

USP1112 を用いた微生物学的試験を減らすための水分活性に関する理解

Understanding Water Activity for Reduced Microbial Testing Using USP Method <1112>

Anthony J Fontana Jr. Ph.D., Senior Research Scientist, Decagon Devices, Inc.

Abstract

水は、大抵の医薬品の化学的、物理的および微生物学的な安定性において、決定的ではなくても、極めて重要であることが認められている。化学的または構造的な水の結合、あるいは何らかの乾燥法によって、製薬中の水を調整することが製薬産業ではこれまでも長い間行われてきた。水分活性は、製薬中の水のエネルギー状態を測る尺度であり、化学結合や乾燥によって減少する。医薬品の剤形や成分の、微生物学的、化学的および物理的な安定性に重要な役割を果たすのは、水分量ではなく、むしろ水分活性である。医薬品の水分活性に関する知識は、剤形や至適有効期間を得るのに必要不可欠である。

はじめに

水分活性は、同温での純水の蒸気圧 (p_0) に対する物質中の水の蒸気圧 (p) の比率と定義される。大気の相対湿度は、大気の飽和蒸気圧に対する蒸気圧の比率と定義される。蒸気と温度の平衡状態が得られると、試料中の水分活性は、密封した測定容器中の試料を取り囲む空気の相対湿度と等しくなる。水分活性に 100 を掛けると、平衡相対湿度 (ERH) がパーセントで得られる。

$$a_w = p/p_0 = \text{ERH}(\%) / 100$$

上記の式からもわかるように、水分活性は、蒸気圧の比率であり、それ故に単位はもたない。水分活性は、0.0 a_w (無水) から 1.0 a_w (純水) まで及ぶ。システム中の水分活性を調節する要因 (浸透圧、母材、毛細管) はいくつかある。水のエネルギーを減少させ、試料上の、純水に対する蒸気圧を減少させるのは、製薬中のこれらの要因の組み合わせである。水分活性は、水がどれくらい密接に「結合」しているかの尺度であり、システムから水を除去するために必要な作業と関連している。浸透圧と母材の相互作用

の程度が異なるため、水分活性は、固定された「結合性」よりはむしろ、システム中の水のエネルギー状態の連続体を表す。「結合」している水は、完全に固定化されているとは考えるべきではない。

微生物学的および化学的反応は、根本的には、水の「結合」エネルギー状態と関係がある。含水量は、水分の有効性や「結合性」についてではなく、水分量に関する情報しか提供しないため、微生物の増殖に対する感受性を検討する場合は信頼できない。水は様々なエネルギー状態で存在しているため、試料中の全水分量を測定するための分析法は、一致するとは限らないし、また安全性や品質に関係するとも限らない。例えば、ある製薬は、比較的大きな割合で水分を含んでいるかもしれないが、もし水が塩、砂糖、またはポリオールなどの添加された湿潤剤や溶質に化学的に「結合」しているとすると、水は、生物学的に微生物の増殖反応には利用できなくなる。水分活性の概念は、何十年間も、微生物学者や食品技術者の役に立ち、食品の安全性や品質に関して最も一般的に利用されてきた基準であるが、製薬業界では、水分活性はあまり広く取り入れられてはいない。

現在では、水分活性を利用した USP1112 法が既に公表されている。水分活性は、微生物学的汚染に対する製薬の剤形の感受性に関連するため、USP1112 『非滅菌医薬製品の微生物学的特性—水分活性測定の適用』は、水分活性の影響に関する手引きを提供している。異なる a_w 値を持つ医薬製品における微生物の挙動を知ることは、USP1112 を効果的に利用するのに必要不可欠である。この章では、水分活性を低く保つことによって、製品の保存性を改善する可能性について検討する。非滅菌医薬製品の水分活性を測定することは、以下の点で有用である。

- 保存法の抗菌効果を改善するために、製薬の剤形を最適化すること
- 製薬の剤形中の、化学的加水分解に影響されやすい医薬品有効成分の劣化を低減させること
- 微生物の汚染に対する剤形（特に液剤、軟膏剤、ローション剤、クリーム製薬品）の感受性を減少させること
- 微生物限定試験、製品発売に好ましくない微生物のスクリーニング検査および一般的試験の章『微生物検定試験』<61>に掲載された方法を用いた安定性試験の回数を減らすための論理的根拠として使える手段を提供すること

材料及び方法

増殖のための最低水分活性は、文献の値を検索して得られた。製薬および市販薬に対する試験には全て、デカゴン社水分活性測定装置 AquaLab Series3TE を用いた。

結果

表 1 は水分活性の最小値を示しており、これは、USP が指定する医薬品にとって好ましくない、微生物が増殖する値である。大多数の病原性細菌が増殖する最小の a_w は、約 0.91 である。ただひとつの例外は黄色ブドウ球菌 (*Staphylococcus aureus*) であり、好気条件下では 0.86 の水分活性で増殖する。カビと酵母の増殖に関する水分活性の最小値は 0.70 で、細菌よりも低い。どんな微生物も増殖する最小値は、0.61 である。

微生物は増殖を維持するため、ある一定の値の「遊離」した水を必要とする（表 1）。医薬品中の水分活性を調節することによって、微生物の増殖を抑制することができる。水分活性は、微生物の増殖のあらゆる面を制御する。表 1 は、異なる微生物が増殖する水分活性の最小値を示している。最小の増殖限界より大きい水分活性では、水分活性は誘導期を延長させ、対数増殖期を低下させ、また静止期の微生物の数を減少させる。毒素を産生する微生物の場合、増殖抑制値よりも高い水分活性では、毒素産生は止まる。

低い水分活性もまた、製薬中に芽胞が存在する場合、芽胞の発芽を抑制する。水分活性は、微生物を死滅させる手段ではない。低い水分活性でも、ある一定の期間は生存することのできる微生物もいる。これらの微生物は、活発に増殖してはいないが、条件が変わる（つまり、 a_w が増加する）のを待っているのである。より低い水分活性でも、微生物はゆっくりとした割合で死ぬことには変わりはない。従って、医薬品の水分活性レベルを知る、あるいは調節することが重要である。

水分活性の減少は、医薬品の微生物学的汚染を阻止することを補助するため、非滅菌剤形の製剤、製造および検査には、この要因を反映するべきである。製剤を調剤するときには、製薬が自己保存できるように水分活性を評価するべきである。

製薬中の水分活性を減少させるには、水を除去するか、添加物を加えるか、または温度を下げる方法がある。塩、砂糖、グリコール、グリセリン、またはアミノ酸などの成分を添加することにより、製薬中の微生物の増殖を防止する、低い水分活性をもつ製剤が得られる。これらの添加物は、一部の「遊離」した水を「結合」させ、微生物の増殖のために利用できないようにする。しかし、これらの添加物を、製薬の味や舌触りを変化させずにどれだけ加えられるかには限度がある。

異なる製薬は、異なる濃度の水分活性を減らす成分、および異なる水分量を持つため、それぞれの製薬の種類は、特有の水分活性をもつ。表 2 は、一般的な医薬品および市販薬の水分活性値または範囲を示す。

表 1 増殖のための最低水分活性

| 微生物 | 増殖のための最低水分活性 |
|--|--------------|
| 緑膿菌 (<i>Pseudomonas aeruginosa</i>) ボツリヌス菌 (<i>Clostridium botulinum</i>)、E 型 | 0.97 |
| セレウス菌 (<i>Bacillus cereus</i>) ボツリヌス菌 (<i>Clostridium botulinum</i>)、A・B 型 大腸菌 (<i>Escherichia coli</i>) サルモネラ属菌 (<i>Salmonella</i> spp.) ウェルシュ菌 (<i>Clostridium perfringens</i>) セバシア菌 (<i>Burkholderia cepacia</i>) クレブシエラ属菌 (<i>Klebsiella</i>) ラクトバシラス-ヴィリデセンス (<i>Lactobacillus viridescens</i>) 緑膿菌 (<i>Pseudomonas aeruginosa</i>) | 0.95 |
| エンテロバクター-アエロゲネス (<i>Enterobacter aerogenes</i>) 蛍光菌 (<i>Pseudomonas fluorescens</i>) | 0.94 |
| 単球菌 (<i>Micrococcus lysodeikticus</i>) クロネ (<i>Rhizopus nigricans</i>) | 0.93 |
| リステリア菌 (<i>Listeria monocytogenes</i>) ムコール-ブランベウス (<i>Mucor plumbeus</i>) ロドトルラ・ムチラギノーザ (<i>Rhodotorula mucilaginosa</i>) | 0.92 |
| 霊菌 (<i>Serratia marcescens</i>) プレジオモナス-シゲロイデス (<i>Plesiomonas shigelloides</i>) 赤痢菌属 (<i>Shigella</i> spp.) コレラ菌 (<i>Vibrio cholerae</i>) 腸炎ビブリオ (<i>Vibrio parahaemolyticus</i>) エルシニア-エンテロコリチカ (<i>Yersinia enterocolitica</i>) 偽結核エルシニア菌 (<i>Yersinia pseudotuberculosis</i>) エロモナス-キャビエ (<i>Aeromonas caviae</i>) エロモナス-ヒドロフィラ (<i>Aeromonas hydrophila</i>) エロモナス-ソブリア (<i>Aeromonas sobria</i>) | 0.91 |
| 枯草菌 (<i>Bacillus subtilis</i>) 黄色ブドウ球菌 (<i>Staphylococcus aureus</i>) (嫌気性) 酵母 (<i>Saccharomyces cerevisiae</i>) | 0.90 |
| カンジダ属 | 0.88 |
| 黄色ブドウ球菌 (<i>Staphylococcus aureus</i>) (好気性) | 0.87 |
| ペシロマイセス-バリオティ (<i>Paecilomyces variotii</i>) | 0.84 |
| ペニシリウム-クリソゲナム (<i>Penicillium chrysogenum</i>) | 0.83 |
| アスペルギルス-フミガツス (<i>Aspergillus fumigatus</i>) | 0.82 |
| ペニシリウム-グラブラム (<i>Penicillium glabrum</i>) | 0.81 |
| 黄色麹菌 (<i>Aspergillus flavus</i>) | 0.78 |
| 黒色麹菌 (<i>Aspergillus niger</i>) | 0.77 |
| 好塩性菌 (<i>Halobacterium halobium</i>) | 0.75 |

| | |
|---|-------|
| 耐塩性酵母 (<i>Zygosaccharomyces rouxii</i>) | 0.62 |
| ゼロミセス-ビスポルス (<i>Xeromyces bisporus</i>) | 0.61 |
| 微生物の増殖なし | <0.60 |

表 2 典型的な医薬製品および市販薬の水分活性値

| 大分類 | 小分類 | 品目 | a _w 値/範囲 | 文献 |
|-----|---------|--------------------------|---------------------|----|
| 医薬品 | | 鎮痛薬 | 0.401 | 1 |
| | | 鎮痛薬 (ゼラチンカプセル) 液体 | 0.53 | 1 |
| | | 鎮痛薬 (ゼラチンカプセル) ゼラチン | 0.533 | 1 |
| | | 抗アレルギー薬 | 0.443 | 1 |
| | | 抗生物質、丸剤 (セファシリン) | 0.441 | 1 |
| | | 抗偏頭痛薬、丸剤 | 0.386 | 1 |
| | | 抗炎症剤、クリーム | 0.852 | 1 |
| | | 抗炎症剤、軟膏 | 0.975 | 1 |
| | | 抗炎症剤、懸濁液 | 0.87 | 2 |
| | | 抗真菌薬、クリーム | 0.95 | 1 |
| | | 抗真菌薬、パウダー | 0.537 | 1 |
| | | アスピリン | 0.44 | 1 |
| | | シトロバイオフラボノイド・ビタミンC、シロップ | 0.801 | 1 |
| | | 咳止めドロップ、リキッド・センター | 0.4 | 3 |
| | | 鎮咳薬 | 0.89 | 3 |
| | | 咳止めシロップ | 0.912-0.965 | 1 |
| | | 消炎剤または抗ヒスタミン薬 (液体充填カプセル) | 0.45 | 3 |
| | | 抗てんかんシロップ | 0.835 | 1 |
| | | ラクツロースシロップ (下剤) | 0.823 | 1 |
| | | 下剤 | 0.927 | 1 |
| | | 月経痛、丸剤 | 0.459 | 1 |
| | | 粘液溶解薬、エリクサー | 0.904 | 1 |
| | | 神経過敏症シロップ | 0.935 | 1 |
| | | グルコン酸カリウム、エリクサー | 0.926 | 1 |
| | | 肛門座薬 | 0.29 | 3 |
| | | 強壯剤、シロップ | 0.95 | 1 |
| | | 膣坐薬 | 0.3 | 3 |
| | | ビタミンC錠剤 | 0.33 | 1 |
| | | ビタミン・マルチビタミン錠剤 | 0.3 | 3 |
| | 軟膏/クリーム | 殺菌クリーム | 0.841 | 1 |
| | | 口内炎ジェル、経口 | 0.86 | 3 |
| | | 瘢痕形成薬、クリーム | 0.978 | 1 |
| | | 皮膚炎用クリーム | 0.951-0.952 | 1 |
| | | 抗炎症ジェル (局所用) | 0.942 | 1 |
| | | 肛門塗り薬、クリーム | 0.97 | 3 |
| | | 肛門塗り薬、軟膏 | 0.26 | 3 |

| | | | | |
|-------|-------|----------------|-------------|---|
| | | 経膾抗真菌クリーム | 0.982 | 1 |
| 消費者製品 | ヘア製品 | 整髪用ジェル | 0.982 | 1 |
| | | シャンプー | 0.982-0.987 | 1 |
| | ローション | ボディクリーム | 0.972-0.983 | 1 |
| | | デオドラントジェルバー | 0.984 | 1 |
| | | リップクリーム、局所/経口 | 0.36 | 3 |
| | | 日焼け止め | 0.94-0.981 | 1 |
| | 石鹸 | クリーム状石鹸 | 0.567 | 1 |
| | | 標準の石鹸 | 0.740-0.757 | 1 |
| | | グリセリン入り石鹸 | 0.659-0.759 | 1 |
| | | グリセリン・ラノリン入り石鹸 | 0.856 | 1 |
| | 歯磨き粉 | 歯磨き粉 | 0.585-0.984 | 1 |

結論

表 2 は、水分活性値に基づいた、典型的な 医薬製品および市販薬に関する微生物限界試験の計画を立てるのに用いることができる。水分活性が 0.75 をはるかに下回る医薬製品、すなわち、直接圧縮錠剤、液体充填カプセル、非水性液状薬、軟膏、およびその他の表 2 に挙げられている製品は、微生物限界試験を減らす絶好の候補になるだろう。このことは特に、微生物学による汚染を促進しない製造環境において、医薬製品が優れた微生物的品質を持つ原料から生産された場合に当てはまる。更にこのことは、微生物の含有量を本質的に減らす製法で、しかも製品に関して低い生物汚染度を持つという、これまでの検査によって確立された製造部位にて生産された場合に当てはまる。

References:

1. Decagon Devices in-house testing, Pullman Washington. aw values were obtained using Decagon AquaLab Water Activity Meters Series 3TE (chilled mirror).
2. Labuza TP. 1993. Water activity: theory, management, and applications. AACC Water Activity Course. February 16-19, 1993, St Paul, MN.

3. Friedel RR and Cundell AM. 1998. The application of water activity measurement to the microbiological attributes testing of non-sterile over-the-counter drug products. *Pharmacoepial Forum* 24:6087-6090.