

総括研究報告書

1. 研究開発課題名：医薬品の微生物学的品質確保のための試験法高度化に関する研究
2. 研究開発代表者： 棚元 憲一（武蔵野大学・薬学部）
3. 研究開発の成果

遺伝子組換え蛋白質を用いたエンドトキシン試験法の高度化に関する研究：組換え試薬のロット間における品質が一定であることを確認するため、3種のエンドトキシン（Et）の力価の3ロット間の変動係数（CV）を6種の天然ライセート試薬のそれと比較した。組換え試薬（PyroSmart®）は単位時間当たりのEtによる吸光度の上昇を指標とする反応速度法およびEtにより上昇する吸光度が予め設定された閾値に到達する時間を指標とする反応時間法の2法を用い、添付文書に従い測定した。天然ライセート試薬（Endospey® ES-50M、Pyrochrome®、Kinetic-QCL™、Endochrome-K™、Limulus Color KY Test、LAL ES-II）は各メーカーの添付文書または推奨法に従った。Etは前回の研究において、試薬間で力価の変動が比較的大きかった、*Salmonella minnesota* R595Re、*S. typhimurium*、*Pseudomonas aeruginosa*を選択し、これらの米国薬局方Et標準品に対する力価（EU/ng）を求めた。3ロットのPyroSmart®から得られたEtの力価のCVは、3種のEtとも2法において全て10%以下であった。同様に、Endospey® ES-50M、Pyrochrome®、Kinetic-QCL™およびLimulus Color KY TestにおけるEtの力価のCVも、3種のEtとも全て10%以下であった。一方で、LAL ES-IIでは*S. typhimurium*でCVが10%を超え、Endochrome-K™では全てのEtでCVが10%を超えた。すなわち、組換え試薬における3種のEtの力価の試薬ロット間差は、ライセート試薬と比較して同等またはそれより小さいことが分かった。

「微生物迅速法」のバリデーション法に関する研究：日本薬局方においては、最新の第十七改正において「微生物迅速試験法」が参考情報として記載され、新たに記載された手法に対するバリデーション法の検討が重要となっている。そこで平成27年度は、「微生物迅速試験法」記載の手法のうち、微生物定量法として環境微生物学分野で広く用いられてきている「定量的PCR法」を選び、バリデーション法の検討を行った。

まず、HEPAフィルターにより空気が管理されている空間において、サンプリング時の要点を検討したところ、サンプラーの設置高度や空気の捕集量よりも、空間内でのヒトの移動が結果に影響を与えることがわかった。さらに環境試料を用いて定量的PCR法の感度および精度を確認したところ、繰り返し精度が高く、また十分な感度をもつこと、ただし、微生物からのDNAの回収率が結果に大きな影響を与えることを確認した。

これらの結果より、定量的PCR法を用いて微生物量が少ない医薬品製造環境の微生物量を測定するにあたっては、手法の精度および感度が高いことから、その空間内におけるヒトの活動を排除すること、また測定にあたっては、対象とする微生物からのDNA抽出法を最適化しておくことが重要であることがわかった。

消毒剤のローテーションの実用性に関する研究：無菌医薬品を製造する企業では製造を行う区域の消毒を頻度高く実施しているが、この時に使用する消毒剤は複数の有効成分のローテーションを考慮することがガイドライン等に記載されている。しかし、ローテーションをどのような有効成分、交換頻度、方法で実施するかといった条件は選択肢が広く確立しにくい点、ローテーション条件を確立しても、その有効性を明確に判断し難い点が無菌医薬品を製造する企業においては懸念事項となっている。この課題の解決を目指し、本研究では「消毒剤のローテーション」に焦点をあて、採用されている条件の調査、またそれらの方法の実用性評価を進めている。製薬企業9社12名の協力を得て、消毒剤のローテーション条件の採用状況を調査した結果、消毒剤は1剤～4種、その交換頻度は1週間毎もしくは1ヶ月毎、有効成分はエタノール、クロロヘキシジングルコン酸塩、アルキルジアミノエチルグリシン塩酸塩、ベンザルコニウム塩化物が多用されていること等、企業によって様々で同じ条件を採用している例は無いことが明確になった。次年度以降に更に詳細なデータ収集を行い、これら条件の違いがもたらす消毒効果の差異を明確にする予定である。