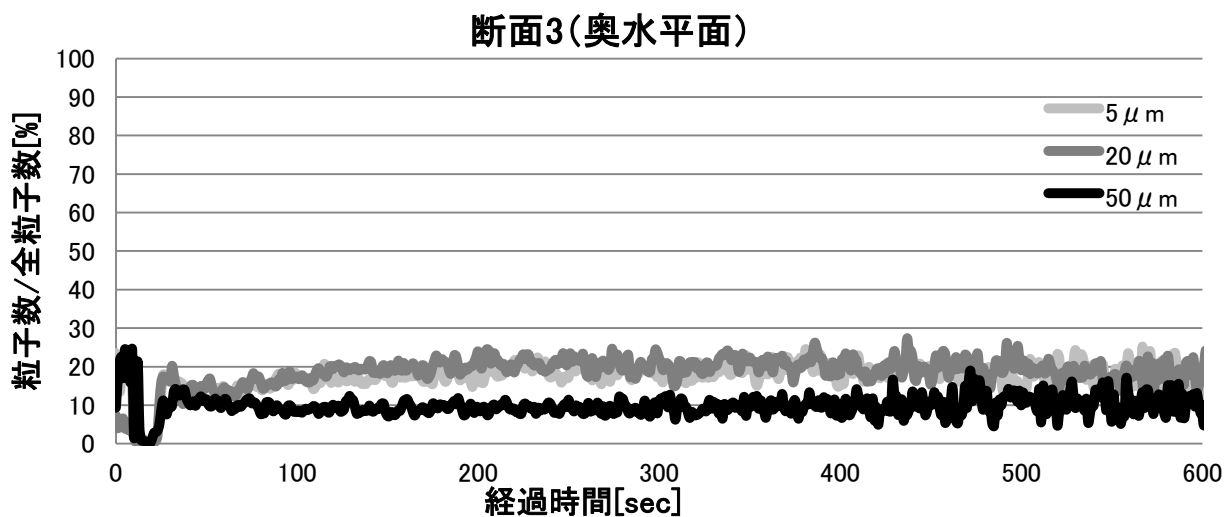


図 4.12 (c) 断面 3 における粒子の存在割合
 (アイソレータ内圧力; 53 Pa, 流速; 28.8 L/min, テスト時間; 600 seconds)
 ラクトース噴霧量 : 10 mg/断面, ラクトース噴霧時間 : 10 秒/断面, 使用ラクトース : lactohale ® LH300, Pharmatose ® 450M, Pharmatose ® 150M

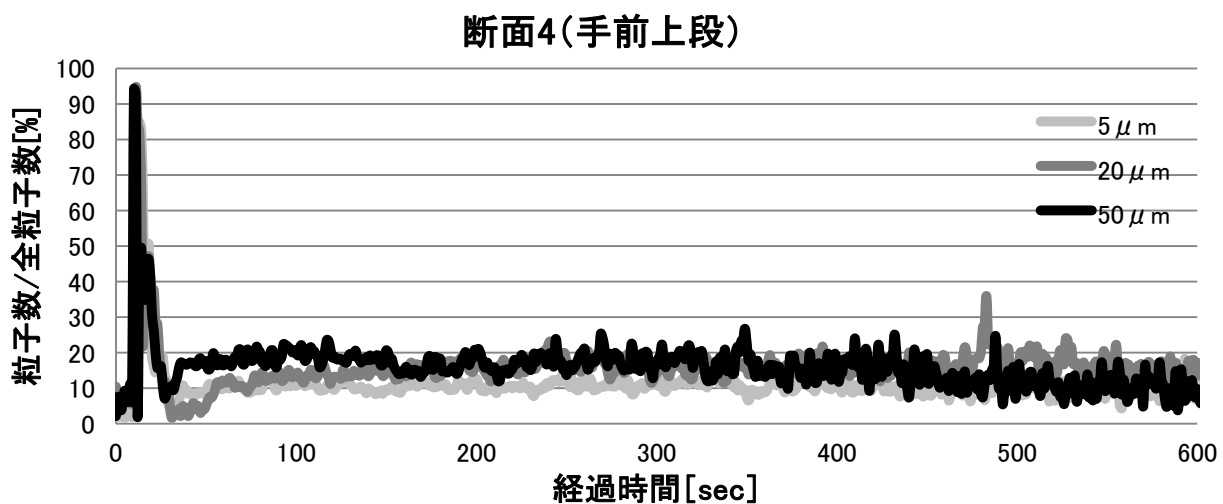


図 4.12 (d) 断面 4 における粒子の存在割合
 (アイソレータ内圧力; 48 Pa, 流速; 28.8 L/min, テスト時間; 600 seconds)
 ラクトース噴霧量 : 10 mg/断面, ラクトース噴霧時間 : 10 秒/断面, 使用ラクトース : lactohale ® LH300, Pharmatose ® 450M, Pharmatose ® 150M

断面5(手前下段)

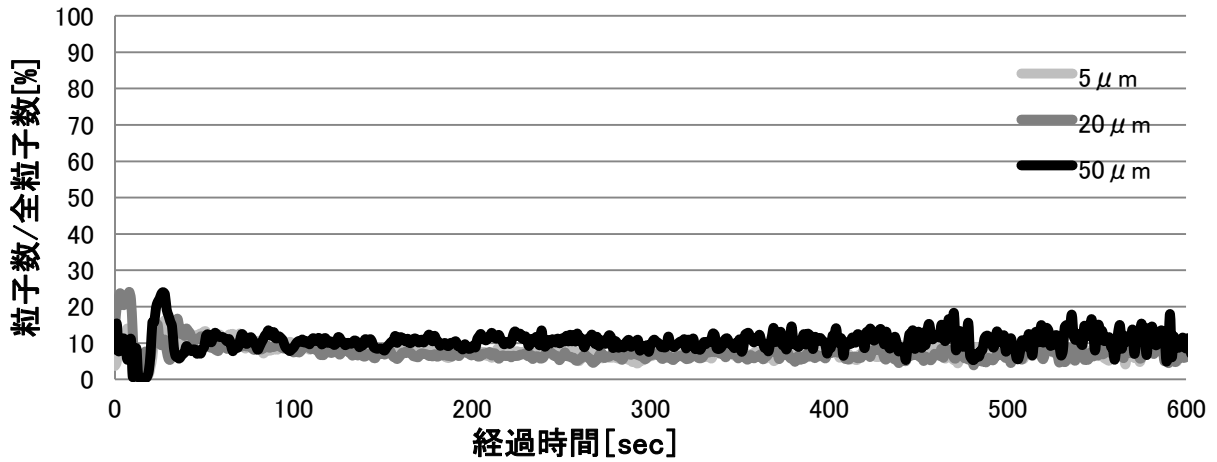


図 4.12 (e) 断面 5 における粒子の存在割合

(アイソレータ内圧力; 50 Pa, 流速; 28.8 L/min, テスト時間; 600 seconds)

ラクトース噴霧量 : 10 mg/断面, ラクトース噴霧時間 : 10 秒/断面, 使用ラクトース : lactohale[®] LH300, Pharmatose[®] 450M, Pharmatose[®] 150M

断面6(中央上段)

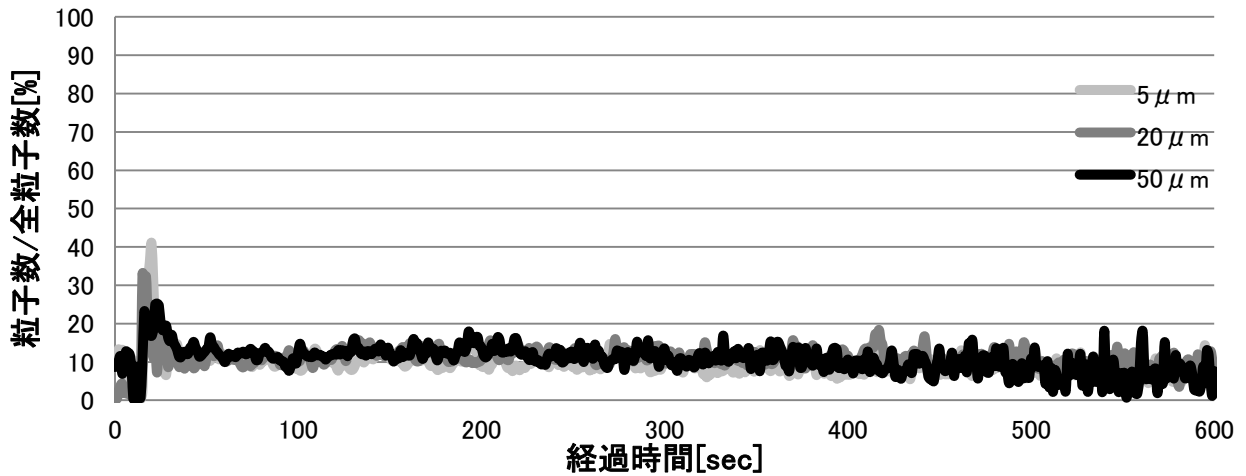


図 4.12 (f) 断面 6 における粒子の存在割合

(アイソレータ内圧力; 45 Pa, 流速; 28.8 L/min, テスト時間; 600 seconds)

ラクトース噴霧量 : 10 mg/断面, ラクトース噴霧時間 : 10 秒/断面, 使用ラクトース : lactohale[®] LH300, Pharmatose[®] 450M, Pharmatose[®] 150M

断面7(中央下段)

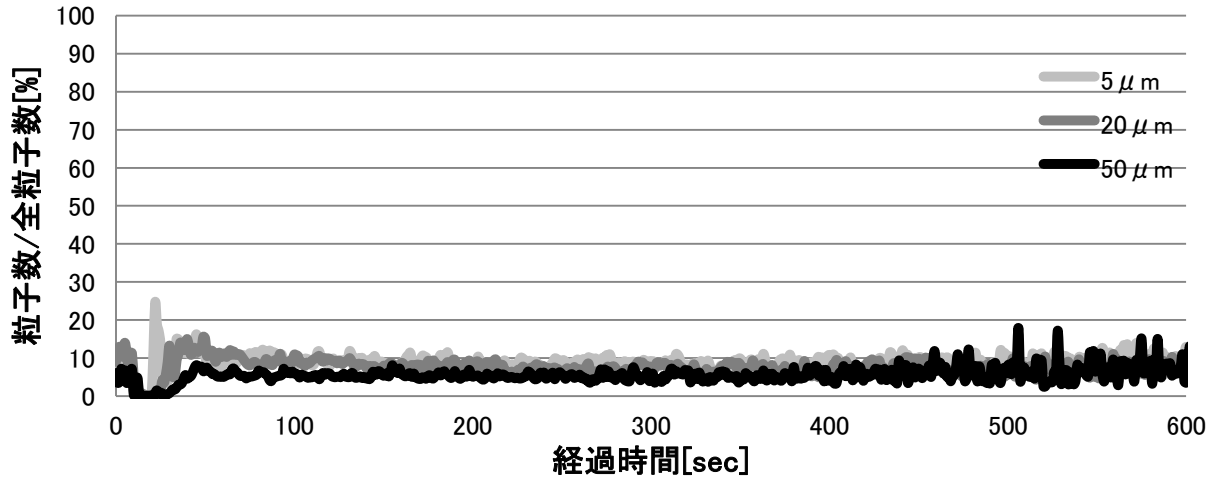


図 4.12 (g) 断面 7 における粒子の存在割合

(アイソレータ内圧力; 53 Pa, 流速; 28.8 L/min, テスト時間; 600 seconds)

ラクトース噴霧量 : 10 mg/断面, ラクトース噴霧時間 : 10 秒/断面, 使用ラクトース : lactohale[®] LH300, Pharmatose[®] 450M, Pharmatose[®] 150M

断面8(奥上段)

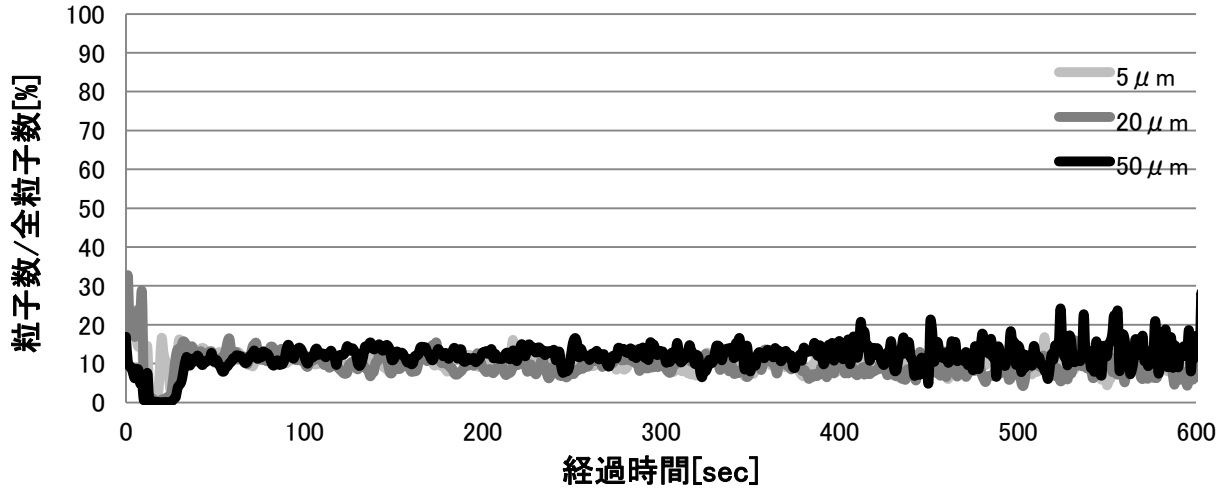


図 4.12 (h) 断面 8 における粒子の存在割合

(アイソレータ内圧力; 56 Pa, 流速; 28.8 L/min, テスト時間; 600 seconds)

ラクトース噴霧量 : 10 mg/断面, ラクトース噴霧時間 : 10 秒/断面, 使用ラクトース : lactohale[®] LH300, Pharmatose[®] 450M, Pharmatose[®] 150M

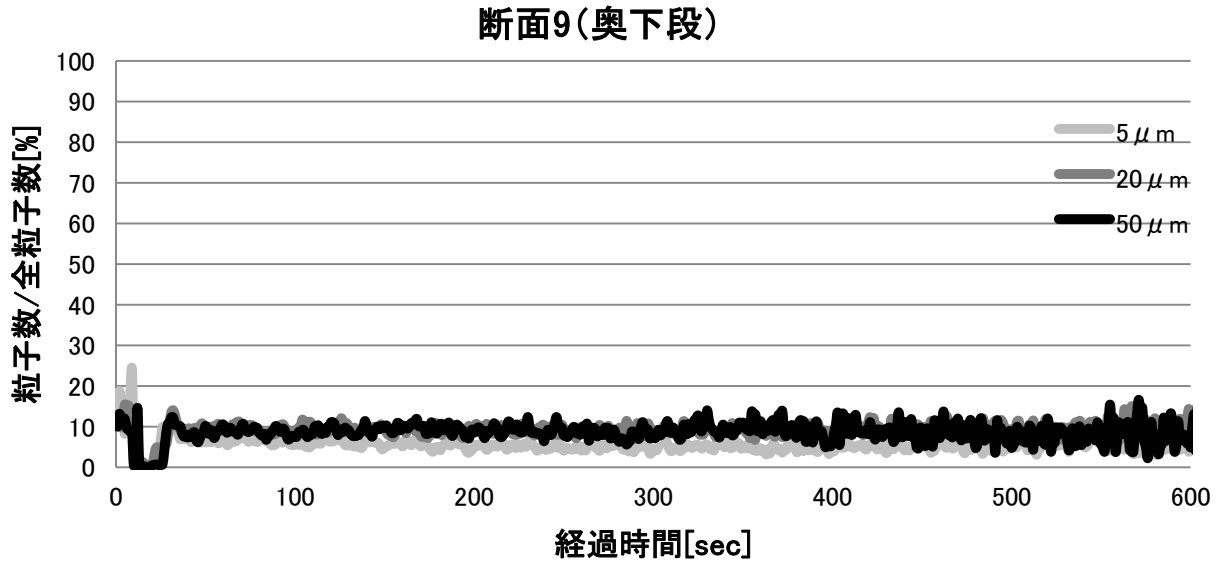


図 4.12 (i) 断面 9 における粒子の存在割合

(アイソレータ内圧力; 51 Pa, 流速; 28.8 L/min, テスト時間; 600 seconds)

ラクトース噴霧量 : 10 mg/断面, ラクトース噴霧時間 : 10 秒/断面, 使用ラクトース : lactohale[®] LH300, Pharmatose[®] 450M, Pharmatose[®] 150M

アイソレータ内の気流解析の結果では、給気口から排気口に気流が向かっていると考えられ、全体的にはその流れに従った為、最終的に排気口の近くの断面 2 や断面 3 での粒子の存在割合がアイソレータ下の断面 (5, 7, 9) に比べ 10%程多いことが読み取れた。但し、噴霧したラクトース量から考えて全体の 20%-30%程度しか存在しておらず、粒子は分散して存在している事が分かった。

続いて、粒径による飛散挙動の違いについて考察する。先ず断面 1 (手前水平面) は噴霧器の直上にあり、噴霧開始後、何れの粒径のラクトースの場合も一時的に、この断面に存在する粒子の割合が増加する。その後断面 4 に粒子は移動して行くが、50μm 粒子の場合、他の粒子径よりも、断面 4 の粒子割合が増加し、20%程度となった。5μm, 20μm 粒子の場合は 10%程度なので、10%程度高い結果であった (図 4.12(d)-i)。

断面4(手前上段)60~100秒

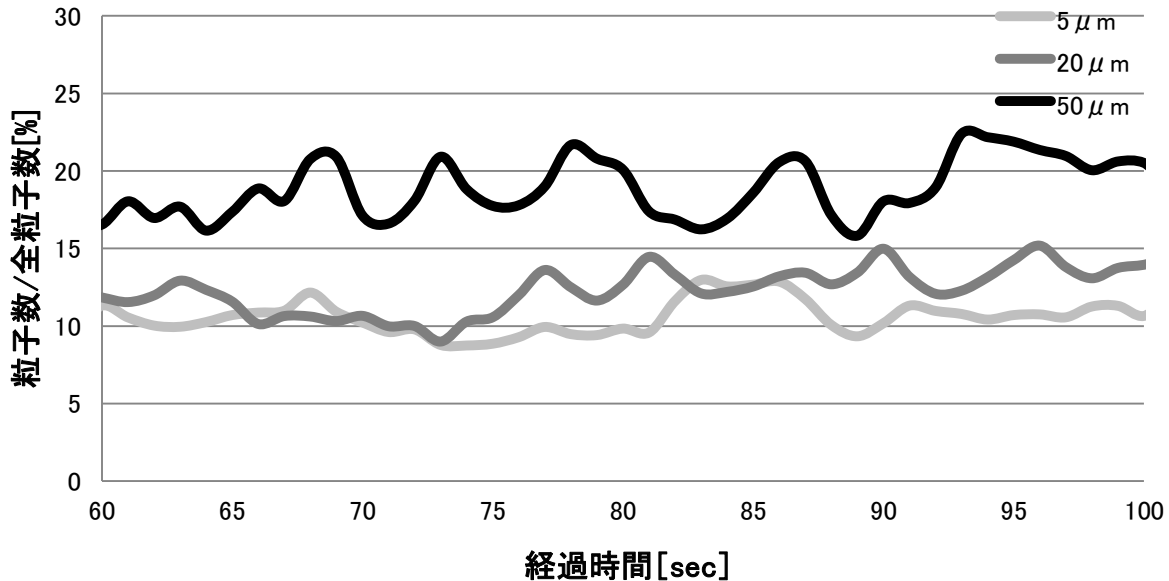


図 4.12 (d)-i 断面 4 における粒子の存在割合 (60-100 seconds)

(アイソレータ内圧力; 48 Pa, 流速; 28.8 L/min, テスト時間; 600 seconds)

ラクトース噴霧量 : 10 mg/断面, ラクトース噴霧時間 : 10 秒/断面, 使用ラクトース : lactohale® LH300, Pharmatose® 450M, Pharmatose® 150M

この理由は、50 μ m 粒子は、噴霧された後、噴霧器の上部の断面に到達し、他の粒子より自重が重い為、拡散範囲が狭く多く断面 4 に存在した為と推察できる。一方、断面 3 (奥水平面) では 5 μ m, 20 μ m 粒子の場合、噴霧中 20%程度の存在割合を示しているが、50 μ m の場合、10%程度であった。断面 3 は、噴霧器から離れたアイソレータ上部、排気口付近に位置している為、5 μ m, 20 μ m 粒子は浮遊していたが、50 μ m の粒子は自重により、この断面まで届いた割合が少ないと考えられる (図 4.12(c))。このように同一気流下に於いても、粉体の粒径によって飛散挙動は異なり、アイソレータ外部に漏れる可能性のあるリスクポイントへの到達の程度は異なることが示唆された。一方、本実験では乱流型アイソレータで有った為、何れの粒径の場合も全ての断面に到達したが、一般的に無菌製剤の封じ込めに使用される陽圧型封じ込めアイソレータでは内部の気流は層流 (Laminar Flow) である為、アイソレータ全体に拡散するリスクは低いことが予想される。そこで、アイソレータのリスクポイントへ粒子が到達するリスクが高いかどうか、複数のパラメータを用いてリスク評価を実施する。

リスクポイントへの到達リスクの評価 : ISPE のリスクマップに記載されているリスクマトリックス (表 4.3) は、発生率と重篤度よりそのリスクを評価する方法である⁹⁾。

表 4.3 リスクマトリックス

発生率	重篤度		
	高い	中程度	低い
頻繁に起こる	①	①	②
たまに起こる	①	②	③
起こりそうもない	②	③	③

ここで、①の領域は高リスクと見積もられ、②は中リスク、③は低リスクに相当する。リスクマトリックスの重篤度は、実際に用いる粉体のハザードレベル（OEL 値：Occupational Exposure Limit：許容暴露管理量，など）を使用するのが良いと考えられる為、ここでは発生率に関する考察のみを実施する。本実験に関して、発生率は、各断面における「到達する割合」、「粒子の大きさ」、単位時間当たりに粉体が入り替わる回数である「置換回数」の要因が関与していると考えられる。つまり、粒子が「到達する割合」が大きい程、リスクが高いと見積もることが出来、「粒子の大きさ」が小さければ同じ穴が開いていてもそこから漏れるリスクは高まり、「置換回数」が多ければ到達しても滞留する時間が短いので漏れるリスクは小さく見積もることができる。リスクの大きさをそれぞれの要因の積として表すこととし、本実験の結果を当てはめて考えると図 4.13 のようになる。

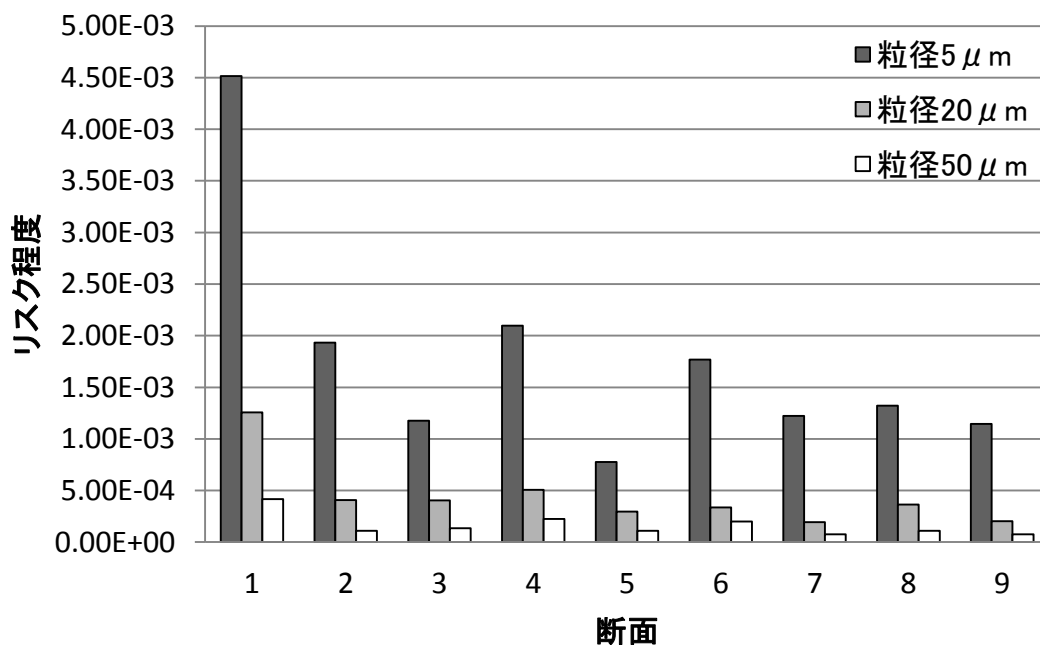


図 4.13 粒子径に応じたアイソレータ内の各断面からのリークのリスク

尚、「到達する割合」はワーストケースを鑑み、10 分間の max の値をとることとし、「粒子の大きさ」、「置換回数」は逆数を計算に用いることとした。この結果より、各粒径の漏れ発生率の傾向は同様であるものの、そのリスクについては、この評価法の場合、大きく異なることが示唆された。見積もったリスク程度は定量的なものではないが、これらの手法を用いることにより、設定したリスクポイントより粉体が漏れやすいか否かを評価することが出来、それに対象となる粉体特有のハザードレベルを加味すればトータル安全性を評価することが可能となることが示唆された。

4.3.2 リークポイントからアイソレータ外部への拡散

微粒子可視化装置で確認したラクトースが漏れる方向に設置した IOM サンプラー及び SMEPAC 推奨の位置に設置した IOM サンプラーで捕集したラクトースの定量分析結果を表 4.4 に示す。サンプリング位置は、図 4.14 に示す。

表 4.4 IOM サンプラーによるラクトースの捕集結果

ラクトース粒径(d50) [μm]		5	50	5
ピンホールの有無		有り	有り	無し
サンプリング時間[hr]		4	4	8
ラクトース漏れ濃度[μg/m3]	バグアウト A SMEPAC 推奨	ND ^{*1}	ND ^{*1}	ND ^{*2}
	バグアウト B 微粒子可視化	0.67	0.32	ND ^{*2}
	グローブ A SMEPAC 推奨	ND ^{*1}	ND ^{*1}	ND ^{*2}
	グローブ B 微粒子可視化	0.03(外挿)	ND ^{*1}	ND ^{*2}

ラクトース噴霧条件：

5μm 粒子, 50μm 粒子：ピンホール有りの場合：6g/hr×4 回=24g/4 時間。

5μm 粒子：ピンホール無しの場合：6g/hr×8 回=48g/8 時間。

*1：N.D.検出限界=0.021μg/m3 未満

*2：N.D.検出限界=0.010μg/m3 未満

結果より、微粒子可視化装置で確認したポイントではラクトースが捕集できたが、SMEPAC 推奨ポイントでは ND であった。尚、リスクポイントにピンホールが無い条件では、8 時間サンプリングを実施しても、ラクトースは検出されなかった。本来 SMEPAC は人の呼吸域にラクトースが存在するか否かを評価するツールである為、アイソレータ筐体からラクトースが漏れているか否かを評価するツールではなく、且つ SMEPAC で示されている位置は、あくまでも例示であり、ユーザー自身で位置を決めることとなっている。それにも関わらず、リスク評価をせずにこの位置に決めてしまうと漏れを捉えられない恐れが有る。そこで、微粒子可視化装置を用いることでリスクマトリックス評価に従って、機器の構造や運用上リークが生じやすいポイントに対して、適切なエリアに妥当な数の IOM サンプラーを配置し、製造後に、サンプラーに捕集され

た高生理活性物質を含む粉体の有無さらには量をシステマチックに評価するリスクマネージメントが可能となる。

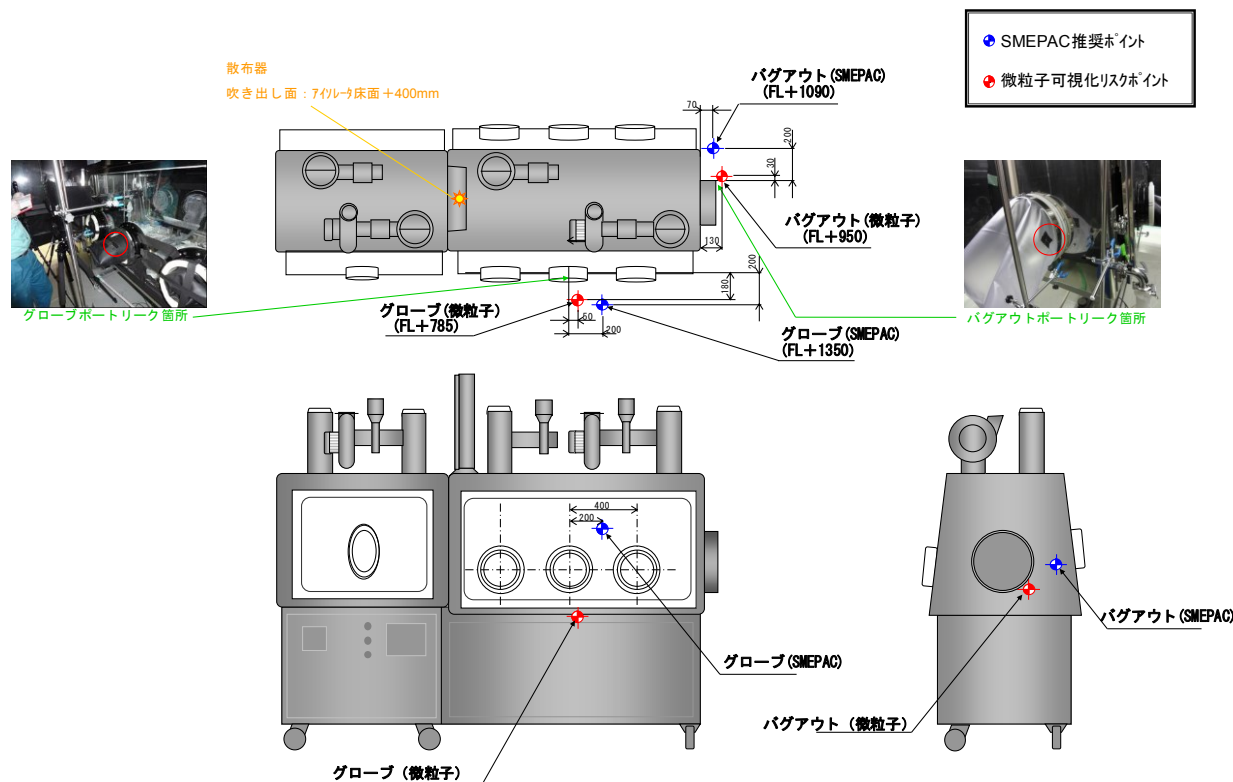


図 4.14 IOM サンプラーでのモニタリングポイント

4.4 結論

無菌製剤製造に用いる陽圧型アイソレータにて、高生理活性物質を扱う場合、堅牢な封じ込めを行うハード面と同時に漏れを確実に捉えるソフト面（運用）が重要である。そこで、微粒子可視化装置を用い、陽圧型アイソレータ内でラクトースを噴霧した際にどのような飛散挙動を示すのか、また、実際に粉体をリークさせた際に周囲にどのように飛散して行くのかを確認した。結果、アイソレータの何処から漏れるリスクが高いのか評価し、且つ、もし漏れた場合、どの位置にサンプラーを設置するのが良いかを見極めることが可能となった。これにより封じ込めアイソレータのリーク管理に於いてシステマチックなリスクマネージメントの実現が可能となった。

参考文献

1. 須藤 浩孝, 森 淳英, 迫 和博ら, 微粒子可視化技術を用いた封じ込めアイソレータのリークリスクマネジメントの検討, PDA Journal of GMP and Validation in Japan Vol. 14, No.1 (2012) 1-10
2. 山上伸一, 竹俣昌利, 溝上 宏: 高生理活性物質の製造施設における封じ込め. PDA Journal of GMP and Validation in Japan Vol.4: No.1, 2002, pp.11-17
3. 竹田守彦: 高生理活性医薬品製造施設の構築(2), Pharm Tech Japan Vol.23: No.3, 2007.
4. 平成 22 年度厚生労働科学研究 医薬品の微生物学的品質確保のための新規試験法導入に関する研究 無菌操作法による無菌医薬品の製造に関する指針
5. ISPE 日本本部 CONTAINMENT COP, 製薬機器の粒子封じ込め (コンテインメント) 性能評価, 2005.
6. 小林昭, 岡本隆太, 坂本 数彦, AP イメージャカメラを用いた微粒子可視化 (特集 産業分野におけるマシンビジョンの利活用), Vol.30, No.12(2008), pp.1320-1323
7. 岡本隆太: 微粒子可視化による製造環境評価 (特集 フラットパネルディスプレイを支える光測定・検査技術), Vol.28, No.2(2006), pp.147-154
8. 高橋幹二, 基礎エアロゾル工学, 養賢堂 (1982)
9. ISPE 日本本部 CONTAINMENT COP: 日本語版 Risk-Based Manufacture of Pharmaceutical Products: 2010.

第5章 総括

注射剤をはじめとする無菌製剤の製造では、製品の無菌性を保証することが必須であり、これが担保できないと当該製剤が投与された患者に健康被害が生じるリスクもある。本論文では、先ず、一般的な注射剤の製造工程に関して述べ、工程中の中間品を無菌化する方法およびその維持管理法について纏めた。無菌化するための滅菌法として 10^6 以下の無菌保証水準 SAL が得られる条件において行うことが国際的に認められている要件であり、これを満足するために、中間品について、加熱処理、放射線照射、あるいは無菌ろ過を実施する。これら無菌化手法の維持管理としては、滅菌法の定期的な再バリデーションに加え、無菌操作により製造される製剤に関しては、薬液の代わりに培地を用いること（培地充填試験）により、その製造工程をシミュレートしながら、工程全体の操作法を保証することも行う。一方、製造された製剤は、ロット毎に無菌試験が実施されるが、抜き取り試験であることから、この試験のみで、ロット内の個々の製剤の無菌性を検証できないのが現状である。現実的には、製剤の無菌性に加え、製造工程に関わる複数の要因を適切に管理しながら、総合的に、ロット毎の製剤の無菌性が保証される。

本論文では、既に理論と手法が構築されている各種滅菌工程（無菌化工程）に比べて、それぞれのケースによって対応を医薬品製造業者が自ら構築する必要がある無菌性維持管理の方法について、取り組むべき課題を選択した。無菌性を維持管理するためには、まずは製造中に微生物を混入させないことと、また一次容器に密封した後、患者に投与されるまで外部からの微生物汚染を防ぐことが不可欠である。前者の主管理項目としては、より精度の高い環境管理であり、後者のそれは、堅牢な容器完全性試験の構築に他ならない。そこで、無菌製剤の直接容器の新しい完全性試験法と製造環境管理手法の構築に取り組むこととした。

まず、直接一次容器の完全性試験法として、非導電性溶液製剤の容器の完全性試験方法の検討を、続いて、無菌製剤製造環境測定法として空中浮遊微生物の迅速モニタリング法の評価検討を行った。更に、無菌性管理の観点だけからだけでなく製造に従事する作業員の安全も鑑みた高生理活性無菌医薬品製造を行う為の設備の構築例として、微粒子可視化技術を用いた封じ込めアイソレータのリークリスクマネジメントの検討を行った。

第2章では、非導電性溶液製剤の容器の完全性試験方法の検討について論じた。導電性薬液が充填されているアンプル製剤の場合、高感度な高電圧方式のリークテスターを用いることができるが、非導電性薬液の場合、この方式は用いることができない。非導電性溶液では、容器完全性を検証する方法として、これまで、真空染色法や圧力降下型リーク検査法が利用されている。ただし、これらの方法は、低感度であり、不良品の見逃しといった欠点がある。HSA は、レーザー光を照射することによって測定対象部に存在する酸素分子を励起させ、その際に減衰したレーザー光を受光部で検知することにより酸素濃度を測定する方法である。この HSA をリークテスターとして活用することを検討した。具体的には、アンプルのガラス表面に、クラックやピンホール等の存在する不良品について、Bombing 処理という加圧プロセスを経ることで、アンプル空間部の酸

素濃度を上昇させ、更には、その上昇の程度により、不良を検出するシステムである。予備検討の結果、HSA 法はリークテスターとして十分な機能を有し、尚、従来の真空染色法よりもより高感度であることが示唆された。尚、本 HSA 法は、今回提案したリークテスターとしてのみならず、アンプル空間部を窒素で置換せねばならない製品のインプロセステストとしての酸素濃度測定にも使用でき、1 台の設備で 2 つの役割を果たすことができる。且つ、非破壊で全数検査可能なシステムであり、リアルタイムな計測により、製造工程の設計、分析、管理を行い、製品の品質を保証する PAT (Process Analytical Technology) としての利用も期待できる。

第 3 章では、空中浮遊微生物の迅速モニタリング法の評価検討について論じた。現行では製造環境中の微生物試験は培養法で評価をしている為、結果が得られるまでに数日から数週間を要し、迅速な評価ができなかった。そこで、迅速に環境中の微生物を評価できる方法が求められている。この章では、先ず製造環境の清浄度に応じた空中浮遊微生物の迅速測定の必要条件を整理した。次に、その要件に合致する空中浮遊菌のモニタリングツールとして、既存の培養法に代わる 2 つの迅速測定法について評価した。一つは、微生物が持つ呼吸代謝物の NADH や細胞内のリボフラビンの自家蛍光発光を光学的にリアルタイム連続検出することにより、微生物由来のパーティクル (バイオパーティクル: BP) を検出する IMD, もう一つは、ATP 発光を利用し、生菌のみの ATP 量を測定する ATP 測定装置である。注射剤の製造工室内、グレード A エリアでは、生菌の有無を精度よく検出する必要があるため、リアルタイムに微生物由来の粒子の存在を検出する IMD と、リアルタイムではないが生菌のみを迅速に検出する ATP 測定装置を組み合わせて評価することを考案した。本研究ではその予備調査として、それぞれの測定器を用いて、実際に製薬 3 社でデータを取得し、その有用性を評価した。その結果、グレード A エリアに於いて、IMD は偽陽性反応を示さず、また低微生物汚染環境中で、AS による培養法より微生物を高感度に検出できることが確認できた。一方、ATP 測定装置については、偽陽性反応は示さなかったが、本実験に使用した装置においては、培養法より感度が低い場合があることが判明した。

第 4 章では微粒子可視化技術を用いた封じ込めアイソレータのリークリスクマネジメントの検討について論じた。無菌製剤の製造に用いる陽圧型アイソレータを用いて高生理活性物質を扱う場合、もしアイソレータに穴が開いていた場合、内部が陽圧である為、容易に当該物質がアイソレータ外に漏れ出してしまう。そこで、製造に従事する作業者の安全性のため、漏れを確実に捉える必要がある。本論文では、陽圧型アイソレータの内部で、ラクトースを噴霧した際の紛体の飛散経路について、微粒子可視化技術を用いて検討した。具体的には、アイソレータ内を 9 つの断面に分けて微粒子可視化装置で微粒子の挙動を評価した。これによりアイソレータの何処から漏れるリスクが高く、また、漏れた場合、どの位置にサンプラーを設置するのが良いか等を見極めることができた。この結果、封じ込めアイソレータのリーク管理に於いて系統的なリスク管理の実現が可能となった。

上記の技術的な三つの課題，即ち，より高感度な容器の完全性試験法の開発，リアルタイムな空中浮遊菌の測定方法の開発，更には，漏れた粉体を確実に捕らえる技術を付した封じ込めアイソレータの管理法への取り組み，を通じてより高いレベルの無菌性維持管理方法構築の一助になったと考える。

続いて，将来の無菌製剤の無菌性維持管理法について考えてみる。繰り返しになるが，無菌製剤の無菌性を証明するために，ある一つのパラメータでロット全体の無菌を証明する直接的な手法は存在しない。容器が非破壊の状態が無菌性を保証するためには，多くの複合要因が全て微生物汚染を否定しなければならない。無菌維持管理法の中で，特に今回論じてきた製造環境管理と容器密封性の将来について触れる。

まず製造環境管理について，近い将来には本論文で論じてきた迅速測定装置の中でもリアルタイムに微生物の有無を検知できる IMD タイプのものが台頭してくるものと予測する。ただし，IMD は生菌のみならず死菌もカウントするという欠点もあるのでここは改善されることを望む。現行の培養法は培養可能菌のみを検出できるが，微生物は培養可能な菌よりも培養不能な菌の方が多いと言われていることから，培養不能な菌も含めた生菌全てを検知できることが望ましい。また，環境測定は通常，製造環境内のワーストポイントや製品の品質に大きな影響を与えかねない場所で行われるが，この測定はあくまでもポイントでの管理あり，製造空間を網羅している訳ではない。そこで，4章の検討で用いた微粒子可視化システムのように最低でも面，望ましくは空間での微生物モニタリングがリアルタイムに実施できるような装置があれば，製造環境全体が保証できる。今回は，空中浮遊微生物に関してのみ触れてきたが，実際には表面付着菌や注射用水中の微生物などについて培養法にて無菌を保証している為，これらへの応用も期待される。

続いて，容器密封性の将来について論じたい。まず今回検討した HSA 法のように非破壊で全数検査できるシステムでなければならない。また，現在の試験法はそれぞれ制限事項を有する。例えば，高電圧式検査は内容物が導電性の液体でなければならない，HSA は容器空間部が窒素置換されていなければならない。圧力降下型検査をはじめとした圧力の変化でリークの有無を検知する方式には制限事項は少ないが，感度が良くない為，高感度のセンサーが開発されるか否かにかかっている。検知目標としては，無菌ろ過フィルターの孔径である $0.2\mu\text{m}$ のピンホールが検知できることが望ましい。また，直接的な容器の密封性の試験法からは少し話が外れるが，ガラスは一度クラックが入ると，輸送中などにそれが広がり，ユーザーに届くまでに破損することも考えられるので，割れにくい容器や，割れる直前のダメージを受けた容器までも検出できるような装置があれば保証レベルも上がると考える。何れにしても技術の進歩に大きく依存するところである。

本論文に関する発表論文

1. H. Sudo, A. Mori, K. Sako, et al. "Development of a Nondestructive Leak Testing Method Utilizing the Head Space Analyzer for Ampoule Products Containing Ethanol-Based Solutions", " PDA Journal of Pharmaceutical Science and Technology"2012, 66 434-444
2. 片山 博仁, 葭原 鶴二, 須藤 浩孝ら, 空中浮遊微生物の迅速モニタリング法の評価検討, PDA Journal of GMP and Validation in Japan Vol. 14, No.2 (2012) 43-47
3. 須藤 浩孝, 森 淳英, 迫 和博ら, 微粒子可視化技術を用いた封じ込めアイソレータのリークリスクマネジメントの検討, PDA Journal of GMP and Validation in Japan Vol. 14, No.1 (2012) 1-10

本論文に関する学会発表

- 2010年11月24日 日本PDA製薬学会主催 第1回「医薬品製造現場における微生物管理」フォーラムにて“空中浮遊微生物の迅速モニタリング法の評価検討について発表

謝辞

本研究を遂行するにあたり、暖かいご指導と御教示を賜り、本論文のまとめに導いていただきました神戸大学工学部応用化学科教授 迫 和博 博士（アステラス製薬(株) 技術本部 製剤研究所 所長）に心から感謝いたします。

本論文の作成にあたり、親身な御助言と御指導を賜りました神戸大学工学部応用化学科准教授 森 淳英 博士（アステラス製薬(株) 技術本部 バイオリードプロジェクト）に深く御礼申し上げます。

また各章を纏めるにあたり、的確な御指導を頂きました伴 和敏氏（アステラス製薬(株) 技術本部 製剤研究所 注射剤研究室 室長）、西脇健二氏（アステラス製薬(株) 技術本部 バイオリードプロジェクト）、片山博仁氏（バイエル薬品(株)）に心より感謝いたします。

本論文を纏めるに際して、暖かい言葉をかけていただき、激励して下さった先輩、後輩、友人諸氏に心より御礼申し上げます。

他多数の方々の御指導と御支援を受け、本書をまとめることが出来ました。この場を借りて深く感謝いたします。

最後に、本研究を遂行するにあたって、常に暖かく強く支援してくれました家族と両親に心から感謝いたします。

神戸大学博士論文「無菌製剤の無菌性維持管理における新しい容器完全性試験法と製造環境管理に関する研究」全66頁

提出日 2014年1月21日

本博士論文が神戸大学機関リポジトリKernelにて掲載される場合、掲載登録日（公開日）はリポジトリの該当ページ上に掲載されます。

◎ 著者氏名 須藤 浩孝

本論文の内容の一部あるいは全部を無断で複製・転載・翻訳することを禁じます。