

市販ケミカルインジケーターによる 薬液の高圧蒸気滅菌の効果の確認^{*1}

鈴木一市, 西川三喜男, 森田久代, 川影逸郎, 藤井喜一郎
浜松医科大学医学部附属病院薬剤部^{*2}

Confirmation of Sterilization of Pharmaceutical Solutions with Chemical Indicators^{*1}

KAZUICHI SUZUKI, MIKIO NISHIKAWA, HISAYO MORITA,
ITURO KAWAKAGE and KIICHIRO FUJII
Pharmacy of Hamamatsu University School of Medicine Hospital^{*2}

(Received March 4, 1985)

In order to investigate the importance of chemical indicators (CI) in the confirmation of the reliability of sterilization process for pharmaceutical solutions which have different heat penetrations depending upon the container sizes or autoclaves, containers in 3 different capacities (0.5, 1, 3 liters) filled with purified water were autoclaved at 115° for 10 to 60 minutes. In the containers commercial CI's (products A, B and C) were immersed. Sensuous decision, color difference (ΔE) and LIF, which was found in our previous paper to be useful for the determination of sterilization time in large volume solutions, were evaluated.

Autoclaving time at which CI gives the confirmation evidence by sensuous decision was shortest when measured in chamber and the time required for products A and B was 15 minutes. Autoclaving time in solution was different among the products in the following order: C>A>B. But in all products the larger the capacity of containers becomes, the longer the time becomes. Linear relationship between ΔE of product A and of B and log of LIF was observed, even if the container size or autoclaving time is different.

LIF, therefore, can be estimated from ΔE . It is proved that when product A or B gives the confirmation evidence for sterilization to solution by sensuous decision, its solution was autoclaved at more than 7 or 6 of LIF, respectively.

Though products A and B should be used for sterilization of materials such as surgical instruments by saturated steam, it was found that when the method to immerse CI in a filling solution was chosen, the use of these CI's in addition to the thermometer gives greater validity to verifying sterility of parenteral solution in hospital pharmacy.

Keywords—large volume parenterals; autoclaving; chemical indicator; reliability of sterilization process; color difference-inactivation factor relationship

はじめに

大容量の薬液を高圧蒸気滅菌する場合に、滅菌機の缶体内と薬液の内部とは設定温度への到達時間にずれが

あるため薬液の容量毎に滅菌時間を適宜設定しなければならないことを報告した。¹⁾ このような温度特性は滅菌機により異なるため、薬液や缶体内の熱分布あるいは到達時間などの熱伝導性を個々の装置について調査する必要がある。²⁻⁴⁾ しかし、病院薬局では温度センサーの取付けなどの問題で、すべての滅菌機にこれらを実施することが困難なため、より簡便な方法が望まれる。

蒸気滅菌の効果の確認にケミカルインジケーター (以

^{*1} 本報を「病院薬局における滅菌工程の管理」第2報とする。

^{*2} 浜松市半田町3600; 3600, Handa-cho, Hamamatsu-shi, 431-31 Japan

下 CI と略す) が病院で繁用されている。⁵⁻⁷⁾ この CI に
は医療器材などの物品を蒸気滅菌する時に用い、飽和蒸
気中の物理化学的变化から確認するもの(以下物品用 CI
と称す)と容器中に密封された薬液自体の滅菌効果を確
認するために CI を液体中で変化させ、熱源である高圧
蒸気滅菌機により滅菌する時に用いる薬液用のもの(以
下薬液用 CI と称す)がある。物品用 CI は多数市販さ
れているが薬液用 CI はあまり市販されていない。

そこで、薬液用 CI のみでなく物品用 CI を薬液用と
して用いた時の薬液の容量や、滅菌時間と CI の変色度
合の関係について調査し、薬液の滅菌効果の確認、さら
に滅菌条件の設定にどの程度利用できるか検討したので
報告する。

実 験 の 部

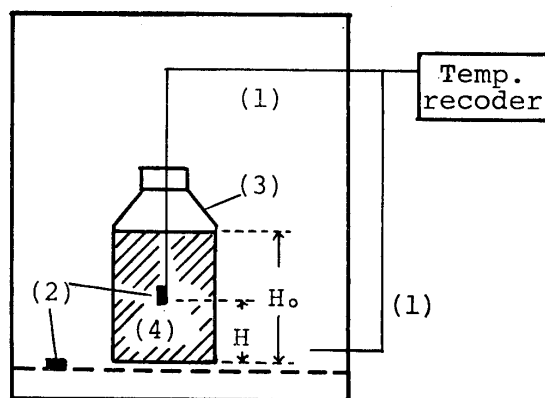
1. 実験材料

容器: 500 ml, 3 l (ギヤマン製), 1 l (大河内硝子
製), 薬液: 精製水, CI: Table 1 に示す3種類の製品
(A, B および C) を使用した。製品 A は物品用 CI で
あり、製品 C は薬液用 CI である。製品 B は薬液用とし
て市販されているが、容器の表面に貼布することにより
内部の薬液の熱伝導を反映させて薬液の滅菌効果を確認
するものであり、容器中の薬液を直接確認しないため、
ここでは物品用 CI の範ちゅうに入れる。

2. 装置および温度の測定

サクラ薬液滅菌装置 FYA-SLJP 200 (サクラ精機) を
用いた。容器内の温度は、Fig. 1 に示すように温度セン
サー (クロメル・アルメル熱電対) をバイアルに挿入し
電子記録計 (千野製作所, EM800, 6 点式) で記録 (チ
ャートスピード: 4 mm/min) して測定した。温度セン
サーの先端は液の高さの中間にした。

また、検討した滅菌機の処理時間は缶体内の温度が設



Autoclave chamber

Fig. 1. Diagram of Apparatus for Measure-
ment of Temperature and Change of
Chemical Indicator in Container by
Autoclave

- (1): Thermocouple
- (2): Chemical indicator
- (3): Glass bottle $H/H_0=0.5$
- (4): Purified water

定温度に達してから起算する機構のタイマーで変化させ
た。この時間をオートクレーブ処理時間とする。

3. CI の使用法

滅菌工程中の CI への温度の負荷を薬液の温度変化と
同時に測定するため CI を温度センサーの先端に固定
し、バイアルに挿入して薬液用 CI とした場合と缶体内
の棚に静置して物品用 CI とした場合について、115°C
で10—60分間オートクレーブ処理した。1回の滅菌操作
における被滅菌物の本数は各容量の薬液について1本と
した。各条件で3回オートクレーブ処理ロットによる
変動を求めた。

4. CI の判定

肉眼判定: 各 CI の判定法に準じて薬剤師3名がそれ

Table 1. Chemical Indicator Used in This Study

Product	Trade name	Manufacturer	Use	Decision of sterilization
A	OK	Proper MFG.Co., Inc.	Medical material	White > Black
B	Nesukosu I.C label S	Sakura kurepasu Co.	Pharmaceutical solution ¹⁾	Red > Green
C	Temp tube	Proper MFG.Co., Inc.	Pharmaceutical solution ²⁾	Complete fuse

1): Stick on a surface of container

2): Immerse in a pharmaceutical solution

ぞれ適・不適を判定した。3名の判定が一致した場合をその試料の適あるいは不適とし、1名でも不一致の場合は判定保留とした。

変色度合の測定：カード状あるいはラベル状の製品AとBは、測色色差計（日本電色工業製ND-100DP）の固体表面用（6mmφの投光パイプおよび試料台）を用いてL, a, bを2回測定し、滅菌前のCIに対する色差(ΔE)を式(1)より求め変色度合とした。

$$\Delta E = \sqrt{(L-L')^2 + (a-a')^2 + (b-b')^2} \dots\dots\dots(1)$$

ここでL, a, bは滅菌前のCIの色を、L', a', b'は滅菌後のCIの色を表わす。

製品Bは変色部分が帯状のためつなぎ合わせて測定した。製品Cはガラス管に封入した薬品の熔融状態を判定するCIのためΔEの判定は行わなかった。

5. LIFの算出

前報¹⁾と同様に滅菌工程中のLog of Inactivation Factor (LIF)を求めた。今回はチャート紙の図解法による昇温、排気、冷却工程のそれぞれLIF_(h), LIF_(ex), LIF_(c)は2.5分間毎の小部分に区分して求めた。

結果および考察

1. オートクレーブ処理時間とCIの変色

i. 肉眼による判定

缶体内、500ml、1および3ℓの容器内の各オートク

レーブ処理時間におけるCIの判定結果をTable 2に示す。どのCIも適になる処理時間は、缶体内が最も短かく容量が大きくなるにつれて長く、容器内への熱の伝導性に影響されている。3ロットとも適になる処理時間は、缶体内では製品A—15分、製品B—15分および製品C—25分、500mlでは順に30分、20分および60分以上、1ℓでは30分、30分および60分以上、3ℓでは50分、40分および60分以上である。製品間ではB<A<Cの順に適の判定に長時間を要している。

薬局方では「滅菌されるもののすべての部分が規定の温度に達してから滅菌時間を起算する」となっていることから、本装置においてはタイマーの作動機構上缶体内すなわち缶体内に直接置いたCIのオートクレーブ処理時間が薬局方の滅菌時間に相当することになる。したがって、缶体内のCIの判定から製品AとBは薬局方の条件より15分ほどゆるくしても適と判定する危険性がある。しかし、この結果は薬液用CIがあまりない現状では、肉眼判定で不適となればその薬液は滅菌不十分であるといえることや、市販されているCIの信頼性が必ずしも確立していないこと⁶⁾から、これら物品用CIを薬液用に利用できることを示している。製品Cは121°C以上の使用に設計されているためか115°Cでは完全に熔融しないことがあり判定しにくい。

ii. ΔEによる変色度合の評価

製品AおよびBは色差計を用いて変色度合の数値化を

Table 2. Sensuous Decision of Chemical Indicator and Autoclaving Time in the Various Containers (Suitable number/The number of autoclaving)

Product	Volume (ml)	autoclaving time (min)							
		10	15	20	25	30	40	50	60
A	3000	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	2/3	[3/3	3/3]
	1000	0/3	0/3	0/3	1/3	[3/3	3/3	3/3	1/1]
	500	0/3	0/3	(1)/3	(2)/3	[3/3	3/3	3/3	-]
	Chamber	2/3	[3/3	2/2	2/2	3/3	2/2	3/3	-]
B	3000	0/3	0/3	0/3	(1)/3	(3)/3	[3/3	3/3	2/2]
	1000	0/3	(1)/3	(3)/3	2(1)/3	[3/3	3/3	3/3	2/2]
	500	0/3	2(1)/3	[3/3	3/3	3/3	3/3	3/3	2/2]
	Chamber	2(1)/3	[3/3	3/3	3/3	3/3	3/3	2/2	1/1]
C	3000	0/1	0/1	0/1	-	0/2	-	0/1	0/2
	1000	0/1	0/1	0/1	0/1	0/4	0/3	1(2)/3	2(1)/3
	500	0/1	0/1	0/1	0/1	(2)/4	(3)/3	2(1)/3	-
	Chamber	0/1	-	0/1	[1/1	3/3	3/3	-	-]

() : The number of autoclaving reserved the decision

[] : The suitability in all of three autoclavings

Table 3. Color Difference (ΔE) of Chemical Indicator and Autoclaving Time in the Various Containers

Product Volume (ml)	autoclaving time (min)							
	10	15	20	25	30	40	50	60
A	3000	9.7 \pm 4.1	17.2 \pm 7.6	21.5 \pm 8.1	35.5 \pm 6.5	46.0 \pm 3.4	51.5 \pm 4.1	[54.8 \pm 2.0 57.0 \pm 1.7]
	1000	27.9 \pm 1.9	36.9 \pm 3.0	43.9 \pm 2.5	50.5 \pm 3.4	[52.8 \pm 0.4 56.3 \pm 0.5	57.0 \pm 0.4	57.5 \pm 0.4]
	500	37.9 \pm 5.0	46.8 \pm 1.3	49.0 \pm 1.2	51.7 \pm 1.1	[55.2 \pm 0.2 56.3 \pm 0.9	57.7 \pm 0.5	-]
	Chamber	56.8 \pm 1.3	[57.5 \pm 4.2 56.9 \pm 4.0	59.5 \pm 0.9	59.4 \pm 0.6	58.8 \pm 2.1	59.6 \pm 1.3	-]
B	3000	18.9 \pm 1.6	28.9 \pm 2.3	37.9 \pm 1.9	45.0 \pm 1.2	49.6 \pm 1.6	[55.5 \pm 0.5 56.4 \pm 1.2	57.5 \pm 0.1]
	1000	36.8 \pm 2.8	45.2 \pm 1.2	50.0 \pm 1.8	54.3 \pm 1.4	[54.7 \pm 1.1 55.8 \pm 0.2	57.4 \pm 0.4	57.1 \pm 1.3]
	500	43.4 \pm 3.7	50.8 \pm 0.5	[52.7 \pm 2.1 55.6 \pm 0.9	53.3 \pm 2.7	57.5 \pm 1.4	56.7 \pm 0.8	-]
	Chamber	50.1 \pm 2.6	[54.6 \pm 1.2 56.5 \pm 0.6	56.1 \pm 1.0	56.9 \pm 0.8	56.0 \pm 0.8	-	57.9 \pm 2.8]

Each value represent the mean \pm S.D (n=3)

[] : The suitability in all of three autoclavings

Table 4. Log of Inactivation Factor (LIF) and Autoclaving Time in the Various Containers

Volume (ml)	autoclaving time (min)							
	10	15	20	25	30	40	50	60
3000	0.06 \pm 0.02	0.22 \pm 0.02	0.50 \pm 0.12	1.12 \pm 0.26	2.22 \pm 0.35	4.44 \pm 0.85	6.61 \pm 1.00	10.7 \pm 0.7
1000	0.85 \pm 0.57	1.71 \pm 0.47	2.95 \pm 0.32	4.40 \pm 0.36	6.21 \pm 0.31	8.75 \pm 0.33	11.5 \pm 0.6	12.9 \pm 1.9
500	1.67 \pm 0.32	3.22 \pm 0.32	4.66 \pm 0.41	5.95 \pm 0.23	7.37 \pm 0.54	10.6 \pm 0.5	13.0 \pm 0.3	-
Chamber	3.64 \pm 0.11	5.34 \pm 0.27	6.52 \pm 0.07	7.77 \pm 0.10	9.53 \pm 0.16	12.5 \pm 0.1	15.1 \pm 0.1	-

Each value represent the mean \pm S.D (n=6)

試みた。同一試料の測定場所による ΔE のばらつきは、0.2~0.6 であった。 ΔE の結果を Table 3 に示す。ロット間のばらつきは、 ΔE が小さい時すなわち滅菌効果が不十分な時に認められているが、処理時間を長くしたり、容器の容量が小さくなると ΔE は有意に上昇し、滅菌条件の相異による変色度合を客観的かつ詳細に評価できる。Table 2 の肉眼判定の結果と対比すると適・不適の判定の境界は製品 A、B とも ΔE が 53 付近にある。製品 A の缶体内の場合は、薬液中に侵漬した場合と色調が異なり ΔE と肉眼判定とが一致しないため注意する必要

がある。

2. オートクレーブ処理時間と LIF のばらつき

各条件における LIF とそのばらつきを Table 4 に示す。LIF のばらつきは缶体内と容器の内部の設定温度に到達する時間とのずれ (Δt : 500ml で 10~13 分, 1l で 16~20 分, 3l で 36~42 分)¹⁾ より短かいオートクレーブ処理時間の場合に大きい。この原因は Δt 以下の処理時間では $LIF = LIF_{(h)} + LIF_{(s)} + LIF_{(ex)} + LIF_{(c)}$ において $LIF_{(s)} = 0$ となり昇温、排気および冷却工程だけの LIF のためこの工程の容器内への熱伝導がロットによって異

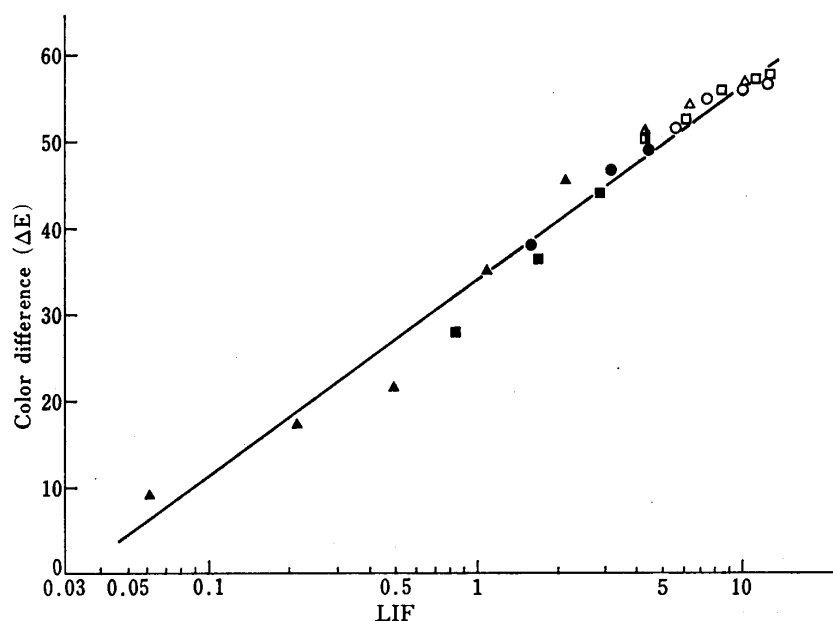


Fig. 2. Relationship between ΔE of Product A and LIF in the Various Containers by Autoclaving

\triangle : 3000 ml \square : 1000 ml \circ : 500 ml

Open plot represents the suitability in all of three autoclavings by sensuous decision.

Semi-open plot represents the unsuitability in at least one autoclaving.

Closed plot represents the unsuitability in all of three autoclavings.

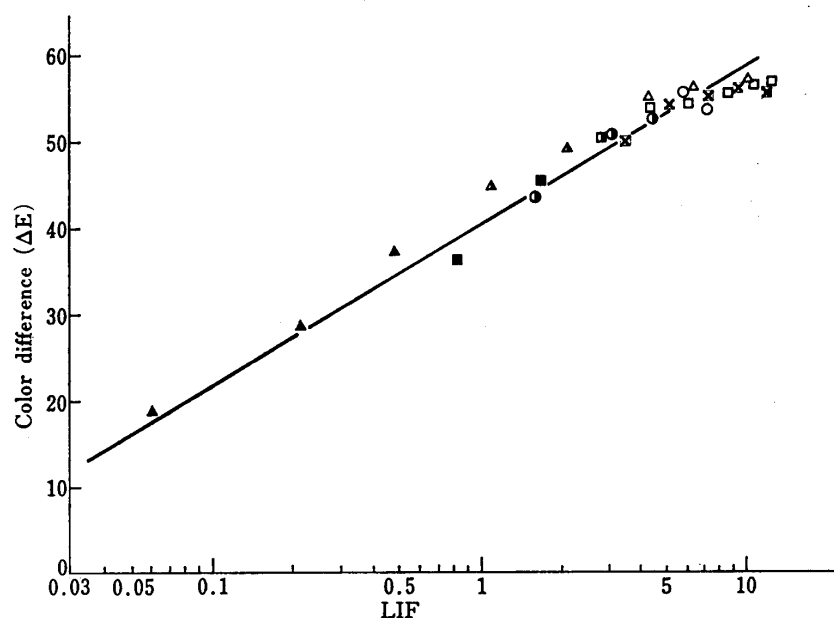


Fig. 3. Relationship between ΔE of Product B and LIF in the Various Containers by Autoclaving

\triangle : 3000 ml \square : 1000 ml \circ : 500 ml \times : chamber

Open plot represents the suitability in all of three autoclavings by sensuous decision.

Semi-open plot represents the unsuitability in at least one autoclaving.

Closed plot represents the unsuitability in all of three autoclavings.

なるためと考えられる。

3. CI の ΔE と LIF の関係

CI の変色度合は設定温度における熱エネルギーだけでなく、滅菌工程中に負荷される全熱エネルギーに左右され则认为られる。LIF は滅菌の全工程における細菌の不活化の程度を速度論的に取扱ったもので滅菌中の全熱エネルギーの指標と考えてもよい。この LIF と CI の ΔE との間に何らかの関係が成立すれば、CI の ΔE から滅菌した薬液の LIF を予測でき、滅菌効果の確認を行える。そこで、 ΔE に対する LIF の対数値をプロットした結果、製品 A および B はそれぞれ Fig. 2, 3 のように相関係数が 0.973 ($p < 0.01$) と 0.962 ($p < 0.01$) となり ΔE と LIF の対数値に良好な直線関係が成立した。最小二乗法で求めた製品 A および B の回帰式は、それぞれ (2), (3) 式で表わすことができた。

$$\Delta E = 33.7 + 23.1 \log \text{LIF} \dots\dots\dots (2)$$

$$\Delta E = 41.2 + 16.6 \log \text{LIF} \dots\dots\dots (3)$$

なお、製品 A の缶体内の CI は色調や容器内の CI の ΔE と LIF の関係から著しくはずれたので回帰分析から除外した。したがって、温度センサーで熱伝導性を調査しなくても CI の ΔE を測定すればどんな容量の薬液でも滅菌工程中の LIF を予測できることがわかった。さらに肉眼判定の結果を LIF と対比すると、製品 A では 3 ロットとも不適と判定した LIF は 4 以下、少なくとも 1 ロットは不適とした LIF は 4~6、3 ロットとも適とした LIF は 7 以上であり、製品 B では順に 1 以下、1~5 および 6 以上となっている。このことから、たとえ LIF と ΔE の両方を測定できなくても、滅菌効果を肉眼的に確認できるし、条件設定の目安として利用することも可能になる。薬局方の 115°C、30 分の LIF は 8.7 で、しかもこの値は LIF₆₀ だけで他の工程の LIF を含まないことや CI の適と判定する LIF が 8.7 より小さいことなどから条件設定に際しては、CI で適となる条件

よりもオートクレーブ処理時間を長くする必要がある。

物品用 CI である製品 A および B を薬液用として用いたため CI の精度を論ずることはできないが、これら CI は薬液にも十分使用できるため薬局方の滅菌条件に一致する薬液専用の CI が開発されればその精度も高まり、薬液の滅菌工程の管理に有用となる。

結 論

物品用 CI の製品 A および B は、薬局方の滅菌条件に一致するよう改良すれば、バイアルの精製水中に浸漬して内容薬液の滅菌効果を確認するための薬液用 CI として利用できることがわかった。

CI の変色度合を ΔE で評価すると、容器の容量に関係なく ΔE と LIF の対数値に良好な直線性が認められたので、 ΔE から各薬液の滅菌工程中の LIF が予測でき、容器の容量を考慮した滅菌条件の設定を行うことも可能である。

容器内の温度を測定する機器のある滅菌機ばかりでなく、この機器のない滅菌機の薬液の滅菌工程の管理の一手段に市販されている CI を用いれば、病院薬局の無菌製剤の品質保証をさらに高めることができる。

謝辞 本研究に際しケミカルインジケーターの試料を提供していただいたサクラクレパス株式会社、ホギ株式会社感謝いたします。

文 献

- 1) 鈴木一市, 石川安信, 川影逸郎, 藤井喜一郎: 病院薬学, 7, 173 (1981).
- 2) 長崎泉吉: 防菌防黴, 12, 279 (1984).
- 3) 塩路雄作: 月刊薬事, 26, 1423 (1984).
- 4) 田中文彦, 川村邦夫: 防菌防黴, 7, T286 (1979).
- 5) 今城千代子: 防菌防黴, 7, T137 (1979).
- 6) 今城千代子: 防菌防黴, 7, T196 (1979).
- 7) 綿貫喆, 実川佐太郎: “滅菌法・消毒法,” (榊原欣作編) 第2集, 文光堂, 東京, 1979.