

「萬病感應丸」の細菌叢調査について

滋賀県健康福祉部医務薬務課薬業振興担当
(滋賀県薬業技術振興センター)
山田 強 辻 浩司

1. はじめに

地場製薬企業において昔から製造されている医薬品、いわゆる伝承薬は、原料として多くの生薬が使用されているため、微生物による汚染が危惧される。

そこで、伝承薬の品質を確保するため、本県の3大妙薬の一つである「萬病感應丸」の細菌叢調査を実施したので、その結果を報告する。

2. 試料

県内で製造されている萬病感應丸5検体を用いた。

3. 試験方法

(1) 生菌数試験

第十四改正日本薬局方一般試験法「生薬の微生物限度試験法」に準じた。

なお、発育阻止物質の確認には以下の菌株を用いた。

Escherichia coli IF03972 , *Staphylococcus aureus* IF012732 ,
Bacillus subtilis IF03134 , *Candida albicans* IF01594

(2) 釣菌および純培養

生菌数試験が終了した平板培地より、滅菌した白金耳を用いて、ランダムにコロニーを釣菌した。釣菌したコロニーはそれぞれ新しいSCD寒天培地に接種し、35℃で24時間培養して単一のコロニーを分離した。

なお、1検体から10個のコロニーを釣菌し純培養した。

(3) 同定

分離したコロニーは形態などを観察し、芽胞形成菌であることを確認したうえで、API 50 CH (bioMerieux sa ,France) を用いて同定した。

なお、菌名検索には「APILAB Plus v 3.3.3」(bioMerieux sa ,France) を使用した。

4. 結果

(1) 発育阻止物質

今回の試験では、発育阻止物質の影響を除去する方法として希釈法を用いた。

希釈倍率は、10、50、100、500、1000、2000倍の6段階とし、各検体における発育阻止倍率を表1に示した。

表1 各検体における発育阻止倍率

試料No	発 育 阻 止 倍 率			
	<i>E.coli</i>	<i>S.aureus</i>	<i>B.subtilis</i>	<i>C.albicans</i>
1	-	100	10	10
2	-	1000	10	100
3	-	50	-	10
4	-	10	10	10
5	-	100	-	10

- : 発育阻止せず

(2) 生菌数試験

試料全体の細菌数および真菌数を表2に示した。

なお、発育阻止倍率が高い検体で、平板上にコロニーが認められなかったものについては、10未満とした。

表2 試料全体の細菌数および真菌数

試料No	細菌数	真菌数
1	4.9×10^4	5.0×10
2	3.3×10^5	10未満
3	2.4×10^4	3.4×10
4	9.4×10^2	10未満
5	8.1×10^4	3.5×10^2

(3) 同定

50個のコロニーの同定結果を表3に示した。

表3 同定結果

菌種	%	
<i>Bacillus licheniformis</i>	46.0	(23/50)
<i>Bacillus subtilis</i>	20.0	(10/50)
<i>Bacillus cereus</i>	12.0	(6/50)
<i>Bacillus megaterium</i>	6.0	(3/50)
<i>Bacillus circulans</i>	6.0	(3/50)
<i>Bacillus coagulans</i>	4.0	(2/50)
<i>Bacillus stearothermophilus</i>	4.0	(2/50)
Identification not Valid	2.0	(1/50)

5. まとめ

- (1) 今回の結果を、JP14参考情報「非無菌医薬品の微生物学的品質特性」における生薬及び生薬を配合した製剤の微生物基準値(カテゴリー2)で評価すると、好気性細菌数を超過しているものが1検体あったが、真菌数を超過しているものはなかった。
- (2) 微生物の生育条件等を考えると、製剤中での細菌の増殖の可能性は低いと考えられるが、*B. cereus*をはじめ、*B. subtilis*、*B. licheniformis*、*B. circulans*、*B. coagulans*などは、頻度は少ないものの、日和見感染を起こしうるとされているので、細菌数を減少させる手段を講じる必要性はあると思われる。
- (3) 同定した菌種のほとんどが *Bacillus* 属であったことから、これらの菌は、原料に由来している可能性が高いと考えられる。今後、各製剤原料についても検査するとともに、製剤個々の製造工程および製造環境を併せて調査することにより、製造業者に対する微生物面での指導を充実させていきたいと考える。

(参考) 「非無菌医薬品の微生物学的品質特性」(抜粋)

生薬及び生薬を配合した製剤の微生物基準値		
微生物	カテゴリー1 (cfu /g)	カテゴリー2 (cfu /g)
好気性細菌	10^7	10^5
真菌(カビ、酵母)	10^4	10^3

カテゴリー1：熱湯で処理して用いる生薬及びその製剤

カテゴリー2：その他の生薬及びその製剤

(平成15年10月)