定量法
試料溶液の調製　本品約１gを0.01gの桁まで量り、その数値を記録し、100mLのホモジナイザー用容器に入れ、１号希釈液50mLを加え、毎分15,000回転で５分間かき混ぜ、試料原液とする。以下希釈液として１号希釈液を用い、生菌剤定量法における試料溶液の調製に準じて１mL中に生菌を30～300個含む濃度に試料溶液を調製する。なお、試料溶液は、75℃の水浴中で20分間加熱した後、流水で急冷したものを用いる。
操作法　試験用寒天培地として５号培地を用い、生菌剤定量法第１法により操作し、２～３日間培養する。

㈠　製造の方法の基準
バチルス　コアグランス製造用原体を培養した後、菌体を集め、乾燥し、賦形物質を混和して製造すること。

㈡　保存の方法の基準
気密容器に保存すること。

(147)　バチルス　サブチルス

バチルス　サブチルス（その１）

ア　製造用原体

㈠　成分規格
本品は、*Bacillus subtilis* BN株を増殖させ、凍結した製造用種菌である。
由来　原株は、1928年に納豆から分離された*Bacillus subtilis* BN株である。
物理的・化学的性質　本品は、グラム陽性桿菌で、芽胞を形成し、嫌気条件下で発育しない。
確認試験
①　４号培地に本品を塗布し、36～38℃で１～２日間培養する。スライドグラス上に１白金耳量の水をとり、これに白金線を用いて培地に生じた集落をとり、かき混ぜて懸濁し、適当な大きさに広げ、室温又は遠火で乾燥する。次に、２～３回火炎の中を通過させて固定したものを試料とする。この試料につき、グラム染色法により試験を行うとき、青紫色～黒紫色に染まった桿菌を認める。
②　４号培地に本品を塗布し、36～38℃で３～７日間培養する。スライドグラス上に１白金耳量の水をとり、これに白金線を用いて培地に生じた集落をとり、かき混ぜて懸濁し、適当な大きさに広げ、室温又は遠火で乾燥する。次に、２～３回火炎の中を通過させて固定したものを試料とする。この試料につき、芽胞染色法により試験を行うとき、淡緑色～緑色に染まった芽胞を認める。
③　４号培地に本品を塗布し、36～38℃で１～２日間培養する。培地に生じた集落をとり、７号培地10mLに接種し、36～38℃で２～３日間嫌気的に培養するとき、菌の発育を認めない。

㈡　保存の方法及び継代の基準
原株は、加熱処理を施した麹及び大豆粉、ゼラチン等を含む培地で継代し、－80℃で凍結保存する。本品は、原株を同培地で増殖して小分けし、－80℃で凍結保存する。原株の継代は10代以内とし、本品は継代してはならない。

イ　製剤

㈠　成分規格
本品は、バチルス　サブチルス（その１）製造用原体を培養した後、菌体を集め、乾燥し、賦形物質を混和した粉末である。
含量　本品は、定量するとき、１g中、表示量の10^{-1}～10^{2}倍個の生菌を含む。
確認試験
①　スライドグラス上に１白金耳量の水をとり、これに白金線を用いて定量法により操作して得られた集落をとり、かき混ぜて懸濁し、適当な大きさに広げ、室温又は遠火で乾燥する。次に、２～３回火炎の中を通過させて固定したものを試料とする。この試料につき、グラム染色法により試験を行うとき、青紫色～黒紫色に染まった桿菌を認める。
②　スライドグラス上に１白金耳量の水をとり、これに白金線を用いて定量法により調製した試料原液をとり、かき混ぜて懸濁し、適当な大きさに広げ、室温又は遠火で乾燥する。次に、２～３回火炎の中を通過させて固定したものを試料とする。この試料につき、芽胞染色法により試験を行うとき、淡緑色～緑色に染まった芽胞を認める。
③　定量法により操作して得られた集落をとり、７号培地10mLに接種し、36～38℃で２～３日間嫌気的に培養するとき、菌の発育を認めない。
定量法
試料溶液の調製　希釈液として１号希釈液を用い、生菌剤定量法における試料溶液の調製に準じて１mL中に生菌を30～300個含む濃度に試料溶液を調製する。必要ならば、試料溶液は、75℃の水浴中で、20分間加熱した後、流水で急冷したものを用いる。
操作法　試験用寒天培地として４号培地を用い、生菌剤定量法第１法により操作し、１～２日間培養する。

㈠　製造の方法の基準
バチルス　サブチルス（その１）製造用原体を培養した後、菌体を集め、乾燥し、賦形物質を混和して製造すること。

㈡　保存の方法の基準
密閉容器に保存すること。

バチルス　サブチルス（その２）

ア　製造用原体

㈠　成分規格
本品は、*Bacillus subtilis* C-3102株を増殖させ、凍結した製造用種菌である。
由来　原株は、1984年に豚の糞便より分離された*Bacillus subtilis* C-3102株である。
物理的・化学的性質　バチルス　サブチルス（その１）製造用原体の物理的・化学的性質と同じ。
確認試験
①　４号培地に本品を塗布し、36～38℃で１～２日間培養する。スライドグラス上に１白金耳量の水をとり、これに白金線を用いて培地に生じた集落をとり、かき混ぜて懸濁し、適当な大きさに広げ、室温又は遠火で乾燥する。次に、２～３回火炎の中を通過させて固定したものを試料とする。この試料につき、グラム染色法により試験を行うとき、青紫色～黒紫色に染まった桿菌を認める。
②　４号培地に本品を塗布し、36～38℃で３～７日間培養する。スライドグラス上に１白金耳量の水をとり、これに白金線を用いて培地に生じた集落をとり、かき混ぜて懸濁し、適当な大きさに広げ、室温又は遠火で乾燥する。次に、２～３回火炎の中を通過させて固定したものを試料とする。この試料につき、芽胞染色法により試験を行うとき、淡緑色～緑色に染まった芽胞を認める。
③　４号培地に本品を塗布し、36～38℃で１～２日間培養する。培地に生じた集落をとり、７号培地10mLに接種し、36～38℃で２～３日間嫌気的に培養するとき、菌の発育を認めない。
④　６号培地に本品を塗布し、36～38℃で１日培養するとき、灰白色で、円錐状の特有の集落を80%以上検出する。

㈡　保存の方法及び継代の基準
原株は、６号培地で継代し、－80℃で凍結保存する。本品は、原株を同培地で増殖して小分けし、－80℃で凍結保存する。本品は、継代してはならない。