

口服液劑之微生物品質調查研究

廖婉婷 侯郁琦 翁淑菁 章偉浩 陳瓏元 楊依珍 曾素香 王德原 陳惠芳

食品藥物管理署研究檢驗組

摘要

口服液劑便於服用且接受度高，常用於嬰幼兒、老年人及癌症患者等提高其服藥順從性，然因其為水溶液，且如糖漿劑經矯味後富含糖類，若製造流程、運送或儲存條件不慎，將導致微生物生長，故其微生物控管相對重要，為避免患者服用導致病原菌或過量微生物污染的藥品危害健康，有必要監控口服液劑之微生物品質。目前國內除胃腸用口服膠漿及懸液外，尚未對其他口服液劑藥品訂定微生物品質規範，因此有必要了解並建立該類非無菌製劑品質之背景資料。有鑑於此，本計畫先針對國內核准製造及輸入口服液劑類藥品，委由地方政府衛生局採分區分階段方式至轄區診所、藥局及製造廠(含代理商)等地點進行隨機及源頭抽樣，依中華藥典第八版之微生物計數法及特定微生物檢驗法進行「好氧性微生物總數」、「酵母菌與黴菌總數」、「大腸桿菌」、「綠膿桿菌」及「金黃色葡萄球菌」之檢驗，以建立口服液劑之微生物品質背景資料。本次調查建立124件口服液劑之微生物背景資料，將供主管單位及中華藥典制定相關規範之參考，以保障國人健康與用藥安全。

關鍵詞：口服液劑、好氧性微生物總數、酵母菌與黴菌總數、大腸桿菌

前言

口服液劑因便於服用且接受度高，常用於嬰幼兒、老年人及癌症患者等提高其服藥順從性；此外，口服液劑為水溶液，且如糖漿劑經矯味後富含糖類，若製造流程、運送或儲存條件不慎，將導致微生物生長。歐洲藥典⁽¹⁾及美國藥典⁽²⁾均已針對口服液劑制定相關建議規格：每毫升檢體中之好氧性微生物總數不得超過100個；酵母菌與黴菌總數不得超過10個；且不得驗出大腸桿菌。

國外曾針對非無菌製劑進行微生物品質調查，2011年Gamal等人研究顯示，抽樣300件檢體，其中包含120件糖漿劑及60件口服滴劑，

結果26件糖漿劑及口服液劑之微生物總數超過100 CFU/mL⁽³⁾；2013年Rania等人研究顯示，抽樣70件糖漿檢體，有3件檢體之好氧性微生物總數為200 - 2000 CFU/mL，3件檢體之酵母菌與黴菌總數為20 - 100 CFU/mL⁽⁴⁾；2015年Ratajczak等人研究顯示，104件口服液劑中有1件好氧性微生物總數超過100 CFU/mL⁽⁵⁾。

非無菌製劑若遭微生物污染可能會減少甚至消除藥物治療效果、改變藥物有效成分含量以及將藥物轉換成有毒產物⁽⁵⁾，而過量菌叢污染亦可能造成製劑成分及性質的改變，若病患服用遭受污染之藥品將危害身體健康⁽³⁾，更遑論免疫力低患者服用污染藥品之危害程度，故非無菌製劑之微生物品質重要性不容忽視，因

此本計畫針對口服液劑進行微生物品質調查研究。

本計畫之檢驗項目係參考各國藥典建議規格之項目，此外，亦有相關文獻指出人體若遭綠膿桿菌感染會引起肺炎、尿道感染及腦膜炎等疾病，若感染具有抗藥性之綠膿桿菌菌株，患者易發生敗血症而導致休克死亡⁽⁶⁾；而金黃色葡萄球菌是造成人體感染最常見之革蘭氏陽性球菌，亦是重要且常見之院內感染致病菌。考量綠膿桿菌及金黃色葡萄球菌皆為重要之致病菌，故本研究計畫之檢驗項目包含：好氧性微生物總數、酵母菌與黴菌總數及病原菌檢測(大腸桿菌、綠膿桿菌及金黃色葡萄球菌)。

本計畫由食品藥物管理署(以下簡稱食藥署)函請地方政府衛生局至轄區進行隨機及源頭抽樣，依據中華藥典第八版之微生物計數法及特定微生物檢驗法⁽⁷⁾執行檢驗，以建立口服液劑之微生物背景資料，研究結果將可提供主管機關作為管理該類藥品微生物品質之依據，進而供作產品品質管理及政策研擬之參考，以增進國人用藥之安全。

材料與方法

一、試驗材料

(一)微生物計數法試驗用之培養基

1. 好氧性微生物總數(total aerobic microbial count)試驗用培養基

(1)大豆分解蛋白質乾酪素培養基(tryptic soy broth, TSB; BD-difco, USA)

(2)大豆分解蛋白質乾酪素瓊脂培養基(tryptic soy agar, TSA; BD-difco, USA)

2. 酵母菌與黴菌總數(total combined yeasts/mold's count)試驗用培養基

(1)大豆分解蛋白質乾酪素培養基(tryptic soy broth, TSB; BD-difco, USA)

(2)薩氏葡萄糖瓊脂培養基(sabouraud

dextrose agar, SDA; BD-difco, USA)

(3)氯黴素(chloramphenicol; sigma-aldrich, USA)

3. 大腸桿菌(*Escherichia coli*)試驗用培養基

(1)馬康奇培養基(MacConkey broth; BD-difco, USA)

(2)馬康奇培瓊脂培養基(MacConkey agar; BD-difco, USA)

4. 綠膿桿菌(*Pseudomonas aeruginosa*)試驗用培養基

(1)溴化十六基三甲銨瓊脂培養基(cetrimide agar; BD-difco, USA)

5. 金黃色葡萄球菌(*Staphylococcus aureus*)試驗用培養基

(1)甘露糖醇鹽瓊脂培養基(mannitol salt agar; BD-difco, USA)

(二)標準菌株

1. 綠膿桿菌(*Pseudomonas aeruginosa*, ATCC 9027, microbiologics®, USA)

2. 大腸桿菌(*Escherichia coli*, ATCC 8739, microbiologics®, USA)

3. 金黃色葡萄球菌(*Staphylococcus aureus*, ATCC 6538, microbiologics®, USA)

4. 枯草桿菌(*Bacillus subtilis*, ATCC 6633, microbiologics®, USA)

5. 白色念珠菌(*Candida albicans*, ATCC 10231, microbiologics®, USA)

6. 黑麴菌(*Aspergillus niger*, ATCC 16404, microbiologics®, USA)

(三)儀器設備

1. 生物安全操作櫃(ABS1800, bioquell, UK)

2. 20 - 25°C 培養箱(MIR-554, panasonic, Japan)

3. 30 - 35°C 培養箱(MIR-554, panasonic, Japan)

4. 30 - 35°C 培養箱(MIR-554, panasonic,

Japan)

5. 高壓蒸氣滅菌器(SS-325, tomy, Japan)
6. 烘箱(DO-2, 華夏, 台灣)
7. 恆溫水槽(WB212-B1, TKS, 台灣)
8. 微生物快速自動鑑定儀(VITEK system, biomერიux, USA)

(四) 檢體

本計畫函請地方政府衛生局於106年1月1日至7月31日分三階段進行抽樣，其中第一及第二階段至診所、藥局及藥粧店進行市售產品之隨機抽樣；而第三階段至製造商或代理商進行源頭抽樣。三階段實際總抽樣件數共124件，抽樣分配詳述如下：

1. 第一階段：金門縣、連江縣、澎湖縣、台東縣、花蓮縣、苗栗縣、宜蘭縣、基隆市，各縣市隨機抽樣各2件。
2. 第二階段：台北市、新北市、桃園縣、新竹縣、新竹市、台中市、彰化縣、雲林縣、南投縣、嘉義縣、嘉義市、屏東縣、台南市、高雄市，各縣市隨機抽樣各2件。
3. 第三階段：各地方政府衛生局至轄區內製造商或代理商進行源頭抽樣，以隨機抽樣情形及各廠許可證張數作為源頭抽樣數量分配之依據，每張許可證之產品各抽1件。

二、試驗方法

本調查研究係依據中華藥典第八版之「微生物計數法」進行好氧性微生物總數、酵母菌與黴菌總數之檢驗；以及依據中華藥典第八版之「特定微生物檢驗法」進行大腸桿菌、綠膿桿菌及金黃色葡萄球菌之檢驗。

(一) 培養基配製

微生物計數法試驗用培養基及高壓蒸氣滅菌條件皆依據培養基製造廠載明方式進行。每批配製完成培養基需進行培養基相關試驗(無菌性、效能性及抑菌性試驗)，

以驗證該批配製之培養基適用於微生物計數法試驗。

(二) 好氧性微生物總數及酵母菌與黴菌總數試驗

取15 mL檢體加135 mL TSB (10倍稀釋)混合均勻，取上述稀釋液10 mL加90 mL TSB (100倍稀釋)混合均勻。分別取各階稀釋液1 mL置於直徑9 cm之培養皿，分別加入15 - 20 mL溫度約45°C之TSA及SDA混合均勻後靜置，每種培養基至少執行2重複。待培養基凝固後將培養皿倒置，將TSA放置於30 - 35°C培養箱培養3 - 5日；SDA放置於20 - 25°C培養箱培養5 - 7日，觀察並記錄其菌落數(colony forming unit, CFU)。將2個培養皿之菌落數求得平均值，再乘以稀釋倍數，即為每毫升檢體所含菌數。另同時以稀釋液取代檢體進行上述檢驗步驟作為陰性對照組，亦確認培養基之無菌性。

(三) 特定微生物檢驗法-大腸桿菌

取10倍稀釋檢液10 mL (內含檢品量1 g) 接種至90 mL TSB，另取小於100 CFU之大腸桿菌菌液接種至100 mL TSB作為陽性對照組，放置於30 - 35°C培養箱培養18 - 24小時。取上述TSB培養液1 mL接種於100 mL MacConkey broth中，放置於42 - 44°C培養箱培養24 - 48小時。取上述MacConkey broth培養液劃線接種於MacConkey agar，放置於30 - 35°C培養箱培養18 - 72時。另同時以稀釋液取代檢體進行上述檢驗步驟作為陰性對照組，亦確認培養基之無菌性。待培養結束觀察有無菌落產生，若有可疑菌落需進一步鑑別加以確認。

(四) 特定微生物檢驗法-綠膿桿菌

各取10倍稀釋檢液10 mL (內含檢品量1 g) 接種至90 mL TSB，另取小於100 CFU之綠膿桿菌菌液接種至100 mL TSB作為陽性

對照組，放置於30 - 35°C培養箱培養18 - 24小時。取上述TSB培養液及稀釋液劃線接種於Cetrimide agar，放置於30 - 35°C培養箱培養18 - 72小時。另以稀釋液取代檢體進行上述檢驗步驟作為陰性對照組，亦確認培養基之無菌性。待培養結束觀察有無菌落產生，若有可疑菌落需進一步鑑別加以確認。

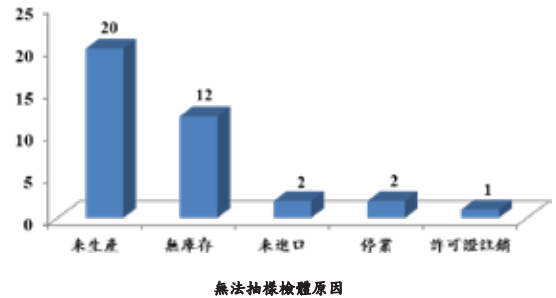
(五)特定微生物檢驗法-金黃色葡萄球菌

各取10倍稀釋檢液10 mL (內含檢品量1 g) 接種至90 mL TSB，另取小於100 CFU之金黃色葡萄球菌菌液接種至100 mL TSB作為陽性對照組，放置於30 - 35°C培養箱培養18 - 24小時。取上述TSB培養液及稀釋液劃線接種於mannitol salt agar，放置於30 - 35°C培養箱培養18 - 72小時。另以稀釋液取代檢體進行上述檢驗步驟作為陰性對照組，亦確認培養基之無菌性。待培養結束觀察有無菌落產生，若有可疑菌落需進一步鑑別加以確認。

結果與討論

一、檢體抽樣分析

本調查研究函請各地方政府衛生局於106年1至7月分三階段進行抽樣，第一階段(隨機抽樣)：預計抽樣16件，實際抽得16件，皆為國產，抽樣率100%；第二階段(隨機抽樣)：預計抽樣28件，實際抽得29件，包含國產26件



圖一、第三階段無法抽樣檢體原因分析

及輸入3件，抽樣率104%；第三階段(源頭抽樣)：預計抽樣116件，實際抽得79件，包含國產70件及輸入9件，抽樣率68.1% (表一)，第三階段無法抽樣原因為(1)產品未生產20件、(2)無庫存12件、(3)未進口2件(4)停業2件及(5)許可證註銷1件(圖一)。

總抽樣件數124件，包含112件國產及12件輸入產品(表二)，12件輸入產品主要來自比利時(3件，25%)及法國(3件，25%)，其他產品分別來自印尼(2件，17%)、奧地利(1件，8.3%)、加拿大(1件，8.3%)、荷蘭(1件，8.3%)及日本(1件，8.3%) (圖二)。

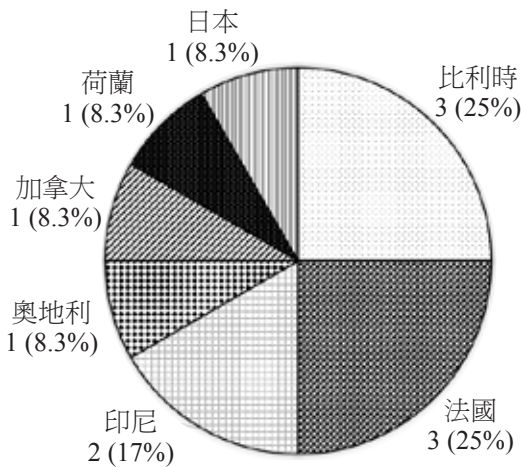
針對抽樣檢體分析(表二)，本次抽得124件檢體，分屬41家製造廠所生產的115種產品，包括31家國內製造廠所生產之103種產品，抽樣件數為112件(90.3%)；以及10家國外製造廠所生產之12種產品，抽樣件數為12件(9.7%)；而許可證張數統計方面(表二)，112件國產涵蓋103張許可證；12件輸入產品涵蓋12張許可證。依抽樣檢體來源分析(表三)，區分

表一、口服液劑各階段抽樣檢體件數

檢體抽樣	第一階段隨機抽樣 (8縣市)	第二階段隨機抽樣 (14縣市)	第三階段源頭抽樣	總計
實際抽樣件數				
國產	16	26	70	112
輸入	0	3	9	12
預計抽樣件數	16	28	116	160
抽樣率(%)	100	104	68.1	77.5

表二；口服液劑抽樣檢體之分析

製造廠來源	製造廠數目(家)	產品種類(許可證張數)	抽樣檢體		國家名稱
			件數	%	
國產	31	103	112	90.3	台灣
輸入	10	12	12	9.7	比利時、法國、印尼、奧地利、加拿大、荷蘭、日本
合計	41	115	124	100.0	



圖二、輸入產品之國別件數及比例圖

為市售抽樣及源頭抽樣兩部分，市售抽樣有45件(36.3%)，其中31件(25.0%)來自藥局、10件(8.1%)來自醫院、2件(1.6%)來自衛生所及2件(1.6%)來自診所；源頭抽樣主要為製造廠或代理商，共抽得79件(63.7%)。

綜上，106年度口服液劑預計抽樣160件，實際抽樣件數為124件(抽樣率為77.5%) (表一)，抽樣未達預計件數之主要原因為許多持

表三、口服液劑抽樣來源分析

抽樣方式	來源	抽樣件數	
		件數	%
市售抽樣	藥局	31	25.0
	醫院	10	8.1
	衛生所	2	1.6
	診所	2	1.6
	合計	45	36.3
源頭抽樣	製造商/代理商	79	63.7
	合計	79	63.7
總計		124	100.0

有許可證產品未實際生產；其次原因為製造廠無庫存、未進口、停業及許可證註銷等因素。

二、檢驗結果

口服液劑抽驗124件檢體之各檢驗項目結果分析如下：

(一)好氧性微生物總數(表四)

124件檢體中，檢驗結果 $\leq 10^1$ CFU/mL有120件(96.8%)； 10^1-10^2 CFU/mL有2件(1.6%)； 10^2-10^3 CFU/mL有0件(0%)； 10^3-

表四、微生物計數法檢驗結果

檢驗項目	檢體總數(件)	菌落數(CFU/mL)											
		$\leq 10^1$		10^1-10^2		10^2-10^3		10^3-10^4		10^4-10^5		$> 10^5$	
		件數	%	件數	%	件數	%	件數	%	件數	%	件數	%
好氧性微生物總數	124	120	96.8	2	1.6	0	0	0	0	2	1.6	0	0
酵母菌與黴菌總數	124	122	98.4	0	0	0	0	0	0	1	0.8	1	0.8

註： 10^1-10^2 表示 $> 10^1, \leq 10^2$

10^2-10^3 表示 $> 10^2, \leq 10^3$ ；依此類推

表五、特定病原菌檢驗結果

病原菌	陰性		陽性		檢體總件數
	件數	%	件數	%	
大腸桿菌	124	100	0	0	124
綠膿桿菌	124	100	0	0	124
金黃色葡萄球菌	124	100	0	0	124

10^4 CFU/mL有0件(0%)； $> 10^4$ CFU/mL有2件(1.6%)。

(二)酵母菌與黴菌總數(表四)

124件檢體中，檢驗結果 $\leq 10^1$ CFU/mL有122件(98.4%)； 10^1 - 10^2 CFU/mL有0件(0%)； 10^2 - 10^3 CFU/mL有0件(0%)； 10^3 - 10^4 CFU/mL有0件(0%)； 10^4 - 10^5 CFU/mL有1件(0.8%)； $> 10^5$ CFU/mL有1件(0.8%)。

(三)特定病原菌(表五)

124件檢體之大腸桿菌、綠膿桿菌及金黃色葡萄球菌皆為陰性。

各國藥典針對口服液劑之建議規格如表六，針對含天然成分之口服製劑另有建議規格(表七)，如世界衛生組織與歐洲藥典之建議規格為：『好氧性微生物總數小於或等於 10^4 CFU/mL；酵母菌與黴菌總數小於或等於 10^2 CFU/mL；膽鹽耐受性革蘭氏陰性菌小於或等於 10^2 CFU/mL；沙門氏桿菌陰性；大腸桿菌陰性；金黃色葡萄球菌陰性。』上述檢驗結果顯示有2件檢體之好氧性微生物總數以及酵母菌與黴菌總數大於 10^4 CFU/mL，該2件檢體為同一製造廠生產不同批號之相同產品，其主要成分

表六、國藥典建議規格-非無菌產品(口服水溶製劑)

檢驗項目	世界衛生組織WHO (CFU/mL)	歐洲藥典 EP 9.0 (CFU/mL)	美國藥典 USP 40 (CFU/mL)	日本藥典 JP 17 (CFU/mL)
好氧性微生物總數	$\leq 10^2$	$\leq 10^2$	$\leq 10^2$	$\leq 10^2$
酵母菌與黴菌總數	$\leq 10^1$	$\leq 10^1$	$\leq 10^1$	$\leq 10^1$
大腸桿菌	陰性	陰性	陰性	陰性

註：微生物建議規格標準判讀如下：

1. 10^1 CFU：最大可接受菌落形成單位數為20個
2. 10^2 CFU：最大可接受菌落形成單位數為200個
3. 10^3 CFU：最大可接受菌落形成單位數為2000個；依此類推

表七、各國藥典建議規格-含天然物質成分之口服水溶製劑

檢驗項目	世界衛生組織WHO ^a (CFU/mL)	歐洲藥典 EP 9.0 ^a (CFU/mL)	日本藥典JP 17	
			分類一 ^b (CFU/mL)	分類二 ^c (CFU/mL)
好氧性微生物總數	$\leq 10^4$	$\leq 10^4$	$\leq 10^7$	$\leq 10^5$
酵母菌與黴菌總數	$\leq 10^2$	$\leq 10^2$	$\leq 10^5$	$\leq 10^4$
膽鹽耐受性革蘭氏陰性菌計數	$\leq 10^2$	$\leq 10^2$	-	$\leq 10^4$
大腸桿菌計數	-	-	$\leq 10^3$	-
沙門氏桿菌	陰性	陰性	陰性	陰性
大腸桿菌	陰性	陰性	-	陰性
金黃色葡萄球菌	陰性	陰性	-	-

^a 針對口服製劑原料為不可經抗菌處理之天然物成分，以及原料已經主管機關同意其好氧性微生物總數可超過 10^3 CFU/mL

^b 分類一包含天然物質成分、天然物質成分經沸水萃取後使用以及使用天然物質成分前添加熱水

^c 分類二包含天然物質成分不經由萃取直接使用，以及直接使用粉末形式之天然物質

之一為甘草液萃取物，雖含有甘草天然成分，惟仍超出世界衛生組織與歐洲藥典針對天然成分口服製劑之建議規格，製造廠已配合進行藥品回收相關作業，食藥署亦協同製造廠進行後續調查。

三、抽樣檢體外觀及標示查核

食藥署於接獲各地方政府衛生局抽樣檢體後，均針對各檢體外觀進行拍照並由「藥品、醫療器材、化粧品許可證查詢系統」核對其許可證資料，結果顯示124件抽樣檢體之標示均未違反藥事法相關規定，顯示國內製造廠已顯著提升藥品標示品質，保障國人使用藥品時擁有正確藥品資訊之權利。

結 論

本計畫針對口服液劑進行微生物品質調查研究，共計124件產品，並建立相關口服液劑之微生物品質背景資料，將供作主管機關及中華藥典制定相關規範之參考，以保障國人健康與用藥安全。

參考文獻

1. European Directorate for the Quality of Medicines & Health Care (EDQM). 2017. European Pharmacopoeia 9.0. p.579-580. European Directorate for the Quality of Medicines & HealthCare (EDQM). Strasbourg, France.
2. United States Pharmacopeial Convention, Inc. 2017. The United States Pharmacopeia 40, The National Formulary 35. p.1415-1416. United States Pharmacopeial Convention, Inc. Rockville, MD, USA.
3. Gamal, F. M. G., Reham, A. I. A. and Mohamed, S. E. A. 2011. Microbial Evaluation of Some Non-sterile Pharmaceutical Preparations Commonly Used in the Egyptian Market. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*. 10(4): 437-445.
4. Rania, S. E. H., Mohammad, M. A., Walid, F. E. and Nadia, A. H. H. 2013. Recovery and Detection of Microbial Contaminants in Some Non-Sterile Pharmaceutical Products. *iMedPub Journals*. 4(6): 1-14.
5. Ratajczak, M., Kubicka, M. M., Kaminska, D., Sawicka, P. and *et al.* 2015. Microbiological quality of non-sterile pharmaceutical products. *Saudi Pharmaceutical Journal*. 23(3): 303-307.
6. 連淑華、郭政佑、林育如、許家銓等。2013。101年度市售腸胃用口服膠漿及懸液之微生物限量調查。食品藥物研究年報，4: 162-170。
7. 衛生福利部中華藥典編修委員會。2016。中華藥典。第八版。296-306頁，行政院衛生福利部食品藥物管理署，台北。

Microbial Quality Investigation of Oral Liquid Medicines in Taiwan

WAN-TING LIAO, YU-CHI HOU, SHU-CHING WENG, WEI-HAO CHANG,
LUNG-YUAN CHEN, YI-CHEN YANG, SU-HSIANG TSENG,
DE-YUAN WANG AND HWEI-FANG CHENG

Division of Research and Analysis, TFDA

ABSTRACT

Due to the ease to intake and high acceptance, oral liquid medicines are widely used among infants/children, elders, and cancer patients to improve medication compliance. However, since oral liquid medicines are aqueous solutions rich in sugar after flavored, if the manufacturing, transporting, or storing condition is inadvertent, microorganisms could easily grow; thus, the microbiological control is especially important for oral liquid medicines. To prevent the contamination of oral liquid medicine from pathogens or excessive microorganisms, the purpose of this investigation is to monitor the microbiological quality of oral liquid medicines. Currently, standards for microbiological quality have not been established for all oral liquid medicines, except for the mucilage and suspensions used for gastrointestinal issues. Hence, it is necessary to identify the background information for all non-sterile products. To address this problem, local health bureau collected samples of oral liquid medicine that have been approved for manufacture and import with phase approach. One hundred and twenty-four samples from the clinics, pharmacies, manufactories as well as agents were collected. The total aerobic microbial count, total combined yeasts/molds count, and the detection of *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* and *Staphylococcus aureus* were conducted according to the *Chinese Pharmacopeia Edition VIII*. The collected results could be used as important references for further policy development to ensure the safety of medicines in public health.

Key words: oral liquids, total aerobic microbial count, total combined yeasts/molds count, *Escherichia coli*