

SAMPLE

輸液製剤協議会 試験法

輸液剤等の大容量製剤の無菌性保証に関係
する試験法【改訂第9版】

～*Bacillus oleronius* を用いた滅菌工程のバリデーションを
確立するための基礎試験について～

輸液製剤協議会

最終滅菌法による無菌医薬品改訂 GL

検討ワーキンググループ

SAMPLE

【本試験法は輸液製剤協議会が策定したもので、当協議会の許諾なくして、転載、複写等を行うことを禁じます。】

1. 前提条件

Bacillus oleronius, ATCC#700005（以下、本指標菌）を用いて滅菌工程のバリデーションを実施する場合には、滅菌前製品や製造環境から検出された最耐熱性菌の中に *Bacillus subtilis*” 5230”, ATCC#35021 ほどの耐熱性菌が見付からないことを示すこと。

本指標菌は、本試験法検討時点でバイオロジカルインジケータ（BI）として市販製品が入手できないことから、公的な生物資源バンクから入手して試験を実施することを前提としている。

因みに本指標菌は、注射用水を用いた測定結果から、*D*値は 105℃で凡そ 1 分であることが当協議会の試験で確認されている。

本試験法での注意コメントは、本試験法検討時に得た経験をもとにしている。

2. 本指標菌の培養, 芽胞形成, 芽胞懸濁液の調製

2-1. 本指標菌の入手と復元

2-1-1. 本指標菌並びに入手元

1) 本指標菌：*Bacillus oleronius* ATCC700005^{注1}

2) 形態と入手元：凍結乾燥品, ATCC (Double vial preparations) .

注 1：ATCC の資料によれば本指標菌のバイオセーフティーレベルは 1.

2-1-2. 本指標菌入手後の復元法及び保存法 (ATCC の添付文書参照のこと)

1) 操作は安全キャビネット内等で行うこと。

安全キャビネット内等以下の操作に使用するもの等の扱いは通常の微生物試験法に準拠すること。

2) ATCC から届いたガラス容器の破損等の確認を行い、ガラス容器表面を滅菌済みアルコールで消毒する。

3) 復水液 Nutrient Broth (Difco) と復元培地 Nutrient Agar (Difco) を用意する。

復水液を 5~6mL 入れた試験管を準備する。

4) 外面アンプルの頭頂部をバーナー等で加熱し、加熱部に滅菌水を滴下し、ガラスに割れを生じさせる。ヒビの入った部分をヤスリ等で叩いて粉砕し、外部ガラスと上部の詰め物を取り除く。内側のガラス容器を取り出し、滅菌済みピンセットを使い詰め物の綿栓を取り出す。

5) 直ちに滅菌したパストゥールピペットやピペットを用いて復水液を入れた試験管から復水液約 0.5~1mL を取り出し、綿栓を取り除いたガラス容器内に加える。復水液による灌水が完了したら、数分間置いてよく攪拌して懸濁させた後、各種コンタミに注意しつつ、その液をパストゥールピペットやピペットにて復水液の入った試験管内に移す。再び十分に懸濁させた後復

Bacillus oleronius を用いた滅菌工程のバリデーション確立のために

本試験法入用の方は、
輸液製剤協議会ホームページから「問合せ」フォームに入って頂き、必要
事項ご記入の上、「送信」をクリックしてお申し込み下さるようお願い致し
ます。「問合せ」フォームの URL は以下の通りです。

<https://yueki.heteml.jp/ask/ask.html>