



環境中の微生物検査の意義 —医薬品メーカーに望むこと— 大阪府立公衆衛生研究所 薬事指導部 横山 浩

1. はじめに

「第十二改正日本薬局方第二追補の制定等について」(平成6年12月15日、薬発第1084号、厚生省薬務局長通知)が出され、日本薬局方に収載されている一般試験法のうち、無菌試験法が一部改正され、非無菌性の医薬品(原薬を含む)を対象として微生物限度試験法が新たに加わった。医薬品の製造環境ではここ数年来、GMPに続いてバリデーション^{注1)}が導入され、高い品質保証体制の下で医薬品の製造を行うことが求められている。そこで有効性、安全性を含めた品質の確保を一層図るために、医薬品の品質に関して物理的、理化学的だけでなく、微生物学的な面からも優れたものを製造する努力がなされている。

非無菌性医薬品の微生物学的品質の法的規制に関しては、薬事法第56条に規定されている他、今まで常水や内用液剤及びX線造影剤に規格が設けられていた。しかし前記通知によって、これ以外の医薬品についても安全性確保の面から微生物学的な品質確保が要求されるものについて菌数限度が設定され、特定微生物(サルモネラ、大腸菌、緑膿菌、黄色ブドウ球菌)が検出されてはいけないことになった。本通知では一応ステアリン酸マグネシウム、乳糖及び無水乳糖の3品目について微生物限度試験が適用されている。前記第二追補解説書では「第二追補には収載されないが、本試験法による具体的な微生物限度基準を示したガイドラインが第十三改正日本薬局方に収載されることになるものと思われる」と明記されており、いずれ他の非無菌性医薬品についても本試験の適用が及ぶことになろう。

したがって今後、医薬品メーカーは医薬品全般にわたって微生物管理を十分に考慮しながら、前記ガイドラインに示す基準値に適合した医薬品の製造管理、品質管理を自主的に推進して、微生物学的な品質確保の徹底を図っていくことになるものと思われる。そして製造環境の微生物学的清浄化(クリーン化)が迫られるなかで、環境微生物検査を実施することが必要になると思われる。

そこで医薬品の製造環境で微生物学的な品質確保を目的として、製造管理や品質管理面で微生物汚染防止対策を行うなかで実施される環境微生物試験について、その現状と有用性について以下に述べる。

2. 品質保証からみた環境微生物試験の必要性

前述したようにGMPに続くバリデーションの実施は、国際的に通用する医薬品の品質保証を行うことにある。そして製品の微生物面からの品質(とくに安全性)確保を確実に行うために、環境微生物管理基準を含めて製造管理や品質管理で実施される各種微生物試験法について、前記通知で代表されるように国際調和が図られている。

このような状況の下で医薬品製造環境では、製品の微生物学的な品質向上が求められるなかで製品にとどまらず、従業員や機械設備など製造環境にあるものすべてを対象とした微生物汚染防止対策を自主的、かつ積極的に取り組まざるを得なくなっている。その際、製造環境の微生物学的な衛生管理(洗浄、清拭、殺菌消毒、除菌、防黴施工など)や他の微生物汚染防止対策等の成果や効果を検証するために、環境微生物試験を実施する必要があることは言うまでもない。

実際に環境微生物検査を導入して、微生物汚染防止対策に取り組んでいる製造環境は年々多くなっており、いずれも製品への微生物汚染の低減や作業環境の安全性確保(バイオハザード対策)に一応の成果を挙げている。環境微生物モニタリングによって製品の品質確保のみならず、環境に存在(混入、汚染)する微生物を直に肉眼で観察、確認することになり、製造作業従事者に対する衛生教育にもなっており、作業者の衛生管理(衛生慣行を含む)の徹底をうながす結果になっている。

このように環境微生物試験の導入とその活用はとりもなおさず、製造環境の衛生管理レベルを無菌製剤の製造環境に近づけていることになる。つまり、環境微生物制御が非無菌性製剤の品質向上に大きな波及効果をもたらし、医薬品全体の品質保証に大きく役立っており、製造環境における微生物管理の必要性、重要性が改めて認識され、環境微生物試験の有用性が一段と増しつつあるように見受けられる。

3. 製造環境で使用される環境微生物法

環境微生物試験は、製造環境の空気中に浮遊する微生物や施設の天井、壁面、床面あるいは設備、機器、用具など器物表面に付着する微生物、あるいは製品、中間製品、原料、用水、排水などに混入(汚染)した微生物を対象にして、これらの微生物をサンプリングし、生菌数や菌種を測定する方法である。

医薬品製造環境からは、【表1】に示す多種多様な微生物が分離、検出される可能性があり、これらの環境微生物をしらべる方法はいろいろある。一般に【表2】に示す試験法がよく用いられている。医薬品の製造環境では、【表2】に示す試験法のうち、(2)、(5)及び(7)の方法がよく利用されているようである。これらの試験法は特殊な専門技術や熟練性をあまり必要とせず、試験操作が簡単、かつ迅速に行える方法である。そこで、まず経費があまりかからず、誰でも容易に行える(5)あるいは(7)の方法を実施して、次いで環境全体のバイオバーデン^{注2)}調査やその管理が必要になった場合、(5)や(7)の方法に加えて(2)の方法を導入しているようである。

環境微生物測定は、明確な目的(品質や安全性の確保など)をもって計画的、長期的に実施して、微生物全体(生菌数)を測定したり、特定微生物のみをしらべる場合が多い。したがって精度や感度の他に、経済性や使用性等を十分に考慮しながら、【図1】に示す検査目的や検査項目に応じて、検査対象、微生物のサンプリング法や培養条件などを適切に選定する必要がある。また現時点で製造環境の衛生状態や製品の微生物学的品質の良否を知る手段として、現行の微生物試験法に代わる他の試験法が容易に見当たらない。今後、バリデートされた医薬品製造管理を徹底して微生物検査を部分的に省略することがあっても、製造環境で微生物検査が皆無になることは有り得ないと思われる。それだけに製造環境で用いる微生物試験法については、バリデーションによる検証が必須となり、当該試験法の精度、感度、回収率などを科学的に検討し、試験法の妥当性を常に確認しておく必要がある。

4. おわりに

従来から、製品の微生物汚染度と製造環境の微生物学的清浄度の間において、相関性の有無がとやかく言われてきている。この理由として環境微生物に関する調査がほとんどなされていなかったり、また調査されていてもその調査方法(培養を含む測定条件やサンプリング法)や、調査データ類の収集や解析に問題があったように思われる。

しかし近年、【表2】に示す環境微生物測定法の進歩、改良もあって、精度や感度の高い検査結果が容易に得られるようになり、【表2】に示す試験法(簡易法、公定法)をうまく組み合わせて製造環境で環境微生物測定を効率的、効果的に実施するところが多くなっている。

さらに国際的調和化時代のなかで医薬品の品質マネジメントと品質保証に対する考え方は、初めに記したように医薬品としての特性から、物理的、理化学的だけでなく、微生物学的にも優れた高品質の製品を作ることを義務づけようとしている。そして、この考え方にそって製造環境における環境管理基準がWHO-GMP、ISO(International Organization for Standardization「国際標準化機構」)やUSP(U. S. Pharmacopeia「米国薬局方」)等で提示されている。

このような国際的な背景の下で、医薬品の高い品質確保を図っていくために、製造環境で実施される微生物検査の利用頻度はますます高まり、微生物検査による環境衛生管理が今以上に重視されていくことが十分に予想される。

参考文献

- 1)三瀬ら：GMP微生物試験法、講談社サイエンティフィック(1993)
- 2)第十二改正日本薬局方第二追補解説書、廣川書店(1995)
- 3)横山浩：防菌防黴、23、381～388(1995)
- 4)三瀬勝利：イーズ、NO. 001、栄研化学(1995)

注1)ーバリデーション[バリデート; Validate)

WHO-GMPによる定義では「すべての手順、工程、機械装置、原材料、行動またはシステムが、期待する結果を確実に達しているということを証明する行為」とされている。わが国で出された「バリデーション基準」(薬発第158号、平成7年3月1日)では「製造所の構造設備並びに手順、工程その他の製造管理及び品質管理の方法が期待される結果を与えることを検証し、これを文書とすることによって、目的とする品質に適合する医薬品を恒常的に製造できるようにする」行為を指している。要するに、バリデーションは「医薬品の製造(試験法を含む)全般について科学的に検証して、その品質が目的通りに確保されていることを確認し、これを文書化していくこと」と理解してよい。

注2)ーバイオバーデン

Bioburdenは微生物負荷と訳されているが、ここでは製造環境に存在(混入、汚染)したり、あるいは微生物制御(滅菌、消毒など)に利用される微生物(菌種、菌数)を指している。

●表1 製造環境から分離、検出される微生物(例)

細菌	<i>Acinetobacter</i> sp.[水]	<i>Lactobacillus</i> sp.[水]
	<i>Achromobacter</i> sp.[水]	<i>Micrococcus</i> sp.[建、空]
	<i>Actinomyces</i> sp.[水]	<i>Moraxella</i> sp.[水]
	<i>Aeromonas</i> sp.[水]	<i>Nitrococcus</i> sp.[水]
	<i>Alcaligenes</i> sp.[水]	<i>Nitrosomonas</i> sp.[水]
	<i>Arthrobacter</i> sp.[水]	<i>Pseudomonas</i> sp.[建、水、空]
	<i>Bacillus</i> sp.[建、水、空]	<i>Proteus</i> sp.[水]
	<i>Chromobacterium</i> sp.[水]	<i>Rhizobium</i> sp.[水]
	<i>Citrobacter</i> sp.[水]	<i>Sarcina</i> sp.[水]
	<i>Corynebacterium</i> sp.[水]	<i>Serratia</i> sp.[水]
	<i>Enterobacter</i> sp.[水]	<i>Staphylococcus</i> sp.[建、水、空]
	<i>Escherichia</i> sp.[水]	<i>Streptococcus</i> sp.[水、空]
	<i>Flavobacterium</i> sp.[水]	<i>Streptomyces</i> sp.[水]
	<i>Klebsiella</i> sp.[水]	<i>Vibrio</i> sp.[水]
	酵母	<i>Candida</i> sp.[建、水]
<i>Debaryomyces</i> sp.[水]		<i>Torulopsis</i> sp.[水]
<i>Hansenula</i> sp.[水]		Not identified Yeasts[水]
かび	<i>Absidia</i> sp.[建、空]	<i>Fusarium</i> sp.[建、空]
	<i>Alternaria</i> sp.[建、空]	<i>Monascus</i> sp.[空]
	<i>Aureobasidium</i> sp.[建]	<i>Mucor</i> sp.[建、空]
	<i>Aspergillus</i> sp.[建、水、空]	<i>Nigrospora</i> sp.[建、空]
	<i>Botrytis</i> sp.[水]	<i>Penicillium</i> sp.[建、空]
	<i>Cephalophora</i> sp.[水]	<i>Phoma</i> sp.[建、空]
	<i>Chaetomium</i> sp.[建、空]	<i>Rhizopus</i> sp.[建、空]
	<i>Cladosporium</i> sp.[建、空]	<i>Robillarda</i> sp.[建、空]
	<i>Curvularia</i> sp.[建、空]	<i>Torula</i> sp.[空]
	<i>Doratomyces</i> sp.[空]	<i>Trichoderma</i> sp.[建、空]
	<i>Eurotium</i> sp.[建、空]	<i>Talaromyces</i> sp.[空]
	<i>Epicoccum</i> sp.[建、空]	<i>Wallemia</i> sp.[建、空]
	<i>Exophiala</i> sp.[建、空]	Not identified fungi[建、水、空]

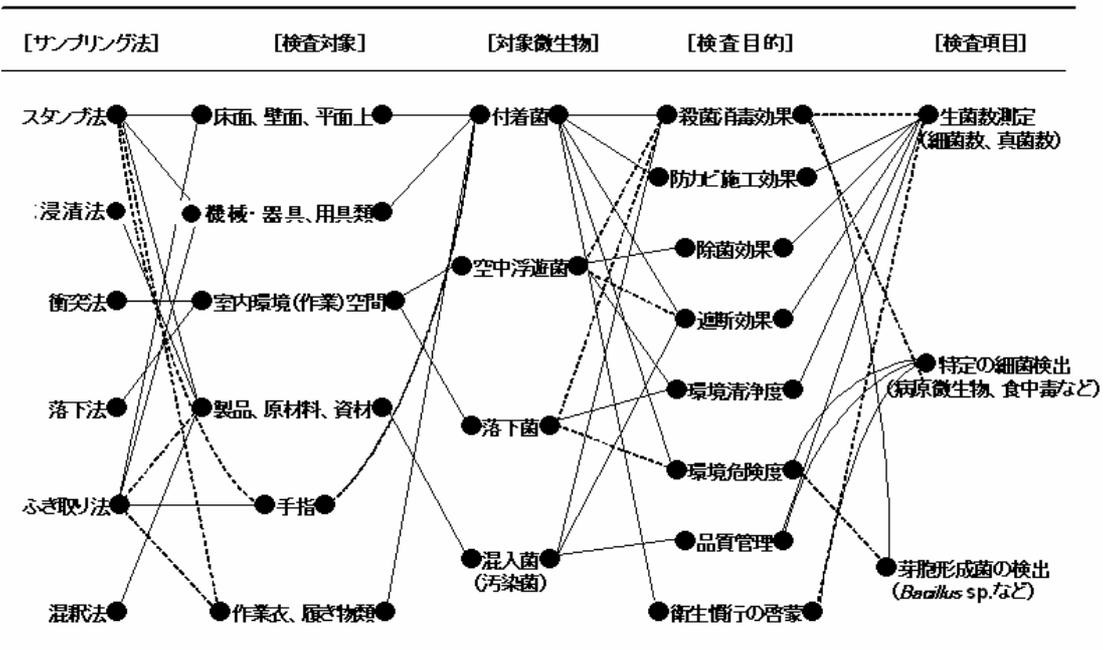
[建]は建物室内の壁面、床面あるいは器物表面から分離される菌である。[水]は用水あるいは排水中から分離される菌である。[空]は空中浮遊あるいは落下してきた菌である。

●表2 製造・試験施設で使用されている環境微生物測定法

対象	測定方法(例)
空中浮遊微生物	(1) 落下菌測定法 (2) 衝突法 (3) インピンジャー法 (4) メンブランフィルター法 [スリットサンプラー法 ピンホールサンプラー法 アンダーセンサンプラー法 RCSエアースンプラー法]
表面付着微生物	(5) ふき取り試験法 (6) ローダックプレート法 (7) スタンプ法 (8) 真空吸引法 (9) 物体表面直接培養法

上記の方法で分離、検出した菌のうち、疑わしいものについては、市販されている簡易同定キットを使用するなどして、バイオバーデンの把握をしている。

●図1 製造環境における微生物のサンプリング法(例)



実線:実施事例が多い。点線:実施事例が少ない。