



環境中の微生物検査の実際 —医薬品製造メーカーとして—

田辺製薬(株)大阪工場品質管理部

上間勝之

(株)マルゴ検査センター大阪技術部

近藤武志

監修: 国立衛生試験所

三瀬勝利

1. はじめに

医薬品の微生物による汚染の防止は、製造環境の微生物汚染を防止することから始めなければならない。製造環境の微生物による汚染を防止するためには、①菌を持ち込まない、②菌を拡散させない、③菌を増殖させない、いわゆる「非菌三原則」を実行する必要がある。医薬品の微生物学的な品質確保を目的として、環境中の微生物の基準を設定し、それを基にして微生物検査が実施されている。製造・試験設備において、空気中に浮遊する微生物、建物の壁面・床面あるいは機器・用具などの表面に付着している微生物をサンプリングし、生菌数や菌の種類を調査して、微生物による汚染の状態、すなわち、バイオバーデンを正確につかむことが必要である。バイオバーデンの実施にあたっては、測定場所、測定対象、測定目的、測定時期(頻度)、対象微生物、サンプリング法、サンプリング項目、使用培地・試薬、培養条件、評価方法などについて詳細に検討した上、最適の組み合わせ条件を設定しなければならない。以下に調査方法及びその事例について紹介する。

2. 環境中のバイオバーデン調査

製造環境のバイオバーデンの調査は、初発、日常、定期的、緊急時など調査時期や目的によって区別しておく必要がある。バイオバーデン実施方法の手順の一例を【図1】に示す。実施計画書に従い、目的、実施部門、工程、調査方法、サンプリング位置図、調査結果の評価基準などを確認後、開始する。もちろん、製造部門と品質管理部門が計画立案の段階から綿密に連携して進めなければならない。結果の評価は、あらかじめ設定された基準に従って行われる。【表1】に示したように環境のグレードに応じて微生物の基準が設定されている。環境域B及びCの浮遊菌と付着菌の調査事例を以下に示す。

浮遊菌は従来、スリットサンプラー、RCS・エアサンプラー、SASコンパクトサンプラーなどを用いて測定していたが、試験法のバリデーションを行い、作業性やコストも考慮に入れて現在はRCS・エアサンプラーを用いて実施している。RCS・エアサンプラーを用いて動的状態(作業中: 吸引量160L~320L)で環境域B及びCの26箇所からそれぞれ採取日を変えて3回試料を採取し、測定した結果、いずれも基準値に適合した。

付着菌の測定法には、スワブ法(ガーゼ・平板混釈法)、プースによるスワブ法、スタンプスプレッド法(塗抹法)、プースによる塗抹法、ローダックプレート法(直接スタンプ法)及びコンタクトスライド法(直接スタンプ法)があるが、操作が容易で異物が残らないスタンプスプレッド法(塗抹法)を採用している。この方法を用いて、環境域B及びCの40箇所から日を変えて3回試料を採取し、測定した結果、いずれも基準値に適合した。これらの結果をまとめて製造環境における浮遊菌、付着菌の分布を【図2】及び【図3】に示した。環境域B及びCとも浮遊菌としてはブドウ球菌が約66~84%と圧倒的に多かった。付着菌としてはマイクロコッカスやグラム陽性及び陰性桿菌が散見された。

ただし、微生物検査は一定の条件下で試験した結果であり、条件が変われば結果も異なることを常に頭に入れて評価しなければならない。

3. おわりに

日本薬局方の改定によって、無菌試験の一部が改正され、さらに非無菌性の医薬品を対象として微

生物限度試験法が新たに加わった。医薬品GMPに新たにバリデーションが導入され、より高い品質保証体制下で医薬品の製造を行うことが求められ、物理的、理化学的な面だけでなく、微生物学的な面からも安全性の高い品質が要求されている。日本薬局方の微生物試験はここ数年来、大きく変わってきた。世の中が変わり、企業も、そして、人も変わらなければならない。GMPもバリデーションも法制化によるミニマムリクワイアメントであり、医薬品メーカーは単にGMPやバリデーションをクリアーしているだけではない。医薬品の品質は、メーカーの姿勢を示すものであり、メーカーは品質保証のために目に見えないゆまない努力を続けている。

微生物の検査にはタイムラグが常につきまとしており、いかに早く結果を出すかが当面の課題であるが、それをバックアップするのがバイオバーデン調査でもある。バイオバーデンは、特定微生物のみならず、広範囲の微生物の挙動を把握する調査であるが、一度実施すれば、終わりというものではなく、日頃から調査を積み重ねることが重要である。

参考文献

- 1) 三瀬勝利、川村邦夫、石関忠一：GMP微生物試験法，講談社サイエンティフィック(1993)
- 2) 三瀬勝利：イーズNo. 001、栄研化学(1996)
- 3) 横山 浩：イーズNo. 003、栄研化学(1996)



図 1 製造環境バイオバーデン実施方法の手順

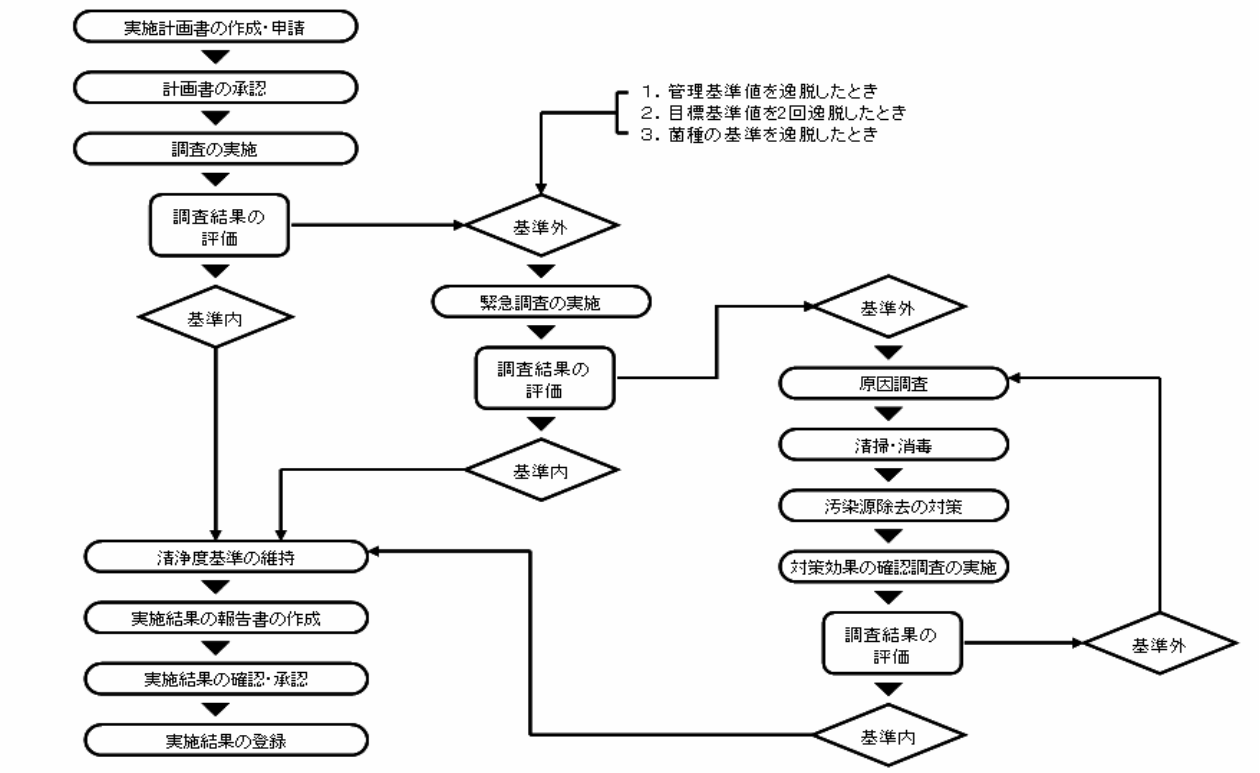


表1 製造環境バイオバーデン評価基準

| 環境域 | 菌数の基準 | | | | | | 菌種の基準 |
|-----|-------------------|---------|-------------------|---------|--|------------------------|---|
| | 落下菌(/時間) | | 浮遊菌(/m³) | | 付着菌(/100cm²) | | |
| | 管理基準値* | 目標基準値** | 管理基準値* | 目標基準値** | 管理基準値* | 目標基準値** | |
| A | クリーン ブース内:0個 | - | クリーン ブース内:1個以下 | - | 薬剤接触部:0個 機器外側:3個以下 床面:10個以下 壁面:5個以下 | - | 1)特定微生物を検出しない。 (大腸菌、緑膿菌、 黄色ブドウ球菌、サルモネラ) 2)芽胞菌、真菌類を検出しない。 |
| | 作業室:1個以下 | - | 作業室:5個以下 | 3個以下 | | | |
| B | クリーン ブース内:1個以下 | - | クリーン ブース内:5個以下 | 3個以下 | 薬剤接触部:3個 機器外側:10個以下 床面:80個以下 壁面:40個以下 | 7個以下 55個以下 25個以下 | 1)特定微生物を検出しない。 (大腸菌、緑膿菌、 黄色ブドウ球菌、サルモネラ) 2)注射剤の充填工程で、芽胞菌、 真菌類を検出しない。 |
| | 作業室:15個以下 | 10個以下 | 作業室:100個以下 | 70個以下 | | | |
| C | 作業室:60個以下 | 40個以下 | 作業室:500個以下 | 350個以下 | 薬剤接触部:15個以下 機器外側:30個以下 | - | 1)特定微生物を検出しない。 (大腸菌、緑膿菌、 黄色ブドウ球菌、サルモネラ) |

* 菌数が管理基準を逸脱した場合、または菌種の基準を満足しない場合は、緊急検査を実施する。
** ただし、モニタリング3回の内2回以上目標基準値を逸脱した場合は、管理基準値を逸脱したものとみなす。

図 2-1 環境域 B の浮遊菌の微生物分布

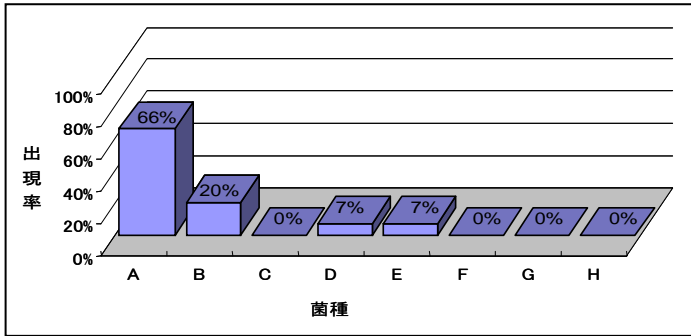


図 2-2 環境域 C の浮遊菌の微生物分布

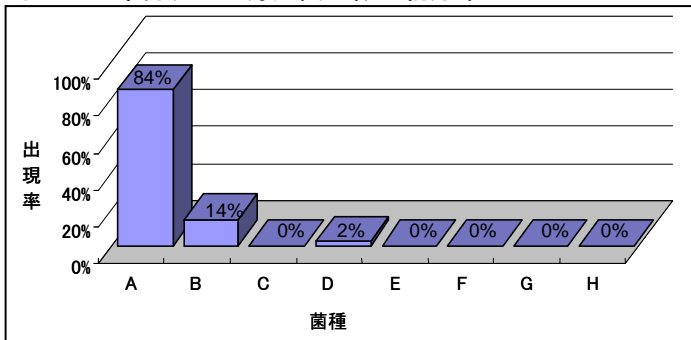


図 3-1 環境域 B の付着菌の微生物分布

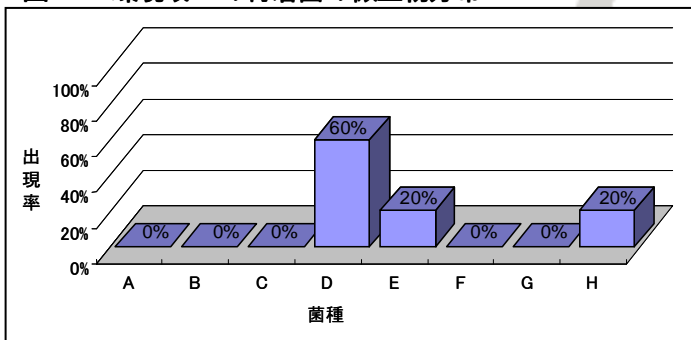
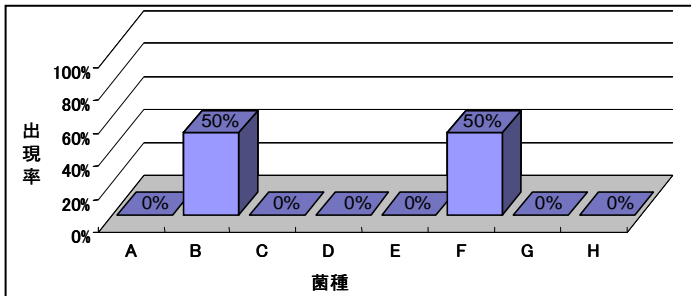


図 3-2 環境域 C の付着菌の微生物分布



- | | |
|----------------|----------------|
| A: ブドウ球菌 | E: 無芽胞性グラム陽性桿菌 |
| B: ミクロコッカス | F: 有芽胞性グラム陽性桿菌 |
| C: 腸内細菌 | G: 酵母 |
| D: 非発酵性グラム陰性桿菌 | H: 糸状菌 |