

厚生大臣 宮下創平 殿

住 所
 フリカガナ ミセ カツ シ
 研究者 氏 名 三瀬 勝利
 (所属施設 国立医薬品食品衛生研究所)

平成 10 年度厚生科学研究費補助金 (医薬安全総合 研究事業) に係る研究事業を完了したので次のとおり報告する。

研究課題名 (課題番号) : 日本薬局方・微生物試験の国際調和のための調査研究 (H10-医薬-032)

国庫補助金精算所要額 : 金 4,000,000 円也

1. 厚生科学研究費補助金総括研究報告書概要版及びこれを入力したフロッピーディスク (別添1のとおり)
2. 厚生科学研究費補助金総括研究報告書 (別添2のとおり)
3. 厚生科学研究費補助金分担研究報告書 (別添3のとおり)
4. 研究成果の刊行に関する一覧表

刊行書籍又は雑誌名 (雑誌のときは雑誌名、巻号数、論文名)	刊行年月日	刊 行 書 店 名	執筆者氏名
無菌試験法	1999	JPF, 日本公定書協会	佐々木次雄他
無菌医薬品製造区域の微生物評価試験法	1999	JPF, 日本公定書協会	佐々木次雄他
最終滅菌医薬品の無菌性保証	1999	JPF, 日本公定書協会	佐々木次雄他

5. 研究成果による特許権等の知的財産権の取得状況 (作成上の留意事項)
 1. 「4. 研究成果の刊行に関する一覧表」に記入した書籍又は雑誌は、その刊行物又は別刷り一部を添付すること。
 2. その他
 - (1) 手書きの場合は、楷書体で記入すること。
 - (2) 氏名は、自署又は記名押印で記入すること。
 - (3) 日本工業規格A列4番の用紙を用いること。各項目の記入量に応じて、適宜、欄を引き伸ばして差し支えない。

別添1

厚生科学研究費補助金総括研究報告書概要版

(作成上の留意事項)

総括研究報告書概要版は、別紙1「総括研究報告書概要版作成要領」に基づき作成すること。

別添2

厚生科学研究費補助金総括研究報告書

(作成上の留意事項)

総括研究報告書は、別紙2「研究報告書レイアウト」を参考に作成すること。

別添3

厚生科学研究費補助金分担研究報告書

(作成上の留意事項)

分担研究報告書は、別紙2「研究報告書レイアウト」を参考に作成すること。

6. 厚生科学研究費補助金総括研究報告書概要版

研究費の名称＝厚生科学研究費

研究事業名＝医薬安全総合研究事業

研究課題名＝日本薬局方・生物試験法の国際調和のための調査研究

国庫補助金精算所要額＝4,000,000

研究期間（年度）＝1998-2000

主任研究者名＝三瀬勝利（国立医薬品食品衛生研究所）

分担研究者名＝小熊恵二（岡山大学）、佐々木次雄（国立感染症研究所）

研究目的＝現在 PDG (Pharmacopoeial Discussion Group) を中心に多くの微生物試験法が国際調和の対象となっている。そのうち特に緊急性の高い試験法の原案策定作業を、内外の識者の意見を聞いたり、諸外国の各局法と比較検討することを通じて、今後改定される薬局方に収載すべく努力をする。また諸外国の薬局方微生物試験法の専門家を我が国に招き、談話会を開き討論することで試験法の国際調和を目指す。

研究方法＝1) 試験法の国際調和のための情報は、主として PDG 等の場を通じて諸外国の状態や意向を聞く。新設・改訂される予定の試験法に関する国内の意見や批判は、生物試験法委員会を通じて集約される。2) 外国人専門家の談話会招へいは日本公定書協会から募集されている「外国人招へい旅費」に応募してこれに充てる。この方法が不可能な場合は、当該専門家が PDG 等の会合で我が国を訪問した時において談話会を開く。

結果と考察＝1) PDG での討論をふまえ、「無菌試験法」を全面的に書き換え JP Forum に提案した。この「無菌試験法」は新規作成の「無菌医薬品製造区域の微生物評価法」や「最終滅菌医薬品の無菌性保証」と共に、第13改正日本薬局方第二追補に収載される予定である。「無菌試験法」は従来通り一般試験法の項に収載され、後二者は参考情報に収載されるであろう。2) クロストリディア試験法の策定を試み、内外の多くの識者の意見を聞いている。本試験方は「微生物限度試験法」中の一つの試験法となろう。「微生物限度試験法」の全面改定にあわせて、第14改正日本薬局方に収載される予定である。3) 「非無菌医薬品の微生物学的品質特性」案について調査を始めた。第14改正日本薬局方の参考情報の項に収載することを目指している。4) 国立医薬品食品衛生研究所で、ヨーロッパ連合薬局方の Klaus Haberer 博士を招待して「微生物限度試験法」等の国際調和についての談話会を開催した。出席者たちから寄せられた多くの意見を聞くとともに、同博士にヨーロッパ連合薬局方のいくつかの微生物試験法に関する見解を聞いた。また同博士

の日本薬局方・微生物試験法に対する意見や批判を聞いた。本談話会は両国の微生物試験法の国際調和に資するものと期待される。今後は米国薬局方の微生物試験法担当者を招へいして、同様の談話会を開催する必要があると感じている。

結論＝日本薬局方・微生物試験法に関し、国際調和の観点から、以下の研究を行い成果を上げた。1) 第13改正日本薬局方第二追補に向けて、大改正される予定の「無菌試験法」と新規収載予定の「最終滅菌医薬品の無菌性保証」と「無菌医薬品製造区域の微生物評価試験法」を纏めた。2) 第14改正日本薬局方に向けて、クロストリディア試験の新規収載を含む「微生物限度試験法」の改訂作業に着手した。3) ヨーロッパ薬局方の Klaus Haberer 氏を招へいし、微生物試験の国際調和に関する談話会を開催し、日本及びヨーロッパ連合薬局方間の試験法の差異などについて討論し、調和をはかった。

総括研究報告書

日本薬局方・微生物試験法の国際調和対応のための調査と基礎研究

主任研究者 三瀬勝利

国立医薬品食品衛生研究所・副所長（前衛生微生物部長）

研究要旨：日本薬局方（JP）・微生物試験法に関し、国際調和の観点から以下の研究を行い成果をあげた。1）第十三改正日本薬局方（JP13）第二追補に向けて、大改正される予定の「無菌試験法」と新規収載予定の「最終滅菌医薬品の無菌性保証」と「無菌医薬品製造区域の微生物評価試験法」を纏めた；2）JP14に向けて、クロストリディア試験法の新規収載を含む微生物限度試験法の改訂作業に着手した；3）EPのKlaus Haberer氏を招へいし、微生物試験の国際調和に関する談話会を開催し、EPとJPの試験法間の差異などについて討論し、調和をはかった。

A. 研究目的

現在PDG (Pharmacopoeial Discussion Group) を中心に多くの微生物試験法が国際調和の対象試験法となっている。そのうち特に緊急性の高い試験法の原案策定の作業を、多くの識者の意見を聞いたり、諸外国の薬局方と比較検討することを通じて、JP13第二追補やJP14に収載すべく努力をする。また外国の薬局方微生物試験法の専門家を我が国に招へいし、談話会を開き、広く多くの意見を聞き、試験法の国際調和を目指すことを目的とする。

B. 研究方法

1) 試験法の国際調和のための情報は、主としてPDGやICHの場を通じて諸外国の意見を得る。新設・改訂される予定の試験法についての国内の意見や批判は、生物試験法委員会を通じて集約される。

2) 外国人の談話会招へいは、日本公定書協会から募集されている「外国人招へい旅費」に応募して当てる。この方法が不可能な場合は、諸外国の薬局方微生物試験法担当者が日本国内を訪問した時を見はからって談話会を開く。

C. 研究結果

1) クロストリディア試験法の原案に対する意見を集約して、新しい試験法案を作成しつつある。Klaus Haberer氏を招へいした談話会では、同氏からこの試験法についてのEPの意見を聞いた。

2) 国際調和案をもとに「無菌試験法」の改訂案をJP Forumに提示した。本案は若干の修正を経てJP13第二追補に収載されることになろう。

3) USP/ISO等の試験法をもとに、「最終滅菌

医薬品の無菌性保証」と「無菌医薬品製造区域の微生物評価試験法」を新規に作成し、JP13第二追補に収載する予定である。参考情報の項に収載予定である。

4) JP14に「非無菌医薬品の微生物学的品質特性」を参考情報の項に収載するために、資料集めと識者の意見徴収を行っている。

5) 1999年2月25日に上記K. Haberer氏を国立衛研に招へいし、微生物試験の国際調和に関する談話会を開催した。同談話会で講演された6演題については別途資料を提出した通りである。談話会は60人以上の参加者を集め盛会であった。

D. 考察

クロストリディア試験法は改訂予定の他の微生物限度試験とともに、JP14に収載されることになろう。国際調和は各国の特殊な事情があり難しい点があるが、交流を積み重ねていけば、困難な点も克服されよう。平成11年度はUSPの微生物試験法担当者を談話会に招へいし、交流を図りたいと考えている。

E. 結論

国際調和会議などを通じて、無菌試験法や微生物限度試験法など、いくつかの微生物関連の試験法の国際調和がはかられ、JPの試験法に反映されつつある。

F. 研究発表

1) 無菌試験法、JPF, Vol. 8, No1, 1999.

2) 無菌医薬品製造区域の微生物評価試験法、JPF, Vol. 8, No2, 1999.

3) 最終滅菌医薬品の無菌性保証、JPF, Vol. 8, No1, 1999.

分担研究報告書

日本薬局方・微生物試験法の国際調和対応のための調査、研究

分担研究者 佐々木次雄

国立感染症研究所安全性研究部無菌性制御室長

研究要旨：「無菌試験法」の改正、日局第 13 改正第二追補に新規導入される「無菌医薬品製造区域の微生物評価試験法」及び「最終滅菌医薬品の無菌性保証」案の作成、「非無菌医薬品の微生物学的品質特性」案の作成及び委員会審議開始、「ろ過滅菌法」の国際規格案(ISO/WG 13408-4)の作成等に従事した。

A. 研究目的

3 局 (USP, EP, JP) で調和をめざしている「無菌試験法」への対応、調和事項をふまえて現行「無菌試験法」の改正、「無菌医薬品製造区域の微生物評価試験法」及び「最終滅菌医薬品の無菌性保証」の日局導入、非無菌医薬品に対する許容汚染微生物（数及び種）を示した「非無菌医薬品の微生物学的品質特性」案の作成、更に「ろ過滅菌法」の国際規格案の作成等、無菌医薬品の製造及び品質管理に関する試験法及び手法の導入をめざす。

B. 研究方法

USP、EP 及び関連公定書（WHO-GMP, FDA-GMP, EU-GMP 及び各種ガイドライン、ISO 規格等）を参考にし、科学的見地からドラフトを作成し、それを日局調査会「生物試験法委員会」で審議し、広く業界及び関連団体の意見を聞く手法をとっている。また必要に応じて確認実験を行ったり、国内外の関係学会や会議にも出席し、高所大所から日局基準として誤りがないかどうか確認している。

C. 研究成果

- 1) 国際調和「無菌試験法」の推進に貢献できた。また、改正「無菌試験法」案を第 13 改正日局第二追補 (JP13/2) に収載予定である。
- 2) 「無菌医薬品製造区域の微生物評価試験法」及び「最終滅菌医薬品の無菌性保証」案を JP13/2 参考情報に新規導入予定である。

3) 「非無菌医薬品の微生物学的品質特性」案について委員会審議を始めた。

4) 「ろ過滅菌法」に関する国際規格作成責任者として、1998 年 9 月にバンクーバーで、また 1999 年 3 月に東京で国際会議を開催し、WD (working draft) を作成した。

D. 考察

これまで USP や EP に比べ量質ともに劣ると言われた日局微生物試験法も充実しつつあり、国際調和の場に出しても見劣りしない状態になってきた。「無菌医薬品製造区域の微生物評価試験法」及び「最終滅菌医薬品の無菌性保証」は日本の製薬企業にとって大いに役立つものと思われる。また積極的な国際貢献という意味でも「ろ過滅菌法」の国際規格作成責任者としてその役割を果たしてきた。

E. 結論

日局微生物試験法の充実及び「ろ過滅菌法」の国際規格作成を通して国際的にも貢献できた。

F. 研究発表

- 1) 無菌試験法、JPF, Vol.8, No.1, 1999.
- 2) 無菌医薬品製造区域の微生物評価試験法 JPF, Vol.8, No.2, 1999.
- 3) 最終滅菌医薬品の無菌性保証、JPF, Vol.8, No.1, 1999.
- 4) 非無菌医薬品の微生物学的品質特性、生物試験法委員会資料 No.生試 14-1-1, 1999.3.28
- 5) ISO/WD 13408-4 (Filtration)

分担研究報告書

日本薬局方・微生物試験法の国際調和対応のための調査と基礎研究

分担研究者 小熊恵二
岡山大学・医学部細菌学教室教授

研究要旨： 第十四改正日本薬局方に向けての微生物限度試験法改訂作業の一環として、ヨーロッパ連合薬局方(EP)に記載されているクロストリディア試験法を検討した。平成10年度に作成されたクロストリディア試験法原案について、いくつかの基礎的な検討を加えた。

A. 研究目的

微生物限度試験法は国際調和の対象試験法として取り上げられたばかりである。Coordinating

Pharmacopoeiaは決定されていない。すでに微生物限度試験法のたたき台案がEPから1997年春にUSP（米国薬局法）とJPに送付されている。この案ではJPに記載されていない「クロストリディア」試験法が記載されている。生菓や蜂蜜などのクロストリディア汚染は問題となることから、JPでもEPの案を勘案したクロストリディア試験法を策定すべきであるという意見が多い。この試験法の長所や欠点を調査し、新しいクロストリディア試験法を策定することを研究目的とする。

B. 研究方法

EPのたたき台案をもとに作成した試験法案について、我が国の現状に対する適合性を調べた。試験法案でクロストリディアが、正確かつ簡便に検出できるかどうかを検討した。また企業で医薬品製造の品質管理に当たる人々に対して、本試験法案を遂行する場合の問題点などを尋ねた。

C. 研究成果

JPに記載するには、あらかじめ原案を作成しJP Forumに掲載して、関係者の意見を聴かねばならない。作成した原案を薬局方委員会・生物試験法委員会などを通じ、広く意見を聞くとともに、以下の疑問について答えた。

1. Clostridiaを検出する培地に添加されるゲンタマイシンに耐性か否かを調査（文献調査を含む）したところ、ほぼすべてのClostridiaが耐性であることを確認した。

2. Clostridiaが時々グラム陰性になることがあるが、その対策としては必ず新鮮培養液を使用すれば問題が起こらないことを確認し

た。Old cultureを使用すると、時々グラム陰性となるので注意を要する。

3. Clostridiumはすべてカタラーゼ陰性である。カタラーゼ試験には48時間以上の培養菌液を使用することが肝要である。

4. 10mlの還元剤添加培養液を含む中試験管内では、好氣的培養でも培地の大部分は嫌氣的状態が保たれ、*C. perfringens*が生育してくることを確認した。

D. 考察

先年度の考察にも記載したが、EPのたたき台案はあまりポピュラーでない培地を使用していることもあり、我が国の現状に合致していない。無菌試験法との整合性もとれていない。若干問題があるが、深刻な不調和ではない。ただし、USPでもClostridia試験を微生物限度試験法に取り入れていないので、EPの試験法は各国の試験法の中で先進的かつ有用な試験法である。我々の作成・修正した案は日本薬局方委員会・生物試験法委員会での審議を経て、JP Forumで意見が聴かれることになるだろう。最終的には微生物限度試験法全体を改訂して、その一部として記載されることになる予定である。尚、品質管理に当たる人々から出されている本試験法案に対する疑問や質問は問題なく解決できるものであり、日本薬局方技術情報(JPTI)などで取り扱いたいと考えている。

E. 結論

EPのたたき台案をもとにClostridia試験法案を作成し、多くの人々の意見を聞きつつ改訂作業を行っている。培地やvalidationに使用する菌株では日本の現状にあったものを併記されよう。この案はその他の改訂予定の微生物限度試験法とともに、生物試験法委員会の討論を経て、JP Forumに提案されることになるだろう。