

USP<1116> MICROBIOLOGICAL CONTROL AND MONITORING OF ASEPTIC PROCESSING ENVIRONMENTS

USP Forum, Vol.36, No.6., Dec. 2010

無菌操作環境の微生物管理とモニタリング

要旨訳 Draft-A

2012/6/19

望月清

■本要旨訳について

本要旨訳は原文の忠実な訳ではない。読みやすさ、内容の把握しやすさを重視した訳をめざしたため、以下のような訳となっている。

- あまり重要でない単語の訳は省略していることがある
 - 原文にはない言葉を挿入していることがある
 - 原文の構文どおり訳していないことがある（相当な意識になっていることがある）
 - 見なおしをしていないので、訳語の揺らぎがあるはずである。
 - 全く誤った意識があるかもしれない
- なお、本要旨訳は未レビューである。

■読み方の例（時間のない方むけ）

- 1) 「箇条書き」にざっと目を通す
- 2) 「箇条書き」におかしな所があれば、「全文意識」を確認する
- 3) 「全文意識」に疑問があれば「原文」を確認する

■ご協力をお願い

誤訳などのご指摘やご意見がございましたら、望月までご連絡いただくと大変たすかります。

連絡先： kiyoshi-mochizuki

@asahi-net.email.ne.jp

■目次

1. 高度な無菌操作技術
2. 無菌操作環境のクリーンルーム等級
3. 管理環境に対する微生物管理プログラムの重要性
4. 汚染制御の有効性に対する物理的評価
5. 職員の教育
6. 微生物環境モニタリングプログラムの設計と実施における重要な因子
7. 培養培地の選定
8. 培養条件の選択
9. サンプル計画とサンプリング箇所の制定
10. クリーンルームおよび無菌操作環境におけるサンプル場所の選定
11. クリーンルームおよびアイソレータにおける微生物制御パラメータ
12. 著しい一過性逸脱
13. データ解釈のさらなる考察
14. 空中浮遊微生物のサンプリング
15. 表面サンプリング
16. 培養培地と希釈剤
17. 微生物分離株の同定
18. 結論
19. 用語集
20. 参考文献

■単語意識の備忘

- advanced aseptic processing 高度無菌操作
- aseptic processing 無菌操作
- recovery 回収 (米国 ABV 社員によると、USP<1223>迅速測定法バリにおける”recovery “は「微生物の検出」とか「微生物の計数」を意味しているとのことであった。培養法では「環境から微生物を回収し培養して計数」ということになる。ここでは”recovery “を「回収」と訳したが、検出とか検出数を意味していることがある)
- contamination recovery rate 汚染回収率
- contamination incident rate 汚染発生率
- critical 重要な、クリティカルな、(厳しい、キツイ、目一杯、危険性のある、注意すべき、気をつけるべき、ヤバイ、あぶない、深刻な、リスクのある、ギリギリの、限界の、きわどい、、、)
- significant 重要な、意義深い、重大な、かなりの、著しい、有意な
- routine certification 定期検査 (定期検定 ←固すぎる)
- intended use 使用目的、目的の用途

《 1116 》 **Microbiological Evaluation of Clean Rooms and Other Controlled Environments**, USP 32 page 608.

A complete revision is proposed, including updated clean-room classification standards and a title change.

(GCM: R. Tirumalai..) RTS—C93982

《 1116 》 MICROBIOLOGICAL CONTROL AND MONITORING OF ASEPTIC PROCESSING ENVIRONMENTS

<1116> 無菌操作環境の微生物管理とモニタリング

Microbiologically controlled environments are used for a variety of purposes within the healthcare industry. This general information chapter provides information and recommendations for environments where the risk of microbial contamination is controlled through aseptic processing. Products manufactured in such environments include pharmaceutical sterile products, bulk sterile drug substances, sterile intermediates, excipients, and, in certain cases, medical devices. Aseptic processing environments are far more critical in terms of patient risk than controlled environments used for other manufacturing operations—for example, equipment and component preparation, limited bioburden control of non-sterile products, and processing of terminally sterilized products. In this chapter, the type of aseptic processing is differentiated by the presence or absence of human operators. Aseptic processing in the absence of human operators is termed *advanced aseptic processing*. Microbiological requirements for aseptic processing environments staffed by human operators must be especially stringent. [NOTE—A glossary of terms used in this chapter can be found at the end of the chapter.]

ヘルスケア業界において、微生物が管理された環境は色々な用途に使用されている。この general information chapter は、無菌操作により微生物汚染を管理している環境に対する情報と提言を提供するものである。このような環境で製造される製品は、無菌医薬品、無菌原薬、無菌中間体、賦形剤、そして、ある場合には、医療機器を含む。無菌操作環境は、他の製造操作に使用されている管理環境より患者のリスクに関し極めて重要である。他の製造操作とは、機器や部材の準備、非無菌製品のバイオバーデン管理、最終滅菌製品の操作などである。本チャプターにおいては、無菌操作のタイプは、作業者が存在するか否かにより違いをつけている。作業者が入り込まない場合の無菌操作は高度無菌操作と呼ぶ。作業者が存在する無菌操作環境に対する微生物要件は、特に厳しくなければならない。[注：本チャプターで使用されている用語は本チャプター末尾の用語集に掲載する。]

箇条書：

- ① 本チャプターは、無菌操作により微生物汚染の管理をしている環境に対する情報と提言である
- ② このような環境で、無菌医薬品、無菌原薬、無菌中間体、賦形剤、医療機器などが生産される
- ③ 無菌操作環境は、他の製造操作に使われる管理環境より、患者リスクが高い
- ④ 他の製造操作とは、機器や部材の準備、非無菌製品のバイオバーデン管理、最終滅菌製品の操作等

- ⑤ 無菌操作のタイプは、作業者が存在するか否かにより違いをつけている
- ⑥ 作業者が入り込まない場合の無菌操作を高度無菌操作と呼ぶ
- ⑦ 作業者が存在する無菌操作環境に対する微生物要件は、特に厳しくなければならない
- ⑧ 本チャプターの用語は末尾の用語集に掲載する

The guidance provided in this chapter and the monitoring parameters given for microbiological evaluation should be applied only to clean rooms, restricted-access barrier systems (RABS), and isolators used for aseptic processing. ISO-classified environments used for other purposes are not required to meet the levels of contamination control required for aseptically produced sterile products. The environments used for nonsterile applications require different microbial control strategies.

本チャプターに記載されている指針および微生物評価のモニタリングパラメータは、無菌操作に使用されるクリーンルーム、RABS、そしてアイソレータのみに適用すること。他の目的に使用される ISO 等級の環境は、無菌操作により製造される無菌製品に要求される汚染管理レベルに適合する必要はない。非無菌適用において使われている環境に対しては、異なった微生物管理戦略を必要とする。

箇条書：

- ① 本チャプターの指針と微生物評価のモニタリングパラメータは、無菌操作に使用するクリーンルーム、RABS、アイソレータのみに適用すること
- ② 他の目的に使用される ISO 等級の環境は、無菌操作の汚染管理レベルに適合する必要はない
- ③ 非無菌に使われる環境は、異なった微生物管理戦略を必要とする

A large proportion of products labeled as sterile are manufactured by aseptic processing rather than terminal sterilization. Because aseptic processing relies on the exclusion of microorganisms from the process stream and the prevention of microorganisms from entering open containers during processing, product bioburden as well as the bioburden of the manufacturing environment are important factors governing the risk of unacceptable microbial contamination. The terms *aseptic* and *sterile* are not synonymous. *Sterile* means having a complete absence of viable microorganisms or organisms that have the potential to reproduce. In the purest microbiological sense, an *aseptic* process means one that prevents contamination by the exclusion of microorganisms. In contemporary aseptic healthcare-product manufacturing, *aseptic* describes the process for handling sterilized materials in a controlled environment designed to maintain microbial contamination at levels known to present minimal risk.

無菌と表示された製品の大部分は、最終滅菌法ではなく無菌操作法により製造されている。無菌操作は、製造工程から微生物を排除することと、製造中に開口容器に微生物が入り込むのを防ぐことに頼っている。そのため、製造環境のバイオバーデンはもとより製品のバイオバーデンは、許容できない微生物汚染リスクを左右する重要なファクターである。”aseptic” と “sterile” は同意語ではない。“sterile”とは、生きた微生物もしくは再生する可能性のある有機体が全く存在しないことである。純粋に微生物学的な意味で

は、“aseptic process”（無菌操作）とは、微生物を排除することにより汚染を防止する操作である。現代の無菌操作ヘルスケア製品製造においては、“aseptic”という言葉により、最小リスクと認識されているレベルに微生物汚染を維持できるように設計した管理環境において、滅菌した素材を取り扱う作業を表している。

箇条書：

- ① 無菌製品の大部分は、最終滅菌法ではなく無菌操作法により製造されている
- ② 無菌操作は、工程からの微生物排除と、開口容器への微生物侵入防止による
- ③ そのため、製造環境のバイオバーデンのみならず製品のバイオバーデンも重要である
- ④ “aseptic” と “sterile” は同意語ではない
- ⑤ “sterile”とは、生きた微生物もしくは再生する可能性のある有機体が全く存在しないこと
- ⑥ “aseptic process”（無菌操作）とは、微生物を排除することにより汚染を防止する操作
- ⑦ “aseptic” とは、微生物汚染を最小リスクレベルに維持できる管理環境において、滅菌した素材を取り扱う作業を意味している

In any environment where human operators are present, microbial contamination at some level is inevitable. Even the most cautious clean-room environment design and operation will not eliminate the shedding of microorganisms if human operators are present. Thus, an expectation of zero contamination at all locations during every aseptic processing operation is technically not possible and thus is unrealistic. There are no means to demonstrate that an aseptic processing environment and the product-contact surfaces within that environment are sterile. Although manufacturers should review environmental monitoring results frequently to ensure that the facility operates in a validated state of control, monitoring results can neither prove nor disprove sterility. Because of the limitations of monitoring, manufacturers cannot rely directly on monitoring, statistics, or periodic aseptic-processing simulations to ensure a sterility assurance level.

作業者が存在する環境では、微生物汚染はある程度不可避である。クリーンルーム環境の設計と作業にどんなに注意を払っても、作業者が存在すれば微生物の発散を防ぐことはできない。すなわち、無菌操作中の全ての箇所で汚染ゼロを期待するのは、技術的に不可能であり非現実である。無菌操作を行う環境とその環境中の製品接触面が無菌であることを証明する方法はない。医薬品製造者は環境モニタリングの結果を頻繁にレビューし、施設がバリデートされた状態で稼働していることを保証しなければならない。しかし、無菌であったことを、環境モニタリングの結果により立証もしくは反証できるものではない。環境モニタリングには限界があるので、医薬品製造者は、環境モニタリング、統計学、あるいは定期的な無菌プロセスシミュレーションに直接頼って無菌性保証水準(SAL)を保証することはできない。

箇条書：

- ① 作業者が存在する環境では、微生物汚染はある程度不可避である
- ② 作業者が存在すれば微生物の発散は不可避
- ③ 無菌操作中の全ての箇所で汚染ゼロを期待するのは、技術的に不可能であり非現実
- ④ 無菌操作を行う環境とその環境中の製品接触面が無菌であることを証明する方法はない

- ⑤ 環境モニタリングは、バリデートされた状態の維持を確認するもの
- ⑥ 環境モニタリングの結果により、無菌であったことを立証あるいは反証できるものではない
- ⑦ 環境モニタリング、統計学、プロセスシミュレーションにより無菌性保証水準を保証できるものではない

Environmental monitoring is usually performed by personnel and thus requires operator intervention. As a result, environmental monitoring can both increase the risk of contamination and also give false-positive results. Thus, intensive monitoring is unwarranted, particularly in the ISO 5 environments that are used in the most critical zones of aseptic processing.

環境モニタリングは人により実施されるものであるから、作業者の介入を伴う。そのため、環境モニタリングは汚染リスクを増大させ、偽陽性を誘発させる可能性がある。従って、徹底した環境モニタリングは是認できない。無菌操作の最重要区域になっている ISO 5 環境においては特にそうである。

箇条書:

- ① 環境モニタリングは人の介入を伴うので、汚染リスクを増大させ偽陽性を誘発する可能性がある
- ② 従って、環境モニタリングを徹底して行うことは是認できない
- ③ 特に、無菌操作を行う ISO 5 環境において環境モニタリングを頻繁に行うのは得策ではない

A number of sampling methods can be used to assess and control the microbiological status of controlled environments for aseptic processing. At present, nearly all of these methods rely on the growth and recovery of microorganisms, many of which can be in a damaged state caused by environmental stress and therefore may be difficult to recover. The numerical values for air, surface, and personnel monitoring included in this chapter are not intended to represent limits or specifications but are strictly informational. Because of the variety of microbiological sampling equipment and methods, it is not scientifically reasonable to suggest that the attainment of these values guarantees microbial control or that excursions beyond values in this chapter indicate a loss of control. The assessment of risks associated with manufacturing environments must be made over a significant period; and in each case, contamination recovery rate criteria should be established on the basis of a review of actual findings within the facility. The objective of each user should be to use contamination recovery rates to track ongoing performance and to refine the microbiological control program to foster improvements. When optimum operational conditions are achieved within a facility, contamination recovery rate levels typically become relatively stable within a normal range of variability.

無菌操作環境の微生物状態を評価し管理するのに、色々なサンプリング方法を使うことができる。現時点では、ほとんどのサンプリング方法は微生物の培養と回収に頼っている。これら微生物は環境ストレスによる損傷を受けていることが多く、回収が難しいことがある。空気、表面、人体のモニタリングに対する数値が本チャプターに記載されている。これらの数値は制限値とか規格として表示したのではなく、厳密に言えば、情報として記載したものである。微生物のサンプリング装置やサンプリング方法には色々なものがある。そ

のため、「これらの数値内に納まったから微生物管理を保証」あるいは「これらの数値を一時超えたから管理状態にない」ということは、科学的にみて合理的ではない。製造環境に係わるリスクの評価は、相当期間にわたり行うべきである。そして、各事例ごとに、その施設における実調査結果のレビューに基づき汚染回収率の基準を設定すべきである。汚染回収率を用いて微生物管理の性能を継続監視し、微生物管理方法の調整を行い無菌操作の改善を促進するのを目的とすべきである。ある施設において無菌操作条件が最適化された場合、汚染回収率はおおむね比較的安定し、バラツキは通常の範囲に収まる。

箇条書:

- ① 微生物モニタリングの多くは培養法である
- ② 環境ストレスを受けた微生物は培養しにくいことがある
- ③ 本チャプターに記載された微生物モニタリングの数値は、制限値や規格ではなく、参考値である
- ④ 微生物のサンプリング装置やサンプリング方法には色々なものがある
- ⑤ 「数値内に納まったから微生物管理を保証」ということは、科学的にみて合理的ではない
- ⑥ 「これらの数値を一時超えたから管理状態にない」ということは、科学的にみて合理的ではない
- ⑦ 製造環境に係わるリスクの評価は、相当期間にわたり行うべきである
- ⑧ 汚染回収率の基準は、各事例ごとに相当期間モニタリングして決定すること
- ⑨ 汚染回収率を継続監視し、微生物管理方法の調整を行い無菌操作を改善する
- ⑩ 無菌操作条件が最適化されると、汚染回収率は比較的安定し、バラツキは通常の範囲に収まる

There are no standard methods for air sampling, and available literature indicates that air-sampling methods are highly variable. It should not be assumed that similar sample volumes taken by different methods will produce similar rates of recovery. Many factors can affect microbial recovery and survival, and different air sampler suppliers may have designed their systems to meet different requirements. Also, sample-to-sample variation in microbial sampling can be extensive. Limited data are available regarding the accuracy, precision, sensitivity, and limits of detection of monitoring methods used in the aseptic processing of healthcare products.

エアースAMPLING方法の標準はなく、また、エアースAMPLING方法は非常に様々であると記載した文献がある。異なる方法でサンプルした場合には、同様のサンプル量が同様の回収率となると考えてはいけな。微生物の回収と生存には多くの要因が影響する。また、エアサンプラのメーカー各社は、異なる要件で自分たちのシステムを設計したかもしれない。さらに、微生物サンプリングにおいては、サンプル間変動が相当大きくなり得る。ヘルスケア製品の無菌操作に使用されるモニタリング方法の真度、精度、感度、検出限界に関するデータは限られている。

箇条書:

- ① エアースAMPLINGの方法は様々であり、標準というものはない
- ② 異なるサンプラを使用すると微生物回収率は異なる
- ③ 微生物の回収と生存には多くの要因が影響する
- ④ 各社のエアースAMPLラの仕様は同じではない

- ⑤ 微生物サンプリングのサンプル間変動は大きい
- ⑥ モニタリング方法の真度、精度、感度、検出限界に関するデータは限られている

Surface sampling methods are also not standardized. Different media are employed, and in the case of swabs, different results have been reported for wet and dry swab methods and contact plates. Replicate sample contact plates should be expected to give similar results under identical conditions, but rates of recovery have been reported to be both lower than expected and highly variable. In general, surface monitoring has been found to recover <50%, even when used with relatively high inoculum levels on standardized coupons. In actual production environments where organisms are stressed to varying degrees, recovery rates may be lower.

表面サンプリング方法も標準化されていない。異なった培地が採用されており、スワブ法の場合には湿式スワブ法と乾式スワブ法、およびコンタクトプレート法で異なった結果が報告されている。複製したコンタクトプレートは同一条件において同様の結果となるはずであるが、微生物回収率は予想以下であり、変動も大きかった。一般的に言って、標準クーポン上で比較的強く接種した場合でも、表面モニタリングの微生物回収率は 50%未満であることが判っている。実際の製造環境では微生物は様々な程度にストレスを受けており、微生物回収率は低くなるであろう。

箇条書:

- ① 表面サンプリング方法も標準化されていない
- ② 異なった培地が使われている
- ③ 湿式スワブ、乾式スワブ、コンタクトプレート法の結果は異なる
- ④ 複製コンタクトプレートを同一条件で使用した場合、回収率は予想以下で変動も大きかった
- ⑤ 一般的に、表面モニタリングの微生物回収率は 50%未満
- ⑥ 製造現場では微生物がストレスをおけており、回収率は低くなるとであろう

ADVANCED ASEPTIC TECHNOLOGIES

高度な無菌操作技術

Advanced aseptic technologies can be defined as those that do not rely on the direct intervention of human operators during processing. At present, technologies such as isolators, blow/fill/seal, and closed RABS (designs that are never opened during setup or operation) may be considered advanced aseptic technologies, provided that direct intervention by gowned personnel is disallowed during processing. In recent years, isolator technology has found a broad acceptance in healthcare manufacturing. Isolators and closed RABS effectively separate the operator from the critical aseptic processing environment. Because these systems substantially reduce contamination risk, their microbiological control levels are higher than those of conventional clean rooms that have the same particulate air classification level

高度な無菌操作技術とは、工程処理中に作業者が直接介入する必要がないものであると定義できる。現時点では、アイソレータ、ブローフィルシール、およびクローズド RABS（つまり、セットアップ中あるいは操作中に決して開口しない設計のもの）が高度な無菌操作技術と考えられる。高度な無菌操作技術においては、工程処理中に更衣した職員が直接介入することは許されない。近年、アイソレータ技術はヘルスケア製造において広く受け入れられている。アイソレータおよびクローズド RABS は、作業員を重要な無菌操作環境から効果的に分離できる。これらのシステムは汚染リスクを大幅に減少させるので、これらの微生物管理レベルは同じ清浄度区分の従来型クリーンルームより良好である。

箇条書：

- ① 高度な無菌操作技術とは、工程処理中に作業者が直接介入する必要がないものである
- ② アイソレータ、ブローフィルシール、およびクローズド RABS が 高度な無菌操作技術である
- ③ 高度な無菌操作技術においては、更衣した職員といえども工程処理中に直接介入してはいけない
- ④ アイソレータは近年広く受け入れられている
- ⑤ 高度な無菌操作技術においては、作業者は無菌操作環境から効果的に分離されている
- ⑥ 高度な無菌操作技術における微生物管理レベルは、同じ清浄度区分の従来型クリーンルームより良好である

CLEAN ROOM CLASSIFICATION FOR ASEPTIC PROCESSING ENVIRONMENTS

無菌操作環境のクリーンルーム等級

The design and construction of clean rooms and controlled environments are covered in ISO 14644. This standard defines the performance of a clean environment with respect to the concentration of total particulates per unit volume. ISO 14644 stipulates the total particulate counts allowed for a clean environment to meet the defined air quality classifications. The reader is referred to this standard regarding the design characteristics and certification of clean environments.

クリーンルームおよび管理環境の設計と構造は ISO 14644 で取り上げられている。この規格は、単位容量あたりの総微粒子濃度により清浄環境の性能を規定している。規定した空気品質等級を達成するために、ISO 14644 はある清浄環境に許容される総粒子数を規定している。清浄環境の設計特性と認定については、この規格を参照されたい。

箇条書：

- ① クリーンルームの設計と構造は ISO 14644 で取り上げられている
- ② ISO 14644 は、単位容量あたりの総微粒子濃度で清浄環境の性能を規定している

Pharmaceutical manufacturers are concerned with nonviable particulate contamination in injectable products (see *Particulate Matter in Injections* { 788 }). Unlike microbial contamination in which experimental data suggest that humans are the only significant source, nonviable particulates can arise both from humans and from processing equipment. Studies indicate that gowned humans slough particulate and microbial contamination at a rather consistent rate. However, the relationship between microbial (viable) and nonviable contamination does not hold for particulates shed by processing equipment. Where equipment is the primary source of particulate matter, the resulting particulates are essentially all nonviable.

医薬品製造者は、注射剤中の非生物微粒子汚染に関心がある。(USP<788> Particulate Matter in Injections 参照) 微生物汚染においては人間が唯一の大きな汚染源であることが実験データにより示唆されているが、非生物微粒子は人間および生産機器の両方から発生しうる。更衣した人から微粒子と微生物の汚染がかなり一定の比率ではがれ落ちることが研究により示唆されている。しかし、微生物と非生物微粒子の汚染のこの関係は、生産機器が発する粒子には当てはまらない。機器が主な微粒子発生源である場合には、結果としての微粒子は本質的にすべて非生物である。

箇条書:

- ① 実験データによると、微生物汚染源の主なものは人間である
- ② 非生物微粒子は人間および生産機器の両方から発生しうる
- ③ 研究によると、更衣した人から発する非生物微粒子と微生物はかなり一定の比率である
- ④ 生産機器が発する微粒子は非生物である

The argument that if fewer total particulates are present in a clean room, it is less likely that airborne microorganisms will be present is true only if human operators are the source of particulate matter. It is not possible to clearly distinguish between background total particulate contamination generated largely by mechanical operations and the total particulates contributed by personnel. Thus, it is both commonplace and proper for clean-room environmental monitoring programs to consist of both a total particulate component and a microbiological component. [Table 1](#) describes the clean room classifications commonly used in the pharmaceutical industry. The pharmaceutical industry uses clean rooms of ISO 14644 Classes 5–8.

クリーンルームに存在する総微粒子が非常に少ない場合、浮遊菌はほとんど存在しないであろうという議論がある。この議論は微粒子の発生源が作業者であるという場合のみに成り立つ。主に機械操作により発生した総バックグラウンド微粒子汚染と、人間が寄与した総微粒子汚染とを明確に区別するのは不可能である。従って、クリーンルームの環境モニタリングを総微粒子要素と微生物要素の両方で構成するのが、普通かつ適切である。表1は医薬品業界において一般に使用されているクリーンルーム等級の説明である。医薬品業界では、ISO 14644 のクラス 5 からクラス 8 が使用されている。

箇条書:

- ① 微粒子が非常に少ないクリーンルームにおいては、浮遊菌はほとんど存在しないだろうという議論がある。この議論は人間が粒子発生源である場合においてのみ成り立つ
- ② 機械により発生した微粒子と人間による微粒子を区別するのは不可能である
- ③ 従って、クリーンルームの環境モニタリングは微粒子と微生物の両方で行うのが適切である
- ④ 医薬品業界では、ISO 14644 のクラス 5 からクラス 8 が使用されている

Table 1. Airborne Total Particulate Cleanliness Classes^a

ISO Class ^b	Particles $\geq 0.5 \mu\text{m}/\text{m}^3$
ISO 5	3520
ISO 6	35,200
ISO 7	352,000
ISO 8	352,000,000

^a Taken from ISO International Standard 14644 Part 1, published by the International Organization for Standardization, May 1999.

^b The four ISO 14644-1 classes correspond closely to former U.S. Federal Standard 209E classifications. The relationships are ISO 5/Class 100, ISO 6/Class 1000, ISO 7/Class 10,000, ISO 8/Class 100,000.

表 1. 空中浮遊総粒子清浄度クラス^a

ISO Class ^b	Particles $\geq 0.5 \mu\text{m}/\text{m}^3$
ISO 5	3520
ISO 6	35,200
ISO 7	352,000
ISO 8	352,000,000

^a 出典: 国際規格 ISO 14644 Part 1, 国際標準化機構 1999 年 5 月発行

^b この ISO 14644 の4クラスは、米国連邦規格 209E の等級に厳密に対応している。その対応は、are ISO 5/Class 100, ISO 6/Class 1000, ISO 7/Class 10,000, and ISO 8/Class 100,000 である。

Isolators and closed RABS present a different picture, because personnel are excluded from the aseptic processing environment and manipulations are made using glove-and-sleeve assemblies and half-suits made of thick, flexible plastic (such as polyvinyl chloride or synthetic rubber). Personnel have far less effect on the microbial quality of the environment within an isolator enclosure than in clean room environments. Some users have chosen to operate RABS in a manner that allows open, direct human intervention. In an open operational state, these systems are more similar in operation to conventional clean rooms and therefore cannot be considered advanced aseptic processing systems. In an open RABS, the ability of operators to adversely affect microbial contamination risk is higher than with closed RABS or isolators.

アイソレータと RABS は異なった様相を呈する。アイソレータと RABS においては人間は無菌操作環境から排除されており、厚くて柔軟なプラスチック製のグローブと袖のアッセンブリやハーフスーツを使用して操作する。プラスチックとしては、ポリ塩化ビニールや合成ゴムなどである。微生物品質への人の影響は、アイソレータ筐体内ではクリーンルームにくらべ相当少ない。ユーザーによっては、RABS を開口し人による直接介入を許している。開口操作している状態では、アイソレータ、RABS とも従来型のクリーンルームと非常に似通ったものとなり、高度無菌操作システムとは見なせない。オープン RABS においては、作業員が微生物汚染リスクを悪化させる可能性は、クローズド RABS やアイソレータより高くなる。

箇条書：

- ① アイソレータと RABS においては人間は無菌操作環境から排除されている
- ② アイソレータと RABS においては、グローブやハーフスーツを使用して操作する
- ③ 微生物品質への人の影響は、アイソレータ筐体内ではクリーンルームより相当少ない
- ④ ユーザーによっては、RABS を開口し人による直接介入を許している
- ⑤ 開口操作しているアイソレータや RABS は、従来型のクリーンルームと同じようなものである
- ⑥ 開口操作しているアイソレータや RABS は、高度無菌操作システムとはみなせない
- ⑦ オープン RABS における作業員による微生物汚染リスクは、クローズド RABS やアイソレータより高い

Specifications for air changes per hour and air velocities are not included in ISO 14644, nor were they included in Federal Standard 209E. Typically, ISO Class 8/Class 100,000 rooms are designed to provide a minimum of 20 air changes per hour; ISO Class 7/Class 10,000 rooms are designed to provide more than 50 air changes per hour; and ISO Class 5/Class 100 clean rooms provide more than 100 air changes per hour. The design of some facility criteria may differ. By diluting and removing contaminants, large volumes of air are likely to reduce airborne contamination in aseptic production. Optimum conditions vary considerably, depending on process characteristics, particularly the amount of contamination derived from personnel. These specifications should be used only as a guide in the design and operation of clean rooms, because the precise correlations among air changes per hour, air velocity, and microbial control have not been satisfactorily established experimentally.

時間あたりの換気回数および気流速度の仕様は ISO 14644 には記載されておらず、米国連邦規格 209E にも記載されていなかった。通常、ISO Class 8/Class 100,000 の部屋は時間あたりの換気回数が 20 回以上となるよう設計し、ISO Class 7/Class 10,000 の部屋は時間あたりの換気回数が 50 回以上となるように設計し、ISO Class 5/Class 100 の部屋は時間あたりの換気回数が 100 回以上となるように設計する。施設によっては別の設計基準としているかもしれない。大量の空気で汚染を希釈し排除することにより、無菌操作製造の浮遊汚染が減少すると考えられる。プロセスの特性、特に人由来の汚染総量により、最適な条件はかなり変わる。時間あたり換気回数、気流速度および微生物管理の詳細な相関は、実験に基づいて十分に確立されていない。従って、上記の仕様は、クリーンルームの設計と操作における目安としての使用にとどめるべきである。

箇条書:

- ① 時間あたりの換気回数および気流速の仕様は ISO 14644 および FED209E に記載されていない
- ② 通常、時間あたり換気回数は、ISO クラス 8 で 20 回以上、ISO クラス 7 で 50 回以上、ISO クラス 5 で 100 回以上となるように設計する
- ③ 施設によっては別の設計基準としているかもしれない
- ④ 大量の空気で汚染を希釈し排除することにより、無菌操作製造の浮遊汚染が減少すると考える
- ⑤ プロセスの特性、特に人由来の汚染総量により、最適な条件はかなり変わる
- ⑥ 時間あたり換気回数、気流速および微生物管理の相関は確立されていない
- ⑦ 上記の換気回数は目安としての使用にとどめるべき

Manufacturers should maintain a predominantly unidirectional flow of air (either vertical or horizontal) in a staffed Class 5 clean room environment, particularly when products, product containers, and closures are exposed. In the evaluation of air movement within a clean room, studying airflow visually by smoke studies or other suitable means is probably more useful than using absolute measures of airflow velocity and change rates. Risk assessment models are another useful way of reducing contamination risk and should be considered.

作業者が存在するクラス 5 クリーンルーム、特に製品、製品容器および栓が暴露される場合には、大部分が一方向流となっている気流を維持しなければならない。一方向気流の向きは垂直でも水平でもよい。クリーンルーム内の空気の動きを評価する場合、スモークテストあるいは他の適切な方法により視覚的に空気の流れを調査するのが、空気流速や速度変化率の絶対値測定を使うより、おそらく、より有益である。リスクアセスメントも、汚染リスクを減少させる有益な手段であり、検討すべきである。

箇条書:

- ① 作業者が存在し、製品等が暴露されるクラス 5 クリーンルームでは、一方向流を維持すること
- ② 一方向気流の向きは垂直でも水平でもよい
- ③ 空気流速や速度変化率の絶対値測定より、スモークテスト等により気流の動きを視覚的に捉える方が有益である
- ④ リスクアセスメントも、汚染リスクを減少させる有益な手段であり、検討すべきである

Air velocity and change rates are far less important in isolators or closed RABS than in clean rooms because personnel are more carefully separated from the product, product containers, and closures. Air velocities substantially lower than those used in human-scale clean rooms have proved adequate in isolator systems and may be appropriate in RABS as well. In zones within isolators where particulate matter poses a hazard to product quality, predominantly vertical or horizontal unidirectional airflow can be maintained. Experience has shown that well-controlled mixing or turbulent airflow is satisfactory for many aseptic processes and for sterility testing within isolators (see *Sterility Testing—Validation of Isolator Systems* { 1208 }).

アイソレータやクローズド RABS においては、職員は製品、製品容器および栓からより注意深く分離されている。そのため、アイソレータやクローズド RABS における空気流速と変化率の重要性は、クリーンルームの場合よりずっと低い。アイソレータにおける空気風速は、人間が出入りできる大きさのクリーンルームにおいて使われている風速より相当に低くても十分であることが立証されている。これは、RABS でも成り立つであろう。アイソレータ内において、微粒子が製品品質に危害をもたらすような部分に対し、垂直方向もしくは水平方向の大部分が一方向となっている気流を維持することができる。アイソレータ内で行う多くの無菌操作および無菌試験にとって、良好に制御された混合気流もしくは乱流で十分であると経験上いえる。(USP<1208> Sterility Testing—Validation of Isolator Systems 参照)

箇条書:

- ① アイソレータやクローズド RABS では、職員は製品等から十分に分離されている
- ② 従って、アイソレータやクローズド RABS の空気流速と変化率の重要性はクリーンルームより低い
- ③ アイソレータにおける風速はクリーンルームより相当低くても十分であると立証されている
- ④ RABS における風速もクリーンルームより相当低くても十分であると思われる
- ⑤ アイソレータでは、製品品質に影響をあたえる部分を一方向気流に維持できる
- ⑥ アイソレータ内で行う無菌操作あるいは無菌試験にとって、良好に制御された混合気流もしくは乱流で経験上十分である
- ⑦ USP<1208> Sterility Testing—Validation of Isolator Systems 参照

IMPORTANCE OF A MICROBIOLOGICAL EVALUATION PROGRAM FOR CONTROLLED ENVIRONMENTS

管理環境に対する微生物評価プログラムの重要性

Monitoring of total particulate count in controlled environments, even with the use of electronic instrumentation on a continuous basis, does not provide information on the microbiological content of the environment. The basic limitation of particulate counters is that they measure particles of 0.5 μm or larger. While airborne microorganisms are not free-floating or single cells, they frequently associate with particles of 10 to 20 μm . Particulate counts as well as microbial counts within controlled environments vary with the sampling location and the activities being conducted during sampling. Monitoring the environment for nonviable particulates and microorganisms is an important control function because they both are important in achieving product compendial requirements for *Foreign and Particulate Matter* and *Sterility* under [Injections](#) { 1 }.

管理環境における総微粒子のモニタリングは、電子機器を使用して連続的に行ったとしても、微生物含有量の情報にはならない。パーティクルカウンターの基本的限界は、0.5 μm 以上の微粒子を計測する点である。浮遊菌は自由に浮遊しているのではなく、また単一細胞として存在しているのでもない。浮遊菌は往々にして 10 から 20 μm の微粒子を伴っている。管理環境における微生物数のみならず微粒子数は、サンプル場所とサンプリング中に行われていた活動により変動する。USP<1>注射剤に「Foreign and Particulate

Matter and Sterility(外来微粒子と無菌性)」が規定されている。製品公定書に記載されたこの要件を満たすうえで、非生物微粒子と微生物のモニタリングは両者とも重要である。従って、非生物微粒子環境と微生物環境をモニタリングするのは重要な管理機能である。

箇条書:

- ① 微粒子モニタリングを連続的に行っても、微生物含有量を知ることはできない
(パーティクルカウンターは微粒子を計測するだけである)
- ② 浮遊菌は自由に浮遊しているのではなく、また単一細胞として存在しているのでもない
- ③ 浮遊菌は往々にして 10 から 20 μm の微粒子を伴っている
- ④ 微生物数のみならず微粒子数は、サンプル場所とサンプリング中に行われていた活動により変動する
- ⑤ USP<1>注射剤に「外来微粒子と無菌性」が規定されている
- ⑥ 製品公定書に記載された外来微粒子と無菌性の要件を満たすうえで、非生物微粒子と微生物のモニタリングは両者とも重要である
- ⑦ 従って、非生物微粒子環境と微生物環境をモニタリングするのは重要な管理機能である

Total particulate monitoring may provide a better means of evaluating the overall quality of the environment in isolators and closed RABS than in most conventional clean rooms. The superior exclusion of human-borne contamination provided by an isolator results in an increased proportion of nonviable particulates. Total particulate counting in an isolator is likely to provide an immediate indicator of changes in contamination level. Microbial monitoring programs should assess the effectiveness of cleaning and sanitization practices by and of personnel who could have an impact on the bioburden. Because isolators are typically decontaminated using an automatic vapor or gas generation system, microbial monitoring is much less important in establishing their efficiency in eliminating bioburden. These automatic decontamination systems are validated directly, using an appropriate biological indicator challenge, and are controlled to defined exposure parameters during routine use to ensure consistent decontamination.

総微粒子モニタリングは環境の総合品質評価ツールとなりうるが、従来型クリーンルームの環境評価より、アイソレータおよびクローズド RABS の環境評価の場合の方がよりよい評価ツールとなる。アイソレータは人由来汚染の排除能力が優れており、非生物微粒子の割合が多くなる。アイソレータにおける総微粒子は汚染レベルの変化を直ちに示しそうである。バイオバーデンに影響しうる要員によるクリーニングとサニタイゼーション実施の有効性は、微生物モニタリングプログラムにおいて評価すべきである。通常、アイソレータは自動蒸気/ガス発生システムを使用して除染されている。従って、アイソレータのバイオバーデン除去能力を確立させるのに、微生物モニタリングはさほど重要ではない。これらの自動除染システムは、適切なバイオリジカルインジケータによるチャレンジ試験により直接バリデートされている。また、日常の使用においては規定の暴露パラメータなるように制御されており、一貫した除染性能を保証している。

箇条書:

- ① 総微粒子モニタリングは環境の総合品質評価ツールとなりうる

- ② 総微粒子モニタリングは従来型クリーンルームの環境評価の場合より、アイソレータおよびクローズド RABS の環境評価の場合の方がよりよい評価ツールとなる
- ③ アイソレータは人由来汚染の排除能力が優れており、非生物微粒子の割合が多くなる
- ④ アイソレータにおける総微粒子は汚染レベルの変化を直ちに示しそうである
- ⑤ 要員によるクリーニングとサニタイゼーション実施の有効性は、微生物モニタリングにより評価すべきである
- ⑥ 通常、アイソレータは自動蒸気/ガス発生システムを使用して除染されている
- ⑦ その除染能力は BI を使用したチャレンジ試験によりバリデートされている。
- ⑧ また、規定の暴露条件となるよう除染は自動制御されており、一貫した除染性能が保証される
- ⑨ 従って、アイソレータの除染能力維持するために微生物モニタリングする意味はあまりない

Microbial monitoring cannot and need not identify and quantify all microbial contaminants in these controlled environments. Microbiological monitoring of a clean room is technically a semiquantitative exercise, because a truly quantitative evaluation of the environment is not possible, given the limitations in sampling equipment. Both the lack of precision of enumeration methods and the restricted sample volumes that can be effectively analyzed suggest that environmental monitoring is incapable of providing direct quantitative information about sterility assurance. Analysts should remember that no microbiological sampling plan can prove the absence of microbial contamination, even when no viable contamination is recovered. The absence of growth on a microbiological sample means only that growth was not discovered; it does not mean that the environment is free of contamination.

微生物モニタリングは、管理環境内の全ての微生物汚染を同定・定量できるものではないし、またその必要もない。サンプリング装置の限界を考慮すると、環境を真に定量評価するのは不可能である。従って、クリーンルームの微生物モニタリングは、技術的には半定量である。計数方法の精度が欠如しており、また 効果的に分析できるサンプル量が限られているため、環境モニタリングから無菌保証に関する直接的な定量情報をうるできないと考えられる。どんな微生物サンプリング計画を使おうとも、「生物汚染が回収されなかったから微生物汚染はなかった」とは言い切れないことを忘れてはいけない。微生物サンプルからなにも生育しなかったということは、生育が発見されなかったということの意味するだけである。環境汚染がなかったということの意味するものではない。

箇条書:

- ① 微生物モニタリングは、全ての微生物汚染を同定・定量できるものではないし、またその必要もない
- ② サンプリング装置には限界があるので、環境を定量評価するのは不可能である
- ③ 従って、クリーンルームの微生物モニタリングは、半定量である
- ④ 微生物モニタリングは計数精度が欠如しており、またサンプリング量には限界がある
そのため、無菌保証に関する直接的な定量情報は、環境モニタリングから得られない
- ⑤ 微生物汚染が回収されなかったということは、微生物の成育が発見できなかっただけである。微生物汚染がなかったということではない

Routine microbial monitoring should provide sufficient information to demonstrate that the aseptic processing environment is operating in an adequate state of control. The real value of a microbiological monitoring program lies in its ability to confirm consistent, high-quality environmental conditions at all times. Monitoring programs can detect changes in the contamination recovery rate that may be indicative of changes in the state of control within the environment.

日常の微生物モニタリングは、無菌操作環境が適切な管理状態にあることを立証できる十分な情報を提供しなければならない。微生物モニタリングの真の価値は、環境が常に一貫した高品質な状態であることを裏付ける能力にある。モニタリングプログラムは汚染回収率の変化を検出できる。汚染回収率の変化は、環境の管理状態が変化したことの指標となろう。

箇条書：

- ① 微生物モニタリングのデータにより、無菌操作環境が適切な管理状態にあることを立証できること
- ② 微生物モニタリングの価値は、環境が高品質な状態であることを裏付ける能力にある
- ③ 微生物モニタリングは、汚染回収率の変化を検出できる
- ④ 汚染回収率の変化は、環境の管理状態が変化したことを示す

Environmental microbial monitoring and analysis of data by qualified personnel can assist in ensuring that a suitable state of control is maintained. The environment should be sampled during normal operations to allow the collection of meaningful, process-related data. Microbial sampling should occur when materials are in the area, processing activities are ongoing, and a full complement of personnel is working within the aseptic processing environment.

環境微生物モニタリングと有資格者によるデータ解析は、適切な管理状態が維持されていることを保証する助けになる。重要かつプロセスに関連したデータを収集できるように、環境サンプリングは通常運転時に行うべきである。微生物サンプリングは、材料が所定の区域に置かれており、製造が進行しており、かつ全要員が無菌操作環境において作業している時に、行うべきである。

- ① 環境微生物モニタリングは、適切な管理状態が維持されていることを保証する助けになる
- ② 環境サンプリングは通常運転時に行うべきである
- ③ 微生物サンプリングは、以下の場合に実施すること
 - ・材料が所定の区域に置かれている
 - ・製造が進行中
 - ・全要員が無菌操作環境において作業している

Microbial monitoring of manufacturing clean rooms, RABS, and isolators should include compressed gases, surfaces, room or enclosure air, and any other materials and equipment that might produce a risk of contamination. The analysis of contamination trends in an aseptic environment has long been

a component of the environmental control program. In aseptic processing environments and particularly in ISO Class 5 environments, contamination is infrequently observed. In isolator enclosures, contamination is rarer still because of superior exclusion of human-borne contamination. Because of the criticality of these environments, even minor changes in the contamination incident rates may be significant, and manufacturers should frequently and carefully review monitoring data. In less critical environments, microbial contamination may be higher, but changes in recovery rates should be noted, investigated, and corrected. Isolated recoveries of microorganisms should be considered a normal phenomenon in conventional clean rooms, and these incidents generally do not require specific corrective action, because it is almost certain that investigations will fail to yield a scientifically verifiable cause. Because sampling itself requires an aseptic intervention in conventional clean rooms, any single uncorrelated contamination event could be a false positive.

製造のクリーンルーム、RABS およびアイソレータの微生物モニタリングは、圧縮ガス、表面、部屋あるいは筐体内の空気、および汚染リスクを生じる可能性のある他のいかなる材料や機器を含まねばならない。無菌操作環境における汚染トレンドの解析は、長らく環境制御プログラム的一部分であった。無菌操作環境、および特に ISO 5 環境においては、汚染がまれにみられる。アイソレータは人由来汚染の排除性能が優れているため、その筐体内の汚染は常にさらにまれである。これらの環境は厳しいので、汚染発生率 (contamination incident rate) の小さな変化であっても重大なこともかもしれないので、モニタリングデータを頻繁かつ注意深くレビューすること。さほど厳しくない環境においては、微生物汚染はより高いであろうが、回収率の変化には注意し、調査し、そして修正すること。従来型のクリーンルームにおいて微生物が分離回収されるのは、通常のことと捉えるべきである。調査したところで、科学的に検証可能な原因を見つけることはほとんどないので、特定の是正処置は通常必要としない。従来型クリーンルームの場合、サンプリング自身が無菌介入を必要とするので、単発の相関のない汚染事象は偽陽性かもしれない。

箇条書:

- ① 微生物モニタリングは、圧縮ガス、表面、部屋あるいは筐体内の空気、その他汚染源となりうる材料や機器を含むこと
- ② 汚染トレンドの解析は環境制御プログラム的一部分であった
- ③ 無菌操作環境、および特に ISO 5 環境(クリーンルーム?)においては、汚染がまれにみられる
- ④ アイソレータは人由来汚染の排除性能が優れており、その筐体内の汚染はさらにまれである
- ⑤ クリティカルな環境では、汚染発生率(contamination incident rate)の小さな変化であっても重大なこともかもしれない。モニタリングデータを頻繁かつ注意深くレビューすること
- ⑥ 重要度が低い環境の微生物汚染は高いであろうが、回収率の変化には注意し、調査し、そして修正すること
- ⑦ 従来型のクリーンルームにおいて微生物が分離回収されることは普通である。調査したところで、科学的に検証可能な原因を見つけることはほとんどないので、特定の是正処置は通常必要としない
- ⑧ 従来型クリーンルームの場合、サンプリング自身が無菌介入を必要とするので、単発の相関のない汚染事象は偽陽性かもしれない

When contamination recovery rates increase from an established norm, process and operational investigation should take place. Investigations will differ depending on the type and processing of the product manufactured in the clean room, RABS, or isolator. Investigation should include a review of area maintenance documentation; sanitization/decontamination documentation; the occurrence of nonroutine events; the inherent physical or operational parameters, such as changes in environmental temperature and relative humidity; and the training status of personnel.

汚染回収率が所定の基準値を越した場合、工程と操作を調査しなければならない。クリーンルーム、RABS、あるいはアイソレータにおいて生産されている製品のタイプと工程により、調査内容は異なる。調査には次のレビューを含むこと。区域の保守記録、サニタイゼーション/除染記録、非ルーチン事象の発生、周囲温度変化と相対湿度変化のような固有の物理的パラメータあるいは操業のパラメータ、人員の教育状況

箇条書：

- ① 汚染回収率が所定の基準値を越した場合、工程と操作を調査すること
- ② 製品のタイプと工程により、調査内容は異なる
- ③ 調査には次のレビューを含むこと。

区域の保守記録、サニタイゼーション/除染記録、非ルーチン事象の発生、周囲温度変化と相対湿度変化のような固有の物理的パラメータあるいは操業のパラメータ、人員の教育状況

In closed RABS and isolator systems, the loss of glove integrity or the accidental introduction of material that has not been decontaminated are among the most probable causes of detectable microbial contamination. Following the investigation, actions should be taken to correct or eliminate the most probable causes of contamination. Because of the relative rarity of contamination events in modern facilities, the investigation often proves inconclusive. When corrective actions are undertaken, they may include reinforcement of personnel training to emphasize acceptable gowning and aseptic techniques and microbial control of the environment. Some additional microbiological sampling at an increased frequency may be implemented, but this may not be appropriate during aseptic processing because intrusive or overly intensive sampling may entail an increased contamination risk. When additional monitoring is desirable, it may be more appropriate during process simulation studies. Other measures that can be considered to better control microbial contamination include additional sanitization, use of different sanitizing agents, and identification of the microbial contaminant and its possible source.

クローズド RABS やアイソレータにおいて微生物汚染が検出された場合、もっともありそうな原因として、グローブの完全性逸失、あるいは未除染物質の不測の持ち込みなどがある。調査に引き続き、それら原因の是正あるいは除去を行うこと。近年の施設においては汚染事象は比較的まれであるので、調査は多くの場合未解決となる。是正を行う場合、好ましい更衣と無菌操作技術に重点をおいた要員教育、および環境微生物管理の強化を是正に含めるとよい。煩わしいあるいは過度な徹底サンプリングは、汚染リスクの増大をまねくかもしれない。従って、頻度をあげて微生物サンプリングを追加しようとするかもしれないが、無菌操

作中にそうするのは得策とは言えないであろう。追加のモニタリングを行いたい場合、プロセスシミュレーションテスト中に行う方がよい。微生物汚染をよりよく管理するには、追加のサニタイゼーション、他の消毒剤の使用、微生物汚染物質とその汚染源の同定などの方法が検討に値する。

箇条書：

- ① クローズド RABS やアイソレータにおける微生物汚染の原因としては、グローブの完全性逸失、あるいは未除染物質の不測の持ち込みなどの可能性が高い
- ② 原因調査を行い、原因の是正あるいは除去を行うこと
- ③ 近年の施設においては汚染はまれであるので、原因調査は多くの場合未解決となる
- ④ 更衣と無菌操作技術の教育、および環境微生物管理の強化とを是正に含めるとよい
- ⑤ 過度に徹底サンプリングすると、汚染リスクが増大してしまうかもしれない
- ⑥ 無菌操作中に追加のサンプリングを行うのは得策ではない。
追加のサンプリングはプロセスシミュレーションテスト中に行う方がよい
- ⑦ 微生物汚染管理を強化するには、追加のサニタイゼーション、他の消毒剤の使用、微生物汚染物質とその汚染源の同定などを検討するとよい

In any aseptic environment, conventional or advanced, the investigation and the rationale for the course of action chosen as a result of the investigation must be carefully and comprehensively documented.

従来型であろうと高度型であろうとどのような無菌操作環境においても、調査および調査の結果として採用した行動方針の根拠は注意深く総合的に記載しなければならない。

箇条書：

- ① 微生物汚染の調査結果と対策の根拠はしっかりと記録しておくこと

PHYSICAL EVALUATION OF CONTAMINATION CONTROL EFFECTIVENESS

汚染制御の有効性に対する物理的評価

Clean environments should be certified as described in ISO 14644 in order to meet their design classification requirements. The design, construction, and operation of clean rooms vary greatly, so it is difficult to generalize requirements for parameters such as filter integrity, air velocity, air patterns, air changes, and pressure differential. In particularly critical applications such as aseptic processing, a structured approach to physical risk assessment, may be appropriate.

設計等級要求を満たすには、清浄環境を ISO 14644 に記載されたように検査すること。クリーンルームの設計、構造および操作はかなり様々であるので、フィルター完全性、風速、気流パターン、換気、差圧など

のパラメータに対する要件を一般化するのは難しい。特に、無菌操作のような厳しいアプリケーションにおいては、体系的アプローチにより物理的リスクアセスメントを行うのが適切であろう。

箇条書:

- ① 清浄環境は ISO 14644 に従い格付けする
- ② クリーンルームの設計、構造および操作は様々であるので、フィルター完全性、風速、気流パターン、換気、差圧などのパラメータを一般化するのは難しい
- ③ 無菌操作環境においては、体系的アプローチにより物理的リスクアセスメントを行うのがよい

One such method has been developed by Ljungqvist and Reinmüller. This method, known as the L-R method, challenges the air ventilation system by evaluating both airflow and the ability of an environment to dilute and remove airborne particles. In the L-R method, a smoke generator allows analysts to visualize the air movements throughout a clean room or a controlled environment, including vortices or turbulent zones, and the airflow pattern can be fine-tuned to minimize these undesirable effects. Following visual optimization of airflow, particulate matter is generated close to the critical zone and sterile field. This evaluation is done under simulated production conditions but with equipment and personnel in place. This type of test can also be used to evaluate the ability of RABS and isolator systems, particularly around product exit ports in these systems, to resist the effects of contamination.

Ljungqvist と Reinmüller が物理的リスクアセスメントの方法をひとつ開発した。この方法は L-R メソッドとして知られており、気流の評価と浮遊微粒子を希釈排除する能力の評価の両方により、換気システムのチャレンジ試験を行うものである。L-R メソッドにおいては、クリーンルームあるいは管理環境をとおり空気の動きを、渦および乱流がある区域も含んでスモーク発生器により視覚化する。気流パターンを微調整し、渦および乱流などの好ましくない影響を最小化できる。気流を視覚により最適化した後、重要なゾーンと無菌場所に微粒子を発生させてみる。この評価は生産シミュレーション状態で行うが、機器と人員は所定の状態とする。このタイプのテストにより、RABS とアイソレータ、特にそれらの製品排出口まわりの耐汚染能力を評価することができる。

箇条書:

- ① Ljungqvist と Reinmüller が無菌操作環境を評価する L-R メソッドを開発した
- ② スモーク発生器により気流を視覚化し、視覚による微調整を行い渦および乱流を最小にする
- ③ 重要な部分に微粒子を発生させ、浮遊微粒子を希釈排除する能力を評価する
- ④ 微粒子発生試験は、生産シミュレーション状態で行うが、機器と人員は所定の生産状態とする
- ⑤ RABS やアイソレータの製品排出口まわりの耐汚染能力を評価することができる。

Visual evaluation of air movement within clean rooms is a subjective process. Complete elimination of turbulence or vortices is not possible in operationing clean rooms that contain personnel and equipment. Air visualization is simply one step in the effort to optimize clean room operations and is

not a definitive pass/fail test, because acceptable or unacceptable conditions are not readily definable.

クリーンルーム内の空気の動きを視覚評価するのは主観的な作業となる。作業員と機器が存在している生産中のクリーンルームにおいて、乱流や渦を完全に除去することはできない。空気を視覚化するのはクリーンルーム操作の最適化活動の1ステップに過ぎない。適/不適の条件を簡単に決めることができないので、空気の視覚化は合否を決めるようなテストとはならない。

箇条書:

- ① クリーンルーム内の気流を視覚評価するのは主観的な作業であり、適/不適の条件を簡単に決めることはできない
- ② 作業員と機器が存在している生産中のクリーンルームでは、乱流や渦を完全に除去できない
- ③ 気流の視覚化によりクリーンルーム操作を最適化できるが、合否を決めるようなテストとはならない。

Proper testing and optimization of the physical characteristics of the clean room or isolator are essential before implementation of the microbiological monitoring program. Assurance that the clean room or isolator is in compliance with its predetermined engineering specifications provides confidence that the ability of the facility systems and operating practices to control the bioburden and nonviable particulate matter are appropriate for the intended use. These tests should be repeated during routine certification of the clean room or advanced aseptic processing systems, and whenever significant changes are made to the operation, such as personnel flow, equipment operation, material flow, air-handling systems, or equipment layout.

微生物モニタリングプログラムを実施する前に、クリーンルームもしくはアイソレータの物理特性を適切にテストし最適化しておく必要がある。クリーンルームあるいはアイソレータが規定の工学的仕様(=物理的特性?)に適合しているという保証があれば、施設の能力と、バイオバーデンおよび非生物粒子を管理する操作実務とが目的の用途に適していると確信できる。クリーンルームあるいは高度無菌操作システムの定期検査において、これらの物理的テストを繰り返すこと。また、人の流れ、機器操作、材料の流れ、空気操作システムあるいは機器レイアウトなど、運用に大きな変更が加えられた場合にはいつでもこれらの(物理的特性?)テストを繰り返すこと。

- ① 微生物モニタリングを開始する前に、クリーンルームもしくはアイソレータの物理特性を最適化しておくこと
- ② クリーンルームあるいはアイソレータが規定の工学的仕様(=物理的特性?)に適合しているという保証があれば、以下を確信できる
 - ・施設の能力が目的の用途に適合している
 - ・微生物および微粒子を制御する操作実務が目的の用途に適合している
- ③ クリーンルームあるいは高度無菌操作システムの定期検査において、これらの(物理的特性?)テストを実施すること

- ④ 人の流れ、機器操作、材料の流れ、空気操作システムあるいは機器レイアウトなど、運用に大きな変更があった場合、これらの(物理的特性?)テストを実施すること

TRAINING OF PERSONNEL

職員の教育

Because good personnel performance plays an essential role in the control of contamination, proper training and supervision are central to contamination control. Aseptic processing is the most critical activity conducted in microbiological controlled environments, and manufacturers must pay close attention to details in all aspects of this endeavor. Rigorous discipline and strict supervision of personnel are essential in order to ensure a level of environmental quality appropriate for aseptic processing.

汚染を制御するうえで職員の能力は重要な役割を果たすので、適切な教育と指導は汚染制御の要となる。無菌操作は微生物管理環境で行われる最も厳しい作業である。無菌操作のあらゆる面の詳細に対し、周到な注意を払わねばならない。厳格な規律と職員に対する厳しい指導は、無菌操作に適した環境品質の確保に必須である。

箇条書:

- ① 汚染制御に職員の能力は重要であるので、職員の教育と指導は要となる
- ② 無菌操作は微生物管理環境で行われる最も厳しい作業である。無菌操作のあらゆる詳細に対し、周到な注意を払うこと
- ③ 厳格な規律と職員に対する厳しい指導は、無菌操作に適した環境品質の確保に必須である

Training of all personnel working in controlled environments is critical. This training is equally important for personnel responsible for the microbial monitoring program, because contamination of the clean working area could inadvertently occur during microbial sampling. In highly automated operations, monitoring personnel may be the employees who have the most direct contact with the critical surfaces and zones within the processing area. Microbiological sampling has the potential to contribute to microbial contamination caused by inappropriate sampling techniques or by placing personnel in or near the critical zone. A formal training program is required to minimize this risk. This training should be documented for all personnel who enter controlled environments. Interventions should always be minimized, including those required for monitoring activities; but when interventions cannot be avoided, they must be conducted with aseptic technique that approaches perfection as closely as possible.

管理環境において作業している全職員に対する教育は重要である。微生物サンプリング中に清浄な作業区域の汚染がうかつにも起こりうるので、この教育は微生物モニタリングプログラムに責任を持つ職員にとっても同様に重要である。生産工程が高度に自動化されている場合、モニタリングを行う職員は、生産区域の

重要な表面と空間にもっとも直接接触する人となろう。不適切なサンプリング技術もしくは職員がクリティカルな空間に立ち入ったか近づいたことによる微生物汚染は、微生物サンプリングによりもたらされることがある。リスク低減のためには正規の教育プログラムが必要である。この教育は、管理環境に入る全職員に対し文書化しておくこと。モニタリング作業において必要とされる介入を含み、介入は常に最小化すべきである。介入を避けられない場合には、可能な限り完璧な無菌技術を使って介入すること。

箇条書：

- ① 管理環境で作業している全職員に対する教育は重要である
- ② 微生物モニタリング担当者に対しても教育は重要である
- ③ 生産が高度に自動化されている場合、クリティカルな部分に一番接するのはモニタリング担当者
- ④ 不適切なサンプリング技術により微生物汚染が発生することがある
- ⑤ 従って、微生物サンプリングが微生物汚染の原因となりうる
- ⑥ 微生物汚染リスク低減のためには、管理環境に入る全職員に対する教育が必要
- ⑦ 無菌環境への介入は最小限にすべき
- ⑧ 介入せざるを得ない場合には、可能な限り完璧な無菌技術を使うこと

Management of the facility must ensure that personnel involved in operations in clean rooms and advanced aseptic processing environments are well versed in relevant microbiological principles. The training should include instruction about the basic principles of aseptic technique and should emphasize the relationship of manufacturing and handling procedures to potential sources of product contamination. Those supervising, auditing, or inspecting microbiological control and monitoring activities should be knowledgeable about the basic principles of microbiology, microbial physiology, disinfection and sanitation, media selection and preparation, taxonomy, and sterilization. The staff responsible for supervision and testing should have academic training in medical or environmental microbiology. Sampling personnel as well as individuals working in clean rooms should be knowledgeable about their responsibilities in minimizing the release of microbial contamination. Personnel involved in microbial identification require specialized training about required laboratory methods. Additional training about the management of collected data must be provided. Knowledge and understanding of applicable standard operating procedures are critical, especially those procedures relating to corrective measures taken when environmental conditions require. Understanding of contamination control principles and each individual's responsibilities with respect to good manufacturing practices (GMPs) should be an integral part of the training program, along with training in conducting investigations and in analyzing data.

クリーンルームおよび高度無菌操作環境における作業に従事している職員が、関連する微生物の原理について熟知していることを、施設管理者は保証すること。教育には無菌技術の基本原則に係わる教育を含め、生産と製品汚染源となりうるもの取扱い手順との関係を強調すること。微生物制御とモニタリング作業を指導、監査、検査するものは、微生物学の基本原理、微生物生理学、消毒とサニテーション、培地の選択と調製、分類学、滅菌に精通していること。指導とテストの責任者は医学もしくは環境微生物における学校

教育を受けていること。クリーンルームで作業する人のみならずサンプリング担当者は、微生物汚染の拡散を極小化する自分の責任について精通していること。微生物同定に従事している職員は、必要とされる試験室メソッドに特化した教育が必要である。収集したデータの取扱いに関する追加教育を用意しておくこと。適用される標準操作手順書の知識と理解は重要である。環境状況が必要とする場合に取られる是正方法に関する手順の知識と理解は特に重要である。汚染制御の原理とGMPに関する各個人の責任とを理解することは、この教育プログラムの不可欠な部分である。調査を行いデータ分析を行ううえでの教育も不可欠である。

箇条書：

- ① 施設管理者は作業者に微生物の原理を熟知させること
- ② 教育には、無菌技術の基本原理を含めること
- ③ 教育において、汚染源となりうるものの取扱い手順を強調すること
- ④ 微生物制御とモニタリング作業を指導、監査、検査するものは、微生物学の基本原理、微生物生理学、消毒とサニテーション、培地の選択と調製、分類学、滅菌に精通していること
- ⑤ 指導とテストの責任者は医学もしくは環境微生物の学校教育を受けていること
- ⑥ 作業員およびサンプリング担当者は、微生物汚染を極小化する自分の責任について精通していること
- ⑦ 微生物同定に従事している職員には、必要とされる試験室メソッドに特化した教育が必要である
- ⑧ 収集したデータの取扱いに関する追加教育を用意しておくこと
- ⑨ 標準操作手順書の知識と理解は重要である
- ⑩ 環境悪化時の是正方法に関する手順の知識と理解は特に重要
- ⑪ 汚染制御の原理の理解は教育プログラムの不可欠な部分
- ⑫ GMP に関する各個人の責任の理解も教育プログラムの不可欠な部分
- ⑬ 調査を行いデータ分析を行ううえでの教育も不可欠

The only significant sources of microbial contamination in aseptic environments are the personnel. Because operators disperse contamination and because the ultimate objective in aseptic processing is to reduce end-user risk, only healthy individuals should be permitted access to controlled environments. Individuals who are ill must not be allowed to enter an aseptic processing environment, even one that employs advanced aseptic technologies such as isolators, blow/fill/seal, or closed RABS.

無菌環境における唯一大きな微生物汚染源は職員である。作業員は汚染をまき散らし、無菌操作における究極の目的はエンドユーザーのリスクを低減することである。よって、管理環境へのアクセスは健康な者のみを許可すること。病気の者には、無菌操作環境への入場を許可しないこと。アイソレータ、ブローフィルシールやクローズド RABS のような高度無菌操作に従事する者であっても、許可しないこと。

箇条書：

- ① 無菌環境における唯一大きな微生物汚染源は職員である
- ② 作業員は汚染をまき散らすので、管理環境へのアクセスは健康な者のみを許可すること

- ③ 病気の者には、無菌操作環境への入場を許可しないこと
- ④ 高度無菌操作に従事する者であっても、病気の場合は無菌操作環境への入場を許可しないこと

The importance of good personal hygiene and a careful attention to detail in aseptic gowning cannot be overemphasized. Gowning requirements differ depending on the use of the controlled environment and the specifics of the gowning system itself. Aseptic processing environments require the use of sterilized gowns with the best available filtration properties. The fullest possible skin coverage is desirable, and sleeve covers or tape should be considered to minimize leaks at the critical glove–sleeve junction. Exposed skin should never be visible in conventional clean rooms under any conditions. The personnel and gowning considerations for RABS are essentially identical to those for conventional clean rooms.

職員の良好な衛生状態と、無菌更衣への詳細な注意が重要であることを強調しすぎることはない。更衣要件は、使用する管理環境と更衣システムそのものの仕様によって異なる。無菌操作環境は最高のろ過特性で滅菌した更衣を必要とする。可能な限り完全に皮膚を被うことが望ましく、グローブと袖の注意すべき継ぎ目におけるリークを最小化すべく、袖カバーあるいはテープの採用を検討すること。従来型クリーンルームにおいては、どんな状況であれ、露出した皮膚が見えてはいけない。RABS において職員と更衣について考慮すべき事項は従来型クリーンルームの場合と同じである。

箇条書：

- ① 職員の良好な衛生状態と、無菌更衣に対する詳細な注意が重要である
- ② 更衣要件は、使用する管理環境と更衣システムそのものの仕様によって異なる
- ③ 無菌操作環境は最高のろ過特性で滅菌した更衣を必要とする
- ④ 可能な限り完全に皮膚を被うことが望ましい
- ⑤ グローブと袖の継ぎ目におけるリークを最小化すべく、袖カバーあるいはテープの採用を検討すること
- ⑥ 従来型クリーンルームにおいては、どんな状況であれ、露出した皮膚が見えてはいけない
- ⑦ RABS において職員と更衣について考慮すべき事項は従来型クリーンルームの場合と同じである

Once employees are properly gowned, they must be careful to maintain the integrity of their gloves, masks, and other gown materials at all times. Operators who work with isolator systems are not required to wear sterile clean-room gowns, but inadequate aseptic technique and employee-borne contamination are the principal hazards to safe aseptic operations in isolators as well as in conventional clean rooms. Glove-and-sleeve assemblies can develop leaks that can allow the mechanical transfer of microorganisms to the product. A second glove, worn either under or over the primary isolator glove, can provide an additional level of safety against glove leaks or can act as a hygienic measure. Also, operators must understand that aseptic technique is an absolute requirement for all manipulations performed with gloves within isolator systems.

職員が適切に更衣したなら、その職員達はグローブ、マスク、その他の更衣用具の完全性を維持するよう常に注意を払うこと。アイソレータ作業者は無菌のクリーンルーム更衣を着用する必要はないが、不適切な無菌操作や人由来の汚染は、従来型のクリーンルームにおけるのと同様、アイソレータにおける安全な無菌操作への主要な障害となる。グローブと袖のアッセンブリはリークを引き起こすことがあり、リークにより微生物が機械的に製品に送り込まれることがある。アイソレータの主グローブの上または下に第2のグローブを着用することにより、グローブのリークに対する安全性を増すことができる。第2のグローブは衛生対策ともなりうる。アイソレータシステム内においてグローブにより行うすべての操作に対し、無菌技術は絶対要件であることを作業者は理解しておくべきである。

箇条書:

- ① グローブ、マスク、その他の更衣用具の完全性を維持するよう常に注意を払うこと
- ② アイソレータ作業者は無菌のクリーンルーム更衣を着用する必要はない
- ③ 不適切な無菌操作や人由来の汚染は、アイソレータにおける無菌操作の障害となる
- ④ グローブと袖のアッセンブリのリークにより、製品の微生物汚染を引き起こすことがある
- ⑤ アイソレータの主グローブの上または下に第2のグローブを着用することにより、グローブのリークに対する安全性を増すことができる
- ⑥ 第2のグローブは衛生対策ともなりうる
- ⑦ アイソレータ内で行うすべてのグローブ操作に対し、無菌技術は絶対要件である

The environmental monitoring program, by itself, cannot detect all events in aseptic processing that might compromise the microbiological quality of the environment. Therefore, periodic media-fill or process simulation studies are necessary, as is thorough ongoing supervision, to ensure that appropriate operating controls and training are effectively maintained.

環境の微生物的品質を低下させるような出来事が無菌操作中に発生したとしても、環境モニタリングプログラムだけでそのような出来事の全てを検知できるものではない。従って、適切な操作管理と教育が事実上維持されていることを保証すべく、指導の徹底継続と同様に、培地充てん試験あるいはプロセスシミュレーションテストが必要とされている。

箇条書:

- ① 環境の微生物的品質を低下させるような出来事が無菌操作中に発生したとしても、環境モニタリングだけでそのような出来事の全てを検知できるものではない。
- ② 従って、環境の微生物的品質の低下を防ぐには、適切な操作管理と教育の維持が必要
- ③ 管理と教育が維持されていることを保証するには、培地充てん試験による確認と指導の継続が必要

CRITICAL FACTORS IN THE DESIGN AND IMPLEMENTATION OF A MICROBIOLOGICAL ENVIRONMENTAL MONITORING PROGRAM

微生物環境モニタリングプログラムの設計と実施における重要な因子

Since the advent of comprehensive environmental monitoring programs, their applications in capturing adverse trends or drifts has been emphasized. In a modern aseptic processing environment—whether an isolator, RABS, or conventional clean room—contamination has become increasingly rare. Nevertheless, a monitoring program should be able to detect a change from the validated state of control in a facility and to provide information for implementing appropriate countermeasures. An environmental monitoring program should be tailored to specific facilities and conditions. It is also helpful to take a broad perspective in the interpretation of data. A single uncorrelated result on a given day may not be significant in the context of the technical limitations associated with aseptic sampling methods.

総合的な環境モニタリングプログラムの出現以来、悪い傾向や推移を捉えるのに環境モニタリングを利用することが強調されてきた。近年の無菌操作環境においては、アイソレータ、RABS あるいは従来型のクリーンルームであろうと、汚染はますます希になってきた。とはいうものの、施設がバリデートされた管理状態から変化したことをモニタリングプログラムは検知できなくてはならず、適切な対応策を実施するための情報を提供できなくてはならない。環境モニタリングプログラムは特定の施設と状況にあうように調整すること。また、データの解釈にあたっては幅広い視野を持つと助けになる。相関関係のない単発事象がある日に発生したとすると、無菌サンプリング手法にまつわる技術的限界という事情から、それは有意ではないかもしれない。

箇条書：

- ① 悪い傾向や推移を捉えるのに環境モニタリングが活用されてきた
- ② アイソレータ、RABS、従来型のクリーンルームとも、汚染は近年ますます希になってきた
- ③ とはいえ、バリデートされた管理状態から変化したことを環境モニタリングは検知できなくてはならない
- ④ 環境モニタリングは対応策を実施するための情報を提供できなくてはならない
- ⑤ 環境モニタリングは各施設とその状況にあうように調整すること
- ⑥ 環境モニタリングのデータ解釈にあたっては幅広い視野を持つと助けになる
- ⑦ 無菌サンプリング手法には技術的限界がある
- ⑧ サンプリング手法の技術的限界のため、相関関係のない単発事象は有意ではないかもしれない

Selection of Growth Media

培養培地の選定

A general microbiological growth medium such as soybean–casein digest medium (SCDM) is suitable for environmental monitoring in most cases because it supports the growth of a wide range of bacteria, yeast, and molds. This medium can be supplemented with additives to overcome or to minimize the effects of sanitizing agents or of antibiotics. Manufacturers should consider the specific detection of yeasts and molds. Bacteria from aseptic processing environments plated on SCDM medium will not overgrow the medium. If necessary, general mycological media such as Sabouraud's,

modified Sabouraud's, or inhibitory mold agar can be used. In general, monitoring for strict anaerobes is not performed, because these organisms are unlikely to survive in ambient air. However, micro-aerophilic organisms may be observed in aseptic processing. Should anoxic conditions exist or if investigations warrant (e.g., identification of these organisms in sterility testing facilities or *Sterility Tests* 〈71〉 results), monitoring for micro-aerophiles and organisms that grow under low-oxygen conditions may be warranted. The ability of any media used in environmental monitoring, including those selected to recover specific types of organisms, must be evaluated for their ability to support growth, as indicated in Chapter 〈71〉.

ソイビーン・カゼイン・ダイジェスト培地 (SCDM) のような一般的な微生物培養培地は、細菌、酵母、カビを幅広く培養できるので、環境モニタリングに適している。この培地には、消毒剤や抗生物質の効果を打ち消したり減少させるための添加剤を補うことができる。酵母およびカビ特有の検出を考えると、無菌操作環境から SCDM 培地上に捉えられた細菌はその培地上ではびこらないであろう。必要であれば、Sabouraud's、modified Sabouraud's、あるいはカビ抑制寒天のような一般的な菌類用培地を使用できる。一般的に言って、偏性嫌気性菌は外気において生存できると思われてないので、偏性嫌気性菌のモニタリングは行われない。しかし、微好気性微生物が無菌操作中被見られるかもしれない。無酸素状態が万一存在するとすると、あるいは無菌試験施設における微生物の同定や USP<71> Sterility Tests の結果などの調査により無酸素状態の存在が正当化されたとすると、微好気性微生物と低酸素状態で生育する微生物に対するモニタリングの実施は正当化される。特定の微生物を回収するために選定された培地をふくめ、環境モニタリングに使用されるいかなる培地も、その培養を支える能力を USP<71> に示されたように評価すること。

箇条書：

- ① SCD 培地のような一般的な微生物培養培地は、細菌、酵母、カビを幅広く培養できるので、環境モニタリングに適している
- ② SCD 培地には消毒剤や抗生物質の効果を打ち消したり減少させるための添加剤を補うことができる
- ③ 酵母およびカビ特有の検出を考えると
- ④ 無菌操作環境から SCD 培地上に捉えられた細菌はその培地上ではびこらないであろう
- ⑤ 必要であれば、Sabouraud's、modified Sabouraud's、あるいはカビ抑制寒天のような一般的な菌類用培地を使用できる
- ⑥ 偏性嫌気性菌は空気中で生存できないので、偏性嫌気性菌のモニタリングは通常行わない
- ⑦ 微好気性微生物が無菌操作中被見られるかもしれない
- ⑧ 無酸素状態があり得る場合には、微好気性微生物と低酸素状態で生育する微生物に対するモニタリングを行うことがある
- ⑨ 使用する培地の能力は USP<71> に従い評価すること

Selection of Culture Conditions

培養条件の選択

Time and incubation temperatures are set once the appropriate media have been selected. Typically, for general microbiological growth media such as SCDM, incubation temperatures in the ranges of $22.5 \pm 2.5^{\circ}$ and $32.5 \pm 2.5^{\circ}$ have been used with an incubation time of not less than 72 hours. Longer incubation times may be considered when contaminants are known to be slow growing. The temperature ranges given above are by no means absolute. Mesophilic bacteria and mold common to the typical facility environment are generally capable of growing over a wide range of temperatures. For many mesophilic organisms, recovery is possible over a range of approximately 20° . In the absence of confirmatory evidence, microbiologists may incubate a single plate at both a low and a higher temperature. Incubating at the lower temperature first may compromise the recovery of Gram-positive cocci that are important because they are often associated with humans.

適切な培地を選定されたなら、培養時間と温度を決める。SCD 培地のような一般的な微生物培養培地に対しては、通常、培養時間は72時間以上で、培養温度は $22.5^{\circ}\text{C} \pm 2.5$ と $32.5^{\circ}\text{C} \pm 2.5$ の範囲としてきた。汚染物質の生育が遅いことが判っている場合、培養時間を長くすることを考えるとよい。上記の温度範囲は決して絶対的なものではない。よくある施設の環境に共通する中温菌とカビは一般的に広い温度範囲にわたり生育可能である。多くの中温菌の場合、おおよそ 20°C の範囲をこえて回収できる。確証がない場合、微生物屋は一つの培地を低温と高温の両方で培養してよい。初めに低温で培養するとグラム陽性球菌の回収が怪しくなる。グラム陽性球菌は、多くの場合人に付随しているので重要である。

箇条書：

- ① SCD 培地のような一般的な微生物培養培地に対しては、通常、培養時間は72時間以上で、培養温度は $22.5^{\circ}\text{C} \pm 2.5$ と $32.5^{\circ}\text{C} \pm 2.5$ の範囲としてきた
- ② 汚染物質の生育が遅いことが判っている場合、培養時間を長くすることを考えるとよい
- ③ 上記の温度範囲は絶対的なものではない
- ④ 多くの施設に共通する中温菌とカビは一般的に広い温度範囲にわたり生育可能である。
- ⑤ 多くの中温菌の場合、おおよそ 20°C の範囲をこえて回収できる
- ⑥ 確証がない場合、一つの培地を低温と高温の両方で培養してよい
- ⑦ 初めに低温で培養するとグラム陽性球菌の回収が怪しくなる
- ⑧ グラム陽性球菌は、多くの場合人に付随しているので重要である

Sterilization processes for preparing growth media should be validated. When selective media are used for monitoring, incubation conditions should reflect published technical requirements. Contamination should not be introduced into a manufacturing clean room as a result of using contaminated sampling media or equipment. Of particular concern is the use of aseptically prepared sampling media. Wherever possible, sampling media and their wrappings should be terminally sterilized by moist heat, radiation, or other suitable means. If aseptically prepared media must be used, analysts must carry out preincubation and 100% visual inspection of all sampling media before

introduction into the clean room. The reader is referred to *Microbiological Best Laboratory Practices* 《1117》 for further information regarding microbiology laboratory operations and control.

培地調整の滅菌プロセスはバリデートすること。選択した培地をモニタリングに使用する場合、培養条件は公になっている技術要件を反映すること。汚染したサンプリング用培地や機器を使用したために、汚染を生産のクリーンルームに持ち込むようなことがないこと。無菌的に調製されたサンプリング用培地を使うことに特に懸念がある。可能であれば、サンプリング用培地とその包装は、湿熱、放射線、あるいはその他適切な方法により最終滅菌すべきである。無菌調製された培地を使用せざるを得ない場合には、クリーンルームに培地を持ち込む前に、全培地の事前培養を行い、100%目視検査を行うべきである。微生物試験室の運営と管理に関する詳細については、USP<1117> *Microbiological Best Laboratory Practices* を参照のこと。

箇条書：

- ① 培地調整の滅菌プロセスはバリデートすること
- ② 培地の培養条件は公になっている技術要件に基づくこと
- ③ 汚染したサンプリング用培地や機器を使用したことが原因で、汚染を持ち込まないこと
- ④ 無菌的に調製されたサンプリング用培地を使うことに特に懸念がある
- ⑤ 可能であれば、サンプリング用培地とその包装は、湿熱、放射線などの方法により最終滅菌すべき
- ⑥ 無菌調製された培地を使用する場合、全培地の事前培養を行い、100%目視検査してからクリーンルームに持ち込むこと
- ⑦ 微生物試験室の運営と管理の詳細は、USP<1117>を参照のこと

ESTABLISHMENT OF SAMPLING PLAN AND SITES

サンプリング計画とサンプリング箇所の制定

During initial startup or commissioning of a clean room or other controlled environment, specific locations for air and surface sampling should be determined. Locations considered should include those in proximity to the exposed product, containers, closures, and product contact surfaces. In aseptic processing, the area in which containers, closures, and product are exposed to the environment is often called the *critical zone*. For aseptic operations the entire critical zone should be treated as a sterile field. A nonsterile object, including the operator's gloved hands or isolator glove, should never be brought into contact with a sterile product, container closure, filling station, or conveying equipment before or during aseptic processing operations. Operators and environmental monitoring personnel should never touch sterile parts of conveyors, filling needles, parts hoppers, or any other equipment that is in the product-delivery pathway. This means that surface monitoring on these surfaces is best done at the end of production operations.

クリーンルームあるいは管理環境の立ち上げもしくはコミッショニングにおいて、空気および表面のサンプリングを行う特定の場所を決定すること。場所の検討には、製品、容器、栓の暴露に近い場所や、製品が接触する表面を含めること。無菌操作の場合、容器、栓および製品が環境に暴露される区域は、“クリティカルゾーン”と呼ばれることが多い。無菌操作においては、クリティカルゾーン全体を無菌場所として扱うこと。グローブをした作業者の手やアイソレータのグローブを含み、非無菌物は、無菌操作前あるいは無菌操作中に、無菌製品、容器、栓、充填ステーションあるいは搬送機器に決して接触してはいけない。作業者と環境モニタリング従事者は、搬送機、充填針、パーツホッパー、製品配送路にあるその他の機器の無菌部分に決して触れてはいけない。これらの表面の表面モニタリングは、製造終了時点で行うのが一番よいことを意味している。

- ① クリーンルームの立ち上げもしくはコミッショニングにおいて、空気および表面のサンプリングを行う場所を決定する
- ② サンプリング場所は、製品、容器、栓の暴露に近い場所や、製品が接触する表面を含めて検討すること
- ③ 容器、栓および製品が環境に暴露される区域は、“クリティカルゾーン”と呼ばれる
- ④ クリティカルゾーン全体を無菌場所として扱うこと
- ⑤ グローブをした作業者の手やアイソレータのグローブは非無菌物として考えること
- ⑥ 非無菌物は、無菌操作前あるいは無菌操作中に、無菌製品、容器、栓、充填ステーションあるいは搬送機器に決して接触してはいけない
- ⑦ 作業者と環境モニタリング従事者は、搬送機、充填針、パーツホッパー、製品配送路にあるその他の機器の無菌部分に決して触れてはいけない
- ⑧ つまり、表面モニタリングは製造終了時点で行うのが一番よい

The frequency of sampling depends on the manufacturing process conducted within an environment. Classified environments that are used only to provide a lower overall level of bioburden in nonsterile product manufacturing areas require relatively infrequent environmental monitoring. Classified environments in which closed manufacturing operations are conducted, including fermentation, sterile API processing, and chemical processes, require fewer monitoring sites and less frequent monitoring because the risk of microbial contamination from the surrounding environment is comparatively low. Microbiological monitoring of environments in which products are filled before terminal sterilization is generally less critical than the monitoring of aseptic processing areas. The amount of monitoring required in filling operations for terminal sterilization depends on the susceptibility of the product survival and the potential for proliferation of microbial contamination. The identification and estimated number of microorganisms that are resistant to the subsequent sterilization may be more critical than the microbiological monitoring of the surrounding manufacturing environments.

サンプリング頻度はそこで行われている製造プロセスによる。非無菌製品の製造区域において、バイオバーデンを全体的により低めるだけに使われるような環境区分においては、環境モニタリングの頻度は比較的低頻度でよい。発酵、無菌原薬製造、化学プロセスなど、閉鎖空間における生産が行われるような環境

区分においては、周囲環境からの微生物汚染のリスクは比較的低いので、モニタリング箇所はより少なく、モニタリング頻度もより低くてよい。最終滅菌の前に製品が充填される環境の微生物モニタリングは、無菌操作区域のモニタリングより重要性は概して低い。最終滅菌の充填工程に要求されるモニタリング量は、製品としての持続性に対する(微生物汚染の)影響度合いや微生物汚染の増殖可能性による。周囲の製造環境の微生物モニタリングより、引き続き滅菌に抵抗性のある微生物の同定と推定数の方が重要であろう。

箇条書:

- ① 環境モニタリング頻度は製造プロセスによる異なる
- ② 非無菌製品において、バイオバーデンを低めるだけに使われる環境は比較的low頻度でよい
- ③ 発酵、無菌原薬製造、化学プロセスなど閉鎖空間で生産する環境では、周囲環境からの汚染のリスクは比較的低い。従って、モニタリング箇所と頻度はより少なくてよい。
- ④ 最終滅菌法の充填工程のモニタリングは、無菌操作区域のモニタリングより重要性は低い
- ⑤ 最終滅菌法の充填工程に要求されるモニタリング量は、製品としての持続性に対する(微生物汚染の)影響度合いや微生物汚染の増殖可能性による
- ⑥ 従って、最終滅菌法では、滅菌抵抗性のある微生物の同定と推定数の方が、環境モニタリングより重要

It is not possible to recommend microbial control levels for each type of manufacturing environment. The levels established for one ISO Class 7 environment, for example, may be inappropriate for another ISO Class 7 environment, depending on the production activities undertaken in each. The user should conduct a prospective risk analysis and develop a rationale for the sampling locations and frequencies for each controlled environment. The classification of a clean room helps establish control levels, but that does not imply that all rooms of the same classification should have the same control levels and the same frequency of monitoring. Monitoring should reflect the microbiological control requirements of manufacturing or processing activities. Formal risk assessment techniques can result in a scientifically valid contamination control program.

製造環境の各タイプに対する微生物管理レベルを推奨することはできない。例えば、それぞれの環境で行われる生産活動によるが、あるISO 7環境に設定したレベルは、他のISO 7環境には適切ではないかも知れない。各々の管理環境におけるリスクを予測分析し、サンプリング箇所と頻度の論理付けを行うこと。クリーンルーム区分は管理レベル設定の助けになるが、同じ区分の全ての部屋が同じ管理レベルと同じモニタリング頻度であるべきだとは意味していない。モニタリングには、製造および生産活動の微生物管理要件を反映すること。フォーマルなリスクアセスメント手法により、科学的に妥当な汚染制御プログラムを得ることができる。

箇条書:

- ① 製造環境の各タイプに対する微生物管理レベルは、そこで行われる生産活動により異なる
- ② 従って、製造環境の各タイプに対する微生物管理レベルを、一律に推奨することはできない
- ③ 例えば、あるISO 7環境に設定したレベルは、他のISO 7環境には適切ではないかも知れない

- ④ 各々の管理環境におけるリスクを予測分析し、サンプリング箇所と頻度の論理付けを行うこと
- ⑤ クリーンルーム区分は管理レベル設定の助けになるが、同じ区分なら同じ管理レベルと同じモニタリング頻度であるべきとはいえない
- ⑥ モニタリングには、製造および生産活動の微生物管理要件を反映すること
- ⑦ フォーマルなリスクアセスメント手法により、科学的に妥当な汚染制御プログラムを得ることができる

Table 2 suggests frequencies of sampling in decreasing order of frequency and in relation to the criticality or product risk of the area being sampled. Environmental monitoring sampling plans should be flexible with respect to monitoring frequencies, and sample plan locations should be adjusted on the basis of the observed rate of contamination and ongoing risk analysis. On the basis of long-term observations, manufacturers may increase or decrease sampling at a given location or eliminate a sampling location altogether. Oversampling can be as deleterious to contamination control as undersampling, and careful consideration of risk and reduction of contamination sources can guide the sampling intensity.

表2に、減少順に並べたサンプリング頻度が、サンプリング区域の重要性あるいは製品リスクに関連づけて提案されている。環境モニタリングのサンプリング計画は、モニタリング頻度については柔軟であるべきで、サンプリングの計画場所は、汚染の検出率と継続実施するリスク分析を基に調整すべきである。長期間の観測を基に、ある場所のサンプリングを増加減してよいし、また完全に削除してもよい。過剰サンプリングは、サンプリング不足と同様に汚染制御にとって有害になりうる。また、リスクと汚染発生源の低減とを入念に検討することにより、サンプリング強度を導くことができる。

箇条書：

- ① 表2：サンプリング区域の重要性あるいは製品リスクに関連づけた、サンプリング頻度の推奨
- ② 環境モニタリングのサンプリング計画は、モニタリング頻度について柔軟であるべき
- ③ サンプリングの計画場所は、汚染の検出率と継続実施するリスク分析を基に調整してゆくべき
- ④ 長期間の観測を基に、ある場所のサンプリングを増加減してよいし、また完全に削除してもよい
- ⑤ 過剰サンプリングは、サンプリング不足と同様に汚染制御にとって有害になりうる
- ⑥ リスクと汚染発生源の低減とを入念に検討することにより、サンプリング強度を導くことができる

Table 2. Suggested Frequency of Sampling for Aseptic Processing Areas

Sampling Area	Frequency of Sampling
ISO Class 5 or better	Each operating shift (if a Class 5 rated hood is used only for control of nonviable particulates, microbiological testing is not required)
Isolator systems: active air sampling	Once per day
Isolator systems: surface monitoring	At the end of each campaign

Aseptic processing area adjacent to ISO Class 5 (e.g., Class 7)	Each operating shift
Other support areas in aseptic processing (ISO Class 8)	Once per week

表 2: 無菌操作環境における推奨サンプリング頻度

サンプリング区域	サンプリング頻度
ISO Class 5 もしくはそれ以上	作業シフトごと (ISO Class 5 規格のフードが非生物微粒子の制御のみに使用される場合、微生物テストは要求されない)
アイソレータシステム: 能動的エアサンプリング	1 日 1 回
アイソレータシステム: 表面モニタリング	各キャンペーンの終了時
ISO Class 5 に隣接された無菌操作区域 (例えば、Class 7)	各作業シフト毎
無菌操作における他の支援区域 ((ISO Class 8)	1 週間に 1 度

SELECTION OF SAMPLE SITES WITHIN CLEAN ROOMS AND ASEPTIC PROCESSING AREAS

クリーンルームおよび無菌操作区域におけるサンプル場所の選定

ISO 14644 suggests a grid approach for the total particulate air classification of clean rooms. This approach is appropriate for certifying the total particulate air quality performance against its design objective. Grids may also have value in analyzing risk from microbial contamination, although in general, grids that have no personnel activity are likely to have low risk of contamination. Microbial contamination is strongly associated with personnel, so microbiological monitoring of unstaffed environments is of limited value.

ISO 14644 において、クリーンルームの総微粒子数空気区分として格子アプローチが提言されている。このアプローチは、設計目標に対し、総微粒子数空気品質性能を証明するのに適している。職員が作業していない格子においては微生物汚染のリスクは概して低いと思われるが、微生物汚染のリスクを分析するうえで格子の価値はあるかもしれない。微生物汚染は職員に強く付随するので、人がいない環境をモニタリングする価値はわずかである。

箇条書:

- ① ISO 14644 において、総微粒子数空気区分として格子アプローチが提言されている
- ② このアプローチは、総微粒子数空気品質性能を証明するのに適している
- ③ 職員が作業していない格子においては微生物汚染のリスクは概して低いと思われる
- ④ しかし、格子にわけて微生物汚染のリスクを分析する価値はあるかもしれない
- ⑤ 微生物汚染は職員に強く付随するので、人がいない環境をモニタリングする価値はわずかである

Microbiological sampling sites are best selected with consideration of human activity during manufacturing operations. Careful observation and mapping of the clean room during the qualification phase can provide useful information concerning the movement and positioning of personnel. Such observation can also yield important information about the most frequently conducted manipulations and interventions.

生産中の人の活動をよく考えることにより、最良の微生物サンプリング場所が選定される。適格性評価における詳細な観察とクリーンルームの配置図作成は、職員の動きと配置に関する有益な情報となる。このような観察により、もっとも頻繁に行われる操作と介入に関する重要な情報を得ることができる。

箇条書：

- ① 生産中の人の動きをよく検討し、最良の微生物サンプリング場所を選定する
- ② 適格性評価における詳細な観察とクリーンルームの配置図作成は、職員の動きと配置に関する有益な情報となる。
- ③ このような観察により、もっとも頻繁に行われる操作と介入に関する重要な情報を得ることができる

The location and movement of personnel within the clean room correlate with contamination risk to the environment and to the processes conducted within that environment. Sample sites should be selected so that they evaluate the impact of personnel movement and work within the area, particularly interventions and manipulations within the critical zone.

クリーンルーム内の職員の配置と動きは、環境とその環境で行われる製造工程への汚染リスクと相関がある。サンプリング場所は、その区域における職員の動き、特にクリティカルゾーンにおける介入と操作の影響を評価できるように選定せねばならない。

箇条書：

- ① クリーンルーム内の職員の配置と動きは、環境と製造工程への汚染リスクと相関する
- ② 職員の動きを評価できる場所でサンプリングすること
- ③ 特に、クリティカルゾーンにおける介入と操作の影響を評価できる場所でサンプリングすること

Other areas of concern are entry points where equipment and materials move from areas of lower classification to those of higher classification. Areas within and around doors and airlocks should be included in the monitoring scheme. It is customary to sample walls and floors, and indeed sampling at these locations can provide information about the effectiveness of the sanitization program. Sampling at these locations can take place relatively infrequently, because contamination there is unlikely to affect product. Operators should never touch floors and walls, so mechanical transmission of contamination from these surfaces to critical areas where product is exposed should not occur. The

most likely route of contamination is airborne, so the samples most critical to risk assessment are those that relate to airborne contamination near exposed sterile materials.

他に関心のある区域は、機器や材料が低い等級の区域から高い等級の区域へ移動する場合の入り口である。扉やエアロックまわりの区域をモニタリングの枠組みに組み入れること。壁や扉をサンプルするのは慣例であり、実際、このような場所のサンプリングにより、サニタイゼーションプログラムの有効性に関する情報を得ることができる。ただし、このような場所の汚染は製品に影響しそうなないので、このような箇所のサンプリングは比較的低頻度で行えばよい。作業者は床や壁に決して触れてはいけない。これらの表面から、製品が暴露されるクリティカル区域へ、汚染が機械的に伝搬されてはいけない。もっともありそうな汚染経路は空中浮遊である。したがって、リスク評価にとって最もクリティカルなサンプリングは、暴露した無菌材料の近辺における空中浮遊汚染に係わるサンプルである。

箇条書:

- ① 低い等級区域から高い等級区域へ、機器や材料が移動する場合の入り口に注意する
- ② 扉やエアロックまわりの区域をモニタリングの枠組みに組み入れること
- ③ 壁や扉をサンプルするのは慣例である
- ④ 壁や扉のサンプリングにより、サニタイゼーションの有効性に関する情報を得ることができる
- ⑤ ただし、壁や扉の汚染は製品に影響しそうな
- ⑥ 従って、壁や扉のような箇所のサンプリングは比較的低頻度で行えばよい
- ⑦ 作業者は床や壁に決して触れてはいけない
- ⑧ 床や壁から、製品が暴露されるクリティカル区域へ、汚染が機械的に伝搬されてはいけない
- ⑨ もっともありそうな汚染経路は空中浮遊である
- ⑩ したがって、無菌材料が暴露される近辺における空中浮遊汚染のサンプリングがもっとも重要

Manufacturers typically monitor surfaces within the critical zone, although this should be done only at the end of operations. Residues of media or diluent from wet swabs should be avoided on surfaces, because they could lead to microbial proliferation. Also, cleaning surfaces to remove diluent or media requires personnel intervention and movements that can result in release of microbial contamination into the critical zone and can disrupt airflow.

クリティカルゾーンの表面をモニタリングしているが、これは、生産終了時のみに実施すべきである。培地の残留物や湿式スワブの希釈剤は微生物まん延になりかねないので、それらは表面から排除すること。さらに、希釈剤や残留物を取り除くために表面を清掃するが、必要とされる職員の介入と動作はクリティカルゾーンに微生物汚染を放出することになり、空気の流れを乱してしまう。

箇条書:

- ① クリティカルゾーンの表面モニタリングは、生産終了時のみに実施すべき
- ② 培地の残留物や湿式スワブの希釈剤は微生物まん延を招くので、表面から取り除くこと
- ③ 表面清掃に必要な職員の介入と動作は、クリティカルゾーンに微生物汚染を放出し、気流も乱す

MICROBIOLOGICAL CONTROL PARAMETERS IN CLEAN ROOMS AND ISOLATORS

クリーンルームおよびアイソレータにおける微生物制御パラメータ

Since the early 1980s, manufacturers have established alert and action levels for environmental monitoring. In recent years the numerical difference between alert and action levels has become quite small, especially in ISO 5 environments. Growth and recovery in microbiological assays have normal variability in the range of $\pm 0.5 \log_{10}$. Studies on active microbiological air samplers indicate that variability of as high as tenfold is possible among commonly used sampling devices. As a result of this inherent variability and indeterminate sampling error, the supposed differences between, for example, an alert level of 1 cfu and an action level of 3 cfu are not analytically significant. Treating differences that are within expected and therefore normal ranges as numerically different is not scientifically valid and can result in unwarranted activities. In a practical sense, numerical values that vary by as much as five- to tenfold may not be significantly different.

1980 年代初頭より、環境モニタリングのアラートレベルとアクションレベルを設定してきた。アラートレベルとアクションレベルの数値差は、特に ISO 5 環境において、近年かなり小さくなってしまった。微生物試料における培養および回収は、通常、 $\pm 0.5 \log_{10}$ の範囲で変動する。能動型エアサンプラの研究において、広く使用されているサンプリング機器間に 10 倍程度にもなる変動があるといわれている。この持ち前の変動性と不確定なサンプリング誤差のため、例えばアラートレベルを 1CFU、アクションレベルを 3CFU と仮定したときの差異は分析的に有意とはならない。予想範囲つまり正常範囲内の差異を、数値上差異ありと取り扱うのは科学的に妥当ではなく、また是認できるものでもない。実践感覚では、5 倍から 10 倍も変動する数値は有意差有りとはならないであろう。

箇条書：

- ① 1980 年代初頭より、環境モニタリングのアラートレベルとアクションレベルを設定してきた
- ② アラートレベルとアクションレベルの数値差は、特に ISO 5 環境において、近年かなり小さくなった
- ③ 微生物試料における培養および回収は、通常、 $\pm 0.5 \log_{10}$ の範囲で変動する
- ④ 広く使用されているエアサンプラ間に 10 倍程度にもなる変動があると研究されている
- ⑤ この持ち前の変動性と不確定なサンプリング誤差のため、例えばアラートレベルを 1CFU、アクションレベルを 3CFU と仮定したときの差異は分析的に有意ではない
- ⑥ 予想範囲つまり正常範囲内の差異を、数値上差異ありとするのは科学的に妥当ではない
- ⑦ 実践感覚では、5 倍から 10 倍も変動する数値は有意差有りとはならないであろう

Because of the limited accuracy and precision of microbial growth and recovery assays, analysts can consider the frequency with which contamination is detected rather than absolute numbers of cfu detected in any single sample. Also, a cfu is not a direct enumeration of microorganisms present but rather is a measure of contamination that may have originated from a clump of organisms.

微生物の培養と回収の試験における真度と精度の限界により、単一サンプルから検出される cfu の絶対値より、むしろ汚染が検出される頻度を考察することでもよい。さらに、cfu は存在する微生物数を直接数えたものではなく、むしろ微生物の塊から出現した汚染の量である。

箇条書：

- ① 微生物の培養と回収の試験における真度と精度には大きな限界がある
- ② そのため、単一サンプルから検出される cfu 絶対値より、むしろ汚染検出頻度を考察することでもよい
- ③ さらに、cfu は存在する微生物の数ではなく、むしろ微生物の塊から出現した汚染の量である

Mean contamination recovery rates should be determined for each clean room environment, and changes in contamination recovery rate at a given site or within a given room may indicate the need for corrective action. Within the ISO 5 critical zone, airborne and surface contamination recovery rates of 1% or less should be attainable with current methods. Contamination recovery rates for closed RABS and isolator systems should be significantly lower still and can be expected to be <0.1%, on the basis of published monitoring results.

平均汚染回収率は各クリーンルーム環境ごとに決定すべきであり、ある場所あるいはある部屋における汚染回収率の変化は是正処置が必要であることを示していると言えよう。ISO 5 のクリティカルゾーンにおいて、現在の手法では 1% 以下の空中浮遊および表面の汚染回収率となるはずである。クローズド RABS とアイソレータにおける汚染回収率は常に相当低く、公表されているモニタリング結果に基づくと、0.1% 未満であると予測できる。

箇条書：

- ① 平均汚染回収率は各クリーンルーム環境ごとに決定すべきである
- ② ある場所の汚染回収率の変化は、是正処置が必要であることを示していると言えよう
- ③ ISO 5 のクリティカルゾーンの空中浮遊および表面の汚染回収率は 1% 以下となるはずである
- ④ クローズド RABS とアイソレータにおける汚染回収率は相当低い
- ⑤ クローズド RABS とアイソレータにおける汚染回収率は、公表データから 0.1% 未満であると予測される

Contamination observed at multiple sites in an environment within a single sampling period may indicate increased risk to product and should be carefully evaluated. The appearance of contamination nearly simultaneously at multiple sites could also arise from poor sampling technique, so careful review is in order before drawing conclusions about potential loss of control. Resampling an environment several days after contamination is of little value, because the conditions during one sampling occasion may not be accurately duplicated during another.

ある 1 回のサンプル期間に、ある環境内の複数箇所で汚染が検出されたなら、それは製品へのリスク増大を示しているかもしれないので、その汚染を慎重に評価すべきである。複数箇所でほぼ同時に汚染が現れ

た場合、それは未熟なサンプリング技術により発生した可能性があるので、制御喪失の可能性に関する結論を出す前に詳細にレビューすることが望ましい。

箇条書:

- ① ある1回のサンプル期間に、ある環境内の複数箇所で汚染が検出されることがある
- ② それは製品へのリスク増大を示しているかもしれないので、その汚染を慎重に評価すべきである
- ③ 複数箇所でほぼ同時に汚染が現れた場合、それは未熟なサンプリング技術が原因かもしれない
- ④ その場合、微生物制御喪失かもしれないとの結論を出す前に、詳細にレビューすることが望ましい

Surface samples may also be taken from clean room garments. Personnel sampling should be emphasized during validation and is best done at the completion of production work in order to avoid adventitious contamination of the garments. In this case the average should be <1% for these sample sites as well. Gloves on closed RABS and isolators should meet the more rigorous expectation of <0.1% contamination recovery rates.

表面サンプルは無菌ルーム更衣からも採取するとよい。職員のサンプリングはバリデーション中に力を入れるべきであり、更衣の外来汚染を避けるためには製造作業完了時に行うのが一番よい。このケースでは、この場所に対するサンプルの平均は1%未満となるはずである。クローズドRABSとアイソレータのグローブは0.1%未満の汚染回収率というより厳しい期待値を満たすべきである。

箇条書:

- ① 表面サンプルは無菌ルーム更衣からも採取するとよい
- ② 職員のサンプリングはバリデーション中に力を入れるべきである
- ③ 職員のサンプリングは、更衣の外来汚染を避けるためには製造作業完了時に行うのが一番よい
- ④ 製造作業完了時の職員サンプリングの平均は1%未満となるはずである
- ⑤ クローズドRABSとアイソレータのグローブは、汚染回収率0.1%未満の厳しい期待値を満たすこと

Because of the inherent variability of microbial sampling methods, contamination recovery rates are a more useful measure of trending results than is focusing on the number of colonies recovered from a given sample. [Table 3](#) provides recommended contamination recovery rates for aseptic processing environments. The incident rate is the rate at which environmental samples are found to contain microbial contamination. For example, an incident rate of 1% would mean that only 1% of the samples taken have any contamination regardless of colony number. In other words, 99% of the samples taken are completely free of contamination. Contamination recovery rates that are higher than those recommended in [Table 3](#) may be acceptable in rooms of similar classification that are used for lower-risk activities. Action should be required when the contamination recovery rate trends above these recommendations for a significant time.

微生物サンプリング方法に変動性が内在しているため、ある一つのサンプルから回収されたコロニー数に注目するより、汚染回収率の方が傾向を捉えるのにより有益な方法である。無菌操作環境の汚染回収率の推奨値が表3に示されている。汚染発生率はいくつかの環境サンプルに微生物汚染が発見される率である。たとえば、1%の汚染発生率は、採取されたサンプルの内 1%だけが何らかの汚染を持っているということの意味しており、汚染のコロニー数は不問である。言い換えると、採取したサンプルの 99%は全く汚染されていない。表 3 中の推奨汚染回収率より高い汚染回収率は、より低リスク活動に使用される同様の区分の部屋では受容されるであろう。汚染回収率が推奨値を相当期間超える場合、アクションを取ること。

箇条書:

- ① 微生物サンプリング方法には変動性が内在している
- ② 従って、傾向を捉えるには、一つのサンプルのコロニー数に注目するより、汚染回収率の方がよい
- ③ 無菌操作環境に対する汚染回収率の推奨値が表3に示されている
- ④ 汚染発生率は、いくつかの環境サンプルに微生物汚染が発見される率である
- ⑤ 1%の汚染発生率とは、採取されたサンプルの内 1%だけが何らかの汚染を持っているという意味
- ⑥ 汚染発生率の場合、汚染のコロニー数は不問である
- ⑦ 1%の汚染発生率を言い換えると、採取したサンプルの 99%は全く汚染されていない
- ⑧ 表 3 中の推奨汚染回収率より高い汚染回収率は、同一区分の部屋であっても、より低リスク活動に使用される場合は受容されるであろう
- ⑨ 汚染回収率が推奨値を相当期間超える場合、アクションを取ること。

Table 3. Suggested Initial Contamination Recovery Rates in Aseptic Environments

Room Classification	Active Air Sample (%)	Settle Plate (9 cm) 4h Exposure (%)	Contact Plate or Swab (%)	Glove or Garment (%)
Isolator/Closed RABS (ISO 5 or Better)	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1
ISO 5	<1	<1	<1	<1
ISO 6	<3	<3	<3	<3
ISO 7	<5	<5	<5	<5
ISO 8	<10	<10	<10	<10

表 3.無菌環境における初期汚染回収率推奨値

部屋の区分	能動エアサンプル (%)	落下菌(9 cm) 4時間暴露 (%)	コンタクトプレートもしくはスワブ (%)	グローブもしくは更衣 (%)
アイソレータ/クローズド RABS (ISO 5 もしくは以上)	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1

ISO 5	<1	<1	<1	<1
ISO 6	<3	<3	<3	<3
ISO 7	<5	<5	<5	<5
ISO 8	<10	<10	<10	<10

Detection frequency should be based on actual monitoring data and should be retabulated monthly. Action levels should be based on empirical process capability. If detection frequencies exceed the recommendations in [Table 3](#) or are greater than established process capability, then corrective actions should be taken. Corrective actions may include but are not limited to the following:

- Revision of the sanitization program, including selection of antimicrobial agents, application methods, and frequencies
- Increased surveillance of personnel practices, possibly including written critiques of aseptic methods and techniques
- Review of microbiological sampling methods and techniques

When higher-than-typical recovery levels for glove and garment contamination are observed, additional training for gowning practices may be indicated.

検出頻度は実際のモニタリングデータに基づくべきで、集計を毎月繰り返すべきである。アクションレベルは工程の経験的能力に基づくべきである。検出頻度が表 3 の推奨値を越えた場合、あるいは制定した工程能力以上となった場合、是正処置をとること。是正処置は以下のものを含むがそれらに限定されるものではない。

- 抗菌剤の選択、適用方法、および頻度を含むサニタイゼーションプログラムの改訂
- 職員の実務に対する監査を増し、おそらく無菌手法と無菌技術に対する批評を文書化し含める
- 微生物のサンプリング方法と技術をレビュー

グローブと更衣に対し通常より高い回収レベルが見られた場合、更衣の実務に対し追加の教育を示唆するのがよい。

箇条書:

- ① 検出頻度は実際のモニタリングデータに基づくべきで、集計を毎月繰り返すべきである
- ② アクションレベルは工程の経験的能力に基づくべきである
- ③ 検出頻度が表 3 の推奨値を越えるか、あるいは制定した工程能力以上となった場合、是正処置をとること
- ④ 是正処置は以下のものを含むがそれらに限定されるものではない
 - 抗菌剤の選択、適用方法、および頻度を含むサニタイゼーションプログラムの改訂
 - 職員の実務に対する監査を増し、おそらく無菌手法と無菌技術に対する論評文を含める
 - 微生物のサンプリング方法と技術をレビュー
- ⑤ グローブと更衣に対し通常より高い回収レベルが見られた場合、更衣実務の教育を追加するとよい

SIGNIFICANT EXCURSIONS

著しい一過性逸脱

Excursions beyond approximately 15 cfu recovered from a single sample, whether from airborne, surface, or personnel sources, should happen very infrequently. When such excursions do occur, they may be indicative of a significant loss of control, particularly when they occur within the ISO 5 critical zone in close proximity to product and components. Thus, any excursion >15 cfu should prompt a careful and thorough investigation.

空中浮遊、表面あるいは職員由来のいずれかの一つのサンプルから、概ね 15cfu 以上が回収されるような一過性逸脱は滅多に起こらないはずである。このような一過性逸脱が発生した場合、特に製品や部材に近接した ISO 5 クリティカルゾーンで発生した場合、それらは重大な制御喪失を示しているかもしれない。従って、15cfu 以上の一過性逸脱が一つでもあったなら、詳細かつ完全な調査を促すこと。

箇条書:

- ① 空中浮遊、表面あるいは職員由来のいずれかの一つのサンプルから、概ね 15cfu 以上が回収されるような一過性逸脱は、滅多に起こらないはずである
- ② このような一過性逸脱が発生した場合、それは重大な制御喪失を示しているかもしれない
- ③ 特に製品や部材に近接した ISO 5 クリティカルゾーンで発生した場合には、重大な制御喪失を示しているかもしれない
- ④ 従って、15cfu 以上の一過性逸脱が一つでもあったなら、詳細かつ完全な調査を促すこと

A key consideration for an abnormally high number of recovered colonies is whether this incident is isolated or can be correlated with other recoveries. Microbiologists should review recovery rates for at least two weeks before the incident of abnormally high recovery so that they can be aware of other recoveries that might indicate an unusual pattern. Microbiologists should carefully consider all recoveries, including those that are in the more typical 1- to 5-cfu range. The identity of the organisms recovered is an important factor in the conduct of this investigation.

回収コロニー数が異常に多い場合に考慮すべき重要なことは、この事象は独立しているか、あるいは他の回収と相関があるかを見極めることである。微生物担当者は、異常に高い回収が発生する前の最低でも 2 週間の回収率を確認すべきである。そうすることにより、異常パターンを示す他の回収に気がつくことができる。微生物担当者は、典型的な 1-5cfu 範囲の回収を含め、全ての回収を慎重に考察すべきである。回収された微生物の同定は、この調査を行ううえで重要な因子である。

箇条書:

- ① 回収コロニー数が異常に多い場合、他の回収との相関の有無を見極めるのが重要
- ② 異常に高い回収が発生する前の、最低でも 2 週間の回収率を確認すべき

- ③ そうすることにより、他の異常な回収に気がつくことができる
- ④ 典型的な 1-5cfu 範囲の回収を含め、全ての回収を慎重に考察すべき
- ⑤ 回収された微生物の同定は、この調査を行ううえで重要

In the case of an isolated single excursion, establishing a definitive cause probably will not be possible, and only general corrective measures can be considered. It is never wise to suggest a root cause for which there is no solid scientific evidence. Also, there should be an awareness of the variability of microbial analysis. Realistically, there is no scientific reason to treat a recovery of 25 cfu as statistically different from a recovery of 15 cfu. ~~One should not consider~~ A value of 15 cfu should not be considered significant in terms of process control, because realistically there is no difference between a recovery of 14 cfu and one of 15 cfu. Microbiologists should use practical scientific judgment in their approach to excursions.

単独で単発の一過性逸脱の場合、決定的な原因をはっきりできないであろう。そして、一般的な是正方法だけが検討可能である。確たる科学的根拠がないものに対し原因を提言するのは賢明ではない。さらに、微生物分析における変動性を認識すべきである。現実、25cfu の回収を 15cfu の回収と統計学的に差があるとして取り扱う科学的理由はない。14cfu の回収と 15cfu の回収に現実的な差はないので、15cfu という値が工程管理の面で重要だととらえるべきではない。微生物担当者は、一過性逸脱に対処する場合、実務的な科学的判断を行うべきである。

箇条書：

- ① 独立した単発の一過性逸脱に対する原因は明確にできないであろう
- ② 独立した単発の一過性逸脱に対しては、一般的な是正方法だけが検討可能である
- ③ 確たる科学的根拠がないものに対し原因を提言するのは賢明ではない
- ④ 微生物分析における変動性を認識すべきである
- ⑤ 25cfu の回収を 15cfu の回収と統計学的に差があるとして取り扱う科学的理由はない
- ⑥ 14cfu の回収と 15cfu の回収に現実的な差はない
- ⑦ したがって、15cfu という値が工程管理の面で重要だととらえるべきではない
- ⑧ 微生物担当者は、一過性逸脱に対処する場合、実務的な科学的判断を行うべきである

FURTHER CONSIDERATIONS ABOUT DATA INTERPRETATION

データ解釈のさらなる考察

In the high-quality environments required for aseptic processing, detection frequency typically is low. As can be seen from the rates recommended in [Table 3](#), the majority of samples taken in an aseptic processing area will yield a recovery of zero contamination. In the most critical areas within an aseptic processing operation, it is expected that less than 1% of the samples will yield any recoverable

contamination. In the most advanced of modern aseptic operations that use separative technologies such as isolators or closed RABS, the recovery rate will approach zero at all times.

無菌操作に要求される高品質な環境においては、検出頻度は通常低い。表 3 の推奨頻度に見られるように、無菌操作区域から採取されたサンプルの大部分はゼロ汚染の回収となる。無菌操作工程の最もクリティカルな区域では、回収可能な何らかの汚染は 1%未満のサンプルから発生すると予測される。アイソレータやクローズド RABS のような隔離技術を使用した最も高度な近年の無菌操作においては、回収率は常にゼロに近づく。

箇条書:

- ① 無菌操作に要求される高品質な環境においては、汚染の検出頻度は通常低い。
- ② 表 3 の推奨頻度でわかるように、無菌操作区域から採取されたサンプルの大部分はゼロ汚染となる
- ③ 無菌操作の最もクリティカルな部分では、汚染は 1%未満のサンプルから発生すると予測される
- ④ アイソレータやクローズド RABS などの高度無菌操作では、汚染回収率は常にゼロに近い

The microbiologist responsible for environmental control or sterility assurance should not take this to mean that the environmental quality approaches sterility. The sensitivity of any microbial sampling system in absolute terms is not known. In environmental monitoring, a result of zero means only that the result is below the limit of detection of the analytical system. A false sense of security should not be derived from the infrequency of contamination recovery in aseptic processing.

環境制御もしくは無菌保証に責任を持つ微生物担当者は、上記のことは環境品質が無菌に近づいていることを意味していると捉えてはいけない。どのような微生物サンプリングの感度も絶対的には未知である。環境モニタリングにおいては、結果がゼロということは、結果は分析システムの検出限界以下であるということの意味しているだけである。無菌操作において汚染回収が減多に起こらないからといって、誤った安全意識を持つてはいけない。

箇条書:

- ① 汚染回収率が常にゼロに近いのは、環境品質が無菌に近づいているからだと考えてはいけない
- ② どのような微生物サンプリングの感度も絶対的には未知である
- ③ 環境モニタリングの結果がゼロということは、分析システムの検出限界以下であるという意味
- ④ 無菌操作において汚染回収が減多に起こらないからといって、誤った安全意識を持つてはいけない

Sterility assurance is best accomplished by the careful control of human-borne contamination, which industry experts agree is the primary significant risk in aseptic processing. Risk analysis models that analyze processes prospectively to reduce human-borne contamination risk by minimizing operator interventions are more powerful tools for sterility assurance than monitoring. Environmental monitoring cannot prove or disprove in absolute terms the sterility of a lot of product. Environmental monitoring can only assure those responsible for a process that a production system is in a consistent,

validated state of control. Care should be taken to avoid drawing inappropriate conclusions from monitoring results.

人由来の汚染は、無菌操作において重大な主要リスクであると業界の専門家は認めており、人由来の汚染を注意深く制御することにより、無菌保証を一番うまく達成できる。リスク分析モデルによりプロセスを前もって分析し、オペレータ介入を最小にして人由来汚染リスクを減少できるが、このリスク分析モデルは、モニタリングよりも更に強力なツールである。環境モニタリングにより、あるロットの製品の無菌性を絶対的に保証することも反証することもできない。環境モニタリングは、生産システムが首尾一貫したバリデートされた制御状態にあることをプロセス責任者に保証するだけである。モニタリング結果から不適切な結論を引き出さないよう注意されたい。

箇条書：

- ① 人由来の汚染は、無菌操作において重大な主要リスクであると業界の専門家は認めている
- ② 人由来の汚染を注意深く制御することにより、無菌保証を一番うまく達成できる
- ③ リスク分析モデルを用いてプロセスを前もって分析すると、オペレータ介入を最小化して人由来汚染リスクを減少することができる
- ④ このリスク分析モデルは、モニタリングよりも更に強力なツールである
- ⑤ ある製品ロットの無菌性を、環境モニタリングにより絶対的に保証することも、反証することもできない
- ⑥ 環境モニタリングは、生産システムが首尾一貫したバリデートされた制御状態にあることをプロセス責任者に保証するだけである
- ⑦ モニタリング結果から不適切な結論を引き出さないよう注意されたい。

SAMPLING AIRBORNE MICROORGANISMS

空中浮遊微生物のサンプリング

Among the most commonly used tools for monitoring aseptic environments are impaction and centrifugal samplers. A number of commercially available samplers are listed for informational purposes. The selection, appropriateness, and adequacy of using any particular sampler are the responsibility of the user.

無菌環境のモニタリングに最も広く使用されているツールに、衝突型サンブラと遠心分離型サンブラがある。市販されているサンブラをいくつか参考までに列挙する。どのサンブラをおおうと、その選択、適切性、および妥当性はユーザーの責任である。

Slit-to-Agar Air Sampler (STA)— The unit is powered by an attached source of controllable vacuum. The air intake is obtained through a standardized slit below which is placed a slowly revolving Petri dish that contains a nutrient agar. Airborne particles that have sufficient mass impact the agar surface,

and viable organisms are allowed to grow. A remote air intake is often used to minimize disturbance of unidirectional airflow.

Sieve Impactor—This apparatus consists of a container designed to accommodate a Petri dish that contains a nutrient agar. The cover of the unit is perforated with openings of a predetermined size. A vacuum pump draws a known volume of air through the cover, and airborne particles that contain microorganisms impact the agar medium in the Petri dish. Some samplers feature a cascaded series of sieves that contain perforations of decreasing size. These units allow determination of the size range distribution of particulates that contain viable microorganisms based on the size of the perforations through which the particles landed on the agar plates.

Centrifugal Sampler—The unit consists of a propeller or turbine that pulls a known volume of air into the unit and then propels the air outward to impact on a tangentially placed nutrient agar strip set on a flexible plastic base.

Sterilizable Microbiological Atrium—The unit is a variant of the single-stage sieve impactor. The unit's cover contains uniformly spaced orifices approximately 0.25 inch in size. The base of the unit accommodates one Petri dish containing a nutrient agar. A vacuum pump controls the movement of air through the unit, and a multiple-unit control center as well as a remote sampling probe are available.

Surface Air System Sampler—This integrated unit consists of an entry section that accommodates an agar contact plate. Immediately behind the contact plate is a motor and turbine that pulls air through the unit's perforated cover over the agar contact plate and beyond the motor, where it is exhausted. Multiple mounted assemblies are also available.

Gelatin Filter Sampler—The unit consists of a vacuum pump with an extension hose terminating in a filter holder that can be located remotely in the critical space. The filter consists of random fibers of gelatin capable of retaining airborne microorganisms. After a specified exposure time, the filter is aseptically removed and dissolved in an appropriate diluent and then plated on an appropriate agar medium to estimate its microbial content.

Settling Plates—This method is still widely used as a simple and inexpensive way to qualitatively assess the environments over prolonged exposure times. Published data indicate that settling plates, when exposed for 4- to 5-hour periods, can provide a limit of detection for a suitable evaluation of the aseptic environment. Settling plates may be particularly useful in critical areas where active sampling could be intrusive and a hazard to the aseptic operation.

One of the major drawbacks of mechanical air samplers is the limited sample size of air being tested. When the microbial level in the air of a controlled environment is expected to contain extremely low levels of contamination per unit volume, at least 1 cubic meter of air should be tested in order to maximize sensitivity. Typically, slit-to-agar devices have an 80-L/min sampling capacity (the capacity of the surface air system is somewhat higher). If 1 cubic meter of air were tested, then it would require an exposure time of 15 min. It may be necessary to use sampling times in excess of 15 min to obtain a representative environmental sample. Although some samplers are reported to have high sampling volumes, consideration should be given to the potential for disruption of the airflow patterns in any critical area and to the creation of turbulence.

Technicians may wish to use remote sampling systems in order to minimize potential risks resulting from intervention by environmental samplers in critical zones. Regardless of the type of sampler used, analysts must determine that the extra tubing needed for a remote probe does not reduce the method's sensitivity to such an extent that detection of low levels of contamination becomes unlikely or even impossible.

SURFACE SAMPLING

表面サンプリング

Another component of the microbial-control program in controlled environments is surface sampling of equipment, facilities, and personnel. The standardization of surface sampling methods and procedures has not been as widely addressed in the pharmaceutical industry as has the standardization of air-sampling procedures. Surface sampling can be accomplished by the use of contact plates or by the swabbing method.

Contact plates filled with nutrient agar are used for sampling regular or flat surfaces and are directly incubated for the appropriate time and temperature for recovery of viable organisms. Specialized agar can be used for the recovery of organisms that have specific growth requirements. Microbial estimates are reported per contact plate.

The swabbing method can be used to supplement contact plates for sampling of irregular surfaces, especially irregular surfaces of equipment. The area that will be swabbed is defined with a sterile template of appropriate size. In general, it is in the range of 24 to 30 cm². After sample collection the swab is placed in an appropriate diluent or transport medium and is plated onto the desired nutrient agar. The microbial estimates are reported per swab of defined sampling area.

Surface monitoring is used as an environmental assessment tool in all types of classified environments. In ISO 5 environments for aseptic processing, surface monitoring is generally

performed beside critical areas and surfaces. Component hoppers and feed chutes that contact sterile surfaces on closures and filling needles can be tested for microbial contamination. Often in conventional staffed clean rooms, these product contact surfaces are steam sterilized and aseptically assembled. The ability of operators to perform these aseptic manipulations are evaluated during process stimulations or media fills, although true validation of operator technique in this manner is not possible. Surface monitoring on surfaces that directly contact sterile parts or product should be done only after production operations are completed. Surface sampling is not a sterility test and should not be a criterion for the release or rejection of product. Because these samples must be taken aseptically by personnel, it is difficult to establish with certainty that any contamination recovered is product related.

CULTURE MEDIA AND DILUENTS

培養培地と希釈剤

The type of medium, liquid or solid, used for sampling or plating microorganisms depends on the procedure and equipment used. Any medium used should be evaluated for suitability for the intended purpose. The most commonly used all-purpose solid microbiological growth medium is soybean–casein digest agar. As previously noted, this medium can be supplemented with chemicals that counteract the effect of various antimicrobials.

IDENTIFICATION OF MICROBIAL ISOLATES

微生物分離株の同定

A successful environmental control program includes an appropriate level of identification of the flora obtained by sampling. A knowledge of the flora in controlled environments aids in determining the usual microbial flora anticipated for the facility and in evaluating the effectiveness of the cleaning and sanitization procedures, methods, agents, and recovery methods. The information gathered by an identification program can be useful in the investigation of the source of contamination, especially when recommended detection frequencies are exceeded.

うまくいく環境制御プログラムは、サンプリングにより得られた菌叢の適切なレベルでの同定を含んでいる。管理環境における菌叢の知識は、その施設に予想される通常の微生物叢を決定する助けになり、また清掃およびサニタイゼーション手順、方法、薬剤、回収方法の有効性を評価する助けになる。同定プログラムで得られる情報は、汚染源の調査、特に推奨検出率を超えた場合に、有益である。

箇条書：

- ① うまくいく環境制御プログラムにおいては、サンプルした菌叢を適切なレベルで同定している

- ② 管理環境における菌叢の知識は、その施設に予想される通常の微生物叢を決定する助けになる
- ③ また清掃およびサニタイゼーション手順、方法、薬剤、回収方法の有効性を評価する助けにもなる
- ④ 同定プログラムで得られる情報は、汚染源の調査、特に推奨検出率を超えた場合に、有益である

Identification of isolates from critical and immediately adjacent areas should take precedence over identification of microorganisms from noncritical areas. Identification methods should be verified, and ready-to-use kits should be qualified for their intended purpose.

重要区域および隣接する区域からの分離株の同定は、非重要区域の微生物同定より先に行うこと。同定方法を検証すべきであり、既製のキットには使用目的に照らして適格性評価を行うこと。

箇条書：

- ① 重要区域および隣接する区域からの分離株の同定は、非重要区域の微生物同定より先に行うこと
- ② 同定方法を検証すべきである
- ③ 既製の同定キットには使用目的に照らして適格性評価を行うこと

CONCLUSION

結論

Environmental monitoring is one of several key elements required in order to ensure that an aseptic processing area is maintained in an adequate level of control. Monitoring is a qualitative exercise, and even in the most critical applications such as aseptic processing, conclusions regarding lot acceptability should not be made on the basis of environmental sampling results alone. Environments that are essentially free of human operators generally have low initial contamination rates and maintain low levels of microbial contamination. Human-scale clean rooms present a very different picture. Studies conclusively show that operators, even when carefully and correctly gowned, continuously slough microorganisms into the environment. Therefore, it is unreasonable to assume that samples producing no colonies, even in the critical zone or on critical surfaces, will always be observed. Periodic excursions are a fact of life in human-scale clean rooms; but the contamination recovery rate, particularly in ISO 5 environments used for aseptic processing, should be consistently low.

環境モニタリングは、無菌操作区域が適切な管理レベルに維持されていることを保証するのに必要とされる主要な要素のひとつである。モニタリングは定性的な活動であり、無菌操作のような最もクリティカルな用途においてさえも、ロット受入可能性に関する結論は、環境サンプリングの結論だけで決めるべきではない。本質的に人の操作がない環境は、一般的に低い初期汚染率であり、低い微生物汚染レベルを維持している。人が入ることのできる大きさのクリーンルームは非常に異なった様相を呈する。慎重かつ正しく更衣したときでも、オペレータは継続して微生物を環境にまき散らすことが、研究において決定的に示されている。よって、

コロニーを生成しないサンプルが常に観測されるだろう、と仮定するのはクリティカルゾーンあるいはクリティカルな表面においてさえ理にかなわない。人が入れるサイズのクリーンルームにおいて、一時的逸脱を繰り返すのは事実である。しかし、特に無菌操作において使用される ISO 5 環境においては、微生物回収率は相当に低いはずである。

箇条書:

- ① 環境モニタリングは、無菌操作区域が適切に管理されていることを保証する要素のひとつである
- ② モニタリングは定性的な活動である
- ③ ロット受入可能性に関する結論は、環境サンプリングの結論だけで決めるはいけない
- ④ 人の操作がない環境は、一般的に低い初期汚染率であり、低い微生物汚染レベルを維持している
- ⑤ 人が入ることのできる大きさのクリーンルームは非常に異なった様相を呈する
- ⑥ 正しく更衣しても、オペレータは継続して微生物を環境にまき散らすことが、研究において判っている
- ⑦ よって、コロニーを生成しないサンプルが常に観測されるだろうと仮定するのは、クリティカルゾーンあるいはクリティカルな表面においてさえ理にかなわない。
- ⑧ 人が入れるサイズのクリーンルームにおいて、一時的逸脱が繰り返し発生するのは事実である
- ⑨ 無菌操作に使用される ISO 5 環境においては、微生物回収率は相当に低いはずである

Clean-room operators, particularly those engaged in aseptic processing, must strive to maintain suitable environmental quality and must work toward continuous improvement of personnel operations and environmental control. In general, fewer personnel involved in aseptic processing and monitoring, along with reduction in interventions, reduces risk from microbial contamination.

クリーンルームのオペレータ、特に無菌操作に従事する人は、適切な環境品質の維持に努め、職員の作業と環境管理のたゆまない改善にむけて進むこと。一般的に、無菌操作とモニタリングに従事する職員がより少なければ、介入の減少にともない微生物汚染のリスクも減少する。

箇条書:

- ① クリーンルームのオペレータ、特に無菌操作に従事する人は、適切な環境品質の維持に努め、職員の作業と環境管理のたゆまない改善にむけて進むこと
- ② 無菌操作とモニタリングに従事する職員がより少なければ、介入の減少にともない微生物汚染のリスクも減少する

GLOSSARY

用語集

Air Changes—The frequency per unit of time (minutes, hours, etc.) that the air within a controlled environment is replaced. The air can be recirculated partially or totally replaced.

Air Sampler—Devices or equipment used to sample a measured amount of air in a specified time to quantitate the particulate or microbiological status of air in the controlled environment.

Airborne Particulate Count (also referred to as *Total Particulate Count*)— The total number of particles of a given size per unit volume of air.

Airborne Viable Particulate Count (also referred to as *Total Airborne Aerobic Microbial Count*)— The recovered number of colony-forming units (cfu) per unit volume of air.

Aseptic—Technically, the absence of microorganisms, but in aseptic processing this refers to methods and operations that minimize microbial contamination in environments where sterilized product and components are filled and/or assembled.

Aseptic Processing—An operation in which the product is assembled or filled into its primary package in an ISO 5 or better environment and under conditions that minimize the risk of microbial contamination. The ultimate goal is to produce products that are as free as possible of microbial contamination.

Bioburden—Total number and identity of the predominant microorganisms detected in or on an article.

Clean Room—A room in which the concentration of airborne particles is controlled to meet a specified airborne particulate Cleanliness Class. In addition, the concentration of microorganisms in the environment is monitored; each Cleanliness Class defined is also assigned a microbial level for air, surface, and personnel gear.

Controlled Environment—Any area in an aseptic process system for which airborne particulate and microorganism levels are controlled to specific levels, appropriate to the activities conducted within that environment.

Commissioning of a Controlled Environment—Certification by engineering and quality control that the environment has been built according to the specifications of the desired cleanliness class and that, under conditions likely to be encountered under normal operating conditions (or worst-case conditions), it is capable of delivering an aseptic process. Commissioning includes media-fill runs and results of the environmental monitoring program.

Corrective Action—Actions to be performed that are according to standard operating procedures and that are triggered when certain conditions are exceeded.

Critical Zone—Typically the entire area where product and the containers and closures are exposed in aseptic processing.

Detection Frequency—The frequency with which contamination is observed in an environment. Typically expressed as a percentage of samples in which contamination is observed per unit of time.

Environmental Isolates—Microorganisms that have been isolated from the environmental monitoring program.

Environmental Monitoring Program—Documented program implemented via standard operating procedures that describes in detail the methods and acceptance criteria for monitoring particulates and microorganisms in controlled environments (air, surface, personnel gear). The program includes sampling sites, frequency of sampling, and investigative and corrective actions.

Equipment Layout—Graphical representation of an aseptic processing system that denotes the relationship between and among equipment and personnel. This layout is used in the *Risk Assessment Analysis* to determine sampling site and frequency of sampling based on potential for microbiological contamination of the product/container/closure system. Changes must be assessed by responsible managers, since unauthorized changes in the layout for equipment or personnel stations could result in increase in the potential for contamination of the product/container/closure system.

Material Flow—The flow of material and personnel entering controlled environments should follow a specified and documented pathway that has been chosen to reduce or minimize the potential for microbial contamination of the product/closure/container systems. Deviation from the prescribed flow could result in increase in potential for microbial contamination. Material/personnel flow can be changed, but the consequences of the changes from a microbiological point of view should be assessed by responsible managers and must be authorized and documented.

Media Fill—Microbiological simulation of an aseptic process by the use of growth media processed in a manner similar to the processing of the product and with the same container/closure system being used.

Media Growth Promotion—Procedure that references *Growth Promotion under Sterility Tests* (71) to demonstrate that media used in the microbiological environmental monitoring program, or in *media-fill* runs, are capable of supporting growth of indicator microorganisms and of environmental isolates from samples obtained through the monitoring program or their corresponding ATCC strains.

Product Contact Areas—Areas and surfaces in a controlled environment that are in direct contact with either products, containers, or closures and the microbiological status of which can result in potential microbial contamination of the product/container/closure system.

Risk Assessment Analysis—Analysis of the identification of contamination potentials in controlled environments that establish priorities in terms of severity and frequency and that will develop methods and procedures that will eliminate, reduce, minimize, or mitigate their potential for microbial contamination of the product/container/closure system.

Sampling Plan—A documented plan that describes the procedures and methods for sampling a controlled environment; identifies the sampling sites, the sampling frequency, and number of samples; and describes the method of analysis and how to interpret the results.

Sampling Sites—Documented geographical location, within a controlled environment, where sampling for microbiological evaluation is taken. In general, sampling sites are selected because of their potential for product/container/closure contacts.

Standard Operating Procedures—Written procedures describing operations, testing, sampling, interpretation of results, and corrective actions that relate to the operations that are taking place in a controlled environment and auxiliary environments. Deviations from standard operating procedures should be noted and approved by responsible managers.

Sterile or Aseptic Field—In aseptic processing or in other controlled environments, it is the space at the level of or above open product containers, closures, or product itself, where the potential for microbial contamination is highest.

Sterility—Within the strictest definition of sterility, an article is deemed sterile when there is complete absence of viable microorganisms. *Viable*, for organisms, is defined as having the capacity to reproduce. Absolute sterility cannot be practically demonstrated because it is technically unfeasible to prove a negative absolute. Also, absolute sterility cannot be practically demonstrated without testing every article in a batch. Sterility is defined in probabilistic terms, where the likelihood of a contaminated article is acceptably remote.

Swabs for Microbiological Sampling—Devices used to remove microorganisms from irregular or regular surfaces for cultivation to identify the microbial population of the surface. A swab is generally composed of a stick with an absorbent tip that is moistened before sampling and is rubbed across a specified area of the sample surface. The swab is then rinsed in a sterile solution to suspend the microorganisms, and the solution is transferred to growth medium for cultivation of the microbial population.

Trend Analysis—Data from a routine microbial environmental monitoring program that can be related to time, shift, facility, etc. This information is periodically evaluated to establish the status or pattern of that program to ascertain whether it is under adequate control. A trend analysis is used to facilitate decision making for requalification of a controlled environment or for maintenance and sanitization schedules.

REFERENCES

参考文献

Agalloco J, Akers J. Risk analysis for aseptic processing: The Akers-Agalloco method. *Pharm Technol.* 2005;29(11):74–88.

Agalloco J, Akers J. The simplified Akers-Agalloco method for aseptic processing risk analysis. *Pharm Technol.* 2006;31(7)60–72.

Akers, J. The proper role of environmental monitoring in aseptic processing. *Am Pharm Rev.* 2006; 9(4):24–28.

CDC, Healthcare Infection Control Advisory Committee. Guidelines for environmental control in healthcare facilities. *MMWR* 2003; 52(No. RR-10):1–42.

Favero MS, Puleo JR, Marshall JH, Oxborrow GS. Microbiological sampling of surfaces. *J Appl Bacteriol.* 1968;31:336–346.

Hussong D, Madsen R. Analysis of environmental microbiology data from clean room samples. *Pharm Technol.* 2004; Aseptic Processing Suppl:10–15.

International Organization for Standardization (ISO). 14644-1, Clean rooms and associated environments, part 1: classification of air cleanliness. Geneva: ISO; 1999.

International Organization for Standardization (ISO). 14644-2, Clean rooms and associated environments, part 2: specifications for testing and monitoring to prove continued compliance with 14644 part 1. Geneva: ISO; 2000.

Jensen PA, Todd WF, Davis GN, Scarpino PV. Evaluation of eight bioaerosol samplers challenged with aerosol of free bacteria. *Am Ind Hyg Assoc J.* 1992;53:660–667.

Ljungqvist B. Active sampling of airborne viable particulate in controlled environments: a comparative study of common instruments. *Eur J Parenter Sci.* 1998;3:59–62.

Ljungqvist B, Reinmüller B. Airborne viable particles and total number of airborne particles: comparative studies of active air samples. *PDA J Sci Technol.* 2000;54:112–116.

Ljungqvist B, Reinmüller B. Interaction between air movements and the dispersion of contaminants: clean zones with unidirectional air flow. *J Parenter Sci Technol.* 1993;47(2):60–69.

Maruyama M, Matsuoka T, Deguchi M, Akers J. The application of robotics to aseptic surface monitoring. *Pharm Technol.* 2007;32(7):40–44.

Process simulation testing for sterile bulk pharmaceutical chemicals. PDA Technical Report No. 28. *J Parenter Sci Technol.* 1998;52 S3.

Reinmüller B. Dispersion and risk assessment of airborne contaminants in pharmaceutical cleanrooms. *Building Serv Eng Bull* (Sweden). 2001;Bulletin No. 56.

Stewart SL, Grinshpun SA, Willeke K, Terzieva S, Ulevicius V, Donnelly J. Effect of impact stress on microbial recovery on an agar surface. *Appl Environ Micro.* 1995;61:1232–1239.

Whyte W. Reduction of microbial dispersion by clothing. *J Parenter Sci Technol.* 1985;39(1):51–60.
