大阪府下の市販化粧品類の微生物
汚染について (1972~1977)

横山 浩

Microbiological Contamination of Cosmetics collected
in Osaka Prefecture (1972~1977)

Hiroshi Yokoyama

The microbiological quality of a variety of cosmetics, collected in Osaka Prefecture from 1972 to 1977, has been investigated.

By this surveys, about 15% of 657 samples of unused cosmetics were found to be contaminated with bacteria and fungi.

The most frequently contaminations in cosmetic products, were found in facial or hand creams (34% of 152 samples), liquid creams (21% of 42 samples), liquid shampoos (18% of samples) and hair lotions (15% of 46 samples), whereas we have rarely detected microbiological contamination less than 10% of the samples (which include hair sprays, hair tonics and facial or hand lotions).

In these majority of cosmetic products contaminated with microorganisms, gram-positive or gram-negative bacteria (which includes *Bacillus*, *Micrococcus*, and the like) and mold were mainly found as the lower microbiological counts (which not mostly exceed 1000 per gram or ml). But some specific bacteria (*St. aureus*, *Ps. aeruginosa*, *E. coli* and Coli-forms organisms) were not isolated from such contaminated cosmetics.

In the view of these results, it is obvious that the total counts (in a low microbiological load) can be excellent index of micro-biological quality.

1 緒 言

医薬品製造業界では、昭和51年4月から「医薬品の製造および品質管理に関する基準実施細則」にもとづいて、医薬品の品質管理（いわゆる医薬品のGMP）が実施され、製品の品質管理を微生物学的な立場からも重視するようになった。すなわちGMPでは製剤への異物（塵埃、昆虫など）の混入防止が1つの重点対策として挙げられている。その異物の範ちゅうに微生物も含めて行政的にも微生物学的な立場からの行政指導を行なうようになったわけであり、従来まで非無菌性でも可とされ

ていた製剤のうち、まづ内用液剤とX線造影剤について菌数限度基準が定められ、著者らは製剤の品質試験の一環に微生物試験も加えて行なうようになった。

このような傾向はいづれ化粧品業界にもおよぶことは必定と思われる。

WHO 勧告の GMP (1969), FDA による GMP (1969~1971) から始まって、化粧品（アイライナーなど）による細菌汚染の問題が生じて以来、昭和47年度から大阪府下の化粧品等の製造、取り扱い業者からの微生物検査依頼はだんだんと増加するいっぽうである¹⁾²⁾。

著者らは、以上の観点から市販されている化粧品類を対象に昭和47年3月から昭和52年3月にかけて、大阪府の一斉収去あるいは業者等の依頼によって収集した製品についてそれらの微生物汚染度を調査し、化粧品類における微生物汚染の実態を掌握することに努めた。さらに微生物によって汚染された製品の汚染原因についても配

大阪府立公衆衛生研究所 薬事指導部
大阪市東成区中道1丁目
The Osaka Prefectural Institute of Public Health,
Ed. of Pharmaceutical
1-Chome, Nakamichi, Higashi nari-ku, Osaka

合成分あるいは防腐剤の検討によって、2, 3の知見が得られたので報告する。

2 実験

2.1 試験材料（検体）

試料検体は大阪府下で昭和47年3月から、52年3月までの期間に理化学試験の目的で大阪府によって収去されたものと、業者から微生物試験の依頼を受けたものにかぎった。各試料とも同一ロットの製品を最低2個（あるいは2本）以上、（内容量としてクリーム類は約150g前後、固型・粉末類は約100g前後、溶液類は150ml前後になる）を用いて試験に供した。

2.2 試験方法

各製品について微生物汚染の実態把握と検査方法の完全を期するために、あらかじめ全試料について日本薬局方（JP. 8および9）にもとづく無菌試験を行なった。本試験によってなんらかの微生物汚染が認められたものについて、厚生省通達にもとづく各種試験法を用いた。すなわち、昭和50年度までは化粧品（アイライナー）の微生物試験法（以下、試験法Ⅰとする）および造影剤（硫酸バリウム製剤）の微生物学的試験法（以下、試験法Ⅱとする）を、昭和51年度以降は内用液剤およびX線造影剤の菌数の限度および試験法（以下、試験法Ⅲとする）に準拠して、試料溶液を調製し、試験検体中の生菌数および特定細菌（黄色ブドウ球菌；*Staphylococcus aureus*、緑膿菌；*Pseudomonas aeruginosa*）および大腸菌群（*E. coli* も含める）の検出を試みた。

2.3 使用培地と培養条件

本検討に際して、培地はいづれも市販品を用いた。日本薬局方にもとづく無菌試験には無菌試験用の液状チオグリコール酸培地およびブドウ糖ペプトン培地（いづれも栄研化学㈱または大五栄養化学㈱製）を、一般生菌数試験には Soybean Casein Digest (SCD) および Glucose Peptone (GP) の液体あるいは寒天培地（いづれも大五栄養化学㈱製）を、特定細菌類の試験には2.2に記す試験法にある各特定細菌の確認用分離培地（いづれも栄研化学㈱または大五栄養化学㈱製）をそれぞれ使用した。

なお、培養は時定の培地使用による条件を除いて、汚染菌の検出および生菌数の測定は細菌類で 30～32°C、3日間、真菌類で 25°C、7日間行なった。しかし、菌の発育が弱く確認が困難なものについては、上記培地を使用する際、培養所定日数をさらに延長して試験製品中

の微生物の増殖有無を観察し、汚染の有無を確認した。

3 結果

3.1 各種化粧品類の微生物汚染

昭和47年3月から49年3月にかけて収集した各種化粧品 365 試料について試験法（Ⅰ）、（Ⅱ）を準用して試験した結果を Table. 1, Table. 2 に示した。また昭和50年4月から52年3月にかけて収集した各種化粧品 292 試料については試験法（Ⅲ）を準用し、その試験結果を Table. 3, Table. 4 に示した。なお、収集試料の表中区分は各製品の製剤処方或使用部位も考慮して行なったが、表示名称によっては区分のしがたいものもあるので、今回は各製品に表示してある名称からおおまかに分類して Table. 1, Table. 3 に示す化粧品区分に全製品を当てはめた。

無菌試験の結果（Table. 1, Table. 3）から、試験した 657 試料のうち 15% 弱に相当する 97 試料に菌の増殖が観察され、なんらかの微生物によって汚染を受けていることが認められた。とくにアイライナー類（Table. 1 参照）と液体シャンプー（Table. 3 参照）は、前者が細菌汚染による問題を引き起した直後に収集し、後者は微生物の増殖至適 pH 値との関連性から pH が中性域を示すものをとくに収集したわけであるが、その結果はそれぞれ 50%, 43% の高い汚染度を示した。

以上の2種類の化粧品は上記の理由によって作意的に収集したものであるが、不意状況（収集を第三者へ任意にさせた）で収集したものでもクリーム類はとくに汚染が著しく観察された。すなわち、152 試料中 34% に相当する 51 試料を占め、なかでも o/w 型の栄養クリーム、ハンドクリーム類に灰黒色のかびと球菌・桿菌主体の細菌汚染が広範囲に認められた。しかし、w/o 型のコールドクリーム、栄養クリーム類には汚染がほとんど認められず、例外として w/o 型のマッサージクリーム 1 試料に、最初鉍物様物質と誤認した黒色かび状真菌類（*Dematiaceae* の一種と思われる）による汚染が検出された。

不意条件で収集した化粧品の微生物汚染は、クリーム類について、乳液類が約21%、毛髪用ローション類が約15%で、以下皮膚用ローション（化粧水も含む）、ヘアトニック、ヘアスプレーおよびコールドウェーブ用剤（とくに第二剤）の順で汚染度も10%以下と低くなることが判明した。

また、汚染された各種化粧品の生菌数も測定してみた

が Table.2 と Table.4 の比較から、昭和50年度を境目にして汚染菌数が 10^3 以上を示すものが13検体 (Table.2 参照) から7検体 (Table.4 参照) に減少していた。さらに汚染検体も全般的に減るとともに汚染検体中の生菌数もほとんどが 10^2 以下となり、昭和50年4月以降の収集品では液体シャンプー、コールドウェーブ用剤、毛髪用ローションおよびクリームで汚染されていた11検体を除いて全てが試験法(Ⅲ)の基準をほぼ満していることが判明した。

また、上記化粧品中の汚染菌の種類を検討してみたが、汚染検体の70%近くから検出された汚染菌はほとんどがグラム陽性または陰性の球菌、桿菌類を主体とした

雑菌であり、*Bacillus* 属や *Micrococcus* 属の細菌類が容易に観察された。いっぽう真菌類は汚染検体の50%に生菌数が10以下で検出され、かび状真菌類 (*Penicillium*, *Aspergillus* および *Cladosporium* 属など) がほとんどで酵母状真菌類は今回の検討で1検体(乳液中に検出され、Yeast の一種と思われる)しか認められなかった。またクリーム類では上記細菌類と真菌類によって混合汚染を汚染試料の30%に生じており、他の化粧品製剤に比較して混合汚染度が高くなることが判明した。

しかし、今回の収集試料から黄色ブドウ球菌、緑膿菌および大腸菌群などの状態細菌はまったく検出されず、培地試験および酵素試験にすべて陰性を示した。

Table.1 Microbiological quality of unused cosmetics. (1972~1974)

Type of Cosmetics	No. Sampled	No. Positive for Growth of Bacteria and Fungi	No. Positive for Microorganisms		
			Bacteria	Fungi	Bacteria and Fungi
Lotion (Hand or Facial)	76	4	3	1	0
Hair Tonic	75	2	2	0	0
Cream (Hand or Facial)	108	34	11	20	3
Liquid Cream (Milk Lotion)	31	7	6	0	1
Liquid Shampoo	16	1	1	0	0
Hair Lacquer (Hair Spray)	31	2	2	0	0
Eye Liner	22	11	2	2	7
Powder (Facial)	6	2	0	1	1
Total	365	63	27	24	12

※ All cosmetic products were sampled to obtain approximately 5 ~ 10 g (or 5 ~ 10 ml).

※※ The Sterility Test (J.R.8)

Table.2 Microbiological levels of contamination encountered in cosmetics.

Type of Cosmetics	No. Sampled	Range of Counts Numbers / g, ml							
		Bacteria (SCDA ※)				Fungi (GPA ※)			
		~ 10^2	$10^2 \sim 10^3$	$10^3 \sim 10^4$	$10^4 \sim$	~ 10^2	$10^2 \sim 10^3$	$10^3 \sim 10^4$	$10^4 \sim$
Lotion (Hand or Facial)	4	2	1	0	0	1	0	0	0
Hair Tonic	2	2	0	0	0	0	0	0	0
Cream (Hand or Facial)	34	10	1	0	3	21	1	0	0
Liquid Cream (Milk Lotion)	7	2	1	0	3	1	0	0	0
Eye Liner	11	3	1	2	3	8	0	0	1
Liquid Shampoo	1	1	0	0	0	0	0	0	0
Hair Spray	2	2	0	0	0	0	0	0	0
Powder (Facial)	2	1	0	0	0	1	1	0	0
Total	63	23	4	2	9	32	2	0	1

※ The mediums (SCDA, GPA) contain 0.1 % of lecithin and 0.7 % of polysorbate 80. And besides, GPA-medium includes chloramphenicol (30 μ g / ml).

Table. 3 Microbiological quality of unused cosmetics. (1975~1977)

※ Type of Cosmetics	No. Sampled	No. Positive for Growth of Bacteria and Fungi	No. Positive for Microorganisms		
			Bacteria	Fungi	Bacteria and Fungi
Lotion (Hair)	46	7	6	0	1
Hair Tonic	22	3	1	0	2
Cream (Hand or Facial)	44	17	9	4	4
Liquid Cream (Milk Lotion)	11	2	1	0	1
Liquid Shampoo	7	3	3	0	0
Cold Wave Solution	162	2	0	0	2
Total	292	34	20	4	10

※ All cosmetic products were sampled to obtain approximately 5 ~ 10 g (or 5 ~ 10 ml).

※※ THE STERILITY TEST (JP. 9)

Table. 4 Microbiological levels of contamination encountered in cosmetics.

Type of Cosmetics	No. Sampled	Range of Counts Numbers / g, ml							
		Bacteria (SCDA※)				Fungi (GPA※)			
		~ 10	10 ~ 10 ²	10 ² ~ 10 ³	10 ³ ~	~ 10	10 ~ 10 ²	10 ² ~ 10 ³	10 ³ ~
Lotion (Hair)	7	1	4	0	2	1	0	0	0
Hair Tonic	3	0	3	0	0	2	0	0	0
Cream {	Emollient Cream	5	0	5	0	1	1	0	0
	Cold Cream	0	0	0	0	0	0	0	0
	Cleansing Cream	2	0	1	0	1	0	0	0
	Hand Cream	5	0	4	0	1	1	0	0
	other Creams	5	0	1	2	1	1	1	0
Liquid Cream (Milk Lotion)	2	0	1	1	0	1	0	0	0
Liquid Shampoo	3	0	0	0	3	0	0	0	0
Cold Wave Solution	2	0	0	0	2	0	0	0	2
Total	34	1	19	3	7	8	3	1	2

※ See to Table 2.

3. 2 汚染クリーム、乳液およびローション類中の微生物の消長について

上記化粧品類で細菌汚染が認められたクリーム、乳液、皮フ用ローション類(化粧品も含む)について、それぞれ4試料を収集した時点から1年間保存、放置して汚染生菌数の変動をしらべた。さらに収集時生菌数が0を示したクリーム、乳液およびローション類についても枯草菌と黄色ブドウ球菌を用いて同様な検討を行なってみた。すなわち、あらかじめ保存してある菌株(*Bacillus subtilis* IAH 1213 および *Staphylococcus aureus* 209 P)をSCD寒天培地で30°C、2日間斜面培養し、増菌したこれら細菌類のコロニーの盛り上った部分を1白金耳量かすめ取るように採取(その際、培地表面に触れ

ないようにする)する。採取した菌を混入させる際、実際の汚染菌数を考慮してクリーム類には1白金耳量を直接に加え、ガラス棒で無菌的に静かに混ぜ合せて出来るだけ均一な混合状態になるようにした。乳液およびローションには前以って同じ供試検体5ml中に懸濁させて、0.1mlそのを供試検体中に加えてよく攪拌し、以下汚染試料と同じ条件で放置した。さらに、真菌類についても *Aspergillus niger* NHL 5088 を用いてGP寒天培地で25°C、4~5日間増菌培養して、以下細菌類と同様に処理して試料検体中に混入させたのち、同じ条件で放置してみた。結果はTable. 5に示す。

各汚染化粧品の放置期間別による生菌数をみると、6ヵ月間の放置によって乳液は4試料とも生菌数が増加し

Table.5 Microbiological behaviour of contamination encountered in creams, liquid creams and lotions.

Time (months)		Range of Counts Numbers/g, ml			Type of Cosmetic
Sample		0	6	12	(Content volume)
Cream	A	~ 10	~ 10	0	Cold cream (65 g)
	B	30 ~ 50	30 ~ 50	10 ~ 20	Hand cream (80 g)
	C	50 ~ 100	80 ~ 150	~ 30	Emollient cream (45 g) [W/O form]
	D	100 ~ 500	200 ~ 500	300 ~ 600	[O/W form] (65 g)
Liquid Cream	E	~ 10	30 ~ 100	~ 50	Milk lotion (150 ml)
	F	10 ~ 20	100 ~ 200	~ 30	" (70 ml)
	G	50 ~ 100	100 ~ 200	100 ~ 300	Skin milk (130 ml)
	H	500 ~ 1000	700 ~ 1500	700 ~ 1500	" (150 ml)
Lotion	I	10 ~ 20	~ 10	0	Skin lotion (70 ml)
	J	~ 10	0	0	" (135 ml)
	K	50 ~ 100	10 ~ 50	0	Hand lotion (150 ml)
	L	10 ~ 20	0	0	" (120 ml)
Cream	*** M	50 ~ 100	50 ~ 150	50 ~ 100	Emollient cream (O/W, 45 g)
	M'	100 ~ 200	100 ~ 200	100 ~ 200	" (O/W, 45 g)
	M''	100 ~ 200	50 ~ 150	100 ~ 200	" (W/O, 65 g)
Liquid Cream	*** N	10 ~ 20	10 ~ 30	~ 30	Milk lotion (150 ml)
	N'	100 ~ 200	100 ~ 300	100 ~ 400	" (130 ml)
	N''	200 ~ 300	100 ~ 200	100 ~ 300	" (150 ml)
Lotion	*** O	50 ~ 100	0	0	Skin lotion (120 ml)
	O'	10 ~ 20	~ 10	0	" (150 ml)
	O''	200 ~ 300	0	0	" (70 ml)

※

Which is allowed to stand for 0 ~ 12 months under the condition of room temperature

Used the mediums (SCDLPA, SCDLP, GPLPA, GPLP)

Bacteria or fungi were contaminated in the samples as follows;

{ Sample M, N, O : *Bac. subtilis* IAM 1213
 " M', N', O' : *St. aureus* 209P
 " M'', N'', O'' : *Asp. niger* NH L 5088

たのにたいして、クリーム類はほぼ同じ数値を示して変動がなく、ローション類は減少あるいは0を示した。さらに1年間の放置で、乳液類は6カ月目の生菌数とほぼ同じ数値がそれ以下に減ることがわかった。この傾向はクリーム類にも認められ、o/w型の試料Dを除いて他の3試料(いずれもw/o型である)とも収集時の生菌数以下になり、ローション類は4試料とも生菌数が0になった。

また、未汚染試料(クリームM, M', M'', 乳液N, N', N'' およびローションO, O', O'')に混入させた枯草菌、黄色ブドウ球菌および黒カビについても汚染試料の場合とはほぼ同様な結果が得られ、これら3菌ともクリーム、乳液中では1年間放置しても生存するが、ローシ

ン(化粧水も含む)中では6カ月頃から1年以内にいずれも死滅することが判明した。

3.3 毛髪用ローション類の微生物汚染について

今回、収集した試料で微生物汚染の可能性がほとんどないと思われていたローション類に10%前後の汚染品が検出された。汚染の大部分がグラム陽性の *Bacillus* 属と思われる1種類の雑菌で占めており、とくに毛髪用ローションが皮フ用ローションに比較してより多く汚染されていた。

そこで汚染製品の微生物汚染原因についていろいろと検討してみた。その結果、いずれも配合されている精製水の使用に不備があることが判明したが、さらに汚染製品中の1配合成分であるアルコール濃度が疑問となっ

た。すなわち、汚染されていた製品はユーザーの業務使用上の便宜からアルコールがいづれも5~15%位の割合で配合されていることが業者からの聴取によって判明した。

そこで滅菌精製水を用いてエチルアルコール濃度が0~50%となるように各濃度のアルコール水溶液を簡単に調製して、Table. 6に示す6種の微生物と接触させて各アルコール濃度におけるアルコール水溶液の殺菌効力を検討した。すなわち、各種微生物ともSCDあるいはGP液体培地(10ml)で増菌(O.D. = 0.6~1.0, 640m μ)したのち、遠沈して菌体のみを取り出し、生理食塩水10ml中に再懸濁させた。各菌懸濁液0.1mlを0~50%エチルアルコール水溶液10ml中に加えて攪拌したのち、25°C, 24時間接触、放置した。接触後同アルコール水溶液を10本のSCDおよびGP液体培地(10ml)中に分注して30°C, 5日間放置、培養して菌の増殖の有無を確認することによって各種微生物の生死を判定した。さらに試料中から汚染が認められたセットローション1製品(汚染菌数; 5×10^4)についても、その汚染菌を用いて同様に操作して上記各濃度のアルコール水溶液に混ぜ合わせ、比較検討した。

その結果、Table. 6に示すようにアルコール濃度が15

%以下になると実験に供した各種微生物が6種とも生存する可能性があり、さらに5日間これら微生物を接触、放置した場合でもアルコール濃度が7.5%以下では緑膿菌を除いて完全に増菌することが認められた。また、セットローション検体から得た汚染菌を用いて試験したものについても同様な結果が得られた。

さらに、上記各アルコール濃度の試料溶液中にコラーゲン加水分解物(プロモイス W-32R, 塩酸塩)を0.5%加えた場合には、各菌との接触、放置条件を25°C, 30日間行なってもアルコール濃度が7.5%以下では使用した微生物が6種とも生存して、コラーゲン加水分解物無添加のものより長期間生存していることが判明した。

3. 4 液体シャンプーの微生物汚染について

製造業者からの依頼で微生物試験した液体シャンプーのうち、中性シャンプーのみに細菌による汚染が認められた(Table. 1 参照)。そこで昭和51年度に中性シャンプーも含めて、液体シャンプーを7品目収集して微生物汚染度を検討した。その結果はTable. 4に示したが、Table. 7に未汚染品も含めて汚染3製品の生菌数を記しておいた。やはり、中性シャンプー4試料中3試料にグラム陽性の球菌、桿菌類(*Bacillus* または *Micrococcus* 属による)による汚染が生菌数 $10^3 \sim 10^6$ の範囲で観察

Table. 6 Bactericidal effect of ethyl alcohol against microorganisms in alcoholic solutions.

Microorganisms	接触時間 (H)	Growth of microorganisms Concentration (%) of Ethyl alcohol						
		0	5	7.5	10	15	20	30 ~ 50
<i>Bac. subtilis</i> IAH 1213	1	+	+	+	+	±	-	-
	5	+	+	±	-	-	-	-
<i>Ps. aeruginosa</i> IID 1002	1	+	+	±	-	-	-	-
	5	+	+	±	-	-	-	-
<i>St. aureus</i> 209 P	1	+	+	+	+	±	-	-
	5	+	+	+	+	±	-	-
<i>E. coli</i> IFO U5	1	+	+	+	+	±	-	-
	5	+	+	+	±	-	-	-
<i>A. aerogenes</i>	1	+	+	+	±	-	-	-
	5	+	+	+	±	-	-	-
<i>Asp. niger</i> MHL 5088	1	+	+	+	+	±	±	-
	5	+	+	+	+	±	-	-
a species of <i>Bacillus</i> ***	1	+	+	±	±	-	-	-
	5	+	+	±	-	-	-	-

* Bacteria; about 10^5 cells/tube, Fungi; about 10^3 cells/tube,
+; survived ±; survived or died -; died

*** was contaminated in Set lotion (which contains 5% of ethyl alcohol)

された。これらの汚染原因は業者からの聴取によって試料5が滅菌精製水を使用していたのにたいして他の汚染3試料（試料4, 6, および7）は滅菌の有無を確認しないまま、精製水をそのまま安易に使用していたことが判明した。さらに試料5は防腐剤としてパラベン類を0.1%以上配合していたが、汚染3試料は同パラベン類を0.05%前後しか実際に配合していないことが明らかとなった。そこでTable.6に示す各種微生物を用いて、3, 2で記入した方法によって各菌を液体シャンプー7試料中に混入させて1カ月間室温で放置して、添加防腐剤の効果とその影響による各種微生物の消長をみてみた。

その結果、Table.8に示すようにpH値がアルカリ性である試料1～3は液性にもよると考えられるが、6微生物とも完全に死滅していた。しかし、中性シャンプーは試料5を除く他の3試料中に検討に用いた微生物の一部が生存していることが認められた。とくに、防腐剤としてパラベン類が0.05%以下で配合されていることが明らかである試料4では、供試微生物がすべて汚染菌と共に生存しており、防腐剤の添加量に問題があることが

推察された。

試料4（表示内容量；220 ml）の汚染菌については中性シャンプーでの汚染生菌数が異常に高いことから、さらに試料の製造後の放置期間と残存内容量による検討を行なって汚染微生物の消長をしらべてみた。製造番号の異なる同一3製品（試料A, B, C）についての試験結果をFig.-1およびFig.-2に示した。

それによると、試料4は未使用の状態では製造後放置期間が6カ月以上になると、汚染生菌数が 10^6 前後から 10^3 以下に減少した（Fig.-1参照）。しかし、開封して使用の状態（Fig.-2の条件）で内容量が減少していった場合には、残存内容量が3/5容量近くで、振とうする、しないにかかわらず、減少していた汚染菌数が逆に増加し始めることが認められた。そしてそのまま振とう条件を続けることによって、残存内容量が1/5近くに達すると使用開始時（本検討開始時）の汚染菌数レベルまで増加することが観察された。また、残存内容量が3/5以下で静置の状態でも点線で示されるように汚染菌数は下らず、若干でも増加していく傾向が認められ、汚染菌が好気性であることが推察された。

Table.7 Microbiological levels of contamination encountered in liquid shampoos.

Sample	Range of Counts Number/ ml		Species
	SCDA *	GPA *	
1	0	0	<i>Micrococcus</i>
2	0	0	
3	0	0	
4	$10^4 \sim 10^6$	0	<i>Micrococcus</i>
5	0	0	
6	$10^3 \sim 10^4$	0	<i>Micrococcus</i>
7	$10^3 \sim 10^4$	0	

* See to Table 2.

Table.8 Growth* of microorganisms contaminated in liquid shampoos.

Sample (50 ml)	<i>St. aureus</i>		<i>Ps. aeruginosa</i>		<i>E. coli</i>		<i>Asp. niger</i>		<i>Bac. subtilis</i>	
10^3 10^5	10^3	10^5	10^3	10^5	10^3	10^5	10^3	10^5	10^3	10^5
1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
4 ***	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
6 ***	-	+	+	+	-	+	-	+	-	+
7 ***	-	+	-	+	-	-	-	-	-	+

* + ; survived , - ; died

*** Every sample were examined in presence of contaminated bacteria without Sterilization .

Fig. -1 Survival curve of contaminant (=bacteria)

Fig. -2 Survival curve of contaminant by diminishing the sample's content volume.

4 考 察

大阪府下で製造あるいは市販されている各種化粧品類の微生物による汚染について、全化粧品類の汚染分布状態をみる予備調査の一環として昭和47年から52年にかけて7品目以上にわたる不特定各種化粧品類を収集し、各種化粧品類の微生物汚染の実態を調査した。

今回は、昭和47~49年と昭和50~52年の2回にわたって検討したわけであるが、全化粧品類にわたって系統

だった調査をしておらず、検査した試料も全体のほんの一部であるが、それでも657製品のうち、15%弱の各種化粧品類(97製品)に微生物汚染が認められ、予期した通りの結果を得た。だが、不作意的な収集方法が多くなされた試料のみでいて、本試験結果から他のすべての化粧品類の微生物汚染度まで推量することは不可能である。しかし流通市場で一応、名の通ったメーカー製品が70%以上を占める収集品の試験結果(汚染製品の80%は、中小メーカー製品であった)でもあることから、大阪府下の製造、市販化粧品類の微生物の汚染実態を知る1つの指標にはなるものと思われる。また、上記2回の調査によって同種同一品目の製品を必ずしも収集していないので断言は出来ないが、昭和47~49年の調査(Table. 1, Table. 2)に比較して昭和50~52年の調査(Table. 3, Table. 4)では汚染検体数と汚染生菌数がともかなり減少している。本結果は、市場に出る最近の製品に関する限り、品質が微生物学的にも満足される状態になりつつあることを示唆しており、医薬品におけるGMPが化粧品にも影響をもたらしていると考えて、薬事衛生面からみても一応、成果とみなしてもよからう。

でも、今回の試験結果から1, 2の製品に関して判断する限り、製造所における各種化粧品の微生物汚染防止対策がさほど改善されているようには見受けられない点が2, 3認められた。

例えば、液体シャンプーで3試料中に微生物汚染が検出された中性のシャンプーと、コールドウェーブ用剤で2試料中に同じく汚染が認められた第2剤は、いずれも液性のpH値が微生物の至適pHである中性付近を示した。これらの汚染について製造業者に聴取したところ、コラーゲン加水分解物の使用による汚染が1検体に認められた。しかし、共通する汚染因として作業所内での精製水の取り扱いが非衛生的であり、結果的には精製水が汚染された状態で使用されていた。さらに汚染されていた中性のシャンプーは、製品自体の防腐剤の添加量に問題があることがわかった。実際に汚染3製品ともパラオキシ安息香酸エステル類を最小必要量(50mg/100ml)以上の半分以下(恐らく、計量時の計算間違いも考えられる)で配合されていた。防腐剤による影響(副作用など)を考えた場合、防腐剤の添加は避けるか、使用しても出来るだけ微量に止めるに越したことはない。しかし、菌の耐性生成などを考えると無意味な微量の防腐剤添加は避けるべきである。微生物による第一次、二次汚染がある以上、使用頻度が多くて、品質に問題が生じや

すい製品については防腐剤の適正使用は当然必要となる。したがって製造時、汚染微生物の殺菌、静菌（場合によっては第二次汚染の防止も考えておけばよい）に最低必要な防腐剤含量（パラベン類なら、場合によっては配合量が0.2%前後に達することであろう）を（実際に自社製品について微生物を用いて実験、検討し）確認して適当な防腐剤を適正に配合するべきである。

これに関連したことは毛髪用ローションにも云える。毛髪用ローション類で7製品に微生物汚染が認められたが、汚染製品は速乾性のセットローションが大半を占め、いずれも配合されているエチルアルコール濃度が5～15%であることが判明した。普通、セットローション中のエチルアルコールは20%前後から高い濃度で配合されており、これが防腐、殺菌作用の役も果していると思われる。Table. 6 による結果は、防腐剤をほとんど添加していないセットローション中の低濃度によるエチルアルコールの使用が、微生物汚染の一因になることを示している。とくに業務用の毛髪用セットローションのなかには、ユーザーの用途上の都合と、配合成分の関係から高濃度に配合されたエチルアルコール濃度を逆に15%前後から5%まで低くする傾向がある。よって、低濃度でのエチルアルコールの使用によって、なんらかの原因によって微生物汚染を受けた天然高分子物質（コラーゲン加水分解物などのポリペプチド類で、本蛋白質は微生物の栄養源にもなりやすい）や、精製水中に汚染している細菌類の生存を可能ならしめたものと思われる。したがって本汚染を防ぐ対策として、製造所および従業員の管理はもちろん、原材料から最終製品に至る微生物管理に始まって、防腐剤の添加も含めた製剤設計上からの微生物汚染対策を充分に考える必要がある。

製造所の衛生管理に関しては、作業所の微生物学的衛生基準として作業所の衛生学的清浄度判定基準がTable. 9 の通りに一応決められている³⁾。著者らも医薬品のGMPに関連して、昭和50年から51年にかけて大阪府下の医薬品製造作業所を巡回してGMPチェックを行なった。⁴⁾そこで製造業者からの依頼も含めて任意に作業所5カ所を選び、各作業所（室）における微生物学的清浄度を落大法でしらべてみた。その結果を参考としてTable. 10 に示す。Table. 10 に示す3種の培地による落下生菌数を求めた結果、5つの作業所のうち、作業所Cがいずれも落下生菌数が他よりも高く、汚染品目も多くなっていることがわかった。しかし、一応作業所（室）A～Eとも得られた生菌数の平均値をとると、

Table. 9 の成績評定区分Cの左端の数値以下を示しており、微生物学的にみて衛生的許容限度内にあることが認められた。化粧品製造所についても、作業所内の衛生管理を上記Table. 9 に示す条件内に出来るだけ満たすことが適切であろう。

Table. 9 作業所の微生物学的衛生基準について（作業所の衛生学的清浄度判定基準）

細菌数	成績評定区分	備考
～30	A	快適または清浄階級
31～74	B	
75～150	C	許容階級
151～229	D	
300～	E	不適階級

落下法により、普通寒天培地で5分間露出、37℃、48時間培養（衛生検査指針）

Table. 10 作業所（医薬品製造）における微生物学的清浄度について

作業所 (面積: m ²)	業 員 数	生 菌 数 (個)			備 考 (汚染品目/ 収集品目)
		標準寒 天培地	SCDA 培 地	フレイ ハート イン フュー ジョン 培地	
A (150)	4(1)*	1～10	1～15	1～20	生薬製剤メ ーカー (1/11)
B (80)	2	2～5	1～8	2～5	(0/5)
C (100)	7(5)	3～50	3～100	2～130	酵素、生薬製 剤メーカー (5/13)
D (60)	3(2)	0～10	1～8	1～10	(0/7)
E (40)	2	0～5	0～5	0～7	(0/3)

* ()は女性

**30℃、5日間培養（落下法による計測）

その他、検討した化粧品類のうち、アイライナー、パウダー類の微生物汚染については著者らによって詳細な報告¹⁾があるので省略するが、昭和50年以降の依頼による試験結果からは汚染もかなり改善され、ほぼ無菌に近い成績値が得られるようになっている。現在では、これら2製品は微生物学的にとくに問題がないように思われる。

以上、著者らの目的で各化粧品類の微生物汚染度を調査してきたが、さらに汚染度と関連して、各化粧品中に汚染した微生物の消長についても検討してみた。検討に用いた各化粧品は、各製品の製造時期が必ずしも一致していないが、収集時点より3カ月前後のずれがある程度であることが判明したので、一応、収集時点を製造時

点とみなして検討してみた。Table. 5, Fig.-1, Fig.-2の結果をみてわかるように、製品の微生物による汚染は最初の製造時点における汚染度が影響するように思われる。すなわち、ユーザーによる第二次汚染は別として、一次汚染を受ける製造時に汚染を出来るだけ低く抑えることで製品の汚染度が（ある一定期間放置しても）低い状態のままで維持出来ることを示している。しかし、o/w 型の各種化粧品類は栄養成分が配合されているので、Table. 5 からわかるように汚染菌が製剤中で増加する傾向が認められる。したがって o/w 型の各種製品は、前記した防腐剤の適正な使用も重要であるが、原材料のチェックと製造工程をより衛生的に管理し、場合によっては、品質の変化をもたらさない可能な範囲での滅菌工程をも導入して、汚染菌数のより低い製品を市場へ送り出す努力がはらわれなければならないだろう。また、化粧水、ローション類は品質変化さえなければ、製造後ある一定期間市場へ出すのを遅らすことによって、汚染菌数を低くすることも考えられる。

しかし、製品中の微生物による汚染度の検討をするためには、製品中の汚染菌およびその生菌数を出来るだけ正確に把握しなければならない。著者らは汚染菌の検出および生菌数の測定に原則として試験法 (I), (II), (III) に準じて行なったが、汚染菌のなかにも優勢菌と優勢菌が観察される以上、製品中のごくわずかの汚染菌をすべて検出、確認するために、上記試験法 (I)~(III) の方法通りにこだわらず、考えられる範囲のあらゆる条件（もちろん、品質の微生物学的試験法として妥当性がなければならない）を用いて試験結果を出した。そして、製品中から菌を出来るだけ検出するようにし、その生菌数も高い数値が得られるように努力した。このように上記の微生物試験法 (I)~(III) は、試験担当者の主観および手法によって結果に差が生じてくるために、医薬品、化粧品の各種品質試験法の中で、信頼性のより低い（再現性の少ない）試験法とみなされ、ここに統計学的な処理方法が必要とされるのかも知れない⁵⁾。したがって試験結果の信頼性をより高くするために、試験法 (I)~(III) はまだまだ改善の余地があるとみなければならないだろう。著者らは以上の点も考慮して、3 回以上の試験（細部の条件を少しづつ変えた）を行なって、それぞれ得られた成績（検査結果）でもっとも汚染度が高くなる結果を資料としてここに作成した。しかし、市販化粧品類の大半が 10^3 以下の汚染菌数を示し、特定細菌類も見当らず、今回の収集製品（収集検体量が少なかったことが

気にかかるが）についてはとくに問題も見当らなかった。

しかし、化粧品は品質、価格だけでなくイメージによって勝負する要素がとくに大である。したがって異物の混入、とくに微生物の汚染（細菌類による異臭の発生、かび状真菌類による黒~褐~青色の斑点生成）によって、製品自体の価値（品質だけでなく、商品としての美的感覚も含まれる）を簡単に著しく損傷し、市場へ出た場合、使用者に多大の影響を与える可能性が数多くある。近年、化粧品の使用にともなって皮膚障害等が多発し、その起因をめぐって消費者側からのクレーム（苦情）が多く生じる傾向にある。こういった化粧品の使用による皮膚障害等の起因を解明するために、化粧品に配合されている諸物質（防腐剤、乳化剤など）の生物学的な検討が最近もさかんになされているようであるが、人体の皮膚障害等には、化粧品中に混入した異物が関与する可能性も考えられないことはない。もし、汚染微生物が上記の障害発生に関係していることが示唆されたときこそ、異物としての微生物の混入対策を真剣に考えなければいけないだろう。今回の結果は、そういった意味で化粧品の品質向上を図るための 1 つの参考資料として、少しでも役に立てれば幸いである。

5 総括

昭和 47 年から 52 年にわたって、大阪府下で収集した 7 品目以上にわたる各種化粧品の微生物汚染の実態を調査した。

収集した 657 製品中、15% 弱に相当する 97 製品になんらかの微生物による汚染が認められた。汚染は、不作意条件で収集した化粧品類で、クリーム類（とくに o/w 型のもの）が 152 製品中、51 製品が汚染されて 34% ともっとも多く、次いで乳液類が約 21%、毛髪用ローションが約 15%、ヘアスプレーおよびヘアトニック類が約 7%、皮膚用ローション（化粧水も含む）が約 5%、コールドウェーブ用剤が約 1% の順となった。また、微生物学的検討の意図をもって作意的に収集した化粧品類では、アイライナー類が 50%、液体シャンプーが 43% と高い汚染度を示した。

上記汚染試料で汚染生菌数が 10^8 以上を越すものが 13 試料あったが、それ以外の大半の試料は汚染生菌数が 10^2 以下となって試験法 (I)~(III) の基準を満たしていることが判明した。また、今回の汚染試料中には、黄色ブドウ球菌などの特定細菌類は検出されず、グラム陽性、陰性の球菌、桿菌類と思われる雑菌が主体となって

いる細菌類が圧倒的に検出された。次いでかび状真菌類も若干認められたが、酵母状真菌類はほとんど確認されなかった。

以上の汚染菌が認められた製品の汚染要因としては、

- 1) 原材料の品質チェックの不備……………31件
- 2) 製造工程管理上のミス……………5件
- 3) 防腐剤の使用上のミス……………7件
- 4) 製造所、従業員の衛生管理の不備……………11件
- 5) その他（不明も含む）……………43件

が挙げられるが、上記汚染要因の（5）の大部分は微生物試験のやり方に関する問題が多いように見受けられた。すなわち、微生物試験法（Ⅰ）～（Ⅲ）による自社製品の汚染度の実態把握が不完全であり、各社が同等レベルでの微生物試験法を実施しておらず、試験データに関する信頼度も業者間で有意差があるように思えた。いづれ、化粧品類についても医薬品のGMPに類似したんらかの規制に近い将来に受ける方向に向うものと思われる。したがって、微生物試験業務担当者は各種試験法を完全に駆使して信頼度の高いデータを得られるようにす

ることが、化粧品製造の微生物学的管理を厳密に行なうためにも必要であろう。

ここ当面、化粧品のGMPに向って「化粧品類をどこまで品質管理すべきであるか、異物の混入で、とくに微生物の汚染を微生物的にどこまで防止する必要があるか？」が化粧品製造業界と薬事行政面の双方において取り組む重要な課題になろう。

文 献

- 1) 横山浩，大阪府立公衛研所報薬事指導編，8，5（1974）
- 2) 横山浩，大阪府立公衛研所報薬事指導編 11，27（1977）
- 3) 日本薬学会編，“衛生試験法注解” p.1077（1973），金原出版
- 4) 水田泰子ら，大阪府立公衛研所報薬事指導編，10，5（1976）
- 5) 米虫節夫，薬局，28，No.8，81（1977）

（昭和52年8月31日受理）