

物質の固有振動周期 T_{si} 及び規定温度 $t^{\circ}\text{C}$ における水の密度 $\rho_{si}^{t'}$ を用い、次式より試料の密度 $\rho_i^{t'}$ を求めることができる。

$$\rho_i^{t'} = \rho_{si}^{t'} + K_{t'} (T_t^2 - T_{si}^2)$$

温度 $t^{\circ}\text{C}$ の水に対する試料の比重 $d_i^{t'}$ は、別表に示した温度 $t^{\circ}\text{C}$ の水の密度 $\rho_{si}^{t'}$ を用いて次式より求められる。

$$d_i^{t'} = \frac{\rho_{si}^{t'}}{\rho_{si}^{t}}$$

装 置

振動式密度計は、通例、内容積約 1 mL の管状でその一端を固定したガラス製の試料セル、試料セルに初期振動を与える発振器、固有振動周期の検出部及び温度調節部から構成される。

振動式密度計の試料セル室周辺の構造を図 49-2 に示す。

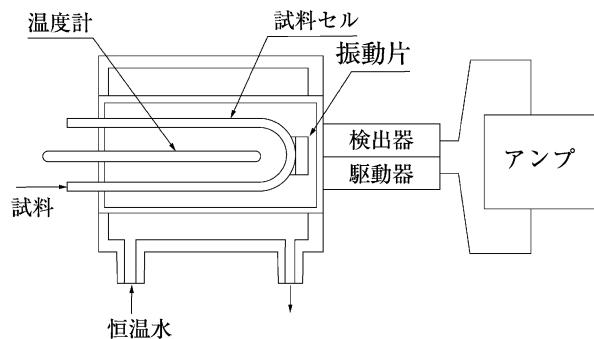


図 49-2 振動式密度計

操作 法

試料セルと水及び試料を測定しようとする温度 $t^{\circ}\text{C}$ にあらかじめ調整しておく。試料セルを水又は適当な溶媒を用いて洗浄した後、乾燥空気を通じてじゅうぶんに乾燥する。乾燥空気の流れを止め、一定温度が保持されていることを確認した後、乾燥空気の与える固有振動周期 T_{si} を測定する。別に、測定場所の大気圧 p kPa を測定しておく。次に試料セルに水を導入し、水の与える固有振動周期 T_{si} を測定する。水及び乾燥空気についてのこれらの値を用いて試料セル定数 $K_{t'}$ を定める。

次に試料セル中に試料を導入し、一定温度が保持されていることを確認した後、試料の与える固有振動周期 T_t を測定する。水及び試料の固有振動周期、水の密度 $\rho_{si}^{t'}$ 及び試料セル定数 $K_{t'}$ より、試料の密度 $\rho_i^{t'}$ を求める。また、必要があれば、温度 $t^{\circ}\text{C}$ の水に対する試料の比重 $d_i^{t'}$ は、表 49-1 に示した水の密度 $\rho_{si}^{t'}$ を用いて計算される。

なお、試料セル中に試料又は水を導入するとき、気泡が入らないよう注意する必要がある。

表 49-1 水の密度

温度 °C	密 度 g/mL						
0	0.99984	10	0.99970	20	0.99820	30	0.99565
1	0.99990	11	0.99961	21	0.99799	31	0.99534
2	0.99994	12	0.99950	22	0.99777	32	0.99503
3	0.99996	13	0.99938	23	0.99754	33	0.99470
4	0.99997	14	0.99924	24	0.99730	34	0.99437
5	0.99996	15	0.99910	25	0.99704	35	0.99403
6	0.99994	16	0.99894	26	0.99678	36	0.99368
7	0.99990	17	0.99877	27	0.99651	37	0.99333
8	0.99985	18	0.99860	28	0.99623	38	0.99297
9	0.99978	19	0.99841	29	0.99594	39	0.99259
10	0.99970	20	0.99820	30	0.99565	40	0.99222

50. 微生物限度試験法

微生物限度試験法は、医薬品などに存在する増殖能力を有する特定の微生物の定性、定量試験法である。本試験法には生菌数試験（細菌及び真菌）及び特定微生物試験（大腸菌、サルモネラ、緑膿菌及び黄色ブドウ球菌）が含まれる。試験を遂行するに当たって、外部からの微生物汚染が起こらないように、細心の注意を払う必要がある。また、被検試料が抗菌作用を有する場合又は抗菌作用を持つ物質が混在する場合は、希釈、ろ過、中和又は不活化などの手段によりその影響を除去しなければならない。それぞれの原料又は製品の任意に選択した異なる数箇所（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じゅうぶん留意する。

1. 生菌数試験

本試験は、好気的条件下において増殖しうる中温性の細菌及び真菌を測定する試験である。本試験では低温菌、高温菌、好塩菌、嫌気性菌、特殊な成分を増殖に要求する菌などは、大量に存在していても陰性となることがある。本試験法には、メンブランフィルター法、カンテン平板混釀法、カンテン平板表面塗抹法及び液体培地段階希釈法（最確数法）の 4 つの方法がある。試験を行うときは、その目的に応じて適当と思われる方法を採用する。なお、ここに示した方法と同等以上の検出感度と精度を有する場合は、自動化した方法の適用も可能である。細菌と真菌（かび及び酵母）では使用培地及び培養温度が異なる。液体培地段階希釈法（最確数法）は細菌のみに用いられる試験法である。

試料溶液の調製

試料の溶解又は希釈には、pH 7.2 のリン酸緩衝液、pH 7.0 のペプトン食塩緩衝液又は使用する液体培地を用いる。別に規定するもののほか、試料は 10 g 又は 10 mL を使用する。ただし、試料の性質によっては、これと異なる量のものを使用しなければならない場合がある。試料溶液は、pH 6 ~ 8 に調整する。試料溶液は調製後 1 時間以内に使用しなければならない。

液状製剤及び可溶性固形剤：10 g 又は 10 mL を量り、上記の緩衝液又は液体培地と混和して 100 mL とし、試料溶液とする。不溶性物質を含む液剤の場合、混和直前によく振りじゅうぶんに均一化する。

不溶性固形剤：10 g を量り、不溶性物質をできるだけ細かく摩碎して、上記の緩衝液又は液体培地中に分散させて 100 mL とし、試料溶液とする。ただし、試料の性質によっては、規定された量よりも大量の緩衝液又は液体培地で分散させても差し支えない。必要に応じてブレンダーなどで浮遊液を均一に分散させることも可能である。適当な界面活性剤（例えば、0.1 W/v% ポリソルベート 80）を加えて可溶化させてもよい。

脂質製品：脂質が主要な構成物質である軟膏、クリーム、ワックス、ローションなどの半固体剤及び液剤などは 10 g 又は 10 mL を量り、ポリソルベート 20 又はポリソルベート 80 のような界面活性剤を用いて、上記の緩衝液又は液体培地中に乳化させて 100 mL とし、試料溶液とする。この場合 45 °C 以下の温度であれば加温して乳化させてもよい。ただし、30 分間以上試料を加温してはならない。

試験の手順

(1) メンプランフィルター法

本法は、試料に抗菌性物質が含まれる場合にこれを除去して試験しうる優れた方法である。メンプランフィルターは、孔径 0.45 μm 以下の適当な材質のものを使用する。フィルターの直径は約 50 mm のものが望ましいが、異なる直径のものも使用できる。フィルター、フィルター装置、培地などはすべてじゅうぶんに滅菌されていなければならない。通常、20 mL の試料溶液（2 g の試料を含む）を量り、2 枚のフィルターで 10 mL ずつろ過する。必要に応じて試料溶液を希釀して試験してもよい。菌濃度が高い場合は 1 枚のフィルター当たり 10 ~ 100 個の集落が出現するように希釀することが望ましい。試料溶液をろ過した後、各フィルターは 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使用する液体培地などを洗浄液として用いて、3 回以上ろ過洗浄する。1 回のろ過洗浄に使用する洗浄液の量は約 100 mL とするが、フィルターの直径が 50 mm と大きく異なる場合には、大きさに従って洗浄液の量を調整する。脂質を含む試料の場合には、洗浄液にポリソルベート 80 などを添加してもよい。ろ過後、細菌の試験を行うときはソイビーン・カゼイン・ダイジェストカンテン培地の、真菌の試験を行うときはサブロー・ブドウ糖カンテン培地、ポテト・デキストロースカンテン培地又は GP カンテン培地（いずれも抗生物質添加）のいずれかの表面にフィルターを置く。細菌の試験は 30 ~ 35 °C で、真菌の試験は 20 ~ 25 °C でそれぞれ少なくとも 5 日間培養後、集落数を計測する。信頼性の高い集落数の計測値が得られたと判断される場合に限り、培養後 5 日以前の計測値を採用してもよい。

(2) カンテン平板混釀法

本法では、直径 9 ~ 10 cm のペトリ皿を使用する。一希釀段階につき 2 枚以上のカンテン培地を使用する。1 mL の試料溶液又は試料溶液を希釀した液を無菌的にペトリ皿に分注する。これにあらかじめ 45 °C 以下に保溫されて融けた状態にある滅菌したカンテン培地 15 ~ 20 mL を加えて混和する。カンテン培地としては、細菌の検出を目的とする

場合はソイビーン・カゼイン・ダイジェストカンテン培地を、真菌の検出を目的とする場合はサブロー・ブドウ糖カンテン培地、ポテト・デキストロースカンテン培地又は GP カンテン培地（いずれも抗生物質添加）のいずれかを使用する。カンテンの固化後、細菌の試験は 30 ~ 35 °C、真菌の試験は 20 ~ 25 °C で少なくとも 5 日間培養する。多数の集落が出現するときは、細菌の場合は一平板当たり 300 cfu 以下の集落を持つ平板から、真菌の場合は一平板当たり 100 cfu 以下の集落を持つ平板から得られる計測結果を用いて生菌数を算出する。信頼性の高い集落数の計測値が得られたと判断される場合に限り、培養後 5 日以前の計測値を採用してもよい。

(3) カンテン平板表面塗抹法

本法は、固化させ表面を乾燥させたカンテン培地上に 0.05 ~ 0.2 mL の試料溶液をのせ、コンラージ棒などで均等に塗抹する方法である。ペトリ皿の大きさ、使用カンテン培地の種類と量、培養温度と時間及び生菌数算出法などは、カンテン平板混釀法と同様である。

(4) 液体培地段階希釀法（最確数法）

本法では、9 ~ 10 mL のソイビーン・カゼイン・ダイジェスト培地を入れた 12 本の試験管を使用する。各希釀段階において 3 本の試験管を使用する。最初の試験管 3 本の各々に 1 mL の試料溶液（0.1 g 又は 0.1 mL の試料を含む）を加えて 10 倍希釀試験管とする。次いでこの 10 倍希釀試験管の各々から 1 mL をとり、3 本の試験管の各々に混和し、100 倍希釀試験管とする。更に 100 倍希釀試験管の各々から 1 mL をとり、3 本の試験管の各々に混和し、1,000 倍希釀試験管とする。残りの 3 本の試験管には、対照として各希釀段階の希釀液 1 mL をそれぞれ加える。これらの試験管は 30 ~ 35 °C で 5 日間以上培養する。対照の試験管で微生物の増殖が観察されなければならない。結果の判定が難しい場合又はあいまいな結果の場合は、カンテン培地又は液体培地に約 0.1 mL を移植し、30 ~ 35 °C で 24 ~ 72 時間培養し、増殖の有無を判定する。表 50-1 から 1 mL 当たりの最確数を求める。

表 50-1 微生物の最確数表

下記の量の試料を加えた場合に 微生物の増殖が観察された試験管の数			試料 1 g 又は 1 mL 当たりの 微生物の最確数
試験管当たり 0.1 g 又は 0.1 mL	試験管当たり 0.01 g 又は 0.01 mL	試験管当たり 1 mg 又は 1 μ L	
3	3	3	>1100
3	3	2	1100
3	3	1	500
3	3	0	200
3	2	3	290
3	2	2	210
3	2	1	150
3	2	0	90
3	1	3	160
3	1	2	120
3	1	1	70
3	1	0	40
3	0	3	95
3	0	2	60
3	0	1	40
3	0	0	23

第一カラム (0.1 g 又は 0.1 mL の試料を含む) において増殖を示した試験管数が 2 以下の場合、1 g 又は 1 mL 当たりの微生物の最確数は 100 以下の可能性が高い。

培地の性能試験及び発育阻止物質の確認試験

次に記す菌株、若しくはこれらと同等と考えられる菌株を使用することができる。ソイビーン・カゼイン・ダイジェスト培地を用い、細菌は 30 ~ 35 °C, *Candida albicans* は 20 ~ 25 °C で培養する。

<i>Escherichia coli</i>	ATCC 8739,	NCIB 8545 IFO 3972 など
<i>Bacillus subtilis</i>	ATCC 6633,	NCIB 8054 IFO 3134, JCM 2499 など
<i>Staphylococcus aureus</i>	ATCC 6538,	NCIB 8625 IFO 13276 など
<i>Candida albicans</i>	ATCC 2091,	ATCC 10231 IFO 1594, JCM 2085 など

培養液のそれぞれを pH 7.0 のペプトン食塩緩衝液又は pH 7.2 のリン酸緩衝液で希釈し、1 mL 当たり 50 ~ 200 cfu 前後の生菌を含む菌液を調製する。使用する培地は菌液を 1 mL 接種し、指定された温度で 5 日間培養したときに、じゅうぶんな増殖又は接種菌数の回収が認められなければならない。試料の存在下と非存在下での菌数の差異が $\frac{1}{5}$ 以下の場合、希釈、ろ過、中和又は不活化などの手段によってその影響を除去しなければならない。培地、希釈液の無菌性又は試験が無菌的に遂行されているか否かを検証するために、使用した pH 7.0 のペプトン食塩緩衝液又は pH 7.2 のリン酸緩衝液を対照とする。

2. 特定微生物試験

本試験は、大腸菌、サルモネラ、緑膿菌及び黄色ブドウ球菌を測定する試験である。本試験で検出の目的とする 4 種の微生物は、最終製品だけではなく、原料及び製造工程の中間体などにおける微生物汚染を評価する場合に特に重要であり、また、それらの中に存在することが好ましくない微生物の代表である。

試料溶液の調製

別に規定するもののほか、生菌数試験の試料溶液の調製の項を適用する。試料の溶解又は希釈に液体培地を使用する場合は、別に規定するもののほか、それぞれの試験で規定されている培地を使用する。

試験の手順

(1) 大腸菌

試料 10 g 又は 10 mL を量り、乳糖ブイヨンを加えて 100 mL とし、30 ~ 35 °C で 24 ~ 72 時間培養する。増殖が見られた場合は、培養液を軽く振った後、白金耳などにより、マッコンキーカンテン培地上に塗抹し、30 ~ 35 °C で 18 ~ 24 時間培養する。周囲に赤味がかった沈降線の帯を持つ赤レンガ色のグラム陰性菌の集落が検出されない場合は大腸菌陰性と判定する。上記の特徴を持つ集落が検出された場合は EMB カンテン培地上にそれぞれの集落を塗抹し、30 ~ 35 °C で 18 ~ 24 時間培養する。EMB カンテン培地上で金属光沢を持つ集落又は透過光下で青黒色を帯びた集落が見出されない場合は大腸菌陰性と判定する。上記の平板で大腸菌が疑われる集落については IMViC 試験（インドール产生試験、メチルレッド反応試験、フォーゲス・プロスカウエル試験及びクエン酸利用試験）を行い、パターンが「+ + - -」又は「- + - -」のものを大腸菌と判定する。また、大腸菌迅速同定用キットの使用も可能である。

(2) サルモネラ

試料 10 g 又は 10 mL を量り、乳糖ブイヨンを加えて 100 mL とし、30 ~ 35 °C で 24 ~ 72 時間培養する。増殖が見られた場合は、培養液を軽く振った後、1 mL ずつを 10 mL のセレナイトシスチン液体培地及びテトラチオネート液体培地に接種し、12 ~ 24 時間培養する。なお、10 mL のセレナイトシスチン液体培地に代えて、同量のラバポート液体培地を使用することができる。培養後、それぞれの液体培地からブリリアントグリーンカンテン培地、XLD カンテン培地及び亜硫酸ビスマスカンテン培地のうちの少なくとも 2 種類以上の培地上に塗抹し、30 ~ 35 °C で 24 ~ 48 時間培養する。表 50-2 に適合する集落が見出されない場合はサルモネラ陰性と判定する。表 50-2 に適合するグラム陰性桿菌の集落が見出された場合は白金線を用いて TSI 斜面カンテン培地の深部と斜面に疑われる集落を接種し、35 ~ 37 °C で 18 ~ 24 時間培養する。サルモネラが存在する場合は深部は黄色となり、斜面部は赤色のまま変化しない。通常、深部でガスの产生が見られるが、硫化水素は产生される場合とされない場合がある。キット使用を含む更に詳細な生化学的試験と血清学的試験を併用することで、サルモネラの同定、型別試験を行うことが望ましい。

表 50-2 選択培地上におけるサルモネラの形態学的特徴

培地	集落の特徴
ブリリアントグリンカンテン培地	小型で無色透明又は不透明で白色～桃色（しばしば周囲に桃色～赤色の帯が形成される）
XLD カンテン培地	赤色、中心部に黒点が現れる場合とそうでない場合がある。
亜硫酸ビスマスカンテン培地	黒色又は緑色

(3) 緑膿菌

試料 10 g 又は 10 mL を量り、ソイビーン・カゼイン・ダイジェスト培地又は抗菌性物質を含まない適当な液体培地に加えて 100 mL とする。乳糖ブイヨンの使用は好ましくない。この試料を含む液体培地を 30 ~ 35 °C で 24 ~ 48 時間培養する。増殖が見られた場合は白金耳などで、セトリミドカンテン培地又は NAC カンテン培地に塗抹し、30 ~ 35 °C で 24 ~ 48 時間培養する。微生物の生育が観察されない場合は、緑膿菌陰性と判定する。グラム陰性桿菌で緑がかった蛍光物質を產生する集落を認めた場合にはフルオレセイン検出用シュードモナスカンテン培地及びピオシアニン検出用シュードモナスカンテン培地上に塗抹し、30 ~ 35 °C で 24 ~ 72 時間培養する。前者の培地上で黄色の蛍光物質を產生した場合はフルオレセイン陽性、後者の培地上で青色の蛍光物質を產生した場合はピオシアニン陽性と判定する。緑膿菌の可能性の高い集落はオキシダーゼ試験を行う。疑わしい集落は、N,N-ジメチル-p-フェニレンジアンモニウム二塩酸塩をしみ込ませたろ紙に移す。5 ~ 10 秒以内に紫色に変色すればオキシダーゼ反応陽性と判定される。オキシダーゼ反応陰性の場合は、緑膿菌陰性と判定する。キットの使用を含む適当な生化学的試験を併用することで緑膿菌の存在を確認することも可能である。

(4) 黄色ブドウ球菌

試料 10 g 又は 10 mL を量り、ソイビーン・カゼイン・ダイジェスト培地又は抗菌性物質を含まない適当な培地に加えて 100 mL とする。この試料を含む液体培地を 30 ~ 35 °C で 24 ~ 48 時間培養する。増殖が認められた場合は白金耳などで、フォーゲル・ジョンソンカンテン培地、ペアード・バーカーカンテン培地又はマンニット・食塩カンテン培地のいずれかの上に塗抹し、30 ~ 35 °C で 24 ~ 48 時間培養する。表 50-3 に示す特徴を持ったグラム陽性菌が見出されない場合は黄色ブドウ球菌陰性と判定する。黄色ブドウ球菌が疑われる集落についてはコアグラーーゼ試験を行う。哺乳類由来の 0.5 mL の血漿（ウサギ又はウマ由來のものが望ましい；適当な添加物が加えられたものでもよい）を含む試験管に白金耳などを使って疑われる集落を接種し、37 ± 1 °C の恒温そう中で培養する。3 時間後に凝固の有無を調べ、その後、適当な時間ごとに 24 時間まで凝固の有無を調べる。コアグラーーゼ反応陽性と陰性の対照についても同時に試験を行う。凝固が観察されない場合は、黄色ブドウ球菌陰性と判定する。

培地の性能試験及び発育阻止物質の確認試験

試験には、表 50-4 に掲げられている菌株を規定された培地中で 30 ~ 35 °C で 18 ~ 24 時間培養して使用する。次に、

pH 7.0 のペプトン食塩水緩衝液、pH 7.2 のリン酸緩衝液又はそれぞれの菌株で指定された培地などを用いて、1 mL 当たり約 1000 個の生菌を含む溶液を調製する。必要に応じて、約 1000 個/mL の生菌を含む大腸菌、サルモネラ、緑膿菌及び黄色ブドウ球菌の各 0.1 mL を混和して、試料の存在下、非存在下において、培地の有効性及び抗菌性物質の存在などを試験する。

再試験

不確定な結果やあいまいな結果が得られた場合は、試料 25 g 又は 25 mL を使って再試験を行う。方法は最初の試験法と同じであるが、試料の増加に比例して、培地などの量を増加させて行う。

表 50-3 選択培地上における黄色ブドウ球菌の形態学的特徴

培地	集落の特徴
フォーゲル・ジョンソンカンテン培地	黄色の帯に囲まれた黒色
ペアード・バーカーカンテン培地	透明な帯に囲まれた黒色、光沢あり
マンニット・食塩カンテン培地	黄色の帯に囲まれた黄色

表 50-4 培地の有効性確認と特定微生物試験法の検証のために使用される菌株と培地

微生物	菌株名	培地
大腸菌	ATCC 8739, NCIB 8545, IFO 3972 若しくはこれらと同等の菌株	乳糖ブイヨン
サルモネラ	特定せず ※	乳糖ブイヨン
緑膿菌	ATCC 9027, NCIB 8626, IFO 13275 若しくはこれらと同等の菌株	ソイビーン・ガゼイン・ダイジェスト培地
黄色ブドウ球菌	ATCC 6538, NCIB 8625, IFO 13276 若しくはこれらと同等の菌株	ソイビーン・ガゼイン・ダイジェスト培地

※ サルモネラの場合、非病原性又は病原性の弱い菌株が望ましい。*Salmonella Typhi* は使用しないほうがよい。

3. 緩衝液と培地

微生物限度試験用の緩衝液と培地を以下に掲げる。他の培地でも類似の栄養成分を含み、かつ試験対象となる微生物に対して類似の選択性及び増殖性を持つものは使用して差し支えない。

(1) 緩衝液

(i) リン酸緩衝液、pH 7.2

保存溶液：リン酸二水素カリウム 34 g を水約 500 mL に溶かす。水酸化ナトリウム試液約 175 mL を加え、pH 7.1 ~ 7.3 に調整し、水を加えて 1000 mL とし、保存溶液とする。高圧蒸気滅菌後、冷所で保存する。用時、保存溶液を 800 倍に希釈し、121 °C で 15 ~ 20 分間滅菌して用いる。

(ii) ペプトン食塩緩衝液、pH 7.0

リン酸二水素カリウム	3.56 g
リン酸水素二ナトリウム十二水和物	18.23 g
塩化ナトリウム	4.30 g

ペプトン	1.0 g
水	1000 mL

全成分を混和し、121 °C で 15 ~ 20 分間高压蒸気滅菌する。滅菌後の pH 6.9 ~ 7.1. 0.1 ~ 1.0 w/v% のポリソルベート 20 又はポリソルベート 80 を添加しても差し支えない。

(2) 培地

(i) ソイビーン・カゼイン・ダイジェストカンテン培地

カゼイン製ペプトン	15.0 g
ダイズ製ペプトン	5.0 g
塩化ナトリウム	5.0 g
カンテン	15.0 g
水	1000 mL

全成分を混和し、121 °C で 15 ~ 20 分間高压蒸気滅菌する。滅菌後の pH 7.1 ~ 7.3.

(ii) 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	2.5 g
水	1000 mL

全成分を混和し、121 °C で 15 ~ 20 分間高压蒸気滅菌する。滅菌後の pH 7.1 ~ 7.5.

(iii) 抗生物質添加サブロー・ブドウ糖カンテン培地

ペプトン（肉製及びカゼイン製）	10.0 g
ブドウ糖	20.0 g
カンテン	15.0 g
水	1000 mL

全成分を混和し、121 °C で 15 ~ 20 分間高压蒸気滅菌する。滅菌後の pH 5.4 ~ 5.8. 使用直前に培地 1 L 当たりベンジルペニシリンカリウム 0.10 g とテトラサイクリン 0.10 g を滅菌溶液として加える。ベンジルペニシリンカリウムとテトラサイクリンの代わりに培地 1 L 当たりクロラムフェニコール 50 mg を加えてよい。

(iv) 抗生物質添加ポテト・デキストロースカンテン培地

ポテトエキス	4.0 g
ブドウ糖	20.0 g
カンテン	15.0 g
水	1000 mL

全成分を混和し、121 °C で 15 ~ 20 分間高压蒸気滅菌する。滅菌後の pH 5.4 ~ 5.8. 使用直前に培地 1 L 当たりベンジルペニシリンカリウム 0.10 g とテトラサイクリン 0.10 g を滅菌溶液として加える。ベンジルペニシリンカリウムとテトラサイクリンの代わりに培地 1 L 当たりクロラムフェニコール 50 mg を加えてよい。

(v) 抗生物質添加 GP (グルコース・ペプトン) カンテン培地

ブドウ糖	20.0 g
------	--------

酵母エキス	2.0 g
硫酸マグネシウム七水和物	0.5 g
ペプトン	5.0 g
リン酸二水素カリウム	1.0 g
カンテン	15.0 g
水	1000 mL

全成分を混和し、121 °C で 15 ~ 20 分間高压蒸気滅菌する。滅菌後の pH 5.6 ~ 5.8. 使用直前に培地 1 L 当たりベンジルペニシリンカリウム 0.10 g とテトラサイクリン 0.10 g を滅菌溶液として加える。ベンジルペニシリンカリウムとテトラサイクリンの代わりに培地 1 L 当たりクロラムフェニコール 50 mg を加えてよい。

(vi) 乳糖ブイヨン

肉エキス	3.0 g
ゼラチン製ペプトン	5.0 g
乳糖一水和物	5.0 g
水	1000 mL

全成分を混和し、121 °C で 15 ~ 20 分間高压蒸気滅菌する。滅菌後の pH 6.7 ~ 7.1. 滅菌後はできるだけ速やかに冷却する。

(vii) マッコンキーカンテン培地

ゼラチン製ペプトン	17.0 g
カゼイン製ペプトン	1.5 g
肉製ペプトン	1.5 g
乳糖一水和物	10.0 g
デソキシコール酸ナトリウム	1.5 g
塩化ナトリウム	5.0 g
カンテン	13.5 g
ニュートラルレッド	0.03 g
クリスタルバイオレット	1.0 mg
水	1000 mL

全成分を混和し、1 分間煮沸し、混和した後、121 °C で 15 ~ 20 分間高压蒸気滅菌する。滅菌後の pH 6.9 ~ 7.3.

(viii) EMB (エオシンメチレンブルー) カンテン培地

ゼラチン製ペプトン	10.0 g
リン酸水素二カリウム	2.0 g
乳糖一水和物	10.0 g
カンテン	15.0 g
エオシンY	0.40 g
メチレンブルー	0.065 g
水	1000 mL

全成分を混和し、121 °C で 15 ~ 20 分間高压蒸気滅菌する。滅菌後の pH 6.9 ~ 7.3.

(ix) セレナイト・システム液体培地

ゼラチン製ペプトン	5.0 g
乳糖一水和物	4.0 g
リン酸三ナトリウム十二水和物	10.0 g
亜セレン酸ナトリウム	4.0 g

L-シスチン	0.010 g
水	1000 mL

全成分を混和し、加温して溶かす。最終の pH 6.8 ~ 7.2。滅菌してはならない。

(x) テトラチオネート液体培地

カゼイン製ペプトン	2.5 g
肉製ペプトン	2.5 g
デソキシコール酸ナトリウム	1.0 g
炭酸カルシウム	10.0 g
チオ硫酸ナトリウム五水和物	30.0 g
水	1000 mL

固体を含む上記溶液を煮沸する。使用当日に水 20 mL にヨウ化カリウム 5 g 及びヨウ素 6 g を溶かした液を加える。更に滅菌ブリリアントグリーン溶液 (1 → 1000) 10 mL を加え、混和する。その後は培地に熱を加えてはならない。

(xi) ラバポート液体培地

ダイズ製ペプトン	5.0 g
塩化ナトリウム	8.0 g
リン酸二水素カリウム	1.6 g
マラカイトグリーンシュウ酸塩	0.12 g
塩化マグネシウム六水和物	40.0 g
水	1000 mL

マラカイトグリーンシュウ酸塩と塩化マグネシウム六水和物及び残りの成分をそれぞれ別々に水に溶かして、121 °C で 15 ~ 20 分間高圧蒸気滅菌する。滅菌後、混和して使用する。最終の pH 5.4 ~ 5.8。

(xii) ブリリアントグリーンカンテン培地

ペプトン (肉製及びカゼイン製)	10.0 g
酵母エキス	3.0 g
塩化ナトリウム	5.0 g
乳糖一水和物	10.0 g
白糖	10.0 g
フェノールレッド	0.080 g
ブリリアントグリーン	0.0125 g
カンテン	20.0 g
水	1000 mL

全成分を混和し、1 分間煮沸する。使用直前に 121 °C で 15 ~ 20 分間高圧蒸気滅菌する。滅菌後の pH 6.7 ~ 7.1。約 50 °C に冷却してペトリ皿に分注する。

(xiii) XLD (キシロース・リジン・デソキシコール酸) カンテン培地

D-キシロース	3.5 g
塩酸 L-リジン	5.0 g
乳糖一水和物	7.5 g
白糖	7.5 g
塩化ナトリウム	5.0 g
酵母エキス	3.0 g
フェノールレッド	0.080 g

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五水和物	6.8 g
クエン酸アンモニウム鉄 (III)	0.80 g
カンテン	13.5 g
水	1000 mL

全成分を混和して、煮沸して溶かす。煮沸後の pH 7.2 ~ 7.6。高圧蒸気滅菌をしてはならない。過剰な加熱は避ける。煮沸後、約 50 °C に冷却してペトリ皿に分注する。

(xiv) 亜硫酸ビスマスカンテン培地

肉エキス	5.0 g
カゼイン製ペプトン	5.0 g
肉製ペプトン	5.0 g
ブドウ糖	5.0 g
リン酸三ナトリウム十二水和物	4.0 g
硫酸鉄 (II) 七水和物	0.30 g
亜硫酸ビスマス・インジケーター	8.0 g
ブリリアントグリーン	0.025 g
カンテン	20.0 g
水	1000 mL

全成分を混和して、煮沸して溶かす。煮沸後の pH 7.4 ~ 7.8。高圧蒸気滅菌をしてはならない。過剰な加熱は避ける。煮沸後、約 50 °C に冷却してペトリ皿に分注する。

(xv) TSI (トリプルシュガーアイアン) カンテン培地

カゼイン製ペプトン	10.0 g
肉製ペプトン	10.0 g
乳糖一水和物	10.0 g
白糖	10.0 g
ブドウ糖	1.0 g
硫酸アソニミウム鉄 (II) 六水和物	0.20 g
塩化ナトリウム	5.0 g
チオ硫酸ナトリウム五水和物	0.20 g
フェノールレッド	0.025 g
カンテン	13.0 g
水	1000 mL

全成分を混和して、煮沸して溶かした後、小試験管に分注して 121 °C で 15 ~ 20 分間高圧蒸気滅菌する。滅菌後の pH 7.1 ~ 7.5。斜面カンテン培地として使用する。なお、上記の組合せに加えて、肉エキスや酵母エキス 3 g を含むものや、硫酸アソニミウム鉄 (II) 六水和物の代わりにクエン酸アソニミウム鉄 (III) を含むものも使用して差し支えない。

(xvi) セトリミドカンテン培地

ゼラチン製ペプトン	20.0 g
塩化マグネシウム六水和物	3.0 g
硫酸カリウム	10.0 g
セトリミド	0.30 g
グリセリン	10 mL
カンテン	13.6 g
水	1000 mL

すべての成分を水に溶かし、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。

(xvii) NAC カンテン培地

ペプトン	20.0 g
リン酸水素二カリウム	0.3 g
硫酸マグネシウム七水和物	0.2 g
セトリミド	0.2 g
ナリジクス酸	0.015 g
カンテン	15.0 g
水	1000 mL

最終のpH 7.2～7.6。滅菌してはならない。加温して溶かす。

(xviii) フルオレセイン検出用シュードモナスカンテン培地

カゼイン製ペプトン	10.0 g
肉製ペプトン	10.0 g
リン酸水素二カリウム	1.5 g
硫酸マグネシウム七水和物	1.5 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。

(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)20mLを加えて混和する。

(xxi) ベード・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)10mLと卵黄乳濁液50mL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%，生理食塩水約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。

51. ヒ素試験法

ヒ素試験法は、薬品中に混在するヒ素の限度試験である。その限度は三酸化二ヒ素(As_2O_3)の量として表す。

医薬品各条には、ヒ素(As_2O_3 として)の限度をppmで()内に付記する。