

無菌製剤施設における過酸化水素除染の高効率化に関する検討

緒方 浩基 与 謝 国平

四本 瑞世

Study of High Efficiency Decontamination Technology by Vaporized Hydrogen Peroxide for Aseptic Pharmaceutical Processing

Hiroki Ogata Kunihei Yosa

Mizuyo Yotsumoto

Abstract

Hydrogen peroxide vapor has been used for decontamination instead of formaldehyde because hydrogen peroxide is less persistent and less carcinogenic than formaldehyde as it is self-degradable. However, hydrogen peroxide may cause corrosion of building material owing to its strong oxidation power if decontamination conditions are not controlled well. It is important to decrease hydrogen peroxide input for less corrosion of building material, and the hydrogen peroxide input is influenced by initial relative humidity. Therefore, a new system is developed to decrease hydrogen peroxide input (less than or equal to 5 g/m³) by adjusting the initial relative humidity (40~50%RH). The new system is verified in a manufacturing factory of aseptic pharmaceutical processing. Moreover, the use of chemical indicators was attempted to monitor the decontamination situation.

概 要

無菌製剤施設における施設や設備表面を除染する目的で、従来は、ホルムアルデヒド燻蒸が用いられてきた。しかし、ホルムアルデヒドは発ガン性物質であり、残留性もあることから、代替薬剤として過酸化水素が注目されるようになってきた。過酸化水素は自己分解性があるため残留性がなく、安全性がより高いものの、強力な酸化剤であるため、建材腐食の問題が指摘されていた。建材腐食を低減するには、過酸化水素水の投入量を低減することが重要である。必要となる過酸化水素水投入量は、初期相対湿度に大きく影響を受けるため、初期相対湿度を制御し（初期相対湿度を40%~50%とする）、過酸化水素投入量を低減（5g/m³以下）するシステムを開発し、実際の医薬品工場で除染効果実証した。また、除染状況の簡易評価手法であるケミカルインジケータの適用性について評価した結果もあわせて報告する。

1. はじめに

無菌製剤施設において、施設や設備表面を除染する目的で、従来は、ホルムアルデヒド燻蒸方法が用いられてきた。しかし、ホルムアルデヒドは発ガン性物質であり、また、安定な物質であるため、長期間残留しやすい物質でもある。このことから、過酸化水素蒸気による除染方法が注目されるようになってきた。過酸化水素は自己分解性があるため、除染後、分解して酸素と水になるため、残留性が小さく、ホルムアルデヒドと比較すると、安全性が高いといえる。しかし、強力な酸化剤であるため、建材腐食の問題が課題であった。建材腐食を低減させるためには、過酸化水素水の投入量を低減させる必要がある。過酸化水素投入量は、初期相対湿度により大きな影響を受けるため¹⁾、2章で実規模レベルの実験室により初期相対湿度と除染に必要な過酸化水素水投入量の関係性を評価し、過酸化水素水投入量低減のための望ましい初期相対湿度を明らかにした。3章では、実際の医薬品工場の様々な規模の施設で、同様の関係性が得られるか評価を行った。

さらに、空調加湿装置をもたない製造ラインにおいて、季節によって、初期相対湿度が変動するが、この初期相対湿度を一定に制御することで、過酸化水素水投入量を低減できるか、実際の医薬品工場で検証した。

また、過酸化水素除染後、通常は、すぐにエアレーションが行われるが、エアレーション前に30分間の保持時間を設けることで、過酸化水素水投入量低減につながるか検証した。

過酸化水素除染効果の評価は、バイオロジカルインジケータ（以下、BI）で行うが、BIが高価であり、培養する必要があるため、結果が分かるまで一週間程度の期間が必要である。そこで、ケミカルインジケータ（以下、CI）による簡易な日常の管理が行うことができないか適用性評価も行ったので、あわせて報告する。

2. 室内実験室での過酸化水素除染実験

2.1 目的

当社技術研究所内にある実規模レベルの部屋で、過酸化

水素除染に係る次の項目を評価することを目的とした。

- ① 過酸化水素投入後の保持時間の有効性
- ② 初期相対湿度と除染に必要な過酸化水素投入量の関係性
- ③ 除染状況の簡易評価手法である CI 色差と初期相対湿度及びBI 陰性率との関係性

2.2 実験方法

2.2.1 実験施設 過酸化水素除染実験は、容積約 52m³ (幅 4.95×奥行 3.95×高さ 2.67m)、表面積約 87m²の実験施設 (床：ビニルシート、壁、天井：化粧珪酸カルシウムボード)において、部屋中央に独立式の過酸化水素蒸気発生装置を設置し、過酸化水素分解装置を2台、部屋の対角線上に設置して行った。実験施設の展開図と実験装置の配置を Fig. 1 に示す。

2.2.2 過酸化水素除染方法 空調等を稼働して、所定の温湿度条件に調整した後、過酸化水素蒸気発生装置より過酸化水素蒸気を発生させた。過酸化水素水は電子工業用 (過酸化水素濃度：35%) を用いた。過酸化水素蒸気発生後、所定の時間放置した後、過酸化水素分解装置を稼働させて、過酸化水素濃度が安全な濃度レベルになるまで、過酸化水素を分解させた。実験パラメーターは、過酸化水素水投入量、初期相対湿度、過酸化水素投入後の保持時間とした。実験条件を Table 1 に示す。

2.2.3 温湿度の測定 温湿度の測定には、ボタン型温湿度データロガー (φ16mm、厚さ：5mm) を用いた。部屋の各隅角部 (床付近、床上 600mm、床上 2100mm、天井付近)、及び、部屋中央 (床上 1000mm) の計 17 箇所に設置した。設置場所を Fig. 1 に示す。

2.2.4 除染効果の評価方法 BI の陰性率により除染効果の評価を行った。用いた BI は、*Geobacillus stearothermophilus*12980、10 の 4 乗個 (以下、E4) と 10 の 6 乗個 (以下、E6) の 2 種類である。部屋の除染レベルは一般的に E4 で評価されるが、除染効果をより詳細に把握するため E6 の BI もあわせて用いることとした。設置場所は温湿度ロガーと同じ場所で E4、E6 それぞれ 17 枚設置した。除染実験後、回収した BI は、約 55℃で約 7 日間培養し、培養液の濁りに有無により陰性かどうか判断した。

2.2.5 CI による評価方法

(1) CI に関して CI は、サクラ精機社のブラウンペーパーストリップを用いた。設置場所は、温湿度ロガーの設置場所と同じ場所に計 17 箇所に設置した。CI は Fig. 2 に示すように赤紫色から、過酸化水素除染後、赤色、黄色に変色するが、従来は、変色の有無だけの評価で、どの程度変色したか評価することができなかったため、各測定点での比較も難しかった。今回の変色の程度を色差によって評価することで、各測定点や過去の実験結果とも比較することが可能となった。色差と、色差の測定方法を次に示す。

(2) 色差測定方法 色差とは²⁾、色と色の違いを表すものであり、色空間の中で2つの色の間の直線距離がどのくらい離れているか計算して求める。その基準となるもの

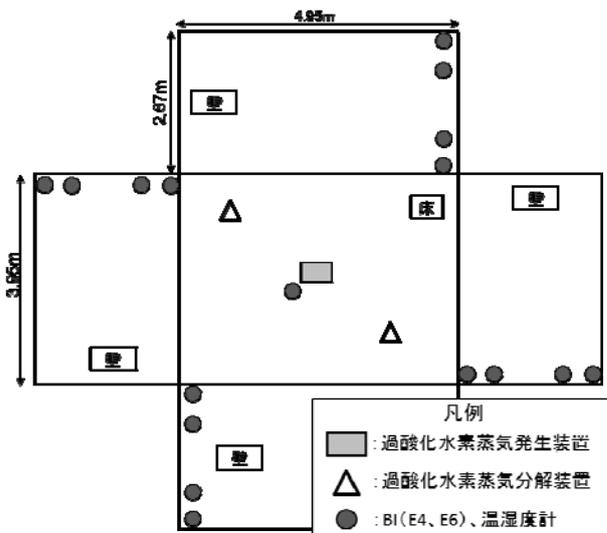


Fig. 1 実験装置、計測地点配置 (実験施設展開図) Equipment and Measuring Points in Experiments (Development View of Laboratory Institute)

Table 1 実験条件 Conditions of Experiments

過酸化水素水投入量 (g/m ³)	2, 3, 4, 5
初期温度 (°C)	22±1
初期相対湿度 (%)	20~50
除染後の保持時間 (分)	0, 30

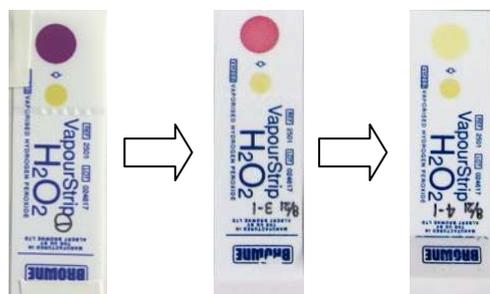


Fig. 2 CI の色の変化 Color Change of Chemical Indicator

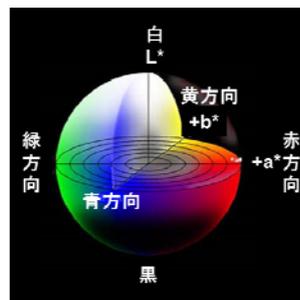


Fig. 3 L*a*b*色空間の概念図²⁾ Concept of Color Space for L*a*b*

が、Fig. 3 に示す $L^*a^*b^*$ 表色系であり、色空間 XYZ 表色系に基礎をおくもので、CIE（国際照明委員会）が 1976 年に推奨した、知覚的にほぼ均等な尺度をもつ色空間（均等色空間）である（日本の規格では、JIS Z8781-4:2013）。 L^* 値は明るさを表し、0 から 100 までで数値が大きい程明るくなる。色みは a^*b^* で表し、 a^*b^* とともに 0 の場合には無彩色となる。

この色差をハンディタイプの分光測色計を用いて、過酸化水素除染前の CI の色を基本として、除染後の CI との色差を測定した。

2.3 実験結果

2.3.1 過酸化水素除染における保持時間の有効性

過酸化水素投入後、過酸化水素分解装置を稼働させずに保持（30 分間）することの有効性評価を行った。過酸化水素水投入量を $3\text{g}/\text{m}^3$ として、保持 30 分間有り、無しでの BI (E4, E6) 陰性率の結果を Fig. 4, 5 に示す。保持時間を設けることで明らかに BI 陰性率が向上しており、保持時間（30 分間）の有効性が明らかとなった。なお、以下に示す実験結果は、全て保持時間（30 分間）を設けた結果である。

2.3.2 過酸化水素水投入量、初期相対湿度と BI 陰性率の関係

各過酸化水素水投入量（ $2\sim 5\text{g}/\text{m}^3$ ）、初期相対湿度と BI (E4, E6) の陰性率の結果を Fig. 6, 7 に示す。BI (E4) の陰性率は、過酸化水素水投入量 $2\sim 4\text{g}/\text{m}^3$ の場合、初期相対湿度が 30% 以下になってくると、大きく低下する傾向であった。一方、過酸化水素水投入量が $5\text{g}/\text{m}^3$ では初期相対湿度の影響はあまり見られなかった。

次に、BI (E6) の陰性率は、初期相対湿度によって、BI (E4) より、さらに大きな影響があり、初期相対湿度が 20% 程度のかかなり低湿度になると、過酸化水素水投入量が $5\text{g}/\text{m}^3$ であっても、BI (E6) 陰性率が大きく低下する結果となった。初期相対湿度が、除染の効果により顕著に影響する結果となった。

2.3.3 CI の色差による BI 陰性率の評価

(1) CI 色差と過酸化水素水投入量、初期相対湿度との関係 各試験区の CI 色差の平均値と過酸化水素水投入量との関係を Fig. 8 に、初期相対湿度との関係を Fig. 9 に示す。過酸化水素水投入量が増加するに従い CI 色差は増加したが、CI 色差は最大でも 110 程度なので、過酸化水素水投入量 $4\text{g}/\text{m}^3$ と $5\text{g}/\text{m}^3$ で大きな差は見られなかった。また、初期相対湿度との関係は、過酸化水素水投入量が少ない $2\text{g}/\text{m}^3$ では正の相関関係がみられるが、過酸化水素水投入量が $3\text{g}/\text{m}^3$ 以上になると、初期相対湿度が高くなっても、CI 色差は大きく変化しない傾向であった。

(2) CI 色差と BI 陰性率の関係 CI 色差（各地点の平均値）と BI (E4) 陰性率の関係を Fig. 10 に、CI 色差の平均値と BI (E6) 陰性率との関係を Fig. 11 に示す。過酸化水素水投入量が少ない $2\text{g}/\text{m}^3$ では、CI 色差と BI (E4) 陰性率は比例関係にあったが、過酸化水素水投入量 $4\text{g}/\text{m}^3$ の CI 色差と、BI (E4) の陰性率で大きく異なる結果となった。これは、BI (E4) の陰性率が初期相対湿度に大きな影響

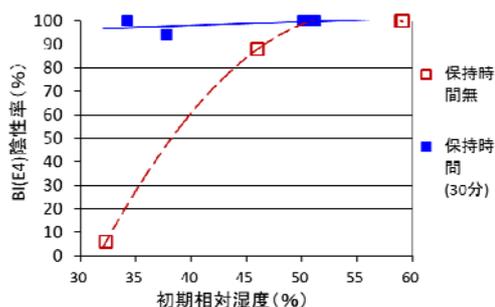


Fig. 4 保持時間の有無と BI (E4) 陰性率の関係
Relation between Holding Time and Negative BI (E4)

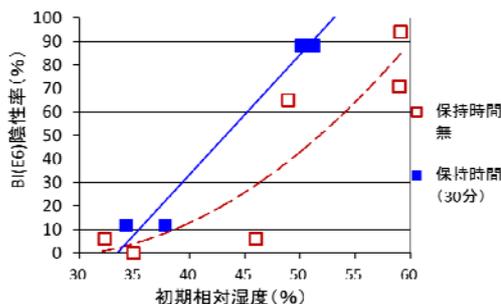


Fig. 5 保持時間の有無と BI (E6) 陰性率の関係
Relation between Holding Time and Negative BI (E6)

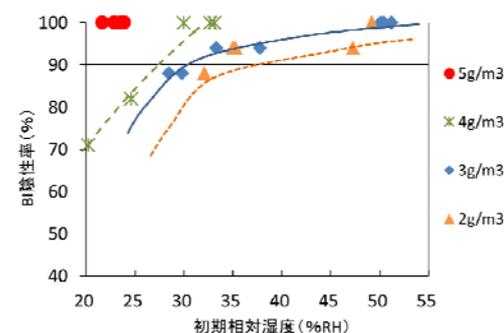


Fig. 6 初期相対湿度と BI (E4) 陰性率の関係
Relation between Initial Relative Humidity and Negative BI (E4)

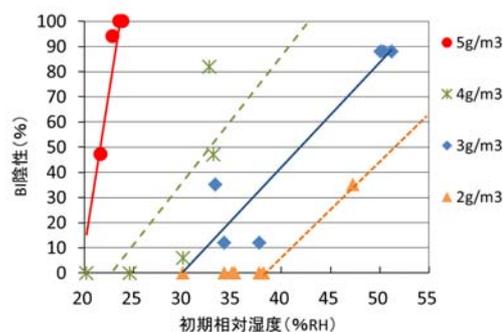


Fig. 7 初期相対湿度と BI (E6) 陰性率の関係
Relation between Initial Relative Humidity and Negative BI (E6)

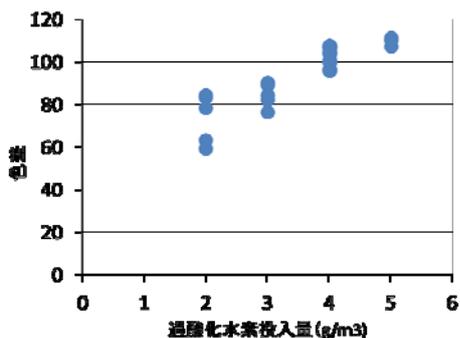


Fig. 8 CI 色差と過酸化水素水投入量との関係
Relation between CI Color Difference and Hydrogen Peroxide Input

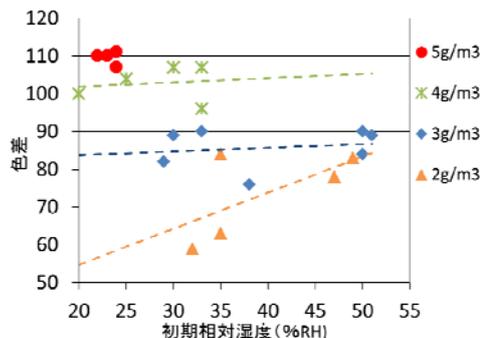


Fig. 9 CI 色差と初期相対湿度との関係
Relation between CI Color Difference and Initial Humidity

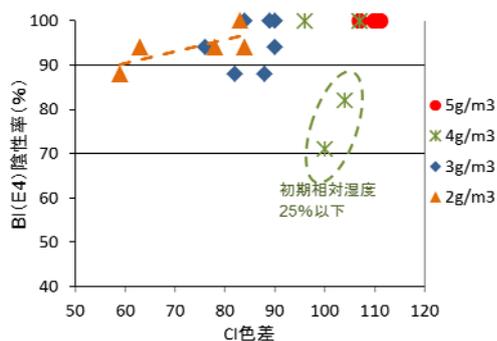


Fig. 10 CI 色差と BI (E4) 陰性率の関係
Relation between CI Color Difference and BI (E4) Negative

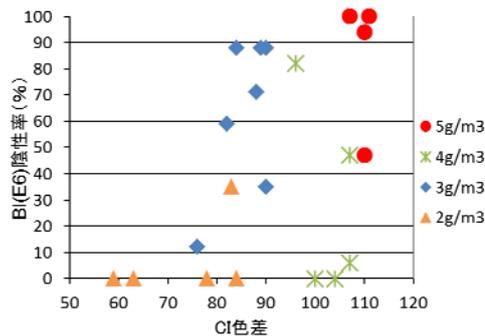


Fig. 11 CI 色差と BI (E6) 陰性率の関係
Relation between CI Color Difference and Negative BI(E6)

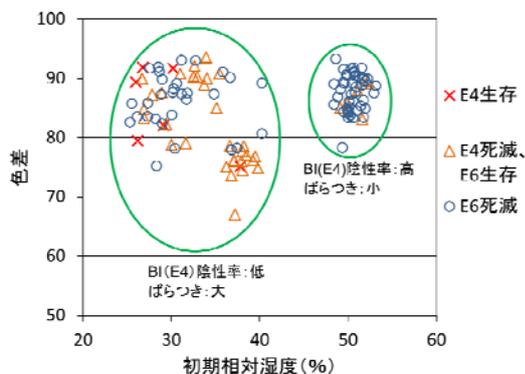


Fig. 12 個々の CI 色差 (過酸化水素水投入量 3g/m³)
Color Difference of Each CI (Hydrogen Peroxide 3g/m³)

を受けるのに対し、CI 色差はそれ程影響を受けないことが原因である。しかし、過酸化水素水投入量 3g/m³ の際の個々の CI 色差と BI(E4)陰性率の関係を Fig. 12 に示すが、BI (E4) の陰性率が低いと、CI 色差のばらつきは大きくなり、BI (E4) の陰性率が高くなると、CI 色差のばらつきは小さくなることが分かった。よって、CI 色差の大きさだけでなく、色差のばらつき具合も評価することで、CI 色差と BI (E4) 陰性率との関係性が評価できるものと考えられる。一方、BI (E6) は、当然のことながら陰性になりにくい

が、今回用いた CI の色差は比較的すぐに最大値である 110 程度になってしまうため、BI (E6) の陰性率との関係性は明らかではなかった。すなわち、ブラウンペーパーストリップ CI による BI (E6) 陰性率の評価は難しいと考えられる。

3. 医薬品製造施設での過酸化水素除染実験

3.1 目的

実験で利用した医薬品製造施設は、加湿設備がなく、冬季は室内の湿度が低下する。前章で述べたように、過酸化水素除染は室内の初期相対湿度に大きく依存し、相対湿度が大きく低下すると、必要となる過酸化水素投入量が大幅に増加する。一方で、相対湿度の高い夏季においては、冬季の低湿度を想定した過酸化水素投入条件では、過剰になり、建材への腐食が懸念される。低湿度の場合、過酸化水素蒸気の投入に先立って加湿を行い、初期の湿度条件をほぼ一定にすることで、過酸化水素の投入量を削減し、かつ、通年の過酸化水素水の投入量を一定にすることができると考えられる。そこで、この手法を「過酸化水素除染システム」とし、本実験の主たる目的とした。

3.2 過酸化水素除染システム

実験は実際の医薬品製造工場で行った。Fig. 13 に過酸化

水素除染設備の概要を示す。除染設備は空調設備と分離して構築し、ソフトウェア上で空調設備と連動する。

Fig. 14 に除染設備の運転フローを示す。過酸化水素蒸気を発生させる前に、除染対象空間の温湿度を測定し、目標の湿度に達していなければ加湿を行うようにした。なお、加湿には、設置している除染設備を用いて、過酸化水素水の替りに、無菌水を投入して気化させた。そのため、ハード的な追加設備は必要なく、制御プログラムだけの追加で済んだ。

3.3 実験条件

3.3.1 実験施設の状況 実験は、広さの異なる3種類の部屋で行った。小部屋 (4.6m², 天井高3m), 中部屋 (14m², 天井高3m), 大部屋 (130m², 天井高4.5m) で実施した。各部屋の概要と、過酸化水素蒸気発生装置の位置, BI, CI 設置位置を Fig. 15 に示す。

3.3.2 過酸化水素水 2 章と同様の過酸化水素水を使用した。

3.3.3 測定機器等, インジケータ 測定機器として2章と同じ温湿度データロガーを用いた。また, BI 及びCI も2章と同じものを用い, CI の色差は, ハンディタイプの分光測色計を用いて測定した。

3.3.4 加湿方法 加湿方法は, 前述した通り, 過酸化水素水及び加湿水供給装置に無菌水を供給して水蒸気をつくり加湿を行った。

3.3.5 保持時間 過酸化水素蒸気投入後, エアレーション開始までの保持時間 (30 分, 60 分) の有効性の評価を行った。

3.4 実験結果

実験結果は, 小部屋, 中部屋, 大部屋の結果をまとめて示す。

3.4.1 過酸化水素水投入条件, 湿度, 保持時間と BI 陰性の関係 過酸化水素水投入量, 初期相対湿度, 保持時間をパラメーターに, BI の陰性率をまとめたものを Table 2 に示す。

3.4.2 除染後の保持時間の有効性 Fig. 16 に, 過酸化水素水投入量 5g/m³, 初期相対湿度 40% の条件で, 過酸化水素蒸気発生後の保持時間と BI の陰性率の関係を示す。BI (E4) の陰性率は保持時間に関係なく 100% であったが, BI (E6) は保持時間が無い場合, BI 陰性率が 89% と低下した。よって, 過酸化水素除染後に 30 分程度保持時間を設けた方が, BI 陰性率が上昇することが明らかとなった。

3.4.3 初期相対湿度と BI 陰性の関係 初期相対湿度と BI 陰性率の関係について, 過酸化水素水投入量 3g/m³ 時と 3.5g/m³ 時の結果をそれぞれ Fig. 17 と Fig. 18 に示す。Fig. 17 では, 初期相対湿度が高い程, BI (E4) の陰性率が高くなっている。BI (E6) では, 初期相対湿度 40% で一番低くなっているものの, 初期相対湿度 50% で BI (E6) の陰性率が一番高い。Fig.18 では, 初期相対湿度 17% の場合,

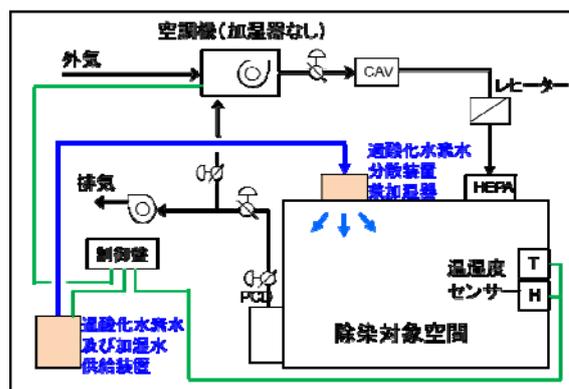


Fig. 13 過酸化水素除染設備の概要
Concept of Vaporized Hydrogen Peroxide Facility with Humidification Function

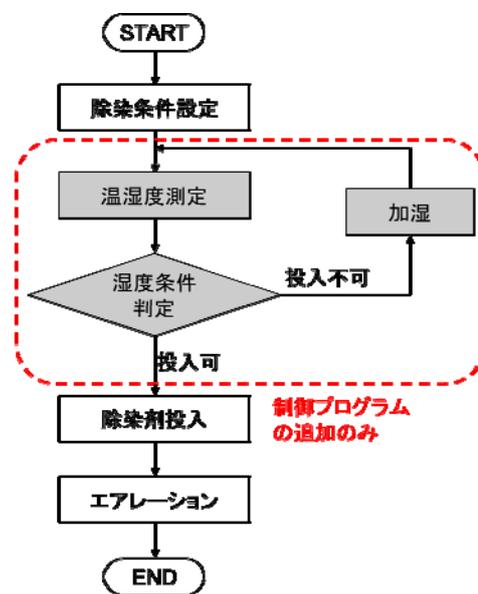


Fig. 14 過酸化水素除染のフローチャート
Flowchart for Hydrogen Peroxide De-Contamination

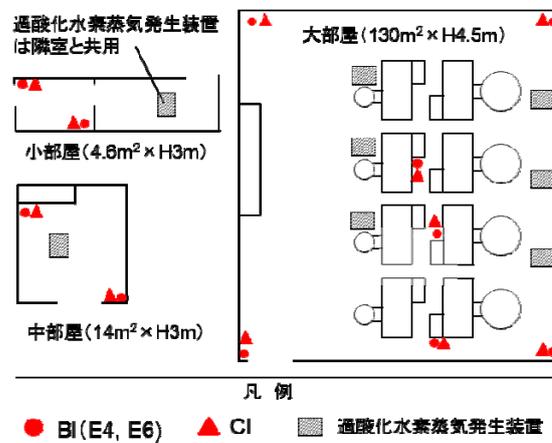


Fig. 15 部屋の概要
Rooms for Experiments

Table 2 過酸化水素水投入量, 初期湿度, 保持時間による BI の陰性率及び CI 色差

Relation between Negative BI or Color Difference of CI and Hydrogen Peroxide Input, Initial Relative Humidity, Hold Time

時季	冬					夏	冬				夏	
H ₂ O ₂ 投入量(g/m ³)	3			3.5		4	5				5	
初期相対湿度	33	40	50	17	54	50	20	40	50	50	50	
加湿の有無(○:有)		○	○		○			○	○	○	○	
保持時間(分)	30			0		60	0	0	30	60	0	0
BI陰性の割合 (%)	E4	83	96	100	42	100	100	100	100	100	100	100
	E6	61	48	91	0	89	95	58	89	100	100	95
CI色差平均値	92	99	104	74	96	103	95	100	108	108	97	104

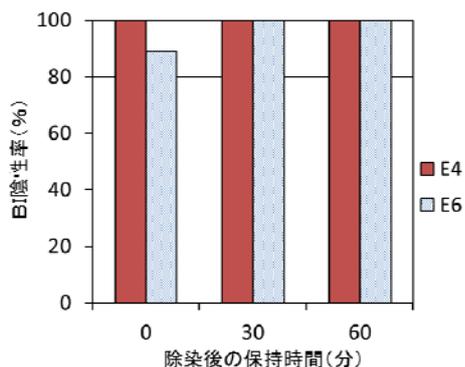


Fig. 16 BI 陰性率と除染後の保持時間の関係
Relation Negative BI and Holding Time

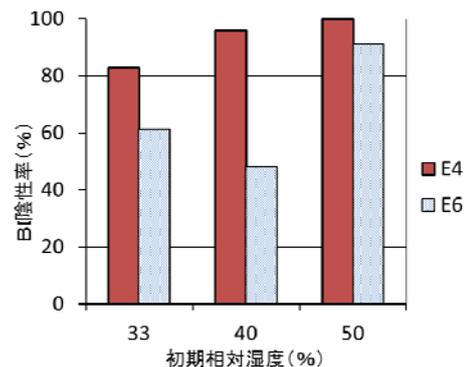


Fig. 17 BI 陰性率と初期相対湿度の関係
(過酸化水素投入量 3g/m³)
Relation between Negative BI and Initial Relative Humidity
(Peroxide Oxide Input 3g/m³)

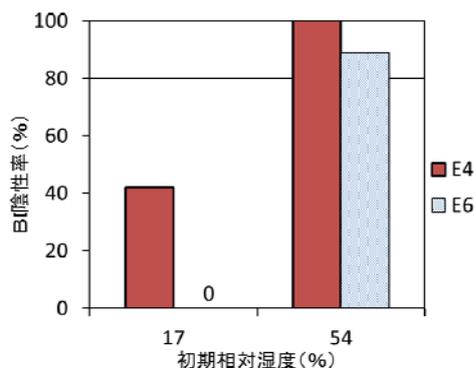


Fig. 18 BI 陰性率と初期相対湿度の関係
(過酸化水素投入量 3.5g/m³)
Relation between Negative BI and Initial Relative Humidity
(Peroxide Oxide Input 3g/m³)

BI (E6) の陰性率はゼロとなっているが, 初期相対湿度 54% の場合, 陰性率は 89% である。BI (E4) の陰性率でも大きな差が見られた。このように, 初期相対湿度は BI 陰性率に大きな影響を与えることが 2 章の室内実験同様明らかとなった。

3.4.4 CI 色差と初期相対湿度, 保持時間の関係 Fig. 19 に CI 色差と初期相対湿度の関係を示す。初期相対湿度が上昇するに従い, CI 色差も上昇している。Fig. 20 に CI 色差と保持時間を示すが, 保持時間 30 分以上設けることで, CI 色差が上昇している。

3.4.5 CI 色差と BI 陰性率の関係 Fig. 21 に CI 色差と BI (E4) 陰性率の関係を示す。CI 色差の上昇とともに BI (E4) の陰性率は上昇しており, BI 陰性状況と CI 色差に相関性があるのが分かる。また, 個々の CI 色差の値を Table 2 に示すが, BI 陰性率が低いと, CI 色差のばらつき

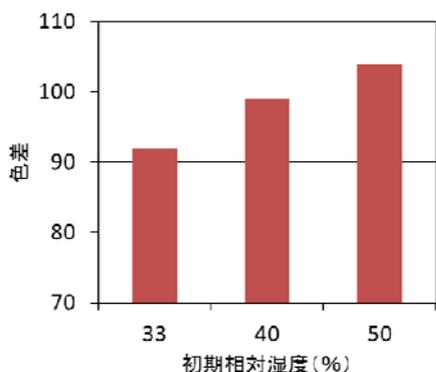


Fig. 19 CI 色差と初期相対湿度の関係
(過酸化水素水投入量 $3\text{g}/\text{m}^3$)
Relation between Color Difference of CI and Initial Relative Humidity (Hydrogen Peroxide Input $3\text{g}/\text{m}^3$)

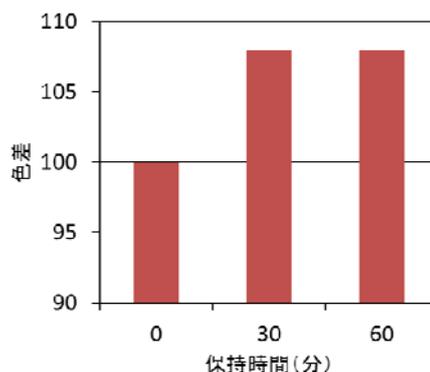


Fig. 20 CI 色差と保持時間の関係
(過酸化水素水投入量 $5\text{g}/\text{m}^3$)
Relation between Color Difference of CI and Holding Time (Hydrogen Peroxide Input $5\text{g}/\text{m}^3$)

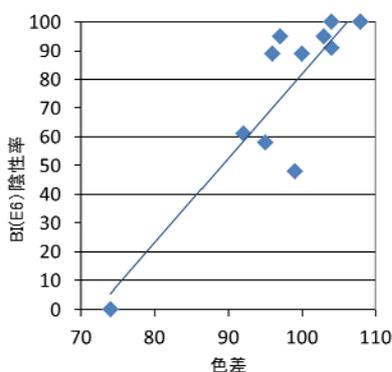


Fig. 21 CI 色差と BI (E4) 陰性率の関係
Relation between Color Difference of CI and Negative BI (E4)

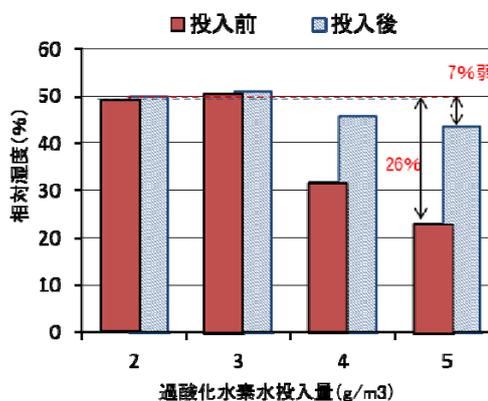


Fig. 22 過酸化水素除染前後の相対湿度と過酸化水素投入量の関係
Relative Humidity changing before and after Hydrogen Peroxide Input

が大きくなる事が分かる。過酸化水素除染状況を CI の色差や色差のばらつきによって、簡易に把握することは可能であると考えられる。

4. 考察

過酸化水素除染は、初期相対湿度が高いと、建材の腐食が進むと一般的に言われているが、初期相対湿度と建材腐食のリスクに関して考察した。

4.1 過酸化水素除染後の相対湿度の変化

BI (E4) が 100% 死滅した各過酸化水素水投入量における投入前後の相対湿度の変化を Fig. 22 に示す。初期相対湿度が約 20% の場合、必要な過酸化水素水投入量は $5\text{g}/\text{m}^3$ と多く、投入後の相対湿度も 43% とかなり上昇した。一方、初期相対湿度 50% の場合は、必要な過酸化水素水投入量は $2\text{g}/\text{m}^3$ であり、投入後の相対湿度も 50% とほとんど上昇しなかった。投入後の相対湿度は、初期相対湿度が低い場合と、高い場合であり差がないことが分かった。

4.2 過酸化水素除染後の絶対湿度の変化

過酸化水素水投入量による過酸化水素蒸気発生後の絶対湿度増加分の比較を Fig. 23 に示す。周知のとおり過酸化水素は時間の経過に伴い水と酸素に分解するので、壁面への吸着量を物質収支から考えると、次式が成り立つ。

$$\text{【壁面への吸着量】} = \text{【過酸化水素水投入量】} - \text{【投入後の空気絶対湿度増加量】} \quad (1)$$

これより、壁面への過酸化水素吸着量は、投入量 $2\text{g}/\text{m}^3$ (初期湿度 49%) 時の $0.56\text{g}/\text{m}^3$ に対して、投入量 $5\text{g}/\text{m}^3$ (初期湿度 23%) 時に、 $0.9\text{g}/\text{m}^3$ となり、1.6 倍に増えるため、建材腐食のリスクはむしろ高くなると推察される。

これらの考察より、初期相対湿度を 50% 程度に高くして、過酸化水素水投入量を大幅に低減すれば、建材腐食のリスクはむしろ抑制できることが期待される。

5. まとめ

実験室及び実工場において、過酸化水素水投入量、初期

相対湿度、保持時間をパラメーターに過酸化水素除染実験を行い、次の結果が得られた。

- 1) 初期相対湿度は50%以下の範囲では、初期相対湿度が高い程、BI陰性率は高い。初期相対湿度が高い程、必要な過酸化水素水投入量は少なくなる。
- 2) 外気の季節変動等で、初期相対湿度が低い場合、過酸化水素除染実施前に、加湿し、初期相対湿度を40~50%に上昇させた後に、過酸化水素除染することで、過酸化水素水投入量を大幅に低減することができる。
- 3) 保持時間を設けることにより、BI陰性率が上昇する。
- 4) 初期低湿度で多量の過酸化水素水を投入するよりは、初期高湿度で、過酸化水素水投入量を少なくする方が、壁面への過酸化水素吸着量が少なく、建材腐食のリスクを低減することが期待できる。
- 5) CI色差は、同様の相対湿度条件下では、過酸化水素水投入量に比例する。
- 6) CI色差が大きく、ばらつきが小さくなる程、BI陰性率は高くなる。複数個所でCI色差を測定することにより、過酸化水素除染の稼働状況の評価の目安とすることができる。

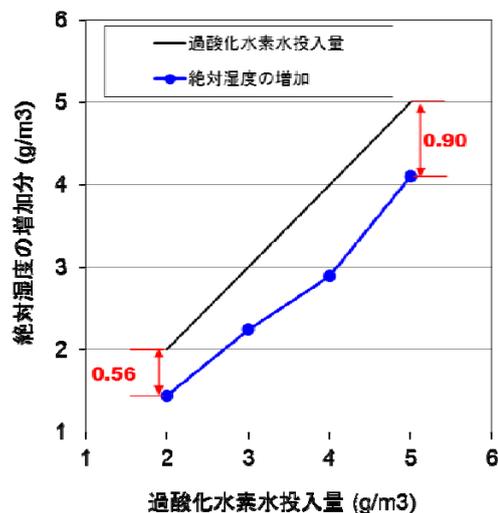


Fig. 23 過酸化水素蒸気発生後の絶対湿度増加
Absolute Humidity Increase after Hydrogen Peroxide Input

参考文献

- 1) 出口統也, “アイソレーターの過酸化水素滅菌事例” 防菌防黴, Vol.37, No.5, pp.385-391, 2009.05
- 2) “色のはなし”, 日本色研ホームページ, <http://www.sikiken.co.jp/colors/colors11.htm>, 2016.08.25