

滅菌サイクルに適した外部 PCD 製品の選択

PCD を使用するには、第一に被滅菌物の滅菌が最も困難な場所にバイオロジカルインジケータ (BI) を埋め込みサイクルを開発する必要があります。これが、内部プロセスチャレンジデバイス (内部 PCD) となります。ほとんどのエンドユーザーは、オーバーキル法を使用する事になります。これを行うにはまず初めに、一部の BI が存続し一部の BI が死滅するような暴露時間を短く設定した部分サイクルを実行する必要があります。この部分サイクルのデータから、その暴露時間で達成された孢子対数減少 (SLR) を計算できます。次に、埋め込まれたすべての BI が完全に死滅するよう、サイクルを少しずつ延長します。初発菌数 10^6 の BI を使用した場合、およそ 8 SLR で全ての BI の死滅が達成される事になります。すべての BI が死滅するこの暴露時間が、ハーフサイクルになります。3 回のハーフサイクルですべての BI が完全に死滅することを実証すれば、ハーフサイクルの暴露時間を 2 倍にすることでオーバーキルサイクルの時間を決定できます。ANSI / AMMI / ISO ドキュメントにアクセス出来るのであれば、これはすべて ISO 11135 で概説されています。

ISO 11135-1 では、ハーフサイクルで完全な殺滅を達成する必要があると規定されています。BI を頻繁に使用していないお客様は、6 SLR 内で完全な殺滅が達成されると考えているかもしれません。オーバーキル法は、 10^{-6} SAL に相当する 12 SLR で達成することを基準に設定されるため、道理に合っているように見えます。12 の半分は 6 であるので、6 SLR のハーフサイクルで全芽胞の殺滅が達成されると当然のように考えられそうですが、これは正しくありません。

既に聞いたことがあるかもしれませんが、明確にするために、8 SLR で完全な殺滅ができる理由を説明しましょう。(より完全な説明については付録 A を参照ください。)

1×10^6 の芽胞数を持つ BI の場合、理論的には 6 SLR で各 BI に 1 つの生存孢子が生残します。ただし、各 BI に孢子が正確に 1 つ残るわけではありません。生残孢子を 1 含むものもあれば、0、2、3 含むものもあります。統計的には、63% の BI が陽性となることになります。7 SLR では、統計的に暴露された BI の 10% が陽性になります。

8 SLR では、統計的に暴露された BI の 1% が陽性になります。これは、ほとんどのお客様が完全な殺滅結果を得始める暴露時間です。同じサイクルに 100 個の BI が存在しない限り、1 つの陽性が観察される可能性はかなり低くなります。

そのため、ハーフサイクルの目的が完全に殺滅することである場合、お客様は BI を 8SLR が達成される時間暴露する必要があります。

BI をこの時間 (8 SLR) まで暴露すると、そのサイクルのどの時点で実際に BI の殺滅が完了したの

か分からないため、いくらか情報が不足してしまいます。その暴露時間ですべての BI が殺滅されたことしか分かりません。そのため、部分サイクルを実行し、完全に殺滅するまでサイクルをゆっくりと増やすことを推奨します。ただし、内部 PCD が完全に殺滅されるハーフサイクルを開発する過程で既にこの地道な作業を行っている場合は、8 SLR で殺滅が完了するというこの情報で十分です。

暴露時間を決定するために内部 PCD を用いてすべてのサイクル開発作業を完了したと仮定します。どの外部 PCD が効果的かを判断するには、サイクルに求められる D 値を計算する必要があります。D 値は、BI 菌数を 1 log 減らすのに掛かる時間です。8 SLR は孢子数 10^6 の BI の完全な殺滅を得る時間であり、ハーフサイクルの暴露時間をこの 8 で割ります。

初期段階の調査を実施しているところで、内部 PCD または外部 PCD がサイクル内でどのように挙動するかについて分からないお客様は、意図的に 6 SLR をターゲットとしてもよいかもしれません。この、一部の BI ユニットが陽性で、一部の BI ユニットが陰性結果となるフラクショナルネガティブの場合、 $MPN = \ln(n/r)$ の MPN 法を使用して、達成された精確な SLR を計算できます。詳細については、付録 A を参照してください。

例として、あなたはハーフサイクルの構築のための内部 BI を使用した初期テストを既に実行していると仮定します。そしてフルサイクル時間が 4 時間または 240 分だと仮定しましょう。単純に「ハーフサイクル」で殺滅を証明したい場合、120 分での殺滅が期待できるでしょう。この 120 分を、殺滅に必要な 8 SLR の 8 で割ると、15 分になります。これは、ハーフサイクルで殺滅を証明するために必要となる **おおよその D 値** です。その後、MesaLabs の Web サイトや製品カタログの PCD 製品ページの情報を見ると、それに近い抵抗性を持つ PCD ポーチを見つけることができます。

ウェブサイト上の PCD には、名目上の D 値が記載されていますが、これは MesaLabs の生物指標抵抗性評価装置 (BIER) のチャンバー内での PCD の D 値であるためです。BIER チャンバー内には PCD のみが配置され、600 mg/L EO、54°C、60% RH のパラメーターが使用されます。市販の滅菌機内では、異なるパラメーターが使用される場合があり、積載状況も異なるため、PCD は高い確率で BIER チャンバー内とは異なるパフォーマンスを示します。我々は BIER チャンバーでのデータと EO パラメーターから PCD の抵抗性を推定できますが、このデータは小さい BIER 庫内の正確に制御された EO サイクルでのみ有効である事をご理解ください。

実地の使用においては、各医療機器製造会社は多様な EO サイクルを使用しており、そのサイクルは BIER チャンバーのものとは大きく異なります。大型の EO 滅菌機は、BIER チャンバーとまったく同じ性能を発揮するわけではありません。滅菌機の温度や、特に製品の温度が大きく異なる可能性があります。プレバキューム時間、%RH、EO 充填時間、ポストバキュームのパラメーターすべてが大きく異なる可能性があり、BIER チャンバー内の PCD と産業用の大型 EO 滅菌機内の PCD の正確な比較するには幾分不確定要素の多いものになっています。

この点で、あなたのサイクルでどの PCD を試行するかに関して、経験に基づいた推測を行う必要が

あります。そこで我々は、計算で求められた D 値（上記例では 15 分）を使用して、以下のように D 値の異なる 3 種の PCD を選定することをお勧めします。

- ・最も近い D 値を持つ PCD
- ・わずかに低い D 値を持つ PCD
- ・わずかに高い D 値を持つ PCD

この例では、PCD の 5.13（13 分）、6.5（17 分）、7.5（14 分）を試すことをお勧めします。PCD の 6.5 と 7.5 にはペーパーストリップ BI が含まれており、サイクル後に無菌的に培地に移し培養する必要があります。PCD 5.13 には、培養培地へ移す無菌操作を必要としないセルフコンテインド BI（培地一体型 BI, SCBI）が含まれています。PCD の数量は 100 個です。

留意すべき追加事項：

ISO 11135 は、ハーフサイクルですべての内部 PCD が死滅する必要があることを示していますが、一部の外部 PCD については陽性が認められています。その理由は、すべての内部 PCD とすべての外部 PCD がハーフサイクルで殺滅された場合、どちらが先に殺滅されたか分からず、外部 PCD の方がより抵抗性があるか知り得ません。もし全ての内部 PCD がハーフサイクルで死滅し、外部 PCD がいくつかが陽性である場合、外部 PCD がより抵抗性があることを実証した事になります。フルサイクルでは、内部 PCD と外部 PCD の両方を完全に殺滅する必要があります。

内部 PCD と外部 PCD では、同じ BI が使用される必要はありません。たとえば、内部 PCD はデバイス内にマイクロストリップを配置した構成とし、外部 PCD では EZTest などのセルフコンテインド BI を含むものを使用することが出来ます。重要なことは、外部 PCD の設計が内部 PCD よりも大きなチャレンジを提供することです。

一部の EO 滅菌器にはプレコンディショニングとして加湿フェーズが含まれますが、場合によっては、加湿フェーズが別のチャンバーで実行されることがあります。この場合、顧客は、加湿フェーズの終了から滅菌サイクルの開始までの最大許容時間を設定し、この時間を遵守する必要があります。相対湿度は EO サイクルの重要なパラメーターであり、加湿の終了から滅菌サイクルの開始までに長い時間が経過し調整湿度が低下すると、資材がサイクルから湿度を奪う可能性があり、致死性の低下につながります。

積載形態は一貫している必要があります。積載形態の変更は、チャンバー内の異なる場所で異なるコンディショニングを生じ、予期しない結果を生む可能性があります。1 つの提案は、前面と背面が同じである左右対称の積載形態を構築することです。この方法では、積載物が不注意によりチャンバー内で逆方向に配置された場合、チャンバー内の状態に影響を与えません。

内部 PCD と外部 PCD は、すべての段階（バリデーション時の部分サイクル、ハーフサイクル、フ

ルサイクル、および日常管理)で一貫して取り扱う必要があります。一貫した取り扱いのために最も重要な時間は、サイクル後です。BIは、滅菌機から取り出した直後やBIを培養する直前に、毎回同じ時間で内部PCDおよび外部PCDポーチから取り出す必要があります。内部PCDおよび外部PCDポーチはその構造から、EOがBIに進入、到達することが難しく、同様に、EOが内部PCDおよび外部PCDポーチから除かれることが難しくなるため、BIに追加の致死性を与える残留EOが留まる可能性があります。仮に、通常は培養する直前までPCDポーチからBIを取り出さないが、ある時に滅菌機から取り出された直後にPCDポーチからBIを取り出したとしましょう。その場合、以前に得られた結果とは異なる結果が得られる可能性があります。

PCDやBIは、特にそれがセルフコンテインドBIの場合、使用前に検査する必要があります。セルフコンテインドBIの培地アンプルが破損し、キャップ下のフィルターペーパーが湿っている場合、EOは湿ったフィルターを透過しないため、芽胞ストリップに到達しません。培地アンプルの破損や使用すべきでないBI/PCDの可能性を示唆するものとして、培地アンプルの充填量が少ない、プラスチック内部の凝縮物、キャップ下のフィルターが濡れているもしくは変色している、芽胞ストリップが濡れている、変色しているように見える等です。セルフコンテインドBIの検査に取り組むための一般情報を含めました。これには3M社からの情報を含んでいますが、すべてのセルフコンテインドBIに適用できます。また、PCDポーチではシーリングが損傷していないかを検査する必要があります。

一部の被滅菌物はビニールで包装されており、この時外部PCDはビニールの外側に配置することをお勧めします。ビニール包装はバリアを作ります。たとえ1層のビニールの下で外部PCDを使用してバリデーションを実施した場合でも、ある作業員は1層のプラスチックを使用し、またある作業員は2または3層のビニール用いて以前より多くのバリアを形成する可能性があります。繰り返しますが、一貫性は必須です。

ここには多くの情報を含んでいますが、あなたがサイクルのパラメーター（EO濃度、RH、温度、ハーフサイクル/フルサイクルの時間）などの追加情報を提供できるのであれば、適切なPCDを選択するためにさらにご協力できるかもしれません。

付録 A

SLR について。理論的なキルタイムであるおよそ 8 SLR が達成されるまで、全 BI の殺滅を観察することはないでしょう。BI の初発菌数を 1.0×10^6 , D 値を 2.0 分とした場合、

$(\log 1.0 \times 10^6 - 2) \times 2.0$ 分 = 8.0 分 = 99.999999% の BI が陽性 = 4 SLR (COA に記載される推計 survival time)

$(\log 1.0 \times 10^6 - 1) \times 2.0$ 分 = 10.0 分 = 99.9% の BI が陽性 = 5 SLR

$(\log 1.0 \times 10^6 - 0) \times 2.0$ 分 = 12.0 分 = 63% の BI が陽性 = 6 SLR

$(\log 1.0 \times 10^6 + 1) \times 2.0$ 分 = 14.0 分 = 10% の BI が陽性 = 7 SLR

$(\log 1.0 \times 10^6 + 2) \times 2.0$ 分 = 16.0 分 = 1% の BI が陽性 = 8 SLR (実地試験で起こりうる、また BIER で全数キルが見られ始める、また F_0 に近い理論上の kill time)

$(\log 1.0 \times 10^6 + 3) \times 2.0$ 分 = 18.0 分 = 0.1% の BI が陽性 = 9 SLR

$(\log 1.0 \times 10^6 + 4) \times 2.0$ 分 = 20.0 分 = 0.01% の BI が陽性 = 10 SLR (COA に記載される推計 kill time)

$(\log 1.0 \times 10^6 + 5) \times 2.0$ 分 = 22.0 分 = 0.001% の BI が陽性 = 11 SLR

$(\log 1.0 \times 10^6 + 6) \times 2.0$ 分 = 24.0 分 = 0.0001% の BI が陽性 = 12 SLR

上記の陽性 BI の確率は MPN 法で導き出されたものです。例えば、6 SLR の時の BI を見てみましょう。

6.0 SLR で初発菌数 1.0×10^6 とした場合、生存率は 63% になります。これは、MPN 法から計算されます。MPN = $\ln(n/r)$: ここで、「n」は暴露された BI の数、「r」は陰性 BI の数です。パーセンテージを算出するために、「n」を 100 と設定して、「r」を求めます。

63% の数値は、MPN = 1.0 = 10^0 となった場合 (つまり、BI の菌数が正確に 1.0×10^6 で、その BI に正確に 6.0 SLR を当てた場合) に算出されます。

$$1.0 = \ln(100/r)$$

$$r = 100 / \text{inv ln } 1.0$$

$$r = 100 / 2.718$$

$$r = 36.79$$

再現条件下で暴露された 100 の BI のうち、およそ 37 の BI が陰性、そして 63% の BI が陽性、生残する確率があると予測されました。

各 BI 設置箇所でも複数の BI が使用されている場合、フラクショナルな結果が得られたときにそれぞれの箇所でも達成された SLR を計算できます。たとえば、ある箇所で、菌数 2.3×10^6 の 10 個の BI を配置し、5 個の BI が陰性、5 個の BI が陽性であったとします。

$$\text{MPN} = \ln(10/5)$$

$$\text{MPN} = \ln(2)$$

$$\text{MPN} = 0.693$$

次に、この情報から試験地点の SLR を以下の方程式から計算します。

$$\text{SLR} = \text{Log}_{10} \text{N0} - \text{Log}_{10} \text{MPN}$$

$$\text{SLR} = \text{Log}_{10} 2.3 \times 10^6 - \text{Log}_{10} 0.693$$

$$\text{SLR} = 6.362 - (-0.159)$$

$$\text{SLR} = 6.521$$

これは、試験地点において 6.521 SLR が達成されたという事になります。

MPN 法を用いて SLR を計算するためには、一つの箇所につき統計的に同等と出来る、もしくは 1 テストで複数の BI を少なくとも 3 以上使用する必要があります。滅菌機内部には異なったコンディション（EO 濃度、温度、湿度）が混在するため、複数地点において複数の BI を使用することが理想的です。

本資料に関してご不明な点、製品のお問合せ等がございましたら下記までお気軽にお問合せ下さい。

 **エア・ブラウン株式会社** (MesaLabs 日本代理店)

大阪支店：大阪府大阪市中央区久太郎町 3-6-8 御堂筋ダイワビル

TEL: 06-6282-4004