



EUROPEAN MEDICINES AGENCY
SCIENCE MEDICINES HEALTH

1 August 2017

EMA/INS/GMP/443117/2017

GMP/GDP Inspectors Working Group

Questions and answers on production of water for injections
by non-distillation methods
– reverse osmosis and biofilms and control strategies
Final

非蒸留法による注射用水の製造に係るQ&A
逆浸透とバイオフィルム、及び管理戦略

http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Other/2017/08/WC500232814.pdf

(2017.08.01 アクセス)

Adopted by GMP/GDP IWG	May 2016
Start of public consultation	5 August 2016
End of consultation (deadline for comments)	4 November 2016

This set of questions and answers is intended to provide preliminary guidance until such time the on-going revision of Annex I of the GMP guide is complete.

このQ&Aのセットは、GMP guideの現在行われているAnnex Iの改定が完了するまでの、準備的なガイダンスを提供することを目的としている。

Keywords :	Water for Injections, reverse osmosis, Biofilms, Control strategies 注射用水、逆浸透圧、バイオフィルム、管理戦略
------------	---

邦訳者による参考：ISPEが2011年に報告した非蒸留法のアンケート調査結果が報告されている。

http://www.ispe.org/pe_nd11/bevilacqua.pdf (2017.08.01 アクセス)

目 次

Introduction (はじめに)	4
PART I PRODUCTION OF WFI BY NON-DISTILLATION METHODS – REVERSE OSMOSIS COUPLED WITH OTHER SUITABLE TECHNIQUES	
非蒸留法による WFI の製造 – 他の適切な方法と組み合わせた逆浸透	6
1. The monograph requires that notice is given to the supervisory authority of the manufacturer before implementation. Who is the supervisory authority? (訳注：欧州薬局方の) WFI の各条は、(訳注：非蒸留法の実施) を行う前に、製薬業者が所管当局に通知をすることを要求している。その所管当局とは、どの組織を指すのか?	6
2. What are the main concerns around the use of reverse osmosis to manufacture WFI? WFI を製造するための逆浸透の使用に係わる最大の懸念とは何か?	7
3. What are the main elements that should be considered in the design of such a system? システムの設計で考慮すべき重要な要素はどの様なものか?	8
4. What approach should be considered for the qualification of such a system? WFI 製造システムの適格性評価には、どの様なアプローチを考えるべきか?	17
5. What type of sampling regime should be employed during qualification and during operation? 適格性評価中、および日常的運転中に、どのようなタイプのサンプリング体制を用いるべきか?	18
6. What testing should be employed during initial qualification and routine operation sampling? 初期の適格性評価と日常的運転のサンプリング中に、どの様な試験を行うべきか?	20
7. What are the expectations for preventative maintenance on RO systems used for the production of WFI? WFI の製造に使用する RO システムの予防的保全についての期待はどの様なものか?	21

Part II Biofilms and control strategies (バイオフィルムと管理戦略)	23
1. What is a biofilm? (バイオフィルムとは何か?)	24
2. What approach should be taken to maintain control over systems which can be affected by biofilms? システム全体にわたって、バイオフィルムに影響を与えられるような制御を維持するためには、どの様なアプローチをとるべきか?	28
3. What is a control strategy in the context of biofilm and contamination control? バイオフィルムと汚染制御の関連付における管理戦略とは、どの様なものか?	29
4. If a biofilm exists what steps can be taken to eradicate or remove it? もしバイオフィルムが存在しているのであれば、それを絶滅させたり、取り除いたりすめに、どの様なステップを取るべきか?	32
5. What specific agents can be used as part of a control strategy? 管理戦略の一環として、どのような薬剤が使用できるか?	36
6. Are there any additional measures which should be considered in order to increase the probability of detecting the presence of biofilms? バイオフィルムの存在の検出確率を上げると考えられるような、追加的方策は存在するか?	37

Introduction (はじめに)

Following discussions over the last 2-3 years around the revision of the European Pharmacopoeia (Ph. Eur.) Water for Injections (WFI) monograph (0169), the Water Working Party concluded that there was evidence to support a revision of the monograph, which proposes to take account of current manufacturing practices using methods other than distillation for producing water of injectable quality. 欧州薬局方 (European Pharmacopoeia ; Ph. Eur.) の Water for Injections (WFI) 各条 (0169) の改定についての最近の2～3年間の議論の後に、Water Working Party (製薬用水作業部会) は、当該各条の改定を裏付ける証拠が存在すると結論付けた。その改定は、water of injectable (注射用の水) の品質を製造するために、蒸留法以外の方法を使用するという、最新の製造規範を考慮することを目的としている。

The Ph.Eur. monograph (Monograph 169) was revised to include, in addition to distillation, reverse osmosis (RO) coupled with suitable techniques, for the production of WFI.

この欧州薬局方各条 (各条 169: “Water for Injection (WFI)”) は、WFI の製造に関して、蒸留法に加えて、適切な技術と組み合わせた逆浸透 (reverse osmosis ; RO) を加えるという規則改定が行われた。

WFI monograph 169 states: (WFI の各条 169 は、次のように述べている。 :)

Production (製造)

Water for injections in bulk is obtained from water that complies with the regulations on water intended for human consumption laid down by the competent authority or from purified water. It is produced either by :

Water for injections in bulk (注射用水 (バルク)) は、関係当局が規制をしたヒトが消費する水の規則に適合する水か、あるいは purified water (精製水) から得られる。それは、次のいずれかの方法によって製造される :

- distillation in an apparatus of which the parts in contact with the water are of neutral glass, quartz or a suitable metal and which is fitted with an effective device to prevent the entrainment of droplets;
蒸留の場合には、その装置 (apparatus) が水と接触する部分は、無色のガラス (neutral glass) 、石英 (quartz) あるいは適切な金属からなり、かつ飛沫同伴 (entrainment of droplets) を防ぐための有効な器具を備えた装置であること。
- a purification process that is equivalent to distillation. Reverse osmosis, which may be single-pass or double-pass, coupled with other appropriate techniques such as electro-deionisation, ultrafiltration or nanofiltration, is suitable. Notice is given to the supervisory authority of the manufacturer before implementation.

蒸留と同等である精製プロセスによる場合には、逆浸透 (reverse osmosis) が適切な方法であり、その RO 装置は、電氣的脱イオン (electro-deionisation; 訳注 いわゆる EDI)、限外ろ過 (ultrafiltration; 訳注 いわゆる UF ろ過) あるいはナノろ過 (nanofiltration) と組み合わせた、single-pass (訳注: 一段式) あるいは double-pass (訳注: 直列二段式) が適切なものであろう。(訳注: この方法による場合は) その実施前に、製造業者は当局への通知を行うこと。

For all methods of production, correct operation monitoring and maintenance of the system are essential. In order to ensure the appropriate quality of the water, validated procedures, in-process monitoring of the electrical conductivity, and regular monitoring of total organic carbon and microbial contamination are applied.

(訳注: WFI を) 製造する全ての方法に対して、当該システムの正しい運転のモニタリングと維持は、必須の事項である。その水 (the water: 訳注 WFI を指している。以下同じ) の適正な品質を保証するために、バリデートされた手順、導電率の工程内モニタリング (in-process monitoring of the electrical conductivity)、および「全有機性炭素 (total organic carbon) と微生物汚染の定期的モニタリング」を行う。

The first portion of water obtained when the system begins to function is discarded.

そのシステムが機能を開始し始めた最初の時点で得られた (訳注: WFI の) 水の部分は、廃棄する (訳注: 運転開始直後の初めの部分はブローする)。

Water for injections in bulk is stored and distributed in conditions designed to prevent growth of micro-organisms and to avoid any other contamination.

WFI のバルク水は、微生物の増殖を防ぎ、かつ他の汚染が避けられるように設計された条件の下で貯留し、分配を行う。

The purpose of these Questions and Answers is to provide clarification and guidance in relation to the use of reverse osmosis in the manufacture of Water for Injection (Part I) and also to provide more detailed guidance on the control of Biofilms (Part II).

ここに掲げた Questions and Answers の目的は、次のことを提供するためである。

- Part I : 注射用水の製造における逆浸透の使用に関する事項を明瞭化させると共に、ガイダンスを提供すること。及び
- Part II : Biofilms の制御に関しての、より詳細なガイダンスを提供すること。

————— * * * —————

PART I PRODUCTION OF WFI BY NON-DISTILLATION METHODS – REVERSE OSMOSIS COUPLED WITH OTHER SUITABLE TECHNIQUES

Part I : 非蒸留法によるWFIの製造 – 他の適切な方法と組み合わせた逆浸透

1. The monograph requires that notice is given to the supervisory authority of the manufacturer before implementation. Who is the supervisory authority?

(訳注：欧州薬局方の) **WFI**の各条は、(訳注：非蒸留法の実施を) 行う前に、製薬業者が所管当局に通知をすることを要求している。その所管当局とは、どの組織を指すのか？

For a manufacturing site located in the European Union the supervisory authority is the relevant competent authority responsible for GMP oversight in the Member State concerned.

欧州連合域内に所在する製造所に対しては、その所管当局は、該当するメンバー国の **GMP** 監視に責任を有する関係当局である。

For a manufacturing site located in a third country engaged in the manufacture of medicinal products (produced using WFI) which are exported to the European Union, it is the relevant competent authority responsible for GMP oversight in the Member State of the importer in the European Union. If affected products are exported directly to more than one Member State of the European Union, any one of the respective supervisory authorities should be notified. Notification to EU authorities is without prejudice to any similar obligation the manufacturer might have towards the relevant authorities of the country in which it is located.

欧州連合に輸出する医薬品 (**WFI** を使用して製造した医薬品) の製造に係る第三国に所在する製造所に関しては、欧州連合域内の輸入業者の所属するメンバー国において、**GMP** 監視に責任を有する関係所管当局である。もし (訳注：非蒸留法による **WFI** を使用することで) 影響を受ける製剤が、1ヶ国を超える欧州連合のメンバー国に直接に輸出しているのであれば、その関連する所管当局の何れか一つに通知をすること。製薬業者は、製造所が所在する国の関係当局に向けと同様な (通知) 義務が (訳注：その製造所のある国の規制当局にも通知義務) あるだろうとの先入観を持つことなく、EU 当局への通知を行う。

By analogy for the sole purpose of this guidance, a manufacturing site located in a third country engaged in the manufacture of medicinal products (produced using WFI) which are exported to the European Union and where a Mutual Recognition Agreement, or equivalent agreement exists between the country concerned and the European Union and the affected products are within the operational scope of the agreement, it is the relevant competent authority responsible for GMP oversight in the country concerned.

(訳者注：この段落は文章が複雑で翻訳が出来なかった。とりあえず推測の訳文を挿入する)

このガイダンスの唯一の目的に関する類推により、次の事項の何れかに該当する製造所は、その届け出先が、製造所が関わる当該国の GMP 監視に責任を有する関係規制当局となる。

- ・ 第三国に位置し、WFI を使用して医薬品の製造に従事している
- ・ その医薬品を欧州連合 (European Union) に輸出している
- ・ 相互認証協定 (Mutual Recognition Agreement) あるいはそれと同等の協定が、その国と欧州連合の間に存在する
- ・ その影響を受ける (訳注: WFI を使用する) 医薬品は、上記協定の運営範囲内にある

2. What are the main concerns around the use of reverse osmosis to manufacture WFI?

WFIを製造するための逆浸透の使用に係わる最大の懸念とは何か？

The main concerns around the use of non-distillation methods – reverse osmosis, for the manufacture of WFI relate to the microbiological quality of the water produced as well as the control mechanisms in place to minimise the risks associated with microbiological proliferation and/or by-products (e.g. endotoxins, exotoxins) throughout such a system which may not be easily detected.

WFI の製造に非蒸留法 (逆浸透) を使用することの主たる懸念は、製造した WFI の微生物学的品質に関係する事項である。それらと共に、システムの容易に検出できないであろう箇所に、「微生物学的な増殖」及び/又は「副産物 (例えば、エンドトキシン (endotoxins; 菌体内毒素)、エキソトキシン (exotoxins; 菌体外毒素))」が存在することのリスクを最小とするための管理メカニズムも同じ様に重要である。

RO systems typically operate at ambient temperatures and as such offer an ideal environment for the formation of a biofilm. Biofilms are notoriously difficult to remove, because they protect flora contained within against the action of shear forces and disinfection chemicals. In addition, incompletely removed biofilms lead to a rapid regrowth and proliferation as well as increasing the likelihood of microbiological by-products throughout a system.

RO システムは一般的に環境温度 (ambient temperatures) で運転される。それは、バイオフィームの形成にとって、理想的な環境を提供するものである。バイオフィームは、除去が困難であることで悪名高いものである。というのは、バイオフィーム (*) は、剪断力 (shear forces) や消毒剤 (disinfection chemicals) という作用に対して、その内部に含まれる微生物相 (flora) を保護するからである。更に、不完全な除去を受けたバイオフィームは、(訳注: WFI の) システム内への微生物学的副産物などの増大は勿論のこと、急速な再成長 (regrowth) と増殖 (proliferation) を起こすからである。

* : 訳注 バイオフィームの詳細に関しては、Part II の訳注を参照のこと。

The purification process, ie. reverse osmosis coupled with suitable techniques employed should be

proven to be equivalent or better than distillation.

精製工程、すなわち適切な技術の使用と組み合わせた逆浸透圧は、蒸留と同等以上であることを立証すること。

3. What are the main elements that should be considered in the design of such a system?

システムの設計で考慮すべき重要な要素はどのようなものか？

The system design should be in such a manner as to minimise the risk of microbiological contamination and proliferation. Nanofiltration, electro-deionisation, thermal sanitisation, ozonation, UV treatment and micro-filtration should be considered during the design phase to assure the quality of the water produced thereby protecting the membrane, minimising membrane degradation and aid with minimising the risks associated with microbiological proliferation and biofilm formation.

WFI 製造システムの設計は、微生物の汚染と増殖のリスクを最小とするような方法とすること。ナノろ過 (nanofiltration)、電気的脱イオン (electro-deionisation)、加熱サニティゼーション (thermal sanitisation)、オゾン化 (ozonation)、UV 処理 (UV treatment) および精密ろ過 (micro-filtration) は、設計段階 (design phase) 中に考慮すべきであり、メンブランを保護し、メンブランの劣化を最小化し、そして微生物の増殖とバイオフィーム形成に関わるリスクの最小化を助けることにより、製造する水の品質を保証すべきである。

Control Strategy (管理戦略) :

A robust control strategy should be developed and documented in parallel with the design considerations. The control strategy should take account of the risks involved in the use of non-distillation methods to manufacture WFI, the measures to be taken to address those risks and additionally the various control measures required to be implemented in order to provide adequate assurance of the water quality, or that the specific control measures in place are designed in order to enable identification of any issues which may impact the quality of the water produced.

その設計面での考慮と並行させて、頑健性のある管理戦略を制定し、かつ、文書化すべきである。管理戦略は、以下の事項を考慮すること。 :

- ・ WFI を製造するために非蒸留法を使用することに伴うリスク
- ・ それらのリスクに対処すべき方策、および WFI の品質に関する適切な保証を与えるために実行することが必要となる各種の追加的な管理の方策、あるいは
- ・ 製造した WFI の品質にインパクトを及ぼすかも知れない如何なる事項の特定も可能とするために、設置されている状態 (in place) での管理方策を設計する。

Additionally, the potential for biofilm formation should be appropriately assessed and measures

put in place to minimise the formation of biofilms within a system. See Part II – Biofilm control strategy.

更に、バイオフィーム形成の可能性を適切にアセスメントすること、(訳注: WFIを製造する) システム内のバイオフィームの形成を最小化するための方策を導入すべきである。

Section 2 – Biofilm control strategy を参照のこと。

Materials of construct (WFI 製造装置の構成材質) :

The materials of construction for the generation and distribution systems must not be reactive, additive or absorptive to such an extent that it will adversely affect the quality of water produced. Examples of suitable materials include 316L SS or thermoplastics such as Polyvinylidene Fluoride (PVDF) and Polypropylene (PP).

WFI の製造 (generation) および分配システムの構成材質は、製造した WFI の品質に悪影響を与えるレベルの反応性、添加性 (additive: 訳注 溶出性を指すと思われる)、あるいは吸着性を持つてはならない (must)。適切な材質の事例として、316L SS、あるいは Polyvinylidene Fluoride (PVDF) and Polypropylene (PP) のような thermoplastics (熱可塑性プラスチック) が含まれる。

The distribution and storage systems should be designed as to permit routine thermal sanitisation (pure steam or hot/superheated water) and/or routine chemical sanitisation and in accordance with other good engineering design practice to minimise areas of reduced flow.

分配および貯留システムは、以下の事項を考慮して、設計すること。

- ① 日常的な化学的サニタイゼーション及び/又は、日常的な加熱によるサニタイゼーション (ピュア・スチームまたは加熱/過熱した水 (pure steam or hot/superheated water)) も可能とする。
- ② その他の good engineering design practice に従って、流速が減少する区域を最小とする。

Pre-treatment (前処理) :

Microorganisms entering a RO system encounter a large membrane surface where the dissolved organic nutrients of the water are concentrated. Therefore, the quality of water entering the system is critical.

RO システムに入ってきた微生物は、メンブレンという非常に大きな面積持つ表面に遭遇する。この表面には WFI 中に溶解している有機物が濃縮された形で存在している。それゆえ、その WFI 製造システムに入ってくる水の品質は、非常に重要 (critical) である。

Appropriate pre-treatment is necessary to:

以下に掲げた事項により、適切な前処理が必要である :

- Ensure adequate removal of organic particles, matter and microbiological impurities – Use of oxidizing substances (e.g. ozone) may be considered as they aid with the control of microbial growth and reduce the concentration of organics due to oxidation. Use of oxidizing substances such as Ozone requires compatible materials of construction for the water system.

有機性の粒子 (organic particles)、異物 (matter) 及び微生物学的な不純物 (microbiological impurities: 訳注 死滅した微生物細胞の残屑などか?) の適切な除去を確実なものとする。 — 酸化性物質 (例えばオゾン) の使用を考慮すべきである。というのは、オゾンは、微生物の生長を制御し、酸化によって有機物の濃度を減少させる。オゾンのような酸化性物質の使用は、その (訳注: WFI システム) を構成する材質と適合性を持つことが必要である。

- Control of scaling - typically controlled by use of softening or appropriate technology upstream of membrane.

スケール沈着の制御 — 一般的に、メンブランの上流で、軟水化あるいは適切な技術の使用によって制御する。

- Control of fouling – use of sanitisable depth or media filtration is typically employed and is often the first step in a pre-treatment system

付着物 (汚れ) の制御 — サニタイズすることが可能なデプス型のろ過、あるいはメディアろ過 (media filtration; 訳注 砂ろ過などを指すと思われる) が一般的に使用され、しばしば、それらは前処理段階の最初のステップとなる。

- Removal of microbial control agents – oxidising substances, such as chlorine, can cause degradation of the membranes and its removal is necessary – typically removed during the latter stages of pre-treatment as its antimicrobial properties aid with minimising microbial proliferation throughout the pre-treatment stages.

微生物制御剤 (microbial control agents) の除去 — 塩素のような酸化剤は、それ (訳注: RO メンブランを指すと考えられる) を劣化させる原因となるので、その除去が必要となる。一般的に、これは前処理の最後の段階で除去される。このような酸化剤は、抗菌性をもつために、前処理段階中での微生物の増殖を最小化するための助けとして加えられたものである。

- Residual free chlorine can be reduced by sanitisable activated carbon, chemical reducing agents such as sodium metabisulfite (SMBS) or other suitable technologies.

残留している遊離塩素は、サニタイズ可能な活性炭により減少させることが出来るが、メタ重亜硫酸ナトリウム (sodium metabisulfite ; SMBS) のような化学的な (訳注: 菌数の) 減少剤 (chemical reducing agents) あるいは、他の適当な技術も使用できる。

Residual free chlorine can be detected with oxidant-reduction potential electrodes (ORP). The monitoring of oxidizing agents prior to the RO is recommended. Detection methods include oxidant-reduction potential electrodes (ORP), instruments using electrochemical sensors, and auto-titrators, each having benefits and limitations. Other oxidizing agents such as chlorine dioxide, hydrogen peroxide, ozone, and permanganate are capable of damaging RO membranes also if not used properly.

残留している遊離塩素は、oxidant-reduction potential electrodes (ORP) (*) で検出することが出来る。RO の手前で酸化剤のモニタリングをすることを推奨する。検出方法としては、oxidant-reduction potential electrodes (ORP; 訳注 酸化還元電位用電極)、電気化学的センサーを使用する機器 (instruments using electrochemical sensors)、及び自動滴定機 (auto-titrators) が含まれるが、それぞれは、利点と欠点を有している。二酸化塩素 (chlorine dioxide)、過酸化水素 (hydrogen peroxide)、オゾン (ozone) 及びパーマングネイト (permanganate; 過マンガン酸塩) のようなその他の酸化剤もまた、それを正しく使用しなければ、RO メンブランにダメージ (損傷) を与えてしまう。

* : (訳注) 前後関係からみて「酸化還元電位用電極」の意味と思われるが、一般的には「酸化還元電位」は、“Redox potential”あるいは“Oxidation-reduction Potential; ORP”と表現されるので、原文の単語を挿入した。

Pre-treatment of water is essential in order to minimise the impact to the RO membranes. Techniques such as deionisation, raw water ultrafiltration, electrolytical scale reduction, water softening, descaling, pre filtration and degasification (can be located between the stages of a double pass RO system) should be considered.

RO メンブランへのインパクトを少なくするために、水 (訳注: 原水) の前処理は必須の事項である。脱イオン (deionisation)、原水の限外ろ過 (raw water ultrafiltration)、電気的スケール除去 (electrolytical scale reduction)、軟水化 (water softening)、スケール除去 (descaling)、前ろ過 (pre filtration) 及び脱気 (degasification) (二段式 RO ろ過システムで、2つの RO の間に位置させる) を考慮すること。

The quality of RO feed water should be monitored.

RO への供給水の品質は、モニターすること。

RO Membranes (RO メンブラン) :

RO membranes should be robust enough to permit routine high temperature sanitisation along with routine chemical sanitisation.

RO メンブランは、日常的な化学的なサニティゼーションと共に、日常的な高温度でのサニティゼーションを可能とするだけの、十分な頑健性を持つべきである。

Systems should be in place to test membranes routinely for any potential integrity breaches that

could lead to a significant contamination event, e.g. by in line conductivity monitoring of permeate and monitoring of pressure differential.

システムは、重大な汚染事象を招くかも知れない如何なる可能性ある完全性の破たんに関しても、日常的にメンブランを適切に試験が可能であること。例えば、透過についてのインラインの導電率モニタリングや、差圧のモニタリングなどの方法がある。

Additional techniques to be considered : (考慮すべき追加的事項)

- Coupled with these further techniques post RO membrane should be considered such as ultra-filtration (known to have an endotoxin reducing capability).

RO メンブラン (RO membrane) の (訳注: 工程) 後に組み合わせる更なる技術として、限外ろ過 (ultra-filtration) (エンドトキシンを低減させる能力をもつことが知られている) の様な方法を考慮すること。

- Use of Double pass RO membranes should be considered as an added assurance of the maintenance of the quality of the water produced.

製造した水の品質の維持の追加的保証として、二段ろ過 RO メンブラン (Double pass RO membranes) の使用を考慮すること。

- Nanofiltration, electro-deionisation and ultra-filtration.

ナノろ過 (nanofiltration) 、電気的脱イオン (electro-deionisation) 、及び限外ろ過 (ultra-filtration)

- Microfiltration (MF)/Ultrafiltration (UF) offers advantages in that it can remove microorganisms, which are sometimes very difficult to remove by standard techniques. The MF/UF membranes should be made from a chlorine-resistant material designed to allow for routine thermal and chemical sanitisation and flushing.

マイクロろ過 (Microfiltration ; MF) /限外ろ過 (ultrafiltration ; UF) は、標準的な方法での除去がしばしば非常に困難である微生物を除去できるという、利益をもたらす。MF/UF メンブランは、日常的な加熱による、および化学薬剤によるサニティゼーションとフラッシングを可能とするために、塩素抵抗性を持つ材質からつくべきであること。

- Coupled with these further techniques post RO membrane should be considered such as nanofiltration, electro-deionisation and ultra-filtration (known to have an endotoxin reducing capability).

RO メンブランの下流側 (post RO membrane) において、更なる技術的方法の組合せを考慮すること。そのような技術として、ナノろ過 (nanofiltration) 、電気的イオン交換 (electro-deionisation) 、及び限外ろ過 (ultra-filtration) (エンドトキシンの低減効果を持つことが知られている) のような技術があ

る。

Total Organic Carbon (TOC) (全有機炭素) :

On-line TOC instrumentation must be considered as part of the control strategy and located at various positions within the RO water system as determined through quality risk management principles. The location of on-line TOC should be based on risk assessment.

Locations to consider:

オンラインの TOC 計を管理戦略の一部として使用しなければならず (must)、かつこの TOC 計は、リスクマネジメントの原則を通して決定されたようにして、RO 水システムの様々な場所に設置しなければならない (must)。オンライン TOC 計の設置位置は、リスクアセスメントに基づくべきこと。その設置位置は、次の様な点を考慮する。 :

- Feed water monitoring – assess for seasonal or unanticipated quality changes that could negatively impact the pre-treatment system capabilities or cause a significant increase in membrane fouling.

原水のモニタリング – 原水の季節変動、あるいは想定外の品質変動をアセスメントする。これらの変動は、前処理システムの能力にマイナスのインパクトを与えるかも知れず、またメンブランの汚れの重大な増加の原因となるかも知れしれない。
- Monitoring downstream of pre-treatment – can aid with verification of satisfactory equipment operation and aid as an advanced warning of degradation of the pre-treatment systems.

前処理の下流側のモニタリング – これは機器運転状態が満足のゆく状態にあるかの確認を助けとなり、そして、前処理システムの劣化のより速い警鐘 (advanced warning) の助けともなる
- Monitoring post RO membrane and UV lights – can aid with detection of compromised membranes or the need for UV lamp replacement.

ROメンブランの通過後のモニタリングとUVライトのモニタリング – 性能的に危うくなった (compromised) メンブランの検出や、UVランプの交換の必要性を検出する助けとなる。
- Monitoring post final treatment step to verify acceptable water quality prior to delivery to the storage tank. TOC meters are often located on the return loop of the distribution system, prior to recirculation back to the storage tank.

貯蔵タンクへ分配 (delivery) する前に、許容される水の品質を持つことを確かめるために、最終処理ステップ後のモニタリング。TOC 計は、しばしば、貯蔵タンクへと戻る再循環の前の、分配システムのリターンループ (return loop) に設置される。

System design should be such that there is an option to divert through a recirculation system back through part or all of the pre-treatment process, or to drain when the final quality of the water produced is outside the acceptable limits. This should also result in reporting under the pharmaceutical quality system so that the frequency of such excursions can be monitored and also the root cause investigated appropriately.

システムの設計は、前処理プロセスの一部あるいは全てを、再循環システムに戻せる選択肢があるようにすること、あるいは製造した水の最終品質が許容規格外になった場合に排出するという選択肢を持つようにすること。また、これは、医薬品品質システムの下での報告を行うようにすること。このことは、一過的逸脱 (excursions) の頻度がモニターすることが出来るように、根本原因調査を適切に行えるようにするためである。

When on-line TOC systems downstream of the final purification stage fail, robust corrective measures should be put in place that will assure the ongoing quality of the water produced (e.g. at-line measurement with a mobile lab-TOC system, replacement TOC system, sampling for offline TOC measurement).

最終精製段階の下流側にあるオンラインのTOCシステムが不適合となった場合、製造した水の継続的品質が保証されるような、頑健性のある是正の方策を適切に設定すること (例えば、可搬式のラボのTOC測定システムでのアット・ライン測定 (at-line measurement : (訳注) 水処理システムの脇において、断続的に測定する))、代替のTOCシステム、およびオフラインでのTOC測定 (offline TOC measurement ; (訳注) ラボなどでのTOC測定) がある)。

Appropriate alert levels should be established based on the data generated during the system performance throughout the qualification phases and commensurate with operating capabilities of the system. Alerts should be reassessed routinely to enable, where possible, a re-evaluation of those control limits. Increasing of such limits is not good practice and may mask a failing system. Routine review of the TOC data is required with appropriate action to adverse trends or when out of control signals are detected.

適格性評価段階 (qualification phases) でのシステム性能評価中に得られたデータに基づき、そして、そのシステムの運転能力と釣り合ったような、適切なアラート限度値を確立すること。アラート限度値は可能であれば、その管理限度の評価を日常的に可能とするように、再評価を行うこと。TOCデータの日常的レビューは、悪化傾向 (adverse trends) 、もしくは管理逸脱 (out of control) のシグナルが検出された場合、適切な措置が必要である。

Conductivity (導電率)

On-line conductivity measurement should be considered as part of the control strategy and be

installed at various locations within the RO system as determined based on quality risk management principles. The location of these meters should take account of the locations specified above under TOC but should also consider the monitoring of RO permeate in order to aid with determination and trending of percentage rejection from the system in operation. Changes in rejection percentages can be an indication of membrane failure, seal failure, improper pH, feed pressure issues and increased scaling or fouling.

オンラインの導電率測定を、管理戦略の一部として考慮すべきであり、品質リスクマネジメントの原則に基づいて決定されたように、そのROシステム内の各所に設置すべきである。それらの計測器の位置は、上述のTOCの項で規定された位置を考慮すべきであるが、運転中の当該システムからのpercentage rejection (訳語不明: ROメムブラン装置における非透過水の比率と思われる) の測定と、トレンドを見ることの助けとなるように、RO透過のモニタリングもまた考えること。rejection percentages (訳注: 前記の“percentage rejection”と同一の意味と思われる) の変化は、メムブランの欠損 (membrane failure)、シール不全 (seal failure)、不適切なpH (improper pH)、供給圧力の問題 (feed pressure issues)、及びスケーリング、あるいは汚れの増大 (increased scaling or fouling) の指標とすることが出来る。

Trend data should be reviewed routinely in order to determine the potential for deterioration in the system. When on-line conductivity systems identify a failing result for the water tested, robust corrective measures should be put in place that will assure the ongoing quality of the water produced.

そのシステムの劣化の可能性を調べるために、トレンド・データは日常的にレビューすべきである。オンライン導電率システムが試験した水の不適合を特定した場合は、製造した水の品質が継続的に保証されるような、適切な是正措置をとること。

Sanitisation. (サニティゼーション)

The system should be designed to allow for routine sanitisation. The frequency should be determined based on quality risk management principles and on the data gathered during the qualification of the system.

システムは、日常的なサニティゼーションが可能ないように設計すること。その頻度は、品質リスクアセスメントに基づき、そして当該システムの適格性評価中に収集されたデータに基づき、決定すること。

Monitoring of the flora in the system must be considered to allow adaptation of the sanitisation procedure, based on the efficacy of the sanitising procedures to the concerned microorganisms.

懸念される微生物に対するサニティゼーション方法の有効性に基づき、サニティゼーションの方法の選択が可能となるように、当該システムの菌相 (flora) のモニタリングを考慮しなければならない (must) 。

Sampling must take place downstream of softeners and carbon filters, the sanitisation procedure must be shown to control the microorganism level so that it doesn't proliferate above feed water levels.

サンプリングは、軟水化器 (softeners) および活性炭フィルタの下流で行わなければならない (must)。サニティゼーション方法は、上述の原水レベルを大幅に超えないような微生物レベルに管理することを立証しなければならない。

The distribution and storage systems should be designed as to permit routine thermal sanitisation and/or routine chemical sanitisation and in accordance with other good engineering design practice to minimise areas of reduced flow. The RO membranes are currently not designed to withstand pressurised steam, but those that are capable of withstanding high temperatures are available and should be utilised in order to allow for routine high temperature flush through the system in conjunction with routine chemical sanitisation.

分配及び貯留システムは、日常的な加熱によるサニティゼーション、及び／又は、日常的な薬剤によるサニティゼーションが可能のように、そしてその他のgood engineering design practiceに従って流れが遅くなる区域 (areas of reduced flow) が最小となるように設計すること。ROメンブランは、現在は、加圧蒸気に耐えるように設計されていないが、高い温度に耐えることの出来るROメンブランを入手可能であれば、日常的な薬剤によるサニティゼーションと併用して、そのシステムを日常的にフラッシュすることが可能なように使用すること。

The following chemical sanitising agents are examples that should be considered as part of the control strategy: peracetic acid, sodium hypochlorite, hydrogen peroxide. Appropriate contact times need to be established.

以下に掲げる化学的サニタイジング剤は、管理戦略の一部として考慮すべき事例である。：

- Peracetic acid (過酢酸)
- Sodium Hypochlorite (次亜塩素酸ナトリウム)
- Hydrogen Peroxide (過酸化水素)

Appropriate contact times need to be established.

適切な接触時間を確立する必要がある。

Use of ozonation should also be considered as a sanitising agent, into the design of such a system. Ozone is an even stronger oxidizing agent than chlorine and it decomposes readily. The resistance of the materials of construction against ozone must be considered. Usually, stainless steel is employed; it is unlikely that a distribution system with non-stainless steel components would be acceptable. Ozone can eliminate a wide variety of inorganic and organic materials and aid with maintaining an appropriate level of microbiological control. De-ozonation must be performed

carefully to protect the user points against oxidizing substances during production; especially plastics in contact with the ozonated water such as diaphragms of valves and seals (TC-connections, measuring instruments). These should be made of an ozone resistant material (e.g. PTFE), ultraviolet irradiation is typically utilised for this purpose.

オゾン処理 (ozonation) の使用も、サニティゼーション剤として、そのようなシステムの設計に組み込むこと。オゾンは一様性を持つ強力な酸化剤 (even stronger oxidizing agent) であり、それは塩素よりも強く、かつ容易に分解する。オゾンに対する装置の構成材質の抵抗性を考慮しなければならない (must)。通常、ステンレススチールが使用される。 ; (訳注: オゾンを使用する場合には) ステンレススチール以外の構成材料を持つ分配システムは、許容されないであろう。オゾンは、広い範囲の無機物および有機物を取り除くことが出来るものであり、適切なレベルの微生物学的な制御を維持する上での助けとなる。製造 (訳注: 水の中での、オゾン化の除去 (de-ozonation) は、酸化剤 (oxidizing substances) からユーザー・ポイント (user points) を保護するために、注意深く行わなければならない (must)。 ; 特に、オゾン添加を行った水との、ダイアフラム弁 (diaphragms of valves) やシール類 (TC-connections、これは measuring instruments (訳注: 計測機器類) に使用されている) といったプラスチック類には注意が必要である。それらは、オゾンに抵抗性を持つ材質 (例えば PTFE) でつくられること、そして紫外線照射も、一般的にこの目的 (訳注: オゾン分解のための装置として) に使用されていること。

4. What approach should be considered for the qualification of such a system?

WFI製造システムの適格性評価には、どのようなアプローチを考えるべきか?

The approach to system commissioning and qualification should follow good engineering practice. The approach should be developed to provide the necessary evidence that the design of the water system is in line with that intended in order to assure the quality of the water produced during routine operation.

システムのコミッショニングおよび適格性評価 (qualification) に対するアプローチは、GEP (good engineering practice) に従うこと。そのアプローチは、水システムの設計が、日常的運転中に製造される水の品質を保証するという目的に一致していることの、必要な証拠を与えられるように制定すること。

Performance of the system must be proven over an extended period of time and the sampling programme employed must be sufficiently robust to take account of this.

当該システムの性能は、長期間にわたって (over an extended period of time) 立証しなければならず (must) 、かつ使用するサンプリング・プログラムは、このことを考慮した十分に頑健性のあるものでなければならない (must) 。

Maximum time limits for the RO membranes usage should be established. Qualification should consider destructive analysis of RO membranes to ensure the absence of biofilm, or any surface that cannot be visually

inspected regularly.

ROメンブランの使用に関しての最大時間限度値を、確立すること。適格性評価 (qualification) は、バイオフィルムが存在していないことを保証するために、又は、定期的に、目視検査が出来ない所の如何なる表面をも保証するために、ROメンブランの破壊試験を考慮すること。

The initial validation period of the water system where testing is carried out on all points should demonstrate that the system is operating as designed.

全ての箇所 (all points) について試験を行うべき当該 WFI システムの最初のバリデーション期間は、そのシステムが設計したように運転できることを証明すること。

Similarly, subsequent phases of system validation should be robust and capture significant data to verify ongoing capability of the system.

同様に、当該システムのバリデーションの後に続く段階は、頑健性を持たせるべきであり、そのシステムの継続的能力 (ongoing capability) を確認するための、大きな影響を与えるデータ (significant data) を獲得すること。

5. What type of sampling regime should be employed during qualification and during operation?

適格性評価中、および日常的運転中に、どのようなタイプのサンプリング体制を用いるべきか?

The details provided here are for guidance only. The execution of a sampling regime and qualification strategy should take account of quality risk management principles and the sampling regime during the initial stages of qualification should take account of the critical points within the system and employ quality risk management principles. Examples of such locations to consider include:

ここで提示した詳細は、ガイダンスのみを目的としたものである。サンプリングの体制 (sampling regime) 及び適格性評価戦略は、品質リスクマネジメントの原則を考慮すべきであり、かつ適格性評価 (qualification) の初期段階中のサンプリング体制は、システム内の重要ポイントを考慮し、品質リスクマネジメントの原則を考慮すること。そのような考慮すべき箇所の事例は、次のものが含まれる。:

- Feed/raw water source (供給水/原水の水源)
- Stages of pre-treatment (前処理段階)
- Pre and post RO membrane (ROメンブランの前段と後段)
- Post final purification phase (最終精製段階の後)
- Storage tank (貯留タンク)

- All user points (全てのユースポイント)
- Return loop post final user point (最後のユースポイントの下流側のリターン・ループ)

Typically during initial phase, qualification testing of all of the above points should be sampled and tested daily for a specified period of time in order to assure the correct installation and operation of the system.

一般的に、イニシャル段階では、上述の箇所の全ての適格性評価を毎日サンプリングし、それを試験すること。これは、当該システムの据付け (installation) と運転 (operation) が正しいことを保証できる期間にわたって行うべきである。

A rationale should be documented to justify the sampling regime employed.

適用したサンプリング体制を正当化する (justify) ための、論理的根拠 (rationale) を文書化すること。

The next phase of sampling should also take into account the above locations. The sampling frequency should be designed in a manner to assure satisfactory performance of the system over an extended period of time. Typically this is conducted over a year to take account of, for example, seasonal variations associated with feed water supply.

次の段階のサンプリングは、上述の場所についての試験結果の報告もまた考慮に入れて行うこと。サンプリングの頻度は、(訳注：イニシャルの段階よりも?) 長い期間にわたって、そのシステムの満足行く性能を保証する方法でデザインをすること。一般的にこの期間は、一年間にわたって行われる。これは供給原水 (feed water supply) の季節変動 (seasonal variations) と関連している。

訳注：ここに説明している製薬用水設備の初期の適格性評価は、一般的に見られる3段階評価 (Phase I から III) ではなく、Phase II をスキップした2段階評価をとっている点が注目される。

During routine operation the sampling regime (frequency and locations) should be designed in a manner to assure satisfactory continued performance of the system and ultimately assure the quality of the water produced.

日常的な運転中のサンプリング体制 (測定の頻度 及び 箇所) は、システムの性能が連続的に満足していることを保証するように、そして最終的には、製造したWFIの品質が保証される方法となるように設計すること。

Daily sampling of the system should be employed for all user points utilised on the day, the return loop as well as consideration of inclusion of points both pre and post the RO membranes.

このシステムの毎日のサンプリング (daily sampling) は、RO メンブランの前後の両方の箇所を含めることを考慮するのは勿論であるが、その日に使用する全てのユースポイントを対象とすること。

訳注: この文章は、EMA が RO メンブランにおけるバイオフィーム形成を非常に懸念していることを示している。

Volumes sampled for microbiological monitoring should be justified and commensurate to test requirements.

微生物学的モニタリング用に採取するサンプル量は、その正当性を論証し (should be justified)、かつその試験要求に釣り合ったもの (commensurate) とすること。

6. What testing should be employed during initial qualification and routine operation sampling?

初期の適格性評価と日常的運転のサンプリング中に、どのような試験を行うべきか？

Testing should be conducted in line with Ph.Eur. Monograph 169 ‘Water for Injections’.

試験は欧州薬局方の各条 (Ph.Eur. Monograph) の169の‘Water for Injections’ (注射用水) に従って行うこと。

Use of rapid microbiological methods should be considered as part of the control strategy to aid with rapid responses to deterioration of the system.

その製薬用水システムの劣化が生じた場合の迅速な対応を助けるための管理戦略の一部として、迅速微生物学的方法 (rapid microbiological methods) を使用すべきである。

Article 23 of Directive 2001/83/EC states “...the authorisation holder must, in respect of the methods of manufacture and control...take account of scientific and technical progress...”

Directive 2001/83/EC のArticle 23 は、次のように述べている。 :

- “ 製造承認保持者 (authorisation holder) は、製造及び管理の方法に関して、...科学的及び技術的な進展を考慮して...”

Methods to be considered should include: (考慮すべき方法が次のものが含むこと) :

- Rapid Endotoxin testing – use of more sensitive and point of use test methods.
迅速エンドトキシン試験—より高感度で、かつユースポイントでの試験
- Quantitative microbiological test methods – in line with Ph.Eur. 5.1.6 monograph ‘Alternative Methods for control of Microbiological Quality’.
定量的微生物学的試験方法
— 欧州薬局方5.1.6項 “微生物学的品質の管理のための変法”
- Conductivity. (導電率)

- ・ TOC. (全有機体炭素)

Due consideration should be given to employing alternate methods for the rapid quantitative determination of the contamination levels existing within the water system. The validation of such system should be in line with the above referenced monograph.

製薬用水システム内に存在する汚染レベルの迅速な定量的測定のために、変法 (alternate methods) を使用することは、当然の考慮事項であること。そのような変法のバリデーションは、上記に引用した欧州薬局方各条と整合させること。

Use of alternative/rapid microbiological test methods should be employed as part of the overall control strategy for the system.

当該システムの全体的管理戦略の一部として、変法/迅速微生物学的試験方法の使用を行うこと。

Appropriate alert levels should be established based on statistical analysis of data. Trend data should be reviewed routinely and any adverse trend should be appropriately investigated. The review of trend data should not only take account the % alert and % actions occurring but also review of the quantitative and qualitative (identifications) raw data.

データの統計学的解析に基づき、適切なアラート限度値を設定すること。トレンド・データを日常的にレビューし、如何なる悪化傾向をも適切に調査すること。トレンド・データは、アラートを越えた比率、及びアクションを越えた比率 (the % alert and % actions occurring) のみならず、定量的 (訳注: 菌数) 及び定性的 (菌種同定) の生データのレビューも考慮すること。

Alerts should be reassessed routinely to enable, where possible, a tightening of those control limits.

アラートの限度値は、可能な場合にあつては、日常的に再評価すべきであり (should be reassessed routinely) 、その管理限度値を狭めて行くこと。

Increasing of such limits is not good practice and may mask a failing system.

その様な限度値を広げるのは、良いやり方とはいえ、悪いシステムを老い隠すものとなる。

7. What are the expectations for preventative maintenance on RO systems used for the production of WFI?

WFIの製造に使用するROシステムの予防的保全についての期待はどの様なものか?

A robust system for preventative maintenance of such systems should be designed as part of a control strategy in order to minimise the risks associated with microbiological and/or by-product

proliferation.

微生物の増殖、及び/又は代謝物・副産物の産生に関連するリスクを最小とするための管理戦略の一部とすることで、そのようなシステムの予防的保全のための頑健性のあるシステムをデザインすること。

The planned maintenance system should incorporate routine regeneration of pre-treatment systems, replenishment of resin beds (as required), change out of filters, gaskets, seals and RO membranes at a defined frequency or following adverse indicators as well as routine thermal and/or chemical sanitisation of such systems. Detailed inspection checks should be incorporated into the routine planned maintenance to take account of the potential for the formation of biofilm within the system: e.g. Inspection for leaks within the system, inspection of the condition of gaskets and seals.

計画されたメンテナンス・システムには、そのような (訳注: 製薬用水) システムの日常的な熱による、及び/又は、薬剤によるサニティゼーションは勿論のことであるが、それに加えて次のような要素を組み込むこと。:

- ・ 前処理システムの日常的再生 (routine regeneration of pre-treatment systems)
- ・ (訳注: イオン交換や活性炭などの) 樹脂ベッドの交換 (replenishment) (必要に応じて)
- ・ 規定された頻度での、あるいは悪化指標が見られた場合の、フィルタ、ガスケット、シール及び RO メンブランの交換

日常的な計画されたメンテナンスには、詳細な検査によるチェックを組み込むべきである。これは、当該システム内でのバイオフィームの形成の可能性を考慮してのことである。例えば、システム内のリークの検査、ガスケット及びシールの状態の検査などである。

Performance of the RO membrane(s) should also be assessed as part of the routine planned maintenance approach including determination that the pressures and flow rates are in line with the satisfactory operation of the system in order to maintain the quality of water produced to the appropriate standard.

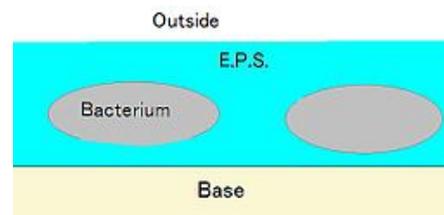
RO メンブラン (単数または複数) の性能もまた、日常的に計画されたメンテナンス・アプローチの一部として評価をすること。これには RO メンブラン (単数または複数) の圧力および流量の測定も含まれる。その測定は、製造した水の品質が該当する該当する基準への適合を維持するために、そのシステムが十分な運転状態にあることを調べるためである。

Part II Biofilms and control strategies (Part 2: バイオフィームと管理戦略)

(訳注) バイオフィームの説明をしているウィキペディアの“バイオフィーム”から、要点を以下に抜き書きした。 : 身近な例としては、歯垢や台所のヌメリなどがある。自然界にも広く存在し、基質と水があれば、あらゆる場所に存在する。たとえば、水中の石の表面についている膜状のものなどがあてはまる。バイオフィーム内では嫌気性菌から好気性菌、従属栄養から独立栄養のものまで様々な種類の微生物が存在し、その中で様々な情報伝達を行いながらコミュニティを形成していると考えられている。異種微生物間の情報伝達物質としてクオロモンが注目されている。

生態系におけるバイオフィーム

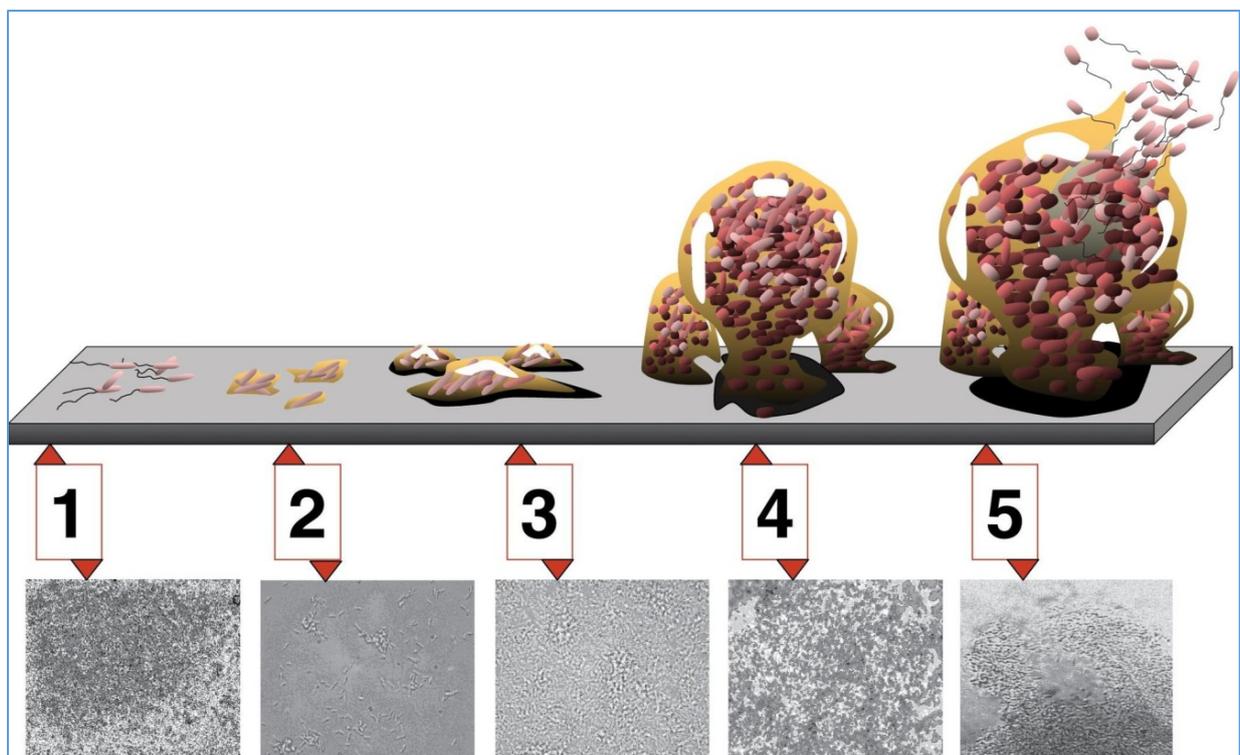
岩石や堆積物、堆積物粒子、植物、大型藻類の表面など、あらゆる場所に存在している。バイオフィームの内部と外部では、微生物の生息密度が異なる。たとえば水中では、生息密度に数百～数千倍の差があるという。バイオフィーム内には、細菌はもちろん、原生動物、藻類など、多種多様な生物が生息している。自然界における物質の転換、浄化作用などにも深く関与していると考えられている。



バイオフィームの構造の簡略図

大まかな構造

基質に付着した細菌が、細胞外多糖 (EPS, extracellular polysaccharide) を分泌する。EPS はバリアーや運搬経路の役割を果たし、環境変化や化学物質から内部の細菌を守る。そういった作用により、生息密度の高い閉鎖的なコロニーが形成され、恒常性が保たれる。



以下は、上記の図の説明

1. 細菌付着
2. EPS を分泌しはじめる
3. バイオフィームが形成される
4. バイオフィームは厚みを増し、コロニーが巨大化する
5. 内部が過密になると、コロニーが破壊され、細菌が放出される

細菌が付着と脱離を繰り返しながら、徐々にバイオフィームが形成される。バイオフィームのコロニーには、複数種の微生物が生息し、動的平衡を保つ。棲む微生物は、環境により異なるが、細菌類以外の微生物が生息している場合も多い。単一種のみで形成されるコロニーは、自然界には稀である。形成後のバイオフィームも、常に脱離や溶菌が起こっているため、安定したものではない。バイオフィームという呼び名は、極相林のような変遷の終着点というより、形成された後に変化する形態すべてを指している。ある程度大きくなると、コロニーが崩壊し、細菌が放出される。

1. What is a biofilm? (バイオフィームとは何か?)

Biofilms occur in both natural and industrial settings.

バイオフィームは、自然環境および産業的環境の両方で生じる。

They can typically be found in air compressor and supply systems, water systems, heat exchangers, RO membranes, ion-exchange resins, piping, O-rings, gaskets and more or less anywhere that an aqueous or moist environment exists.

それらは、一般的にはエアー・コンプレッサーとエア供給システム (air compressor and supply systems)、水システム、イオン交換樹脂 (ion-exchange resins)、配管 (piping)、Oリング (O-rings)、ガスケット (gaskets)、及び多かれ少なかれ、水性や湿った環境の如何なる箇所にも存在する。

Sites for biofilm formation include all kinds of surfaces: natural materials above and below ground, metals, plastics, medical implant materials—even plant and body tissue. Wherever you find a combination of moisture, nutrients and a surface, you are likely to find biofilm.

バイオフィームの形成部位は、全ての種類の表面が含まれる。： 地表上や地表下の自然の物質、金属、プラスチック、医療移植片 (medical implant materials) — 植物や人体組織でさえ、それらに含まれる。湿度、栄養物及び表面という組み合わせがある場所なら、いずれの場所であっても、バイオフィームを見出すことが出来るだろう。

They are typically a mass or group of varying species of micro-organisms. They are formed when these organisms adhere to the surface in a moist environment. These in turn secrete extracellular polymeric substances (EPS) that act as an anchor to the surface as well as to other micro-

organisms of various species. This in turn allows them to develop complex three-dimensional structures or communities.

バイオフィームは一般的に、様々な微生物菌種の塊 (mass) またはグループである。それらの微生物は、湿った環境での表面に付着すると、バイオフィームを形成する。それらは次々と、細胞外高分子物質 (extracellular polymeric substances ; EPS *)を分泌する。この EPS は、様々な菌種について、他菌種に対するアンカー (anchor: 訳注 固定のためのツール) であるとともに、(訳注: 水システムの) 表面に対してのアンカーとしても作用する。EPS は次第に、複雑な三次元の構造、あるいはコミュニティ (communities) を発達させ、バイオフィームの形成を許すことになる。

* : 訳注 EPS を細胞外多糖体 (Extra cellular polysaccharides) とする専門書もある。恐らく同一のものと思われる。

Biofilms typically follow similar routes for formation and spread:

バイオフィームは、形成及び拡張について一般的に次のような類似した経路に従っている。 :

- Attachment (付着)
- Colonisation (コロニー化)
- Growth (成長)
- Detachment (離脱)

The development of biofilms on otherwise clean surfaces (i.e., surfaces that are free of organic and inorganic contaminants) proceeds through a 4-step process:

クリーンな別の表面 (すなわち、有機物及び無機物からフリーの状態となっている表面) でのバイオフィームの形成は、次のような4つのステップを通じて進行する。 :

1. Sorption of trace organic and inorganic compounds to form a conditioning film, which may serve as an organism recognition factor in the initial phases of attachment.

痕跡量の有機物及び無機物が吸着し、conditioning film (訳注: CFと略記される。微生物が吸着する前の準備段階の物質がフィルム状に吸着した状態) を形成する。これは、付着の初期段階で微生物にとっての認識の因子として役立つものである。

2. A reversible primary attachment, mediated by advective transport processes and/or chemotaxis, which is the movement of an organism in response to a chemical gradient.

可逆的の一次付着。これには移流輸送 (advective transport) プロセス (下記の訳注参照)、及び/又は (訳注: 微生物の) 走化性 (chemotaxis) が介在しており、化学勾配 (chemical gradient ; 訳注 物質や電気的な密度勾配を意味すると思われる) に対応して微生物が動くものである。

訳注: 難しい概念であるので、ウィキペディアの“移流”の冒頭部分を下記に掲載した。簡単に言えば、「流

れている流体（水）の温度や溶け込んでいる微量な物質成分にバラツキがある“製薬用水”が、結果的に微生物の繁殖の場を提供していること」のように思われる：

移流（いりゅう、英: advection）とは、温度や物質濃度などにばらつきがある空間のある地点において、空間内の物質の移動によって温度や物質濃度の変化が起こる（物理量が空間内で運ばれる）こと。物理学のうち特に流体力学に関係が深い。上記の空間を基点とした考え方はオイラー的な考え方とされ、逆に物質を基点としたラグランジュ的な考え方が以下のように述べられる（連続体力学#物質表示と空間表示を参照）。

例として、ある地点の上空に冷たい空気があつて、その西に暖かい空気があるとす。ここで、西風によって暖かい空気が運ばれることを移流といい、その地点では気温の上昇が観測される（オイラー記述）。暖かい空気が西側、冷たい空気が東側に存在し、西風によって冷たい空気はある地点から東側へ、暖かい空気は東側のある地点へ移動する（ラグランジュ記述）

3. Surface-division also referred to as colonisation.

表面での微生物の分裂（surface-division）もまた、コロニー化としても称せられる

4. Synthesis of EPS, which stabilises the sessile population.

EPSの合成。これは固着した微生物集団を安定化させることに役立つ

Such biofilm communities can communicate via quorum sensing and in the presence of certain danger or death, induce secretion of protective metabolites within the structure of the biofilm signaling and inducing a form of protection to the layers within the biofilm layer.

そのようなバイオフィーム・コミュニティ（biofilm communities：*1）は、クオラムセンシング（quorum sensing；QS：*2）によりコミュニケーション（*3）が出来る能力をもっており、ある種の危険、あるいは死の存在で、バイオフィーム層内の幾つかの層に対して保護を形成するためのシグナルと誘導を行うことで、そのバイオフィームの構造内に保護的代謝物の分泌を誘発させる。

*1（訳注）：バイオフィームは複数の菌種が、あたかも一つの社会的集団を構成しているように振舞う。これはバイオフィームでは種々の環境因子が数 μ オーダーで勾配をもって変化する微視的環境が形成され、その結果、多様なニッチ（生態学的地位）が生みだされ、多様な微生物集団が同一のバイオフィーム内に共存できるようになると考えられている。（引用：日本微生物生態学会 バイオフィーム研究部会 編著 『バイオフィーム入門 ー環境の世紀のあたらしい微生物像ー』、日科技連、2005年、¥2,500＋税：現在、絶版の可能性あり）

- ・ ウィキペディア Biofilm：<https://en.wikipedia.org/wiki/Biofilm> （日本語の翻訳もされている）
2017.08.04 アクセス
- ・（総説）「バイオフィーム研究技術の新展開」：<http://www.jseb.jp/jeb/10-01/10-01-019.pdf>
2017.08.04 アクセス

*2 (訳注) : クオラムセンシングについては、上記*1の引用図書の「VI章 バイオフィームと微生物間情報伝達」が総合的な知識を得るために有益である。ウィキペディアの「クオラムセンシング」もまた、参照に便利である。

・(総説)「Quorum Sensing 制御に基づくバイオフィーム形成抑制」:<http://www.jseb.jp/jeb/10-01/10-01-015.pdf>
2017.08.04 アクセス

*3 (訳注) : 存在条件が悪化するとある種の化学物質が生成・放出され、それによりバイオフィーム全体が、生存性を高める方向へと変化するといわれている。

Little is understood of the extracellular polymeric substances and metabolites produced by these organisms and also of the cellular debris which remains after cell death. There are no specific Ph.Eur tests specified to test for some of these EPS and metabolites. Some of these include exotoxins and bacteriocins (piocins, colicins) as well as endotoxins (for which a number of test methods are prescribed in the Ph.Eur.).

それら微生物により生成される細胞外高分子物質 (extracellular polymeric substances ; EPS) 及び代謝物についての理解は、殆ど進んでいない。また、細胞が死滅後に残される細胞残屑 (cellular debris) についての理解も殆ど進んでいない。それらEPSおよび代謝物に幾つかについての試験は、欧州薬局方の特定の試験は存在していない。それら物質のうちの幾つかは、エンドトキシン (endotoxins : 内毒素) (欧州薬局方には多数の試験方法が述べられている) と共に、Exotoxins (外毒素 ; *1) 及びBacteriocins (piocins, colicins ; *2) が含まれる。

*1 : (訳注) 外毒素 (がいどくそ、exotoxin) とは細菌が菌体外に放出する毒素の総称であり、その成分はタンパク質あるいはポリペプチドである。内毒素が菌種間で毒性が非特異的であるのに対して外毒素の毒性は特異的である。外毒素はホルマリン等で処理すると毒性を失うが、免疫原性を有するトキソイドとなる。代表的な外毒素としてClostridium perfringensのα毒素、破傷風菌、ボツリヌス菌の神経毒、コレラ菌、大腸菌、ブドウ球菌のエンテロトキシンがある。(ネットより転載)

*2 : (訳注) バクテリオシン (Bacteriocin) とは、細菌類が産生する、おもに同種や類縁種に対する抗菌活性をもったタンパク質やペプチドの総称である。出芽酵母やゾウリムシのキラー因子と類似している。(ネットより転載)

Piocins (ピオシン) とは、細菌が生産する他の近縁の細菌に対しての抗菌物質をバクテリオシンと総称するが、そのうち緑膿菌 Pseudomonas aeruginosa (旧名 P. pyocyanea) が生産するものがピオシンである。

(ネットより転載)

コリシン (colicins) とは、大腸菌 (Escherichia coli) 群の細菌が分泌する抗菌性タンパク質の総称である

(ネットより転載)

Current methods of control of bioburden are based on the control of the planktonic organisms present within the system, material or product being tested. Biofilms are typically sessile (attached

or fixed) but can also exist in a free flowing form for example during detachment. They can be difficult to identify within a system/process as their presence is usually relatively unknown until such time as an out of specification result occurs. This is because contamination of the water, where part of the biofilm has broken away, may be sporadic and random and therefore not easily detected using “grab” sample techniques.

現在のバイオバーデンの管理の方法は、システム、原材料、又は試験をする製品に存在する浮遊性微生物 (planktonic organisms) を制御することに基づいている。バイオフィームは一般的に固着性 (sessile ; 付着または固定化されている) であるが、例えば剥離 (detachment) をしている間には、自由に流れて行く形態 (free flowing form) としても存在することが出来る。(訳注: WFI製造の) システム/プロセスの範囲内で、それらを特定することは困難である。というのは、それらの存在は菌数の規格外結果が生じるような時点まで、通常は知ることが出来ないからである。これは、バイオフィームの一部が剥がれ落ちた場合の水の汚染は、散在的 (sporadic) かつランダムであり、それゆえ、“grab” (訳注: “つかみ取る”の意味) サンプルング・テクニックを使用しては、容易に検出が出来ないからである。

Therefore, measures should be taken by manufacturers to firstly put in place scientifically justified mechanisms for maintaining biofilm control over such systems and processes then prevent the further formation of such biofilms following proven methods for cleaning and sanitisation.

それ故に、製造業者は、まずは初めにその WFI 製造システムやプロセスの全体にわたって、バイオフィーム制御を維持するための、科学的な論理性を持ったメカニズム (scientifically justified mechanisms) を適切に設定するという方法をとるべきである。そして、それによって、クリーニングとサニティゼーションの立証がされている方法 (proven methods) に従って、そのようなバイオフィームの更なる形成を防ぐべきである。

2. What approach should be taken to maintain control over systems which can be affected by biofilms?

システム全体にわたって、バイオフィームに影響を与えられるような制御を維持するためには、どのようなアプローチをとるべきか？

A control strategy should be developed to assess the risks associated with the current manufacturing processes and to determine acceptability of existing control measures. The effectiveness of the sampling and testing regimes employed at the site should also be critically assessed in conjunction with the development of a control strategy.

管理戦略を制定すべきであり、その管理戦略とは、現在の WFI 製造プロセスに係るリスクをアセスメントして、既存の管理方法の受容性 (acceptability) を調べるというものである。当該製造所で使用しているサンプルング及び試験の形態 (regimes) の有効性を、管理戦略の制定と組み合わせた形で、批判的に

アセスメントをすべきである。

3. What is a control strategy in the context of biofilm and contamination control?

バイオフィームと汚染制御の関連付における管理戦略とは、どの様なものか？

A control strategy should take account of the design of the process, the mechanisms required to be put in place to control and ultimately prevent or minimise the risk of contamination.

管理戦略は、次の点を考慮すべきである。：

- ・ WFI 製造プロセスのデザイン (訳注：精製プロセスの原理や構造設備)
- ・ 制御を適切化するために必要とされるメカニズム
- ・ 最終的に、汚染のリスクを防ぐか、あるいは最小化する

Such a strategy requires the following thorough process knowledge and understanding taking account of all aspects of contamination control and prevention, including:

そのような管理戦略は、以下に述べるような事項の考慮を必要とする。それらは汚染の制御と防止の全ての側面を考慮して、プロセスのナレッジ (知識) と理解を通して行うことが必要である。次の事項が含まれる：

- ・ Design (設計)
 - Feed water system (供給水システム)
 - ・ design (設計)
 - ・ quality (品質)
 - Treatment system design, e.g. (処理システムの設計) 例えば
 - ・ turbulent flow (乱流)
 - ・ no dead legs (デッドレッグの無いこと)
 - ・ drainage (排水)
 - ・ materials of construction and roughness of surfaces (stainless steel, plastics, gaskets, avoidance of rough surfaces and elastomers)
使用材質と表面の粗さ (ステンレス、プラスチック、ガスケット、粗い表面を避ける、及びエラストマー (elastomers : 常温でゴム弾性を示す高分子物質))
 - ・ welding's (溶接部)
 - ・ air filter (incl. integrity) (エアフィルタ ; 完全性を含む)
 - Cleaning and sanitation procedures (洗浄およびサニテーション方法)
- ・ Water system qualification (水システムの適格性評価)
- ・ Personnel qualification/training (作業者の適格性評価 / 訓練)
- ・ Raw Materials, e.g. (原材料, 例えば)

- Water supply (原水供給系)
- Ion exchange materials (イオン交換樹脂材)
- Cleaning and sanitation materials (洗浄剤およびサニテーション剤)
- Control strategy including in-process controls applied to
以下に対する工程内管理を含む管理戦略
 - Raw Materials (原材料)
 - Feed water system (供給水システム)
 - Treatment system (処理システム)
- Monitoring systems (qualification/calibration) used in the control strategy
管理戦略に使用するモニタリング・システム (適格性評価/校正)
- Preventative maintenance to a standard that will not add significant risk
from a contamination view point
汚染という観点から、重大なリスクを加えることのない基準に向かったの予防保全
 - Feed water system (供給水システム)
 - Treatment system (処理システム)
 - Premises where the systems are placed (そのシステムを設置する所の施設)
 - Other nearby systems that potentially can contaminate the water systems
その水システムを汚染させる可能性を持つ、その他の隣接するシステム
- Utilities, e.g. (用役, 例えば)
 - Compressed air (圧縮空気)
 - Ventilation in the plant (その設備 (プラント) における換気)
- Robust QMS (頑健性のある品質マネジメント・システム)
 - Deviation handling (逸脱の取扱い)
 - Root cause analysis (investigations) (根本原因解析 (調査))
 - CAPA (是正措置予防措置)

Contamination control and steps taken to minimise the risk of contamination are a series of successive linked events/measures. Quality Risk Management tools along with scientific judgement can be applied in determining critical control points.

汚染のリスクを最小化するためにとるべき、汚染の制御とそのステップは、上手くいった事例/方法 (a series of successive linked events / measures) の「関連付けがされた一連の集まり」となる。科学的判断 (scientific judgement) に加えて、品質リスクマネジメントの手法を、重要管理点 (critical control points) を決定するために使用することが出来る。(訳者注)

訳者注：汚染リスクを最小にするためのアプローチは、長期間にわたって製薬用水製造システムの微生物制御を調査した訳者の結論は、「生態学的制御」である。その基本となる考え方は「多様性安定性の原則」と、「システムの制御をすることの遅れは、当該システムの変動幅を大きくする」という2つの大きな原則に従って

る。微生物汚染を“マクロ的”に見るのではなく、微視的環境での微生物学的挙動が、システム全体で統合された（インテグレートされた）ものと考えることが重要である。

A contamination control strategy would integrate all of these measures to ensure a more comprehensive approach is taken with respect to prevention and control of microbiological contamination.

汚染管理戦略は、微生物汚染の防止と制御に関して、より広範なアプローチのとれることを保証するために、それらの方策の全てを統合化するものになるであろう。

Such a strategy should lead to the introduction of a control programme which is an iterative process taking into account all information throughout the lifecycle of the products and processes.

そのような戦略は、管理プログラムを導入することで行うべきである。その管理プログラムは、その製品（訳注：この場合はWFI）及びプロセスのライフサイクルを通じて、全ての情報を考慮しながら、繰り返しそれを行いながら確立する、というものとなる。

訳者注：

長年の製薬用水製造設備の微生物制御の経験からは、上記の考え方は、かなり不十分である。WFIの製薬用水製造設備は、一つの単純化された生態系と見ることが重要である。ポイントを列挙すれば、以下の通りである。

- ・ 製薬用水製造設備を、単純化された一つの生態系とみること。
- ・ 微生物が増殖すること、およびバイオフィームの存在を考えると、「数（菌数）」の情報に基づく管理は、製薬用水製造設備の微生物管理を考える上で、極めて非効率な管理ツールである。
- ・ 「製薬用水製造設備を、単純化された一つの生態系と見なす」ことは、「その生態系に加えられる制御の状態が、出現菌種を決定付ける」という、方法論をとることを意味する。
- ・ すなわち、構造設備の変更、あるいはサニテーション／消毒方法は、菌種あるいは菌種構成の変化と連動している。換言すれば、構造設備や、サニテーション／消毒方法の変更が有効であることは、一般的に菌種あるいは菌種構成の変化として捉えることが出来る。これらシステムの微生物制御は、常に「質（菌種）」の情報を必要とするものであり、「量（菌数）」ではない。
- ・ 製薬用水製造設備という生態系であっても、生物学における「多様性安定性の原則」は常に成り立つ。出現微生物の菌種が多いことは生態系として安定していることを意味する。つまり、製薬用水製造設備に加えられている微生物制御が「効果的はない」ことを意味する。生態系に制御が加われば、生態系の構成は単純化し、より強い制御であれば、菌が特定の菌種（多くの場合は、*Methylobacterium* spp.）に収束し、さらに強い制御を加えることで微生物も検出されることもなくなる。

ただし、注意しなければいけないことは、メンブランフィルター法などでの生菌数試験で、一フィルタ上の捕集菌数があまりにも多い（例えば200 CFU/filter）と、成長の早い微生物の菌種が表面を覆い、他の微生物の生長を抑制してしまう。そのような状態になると、培養結果を、菌種構成が単一であると誤って判断することになる。

もう一つの問題は、培養法は試料中に存在する全ての微生物を検出できないということである。これは培養

基と培養条件に係る問題であり、培養法の論理的な限界といえるものである。微生物群集の解析という点からは、次世代の DNA シーケンサー技術に期待されるところである。

(https://www.jstage.jst.go.jp/article/jslab/23/1/23_24/pdf)

- ・ 構造設備上、あるいは試験技術上で最も重要な問題は、サンプリング・ポートを經由して分析用のサンプルを採取するという点である。正確な微生物汚染管理は、この「サンプリング・ポート部分の汚染を如何にして排除するか」が最も重要なテーマである。単純計算を行えば簡単に理解することが出来るが、製薬用水中の微生物の分裂速度、製造される時間当たり水量、消費量を基に計算した推定菌量（単位液量：例えば 1 mL 当たりの菌数）は、かなり小さいものである。この値は、サンプリングした水の菌数からの推定値とは非常に大きな乖離がある。これは、サンプリング・ポート部分に微生物汚染が存在することが原因すると思われる。メイン配管を流れている水における真の菌数を如何にして把握するかといった、かなり技術的に困難な課題への挑戦の努力が必要である。
- ・ 製薬用水製造システムにおける微生物の増殖リスクの高い箇所は、「固液界面の面積の大きな箇所」であり、かつ「“静かな”世界（水流などによる動圧などの物理的なストレスが非常に少ない箇所）」である。この 2 条件を同時に満たす箇所は、イオン交換樹脂表面、ろ過膜である。「“静かな”世界」としてはデッド・レグや、サンプリング・ポート部分の局所的構造がある。

上記の例外は EDI 装置である。これは EDI のイオン交換樹脂が荷電しているために、樹脂に接している微生物の代謝系がうまく機能しなくなり、殺菌的に作用することによる。しかし、EDI 装置を停止させたことにより樹脂表面にバイオフィームが形成されると、EDI 装置は微生物汚染源となる。

- ・ 製薬用水の水システム評価において、理化学的試験項目の試験サンプルは製薬用水の分配系の何れから採取しても、大きな品質的な変動はない。それに反して微生物のサンプルは分配系の何処から採取するかで、大きく菌数と菌種が変化する。ほぼ同じ菌数であっても、菌種が異なることは良く見られる。

微生物学的サンプルの場合は、菌種と菌数（桁数の違いがあるか否かの粗い評価）で組合せをして評価する必要がある。この場合、最も大切なことは「そのサンプリング・ポートから採取した水で見られた菌種と菌数は、何を意味するか？」という視点である。これはリスクアセスメントを通して考えるべき事項でもある。

4. If a biofilm exists what steps can be taken to eradicate or remove it?

もしバイオフィームが存在しているのであれば、それを絶滅させたり、取り除いたりすめに、どのようなステップを取るべきか？

The approach to biofilm removal may vary depending upon the complexity of the system and the severity of the biofilm formation.

バイオフィームを除去するためのアプローチは、システムの複雑性およびバイオフィーム形成の重大性 (severity) によって変わるであろう。

Thermal inactivation can be an effective way to inactivate a biofilm, but this method will typically require repeated and/or extended elevation of temperature compared to the routine sanitisation

cycle. While the utilisation of a hot water flush through systems is considered acceptable in order to minimise the planktonic contaminants and biofilm existing within a system, it is known not to be fully effective in the removal of biofilm mass.

加熱による不活化 (thermal inactivation) は、バイオフィームの不活化に有効な方法と言えるが、この方法は一般的に、日常的なサニティゼーションサイクルと比較して、繰返し行うこと、および/または、温度を高く保持することが必要となる。システムの熱水フラッシュの適用は、浮遊している汚染菌 (planktonic contaminants) 及びシステム内に既に存在するバイオフィームを最小化するために容認される方法ではあるが、それだけではバイオフィームの塊 (biofilm mass) の除去に十分に効果的ではないことも知られている。

Use of chemical sanitising agents should be considered as part of an effective control strategy. 効果的な管理戦略の一つとして、化学的サニタイジング剤の使用を組み込むべきである。

Use of chemical sanitising agents is an effective method for biofilm removal but introduces the risk of residual chemicals remaining in the water system. Therefore, monitoring should take place after chemical sanitisation to ensure that the chemicals have been removed from the system.

化学的サニタイジング剤の使用は、バイオフィームの除去には効果的な方法であるが、その水システム内に使用した化学的サニタイジング剤が残留するリスクが生じてくる。それゆえ、その薬剤がシステムから除去されていることを保証するために、化学的サニティゼーション後に (訳注:それが除去されていることの) モニタリングを行うべきである。

The ideal mode of action of chemical sanitising agents in the context of biofilm is to both penetrate and provide the appropriate kill to the organisms in question. Appropriate velocity during flushing will aide in the removal of debris and chemicals.

バイオフィームとの関連付で、化学的サニタイジズ剤の作用の理想的なモード (処理様式) は、問題とする微生物にまで浸透して、適切に死滅させるという、両方を与えることである。フラッシング中に適切な流速を維持することは、細胞屑 (debris) や化学薬剤を除去する上での助けとなるであろう。

When hot water or chemical sanitising agents are used in this manner it is important to ensure that the systems recirculating or flowing and the sanitising agents utilised are not introduced into a system to exert their mode of action in a passive mechanism. Any approach to biofilm removal needs to be a dynamic approach within the control strategy.

熱水あるいは化学的サニタイジズ剤をこの方法で使用する時は、そのシステムの循環または流れ (systems recirculating or flowing) や、使用するサイニタイズ剤が、受動的メカニズムの作用モードのために (to exert their mode of action in a passive mechanism : 訳文要検討) 、そのシステムへと入らないことを確実にすることが重要である。バイオフィーム除去のアプローチは、管理戦略の範囲内で動的なアプローチ

とする (訳注：下線部の意味は「臨機応変／積極的に対処する」の意味であろう) が必要である。

Any physical removal approaches should be used with caution because of the high potential of damaging the surface leading to higher risk of recolonization sites and/or corrosive attack (rouging in the case of stainless steel).

如何なる物理的な除去アプローチも注意して使用すべきである。というのは、バイオフィームのコロニー化の部位のリスク (訳注：その個所数や規模が増大するリスク) が増大すること、及び／又は、腐食作用 (ステンレスの場合は、表面が粗雑になる) リスクが増大することで、表面が損傷する高いリスクを受けることになるからである。 (*)

*： (訳注) 金属表面でのバイオフィームの形成は、その形成された表面の腐食を起こすことは、古くから良く知られたことである。例えば、次の資料を参照のこと。

- ・ (独) 製品評価技術基盤機構: “微生物はどのように金属を腐食させるのか?”

http://www.nite.go.jp/nbric/industry/mic2009/knowledge/knowledge_2.html 2017.08.04アクセス

- ・ 天谷尚, 「金属材料表面への微生物の付着と微生物腐食 (MIC)」高温学会誌, 第35巻, 第3号, pp.111-117, 2009年5月. https://www.jstage.jst.go.jp/article/jhts/35/3/35_111/pdf 2017.08.04アクセス

Appropriate removal of cellular debris should also be considered, as excessive debris can result in increased levels of endotoxin/exotoxin etc. existing within the system e.g. by emptying and refilling the entire system with fresh water.

細胞残屑 (cellular debris) の適切な除去もまた考慮すべき事項であり、過剰な細胞残屑が存在することは、そのシステム内に存在するendotoxin / exotoxin (内毒素/外毒素) などのレベルの増大を生じさせる (*1)。このようなことは、そのシステムの水を空にして、新たな水でシステム全体を満たすなどによって生じる (*2)。

*1： (訳注) エンドトキシンは単一な物質ではなく、グラム陰性菌の菌種によって異なり、それに伴い、エンドトキシン活性も大きく異なる。現在の標準エンドトキシンは、大腸菌由来のものである。この標準エンドトキシンに対して、菌種によっては、比率として1000倍あるいは/1000程度の活性の異なりが存在する。過去の実験では、複数の菌種が存在する用水の菌数が、おおよそ “1000 cell/mL”程度となると、0.25 EU/mLの感度を持つライゼイトが凝固を起こすことが報告されている。これを単純計算すれば1菌体当たりのエンドトキシン量 (大腸菌の活性換算) は、「 2.5×10^{-4} EU/cell」となる。

経験則 (下記引用参照) では1 EU は、100 pg (0.1 ng)である。かなり以前では、1菌体あたりのエンドトキシン量 (大腸菌をベースとして) 150 femtogram (150×10^{-15} g)と言われていた。この値を1000倍すると0.15 ngとなる。すなわち、この150 femtogramのエンドトキシン (質量) は妥当なものといえる。

したがって、1菌体当たりの平均的 EU 量 (大腸菌のエンドトキシン活性に変換したとき) に、この2つの値は、 $(0.15 \sim 2.5) \times 10^{-4}$ EU/cellの範囲を示しており、この付近にグラム陰性菌の1細胞当たりの平均的なエンドトキシン量があると推測される。

(上記の引用部分)

For example, 100 pg of the standard endotoxin EC-5, 200 pg of EC-2 and 120 pg of endotoxin from Escherichia coli 0111:B4 have an activity of 1 EU. It is taken as a rule of thumb that 1 EU corresponds to 100 pg of endotoxin.
<http://www.protocol-online.org/biology-forums/posts/1380.html>

*2: (訳注) 「何らかのサニタイジングをもすることなく、水のみを新鮮なものに入れ替えれば、バイオフィームの成長を助長している」という考え方である。水を入れ替えることは、ある意味、水に含まれる新たな微量の栄養物を供給することである。

Frequent, rotation of disinfectants and detergents and inclusion of sporicidal agents should be considered as part of a robust strategy.

しばしば、消毒剤・洗浄剤のローテーションと、殺芽胞剤を含めることは、頑健性を持つ戦略 (robust strategy) としてその採用を考慮すること。

It should be noted that once a biofilm has been established it may be difficult to remove even using the methods above. Any biofilm removal should be followed by a period of intense monitoring before returning the system to use to ensure that the biofilm has been effectively removed and water quality is consistent with the specification.

ひとたびバイオフィームが確立してしまったならば、上述の方法を使用しても、それを取り除くことは困難であることに留意すること。如何なる場合のバイオフィーム除去も、バイオフィームが効果的に除去されたこと、そして水の品質が規格内にあることを確認するために、集中的な (intense) モニタリングの期間を設け、その後にシステムを使用状態に戻すべきこと。

A robust preventative maintenance programme is essential in order to maintain equipment and premises to a standard that will not add significant risk from a contamination viewpoint. Consider regular inspection of utilities, process equipment and transfer lines for obvious signs of deterioration – O-rings, gaskets, seals – regular inspection and replacement.

「汚染という観点から重大なリスクを加えない」という基準に対して、頑健性のある予防的メンテナンス・プログラムは、機器や設備を維持するための必須の事項である。劣化 (deterioration) の明確な兆候があるかについて、ユーティリティ (用役)、プロセス機器、及び移送ラインの定期的な検査を考慮すべきである。それらは、Oリング (O-rings)、ガスケット (gaskets)、シール (seals) などがあり、定期的な検査と交換を考慮する。

5. What specific agents can be used as part of a control strategy?

管理戦略の一環として、どのような薬剤が使用できるか？

Examples include sodium hypochlorite, hydrogen peroxide/peracetic acid solutions, sodium hydroxide. Appropriate contact times need to be established.

その様な事例としては、次亜塩素酸 (Sodium Hypochlorite)、過酸化水素／過酢酸溶液 (Hydrogen Peroxide / Peracetic acid solutions)、水酸化ナトリウム (sodium hydroxide) が含まれる。適切な接触時間を確立する必要がある。

Additionally, preferred passivation chemistry methods can also be considered in the control strategy.

更に、推奨される不動態化の化学的方法 (preferred passivation chemistry methods) もまた、管理戦略として推奨することが出来る (*)。

* : (訳注) 不動態化処理は幾つかの方法があるが、製薬業界の水システムでは、硝酸などの強酸化剤での処理方法が多いようである。このような処理は微生物もまた死滅をさせる。

Ozonation should be also considered for loop and distribution systems for WFI water. The destruction of ozone can be done by UV irradiation/treatment.

オゾン処理もまた、WFI水のループや分配システムで考慮すること。オゾンの破壊は、UV (紫外線) の照射／処理によって行える。

Use of thermal sanitisation where possible should also be considered. Generally temperatures above 75°C should be utilised.

可能な場合は、加熱によるサニティゼーションの使用も考慮すること。一般的に、75°C以上の温度を利用すること。

An approach that utilises a minimum of a double-edged approach should be considered, e.g. thermal sanitisation in conjunction with a chemical sanitisation at a set frequency based on robust risk-assessment.

double-edged approach (訳注: “性質の全く異なったサニティゼーションの2つのアプローチ”という意味) を使用するアプローチも、考慮すること。例えば化学的サニティゼーションと組み合わせた形での加熱によるサニティゼーションは、頑健性のあるリスク-アセスメントに基づき、頻繁に設定されている。

6. Are there any additional measures which should be considered in order to increase the probability of detecting the presence of biofilms?

バイオフィームの存在の検出確率を上げると考えられるような、追加的方策は存在するか？

A robust sampling plan is a requirement. Such a sampling plan forms part of the assessment of the effectiveness of the control strategy employed to minimise such risks of biofilm and general contamination issues. Each potential source of contamination should be incorporated into such a sampling regime. Ongoing evaluation to determine the appearance of an adverse trend should be performed, however, the seasonal variation that occurs can only be determined during the annual trend assessment. The effectiveness of an environmental monitoring programme should be formally assessed at minimum on an annual basis.

頑健性のあるサンプリング計画が必要となる。そのようなサンプリング計画は、バイオフィーム及び一般的な汚染の問題点のリスクを最小とするために使用する管理戦略の一部を形成するものである。汚染に関してのそれぞれの可能性ある各原因を検知できるような仕組みを、そのようなサンプリング体制 (sampling regime) の中に組み込むべきである。好ましくないトレンドが現れていないかを調べるための継続的評価 (ongoing evaluation) を行うべきであるが、生じるかも知れない季節的変動は、年次でのトレンドのアセスメントを通じてのみ決定することが出来る。環境モニタリングプログラムの有効性は、少なくとも年次ベースで、正式にアセスメントすべきである。

Sampling programmes for water systems should take account of the quality of the water supply to the system as well as assessing points throughout water generation. Water quality is best assessed through a pre-determined, systematic approach. The loop return should be sampled each day of use of the system in order to provide additional assurance of the quality of water utilised in the manufacturing processes. All points should be sampled on a rotational basis to ensure that the entire system user points are sampled at least once per week.

製薬用水システムのサンプリング・プログラムは、製薬用水製造 (water generation) を通じてのポイント (訳注：“要点”の意味であろう) を評価すると共に、そのシステムへの水供給の品質 (quality of the water supply : (訳注) 原水の品質を述べていると思われるが、その供給体制も含んでいる可能性がある) も考慮すること。水の品質は、予め決定された、システマティック (系統的な) なアプローチを通じて行うことで、最も良く評価することが出来る。ループのリターンは、そのシステムを使用した日は、製造プロセスで使用された水の品質の追加的保証 (additional assurance) を与えるために、毎日サンプル採取を行うべきである。そのシステム全体におけるユース・ポイント (user points : 「ユースポイント」と同じ意味と思われる) の全ては、少なくとも1週間に1回の頻度で、サンプリングすることを確実にするために、ローテーション (rotational basis) によりサンプリングをすべきである。

Routine identification of contaminants isolated during monitoring activities is critical in order to

ascertain if there is any shift or change in the flora present within a facility or if certain specific species become more prevalent.

モニタリング活動中に分離された汚染菌の日常的な同定は、次の点を究明するために非常に重要である。：

- ①当該設備内に存在する微生物菌相 (flora) の、何らかのシフトあるいは変化が生じているか？
- ②ある特定の菌種が、より優勢な菌種(more prevalent)となっていないか？

訳注：上記の文章は“identification”（同定）とあるが、現実には日常試験で検出された微生物コロニーを全て同定することは不可能であり、また現実的ではない。USP の<1113> MICROBIAL CHARACTERIZATION, IDENTIFICATION, AND STRAIN TYPING（下記のリンク）における CHARACTERIZATION（特徴付け）の考え方を適用すべきであろう。

http://www.drugfuture.com/pharmacopoeia/usp35/data/v35300/usp35nf30s0_c1113.html

(2017.08.04 アクセス)

製薬用水製造システムのように、比較的閉じられたシステムであって、なおかつかなりの微生物学的制御がされている場合の生態系は、その管理状態に変化がない限り、出現する微生物菌種は安定している。したがって、通常の管理では、まずはコロニーの外観により類別して、その数を記録する。その類別した代表的コロニーに対して、細胞形態と簡単な生化学的検査で以前の特徴付け (characterization) の分類を一致するかを確認することで、システム上の微生物制御は十分に実用に耐えるものである。

それとは別に、この特徴付けに関連する形で同定(Identification)の運営プログラムを制定する必要がある。特徴付け (characterization) は、それをを行う者の技量に大きく左右されるのみならず、特徴付けが同じであっても、同定結果が同じであるかは不明だからである。

重要なことは、これらの特徴付けによる微生物の出現構成比と変動、そして菌種の同定結果というデータを、如何にして整理し、役立てて行くかである。すなわち製薬用水システムの微生物制御は、検出された微生物を微生物群集としてとらえ、その制御を考えることにその真の対応の方向性がある。

Use of more sensitive endotoxin detection methods should also be taken into account. Alert levels should be set based on the capability of the system and any change or adverse trend should be appropriately investigated.

エンドトキシンのより鋭敏な検出方法の使用もまた、考慮に入れるべきである。当該（訳注：WFI）システムの能力と、何らかの変化に基づき、アラート限度値を設定すべきであり、悪化傾向 (adverse trend) を適正に調査すべきである。

訳注：Part II Biofilms and control strategies の第4項に、グラム陰性菌の1細胞あたりのエンドトキシン活性量の情報を掲載しているので、必要に応じて参照されたい。

The frequency of trend analysis and use of trend data is critical. The use of rapid microbiological test methods and systems should be considered in order to improve or increase the probability of

early detection and allow timely action to be taken.

トレンド分析の頻度とトレンド・データの使用は、非常に重要 (critical) である。早い段階での検出の可能性を改善し、かつ増大させ、タイムリーなアクションを可能とするために、迅速微生物学的方法およびシステムの使用を考慮すべきである。

(End Of File) 2017年08月06日訳了