

## ●「3 営業日報告」を実現する迅速微生物検査

TN541

## Rapid Microbiological Test for Specific Processed Cells Enabling Reporting within 3 Business Days

## [特長]

- ✓ 検体受領日から 3 営業日でご報告。ご要望に応じて最短即日でものご報告も可能
- ✓ 日本薬局方<sup>1)</sup> (以下局方) を参考に、検出感度を検証済みの試験法を開発
- ✓ ご依頼いただいた試験ごとに、コントロール試料の測定により試験系が適切に機能していることを確認
- ✓ ISO9001 品質マネジメントシステムにて、当該試験の資格認定者が管理校正された機器を使用して実施

## [概要]

局方に記載されている無菌試験の培養法は 14 日、迅速試験法のガス測定法は 7 日かかりますが、より早く結果が求められる医療現場や臨床研究のニーズに応え、当社では検体受領日から結果報告まで 3 営業日の迅速微生物検査サービスを提供しております。

本稿では特定細胞加工物の微生物学的安全性に関する指針<sup>2)</sup> (以下指針) を参照して設定した①迅速無菌試験、②マイコプラズマ否定試験、③エンドトキシン試験の 3 項目について、模擬検体を用いて、局方を参考にして検証した試験方法と結果を紹介します。

**Keywords :** 細胞培養上清、PCR、細胞治療、安確法

## [背景]

再生医療では患者様に投与される細胞や製品の安全性が患者様のリスクに直結し、なかでも微生物学的安全性、つまり微生物による汚染がないこと、あるいは許容レベル以下であることの確認はきわめて重要です。

医薬品医療機器等法<sup>3)</sup>のもとで製造販売される再生医療等製品では、微生物学的安全性を担保するための無菌試験、マイコプラズマ否定試験およびエンドトキシン試験は、局方に準拠して実施されます。一般に実施される、培養法による無菌試験は、増殖可能な生きた微生物を検出し、優れた感度を示す一方で、14 日間以上の培養期間が必要です。また、手法の適合性の確認方法や、指標として使用する標準菌等も局方を参照することが求められます。

再生医療等安全性確保法<sup>4)</sup>のもとで行われる再生医療については、指針に微生物試験の考え方が示されており、局方に基づく無菌試験の適用が困難な場合には、迅速無菌試験を活用することが有用であるとされています。また、試験の設定にあたっては、用いる特定細胞加工物の製造工程や特性に応じて、検出感度を含めて、その迅速試験が利用可能であるかを評価することが求められています。核酸増幅法 (NAT 法) による迅速無菌試験は、微生物由来の核酸を測定するため、検体中に死んだ微生物由来の核酸が存在する場合も検出する可能性があり、生きた微生物の存在を確認するものではありません。また、培養法と比べ一般に感度が劣ります (数 10CFU~)。このような制約があるものの、本法は培養期間を必要とせず、短期間で結果を確認することができる利点があることから、有用な無菌試験の選択肢になります。

当社の迅速微生物検査サービスでは、NAT 法による迅速無菌試験を採用し、3 営業日での結果報告が可能です。次項で模擬検体を用いて検証した事例を示します。

## [事例]

## ① 迅速無菌試験 (NAT 法)

本稿で紹介する迅速無菌試験では、NAT 法により検体中の微生物 (細菌および真菌) 由来の核酸を検出します (Fig. 1)。市販培地を模擬検体として、局方記載の標準菌 6 種を添加した感度確認用検体を調製しました。本試験法で測定した結果、全ての標準菌について、100 CFU/mL 未満の検出感度を確認しました (Table 1)。

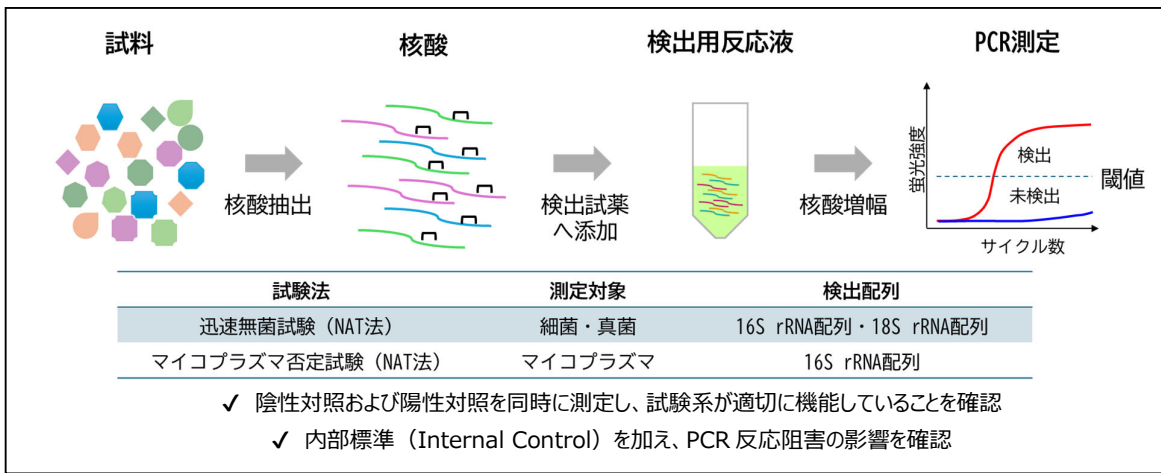


Fig. 1 迅速無菌試験およびマイコプラズマ否定試験の方法

Table 1 迅速無菌試験の検証結果

標準菌 (局方記載)	検出対象	CFU/mL試料	Target	Internal Control
<i>Bacillus subtilis</i>	16S rRNA配列	31	検出	検出
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	16S rRNA配列	30	検出	検出
<i>Clostridium sporogenes</i>	16S rRNA配列	29	検出	検出
<i>Staphylococcus aureus</i>	16S rRNA配列	36	検出	検出
<i>Candida albicans</i>	18S rRNA配列	28	検出	検出
<i>Aspergillus brasiliensis</i>	18S rRNA配列	31	検出	検出

### ② マイコプラズマ否定試験 (NAT 法)

迅速無菌試験と同様に、NAT 法により検体中のマイコプラズマ由来の核酸を検出します (Fig. 1)。模擬検体として市販培地および間葉系間質細胞 (MSC) を使用し、局方記載の標準菌 7 種を添加し、感度確認用の検体としました。本試験法で測定した結果、全ての標準菌について 10 CFU/mL の検出感度を確認しました (Table 2)。

Table 2 マイコプラズマ否定試験の検証結果

標準菌 (局方記載)	CFU/mL試料	模擬試料：培地		模擬試料：MSC	
		Target	Internal Control	Target	Internal Control
<i>Mycoplasma arginini</i>	10	検出	検出	検出	検出
<i>Mycoplasma orale</i>	10	検出	検出	検出	検出
<i>Mycoplasma pneumoniae</i>	10	検出	検出	検出	検出
<i>Mycoplasma fermentans</i>	10	検出	検出	検出	検出
<i>Mycoplasma hyorhinis</i>	10	検出	検出	検出	検出
<i>Acholeplasma laidlawii</i>	10	検出	検出	検出	検出
<i>Mycoplasma salivarium</i>	10	検出	検出	検出	検出

### ③ エンドトキシン試験 (カイネティック比色法)

局方を参考に設定した試験法です。カイネティック比色法により検体中のエンドトキシンを検出し、エンドトキシン標準溶液による検量線に基づいてエンドトキシン濃度を求めます (Fig. 2)。

模擬検体中のエンドトキシンの回収率の確認およびエンドトキシン濃度の測定を行いました。模擬検体として 2 種類の市販培地 (A および B) を使用しました。その結果、いずれの検体もエンドトキシン添加検体の回収率は試験法の基準の範

圏内であり、測定値は市販培地 A では下限未満 (<0.02 EU/mL)、市販培地 B では 0.14 EU/mL でした (Table 3)。

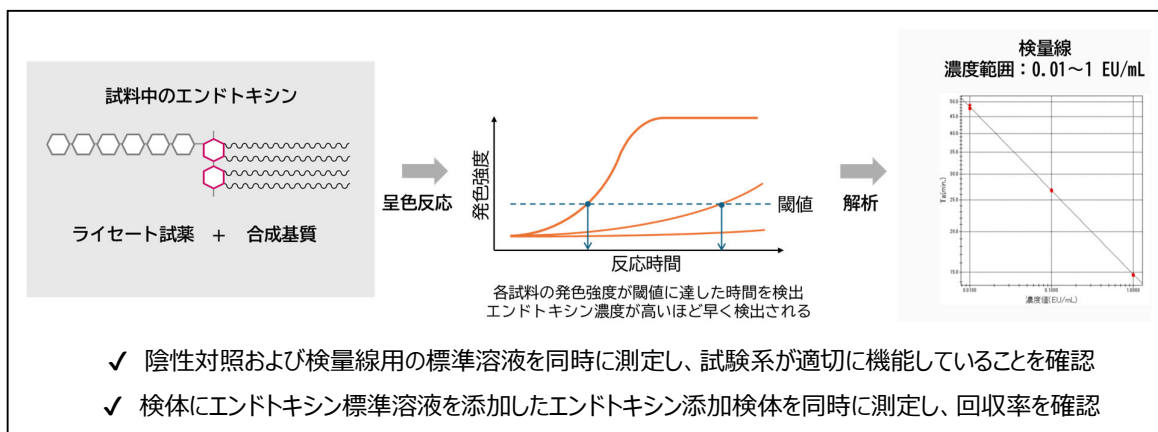


Fig. 2 エンドトキシン試験（カインティック比色法）の方法

Table 3 エンドトキシン試験（カインティック比色法）の検証結果

模擬試料	希釈倍率	定量値 (EU/mL)	0.1 EU/mL エンドトキシン添加検体 回収率 (%)
市販培地A	2倍	<0.02	100
	10倍	<0.10	112
市販培地B	2倍	0.14	148
	10倍	0.12	120

#### [文献]

- 厚生労働省: 令和 8 年 4 月 10 日厚生労働省告示第 193 号, "第十九改正日本薬局方", <<https://www.mhlw.go.jp/stf/seisakunitsuite/bunya/0000066530.html>>, (accessed 2026-05-25).
  - 一般試験法 4.01 エンドトキシン試験法
  - 一般試験法 4.06 無菌試験法
  - 参考情報 G3-14-170 バイオテクノロジー応用医薬品／生物起源由来医薬品の製造に用いる細胞基材に対するマイコプラズマ否定試験
- 厚生労働省: "特定細胞加工物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)", <<https://www.mhlw.go.jp/content/10800000/001575671.pdf>>, (accessed 2026-05-25).
- 厚生労働省: "医薬品、医療機器等の品質、有効性及び安全性の確保等に関する法律 (薬機法) (令和 8 年 5 月 21 日改正施行)", <<https://laws.e-gov.go.jp/law/335AC0000000145/>>, (accessed 2026-05-25).
- 厚生労働省: "再生医療等の安全性の確保等に関する法律 (令和 7 年 6 月 1 日改正施行)", <<https://laws.e-gov.go.jp/law/425AC0000000085/>>, (accessed 2026-05-25).