

バイオインジケータを用いたオートクレーブの性能確認について

関喜美子 菅井正子
試験検査グループ

要 旨

細菌検査において、日常頻繁に使用されるオートクレーブの性能をバイオインジケータを用いて確認する場合の条件について検討した。

その結果、最も重要なことは、オートクレーブ内に十分水蒸気が行き渡る状態を作るために、注水する場所、滅菌物の重ね方、滅菌袋を使用する場合の注意など工夫が必要であることがわかった。

キーワード：バイオインジケータ、オートクレーブ

はじめに

食品検査を行うにあたっては、食品衛生法により、業務管理が義務づけられている。これは、検査結果の信頼性を確保するためのもので、標準作業書の作成、検査経過・データの記録・保管、精度管理・研修の実施、内部点検等細部にわたり、外部に対しての透明性を図っている。

当所は、平成 16 年度に保健福祉事務所（保健所）の検査部門を統合し、現在、本所・支所併せて、福島県内全ての行政食品検査を行っている。

当所では、福島県衛生研究所業務管理に準拠して検査を実施しており、その一環として本年度はバイオ（生物学的）インジケータの研修が行われた。

これを受けて、当所試験検査グループにおいて、研修の確認、高圧滅菌器の機械器具保守管理（定期点検）及び性能確認を併せて実施したので、報告する。

使用器具器材等

1 器具機械

- ・オートクレーブ（高圧滅菌器）；TOMY B S-325 容量 53L，ステンレス製丸缶（滅菌缶）寸法φ 270×600mm
- ・Attest 用インキュベータ；モデル 116 56±2℃ バイアル数 14

2 器材

- ・オートクレーブ用滅菌バッグ；ユーアイ ホワイト W パック（外袋白，内袋青）
- ・使用インジケータ；3M™ Attest 1276 スチームパック，バイオインジケータ 1262P (*Bacillus stearothermophilus*)-陽性コントロール
- ・安全眼鏡，手袋等

3 滅菌物

使用済みシャーレ（量：深型 90 枚程度）

方 法

滅菌物を滅菌缶に収納時，スチームパックを上部・中央部・底部・側面等に配置した。

次に，オートクレーブを 121℃，40 分間の条件で運転開始した。終了後，スチームパックを取り出し，更にその内部からバイオインジケータを取り出し，インキュベータに装填，56℃，48 時間培養し判定した。陽性コントロールについても同様に操作した。

結 果

陰性の場合を，滅菌が充分と判定する。

1 通常の方法

1) 条件

滅菌缶が約 5cm 浸るよう給水，滅菌物のシャーレは蓋をしたまま数枚ずつ重ねて入れ

た。滅菌物の中に約 100mL の水を回し入れた後、運転を開始した。

2) 結果

表 1 に示す。

2 改善策 A

1) 条件

通常の方法に加え滅菌缶と滅菌バッグ、滅菌バッグの外袋と中袋との間にそれぞれ約 100mL の水を注入後、運転開始した。スチームパックは通常の方法に加え滅菌物の中央部にも設置（取り出し時のためポリ袋入）した。

2) 結果

表 1 に示す。

3 改善策 B

1) 条件

改善策 A の条件と同様にスチームパック

を滅菌物の中に直接配置した。またインジケーター単品（ポリ袋入）も同様に配置した。

2) 結果

表 1 に示す。

4 改善策 C

1) 条件

改善策 B の条件と同様、スチームパック、インジケーター単品とも、側面部への配置を加える。滅菌物は水蒸気が充分行き渡るよう、シャーレと蓋を別々にし、それぞれ下向きに順序よく重ねた。

2) 結果

表 1 に示す。

結論及び考察

食品検査後には、多くの使用済の培地・器具・器材等を滅菌する必要がある。今回はその中でも、滅菌処理の頻度が高く、滅菌の確

表 1 滅菌方法・条件と結果

条件・結果		方法					
		1 通常の方法	2 改善策A	3 改善策B	4 改善策C		
条件	オートクレーブ運転条件	121℃ 40分					
		滅菌缶（ステンレス製丸缶）が約5cm浸るよう給水する。					
		滅菌物のシャーレは蓋をしたまま数枚ずつ重ねている			シャーレと蓋を別々にして下向きに順序よく重ねる		
		滅菌物の中に約100mLの水を回し入れる。					
				滅菌缶と滅菌バッグ、滅菌バッグ外袋と中袋の間にそれぞれ約100mLの水を入れる。			
結果	スチームパック	滅菌物の上部	陰性	陰性	/	/	
		滅菌缶と滅菌バッグの間	側面部	陽性			陽性
			底部	陽性			陽性
	滅菌物中	上部	/	/	陰性	陰性	
		中央部			陽性	陰性	
		底部			陰性	陰性	
		側面部				陰性	
	インジケーター単品	滅菌物中	上部	/	/	陽性	陰性
			中央部			陽性	陰性
			底部			判定不能	陰性
			側面部				陰性

認が難しい使用済みシャーレの滅菌を想定し、性能の確認を行い、検討の結果以下の結論を得た。

1 結論

重要点は、オートクレーブの内部に水蒸気が充分行き渡る状態にすることである。

今回実施した条件（約 50L オートクレーブ、ステンレス缶使用、二重の滅菌バッグ使用、滅菌物は約 90 枚の使用済み深型シャーレ、121℃、40 分間）で滅菌する場合、次のように行くと十分滅菌できることが確認できた。

- 1) 滅菌缶が約 5cm 浸るよう給水。
- 2) 滅菌物、滅菌バッグの内袋と外袋の間および滅菌缶それぞれに約 100mL の水を注入する。
- 3) シャーレと蓋を別々にし、それぞれ下向きに重ねる。
- 4) 滅菌バッグの口は大きく開く。

なお、オートクレーブの容量に対しての滅菌物は、過多ではないことをメーカーに確認している。

図 1 に運転前のオートクレーブ内の状態を示した。

2 考察

バイオインジケータは、滅菌物の滅菌確認に使用するのではなく、オートクレーブの性能確認に用いる製品である。今回使用した製品は、121℃、30 分未満の場合には使用できない。またその経済性、煩雑性も考慮に含める必要もあることから、バイオインジケータを用いたオートクレーブの性能確認は定期点検にて実施することが最良と考える。定期点検を実施した上で、使用時には使用法等を遵守し、日常点検・ケミカルインジケータで滅菌を確認するのが、オートクレーブの一連の管理法と思われる。

シャーレ以外の廃棄滅菌物については、前述の 1)～4) に準じて行い、バッグ・ポリ袋等は缶と同様に考える。試験管等は出来る限りラックごと行うなどの注意点を守り実施すれば充分と考える。

また、試験用に使用する培地を作製する場合の滅菌は、各培地等の指定された温度と時間が重要である。これらについては、留点温度計で温度を確認、タイマー等で時間を確認すれば、性能確認をしている条件で、充分であると考えられる。

オートクレーブは孵卵器等と並び細菌学的検査では、欠かすことの出来ない機械である。しかし、あまりにも基本的で古くから使用されているが故に、経験により「機械の調子」としてその性能を判断してきた部分が多い。経験は大変重要な要素ではあるが、客観的な表現が難しい場合も見られる。機械器具の保守点検を規定する標準作業書により、性能を確認する客観的な方法が示されたことは精度を保つためにも必須である。しかし、実際に点検する場合には、今回のように、研修、現場での確認等、注意点がある。

日常的、ともすれば当たり前ととらえている事も、常に基本に忠実に実行し、ますます精度・信頼性の高い検査を目指して、これからも業務を遂行していきたい。

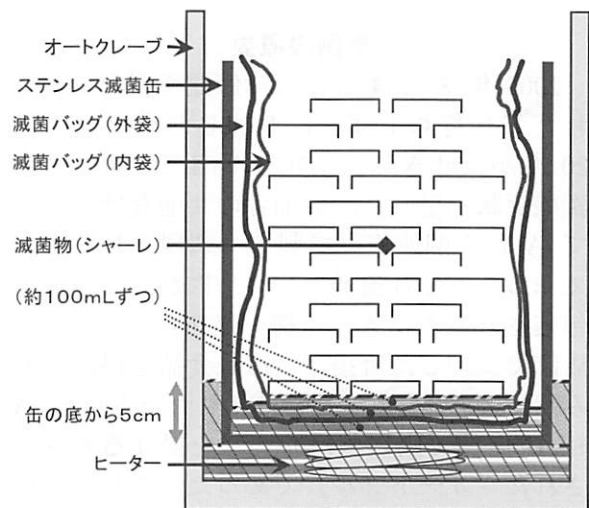


図 1 運転前のオートクレーブ内部