

株式会社コーガイソープ

種々の接種芽胞によるバイオバーデン評価への影響

山北京由^{1,2}、○越川富比古¹、古田雅一²

¹(株)コーガイソープ、²大阪府大院・工

1. 目的

滅菌医療機器のバイオバーデン測定において、既知の芽胞を滅菌試料に塗布、乾燥後、回収液に移し、物理的な処理して芽胞を回収し、その回収率からバイオバーデンを評価する芽胞接種法がある。接種芽胞についての規格はISO 11737-1,2006に記載がなく、*B.atrophaeus*芽胞を接種した例だけがある。しかしながら、この菌はバイオバーデン測定での検出頻度が少ない。

どのような芽胞を接種したらバイオバーデンの評価に適しているかは不明である。今回、種々の芽胞を接種した試料を用いて回収率を求め、バイオバーデン測定に最適な接種芽胞を調査した。

2. 実験方法

接種芽胞

- ① 最外層が芽胞殻の芽胞
Bacillus subtilis ATCC 6633, *B.pumilus* ATCC 27142
B.megaterium ATCC 19213, *B.atrophaeus* ATCC 9372

- ② 最外層がエキソスポリウムの芽胞
B.megaterium QM B1551, *B.cereus* T

接種する担体

ポリエチレン(PE), ポリスチレン(PS), ポリプロピレン(PP)
ポリ塩化ビニル(PVC), ポリカーボネート(PC)

試料の調製

- ① 芽胞水懸濁液を滅菌済担体に塗布した。塗布芽胞数は100 cfu以下。
- ② クリーンベンチ内で一晩風乾し、試料とした。

芽胞の回収

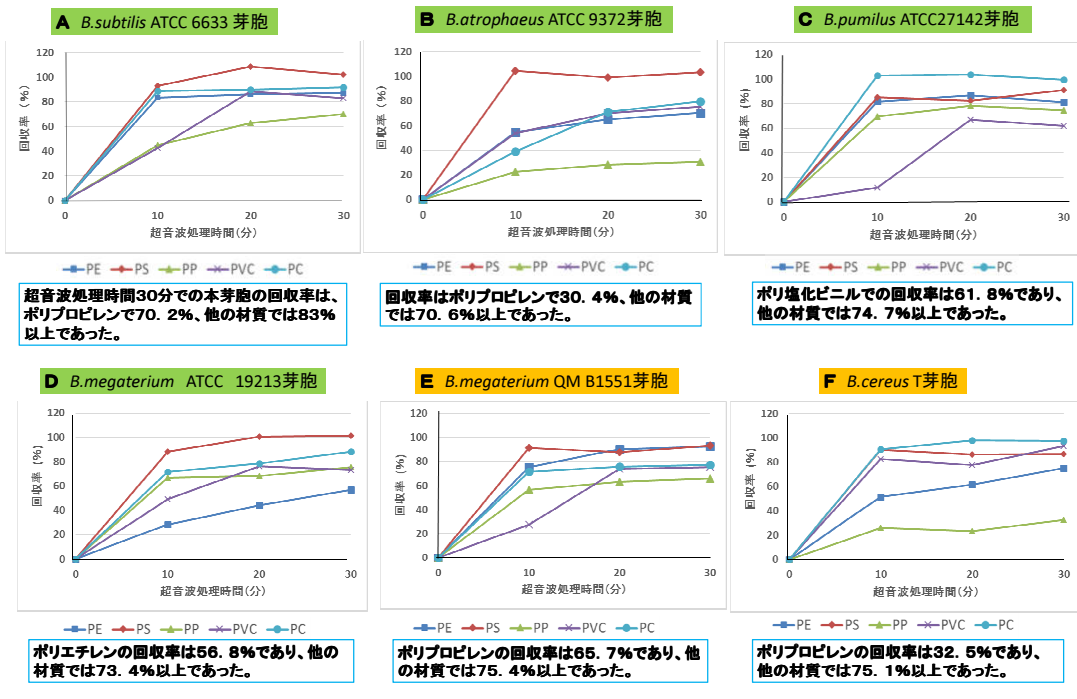
- ① 1%ペプトン・0.1%Tween 80を含む生理食塩水を回収液とした(滅菌済, 20ml)。
- ② 超音波処理(45kHz)を10分間隔で30分行った。

塗布及び回収芽胞数測定と回収率の算出

- ① 塗布芽胞液及び回収芽胞液をメンブランフィルタ(MF)で濾過し、洗浄した。
- ② MFをSCDA平板培地に貼付した。
- ③ 30°Cで36時間培養した。
- ④ 培養後、コロニー数を計測し、平均値を算出した。
- ⑤ 回収率は、以下の式で算出した。
(回収芽胞数/塗布芽胞数) × 100 (%)

3. 実験結果

接種芽胞による回収率への影響



4. 考察と結論

接種する芽胞を決める条件としては、

- ① 回収率が良いこと。ISO 11737-1,2006規格の内容から推察すると回収率は50%以上が必要であること。
- ② 医療機器製品から検出される頻度の高い菌種の芽胞であること。
- ③ 市販されている芽胞液が利用できること。

以上の3条件から判定すると、

条件①では*B.subtilis*、*B.pumilus*及び2種類の*B.megaterium*芽胞は5種類の材質からの回収率は、50%以上であった。

条件②の検出頻度の高い芽胞は*B.subtilis*と*B.pumilus*である。次は*B.megaterium*や*B.cereus*であり、*B.atrophaeus*はあまり検出されない。

条件③では、*B.subtilis*、*B.pumilus*、*B.atrophaeus*、*B.cereus*等の芽胞液が市販されている。

結論として、接種する芽胞は*B.subtilis*及び*B.pumilus*芽胞が適していると考えられる。