

ひと、暮らし、みらいのために  
Ministry of Health, Labour and Welfare

# 特定細胞加工物等の微生物学的安全性に関する指針(第2版) 案について

# 「特定細胞加工物等の微生物学的安全性に関する指針」の更新について

## 経緯

厚生労働省の事業において、再生医療等の提供の実情も踏まえた適切な無菌試験の実施に関するガイダンス案として「特定細胞加工物の微生物学的安全性に関する指針」を作成し、2025年9月8日の厚生科学審議会再生医療等評価部会にて審議し、2025年10月6日に指針初版を発行している。

現状の指針初版において、記載が十分ではないところ（以下に記載の観点）について、厚生労働省の事業にて検討を継続、内容を充実して第2版案を作成した。当該案の内容についてご意見をいただきたい。

- 本指針の対象を**特定細胞加工物等**に拡大
- 無菌試験の代替（迅速無菌試験法）として**核酸増幅法(NAT)**を用いる場合の必要事項と留意事項
- 特定細胞加工物等製造施設の**清掃・消毒**について一部修正
- **環境モニタリング**で衛生管理基準の逸脱が生じた際の対応
- 特定細胞加工物等の**輸送・保管**時の安全性確保と逸脱対応
- その他記載整備、修正すべき箇所の修正

## 1 はじめに

## 2 特定細胞加工物等の微生物学的安全性の考え方について

- (1) 従事者の無菌操作に関する知識及び手技の習熟
- (2) 製造工程管理
- (3) 無菌試験等の確認試験

## 3 微生物学的安全性の確保のための無菌試験の役割

- (1) 工程内管理
- (2) 出荷判定・投与判断
- (3) 培養工程のない特定細胞加工物等
- (4) 長期保存される特定細胞加工物等

## 4 無菌試験の設定における検討事項

- (1) 投与方法（経路、形態、量を含む。）とリスク
- (2) 検出感度の考え方
- (3) 無菌試験実施のタイミングや被験物の選択に関する考え方

## 5 無菌試験の選択

- (1) 迅速無菌試験法の方法
- (2) 無菌試験の検出感度の設定
- (3) 迅速無菌試験の妥当性の確認方法
- (4) 無菌操作と記録

## 6 特定細胞加工物等製造施設における環境モニタリングと清掃

## 7 特定細胞加工物等の輸送・保管中の管理

## 8 投与後の監視

# 特定細胞加工物等の微生物学的安全性に関する指針 第2版（案）について

## 別添1 迅速無菌試験法の具体例

## 別添2 再生医療等提供計画における記載方法

## 別添3 迅速無菌試験法の性能と特定細胞加工物等への適用

### 別添3補遺 無菌試験の代替として核酸増幅法（NAT）を用いる場合の考慮事項

- (1) 迅速無菌試験法としてのNATの位置付け
- (2) NAT試験の実施方法における留意点
- (3) NAT試験の設定に当たっての技術的考慮事項
- (4) 被験検体からのゲノムの抽出、増幅、検出操作についての技術的考慮事項

## 別添4 無菌操作工程における無菌性を担保するために留意すべき事項

- (1) 細胞採取における留意点
- (2) 細胞の移送における留意点
- (3) CPCにおける留意点
- (4) 無菌操作における留意点
- (5) 培養CO<sub>2</sub>インキュベーターの取扱い
- (6) 無菌操作処理後の資機材等の取扱いの留意点

## 別添5 環境モニタリングについて

- (1) 特定細胞加工物等製造区域ごとの環境管理基準値
- (2) 環境モニタリングの頻度
- (3) 微粒子測定 29
- (4) 微生物測定

## 別添6 特定細胞加工物等製造施設の清掃・消毒について

- (1) CPCの清掃・消毒について
- (2) CPCの清掃・消毒頻度について
- (3) CPCの清掃・消毒手順について
- (4) 製造に用いる機器の清掃・消毒手順について
- (5) 消毒剤について

## 別添7 環境モニタリングで異常値が検出された場合に求められる対応

- (1) 環境モニタリングで異常値が検出された場合の考え方
- (2) 清浄度管理基準の逸脱の考え方
- (3) 区域に応じた清浄度管理基準の逸脱時の対応の考え方
- (4) 原因解明と対策
- (5) 対策後の管理区域の清浄性の確認の考え方

## 別添8 特定細胞加工物等の輸送・保管中の管理について

- (1) 輸送・保管における無菌性担保
- (2) 輸送・保管における温度管理、輸送時間及び使用期限の管理

# 特定細胞加工物等の微生物学的安全性に関する指針（令和7年10月6日 第1版）の追加改定のポイント

- 別添7 環境モニタリングで異常値が検出された場合に求められる対応
  - 別添5の環境モニタリングの記載の補完を目的として、モニタリングで異常値が検出された場合に実施すべき事項を解析している。また製造での異常値への対応について記載
- 別添8 特定細胞加工物等の輸送・保管中の管理について
  - 特定細胞加工物等の品質の確保のために輸送の適切な管理について注意喚起が必要と考えられることから、製造・出荷からさらに投与前の保管も含めて汚染防止対策を記載
- 別添3補遺 無菌試験の代替として核酸増幅法（NAT）を用いる場合の考慮事項
  - 迅速無菌試験としての多く細胞加工物の製造で適用されているNATを取り上げ、NATを採用する際の考慮事項と試験実施に際しての注意事項、および得られた結果の取扱いについて解説
- 指針全般にわたってより分かりやすい記載（実施すべき事項と推奨される事項の明確化）

# 別添7 環境モニタリングで異常値が検出された場合の対応

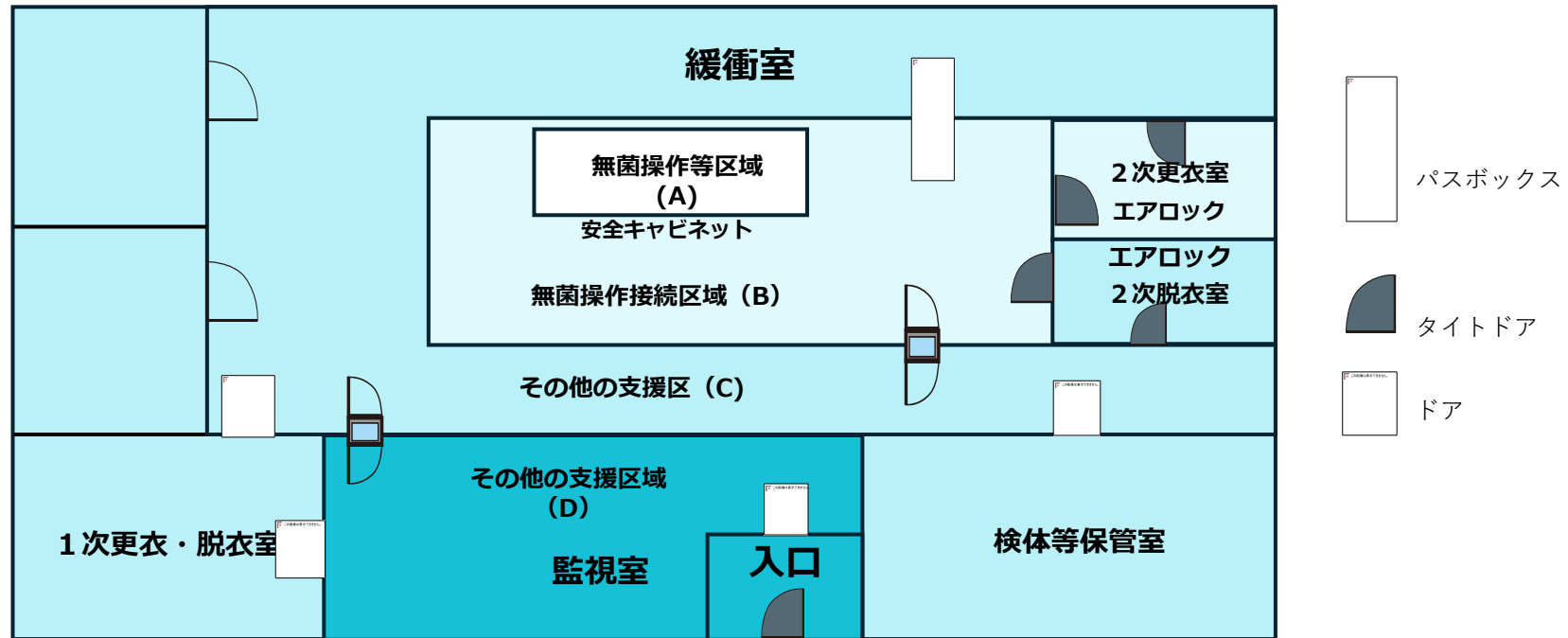
## ● 環境モニタリングでの異常値検出への対応

- 製造環境での清浄性の維持には、浮遊微粒子と微生物に対する清浄度管理基準を設定し、環境モニタリングによりCPC内の清浄度のモニタリング行うこと
- 管理基準から逸脱した際の対応手順について、CPC毎に作成し、逸脱管理に関する事項を手順書に明記すること

## ● 清浄度管理基準からの逸脱

- 無菌操作等区域：特定細胞加工物等が開放された状態で環境と直接触れる可能性のある空間であり、厳密な空気清浄度や環境微生物の許容基準に適合する必要
- 清浄度管理区域は、無菌操作等区域（Grade A）の清浄度を担保するために清浄度を段階的に高める設定とすることが重要
- 管理基準値からの逸脱：逸脱のリスクの程度に応じて「アクシデント」、「重大なインシデント」、「インシデント」、「軽微なインシデント」として適切な対応が求められる

# 細胞加工施設の無菌・清浄度の管理



- 「無菌操作等区域」は特定細胞加工物の製造において開放系で細胞を操作するための区域であり、頑健性のある無菌性の担保が求められる
- 無菌操作等接続区域では「無菌操作等区域」の無菌性を担保するために十分な清浄性を維持することが重要

# 環境微生物の許容基準（作業時）

Grade	空中微生物		表面付着微生物
	浮遊菌 (CFU/m <sup>3</sup> )	落下菌 (CFU/プレート)	コンタクトプレート ト手袋 (CFU/24~30cm <sup>3</sup> )
無菌操作等区域	<1	<1	<1
清浄度管理区域(1)	10	5	5
清浄度管理区域(2)	100~200	50~100	25~50

# 別添7 環境モニタリングで異常値が検出された場合の対応

## ● 環境モニタリングでの異常値検出への対応

- 製造環境での清浄性の維持には、浮遊微粒子と微生物に対する清浄度管理基準を設定し、環境モニタリングによりCPC内の清浄度のモニタリング行うこと
- 管理基準から逸脱した際の対応手順について、CPC毎に作成し、逸脱管理に関する事項を手順書に明記すること

## ● 清浄度管理基準からの逸脱

- 無菌操作等区域：特定細胞加工物等が開放された状態で環境と直接触れる可能性のある空間であり、厳密な空気清浄度や環境微生物の許容基準に適合する必要
- 清浄度管理区域は、無菌操作等区域（Grade A）の清浄度を担保するために清浄度を段階的に高める設定とすることが重要
- 管理基準値からの逸脱：逸脱のリスクの程度に応じて「アクシデント」、「重大なインシデント」、「インシデント」、「軽微なインシデント」として適切な対応が求められる

# 清浄度管理基準からの逸脱

分類	逸脱事例	対応
アクシデント	<ul style="list-style-type: none"><li>・微生物汚染した特定細胞加工物等の患者への投与</li><li>・微生物汚染が検出された特定細胞加工物等の出荷</li></ul>	<ul style="list-style-type: none"><li>・重大事態報告及び逸脱報告</li><li>・標準業務手順（SOP）の見直し</li><li>・CPCの稼働停止</li><li>・清掃・消毒</li><li>・プロセスシミュレーションテスト</li></ul>
重大なインシデント	<ul style="list-style-type: none"><li>・製造した特定細胞加工物等の微生物汚染検出（出荷前）</li><li>・インシデントへの対応後も汚染が発生（細胞によっては、無菌性を担保して採取することが困難な場合もあり得る）</li></ul>	<ul style="list-style-type: none"><li>・逸脱報告（重大な逸脱）</li><li>・標準業務手順（SOP）の見直し</li><li>・CPCの稼働停止</li><li>・清掃・消毒</li><li>・プロセスシミュレーションテスト</li></ul>
インシデント	<ul style="list-style-type: none"><li>・無菌操作等区域（Grade A）での微生物モニタリングで衛生基準値の逸脱</li></ul>	<ul style="list-style-type: none"><li>・逸脱報告</li><li>・操作手順・衛生管理手順書等の見直し</li><li>・CPCの清掃・消毒</li></ul>
軽微なインシデント	<ul style="list-style-type: none"><li>・無菌操作等区域に隣接する清浄度管理区域での微生物モニタリングで衛生基準値の逸脱</li></ul>	<ul style="list-style-type: none"><li>・逸脱報告</li><li>・CPCの清掃・消毒</li></ul>

# 環境モニタリングでの異常とその原因説明：対策

## 清浄度モニタリングでの異常

- 想定される浮遊微粒子の管理基準値逸脱の要因
  - 無菌操作等区域等の浮遊微粒子に対する清浄度は、プレフィルター等を含むHEPAフィルターを介した空気の流入により維持されている
  - フィルターを通過した空気を導入する区域での清浄度が管理基準を超えているケースはHEPAフィルターの破断の可能性  
⇒ HEPAフィルターの定期的な検査の実施（交換）
  - 管理区域での浮遊微粒子測定値の継続的な悪化は外気からの微生物の流入を示唆  
⇒ CPCのシャットダウン、フィルター交換、洗浄・清掃の実施  
（5 μm以上の浮遊微粒子数と環境微生物数との相関性があるとされている）
- 環境微生物の清浄度管理基準からの逸脱要因
  - 無菌操作等区域での微生物の汚染  
⇒ 清浄度管理区域のみならず想定外の流入経路がある可能性、作業者による持ち込み、製造に用いる材料や機材の持ち込みに付随している可能性
  - 微生物管理基準逸脱時の対策
  - 対策後の管理区域の清浄性の確認（環境モニタリング等の再実施）

## 別添 8 特定細胞加工物等の輸送・保管中の管理について

- CPCで製造された特定細胞加工物
  - 定められた容器に充てんされ、汚染防止の対策がなされた密封状態で保管・輸送  
⇒ 充てん・輸送・到着後の開封と患者への移植までの間での無菌性の担保
- 輸送・保管時の無菌性の担保
  - 容器、包装の破損やゆるみ、液体（特定細胞加工物等）の漏れなど、密封状態が確認できない場合は、無菌性は維持されていないと判断
- 医療機関での操作
  - CPCから送付された特定細胞加工物等に対して、何らかの処理を行い、患者に投与する場合は、特定細胞加工物等に対する無菌性を確認し、微生物汚染防止のために細心の注意を払い、汚染防止可能な環境で操作すること
- 特定細胞加工物等が凍結状態にて保管・輸送される場合の考慮事項
  - 細菌の増殖が起きないような作業方法で温度での操作
- 非凍結状態での保管・輸送
  - 特定細胞加工物等の無菌性の維持に細心の注意が必要。温度によっては汚染微生物の増殖が起きてしまう可能性 ⇒ 保管期間は必要最低限の時間に設定すべき

# 無菌試験の代替として核酸増幅法（NAT）を用いる場合の考慮事項

## • 細胞加工物を製造する医療機関で実施する場合

- NATは非常の少量のターゲットゲノムを増幅できる技術であるため、増幅産物による汚染リスクへの対応と偽陽性のリスクを排除する取扱いが必要
- 自医療機関で無菌試験としてNATを適用する際には、実施者の技術的な習熟度が非常に重要であり、教育のみならず実際の技術習熟度を評価する必要

## • 外部委託でNATを行う場合の留意点

- 十分な施設要件を満たすとともに、高感度なNATを実施することができる専門性を有する者によって試験が実施されている施設に委託するべき
- 外部検査機関にNATを委託する場合、被験検体の輸送を含めて判定結果が得られるまでに時間を要する ⇒ 迅速に結果が得られないことへの対応を考慮すること

## • NATによる試験を設定する際の考慮事項

- NATが目的に照らして十分な検出感度や精度をもっていることを確認するために、
  - 1) 検出可能な菌種、
  - 2) どのような被験物に適用可能か、
  - 3) 被験検体からの核酸抽出操作法・抽出効率、
  - 4) 核酸抽出した被験検体の核酸増幅機序と増幅産物の検出法、
  - 5) キャリーオーバーなどの妨害要因の排除、
  - 6) 得られた結果からの判定基準やアルゴリズム、などを評価しておくことが必要

# 核酸増幅法（NAT）による迅速無菌検査

## NATの特長

遺伝的保存配列であるリボゾーマルRNAの遺伝子をプライマー／プローブを用いたPCR等により検出

### 長所：多数の市販キットが利用可能（EP2.6.27に準じているとされるキットも市販）

- 指数的にゲノム配列を増幅して検出するために、10-100cfu（10～1000cfuとする場合）の検出感度とされている（USP）
- 検出系としてのバリデーションが実施されている市販キットを利用する場合：適用する特性細胞加工物に適用に際して標榜する感度や精度が得られることの確認が必要
- NATの実施に際しては検体からの抽出操作を含めた検出系の確認が必要

### 短所

- 菌の増殖性に依存しない  
⇒ 死菌や菌のゲノムの汚染を検出するために、**偽陽性の結果を得るリスク**
- 陽性結果が得られた場合、生菌の存在を確認する必要
- 高い増幅能ゆえに、増幅産物の汚染による偽陽性がでてしまうことがある

# 核酸増幅法（NAT）の設定や検出限界等の考え方

