

2025.02.27

インターフェックスWeek大阪：サステナブルトレンドフォーラム

微生物迅速分析装置 Sievers Soleilと 汚染管理戦略



セントラル科学株式会社
業務推進部
梅谷 光祐

時間は重要

バイオバーデンの結果が
45分で得られるとしたら
どうする？

- 業務はどう変わる？
- 汚染管理戦略（CCS）に
どのような影響を与える？

課題：

バイオバーデン試験は待ち時間が長く効果的なプロセス監視と製品出荷には有効ではない



1905年以降、現行の培養法が採用されている

－ しかしながら －

結果が出るまでに3～5日間以上

遡及的試験法 vs. 実用的試験法

どちらでプロセス制御？



解決策： Sievers迅速バイオバーデン分析

バイオバーデンの測定時間が**45分以内**
運用コストを削減&リスク管理を改善



超高感度ハイスループットフローサイトメーター
+ 独自の染色技術

正確な菌数測定：100mL中10細胞未満

従来のバイオバーデン試験方法

メンブレンフィルター法

1



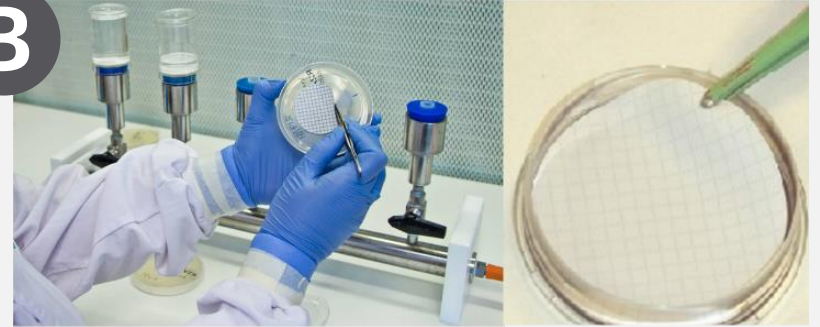
設備からサンプリング

2



サンプルをラボに運びフィルターでろ過する

3



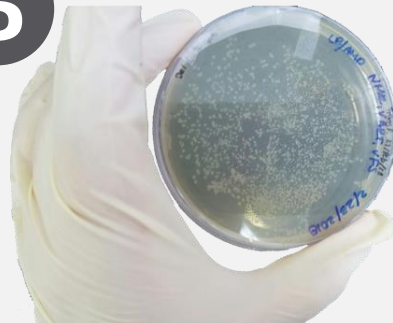
フィルターを適切な培地に置く

4



2～5日間以上培養する

5



微生物のコロニー数を手動で数える

なぜ
3～5日以上も
待つのか？



SIEVERS SOLEIL

45分未満で従来法と同等の超高感度バイオバーデン測定

- 1. 薬局方一般試験方法との同等性：** Soleilは超高純度の微生物レベル（0.10 細胞未満/mL～最大100細胞/mL）で培養法（CFU）と相関がある
- 2. 迅速測定：** Soleilは最初の100mLサンプルを45分未満で測定し、以降のサンプルは20分未満で測定可能
- 3. 簡単操作：** Soleilは非常に使いやすく、研究室・アットライン・原材料の出荷判定のための迅速なスクリーニングのために使用可能
- 4. 柔軟性：**
 - 1サンプルあたりの操作時間は5分未満
 - 様々なサンプル容量に対応：20mL～100mLまでのサンプル容量を分析可能
 - 超高純度の適合性：UPW・洗浄バリデーション・原材料・工程中のサンプル
- 5. 携帯性：** さまざまな場所に簡単に移動可能



SIEVERS 迅速バイオバーデンのアプリケーション



汚染管理や生産効率上昇によるコスト削減：

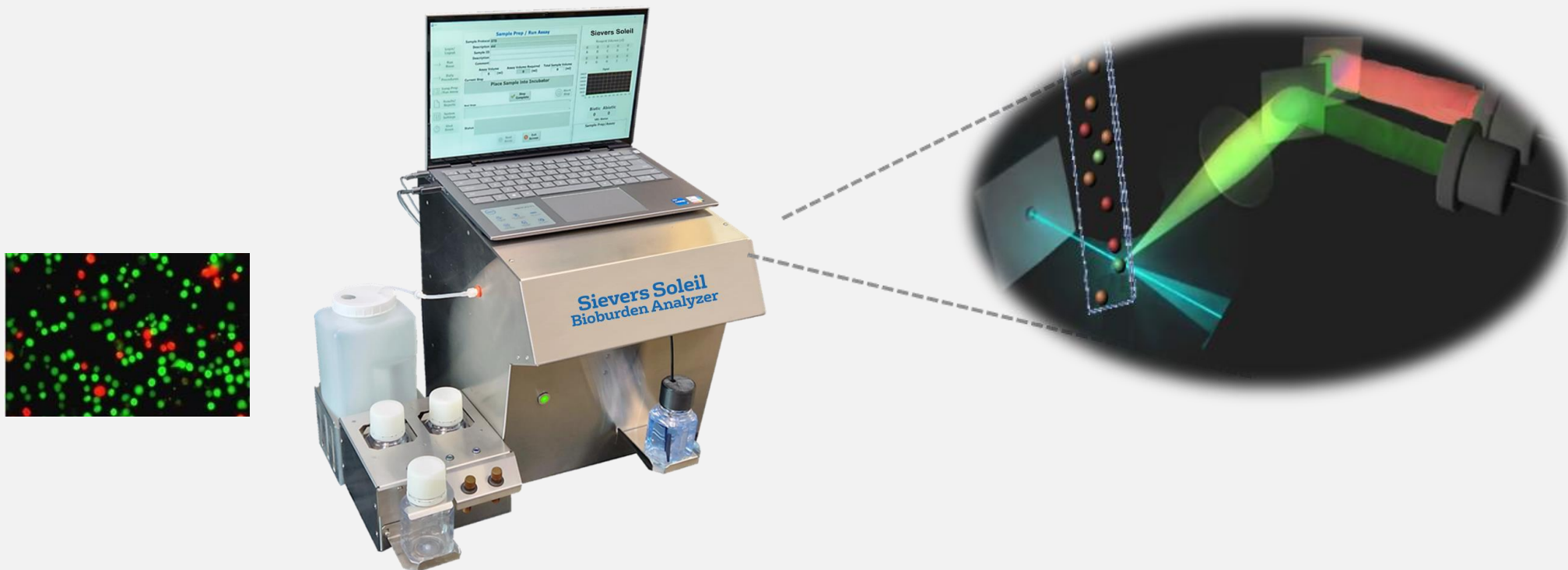
- 製薬用水の重要管理点（CCP）
- 洗浄バリデーション/衛生モニタリング
- プロセス水
- 原材料
- 原薬や中間体のアットラインモニタリング
- プロセスエリアの環境モニタリング

迅速で簡単な
プロセス管理による
時短・リスク削減・コスト削減



SIEVERS SOLEIL

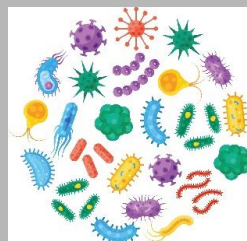
45分未満で従来法と同等の超高感度バイオバーデン分析



超高感度
ハイスループット
フローサイトメーター

+

生細胞
染色



+

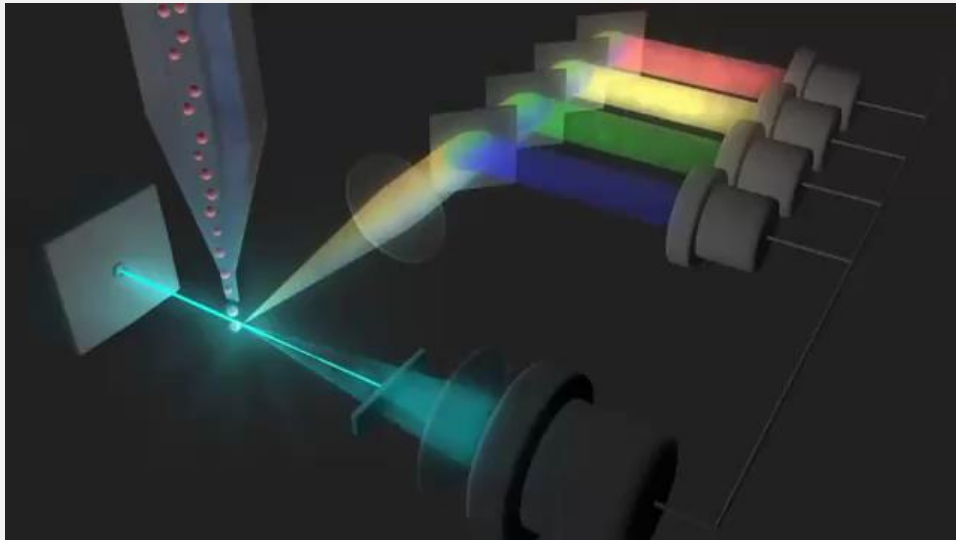
スペクトル
分析



=

生細胞の
正確な定量

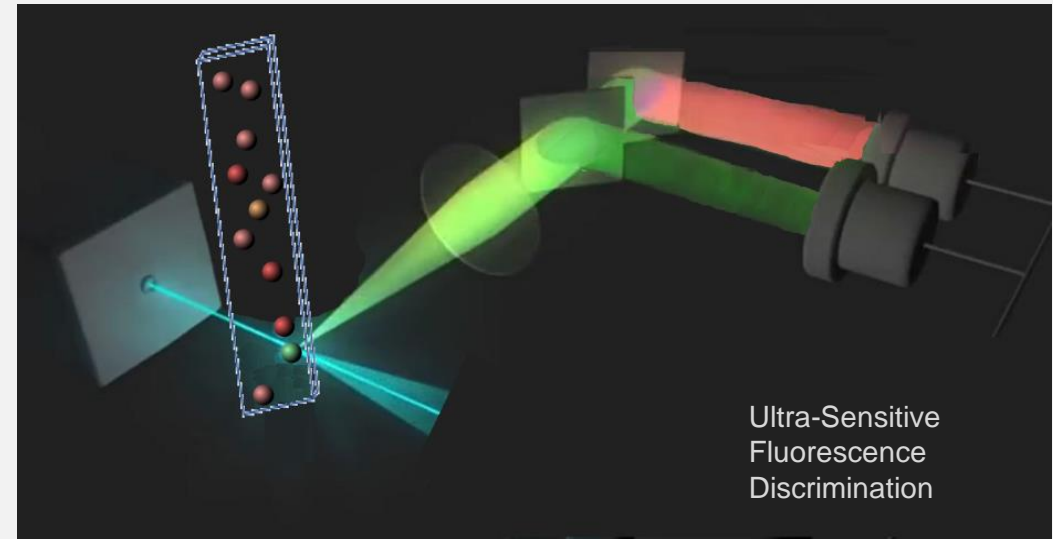
SOLEILのフローサイトメーター 100mL中10細胞未満を正確に定量



<https://www.technologynetworks.com/cell-science/videos/how-does-flow-cytometry-work-317076>

従来のフローサイトメトリー

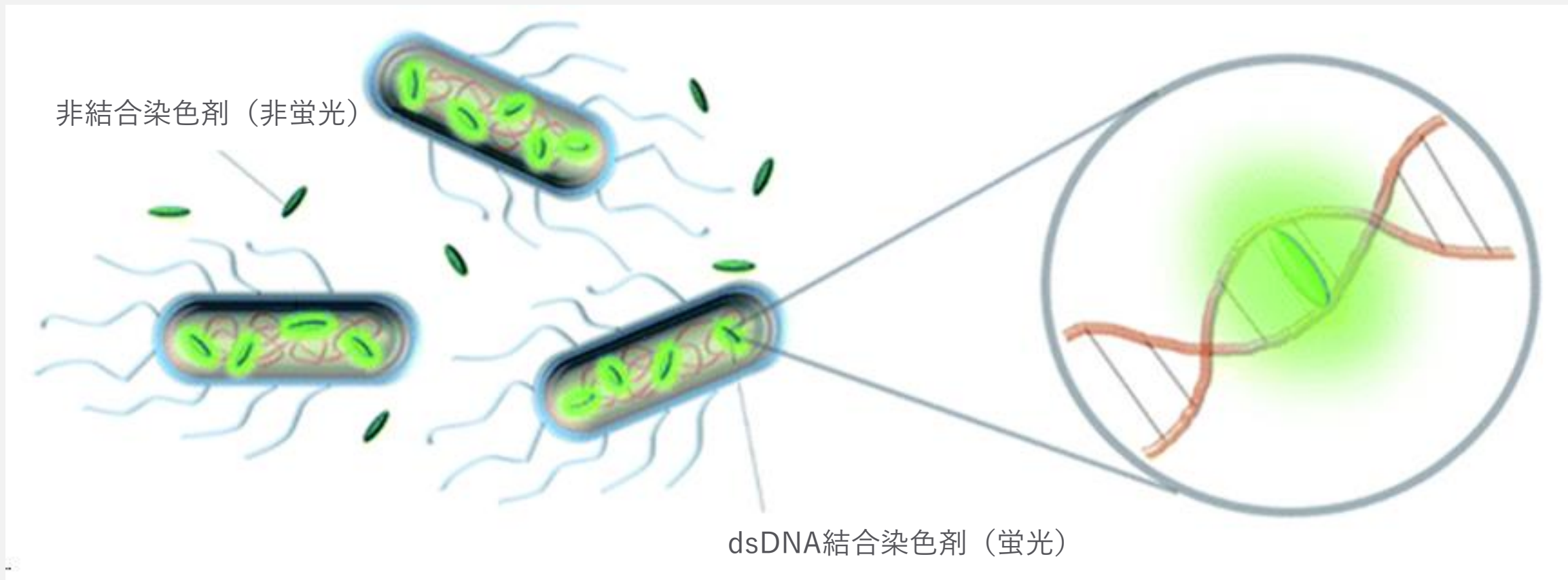
- + 固有または外部の蛍光
- + 単一の細胞や粒子に対して正確
- + ろ過が可能な製品
- 低流量 ($\mu\text{L}/\text{min}$)
- サンプル量は少量 (μL)



ハイスループットフローサイトメトリー

- + 固有または外部の蛍光
- + 単一の細胞や粒子に対して正確
- + ろ過が可能な製品
- + 流量が多い ($8 \text{ mL}/\text{min}$)
- + サンプル量が多い ($25 \sim 100 \text{ mL}$)
- + 迅速測定：15分で100 mLを分析

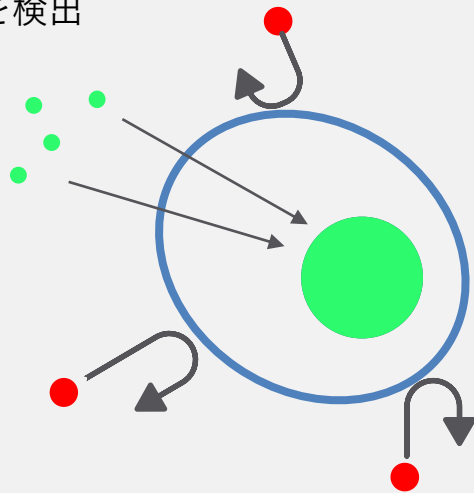
SOLEILのフローサイトメーター 動作原理



SOLEILのフローサイトメーター

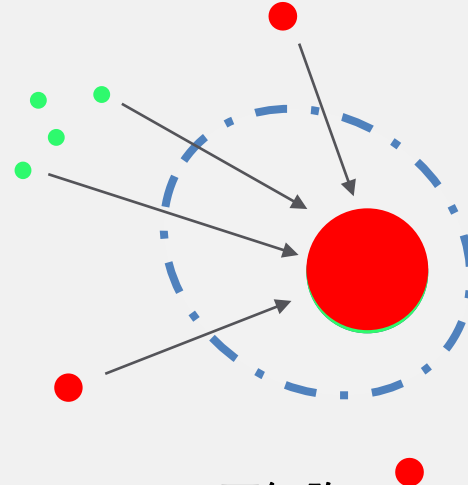
動作原理

DNA染色剤は細胞膜を透過する
生細胞と死細胞の
両方を検出



生細胞

生細胞染色剤は
健康な細胞膜を通過できない

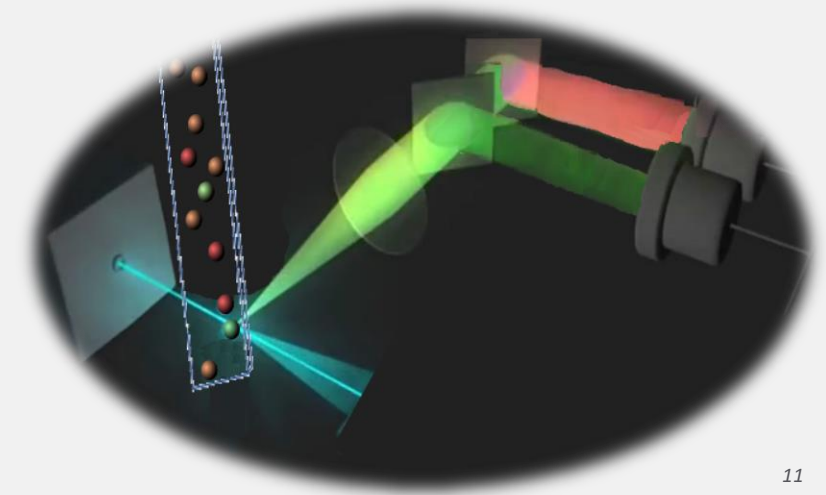
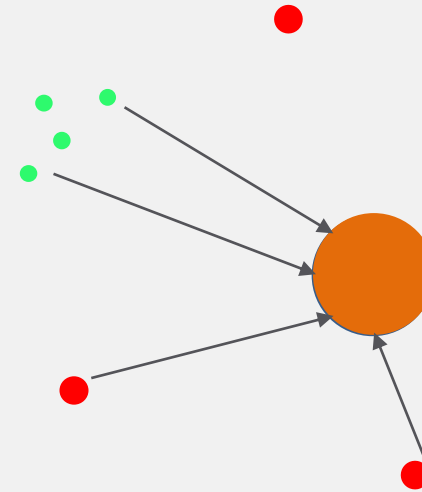


死細胞

生細胞染色剤は、
死細胞や瀕死の細胞の劣化した
細胞膜を通過する

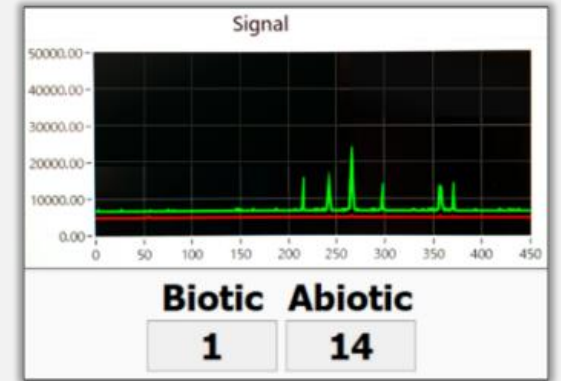
非生物粒子

染色剤は無機粒子と結合する

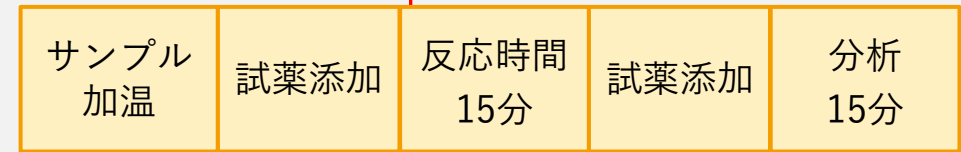


45分未満の迅速バイオーバーデン分析 ラボ or アットラインで簡単操作

操作時間 **5** 分
ピペット操作 **3** 回



初回サンプルの分析を開始したら次のサンプルへ試薬を添加



プレートカウント法との相関

100mLのサンプル

精製水に

- *B.Cepacia*
- *R.pickettii*
- *S.maltophilia*
- *E.coli*

を等量ずつ接種した
混合培養液

Sample Description	Target Count per 100 mL	Average Plate Count per 100 mL	Sievers Rapid Bioburden count per 100 mL	Sievers Rapid Bioburden % correlation to Plate	Average Plate Count (CFUs)	Average Sievers Rapid Bioburden	STDEV Sievers Rapid Bioburden	CV Sievers Rapid Bioburden	Sievers Rapid Bioburden % correlation to Plate
WFCC Neg Con - n1	0	0	0	100%	0	0	0	0%	100%
WFCC Neg Con - n2	0		0	100%					
WFCC Neg Con - n3	0		0	100%					
Mixed Culture 0.05 - n1	5	6	5	83%	6	7	2	29%	117%
Mixed Culture 0.05 - n2	5		7	117%					
Mixed Culture 0.05 - n3	5		9	150%					
Mixed Culture 0.1 - n1	10	12	13	108%	12	13	4	26%	111%
Mixed Culture 0.1 - n2	10		17	142%					
Mixed Culture 0.1 - n3	10		10	83%					
Mixed Culture 0.5 - n1	50	66	75	114%	66	67	10	15%	101%
Mixed Culture 0.5 - n2	50		56	85%					
Mixed Culture 0.5 - n3	50		69	105%					
Mixed Culture 1 - n1a	100	127	102	80%	127	117	16	14%	92%
Mixed Culture 1 - n2a	100		116	91%					
Mixed Culture 1 - n3a	100		134	106%					
Mixed Culture 1 - n1b	100	113	141	125%	113	132	10	8%	117%
Mixed Culture 1 - n2b	100		121	107%					
Mixed Culture 1 - n3b	100		134	119%					
Mixed Culture 10 - n1	1,000	1,067	1,264	118%	1,067	1,289	36	3%	121%
Mixed Culture 10 - n2	1,000		1,330	125%					
Mixed Culture 10 - n3	1,000		1,274	119%					
Mixed Culture 100 - n1	10,000	11,000	12,188	111%	11,000	12,218	199	2%	111%
Mixed Culture 100 - n2	10,000		12,036	109%					
Mixed Culture 100 - n3	10,000		12,430	113%					

結果

世界最大級のバイオ医薬品メーカーによる検証

2021年のEuropean Microbiology Conferenceにて Roche社のMichaela Kinney氏とDr. Ulrich Zuber氏が発表

プレゼンの概要

- オンラインタイプの制限
- Vbmicro (現在のSievers Soleil) :
測定原理
- 水分析におけるアプリケーション
WFI
PW
- 標準的なプレートカウント法との比較
- バッファースンプルのアプリケーション
- 医薬品試験：最初の所見
- 展望

VBmicro - a suitable lab device for bioburden determination of water and buffers in less than 1hour
European Microbiology Conference 2021
Michaela Kinney & Dr. Ulrich Zuber, Roche

In Process Control: Buffer samples

- Potentially contaminated (*Paenibacillus*) buffer sample downstream process of DS production
- Fast VBmicro analysis result (140x faster than plate count)

Batch	VBmicro Results			
	Run 1 [biotics/20ml]	Run 2 [biotics/20ml]	Run 3 [biotics/20ml]	Average [biotics/20ml]
A	0	0	1	0.3
B	0	0	1	0.3
C	7	13	28	14.7
D	124	132	153	136.3
E	93	83	97	91
F	366	365	307	344.3
G	1	0	1	0.3
H	93	83	98	91.3
I	33	33	42	37.6
J	322	306	305	311
K	5	6	7	6
L	112	110	119	113.6
M	134	131	147	137.3
N	253	297	267	272.3

→ faster decision making possible for f

Comparison to standard plate count method

- VBmicro vs. membrane filtration
- Setup: Different dilutions of tap water (as contamination source)
- sterile water
- Parallel analysis with VBmicro* and filtration of same sample

Sample	cfu/100ml	Average [biotics/100ml]	Result 1 [biotics/100ml]	Result 2 [biotics/100ml]
0.0001% TW	4	2	1	3
0.0005% TW	10	8	6	10
0.001% TW	12	19	15	23
0.002% TW	28	32.5	29	36
0.005% TW	58	68.5	68	69

Correlation VBmicro vs. Plate count within 50-200%
* Tests were performed with non-optimized parameters

© ECA Academy - www.gmp-compliance.org



結果

世界最大級のバイオ医薬品メーカーによる検証

注射水のバックグラウンド

Date	Sample	Results with software adaption	
		Biotics/100ml	Abiotics/100ml
08.10.2020	WFI	0	92
08.10.2020	WFI	3	95
08.10.2020	WFI	0	81
08.10.2020	WFI	0	121
08.10.2020	WFI	1	117
08.10.2020	WFI hot 1	0	175
08.10.2020	WFI hot 2	0	163
20.10.2020	WFI	0	68
20.10.2020	WFI	0	23
01.02.2021	WFI hot	0	250
01.02.2021	WFI hot	0	238
01.02.2021	WFI hot	1	390
01.02.2021	WFI hot	0	223

注射水 (WFI) のバックグラウンド：
0~3 biotics/100 ml (アクションリミット：10 cfu/100ml)

精製水のバックグラウンド

Date	Sample	Biotics/100ml	Abiotics/100ml
08.07.2020	PW Loop 2	5	292
08.07.2020	PW Loop 2	6	234
08.07.2020	PW Loop 2	1	72
08.07.2020	PW Loop 2	3	50
08.07.2020	PW Loop 2	3	55
14.10.2020	PW Loop 2	8	23
14.10.2020	PW Loop 2	4	20
15.10.2020	PW Loop 2	6	20
15.10.2020	PW Loop 2	3	8
15.10.2020	PW Loop 2	4	411
15.10.2020	PW Loop 2	1	567
15.10.2020	PW Loop 2	3	282

精製水 (PW) のバックグラウンド：
1~8 biotics/100 ml (アクションリミット：100 cfu/ml)



結果

世界最大級のバイオ医薬品メーカーによる検証

Vbmicro (現在のSievers Soleil) vs. メンブレンフィルター法

標準的なプレートカウント法 との比較

→ Soleil vs. プレートカウント法
相関は50~200%

標準的なプレートカウント法との比較

VBmicro vs メンブレンフィルター法

セットアップ：水道水（コンタミ要因）を使って滅菌水を異なる希釈倍率で希釈
→同じサンプルをSoleilとメンブレンフィルター法で同時に分析

Sample	cfu/ 100ml	Average [biotics/ 100ml]	Result 1 [biotics/ 100ml]	Result 2 [biotics/ 100ml]
0.0001% TW	4	2	1	3
0.0005% TW	10	8	6	10
0.001% TW	12	19	15	23
0.002% TW	28	32.5	29	36
0.005% TW	58	68.5	68	69

Soleil vs メンブレンフィルター法の相関は50~200%



Academy
Your GMP/GDP
Information Source

結果

世界最大級のバイオ医薬品メーカーによる検証

Vbmicro (現在のSievers Soleil)
プレートカウント法よりも
140倍速く測定結果が得られる

下流プロセスにおける
バッファーサンプル

→ 今後のステップに向けてより
迅速な意思決定が可能になる

プロセス管理：バッファーサンプル

- DS製造の下流工程において、パエニバシラス汚染の可能性があるバッファーサンプル
- VBmicroの迅速な測定結果（プレートカウント法よりも140倍速い）

Batch	Soleil Results			Average [biotics/10ml]	Plate Count [cfu/10ml]
	Run 1 [biotics/20ml]	Run 2 [biotics/20ml]	Run 3 [biotics/20ml]		
A	0	0	1	0.2	0
B	0	0	1	0.2	0
C	7	13	28	8	0
D	124	132	153	68.2	44
E	93	83	97	45.5	24
F	366	365	307	137	98
G	1	0	1	0.3	0
H	93	83	98	45.7	14
I	33	33	42	18	10
J	322	306	305	155.5	41
K	5	6	7	3	0
L	112	110	119	56.8	27
M	134	131	147	68.7	38
N	253	297	262	135.3	98



→ 迅速なプロセスの意思決定が可能



微生物の種類

薬局方と業界ワークグループ

Microorganism	Gram Stain	USP <61> Nonsterile Products Microbial Enumeration	USP <62> Nonsterile Products Specified Organisms	USP <71> Sterility Tests	EP 2.6.12 Nonsterile Products Total Viable Aerobic Count	EP 2.6.13 Nonsterile Products Specified Organisms	JP 4.05 Nonsterile Products	JP 4.06 Sterile Products	OWBA Testing Protocol v1.5
<i>B. cepacia</i>	Gram (-)	--	--	--	--	--	--	--	✓
<i>B. diminuta</i>	Gram (-)	--	--	--	--	--	--	--	✓
<i>E. coli</i>	Gram (-)	--	✓	--	✓	✓			✓
<i>P. aeruginosa</i>	Gram (-)	✓	✓	✓	--	✓	✓	✓	✓
<i>P. fluorescens</i>	Gram (-)	--	--	--	--	--	--	--	✓
<i>R. pickettii</i>	Gram (-)	--	--	--	--	--	--	--	✓
<i>S. enterica</i>	Gram (-)	--	✓	--	--	✓	--	--	✓
<i>S. maltophilia</i>	Gram (-)	--	--	--	--	--	--	--	✓
<i>B. subtilis</i>	Gram (+)	✓	--	✓	✓	--	✓	✓	✓
<i>S. aureus</i>	Gram (+)	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓
<i>C. difficile</i>	Gram (+)	--	--	--	--	✓	--	--	--
<i>C. sporogenes</i>	Gram (+)	--	--	✓	--	--	--	✓	--
<i>A. brasiliensis</i>	Gram (+) Fungi - mold	✓	--	✓	✓	--	✓	✓	✓
<i>C. albicans</i>	Gram (+) Fungi - yeast	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓

GUIDANCE DOCUMENTS

EP 5.1.6
USP <1223>
JP17Rev1

ALTERNATIVE METHODS FOR CONTROL OF MICROBIAL QUALITY
VALIDATION OF ALTERNATIVE MICROBIOLOGICAL METHODS
THE JAPANESE PHARMACOPOEIA – SEVENTEENTH EDITION

USP <1223>によるUPWの検証 微生物の代替分析法のバリデーション

目的

USP <61>、USP <62>、EP 2.6.12、JP 4.05、USP <1223> に従って、UPWのバイオバーデンモニタリングにおけるSoleilの適合性を検証する

設備 & プロセス

複数サイト、複数オペレーター、
複数の分析装置を使用
試験室：2カ所
オペレーター：6人
Soleil 分析装置：6台
作業時間：30日間（～1500時間）

対象の微生物

11種類の微生物単体と複数の微生物を組み合わせたものをテストした

1. *A. brasiliensis*
2. *B. cepacia*
3. *B. diminuta*
4. *B. subtilis*
5. *C. albicans*
6. *E. coli*
7. *P. aeruginosa*
8. *R. pickettii*
9. *S. aureus*
10. *S. enterica*
11. *S. maltophilia*
12. Mixture – equal contributions of:
B. diminuta, *R. pickettii*,
S. maltophilia, & *B. cepacia*



濃度	測定回数
0.05 / mL	10
0.01 / mL	10
1 / mL	10
10 / mL	6
100 / mL	6

合計測定数：589回
ネガティブコントロール：85点
対象の微生物試験：504点

UPW ネガティブコントロール 細胞培養用水 (WFCC)

UPWネガティブコントロール：細胞培養用水 (100 mL×85 個)

微生物限度値：10 CFU/100mL

定量された バイオフィクスの数	サンプル数	サンプルの累積
0	55	65%
1	15	82%
2	9	93%
3	2	95%
4	2	98%
5	1	99%
6	1	100%

ネガティブコントロールの平均値は 0.0068cfu/mL (0.68cfu/100mL)

相関

SOLEILとマイクロプレート法のコロニー形成単位 (CFU)

Soleil (生菌数) とプレート法 (CFU) の相関

微生物の種類	0.05 CFU/mL	0.1 CFU/mL	1 CFU/mL	10 CFU/mL	100 CFU/mL	すべての濃度の平均
<i>A. brasiliensis</i>	64%	70%	85%	81%	83%	77%
<i>B. cepacia</i>	130%	98%	92%	96%	75%	98%
<i>B. diminuta</i>	306%	181%	140%	135%	272%	207%
<i>B. subtilis</i>	124%	172%	177%	295%	313%	216%
<i>C. albicans</i>	200%	162%	46%	91%	96%	125%
<i>E. coli</i>	260%	137%	126%	120%	134%	155%
<i>P. aeruginosa</i>	88%	98%	86%	99%	106%	96%
<i>R. pickettii</i>	83%	108%	80%	85%	46%	80%
<i>S. aureus</i>	176%	263%	173%	199%	153%	192%
<i>S. enterica</i>	192%	155%	125%	126%	138%	147%
<i>S. maltophilia</i>	148%	155%	106%	148%	115%	134%
Mixture	202%	90%	116%	106%	110%	125%
すべての微生物の平均	164%	141%	115%	132%	137%	138%
それぞれ10回測定				それぞれ6回測定		

合計測定数：589回
 ネガティブコントロール：85点
 対象の微生物試験：504点

その他の顧客のアプリケーション

SIEVERS SOLEIL

原材料の迅速なスクリーニング

従来の状態：原材料が出荷されるまでの間、バイオバーデンの結果を待つために、トレーラーや鉄道車両などで数日間保管される。

活用例：原材料のバイオバーデンレベルを迅速にスクリーニングすることで、サプライチェーン全体と全体の生産効率を向上させながら、原材料の保管コストと在庫コストを削減できる。

展望：Soleilで原材料をスクリーニングしつつ、同時に公定法のマイクロプレート法も維持し、長期的に許容可能な代替法としてSoleilに切り替えることを目指している。

ROI：滞船料の削減だけでも、世界中の受け入れドックでの迅速なバイオバーデンスクリーニングに対して満足のいくROIが生まれる。

洗浄リンス液の迅速なスクリーニング

表面ふき取りスワブの迅速なスクリーニング

表面をふき取ったスワブを滅菌水または超純水に浸漬し、Soleilで分析



培地の迅速なスクリーニング

迅速バイオバーデン モニタリング

バイオバーデンとは、人/製造環境（空気・表面）/設備/製品包装/原材料（水を含む）/工程内原材料/完成品など、特定の項目に関連する微生物の総数

設備とプロセス

エンドトキシン/パイロジェン/**微生物粒子**などの潜在的な外部発生源からの製品の汚染を防止するには、**適切な技術**（例: アクセス制限バリア システム (RABS)、アイソレーター、ロボットシステム、**迅速/代替方法**、継続的監視システム) の**使用を考慮する必要がある**。これらは、人員/材料/周囲環境などの微生物汚染を検出し、環境および製品内の潜在的な汚染物質の迅速な検出に役立つ。

環境と人員のモニタリング

微生物汚染の検出を促進し、製品へのリスクを軽減するために、迅速な方法などの適切な代替モニタリングシステムの採用を検討する必要がある

品質管理

使用期限が短い製品の場合、製造時の環境データが入手できない場合がある。このような場合、コンプライアンスには利用可能な最新データのレビューが必要となる。これらの製品の製造業者は、迅速な代替法の使用を検討する必要がある。

まとめ

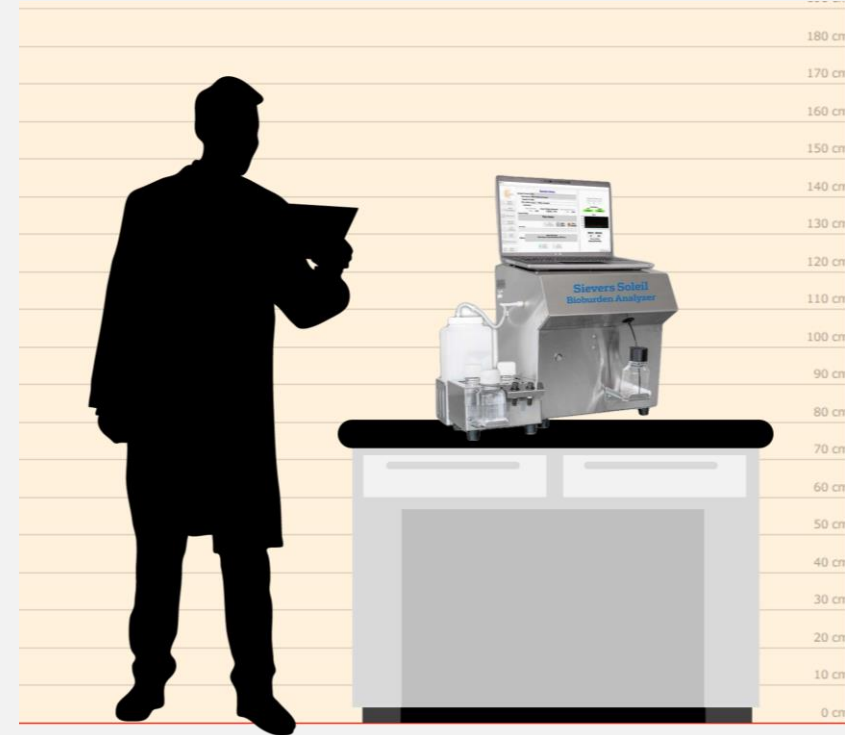
バイオバーデン迅速測定装置 Sievers Soleil

Sievers Soleilの特長

- ハイスループットフローサイトメトリー法
- 培養法との高い相関
- 測定時間は45分以内
- 簡単操作
- 小型なので様々な場所へ移動可能

豊富なアプリケーション

- 製造用水
- 洗浄評価（リンス法/スワブ法）
- 製品出荷試験
- 保存効力試験
- 原材料受け入れ試験
- プロセスエリアの環境モニタリング



インターフェックスの展示ブースにも是非ともお越しください

【出展情報】

会場：インテックス大阪 5号館

小間位置：包装/プロセス検査・測定ゾーン

小間番号：7-12

【展示製品】

バイオバーデン迅速測定装置
Sievers Soleil



45分以内の迅速測定
培養法との高い相関性
10個/100mL未満の測定

エンドトキシン計
Sievers Eclipse



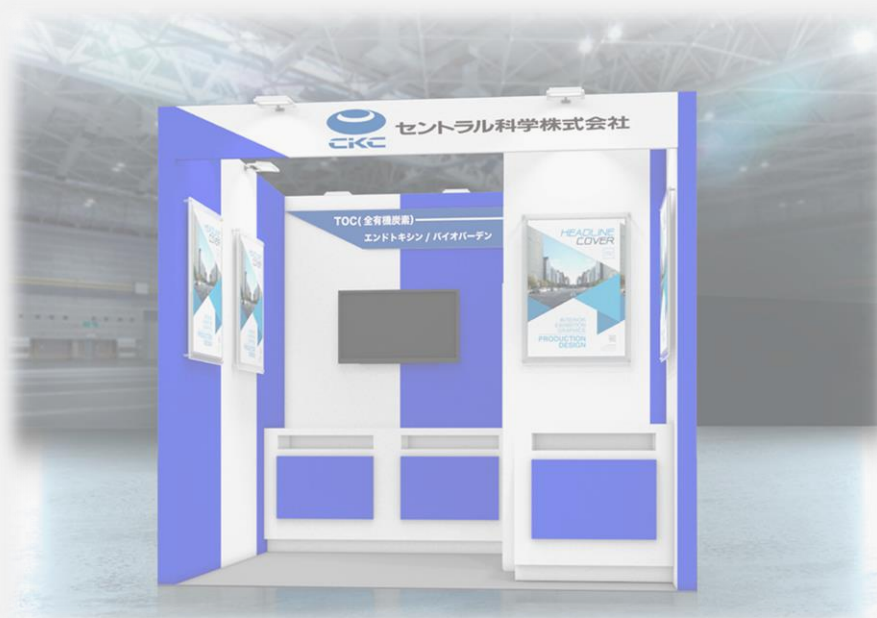
セットアップ時間：9分
ピペット操作数大幅削減
試薬試薬量：90%削減

TOC計 Sievers M9



キャリアガス不要
迅速分析：2分/回
推奨校正頻度12ヶ月

【ブース位置】



【お問合せ先】

セントラル科学株式会社 業務推進部 梅谷
TEL：03-3812-9186 FAX：03-3814-7538
E-Mail：umetanik@aqua-ckc.co.jp