

小容量アンプルの微粒子計用試料作成方法

小澤 幸二郎¹、新敷 茂²

ABSTRACT

We have to test for "Particulate Matter in Injections" by Light Obscuration Particle Counter according to 13th Japanese Pharmacopoeia as the first method. Sample of injections for particle counter need volume of over 25mL. So, we have to make the sample compounded of several small volume injections or diluted it. It is difficult for measuring true contamination in injection because the injection in the ampule makes to be contaminated by a broken piece of cutting the neck. Then we have to establish the method how to make the sample with less contamination. This report shows how to make a sample for small volume injections with less contamination that after heating up the ampule at 45 °C, tied wet cotton with ethanol around the neck and cut.

Key Word: Injections, Particle, Counter,

はじめに：

第13改正日本薬局方の「注射剤の不溶性微粒子試験法」において、第一法が光遮へい型自動微粒子測定装置で測定することになっており、最低25mLの試料を必要とする。小容量注射剤においては、25mLの試料を作成するのに複数のアンプルが必要となり、二次汚染の影響の少ないアンプルのカット方法、採取方法を確立する必要がある。

常温における通常のアンプルのカット方法では、アンプル内が負圧になっているため、割れたガラス片がアンプル内に吸い込まれる事が知られており、正確なアンプル内の微粒子数を測定することができない。

そこで、1. 常温で通常のカットする方法、2. 常温でアンプルのカット部にアルコールを湿した脱脂綿を巻いてカットする方法、3. アンプルを45に暖めて通常のカットする方法及び4. アンプルを45に暖めてアルコールを湿した脱脂綿を巻いてカットする方法を試験した結果、4番の45に暖めてアルコール脱脂綿を巻いた方法が微粒子汚染の影響が一番少ない結果となった。ここに採取方法も含めて試験結果を報告する。

なお、この報告は、通常に販売されている小容量注射剤アンプルに対する微粒子計による測定用の試料作成方法であり、アンプルの製作方法の検討ではない。また、カットしたアンプルからシリンジで採取し、その溶液を試料容器に移す事を基本手順とした。

また、カット方法による差異を求めるため、以下の手順で各項目がクリアしていることを確認しながら試験を行い、その検討及び確認試験結果を報告する。

1. 試料容器の洗浄手順および洗浄度の確認
2. シリンジの洗浄手順および洗浄度の確認

3. 注射剤アンプルのカット方法による試料の微粒子濃度。



使用機器

シリンジ：シリンジのシリンダー部とプランジャー部との潤滑の為にシリコンを塗布してあるシリンジは、そのシリコンが微粒子計で粒子として測定し、アンプルカット時のガラス片と区別ができないため、シリコンフリーのシリンジを調査した。当初は大協精工社製のCZシリンジを予定したが、プリフィルドシリンジ用のため吸引動作が考慮されていない設計であることが判明したため断念し、代わりにUCシリンジ10mLを採用した。

注射針：通常注射針とゾンデ針を検討した結果、ゾンデ針は先端が傾斜してカットされておらずガラス片を含んだ試料を殆ど吸引できると考え、ゾンデ針を採用した。

試料容器：洗浄がし易いこと、壁面からの汚染がないこと、及び、試料測定終了時に微粒子計のサンプル管が試料液体の水面より下であること。を考慮し、50mL トールビーカーを採用

¹ 高田製薬株式会社 技術管理部 試験検査課

² リオン株式会社 計測器販売統括部 システム開発グループ

した。

微粒子計：1回のサンプリングでサンプル管のデッドボリューム分のプリ吸引、空測定及び測定が3回できる、KL03システム自動微粒子測定装置（リオン株式会社）を採用した。

加温用バス：ウォーターバス

脱脂綿：日本薬局方「脱脂綿」

エタノール：日本薬局方「消毒用エタノール」

中性洗剤：台所用合成洗剤(中性)

洗浄用ブラシ：試験管用ブラシ

超純水：ファイナルフィルタ 0.22 μ m の TOC 測定用超純水

被測定注射剤：試験する小容量注射剤アンプルの選定は、1mL アンプルと 20mL アンプルで、カット方法の違いにより試験結果が顕著に表れる方を検討した結果、20mL アンプルの方が空間が大きく、同じ条件で溶閉された場合に空間の大きい方がカット時の吸引力が大きくガラス片が吸引される可能性が大と判断し、20mL アンプルを選定した。いずれの場合もカット方法によるガラス片汚染の大小は同様に考えられると判断した。

超音波洗浄器：45kHz、超音波出力 100W

試験環境

クリーンベンチを作動している部屋で作業し、試験はクリーンベンチ内で行う。

試料容器の洗浄手順および洗浄度の確認

洗浄手順：

1. 中性洗剤でブラシ洗浄。
2. 水道水でリンス。
3. 超純水でリンス。
4. 試料容器に超純水を入れ、ブランクチェックを終了した微粒子計で測定する。
5. 2 μ m 以上が 0.1 個/mL 以下で合格
6. 合格容器は超純水でよくすすぎ、クリーンベンチ内にて乾燥する。

微粒子計の設定は以下の通りとする。

- 空吸引量： 2mL
- 測定量： 5mL
- 測定回数： 3回
- 測定速度： 10mL/min (定格流量)
- 動作モード： 測定 2
- しきい値粒径： 2~40 μ m(デフォルト値)

シリンジの洗浄手順および洗浄度の確認

1. シリンジと注射針を組み合わせたシリンジセ

ットを作成する。

2. 超音波洗浄器バスをスポンジで洗い、超純水でリンスする。
3. 超音波洗浄器バスに超純水を入れ、中性洗剤を数ミリリットル添加した洗浄液を作成する。
4. 超音波洗浄器バス内の洗浄液をシリンジ内に吸引及び排出操作を3回行い、最後の排出時に約 1mL を残す。
5. シリンジ内に洗浄液が入るように超音波洗浄器のバスに入れ、5分間超音波をかける。
6. 水道水でシリンジをリンス。
7. 超純水でシリンジをリンス。
8. 超音波洗浄器バス内を超純水に置換する。
9. 超音波洗浄器バス内の超純水をシリンジに吸引・排出操作を3回行い、最後の排出時に約 1mL を残す。
10. シリンジ内に洗浄液が入るように超音波洗浄器バスに入れ、5分間超音波をかける。
11. 超純水でシリンジをリンスし、クリーンベンチ内に移動する。
12. シリンジ内に超純水を吸引・排出操作を 15 回行う。
13. 超純水をシリンジでシリンジ容量分吸引し、洗浄した試料容器に注入する操作を繰り返し 40mL の微粒子計測定用試料を作成する。
14. 試料サンプルを 2分間放置し、脱気する。
15. 試料容器をブランクチェックが終了した微粒子計にセットし測定する。
16. 2 μ m 以上の粒子濃度の平均値を算出する。
17. シリンジを交換し、項目 12 から繰り返す。3 本試験したら終了する。

超純水によるシリンジ内の最終リンス回数を 10 回、15 回及び 20 回を試み、表 1 から 15 回程度が適当であると判断した。

表 1 シリンジ洗浄結果

サンプル	>2 μ m以上の粒子濃度[counts/mL]		
	洗浄回数		
	10	15	20
1	2.9	1.0	2.4
2	0.3	1.3	1.1
3	1.4	0.9	4.0
平均値	1.5	1.1	2.5

表 2 15 回洗浄のバラツキ

>2 μm以上の粒子濃度[counts/mL]			
試験回数	シリンジ1	シリンジ2	シリンジ3
1	1.0	0.2	0.9
2	0.2	1.7	1.1
3	2.4	2.1	0.8
4	1.1	0.3	3.9
5	1.5	0.5	1.3
6	1.3	0.4	1.3
平均値	1.3	0.9	1.6
最大値	2.4	2.1	3.9
最小値	0.2	0.2	0.8
標準偏差	0.7	0.8	1.2

注射剤アンプルのカット方法 1(常温で通常のカット)

1. 微粒子計の配管を洗浄する。
2. 試料アンプルの外部を洗浄する。
3. アンプルを通常にカットする。
4. 洗浄したシリンジを用い、シリンジ容量を試料アンプルから吸引する。
5. 洗浄した試料容器に吸引した試料を注入し、40mL の試料を作成する。(アンプルを斜めにし、全ての注射剤を採取する。)
6. 試料を 2 分放置脱気する。
7. 試料を微粒子計にセットし測定し、2μm、5μm、10μm 及び 25μm 以上の粒子濃度の平均値を算出する。
8. 手順 1 ~ 手順 7 を 6 回繰り返す。
9. 2μm、5μm、10μm 及び 25μm 以上の粒子濃度の平均値を算出する。

表 3 カット方法1 試験結果

サンプル	粒子濃度 [counts/mL]			
	>2 μm	>5 μm	>10 μm	>25 μm
1	11.7	4.0	0.6	0.0
2	18.7	8.3	2.1	0.0
3	13.2	5.1	0.9	0.0
4	10.9	3.1	0.5	0.0
5	9.9	3.1	0.8	0.0
6	14.3	5.9	0.5	0.0
平均値	13.1	4.9	0.9	0.0
最大値	18.7	8.3	2.1	0.0
最小値	9.9	3.1	0.5	0.0
標準偏差	3.2	2.0	0.6	0.0

注射剤アンプルのカット方法 2(常温でアルコール綿を巻いてカット)

1. 微粒子計の配管を洗浄する。
2. 試料アンプルの外部を洗浄する。

3. 試料アンプルの首にアルコールをしみ込ませた脱脂綿を巻きカットする。
4. カット方法 1 の手順 4 以降と同じ。

表 4 カット方法2 試験結果

サンプル	粒子濃度 [counts/mL]			
	>2 μm	>5 μm	>10 μm	>25 μm
1	3.9	1.0	0.1	0.0
2	5.4	1.3	0.5	0.0
3	1.2	0.5	0.3	0.0
4	2.1	0.6	0.1	0.0
5	7.1	2.0	0.5	0.0
6	5.3	2.2	0.3	0.0
平均値	4.2	1.3	0.3	0.0
最大値	7.1	2.2	0.5	0.0
最小値	1.2	0.5	0.1	0.0
標準偏差	2.2	0.7	0.2	0.0

注射剤アンプルのカット方法 3(45 に暖め、通常のカット)

1. 微粒子計の配管を洗浄する。
2. 試料アンプルの外部を洗浄する。
3. アンプルを 45 のウォーターバスに 10 分以上漬ける。
4. アンプルを通常にカットする。
5. カット方法 1 の手順 4 以降と同じ。

表 5 カット方法3 試験結果

サンプル	粒子濃度 [counts/mL]			
	>2 μm	>5 μm	>10 μm	>25 μm
1	5.7	1.2	0.3	0.0
2	4.9	1.5	0.3	0.0
3	6.1	2.2	0.4	0.0
4	5.2	1.7	0.2	0.0
5	18.6	6.2	1.2	0.0
6	20.0	7.9	2.1	0.0
平均値	10.1	3.5	0.8	0.0
最大値	20.0	7.9	2.1	0.0
最小値	4.9	1.2	0.2	0.0
標準偏差	7.2	2.9	0.8	0.0

注射剤アンプルのカット方法 4(45 に暖め、アルコール綿を巻いてカット)

1. 微粒子計の配管を洗浄する。
2. 試料アンプルの外部を洗浄する。
3. アンプルを 45 のヒートバスに 10 分以上漬ける。
4. 試料アンプルの首にアルコールをしみ込ませた脱脂綿を巻きカットする。
5. カット方法 1 の手順 4 以降と同じ。

表 6 カット方法4 試験結果

サンプル	粒子濃度 [counts/mL]			
	>2 μm	>5 μm	>10 μm	>25 μm
1	3.5	0.7	0.2	0.0
2	2.3	0.5	0.2	0.0
3	4.5	0.7	0.1	0.0
4	4.5	0.7	0.0	0.0
5	3.9	0.7	0.0	0.0
6	2.7	0.5	0.1	0.0
平均値	3.6	0.6	0.1	0.0
最大値	4.5	0.7	0.2	0.0
最小値	2.3	0.5	0.0	0.0
標準偏差	0.9	0.1	0.1	0.0

考察

今回の試験では、カット方法4の45 に加温し、アルコール脱脂綿をカット部に巻いてカットする方法がガラス片の影響が一番少ない結果となったが、常温でアルコール脱脂綿を巻いてカットする方法がほとんど遜色の無い試験結果となり、通常の試験に対応できると考えられる。

今回の試験は、影響を見るために2μm以上の粒子濃度を比較参考にしたが、10μm以上の粒子濃度は何れの方法でも1個/mL以下であり、信頼係数95%の上限を考慮しても規格の6000個/容器を十分下回っている結果となった。

また、この方法以外にもっと良い方法があると思うが、従来言われている方法の実証データを見出せなかったため、その方法の一つとして参照して貰いたい。

謝辞

今回の試験において、多大なる助言を頂いた稲津邦平先生ならびに青山敏信先生、及び試験用シリンジを提供していただいた大協精工株式会社様に、この場をお借りしてお礼を申し上げます。

参考資料

- 第13改正日本薬局方第一追補
- 不溶性微粒子測定装置(KL03)の測定 SOP, リオン株式会社 技術資料

