



化粧品の微生物管理の実務について —一次汚染検査と二次汚染対策の問題点—

株式会社資生堂 技術部

浅賀良雄

はじめに

化粧品の微生物管理について考える時、過去の汚染や試験法の歴史を知ることがいろいろ役にたつ。この35年間の動きを知る上で1969年のWHOが勧告したGMPがその発端になっていることを忘れる訳には行かない。表1に示すようにこの35年間には、化粧品が微生物に汚染していることすら認識していなかった時代から、未だに回収事故が起きている現在までにいろいろな出来事があった。

一次汚染の報告は1960年代後半に当時のTGA(米国化粧品業界)のものに「米国市販製品の25%に汚染を確認」が衝撃的であった。当時、日本での報告は無いがその後当時の国衛試での試験の結果、日本のアイ化粧品にも汚染が確認され不活化剤を使用した「アイ化粧品の試験法」が提案され、そのまま今日に至っているのが事実である。

1. 一次汚染発生の原因

以下に示すような製造工程の各因子が主な汚染原因で、それぞれに菌種・菌数とも特色がある。すなわち菌種が特定されると自ずと原因も推測できることになる。

- 原料 ○製造環境 ○製造機器
- 容器 ○作業者の手指

1998年にはペットボトル飲料の細菌汚染が社会的に大きな問題として取り上げられ、2000年6月には牛乳による食中毒を契機にその後約2ヶ月にわたり食品医薬品を中心に「虫の混入、異物の混入、微生物の汚染」と200件近い報告や回収記事が連日のように新聞紙面を賑わした。企業にとっては出荷前に製品の検査を行うことはもとより、その検査の精度が如何に大事であるかを、再認識させられた出来事であった。

2. 一次汚染微生物の確認試験法

化粧品に限定した微生物試験法は無いため一般的には日本薬局方の微生物限度試験法を参考に行っているが、日本化粧品工業連合会微生物専門委員会が作成した微生物限度試験法(1997. 11. 21. 制定)は、特に化粧品を対象に詳しい操作法を盛り込んであり参考になると考える。

化粧品の微生物試験で気を付けることには

- ① 対象とする「試験試料の特定方法」
- ② 環境や器具からの微生物の採取方法
- ③ 使用培地とその培養温度・培養日数
- ④ 培養方法(試料と培地の接触方法)
- ⑤ 菌数・菌種の確認方法
- ⑥ いてはならない特殊な菌種の指定などがある。

以下に個々の課題に触れて見ることにする。

1)使用培地

日局に指定された培地でも微生物の生育状態や孢子形成速度には差が認められる。

真菌用にはPDA培地(ポテトデキストロース寒天培地)、Sabouraud Dextrose Agar、GPA(グルコースペプトン寒天培地)培地が、細菌用にはSCDA培地(ソイビーン・カゼイン・ダイジェスト寒天培地)が汎用されている。

2)培養温度

化粧品の場合、培養温度は微生物分類学などで使用される温度よりは、やや低い温度が適していることが分かっている。

真菌:20~25℃

細菌:30~35℃

3)培養時間

培養時間も化粧品に含まれる抗菌性成分(アルコールや防腐剤、殺菌剤など)の量によって微生物の生育が影響されるので、製品によって異なることを理解する必要がある。

真菌:3~7日間

細菌:24~72時間

4)検出菌数(一般的に1g当りで換算する)

化粧品の場合の検出菌数は最少でゼロ(この場合容器全体が無菌ではなくて水準としてはく100cfu/g)最大でも1000万程。

3. 製品出荷前検査としての注意点

1)防腐剤不活化方法

化粧品をそのまま培養しても汚染している微生物を正確に検出できるとは限らない。配合されている防腐剤の種類によって異なるが、一般的にフェノール性化合物にはレシチン・ポリソルベート80の入った培地が汎用されている。

具体例として殺菌剤のトリクロサン、塩化ベンザルコニウム、ヒビテングルコネートなどを配合した製品の検査では、不活化培地が必須。

2)判定

集落が検出された場合は、集落の形状や色調等の観察や、顕微鏡を用いた菌の形状、染色性などの形態的観察が重要である。

真菌が検出された場合は、肉眼による集落の表面性状や色を観察し記録する。カビの形態は、観察用プレパラートを作成して200~800倍の顕微鏡で観察し記録する。

細菌は、集落の色・つや等を観察し記録する。細菌の形態は、グラム染色を行い、高倍率の顕微鏡(800~1500倍)で観察し記録する。

3)培地の性能検定は正しくできるか。

培養で微生物を確認する場合、その培養方法全体が試験として適正か否かを自ら科学的に判断しなくてはならない。

その具体例が「培地の性能検定」である。

試験に用いた培地が微生物にとって栄養源にならないようであれば、微生物は増殖できず結果として検出されない訳である。

用意した培地が微生物の生育を阻害しないことを、試験の前後に確認して記録しなければならない。

4. 化粧品の汚染微生物の分類

化粧品の汚染微生物を調べるには、従来の一般微生物分類学はあまり役に立たない。

自社工場の汚染微生物の実用的な簡易分類は観察力で決まり、環境微生物+皮膚の微生物+水の微生物+食品微生物の総合的な微生物学で始めて理解できるものといえる。

5. 検出微生物の種類と侵入経路の推定

検出された微生物がグラム陽性菌か陰性菌かで汚染の原因と汚染後の増殖の可能性がかなり絞り込める。ヒントとしては以下の事項が挙げられよう。

- ・汚染しやすい原料、汚染が無い原料
- ・製品構成成分
- ・汚染した製品に入っている成分解析
- ・汚染しなかった製品に入っている成分

6. 二次汚染とその防止策

二次汚染とは開封後の使用中の汚染であり、一次汚染菌とは菌種も菌数も全く異なる事が知られている。

1) 配合防腐剤の選定

現在は、ポジティブリストから選択している。配合される製品中で実際に効果を発揮できるか、評価しなければならない。

具体的な方法としては

- a) 判定法は日局の保存効力試験法
- b) 防腐剤の組合せ効果の判断基準
- c) 汚染菌の代表として菌種菌数の決定
- d) 二次汚染保証水準と保証期間の設定

2) 防腐力試験に用いる最適微生物

国際的な標準株に、各社独自の分離株(個々の製品特有の分離株)を加えることが肝要となる。それでも問題はいろいろある。

- a) 分離株は植え継ぎで何故か弱くなる。
- b) 「より良い防腐」とは 製品個々で異なる。
- c) 使用時の少量汚染であっても経時で何故菌が増えるのかを説明できるか。
- d) 使用時の汚染の原因は、空気か手かなど汚染の可能性をどこまで予知できるか。

7. GMP と ISO9001、ISO/TC217

表2にISOのいろいろな専門委員会(TC)を示すが、過去約55年の間に220以上のTCが活動しいろいろな国際標準が決められた。

TC176が品質管理システムとして国際標準化したものが、ISO9000であり、TC207が環境管理システムとしたのがISO14000である。

1) ISO/TC217

3年前からTC217(化粧品)で国際的な物差し作りを開始している。

TC217には6ワーキング・グループがある。

- ・WG1. 微生物試験法ガイドライン
- ・WG2. 包装・表示について

- ・WG3. ニトロソアミンについて
- ・WG4. 用語の定義（現在、休会中）
- ・WG5. 防腐剤について(2003.10.で閉会)
- ・WG6. 化粧品 GMP

何故かここに化粧品GMPがあり検討中。

2)ISO9000の基本的な管理項目とポイント

- * 品質保証の仕組みを体系化して維持してその仕組みに対して顧客の理解を得る。
- * その仕組みの適合性有効性を検証する。
- * その考え方は幅広い機能に適用できる。
- * 方法より購入者要求への合致が優先。

3)GMPとISO9000の違い

医薬品では薬事法第56条の遵守が必須であり、62条には化粧品にも56条を適用している。ただし、具体的な内容は記載されていないので、参考にすべき日本薬局方の試験法を代用して行うしかない。化粧品GMPとISO9000を比較すると内容的に似ている部分と温度差がある部分、GMPにしか無い部分(人体や健康への影響に関係する部分)があることが分かる。

GMPではどの試験法を実施するにしても、その試験法が目的に適合した試験法であることを自らが予めバリデーションしなければならない。

極論になるが、ISOでは試験法は問わないのでどの方法であってもデータがあれば問題ない。ただし顧客との契約で制限される場合もある。

ISOも最近はGMPにしか無い部分を取り入れていこうとする動きがある。前述したが化粧品にはTC217で化粧品GMPが検討されており、国際標準に採用されるとISO9000より優先されるのではないかと考えている。

4)ISO9000取得・認証とGMPの関係

- a) 基本的な関連性は無く、ISO9000などの取得・認証の要件とはならない。
- b) ISOの国際標準は「貿易上での二国間の共通の物差し:WTO/TBT協定」になると考えられている。

参考資料:ISO規格の基礎知識「改定2版」(財・日本規格協会編集)2000年。

表1 化粧品微生物汚染の歴史

1960年代	微生物検査法が無く汚染すら意識しなかった頃。
1969年	(医薬品の微生物汚染が認識され、WHOがGMPを勧告した。)
1970年代	汚染が広く報告され、GMPの必要性を認識し始め化粧品の微生物検査法の検討が開始された。
1980年代	生産現場での一次汚染防止対策が推進された年代で且つ、微生物検査法を各社が導入した。
1990年代	一次汚染が減少し企業に対し油断したことで汚染が散発したり、微生物検査法が改良された。
2000年代	食品・医薬品を含めて、まだに汚染事故が発生し、新たな一次汚染防止対策を工夫して推進している。微生物検査法の精度を自ら見直す時代になった。

表2 ISO/TC 各専門委員会について

ISO専門委員会TC番号(抜粋)	
TC4	転がり軸受(ナ)
TC22	自動車
TC36	映画
TC42	写真
TC47	化学
TC54	精油
TC76	医療用輸血装置
TC81	農薬の名称
TC91	界面活性剤
TC93	でんぷん
TC106	歯科材料・器機
TC114	時計
TC136	家具
TC147	水質
TC176	品質管理及び品質保証
TC194	医用・歯科用材料
TC207	環境管理
TC209	クリーンルーム及び関連
TC217	化粧品
TC220	冷凍容器

ISO規格の基礎知識「改定2版」(財・日本規格協会編集)2000年より