

2024 年 11 月 15 日

経済産業省
安全保障貿易管理課 国際室
荒木室長様
相部課長補佐様
竹之内係長様

(一財)安全保障貿易情報センター
生物・化学兵器製造装置分科会
主査 梶谷 真也
副主査 新本 宙夫

AG Control List(生物兵器製造装置関連) 改定に向けてのご提案
(2025 年 1 月の中間会合に向けて)

ご照会いただいた題記の件、AG Control List(生物兵器製造装置関連)改定に向け、以下の通りの提案を CISTEC 生物・化学兵器製造装置分科会にて検討いたしました。**本提案書の内容は、2023 年 11 月 17 日付けご提案書(2023 貿情セ調(経提)第 6 号)の内容にその後の連絡事項などを盛り込んだ改訂版です。**経済産業省殿にて、ご検討頂きます様お願いいたします。

ポイントは以下の通りです。

1. 滅菌(Sterilization)と殺菌(Disinfection)の定義の共通化

滅菌(Sterilization)と殺菌(Disinfection)の定義が現状の AG Control List ではクロスフローろ過装置(Cross Flow Filtration Equipment)の Technical Note にあるのみなので、滅菌(Sterilization)又は殺菌(Disinfection)の用語が用いられる他の 4 アイテムの Note 又は Technical Note にクロスフローろ過装置の滅菌(Sterilization)と殺菌(Disinfection)の定義**と同様である旨を追記するなど、他の機器を含め、これらの考え方が共通であることの明確化を図っていただきたい。**

1-2. 「滅菌」「殺菌」の具体的検証基準・方法の確認

「滅菌」「殺菌」の解釈が共通である旨を追記し明確化を図るとして、各国はその検証方法・基準はどのように捉えているのか AG に確認していただきたい。米国でいえば、米国疾病予防管理センター (CDC) のガイドラインに準拠しているのか、それとも別のものがあるのか等。

2. “Capable for”の”Designed to be”への統一／”capable for”と”designed to be”の差異と具体的な運用の確認

現行の AG Control List では発酵槽(Fermenter)のみ滅菌又は殺菌について”Designed to be”と書かれ、他の 4 アイテムは”Capable for”と書かれているが、全て”Designed to be”に変更し、「設計意図」での該非判定が出来るように**していただきたい。**

現状、Capable for と Designed to be を書き分けているが、書き分けに意図があるのか確認したく、もし意図があるのであれば、**その見解を明確に示していただきたい。**仮に、**capable for**を維持するのであれば、その該非判定はどのように行うことを想定しているのか各国の運用の実態を確認していただきたい。一般的に Capable でないことの証明は非常に困難。民生用

品において、多数の対象有害微生物を滅菌・殺菌できるかの試験を行うことは物理的に困難。
そうである以上、capable for の規定を受けて該非判定を行うためには具体的な検証方法・基準の想定があることが前提であるはずである。

他の国際レジームの control list で capable の表現の規定はあるが、それらの規定において該非判定を行う際は、仕様書やカタログ値で判定している。AG においても、capable の規定については、「滅菌・殺菌の機能を有するもの＝設計意図」であることを明確にしてい

3. 滅菌、殺菌ができる装置の「構造、材質」の具体的規定による対象品目の明確化

物理的手法で滅菌できる装置、化学的手法で滅菌、殺菌できる装置の「構造、材質」を具体的に規定することにより、規制の対象となる品目の明確化を図っていただきたい。(元となる)クロスフローろ過装置(Cross Flow Filtration Equipment)の Technical Note 部に、この考え方に基づく Technical Note-2 と-3 を新設し、他のアイテムにも適用できるようにして

4. 判断する「状態」の書きぶりの統一

現状、滅菌、殺菌する場合の「状態」について、①既述の無いもの、②「定置した状態で内部の」、③「定置し、かつ、閉じた状態で」とあるが、それぞれ書き分ける明確な理由を確認したく、もし意図がないのであれば分かりやすくするために統一していただきたい。

「定置した状態で(in-situ)で内部の」がほぼ共通に使用されているが、凍結乾燥機にはその記述がない。遠心分離機では「内部の」に代えて「閉じた状態(in a closed state)」と書かれている。いずれも、外部に曝露しないような状態になっていることを前提とする記述と思われるが、その趣旨を明らかにしていただきたい。

5. 滅菌(Sterilization)の規制振りの分かりやすさの確保

現行の AG Control List では発酵槽、クロスフローろ過装置、噴霧乾燥器の 3 アイテムには滅菌の具体的な手法の記載がない一方、遠心分離機には「高圧蒸気(Steam)により」と、凍結乾燥器には「高圧蒸気(Steam)とガス(Vapour)により」と、具体的な個別の手法が規定されている。このように個別に具体的な手法まで明示されている場合は、明示されている手法だけで滅菌できるかどうかを判断すれば良いことが明確だが、個別の具体的な手法まで明示されていない品目についても、他に想定されている滅菌方法があるのであればそれも含めて明示して

そこで、「1.」で提案した、クロスフローろ過装置の Technical Note を他の 4 アイテムにも共通的に適用する提案に加え（とは別に）、遠心分離機と凍結乾燥器以外の発酵槽、クロスフローろ過装置、噴霧乾燥器の 3 アイテムのテキストにも、想定している個別具体的な手法を明示し、そのことがわかるようにしていただきたい。

6. 凍結乾燥器のガス(Vapour)滅菌用化学物質具体例の表示

高圧蒸気滅菌と比較しガス(Vapour)滅菌は一般的にはなじみが薄く、また限られているので、Technical Note に滅菌用化学物質の具体例を表示して

- (参考-1) 令和 5(2023)年度省令改正案に対するパブコメ意見として CISTEC より、殺菌と滅菌の定義を AG Control List 原文に即した内容に変更するようにとの意見を提出しました。
- (参考-2) 現行の AG クロスフローろ過装置の Technical Note に記載の殺菌の定義に物理的手法は記載なく、化学物質の利用のみが規定されていますが、この内容は「最新の」厚生労働省令、日本薬局方第 18 版の記載と良い一致を示します。(殺菌を消毒と読み替え。)

添付-1 AG Control List 現行と改正案

添付-2 流れ停滞領域・狭いギャップ・耐高温高圧の事例

添付-3 日本薬局方第 18 版抜粋

添付-1: AG Control List 改正案

Fermenters

現行 AG Control List (November 30, 2022)	改正案	備考
Fermenters capable of cultivation of micro-organisms or of live cells for the production of viruses or toxins, without the propagation of aerosols, having a total internal volume of 20 litres or greater. Components designed for such fermenters, as follows: a. cultivation chambers designed to be sterilized or disinfected in situ; b. cultivation chamber holding devices; or c. process control units capable of simultaneously monitoring and controlling two or more fermentation system parameters (e.g. temperature, pH, nutrients, agitation, dissolved oxygen, air flow, foam control). Note 1 - Fermenters include bioreactors (including single-use (disposable) bioreactors), chemostats and continuous-flow systems.	Fermenters capable of cultivation of micro-organisms or of live cells for the production of viruses or toxins, without the propagation of aerosols, having a total internal volume of 20 litres or greater. Components designed for such fermenters, as follows: a. cultivation chambers designed to be sterilized or disinfected in situ in a closed state; b. cultivation chamber holding devices; or c. process control units capable of simultaneously monitoring and controlling two or more fermentation system parameters (e.g. temperature, pH, nutrients, agitation, dissolved oxygen, air flow, foam control). Note 1 - Fermenters include bioreactors (including single-use (disposable) bioreactors), chemostats and continuous-flow systems. Note 2 - Technical note-1, -2 and -3 for Cross (tangential) flow filtration equipment regarding 'sterilized' and 'disinfected' are applied to Fermenters.	

Centrifugal Separators

現行 AG Control List (November 30, 2022)	改正案	備考
Centrifugal separators capable of the continuous separation of pathogenic micro-organisms, without the propagation of aerosols, and having all the following characteristics: a. one or more sealing joints within the steam containment area; b. a flow rate greater than 100 litres per hour; c. components of polished stainless steel or titanium; d. capable of in-situ steam sterilisation in a closed state. Technical note: Centrifugal separators include decanters.	Centrifugal separators capable of the continuous separation of pathogenic micro-organisms, without the propagation of aerosols, and having all the following characteristics: a. one or more sealing joints within the steam containment area; b. a flow rate greater than 100 litres per hour; c. components of polished stainless steel or titanium; d. Designed to be sterilised in-situ in a closed state through the use of physical (steam) Technical note-1: Centrifugal separators include decanters. Technical note-2: Technical note-1, -2 and -3 for Cross (tangential) flow filtration equipment regarding 'sterilized' and 'disinfected' are applied to Centrifugal Separators.	

Cross Flow Filtration Equipment

現行 AG Control List (November 30, 2022)	改正案	備考
Cross (tangential) flow filtration equipment capable of separation of micro-organisms, viruses, toxins or cell cultures having all the following characteristics: a. a total filtration area equal to or greater than 1 square metre; and b. having any of the following characteristics: i. capable of being sterilized or disinfected in-situ; or ii. using disposable or single-use filtration components. (Note – This control excludes reverse osmosis and hemodialysis equipment, as specified by the manufacturer.) Cross (tangential) flow filtration components (eg modules, elements, cassettes, cartridges, units or plates) with filtration area equal to or greater than 0.2 square metres for each component and designed for use in cross (tangential) flow filtration equipment as specified above. Technical note: In this control, 'sterilized' denotes the elimination of all viable microbes from the equipment through the use of either physical (eg steam) or chemical agents. 'Disinfected' denotes a process to reduce the number of microorganisms but not usually of bacterial spores, through the use of chemical agents, without necessarily killing or removing all organisms.	Cross (tangential) flow filtration equipment capable of separation of micro-organisms, viruses, toxins or cell cultures having all the following characteristics: a. a total filtration area equal to or greater than 1 square metre; and b. having any of the following characteristics: i. Designed to be sterilized or disinfected in-situ in a closed state; or ii. using disposable or single-use filtration components. (Note – This control excludes reverse osmosis and hemodialysis equipment, as specified by the manufacturer.) Cross (tangential) flow filtration components (eg modules, elements, cassettes, cartridges, units or plates) with filtration area equal to or greater than 0.2 square metres for each component and designed for use in cross (tangential) flow filtration equipment as specified above. Technical note-1: In this control, 'sterilized' denotes the elimination of all viable microbes from the equipment through the use of either physical (eg steam) or chemical agents. 'Disinfected' denotes a process to reduce the number of microorganisms but not usually of bacterial spores, through the use of chemical agents, without necessarily killing or removing all organisms. Technical note-2: Equipment designed to be sterilized in-situ through the use of physical (eg steam), that has the construction and material to withstand high temperature and/or pressure. Technical note-3: Equipment designed to be sterilized or disinfected in -situ through the use of chemical agent, that has the construction to eliminate narrow gaps and flow stagnant zones of chemical agent, either liquid or vapour.	

Freeze Drying Equipment

現行 AG Control List (November 30, 2022)	改正案	備考
Steam, gas or vapour sterilisable freeze-drying equipment with a condenser capacity of 10 kg of ice or greater in 24 hours and less than 1000 kg of ice in 24 hours.	Freeze-drying equipment designed to be sterilised in-situ in a closed state, through the use of physical (steam) or chemical agents (gas or vapour) with a condenser capacity of 10 kg of ice or greater in 24 hours and less than 1000 kg of ice in 24 hours. Technical note-1 Technical note-1, -2 and -3 for Cross (tangential) flow filtration equipment regarding 'sterilized' and 'disinfected' are applied to Freeze Drying Equipment. Technical note-2 Chemical agents (gas or vapour) are ethylene oxide and hydrogen peroxide.	

Spray Dryers

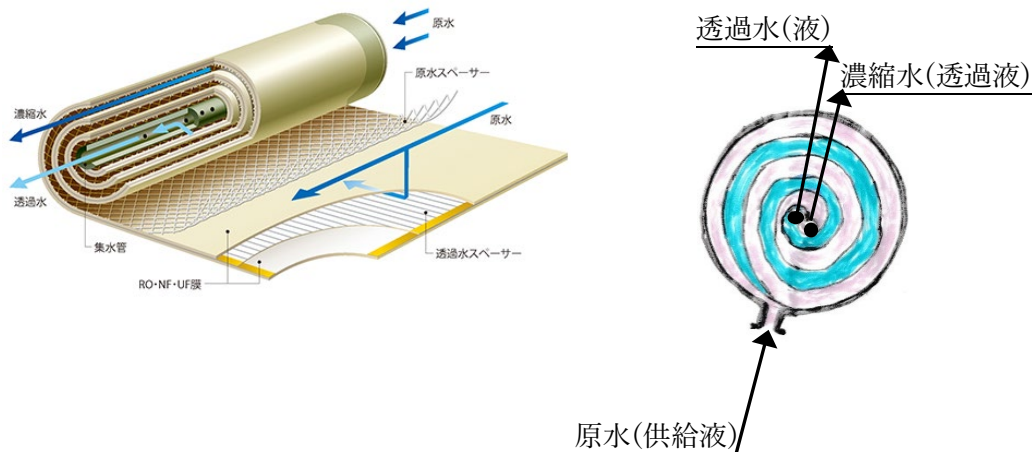
現行 AG Control List (November 30, 2022)	改正案	備考
Spray drying equipment capable of drying toxins or pathogenic microorganisms having all of the following characteristics: i. a water evaporation capacity of ≥ 0.4 kg/h and ≤ 400 kg/h ii. the ability to generate a typical mean product particle size of ≤ 10 micrometers with existing fittings or by minimal modification of the spray-dryer with atomization nozzles enabling generation of the required particle size; and iii. capable of being sterilized or disinfected in situ.	Spray drying equipment capable of drying toxins or pathogenic microorganisms having all of the following characteristics: i. a water evaporation capacity of ≥ 0.4 kg/h and ≤ 400 kg/h ii. the ability to generate a typical mean product particle size of ≤ 10 micrometers with existing fittings or by minimal modification of the spray-dryer with atomization nozzles enabling generation of the required particle size; and iii. designed to be sterilized or disinfected in situ in a closed state. Technical note – Technical note-1, -2 and -3 for Cross (tangential) flow filtration equipment regarding 'sterilized' and 'disinfected' are applied to Spray Drying Equipment.	

添付-2: 流れ停滞領域・狭いギャップ・耐高温高圧の事例

1. 流れ停滞領域(Flow Stagnant Zones)の事例

1) スパイラル式ろ過モジュール

我が国のみ該当、他国では非該当扱い。スパイラルの中心部にデッドエンドがあり、殺菌出来ない構造。Technical Note-3 を追加した理由。



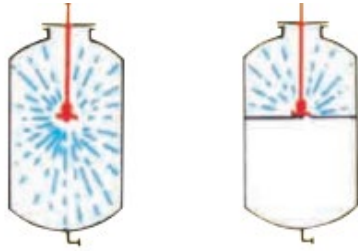
2) ガス(Vapour)滅菌対応式凍結乾燥器

平成 28(2016)年 11 月の政省令改正で従来の蒸気(Steam)による滅菌に加えガス(Vapour)による滅菌も規制対象に加えられた。厚労省令である日本薬局方にガスによる滅菌について酸化エチレン、過酸化水素などの滅菌剤が既定されている。蒸気滅菌するには約 3 気圧の内圧に耐える頑丈な構造が必要だが、ガス滅菌ではそのような頑丈な構造は不要だが、装置内に限なく流れ停滞領域なく、ガス(Vapour)を行き渡らせる様に「設計された」ものが本来の規制品であるが、滅菌出来ないことを証明するのが困難なので、石橋をたたいて該当とするケース多々。Technical Note-3 を追加した理由はここにある。



3) CIP(Cleaning In Place)

CIP というのは例えばタンクを開放せず定置した状態でタンク内洗浄ノズルより薬液を放出させるシステム。医薬品、食料品製造に使用される方式。



2. 狭いギャップ(Narrow Gaps)の事例

1) サニタリー接手

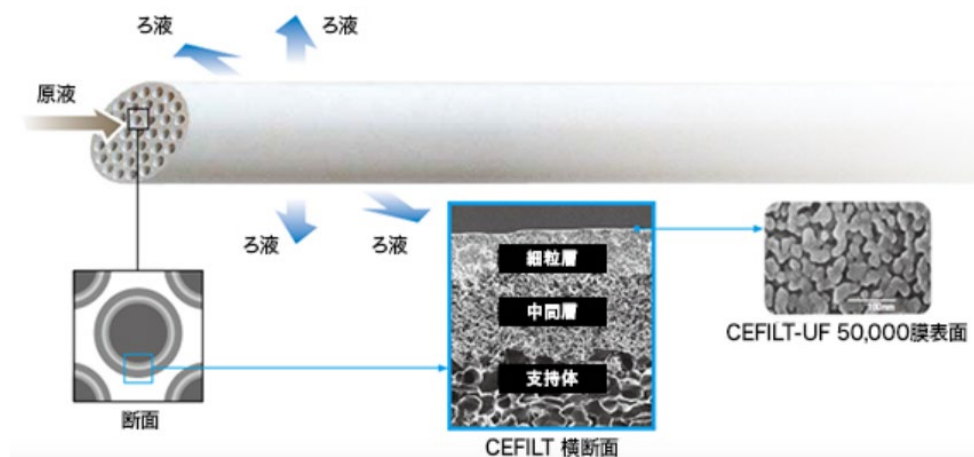
貯蔵容器、ポンプなどの装置やバルブなど配管部品と配管を接続する「継ぎ手」とよばれる配管部品であるが、食料品や医薬品製造の場合、特色的な「サニタリー継ぎ手」とよばれる部品が使用される。サニタリー継ぎ手に事例は以下の通りである。



3. 耐高温高圧(Withstand high temperature/pressure)の事例

1) セラミック製クロスフローろ過モジュール

クロスフローろ過装置は平成 15(2003)年 12 月の政省令改正で従来の滅菌に加え殺菌出来るものも規制の対象となった。東レ、旭化成、日東電工などの製品では膜の材質に各種ポリマーが使用されており、高圧蒸気滅菌における高温には耐えないため、平成 15(2003)年 12 月以前は非該当、以降は殺菌出来るとして該当になった経緯ある。一方、セラミック製クロスフローろ過モジュール(我が国最大手は日本碍子)は高圧蒸気滅菌における高温には耐えることが出来、平成 15(2003)年 12 月以前から該当扱いであった。



添付一⁴3

第十八改正 日本薬局方

THE JAPANESE PHARMACOPOEIA
EIGHTEENTH EDITION

一般財団法人 医薬品医療機器レギュトリーサイエンス財団 編集

〈Ⅱ〉

細胞内に浸透し、DNAのアデニン及びチミンが豊富な部分に特異的に結合するために、DNAを持つ全ての細菌が染色され、紫外線励起光下で青色蛍光を発する。したがって、本二重染色法により、青色励起光下ではエステラーゼ活性を持つ細菌のみを特異的に計数でき、また紫外線励起光下では全菌数(生菌数+死菌数)を測定できるので、エステラーゼ活性を持つ細菌及びDNAを持つ全ての細菌を計数することが可能となる。

1.1. 装置

1.1.1. 蛍光顕微鏡又はこれに準ずる蛍光観察装置

蛍光染色した細菌を計数するための装置で、種々の機種がある。使用する蛍光染色剤に応じた適切なフィルター系を用意する。蛍光顕微鏡、レーザー顕微鏡、フローサイトメーターなど、各種の蛍光観察装置がある。

1.2. 器具

- (i) ろ過装置(ファンネル、吸引フラスコ、吸引ポンプ)
- (ii) ポリカーボネート製メンブランフィルター(孔径0.2 µm)：粒子を表面で捕集できるフィルターであればポリカーボネート製でなくても良い。
- (iii) スライドガラス
- (iv) カバーガラス
- (v) 計数用接眼マイクロメーター(10×10のマスを区切ったもの)

1.3. 操作法

以下に、蛍光顕微鏡による測定法の一例を示す。

1.3.1. 試料の調製

細菌が、液体(水又は緩衝液)に均一に分散した状態となるように試料を調製する。

1.3.2. ろ過

ろ過装置のファンネルにポリカーボネート製メンブランフィルター(孔径0.2 µm)をセットする。適当量の試料をろ過し、試料中の細菌をフィルター上に捕集する。

1.3.3. 染色

CFDAを終濃度150 µg/mL及びDAPIを終濃度1 µg/mLとなるように混合したCFDA染色用緩衝液適量を、ろ過装置のファンネルに注ぎ、約3分間、室温で染色した後、吸引ろ過する。ファンネルに無菌水を適量注ぎ、吸引ろ過し、フィルターに残った余分な蛍光染色剤を除く。フィルターを十分に乾燥させる。

1.3.4. プレパラートの作製

スライドガラスに蛍光顕微鏡用イメージジョンオイルを1滴落とす。その上に風乾したフィルターをろ過面を上にして置く。その上に蛍光顕微鏡用イメージジョンオイルを1滴滴下し、カバーガラスを被せてフィルターを封入する。油浸対物レンズを用いる場合は、カバーガラスの上に更に蛍光顕微鏡用イメージジョンオイルを1滴滴下する。

1.3.5. 計数

蛍光顕微鏡下で1000倍の倍率で観察・計数する。CFDA-DAPI二重染色の場合は、紫外線励起光による退色を防ぐために、まず青色励起光下で緑色蛍光を発する(エステラーゼ活性を持つ)細菌を計数した後、同一視野について紫外線励起光下で青色蛍光を発する(DNAを持つ)細菌を計数する。蛍光顕微鏡の接眼マイクロメーターの計100マス内に観察される蛍光染色剤由来の蛍光を発する細菌について、無作為に視野を選んで20視野以上計数し、以下の式に従って細菌数を算出する。なお、検鏡面積はあらかじめ接眼マイクロメーターと対物マイク

ロメーターで測定しておく。また、計数にあたっては1視野当たり10～100細胞程度になるようにろ過量を調節する。したがって、1視野当たりの細胞数が多すぎる、又は少なすぎる場合は試料の再調製を行う。(1視野当たりの平均細胞数が2個以下の場合、又は1視野当たりの細胞数が0個の視野が5視野以上ある場合は、検出限界以下とする。)

菌数(cells/mL)

$$= \{ (1 \text{ 視野当たりの細菌数の平均値}) \times (\text{ろ過面積}) / \{ (\text{ろ過量}) \times (\text{検鏡面積}) \}$$

1.4. 試薬・試液

- (i) 無菌水：水を孔径0.2 µmのメンブランフィルターでろ過した後、121℃で15分間高圧蒸気滅菌する。注射用水を用いても良い。
- (ii) CFDA溶液、10 mg/mL：CFDA 50 mgをジメチルスルホキシドに溶かし、5 mLとする。遮光下、-20℃で保存する。
- (iii) CFDA染色用緩衝液：塩化ナトリウム5 gに0.1 mol/Lエチレンジアミン四酢酸二水素二ナトリウム試液0.5 mL及び薄めたリン酸二水素二ナトリウム試液(1→3)を加えて溶かし、100 mLとする。この液にリン酸二水素ナトリウム二水和物溶液(1→64)を加えてpH 8.5に調整する。孔径0.2 µmのメンブランフィルターでろ過する。
- (iv) DAPI溶液、10 µg/mL：DAPI 10 mgを無菌水100 mLに溶かす。無菌水で10倍希釈して、孔径0.2 µmのメンブランフィルターでろ過する。遮光下、4℃で保存する。
- (v) 蛍光顕微鏡用イメージジョンオイル

2. マイクロコロニー法

コロニー形成の初期段階であるマイクロコロニーを蛍光染色し、蛍光顕微鏡などで観察・計数することにより、増殖能を持つ細菌数を短時間の培養で測定することができる。本法ではメンブランフィルター上に細菌を捕集し、そのメンブランフィルターを培地上に静置し短時間培養した後、マイクロコロニーを計数する。肉眼で確認できる前段階のコロニーを検出するため、増殖能力を持つ細菌を迅速かつ高精度に計数することができる。マイクロコロニーの染色には、種々の核酸染色剤を用いることができる。

2.1. 装置

2.1.1. 蛍光顕微鏡又はこれに準ずる蛍光観察装置

蛍光染色した細菌を計数するための装置で、種々の機種がある。使用する蛍光染色剤に応じた適切なフィルター系を用意する。蛍光顕微鏡、レーザー顕微鏡など、各種の蛍光観察装置がある。

2.2. 器具

- (i) ろ過装置(ファンネル、吸引フラスコ、吸引ポンプ)
- (ii) ポリカーボネート製メンブランフィルター(孔径0.2 µm以下)：粒子を表面で捕集できるフィルターであればポリカーボネート製でなくても良い。
- (iii) スライドガラス
- (iv) カバーガラス
- (v) ろ紙(No.2)
- (vi) 計数用接眼マイクロメーター(10×10のマスを区切ったもの)

2.3. 操作法

以下に、蛍光顕微鏡による測定法の一例を示す。

2.3.1. 試料の調製

細菌が、液体(水又は緩衝液)に均一に分散した状態となるように試料を調製する。

2.3.2. ろ過

ろ過装置のファンネルにポリカーボネート製メンブランフィルター(孔径0.2 µm)をセットする。適当量の試料をろ過し、試料中の細菌をフィルター上に捕集する。

2.3.3. 培養

フィルターをろ過装置から外し、ろ過面を上にして培地上に静置し、適切な温度で適切な時間培養する。培地にフィルターを静置する際、培地とフィルターの間に空気が入らないように注意する。なお、サンプルにより適切な培養条件(培地、培養温度、培養時間など)は異なるので注意する。

2.3.4. 固定

ろ紙に中性緩衝ホルムアルデヒド試液適量をしみ込ませ、培地から外したフィルターを、その上にろ過面を上にして室温で30分以上静置し、マイクロコロニーを固定する。

2.3.5. 染色

ろ紙に染色液(1 µg/mL DAPIなど、2% polyoxyethylene sorbitan monolaurate)適量をしみ込ませ、ろ過面を上にしてフィルターをその上に室温・遮光下で10分間静置し、マイクロコロニーを染色する。無菌水をしみ込ませたろ紙の上にろ過面を上にして1分間静置し、フィルターを洗浄する。フィルターを十分に風乾させる。

2.3.6. プレパラートの作製

スライドガラスに蛍光顕微鏡用イメージンオイルを1滴滴下する。その上に風乾したフィルターをろ過面を上にして置く。その上に蛍光顕微鏡用イメージンオイルを1滴滴下し、カバーガラスを被せてフィルターを封入する。

2.3.7. 計数

蛍光顕微鏡下で400倍又は200倍の倍率で観察・計数する。蛍光顕微鏡の接眼マイクロメーターの計100マス内に観察される蛍光染色剤由来の蛍光を発するマイクロコロニーについて、無作為に視野を選んで20視野以上計数し、以下の式に従ってマイクロコロニー数を算出する。なお、検鏡面積はあらかじめ接眼マイクロメーターと対物マイクロメーターで測定しておく。1視野当たりのマイクロコロニー数の平均値が2個以下の場合、又は1視野当たりのマイクロコロニー数が0個の視野が5視野以上ある場合は、検出限界以下とする。

マイクロコロニー数(cells/mL)

$$= \{ (1 \text{ 視野当たりのマイクロコロニー数の平均値}) \times (\text{ろ過面積}) \} / \{ (\text{ろ過量}) \times (\text{検鏡面積}) \}$$

2.4. 試薬・試液

(i) 無菌水：水を孔径0.2 µmのメンブランフィルターでろ過した後、121℃で15分間高压蒸気滅菌する。注射用水を用いても良い。

(ii) 染色液：DAPI 10 mgを無菌水100 mLに溶かす。無菌水で10倍希釈して、孔径0.2 µmのメンブランフィルターでろ過する。遮光下、4℃で保存する。使用時にpolyoxyethylene sorbitan monolaurateを終濃度2%となるように溶解する。

(iii) 中性緩衝ホルムアルデヒド試液(4 w/v%ホルムアルデヒド溶液；中性緩衝化したもの)

(iv) 蛍光顕微鏡用イメージンオイル

消毒法及び除染法〈G4-9-170〉

本参考情報は、医薬品の製造所において清浄度の管理が必要な清浄区域又は無菌操作区域における構造設備、及び同区域での製造管理及び製造作業に従事する職員(作業員)の衛生管理のうち、化学薬剤を用いて生存する微生物の数をあらかじめ設定したレベルまで減少させる処置法を示す。

なお、医薬品各条に規定された微生物関連試験法を実施する場合、医薬品の製造における製品等及び資材の微生物による汚染を防止するために必要な措置を講ずる場合、及び薬局において微生物管理が必要な場合等についても本参考情報を参考に適切な対応を図ること。

1. 用語の定義

本参考情報で用いる用語の定義は、次のとおりである。

・微生物：細菌、真菌、原虫、ウイルス等の総称であり、本参考情報では細菌及び真菌を指す。

・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。

・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を指す。

・対数減少量：処理前の微生物数と一定処理後の微生物数との対数値の差。

・消毒剤のローテーション：使用中の消毒剤に抵抗性を示す微生物が検出された場合に、有効性の異なる消毒剤を用い、その微生物が検出されなくなるまで使用する、又は一定期間ごとに作用機作の異なる消毒剤を交互に使用する消毒プログラムを指す。本法が有効かどうかについては、あらかじめ検証する必要がある。

2. 消毒法

本法には、化学薬剤を用いた清拭、噴霧、浸漬等の方法があり、設備、床、壁又は清浄区域や無菌操作区域に搬入する容器及び環境モニタリング用培地を梱包した資材の表面等の局所的な部位に生存する微生物を減少させるのに用いられる。本法を適用する表面の消毒剤に対する腐食性などの性質、及び汚染微生物の種類や数などの汚染状態を考慮し、通例、表1に示す消毒剤を単独又は併用して用いる。本法は、対象物又は局所的な部位に生存する微生物を全て死滅させたり、除去したりするものではないが、適用に当たっては有効性が確認された消毒剤を採用すること。また、消毒剤として使用する化学薬剤の微生物に対する効果は、使用濃度、作用温度、接触時間、表面の汚染状態等によって異なる。本法を適用するに当たっては、消毒剤の使用期限、消毒剤の汚染、残存した化学物質の医薬品品質に与える影響、及び対象となる資材の変色、変形、腐食などの劣化について注意を要する。

2.1. 消毒剤

汎用される消毒剤とその濃度、また各消毒剤の微生物に対する有効性の例を表1に示す。なお、ここに示した消毒剤以外、あるいは使用濃度以外でも、その有効性及び安全性が確認された消毒剤は使用することができる。

2.2. 評価法

清浄区域及び無菌操作区域等に消毒法を適用する場合は、消毒剤の濃度、作用時間、消毒対象となる表面の材質、その消毒

表1 消毒剤の種類、使用濃度例、作用機作

分類	消毒剤	使用濃度例	作用機作
酸化剤	過酢酸	0.3 w/v%	酸化作用
	過酸化水素	3 w/v%	
	次亜塩素酸ナトリウム	0.02 ～ 0.05%	
アルコール系	イソプロパノール	50 ～ 70%	タンパク質や核酸の変性
	エタノール	76.9 ～ 81.4 vol%	変性
界面活性剤系	ベンザルコニウム塩化物	0.05 ～ 0.2%	タンパク質の変性
	ベンゼトニウム塩化物		
	アルキルジアミノエチルグリシン塩酸塩	0.05 ～ 0.5%	細胞膜機能の障害、タンパク質の凝固・変性
ビグアナイド系	クロルヘキシジングルコン酸塩	0.05 ～ 0.5%	細菌の酵素阻害や細胞質膜を変質・損傷

剤で減少させたい微生物の種類等を考慮し、その条件の有効性を確認する。以下に評価法の例を示す。なお、科学的に正しいことが立証できれば、例示した評価法以外の方法を採用しても差し支えない。

2.2.1. 試験菌懸濁法

実際に使用する希釈液(精製水、水道水、他)を用いて、実際に使用する濃度の消毒剤を調製する。調製した消毒剤1 mL当たり $10^5 \sim 10^6$ CFUの試験菌を接種する。規定時間(通例、5 ～ 15分間)作用させた後、消毒剤を希釈、又は除去(ろ過)する。希釈液又はろ過後の洗浄液には、必要に応じてレシチン、ポリソルベート80、チオ硫酸ナトリウムなどの不活化剤を含有する液を用いて消毒剤を中和¹⁾する。接種した菌数及び消毒後の菌数の計測は、微生物限度試験法(4.05) I. 3.4. 製品存在下での測定法の適合性の要件を満たす条件で実施する。消毒剤作用前後の試験菌数から対数減少量を算出し、細菌及び真菌では3 log以上、芽胞では2 log以上の減少を認めた場合、各々の対象微生物に対して有効であると判断する。有効性の評価に使用する試験菌は表2を参照し、必要な菌種を選定する。これらの試験菌は微生物限度試験法(4.05)に記載されている条件で培養及び希釈して評価に使用する。ただし、*Bacillus subtilis*については抗生物質の微生物学的力価試験法(4.02)を参考に芽胞懸濁液を調製して評価に使用する。なお、試験の目的にかなえばその菌種を使用することができる。

2.2.2. 硬質表面キャリア法

約5 cm×5 cmの各種表面材質の担体(キャリア)を適切な精度が得られる数量準備する。試験菌をキャリア当たり $1 \times 10^5 \sim 1 \times 10^6$ CFUになるように広範囲に接種する。接種菌が乾燥する前に実使用濃度の消毒剤を滴下する。接種菌を乾燥する際条件によっては接種菌数が減少し、消毒効果を適切に評価できない場合があるので注意する。規定時間(通例、5 ～ 15分間)作用させた後、回収液でキャリア上の試験菌を回収する。回収液には、必要に応じてレシチン、ポリソルベート80、チオ硫酸ナトリウムなどの不活化剤を含有する液を用いて消毒剤を中和¹⁾する。

回収方法はJIS T11737-1²⁾を参考にストマック法、振とう法、スワブ法等を採用する。接種した試験菌数及び回収した試験菌数は、微生物限度試験法(4.05) I. 非無菌製品の微生物学的試験：生菌数試験3.4. 製品存在下での測定法の適合性の要件を満たす試験条件で計測する。消毒剤作用前後の試験菌数から対数

減少量を算出し、2.2.1試験菌懸濁法に規定された減少量と同等の効果をもった条件を各々の対象微生物に対して有効であると判断する。有効性の評価に使用する試験菌は表2を参照し、必要な菌種を選定するほか、環境モニタリングで検出頻度の高い代表菌1 ～ 2株を追加することが望ましい。なお、試験の目的にかなえばその菌種を使用することができる。試験菌の培養及び希釈等については2.2.1試験菌懸濁法の規定を参考にする。また、清浄区域又は無菌操作区域で使用される各種表面の材質の例を表3に示すが、評価においては実際に使用する状況を考慮の上、適宜追加する。

表2 試験菌

分類	試験菌
細菌	<i>Escherichia coli</i> ATCC 8739, NBRC 3972
	<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538, NBRC 13276
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 9027, NBRC 13275
	<i>Bacillus subtilis</i> ATCC 6633, NBRC 3134
真菌	<i>Candida albicans</i> ATCC 10231, NBRC 1594
	<i>Aspergillus brasiliensis</i> ATCC 16404, NBRC 9455

表3 消毒対象となる材質例

材質	適用例
ステンレス	作業台、タンク、機器類
ガラス	窓、遮蔽板
ポリカーボネート	遮蔽板、容器
化粧ケイ酸カルシウム	壁、天井
エポキシ樹脂コート	床
塩化ビニル	床、カーテン、ビニル袋
硬質ウレタンゴム	床
ニトリルゴム	手袋

3. 除染法

本法は、化学薬剤を気化又は噴霧させるなどで除染を行い、無菌医薬品の製造工程で用いるアイソレータ、RABS(Restricted Access Barrier System)や清浄区域又は無菌操作区域の空間や作業室を含む構造設備に生存する微生物をあらかじめ指定された菌数レベルまで減少させるのに用いられる。

本法を無菌医薬品の製造における構造設備に適用する場合は、除染剤及び除染条件の有効性に関するバリデーションを実施すると共に、作業者の安全性を確保すること。

3.1. 除染剤

汎用される除染剤を以下に示す。ここに示した除染剤以外にも、その有効性と安全性が確認された除染剤は使用することができる。

3.1.1. 過酸化水素

過酸化水素(30)を蒸発させ、拡散することで除染を行う。ヒーターで気化した過酸化水素をアイソレータ内部や作業室に拡散させ、過酸化水素が持つ酸化力により、微生物を死滅させる方法である。無菌操作用アイソレータ内部を除染する場合のように高度な微生物学的清浄度を達成することが必要な場合は、指標菌の芽胞を6 log以上、作業室を除染する場合は3 log以上減少させる条件で実施する。常温で実施することの可能な方法であるが、材質によっては過酸化水素の強い酸化力の影響で変色、変形、腐食などの劣化を生じたり、過酸化水素を分解したりすることがあるため、事前に適合性を検討する必要がある。なお、アイソレータ内部に、製品接触面が存在する場合は内部の除染と製品接触面の無菌性保証を同時に達成させる必要がある。このような場合は、参考情報「滅菌法及び滅菌指標

体〈G4-10-162〉」の項を参照し、滅菌前のバイオバーデン、パラメーター、ユーティリティなどについて、滅菌法としての管理を行う。

3.1.2. 過酢酸

例えば0.2%過酢酸水溶液をミスト状にして噴霧し、拡散することで除染を行う。作業室の清浄化に利用され、指標菌の芽胞を3 log以上減少させる条件で実施する。過酢酸の酸化力により微生物を死滅させる方法である。常温で実施することの可能な方法であるが、材質によっては過酢酸の強い酸化力の影響で変色、変形、腐食などの劣化を生じることがあるため、事前に材質適合性を検討する必要がある。

3.1.3. ホルムアルデヒド

ホルムアルデヒドを36.0 ～ 38.0%含む水溶液であるホルマリンを加熱により気化、若しくはパラホルムアルデヒドを加熱により昇華させ、拡散することで除染を行う。ホルムアルデヒド分子中のアルデヒド基(-CHO)がタンパク質を変性させることで微生物を死滅させる方法である。作業室の清浄化に利用され、指標菌の芽胞を3 log以上減少させる条件で実施する。ホルムアルデヒドは人体に有害であり、毒物及び劇物取締法で劇物に指定されているため、強制排気装置を備えた作業空間で取り扱う必要がある。また、薬剤の廃棄処理に際しても無害化が必要である。

3.2. 評価法

通例、バイオロジカルインジケーターを用いて、除染効果を評価する方法が採用される。除染剤に対して抵抗性を有するバイオロジカルインジケーターを、空間や作業室を含む構造設備の各所に配置し、除染を行う。除染後にバイオロジカルインジケーターを回収し、培養法により、生残菌の有無を確認する方法が一般的である。また、培養法以外にも、同等以上の方法であれば迅速法などを使用することができる。なお、過酸化水素によるアイソレーターの除染において、 10^6 CFUのバイオロジカルインジケーターを用いて指標菌の芽胞が6 log以上減少することを実証する場合、除染後のバイオロジカルインジケーターを全数死滅させることが要件ではない。バイオロジカルインジケーターを回収し、培養法により生残菌数を測定し、指標菌の対数減少量を算出することで効果を評価する方法や統計学的解析手法の活用により、芽胞の6 log減少に適切な除染条件を確立することも可能である。

上述した過酸化水素及びホルムアルデヒドについては *Geobacillus stearothermophilus* ATCC 7953, 12980の芽胞は抵抗性が強いことが知られており、指標体として使用することが可能である。また作業室を対象とした除染については、環境微生物の代表として、*Bacillus atrophaeus* ATCC 9372の芽胞を指標菌として使用することも可能である。

4. 留意事項

4.1. 作業者の安全性

消毒剤及び除染剤は人体に少なからず影響を及ぼす、すなわち毒性を有する化学薬剤である。したがって、その使用においては、用法・用量を守り、必要に応じて保護具等を正しく使用すると共に適宜、残留量を確認する必要がある。

4.2. 医薬品製造環境に用いる消毒剤及び除染剤の選択

医薬品製造環境で使用する消毒剤及び除染剤を選択する際は、その使用目的によって以下に示すことを考慮し、適切なものを選択する。また、消毒剤及び除染剤をより安全かつ的確に使用

するために、以下に示す(1)～(13)を考慮する必要がある。

- (1) 対象とする微生物の種類と数
- (2) 抗菌スペクトルの範囲
- (3) 化学薬剤の使用法、濃度、接触時間、使用期限
- (4) 無菌操作区域で使用する場合における無菌化を含めた消毒剤の調製方法
- (5) 消毒剤及び除染剤の対象物に対する材質適合性(劣化の程度等)
- (6) タンパク質等の有機物の存在下での効果
- (7) 作用の持続性
- (8) 人体に対する影響(安全性)
- (9) 洗浄剤等との適合性
- (10) 消毒剤のローテーションの要否及び必要な場合はその方法
- (11) 化学薬剤による医薬品の汚染を避けるために必要な手段(不活化の方法、残留量の確認等)
- (12) 廃棄処理方法の容易性(中和、不活化)
- (13) 廃棄に伴う環境への影響

5. 参考資料

- 1) US Pharmacopeia 38 (2015), <1072> Disinfectants and Antiseptics.
- 2) JIS T 11737-1 : 2013, 医療機器の滅菌—微生物学的方法—第1部：製品上の微生物群の測定方法 (ISO 11737-1 : 2006)

滅菌法及び滅菌指標体〈G4-10-162〉

滅菌とは、物質中の全ての微生物を殺滅又は除去することを行う。本参考情報は、無菌製品の製造のほか滅菌が必要な場合に適用する。滅菌法を適用する場合には、各滅菌法の長所・短所を十分理解した上で、包装を含む被滅菌物(製品又は滅菌が必要な設備、器具、材料など)の適合性に応じて、適切な滅菌法を選択する。

滅菌においては、滅菌装置据付け(滅菌工程の設計・開発を含む)後、その工程が科学的根拠や妥当性をもって設計どおりに正しく稼働していることを評価する適格性評価に基づき設備の保守点検プログラムを設定すること。また、無菌医薬品の製造所では、製造全般に関わる品質システムを確立すること。例えば、滅菌後の無菌性を含め品質に影響を及ぼし得る全ての作業を明確にし、製品の微生物汚染を回避するために必要な手順書等を設定し、適切に運用すること。

滅菌条件を設定し、滅菌後の無菌性を保証するためには、被滅菌物の滅菌前のバイオバーデンを定期的又は一定滅菌単位ごとに測定すること。測定方法は、4.05微生物限度試験法等を参照する。

本参考情報には代表的な滅菌法を示すが、これら以外にも

- ・滅菌機構が十分に解明されている
- ・滅菌工程の物理的な重要パラメーターが明確であり、それらの制御と測定が可能である
- ・滅菌操作を効果的かつ再現性よく実施できる

といった要件を満たし、かつ被滅菌物に悪影響を及ぼさない場合は、他の滅菌法を用いることができる。

1. 定義

本法で用いる用語の定義は、以下のとおりである。

- ・フィルターの完全性試験：フィルターの微生物捕捉性能データとの相関性が実証された非破壊試験をいう。
- ・バイオバーデン：被滅菌物に生存する微生物群をいう。
- ・ D 値：微生物の死滅率を表す値で、供試微生物の90%を死滅させ、生存率を1/10に低下させるのに要する時間(Decimal Reduction Time)をいう。
- ・ F_0 値：乾熱滅菌におけるプロセスの微生物不活化能力の程度であり、20℃の z 値(D 値を10倍変化させる温度変化の度数)を持つ微生物について、160℃の温度に等価な時間(分)で表される値。
- ・ F_0 値：湿熱滅菌におけるプロセスの微生物不活化能力の程度であり、10℃の z 値(D 値を10倍変化させる温度変化の度数)を持つ微生物について、121.1℃の温度に等価な時間(分)で表される値。
- ・無菌性保証水準(SAL)：滅菌後に、生育可能な1個の微生物が製品中に存在する確率をいう。10⁻⁶で表される。
- ・線量(吸収線量)：物質の単位質量当たり付与された吸収エネルギーの量。単位はグレイ(Gy)で表す。
- ・重要パラメーター：滅菌工程に本質的に必要であり、計測可能なパラメーター。
- ・載荷形態(ローディングパターン)：被滅菌物の滅菌装置又は照射容器内での数、方向、配置方法について規定した組み合わせ。

2. 滅菌法

2.1. 加熱法

加熱法は、熱によって微生物を殺滅する方法である。

2.1.1. 湿熱滅菌法

湿熱滅菌法には、一般的に広く用いられる飽和蒸気滅菌とその他の湿熱滅菌とがある。湿熱滅菌における管理項目、ユーティリティ及び制御装置を、参考として表1に示した。

飽和蒸気滅菌は、加圧飽和水蒸気中で微生物を殺滅する方法をいう。本法の重要パラメーターとしては、温度、圧力及び所定の温度における保持時間がある。したがって、通常の滅菌工程管理においては、温度、圧力及び保持時間を常時測定、監視すべきであり、そのための測定装置は滅菌設備の仕様として含まれていること。

また、その他の湿熱滅菌には、密封容器中の被滅菌物を滅菌する場合に用いる蒸気加圧運転サイクル、水散布サイクル、水浸漬サイクルなどがある。これらの方法の重要パラメーターとしては、容器内の温度、所定の温度における保持時間がある。

2.1.2. 乾熱滅菌法

乾熱滅菌法は、加熱乾燥空気中で微生物を殺滅する方法である。通例、バッチ式乾熱滅菌器又は連続式乾熱滅菌装置を用いる。いずれの場合においても滅菌装置に流入する空気の清浄度に留意する必要がある。乾熱滅菌における管理項目、ユーティリティ及び制御装置を、参考として表2に示した。本法はガラス製、磁製、金属製など耐熱性の高い材質のものや鉱油、脂肪油、固形の医薬品などで熱に安定なものが被滅菌物として適している。

本法の重要パラメーターとしては、温度及び所定の温度における保持時間(ベルト速度)がある。同じ加熱による滅菌でも、湿熱滅菌法より高い温度又は長い保持時間が必要となる。通常の滅菌工程管理においては、温度及び保持時間を常時測定、監

表1 湿熱滅菌における管理項目、ユーティリティ及び制御装置(参考)

	飽和蒸気滅菌	その他の湿熱滅菌
管理項目	・熱履歴(通例F_0値で表記) ・温度(必要に応じてドレインなど) ・圧力(滅菌器内) ・所定の温度における保持時間 ・被滅菌物の載荷形態 ・蒸気品質(過熱度、乾燥度、非凝縮性ガス濃度、必要に応じて化学的純度) ・滅菌器の中に復圧などのため導入する空気の品質 ・冷却のために用いる水の品質 ・その他必要な事項	・熱履歴(通例F_0値で表記) ・温度(必要に応じてドレインなど) ・必要に応じて圧力(滅菌器内) ・所定の温度における保持時間 ・被滅菌物の載荷形態 ・滅菌器の中に復圧などのため導入する空気の品質 ・冷却のために用いる水の品質 ・その他必要な事項
管理すべきユーティリティ及び制御装置	・蒸気 ・滅菌器の中に復圧などのため導入する空気 ・冷却のために用いる水 ・温度制御装置 ・圧力制御装置 ・時間制御装置 ・その他	・蒸気 ・熱水 ・滅菌器の中に復圧などのため導入する空気 ・冷却のために用いる水 ・温度制御装置 ・圧力制御装置 ・時間制御装置 ・連続式滅菌装置の場合の搬送装置 ・その他

表2 乾熱滅菌における管理項目、ユーティリティ及び制御装置(参考)

	バッチ式乾熱滅菌	連続式乾熱滅菌
管理項目	・熱履歴(通例F_0値で表記) ・温度 ・所定の温度における保持時間 ・器内外の差圧 ・被滅菌物の載荷形態 ・空気(加熱用、冷却用)の品質 ・その他必要事項	・熱履歴(通例F_0値で表記) ・温度 ・ベルト速度(保持時間) ・装置内外の差圧 ・載荷密度 ・空気(加熱用、冷却用)の品質 ・その他必要事項
管理すべきユーティリティ及び制御装置	・空気(加熱用、冷却用) ・温度制御装置 ・時間制御装置 ・器内の差圧計 ・HEPAフィルター ・その他	・空気(加熱用、冷却用) ・温度制御装置 ・時間制御装置 ・装置内の差圧計 ・HEPAフィルター ・冷却装置(必要な場合) ・その他

視すべきであり、そのための測定装置は滅菌設備の仕様として含まれていること。

2.1.3. 高周波滅菌法

高周波(マイクロ波)を薬液などの被滅菌物に照射すると、吸収された高周波により、被滅菌物の極性分子が配向を変えようと振動し、分子同士の摩擦によりエネルギーを発生する。このとき生じる熱(マイクロ波加熱)によって微生物を殺滅する方法を高周波滅菌法という。高周波は、通例、2450±50 MHzのものをを用いる。

高周波滅菌装置は、マグネトロンを用いて高周波照射を行い加熱する加熱照射部、赤外線ヒーターなどを用いて滅菌温度を

保持するための保持部、被滅菌物を冷却する冷却部から構成され、常圧下で被滅菌物を連続的に滅菌する装置である。高周波滅菌における管理項目、ユーティリティ及び制御装置を、参考として表3に示した。

本法は、密封容器等に充填された液状製品又は水分含量の多い製品に適用される。

本法の重要パラメーターとしては、被滅菌物の温度、処理時間がある。したがって、通常の滅菌工程管理においては、被滅菌物の温度、処理時間を常時測定、監視すべきであり、そのための測定装置は滅菌設備の仕様として含まれていること。

高周波による加熱は、熱効率及び応答性に優れ、高温短時間滅菌を連続処理できることが特徴である。ただし、被滅菌物の熱の伝わりやすさによって均一な加熱が難しい場合もある。さらに常圧環境下での加熱のため、内圧が高くなることから、使用する容器の耐圧性に注意する必要がある。

2.2. ガス法

ガス法は、滅菌ガスが微生物と接触することによって、微生物を殺滅する方法である。加熱法と比較して低い温度での滅菌が可能で、一般に被滅菌物の熱損傷が少ない方法である。そのため、熱抵抗性の低いプラスチック製容器などに適用される事例が多い。

一般的なガスを用いた滅菌法では、汚れや水分が滅菌効果を阻害するため、十分な洗浄、乾燥が重要となる。また、ガスが被滅菌物に吸着される場合では、滅菌効果が減少する。

2.2.1. 酸化エチレン(E0)ガス滅菌法

EOガス滅菌は、微生物が持つタンパク質、核酸を変性させることにより、微生物を殺滅する方法である。EOガスは、爆発性があるため、通例、二酸化炭素などで10～30%に希釈して用いる。EOガスは、反応性の強いアルキル化剤であるので、EOガスと反応する製品又はEOガスを吸収しやすい製品の滅菌には適用できない。

滅菌工程はプレコンディショニング、滅菌サイクル及びエアレーションからなる。EOガスは、変異原性などの毒性があるので、被滅菌物については、エアレーションにより残留EOガスや他の二次生成有毒ガス(エチレンクロロヒドリンなど)の濃度を安全レベル以下に下げることがある。ガスは、法規制に適合する処理を施して排気する。EOガス滅菌における管理項目、ユーティリティ及び制御装置を、参考として表4に示した。

本法の重要パラメーターとしては、温度、湿度、ガス濃度(圧力)及び時間がある。したがって、通常の滅菌工程管理においては、温度、湿度、ガス濃度(圧力)、及び時間を常時測定、監視すべきであり、そのための測定装置は滅菌設備の仕様として含まれていること。

2.2.2. 過酸化水素による滅菌法

過酸化水素による滅菌には、過酸化水素が持つ酸化力により微生物を殺滅する過酸化水素滅菌と、過酸化水素をプラズマ状態にすることにより発生するラジカルによる酸化反応によって微生物を殺滅する過酸化水素低温ガスプラズマ滅菌とがある。加熱法と比較して低い温度での滅菌が可能であるが、セルローズを材料として用いた使い捨ての作業衣、メンブランフィルターなど過酸化水素を吸着するような被滅菌物では、滅菌効果が減少するため、このような被滅菌物の滅菌法としては適していない。過酸化水素滅菌における管理項目、ユーティリティ及び制御装置を、参考として表5に示した。

表3 高周波滅菌における管理項目、ユーティリティ及び制御装置(参考)

管理項目	・熱履歴(通例R値で表記) ・温度 ・処理時間 ・被滅菌物の形状 ・その他必要事項
管理すべきユーティリティ及び制御装置	・高周波制御装置 ・外部加熱装置(必要な場合) ・冷却装置(必要な場合) ・温度監視装置 ・時間監視装置 ・その他

表4 E0ガス滅菌における管理項目、ユーティリティ及び制御装置(参考)

管理項目	・滅菌ガス導入による圧力上昇、導入時間、最終圧力 ・温度(滅菌器内及び被滅菌物) ・湿度 ・EOガス濃度(滅菌器内ガス濃度の直接分析が望ましいが、困難な場合は以下の場合も許容される) i) 使用するガスの質量 ii) 使用するガスの容積 iii) 初期滅菌度とガス投入圧からの換算式採用 ・作用時間(暴露時間) ・被滅菌物の載荷形態 ・バイオロジカルインジケータの設置点及び培養結果 ・プレコンディショニング条件(温度、湿度、時間、その他) ・エアレーション条件(温度、時間、その他) ・その他必要事項
管理すべきユーティリティ及び制御装置	・EOガス ・注入する蒸気又は水 ・滅菌終了後、置換する空気 ・温度制御装置 ・湿度制御装置 ・圧力制御装置 ・時間制御装置 ・その他

表5 過酸化水素による滅菌における管理項目、ユーティリティ及び制御装置(参考)

	過酸化水素滅菌	過酸化水素低温ガスプラズマ滅菌
管理項目	・濃度(滅菌器内濃度の直接分析が望ましいが、困難な場合庫内均一性も許容される) ・時間 ・温度 ・湿度 ・圧力 ・過酸化水素の品質 ・過酸化水素の消費量 ・被滅菌物の残存水分 ・被滅菌物の載荷形態 ・バイオロジカルインジケータの設置点及び培養結果 ・ケミカルインジケータの設置点及び結果 ・その他必要事項	・濃度(滅菌器内濃度の直接分析が望ましいが、困難な場合庫内均一性も許容される) ・時間 ・温度 ・湿度 ・圧力 ・過酸化水素の品質 ・過酸化水素の消費量 ・被滅菌物の残存水分 ・被滅菌物の載荷形態 ・バイオロジカルインジケータの設置点及び培養結果 ・ケミカルインジケータの設置点及び結果 ・その他必要事項
管理すべきユーティリティ及び制御装置	・過酸化水素 ・圧力計 ・過酸化水素注入装置 ・その他	・過酸化水素 ・圧力計 ・過酸化水素注入装置 ・高周波発生装置 ・その他

本法の重要パラメーターとしては、濃度、時間、温度がある。プラズマ状態にして滅菌する場合は、高周波装置の管理も重要である。被滅菌物の残存水分、滅菌環境中の湿度が滅菌効果に影響するので、必要な場合は管理すること。

2.3. 放射線法

2.3.1. 放射線滅菌法

放射線滅菌法には、 ^{60}Co を線源とした γ 線を被滅菌物に照射することで微生物を殺滅する γ 線照射滅菌と、電子線加速器から放出される電子線を照射することで微生物を殺滅する電子線照射滅菌とがある。滅菌方法の選択に当たっては、被滅菌物の品質劣化を含む適合性を事前に確認しておくこと。

γ 線照射滅菌では γ 線が二次的に発生する電子で微生物を殺滅し、電子線照射滅菌では電子が直接微生物を殺滅する。このような電子による直接作用がある一方で、 γ 線及び電子線がそれぞれ水分子と反応してラジカルなどを生成し、微生物のDNAに損傷を与えることによって殺滅する間接作用がある。

両法とも室温で滅菌が可能であるため、熱に不安定な物質適用でき、放射線が透過するためこん包状態での滅菌も可能である。 γ 線照射滅菌は、電子線に比べると透過力が高いため、主に金属、水、粉末などを含む高密度製品に適している。電子線照射滅菌は、 γ 線に比べて単位時間当たりの放射線の量(線量率)が高いため、処理時間が短くなる。放射線滅菌における管理項目、ユーティリティ及び制御装置を、参考として表6に示した。

2.4. ろ過法

ろ過法は、滅菌用フィルターによって液体又は気体中の微生物を物理的に除去する方法である。したがって、熱、放射線に対して不安定な被滅菌物にも適用できる。なお、ここに記載したろ過による被滅菌物は、 $0.2\ \mu\text{m}$ メンブランフィルターで除去できる微生物であり、細菌の中でもマイコプラズマやレプトスピラ、またウイルスは対象としない。ろ過法における管理項目、ユーティリティ及び制御装置を、参考として表7に示した。

液体ろ過滅菌では、ろ過時間、ろ過量、ろ過流速、ろ過差圧、温度などがフィルターの微生物除去に影響を及ぼす重要パラメーターとして挙げられる。気体ろ過滅菌では、ろ過差圧、温度などが影響を及ぼす重要パラメーターとして挙げられる。フィルターの微生物除去では、滅菌の対象が液体の場合には、ろ過を行う液体の物理化学的性質(粘度、pH、界面活性作用など)に影響される。一般に、適切な条件下で培養された指標菌 *Brevundimonas diminuta* (ATCC 19146, NBRC 14213)又はこれより小さな適切な菌を用いて、フィルターの有効ろ過単位面積(cm^2)当たり 10^7 CFU以上をチャレンジし、フィルターの二次側に無菌のろ液が得られることにより、滅菌用フィルターの微生物捕捉性能は検証される。

なお、ろ過前の液体中のバイオバーデンは、ろ過滅菌性能に影響を及ぼすため、その管理について考慮する。

3. 滅菌指標体(インジケーター)

3.1. バイオロジカルインジケーター(BI)

3.1.1. 概要

BIとは、ある滅菌法に対して強い抵抗性を示す微生物の芽胞を用いて作られた指標体であり、当該滅菌法の滅菌条件の決定及び滅菌工程の管理に使用される。

指標体は、その形状から、「ペーパーストリップタイプ」、「金属などの表面に接種するタイプ」、「液体タイプ」及び

表6 放射線滅菌における管理項目、ユーティリティ及び制御装置(参考)

	γ 線照射滅菌	電子線照射滅菌
管理項目	・吸収線量 ・被滅菌物の載荷形態(密度) ・照射時間(コンベア速度又はサイクルタイム) ・その他必要な事項	・吸収線量 ・被滅菌物の載荷形態(密度) ・電子ビーム特性(平均電子ビーム電流、電子エネルギー、走査幅) ・その他必要な事項
管理するべきユーティリティ及び制御装置	・ベルトコンベア ・線量測定システム ・その他	・電子ビーム測定装置 ・ベルトコンベア ・線量測定システム ・その他

表7 ろ過法における管理項目、ユーティリティ及び制御装置(参考)

	液体ろ過滅菌	気体ろ過滅菌
管理項目	・ろ過時間 ・ろ過量 ・ろ過流速 ・ろ過差圧 ・温度 ・フィルターの完全性 ・多回使用の場合は、使用期間及びフィルターの滅菌回数 ・その他必要な事項	・ろ過差圧 ・必要に応じて温度 ・フィルターの完全性 ・使用期間 ・フィルターの滅菌回数 ・気体流れ方向(双方向に流す場合) ・その他必要な事項
管理するべきユーティリティ及び制御装置	・圧力計 ・流量計 ・完全性試験装置 ・その他	・圧力計 ・流量計 ・完全性試験装置 ・その他

「培地とペーパーストリップがあらかじめ封入された培地一体タイプ」などに分類される。また、担体から分類すると、ろ紙、ガラス、ステンレス又はプラスチックなどを担体として、指標菌の芽胞を接種して包装したものと、製品又は類似品を担体として指標菌の芽胞を接種したものがある。代表的な滅菌法別指標菌の例を表8に示した。

3.1.2. 市販BIの表示事項

ISO 11138-1に従って製造された市販BIの使用者は、BI製造者より使用者に対して提供された次のような情報を確認すること。

- ・製造トレーサビリティ(微生物、単体、包装材料など)
- ・菌種名
- ・公称菌数
- ・抵抗性
- ・使用方法
- ・保管条件(温度、使用期間など)
- ・培養条件(温度、期間、培地など)
- ・廃棄方法

BIの性能を決める項目としては、「菌種」、「抵抗性」、「菌数」などがある。抵抗性は、同じ菌種であっても担体又は包装材料の材質若しくは形状によっても変動するため、包装材料を含めた評価が必要である。

3.1.3. 市販BI使用時の管理

BIを使用する場合には、BI製造者が提示した保管条件、滅菌後から培養開始までの期間、培養条件、廃棄方法などに従い

表8 代表的な滅菌法別指標菌一覧

滅菌法	菌種	株名	D値等(参考)
湿熱滅菌法	<i>Geobacillus stearothermophilus</i>	ATCC 7953, NBRC 13737	1.5分間以上(121℃)
乾熱滅菌法	<i>Bacillus atrophaeus</i>	ATCC 9372, NBRC 13721	2.5分間以上(160℃)
EOガス滅菌法	<i>Bacillus atrophaeus</i>	ATCC 9372, NBRC 13721	2.5分間以上(54℃) 12.5分間以上(30℃) ガス濃度600±30 mg/L, 相対湿度60%RH
過酸化水素滅菌法	<i>Geobacillus stearothermophilus</i>	ATCC 12980, NBRC 12550 又は ATCC 7953, NBRC 13737	—

取り扱うこと。特に、保管条件はBIの性能に影響を及ぼすおそれがあるため、取り出してから使用するまでの期間についても長時間放置しないなどの留意をする必要がある。

BIは、被滅菌物全体を評価できるように設置する。また、加熱による滅菌におけるコールドスポットのような、それぞれの方法において、滅菌効果が低いと予測される場所にも設置する。回収する場合は、BIの包装材料や担体を破壊しないように留意する。また、包装材料を破壊してしまった場合は、指標菌が放出・拡散する可能性があるため、微生物汚染防止の観点から、手順をあらかじめ定めておくこと。

BIを購入して使用する場合、使用者は、必要に応じて受入時に芽胞菌数などの測定を行い、BI製造者の公称菌数との間に大きな差がないことを確認すること。

3.1.4. 使用者による滅菌指標体作製時の注意

購入したBIを使用せず、製造環境や被滅菌物から回収したバイオバーデンを利用して指標体を自作する場合は、使用前に少なくとも次のような事項を評価すること。

- ・菌種名
- ・菌数
- ・抵抗性(当該滅菌温度又は滅菌ガス濃度におけるD値)
- ・保管条件(温度、使用期間など)
- ・培養条件(温度、期間、培地など)

なお、抵抗性についてはバイオバーデン中の最大の抵抗性菌であることを継続的に示すための評価プログラムを定めること。

3.1.5. 市販BIの使用者による改変時の注意

購入したBIを包装から取り出し、薬液や資材などの被滅菌物に接種して使用する場合は、菌数や抵抗性が変動するため、使用前にこれらの性能を評価すること。

評価を行う場合は、ISO 11138シリーズや米国薬局方〈55〉を参照することができる。抵抗性の評価には、生物指標抵抗性評価装置(BIER)又はオイルパスを用いたキャピラリー法がある。自社にて評価することが困難な場合は、外部試験検査機関を利用することもできる。

3.2. ケミカルインジケーター(CI)

CIとは、熱、ガス、又は放射線などの作用により化学的又は物理的に変化する指標体である。指標体の形状としては、それを塗布又は印刷した紙片などがある。滅菌方法に応じて変化する原理は異なるため、使用する滅菌方法に合ったCIを選ぶ必要がある。CIは、使用用途に基づいて以下の6クラスに分類される。ここに示すクラスは性能の優劣に関与するものではない。

なお、CIは滅菌工程の一つ又は複数の重要パラメーターの達成を示す指標であるが、滅菌効果や無菌性の保証に用いる指標ではないため、BIの代わりとして用いることはできない。

クラス1: プロセス・インジケーター

被滅菌物が滅菌工程を経たかどうかを区別することを目的とする。重要パラメーターの一つ又はそれ以上に反応する。

クラス2: 特定試験用インジケーター

ISO 11140シリーズで規定される、真空型高圧蒸気滅菌装置の排気能力及び蒸気浸透の試験で使用される。Bowie-Dickタイプが該当する。

クラス3: 単一変数インジケーター

重要パラメーターの一つのみに反応する。指定されたパラメーターの規定値で、滅菌工程に暴露されたことを示す。

クラス4: 複数変数インジケーター

重要パラメーターの二つ又はそれ以上に反応する。指定されたパラメーターの規定値で、滅菌工程に暴露されたことを示す。

クラス5: インテグレーション・インジケーター

全ての重要パラメーターに反応する。ISO 11138シリーズに規定されているBIの性能要求と同等又はそれ以上の規定値を持つ。

クラス6: エミュレーション・インジケーター

規定された滅菌サイクルの全ての重要パラメーターに反応する。規定値は、指定した滅菌工程の重要パラメーターである。

3.3. 線量計

3.3.1. 線量計の種類

放射線照射プロセスにおける線量計とは、放射線を吸収することによる変化から吸収線量を読み取る計器又はシステムであり、「再現性」と「放射線の測定が可能な応答性」を持つことが要求される。線量計の多くは、使用する照射施設における照射前後及び照射中の温度並びに線量率などの環境条件(工程パラメーター)によって影響を受ける場合があるため注意を要する。線量計の選定や使用については、放射線照射プロセスに対する線量計システムの選定及び校正指針(ISO/ASTM 51261)が規定されている。放射線の吸収線量を測定する線量計を表9に示した。なお、γ線用線量計は、通例、エネルギー3 MeV未満の電子線を用いる滅菌の工程管理には適さない。

3.3.2. 線量計使用方法

線量計は、放射線の照射条件を決定するために実施する線量分布測定時に、また、通常の放射線滅菌における被滅菌物の吸

表9 線量計の種類

放射線種類	線量計
γ線	着色ポリメチルメタクリレート線量計
	透明ポリメチルメタクリレート線量計
	セリックスラス線量計
	アラニン線量計
γ線, 電子線	セルロースアセテート線量計
	ラジオクロミックフィルム線量計

収線量を評価するために使用する。前者では、あらかじめ被滅菌物内部に線量計を配置し、放射線照射後に回収して、測定システムで計測することにより、各部位の吸収線量を明確にする。このとき、放射線の透過性や線量のばらつきからこん包形態の妥当性を確認すると共に、最小及び最大線量と工程パラメーターとの関係を決定する必要があるため、線量計を垂直方向、水平方向の広い範囲に配置する。後者では、線量計を必ずしも被滅菌物内部の最小や最大線量部位に設置する必要はない。線量計の設置／回収が容易な管理点を選定し、管理点での吸収線量を基に被滅菌物の吸収線量を保証する。そのために線量分布測定において、この管理点と被滅菌物内の最大／最小線量部位との量的な関係を明確にすると共に、管理点における合格線量範囲も算出しておくこと。

なお、線量計は、新しく購入して使用する前に校正を行うほか、線量計のパッチ切り替え時、及び1年を超えないごとに1回、校正する。

4. 滅菌条件設計法

4.1. ハーフサイクル法

ハーフサイクル法は、被滅菌物上に存在するバイオバーデン数や検出菌の当該滅菌法に対する抵抗性とは関係なく、BIに含まれる 10^6 CFUの指標菌の全てが死滅する処理時間の2倍の滅菌時間を採用する方法である。本法は、主にEOなどガス滅菌法の滅菌条件の設定に使用される。

4.2. オーバーキル法

オーバーキル法は、被滅菌物上のバイオバーデン数や検出菌の当該滅菌法に対する抵抗性とは関係なく、 10^{-6} 以下のSALが得られる条件で滅菌を行う方法である。

蒸気滅菌の場合は $12D$ の滅菌条件をいう。ただし、 F_0 値12以上での滅菌条件もオーバーキル法と称している。

4.3. バイオバーデン／BI併用法

バイオバーデン／BI併用法は、広範なバイオバーデン調査結果から最大バイオバーデン数を決定し、目標とするSALを基に、最大バイオバーデン数以上の試験菌数を有する適当な市販BIを用いて滅菌時間(又は滅菌線量)を算出する方法である。

本法を用いる場合は、被滅菌物のバイオバーデン数を日常的に調査し、検出菌の当該滅菌法に対する抵抗性測定も定期的実施する必要がある。

バイオバーデン調査において、BIの指標菌より抵抗性の強い菌が検出された場合には、それを用いて指標菌とする。また、必要に応じて滅菌条件の見直しを行う。

滅菌時間(又は滅菌線量) $=D \times \log(N_0/N)$

D : BIの D 値

N : 目的とする無菌性保証水準(SAL)

N_0 : 被滅菌物の最大バイオバーデン数

4.4. 絶対バイオバーデン法

絶対バイオバーデン法は、被滅菌物や製造環境から検出された菌について、当該滅菌法に対する抵抗性調査を行い、湿熱滅菌法の場合には、その中から最も抵抗性の強い菌を選び、その D 値を用い、被滅菌物のバイオバーデン数を基に滅菌条件を設定する方法である。

バイオバーデン数は、広範なバイオバーデン調査によって決定する。本法を用いる場合は、日常のバイオバーデン管理において、菌数計測及び検出菌の当該滅菌法に対する抵抗性測定を日常的に行う必要がある。

放射線滅菌法の場合は、ISO 11137-2の方法により実施する。

5. 参考資料

- ISO 11138-1: 2006, Sterilization of health care products- Biological indicators-Part1: General requirements.
- ISO 11137-2: 2013, Sterilization of health care products- Radiation-Part2: Establishing the sterilization dose.
- ISO/ASTM 51261: 2013, Practice for calibration of routine dosimetry systems for radiation processing.
- ISO 11140-1: 2014, Sterilization of health care products- Chemical indicators-Part1: General requirements.
- US Pharmacopeia 38 (2015), <55> Biological Indicators- Resistance Performance Tests.

G5. 生薬関連

日本薬局方収載生薬の学名表記について〈G5-1-180〉

日本薬局方収載生薬の基原植物及び基原動物の学名表記法は、論文等で使用される分類学的に用いられる学名表記と若干異なっている。これは、主に局方が学術書ではなく法令であるために生じる問題である。局方での学名の表記と、分類学的に通常使用される学名表記との不一致について、局方利用者の誤解を避ける目的で、本表に、局方で表記した学名と分類学的に通常使用される学名表記との関係を示す。

日本薬局方の学名表記と分類学的に用いられる学名表記

生薬名	日本薬局方の学名表記 ＝分類学的に用いられている学名表記 日本薬局方の学名表記とは異なるが分類学的に同一あるいは同一とみなされることがあるもの及び収載種に含まれる代表的な下位分類群。*印のあるものは、日本薬局方で併記されているもの。	科名
アカメガシワ	アカメガシワ <i>Mallotus japonicus</i> Müller Argoviensis ＝ <i>Mallotus japonicus</i> (Thunb.) Müll. Arg.	<i>Euphorbiaceae</i> トウダイグサ科
アセンヤク	<i>Uncaria gambir</i> Roxburgh ＝ <i>Uncaria gambir</i> (Hunter) Roxb.	<i>Rubiaceae</i> アカネ科
アヘン末	ケシ <i>Papaver somniferum</i> Linné ＝ <i>Papaver somniferum</i> L.	<i>Papaveraceae</i> ケシ科
アマチャ	アマチャ <i>Hydrangea macrophylla</i> Seringe var. <i>thunbergii</i> Makino ＝ <i>Hydrangea macrophylla</i> (Thunb.) Ser. var. <i>thunbergii</i> (Siebold) Makino	<i>Saxifragaceae</i> ユキノシタ科
アラビアゴム	<i>Acacia senegal</i> Willdenow ＝ <i>Acacia senegal</i> (L.) Willd. その他同属植物	<i>Leguminosae</i> マメ科
アロエ	<i>Aloe ferox</i> Miller ＝ <i>Aloe ferox</i> Mill. <i>Aloe ferox</i> Miller と <i>Aloe africana</i> Miller との種間雑種 <i>Aloe africana</i> Miller ＝ <i>Aloe africana</i> Mill. <i>Aloe ferox</i> Miller と <i>Aloe spicata</i> Baker との種間雑種	<i>Liliaceae</i> ユリ科
アンソッコウ	<i>Styrax benzoin</i> Dryander ＝ <i>Styrax benzoin</i> Dryand. その他同属植物	<i>Styracaceae</i> エゴノキ科
イレイセン	<i>Clematis mandshurica</i> Ruprecht ＝ <i>Clematis mandshurica</i> Rupr. サキシマボタンヅル <i>Clematis chinensis</i> Osbeck <i>Clematis hexapetala</i> Pallas ＝ <i>Clematis hexapetala</i> Pall.	<i>Ranunculaceae</i> キンポウゲ科
インチンコウ	カワラヨモギ <i>Artemisia capillaris</i> Thunberg ＝ <i>Artemisia capillaris</i> Thunb.	<i>Compositae</i> キク科
インヨウカク	キバナイカリソウ <i>Epimedium koreanum</i> Nakai イカリソウ <i>Epimedium grandiflorum</i> Morren var. <i>thunbergianum</i> Nakai ＝ <i>Epimedium grandiflorum</i> Morr. var. <i>thunbergianum</i> (Miq.) Nakai <i>Epimedium pubescens</i> Maximowicz ＝ <i>Epimedium pubescens</i> Maxim. <i>Epimedium brevicornu</i> Maximowicz ＝ <i>Epimedium brevicornu</i> Maxim. <i>Epimedium wushanense</i> T. S. Ying ホザキイカリソウ <i>Epimedium sagittatum</i> Maximowicz ＝ <i>Epimedium sagittatum</i> (Siebold & Zucc.) Maxim. トキワイカリソウ <i>Epimedium sempervirens</i> Nakai	<i>Berberidaceae</i> メギ科
ウイキョウ	ウイキョウ <i>Foeniculum vulgare</i> Miller ＝ <i>Foeniculum vulgare</i> Mill.	<i>Umbelliferae</i> セリ科
ウイキョウ油	ウイキョウ <i>Foeniculum vulgare</i> Miller ＝ <i>Foeniculum vulgare</i> Mill. <i>Illicium verum</i> Hooker filius ＝ <i>Illicium verum</i> Hook. f.	<i>Umbelliferae</i> セリ科 <i>Illiciaceae</i> シキミ科
ウコン	ウコン <i>Curcuma longa</i> Linné ＝ <i>Curcuma longa</i> L.	<i>Zingiberaceae</i> ショウガ科
ウヤク	デンダイウヤク <i>Lindera strychnifolia</i> Fernandez-Villar ＝ <i>Lindera strychnifolia</i> (Siebold & Zucc.) Fern.-Vill. <i>Lindera aggregata</i> (Sims) Kosterm.	<i>Lauraceae</i> クスノキ科
ウワウルシ	クマコケモモ <i>Arctostaphylos uva-ursi</i> Sprengel ＝ <i>Arctostaphylos uva-ursi</i> (L.) Spreng.	<i>Ericaceae</i> ツツジ科
エイジツ	ノイバラ <i>Rosa multiflora</i> Thunberg ＝ <i>Rosa multiflora</i> Thunb.	<i>Rosaceae</i> バラ科
エンゴサク	<i>Corydalis turtschaninovii</i> Besser forma <i>yanhusuo</i> Y. H. Chou et C. C. Hsu ＝ <i>Corydalis turtschaninovii</i> Besser f. <i>yanhusuo</i> (W. T. Wang) Y. H. Chou & C. C. Hsu <i>Corydalis yanhusuo</i> W. T. Wang	<i>Papaveraceae</i> ケシ科
オウギ	<i>Astragalus mongholicus</i> Bunge <i>Astragalus membranaceus</i> (Fisch.) Bunge var. <i>mongholicus</i> (Bunge) Hsiao キバナオウギ <i>Astragalus membranaceus</i> Bunge ＝ <i>Astragalus membranaceus</i> (Fisch.) Bunge	<i>Leguminosae</i> マメ科

第十八改正 日本薬局方

定価 本体 30,000 円 (税別)

2021 年 7 月 15 日 発 行

編 集 一般財団法人 医薬品医療機器レギュトリーサイエンス財団

発行人 武田 信

発行所 株式会社 じ ぼ う

101-8421 東京都千代田区神田猿楽町 1-5-15 (猿楽町 SS ビル)

電話 編集 03-3233-6361 販売 03-3233-6333

振替 00190-0-900481

<大阪支局>

541-0044 大阪市中央区伏見町 2-1-1 (三井住友銀行高麗橋ビル)

電話 06-6231-7061

©2021

組版・印刷 大日本印刷(株)

Printed in Japan

本書の複写にかかる複製，上映，譲渡，公衆送信（送信可能化を含む）の各権利は株式会社じぼうが管理の委託を受けています。

 <出版者著作権管理機構 委託出版物>

本書の無断複製は著作権法上での例外を除き禁じられています。

複製される場合は，そのつど事前に，出版者著作権管理機構（電話 03-5244-5088，FAX 03-5244-5089，e-mail：info@jcopy.or.jp）の許諾を得てください。

万一落丁，乱丁の場合は，お取替えいたします。

ISBN 978-4-8407-5359-3