

アンプルカット時に混入する異物について 光学顕微鏡および電子顕微鏡の所見^{*1}

山岡桂子, 近森温子^{*2}, 安田和人^{*3}

帝京大学医学部付属病院薬剤部^{*2}, 帝京大学医学部付属病院中央検査部^{*3}

Optical and Electron Microscopic Observation of Foreign Particles in Parenteral Solutions Arising in Ampoule-cutting Process^{*1}

KEIKO YAMAOKA, HARUKO CHIKAMORI^{*2}, and KAZUHITO YASUDA^{*3}

Pharmacy, Teikyo University Hospital^{*2}

Central Clinical Laboratory, Teikyo University Hospital^{*3}

Glass particles in parenteral solutions, which may arise in the ampoule-cutting process, were counted. 5-ml ampoules of various parenteral solutions were cut and the solutions were centrifugalized for 30 minutes at a speed of 3,000 rpm at room temperature. The bottom layers of centrifugalized solutions were rinsed 3 times with distilled water; then examined by optical and electron microscopes. The number of glass particles over 5 μ in size in the solutions, counted with Luzex 450 particle analyzer, was greatly varied with methods: 1,353 with all round cutting, with ampoule-cutter, 2,439 with half round cutting, 586 with all round cutting followed by wiping with ethanol cotton swab, 531 with cutting with glass cutter.

The dropping time of the glass particles through parenteral solutions was also measured. Further, the possibility of microorganisms carried into parenteral solutions by the glass particles was examined by means of BTB culture and blood agar. No microorganisms were found. The results of the above study suggest that contamination with microorganisms can be avoided by using special ampoule-cutting devices.

注射の製品検査には(1)熔閉試験, (2)異物試験, (3)含量試験, (4)無菌試験, (5)発熱性物質試験, (6) pH変動の有無¹⁾があるが, このうち異物試験について検討したので報告する。

注射液中の微粒子の存在は, 1960年代より論じられてきたが, 一般に非経口投与は速効的で致命的な事故を生ずる危険も大きく, 日局八では「注射液は1000ルクスの明るさの位置で肉眼により観察する時, 透明で, たやすく検出される不溶性異物があってはならない²⁾」と規定されている。

注射液中の異物の種類³⁾にはいろいろあるが, 著者らはとくにアンプルをカットした際に注射液に混入されるガラス片について, 光学顕微鏡および電子顕微鏡で観察してその数をカウントした。またアンプルをカットした後ガラス片が液中を落下する時間を測定し, さらにこの

ガラス片が注射液中に混入する際に微生物を運び入れる可能性について検討した。

実 験

1. 試料

試料には, 茶色, 透明の2種のアンプルを4種類ずつ, 計8種類用いた。(メーカー数 8社)

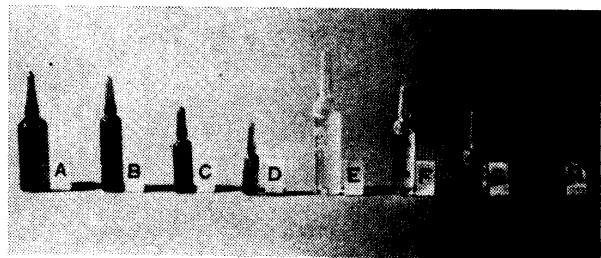


図 1

2. 実験

1) アンプルカット時に混入するガラス粒子についてその形状を観察した。

i) 実験方法

ハート型アンプルカットを用い, 室温でアンプルの首

^{*1} 第5回日病薬関東学術大会 (1975年8月) にて発表

^{*2, *3} 東京都板橋区加賀2丁目11-1; 11-1, Kaga 2-chome, Itabashi-ku, Tokyo, 173 Japan

	検体	色	容量 ml	Lot No.	一般名
1	A	茶色	20	S4USAKI	VB ₁ 剤
2	B	〃	10	G595	VB ₁ ・VB ₆ ・VB ₁₂ 複合剤
3	C	〃	5	DA08	植物製剤
4	D	〃	2	NPU0811	グリチルリチン・グリシン・システイン剤
5	E	透明	20	00724	蒸留水
6	F	〃	10	AO3DJ	アミノフィリン (プリン系製剤)
7	G	〃	5	0541990	スチルベストール (女性ホルモン)
8	H	〃	2	AH208R	四級アンモニウム製剤

部に輪型に傷を入れてカットした後アンプル中の注射液全量をスピッツ管に入れ、室温で3000回転・30分遠心分離し、上層をすて下層を0.5ml残し蒸留水で3回洗滌したのち、試料を毛細管ピペットでスライドガラス上のせ、またはメッシュ上に滴下し、自然乾燥させた後光学顕微鏡 (NIKON SURUT MODEL S 型) と電子顕微鏡 (走査型 H5M-2B 型) を用いて観察した。

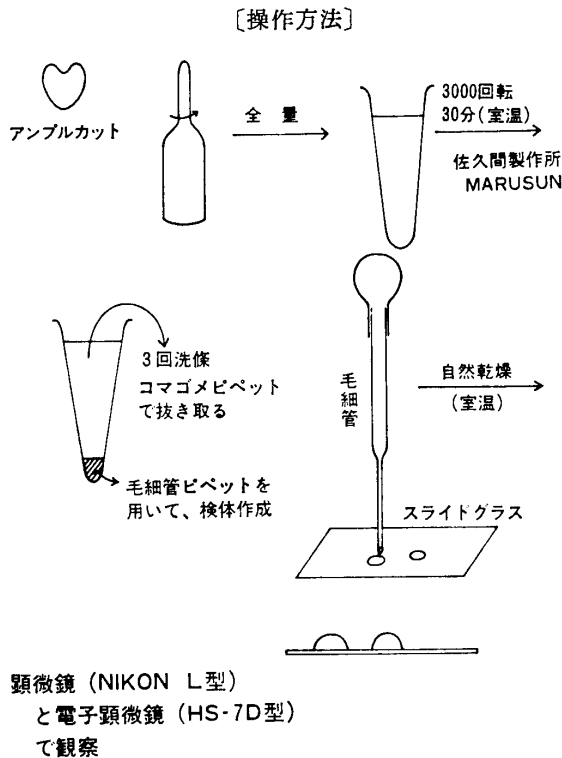


図2

ii) 結果と考察

検体A~Hまでアンプルカット時に混入するガラス片は観察されたが、特に容量5mlのC検体とG検体(輪切り)の二種について、光学顕微鏡を用いて透過光と反射光で写した写真が図3である。反射光でキラキラ輝いているのがガラス片である。透明と茶色アンプルの相違に

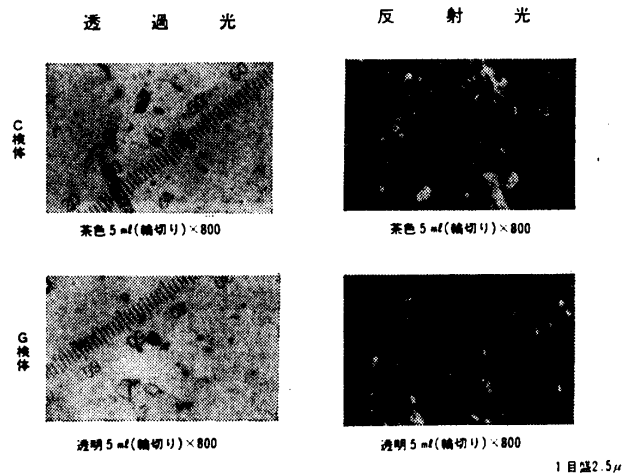


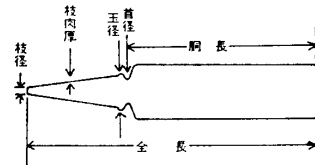
図3

ついては、表1に書かれているアンプルのサイズとガラスの諸特性⁴⁾を見ると軟化点は透明より茶色の方が5°高く比重の差は0.03ある。また、アンプルをカットする

表1

アンプルのサイズとガラスの諸特性

ガラスの種類	色	線膨張係数 $\times 10^{-7}/C$	変点 C	徐冷点 C	軟化点 C	アルカリ溶出 (腐方)ml	熱衝撃試験 (JISR3502)	比重
ホウケイ酸	透明	54.0	525	555	770	0.10	180C以上	2.38
ホウケイ酸	青	55.0	525	555	770	0.10	180C以上	2.38
ホウケイ酸	茶	54.0	525	555	775	0.10	180C以上	2.41



容量5mlアンプルのサイズ

種類	全長	胴長	胴径	枝径	玉径	首径	枝肉厚	胴肉厚
透明	87.0±2.5	39.0±1.0	18.0±0.5	6.2±0.5	10.3±1.2	7.0±0.7	0.35±0.05	0.52±0.03
茶	87.5±2.5	39.0±1.0	18.0±0.5	5.5±0.7	9.0±1.0	7.0±0.7	0.36±0.06	0.52±0.05

際の容易さに関係があると考えられるのは首径と枝肉厚で、透明アンプルと茶では枝肉厚に0.01mmの差がある。表1の容量5mlアンプルのサイズの表より観察出来る。原料においては、茶色アンプルには着色のため透明アンプルと同一の原料の中にFe₂O₃またはTiO₂が含まれているので“もろい”という欠点がある。この性状のため茶色C検体は透明G検体に比較し、光学顕微鏡による観察では図4に示した様に細かい粒子が多く、電子顕微鏡像では鋭利に割れていることがわかった。

2) アンプルカット時に混入するガラス片の数量の測定

i) 実験方法

アンプル1管をカットし全量を18ゲージ(仁丹テルモS1½型)の注射針と5ml(仁丹テルモ)注射筒を用いて液を吸い上げた後、針を取りはずしてその液をマイクロフィ

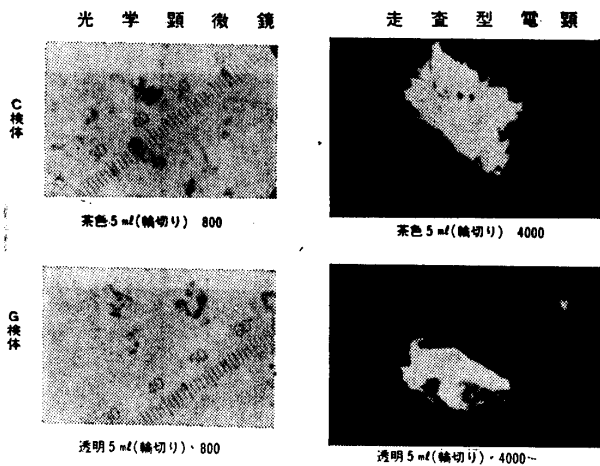


図 4

ルター (FM 45, ポアサイズ 0.45μ , 直径 13mm, 色: 白色) を使用し, 図 6 に示した濾過器 (Millipore-2-Swinnex 13)⁵⁾ で濾過した. 液を吸い上げた空のアンプル内を蒸留水 (0.45μ のマイクロフィルターを通したもの) で 3 回洗滌し, その洗滌液を前述の液を濾過した同一のマイクロフィルターで濾過し検体とした.

このマイクロフィルターをスライドガラスにのせ, カバークラスをかけたのが図 7 であり, これを図 5 の Luzex 450 particle analyzer⁶⁾ を用いて測定した. 対照空試験

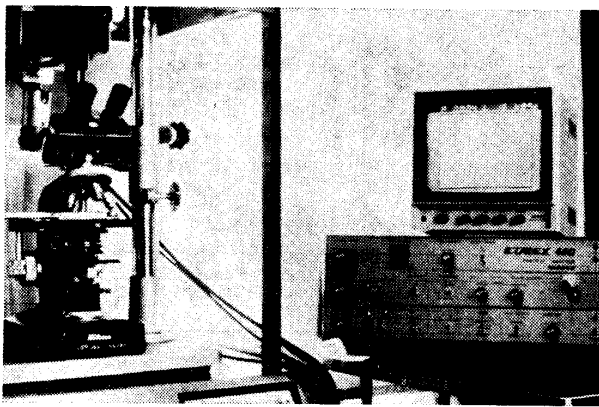


図 5

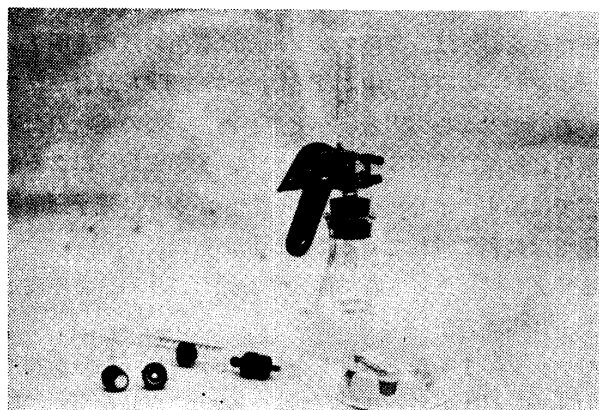


図 6

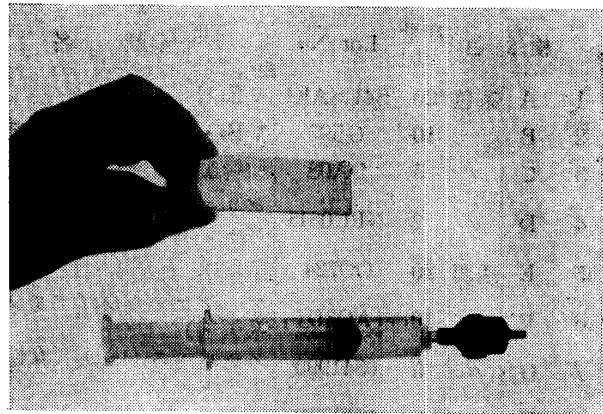


図 7

として同一の蒸留水を 18 ゲージの針と 5 ml 注射筒を用いて吸い上げ後マイクロフィルターを用いて濾過した. 以上の操作はすべて無菌室においてクリーンベンチ (日立 1911 型) 内で行なった.

ii) 結果と考察

1 回につき 10 アンプル計 40 アンプル測定し平均を求めた. C 検体のカットする前の液は 0.22μ のマイクロフィルターを通過してあり, またチンダル現象で観察し, 異物の混入がないことを認めた. また C 検体のアンプル硬度は 4 (モース硬度計), アンプルカッターの硬度は 7 であり, 硬度差 3 である. 鉄ヤスリを用いてアンプルをカット (片切り) すると 5μ 以上のガラス片は 2324 個であり, アンプルカッターの場合は 2439 個で両者の間にはあまり差を認められなかった. アンプルカッターの原料であるコンゴウ砂 100 番の分布状態はすべて 50μ 以上であり (50μ 以上のガラス片は鉄ヤスリ 24 個, アンプルカッター 92 個) Luzex 450 particle analyzer に写るモニターテレビよりガラス片とコンゴウ砂は明らかに相違がある. ゆえにアンプルカッターのコンゴウ砂は内に入らないと考えられる.

次に用いたカットの仕方を説明すると,

輪切り: ヤスリでアンプルの首径の周囲に傷をつけ, 後カットした.

wiping off: 輪切りした後 70% エタノールを含んだ脱脂綿でふき取ってからカットした.

片切り: アンプルの首径 1 側にヤスリ傷を入れて後カットした.

ガラス切り: ガラス切りでアンプルの首径の全周に切り傷を入れ後カットした.

前述の輪切り・片切り・ガラス切りを比較すると, 図 8 より片切りの場合 $5\mu\sim 25\mu$ のガラス片が 2439 個あり, ガラス片が最も多く, 輪切りの形にアンプルに傷をつけた後 70% エタノールを含ませた綿でふき取ってか

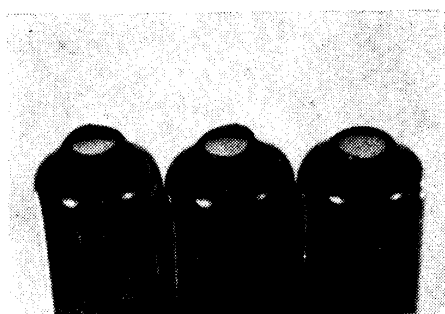
らカットすると、片切りでふき取らない場合に比較してガラス片の数は586個、すなわち約4/5に減っている。この数はガラス切りを用いてカットした場合とほぼ同程度まで減少した。

Number of particles per ampoule counted on the membrane filter

Methods of opening				
	Ordinary (輪切り)	Ordinary (片切り)	Ordinary wiping off	Ordinary (ガラス切り)
> 5 μ m	1353	2439	586	531
> 25 μ m	315	442	193	159
> 50 μ m	30	92	28	17
> 100 μ m	8	4	5	5

C検体、茶色 (5ml)

アンプルの切口



輪切り 片切り ガラス切り

図8

次に図8から切口状況を見ても、片切りの場合には著しい凹凸が観察され、カット時に大きな力を要する。ガラス切りを用いると切口も平坦であり、あまり力を加えることなくアンプルをカットすることが可能であり、この場合にはガラス片の数が少くなることが判明した。ゆえにアンプルカットの際に混入されるガラス片の数は、切口の滑らかさ、加えられた力の大きさと負の関係にあるように思われる。

3) アンプルカット時に混入するガラス片が液面から落下する時間

i) 実験方法

乳鉢でA~H検体各々の空アンプルをすりつぶし、そのガラス粒子をガラスフィルター1号と5ml注射筒と18ゲージ注射針を使用して100 μ 以下と100~800 μ に2分した。図9から注射針の太さは27ゲージから18ゲージまであり、内径は140 μ ~800 μ であるため、上記のように2分した。図9に示してあるガラス破片粒子の大きさと落下速度において、ガラス粒子の分布状態の値を求め

るのに図5のLuzex 450 particle analyzerを用いて測定し、落下速度を観察するのに、スライド映写機(Minolta, MINI-35)を使用し、チンダル現象(100W白熱電球を用い、黒紙を背景にし針穴からのぞいて観察)を利用して注射液の液面から最初に落下する時間を測定した。

ii) 結果と考察

図9の<100 μ のガラス粒子測定面積はLuzex 450 particle analyzerの1視野で5 $\times 10^5 \mu^2$ であり、100~800 μ のガラス粒子測定面積1視野は25 $\times 10^5 \mu^2$ でそれぞれ10視野の平均値である。この値から、<100 μ のガラス粒子は25~50 μ 、>100, <800のガラス粒子は100~200 μ の間の分布を示している。A検体を例にとると、液面よりミクロスパーテル1かき分(<100 μ :約12mg, 100~800 μ :約20mg)のガラス粒子を落下させ、一番速い粒子が液の底に到達する時間をみると、100 μ 以下は1.2秒、100~800 μ は1.0秒かかり、全量の約4/5の粒子が液底に到達するのに約9秒(<100 μ 粒子)要しているので、最初の粒子到達の1.2秒より7.8秒の遅れがあり、他も同様である。この結果は図9に示されている。

4) 微生物試験

i) 実験方法

検体A~Hの8種のアンプルのうち、各々1アンプル(輪切り)中の注射液の全量をスピッツ管に入れ、1000回転30分間遠心分離したのち駒込ピペットで上層をすて、下層の2mlを試料とする。そのうち0.5mlをBTB培地、血液寒天培地の表面に1枚平板法を用いエーゲ棒で均一に塗りつけ37 $^{\circ}$ 24時間、電気孵卵器(平沢製作所テーパー式)で培養した。

ii) 結果

表2に示すごとく、何ら細菌の発育を認められなかった。

表2 細菌培養成績

検体	容量(ml)	色	PH	血液寒天培地	BTB培地
A	20	茶	3.5	—	—
B	10	茶	3.7	—	—
C	5	茶	7.4	—	—
D	2	茶	7.0	—	—
E	20	透明	7.0	—	—
F	10	透明	8.9	—	—
G	5	透明	7.7	—	—
H	2	透明	7.0	—	—

考察および結論

オーストラリアでは、1969年注射液中の異物についての最初の規準案を提出したが、最近では1mlにつき5 μ

ガラス破片粒子の大きさと落下速度

検体	容量 (ml)	色	液面の高さ (ml)	液の比重	液の粘度	落下時間(秒)		粒子の分布状態 (μ)						
						粒子<100	>100<800	>25	>50	>99	>100	>200	>400	>800
A	20	茶	4.9	1.070	1.720	1.2	1.0	27	4	0	19	6	1	0
B	10	"	5.1	1.010	1.050	0.4	0.2	37	6	0	16	4	1	0
C	5	"	3.2	1.002	1.219	0.5	0.3	25	3	0	10	1	0	0
D	2	"	2.2	1.015	0.912	0.4	0.3	25	2	0	8	2	1	0
E	20	透明	6.2	1.000	1.004	1.8	1.0	18	5	0	10	2	1	0
F	10	"	4.9	1.009	1.082	1.7	1.5	5	1	0	9	3	2	0
G	5	"	1.9	1.035	1.041	0.4	0.2	49	8	0	16	2	1	0
H	2	"	1.9	1.016	1.201	0.5	0.3	4	0	0	8	3	0	0

<100のガラス粒子測定面積 約 $5 \times 10^5 \mu^2$ (1視野)
 >100,<800のガラス粒子測定面積 約 $25 \times 10^5 \mu^2$ (1視野)
 比重 温度20° 粘度 センチポアズ

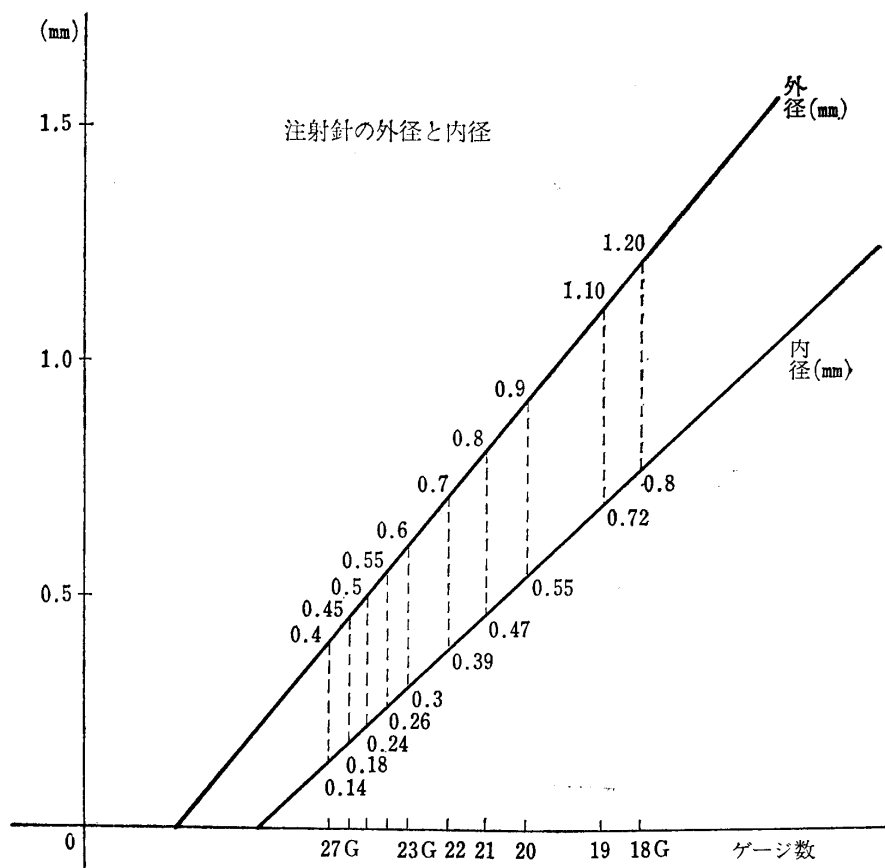


図9

オーストラリア規格案1966年	
異物の数・大きさに関する規格値	
2.0 μ 以上	1000/ml以下
3.5 μ 以上	250/ml
5.0 μ 以上	100/ml
10.0 μ 以上	25/ml
最近では	
5 μ 以上	100/ml以下
20 μ	2/ml

図10

Bp (英国薬局方) 1973年版	
輸液中の異物(500ml以上)	
2 μ 以上	1000/ml以下
5 μ 以上	100/ml以下
U S P (米国薬局方) 1975年版	
1ml中	
5 μ 以上	1個以下
50 μ 以上	含んではならない

図11

以上100個以下、20 μ は2個以下と規定され、アメリカU S P (米国薬局方) 19版では10検体を取り、その平均値が1mlにつき5 μ 以上1個以下、50 μ 以上の粒子があつてはならないと規定されており、BP (英国薬局方)

1973年版では、輸液500ml以上のもの1ml中に異物は2 μ 以上1000個以下、5 μ 以上100個以下と規定されている⁷⁾にもかかわらず、アンプルをカットした後に異物が混入し、規定値をはるかに上まわる数が体内に入るのは問題があると思う。しかし70%エタノールを含ませた綿でふき取るか、ガラス切りを用いてカットした場合には、この規定に近い値を示すので、アンプルをカットするにはカットの方法、あるいはカット時に用いる器具に工夫がのぞましいと思われる。

謝辞 稿を了るにあたって本研究に助言していただいた客井(愛染橋病院)、幸保(日大病院)、中川(日大生化学)3先生ならびに試料等提供していただいたメーカーに謝意を表します。

文 献

- 1) 青木 大: 病院薬局の実際, 南山堂, 258 (1966).
- 2) 第八改正日本薬局方第1部解説書: 広川書店, 東京 (1971).
- 3) 工技連講座: 注射剤の滅菌技術の実際とその問題点 (1968).
- 4) 鳩谷賢太郎: アンプル管瓶, 不二硝子株式会社, 8 (1970).
- 5) 紫田化学器機工業株式会社資料 (1975).
- 6) 日本レギュレーター株式会社資料 (1975).
- 7) 青山敏信: 月刊薬事, 16, 11, 70 (1974).