

Spore News™

Volume 6, Number 4
July 2009



How Long Should BIs be Incubated?

BI はどのぐらい培養する必要がありますか？

BI の培養時間短縮 (Reduced incubation time (RIT)) は、30 年以上にわたり議論の対象となっています。米国 FDA は、約 25 年前に培養時間を 7 日以内に決定するためのガイドラインを発表しました。他の規制当局によって他の指針は提供されていません。米国の製造業者は、米国食品医薬品局 (FDA) のガイダンスプロトコルが発行されて以来、それに準拠しています。今日のグローバル市場では、このプロトコルはエンドユーザーを監査する多くの通知機関によって受け入れられていません。これらの通知された機関は、引き続き 7 日間が必要であることを断言しています。「要件」を支持するためのデータが 1 つも提示されていない。これらの機関は、FDA の立場から「規制されていない」ため、FDA プロトコルとは異なるプロトコルを望んでいます。

ISO 198/WG4、Biological Indicators working グループは、FDA および他の規制当局に受け入れられるガイダンス文書を作成するという目的で、この問題に取り組むための新しい作業項目を開始しました。

SGM (現在の MesaLabs 社) は、この無効が国際市場に存在するため、独自の要件を満たすことを決定した監査役の業界で起こった混乱を十分に認識しています。したがって、SGM は培養中に「実際に何が起こったか」を示すために実際のストレス BI のデータを収集するために主導的役割を果たしました。このデータが、米国 FDA を含む規制当局によって広く受け入れられる予定のデータによって裏付けられた意味のあるガイダンスの策定において、世界のコミュニティを支援することを願っています。これは容易ではありませんが、健全な統計的評価のためにデータが利用可能な場合は簡単になると考えています。

図 1 のデータは、AAMI ad hoc RIT 委員会、およびベルリンで開催された ISO 198/WG4 BI ワーキンググループ会議 (2009 年 6 月) のプレゼンテーションから要約されています。近い将来、このデータ全体を公開する予定です。

BI は十分に特徴付けられた試験システムであることが強調されなければなりません。孢子は、定義されたカルチャーコレクションから得ることができます。ISO 規格は、特定の集団からどのようなパフォーマンスが期待されるかを示しています。これらの規格はまた、製造業者に担体および包装材料が孢子に悪影響を及ぼさないことを実証することを要求しています。培地は、BI の構成物 (すなわち、スポアストリップ、セルフコンテインドまたは培地アンブル) にかかわらず、十分に特徴付けられています。培養時間短縮試験は、

微生物の未知の菌数、未知の同一性、未知の特定の培養要件、および適用される滅菌方法に対する未知の抵抗性を有する「無菌試験」において遭遇する変数に対処されていません。そのような試験では、供給された条件下で増殖のために陽性であると示すために、未知の微生物チャレンジに可能なあらゆる機会を与えなければなりません。

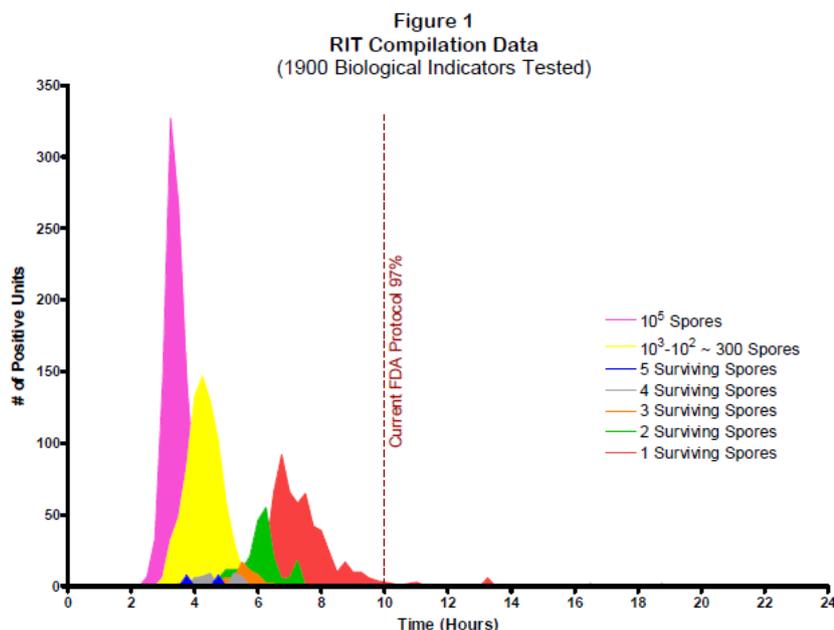
図 1 は、致死的な蒸気滅菌プロセスに暴露された *Geobacillus stearothermophilus* 孢子を含むセルフコンテインド型 BI の増殖パターンを示しています。BI の最大培養時間は 7 日間でした。このデータを提示する際には、以下の前提があります。

1. 生存孢子数が多い BI は、孢子数の少ない BI よりも迅速な陽性試験結果を示します。
2. 致死のプロセスによりもたらされるストレスが増すほど、生存している孢子が少なくなります。

定量的ゾーン曝露（同じセットからの正および負の BI）からの BI 当たりの孢子の最も有望な数（MPN）を Halvorson Zeigler 方程式を用いて計算しました。伸びる数字は、一般的なモデルであることが意図されているため、相対時間（クロック時間ではない）で表されます。モデルは G から派生したものです。乾燥熱およびエチレンオキシドプロセスの両方で使用される *Bacillus atrophaeus* を含有する BI に適用可能です。このモデルはまた、過酸化水素プロセスに暴露された *G. stearothermophilus* に適切です。これらの他の BI システムでもさらにデータが収集されます。

紫色から黄色への pH の移行が観察された陽性を記録しました。

図 1 は、BI 上に残っている孢子数に基づいて相対的な成長時間を示しています。点線の垂直線は、7 日間の増殖陽性データの 97%を必要とする FDA 培養時間短縮プロトコルに従って試験した場合の培養時間短縮閾値を示します。これは非常に慎重なアプローチであると思われます。



滅菌プロセスには BI の 2 つのアプリケーションがあります。

1. 検証 - 非滅菌単位 (PNSU) または無菌保証レベル (SAL) の適切な確率を提供するサイクルを確立します。このテストの間、ユーザーは露出量ゾーンを特定します。プロセス D 値は、Holcomb、Spearman、Karber 方程式または Stumbo、Murphy、Cochran 方程式を用いて計算します。
2. ルーチンのプロセスモニタリング - 検証された過剰殺菌プロセスでは、生存している孢子を得るために、致死量の 50%以上が失われる (すなわち、所望の SAL を達成するために存在するすべての致死率) 必要があります。

これらのアプリケーションの両方において、最後の BI 上で最後に生き残った孢子が陽性になるのを検出することは重要ではありません。BI 上で最後に生き残った芽胞が重要でない理由は、監視されるプロセスの大半が 1 サイクルごとに複数の BI を使用するためです。このプロセスは、最初の陽性 BI が観察されたときに拒絶されます。私は、肯定的な BI の "X" 個数は許容されるが、"X + 1" の肯定的な BI は拒絶サイクルとなることを明記する、無菌製品の製造業者を知りません。

検証されたプロセスの定期的なモニタリングで陽性 BI が観察された場合、陽性 BI が芽胞をひどく損傷しただけでなく、多くの芽胞を有する可能性が高いです。

つまり、失敗したプロセスを特定するために必要な培養時間について、新鮮な考え方が必要です。成功したプロセスでは、BI に生存している孢子は存在しません。したがって、培養時間が何であっても、成長は観察されません。

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-6-No-4.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