

この文書の原文は、2015.02.28 に下記サイトからダウンロードした。

http://www.drugfuture.com/pharmacopoeia/usp32/pub/data/v32270/usp32nf27s0_c1117.html

文書の内容は、USP32-NF27 Page 616 Pharmacopoeial Forum: Volume No. 30(5) Page 1713 の資料（資料末尾の記載から）
と思われる。ドラフト発行以降、この章 1117 の章はかなり改定が行われていると思われる。この訳文は、USP の最新版
で内容を確認する際の参考として作成したものである。なお、各項目の番号は、文書の構成の理解を容易にするため、訳
者が付したものである。

<1117> MICROBIOLOGICAL BEST LABORATORY PRACTICES

USP <1117> 微生物試験室最良実践規範

目 次

1. INTRODUCTION （はじめに）	2
2. MEDIA PREPARATION AND QUALITY CONTROL （培地調製および品質管理）	2
2.1 Media Preparation （培地調製）	2
2.2 Media Storage （培地の保存）	7
2.3 Quality Control Testing （品質管理試験）	9
3. MAINTENANCE OF MICROBIOLOGICAL CULTURES （微生物菌株の維持）	12
4. MAINTENANCE OF LABORATORY EQUIPMENT （実験室器具類の維持）	14
5. LABORATORY LAYOUT AND OPERATIONS （実験室のレイアウトと作業）	15
6. SAMPLE HANDLING （サンプルの取扱い）	18
7. MICROBIOLOGICAL MEDIA INCUBATION TIMES （培地の培養時間）	20
8. TRAINING OF PERSONNEL （職員の訓練）	21
9. LABORATORY RESOURCES （ラボのリソース（人的資源））	23
10. DOCUMENTATION （文書化）	24
8. MAINTENANCE OF LABORATORY RECORDS （実験室記録の維持管理）	25
11. INTERPRETATION OF ASSAY RESULTS （定量（アッセイ）試験結果の解釈）	27

(訳者注: ドラフトでの考え方が変化したかを確認するため、USP 第 38 版との照合を行ってある。

青字・下線の部分は追加部分を、抹消線は削除部分を示す)

1. INTRODUCTION (はじめに)

Good laboratory practices in a microbiology laboratory consist of activities that depend on several principles: aseptic technique, control of media, control of test strains, operation and control of equipment, diligent recording and evaluation of data, and training of the laboratory staff. Because of the inherent risk of ~~known~~ variability in microbiology data, reliability and reproducibility are dependent on the use of accepted methods and adherence to good laboratory practices.

微生物実験室の最良実験室規範は、次のような幾つかの原則に基づいて構成されている。:

無菌操作法技術、培地の管理、試験菌株の管理、装置の運転と管理、入念な記録とデータの評価、および試験室職員の訓練である。微生物学的データの~~既知~~の変動の固有なリスクのために、その信頼性と再現性は、広く受け入れられている方法を使用し、そして優良な実験室規範を順守するかにより左右される。(訳者注: リスク論的な考え方を追加したと思われる)

2. MEDIA PREPARATION AND QUALITY CONTROL (培地調製および品質管理)

2.1 Media Preparation (培地調製)

Culture media are the basis for most microbiological tests. Safeguarding the quality of this media is therefore critical to the success of the microbiology laboratory. Media preparation, proper storage, and quality control testing can assure a consistent supply of high quality media.

培地は、殆どの微生物試験の基礎となるものである。従って、培地の品質を守ることは、微生物試験室の運営を成功させる上で非常に重要である。培地調製、適切な保管および品質管理検査は、高い品質を持つ培地の一貫した供給を保証するものである。

It is important to choose the correct media or components in making media based on the use of accepted sources or references for formulas. The manufacturer's formula and instructions for preparation routinely accompany dehydrated media and ready-made media. Because different media types may have different preparation requirements (e.g., heating, additives, and pH adjustment), it is important to follow these instructions to ensure preparation of acceptable media quality. A certificate of analysis describing expiry dating and recommended storage conditions accompanies ready-made media, as well as the quality control organisms used in growth-promotion and selectivity testing of that media.

培地の調製する場合に、処方に関して広く認められている情報源または参考資料に基づいて、適正な培地の種類または培地の成分を選択することは、非常に重要である。粉末培地 (dehydrated media ; 訳注 この用語の定訳はない) および生 (マ) 培地 (ready-made media ; 訳注 この用語の定訳はない) には、通常、製造業者の処方および調製指示書が添付されている。種類の異なる培地は、調製の要件(例えば、加熱、添加物、pH 調整など) が異なる場合があるため、適正な品質を持つ培地の調製を確実にするためには、それらの指示書に従うことが重要である。生培地には分析証明書 (COA ; certificate of analysis ; 訳注 “試験成績書” の用語の方が適切か?) が添付されており、そこには培地性能試験および当該培地の選択性に使用した品質管理用試験菌と共に、有効期限および保存条件が記載されている。

Water is the universal diluent for microbiological media. Purified Water is most often used for media preparation, but in certain cases the use of deionized or distilled water may be appropriate. [Water of lesser quality should not be used for microbiological media preparation.](#) The volume of the water used should be recorded.

水は、微生物用培地の普遍的な希釈剤(universal diluent)である。精製水が培地調製に最もよく用いられるが、脱イオン水(deionized water)または蒸留水(distilled water)の使用が適切な場合もある。[この品質より劣る水は、微生物学的な培地の調製に使用すべきではない。](#) 使用した水の容量(volume)を記録すること。

(訳者注 : かなり以前は、例えば耐熱性菌用培地は微量の金属の供給源として、精製水ではなく水道水を使用するとの推奨をしていた記述もあった。やはり、リスク論の観点から、これらの”影響が不明確な要因”を避けるようになったのであろう。)

Consistent preparation of media requires accurate weighing of dehydrated media or media constituents. A calibrated balance with the appropriate weight range for the ingredients should be used ([See Weighing on an Analytical Balance 1251](#)). Clean weighing containers and tools (such as spatulas) should be used to prevent foreign substances ~~that may alter the composition of the finished media~~ from entering the formulation. The weight of the components should be recorded.

再現性を以って培地調製を行なうには、粉末培地または培地成分の正確な秤量が必要である。培地成分は、適切な秤量範囲を備えた校正済みの天秤を用いること。清浄な秤量容器および器具(スパーテルなど)を使用すること ([See Weighing on an Analytical Balance 1251](#))。これは、その処方成分からのつくられる最終的な培地の組成に影響を与えるかも知れない異物の侵入を防ぐためである。培地成分の重量は、記録すること。

Dehydrated media should be thoroughly dissolved in water prior to dispensing and sterilization. If heating is necessary to help dissolve media, care should be taken not to overheat media as all culture media, to a greater or lesser extent, are heat-sensitive. Equipment used in the preparation of media should be appropriate to allow for controlled heating, constant agitation, and mixing of the media. Darkening of media (Maillard-type reaction or nonenzymatic browning) is a general

indication of overheating. When adding required supplements to media, adequate mixing of the medium after adding the supplement should be performed.

粉末培地は、小分けや滅菌する前に完全に水に溶解させること。培地の溶解するために加熱が必要な場合は、あらゆる培地は、多少なりとも易熱性（熱感受性）であるため、培地を熱し過ぎないように注意すること。培地の調製に使用する装置は、培地の加熱、一定の攪拌、および混合を制御することに適切なものであること。培地の暗色化（Maillard 型反応または非酵素的褐色化）は、過熱の一般的な指標である。必要な補助成分を添加する場合は、添加後、培地を十分に混ぜること。

Preparation of media in poorly cleaned glassware can allow inhibitory substances to enter the media. Inhibitory substances can come from detergent residue after cleaning glassware or from prior materials used in the glassware. Be sure that the cleaning process removes debris and foreign matter, and that the detergent is thoroughly rinsed out with Purified Water. See Cleaning Glass Apparatus 〈 1051 〉 for additional guidance.

洗浄が充分でないガラス器具を使用して培地を調製すると、抑制物質が培地に侵入することになる。抑制物質はガラス器具洗浄後の残留合成洗剤から、あるいはそのガラス器具の、そのガラス器具を洗う前に使用した物質が（訳注；洗浄不十分で）培地に侵入することがある。洗浄工程では、確実に、残留物および異物を除去し、「精製水」を用いて合成洗剤を洗い落とすこと。より詳細なガイダンスについては、（訳注：USP の）「Cleaning Glass Apparatus (ガラス器具の洗浄) <1051>」を参照のこと。

Sterilization of media should be performed within the parameters provided by the manufacturer or validated by the user. Commercially prepared media should provide documentation of the sterilization method that was used. ~~Ideally the manufacturer should provide the sterility assurance level (SAL) of the media against a recognized biological indicator.~~ Autoclaving by moist heat is the preferred sterilization technique, except in instances when boiling is required in order to avoid deterioration of heat-labile components of the media. Sterilization by filtration may also be appropriate for some formulations.

培地の滅菌は、製造業者から提供されたパラメーターまたはユーザーによって検証されたパラメーターの範囲内で実施すること。市販の生培地（commercially prepared media）には、使用した滅菌方法（訳注：温度と時間条件も含む）の記録を記載すべきである。~~理想的には、製造業者は、一般的に使われて微生物学的指標体について、その培地の無菌性保証レベル（sterility assurance level, SAL）を示すべきである。~~熱に対して不安定な培地の成分の劣化を避けるため煮沸が必要な場合を除き、湿熱によるオートクレイブが望ましい滅菌法である。処方によっては、ろ過による滅菌が適切な場合もある。

（訳者注：培地の無菌性保証の SAL に係る文章が削除されたことは、非常に興味をもたれる。この抹消理由は 2 つのことが推測される。ひとつは「無菌」という曖昧な概念を避けるために抹消したというものであり、もう一つは、培地に BI（微生物学的滅菌指標体）を添

加すると、一般的には BI の抵抗性が著しく増大するため、この文章を削除したとも考えられる。例えば、一般的な BI である *G. stearothermophilus* の D_{121} 値は、懸濁媒体が水である場合は 1~2 min. が一般的であるが、SCD 培地に懸濁すると、この D_{121} 値は 6~15 min. お大きく増加する。このような耐熱性が増大する理由は不明である。何れに理由によって削除されたかは不明である。)

The effects of the sterilization method and conditions on the media should be validated by sterility and growth-promotion testing of the media. In addition, if sterilized by moist heat, the autoclave cycle should be validated to ensure proper heat distribution for selected loads and volumes. Typically, manufacturers recommend using an autoclave cycle of 121° for 15 minutes using a validated autoclave. These conditions apply to time at temperature of the media. As [container size and](#) the load configuration of the autoclave will influence the rate of heating, longer cycles may be required for larger loads. However, the sterilization time will be dependent on the media volume and autoclave load. Sterilization cycles in which the autoclave is slow to come up to temperature may result in overheating of the media. Therefore, care must be taken to validate a sterilization cycle ~~to deliver the minimum SAL required,~~ balancing the need for a sterile media against the tendency of the media to degrade under excessive heating. Storage of the media in the autoclave after the liquid cycle is completed is not recommended after cooling, as it may damage the media. Improper heating or sterilizing conditions—for commercially prepared or internally prepared media—may result in a difference in color change, loss of clarity, altered gel strength, or pH drift from the manufacturer's recommended range, [as well as reduced growth-promotion activity and/or selectivity.](#)

培地に関する滅菌方法とその条件の影響を、培地の無菌性および培地性能試験 (growth-promotion testing of the media) によって検証すべきである。更に、湿熱で滅菌するのであれば、選択した載荷物の数および容積に対して適切な熱分布を確実にするように、オートクレーブ・サイクルをバリデートすべきである。一般的に製造業者は、バリデートしたオートクレーブを使用して、121° C で 15 分間加熱するサイクルを推奨している。これらの操作条件は、(訳注：滅菌機の缶体内の雰囲気温度ではなく) 培地の温度に対する時間である。加熱速度は、オートクレーブ中の[容器のサイズと](#)載荷物の形態によって影響されるため、載荷物が大きい場合は、より長いサイクルが必要である。しかしながら滅菌時間は、(訳注：それよりもむしろ) 培地の容器に入れる量およびオートクレーブをかける載荷物の形態に左右されるであろう。温度の上昇が緩徐な滅菌サイクルは、培地の過熱を招く場合もある。それゆえ「過剰な加熱による培地の劣化傾向」と「培地の無菌性に対する必要性」のバランスを考慮し、[必要最小限の SAL を与える滅菌](#)サイクルを慎重にバリデートしなければならない。liquid cycle (訳者注：この単語の意味不詳。液体培地の滅菌サイクルの意味か?) の完了後に培地をオートクレーブ内に保管することは、冷却後には推奨できない。というのは、培地にダメージを与えるからである (*)。(市販の調製済み培地または自社内で調製した培地に関して) 不適切な加熱または滅菌の条件は、[成長促進作用および／または選択性の減少と共に、](#)製造業者が推奨する範囲からの、色調の変化、透明度の減少、ゲル強度の変化、あるいは pH のズレを生じる場合がある。

- * 訳者注：この文章は難解なのですが、意味としては次のように考えています。；滅菌後に培地そのまま保管する場合、熱い缶体を冷却すると内部が陰圧となる。これは滅菌機の缶体の内部を陰圧にする恐れがある。たとえ、ベントフィルターで大気圧までブレイクしても、培地が汚染するリスクは避けられない。

The pH of each batch of medium should be confirmed after it has cooled to room temperature (~~25^o~~) (20–25) by aseptically withdrawing a sample for testing. Refrigerated purchased media should be allowed to warm up to ambient room temperature if it is to be checked for pH confirmation. A flat pH probe is recommended for agar surfaces, and an immersion probe is recommended for liquids. See pH <791> for guidance with pH measurement and instrument calibration. The pH of media should be in a range of ± 0.2 of the value indicated by the manufacturer, unless a wider range is acceptable by the validated method.

培地の各バッチの pH は、試験サンプルを無菌的に抜き取り、室温(~~25°C~~) (20-25°C)まで冷却した後に、確認すべきである。冷蔵状態で購入された培地 (訳注：冷蔵保管の生培地) は、もし pH 確認をするのであれば、その測定を行う環境温度まで温めて行うこと。寒天培地表面に対しては、先端が平らな pH 電極(flat pH probe)を推奨し、液体に対しては浸漬型の pH 電極(immersion pH probe)を推奨する。pH 測定と機器の校正のガイダンスとして、pH <791>を参照のこと。培地の pH は、製造業者によって示されている値の ± 0.2 の範囲内とすべきである。ただし、バリデートされた方法により、もっと広い範囲が許容される場合を除く。

Prepared media should be checked by appropriate inspection of plates and tubes for the following:

調製した培地は、平板ならびに試験管について、次ぎのことを適当な検査によりチェックすべきである。

- Cracked containers or lids (容器あるいは蓋のクラック)
- Unequal filling of containers (容器間の充填量の不均一)
- Dehydration resulting in cracks or dimpled surfaces on solid medium
(固形培地で、クラックや窪みを生じるような乾燥)
- Excessive darkening or color change (過剰な黒色化あるいは着色)
- Crystal formation from possible freezing (凍結した場合の結晶の形成)
- Excessive number of bubbles (過剰な数の泡)
- Microbial contamination (微生物による汚染)
- Status of redox indicators (if appropriate) (酸化還元電位指示薬の状態 (該当する場合))
- Lot number and expiry date checked and recorded (ロット番号と有効期限のチェックと記録)
- Sterility of the media (培地の無菌性)
- Cleanliness of plates (lid should not stick to dish)
(寒天培地平板の清浄性 (蓋は皿に (裏返しにして) 積み重ねないこと *))

* : この訳文は検討の余地あり

2.2 Media Storage (培地の保存)

It is prudent to consider how the manufacturer or supplier transports and stores media prior to distribution to the end user. Manufacturers of media should use transport and storage conditions that minimize the loss of moisture, control the temperature, [prevent microbial contamination](#), and provide mechanical protection to the prepared media.

製造業者およびサプライヤーは、エンドユーザーへの配送前に、培地をどの様に輸送し、かつ保管するかを慎重に考えること。培地の製造業者は、次ぎの様な輸送および保管条件を適用すべきである。

- ・ 水分の損失が最少となる条件とする (minimizing the loss of moisture)
- ・ 温度を管理する (control the temperature)
- ・ [微生物汚染を防止する \(prevent microbial contamination\)](#)
- ・ 調製した培地への機械的な力に対する保護を与える
(provide mechanical protection to the prepared media)

Media should be labeled properly with batch or lot numbers, preparation and expiration dates, and media identification. Media should be stored according to the manufacturer's instructions. Media prepared in-house should be stored under validated conditions. Do not store agar at or below 0°, as freezing could damage the gel structure. Protect stored media from exposure to light and excessive temperature. Before prolonged storage, agar plates should be placed into a sealed package or container to retard moisture loss.

培地は以下の事項について、適正にラベル表示をすること。

- ・ バッチ／ロット番号 (batch or lot numbers)
- ・ 調製日および有効期限日 (preparation and expiration dates)
- ・ 培地の識別 (media identification) (訳注：培地名称などが該当すると思われる)

培地は製造業者の指示に従って保存すること。自家調製した培地は、バリデートした条件の下で保存すること。凍結はゲル構造にダメージを与えるので、寒天培地は0℃以下に保存しないこと。培地は、遮光し、過剰な温度を受けない条件で保存すること。長期間保存する場合は、それに先立って、水分の蒸発を遅らせるために、密封した包装または容器中に寒天培地を入れるべきである（*）。

* 訳注：実際に保存した経験からいうと、水分がその密封包装内に溜まり、かなり湿気を持つ。汚染を防ぐため、これらの密封した包装または容器の表面は無菌に近いことが望まれる。

Remelting of an original container of solid media should be performed only once to avoid media whose quality is compromised by overheating or potential contamination. It is recommended that remelting be performed in a heated water bath or by using free-flowing steam. The use of

microwave ovens and heating plates is common, but care should be taken to avoid damaging media by overheating and to avoid the potential injury to laboratory personnel from glass breakage and burns. The molten agar medium should be held in a monitored water bath at a temperature of 45 to 50 for not more than 8 hours. Caution should be taken when pouring the media from a container immersed in a water bath to prevent water from the bath commingling with the poured sterile media. Wiping the exterior of the container dry prior to pouring may be advisable.

元からの容器 (original container) に入っている固形培地の再溶解は、過熱や微生物汚染により培地の品質が危うくなることを避けるために、1 回のみとすること。再溶解は、加熱した水浴または流通蒸気 (free-flowing steam) で行なうことを推奨する。培地を溶解するために電子レンジや加熱プレートを使用することは広く行われているが、過熱による培地の損傷を避けると共に、実験室器具の破損や火傷により、実験室職員がケガをしないように気を付けること。溶解した培地は、45~50°C の温度モニターの出来る水浴で保持すべきであるが、保持時間は 8 時間以内とすること。水浴中に浸漬した容器から培地を注加する時、注加した無菌の培地に (訳注: 容器の外側に付着している) 水浴からの水を入れないように注意すること。容器の外側を拭い、培地を注加する前に乾燥させておくことが賢明である

Disposal of used cultured media (as well as expired media) should follow local biological hazard safety procedures.

期限切れの培地も同様であるが、使用した培地の廃棄は、各地域のバイオハザードに対する安全手順 (local biological hazard safety procedures) に従うこと

2.3 Quality Control Testing (品質管理試験)

Although ~~While~~ growth media can be prepared in a laboratory from individual components, many laboratories, for their ease-of-use, use dehydrated media or purchase commercially prepared media in plastic plates or glass containers. Manufacturers of media attempt to standardize raw materials from biological sources, but must constantly deal with unavoidable differences in raw materials obtained from natural sources, and therefore, lot-to-lot variability of media must be considered. In addition, the performance of media prepared in a laboratory or by a manufacturer is highly dependent on preparation and storage conditions. Improper media preparation can cause unsatisfactory conditions for microbial growth or recovery and unreliable results.

培地 (growth media) は実験室で個々の成分から調製することも出来るがすにもかかわらず、容易に使用するために、多くの実験室は、粉末培地を使用するか、あるいは平板やガラス容器に培地を調製済みの市販生培地 (commercially prepared media) を購入している。培地の製造業者は、生物学的な由来源からの原料の標準化を試みているが、天然物由来源から得られる原料の避けることの出来ない相違を常に受けねばならない (must constantly deal with)。それゆえ、培地のロット間変動 (lot-to-lot variability) を考慮しなければならない。更に、実験室で調製した、あるいは製造業者が製造した培地の性能は、その調製方法と保管条件に大きく依存するものである。不適切な培地の調製は、微生物の成長や回収に不十分な条件を与え、信頼性が無い結果を与える原因となり得るものである。

Therefore, quality control tests should be performed on all prepared media, including media associated with swabs or media in strips and other nontraditional formats.. Tests routinely performed on in-house prepared media ~~are~~ should include pH, growth promotion, inhibition, and indicative properties (as appropriate), and periodic stability checks to confirm the expiry dating.

それゆえ、品質管理試験は、調製された全ての培地について行なうべきである。この「調製された培地」には、スワブを組み合わされた培地あるいは、ストリップやその他のこれまでにない形態の中に入っている培地を含まれる。 自家調製培地について日常的に行なう試験は、以下のものであるを含むこと。

- pH
- 生長促進性 (訳注：培地性能試験)
- 抑止性 (inhibition 訳注：例えば胆汁酸塩のような目的外の微生物の抑制) と
(該当する場合は) 指標性 (訳注：例えば大腸菌群用の EMA 培地での大腸菌の金属光沢など)
- 有効期限を確認するための定期的な安定性チェック

When in-house prepared microbiological media are properly prepared and sterilized using a validated method, the growth-promotion testing may be limited to each incoming lot of dehydrated media, unless otherwise instructed by the relevant compendial method. If the media preparation

procedure was not validated, then every batch of media would be subjected to growth-promotion testing. Test organisms may be selected from the appropriate compendial test chapter. In addition, microorganisms used in growth-promotion testing may be based on the manufacturer's recommendation for a particular medium, or may include representative environmental isolates (but these latter are not to be construed as compendial requirements).

自家調製培地は、それを正しく調製し、バリデートした方法を用いて滅菌した時、培地性能試を粉末培地の入荷ロット (incoming lot) 毎に限定してもよい。但し、関係する公定書で別に指示されている場合を除く。もし培地の調製方法がバリデートされていないのであれば、培地の (訳注：滅菌の) バッチ毎に培地性能試験を行なうべきである。その試験菌は、~~その培地についての製造業者の推奨に基づいて、~~しかるべき公定書掲載の試験の章から選定することになるであろう。更に、培地性能試験に使用する微生物は、製造業者の推奨に基づくものとなるであろう (ただし、次に述べる場合 (訳注：環境分離菌) は、公定書の要求に縛られない)。あるいは、(訳注：公定書掲載の菌によらないで) 代表的な環境分離菌を含めることもあるだろう。

(訳者注：培地性能試験菌について、内容がより明確となるような表現に変更された。)

Expiration dates on media should have supporting growth-promotion testing to indicate that the performance of the media still meets acceptance criteria up to and including the expiration date. The length of shelf life of a batch of media will depend on the stability of the ingredients and formulation under specified conditions, as well as the type of container and closure.

培地の有効期限は、培地性能試験での裏付けを持つこと。すなわち、その有効期限にあっても当該培地の性能が、なお許容基準を満たしていることを培地性能試験で示すこと。培地バッチの有効保管期間 (shelf life) は、規定された条件 (培地を入れた容器および栓のタイプは勿論のことであるが) 下での、成分と処方への安定性に左右されるであろう。

When a batch of media does not meet the requirements of growth-promotion testing, an investigation should be initiated to identify the cause. This investigation should include a corrective action plan to prevent the recurrence of the problem. ~~Any nonconforming lot should not be used if an assignable cause or corrective resolution relative to nongrowth support is undetermined.~~ Any batch of media that fails growth-promotion testing is unsuitable for use. [NOTE—Failed growth-promotion test results may not be used to negate positive test results.]

培地のあるバッチが培地性能試験に適合しなかった時、その原因を特定するための調査を行なうこと。この調査は問題の再発防止のための是正措置計画を含めること。~~如何なる不適合ロットであっても、成長促進性を有しないことに関しての、それらしき原因 (assignable cause) の特定や是正の解決がまだであるならば、使用すべきではない。~~ 培地性能試験に不適合になった如何なる培地も、使用には不適切

である。 〔注—不適合の培地性能試験結果は、陽性の試験結果を無効にするものではないであろう
(*) 1

* : (訳者注) 意味がとりにくいが、例えば次の様な場合が想定される。 : 同じ微生物で3枚の繰り返しを行っており、そのうちの2
枚が適合、1枚が不適合となった場合、この1枚の不適合の結果が、他の2枚の結果を無効とするものではない]

Some reagents are used for diagnostic purposes to help support identification of microbial organisms, e.g., Gram stain and oxidase test reagents. These may have attributes that can be quality control tested similar to microbiological media. Select the correct quality control standard microorganisms, following the manufacturer's instructions, and perform the testing ~~prior to~~ **before** unknown sample diagnostic testing. All relevant diagnostic reagents should be subjected to incoming quality confirmation before use.

幾つかの試薬が、微生物の特定(同定)を裏付けるための診断目的で使用されている。たとえばグラム染色試薬、およびオキシダーゼ試薬がある。それらは、培地と同様に品質管理試験が出来るという特性を有している。製造業者の指示に従って正しい品質管理用標準微生物を選定し、かつ未知のサンプルの診断試験を行なう前に、この品質管理用標準微生物での試験を行なう。全ての関連する診断試薬は、使用前に入荷時の品質確認 (incoming quality confirmation) を行うこと。

(訳者注 : 同定用の判定試薬の入荷時の性能確認試験が義務付けされた)

Special care should be taken with media that is used in sterility tests (see Sterility Tests < 71 > for requirements) and in environmental monitoring studies. Media used for environmental monitoring of critical areas should preferably be double-wrapped and terminally sterilized. If terminal sterilization is not performed, media should be subjected to pre-incubation and 100% inspection prior to use within a critical area. [NOTE—Growth-promotion testing for this media must be performed after the pre-incubation stage.] This will prevent extraneous contamination from being carried into controlled environments and will prevent false-positive results. A raised agar level for surface contact plates should be verified.

無菌試験(要求に関しては Sterility Tests < 71 > 参照) および環境モニタリング試験で使用する培地は、特別な注意を払うこと。重要なエリアの環境モニタリング用の培地は、二重包装し、最終滅菌した(double-wrapped and terminally sterilized)ものを推奨する。もし最終滅菌を行なえないならば、培地は前培養を行い、重要区域内で使用する前に全数検査を行なうこと。これは制御された環境に外来汚染を持ち込むことを防ぎ、擬陽性 (false-positive) 結果を防ぐものであろう。〔注—この培地の性能試験は、試験前の培養段階 (pre-incubation stage (訳注) いわゆる「空から培養」段階であろう) 後に行わねばならない。 〕 表面接触平板の寒天培地の盛り上がりレベル (raised agar level) は、確認をすること (*)。

- * (訳者注) : 表面接触平板は、培地を被験面に接触させてその付着菌数を測定するものであり、培地容器の縁から、少し盛り上がっている状態でないと、付着菌の測定が出来ない。

3. MAINTENANCE OF MICROBIOLOGICAL CULTURES (微生物菌株の維持)

Biological specimens can be the most delicate standards to handle because their viability and characteristics are dependent on adequate handling and storage. Standardizing the handling and storage of cultures by the user laboratory should be done in a way that will minimize the opportunity for contamination or alteration of growth characteristics. The careful and consistent treatment of stock cultures is critically important to the consistency of microbiological test results. Cultures for use in compendial tests should be acquired from a national culture collection or a qualified secondary supplier. They can be acquired frozen, freeze-dried, on slants, or in ready-to-use forms. Confirmation of the purity of the culture and the identity of the culture should be performed ~~prior to~~ before its use in quality control testing. Ready-to-use cultures ~~may require confirmation of~~ should be subjected to incoming testing for purity, ~~and identity, and inoculum size,~~ before use. This confirmation of identity for commonly used laboratory strains should ideally be done at the level of genus and species. ~~genotypic analysis (i.e., DNA fingerprinting, 16S rRNA gene sequencing, or PCR analysis using suitably validated probes).~~

生物学的な標品 (biological specimens) は、その適正な取扱いと保存によって、変動性および特性が左右されるものであり、最も繊細な基準となり得るものであろう。ユーザー実験室での培養菌の取扱いと保存の標準化は、汚染の機会を最小とし、生長特性の変質を最小とする様な方法で行なうこと。保存培養菌の注意深く、かつ常に一定な取扱いは、微生物試験結果の恒常性を保つ上で非常に重要なものである。公定書収載の試験で使用する培養菌は、国立の菌株保存機関または、適格性が確認された二次サプライヤー (qualified secondary supplier) から得ること。それらは凍結した形態、凍結乾燥した形態、斜面培地で、あるいはすぐ使用できる (ready-to-use) 形態で入手できる。培養菌の純度と、同一性 (identity) および接種菌量 (inoculum size) の確認は、品質管理試験に使用する前に行うこと。調製済み(ready-to-use)の培養菌は、使用前に、次の事項の確認が必要であろう受入試験 (incoming testing) を行うこと。

- 純度 (purity)
- 同一性 (identity)
- ~~• 接種菌濃度 (inoculum size)~~

一般的に使用される菌株の同一性のこの確認には、属 (genus) および種 (species) 理想的には遺伝子型の分析 (~~genotypic analysis~~) のレベルで行うこと。

- ~~• DNA フィンガ=プリント~~
- ~~• 16S rRNA 遺伝子配列~~
- ~~• 適切にバリデートしたプローブによる PCR 分析~~

(訳者注：同一性の確認から、遺伝子による方法が削除された。しかし、その一方で受入時の試験の実施が明確化された)

Preparation and resuscitation of cultures should follow the instructions of the supplier or a validated, established method. The “Seed-Lot” technique is recommended for storage of stock cultures.

培養菌の調製ならびに蘇生(resuscitation)は、供給者の指示またはバリデートされ確立された方法に従うこと。保存菌の貯蔵には、“Seed-Lot” technique が推奨される。

The original sample from the national culture collection or a qualified secondary supplier is resuscitated and grown in an appropriate medium. Aliquots of this stock culture (the first transfer or passage) are suspended in a cryoprotective medium, transferred to vials, and frozen at -30° or below, until use. If stored at -70° , or in lyophilized form, strains may be kept indefinitely. These frozen stocks can then be used to inoculate monthly or weekly working cultures. Once opened, do not refreeze unused cell suspensions after culturing a working suspension. The unused portion should be discarded to minimize the risk of loss of viability and contamination of the stock.

国立の菌株保存機関または適格性の確認された二次サプライヤー (qualified secondary supplier) のオリジナル・サンプルは適正な培地で、蘇生 (resuscitated) させ、生育させる。この保存培養菌 (第一代継代菌; the first transfer or passage) の一部を、凍結防止剤(cryoprotective medium)に懸濁し、バイアルに移し、使用まで -30°C 以下で凍結する。もし -70°C で、あるいは凍結乾燥形態で保存するのであれば、菌株は無期限に保存出来るであろう。その様にする事で、凍結保存菌株を、毎月/毎週の常用保存菌 (working cultures) の接種に使用できる。ひとたび開封したならば、常用菌株の懸濁液(working suspension)を培養後の未使用の菌体懸濁液は、再凍結をしてはいけない。この未使用の菌液は、保存菌の活性喪失と汚染のリスクを最小とするために、廃棄すること。

The number of transfers of working control cultures should be tracked to prevent excessive subculturing that increases the risk of phenotypic alteration or mutation. The number of transfers allowable for specific compendial tests may be specified in that test. One passage is defined as the transfer of organisms from a viable culture to a fresh medium with growth of the microorganisms. Any form of subculturing is considered to be a transfer/passage.

常用管理の保存菌株 (working control culture) の継代回数は、表現型の変性または変異のリスクを増大させる過剰の回数の継代を防ぐために、追跡記録をとること。ある公定書収載の試験方法に許容される移植回数は、その試験ごとに規定されるものとなる。「一継代」は、生育可能な培養菌から、その微生物を生育させることのできる新鮮培地への微生物の移動として定義する。如何なる形の植継ぎ (subculturing) でも、継代 (transfer/passage) と考えるべきである

4. ~~MAINTENANCE OF LABORATORY EQUIPMENT~~ (実験室器具類の維持)

Most equipment (incubators, water baths, and autoclaves) is subject to standard validation practices of incoming qualification, operational qualification, and performance qualification. Additionally, periodic calibration (generally annually) is commonly required. New equipment, critical to the operation of the laboratory, should be qualified according to a protocol approved by the quality assurance unit (QAU). In addition, regular cleaning and sanitization of equipment such as incubators, refrigerators, and water baths should be performed to minimize the potential for contamination in the laboratory. Door seals of incubators and refrigerators should be cleaned and checked for state of repair.

多くの器具（培養器、水浴、及びオートクレーブ）は、IQ (incoming qualification)、OQ (operational qualification)、および PQ (performance qualification) の標準的なバリデーションを行なう。更にそれらに対して、一般的に、定期的なキャリブレーション（一般には年次）が必要である。実験室の業務に重要な新たな機器は、品質保証部門（Quality Assurance Unit; QAU）が承認したプロトコールに従って適格性を確認すること。更に、ラボの汚染の可能性を最小化するために培養器 (incubators,)、冷蔵庫 (refrigerators)、および水浴 (water baths) のような機器の定期的な清浄化とサニティゼーションを行うこと。培養器および冷蔵庫のドアシール分は、クリーンな状態に保ち、かつ修理が必要となる状態かをチェックすること。

(訳者注：機器の日常管理に係る細かな事項も追記された。培養器や冷蔵庫の扉のシール部は、汚れが溜まりやすく、かつカビ（例えば、*Cladosporium* spp.など）が繁殖し易い。この意見は、実際に試験作業に携わった者からの意見であろう。ちなみに、培養器でも、かなりの頻度で冷却器が作動するものは、冷却フィンの所にカビ（*Penicillium* spp.が多い）が生育することが良く起こる。この生育したカビのコロニーからの胞子が、培養器庫内に飛散し、培養物を汚染することが起こる。）

Instruments (pH meters and spectrophotometers) used in a microbiology laboratory should be calibrated on a regular schedule and tested to verify performance on a routine basis. The frequency of calibration and performance verification will vary based on the type of instrument and the importance of that equipment to the generation of data in the laboratory.

微生物実験室で使用される機器（pH メーター、分光光度計）は、定期的な (regular) スケジュールでキャリブレートし、日常的に (routine basis) は、性能を確認するための試験をすること。キャリブレーションと性能確認の頻度は、当該機器のタイプと、その実験室での当該機器が生成するデータの重要性に基づいて変化することになるだろう。

Equipment that is difficult to sanitize (such as refrigerators and incubators) should be dedicated to aseptic operations (such as storage of media for testing and incubation of sterility test samples) and live culture operations to minimize the potential for inadvertent contamination of the tests.

(冷蔵庫および培養器のような) サニタイズすることが困難な機器は、試験の不用意な汚染 (inadvertent contamination) の可能性を最小化するために、(試験用培地の保管および無菌試験サンプルの培養のような) 無菌操作と、生菌の取扱い (live culture operations) 用は、専用とすべきである。

Autoclaves are central to the operation of the laboratory and must have proper validation in place to demonstrate adequate sterilization for a variety of operations. Autoclave resources must be available (and validated) to sterilize waste media (if performed in that laboratory) as well as the media prepared in that laboratory. The choice of one or several autoclaves is not driven by a need to separate aseptic and live operations (everything in the properly maintained autoclave is sterile after the cycle) but rather driven by resource considerations (see below).

オートクレイブはラボの作業の中心のものであり、様々な作業に対して適切な滅菌を証明するために、適正なバリデーションをしなければならない。オートクレイブのリソースは、ラボで調製した培地は勿論のこと、(もしラボでそれを行うならば) 廃棄培地を滅菌するために、利用し (そしてバリデート) なければならない。オートクレイブを一台とするか、あるいは幾つかのオートクレイブを使用するかという選択は、無菌操作と生菌用を別にするかという必要性ではなく (というのは、適正に維持されたオートクレイブ中のあらゆるものは、そのサイクル後、無菌となるので)、むしろ、リソースに係る考慮 (訳注: 簡単に言えば、オートクレイブの台数が足りるか? ということ) に基づくものとなる (以下の記載を参照のこと)。

5. LABORATORY LAYOUT AND OPERATIONS (実験室のレイアウトと作業)

Laboratory layout and design should carefully consider the requirements of good microbiological practices and laboratory safety. It is essential that cross-contamination of microbial cultures be minimized to the greatest extent possible, and it is also important that microbiological samples be handled in an environment that makes contamination highly unlikely.

実験室のレイアウトとデザインは、微生物実験室優良実践規範 (good microbiological practices) および実験室安全性 (laboratory safety) の要求事項を十分に考えること。微生物培養菌の交叉汚染を可能な限り小さくすることは必須の事項であり、そして汚染が全く起こりそうもない環境下で、微生物サンプルを取り扱うこともまた重要である。

In general, a laboratory should be divided into clean or aseptic areas and live culture areas. Areas in which environmental or sterile product samples are handled and incubated should be maintained completely free of live cultures, if possible. If complete separation of live and clean culture zones cannot be accomplished, then other barriers and aseptic practices should be employed to reduce the likelihood of accidental contamination. These barriers include protective clothing, sanitization and disinfection procedures, and biological safety cabinets designated for clean or aseptic operations only. Procedures for handling spills or mishaps with live cultures should be in place, and all relevant technical personnel should be trained regarding these methods.

一般に、微生物実験室をクリーンまたは無菌操作法区域(clean or aseptic areas)と生菌取扱い区域(live culture area)に分割すべきである。可能であれば、環境試験のサンプルあるいは無菌製剤のサンプルを取扱う区域と培養する区域は、生菌を取り扱う区域から完全に切り離すこと。もし生菌ゾーンとクリーン培養菌ゾーンの完全な分離を達成できないのであれば、偶発的汚染の可能性を減少させるために、他の防御手段(バリアー)および無菌操作的な方法(aseptic practices)を使用すること。それらのバリアーには、保護衣(protective clothing)、サニティゼーションと消毒方法、それにクリーンおよび無菌操作法のためのために専用に設計された生物学的安全キャビネットが含まれる。生菌をコボシ(spills)たり、あるいは生菌での事故の取扱いは適切なものとする。そして、全ての関連する技術職員(all relevant technical personnel)は、それらの方法について訓練を受けること。

Some samples will demonstrate microbial growth and require further laboratory analysis to identify the contaminants. When growth is detected, the sample should be taken from the clean section of the laboratory to the live culture section without undue delay. Subculturing, staining, microbial identification, or other investigational operations should be undertaken in the live culture section of the laboratory. If possible, any sample found to contain growing colonies should not be opened in the clean zone of the laboratory. Careful segregation of contaminated samples and materials will reduce false-positive results.

幾つかのサンプルは、微生物の生長が証明され、汚染菌を特定するために実験室分析が更に必要となろう。生長を検出した場合は、過度な遅れ(undue delay)をすることなく、そのサンプルを実験室のクリーン区域から生菌培養区域へ移動すること。二次培養(subculturing)、染色、微生物の同定、あるいは他の調査方法は、実験室の生菌培養区域で行なうこと。可能であれば、生育するコロニーを含むことが判った如何なるサンプルも、実験室のクリーン区域で開口しないこと。汚染したサンプルや器材(materials)の注意深い隔離が、擬陽性結果を減少させるものである。

Staff engaged in sampling activities should not enter or work in the live culture handling section of a laboratory unless special precautions are taken, including wearing protective clothing and gloves, and careful sanitization of hands upon exiting. Ideally, staff assigned to sampling activities, particularly those in support of aseptic processing, should not work in the vicinity of live culture

~~laboratory operations. Also, all microbiological samples should be taken using aseptic techniques, including those taken in support of nonsterile products. If possible, all microbiological samples should be taken under full aseptic conditions in specialized sampling areas.~~

サンプリング作業に従事するスタッフは実験室の生菌取扱い区域に入ったり、そこで作業したりすべきではない。但し、特別な注意を払った場合は除く。この特別な注意としては、次のものが含まれる。

- ・保護衣と保護手袋の着用 (wearing protective clothing and gloves)
- ・退室時の手の注意深いサニティゼーション (careful sanitization of hands upon exiting)

~~理想的には、特に無菌操作法でのサンプリングを行なう専任のスタッフは、実験室の生菌操作を行なう近傍で作業しないこと。同様に、全ての微生物学的サンプルは、非無菌製剤を採取する場合も含め、無菌操作法を用いて行なうべきである。可能であれば、全ての微生物学的サンプルは、サンプリング専用区域 (specialized sampling areas) で、完全な無菌操作法条件の下で採取すること。~~

It is important to consider that microbial contamination of samples, which leads to false-positive results, is always possible unless careful aseptic precautions are taken. Facilities should be designed so that raw material and excipient sampling can be done under controlled conditions, including proper [gowning](#) and sterilized sampling equipment. It may not always be possible to sample utility systems, such as water systems, under full aseptic conditions; however, it should be noted that when samples are not taken aseptically, their reliability is inevitably compromised.

サンプルを微生物汚染させることは、擬陽性結果を起こすものであり、無菌操作法での注意深い予防的措置を取らない限り、常に起こる可能性が存在する。原料および賦形薬のサンプリングは、管理された条件の下で行われるように、設備を設計すること。これには適正な[更衣 \(gowning\)](#) および滅菌したサンプリング器具も含まれる。完全の無菌操作法条件のもとで、用水のようなユーティリティのシステムで試料をとることは必ずしも可能ではない。 ; しかしながらサンプルをそのように無菌的に採取出来ないときは、必然的にその信頼性が、損なわれることを留意すること。

Environmental sampling methods should require minimal aseptic handling in loading and unloading sampling instruments. Whenever possible, sampling equipment should be loaded with its microbiological recovery media in the environment that is to be sampled.

環境試験のサンプリング方法は、「培地をセットしたサンプリング機器、または培地をセットしていないサンプリング機器」 (loading and unloading sampling instruments) で、最小限の無菌操作法的取扱いをすること。可能な場合には、サンプリング機器は、そのサンプリングを行なう環境においてその回収培地をセットすること。

All testing in laboratories used for critical testing procedures, such as sterility testing of final dosage forms, bulk product, seed cultures for biological production, or cell cultures used in biological

production, should be performed under controlled conditions. Isolator technology is also appropriate for critical, sterile microbiological testing. Isolators have been shown to have lower levels of environmental contamination than manned clean rooms, and therefore, are generally less likely to produce false-positive results. Proper validation of isolators is critical both to ensure environmental integrity and to prevent the possibility of false-negative results as a result of chemical disinfection of materials brought into or used within isolators (see *Sterility Testing—Validation of Isolator Systems* 〈 1208 〉).

重要な試験操作に使用する実験室での全ての試験は、管理された条件 (controlled conditions) の下で行なうべきである。例えば、次の様なものについての無菌試験などである。

- ・最終投与形態製剤 (final dosage forms)
- ・バルク製剤 (bulk product)
- ・生物製剤用のシードカルチャー (seed cultures for biological production)
- ・生物製剤用の細胞カルチャー (cell cultures)

アイソレータ技術もまた、重要でかつ無菌 (sterile) を必要とする微生物学的試験にも適切なものである。アイソレータは、ヒトが介在するクリーンルーム (manned clean rooms) よりも環境汚染が低いレベルにあることが立証されている。それゆえ一般的に擬陽性結果 (false-positive results) を起こす可能性が低くなるとされている。アイソレータの適正なバリデーションは、次の両方が重要である。

- ・環境の完全性を保証すること (to ensure environmental integrity)
- ・アイソレータで使用する、あるいは搬入する器材の化学的消毒の結果として生じる恐れがある擬陰性 (false-negative results) 結果(*)を防ぐこと

(USP の *Sterility Testing—Validation of Isolator Systems* 〈 1208 〉を参照のこと)

(訳注：Forum に掲載されたドラフトでは、次に続く項は、「職員の訓練」であったが、制定版では「サンプルの取扱い」と「培地の培養時間」の項が、この箇所に新たに加わった。)

6. SAMPLE HANDLING (サンプルの取扱い)

Viable microorganisms in most microbiology samples, particularly water, environmental monitoring and bioburden samples, are sensitive to handling and storage conditions. Critical parameters in these conditions include product (or sample) composition, container composition, time of storage, and temperature of storage. Therefore, it is important to minimize the amount of time between the sampling event and the initiation of testing and to control, as much as possible, the conditions of storage. If the sample is to be transported to a distant location for testing, then the conditions of transport (time, temperature, etc.) should be qualified as suitable for that test and sample. Guidance for water testing in this regard can be found in Water for Pharmaceutical

Purposes <1231>. Product mixing before sampling may need to be evaluated and applied in order to ensure microbial dispersment and representation in the sample aliquot.

多くの微生物学的なサンプル、特に、水、環境モニタリングおよびバイオバーデンのサンプル中の生菌 (viable microorganisms) は、取扱い (handling) と保管 (storage) の条件に敏感である。それらの条件で決定的に重要なパラメータ (critical parameters) は、次のものである。

- ・製品 (またはサンプル) の組成 (product (or sample) composition)
- ・容器の組成 (container composition)
- ・保管時間 (time of storage)
- ・保管温度 (temperature of storage)

それゆえ、サンプリング時点 (sampling event) と試験の開始 (initiation of testing) を最小化し、そして、出来る限り保管条件を制御することが重要である。もしサンプルを試験のために離れている場所 (distant location) に移送するのであれば、その場合は、移送条件 (時間、温度など) を、その試験およびサンプルに対して適切となるように適格性評価をすること。この観点での水の試験のガイダンスは、(訳注: USPの) Water for Pharmaceutical Purposes <1231>で、みることが出来る。サンプリング前の製品の混合 (product mixing) を評価することが必要となるであろう。これは、採取したサンプル (sample aliquot) が微生物の分散と (訳注: サンプルの母集団を) 代表していることを保証するために行われるものである。

All microbiological samples should be taken using aseptic techniques, including those taken in support of nonsterile products. If possible, all microbiological samples should be taken under full aseptic conditions in specialized sampling areas. The areas should be as close to the point of use as possible to minimize contamination during transit.

微生物学的なサンプルは全て、無菌操作法のテクニックを用いて採取する。これには、非無菌製剤の (訳注: 菌数が適正であるとの) 裏付けで採取するサンプルも含まれる。もし可能であれば、全ての微生物学的なサンプルは、その目的に特化させたサンプリング区域 (specialized sampling areas) で、十分な無菌操作法での条件の下で採取すること。

Samples submitted to the microbiology laboratory should be accompanied by documentation detailing source of the sample, date the sample was taken, date of sample submission, person or department responsible for the submission, and any potentially hazardous materials associated with the sample. The testing department should acknowledge receipt of the sample and reconcile the identity and number of samples as part of this sample documentation.

微生物ラボに提出するサンプルは、以下の細部の事項を述べた文書を伴うこと。

- ・サンプルの由来箇所 (source of the sample)
- ・サンプル採取日 (date the sample was taken)
- ・サンプル提出日 (date of sample submission)

- ・ サンプル提出に関して責任を有する職員あるいは部門 (person or department responsible for the submission)
- ・ 当該サンプル危害を及ぼす物質か否か (any potentially hazardous materials associated with the sample)

当該試験部門は、サンプルの受領を承認し、そして、このサンプルの文書化の一部として、サンプルの
特定と数量の照合を行う (reconcile) こと。

7. MICROBIOLOGICAL MEDIA INCUBATION TIMES (培地の培養時間)

Incubation times for microbiological tests of less than 3 days' duration should be expressed in hours: e.g.,
“Incubate at 30 to 35 for 18 to 72 hours”. Tests longer than 72 hours' duration should be expressed in
days: e.g., “Incubate at 30 to 35 for 3 to 5 days”. For incubation times expressed in hours, incubate for
the minimum specified time, and exercise good microbiological judgment when exceeding the
incubation time.

3 日間よりも少ない微生物試験の培養時間は、時間の単位で表現すべきである。: 例えば、“30～35℃で、
72 時間培養 (Incubate at 30 to 35 for 18 to 72 hours)” というようにする。72 時間より長い培養期間の試験は、日数
で表現すべきである。: 例えば “30～35℃で、3～5 日間 (Incubate at 30 to 35 for 3 to 5 days)” というようにす
る。時間 (in hours) で表現された培養時間に対しては、最小の規定された時間は培養し、そして、培養時
間を超えている場合には、それは良好な微生物学的な判断を与えることになる (exercise good microbiological
judgment when exceeding the incubation time)。(訳者注: 最小時間を超えて培養した方が望ましいという意味であろう。)

For incubation times expressed in days, incubations started in the morning or afternoon should
generally be concluded at that same time of day.

日数で表現された培養時間は、朝からのスタートでも午後からのスタートでも、一般的には同じ日 (same
time of day) と判断すること。

(訳者注: 培養時間の経過による菌数の変化は、各試験系によって大きく異なる。大きく関与する因子は、①培地成分、②培養温度、
および③サンプル中に存在するマイクロフローラ (菌種、菌種の構成および各菌種の菌数) である。これらは相互に関連しており、単
純な図式で説明することできない。微生物試験は不特定多数の菌種を対象とする試験である。したがって全ての菌種とその菌数は測定
できず、ある意味、ごく一部の菌種しか見ていない。逆説的な言い方をすれば、試験法の条件で生育できた菌を測定しているのに過ぎ
ない。培養時間と菌数変化の関係は、ルーチンの試験を通して、規定された時間 (日数) でまず判定してそれを記録し、更に培養時間
を延長して、再度判定をして菌数を測定する・・・といったことを通して、データベースとして構築することが必要である。この場合、
季節によるマイクロフローラの変化の可能性を考慮する必要である。また、菌数測定で、培養時間と共に出現する菌種が異なることも、
良く見られる現象である。)

8. TRAINING OF PERSONNEL (職員の訓練)

Each person engaged in all phases of pharmaceutical manufacture should have the education, training, and experience to do his or her job. The demands of microbiological testing require that the core educational background of the staff, supervisors, and managers be in microbiology or a closely related biological science. They should be assigned responsibilities in keeping with their level of skill and experience.

医薬品の製造の全ての面において、それに関わる各職員は、その従事する職務(job)に対して教育(education)、訓練(training)を受け、そして経験(experience)を持つこと。微生物試験で求められることは、スタッフ、監督者(supervisors) およびマネジャーの中核となる教育的背景(core educational background)が、微生物学あるいはそれに非常に関連のもつ生物科学であるということである。彼らには、能力(skill)や経験(experience)のレベルの保持に責任を持たせること。

A coherent system of standard operating procedures (SOPs) is necessary to run the microbiology laboratory. These procedures serve two purposes in a training program. Firstly, these SOPs describe the methodology that the microbiologist will follow to obtain accurate and reproducible results, and so serve as the basis for training. Secondly, by tracking the procedures in which a particular microbiologist has demonstrated proficiency, the procedure number or title also serves to identify what training the microbiologist has received specific to his or her job function.

微生物実験室を運営して行くためには、その標準操作手順(standard operating procedures ; SOPs)の論理的に整然とした首尾一貫したシステム(coherent system)が必要となる。それらの手順書は、訓練プログラムで、次の2つの目的のために役立つものである。

- ・ 第一に、それらの SOPs は、微生物試験担当者が正確かつ再現性のある結果を得られるような方法論を記載しており、それを訓練の基礎として役立たせることができる。
- ・ 第二に、熟達(proficiency)していることが証明されている微生物試験担当者の手順書を追跡(tracking)すれば、その手順書の番号や題名は、微生物試験担当者が職務(job)に関してどの様な訓練を受けるべきかを特定することにも役立つ。

Training curricula should be established for each laboratory staff member specific for his or her job function. ~~They~~ He or she should not independently conduct a microbial test until ~~they are~~ qualified to run the test. Training records should be current, documenting the microbiologist's training in the proper revision to the particular SOP.

訓練カリキュラムは、実験室スタッフの各メンバーについてその職務に応じて確立すること。その試験を実施する資格を得るまでは、一人でその試験を行なわないこと。訓練記録は、常に更新した状態にあり、ある SOP に対して、正しい改訂版で、微生物試験担当者の訓練が行われたことが文書化されている

こと。訓練記録は、常に更新した状態にあり、ある SOP に対して、正しい改訂版で、微生物試験担当者の訓練を行ったことが文書化されていること。

Periodic performance assessment is a wise investment in data quality. This performance testing should provide evidence of competency in core activities of the microbiology laboratory such as hygiene, plating, aseptic technique, documentation, and others as suggested by the microbiologist's job function.

定期的に能力を評価することは、データの質 (data quality) への賢明な投資となる。この能力評価の試験 (performance testing) は、微生物試験担当者の中核となる活動 (次に述べるようなものがある) における遂行能力 (competency) の証拠を与えること。 ;

- 衛生管理 (hygiene)
- 平板調製 (plating)
- 無菌操作法テクニック (aseptic technique)
- 文書化 (documentation)
- その他 (微生物試験担当者の業務で示唆されるような事項)

Microbiologists with supervisory or managerial responsibilities should have appropriate education and in-house training in supervisory skills, laboratory safety, scheduling, laboratory investigations, technical report writing, relevant SOPs, and other critical aspects of the company's processes as suggested in their role of directing a laboratory function.

監督的な、あるいはマネーじ的な責任を有する微生物試験担当者は、次の様な適切な教育 (education) と社内訓練 (in-house training) を受けること。

- 管理能力 (supervisory skills)
- 実験室安全管理 (laboratory safe)
- 計画作成 (scheduling)
- 実験室調査 (laboratory investigations)
- 技術報告書の作成 (technical report writing)
- 関連する SOP (relevant SOPs)
- その他 (実験室機能の方向性を持つ役割が示唆されるような当該企業のプロセスの重要な側面)

Competency may be demonstrated by specific course work, relevant experience, and routinely engaging in relevant continuing education. Achieving certification through an accredited body is also a desirable credential. Further, it is expected that laboratory supervisors and managers have a demonstrated level of competence in microbiology at least as high as those they supervise. Expertise in microbiology can be achieved by a variety of routes in addition to academic course work and accreditation. Each company is expected to evaluate the credentials of those responsible

for designing, implementing, and operating the microbiology program. Companies can thus ensure that those responsible for the program understand the basic principles of microbiology, can interpret guidelines and regulations based on good science, and have access to individuals with theoretical and practical knowledge in microbiology to provide assistance in areas in which the persons responsible for the program may not have adequate knowledge and understanding. It should be noted that microbiology is a scientifically based discipline that deals with biological principles substantially different from those of analytical chemistry and engineering disciplines. Many times it is difficult for individuals without specific microbiological training to make the transition.

(訳注：微生物試験担当者の) コンピテンシー (competency；訳注 職務で一貫して高い能力を出す人の行動特性) は、次の事項 (訳注：の状況を見ること) によって証明されるであろう。

- ・ 特定のコースの業務状況 (specific course work)
- ・ 関連する経験 (relevant experience)
- ・ 関連する継続的な教育への日常的な参加状況 (routinely engaging in relevant continuing education)

認証されている団体を通して習得した資格 (achieving certification through an accredited body) もまた、望ましい資格 (desirable credential) である。更にラボの監督者とマネジャーは、彼らが監視 (管理) する人達の微生物学のコンピテンスよりも、少なくとも高いコンテンスの証明されたレベルを持つことが期待される。微生物学の専門知識は、学問的な課程の取得および適格性認定 (academic course work and accreditation) に加えて、様々なルートにより習得することが出来る。各社は、微生物学的な (訳注：教育の) プログラムを企画し、実施し、そして運営に責任を持つ者の資格を評価することを期待されている。そのような認定された資格を持つ者を持つことによって、各社は、そのプログラムに責任を持つ者が、微生物学の基本的な原則を理解すること出来て、目的にかなった科学に基づいてガイドラインや規則を解釈することが出来て、そして、そのプログラムに責任を有する人が適切な知識と理解を持たない分野には、その領域でのアシスタンス (支援) を与えることが出来る人 (すなわち、微生物学の理論と実務的な知識を持つ人) とアクセスして出来ることを、保証することが出来る。微生物学は、分析化学や工学の分野のそれとは大きく異なった生物学的な原理を取り扱う、科学に基づく分野 (scientifically based discipline) であることに注意すべきである。多くの場合、具体性のある微生物学的訓練 (specific microbiological training) をすることなく、ある人に技術を伝える (to make the transition) には困難である。

9. LABORATORY RESOURCES (ラボのリソース (人的資源))

The laboratory management is responsible for ensuring that the laboratory has sufficient resources to meet the existing testing requirements. This requires some proficiency in budget management and in determining appropriate measures of laboratory performance. A measure of laboratory performance is the number of investigations performed on tests conducted by the laboratory, but this measure alone is not sufficient. In addition to tracking investigations, the period of time between sample submission and initiation of

testing should be tracked, as well as the period of time between end of test and report release (or test closure). Significant delays in these measures are also indications of an under-resourced laboratory staff.

ラボの経営陣 (laboratory management) は、そのラボが既存の試験要求に合致させるのに十分なリソース (訳注: ここでは人的資源の意味) を持つことの保証に責任を有している。これには、予算のマネージメントと、ラボの業績の適切な評価指標 (appropriate measures) に、ある程度の習熟を必要とする。ラボの業績の評価指標は、そのラボが行う試験について実施される多数の調査があるが、このような評価指標のみでは十分ではない。調査のトラッキング (tracking ; 追跡) に加えて、「試験の終わり (end of test)」と「報告書提出 (report release) (または試験終了 ; test closure) の間の時間的長さは勿論のこと、「サンプルの提出 (sample submission)」と「試験の開始 (initiation of testing)」の間の時間的長さも追跡すべきである。それらの評価指標にかなりの遅れ (significant delays) があることもまた、ラボのスタッフの人員不足 (under-resourced laboratory staff) の指標である。

(訳者注 ; ICH Q10 の品質マネジメントシステムの考え方が新たに導入された)

10. DOCUMENTATION (文書化)

Documentation should be sufficient to demonstrate that the testing was performed in a laboratory and by methods that were under control. This includes, but is not limited to, documentation of the following:

文書化は、当該試験が実験室で行われたこと、かつ管理された方法によって行われたことを証明するのに十分なものであること。これには、以下のような事項 (これに限定されるものではないが) の文書化を含むものである。

- Microbiologist training and verification of proficiency
微生物試験担当者の訓練と熟練度の確認
- Equipment validation, calibration, and maintenance
機器のバリデーション、キャリブレーション、および保守
- Equipment performance during test (e.g., 24-hour/7-day chart recorders)
試験中の機器の性能維持 (例えば 24 時間毎の / 7 日間毎のチャート式の記録計)
- Media preparation, sterility checks, and growth-promotion and selectivity capabilities
培地調製、無菌性チェック、および生長促進性および選択性能力
- Media inventory and control testing
培地の在庫表と管理試験
- Critical ~~components~~ aspects of test conducted as specified by a procedure
試験の重要な要素概念が、その方法の規定通りに行われていること

- Data and calculations ~~verified~~-verification
データおよび計算のベリフィケーションが確認されていること
- Reports reviewed by QAU or a qualified responsible manager
報告書が、品質保証部門(AQU)または適格性を確認された当該責任を有する
マネジャーによりレビューされたこと
- Investigation of data deviations (if needed)
(必要な場合) データの逸脱の調査

8. MAINTENANCE OF LABORATORY RECORDS (実験室記録の維持管理)

Proper recording of data and studies is critical to the success of the microbiology laboratory. The over-riding principle is that the test should be performed as written in the SOP, the SOP should be written to reflect how the test is actually performed, and the laboratory notebook should provide a record of all critical details needed to reconstruct the details of the testing and confirm the integrity of the data. At a minimum, the laboratory write-up should include the following:

データおよび業務を適正に記録することは、微生物実験室の運営を成功させる上で重要である。主要な (over-riding) 原則は、次のようなものである。

- 試験は、SOP に記載されているように行なうこと
- SOP は、試験を実際にどの様に行なうかを、反映するように記載すること。
- 実験室のノート (laboratory notebook) は、試験の詳細を再現させ、かつデータの完全性を確認するのに必要な重要な詳細事項の全ての記録を与えること。

最小限でも、実験室での記録の付帯事項 (write-up) は、次のものを含むべきである。

- Date (日付)
- Material tested (試験した物品)
- Microbiologist's name (微生物試験者の氏名)
- Procedure number (試験方法の番号)
- Document test results (試験結果の文書化)
- Deviations (if any) (逸脱 ; もしあれば)
- Documented parameters (equipment used, microbial stock cultures used, media lots used)
(パラメーターの文書化(使用した機器、使用した保存培養菌、使用した培地のロット))
- Management/Second review signature
(マネージメント (管理者) / 他の人 (第二者) による照査のサイン)

Every critical piece of equipment should be noted in the write-up, and all should be on a calibration schedule documented by SOP and maintenance records. Where appropriate, logbooks or forms

should be available and supportive of the laboratory notebook records. Equipment temperatures (waterbaths, incubators, autoclaves) should be recorded and traceable.

機器の重要な部品は全て書き出し、それらのいずれも、SOP と保守記録によって文書化された校正プログラムの対象となっていること。該当する場合、ログブック（訳注：使用記録台帳）あるいは記入用紙（forms）は、実験室のノートの記録でそれを利用（訳注：引用）することが可能であり、かつそれらを裏付けるものであること。機器の温度（水浴、培養器、オートクレーブ）は記録し、トレースを可能とすること。

The governing SOP and revision should be clearly noted in the write-up. Changes in the data should be crossed off with a single line and initialed. Original data should not be erased or covered over.

管理している SOP とその改訂番号は、実験室記録の付帯記録（write-up）に明確に記載すること。データの変更は、一本線で消去し、署名を記載すること。元のデータは消去したり、塗りつぶしたりしないこと。

Test results should include the original plate counts, allowing a reviewer to recreate the calculations used to derive the final test results. Methods for data analysis should be detailed in cited SOPs. If charts or graphs are incorporated into laboratory notebooks, they should be secured with clear tape and should not be obstructing any data on the page. The chart or graph should be signed by the person adding the document, with the signature overlapping the chart and the notebook page. Lab notebooks should include page numbers, a table of contents for reference, and an intact timeline of use.

試験結果は、最初（オリジナル）の平板菌数のデータを含むこと。これによって照査者（reviewer）が、最終の試験結果を導くために使用した計算を再現することを可能にすること。データ分析の方法は、引用した SOP に詳しく記載すること。もしラボ・ノートブック（laboratory notebooks：訳注 いわゆる「生データ」に相当する記録）に、チャートやグラフが挿入されているならば、それらは透明なテープでしっかりと留め、そのページに記載されている如何なるデータも隠さないようにすること。チャートやグラフは、その文書を加える職員が、ラボ・ノートブックの当該ページとチャート（グラフ）がオーバーラップするようにして、そこに署名をすること。ラボ・ノートブックは、ページ番号、参照のための目次（a table of contents for reference）および使用に関しての完全な時間記録（an intact timeline of use）を含むこと。

（訳者注：データ完全性に関して細かく追加規定されていることが注目される。）

All laboratory records should be archived and protected against catastrophic loss. A formal record retention and retrieval program should be in place.

全ての実験室記録は保管し、壊滅的な損失 (catastrophic loss) から保護すること。正式な記録の保持と検索 (retrieval) プログラムを、適切なものとする。

11. INTERPRETATION OF ASSAY RESULTS (定量 (アッセイ) 試験結果の解釈)

Analytical microbiological assay results can be difficult to interpret for several important reasons:

(1) Microorganisms are ~~both~~ ubiquitous in nature, and common environmental contaminants, particularly organisms associated with humans predominate in many types of microbiological analysis; (2) The analyst has the potential to introduce contaminating organisms during sample handling or processing in the laboratory; (3) Microorganisms may not be homogeneously distributed within a sample or an environment; and (4) Microbiological assays are subject to considerable variability of outcome. Therefore, minor differences from an expected outcome may not be significant.

分析的な微生物定量試験の結果は、幾つかの重要な理由で判断が困難である。

- (1) 微生物は自然界に普遍的に存在し、また一般的な環境汚染菌としても存在する。特に、ヒトと関連する微生物が、多くのタイプでの微生物分析の主たる対象微生物となっている。
- (2) 分析者は、実験室でのサンプルの取扱い中あるいは処理中に汚染微生物を入れてしまう可能性をもっている。
- (3) 微生物はサンプルや環境中に、均一に分布していない
- (4) 微生物学的な定量法は、その結果がかなり変動する。

それゆえ、期待される結果からの微小な差異は、重大なものではないだろう。

Because of these characteristics of microbiological analysis, laboratory studies should be conducted with the utmost care to avoid exogenous contamination as previously discussed in this chapter. Equally important, results must be interpreted from a broad microbiological perspective considering not only the nature of the putative contaminant, but the likelihood of that organism(s) surviving in the pharmaceutical ingredient, excipient, or environment under test. In addition, the growth characteristics of the microorganism should be considered (especially in questions of the growth of filamentous fungi in liquid media).

この様な微生物分析が持つ特性のために、実験室での業務は、この 1117 の章で既に議論してきたように、外来汚染を避けるために最大限の注意を払って行なうこと。それと同じくらいに重要なことは、結果は、広い微生物学的な視野を踏まえて判断しなければならないことである。この判断に際して考慮すべき事項は、想定される汚染菌の性質のみならず、試験を行う医薬品成分、添加剤 (賦形薬) あるいは環境をも含むものである。更に微生物の生育特性を考慮すること (特に、液体培地における糸状菌の生長に問題がある)。

When results are observed that do not conform to a compendial monograph or another established ~~quantitative target~~, acceptance criteria, an investigation into the ~~finding~~ microbial data deviation (MDD) is required. There are generally two distinct reasons for the observation of microbial contamination that does not comply with a target or requirement: There may be either a laboratory error or laboratory environmental conditions that produced an invalid result, or the product contains a level of contamination or specific types of contaminants outside established levels or limits. In either case, laboratory management and, in most cases, general management should be notified immediately.

試験結果が、公定書の各条や他の確立された定量的な目標値 許容判断基準に適合しないことが判った時、その~~発見事項~~微生物学的データの逸脱 (MDD) の調査を開始することが必要である。目標値あるいは要求事項に適合しない微生物汚染が認められたことについて、一般的に2つの明確な理由が存在している。

①それが実験室エラーとなるか、妥当性を持たない結果を導くような実験室環境が存在する。

②その製品が、確立されたレベルや限度値を超えるような汚染レベルまたは特定の汚染菌を含む。

何れの場合にも、実験室の管理者 (management) と、多くの場合には総括管理者 (general management) に、直ちに通知を行なう。

(訳者注：“microbial data deviation (MDD)” という概念が追加されたことは、注目に値する。)

A full and comprehensive evaluation of the laboratory situation surrounding the result should be undertaken. All microbiological conditions or factors that could bring about the observed condition should be fully considered, including the magnitude of the excursion compared to established limits or levels. ~~It is critical to know if the finding is statistically significant in light of assay variability.~~ In addition, an estimate of the variability of the assay may be required in order to determine whether the finding is significant.

その試験結果をとりまくラボの状況の、充分かつ広汎な評価を行なうこと。その観察された状況 (condition) をもたらすには、どのような微生物学的状態あるいはファクターの場合に起こるかを、十分に考慮すること (訳注：この文は意識しており、注意が必要である)。これには確立された限度値やレベルと比較しての、その一過的な逸脱 (excursion) の大きさについての考慮も含まれる。~~その発見された事項が、使用した定量法の変動に照らし合わせて、統計的に有意かどうかを知ることが重要である。更に、その発見事項が~~意味を持つもの (significant) であるかを決定するために、定量 (assay) の変動の推定値が必要になる。

The laboratory environment, the protective conditions in place for sampling, historical findings concerning the material under test, and the nature of the material, particularly with regard to

microbial survival or proliferation in contact with the material, should be considered in the investigation. In addition, interviews with the laboratory analyst(s) may provide information regarding the actual conduct of the assay that can be valuable in determining the reliability of the result and in determining an appropriate course of action. If laboratory operations are identified as the cause of the nonconforming test outcome, then a corrective action plan should be developed to address the problem(s). Following the approval and implementation of the corrective action plan, the situation should be carefully monitored and the adequacy of the corrective action determined.

その調査では、下記の事項を考慮すること

- ・ 実験室環境はどうであったか
- ・ サンプルングに適した保護的条件であったかどうか
- ・ 当該被検品に関しての過去の状況 (historical findings)
- ・ 当該品の性質 (特に、その物品と接触して微生物が生存するか増殖するかに関して)

更に、その実験担当者に対するインタビューは、その定量試験の実際の行為に関する情報を与えるものであり、その測定結果の信頼性を決定する上で、および措置の適正な方向性を決定する上で価値がある。もし実験室での操作が、不適合試験結果の原因として特定されたならば、当該問題に対処するためには是正措置計画を制定すること。是正処置計画の承認と実行の後に、その状況を注意深くモニタリングし、その是正措置の適切性を決定すること。

If assay results are invalidated ~~based upon~~ the basis of discovery of an attributable error, this action must be documented. Laboratories also should have approved procedures for confirmatory testing (retesting), and if necessary, resampling where specific regulatory or compendial guidance do not govern the conduct of an assay investigation.

もし定量結果が、その起因するエラーの発見を根拠として~~に基づいて~~無効となったのであれば、この措置を文書化しなければならない。実験室もまた、確認 (confirmatory) の試験 (再試験) の承認された手順を持つこと。そしてもし必要な場合、特定の法的規制または公定のガイダンスが、定量法調査の実施を縛っていないのであれば (訳注: 例えば公定書掲載の無菌試験でアイソレータでの実施は、再試験の縛りがある)、再サンプルングの承認された手順を持つこと。

2015年6月13日 了