

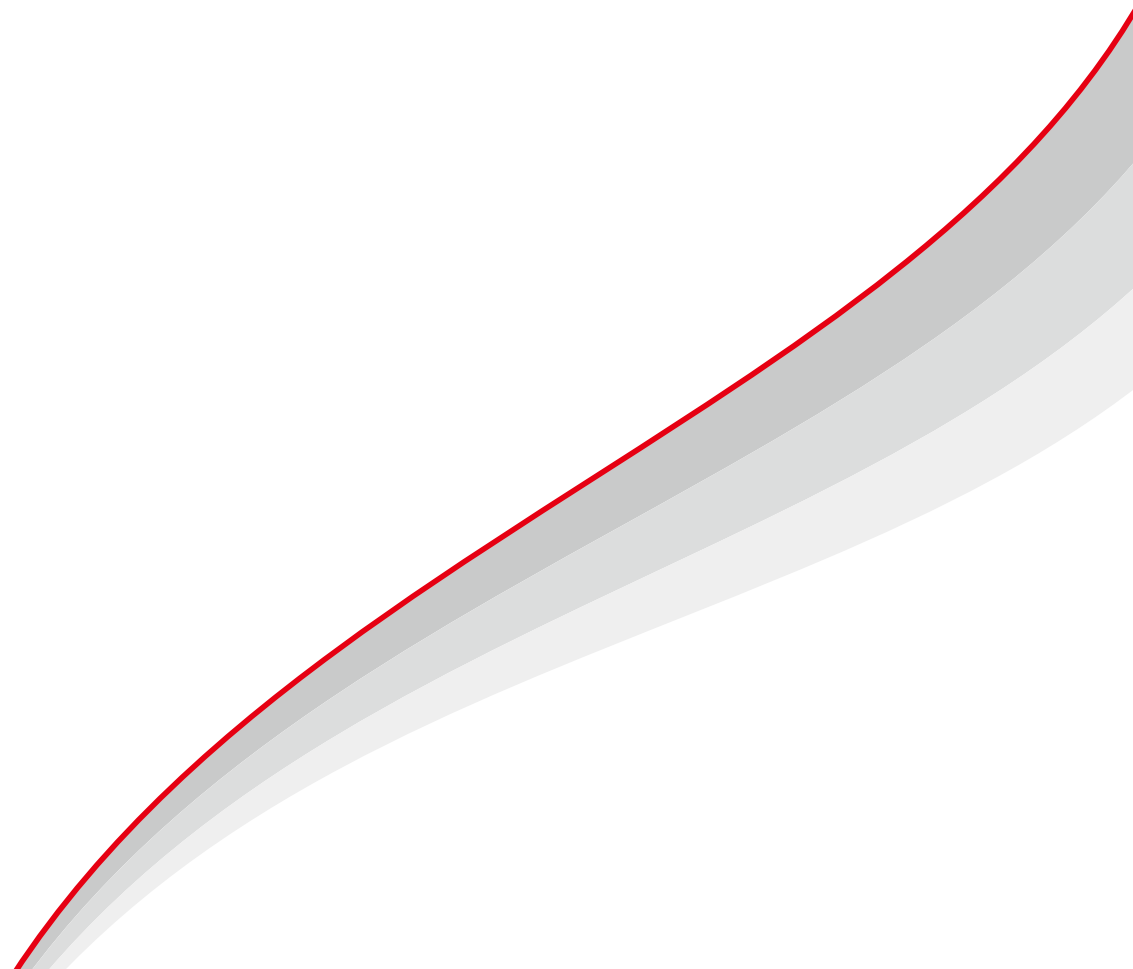
2026年2月代理店様勉強会

無菌試験試薬について

2026年 2月 19日

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



本日のトピックス

1. 日本薬局方 無菌試験 (4.06)
2. 迅速無菌試験の必要性
3. 当社無菌試験試薬について
4. 必要な資材類
5. まとめ

日本薬局方 無菌試験法 (4.06)

無菌試験法は、無菌であることが求められている原薬又は製剤に適用される。本試験に適合する結果が得られても、それは単に本試験条件下で調べた検体中に汚染微生物が検出されなかったことを示しているだけである。

2. 培地及び培養温度

培地は、次のように調製するか、又は培地性能試験に適合する場合は同等の市販培地も使用できる。無菌試験用として適している培地は次のとおりである。液状チオグリコール酸培地は、嫌気性細菌の培養を主目的としているが、好気性細菌も検出できる。ソイビーン・カゼイン・ダイジェスト培地は、真菌及び好気性細菌の培養に適している。

培地	液体チオグリコール酸培地	ソイビーン・カゼイン・ダイジェスト培地
温度	30～35℃	20～25℃
対象微生物	嫌気性細菌が主 (好気性細菌も検出)	真菌、好気性細菌

5. 製品の無菌試験

試験はメンブランフィルター法又は直接法によって行われる。試験には適切な陰性対照を置くこと。メンブランフィルター法は、ろ過可能な製品に適用する。例えば、ろ過可能な水性、アルコール性又は油性の製品及び本試験条件下で抗菌力を有しない水性又は油性の溶剤に混和若しくは溶解する製品に対して用

- ・メンブランフィルター(MF)法：
ろ過→フィルターを培地に投入する
- ・直接法：培地量の10%以下で直接接種

日本薬局方 無菌試験法 (4.06)

判定は14日以上が前提

6. 観察と結果の判定

培養期間中及び最終日に、培地に肉眼的な微生物の増殖があるかどうかを調べる。被験材料が培地を混濁させ、微生物増殖の有無を肉眼的に容易に判定できない場合には、培養開始から14日後に当該培地の一部(1 mL以上)を同じ培地の新たな容器に移し、元の培地と移植した培地の両方を4日間以上培養する。

14日間培養で濁りを肉眼で確認

4. 手法の適合性試験

次に述べる変更点以外は、「5.製品の無菌試験」に示した方法と、厳密に同じ方法で試験を行う。

(i) メンブランフィルター法：試験に供された容器の内容物をろ過した後、最終回の洗浄液に試験用菌株を100 CFU以下加えたものをろ過する。

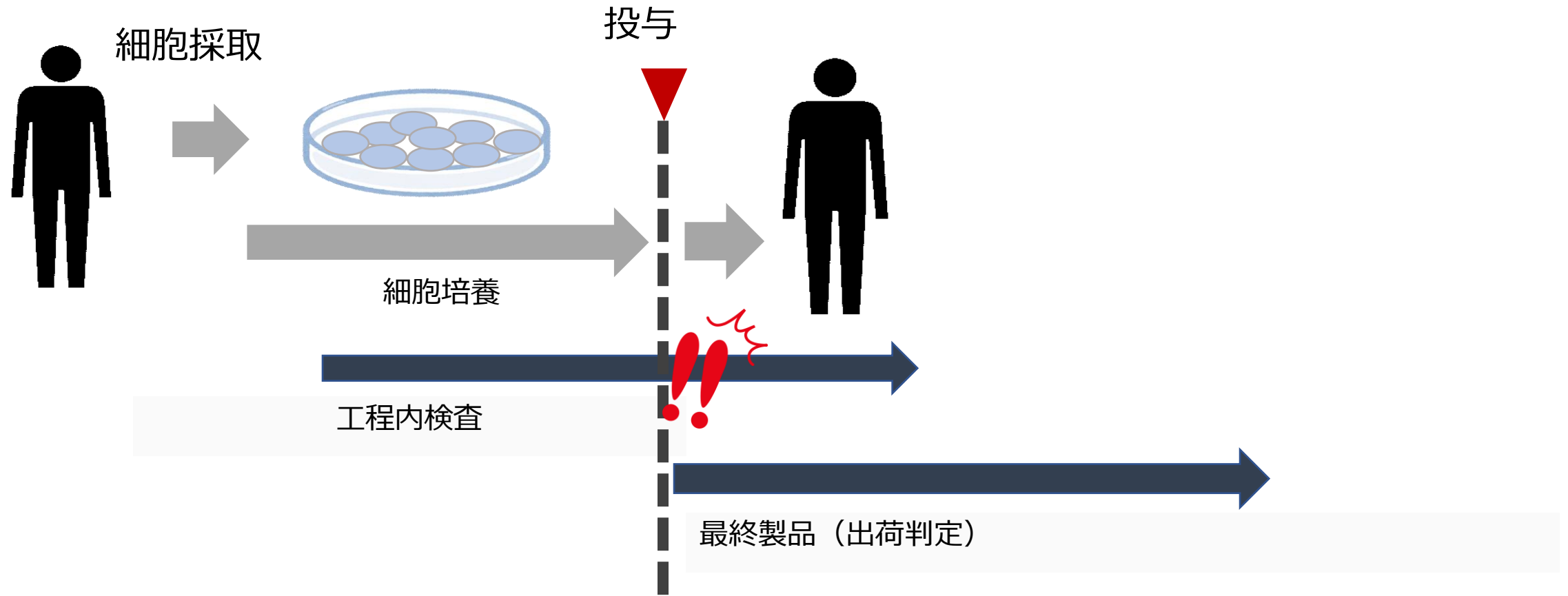
(ii) 直接法：試験に供された容器の内容物を培地に加えた後、試験用菌株100 CFU以下をその培地に接種する。

どちらの接種方法においても、「3.2.好気性菌、嫌気性菌及び真菌に対する培地性能試験」に示した菌株を用いる。陽性対照として培地性能試験を行う。培地を含む全ての容器は規定の温度で最長5日間培養する。

製品ごとに手法の適合性が必要
(防腐剤等の影響確認)



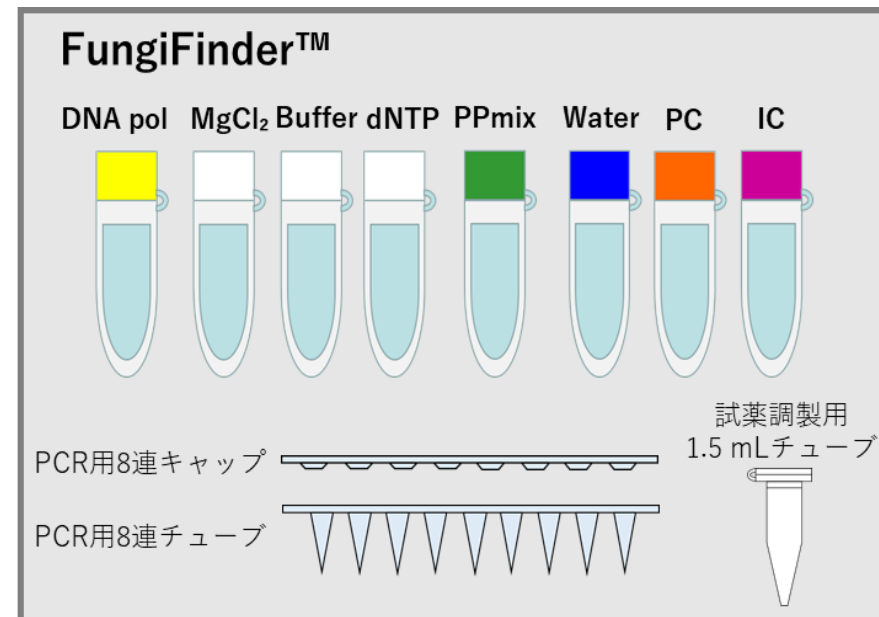
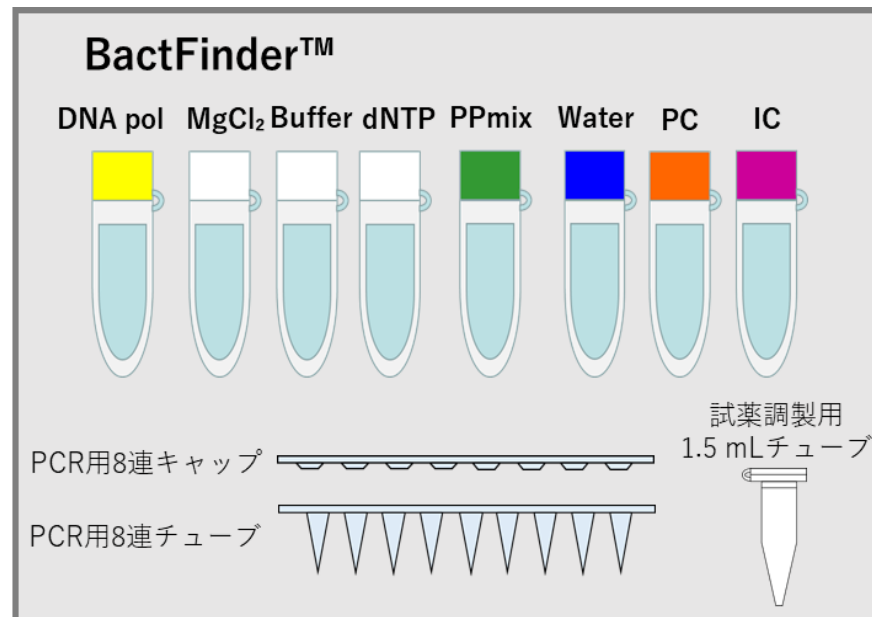
再生医療における無菌試験の課題



だから迅速無菌試験が必要

BactFinder™ / FungiFinder™の特徴

偽陽性を抑え、幅広く検出



50テスト/キット

- ✓ クリーンな試薬：混入DNAを低減
- ✓ 運用対策：クリーンな調製用・反应用チューブ同梱
- ✓ 網羅性：in silicoで細菌32属／真菌27属

二つのプロトコール

同じ試薬で“速さ”と“確実性”を使い分け

	迅速試験系	高感度試験系
想定される使用目的	検体の簡易的なスクリーニング	出荷試験、工程内検査
試験系の構成	—	前培養
	前処理 & 核酸抽出	
	リアルタイムPCR (BactFinder™/FungiFinder™)	
検出感度	100 CFU	1 CFU (< 10 CFU)
試験時間	~ 4 時間	前培養 + 4 時間
試験系の利点	試験当日に判定できる	偽陽性が発生しにくい 死菌の影響を受けない判定

迅速試験系プロトコールの検体調製



当日中の判定：合計4時間

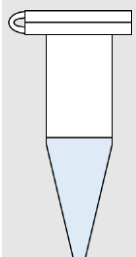
高感度試験系プロトコールの検体調製

前培養

前処理 & 核酸抽出

PCR

サンプル



非培養群



次の工程へ(培養なし)

好気用、嫌気用の培地に
検体を接種

培養群



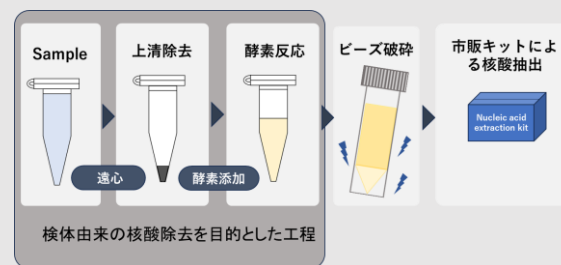
48-72時間
培養

濁りなし

好気用、嫌気用の培地に
検体を接種

濁りあり

迅速試験系と同じ
前処理・核酸抽出



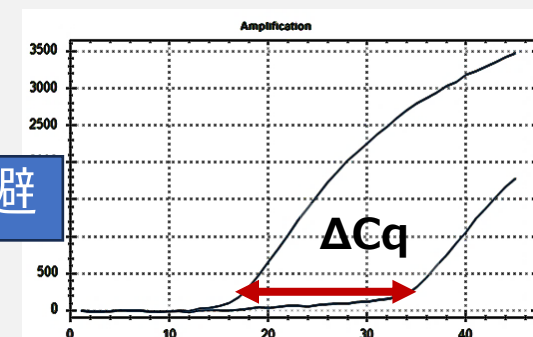
死菌DNAは増えない→偽陽性回避



BactFinder™
FungiFinder™

培養群の Cq値 -
非培養群の Cq値 = ΔCq

ΔCqの値に基準を設定し、
陰性/陽性を判定



PCR試薬の感度・特異性

10 copiesまで検出／増幅されたターゲットは検体由来

感度 10 copies

特異性 シークエンスで一致確認

試験菌株		検出率（陽性数/測定数）				シーケンス結果
		100 copies		10 copies		
		BactFinder	FungiFinder	BactFinder	FungiFinder	相同性
<i>Aspergillus brasiliensis</i>	ATCC 16404	0/3	3/3	0/3	3/3	100% ^{*1}
<i>Candida albicans</i>	ATCC 10231	0/3	3/3	0/3	3/3	100% ^{*1}
<i>Bacillus subtilis</i> subsp. <i>spizizenii</i>	ATCC 6633	3/3	0/3	3/3	0/3	100% ^{*2}
<i>Clostridium sporogenes</i>	ATCC 11437	3/3	0/3	3/3	0/3	100% ^{*2}
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	ATCC 9027	3/3	0/3	3/3	0/3	100% ^{*2}
<i>Staphylococcus aureus</i>	ATCC 6538	3/3	0/3	3/3	0/3	100% ^{*2}

*1 BLAST解析を実施 相同性はPer. Identの値を記載

*2 TrueBac™ IDを用いて解析 相同性はsimilarityの結果を記載

高感度試験系の追加評価(*Cutibacterium acnes*)

従来法同等の感度を1/4の時間で

追加評価

コンタミネーションのリスクが高い*Cutibacterium acnes*について、感度と同等性を評価

⊕ : 陽性 ⊖ : 陰性

試験菌株		方法	培養時間	29 CFU			5 CFU			0.3 CFU		
				濁り	PCR	検出率	濁り	PCR	検出率	濁り	PCR	検出率
<i>Cutibacterium acnes</i>	ATCC 11827	前培養 + PCR	48時間	⊖	⊖	0/3	⊖	⊕	1/3	⊖	⊖	0/3
				⊖	⊖		⊖	⊖				
				⊖	⊖		⊖	⊖				
			72時間	⊕	⊕	3/3	⊕	⊕	3/3	⊖	⊖	0/3
				⊕	⊕		⊖	⊕		⊖	⊖	
				⊕	⊕		⊖	⊕		⊖	⊖	
培養法 (直接法)		14日間	+			+			-			

資材類必要なもの

特殊装置は不要

機器・資材	メーカー	型番	お客様側準備	当社供給
クリーンベンチ	—	—	○	
遠心機	—	—	○	
恒温槽	—	—	○	
破砕機	例) TAITEC	例) μ T-12	○	
マイクロピペット	—	—	○	
1.5mLチューブ (サンプリング用)	ザルスタット	72.706.400	○	
1.5mLチューブ (溶出用)	ザルスタット	72.706.200	○	
リアルタイムPCR装置	—	—	○	○

CFX Opus 96 リアルタイムPCRシステム



試薬類必要なもの

試薬名	メーカー	型番	お客様側準備	当社供給
D-PBS(-)	富士フイルム和光純薬	045-29795	○	
エタノール	富士フイルム和光純薬	054-07225	○	
QIAamp UCP DNA Micro Kit	QIAGEN	56204	○	
塩化ナトリウム 溶液	Sigma-Aldrich	S8776	○	
TurboNuclease 250units/ μ L	Accelagen	N0103M	○	
1M MgCl ₂	ニッポンジーン	310-90361	○	
破碎ビーズ	島津ダイアグノスティクス	69247	-	○
BactFinder TM / FungiFinder TM	島津ダイアグノスティクス	69245/69246	-	○

製品情報

製品名	製品コード	包装	希望納入価	貯蔵方法	使用期限
BactFinder	69245	50テスト	280,000円	-30~-15℃	製造後6か月
FungiFinder	66246	50テスト	280,000円	-30~-15℃	製造後6か月
破砕ビーズ	69247	50回用	32,000円	室温	製造後24か月



2月26日に詳細なデータを交えた
オンラインセミナーを予定しています。
お客様へのご案内に活用ください！



※高感度試験系用前培養培地は要問合せ