原著

医療用具の放射線滅菌における滅菌線量の算出法 (I)

— シグモイド型生残曲線の標的モデルに対する適合性 —

細 瀧 和 成* 岡 充*²

Studies on the Dose Setting in the Radiation
Sterilization of the Medical Devices (I).

— The Fitness of the Sigmoidal Survival Curves to the Target Models —

Kazunari Hosobuchi
Tokyo Metropolitan Isotope Research Center
2-11-1 Fukazawa, Setagaya-ku, Tokyo 158
Mituru Oka
The Saitama Institute of Technology
1690 Fusaiji, Okabe, Oosato-gun, Saitama 369-02

Abstract

Estimations of the survival levels in the sigmoid shape dose-effect curves of high resistant microbes have sometimes been considered as some problem in the evaluation of radiation sterilization dose. *Bacillus megaterium* is one of high resistant microorganisms and has a broad shoulder in the curve. Multi-target and multi-hit models in the target theory, on the other hand, have been known as the models expressing the sigmoidal survival curves. The other three mathematical equations for sigmoid shape curves based on hit-target concept were also collected. Because of complicated calculations, a program which can compute the optimization of experimental data to the five equations in a single processing, was also drawn up.

Experimental results, obtained in dry state irradiation, of 27 strains of *Bacillus* showing sigmoidal survival curves, were computed using the program and the most suitable mathematical expression was obtained at the least residual sum of squares. Linear regression of the data of those *Bacilli* was also calculated and compared with that of *B. subtilis* and of some species of *Bacilli* which were known to have linear survival curves, and it seems to be some difference in the coefficient of determination and in the residual sum of squares. The computer program drawn up by us, seemed to be adequate and practical in computing the fitness of experimental data to the target models.

1. 緒 言

放射線滅菌法を導入する場合、滅菌線量の算

出が重要な課題となっている。

我が国では、放射線滅菌用指標菌 *Bacillus pumilus* ATCC 27142 を用い、その放射線抵抗性 (D値) を測定し、滅菌線量 (SD) を算出している¹⁾。

最近、この方法で求めた線量がオーバーキル

* 都立アイソトープ総合研究所

*² 埼玉工業大学

(原稿受付：昭和62年4月30日)

であると考えられ、滅菌線量を軽減化する試みが盛に行われている^{2,3)}。この試みの一つとして、バイオバーデン法による滅菌線量の算出法⁴⁾が考え出され、汚染菌のD値が測定されている。

一般に放射線に対する微生物の死滅則は、指数関数型とシグモイド型に大きく分けられる。実際には、汚染菌の多くは前者の指数関数型生残曲線で示されるが、シグモイド型生残曲線を示す菌株も決して少なくはない。このシグモイド型の shoulder の張り出しぐあいは、微生物によって異なるが、放射線抵抗性の低い、あるいは shoulder の張り出し方の少ない生残曲線では、指数関数型とみなしてD値を算出しても問題ないと考えられている。

一方、AAMI が提案した滅菌線量の算出法⁵⁾の B2, B3 法では、こうした shoulder 部分を D/S window としてそのグラフに提示している。そして、D/S window より高線量側では、window 幅から計算した DS Mrad をD値として、滅菌線量を決定している。また、補正 A Mrad を加えた (DS+A) をD値としたり、または無菌試験で生き残った汚染菌の最大D値 (D_{10} MAX 法)を用いて、高線量側での滅菌線量の算出を行い、シグモイド型生残曲線を持つ微生物の汚染に対処している。

我々も AAMI の方法をガーゼ付絆創膏⁶⁾や月経処理用タンポン⁷⁾の滅菌線量の算出および止血用パッド⁸⁾の EO 滅菌処理条件の算出に適用してきた。

Davis ら⁹⁾も、この方法で多数のシミュレーション実験を行い満足すべき結果を得ている。しかしながら、放射線抵抗性が高くかつ broad shoulder を有する微生物の場合では、その shoulder 効果のため window 幅が広がると共にD値が大きくなり、滅菌線量を算出する上で、①汚染菌数が少ない場合には滅菌線量を過小評価(滅菌ミス)する、②汚染菌数が多い場合には過剰評価(オーバーキル)する、との問題点があると述べている。

そこで、シグモイド型曲線を示す微生物による医療用具の汚染を考えに入れて、滅菌線量の最適な算出法を検討した。本報では、シグモイ

ド型曲線を示す *Bacillus megaterium* などの菌株がどのような放射線抵抗性を示すのか、またどのような標的モデルに適合するかの検討を行った。

なお、分子生物学の発展にともなって、標的説が必ずしも分子生物学的事実と対応しないことなどもあって、一部には“古典的”の名さえ冠されるようになってきている^{10,11)}。そこで、ここでは標的説モデルの放射線生物学的意味はさておき、各モデルを数式表現として取り上げることとした。

以前に岡ら¹²⁾は *B. megaterium* の生残曲線の多重ヒット性1標的モデルなどへの適合性について報告したが、当時と比べるとコンピュータの演算速度も速くなり、一見手間のかかりそうな計算も容易になった。またコンピュータも広く普及してきたので、検査・研究機関で本報告にあるようなプログラム演算も実際的であると考えられる。

2. 実験方法

2-1. 供試菌

供試菌としては、Table 1 に示す *Bacillus* 属の35菌株を用いた。そのうち *B. megaterium* の366-988の15菌株は東京農業大学東量三博士より分与を受けた。また *B. megaterium* の s-2, 13, …の6菌株は医療用具から分離した。なお、このように供試菌として *B. megaterium* を多く選んだ理由は、①医療用具から分離される¹³⁾、②放射線抵抗性が高い¹³⁾、③いろいろな程度の shoulder を持つシグモイド型生残曲線を示す¹⁴⁾、の3点からである。

2-2. テストピースの作成

供試菌の孢子懸濁液を、下記の方法に従って作成した。

すなわち、 MnSO_4 を 10 ppm 添加した soy-bean casein digest 寒天培地 (BBL 製) 平板上に供試菌を接種し、31-35°C で7日間以上培養した。培養後、寒天培地上に発育した菌塊を集菌し、得られた孢子を遠心分離法(条件: 4°C, 7×10^3 rpm, 1.1×10^4 G, 10分間)で6回精製した。なお、この精製段階の途中で加熱処理(80°C, 10分)を行い、栄養型細胞を死滅さ

(10) 医器学 Vol. 57, No. 8 (1987)

せた。また、洗浄水には滅菌水を用いた。この孢子懸濁液をガラス繊維製ろ紙（東洋ろ紙製：GA-100）に 10^7 spores/strip となるように塗布乾燥し、滅菌パック（ホギ製：HM301）に包装し、テストピースとした。

なお、孢子形成が悪い場合には、上記培地のかわりに glutamate 寒天培地を用いた¹⁵⁾。

2-3. 放射線抵抗性の測定

放射線照射は、当研究所の 111 TBq または 185 TBq⁶⁰ Co- γ 線照射装置を用い、1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 kGy の γ 線をテストピースに照射した。照射後のテストピースの生残菌数は、ミキサ法¹⁶⁾によりガラス繊維製ろ紙から孢子を回収し、常法の寒天平板混濁法で求めた。なお、培地は soybean casein digest 寒天培地を用い、31-35°C で3日間培養した。そして、発生したコロニーを計数し、生残菌数とした。

この生残菌数 (b) および生残率の対数 [$\log(b/b_0)$] を入力データとし、各菌の生残曲線モデルおよび放射線抵抗性の評価を行った。なお、 b_0 は未照射時の菌数を示す。

3. シグモイド型生残曲線の数式表現モデル

検討したモデルは次の5種類とした。

3-1. 標的説モデル^{10, 11, 17-19)}

3-1-1. 多重ヒット性1標的モデル

1個の細菌内に1個の標的があるとするモデルで、標的の大きさを a とすると、 a 内に起こる平均ヒット数 λ は、線量 D に比例し、 $\lambda = aD$ となる。

ヒットが互に独立で、かつ標的内に x 個のヒットが起こる確率 $P_{(x)}$ はポアソン分布に従うとすれば、

$$P_{(x)} = e^{-\lambda} (\lambda^x / x!) \quad (x=0, 1, 2, \dots)$$

となる。

細菌を殺すのに n 個以上のヒットが必要であり、ヒットが $n-1$ 個以下であれば細胞は生き残る。すなわち、多重ヒット性1標的モデルは次式のように示される。

$$S = b/b_0 = \sum_{x=0}^{n-1} e^{-\lambda} \frac{\lambda^x}{x!} = e^{-\lambda} \sum_{x=0}^{n-1} \frac{\lambda^x}{x!} \quad (1)$$

なお、 S は生残率である。

3-1-2. 1ヒット性多重標的モデル

1個の細菌内に m 個の標的があり、それぞれの標的は1ヒットで不活性化され、 m 個の標的が全て不活性化されたとき、細菌が死ぬと考える。

標的に平均 λ 個のヒットが生じていると、ある標的が不活性化される確率は $(1-e^{-\lambda})$ である。そして、 m 個の標的が全て不活性化する確率は $(1-e^{-\lambda})^m$ である。

従って、1ヒット性多重標的モデルは

$$S = b/b_0 = 1 - (1-e^{-\lambda})^m \quad (2)$$

と表される。

なお、 $\lambda \gg 1$ のときは

$$S = m \cdot e^{-\lambda} \quad (2)'$$

となる。

3-1-3. 多重ヒット性多重標的モデル

1個の細菌内に m 個の標的があるとする。それぞれの標的は n ヒットで不活性化される。そして、 m 個の標的が全て不活性化されたとき、細菌が死ぬと考える。すると S は 3-1-1 と 3-1-2 の2式を合成した下式で示される。

$$S = b/b_0 = 1 - (1 - e^{-\lambda} \sum_{x=0}^{n-1} \frac{\lambda^x}{x!})^m \quad (3)$$

この考えが多重ヒット性多重標的モデルである。

3-2. 標的説カテゴリーのその他のモデル

3-2-1. 修復 (Haynes) モデル²⁰⁾

細菌が放射線により損傷しても修復する能力があることを考えに入れて、Haynes は生残率を次のような式で表した。

$$-\ln S = -\ln(b/b_0) = aD - \alpha (1 - e^{-\beta D})$$

ここで、 α は最大修復可能ヒット数であり、高線量では飽和に達すると考える。 β は回復飽和係数である。

B. megaterium の示すシグモイド曲線は、線量0ところからD軸方向に平行に伸びて shoulder を形成している。このことから上式のDについての微分

$$d \ln S / dD = -a + \alpha \beta e^{-\beta D}$$

は $D=0$ のところで0となる。従って、 $a = \alpha \beta$ となる。よって、

$$S = b/b_0 = e^{-\lambda + \alpha (1 - e^{-\lambda/\alpha})} \quad (4)$$

と Haynes モデルが書き直せる。

3-2-2. サブユニット(Brynjolfsson)モデル²¹⁾
細菌は $S_1, S_2, \dots, S_m$ の m 個のユニット
(標的)を持ち、それぞれのユニットは n 個の
サブユニット(副標的)を持つとする。

例えば、 S_1, S_2 という2つのユニットを考える。 S_1 は S_2 と対を成しており、 S_1 は $A_1, B_1, C_1, D_1, \dots$ また S_2 は $A_2, B_2, C_2, D_2, \dots$ というサブユニットから成っている。もし、 A_1 が放射線によりヒットを受けて、損傷しても、 A_2 が新しい A_1 を再生できると考える。しかし、 A_1 と A_2 の両方が放射線によりヒットを受けると不活性化すると考える。

このような考えを m 個のユニット、 n 個のサブユニットに推し広げ、サブユニットの放射線抵抗性は相等しいとして、Brynjolfsson は次の式を提案した。

$$S = b/b_0 = \{1 - (1 - e^{-\lambda})^m\}^n \quad (5)$$

4. 演算プログラム

4-1. プログラム概要

我々は単回帰から前記各数式モデルへのあてはめ演算までを一連のプログラムで行えるようにした。すなわち、線量と生残菌数(率)の入力、単回帰の計算、ヒット数や標的数の初期値設定とその最適化、結果の表示からなる主プログラムを設計した。そして、 λ の最適化、残差平方和の計算、数式モデルの計算およびグラフの表示からなるプログラムをサブルーチン化した。

4-2. 数式モデルへの適合性

得られたデータの数式モデルへの適合性は、各供試線量 D_i から生残菌数(対数) $\hat{S}_i$ を推定し、実際に測定された生残菌数(対数) S_i との差の二乗和、すなわち残差平方和

$$S_E = \sum (\hat{S}_i - S_i)^2$$

を最小にするような標的数またはヒット数を評価する最小二乗法によった。

4-2-1. 2変数型関数の最適化

式(1)、(2)および(4)は λ および m か n 、または α の2つの変数値によって S_E を求めることができるので2変数型関数と呼ぶことにする。式(2)では m はいかなる値でもよいが、標的モデルの考えから整数値のみとしてそ

の初期値を $m=2$ とした。また、これら関数計算は独立して行われるので、変数記号は同一のものとし各関数に番号を付け“ON(関数番号) GOSUB(関数計算プロセスのアドレス)”の形式で計算した。もう一つの変数 λ は、適当な a 値をとることにより $\lambda = aD$ として算出できる。なお、線量 D の単位を kGy とすると、*B. megaterium* の場合には $a=1$ と初期値を定めることができる。

縦軸に残差平方和 S_E 、横軸に a をとり、 m および a を変化させて式(2)を計算した1例を Fig. 1 に示す。図より明らかなように、

in the calculation of equation (2),
strain: *B. megaterium* 380

Fig. 1 Relations between residual sum of squares, S_E , targets, m and target volume, a .

$y=x^2$ 曲線に類似した残差平方和曲線が描かれた。すなわち a 値の増加にともなって S_E は減少し、そして最小を経て再び増加に向かっていることが認められた。その減少と増加はほぼ滑らかと考えられる。また、こうした S_E 曲線の最小値も、 m の増加にともなって、一旦減少して最小を経て再び増加に向かうことがわかった。

λ の最適化サブルーチンにおいては、ある m の値について a の増分 Δa を加えながら“IF (計算 S_E) < (直前に得られた S_E) THEN……”の演算により S_E の最小値を求めた。さらに主プログラムに戻って m についてその増分 Δm を

Table 2 Parameters, average hits per kGy, α and number of targets, m or of hits, n or of maximum repairable hits, α , obtained in the optimization of the observed data to models (1), (2), and (4).

Species	Strain	Multi-hit model(1)		Multi-target model(2)		Haynes model (4)	
		α, kGy^{-1}	n, hits	α, kGy^{-1}	m, targets	α, kGy^{-1}	α , repairable hits
<i>B. megaterium</i>	s-25	2.60	6	1.62	31	7.58	149
<i>B. megaterium</i>	380	2.64	6	1.67	33	3.13	21
<i>B. megaterium</i>	386	1.79	3	1.38	6	1.41	2
<i>B. megaterium</i>	s-13	3.86	7	2.23	42	17.11	441
<i>B. megaterium</i>	376	3.08	4	1.97	7	2.64	5
<i>B. megaterium</i>	388	3.68	5	2.18	11	16.78	282
<i>B. megaterium</i>	s-89	4.37	9	2.26	66	17.91	530
<i>B. megaterium</i>	s-73	3.23	5	2.12	19	5.49	36
<i>B. megaterium</i>	IFO 12108	2.02	3	1.54	5	1.60	2
<i>B. megaterium</i>	803	1.66	2	1.50	4	1.61	2
<i>B. megaterium</i>	383	2.41	4	1.83	18	2.10	5
<i>B. megaterium</i>	384	4.34	10	1.95	24	17.04	553
<i>B. megaterium</i>	s-46	3.20	5	2.16	21	3.02	9
<i>B. megaterium</i>	371	3.05	5	2.03	17	3.21	12
<i>B. megaterium</i>	368	2.64	4	1.94	12	2.16	4
<i>B. megaterium</i>	366	5.79	10	2.85	84	23.70	610
<i>B. megaterium</i>	s-2	2.85	4	2.13	15	2.48	5
<i>B. megaterium</i>	378	3.22	5	2.26	28	3.49	13
<i>B. megaterium</i>	372	3.76	5	2.40	14	4.46	16
<i>B. megaterium</i>	377	3.84	5	2.54	18	5.68	27
<i>B. megaterium</i>	369	2.69	3	2.08	5	2.16	2
<i>B. megaterium</i>	988	5.90	9	3.03	57	30.14	828
<i>B. stearothermophilus</i>	ATCC 12980	1.74	3	1.23	4	1.34	2
<i>B. thiaminolyticus</i>	IFO 3115	2.07	3	1.59	6	1.62	2
<i>B. stearothermophilus</i>	ATCC 7953	3.10	5	2.13	26	4.29	23
<i>B. cereus</i>	ATCC 11778	2.80	4	2.07	15	2.74	7
<i>B. thuringiensis</i>	ATCC 13367	3.98	4	2.96	15	4.42	10

sphaericus では 0.89 kGy となった。一方、平均点を通る方法(2)で求めたD値は、*B. megaterium* では 2.13-1.04 kGy, *B. stearothermophilus* では 2.39-1.50 kGy, *B. thiaminolyticus* では 1.80 kGy, *B. cereus* では 1.46 kGy, *B. pumilus* では 1.62 kGy, *B. subtilis* では 0.90-0.91 kGy, *B. sphaericus* では 0.87 kGy となった。このようにD値が、求める方法((1)と(2))によって異なる菌株があることがわかった。そこで、(1)と(2)の方法で得られたD値の比((1)/(2))を求めた。その結果、シグモイド曲線を示す菌株(*B. megaterium*, *B. stearothermophilus*, *B. thiaminolyticus*, *B. cereus*)のD値の比は1.1以上の値を示した。一方、指数関数型曲線を示す菌株(*B. pumilus*, *B. subtilis*, *B. sphaericus*)では1.0に近い値が得られた。このように、シグモイド曲線を示す菌株を指数関数型とみなし、D値を求めると、その求め方によりD値に差が認めらるることがわかった。このため、シグモイド型を示す菌株の場合では、指数関数型とみなしD値を求めることに問題があり、菌株の放射線抵抗性を示す指標としてD値に代わるものが必要であることがわかった。そこで、シグモイド曲線を示す *B. megaterium* などの菌株がどのような数式表現モデルに適合するかの検討を次に行った。

なお、シグモイド型か指数関数型かの生残曲線を見分ける方法として、前に述べたように(1)と(2)の方法でD値を求め、その比(1.1以上であればシグモイド曲線)によって区別できるものと考えられる。また、Table 1 より明らかなように、決定係数($r(1)$, $r(2)$)が0.98前後、残差平方和($S_E(1)$, $S_E(2)$)が0.2-0.3前後で指数関数型またはシグモイド型とに分れる指標値とすることができるものと考えられる。

5-2. シグモイド型生残曲線の数式表現モデルへの当てはめ

B. megaterium など実験で得られたデータを4で述べたプログラムに従い、各数式表現モデルへ当てはめた。この結果得られた、標的の大きさ(a)、標的数(m)およびヒット数(n)をTable 2, 3に示す。なお、Table 2では2変数関数型モデル、Table 3では3変数関数型モデルの結果を示した。Table 4には各モデルにおける残差平方和の値を示した。Table 4に挙げた残差平方和のうち最小の値を示すモデルが、その菌株の最適モデルである。Table 4から明らかなように、多重ヒット性1標的モデルに当てはまった菌株は2株、1ヒット性多重標的モデルに当てはまった菌株は5株、多重ヒット性多重標的モデルに当てはまった菌株は2株、修復モデルに当てはまった菌株は9株、サ

Table 2 Parameters, average hits per kGy, a and number of targets, m or of hits, n or of maximum repairable hits, α , obtained in the optimization of the observed data to models (1), (2), and (4).

Species	Strain	Multi-hit model(1)		Multi-target model(2)		Haynes model (4)	
		a, kGy^{-1}	n, hits	a, kGy^{-1}	$m, \text{targets}$	a, kGy^{-1}	$\alpha, \text{repairable hits}$
<i>B. megaterium</i>	s-25	2.60	6	1.62	31	7.58	149
<i>B. megaterium</i>	380	2.64	6	1.67	33	3.13	21
<i>B. megaterium</i>	386	1.79	3	1.38	6	1.41	2
<i>B. megaterium</i>	s-13	3.86	7	2.23	42	17.11	441
<i>B. megaterium</i>	376	3.08	4	1.97	7	2.64	5
<i>B. megaterium</i>	388	3.68	5	2.18	11	16.78	282
<i>B. megaterium</i>	s-89	4.37	9	2.26	66	17.91	530
<i>B. megaterium</i>	s-73	3.23	5	2.12	19	5.49	36
<i>B. megaterium</i>	IFO 12108	2.02	3	1.54	5	1.60	2
<i>B. megaterium</i>	803	1.66	2	1.50	4	1.61	2
<i>B. megaterium</i>	383	2.41	4	1.83	18	2.10	5
<i>B. megaterium</i>	384	4.34	10	1.95	24	17.04	553
<i>B. megaterium</i>	s-46	3.20	5	2.16	21	3.02	9
<i>B. megaterium</i>	371	3.05	5	2.03	17	3.21	12
<i>B. megaterium</i>	368	2.64	4	1.94	12	2.16	4
<i>B. megaterium</i>	366	5.79	10	2.85	84	23.70	610
<i>B. megaterium</i>	s-2	2.85	4	2.13	15	2.48	5
<i>B. megaterium</i>	378	3.22	5	2.26	28	3.49	13
<i>B. megaterium</i>	372	3.76	5	2.40	14	4.46	16
<i>B. megaterium</i>	377	3.84	5	2.54	18	5.68	27
<i>B. megaterium</i>	369	2.69	3	2.08	5	2.16	2
<i>B. megaterium</i>	988	5.90	9	3.03	57	30.14	828
<i>B. stearothermophilus</i>	ATCC 12980	1.74	3	1.23	4	1.34	2
<i>B. thiaminolyticus</i>	IFO 3115	2.07	3	1.59	6	1.62	2
<i>B. stearothermophilus</i>	ATCC 7953	3.10	5	2.13	26	4.29	23
<i>B. cereus</i>	ATCC 11778	2.80	4	2.07	15	2.74	7
<i>B. thuringiensis</i>	ATCC 13367	3.98	4	2.96	15	4.42	10

sphaericus では 0.89 kGy となった。一方、平均点を通る方法(2)で求めたD値は、*B. megaterium* では 2.13-1.04 kGy, *B. stearothermophilus* では 2.39-1.50 kGy, *B. thiaminolyticus* では 1.80 kGy, *B. cereus* では 1.46 kGy, *B. pumilus* では 1.62 kGy, *B. subtilis* では 0.90-0.91 kGy, *B. sphaericus* では 0.87 kGy となった。このようにD値が、求める方法((1)と(2))によって異なる菌株があることがわかった。そこで、(1)と(2)の方法で得られたD値の比((1)/(2))を求めた。その結果、シグモイド曲線を示す菌株(*B. megaterium*, *B. stearothermophilus*, *B. thiaminolyticus*, *B. cereus*)のD値の比は1.1以上の値を示した。一方、指数関数型曲線を示す菌株(*B. pumilus*, *B. subtilis*, *B. sphaericus*)では1.0に近い値が得られた。このように、シグモイド曲線を示す菌株を指数関数型とみなし、D値を求めると、その求め方によりD値に差が認めらることがわかった。このため、シグモイド型を示す菌株の場合では、指数関数型とみなしD値を求めることに問題があり、菌株の放射線抵抗性を示す指標としてD値に代わるものが必要であることがわかった。そこで、シグモイド曲線を示す *B. megaterium* などの菌株がどのような数式表現モデルに適合するかの検討を次に行った。

なお、シグモイド型か指数関数型かの生残曲線を見分ける方法として、前に述べたように(1)と(2)の方法でD値を求め、その比(1.1以上であればシグモイド曲線)によって区別できるものと考えられる。また、Table 1 より明らかなように、決定係数($r(1)$, $r(2)$)が0.98前後、残差平方和($S_E(1)$, $S_E(2)$)が0.2-0.3前後で指数関数型またはシグモイド型とに分れる指標値とすることができると考えられる。

5-2. シグモイド型生残曲線の数式表現モデルへの当てはめ

B. megaterium など実験で得られたデータを4で述べたプログラムに従い、各数式表現モデルへ当てはめた。この結果得られた、標的の大きさ(a)、標的数(m)およびヒット数(n)をTable 2, 3に示す。なお、Table 2では2変数関数型モデル、Table 3では3変数関数型モデルの結果を示した。Table 4には各モデルにおける残差平方和の値を示した。Table 4に挙げた残差平方和のうち最小の値を示すモデルが、その菌株の最適モデルである。Table 4から明らかなように、多重ヒット性1標的モデルに当てはまった菌株は2株、1ヒット性多重標的モデルに当てはまった菌株は5株、多重ヒット性多重標的モデルに当てはまった菌株は2株、修復モデルに当てはまった菌株は9株、サ

Table 3 Parameters obtained in the optimization of the observed data to models (3) and (5).

Bacillus Species	Strain	Multi-hit multi-target model (3)			Brynjolfsson model (5)		
		a, kGy ⁻¹	n, hits	m, targets	a, kGy ⁻¹	m, units	n, subunits
B. megaterium	s-25	2.19	4	2	0.68	3	7
B. megaterium	380	2.06	3	4	0.91	2	9
B. megaterium	386	1.59	2	2	0.78	2	4
B. megaterium	s-13	3.35	5	2	0.75	4	6
B. megaterium	376	2.21	2	2	1.20	2	5
B. megaterium	388	2.91	3	2	0.99	3	5
B. megaterium	s-89	3.58	6	2	0.55	7	6
B. megaterium	s-73	2.73	3	3	1.18	2	7
B. megaterium	IFO 12108	1.81	2	2	0.62	3	3
B. megaterium	803	1.81	2	2	0.62	3	3
B. megaterium	383	2.23	3	2	0.98	2	6
B. megaterium	384	3.55	6	4	1.32	2	28
B. megaterium	s-46	2.72	3	3	1.18	2	7
B. megaterium	371	2.50	3	2	0.56	5	4
B. megaterium	368	2.14	2	3	0.75	3	4
B. megaterium	366	5.29	8	2	0.58	10	6
B. megaterium	s-2	2.64	3	2	0.67	4	4
B. megaterium	378	3.04	4	2	0.72	4	5
B. megaterium	372	3.04	3	2	0.63	6	4
B. megaterium	377	3.64	4	2	0.59	7	4
B. megaterium	369	2.42	2	2	1.17	2	4
B. megaterium	988	5.33	7	2	0.69	8	6
B. stearothermophilus	ATCC 12980	1.54	2	2	0.54	3	3
B. thiaminolyticus	IFO 3115	1.84	2	2	0.91	2	4
B. stearothermophilus	ATCC 7953	2.63	3	3	1.17	2	8
B. cereus	ATCC 11778	2.59	3	2	1.14	2	6
B. thuringiensis	ATCC 13367	3.68	3	2	0.82	5	4

Table 4 Residual sums of squares calculated at optimized parameters in each model by the program.

Bacillus Species	Strain	Residual sum of squares			Haynes	Brynjolfsson
		Multi-hit	Multi-target	Multi-hit multi-target		
B. megaterium	s-25	0.0961	0.1050	0.0996	0.0982	0.0991
B. megaterium	380	0.0698	0.0391	0.0454	0.1268	0.0435
B. megaterium	386	0.2309	0.2217	0.2237	0.2189	0.2168
B. megaterium	s-13	0.0037	0.0104	0.0053	0.0189	0.0032
B. megaterium	376	0.0175	0.0104	0.0144	0.0208	0.0153
B. megaterium	388	0.0002	0.0028	0.0009	0.0012	0.0003
B. megaterium	s-89	0.0478	0.1090	0.0609	0.0704	0.0408
B. megaterium	s-73	0.0152	0.0128	0.0127	0.0276	0.0121
B. megaterium	IFO 12108	0.1944	0.1732	0.1845	0.1660	0.1743
B. megaterium	803	0.2967	0.2829	0.3188	0.2777	0.2821
B. megaterium	383	0.2513	0.2304	0.2388	0.2675	0.2301
B. megaterium	384	0.1479	0.8519	0.1081	0.3603	0.1102
B. megaterium	s-46	0.0955	0.0663	0.0802	0.1241	0.0749
B. megaterium	371	0.1278	0.2258	0.1530	0.0802	0.1112
B. megaterium	368	0.2419	0.2616	0.2385	0.2148	0.2185
B. megaterium	366	0.0953	0.2180	0.1180	0.1324	0.0746
B. megaterium	s-2	0.3102	0.3597	0.3253	0.2881	0.2995
B. megaterium	378	0.2315	0.2538	0.2297	0.2577	0.2231
B. megaterium	372	0.0247	0.0632	0.0339	0.0058	0.0172
B. megaterium	377	0.0319	0.0887	0.0527	0.0092	0.0241
B. megaterium	369	0.2158	0.1965	0.2013	0.1882	0.1931
B. megaterium	988	0.0287	0.1926	0.0431	0.0557	0.0182
B. stearothermophilus	ATCC 12980	0.0138	0.0089	0.0163	0.0091	0.0099
B. thiaminolyticus	IFO 3115	0.2105	0.1786	0.1948	0.2081	0.1970
B. stearothermophilus	ATCC 7953	0.0064	0.0038	0.0006	0.0239	0.0007
B. cereus	ATCC 11778	0.0926	0.0870	0.0867	0.1018	0.0831
B. thuringiensis	ATCC 13367	0.0255	0.0729	0.0368	0.0094	0.0231

ブユニットモデルに当てはまった菌株は9株であった。

そこで、Table 2, 3 の各値を基にして各菌株の最適数式表現モデルを求めた。この結果を、Table 5 に示す。

これらの式を用いて、シグモイド型および指数関数型の生残曲線を持つ微生物で混合汚染した医療用具の放射線滅菌線量の算出法について¹⁾は次報で述べる。

なお、Table 2-4 に示した結果を得るのに、通常のコンピュータを用いて短時間で演算可能

と考える。しかし、Table 2, 3 より明らかにように、B. megaterium のある菌株のデータを計算すると、標的数またはヒット数が 10^2 を越え、演算時間が多くかかった。このような大きな標的数が標的説への疑問の1つになっているが、緒言で述べたように、われわれはあくまでも数式表現として標的説を考えたので、残差平方和が最小となるまで計算を行い、その結果を示した。

また、残差平方和を大きくする原因としては、モデルへの不適合性にもよるが、またデータそ

Table 5 Suitable mathematical expression for the sigmoidal curves of Bacilli.

Bacillus		Strain	Suitable mathematical expression
Species			
B. megaterium		s-25	$S = e^{-2.60D} \sum_{x=0}^5 \frac{(2.60)^x}{x!}$
B. megaterium		380	$S = 1 - (1 - e^{-1.67D})^{33}$
B. megaterium		386	$S = \left 1 - (1 - e^{-0.78D})^2 \right ^4$
B. megaterium		s-13	$S = \left 1 - (1 - e^{-0.75D})^4 \right ^6$
B. megaterium		376	$S = 1 - (1 - e^{-1.97D})^7$
B. megaterium		388	$S = e^{-3.68D} \sum_{x=0}^4 \frac{(3.68D)^x}{x!}$
B. megaterium		s-89	$S = \left 1 - (1 - e^{-0.55D})^7 \right ^6$
B. megaterium		s-73	$S = \left 1 - (1 - e^{-1.18D})^2 \right ^7$
B. megaterium	IFO	12108	$S = \exp \{-1.60D + 2(1 - e^{-0.800D})\}$
B. megaterium		803	$S = \exp \{-1.61D + 2(1 - e^{-0.805D})\}$
B. megaterium		383	$S = \left 1 - (1 - e^{-0.98D})^2 \right ^6$
B. megaterium		384	$S = 1 - (1 - e^{-3.55D} \sum_{x=0}^5 \frac{(3.55)^x}{x!})^4$
B. megaterium		s-46	$S = 1 - (1 - e^{-2.16D})^{21}$
B. megaterium		371	$S = \exp \{-3.21D + 12(1 - e^{-0.268D})\}$
B. megaterium		368	$S = \exp \{-2.16D + 4(1 - e^{-0.540D})\}$
B. megaterium		366	$S = \left 1 - (1 - e^{-0.58D})^{10} \right ^6$
B. megaterium		s-2	$S = \exp \{-2.48D + 5(1 - e^{-0.496D})\}$
B. megaterium		378	$S = \left 1 - (1 - e^{-0.72D})^4 \right ^5$
B. megaterium		372	$S = \exp \{-4.46D + 16(1 - e^{-0.279D})\}$
B. megaterium		377	$S = \exp \{-5.68D + 27(1 - e^{-0.210D})\}$
B. megaterium		369	$S = \exp \{-2.16D + 2(1 - e^{-1.08D})\}$
B. megaterium		988	$S = \left 1 - (1 - e^{-0.69D})^8 \right ^6$
B. stearothermophilus	ATCC	12980	$S = 1 - (1 - e^{-1.23D})^4$
B. thiaminolyticus	IFO	3115	$S = 1 - (1 - e^{-1.59D})^6$
B. stearothermophilus	ATCC	7953	$S = 1 - (1 - e^{-2.63D} \sum_{x=0}^5 \frac{(2.63D)^x}{x!})^3$
B. cereus	ATCC	11778	$S = \left 1 - (1 - e^{-1.14D})^2 \right ^6$
B. thuringiensis	ATCC	13367	$S = \exp \{-4.42D + 10(1 - e^{-0.442D})\}$

もののバラツキにもよる。最小二乗法が適用されるのは計算値と測定値との差の変動が共通であるという仮定の上に成立っている。生残曲線では通常測定点が少ないので統計的検定を行うのに疑問がある。そこで、測定点をプロットしモデル曲線を描くことによって、異常点を経験的に知ることができるので、われわれのプログラムではグラフ化サブルーチンも設けた。

6. 結 語

医療用具の最適な滅菌線量の算出法の検討を行うため、シグモイド型曲線を示す *B. megaterium* などの菌株がどのような放射線抵抗性を示すか、またどのような標的説モデルに適合するかの検討を行った。

その結果、次のことが明らかになった。

1. *Bacillus* 属の生残曲線が全て単回帰に従うものとして、決定係数、残差平方和を求めた結果、シグモイド型と指数関数型から得られた各パラメータには差が認められた。また、原点を通る単回帰と平均点を通る単回帰から求めた

D値の比にも差が認められた。このことは、シグモイド型曲線を指数関数型とみなしD値を求めると場合によっては問題になるような誤差を生じる可能性があることを示している。

2. *B. megaterium* など 27 菌株のうち、9 株は修復モデルに最もよく適合し、9 株はサブユニットモデルに最もよく適合し、他の 9 株は 1 ヒット性多重標的モデル、多重ヒット性 1 標的モデル、多重ヒット性多重標的モデルにそれぞれ当てはまった。

3. シグモイド型曲線を示す菌株の放射線抵抗性を表現するモデル式のパラメーターを計算して示した。この数式表現モデルは、分子生物学的意味との対応が明確でないところもあるが、滅菌線量の算出の上で利用できるものと考えられる。

4. 標的説を軸とする 5 つのシグモイド型生残曲線に関する数式表現モデルへの、最小二乗法による当てはめ演算プログラムを作成した。そして、本プログラムが実用範囲で作動することが明らかになった。

(16) 医 器 学 Vol. 57, No. 8 (1987)

文 献

- 1) 厚生省薬務局審査第2課：医療用具製造申請の手引（第4版），91，薬事日報社，1987
- 2) 細渕和成，佐藤健二，北沢祐子，渡辺 潤：デイスポーザブル医材の放射線滅菌線量の検討（1），医器学，53（10），499-504，1983
- 3) 木川秋子，真室哲雄ほか：ダイアライザーの放射線滅菌線量の検討（II），医器学 56（9），415-419，1986
- 4) E. R. L. Gaughran, R. F. Morrissey: Sterilization of medical products, 34-102, Multi Science, 1981
- 5) Association for the advancement of medical instrumentation: Process control guidelines for gamma radiation sterilization of medical devices, RS-3/84, 1984
- 6) 細渕和成，岡充，古谷辰雄：デイスポーザブル医材の放射線滅菌線量の検討（II），医器学，54（7），311-317，1984
- 7) 岩崎義雄，細渕和成：デイスポーザブル医材の放射線滅菌線量の検討（III），医器学，55（5），244-250，1985
- 8) 細渕和成，岡充，金子昭，石渡浩：止血用パッドの Bioburden の調査とエチレンオキサイドガス滅菌，防菌防黴，12（11），529-535，1984
- 9) K. W. Davis, J. L. Whitby: The rationale and computer evaluation of a gamma irradiation sterilization dose determination method for medical devices using a substerilization incremental dose sterility test protocol, J. Applied Bacteriology, 57（1），31-50，1984
- 10) H. デルティンガー，H. ユンク（代谷次夫，天笠準平訳）：放射線生物学，12-68，東京大学出版会，1974
- 11) 近藤宗平：分子放射線生物学，63-76，東京大学出版会，1972
- 12) 岡充，後藤亮，山崎邦郎：Bacillus megaterium 芽胞の放射線抵抗性の評価，食品照射，9（1,2），43-48，1974
- 13) 細渕和成：バイオバーデン，放射線プロセスシンポジウム講演要旨集，22-25，1985
- 14) 岡充，山崎邦郎：好気性有芽胞菌の放射線感受性とその変動，昭和41-43年度文部省科学研究費総合研究報告書，9-22，1970
- 15) 細渕和成，岡充，金子昭：Bacillus 属の放射線とエチレンオキサイドガスの抵抗性の相関，防菌防黴，15（7），347-350，1987
- 16) 細渕和成，佐藤健二：汚染菌の放射線抵抗性測定用担体の検討，防菌防黴，8（11），485-488，1980
- 17) F. Dessauer: Uber einige Wirkungen von Strahlen I, Z. Phys., 12, 38, 1923
- 18) J. A. Crowther: The action of X-rays on Colpidium colpoda, Proc. Roy. Soc. B 100, 390, 1926
- 19) D. E. Lea: The action of radiation on living cells, 67-99, Cambridge at the university press, 1955
- 20) R. H. Haynes: The interpretation of microbial inactivation and recovery phenomena, Radiation Research Supplement, 6, 1-29, 1966
- 21) A. Brynjolfsson: Food preservation by irradiation vol 1, 227-239, IAEA, 1978