

市販醫藥品의 微生物 汚染度 調査(第1報)

— 市販內服液劑의 細菌汚染度 —

*朴 榮 柱 · *金 榮 一

柳 韓 洋 行

A Survey on Microbial Contamination of Currently-Sold Drugs (I)

—Bacterial contamination of marketed liquid—

*Young Ju Park, *Young Il Kim

An investigation was carried out on a basis of the bacteriological examination with a view to detecting the degree of bacterial contamination for the 77 samples collected from the locally-sold liquid specialties. It's test period was 50 days from July 10 to August 30, 1971.

Specially, the survey has put emphasis on the population of general bacteria and the identification of coli-form group, staphylococcus species, streptococcus species, bacillus species, fungi, and yeast species from liquid samples.

The results obtained are summarized as follows;

- (1) For the 77 samples tested, the contamination of general bacteria was found out as minimum 0, i.e., maximum 12×10^4 and the total average 45×10^2 per milliliter.
- (2) Although streptococcus species could not be detected with the samples, the contamination of the coli-form and staphylococcus species means the strong suggestion of the possibility of pathogenic bacterial contamination.
- (3) Specially, the products which stay in the neutral pH range and use suspending agents need to care for the microbial contamination in the manufacturing process.
- (4) It is thought necessary to perform the microbiological quality control in the liquid preparations only at least.
- (5) As the microbial contamination degree in the liquid decreases

- according to the elapse of time, the microbiological quality control will have to be carried out immediately after the completion of the manufacturing process in order to know the accurate degree.
- (6) The author thinks that the main reason of the microbial contamination in the liquid is the contamination during the manufacturing process.
- (7) For the purpose of prevention of the microbial contamination in liquid, therefore, it is more important to make efforts for the rationalization of manufacturing process, the improvement of equipment and environment, the specific training of workers for hygienic knowledges, etc. rather than the use of preservatives for the preparations.

緒 論

現在 우리나라에서는 食品의 微生物汚染에 對해서는 國民이나 政府當局에서 깊은 關心을 갖고 있어 法的 規制를 하고 있으나 醫藥品의 微生物汚染에 對해서는 전혀 無關心한 實情이다.

이와같은 實情으로 해서 그 研究活動에 있어서도 食品의 微生物汚染에 關한 報告書는 多數를 볼 수 있으나 醫藥品의 微生物汚染에 關한 報文은 지금까지 一篇도 없는 것으로 알고 있다.

그러나 外國에서는 食品分野에 못지 않게 醫藥品分野에 있어서도 微生物汚染에 對한 關心을 오래前부터 갖고 研究活動을 계속하고 있어 이에 關한 報文을 보면 川奇等²⁾(1953), 青木²⁾(1958), 櫻井等³⁾(1958), Lennigton⁴⁾(1967), Brenan²⁾(1968), Pederson³⁾(1968), 高木等²⁾(1969), Hirsch等²⁾(1969), 八島⁵⁾(1970) 등의 多數의 報文을 볼 수 있다.

醫藥品中の 微生物이 汚染됨으로써 保存中에 여러가지 變質을 유발하여 商品의 價値를 低下시키고 또한 醫藥品의 生命인 主藥의 活性에 影響을 주어 그 治療效果를 喪失시킴은 물론 더욱 重要한 것은 病原性細菌의 汚染이다.

1966年 Sweden의 Swedish National Board of Health에서는 輸入臟器製劑에서 Salmonella屬菌을 分離한 後 醫藥品工場에 있어서 衛生 및 微生物管理基準을 作成하고 液劑와 錠劑中에 含有되는 微生物數에 對한 規定을 設定하여 그 實行을 要講하였으며 美國 FDA는 1966年 4月부터 輸入臟器製劑의 微生物汚染에 對한 調査를 繼續하여 1967年 1~6月에 걸쳐 Salmonella屬菌에 汚染된 臟器製劑의 原料 및 製品 65品目 以上을 回收하였으며 1966~1968年에 걸쳐서 回收된 不良化粧品 25品目中 3 Lots가 Salmonella屬菌에 汚染된 것이었다.

이와같이 醫藥品에 病原性細菌이 汚染됨으로써 因한 人體에 미치는 影響을 考慮할 때 現在

우리나라와 같이 醫藥品の 微生物汚染에 對하여 無關心한 狀態에서는 食品에 못지않게 頻用되고 있는 醫藥品이 微生物에 汚染됨으로 해서 國民保健에 미치는 惡影響이 크리라 생각된다.

그러므로 우리나라에서도 지금부터라도 醫藥品の 微生物汚染에 對한 關心度を 높여 研究檢討되어져야 하겠기에 醫藥品中에서 微生物의 汚染우려가 가장 甚하리라 생각되는 內服液劑를 市販中인 것을 對象으로 하여 微生物汚染度에 대한 基礎調査를 하여 다음과 같은 結果를 얻었기에 그 成績을 報告하는 바이다.

調査資料 및 實驗方法

1. 調査資料

調査資料는 市販中인 것을 購入한 內服液劑로 하였으며 用途別로 分類하면 營養劑, 驅虫劑, 鎮咳祛痰劑, 綜合感氣內服液劑(어린이용 시럽제), 止瀉劑, 鎮痛鎮痙劑, 설과劑, 抗生劑, 消化內服液劑, 드링크類, 鎮吐劑, 綜合感氣內服液劑(成人一回服用用)等 12種으로 大別되는 31個製造會社의 總 77品目を 試驗對象으로 하여 1971年 7月 10日부터 8月 30日까지 50日間에 걸쳐 對施하였다.

試驗에 使用한 試料液은 原液과 原液 1ml를 取하여 滅菌生理食鹽水로 稀釋한 液을 使用하였으며 試料液中の 防腐劑에 對해서는 전혀 考慮하지 않고 試驗을 實施하였다.

2. 實驗方法

A. 一般生菌數測定

檢體를 原液 및 1:10, 1:100, 1:1000의 3段階로 稀釋하여 原液 및 各稀釋段階液 1ml씩을 菌滅 Petri-dish 2枚以上에 無菌的으로 分注한 다음 *Nutrient agar(pH 7.4) (42~45°C로 冷却)를 約 15ml씩 加하여 混合하고 凝固시킨다.

이 操作을 15分以內에 完了하고 37°C에서 48±2時間동안 培養한다음 細菌集落數가 30~300個範圍內의 集落을 計算하여 ml當 一般生菌數를 算出하였다.

*Nutrient agar (pH7.4)

Rx Meat extract	1g
Yeast extract	2g
Peptone	5g
Sod. chloride	5g
Distilled waster add to	1,000ml

B. pH 測定

檢體原液을 直接 pHmeter(Backman Zerometric II Type)로 測定하였다.

C. 大腸菌群數測定

檢體原液을 Lactose broth⁶⁾에 接種하여 35~37°C에서 24±2時間동안 培養한 다음 gas 發生 如否로 大腸菌有無를 推定하고 이中 陽性인 것만을 選擇하여 原液 및 原液을 1:10, 1:100, 1:1000의 3段階로 稀釋하여 1ml 씩을 Brillant Green Bile⁶⁾ 液體培地가 들어있는 5個試驗管에 接種하고 35~37°C에서 48±2時間동안 培養한 다음 大腸菌群最適確數⁷⁾ (Most Probable Number)表에 依하여 檢體 1ml 當 大腸菌群數를 算出하였으며 BGB液體培地에서 gas 發生된 試驗管의 液을 EMB⁶⁾ agar plate에 分離培養(35~37°C, 18~24時間)한 다음 分離된 集落을 觀察한 후 Gram 染色을 하여 顯微鏡觀察을 하였다.

D. 葡萄狀球菌屬의 檢出

檢體原液을 Brain Heart Infusion⁸⁾에 接種하고 35~37°C에서 48時間동안 培養한 다음 3mm 白金耳를 使用하여 葡萄狀球菌培地 110⁶⁾ (Staphylococcus medium 110)에 分離培養 (35~37°C, 18~24時間)한 후 分離된 集落을 Gram 染色하여 顯微鏡觀察을 하였다.

E. 連鎖狀球菌屬의 檢出

檢體原液을 SF⁶⁾培地에 接種하여 35~37°C에서 48±2時間동안 培養한 다음 3mm 白金耳를 使用하여 Tryptose Blood Agar Base⁶⁾培地에 分離培養(35~37°C로 18~24時間)한 다음 分離된 集落을 Gram 染色하여 顯微鏡觀察을 하였다.

F. 其他汚染菌屬의 檢出

檢體原液을 *Nutrient broth(pH7.4)에 接種하여 35~37°C에서 48±2時間동안 培養한 다음 3mm 白金耳로 **Nutrient agar (pH7.4) plate에 分離培養(35~37°C 24時間)한 다음 分離된 集落을 Gram 染色을 하여 顯微鏡觀察을 하였다.

*本 Broth는 一般生菌數測定試驗에서 使用한 培地에서 agar 만 뿐 培地임.

**一般生菌數測定試驗에서 使用한 培地와 同一한 것임.

G. 眞菌 및 酵母類의 汚染確認

檢體原液을 注射劑 滅菌度試驗에 使用하는 Sabouraud medium⁹⁾에 接種하여 25~27°C에서 5日間 培養하여 發育如否를 觀察하였다.

以上の 方法을 要約하면 第1表와 같다.

調 查 成 績

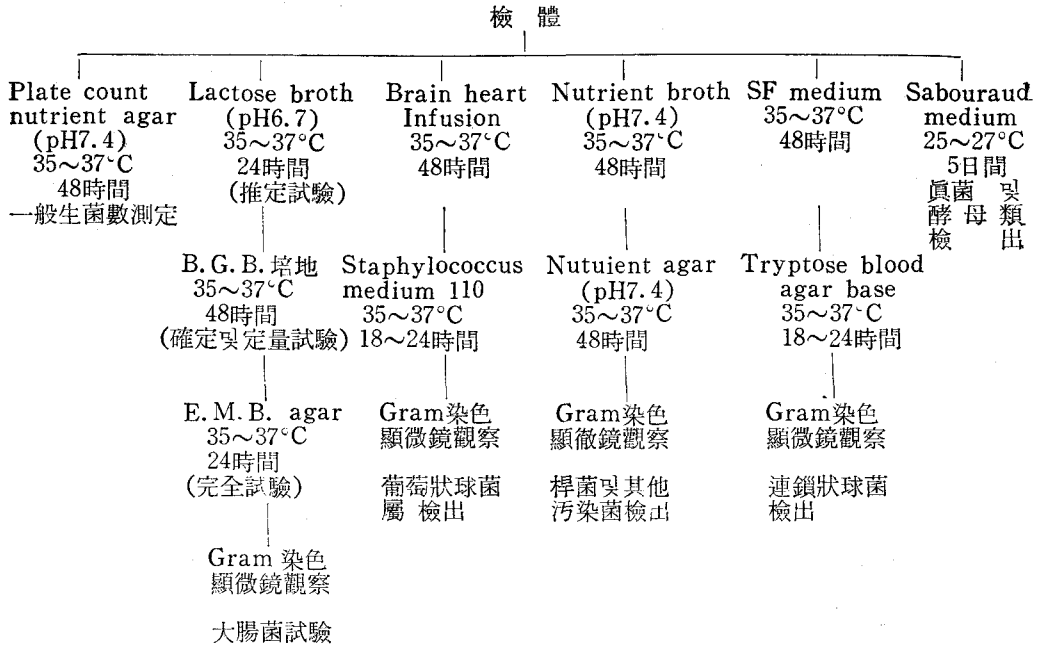
12種의 內服液劑 總77品目에 對한 一般生菌數, 大腸菌群, 葡萄狀球菌屬, 連鎖狀球菌屬, 眞菌 및 酵母類, 其他汚染菌屬 및 pH의 試驗結果는 第2表와 같다.

1. 微生物汚染度

(1) 一般生菌數

ml 當 一般生菌數는 실과제에서 12×10^4 으로 가장 높고 다음은 鎮吐劑 28×10^3 , 消化內

第1表 細菌學的 試驗方法의 概要



服液劑 20×10^3 , 綜合感氣內服液劑(어린이용 시럽제) 6×10^3 , 鎮咳祛痰劑 27×10^2 , 止瀉劑 23×10^2 , 綜合感氣內服液劑(成人一回服用用) 14×10^2 , 드링크類 140, 驅虫劑 120, 營養劑 100以下 鎮痛鎮痙劑 및 抗生劑에서 30以下の 順位이고 一般生菌數의 平均値는 14×10^3 이다.

(2) 大腸菌群

總檢體 77品目中 大腸菌群 陽性인 品目數는 消化內服液劑에서 pH7.5의 製品 1品目으로 그 MPN 은 260이다.

(3) 葡萄狀球菌 및 連鎖狀球菌屬

總檢體 77品目中 Gram 陽性的 葡萄狀球菌이 檢出된 品目數는 5品目으로 止瀉劑 설파劑, 抗生劑, 드링크類 및 鎮吐劑에서 各 1品目씩이었으며 連鎖狀球菌은 檢出되지 않았다.

(4) 眞菌 및 酵母類

總檢體 77品目中 42品目에서 發育을 確認할 수 있었으며 그 順位를 보면 드링크類 및 營養劑에서 80%로 가장 높고 消化內服液劑에서 71.4%, 설파劑 및 抗生劑 66.7%, 綜合感氣內服液劑(어린이용 시럽제) 58.3%, 驅虫劑, 鎮吐劑 및 鎮痛鎮痙劑 50%, 止瀉劑 및 鎮咳祛痰劑가 40%, 綜合感氣內服液劑(成人一回服用用)가 20%였다.

(5) 其他汚染菌屬

① 桿菌屬

總檢體 77品目中 34品目에서 汚染을 確認할 수 있었으며 Gram 陽性桿菌은 34品目中 31品目이며 陰性桿菌은 19品目이었다.

第2表 市販內服液劑의 微生物汚染狀態

檢體 (用途別分類)	檢體數	一般細菌數			細菌學的 檢査結果							pH	備考		
		最少	最高	平均	大腸菌 陰性數	大腸菌數 (MPN)	葡萄球菌 陽性數	連鎖球菌 陽性數	桿狀球桿 菌陽性數	菌母性數 陽性數	其他汚染菌 陽性數			汚染菌種 을 確認할 수 없는 것	
															5
1 營養劑	5	0	100이하	50이하	-	-	-	-	1(20)	4(80)	1(20)	1(20)	4.1~5.3	1(20)	현탁제 사용
2 驅蟲劑	2	0	1.2×10 ²	100이하	-	-	-	-	1(50)	1(50)	-	-	6.3~6.8	1(50)	현탁제 사용
3 鎮痙祛痰劑(코메인제)	7	0	3×10 ²	100이하	-	-	-	-	5(71.4)	3(43)	1(14.3)	-	3.2~5.5	2(28.6)	현탁제 사용
" (기타)	7	0	2.7×10 ³	4.5×10 ²	-	-	-	-	3(43)	3(43)	-	-	3.9~5.5	3(42.9)	현탁제 사용
4 綜合感冒氣味劑 (어린이用)	12	0	6×10 ³	5.3×10 ²	-	-	-	-	7(58.3)	7(58.3)	2(16.7)	-	5.0~6.9	3(25)	현탁제 사용
5 止瀉劑	5	0	2.3×10 ³	4.8×10 ²	-	-	1(20)	-	-	2(40)	-	-	4.4~6.2	3(60)	현탁제 사용
6 鎮痛鎮痙劑	2	0	30이하	30이하	-	-	-	-	-	1(50)	-	-	3.7~4.0	1(50)	현탁제 사용
7 殺菌劑	3	0	12×10 ⁴	4×10 ⁴	-	-	1(33.3)	-	-	2(61.7)	-	-	5.4~6.4	1(33.3)	현탁제 사용
8 抗生劑	3	0	30이하	30이하	-	-	1(33.3)	-	-	2(66.7)	-	-	4.8~5.9	1(33.3)	현탁제 사용
9 消化內服液劑	7	0	20×10 ³	41×10 ²	1(14.3%)	260	-	-	6(85.7)	5(71.4)	1(14.3)	-	1.9~8.0	1(14.3)	현탁제 사용
10 三憵劑	10	0	1.4×10 ²	50이하	-	-	1(10)	-	5(50)	8(80)	1(10)	-	2.8~5.0	2(20)	현탁제 사용
11 鎮吐劑	4	0	28×10 ³	75×10 ²	-	-	1(25)	-	1(25)	2(50)	-	-	2.8~5.6	1(25)	현탁제 사용
12 綜合感冒氣味內服液 (成人1回服用)	10	0	14×10 ²	2.1×10 ²	-	-	-	-	5(50)	2(20)	2(20)	-	3.1~7.6	4(40)	현탁제 사용
總計	77	0	16×10 ⁴	54×10 ³	1	-	5	34	42	8	24	-	1.9~8.0	24	
平均				45×10 ²			9.5	64.1	79.2	15.1	31				
% 汚全體				1.3			6.5	44.1	54.6	10.4					

그 汚染順位를 보면 消化內服液劑가 85.7%로 가장 높고, 綜合感氣內服液(어린이용시린제) 58.3%, 鎮咳祛痰劑 57.1%, 驅虫劑, 드링크類 및 綜合感氣內服液劑(成人一回服用用) 50%, 營養劑 및 鎮吐劑가 20%의 順이다.

② 이 以外에 Gram 陽性 單球菌屬이 8品目에서 檢出되며 Gram 陽性的 Sarcina 屬이 1品目에서 檢出되었다.

2. pH

總檢體 77品目の pH範圍는 1.9~8.0이며 그中 4.0~6.0이 40品目으로 가장 많고 그 다음이 3.0~4.0의 16品目이며 1.9가 1品目이었다. 酸性인 品目이 全體의 78%를 차지하고 있다.

總括 및 考擦

1. 一般細菌의 汚染度

檢體의 一般生菌數는 最低 0에서 最高 12×10^4 /ml이며 總檢體 77品目中 58品目(75.3%)에서 汚染을 確認할 수 있었는데 이中 40品目(69%)이 ml 當 100以下이고 나머지 18品目(31% : 77品目中 23.4%에 해당)의 汚染度는 比較的 높은 편이다.

本結果를 Brenan²⁾ (1968)의 調査結果와 比較하면 汚染度가 約 63%程度 높으며또한 一般生菌數가 ml 當 100以下되는 品目數는 25%程度나 적다.

一般生菌數의 分布狀態는 第3表와 같다.

第3表 一般生菌數

一般生菌數 (ml 當)	品 目 數	% (全體 77品目)
0	19	24.7
100미만	40	52
100이상~1000미만	10	13
1000이상~10,000미만	5	6.5
1×10^4 이상~ 1×10^5 미만	2	2.5
1×10^5 이상	1	1.3

2. 製品의 pH와 一般細菌의 汚染度와의 關係

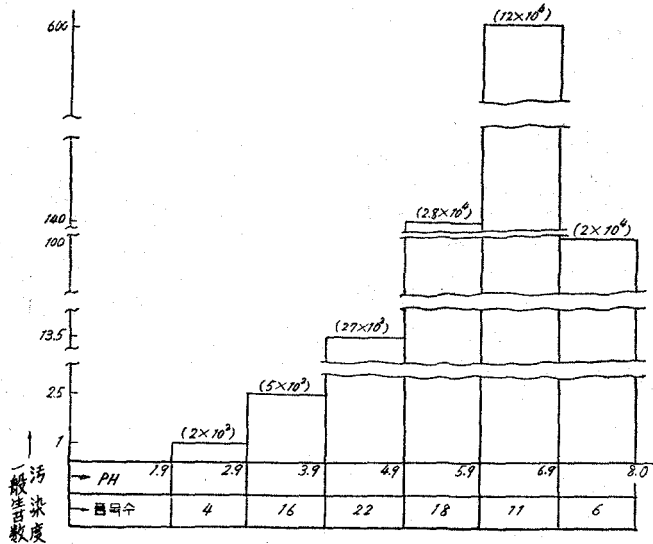
製品의 pH가 中性일수록 一般細菌의 汚染度는 높은 傾向을 나타내는데 그 原因으로 생각할 수 있는 것은 첫째 pH가 中性에 가까울수록 一般細菌은 生存할 수 있는 期間이 길어지기 때문이며, 둘째 製品의 pH에 따른 적절한 防腐劑와 使用濃度의 不合理한 點等이라 하겠다.

靑水等³⁾ (1958)은 內服液劑에 가장 널리 使用되어지는 DHA의 抗真菌力은 pH가 높을수

특 減少한다고 報告한 것과 같이 自家 製品의 pH에 가장 알맞는 防腐劑의 選擇과 使用濃度의 決定이 매우 重要하다.

製品의 pH와 一般生菌數와의 關係는 第1圖과 같다.

第1圖 製品 PH와 一般生菌數(汚染度)와의 關係



3. 製品의 製造日과 一般細菌의 汚染度와의 關係

製品의 一般細菌의 汚染度는 經時的으로 減少하는데 이것은 生活條件이 不良한 狀態에서 必然的인 結果로 생각된다.

經時的인 變化를 보면 一般生菌數가 ml當 100以上인 品目이 1969年 1月~1970年 12月에 製造된 19品目中 1品目(5.3%), 1971年 1月~4月에 製造된 15品目中 4品目(26.7%) 1971年 5月~8月에 製造된 43品目中 13品目(30.2%)이었다.

製品의 製造日과 一般生菌數와의 關係를 보면 第2圖과 같다.

4. 汚染菌種의 分布狀態

總檢體 77品目中 汚染이 確認된 53品目の 汚染菌種의 分布狀態를 보면 主로 生活條件에 따라 芽胞形成能力이 있어 오랜 期間 生存할 수 있는 桿菌屬과 眞菌 및 酵母類가 64.2%와 79.2%로 가장 높고 Gram 陽性的의 球菌屬이 25%(이중 葡萄狀球菌이 約 10%, 其他가 16%인데 連鎖狀球菌은 檢出할 수 없었다.)이었으며, 大腸菌群陽性은 1.9%이었다.

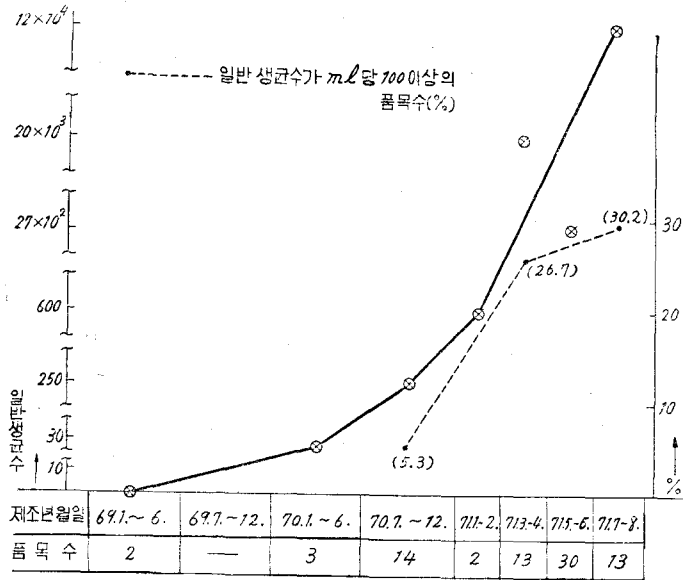
反面에 汚染菌種을 確認할 수 없었던 品目이 31.2%나 되었다.

이것은 主로 一般生菌數가 "0"인 製品들이었다.

大腸菌群은 消化內服液劑의 單 1品目에서 檢出되었으나 이와같은 事實은 製品에 病原性細菌의 汚染可能性도 있다는 것을 보여준다.

葡萄狀球菌陽性 5品目中 3品目이 懸濁化劑(Sod. CMC, MC, EC, Agar agar, Sod. alginate 등)를 使用한 시럽제이며 其他 2品目は ドリンク類와 鎮吐劑에서 各各 1品目씩이

第2圖 製造日과 一般生菌數와의 關係



었다.

葡萄狀球菌은 低温으로는 滅菌하기 困難한 菌이므로 特히 本菌의 汚染에 注意를 要한다.

이와같은 結果를 分析하여 볼때 內服液劑의 微生物汚染의 主要因은 作業環境과 條件의 不良 및 作業人의 衛生關念의 缺如라 判斷된다.

本結果를 Hirsch 등² (1969)이 調査한 結果와 比較하면 第4表와 같다.

第4表 菌種別 汚染度

汚 染 菌 種		本 調 査 結 果 ^a	Hirsch 등(1969) 調査결과 ^b
桿 菌	Gram (+)	58.5%	66 %
	Gram (-) ^c	37.7%	36.2%
球 菌	Gram (+)	24.5%	42.6%
	Gram (-)	—	2.1%
眞 菌 및 酵 母 類		79.2%	19.2%

註) a: 總 77品目中 24品目은 汚染菌種을 檢出할 수 없었음.

b: 總 57品目中 47品目이 微生物汚染이 되어 있었음(Membrane filter method, HA)

c: Hirsch 등의 調査 結果에서도 大腸菌群이 1品目에서 檢出됨.

5. 製造會社別로 본 製品의 微生物 汚染度

調査對象品目數, 製品의 pH, 製品의 製造日 및 製品의 劑形上의 特徵等を 考慮할 때 뚜렷한 差異를 論할 수는 없으나 全般的으로 近來에 製造된 製品의 微生物汚染度는 比較的 높은 편으로 內服液劑를 製造하는 業所에서는 微生物汚染에 對한 關心度を 높여야 하리라 생각한다.

結 論

1. 12種의 內服液劑 77品目の ml當 一般生菌數는 最少 “0”에서 最高 12×10^4 이며 平均 45×10^2 程度 汚染되어 있다.

2. 大腸菌群의 汚染으로 病原性細菌의 汚染可能性도 생각할 수 있다.

3. 內服液劑에 있어서 製造하고자 하는 製品의 pH가 中性에 가까울수록 製造時 微生物汚染에 對한 注意가 必要하며, 또한 pH에 따른 적절한 防腐劑의 選擇과 使用濃度를 決定해야 하리라 判斷된다.

4. 內服液劑에 있어서 懸濁化劑를 使用하는 製品은 製造時 必要以上으로 攪拌 時間을 두지 말고 製品工程이 完了되면 即時 完包裝을 하도록하여 微生物汚染에 對한 注意를 어느 內服液劑보다도 徹底히 할 必要性이 있다.

5. 醫藥品中에서 于先 內服液劑만이라도 自社製品의 보다 좋은 品質을 確保하기 위하여 製造會社 自體에서 內規를 定하여 細菌學의 品質管理로 一般生菌數測定 및 大腸菌群試驗을 해야 할 것이다.

6. 內服液劑는 一般的으로 微生物汚染度가 經時的으로 變化하므로 製品의 正確한 微生物汚染度를 알기 爲해서는 製造即時 細菌學의 品質管理를 施行해야 한다.

7. 內服液劑에 있어서 微生物汚染의 要因으로 原料, 用水, 用器等에 依한 汚染도 있겠으나 그 主要因으로 생각되는 것은 製造工程上의 不合理와 시설等 作業環境의 不良으로 因한 製造工程中の 汚染과 作業人의 衛生知識의 不足에서 오는 作業人에 依한 汚染이다.

8. 그러므로 內服液劑의 微生物汚染防止는 製品에 防腐劑를 使用하는 것도 重要하지만 製造工程의 合理化, 施設 및 環境의 改善과 作業人에 衛生關念을 注入시켜 製造工程中에서 微生物이 汚染되지 않도록 조치하는 것이 先決問題이다.

(本 調査를 指導해 주신 禹鍾鶴박사님과 協助를 하여주신 微生物室 여러분께 深甚한 謝意를 表하는 바입니다.)

參 考 文 獻

- 1) 趙在天: 加工食品의 細菌汚染度 調査, 公衆保健雜誌, 8(1) 1971.
- 2) 高野正彦: 製劑의 微生物汚染, (其 1, 2, 3, 4, 5,) 藥局, 21(11, 12), 22 (1, 2, 3) 1970~1971.
- 3) 青木等: 製劑의 防腐에 關する 研究, 藥劑學, 18(3) 1958.
- 4) Kenneth R. Lenington: *Salmonella in Drugs and Dietary Supplements, Drug & Cosmetic Industry*, 100, 3(1967)
- 5) 八島弘昌: 調製의 一包化と 錠劑의 細菌汚, 藥局, 21, 5 (1970)
- 6) Difco manual 9th edition (1969)
- 7) 日本厚生省編: 衛生檢査指針 Ⅲ.

- 8) 보건사회부 : KP Ⅱ.
- 9) 櫻井喜一等 : 內用液劑の 新防腐劑 Sorbin 酸 及び Sorbin 酸 ヲ對する, 藥劑學, **18**, 1(1958)
- 10) *Bergeys manual of Determinative Bacteriology 7th edition*, Baltimore (1957)
- 11) 山口和夫, 山口辰良共著 : 最新應用微生物學入門.
- 12) 微生物學 Hand book. : 技報堂編