



一般社団法人日本再生医療学会

再生医療等安全性確保法における 細胞培養加工施設での無菌操作に関する考え方

改訂履歴：

第1版 2018年3月31日公開

第2版 2020年3月23日公開

第3版 2021年3月23日公開

内容

1. 序論.....	3
2. 適用範囲	4
3. 用語の定義又は説明	4
4. 要求事項	6
5. 細胞培養加工施設の作業所	8
6. 製造設備及びユーティリティ	16
7. 作業所の衛生管理.....	18
8. 職員.....	19
9. 更衣.....	22
10. 原料等及び工程資材の管理	23
11. 無菌操作要件	26
12. 微生物学的試験	28
13. 微生物迅速試験法.....	29
A1. 無菌操作等区域(飛沫管理)	31
A2. ロット形成	31
A3. 混同防止.....	32
A4. 汚染防止.....	32
A5. 汚染物処理	33
A6. チェンジオーバー	34



B1. 構造設備の例.....	40
B2. 更衣	47
B3. 有害生物管理.....	53
B4. 培養加工方法の変更（互換性）	57
B5. 搬送	60
B6. 培養を経ない閉鎖系（歯科領域で用いられる多血小板血漿の製造）	62
B7. 製造設備及びユーティリティの適格性評価	64
B8. 有害生物管理の例	65
B9. 微生物迅速試験法の活用例.....	69
C1. 安全キャビネット	71
C2. アイソレータ	81
C3. HEPA フィルター	83
C4. インキュベーター	86
C5. 遠心分離機	95
C6. アスピレーター	96
C7. 工程資材.....	101
C8. 顕微鏡の管理	104



1. 序論

本考え方は、特定細胞加工物の製造及び品質管理に係る職員及び再生医療を行う医師又は歯科医師に対して無菌操作に関する基本的な考え方を示し、特定細胞加工物に係る無菌性の確保に資することを目的とする。

特定細胞加工物は、主に、ヒト由来の細胞・組織から得た生きた細胞を用いるため、多くの点で医薬品と異なる特性を有する。例えば、製造において最終滅菌法やろ過滅菌法にて特定細胞加工物を無菌化できないために、全製造工程を通して繰り返し無菌操作を行う必要がある。その際、できる限り外部からの微生物等の混入リスクを低減できる、製造工程、構造設備あるいは工程資材を設計・導入し、継続的に運用することが求められる。特定細胞加工物の製造は多品種少量生産であることが多く、画一的な規格や基準、方法を採用するのではなく、当該細胞培養加工施設で取り扱うことのできる特定細胞加工物の条件と、交差汚染防止や混同防止といった目的を明確化したうえで、本考え方にに基づき製造及び品質管理に柔軟かつ適切に反映させることが重要である。

特定細胞加工物の原料である細胞は、品質不安定であるため速やかな作業が必要であり、無菌性確保のための処置や作業に長く時間をかけられない場合が多い。特定細胞加工物は、生きた細胞そのものが再生医療等に用いられるため、多様で複雑な品質特性を有する。一方、試験にて特定細胞加工物の品質特性を正確に把握することは容易ではなく、さらに、作業環境並びに動作が特定細胞加工物の品質特性に変動を生じさせるリスクが存在する。そのため、特定細胞加工物の製造工程の管理では、作業時間の変動によるロット内での品質のバラツキについて留意した上で、ロット間における作業環境並びに動作の再現性・互換性を確認することが望ましい。さらには、作業者による手作業の場合、取り扱う細胞の特性や実施する培養作業の本質的な理解が十分でない、一定の品質の特定細胞加工物を製造ごとに得ることは容易でない。よって、作業者の技術水準が特定細胞加工物の品質に大きく影響することを理解し、製造工程を設計及び管理することが必要である。特に、原料に均一性がない場合、個々の特定細胞加工物の特性や作業環境並びに動作を考慮し、必要に応じて製造工程中に品質の確認を行うことが望ましい。

特定細胞加工物の製造工程では、作業者間における動作の不均一性は細胞品質に影響を及ぼす変動要因となり、作業を繰り返すことで積み重ねられ、目的とする特定細胞加工物の規格を満たさない可能性を有する。このことは、特定細胞加工物への無菌操作においても作業者に起因する微生物汚染のリスクを、画一的な方法で評価することが困難であることを意味する。よって、作業者が有する経験や技術に応じた適切な教育訓練を行うことで、リスクの低減またプロセスの堅牢性を確立することが必要である。

特定細胞加工物の品質確保においては、「再生医療等の安全性の確保等に関する法律施行規則（平成26年厚生労働省令第110号）」に則り一貫した品質システムを構築した上で、特定細胞加工物の特性に応じて適切な製造管理及び品質管理を実施、運用する必要がある。本考え方においては、品質システムの中でも特に、無菌操作に関する考え方を示す。



2. 適用範囲

本考え方は、無菌操作により特定細胞加工物の製造を行う細胞培養加工施設での、製造管理及び品質管理に適用する。

3. 用語の定義又は説明

アイソレータ： 環境及び職員の直接介入から物理的に完全に隔離された無菌操作区域を有する装置であって、除染した後に High Efficiency Particulate Air Filter (HEPA フィルター) 又は ultra low penetration air filter (ULPA フィルター) によりろ過した空気を供給し、外部環境からの汚染の危険性を防ぎながら連続して使用することができる装置（「無菌操作法による無菌医薬品の製造に関する指針」）。

アクセス制限バリアシステム (RABS: Restricted Access Barrier System)： グローブを備えたハードウォールなどの物理的な障壁と、HEPA フィルターを介して供給される一方向気流、適切な管理運用システム等を主要な要素とするハードとソフトを融合した無菌操作等区域を有するシステム（「無菌操作法による無菌医薬品の製造に関する指針」）。

開放式 (構造設備)： 本考え方では、細胞加工物への汚染を直接的に防止する構造設備のバリア形態で、外部に対して開放部がある無菌操作等区域を構成する構造設備の方式。

原料等： 本考え方では、原料、材料、原材料及びその他の試薬の総称をいう。例えば、原料には出発原料としてのヒト細胞、材料には足場材料等、原材料には培地・培地添加成分(血清添加物、成長因子、サイトカイン等)、その他の試薬として緩衝液・酵素等が該当する（「再生医療等製品の無菌製造法に関する指針」）。

構造設備： 作業所における製造に必要な環境を維持するための建築物ならびに設備。作業室や管理室等のレイアウト構成に加え、各作業室の仕様や清浄度維持に必要な空調システムを含んでいる（「再生医療等製品の無菌製造法に関する指針」）。

工程資材： 製品及び中間製品に直接あるいは間接的に接触し、無菌性の確保に影響を及ぼす資材で、「原料等」に含まれないもの。例えば、培養フラスコ、遠心チューブ、ピペット、チップ、フィルター、製品が直接接触する容器（1次容器）等が該当する。本考え方では、「再生医療等の安全性の確保等に関する法律施行規則」の「資材」における1次容器も工程資材に含める（「再生医療等製品の無菌製造



法に関する指針」).

消毒： 一般的には、病原菌など有害な微生物を除去，死滅，無害化することであり，本参考情報では対象物又は対象物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ことを指す（「第十七改正日本薬局方」）.

除染： 空間や作業室を含む構造設備内に生存する微生物をあらかじめ指定された菌数レベルにまで減少させること（「第十七改正日本薬局方」）.

清浄化： 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、キャリーオーバーを含む汚染の原因とならないように処理すること。清掃や無菌化等の必要な処理が実施される（「再生医療等製品の無菌製造法に関する指針」）.

清浄度管理区域： 作業所のうち，特定細胞加工物等（無菌操作により取り扱う必要のあるものを除く。）の調製作業を行う場所及び滅菌される前の容器等が作業所内の空気に触れる場所。（「再生医療等の安全性の確保等に関する法律施行規則」）

清浄度管理区域（1）： 本考え方では，隣接する無菌操作等区域の清浄度への影響を考慮すべき環境（無菌操作を支援する場所，無菌操作等区域への物資の導入や操作者の直接介在など，区域を跨ぐ操作を支援する環境，この区域において製品が環境に直接曝露されることはない，よって，区域を跨ぐ操作のない場合は，本領域は不要，RABS やアイソレータも想定。）

清浄度管理区域（2）： 本考え方では，無菌操作等区域に隣接せず，製造作業の品質を考慮する環境.

清浄度レベル： 環境空気の単位体積当たりに含まれる浮遊粒子数とモニタリング手法に応じた微生物コロニー数とによって区分された清浄度の階級（「再生医療等製品の無菌製造法に関する指針」）.

清掃： 空間に対して、主に異物を取り除く処理を指す（「再生医療等製品の無菌製造法に関する指針」）.

製造設備： 本考え方では，特定細胞加工物の製造に用いる滅菌装置，ろ過装置，セルソーター，遠心分離機，培養装置，洗浄装置等のほか，安全キャビネット，アイソレータ，空調設備（HVAC システム）等の環境設備.

洗浄： 水，洗剤などを用いて次の工程あるいは意図する使用に必要な程度まで対象物から汚染物を除



去すること（「最終滅菌法による無菌医薬品の製造に関する指針」）。

チェンジオーバー： 工程を切り替えること（「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）」）

バリア形態： バリア形態により変化する汚染防止の能力（「再生医療等製品の無菌製造法に関する指針」）。

無菌： 生育可能な微生物が存在しないこと（「無菌操作法による無菌医薬品の製造に関する指針」）。

無菌化： 汚染源を消毒又は除染・滅菌により無菌状態（Aseptic な状態）に処理すること（「無菌操作法による無菌医薬品の製造に関する指針」）。

無菌性： 外来性の菌汚染がないこと（「無菌操作法による無菌医薬品の製造に関する指針」）。

無菌操作： 微生物及び微粒子を許容レベルに制御するために、供給する空気、原料及び資材、構造設備並びに細胞調製従事者を管理した環境下において細胞調製に係る作業を行うこと（「無菌操作法による無菌医薬品の製造に関する指針」）。

無菌操作等区域： 作業所のうち、無菌操作により取り扱う必要がある特定細胞加工物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。（「再生医療等の安全性の確保等に関する法律施行規則」）

ユーティリティ： 本考え方では、特定細胞加工物の製造に用いる各種用水、ピュアスチーム、圧縮空気、各種ガス類等を供給する設備。

4. 要求事項

多様性を有する特定細胞加工物の微生物等による汚染を防止するためには、細胞加工物に対する外来性の汚染リスク及び内在性の汚染リスク等を低減することが求められる。

上述を満たすためには、再生医療等の安全性の確保等に関する法律に適合するために必要な、構造設備、組織構成、手順、工程、資源等を用意し、特定細胞加工物の無菌性を確認する適切な試験検査を行うこと。その際、必要に応じて工程中での細胞加工物の微生物汚染を回避するために必要な管理基準を設

定し、適切な製造管理及び品質管理を行うこと。

適切な製造管理及び品質管理を実現するために、以下の項目を満たすこと。

4.1. 製造環境

1) 作業所の環境 (5章)

細胞加工物の無菌性を維持するために作業所の環境基準を決定し、適切に汚染リスクを低下させる構造設備をもって作業所を構築し、維持管理されていることを確認すること。本考え方における構造設備とは、細胞培養加工施設の建屋構造および空調システムを示すほか、無菌操作等区域を構成する機器を含む。

2) 製造設備及びユーティリティ (6章)

作業所に設置される製造設備及びユーティリティは、製造中においても、設置環境における清浄度を満たすよう設計し、検証すること。変更時には、特定細胞加工物の品質に及ぼす影響を品質リスクマネジメントにより考慮すること。

3) 作業所の衛生管理 (7章)

作業所では、種々の定常的な生産活動により清浄度が低下するため、日常的または定期的に適切な清掃ならびに消毒等をもって作業所を管理すること。また、メンテナンスやトラブル等の非定常的な負荷に対しても、適切に清浄度を回復できること。

4) 職員 (8章)

製造に従事する職員は、製造環境の維持に必要な知識及び技能を有していること。また、作業時においては作業に適した健康状態であること。

5) 更衣 (9章)

作業者は作業所並びに細胞加工物に対する汚染源となるため、更衣により適切に汚染リスクを低下させること。

4.2. 原料等及び操作

1) 原料等及び工程資材の管理 (10章)

製造工程で使用する原料等及び工程資材については、用途、使用される環境、細胞加工物との接触の有無等により、細胞加工物の無菌性を確認できるよう適切な管理手順と管理基準を定めること。非滅菌の原料等の取扱いには本考え方に加え「国立感染症研究所病原体等安全管理規定」、「生物学的製剤等の製造所におけるバイオセーフティの取扱いについて」(平成12年2月14日医薬監第14号)その他関連する規定などの最新版等を参考にすること。原則として原性等が不明な細胞加工物を取り扱う場合には、バイオセーフティーレベル2 (BSL2) 以上の構造を有した施設・機器にて取り扱

いを行うこと。

2) 無菌操作要件 (11章)

特定細胞加工物の製造工程における無菌操作では、微生物汚染リスクを低減するために、作業の種類に応じて適切な清浄度の環境で作業すること。また、作業を行う環境への原料等及び工程資材の搬入に関わる除染や消毒の手順及び動線を適切に設定し、搬入による外来性微生物の混入リスクを低減すること。

4.3. 微生物学的試験 (12章, 13章)

工程管理及び品質管理において、微生物学的試験法により無菌性を確認することが可能なシステムを構築すること。その際、微生物迅速試験法の採用も検討することが望ましい。

5. 細胞培養加工施設の作業所

5.1. 作業所の分類

特定細胞加工物に係る作業所は、製造作業を行う場所であり、その作業内容により、作業所内に無菌操作等区域と清浄度管理区域、作業室、作業管理区域を設定する (図1)。

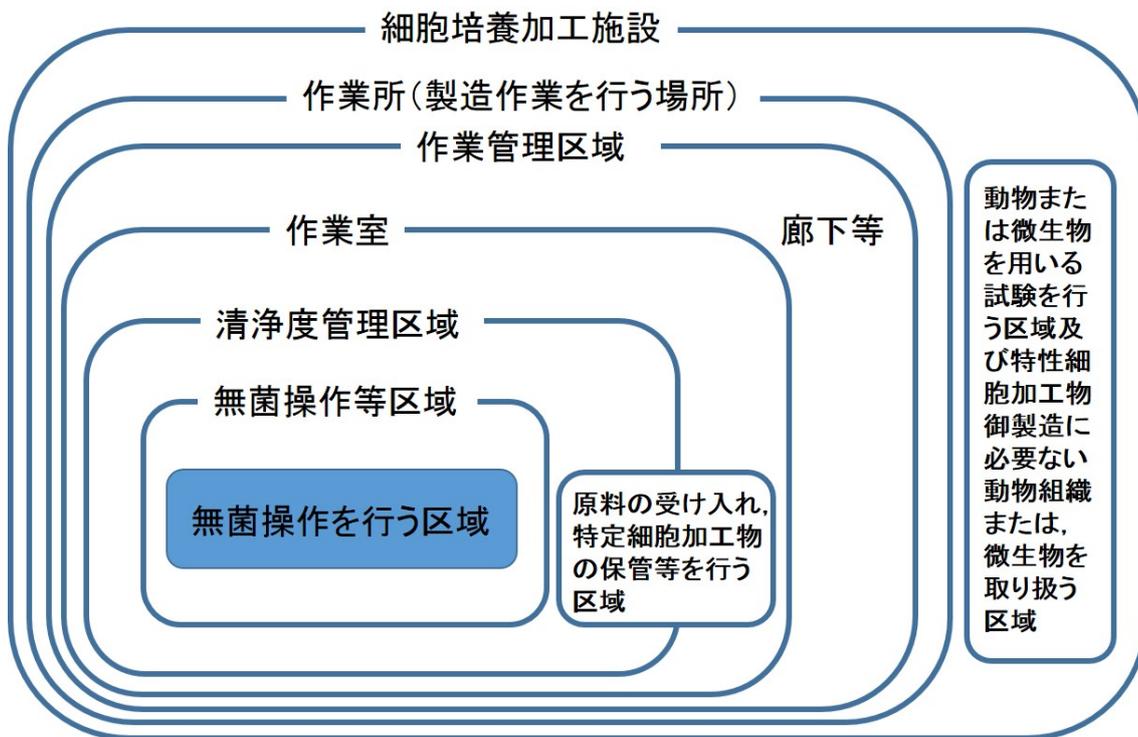


図1. 細胞培養加工施設における各区域の名称

- 1) 無菌操作等区域は、作業所のうち、無菌操作により取り扱う必要がある特定細胞加工物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をいう。清浄度管理区域は、作業所のうち、特定細胞加工物等（無菌操作により取り扱う必要のあるものを除く。）の調製作業を行う場所及び滅菌される前の容器等が作業所内の空気に触れる場所をいう。なお、「滅菌された容器等」とは本考え方においては、工程資材に相当する。
- 2) 清浄度管理区域は、必要に応じて区域環境の役割に応じた清浄度レベルを設定する。表 1 における適用する清浄度レベルの範囲から、作業内容に適した清浄度レベルを設定することが望ましい。
- 3) 各区域及び領域に用いる清浄度レベルの管理基準は、一般的に区域及び領域内の環境空気の単位体積当たりに含まれる粒径 0.5 μm 以上の浮遊微粒子数と、モニタリング手法に応じた微生物のコロニー数とによって表される。清浄度管理に用いられる浮遊微粒子数、ならびに作業時の空中微生物および表面付着微生物の管理レベルを表 2 に示す。
- 4) 清浄度管理区域 (1) においては、適用する清浄度レベルは、隣接する無菌操作等区域を構成する構造設備のバリア形態（開放式/アイソレータ）を考慮して設定すること。構造設備のバリア形態については「5.3. 無菌操作等区域を構成する構造設備」を参照のこと。
- 5) 表 2 は各清浄度レベルに対して標準的に用いる管理基準を示す。製造時における環境モニタリング実績を参考に、作業状態を的確に管理可能な管理基準を必要に応じて設定すること。同一区域内に、より高度な清浄度の管理基準を部分的に設定することは制限されない。適用範囲を明確にし、細胞加工物ならびに工程資材の状態と作業内容に応じて適切に設定すること。

表 1：無菌操作等区域と清浄度管理区域の分類

作業所の区域・領域の名称	区域・領域環境の役割	適用する清浄度レベル
無菌操作等区域	汚染リスクが十分に低減され、細胞加工物を開放可能な環境	A
清浄度管理区域 (1)	隣接する無菌操作等区域の清浄度への影響を考慮すべき環境	B
清浄度管理区域 (2)	無菌操作等区域に隣接せず、製造作業の品質を考慮する環境	C/D

表2：清浄度レベルの管理基準

清浄度 レベル	微粒子 At Rest※1 ≧0.5 μm		微粒子 In Operation※2 ≧0.5 μm		微生物 In Operation			
	ISO	個/m ³	ISO	個/m ³	浮遊菌	落下菌	付着菌	手袋
					CFU/ m ³	CFU/ プレート	CFU/ プレート	CFU/ 5指
A	Class5	3,520	Class5	3,520	<1	<1	<1	<1
B	Class5	3,520	Class7	352,000	10	5	5	5
C	Class7	352,000	Class8	3,520,000	100	50	25	-
D	Class8	3,520,000	-	作業形態に よる	200	100	50	-

※1 At Rest（非作業時）：本考え方では、細胞加工物に対する無菌操作が実施されていない状態。

※2 In Operation（作業時）：細胞加工物に対する無菌操作が実施されている状態。

5.1.1. 無菌操作等区域

- 1) 無菌操作等区域は、細胞加工物への汚染を高いレベルで防ぐ構造設備を用いて、製造作業において細胞加工物の無菌性が維持できるよう設計されなければならない。
- 2) 細胞加工物、原料等及び工程資材が環境に開放されることにより、製品の無菌性に直接影響を与える空間となる領域を無菌操作等区域とする。気流がある場合は、その上流側を含む空間とする。
- 3) 無菌操作等区域の設定においては、必要に応じて無菌操作等区域の汚染に対するリスクアセスメントを実施し、汚染リスクを可能な限り低減する構造設備を検討すると共に、目的に応じた作業によって無菌操作等区域の清浄度に対して影響を与えないことを検証すること。リスクアセスメントの項目には少なくとも以下に示す事項が含まれていること。
 - ① 保管される工程資材のバイオバーデンレベル
 - ② 作業者との接触頻度
 - ③ 気流の方向/境界部分におけるバイオバーデンのキャリーオーバー
 - ④ 微粒子数の回復時間
- 4) 特定細胞加工物の無菌性を確保する上で特に重要な箇所については、必要に応じて浮遊微粒子数及び微生物数について適切な方法及び頻度によりモニタリングを行うこと。開放作業中に無菌操作等区域を直接測定することが困難な場合は、作業履歴を反映するモニタリングポイントや無菌性に影響を与える外乱要因等のモニタリングを考慮すること。

5.1.2. 清浄度管理区域

- 1) 清浄度管理区域は、無菌操作等区域のバックグラウンドとして定義されるほか、必要に応じて、滅菌前の工程資材が、環境に開放される製造作業を含む区域である。無菌操作等区域に隣接し、上位の清浄度への影響を考慮すべき領域（清浄度管理区域（1））と、滅菌前の細胞以外の原料等又は工程資材の調製を行う領域や、無菌操作等区域で使用する機器、器具等を洗浄する領域等から構成され、無菌操作等区域に隣接せず、無菌操作等区域及び清浄度管理区域（1）の清浄度維持活動を支援する領域、（清浄度管理区域（2））とに分類される。
- 2) 清浄度管理区域（1）は、無菌操作等区域に対する汚染リスクを許容可能なレベルまで低減させるための領域である。隣接する無菌操作等区域のバックグラウンドであるため、清浄度レベルの設定においては細胞加工物への汚染を直接的に防止する構造設備のバリア形態に加え、支援作業に与える影響を考慮すること。また、支援作業とは別に当該領域において作業を行う場合は、その作業に適切な清浄度レベルを設定することが望ましい。
- 3) 清浄度管理区域（2）は、当該領域における作業に適切な清浄度レベルを設定することが望ましい。なお、当該領域内にて処理された対象物に伴い混入する恐れのある異物が確実に除去できない場合に、清浄度レベルは、グレード C 以上の管理基準とすることが望ましい。
- 4) 清浄度管理区域（1）は、必要に応じて無菌操作等区域の清浄度に対する影響度についてリスクアセスメントを実施し、上位の清浄度への汚染リスクを低減すること。リスクアセスメントでは少なくとも次の項目について確認することが望ましい。
 - ① 工程資材のバイオバーデンレベル
 - ② 職員の出入り頻度
 - ③ 境界部分におけるバイオバーデンのキャリーオーバー
 - ④ 微粒子数の回復時間

5.2. 構造設備

5.2.1. 一般要件

- 1) 無菌操作等区域と清浄度管理区域の構造及び設計は、製造環境中の清浄度レベルの管理基準を満たすために、空調システム、HEPA フィルターによる空気清浄に留意し、設置及び設計すること。
- 2) 汚染リスクと目的に応じて清掃、消毒もしくは除染可能な構造とすること。
- 3) 無菌操作等区域及び清浄度管理区域はトイレ、飲食等を行う場所から明確に区分されていること。
- 4) 無菌操作等区域及び清浄度管理区域は作業毎に明確に区分され適切な広さを有すること。
- 5) 職員、細胞加工物及び工程資材、廃棄物等の流れ並びにそれらの管理が容易になるよう、かつ各動線の交錯が少なくなるような設備の配置を考慮すること。
- 6) 機器、器具等の清浄品と非清浄品、滅菌品と非滅菌品との混同など、逸脱を予防するような運用又は区画を考慮すること。



- 7) 清浄化及び維持管理が容易な構造とし、設計された機能および性能を維持できるように定期的に点検を行い、必要に応じてメンテナンスすること。
- 8) 無菌操作等区域のバックグラウンドとして清浄度管理区域（1）に設定された部屋については、設定された清浄度の管理基準を満たすために重要なシール部やパッキン類に注意すること。また、結露を防止するための断熱材についても有効に機能するように注意すること。
- 9) 気流を妨げる又は粒子及び微生物がたまる凹凸構造、窓、扉周り等の横棧の設置は、清浄化の妨げとなるため可能な限り避けること。やむを得ない場合は容易に清掃できる構造とすること。
- 10) 更衣区域、衣類保管及び衣類処分のための適切な場所を設けること。
- 11) 無菌操作等区域及び清浄度管理区域内に設置される設備は作業員や維持管理を行う職員のアクセスが容易な配置とすること。
- 12) 無菌操作等区域の近傍に設置する必要のない設備、備品及び器具は無菌操作等区域から離すこと。
- 13) 清浄度管理区域（2）における各作業室は、当該室と直接関係のない職員の日常的な通路とならないように、廊下を適切に配置すること。
- 14) 無菌操作等区域等で使用した器具の洗浄、消毒・除染及び滅菌の為の設備並びに廃液等の処理は時間的、空間的な独立性を考慮し、作業時の清浄度に影響を与えないこと。
- 15) 壁、床及び天井の表面は、清掃可能で洗浄剤や消毒剤に耐える材質であること。
- 16) 無菌操作等区域には排水口や流しを設置しないこと。清浄度管理区域（1）は排水溝や流しを設置しないことが望ましく、やむを得ず水口を設ける必要がある場合は、排水口からの汚染を防止できる必要な構造とすること。また、清浄度管理区域（2）に排水口を設ける場合には、清掃が容易で消毒ができるトラップ及び排水の逆流を防ぐ装置を有するなど、排水口からの汚染防止を考慮することが望ましい。床に溝を設ける場合には浅く、清掃が容易な構造であること。
- 17) パイプやダクト、その他のユーティリティを設置する場合は、奥まった部分など、清掃が困難な表面が無いようにすることが望ましい。
- 18) 温度及び相対湿度は作業所における職員の快適性及び微生物汚染の潜在的リスクに直接的な影響を及ぼす。そのため無菌操作等区域及び清浄度管理区域は、それらの管理基準を必要に応じて適切に設けること。細胞加工物ならびに原料等及び工程資材の品質維持の観点から、開放操作環境や保管環境としてその管理基準を満たすことが出来ない場合は、可能な限り範囲を限定し、限定された範囲の温度及び相対湿度が周囲環境の清浄度に影響を与えないよう考慮すること。
- 19) 各区域の清浄度を維持するために、必要に応じて区域の室圧は扉などで隣接する清浄度の管理基準の低い区域の室圧よりも高く設定すること。構造上差圧の確保が難しい場合は、清浄度レベルの高い区域から隣接する清浄度レベルの低い区域への換気方向を確保すること。バイオセーフティの観点から異なる要求がある場合は、エアロック等を組み合わせることで、清浄度の管理基準を満たす構造設備を構築すること。
- 20) 清浄度管理区域と清浄度管理区域に隣接する区域は必要に応じてエアロックや区域間差圧、気流等

を用いて分離すること。工程資材の受渡しは人の動線と分けてパスボックスやパスルームを設置することが望ましい。

- 21) エアロック扉には同時に開かないような装置（機械式、電気式のほか目視又は音を利用した方式等）を備えることが望ましい。
- 22) 着衣を行う空間の清浄度レベルは、その着衣により作業する部屋における微粒子の清浄度レベル（非作業時）と同じとすること。更衣室とする場合はエアロックの機能を設けることが望ましい。
- 23) 更衣に伴う一時的な微粒子の増加を速やかに低減させるため、着衣を行う空間の容積や換気回数（回復時間）を考慮すること。更衣室とする場合は空気を上部から供給し下部から排気することが望ましい。
- 24) 無菌操作等区域に隣接する清浄度管理区域（1）の更衣は、進入と退出を物理的に分離することが望ましい。ただし、入出の時間をずらすことで対応することもできる。
- 25) 更衣室は、作業する部屋の清浄度に合わせ適切に設けること。同じ清浄度内でも原料等及び工程資材や、細胞加工物などへの交叉汚染のリスクがある場合にはリスクに応じて更衣室を設けることが望ましい。
- 26) 洗浄作業等の汚染リスクの高い作業室においては、シール性や気流方向に注意すること。
- 27) 無菌操作等区域の構造設備は、開放状態の細胞加工物の暴露及び職員の介入が可能な限り少なくなるような設計を心がけること。
- 28) 無菌操作等区域においては、細胞加工物及び工程資材の重要表面の無菌性を維持するような気流パターンとすることが望ましい。

5.2.2. 空調システム

- 1) 空調システムは、扉の開閉、製造設備の運転等の製造作業に由来する短期的な変動に対してのみならず、外気条件の季節変動、設備の経年変化等の長期的な変動に対しても、常に適切に稼働する状態にあるよう維持されなければならない。
- 2) 空調システム及びその管理プログラムの基本要素には、温度、相対湿度、風量、換気回数、一方向気流、室間差圧、HEPA フィルターの完全性、浮遊微粒子数、微生物等が含まれる。
- 3) 空調システムは設定された基本要素の要求を継続的に満たすための機能を有すること。また、適切な頻度をもってその機能を確認できること。
- 4) 管理プログラムの基本要素の内、作業室の温度及び、必要に応じて相対湿度については室内の清浄度に影響を与えるためモニタリングを行える機能を有すること。ただし、細胞加工物ならびに工程資材が周囲環境から影響を受けない場合は、その限りではない。
- 5) 特定細胞加工物及び工程資材の品質管理の観点から、作業室と独立した温度ならびに相対湿度の管理基準がある場合は、その管理対象を含む領域に対する近傍においてその管理基準を満たす空間を維持できること。

- 6) 差圧により清浄度管理レベルが異なる領域を管理する場合は、室間差圧及び気流の逆転が起きない十分な差圧を維持できること、扉を閉じた定常状態で 10～15 Pa 又はそれ以上の差圧を維持することが望ましい。
- 7) 特定細胞加工物の無菌性を確保する上で特に重要と考えられる差圧については、維持されていることを常時モニタリングすること。モニタリングは必ずしも差圧自体の測定に限定されない。さらに、異常時に備えて警報システムを備えることが望ましい。
- 8) 気流によって、浮遊微粒子の管理基準が異なる区域間を管理する場合は、必要に応じて管理基準が満たされていることを確認すること。
- 9) 適切な気流が確保されていることを、設備の設置時の検証においてスモークテスト等の方法により確認すること。また、気流パターンを変更した場合、又はその可能性がある場合においては、再度同様の確認を行うこと。
- 10) 一方向気流の定めがある場合においては、風速の変化が気流パターンに影響を及ぼす可能性があるため、定められた間隔により各 HEPA フィルターの吹出し風速について間接的もしくは直接的にモニタリングを行い、定められた風速が維持されていることを確認すること。
- 11) 換気回数は、作業内容の特定細胞加工物に対する汚染リスクを鑑み、定められた清浄度レベルを維持するために適切な換気回数を設定すること。通常、グレード B を設定した領域では 30 回/時間、グレード C を設定した領域では 20 回/時間を確保することが望ましい。所定の換気回数が維持されていることを定期的に検査すること。また、必要に応じて、作業室内において床付近の塵埃や微生物が室内に舞い上がり環境を劣化させることを防ぐために、必要に応じて上昇気流の発生を抑制すること。グレード D を設定した領域においても、微生物や異物汚染のリスクに応じて同様の配慮をすることが望ましい。
- 12) 製造作業が終了し作業者が退室した後、室内の清浄度は速やかに非作業時の管理レベルに復帰することが望ましい。清浄度管理区域においては、15～20 分程度で浮遊微粒子数が非作業時の管理レベルに到達することが望ましい。

5.3. 無菌操作等区域を構成する構造設備の分類

無菌操作等区域を構成する構造設備の内、細胞加工物への汚染を直接的に防止する構造設備は、その外部へのバリア形態により、開放式とアイソレータの構造設備に分類される。

5.3.1. 開放式

本考え方における開放式とは外部に対して開放部がある構造設備の方式であり、具体的な構造設備としては一般的には安全キャビネットや開口部のあるアイソレータ等が該当する。

- 1) 開放部においては気流を用いて汚染物となる微粒子ならびに微生物の侵入を制御する必要がある。気流によって付随する汚染物の侵入を制御できない搬入対象（作業者の腕や工程資材、ユーティリティ

ィなどを含む)は適切な搬入手順の運用により管理する必要がある。

- 2) 開放部を除く部分においては、気流を除く物理的な遮蔽を用いて汚染物の侵入を防ぎ、当該構造設備内において無菌操作等区域から汚染源が遠ざかるよう気流が確保されていること。
- 3) 開放部では複合的な処理を経由することで搬入対象の搬入を許容する。複合的な処理とは、外装の更新や消毒処理など、段階的に対象のバイオバーデンレベルを低下させ、実質的に無菌的な状態とする方法である。
- 4) 開口部が存在する場合であっても隣接する区域に対して差圧を確保することが可能であり、開口部が作業者の侵入を目的としておらず特定細胞加工物等の搬出対象の搬出のみを目的として構造が最適化されている場合 (RABS など) においては、アイソレータ構造設備と同等の機能を有していると判断してもよい。

5.3.2. アイソレータ

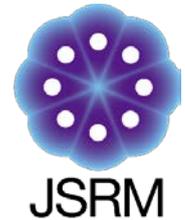
本考え方におけるアイソレータとは、無菌操作時において、隣接する清浄度管理区域 (1) に対して開放部が無い無菌操作等区域を構成する構造設備の方式である。

- 1) 無菌操作等区域を、気流を除く物理的な遮蔽を用いて隔離し、汚染源となる作業者を含む外部からの物質的な侵入を許容しないこと。
- 2) 汚染物が滅菌または除染により無菌状態 (Aseptic な状態を含む) に処理可能な場合は、その処理を経由して搬入対象の搬入を許容する。なお、空気等の HEPA による処理も含まれるものとする。
- 3) 一部の滅菌または除染を適用できない細胞加工物等の搬入対象は、エアロックを用いて開放式と同等の処理を行う。
- 4) 本考え方において取り扱わない閉鎖式の設備との違いは、気流を除く物理的な遮蔽が金属製の隔壁から堅牢性が比較的低いグローブ等も許容していること、無菌化の手段が滅菌 (Sterilization) に限定されないことである。

5.4. 環境モニタリング

環境モニタリングの最も重要な目的は、特定細胞加工物の製造プロセスにおいて、製造環境が適切な管理状態であることを確認することにある。特定細胞加工物の製造プロセスは多様であり、製造環境からの外因性汚染リスクを低減するには、リスクに基づく製造設備の選定や製造に従事する職員の管理が必要である。環境モニタリングは、特定細胞加工物の製造環境の清浄度を維持する上で、無菌操作等区域及び清浄度管理区域において、微生物数及び微粒子数が設定された基準を超えないよう管理すること、環境の悪化を事前に把握し特定細胞加工物の汚染を防ぐこと、及び清浄度維持のための清浄化及び殺菌又は消毒の効果を継続的に評価することにある。

5.4.1. 一般要件



- 1) 環境モニタリングの対象とする製造環境は、無菌操作等区域及び清浄度管理区域である。環境モニタリングは目的に応じた製造環境が維持管理されていることを確認できるようにあらかじめ手順書を定め、計画的に実施すること。
- 2) モニタリングの対象物は微生物及び浮遊微粒子とする。
 - ① 微粒子は粒径 $0.5 \mu\text{m}$ 以上の浮遊微粒子とする。環境モニタリングをより適切に行うために、必要に応じて、適宜、他の粒子径（例： $5 \mu\text{m}$ 以上）の計測を行う。
 - ② 微生物モニタリングの対象は細菌及び真菌とする。
 - ③ 微生物モニタリングの対象微生物は空中浮遊微生物と付着微生物とする。
- 3) 製造期間が長くなる細胞培養において、アイソレータに付属した製造中のインキュベーター内における培養操作時の環境モニタリングは、庫内で無菌操作を行わない場合、非作業中として扱うことから、作業時の環境モニタリングは不要と考えられる。非作業時の環境モニタリングについては、汚染リスクを考慮した上で、必要に応じて行うこと。

6. 製造設備及びユーティリティ

6.1. 一般要件

- 1) 製造設備及びユーティリティは、想定しうる工程を定めた上で要求される品質水準、製造時の使用量に対する設備能力、適用される法的要件（法令及びガイドラインなど）、使用する材質や機能などの要求仕様を明確にした文書（ユーザー要求仕様書；URS）を作成し、それとともに適格性評価を行うことが望ましい。
- 2) 製造設備及びユーティリティは、品質リスクを考慮して、特定細胞加工物の無菌性に及ぼす影響を最小のものとするように設計することが望ましい。なお、環境設備については「5. 特定細胞加工物の作業所」の要件を満たすことが望ましい。また、製造設備及びユーティリティの形状及び材質は、維持管理を実施することが容易なものとするのが望ましい。
- 3) 人の動線及び気流パターンなどを考慮して、細胞加工物、原料等及び工程資材の動線が適切になるよう設備の配置を行うこと。特に無菌操作を行う無菌操作等区域を含む清浄度管理区域（1）では、室内の清浄空気の給気口から換気口及び排気口への流れに配慮すること。
- 4) 製造設備及びユーティリティの設計及び配置は無菌操作に与える影響を最小のものとするよう配慮すること。また機器の運転、保全、修理、調整など行う際に、無菌操作等区域の環境に影響がでないよう配慮した設計とすること。
- 5) 無菌操作等区域においては、原則として一方向気流を維持し、乱流の発生及び発塵を最小のものとする。また、清浄度管理区域（1）においても塵埃の滞留を防止するよう配慮すること。
- 6) 細胞加工物及び細胞加工物と接触する工程資材の表面や開口された培養容器等の汚染に配慮し、無菌操作等区域内で行う無菌操作が短時間でできるよう設備を設計すること。



- 7) 特定細胞加工物の品質に影響を与えないよう作業員の体格やスキルを考慮した設計をすること。
- 8) 飛沫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、除染又は消毒ができる構造、材質を考慮し設計すること。
- 9) 特定細胞加工物の品質に対して重要な製造設備ならびにユーティリティは、操作手順並びに管理パラメータとその許容範囲を、必要に応じて手順書に適切に記載すること。
- 10) 滅菌済みの製造設備、工程資材の使用期限を必要に応じて設定すること。また、重要な工程の変更が行われる時は、その変更が設定した使用期限に及ぼす影響を考慮すること。
- 11) 製造設備及びユーティリティは、必要に応じて要求される品質水準、製造時の使用量に対する設備能力、適用される法的要件（法令及びガイドラインなど）、使用する材質や機能などの要求仕様を明確にした文書（ユーザー要求仕様書）を作成し、それとともに適格性評価により検証すること。

6.2. 維持管理

- 1) 製造設備及びユーティリティの予防的な維持管理のため、必要な事項について、計画書及び手順書を作成すること。
- 2) 製造に使用する製造設備及びユーティリティの洗浄、消毒の手順、また、当該製造設備及びユーティリティの次回製造においての使用許可について手順書を作成すること。洗浄、消毒に係る手順については、再現性があり、かつ有効な方法により装置の洗浄、消毒を行うことができるよう十分に詳細な内容を含むものであって、次の事項を考慮することが望ましい。
 - ① 製造設備及びユーティリティの洗浄、消毒に係る責任の割当て
 - ② 洗浄、消毒に係る計画
 - ③ 製造設備及びユーティリティの洗浄、消毒の方法(洗浄剤の希釈方法を含む。)及び使用する器具、薬品等についての十分な説明
 - ④ 必要な場合においては、適切な洗浄、消毒を保証するために行う製造設備及びユーティリティの部品の分解及び組立てに係る指図
 - ⑤ 先行ロットの表示の除去又は抹消に係る指図
 - ⑥ 使用までの間における清浄な製造設備及びユーティリティの汚染防止のための指図
 - ⑦ 実施可能な場合においては、使用の直前の清浄度レベル及び無菌性についての検査
 - ⑧ 製造作業の完了から製造設備及びユーティリティの洗浄、消毒までの間の最大許容時間
- 3) 特定細胞加工物の無菌性に及ぼす影響を最小のものとするため、製造設備及びユーティリティは洗浄及び乾燥を行った上で維持管理し、必要な場合においては消毒を行うこと。
- 4) 清浄化の手順並びに洗浄剤及び消毒剤の選定は必要に応じて品質リスクマネジメントを考慮すること。
- 5) 製造設備及びユーティリティは、その内容物及び清浄の程度について適切な方法により識別すること。



- 6) 製造設備及びユーティリティは、それを修理や点検のために停止させた場合は、必要に応じて運転再開の前に除染あるいは滅菌を行うこと。

7. 作業所の衛生管理

7.1. 洗浄剤及び消毒剤

- 1) この章において「洗浄剤」とは作業所内の異物混入の原因となる汚れやパーティクルを含む異物を除去するための洗浄を主目的とした薬剤を示している。「消毒剤」とは、作業所内の微生物管理レベルを適切に維持するための消毒を主目的とした薬剤を示しており、環境設備や工程室に定期的に用いる除染剤を含む。両者を目的とした薬剤が一般的であるが、評価においては目的を明確に分けて取り扱うこと。
- 2) 目的に応じた洗浄剤及び消毒剤を使用すること。
- 3) 洗浄剤及び消毒剤を自家調製する場合においては、手順書を作成し、それに従って行うこと。またその調製の記録を作成し、保管すること。販売されている洗浄剤及び消毒剤を希釈して使用する場合は、その希釈液、希釈濃度、有効期限、保管方法、及び該当する場合は滅菌方法、その他の必要な事項を、文書化して品質部門による承認を受けること。
- 4) 消毒剤は、適切な有効期限を設定し、期限内のものを使用すること。
- 5) 消毒剤容器の継足し使用は行わないこと。

7.2. 洗浄および消毒

- 1) 品質部門により承認された薬品の使用、洗浄及び消毒のスケジュール、消毒剤の適用法、必要に応じて職員の安全に関する諸注意並びに洗浄用具の手入れ及び保管について手順書に記載すること。
- 2) 細胞加工物と接触する表面の洗浄又は消毒を行った場合においては、洗浄剤及び消毒剤が除去できることを適切な評価法を用いて確認すること。
- 3) 消毒剤は、製造環境に対しては原則として洗浄の後に適用すること。使用した洗浄剤の残留が懸念される適用部位においては、その洗浄剤が消毒剤の効果に悪影響を及ぼさないことを確認すること。
- 4) 消毒剤の選択及び使用に当たっては、少なくとも以下のことを考慮すること。
 - ① 保管及び使用に関しては消毒剤の供給者の指示事項に従うこと。
 - ② 消毒剤及び消毒手順の選択に当たっては、職員の安全性を考慮すること。
 - ③ 環境より分離される微生物に対して、使用している薬剤の有効性が疑われる場合は、必要に応じてその有効性を評価し、消毒剤の変更や交互に使用することを考慮すること。
 - ④ 環境モニタリングにおいて芽胞形成細菌又は真菌の存在が示唆された場合においては必要に応じて殺芽胞剤又は殺孢子剤を使用すること。
 - ⑤ 消毒剤の使用は、消毒方法、消毒の適用箇所、及び消毒作用を発現させるのに必要な時間を考慮

すること。

- ⑥ 洗浄剤及び消毒剤は、それを適用する表面への性質（腐食性など）を考慮して決定すること。
- 5) 殺芽胞剤又は殺孢子剤等の非定常的に使用する可能性がある消毒剤は、使用する薬品の種類、使用濃度、適用方法をあらかじめ文書で定めておくこと。
- 6) 燻蒸剤（エアゾールを含む。）を使用する場合においては、その使用する薬品の性質に応じて上記の項目を準用すること。
- 7) 消毒剤、洗浄剤及びそれらに使用するための器具類は、無菌操作等区域の内部に保管しないこと。ただし、手袋を消毒するためのハンドスプレーなどの、管理された状態にある必要最小限のものは無菌操作等区域内に保管してもよい。それらの無菌操作等区域の内部に保管する消毒剤、洗浄剤は、その理由及び管理方法を文書化しておくこと。

7.3. 手順の検証

- 1) 消毒手順に係る方法及び頻度は、環境モニタリングを通して確立すること。
- 2) 使用する消毒剤については、細胞培養加工施設毎に、適切な管理手順を定めること。
- 3) 消毒剤の有効性は、環境モニタリングの中で表面から採取される微生物数を規格値の範囲内で管理する観点から評価すること。
- 4) 除染については、適用する清浄度レベルに応じた微生物の減少効果を、バイオロジカルインジケータを用いて評価すること。

7.4. 洗浄及び消毒の実効性

- 1) 洗浄及び消毒の実効性を総合的な環境モニタリングを通して確認すること。
- 2) 微生物に関するモニタリングにおいて、器物表面の付着菌数については、定期的に確認すること。処置基準値を超えたり、通常と大きく異なる菌種構成となったり、それらが続いたりしたときに、原因を特定する調査を実施すること。また、必要な場合においては、再発を防止する措置を採ること。
- 3) 使用薬品の種類及び濃度での実効性が疑われる場合においては、例えば消毒前後の微生物の種類及び菌数の減少を確認すること。

8. 職員

人は無菌操作等区域における最大の汚染源であるので、特定細胞加工物の作業所においては、人に起因する汚染を排除することが重要である。特定細胞加工物の製造に従事する職員には、その業務を行うために必要な基本知識、及び実際の作業内容に関する手順について教育訓練を継続的に行うことにより、その能力及びモラルを維持すること。特に、各職員が有する経験や技術に応じたプログラムを設定し、適切な教育訓練を行うことが望ましい。さらに、特定細胞加工物の製造においては非滅菌原料を取

り扱う可能性もあることから、内在性細菌・ウイルス等の封じ込めに関する技能・知識も必要とされる。

また、アイソレータ、安全キャビネット等、人の介在による微生物汚染を低減、或いは封じ込め機能を有する設備をはじめとして、特定細胞加工物の製造に係る装置・設備等を運用する職員には、その装置・設備の構造、特性、操作方法、稼動時の監視方法、及び維持・点検管理に関する教育訓練が重要となることを考慮すること。

8.1. 職員の教育訓練

- 1) 特定細胞加工物の作業に関する手順書には、職員が遵守すべき事項を具体的に記載すること。職員はこれを履行すること。
- 2) 特定細胞加工物の作業所において作業者に対し、各職員が有する経験と知識・技能に応じて当該作業に関する教育及び訓練を計画し実施すること。
- 3) 特定細胞加工物の作業に関する教育訓練の内容及び実施頻度は、作業の内容並びに担当職務、職員の知識・技能及び経験に応じて定められるものであること。教育訓練の内容には以下のような事項について考慮すること。これらの内容を全て同時に行う必要はないが、文書化された計画に基づいて逐次実施すること。

① 職員の衛生管理

特定細胞加工物の作業所において作業に従事する者は、入室時において化粧をしていないこと。また、作業衣、作業用のはき物、手袋、作業帽及び作業マスク（以下「作業衣等」という。）を破損させるおそれのある装身具（例えば突起がある指輪、イヤリング、時計等）を身に付けていないこと。

② 微生物学の基本的知識・技能

- ・ 微生物の種類、性質、検出法等に関すること。
- ・ 微生物の増殖、不活化及び、死滅並びにエンドトキシン産生に関すること。
- ・ 滅菌法・消毒法および除染法の基本的知識・技能に関すること。
- ・ 環境モニタリング方法に関すること。

③ 更衣手順

特定細胞加工物の作業所において作業に従事する者には、手洗い、手指消毒、脱衣、着衣等の一連の更衣に関する教育訓練を行うこと。また、監督者はそれらの規定が遵守されていることを定期的に確認すること。なお、更衣手順は、無菌操作等区域に持ち込まれる汚染を最小限にとどめるため、9章に掲げる更衣要件等に従い、適切に定めること。

④ 無菌操作要件

無菌操作等区域における製造作業に従事する者には、当該区域における行動の注意点など、11.2項に掲げる無菌操作要件に関する教育訓練を行うこと。

- ⑤ 当該職員が関わる特定細胞加工物の製造技術
 - ・ 製造する特定細胞加工物，中間体及び原料等及び工程資材の特性，取り扱いに関する事
 - ・ 作業工程，工程管理に関する事
 - ・ 使用する装置・設備・器具の構造，特性，操作及びその点検・校正・管理方法に関する事
- ⑥ 設備及び製造環境の清浄及び消毒
 - ・ 使用する洗浄剤及び消毒剤の適用対象に関する事。
 - ・ 使用する洗浄剤及び消毒剤の使用濃度，調製方法及び有効期間に関する事。
 - ・ 使用する洗浄剤及び消毒剤の留意事項に関する事。
- ⑦ 汚染された特定細胞加工物を投与された場合において引き起こされる危険性に関する事。
- ⑧ バイオセーフティに関する事。
 - ・ 感染リスクのある特定細胞加工物を扱う場合，その性質（BSL レベルや感染様式）や扱い方
 - ・ 管理区域への入退室時における手順
 - ・ 管理区域内の装置，器具等の取扱い方法並びに作業手順
 - ・ 感染リスクのある特定細胞加工物を扱う場合，その運搬等に関する容器及び手順
 - ・ 廃棄物等の処理方法
 - ・ 緊急時の安全対策
- 4) 清浄度管理区域又は無菌操作等区域に一時的に出入りする必要がある他の職員（製造管理者，品質部門の職員及び維持管理を行う職員を含む。）に対しては，必要に応じて以下の事項について教育訓練を行うこと。
 - ① 職員の衛生管理
 - ② 微生物学，及び必要に応じたバイオセーフティの基本的知識
 - ③ 更衣手順
 - ④ 清浄度管理区域又は無菌操作等区域における行動についての注意点
- 5) 清浄度管理区域への入室資格を得ていない者の当該区域への入室は原則として禁止すること。機器の故障等によりやむなく入室の必要が生じたときは，対象となる清浄度管理区域又は無菌操作等区域の監督者の承認を受けることとし，当該区域内への入室中においては入室資格を持つ職員が付添うこと。

8.2. 職員の健康管理

- 1) 職員は発熱，皮膚損傷，風邪，下痢等，無菌操作に影響を及ぼすおそれのある健康状態である場合には上司に報告すること。
- 2) 報告を受けた上司は，無菌操作に影響を及ぼす健康状態を報告した職員に対して，清浄度管理区域又は無菌操作等区域に入ることを許可してはならない。

8.3. 職員の監督

- 1) 無菌操作等区域における作業に従事する職員は、必要に応じて当該区域に適用される微生物のモニタリングに従った管理を受けること。なお、微粒子測定及び微生物学的方法などにより確認した結果は、当該職員に知らせること。
- 2) 微生物の検査のために作業衣等に培地を接触させる場合においては、無菌操作等区域における作業を完了後、清浄度管理区域（1）からの退室時において実施すること。
- 3) ある職員の無菌作業衣等の付着微生物のモニタリングプログラムにおいて得られた結果が好ましくない傾向を示している場合においては、必要に応じて当該職員に対して必要な教育訓練を実施すること。また、当該職員の付着菌数に改善傾向がみられない場合においては、無菌操作等区域における作業以外の作業への配置の変更についても検討すること。

9. 更衣

特定細胞加工物の製造所において各区域の環境は、施設・設備等の設計仕様だけではなく、その適切な運用により実現する。運用面において最大の汚染源となるのは人であり、毛髪や皮膚などの人体由来、或いは外部の汚染物の持ち込みを防ぐ為に、適切な更衣を定めることが必要である。特に、特定細胞加工物の製造においては、製造環境の無菌性を損なう恐れのある対象物の取り扱いや工程も想定されるが、このようなリスクがある場合には、それを考慮した適切な更衣を定めておくこと。

9.1. 一般要件

- 1) 清浄度管理区域又は無菌操作等区域へ立ち入る際の手洗い、手指消毒、脱衣、着衣等、一連の更衣手順を定めること。
- 2) 作業衣等は、9.2、9.3項を参考にして、取り扱う細胞加工物、施設、設備、及び作業内容等のリスクに応じ、適切に定めること。
- 3) 作業衣等は、作業性やその周辺環境への発塵防止に優れているものを選定すること。着用時には、身体に合ったものであること、ホコロビや破損がないことに注意を払うこと。
- 4) 作業衣等の交換頻度、滅菌・消毒の方法及び保管方法等は、交叉汚染防止の観点等も考慮し、特定細胞加工物の品質や作業域の環境管理に影響を与えないような条件をもとに適切に規定し、管理すること。
- 5) 原則として、作業衣等を滅菌又は適切な消毒を行わずに再着用は行わない。作業衣等を滅菌又は適切な消毒を行わずに再着用する場合においては、その使用の妥当性について検証すること。
- 6) 微生物汚染の検査のため培地などを接触させた作業衣等は、洗浄及び滅菌しない限り再着用しないこと。

- 7) 無菌操作等区域における作業に係る更衣においては、脱衣と着衣区域を適切に区分することが望ましい。なお、更衣場所には更衣手順等のイラスト表示や、無菌作業衣着用後の状態を確認できるようにする設備を設置することが望ましい。
- 8) 無菌操作等区域における製造休止時に通常の管理状態を解除し、設備等の点検又は保全のために当該区域内での作業、及び、当該区域に影響を及ぼす清浄度管理区域（1）内に入室する場合においても、その服装と手順を定めておくこと。また、その手順には持込機材の取扱いを含むこと。

9.2. 開放式設備を用いる場合

- 1) 無菌操作等区域に対して開放式の構造設備を用いる場合は、職員の一部が無菌操作等区域の内部に侵入するため、更衣を汚染リスクに応じて設定することが求められる。直接的な無菌操作を行わない場合であっても、作業帽や手袋の着用など、毛髪や体表面の露出による異物の落下を防止するような更衣が望ましい。
- 2) 清浄度管理区域（1）は一般に、インキュベーターや安全キャビネット等、無菌操作等区域の開放部の周辺環境に隣接する区域であり、無菌操作等区域の環境維持に影響を及ぼさないような更衣、例えば、専用の作業衣、作業靴、作業帽、マスク、及び手袋等、職員の体表面がその環境に直接に露出しない更衣の適用が求められる。
- 3) 手袋等の破損しやすい更衣については、ピンホールなど破損がないことに十分留意すること。

9.3. アイソレータを用いる場合

清浄度管理区域（2）における更衣は、その役割に適した更衣をリスクに応じて設定することが求められる。なお、アイソレータを用いる場合であっても、作業帽や手袋の着用など、毛髪や体表面の露出による異物の落下を防止するような更衣が望ましい。

10. 原料等及び工程資材の管理

10.1. 一般要件

- 1) 製造で使用する原料等及び工程資材は、微生物管理をすることが望ましい。
- 2) 無菌操作等区域で使用する原料等及び工程資材は、必要に応じて無菌性を確認する。
- 3) 無菌操作等区域で使用する滅菌困難な原料等及び工程資材は、特定細胞加工物の無菌性に影響を与える可能性を考慮した上で、適切な手順を構築して、管理すること。

10.2. 出発原料としての細胞

- 1) 原料等として受け入れる細胞について製造工程投入前に微生物汚染の評価が困難な場合と、セルバンクのように予め微生物汚染が否定された細胞を用いて製造を開始する場合は、リスクの大きさ

は異なる。原料等となる細胞を製造施設に受け入れる際の微生物汚染リスクは、細胞の受け入れの状態に応じて適切に評価して対策を検討すべきである。

- 2) ドナーから採取された細胞は、微生物汚染や感染リスクを否定できないケースもあり、バイオハザードの観点も含めて適切に管理すること。また、容器外装が汚染されているケースも想定されるため、必要に応じて製造施設での受け入れ時に容器外装を除染又は消毒すること。
- 3) 原料等及び工程資材についての病原性リスクレベルは、検査結果の有無や、病原性微生物の無菌化及び不活化の有無、並びに製造に伴うウイルス等の増幅リスク等を踏まえて適切に判断する。特別な場合を除き、原料等となる細胞は原則としてBSL2以上で取り扱うこと。
- 4) 特定細胞加工物の術後に発症した感染症の原因究明のため、以下の指針を参考にし、原料管理を行ったものを使用すること。
 - ① ヒト（自己）体性幹細胞加工医薬品等の品質及び安全性の確保について（平成24年9月7日薬食発0907第2号）
 - ② ヒト（同種）体性幹細胞加工医薬品等の品質及び安全性の確保について（平成24年9月7日薬食発0907第3号）
 - ③ ヒト（自己）iPS（様）細胞加工医薬品等の品質及び安全性の確保について（平成24年9月7日薬食発0907第4号）
 - ④ ヒト（同種）iPS（様）細胞加工医薬品等の品質及び安全性の確保について（平成24年9月7日薬食発0907第5号）
 - ⑤ ヒトES細胞加工医薬品等の品質及び安全性の確保に関する指針（平成24年9月7日薬食発0907第6号）

10.3. 細胞以外の原料等

- 1) 原料等の受入れから保管、使用に当たっては、汚染を避けるよう注意すること。
- 2) 無菌操作等区域に搬入される原料等は、以下のいずれかに従うこと。
 - ① 無菌性が確認されていること。
 - ② 当該原料等の特性及びバイオバーデンレベルに応じた、適切な滅菌が行われていること。この場合、あらかじめ定められた頻度でバイオバーデンの測定を実施し、規格値内であることを確認することが望ましい。
 - ③ 滅菌が困難な原料等については、特定細胞加工物の無菌性に影響を与える可能性を考慮した上で、適切に管理を行うこと。
- 3) 環境管理をされている区域に搬入する際は、容器外装を適切な方法で除染又は消毒すること。
- 4) 原料等が無菌であることを要求される場合においては、無菌性を適切な方法で確認すること。原料等メーカーの無菌試験のCoAの内容を確認することにより、無菌性の確認を省略することは可能である。その場合原料等メーカーが適切に無菌性を保証できる製造、試験方法であること等を確認す

ることが望ましい。

- 5) 原料等の滅菌を行う場合には、予め滅菌方法が期待される結果を与えたことを検証すること。ただし検証の実施が困難な場合には、原料等の無菌性について毎ロット無菌試験により確認する等の他の手法による汚染リスク低減策を講ずること。
- 6) 複数の原料等を用いて最終の原料等を調製する場合には、必要に応じて最終調製液の無菌状態について無菌性を確認すること。
- 7) 無菌化が困難な微量の原料等を調製に使用せざるを得ない場合には、最終調製液や細胞加工物の無菌性への影響を確認し、必要に応じてリスクを低減させる適切な対応を行うこと。
- 8) 培地は使用前に適切な方法により滅菌すること。抗生物質を使用する場合は特定細胞加工物とともに患者へ移行することを考慮し、除去方法や残留量の許容値を明確にすること。

10.4. 工程資材

- 1) 工程資材の受入、確認、保管方法、試験検査及び判定基準を制定すること
- 2) 工程資材の受入から保管、使用にあたっては、汚染を避けるように注意を払うこと
- 3) 容器及び栓の洗浄が必要な場合は、バリデートされた適切な方法で行うこと。なお、洗浄に水を使用する場合、最終すぎには注射用水又はそれと同等の品質の水を使用することが望ましい。
- 4) 無菌操作等区域内に搬入される工程資材は適切な方法で滅菌、除染又は消毒が施されていること。また、外面の除染又は消毒を実施する場合においては、それらに対する耐薬品性を考慮すること。
- 5) 工程資材は、必要に応じてエンドトキシン量を管理し、定められたエンドトキシン量以下であることを確認すること。
- 6) 滅菌済みの工程資材は微生物汚染及びパイロジェン汚染を防止するための適切な保護を行うこと
- 7) 工程資材は、対象の特定細胞加工物、使用目的、作業内容、作業設備により、内部への微生物の侵入を防ぐために必要な密閉性等が確保されていることを確認すること。
- 8) 工程資材に滅菌を行う場合は、滅菌方法が期待される結果を与えることを検証すること
- 9) 滅菌済み工程資材は、使用対象となる特定細胞加工物、使用目的により、必要に応じて滅菌方法の信頼性が確保されていることを確認すること。
- 10) 非無菌環境下に持ち出され、かつ、内部を無菌状態で維持することが必要な工程資材については以下の要件を満たすこと。
 - ① 充填されている内容物が非無菌環境から隔離され、保管または輸送期間を通じて、微生物の侵入を防ぐ状態を維持できる構造であること。特に凍結保存の場合は物性変化に留意すること。
 - ② 温度、圧力、振動、衝撃等、保管及び輸送の条件を考慮した強度を有すること。
 - ③ 一次容器（細胞及び組織が直接接触する容器）だけでは微生物汚染のリスクが回避できない場合には、二次容器（一次容器を収納する容器）や包装と組み合わせること。

10.5. ろ過滅菌

- 1) 培地や薬液等の液体の原料等を滅菌する場合には、通常ろ過滅菌法を使用する。供給者からろ過滅菌されたものを受け入れる場合には、自らろ過滅菌を行う場合の管理基準を満たしていることを確認すること。
- 2) 製造工程で使用する液体の原料等の使用量や使用する工程を踏まえ無菌性に対するリスクを考慮し、信頼性が確保された適切なるろ過滅菌用フィルターを用いること。
- 3) ろ過滅菌フィルターの選定には、化学的特性、物理的特性、生物学的安全性、ろ過滅菌性能等を考慮し、適切に選定すること。
- 4) 使用後の完全性試験は、リスクに応じて実施するかを決定すること。
- 5) 気体を洗浄するろ過フィルター（例 ベントフィルターなど）は、ろ過後の気体の特性や用途に応じて、適切なるろ過滅菌性能を有するフィルターを選定すること。

11. 無菌操作要件

11.1. 一般要件

- 1) 特定細胞加工物を製造する際に使用する培地などの原料等は、微生物の栄養源にもなり微生物の増幅による汚染リスクも高い。そのため、供給者、調製法、製造する特定細胞加工物の特性、及び製造工程に応じて、必要な管理項目を適切に定め管理し、無菌操作等区域に搬入すること。
- 2) 細胞加工物の無菌操作に係る作業区域については、作業の種類に応じて清浄度レベルを適切に定め管理すること。設備がアイソレータシステムの場合においては周辺環境の清浄度を低減することも含め、汚染防止のために必要な清浄度レベルを設定し管理すること。
- 3) 特定細胞加工物の製造管理及び品質管理(重要工程のモニタリングを含む)においては、装置の滅菌、環境モニタリング等の記録及び逸脱に係る記録を作成し、保管すること。
- 4) クロスコンタミネーションと取り違えのリスクを考慮し、予め適切な運用方法を手順化しておくこと。
- 5) 無菌操作による製造工程が必要に応じて期待される結果を与えることを検証すること。
- 6) 無菌操作による製造工程に従事する職員は、予め必要な教育訓練を受けること。

11.2. 無菌操作に係る職員

- 1) 無菌操作等区域における細胞加工などの製造作業に従事する職員の教育訓練には、無菌操作及び細胞培養に係る事項、製造設備の構造及び製造工程の概要、並びに工程中で異常が生じた場合に採るべき措置などが含まれていること。

なお、行動制限に関する以下のような留意点も教育訓練内容に含まれる。



- ① 無菌操作等区域及び清浄度管理区域で作業を行う為の更衣を行った後は、粒子を発生させるなど気流を乱すおそれがある不必要な動作（会話を含む）を避けること。また、壁、床及び清浄化済表面に不必要に接触しないこと。
 - ② 無菌操作等区域における作業に従事する職員は、無菌操作を行う対象物にあたる気流の上流を遮断すること、横切ること等の動作を可能な限り、避けること。また、無菌操作に不要なものに触らない、或いは持ち込まないこと。
- 2) 細胞加工物及び滅菌済みの原料等及び工程資材に触れる作業、またはそれらが曝露される環境における作業に従事する職員は、特定できるようにしておくこと。
 - 3) 無菌操作による製造工程に従事する職員は、初めて作業に従事する際や手順が変更された際に予め教育訓練を受けるだけでなく、必要に応じて定期的に技能が維持されていることを確認すること。

11.3. 原料等及び工程資材の搬入

- 1) 特定細胞加工物の出発原料である細胞の受け入れ時に、微生物に関する安全性情報を可能な限り収集し、それらの情報に基づき適切な管理及び手順を定めること。
- 2) 拭き入れにより原料等及び工程資材を無菌操作等区域に搬入する場合は、必要に応じて適切な消毒剤を選択し、その効果を検証しておくこと。
- 3) 除染により無菌操作等区域に搬入する場合は、除染方法が期待される結果を与えることを検証または確認すること。
- 4) 製造工程において、清浄度の異なるエリア（例えば、インキュベーターと安全キャビネット）を複数回往復する場合、移動中の微生物汚染を避けるため、適切な容器を選択し、可能な限り動線を短くするよう検討すること。

11.4. 無菌操作等区域の開放作業

- 1) 無菌操作等区域において、工程資材の容器等を開放状態とし、細胞基材、培地、緩衝液及びガスの添加を行う場合には、無菌性と封じ込めを考慮した設備を使用し、汚染を防止するための管理及び手順を定めること。
- 2) 微生物による汚染が懸念される所見が認められた場合には、速やかに原因と影響について検証し、必要な措置を採ること。
- 3) 特定細胞加工物間の交叉汚染を避けるため、操作後には清浄化すること。
- 4) 生物由来原料、生理活性の高い物質や病原性物質、有毒性物質、生ウイルス、微生物等を取り扱う場合には交叉汚染等のリスクに応じた適切な構造設備を考慮することが望ましい。
- 5) 微生物による汚染が発生した場合の措置(他の細胞加工物との隔離、構造設備の除染、汚染品の廃棄、汚染源及び汚染範囲の特定、等)を予め定め文書化しておくこと。

11.5. 充てん・包装

- 1) 充てん・包装作業に関連する構造設備・機器・工程資材の準備工程を含めて、必要に応じて作業中の環境モニタリングを適切に行うこと。
- 2) 無菌的に調製された細胞加工物が入った容器と充てん・包装装置（充てんラインを含む）を接続する場合、接続方法が予め期待される結果を与えることを検証し、行うものとする。
- 3) 充填・包装に使用される容器は、原則として、予め期待される結果を与えることが検証された方法で密閉し、適切な手順で内容物の漏出がないことを確認すること。

11.6. 保管

- 1) 特定細胞加工物を患者に投与・移植する前、あるいは製造工程の途中で一時的に細胞を保管する必要がある場合には、予め保管条件を定め、汚染に対するリスクを考慮して適切な管理を行うこと。
- 2) 保管された内容物が微生物に汚染されていないことを定期的あるいは使用時に確認すること。

12. 微生物学的試験

特定細胞加工物は、一般無菌医薬品と同様の微生物学的試験法を適用するのが難しく、特定細胞加工物や製造方法の特性に基づいて、微生物学的試験法を適用する必要がある。特定細胞加工物の品質管理への適用については、「再生医療等製品（ヒト細胞加工製品）の品質、非臨床試験及び臨床試験の実施に関する技術的ガイダンス」（平成 28 年 6 月 14 日付け薬機発第 0614043 号）を参考にできる。試験法は、日本薬局方に準じた試験方法が望ましく、原則として日本薬局方一般試験法を参考にすることができる。

特定細胞加工物を再生医療等に用いる際には、無菌試験、マイコプラズマ否定試験、エンドトキシン試験等を実施していることが望ましいが、特定細胞加工物の無菌試験だけでは無菌性を確認する上で十分とは言えないことから、工程内の微生物管理を実施することが望ましい。

12.1. 無菌試験

無菌試験は、日本薬局方一般試験法に規定する無菌試験法を基本とする。原則として特定細胞加工物を試験検体として実施することが求められているが、検体量の限界や試験に要する時間の制限等から、必ずしも本無菌試験法を適用できない場合が考えられる。その場合は科学的に合理的な試験方法を採用することが可能であるが、その方法に合わせて、採取できる検体量、各試験に使用される検体量の配分等を考慮し、最善となる試験方法を設定することが求められる。

12.2. マイコプラズマ否定試験

マイコプラズマ否定試験は、日本薬局方参考情報「バイオテクノロジー応用医薬品／生物起源由来医薬

品の製造に用いる細胞基材に対する「マイコプラズマ否定試験」を参考にすること。なお、適切なバリデーションを行った上で、「C. 核酸増幅法 (C 法)」を「A. 培養法 (A 法)」又は「B. 指標細胞を用いた DNA 染色法 (B 法)」の代替法として用いることができる。

12.3. エンドトキシン試験

エンドトキシン試験法は、日本薬局方一般試験法に規定するエンドトキシン試験法を参考にしたが、特定細胞加工物への適用に当たっては以下に留意すること。

- 1) 特定細胞加工物に係る原料、工程資材、製造用水等のエンドトキシンレベルを、必要に応じて設定し管理すること。
- 2) エンドトキシン試験は、あらかじめ反応干渉因子試験による評価を行い、試料溶液に反応干渉因子が存在しない有効希釈倍数を明確にしておくこと。
- 3) エンドトキシン試験については、適切な試験法バリデーションを実施すること。乾熱、洗浄、UF 膜処理及び吸着などでエンドトキシンの不活化若しくは除去を実施する場合は、既知量のエンドトキシンを負荷し、処理による除去効率を求め、処理後のエンドトキシン残存量が限度内であることを検証すること。

13. 微生物迅速試験法

特定細胞加工物では、検体量の限界、試験に要する時間の制限等から、必ずしも従来の日本薬局方一般試験方法を適用できない場合が考えられる。その場合には微生物迅速試験法の採用を検討すること。特に近年の科学技術の進歩により微生物迅速試験法が多く開発されており、無菌試験や工程内の微生物管理（製造環境や製造用水の微生物モニタリング等）などにおいて、迅速な品質判断に貢献している。特に無菌試験において従来の培養法では、判定期間に時間を要するため、適応可能な微生物迅速試験法で出荷時点までに結果を把握するのが望ましい。また工程内の微生物管理試験も特定細胞加工物が出荷する時点で結果を把握することが望ましく、製造環境の微生物を可能な限り迅速に広範囲でモニタリングを実施することで、特定細胞加工物の無菌性保証を高めることになる。従って微生物迅速試験法を適用することは、微生物学的汚染を適時に監視することや汚染状況の予見が可能となり、リスクの低減が図られ、無菌性確保に貢献できるため積極的に活用すること。

微生物迅速試験法の選択に当たっては、採用する試験方法の原理や測定の特性などを踏まえ、慎重に評価すること。微生物迅速試験法の適用に当たっては当該試験法の検出精度や特異性等に関する情報収集と当該試験法の妥当性確認を十分に行うべきである。

13.1. 微生物迅速試験法の適用

適用する微生物迅速試験法の評価を検討すること。評価に当たってはそれぞれの測定法で測定対象と



なる標準試料を用いて実施すること。

微生物迅速試験法は測定対象及び測定原理が従来の培養法と異なるため、これまで蓄積されたデータと相関が得られないことがある。この場合においては従来法との相関を求めずに、微生物迅速試験法で得られた結果を用いた、新たな管理方法の妥当性を検証すること。

微生物管理試験に関して、警報基準値（アラートレベル）と処置基準値（アクションレベル）を設定する場合には、適用する微生物迅速試験法から得られたデータを元に科学的根拠（統計学的手法や傾向分析等）により設定することができる。

13.2. 微生物迅速試験法のバリデーション

バリデーションに当たっては、日本薬局方参考情報微生物迅速試験法の「2. バリデーション」を参考とし、分析法のバリデーションによって実施すること。更に適用機器の装置メーカーによる基礎的な検証結果なども含めて用途に応じた適切な性能を確認すること。

試験方法のバリデーションに当たっては、測定対象が微生物の存在否定や微生物量測定の指標となる科学的根拠を明らかにし、従来法と比較して優位な点と共に、利用に当たって考慮すべき点についても整理された情報を確認すること。

試験プロセスの追加・変更により、考慮すべきリスクを抽出し、管理戦略の策定と試験検査の手順を整備すること。

【参考情報】

適用に当たっては、以下の公定法を参考にできる。

- 1) 第17改正日本薬局方参考情報「微生物迅速試験法」
- 2) EP 2.6.27. MICROBIOLOGICAL EXAMINATION OF CELL-BASED PREPARATIONS
- 3) 21 CFR Part 610, Section 610.12 Sterility



A1. 無菌操作等区域(飛沫管理)

培養を伴う特定細胞加工物の製造期間は長期間に及び、検体はその期間中、無菌操作等区域と培養装置の間を往復する。環境の初期化を伴わないチェンジオーバー時には、次の作業及び検体に影響しない程度まで残留物を取り除くために、環境維持操作を行う必要がある。

A1.1. 一般要件

無菌操作等区域において、作業中に生じる飛沫は、細胞及びタンパク質等を含む可能性があり、その場に残留することにより、次の作業及び検体に対する異物混入による汚染のリスクが生じる。従って、ある検体の操作時に生じた飛沫がチェンジオーバー後の作業及び検体中に混入しないように細胞操作および必要に応じたチェンジオーバー時の清浄化を行うことが求められる。

操作中に生じる飛沫は、作業空間内に飛散して、無菌操作等区域内の床面や壁面、工程資材へ付着する可能性がある為、飛沫の発生を最小化する操作法を採用し、発生した液滴に対して、リスクに応じた対応を行うことが望ましい。

A1.2. 飛沫に対するリスクの考え方の一例

気流に影響を受けるか、受けないかの飛沫の分類分けを行うことで、液滴管理の考え方を示す。空中に浮遊し、気流の影響を受けて共に移動する性質を有する気流に乗る飛沫と、気流の影響を受けにくく、重力に従って自由落下する性質を有する気流に乗らない飛沫へ分類分けを行う。

分類分けに基づき、飛沫は初速度を持って発生し、発生した気流に乗る飛沫は気流に影響を受けて無菌操作等区域の作業空間から排出される。一方、気流に乗らない飛沫は気流の影響を受けにくく、重力に従って自由落下する為、壁や床面に付着すると考えられる。一旦付着した気流に乗らない飛沫は蒸発によって気流に乗る飛沫となり、気流に影響を受けて作業空間から排出される。その際、気流方向が制御されている場合には、気流に乗る飛沫は初速度を有さないことから、作業空間内へ移動することがなく、作業空間の無菌環境が維持されていると考えられる。

上記のことから、作業終了後、次の作業時に触れる可能性のある箇所のみを清浄化することで次の作業開始を可能にすると考えられる。具体的には、安全キャビネット内の床面を利用する手作業時には、床面に触れる操作が行われることから、床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、細胞操作を実施する空間に再流入しないことから、床面のみを清浄化することで他検体の細胞を操作することが可能となると考えられる。一方、床面を利用しない機械作業の場合には、細胞操作を実施する空間に異物が流入しないことから、すぐに次の作業を開始することが可能となる。

A2. ロット形成

特定細胞加工物がロットを構成する場合には、作業時間等に基づく細胞の特性変化に留意し、当該ロットの内容に応じてロット内の品質変動を生じさせない方法を予め定めること。

A3. 混同防止

- 1) ドナー識別情報による識別：特定細胞加工物を製造するためにドナーから採取した細胞・組織であって、細胞培養加工施設において製造工程にある細胞・組織に係るドナーの識別については、ドナーを判別でき、かつ、混同を確実に防止するために適切な情報（以下「ドナー識別情報」という。）により行うこと。異なるドナーから採取した細胞・組織と混同を起す可能性のある紛らわしい記号、番号等の使用は避けることが望ましい。
- 2) ドナー識別情報の表示及び移動：ドナー識別情報は、培養容器に直接表示することが望ましい。また、製造工程にある細胞・組織は、混同を確実に防止するために最低限度必要なドナー識別情報が表示された状態で移動させること。
- 3) 人為ミス防止措置：製造工程における細胞・組織については、異なるドナーから採取した細胞・組織との混同を確実に防止するために、職員への教育訓練等必要な措置を採ること。
- 4) 作業区域等での管理：同時に複数の異なるドナーから採取した細胞・組織を取り扱う場合においては、細胞・組織と当該細胞・組織に係るドナー識別情報とが、常に適正な対応関係で移動することを担保し、混同を確実に防止するために、以下に掲げる事項に留意し、必要な措置を採ること。
 - ① 培養装置等の培養設備での管理：作業員だけが取り扱うことができる構造であることが望ましい。
 - ② 識別情報の表示：細胞・組織の培養に係る作業を開始する前に、培養装置ごと（同一培養装置内に複数の容器がある場合はその容器ごと）に、それらを間違いなく識別する情報（ドナーの識別や採取部位の識別に係るものなど）を分かりやすく表示することが望ましい。この識別情報の表示は、混同の原因とならないように適切な時期に廃棄すること。
 - ③ 培養装置の使用記録：培養装置の使用に際しては、必要に応じて混同を確実に防止するために必要な情報の記録を作成し、これを保管すること。
- 5) 患者情報の管理：細胞培養加工施設は、製造工程にある細胞加工物又は一連の製造工程を経て特定細胞加工物となったものについて、再生医療等を受ける予定である患者を識別するために必要な情報（以下「患者情報」という。）を、特定細胞加工物に表示することが望ましい。なお、特定細胞加工物にドナー識別情報が表示されている場合においては、患者情報として「自己」の表示を行うことで差し支えない。
- 6) 資材への表示：細胞培養加工施設から出荷された特定細胞加工物について、提供先医療機関等への到着後における混同の発生を防止するために、特定細胞加工物の資材に患者情報及び出荷先施設情報を適正に表示することが望ましい。直接の容器にこれらすべての情報を表示することが技術的に困難な場合においては、これに代えて混同の発生を防止するために必要に応じた措置を採ること。

A4. 汚染防止

- 1) 構造設備等の管理：細胞培養加工施設の構造設備については、以下の点に留意し、微生物等による汚

染，汚染拡大及び交叉汚染の防止措置を採ることが望ましい。

- ① 日常管理として，また，特定細胞加工物に係る一連の製造工程において作業が完了するごと（チェンジオーバーごと）に，必要に応じて清浄化を行う等，不活化又は除去が困難な特定細胞加工物に対する汚染を防止するために必要な措置（以下「汚染防止措置」という。）を採ること。
 - ② 交叉汚染防止に努めるため，作業者は，適切な措置を採ること。
 - ③ 原料である細胞により持ち込まれた内在性のウイルス等については，その感染様式等を踏まえた汚染拡大リスクに応じて，適切な措置を採ること。
 - ④ 作業員以外の者による感染性因子の持ち込みにより特定細胞加工物が汚染されることを防止するため，細胞培養加工施設については，作業員以外の者の立入りを制限する構造を有し，かつ，滅菌設備等を備えていることが望ましい。
 - ⑤ 細胞培養加工施設は，研究施設と兼用しないことが望ましい。
- 2) 原料等・工程の管理：特定細胞加工物又はその原料等の特性により，除去（濾過滅菌等）又は不活化（最終滅菌等）のいずれも行いうことが出来ない場合には，原料等の管理又は製造工程に係る管理において，以下の点に留意し，微生物等による汚染，汚染拡大及び交叉汚染の防止措置を採ること。
- ① 培地添加成分等の原材料については，微生物等又は他の細胞・組織の混入がないことを確認する等，製造工程における汚染等の発生を防止するために，必要に応じた措置を採ること。
 - ② 細胞・組織の混同及び交叉汚染を防止する観点から，安全キャビネット内などの同じ無菌操作等区域内で同時に複数の異なるドナーから採取した細胞・組織を用いた作業を行わないこと。
 - ③ 結露が発生するなど汚染リスクを有する装置庫内（例えば，インキュベータ）では，異なるドナーから採取した細胞・組織を個々の密閉容器（例えば，ディッシュなど）にて培養する際，同一庫内にて保管しないこと。気密容器（例えば，フィルター付きフラスコ，バッグなど）及び密封容器（例えば，アンプル容器など）にて個々に培養する際には，同一庫内にて，必要な措置を講じて保管すること。
 - ④ 誤作業の防止及び交叉汚染の防止に努めること。
 - ⑤ 医療機関から細胞培養加工施設への細胞・組織の受入れに当たっては，細胞・組織の混同及び交叉汚染を防止するために必要な措置が適切に講じられるよう，ドナーの病原体検査その他の必要な措置を採ること。なお，細胞・組織の検査結果判定前に，ドナーの病原体検査の結果等に基づき特定細胞加工物の製造を行う場合においては，細胞・組織を取り扱う者がその事実を判別できるよう適切な措置を採ること。

A5. 汚染物処理

微生物に汚染された検体は，他の検体に対する汚染源となるため，汚染の拡大を防ぐような措置が求められる。必要に応じて以下の対応を取ること。



- 1) 汚染が確認されたら速やかに汚染された検体および使用していた試薬等を隔離し、必要に応じて汚染経路の確認に用いること。
- 2) 微生物に汚染された検体を使用した設備および機器は、必要に応じて清掃および消毒を行うこと。
- 3) 当該検体と同じ設備を利用した検体は微生物汚染の可能性があることから、経過を確認しながら製造の継続を行うこと。

A6. チェンジオーバー

一般的な無菌操作を伴う特定細胞加工物の製造工程においては、図 1 に示すように、工程開始前に無菌操作を実施できる環境を構築し、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。本考え方では、このような手順によって、設備を製造開始可能な状態にすることを「初期化」と定義している。細胞培養加工施設の運用時では、特定細胞加工物の製造工程（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。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が無菌操作等区域の壁面や床面に付着し、残留物となることで、次工程以降で操作する特定細胞加工物に対する交叉汚染などのリスクがある。従って、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、各工程の無菌操作後に適切な環境維持操作を行い、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。環境維持操作における清浄化手順は、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望ましい。本考え方では、工程を切り替えることを「チェンジオーバー」と定義することによって、無菌操作環境の継続性および清浄度管理に基づくチェンジオーバーの分類および、その時に求められる要件について考え方を示している。

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。

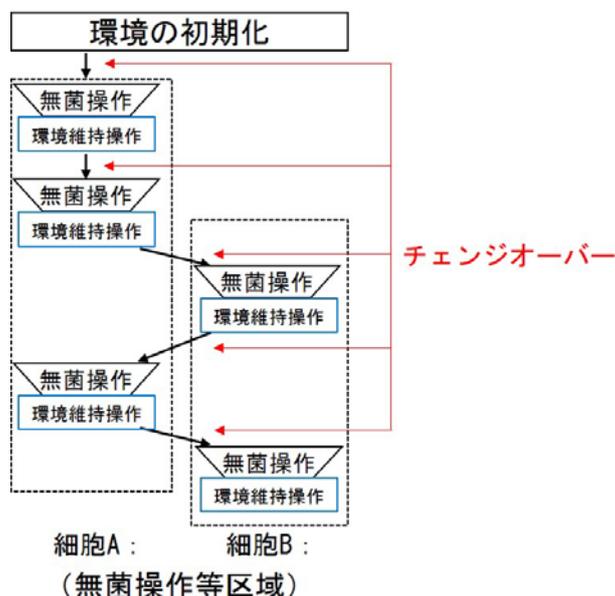


図 A6.1 特定細胞加工物の製造工程およびチェンジオーバーの概念図

A6.1. チェンジオーバーの分類

工程終了時の無菌操作等区域内の残留物による継続への影響と、無菌操作等区域とその隣接区域の清浄度管理の状態に応じて、チェンジオーバーは表 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、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、原因が外因性の汚染でなく、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 (図 2)。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、初期化を伴うチェンジオーバー。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初期化を伴わないチェンジオーバーである。

表 A6.1 工程終了時における無菌操作環境の継続可能性（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より引用）

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

* 清浄度管理の値に依らない

初期化を伴うチェンジオーバーでは、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であるため、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、充分条件の清浄化と、無菌化のための除染・消毒手順を実施することが求められる。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可否を判断することが望ましい。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、本考え方における、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リスク（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。受け入れ可能なリスクとは、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リスクに限定される。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。

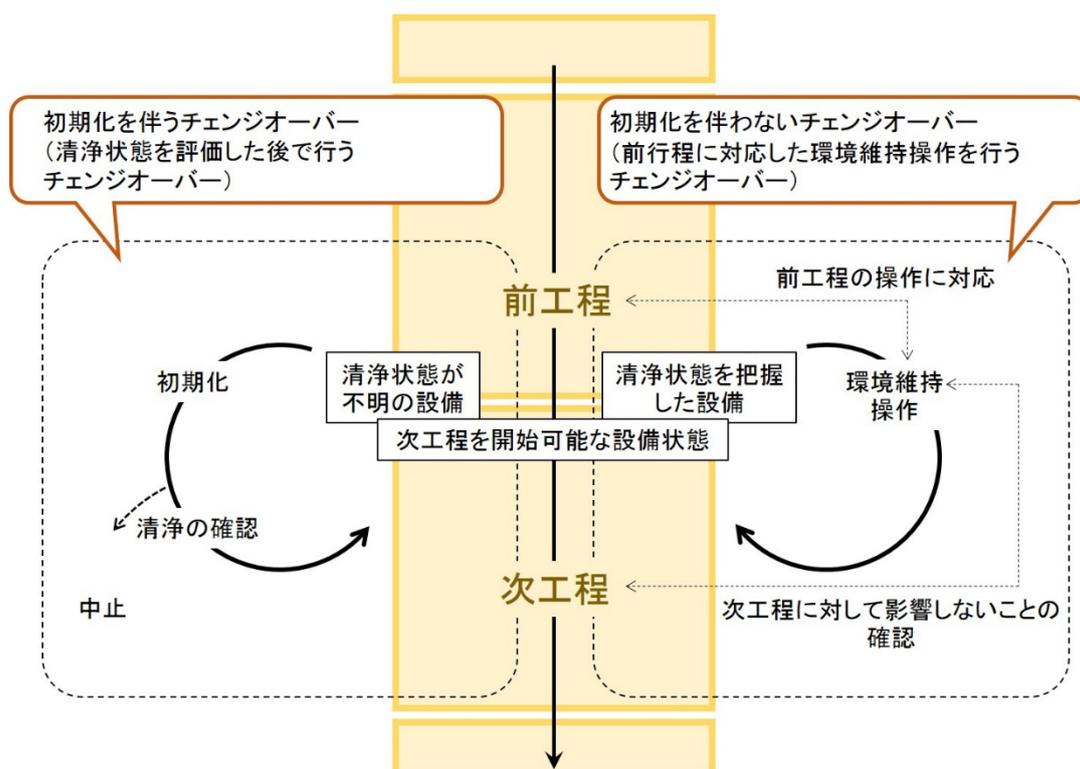


図 A6.2 初期化を伴うチェンジオーバーと初期化を伴わないチェンジオーバーの概念図

A6.2. 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

初期化を伴わないチェンジオーバーの運用時においては、工程設計時の段階から交叉汚染防止が達成できるように設計することが望ましい。本考え方では、工程設計時と工程実施時に分けて示す。

設計時

- 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。
- 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物の評価を行い、必要に応じて除去手順の検証を行うこと。
- 7) 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。

実施時

- 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、無菌（的）操作終了時に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) 無菌（的）操作終了後は、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ーに戻す際、インキュベーター内にある他の容器や、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、清浄化および必要に応じて除染・消毒を実施すること。

A6.3. 初期化を伴わないチェンジオーバー時における清浄化の手順構築

特定細胞加工物の製造には、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、環境維持操作を適切に実施する必要がある。



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。

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、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、作業員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。

A6.4. 初期化の手順構築

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、新たに工程を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、それぞれで評価を伴う。

手順構築にあたっては、日本薬局方やガイドライン等を参考にすること。

B1. 構造設備の例

特定細胞加工物は、その多様性により、製造のための構造設備についても清浄度や環境微生物モニタリング等の画一的な管理基準を設けることは、安全性確保の観点からは当然のこと、経済的にも合理性に欠けることになりかねない。自明のことながらその品質に及ぼすと考えられるリスク要因に応じてハードとソフトの補完関係により構造設備に要求される管理方法と管理基準を設定する必要がある。

無菌性という観点では、微生物の汚染については製造工程内で混入する外来性のものと、原料となる細胞・組織等に既に混入している内在性のものがあるという特性を特定細胞加工物は有しており、これらは原料選択に限界がある以上避けられない。特定細胞加工物は、滅菌工程の設定によるこれらの微生物を除去あるいは失活することによる無菌化が一般的に困難である。従って、以下に挙げることが微生物汚染管理の目標となるが、適切に管理された施設における製造工程中の外来性微生物の汚染リスクは、一般的に考えられているものほど高くないとあって差し支えないことが多い。ここでの詳説は割愛するが、特に自己細胞を用いる場合は、内在性微生物の増幅リスクに最も留意する必要がある。なお、ここでいう内在性微生物とは、細胞・組織等の採取時に混入するものが含まれるため、混入する可能性がある微生物の種類を踏まえた採取部位の適切な消毒方法の設定も重要な管理項目である。

- 1) 原料となる細胞，組織等の内在性微生物による汚染を最小化する
- 2) 輸送，保管を含む製造工程内における外来性微生物の汚染を防止する
- 3) 輸送，保管を含む製造工程内での内在性微生物の増幅を抑制する

よく誤解を生じる部分であるが、特定細胞加工物と再生医療等製品で構造設備に要求される基準には基本的に差はない。特定細胞加工物の製造は、再生医療等製品と共通する多様性という特性に加え、一般的に多品種少量生産であることが多く、同一医療機関内で原料の採取から細胞加工、投与に至るまで一貫して完結することがあり、また製品ライフサイクルが再生医療等製品に比べると短い場合が多いという特性を有する。

このような場合には、画一的な規格や基準を採用するのではなく、当該細胞培養加工施設で取り扱うことのできる特定細胞加工物の条件を明確化し、一つひとつの構造設備上の対策に対して目的を明確にすることが肝要である。例えば、無菌操作等区域のバックグラウンド環境として設定される清浄度管理区域への入退室は一般的に一方の動線が設定されるが、入退室の時間を分けることや、セルプロセッシングアイソレーター等による適切な隔離あるいは封じ込め対策が実施される場合では不要であることも多いと考えられる。また、当該細胞培養加工施設に細胞調製室が一つしかない場合では、複数の細胞調製室が隣接する間接エリア内での交差汚染防止を目的に、退室側のエアロック室を間接エリアに対して陰圧管理することも、取り扱う特定細胞加工物の感染性リスクや細胞培養加工施設の周辺環境によっては不要となる場合も考えられる。一方、多品種生産を前提とした細胞培養加工施設においては、確実に混同を防止するための構造設備を必要とする場合や、臨床研究に供する特定細胞加工物の製造を行う細胞培養加工施設において、複数の異なるグループが製造及び品質管理に当たるケースではセキュリティにも配慮した構造設備を必要とする場合もあろう。

これらの基本的な考え方にに基づき構造設備を決定するにあたり、以下に留意すべき要点と、各細胞培養加工施設に応じた構造設備設計の参考として、いくつかの想定条件に対応した無菌性確保に主眼を置いた構造設備の例を示す。

B1.1. 製造する特定細胞加工物の受入れ条件

1) 内在性のウイルス等による汚染レベル

前述した特定細胞加工物の特性により、細胞培養加工施設ごとに製造可能な特定細胞加工物の基準を明確に定めておく必要がある。特に、受け入れる原料となる細胞・組織や原材料となる血清等のウイルス等の汚染レベルに係る基準を、ドナーのスクリーニング検査結果等で定め、設定したバイオセーフティーレベルに応じた適切な封じ込め対策を講じる必要がある。検査結果が得られていない細胞・組織等を受け入れることとする場合は、ソフト的な対応とともに識別を確実にするための区画を設定するなど、構造設備設計にも留意しなければならない。また、微生物汚染の基準も原料採取部位の汚染リスク等から可能な限り設定するほうが望ましい。構造設備の洗浄、消毒に用いる薬剤等の種類を定め、異なる特定細胞加工物の原料間の交差汚染を防ぐために、搬入時間の設定に加え、搬入経路の管理が要求される場合も考えられる。

2) 輸送、保管の有無

取り扱う特定細胞加工物に、原料となる細胞・組織等を含めて輸送・保管があるか、またその方法と時間による内在性微生物の増幅リスクを踏まえ、受け入れの基準を定め、構造設備の設計や運用に反映させる必要がある。例えば、適切なスタンダードプリコーションで清潔管理された手術室内や処置室内で採取し、同室あるいは同等の管理下にある近接した室内で速やかに製造を開始する場合や、製造後の特定細胞加工物を速やかに投与する場合は、輸送・保管による微生物増幅リスクは極めて小さいと考えられる。一方、そうでない場合は外部委託をする場合を除き、無菌試験の実施のための構造設備は必須と考えられる。

3) 培養工程の有無

培養工程を伴う特定細胞加工物は、その方法や期間に係わらず、内在性微生物の増幅リスクが存在し、外部委託をする場合を除き無菌試験の実施のための構造設備は必須と考えられる。また、次項に示す閉鎖系デバイスを用いて製造を開始する場合は、微生物の混入リスクは極めて小さいと考えられるが、閉鎖系デバイスへの投入時の微生物混入リスクを踏まえ、必要に応じて清浄空気を供給する無菌操作等区域を設定する必要がある。一般的に、飛沫を生じる開放操作を伴う場合は、ドナーのスクリーニング検査の有無にかかわらず安全キャビネット内を無菌操作等区域として設定しなければならない。

4) 閉鎖系デバイスの使用の有無

溶着により適切にシールされた培養バッグ等の閉鎖系デバイスを最終投与形態の特定細胞加工物の採集まで一貫して使用し、原料となる細胞・組織の投入、および培地や試薬等の添加を無菌接続によ

り行う場合は、清浄空気を供給する無菌操作等区域の設定は必ずしも要求されない。また、B1.2.2)で示した適切に清潔管理された室内で原料となる細胞・組織を採取し、同室内で閉鎖系デバイスへ専用の滅菌処理された樹脂栓等を介して注射針で投入する場合も、適切な消毒方法や作業者のガウニング方法等の衛生管理方法が定められていれば要求されないこともありうる。それ以外の場合は、実施する操作のリスクに応じて、少なくとも安全キャビネット等を利用した清浄空気が供給されたグレード A での操作が一般的に要求される。

5) 原料，材料，資材等の識別

複数の特定細胞加工物を取り扱う細胞培養加工施設では、交差汚染並びに混同を防止するため、原料となる細胞・組織等の搬入経路を区分するか、搬入時間等を調整する必要がある。材料、資材等についても保管する区域を識別できるように設計上留意する。間仕切り、ゾーニングのほか、棚やコンテナ等で識別するなども検討できる。特定細胞加工物ごとに当該関係者のみがアクセスできるように留意するほか、識別ラベル等の色分けや出納管理の頻度を増やすなどソフト的に補完することは、早期に混同等を検出することが可能になり有用である。

6) 室内のエアフロー

開放操作を行う無菌操作等区域を設定する場合、そのバックグラウンド環境にあたる清浄度管理区域 (1) のエアフローは基本的にダウンフローに設計される。しかしながら、エアフローを考慮しない設備機器のレイアウトによりむしろ局所的に清浄度を悪化させる可能性もあり、設備機器について適切な範囲と高さを規定する必要がある。また、乱流方式のエアフローでも水平表面の適切な洗浄頻度を設定し、設備機器のレイアウトを適切に規定することで、十分な清浄度の維持が可能な場合もある。通常の細胞培養操作において、外来性微生物の混入リスクがバックグラウンド環境をダウンフロー方式としないことにより明らかに悪化することは考えにくく、むしろ培養による内因性微生物の増幅リスクのほうがはるかに高いと言える。

7) その他留意すべき事項

特に複数の特定細胞加工物を取り扱う細胞培養加工施設では、停電、設備等の故障、感染性培養液の飛散等の不測の事態に備え、空調系統を適切に分割することや、室間差圧を確保するための送風を継続するための発電機や蓄電システム等の非常用電源の確保によるBCP対策を検討することが望ましい。

B1.2. 構造設備の例

安全キャビネット等、もしくはアイソレータを用いた無菌操作等区域を設定する場合のそれぞれの基本的な構造設備の例としては、ISO13682を参考にすることができる。

以下に現実的ないくつかの条件ごとの基本的な例と留意点を示す。

1) 複数の特定細胞加工物を取り扱う細胞培養加工施設

内在性のウイルス等による汚染レベル	BSL2 以下
輸送、保管の有無	あり
培養工程の有無	あり
閉鎖系デバイスの使用の有無	なし
アイソレータ使用の有無	なし

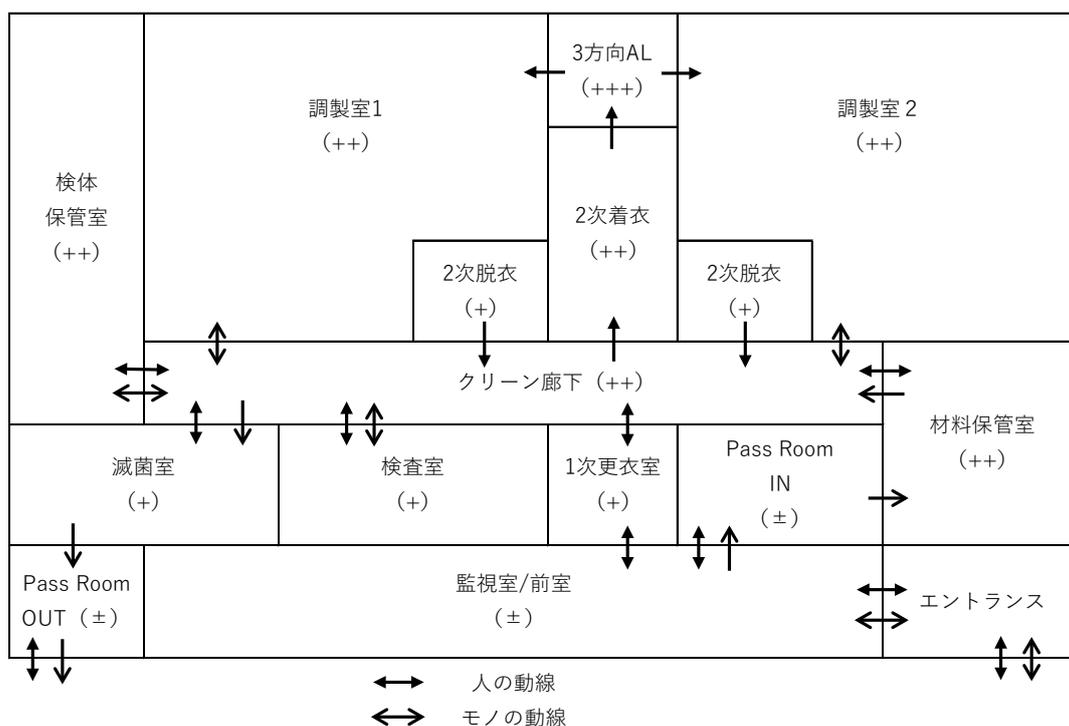


図 B1.1. 複数の特定細胞加工物を取り扱う細胞培養加工施設の例。括弧内は室間差圧の目安を示す。

[留意点]

- ① 着脱衣室とAL（エアロック）室を兼ねる場合、換気回数を大幅に増やすことで、着脱衣に伴うパーティクルの発生を迅速にクリアランスする方法が採られる場合があるが、清浄空気を供給する高性能フィルターの負荷が高く交換頻度が特になくなることもあるため、1次更衣の内容などを含めた実際の負荷を踏まえた換気回数を設定すべきである。同室における在室時間は極めて短い

ことから、常時高い換気回数を設定することは、目的とも合致しておらず過剰対応となりがちである。また、ダウンフローのエアフローを設定することがクリアランスのスピードには寄与するが多いが、その気流方向は実際の更衣ゾーンやロッカー等のレイアウトを踏まえて決定する必要がある。

- ② IN 側 Pass Room と材料保管室の間に Pass Box ではなくドアを設置する場合は、Pass Room をエアロック室として室間差圧を (+) に設定するとともに、Pass Room (エアロック室) 側にグレーゾーンを設定する必要がある。

2) 複数の特定細胞加工物を取り扱う細胞培養加工施設

内在性のウイルス等による汚染レベル	BSL2 以下
輸送、保管の有無	あり
培養工程の有無	あり
閉鎖系デバイスの使用の有無	あり/なし

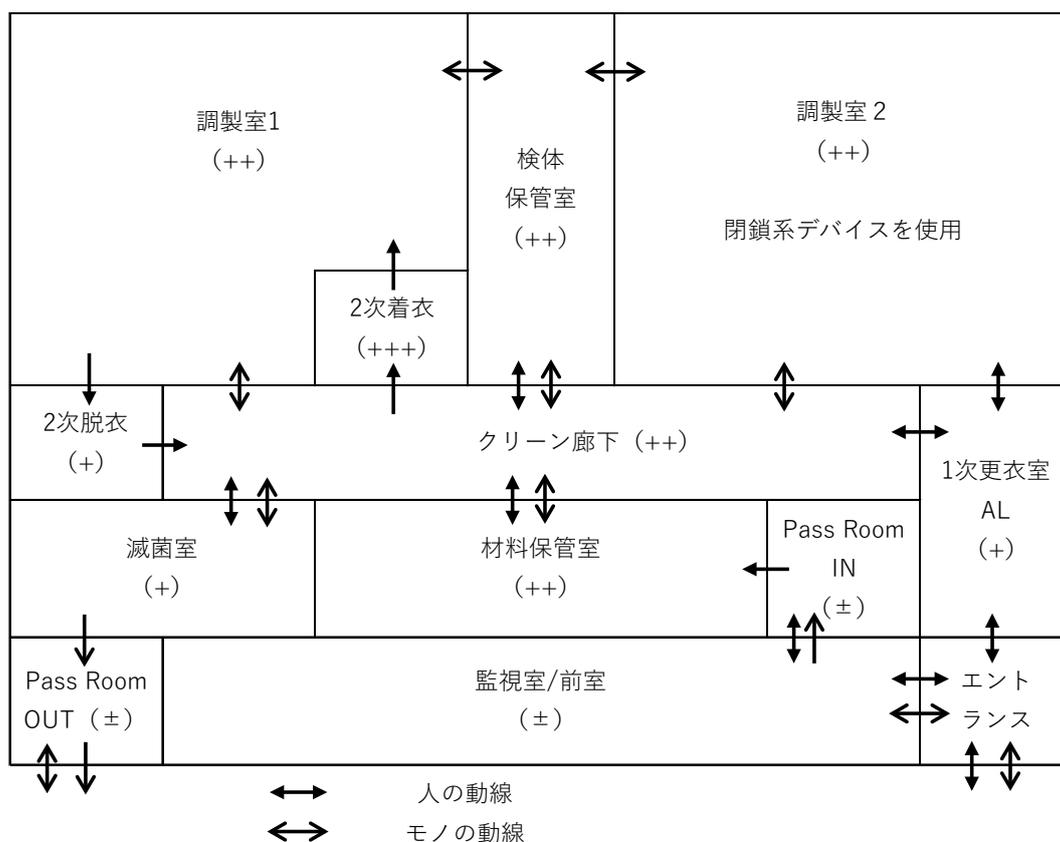


図 B1.2. 複数の特定細胞加工物を取り扱う細胞培養加工施設の例。括弧内は室間差圧の目安を示す。

[留意点]

- ① 調製室 2 は閉鎖系デバイスを用いるため、1 次更衣での入退室が可能。清浄度は隣接するクリーン廊下と同等クラスが許容され、通常はグレード D が設定される。ただし、本例に示すような同施設内に異なる清浄度クラスの調製室がない場合はその限りでない。
 - ② 閉鎖系デバイスの使用により調製室 1,2 間での交差汚染のリスクは低いため、退室時間を区切り、退室ごとに消毒するなどする場合は、2 次着衣と 2 次脱衣は同室とすることが許容される。その場合、調整室 1 (+++), 2 次更衣室 (++) に室間差圧を設定する。
- 3) 単独の特定細胞加工物を取り扱う細胞培養加工施設

内在性のウイルス等による汚染レベル	BSL2 以下
輸送, 保管の有無	なし
培養工程の有無	なし
閉鎖系デバイスの使用の有無	あり

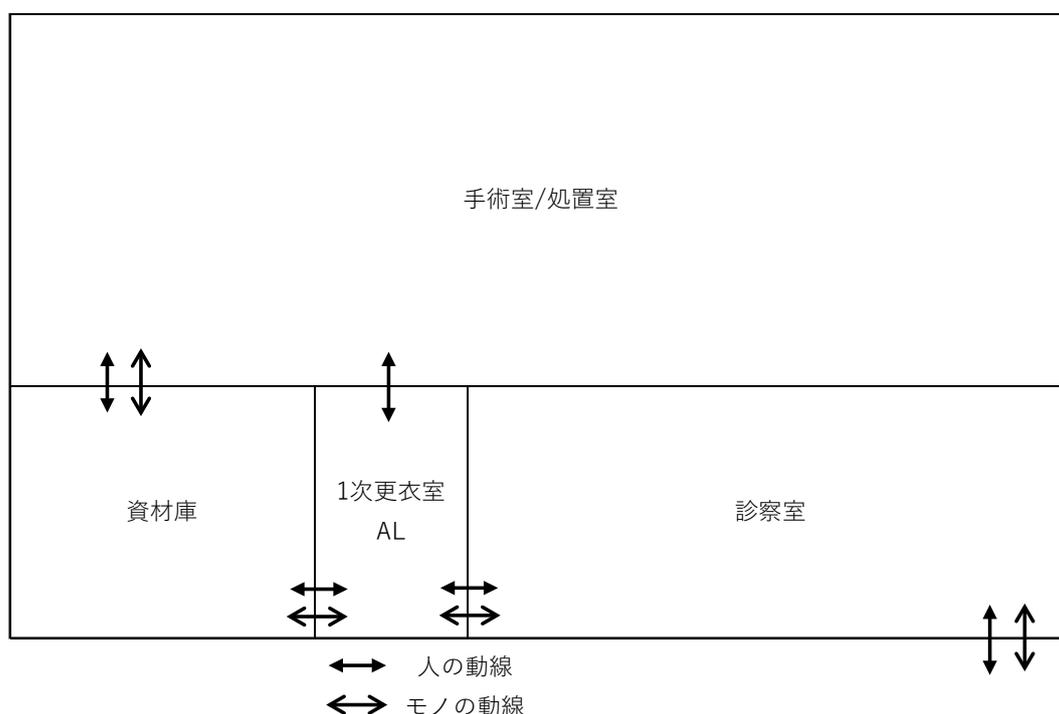


図 B1.3. 単独の特定細胞加工物を取り扱う細胞培養加工施設の例。

[留意点]

- ① 閉鎖系デバイスが用いられるため、環境表面が薬剤による洗浄・消毒に耐えうる材質で、スタンダードプリコーションに基づく清潔管理がなされた手術室や処置室内で閉鎖系デバイスによる製



造を行う場合は、清浄空気の供給を必要とする清浄度管理区域の設定は基本的に不要である。

- ② B1.1.4)項に基づき、閉鎖系デバイスへの原料となる細胞、組織や、材料等を投入する場合の微生物混入に係るリスク評価に応じて無菌操作等区域の設定を行うこと。



B2. 更衣

B2.1. はじめに

高度に清浄度管理された細胞培養加工施設において、ヒトは最大の汚染源である。ヒトに由来する微生物やウイルス等は微粒子に付着して浮遊すると考えられていることから、ヒトという汚染源を包装し、施設の汚染を防ぐことが細胞培養加工施設における更衣の目的である。この目的を達成するために特定細胞加工物の特性や当該施設の構造設備を踏まえてリスクを分析し、そのリスクに応じた更衣を行う必要がある。例えば、細胞培養加工施設の設置場所が院内・院外のいずれかによっても施設に入る際の服装は異なり、微生物や有害生物の付着のリスクも異なることが想定される。そのため、塵埃をいかに発生させないか、また、いかに次の部屋へ塵埃を持ち込ませないかといったリスク管理をどのように行うかが更衣において重要な点である。また、限られた予算や人員に基づく運用体制の構築も必要となる。以上のような点から、全ての施設に適応可能な更衣手順の決定は困難であるが、共通した考え方として重要なことは施設における更衣で生じる様々なデータを取得、検証し、改善策を運用に反映するPDCAサイクルを実践することである。本稿では、施設の実例を参考にハードとソフトの面から更衣を概説する。

B2.2. 服装と更衣

B2.2.1. 一般要件

微粒子の発生要因は、主に衣服内部の塵埃が袖口や襟元から外部に出ることである。浮遊菌の多くはこれら塵埃などの微粒子に付着していることで存在しており、塵埃数を減らすことが細胞培養加工施設における清浄度の維持に有効である。

院内での一般的な服装である白衣等（一般作業着）に対して、無塵衣は、発生する塵埃数が少ないことが知られている。無塵衣を適切に着用することが清浄度の維持に重要となる。

B2.2.2. 一般作業着，清浄度管理区域外での更衣

一般作業着は塵埃の発生に加えて、様々な微生物が付着しているため、作業所への入室には注意が必要である。従って、必要に応じて細胞培養加工施設内に、一般作業着から無塵衣に着替える部屋を設置し、0次更衣とも言えるインナーウェアへの更衣を行ってから入室することが望ましい。一方で、0次更衣を行うことが難しい施設では、1次更衣室および2次更衣室での待機時間を増加するなどの様々な運用面での工夫を行うことで、そのリスクが無菌操作等区域及び清浄度管理区域の清浄度へ影響を及ぼさないような運用を行う必要がある。

B2.2.3. 1次更衣，清浄度管理区域内での更衣

1次更衣は、一般作業着や入室するヒトに付着する微生物を含む塵埃を各室の管理基準に影響を与えないレベルまで最小化することを目的とし、マスクやヘアキャップを着用することで、呼気からの発塵や毛の落下を防ぐ。更衣時に落下した微生物などを踏んで、持ち込まないようにするために、ブーツカバー



等を着用した足は区分けされた(線を越えた)清浄度の高い環境下でのみ歩行することを定めるなどの工夫をすることが求められる。必要に応じて、更衣室内に線引きや床の色を変更するなど、視覚的に室内で環境を区分けするなど施設の特徴に合わせた運用が重要である。1次更衣における服装の種類は、クリーニングサービスを活用した再利用や、ディスプレイの利用など、施設に応じて適切に選択する。クリーニングサービスを活用する場合には、適切な運用がなされなければ、汚れの洗浄されていない服装で入室することになるため、リスク要因の一つとなり得ることに留意する。

B2.2.4. 2次更衣, 清浄度管理区域内での更衣

ヒトからの発塵には、顔面・襟元・袖口・裾開口部からの漏洩のほか、手袋・靴からの発塵があることから、これらを防ぐために、つなぎ服にフードを被り、靴ごと膝下まで覆うブーツカバーを装着することが望ましい。さらに、必要に応じてアームカバーを使用する。2次更衣の選択基準については、ユーザー視点での着用の容易さ、動きやすさ、コスト、当該施設における入室者からの発塵量など多岐に渡っており、施設を管理する者が自身の施設で実際に運用してみて決定する必要がある。各施設の生産数などの使用状況に応じて適切な無塵衣の選択が必要である。

B2.3. 微生物種の同定

微生物種の同定は、環境モニタリングにより検出された菌の異常増加がどういった原因により生じたかを明らかにする上でも重要である。例えば以下に示すような菌種が同定された場合は、一般作業着やヒトから発生した塵埃によるものと推測される。明らかにされた原因に基づき、微生物を如何に細胞培養加工施設内に入り込ませないかを更衣の手順に反映させる必要がある。

一般作業着に付着する菌コロニーから同定された菌種の具体例を以下に示す。

- 1) *Sphingomonas paucimobilis*
ブドウ糖非発酵グラム陰性桿菌。様々な環境に広く認められる。
- 2) *Roseomonas mucosa*
ブドウ糖非発酵グラム陰性短桿菌。様々な環境に広く認められる。
- 3) *Moraxella osloensis*
ブドウ糖非発酵グラム陰性短桿菌。洗濯後の衣類に発生する雑巾様臭の発生原因。
- 4) *Irpex lacteus*
ウスバタケ(真菌)。世界中に分布し広葉樹の枯木に発生している。

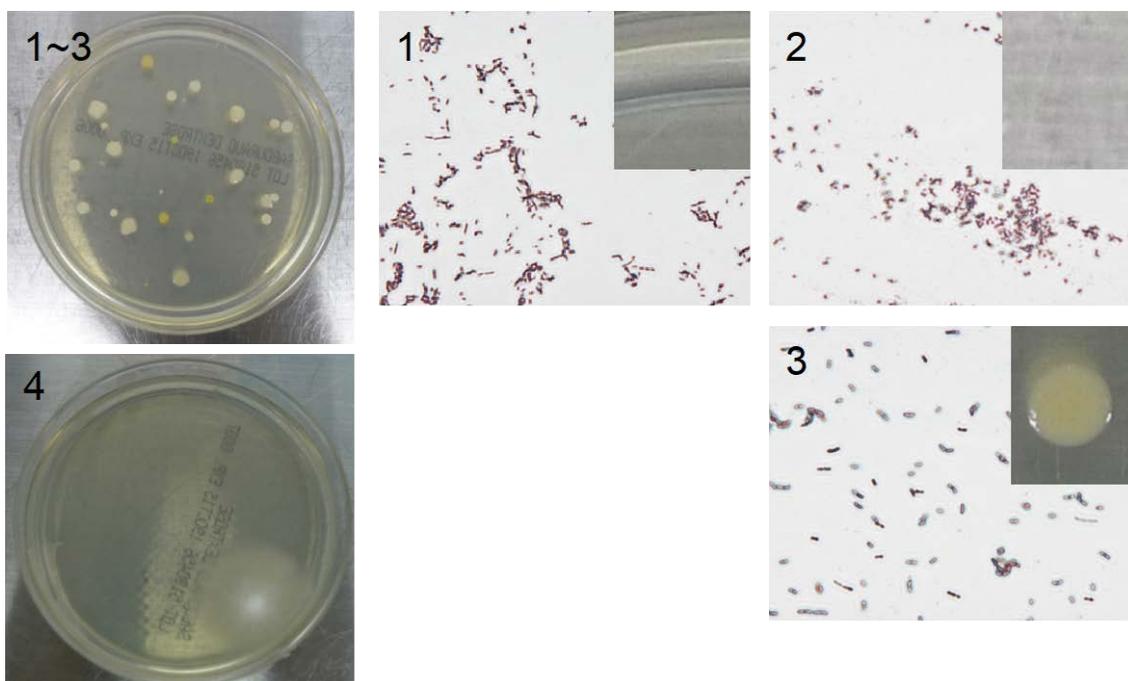
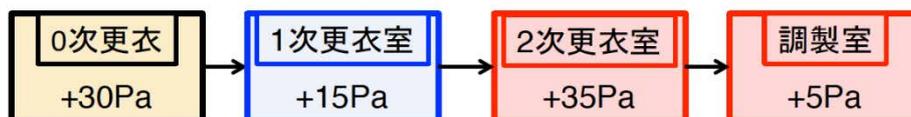
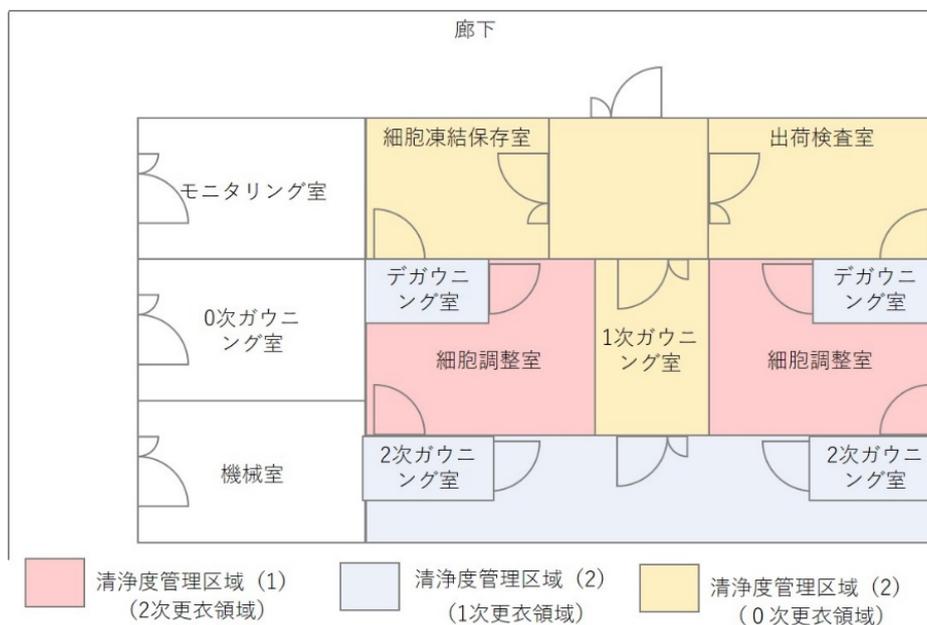


図 B2.1. 一般作業着に付着する菌種の例

B2.4 施設における更衣の具体例 1

更衣の具体例 1 の細胞培養加工施設は、院内に設置された施設である。本施設では 2 次更衣室は共通となっており、限られた床面積を有効に活用している(図 B2.2)。

本施設では、清浄度管理区域外に更衣室を有している。その更衣室にて 0 次更衣を行う。その後、清浄度管理区域 (2) のエントランスへ入室し、手洗いと 1 次手袋を着用する。院内施設では様々な人間とすれ違うことが多いため、本施設のように 0 次更衣は極めて重要である。エントランスから、1 次更衣室へ入室し、マスク、ヘアキャップ、低塵性つなぎ服の着衣、1 次手袋の付け替えを行う。2 次更衣室へ移動し、使い捨てのカバーオールを着る。2 次更衣では着用する手袋は、裾の長い手術用の無菌グローブを着用し、裾からの発塵を防ぐ。



事前更衣 (0次更衣) 1次更衣 2次更衣

図 B2.2. 細胞培養加工施設における更衣の具体例 1

B2.5 施設における更衣の具体例 2

更衣の具体例 2 における細胞培養加工施設は、院内に設置された施設であり、限られた床面積 (117.37m²)内に 5 部屋の作業所を備えている。そのため、様々な工夫がある。エントランスは病院施設と直結しており、院内を歩くことのできる一般作業着で入室することになる。1次更衣室の室圧は+20Paで、ここはエアロックを設けている。予め1次更衣によって発生したパーティクル数が、3分ほどで半分程度に低下するため(図 B2.2 中右下グラフ)施設例 1 では着替えた後に待機してから入室している。クリ

廊下を通り、2次更衣室へと入室するが隣の作業所と共通であり、+35Pa と最も陽圧であることから、更衣作業で舞い上がる塵埃が作業所内に入り込む可能性がある。そのため、2次更衣室においても3分待機をしている。この時間は、各施設の面積・換気回数によって異なるため、実際に自分たちの施設におけるデータを取得し、運用していくことが必要となる。また、共通利用については交差汚染の可能性があるので、換気が充分に行われる時間を挟むなどしている。

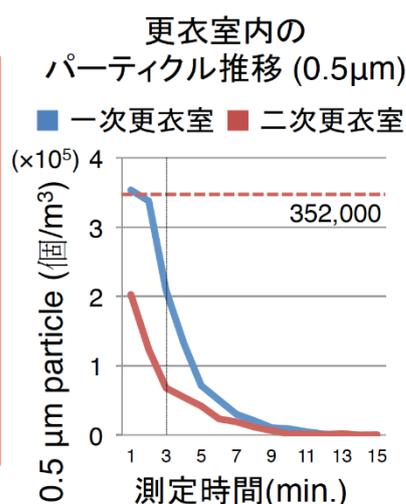
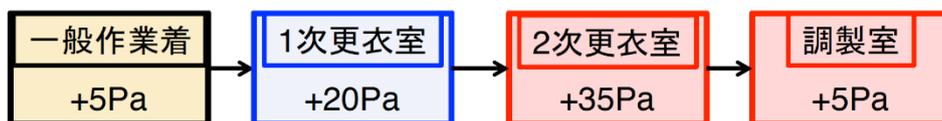
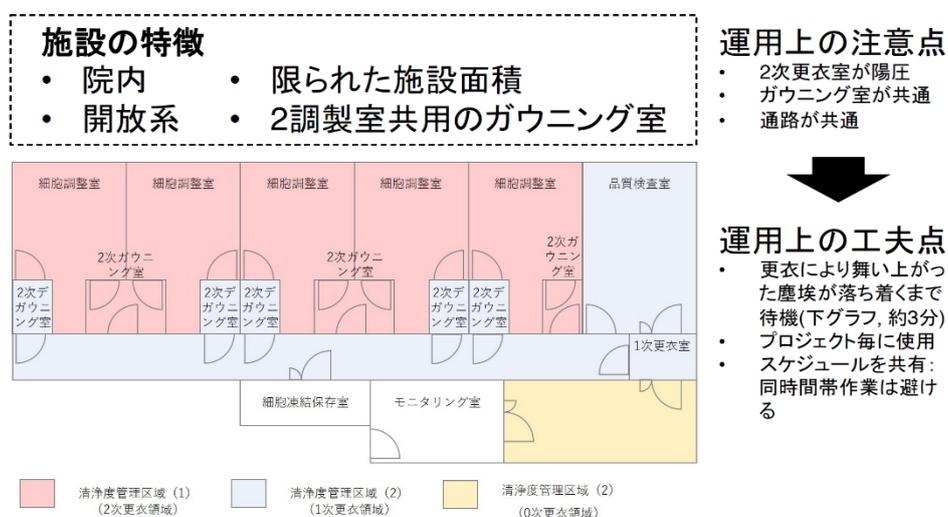


図 B2.3. 細胞培養加工施設における更衣の具体例 2



B2.6 まとめ

本稿では更衣の考え方と実例を紹介した。繰り返しになるが、細胞培養加工施設においてヒトは最大の汚染源であり、更衣により施設への汚染を防ぐ必要がある。細胞培養加工施設によって製造する特定細胞加工物や施設の状況などが異なるため、各施設において適切な運用が可能となるよう実際にデータを取得し、エビデンスおよび理念に基づいた更衣手順を策定する必要がある。



B3. 有害生物管理

B3.1. 一般要件

- 1) 細胞培養加工施設における有害生物管理は、再生医療製品等の製造所と同様、加工・培養環境の清浄度レベルを維持する上で重要である。本考え方では、加工・培養環境にとって不要な動物（小動物や昆虫類等）を総称して「有害生物」とする。有害生物は微生物及び真菌の胞子を伴い移動することから、無菌操作等区域ならびに清浄度管理区域における微生物数に影響を与えており、その種類と侵入経路の特定は構造設備のバリア性能の状態を確認する上で重要である。また、小動物については細胞培養加工施設のデットスペースである天井裏、2重壁内側などに営巣・生息しユーティリティ設備の一部を破壊し設備運用を妨げる可能性があることから施設全体の管理が必要である。
- 2) 細胞培養加工施設内部において捕獲される有害生物は、一般的に捕獲された区域外から侵入し、生息環境があればその区域内で増殖する。そのため加工・培養環境における構造設備は、無菌操作等区域及び清浄度管理区域と、外界環境との間に、有害生物の侵入を防ぐためのバリアを必要に応じて形成し、侵入リスクを低下させるために防護すべき対象の周囲を有害生物が生息し難い環境に維持管理することが重要である。また、その構造設備により区画された区域内においても、有害生物の増殖を抑制するように環境を維持管理すべきである。
- 3) 有害生物の中で昆虫類は構造設備の最深部まで侵入するリスクが高いことから、特に注意すべきである。本考え方では昆虫綱、蛛形綱（クモ、ダニ）、唇脚綱（ゲジ、ムカデ）、等脚綱（ワラジムシ）等の節足動物を含む生物群を総称して「昆虫類」とする。
- 4) 無菌操作等区域及び清浄度管理区域において、外部からの持ち込みによる有害生物の侵入リスクは低いと考えられるが、自ら移動し内部にて繁殖する有害生物がいるため、物資の持ち込み作業の管理手順に加え、有害生物に対応した管理プログラム（以下「有害生物管理プログラム」という。）を確立しておくことが望ましい。
- 5) 有害生物管理は、特定細胞加工物と製造環境に対するリスクを考慮し、リスクアセスメント結果に基づき計画し、実施することが望ましい。リスクとなる有害生物を特定し、特定細胞加工物や環境への影響を評価したうえで、サンプリングの頻度や管理基準を適切に設定すること。なお、サンプリング自体による影響も確認すること。
- 6) 有害生物管理プログラムの確立において、リスクアセスメントでは次の項目を実施することが望ましい。
 - ① 生態および侵入経路を考慮した有害生物の特定
 - ② 特定された有害生物のリスクの分析及び評価
 - ③ 管理基準（リスク受容レベル）の設定
 - ④ 基準値逸脱時におけるリスク低減のための処置方法

B3.2. 有害生物管理プログラム

- 1) リスクアセスメント結果に基づき、必要に応じて無菌操作等区域及び清浄度管理区域に見合った文書化された有害生物管理プログラムを持ち、記録を作成し保管すること。
- 2) 有害生物管理プログラムは、次の要件を含むことが望ましい。
 - ① 是正措置・予防措置（モニタリング含む）手順
 - ② 管理基準値設定と逸脱時の手順
 - ③ 管理基準値逸脱後のフォローアップ手順
 - ④ リスクに応じた清浄計画の見直し
 - ⑤ 施設点検と従事者教育
 - ⑥ プログラムの妥当性確認と改善
- 3) モニタリングの範囲
細胞培養加工施設のモニタリングは、清浄度管理区域の他、隣接する一般区域についても範囲とし、継続的に行うことで、有害生物の侵入経路の確認に役立てることが望ましい。必要に応じて無菌操作等区域と特定細胞加工物への影響を評価するものとする。構造設備の新設時、工事後等は対象範囲についても調査することが望ましい。
- 4) サンプルング方法及びサンプルサイズ
 - ① 無菌操作等区域及び清浄度管理区域におけるモニタリングのタイミングは、リスク分析により決定する。
 - ② 無菌操作等区域及び清浄度管理区域におけるモニタリングに用いる資器材は特定細胞加工物および環境を汚染しないこと。
 - ③ サンプルング方法およびサンプルサイズは製造所に生息する有害生物の生態から選定し、妥当性のある方法で実施すること。
 - ④ モニタリングに用いる昆虫類の捕獲用の資器材については、環境に適した捕獲効率の高いものを使用すること。
 - ⑤ 小動物(鼠族を含む)のモニタリングには捕獲を目的とした資器材の使用は環境の汚染を招く可能性があることから望ましくない。また、喫食の有無によるモニタリングも同様の理由から避けたほうが良い。
- 5) 管理基準
次の項目に考慮し管理基準値を設定することが望ましい。なお、有害生物の内、昆虫類は部分的に集中した状態で分布（集中分布）することが知られている。低密度な生息状態である製造所内では、区画あたりの個体数は正規分布にならないことが一般的であることから、管理基準値として平均値は適切ではない場合があることに注意すること。
 - ① モニタリング結果を反映することが望ましい。

- ② 発生と外部からの侵入とに分けて評価.
 - ③ 個体数のほか, 生息状況も評価.
 - ④ 区域別, 種類別に評価.
- 6) 是正措置は逸脱が生じた場合の対処方法をあらかじめ設定すること. また, 有害生物プログラムのリスクアセスメントにおいて想定されない逸脱が生じた場合は, 原因に応じた是正措置を実施すると共に予防措置の計画を改善すること.
- 7) 予防措置は管理基準を逸脱しにくい環境を維持するために, 必要に応じて過去のモニタリング結果から, 清掃・洗浄, 構造設備のメンテナンスなどを考慮した計画を立てること.

B3.3. 管理プログラムから逸脱した場合の対策

捕獲された有害生物の種類に応じた適切な対策を実施することが望ましい. 対策は発生もしくは侵入元に加え, 生態を考慮すること.

1) 昆虫類の対策

有害生物の内, 昆虫類は種類により生態が様々であるため, 対象種に応じた対策を実施すること.

2) 無菌操作等区域及び清浄度管理区域外の対策

無菌操作等区域及び清浄度管理区域において検出される有害生物は主に昆虫類であるが, その多くはそれらの区域外からの侵入に起因している. 昆虫類は建屋構造や設備配置等により作られる部分的な環境(微小気候)に生息状態が影響されることから, これらを考慮した点検と生息抑制の対策を実施することが望ましい.

3) 有害生物の侵入を防ぐためのバリア構造

2)のほか, 一般的に外部からの侵入や異常な内部発生がある場合においては, 製造所の有害生物管理プログラムの前提条件(管理対象外の環境変動を含む)を再度確認することが望ましい. また, 構造設備については, 経年劣化を考慮してバリア機能を再確認することが望ましい. なお, 微小気候に影響を与える変更は, 有害生物管理プログラムの前提条件の変更となるため, リスクアセスメントを再実施し, 必要に応じてプログラムの見直しを検討すること.

4) 環境制御における化学品の使用に関して

- ① 化学品を環境制御に用いる場合は, 特定細胞加工物および培養関連機器, 作業員への影響などを考慮し使用すること. また, 処理方法なども含めて, 関係法令などに準じた取り扱いをすること.
- ② 基本的に無菌操作等区域及び清浄度管理区域においては, 日常的または定期的な清浄度管理に用いる化学品を除き, 通常用いない化学品(殺虫剤等)を使用するべきではない.
- ③ 通常用いない化学品をやむを得ず使用した場合においては, 防除対象だけでなく, 特定細胞加工物や環境への影響について確認を行うこと. また, 無菌操作等区域及び清浄度管理区域の外において使用するときであっても拡散に注意すること.
- ④ 通常用いない化学品を無菌操作等区域ならびに清浄度管理区域において使用した場合においては,



その化学品の除去に適した洗浄を実施し残留がないか確認を行うこと。

- ⑤ 細胞培養加工施設において使用する化学品に係る化学物質等安全データシート（SDS）及び当該殺虫剤の使用の記録を保管する

B4. 培養加工方法の変更（互換性）

特定細胞加工物は、「再生医療等製品の品質確保における基本の考え方に関する提言」（平成27年8月14日PMDA科学委員会CPC専門部会）や、「再生医療等製品（ヒト細胞加工製品）の品質、非臨床試験及び臨床試験の実施に関する技術的ガイダンスについて」（平成28年6月27日厚生労働省医薬・生活衛生局、医療機器審査管理課 事務連絡）で詳説されているように、従来の医薬品とは異なる様々な特性を有している。また、「ヒト細胞培養工程の操作手順変更における互換性確認に関するガイドライン2015（手引き）」（平成27年3月経済産業省）（以下、「手引き」という）には、その特性を踏まえ、品質に影響を与える要因等について様々な観点から示されている。

しかしながら、生き物である細胞を取り扱うがゆえに、一般的に様々な変動要因が複雑かつ交互に影響を及ぼし再現性を得ることが困難であることから、特定細胞加工物の品質に影響を与えうる複数の変動要因の中から繰り返し実験によって独立した要因として抽出することは困難なことが多く、変更時の互換性や有意性を評価することは容易ではない。特に自己細胞を用いる場合のように、原料の選択性に乏しくロットを構成しない特定細胞加工物の場合はそれが顕著である。

また、再生医療等製品や臨床研究に用いられる特定細胞加工物は、品質水準を維持しつつバラツキをコントロールすることが変更の主な目的であるのに対して、一部の特定細胞加工物ではコストダウンや品質水準の向上を変更の主な目的とする場合もあり、その評価手法や判定基準の考え方などのアプローチが異なることもある。

これらの特性を踏まえて、細胞培養加工手順等の変更時の評価方法について、手引きに示された各影響に対する基本的な考え方や留意点に補足を加えることで、その理解や議論の一助となることを期待したい。

B4.1. 品質に影響を及ぼすと考えられる要因と考え方について

1) 製造環境の変更に伴う操作手順変更による間接的な影響による事項

施設並びに設備機器の変更やレイアウト変更による影響は、各設備機器等の品質特性を踏まえ、特定細胞加工物の品質への影響が想定される要因についての関係者による技術的な考察のみをもって、互換性の評価結果とすることも可能な場合もある。設置環境が設備機器の品質特性に影響を与えることが想定される場合でも、直接的に特定細胞加工物の品質パラメーターで評価するのではなく、ダミー容器を用いた工程管理パラメーターへの影響確認により同等性を評価することも許容される。また、導入後も引き続き管理図法などを用いて、導入前後でパラメーターの傾向分析を行うことで補完することが有効であることも多い。なお、レイアウト変更による気流方向の変化により生じる局所的な清浄度への影響が、当該特定細胞加工物の品質にどのようなインパクトを与えるかの評価はもちろん、室内の照度や作業スペースに与える影響が、作業者の快適性や作業性にどのような影響を与えるのかについても、作業者の力量が品質に与える影響を鑑みると留意すべき互換性評価項目であると言える。

2) 実作業の操作手順変更による直接的な影響による事項

手引きにおいて例示されている通り、品質に与えるインパクトについて十分に技術的な考察を行い、影響を及ぼすと考えられる操作について評価が可能となるような比較実験を実施すべきである。影響を及ぼすと考えられる操作としては手引きに挙げられているもののほか、セルソーターを用いた細胞分取時間などが挙げられる。また、手作業を主とする操作の影響を検討する際、作業者が複数存在する場合には、標準作業が高いレベルで確立されていることが前提となる。すなわち、訓練された作業員間で有意に作業時間がばらつく場合は、技能の問題よりも標準作業が明確でないことがその原因となっていることが多い。作業員を要因とした 1 元配置実験等により、作業時間やピペットの吸引量等に作業員間で差がないことを明らかにしたうえで、その平均値や推定幅を標準作業時間や標準吸引量として定め、変更後に推測される標準作業時間や標準吸引量との差が品質に影響を与えることを関係者による技術的考察によって明らかにしてから比較試験を実施しなければ、実効的な変更管理とはならないことに留意する必要がある。

B4.2. 評価手法について

比較実験による評価手法としては、一般的には健常人ボランティアから得られた限られた細胞を用いた評価結果に基づき実施される。手引きにおいては、可能な限り異なるボランティアなどから得られた 3 系列以上の比較試験を行うことが要求されている。臨床研究に供する特定細胞加工物の製造においては、対象となる患者数や期間が限定的であり、変更の目的は主として臨床研究中の材料・試薬メーカーの都合による規格変更等に伴うものなど、受け身な変更が比較的多いと考えられる。比較評価の手法としては、実際の患者の細胞では異なる反応性を示すことがあり技術的な限界があるものの、手引きに示されている新旧両群間の統計学的もしくは技術的な考察に基づくバラツキの比較による判断とすることが現実的な対応と言えるであろう。加えて、可能な場合には paired T-test による比較実験で平均値の差を比較することが有用である場合も考えられ、そのような統計学的手法を用いて評価する場合は異なるボランティア等から得られた細胞を用いてデータの独立性を確保するほか、系列数にも留意する必要がある。品質に与えるインパクトやリスクに応じて可能な限り系統数を増やした実験計画が求められる。

治療に供する特定細胞加工物等においては、変更の目的がバラツキの制御ではなく品質水準の向上または維持（コストダウン等）であり、能動的な変更である場合も多いと思われ、このような場合には技術的な考察から変更による効果が明らかであるものも多い。少ない系列数の健常人ボランティアから得られた細胞を用いた比較試験であっても、統計学的もしくは技術的な考察から有意と判定されたら安全性に係るリスク評価を実施したうえで積極的に変更し、品質パラメーターを利用する場合はデータの独立性に配慮したうえで変更前後のヒストグラムによる分布形や水準の比較評価等を行うことにより、変更の効果を確認することが重要である。また、設備機器の変更を行う場合は、適切な工程管理パラメーターを選択し、変更前後の傾向分析により変更効果の確認を行うことも有用であると考えられる。

なお、株細胞を用いた試験は、例えば製造工程中に投入されるサイトカインのメーカーや製造方法が変



更となった場合に、当該サイトカイン依存株を用いたアッセイを行うなど、特定の目的に応じた評価を行う場合にはヒト正常細胞を用いる場合に比べて安定的に試料が得られるという点でも有用と考えられることもある。

B5. 搬送

搬送とは、原料等を採取場所から作業所への搬入までの移動、もしくは作業所から再生医療等提供機関への特定細胞加工物の移動を無菌的に行うことをいう。ここでの搬送とは、再生医療等提供機関内の原料等並びに特定細胞加工物の移動のみならず、原料等採取施設から細胞培養加工施設へ、もしくは細胞培養加工施設から再生医療等提供機関への交通機関を利用した輸送行為も含む。加工される原料等、もしくは移植される特定細胞加工物の搬送に際しては、それらの無菌性を確保しながらも、公衆衛生上の観点から感染性でないことを否定できない特定細胞加工物の漏洩を防止すること、それらに加えて、再生医療等の効果に明らかに影響を与える因子の品質低下を引き起こさない搬送容器の準備とその搬送工程が無菌的に行われることの妥当性を事前に確認する必要がある。

- 1) 搬送容器の構成は、細胞・組織が直接接触する容器である一次容器と、一次容器を収納する容器となる二次容器、そして二次容器を収納する外装容器があることが望ましい。一次容器の要件として、容器内部の無菌性や原料等、並びに特定細胞加工物の品質を著しく低下させない資材からできていなければならない。二次容器は、一次容器が破損しても、その内容物（主に搬送溶液）が漏出しないよう吸収材が同梱されている等の漏出対策が施されていること。
- 2) 原料等、もしくは特定細胞加工物の品質に影響を与える外的要因（容器内外の温度、時間、酸素濃度、振動、気圧等）がある場合、それらの品質の安定性が確保できる搬送条件を決定するとともに、必要に応じて搬送中それらの因子をモニタリングできるような同容器には計測機器を装備すること。
- 3) 原料等、もしくは特定細胞加工物の搬送後に期待される品質が保持されていることを検証するため、事前に実際の搬送容器を用いて、同じ搬送経路、搬送時間で、搬送を複数回実施し、その妥当性を確認すること。具体的には、搬送後の一次容器内の細胞、組織、溶液等を微生物管理試験にて、その無菌性を検証するとともに、搬送前後で、その特性の変化が明らかに認められないことを示し、その方法を手順書に纏めておくこと。
- 4) 搬送担当者は、原料等、もしくは特定細胞加工物を搬送する前に、教育訓練を受けること。具体的な教育訓練の例として以下に示す。
 - ① 輸送容器の仕様
 - ② 搬送手順（搬送方法、原料等、もしくは特定細胞加工物の取り扱い、それらの梱包や容器からの開封等）
 - ③ 装備する計測機器の取り扱い
 - ④ 機器の故障、事故等の緊急時への対処法と、報告すべき連絡先
 - ⑤ その他、搬送に必要なこと。
- 5) 搬送担当者は、搬送毎に記録（搬送工程のチェックリスト、計測機器データの取出し等）し、それらを保管すること。
- 6) 適切な搬送を実現するために組織体制として、搬送管理責任者を置くことが望ましい。同管理責任者



の業務例を以下に示す。

- ① 搬送手順書，記録書等の承認と管理
- ② 搬送体制の把握
- ③ 教育訓練の内容決定と指示
- ④ 緊急時に対する適切な対応
- ⑤ 輸送業者を活用する場合は，輸送に関する各種調整



B6. 培養を経ない閉鎖系（歯科領域で用いられる多血小板血漿の製造）

B6.1. はじめに

平成 26 年 11 月に施行された再生医療等の安全性の確保等に関する法律（平成 25 年法律第 85 号、以下、「本法」）においては、培養以外の加工操作により製造された特定細胞加工物を用いた再生医療も本法に該当するため、静脈血から採取した血液を遠心分離操作して作製される多血小板血漿（Platelet Rich Plasma, 以下「PRP」）も本法の適応範囲となる。

歯科領域では PRP 治療が以前から行われており、簡便な加工操作であるため、多くの医療機関で自由診療として提供されている。自由診療として患者に提供される再生医療の安全性や有効性については、患者自身が個別に判断できる情報を確保し提供することが重要であり、医療従事者の責務といえる。そこで、本考え方では、その一環として、本法下で最も多く自由診療として提供されている再生医療の一つである PRP の製造方法に着目し、とくに PRP を閉鎖式操作で製造する際の細胞培養加工施設の望ましい運用方法について、私見を交えて紹介する。

B6.2. PRP を製造する際の細胞培養加工施設

歯科領域で提供されている PRP は、医療機関内の診療室近くで製造されることが多い。本法第 42 条（構造設備の基準）では、細胞培養加工施設の構造設備について規定されているが、本規定は、PRP の製造のように培養以外の加工操作を行う場合においても、Cell Processing Facility と同様の基準が PRP を製造する場所にかかる。しかし、本法下の細胞培養加工施設の運用は、製造する特定細胞加工物ごとに異なるものであるため、PRP を製造するために適切な細胞培養加工施設及び運用法を確立することが肝要である。

B6.3. 閉鎖系操作で PRP を製造する際の細胞培養加工施設の考え方と事例

PRP の製造過程において、採血管に採取した血液を遠心分離し、外気と接触している別の滅菌管等に移し替える工程があることで開放式操作となる。一方で、採血管から最終細胞加工物を製造するまでの一連の製造工程が外気に触れることなく製造され、無菌性が確保される場合を閉鎖式操作と考えることができる。

上述の如く、閉鎖式操作により PRP を製造する細胞培養加工施設においても、本法施行規則第 89 条（細胞培養加工施設の構造設備）で規定される無菌操作等区域、清浄度管理区域を設定しなくてはならない。閉鎖系操作により PRP を製造する際の細胞培養加工施設の事例を示す（図 B6.1）。閉鎖系操作で PRP を製造する場合、閉鎖系操作を行う消耗品内部を無菌操作等区域と設定し、閉鎖系操作（遠心分離）を行う区域全体を清浄度管理区域と設定することができる。その際、清浄度管理区域は歯科診療室内も想定されるが、当該区域は、清浄度管理区域として設定する区域に排水口がある場合、排水口に清掃が容易な排水トラップ及び逆流の防止装置等を備える必要があることに留意されたい。

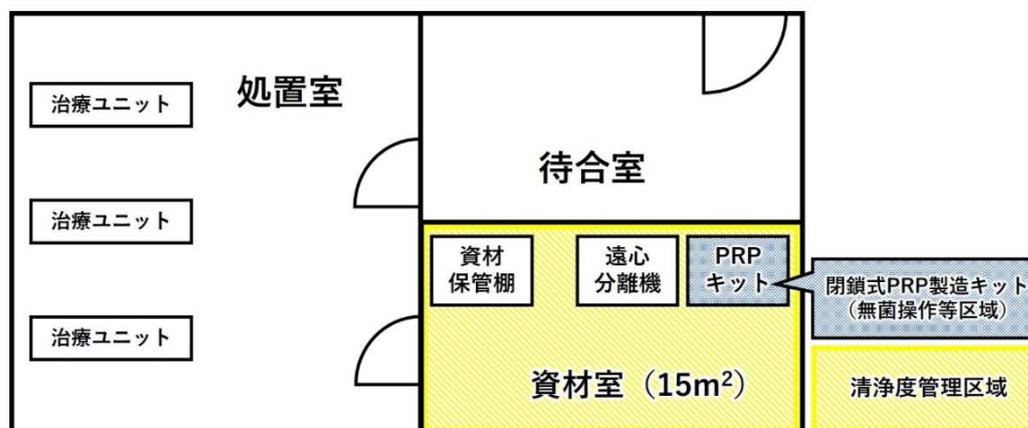


図 B6.1. 閉鎖式操作で PRP を製造する歯科診療所における清浄度管理区域と無菌操作等区域の例示

PRP を製造する際に、閉鎖式操作に用いる消耗品として、近年様々な PRP 分離・抽出機器が使用できるようになってきた。これら機器の中には、クラスIII医療機器として製造販売承認されている一例を紹介する。

多くの PRP 製造キットは、滅菌済み閉鎖式容器であり、当該容器の中へ、抗凝固剤入りの採血用シリンジで採取した血液を注入した後、そのまま遠心分離機に装填し、遠心分離操作ができる形状になっている。遠心分離を行うことで、当該容器から、血小板数が少ない血漿層を先に採取し、その後、多血小板血漿層を抽出口から採取し、特定細胞加工物を製造する。本容器を無菌操作等区域と見立て、図 B6.1 のような清浄度管理区域と無菌操作等区域で実施される。

B6.4. 最後に

今回、歯科領域における PRP を製造するための細胞培養加工施設の運用について、具体的例示を紹介した。一方で、PRP は、歯科領域において数多く提供されている再生医療の一つであるものの、その作用機序や効能効果が明らかにされていない点は忘れてはならない。

また、近年、本法において、国に提供計画を提出せずに本法に該当する再生医療が提供されていたり、細胞培養加工施設の手続きが適切に行われていなかったりするなど、再生医療を提供する者の認識が大きく問われている。本考え方の冒頭で上述した通り、本法下で自由診療として提供される再生医療の現状については、患者自身が当該医療の適切性を判断できる材料がまだ乏しく、当該再生医療を実施する医療機関を比較する情報も少ない。これらは今後の本法の課題でもあるが、本考え方が適切かつ安全な PRP の製造方法確立の一助になれば幸いである。

B7. 製造設備及びユーティリティの適格性評価

B7.1. 適格性評価

- 1) 製造設備及びユーティリティの適格性評価のため、必要に応じて計画書及び手順書を作成すること。
- 2) 製造設備及びユーティリティは、要求される品質水準、製造時の使用量に対する設備能力、適用される法的要件(法令及びガイドラインなど)、使用する材質や機能などの要求仕様を明確にした文書(ユーザー要求仕様書;URS)を作成し、それとともに設計時適格性評価により検証することが望ましい。
- 3) 設備据付時適格性評価を実施する際には、文書化した手順に従って、製造設備及びユーティリティが設計仕様に基づいて設置されていることを確認すること。
- 4) 運転時適格性評価を実施する際には、製造設備及びユーティリティが設計仕様のと通りの機能を有することを確認すること。製造設備及びユーティリティを無菌操作等区域で運転する場合、その規定された清浄度が維持されることを確認すること。
- 5) 作業員のスキルや作業人数により適格性評価に影響を与える可能性がある設備については、必要に応じてその特定細胞加工物の特性に応じた適用可能な試験方法、適格性評価方法を検討し、妥当性の検証を行うこと。
- 6) 滅菌装置、ろ過装置、セルソーター、充てん装置、打栓装置、密封装置、洗浄装置等に係る設備の適格性評価においては、当該工程における特定細胞加工物の無菌性保証レベルを確認することが望ましい。連続した工程に係る複数の装置については、これらをまとめて確認しても差し支えない。
- 7) 細胞加工物に直接的に接触する設備の表面の無菌性について検証することが望ましい。

B7.2. 校正

- 1) 特定細胞加工物に係る各製造設備及びユーティリティにおいて、特定細胞加工物の無菌性を確保するために重要な制御、測定及びモニタリングに係る計器(以下、「重要計器」)の校正のため、必要に応じて計画書及び手順書を作成し、これらの文書に従って校正を行うこと。
- 2) 重要計器の校正に当たっては、トレーサブル性を確保できる認証された標準器が存在する場合においては、それを用いて実施すること。
- 3) 上記の校正に係る記録は保管すること。
- 4) 重要計器の校正に係る現状を認識し、実証することができるようにしておくこと。
- 5) 校正基準に適合しない計器は使用しないこと。
- 6) 重要計器が校正基準から逸脱した場合においては、前回の校正以降において、これらの逸脱が当該計器を用いて製造した特定細胞加工物の無菌性に影響を及ぼしたか否かを判定するために、必要に応じて調査及び評価を行うこと。

B8. 有害生物管理の例

B8.1. はじめに

有害生物管理の基本的な考え方については、B3 有害生物管理を参考にすること。本節では、B3 での基本的考え方に基づく、細胞培養加工施設における有害生物管理の具体例について紹介する。

B8.2. 細胞培養加工施設における有害生物管理に向けた防虫管理の例

本項では、某細胞培養加工施設における有害生物管理の例について、トラップ例および設置個所を示し、実際にモニタリングを行った結果を示す。

B8.2.1. 防虫管理のトラップ例

この細胞培養加工施設では、防虫管理として、昆虫の種類に合わせたトラップを用いてモニタリングを行っている。歩行昆虫用のトラップは、図 B8.1A に示すように、床面に設置することが可能であり、チャタテムシや、ダニ、クモなどの歩行昆虫を捕集することを目的としている。一方で、飛行昆虫用のトラップは、図 B8.2A に示すように、天井から吊り下げや、壁に設置することが可能であり、ハエなどの飛行昆虫を捕集することを目的としている。

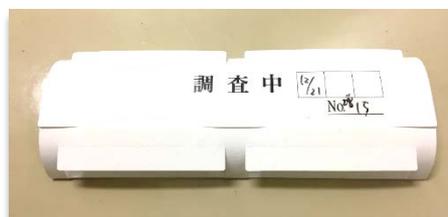


図 B8.1 歩行昆虫用のトラップ例

注)歩行昆虫用トラップはそこが分厚いとチャタテムシなどの微小昆虫は登ることができない。また底が柔らかく湾曲する場合もチャタテムシは下の隙間に侵入する。薄くて堅い素材を用いることが望ましい。

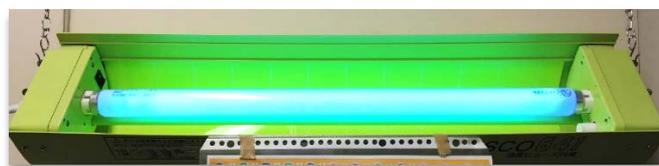


図 B8.2 飛行昆虫用のトラップ例

B8.2.2. トラップ設置個所の例

図 B8.3 に示すのは、ある細胞培養加工施設での CPC 周辺（清浄度管理区域外）の見取り図であり、上記の歩行昆虫用トラップ（赤丸）および飛行昆虫用トラップ（緑四角）を、図中の位置に設置した。



図 B8.3 清浄度管理区域外でのトラップの設置個所。歩行昆虫用トラップ（赤丸）および飛行昆虫用トラップ（緑四角）。入口および中扉を黄色矢印にて示す。

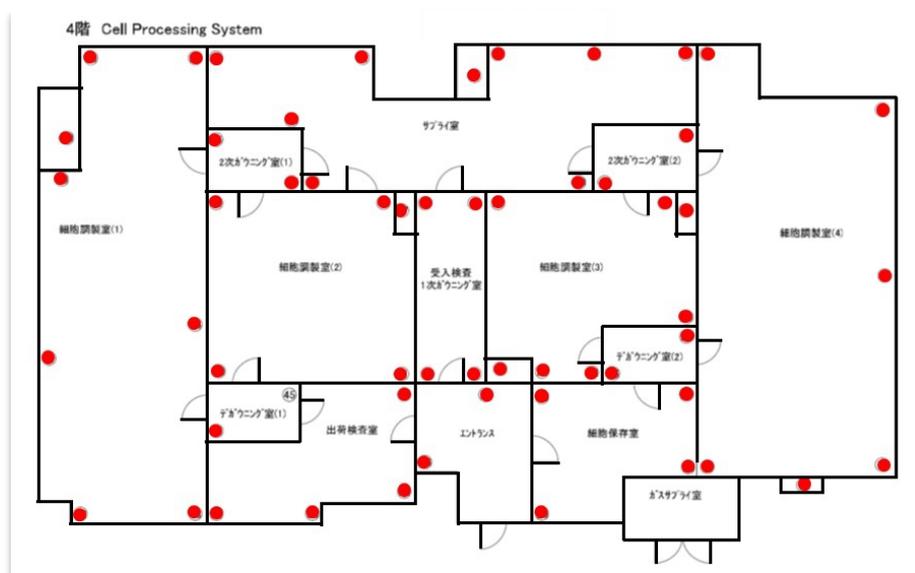


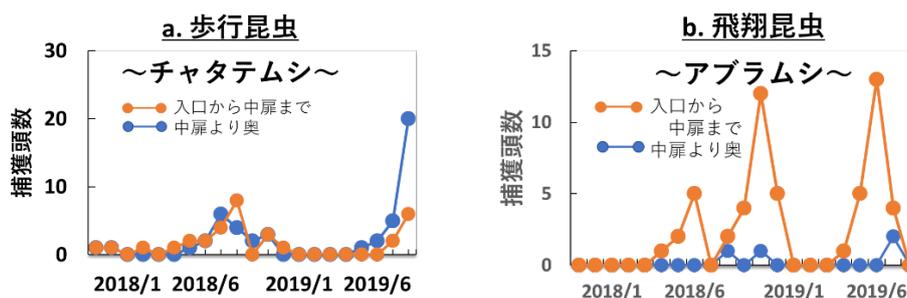
図 B8.4 清浄度管理区域内でのトラップの設置個所。歩行昆虫用トラップ（赤丸）。

一方、CPC内（清浄度管理区域内）は、図B8.4に示すように、エントランスから、細胞調製室に至るまでの各部屋の隅に歩行昆虫用トラップを設置して、モニタリングを行った。各トラップは、1か月毎に交換し、捕集した昆虫の数を集計した。

B8.2.3. 有害生物管理の結果

B8.2.2で策定したモニタリングポイントにおいて、清浄度管理区域外のモニタリング結果を、入り口から中扉までと、中扉から奥の2区間に分類して図B8.5に示す。

歩行昆虫については、入り口から中扉までと、中扉から奥の区間において顕著な違いは見られなかったのに対し、飛翔昆虫については、入り口から中扉までの区間が、中扉から奥の区間と比較して顕著に捕集される昆虫の数が多かった。このことから、中扉などによる隔絶が飛翔昆虫の侵入防止に効果があることが示唆された。



図B8.5. 歩行昆虫 (a) および飛翔昆虫(b)の捕獲頭数の推移

次に、清浄度管理区域内のモニタリング結果を、各部屋毎に整理した結果を図B8.6に示す。調製室①、調製室②、サプライ室、細胞保管室での捕獲頭数が多い結果となり、清浄度管理区域内の外周部にあたる箇所での捕獲頭数が多いことが確認された。

このことから、歩行昆虫については、人や物を介する侵入より、壁の亀裂や隙間などを通して外部から侵入する事が多いと考えられる。

発生個所	捕獲頭数(匹)
調製室①	46
調製室④	44
サプライ室	40
細胞保存室	26
調製室③	15
一次ガウニング室	12
調製室②	8
二次ガウニング室①	5
二次ガウニング室②	3
エントランス	3
デガウニング室②	2
出荷判定室	1
デガウニング室①	0

図 B8.6. 各部屋における捕獲頭数（2015 年 8 月から 2019 年 3 月累計）

そこで、昆虫が捕獲された場合、周辺の壁の亀裂や隙間を検索し、補修することでその効果を検討したところ、図 B8.7 に示すように経年劣化や地震・台風などの刺激により歩行昆虫の捕獲数は増加し、亀裂・隙間の補修により減少する事が示された。

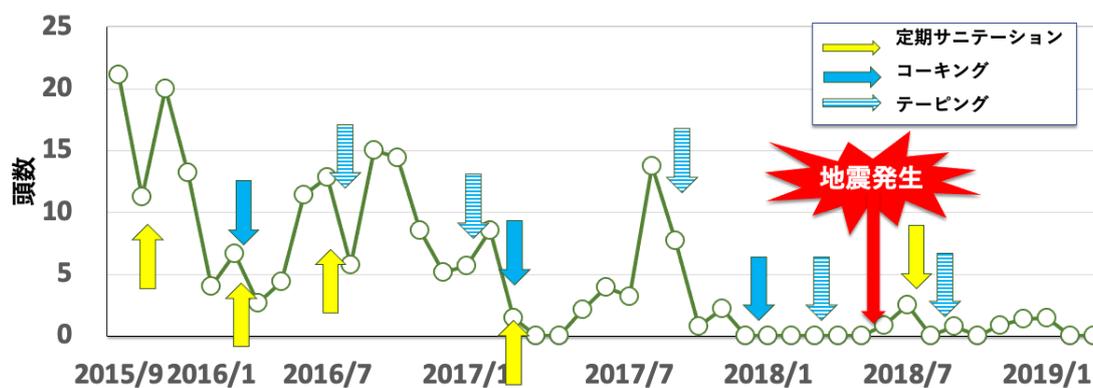


図 B8.7. 1 ヶ月あたりの歩行昆虫捕獲頭数の推移（2015/9～2019/3）

経年劣化に伴う小さな亀裂や破損の目視確認は難しく、施設の気密性低下と外部からの汚染の侵入が懸念される。衛生環境の保全維持の評価に昆虫モニタリングは有用であると考えられる。

B8.3. 引用資料

西尾ら、「経年劣化による細胞培養加工施設への影響に対する経時的昆虫モニタリングの有用性の検討」
第 19 回日本再生医療学会総会 発表資料（2020 年）



B9. 微生物迅速試験法の活用例

B9.1. はじめに

微生物迅速試験法は近年数多く開発されており、採用するにあたっては、微生物管理における目的に対して、その特性を理解することが重要となる。特に、環境モニタリングでの微生物試験と特定細胞加工物の無菌試験では、求められる目的および試験方法には相違があるため、それぞれに応じた試験法を考慮する必要がある。本稿では、微生物迅速試験法の特徴および一例を示す。

B9.2. 微生物迅速試験法の特徴

微生物迅速試験法には数多くの種類があり、その手法および検出対象は多岐にわたっている。第十七日本薬局方 参考情報「微生物迅速試験法」に代表的な微生物迅速試験法の手法および検出対象についてまとめられているので参考にされたい。

B9.3. 微生物迅速試験法の活用例

B9.3.1. 使用機器および条件

バイオパーティクルカウンタ（BioTrak、TSI社製）を用いて、某企業に設置されたアイソレータ内において、モデル操作を行った条件にて、微粒子数及び微生物数の測定を行った。

モデル操作としては、①タオル、エタノールの使用とゴム手袋の着用、②エアサンプラー稼働を行った。

*バイオパーティクルカウンタは、試料（空気・水）を連続的に光学系に導入し、粒子の粒径と個数を光学的にリアルタイム・連続で測定することが可能である。今回の例で使用するものは空気中の0.5 µm以上の粒径の浮遊菌数（V-CNT）および微粒子数（T-CNT）を測定している。

B9.3.2. 測定結果

各モデル操作実施時のバイオパーティクルカウンタのカウント結果を図 B10.1 に示す。いずれの場合においても、浮遊菌数（V-CNT）はカウントされず、微粒子数（T-CNT）は、作業実施のタイミングにおいて検出された。

上記の結果から、各モデル操作において、微粒子数と共に微生物数の測定を迅速に、連続的に行うことが可能であった。各製造工程において必要に応じて、環境モニタリングにおける浮遊菌の測定の実施に適用可能であると考えられる。

微生物迅速試験法の採用にあたっては、測定を必要とする対象に対して、各試験法の測定原理、測定可能な対象、測定限界を理解した上で導入することが重要である。

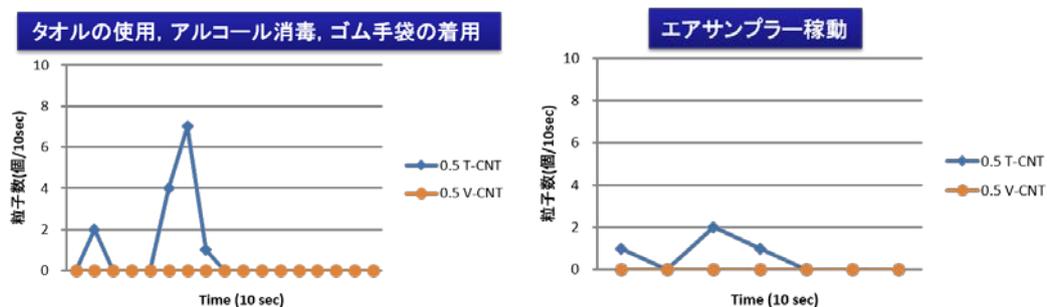


図 B9.1 各モデル操作実施時におけるバイオパーティクルカウンタのカウント結果。V-CNT（黄色）および T-CNT（青色）をそれぞれ示す。（杉本聡「バイオパーティクルカウンタ導入検討事例」資料より引用）

B9.4. 引用資料

- ・ 第十七改正日本薬局方 参考情報
- ・ 杉本聡 「バイオパーティクルカウンタ導入検討事例」 日本 PDA 製薬学会 無菌製品 GMP 委員会 研究成果発表会（2019 年）

C1. 安全キャビネット

C1.1. 一般要件

安全キャビネットは、上部吹き出し面からの一方向気流により安全キャビネット内部の空気清浄度を維持し、同時に安全キャビネット内部で発生するエアロゾルを前面開口部のエアバリア気流等により安全キャビネット外部に漏洩させずに封じ込める機能を有する装置である。無菌操作を行う際には外部環境からの持ち込みに注意する必要がある。安全キャビネットの部位名称と気流イメージを図 C1.1 に示す。

安全キャビネットは、内部の一方向気流と前面開口部のバランスを厳密に調整することにより、図 C1.2 に示した要求性能を満たすことができる。安全キャビネットの無菌操作環境を維持するためには、適切な設置や検査により機器の性能を維持すること、および気流バランスが乱れないように機器を適切な方法で使用することが重要である。気流を乱す行動、および気流バランスを崩す行動を最小限としなければ、性能を満たすことができない。

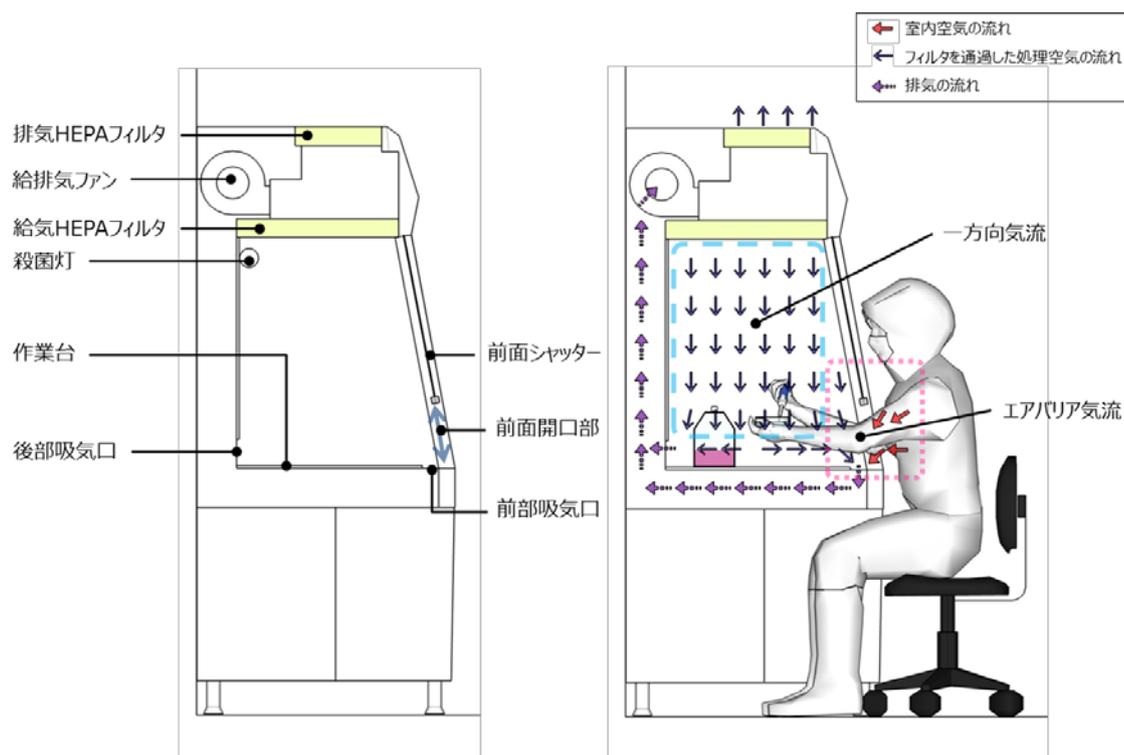


図 C1.1. 安全キャビネットの部位名称と気流イメージ（図は再生医療等製品の製造所における安全キャビネットの設置と維持管理に関するガイドライン2019より引用）

C1.2. 安全キャビネットのクラス分類

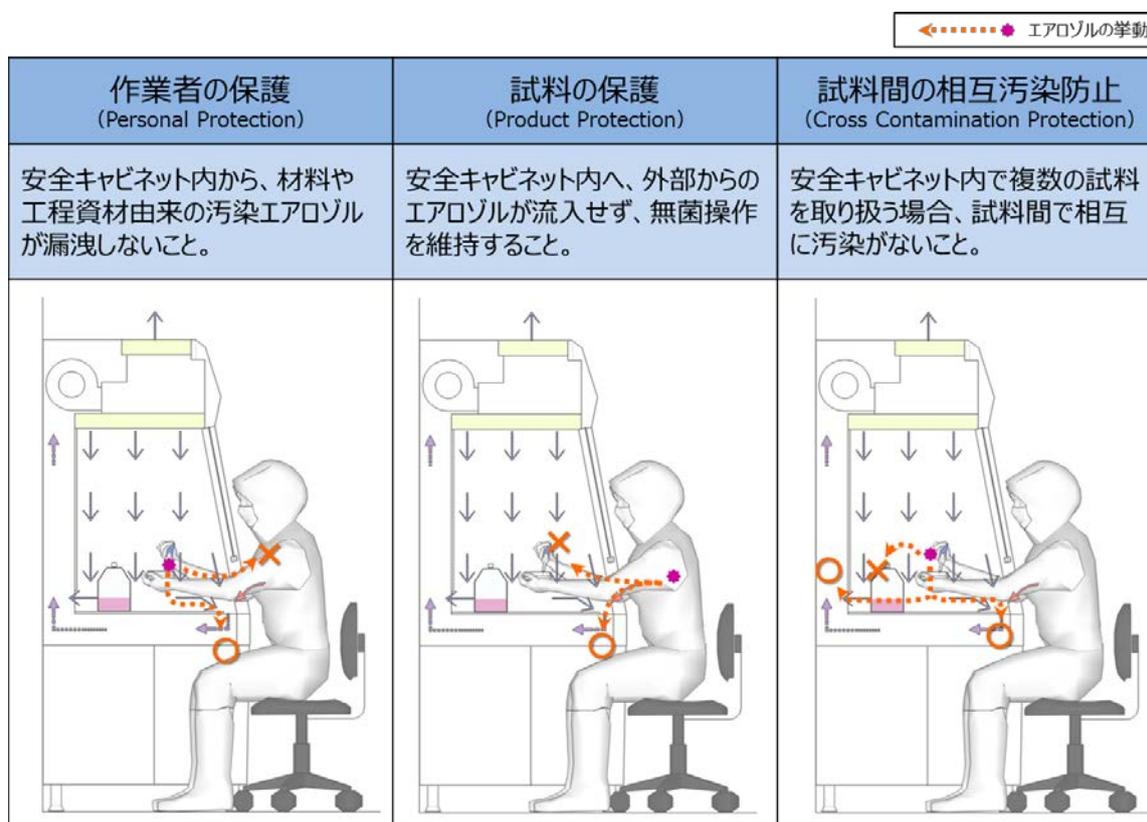


図 C1.2. クラスⅡ安全キャビネットの3大要求性能（図は再生医療等製品の製造所における安全キャビネットの設置と維持管理に関するガイドライン2019より引用）

安全キャビネットの規格は1976年に米国で発行されたNSF No.49を基本として、日本では現在、JIS規格K3800-2009として運用されている。安全キャビネットはバイオセーフティーレベルと用途により、Ⅰ、Ⅱ、Ⅲ型に分類されており、クラスⅡ安全キャビネットはA1、A2、B1、B2の4種に仕様、構造が分類される。従来B3と呼ばれたタイプは、2009年の規格改定でA2タイプとなった。とりわけ特定細胞加工物の製造においては、クラスⅡタイプA2の安全キャビネットを使用することが多いため、本項ではクラスⅡタイプA2のキャビネットについて述べる。

クラスⅡ安全キャビネットは、操作部が開放型であり、気流バランスを厳密に調整することにより図C1.2に示す3種類の重要な性能を保つことが出来る。これら3種類の性能の全てを満たすためには前面の空気流入部のエアバリア性能を含めた気流バランスが重要であり、特に吸込み気流すなわち排気を安定的（変動が10%以内）に確保することが求められる。

C1.3. 安全キャビネットの排気方式

安全キャビネットの封じ込め性能を保つには、前面開口部のエアバリア気流の安定が最も重要である。そのために適切な排気方式をとることが必要である。クラスIIタイプA2安全キャビネットの排気方式は図C1.3に示す2種であるが、ダクト接続の無い室内排気が最も安定している。しかし有害ガスを用いた場合、HEPA フィルターで捕捉されないので注意が必要である。特に安全キャビネット内を除染した際の排気方法も考慮しておく必要がある。

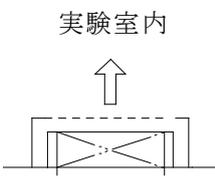
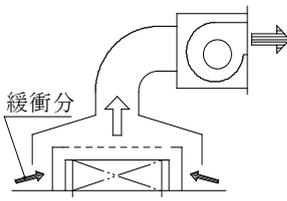
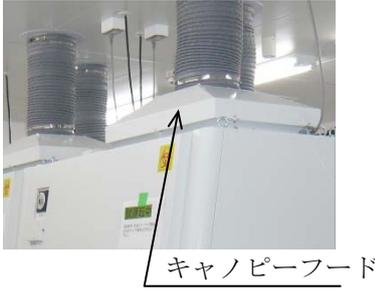
方法	室内排気	屋外排気
		開放接続(キャノピーフード)型
構造		
実例		

図 C1.3. クラスIIタイプ A2 安全キャビネットの排気方式 (図は再生医療等製品の製造所における安全キャビネットの設置と維持管理に関するガイドライン2019より引用)

キャノピーフード型の排気では、排気変動緩衝分としてフード周囲の開放部から安全キャビネット排気量の約50%を取込み排気する。排気ファンと安全キャビネットのインターロックと警報を設け、一時的にも安全キャビネット内が陽圧とならぬよう制御すべきである。封じ込め性能が求められる場合、安全キャビネット内が陽圧となると、封じ込め性能を満たすことができない。

排気ファンを設置せずに、安全キャビネットから直接屋外へ排気接続する方法は、排気が極端に不安定となり、一方向気流と前面開口部のバランスが壊れて図C1.2の性能を満足することができなくなるため行ってはならない。

C1.4. 安全キャビネットの使い方



本項では安全キャビネットの使い方の基本事項を述べる。実際の使用方法は各メーカーの取扱説明書をよく読み、手順書を作成すること。

C1.4.1. 作業開始前の操作

- 1) 前回の作業で発生した粒子が残留して汚染源となる可能性があるため、必要に応じて安全キャビネット内の作業域を清浄化する。
- 2) 原料等及び工程資材の搬入は、必要に応じて適切に消毒した上で、前面開口部の気流が安定するように、前面開口部を横切る動作は最低限となるように配慮すること。ただし、一方向気流が乱れるので安全キャビネット内に物を置き過ぎないように必要最小限に留めること。
- 3) 安全キャビネットは、前面シャッターが指定寸法の高さであるときにその性能を満足するように設計されている。指定寸法以外の開口で安全キャビネットを使用すると、気流バランスが壊れ、エアバリア効果が弱まり安全キャビネットの性能が得られないため、前面シャッターを各メーカー指定の開口寸法に合わせて、固定することが望ましい。

C1.4.2. 作業中の操作および注意事項

安全キャビネットの性能を適正に発揮させた状態で維持管理するためには、使用時の注意事項を遵守することが重要である。特に、以下の点を良く理解することが求められる。これらは特定細胞加工物の製造での注意点が主体であり、一般的な安全キャビネットの使用については実験室バイオセーフティ指針（WHO第三版）等を参照すること。

- 1) 前面シャッターは所定の高さを越さないようにして使用すること。
- 2) 消毒手洗い後、ゴム手袋、マスクを着用すること。必要に応じて、ゴーグル等も着用すること。
- 3) 汚染を防止するため、作業台は予め定められた方法で清浄化することが望ましい。
- 4) 一方向気流が乱れないように作業台上に置く物品は最小限とすること。また、前面開口部のエアバリア気流が乱れて汚染源の流入リスクが高まるため、作業中は極力物品の出し入れを行わないこと。
- 5) 無菌操作等区域内へ異物が持ち込まれるのを防ぐため、安全キャビネット内に搬入する物品は必要に応じて清浄化すること。
- 6) 気流バランスが乱れるため、安全キャビネット内に工程資材等を置くときには前面吸込みスリットの上、及び後面吸込みスリットの前を塞がぬよう離して置くこと。
- 7) 工程資材等及びエアロゾルを発生させる機器類（ミキサー、遠心分離、アスピレーター等）が必要となる場合は発生したエアロゾルを速やかに後面スリットに吸込み、拡散を防ぐために、奥側に置くこと。
- 8) 安全キャビネット内外への腕の出し入れは最小限とし、前面開口部のエアバリア気流を乱さないように注意する。腕をゆっくりと出し入れし、外気を内部に入れないように動かすよう注意すること。安全キャビネット内での操作は、安全キャビネット内の一方向気流が安定した後に、気流が手と腕の



表面を「吹き払う」ように、安全キャビネット内で手と腕を静止させ、時間を空けてから始めるようにすること。それらを記載した手順書を作成することが望ましい。

- 9) 原則として、安全キャビネット内にガスバーナーの設置はしないこと。ガスバーナーの点火により上昇気流が発生し、安全キャビネット内の一方向気流が乱れる可能性がある。

C1.4.3. 作業終了後の操作

作業終了後は必要に応じて清浄化を行い、汚染源となる残留を減らして微生物汚染や交叉汚染を防止する。操作中に生じた飛沫は、次の作業時に異物が混入する可能性のある箇所について清浄化を行う。管理責任者は作業後の清浄化を適切に行うために、メーカーから清浄化に対する注意点の情報を入手しつつ手順を定めること。また、バイオセーフティの観点から、必要に応じて用いた工程資材等は適切に処理する。

また、作業終了後の清浄化に加え、必要に応じて安全キャビネットに備えられた殺菌灯（紫外線ランプ）を点灯させて、微生物的清浄度を維持しても良い。殺菌灯を使用する際は前面シャッターを閉じ、作業者に健康被害が及ばないように十分注意すること。不要な曝露を避けるため、作業者は紫外線ランプを照射している安全キャビネットからできるだけ離れた方が良い。

C1.4.5. 異常時の対応方法

安全キャビネットの設置場所、使用頻度、使用方法等に応じて異常時に対するリスク評価を行いその対応方法を事前に検討して手順書を作成することが望ましい。以下にその代表的な例を示す。

- 1) 停電や装置異常等で運転が停止した際には、停止直後の数秒間は清浄度を維持しているため、速やかに無菌操作を止め、培養容器に蓋をすること。蓋をするまでの操作方法、時間等により汚染リスクが高くなる為、必要に応じて細胞加工物の検査を行うこと。近年では、非常時電源に切り替わるまでの間に、安全キャビネットのファンを止めないように、無停電電源（UPS）を安全キャビネットに設置することもある。
- 2) 装置の停止、あるいは他の理由により安全キャビネット内が汚染された場合、安全キャビネット内を定められた方法で洗浄、消毒を行うこと。尚、安全キャビネット内の空気は 5 秒程度で完全に入れ替わるとされている。各施設で清浄度回復試験を行い、手順書を定めることが望ましい。

C1.5. 安全キャビネットの定期検査・日常点検

C1.5.1. 定期検査とは

安全キャビネットの中でも、クラスIIタイプ A2 は「JIS 規格」等で定期検査が義務付けられている。定期検査とは、装置の性能を維持管理するため、一定期間ごとに JIS 規格への適合性を調べ、合否を判定することである。一定の性能を維持しているかを確認するために、毎年 1 回以上定期検査を実施するこ

とが必要となる。安全キャビネットに改良等を加えた場合には、定期検査はメーカーと協議することが望ましい。

安全キャビネットは工場出荷時の性能保証だけでなく、設置現場での稼働性能確認が大切である。安全キャビネットの性能は主として密閉度、HEPA フィルター、前面開口部の気流バランスの3点で決定されるが、このいずれも直接目視によって性能を評価することはできない。安全キャビネットの性能を利用した運用には、適切な時期に、適切な方法で、安全キャビネットの性能が維持されていることを検査することが大切である。

現場検査では、製品が設計・製作された当時の仕様通りであることを確認する。従って、検査する製品がどの規格に基づいて設計・製作されているかによって、検査方法が異なる場合がある。(改正により規格の内容が異なる場合があるが、製造された時点の規格に基づき検査する必要があるため)。例えば JIS K3800-2000 に基づいて設計されたキャビネットは JIS K3800-2000 に記載されている検査方法で検査する。JIS K3800 は 米国の NSF/ANSI 49, Class II (Laminar Flow) Biosafety Cabinetry 規格の改正に伴い、その都度見直されている。JIS K3800 は制定後 2 回改正されており、K3800-1994 (制定)、K3800-2000 (改正)、K3800-2009 (改正) があり、今後も改正が見込まれる。安全キャビネットのメンテナンス等の詳細は JIS K3800 を参照することが出来る。

検査には、熟練度と技術が必要であり、定期検査は、各安全キャビネットメーカーのサービス担当か、JACA (公益社団法人 日本空気清浄協会) の現場検査技術者認定を受けたメーカーに依頼することが望ましい。

C1.5.2. 定期検査の内容

安全キャビネット クラス II タイプ A2 の定期検査項目・検査時期については、JIS 規格に定められているが、特定細胞加工物の製造用途として使用する場合には、図 C1.4 に加えて、必要に応じて適格性確認を含めた定期検査を計画・実施すること。検査の時期については、搬入・年 1 回の検査に加えて、必要に応じて装置の移動後及び HEPA フィルターや部品の交換等、性能に影響を及ぼす作業を行った後にも検査を実施すること。検査結果は文書化して記録すること。

検査項目		時期
JIS 規格： K3800 (必須項目)	(1)風速試験 (2)HEPA フィルター透過率試験 (3)密閉度試験 (3)は工場出荷時のみ必須 ただし、搬入及び移動時も実施 することが望ましい。	1. 搬入・設置後、使用開始前 2. 年 1 回(腐食性物質取り扱い時は年 2 回) 3. 実験室内・外の移動後 4. HEPA フィルター交換後 5. 部品交換後、運転条件変更後 6. キャビネットの運転状態に疑問のあるとき

図 C1.4. 定期検査項目および時期

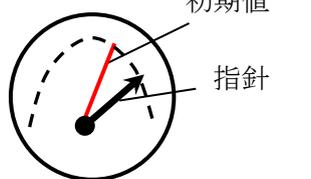
点検項目	点検内容
差圧計の確認	<ul style="list-style-type: none"> ・前回使用時に比べて表示値が大きく変化していないこと。 <div style="display: flex; justify-content: space-around;"> <div style="border: 1px solid black; padding: 5px; text-align: center;">指針が初期値に達しない</div> <div style="border: 1px solid black; padding: 5px; text-align: center;">指針が初期値を超える</div> </div> <div style="display: flex; justify-content: space-around; align-items: center;"> <div style="text-align: center;">  <p>差圧計</p> <ul style="list-style-type: none"> ・排気系の異常 ・ファン異常、排気口が塞がっている等 </div> <div style="text-align: center;">  <p>差圧計</p> <ul style="list-style-type: none"> ・フィルターの目詰まり等、終期確認 </div> </div>
ファンの異常音確認	<ul style="list-style-type: none"> ・ファンが正常に回転し、運転中に異常音がないこと。
照明/殺菌灯の動作確認	<ul style="list-style-type: none"> ・スイッチ等の操作により、点灯・消灯すること。
風速表示 (無い機種もある)	<ul style="list-style-type: none"> ・前回使用時に比べて表示値が大きく変化していないこと。 ・表示風速が仕様範囲内であること。

図 C1.5. 日常点検項目と点検内容の例

C1.5.3. 日常点検

管理責任者は、必要に応じて日常点検についての手順書を作成し、作業者に点検させること。点検の結果は文書化して記録すること。日々の点検項目については、メーカー、機種により異なる場合があるので、必要に応じて各メーカーの取扱説明書、納入仕様書等を確認して点検項目を決定すること。図 C1.5 に示す日常点検項目と点検内容の例を参考にすることが望ましい。

定められた点検項目に異常が認められた場合は、作業者は管理責任者へ報告し、指示に従うこと。管理責任者は必要に応じてメーカーのサービス担当等に詳細の状況を連絡して、対応法を決定すること。

HEPA フィルターの差圧が高まり交換を要する場合には、HEPA フィルターに捕捉された微生物が交換時の振動等で剥離し、交換作業員が吸引するといったバイオセーフティ上の懸念がある。そのため、取り扱う特定細胞加工物が病原性を有する可能性がある場合には安全キャビネットの内部除染を行った後、取り外して廃棄することを基本とする。安全性が確認されている場合、管理責任者がメーカーとも十分協議し、HEPA フィルターの交換作業を行うことも可能である。なお、この一連の HEPA フィルター交換作業は、管理責任者から委託を受けたメーカーが行うことが望ましい。

C1.6. 安全キャビネットの設置

細胞培養加工施設へ設置する安全キャビネットは、メーカーの工場出荷検査に合格し、無菌操作を行うための所定の機能を満たすことが求められる。また、その設置に対し、設置者は設置場所、設置環境、空調及び換気設備などを考慮した適切な設置計画を行う必要がある。あるいは、それらの情報をメーカーまたはその関係者へ提供し、設置計画を立ててもよい。また、その搬入と設置の際には設置環境を悪化させないように適切な手順で、搬入、組立て、調整を行った後、所定の機能が動作することを、適格性確認する必要がある。適格性確認は、設計適格性確認 (DQ)、据付時適格性確認 (IQ)、運転適格性確認 (OQ)、性能的確性確認 (PQ) の順に実施されるのが一般的である。

C1.6.1. 設置場所

安全キャビネット内部の清浄度と、安全キャビネットの封じ込め性能を保つには、安全キャビネット内部の一方向気流と前面開口部のエアバリア気流の安定が重要である。しかし、安全キャビネットの近傍でのヒトやモノの激しい移動、窓・扉の開閉、空調気流の変動等が生じると、大きな気流の乱れが発生し、安全キャビネット内への外部からの汚染物の流入リスクや、安全キャビネット内で発生するエアロゾルの外部への漏洩リスクを高める要因となる。

そこで、安全キャビネットの設置場所の選定に際しては、安全キャビネットの開口部前面に十分なスペースを確保し、ヒトやモノの動線および潜在的に気流を乱す可能性のある障害物から遠く離すことが望ましい。さらに、安全キャビネットの周辺スペースは、通常の培養作業を行なうためだけでなく、安全キャビネットの清掃およびメンテナンスが容易にできることも留意し、設置場所を決定することが望ましい。参考として設置場所選定に関する留意事項を以下および図 C1.6 に示す。

1) 壁・柱、ドアや窓等との位置関係

- ① 安全キャビネット正面は十分なスペースを確保し、壁や柱との距離を十分に確保すること。
- ② 安全キャビネットをドアおよび開閉可能な窓の周辺に設置することは避けること。

2) 空調・換気システムの給排気口との位置関係

- ① 安全キャビネット近傍では、部屋の空調気流の影響について配慮すること。特に給気口・排気口の真下や近傍で、エアバリア気流の形成に影響を受けやすい位置への設置を避けることが望ましい。給気口・排気口から十分な距離を確保することが難しい場合は、部屋の清浄度や温度・湿度に影響を及ぼさない範囲で、安全キャビネットに空調気流が直接当たらないように、風向板等で調整すること。
- ② 部屋のレイアウトや空調設備の給排気口の位置、設備性能などが安全キャビネットの気流に影響を与える一方で、安全キャビネットの運転により部屋側の気流の流れ方にも影響があるため、室内全体の気流に配慮し、可能な限り最適な配置計画を行うこと。

3) ヒトやモノの動線との位置関係



- ① 安全キャビネットは、ヒトやモノの動きに伴い発生する気流の乱れの影響を受けないように、移動・作業動線との位置関係を十分に配慮すること。
- 4) 他の実験機器との位置関係
- ① 安全キャビネット周辺に設置する他の実験機器や作業台との位置関係に配慮すること。安全キャビネットの前面と障害物との距離を十分に確保すること。
 - ② 作業動作スペースには、可搬式の実験機器を含め、作業時に障害物を留置しないこと。
 - ③ 安全キャビネットを複数台設置する場合は、特に並列設置、対面設置の場合には、相互距離を十分に確保すること。
- 5) その他
- ① 設備の清掃・メンテナンス作業に対して、十分なスペースを確保することが望ましい。

C1.7. 安全キャビネットの使用に関する教育

C1.7.1. 文書化

細胞培養加工施設においては、安全キャビネットを適切に使用して無菌操作等を実施するための手順書を作成するとともに、メーカーからの資料に基づいて、機器として性能を維持するための点検・保守・清掃等について、必要に応じて予め文章化しておく。また、管理責任者及び各作業者が、この管理文書の記載内容を遵守した運用を行い、必要に応じて管理方法を見直すことも重要である。

C1.7.2. 教育

細胞培養加工施設において管理責任者や実際に安全キャビネットで作業する作業者は、適切に安全キャビネットを取り扱うための基礎知識や使用方法について、手順書を含めた管理文書や実際の安全キャビネットを用いた教育を受け、知識や経験を積み上げていくことが重要である。

C1.7.3. 規制・規格

- 1) 実験室バイオセーフティ指針 (WHO第三版)
- 2) バイオハザード対策用クラスIIキャビネット JIS K3800 : 2009
- 3) NSF規格 No.49 クラスIIバイオハザードキャビネット NSF/ANSI49-2016 Biosafety cabinetry : Design, Construction, Performance and Field Certification

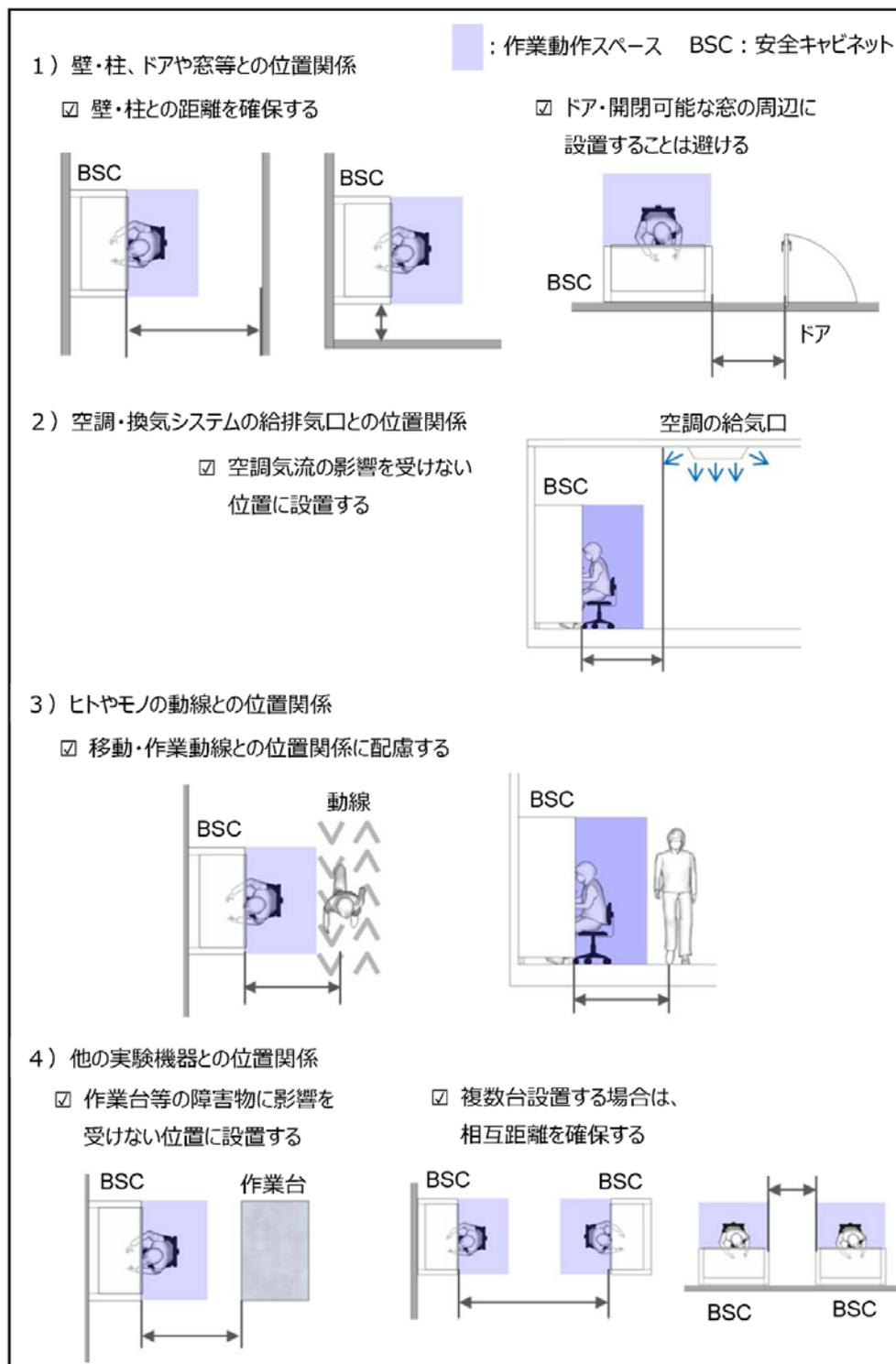


図 C1.6 安全キャビネットの設置場所に関する留意事項（図は再生医療等製品の製造所における安全キャビネットの設置と維持管理に関するガイドライン2019より引用）



C2. アイソレータ

C2.1. 一般要件

アイソレータは、物理的な障壁によって無菌操作等区域と清浄度管理区域において空間を隔離する装置である。筐体は気密性が高く、周囲環境との空気の流通は給排気用の HEPA フィルター以外は基本的に無い。よってアイソレータの送風機停止時においても、扉やハッチを開放しない限り、内部作業域への外部環境からの汚染物の流入の可能性は極めて低い。原料等及び工程資材を入出庫する際には、外部空気の流入や工程資材等に付着した微粒子の処理に関して適切な運用が求められる。アイソレータでの作業は全てグローブやハーフスーツを介した操作となるため、汚染源となる作業員からも隔離された状態を保つことができる。その一方で、微細な動作が困難であり、作業域へのアクセスも制限されるという面も併せ持つ。このためアイソレータを使用する前には十分な訓練を受けることが望ましい。

C2.2. 除染

アイソレータの無菌環境を維持するために、必要に応じて原料等及び工程資材の搬入出時や操作前に作業域を除染する。除染剤は、アイソレータ内での作業内容、搬入資材の量及び形状、アイソレータの材質等を考慮して選定する。過酸化水素による除染が最も多いが、その他の除染剤として、過酢酸（蒸気またはミスト）等がある。必要に応じて除染剤及び除染の効果を適切なバイオリジカルインジケータを用いて微生物学的に検証し、効果的かつ再現性よく除染効果が得られるようにするための除染サイクルの検証を行うこと。また、ケミカルインジケータの色の変化により除染剤の拡散を事前に確認することも有効である。検証した除染工程は、文書化しておくこと。

除染作業は、除染時に使用するミスト、蒸気またはガスの特性、およびこれらの発生装置の運転を十分に理解した作業員が行うこと。除染工程を実施する際は以下の項目を配慮すること。実施した除染工程時の環境が、検証した除染工程の範囲内とならない場合は、期待される除染効果が得られない可能性がある。

- 1) 除染剤の投入量が予め定められた範囲内であること。あるいは除染剤の曝露濃度が予め定められた濃度以上であること。
- 2) アイソレータ内部および周囲の温度が予め定められた範囲内であること。
- 3) アイソレータ内部の湿度が予め定められた範囲内であること。
- 4) 除染剤への曝露時間（除染時間）が予め定められた時間以上であること。
- 5) バイオリジカルインジケータの仕様が適切であること。使用する除染剤に対応したバイオリジカルインジケータを用いること。
- 6) ケミカルインジケータの仕様が適切であること。
- 7) アイソレータ全体が除染できるように、除染剤が均一に拡散していること。
- 8) 無菌性を維持するための適切な差圧を維持していること。



- 9) 除染後，細胞操作等に除染剤が影響しないようにするため，除染剤濃度が許容基準以下に低下していることを確認すること。

C2.3.教育訓練

適切にアイソレータを取り扱うための基礎知識や使用方法に関し，手順書を作成すること。アイソレータの使用に当たっての教育訓練には少なくとも以下の事項を含むことが望ましい。

- 1) アイソレータを用いた無菌操作に関する一般事項
- 2) グローブおよびハーフスーツの過度な消耗を防ぐための適切な使用方法
- 3) 除染を確実に実行するため，アイソレータ内部の除染および検証した除染工程に関する管理項目
- 4) アイソレータの気密性を確認するためのリーク試験
- 5) 汚染源を持ち込まないための資材および原料の搬入出方法
- 6) アイソレータの運転，モニタリングおよび維持管理
- 7) 作業工程に特異的な作業手順の標準化

C2.4.日常管理

アイソレータ設備の日常管理には，少なくとも以下の事項を含むことが望ましい。

- 1) アイソレータを用いた手順書を作成すること。
- 2) 一定期間毎，または除染前にその都度，筐体のリーク試験を行うことが望ましい。リーク試験方法は以下に例を示すが，これらの方法に限らない。
 - ① 正圧維持法
 - ② ガス検出法
- 3) グローブからのリークを予防するため，使用前に目視により破れ等がないことを確認すること。グローブによる作業では，インナーグローブを装着することが望ましい。
- 4) 目視にて確認できない小さな開口の有無を検証するため，物理的なグローブリーク試験は定期的に行うことが望ましい。
- 5) 構成部品の劣化や消耗により，装置の要求性能が低下することを防ぐため，消耗資材について維持管理のための計画を作成し，交換の時期を明らかにしておくこと。
- 6) 除染を実施するときは，温度，湿度，ガス濃度等，除染に影響を及ぼすと考えられる項目について，あらかじめ定められた箇所において測定し，記録を作成すること。
- 7) アイソレータ内の清浄度を確認するため，アイソレータ内部の微粒子数は，あらかじめ定められた箇所において，一定間隔でモニタリングを行うこと。

C3. HEPA フィルター

C3.1. HEPA フィルターとは

High Efficiency Particulate Air Filter (HEPA フィルター) とは、一定の大きさの浮遊微粒子を一定の効率で除去することを目的に設計された微粒子捕捉フィルターをいい、粒径 $0.3\mu\text{m}$ 以上の微粒子を少なくとも 99.97%以上の効率で捕捉する空気用フィルターをいう。空気中の粒子状物質を高効率で捕集する性能を持つため、電子デバイス、製薬、食品、精密機器などの製造において清浄環境を構築するために広く用いられている。また病院の手術室等で感染を防ぐ目的でも使用されている。

C3.2. フィルターおよびユニット構造

HEPA フィルターの濾紙は主に直径 $1\sim 10\mu\text{m}$ 以下のガラス繊維からできており、ボックス形状に成型されたフィルターは、給気用各種ユニットなどケーシングに納められ、室内天井面または安全キャビネット等機器内に設置され清浄な空気が送風される。フィルターおよび吹き出しユニット例を図 C3.1 に示す。



図 C3.1. HEPA フィルター (左), 給気用 HEPA 吹き出しユニット (右)

C3.3. 微粒子捕集の原理

空気中の微粒子は流体中で様々な運動をしながらフィルターの繊維表面と接触することで捕集される。その捕集機構は、さえぎり・慣性・ブラウン拡散・静電気力・重力という 5 つの機構が同時に重なって作用する。図 C3.2 に概要図を示す。

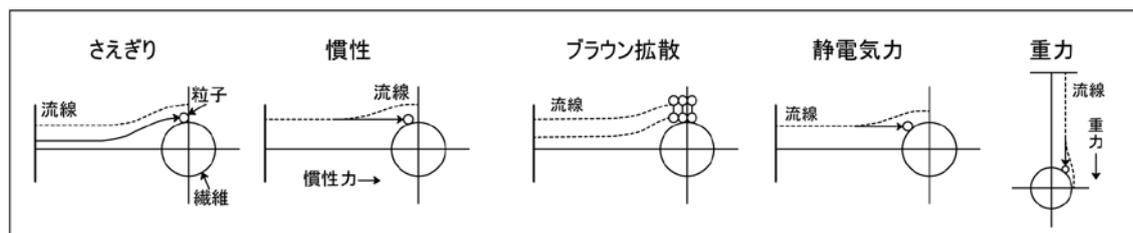


図 C3.2. フィルター繊維に対する捕集機構

C3.4. 設置時および稼働後の性能確認

細胞培養加工施設の無菌操作等区域，清浄度管理区域において，清浄度レベルを常に管理基準値以下にするためには，HEPA フィルターの恒常的な性能確保が不可欠である．アイソレータや安全キャビネット内等の無菌操作等区域におけるフィルターのトラブルは，無菌操作に直接影響を及ぼすおそれがある．また，安全キャビネットなど開放式による細胞加工が必要とされる調製室内は 5 章表 1 に記載のグレード B 等の清浄な室内環境が求められる．この環境は，適切な室内換気回数を設定し，HEPA フィルターで清浄な空気を常に室内に送風してヒトや機器から発生する微粒子を速やかに除去することで維持している．

HEPA フィルターは設置時および稼働後の適切な管理のもとでその性能を発揮する．具体的にはフィルターにリークがないこと，風速が均一であること，目詰まりの程度が設定範囲内であることが重要である．従って，以下の点に留意し，管理運営することが望ましい．

- 1) HEPA フィルターは，据付時及び定期的にリーク試験を行うこと．リーク試験の方法及び頻度については，HEPA フィルターの設置環境及び使用目的に応じて定めること．
- 2) 無菌操作等区域に設置する HEPA フィルターについては，吹出し風速の均一性について据付時及び定期的に検査すること．検査実施の頻度については前項に従う．
- 3) HEPA フィルターの差圧を据付時及び定期的に検査すること．フィルターの目詰まりのリスクが大きい状況においては，日常的な管理項目に含めることが望ましい．
- 4) HEPA フィルターの完全性に影響を及ぼしかねない事象もしくは状況が生じた場合，又は空気の品質が劣化していると判断された場合においては，HEPA フィルターのリーク試験を行うこと．

C3.5. HEPA フィルター設置上の注意

室内の天井面に設置する給気 HEPA フィルターは，リークテスト等の性能確認，交換，メンテナンスを行うにあたり支障がないよう，安全キャビネット，実験台など什器位置との関係性を十分検討して計画すること．また，安全キャビネット前面開口部に対して空調気流が影響することないように取付配置を検討すること．さらには室内に空気の淀みとなる場所がなるべくできないよう給気口から排気口（安全キャビネット等の排気装置含む）への空気の流れを考慮した取付配置を検討することが望ましい．

C3.6. HEPA フィルター性能試験

HEPA フィルターの性能を検証する試験方法には捕集効率試験とリークテストの 2 種類がある．捕集効率試験は，フィルターユニットが粒径 $0.3 \mu\text{m}$ 以上の微粒子を 99.97%以上の効率で捕捉できる性能を持つことを確認することを目的とするものであり，通常は工場出荷時に実施されるため，供給者の証明書を確認する．リークテストは，設置したフィルターのリークを調べるものであり，フィルターユニットからのリークとともにユニットの取付部からのリークについても検査を行う．使用する HEPA フィルタ

のリークテストは、PAO(Poly-alpha-olefin), DOP (Diocetylphthalate)等の適切なエアロゾルを用いて行うこと。図 C3.3 にリークテストの概要図を示す。

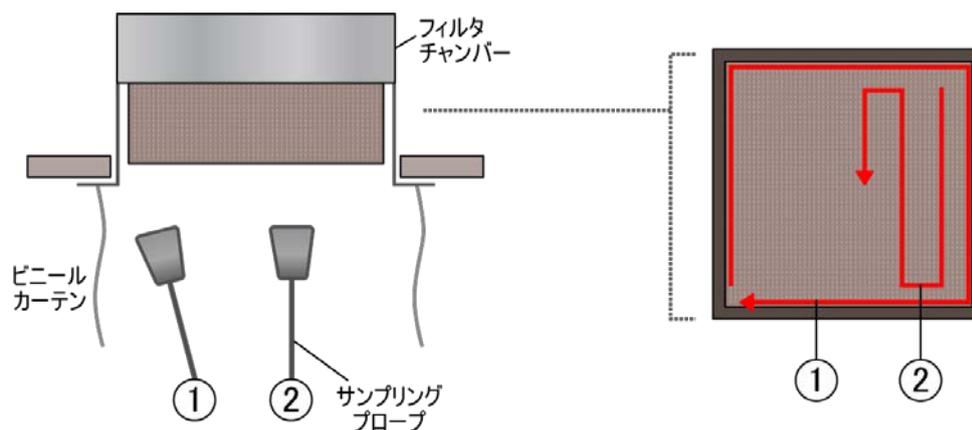


図 C3.3. フィルターリークテスト方法

C3.7. HEPA フィルターの維持管理および教育

細胞培養加工施設においては、HEPA フィルターを適切に使用して無菌環境あるいは室内環境を維持するための手順書を作成するとともに、メーカー等からの資料に基づいて、性能を維持するための点検・保守・清掃等について、必要に応じて予め文章化しておくこと。また施設管理者は、適切に HEPA フィルターを取り扱うための基礎知識や使用方法について、教育を受けることが望ましい。



C4. インキュベーター

C4.1. 総則

C4.1.1. 適用範囲

「再生医療等の安全性の確保等に関する法律」下で運用される製造施設において、清浄度管理区域及び無菌操作等区域に設置する細胞加工物の製造及び品質検査を目的とするインキュベーターに適用する。

C4.1.2. 各運用業務に関するユーザーとメーカーの役割分担

製造所において使用するインキュベーターについての導入から運用に至るすべての運用業務について、ユーザーは主体的に判断・実施しなければならない。

但し、インキュベーターは、温度制御、CO₂ガス制御などの複雑な機構を持つ為、必要に応じてメーカー及びメーカーから認定された業者に、情報提供及び保守などを委託することも必要である。

C4.2. 運用

C4.2.1. 基本的な考え方

本考え方は無菌操作を想定したものである為、清浄度管理区域または無菌操作等区域内においてインキュベーターを使用する際、製造工程への影響、衛生維持及び作業員保護への留意点について注意喚起するものである。また、インキュベーターは、メーカーによって、空気の循環量、温度制御、湿度維持、ガス濃度制御などに差が見られる。インキュベーター庫内に保管する培養容器、トレー、気密コンテナなどの数によっては、ガス濃度の復帰に時間を要したり、温度の著しい不均一を生じるリスクがあることに留意すること。個々のインキュベーターの特性に合わせた運用方法を検証することが望ましい。

1) インキュベーター庫内環境の検証

インキュベーターは、細胞加工物の増殖や品質に大きな影響を与える機器である。想定される特定細胞加工物の製造に応じてインキュベーターの性能を検証すること。必要に応じて、培養容器、トレー、コンテナなどを設置して、温度、湿度、ガス濃度などの均一性を検証すること。なお、インキュベーター庫内の環境が、細胞加工物の増殖や品質に与える影響が不明な場合は、実際の細胞加工物を用いて増殖や品質に影響のないインキュベーターの使用方法を事前に検証すること。

2) 1ロットで1台のインキュベーターを専有する場合(図 C4.1)

- ① インキュベーターの外装に特定細胞加工物名、番号などの識別可能な表示をすること。
- ② 可能であればインキュベーターの鍵管理によって物理的に取り違いを防ぐこと。
- ③ 検体を切り替える際は、衛生環境を清浄にすることを目的とし、清掃、除染、庫内部材の滅菌などの実施が推奨される。
- ④ 定期清掃で定めた期限よりも使用期間が長い場合には、必要に応じて培養容器などを別のインキュベーターへ移し、定期清掃を実施すること。なお、リスクを次のインキュベーターへ引き継がないことを目的とし、培養容器を清拭するなど適切な措置を講ずること。

3) 複数ロットで1台のインキュベーターを共有する場合

- ① 複数ロットで1台のインキュベーターを共有する場合には、交叉汚染のリスク及び微生物汚染の拡散防止を考慮し、培養容器は気密または密封容器であること。
- ② 庫内をロット毎に明確に区分し、製造の際に他のロットの培養容器に触れないようにすること。
- ③ それぞれの区分がいずれの特定細胞加工物であるかわかるように特定細胞加工物名など識別可能な表示をすること。なお、バーコード管理などの取り違い防止策は別途講じること。
- ④ 定期清掃で定めた期限よりも使用期間が長い場合には、必要に応じて培養容器などを別のインキュベーターへ移し、定期清掃を実施すること。なお、リスクを次のインキュベーターへ引き継がないことを目的とし、培養容器を清拭するなど適切な措置を講じること。

4) ガス透過膜を使用した培養容器

培養容器の表面は、インキュベーター庫内の清掃、消毒、除染などに使用する消毒剤に耐えるものでなければならない。消毒剤が影響する可能性が排除出来ない場合には、事前に特定細胞加工物の品質へ影響が無いことを検証すること。培養バッグなどのガス透過膜を使用した培養容器は、天板との接触面積によりガス交換に影響を及ぼすリスクが考えられる。特定細胞加工物の品質に影響のないインキュベーター庫内の配置方法を事前に検証することが望ましい。

5) フィルター付きの気密コンテナの活用

ガスフィルター付きの気密コンテナに培養容器を入れた状態で、インキュベーター内で保管を行う場合には、気密コンテナが特定細胞加工物の品質に影響を与えないことを検証することが望ましい。また、消毒剤が気密コンテナに付属するフィルターなどに影響を与えないことを検証すること。並びに、使用条件において、気密コンテナ内の衛生が保たれていることを検証または確認すること。なお、複数ロットやドナーの異なる細胞を同一の気密コンテナへ保管しないこと。

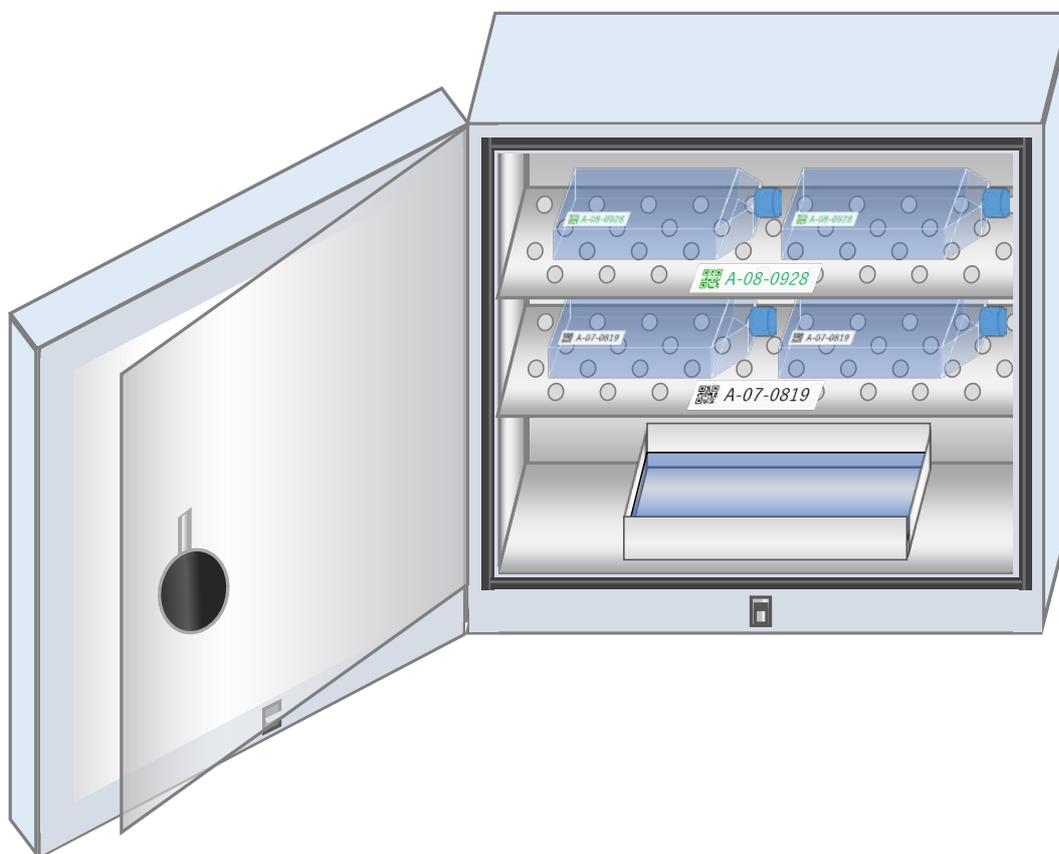


図 C4.1. 複数ロットの検体で1台のインキュベーターを共有する例

6) 微生物汚染が確認された時の対応

細胞培養加工施設は、特定細胞加工物の品質に影響を及ぼすリスクに対して、構造設備、工程、原料等、工程資材などを考慮し、対処の手順や管理基準を事前に取り決めておかなければならない。微生物汚染は、想定されうるリスクであり、製造施設のリスク管理の程度に即した対応をすべきである。リスクの程度については、品質への影響、安全性への影響、汚染の拡散性の有無などを考慮し、適切な評価項目を設定すること。また、必要に応じて、再生医療等提供機関の医師または歯科医師と対処を事前に取り決めておくこと。なお、汚染された細胞加工物の処理に際し、微生物汚染の原因究明の為に汚染源を調査することは必要であるが、施設の汚染防止に加え、作業保護を徹底しなければならない。

① 気密容器または密封容器への微生物汚染

同一のインキュベーターで保管される培養容器が、気密容器、密封容器の場合、管理基準を超えたと判断される容器は手順に従って廃棄処理すること。微生物汚染があった培養容器以外の製造を継続するかを判断する場合には、定められた手順に基づいて必要な検査などを行い、安全性や品質に問題が無いことを確認した上で、リスク評価に基づき決定すること。必要に応じ、再生医

療等提供機関の医師または歯科医師の指示を受けること。

② 密閉容器への微生物汚染

同一のインキュベーターで保管される培養容器が密閉容器の場合、汚染の拡散の程度が正確に評価出来ない為、定められた手順に基づいてすべて廃棄処理することが望ましい。

C4.3. インキュベーターの搬入・設置・移設

C4.3.1. 搬入前準備

インキュベーターは、基本的にメーカーによる搬入・設置が想定される。ユーザーは、設置に必要な準備として、設置される環境、位置及び経路などに関する情報をメーカーへ提供し、衛生管理の方法、搬入・設置手順について事前に確認することが望ましい。ユーザーが、自主的に搬入する場合においても、事前に設置環境などの情報をメーカーへ提供し、搬入・設置手順などについて確認することが望ましい。

清浄度管理区域または無菌操作等区域内に引くインキュベーター用のガスサプライは、微粒子や微生物除去の目的で、ガスフィルターを通して使用すること。

1) ユーザーが搬入する場合においてメーカーから入手することが望ましい情報

- ① 納品時の状態
- ② 開梱の際の注意点
- ③ 機器重量、寸法、設置条件（壁面から離す距離など）
- ④ 推奨消毒剤
- ⑤ 清掃、消毒、除染時の注意点
- ⑥ ガス圧、ガス流量、配管径、電力、アースなどの施設設備に要求される事項
- ⑦ 組み立てや調整の為に持ち込む工具・資材類

2) メーカーが搬入する場合において、ユーザーがメーカーに提供することが望ましい情報

- ① インキュベーターの要求仕様
- ② 設置場所と設置条件（環境の清浄度・温度・湿度、設置スペース、床や床材の強度、設置場所の水平度、振動の有無など）
- ③ ガス圧、ガス流量、配管径、電力、アース、配管・配線などの機器の要求事項に対する施設設備の状況
- ④ 搬入経路（屋外から設置場所までの経路、通路や入口の広さ、開梱や清掃場所などを含む）
- ⑤ 梱包納入物の開梱・搬入作業に関する注意事項
- ⑥ 清掃手順（所定消毒剤、清拭用資材、清拭手順などに関する情報を含む）
- ⑦ 除染手順（必要に応じて）
- ⑧ 製造施設への入退室手順（入室に必要な教育訓練、血液検査などを含む）
- ⑨ 更衣仕様



搬入・設置時の清掃箇所と清拭方法に関しては、必要に応じてユーザーが求める清浄度の要件などをメーカーへ提供し、得られた情報に基づき設定すること。

もし、予定された設置場所にインキュベーターの運用に支障をきたす要因がある場合は、メーカーと協議の上、設置場所や設置方法の変更を検討すること。

C4.3.2. 搬入

搬入前準備段階で設定した手順に従い、搬入を行うこと。搬入前のインキュベーター本体及び構成部品の取扱いは、原則メーカーが行うことが望ましい。インキュベーター本体及び構成部品の清掃方法や搬入方法については、メーカーからの助言をもとに、ユーザーの責任において指示すること。

1) 組み立て・設置作業

メーカーは、搬入時に清拭した構成品の汚染を可能な限り防ぎながらインキュベーターの組み立てを行うこと。なお、ユーザーは、設置スペースを決める際には、インキュベーターへのアクセスだけでなく、気流の向き、インキュベーター及び周囲の設置環境の清掃が可能であることにも留意すること。

2) 適格性確認

組み立て・設置を完了した後、必要に応じて据付時適格性確認及び運転時適格性確認を行い、文書化すること。

C4.3.3. インキュベーターの搬出

インキュベーターを製造所内から搬出する場合は、現設置場所と移設先の清浄度環境の差異を考慮し、適切に洗浄及び消毒する必要がある。ユーザーは、移送時においても、メーカーと協議し、被覆漏れや破れなどによってインキュベーターを汚染しないように適切な梱包を行わなければならない。移設後には、必要に応じて、据付時適格性確認及び運転時適格性確認を実施することが望ましい。

C4.4. インキュベーターの点検・保守

C4.4.1. 日常点検・保守

インキュベーターの日常点検は、構成部品の劣化や消耗により、製造作業に支障をきたすリスクのある項目に対して日々確認するものである。作業者は、インキュベーターを使用する前に予め設定した点検項目について確認することが望ましい。異状が見られた場合には使用を中止し、メーカーに確認するほか、必要に応じて適切に部品の交換、修理を行うこと。

C4.4.2. 定期点検・保守

日常使用時に点検できない箇所、あるいは長期使用することにより徐々に劣化する部品などについて



は、一定期間ごとに日常使用時の不具合や消耗品の交換時期の情報を参考として、詳細に点検、調整、部品交換を実施することが望ましい。また、不用意に分解、部品交換を行うことにより大きく性能を損なう可能性があることに留意し、メーカーへ依頼する範囲を予め確認しておくことが望ましい。なお、インキュベーターの本体のみならず、ガスクューブやガスフィルターも期限を設定し、適切に交換することが望ましい。

C4.5. インキュベーターの清掃

C4.5.1. 基本的な考え方

製造施設の清浄度管理区域及び無菌操作等区域のような清浄度の高い環境であっても、インキュベーターは構造が複雑であり、かつ長期間設置・使用される為、塵埃や微生物などが蓄積する箇所が存在する。また、インキュベーター庫内は、微生物が繁殖しやすい環境であり、機器の各部位に蓄積した塵埃や微生物などを放置することは清浄度管理基準から逸脱させるリスクとなる。ユーザーは、適切にインキュベーターの清掃を行う為に、メーカーから清掃に対する注意点などの情報を入手しておくことが重要である。

また、製造工程では、インキュベーターから細胞の入った容器を繰り返し出し入れする操作が想定される。その際、培養容器や作業者の手が触れる場所については、微生物汚染の拡散や交叉汚染のリスクがあることに留意し、清掃の範囲、手順、タイミングを定めなければならない。インキュベーターの運用において、日常清掃や定期清掃によってリスクが許容範囲を上回らないように適切にコントロールすることが望ましい。この為には、品質リスクマネジメントによりリスクの許容範囲及びリスク低減策を予め設定しておくこと。なお、清掃で使用する薬剤や資材などが環境や設備の劣化、腐食または塵埃等の原因とならないよう、その選択に注意すること。

C4.5.2. 清掃の実施区分

インキュベーターの清掃は、基本的に作業者が実施する。但し、インキュベーターが複雑な構造の機器であることから、清掃することにより性能を損なう可能性がある箇所については、必要に応じてメーカーに清掃を依頼すること。なお、メーカーに依頼する箇所及び手順は、予め明確にしておかなければならない。清掃の実施時期、頻度については、初期搬入時、日常使用時、定期などに分類される。

C4.5.3. 初期搬入時の清掃方法

インキュベーターは、パッケージ単位で製造施設へ納品され、最終的に使用場所で組み立てられる。清浄度管理区域または無菌操作等区域に搬入する際は、清浄度環境を悪化させないために搬入前準備段階で取り決めた清掃手順に従い、パッケージ単位で清拭したのち搬入し、使用場所にて組み立て、配管、配線を行う。

なお、梱包資材が汚染の原因とならないよう清浄度環境に応じて取り除くこと。

インキュベーターの搬入を行う際には、少なくとも以下の箇所を清潔に保つことが望ましい。

- ① 本体外装，脚部
- ② 外扉，内扉，庫内
- ③ 庫内部材（天板，加湿トレー，棚受け，背面ダクト，ファンカバー，ファンなど）
- ④ 電源コード，ガスチューブ
- ⑤ 付属品，固定金具，電源カバーなど
- ⑥ インキュベーター設置用の台，脚部（必要に応じて）

C4.5.4. 日常清掃

日常清掃は、インキュベーターを使用する際に、作業者が接触した箇所及び培養容器などが接触した箇所を清潔に維持するための清掃と、インキュベーターの性能を維持する為に行う清掃がある。日常清掃において、インキュベーターの開閉のタイミングや頻度などについては、インキュベーター以外の清掃によってインキュベーター庫内を汚染してしまわないように、各製造施設の清掃手順、使用方法、清浄度環境、培養容器などを考慮したリスク管理により決定することが重要である。なお、清掃を行う際に以下の点に注意することが望ましい。

- 1) 日常清掃手順で定められた操作や残留する消毒剤が特定細胞加工物へ影響を与えないことを検証すること。
- 2) インキュベーターの外扉，内扉，天板などの手や着衣が触れる箇所は，少なくとも日常清掃の対象とし，消毒剤で清拭すること。
- 3) 一つのインキュベーター内に複数のロットやドナー由来の細胞加工物を保管する場合は，交叉汚染のリスクを考慮し，作業中のロットの培養容器以外には触れないこと。

C4.5.5. 定期清掃

定期清掃は、蓄積した塵埃や除去しきれていない微生物などによる、培養容器や環境清浄度汚染を防止する目的として、日常清掃以外の箇所で、長期的な使用により塵埃がたまりやすい箇所や汚染源の拡散につながる箇所を対象とする。実施頻度は、インキュベーターが設置されている環境の清浄度や使用条件を考慮したリスク管理により決定することが重要である。定期清掃の頻度を予め設定し、その期間内の衛生状況が許容範囲内であることを、検証または確認すること。なお、定期清掃の頻度は、インキュベーターの使用方法、使用頻度など衛生環境に影響を与えると考えられる変更があった際には、再度検証または確認することが推奨される。清掃を行う際に以下の点に注意することが望ましい。

- 1) 定期清掃手順や残留する消毒剤などが特定細胞加工物へ影響を与えないことを検証すること。
- 2) 加湿用の水は，新しい滅菌水に交換すること。
- 3) 庫内の取り外し可能な部材は，洗浄および滅菌による衛生管理が推奨される。
- 4) 定期清掃時のインキュベーターには，培養容器などを保管しないこと。



- 5) インキュベーター外装，電源コード，ガスチューブの清拭を行う際には，誤って電源やガスチューブを抜いてしまわないように配慮すること。
- 6) ガスチューブの劣化やリークが無いことを確認すること。

C4.5.6. 除染

インキュベーターに搭載された過酸化水素除染機能や，過酢酸及び小型の除染装置を用いた庫内の除染は，庫内環境中の微生物数を減少する目的で実施される。但し，上述の除染は汚染物の除去を目的とするものではない為，製造施設が取り決めた手順に基づいて，清掃，清拭などと組み合わせて行うこと。除染時に，作業者が誤ってドアを開けてしまうと，高濃度の除染剤に作業者が暴露されるリスクがある。可能であれば，インキュベーターもしくはインキュベーターを設置している部屋を施錠し，物理的に開放出来ないように管理すること。過酸化水素除染機能が搭載されていないインキュベーターに，別途除染装置を用いる場合には，そもそも除染に対応出来ないリスクを考慮し，庫内，部材，電子部品などに腐食を生じないか事前に確認すると共に，除染剤の漏れが無いか庫外のモニタリングを実施すること。また，使用条件において正しく緊急停止が作動することを事前に検証すること。除染時には，除染中のインキュベーターに少なくとも以下を表示することが望ましい。

- ① 開放厳禁である旨
- ② 除染中である旨
- ③ 除染開始日時と終了日時
- ④ 担当者（管理部署），緊急連絡先

なお，除染後には，残留する除染剤が培養液などへ濃縮し，細胞の増殖や品質，品質検査などへ影響を及ぼすリスクが考えられる。製造施設の手順で定められた除染方法が，細胞加工物の増殖や品質に影響を及ぼさないことを事前に検証することが推奨される。

C4.6. 維持管理の為の文書化と教育

C4.6.1. 文書化

細胞培養加工施設においては，インキュベーターを適切に使用する為の手順書を作成すると共に，本考案方やメーカーからの資料に基づいて，機器として性能を維持する為の点検・保守・清掃などについて，必要に応じて予め文章化しておくこと。また，インキュベーターの性能を恒常的に確保する為には，ユーザーがこの文書管理の記載内容を遵守した運用を行い，必要に応じて管理方法を見直すことも重要である。

C4.6.2. 教育

製造施設において，インキュベーターの導入から点検・保守・清掃，並びに，鍵管理・表示などを実施させる管理に携わる者や，実際にインキュベーターを使用する作業者は，必要に応じて，適切にインキュ



ベーターを取り扱う為の基礎知識, 使用方法, 運用上のリスクについて, 手順書を含めた管理文書や実際のインキュベーターを用いた教育を受けること.



C5. 遠心分離機

遠心分離機は遠心力を利用して固体（細胞，死細胞片など）と液体（細胞培養液や洗浄液）を分離させる装置である。本機器は細胞懸濁液の交換，細胞の洗浄や濃縮，培養上清中の不純物除去などの操作を行う時に用いられる。無菌操作等区域及び清浄度管理区域内で用いる際には，遠心分離機の作動時に発生する気流の乱れを考慮した設置・運用が求められる。従って，設置時には，作動時に各清浄度レベルが維持されるように配慮する必要がある。また，作動時に考慮すべき点は，汚染の原因となる水滴，異物等を遠心チューブに極力付着させないことである。そのため，具体的な操作として以下の点に注意を払うことが重要である。

- 1) 遠心操作前にローターラックの遠心チューブ装着穴内に水滴，異物がないか確認すること。
- 2) 遠心チューブをローターラックに入れる前に遠心チューブの蓋が完全に閉まっているかを確認すること。遠心チューブ外部に水滴（特に培養液）などが付着している場合は，液成分が残らないよう完全にふき取ること。なお，使用する遠心チューブ内に加える最大液量は70%程度までに抑えることが望ましい。
- 3) 室温以下で使用した場合は，遠心室内の結露防止のため，操作終了後に電源を切り，遠心室ドアを解放しておくことが望ましい。

C6. アスピレーター

C6.1. 適用範囲

「再生医療等の安全性の確保等に関する法律」下で運用される加工施設において、清浄度管理区域内及び無菌操作等区域に設置する細胞加工物の製造及び品質検査を目的とするアスピレーターに適用する。

C6.2. 運用

C6.2.1. アスピレーターを構成する工程資材、機器の取扱いにおいて留意すべき事項

アスピレーターは、再生医療において、ステリカップを用いた試薬などの吸引濾過や、培養液などの吸引除去を目的として使用される。本考え方は無菌操作を想定したものである為、清浄度管理区域及び無菌操作等区域において細胞培養用のアスピレーターを使用する際の製造工程への影響、衛生維持及び作業保護への留意点について注意喚起するものである。各器具における以下の注意点を考慮することが望ましい(図 C6.1)。

1) アスピレーティングピペット

- ① 原材料に直接触れる場合には、洗浄及び滅菌されたものを使用すること。
- ② 吸引チューブからアスピレーティングピペットを取り外す際は、飛沫が生じるリスクを考慮し、試薬や培養容器の蓋は閉じておくこと。

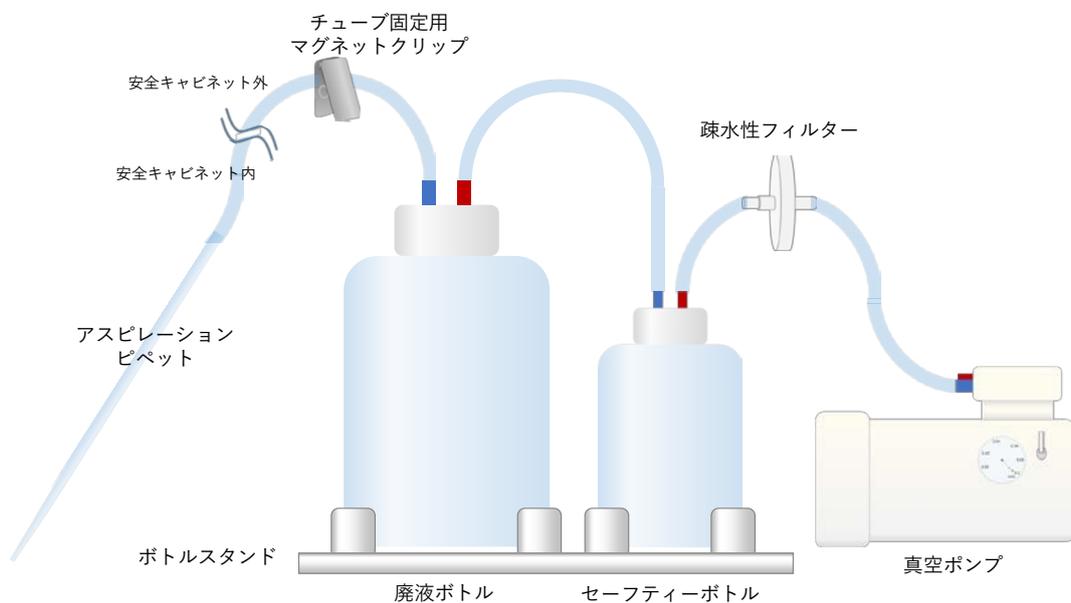
2) ステリカップ

- ① ステリカップを扱う際に、フィルターの目詰まりなどによって起こる真空状態のまま、真空ポンプを停止させると、無菌性が担保されないポンプ側の空気または廃液などが逆流するリスクが考えられる。吸引ろ過滅菌を行う際には、滅菌された吸引チューブ及び廃液ボトルを使用すること。
- ② 必要に応じてプレフィルターを用いるなど、吸引ろ過の原理を正しく理解した手順を取り決めること。

3) 吸引チューブ

- ① 吸引チューブを安全キャビネットの外から引く場合には、操作によって吸引チューブが出入りし、外の汚染物が安全キャビネット内へ持ち込まれないように、吸引チューブを固定するなど適切な運用を実施すること。
- ② フットスイッチ式のアスピレーターは、真空ポンプの運転を停止した際に、吸引チューブ内に留まった液の逆流に留意し、逆流を防ぐような工程設計や操作を構築・実施すること。
- ③ 吸引チューブは適切に洗浄、滅菌されたものを使用すること。

A



B

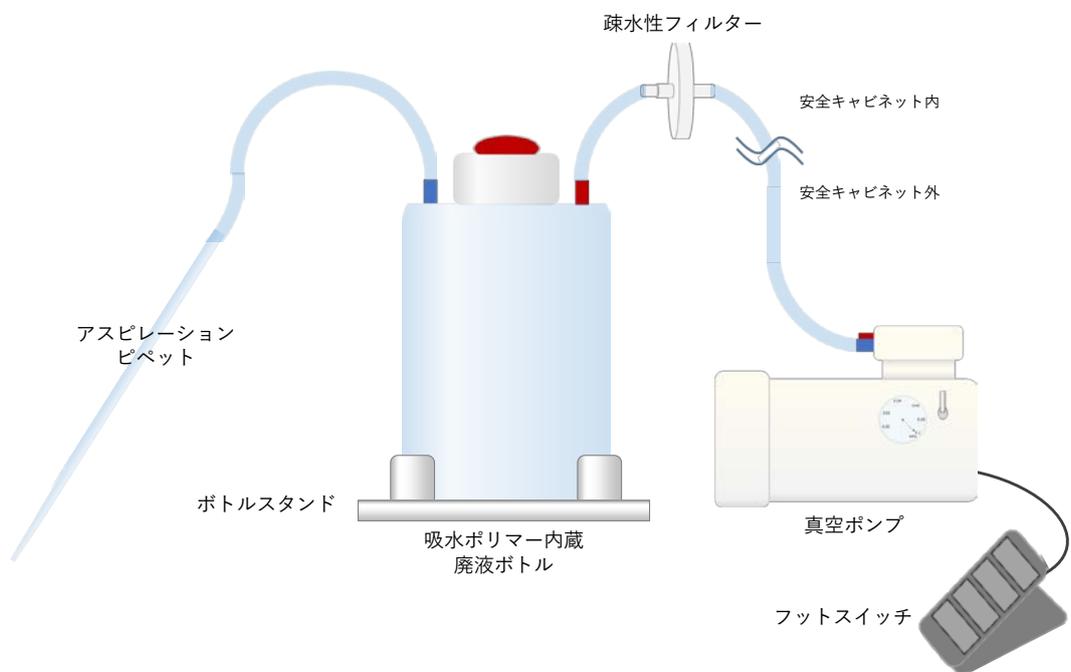


図 C6.1. アスピレーターの配置例. (A)ハードでオーバーフローを対策したアスピレーターの例, (B)吸水性ポリマー内蔵のディスポーザブル廃液ボトルを使用したアスピレーターの例

4) 廃液ボトル

- ① 廃液ボトルは、接続ミス、転倒やオーバーフローによって、感染性廃液の飛散事故につながるリスクがある。液量管理や事故防止策を徹底すること。
- ② チューブコネクターは、吸引チューブの接続向きを間違えないように、向きを表示、もしくは、色別するなど適切な運用を実施すること。
- ③ 転倒防止策として、廃液ボトル用のスタンドへ立てること。
- ④ オーバーフロー防止策として、廃液ボトルとポンプの間にセーフティーボトルの設置が推奨される。
- ⑤ オーバーフロー防止用の接液式の液面センサーは、感染性廃液に使用する場合、廃液ボトルの開封操作を伴う為、衛生や作業員保護の観点から使用に適さない。
- ⑥ 廃液ボトルを運搬する際は、転倒や落下のリスクを考慮し、廃液が飛散、流出しないように固形化するか、収納しやすく損傷しにくい構造の気密容器に入れて、安全上の支障を生じないように必要な措置を講ずること。廃棄物処理法に基づく感染性廃棄物処理マニュアルなどを参照すること。

5) 疎水性フィルター

- ① 廃液ボトルの上限に満たなくとも、飛沫が真空ポンプ側へ吸引され、汚染源の拡散につながるリスクを考慮し、廃液ボトルと真空ポンプの間には疎水性フィルターを取り付けること。
- ② 疎水性フィルターを使用する際は、セーフティーボトルと真空ポンプの間に取り付けること。
- ③ 疎水性フィルターは、0.1 μ m以上の微粒子をトラップ出来るものが望ましい。

6) 真空ポンプ

- ① 真空ポンプから発生する排気や廃熱が特定細胞加工物の品質へ与える影響について必要に応じて検証または確認すること。
- ② 真空ポンプは、駆動部の摩耗やスラッジなどにより、汚染リスクが増大することが考えられる為、必要に応じてメーカーにメンテナンスを依頼すること。
- ③ 清浄度管理区域及び無菌操作等区域内では、ウェットポンプはオイルミストの発生が考えられ、汚染の原因となる為、ドライポンプを使用すること。

C6.3. アスピレーターへの搬入・設置・移設

1) ユーザーは、真空ポンプの搬入・設置においては、メーカーに以下の項目を事前に確認すること。

- ① 納品時の状態
- ② 推奨消毒剤
- ③ 清掃箇所
- ④ 真空ポンプの電力
- ⑤ 真空ポンプの連続稼働の限界時間

- ⑥ 基本的な据付時適格性確認に関する資料（必要に応じて）
- ⑦ 基本的な運転時適格性に関する資料（必要に応じて）
- 2) アスピレーターを構成する工程資材，機器の搬入時には，洗浄，消毒，滅菌などを清浄度に応じて実施すること。
- 3) 無菌操作等区域に搬入する工程資材については，適切な方法によって洗浄，滅菌されたものを使用すること。
- 4) 真空ポンプは，予め定められた手順で搬入し，作動時に特定細胞加工物の品質へ影響を及ぼさないように気流を大きく乱さない位置に設置すること。

C6.4. アスピレーターの点検・保守

C6.4.1. 日常点検・保守

アスピレーターの日常点検は，構成部品の劣化や消耗により，作業に支障をきたすリスク，作業員保護に対するリスクのある項目に対して日々確認するものである。作業員は，アスピレーターを使用する前に予め設定した点検項目について，各部の接続，機能などを確認することが望ましい。調整が困難で使用に支障がある場合には，使用を中止し適切に部品の交換，修理を行うこと。点検項目には以下の項目が含まれることが望ましい。

- ① アスピレーターを構成する工程資材の表示，向き，色別などに間違いが無いことを確認すること。
- ② 流路の接続に間違いが無いことを確認すること。
- ③ 滅菌水などを吸引し，液漏れが無いことを確認すること。
- ④ 真空ポンプの表示圧が規定の範囲内であることを確認し，吸引性能の低下が無いことを確認すること。
- ⑤ アスピレーターを構成する工程資材，機材から異音がないことを確認すること。

C6.4.2. 定期点検・保守

日常使用時に点検できない箇所，あるいは長期使用することにより徐々に劣化する部品などについては，日常使用時の不具合や消耗品の交換時期の情報を参考として，一定期間ごとに点検，調整，部品交換を実施することが望ましい。吸引ポンプにおいては，不用意に分解，部品交換を行うことにより大きく性能を損なう可能性があることに留意し，メーカーへ依頼する範囲を予め取り決めておくことが望ましい。

- ① 環境モニタリングのデータから，真空ポンプの排気や廃熱が清浄度や特定細胞加工物の品質へ影響を与えないことを確認すること。
- ② 真空ポンプの総稼働時間を確認すること。必要に応じて消耗品の交換をメーカーに依頼すること。

C6.5. アスピレーターの清掃・チェンジオーバー

C6.5.1. 日常清掃



日常清掃は、環境清浄度の汚染を防止する目的として、必要に応じて予め定められた手順で実施することが望ましい。

C6.5.2. 定期清掃

定期清掃は、環境清浄度の汚染を防止する目的として、日常清掃で対応出来ない箇所を対象とする。特に、真空ポンプは、駆動系を内蔵する為、汚染物の拡散につながるリスクがあることに留意し、メーカーによる分解清掃を必要に応じて実施すること。

C6.5.3. チェンジオーバー

チェンジオーバー時には、流路に留まった液の逆流による交叉汚染のリスクに留意し、細胞加工物に直接的に触れるアスピレーティングピペットは、取り換えることが望ましい。必要に応じて、間接的に触れる器具も取り替えること。

また、感染性廃液やその他危険な廃液を扱う場合において、安全キャビネット外で行う吸引チューブの取り外しなどは、衛生面や作業員保護の観点から推奨されない。もし、取り外しなどを行う場合には、作業員保護や飛沫の拡散防止に努めること。

C6.6. 維持管理の為の文書化と教育

C6.6.1. 文書化

製造施設においては、アスピレーターを適切に使用する為の操作手順書を作成すると共に、本ガイドラインやメーカーからの資料に基づいて、機器として性能を維持する為の点検・保守・清掃などについて、必要に応じて予め文章化しておかなければならない。また、アスピレーターの性能を恒常的に確保する為には、ユーザーがこの文書の記載内容を遵守した運用を行い、必要に応じて管理方法を見直すことも重要である。

C6.6.2. 教育

製造施設において、アスピレーターの導入から点検・保守・清掃、並びに、識別・表示などを実施させる管理に携わる者や、実際にアスピレーターを使用する作業員は、必要に応じて適切にアスピレーターを取り扱う為の基礎知識、使用方法、運用上のリスクについて、手順書を含めた管理文書や実際のアスピレーターを用いた教育を受けること。



C7. 工程資材

C7.1. はじめに

特定細胞加工物の加工時に使用される工程資材は、培養環境に直接接する器材であり、特定細胞加工物の品質に重要な役割を果たす。特定細胞加工物の製造において使用される工程資材は、理化学試験用の汎用品が採用されている。先に発出されている経済産業省のガイドライン「細胞加工に特化した工程資材の要求事項に関するガイドライン 2017」では、特に再生医療等製品の製造にあたり、工程資材のサプライヤーに適用することを主な目的としている。本稿では、工程資材の中でも、シングルユースを対象とし、特に、ユーザー側に適用することを主な目的とすることで、細胞培養加工施設における工程資材の管理の一助となることを望む。

C7.2. 一般要件

特定細胞加工物の品質を確保するためには、細胞などの原料等のみならず、原料等に接触する工程資材の管理、無菌操作環境の構築、作業員への教育など、一連の製造工程を通じた管理が必要となる。また、特定細胞加工物の製造においては、再生医療等の安全性の確保等に関する法律およびそれに準じた省令等を遵守することが前提となる。そのため、特定細胞加工物の製造において工程資材を使用する際には、特定細胞加工物の品質の確保に十分な工程資材を選定し、その調達管理に対するリスクとその対応策を明確にすることが一般要件となる。なお、工程資材の管理の基本的な考え方については、本文 10.4 項を参照すること。

C7.3. 選定

C7.3.1. 基本的な考え方

工程資材の選定にあたっては、特定細胞加工物の品質に対するリスクアセスメントを実施して決定すること。リスクアセスメントの詳細については、ICHQ9 が参考になる。リスクアセスメントで用いられる手法としては、定性的なリスクマトリックス等を用いる手法や、判定量的なリスクスコアを用いる手法があげられる。工程資材を用いることによって、特定細胞加工物の品質へ影響を受ける事象としては、特定細胞加工物の品質規格を設定された範囲内に収めることへの障害が一例として挙げられる。例えば、工程資材中の不純物の残存や、工程資材からの培地等への溶出物、工程資材由来不溶性微粒子の残存による特定細胞加工物内への混入、培地等からの吸着による濃度変化などによる特定細胞加工物の分化能や遺伝子等の変化が生じる可能性が想定される。

また、工程資材の選定にあたっては、安定した供給が重要である。従って、予め代替品の有無や、工程資材メーカーが継続的に供給可能化も考慮して、工程資材の選択を行うことが望ましい。

この時、理化学試験用の汎用品などの工程資材を採用する際には、本来の用途に適していない場合や、使用条件および方法が適切でない場合に、特定細胞加工物の品質や提供に影響が生じる可能性がある。

従って、特定細胞加工物製造事業者は、製造工程における工程資材の使用方法を工程資材のサプライヤーに開示して意見交換を行うことで、工程資材の選択と使用方法が適切であることを確認することが望ましい。

C7.3.2. 不純物に対する考え方

工程資材を用いることによって影響を受ける品質上の事象として、不純物が特定細胞加工物に混入することが挙げられる。不純物には、不溶性微粒子や不溶性異物等、工程資材に付着したものに加えて、溶出物等の工程資材の材質から起因するものまで存在する。

i) 不溶性微粒子

不溶性微粒子は、工程資材の製造工程で用いられる原材料、機器、製造環境に由来することから、多様なものが存在すると考えられる。従って、工程資材の材質や、製造環境、管理方法等を参考に、必要に応じて、日局の不溶性微粒子試験を行うことが考えられる。

ii) 不溶性異物

不溶性異物は、不溶性微粒子と同様に、工程資材の製造工程で用いられる原材料、機器、製造環境に由来する。例えば、人毛や皮膚片、紙片などが挙げられる。従って、環境等に依存して目視可能な異物の範囲を留意した上で、必要に応じて、日局の不溶性異物検査法を行うことが考えられる。

iii) エンドトキシン、微生物等

エンドトキシンや微生物等も、不溶性異物と同様に製造環境に由来する。これらは特定細胞加工物の移植時において、患者の健康に影響を与えると考えられるため、必要に応じて、各試験を行うことが考えられる。

iv) 溶出物（抽出物）

溶出物は、実際の使用条件下で、工程資材から溶出される化学物質を指し、抽出物は、過酷条件下で工程資材から溶出される化学物質を指す。これらの化学物質プロファイルについては、必要に応じて、実液を用いて想定される製造工程でのワーストケースでの溶出物試験を行い、明らかにする。得られた各化学物質に対して、リスクアセスメントを行い、管理の必要がある場合には、管理範囲を設定する。

C7.3.2. 包装

製造工程での使用を考慮して包装およびその無菌化を行うこと。必要に応じて、工程資材メーカーと協議し、包装形態を予め選定する。特に、工程資材が直接接触する包装はグレード A で開封することから、内部は滅菌、外部は消毒・除染可能なものを選定すること。

また、細胞培養加工施設内で、清浄度をまたいで工程資材を持ち込む際には、各段階で包装を取ることによって清浄度の低い環境からの持ち込みを低減させるため、多重包装を採用することが望ましい。



C7.4. 受け入れ、保管

受け入れ時の検査は、工程資材が特定細胞加工物の品質に影響しないようにするために重要である。工程資材が、特定細胞加工物の品質へ与える影響を考慮して、工程資材の受け入れ検査の方法とその判断基準を予め設定し、文書化しておくこと。確認すべき項目の一例としては、取り違い（ラベルの確認等）、不良品（外観、内容確認等）が挙げられる。

工程資材の保管時には、取り違いを起こさないように予め保管箇所を設定しておき、ロット毎に追跡出来るように保管しておくこと。また、段ボール等の消毒・除染が難しい包装については、清浄度管理区域内へ持ち込まないこと。



C8. 顕微鏡の管理

C8.1. はじめに

特定細胞加工物の加工時において、顕微鏡は品質管理や製造管理の場面で広く用いられている、顕微鏡は、観察対象および目的に応じて、様々な観察方法の選択肢が存在する上に、その性能を恒常的に維持するためには、日常の管理が重要となる。先に発出されている経済産業省のガイドライン「再生医療等製品の製造所における顕微鏡の設置と維持管理に関するガイドライン2017」は、再生医療等製品の製造所に適用することを目的としているが、顕微鏡の運用方法を構築するにあたり、上記ガイドラインを参照することは有用であると考えられる。

C8.2. 一般要件

細胞培養加工施設内において使用される顕微鏡に対して、適切な選定、恒常的な観察性能の維持のための基本的な運用の考え方を示す。また、複雑な構造を持つ顕微鏡は粉塵や微粒子が蓄積されうる機器であるため、清浄に管理されている細胞培養加工施設内の設置環境を汚染しないように、適切に点検、保守、清掃することも合わせて考慮する必要がある。

C8.3. 顕微鏡の選定および設置

細胞培養加工施設内へ顕微鏡を設置する際には、観察対象に対する目的を明確にし、適切に観察可能な顕微鏡を選定および設置すること。

顕微鏡を細胞培養加工施設内に搬入する際には、製造環境を悪化させないように予め手順を設定すること。設置後は所定の機能が動作することを確認し、予め設定した手順に従い、清掃・消毒、必要に応じて除染を行うこと。

また、顕微鏡を製造所内あるいは製造所間で移設する際には、現設置場所と移設先の清浄度環境の差異を考慮し、適切に清掃あるいは除染し、移設後には新規設置の際と同様の手順を実施すること。

C8.4. 点検、保守、清掃

顕微鏡を含む機器は、一般的に長期間使用することによる劣化や消耗により、機器本来の瀬能を発揮することが出来なくなる。そのため、定期的な点検及び保守、清掃が重要となる。顕微鏡の点検、保守、清掃にあたっては、予めその手順および頻度を設定し、文書化すること。

作業者は、手順書に従って、点検を実施すること。保守基準を満たさない場合には、再度調整を行った後に使用し、困難な場合には使用を中止し、適切に部品の交換・修理等を行うこと。



第1版（2018年3月31日 公開）協力者一覧

一般社団法人 日本再生医療学会

理事長：

澤 芳樹（大阪大学大学院医学系研究科）

細胞培養加工施設並びに運用に関する考え方 WG

座長：

紀ノ岡正博（大阪大学大学院工学研究科）

構成員（五十音順）：

池松靖人（日立プラントサービス）

伊藤経夫（慶應義塾大学病院）

江副幸子（大阪大学大学院医学系研究科）

大須賀俊裕（ジャパン・ティッシュ・エンジニアリング）

大脇敏之（東京医科大学医学総合研究所）

岡崎利彦（九州大学病院）

小川祐樹（大阪大学医学部附属病院）

北島英樹（大阪大学大学院医学系研究科）

真家未妃（日本エアージェット）

曾根大二郎（竹中工務店）

高野忠夫（東北大学病院）

高見太郎（山口大学大学院医学系研究科）

田中雅教（クオリップス）

千葉俊明（フルステム）

飛田護邦（順天堂大学革新的医療技術開発研究センター）

中村浩章（アース環境サービス）

三浦孝典（大幸薬品）



水谷 学（大阪大学大学院工学研究科）

水野 満（東京医科歯科大学再生医療研究センター）

本考え方は、AMED 事業「再生医療臨床研究促進基盤整備事業」（課題名：再生医療等臨床研究を支援する再生医療ナショナルコンソーシアムの実現）の支援を受けて作成しました。

第 2 版（2020 年 3 月 23 日 公開）協力者

日本再生医療学会 臨床培養士制度委員会

本考え方は、AMED 事業「再生医療臨床研究促進基盤整備事業」（課題名：再生医療等臨床研究を支援する再生医療ナショナルコンソーシアムの実現）の支援を受けて作成しました。

第 3 版（2021 年 3 月 23 日 公開）協力者

日本再生医療学会 臨床培養士制度委員会

本考え方は、AMED 事業「再生医療臨床研究促進基盤整備事業」（課題名：再生医療等臨床研究を支援する再生医療ナショナルコンソーシアムの実現）の支援を受けて作成しました。