

資料No. 3改

日本薬局方の参考情報（案）の概要

1. 既収載項目の改正

今回の日本薬局方一部改正（案）の内容を反映するもの。

- 14. 第十五改正日本薬局方における国際調和三薬局方で調和合意された内容を反映するもの。
 - ・ 4.05 微生物限度試験（別添1）
 - ・ 4.06 無菌試験法（別添2）

別添1

参考情報 1 4. 第十五改正日本薬局方における国際調和の条 4.05 微生物限度試験法の項を次のように改める。

調和年月：2008年6月 (Rev. 1)

薬局方調和事項	第十五改正日本薬局方(一部改正)	備考
<p>Microbiological Examination of Non-sterile Products:</p> <p>Microbial Enumeration Tests</p> <p>1 Introduction</p> <p>2 General procedures</p> <p>3 Enumeration methods</p> <p>4 Growth promotion test, suitability of the counting method and negative controls</p> <p>4-1 General considerations</p> <p>4-2 Preparation of test strains</p> <p>4-3 Negative control</p> <p>4-4 Growth promotion of the media</p> <p>4-5 Suitability of the counting method in the presense of product</p> <p>4-6 Results and interpretation</p> <p>5 Testing of products</p> <p>5-1 Amount used for the test</p> <p>5-2 Examination of the product</p> <p>5-3 Interpretation of the results</p> <p>Microbiological Examination of Non-sterile Products:</p> <p>Test for Specified Micro-organisms</p> <p>1 Introduction</p>	<p>4.05 微生物限度試験法</p> <p>I. 非無菌製品の微生物学的試験:</p> <p>生菌数試験</p> <p>1. 序文</p> <p>2. 基本手順</p> <p>3. 生菌数測定法</p> <p>4. 培地性能, 測定法の適合性及び陰性対照</p> <p>4.1. 一般要件</p> <p>4.2. 試験菌の調製</p> <p>4.3. 陰性対照</p> <p>4.4. 培地性能</p> <p>4.5. 製品存在下での測定法の適合性</p> <p>4.6. 結果及び判定</p> <p>5. 製品の試験</p> <p>5.1. 試験量</p> <p>5.2. 製品の試験</p> <p>5.3. 結果の判定</p> <p>II. 非無菌製品の微生物学的試験:</p> <p>特定微生物試験</p> <p>1. 序文</p>	

2 General procedures

3 Growth promoting and inhibitory

properties of the media, suitability

of the test and negative control

3-1 Preparation of test strains

3-2 Negative control

3-3 Growth promotion and inhibitory

properties of the media

3-4 Suitability of the test method

4 Testing of products

4-1 Bile-tolerant gram-negative bacteria

4-2 *Escherichia coli*

4-3 *Salmonella*

4-4 *Pseudomonas aeruginosa*

4-5 *Staphylococcus aureus*

4-6 *Clostridia*

4-7 *Candida albicans*

5 Recommended solutions and culture media

2. 基本手順

3. 培地性能, 試験の適合性及び陰性対照

3.1. 試験菌の調製

3.2. 陰性対照

3.3. 培地の性能試験

3.4. 試験法の適合性

4. 製品の試験

4.1. 胆汁酸抵抗性グラム陰性菌

4.2. 大腸菌

4.3. サルモネラ

4.4. 緑膿菌

4.5. 黄色ブドウ球菌

4.6. クロストリジア

4.7. カンジダ・アルビカンス

5. 推奨される溶液及び培地

別添 2

参考情報 1 4. 第十五改正日本薬局方における国際調和の条 4.06 無菌試験法の項を次のように改める。

調和年月：2007 年 10 月 (Rev. 1)

薬局方調和事項	第十五改正日本薬局方(一部改正)	備考
<p>Sterility</p> <p>(Introduction)</p> <p>Precautions against microbial contamination</p> <p>Culture media and incubation temperatures</p> <p>Media for the test may be prepared as described below, or equivalent commercial media may be used provided that they comply with the growth promotion test</p> <p>Fluid thioglycollate medium</p> <p>Soya-bean casein digest medium</p> <p>The media used comply with the following tests, carried out before or in parallel with the test on the product to be examined</p> <p>Sterility</p> <p>Growth promotion test of aerobes, anaerobes and fungi</p> <p>Method suitability test</p> <p>Membrane filtration</p> <p>Direct inoculation</p> <p>Test for sterility of the product to be examined</p> <p>The test may be carried out using the technique of membrane filtration or by direct inoculation of the culture media with the product to be examined.</p> <p>Membrane filtration</p> <p>Aqueous solutions</p>	<p>4.06 無菌試験法</p> <p>(前書き)</p> <p>1. 微生物汚染に対する予防措置</p> <p>2. 培地と培養温度</p> <p>2.1. 一般要件</p> <p>2.2. 液状チオグリコール酸培地</p> <p>2.3. ソイビーン・カゼイン・ダイジェスト培地</p> <p>3. 培地の適合性</p> <p>無菌性</p> <p>好気性菌, 嫌気性菌及び真菌に対する培地性能試験</p> <p>4. 手法の適合性試験</p> <p>メンブランフィルター法</p> <p>直接法</p> <p>5. 製品の無菌試験</p> <p>5.1. 一般要件</p> <p>5.2. メンブランフィルター法</p> <p>水性液剤</p>	

Soluble solids	水溶性固形剤	
Oils and oily solutions	油及び油性剤	
Ointments and ceams	軟膏剤及びクリーム剤	
Direct inoculation of the culture medium	5.3. 直接法	
Oily liquids	油性液剤	
Ointments and ceams	軟膏剤とクリーム剤	
Catgut and other surgical sutures for veterinary use		日本薬局 方対象品 外
Observation and interpretation of results	6. 観察と結果の判定	
Application of the test to parenteral preparations, ophthalmic and other non-injectable preparations required to comply with the test for sterility	7. 無菌試験への適合が要求される注射剤, 眼 軟膏剤及び点眼剤並びに他の非注射剤への 試験の適用	
Minimum number of items to be tested	8. 最少供試個数	

ヘパリンナトリウム等に係る日本薬局方の一部改正について

1. 改正の概要

- (1) 医薬品各条の部ヘパリンナトリウムの条において、純度試験の項を改正し、過硫酸化コンドロイチン硫酸に係る規定を追加。
- (2) 上記(1)に伴い、一般試験法の部9. 01標準品の条を改正し、過硫酸化コンドロイチン硫酸標準品を追加。

2. 改正の内容

医薬品各条「ヘパリンナトリウム」への純度規定の追加。

- (5) 過硫酸化コンドロイチン硫酸 本品 20 mg を核磁気共鳴スペクトル測定用 3-トリメチルシリルプロピオン酸ナトリウム- d_4 の核磁気共鳴スペクトル測定用重水溶液 (1→10000) 0.60mL に溶かし、試料溶液とする。この液につき核磁気共鳴スペクトル測定用 3-トリメチルシリルプロピオン酸ナトリウム- d_4 を内部基準物質として核磁気共鳴スペクトル測定法 (2.21) プロトン共鳴周波数 400MHz 以上の装置(1)を用いる方法により ^1H を測定するとき、 δ 2.13-2.17ppm に過硫酸化コンドロイチン硫酸の *N*-アセチル基に由来するシグナルを認めない。

試験条件

温度：25°C

スピニング：オフ

データポイント数：32,768

スペクトル範囲：DHO のシグナルを中心に $\pm 6.0\text{ppm}$

パルス角：90°

繰り返しパルス待ち時間：20 秒

ダミーキャン：4 回

積算回数：ヘパリンの *N*-アセチル基のプロトンのシグナルの S/N 比が 200 以上得られる回数

ウインドウ関数：指数関数 (Line broadening factor = 0.2 Hz)

システム適合性

過硫酸化コンドロイチン硫酸標準品 0.10mg を核磁気共鳴スペクトル測定用 3-トリメチルシリルプロピオン酸ナトリウム- d_4 の核磁気共鳴スペクトル測定用重水溶液 (1→10000) 0.60mL に溶かし、標準溶液とする。標準溶液 0.60mL にヘパリンナトリウム約 20mg を溶かし、システム適合性試験用溶液とする。この液につき、上記の条件で操作するとき、 δ 2.02-2.06ppm にヘパリンの *N*-アセチル基に由来するシグナル、及び δ 2.13-2.17ppm に過硫酸化コンドロイチン硫酸の *N*-アセチル基に由来するシグナルを認める。

3. 適用時期について

平成 20 年 7 月 31 日

4. その他

「ヘパリンカルシウム」についても、同様に、過硫酸化コンドロイチン硫酸に係る規定を追加。

事 務 連 絡
平成 20 年 9 月 30 日

各都道府県衛生主管部（局）
薬務主管課 御中

厚生労働省医薬食品局審査管理課

第十五改正日本薬局方の一部改正及び日本薬局方外医薬品規格 2002 の一部改正
に伴う医薬品等の承認申請等に関する質疑応答集（Q&A）について

「日本薬局方の一部を改正する件（平成 20 年厚生労働省告示第 417 号）」及び「日本薬局方外医薬品規格 2002 の一部改正について（平成 20 年 7 月 31 日付け薬食発第 0731015 号厚生労働省医薬食品局長通知）」により、「ヘパリンナトリウム」及び「ヘパリンカルシウム」の品質に係る規定を改めたところである。

今般、標記について、別添のとおりとりまとめましたので、貴管下関係業者に周知方よろしく御配慮願います。

別 添

第十五改正日本薬局方の一部改正及び日本薬局方外医薬品規格2002の一部改正に伴う医薬品等の承認申請等に関する質疑応答集 (Q&A)

別添中において、「ヘパリンナトリウム」とあるのは、第十五改正日本薬局方に収載されているもの、「ヘパリンカルシウム」とあるのは、日本薬局方外医薬品規格2002に収載されているものをそれぞれ指すこと。

Q1:

過硫酸化コンドロイチン硫酸とはどのようなものか。

A1:

コンドロイチンは、グルクロン酸と *N*-アセチルガラクトサミンの2糖単位からなるグリコサミノグリカンであって、2糖あたり4つの水酸基を有する。今回の純度試験の対象となっている過硫酸化コンドロイチン硫酸は、4つの水酸基がすべて硫酸エステル化されているコンドロイチン硫酸エステルである。なお、1～3個の水酸基が硫酸エステル化されているコンドロイチン硫酸エステルは今回の純度試験の対象とはされていない。

過硫酸化コンドロイチン硫酸は、2007年11月以降に、米国やドイツにおいて低血圧や急性炎症反応を引き起こしたヘパリン製剤に混入していた不純物とされているものである。

日局過硫酸化コンドロイチン硫酸標準品はナトリウム塩として頒布される(図1)。

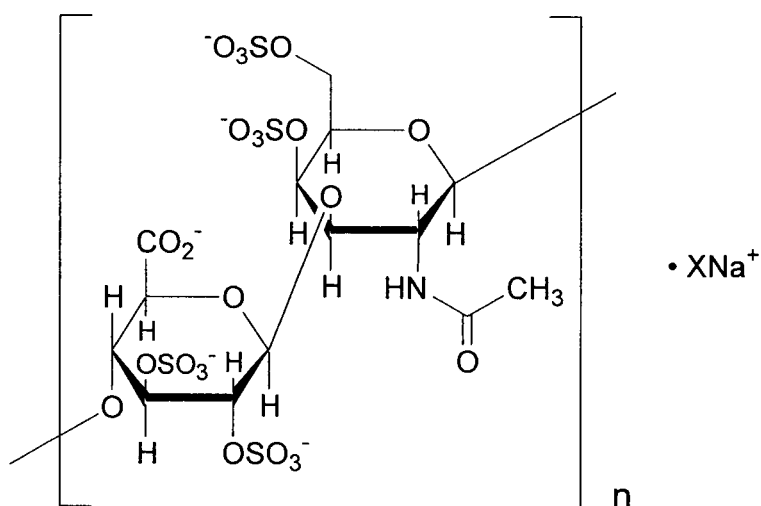


図1 日局過硫酸化コンドロイチン硫酸標準品の構造

Q 2 :

核磁気共鳴スペクトル測定用重水及び核磁気共鳴スペクトル測定用 3-トリメチルシリルプロピオン酸ナトリウム-d₄は、どの程度の重水素化率のものを用いればよいか。

A 2 :

重水素化率 99.9%以上の重水及び重水素化率 98%以上の 3-トリメチルシリルプロピオン酸ナトリウム-d₄を推奨する。

Q 3 :

「ヘパリンナトリウム」の¹H-NMR測定時、 δ 2.13~2.17ppmに出現する可能性のあるヘパリンのN-アセチル基に由来する¹³Cサテライトピークと過硫酸化コンドロイチン硫酸のN-アセチル基由来のピークをどのように区別すればよいか。

A 3 :

¹³Cサテライトピークの面積強度は、ヘパリンのN-アセチル基のシグナルの面積強度の0.55%であること、ヘパリンのN-アセチル基を中心に対称なピークとして観察されることから、過硫酸化コンドロイチン硫酸と区別ができる。しかし、プロトン共鳴周波数 600MHzの装置を用いて¹H-NMRを測定したとき、「ヘパリンナトリウム」のN-アセチル基の¹³Cサテライトピークが過硫酸化コンドロイチン硫酸のN-アセチル基に由来するシグナルとほぼ同じ位置に観察される場合は、¹³Cのデカップリングを行うこと。シグナルが消失しない場合は、¹³Cサテライトピークではないと判断され、試料は規格に適合しないと判定される。

Q 4 :

「ヘパリンカルシウム」の¹H-NMR測定時、 δ 2.13~2.23ppmに出現する可能性のあるヘパリンのN-アセチル基に由来する¹³Cサテライトピークと過硫酸化コンドロイチン硫酸のN-アセチル基由来のピークをどのように区別すればよいか。

A 4 :

¹³Cサテライトピーク的面積強度は、ヘパリンのN-アセチル基のシグナルの面積強度の0.55%であること、ヘパリンのN-アセチル基を中心に対称なピークとして観察されることから、過硫酸化コンドロイチン硫酸と区別ができる。しかし、プロトン共鳴周波数 500MHzの装置を用いて¹H-NMRを測定したとき、「ヘパリンカルシウム」のN-アセチル基の¹³Cサテライトピークが過硫酸化コンドロイチン硫酸のN-アセチル基に由来するシグナルとほぼ同じ位置に観察される場合は、¹³Cのデカップリングを行うこ

と。シグナルが消失しない場合は、 ^{13}C サテライトピークではないと判断され、試料は規格に適合しないと判定される。

Q 5 :

「ヘパリンナトリウム」及び「ヘパリンカルシウム」の規格において、過硫酸化コンドロイチン硫酸の*N*-アセチル基に由来するシグナルの化学シフトの範囲が異なる理由を示されたい。

A 5 :

共同研究の結果に基づき設定した。

「ヘパリンナトリウム」については、ヘパリンナトリウム 20mg 存在下における過硫酸化コンドロイチン硫酸の*N*-アセチル基に由来するシグナルは 2.149~2.153ppm に観測されたため、対象とする化学シフトの範囲を δ 2.13~2.17ppm としたものである。

「ヘパリンカルシウム」については、ヘパリンカルシウム 20mg 存在下における同シグナルは δ 2.180~2.187ppm にブロードなピークとして観測されたため、対象とする化学シフトの範囲を δ 2.13~2.23ppm と広く設定したものである。

Q 6 :

プロトン共鳴周波数 400MHz 以上の装置とあるが、300MHz は使用できないのか。

A 6 :

共鳴周波数 300MHz 以上の装置の本試験に対する適用可能性を評価していないため、使用する場合は、その試験機関ごとに適用可能性を評価する必要がある。精度や感度が 400MHz の装置を用いた場合と同等であることが確認できれば、300MHz の装置を使用してもよい。但し、最終的な判定が必要な場合には 400MHz 以上の装置を使用すること。

Q 7 :

「ヘパリンナトリウム」の規格では、「 δ 2.13~2.17ppm に過硫酸化コンドロイチン硫酸の *N*-アセチル基に由来するシグナルを認めない」とされているが、システム適合性で使用した日局過硫酸化コンドロイチン硫酸標準品 (0.5%に相当) の *N*-アセチル基由来のシグナルのピーク面積強度未満であれば、適合と判定しても差し支えないか。

A 7 :

システムの検出感度 0.5%を確認できれば試験が成立しているということであり、この条件下で δ 2.13~2.17ppm にシグナルが観測された場合、規格に適合しないと判定すること。

Q 8 :

「ヘパリンカルシウム」の規格では、「 δ 2.13~2.23ppm に過硫酸化コンドロイチン硫酸の *N*-アセチル基に由来するシグナルを認めない」とされているが、システム適合性で使用した日局過硫酸化コンドロイチン硫酸標準品 (0.5%に相当) の *N*-アセチル基由来のシグナルのピーク面積強度未満であれば、適合と判定しても差し支えないか。

A 8 :

システムの検出感度 0.5%を確認できれば試験が成立しているということであり、この条件下で δ 2.13~2.23ppm にシグナルが観測された場合は規格に適合しないと判定すること。

Q 9 :

試料溶液の調製方法を示されたい。

A 9 :

最終濃度が 20mg/0.60mLとなるよう、ヘパリンナトリウム又はヘパリンカルシウムを核磁気共鳴スペクトル測定用 3-トリメチルシリルプロピオン酸ナトリウム- d_4 の核磁気共鳴スペクトル測定用重水溶液 (1→10000) に溶かして試料溶液とすること。

Q 10 :

システム適合性に使用する 0.10mg 日局過硫酸化コンドロイチン硫酸標準品を含む溶液の調製方法を示されたい。

A 10 :

日局過硫酸化コンドロイチン硫酸標準品のバイアルに記載されている充填量に従って、最終濃度が 0.10mg/0.6mLになるように、バイアルに核磁気共鳴スペクトル測定用 3-トリメチルシリルプロピオン酸ナトリウム- d_4 の核磁気共鳴スペクトル測定用重水溶液 (1→10000) を加えてよく溶かし、この溶液 0.60mLに、約 20mgの試薬のヘパリンナトリウム (又はヘパリンカルシウム) を加えて調製すること。