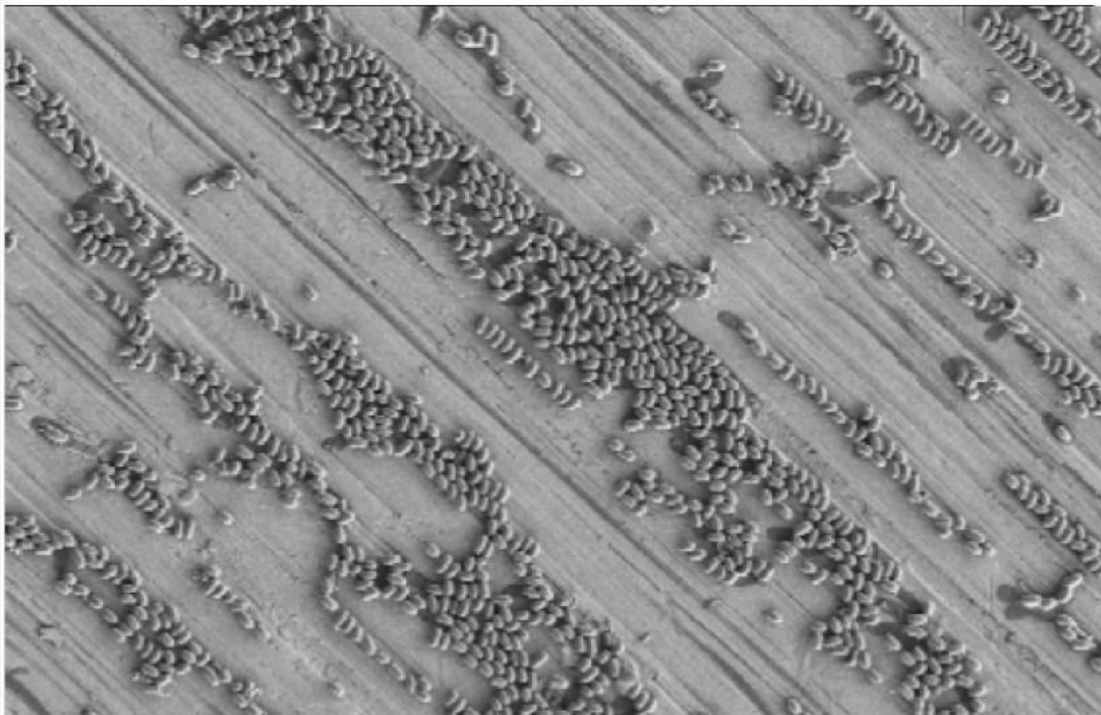


客製化超音波震盪流程，有效獲得真實的菌數回收率

專為使用 H₂O₂ 蒸氣滅菌的製藥、食品和醫療設備行業而設計的 Mesa Labs Apex 生物指示劑產品，以對 H₂O₂ 最具抵抗力的菌株 *Geobacillus stearothermophilus* 12980、及 304 等級不銹鋼載體，不會吸收過氧化氫氣體，並以獨家技術進行孢子塗層，確保每一載體上的孢子皆是單層堆疊，免除 VHP 去污過程的假陽性結果。



圖一、單層堆疊的孢子。

為確保每一次的滅菌確效都是有效的，實驗室端通常會以內控流程去抽檢每一批號的生物指示劑是否有達被要求的菌數？而菌數要求被 USP 55 規範，必須介於原廠宣稱結果的 50-300%。然而，不同實驗室間的檢測流程、設備型號、設備準確度、培養基種類...等，是不會完全相同的，因而產生檢測結果的差異。因此 ISO 14161:2000 (對終端用戶的要求)其中 11.1 及 11.2 有提及，當使用者的測試結果與製造商不同時，應向製造商諮詢，以確保與製造商使用的是相同的測試流程、測試結果具有可比對的意義。

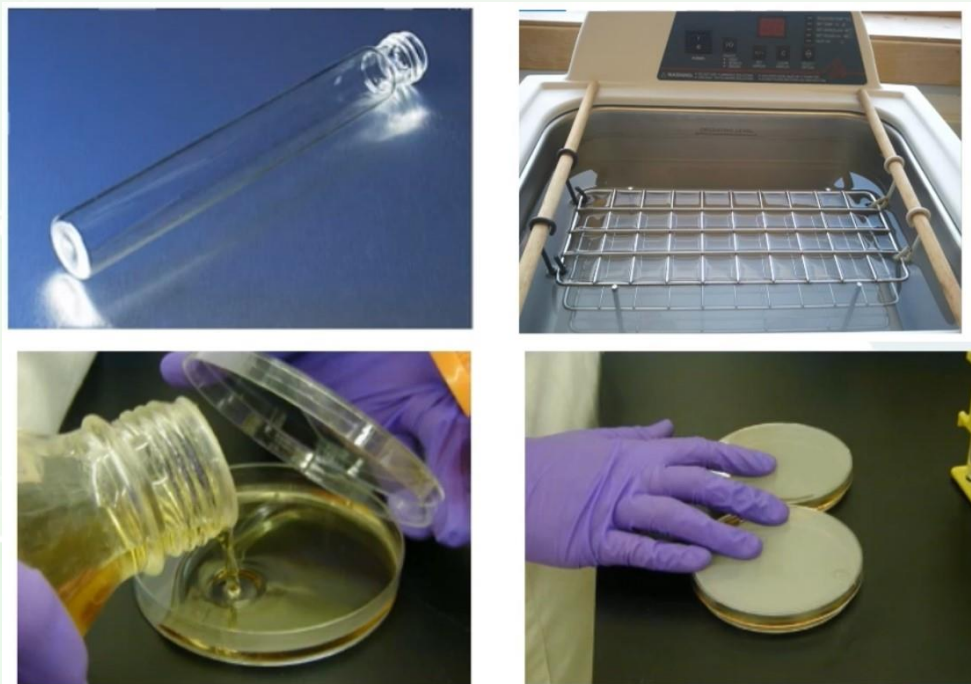
<ISO 14161:2000>

11.1 "If the user establishes data on the nominal population count or the D-value and these are outside the

limits required by the relevant standards or outside the label information, the user is encouraged to seek information from the manufacturer to ensure that the same techniques, methods, and conditions are used to obtain the data.”

11.2 “When tested, the number [of organisms] can be higher or lower than the labeled number because variations in testing procedures can influence the resulting data. The biological indicator manufacturer should be consulted to ensure that the same techniques and procedures are used...Different laboratory practices and even variations in the performance of the individual personnel can lead to different results...The user should follow the manufacturer’s recommended procedures for recovery to ensure comparable results...”

在過往的例子中，有幾個常被使用者忽略的考量因素，像是(1)稀釋管的使用，在連續稀釋的過程中，一般建議使用玻璃試管，而非塑膠試管，避免孢子沾黏於塑膠試管，最終導致菌數回收率下降；(2)在進行 Heat Shock 與立即冷卻的步驟時，除了溫度、時間的掌控必須精準外，使用較小的試管或圓底試管可能會使得孢子聚集而受熱不均，因而降低 Heat Shock 效能(原廠建議使用 19.5 x 145 mm 的平底玻璃管)；(3)部分實驗室會使用培養基準備較容易的“塗盤法(spread plate)”將孢子接種，然而塗盤法，可能會造成孢子生長區域較小而不容易生長成肉眼可見的菌落大小、或是產生 swarming 的狀況造成計數上的誤差，因此原廠建議使用“傾注法(pour plate)”接種孢子。



圖二、適當器材與方法，有助於實驗的穩定性，進而獲得更真實的菌數回收率。

從 Apex 不銹鋼載體機械分離孢子的潛在差異

除了上述 3 個因素外，孢子分離更是個非常重要的環節，Mesa Labs 建議各實驗室在使用超音波震盪器(sonicator)將孢子從不銹鋼載體分離時，執行 in-house 的測試流程，並求特別留意下述幾點：

1. “超聲處理之前脫氣”是重要的步驟，這部分會直接影響到孢子是否有從載體上完全分離，因此在放入孢子樣品前，事先啟動超音波震盪器運作 5 min，讓水域中的氣體被震出(脫氣)，實際執行孢子樣品的超音波震盪時，震波才會完全針對樣品作用，而非有一部分震波用於脫氣。
2. 避免將孢子樣品直接放置超音波震盪器底部，底部傳導和水浴傳導的效能是不同的，也盡可能以金屬架而非塑膠架，塑膠架相較容易吸收震波強度。
3. 超音波震盪器的效能與震波方向皆不相同，實驗室應評估最適合的轉動頻率，在整個超音波震盪過程中增加移動的頻率、方向，可以讓每一樣品更均勻受到超音波作用。

同樣的產品，會因為實驗室間的檢測流程與相應的設備耗材不同，而有不同的檢測結果。向製造商諮詢除了可以細節了解差異造成的影響，也同時藉由原廠長年的經驗去修改目前出最適合、也最接近建議方法的實驗流程，確保不同結果是可相互比對的，更有助於實驗的穩定性，進而獲得更真實的菌數回收率。

生物指示劑產品 [訊息請點我](#)