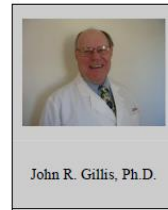


Spore News™

Volume 5, Number 5
September 2008



The Most Important Letter in
Sterilization is **Z**



滅菌で最も重要な Z 値

Z 値は、バイオロジカル・インジケータ (BI) の抵抗性について、最も重要な表現の 1 つです。BI ユーザーの多くは、この値を滅菌処理の致死率の評価に適用することに不満があるようです。滅菌は複雑なプロセスであり、Z 値を適用することは物事をさらに複雑にするように感じます。うまくいけば、この Spore News は、Z 値に関するいくつかの混乱と誤解を解決するのに役立ちます。

以前の Spore News の記事では、Z 値の計算方法 (Volume 3, Number 2) と、試験成績書 (Volume 3, Number 1) に報告されていない試験条件で Z 値を使用して D 値を計算し、時間を算出する方法を紹介しました。この Spore News では、滅菌プロセスで提供される総致死率を決定するために Z 値をどのように使用するかに焦点を当てていきたいと思えます。

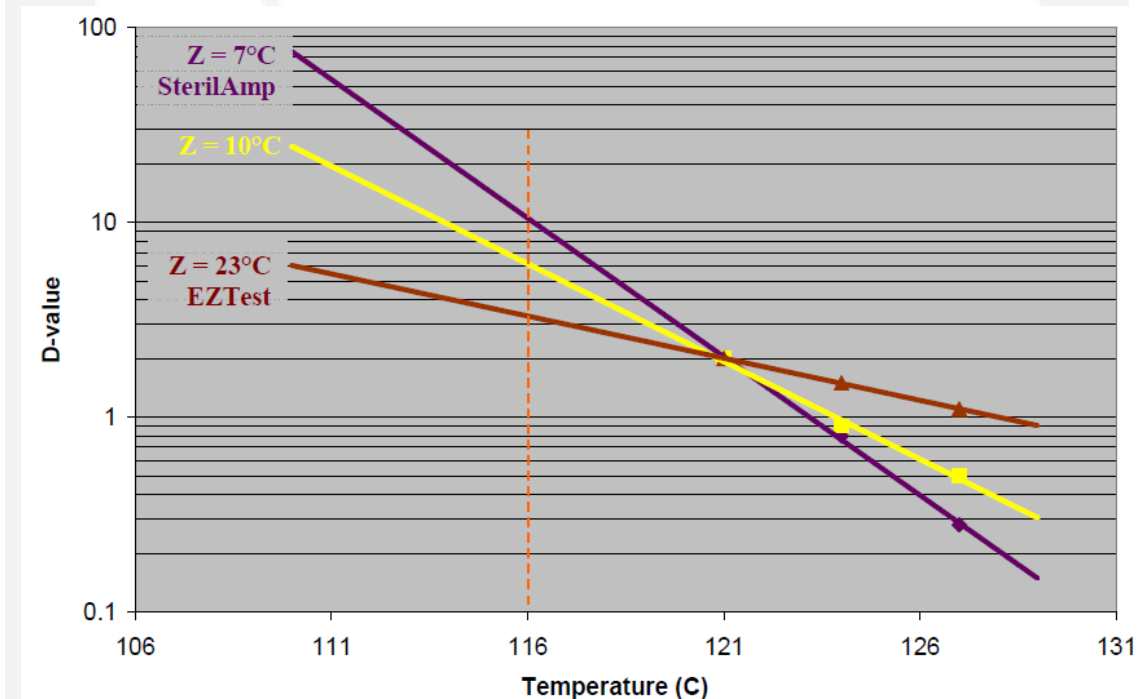
Z 値の ISO 定義は、「D 値の 10 倍の変化に対応する熱滅菌プロセスの暴露温度の変化」としています。D 値の ISO 定義は、「90%の失活を達成するのに必要な時間」であり、規定された用量条件下での被験生物の集団濃度を測定することができます。この様子を説明するために、D 値 (121°C)、2.0 分および Z 値 10.0°Cを有する蒸気 BI を検討します。

- 131°C (すなわち、 $121^{\circ}\text{C} + 10^{\circ}\text{C} = 131^{\circ}\text{C}$) では、D 値は 0.2 分である。
- 111°C (すなわち、 $121^{\circ}\text{C} - 10^{\circ}\text{C} = 111^{\circ}\text{C}$) では、D 値は 20.0 分である。

蒸気または乾熱で滅菌する場合、致死率が製品のバイオバーデンおよび BI の孢子に供給されるサイクルの 3 つの一般的な段階があります。これらの段階は、温度上昇、暴露時間、および温度降下 (または排気) 段階です。滅菌プロセスの温度上昇の間、一般的な温度は、定義上、目標暴露温度よりも低くなります。曝露時間中、温度は典型的には、標的状態に等しいかまたはそれよりも大きい状態となります。温度降下時間相温度は、定義によれば、規定のプロセス温度よりも低くなります。固形物を滅菌するとき、下降段階は非常に迅速になることが想定されます。しかし、液体を滅菌するとき、温度降下は、通常、チャンバー圧力がゆっくりと大気レベルに近づくにつれて、液体生成物が徐々に下がるように制御されています。この制御された冷却/圧力降下は、圧力差が大きすぎるために、液体製品が「沸騰する」または梱包材料が破裂するのを防ぐために不可欠となります。温度上昇および下降段階の間に、かなりの量の熱致死性が製品にもたらされる可能性があります。

図 1 のグラフは 3 つの仮説で、BI を示しており、すべて D 値 121°C が 2.0 分です。文献では、正確に 10.0°C の Z 値が蒸気プロセスのために参照されることが多くなっています。これは図 1 の黄色の線で表されます。しかし、BI を購入する場合、実際の Z 値が正確に 10.0°C というのは稀になります。SterilAmp や MagnaAmp などの液体潜水用インジケータは、通常 7~10°C（紫色の線）の Z 値を持ちます。セルフコンテインド型の EZTest は、製品設計と一次包装材料のおかげで、20°C を超える Z 値（茶色の線）を持つことがおおいです。

図 1. 3 つの BI の Z 値グラフ



このグラフは、Z 値の非常に重要な側面を視覚化するのに役立ちます。上述したように以前は、一般的な温度は、滅菌サイクルの加熱および降下段階中の目標温度（すなわち、この例では 121°C）を下回ることになります。23°C Z 値の EZTest BI を使用する場合、116°C での D 値は約 3.3 分です。Z 値が 7°C の SterilAmp BI を使用している場合、116°C の D 値は 10.5 分です。熱浸透試験が較正された熱電対で実行されるとき、我々はしばしば Fo 致死率を計算して蓄積するためにデータ収集装置をプログラムする必要があります。これを行うには、致死率の方程式を 10.0°C の Z 値でプログラムしています。したがって、10.0°C の Z 値入力を持つ熱電対は、116°C での D 値が 6.1 分であるかのように致死率を計算します。これは、生物学的に測定された致死率（BI の孢子）とは異なる、物理的に測定された致死率（熱電対読み取り値）をもたらすことになります。

したがって、滅菌プロセスが基準温度（121°C）未満の温度である場合、低い Z 値を有する BI は、孢子致死性を達成するためにより多くの時間を必要とする。121°C を超えるプロセス温度では逆のことが言えます。この場合、Z 値が低い BI は孢子致死率を達成するのに要する時間が短くなります。

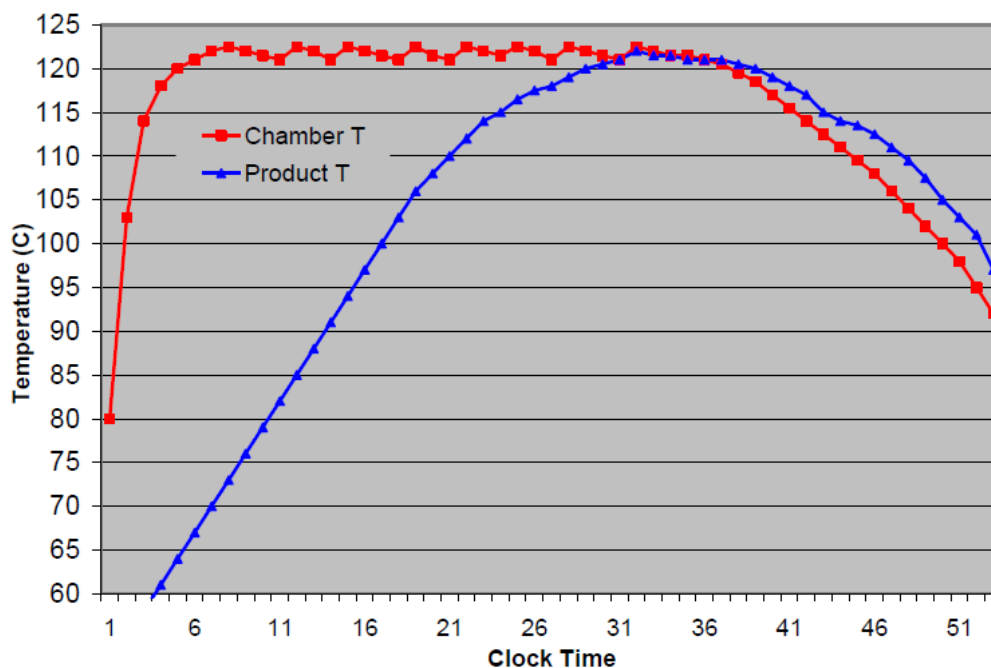
これを考えてみましょう…。滅菌サイクルの間、製品は厳密にいうと、常に 121℃ではありません。曝露滞留時間中であっても、サイクル検証（すなわち、-0℃、+ 2℃）中に確立された許容温度範囲内で変動します。D 値は非常に特定の温度での致死率となり、非常に正確な推定値となります。±0.5℃は大きな影響を与えます。離散値として、D 値は、サイクル内のこの非常に特殊な状態がほとんど起こらないため、ユーザーとの関連性はほとんどありません。あるお客様は、特定の D 値 121℃に対する要求をして、試験成績書の D 値が、認識された「理想値」と 0.1～0.2 分異なる可能性があるとして、特定のロットを拒否します。残念なことに、この「理想値」は、実際に滅菌プロセスを理解していない人が購入仕様書または他の管理文書に追加したものです。そして、文書の変更を避けるために、乏しい決断を永続させ続けます。

今回は、孢子を死滅する能力に Z 値が与える影響を説明したので、Z 値を使って総サイクル致死率を適切に計算する方法を検討してみましょう。私たちは、孢子が、致死率の変動を取り入れていないとしても、それを統合していることを覚えておく必要があります。

図 2 は、2000ml 容器中の液体生成物 1800ml の滅菌のサイクル温度グラフを示しています。赤い線は室温を示し、青い線は浸透熱電対によって記録された製品の温度を示します。これは温度に対する遅れる時間（製品の量または質量が増加するにつれて長くなる）を示し、液体負荷の滅菌のモニタリングに適切に使用された場合、液体潜水型 BI を製品サンプルに浸漬する必要がある理由を示しています。

この例では、滅菌器は-0℃～+2℃の許容誤差で、121℃で動作するように設定されています。このチャーターは比較的速くこの条件を達成するが、1800ml の液体生成物は、加熱される物品の質量作用および熱伝達特性の法則に基づいて遅れています。

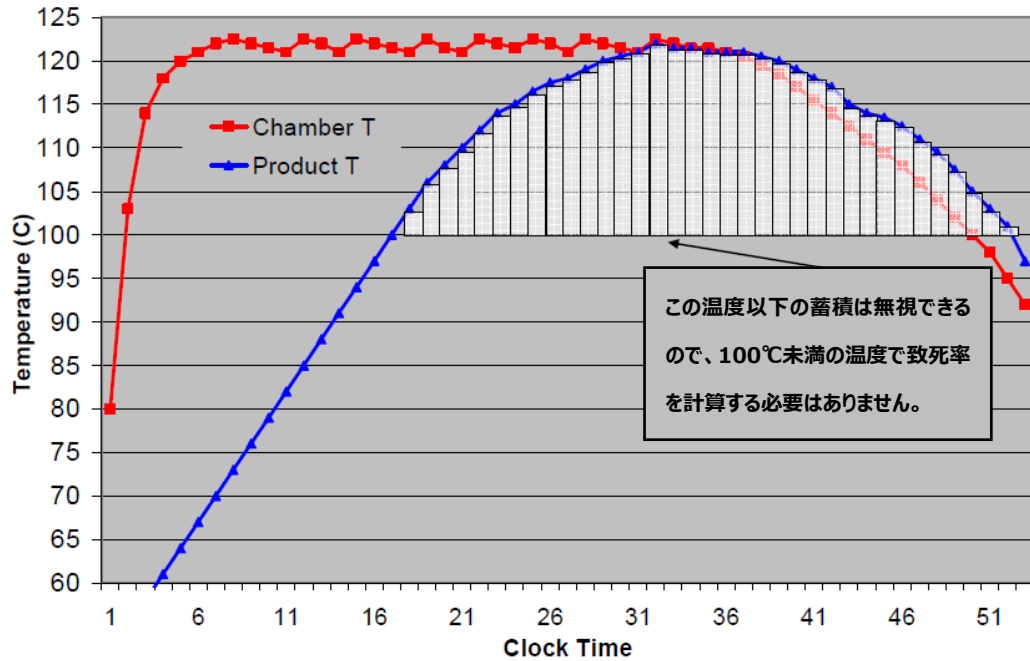
図 2. 蒸気滅菌液体負荷



上記のサイクルには、サイクルの開始から終了のドアを開けるまでの時間が 53 分であることを注意してください。サイクルの暴露段階は 5～35 分で実行されますが、30 分では 121°C に達しません。製品に与えられる致死率を計算するには、製品曲線の下領域（青い線）を統合する必要があります。

Z 値の正しい適用は、プロセス全体（すなわち、「プロセスの致死率」または「プロセス等価時間」）の間に供給される致死率のすべてを考慮に入れることを可能にします。この作業は、カーブの下領域を統合することによって実行されます。そのためには、曲線を部分に分割する必要があります。分割（セグメント）が細かいほど、最終結果がより正確になります。図 3 の例では、60 秒間隔で 35 のセグメントにより作成しています。

図 3. 曲線下の統合



次のステップでは、式を用いて各セグメントの致死率の値を決定します。

$$\text{Lethality} = \text{Clock Time} \times 10^{\left(\frac{(\text{Actual Temp} - 121 \text{ Ref. Temp.})}{Z\text{-value}} \right)}$$

例として、製品温度の読み取り値が 115°C、セグメント固定時間が 1 分、Z 値 = 7.0°C の第 7 セグメントを考えてみましょう。

$$\text{Lethality} = 1 \text{ min} \times 10^{\left(\frac{(115 - 121)}{7.0} \right)}$$

$$\text{Lethality} = 1 \times 10^{-0.857} = 0.14 \text{ equivalent minutes}$$

従って、その 1 分の固定間隔は 0.14F のプロセス致死値を有します。以下の結果を見つけるために、この計算を Z = 10.0 および Z = 23.0 について繰り返してみます。

表 1. 115°Cで 60 秒間の致死値

Z-value	Lethality value
7.0°C	0.14 F
10.0°C	0.25 F ₀
23.0°C	0.55 F

Z=10.0°C、基準温度=121°Cのとき、致死率は F₀ と表すことができます。他のすべての Z 値については、致死性を表す記号は単に F または F_{T,Z} であり、Z は T = 任意の基準温度であり、Z は特定の Z 値です。

トータルサイクルの致死率を計算するには、サイクルカーブの各セグメントの値を計算する必要があります。表 2 は、左から右へ 35 セグメントのそれぞれについての致死率値およびサイクルに対する総致死率を示しています。

表 2. 各セグメントおよび Z 値の致死率値

Segment #	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	
Product Temp (°C)	103	106	108	110	112	114	115	116.5	117.5	118	119	120	
Lethal Value	Z=7	0.00	0.01	0.01	0.03	0.05	0.10	0.14	0.23	0.32	0.37	0.52	0.72
	Z=10	0.02	0.03	0.05	0.08	0.13	0.20	0.25	0.35	0.45	0.50	0.63	0.79
	Z=23	0.16	0.22	0.27	0.33	0.41	0.50	0.55	0.64	0.70	0.74	0.82	0.90

Segment #	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	
Product Temp (°C)	120.5	121	122	121.5	121.5	121	121	121	120.5	120	119	118	
Lethal Value	Z=7	0.85	1.00	1.39	1.18	1.18	1.00	1.00	1.00	0.85	0.72	0.52	0.37
	Z=10	0.89	1.00	1.26	1.12	1.12	1.00	1.00	1.00	0.89	0.79	0.63	0.50
	Z=23	0.95	1.00	1.11	1.05	1.05	1.00	1.00	1.00	0.95	0.90	0.82	0.74

Segment #	25	26	27	28	29	30	31	32	33	34	35	TOTAL	
Product Temp (°C)	117	115	114	113.5	112.5	111	109.5	107.5	105	103	101		
Lethal Value	Z=7	0.27	0.14	0.10	0.08	0.06	0.04	0.02	0.01	0.01	0.00	0.00	14.29
	Z=10	0.40	0.25	0.20	0.18	0.14	0.10	0.07	0.04	0.03	0.02	0.01	16.12
	Z=23	0.67	0.55	0.50	0.47	0.43	0.37	0.32	0.26	0.20	0.16	0.14	21.88

実際のプロセスの致死率は、BI の Z 値に応じて変動するので、成績書等に記載されている BI の Z 値を用いて、データ収集装置をプログラムすることが重要であるかが分かります。この液体負荷の例では、MagnaAmp BI の D121°C 値は 2.0 分、Z 値は 7.0°C です。したがって、我々は $14.29 F \div 2.0 D = 7.15 SLR$ で、MagnaAmp BI の孢子集団に対して 7.15 SLR（孢子対数減少）をもたらすプロセス致死率を有します。D と Z 値の両方について試験成績書の値を適切に適用しないと、「予期しない」陽性 BI が出ることがあります。

データ取得装置が初期の Z 値 10.0°C でプログラムされている場合、全サイクルの致死率は $16.12F_0$ になり、達成された SLR が $16.12 \div 2.0D = 8.06SLR$ であると誤っていることとなります。

バイオロジカル・インジケータ (BI) の目的は、プロセスによってもたらされる物理的致死性の生物学的測定を提供することです。2 つの異なるスケールが使用されている場合、または 2 つの異なるシステムが使用されている場合、期待する確認を得る方法がありません。J. Agalloco は、PDA Journal of Pharmaceutical Science & Technology (1998 年 11 月～12 月) に掲載された中で、「滅菌負荷中に配置された熱電対によって測定された F_0 がかなりの数 (例えば 30)、同時に、同じ滅菌負荷中に置かれた BI のうちの 1 つ以上がそのサイクルで生き残りました。私たちはまた、その逆を目撃しました。ここでは、2～4 倍の F_0 値が決定され、すべての BI が不活性化されています。このような状況では、生物学的結果は物理的データを確認せず、滅菌負荷が拒否され、調査が行われます。これは、Spore News の読者が「Spores Do not Lie! 【Spore は嘘をつかない!】」と思っているはずのポイントです。

サイクル開発には F_0 (すなわち、 $Z = 10^\circ\text{C}$) を使用するのが賢明です。これは、よく受け入れられている基準条件の標準を提供するためです。これは、製品のバイオバーデンおよび生物学的モニターに存在する「実生活」条件の評価に数学的に適用されなければならない基準です。 F_0 値は、食品産業に由来し、非常に特異的な低酸性食品環境において、特定の孢子形成細菌種、ボツリヌス菌に関連しています。天然のバイオバーデン生物が F_0 値によって予測される正確な速度で死滅することは、滅菌医薬品または医療製品の製造においてはほとんど起こり得ません。

医薬品および医療製品業界には、幅広い種類のバイオバーデン生物ならびに無数の製品が存在することを認識する必要があります。今日の認識されている基準、ISO、EN、AAMI、USP などに準拠した商業 BI で使用される孢子は、ボツリヌス菌ではなく特定の滅菌プロセスに対して非常に耐性であることが実証された孢子形成の自然からの分離菌であることはよく知られています。したがって、これらの生物、特定の環境および特定のプロセスについて決定された数学的測定値を適用しなければなりません。特定の生物学的チャレンジに対する Z 値の適用によってのみ、正確に測定された物理的プロセスによってもたらされる生物学的致死性を正確に予測することができます。

BI の目的は、物理的に生成されたデータを正確に生物学的に確認することです。熱電対が BI チャレンジに一致するように Z 値をプログラムすることを無視してはいけません。そうしないと、熱電対と孢子が感知しているものとは異なる致死値を報告する結果になります。これにより、物理的/生物学的結果が矛盾することになります。孢子は常にメッセンジャーです。物理的データによって死滅するべきであることが示されているプロセスを生き残った場合、ほとんどの場合、物理的データを信じて、生物学的データを信用しようとする傾向があります。真実は、正確な物理的データが生成されれば、孢子は非常に予測可能であるということです。孢子は、既知または未知のすべての重要なプロセス変数を正確に統合できる唯一のツールで

す。孢子が滅菌プロセスで生き残れば、プロセスはそれらを殺すのに十分な物理的致死率をもたらさなかったこととなります。Spore（芽胞菌）は嘘をつきません！

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-5-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