



日本薬局方・微生物限度試験法の実際

監修：国立衛生試験所

三瀬勝利

前号では微生物限度試験法について、全体的な解説を行ったが、本号では生菌数試験、大腸菌、サルモネラ、緑膿菌、黄色ブドウ球菌の試験項目ごとに、それぞれ実際の試験の流れを図解してみた。試験を行う際に役立てて頂ければ幸いである。また無菌試験法についても補冊として添付したので参照されたい。

試験方法に関するさらに詳細な情報と手技については「厚生省薬務局研究開発振興課監修：日本薬局方技術情報 1995, 薬業時報社」に記載されているので利用されると良い。

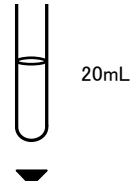
なお今回、紙面の都合上掲載できなかった、判定の際のコロニーや試薬反応などのカラー写真掲載については別の機会に検討したい。





1-1.生菌数試験 メンブランフィルター法

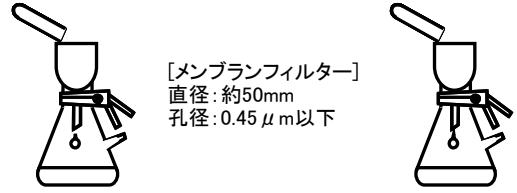
試料溶液の準備



20mL

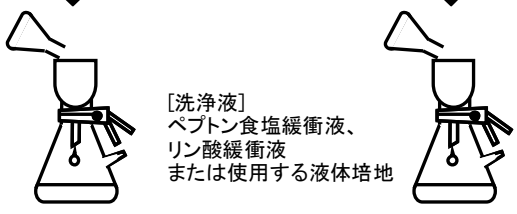
試料溶液のろ過

(細菌) 10mL (真菌) 10mL



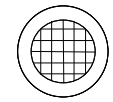
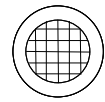
[メンブランフィルター]
直径: 約50mm
孔径: 0.45 μm以下

ろ過洗浄 (100mL × 3回以上)



[洗浄液]
ペプトン食塩緩衝液、
リン酸緩衝液
または使用する液体培地

フィルターを平板に置く



●ソイビーン・カゼイン・
ダイジェストカンテン培地

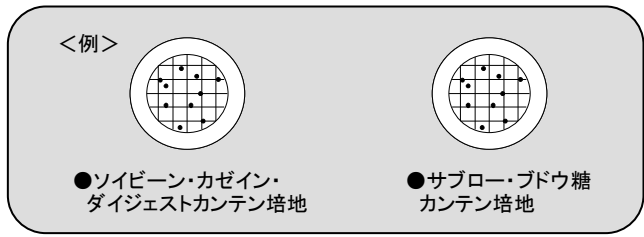
●サブロー・ブドウ糖
カンテン培地
●ポテト・デキストロース
カンテン培地
●GPカンテン培地
のどれか1種類(抗生物質添加)

培養

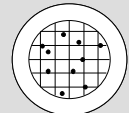
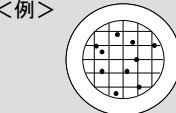
30~35°C
少なくとも
5日間

20~25°C
少なくとも
5日間

集落の計測



<例>



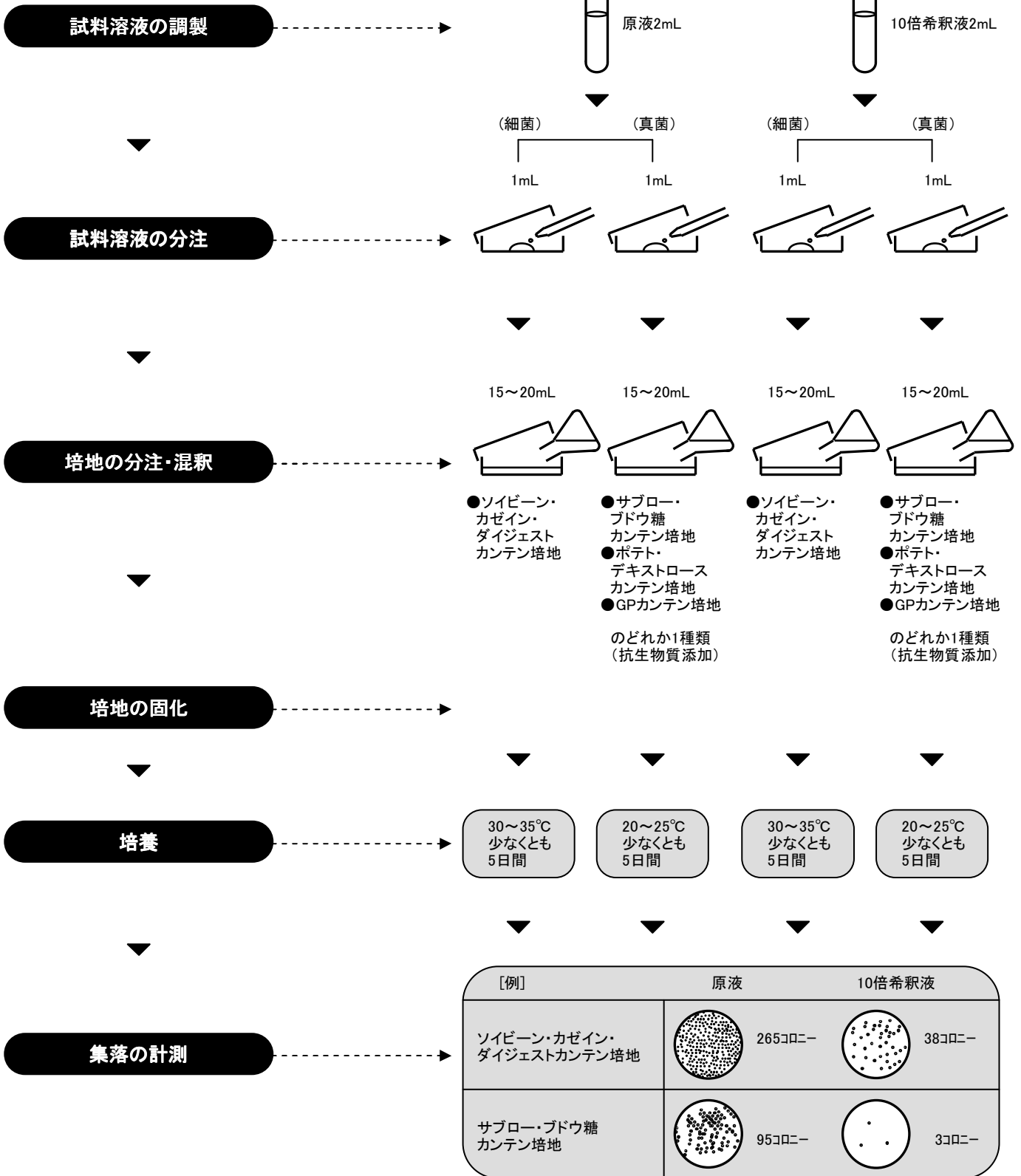
●ソイビーン・カゼイン・
ダイジェストカンテン培地

●サブロー・ブドウ糖
カンテン培地

- 信頼度の高い計測値が得られた場合に限り、培養5日以前の計測値を採用してもよい。
- 培地の性能試験及び発育阻止物質の確認試験については、第十二改正日本薬局方第二追補をご参照ください。



1-2.生菌数試験 カンテン平板混釈法

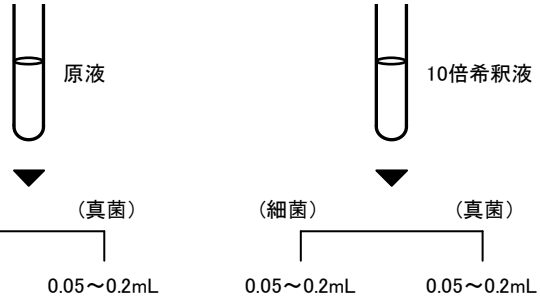


- 信頼度の高い計測値が得られた場合に限り、培養5日以前の計測値を採用してもよい。
- 培地の性能試験及び発育阻止物質の確認試験については、第十二改正日本薬局方第二追補をご参照ください。

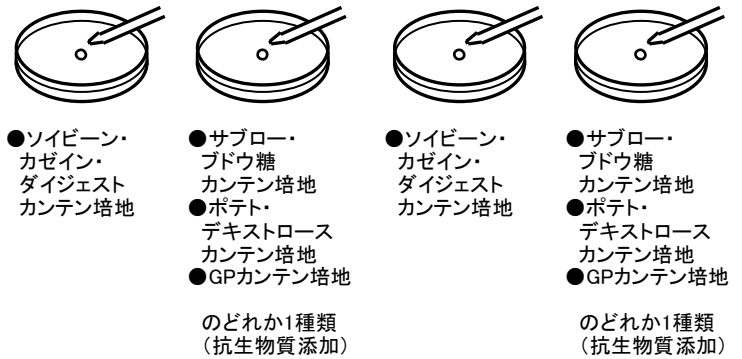


1-3.生菌数試験 カンテン平板塗抹法

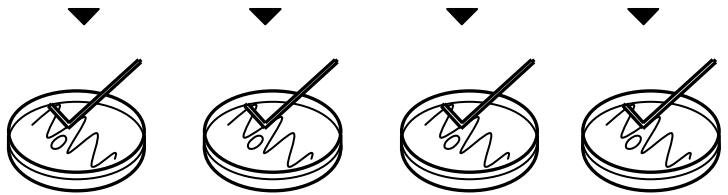
試料溶液の調製



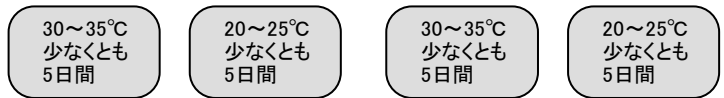
試料溶液の接種



試料溶液の塗抹



培養



集落の計測

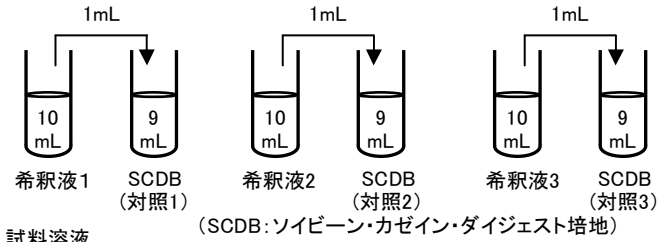
[例]	原液	10倍希釈液
ソイビーン・カゼイン・ダイジェストカンテン培地	265コロニー	38コロニー
サブロー・ブドウ糖カンテン培地	95コロニー	3コロニー

- 信頼度の高い計測値が得られた場合に限り、培養5日以前の計測値を採用してもよい。
- 培地の性能試験及び発育阻止物質の確認試験については第十二改正日本薬局方第二追補をご参照ください。

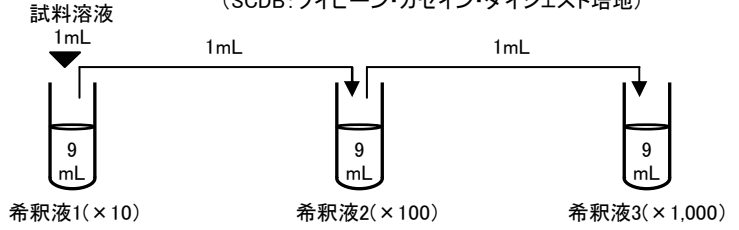


1-4.生菌数試験 液体培地段階希釈法(最確数法)

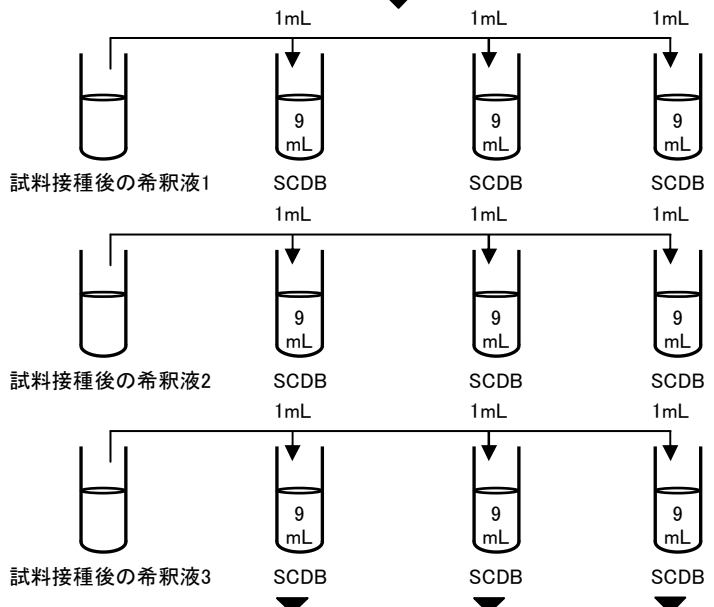
希釈液の接種(対照実験)



試料溶液の希釈



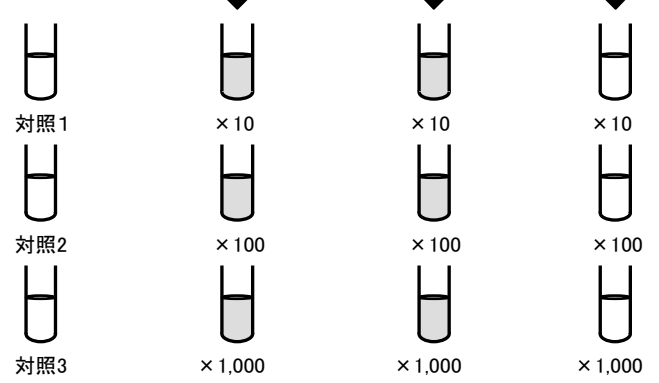
希釈した試料溶液の接種



培養

30~35°C、5日間以上

判定



試料1g又は1mL当たりの細菌の最確数

結果の判定が難しい場合またはあいまいな結果の場合は、カンテン培地または液体培地に0.1mL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。

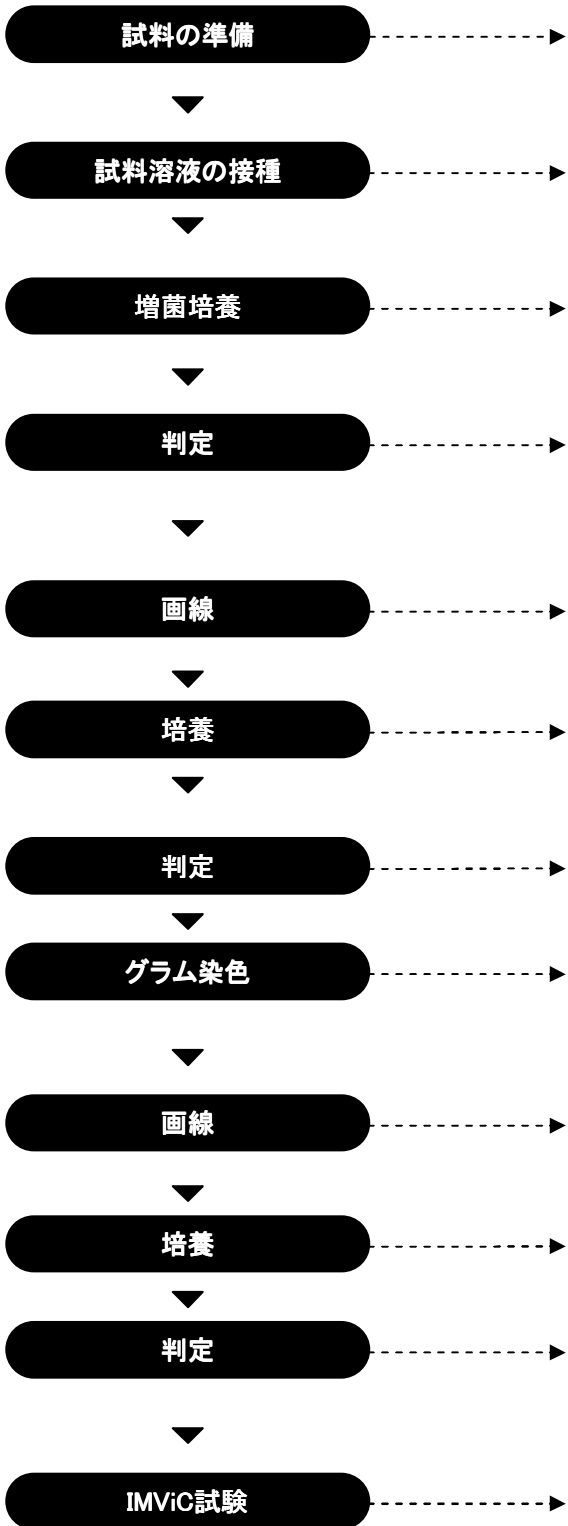
■1mL当たりの最確数90■

(本試験は細菌のみに用いる試験である)

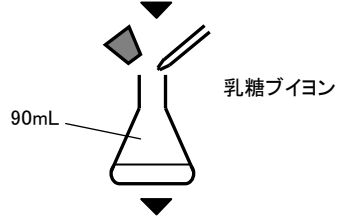
●培地の性能試験及び発育阻止物質の確認試験については、第十二改正日本薬局方第二追補をご参照ください。



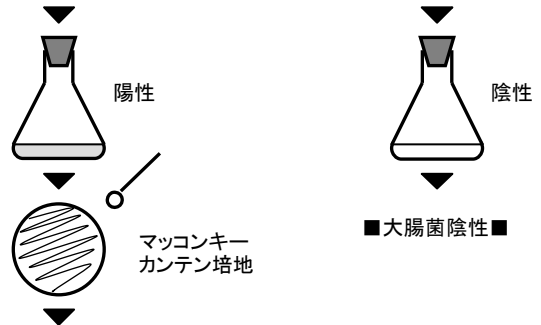
2-1. 特定微生物試験 大腸菌 (*Escherichia coli*)



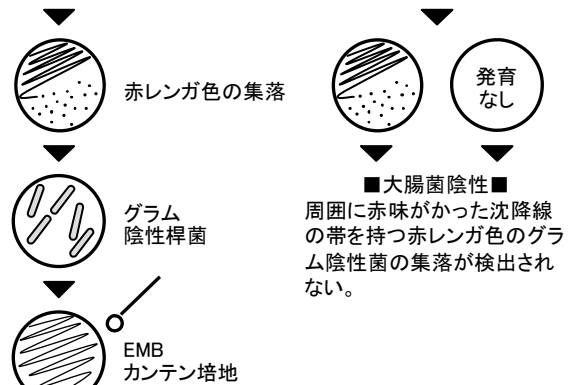
調製した試料10gまたは10mL



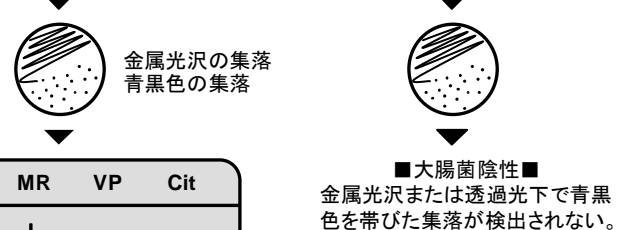
30~35°C、24~72時間



30~35°C、18~24時間



30~35°C、18~24時間



IND	MR	VP	Cit
+	+	-	-
-	+	-	-

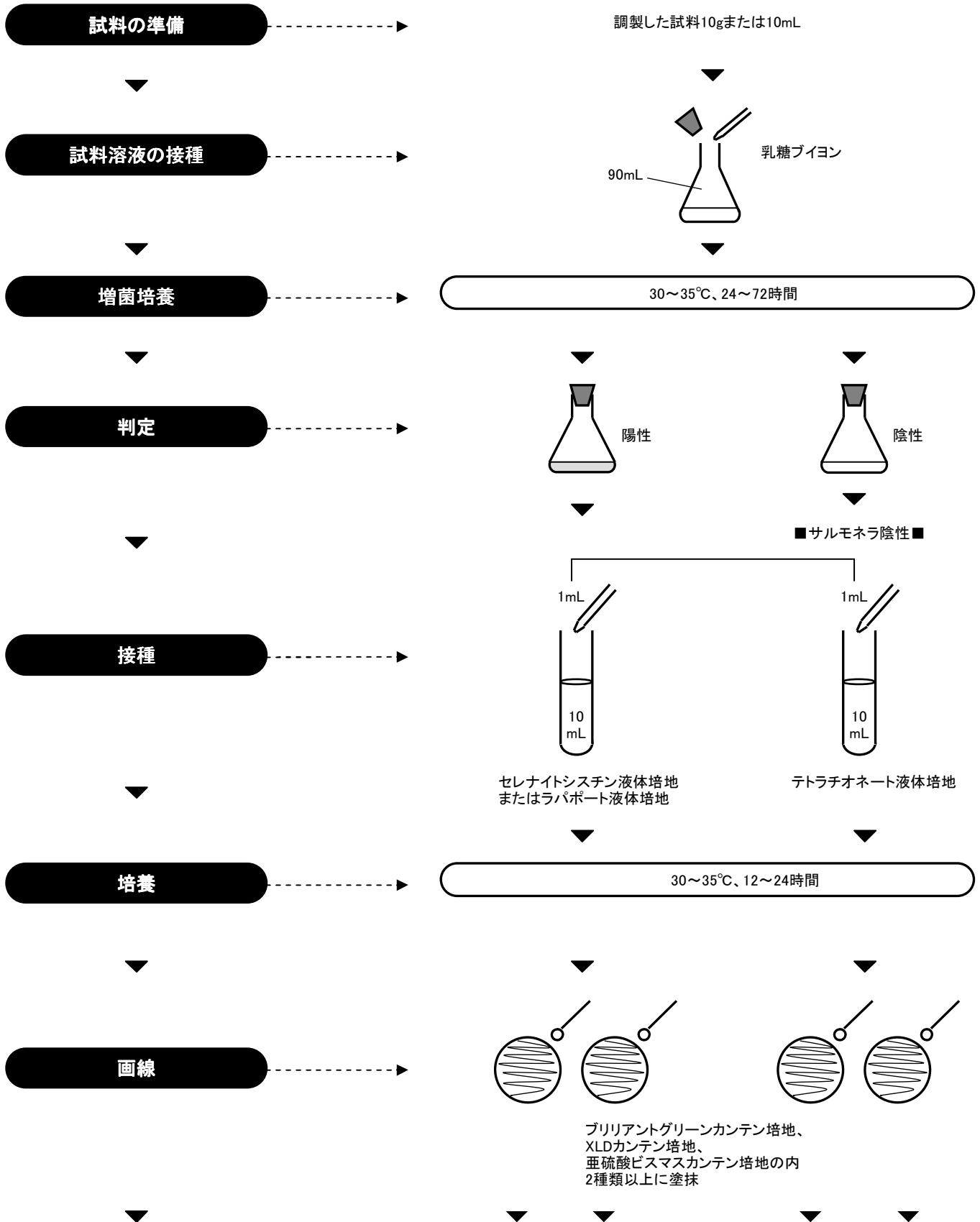
IND: インドール産生試験
 MR: メチルレッド反応試験
 VP: フォーゲス・プロスカウエル試験
 Cit: クエン酸塩利用試験

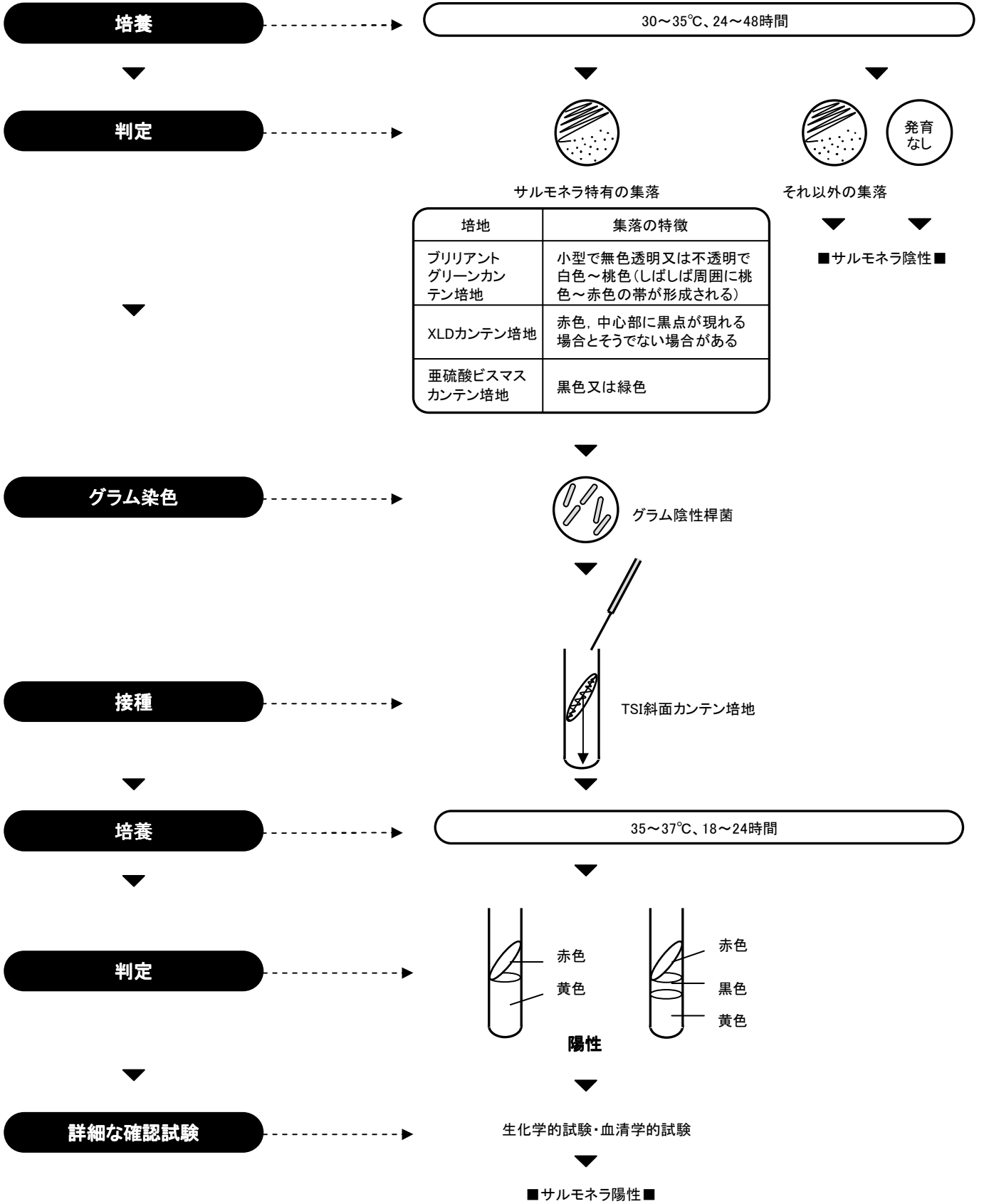
■大腸菌陽性■

●培地の性能試験及び発育阻止物質の確認試験については、第十二改正日本薬局方第二追補をご参照ください。



2-2. 特定微生物試験 サルモネラ (*Salmonella*)

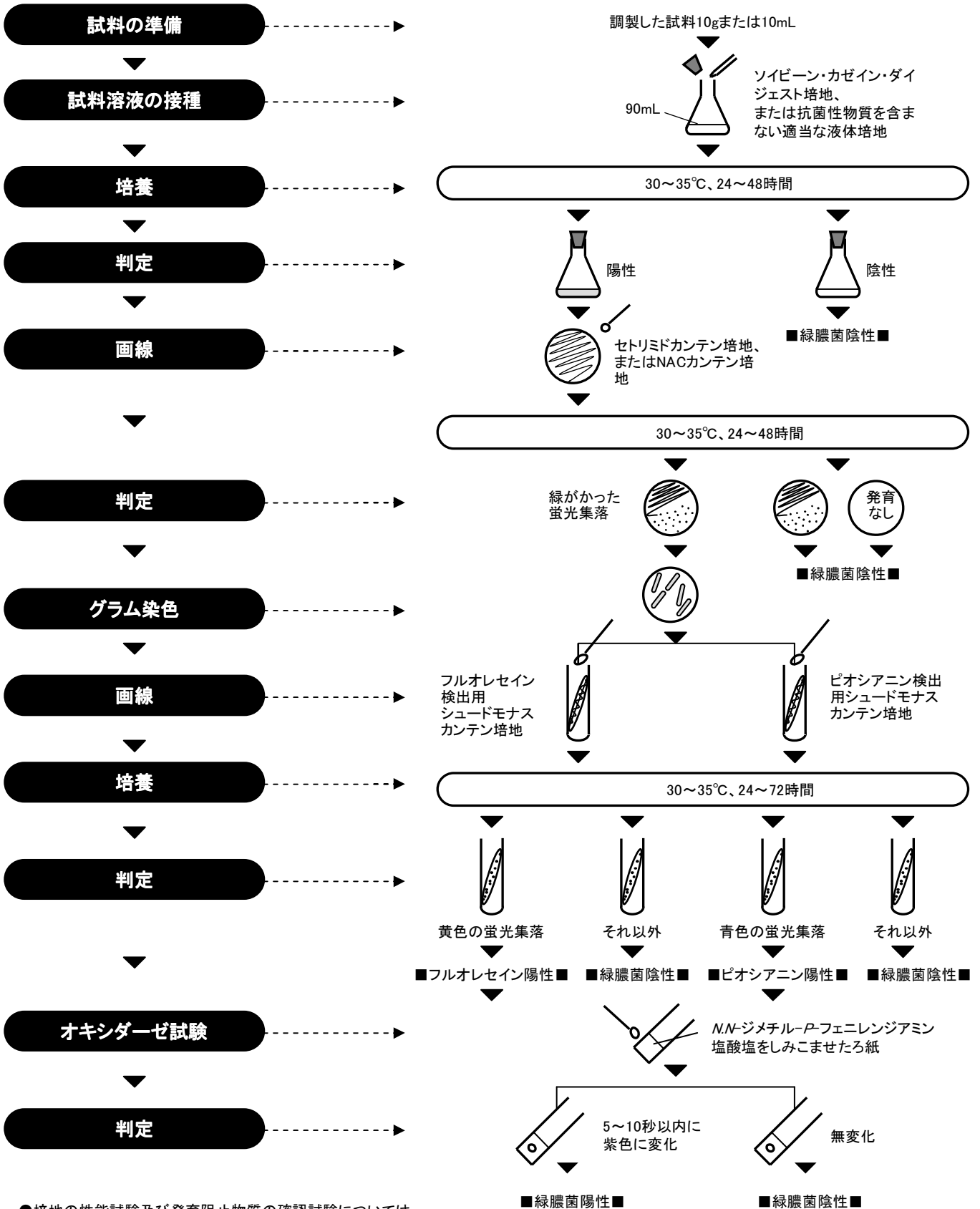




●培地の性能試験及び発育阻止物質の確認試験については、第十二改正日本薬局方第二追補をご参照ください。



2-3. 特定微生物試験 緑膿菌 (*Pseudomonas aeruginosa*)

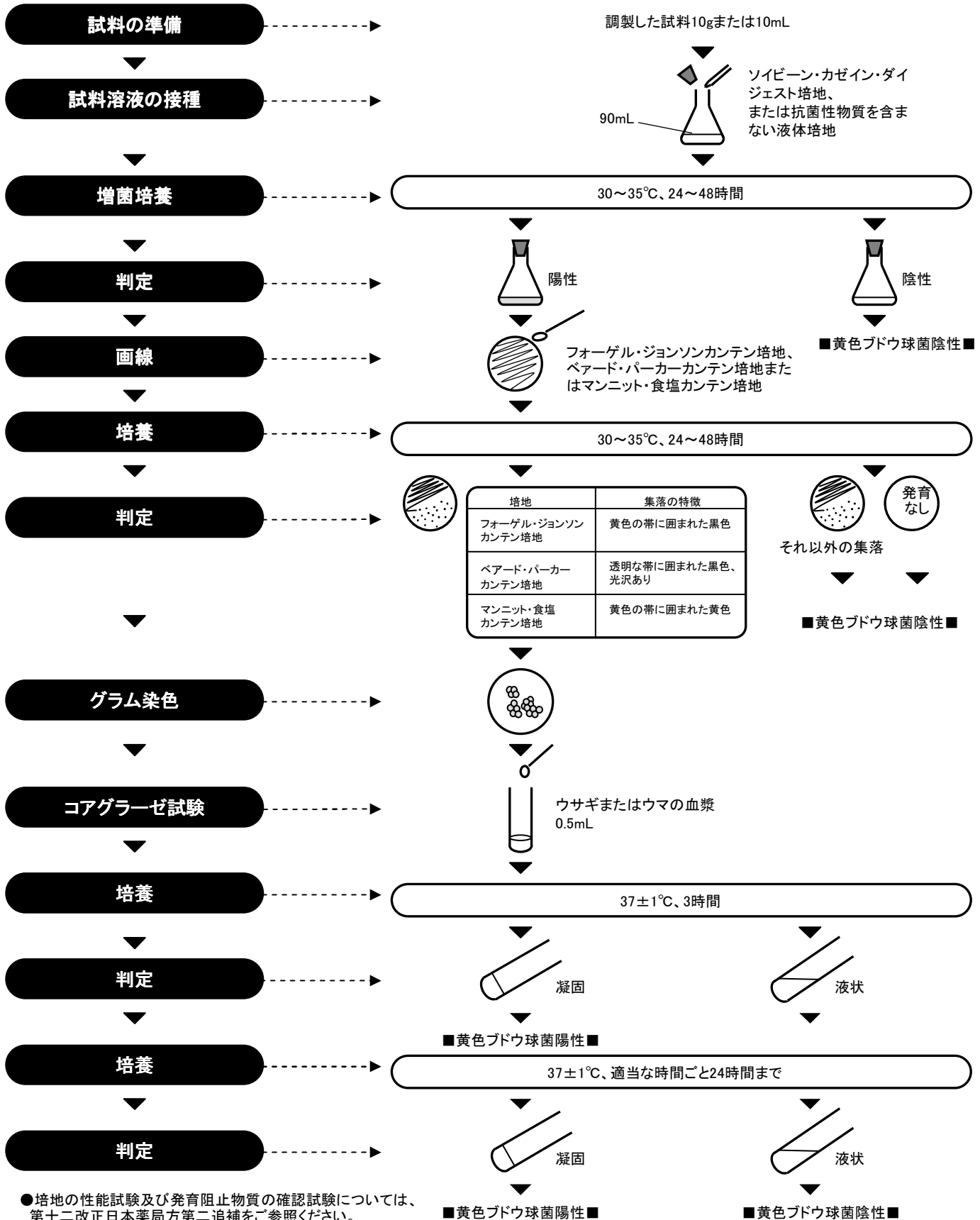


●培地の性能試験及び発育阻止物質の確認試験については、第十二改正日本薬局方第二追補をご参照ください。

キットの使用を含む適当な生化学的試験の併用も可能



2-4. 特定微生物試験 黄色ブドウ球菌 (*Staphylococcus aureus*)



●培地の性能試験及び発育阻止物質の確認試験については、第十二改正日本薬局方第二追補をご参照ください。