

製品の D 値研究：滅菌プロセスを開発する際の重要なツール

滅菌プロセスの目的は、製品中に存在する天然の微生物汚染（バイオバーデン）を殺すことです。使用される 2 つの一般的な滅菌方法は、Bioburden Based Sterilization（BBS）法と Overkill Sterilization（OS）法です。BBS 法は、滅菌される材料に存在するバイオバーデンの所定のタイプおよび濃度に基づくパラメータを用いた滅菌プロセスとして定義されます。OS 法は、任意に確立されたより高い初期濃度およびバイオバーデンの抵抗性を、滅菌される材料上で実際に予想されるものに基づいて滅菌プロセスとして定義します。

1. 製品のバイオバーデンとは何ですか？

製品中に存在する微生物は、ウイルス、細菌および真菌であり、製造環境、人員、および水を含む原材料の 3 つの主要源から来ています。いくつかの微生物は孢子形成する芽胞菌であり、一般に滅菌プロセスを含む環境ストレスに対して最も抵抗性があると考えられています。

製品は、製造条件および原材料によっては、ほとんどまたはまったくバイオバーデンを含まないか、または高濃度の複数の微生物を含むことがあります。特に、滅菌プロセスに製品の感度があるため、最小の滅菌サイクルを実行する場合は、バイオバーデン生物についてできるだけ多くのことを学ぶことが不可欠です。バイオバーデンの特徴付けに必要な情報は、下記となります。

- 滅菌直前に存在する微生物の総数
- 存在する微生物の同定
- 存在する孢子形成の数
- バイオバーデンの抵抗性
- サンプリング頻度と統計解析

2. 製品は滅菌前にバイオバーデンにどのような影響を与えますか？

製品がどのように微生物の行動に影響を与えるかを知ることは重要です。これは液体製品において特に重要となります。製品が微生物の成長を促進することができれば、時間の経過とともに、いくつかの微生物が最終的に多数に増殖する可能性があります。これは、製造と滅菌との間にかなりの時間遅延がある場合、問題を提示することになります。菌数が多いと滅菌時間が長くなる可能性があります。あるいは、材料は、静菌性、殺虫性、孢子形成性、または殺孢子性の場合もあります。

滅菌される材料（例えば、医薬品の化学または医療機器の物理的特性）の性質は、微生物の抵抗性に重大な影響を及ぼす可能性があります。製品は、それらをコーティングし、またはそれらを凝集させるなど、殺菌プロセスに対する抵抗性を高め、さまざまな方法で微生物を保護する場合があります。あるいは、滅菌処理の影響を受けやすくなる可能性があります。

図 1 は単一の自由な浮遊胞子を示し、図 2 はいくつかの大きな塊を示し、それらのいくつかは数百の胞子を含んでいます。



図 1. エタノール中の塊になっていない胞子

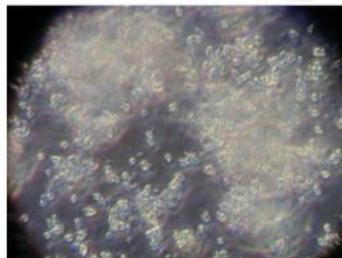
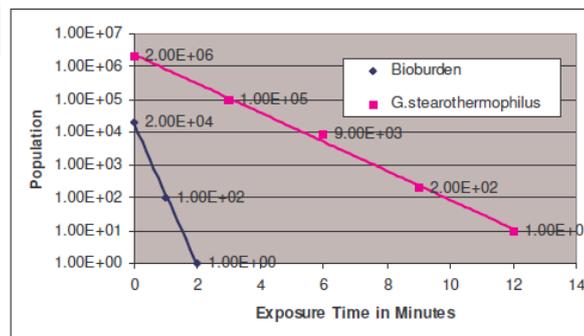


図 2. 製品中で塊になっている胞子

3. *Geobacillus stearothermophilus* 胞子の抵抗性滅菌サイクルを適用することはなぜ受け入れられますか？

Geobacillus stearothermophilus (ATCC # 7953) 胞子（典型的には、紙ストリップ上の 1.5～2.5 分の範囲の D121 値を有する）は、ほとんどの野生型の微生物よりも抵抗性があります。蒸気滅菌プロセスを監視するために広く使用されているこの胞子は、抵抗性試験中のバイオバーデン生物と置き換えることができます。この置き換えは、*G. stearothermophilus* 胞子はバイオバーデン生物よりも抵抗性があるか、または設計によってバイオバーデン生物の数を著しく減少させると推定されます。

G. stearothermophilus の死滅時間は、バイオバーデン生物の殺滅時間を超えてしまいます。次の図は、この点を示しています。



4. 滅菌サイクルを他の微生物の抵抗に基づいて受け入れてもよいですか？

Bacillus coagulans (ATCC # 7050) 、*B. smithii* (以前は *B.coagulans* ATCC # 51232) 、*B. subtilis* 5230 (ATCC # 35021) および *Clostridium sporogenes* (ATCC # 11437) などの他の微生物は、特定の状況で使用されるかもしれません。これらの微生物は、*G. stearothermophilus* より蒸気滅菌に対して敏感であるが、一般に、これらはバイオバーデンよりも抵抗性があります。製品が滅菌プロセスに敏感であり、それによって滅菌時間を制限する場合、これらの微生物のうちの 1 つを使用することが望ましい場合があります。しかし、熱感受性製品を扱う際には、前述の指標生物に基づいて滅菌パラメータを決定する前に、バイオバーデンを特徴付けることが強く推奨されます。

5. なぜ D 値研究を行うのですか？

試験生物（バイオバーデン単離物または *G. stearothermophilus*）の抵抗性を評価する最も直接的な方法は、D 値の研究を行うことです。バイオバーデンを評価する際には、単離された全ての生物を試験する必要はなく、最も抵抗性が強いものをヒートショックスクリーニング法で単離することができます。

6. D 値研究はどのように実施されていますか？

理想的には、D 値の試験は、試験生物を用いて実際の製品に対して行うべきです。バイオリジカル・インジケータ評価の D-value 研究では、矩形波サイクルを実行できる BIER 容器が一般的に使用されています。

D 値は、生残曲線法またはフラクションネガティブ法の 2 つの方法の 1 つを使用して計算することができます。生残曲線法は、生存微生物を重要なプロセスパラメータとして、通常は時間に対してプロットします。この曲線は、殺菌プロセスの動態の重要なグラフィック表現を提供します。「エンドポイント実験」と呼ばれることもあるフラクションネガティブ法は、定量ゾーン（増殖するために培養した場合、ユニットを複製する曝露が陽性および陰性の両方のユニットになる領域）に焦点を当てています。

一般に、生残曲線法は生存している個体群の抵抗性を 5×10^1 以上に設定するのに対し、フラクションネガティブ法は 5×10^0 以下の生存個体群の抵抗性を確立します。

生残曲線法には 2 つの利点があります。1 つは、製品試験を行うときに、対数回帰回帰曲線を示すことができることです。これは、計算された SAL を実証するために外挿することができます。もう 1 つは、損傷菌の潜在的な生成物の阻害を排除するために、生成物をろ過によって除去できることです。

SGM 社（現 MesaLabs 社）は、研究開発および商用製造業者向けの多種多様な医薬品に関するこれらの研究を長年にわたり行ってきました。

研究を実施するために、製造業者は約 100ml の製品およびバイオバーデンを供給する必要があります。バイオバーデン研究が望ましくない場合、SGM 社は孢子を ATCC から手に入れることもできます。典型的な研究は、1) 製品に試験微生物を接種すること、2) 生成物を非常に小さなガラスアンプルに充填して密封すること、3) BIER のアンプルを段階的に曝露すること、4) 生存している孢子についてアンプルをアッセイすること。これらの曝露から収集されたデータは、D 値の計算に使用されます。詳細なプロトコールについては、お問い合わせください。

これらの D 値は、滅菌プロセスのための適切な SAL を計算するために使用することができます。SGM 社は、滅菌プロセスの定期的な監視のためにこれらの研究を補完する便利な BI チャレンジを提供することもできます。

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-1-No-3.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