

第十九改正日本薬局方の参考情報（案）の概要

第十九改正日本薬局方参考情報（案）の主な改正点は、次のとおりである。

1. 参考情報

1.1. 参考情報のカテゴリー分類に「G10. 名称関連」を新設する。

1.2. 新たに作成する項目は次のとおりである。

(1)	溶解度測定法 〈G2-6-190〉	(2)	バイオアッセイ 〈G3-18-190〉
(3)	日本薬局方収載微生物株の学名表記について 〈G4-14-190〉	(4)	微生物学的試験法の適合性試験等における留意事項 〈G4-12-190〉
(5)	単球活性化試験法 〈G4-13-190〉	(6)	¹ H スピン情報に基づいた参照 NMR スペクトルと日本薬局方試薬への応用 〈G5-9-190〉
(7)	吸入液剤の空気力学的粒度測定法 〈G6-8-190〉	(8)	点鼻剤の噴霧量均一性試験法 〈G6-9-190〉
(9)	化学名参考事項 〈G10-1-190〉	(10)	目的に応じた日本薬局方の適用方法 〈GZ-4-190〉

(1) 「G2. 溶解度測定法 〈G2-6-190〉」

溶解度は、薬物の重要な品質評価対象であること、また、令和 2 年 12 月 25 日付薬生薬審発 1225 第 13 号「Biopharmaceutics Classification System (BCS)に基づくバイオウエーバーガイドライン」において、開発製剤のヒト生物学的同等性試験の免除の要件として原薬の溶解性が一つの基準とされたことにより、溶解度測定法に係る指針を示すため、新規に収載するものである。

(2) 「G3. バイオアッセイ 〈G3-18-190〉」

生物薬品の規格及び試験方法では、通例バイオアッセイ（生物活性試験）が設定され、標準物質と活性を比較することで相対力価が算出される。生物活性試験の信頼性確保において重要なバリデーション、試験成立条件、相対力価の算出方法等、バイオアッセイに関する留意事項を示すため、新規に収載するものである。

(3) 「G4. 日本薬局方収載微生物株の学名表記について 〈G4-14-190〉」

微生物関連試験に使用する微生物株の学名表記が日本薬局方における表記と不一致である場合には、必要に応じて微生物株の入手先等に対し、両者が同一の微生物株であることを確認する旨を示すため、新規に収載するものである。

(4) 「G4. 微生物学的試験法の適合性試験等における留意事項 〈G4-12-190〉」

培養法を用いた微生物試験の妥当性を示す方法として、微生物試験の適合性試験等を実施する上での留意事項を示すため、新規に収載するものである。

(5) 「G4. 単球活性化試験法〈G4-13-190〉」

ヒトの単球又は単球系細胞を用いて単球活性化試験を行う際の、測定法及び測定上の留意事項を示すため、新規に収載するものである。

(6) 「G5. ¹H スピン情報に基づいた参照 NMR スペクトルと日本薬局方試薬への応用〈G5-9-190〉」

¹H スピン情報を規定することにより参照 NMR スペクトルを用いた試験が可能となることについて、その原理と利点を示すため、新規に収載するものである。

(7) 「G6. 吸入液剤の空気力学的粒度測定法〈G6-8-190〉」

吸入液剤の空気力学的粒子径を評価可能な標準的な試験法を示すため、新規に収載するものである。

(8) 「G6. 点鼻剤の噴霧量均一性試験法〈G6-9-190〉」

欧州薬局方と新規に合意された内容に基づき、点鼻剤の噴霧量均一性について、有効成分の種類や剤形などによってある程度柔軟に選択できるよう、新規に収載するものである。

(9) 「G10. 化学名参考事項〈G10-1-190〉」

化学名の命名において IUPAC のルールで命名するよりも非体系的母核構造名又は慣用名を基に命名する方が適当な場合があり、それらの事例を示すために、新規に収載するものである。

(10) 「GZ. 目的に応じた日本薬局方の適用方法〈GZ-4-190〉」

日本薬局方の試験においては、試験の本質を理解した上で実施することが重要で、必要な試験に関して目的に応じた適用を行うことが可能と考えられるとの考え方を示し、新規に収載するものである。

1.3. 改正する項目は次のとおりである。

(1)	固体又は粉体の密度〈G2-1-190〉	(2)	日局生物薬品のウイルス安全性確保の基本要件〈G3-13-190〉
(3)	微生物迅速試験法〈G4-6-190〉	(4)	遺伝子解析による微生物の迅速同定法〈G4-7-190〉
(5)	核磁気共鳴(NMR)法を利用した定量技術と日本薬局方試薬への応用〈G5-5-190〉	(6)	無菌医薬品の包装完全性の評価〈G7-4-190〉
(7)	日本薬局方における標準品及び標準物質〈G8-1-190〉		

(1) 「G2. 固体又は粉体の密度〈G2-1-190〉」

ピクノメーター法による粒子密度の測定に用いるヘリウムの拡散性に関する記載をヘリウムの分子サイズの小ささに着目した説明に変更するほか、記載の整備を行うものである。

(2) 「G3. 日局生物薬品のウイルス安全性確保の基本要件〈G3-13-190〉」

令和7年1月9日付医薬薬審発0109第3号「「ヒト又は動物細胞株を用いて製造されるバイオテクノロジー応用医薬品等のウイルス安全性評価に関するガイドライン」の一部改正について」(ICH Q5A(R2))の発出を踏まえ、通知番号を改めるほか、当該通知に係る記載の整備を行うものである。

(3) 「G4. 微生物迅速試験法〈G4-6-190〉」

バリデーションに関する事項及び使用方法について全体的に見直して改めるほか、本試験を従来の培養法を用いた微生物試験に代えて使用するための検証方法を追記するものである。

(4) 「G4. 遺伝子解析による微生物の迅速同定法〈G4-7-190〉」

参考情報「微生物迅速試験法〈G4-6-190〉」を改正することに伴い、本参考情報の内容を微生物迅速試験法の1つとして捉え直し、全体的に見直して記載の整備等を行うものである。

(5) 「G4. 核磁気共鳴(NMR)法を利用した定量技術と日本薬局方試薬への応用〈G5-5-190〉」

用語の記載整備を行うものである。

(6) 「G7. 無菌医薬品の包装完全性の評価〈G7-4-190〉」

「2.1.3 微生物チャレンジ試験」について、無菌医薬品製造業者の製剤開発及び品質管理において試験を実施する際に参考となる情報として、推奨される試験条件及び試験実施時に考慮すべき点を追記するものである。

(7) 「G8. 日本薬局方における標準品及び標準物質〈G8-1-190〉」

生物薬品の標準品に係る記載を追加するとともに、純度試験用標準品及び標準品に求められる品質評価項目等、全体的に見直して記載の整備等を行うものである。

[参考情報 新旧対照表]

G2. 固体又は粉体の密度〈G2-1-190〉

新	旧	備考
<p>固体又は粉体の密度 〈G2-1-190〉</p> <p>集合体としての固体又は粉体の密度は、粒子間及び粒子内部に存在する微細な空隙部分の体積の評価方法により、異なる定義がなされ、それぞれ異なる数値が与えられ、かつ実用上の意味も異なる。通常、固体又は粉体の密度は三つのレベルで定義される。</p> <p>(1) 結晶密度 空隙のない均一系とみなされ、真密度とも称される。</p> <p>(2) 粒子密度 開孔部のない空隙、又は気体により置換されない粒子内細孔も固体又は粉体の体積として評価される。</p> <p>(3) かさ密度 粉体層内に形成される空隙部分も固体又は粉体の体積として評価されることから、みかけ密度とも称される。通常、疎充填時の粉体の密度は疎充填かさ密度、タップ充填時の密度はタップ充填かさ密度と定義される。</p> <p>一般に、液体や気体の密度は温度と圧力のみ依存するが、固体又は粉体の密度は分子又は粒子の集合状態に依存する。したがって、固体又は粉体の密度は、当該物質の結晶構造、結晶化度によって変化することはもちろんであるが、試料が非晶質であるか、その一部が非晶質である場合、試料の調製法、処理法又は保存によって変化し得る。したがって、二つの固体又は粉体が化学的には同一物質であっても、それらの固体構造が違えば、異なる密度を与える。固体又は粉体粒子の密度は、粉末状医薬品及び医薬品原料の重要な物理的特性であることから、日本薬局方では、粒子密度は「粉体の粒子密度測定法 (3.03)」³、かさ密度は「かさ密度測定法 (3.01)」³として、それぞれの密度測定法を規定している。</p> <p>固体又は粉体の密度は、単位体積当たりの質量(kg/m³)であり、通例、g/cm³で表す(1 g/cm³=1000 kg/m³)。</p> <p>結晶密度(Crystal Density)</p> <p>ある物質の結晶密度とは、分子の充填配列の基本部分に属さない、全ての空隙を除いた単位体積当たりの平均質量である。これはその物質の特定の結晶構造に固有な特性であり、測定法に依存しない。結晶密度は、計算又は簡単な測定によって求めることができる。</p> <p>A. 計算による結晶密度は、例えば、単結晶のX線回折データ又は粉末X線回折データの指標化によって得られる結晶学的データ(単位格子の体積と組成)から与えられる。</p> <p>B. 測定による結晶密度は、単結晶の質量と体積の測定により、その比(質量/体積)として与えられる。</p> <p>粒子密度(Particle Density)</p> <p>粒子密度は、結晶密度に加えて粒子内の空隙(粒子内部の閉じた空隙及び開孔部はあるが気体が侵入できない空</p>	<p>固体又は粉体の密度 〈G2-1-182〉</p> <p>集合体としての固体又は粉体の密度は、粒子間及び粒子内部に存在する微細な空隙部分の体積の評価方法により、異なる定義がなされ、それぞれ異なる数値が与えられ、かつ実用上の意味も異なる。通常、固体又は粉体の密度は三つのレベルで定義される。</p> <p>(1) 結晶密度 空隙のない均一系とみなされ、真密度とも称される。</p> <p>(2) 粒子密度 開孔部のない空隙、又は気体により置換されない粒子内細孔も固体又は粉体の体積として評価される。</p> <p>(3) かさ密度 粉体層内に形成される空隙部分も固体又は粉体の体積として評価されることから、みかけ密度とも称される。通常、疎充填時の粉体の密度は疎充填かさ密度、タップ充填時の密度はタップ充填かさ密度と定義される。</p> <p>一般に、液体や気体の密度は温度と圧力のみ依存するが、固体又は粉体の密度は分子又は粒子の集合状態に依存する。したがって、固体又は粉体の密度は、当該物質の結晶構造、結晶化度によって変化することはもちろんであるが、試料が非晶質であるか、その一部が非晶質である場合、試料の調製法又は処理法によって変化する。したがって、二つの固体又は粉体が化学的には同一物質であっても、それらの固体構造が違えば、異なる密度を与える。固体又は粉体粒子の密度は、粉末状医薬品及び医薬品原料の重要な物理的特性であることから、日本薬局方では、粒子密度は「3.03—粉体の粒子密度測定法」³、かさ密度は「3.01—かさ密度測定法」³として、それぞれの密度測定法を規定している。</p> <p>固体又は粉体の密度は、単位体積当たりの質量(kg/m³)であり、通例、g/cm³で表す(1 g/cm³=1000 kg/m³)。</p> <p>結晶密度(Crystal Density)</p> <p>ある物質の結晶密度とは、分子の充填配列(molecular packing arrangement)の基本部分(fundamental part)に属さない、全ての空隙を除いた単位体積当たりの平均質量である。これはその物質の特定の結晶構造に固有な特性であり、測定法に依存しない。結晶密度は、計算又は簡単な測定によって求めることができる。</p> <p>A. 計算による結晶密度は、例えば、単結晶のX線回折データ又は粉末X線回折データの指標化によって得られる結晶学的データ(単位格子の体積と組成)から与えられる。</p> <p>B. 測定による結晶密度は、単結晶の質量と体積の測定により、その比(質量/体積)として与えられる。</p> <p>粒子密度(Particle Density)</p> <p>粒子密度は、結晶密度に加えて粒子内の空隙(粒子内部の閉じた空隙及び開孔部はあるが気体が侵入できない空</p>	<p>ビクノメータ一法による粒子密度の測定に用いるヘリウムの拡散性に関する記載をヘリウムの分子サイズの小ささに着目した説明に変更するほか、記載の整備を行うものである。</p>

<p>隙)も粒子体積の一部と評価して求められる密度である。すなわち、粒子密度は測定された体積に依存し、体積の評価は測定法に依存する。粒子密度の測定は、日本薬局方では「<u>粉体の粒子密度測定法 (3.03)</u>」として、ピクノメーター法を規定している。</p> <p>ピクノメーター法による密度は、気体置換型ピクノメーターを用いて、質量既知の<u>固体又は粉体の体積を置換された気体の体積に等しいものと評価することにより求める</u>。ピクノメーター法による密度の測定においては、<u>気体の侵入が可能な開孔部のある空隙は粉体の体積とみなされないが、気体が侵入できない密閉状態にある空隙は粉体の体積の一部とみなされる</u>。ヘリウムは分子サイズが小さく、開孔部のあるほとんどの空隙に侵入できるため、粒子密度測定用気体として推奨される。したがって、粉体のピクノメーター法による粒子密度は、一般には結晶密度とあまり変わらない。このため、この方法による粒子密度は、非晶質又は部分的に結晶性である試料の真密度の最良の推定値とみなされ、製造工程中にある医薬品粉末の製造管理に広く役立てることができる。<u>しかし、この測定法は、測定中に昇華、脱溶媒和又は(吸着水などの)脱離に起因して気体を放出する固体には適さない。</u></p> <p>かさ密度 (Bulk Density)</p> <p>粉体のかさ密度は、粒子間の空隙も粉体体積の一部と評価して求められる。したがって、かさ密度は粉体の粒子密度と粉体層中での粒子の空間配列と充填の度合いに依存する。</p> <p>また、粉体のかさ密度は粉体層の僅かな揺動によっても、その空間配列が変化するため、再現性よくかさ密度を測定することは極めて難しい。したがって、かさ密度の測定値を示す場合、測定条件と共に、どのように測定したかを明記することが重要である。</p> <p>A. <u>疎充填かさ密度は、ふるいを通してメスシリンダー中へ注入した質量既知の粉体の体積(疎充填体積)を測定することにより求められる(定質量法)</u>。別に日本薬局方では、一定容量(疎充填体積)の粉体の質量を測定することにより、疎充填かさ密度を求める方法(定容量法)も規定している。</p> <p>B. <u>タップ充填かさ密度は、粉体を入れたメスシリンダーを機械的にタップすることにより求められる</u>。初期の疎充填体積を測定した後、メスシリンダーを一定の測定条件(タップ速度及び落下高さ)で機械的に規定の回数タップし、連続する2回の測定間で体積変化が許容範囲内となるまで測定を繰り返す(定質量法)。別に日本薬局方では、タップ充填された一定容量の粉体の質量を測定することにより、タップ充填かさ密度を求める方法(定容量法)も規定している。</p>	<p>隙)も粒子体積の一部と評価して求められる密度である。すなわち、粒子密度は測定された体積に依存し、体積の評価は測定法に依存する。粒子密度の測定は、日本薬局方では「3.03—<u>粉体の粒子密度測定法</u>」として、ピクノメーター法を規定している。</p> <p>ピクノメーター法による密度は、気体置換型ピクノメーターを用いて、質量既知の粉体の体積を置換された気体の体積に等しいものと評価することにより求める。ピクノメーター法による密度の測定においては、<u>気体の侵入が可能な開孔部のある空隙は粉体の体積とみなされないが、気体が侵入できない密閉状態にある空隙は粉体の体積の一部とみなされる</u>。ヘリウムは拡散性が高く、開孔部のあるほとんどの空隙に侵入できるため、粒子密度測定用気体として推奨される。したがって、<u>細かく粉碎された粉体のピクノメーター法による粒子密度は、一般には結晶密度とあまり変わらない</u>。このため、この方法による粒子密度は、非晶質又は部分的に結晶性である試料の真密度の最良の推定値とみなされ、製造工程中にある医薬品粉末の製造管理に広く役立てることができる。</p> <p>かさ密度 (Bulk Density)</p> <p>粉体のかさ密度は、粒子間の空隙も粉体体積の一部と評価して求められる。したがって、かさ密度は粉体の粒子密度と粉体層中での粒子の空間配列に依存する。</p> <p>また、粉体のかさ密度は粉体層の僅かな揺動によっても、その空間配列が変化するため、再現性よくかさ密度を測定することは極めて難しい。したがって、かさ密度の測定値を示す場合、測定条件と共に、どのように測定したかを明記することが重要である。</p> <p>日本薬局方では「3.01—<u>かさ密度測定法</u>」を規定している。</p> <p>A. <u>疎充填かさ密度は、ふるいを通してメスシリンダー中へ注入した質量既知の粉体の体積(疎充填体積)を測定することにより求められる(定質量法)</u>。別に日本薬局方では、一定容量(疎充填体積)の粉体の質量を測定することにより、疎充填かさ密度を求める方法(定容量法)も規定している。</p> <p>B. <u>タップ充填かさ密度は、粉体を入れたメスシリンダーを機械的にタップすることにより求められる</u>。初期の疎充填体積を測定した後、メスシリンダーを一定の測定条件(タップ速度及び落下高さ)で機械的に規定の回数タップし、連続する2回の測定間で体積変化が許容範囲内となるまで測定を繰り返す(定質量法)。別に日本薬局方では、タップ充填された一定容量の粉体の質量を測定することにより、タップ充填かさ密度を求める方法(定容量法)も規定している。</p>
---	---

G3. 日局生物薬品のウイルス安全性確保の基本要件 〈G3-13-190〉

新	旧	備考
<p>日局生物薬品のウイルス安全性確保の基本要件 〈G3-13-190〉</p> <p>1. はじめに</p> <p>日局に記載された医薬品の品質規格は、当該医薬品の品質管理や品質の恒常性確保はもとより、有効性、安全性を確保する上にも基本的な役割を果たすべきものと考えられている。一方、近年、医薬品の品質や安全性等の確保に関する時代の要請は極めて厳しいものとなってきている。生物起源由来の医薬品やバイオテクノロジー技術応用医薬品などの生物薬品に関しては、特に安全性確保の面での懸念が強くなってきていることに留意した対応が望まれている。生物薬品の場合、最終製品の品質規格のほか、その起源の選択と適格性評価、製造工程の妥当性評価とその恒常性維持及び特異的な物性をいかにコントロールするかが品質、安全性確保上のキーポイントとなる。これらの点をふまえ、局方の枠組みの中でいかにその品質、安全性などを確保するかが改めて問われてきていると考えられる。そこで、本参考情報はこれらの課題を解決するためにどのようなアプローチがあるかについて述べている。</p> <p>日局収載医薬品の品質・安全性などの確保は、科学の進歩、経験の蓄積を反映してその時代における最も先端的方法、考え方でなされることが望ましい。本参考情報では、現時点における科学的考察の到達点を示すことを試みた。これにより、日局収載医薬品のみならず、生物薬品の品質・安全性確保が時代を反映したより科学的根拠に基づくものとなり、また、各条収載に関する効率的な審議の推進につながることを期待される。</p> <p>1.1. 日局生物薬品のウイルスに対する安全性確保のための基本方策</p> <p>日本薬局方生物薬品には、哺乳類などの生体組織や体液(尿、血液など)に由来するものが含まれる。ヒト又は動物細胞株由来のタンパク質医薬品(組換え医薬品、細胞培養医薬品などのバイオ医薬品)も含まれる。これら日局生物薬品のウイルスに対する総合的な安全性確保を図るための必要な基本的方策には、次のようなものが挙げられる。</p> <p>1)ウイルス汚染の可能性(汚染源)について熟知すること、2)原材料及びその起源たるヒトや動物の適格性に関して慎重に吟味すること、及び医薬品の製造基材と定めた段階の試料(例えばプールした体液や細胞バンクなど)において徹底的な解析とスクリーニングを行い、ウイルスの存在の有無及び存在するウイルスの種類・性質について検討すること、3)ウイルスやウイルス様粒子が存在した場合、どの程度ヒトへの有害性が高いかを検討・確認すること、4)ヒトに感染性や病原性を示すウイルスが存在しないような製造関連物質(試薬、抗体カラムなど)を選択すること、5)必要に応じて最終製品を含む製造工程の適当な段階の製品のウイルス否定試験を実施すること、6)製造工程によるウイルスクリアランスを達成するために工程中にウイルスの除去・不活化に関する効果的な方法を用いること、</p>	<p>日局生物薬品のウイルス安全性確保の基本要件 〈G3-13-141〉</p> <p>はじめに</p> <p>日局に記載された医薬品の品質規格は、当該医薬品の品質管理や品質の恒常性確保はもとより、有効性、安全性を確保する上にも基本的な役割を果たすべきものと考えられている。一方、近年、医薬品の品質や安全性等の確保に関する時代の要請は極めて厳しいものとなってきている。生物起源由来の医薬品やバイオテクノロジー技術応用医薬品などの生物薬品に関しては、特に安全性確保の面での懸念が強くなってきていることに留意した対応が望まれている。生物薬品の場合、最終製品の品質規格のほか、その起源の選択と適格性評価、製造工程の妥当性評価とその恒常性維持及び特異的な物性をいかにコントロールするかが品質、安全性確保上のキーポイントとなる。これらの点をふまえ、局方の枠組みの中でいかにその品質、安全性などを確保するかが改めて問われてきていると考えられる。そこで、本参考情報はこれらの課題を解決するためにどのようなアプローチがあるかについて述べている。</p> <p>日局収載医薬品の品質・安全性などの確保は、科学の進歩、経験の蓄積を反映してその時代における最も先端的方法、考え方でなされることが望ましい。本参考情報では、現時点における科学的考察の到達点を示すことを試みた。これにより、日局収載医薬品のみならず、生物薬品の品質・安全性確保が時代を反映したより科学的根拠に基づくものとなり、また、各条収載に関する効率的な審議の推進につながることを期待される。</p> <p>1. 日局生物薬品のウイルスに対する安全性確保のための基本方策</p> <p>日本薬局方生物薬品には、哺乳類などの生体組織や体液(尿、血液など)に由来するものが含まれる。ヒト又は動物細胞株由来のタンパク質性医薬品(組換え医薬品、細胞培養医薬品などのバイオ医薬品)も含まれる。これら日局生物薬品のウイルスに対する総合的な安全性確保を図るための必要な基本的方策には、次のようなものが挙げられる。1)ウイルス汚染の可能性(汚染源)について熟知すること、2)原材料及びその起源たるヒトや動物の適格性に関して慎重に吟味すること、及び医薬品の製造基材と定めた段階の試料(例えばプールした体液や細胞バンクなど)において徹底的な解析とスクリーニングを行い、ウイルスの存在の有無及び存在するウイルスの種類・性質について検討すること、3)ウイルスやウイルス様粒子が存在した場合、どの程度ヒトへの有害性が高いかを検討・確認すること、4)ヒトに感染性や病原性を示すウイルスが存在しないような製造関連物質(試薬、抗体カラムなど)を選択すること、5)必要に応じて最終製品を含む製造工程の適当な段階の製品のウイルス否定試験を実施すること、6)製造工程によるウイルスクリアランスを達成するために工程中にウイルスの除去・不活化に関する効果的な方法を用いるこ</p>	<p>令和7年1月9日付医薬薬審発0109第3号「「ヒト又は動物細胞株を用いて製造されるバイオテクノロジー応用医薬品等のウイルス安全性評価に関するガイドライン」の一部改正について」(ICH Q5A(R2))の発出を踏まえ、通知番号を改めるほか、当該通知に係る記載の整備を行うものである。</p>

各種の方法の組合せによるより高いウイルスクリアランスの達成に留意すること、7)周到なウイルスクリアランス試験計画を立てること、8)ウイルス不活化及び除去を評価する試験を実施し、評価すること。これらの方策を、段階的にかつ相互補完的に活用していくことによって、生物薬品のウイルス面での安全性を確保、向上させることが可能になるものと考えられる。

1.2. 各条及び参考情報におけるウイルス安全性確保策

1.1. で示した日局生物薬品のウイルスに対する安全性確保のための方策は、本参考情報に一括して必要な留意事項、具体的情報を記載している。各条では、当該各条に特殊な留意事項がある場合は別にして、一般には、「健康な動物から製し、原材料又は医薬品の製造基材及び生物起源由来の製造関連物質にはヒトに感染性や病原性を示すウイルスの存在は否定されている」こと、又は「ウイルス安全性に関し適格性及び妥当性が評価された細胞株及び培養方法を用いて製し、生物起源由来の製造関連物質にはヒトに感染性や病原性を示すウイルスの存在は否定されている」こと、及び「感染性や病原性を示すウイルスを除去できるような製造工程で製造されている」などの趣旨を記載して、ウイルス安全性を考慮すべき製品との注意を喚起すると共に、安全性上懸念されるウイルスについての必要な試験や工程評価試験はなされていることを明らかにしておくべきと思われる。

1.3. 本参考情報において盛り込んだ事項と内容

ヒト又は動物起源細胞株由来のタンパク質医薬品のウイルス安全性については、ICH国際合意文書を受けた国内版通知「ヒト又は動物細胞株を用いて製造されるバイオテクノロジー応用医薬品等のウイルス安全性評価に関するガイドライン」の一部改正について(令和7年1月9日付医薬薬審発0109第3号厚生労働省医薬局医薬品審査管理課長通知)があり、また、血漿分画製剤については、「血漿分画製剤のウイルスに対する安全性確保に関するガイドラインの一部改正について」(令和6年3月29日付医薬発第0329第16号厚生労働省医薬局長通知)がある。日局生物薬品のウイルスに対する安全性確保のための本参考情報は、基本的にこれらのガイドラインに盛り込まれた事項を参考にしながら、日局に収載されている生物薬品はもとより、将来収載される可能性のある全ての生物薬品、すなわち生体組織や尿などの体液に由来する生物薬品、更にはヒト又は動物起源細胞株由来のタンパク質医薬品などのウイルス安全性確保に必要な一般的留意事項及び各論を盛り込んでいる(表1)。

表1 日局生物薬品のウイルスに対する安全性確保のための参考情報に含まれる事項

1.	はじめに
1.1.	日局生物薬品のウイルスに対する安全性確保のための基本方策
1.2.	各条及び参考情報におけるウイルス安全性確保策
1.3.	本参考情報において盛り込んだ事項と内容
2.	一般的事項
2.1.	目的
2.2.	背景
2.3.	ウイルス安全性確保策における未知のリスク問題
2.4.	適用範囲
2.5.	日局生物薬品がウイルスに汚染される可能性(ウイルスの汚染源)

と、各種の方法の組合せによるより高いウイルスクリアランスの達成に留意すること、7)周到なウイルスクリアランス試験計画を立てること、8)ウイルス不活化及び除去を評価する試験を実施し、評価すること。これらの方策を、段階的にかつ相互補完的に活用していくことによって、生物薬品のウイルス面での安全性を確保、向上させることが可能になるものと考えられる。

2. 各条及び参考情報におけるウイルス安全性確保策

1. で示した日局生物薬品のウイルスに対する安全性確保のための方策は、本参考情報に一括して必要な留意事項、具体的情報を記載している。各条では、当該各条に特殊な留意事項がある場合は別にして、一般には、「健康な動物から製し、原材料又は医薬品の製造基材及び生物起源由来の製造関連物質にはヒトに感染性や病原性を示すウイルスの存在は否定されている」こと、又は「ウイルス安全性に関し適格性及び妥当性が評価された細胞株及び培養方法を用いて製し、生物起源由来の製造関連物質にはヒトに感染性や病原性を示すウイルスの存在は否定されている」こと、及び「感染性や病原性を示すウイルスを除去できるような製造工程で製造されている」などの趣旨を記載して、ウイルス安全性を考慮すべき製品との注意を喚起すると共に、安全性上懸念されるウイルスについての必要な試験や工程評価試験はなされていることを明らかにしておくべきと思われる。

3. 本参考情報において盛り込んだ事項と内容

ヒト又は動物起源細胞株由来のタンパク質性医薬品のウイルス安全性については、ICH国際合意文書を受けた国内版通知「ヒト又は動物細胞を用いて製造されるバイオテクノロジー応用医薬品のウイルス安全性評価」(平成12年2月22日付医薬審第329号厚生省医薬安全局審査管理課長通知)があり、また、血漿分画製剤については、「血漿分画製剤のウイルスに対する安全性確保に関するガイドライン」がある。日局生物薬品のウイルスに対する安全性確保のための本参考情報は、基本的にこれらのガイドラインに盛り込まれた事項を参考にしながら、日局に収載されている生物薬品はもとより、将来収載される可能性のある全ての生物薬品、すなわち生体組織や尿などの体液に由来する生物薬品、更にはヒト又は動物起源細胞株由来のタンパク質性医薬品などのウイルス安全性確保に必要な一般的留意事項及び各論を盛り込んでいる(表1)。

表1 日局生物薬品のウイルスに対する安全性確保のための参考情報に含まれる事項

1.	はじめに
1.1.	日局生物薬品のウイルスに対する安全性確保のための基本方策
1.2.	各条及び参考情報におけるウイルス安全性確保策
1.3.	本参考情報において盛り込んだ事項と内容
2.	一般的事項
2.1.	目的
2.2.	背景
2.3.	ウイルス安全性確保策における未知のリスク問題
2.4.	適用範囲
2.5.	日局生物薬品がウイルスに汚染される可能性(ウイルスの汚染源)

- 2.6. ウイルス安全性確保の基本
- 2.7. ウイルス試験の限界
- 2.8. ウイルスクリアランス試験の役割
- 3. 原材料・医薬品製造基材
 - 3.1. 原材料・医薬品製造基材の起源たる動物種と採取部位に依存した問題と対策
 - 3.2. 原材料・医薬品製造基材の供給源としてのヒトや動物の適格性評価試験
- 4. 製造及びウイルス試験にかかわる留意事項
 - 4.1. 精製工程前のウイルス試験
 - 4.2. 中間原料等の受入れ試験としてのウイルス検査
 - 4.3. 最終製品におけるウイルス試験
- 5. ウイルスクリアランスに関する工程評価
 - 5.1. ウイルスクリアランスの工程評価の意義、目的、一般的留意事項
 - 5.2. ウイルスの選択
 - 5.3. ウイルスクリアランス試験の設計
 - 5.4. ウイルスクリアランス試験結果の解釈
 - 5.4.1. ウイルスクリアランス指数の評価
 - 5.4.2. ウイルスクリアランス指数の計算法
 - 5.4.3. 結果の解釈及び評価上留意すべき事項
- 6. 統計
 - 6.1. ウイルス力価測定における統計学とその留意点
 - 6.2. ウイルスクリアランス試験の再現性、信頼限界
- 7. ウイルスクリアランスの再評価が必要な場合
- 8. ウイルスクリアランス試験にかかわる測定法
 - 8.1. ウイルス感染価の測定法
 - 8.2. 核酸増幅法(NAT)による検査
- 9. 記録と保存
- 10. その他
- 11. おわりに

2. 一般的事項

2.1. 目的

哺乳類などの生体組織や体液に由来する生物薬品及びヒト又は動物起源細胞株由来のタンパク質医薬品のウイルスに対する総合的な安全性確保策についての考え方について提示することを目的とする。すなわち、①ウイルス汚染源についての配慮、②原材料の選択及びその起源たるヒトや動物の適格性に関する適切な評価、③医薬品の製造基材段階におけるウイルス試験とその解析・評価、④生物起源の製造関連物質(試薬、抗体カラムなど)の選択に関する適切な評価、⑤製造工程の適当な段階の製品における必要に応じたウイルス否定試験の実施、⑥ウイルススクリアランス試験計画の立案、⑦ウイルススクリアランス試験の実施と評価、などに関する方策や留意事項について記述し、これらの要素を相補的に適切に組み合わせることによって、生物薬品のウイルス面での安全性を確保、向上させることを包括的に示すことを目標とする。

2.2. 背景

ヒト又は動物を直接起源とする生物薬品や、ヒト又は動物起源細胞株由来のタンパク質医薬品(組換え医薬品、細胞培養医薬品などのバイオ医薬品)において留意すべき安全性上の極めて重要な課題の一つにウイルス汚染の可能性がある。ウイルス汚染が発生すれば、臨床使用において深刻な事態を招く可能性がある。ウイルス汚染は、原材料・医薬品製造基材に由来して起きる可能性がある。また、製造工程中に外来性因子として混入した結果生じる可能性もある。

日局生物薬品や細胞株由来タンパク質バイオ医薬品は、従来から医療に多大の貢献を果たしてきており、また、過去にウイルスによる安全性上の問題が生じたことはない。しかし、より慎重なかつ科学的合理性に基づいた安全性確

- 6. ウイルス安全性確保の基本
- 7. ウイルス試験の限界
- 8. ウイルスクリアランス試験の役割
- III 原材料・医薬品製造基材
 - 1. 原材料・医薬品製造基材の起源たる動物種と採取部位に依存した問題と対策
 - 2. 原材料・医薬品製造基材の供給源としてのヒトや動物の適格性評価試験
- IV 製造及びウイルス試験にかかわる留意事項
 - 1. 精製工程前のウイルス試験
 - 2. 中間原料等の受入れ試験としてのウイルス検査
 - 3. 最終製品におけるウイルス試験
- V ウイルスクリアランスに関する工程評価
 - 1. ウイルスクリアランスの工程評価の意義、目的、一般的留意事項
 - 2. ウイルスの選択
 - 3. ウイルスクリアランス試験の設計
 - 4. ウイルスクリアランス試験結果の解釈
 - ① ウイルスクリアランス指数の評価
 - ② ウイルスクリアランス指数の計算法
 - ③ 結果の解釈及び評価上留意すべき事項
- VI 統計
 - 1. ウイルス力価測定における統計学とその留意点
 - 2. ウイルスクリアランス試験の再現性、信頼限界
- VII ウイルスクリアランスの再評価が必要な場合
- VIII ウイルスクリアランス試験にかかわる測定法
 - 1. ウイルス感染価の測定法
 - 2. 核酸増幅法(NAT)による検査
- IX 記録と保存
- X その他

3-1. 目的

哺乳類などの生体組織や体液に由来する生物薬品及びヒト又は動物起源細胞株由来のタンパク質性医薬品のウイルスに対する総合的な安全性確保策についての考え方について提示することを目的とする。すなわち、①ウイルス汚染源についての配慮、②原材料の選択及びその起源たるヒトや動物の適格性に関する適切な評価、③医薬品の製造基材段階におけるウイルス試験とその解析・評価、④生物起源の製造関連物質(試薬、抗体カラムなど)の選択に関する適切な評価、⑤製造工程の適当な段階の製品における必要に応じたウイルス否定試験の実施、⑥ウイルススクリアランス試験計画の立案、⑦ウイルススクリアランス試験の実施と評価、などに関する方策や留意事項について記述し、これらの要素を相補的に適切に組み合わせることによって、生物薬品のウイルス面での安全性を確保、向上させることを包括的に示すことを目標とする。

3-2. 背景

ヒト又は動物を直接起源とする生物薬品や、ヒト又は動物起源細胞株由来のタンパク質性医薬品(組換え医薬品、細胞培養医薬品などのバイオ医薬品)において留意すべき安全性上の極めて重要な課題の一つにウイルス汚染の可能性がある。ウイルス汚染が発生すれば、臨床使用において深刻な事態を招く可能性がある。ウイルス汚染は、原材料・医薬品製造基材に由来して起きる可能性がある。また、製造工程中に外来性因子として混入した結果生じる可能性もある。

日局生物薬品や細胞株由来タンパク質性バイオ医薬品は、従来から医療に多大の貢献を果たしてきており、また、過去にウイルスによる安全性上の問題が生じたことはない。しかし、より慎重なかつ科学的合理性に基づいた安全

<p>保措置をとることにより、不測の事態を未然に防ごうとすることは、健康被害の未然防止に関する社会の強い関心を考慮すると社会的要請として重要である。生物起源由来の医薬品のウイルス安全性をどのような視点でどこまで追求すべきかは、関係者にとって常に大きな関心事であり課題でもある。</p> <p>この課題を論ずるにあたって、まず二つの基本的なことを再確認しておく必要がある。その一つは、医薬品が持つ科学的側面、医学的側面、社会的側面を考慮する必要があるということである。すなわち、「医薬品はリスクとベネフィットを科学的、社会的に勘案して医療のために活用するという特徴を持つ社会的資産である」ということである。社会的資産である医薬品を医療現場へいかに速やかに効率よく安定供給し、患者に福音をもたらすかが医薬品関係者の目標であり使命であるということである。</p> <p>もう一つは、ウイルス安全性は個別医薬品の成分本体にかかわる安全性(狭義の安全性)とは独立した、いわばより一般的な医薬品安全性(広義の安全性)にかかわる課題であると整理して考える必要があるということである。日局医薬品のように当該医薬品が長期間にわたり臨床で使用されてきたものの場合、広義の安全性については疫学的に立証されているものと考えられるので、その実績は極めて重い意味を持つ。しかし、個別医薬品(成分)本体の安全性とは異なり、ウイルス汚染の可能性ということの本質を考えれば、実績のみで将来にわたる当該医薬品のウイルス安全性を必ずしも保証できないことも考慮しなければならない。実績を評価しつつ、適切な予防的措置についても配慮を尽くすという方策が、日局生物製品のウイルス安全性という広義の医薬品安全性を確保する上での基本となるべきであると考えられる。</p> <p>予防的措置に対する取組みとしては、とりあえず規制や試験実施を理論的に考えられる最大限行って安全性を保証するという方策もないわけではない。しかしそうした方策を科学的吟味や使用実績に対する評価を十分に行うことなく一般的に適用すると、必ずしも科学的合理性を持たない過度な規制や試験実施の要求となる。その結果、実績がある医療上重要な医薬品の医療現場への速やかで効率的な供給に支障をきたし、医薬品という社会的資産が必ずしも有効に活用されない結果になる可能性がある。医薬品の最大の特徴は、有効性と安全性上の要件という両刃を持ちながら医療に活用しようとする剣である。有効性と安全性上の要件というのはその時点での科学の結晶として導き出され、有用性というバランスシートで相対的に評価されるべきものである。適正な科学的合理性に基づかない安全性上の過度な懸念にウエイトを置くあまり、有用性評価がバランスを欠くものになってはならない。バランスのとれた適切な科学的有用性評価に時の社会的関心、評価が加味され、当該医薬品は社会的資産として活かされることになる。言い換えれば、医薬品という社会的資産は、その時点での科学の結晶を社会が医療のために活用するという特徴を持つ共通の資産であり、活用にあたってのキーポイントは科学的、社会的評価に基づくリスクとベネフィットのバランスにある。生物起源由来の日局医薬品のウイルス安全性をどのような視点でどこまで追求すべきかは、これ</p>	<p>性確保措置をとることにより、不測の事態を未然に防ごうとすることは、健康被害の未然防止に関する社会の強い関心を考慮すると社会的要請として重要である。生物起源由来の医薬品のウイルス安全性をどのような視点でどこまで追求すべきかは、関係者にとって常に大きな関心事であり課題でもある。</p> <p>この課題を論ずるにあたって、まず二つの基本的なことを再確認しておく必要がある。その一つは、医薬品が持つ科学的側面、医学的側面、社会的側面を考慮する必要があるということである。すなわち、「医薬品はリスクとベネフィットを科学的、社会的に勘案して医療のために活用するという特徴を持つ社会的資産である」ということである。社会的資産である医薬品を医療現場へいかに速やかに効率よく安定供給し、患者に福音をもたらすかが医薬品関係者の目標であり使命であるということである。</p> <p>もう一つは、ウイルス安全性は個別医薬品の成分本体にかかわる安全性(狭義の安全性)とは独立した、いわばより一般的な医薬品安全性(広義の安全性)にかかわる課題であると整理して考える必要があるということである。日局医薬品のように当該医薬品が長期間にわたり臨床で使用されてきたものの場合、広義の安全性については疫学的に立証されているものと考えられるので、その実績は極めて重い意味を持つ。しかし、個別医薬品(成分)本体の安全性とは異なり、ウイルス汚染の可能性ということの本質を考えれば、実績のみで将来にわたる当該医薬品のウイルス安全性を必ずしも保証できないことも考慮しなければならない。実績を評価しつつ、適切な予防的措置についても配慮を尽くすという方策が、日局生物製品のウイルス安全性という広義の医薬品安全性を確保する上での基本となるべきであると考えられる。</p> <p>予防的措置に対する取組みとしては、とりあえず規制や試験実施を理論的に考えられる最大限行って安全性を保証するという方策もないわけではない。しかしそうした方策を科学的吟味や使用実績に対する評価を十分に行うことなく一般的に適用すると、必ずしも科学的合理性を持たない過度な規制や試験実施の要求となる。その結果、実績がある医療上重要な医薬品の医療現場への速やかで効率的な供給に支障をきたし、医薬品という社会的資産が必ずしも有効に活用されない結果になる可能性がある。医薬品の最大の特徴は、有効性と安全性上の要件という両刃を持ちながら医療に活用しようとする剣である。有効性と安全性上の要件というのはその時点での科学の結晶として導き出され、有用性というバランスシートで相対的に評価されるべきものである。適正な科学的合理性に基づかない安全性上の過度な懸念にウエイトを置くあまり、有用性評価がバランスを欠くものになってはならない。バランスのとれた適切な科学的有用性評価に時の社会的関心、評価が加味され、当該医薬品は社会的資産として活かされることになる。言い換えれば、医薬品という社会的資産は、その時点での科学の結晶を社会が医療のために活用するという特徴を持つ共通の資産であり、活用にあたってのキーポイントは科学的、社会的評価に基づくリスクとベネフィットのバランスにある。生物起源由来の日局医薬品のウイルス安全性をどのような視点でどこまで追求すべきかは、これ</p>
--	--

<p>らの要素を勘案しながら検討する必要がある。</p> <p>また、一般に医薬品のリスクとベネフィットは、当該医薬品が使用される分野における他の医薬品や治療法との相対的な比較において論じられるべきものであり、代替薬や類薬、代替治療法の有無とそれらとのリスクとベネフィットの比較評価によって当該医薬品の有用性が最終的に評価されることになる。</p> <p>このような背景の下、本稿の目的は、科学的に合理性のある日局生物薬品のウイルス安全性に関する方策を論じることにある。科学的合理性のある方策とはあくまで現時点の科学的知識で想定できる問題に対して、現状の科学水準に基づき、適切かつ効果的に対応することである。言い換えれば、汚染の可能性を想定するウイルスは、種類、形態、粒子サイズ、物理的・化学的性質などにおいて既存のウイルス学の知見の範囲にあるものであり、また、当該生物薬品の起源であるヒト又は動物、組織や体液、製造過程に使用する試薬、資材、添加物などに存在が予測されるウイルスである。試験としては、これらのウイルスを対象とした検出法を適用し、ウイルスクリアランス試験を考慮することになる。</p> <p>2.3. ウイルス安全性確保策における未知のリスク問題 (略)</p> <p>2.4. 適用範囲</p> <p>国内で使用される生体組織や体液に由来する日局生物薬品及びヒト又は動物起源細胞株由来のタンパク質医薬品を適用対象とする。一方、血液製剤に関しては、生物学的製剤基準に記載され、また「血漿分画製剤のウイルスに対する安全性確保に関するガイドライン」が適用されるので、日局参考情報の適用対象外とする。さらに生物起源由来物質でもアミノ酸、糖類、グリセリンなどのような比較的分子量の低い化合物や、感染性や病原性を示す高分子化合物でもゼラチンのようなものは、その製法や精製法からウイルスの迷入の可能性が考えられないケースが多く、また、タンパク質には適用できないような強力なウイルス不活化/除去操作を適用することも可能なため、これらについては、適用対象外とするのが合理的である。ただし、本情報に盛り込まれた事項のうち合理的に適用できる部分があれば、参考にすればよい。なお、日局には記載されていない生物薬品であっても、本文書の適用対象となる日局生物薬品と同様なものについては、本参考情報を参考にしてウイルスに対する総合的な安全確保対策をとることが推奨される。</p> <p>(略)</p> <p>2.5. 日局生物薬品がウイルスに汚染される可能性(ウイルスの汚染源)</p>	<p>らの要素を勘案しながら検討する必要がある。</p> <p>また、一般に医薬品のリスクとベネフィットは、当該医薬品が使用される分野における他の医薬品や治療法との相対的な比較において論じられるべきものであり、代替薬や類薬、代替治療法の有無とそれらとのリスクとベネフィットの比較評価によって当該医薬品の有用性が最終的に評価されることになる。</p> <p>このような背景の下、本稿の目的は、科学的に合理性のある日局生物薬品のウイルス安全性に関する方策を論じることにある。科学的合理性のある方策とはあくまで現時点の科学的知識で想定できる問題に対して、現状の科学水準に基づき、適切かつ効果的に対応することである。言い換えれば、汚染の可能性を想定するウイルスは、種類、形態、粒子サイズ、物理的・化学的性質などにおいて既存のウイルス学の知見の範囲にあるものであり、また、当該生物薬品の起源であるヒト又は動物、組織や体液、製造過程に使用する試薬、資材、添加物などに存在が予測されるウイルスである。試験としては、これらのウイルスを対象とした検出法を適用し、ウイルスクリアランス試験を考慮することになる。</p> <p>3.3. ウイルス安全性確保策における未知のリスク問題 (略)</p> <p>3.4. 適用範囲</p> <p>国内で使用される生体組織や体液に由来する日局生物薬品及びヒト又は動物起源細胞株由来のタンパク質性医薬品を適用対象とする。ヒト又は動物起源細胞株由来のタンパク質性医薬品の場合、前述の医薬審第329号「ヒト又は動物細胞を用いて製造されるバイオテクノロジー応用医薬品のウイルス安全性評価」通知施行後に開発・承認された製品は通知に従った対応がなされているはずであるが、それ以前に承認された製品では対応が必ずしも十分になされていないものもあると思われる。これらバイオ製品については日局収載時までに参考情報に適合するよう必要十分な検討が行われることが期待される。一方、血液製剤に関しては、生物学的製剤基準に記載され、また「血漿分画製剤のウイルスに対する安全性確保に関するガイドライン」が適用されるので、日局参考情報の適用対象外とする。更に生物起源由来物質でもアミノ酸、糖類、グリセリンなどのような比較的分子量の低い化合物や、感染性や病原性を示す高分子化合物でもゼラチンのようなものは、その製法や精製法からウイルスの迷入の可能性が考えられないケースが多く、また、タンパク質には適用できないような強力なウイルス不活化/除去操作を適用することも可能なため、これらについては、適用対象外とするのが合理的である。ただし、本情報に盛り込まれた事項のうち合理的に適用できる部分があれば、参考にすればよい。なお、日局には記載されていない生物薬品であっても、本文書の適用対象となる日局生物薬品と同様なものについては、本参考情報を参考にしてウイルスに対する総合的な安全確保対策をとることが推奨される。</p> <p>(略)</p> <p>3.5. 日局生物薬品がウイルスに汚染される可能性(ウイルスの汚染源)</p>	
---	--	--

<p>日局生物薬品がウイルスに汚染される可能性(ウイルスの汚染源)について注意を喚起し、また対応策について言及しておくことは、ウイルス汚染の可能性をもとから絶ち、安全性確保の確率を高めるという意味において重要である。生物薬品の多くはヒト又は動物の組織、体液等を起源・原材料とした「医薬品製造基材」から製造され、その精製過程や製剤化の過程においても生物起源由来の試薬、カラム材料又は医薬品添加剤として生物起源由来物質を用いる場合があることより、これらを汚染源として伝播するウイルスについて十分な安全対策を実施しなければならない。また、ヒト又は動物起源細胞株由来のタンパク質性医薬品についても医薬品製造基材である細胞株及びそれ以降の製造過程におけるウイルス汚染の可能性について配慮が必要であることは医薬審発0109第3号通知に述べられているとおりである。</p> <p>(略)</p> <p>3. 原材料・医薬品製造基材</p> <p>(略)</p> <p>3.2. 原材料・医薬品製造基材の供給源としてのヒトや動物の適格性評価試験</p> <p>(略)</p> <p>(3) ヒト又は動物起源細胞株由来のタンパク質性医薬品</p> <p>医薬品製造基材であるマスター・セル・バンク(MCB)において、医薬審発0109第3号通知に記載された要領に沿って内在性及び非内在性のウイルスによる汚染の有無を徹底的に検討する必要がある。また、医薬品製造のためにイン・ビトロ細胞齢の上限にまで培養された細胞(CAL)についても、適切な外来性ウイルス試験(例えば<i>in vitro</i>及び<i>in vivo</i>試験)及び内在性ウイルスの存在の有無について試験を実施し、評価する必要がある。医薬品製造のための出発細胞基材としての各ワーキング・セル・バンク(WCB)については、それ自体を対象に又は各WCBを培養したCALの段階で、外来性ウイルスに関する試験を実施すること。適切な非内在性ウイルスの試験がWCBのもとであるMCBで実施され、かつ、そのWCBに由来するCALにおいて外来性ウイルスの試験が実施されている場合、同様の試験は当該WCBでは不要である。</p> <p>(略)</p> <p>5. ウイルスクリアランスに関する工程評価</p> <p>(略)</p> <p>5.2. ウイルスの選択</p> <p>ウイルススクリアランス試験に使用されるモデルウイルスとしては、広範囲にウイルス除去／不活化の情報を得るといった観点から、DNAウイルス及びRNAウイルス、エンペロープの有無や粒子径の大小において差異があるもの、及びウイルススクリアランス能力を試験する目的に叶う物理的・化学的処理に対する抵抗性が高いものなどを含む広範な特性を持つウイルス類を選択することが望ましい。これらの特性を網羅するには3種類程度のモデルウイルスを組み合わせることが必要になる。</p>	<p>日局生物薬品がウイルスに汚染される可能性(ウイルスの汚染源)について注意を喚起し、また対応策について言及しておくことは、ウイルス汚染の可能性をもとから絶ち、安全性確保の確率を高めるという意味において重要である。生物薬品の多くはヒト又は動物の組織、体液等を起源・原材料とした「医薬品製造基材」から製造され、その精製過程や製剤化の過程においても生物起源由来の試薬、カラム材料又は医薬品添加剤として生物起源由来物質を用いる場合があることより、これらを汚染源として伝播するウイルスについて十分な安全対策を実施しなければならない。また、ヒト又は動物起源細胞株由来のタンパク質性医薬品についても医薬品製造基材である細胞株及びそれ以降の製造過程におけるウイルス汚染の可能性について配慮が必要であることは医薬審第329号通知に述べられているとおりである。</p> <p>(略)</p> <p>4. 原材料・医薬品製造基材</p> <p>(略)</p> <p>4.2. 原材料・医薬品製造基材の供給源としてのヒトや動物の適格性評価試験</p> <p>(略)</p> <p>(3) ヒト又は動物起源細胞株由来のタンパク質性医薬品</p> <p>医薬品製造基材であるマスター・セル・バンク(MCB)において、医薬審第329号通知「ヒト又は動物細胞を用いて製造されるバイオテクノロジー応用医薬品のウイルス安全性評価」に記載された要領に沿って内在性及び非内在性のウイルスによる汚染の有無を徹底的に検討する必要がある。また、医薬品製造のためにイン・ビトロ細胞齢の上限にまで培養された細胞(CAL)についても、適切な外来性ウイルス試験(例えば<i>in vitro</i>及び<i>in vivo</i>試験)及び内在性ウイルスの存在の有無について試験を実施し、評価する必要がある。医薬品製造のための出発細胞基材としての各ワーキング・セル・バンク(WCB)については、それ自体を対象に又は各WCBを培養したCALの段階で、外来性ウイルスに関する試験を実施すること。適切な非内在性ウイルスの試験がWCBのもとであるMCBで実施され、かつ、そのWCBに由来するCALにおいて外来性ウイルスの試験が実施されている場合、同様の試験は当該WCBでは不要である。</p> <p>(略)</p> <p>6. ウイルスクリアランスに関する工程評価</p> <p>(略)</p> <p>6.2. ウイルスの選択</p> <p>ウイルススクリアランス試験に使用されるモデルウイルスとしては、広範囲にウイルス除去／不活化の情報を得るといった観点から、DNAウイルス及びRNAウイルス、エンペロープの有無や粒子径の大小において差異があるもの、及びウイルススクリアランス能力を試験する目的に叶う物理的・化学的処理に対する抵抗性が高いものなどを含む広範な特性を持つウイルス類を選択することが望ましい。これらの特性を網羅するには3種類程度のモデルウイルスを組み合わせることが必要になる。</p>	
---	--	--

モデルウイルスを選択する際、原料に存在している可能性のあるウイルスに類似している、若しくは同じ特性を持っているなどの理由でウイルスを選択する場合もある。この際、2種類以上のウイルスが候補として選択可能な場合には、原則としてウイルス除去及び不活化処理に対して、より抵抗性の強いウイルスを選択する。また、高力価の材料が調製できるウイルスが望ましい(ただし、これがいつも可能であるとはいえない)。さらに、使用するそれぞれのウイルスの検出法に関しては、試験対象の各製造工程段階における試料の状態などによって検出感度が影響される可能性もあるので、それぞれの段階において効果的で信頼性の高いアッセイができるようなウイルスを選択する必要がある。なお、ウイルスの選択にあたっては、クリアランス試験従事者に健康被害をもたらす可能性も考慮するべきである。

その他ウイルスの選択に際しての留意事項は、医薬薬審発0109第3号通知を適宜参考にとよい。また、バイオ医薬品のウイルスクリアランス試験に用いられるウイルスを表3に示した。これは医薬薬審発0109第3号通知を参照したものである。ただし、医薬薬審発0109第3号通知はヒト又は動物細胞株由来の製品のウイルス安全性を対象としているので、生物製品の起源・原料によっては、より適切なモデルウイルスを選択する必要があると思われる。

5.3. ウイルスクリアランス試験の設計

(略)

(18) その他、生物製品のウイルスクリアランス試験の設計に関しては医薬薬審発0109第3号通知を適宜参考にすること。

(略)

10. その他

ウイルス試験及びウイルスクリアランス試験について医薬薬審発0109第3号通知が適切に適用できる場合にはこれを参考にすること。

(略)

表2 各々の動物に感染することが知られている人畜共通感染ウイルス

(略)

表3 ウイルスクリアランス試験に用いられたことのあるウイルスの例

ウイルス	科	属	宿主	ゲノム	エンベロープ	サイズ(nm)	形状	耐性
水痘性口内炎ウイルス (VSV)	ラブドウイルス科 (Rhabdo)	ベジクロウイルス属 (Vesiculovirus)	ウマウシ	RNA	有	70×150	弾丸形	低
パラインフルエンザウイルス (Parainfluenza Virus)	パラミクソウイルス科 (Paramyxoviridae)	レスピロウイルス属 (Respirovirus) 又は オルトルブレウイルス属 (Orthorubulavirus)	多種	RNA	有	100 ~ 200+	多様/球形	低
マウス白血病ウイルス (MLV)	レトロウイルス科 (Retro)	ガンマレトロウイルス属 (Gammaretrovirus)	マウス	RNA	有	80 ~ 110	球形	低
シンドビスウイルス (Sindbis Virus)	トガウイルス科 (Toga)	アルファウイルス属 (Alphavirus)	ヒト	RNA	有	60 ~ 70	球形	低
ワンテウイルス性下痢ウイルス (BVDV)	ヘルペスウイルス科 (Herpesviridae)	ヘルペスウイルス属 (Herpesvirus)	ウシ	RNA	有	50 ~ 70	多様/球形	低
仮性狂犬病ウイルス	ヘルペスウイルス科	パリスロウイルス属 (Parslovirus)	ブタ	DNA	有	120 ~ 200	球形	中

モデルウイルスを選択する際、原料に存在している可能性のあるウイルスに類似している、若しくは同じ特性を持っているなどの理由でウイルスを選択する場合もある。この際、2種類以上のウイルスが候補として選択可能な場合には、原則としてウイルス除去及び不活化処理に対して、より抵抗性の強いウイルスを選択する。また、高力価の材料が調製できるウイルスが望ましい(ただし、これがいつも可能であるとはいえない)。更に、使用するそれぞれのウイルスの検出法に関しては、試験対象の各製造工程段階における試料の状態などによって検出感度が影響される可能性もあるので、それぞれの段階において効果的で信頼性の高いアッセイができるようなウイルスを選択する必要がある。なお、ウイルスの選択にあたっては、クリアランス試験従事者に健康被害をもたらす可能性も考慮するべきである。

その他ウイルスの選択に際しての留意事項は、医薬薬審発329号通知を適宜参考にとよい。また、ウイルスクリアランス試験に用いられるウイルスの例を表3に示した。これは医薬薬審発329号通知から引用したものである。ただし、医薬薬審発329号通知はヒト又は動物細胞株由来の製品のウイルス安全性を対象としているので、生物製品の起源・原料によっては、より適切なモデルウイルスを選択する必要があると思われる。

6-3. ウイルスクリアランス試験の設計

(略)

(18) その他、生物製品のウイルスクリアランス試験の設計に関しては医薬薬審発329号通知を適宜参考にすること。

(略)

11. その他

ウイルス試験及びウイルスクリアランス試験について医薬薬審発329号通知が適切に適用できる場合にはこれを参考にすること。

(略)

表2 各々の動物に感染することが知られている人畜共通感染ウイルス

(略)

表3 ウイルスクリアランス試験に用いられたことのあるウイルスの例

ウイルス	科	属	宿主	ゲノム	エンベロープ	サイズ(nm)	形状	耐性
水痘性口内炎ウイルス (Vesicular Stomatitis Virus)	ラブドウイルス科 (Rhabdo)	ベジクロウイルス属 (Vesiculovirus)	ウマウシ	RNA	有	70×150	弾丸形	低
パラインフルエンザウイルス (Parainfluenza Virus)	パラミクソウイルス科 (Paramyxoviridae)	レスピロウイルス属 (Respirovirus) 又は オルトルブレウイルス属 (Orthorubulavirus)	多種	RNA	有	100 ~ 200+	多様/球形	低
マウス白血病ウイルス (MuLV)	レトロウイルス科 (Retro)	ガンマレトロウイルス属 (Gammaretrovirus)	マウス	RNA	有	80 ~ 110	球形	低
シンドビスウイルス (Sindbis Virus)	トガウイルス科 (Toga)	アルファウイルス属 (Alphavirus)	ヒト	RNA	有	60 ~ 70	球形	低
ワンテウイルス性下痢ウイルス (BVDV)	ヘルペスウイルス科 (Herpesviridae)	ヘルペスウイルス属 (Herpesvirus)	ウシ	RNA	有	50 ~ 70	多様/球形	低
仮性狂犬病ウイルス	ヘルペスウイルス科	パリスロウイルス属 (Parslovirus)	ブタ	DNA	有	120 ~ 200	球形	中

速試験法の原理及びバリデーションと応用分野を紹介し、また利用に当たっての考慮すべき点を述べる。

1. 測定対象及び測定原理

微生物迅速試験法には様々な測定原理と、用途に特化した測定装置が開発されている。各種測定原理、測定対象、特徴、測定装置の例、想定される用途例を表1に示す。ここに掲載するものは事例であり、具体的な用途や装置は個別の事例によって異なるため、この表によって制限や推奨をするものではない。

表1 測定対象及び測定原理

名称	測定対象	原理・特徴	測定装置の例	想定される用途例
1) 直接測定法				
固相サイトメトリー	菌体	フィルターなどの担体に捕捉した微生物が発するシグナルを直接的に検出する。染色剤を選択することにより、生理活性等にかかわるシグナルを得ることできるほか、自家蛍光を利用することもある。また特定の微生物を選択的に検出するため、遺伝子プローブや抗体、また蛍光標識したファージなどを用いることがある。検出・測定装置として、蛍光顕微鏡やレーザー顕微鏡などを含む、種々の光学検出・測定装置を用いる。	蛍光顕微鏡 レーザー キャノン サイトメーター等	無菌試験 微生物限度試験 原材料投入試験 環境モニタリング 製薬用水の品質管理等
フローサイトメトリー	菌体	管路系を通過する微生物が発するシグナルを直接的に検出する。染色剤を選択することにより、生理活性等にかかわるシグナルを得ることできるほか、自家蛍光を利用することもある。また特定の微生物を選択的に検出するため、遺伝子プローブや抗体、また蛍光標識したファージなどを用いることがある。検出・測定装置として、種々の光学検出・測定装置を用いる。	フローサイトメーター バイオパルティクルカウンター等	環境モニタリング 製薬用水の品質管理等
2) 間接測定法				
免疫学的方法	抗原	微生物がもつ抗原に特異的な抗体を反応させ、発色や蛍光を自視やマイクロプレートリーダーなどで測定する。簡便なものには免疫クロマトグラフィーがある。	免疫クロマトグラフィー マイクロプレートリーダー	菌体由来抗原による菌種特定
核酸増幅法(NAT)	核酸	微生物がもつ核酸を、対象とする微生物に特異的なプライマーを用いて増幅し、検出する。定量的PCR法を用いることにより、定量も可能である。	電気泳動装置 定量的PCR装置	環境モニタリング 製薬用水の品質管理
生物発光法・蛍光法	ATP等	菌体内のATP等を酵素反応による発光現象・蛍光現象をもとに測定する。	発光測定器 蛍光測定器	無菌試験 微生物限度試験 原材料の品質管理 製薬用水の品質管理 環境モニタリング等
マイクロロニー法	増殖能(マイクロロニー)	ロニー形成初期のマイクロロニーを検出・計数する。平板培養法と同じ培養条件(培地組成、温度等)を使用できる。	蛍光顕微鏡等	無菌試験 微生物限度試験 原材料の品質管理 製薬用水の品質管理 環境モニタリング等
インピーダンス法	増殖能(電気特性)	微生物が増殖の際に培地成分を利用し生産する代謝産物の増加により生じる電気特性の変化を利用する。	電気計測器	保存効力試験等 消毒剤(評価法)
ガス測定法	増殖能(ガス発生等)	微生物が増殖に伴う二酸化炭素の生産や酸素の消費等のガス量の変化を利用する。	ガス測定器 培地の呈色反応	無菌試験 原材料の品質管理 容器完全性試験等
脂肪酸分析法	菌体脂肪酸	微生物の種類によって菌体脂肪酸組成が異なることを利用する。	ガスクロマトグラフィー	菌体由来脂肪酸による菌種特定
赤外線吸収スペクトル測定法	菌体成分	菌体に赤外線を照射し、その赤外線吸収スペクトルパターンを利用する。	フーリエ変換赤外線分光光度計	菌体識別
質量分析法	菌体成分	菌体成分を質量分析計により測定し、データベースと照合して解析する。	質量分析計	菌種特定
フィンガープリント法	DNA	試料から抽出したDNAを制限酵素で切断し、DNA断片の泳動パターンを利用する。データベースと照合することにより同定が可能である。またT-RFLP法では群集構造解析が可能である。	電気泳動装置	菌種特定
ハイスルーブット・シークエンシング	核酸	試料中に存在する多種多様な微生物から抽出した核酸の配列を決定し、その情報をもとに群集構造を解析する。	シークエンサー等	細菌叢解析 真菌叢解析
比濁法	増殖能	特定の波長において、微生物の増殖による培地の濁度の変化を利用する。	分光光度計	保存効力試験等 消毒剤(評価法)

注) PCR：ポリメラーゼ連鎖反応 T-RFLP：末端標識制限断片長多型分析

2. バリデーション

(略) ※1

3. 応用分野と考慮すべき点

微生物迅速試験法は幅広い分野での応用が期待されるが、測定対象及び測定系が従来法とは異なるため、これまでに蓄積したデータとの相関を得られないことがある。従

時間の中に解析することを可能にするなど、微生物迅速解析のための基盤が構築されている。本参考情報では微生物迅速試験法の原理と応用分野を紹介し、また利用に当たっての考慮すべき点を述べる。

1. 測定対象及び測定原理

名称	測定対象	原理・特徴	測定装置の例
1) 直接測定法			
固相サイトメトリー	菌体	フィルターなどの担体に捕捉した細菌が発するシグナルを直接的に検出する。染色剤を選択することにより、生理活性等にかかわるシグナルを得ることできるほか、自家蛍光を利用することもある。また特定の細菌を選択的に検出するため、遺伝子プローブや抗体、また蛍光標識したファージなどを用いることがある。検出・測定装置として、蛍光顕微鏡やレーザー顕微鏡などを含む、種々の光学検出・測定装置を用いる。	蛍光顕微鏡 レーザー キャノン サイトメーター等
フローサイトメトリー	菌体	管路系を通過する細菌が発するシグナルを直接的に検出する。染色剤を選択することにより、生理活性等にかかわるシグナルを得ることできるほか、自家蛍光を利用することもある。また特定の細菌を選択的に検出するため、遺伝子プローブや抗体、また蛍光標識したファージなどを用いることがある。検出・測定装置として、種々の光学検出・測定装置を用いる。	フローサイトメーター等
2) 間接測定法			
免疫学的方法	抗原	細菌がもつ抗原に特異的な抗体を反応させ、発色や蛍光を自視やマイクロプレートリーダーなどで測定する。簡便なものには免疫クロマトグラフィーがある。	免疫クロマトグラフィー マイクロプレートリーダー
核酸増幅法	核酸	微生物がもつ核酸を、対象とする微生物に特異的なプライマーを用いて増幅し、検出する。定量的PCR法を用いることにより、定量も可能である。	電気泳動装置 定量的PCR装置
生物発光法・蛍光法	ATP等	菌体内のATP等を酵素反応による発光現象・蛍光現象をもとに測定する。	発光測定器 蛍光測定器
マイクロロニー法	増殖能(マイクロロニー)	ロニー形成初期のマイクロロニーを検出・計数する。平板培養法と同じ培養条件(培地組成、温度等)を使用できる。	電気計測器
インピーダンス法	増殖能(電気特性)	細菌が増殖の際に培地成分を利用し生産する代謝産物の増加により生じる電気特性の変化を利用する。	電気計測器
ガス測定法	増殖能(ガス発生等)	細菌が増殖に伴う二酸化炭素の生産や酸素の消費等のガス量の変化を利用する。	ガス測定器 培地の呈色反応
脂肪酸分析法	菌体脂肪酸	細菌の種類によって菌体脂肪酸組成が異なることを利用する。	ガスクロマトグラフィー
赤外線吸収スペクトル測定法	菌体成分	菌体に赤外線を照射し、その赤外線吸収スペクトルパターンを利用する。	フーリエ変換赤外線分光光度計
質量分析法	菌体成分	菌体成分を質量分析計により測定し、データベースと照合して解析する。	質量分析計
フィンガープリント法	DNA	試料から抽出したDNAを制限酵素で切断し、DNA断片の泳動パターンを利用する。データベースと照合することにより同定が可能である。またT-RFLP法では群集構造解析が可能である。	電気泳動装置
ハイスルーブット・シークエンシング	核酸	試料中に存在する多種多様な細菌から抽出した核酸の配列を決定し、その情報をもとに群集構造を解析する。	シークエンサー等

注) PCR：ポリメラーゼ連鎖反応 T-RFLP：末端標識制限断片長多型分析

2. バリデーション

(略)

3. 応用分野と考慮すべき点

微生物迅速試験法は幅広い分野での応用が期待されるが、測定対象及び測定系が従来法とは異なるため、これまでに蓄積したデータとの相関を得られないことがある。従来法と同等以上の能力を有することを確認することが原

<p>来法と同等以上の能力を有することを確認することが原則であるが、微生物迅速試験法により新たな管理方法が考案され、従来法がない場合には、その妥当性を検証して微生物迅速試験法を用いることができる。</p> <p><u>微生物迅速試験法を当局に新たに製造販売承認申請(あるいは製造販売承認事項一部変更承認申請)し、承認された場合には、局方試験の代わりに微生物迅速試験法の結果に基づき出荷可否決定を行うことができる。</u></p> <p>微生物迅速試験法は短時間のうちに結果を得ることができるので、<u>製品の検査を早期に完了できる点、製造設備や製造用水、原材料等の早期の汚染検知や製造室等の清浄度の早期確認が可能な点など</u>様々な利点が想定され、製品試験、環境モニタリング、バイオバーデン試験、原材料管理などをリアルタイムに実施でき、工程管理の新たな方法として活用が期待される。警報基準値(アラートレベル)、処置基準値(アクションレベル)などは得られたデータを元に傾向分析を通じて設定することができる。</p> <p>応用分野の例を以下に示す。</p> <ul style="list-style-type: none"> ・<u>微生物限度試験(生菌数試験)</u> ・<u>保存効力試験</u> ・<u>消毒剤(評価法)</u> ・<u>原材料の品質管理</u> ・<u>製薬水の品質管理</u> ・<u>環境モニタリング</u> ・<u>無菌試験</u> ・<u>容器完全性試験</u> ・<u>作業員の教育及び適格性評価など(更衣や無菌操作など)</u> <p>4. バリデーション用語の定義又は説明</p> <p>(略) ※2</p>	<p>則であるが、微生物迅速試験法により新たな管理方法が考案され、従来法がない場合には、その妥当性を検証して微生物迅速試験法を用いることができる。</p> <p>微生物迅速試験法は短時間のうちに結果を得ることができるので、製品試験、環境モニタリング、バイオバーデン試験、原材料管理などをリアルタイムに実施でき、工程管理の新たな方法として活用が期待される。警報基準値(アラートレベル)、処置基準値(アクションレベル)などは得られたデータを元に傾向分析を通じて設定することができる。</p> <p>応用分野の例を以下に示した。</p> <ul style="list-style-type: none"> ・製薬水の品質管理 ・製造区域の微生物評価 ・無菌試験 ・微生物限度試験 ・保存効力試験 ・原材料受入試験 <p>など</p>
--	--

※1 「2. バリデーション」については大幅な追記のため、新旧対照表中には提示していない。
 ※2 「4.用語の定義又は説明」については、新たに追加する項目のため、内容の記載は省略した。

G4. 遺伝子解析による微生物の迅速同定法 〈G4-7-190〉

新	旧	備考
<p>遺伝子解析による微生物の迅速同定法 〈G4-7-190〉</p> <p>本法は、医薬品の製造工程管理試験や出荷判定試験において検出される微生物(細菌及び真菌)を遺伝子解析によって種又は属レベルで同定又は推定する手法を示す。無菌試験や無菌製造工程で検出された汚染微生物の同定は、汚染原因の究明に役立つ。また、医薬品製造区域や医薬品原料等から検出される微生物の種類についての知見は、微生物学的に安全な医薬品を製造する上で重要である。微生物の同定には、微生物固有の形態や生理・生化学性状、菌体成分の解析等を組み合わせて、分類階級の上位から下位に進めていく表現形質解析法が広く用いられてきた。表現形質による微生物同定用システムも数多く市販されているが、医薬品製造原料や環境から検出される微生物の中には、同定できないものも多い。また、表現形質による同定法は、一般に専門知識が必要な上、結果の判定が客観性に欠けるおそれがある。微生物の進化の歴史はリボソームRNA(rRNA)に記録されており、近年の微生物分類学ではこの記録をもとに、系統発生的に区分する手法が採用されている。本法は、細菌については、16S rRNAの高度可変領域の全部又は一部、真菌については18S rRNAと26S/28S rRNA間のスパーサー領域(ITS1-5.8S rRNA-ITS2)又は26S/28S rRNAのD1/D2領域の遺伝子配列を解析し、データベースと照合することによって微生物を迅速に同定又は推定する手法を示す。なお、本法は他の同定法に取って代わるものではなく、<u>厳密な同定のためには他の手法も併せて考慮する必要がある。</u>また、本法に示した方法は、用いる装置や材料、実施者の経験などによって変更可能である。</p> <p>また、本法に示した以外の遺伝子領域も合理性があれば使用可能である。</p> <p>1. 装置</p> <p>(i) DNA自動解析装置</p> <p>DNAの塩基配列を読み取る(シーケンスする)装置で、キャピラリー法など、種々の機種がある。</p> <p>(ii) DNA増幅装置</p> <p>被検菌の標的DNAの増幅(PCR)に用いる。また、PCR産物をシーケンシング試薬で標識するためにも用いる。</p> <p>2. 操作法</p> <p>以下、操作法の一例を示す。</p> <p>2.1. 鋳型DNAの調製</p> <p>同定対象とする細菌又は真菌は純培養されていることが重要である。被検菌が集落の場合は、1.5 mLマイクロチューブに被検菌処理液を0.3 mL入れ、これに滅菌ルーブなどで集落の一部(かびの場合は、ごく少量)をとり懸濁させる。被検菌が液体培養物の場合は、1.5 mLマイクロチューブに培養物を適量(0.5 mL程度)とり、遠心分離(10000 ~ 15000×g, 2 ~ 3分)後、上清を除去し、残留物に被検菌処理液を0.3 mL入れて懸濁させる。ヒーター</p>	<p>遺伝子解析による微生物の迅速同定法 〈G4-7-160〉</p> <p>本法は、医薬品の製造工程管理試験や出荷判定試験において検出される微生物(細菌及び真菌)を遺伝子解析法によって種又は属レベルで同定又は推定する手法を示す。無菌試験や無菌製造工程で検出された汚染微生物の同定は、汚染原因の究明に役立つ。また、医薬品製造区域や医薬品原料等から検出される微生物の種類についての知見は、微生物学的に安全な医薬品を製造する上で重要である。微生物の同定法は、微生物固有の形態や生理・生化学性状、菌体成分の解析等を組み合わせて、分類階級の上位から下位に進めていく表現形質解析法が広く用いられてきた。表現形質による微生物同定用システムも数多く市販されているが、医薬品製造原料や環境から検出される微生物の中には、同定できないものも多い。また、表現形質による同定法は、一般に専門知識が必要な上、結果の判定が客観性に欠けるおそれがある。微生物の進化の歴史はリボソームRNA(rRNA)に記録されており、近年の微生物分類学ではこの記録をもとに、系統発生的に区分する手法が採用されている。本法は、細菌については、16S rRNAの高度可変領域の一部、真菌については18S rRNAと5.8S rRNA間のスパーサー領域(ITS1)の遺伝子配列を自動解析し、データベースと照合することによって微生物を迅速に同定又は推定する手法を示す。なお、本法は他の同定法に取って代わるものではない。また、本法に示した方法は、用いる装置や材料、実施者の経験などによって変更可能である。</p> <p>また、本法に示した以外の遺伝子領域も合理性があれば使用可能である。</p> <p>1. 装置</p> <p>(i) DNA自動解析装置</p> <p>DNAの塩基配列を読み取る(シーケンスする)装置で、ゲル板法やキャピラリー法など、種々の機種がある。</p> <p>(ii) DNA増幅装置</p> <p>被検菌の標的DNAの増幅(PCR)に用いる。また、PCR産物をシーケンシング試薬で標識するためにも用いる。</p> <p>2. 操作法</p> <p>以下、操作法の一例を示す。</p> <p>2.1. 鋳型DNAの調製</p> <p>同定対象とする細菌又は真菌は純培養されていることが重要である。被検菌が集落の場合は、1.5 mL遠心チューブに被検菌処理液を0.3 mL入れ、これに滅菌竹串などで集落の一部(かびの場合は、ごく少量)をとり懸濁させる。被検菌が液体培養物の場合は、1.5 mL遠心チューブに培養物を0.5 mLとり、10000 rpmで10分間遠心後、上清を除去し、残留物に被検菌処理液を0.3 mL入れて懸濁させる。ヒーターを用いて懸濁液を100℃で10分間加熱す</p>	<p>参考情報「微生物迅速試験法(G4-6-190)」を改正することに伴い、本参考情報の内容を微生物迅速試験法の1つとして捉え直し、全体的に見直して記載の整備等を行うものである。</p>

<p>を用いて懸濁液を100℃で10分間加熱する。細菌、酵母類は一般に、加熱処理物でもPCRは進行するが、かびの中には集落を用いるとPCRを阻害するものもある。その場合には、液体培養物からDNA抽出を行った方がよい。また、市販のゲノムDNA抽出キットを用いてもよい。</p> <p>2.2. PCR</p> <p>加熱処理した菌液の上清又はDNA抽出物を2 µL程度用い、細菌の場合は10F(又は27F)/1492R(又は1525R)プライマーセット、真菌の場合はITS1F(又はITS5F)/NL4Rプライマーセットを添加して、用いるPCR酵素に最適な条件でPCRを行う。細菌の場合は約1200 bp、真菌の場合は菌種により、約1000 ~ 1400 bpのDNA断片が増幅生成する。PCRを行う際には、陰性対照(菌液の代わりに被検菌処理液)を置く。なお、PCRの代わりに他の核酸増幅法を用いてもよい。</p> <p>また、合理性があれば他のプライマーセットも使用可能である。</p> <p>2.3. PCR産物の精製</p> <p>未反応物(dNTPやプライマーなど)を除去するため、市販のキット等を使用してPCR産物を精製する。なお、目的の塩基長と異なるPCR産物(非特異的増幅産物)の生成が疑われる場合は、アガロースゲル電気泳動等、適切な方法により、目的の塩基長のPCR産物を精製する。</p> <p>2.4. 精製DNAの定量</p> <p>必要に応じて、精製DNA量を適切な方法により測定する。分光光度計で測定する場合には、1 OD_{260nm} = 50 µg/mLで換算する。</p> <p>2.5. 塩基配列の解析</p> <p>用いるDNA解析装置に適したシーケンス試薬を使用し、適切なプライマーを用いて試料の塩基配列を読み取る。得られた確度の高い(Quality valueが20以上)塩基配列をBLAST^{®1)}検索によりデータベース(rRNA/ITS databasesもしくはStandard databases)と照合する。なお、陰性対象では試料と同じ塩基配列が読み取れないことを確認する。また、非特異的増幅産物の混入が疑われる場合は、2.2で用いたプライマー以外のプライマーを用いてシーケンスすると正しく読める場合が多い。</p> <p>3. 判定</p> <p>一般に、得られた塩基配列とデータベース²⁾とが97%以上合致した場合、以下のように判定できる。なお、一致</p>	<p>る。細菌、酵母類は一般に、加熱処理物でもPCRはかかるが、かびの中には集落を用いるとPCR反応を阻害するものもある。その場合には、液体培養物からDNA抽出を行った方がよい。</p> <p>2.2. PCR</p> <p>PCR反応液に加熱処理した菌液の上清又はDNA抽出物を2 µL加え、細菌の場合は10F/800Rプライマーセット(16S rRNAの後半部分についても解析する必要がある場合には、800F/1500Rプライマーセットを使用)、真菌の場合はITS1F/ITS1Rプライマーセットを添加して以下の条件でPCRを行う。94℃、30秒→55℃、60秒→72℃、60秒の反応を30サイクル。細菌の場合は約800 bp、真菌の場合は菌種により約150 ~ 470 bpのDNA断片が増幅生成する。PCRを行う際には、陰性対照(菌液の代わりに水)を置くこと。</p> <p>2.3. PCR産物の検出</p> <p>反応終了後のPCR液5 µLを1 µLのローディング緩衝液と混合し、1.5 w/v%アガロースゲルのウェルに添加し、1倍TAE緩衝液を用いて電気泳動する。この際、適当なDNAサイズマーカーも並行して泳動する。泳動後、トランスイルミネーター(主波長: 312 nm)で観察し、鮮明な1本の標的サイズバンドが得られていることを確認する。複数のバンドが確認された場合には、標的バンドを切り出し、適当な市販DNA抽出キットを用いてDNAの抽出を行う。</p> <p>2.4. PCR産物の精製</p> <p>未反応物(dNTPやプライマーなど)を除去するための方法としてはいろいろある。採用する方法のプロトコルに従って精製する。</p> <p>2.5. 精製DNAの定量</p> <p>精製DNA量を分光光度計で測定する場合には、1 OD_{260nm} = 50 µg/mLで換算する。</p> <p>2.6. 精製PCR産物の標識</p> <p>DNA解析装置又はそのプログラムに合った蛍光標識シーケンス試薬を用い、PCR産物を標識する。</p> <p>2.7. シークエンシング反応物の精製</p> <p>1.5 mL遠心チューブに薄めたエタノール(7→10)を75 µL入れ、反応終了物を移す。氷中に20分間放置後、15000 rpmで20分間遠心する。遠心終了後、上清を除去し、薄めたエタノール(7→10) 250 µLを加え、15000 rpmで5分間遠心する。上清を除去し、乾燥させる。</p> <p>2.8. 塩基配列の解析</p> <p>DNA解析装置やシーケンス試薬に合った方法で処理した試料をDNA解析装置にセットし、塩基配列を読み取る。得られた塩基配列をBLAST検索によりデータベースと照合する。</p> <p>3. 判定</p> <p>一般に、得られた塩基配列とデータベースとが90%以上合致した場合、以下のように判定できる。</p>
---	--

度が97%を下回る場合、又は複数の属が上位の一致率で検索された場合は他の同定法を考える。

(i) 細菌の場合は、16S rRNAの5'側500塩基程度、又は必要に応じて全長の塩基配列を適切なプライマーを用いて読み取り、得られた塩基配列をBLAST[®]を用いて検索し、上位にランクされた菌種を被検菌と同一種又は近縁種と判定する。

(ii) 真菌の場合は、rRNA遺伝子のスペーサー領域(ITS1-5.8S rRNA-ITS2)やD1/D2領域を適切なプライマー(スペーサー領域はITS5FやITS4R、D1/D2領域はNL1FやNL4Rなど、図1)で読み取った塩基配列をBLAST[®]を用いて検索し、上位にランクされた菌種を被検菌と同一種又は近縁種と判定する。

(iii) データベース検索の結果、ヒトの健康に影響を与える懸念のある微生物が上位に検索された際は、再試験や、PCR産物の全長を解析する、あるいは、本同定法とは原理の異なるマトリクス支援レーザー脱離イオン化飛行時間質量分析法や微生物迅速試験法(G4-6-190)に示す方法等の他の同定法を試みるなどの対応が必要である。

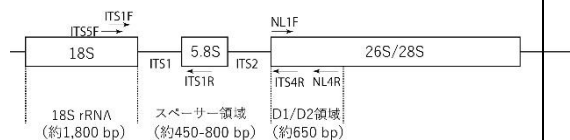


図1 真菌のスペーサー領域(ITS1-5.8S rRNA-ITS2)、D1/D2領域およびプライマーの位置

4. 試薬・試液

- (i) エチレンジアミン四酢酸二水素二ナトリウム試液、0.5 mol/L：エチレンジアミン四酢酸二水素二ナトリウム二水和物18.6 gを水に溶かし、100 mLとする。
- (ii) トリス緩衝液、1 mol/L、pH 8.0：2-アミノ-2-ヒドロキシメチル-1,3-プロパンジオール24.2 gを水に溶かし、0.2 mol/L塩酸試液を加えてpH 8.0に調整した後、水を加えて200 mLとする。
- (iii) TE緩衝液：pH 8.0の1 mol/Lトリス緩衝液1.0 mLに0.5 mol/Lエチレンジアミン四酢酸二水素二ナトリウム試液0.2 mLを加えた後、水を加えて100 mLとする。
- (iv) 被検菌処理液：適切な濃度の界面活性剤を含む溶液(例えばポリオキシエチレン(10)オクチルフェニルエーテルを1 vol%含むTE緩衝液)を小分けし、凍結保存する。

(i) 細菌の場合は、10Fプライマー(800F/1500Rプライマーセットを用いた場合には、800Fプライマー)で読み取った塩基をBLASTを用いて検索し、上位にランクされた菌種を被検菌と同一種又は近縁種と判定する。

(ii) 真菌の場合は、ITS1Fプライマーで読み取った領域をBLASTを用いて検索し、上位にランクされた菌種を被検菌と同一種又は近縁種と判定する。

4. 試薬・試液

- (i) エチレンジアミン四酢酸二水素二ナトリウム試液、0.5 mol/L：エチレンジアミン四酢酸二水素二ナトリウム二水和物18.6 gを水に溶かし、100 mLとする。
- (ii) トリス緩衝液、1 mol/L、pH 8.0：2-アミノ-2-ヒドロキシメチル-1,3-プロパンジオール24.2 gを水に溶かし、0.2 mol/L塩酸試液を加えてpH 8.0に調整した後、水を加えて200 mLとする。
- (iii) TE緩衝液：pH 8.0の1 mol/Lトリス緩衝液1.0 mLに0.5 mol/Lエチレンジアミン四酢酸二水素二ナトリウム試液0.2 mLを加えた後、水を加えて100 mLとする。
- (iv) 被検菌処理液：ポリオキシエチレン(10)オクチルフェニルエーテルを1 vol%含むTE緩衝液を小分けし、凍結保存する。
- (v) PCR反応液

10倍緩衝液*	5 µL
dNTP溶液**(各2.5 mmol/L)	4 µL
10 µmol/Lセンスプライマー	1 µL
10 µmol/Lアンチセンスプライマー	1 µL
耐熱性DNAポリメラーゼ(1 U/µL)	1 µL
水	36 µL

*10倍緩衝液

2-アミノ-2-ヒドロキシメチル-1,3-

プロパンジオール・塩酸(pH 8.4)

100 mmol/L	100 mmol/L
塩化カリウム	500 mmol/L
塩化マグネシウム	20 mmol/L
ゼラチン	0.1 g/L

**dNTP溶液(dGTP, dATP, dCTP, dTTPの等モル混合液)

dGTP(2'-デオキシグアノシン5'-トリ リボスフェート, ナトリウム塩)	2.5 mmol/L
dATP(2'-デオキシアデノシン5'-トリ リボスフェート, ナトリウム塩)	2.5 mmol/L
dCTP(2'-デオキシシチジン5'-トリ リボスフェート, ナトリウム塩)	2.5 mmol/L
dTTP(2'-デオキシチミジン5'-トリ リボスフェート, ナトリウム塩)	2.5 mmol/L

なお、これらの成分を有する適当な製品を記載に従って用いてもよい。

(vi) シークエンシング試薬

シークエンシング方式には、プライマーを標識するダイプライマー(dye-primer)法、dNTPターミネーターを標識するダイターミネーター(dye-terminator)法など、種々の方法がある。DNA自動解析装置やプログラムに合った適切な試薬キットを使用する。

(vii) TAE緩衝液, 50倍濃縮

2-アミノ-2-ヒドロキシメチル-1,3-プロパンジオール242 gに酢酸(100) 57.1 mL, 0.5 mol/Lエチレンジアミン四酢酸二水素二ナトリウム試液100 mL及び水を加えて溶かし、1000 mLとする。

(viii) 1倍TAE緩衝液

用時、50倍濃縮TAE緩衝液を水で50倍に希釈する。

(ix) アガロースゲル

アガロース1.5 gに50倍濃縮TAE緩衝液2.0 mL, 臭化エチジウム

(3,8-diamino-5-ethyl-6-phenylphenanthridinium-bromide)溶液(1→100) 10 μL, 及び水100 mLを加えて加熱して溶かした後、60°Cに冷却する。

(x) ローディング緩衝液, 6倍濃縮

プロモフェノールブルー0.25 g, キシレンジアノールFF 0.25 g及びエチレンジアミン四酢酸二水素二ナトリウム二水和物1.63 gを水50 mLに溶かし、グリセリン30 mLを加え、水を加えて100 mLとする。

(xi) PCR用プライマー

(v) PCR及びシークエンス用プライマー(例) :

微生物	プライマー	塩基配列
細菌	10F ⁵⁾	5'-GTTTGATCCTGGCTCA-3'
	27F ⁶⁾	5'-AGAGTTTGATCCTGGCTCAG-3'
	519R ⁶⁾	5'-GTATTACCGCGGCTGCTG-3'
	800R ⁵⁾	5'-TACCAGGGTATCTAATCC-3'
	800F ⁵⁾	5'-GGATTAGATACCCTGGTA-3'
	1492R ⁷⁾	5'-GGTTACCTTGTACGACTT-3'
	1525R ⁶⁾	5'-AAGGAGGTGATCCARCC-3'
真菌	ITS1F ⁸⁾	5'-GTAACAAGGTTTCCGT-3'
	ITS5F ⁸⁾	5'-GGAAGTAAAAGTCGTAACAAGG-3'
	ITS4R ⁸⁾	5'-TCCTCCGCTTATTGATATGC-3'
	NL1F ⁹⁾	5'-GCATATCAATAAGCGGAGGAAAAG-3'
	NL4R ⁹⁾	5'-GGTCCGTGTTTCAAGACGG-3'

R: A 又は G, Y: C 又は T

(vi) ポリオキシエチレン(10)オクチルフェニルエーテル: 本品は微黄色の粘性の液体である。

5. 参考資料

微生物	プライマー	塩基配列
細菌	10F	5'-GTTTGATCCTGGCTCA-3'
	800R	5'-TACCAGGGTATCTAATCC-3'
	800F	5'-GGATTAGATACCCTGGTA-3'
	1500R	5'-TACCTTGTACGACTT-3'
真菌	ITS1F	5'-GTAACAAGGTTTCCGT-3'
	ITS1R	5'-CGTTCTTCATCGATG-3'

(xii) ポリオキシエチレン(10)オクチルフェニルエーテル
本品は微黄色の粘性の液体である。

<p>1) <u>BLAST[®], Basic Local Alignment Search Tool, National Library of Medicine, National Center for Biotechnology Information, https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi. (Accessed Nov 21, 2023)</u></p> <p>2) <u>M. Kim, et al., Int. J. Syst. Evol. Microbiol. 64, 346-351 (2014).</u></p> <p>3) <u>S.W. Peterson and C.P. Kurtzman, System. Appl. Microbiol. 14, 124-129 (1991).</u></p> <p>4) <u>H.A. Raja, et al., J. Nat. Prod. 80, 756-770 (2017).</u></p> <p>5) <u>T. Sasaki, et al., PDA J. Pharm. Sci. Technol. 51, 242-247 (1997).</u></p> <p>6) <u>D.J. Lane, Nucleic acid techniques in bacterial systematics. E. Stackebrandt, and M. Goodfellow, eds., John Wiley and Sons, New York, NY, pp. 115-175.</u></p> <p>7) <u>S. Turner, et al., J. Euk. Microbiol. 46, 327-338 (1999).</u></p> <p>8) <u>T.J. White, et al., "PCR Protocols: A Guide to Methods and Applications", M.A. Innis, D.H. Gelfand, J.J. Sninsky, and T.J. White, eds., Academic Press, New York, 1990, pp. 315-322.</u></p> <p>9) <u>K. O'Donell, In: "The Fungal Holomorph: Mitotic, Meiotic and Pleomorphic Speciation in Fungal Systematics", D.R. Reynolds, and J.W. Taylor, eds., CAB International, Wallingford, 1993, pp. 225-233.</u></p>		
--	--	--

G5. 核磁気共鳴(NMR)法を利用した定量技術と日本薬局方試薬への応用 〈G5-5-190〉

新	旧	備考
<p>核磁気共鳴(NMR)法を利用した定量技術と日本薬局方試薬への応用 〈G5-5-190〉</p> <p>2. 生薬・漢方処方エキス中の分析に用いる定量分析用標品への定量NMRの応用</p> <p>このような天然物に由来する試薬の純度の問題は、定量NMRを用いることで解決することが可能である。日本薬局方生薬試験法10.1.核磁気共鳴(NMR)法を利用した定量技術の原理で示された考え方にに基づき、これらの試薬に対して定量NMRを用いて正しい含量を値付けすることができれば、試薬を計量トレーサビリティが保証された分析用標品として利用することが可能となる。</p> <p>現在、このような試薬に対する定量NMRは、順次実施されており、試薬の定量値付けの際、考慮すべき点を考察した論文が公表¹⁾されている。また、HPLCによる定量分析用標品として使用される可能性の高い物質を使用して、定量NMRのパリデーション実験も行われており、分子量300程度の測定対象化合物の場合、測定に10 mg程度使用すれば、使用機器間誤差を含めても通常の実験室レベルで、有効数字2桁を保証しながら値付けが可能であることが示されている²⁾。通常、生薬中の定量指標成分の含量は最大でも数%であり、規制値も0.1%が最小単位であるこ</p>	<p>核磁気共鳴(NMR)法を利用した定量技術と日本薬局方試薬への応用 〈G5-5-170〉</p> <p>2. 生薬・漢方処方エキス中の分析に用いる定量分析用標品への定量NMRの応用</p> <p>このような天然物に由来する試薬の純度の問題は、定量NMRを用いることで解決することが可能である。日本薬局方生薬試験法10.1.核磁気共鳴(NMR)法を利用した定量技術の原理で示された考え方にに基づき、これらの試薬に対して定量NMRを用いて正しい含量を値付けすることができれば、試薬を計量トレーサビリティが保証された分析用標品として利用することが可能となる。</p> <p>現在、このような試薬に対する定量NMRは、順次実施されており、試薬の定量値付けの際、考慮すべき点を考察した論文が公表¹⁾されている。また、HPLCによる定量分析用標品として使用される可能性の高い物質を使用して、定量NMRのパリデーション実験も行われており、分子量300程度の測定対象化合物の場合、測定に10 mg程度使用すれば、使用機器間誤差を含めても通常の実験室レベルで、有効数字2桁を保証しながら値付けが可能であることが示されている²⁾。通常、生薬中の定量指標成分の含量は最大でも数%であり、規制値も0.1%が最小単位であるこ</p>	<p>用語の記載整備を行うものである。</p>

<p>とから、天然物である生薬ごとのばらつきを考慮すれば、定量分析用標品の含量精度は有効数字2桁の保証で十分と考えられる。</p> <p>これらのことを考慮すると、試薬を定量分析用標品として使用して得られた分析値の曖昧さは、定量NMRによって値付けされた試薬をHPLC等の定量分析用標品として使用し、値付けされた試薬の純度を定量値の算出に組み込むことで、現実的に回避することができる。例えば、日局17までは、日局「サンシシ」のゲニポシド含量をHPLC分析に基づき3.0%以上と規定していた。しかし、前述した論文⁷⁾では、定量分析用標品となる定量用ゲニポシドとして使用可能な試薬について定量NMRを実施し、その純度が92%程度であることが示されている。したがって、この試薬の純度を100%と仮定して定量分析用標品としたときのHPLCによる定量値が3.0%と導かれる場合、定量NMRによる純度を考慮した定量値は、2.8%であることになる。</p> <p>定量用ゲニポシドの試薬規格には、日局16第二追補より定量NMRによる純度規定が(定量用2)として導入され、日局18からは、このものに一本化されている。そこで日局18への改正時に、日局「サンシシ」中のゲニポシド含量について、従来の試薬を用いて算出した定量値と定量NMRで値付けされた試薬を用いて算出した定量値を比較した結果、前述の論文⁷⁾同様、定量NMRによる純度を考慮するか否かで定量値には約10%の差が見られた。以上のことから、定量NMRによる純度規定への一本化にともない、その純度差を考慮して、日局18より「サンシシ」のゲニポシド含量を2.7%以上と規定している。</p>	<p>とから、天然物である生薬ごとのばらつきを考慮すれば、定量分析用標品の含量精度は有効数字2桁の保証で十分と考えられる。</p> <p>これらのことを考慮すると、試薬を定量分析用標品として使用して得られた分析値の曖昧さは、定量NMRによって値付けされた試薬をHPLC等の定量分析用標品として使用し、値付けされた試薬の純度を定量値の算出に組み込むことで、現実的に回避することができる。例えば、日局「サンシシ」では、ゲニポシドの含量をHPLC分析に基づき3.0%以上と規定しているが、定量分析用標品となる定量用ゲニポシドとして使用可能な試薬について定量NMRを実施すると、絶対純度は92%程度であることが前述した論文⁷⁾で示されている。したがって、この試薬の純度を100%と仮定して定量分析用標品としHPLCを実施した結果、定量値が3.0%と導かれる場合、定量NMRによる絶対純度と計量トレーサビリティの確保を考慮した定量値は、2.8%であることになる。</p>	
---	---	--

G7. 無菌医薬品の包装完全性の評価 (G7-4-190)

新	旧	備考
<p>無菌医薬品の包装完全性の評価 (G7-4-190)</p> <p>2. 包装完全性と試験</p> <p>2.1.3. 微生物チャレンジ試験</p> <p>本試験は微生物(又は微生物孢子)を用いて包装の完全性を定性的に評価する微生物学的試験であり、微生物侵入阻止の直接証拠を求める場合に有用である。試験で評価される微生物侵入には、微生物の増殖又は運動による経路の通過と、液体を介する微生物の受動的輸送が含まれる。</p> <p>本試験は、微生物侵入阻止の証拠となり得る適切な物理化学的漏れ試験法が確立されていない場合、又は最大許容漏れ限度が微生物の侵入の可否に依存している場合に効果的である。</p> <p>本試験の一般的な実施事項は以下のとおりである。試験には適切に維持管理された微生物株を用いる。科学的に妥当な他の方法も用いることができる。</p> <p>対象となる製剤の滅菌した一次包装内に無菌的に液体培地を入れたものを検体とする。容器の形態や製造方法により、無菌的に液体培地を入れることが難しい場合、包装欠陥の閉塞リスク及び滅菌作業時の汚染リスクに対する</p>	<p>無菌医薬品の包装完全性の評価 (G7-4-180)</p> <p>2. 包装完全性と試験</p> <p>2.1.3. 微生物チャレンジ試験</p> <p>生きた微生物又は微生物孢子を用いて包装の完全性を定性的に評価する微生物学的試験である。微生物チャレンジ試験は、微生物侵入阻止の直接証拠を求める場合に有用である。試験で評価される微生物侵入には、微生物の増殖又は運動による経路の通過と、液体を介する微生物の受動的輸送が含まれる。</p> <p>微生物学的試験の実施は、微生物侵入阻止の証拠となり得る適切な物理化学的漏れ試験法が確立されていない、又は最大許容漏れ限度が微生物の侵入の可否に依存している場合に効果的である。</p> <p>推奨される一般的な実施事項は以下のとおりである。試験には適切に維持管理された微生物株を用いる。科学的に妥当な他の方法も用いることができる。</p> <p>対象となる製剤の一次包装内に無菌的に液体培地を入れ、その製剤を1 mL当たり10^5 CFU以上の適切な菌液に30分以上浸漬する。この製剤を培養し、培地の混濁の有無を確認する。</p>	<p>「2.1.3 微生物チャレンジ試験」について、無菌医薬品製造業者の製剤開発及び品質管理において試験を実施する際に参考となる情報として、推奨される試験条件及び試験実施時に考慮すべき点を追記するものである。</p>

<p> <u>妥当な説明が可能であれば、液体培地を入れた後に検体の滅菌を行うことも可能である。この検体を適切な条件で培養した菌液に浸漬した後、適切な方法で培養し、培地の混濁の有無を適切な方法で確認する。推奨される試験条件を以下に記載する。試験菌の調製方法、使用する培地に関しては、微生物限度試験法 (4.05)、無菌試験法 (4.06)などを参照されたい。菌種に関してはリスクに応じて必要な菌種を選択する。</u> </p> <p> <u>菌種：</u> </p> <p> <u><i>Escherichia coli</i> 例えば、ATCC 8739, NCIMB 8545, CIP 53.126, NBRC 3972</u> </p> <p> <u><i>Serratia marcescens</i> 例えば、ATCC 13880, NBRC 102204又はATCC 14756, NBRC 12648</u> </p> <p> <u><i>Clostridium sporogenes</i> 例えば、ATCC 11437, NBRC 14293, NCIMB 12343, CIP 100651又はATCC 19404, NCTC 532, CIP 79.3</u> </p> <p> <u><i>Pseudomonas aeruginosa</i> 例えば、ATCC 9027, NCIMB 8626, CIP 82.118, NBRC 13275</u> </p> <p> <u><i>Staphylococcus epidermidis</i> 例えば、ATCC 12228, NBRC12993</u> </p> <p> <u><i>Brevundimonas diminuta</i> 例えば、ATCC 19146, NBRC 14213</u> </p> <p> <u>菌数：1 mL当たり10⁵ CFU以上</u> </p> <p> <u>浸漬時間：30分以上</u> </p> <p> <u>適切な包装欠陥を持つ陽性対照の使用により試験結果の妥当性を確認する。</u> </p> <p> <u>使用菌種に対して十分な培地性能を有する液体培地を用いる。</u> </p> <p> <u>培養時間：7 ～ 14日</u> </p> <p> <u>その他、以下の試験条件は試験結果に影響を与える可能性があるため、試験実施時に考慮する。</u> </p> <p> <u>液体培地組成と液体培地の表面張力</u> </p> <p> <u>浸漬時の差圧の設定</u> </p>		
---	--	--

GZ. 第十九改正日本薬局方における国際調和 〈GZ-3-190〉

新	旧	備考
<p>第十九改正日本薬局方における国際調和 〈GZ-3-190〉</p> <p>日本薬局方，欧州薬局方(The European Pharmacopoeia)及び米国薬局方(The United States Pharmacopoeia)での調和合意に基づき規定した試験法及び医薬品各条に関する情報は，以下の独立行政法人医薬品医療機器総合機構のウェブサイトに掲載している。</p> <p>試験法： https://www.pmda.go.jp/rs-std-jp/standards-development/jp/0021.html</p> <p>医薬品各条： https://www.pmda.go.jp/rs-std-jp/standards-development/jp/0020.html</p>	<p>第十八改正日本薬局方における国際調和 〈GZ-3-180〉</p> <p>日本薬局方，欧州薬局方(The European Pharmacopoeia)及び米国薬局方(The United States Pharmacopoeia)での調和合意に基づき規定した試験法及び医薬品各条に関する情報は，以下の独立行政法人医薬品医療機器総合機構のウェブサイトに掲載している。</p> <p>試験法： https://www.pmda.go.jp/rs-std-jp/standards-development/jp/0021.html</p> <p>医薬品各条： https://www.pmda.go.jp/rs-std-jp/standards-development/jp/0020.html</p>	<p>記載の整備</p>

以下については，改正に際し記載が大幅に見直されたため，新旧対照表中には提示していない。

G8. 日本薬局方における標準品及び標準物質<G8-1-190>