再生医療等製品（遺伝子治療用製品を除く）の製造における

チェンジオーバーに関するガイドライン２０１９（手引き）

令和元年１２月

経済産業省／国立研究開発法人日本医療研究開発機構

目　次

1. 総則 1
1.1 背景 1
1.2 目的 2
1.3 適用範囲 2
2. 用語の定義 2
3. チェンジオーバーの基本的考え方 3
3.1 再生医療等製品の製造におけるチェンジオーバー 3
3.2 工程実施における無菌操作環境維持の進め方 5
4. 施設の設計要件 9
4.1 無菌操作環境の構築 9
4.2 清浄化および除染・消毒対応構造 9
4.3 環境管理方法の設定 9
5. 無菌操作環境を継続的に維持する手順の妥当性確認 10
6. 環境の初期化を伴わないチェンジオーバーにおける交叉汚染防止の要件 10
6.1 設計 10
7. 作業者への教育訓練 11
Appendix 12
A1. 飛沫管理 12
A2. 環境維持操作における清浄化について 14
A3. 環境の初期化の考え方 18

再生医療等製品（遺伝子治療用製品を除く）の製造における チェンジオーバーに関するガイドライン２０１９（手引き）

1. 総則

1.1 背景

再生医療等製品（遺伝子治療用製品を除く）（以下、再生医療等製品）は、生きた細胞・組織を製品とするため、滅菌処理をすることができない。このため、製造工程の実施は、外因性の微生物汚染を防止するために、高度な清浄度管理のもと、無菌操作および無菌的操作（以下、無菌（的）操作）で行われることを原則とする。他方、現状の多くの再生医療等製品の製造（ヒト細胞製造システム）では、短時間の工程が、断続的かつ長期（数週～数ヶ月間）にわたり、繰り返し実施される。このため、１つの無菌操作等区域にて、異なる原料や異なるバッチに由来する複数の製品の無菌（的）操作を伴う工程が順を追って実施される運用が想定されている。

無菌操作等区域において、細胞加工を含む、容器を開放して無菌（的）操作を伴う工程を実施する場合、工程の切り替えであるチェンジオーバーを行うには、１つの工程の終了時に次の工程が開始できることに妥当性のある一連の運用手順の構築が要求される。すなわち、チェンジオーバーを行う前の、各工程終了時には、施設（構造設備）の無菌操作等区域とその隣接区域の清浄度維持に関する評価を含め、無菌操作環境が維持されているか、あるいは、回復の処置が必要かの判断を要する。

一般的な再生医療等製品製造では同一の無菌操作等区域で繰り返し無菌操作が実施され、その間、製造施設における工程終了時の無菌操作等区域およびその隣接区域の清浄度は、原則、継続的に維持されると考える。一方で、工程終了時の無菌操作等区域においては、例えば、工程中の操作にともなって発生する飛沫（エアロゾルを含む液滴）が無菌操作等区域の壁面や床面に残留することで、次工程以降で操作する製品を汚染させるリスクの存在などが挙げられる。チェンジオーバー時には、これらのリスクについて、対象となる製品の特性を理解し、ケースバイケースにて、リスクの受け入れ可否の判断や、対処方法の検討を行う必要が生じる。

【解説】

GCTP省令において無菌操作等区域とは、作業所のうち、無菌操作により取り扱う必要のある製品等の調製作業を行う場所、滅菌された容器等が作業所内の空気に触れる場所及び無菌試験等の無菌操作を行う場所とある。この「無菌操作により取り扱う必要がある製品等」には自己由来細胞など無菌性が確保できない原料等が含まれる。従ってGCTP省令における無菌操作は無菌的操作の考慮が含まれ、本ガイドラインの無菌（的）操作に

相当している。

1.2　目的

本ガイドラインは、再生医療等製品の製造で、無菌操作等区域における、容器の開放を伴う工程間のチェンジオーバーについて、次の工程を開始するために必要な、基本的な考え方を示し、適切な工程管理を行うための一助となることを目的とする。

1.3　適用範囲

本ガイドラインは、無菌操作等区域において、複数の工程間にて生じるチェンジオーバーに対して適用される。

2.　用語の定義

・インシデント（incident）：中断・阻害、損失、緊急事態又は危機になり得る又はそれらを引き起こし得る状況（JIS Q 22300 参照）

・環境維持操作　（implement measures necessary for maintaining the environment）：清浄化および除染・消毒

・除染（decontamination）：空間や作業室を含む構造設備に生存する微生物を再現性のある方法により予め指定された菌数レベルにまで減少させること。

・消毒（disinfection）：対象物又は対象物の局所的な部位に生存する微生物を減少させること。

・初期化（reprocessing）：使用する設備や機器を工程が開始できる状態にすること。

・清拭（wipe away）：不織布等を使用した、汚れや粒子などの異物を取り除き、一度取り除いた汚染物質を再付着させない清掃の手段。（Appendix A2参照）

・清浄化(cleanup）：製品の品質に影響しうる汚れや粒子などの異物を取り除くことで、次作業の開始時において影響を及ぼさない状態まで、低減させること。

・清掃（cleaning）：汚れや粒子などの異物を取り除くこと。

・チェンジオーバー（changeover）：工程を切り替えること。

・微生物（microorganism）：細菌及び真菌を指す。

・飛沫（splashed droplet）：液滴を指す。

・拭き上げ（rub away）：洗浄剤、不織布等を使用した、バイオフィルム等の固着した汚れや粒子などの異物を取り除く清掃の手段。（Appendix A2参照）

・無菌（sterile）：定められた方法で予め対象とする微生物が検出されないこと。

・無菌操作（aseptic processing）：微生物および微粒子を許容レベルに制御するために、供給する空気、原料および資材、構造設備並びに作業者を管理した環境下において無菌製品に対する作業を行うこと。（ISO 13408-1参照）

・無菌的操作（processing using aseptic technique）：外因性の微生物汚染を排除するために、供給する空気、原料および資材、構造設備並びに作業者を管理した環境下において、作業を行うこと。（ISO 18362参照）

・無菌操作等区域（cell processing area）：無菌操作または無菌的操作を行う場所。

・滅菌（sterilization）：全ての種類の微生物を殺滅または除去し、対象物または空間中に微生物がまったく存在しない状態を得ること。

3. チェンジオーバーの基本的考え方

再生医療等製品の製造において、チェンジオーバーを実施する場合は、複数の工程によって無菌操作等区域や製造機器を共有することが、特定の製品の製造において採用できることを、予めリスク評価により確認する必要がある。このとき、チェンジオーバーの採用は、製造対象となる製品の特性を理解し、製品の混同や交叉汚染など、同一の区域で複数の工程を共有する運用による影響、および、インシデントが生じたときの影響について、十分なリスク評価を行ない、各々の品質マネジメントシステムの管理下にて製造を実施できることを前提に、決定されることが求められる。

チェンジオーバーの実施では、その施設で製造される全製品および全工程の特性を理解の上、各工程の実施によって生じるリスクを評価し、次工程に向けて、どのように無菌操作環境を継続的に維持あるいは再構築（回復）すべきかを、工程ごとで決定する必要がある。各施設での無菌操作環境の管理方法（運用手順）や、各工程終了時の課題（リスク評価）は、細胞加工機関ごとで異なる。また、製造品目や生産数により変動が生じることも予想される。従って、無菌操作環境を継続的に維持するには、ケースバイケースにて、どのような方法と手順を実施すべきかを検討し、最終的に実施する手順の妥当性を確保することが求められる。

3.1 再生医療等製品の製造におけるチェンジオーバー

安全キャビネットやアイソレータシステム内を無菌操作等区域として採用し、容器を開放し操作を行う工程の実施を前提とする施設では、清浄化が行われた無菌操作等区域において、無菌操作等区域とその隣接区域の清浄度が適切に管理されることで、無菌操作環境が構築され、工程の開始が可能となる。一般的な無菌操作による工程が実施された場合、工程終了後も清浄度が維持されることが原則であるが、無菌操作等区域での無

菌（的）操作には飛沫など細胞加工に依存する残留物という予め想定されるリスクが生じる可能性がある。また、自己細胞由来製品の製造工程では、無菌が保証されない原料等が無菌操作環境に導入される無菌的操作が実施される場合があり、清浄度などが一時的に無菌操作の管理値を外れる可能性が想定される。このため、工程終了時の無菌操作等区域内の残留物の状態と無菌操作等区域とその隣接区域の清浄度管理の状態については、無菌操作環境の継続性を考慮する上で表1のように分類される。

工程終了時に、清浄度が管理値内に維持された状態で、無菌操作等区域内に飛沫等の残留物が生じない場合、無菌操作環境は維持される（A）。残留物が生じても、予め決められた手順により制御が可能な場合も、適切な清浄化手順の実施により、環境の継続性が維持される（B）。このとき、清浄度が管理値を外れたとしても、工程上で想定されたインシデントであれば、清浄化とともに適切な除染・消毒を実施することで環境の継続性が維持される（C）。一方で、残留物のリスクが制御されていない場合や、適切な清浄化手順が構築できない場合では、環境の継続性の維持が不可あるいは困難となる。この場合、無菌操作環境は、初期化を行うことが要求される(D)。

このような工程終了時の状態をふまえ、チェンジオーバーの実施は、無菌操作環境が継続して維持されるか否かで、異なる進めかた（処理方法）が想定される。１つは、表１のDに相当する、工程終了時に無菌操作環境が解除され、次工程の開始前に無菌操作環境を再構築する、初期化を伴う方法。もう１つは、表1のA～Cに相当する、清掃など、無菌操作終了時にリスクに応じた清浄化を行うことで、次工程に必要な無菌操作環境が継続できる方法である。このような、環境の初期化を伴わないチェンジオーバーは、清浄度が維持されており、かつ、残留物によるリスクが次工程で受け入れられることで、採用することが可能となる。現状の再生医療等製品製造においては、無菌操作環境の構築と維持が、必ずしも工程ごとで独立せず、施設の運用開始時に初期化され、一定の期間、継続的に維持される運用が想定されている場合、環境の初期化を伴わないチェンジオーバーの採用が検討される。

【解説】

一般的な無菌操作を伴う製造工程においては、工程開始前に無菌操作を実施できる環境（製造ライン）を構築し、適切な清浄化および除染・消毒により無菌操作環境を構築した後、環境モニタリングの結果による確認を経て製造を開始する。本ガイドラインでは、このような手順の無菌操作環境の構築を「環境の初期化」と定義している。再生医療等製品製造においても、施設の年次点検後の再立ち上げ時などはこの手順が該当すると考える。他方、施設の運用時では、再生医療等製品製造の工程（培地交換、継代など）が細胞の成育に合わせ1日あるいは数日おきに繰り返し実施されるので、無菌操作を実施する無菌操作等区域の無菌操作環境はその間継続的に維持されていることが望ましい。無菌操

作等区域で容器を開放して無菌操作を実施する場合、１つの工程終了時に無菌操作環境を継続するには、各工程の作業後に適切な清浄化作業を行い、工程終了時に無菌操作環境が維持されている必要がある。無菌操作環境が維持されるための清浄化手順は、それぞれの工程の作業手順よりリスク評価を実施し、予め適切な手順を構築し、検証が行われていることが要求される。本ガイドラインでは、検証された清浄化手順により無菌操作環境が維持可能な作業後の状態について無菌操作環境の継続性が維持できる、「継続可能」な状態と定義している。

表1. 工程終了時における無菌操作環境の継続可能性

分類	無菌操作環境の状態		想定される チェンジオーバー 方法
	残留物による 継続への影響	隣接区域を含む 清浄度管理	
A. 無菌操作環境が維持されている	継続	管理値内	環境の初期化を 伴わない
B. 無菌操作等区域のみの環境維持操作により無菌操作環境の継続性が維持できる	継続可能	管理値内	
C. 無菌操作等区域と隣接区域の環境維持操作で無菌操作環境の継続性が維持できる	継続可能	管理値外	
D. 無菌操作環境の再構築を要する	継続不可	---(*)	環境の初期化を伴う

* 清浄度管理の値に寄らない

3.2　工程実施における無菌操作環境維持の進め方

チェンジオーバーに向けた無菌操作環境の維持は、図1のような運用が求められる。一般的に、１つの工程の終了時において、無菌操作等区域およびその隣接区域の清浄度等が管理値から外れ、かつ、無菌操作環境が継続できない状態ならば、初期化が必要となる。このとき、初期化の清浄化および除染・消毒手順は、リスクが評価できない非管理状

態からの、完全な回復（再構築）であり、十分条件の清浄化と、無菌化のための除染・消毒手順を実施することが不可欠となる。また、初期化実施後の微生物清浄度評価については、除染などの予め妥当性評価された工程を除き、環境モニタリング等の事後評価を行った後に合否を判断することが必須となる。また、清浄度が維持されていたとしても、予め定められた手順ではない、動線や操作の不明な想定外の作業により、汚れや微粒子の付着部位や付着量を想定することができない状態では、特定の部位のみを清浄化して対処を行うような、簡易な回復手順を構築することは困難であり、同様に、初期化の実施が必要となる。

上記に対し、本ガイドラインにおける、環境の初期化を伴わないチェンジオーバーでは、原則として、無菌操作等区域とその隣接区域の清浄度が定められた手順を介し継続的に維持が確認できることと、工程に由来し無菌操作等区域に生じるインシデント（残留物）が受け入れられるかで、チェンジオーバーの採否が判断される。インシデント受け入れとは、適切な対処手順を構築し、予めその妥当性を検証することで、無菌操作環境が継続し、次工程に影響を生じさせないことの妥当性が得られるインシデントに限定される。具体的には、無菌操作等区域とその隣接区域の清浄度が継続的に維持されていることが確認された上で、工程から生じた飛沫などの残留物（無菌操作等区域のリスク）が次工程の開始に向けて受け入れ可能なものであれば、無菌操作等区域を維持するための適切な方法と手順を構築することにより、環境の継続性の維持はできる。環境維持のための方法および手順は、実施された工程が予め定められた手順書に従ったものであり、残留物の種類や量、分布する範囲が想定可能なものであれば、構築可能であり、予め方法及び手順の妥当性を検証することで、無菌操作環境を継続的に運用することができる。

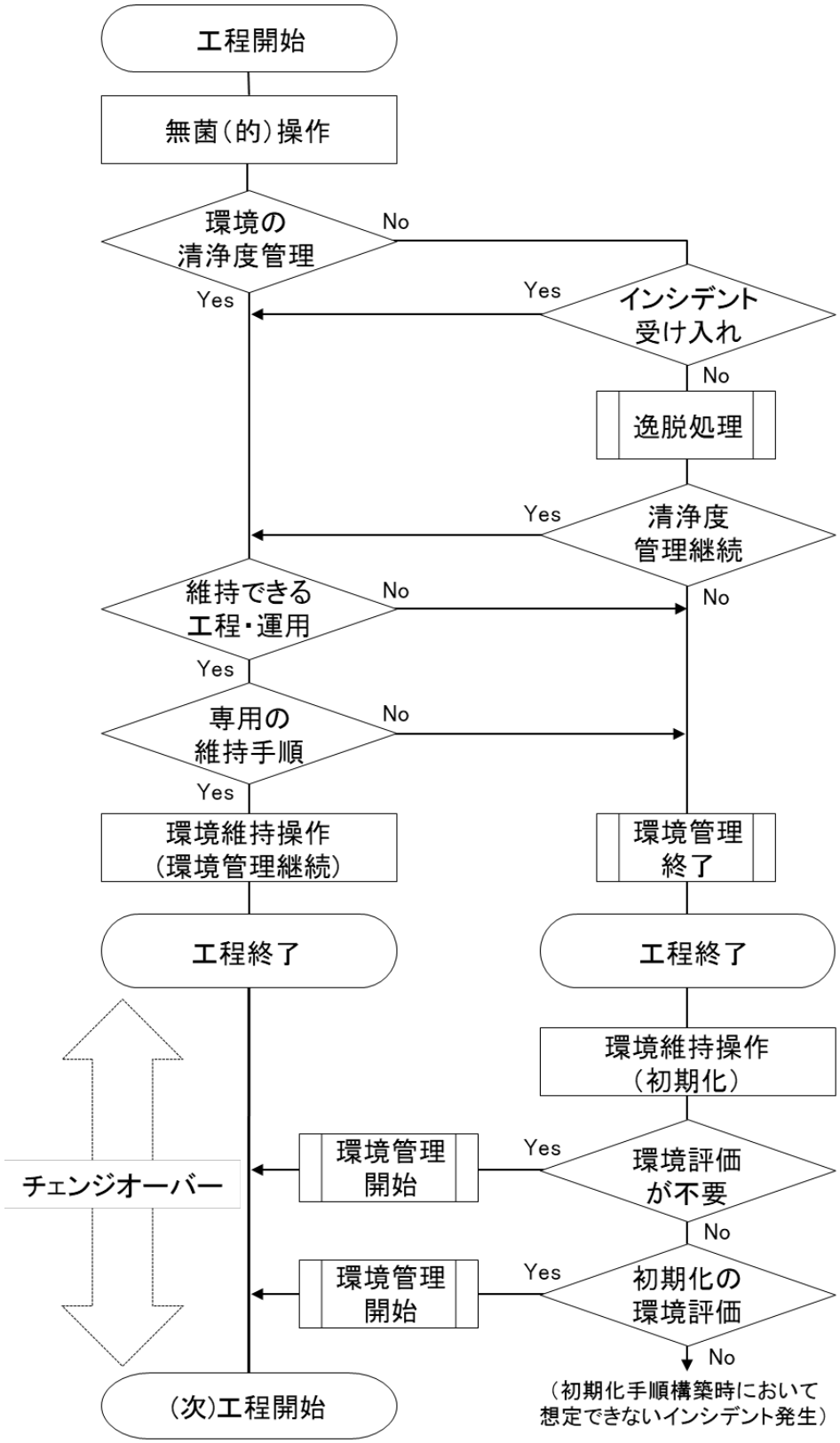

図1. 工程運用時における無菌操作環境の管理フロー

3.3 環境の初期化を伴わないチェンジオーバー

環境の初期化を伴わないチェンジオーバーの採用は、無菌操作等区域およびその隣接区域の清浄度を継続的に維持することが可能で、無菌操作等区域への残留物リスクが受け入れ可能な場合においてのみ検討ができると考える。想定される残留物が受け入れできないものである場合には、採用は困難である。受け入れ困難な残留物とは、予めリスク評価が実施されていない操作に由来するもので、万一、次工程の製品が触れてしまった場合、その品質に影響を及ぼす可能性が否定できないものを意図する。これらを不活化できる処理が要求されるならば、初期化と同等の評価（回復確認）が求められる。受け入れ可能な残留物については、必要に応じて、適切な清浄化を実施することで対処できる。清浄化の方法（清掃手段）や手順の要求は、工程の終了時における残留物について、次作業の開始時において取り扱う製品に影響を及ぼさない状態まで、低減させていることで達成できる。

上記の要件を満たすとき、環境の初期化を伴わないチェンジオーバーにおける清浄化の要求は、初期化のように製品への影響が未知数の状態から無菌操作環境の回復を求めるものではなく、製品への影響が予め評価された特定の作業に対してのみ交叉汚染を生じさせないレベルまでの低減を実施することで達成が可能である。例えば、無菌操作等区域の床面等、作業者や工程資材が触れる可能性のある表面に付着した工程操作時の飛沫は、次工程においてグローブの手指や工程資材に転写され、その後、別の場所で触れることあるいは落下することで拡散すると想定する。このため、表面に付着した飛沫処理は、グローブの手指や工程資材に転写されないことなど、工程ごとに、想定される範囲と量の飛沫が除去できる手順が構築できていれば、適切な対処手順として妥当性を得られると予想する。このとき、リスクが生じないと判断できる表面への対処は要求されない。安全キャビネットを無菌操作等区域に採用した場合における、飛沫管理の考え方については、Appendix A1を参照のこと。清浄化において、表面に付着した飛沫を除去する清掃の方法と手順の構築については、Appendix A2を参照のこと。また、無菌操作環境の構築時における初期化の考え方については、参考としてAppendix A3に示すので、適宜参照すること。

【解説】

構築された清浄化の手順は、検出可能レベル以下で拡散するリスクは否定できない。従って、定められた手順による清浄化を実施後に、残留し続ける汚染リスクの幅を考慮し、工程ごとで受け入れ可能か否かを判断し、妥当性を推定することが求められる。清浄化手順は、扱う細胞・組織の種類や数量を含む、対象となる製品の工程特性、残留物の種類や量の想定あるいは無菌操作環境の使用頻度や遊休する時間などを考慮して、工程ご

とに、リスク評価の結果をもとに、必要な清浄化（拭き上げや清拭等の方法を含む清掃の手順）や、必要に応じて除染または消毒の要否と条件（範囲と頻度）を決定し、適切な手順、適切な間隔にて実施することで、無菌操作環境の継続的な維持を達成できるように決定する必要がある。このとき、清浄度管理におけるインシデント発生は、早期に検出する方法と手順を構築することが重要であり、必要に応じて微生物迅速試験法の採用を検討することも有用である。また、人による作業ミスなどから生じるインシデントについて、できる限り除外できるように努めることや、万一生じた場合の検出の可否等については、リスクの受け入れ可否の判断に不可欠な情報と考える。必要に応じて、予めこれらの対処方法も手順に定めておくことが必要である。

4. 施設の設計要件

再生医療等製品の製造においては、外因性の汚染を防止し、適切な無菌操作環境を構築可能な、施設（構造設備・機器）と、それに合わせた運用体制（組織）が必要である。

4.1 無菌操作環境の構築

製造においては、適切な無菌操作環境を実現できる構造設備・機器が整えられていること。その上で、適切に工程が開始できる無菌操作環境が構築されていること。構造設備の設計においては、外因性の微生物が混入しない運用手順に対応していること。

4.2 清浄化および除染・消毒対応構造

工程における、一連の細胞・組織加工作業の後に、飛沫等、残留物の付着が想定される場所や培養容器の破損、損傷などにより培養液が飛散する可能性のある場所は、清浄化のための適切な清掃ができる構造、材質であること。また、除染・消毒ができる構造、材質であること。

4.3 環境管理方法の設定

無菌操作環境を継続的に維持するため、工程終了時に清浄度（微粒子・微生物）が維持されていることの確認方法（モニタリング方法、管理値等）を設定しておくこと。また、外因性の汚染が発生した際に、速やかな検出と適切な対応（原因究明、再発防止措置等）が実施できる体制を構築しておくこと。

5. 無菌操作環境を継続的に維持する手順の妥当性確認

無菌操作環境の継続的な維持を行うために設定した清浄化に係る方法および手順について、要求された効果が期待できること、および、妥当性を有することの確認を行うこと。

6. 環境の初期化を伴わないチェンジオーバーにおける交叉汚染防止の要件

無菌操作等区域において、容器を開放し、無菌操作を伴う工程を実施する場合、チェンジオーバーの設計時および実施時においては、製品の品質確保のため、特に、交叉汚染の防止について留意する必要がある。

6.1 設計

1) 同一の無菌操作等区域において、同時に複数の工程を行わないこと。
2) 工程の作業手順は、無菌操作等区域への機器、工程資材の持ち込みを最小限とするように設計すること。
3) 工程中に生じる残留リスクを最小限とするように手順を設計し、飛沫等の残留物が有る場合は、リスクに応じて、適切に清浄化の方法および手順を設定すること。
4) 清浄化の手順は、無菌操作環境の形状やそれに伴う気流を考慮し、工程ごとに作業の特性および手順を分析し、作業中に生じる残留物が次作業に及ぼす影響についてリスク評価を行い、適切な方法と手順を構築すること。手順は定期的に見直し、必要に応じて是正・予防すること。
5) 安全キャビネットやアイソレータ内の壁や床面を清浄化する場合は、適切な清浄剤を選択し、拭き上げと清拭の手段を適切に組み合わせることで、無菌（的）操作時に付着した汚れや微粒子に対して、妥当性のある清掃方法を構築し、手順化すること。
6) 除染剤は無菌が保証されたものを使用し、化学物質等の残留リスクが想定される場合は予め残留の評価を行い、必要に応じて除去手順の検証を行うこと。
7) 無菌操作等区域とその隣接区域の清浄度管理方法を決定すること。清浄度が管理値を外れたときの対処方法について、予め工程ごとに定めておくこと。

6.2 実施

1) 工程において、無菌操作等区域に飛沫等の残留物が付着した場合、予め決められた手順に従い、適切な清浄化を実施すること。
2) 工程終了後は、無菌操作等区域内の全ての物（機器、原料、工程資材）を取り出し、汚染物として処理すること。未使用の工程資材は、飛沫等の付着による交叉汚染の可能性があるため、原則として廃棄すること。機器を再使用する場合は、適切な洗浄

手順および滅菌あるいは除染処置を講ずること。洗浄手順は必要に応じて妥当性を確認すること。

3) 無菌（的）操作終了後における、必要に応じた清浄化は、予め承認された手順書に従って実施すること。

4) 無菌（的）操作終了後に培養容器をインキュベータに戻す際、インキュベータ内にある他工程の容器や、必要以外の部位に触れないこと。

5) 無菌（的）操作終了後、飛沫等が付着する可能性のある手袋、無塵衣は原則として工程終了時に汚染物として扱う。再使用を行う際には、予め決められた手順に従い適切な清浄化を実施すること。

6) 工程中に培養液等をこぼした場合は、予め決められた手順に従い、処理を進めること。無菌操作環境の回復を行う場合は、予め定められた手順により、清浄化および除染・消毒を実施すること。

7. 作業者への教育訓練

一般的な無菌（的）操作技術、微生物に関する基礎知識、施設の構造設備、衛生管理、再生医療等製品の製造工程に関する教育は、製造施設に入退室する全ての作業者に実施する必要がある。

製造においては、製品の混同や交叉汚染を確実に防止するために、本ガイドラインに基づいて定めたチェンジオーバーを適切に行うための遵守すべき手順書、基準について、必要な教育訓練等の措置を継続的に講じること。

Appendix

A1. 飛沫管理

飛沫など工程中の残留物や汚染物の発生及び残留に対して環境維持操作を経てチェンジオーバーが可能な場合があり、必要な工程設計が求められる。その際、残留物となりうる飛沫の発生原理の理解に基づく発生を抑制する方法の構築および無菌操作等区域内での残留箇所を科学的に特定することは、初期化を伴わないチェンジオーバーを実施する上での飛沫管理に対する重要な知見となる。

A1.1. 無菌（的）操作時に求められる要件

1) 無菌操作等区域内での無菌（的）操作において、飛沫の発生を最小化するように操作手順を構築、作業者への教育訓練を実施すること。
2) 無菌（的）操作中に生じる飛沫に対し、無菌操作等区域内の表面への付着を最小化するように操作手順を構築、作業者への教育訓練を実施すること。

【解説】

飛沫の発生要因として主に、試料の振盪やピペッティング時の泡の破裂などがある。従って、予め適切にリスク評価を行い、工程設計を行うことが求められる。

A1.2. 残留物の受け入れに対する飛沫管理の考え方の一例

上述の要件に対し、基本的な飛沫管理に関する考え方の一例を示す。必ずしもこの考え方を求めるわけではないのでリスクベースに応じた対応を行うこと。

泡の破裂などによって生じる飛沫は様々な方向へ初速度を有している。無菌操作等区域内での気流制御環境下では、初速度を有して生じた気流に乗る飛沫は、気流方向へと移動方向を変化させた後に無菌操作等区域内の表面に付着または排出されるのに対し、初速度を有して生じた気流に乗らない飛沫は、重力の影響を受けて無菌操作等区域内の表面に付着する。一旦表面へ付着した飛沫は、蒸発を伴いながら、気流に影響を受けて下流方向へのみ移動する。具体的な飛沫管理の一例として、安全キャビネット内において泡の破裂によって生じる飛沫に対する管理では、①空気を出し切らない注液方法によって泡および飛沫の発生を抑制する。②容器の奥深くで注液することにより、気流に乗らない飛沫が容器外へ移動することを防ぐ。③気流に乗る飛沫の付着箇所を特定する。

無菌操作等区域内での汚染物の残留に対して、チェンジオーバー後の作業中に培養容器内へ異物混入するリスクを考慮した上で清浄化箇所を決定することが求められる。具体的な一例として、安全キャビネット内の作業台面を利用する手作業時には，作業台面に触れる操作が行われることから、作業台面に付着した飛沫が手に触れることで異物混

入の汚染リスクになる可能性があるのに対し、壁面に付着した飛沫は、気流方向に従って移動することから、培養容器内へ異物混入を防ぐような操作を行うことで、作業台面のみの清浄化によって、他検体の細胞を操作することを可能にすることができる。一方、作業台面を利用しない機械作業の場合には、飛沫の付着部位を気流下流域となるように設計または使用機器等で補うことで、細胞操作を実施する空間へ異物が流入しないことを確認することによって、定期的な清浄化要求を除くことを可能とすることができる。

A2.　環境維持操作における清浄化について

再生医療等製品の製造には、飛沫を生じる工程があり、次の製品の品質に影響しうる汚れや粒子などの異物が飛散し、残留するリスクが生じる。こうした残留物が次の工程に影響を及ぼさないためには、本文中の「図 1. 工程運用時における無菌操作環境の管理」フローに従い、環境維持操作を実施する。

清浄化は、特定の工程に対し、想定される残留物及び清浄化を要する部位を設定し、清浄化後に対象部位のモニタリング等を行い、清浄化の効果を正しく評価することで、妥当性をもって確認された方法を標準作業手順として設定することが求められる。

尚、残留リスクを許容出来ない場合においては、本文中の図 1 のフローの通り、環境初期化処理および環境評価等を実施すること。また、チェンジオーバーの前後において、製造の性質が大きく乖離しており、想定されるリスクをいたずらに高める内容になっていないこと。ここでは、本文「3.3. 環境の初期化を伴わないチェンジオーバー」に記載されている清浄化、特に清掃について手順策定の考え方を示す。

A2.1　清浄化手順の設計要件

1) チェンジオーバーにおいて、リスクとなり得る対象物を分析し、設定すること。
2) チェンジオーバーにおいて、Appendix A1 を参照し、清浄化を実施する部位を設定すること。
3) 想定される残留物及び部位に対し、有効な清掃方法、清掃用具および清浄剤等を検討すること。
4) 目的とする清浄化が達成できる方法と、手順を設計時に確認すること。
5) 妥当性をもって確認された清浄化の手順を文書化し、作業者へ教育訓練を実施すること。また、教育訓練の効果についても確認すること。

A2.2　清浄化における清掃方法の策定

1) 清浄化を行う上での留意点

　無菌操作等区域およびその隣接区域の環境の継続性の維持を考慮するうえで、それぞれの区域における汚れまたは微粒子のリスクを評価して清浄化における清掃手順を設定すること。

2) 清浄化における清掃方法の考え方

　不織布等を使用する清浄化においては、清浄剤を行き渡らせる、あるいは、付着した汚れまたは微粒子を作業台面から浮かせ、減少させることを目的とする拭き上げと、不織布等の清潔な面で一方向に拭き、汚れまたは微粒子の物理的除去を目的とす

る清拭がある。清浄剤によって清浄化の対象物を不活化する場合や、作業台面に汚れまたは微粒子が固着している場合等には、拭き上げによって清浄剤等を行き渡らせ、汚れまたは微粒子を作業台面から浮かせて除去する作業が必要になる。一方、異物除去を行う場合には、一度異物の上を通過した不織布等の面を再び使用すると、汚染部位の拡大につながるため、使用した不織布等の面を替えて、一方向で拭く清拭を行う（図 A2.1）。拭き上げと清拭の効果の違いを考慮した上で、適切に清浄化手順を策定する必要がある。

【解説】

清掃方法については、構造設備や運用によって異なるため、専門家の意見を参考にすることを推奨する。

A2.3　清浄化に使用する清掃用具の例

1)　無菌操作等区域

清掃用具の選定に当たっては適用する清浄度に応じた滅菌済みの低発塵 1 回使用製品を使用すること。

例：　不織布

2)　清浄度管理区域

清掃用具の選定に当たっては適用する清浄度に応じた滅菌済みの低発塵 1 回使用製品もしくはオートクレーブ等で滅菌可能なものを使用すること。

例：　不織布、ディスポーサブルモップ

A2.4　清浄剤の例

設定した部位の残留物の除去に有効な清浄剤を選択すること。また、チェンジオーバー後の製造に影響を与えないものを使用すること。

清浄化する部位の清浄度に応じたものを使用すること。特に、無菌操作等区域においては、無菌性が保証された清浄剤を使用し、清浄剤に含まれる微粒子等、または、清浄剤そのものが汚れまたは微粒子として製造プロセスに影響を与えないことを事前に確認すること。

1)　滅菌水

不織布と作業台面等の物理的な接触機会を増やし、汚れまたは微粒子の除去効果を高める。また、水は様々な物質の溶媒になり得るので、汚れまたは微粒子を溶かして除去するという点において効果的である。

2) 70% エタノール、70% イソプロパノール

物理的な汚れまたは微粒子に対する除去効果があるだけでなく、揮発性が高いため、使用面への残留時間が短く汎用性が高い。

3) 界面活性剤（第４級アンモニウム塩、中性洗剤等）

タンパク質、脂質などを含有する汚れまたは微粒子に対して、界面活性作用により物理的な除去効果を高めるために使用する。

※第 4 級アンモニウム塩は塩化ベンザルコニウムなどの陽イオン界面活性剤であり、主に消毒剤として使用されている。

A2.5 清浄化手順策定の例

想定される残留物は、製造の工程毎に異なることが考えられる。従って、清浄化の手順は、工程毎に、その特性に応じて細かく検討されるべきである。

表 A2.1 の 1 から 3 について適切に選択し、目的の清浄化が達成できることを確認し、設計された手順を作成すること。設計された清浄化の手順は文書化すること。

例：

- リン酸緩衝生理食塩水（PBS）を残留物として想定する場合

1) 不織布、滅菌水を用いて清拭する。

- 作業台面に固着した培地を残留物として想定する場合

1) 不織布、滅菌水を用いて拭き上げを行い、培地の固着が無くなったことを確認する。
2) 不織布、70%エタノールを用いて清拭する。

【解説】

目的の清浄化を達成する手順構築のため、清掃方法、清掃用具、あるいは清浄剤について適宜選択すること。最適な手順は、運用によって異なるため、専門家の意見を参考にすることを推奨する。

A2.6 教育の要件

1) 清浄化の標準作業手順書の内容が達成できる教育訓練を行い、評価すること。
2) 教育訓練については定期的な技量の確認によって必要に応じて再教育を実施するこ

と。

3) 清浄化手順の変更及び更新時には、教育訓練の見直しと更新を実施すること。

表 A2.1 清浄化を実施するための要素とその例

1. 清掃方法	拭き上げ・清拭・その他
2. 清掃用具	不織布・ディスポーサブルモップ・その他
3. 清浄剤	滅菌水・70% エタノール・70% イソプロパノール・界面活性剤・その他

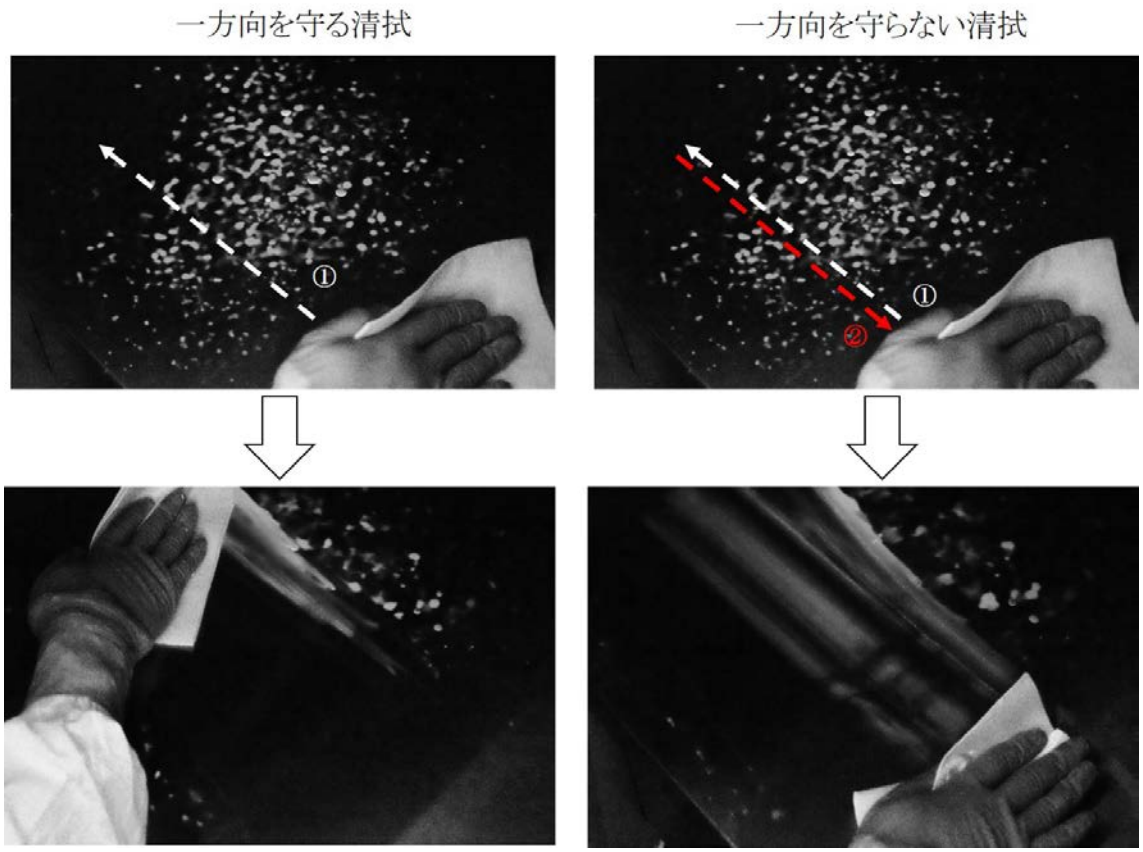

図 A2.1 一方向を守る清拭と守らない清拭の一例

A3.　環境の初期化の考え方

再生医療等製品の製造には無菌操作等区域での工程が多くを占める。無菌（的）操作が必要とされる製造環境を維持するためには微生物や微生物が増殖し得る要因を排除することが重要である。本文中の表 1「工程終了時における無菌操作環境の継続の可能性：D」にあるように、継続不可となった場合の再構築や、新たに工程が開始できる無菌操作環境を構築するためには環境の初期化が必須となる。

初期化には人による持ち込み物や飛沫などの汚染物を許容できる範囲まで除去するための清浄化と、微生物の化学薬剤による除染・消毒があり、評価を伴う。

ここでは、Appendix A1、A2 では対処することが難しい微生物を対象とし、除染・消毒に焦点を当て初期化の考え方について示す。

A3.1　初期化を前提とした清浄化

初期化作業の一つである除染・消毒を遂行するためには、微生物の増殖の原因となる物質やバイオフィルムなども想定したタンパク質などに対して Appendix A2 で示されるような清浄化が実施されていなくてはならない。化学薬剤を使用した除染・消毒を実施する際に有機物などの汚染物が残留している場合には、汚染物の内側などに潜む微生物に対しての効果が著しく減少する可能性がある。従って効果的な除染・消毒を実施するためには除染・消毒前に清浄化が達成されていることが必要である。

【解説】

日常あるいは定期的な清浄化により環境が維持されていると判断する場合には、除染・消毒前に状態を確認することで、清浄化を省略することができる。

A3.2　除染・消毒

除染・消毒いずれも、化学薬剤を用いて生存する微生物の数を減少させる処置であるが、本文の用語の定義にもあるように微生物を減少させる空間や設備など対象物の違いにより、「除染」、「消毒」を選定する必要がある。また、除染と消毒では評価の方法も違うため汚染リスクや状況なども考慮し適切な方法を選ぶことが求められる。

1)　除染

化学薬剤を気化又は噴霧させ、空間や作業室を含む構造設備を対象とし、生存する微生物をあらかじめ指定された菌数レベルまで減少させるのに用いられる。特に汚染リスクの特定が困難な場合や、空調システムが起因する場合などが有効である。

再生医療等製品の製造における構造設備で実施する場合は、除染剤及び除染条件の有効性に関するバリデーションを実施する共に、製品や作業者の安全性を確保する必要がある。使用する化学薬剤によっては、濃度、温度、湿度、接触時間等の条件設定が複雑なものも存在するため、専門的な知見を有すると認められた者の下、実施することが望まれる。また、自らで実施が困難と判断された場合には専門家へ委託することを推奨する。

2) 消毒

化学薬剤を用いて拭き上げ、清拭、噴霧、浸漬等の方法があり、環境においては設備、床、壁などの表面等の局所的な部位に生存する微生物を減少させるのに用いられる。使用する化学薬剤によっては腐食性が高いものなども存在するため、対象物の性質や汚染微生物の種類や数などの汚染状態を考慮し、リスク分析により選定することが望まれる。除染とは異なり汚染リスクが特定されている場合や、対象となる場所が限定的あるいは局所的な場合に有効である。

【解説】

拭き上げまたは清拭について、清浄化あるいは除染・消毒に用いる場合は、それぞれの目的を達成できる適切な薬剤、操作を選択して再現性のある手順を構築すること。また、実施後の環境が製品に影響を及ぼさないことの検証を行うことが望ましい。

A3.3 使用する化学薬剤（除染剤・消毒剤）の選定について

1) 除染剤としては、第 17 改正日本薬局方参考情報　消毒法及び除染法に一般的に使用される薬剤として過酸化水素、過酢酸、ホルムアルデヒドが記載されている。また、その他の薬剤についても「有効性と安全性が確認された除染剤は使用することができる。」とされているので、適切に検証を実施することで、二酸化塩素、オゾン、二酸化窒素なども同等の効果を示す除染剤として有効である。

アイソレータや安全キャビネットといった狭所を対象とした除染と、作業環境などを対象とした除染では同じ化学薬剤であっても条件により有効性が大きく異なるため十分な選定のための評価と、実施に際してのバリデーションが必要である。

2) 消毒剤については、化学薬剤が液剤として直接対象物と接触するため、上述したように対象物の材質への腐食性を考慮し選定する必要がある。

特に消毒剤は、使用する環境や表面材質などにより有効性が異なることがあるため、選定時には、使用する環境での効果確認、もしくは硬質表面キャリア法などによる選定評価を実施することが望まれる。

3) 上記の注意事項として、再生医療等製品の製造環境の場合、有効性と安全性だけではなく、培養細胞への影響、培地への溶解なども考慮し選定する必要がある。

A3.4 評価について

1) 除染

一般的に除染効果の評価には，バイオロジカルインジケータを用いることが多い。評価方法としては除染前に､使用する除染剤に対して抵抗性を有する芽胞菌を基としたバイオロジカルインジケータを、空間や作業室を含む構造設備の各所に配置し、除染後にバイオロジカルインジケータを回収し、培養法により、生残菌の有無を確認する一連の流れとなる。また，除染後の評価では、必要に応じて微生物迅速試験法などを使用してもよい。

2) 消毒

通常、環境における消毒後の評価は、コンタクトプレート法もしくはスワブ法を用いて行う｡消毒後の評価基準としては清浄度の管理基準に合わせることが一般的である。

A3.5 初期化の全体計画

初期化は管理値の逸脱が生じた場合の処置とは別に、無菌操作環境の汚染リスクなどの予防管理の一環としても実施する必要がある。その際、経時的な汚染リスクを分析し計画的な実施が求められる。実施する頻度や、方法などは年単位で作成し、場合によっては見直しを行う。特に空間や作業室を含む構造設備に対して実施する除染の場合、機器の配置変更などが起きると、想定される効果が得られなくなる可能性が高くなる。除染を伴う初期化の全体計画には、除染の有効性を示すためのバリデーション計画も盛り込み作成することが望まれる。初期化に伴う、清浄化、除染・消毒の手順は化学薬剤の使用方法や保管方法なども含めて文書化する必要がある。

初期化は再生医療等製品に影響を及ぼす可能性のある殺芽胞効果のある除染剤等の使用や、環境評価が伴うなど一定の知識を有する必要があるため、初期化の全体計画には実施者の教育訓練は必須である。

A3.6 参考資料

(1)厚生労働省関連文書	第十七改正日本薬局方　参考情報　G4　微生物関連　消毒法及び除染法

再生医療（ヒト細胞製造システム） 開発 WG 委員

座長	浅野 茂隆	早稲田大学 招聘研究教授
	秋枝 静香	株式会社サイフューズ 代表取締役
	天野 健太郎	株式会社竹中工務店 未来空間研究部 精密環境グループ長
	池松 靖人	株式会社日立プラントサービス 再生医療協働研究所 所長
	牛田 多加志	東京大学大学院　工学系研究科 機械工学専攻 教授
	梅澤 明弘	国立研究開発法人国立成育医療研究センター 再生医療センター センター長
	小川 祐樹	大阪大学大学院 工学研究科 生命先端工学専攻 生物プロセスシステム工学領域 特任研究員
	北村 正樹	ディー・バリュー・サービス合同会社 事業戦略室 室長
	紀ノ岡 正博	大阪大学大学院工学研究科 生命先端工学専攻 生物プロセスシステム工学領域 教授
	小久保 護	澁谷工業株式会社 再生医療システム本部 参与技監
	後藤 浩	日本エアーテック株式会社 設計本部 設計 3 部 部長
	齋藤 充弘	大阪大学大学院医学系研究科 未来細胞医療学共同研究講座 特任准教授
	中村 浩章	アース環境サービス株式会社 開発本部 学術部 課長代理
	水谷 学	株式会社リプロセル 技術アドバイザー
	森 由紀夫	株式会社ジャパン・ティッシュ・エンジニアリング 生産統括本部長 生産技術部 部長 兼 品質管理部 部長
	若松 猪策無	株式会社メディネット 経営管理部 サイエンティフィックアドバイザー

再生医療（ヒト細胞製造システム） 開発 WG
ガイドライン（手引き）素案検討タスクフォース委員会

	谷本 和仁	澁谷工業株式会社 再生医療システム本部 次長