

# 環境分離株の同定および保存技術

[Megan Murn](#) 2018年11月26日



製薬会社の微生物担当者は、製品に有害な汚染物質を含まず、消費者にとって安全であることを保証するという大きな責任を負っています。今月初め、フィラデルフィアで開催される Pharmaceutical Microbiology Fall Forum で、Microbiologic 社の研究開発担当の Vice President を務める Brian Beck 博士が、製薬検査室における環境分離検査と同定の重要性について議論しました。

Beck 博士は、分離株を同定する方法、同定後の次のステップ、検査室がその分離株を試験のために使用すべき理由および保存について、利用可能な方法について話しました。下記の Beck 博士の発表からの重要なポイントは、あなたの検査室が信頼できる環境分離株同定と保存プロセスを実行するのを手助けすることができるという点です。

## 環境分離試験の重要性

- 好ましくない微生物 (Objectionable organisms) がリコールの主な理由です。一部のデータでは、回収率の 72% が環境分離株によるものであることを示しています<sup>1</sup>。
- 環境隔離テストが正しく行われると、製造業者は自社の最終製品に自信を持ち、公的な製品回収を回避することで自社ブランドを保護することができます。
- 異物があるかどうかを判断するために、すべての汚染物質について識別を行う必要があります。
- 分離株が好ましくない場合は、原因を特定するために汚染物質の発生源を調査する必要があります。

す。

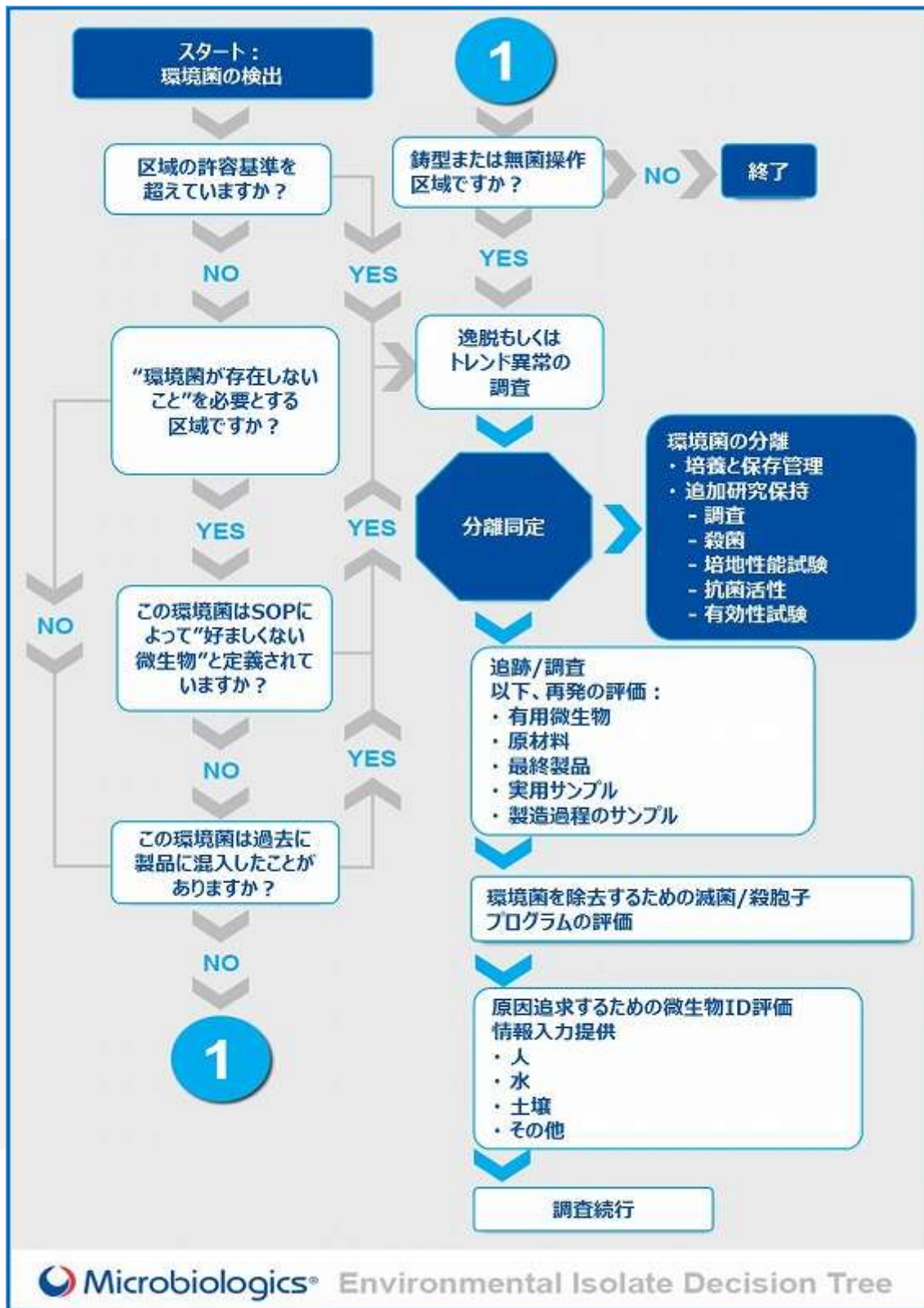
#### **FDA はどの微生物が好ましくないと考えるのでしょうか？**

- バークホルデリア・セパシア
- 大腸菌 - 糞便汚染の指標
- 緑膿菌
- サルモネラ種 - 病原性
- 赤痢菌の種
- 黄色ブドウ球菌 - 貧弱な生産衛生
- 製造施設が無菌であれば、すべての生物は好ましくないと見なされます。

#### **あなたの環境で微生物を特定しました。それで次にどうしたらよいでしょうか？**

環境モニタリングは検出時に止まるわけではありませんが、製品を安全に保ち、検査室を順守するための正しい次のステップは何でしょうか？ 米国食品医薬品局（FDA）の不適切な環境隔離試験に関連した警告状および観察事項が増加しています。その結果、実験室は環境分離株の処理方法を決定するためのガイダンスを求めています。これらの検査室では、分離株を消毒効果、成長促進効果、または抗菌効果試験に含めることを検討しています。

次に、Scott Sutton 博士と共同で作成された下記のガイドを使用して、あなたの検査室が次に環境分離株を発見したときの最善の行動計画を決めてください。



## 同定

環境分離株を特定する方法はいくつかあります。

- グラム染色と細胞形態
- 属の識別
- 種の識別
- Strain タイピング

微生物検査室は、異なる検査計画を決定する際に、コストと精度のバランスをとる必要があります。計装システムを使用して分離株を同定することを選択するか、または同定の専門知識を提供するサービスプロバイダーからの支援を求めるもできます。

## 環境分離株の保存と利用

あなたの研究室ではその環境分離株で保存し、試験をするべきです：

- 野生株は飼育慣らされた株とは異なり、それらがそれらの環境および栄養素供給に順応することができるのでより回復力がありそして強く丈夫であることが知られています。
- Tim Sandle は、[Pharmaceutical Microbiology のブログ](#)で次のように述べています。  
「環境分離株は、培地にとって、そして無菌試験の検証等の研究にとって一番のチャレンジであるという強い議論があります。最善の課題であるという強い主張があります。これらは最もセンシティブな微生物であり、最近消毒剤、特に土壌などにさらされるようになりました。<sup>2</sup>」
- 環境分離株は、環境に適応し、栄養素が限られているため、消毒薬に対する耐性が高い場合があります。
- 分離株は特別な増殖条件を必要とするかもしれません。
- 分離株が製品を汚染すると、それらを検出するのは困難になります。
- 効果的な追跡と傾向分析が不可欠です。  
先を見越したアプローチは常に、受動的な行動よりも優れています。  
これらのデータは汚染源への手がかりを提供します。

**あなたの分離株を日常のテストに取り入れましょう：**

- **成長促進テスト**
  - USP 41 <1116>では、「微生物学的環境モニタリングプログラムまたは培地充填試験で使用される培地は、指標微生物および環境分離株の増殖を支持することができることを実証するために… [実施済み]…」と述べています。
  - あなたの施設で環境モニタリング、媒体充填および無菌試験のために使用されるすべての培地を検討してください。
- **消毒剤チャレンジ試験**

● USP 41 <1072>は、「…環境モニタリングプログラムから頻繁に分離された微生物は、消毒プログラムで 사용되는薬剤を用いて定期的に試験するのがよいかもしれない…」と述べています。

- 消毒剤検査に適した分離株を選択してください。
  - あなたの試験に用いられた微生物の理論的根拠を提供してください。
  - 施設で製造された製品に特に高い危険性をもたらす、よく知られている汚染物質、施設から通常分離されている生物、または菌株を選択します。
  - 適切な微生物を選択することで、検査室は監査での指摘を避けることができます。

#### - **抗菌効果試験**

- 推奨 USP 株を使用してください。
- 防腐効果を測定するために環境株を使用します。
- 極端な環境条件を持つ製品は、これらの条件を生き残ることができる追加の分離を必要とするかもしれません。

#### **保存方法**

あなたの検査室は継続的に日常的な試験のために環境分離株を保存するため、いくつかの方法を選択・利用することができます：

- **継代培養/冷蔵保存** この方法はローテクで安価ですが、バクテリアの突然変異や汚染のリスクが最も高いです。
- **冷凍保存 (-20℃)** 生存能力は 1~2 年間維持することができますが、細胞の損傷が、氷の結晶と電解質の変動により発生する可能性があります。この方法は、汚染の危険性ならびに冷凍庫および維持費に追加費用を伴います。
- **超低温冷凍保存** この方法は突然変異の可能性を減らし、そしてより長い生存率を提供します。しかしながら、この方法は人件費、維持費用がかかり、綿密な温度モニタリングを必要とし、そして液体窒素蒸気は安全性の懸念があります。
- **プロの保存サービス** 識別、製造、保管を含む個別管理のためのターンキープロセスです。このタイプのサービスの利点は次のとおりです。
  - 認定
  - 経験
  - 品質
  - 完成品の保管
  - コスト削減
  - 製品保証
  - 試験用に製品化（簡易調整が可能）

## 主なポイント

あらゆる環境分離物は無菌製造に危険をもたらします。環境分離株を正確に特定することは、消費者の安全にとって極めて重要です。現在の規制は試験において分離株の使用を要求しているため、試験室は長期的で持続可能な環境分離プログラムを開発しなければなりません。

あなたの試験室で生物が見つかったら、Microbiologics 社はあなたの次のステップを単純化することができます。カスタム保存のためにあなたの分離株を送ってください。そしてあなたの分離株と共に研究室に設計された QC テストキットをお送りします。カスタムソリューションズチームとの協議については、当社の Web サイトにアクセスして詳細を確認するか、以下、レーベン・ジャパン株式会社までお問い合わせください。

## 参考文献

<sup>1</sup> Sutton and Jimenez, American Pharmaceutical Review, Jan/Feb 2012

<sup>2</sup> The Use of Environmental Isolates, Tim Sandle, Pharmaceutical Microbiology blog, January 10, 2010

Microbiologics 社 BLOG を翻訳しております。原文は下記リンクでご確認できます。※日本語訳は原文解釈の参考としてご利用下さい。

[https://blog.microbiologics.com/identification-and-preservation-techniques-of-environmental-isolates/?utm\\_campaign=Blog&utm\\_source=hs\\_email&utm\\_medium=email&utm\\_content=71265929&\\_hsenc=p2ANqtz-9EcvFIicvQj3PpjZ0VTVVGwjVbUu2iVBoBtbhrgloWk9cU4ZWCXRugncW5J1Tm9QkwQMtEowQiR1V\\_auzv5pdieAdin2VJX7I6x6Lwqg-11OT1XA&\\_hsmi=71265929](https://blog.microbiologics.com/identification-and-preservation-techniques-of-environmental-isolates/?utm_campaign=Blog&utm_source=hs_email&utm_medium=email&utm_content=71265929&_hsenc=p2ANqtz-9EcvFIicvQj3PpjZ0VTVVGwjVbUu2iVBoBtbhrgloWk9cU4ZWCXRugncW5J1Tm9QkwQMtEowQiR1V_auzv5pdieAdin2VJX7I6x6Lwqg-11OT1XA&_hsmi=71265929)

ご不明点、ご質問、製品のお問い合わせに関してはレーベン・ジャパン株式会社までお気軽にお問い合わせ下さい。

**レーベン・ジャパン株式会社** 埼玉県越谷市川柳町 3-110-8

TEL : 048-961-1781 FAX : 048-961-1782

メールでのお問い合わせ : [info@raven-japan.com](mailto:info@raven-japan.com)

Microbiologics 社製品紹介 URL : <http://raven-japan.com/>