総 説

医薬品・化粧品ならびに医療用具等の 微生物汚染対策としての放射線の利用と現状[†]

石関忠一

国立衛生試験所衛生微生物部

158 東京都世田谷区上用賀 1-18-1

Key Words: microbiological contamination control, radiation, drugs, cosmetics medical devices, sterility testing, sterilization, disinfection

1. はじめに

医薬品・化粧品および医療用具等に対する微生物汚染対策としての放射線の利用は、通常その使用目的を滅菌あるいは滅菌という考え方で用いているのが現状と思われる。これら製品中の微生物汚染は法律的にみると医薬品・化粧品等に対しては薬事法第56条第6項¹⁾で、また医療用具では同法第65条第5項²⁾において明確にその定義がなされているように、病原菌汚染に対する対応が第1に考慮されなければならない点である。これらはさらに日本薬局方³⁾、各種の基準⁴⁾および規定⁵⁾によっても、それぞれの製品あるいは原料で個々に規格化されているものもある。しかしこれら製品はすべてが人体や動物への適用であることを考えれば、微生物学的には規制のあるなしに関係なく、医薬品等の製造および品質管理に関する基準、すなわち、医薬品の製造ならびに品質管理基準(GMP)⁶⁾の管理のもとで製造されなければならないことはいうまでもない。これらの中で最初に考慮しなければならないことは、滅菌や消毒という表現に対する理解度あるいは、その滅菌や除菌操作法に対する取り組み方ではなかろうかと思われる。一般にはこれらを混同して考えたり、あるいはまったく考慮しないで言葉として、単に使用しているむきも多々みうけられる。

これら製品の微生物汚染は、その汚染源が天然動植物由来か、あるいは合成方法によって製造されたもの

かによって、そのバイオバーデン(bioburden, 生物負荷, ここでは微生物汚染を示す)は大きく異なる⁷⁾。多くの公定書⁸⁾ではこの点を配慮して、放射線滅菌法も含めて、各種の滅菌には被滅菌物中のバイオバーデンを極力少なくするような管理を施し、滅菌、除菌あるいは消毒に用いる滅菌法のエネルギーを適正な強さのもとで使用するように指導し、しかもその滅菌効果には完全無菌性を求めようとする機運が最近、validation⁹⁾⁻¹¹⁾なる表現のもとで力説されるようになってきた。このことは滅菌に対する精度をより確実なものにし、滅菌処理後の製品によって起こるかもしれない微生物汚染による不測の障害を未然に防ぐ対策が、より科学的に確認されなければならないようになってきたともいえる。また、それらが最近の各種微生物汚染に対する対策としての考え方の基本となっているのではなかろうかと思われる。そこで、ここではこれら製品や原料に対する放射線による滅菌と消毒の現状を紹介し、そしてそれらの微生物学的安全性を求める手段としての品質管理、とくに無菌試験法の現状も合わせ紹介することにする。

2. 滅菌と消毒

滅菌については日本薬局方第10改正の定義として、「滅菌とは物質中のすべての微生物を殺滅または除去することを云う。更にこれらは無菌試験法によってその無菌性が確認されたものでなければならない」と明記されている。したがって医薬品等に対しては、滅菌という表現に対して2重のチェック方式によって滅菌を確認しなければその表現の使用は適正でないといえる。一方、消毒という表現については現在のところ衛生六法を見る限りでは、どこにもその定義はなされていないようである。そのため著者は日本薬局方第9改

[†] Radiation as a Microbiological Contamination Control of Drugs, Cosmetics and Medical Devices. Chuichi ISHIZEKI: Division of Microbiology, National Institute of Hygienic Science, 18-1, Kamiyoga 1-chome, Setagaya-ku, Tokyo 158, Japan.

正時の解説書¹²⁾の項にその定義として、「消毒とは人畜に対して有害な微生物または操作目的とする対象微生物だけを殺滅することを云う」と記載した。これについては滅菌法の確認と同じく、消毒にも、その実施後の効果を確認するための試験が必要になることは当然である。

現実これら滅菌と消毒とはその意とする内容を大きく異にしている。なぜなら、前者はすべての微生物が対象であるのに対し、後者は、限られた微生物のみを殺滅対象としているからである。なお、今回の主題である放射線についての規定は、「放射線滅菌法とは殺菌作用のある電離放射線を利用して行なう滅菌法を云う」と明記されており、放射性同位元素を含む線源からのγ線、陰極線などの照射によって微生物を殺滅するというように現状では理解されている。

放射線は近年、WHO¹³⁾を始め各国の薬局方中に放射線滅菌法として記載されようになり、北欧など一部の国では実施の段階に入っているところもある。現実性のあるところでは、オーストラリア¹⁴⁾で医薬品の滅菌への利用がGMP基準中に記載され、その中で滅菌を目的とするには20 kGy(2.0 Mrad)以上となっているように、各国で医療用具類を始めとして多くの分野で滅菌法として広く利用されるようになってきたが、わが国では医薬品の場合、それほど活用されておらず、多くは医療用具類や食品その他への利用が主のようである。利用性という面からみる限りでは、公定書への記載ということよりも、むしろ研究的な利用性にその主があるように思われる。

3. 放射線利用上の長所・短所¹⁵⁾

この滅菌法は非常に強い透過力と高いエネルギーによる方法であるので、この種の滅菌法に用いられる被滅菌物には限りがある。要は照射に耐えるものであれば滅菌(照射)対象となるが、この操作法で重要な点は被滅菌物の材質、性状、それに滅菌照射前のバイオバーデンの調査究明であるといえる。照射滅菌をより効果的に高い精度で求めるためには、できる限りバイオバーデンを少なくすることである。そのため照射線量と滅菌条件ならびに滅菌効果と材質(製品・原料)劣化について、あらかじめ十分な研究が必要である。これらはつぎのように要約できる。

3.1 長所

(1) 常温、常圧、空気の下で滅菌処理操作ができる。すなわち、加熱滅菌法と異なり高温、高圧を必

要としないので、冷滅菌(cold sterilization)として実施できる。

(2) 透過性が強く被滅菌物は使用単位ごとに密封包装されたもの、あるいは包装したものが、そのまま荷積みされた状態で照射滅菌できる。

(3) 連続滅菌工程処理ができる。すなわち、微生物を透過しない容器に被滅菌物を収納したものをコンベア工程に載せて同一条件下で連続して滅菌処理できる。

3.2 短所

(1) 照射エネルギーが強いため被滅菌物に変質、変形、劣化等を起こしやすい。

(2) 安全性の面から特殊な照射施設を必要とする。

以上に加えて微生物の菌種、菌数等、抵抗性についても配慮しなくてはならない。照射線量は菌種、菌株、培養条件、菌量等によって感受性が異なるため一様には論じられないが、放射線滅菌法の指標菌として公定法にも採用されている菌種をあげると、通常 *Bacillus* (以下、*B. sphaericus* C1-A、*B. pumilus* E-601、*Streptococcus faecium* A₂-1 等) があげられる。

これら指標菌の抵抗性は他の一般のバイオバーデンに比べれば、かなりの値で抵抗性の強いことが確認されている。Ley¹⁶⁾によれば表1、2および図1にみられるように相当に強い抵抗性値を示していることが分

表1 各種栄養型細菌と芽胞 10⁵ 個を減少させるために必要な照射線量に対する照射中の環境の影響

Organism	線量(Mrad)	照射環境
<i>S. typhimurium</i>	0.1	空気存在下での緩衝、菌懸濁液
	0.3	酸欠状態下での緩衝、菌懸濁液
	0.5	乾燥骨粉中
<i>S. faecium</i> A ₂ 1	0.6	空気存在下での緩衝、菌懸濁液
	1.9	酸欠状態下での緩衝、菌懸濁液
	3.0	乾燥血清中
<i>B. pumilus</i>	0.9	空気存在下での緩衝、菌懸濁液
	1.5	酸欠状態下での緩衝、菌懸濁液
	1.7	グリース中
<i>C. tetani</i>	1.0	空気存在下でのタルク中
(1 Mrad=10 kGy)		Ley (1971)

表 2 放射線滅菌法による無菌試験の結果（試験菌テストピースはプラスチック容器中に入れた）

試 験 菌	テストピース 当たりの試験 菌数†	21日間培養後の無菌性%（滅菌率）				
		対 照	1.0Mrad	1.5Mrad	2.0Mrad	2.5Mrad
<i>Pseudomonas pyocyaneus</i>	2.6×10^7	0	100	100	100	100
<i>Escherichia coli</i>	8.7×10^6	0	100	100	100	100
<i>Staphylococcus aureus</i>	1.1×10^7	0	100	100	100	100
<i>Streptococcus viridans</i>	1.2×10^7	0	100	100	100	100
<i>S. faecalis</i>	1.5×10^7	0	100	100	100	100
<i>Micrococcus cryophilis</i>	4.2×10^5	0	100	100	100	100
<i>Bacillus subtilis</i>	8.1×10^6	0	29	100	100	100
<i>B. globigii</i>	1.7×10^6	0	100	100	100	100
<i>B. pumilus</i> E 601	5.8×10^7	0	72	97	94	100
<i>B. stearothermophilus</i>	1.6×10^5	0	90	100	100	100
<i>Clostridium welchii</i>	2.3×10^5	0	0	68	100	100
<i>C. tetani</i>	3.2×10^5	0	100	100	100	100

† 各試験菌当たり100個のテストピースが線量ごとに照射された Darmady (1961)
(1 Mrad=10 kGy)

図 1 空気存在下において緩衝菌懸濁液の照射後に求められた生存曲線を線量で示した各種細菌間の照射感受性の差。Ley (1971)

かる。この表や図中の数値は照射線量に対する滅菌効率を表したものであるが、その値は低いほうが放射線抵抗性の強いことを示している。そしてこれら抵抗性はさらに多くの環境因子によっても影響を受けることが Emborg¹⁷⁾ や Stratford¹⁸⁾ らによって明らかにされていることから分かるように、被滅菌物はバイオバーデンをできるだけ低くし、清潔な状態で滅菌処理する

必要が生ずる。もちろんバイオバーデンが高ければ、それなりに滅菌に必要なエネルギーも高くする必要があり、かつ長時間処理が必要になり、そのため被滅菌物に与える影響も相当に苛酷な条件となる点等を考えておくべきであろうと思う。

4. 医薬品等への放射線の照射例

医薬品は微生物学的にみると無菌製剤と非無菌製剤に大きく分けられる。前者は各種滅菌法および無菌操作法によって調製されるとともに、無菌試験法の適用指定製剤ともなり無菌性の保証が必要になる。一方、非無菌製剤では微生物学的には一部の内用液剤、X線造影剤を除いては特別配慮されていない。また、無菌製剤にはさらに滅菌法等の適用以外に GMP 基準によって清浄度の高い構造設備と環境、それに微生物学的品質管理が要求され、無菌性の確認と保証を製造面からフォローすることが必須な条件となっている。各種医薬品を製剤別に滅菌する操作法としては英国薬局方 (BP)¹⁹⁾ Codex の各条中にそれらの製品および滅菌法が指示されている以外、品目ごとに滅菌法が指示された公定法は見当たらない。しかし医薬品等はその使用が患者にある以上、一部の細菌添加生菌製剤を除いては厳しい微生物管理がなされるべきである点は前にもふれた通りである。そこで、ここでは放射線滅菌が医薬品中で、どのような種類の製品あるいは原料に多く照射研究されているかを著者の少ない資料ではあるが紹介してみたいと思う。

まず公定書よりみてみるとヨーロッパ薬局方 (EP)²⁰⁾

や Federal Register²¹⁾ ではテトラサイクリンおよびパラフィンを基剤としたテトラサイクリン加軟膏を滅菌するには 25 kGy (2.5 Mrad) の照射で基準とした無菌にすることができることを記載している。Jacobs²²⁾ はテトラサイクリン塩酸塩に 10 kGy (1.0 Mrad) および 25 kGy (2.5 Mrad) 照射した結果を物理化学的な面からその分解について薄層クロマトグラフィ法を用いて測定したが、化学的には安定であったと報告している。Boldwin²³⁾ らはバシトランシン Mn および Zn 塩類の抗生物質に対しては照射前の活性単位が 59 単位/mg であったものが、12.5 kGy (1.25 Mrad) の照射でも 56 単位/mg の活性を保持していたと報告している。Griogorova²⁴⁾ はゲンタマイシン硫酸塩の眼軟膏に 25 kGy (2.5 Mrad) 照射した場合、また固形製品の場合は 40 kGy (4.0 Mrad) の照射でも、いずれの場合も活性の低下は認められなかったとしている。

ステロイド系ホルモン製剤への照射研究をみると、テストステロンに対して Saad²⁵⁾ らはこのホルモンをオイル溶液にしたものに 25 kGy (2.5 Mrad) 照射し、その無菌化に成功しているほか、Khayyal²⁶⁾ らはデキサメタゾンに対して 15-50 kGy (1.5-5.0 Mrad) を照射し、その化合物の活性をグルココルチコイド活性測定から研究した結果では影響を認めなかったと報告している。

ゼラチンについてみると、それが顆粒状の場合、色の変化、粘度の低下、それもゼリー強度等に若干の変化がみられたものの、その変化の程度は BP²⁷⁾ の規定内にあったと報告されている。また、アカシアやアラビアゴム等に対しては 25 kGy (2.5 Mrad) を照射した場合、粘度で約 16% の低下が生じたことを Hartman²⁸⁾ が報告している。

酵素類の場合では Ueno²⁹⁾ がプロテアーゼおよびアミラーゼ等に照射を行った研究では、テルモアーゼの場合 30 kGy (3.0 Mrad) では、活性低下は 10% 以下であったのに対し、プロテアーゼは 20-22%、アミラーゼは 24-42% に、活性低下を認めた報告をしている一方、Troikski³⁰⁾ はプロテアーゼ製品 (*Aspergillus oryzae* 由来) への γ 線照射では 10 kGy (1.0 Mrad) で 7.3% の活性減弱を認めたとしている。Sakai³¹⁾ は医薬品製剤およびそれに用いる生原料の微生物汚染に対する研究において γ 線による影響を究明し、4 種の酵素タカジアスターゼ、トリプシン、パパインそれにペプシン等では 2 kGy (200 krad) 照射の場合、酵素活性に影響を与えなかったとしている。さらに天然物由来の生原料については Wozniak-Parnowska³²⁾ の報告

がある。その中では肝臓エキス、膵臓エキス、それに乾燥甲状腺等に対して 9.6 kGy (0.96 Mrad) の電離放射線を照射した場合、ほとんどの汚染菌を陰性にするまでの殺菌効果を示したとしている。

放射線照射による薬剤の安定性という面での研究では Morimoto³³⁾ の報告がある。たとえば酵素としてはトリプシン、キモトリプシン、プロメライン、それにカリクレイン等に対して研究した結果では、これら酵素が溶液の状態では照射された場合、100 kGy (10 krad) で活性低下を起こし、トリプシンとカリクレインは 500 Gy (50 krad) で完全に不活性化され、キモトリプシンやプロメライン等は 1 kGy (100 krad) 照射で完全に失活したとしている。しかし、これらも粉末乾燥状態のものに照射した場合は 5 kGy (500 krad) 以上でも酵素活性に変化を認めず、10 kGy (1.0 Mrad) 照射でも各酵素とも 90% 以上の活性を保ち、本質的な活性は 50 kGy (5.0 Mrad) 照射後でも保持していたと報告している。

薬剤の安定性を抗菌活性との比較の面から究明した報告もある。著者³⁴⁾ は食品防腐剤として一般に多用されているソルビン酸について、その安定性を水溶液に照射した場合について研究し、7-13 kGy (7×10^5 - 13×10^5 rad) の γ 線照射で、ソルビン酸自体はほとんど分解してしまうのに対し、抗菌活性の面では逆にソルビン酸のもつ抗菌活性よりも強い活性物質の生成をも示唆できる変化の起こることを報告した。細渕³⁵⁾ は各種の殺菌消毒剤に γ 線を照射し、クロールヘキシジン・グルコネートは 10 kGy (10^6 rad) で容易に分解することを認めたほか、メチルロザニリン³⁶⁾、塩化ベンザルコニウム³⁷⁾、ポビドンヨード溶液³⁸⁾ 等についての安定性の研究も行っている。

Gopal³⁹⁾ は医薬品の放射線滅菌とポリマーという総説を発表しているが、その中で医薬品は固体状のものに照射した場合、抗生物質では 25-50 kGy (2.5-5.0 Mrad) (ただし、テトラサイクリンは 10-25 kGy (1.0-2.5 Mrad)、ステロイド系は 10-50 kGy (1.0-5.0 Mrad)、酵素類 10-30 kGy (1.0-3.0 Mrad) (種類によって異なる)、オイル 10-100 kGy (1.0-10.0 Mrad) (ただし 100 kGy (10 Mrad) では分解するものあり)、炭水化物 25 kGy (2.5 Mrad) までは安定 (種類によって異なる)、ゼラチン 10 kGy (1.0 Mrad) まで安定、30 kGy (3.0 Mrad) になると分解するものもあり、miscellaneous 25-50 kGy (2.5-5.0 Mrad) で安定 (種類によって異なる) 等、詳細な報告をしている。さらに抗生物質、ビタミン、それにホルモン等を含めた各

種化合物数百種の放射線照射による分解に関する研究結果とその文献集が Heinrich や Werner ら⁴⁰⁾⁻⁴²⁾によって収録されているが、これらは今後、化学物質の分解についてのよき研究指針になるものと思われる。

以上の報告例はいずれも滅菌なる表題あるいは分解についての照射事例である。ただし、安定性の報告例は必ずしも滅菌とは関係があるものばかりでない。そこでつぎに、滅菌とは表現されていないが微生物汚染に関係するものとしてつぎのような事例もある。

生薬原料(牛黄)に対する放射線殺菌の研究として木村ら⁴³⁾はつぎのように報告している。その中で牛黄中の主成分であるビリルビンおよび胆汁酸のうちのコール酸、デオキシコール酸およびリトコール酸等は固体粉末状での照射の場合、ビリルビンは 20 kGy (2.0 Mrad) 以下、また胆汁酸は 50 kGy (5.0 Mrad) 以下で安定であったと報告している。

一方、化粧品分野における放射線の利用は、数としてはあまり報告例をみないが、Prince ら⁴⁴⁾は眼製品の微生物管理で、それら製品の製造に放射線を応用し、2 kGy (0.2 Mrad) の照射ではほとんどの菌が殺滅できたとしている。また Kinsman⁴⁵⁾は化粧品の滅菌および防腐と題して放射線の利用を報告しているが、その中では微生物汚染菌の種類によっても異なるが、45-56 kGy (4.5-5.6 Mrad) の照射線量を用いれば十分な汚染防止ができると報告している。

著者⁴⁶⁾は過去通算 5 か年間にわたって科学技術庁・原子力平和利用研究の一環として医薬品・化粧品の微生物汚染防止に関する研究において各種の医薬品原料を対象に研究を重ねてきた。これらを要約すると微生

物汚染防止という面で殺菌にその主目標をおいた原材料に対する照射研究と、これに加えて化学的に有効成分の分解も同時に測定確認する方法を併用した研究を行った。なお著者が目標とした研究は滅菌ではなく汚染菌の殺滅と薬効有効成分の保持、すなわち有害微生物のみを殺滅し、しかも各種薬効成分に変化を与えない殺菌有効照射線量の選定にあったことを付記する。

(1) 生薬に対する放射線の影響をみると、漢薬系医薬原料植物に対する放射線の殺菌効果と主要成分については表 3-4 にみられるように各生薬とも 5 kGy (500 krad) 以下の照射線量ではほとんどの汚染細菌は殺滅され、10 kGy (1.0 Mrad) になると、一般生菌測定方法では検出できなくなるまでの殺菌効果を示した。これに対し有効成分への影響を一部の生薬、すなわちケイヒ、オーレン、オーバク、それにカンゾウについて実験した結果を分析定量値よりみてみると、ケイヒの場合 シンナミナルデヒドでは照射 10 kGy (1.0 Mrad) でもその含量値には著明な変化はみられなかった。同時に研究した精油含量でも変化はみられなかった。さらにオーレン、オーバクでは主成分としてベルベリン含量を、またカンゾウではグリチルリチン含量を測定した結果を表 5 からみてみると、照射 500 Gy (50 krad) から最高照射 10 kGy (1.0 Mrad) までの結果では、各成分の含量変化にはまったく異常はみられなかった。つぎにこれら生薬に放射線滅菌法としてその滅菌指標菌に用いられている *B. pumilus* を実験的に 10^4 - 10^5 個/g 当たり汚染させた場合の生薬試料に対し放射線を照射する実験も試みてみた。この試験の目的は指標菌が生薬のような天然植物原体を媒体として照

表 3 漢薬系原料植物に対する放射線(γ線)の殺菌効果(細菌)

品 目	照 射 前 生 菌 数	種々線量照射後の生菌数の推移					
		10 krad	50 krad	100 krad	500 krad	1 Mrad	2.5 Mrad
センナ	4.7×10^4	$< 1.0 \times 10^2$	$< 1.0 \times 10^2$	$< 1.0 \times 10^2$	$< 1.0 \times 10^2$	$< 1.0 \times 10^2$	—
チンピ	4.5×10^6	8.3×10^5	6.9×10^5	7.3×10^5	$< 1.0 \times 10^2$	$< 1.0 \times 10^2$	—
オーバク	3.7×10^6	1.9×10^5	5.9×10^4	6.7×10^4	$< 1.0 \times 10^2$	$< 1.0 \times 10^2$	—
ゲンチアナ末	2.4×10^6	1.6×10^5	8.9×10^4	1.2×10^5	$< 1.0 \times 10^2$	$< 1.0 \times 10^2$	—
カンゾウ	2.4×10^4	6.8×10^3	8.2×10^2	$< 1.0 \times 10^2$	$< 1.0 \times 10^2$	$< 1.0 \times 10^2$	—
ショウキョウ	1.3×10^5	6.8×10^3	8.2×10^3	9.2×10^3	$< 1.0 \times 10^2$	$< 1.0 \times 10^2$	—
シャクヤク	9.9×10^2	8.7×10^2	6.1×10^2	3.2×10^2	$< 1.0 \times 10^2$	$< 1.0 \times 10^2$	—
ブクリョウ	1.1×10^3	1.4×10^3	8.1×10^2	3.9×10^2	$< 1.0 \times 10^2$	$< 1.0 \times 10^2$	—
カンゾウ	1.4×10^5	9.1×10^4	8.6×10^4	8.8×10^2	$< 1.0 \times 10^2$	$< 1.0 \times 10^2$	—
ケイヒ	4.6×10^4	9.8×10^3	6.9×10^2	2.9×10^2	$< 1.0 \times 10^2$	$< 1.0 \times 10^2$	—
サンシュユ	2.3×10^2	3.7×10^2	4.1×10^2	1.6×10^2	$< 1.0 \times 10^2$	$< 1.0 \times 10^2$	—
ソウキョウ	6.4×10^2	7.2×10^2	2.7×10^2	$< 1.0 \times 10^2$	$< 1.0 \times 10^2$	$< 1.0 \times 10^2$	—
ジオウ	7.6×10^2	6.9×10^2	7.0×10^2	4.2×10^2	$< 1.0 \times 10^2$	$< 1.0 \times 10^2$	—

表中数値は試料 1 g 当たりの生菌数：—とは無菌試験結果の陰性を示す

(10 krad=100 Gy)

表4 ケイヒ中の成分含量に対する放射線(γ線)の影響

	シンナミナルデヒド		精油含量 (ml)
	含量実測値(%)	含量平均値(%)	
照射前	0.6291%	0.6135	0.74
	0.5978		
照射後	0.5738	0.5643	0.76
(1 Mrad)	0.5548		

(1 Mrad=10kGy)

表5 ロットを異にする生薬原料に対する放射線(γ線)の影響(主要活性成分含量の変化)

照射線量	生薬名 オーレン (ペルベ リン)	オーバク (ペルベ リン)	カンゾウ (グリチル リチン)
照射前	6.0	3.2	2.9
照射 50 krad	6.0	3.1	2.9
100 krad	5.9	3.2	2.9
500 krad	6.0	3.2	2.7
1 Mrad	6.0	3.2	2.7

表中数値は含量成分%を示す(10krad=100Gy)

表6 *B. pumilus* E601の実験的汚染生薬原料に対する放射線(γ線)の影響(殺菌効果)

生薬名 照射線量	オーレン	オーバク	カンゾウ
照射前	6.8×10^4	7.6×10^5	8.3×10^5
照射 50 krad	5.4×10^4	3.5×10^5	7.4×10^5
100 krad	6.0×10^4	3.3×10^5	3.2×10^5
500 krad	6.5×10^2	3.9×10^3	1.5×10^4
1 Mrad	$<1.0 \times 10^2$	$<1.0 \times 10^2$	4.1×10^2

表中数値は試料 1g 当たりの生菌数

(10krad=100Gy)

表7 *B. pumilus* E601の実験的汚染生薬原料に対する放射線(γ線)の影響(主要活性成分含量の変化)

照射線量	生薬名 オーレン (ペルベ リン)	オーバク (ペルベ リン)	カンゾウ (グリチル リチン)
照射前	4.8	2.3	4.5
照射 50 krad	4.8	2.1	4.2
100 krad	4.7	2.1	4.2
500 krad	4.7	2.2	4.3
1 Mrad	4.7	2.1	4.2
C.V. 変動係数	3.4	4.0	4.0

表中数値は%を示す

(10krad=100Gy)

表8 各種酵素に対する放射線(γ線)の影響(殺菌効果)

線量 菌種	照射前		50 krad		100 krad		500 krad		1 Mrad	
	B	F	B	F	B	F	B	F	B	F
酵素別										
プロメライン	1.4×10^3	1.1×10^3	8.6×10^3	5.6×10^3	2.5×10^3	1.7×10^3	5.2×10^2	3.3×10^2	$<1.0 \times 10^2$	$<1.0 \times 10^2$
日局パンクレアチン	1.2×10^2	1.1×10^2	6.2×10^2	1.7×10^2	$<1.0 \times 10^2$	$<1.0 \times 10^2$	$<1.0 \times 10^2$	$<1.0 \times 10^2$	$<1.0 \times 10^2$	$<1.0 \times 10^2$
パンクレアチン	3.8×10^3	1.7×10^2	2.9×10^3	1.2×10^2	7.6×10^2	$<1.0 \times 10^2$	$<1.0 \times 10^2$	$<1.0 \times 10^2$	$<1.0 \times 10^2$	$<1.0 \times 10^2$

表中数値は試料 1g 当たりの生菌数 B: 細菌 F: 真菌

(10krad=100Gy)

射された場合の殺菌効果の減衰と合わせ主要有効成分への影響を究明するのが大きな目標であったが、その結果は表6-7にも示されているように殺菌効果ならびに有効成分ともに照射によると思われる影響は確認されていない。

(2) 酵素類に対する放射線の影響ではプロメライン、日局パンクレアチン等についての殺菌効果を表8からみると、生薬系に対する殺菌効果と同じく各酵素とも5kGy(500krad)の照射ではほとんどの汚染微生物は殺滅し、10kGy(1.0Mrad)ではいずれの酵素も細菌、真菌ともに 1.0×10^2 以下に減菌する効果を得た。これに対し照射後の酵素活性の変化を表9からみると

測定項目とした乾燥減量、デンプン糖化力、タンパク消化力、それに脂肪消化力等の活性は最高照射線量10kGy(1.0Mrad)でも照射前の活性値と大差ない結果が得られている。したがって、本実験に用いた酵素類は測定値よりみる限りでは照射によると考えられる変化は確認できなかった。

以上、医薬品等に対する利用は被滅菌物中の有効成分に影響を与えないことが重要で、それがさらに異種物質の生成といった問題にも配慮する必要があり、化学変化の究明という重要課題も含めて、最終的には安全性と有効性が確認されなければならないのが医薬品の照射に対する課題である。このように、医薬品等は

表 9 各種酵素に対する放射線(γ線)の影響(成分, 分析定量値)

酵 素 別	測 定 項 目	照射前	照 射 線 量 (rad)			
			50 k	100 k	500 k	1 M
プロメライン	乾燥減量	5.10	5.00	5.20	5.10	5.00
	タンパク消化力	865	9.05	877	888	862
日局パングレアチン	乾燥減量	2.60	2.40	2.70	2.10	2.40
	デンプン糖化力	11100	10700	11000	10300	9560
	タンパク消化力	1.07	1.03	1.02	1.01	0.99
	脂肪消化力	8800	8800	8800	8150	8800
パングレアチン	乾燥減量	3.80	3.80	3.80	3.90	4.00
	デンプン糖化力	44300	44500	43400	41400	39800
	タンパク消化力	4.19	4.23	4.10	4.13	3.92
	脂肪消化力	36600	36100	30600	31100	29200

乾燥減量: P_2O_5 減圧法, 数値% プロメラインのタンパク消化力: 国立衛試法, 単位 U/mg

デンプン糖化力: FLS pH 7.0, 単位 U/g 脂肪消化力: 天野法 pH 8.0, 単位 U/g

パングレアチンのタンパク消化力: 日本薬局方, 単位は倍数を示す

(10 krad=100Gy)

必ずしも滅菌に至るまでの照射条件を必要としないものがあり, 汚染微生物の滅菌か, あるいは消毒的な照射条件にその使用目的を考慮しなければならない場合もあるのが医薬品であると思われる。もちろん完全無菌を目的とした使用法が必要でないということではなく, その品目は少なくないという意味である。

5. 医療用具類への放射線照射例

滅菌を目的とするか, あるいは滅菌という表現が的確に使用できる対象被滅菌物は何かと考えてみれば, それは医療用具類であるといえる。それは用具類のすべてが生体内使用上, 絶対無菌性として求められるからである。しかし滅菌に必要な照射条件をとみれば, これは医薬品の場合と同じ考え方が必要になる。用具類の素材に変化を与えることなく, 異種物質を生成せず, しかも用具としての医療上の機能に支障を来たさず, 完全滅菌ができる方法が滅菌処理条件として求められるわけである。医療用具類の滅菌は1品目ごとに厚生省の製造承認を得なければならないことはいうまでもない。同時にその製造工程では製品に対する滅菌方法と, 滅菌処理後の無菌化への精度ならびに安全性といった無菌製品の製造にふさわしい科学性が求められることも当然である。ここでこの滅菌の科学性について若干ふれておきたいと思う。最近, 欧米では滅菌方法に対する科学的確認法ともいえる課題が取り上げられ, validation なる表現のもとでその確認法が具体的, 技術的にマニュアル化し, 実施の段階に入ったといっても過言ではないと思う。医療用具類の滅菌にこ

の validation が具体化していることも事実であるが, アメリカでは注射剤を含めて無菌製剤全体に対する考え方で具体化しているといえる。

滅菌法は加熱法の場合, 大きく分けて加熱滅菌条件 121°C, 20分以上に耐えるものを一応安定なものとし, それ以下の低温処理は不安定製剤として2つに大別できる。放射線滅菌法の場合は高線量照射が可能な被滅菌物は加熱法でいうオーバーキル法に相当し, 高線量照射のできない被滅菌物を不安定製剤と考えるのが妥当かもしれない。しかし, これら高低線量照射レベル, すなわち境界にある線量がどこにあるのかは一般には論じられていない。通常多くの国で放射線滅菌に用いる滅菌線量といえば, それは20または 25 kGy(2.0または 2.5 Mrad) 以上をもって滅菌線量と考えている報告例が多いことは一つ目の目安値でもあったと考えられる。今日滅菌なる表現を数理的に正しく理解するのであれば, それはバリデーションマニュアルでいうオーバーキル法, すなわち 10^{-6} 以下の確率にバイオバーデンを殺滅する能力をもつことが一般的な概念となっているといえる。いいかえれば滅菌の保証を $10^{-6}=0.000001$, すなわち99.9999%以下にする精度をもった滅菌方法が必要になることである。

医療用具類の放射線による滅菌は1950年代にアメリカで初めて腸線縫合糸(豚・羊・馬等の腸管漿液膜より糸状に製した吸収性の縫合糸のこと)の滅菌に用いられたのが始まりであるといわれている。その後, 数多くの研究が行われるようになった。Darmadyら⁴⁷⁾は医療用具類の放射線滅菌には25 kGy(2.5 Mrad)が必

要であるとし、その理由として放射線抵抗性菌 *B. pumilus*(E.601)株の芽胞を用いた抵抗性実験例を示した他、各種の菌を試験菌として用いた研究の結果の線量であることを報告している。Duggan ら⁴⁹⁾は試験菌に *M. radiodurans* と *Strept. faecium* を用いて、これらの菌が照射媒体中の血清やタンパク質添加によって菌に抵抗性の増加がみられたとの報告をしている。Ley⁴⁹⁾⁻⁵¹⁾も製品中の汚染菌の他、6種の菌を試験菌として用いた抵抗性の研究を行い、放射線抵抗性に関与するものとして環境因子等の影響も合わせて考えるべきであることを報告している。さらにLey⁵²⁾は放射線抵抗性は包装材料の素材によっても影響を受けることを究明している。Borick ら⁵³⁾は外科用の縫合糸の滅菌について報告した後、Fogarty⁵⁴⁾はデスポーザブル注射器および注射針に放射線滅菌を行い、その照射

方法として被滅菌物を密閉包装した場合と開放形の両方で照射し、しかも照射線量を5-35kGy (0.5-3.5 Mrad)について幅広く研究を行っている。滅菌を目的として放射線照射を研究し、あるいは応用化するためには、まず第1に考えなければならないことは容器、あるいは包装材料の問題ではなからうかと思われる。最近の高分子化学の発達により医薬品、医療用具分野でも無菌製品の容器、包装に高分子材料が多くみられるようになってきた。それは従来用いられてきたガラス製の容器が次第に使用例が少なくなり、最近ではそれにかわって樹脂系の容器、包装材料が数多く使用されるようになってきたといえる。そこでここでは、これらに関連した放射線の影響について Gopal³⁹⁾の報告を紹介してみたいと思う。表10では最も一般に用いられている容器、包材の素材であるポリマーに対する放

表 10 放射線滅菌に対するポリマーの安定性

1	優れた抵抗力をもつポリマー：ポリスチレン、エポキシ樹脂、ポリウレタンゴム、天然ゴム、ニトリルゴム、スチレン-ブタジンゴム
2	通常の抵抗力をもったポリマー：エチレン・ビニルアセテート、スチレンアクリロニトリル、フェノールホルムアルデヒド、尿素ホルムアルデヒド、ポリ(エチレンテレフタレート)、ポリ(フェニレンオキサイド)、シリコンゴム、ネオプレンゴム、メチルフェノールシリコン
3	抵抗力に欠けるポリマー：ポリ(4-メチルペンテン)、ポリ(メチルメタアクリレート)、アクリロニトリルブタジン、スチレン、ポリカーボネート、PVC(ポリアミド)、ポリプロピレン(境界線上)、セルロース、セルロースアセテート
4	まったく抵抗力のないポリマー(分解しやすいポリマー)：ポリ(ビニリデンクロライド)、ポリ(テトラフルオロエチレン)、ブチルゴム、アセタルコポリマー

Gopal (1978)

表 11 薬事法により定められた医療用具の微生物的規準(1983)

医療用具名	年代, 厚生省告示	滅菌法の指示	無菌試験法の指示内容
デスポーザブル注射針	S 45, 第443号	あり(高, EO, 放)	日局
デスポーザブル注射筒	S 45, 第443号	あり(高, EO, 放)	日局
デスポーザブル輸血セットおよび輸液セット	S 45, 第301号	なし: 注(高, EO)	日局および指定方法
デスポーザブル採血用器具	S 45, 第300号	なし: 注もなし	日局および指定方法
採血用器具および輸血用器具	S 35-40改, 113-449号	なし	なし
塩化ビニル樹脂製血液セット	S 40-42改, 448-134号	あり(高)	なし(微生物透過性試験)
人工心肺用デスポーザブルセット	S 46, 第278号	なし: 注(EO)	日局および指定方法
医療用接着剤	S 45, 第229号	なし: 注もなし	なし
視力補正用コンタクトレンズ	S 45, 第302号	なし: 注もなし	なし
プラスチック製縫合糸	S 45, 第444号	なし: 注(高, EO, 放)	日局および指定方法
ラテックス製コンドーム	S 36, 第414号	なし: 注もなし	なし
ダチベッサリー	S 36, 第415号	なし: 注もなし	なし
月経処理用タンポン	S 45-49改, 303-251号	なし: 注もなし	なし
生理処理用品	S 41, 第285号	なし: 注もなし	なし
人工心臓弁	S 47, 第329号	なし: 注もなし	日局および指定方法
心臓ペースメーカー	S 51, 第101号	なし: 注もなし	なし
医療用人工血管	S 45, 第298号	なし: 注(高, 煮沸)	なし

表12 基準が定められない医療用具および衛生材料に対する微生物試験の指示 (1983)

用具ならびに材料名	滅菌法の指示	無菌試験の記載
子宮内避妊器具(IUD)	放, EO	日局および指定の方法
ソフトコンタクトレンズ	なし	日局
眼内レンズ	(進行中)	
滅菌済絹性縫合糸	注(高, 放)	日局
吸収性縫合糸	放, EO	日局
透析型人工腎臓装置	EO, 放	日局および指定の方法
医療用不織布	なし	なし
清浄用綿類 (医薬部外品)	高	日局
産褥用綿	なし	なし
紙おしめ	なし	なし
包帯	なし	なし
プラスチック絆創膏	なし	なし
医療用ゴム	なし	なし
医療用X線装置	なし	なし

注) 病院で滅菌の可能な製品は除外してある

射線の影響をあげてみた。放射線照射はそのエネルギーが強いため多くの素材に影響を与えることが報告されているが、その最も身近なものとしてはガラスがある。通常ガラスは茶褐色に変色することが知られている。そのためガラスを容器素材とする製品には使用できないのが現状である。この報告ではポリマーに対して放射線による影響の難易性からこれを4段階に分けている。すなわち放射線照射がポリマーに対してまったく影響を与えなかった事例(放射線に抵抗性をもったポリマー、または放射線照射を行っても安定しているポリマー)から放射線照射によってポリマーが簡単に分解してしまう例等について分解の度合を分けて紹介しているのがこの報告である。

現在わが国で医療用具として分類されている製品に放射線滅菌が許可されているものをあげると表11-12のようになる。なお、ここでは参考までに医療用具類について厚生省告示により規定された他の滅菌処理法のものも合わせて参考に供した⁵⁵⁾。

6. 滅菌の確認

通常つぎの3つの方法によって行いが、最終判断は無菌試験法の結果による。

- (1) 物理・化学的インジケータによる方法
- (2) 生物学的インジケータによる方法
- (3) 無菌試験法による方法⁵⁶⁾

7. おわりに

放射線照射した被滅菌物はその照射の目的に対応した微生物学的確認法が実施されなければならない。そして物理化学的に被滅菌物の材質劣化、成分変化、それに異種物質の生成等、総合的に安全性の評価を行うことが重要である。微生物に対する放射線はその長所・短所を有効に生かせば、微生物汚染の対策としては非常に価値ある滅菌、あるいは滅菌操作法となり得る可能性をもっていると考えられる。したがって、治療・予防医学の面における放射線は滅菌あるいは滅菌というカテゴリーから、われわれ人類を微生物汚染、さらには感染から護るよき手法として利用されると思われる。とくに微生物の殺滅に必要なエネルギーを主軸にした場合の被滅菌物に対する化学的、毒性学的究明はその急務でもある。放射線の滅菌分野への応用は今後、一層幅広い研究の進展と合わせ科学的究明を期待して稿を終る。

文 献

- 1) 薬事法(昭和54年公布改正)昭和55年9月30日施行, 厚生省
- 2) 薬事法(昭和35年公布改正), 厚生省
- 3) 日本薬局方第10改正(昭和56年), 厚生省
- 4) 日本抗生物質医薬品基準解説, 厚生省(1982)
- 5) 薬務局長通知, 薬発第297号(昭和51年) 厚生省
- 6) GMP 医薬品の製造及び品質管理に関する基準(昭和51年), 厚生省
- 7) 倉田 浩, 他: 衛生試験所報告, 96, 1 (1978)
- 8) Pharmacopeia, U.S.: XII (1985)
- 9) Parenteral Drug Assoc.: Technical Monograph No. 1, Herstellung, Berlin (1978)
- 10) Broker, C.G.: *J. Parent. Sci. Tech.*, 35, 167 (1981)
- 11) Federal Register: 41, 22202 (1976)
- 12) 日本公定書協会編「日本薬局方, 解説書」, p. B-571 (昭和56年), 広川書店, 東京 (1981)
- 13) WHO/Pharm/73, 474 (1973)
- 14) GMP オーストラリアガイドライン (1971)
- 15) 倉田 浩, 他: 「医薬品・化粧品微生物試験法」, p. 210, 講談社サイエンティフィック, 東京 (1977)
- 16) Ley, F.J.: *J. Soc. Cosmet. Chem.*, 22, 711 (1971)
- 17) Emborg, C.: *App. Microbiology*, 27, 830

- (1974)
- 18) Stratford, I.J.: *J. Pharm. Pharmac.*, **26**, Suppl., 103 (1974)
- 19) British Pharmacopeia Coedx (1980)
- 20) European Pharmacopeia (Suppl.) Vol. II (1973)
- 21) Federal Register, **39**, 3935 (1974)
- 22) Jacobs, G.P.: *J. Pharm. Pharmac.*, **28**, 7 (1976)
- 23) Baldwin, R.S.: *Chem. Abstr.*, **80**, 112688 (1974)
- 24) Griogorova, P., et al.: *Chem. Abstr.*, **85**, 68209 (1976)
- 25) Saad, S.F.: *Chem. Abstr.*, **87**, 141259(1977)
- 26) Khayyal, M.T.: *ibid.*, **87**, 122772 (1977)
- 27) British Pharmacopeia Appendix XVII, A137, p. 215 (1973)
- 28) Hartman, A.W., et al.: *J. Pharm. Sci.*, **64**, 802 (1975)
- 29) Ueno, T., et al.: *Chem. Abstr.*, **85**, 89411 (1976)
- 30) Troikski, N.A., et al.: *ibid.*, **85**, 89343(1976)
- 31) Sakai, T., et al.: *Chem. Pharm. Bull.*, **26**, 1130 (1978)
- 32) Wozniak-Parnowska, W., et al.: *Acta Microbiologica Polonica*, **27**, 161 (1978)
- 33) Morimoto, K., et al.: *Chem. Pharm. Bull.*, **28**, 1304 (1980)
- 34) 石関忠一, 他：衛生化学, **18**, 337 (1972)
- 35) 細渕和成, 他：防菌防黴, **5**, 437 (1977)
- 36) 細渕和成, 他：同上, **5**, 197 (1977)
- 37) 細渕和成, 他：同上, **6**, 154 (1978)
- 38) 細渕和成, 他：同上, **9**, 3 (1981)
- 39) Gopal, N.G.S.: *Radiat. Phys. Chem.*, **12**, 35 (1978)
- 40) Heinrich, T., et al.: Der Einfluß der Strahlenbehandlung auf Arzneimittel und Hilfsstoffe Eine Literaturstudie Teil I, Dietrich Reimer Verlag. 5/1978
- 41) Christian, S., et al.: *ibid.*, Teil II, Dietrich Reimer verlag. 7/1979
- 42) Christian, S., et al.: *ibid.*, Teil III, Dietrich Reimer verlag. 11/1979
- 43) 木村捷二郎, 他：生薬学雑誌, **35**, 29 (1981)
- 44) Prince, H.N., et al.: *Am. perf. Cosmet.*, **86**, 49 (1971)
- 45) Kinsman, S.: *ibid.*, **86**, 57 (1971)
- 46) 石関忠一, 他：原子力研究報告, 科学技術庁 (1979 - 1983)
- 47) Darmady, E.M., et al.: *J. Clin. Path.*, **14**, 55 (1961)
- 48) Duggan, D.E., et al.: *Appl. Microbiol.*, **11**, 389 (1963)
- 49) Ley, F.J., et al.: *Pharm. J.*, **59**, 193(1964)
- 50) Ley, F.J.: *J. Soc. Cosmet. Chem.*, **20**, 399 (1969)
- 51) Ley, F.J.: *ibid.*, **22**, 711 (1971)
- 52) Ley, F.J.: *ibid.*, **27**, 483 (1976)
- 53) Borick, P.M., et al.: *Appl. Microbiol.*, **15**, 785 (1967)
- 54) Fogarty, M.G.: *Bull. Parent. Drug Assoc.*, **29**, 269 (1975)
- 55) 医療用機器基準解説：薬業時報社, 東京, (1976)
- 56) 石関忠一：防菌防黴, **6**, 351 (1978)