

Spore News

Volume 1, Number 1
January 2004

なぜ BI が検証済みサイクルで生き残るのか？

バリデーションされた滅菌サイクルでバイオロジカル・インジケータ（BI）が暴露されると、すべての試験ユニットが滅菌されることが予想されます。サイクル性能のレビューは、すべての重要なパラメータが達成されたことを示しています。それにかかわらず、BIを使用して、通常通り培養し、数日間、暴露された BI 結果を記録しなければなりません。うまくいけば、ポジティブコントロールの場合を除いて、陽性結果（黄色）を見ることはありません。しかし、ある日、インキュベーターからサンプルを取り出して、予期しない陽性（黄色）の検査が出現した場合、どうしたらよいのでしょうか？

高品質の BI の製造業者である一部は、これらの製品のユーザーに優れたサポートとサービスを提供しています。高品質の製品を配布し、結果の適切な使用と解釈に関する質問に答えることができなければ高品質の製造業者であるとは言えません。

最近、私は EZTest[®] Steam について、以下の問い合わせが顧客からありました。滅菌サイクルは、134℃、7 分間でした。曝露された指標は、48 時間のインキュベーションで陰性（紫色）でした。しかしながら、露出したユニットのうちのいくつかは、その後の 48 時間の観察後に陽性（黄色）を示しました。最後に、顧客は過去に EZTest Steam を使用して、今までに「失敗」を経験せずにユニット当たり 10^5 の菌数を使用していました。その後、EZTest 10^6 に切り替え、48 時間培養以降に陽性結果が出ました。



BI で 48 時間の培養時間の要求（または培養時間が 7 日未満）を得るためには、製造業者は、培養時間の短縮（RIT）試験のための FDA プロトコルを実施することによって、検証しなければなりません。最低 3 つ別々のロットを使用して 3 回実施する必要があるこの試験は、100 ユニットの BI が部分滅菌サイクルに曝され、100 ユニットの曝露された BI のうち 30~80 個が陽性となる必要があります。曝露された BI は、7 日間を通して一定間隔で記録される陽性ユニットの数と共に培養されます。48 時間の培養要求は、48 時間で記録された陽性ユニットの数を、7 日間で記録された陽性ユニットの数で割ったものが 0.97 より大きい場合に有効となります。一例として、7 日目に 78 個のポジティブが観察された場合、少なくとも 76 個のポジティブを 48 時間までに記録する必要があります。76÷78=0.974 となります。48 時間以内に陽性と判定されたユニットが 75 個以下の場合、75÷78=0.962 となるように、RIT 試験のパラメータに従って実施することができません。

RIT 試験の詳細を知ることによって、培養をラベルの主張を超えて続けることができれば、追加でポジティブユニットが出現する可能性があることがわかります。しかし、RIT 試験は、曝露したインジケータのいくつかはネガティブなテストとポジティブなテストがある「定量ゾーン」をターゲットにしています。このゾーンを標的とするた

めに、定期的な滅菌サイクルは開発されているわけではありません。検証され承認されたサイクルは、孢子菌数の完全な不活性化が行われるゾーンを十分上回る致死率をもたらすように設計されています。

この定量ゾーンを達成すると、各指標の生存孢子個体数は、生存している損傷菌数がゼロ、1、2、またはごくわずかに減少しています。生存孢子がゼロのユニットは、48 時間、7 日およびそれ以上で陰性と判定されます。1 つ以上の生存孢子を有する個々の指標は、通常、48 時間以内に陽性であるかどうかを検査します。最終的な考察は、発芽する可能性があるかまたは発芽できない可能性のある芽胞を 1 つまたは 2 つ有する BI ユニットであり、滅菌剤による損傷を修復し、増殖させ、再生し、培地中の栄養素を代謝させ、pH 指示薬および黄色の外観で観察されます。これらの特定の BI ユニットについては、ユニットが陽性が陰性かどうかは疑わしいです。さらに、損傷がひどい菌のために、増殖および再生が遅れる可能性があり、48 時間後には陰性だが、最終的には 48 時間後に黄色に変わる可能性があります。この現象は「定量ゾーン」でのみ発生します。滅菌へのより長い暴露時間は、定量ゾーンを上回り、全ての孢子の完全な死滅が達成されます。上記のように、ゼロ孢子が生存していれば、ユニットは 7 日間以上で陰性と判定されます。

問題のロットの耐性性能を評価する際に得られたデータのレビューは、48 時間後に陽性の可能性がある証拠を示しています。121℃、124℃、129℃、132℃、134℃および 135℃の D 値を評価するために、合計 940 ユニットの EZTest インジケータを蒸気 BI 評価システム (BIER) で処理しました。消費された 940 ユニットのうち、48 時間の観察後にはわずか 6 つの陽性ユニットしか現れませんでした。追加の陽性は全て、定量ゾーンにおける暴露期間に由来していました。48 時間で完全な不活性化が観察された全ての曝露については、7 日間の培養の後、陽性はゼロでした。

134℃で D 値評価を実施すると、2.0、2.5、3.0 および 3.5 分間の暴露で完全な死滅が達成されました。ご覧のように、134℃の飽和蒸気で 7.0 分に相当する BI に規定の致死率の場合、顧客は陽性結果を見ることは決してありません。顧客が 48 時間後に追加の陽性を経験していたという事実は、滅菌サイクルが量的ゾーンで提供されたものと同等の致死量の蒸気を送っていなかったことをはっきりと示しています。顧客の暴露の指標はすべて 48 時間後に陰性となり、48 時間後には陽性になった。これは、致死率が量子ゾーンの終わり近くにあり、我々の 1.5 または 2.0 分間の BIER サイクルに類似していることを示唆しています。

問題は依然として残っていますが、なぜ BI テストは 134℃、7 分のサイクルで陽性となるのでしょうか？ このサイクルで暴露された時に、較正された性能を有する BI が陽性の場合の理由はいくつかあります。

- 温度プローブは 134℃を示しますが、誤っており、実際には滅菌チャンバー内では実質的により低い温度になっている場合が考えられます。
- 温度プローブは 134℃を示し、正確ではありますが、BI が配置されている位置は一般的な状態を代表するものではない場合が考えられます。荷物内の包装および/または配置は、BI の場所への蒸気

の侵入または空気の除去を妨げている可能性があります。

- 圧カプローブは、134℃（すなわち、44.10psia）の飽和蒸気条件に対応する圧力を示しているが、誤っており、滅菌チャンバー内で、実際の圧力が異なる場合が考えられます。
- 圧カプローブは正確ですが、BI が配置されている位置は一般的な状態を代表するものではない場合が考えられます。梱包、包装、または荷重内の配置の結果として、読み取り値は一般的な状態を表していない場合が考えられます。
- チャンバー（および EZTest ユニット）からの空気の除去、および/または EZTest ユニット内の接種されたキャリアへの蒸気の浸透が妨げられている可能性が考えられます。これは、高温、短サイクル曝露で最もよくある問題であり、サイクルに使用される梱包/包装のためにしばしば起こっています。空気の除去および/または蒸気の浸透が何らかの方法で妨げられると、孢子は一般的な条件に反応し、致死性は物理的測定よりも正確に伝達されます（温度と圧力のプローブは飽和蒸気と乾熱を区別することができません）。セルフコンテインド型の EZTest インジケータは、エアトラップとして機能するため、このようなサイクルの非効率性を検出する優れた BI です。ストリップ型 BI の透過性グラシン包装とは異なり、EZTest で空気/蒸気交換が行われる唯一の場所は通気口です。限られた交換インターフェースの結果、EZTest は「最悪のシナリオ」条件を作成し、他のどのタイプの BI よりも優れた空気除去/蒸気浸透の非効率性を検出することができます。
- もう 1 つの可能性は、曝露され培養したユニットが、培養中汚染されていることです。汚染物質は培地の色の変化に関与し、実際には完全に達成された孢子不活性化ユニットが偽陽性を有する場合があります。培養中の活性化したインジケータを振とう、滴下または反転させると、キャップ内の濾紙が濡れる場合があります。

後処理汚染は、考慮する必要のあるシナリオです。しかし、この特定のケースでは、このシナリオ起が考えにくい 1 つの理由がありました。それは以前、ユーザーは 10^5 孢子菌数を使用して、問題がなかったためです。問題が浮上したのは 10^6 EZTest に切り替わった後でした。この情報は、使用されているサイクルが、より低い菌数の BI を不活性化することができる限界致死率を提供していることを示唆しています。菌数が 10 倍に増加したとき、1 つの生存が得られたことで限界致死率が明らかになりました。

基本的に、BI は正確に実行する必要があります。これは BI の目的であり、なぜ滅菌物を生産する企業がそれらを使用する必要があるのか。滅菌を達成するために必要な条件がチャンバー内に存在し、生物学的結果が、プローブが示しているものと一致することを実証するために役立ちます。「無菌」という言葉は、生存可能な微生物がすべて存在しないことを意味することを忘れないでください。数値的な温度、圧力、および F_0 値に基づいて条件が定義されていません。プローブが死滅する条件を示しているにもかかわらず、ユニットが陽性結果を示している場合、予想される致死率にもかかわらず、微生物は滅菌器に生存し、その後、培養増殖していることを忘れないでください。明らかに、BI への滅菌処理が不十分であったということです。

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-1-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

