

# Spore News

Volume 2, Number 2  
June 2005  
Revised March 2009



Garrett Krushefski  
Laboratory  
Manager

## Selecting a Biological Indicator with Appropriate Resistance Performance to Monitor a Validated Sterilization Cycle

### 適正な滅菌サイクルを監視するための適切な抵抗性能を有するバイオロジカル・インジケータの選択

最近、SterilAmp のユーザーからは、孢子集団がアンプル当たり  $1.3 \times 10^6$  個、 $D_{121}$  値が 1.9 分のロットを使用することに対する懸念を表明しました。経験的 (Fo) Survival Time および Kill Time は、それぞれ 10.0 および 15.0 分でした。計算された Survival Time および Kill Time は、7.8 および 19.3 分でした。検証された滅菌サイクルは 15.0 Fo を提供するように開発されました。彼らの懸念は、年間での確認中に陽性 SterilAmp を観察する可能性であると考えました。彼らは、バイオロジカル・インジケータの抵抗性が既存の検証されたサイクルでは大きすぎると感じました。

USP27 の公式文書では、蒸気滅菌サイクルを監視するために使用されるバイオロジカル・インジケータは、キャリアあたり  $10^4 \sim 10^9$  の生存可能な孢子数を有するものとしている。同じ文書の General Information Section <1035>によれば、適切な蒸気滅菌バイオロジカル・インジケータは 1.5~3.0 分の  $D_{121}$  値を有するべきであると述べている。ISO 11138-3、EN 866-3 および EN 866-7 には、 $D_{121}$  値が 1.5 分以上でなければならないことも記載されています。

ISO および EN 書類には、最低  $10^5$  の菌数が必要であり、名目菌数の  $\log_{10}$  に  $D_{121}$  値を掛けた菌数は 10.0 未満でなければなりません。

上記の情報を元に、蒸気滅菌バイオロジカル・インジケータを適切に選択するのは簡単？ …違います。

バイオロジカル・インジケータの選択は、バイオロジカル・インジケータの機能が物理的測定によって作成されたデータを確認することであることを理解すれば、比較的単純なプロセスになる可能性があります。熱電対が毎日のサイクル監視に利用できない場合、バイオロジカル・インジケータはサイクル致死率の唯一の指標として使用されます。適切に使用されるバイオロジカル・インジケータは、較正された熱電対で測定された  $F_m$  値に生物学的致死率が対応することを実証するでしょう。さらに、「陽性の BI は、対数減少データがサイクル開発で確立された致死率パラメータの適切な減少を示さない限り、プロセスの失敗を示すものではありません」。これは、以下で考察する概念である。

適切に開発された滅菌サイクルは、特定の致死量または F 等価値をもたらすことが立証されています。滅菌される製品のバイオバーデンが評価されると、F 値は、バイオバーデンを不活性化し、滅菌保証レベルを提供するのに必要な致死量に基づいて決定されます。バイオバーデン分析がない場合、または滅菌条件

に長期間さらされても劣化しにくい品目を滅菌する場合、 $D_{121}$  値が 1.0 分で、12 log 減少させるサイクルを開発することが一般的です。

上記について、SterilAmp 抵抗性の証明特性を用いて、SterilAmp の死滅動態を概説する次の図を作成しました。定義上、生存孢子集団の 1 つの孢子対数減少 (SLR) が 121°C で 1.9 分の漸増曝露で達成されます。

A	B	C	D	E	F
Exposure Lethality (Fo)	SLRs Achieved *	Remaining Viable Spore Population per Ampoule	Log <sub>10</sub> of Remaining Viable Spore Population**	Value in Column C Expressed in Numerical Format	# of Positive SterilAmp Units Expected per 10 Exposed Units
0.0	0	$1.3 \times 10^6$	6.114	1,300,000	10
1.9	1	$1.3 \times 10^5$	5.114	130,000	10
3.8	2	$1.3 \times 10^4$	4.114	13,000	10
5.7	3	$1.3 \times 10^3$	3.114	1,300	10
7.6	4	$1.3 \times 10^2$	2.114	130	10
9.5	5	$1.3 \times 10^1$	1.114	13	10
11.4	6	$1.3 \times 10^0$	0.114	1.3 †	~7
13.3	7	$1.3 \times 10^{-1}$	-0.886	0.13 ††	~1
15.2	8	$1.3 \times 10^{-2}$	-1.886	0.013 †‡	0
17.1	9	$1.3 \times 10^{-3}$	-2.886	0.0013 §	0
19.0	10	$1.3 \times 10^{-4}$	-3.886	0.00013	0

初期孢子数 =  $1.3 \times 10^6$

評価された  $D_{121}$  値 = 1.9 分

\* SLR =  $F_0 \div D_{121}$  値

\*\*初期孢子集団の log<sub>10</sub> から SLR を引くことによって、値を計算することができる。

† この致死率では、個々のユニットが陽性と判定される確率は 73% です。

†† このレベルの致死率では、個々のユニットが陽性と判定される確率は 12% です。

‡ この致死率では、個々のユニットが陽性と判定される確率は 1.3% です。

§ この致死率では、個々のユニットが陽性と判定される確率は 0.13% です。

上記のように、検証されたサイクルは 15.0 の F 値を提供するように開発されました。この値を 15.1 Fo で SLR を計算するために、 $D_{121}$  値を 1.9 分で割ります。 $15.0 \div 1.9 = 7.895$  SLR。最初の  $1.3 \times 10^6$  孢子集団の log<sub>10</sub> は 6.114 です。達成された SLR は 6.114 から減算され、-1.781 ( $6.114 - 7.895 = -1.781$ ) が得られます。-1.781 の逆ログは 0.0166 となります。したがって、15.0 Fo に暴露すると、上記の抵抗性能を有する SterilAmp ユニットは、 $1.66 \times 10^{-2}$  の孢子集団を有します。

次の式を使用して、この特定のユニットが陽性となる割合を計算することができます。

$$\frac{\text{\# of negative units per 100 exposed}}{\text{inverse natural log (\# of surviving spores per BI)}} = \frac{100}{\text{inverse natural log (\# of surviving spores per BI)}}$$

$$\frac{\text{\# of negative units per 100 exposed}}{\text{Inv ln (1.66 X 10}^{-2}\text{)}} = \frac{100}{\text{Inv ln (1.66 X 10}^{-2}\text{)}}$$

$$\frac{\text{\# of negative units per 100 exposed}}{1.01674} = \frac{100}{1.01674} = 98.35$$

このように、100のバイオロジカル・インジケータが暴露され98.35が陰性の場合、陽性の指標は1.65%の確率です。または60の複製されたバイオロジカル・インジケータごとに、約1つの陽性が予想されるべきです。

クライアントが年間の再検証に多数のバイオロジカル・インジケータを使用する場合、暴露された試験ユニットのすべてが成長のために陰性になる可能性が非常に高いです。しかし、時折、陽性となるバイオロジカル・インジケータはサイクルの失敗を示すものではありません。むしろバイオロジカル・インジケータは観察された生物学的致死率を非常に正確に示しており、それらの結果は熱電対によって記録された15.0 Foと非常に密接に相関するでしょう。逆に、もし1サイクルあたり10回の曝露されたうちの8つ陽性である場合、その生存レベルは、サイクルの不全を示します。上記の表を参照すると、80%の生存率は11.4 Foよりわずかに低いサイクル致死率を示すことが分かります。

バイオロジカル・インジケータ (BI) 生存率が80%の場合、上記の式を使用してBIあたりの生存胞子の平均数を計算することができます：

$$\text{暴露された 100 当たり 20 の陰性} = 100 / \text{Inv ln (生き残った胞子の数/BI)}$$

$$5 = \text{Inv ln (生存胞子数/BI)}$$

$$\text{ln } 5 = 1.609 \text{ 生存胞子/ BI}$$

$\log_{10} 1.609 = 0.207$  であり、この値は、80%BI 生存率 :

$6.114 - \text{SLR} = 0.207$

$\text{SLR} = 5.907$

最後に、 $5.907\text{SLRs} \times 1.9 \text{ 分 D121 値} = 11.22 \text{ Fo}$  を掛けます。

この場合、80%の BI 生存率はわずか 11.22 Fo を示します。この値は、検証されたサイクルで供給されるべき 15.0 Fo よりも小さいので、サイクルの失敗と考える。

上記の例は、陽性 BI が常にサイクルの失敗を示しているわけではないことを表しています。BI を使用する場合、3 つの可能な結果があります。

- 1) すべての BI が陽性
- 2) すべての BI が陽性
- 3) 分数の結果が得られる (すなわち、いくつかの陽性と、いくつかの陰性がある場合)

ほとんどの BI ユーザーは、サイクルの可用性/致死性を示すために条件 2 を満たす必要があると想定しています。実際、部分的な結果が得られれば、最も正確で価値ある情報をもたらされます。条件 1 または条件 2 が満たされると、プロセス中に提供される正確な致死率の兆候を示さずに、致死率が期待値よりも低いかまたは許容値よりも大きいことのみが分かります。条件 3 が優先される場合、非常に特異的な致死率情報が得られ、生物学的結果はプロセスの致死率の正確な指標を提供します。

**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-2-No-2.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)