

Table 6 PDG Process

Stage 1	Identification
Stage 2	Investigation
Stage 3	Proposal for Expert Committee Review
Stage 4	Official Inquiry
Stage 5A	Provisional Consensus
Stage 5B	Sign-off -sign-off ends PDG process-
Stage 6	Regional Adoption & Implementation
Q4B Evaluation	
Stage 7	Inter-Regional Acceptance

Table 7 PDGによる局方調和の問題

PDGで“調和された”試験法であるにも関わらず、3極規制当局により受け入れられない。

<背景・理由>

- 非調和事項があるため、各局間で差違がある。(PDGでの調和の限界)
- 調和された試験法であることが各局方に明記されていない。
- 各局方の位置づけ、取扱いが3極で異なる。



企業側から、調和された局方試験法等について規制当局側の受け入れを促進するよう要望

1.6 PDGによる局方調和の問題 (Table 7)

PDGで調和された試験法であるにも関わらず、三極規制当局には受け入れられない場合があります。前述しましたように各薬局方で取扱い対象品目や局方の位置づけが違いますと、細部にわたっての完全調和が難しい場合があります。そうしますと、非調和部分が発生します。この非調和部分が規制当局にとって相互受入のできないクリティカルなものかどうか問題となります。

1.7 Q4Bとは (Table 8)

Q4Bでは、国際調和された局方試験法等を三極の規制当局が受け入れることができるかどうかをQ4Bガイドラインに基づいて評価するようになっています。

2. 国際調和を踏まえた無菌試験法の改正

2.1 無菌試験法の国際調和作業 (Table 9)

無菌試験法は1995年に始まり、7年の年月を費やして2002年にPDGで調和調印されました。調和作

Table 8 Q4Bとは

Evaluation and Recommendation of Pharmacopoeial Texts for Use in the ICH Regions

- 国際調和された局方試験法等を3極の規制当局が受け入れることを促進することが目的
- Q4Bでは国際調和された局方試験法等を3極の規制当局が受け入れることができるか評価し、その結果を勧告

Q4B ガイドライン：評価の手順を規定

Q4B Annex：評価した各試験法について、Q4B評価結果や施行上の留意事項等をまとめたもの

Table 9 無菌試験法の調和作業

Jun 1995: Stage 4 draft (1st draft from EP)
 Feb 1996: Barcelona Congress
 Mar 1996: Stage 5A draft
 Sep 1996: Stage 5B draft
 Dec 1996: Stage 5B (Version 2) draft
 Jun 1997: Stage 5B (Final draft)
 Oct 1998: Stage 5B (New Version)
 Mar 2000: Stage 5B (Public inquiry for sign-off)
 Sep 2002: Sign-off
 Nov 2003: Q4B was established
 Jun 2004: 1st Q4B meeting
 May 2005: 3rd Q4B meeting

Q4B Evaluation “No Interchangeability”
Eleven residual differences



Sep 2006: (Rev.1) Stage 4 draft
 Jan 2007: (Rev.1) Stage 5A draft
 May 2007: (Rev.1) Stage 5A2 draft
 Sep 2007: (Rev.1) Stage 5B draft
 Oct 2007: (Rev.1) Sign-off

業が始まった頃には、調和は完全統一“Unification”ではなく、飽くまでも相互受入可能なレベルに調和“Harmonization”されていけばよいとのことで作業を開始しました。そのため、結果的に11項目の非調和部分を残しての調印でしたが、当時のPDGとしては問題ないとの判断でした。

PDGで無菌試験法の調和調印された翌年にICH Q4Bが発足し、国際調和された無菌試験法を評価した結果、三極の規制当局が相互に受け入れることは不可能と評価され、完全調和を目指して再度調和作業を行うようにとの勧告が出されました。そこで、再度調和作業を開始し2007年にPDGとして調和作業が終わり、これから再度、Q4Bでの評価が始ま

ります。現時点では、調和とは Unification > Harmonization の色合いが強くなっており、

2.2 局方無菌試験法の歴史

無菌試験法が局方に初めて導入されたのは 1932 年英国薬局方 (BP) でした。USP には 1936 年に、日局には 1951 年に導入されました。日局への導入 1 年前の 1950 年 1 月 25 日 (厚生省告示第 20 号) には、生物学的製剤基準に導入されました。

2.3 日局「無菌試験法」の歴史 (Table 10)

無菌試験法が導入された 1951 年の無菌試験対象物は、注射用蒸留水と滅菌蒸留水の 2 品目のみでした¹⁾。1961 年の改正²⁾ で無菌試験法の基本ができ、細菌と真菌試験法に分けて記載され、細菌検出には液状チオグリコール酸培地、真菌検出にはブドウ糖・ペプトン培地が指定されました。また液状チオグリコール酸培地の性能試験菌株として破傷風菌と溶血性連鎖球菌が指定されました。1971 年改正³⁾ では、無菌試験の実施環境が規定され、無菌試験は無菌箱又は無菌試験室で行うことになりました。“無菌箱”とはクリーンベンチのことを指しておりました。

1976 年改正⁴⁾ では液状チオグリコール酸培地 II が導入され、1981 年改正⁵⁾ では 100 mL 以上製品の無

菌試験に MF 法が適用されるようになりました。1994 年の全面改正⁶⁾ から筆者が担当になり、1994 年の改正では可能な限り USP に合わせました。真菌検出用ブドウ糖・ペプトン培地を SCD 培地に変更し、MF 法の培養期間の 1 週間を 2 週間に変更し、培地性能試験菌株や判定基準も明記しました。その後、1999 年⁷⁾ と 2004 年⁸⁾ にも改正をしました。2009 年 3 月には第十五改正日本薬局方第二追加に国際調和されました無菌試験法が出来ます。

2.4 無菌試験法の国際調和作業開始

調和作業開始当時、国内にありました三つの無菌試験法の調和も考慮に入れました。三つの無菌試験法とは、日本薬局方、生物学的製剤基準及び日本抗生物質医薬品基準に記載されていた無菌試験法です。調和作業が進む内に、日本抗生物質医薬品基準は日局に組み込まれましたので、生物学的製剤基準の無菌試験法を日局無菌試験法準拠にするために、国際調和作業段階でも若干の工夫が必要でした。

2.5 無菌試験とは

無菌試験とは、規定された検体又は試料の量について、規定された培地を用いて、規定された方法に従って試験したとき、検体又は試料に由来すると判断される微生物が検出されるかどうかを調べる試験です。

Table 11 に無菌試験結果に影響を及ぼす可能性のある要因を示します。無菌試験法では、これらの要因を一定に定めています。したがって、要因を変えれば検出できる汚染微生物もあるかも知れません。飽くまでも一定のルールでの無菌性を調べる試験です。

Table 12 に汚染菌検出率を示します。汚染率 1.0

Table 10 日局「無菌試験法」の歴史

1951 (6): 適用製品は、注射用蒸留水及び滅菌蒸留水
1961 (7): 細菌と真菌試験に分けて記載、細菌試験には液状チオグリコール酸培地、真菌試験にはブドウ糖・ペプトン培地を使用、接種量及び培地量も記載、液状チオグリコール酸培地の培地性能菌株として、破傷風菌と溶血性連鎖球菌を指定
1971 (8): 無菌試験実施環境として、無菌箱又は無菌試験室内を提示
1976 (9): 液状チオグリコール酸培地 II を導入、破傷風菌と溶血性連鎖球菌を培地性能試験用菌株から除外
1981 (10): MF 法を導入 (表示量又は調製量 100mL 以上のものに適用)、試験実施者の要件を提示
1994 (12): 全面改正、GP 培地を SCD 培地に変更、培養期間を MF 法、直説法ともに 14 日間以上に変更、培地性能試験用菌株を USP に合わせた。微生物発育阻止活性物質の試験及び除去方法を導入、判定方法を明記
1999 年、2004 年、2009 年

Table 11 無菌試験結果に及ぼす要因

$F_0 = F_1 \times F_2 \times F_3 \times F_4 \times F_5 \times F_6 \times F_7$
F ₀ : 無菌試験結果
F ₁ : 被験ロットからのサンプリング方法とサンプリング個数
F ₂ : サンプリングした各容器から培地への接種量
F ₃ : 接種方法 (MF 法, 直接法)
F ₄ : 培地の種類
F ₅ : 培養温度
F ₆ : 培養期間
F ₇ : 他

Table 12 汚染菌検出率

P = 1 - (1 - X) ^N	
P : 汚染検体検出確率	
X : 母集団 (ロット) の汚染率	
N : 抜き取り個数 (20 容器)	
ロットの汚染率 (%)	汚染検体検出率 (%)
10	87.84
1.0	18.20
0.1	1.98

%の母集団 (ロット) から無作為に 20 容器を取り出して、無菌試験を実施したとしても、汚染検体に遭遇する確率は 18% にしか過ぎません。しかも全量接種し、1 個でも微生物が存在すると検出できるという条件での計算です。別のいい方をすると、1.0% の高い汚染率にもかかわらず、80% 以上は無菌試験で検出できないということです。無菌試験による汚染菌検出は非常に感度の悪いもので、現在のように高度な無菌性が保証されている医薬品製造においては、セレモニー的な意味合いしか持たない試験ともいえます。

2.6 11 の非調和事項をどのように解決したのか

非調和事項の中には「何でそんな些細なことで調和できなかったの?」と思われるものもあるかも知れません。筆者もそのように思っていました。背景には局方間の意地の絡み合いみたいなものがあったようにも思えます。非調和事項が最終的にどのように解決されたのかについて示します。

2.6.1 #1 : 変法培地の使用 (Table 13)

無菌試験用培地として、液状チオグリコール酸培地と SCD 培地の他に、培地性能試験とバリデーション試験に適合するならば他の培地も使用可能との

Table 13 #1: (Alternative media)

The following culture media have been found to be suitable for the test for sterility. Fluid thioglycollate medium is primarily intended for the culture of anaerobic bacteria; however, it will also detect aerobic bacteria. Soya-bean casein digest medium is suitable for the culture of both fungi and aerobic bacteria.

Other media may be used provided that they pass the growth promotion and the validation tests. [1]

[1] JP and USP will not include this sentence.

EP 提案に対して、日局と USP は、レフェリーテストとして適用されている無菌試験法を複雑にするものであるとの理由により、他の培地の使用に反対しました。2007 年調和合意では、日局と USP の主張通り、他の培地は使用しないことになりました。

2.6.2 #2 : 液状チオグリコール酸培地成分であるカンテンの含湿度 (Table 14)

液状チオグリコール酸培地には嫌気度を維持するために、カンテンが 0.75 g/L 濃度に加えられています。このカンテンの含湿度が 15% 以下とされていましたが、日局は培地成分からカンテンを取り出してその含湿度を測定することはできないので、15% 規格値を取り除くよう求めました。最終的には取り除かれましたが、これはカンテンの規格であり、必ずしも求めるような事項では無かったのかも知れません。

2.6.3 #3, 4 : 培地の有効期間 (Table 15)

EP から培地はバリデートされた期間有効であるとの提案がありましたが、単に指定菌株を使って培地性能を調べますと、密封容器に入った培地の場合、かなりの長期間、例えば調製後 3 年とか 5 年間有効かも知れません。それも問題ですので、密封容器に入った培地の場合、3 箇月ごとに行う培地性能試験が適合の場合、最長 1 年間は有効。非密封容器に入った培地は 2 週間ごとに行う培地性能試験が適合の場合には 1 箇月間有効としておりましたが、2007 年の調和合意ではバリデートされた期間有効となりました。

Table 14 #2: (Moisture content agar)

<i>Fluid thioglycollate medium</i>	
l-Cystine	0.5 g
Agar, granulated (moisture content not in excess of 15 per cent)[1]	0.75 g
Sodium chloride	2.5 g
Glucose monohydrate/anhydrous	5.5/5.0 g
Yeast extract (water-soluble)	5.0 g
Pancreatic digest of casein	15.0 g
Sodium thioglycollate or Thioglycollic acid	0.5 g
Resazurin sodium solution (1 g/l of resazurin sodium), freshly prepared	0.3 ml
Water R	1.0 ml
Water R	1,000 ml
pH after sterilisation 7.1 ± 0.2	

[1] JP will not specify the moisture content of the agar, granulated.

Table 15 #3: (Shelf-life of media)

Do not use the medium for a longer storage period than has been validated.[1]

If prepared media are stored in unsealed containers, they can be used for one month, provided that they are tested for growth promotion within two weeks of the time of use and that color indicator requirements are met. If stored in tight containers, the media can be used for one year, provided that they are tested for growth promotion within 3 months of the time of use and that the color indicator requirements are met.[2]

[1] JP and USP will not include this sentence.

[2] EP will not include these two sentences.

2.6.4 #5: 水銀防腐剤を含む医薬品に対する培地 (Table 16)

ワクチンには、防腐剤として水銀防腐剤であるチメロサルを含むものがあります。中でもアジュバントを含んでいる製剤は MF 法が使えないものもあります。前述したように国内にある三つの無菌試験法を日局に統一するためにも、MF 法が使えないチメロサル添加ワクチンには SCD 培地の代わりに液状チオグリコール酸培地を用いて培養温度を SCD 培地と同じにすることを主張してきました。米国ではワクチンに対する無菌試験は連邦法規集 (CFR) に規定されており、チメロサル添加ワクチンには SCD 培地の代わりに液状チオグリコール酸培地が使用されています。2007 年調和合意では日局の要求が通り、水銀防腐剤添加製剤には真菌検出試験にも液状チオグリコール酸培地を用いることになりました。

2.6.5 液状チオグリコール酸培地の歴史

液状チオグリコール酸培地は、1940 年に Brewer が開発した培地が基になっています (Table 17)。

Table 16 #5: (Products containing Hg preservatives)

Fluid thioglycollate medium is to be incubated at 30-35°C. For products containing a mercurial preservative that cannot be tested by the membrane-filtration method, fluid thioglycollate medium incubated at 20-25°C may be used instead of soya-bean casein digest medium.[1]

[1] EP and USP will not include this sentence.

Table 17 Brewerの培地 (1940年)

• Pork infusion solid	1%
• Peptone (thio)	1%
• Sodium chloride	0.5%
• Sodium thioglycollate	0.1%
• Agar	0.05%
• Water	

チオグリコール酸ナトリウムは当時開発されていたすべての生物製剤 (抗毒素製剤が主) に防腐剤として含まれていたチメロサルを中和する能力があり、かつ通常の培養において嫌気性菌の発育も可能ということで普及したものです。その後、米国 NIH の Pittman が現在の組成に変え、それが 1947 年に USP VIII に採用され、以後、無菌試験培地として世界中の基準に採用されるようになりました。

2.6.6 #6: 培地性能試験の実施頻度 (Table 18)

USP と日局は当初、市販の粉末培地については購入時に培地性能試験を行い、その後は調製方法に問題がなければ調製ロットごとに培地性能試験を行う必要はなく、スキップテストの考えを導入しても良いのではと主張してきましたが、2007 年調和合意では培地の種類によらずすべて調製ロット又は購入ロットごとに培地性能試験を実施することになりました。

2.6.7 #7: MF 法における洗浄回数 (Table 19)

抗菌活性のある試料をろ過した場合、MF に吸着した抗菌活性物質を洗浄操作によって除去する必要があります。その際の洗浄液量と洗浄回数は、200 mL で 5 回までの洗浄条件でしたが、日局はフィルター 1 枚当たり 100 mL を主張し、最終的には日局の主張が受け入れられました。

2.6.8 #8: 混濁培地からの移植冊 (Table 20)

接種した試料によっては培地が混濁し、汚染菌の

Table 18 #6: (Growth promotion test frequency)

Test each batch of ready-prepared medium and each batch of medium prepared either from dehydrated medium[1] or from ingredients. Suitable strains of micro-organisms are indicated in Table 2.6.1.-1.

[1] JP and USP will state that, in appropriate cases, periodic testing of the different batches prepared from the same batch of dehydrated medium is acceptable.

Table 19 #7: (Washing volume)

If the product has antimicrobial properties, wash the membrane not less than three times by filtering through it each time the volume of the chosen sterile diluent used in the validation test. Do not exceed a washing cycle of 5 times 200 ml[1], even if during validation it has been demonstrated that such a cycle does not fully eliminate the antimicrobial activity.

[1] JP will specify "5 times 100 ml per filter".

Table 20 #8: (Transfer volume)

If the material being tested renders the medium turbid so that the presence or absence of microbial growth cannot be readily determined by visual examination, 14 days after the beginning of incubation transfer portions (each not less than 1 ml[1]) of the medium to fresh vessels of the same medium and then incubate the original and transfer vessels for not less than 4 days.

[1] JP will indicate "transfer suitable portions" and omit "(each not less than 1 ml)".

増殖とを区別ができないことがあります。そこで、混濁培地の一部を培養 14 日目に新鮮培地に移植して 4 日間以上培養しますが、移植量について EP と USP は 1 mL 以上を、日局は適量を主張しました。もし汚染菌の増殖があるなら、少量の移植でも十分ですが、最終的に EP/USP の考えを受け入れ、移植量は 1 mL 以上となりました。

2.6.9 #9: 試験の不適合 (Table 21)

日局の現行「無菌試験法」での判定は、「以上の試験の結果、菌の発育を認めないときは、無菌試験に適合とする。菌の発育が認められたときは、不適と判定する。ただし、試験に供した検体とは関係なく無菌試験自体に問題があったことが立証された場合には、再試験を行うことができる。再試験の結果、菌の発育が認められないときは、無菌試験に適合とする。菌の発育が認められたときは、不適と判定する。」となっています。無菌試験自体に問題があったことが立証されない限り、再試験は行えないことになっていますが、最終的に日局も EP/USP 提案に妥協し、以下のようになりました。

微生物の増殖が観察されない場合は、被検製品は無菌試験に適合する。微生物の増殖が観察された場合は、当該被検製品に無関係な原因により試験が無

Table 21 #9: (Invalidity of the test)

The test may be considered invalid only if one or more of the following conditions are fulfilled:

- a) the data of the microbiological monitoring of the sterility testing facility show a fault;
- b) a review of the testing procedure used during the test in question reveals a fault;
- c) microbial growth is found in the negative controls;
- d) after determination of the identity of the micro-organisms isolated from the test, the growth of this species or these species may be ascribed unequivocally to faults with respect to the material and/or the technique used in conducting the sterility test procedure.[1]

[1] JP will not include this sentence ("The test may be ... sterility test procedure.").

効であったことを明確に証明できなければ、被検製品は無菌試験に適合しない。以下の条件のうち一つ以上を満たした場合のみ当該試験は無効と考えられる。

- a) 無菌試験施設の微生物学的モニタリングデータが欠陥を示した場合；
- b) 無菌試験中に用いた試験方法を調査した結果、欠陥が示された場合；
- c) 陰性対照中に微生物の増殖が認められた場合；
- d) 当該無菌試験から分離された微生物の同定後、こ(れら)の菌種の増殖が無菌試験実施中に用いた材料及び/又は技術に関する欠陥に明白に帰せられる場合。

2.6.10 #10: ロット当たりの抜き取り個数 (Table 22)

日局と USP は「ロット当たりの抜き取り個数」表をテキストの中で示していますが、EP は参考情報としてガイダンスにしたいとのことでした。最終的には EP も日局、USP 同様、「ロット当たりの抜き取り個数」はテキストの中に示すことになりました。

2.6.11 #11: 表示容量 100 mL 以上の大容量製剤の抜き取り個数

日局と USP は 10 容器を、EP は 20 容器を主張しました。最終的には、EP が折れて大容量製剤の抜き取り個数は 10 容器になりました。

2.7 調和作業を通じて話題に上った事項

非調和 11 項目とは別にこれまでの長い調和作業

Table 22 試験に用いる最小試験容器数(表2.6.1-3.)

ロット当たりの製造個数	他に規定されていない限り、それぞれの培地当たりの最小試験個数
注射剤	
100 個以下	10%又は4容器のうち多い方
101 個以上 500 個以下	10 容器
501 個以上	2%又は20 容器 (大容量製剤には、10 容器)のうち少ない方
眼軟膏剤及び点眼剤等の非注射剤	
200 個以下	5%又は2 容器のうち多い方
201 個以上	10 容器
単回使用製品の場合は、注射剤に準じた抜き取り個数とする	
腸線及び動物用の他の手術糸	
	2%又は5 容器のうち多い方、最大20 容器
固形バルク製品	
4 容器まで	各バルク容器
5 容器以上 50 容器以下	20%又は4 容器のうち多い方
51 容器以上	2%又は10 容器のうち多い方

中に合意されましたことを示します。

2.7.1 各培地当たりの最少試料採取量 (Table 23)
2002 年調和無菌試験法を踏まえて作成した現行の日局「無菌試験法」では、液剤の欄に「水溶性又はミリスチン酸イソプロピルで可溶性の他の医薬品」の記載があります。意味が通じませんので、削除を求め、2007 年調和テキストからは削除されました。

2.7.2 試験用菌株 (Table 24)
培地の性能試験や試験法の適格性評価に用いる試

験用菌株は、好気性菌、嫌気性菌及び真菌からなり、菌株名も指定されています。日本では ATCC 株に相当する NBRC 株を指定しています。菌種名が同じでも株名が違っていると使用できません。

2.7.3 培地性能試験 (Table 25)

液状チオグリコール酸培地には、*Clostridium sporogenes*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* を、SCD 培地には *Aspergillus niger*, *Bacillus subtilis*, *Candida albicans* を使用するこ

Table 23 各培地当たりの最少試料採取量(表2.6.1-2.)

容器の内容量	他に規定されていない限りそれぞれの培地に接種する最小量
液剤	
1 mL 未満	全量
1 mL 以上 40 mL 以下	半量、ただし1 mL 以上
40 mL 超 100 mL 以下	20 mL
100 mL 超	10%、ただし20 mL 以上
抗生物質 (液剤)	1 mL
水溶性又はミリスチン酸イソプロピルで可溶性の他の医薬品	全量、ただし200 mg 以上
懸濁又は乳化して用いる非水溶性医薬品、クリーム又は軟膏剤	
	200 mg 以上
固形剤	
50 mg 未満	全量
50 mg 以上 300 mg 未満	半量、ただし50 mg 以上
300 mg 以上 5 g 以下	150 mg
5 g 超	500 mg

Table 24 試験用菌株 (表2.6.1.1.)

好気性細菌	
<i>Staphylococcus aureus</i>	ATCC 6538, NBRC13276, CIP 4.83, NCTC 10788, NCIMB 9518
<i>Bacillus subtilis</i>	ATCC 6633, NBRC 3134, CIP 52.62, NCIMB 8054
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	ATCC 9027, NBRC 13275, NCIMB 8626, CIP 82.118
嫌気性細菌	
<i>Clostridium sporogenes</i>	ATCC 19404, CIP 79.3, NCTC 532, 又は ATCC 11437, NBRC 14293
真菌	
<i>Candida albicans</i>	ATCC 10231, NBRC 1594, IP 48.72, NCPF 3179
<i>Aspergillus niger</i> *	ATCC 16404, NBRC 9455, IP 1431.83, IMI 149007

* 種名が *Aspergillus brasiliensis* に変更

Table 25 培地性能試験

液状チオグリコール酸培地:

Clostridium sporogenes, Pseudomonas aeruginosa, Staphylococcus aureus
ソイビーン・カゼイン・ダイジェスト培地
Aspergillus niger, Bacillus subtilis, Candida albicans.

細菌の場合は3日間、真菌の場合は5日間を超えないで培養する。

とになりました。細菌の場合は3日間、真菌の場合は5日間以内に十分な発育を示さなければなりません。

2.7.4 シードロットシステム

微生物はマスターシードロットから継代数が5代を超えないように保存管理する必要があります。

2.7.5 無菌試験法のバリデーション (Table 26)

試験法のバリデーションは「手法の適合性試験」と名称が変わりました。当初、各局で接種菌数、培養期間、MF法の洗浄回数が違っていました。最終的には接種菌数は約100個、培養期間は細菌が3日間、真菌が5日間、抗菌活性物質が吸着したMFの洗浄回数は100mLで5回になりました。手法の

適合性試験を実施するのは、①新しい医薬品に無菌試験を行う場合、②試験の実施条件に変更があった場合であり、本試験は被験医薬品の無菌試験と同時に行うことができます。

2.7.6 微生物汚染に対する予防措置

1996年に提案された無菌試験法では (Table 27)、「無菌試験は、例えば、清浄環境下に設置されたクラスAの無菌層流キャビネットを用いて、製品の無菌操作法に要求されると同等の条件下で行われる」とありました。

しかし、2007年版 (Table 28) では「無菌試験は無菌条件下で行われる。このため、試験環境は無菌試験の実施に適したものでなければならない。汚染を避けるためにとられる予防措置は、本試験で検出されるべきいかなる微生物にも影響を与えてはならない。作業区域の適切なサンプリング及び適切な制御の実施によって、本試験を実施する作業環境を適切に監視する」となりました。GMP調査に出かけますと、グレードAのクリーンキャビネットを設置している環境がグレードBになっていないと指摘する査察官がいますが、クリーンキャビネットの設置清浄度云々よりは、検出感度の低い無菌試験で汚染菌が検出されますと、基本的にロットアウトに

Table 26 無菌試験法のバリデーション

	項目		
	接種菌数	培養期間	MF法洗浄回数
日局 (1999)	10~100個	7日間以内	100mL × 5回
USP (2000)	100個以下	7日間以内	500mL × 5回
EP (1996)	約100個	7日間以内	
国際調和 (2007)	100個以下	細菌3日間、真菌5日間	100mL × 5回

Table 27 微生物汚染に対する予防措置 (1996)

The test for sterility is carried out under conditions equivalent with those required for aseptic manufacture of the products designed to avoid accidental contamination of the product during test, using, for example, a class A sterile laminar-air-flow cabinet located within a clean-room environment.

Table 28 微生物汚染に対する予防措置 (2007)

無菌試験は無菌条件下で行われる。このため、試験環境は無菌試験の実施に適したものでなければならない。汚染を避けるためにとられる予防措置は、本試験で検出されるべきいかなる微生物にも影響を与えてはならない。作業区域の適切なサンプリング及び適切な制御の実施によって、本試験を実施する作業環境を適切に監視する。

しなければなりませんので、そのリスクを軽減するためにはどうしたら良いかという観点で、微生物汚染に対する予防措置を考えるべきと思います。

2.7.7 培地の滅菌 (Table 29)

1996年版では、120℃で20分間滅菌となっていました。その後、バリデートされた条件下で滅菌するとなりました。

2.7.8 無菌試験とは (Table 30)

1996年版には、最終滅菌製剤に対してはパラメトリックリリースも許容可能である旨の記載がありました。無菌試験は、無菌操作法で製される製品のみ有効な試験であるといっています。最終滅菌医薬品に科学的に意味のない無菌試験を適用し続けるのは問題と思います。日局製剤通則第6項でもパラメトリックリリースは許容しています。最終滅菌医薬品に無菌試験を適用しているメーカーは可能な限り、パラメトリックリリース適用の一部変更届けを出していただきたいと思います。

3. 最後に

調和作業が始まった頃は科学的な観点からの議論が多かったように思えますが、Q4Bに指摘されました11項目の調和は科学的というよりは試験法の「統一」を目指すための作業でしかなかったように

Table 29 培地の滅菌

Sterilise by heating using a validated system in an autoclave at 120 °C for 20 min. Store at a temperature between 2 °C and 25 °C. If necessary regenerate the medium just before use by heating in a water-bath for 20 min and cooling quickly.

Table 30 無菌試験とは (1996)

In the case of products sterilised in their final sealed containers, physical proofs, biologically based and automatically documented, showing correct treatment throughout the batch during sterilisation are of greater assurance than the sterility test. Hence a validated parametric release of these products is acceptable.

The sterility test is the only analytical method available for products prepared under aseptic conditions and furthermore it is, in all cases, the only analytical method available to the authorities who have to examine any product for sterility.

感じております。

無菌試験法の長い調和作業において、USPのRoger Dabbah先生、EPのPeter Castle先生とは家族ぐるみでお付き合いをさせていただきました。お二人との思い出は尽きないものがありますが、筆者と同年齢のPeter Castle先生が今年(2008年)他界されたことは残念でなりません。

文 献

- 1) 厚生省：第六改正日本薬局方、1951.
- 2) 厚生省：第七改正日本薬局方、1961.
- 3) 厚生省：第八改正日本薬局方、1971.
- 4) 厚生省：第九改正日本薬局方、1976、p. 695.
- 5) 厚生省：第十改正日本薬局方、1981、p. 736.
- 6) 厚生省：第十二改正日本薬局方第二追補、1994、p. 14.
- 7) 厚生省：第十三改正日本薬局方第二追補、1999、p. 10.
- 8) 厚生労働省：第十四改正日本薬局方第二追補、2004、p. 6.
- 9) 厚生労働省：第十五改正日本薬局方、2006、p. 88.

