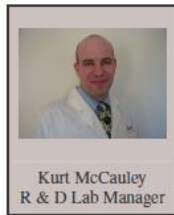


Spore News

Volume 3, Number 1
March 2006



Calculation of the Biological Indicator D-value and Kill Time for a Temperature not Specified on the Certificate of Analysis

試験成績書に記載されていない温度の生物学的・インジケータの D 値および Kill Time の計算

蒸気滅菌プロセスを監視するために使用される生物学的・インジケータ（BI）の試験成績書（CoA）に提示されるデータは、一般的に菌数、1 つまたは複数の温度で決定される D 値、および Z 値を含んでいます。

多くの場合、BI をご使用される方は、D 値が CoA に記載のない温度で装置を動かすことになります。BI 使用者からよくある質問は、「滅菌温度が試験成績書に記載されていない場合、BI の D 値と時間をどのように計算できますか？」というものです。

特定の温度での BI の理論的 Kill Time を計算するには、2 つのデータポイントが必要です。BI の初期菌数、および指定された温度での D 値です。本 Spore News では、このような状況で D 値と理論的 Kill Time を計算する方法を紹介します。この議論では、ISO と USP で提示されている Survival/Kill Time の計算式を使用しません。これらの公式は、計算に安全係数を追加し、結果的に、経験的に導出されたデータを一般的に括弧で括った値となります。言い換えれば、計算された滅菌時間値は、経験的 Kill Time よりも高くなります。

まず、CoA に記載されている温度の理論的 Kill Time を計算していきましょう。ロット（図 1）の CoA データを例で使用します。

Lot No.: S-308			
Heat Shocked Population:	2.6 x 10 ⁶	Spores/Unit	
Assayed Resistance:			
Temperature	D-value ⁽¹⁾	Survival	Kill
121°C	1.7	7.51 ⁽²⁾	17.71 ⁽²⁾ minutes
132°C	0.3	1.0 ⁽³⁾	3.0 ⁽³⁾ minutes
134°C	0.3	1.0 ⁽³⁾	2.5 ⁽³⁾ minutes
135°C	0.2	0.5 ⁽³⁾	2.0 ⁽³⁾ minutes
Z-value	15.2 °C		
D-value reproducible only when exposed in an AAMI BIER vessel and cultured under the exact conditions used to obtain results reported here. MPN and Survivor Curve method used.			
Units are manufactured in compliance with SGM Biotech's quality standards, USP, EN 866 and ISO 11138 guidelines and all appropriate subsections.			
⁽¹⁾ D-value calculated using the Limited Holcomb-Spearman-Karber method.			
⁽²⁾ Survival/Kill values are calculated according to USP and ISO 11138.			
⁽³⁾ Empirically derived data.			

図 1. BI ロット S-308 の試験成績書

実施例 1 : 121°Cの滅菌温度で BI の理論的 Kill Time の計算

理論的 Kill Time は、菌数の対数 (N₀) + 1 (1) と D 値との積である。

$$\text{理論的 Kill Time} = (\text{Log}_{10}N_0 + 1) \times D \text{ 値}$$

この方程式の最初のステップは、最初の菌数の対数を取ることです。生存している孢子がゼロになるまで菌数を減少させるのに必要な孢子対数減少 (SLR) と考えられることが多いです。これは事実ではありません。この SLR は、孢子集団を BI あたり 100 または 1 (100 = 1) の生存孢子の平均に減少させます (図 2 参照)。孢子数を 1 単位未満に減らすために、1 つが SLR に追加され、すべての試験ユニットを完全に殺します。

ロット S-308 (図 1) の CoA から、ヒートショックした菌数 (N₀) は単位当たり 2.6 × 10⁶ であり、D121 値は 1.7 分です。これらの値を方程式に代入すると、次のようになります。

$$\text{理論的 Kill Time} = (\text{Log}_{10}2.6 \times 10^6 + 1) \times 1.7 \text{ 分} = 12.6 \text{ 分}$$

1 つの BI を約 12.6 分で死滅する必要があります。ロット S-308 のデータより、121°C で 12 分間曝露すると、曝露した 20 本中、8 本が死滅しました。この曝露の総孢子数を見ると、ユニットあたり 2.6 × 10⁶ の孢子と、20 本の孢子があり、結果として 5.2 × 10⁷ の孢子となる。理論的 Kill Time は、(Log₁₀ 5.2 × 10⁷ + 1) × 1.7 分 = 14.8 分となる。14 分間の曝露から得られた経験的データにより、20 本のうち 20 本が死滅しました。したがって、経験的データは理論的計算と密接に一致することがわかります。

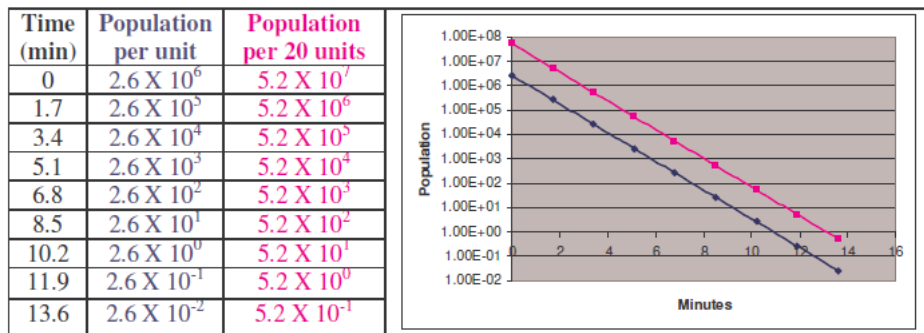


図 2. 孢子対数現象 (SLR) の例

実施例 2 : 131℃の滅菌温度で BI の D 値および理論的 Kill Time の計算

CoA に記載されていない温度での BI の理論的 Kill Time を計算するには、Z 値を考慮する必要があります。ISO 11138 によれば、Z 値は「D 値の 10 倍の変化に対応する曝露温度の変化」として定義されています。実際の意味は、孢子菌数がどの程度温度変化に感受性があるかの尺度となります。例えば、Z 値が 10℃の場合、滅菌温度を 10℃上昇させると、D 値が 1log 減少します。ロット S-308 の Z 値が 15.2℃ではなく 10℃の場合、D131 値は D121 値と 1.7 分または 0.17 分の 1 対 1 の差になります。まれに、数学的計算がこのような単純な場合の状況が発生します。

ロット S-308 の Kill Time を決定するのに、最初のステップは、正しい Z 値を使用して D131 値を計算することです。Z 値と実際の滅菌温度が数学的に機能するのに都合のよい数値でない場合、次の式 (ISO 11138-3 : 1995 (E) 附属書 B に示されている Z 値計算式から導かれる) が必要です。

$$D_1 = D_2 \times 10^{T_2 - T_1 / Z}$$

ここで、 D_1 は温度 T_1 における D 値 (例えば D131 値) であり、
 D_2 は、温度 T_2 における既知の D 値 (例えば、D121 値 = 1.7 分) であり、
 Z は Z 値 (例えば、15.2℃) であり、
 これらの値を次の式に挿入します。

$$D_{131} = 1.7 \times 10^{121 - 131 / 15.2}$$

$$D_{131} = 0.4 \text{ 分}$$

BI の理論的 Kill Time は $131^\circ\text{C} = (\text{Log}_{10} 2.6 \times 10^6 + 1) \times 0.4 \text{ 分} = 3.0 \text{ 分}$ になります。

実施例 3 : 116.5℃の滅菌温度で BI の D 値および理論的 Kill Time の計算

Kill Time を決定するのに、最初の手順は、次の式を使用して D_{116.5} 値を計算することです。

$$D_1 = D_2 \times 10^{T_2 - T_1 / Z}$$

ここで、D₁ は温度 T₁ における D 値（例えば D_{116.5} 値）であり、

D₂ は、温度 T₂ における既知の D 値（例えば、D₁₂₁ 値 = 1.7 分）であり、

Z は Z 値（例えば、15.2℃）であり、

これらの値を次の式に挿入します。

$$D_{116.5} = 1.7 \times 10^{121 - 116.5 / 15.2}$$

$$D_{116.5} = 3.4 \text{ 分}$$

BI の理論的 Kill Time は 116.5℃ = (Log₁₀ 2.6 × 10⁶ + 1) × 3.4 分 = 25.2 分になります。

実施例 4 : 124℃の滅菌温度で BI の D 値および理論的 Kill Time の計算

Kill Time を決定するのに、最初の手順は、次の式を使用して D₁₂₄ 値を計算することです。

$$D_1 = D_2 \times 10^{T_2 - T_1 / Z}$$

ここで、D₁ は温度 T₁ における D 値（例えば D₁₂₄ 値）であり、

D₂ は、温度 T₂ における既知の D 値（例えば、D₁₂₁ 値 = 1.7 分）であり、

Z は Z 値（例えば、15.2℃）であり、

これらの値を次の式に挿入します。

$$D_{124} = 1.7 \times 10^{121 - 124 / 15.2}$$

$$D_{124} = 1.1 \text{ 分}$$

BI の理論的 Kill Time は 124℃ = (Log₁₀ 2.6 × 10⁶ + 1) × 1.1 分 = 8.2 分になります。

1 つの BI は約 8.2 分で死滅されるべきです。ロット S-308 からの BI のデータより、124℃で 8 分間暴露すると、そのうち 20 本のうち 17 本が死滅しました。

D124 値は、ロット S-308 で実験的に測定された D 値の 1 つであり、Z 値計算に使用されました。
D124 値は 1.0 分であると判定され、9 分間の曝露は 20 本の BI すべてを完全に死滅しました。計算は、実験のデータと非常によく一致します。

考察

Geobacillus stearothermophilus 胞子の Z 値曲線は、広い温度範囲にわたって下方に凹状になる傾向があります（すなわち、Z 値は、温度が上昇するにつれて減少する傾向があります）。130℃以下の温度で抵抗計（試験容器）が最も正確に機能することは、この状況に寄与しています。

BI 製造業者の場合、ISO は、110℃～130℃の温度範囲で得られた D 値から Z 値を計算することを規定しています。旧 SGM 社は、120℃～130℃の 3 つの温度から得られた D 値を使用して Z 値を計算しました。

Z 値測定の ISO 要件と旧 SGM 社の操作手順に基づいて、この公式は、CoA に印刷された Z 値を使用して 110℃～130℃の温度範囲で D 値を良好に推定します。これは、実施例 1 および 4 のように、経験的に決定された結果と計算された結果とを比較することによって支持されます。

Spore News を翻訳しております。原文は下記リンクでご確認できます。※日本語訳は原文解釈の参考としてご利用下さい。

<https://biologicalindicators.mesalabs.com/wp-content/uploads/sites/31/2014/07/Spore-News-Vol-3-No-1.pdf>

ご不明点、ご質問、製品のお問い合わせに関してはレーベン・ジャパン株式会社までお気軽にお問い合わせ下さい。

レーベン・ジャパン株式会社 埼玉県越谷市川柳町 3-110-8

TEL : 048-961-1781 FAX : 048-961-1782

メールでのお問い合わせ : info@raven-japan.jp