

# SporeNews

MesaLabs

biological indicators newsletter

Volume 9, No. 4

## 複数 BI を用いたアイソレーター除染の評価について

by Garrett Krushefski

あなたが滅菌業務に行っているのであれば、予期しないバイオロジカル・インジケータ（BI）の陽性結果とその後続く問題について、関連があることは間違いないかと思います。もし、これが vapor phase hydrogen peroxide（VHP）に関連する場合、不眠の夜につながる可能性があります。

他の滅菌プロセスで、真空状態に圧力をかけた飽和蒸気のような場合は浸透力を有しますが、通常の気圧でのガス発生プロセスでは同じことが当てはまりません。VHP の浸透能力は限られているため、担体の表面に孢子が存在しているかどうか重要です。さらに、孢子の中に破片や残骸が存在すると、VHP 暴露で孢子が生き残る場合があります。これは、様々な文献で報告されている『不良 BI』と呼ばれています<sup>1,2</sup>。

サイクルの適正化および/または再認定を行う試験で、望ましくない陽性 BI が出現した場合、どのように進行していくべきでしょうか？ BI が培養され、陽性の結果が得られると、その増殖が孢子の不良や不備によるものなのか、滅菌サイクルの致死率の偏差に起因するものなのかを判定することは不可能です。1 カ所に 1 つの BI のみを設置する場合、『一体何が起きているのか？』について、高い費用がかかる再試験を伴う場合があります。PDA テクニカルサポート No.51 のセクション 8.1 では、異なるロットの BI を用いた滅菌・除染を再実行するか、同じ場所に複数の BI を使用して再実行する必要があることを示しています<sup>3</sup>。

今回の Spore News では、VHP サイクルで予期せぬ陽性 BI が出た時に対する反応としてではなく、積極的な手段として 3 つの BI を使用するという概念で議論をします。以前に引用した文献では、James Drinkwater は、最高品質に接種されたステンレス BI の担体でさえ、約 0.3%の不良品率を有することを示唆しており、事例として紹介しています。従って、不良な BI が存在することを認めなければならないとする場合、それに備えて準備する必要があるかと思います。

各試験箇所で、複数の BI を使用する理由は、各 BI の統計的に見る必要があるためです。私は BI メーカーの者なので、消費量を 3 倍にしたいと考えているのでは？と懐疑的な意見があるかもしれません。し

かしながら、これは必ずしも 3 倍量の BI が必要というわけではありません。バリデーションの技術者は、アイソレーター全体で 100 カ所（100 枚）を監視する代わりに、30 カ所または、40 カ所の除染が困難な場所を特定し、これらの箇所で、3 つの BI を使用することで、90 枚、120 枚を使用することになります。複数同じ箇所に設置することで統計的に、Halvorson-Ziegler 方程式 4 を用いて、生き残った胞子を最確数（MPN）にて計算することができます（3 つ設置した BI のうちの 1 つもしくは 2 つが陽性反応を示すとき）。各箇所で、1 つの BI のみを使用され、1 つの BI が陽性反応の結果を示す場合、その結果から、生き残った胞子がどの程度（数十万）かを計算することはできません。Halvorson-Ziegler 方程式は次のとおりです：

$$\text{MPN} = \ln (n / r)$$

:

MPN = 生存している最確数

ln = 自然対数

n = 同じ箇所に設置した BI 数

r = それぞれの設置箇所での陰性 BI 数

VHP サイクルで 3 つの BI が使用され、特定の箇所で陽性反応 1 つと、陰性反応 2 つ（すなわち n=3 と r=2）を観察した場合、どのように計算するか見てみます。

$$\text{MPN} = \ln (3/2) = 0.405$$

この最確数（MPN）が示すのは、平均して BI あたり 0.405 の生存胞子があるということです。3 つの BI のうち 2 つは陰性であったため、2 つの BI の生存胞子はゼロとなります。MPN 値を計算したので、次のステップでは、この数値を使用して、陰性 2 つと陽性 1 つという結果に関連する胞子対数減少（SLR）を計算します。そのために、次の方程式があります。

$$\text{SLR} = \text{Log}_{10} \text{No} - \text{Log}_{10} \text{MPN}$$

:

SLR = 胞子対数減少

No = BI の初期菌数（除染前）

BI の分析証明書が、1 つの BI あたり  $1.6 \times 10^6$  胞子を初期菌数とした場合、SLR 計算は次のようになります。

$$\text{SLR} = \text{Log}_{10} 1.6 \times 10^6 - \text{Log}_{10} 0.405$$

$$\text{SLR} = 6.204 - (-0.393)$$

$$\text{SLR} = 6.597$$

従って、3つの設置した BI のうち、1つ陽性 BI があつたにもかかわらず、その箇所では 6+ 孢子対数減少が達成されたことを証明することができます。この計算は、複数の BI を使用する場合にのみ可能であるということに注意してください。それぞれ 100 箇所に、一枚ずつ 100 枚の BI を設置する場合は、上述の MPN と SLR の計算を実行するのは適切ではありません。

そこで次に気になるのは、この質問です。孢子の暴露が不完全であったため、陽性が出たのでしょうか…？もしくは、その特定の箇所において、致死率のわずかな偏差によるものでしょうか？私はそれに対する答えを示唆しています。それは問題でしょうか？（軽薄なつもりで言っている訳ではありません。）結局のところ、我々はその箇所が陰性であるという結果も持っており、数学的に分析すると、6+ 孢子対数減少が達成されたことを示しています。同じ箇所に設置した 3 つの BI がすべて陽性である場合、または、日常的に複数の箇所で、複数の陽性 BI を観察している場合、注意を要するプロセスが不足していると考えする必要があります。しかし、逆に 3 つの BI を用いて、すべての試験箇所で日常的に、陽性結果がゼロと確認されており、予想外に陽性結果が出た場合、上記の分析においては、陽性結果が本当の原因かどうかにかかわらず、除染サイクルを許可する必要があります。

複数の BI を使用することを標準として採用することで、通常の方法論は、自動車の保険に似ています。誰もが自動車事故に関与するとは考えていませんし、BI の陽性結果を日常的に観察するとは誰も想定していません。日常的に 3 つの BI を使うことは、避けることができない BI 陽性に対する準備です。もし、陽性 BI が現れた場合、それを評価するために統計分析を準備しておく必要があります。また予期しない潜在的に不良な BI に対処するために、費用がかかる再試験や再確認をする必要はありません。

米国の歴史家である Benjamin Franklin は『1 オンスの予防は 1 ポンドの治療に値する』と語っています。本シナリオの場合、VHP サイクルで日常的に 3 つの BI を使用することは、予防の 1 オンスです。

#### 参考文献：

<sup>1</sup>Drinkwater J, Chewins J, Steele G. Biological indicators don't lie, but in sporocidal gassing disinfection cycles do they sometimes confuse the truth? *European Journal of Parenteral & Pharmaceutical Sciences* 2009; 14(1): 5-11.

<sup>2</sup>Templeton P, Hillebrand J. Case Study: Isolator Sanitisation Cycle Development, Validation and Revalidation.

<sup>3</sup>Technical Report No. 51 Biological Indicators for Gas and Vapor-Phase Decontamination Processes: Specification, Manufacture, Control and Use, Parenteral Drug Association: Bethesda, MD, 2010.

<sup>4</sup>Halvorson H, Ziegler N. *Journal of Bacteriology* 1933; 25, 101-121

**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。

<https://biologicalindicators.mesalabs.com/wp-content/uploads/sites/31/2014/07/Spore-News-Vol-9-No4.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](mailto:info@raven-japan.jp)

