

技術ノート

過酸化水素とガンマ線照射による殺菌処理の検討

Study for sterilizing treatment by gamma irradiation and hydrogen peroxide

関口正之* 細渕和成*

Masayuki SEKIGUCHI and Kazunari HOSOBUCHI

1. はじめに

医療用具の放射線滅菌の分野では、現在 ISO 規格の改訂作業と同時に EN 規格との調和に向けての討議が進められている。国内では ISO11137 (放射線滅菌規格)¹⁾ を取り込みガイドライン²⁾ が作成されたが、嫌気的環境や水溶液中での滅菌条件設定法、最低滅菌線量を 15kGy とする点、などが異なっている。すでに、イソプロピルアルコール(IPA)封入腸線縫合糸のバイオバーデンの放射線抵抗性が ISO11137 Method 1 の標準抵抗性分布より小さくなることを明らかにした³⁾。

本研究では、水溶液系での微生物の不活性化を明らかにするため、ダイアライザー充填液やグリセリンの共存、過酸化水素等の添加が殺菌効果に与える影響を検討した。

2. 実験方法

2.1 微生物の放射線抵抗性測定

放射線抵抗性評価には孢子形成用培地 (TYE 培地) で培養した *B.subtilis* IFO3134 株の孢子を遠心洗浄後に用いた。微生物を添加するリン酸緩衝液 (1/15M : pH7) 等は、MiliQ 水で調製した。菌数測定は段階希釈後 TSA 培地 (BBL 社製) を用いた平板混釈法を使用した。菌数測定後、放射線抵抗性を D₁₀ 値 (1/10 菌数減少線量:kGy) で求めた。

2.2 共存物質

過酸化水素 (関東化学製) は、フェロイン試薬 (Merk 社製) を指示薬として 0.1N の硫酸セリウム規定液 IV で滴定し濃度を求めた。試料は、ダイアライザー充填液の成分として使用されるグリセリン及び放射線滅菌済みのダイアライザーから回収した充填液を使用した。なお、過酸化水素の反応停止にはカタラーゼ (和光純薬製) を含むリン酸緩衝液を無菌濾過し試料に添加した。

2.3 放射線照射と線量

放射線照射は、185TBq⁶⁰Co- γ 線照射装置を用いた。微生物試料はガラス製試験管に入れ、1~5kGy の線量を 2 時間で照射した。

3. 結果

3.1 過酸化水素単独処理による殺菌効果

放射線照射の併用処理を行う前に過酸化水素単独処理による殺菌効果を評価し、処理濃度と処理時間による菌数変化を調べた。試料にはリン酸緩衝液と A 社ダイアライザー充填液を用い、過酸化水素濃度が 3.3% 及び 6.5% となる条件で菌数変化を調べた結果。その結果を図 1~図 3 に示す。過酸化水素濃度が 3.3% ではほとんど殺菌されず、6.5% では、接触時間が 60 分程度から 120 分までの処理で十分な殺菌効果が得られることがわかった。

また、A 社ダイアライザー充填液中や事前に照射 (1kGy) した *B.subtilis* 孢子では僅かに殺菌効果が大きく

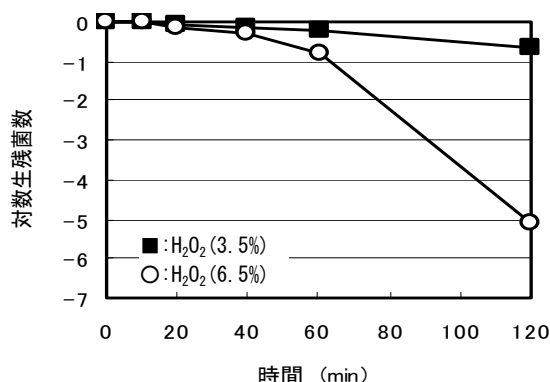


図 1. 過酸化水素添加後の *B.subtilis* 孢子 (未照射) の菌数変化—リン酸緩衝液中

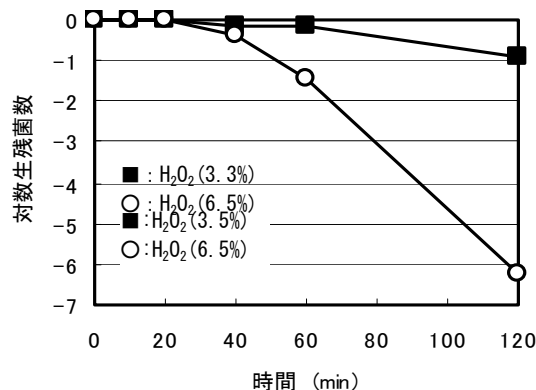


図 2. 過酸化水素添加後の *B.subtilis* 孢子 (1kGy 前照射) の菌数変化—リン酸緩衝液中

*放射線応用技術グループ

なった。

そこで、より低濃度の過酸化水素を使用し、照射時間を2時間と設定し放射線照射との併用効果を調べた。

3.2 過酸化水素とガンマ線照射の併用処理

3.2.1 グリセリン共存の場合

グリセリン濃度と過酸化水素添加による D_{10} 値の変化を表1に示す。過酸化水素未添加では、グリセリン濃度の増加に伴い D_{10} 値は 1.88kGy から 2.05kGy まで増加した。しかし、過酸化水素の最終濃度が 0.65%となる場合、 D_{10} 値は未添加試料に比べ約 30%低下した。

3.2.2 ダイアライザー充填液が共存する場合

リン酸緩衝液及びA社ダイアライザー充填液に過酸化水素を添加し濃度を 0.065%から 0.65%にした場合の D_{10} 値の変化を図4に示す。過酸化水素未添加の場合、リン酸緩衝液での *B.subtilis* 胞子の D_{10} 値 (1.88kGy) に比べダイアライザー充填液中では 2.16kGy と大きくなった。しかし、過酸化水素濃度を 0.065%以上にした場合、いずれも D_{10} 値は 1.3~1.5kGy まで低下した。A社及びB社のダイアライザー充填液中における *B.subtilis* 胞子の生残曲線を図5に示す。B社の場合、過酸化水素未添加で D_{10} 値が 2.4kGy とA社より高い値を示したが、過酸化水素濃度 0.65%では 1.26kGy と低下した。

以上より、過酸化水素濃度が 0.065%でも効率よく殺菌できること、またダイアライザー充填液はグリセリン以上に保護作用を持つことがわかった。

4. まとめ

グリセリン水溶液に *B.pumilus* 胞子を懸濁した系で放射線抵抗性を測定した研究⁴⁾では、0ppmで D_{10} 値が 2kGyであったものが 1000ppm以上の条件では、ほぼ一定の値 (2.9~3.0kGy) となることが示されている。しかし、*B.subtilis* 胞子の場合 D_{10} 値の顕著な増加は認められなかった。ダイアライザー充填液が共存する場合は、最大で D_{10} 値が 2.4kGy となり緩衝液より3割近く大きくなった。また、*B.subtilis* 同一株の TSB 乾燥試料で測定された放射線抵抗性 (D_{10} 値) は $2.44 \pm 0.35 \text{ kGy}$ ⁴⁾であり両者は近似した値となった。しかし、過酸化水素を 0.065%となるよう添加することにより、線照射との併用効果による殺菌効果が著しく高まることが分かった。

参考文献

- 1) ISO Standard 11137(1995).
- 2) 医薬監, 69: (1998).
- 3) 関口正之: 東京都立産業技術研究所研究報告, 3 106-109(2000).
- 4) 中村晃忠他: 平成7年度 新医療技術開発研究事業 研究報告書, (財) 医療機器センター, 144-160(1996).

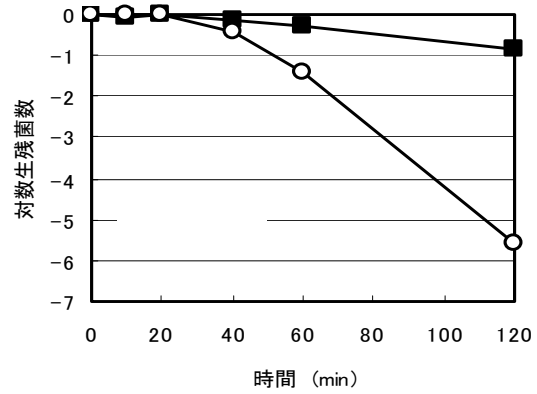


図3.過酸化水素添加後の *B.subtilis* 胞子 (未照射) の菌数変化—A社充填液中

表1. グリセリンと過酸化水素共存による放射線抵抗性 (D_{10} 値) の変化

| グリセリン濃度 (ppm) | D_{10} 値 (kGy) | |
|---------------|------------------|----------------|
| | 過酸化水素未添加 | 過酸化水素添加(0.65%) |
| 0 | 1.88 | 1.33 |
| 10 | 1.85 | 1.35 |
| 100 | 1.88 | 1.37 |
| 1000 | 2.00 | 1.41 |
| 10000 | 2.05 | 1.47 |

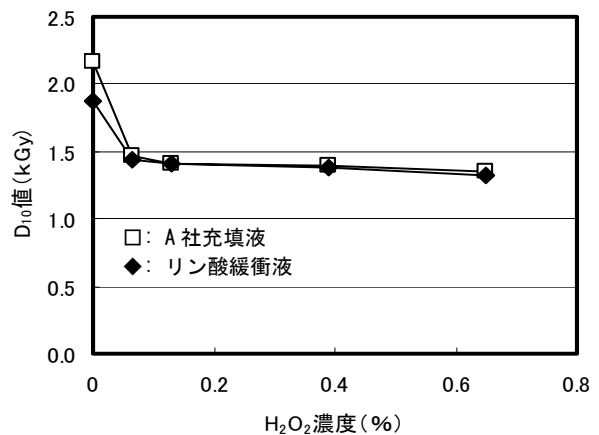


図4.過酸化水素濃度と *B.subtilis* 胞子の D_{10} 値

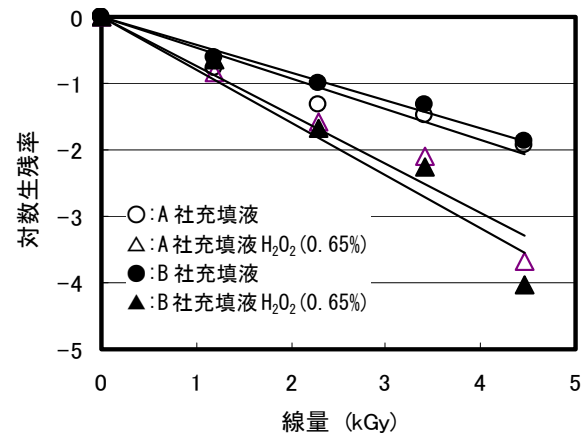


図5.ダイアライザー充填液中の *B.subtilis* 胞子の生残曲線

(原稿受付 平成14年8月1日)