

資料No. 1

日本薬局方の一部改正（案）について

平成20年12月9日
医薬食品局審査管理課

日本薬局方の一部改正（案）の概要

1. 一般試験法の改正

三薬局方で調和合意された内容を反映するもの。

(1) 4.05 微生物限度試験法

クロストリジアの試料調製方法の変更、サルモネラ試験の XLD カンテン培地の鑑別特性の試験菌株として、*E.coli* を削除する等の改正を行う。

(2) 4.06 無菌試験法

培地使用期間のバリデーションの実施、市販粉末培地の性能試験の調製バッチごとの実施等を規定するほか、全面的に改正を行う。

(3) 6.09 崩壊試験法

補助盤の溝の深さについて、改正を行う。

(4) 6.10 溶出試験法

回転バスケット及びパドル法による即放性製剤の試験液の液量について、記載の整備を行う。

2. リュウコツの改正、リュウコツ末の新規収載

リュウコツの供給状況等に鑑み、その品質を確保できる範囲で改正を行うとともに、それを粉末としたリュウコツ末を収載するもの。

(1) 生薬総則

リュウコツ末の新規収載に伴い、生薬総則を適用する生薬として、リュウコツ末を追加する。

(2) 医薬品各条（生薬等）

エキス剤又は浸剤・煎剤に用いるリュウコツについて、ヒ素の試験方法及び規格値を追加する。また、本改正に伴い、リュウコツ末の規格を新規収載する。

日本薬局方の一部改正（案）

生薬総則

生薬総則の部 1の条を次のように改める。

新	旧	備 考
<p>1 医薬品各条の生薬は、動植物の薬用とする部分、細胞内容物、分泌物、抽出物又は鉍物などであり、生薬総則及び生薬試験法を適用する生薬は次のとおりである。</p> <p>アカメガシワ、アセンヤク、アセンヤク末、アマチャ、アマチャ末、アラビアゴム、アラビアゴム末、アロエ、アロエ末、アンソッコウ、イレイセン、インチンコウ、インヨウカク、ウイキョウ、ウイキョウ末、ウコン、ウコン末、ウヤク、ウワウルシ、エイジツ、エイジツ末、エンゴサク、エンゴサク末、オウギ、オウゴン、オウゴン末、オウセイ、オウバク、オウバク末、オウレン、オウレン末、オンジ、オンジ末、カゴソウ、カシュウ、ガジュツ、カッコン、カノコソウ、カノコソウ末、カロコン、カンキョウ、カンゾウ、カンゾウ末、カンテン、カンテン末、キキョウ、キキョウ末、キクカ、キササゲ、キジツ、キョウカツ、キョウニン、クコシ、クジン、クジン末、ケイガイ、ケイヒ、ケイヒ末、ケツメイシ、ケンゴシ、ゲンチアナ、ゲンチアナ末、ゲンノショウコ、ゲンノショウコ末、コウカ、コウジン、コウブシ、コウブシ末、コウボク、コウボク末、ゴオウ、ゴシツ、ゴシユ、ゴボウシ、ゴミシ、コメデンブ、コロombo、コロombo末、コンズランゴ、サイコ、サイシン、サフラン、サンキライ、サ</p>	<p>1 医薬品各条の生薬は、動植物の薬用とする部分、細胞内容物、分泌物、抽出物又は鉍物などであり、生薬総則及び生薬試験法を適用する生薬は次のとおりである。</p> <p>アカメガシワ、アセンヤク、アセンヤク末、アマチャ、アマチャ末、アラビアゴム、アラビアゴム末、アロエ、アロエ末、アンソッコウ、イレイセン、インチンコウ、インヨウカク、ウイキョウ、ウイキョウ末、ウコン、ウコン末、ウヤク、ウワウルシ、エイジツ、エイジツ末、エンゴサク、エンゴサク末、オウギ、オウゴン、オウゴン末、オウセイ、オウバク、オウバク末、オウレン、オウレン末、オンジ、オンジ末、カゴソウ、カシュウ、ガジュツ、カッコン、カノコソウ、カノコソウ末、カロコン、カンキョウ、カンゾウ、カンゾウ末、カンテン、カンテン末、キキョウ、キキョウ末、キクカ、キササゲ、キジツ、キョウカツ、キョウニン、クコシ、クジン、クジン末、ケイガイ、ケイヒ、ケイヒ末、ケツメイシ、ケンゴシ、ゲンチアナ、ゲンチアナ末、ゲンノショウコ、ゲンノショウコ末、コウカ、コウジン、コウブシ、コウブシ末、コウボク、コウボク末、ゴオウ、ゴシツ、ゴシユ、ゴボウシ、ゴミシ、コメデンブ、コロombo、コロombo末、コンズランゴ、サイコ、サイシン、サフラン、サンキライ、サ</p>	

ンキライ末, サンザシ, サンシシ, サンシシ末, サンシユユ, サンショウ, サンショウ末, サンソウニン, サンヤク, サンヤク末, ジオウ, シゴカ, ジコッピ, シコン, シツリシ, シャクヤク, シャクヤク末, ジャショウシ, シャゼンシ, シャゼンソウ, ジュウヤク, シュクシャ, シュクシャ末, ショウキョウ, ショウキョウ末, ショウズク, ショウマ, シンイ, セッコウ, セネガ, セネガ末, センキュウ, センキュウ末, ゼンコ, センコツ, センソ, センナ, センナ末, センブリ, センブリ末, ソウジュツ, ソウジュツ末, ソウハクヒ, ソボク, ソヨウ, ダイオウ, ダイオウ末, タイソウ, タクシャ, タクシャ末, チクセツニンジン, チクセツニンジン末, チモ, チョウジ, チョウジ末, チョウトウコウ, チョレイ, チョレイ末, チンピ, テンマ, テンモンドウ, トウガシ, トウガラシ, トウガラシ末, トウキ, トウキ末, トウニン, トウニン末, トウヒ, ドクカツ, トコン, トコン末, トチュウ, トラガント, トラガント末, ニガキ, ニガキ末, ニンジン, ニンジン末, ニンドウ, バイモ, バクモンドウ, ハチミツ, ハッカ, ハマボウフウ, ハンゲ, ビヤクゴウ, ビヤクシ, ビヤクジュツ, ビヤクジュツ末, ビワヨウ, ビンロウジ, ブクリョウ, ブクリョウ末, ブシ, ブシ末, ベラドンナコン, ヘンズ, ボウイ, ボウコン, ボウフウ, ボタンピ, ボタンピ末, ホミカ, ボレイ, ボレイ末, マオウ, マクリ, マシニン, モクツウ, モッコウ, ヤクチ, ヤクモソウ, ユウタン, ヨクイニン, ヨクイニン末, リュウコツ, リュウコツ末, リュウタン, リュウタン末, リョウキョウ, レンギョウ, レンニク, ロジン, ロートコン.

ンキライ末, サンザシ, サンシシ, サンシシ末, サンシユユ, サンショウ, サンショウ末, サンソウニン, サンヤク, サンヤク末, ジオウ, シゴカ, ジコッピ, シコン, シツリシ, シャクヤク, シャクヤク末, ジャショウシ, シャゼンシ, シャゼンソウ, ジュウヤク, シュクシャ, シュクシャ末, ショウキョウ, ショウキョウ末, ショウズク, ショウマ, シンイ, セッコウ, セネガ, セネガ末, センキュウ, センキュウ末, ゼンコ, センコツ, センソ, センナ, センナ末, センブリ, センブリ末, ソウジュツ, ソウジュツ末, ソウハクヒ, ソボク, ソヨウ, ダイオウ, ダイオウ末, タイソウ, タクシャ, タクシャ末, チクセツニンジン, チクセツニンジン末, チモ, チョウジ, チョウジ末, チョウトウコウ, チョレイ, チョレイ末, チンピ, テンマ, テンモンドウ, トウガシ, トウガラシ, トウガラシ末, トウキ, トウキ末, トウニン, トウニン末, トウヒ, ドクカツ, トコン, トコン末, トチュウ, トラガント, トラガント末, ニガキ, ニガキ末, ニンジン, ニンジン末, ニンドウ, バイモ, バクモンドウ, ハチミツ, ハッカ, ハマボウフウ, ハンゲ, ビヤクゴウ, ビヤクシ, ビヤクジュツ, ビヤクジュツ末, ビワヨウ, ビンロウジ, ブクリョウ, ブクリョウ末, ブシ, ブシ末, ベラドンナコン, ヘンズ, ボウイ, ボウコン, ボウフウ, ボタンピ, ボタンピ末, ホミカ, ボレイ, ボレイ末, マオウ, マクリ, マシニン, モクツウ, モッコウ, ヤクチ, ヤクモソウ, ユウタン, ヨクイニン, ヨクイニン末, リュウコツ, リュウタン, リュウタン末, リョウキョウ, レンギョウ, レンニク, ロジン, ロートコン.

一般試験法

一般試験法の部 4.05 微生物限度試験法の条を次のように改める。

新	旧	備考
<p>4.05 微生物限度試験法</p> <p style="text-align: center;"> 略 </p> <p>I. 非無菌製品の微生物学的試験:生菌数試験</p> <p style="text-align: center;"> 略 </p> <p>4. 培地性能、測定法の適合性及び陰性対照</p> <p style="text-align: center;"> 略 </p> <p>4.3. 陰性対照</p> <p>試験状態を確認するために、試料液の代わりに使用した希釈液を用いて陰性対照試験を実施する。微生物の発育があってはならない。微生物の発育が認められた場合には、原因調査が必要である。また、陰性対照試験は5に記載の製品の試験においても実施する。</p> <p style="text-align: center;"> 略 </p> <p>II. 非無菌製品の微生物学的試験:特定微生物試験</p> <p>本試験法は、三薬局方での調和合意に基づき規定した試験法である。</p>	<p>4.05 微生物限度試験法</p> <p style="text-align: center;"> 略 </p> <p>I. 非無菌製品の微生物学的試験:生菌数試験</p> <p style="text-align: center;"> 略 </p> <p>4. 培地性能及び測定法の適合性</p> <p style="text-align: center;"> 略 </p> <p>4.3. 陰性対照</p> <p>試験状態を確認するために、試料液の代わりに希釈液を用いて陰性対照試験を実施する。微生物の発育があってはならない。</p> <p style="text-align: center;"> 略 </p> <p>II. 非無菌製品の微生物学的試験:特定微生物試験</p> <p>本試験法は、三薬局方での調和合意に基づき規定した試験法である。なお、三薬局方で調和されていない部分は「◆」で囲むことより示す。</p>	

 略 	 略
<p>3. 培地性能、試験の適合性及び陰性対照</p> <p>被験製品存在下においても微生物を検出する能力があることを確認する。また、試験結果に影響を及ぼすような試験法の変更や製品の処方変更があった場合には、再度、適合性を確認する。</p>	<p>3. 培地の性能試験及び試験の適合性</p> <p>被験製品存在下においても微生物を検出する能力があることを確認する。また、試験結果に影響を及ぼすような試験法の変更や製品の処方変更があった場合には、再度、適合性を確認する。</p>
 略 	 略
<p>3.2. 陰性対照</p> <p>試験状態を確認するために、試料液の代わりに使用した希釈液を用いて陰性対照試験を実施する。微生物の発育があつてはならない。微生物の発育が認められた場合には、原因調査が必要である。また、陰性対照試験は4.に記載の製品の試験においても実施する。</p>	<p>3.2. 陰性対照</p> <p>試験状態を確認するために、試料液の代わりに使用した希釈液を用いて陰性対照試験を実施する。微生物の発育があつてはならない。</p>
 略 	 略
<p>4.6. クロストリジア</p> <p>4.6.1. 試料調製及び加熱処理</p> <p>被験製品を2 g又は2 mL以上採り、「生菌数試験」に記載したように10倍希釈試料液（最低20 mL以上）を調製する。調製した試料液を少なくとも10 mLずつ2本の容器に分注し、1本は80℃で10分間加熱後、速やかに冷却し、他の1本は加熱しない。</p> <p>4.6.2. 選択培養</p> <p>それぞれから10 mLあるいは被験製品1 g又は1 mL相当量を（3.4.で決定した）適量の強化クロストリジア培地に接種し、嫌気的条件下で30～35℃で48時間培養する。培養後、コロンビアカンテン培地に各容器から</p>	<p>4.6. クロストリジア</p> <p>4.6.1. 試料調製及び加熱処理</p> <p>被験製品を「生菌数試験」に記載したように調製する。</p> <p>被験製品1 g又は1 mL以上に相当する量を2本等しく採る。そのうちの1本は80℃で10分間加熱後、速やかに冷却し、他の1本は加熱しない。</p> <p>4.6.2. 選択培養</p> <p>それぞれから[◆]1 g又は1 mL相当量[◆]を採って、強化クロストリジア培地100 mLが入っている2個の容器（38 mm×200 mm）又は他の容器に移す。嫌気的条件下で30～35℃で48時間培養する。培養後、コロンビ</p>

<p>移植し、嫌氣的条件下で 30 ～ 35℃で 48～72 時間培養する。</p> <p>4.6.3. 判定</p> <p>カタラーゼ反応陰性の桿菌（芽胞を有するか又は有さない）の嫌氣的発育が認められた場合は、陽性が示唆される。この場合は同定試験を行い確認する。</p> <p>コロンビアカンテン培地に定型集落の発育がみられないか、又は同定試験において陰性と判定された場合には、その製品は本試験に適合する。</p> <p style="text-align: center;"> 略 </p> <p>5. 推奨される溶液及び培地</p> <p>以下の溶液及び培地は、薬局方の微生物試験で規定されている目的にかなったものである。適合性が確認されれば他の培地を用いてもよい。</p>	<p>アカンテン培地に各試験管から移植し、嫌氣的条件下で 30 ～ 35℃で 48 時間培養する。</p> <p>4.6.3. 判定</p> <p>カタラーゼ反応陰性の桿菌（芽胞を有するか又は有しない）の嫌氣的発育が認められた場合は陽性と判定する。</p> <p>コロンビアカンテン培地に微生物の嫌氣的発育がみられないか、又はカタラーゼ試験が陽性と判定された場合には、その製品は本試験に適合する。</p> <p style="text-align: center;"> 略 </p> <p>5. 推奨される溶液及び培地</p> <p>以下の溶液及び培地は、薬局方の微生物試験で規定されている目的にかなったものである。同様の発育促進及び選択特性があれば、他の培地を用いてもよい。</p>	
--	--	--

4.05 微生物限度試験法 (続き)

新

表 4.05- II -1 培地の発育促進, 選択及び鑑別特性

培地	特性	試験菌株
略		
サルモネラ試験		
ラパポート・バシリアジス・サルモネラ増菌液体培地	発育促進	<i>Salmonella enterica</i> subsp. <i>enterica</i> serovar Typhimurium 又は <i>Salmonella enterica</i> subsp. <i>enterica</i> serovar Abony
	選択	<i>S.aureus</i>
XLD (キシロース・リジン・デソキシコール酸) カンテン培地	発育促進及び鑑別	<i>Salmonella enterica</i> subsp. <i>enterica</i> serovar Typhimurium 又は <i>Salmonella enterica</i> subsp. <i>enterica</i> serovar Abony
	略	

旧

表 4.05- II -1 培地の発育促進, 選択及び鑑別特性

培地	特性	試験菌株
略		
サルモネラ試験		
ラパポート・バシリアジス・サルモネラ増菌液体培地	発育促進	<i>Salmonella enterica</i> subsp. <i>enterica</i> serovar Typhimurium 又は <i>Salmonella enterica</i> subsp. <i>enterica</i> serovar Abony
	選択	<i>S.aureus</i>
XLD (キシロース・リジン・デソキシコール酸) カンテン培地	発育促進及び鑑別	<i>Salmonella enterica</i> subsp. <i>enterica</i> serovar Typhimurium 又は <i>Salmonella enterica</i> subsp. <i>enterica</i> serovar Abony
	鑑別	<i>E.coli</i>
略		

一般試験法の部 4.06 無菌試験法の条を次のように改める。

全部改正

4.06 無菌試験法

本試験法は、三薬局方での調和合意に基づき規定した試験法である。

無菌試験法は、無菌であることが求められている原薬又は製剤に適用される。本試験で満足すべき結果が得られても、それは単に本試験条件下で調べた検体中に汚染微生物が検出されなかったことを示しているだけである。

1. 微生物汚染に対する予防措置

無菌試験は無菌条件下で行われる。このため、試験環境は無菌試験の実施に適したものでなければならない。汚染を避けるためにとられる予防措置は、本試験で検出されるべきいかなる微生物にも影響を与えてはならない。作業区域の適切なサンプリング及び適切な制御の実施によって、本試験を実施する作業環境を適切に監視する。

2. 培地と培養温度

2.1. 一般要件

培地は、次のように調製するか、又は培地性能試験に適合する場合は同等の市販培地も使用できる。無菌試験用として適している培地は次のとおりである。液状チオグリコール酸培地は、嫌気性細菌の培養を主目的としているが、好気性細菌も検出できる。ソイビーン・カゼイン・ダイジェスト培地は、真菌及び好気性細菌の培養に適している。

2.2. 液状チオグリコール酸培地

液状チオグリコール酸培地

L-シスチン	0.5 g
カンテン	0.75 g
塩化ナトリウム	2.5 g
ブドウ糖（一水和物/無水）	5.5/5.0 g
酵母エキス（水溶性）	5.0 g
カゼイン製ペプトン	15.0 g
チオグリコール酸ナトリウム	0.5 g
又はチオグリコール酸	0.3 mL
レザズリン溶液（1→1000）、用時調製	1.0 mL
水	1000 mL

（滅菌後の pH 7.1±0.2）

L-シスチン、カンテン、塩化ナトリウム、ブドウ糖、水溶性酵母エキス及びカゼイン製ペプトンを水と混合し、加熱して溶かした後、チオグリコール酸ナトリウム又はチオグリコール酸を加えて溶かし、必要ならば水酸化ナトリウム試液を加え、滅菌後の pH が 7.1±0.2 になるように調整する。必要ならば、溶液を煮沸しないように加熱し、温かいうちに湿らせたろ紙を用いてろ過する。レザズリン溶液（1 → 1000）を加え、よく混和

した後、培養終了時に培地の淡赤色部分が上部 1/2 以下にとどまるような表面積と深さの比をもつ容器に所定量ずつ分注し、バリデートされた条件下で滅菌する。培地を保存する必要がある場合にはあらかじめ気密容器に入れて滅菌し、2 ~ 25℃で保存する。培地がその上部 1/3 を超えて淡赤色となった場合は、その淡赤色が消失するまで培地容器を水浴上又は流通蒸気中で加熱し、容器中への汚染空気の侵入を防ぎながら急速に冷却することで1回だけ使用できる。バリデートされた期間を超えて、保存した培地を使用してはならない。

液状チオグリコール酸培地は、30 ~ 35℃で培養する。メンブランフィルター法を適用できない水銀系の防腐剤を含む製品に対しては、培地性能試験に適合するならば、ソイビーン・カゼイン・ダイジェスト培地の代わりに液状チオグリコール酸培地を用い、20 ~ 25℃で培養することができる。

別に規定されているか、使用を規制当局が認める場合には、次のように調製した変法チオグリコール酸培地も使用可能である。カンテンとレザズリン溶液(1 → 1000)を除き、液状チオグリコール酸培地と同じ成分で調製し、バリデートされた条件下で滅菌する。滅菌後の pH が 7.1±0.2 になるように調整し、使用直前に水浴上で加熱する。変法チオグリコール酸培地は嫌気条件下で 30 ~ 35℃で培養する。

2.3. ソイビーン・カゼイン・ダイジェスト培地

ソイビーン・カゼイン・ダイジェスト培地

カゼイン製ペプトン	17.0 g
ダイズ製ペプトン	3.0 g
塩化ナトリウム	5.0 g
リン酸水素二カリウム	2.5 g
ブドウ糖 (一水和物/無水)	2.5/2.3 g
水	1000 mL

(滅菌後の pH 7.3±0.2)

全成分を水に溶かし、若干加温して溶液にする。溶液を室温に冷却し、必要ならば水酸化ナトリウム試液を加え、滅菌後の pH が 7.3±0.2 になるように調整する。必要ならばろ過をし、適当な容器に所定量ずつ分注し、バリデートされた条件下で滅菌する。直ちに使用しない場合は、あらかじめ気密容器に入れて滅菌し、2 ~ 25℃で保存する。バリデートされた期間を超えて保存した培地を使用してはならない。

ソイビーン・カゼイン・ダイジェスト培地は、20~25℃で培養する。

3. 培地の適合性

培地は、次の試験に適合すること。この試験は、製品の無菌試験実施前に、又は並行して行うことができる。

無菌性

培地の一部を 14 日間培養するとき、微生物の増殖を認めない。

好気性菌、嫌気性菌及び真菌に対する培地性能試験

市販液体培地及び粉末培地又は各成分から調製した培地の各バッチについて試験を行うこと。適切な微生物株を表 4.06-1 に示す。

液状チオグリコール酸培地には、次に示す少数(100 CFU 以下)の微生物を接種する。それぞれの微生物に対しては別々の培地容器を用いる。

Clostridium sporogenes

Pseudomonas aeruginosa

Staphylococcus aureus

ソイビーン・カゼイン・ダイジェスト培地には、次に示す少数（100 CFU 以下）の微生物を接種する。それぞれの微生物に対しては別々の培地容器を用いる。

Aspergillus niger

Bacillus subtilis

Candida albicans

細菌の場合は3日間、真菌の場合は5日間を超えないで培養する。

接種菌の継代数は、シードロット培養管理手法（シードロットシステム）を採用することにより、マスターシードロットから5代を超えないようにする。

微生物の増殖が肉眼で明らかに観察された場合には、当該培地は基準に適合している。

表 4.06 -1 培地性能試験及び手法の適合性試験に適している試験用菌株

好気性細菌	
<i>Staphylococcus aureus</i>	ATCC 6538, NBRC13276, CIP 4.83, NCTC 10788, NCIMB 9518
<i>Bacillus subtilis</i>	ATCC 6633, NBRC 3134, CIP 52.62, NCIMB 8054
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	ATCC 9027, NBRC 13275, NCIMB 8626, CIP 82.118
嫌気性細菌	
<i>Clostridium sporogenes</i>	ATCC 19404, CIP 79.3, NCTC 532 又は ATCC 11437, NBRC 14293
真菌	
<i>Candida albicans</i>	ATCC 10231, NBRC 1594, IP 48.72, NCPF 3179
<i>Aspergillus niger</i>	ATCC 16404, NBRC 9455, IP 1431.83, IMI 149007

4. 手法の適合性試験

次に述べる変更点以外は、「5. 製品の無菌試験」の項に示した方法と、厳密に同じ方法で試験を行う。

メンブランフィルター法

試験に供された容器の内容物をろ過した後、最終回の洗浄液に試験用菌株を 100 CFU 以下加えたものをろ過する。

直接法

試験に供された容器の内容物を培地に加えた後、試験用菌株 100 CFU 以下をその培地に接種する。

どちらの接種方法においても、「好気性菌、嫌気性菌及び真菌に対する培地性能試験」の項で示した菌株を用いる。陽性対照として培地性能試験を行う。培地を含む全ての容器は規定の温度で最長 5 日間培養する。

培養後、陽性対照に匹敵する肉眼的に明瞭な増殖が得られれば、被検製品は本試験条件下で抗菌活性を持たないか、又は抗菌活性が十分に除去されたものとみなす。当該手法は適切であり、試験条件を変更する必要はない。

被検製品の存在下で陽性対照に匹敵する肉眼的に明瞭な増殖が得られなければ、被検製品は当該試験条件下では十分除去できない抗菌活性を有している。この場合、抗菌活性を除去するために条件を変えて手法の適合性試験を繰り返す。

手法の適合性試験を行うのは、新しい製品に無菌試験を行う場合及び試験の実施条件に変更があった場合である。

手法の適合性試験は被検製品の無菌試験と同時に行うこともできる。

5. 製品の無菌試験

5.1. 一般要件

試験はメンブランフィルター法又は直接法によって行われる。試験には適切な陰性対照を置くこと。メンブランフィルター法は、ろ過可能な製品に適用する。例えば、ろ過可能な水性、アルコール性あるいは油性の製品、及び本試験条件下で抗菌力を有さない水性あるいは油性の溶剤に混和又は溶解する製品に対して用いる。

5.2. メンブランフィルター法

メンブランフィルターは、微生物の捕集効率が確立されている公称孔径が $0.45\ \mu\text{m}$ 以下のものを用いる。例えば、セルロースナイトレートフィルターは水溶性、油性、低濃度のアルコール性溶液に、セルロースアセテートフィルターは高濃度のアルコール性溶液に用いられる。抗生物質のような医薬品には、別途適切なフィルターが必要な場合もある。

次に示す手法は、直径約 $50\ \text{mm}$ のメンブランフィルターの使用を想定している。もし異なる直径のフィルターを用いる場合には、希釈及び洗浄液の容量はそれに応じて調整すべきである。ろ過器やメンブランフィルターは適切な方法で滅菌する。ろ過装置は、無菌条件下で被検溶液を導入・ろ過でき、メンブランフィルターの無菌的取りはずしと培地への移植ができるか、又はろ過器そのものに培地を加えて培養するのに適するように設計されていなければならない。

水性液剤

$1\ \text{g/L}$ の肉製又はカゼイン製ペプトン溶液 ($\text{pH}\ 7.1 \pm 0.2$) のような無菌希釈液の少量をろ過器中のメンブランフィルター上に注ぎろ過する。希釈液には、例えば抗生物質が試験対象の場合には、適切な中和剤や不活化剤を加えることができる。

試験すべき容器の内容物を必要なら手法の適合性試験で選んだ無菌希釈液の量で希釈後、表 4.06-2 に示した量より少なくならないように、1枚又は複数のメンブランフィルター上に移し、直ちにろ過する。当該製品が抗菌活性を有している場合には、手法の適合性試験で用いた無菌希釈液の量でメンブランフィルターを3回以上洗浄する。手法の適合性試験において抗菌活性を十分に除去できないことが立証されていても、メンブランフィルター当たり $100\ \text{mL}$ の洗浄液で5回を超えては洗浄しないこと。メンブランフィルターをろ過器から外し、半分に切断するか、あらかじめ試料溶液を二等分し、それぞれにつき同一のろ過操作を行うことによって得られた2枚のメンブランフィルターをそれぞれの培地に入れる。各培地の量は、手法の適合性試験で確立した量を用いる。又はメンブランフィルターを装着したろ過器内に試料溶液を二等分しろ過後、それぞれの培地を加える。培地を14日間以上培養する。

表 4.06-2 各培地当たりの最少試料採取量

容器の容量	他に規定されていない限りそれぞれの培地に接種する最少量
液剤	
1 mL 未満	全量
1 mL 以上 40 mL 以下	半量, ただし 1 mL 以上
40 mL 超 100 mL 以下	20 mL
100 mL 超	10%, ただし 20 mL 以上
抗生物質の液剤	1 mL
懸濁又は乳化して用いる非水溶性医薬品, クリーム又は軟膏剤	200 mg 以上
固形剤	
50 mg 未満	全量
50 mg 以上 300 mg 未満	半量, ただし 50 mg 以上
300 mg 以上 5 g 以下	150 mg
5 g 超	500 mg

水溶性固形剤

各培地に対し, 表 4.06-2 に規定する量以上を用いる. 添付の溶剤, 注射用水, 生理食塩液, 又は 1 g/L 肉製又はカゼイン製ペプトン中性溶液のような適切な溶剤に溶解し, 選んだ溶剤に適したメンブランフィルターを用いて「水性液剤」の項に示したように試験を行う.

油及び油性剤

各培地に対し, 表 4.06-2 に規定する量以上を用いる. 粘度の低い油及び油性溶液は, 希釈せずに乾いたメンブランフィルターでろ過する. 粘稠性の油は, 当該試験条件下で抗菌性がないことが立証されたミリスチン酸イソプロピルのような適切な無菌溶剤で希釈できる. 油が自重によりメンブランフィルターに浸透したのち徐々に加圧又は吸引することによってろ過する. 手法の適合性試験で適切であることが証明されている濃度の適切な乳化剤 (例えば 10 g/L ポリソルベート 80) を含む 1 g/L 肉製又はカゼイン製ペプトン中性溶液のような適切な無菌溶液を用い, メンブランフィルター当たり約 100 mL ずつで少なくとも 3 回洗浄する. 「水性液剤」の項に示したようにメンブランフィルターを培地に移すか又はろ過器に培地を加え, 同じ温度で同じ期間培養する.

軟膏剤及びクリーム

各培地に対し, 表 4.06-2 に規定する量以上を用いる. 脂肪基剤の軟膏剤や油中水型の乳剤は上述のようにミリスチン酸イソプロピルで 1% に希釈する. 必要ならば 40°C 以下で加温する. 例外的な場合で 44°C 以下までの加温が必要なこともある. できるだけ迅速にろ過したのち「油及び油性剤」の項に示したように操作を進める.

5.3. 直接法

別に規定するほか, 表 4.06-2 に示す量の製品を, その容量が培地容量の 10% を超えないように培地に直接接種する. 被検製品が抗菌活性を有する場合は, 適切な中和剤で中和した後に, 又は十分な量の培地で希釈する

ことによって試験を行う。大容量の製品を使用する必要がある時、接種による希釈影響を考慮に入れて高濃度の培地を用いる方が好ましい場合もある。適切な場合は、高濃度培地を容器内の製品に直接加えることも可能である。

油性液剤

手法の適合性試験において適切であることが証明された適切な乳化剤を適切な濃度に加えた（例えば 10 g/L ポリソルベート 80）培地を用いる。

軟膏剤とクリーム

1 g/L 肉製又はカゼイン製ペプトン中性溶液のような適切な無菌希釈液中で、選択された乳化剤で乳化することにより約 1:10 に希釈する。この希釈物を乳化剤を含まない培地に移植する。

接種した培地は 14 日間以上培養する。培養を培養期間中に数回観察する。油性製品を含む培養は毎日穏やかに振る。しかし嫌気性菌の検出のために液状チオグリコール酸培地を用いている場合は、嫌気条件を維持するために振とうや混合は最小限に保つ。

6. 観察と結果の判定

培養期間中及び最終日に、培地に肉眼的な微生物の増殖があるかどうかを調べる。被検材料が培地を混濁させ、微生物増殖の有無を肉眼的に容易に判定できない場合には、培養開始から 14 日後に当該培地の一部（1 mL 以上）を同じ培地の新たな容器に移し、元の培地と移植した培地の両方を 4 日間以上培養する。

微生物の増殖が観察されない場合は、被検製品は無菌試験に適合する。微生物の増殖が観察された場合は、当該被検製品に無関係な原因により試験が無効であったことを明確に証明できなければ、被検製品は無菌試験に適合しない。以下の条件のうち一つ以上を満たした場合のみ当該試験は無効と考えられる。

- a) 無菌試験施設の微生物学的モニタリングデータに問題が認められた場合；
- b) 無菌試験中に用いた試験方法を調査した結果、問題が認められた場合；
- c) 陰性対照中に微生物の増殖が認められた場合；
- d) 当該無菌試験から分離された微生物の同定後、こ（れら）の菌種の増殖が無菌試験実施中に用いた材料及び／又は手技に問題があると明らかに判断される場合。

試験が無効であることが判明したら、初回試験と同じ数の容器を用いて再試験を行う。再試験において微生物の増殖が観察されない場合は、被検製品は無菌試験に適合する。再試験において微生物の増殖が観察された場合には、被検製品は無菌試験に適合しない。

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

メンブランフィルター法を用いる場合は、可能ならいつでも容器内の全量を用いる。ただし、表 4.06-2 に示す量以上を用いる。必要ならば 1 g/L 肉製又はカゼイン製ペプトン中性溶液のような適切な無菌溶液で約 100 mL になるよう希釈する。

直接法を用いる場合は、他に規定されていなければ表 4.06-2 に示す量を用いる。被検製品の同じ試料について細菌及び真菌に対する無菌試験を行う。1 容器中の容量が両試験を行うのに不十分な場合は、異なる培地に接種するのに 2 容器以上の内容物を用いる。

8. 最少供試個数

最少試験個数は、ロットサイズに応じて、表 4.06-3 に示す個数を用いる。

表 4.06-3 最少供試個数

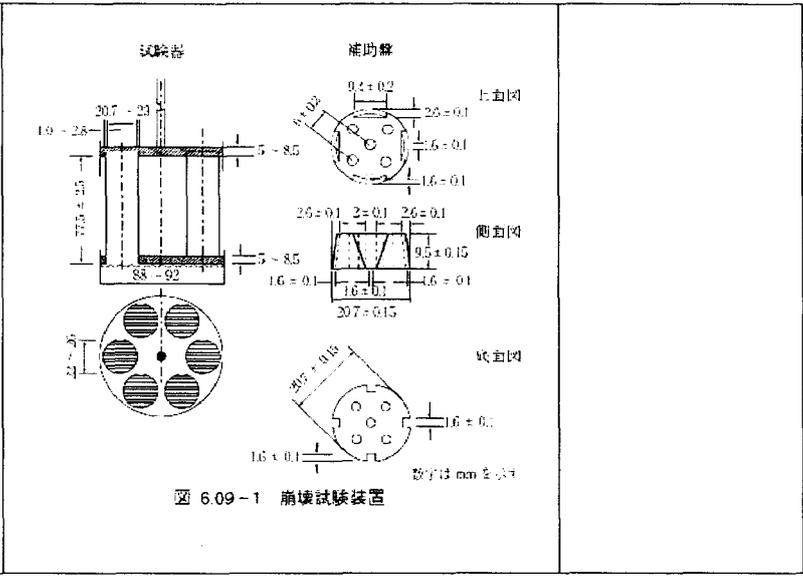
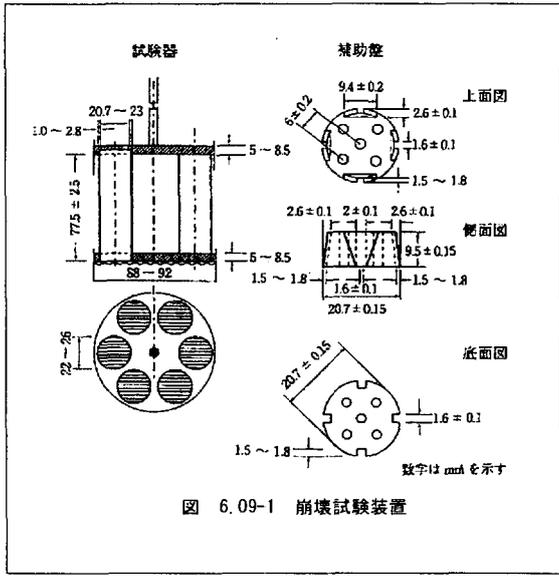
ロット当たりの製造個数*	他に規定されていない限り,それぞれの培地当たりの最少試験個数**
注射剤 100 個以下 101 個以上 500 個以下 501 個以上	10%又は 4 容器のうち多い方 10 容器 2%又は 20 容器(大容量製剤の場合は, 10 容器)のうち少ない方
眼軟膏剤及び点眼剤等の非注射剤 200 個以下 201 個以上 単回使用製品の場合は, 上欄の注射剤についての規定を適用する	5%又は 2 容器のうち多い方 10 容器
固形バルク製品 4 容器以下 5 容器以上 50 容器以下 51 容器以上	各容器 20%又は 4 容器のうち多い方 2%又は 10 容器のうち多い方

* ロットサイズが不明の場合には, ここに示した最大数を用いること.

** 1 容器の容量が二つの培地に接種するのに十分な場合は, 本欄は両培地合わせて必要な供試容器数を示す.

一般試験法の部 6.09 崩壊試験法の条装置の項補助盤の目を次のように改める。

新	旧	備考
<p>6.09 崩壊試験法</p> <p>装置</p> <p style="text-align: center;"> 略 </p> <p>補助盤 補助盤は、各条にその使用が規定されている場合にのみ、各ガラス管に入れて使用できる。補助盤は、高さ $9.5 \pm 0.15 \text{ mm}$、直径 $20.7 \pm 0.15 \text{ mm}$ の円柱状で、比重 $1.18 \sim 1.20$ の透明なプラスチックからなる。補助盤には、盤の上下を垂直に貫く直径 $2 \pm 0.1 \text{ mm}$ の孔が五つ平行に開いており、一つは補助盤の中心に、他の四つは中心から $6 \pm 0.2 \text{ mm}$ の距離にそれぞれ等間隔に開いている。補助盤の側面には、盤面とほぼ直角に、同一の台形状の切り込みが 4 つ等間隔にある。台形は対称形で、上下の平行線は、中心軸から 6 mm にある隣接した 2 つの孔を結ぶ線と平行に位置している。台形の平行線の下線部は長さ $1.6 \pm 0.1 \text{ mm}$ で円周部から深さ <u>$1.5 \sim 1.8 \text{ mm}$</u> の位置にあり、上線部は長さ $9.4 \pm 0.2 \text{ mm}$ で深さ $2.6 \pm 0.1 \text{ mm}$ の位置にある。補助盤は図 6.09-1 の規格に適合するもので、表面はすべて滑らかである。補助盤の使用が規定されている場合は、それぞれのガラス管に 1 個の補助盤を入れ、操作法に従い試験する。なお、崩壊を自動的に検出する目的で、加工した特殊な補助盤を用いる場合、その補助盤の比重、サイズは規格に適合するものでなければならない。また、それが使用できるのは各条で規定されている場合に限られる。</p>	<p>6.09 崩壊試験法</p> <p>装置</p> <p style="text-align: center;"> 略 </p> <p>補助盤 補助盤は、各条にその使用が規定されている場合にのみ、各ガラス管に入れて使用できる。補助盤は、高さ $9.5 \pm 0.15 \text{ mm}$、直径 $20.7 \pm 0.15 \text{ mm}$ の円柱状で、比重 $1.18 \sim 1.20$ の透明なプラスチックからなる。補助盤には、盤の上下を垂直に貫く直径 $2 \pm 0.1 \text{ mm}$ の孔が五つ平行に開いており、一つは補助盤の中心に、他の四つは中心から $6 \pm 0.2 \text{ mm}$ の距離にそれぞれ等間隔に開いている。補助盤の側面には、盤面とほぼ直角に、同一の台形状の切り込みが 4 つ等間隔にある。台形は対称形で、上下の平行線は、中心軸から 6 mm にある隣接した 2 つの孔を結ぶ線と平行に位置している。台形の平行線の下線部は長さ <u>$1.6 \sim 0.1 \text{ mm}$</u> の位置にあり、上線部は長さ $9.4 \pm 0.2 \text{ mm}$ で深さ $2.6 \pm 0.1 \text{ mm}$ の位置にある。補助盤は図 6.09-1 の規格に適合するもので、表面はすべて滑らかである。補助盤の使用が規定されている場合は、それぞれのガラス管に 1 個の補助盤を入れ、操作法に従い試験する。なお、崩壊を自動的に検出する目的で、加工した特殊な補助盤を用いる場合、その補助盤の比重、サイズは規格に適合するものでなければならない。また、それが使用できるのは各条で規定されている場合に限られる。</p>	



一般試験法の部 6.10 溶出試験法の条操作の項回転バスケット法及びパドル法の目を次のように改める。

新	旧	備考
<p>6.10 溶出試験法</p> <p>操 作 回転バスケット法及びパドル法 即放性製剤</p> <p style="text-align: center;"> 略 </p> <p><u>試験液：適切な試験液を用いる。規定された液量は、20～25℃での計量値に相当する。試験液が緩衝液の場合、pHを規定値の±0.05以内となるように調整する。（注：試験液に溶存している気体は気泡の原因となることがあり、試験結果に影響を与えることがある。溶存している気体が溶出試験結果に影響を及ぼす場合には、試験の前に脱気する4.）</u></p>	<p>6.10 溶出試験法</p> <p>操 作 回転バスケット法及びパドル法 即放性製剤</p> <p style="text-align: center;"> 略 </p> <p><u>規定された試験液を用いる。試験液が緩衝液の場合、pHを規定値の±0.05以内となるように調整する。（注：試験液に溶存している気体は気泡の原因となることがあり、試験結果に影響を与えることがある。溶存している気体が溶出試験結果に影響を及ぼす場合には、試験の前に脱気する4.）</u></p>	

医薬品各条（生薬等）

医薬品各条の部 リュウコツの条基原の項、純度試験の項（2）の目を次のように改める。

新	旧	備 考
<p>リュウコツ</p> <p>本品は大型ほ乳動物の化石化した骨で、主として炭酸カルシウムからなる。</p> <p><u>本品のうち、エキス剤又は浸剤・煎剤に用いるものについてはその旨表示する。</u></p> <p>純度試験</p> <p>(2) ヒ素〈1.11〉 本品の粉末 0.20 g をとり、第 2 法により検液を調製し、試験を行う（10 ppm 以下）。</p> <p><u>なお、エキス剤又は浸剤・煎剤に使用する、と表示するものについての操作法及び限度値は次のとおりとする。</u></p> <p><u>本品の粉末 4.0 g を遠心沈殿管にとり、水 30 mL を加えて、水浴中で時々振り混ぜながら、液量が約 15 mL になるまで加熱する。冷後、遠心分離し、上澄液を検液とし、試験を行う（0.5 ppm 以下）。</u></p>	<p>リュウコツ</p> <p>本品は大型ほ乳動物の化石化した骨で、主として炭酸カルシウムからなる。</p> <p>純度試験</p> <p>(2) ヒ素〈1.11〉 本品の粉末 0.20 g をとり、第 2 法により検液を調製し、試験を行う（10 ppm 以下）。</p>	

医薬品各条の部 リュウコツの条の次に次の一条を加える。

新規収載

リュウコツ末

Powdered Longgu

FOSSILIA OSSIS MASTODI PULVERATUM

竜骨末

本品は「リュウコツ」を粉末としたものである。

生薬の性状 本品は淡灰白色～淡灰褐色を呈し、におい及び味はない。

確認試験

- (1) 本品 0.1 g に硝酸 5 mL を加え、加温して溶かし、セモリブデン酸六アンモニウム試液を加えるとき、黄色の沈殿を生じる。
- (2) 本品 0.5g を希塩酸 10 mL に溶かすとき、ガスを発生し、わずかに淡褐色を帯びるやや混濁した液となる。このガスを水酸化カルシウム試液に通じるとき、白色の沈殿を生じる。
- (3) (2) で得た混濁液は特異なにおいを発する。この液をろ過し、アンモニア試液で中和した液はカルシウム塩の定性反応 (1.09) の(1)、(2)及び(3)を呈する。

純度試験

- (1) 重金属 (1.07) 本品 2.0 g に水 5 mL を加えて振り混ぜた後、徐々に塩酸 6 mL を加え、水浴上で蒸発乾固し、残留物を水 50 mL に溶かし、ろ過する。ろ液 25 mL に希酢酸 2 mL、アンモニア試液 1 滴及び水を加えて 50 mL とする。これを検液とし、試験を行う。比較液は塩酸 3 mL を水浴上で蒸発乾固し、希酢酸 2 mL、鉛標準液 2.0 mL 及び水を加えて 50 mL とする (20 ppm 以下)。
- (2) ヒ素 (1.11) 本品 0.20 g をとり、第 2 法により検液を調製し、試験を行う (10 ppm 以下)。

資料No. 2

日本薬局方新規収載候補品目（案）について

平成20年12月9日
医薬食品局審査管理課

日本薬局方新規収載候補品目（案）について

○日本薬局方新規収載候補品目（案）について

平成20年6月から平成20年9月までに製造販売業者等から独立行政法人医薬品医療機器総合機構（以下「機構」という。）に対して、新規収載の要望があった16品目について、機構の日本薬局方原案審議委員会の総合委員会において、第十六改正日本薬局方作成基本方針（平成18年7月薬事・食品衛生審議会答申）に基づき審議されたところ。その結果、すべての品目について収載することが適当とされた。

日本薬局方新規収載候補品目（案）

No.	品 目	No.	品 目
1	レボフロキサシン点眼液	2	ピロカルピン塩酸塩錠
3	フルボキサミンマレイン酸塩錠	4	ビカルタミド
5	ビカルタミド錠	6	セトチアミン塩酸塩水和物
7	70%一硝酸イソソルビド乳糖末	8	一硝酸イソソルビド錠
9	セキシャク	10	シンギ
11	タンジン	12	トウジン
13	シャカンゾウ	14	バクガ
15	ゴマ	16	ニクジュヨウ

なお、本収載候補品目の名称については、別途、日本薬局方原案審議委員会にて審議を行う予定である。

薬機発第 1117089 号
平成 20 年 11 月 17 日

厚生労働省医薬食品局審査管理課長 殿

独立行政法人 医薬品医療機器総合機構理事長

日本薬局方新規収載候補品目（案）の報告について

独立行政法人医薬品医療機器総合機構法第 15 条第 1 項第 5 号ハの規定により、厚生労働省が制定する日本薬局方のための調査及び情報の整理等を行い、日本薬局方新規収載候補品目（案）を作成したので別添のとおり報告致します。

別添

日本薬局方新規収載候補品目（案）の作成に関する報告

第十五改正日本薬局方については平成18年3月に告示され、第十五改正日本薬局方第一追補については平成19年9月に告示されたところである。現在、第十五改正日本薬局方第二追補（平成21年9月に告示予定）及び第十六改正日本薬局方（平成23年3月に告示予定）に向けた改正作業が進められているところである。

日本薬局方は5年ごとの大改正及び2回の追補改正を行うことにより、医学薬学の進歩に応じて速やかに内容を改定するべく対応している。すなわち、平成18年8月に示された「第十六改正日本薬局方作成基本方針」には、日本薬局方の5本の柱の一つとして、「保健医療上重要な医薬品の全面的収載」が定められており、優先的に新規収載をすべき品目として、医療上汎用性があると考えられる医薬品等が掲げられている。

このような中、医薬品医療機器総合機構では、日本薬局方への収載要望に基づき、日本薬局方原案審議委員会の総合委員会の各委員の意見を聴したところである。今般、本審議結果に基づき、第十六改正日本薬局方以降の新規収載候補品目として別紙のとおり案をとりまとめたので報告する。

(別紙)

日本薬局方新規収載候補品目(案)

No.	候補品目
1	レボフロキサシン点眼液
2	ピロカルピン塩酸塩錠
3	フルボキサミンマレイン酸塩錠
4	ビカルタミド
5	ビカルタミド錠
6	セトチアミン塩酸塩水和物
7	70%一硝酸イソソルビド乳糖末
8	一硝酸イソソルビド錠
(生薬等)	
9	セキシャク
10	シンギ
11	タンジン
12	トウジン
13	シャカンゾウ
14	バクガ
15	ゴマ
16	ニクジュヨウ

なお、本収載候補品目の名称は別途、日本薬局方原案審議委員会にて審議する予定である。

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

ウィンドウ関数：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)。

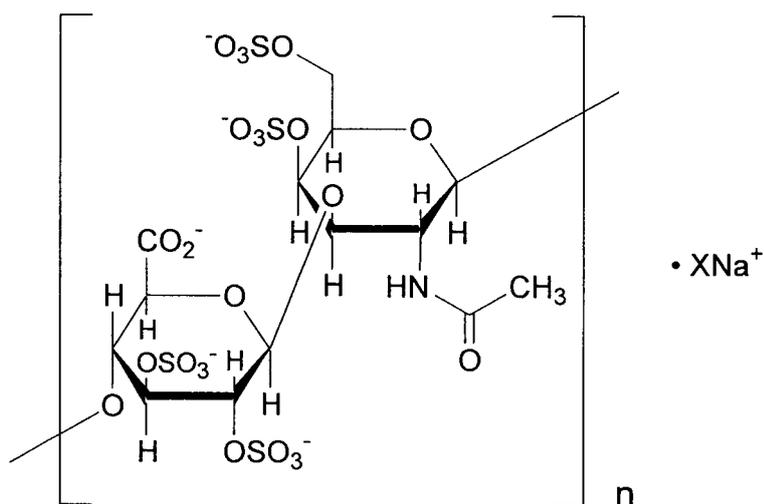


図1 日局過硫酸化コンドロイチン硫酸標準品の構造

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 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 \rightarrow 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 \rightarrow 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。

参考資料 No. 1 - 1

第十五改正日本薬局方

平成20年12月9日
医薬食品局審査管理課

生 薬 総 則

- 1 医薬品各条の生薬は、動植物の薬用とする部分、細胞内容物、分泌物、抽出物又は鉱物などであり、生薬総則及び生薬試験法を適用する生薬は次のとおりである。
- アカメガシワ、アセンヤク、アセンヤク末、アマチャ、アマチャ末、アラビアゴム、アラビアゴム末、アロエ、アロエ末、アンソッコウ、イレイセン、インチンコウ、インヨウカク、ウイキョウ、ウイキョウ末、ウコン、ウヤク、ウワウルシ、エイジツ、エイジツ末、エンゴサク、オウギ、オウゴン、オウゴン末、オウセイ、オウバク、オウバク末、オウレン、オウレン末、オンジ、オンジ末、カゴソウ、カシュウ、ガジュツ、カッコン、カノコソウ、カノコソウ末、カロコン、カンキョウ、カンゾウ、カンゾウ末、カンテン、カンテン末、キキョウ、キキョウ末、キクカ、キササゲ、キジツ、キョウカツ、キョウニン、クコシ、クジン、クジン末、ケイガイ、ケイヒ、ケイヒ末、ケツメイシ、ケンゴシ、ゲンチアナ、ゲンチアナ末、ゲンノショウコ、ゲンノショウコ末、コウカ、コウジン、コウブシ、コウブシ末、コウボク、コウボク末、ゴオウ、ゴシツ、ゴシユ、ゴボウシ、ゴミシ、コメデンブ、コロロボ、コロロボ末、コンズランゴ、サイコ、サイシン、サフラン、サンキライ、サンキライ末、サンシシ、サンシシ末、サンシユ、サンシヨウ、サンシヨウ末、サンソウニン、サンヤク、サンヤク末、ジオウ、シゴカ、ジコッピ、シコン、シツリシ、シャクヤク、シャクヤク末、ジャシヨウシ、シャゼンシ、シャゼンソウ、ジュウヤク、シュクシャ、シュクシャ末、シヨウキョウ、シヨウキョウ末、シヨウズク、シヨウマ、シンイ、セッコウ、セネガ、セネガ末、センキユウ、センキユウ末、センコツ、センソ、センナ、センナ末、センブリ、センブリ末、ソウジュツ、ソウジュツ末、ソウハクヒ、ソボク、ソヨウ、ダイオウ、ダイオウ末、タイソウ、タクシャ、タクシャ末、チクセツニンジン、チクセツニンジン末、チモ、チョウジ、チョウジ末、チョウトウコウ、チョレイ、チョレイ末、チンピ、テンマ、テンモンドウ、トウガシ、トウガラシ、トウガラシ末、トウキ、トウキ末、トウニン、トウニン末、トウヒ、トコン、トコン末、トチュウ、トラガント、トラガント末、ニガキ、ニガキ末、ニンジン、ニンジン末、ニンドウ、パイモ、バクモンドウ、ハチミツ、ハッカ、ハマボウフウ、ハンゲ、ビヤクシ、ビヤクジュツ、ビヤクジュツ末、ビワヨウ、ピンロウジ、ブクリヨウ、ブクリヨウ末、ブシ、ブシ末、ベラドンナコン、ヘンズ、ボウイ、ボウコン、ボウフウ、ボタンビ、ボタンビ末、ホミカ、ボレイ、ボレイ末、マオウ、マクリ、マシニン、モクツウ、モッコウ、ヤクチ、ユウタン、ヨクイニン、ヨクイニン末、リュウコツ、リュウタン、リュウタン末、リョウキョウ、レンジョウ、レンニク、ロジン、ロートコン。
- 2 生薬は、通例、全形生薬、切断生薬又は粉末生薬に分けて

取り扱う。

全形生薬は、その薬用とする部分などを乾燥し、又は簡単な加工をしたもので、医薬品各条に規定する。

切断生薬は、全形生薬を小片若しくは小塊に切断若しくは破碎したもの、又は粗切、中切若しくは細切したものであり、別に規定するもののほか、これを製するに用いた全形生薬の規定を準用する。

粉末生薬は、全形又は切断生薬を粗末、中末、細末又は微末としたものであり、通例、細末としたものについて医薬品各条に規定する。

- 3 生薬は、別に規定するもののほか、乾燥品を用いる。乾燥は、通例、60℃以下で行う。
- 4 生薬の基原は適否の判断基準とする。生薬の基原として、「その他同属植物」、「その他同属動物」、「その他近縁植物」及び「その他近縁動物」などと記載するものは、通例、同様の成分、薬効を有する生薬として用いられる原植物又は原動物をいう。
- 5 生薬の性状の項は、その生薬の代表的な原植物又は原動物に基づく生薬について、通例、その基準となる特徴的な要素を記載したものである。そのうち、色、におい及び溶解性については、においを適否の判定基準とすることを除き、通例の規定を準用する。また、味及び鏡検時の数値は、適否の判定基準とする。
- 6 粉末生薬のうち、別に規定するものについては賦形剤を加え、含量又は力価を調節することができる。
- 7 粉末生薬は、これを製するに用いた全形又は切断生薬中に含まれていない組織の破片、細胞、細胞内容物又はその他の異物を含まない。
- 8 生薬は、かび、昆虫又は他の動物による汚損物又は混在物及びその他の異物をできるだけ除いたものであり、清潔かつ衛生的に取り扱う。
- 9 生薬は、別に規定するもののほか、湿気及び虫害などを避けて保存する。虫害を防ぐため、適当なくん蒸剤を加えて保存することができる。ただし、このくん蒸剤は常温で揮散しやすく、その生薬の投与量において無害でなければならない。また、その生薬の治療効果を障害し、又は試験に支障をきたすものであってはならない。
- 10 生薬に用いる容器は、別に規定するもののほか、密閉容器とする。

一般試験法

一般試験法は、共通な試験法、医薬品の品質評価に有用な試験法及びこれに関連する事項をまとめたものである。別に規定するもののほか、アルコール数測定、アンモニウム試験、液体クロマトグラフィーによる試験、塩化物試験、炎色反応試験、エンドトキシン試験、核磁気共鳴スペクトル測定、かさ密度測定、ガスクロマトグラフィーによる試験、乾燥減量試験、眼軟膏剤の金属性異物試験、凝固点測定、強熱減量試験、強熱残分試験、屈折率測定、蛍光光度法による試験、原子吸光光度法による試験、抗生物質の微生物学的力価試験、鉍油試験、酸素フラスコ燃焼法による試験、残留溶媒試験、紫外可視吸光度測定、重金属試験、消化力試験、生薬の微生物限度試験、蒸留試験、浸透圧測定、水分測定、製剤均一性試験（含量均一性試験、質量偏差試験）、製剤の粒度の試験、制酸力試験、赤外吸収スペクトル測定、旋光度測定、タッブ密度測定、窒素定量、注射剤の採取容量試験、注射剤の不溶性異物検査、注射剤の不溶性微粒子試験、注射剤用ガラス容器試験、定性反応、滴定終点検出、鉄試験、点眼剤の不溶性微粒子試験、導電率測定、熱分析、粘度測定、薄層クロマトグラフィーによる試験、発熱性物質試験、pH 測定、比重測定、微生物限度試験、ヒ素試験、ビタミン A 定量、比表面積測定、沸点測定、プラスチック製医薬品容器試験、粉体の粒子密度測定、粉末 X 線回折測定、崩壊試験、密度測定、無菌試験、メタノール試験、有機体炭素試験、融点測定、輸液用ゴム栓試験、溶出試験、硫酸塩試験、硫酸呈色物試験及び粒度測定は、それぞれの試験法により行う。ただし、油脂の融点、脂肪酸凝固点、比重、酸価、けん化価、エステル価、水酸基価、不けん化物及びヨウ素価は、油脂試験法中のそれぞれの項に、生薬の試料の採取、分析用試料の調製、鏡検、純度試験、乾燥減量、灰分、酸不溶性灰分、エキス含量及び精油含量の試験は、生薬試験法中のそれぞれの項に従う。

それぞれの試験法等に付した番号は、一般試験法を分類し付与した固有のものである。医薬品各条等において、〈 〉を付すものは該当する一般試験法の番号を示す。

1. 化学的試験法

1.01 アルコール数測定法

アルコール数とは、チンキ剤又はその他のエタノールを含む製剤について、次の方法で測定した 15℃ における試料 10 mL 当たりのエタノール層の量 (mL) をいう。

第1法 蒸留法 15℃ で試料 10 mL を量り、次の方法で蒸留して得た 15℃ におけるエタノール層の量 (mL) を測定し、アルコール数とする方法である。

(1) 装置

図 1.01-1 に示すものを用いる。総硬質ガラス製で接続部はすり合わせにしてもよい。

(2) 試液

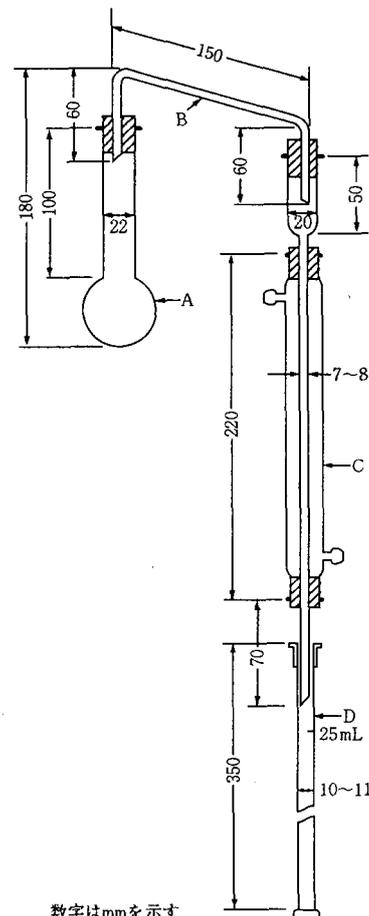
アルカリ性フェノールフタレイン試液 フェノールフタレイン 1 g に水酸化ナトリウム試液 7 mL 及び水を加えて溶かし、全量を 100 mL とする。

(3) 操作法

試料 10 mL を $15 \pm 2^\circ\text{C}$ で正確に量り、蒸留フラスコ A に入れ、水 5 mL を加え、沸騰石を入れ、注意してエタノール分を蒸留し、留液は共栓メスシリンダー D にとる。

蒸留は試料のエタノール含量によってほぼ表 1.01-1 に示す留液 (mL) を得るまで行う。

蒸留に際して著しく泡立つときは、リン酸若しくは硫酸を加えて強酸性とするか、又は少量のパラフィン、ミツロウ若しくはシリコーン樹脂を加えて蒸留する。



数字はmmを示す

- A : 蒸留フラスコ (50 mL)
- B : 連結管
- C : 冷却器
- D : 共栓メスシリンダー
(25 mL, 0.1 mL 目盛りのあるもの。)

図 1.01-1

(xix) ピオシアニン検出用シュードモナスカンテン培地

ゼラチン製ペプトン	20.0 g
塩化マグネシウム六水和物	3.0 g
硫酸カリウム	10.0 g
グリセリン	10 mL
カンテン	15.0 g
水	1000 mL

すべての成分を水に溶かして、グリセリンを加える。時々激しく振り混ぜながら加熱し、1 分間煮沸した後、121°C で 15 ~ 20 分間高圧蒸気滅菌する。滅菌後の pH 7.0 ~ 7.4。

(xx) フォーゲル・ジョンソンカンテン培地

カゼイン製ペプトン	10.0 g
酵母エキス	5.0 g
D-マンニトール	10.0 g
リン酸水素二カリウム	5.0 g
塩化リチウム	5.0 g
グリシン	10.0 g
フェノールレッド	0.025 g
カンテン	16.0 g
水	1000 mL

全成分を混和した後、1 分間煮沸して溶かす。121°C で 15 ~ 20 分間高圧蒸気滅菌後、45 ~ 50°C に冷却する。滅菌後の pH 7.0 ~ 7.4。これに滅菌亜テルル酸カリウム溶液 (1 → 100) 20 mL を加えて混和する。

(xxi) ベアード・パーカーカンテン培地

カゼイン製ペプトン	10.0 g
肉エキス	5.0 g
酵母エキス	1.0 g
塩化リチウム	5.0 g
グリシン	12.0 g
焦性ブドウ酸ナトリウム	10.0 g
カンテン	20.0 g
水	950 mL

全成分を混和し、時々激しく振り混ぜながら加熱し、1 分間煮沸する。121°C で 15 ~ 20 分間高圧蒸気滅菌した後、45 ~ 50°C に冷却する。滅菌後の pH 6.6 ~ 7.0。これに滅菌亜テルル酸カリウム溶液 (1 → 100) 10 mL と卵黄乳濁液 50 mL を加えて穏やかに混和した後、ペトリ皿に分注する。卵黄乳濁液は卵黄約 30 %、生理食塩液約 70 % の割合で混和して調製する。

(xxii) マンニット・食塩カンテン培地

カゼイン製ペプトン	5.0 g
肉製ペプトン	5.0 g
肉エキス	1.0 g
D-マンニトール	10.0 g
塩化ナトリウム	75.0 g
フェノールレッド	0.025 g
カンテン	15.0 g
水	1000 mL

全成分を混和し、時々激しく振り混ぜながら加熱し、1 分間煮沸した後、121°C で 15 ~ 20 分間高圧蒸気滅菌する。滅菌後の pH 7.2 ~ 7.6。

4.06 無菌試験法

本試験法は、三業局方での調和合意に基づき規定した試験法である。なお、三業局方で調和されていない部分は「* ♦」で囲むことにより示す。

本試験法は、培養法によって増殖しうる微生物（細菌又は真菌）の有無を試験する方法であり、別に規定するもののほか、I. メンブランフィルター法若しくは II. 直接法により試験を行う。

この試験に使用する水、試薬・試液及び器具、器材など必要なものはすべて滅菌したものをを用い、試験環境は無菌試験の実施に適していなければならない。操作は、無菌状態で厳密な無菌的注意のもとで行う。汚染を避けるためにとられる予防措置は、本試験で検出されるべきいかなる微生物にも影響を与えないものとする。試験に際しては、作業領域の適切なサンプリング及び適切な制御によって、試験実施状態が問題ないことを確認する。

培地、洗浄液及びその調製法

培地は、別に規定する場合を除き、通例、液状チオグリコール酸培地及びソイビーン・カゼイン・ダイジェスト培地を用いる。* 試料の混濁又は粘性のために、液状チオグリコール酸培地が使用しにくいときは、変法チオグリコール酸培地を用いてもよい。ただし、変法チオグリコール酸培地を用いるときは、使用直前に水浴上で加熱し、嫌気条件下で培養する。♦ また、これらの成分を有する適当な品質の培地を用いてもよい。

(1) 液状チオグリコール酸培地

L-シスチン	0.5 g
カンテン	0.75 g
塩化ナトリウム	2.5 g
ブドウ糖	5.0 g
又はブドウ糖一水和物	5.5 g
酵母エキス	5.0 g
カゼイン製ペプトン	15.0 g
チオグリコール酸ナトリウム	0.5 g
又はチオグリコール酸	0.3 mL
レザズリン溶液 (1 → 1000)、用時調製	1.0 mL
水	1000 mL

(滅菌後の pH 7.1 ± 0.2)

L-シスチン、カンテン、塩化ナトリウム、ブドウ糖、酵母エキス及びカゼイン製ペプトンを水と混合し、加熱して溶かした後、チオグリコール酸ナトリウム又はチオグリコール酸を溶解し、必要ならば水酸化ナトリウム試液を加え、滅菌後の pH が 7.1 ± 0.2 になるように調整する。必要ならば温かいうちにろ紙を用いてろ過する。レザズリン溶液を加え、よく混和した後、培養終了時に培地の淡赤色部分が上部 1/2 以下にとどまるような表面積と深さの比をもつ容器に所定量ずつ分注し、バリデートされた方法で滅菌した後、2 ~ 25°C で保存する。培地の上部 1/3 以上が淡赤色となったならば、その淡赤色が消失するまで培地容器を水浴中又は流通蒸気中で加熱し、容器中への汚染空気の侵入を防ぐような注意をしながら急速に冷却することで 1 回だけ使用できる。

◆(2) 変法チオグリコール酸培地

L-シスチン	0.5 g
塩化ナトリウム	2.5 g
ブドウ糖	5.0 g
又はブドウ糖一水和物	5.5 g
酵母エキス	5.0 g
カゼイン製ペプトン	15.0 g
チオグリコール酸ナトリウム	0.5 g
又はチオグリコール酸	0.3 mL
水	1000 mL

(滅菌後の pH 7.1±0.2)

調製法は、液状チオグリコール酸培地に準ずる。◆

(3) ソイビーン・カゼイン・ダイジェスト培地

カゼイン製ペプトン	17.0 g
ダイズ製ペプトン	3.0 g
塩化ナトリウム	5.0 g
リン酸水素二カルウム	2.5 g
ブドウ糖	2.3 g
又はブドウ糖一水和物	2.5 g
水	1000 mL

(滅菌後の pH 7.3±0.2)

全成分を加え、加温して溶かした後、必要ならば水酸化ナトリウム試液を加え、滅菌後の pH が 7.3±0.2 になるように調整する。必要ならば紙を用いてろ過し、適当な試験容器に所定量ずつ分注し、バリデートされた方法で滅菌した後、2～25℃で保存する。

(4) 洗浄液

肉製又はカゼイン製ペプトン	1.0 g
水	1000 mL

(滅菌後の pH 7.1±0.2)

水に肉製又はカゼイン製ペプトンを溶かし、滅菌後の pH が 7.1±0.2 になるように調整する。必要ならば紙を用いてろ過し、適当な容器に必要な量ずつを分注し、バリデートされた方法で滅菌した後、2～25℃で保存する。

抗生物質医薬品又は抗菌剤を含む医薬品に対して用いる洗浄液には、必要に応じてバリデーション試験で適正であることが確認されている適当な中和剤又は不活化剤を加えてもよい。油性成分を含む医薬品や軟膏及びクリームに対して用いる洗浄液には、バリデーション試験で適正であることが確認されている適当な乳化剤を適正な濃度（例えば、10 g/L のポリソルベート 80）になるように加えてもよい。

培地の適合性

培地は、以下の試験に適合すること。この試験は、検体の無菌試験実施前に、又は並行して行うことができる。

(1) 培地の無菌性

培地の一部を、液状チオグリコール酸培地及び変法チオグリコール酸培地は 30～35℃で、ソイビーン・カゼイン・ダイジェスト培地は 20～25℃で 14 日間培養したとき、微生物の増殖を認めてはならない。

(2) 培地の性能試験

培地は調製バッチごとに、また、市販液体培地にあつては、製造ロット(バッチ)ごとにその性能を試験する^{※1}。表 4.06-1 に示す各細菌又は真菌、◆若しくはこれらと同等と考えられる菌株を、菌種ごとに培地 1 容器当たり、100 個以下を接

種し、規定の培養温度で培養したとき、細菌は 3 日間以内に、真菌は 5 日間以内に各菌が明らかな発育を示さなければならぬ。

表 4.06-1 培地性能試験及びバリデーション試験用菌株

培地	試験菌株	培養
液状チオグリコール酸培地	<i>Staphylococcus aureus</i> (ATCC 6538, NBRC 13276, CIP 4.83, NCTC 10788, NCIMB 9518) <i>Pseudomonas aeruginosa</i> (ATCC 9027, NBRC 13275, NCIMB 8626, CIP 82.118) <i>Clostridium sporogenes</i> (ATCC 19404, CIP 79.3, NCTC 532, 又は ATCC 11437, NBRC 14293)	好気培養
◆変法チオグリコール酸培地	<i>Clostridium sporogenes</i> (ATCC 19404, CIP 79.3, NCTC 532, 又は ATCC 11437, NBRC 14293)	嫌気培養◆
ソイビーン・カゼイン・ダイジェスト培地	<i>Bacillus subtilis</i> (ATCC 6633, NBRC 3134, CIP 52.62, NCIMB 8054) <i>Candida albicans</i> (ATCC 10231, NBRC 1594, IP 48.72, NCPF 3179) <i>Aspergillus niger</i> (ATCC 16404, NBRC 9455, IP 1431.83, IMI 149007)	好気培養

これらの微生物は、マスターシードロットから継代数が 5 代を超えないように保存管理する。

培地の有効期間

◆非密封容器に入っている培地は、使用前 2 週間以内に培地の性能試験を行い、基準を満たしているならば、製造後 1 箇月間使用できる。密封容器に入っている培地は、使用前 3 箇月以内に培地の性能試験を行い、基準を満たしているならば、製造後 1 年間使用できる。◆

バリデーション試験

バリデーション試験は、無菌試験を実施する前に又は無菌試験と並行して、以下の場合に実施する。

a) 新たな製品について無菌試験を行う場合

b) 試験の実施条件に変更があった場合

以下に述べる改変を別として「製品の無菌試験」の項で述べられている方法と厳密に同じ方法で試験を行う。

メンブランフィルター法：I の操作により試料溶液をろ過、洗浄する。最後の洗浄液には表 4.06-1 に示す菌株若しくはこれらと同等と考えられる菌株を菌種ごとに 100 個以下加え、これをろ過し、試料フィルターとする。

直接法：II-2 に定めた試料量を加えた試料培地に表 4.06-1 に示す菌株若しくはこれらと同等と考えられる菌株を菌種ごとに 100 個以下を加える。

いずれの場合においても、陽性対照としては試料溶液を加えない培地性能試験培地を置き、規定の温度で最長 5 日間培養する。培養後に、試料接種容器と陽性対照容器に肉眼的に同等な微生物の増殖が得られれば、この製品は試験条件下において抗菌性を有しないか、又は抗菌活性が十分に除去されているものとみなす。この場合、無菌試験はこれ以上の変更を行うことなく実施できる。もし、接種したいずれかの菌の発育がみられない場合、対照に比べて発育菌量が少ない場合、又は発育が遅延した場合、試料には微生物発育阻止活性があるものと判断す

◆^{※1} ただし、市販の粉末培地にあつては同一ロットの場合、培地の調製法が十分に管理されているなら、調製バッチごとに培地性能試験を実施しなくてもよい。◆

る。この場合には、抗菌性を除去するために、条件を変更し、バリデーション試験を繰り返す。一般に、メンブランフィルター法においては、メンブランフィルターの材質を吸着しにくいものに変更するか、洗浄液を増量するか、又は洗浄液に適当な不活化剤を加えるなど適当な方法で微生物発育阻止活性の発現を抑制する。メンブランフィルター 1 枚当たり、適当な界面活性剤を適量添加した洗浄液、*各 100 mL で 5 回洗浄しても微生物発育阻止活性を抑制できない場合は、洗浄を追加することなく無菌試験を実施する。直接法においては、菌の発育に影響を及ぼさない適当な不活化剤を加えるか、微生物発育阻止活性がみられなくなるまで II-2 の規定にかかわらず培地量を増やす。

製品の無菌試験

供試個数

無菌試験に供する医薬品の個数は、表 4.06-2 に基づいて当該ロットからロット全体を代表するように採取する。

表 4.06-2 *ロット当たりの抜き取り個数。

ロット当たりの製造容器数	最少抜き取り個数 (培地当たり) ^{*1}
注射剤	
100 個以下	10% 又は 4 容器のうち多い方
101 個以上 500 個以下	10 容器
501 個以上	2% 又は 20 容器のうち少ない方
*501 個以上の大容量製品 (表示量が 100 mL 以上)。	*2% 又は 10 容器のうち少ない方。
眼軟膏剤及び点眼剤等の非注射剤	
200 個以下	5% 又は 2 容器のうち多い方
201 個以上	10 容器
単回使用製品の場合は、注射剤に準じた抜き取り個数とする	
固形バルク製品 ^{*2}	
4 容器まで	各バルク容器
5 容器以上 50 容器以下	20% 又は 4 容器のうち多い方
51 容器以上	2% 又は 10 容器のうち多い方
抗生物質のバルク包装製品 (5 g 以上) ^{*3}	6 容器
*抗生物質のバルク包装製品 (5 g 未満)。	*20 容器。

*1 1 容器当たりの内容量が両培地に接種するに十分であるなら、ここに示した容器数とする。

*2 固形バルク製品とは、複数の注射剤の調製が可能な無菌原末製品を指す。

*3 抗生物質のバルク包装製品とは、複数の注射剤の調製が可能な抗生物質を指し、清浄空気下で溶解後は、一度に輸液器材等に分注しなければならない。

試験法

試験は、メンブランフィルター法又は直接法を用いて行う。試験には、適当な陰性対照を置く。メンブランフィルター法は、ろ過可能な製品に適用する。例えば、ろ過可能な水性、アルコール性又は油性の製品、本試験条件下で抗菌力を有さない水性又は油性の溶剤に混和若しくは溶解する製品に対しては、メンブランフィルター法を適用する。

1. メンブランフィルター法

本法は、メンブランフィルターを用いて試料をろ過し、洗浄後、そのメンブランフィルターを培地に入れるか、又はろ過器に培地を入れて培養する方法である。メンブランフィルターは、孔径 0.45 μm 以下の適当な材質のものを用いる。ろ過器は、高圧蒸気法又はその他の方法で滅菌が可能であり、メンブランフィルターを装着したとき、漏れや逆流のないものを用いる。以下の方法は、直径約 50 mm のメンブランフィルターを使用することを仮定している。異なる直径のメンブランフィルターを使用するのであれば、希釈及び洗浄の液量はそれに応じ

て調整する。

I-1. 試料溶液の調製

- 液状医薬品：そのまま試料溶液とする。
- *b) 用時溶解又は懸濁して用いる医薬品：添付の溶剤、生理食塩液、水又は洗浄液で用時の濃度に調製した後、試料溶液とする。
- c) 油及び油性医薬品：粘度の低い油又は油性医薬品は、希釈せずに乾いたメンブランフィルターでろ過する。粘稠性の油及び油性医薬品は、ろ過滅菌によって無菌に製したミリスチン酸イソプロピル又は菌の発育に影響を及ぼさない他の溶剤を加え、ろ過可能な濃度に溶かして試料溶液を調製する。
- d) 軟膏剤：脂肪を基剤とする軟膏剤及び油中水滴型の乳剤は、ろ過滅菌によって無菌に製したミリスチン酸イソプロピル又は菌の発育に影響を及ぼさない他の溶剤を加え、必要ならば 40℃ を超えない加温によってろ過可能な濃度に溶かして試料溶液を調製する。例外的な場合でも加温温度は 44℃ を限度とする。

I-2. 試験に供する試料量

培地当たり容器から採取する試料の最少量は、別に規定するもののほか、表 4.06-3 による。1 容器中の表示容量がこれらの試験を行うのに十分でない場合には、表 4.06-2 に示す容器数の 2 倍又はそれ以上を抜き取り、別々の培地に接種する。メンブランフィルター法を用いる場合には、表 4.06-3 に示す量より少なくならないように、可能ならば容器の全容量を接種する。必要ならば、約 100 mL の洗浄液で希釈してから試験に用いる。

表 4.06-3 各培地当たりの最少試料採取量

製品の表示量	最少採取量 (培地当たり)
液剤 (抗生物質を除く)	
1 mL 未満	全量
1 mL 以上 40 mL 以下	半量、ただし 1 mL 以上
40 mL 超 100 mL 以下	20 mL
100 mL 超	10%、ただし 20 mL 以上
抗生物質 (液剤)	1 mL
水溶性又はミリスチン酸イソプロピルで可溶性の他の医薬品	全量、ただし 200 mg 以上
懸濁又は乳化して用いる非水溶性医薬品、クリーム又は軟膏剤	200 mg 以上
固形剤	
50 mg 未満	全量
50 mg 以上 300 mg 未満	半量、ただし 50 mg 以上
300 mg 以上 5 g 以下	150 mg
5 g 超	500 mg

I-3. 操作

通例、1 個又は 2 個一組のろ過器で試料溶液のろ過を完了させる。なお、試料溶液がろ過しにくいときは、洗浄液を用いて試料溶液を更に希釈した後、ろ過してもよい。試料溶液をろ過器内に注入してろ過した後、メンブランフィルター 1 枚当たり洗浄液 100 mL ずつでバリデーション試験で確立した回数洗う。ただし、試料が微生物発育阻止活性を有しない場合は、洗浄操作を省くことができる。メンブランフィルターの培養には、下記の 2 法のうちいずれかを用いる。なお、各培地の量は、バリデーション試験で確立した量を使用する。

- (1) メンブランフィルターをろ過器から外し、半分に分断するか、あらかじめ試料溶液を 2 等分し、それぞれに

つき同一ろ過操作を行うことによって得られた 2 枚のメンブランフィルターをそれぞれの培地に入れる。

(2) メンブランフィルターを装着したろ過器内に試料溶液を 2 等分ろ過後、それぞれの培地を加える。

II. 直接法

本法は、試料の全部又は一部を直接培地に加えて培養する方法であり、通例、メンブランフィルター法を適用できない医薬品及びメンブランフィルター法より本法の適用が合理的である医薬品に適用する。＊水銀保存剤を含む医薬品でメンブランフィルター法を適用できない場合は、ソイビーン・カゼイン・ダイジェスト培地の代わりに、液状チオグリコール酸培地を用い、20～25℃で培養する。＊

II-1. 試料溶液の調製

通例、メンブランフィルター法を準用する。ただし、通常の方法で溶解できない医薬品は、適当な方法で懸濁又は微細化したものを試料とする。

- 油性液：バリデーション試験で適正であることが確認されている適当な乳化剤を適正な濃度（例えば、10 g/L のポリソルベート 80）になるように加えた培地を使用する。
- 軟膏剤及びクリーム：1 g/L の肉製又はカゼイン製ペプトン溶液のような無菌希釈液に、選定された適当な乳化剤を加え、約 1:10 に希釈し、この希釈した試料を、乳化剤を含まない培地へ移植する。

II-2. 試験に供する試料量

ピペット、注射器又は適当な器具を用い、別に規定するもののほか、表 4.06-3 に示す量を培地に直接移す。この際、別に規定するもののほか、接種量は培地量の 10% を超えてはならない。油性医薬品を含む培地は、観察日ごとに静かに振り混ぜる。しかし、チオグリコール酸培地を嫌気性菌の検出に使用する場合は、嫌気性条件を維持するために、振り混ぜは最小限のものとする。

培養及び観察

液状チオグリコール酸培地＊及び変法チオグリコール酸培地。は 30～35℃で、ソイビーン・カゼイン・ダイジェスト培地は 20～25℃で 14 日間以上培養し、培養期間中に数回、及び培養最終日に菌の発育の有無を観察する。試料によって培地が混濁し、判定が困難な場合、そのほか必要な場合には、培養 14 日目に新しい培地に＊適量＊を移植し、同じ温度で元の培地とともに 4 日間以上培養する。

判定

以上の試験の結果、菌の発育を認めないときは、無菌試験に適合とする。菌の発育が認められたときは、不適と判定する。＊ただし、試験に供した検体とは関係なく無菌試験自体に問題があったことが立証された場合には、再試験を行うことができる。＊再試験の結果、菌の発育が認められないときは、無菌試験に適合とする。菌の発育が認められたときは、不適と判定する。

5. 生薬試験法

5.01 生薬試験法

生薬試験法は、生薬総則に規定する生薬に適用する試験法である。

試料の採取

別に規定するもののほか、次の方法によって試料を採取し、必要ならば気密容器に保存する。

- 小形の生薬、切断生薬及び粉末生薬は、よくかき混ぜた後、試料 50～250 g を採取する。
- 大形の生薬はよくかき混ぜた後、試料 250～500 g を採取する。
- 1 個の質量が 100 g 以上の生薬は 5 個以上を採取し、試料とするか、又は生薬を適当な大きさに切断してよくかき混ぜた後、試料 500 g 以上を採取する。

分析用試料の調製

試料をよく混ぜ、粉末生薬はそのまま、粉末生薬でないものは、別に規定するもののほか、粉末とし、もし、粉末にできないものは、なるべく細かくした後、薄く広げて平均した部分をとり、分析用試料とする。必要ならば気密容器に保存する。

鏡 検

(1) 装置

光学顕微鏡を使用する。対物レンズは 10 倍及び 40 倍を、接眼レンズは 10 倍を用いる。

(2) 鏡検用プレパラートの作成

(i) 切片 切片をスライドガラス上にとり、封入剤 1～2 滴を滴加した後、気泡が封入されないように注意してカバーガラスで覆う。観察に用いる切片の厚さは、通例、10～20 μm とする。

(ii) 粉末 粉末の試料約 1 mg をスライドガラス上にとり、膨潤剤 1～2 滴を滴加し、気泡が入らないように小ガラス棒の先でよくかき混ぜた後、しばらく放置して試料を膨潤させる。封入剤 1 滴を滴加した後、組織片が重ならないように均等に広げ、気泡が封入されないように注意してカバーガラスで覆う。組織片が不透明な場合は、別に粉末の試料約 1 mg をスライドガラス上にとり、抱水クロラル試液 1～2 滴を滴加した後、小ガラス棒の先で混ぜながら突沸しないように加熱し、試料を透明化する。冷後、封入剤 1 滴を滴加し、以下同様にカバーガラスで覆う。

封入剤及び膨潤剤は、別に規定するもののほか、水/グリセリン混液 (1:1) 又は水/エタノール (95)/グリセリン混液 (1:1:1) を用いる。

(3) 性状の項の各要素の観察

切片は、通例、外側から内側に向かい、次いで細胞内容物の順に医薬品各条に記載されており、この順に観察する。粉末は、特徴的なもの又は多量に出現するもの、まれに現れるもの、次いで細胞内容物の順に医薬品各条に記載されており、この順に観察する。

純度試験

(1) 異物 別に規定するもののほか、試料 25～500 g を量り、薄く広げて生薬中の異物を、肉眼又は 10 倍のルーペを用いて選びだし、その質量を量り、異物の量 (%) とす

6.09 崩壊試験法

本試験法は、三業局方での調和合意に基づき規定した試験法である。なお、三業局方で調和されていない部分は「◆」で囲むことにより示す。

崩壊試験法は、錠剤、カプセル剤、◆顆粒剤、丸剤◆が試験液中、定められた条件で規定時間内に崩壊するかどうかを確認する試験法である。崩壊試験法は、製剤中の有効成分が完全に溶解するかどうかを確認することを目的としていない。

装置

装置は、高さ 138 ~ 160 mm で浸漬部の内径が 97 ~ 115 mm の 1000 mL 低形ビーカー、 $37 \pm 2^\circ\text{C}$ で温度調節可能な恒温槽、1 分間 29 ~ 32 往復、振幅 53 ~ 57 mm で上下する試験器及び電動機からなっている。ビーカーに入れる試験液の量は、試験器が最も上がったとき、試験器の網面が液面から下へ少なくとも 15 mm 以上離れるようにし、試験器が最も下がったとき、網面はビーカーの底から 25 mm 以上で、試験器が完全に沈むことがあってはならない。電動機の上方及び下方への移動時間は等しくし、また上下の方向転換は、急ではなく滑らかに行われるようにする。試験器は垂直軸に沿って動作するようにし、水平方向に軸が動いたり移動したりしないようにする。

試験器 試験器には、長さ 77.5 ± 2.5 mm、内径 20.7 ~ 23 mm、厚さ 1.0 ~ 2.8 mm の両端が開いた透明な管 6 本と、これらの管を上下方向からはさみ垂直に立てておくための直径 88 ~ 92 mm、厚さ 5 ~ 8.5 mm の 2 枚のプラスチック板があり、これらの板には、それぞれ直径 22 ~ 26 mm の穴が 6 個、中心から等距離かつ等間隔で開いている。下のプラスチック板の下面には、網目の開き 1.8 ~ 2.2 mm、線径 0.57 ~ 0.66 mm の平らなステンレス網を取り付ける。試験器は、2 枚のプラスチック板を貫く 3 本の支柱を用いて、組み立て固定する。試験器は図 6.09-1 に示した構造に合うものである。ガラス管と網が規格に合っている限り、他の部分の多少の変更は可能で、◆例えば、ガラス管を試験器に固定するため、上のプラスチック板の上面及び下のプラスチック板の下面に、それぞれの穴に当たる部分に直径 22 ~ 26 mm の穴を 6 個あけた直径 88 ~ 92 mm、厚さ 0.5 ~ 1 mm の耐酸性の金属板を取り付けてもよい。◆試験器はその中心軸に沿って上下運動できるように、電動機に適当な方法で吊るす。

補助盤 補助盤は、各条にその使用が規定されている場合のみ、各ガラス管に入れて使用できる。補助盤は、高さ 9.5 ± 0.15 mm、直径 20.7 ± 0.15 mm の円柱状で、比重 1.18 ~ 1.20 の透明なプラスチックからなる。補助盤には、盤の上下を垂直に貫く直径 2 ± 0.1 mm の孔が五つ平行に開いており、一つは補助盤の中心に、他の四つは中心から 6 ± 0.2 mm の距離にそれぞれ等間隔に開いている。補助盤の側面には、盤面とはほぼ直角に、同一の台形状の切り込みが 4 つ等間隔にある。台形は対称形で、上下の平行線は、中心軸から 6 mm にある隣接した 2 つの孔を結ぶ線と平行に位置している。台形の平行線の下線部は長さ 1.6 ± 0.1 mm で円周部から深さ 1.6 ± 0.1 mm の位置にあり、上線部は長さ 9.4 ± 0.2 mm で深さ 2.6 ± 0.1 mm の位置にある。補助盤は図 6.09-1 の規格に適合するもので、表面はすべて滑らかである。補助盤の使用が規定されている場合は、それぞれのガラス管に 1 個の補助盤を入れ、

操作法に従い試験する。なお、崩壊を自動的に検出する目的で、加工した特殊な補助盤を用いる場合、その補助盤の比重、サイズは規格に適合するものでなければならない。また、それが使用できるのは各条で規定されている場合に限られる。

◆補助筒 補助筒は図 6.09-2 に示すように内径 12 ± 0.2 mm、外径 17 ± 0.2 mm、長さ 20 ± 1 mm のプラスチック筒 D の両端外側にねじを切り、内径 12 ± 0.2 mm、外径 17 ± 0.2 mm、長さ 2.5 ~ 4.5 mm のプラスチック筒 A の内側にねじを切り、網目の開き 0.42 mm、線径 0.29 mm の耐酸性の網を置いて、先の円筒の両端に密着させたものである。補助筒の上下の網の間隔は 20 ± 1 mm とし、外側中央部に直径 1 mm の耐酸性針金を用いて高さ 80 ± 5 mm の取手を付ける。補助筒は、顆粒剤及び腸溶顆粒を充てんしたカプセル剤を試験するときに用いる。◆

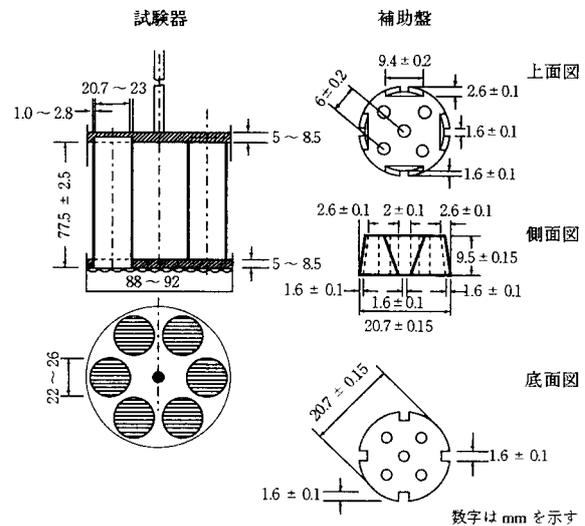
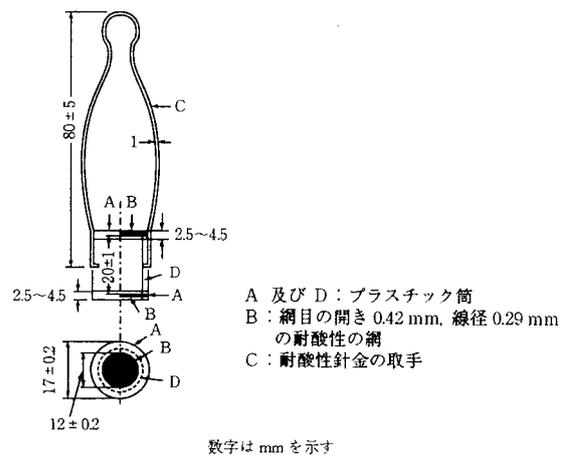


図 6.09-1 崩壊試験装置



◆図 6.09-2 補助筒◆

操作法

(1) 即放性製剤

錠剤、カプセル剤、◆丸剤 (生薬を含む丸剤を除く)◆については、試験器の 6 本のガラス管にそれぞれに試料 1 個ずつを入れ、補助盤の使用が規定されている場合は補助盤を入れ、◆別に規定するもののほか、試験液に水を用いて、◆ $37 \pm$

2℃で試験器を作動させる。＊別に規定するもののほか、錠は30分後、コーティング錠及び丸剤は60分後、カプセル剤は20分後、◆試験器を試験液から引き上げ、試料の崩壊の様子を観察する。＊試料の残留物をガラス管内に全く認めないか、又は認めても明らかに原形をとどめない軟質の物質であるとき、あるいは不溶性の剤皮又はカプセル皮膜の断片であるとき、試料は崩壊したものとす。◆すべての試料が崩壊した場合、適合とする。1個又は2個が崩壊しなかった場合、更に12個の試料について試験を行い、計18個の試料うち16個以上の試料が崩壊した場合、適合とする。

＊生薬を含む丸剤については、試験液に崩壊試験第1液を用いて同様に、60分間、試験を行う。試料の残留物をガラス管内に認めるときは、引き続き崩壊試験第2液で60分間、試験を行う。◆

＊顆粒剤については、30号ふるい(500μm)を用いて製剤の粒度の試験法(6.03)の(1)顆粒剤の規定に準じてふるい、30号ふるいに残留するもの0.10gずつをそれぞれ補助筒6個にとり、補助筒を試験器のガラス管に1個ずつ入れて固定し、別に規定するもののほか、試験液に水を用いて、37±2℃で試験器を作動させる。別に規定するもののほか、剤皮を施していない顆粒は30分後、剤皮を施した顆粒は60分後、試験器を試験液から引き上げ、補助筒を取り出して試料の崩壊の様子を観察する。試料の残留物を補助筒内に全く認めないか、又は認めても明らかに原形をとどめない軟質の物質であるとき、あるいは剤皮の断片であるとき、崩壊したものとす。すべての補助筒内の試料が崩壊した場合、適合とする。1個又は2個の補助筒内の試料が崩壊しなかった場合、更に12個の試料について試験を行い、計18個の試料うち16個以上の試料が完全に崩壊した場合、適合とする。◆

＊(2) 腸溶性製剤

別に規定するもののほか、崩壊試験第1液及び崩壊試験第2液による2つの試験を別々に行う。

(i) 腸溶錠及び腸溶性カプセル

(ア) 崩壊試験第1液による試験

試験液に崩壊試験第1液を用いて120分間、即放性製剤の操作法に従って試験を行う。腸溶錠及び腸溶性カプセルが壊れた場合、又は腸溶性皮膜が開口、破損した場合、崩壊したものとす。すべての試料が崩壊しない場合、適合とする。1個又は2個が崩壊した場合は、更に12個の試料について試験を行い、計18個の試料うち16個以上の試料が崩壊しない場合、適合とする。

(イ) 崩壊試験第2液による試験

試験液に崩壊試験第2液を用いて60分間、即放性製剤の操作法に従って試験を行い、崩壊の適否を判定する。

(ii) 腸溶顆粒及び腸溶顆粒を充てんしたカプセル剤

顆粒剤又はカプセル剤中より取り出した内容物を30号ふるい(500μm)を用いて製剤の粒度の試験法(1)顆粒剤の規定に準じてふるい、30号ふるいに残留するもの0.10gずつをそれぞれ補助筒6個にとり、補助筒を試験機のガラス管に1個ずつ入れて固定し、(ア)崩壊試験第1液による試験及び(イ)崩壊試験第2液による試験の2つの試験を行う。

(ア) 崩壊試験第1液による試験

試験液に崩壊試験第1液を用いて60分間、即放性製剤の操作法に従って試験を行う。試験器の網目から落ちる顆粒数が15粒以内のとき、適合とする。

(イ) 崩壊試験第2液による試験

試験液に崩壊試験第2液を用いて30分間、即放性製剤の操作法に従って試験を行い、崩壊の適否を判定する。◆

6.10 溶出試験法

本試験法は、三業局方での調和合意に基づき規定した試験法である。

なお、三業局方で調和されていない部分は「◆」で囲むことにより示す。

本試験は、経口製剤について溶出試験規格に適合しているかどうかを判定するために行うものであるが、◆併せて著しい生物学的非同等を防ぐことを目的としている。◆本試験における試料とは、最小投与量に相当するもので、錠剤では1錠、カプセルでは1カプセル、その他の製剤では規定された量を意味する。

装置

回転バスケット法の装置(装置1)：装置は、ふたができるガラス又は透明で化学的に不活性な材質¹の容器、モーター、回転軸及び円筒形のバスケットからなる。容器は、適当な大きさの恒温水槽に設置するか又は恒温ジャケットなどに入れ、加温する。恒温水槽又は恒温ジャケットは、試験中の容器内温度が37±0.5℃となるように、また、恒温水槽内の液体が滑らかに動くように調整する。攪拌部の滑らかな回転以外には、装置が設置された周辺環境や装置に起因する揺動や振動が生じないようにする。試験中は、試料及び攪拌状態を観察できるようにする。容器は底部が半球形の円筒形で、容積は1L、高さ160～210mm、内径は98～106mmで、容器の上部には出縁がある。試験液の蒸発を防ぐために、容器にふたをする²。回転軸は、どの部分でも容器の垂直方向の中心軸からの隔たりを2mm以内とし、滑らかに回転させ、結果に影響を及ぼすような揺動及び振動が生じないようにする。回転数の可変部は、規定された回転数の±4%の範囲で回転するよう調節する。

図6.10-1に示す回転軸とバスケットは、ステンレス(SUS316)製、あるいはそれと同等の不活性な材質を使用する。また、金で約2.5μmの厚さに被覆したバスケットを用いることができる。試験開始時に、試料を乾燥したバスケットに入れる。試験中は、容器の内底とバスケットの下端との距離は25±2mmに固定する。

パドル法の装置(装置2)：装置は、装置1と同様のものを用いるが、攪拌部には攪拌翼と回転軸からなるパドルを用いる。回転軸は、どの部分でも容器の垂直方向の中心軸からの隔たりが2mm以内とし、滑らかに回転させ、結果に影響を及ぼすような揺動及び振動が生じないようにする。パドルの仕様は図6.10-2に示すとおりで、攪拌翼の垂直方向の軸が回転軸の中心を貫通し、攪拌翼の底部は回転軸の下端と同一平面となるようにする。試験中は、容器の内底と攪拌翼の下端との距離は25±2mmに固定する。攪拌翼と軸は金属又は化学的に不活性で堅牢な材質の一体化したものを用いる。試験中に攪拌翼と回転軸をしっかり固定できるならば、両者が取り外せるパドルを用いることができる。攪拌翼と回転軸は、化学的に不活性に

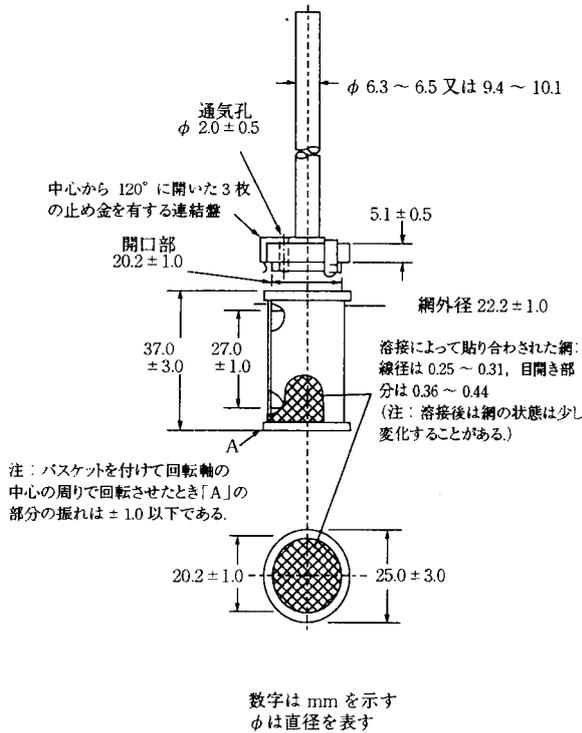


図 6.10-1 装置 1, 回転軸及びバスケットの部分

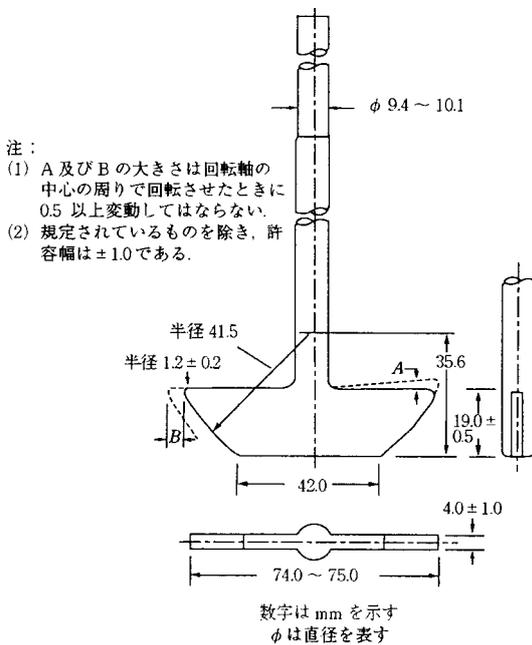


図 6.10-2 装置 2, 回転軸及びパドルの攪拌翼部分

するために適当な被覆剤で覆うことができる。試料は、攪拌翼の回転を始める前に、通例容器の底部に沈める。試料が浮く場合には、*医薬品各条で規定されていれば、*らせん状に数回巻いた針金のような、化学的に不活性な材質でできた小型の締め付けのないシンカーを試料に取り付けることができる。その他のシンカーの例を図 6.10-2 a に示した。また、他のバリデーシオンされたシンカーを用いることができる。

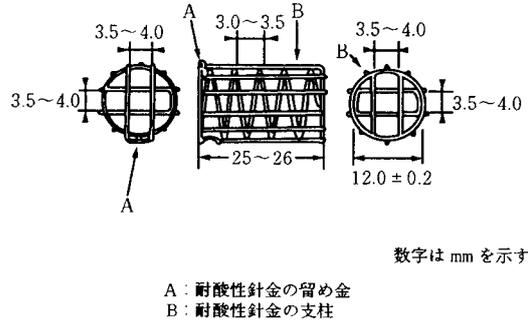


図 6.10-2 a シンカーの仕様例

フロースルーセル法の装置 (装置 3): 装置は、試験液の貯槽と送液用ポンプ、フロースルーセル、試験液を $37 \pm 0.5^\circ\text{C}$ に保つための恒温水槽からなる。フロースルーセルは医薬品各条で規定された大きさのものを使用する。

送液用ポンプは、フロースルーセルの中を上向きに試験液を送液する。送液用ポンプは、毎分 4 ~ 16 mL の送液が可能で標準的な毎分 4, 8, 16 mL の送液ができるものを使用する。送液用ポンプは定流量 (表示流量の $\pm 5\%$) で送液でき、脈流の波形は 120 ± 10 パルスの正弦型でなければならない。ただし、*脈流が生じない送液用ポンプを用いてもよい。

透明で化学的に不活性な材質でできたフロースルーセル (図 6.10-3 及び 6.10-4 参照) を垂直に設置し、セルの上部には、未溶解の粒子が流失するのを防ぐため、(医薬品各条で規定された) フィルターシステムを装着する。標準的なセルの直径は 12 及び 22.6 mm で、セルの下部にある円錐の先端に試験液導入チューブを保護するために直径約 5 mm のビーズを置き、その上に直径約 1 mm のガラスビーズを入れ円錐内を満たす。特殊な剤形では、ホルダー (図 6.10-3 及び 6.10-4 参照) を使用して試料を保持することができる。フロースルーセルは恒温水槽に沈め、温度を $37 \pm 0.5^\circ\text{C}$ に保つ。

漏れが生じないように 2 枚の O-リングを使用してフロースルーセルをしっかり締める。送液用ポンプから発生する振動を遮蔽するために、送液用ポンプは溶出ユニットから離しておく。送液用ポンプは、貯槽より高いところに置いてはならない。接続チューブはできるだけ短くする。接続チューブにはテフロンのような化学的に不活性なものを使用し、その内径は約 1.6 mm で両端には化学的に不活性な接続用の縁が付いている。

装置の適合性: 溶出試験装置の適合性には、装置の寸法が上述した許容誤差に従っていることの確認が含まれる。また、使用中に定期的に監視が必要な重要な試験パラメータは、温度や試験液の容量、(回転バスケット法及びパドル法では) 回転速度、(フロースルーセル法では) 試験液の流量などである。

定期的に、溶出試験装置が適切な性能を有しているかどうか判定する。

操作

回転バスケット法及びパドル法
即放性製剤

操作: 規定された容器に規定された容量 ($\pm 1\%$) の試験液を入れ、装置にセットする。試験液を $37 \pm 0.5^\circ\text{C}$ に保ち、温度計を取り除く。試料の表面に気泡が付かないように注意しな

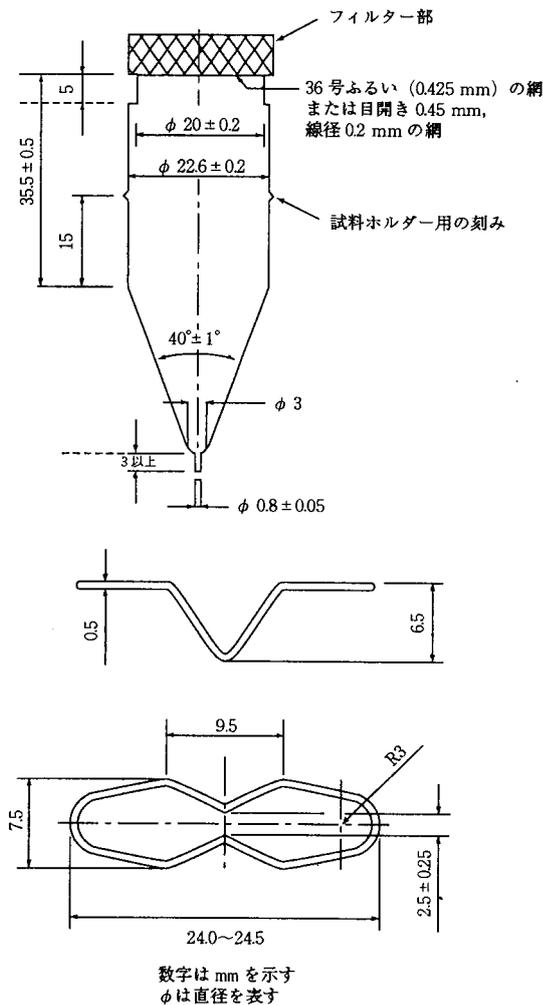


図 6.10-3 装置 3

(上) 錠剤及びカプセル用の大型フロースルーセル
(下) 大型フロースルーセル用の錠剤ホルダー
(他に記載がない場合には寸法は mm で表している.)

から各容器に試料を入れ、直ちに規定された回転速度で装置を作動させる。規定された間隔で又は規定された時間に、試験液の上面と回転バスケット又はパドルの攪拌翼の上面との中間で容器壁から 10 mm 以上離れた位置から、試験液を採取する。(注：複数回の試験液の採取が規定されている試験では、採取された量と等しい容量の 37°C の試験液を補充するか又は試験液の補充が必要ない場合には計算するとき容量変化を補正する。試験中、容器にはふたをし、適度な間隔で容器内の試験液の温度を確認する。) 指示された分析法を用いて溶出した有効成分量を測定する。他の試料についても同様の操作を行う。

試験液の採取が自動化された装置を用いるか若しくは装置に手を加えて変更する場合には、それらの装置が一般試験法に示されている標準的な装置を用いて得た結果と同等の結果が得られることを確認しなければならない。

試験液：規定された試験液を用いる。試験液が緩衝液の場合、pH を規定値の ± 0.05 以内となるように調整する。(注：試験液に溶存している気体は気泡の原因となることがあり、試験結果に影響を与えることがある。溶存している気体が溶出試験結

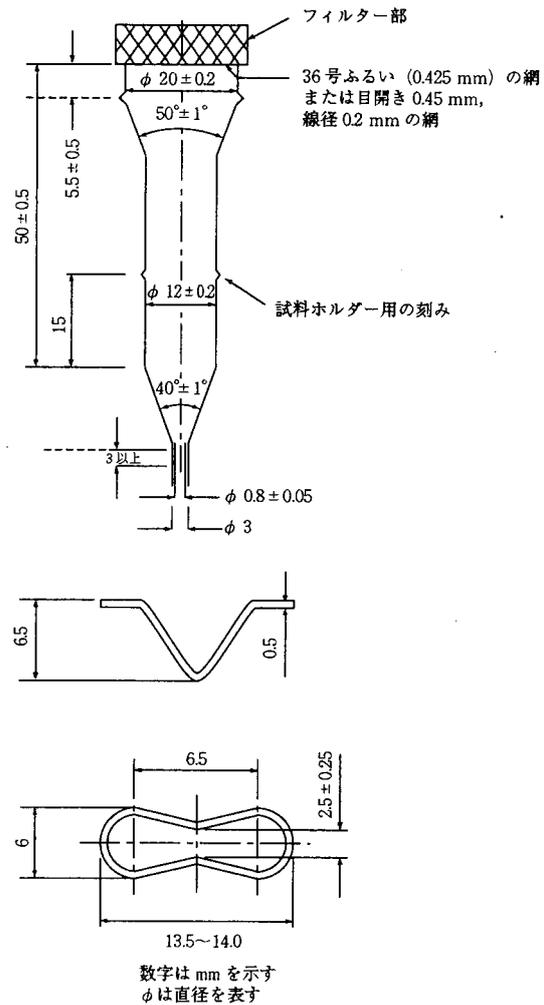


図 6.10-4 装置 3

(上) 錠剤及びカプセル用の小型フロースルーセル
(下) 小型フロースルーセル用の錠剤ホルダー
(他に記載がない場合には寸法は mm で表している.)

果に影響を及ぼす場合には、試験の前に脱気する。)

試験時間：1 時点での測定が規定されているときは、規定された溶出率に達した場合には、その時間より早く試験を終了することができる。それ以外では、規定された時間の $\pm 2\%$ 以内で試験液を採取する。

徐放性製剤

操作：即放性製剤の項と同じ。

試験液：即放性製剤の項における指示と同じ。

試験時間：通常 3 時点の測定を行い、単位は時間で表示する。

腸溶性製剤

操作：別に規定するもののほか、溶出試験第 1 液による試験及び溶出試験第 2 液による試験について、それぞれ独立して即放性製剤の項と同じ操作を行う。

試験液：溶出試験第 1 液による試験；試験液に溶出試験第 1 液を用いるほかは即放性製剤の項における指示に従う。溶出試験第 2 液による試験；試験液に溶出試験第 2 液を用いるほかは、即放性製剤における指示に従う。

◆試験時間：溶出試験第 1 液による試験；通例，錠剤，カプセルは 2 時間，顆粒は 1 時間とする。溶出試験第 2 液による試験；即放性製剤の項と同じ。◆試験液は規定時間の $\pm 2\%$ 以内に採取する。

フロースルーセル法

即放性製剤

操作：医薬品各条に規定された大きさのセルにガラスビーズを詰める。試料はガラスビーズの上に乗せるか，又はホルダーの使用が規定されている場合はホルダーの上に乗せる。上部のフィルター部分をセルにねじなどで取り付ける。37 \pm 0.5 $^{\circ}$ C に加温した試験液を，ポンプを用いて規定された値の 5 % 以内の誤差の流量でフロースルーセル底部よりセル内に導入する。規定された時間ごとに，試験液のフラクションを採取する。規定された分析法を用いて溶出した有効成分量を測定する。他の試料についても同様の操作を行う。

試験液：回転バスケット法及びパドル法における即放性製剤の項の指示に従う。

試験時間：回転バスケット法及びパドル法における即放性製剤の項の指示に従う。

徐放性製剤

操作：フロースルーセル法における即放性製剤の項の指示に従う。

試験液：フロースルーセル法における即放性製剤の項の指示に従う。

試験時間：通常 3 時点の測定を行い，単位は時間で表示する。

判定

即放性製剤

◆医薬品各条で Q 値が規定されている場合は判定法 1 に従い，その他の場合は判定法 2 に従う。◆

判定法 1：別に規定するもののほか，試料からの有効成分の溶出率が判定基準表 6.10-1 を満たすときに適合とする。S 1 又は S 2 を満たさない場合には，S 3 まで試験を行う。 Q は，◆規定された有効成分の溶出率であり，◆表示量に対する百分率で表す；表中の 5 %，15 %，25 % は， Q と同様に，有効成分の表示量に対する百分率で表されている。

判定基準表 6.10-1

水準	試験個数	判定基準
S 1	6	個々試料からの溶出率が $Q + 5\%$ 以上。
S 2	6	12 個 (S 1+S 2) の試料の平均溶出率 $\geq Q$ ， $Q - 15\%$ 未満のものがない。
S 3	12	24 個 (S 1+S 2+S 3) の試料の平均溶出率 $\geq Q$ ， $Q - 15\%$ 未満のものが 2 個以下， $Q - 25\%$ 未満のものがない。

◆判定法 2：別に規定するもののほか，試料 6 個について試験を行い，個々の試料からの溶出率がすべて医薬品各条に規定する値のときは適合とする。規定する値から外れた試料が 1 個又は 2 個のときは，新たに試料 6 個をとって試験を繰り返す。12 個中，10 個以上の試料の個々の溶出率が規定する値のとき適合とする。◆

徐放性製剤

◆判定法 1：◆別に規定するもののほか，試料からの有効成分の溶出率が判定基準表 6.10-2 を満たすときに適合とする。L 1 又は L 2 を満たさない場合には，L 3 まで試験を行う。各

時点の溶出率の限度は，表示量に対する百分率で表されている。限度値は，規定された（場合によっては投与間隔を区切った）各試験液採取時間でのそれぞれの溶出率 Q_i の値である。各条に複数の範囲が示されている場合は，それぞれの範囲で判定基準を適用する。

判定基準表 6.10-2

水準	試験個数	判定基準
L 1	6	すべての個々の溶出率が，それぞれの規定範囲内（限度値も含む）であり，かつ，最終試験時間では，すべての個々の溶出率が規定された値以上である。
L 2	6	12 個 (L 1+L 2) の試料の平均溶出率が規定された範囲内（限度値も含む）であり，かつ，試験終了時の 12 個 (L 1+L 2) の試料の平均溶出率が規定された値以上である；また，個々の試料からの溶出率は，規定された範囲から表示量の $\pm 10\%$ を超えて外れるものがなく，かつ，試験終了時に規定された値より表示量の 10 % を超えて下回るものがない。
L 3	12	24 個 (L 1+L 2+L 3) の試料の平均溶出率が規定された範囲内（限度値も含む）であり，かつ，試験終了時の 24 個 (L 1+L 2+L 3) の試料の平均溶出率が規定された値以上である；規定された範囲から表示量の 10 % を超えて外れるものが，24 個のうち 2 個以下であり，かつ，試験終了時に規定された値よりも表示量の 10 % を超えて下回るものが，24 個のうち 2 個以下である。更に，規定された範囲から表示量の 20 % を超えて外れるものがなく，かつ，試験終了時に規定された値よりも表示量の 20 % を超えて下回るものがない。

◆判定法 2：別に規定するもののほか，試料 6 個について試験を行い，個々の試料からの溶出率がすべて医薬品各条に規定する値のときは適合とする。規定する値から外れた試料が 1 個又は 2 個のときは，新たに試料 6 個をとって試験を繰り返す。12 個中，10 個以上の試料の個々の溶出率が規定する値のとき適合とする。複数の範囲が示されている場合は，それぞれの範囲で判定基準を適用する。◆

腸溶性製剤

◆医薬品各条において，溶出試験第 2 液による試験で Q 値が規定されている場合は判定法 1 に従い，その他の場合は判定法 2 に従う。

判定法 1：溶出試験第 1 液による試験 別に規定するもののほか，溶出試験第 1 液による試験においては，有効成分の溶出率が判定基準表 6.10-3 を満たすときに適合とする。A 2 で 25 % を超えるものがなく平均溶出率が適合しない場合には，A 3 まで試験を行う。◆

判定基準表 6.10-3

水準	試験個数	判定基準
A 1	6	個々の試料からの溶出率が 10 % 以下。
A 2	6	12 個 (A 1+A 2) の試料の平均溶出率が 10 % 以下で，かつ，25 % を超えるものがない。
A 3	12	24 個 (A 1+A 2+A 3) の試料の平均溶出率が 10 % 以下で，かつ，25 % を超えるものがない。

◆溶出試験第 2 液による試験。別に規定するもののほか，有効成分の溶出率が判定基準表 6.10-4 を満たすときに適合とする。B 1 又は B 2 を満たさない場合には，B 3 まで試験を行う。 Q は，◆各条に規定された有効成分の溶出率であり，◆表示量に対する百分率で表す。表 6.10-4 中の 5 %，15 %，

25 % は、Q と同様に、有効成分の表示量に対する百分率で表されている。

判定基準表 6.10-4

水準	試験個数	判定基準
B 1	6	個々試料からの溶出率が Q + 5 % 以上。
B 2	6	12 個 (B 1+B 2) の試料の平均溶出率 \geq Q, Q - 15 % 未満のものが無い。
B 3	12	24 個 (B 1+B 2+B 3) の試料の平均溶出率 \geq Q, Q - 15 % 未満のものが 2 個以下, Q - 25 % 未満のものが無い。

◆判定法 2: 別に規定するもののほか、溶出試験第 1 液、溶出試験第 2 液による試験共、試料 6 個について試験を行い、個々の試料からの溶出率がすべて医薬品各条に規定する値のときは適合とする。規定する値から外れた試料が 1 個又は 2 個のときは、新たに試料 6 個をとって試験を繰り返す。12 個中、10 個以上の試料の個々の溶出率が規定する値のとき適合とする。

- 1 試料を吸着したり、試料と反応したり、試料の測定を妨害するような材質であってはならない。
- 2 ふたを用いる場合には、温度計や試験液を採取する器具が挿入できる差し込み口をあらかじめ開けておく。
- 3 採取した試験液は、ろ過が不要な場合を除いて、採取後直ちにろ過する。有効成分を吸着せず、また、分析を妨害する物質が溶出しないようなフィルターを使用する。
- 4 脱気法の例: 試験液を攪拌しながら 41 °C に加温し、直ちに吸引下攪拌しながら孔径 0.45 μ m 以下のフィルターを用いてろ過し、更に、5 分間減圧下で攪拌する。他のバリテーションされた脱気方法を用いてもよい。

7. 容器・包装材料試験法

7.01 注射剤用ガラス容器試験法

注射剤用ガラス容器は、内容医薬品と物理的又は化学的に作用してその性状又は品質に影響を与えないもので、完全に融封できるか、又は他の適当な方法によって微生物が侵入しないようにし、内容医薬品を保護できるものであり、次の規格に適合する。ただし、表面処理を施した輸液用容器は、アルカリ溶出試験第 1 法の融封できない容器の規定に適合した材質を用いて製する。

- (1) 容器は無色又は淡褐色透明で、注射剤の不溶性異物検査法 (6.06) の試験に支障をきたす気泡があってはならない。
- (2) 分割使用を目的とする容器は、ゴム栓又は他の適当な栓を用いて密封する。栓は内容医薬品と物理的又は化学的に作用しないもので、注射針を挿入したとき、栓の破片を混入することなく、また、注射針を抜きとったとき、直ちに外部からの汚染を防ぎうるものである。

輸液用を目的とする容器は、輸液用ゴム栓試験法 (7.03) の規定に適合した栓を用いて密封する。

- (3) アルカリ溶出試験 試験法は容器の形状及び内容医薬品の用途によって、次の 2 方法に分ける。

(i) 第 1 法 融封できる容器又は内容 100 mL 以上の輸液用容器以外の融封できない容器はこの方法による。

容器の内外をよく水で洗い、乾燥し、必要ならば粗く砕い

た後、その 30 ~ 40 g をとる、これを鉄製乳鉢に入れて、粉碎し、12 号 (1400 μ m) ふるいを通らないものは再び元の乳鉢に移し、同様の操作を、試料量の 2/3 が 12 号 (1400 μ m) ふるいを通るまで繰り返す。次に 12 号 (1400 μ m) ふるいを通した碎末を合わせ、18 号 (850 μ m) 及び 50 号 (300 μ m) ふるいを用い、5 分間水平に揺り動かしながら、時々軽くたたいてふるった後、18 号 (850 μ m) ふるいを通り、50 号 (300 μ m) ふるいを通らない大きさの碎末 7 g をとる。これを 50 号 (300 μ m) ふるいに入れて適当な容器中で水に浸し、1 分間ゆるく振り混ぜながら洗い、更にエタノール (95) で 1 分間洗い、100 °C で 30 分間乾燥し、デシケーター (シリカゲル) で放冷する。この碎末 5.0 g を正確に量り、200 mL の硬質三角フラスコに入れ、水 50 mL を加えて弱く振り混ぜ、碎末がなるべくフラスコの底部に平均に分散するようにし、硬質小ピーカー又は硬質時計皿でふたをし、水浴中で 2 時間加熱した後、直ちに常温に冷却する。内容液は 250 mL の硬質三角フラスコに移し、残留物は水 20 mL ずつで 3 回よく洗い、洗液は 250 mL の硬質三角フラスコ中の液に合わせ、プロモクレゾールグリーン・メチルレッド試液 5 滴を加え、0.01 mol/L 硫酸で滴定 (2.50) する。ただし、滴定の終点は液の緑色が微灰青色を経て微灰赤紫色に変わるときとする。同様の方法で空試験を行い、補正する。

0.01 mol/L 硫酸の消費量は、容器の種類によって次の量以下である。

融封できる容器	0.30 mL
融封できない容器 (容器として用いる注射筒を含む)	2.00 mL

(ii) 第 2 法 融封できない内容 100 mL 以上の輸液用容器はこの方法による。

容器の内外をよく水で洗い、乾燥する。容器の実容積の 90 % に対応する容量の水を加え、硬質小ピーカーでふたをするか、又は適当な栓で密封した後、高圧蒸気滅菌器を用いて 121 °C で 1 時間加熱し、常温になるまで放置する。この液 100 mL を正確に量り、250 mL の硬質三角フラスコに入れ、プロモクレゾールグリーン・メチルレッド試液 5 滴を加え、0.01 mol/L 硫酸で滴定 (2.50) する。ただし、滴定の終点は液の緑色が微灰青色を経て微灰赤紫色に変わるときとする。別に水 100 mL を正確に量り、250 mL の硬質三角フラスコに入れ、以下同様の方法で滴定して空試験を行い、補正するとき、0.01 mol/L 硫酸の消費量は 0.10 mL 以下である。

(4) 着色容器の鉄溶出試験 着色容器 5 個以上をとり、水でよく洗い、105 °C で 30 分間乾燥し、表示された内容量の 0.01 mol/L 塩酸を入れ、融封できる容器は融封し、融封できない容器は、硬質小ピーカー又は硬質時計皿でふたをして、105 °C で 1 時間加熱する。冷後、この液 40.0 mL をとり、鉄試験法 (1.10) の第 1 法により検液を調製し、B 法により試験を行う。比較液には鉄標準液 2.0 mL を加える。

(5) 着色容器の遮光性試験 着色容器 5 個をとり、それぞれできるだけ湾曲の少ない切片に切断する。切片の表面を清浄にした後、分光光度計を用い、切片の中心部が光が垂直に透過するように切片をセルホルダーに固定し、空気を対照

生 薬 等

アカメガシワ

Mallotus Bark

MALLOTI CORTEX

本品はアカメガシワ *Mallotus japonicus* Mueller

Agroviensis (*Euphorbiaceae*) の樹皮である。

生薬の性状 本品は板状又は半管状の皮片で、厚さ 1 ~ 3 mm、外面は帯緑灰色~帯褐色で、灰白色~褐色の皮目が群をなし、縦しま状の模様として認められる。内面は淡黄褐色~灰褐色で多数の縦線を認めるが、平滑である。折りやすく、切面はやや繊維性である。

本品はわずかににおいがあり、味はやや苦く、わずかに取れん性である。

確認試験 本品の粉末 0.5 g にメタノール 10 mL を加え、水浴上で 5 分間加温し、ろ過し、ろ液を試料溶液とする。別に薄層クロマトグラフィー用ベルゲニン 1 mg をメタノール 1 mL に溶かし、標準溶液とする。これらの液につき、薄層クロマトグラフィー (2.03) により試験を行う。試料溶液及び標準溶液 10 μ L ずつを薄層クロマトグラフィー用シリカゲル (蛍光剤入り) を用いて調製した薄層板にスポットする。次に酢酸エチル/エタノール (95)/水混液 (100 : 17 : 13) を展開溶媒として約 10 cm 展開した後、薄層板を風乾する。これに紫外線 (主波長 254 nm) を照射するとき、試料溶液から得た数個のスポットのうち R_f 値 0.5 付近の 1 個のスポットは、標準溶液から得た暗青色のスポットと色調及び R_f 値が等しい。

乾燥減量 (5.01) 13.0 % 以下 (6 時間)。

灰分 (5.01) 12.0 % 以下。

酸不溶性灰分 (5.01) 2.5 % 以下。

エキス含量 (5.01) 希エタノールエキス 11.0 % 以上。

アセンヤク

Gambir

GAMBIR

阿仙薬

ガンビール

本品は *Uncaria gambir* Roxburgh (*Rubiaceae*) の葉及び若枝から得た水製乾燥エキスである。

生薬の性状 本品は褐色~暗褐色の砕きやすい塊で、内部の色は淡褐色を呈する。

本品はわずかににおいがあり、味は極めて渋く苦い。

確認試験

(1) 本品の粉末 0.2 g に水 10 mL を加え、水浴中で

時々振り混ぜながら 5 分間加温した後、ろ過し、冷後、ろ液にゼラチン試液 2 ~ 3 滴を加えるとき、液は白濁するか又は白色の沈殿を生じる。

(2) 本品の粉末 0.1 g に希エタノール 20 mL を加え、2 分間振り混ぜた後、ろ過し、ろ液 1 mL に希エタノール 9 mL を加えた液 1 mL にバニリン・塩酸試液 1 mL を加えるとき、液は淡赤色~赤褐色を呈する。

灰分 (5.01) 6.0 % 以下。

酸不溶性灰分 (5.01) 1.5 % 以下。

エキス含量 (5.01) 希エタノールエキス 70.0 % 以上。

アセンヤク末

Powdered Gambir

GAMBIR PULVERATUM

阿仙薬末

ガンビール末

本品は「アセンヤク」を粉末としたものである。

生薬の性状 本品は赤褐色~暗褐色を呈し、わずかににおいがあり、味は極めて渋く苦い。

本品をオリブ油又は流動パラフィンに浸して鏡検 (5.01) するとき、針状結晶の塊又は黄褐色~赤褐色の有角性の破片からなり、表皮組織及び厚膜化した毛を認める。

確認試験

(1) 本品 0.2 g に水 10 mL を加え、水浴中で時々振り混ぜながら 5 分間加温した後、ろ過し、冷後、ろ液にゼラチン試液 2 ~ 3 滴を加えるとき、液は白濁するか又は白色の沈殿を生じる。

(2) 本品 0.1 g に希エタノール 20 mL を加え、2 分間振り混ぜた後、ろ過し、ろ液 1 mL に希エタノール 9 mL を加えた液 1 mL にバニリン・塩酸試液 1 mL を加えるとき、液は淡赤色~赤褐色を呈する。

灰分 (5.01) 6.0 % 以下。

酸不溶性灰分 (5.01) 1.5 % 以下。

エキス含量 (5.01) 希エタノールエキス 70.0 % 以上。

アヘン・トコン散

Opium Ipecac Powder

ドール散

本品は定量するとき、モルヒネ ($C_{17}H_{19}NO_3$; 285.34) 0.90 ~ 1.10 % を含む。

製法

アヘン末	100 g
トコン末	100 g
デンプン又は適当な賦形剤	適量
全量	1000 g

以上をとり、散剤の製法により製する。本品には「乳糖水和物」を加えない。

性状 本品は淡褐色の粉末である。

ヨクイニン末

Powdered Coix Seed

COICIS SEMEN PULVERATUM

薏苡仁末

本品は「ヨクイニン」を粉末としたものである。

生薬の性状 本品は帯褐灰白色～灰黄白色を呈し、弱においがあり、味はわずかに甘い。

本品を鏡検 (5.01) するとき、でんぷん粒及びこれを含む内乳組織の破片、黄色を帯びた長方形の細胞からなる果皮の表皮細胞を伴った組織の破片、脂肪油並びにアリュエロン粒及びでんぷん粒を共存する柔組織の破片を認め、極めて少数のらせん紋道管の破片を認める。でんぷん粒は単粒及び2個の複粒で、単粒はほぼ等径性で鈍多角形、径 10～20 μm、中央に星形裂隙状のへそがある。アリュエロン粒と共存するでんぷん粒は単粒で、球形、径 3～7 μm である。

確認試験 本品の少量をスライドガラス上にとり、ヨウ素試液を滴加して鏡検 (5.01) するとき、通例、径 10～15 μm、ほぼ等径性で鈍多角形の単でんぷん粒及び複でんぷん粒は帯赤褐色を呈し、脂肪油、アリュエロン粒と共存して柔細胞中に含まれる小球形のでんぷん粒は青紫色を呈する。

純度試験 異物 本品を鏡検 (5.01) するとき、ケイ酸化した細胞壁を持つ組織の破片、石細胞その他厚膜木化した細胞、網紋道管、階紋道管、孔紋道管、繊維及び毛の破片、ヨウ素試液で青紫色を呈する径 10 μm 以上の大型でんぷん粒を認めない。

乾燥減量 (5.01) 14.0 % 以下 (6 時間)。

灰分 (5.01) 3.0 % 以下。

貯法 容器 気密容器。

リュウコツ

Longgu

FOSSILIA OSSIS MASTODI

竜骨

本品は大型は哺乳動物の化石化した骨で、主として炭酸カルシウムからなる。

生薬の性状 本品は不定形の塊又は破片で、ときには円柱状の塊である。外面は淡灰白色を呈し、ところどころに灰黒色又は黄褐色のはん点を付けるものがある。外側部は質のち密な 2～10 mm の層からなり、淡褐色を呈する多孔質部を包囲する。質は重くて堅いがややもろく、破碎すると小片及び粉末となる。

本品はにおい及び味が無い。なめるとき、舌に強く吸着する。

確認試験

(1) 本品の粉末 0.5 g を希塩酸 10 mL に溶かすとき、ガスを発生し、わずかに淡褐色を帯びるやや混濁した液となる。このガスを水酸化カルシウム試液に通じるとき、白色の沈殿を生じる。

(2) (1) で得た混濁液は特異なにおいを発する。この液をろ過し、アンモニア試液で中和した液はカルシウム塩の定性反応 (1.09) を呈する。

(3) 本品の粉末 0.1 g に硝酸 5 mL を加え、加温して溶かし、七モリブデン酸六アンモニウム試液を加えるとき、黄色の沈殿を生じる。

純度試験

(1) 重金属 (1.07) 本品の粉末 2.0 g に水 5 mL を加えて振り混ぜた後、徐々に塩酸 6 mL を加え、水浴上で蒸発乾固し、残留物を水 50 mL に溶かし、ろ過する。ろ液 25 mL に希酢酸 2 mL、アンモニア試液 1 滴及び水を加えて 50 mL とする。これを検液とし、試験を行う。比較液は塩酸 3 mL を水浴上で蒸発乾固し、希酢酸 2 mL、鉛標準液 2.0 mL 及び水を加えて 50 mL とする (20 ppm 以下)。

(2) ヒ素 (1.11) 本品の粉末 0.20 g をとり、第 2 法により検液を調製し、試験を行う (10 ppm 以下)。

リュウタン

Japanese Gentian

GENTIANAE SCABRAE RADIX

竜胆

本品はトウ lindou *Gentiana scabra* Bunge, *Gentiana manshurica* Kitagawa 又は *Gentiana triflora* Pallas (*Gentianaceae*) の根及び根茎である。

生薬の性状 本品は不整円柱状の短い根茎の周囲に多くの細長い根を付けたものである。外面は黄褐色～灰黄褐色を呈する。根は長さ 10～15 cm、径約 0.3 cm で、外面にあらわな縦じわがあり、その質は柔軟である。折面は平らで、黄褐色を呈する。根茎は長さ約 2 cm、径約 0.7 cm で、上端に芽又は短い茎の残基を付ける。

本品は弱においがあり、味は極めて苦く、残留性である。

本品の横切片を鏡検 (5.01) するとき、根では幼若なものには表皮、外皮及び数層の一次皮部を残すが、通例、その最外層は数個の娘細胞に分割した特異な細胞からなる内皮で、しばしばこれに内接して 1～2 層の厚角組織がある。二次皮部はところどころに裂け目があり、不規則に師管を分布し、木部には道管がやや放射状に配列し、木部内師管がある。根茎には大きい髓があり、髓には師管を認めることがある。柔細胞中にはシュウ酸カルシウムの小さい針晶、板晶若しくは砂晶又は油滴を含み、でんぷん粒は、通例、認めない。

確認試験 本品の粉末 0.5 g にメタノール 10 mL を加え、20 分間振り混ぜて、ろ過し、ろ液を試料溶液とする。別に薄層クロマトグラフィー用ゲンチオピクロシド 1 mg をメタノール 1 mL に溶かし、標準溶液とする。これらの液につき、薄層クロマトグラフィー (2.03) により試験を行う。試料溶液及び標準溶液 10 μL ずつを薄層クロマトグラフィー用シリカゲル (蛍光剤入り) を用いて調製した薄層板にスポットする。次に酢酸エチル/エタノール (99.5)/水混液 (8:2:1) を展開溶媒として約 10 cm 展開した後、薄層板を風乾する。これに紫外線 (主波長 254 nm) を照射するとき、試料溶液から得た数個のスポットのうち 1 個のスポットは、標準溶液から得た暗紫色のスポットと色調及び R_f 値が等しい。

灰分 (5.01) 7.0 % 以下。

酸不溶性灰分 (5.01) 3.0 % 以下。

参考資料 No. 1 - 2

第十五改正日本薬局方第一追補

平成20年12月9日
医薬食品局審査管理課

生薬総則 改正事項

生薬総則の部 1の条を次のように改める。

- 1 医薬品各条の生薬は、動植物の薬用とする部分、細胞内容物、分泌物、抽出物又は鉱物などであり、生薬総則及び生薬試験法を適用する生薬は次のとおりである。

アカメガシワ、アセンヤク、アセンヤク末、アマチャ、アマチャ末、アラビアゴム、アラビアゴム末、アロエ、アロエ末、アンソッコウ、イレイセン、インチンコウ、インヨウカク、ウイキョウ、ウイキョウ末、ウコン、ウコン末、ウヤク、ウワウルシ、エイジツ、エイジツ末、エンゴサク、エンゴサク末、オウギ、オウゴン、オウゴン末、オウセイ、オウバク、オウバク末、オウレン、オウレン末、オンジ、オンジ末、カゴソウ、カシユウ、ガジュツ、カッコン、カノコソウ、カノコソウ末、カロコン、カンキョウ、カンゾウ、カンゾウ末、カンテン、カンテン末、キキョウ、キキョウ末、キクカ、キササゲ、キジツ、キョウカツ、キョウニン、クコシ、クジン、クジン末、ケイガイ、ケイヒ、ケイヒ末、ケツメイシ、ケンゴシ、ゲンチアナ、ゲンチアナ末、ゲンノショウコ、ゲンノショウコ末、コウカ、コウジン、コウブシ、コウブシ末、コウボク、コウボク末、ゴオウ、ゴシツ、ゴシュユ、ゴボウシ、ゴミシ、コメデンブン、コロombo、コロombo末、コンズランゴ、サイコ、サイシン、サフラン、サンキライ、サンキライ末、サンザシ、サンシシ、サンシシ末、サンシュユ、サンシヨウ、サンシヨウ末、サンソウニン、サンヤク、サンヤク末、ジオウ、シゴカ、ジコッピ、シコン、シツリシ、シャクヤク、シャクヤク末、ジャシヨウシ、シャゼンシ、シャゼンソウ、ジュウヤク、シユクシヤ、シユクシヤ末、シヨウキョウ、シヨウキョウ末、シヨウズク、シヨウマ、シンイ、セッコウ、セネガ、セネガ末、センキユウ、センキユウ末、ゼンコ、センコツ、センソ、センナ、センナ末、センブリ、センブリ末、ソウジュツ、ソウジュツ末、ソウハクヒ、ソボク、ソヨウ、ダイオウ、ダイオウ末、タイソウ、タクシャ、タクシャ末、チクセツニンジン、チクセツニンジン末、チモ、チヨウジ、チヨウジ末、チヨウトウコウ、チヨレイ、チヨレイ末、チンピ、テンマ、テンモンドウ、トウガシ、トウガラシ、トウガラシ末、トウキ、トウキ末、トウニン、トウニン末、トウヒ、ドクカツ、トコン、トコン末、トチュウ、トラガント、トラガント末、ニガキ、ニガキ末、ニンジン、ニンジン末、ニンドウ、パイモ、バクモンドウ、ハチミツ、ハッカ、ハマボウフウ、ハンゲ、ビヤクゴウ、ビヤクシ、ビヤクジュツ、ビヤクジュツ末、ビワヨウ、ビンロウジ、ブクリヨウ、ブクリヨウ末、ブシ、ブシ末、ベラドンナコン、ヘンズ、ボウイ、ボウコン、ボウフウ、ボタンビ、ボタンビ末、ホミカ、ボレイ、ボレイ末、マオウ、マクリ、マシニン、モクツウ、モッコウ、ヤクチ、ヤクモソウ、ユウタン、ヨクイニン、ヨクイニン末、リュウコツ、リュウタン、リュウタン末、リョウキョウ、レンギョウ、レンニク、ロジン、ロートコン。

一般試験法 改正事項

一般試験法の部 前文を次のように改める。

一般試験法は、共通な試験法、医薬品の品質評価に有用な試験法及びこれに関連する事項をまとめたものである。別に規定するもののほか、アルコール数測定、アンモニウム試験、液体クロマトグラフィーによる試験、塩化物試験、炎色反応試験、エンドトキシン試験、核磁気共鳴スペクトル測定、かさ密度測定、ガスクロマトグラフィーによる試験、乾燥減量試験、眼軟膏の金属性異物試験、凝固点測定、強熱減量試験、強熱残分試験、屈折率測定、蛍光光度法による試験、原子吸光光度法による試験、抗生物質の微生物学的力価試験、鮫油試験、酸素フラスコ燃焼法による試験、残留溶媒試験、紫外可視吸光度測定、重金属試験、消化力試験、生薬の微生物限度試験、蒸留試験、浸透圧測定、水分測定、製剤均一性試験（含量均一性試験、質量偏差試験）、製剤の粒度の試験、制酸力試験、赤外吸収スペクトル測定、旋光度測定、タツブ密度測定、窒素定量、注射剤の採取容量試験、注射剤の不溶性異物検査、注射剤の不溶性微粒子試験、注射剤用ガラス容器試験、定性反応、滴定終点検出、鉄試験、点眼剤の不溶性異物検査、点眼剤の不溶性微粒子試験、導電率測定、熱分析、粘度測定、薄層クロマトグラフィーによる試験、発熱性物質試験、pH 測定、比重測定、微生物限度試験、ヒ素試験、ビタミン A 定量、比表面積測定、沸点測定、プラスチック製医薬品容器試験、粉体の粒子密度測定、粉末 X 線回折測定、崩壊試験、密度測定、無菌試験、メタノール試験、有機体炭素試験、融点測定、輸液用ゴム栓試験、溶出試験、硫酸塩試験、硫酸呈色物試験及び粒度測定は、それぞれの試験法により行う。ただし、油脂の融点、脂肪酸凝固点、比重、酸価、けん化価、エステル価、水酸基価、不けん化物及びヨウ素価は、油脂試験法中のそれぞれの項に、生薬の試料の採取、分析用試料の調製、鏡検、純度試験、乾燥減量、灰分、酸不溶性灰分、エキス含量及び精油含量の試験は、生薬試験法中のそれぞれの項に従う。

それぞれの試験法等に付した番号は、一般試験法を分類し付与した固有のものである。医薬品各条等において、〈 〉を付すものは該当する一般試験法の番号を示す。

一般試験法の部 1.09 定性反応の条マンガン塩の項の次に次の一項を加える。

1.09 定性反応

メシル酸塩

(1) メシル酸塩に 2 倍量の水酸化ナトリウムを加え、穏やかに加熱して融解し、20 ～ 30 秒間加熱を続ける。冷後、少量の水を加えた後、希塩酸を加え、加温するとき、発生するガスは潤したヨウ素カリウムデンプン紙を青変する。

(2) メシル酸塩に 3 倍量の硝酸ナトリウム及び 3 倍量の

無水炭酸ナトリウムを加えてよくかき混ぜ、徐々に加熱する。冷後、残留物を薄めた希塩酸 (1 → 5) に溶かし、必要ならばろ過し、ろ液に塩化バリウム試液を加えるとき、白色の沈殿を生じる。

一般試験法の部 2.01 液体クロマトグラフィーの条を次のように改める。

2.01 液体クロマトグラフィー

液体クロマトグラフィーは、適当な固定相を用いて作られたカラムに試料混合物を注入し、移動相として液体を用い、固定相に対する保持力の差を利用してそれぞれの成分に分離し、分析する方法であり、液体試料又は溶液にできる試料に適用でき、物質の確認、純度の試験又は定量などに用いる。

与えられたカラムに注入された混合物は各成分に固有の比率 k で、移動相と固定相に分布する。

$$k = \frac{\text{固定相に存在する量}}{\text{移動相に存在する量}}$$

この比率 k は、液体クロマトグラフィーでは質量分布比 k' などと呼ばれる。この比率 k と移動相のカラム通過時間 t_0 ($k = 0$ の物質の試料注入時からピークの頂点までの時間) 及び保持時間 t_R (測定試料の注入時からピークの頂点までの時間) との間には次の関係があるので、同一条件では、保持時間は物質に固有の値となる。

$$t_R = (1 + k) t_0$$

装 置

通例、移動相送液用ポンプ、試料導入装置、カラム、検出器及び記録装置からなり、必要に応じて移動相組成制御装置、カラム恒温槽、反応試薬送液用ポンプ及び化学反応槽などを用いる。ポンプは、カラム及び連結チューブなどの中に移動相及び反応試薬を一定流量で送ることができるものである。試料導入装置は、一定量の試料を再現性よく装置に導入するものである。カラムは、一定の大きさにそろえた液体クロマトグラフィー用充てん剤を内面が平滑で不活性な金属などの管に均一に充てんしたものである。なお、充てん剤の代わりに固定相を管壁に保持させたものを用いることができる。検出器は、試料の移動相とは異なる性質を検出するもので、紫外又は可視吸光光度計、蛍光光度計、示差屈折計、電気化学検出器、化学発光検出器、電気伝導度検出器及び質量分析計などがあり、通例、数 μg 以下の試料に対して濃度に比例した信号を出すものである。記録装置は、検出器により得られる信号の強さを記録するものである。必要に応じて記録装置としてデータ処理装置を用いてクロマトグラム、保持時間、又は成分定量値などを記録あるいは出力させることができる。移動相組成制御装置は、段階的制御 (ステップワイズ方式) と濃度勾配制御 (グラジエント方式) があり、移動相組成を制御できるものである。

操 作 法

装置をあらかじめ調整した後、医薬品各条に規定する操作条件の検出器、カラム、移動相を用い、移動相を規定の流量で流し、カラムを規定の温度で平衡にした後、医薬品各条に規定す

する。遮光して湿気避け、冷所に保存する。

標定 操作法に従い、水分測定用メタノール適量を乾燥測定フラスコにとる。これにあらかじめ水分測定用試液を終点まで滴加してフラスコ内を無水の状態にしておく。次に水約 30 mg を精密に量り、速やかに滴定フラスコに入れ、激しくかき混ぜながら水分測定用試液で終点まで滴定する。水分測定用試液の 1 mL に対応する水 (H₂O) のミリグラム数 f (mg/mL) を次の式によって求める。

$$f \text{ (mg/mL)} = \frac{\text{水 (H}_2\text{O) の採取量 (mg)}}{\text{水 (H}_2\text{O) の滴定に要した水分測定用試液の量 (mL)}}$$

一般試験法の部 2.49 旋光度測定法の条を次のように改める。

2.49 旋光度測定法

旋光度測定法は、試料の旋光度を旋光計によって測定する方法である。

一般に光線の振動は、進行の方向に垂直に起こるが、通常の光線では、その振動方向は限定されない。しかし、一般に偏光といわれる平面偏光では、振動は進行方向を含む一平面内のみ起こり、このような光線は、偏光面を有するという。薬品又はその溶液には、偏光面を右又は左に回転させる性質を持つものがある。この性質を光学活性又は旋光性といい、物質の化学構造に関係がある。

旋光度は、光学活性物質又はその溶液が偏光面を回転する角度で、旋光計によって測定する。この値は測定管の層長に比例し、溶液の濃度、温度及び波長に関係する。旋光の性質は、偏光の進行方向に向き合って、偏光面を右に回転するものを右旋性、左に回転するものを左旋性とし、偏光面を回転する角度を示す数字の前に、それぞれ、記号 + 又は - をつけて示す。例えば、+20° は右に 20°、-20° は左に 20° 回転することを意味する。

旋光度 α'_t とは、特定の単色光 x (波長又は名称で記載する) を用い、温度 t °C で測定したときの旋光度を意味し、その測定は、通例、温度は 20°C 又は 25°C、層長は 100 mm、光線はナトリウムスペクトルの D 線で行う。

比旋光度 $[\alpha]_t$ は、次の式で表す。

$$[\alpha]_t = 100 \alpha / lc$$

t : 測定時の温度

x : 用いたスペクトルの特定の単色光の波長又は名称 (D 線を用いたときは、D と記載する。)

α : 偏光面を回転した角度

l : 試料溶液の層、すなわち、測定に用いた測定管の長さ (mm)

c : 日本薬局方では、溶液 1 mL 中に存在する薬品の g 数である。液状薬品を溶液としないでそのまま用いたときは、その密度である。ただし、別に規定するもののほか、この密度の代わりに、その比重を用いる。

医薬品各条で、例えば $[\alpha]_D^{20}$: -33.0 ~ -36.0° (乾燥後、1 g、水、20 mL、100 mm) とは、本品を乾燥減量の項に規定する条件で乾燥し、その約 1 g を精密に量り、水に溶かし正確に 20 mL とし、この液につき、20°C、層長 100 mm で測定するとき、 $[\alpha]_D^{20}$ が -33.0 ~ -36.0° であることを示す。

一般試験法の部 4.01 エンドトキシン試験法の条エンドトキシン標準原液の調製の項を次のように改める。

4.01 エンドトキシン試験法

エンドトキシン標準原液の調製

エンドトキシン標準原液はエンドトキシン標準品をエンドトキシン試験用水で溶解して調製する。なお、エンドトキシン単位は EU で示し、1 EU は 1 エンドトキシン国際単位 (IU) に等しい。

一般試験法の部 4.05 微生物限度試験法の条を次のように改める。

4.05 微生物限度試験法

微生物限度試験法には生菌数試験及び特定微生物試験が含まれる。原料又は製品の任意の異なる数箇所 (又は部分) から採取したものを混和し、試料として試験を行う。試料を液体培地で希釈する場合は、速やかに試験を行う。また、本試験を行うに当たっては、バイオハザード防止に十分に留意する。

I. 非無菌製品の微生物学的試験：生菌数試験

本試験法は、三薬局方での調和合意に基づき規定した試験法である。

1. 序文

本試験は、好氣的条件下で発育可能な中温性の細菌及び真菌を定量的に測定する方法である。

本試験は、原料や製剤が既定の微生物学的品質規格に適合するか否かを判定することを主目的としたものである。採取試料数も含めて指示通りに試験を実施し、結果を判定する。

有効成分として生菌を含む製品には、本試験を適用しない。

局方試験法との同等性が示されている場合は、自動化法を含む別の微生物学的方法を用いてもよい。

2. 基本手順

生菌数測定は、被験製品への外部からの微生物汚染を回避するように設計された条件下で行う。汚染を回避するための予防措置は、試験で検出しようとしているいかなる微生物に対しても影響を与えてはならない。

被験製品が抗菌活性を有する場合は、この抗菌活性を可能な限り除去又は中和する。この目的のために不活化剤を用いる場合は、その有効性と微生物に対する毒性がないことを確認する。

試料の調製に界面活性剤を使用する場合は、微生物に対する毒性がないこと、及び用いる不活化剤との間に相互作用がないことを確認する。

3. 生菌数測定法

通常はメンブランフィルター法又はカンテン平板法を用いる。最確数 (MPN) 法は概して精度に欠ける菌数測定法ではあるが、バイオバーデン (汚染菌数) が非常に少ない製品群に対しては最適な方法となることもある。

製品の特性や要求される微生物限度値などに基づいて測定法を選択するが、選択した測定法は、規格に適合していることを判断するのに十分な試料量を試験できるものでなければならない。また、選択した方法の適合性を確認する。

4. 培地性能及び測定法の適合性

4.1. 一般要件

被験製品存在下における微生物検出能力を確認する。

また、試験結果に影響を及ぼすような試験法の変更や製品の処方変更があった場合には、再度、適合性を確認する。

4.2. 試験菌の調製

試験菌は標準化された安定な懸濁液を使用するか、又は次に示す手順で調製する。

なお、試験に用いる微生物は、最初のマスターシードロットからの継代数 5 回を超えないように、シードロット培養管理手法 (シードロットシステム) を用いて管理する。細菌及び真菌の各試験菌について、表 4.05-I-1 に示す条件でそれぞれ個別に培養する。

試験菌懸濁液の調製には、pH 7.0 のペプトン食塩緩衝液又は pH 7.2 のリン酸緩衝液を用いる。*Aspergillus niger* の孢子を懸濁させるために、緩衝液にポリソルベート 80 を 0.05 % 加えても良い。懸濁液は 2 時間以内、又は 2 ~ 8 °C に保存する場合は 24 時間以内に用いる。*Aspergillus niger* 又は *Bacillus subtilis* の栄養型細胞の新鮮懸濁液を調製して希釈する代わりに、孢子懸濁液又は芽胞懸濁液を調製し、接種菌液として使用できる。それぞれの懸濁液は、保証された期間内は 2 ~ 8 °C で保存できる。

4.3. 陰性対照

試験状態を確認するために、試料液の代わりに希釈液を用いて陰性対照試験を実施する。微生物の発育があってはならない。

4.4. 培地性能

市販培地についてはパッチごとに試験する。また、乾燥粉末培地又は各成分より調製した培地については、調製パッチごとに試験する。

表 4.05-I-1 に示す微生物の少数 (100 CFU 以下) をソイビーン・カゼイン・ダイジェスト培地の一部、ソイビーン・カゼイン・ダイジェストカンテン培地及びサブロー・ブドウ糖カンテン培地の平板に接種する。菌株ごとに別個の液体培地の一部又は平板を用い、表 4.05-I-1 に示した条件でそれぞれ培養する。

カンテン培地では、接種菌の出現集落数は標準化された菌液の計測値の 1/2 から 2 倍以内でなければならない。新鮮培養菌を用いて試験する場合は、有効性が確認された培地パッチで以前に得られた発育と同等の発育を示さなければならない。

液体培地では、有効性が確認された培地パッチで以前に得られた発育と同等の発育が認められなければならない。

4.5. 製品存在下での測定法の適合性

4.5.1. 試料の調製

試料の調製法は、被験製品の物理学的特性に依存する。以下に記載したいずれの方法も満足できるものでない場合は、別な

方法を確立する。

水溶性製品

被験製品を pH 7.0 のペプトン食塩緩衝液、pH 7.2 のリン酸緩衝液又はソイビーン・カゼイン・ダイジェスト培地で溶解又は希釈する (通常は 10 倍希釈液を調製する)。必要ならば、pH 6 ~ 8 に調整する。さらなる希釈が必要な場合は同じ希釈液で調製する。

水に不溶の非脂質製品

被験製品を pH 7.0 のペプトン食塩緩衝液、pH 7.2 のリン酸緩衝液又はソイビーン・カゼイン・ダイジェスト培地に懸濁させる (通常は 10 倍希釈液を調製する)。分散しやすくするために、例えばポリソルベート 80 (濃度: 1 g/L) のような界面活性剤を加えることができる。必要ならば、pH 6 ~ 8 に調整する。さらなる希釈が必要な場合は同じ希釈液で調製する。

脂質製品

被験製品をろ過滅菌したミリスチン酸イソプロピルに溶解するか、又は、必要ならば 40 °C 以下 (例外的な場合でも 45 °C 以下) に加温した最少必要量のポリソルベート 80 又は他の非阻害性の界面活性剤を用いて混合する。必要ならば水浴中で温度を保ちながら注意深く混和する。選定した希釈液をあらかじめ加温して加え、被験製品の 10 倍希釈液を調製する。乳化に必要な最短の時間で温度を保ちながら注意深く混和する。適切な濃度のポリソルベート 80、又は他の非阻害性の界面活性剤を含む同じ希釈液を用いて、更に 10 倍段階希釈系列を調製してもよい。

エアゾール状の液体又は固体

製品を無菌的にメンブランフィルター装置内又はさらなる試料採取のために滅菌容器内に移す。各被験容器から、全量あるいは定量噴霧の一定量のいずれかを用いる。

経皮吸収パッチ

経皮吸収パッチの保護被覆 ("剥離ライナー") を取り除き、粘着面を上向きにして滅菌ガラス又は滅菌プラスチックトレイの上に置く。パッチ同士が付着するのを防ぐために、滅菌した多孔性物質 (例えば滅菌ガーゼ) で粘着面を覆う。ポリソルベート 80 及び/又はレシチンなどの不活化剤を含む適当量の選定した希釈液にパッチを移し、少なくとも 30 分間激しく振とうする。

4.5.2. 接種及び希釈

100 CFU 以下の接種菌を得るのに十分な量の試験菌懸濁液を 4.5.1. で調製した試料液及び対照 (試料を含まない) に加える。接種する試験菌懸濁液の量は、試料液量の 1 % を超えてはならない。

製品からの許容可能な微生物回収結果を得るために、最も低い希釈率の試料液を用いて試験する。抗菌活性又は低溶解度のために、最も低い希釈率の試験法を使えない場合は、更に適切な試験手順を確立する。

試料による発育阻止が避けられない場合には、中和、希釈又はろ過の後に試験菌懸濁液を加えてもよい。

4.5.3. 抗菌活性の中和/除去

4.5.2. 及び 4.5.4. に示した手順に従って試験を行い、試料液から回収された菌数と、対照から回収された菌数とを比較する。

発育が阻害される場合 (試料液からの回収菌数が、対照から

の回収菌数の 1/2 未満の場合)は、正しい結果を得るために、生菌数測定の方法を変更する。方法の変更には、例えば(1)希釈液又は培地の増量、(2)特異的又は一般的な中和剤の希釈液への添加、(3)膜ろ過、又は(4)上記の手段の組み合わせが含まれる。中和剤：抗菌剤の活性を中和するため、中和剤を用いることができる(表 4.05-I-2)。中和剤は、選定した希釈液又は培地に、可能な限り滅菌前に添加する。中和剤を用いた場合は、その有効性と微生物に対する毒性がないことを、製品を含まずに中和剤のみを加えたブランク試験で確認する。

適切な中和法が確立できない場合には、その製品のもつ殺菌活性のために、接種菌が分離できないと見なす。したがって、その製品が接種菌と同種の菌やその近縁種によって汚染されている可能性は低いと考える。しかし、その製品がこれらの微生物の一部を阻害するだけで、試験菌株以外の菌株は阻害しない可能性もあるので、微生物の発育とその許容基準に見合った最も低い濃度で試験を行う。

4.5.4. 製品存在下での微生物回収

表 4.05-I-1 に記載されている微生物ごとに個別に試験する。添加した微生物のみを対象に測定する。

4.5.4.1. メンブランフィルター法

メンブランフィルターは、孔径 0.45 μm 以下のものを使用する。フィルターの材質は、被験試料の成分によって細菌捕集能力が影響されないように注意して選択する。表 4.05-I-1 の微生物ごとに 1 枚のメンブランフィルターを用いる。

4.5.1. ~ 4.5.3. の記載どおりに調製した試料の適量(可能であれば製品の 1 g 相当量、又は多数の集落の形成が予測される場合はそれ以下)をメンブランフィルターに移して直ちにろ過し、適量の希釈液でメンブランフィルターを洗浄する。

メンブランフィルターを、総好気性微生物数(total aerobic microbial count; TAMC)測定用としてソイビーン・カゼイン・ダイジェストカンテン培地の表面に、総真菌数(total combined yeasts/moulds count; TYMC)測定用としてサブロー・ブドウ糖カンテン培地の表面に移す。表 4.05-I-1 に示した条件で平板を培養後、集落数を測定する。

4.5.4.2. カンテン平板法

カンテン平板法は、各培地に対して少なくとも 2 枚の平板を用いて実施し、結果はそれぞれの平板の測定菌数の平均値を用いる。

4.5.4.2.1. カンテン平板混釈法

直径 9 cm のペトリ皿を使用する場合、4.5.1. ~ 4.5.3. の記載どおりに調製した試料を 1 mL 分注する。これにあらかじめ 45°C 以下に保温した 15 ~ 20 mL のソイビーン・カゼイン・ダイジェストカンテン培地又はサブロー・ブドウ糖カンテン培地で混和する。より大きなペトリ皿を用いる場合は、それに応じてカンテン培地量を増加する。表 4.05-I-1 に挙げた微生物ごとに少なくとも 2 枚のペトリ皿を用いる。

表 4.05-I-1 に示した条件で平板培地を培養する。培地ごとに菌数の算術平均をとり、集落数を算出する。

4.5.4.2.2. カンテン平板表面塗抹法

直径 9 cm のペトリ皿を使用する場合は、15 ~ 20 mL のソイビーン・カゼイン・ダイジェストカンテン培地又はサブロー・ブドウ糖カンテン培地を約 45°C で加えて固化させ、例えば、層流式キャビネット又は恒温器の中で平板培地の表面を乾燥させる。より大きなペトリ皿を用いる場合は、それに応じ

てカンテン培地量を増加する。表 4.05-I-1 に挙げた微生物ごとに少なくとも 2 枚のペトリ皿を用いる。4.5.1. ~ 4.5.3. の記載どおりに試料を調製し、その 0.1 mL 以上を正確に測定して培地表面全体に広げる。4.5.4.2.1. の規定どおりに培養し、測定する。

4.5.4.3. 最確数(MPN)法

MPN 法の精度及び正確さは、メンブランフィルター法又はカンテン平板法よりも劣っている。特にかびの測定に対しては信頼性が低い。これらの理由のために、MPN 法は他に利用できる方法がない状況下での TAMC の測定に用いられる。本法を適用する場合は、以下のように行う。

4.5.1. ~ 4.5.3. の記載どおりに、製品の少なくとも 3 連続の 10 倍段階希釈系列を調製する。各希釈段階からそれぞれ 1 g 又は 1 mL ずつをとり、ソイビーン・カゼイン・ダイジェスト培地が 9 ~ 10 mL 入っている 3 本の試験管にそれぞれ接種する。必要ならば、ポリソルベート 80 のような界面活性剤、又は抗菌剤の不活化剤を培地に添加することができる。したがって、3 段階の希釈系列を調製した場合には、9 本の試験管に接種することになる。

全ての試験管を 30 ~ 35°C で 3 日間を超えない期間培養する。被験製品の性質によって結果の判定が困難あるいは不確かな場合は、同じ培地又はソイビーン・カゼイン・ダイジェストカンテン培地に移植後、同じ温度で 1 ~ 2 日間培養し、これらの結果を用いる。表 4.05-I-3 から被験製品 1 g 又は 1 mL 当たりの微生物の最確数を求める。

4.6. 結果及び判定

メンブランフィルター法又はカンテン平板法の適合性を確認するとき、いずれの試験菌の平均計測値も、4.5.2. で定義した製品が存在しない対照の計測値の 1/2 ~ 2 倍以内でなければならぬ。MPN 法の適合性を確認するとき、試験菌の計測値は、対照から得られる結果の 95 % 信頼限界の範囲内であればならぬ。

記述したいずれの方法においても、試験菌のうち 1 菌種でも上記の基準に満たない場合には、基準に最も近くなる方法と試験条件で製品を試験する。

5. 製品の試験

5.1. 試験量

別に規定するもののほか、上記の注意を払って採取した被験製品の 10 g 又は 10 mL を用いる。エアゾール形式の液体又は固体は、10 容器を抜き取る。経皮吸収パッチは、10 パッチを抜き取る。

次のような条件で処方される原薬は、試験量を減らすことができる：投与単位(例えば錠剤、カプセル剤、注射剤)当たりの原薬量が 1 mg 以下、又は 1 g あるいは 1 mL (投与単位では表示されていない製剤)当たりの原薬量が 1 mg 未満。これらの場合、被験試料の採取量は、製品の 10 投与単位又は 10 g あるいは 10 mL に存在する量よりも少なくないようにする。

原薬として使用される物質では、試料の量に限りがあるか又はロットサイズが極度に小さい(すなわち、1000 mL 又は 1000 g 未満)場合には、より小さな量が規定されているか又は正当な理由がない限り、試験量をロットの 1 % とする。

ロットを構成しているものの総数が 200 未満(例えば臨床試験で使われる試料)のような製品では、試験量は 2 単位に、

又は数量が 100 未満の場合は 1 単位に減らすことができる。

バルク原料又は製剤の収納容器から、無作為に試料を選び出す。必要量の試料を得るために、十分な数の容器の内容物を混合する。

5.2. 製品の試験

5.2.1. メンブランフィルター法

フィルターを培地に移すことができるように設計されているろ過装置を用いる。4. に記載されたとおりに適合性が示された方法で試料を調製し、適量を 2 枚のメンブランフィルターの各々に移して直ちにろ過する。適合性が確認された方法に従って、各フィルターを洗浄する。

1 枚のメンブランフィルターは、TAMC の測定のためにソイビーン・カゼイン・ダイジェストカンテン培地の表面に、他の 1 枚のメンブランフィルターは、TYMC の測定のためにサブロー・ブドウ糖カンテン培地の表面に移す。ソイビーン・カゼイン・ダイジェストカンテン培地を 30 ~ 35°C で 3 ~ 5 日間、サブロー・ブドウ糖カンテン培地を 20 ~ 25°C で 5 ~ 7 日間培養する。製品 1 g 又は 1 mL 当たりの集落数を算出する。

経皮吸収パッチを試験するときは、4.5.1. に記載されている調製液の 10 % 量ずつを 2 枚の滅菌メンブランフィルターで別々にろ過する。1 枚のメンブランフィルターは TAMC の計測のためにソイビーン・カゼイン・ダイジェストカンテン培地に移し、他のメンブランフィルターは TYMC の計測のためにサブロー・ブドウ糖カンテン培地に移す。

5.2.2. カンテン平板法

5.2.2.1. カンテン平板混釈法

4. に記載されたとおりに適合性が示された方法で試料を調製する。それぞれの培地に対し、希釈段階ごとに少なくとも 2 枚のペトリ皿を用意する。ソイビーン・カゼイン・ダイジェストカンテン培地は 30 ~ 35°C で 3 ~ 5 日間培養し、サブロー・ブドウ糖カンテン培地は 20 ~ 25°C で 5 ~ 7 日間培養する。集落数が TAMC では 250 未満、TYMC では 50 未満で、かつ最も多い集落数を示す希釈度のカンテン培地を選び出す。培地ごとに菌数の算術平均をとり、製品 1 g 又は 1 mL 当たりの集落数を算出する。

5.2.2.2. カンテン平板表面塗抹法

4. に記載されたとおりに適合性が示された方法で試料を調製する。それぞれの培地に対し、希釈段階ごとに少なくとも 2 枚のペトリ皿を用意する。培養及び集落数の算出は、カンテン平板混釈法に記載されているとおりに行う。

5.2.3. 最確数法

4. に記載されたとおりに適合性が示された方法で試料を調製し、希釈する。全ての試験管を 30 ~ 35°C で 3 ~ 5 日間培養する。必要ならば、適合性が示された方法で移植培養する。希釈段階ごとに、微生物の増殖が認められる試験管数を記録する。表 4.05-I-3 から被験製品 1 g 又は 1 mL 当たりの微生物の最確数を求める。

5.3. 結果の判定

ソイビーン・カゼイン・ダイジェストカンテン培地を使用して測定される集落数を、総好気性微生物数 (TAMC) とする。この培地上に真菌の集落が検出されても、TAMC として測定する。サブロー・ブドウ糖カンテン培地を使用して測定される集落数を、総真菌数 (TYMC) とする。この培地上に細菌の

集落が検出されても、TYMC として測定する。細菌の発育のために TYMC が許容基準を超えることが予測される場合には、抗生物質を含むサブロー・ブドウ糖カンテン培地を使用しても良い。MPN 法で計測を行う場合は、算出値は TAMC とする。

微生物学的品質の許容基準が規定されているときは、以下のよう判定する。

- 10^1 CFU: 最大許容数 = 20,
- 10^2 CFU: 最大許容数 = 200,
- 10^3 CFU: 最大許容数 = 2000, 以下同様。

推奨される溶液及び培地は、「特定微生物試験」に記載されている。

II. 非無菌製品の微生物学的試験：特定微生物試験

本試験法は、三薬局方での調和合意に基づき規定した試験法である。

1. 序文

本試験は、規定の条件下で検出可能な特定微生物が存在しないか、又はその存在が限られているかを判定する方法である。

本試験は、原料や製剤が既定の微生物学的品質規格に適合するか否かを判定することを主目的にしたものである。採取試料数も含めて指示通りに試験を実施し、結果を判定する。

局方試験法との同等性が示されている場合は、自動化法を含む別の微生物学的方法を用いてもよい。

2. 基本手順

試料の調製は、「生菌数試験」に記載されているとおりに行う。

被験製品が抗菌活性を有する場合は、「生菌数試験」に記載されているように可能な限りこの抗菌活性を除去又は中和する。

試料の調製に界面活性剤を使用する場合は、「生菌数試験」に記載されているように、微生物に対する毒性がないこと、及び用いる不活化剤との間に相互作用がないことを確認する。

3. 培地の性能試験及び試験の適合性

被験製品存在下においても微生物を検出する能力があることを確認する。また、試験結果に影響を及ぼすような試験法の変更や製品の処方変更があった場合には、再度、適合性を確認する。

3.1. 試験菌の調製

試験菌は標準化された安定な懸濁液を使用するか、又は次に示す手順で調製する。

なお、試験に用いる微生物は、最初のマスターシードロットからの継代数 5 回を超えないように、シードロット培養管理手法 (シードロットシステム) を用いて管理する。

3.1.1. 好気性微生物

各細菌試験用菌株を、ソイビーン・カゼイン・ダイジェスト培地中、又はソイビーン・カゼイン・ダイジェストカンテン培地上で、それぞれ 30 ~ 35°C で 18 ~ 24 時間培養する。カンジダ・アルビカンス用の試験菌株は、サブロー・ブドウ糖カンテン培地上、又はサブロー・ブドウ糖液体培地中で、それぞれ 20 ~ 25°C で 2 ~ 3 日間培養する。

Staphylococcus aureus (黄色ブドウ球菌): 例えば、ATCC 6538, NCIMB 9518, CIP 4.83 又は NBRC 13276,
Pseudomonas aeruginosa (緑膿菌): 例えば、ATCC 9027, NCIMB 8626, CIP 82.118 又は NBRC 13275,

Escherichia coli (大腸菌)：例えば、ATCC 8739, NCIMB 8545, CIP 53.126 又は NBRC 3972,

Salmonella enterica subsp.*enterica* serovar Typhimurium (サルモネラ)：例えば、ATCC 14028

又は代替として

Salmonella enterica subsp.*enterica* serovar Abony (サルモネラ)：例えば、NBRC 100797, NCTC 6017 又は CIP 80.39,

Candida albicans (カンジダ・アルビカンス)：例えば、ATCC 10231, NCPF 3179, IP 48.72 又は NBRC 1594

試験菌懸濁液の調製には、pH 7.0 のペプトン・食塩緩衝液又は pH 7.2 のリン酸緩衝液を用いる。懸濁液は 2 時間以内、又は 2 ~ 8°C に保存する場合は 24 時間以内に用いる。

3.1.2. クロストリジア

Clostridium sporogenes：例えば ATCC 11437 (NBRC 14293, NCIMB 12343, CIP 100651) 又は ATCC 19404 (NCTC 532 又は CIP 79.3) を用いる。クロストリジアの試験菌株を強化クロストリジア培地中に接種し、30 ~ 35°C で 24 ~ 48 時間嫌気的条件下で培養する。*Cl. sporogenes* の栄養型細胞の新鮮懸濁液を調製して希釈する代わりに、芽胞懸濁液を接種菌液として使用できる。芽胞懸濁液は、保証された期間内は 2 ~ 8°C で保存できる。

3.2. 陰性対照

試験状態を確認するために、試料液の代わりに使用した希釈液を用いて陰性対照試験を実施する。微生物の発育があつてはならない。

3.3. 培地の性能試験

市販培地についてはバッチごとに試験する。また、乾燥培地又は成分から調製した培地については、調製バッチごとに試験する。

表 4.05-II-1 に記載したように、関連培地について適切な特性を確認する。

発育促進特性試験、液体培地：適切な培地の一部に適切な少数の微生物 (100 CFU 以下) を接種する。規定された温度で培養し、培養時間は、試験法で規定されている培養期間の最短時間以内とする。有効性が確認された培地バッチで、以前に得られた発育と同等の発育が認められる。

発育促進特性試験、固体培地：各平板培地に適切な少数の微生物 (100 CFU 以下) を接種し、カンテン平板表面塗抹法で行う。規定された温度で培養し、培養時間は、試験法で規定されている培養期間の最短時間以内とする。有効性が確認された培地バッチで、以前に得られた発育と同等の発育が認められる。

選択特性試験、液体又は固体培地：適切な培地に適切な微生物を少なくとも 100 CFU 接種する。規定された温度で培養し、培養時間は試験法で規定されている培養期間の最長時間以上とする。試験菌の発育を認めない。

鑑別特性試験：各平板培地に適切な少数の微生物 (100 CFU 以下) を接種し、カンテン平板表面塗抹法で行う。規定された温度で培養し、培養時間は試験法で規定されている培養期間の範囲内とする。集落の形状と鑑別反応は、有効性が確認された培地バッチで以前に得られたものと同等である。

3.4. 試験法の適合性

被験製品ごとに、4. の関連段落に記載されたとおりに試料調製する。規定の増菌培地に混合する時に各試験菌を添加する。

試験菌は個別に接種する。また、接種した試験液中の菌数が 100 CFU 以下相当となるような数の微生物を使用する。

4. の関連段落に記載されたとおりに試験する。ただし、規定された最短培養期間で試験する。

特定微生物は、4. に記載された鑑別反応と共に検出されなければならない。

製品に抗菌活性が認められる場合には、試験方法の変更が必要になる (「生菌数試験」の 4.5.3. を参照)。

ある特定の製品において、規定された方法ではその微生物に対する抗菌活性を中和することができない場合には、抑制された微生物はその製品中には存在しないと見なしてよい。

4. 製品の試験

4.1. 胆汁酸抵抗性グラム陰性菌

4.1.1. 試料調製及び前培養

被験製品を 1 g 以上採り、その 10 倍希釈液を「生菌数試験」に記載したように調製するが、希釈液としてはソイビーン・カゼイン・ダイジェスト培地を用い、混合後、菌を蘇生させるために 20 ~ 25°C で培養する。ただし、増菌を促すほどの時間であつてはならない (通例 2 時間であり、5 時間を超えないこと)。

4.1.2. 否定試験

他に規定されない限り、4.1.1. で調製した製品 1 g に相当する量をモゼル腸内細菌増菌ブイヨン培地に接種する。30 ~ 35°C で 24 ~ 48 時間培養後、バイオレット・レッド・胆汁酸・ブドウ糖カンテン培地に移植し、30 ~ 35°C で 18 ~ 24 時間培養する。

集落の発育がみられない場合は、その製品は本試験に適合する。

4.1.3. 定量試験

4.1.3.1. 選択培養

4.1.1. に記載されている調製液及び/又はその希釈液であつて、それぞれ被験製品の 0.1 g, 0.01 g, 0.001 g (又は 0.1 mL, 0.01 mL, 0.001 mL) 相当量を、適量のモゼル腸内細菌増菌ブイヨン培地に接種する。30 ~ 35°C で 24 ~ 48 時間培養後、バイオレット・レッド・胆汁酸・ブドウ糖カンテン培地に各培養液を移植し、30 ~ 35°C で 18 ~ 24 時間培養する。

4.1.3.2. 判定

集落の発育が認められた場合は、陽性と判定する。陽性結果を与える製品の最小量と陰性結果を与える最大量に注目し、表 4.05-II-2 から細菌の推定数を求める。

4.2. 大腸菌

4.2.1. 試料調製及び前培養

被験製品を 1 g 以上採り、「生菌数試験」に記載したように調製した 10 倍希釈液の 10 mL、あるいは 1 g 又は 1 mL 相当量を (3.4. で決定した) 適切な量のソイビーン・カゼイン・ダイジェスト培地に接種し、混合後、30 ~ 35°C で 18 ~ 24 時間培養する。

4.2.2. 選択培養

容器を振り、ソイビーン・カゼイン・ダイジェスト培地の 1 mL をマッコンキー液体培地 100 mL に接種する。42 ~ 44°C で 24 ~ 48 時間培養後、マッコンキーカンテン培地に移植し、30 ~ 35°C で 18 ~ 72 時間培養する。

4.2.3. 判定

集落の発育が認められた場合は陽性を疑い、同定試験により確認する。

集落が存在しないか、又は同定試験において陰性と判定された場合には、その製品は本試験に適合する。

4.3. サルモネラ

4.3.1. 試料調製及び前培養

被験製品を 10 g 又は 10 mL 採り、(3.4.で決定した) 適量のソイビーン・カゼイン・ダイジェスト培地に接種し、混合後、30 ~ 35°C で 18 ~ 24 時間培養する。

4.3.2. 選択培養

ソイビーン・カゼイン・ダイジェスト培地 0.1 mL をラポポート・バシリアジス・サルモネラ増菌液体培地 10 mL に接種する。30 ~ 35°C で 18 ~ 24 時間培養後、XLD カンテン培地に移植し、30 ~ 35°C で 18 ~ 48 時間培養する。

4.3.3. 判定

十分に発育した赤色集落が認められた場合は、中心部の黒点の有無に関わらず陽性を疑い、同定試験により確認する。

記載されている種類の集落が存在しないか、又は同定試験において陰性と判定された場合には、その製品は本試験に適合する。

4.4. 緑膿菌

4.4.1. 試料調製及び前培養

被験製品を 1 g 以上採り、「生菌数試験」に記載したように調製した 10 倍希釈液の 10 mL、あるいは 1 g 又は 1 mL 相当量を (3.4.で決定した) 適量のソイビーン・カゼイン・ダイジェスト培地に接種して混合し、30 ~ 35°C で 18 ~ 24 時間培養する。経皮吸収パッチを試験するときは、「生菌数試験 (4.5.1.)」に記載したように調製し、1 パッチ相当量を滅菌メンブランフィルターでろ過し、そのメンブランフィルターを 100 mL のソイビーン・カゼイン・ダイジェスト培地中に投入する。

4.4.2. 選択培養

セトリミドカンテン培地に移植し、30 ~ 35°C で 18 ~ 72 時間培養する。

4.4.3. 判定

集落の発育が認められた場合は陽性を疑い、同定試験により確認する。

集落が存在しないか、又は同定試験において陰性と判定された場合には、その製品は本試験に適合する。

4.5. 黄色ブドウ球菌

4.5.1. 試料調製及び前培養

被験製品を 1 g 以上採り、「生菌数試験」に記載したように調製した 10 倍希釈液の 10 mL、あるいは 1 g 又は 1 mL 相当量を (3.4.で決定した) 適量のソイビーン・カゼイン・ダイジェスト培地に接種して混合し、30 ~ 35°C で 18 ~ 24 時間培養する。経皮吸収パッチを試験するときは、「生菌数試験 (4.5.1.)」に記載したように調製した 1 パッチ相当量を滅菌メンブランフィルターでろ過し、そのメンブランフィルターを 100 mL のソイビーン・カゼイン・ダイジェスト培地中に投入する。

4.5.2. 選択培養

マンニット・食塩カンテン培地に移植し、30 ~ 35°C で 18 ~ 72 時間培養する。

4.5.3. 判定

黄色の帯に囲まれた黄色又は白色集落の発育が認められた場合は陽性を疑い、同定試験により確認する。

記載されている種類の集落が存在しないか、又は同定試験において陰性と判定された場合には、その製品は本試験に適合する。

4.6. クロストリジア

4.6.1. 試料調製及び加熱処理

被験製品を「生菌数試験」に記載したように調製する。被験製品 1 g 又は 1 mL 以上に相当する量を 2 本等しく採る。そのうちの 1 本は 80°C で 10 分間加熱後、速やかに冷却し、他の 1 本は加熱しない。

4.6.2. 選択培養

それぞれから 1 g 又は 1 mL 相当量を採って、強化クロストリジア培地 100 mL が入っている 2 個の容器 (38 mm × 200 mm) 又は他の容器に移す。嫌気的条件下で 30 ~ 35°C で 48 時間培養する。培養後、コロンビアカンテン培地に各試験管から移植し、嫌気的条件下で 30 ~ 35°C で 48 時間培養する。

4.6.3. 判定

カタラーゼ反応陰性の桿菌 (芽胞を有するか又は有しない) の嫌気的発育が認められた場合は陽性と判定する。

コロンビアカンテン培地に微生物の嫌気的発育がみられないか、又はカタラーゼ試験が陽性ならば、その製品は本試験に適合する。

4.7. カンジダ・アルビカンス

4.7.1. 試料調製及び前培養

被験製品を「生菌数試験」に記載したように調製する。その 10 mL、あるいは 1 g 又は 1 mL 以上に相当する量を 100 mL のサブロー・ブドウ糖液体培地に接種して混合し、30 ~ 35°C で 3 ~ 5 日間培養する。

4.7.2. 選択培養

サブロー・ブドウ糖カンテン培地に移植し、30 ~ 35°C で 24 ~ 48 時間培養する。

4.7.3. 判定

白色集落の発育が認められた場合は陽性を疑い、同定試験により確認する。

そのような集落が存在しないか、又は同定試験において陰性と判定された場合には、その製品は本試験に適合する。

なお、以下のセクションは情報提供を目的に記載する。

5. 推奨される溶液及び培地

以下の溶液及び培地は、薬局方の微生物試験で規定されている目的にかなったものである。同様の発育促進及び選択特性があれば、他の培地を用いてもよい。

保存緩衝液

リン酸二水素カリウム 34 g を 500 mL の水で溶解し、水酸化ナトリウム試液で pH 7.0 ~ 7.4 に調整後、水を加えて 1000 mL とし、混合する。容器に分注して滅菌する。2 ~ 8°C で保存する。

リン酸緩衝液 pH 7.2

水と保存緩衝液を混合 (800:1) して調製し、滅菌する。

ペプトン食塩緩衝液 pH 7.0

リン酸二水素カリウム 3.6 g

リン酸水素二ナトリウム二水和物 (リン酸塩 0.067 mol に相当する)	7.2 g	酵母エキス	3.0 g
塩化ナトリウム	4.3 g	ゼラチン製ペプトン	7.0 g
ペプトン (肉製又はカゼイン製)	1.0 g	胆汁酸塩	1.5 g
水	1000 mL	塩化ナトリウム	5.0 g
確認されたサイクルで高压蒸気滅菌する。		ブドウ糖一水和物	10.0 g
ソイビーン・カゼイン・ダイジェスト培地		カンテン	15.0 g
カゼイン製ペプトン	17.0 g	ニュートラルレッド	30 mg
ダイズ製ペプトン	3.0 g	クリスタルバイオレット	2 mg
塩化ナトリウム	5.0 g	水	1000 mL
リン酸水素二カリウム	2.5 g	加熱後の pH が 25℃ で 7.2 ~ 7.6 になるように pH を調整する。煮沸するまで加熱する。オートクレーブで加熱してはならない。	
ブドウ糖一水和物	2.5 g	マッコンキー液体培地	
水	1000 mL	ゼラチン製ペプトン	20.0 g
滅菌後の pH が 25℃ で 7.1 ~ 7.5 になるように pH を調整する。確認されたサイクルで高压蒸気滅菌する。		乳糖一水和物	10.0 g
ソイビーン・カゼイン・ダイジェストカンテン培地		乾燥ウシ胆汁	5.0 g
カゼイン製ペプトン	15.0 g	プロモクレゾールパープル	10 mg
ダイズ製ペプトン	5.0 g	水	1000 mL
塩化ナトリウム	5.0 g	滅菌後の pH が 25℃ で 7.1 ~ 7.5 になるように pH を調整する。確認されたサイクルで高压蒸気滅菌する。	
カンテン	15.0 g	マッコンキーカンテン培地	
水	1000 mL	ゼラチン製ペプトン	17.0 g
滅菌後の pH が 25℃ で 7.1 ~ 7.5 になるように pH を調整する。確認されたサイクルで高压蒸気滅菌する。		ペプトン (肉製及びカゼイン製)	3.0 g
サブロー・ブドウ糖カンテン培地		乳糖一水和物	10.0 g
ブドウ糖	40.0 g	塩化ナトリウム	5.0 g
ペプトン (肉製及びカゼイン製 1:1)	10.0 g	胆汁酸塩	1.5 g
カンテン	15.0 g	カンテン	13.5 g
水	1000 mL	ニュートラルレッド	30 mg
滅菌後の pH が 25℃ で 5.4 ~ 5.8 になるように pH を調整する。確認されたサイクルで高压蒸気滅菌する。		クリスタルバイオレット	1 mg
ポテト・デキストロースカンテン培地		水	1000 mL
ジャガイモ浸出液	200 g	滅菌後の pH が 25℃ で 6.9 ~ 7.3 になるように pH を調整する。絶えず振り混ぜながら 1 分間煮沸させてから、確認されたサイクルで高压蒸気滅菌する。	
ブドウ糖	20.0 g	ラバポート・バシリアジス・サルモネラ増菌液体培地	
カンテン	15.0 g	ダイズ製ペプトン	4.5 g
水	1000 mL	塩化マグネシウム六水和物	29.0 g
滅菌後の pH が 25℃ で 5.4 ~ 5.8 になるように pH を調整する。確認されたサイクルで高压蒸気滅菌する。		塩化ナトリウム	8.0 g
サブロー・ブドウ糖液体培地		リン酸水素二カリウム	0.4 g
ブドウ糖	20.0 g	リン酸二水素カリウム	0.6 g
ペプトン (肉製及びカゼイン製 1:1)	10.0 g	マラカイトグリーン	36 mg
水	1000 mL	水	1000 mL
滅菌後の pH が 25℃ で 5.4 ~ 5.8 になるように pH を調整する。確認されたサイクルで高压蒸気滅菌する。		若干加温しながら溶かし、115℃ を超えない温度で、確認されたサイクルで高压蒸気滅菌する。加熱及び高压蒸気滅菌後の pH が 25℃ で 5.0 ~ 5.4 になるようにする。	
モーゼル腸内細菌増菌ブイヨン培地		XLD (キシロース・リジン・デンキシコール酸) カンテン培地	
ゼラチン製ペプトン	10.0 g	キシロース	3.5 g
ブドウ糖一水和物	5.0 g	L-リジン	5.0 g
乾燥ウシ胆汁	20.0 g	乳糖一水和物	7.5 g
リン酸二水素カリウム	2.0 g	白糖	7.5 g
リン酸水素二ナトリウム二水和物	8.0 g	塩化ナトリウム	5.0 g
ブリリアントグリーン	15 mg	酵母エキス	3.0 g
水	1000 mL	フェノールレッド	80 mg
加熱後の pH が 25℃ で 7.0 ~ 7.4 になるように pH を調整する。100℃ で 30 分間加熱し、直ちに冷却する。		カンテン	13.5 g
バイオレット・レッド・胆汁酸・ブドウ糖カンテン培地			

デソキシコール酸ナトリウム 2.5 g
 チオ硫酸ナトリウム 6.8 g
 クエン酸アンモニウム鉄 (Ⅲ) 0.8 g
 水 1000 mL

加熱後の pH が 25℃ で 7.2 ~ 7.6 になるように pH を調整する。煮沸するまで加熱し、50℃ まで冷却してからペトリ皿に注ぎ込む。オートクレーブで加熱してはならない。

セトリミドカンテン培地

ゼラチン製ペプトン 20.0 g
 塩化マグネシウム 1.4 g
 硫酸カリウム 10.0 g
 セトリミド 0.3 g
 カンテン 13.6 g
 水 1000 mL
 グリセリン 10.0 mL

振り混ぜながら加熱して 1 分間煮沸する。滅菌後の pH が 25℃ で 7.0 ~ 7.4 になるように pH を調整する。確認されたサイクルで高圧蒸気滅菌する。

マンニット・食塩カンテン培地

カゼイン製ペプトン 5.0 g
 肉製ペプトン 5.0 g
 牛肉エキス 1.0 g
 D-マンニトール 10.0 g
 塩化ナトリウム 75.0 g
 カンテン 15.0 g
 フェノールレッド 25 mg
 水 1000 mL

振り混ぜながら加熱して 1 分間煮沸する。滅菌後の pH が 25℃ で 7.2 ~ 7.6 になるように pH を調整する。確認されたサイクルで高圧蒸気滅菌する。

強化クロストリジア培地

牛肉エキス 10.0 g
 ペプトン 10.0 g
 酵母エキス 3.0 g
 溶性デンプン 1.0 g
 ブドウ糖一水和物 5.0 g
 システイン塩酸塩 0.5 g
 塩化ナトリウム 5.0 g
 酢酸ナトリウム 3.0 g
 カンテン 0.5 g
 水 1000 mL

カンテンを水和させ、絶えずかき混ぜながら煮沸するまで加熱して溶かす。必要ならば、滅菌後の pH が 25℃ でおよそ 6.6 ~ 7.0 になるように pH を調整する。確認されたサイクルで高圧蒸気滅菌する。

コロンビアカンテン培地

カゼイン製ペプトン 10.0 g
 肉浸出物のペプシン消化物 5.0 g
 心筋浸出物のパンクレアチン消化物 3.0 g
 酵母エキス 5.0 g
 トウモロコシデンプン 1.0 g
 塩化ナトリウム 5.0 g
 カンテン (ゲル強度に従って) 10.0 ~ 15.0 g
 水 1000 mL

カンテンを水和させ、絶えずかき混ぜながら煮沸するまで加熱して溶かす。必要ならば、滅菌後の pH が 25℃ で 7.1 ~ 7.5 になるように pH を調整する。確認されたサイクルで高圧蒸気滅菌する。45 ~ 50℃ まで冷却後、必要に応じ、ゲンタマイシン塩基 20 mg に相当する量のゲンタマイシン硫酸塩 (硫酸ゲンタマイシン) を加えてペトリ皿に注ぎ込む。

表 4.05-I-1 試験菌の調製と使用法

微生物	試験菌の調製	培地性能		製品存在下での生菌数測定法の適合性	
		総好気性微生物数	総真菌数	総好気性微生物数	総真菌数
<i>Staphylococcus aureus</i> 例えば, ATCC 6538, NCIMB 9518, CIP 4.83又は NBRC 13276	ソイビーン・カゼイン・ダイジェストカンテン培地又はソイビーン・カゼイン・ダイジェスト培地 30 ~ 35 °C	ソイビーン・カゼイン・ダイジェストカンテン培地及びソイビーン・カゼイン・ダイジェスト培地 30 ~ 35 °C	30 ~ 35 °C CFU 18 ~ 24 時間 ≤3 日間	ソイビーン・カゼイン・ダイジェストカンテン培地/MPN ソイビーン・カゼイン・ダイジェスト培地 ≤100 CFU 30 ~ 35 °C ≤3 日間	
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> 例えば, ATCC 9027, NCIMB 8626, CIP 82.118又は NBRC 13275	ソイビーン・カゼイン・ダイジェストカンテン培地又はソイビーン・カゼイン・ダイジェスト培地 30 ~ 35 °C	ソイビーン・カゼイン・ダイジェストカンテン培地及びソイビーン・カゼイン・ダイジェスト培地 30 ~ 35 °C	30 ~ 35 °C CFU 18 ~ 24 時間 ≤3 日間	ソイビーン・カゼイン・ダイジェストカンテン培地/MPN ソイビーン・カゼイン・ダイジェスト培地 ≤100 CFU 30 ~ 35 °C ≤3 日間	
<i>Bacillus subtilis</i> 例えば, ATCC 6633, NCIMB 8054, CIP 52.62又は NBRC 3134	ソイビーン・カゼイン・ダイジェストカンテン培地又はソイビーン・カゼイン・ダイジェスト培地 30 ~ 35 °C	ソイビーン・カゼイン・ダイジェストカンテン培地及びソイビーン・カゼイン・ダイジェスト培地 30 ~ 35 °C	30 ~ 35 °C CFU 18 ~ 24 時間 ≤3 日間	ソイビーン・カゼイン・ダイジェストカンテン培地/MPN ソイビーン・カゼイン・ダイジェスト培地 ≤100 CFU 30 ~ 35 °C ≤3 日間	
<i>Candida albicans</i> 例えば, ATCC 10231, NCPF 3179, IP 48.72又は NBRC 1594	サブロー・ブドウ糖カンテン培地又はサブロー・ブドウ糖液体培地 20 ~ 25 °C	ソイビーン・カゼイン・ダイジェストカンテン培地 ≤100 CFU 20 ~ 25 °C	30 ~ 35 °C CFU 2 ~ 3 日間 ≤5 日間	サブロー・ブドウ糖カンテン培地 ≤100 CFU 20 ~ 25 °C ≤5 日間 MPN : 適用せず	

<i>Aspergillus niger</i> 例えば、 ATCC 16404、 IMI 149007、IP 1431.83 又は NBRC 9455	サブロー・ブドウ糖カンテン培地又はポテト・デキストレン培地 トロースカンテン培地 20 ~ 25 °C 5 ~ 7 日間、又は良好な孢子形成が認められるまで	ソイビーン・カゼイン・ダイジエストカンテン培地 ≤100 CFU 20 ~ 25 °C ≤5 日間	サブロー・ブドウ糖カンテン培地 ≤100 CFU 20 ~ 25 °C ≤5 日間	ソイビーン・カゼイン・ダイジエストカンテン培地 ≤100 CFU 30 ~ 35 °C ≤5 日間 MPN：適用せず	サブロー・ブドウ糖カンテン培地 ≤100 CFU 20 ~ 25 °C ≤5 日間
---	---	--	--	--	--

表 4.05-I-2 阻害物質に対する一般的な中和剤/中和法

阻害物質	中和剤/中和法
グルタルアルデヒド、水銀剤	亜硫酸水素ナトリウム (重亜硫酸ナトリウム)
フェノール類、アルコール、アルデヒド類、ソルビン酸塩	希釈
アルデヒド類	グリシン
四級アンモニウム化合物、パラオキシ安息香酸エステル類、ビスビグアニド類	レシチン
四級アンモニウム化合物、パラオキシ安息香酸エステル類、ヨウ素	ポリソルベート
水銀剤	チオグリコール酸塩
水銀剤、ハロゲン類、アルデヒド類	チオ硫酸塩
エデト酸塩 (EDTA)	マグネシウム又はカルシウムイオン

表 4.05-I-3 微生物の最確数

各セットにおける微生物増殖を示す試験管数の組み合わせ			製品 1 g 又は 1 mL 当たりの最確数	95 % 信頼限界
試験管当たりの製品の g 又は mL 数	0.1	0.01		
0	0	0	<3	0 - 9.4
0	0	1	3	0.1 - 9.5
0	1	0	3	0.1 - 10
0	1	1	6.1	1.2 - 17
0	2	0	6.2	1.2 - 17
0	3	0	9.4	3.5 - 35
1	0	0	3.6	0.2 - 17
1	0	1	7.2	1.2 - 17
1	0	2	11	4 - 35
1	1	0	7.4	1.3 - 20
1	1	1	11	4 - 35
1	2	0	11	4 - 35
1	2	1	15	5 - 38
1	3	0	16	5 - 38
2	0	0	9.2	1.5 - 35
2	0	1	14	4 - 35
2	0	2	20	5 - 38
2	1	0	15	4 - 38
2	1	1	20	5 - 38
2	1	2	27	9 - 94

2	2	0	21	5 - 40
2	2	1	28	9 - 94
2	2	2	35	9 - 94
2	3	0	29	9 - 94
2	3	1	36	9 - 94
3	0	0	23	5 - 94
3	0	1	38	9 - 104
3	0	2	64	16 - 181
3	1	0	43	9 - 181
3	1	1	75	17 - 199
3	1	2	120	30 - 360
3	1	3	160	30 - 380
3	2	0	93	18 - 360
3	2	1	150	30 - 380
3	2	2	210	30 - 400
3	2	3	290	90 - 990
3	3	0	240	40 - 990
3	3	1	460	90 - 1980
3	3	2	1100	200 - 4000
3	3	3	>1100	

表 4.05-II-1 培地の発育促進、選択及び鑑別特性

培地	特性	試験菌株
胆汁酸抵抗性グラム陰性菌試験		
モーゼル腸内細菌増菌 ブイオン培地	発育促進	<i>E.coli</i> <i>P.aeruginosa</i>
	選択	<i>S.aureus</i>
バイオレット・レッド・胆汁酸・ブドウ糖カンテン培地	発育促進及び鑑別	<i>E.coli</i> 及び <i>P.aeruginosa</i>
大腸菌試験		
マッコンキー液体培地	発育促進	<i>E.coli</i>
	選択	<i>S.aureus</i>
マッコンキーカンテン培地	発育促進及び鑑別	<i>E.coli</i>
サルモネラ試験		
ラバポート・バシリアジス・サルモネラ増菌液体培地	発育促進	<i>Salmonella enterica</i> subsp. <i>enterica</i> serovar Typhimurium 又は <i>Salmonella enterica</i> subsp. <i>enterica</i> serovar Abony
	選択	<i>S.aureus</i>
XLD (キシロース・リジン・デオキシコロール酸) カンテン培地	発育促進及び鑑別	<i>Salmonella enterica</i> subsp. <i>enterica</i> serovar Typhimurium 又は <i>Salmonella enterica</i> subsp. <i>enterica</i> serovar Abony
	鑑別	<i>E.coli</i>
緑膿菌試験		
セトリミドカンテン培地	発育促進	<i>P.aeruginosa</i>
	選択	<i>E.coli</i>

黄色ブドウ球菌試験		
マンニット・食塩カンテン培地	発育促進及び鑑別	<i>S.aureus</i>
	選択	<i>E.coli</i>
クロストリジウム試験		
強化クロストリジウム培地	発育促進	<i>Cl.sporogenes</i>
コロニアカンテン培地	発育促進	<i>Cl.sporogenes</i>
カンジダ・アルビカンス試験		
サブロー・ブドウ糖液体培地	発育促進	<i>C.albicans</i>
サブロー・ブドウ糖カンテン培地	発育促進及び鑑別	<i>C.albicans</i>

表 4.05-II-2 結果の判定

製品の各量に対する結果			製品 1 g 又は 1 mL 当たりの細菌の推定数
0.1 g 又は 0.1 mL	0.01 g 又は 0.01 mL	0.001 g 又は 0.001 mL	
+	+	+	10 ² より大きい
+	+	-	10 ² より小さく、10 ³ より大きい
+	-	-	10 ² より小さく、10 より大きい
-	-	-	10 より小さい

一般試験法の部 6.01 眼軟膏剤の金属性異物試験法の条試料の調製の項及び操作法の項を次のように改める。

6.01 眼軟膏剤の金属性異物試験法

試料の調製

本剤 10 個につき、できるだけ清潔な場所で、5 g ずつを取り出し、それぞれを直径 60 mm の平底ペトリ皿に入れる。平底ペトリ皿にふたをし、85 ~ 110 °C で 2 時間加熱して基剤を完全に溶かした後、揺り動かさないように注意しながら室温で放置し、固まらせる。内容量が 5 g 未満の場合には、全量をなるべく完全に取出し、同様に操作する。

操作法

平底ペトリ皿を反転し、マイクロメーターの付いた 40 倍以上の倍率の顕微鏡を用い、光源を上方 45° の角度より照射し、それぞれの平底ペトリ皿の底の 50 μm 以上の金属性異物の数を数える。

注意：試験に用いる平底ペトリ皿は、泡、きずなどがなく、内面の周縁と底面の角度がなるべく直角のものを用いる。

同条操作法の項の次に次の一項を加える。

判定

本剤 10 個の 50 μm 以上の金属性異物の合計数は 50 個以下であり、かつ個々の平底ペトリ皿のうち金属性異物が 8 個を超えるものが 1 枚以下のときは適合とする。これに適合しないときは、更に 20 個について同様に試験し、本剤 30 個の金属性異物の合計が 150 個以下であり、かつ個々の平底ペトリ皿のうち金属性異物が 8 個を超えるものが 3 枚以下のときは適合とする。

一般試験法の部 6.08 点眼剤の不溶性微粒子試験法の条操作法の項の次に次の一項を加える。

6.08 点眼剤の不溶性微粒子試験法

判定

本剤 1 mL 中の個数に換算するとき、300 μm 以上の不溶性微粒子が 1 個以下であるときは適合とする。

一般試験法の部 6.10 溶出試験法の条装置の項パドル法の装置（装置 2）の目を次のように改める。

6.10 溶出試験法

パドル法の装置（装置 2）：装置は、装置 1 と同様のものを用いるが、攪拌部には攪拌翼と回転軸からなるパドルを用いる。回転軸は、どの部分でも容器の垂直方向の中心軸からの隔たりが 2 mm 以内とし、滑らかに回転させ、結果に影響を及ぼすような揺動及び振動が生じないようにする。パドルの仕様は図 6.10-2 に示す通りで、攪拌翼の垂直方向の軸が回転軸の中心を貫通し、攪拌翼の底部は回転軸の下端と同一平面となるようにする。試験中は、容器の内底と攪拌翼の下端との距離は 25 ± 2 mm に固定する。攪拌翼と軸は金属又は化学的に不活性で堅牢な材質の一体化したものを用いる。試験中に攪拌翼と回転軸をしっかり固定できるならば、両者が取り外せるパドルを用いることができる。攪拌翼と回転軸は、化学的に不活性にするために適当な被覆剤で覆うことができる。試料は、攪拌翼の回転を始める前に、通例容器の底部に沈める。試料が浮く場合には、らせん状に数回巻いた針金のような、化学的に不活性な材質でできた小型の締め付けないシンカー又は例として図 6.10-2 a に示したシンカーを試料に取り付けることができる。また、それら以外のバリエーションされたシンカーを用いることもできる。*シンカーを使用することが規定されている場合、シンカーは別に規定するもののほか、図 6.10-2 a に示したものをを用いる。

参考資料 No. 2 - 1

第十五改正日本薬局方

平成20年12月9日
医薬食品局審査管理課

試験適合とする。もし許容導電率を超えるようであれば、第二段階に進む。

表 3 第一段階 異なる測定温度における許容導電率*

温度(°C)	許容導電率 ($\mu\text{S}/\text{cm}$)	温度(°C)	許容導電率 ($\mu\text{S}/\text{cm}$)
0	0.6		
5	0.8	55	2.1
10	0.9	60	2.2
15	1.0	65	2.4
20	1.1	70	2.5
25	1.3	75	2.7
30	1.4	80	2.7
35	1.5	85	2.7
40	1.7	90	2.7
45	1.8	95	2.9
50	1.9	100	3.1

*温度非補償型の装置を用いた導電率測定に対して適用する。

第二段階

1. 十分な量の試料を適当な容器にとり、かき混ぜる。温度を調節し ($25 \pm 1^\circ\text{C}$)、試料を激しくかき混ぜながら、経時的に導電率測定を行う。大気中の二酸化炭素の吸収による 5 分間当たりの導電率変化が $0.1 \mu\text{S}/\text{cm}$ 以下であれば、その値を(大気と平衡状態にある試料の)導電率とする。

2. (大気と平衡状態にある試料の) 25°C における導電率が $2.1 \mu\text{S}/\text{cm}$ 以下であれば、導電率試験適合とし、それ以上であれば、第三段階へと進む。

第三段階

1. 試料温度を $25 \pm 1^\circ\text{C}$ に維持しながら、第二段階の 1 による導電率測定を 5 分以内に終了する。その試料 100 mL につき、飽和塩化カリウム水溶液 0.3 mL を加えた後、0.1 pH 単位までの pH 測定を行う。

2. 表 4 から、測定された pH における許容導電率を求める。測定された導電率が、この許容導電率より小さければ、その水は導電率試験適合とする。許容導電率より大きい場合は試料の pH が 5.0 ~ 7.0 の範囲から外れる場合には、その水は導電率試験不適合と判定する。

表 4 第三段階 異なる pH における許容導電率*

pH	許容導電率 ($\mu\text{S}/\text{cm}$)	pH	許容導電率 ($\mu\text{S}/\text{cm}$)
5.0	4.7		
5.1	4.1	6.1	2.4
5.2	3.6	6.2	2.5
5.3	3.3	6.3	2.4
5.4	3.0	6.4	2.3
5.5	2.8	6.5	2.2
5.6	2.6	6.6	2.1
5.7	2.5	6.7	2.6
5.8	2.4	6.8	3.1
5.9	2.4	6.9	3.8
6.0	2.4	7.0	4.6

* 25°C の大気と平衡にある試料のみに適用する。

3.5.2 有機体炭素 (TOC) を指標とするモニタリング

超ろ過法で製造される「注射用水」の有機体炭素 (TOC) の規格限度値は「500 ppb 以下」とされているが、製薬用水の各製造施設は、製薬用水システムの運転管理に当たり、別途警報基準値と処置基準値を定めて TOC モニタリングを行う

ことが望ましい。推奨される TOC の処置基準値は、下記のとおりである。

- ・ 処置基準値 ≤ 300 ppb (インライン)
- ≤ 400 ppb (オフライン)

水道水質基準 (水道法第 4 条) によれば、TOC の許容基準値は「5 ppm 以下」であるが、上記の管理基準を考慮し、常水についても各製造施設において適切な警報基準値及び処置基準値を設けて TOC モニタリングによる水質管理を実施することが望ましい。

日本薬局方では有機体炭素試験法を定めており、通例、これに適合する装置を用いて TOC の測定を行うが、高純度の水を原水として用いる場合に限り、米国薬局方 (USP 28, 2005) の General Chapter <643> TOTAL ORGANIC CARBON 又は欧州薬局方 (EP 5.0, 2005) の Methods of Analysis 2.2.44. TOTAL ORGANIC CARBON IN WATER FOR PHARMACEUTICAL USE に定める装置適合性試験に適合する装置を製薬用水システムの TOC モニタリング用装置として用いることもできる。

ただし、二酸化炭素を試料水から分離せずに測定した有機物分解前後の導電率の差から有機体炭素量を求める方式の装置は、試料水中にイオン性の有機物質が含まれている場合、若しくは窒素、イオウ又は塩素等のハロゲン原子を含む有機物が含まれている場合には、マイナス又はプラスの影響を受けることがあるので、測定対象の製薬用水の純度や装置の不具合発生時の汚染リスクに応じて適切な装置を選択する。

3.6 注射用水の保存

注射用水の保存については、微生物の増殖を抑制する加熱循環等の処置を行うと共に、汚染並びに品質劣化のリスクを考慮し、バリデーションに基づいて保存時間を適切に設定する。

14. 第十五改正日本薬局方における国際調和

日本薬局方、欧州薬局方 (The European Pharmacopoeia) 及び米国薬局方 (The United States Pharmacopoeia) での調和合意に基づき規定した一般試験法及び医薬品各条は、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、第十五改正日本薬局方の欄には第十五改正日本薬局方の項目名等を記載する。備考欄には、第十五改正日本薬局方と、薬局方調和事項との差違等を必要に応じて記載する。

なお、各表の冒頭に記載した調和年月は当該一般試験法及び医薬品各条が調和された年月を示している。また、調和事項の改正を行った場合は、() 内に Rev. 及び改正回数を記載する。

調和年月：2002 年 10 月

薬局方調和事項	第十五改正日本薬局方	備 考
Sterility	4.06 無菌試験法	
(Introduction)	(前書き)	前書きにて同様の事項を記載
Precautions against microbial contamination	培地、洗浄液及びその調製法	非調和事項： 日本薬局方指定以外の培地の使用は不可 培地カンテン中の含湿度を規定しない 培地使用期間のバリデーションは不要 密封容器入りの培地の使用期間を最長 1 年間 水銀防腐剤を含む医薬品の試験培地を規定
Culture media and incubation temperatures	液状チオグリコール酸培地	
Fluid thioglycollate medium		
Soya-bean casein digest medium	ソイビーン・カゼイン・ダイジェスト培地	
Sterility	培地の無菌性	非調和事項： 市販の粉末培地に対する培地性能試験の実施 頻度を規定
Growth promotion test of aerobes, anaerobes and fungi	培地の性能試験	
Validation test	バリデーション試験	
Membrane filtration	メンブランフィルター法	
Direct inoculation	直接法	
Test for sterility of the product to be examined	製品の無菌試験	
Membrane filtration	メンブランフィルター法	非調和事項： 1 フィルター当たりの洗浄液量を 100 mL とする
Aqueous solutions	a) 液状医薬品	
Soluble solids	b) 用時溶解又は懸濁して用いる医薬品	
Oils and oily solutions	c) 油及び油性医薬品	
Ointments and creams	d) 軟膏剤	
Direct inoculation of the culture medium	直接法	日本薬局方対象品外
Oily liquids	a) 油性液	
Ointments and creams	b) 軟膏剤及びクリーム	非調和事項： 混濁培地から新鮮培地への移植量を適量とする 無菌試験陽性時における再試験要件を規定 本内容の一部は試験法内で示している
Catgut and other surgical sutures for veterinary use		
Observation and interpretation of results	培養及び観察、判定	
Application of the test to parenteral preparations, ophthalmic and other non-injectable preparations required to comply with the test for sterility		
Table 2.6.1-1 Strains of the test micro-organisms suitable for use in the growth promotion test and the validation test	表 1 培地性能試験及びバリデーション試験用菌株	
Table 2.6.1-2 Minimum quantity to be used for each medium	表 3 各培地当たりの最小試料採取量	
Table 2.6.1-3 Minimum number of items to be tested	表 2 ロット当たりの抜き取り個数	非調和事項： 本表を一般試験法の一部として規定 大容量製剤の抜き取り個数を最大 10 容器

調和年月：2004 年 2 月

薬局方調和事項	第十五改正日本薬局方	備 考
Uniformity of Dosage Units	6.02 製剤均一性試験法	
(Introduction)	(前書き)	日本薬局方独自記載事項： 液剤に関して補足説明 有効成分を含まない部分の補足説明
Content uniformity	含量均一性試験	
Solid dosage forms	固形製剤	
Liquid dosage forms	液剤	
Calculation of acceptance value	判定値の計算	
Mass variation	質量偏差試験	日本薬局方独自記載事項： 有効成分濃度が均一であることを仮定

参考資料 No. 2 - 2

第十五改正日本薬局方第一追補

平成20年12月9日
医薬食品局審査管理課

参考情報 14. 第十五改正日本薬局方における国際調和の
条に次を加える。

14. 第十五改正日本薬局方における国際調和

調和年月：2005 年 5 月 (Rev. 1)

薬局方調和事項	第十五改正日本薬局方 (第一追補)	備 考
Sodium Starch Glycolate	デンプングリコール酸ナトリウム	
Definition	基原, ナトリウムの含量規定	
Identification A	確認試験(1)	
Identification B	確認試験(3)	
pH	pH	
Loss on drying	乾燥減量	
Limit of iron	純度試験(2) 鉄	
Limit of sodium chloride	純度試験(4) 塩化ナトリウム	
Limit of sodium glycolate	純度試験(3) グリコール酸ナトリウム	
Assay	定量法	

調和年月：2006 年 6 月

薬局方調和事項	第十五改正日本薬局方 (第一追補)	備 考
Hypromellose Phthalate	ヒプロメロースフタル酸エステル	
Definition	基原, カルボキシベンゾイル基の含量規定	
Packaging and storage	貯法	
Viscosity	粘度	
Water	水分	
Residue on ignition	強熱残分	
Chloride	純度試験(1) 塩化物	
Limit of free phthalic acid	純度試験(3) フタル酸	
Phthalyl content	定量法	

調和年月：2005 年 11 月

薬局方調和事項	第十五改正日本薬局方 (第一追補)	備 考
Anhydrous Dibasic Calcium Phosphate	無水リン酸水素カルシウム	
Definition	成分の含量規定	
Identification (1)	確認試験(1)	
Identification (2)	確認試験(2)	
Acid insoluble substances	純度試験(1) 酸不溶物	
Chloride	純度試験(2) 塩化物	
Sulfate	純度試験(3) 硫酸塩	
Carbonate	純度試験(4) 炭酸塩	
Barium	純度試験(6) バリウム	
Loss on ignition	強熱減量	
Assay	定量法	

調和年月：2005 年 11 月

薬局方調和事項	第十五改正日本薬局方（第一追補）	備考
Dibasic Calcium Phosphate	リン酸水素カルシウム水和物	
Definition	成分の含量規定	
Identification (1)	確認試験(1)	
Identification (2)	確認試験(2)	
Acid insoluble substances	純度試験(1) 酸不溶物	
Chloride	純度試験(2) 塩化物	
Sulfate	純度試験(3) 硫酸塩	
Carbonate	純度試験(4) 炭酸塩	
Barium	純度試験(6) バリウム	
Loss on ignition	強熱減量	
Assay	定量法	

調和年月：2005 年 11 月

薬局方調和事項	第十五改正日本薬局方（第一追補）	備考
<u>Microbiological Examination of Non-sterile Products:</u>	4.05 微生物限度試験法。 I. 非無菌製品の微生物学的試験：生菌数試験	
Introduction	1. 序文	
General procedures	2. 基本手順	
Enumeration methods	3. 生菌数測定法	
Growth promotion test and suitability of the counting method	4. 培地性能及び測定法の適合性	
General considerations	4.1. 一般要件	
Preparation of test strains	4.2. 試験菌の調製	
Negative control	4.3. 陰性対照	
Growth promotion of the media	4.4. 培地性能	
Suitability of the counting method in the presense of product	4.5. 製品存在下での測定法の適合性	
Results and interpretation	4.6. 結果及び判定	
Testing of products	5. 製品の試験	
Amount used for the test	5.1. 試験量	
Examination of the product	5.2. 製品の試験	
Interpretation of the results	5.3. 結果の判定	
Microbiological Examination of Non-sterile Products: Test for Specified Micro-organisms	II. 非無菌製品の微生物学的試験：特定微生物試験	
Introduction	1. 序文	
General procedures	2. 基本手順	
Growth promoting and inhibitory properties of the media and suitability of the test	3. 培地の性能試験及び試験の適合性	
Preparation of test strains	3.1. 試験菌の調製	
Negative control	3.2. 陰性対照	
Growth promotion and inhibitory properties of the media	3.3. 培地の性能試験	
Suitability of the test method	3.4. 試験法の適合性	
Testing of products	4. 製品の試験	
Bile-tolerant gram-negative bacteria	4.1. 胆汁酸抵抗性グラム陰性菌	
<i>Escherichia coli</i>	4.2. 大腸菌	
<i>Salmonella</i>	4.3. サルモネラ	
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	4.4. 緑膿菌	
<i>Staphylococcus aureus</i>	4.5. 黄色ブドウ球菌	
<i>Clostridia</i>	4.6. クロストリジア	
<i>Candida albicans</i>	4.7. カンジダ・アルビカンス	
Recommended solutions and culture media	5. 推奨される溶液及び培地	