

高圧蒸気滅菌装置による大容量薬液の滅菌

鈴木一市, 石川安信, 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*

Sterilization of Large Volume Solution by Autoclaving

KAZUICHI SUZUKI, YASUNOBU ISHIKAWA, ITSURO KAWAKAGE, KIICHIRO FUJII

Pharmacy of Hamamatsu University School of Medicine Hospital*

(Received January 16, 1981)

Temperature of large volume liquid in respective containers (1–3 l) was continuously measured with thermocouple under autoclaving in order to determine the time for the temperature of the liquid to reach 115°. Sterilization temperature, regardless of a number of containers per load, was uniform even at various locations of the containers in the chamber. In spite of rapid rising and lowering of temperature, exhausting time was so long that the ingredients were decomposed. The size of containers was the most important factor in raising liquid temperature to 115°; 40 min for the 3 l container. The degree of sterilization was estimated from Log Inactivating Factor (LIF) based on a first-order reaction and the course of temperature under autoclaving. LIF was very useful for the determination of sterilization time, because it considerably agreed with a number of surviving *B. stearothermophilus*. The sterilization time of the 3 l container was thus determined at 60 min corresponding to LIF 11.

はじめに

薬液の滅菌に蒸気滅菌法が広く用いられている。この滅菌法の条件は、J. P. IXにも記載されているように“滅菌時間は、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起算しなければならない”ことが前提である。病院薬局では使いやすさなどから5~500 ml以外に1~3 lの大容量の薬液を滅菌することがある。大容量の薬液は内部温度の上昇に長時間を要するといわれている¹⁾。この上昇時間は個々の機種について異なり、それぞれ検討しなければならない。

小容量のアンブル中の薬液の分解を抑えるために高温まで急速に加熱する高速熱風やマイクロ波による滅菌法が報告されている²⁾。近年高圧蒸気滅菌法においても急速昇温、急速冷却を行う装置が繁用されはじめた。しかし、このような装置は従来の装置より缶体内の昇温と薬液の昇温により大きなずれを生じる危険性がある。そこで著者らは、0.5~3 l容量の薬液の滅菌条件について

検討し、若干の知見を得たので報告する。

実験の部

1. 実験材料

容器は20 ml (日電理科硝子), 200, 500, 1000 ml (以上いずれも大河内硝子), 3 l (ギヤマン)のバイアルびんを、薬液として精製水を使用した。

2. 装置および温度の測定

サクラ薬瓶滅菌装置 FYA-SLJP 200 形を用いた。この装置は、間口60 cm, 高さ100 cm, 奥行120 cmの角形二重壁缶であり、3段格子状棚枠、高温水に一定の水を加えるバランス方式による急速冷却機構を備えている。滅菌温度はすべて115°で行った。びん内の滅菌温度は500 mlびんに留点温度計を挿入して測定した。滅菌中のびん内の温度変化はクロメルアルメル熱電対温度計を用い缶体外で自記記録した。

3. 最大死滅菌数の測定

生物学的インジケーターである滅菌テスパー S (栄研器材)の試験法を準用した。初発生菌数として試験紙に 10^2 ~ 10^7 まで10倍毎に変化させた *Bacillus stearother-*

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

rmophilus ATCC-12980 菌を含有させたインジケーターをポリエチレンの袋に封入したのち、液の中央に埋没して滅菌する。その後常法により 55°, 72 時間培養し、死滅の有無を判定した。陰性と判定された初発生菌数の最も多いインジケーターの菌数を最大死滅菌数として表わした。

結果および考察

1. 滅菌工程中の温度変化

滅菌工程のフローチャートを Fig. 1 に示す。本装置は給気→滅菌→排気→冷却→シーリング→冷却と進行して滅菌が完了する。シーリングはミシン目入りの収縮チューブをキャップに装着する工程である。この工程を組み入れたことによりキャップシーリングの作業を省力化できた。

缶体内の 115° に到達する時間 (t_0) とびん内のそれ (t_s) との差は、500 ml, 3 l でそれぞれ約 10, 40 分と容量により 4 倍も到達時間にずれ (Δt) を生じている。また、急速昇温、急速冷却に比較して排気時間 (t_{ex}) が 30 分あり予想以上に長い。

2. びんの位置と滅菌温度

缶体内のびんの位置が上段と下段では薬液の滅菌温度が異なることがあるが³⁾, Table 1 に示すように本装置は缶体内のどの位置のびんも同一の滅菌温度を示している。この結果は、給気工程における缶体内の空気の完全な排除あるいはリフラッシュ機構によるものと思われる。

3. 滅菌温度到達時間

i) びん内測温部の位置

びんの内部の位置と Δt の関係を把握するため測温部を液中の任意の個所に保持して Δt を測定すると、Table 2 のように液面付近と底部の Δt の差が 3 l で 15 分、1 l で 5 分と高さ方向に対して Δt が異なり底部の方が昇温が遅い。中心部とガラスの内壁部ではほぼ同一の Δt を示す。この結果から、以後の実験は $h/h_0=0.7$ の位置で行った。高さ方向にはびんの底面、上部空間および側面の熱伝導が複雑に関与しているが同一高さにおいては水およびガラスの熱伝導係数がそれぞれ 6×10^5 , $1w/m \cdot K^4)$ で水は 10^5 以上熱伝導が良好なため Δt に差がないと考えられる。

ii) びんの容量および滅菌本数

Table 3 に Δt , t_{ex} におよぼすびんの容量および滅菌本数の影響を示した。 Δt について二元配置法による分散分析の結果、滅菌本数間には差が認められず容量間には高度に有意差が認められた。500 ml, 1, 3 l の Δt は

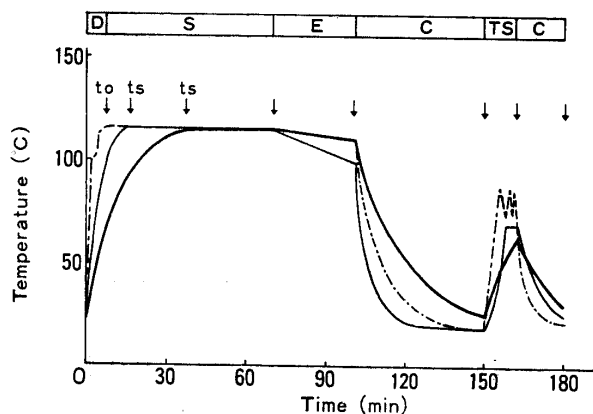


Fig. 1. Temperature Resulting from Sterilizing Solution and Chamber Operated at 115°
 — : Solution temp. in 3000ml container
 - - - : Solution temp. in 500ml container
 . . . : Chamber temp.
 D : Displacement S : Sterilization
 C : Cooling TS : Tube sealing
 t_0 : Time required for chamber to reach 115°
 t_s : Time required for solution to reach 115°
 E : Exhausting

Table 1. Sterilization Temperature of Container on Various Location in Chamber

Location		Front ¹⁾		Inner ²⁾	
		\bar{x} ³⁾	R ⁴⁾	\bar{x}	R
Top	shelf	114.4	0.6	114.3	0.6
Middle	shelf	114.3	0.8	114.7	0.2
Bottom	shelf	114.4	0.5	114.3	0.7

1) : Neighborhood of door in chamber
 2) : Neighborhood of baffle in chamber
 3) : Mean, $n=5$
 4) : Range

Number of 500ml container per load are 150

それぞれ 10~13, 16~20, 36~42 分である。したがって、缶体内の温度が設定温度になると作動する滅菌タイマーを30分にして 3 l の薬液を滅菌すると設定温度に到達しないで工程が完了してしまう。滅菌本数により昇温速度が異なる装置もあるが³⁾, 本装置は本数すなわち被滅菌物量に関係なく同一の温度上昇を示した。

t_{ex} は滅菌本数により著しく異なり、150 本の滅菌では数本の滅菌に比較して 4 倍の 50 分も要している。この現象は滅菌効果については望ましいといえるが分解しやすい薬液には悪影響をおよぼすため十分注意しなければならない。

4. 滅菌時間の設定

i) LIF の算出

各容量の薬液の滅菌に適した滅菌時間の算出に Log

Table 2. Effect of Location of Thermometer to Measure Temperature in Container on Time Lag (Δt) to Reach 115°

A. Height (min)								B. Side (min)					
Volume (ml)	h/ho ¹⁾ 0.8		0.7		0.4		0.2		Volume (ml)	Center of container		Inside of glass wall	
	\bar{x}	R	\bar{x}	R	\bar{x}	R	\bar{x}	R		\bar{x}	R	\bar{x}	R
3000	33.8	1.7	36.8	6.0	46.1	6.0	49.0	7.5	3000	36.9	4.5	36.3	4.5
1000	13.3	2.3	—	—	—	—	18.5	2.3	1000	16.1	4.5	16.2	3.0
									500	10.3	3.0	11.6	2.7
									200	6.2	6.0	6.9	1.8
									20	<1.5	—	<1.5	—

1) : Height of thermometer from bottom/height of solution

n=5, thermometer locate in center of container

n=5, h/ho=0.7

Table 3. Effect of Volume per Container and Number of Containers on Time Lag (Δt) and Exhaust Time (t_{ex})

Time (min)	n=5						n=5	
	Δt						t_{ex}	
	500		1000		3000		500	
Volume (ml)	\bar{x}	R	\bar{x}	R	\bar{x}	R	\bar{x}	R
8	11.6	2.7	16.2	3.0	36.3	4.5	13.2	1.5
80	9.5	4.5	16.0	10.3	39.0	7.5	21.4	13.5
150	12.7	7.5	19.9	9.0	42.1	10.5	48.5	10.5

Inactivation Factor (LIF) を用いた。LIF は (1) 式の初発生菌数 (N_0) を t 分処理後の生残菌数 (N_t) で割った値の常用対数であり、この値は D 値と同じ意味をもっているため滅菌の程度を示している。設定温度まで上昇する時間、室温まで冷却する時間を含めた加熱開始から冷却終了までに全体としてどれだけ滅菌されたかを (2) 式のように表わし全体の LIF ($LIF_{(T)}$) から滅菌時間の評価を行った⁵⁾。また、LIF は死滅速度定数 (k) を用いると (1) 式になるため Fig. 1 の曲線をもとに次のように各工程の LIF を算出した。

- ① 設定温度の工程の $LIF_{(S)}$ は (1) 式をそのまま用いる。
- ② 温度 (T) の変化に伴い k の変化する昇温、排気、冷却工程のそれぞれ $LIF_{(h)}$ 、 $LIF_{(ex)}$ 、 $LIF_{(c)}$ は図解法により 6 分毎の小部分に分け、その中間温度に対する k から各小部分の LIF を求めこれらの総和とする。

なお、T に対する k は Richards⁶⁾ の *B. stearothermophilus* についての (3) 式を用いた。

$$LIF = \log (N_0/N_t) = k \times t / 2.303 \dots \dots \dots (1)$$

$$LIF_{(T)} = LIF_{(h)} + LIF_{(S)} + LIF_{(ex)} + LIF_{(c)} \dots \dots \dots (2)$$

$$\log k = 37.97815 - 14804/T \dots \dots \dots (3)$$

500 ml, 3 l の LIF を Table 4 に示した。滅菌タイマーを 30 分にした時の 500 ml, 3 l の $LIF_{(T)}$ はそれぞれ 8.0, 2.7 である。局方の 115°, 30 分の条件の LIF は 8.7 となり 500 ml 容量では同程度の滅菌を保障している。しかし 3 l では 1/3 の滅菌効果しかない。LIF_(c) はほぼ 0 であり冷却期間中の滅菌はまったく期待できないが昇温および排気工程では LIF が 2~4 となり滅菌にかなり寄与していることがわかった。

$LIF_{(S)}$ は $LIF_{(T)}$ を任意に設定すれば (2) 式より求められるが、かりに滅菌タイマーを 40, 60 分として $LIF_{(T)}$ の実測値を求めるとそれぞれ 6.6, 11.4 となり 3 l の大容量の滅菌に 60 分を採用すれば局方の条件を満足する。

この条件は全工程中の死滅を考慮した場合であり、局方の滅菌温度における死滅すなわち $LIF_{(S)}$ のみからは、いまだ不十分である。しかし、院内製剤の調製に捨水後の蒸留水を用いれば滅菌前の生菌数の 10^5 個/びん以上の存在は考えられないため⁶⁾ $LIF_{(S)}$ が 5 以上あれば $LIF_{(T)}$ で評価して実用上は問題ないであろう。

ii) LIF と初発生菌数

LIF は加熱滅菌の速度論を基礎とした表示法のためここで得られた LIF と *B. stearothermophilus* の最大死滅菌数 (N_{max})、すなわち、 $N_t = 0$ になる N_0 の最大値との関係性を求め Table 4 に示した。3 l を 115°, 30 分滅菌した場合には N_{max} が 10^5 であり、調製時に 10^6 個以上の汚染があれば生物学的インジケーターでは陽性となり滅菌不十分と判定される。 N_{max} は 20, 30 および 40 分滅菌した時に LIF から予想される値より 10~100 倍個高い傾向にある。この違いは、115° における k が Richards の式では 0.666 (min^{-1})、河尻ら⁷⁾ の式では 0.134 (min^{-1}) となり、菌株により熱抵抗性が異なるために生じたと考えられる。いずれにしても求めた

Table 4. Relationship between Sterilization Time and Log of Inactivation Factor (LIF) or Number of Maximum Death Organisms Operated at 115°

Volume (ml)	Sterilization Time (min)	LIF ¹⁾					Nmax ³⁾
		(h) ²⁾	(s)	(ex)	(c)	(T)	
3000	10	—	—	—	—	0.10	<10 ²
	20	—	—	—	—	0.89	10 ²
	30	1.65	0	1.06	0.02	2.73	10 ⁵
	40	2.57	2.03	2.02	0.02	6.64	>10 ⁷
	60	4.16	4.92	2.31	0.01	11.39	>10 ⁷
500	30	2.07	4.34	1.62	0	8.03	>10 ⁷
	40	1.70	7.95	1.77	0	11.42	>10 ⁷

1): Each LIF calculated from Eq. 1

2): (h),(s),(ex),(c) and(T) represent LIF during the period of rising temp., sterilizing period, exhaust period, cooling period and total LIF

3): Number of maximum death organisms in a container

LIF の値と同程度の菌の減少がある。

実際の滅菌においては、初発汚染菌数によって生残菌の存在する確率が変化し、初発汚染菌数を 10⁵ と考えると LIF が 8 で 10⁻³, 11 で 10⁻⁶ の確率で不良品が発生することになる。薬液の分解のない滅菌精製水、生理食塩水には無菌を重視して LIF が 11 になる 500 ml で 40 分、3ℓ で 60 分の滅菌タイマーの設定が妥当と思われる。

結 論

大容量の薬液を高圧蒸気滅菌する場合、薬液の温度の変化が小容量の薬液の場合と著しく異なる。従来の装置と異なり缶体内のびんの位置あるいは本数が滅菌温度に影響を与えなかった。大容量の薬液ではびん内の全薬液が同じ昇温速度を示さず底部の薬液ほど昇温が遅い。急速昇温、急速冷却が行われる反面、滅菌本数にも依存するが、排気に長時間を要し薬液の分解には好ましくない。

滅菌温度への到達時間は、びんの容量に最も影響され 3ℓ の容量では dt が 40 分にも達し、容量毎に適切な滅菌時間を設定しなければならない。自記記録された滅菌

中のびん内温度の曲線から LIF を算出し滅菌の程度を把握する方法は、生残菌の変動とかなり一致しこの滅菌時間の設定に簡単に利用できることが判明した。

文 献

- 1) J. E. Hoover (ed.): "Remington's Pharmaceutical Sciences", 15th ed. Mack Publishing Company, Easton, 1975, p.1392; 日本公定書協会編: "第九改正日本薬局方解説書", 広川書店, 東京, 1976, p. B-520; 池田 憲, 田尻善和: 薬剤学, 20, 198 (1960).
- 2) 松下博一, 松田三郎, 河野正幸, 鮫島政義, 村上香苗, 久保田喜郎, 高瀬邦彦: 薬剤学, 35, 106 (1975); 水田栄治, 宇田良明, 朝日 豊, 河尻晴三, 永松和夫: 薬剤学, 36, 49 (1976).
- 3) 青木 大: "病院薬局の実際", 南山堂, 東京, 1973, p. 282.
- 4) 日本化学会編: "化学便覧", 基礎編 II, 丸善, 東京, 1978, p. 983.
- 5) 綿貫 喆, 実川佐太郎, 榊原欣作編: "滅菌法・消毒法", 第 1 集, 文光堂, 東京, 1974.
- 6) 高野正彦: 月刊薬事, 22, 1435 (1980).
- 7) 河尻晴三, 宇田良明, 永松和夫, 田中文彦, 並川清: 薬剤学, 35, 183 (1975).