



Steam Sterilization of Liquid Filled Containers

液体容器の蒸気滅菌について

当社の EZTest 高圧蒸気用バイオロジカル・インジケータ (BI) の長年のユーザーで、最近自社の増殖培地培地 (液体) の殺菌を始めました。彼らは以前サプライヤーから準備された生培地を購入していましたが、コスト削減策として開始されました。粉末培地の指示書には、『121℃で 15 分間オートクレーブする』と記載があります。

顧客は、滅菌サイクルの開発およびバリデーションの練習を行うために 3 バッチの培地を用意し、次の結果が得られました。24 時間の培養期間の終了時に観察された場合、全ての BI は増殖陰性でした。しかし、培地のボトルは、室温で 3 日間保存した後に増殖しました。

SGM Biotech (現 MesaLabs 社) では、「Spores Don't Lie 【孢子は嘘をつかない】」という言葉が好きです。私たちの顧客は、間違っていると証明しましたでしょうか？実際に孢子は私たちに嘘をついていましたか？

このような状況に特有のように、問題の評価は質問から始まります。以下は、顧客に提出した質問のリストとその回答を示したものです。次の項目を見直し、BI の孢子が殺される原因を明らかにして、培地が明らかに滅菌されていないかどうかを確認してください。

Q1 : オートクレーブに入っているビンの数と各ビンの充填量を教えてください？

A1 : 合計 30 本のボトルが積載されています。10 本は 500ml のボトルで 400ml の培地、10 本は 1,000ml のボトルと 900ml の培地、10 本は 2,000ml のボトルと 1800ml の培地です。

Q2 : 滅菌サイクル時間と温度はどれくらいですか？

A2 : 我々は粉末培地に記載されている指示に従ってオートクレーブをセットしました。121℃で 15 分間です。

Q3 : 使用された BI のロット番号を教えてください？また、滅菌負荷内の BI の位置を記述してください。

A3 : BI ロット番号は S-407 です。BI は排液ラインのすぐ上のオートクレーブのコールドスポットの前に置きました。

質問に対する答えを受け取った私は、私たちの孢子がまだ正直であると確信しています...立ち止まっていません。BI ロット番号から始めましょう。

S-407 は EZTest BI のロット番号であり、オートクレーブ内の液体を滅菌する際には、液中に沈めて BI を使用する必要があります。前述のように、この顧客は当社の EZTest BI を長年使用しており、実験室で十分な供給をしていたため、EZTest は液体負荷用の適切な BI であると仮定していました。この特定のケースでは、顧客は、チャンバーの前部、すなわち排気ラインのすぐ上にある最も滅菌しづらい箇所であると信じられた領域のチャンバーに BI を配置しました。孢子は、EZTest がチャンバー内に置かれていたため、15 分のサイクル保持時間、および液体を滅菌する際に使用される長くて遅い排気相を含むサイクル全体を通して直接的な蒸気接触に遭遇するため、孢子は死滅しました。容器内の液体は直接蒸気接触しません。代わりに、オートクレーブ内の蒸気分子は、より温度が低い容器上で凝縮し、そのエネルギーをガラスに移します。このエネルギーの移動はガラスを加熱させ、次に媒体も加熱し始めます。

EZTest で孢子を殺すのに蒸気が十分であれば、なぜ培地は滅菌されないのでしょうか？チャンバー環境における一般的な条件は、液体媒体自体の条件とは大きく異なります。液体の質量は、温度に対する時間の遅れを有し、液体の質量が増加するにつれて、遅れの量はより長くなる。図 1 は、浸透熱電対からの実際の温度データを使用して作成されたグラフを示しています。図 1 に示された液体充填量は顧客のそれとは異なりますが、グラフはチャンバー条件と比較して遅れ時間温度現象を実証するのに有効です。グラフには、これらのタイプの負荷を監視するために液体潜水可能 BI を使用する必要がある理由も示されています。MagnaAmp が理想的な選択肢になります。チャンバー内に配置された EZ テストは、チャンバーの状態を監視しており、我々が実際に滅菌しようとしている液体を示すものではない。液体塊に懸濁された液中潜在 BI のみが、培地の無菌性の正確な指標を提供します。

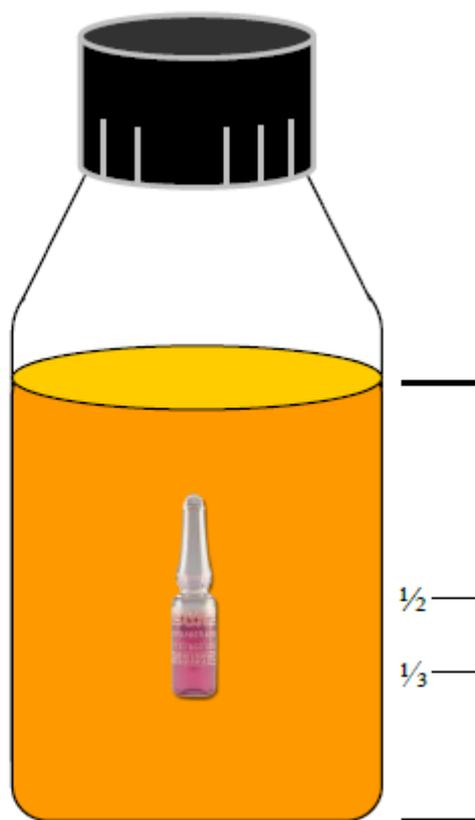
ここで、「121℃で 15 分間オートクレーブ」と記載されている培地のバケツに記載されているオートクレーブの手順を検討してみましょう。この状態（121℃で 15 分間）は、媒体自体の温度であって、チャンバーの状態ではありません。ユーザーへのより正確な説明は、「培地が 121℃の温度を達成し、15 分間保持する」ということになります。もしくは、「浸透熱電対によって示されるように 15Fo の致死率が達成されるまで培地を滅菌します。」

最後の懸念は、顧客が同じ負荷で処理しようとしたボリュームについてです。再度、図 1 を参照してください。様々な充填量に必要とされる滅菌時間の大きな違いに気付くかと思います。250ml の寒天試料では 16.5 分間に 12Fo の致死率が達成され、1,600ml の寒天試料と同じ致命的デリバリーを達成するために約 29 分が必要です。容積の差が実質的でない場合、容積を混合することは許容可能です。しかし、お客様が 400ml の量を滅菌するのに十分なサイクルを開発すれば、1,800ml の量は殺菌されない可能性があります。1,800ml の塊が滅菌されるようにより長いサイクルが開発された場合、400ml の量は「過剰に熱が加わる」危険性があります。液体充填量を同様に保ち、2 つ（またはそれ以上）の

異なる滅菌サイクルを開発することです。小容積を無菌にするより短いサイクルと、より大きい容積を殺菌する時に使用することができる長いサイクルの 2 つを含みます。

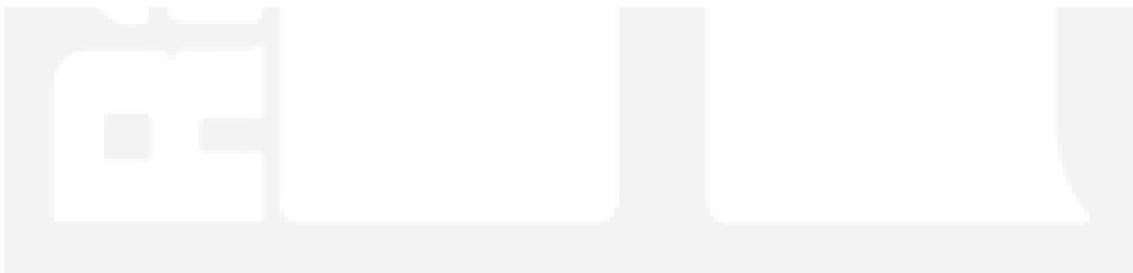
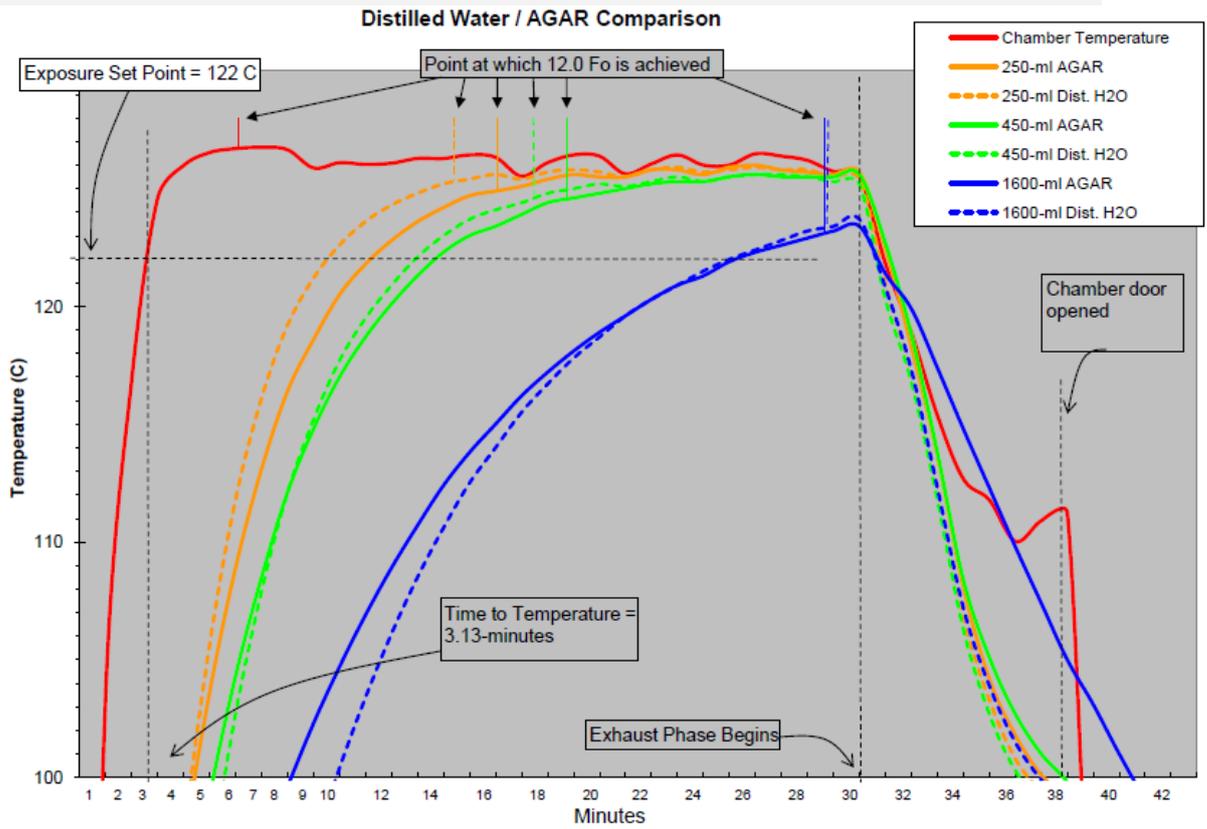
問題は修正され、顧客は以下を実装して培地の滅菌サイクルを適切に検証することができました：

- 1) 液体の充填量を同様に保って、温度に対する遅延時間も同様になるようにします。
- 2) 説明文や読んだものすべてを信用しないでください。培地の説明書は、それらを 15 分のサイクル時間に導きました。適切なサイクルバリデーションの練習を通じて、1,800ml の充填量に 15 分間の同等の致死率を達成するには、40 分のサイクルタイムが必要であると顧客は判断しました。
- 3) BI の選択と配置を修正します。液体で満たされた容器を滅菌するには、液体潜水型 BI を使用する必要があります。その BI の正しい配置は、液体中の幾何学的中心（容器の底部からの液体の高さの約 $\frac{1}{3}$ から $\frac{1}{2}$ ）（以下に示す）に置くことです。



SPORES DON'T LIE®

图 1



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-7-No-5.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

