

代理店様勉強会 2025年4月・5月 マイコプラズマ否定試験について

島津ダイアグノスティクス株式会社
国内営業部 CC営業グループ

目次

1. マイコプラズマとは
2. マイコプラズマ検査の必要性
3. 日本薬局方 参考情報
4. マイコプラズマ否定試験
5. A法（培養法）
6. B法（指標細胞を用いたDNA染色法）
7. C法（核酸増幅法）
 - ・ 関連製品紹介

7. C法（核酸増幅法）
8. 局方の解釈
9. キットバリデーション
10. 施設バリデーション
 - ・ 関連製品・サービス紹介

本日のトピックスは
こちらです

日本薬局方 参考情報記載 マイコプラズマ否定試験

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〈G3-14-170〉

本文書は、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使用する細胞基材で細胞バンクを基にするものに対し、現段階で実施すべきと考えられるマイコプラズマ否定試験について述べたものである。

① 試験方法としては、A. 培養法、B. 指標細胞を用いたDNA染色法、C. 核酸増幅法(Nucleic acid amplification test : NAT)による検出法が挙げられる。

② 本マイコプラズマ否定試験の対象は、マスター・セル・バンク(MCB)、ワーキング・セル・バンク(WCB)及び医薬品製造工程中の培養細胞である。これらに対して、A法とB法による試験を実施する。ただし、適切なバリデーションを実施することにより、C法をA法やB法の代替法として用いることができる。

① マイコプラズマ否定試験方法

A法：培養法

B法：指標細胞を用いたDNA染色法

C法：核酸増幅法（NAT）

② マイコプラズマ否定試験対象

マスター・セル・バンク（MCB）

ワーキング・セル・バンク（WCB）

医薬品製造工程中の培養細胞

③ マイコプラズマ否定試験実施

A法とB法による試験を実施する

適切なバリデーションをすることにより、C法をA法やB法の代替法として用いることができる

マイコプラズマ否定試験 C法（核酸増幅法）

原理：検体から抽出した核酸を鋳型とし、マイコプラズマ特異的な塩基配列をもつ核酸を増幅して検出する

特徴

メリット	デメリット
短時間で結果が得られる（培養不要）	検出の感度や特異性は検出するプライマーに依存する
検体量が少なくても試験が可能	目的とする塩基配列の存在を示すだけで、生きているマイコプラズマを検出しているとは限らない
培養できないマイコプラズマでも検出可能	



第17改正日本薬局方の変更点

第17改正日本薬局方ではC法(核酸増幅法)の位置づけが全面改正された（2016年4月～）。

	第16局方	第17改正局方
試験法	A法(培養法)、B法(DNA染色法)を実施する。B法のみ陽性の場合はC法(核酸増幅法)によりマイコプラズマの存在を否定できる。	A法、B法を実施する。ただし、適切なバリデーションを実施することで、C法をA法、B法の代替法として使用できる。 ⇒C法のバリデーション方法を例示
C法 (核酸増幅法) の位置づけ	B法を補完する二次的な試験 (2段階PCRを用いた検出法が例示されている。)	A法、B法の代替法 ・ A法の代替：10 CFU/mL ・ B法の代替：100 CFU/mL
検出対象	3 種	7 種

第17改正日本薬局方では適切なバリデーションを行う事で**核酸増幅法を培養法やDNA染色法の代替として利用可能**となる。

第18改正日本薬局方で検出対象とされる 7 菌種について

国内で医薬品製造に用いられる細胞器材を汚染する可能性があるマイコプラズマの菌種として、以下の観点から 7 菌種が選定された。

- ・ 汚染の発生頻度と系統発生的観点
- ・ 培養に用いられる動物由来原料

菌名	自然宿主
<i>Mycoplasma hyorhinis</i>	ブタ
<i>Mycoplasma orale</i>	ヒト
<i>Mycoplasma pneumoniae</i>	ヒト
<i>Mycoplasma salivarium</i>	ヒト
<i>Acholeplasma laidlawii</i>	ウシ
<i>Mycoplasma fermentans</i>	ヒト
<i>Mycoplasma arginini</i>	ウシ・ヤギ

キットバリデーションについて

バリデーションの内容

日局掲載内容に則ったキットバリデーションデータのご用意がございます。

- 特異性試験
- 感度試験
- 頑健性
- 同等性試験（A法(培養法)との同等性）

C-3 マイコプラズマ検出のためのNATのバリデーション法

NATによる目的核酸の検出法としては、定性的試験と定量的試験がある。細胞基材へのマイコプラズマ汚染の検出には、定性的試験として限度試験が考慮される。ここにマイコプラズマ汚染を検出するための定性的NATの評価方法を示す。この評価方法は、適切なカットオフ値を設定した定量的NATにも適用できる。

1) 評価項目

特異性、検出感度、頑健性の三つのパラメーターについて評価する必要がある。

※簡易バリデーションはHPからDL可能。フルバリデーションはお客様との秘密保持契約締結後にご提供

簡易バリデーションデータを掲載しています

**SHIMADZU**
Excellence in Science

島津ダイアグノスティクス 株式会社
再生医療分野 ― 細胞培養関連サイト

企業情報 サイトマップ Q&A お問い合わせ

Google 提供

細胞培養培地
安全性試験関連
受託サービス
技術情報
サポート
セミナー案内

ホーム > 安全性試験関連 > マイコプラズマ否定試験 > マイコプラズマ遺伝子検出キット Myco Finder™

安全性試験関連

マイコプラズマ否定試験

マイコプラズマ否定試験用液体培地

マイコプラズマ遺伝子検出キット Myco Finder™

ウイルス遺伝子検出キット VirFinder™

無菌試験試薬 BactFinder FungiFinder

マイコプラズマ遺伝子検出キット
Myco Finder™

簡便かつ迅速な測定が可能なマイコプラズマ否定試験キット

日本薬局方におけるマイコプラズマ否定試験(核酸増幅法(NAT)による検出法(C法))に用いることが可能なマイコプラズマ遺伝子検出キットMyco Finderのご紹介です。4ステップの簡便かつ迅速な検出が可能です。

試薬性能

特異性試験

Mycoplasma arginini, *Mycoplasma fermentans*, *Mycoplasma hyorhinis*, *Mycoplasma pneumoniae*, *Mycoplasma orale*, *Mycoplasma salivarium*, *Acholeplasma laidlawii*
7菌種の菌体由来ゲノムの検出が可能であることを確認しています。

検出感度試験

上記7菌種について、3つの異なる希釈系列を作製し、合計24回の試験を実施しました。その結果、95%以上の確率で10CFU/mL以下の検出感度を有することを確認しています。

頑健性試験

サンプル添加量を既定の25μLから増減し、許容範囲の評価を行いました。

バリデーションデータ

本製品を用いた簡易バリデーションデータは下記よりご参照ください。

- Myco Finder簡易バリデーションデータ  (2023年10月19日更新)

さらに詳細なバリデーションデータのご用意がございます。
詳しくは下記までお問い合わせください。

- お問い合わせ 

局方の解釈（施設バリデーション）

なぜバリデーションが必要なのか？

ユーザーは自施設でフルバリデーションを実施しなければならないのか？

⇒改正案には「市販キットをNAT試験に使用する場合、製造業者のフルバリデーションデータを使用者の代替として用いることが可能」との記述。

メーカーバリデーションのデータがあればユーザーはフルバリデーション不要

しかし！

検体の細胞種、抽出方法、検出機器等の違いが感度・再現性に影響する可能性がある。
よって、ユーザー施設での性能確認試験は必要。

ユーザーは自施設でメーカーが示したバリデーション通りの結果が得られることを確認する必要がある。

施設バリデーションについて

JP18の内容から考えられる施設バリデーションについて：

- Myco Finderのバリデーションデータ結果との比較を行う必要がある
- 施設バリデーションでは、**検出感度、再現性を確認**する必要がある
 - ✓ 培養法の代替とするために、検出感度の確認には**最低でも10 CFU/mL（7菌種のスパイクサンプル）の感度試験の実施**が必要
 - ✓ 再現性を検証するために試験数は最低N=3は必要であると考えられる
- 採用する手法や当該機器の妥当性の確認は**感度試験**で代用可能



- 具体的な数値や誤差範囲は示されておらず、**使用目的にかなっているかどうかはユーザー判断**
- 施設ごとに基準を設け運用する

関連製品のご紹介【Myco Finder（マイコファインダー）】

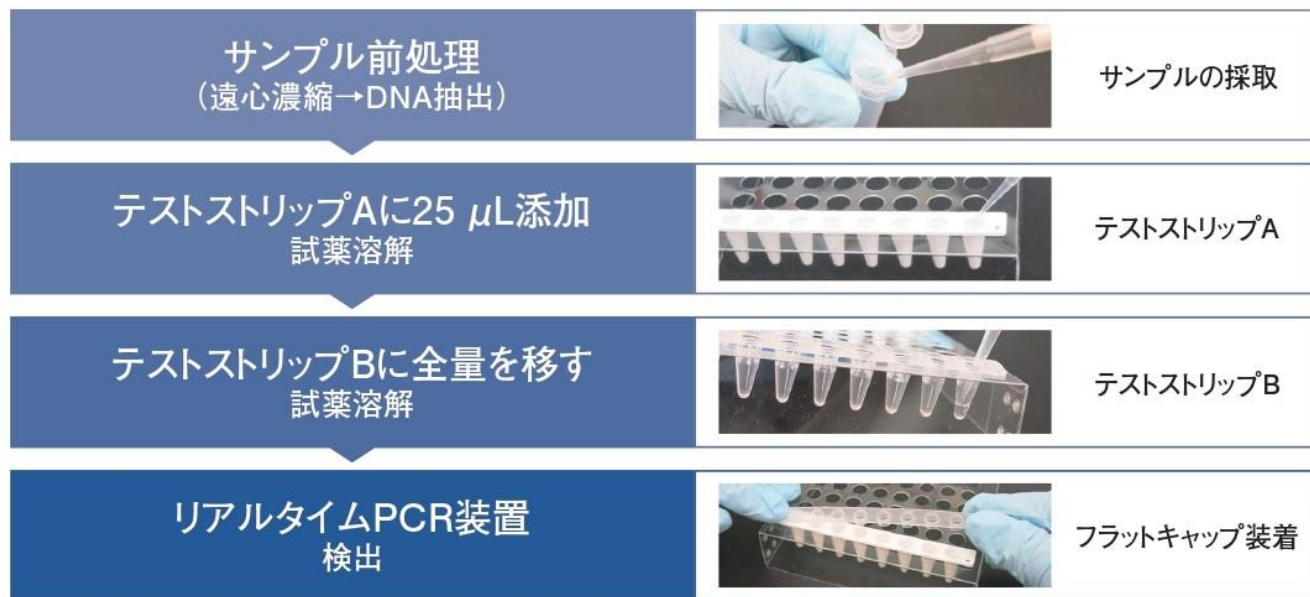
第18改正日本薬局方に対応！

マイコプラズマ否定試験試薬

Myco Finder（マイコファインダー）

操作は4ステップで完了！

検出には白色と透明のストリップを選択可能！



- ✓ 試薬調製が不要
 - ✓ 短時間での検出が可能
 - ✓ 冷所保管が可能（2～8℃）
- ※細胞不含検体でも対応可能です

[Myco Finder製品情報](#)

関連製品のご紹介【初期導入サポートサービス】

安全性試験試薬の導入をお考えの方におすすめのプランです

こんなお悩みはございませんか？

● 導入評価に自信が無い

- ✓ NATの経験がない
- ✓ リアルタイムPCR装置がない
- ✓ 試験環境が整っていない
- ✓ 生菌が取り扱えない

● プロトコルを改善したい

- ✓ 生菌を使用した評価
- ✓ DNA抽出の改善評価
- ✓ 培地との比較評価
- ✓ 集菌試薬を用いた評価

● 施設バリデーションってどうしたらいいんだろう…

お悩み・お困りごとの解決の
お手伝いをさせていただきます！

