

○厚生労働省告示第百九十号

薬事法（昭和三十五年法律第四百四十五号）第四十一条第一項の規定に基づき、日本薬局方（平成十八年厚生労働省告示第二百八十五号）の一部を次のように改正する。ただし、この告示による改正前の日本薬局方（以下「旧薬局方」という。）に収められていた医薬品（この告示による改正後の日本薬局方（以下「新薬局方」という。）に収められているものに限る。）であつて平成二十一年三月三十日において現に同法第十四条第一項の規定による承認を受けているもの（薬事法第十四条第一項の規定に基づき製造販売の承認を要しないものとして厚生労働大臣の指定する医薬品等（平成六年厚生省告示第百四号）により製造販売の承認を要しない医薬品として指定されている医薬品を含む。）については、平成二十二年九月三十日までは、旧薬局方で定める基準（当該医薬品に関する部分に限る。）は新薬局方で定める基準とみなすことができる。

平成二十一年三月三十一日

厚生労働大臣 舛添 要一

第十五改正日本薬局方生薬総則の部1の条中「コロコロシ」の次に「、コロコロシ」を加える。

第十五改正日本薬局方一般試験法の部4.05微生物限度試験法の条I.非無菌製品の微生物学的試験・生菌数試験の項中「4.培地性能及び測定法の適合性」を「4.培地性能、測定法の適合性及び菌数試験」に改め、同項4.3.陰性対照の目中「代わりに」の次に「使用した」を、「ならない、

」の次に「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。」を加え、同条II・非無菌製品の微生物学的試験：特定微生物試験の項中「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。」を並べ、

「3. 培地の性能試験及び試験の適合性」を「3. 培地性能，試験法の適合性及び陰性対照」に改め、同項3・2・陰性対照の目中「ならない。」の次に「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。」を加え、同項4・9・1・試料調製及び加熱処理の目を次のように改める。

4.6.1. 試料調製及び加熱処理

被験製品を2g又は2mL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20mL以上）を調製する。調製した試料液を少なくとも10mL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。

第十五改正日本薬局方一般試験法の部4・05微生物限度試験法の条II・非無菌製品の微生物学的試験：特定微生物試験の項4・6・2・選択培養の目を次のように改める。

4.6.2. 選択培養

それぞれから10mL又は被験製品1g若しくは1mL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

器から移植し、嫌気的条件下で30～35℃で48～72時間培養する。

第十五改正日本薬局方一般試験法の部4・05微生物限度試験法の条II・非無菌製品の微生物学的試験：特定微生物試験の項4・6・3・判定の目を次のように改める。

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。

コロネ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。

第十五改正日本薬局方一般試験法の部4・05微生物限度試験法の条II・非無菌製品の微生物学的試験：特定微生物試験の項5・推奨される溶液及び培地の目中「同様の発育促進及び選択特性があれば」を「適合性が確認されれば」に改め、同項の表4・05・II・1中XLD（ギシロース・リン・デソキシコール酸）カンテン培地の項を次のように改める。

XLD（ギシロース・リン・デソキシコール酸）	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
------------------------	----------	--

第十五改正日本薬局方一般試験法の部4・06無菌試験法の条を次のように改める。

4.06 無菌試験法

本試験法は、三葉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。本試験に適合する結果が得られても、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ぬ。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。作業区域の適切な環境モニタリング及び適切な汚染防止措置の実施によって、本試験の実施状態が適切であることを定期的に監視する。

2. 培地及び培養温度

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

（滅菌後のpH7.1±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（水溶性）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。

別に規定する場合は、次のように調製した変法チオグリコール酸培地を用いることができる。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、使用直前に水浴中で加熱する。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	17.0g
ダイズ製ペプトン	3.0g
塩化ナトリウム	5.0g
リン酸水素ニカリウム	2.5g
ブドウ糖（一水合物/無水）	2.5/2.3g
水	1000ml

（滅菌後のpH7.3±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・ダイジエスタ培地は，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（100CFU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

ソイベーン・カゼイン・ダイジェスト培地には，次に示す少数（100CFU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日間をそれぞれ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, NBRC 13276, 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。

メンブライントラプフィルター法

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100CFU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100CFU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。培地を含むすべ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。

被験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、被験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することもできる。

5. 製品の無菌試験

5.1. 一般要件

試験はメンブレ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。メンブレンフィルター法は、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及び本試験条件下で抗菌力を有し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用いる。

5.2. メンブレンフィルター法

メンブレンフィルターは、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、水溶性、油性又は低濃度のアルコール性溶液にはセルロースナイトフィルターを用い、高濃度のアルコール性溶液にはセルロースアセテートフィルターを用いる。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 50mm のメンブレ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製すべきである。ろ過器やメンブレ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、メンブレ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

1g/Lの肉製又はカゼイン製ペプトン溶液 (pH7.1±0.2) のような無菌希釈液の少量をろ過器中のメンブライ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イ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インフィルターを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、メンブラインフィルター当たり100mLの洗浄液で5回を超えては洗浄しないこと。メンブライ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り得られた2枚のメンブライ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。又はメンブライ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。

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1g/L肉製若しく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．油及び油性液剤

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液剤は，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後，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10g/Lポリソルベート80）を含む1g/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100mL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，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℃以下で加温する．例外的な場合で44℃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後，「油及び油性液剤」の項に

示したように操作を進める.

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	
1ml未満	全量
1ml以上40ml以下	半量, ただし1ml以上
40ml超100ml以下	20ml
100ml超	10%, ただし20ml以上
抗生物質の液剤	1ml
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	200mg以上
固形剤	
50mg未満	全量
50mg以上300mg未満	半量, ただし50mg以上
300mg以上5g以下	150mg
5g超	500mg

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、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とき、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10g/Lポリソルベート80）培地を用いる。

軟膏剤及びクリーム

1g/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。ただし、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（1mL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、この菌種の増殖が無菌試験実施中に用いた材料

及び手技又はそのいずれか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及び眼軟膏剤，点眼剤等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1g/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100ml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．被検製品の同じ試験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
 最少供試個数は，ロット当たりの製造個数に依じて，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供試個数**
注射剤	
100容器以下	10%又は4容器のうち多い方
101容器以上500容器以下	10容器
501容器以上	2%又は20容器（大容量製剤の場合は，10容器）のうち少ない

眼軟膏剤，点眼剤等の非注射剤	方
200容器以下	5%又は2容器のうち多い方
201容器以上	10容器
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	
固形バルク製品	
4容器以下	各容器
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

* ロット当たりの製造個数が不明の場合には，本欄に示した最大数を用いること。

** 1容器の内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。

第十五改正日本薬局方一般試験法の部6・09崩壊試験法の条装置の項補助盤の目中「深さ1.6±0.1mm」を「深さ1.5～1.8mm」に改め、同項の図9・09・1を次のように改める。

第十五改正日本薬局方医薬品各条の部リュウコツの条基原の項を次のように改める。

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。

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、その旨を表示する。

第十五改正日本薬局方医薬品各条の部リュウコツの条純度試験の項(2)の目を次のように改める。

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

なお、エキス剤又は浸剤・煎剤に用いる旨を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。

本品の粉末4.0gを遠心沈殿管にとり、水30mLを加えて、水浴中で時々振り混ぜながら、液量が約15mL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(0.5ppm以下)。

第十五改正日本薬局方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。

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0.1gに硝酸5mL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、黄色の沈殿を生じる。
- (2) 本品0.5gを希塩酸10mL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2.0gに水5mLを加えて振り混ぜた後、徐々に塩酸6mLを加え、水浴上で蒸発乾固し、残留物を水50mLに溶かし、ろ過する。ろ液25mLに希酢酸2mL、アンモニア試液1滴及び水を加えて50mLとする。これを検液とし、試験を行う。比較液は塩酸3mLを水浴上で蒸発乾固し、希酢酸2mL、鉛標準液2.0mL及び水を加えて50mLとする(20ppm以下)。
- (2) ヒ素 〈1.11〉 本品0.20gをとり、第2法により検液を調製し、試験を行う(10ppm以下)。