



8. 第十四改正日本薬局方における国際調和

日本薬局方がヨーロッパ薬局方 (The European Pharmacopoeia, Ph.Eur.) 及び米国薬局方 (The United States Pharmacopeia, USP) と調和合意した事項の第十四改正日本薬局方への反映状況は次のとおりである。

薬局方調和事項の欄には薬局方調和合意文書の調和事項を、第十四改正日本薬局方の欄には調和合意を反映した第十四改正日本薬局方の項目名等を記載する。備考欄には、第十四改正日本薬局方の調和合意事項との差違等を必要に応じて記載する。

薬局方調和事項	第十四改正日本薬局方	備考
Bacterial Endotoxin Test	エンドトキシン試験法	
Apparatus	器具	
Preparation of Standard Endotoxin Stock solution	エンドトキシン標準原液の調製	
Preparation of Standard Endotoxin solution	エンドトキシン標準溶液の調製	
Preparation of sample solutions	試料溶液の調製	
Determination of Maximum Valid Dilution	最大有効希釈倍数の求め方	
Gel-clot technique	ゲル化法	
(1)Preparatory testing	(1)予備試験	
(2)Limit test	(2)限度試験法	
(3)Assay	(3)定量試験法	
Photometric techniques	光学的測定法	
(1)Turbidimetric technique	(1)比濁法	
(2)Chromogenic technique	(2)比色法	
(3)Preparatory testing	(3)予備試験	
(4)Assay	(4)定量	
Reagents, Test Solutions	試薬・試液	
Amebocyte lysate	ライセート試薬	
Lysate TS	ライセート試液	
Water for bacterial endotoxins test (BET)	エンドトキシン試験用水	

注：エンドトキシン規格値の設定方法については、三極間で調和しているが、第十四改正日本薬局方の参考情報「エンドトキシン規格値の設定」では、最大投与量の算出に、成人の平均体重 60 kg を用いている。

9. バイオテクノロジー応用医薬品/生物起源由来医薬品の製造に用いる細胞基材に対するマイコプラズマ否定試験

本文書は、バイオテクノロジー応用医薬品/生物起源由来医薬品の製造に使用する細胞基材で細胞バンクを基にするものに對し、現段階で実施すべきと考えられるマイコプラズマ否定試験について述べたものである。

試験方法としては、A. 培養法、B. 指標細胞を用いたDNA染色法、C. ポリメラーゼ連鎖反応(PCR)による検出法が挙げられる。

本マイコプラズマ否定試験の対象は、マスター・セル・バンク(MCB)、ワーキング・セル・バンク(WCB)及び医薬品製造工程中の培養細胞である。これらに対し、A 法と B 法による試験を実施する。ただし、B 法はマイコプラズマ由来以外の DNA も検出するので、B 法のみ陽性を示した場合は C 法によりマイコプラズマの存在を否定することも考えられる。この場合、C 法に用いるプライマーその他の試薬や反応条件を含めた試験方法の選択、方法の感度と特異性及び検体調製の妥当性を含め、マイコプラズマの存在を否定できると判定した合理的な理由を示す必要がある。

マイコプラズマ否定試験を実施する前には、検体がマイコプラズマ発育阻止因子を有するかどうか試験しておく必要がある。発育阻止因子が含まれる場合には、遠心、細胞の継代などの適切な方法により発育阻止因子を中和あるいは除去する。

検体を採取後 24 時間以内に試験するときは 2 ~ 8 °C で、24 時間を超える場合は -60 °C 以下で保存する。

マイコプラズマが検出された場合、種を同定するための試験を行えば混入の原因を推定するのに役立つ可能性がある。

A. 培養法

1. 培地

培養法には寒天平板培地と液体培地の両方を使用する。両培地にはペニシリソウ以外の抗生物質を使用してはならない。使用する培地としては、生物学的製剤基準に記載されているものを参考にすること。ただし、2. の培地の性能試験に適合するものであれば他の培地でもよい。

2. 培地の性能試験

試験に用いる培地については、各ロット毎にマイコプラズマの発育性能に關し、適性であるか否かの試験を実施する。そのためには、少なくとも 2 種類の既知の菌株、デキストロース分解マイコプラズマ (*M. pneumoniae* FH 又は同等の種又は株) とアルギニン分解マイコプラズマ (*M. orale* CH 19299 又は同等の種又は株) を陽性対照として加えた培地での試験をその都度実施し、これらの既知のマイコプラズマが検出できることを確認しておく必要がある。陽性対照試験に使用するマイコプラズマ株は、公的又は適當と認められた機関より入手後適切に管理されたもので、100 CFU 以下で培地に接種する。

3. 培養及び観察

1) 寒天平板培地一枚当たり検体（細胞懸濁液）0.2 mL 以上を、プレートに均等に拡がるように接種する。寒天平板培地は一検体当たり 4 枚以上とする。検体を接種した後、寒天平板培地表面を乾燥し、半数の寒天平板培地は 5 ~ 10 % の炭酸ガスを含む空気中（好気的条件）で、残りの半数は 5 ~ 10