



局方微生物試験法(第十三改正 日本薬局方 第二追補)の解説

明治製菓(株)薬品総合研究所

國定孝夫

第十三改正第二追補にて改正された「無菌試験法」及び新たに参考情報に収載された「最終滅菌医薬品の無菌性保証」「無菌医薬品製造区域の微生物評価試験法」について紹介する。

1. 無菌試験法

薬局方収載の各種試験法は、PDG(Pharmacopoeial Discussion Group:EP, USP, JP)の3局より構成されている)等の会議を通して国際調和が進められており、無菌試験法もその1つとして取り上げられている。

無菌試験法は現在、ステージ4(Official Inquiry Stageと呼ばれ、最終合意文書作成に向けて意見収集を行っている段階)まで来ており、調和案が日本薬局方フォーラム9(3)2000に掲載されている。尚、第十三改正第二追補の段階では、主な点は合意に達しているとの判断から、改正が行われた経緯にあり、他局も同様、Supplementで改正を実施している。

1. 1第十三改正第二追補における主要な改正点

- 1) 従来の試験法は「直接法又はメンブランフィルター法により試験を行う」と記載されていたが、第二追補ではメンブランフィルター法が第1法となり、直接法は「メンブランフィルターが適用できない医薬品及びメンブランフィルター法より本法の適用が合理的である医薬品に適用する」とされた。
- 2) これまで規定されていなかったロット当たりの抜き取り個数が、明記された。尚、調和案では、抜き取り個数はガイダンスという形で記載されているが、JPでは規制の対象として取り扱われている。(表1)
- 3) 調和案をもとに、製品の表示量別に試料の採取量が変更になった。
但し、表示量の区分と採取量については、3局において十分な合意はなされていない。
- 4) 培地性能試験の菌株が調和案に準拠して変更された。尚、ATCCナンバー以外にもIFOナンバーを付け、日本の菌株保存機関から入手した菌株も使用できるようになっている。
- 5) 従来、再々試験が認められていたが、第二追補からは再々試験の記載は削除された。

1. 2国際調和案の動向

現在、3薬局方で調和作業が進められているが、まだ十分な合意には達しておらず、引き続き検討が行われている。検討が必要な主な事項として、試料採取量、微生物発育阻止物質を抑制できない場合の処置(メンブランフィルターの洗浄量等)、高圧蒸気滅菌を施した無菌製剤の培養時間等がある。今後、ステージアップし、調和が達成され次第、JPとしても再度、改定作業(主要な部分は第二追補で改正されたので、今後はマイナーチェンジになる)に入るものと思われる。

2. 最終滅菌医薬品の無菌性保証

無菌医薬品の重要な品質要件の1つに無菌性の保証があるが、最終滅菌法(最終容器に製品を充填、閉塞後、滅菌処理を行う製造法)が適用できる医薬品は高い無菌性の保証が可能であるため、無菌性保証水準(SAL: Sterility Assurance Level)は通例 10^{-6} 以下(製品中の微生物の存在確率)が求められている。

これは、限られた試料量、限られた種類の培地を使用して行う無菌試験法では検出量に限界

があるため保証できないレベルであり、物理的及び微生物学的手法に基づく滅菌工程のバリデーションによって証明できるものである。

本節では、最終滅菌法を適用した製品に対して無菌試験を実施せず、滅菌工程の重要管理項目(温度、湿度、圧力、時間、線量等)を適正に管理することによって製品を出荷させるパラメトリックリリース(照射の場合は、ドジメトリックリリース)の必要事項が示されている。このパラメトリックリリースの考え方は、ICH(International Conference on Harmonization of Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals for Human Use:医薬品承認審査ハーモナイゼーション国際会議)の「規格及び試験方法のガイドライン」(Q6A)にも導入されており、日米欧で合意された内容である。即ち、国際的動向として、最終滅菌医薬品に対しては、無菌試験の代わりにパラメトリックリリースを認める方向にある。日本薬局方においても、第十三改正第二追補で通則第4項を改正し(製造工程バリデーション又は品質管理の試験検査に関する記録により品質が日本薬局方に適合することが保証される場合には、出荷時の検査等において、必要に応じて各条の規格の一部について試験を省略できる)、更に、第十四改正(2001年4月予定)においても製剤総則の一部改正が予定されており、パラメトリックリリースの導入に向けて諸条件は整いつつある。

尚、本節の構成は用語の定義、滅菌バリデーション及び微生物管理プログラム(製品原料、容器/栓、滅菌前製品中のバイオバーデン管理等)における必要事項、滅菌指標体、変更管理システムの確立、出荷手順および重要管理項目(例えば、高圧蒸気滅菌の場合は、熱履歴、温度、圧力、時間、製品の載荷形態/載荷密度が掲げられている)等について記載・解説がされている。

3. 無菌医薬品製造区域の微生物評価法

本試験法には、無菌医薬品の重要な品質要件である「無菌性」を確保するために実施すべき、製造区域の微生物評価試験法に関する内容が盛り込まれており、EU-GMPガイド、USP<116>との調和を図りながら制定された。前述の「最終滅菌医薬品の無菌性保証」と同様、参考情報に収載されている。尚、本試験法は1)定義、2)無菌医薬品製造区域の空気清浄度、3)環境モニタリングによる環境微生物の管理、4)サンプリング装置及び測定方法、5)浮遊菌測定サンプリング装置の捕集性能試験、6)培地の性能試験及び発育阻止物質の確認試験から構成されており、各作業区域別の最大許容微粒子数(空中微粒子数は、空中浮遊菌数との間には必ずしも相関があるとはいえないが、浮遊菌の媒体になりうる。又、物理的には製品に侵入して不溶性微粒子の原因の1つになりうる。表2. 参照)、微生物のモニタリング頻度、培地及び培養条件、空中微生物数及び最小空気採取量、機器・設備等の表面付着微生物数(表3. 参照)が規定されている。尚、表3に示したグレードAにおける空中微生物数、表面付着微生物数が<1となっているのは、数箇所を測定した値の平均値が1未満ということである。但し、グレードAの場合、目標値はあくまで0を目指すべきであろう。

これら環境微生物の管理においては、モニタリング対象物が一定の清浄度を維持していることを恒常的に監視することが重要であり、予め設定した環境微生物モニタリングプログラムに従い、測定・評価を行うこととなっている。即ち、環境モニタリングの評価結果に基づき、製造区域の環境の悪化を予知し、製品の品質への影響を防ぐと共に、適切な清浄度管理により高度な無菌性を確保する必要がある。特に、無菌操作法(予め、滅菌した原材料を用い、環境微生物数及び微粒子数が適切に管理された無菌設備内において、無菌医薬品を製造する技術)で製造される無菌医薬品の環境モニタリングは、相対的に重要度が高くなる等が述べられている。尚、環境モニタリングプログラムの手順書に示す事項としては、モニタリングの対象物・対象微生物・頻度・方

法・対象物に対する警報及び処置基準値・設定基準値に達した際の具体的処置手順があげられている。その他、モニタリングに使用するサンプリング装置、測定方法、培地及びそれらの性能試験について記載、解説がされている。

表1 無菌試験におけるロット当たりの抜き取り個数

ロット当たりの製造容器数	最小抜き取り個数
注射剤 100個未満 100個以上 500個未満 500個以上	10%又は4容器のうち多い方 10容器 2%又は20容器のうち少ない方
眼剤や非注射剤 200個未満 200個以上	5%又は2容器のうち多い方 10容器
固形バルク製品 4容器まで 5容器以上 50容器未満 50容器以上	各バルク容器 20%又は4容器のうち多い方 2%又は10容器のうち多い方

表2 無菌医薬品製造のための空気の清浄度

空気の清浄レベル グレード	最大許容微粒子数	
	非作業時 (0.5 μ m)	作業時 (0.5 μ m)
A(層流作業区域)	3,530	3,530
B(非層流作業区域)	3,530	353,000
C	353,000	3,530,000
D	3,530,000	—*1

*1 作業形態により、この区域の許容微粒子数は異なる

表3 環境微生物の評価基準*1

グレード	空中微生物数*2 (CFU/m ³)	最小空気採取量 (m ³)	表面付着微生物数 機器、機械 手袋 (CFU/24~30cm ²)*3	
A	<1	0.5	<1	<1
B	10	0.5	5	5
C	100	0.2	25	—
D	200	0.2	50	—

*1 各条件における平均許容上限値を示す

*2 スリットサンブラー法又は同等の微生物捕集性能を有する方法を用いての値

*3 コンタクトプレート(直径約5.4~6.2cm)当たりに現れる生菌数を示す。拭き取り法を用いる場合には、25cm²当たりの表面積の換算値とする。手袋の場合は、通常、5指をプレートに押捺。