【技術論文】

二酸化塩素ガスを用いた安全キャビネット除染方法の評価※

荒川宏樹・髙橋秀人・朴民亀[*1]・岩堀伸哉[*1]・佐々木雄治[*2]

Evaluation of Microbial Decontamination Method for Biosafety Cabinet Using Chlorine Dioxide Gas

Hiroki Arakawa・Hideto Takahashi・Mingoo Park[*1]・Shinya Iwahori[*1]・Yuji Sasaki[*2]

バイオハザード対策用クラスⅡキャビネット（以下、BSC）に関するJIS規格（JIS K 3800）附属書B「除染方法の評価」では、2021年の改正の際、除染剤として二酸化塩素ガス（以下、CDガス）が追加された。このJIS規格において、除染を行う際には排気HEPAフィルタ下流部から作業台部への循環回路の設置が必須条件になっている。しかし、CDガスの物性は拡散性が高いため、循環回路が無くても除染効果を満足できる可能性が考えられる。本報では、CDガス除染方法に対する循環回路の効果を確認するため、循環回路の有無で除染効果を評価した。その結果、循環回路を設置しない場合はCDガスの短時間除染のメリットが相殺されることが分かった。また、BSCに対して腐食リスクが高まるなどの悪影響を及ぼす可能性があることが示唆された。したがって、CDガス除染時に循環回路を設置してBSC内のガス分布を均一にすることは、短時間で確実な除染効果の成功とBSCの保全にとって重要である。

1. はじめに

バイオハザード対策用クラスⅡキャビネット（いわゆる安全キャビネット。以下、BSC：Biosafety Cabinet）は、病原性のある微生物や遺伝子組み換え生物を取扱う際に、作業者や周囲の環境を保護する重要な装置である。そのため、BSCは定期的に作業エリア内の清浄度や作業台開口部への流入風速などの封じ込め性能を評価することが求められており、その作業前にはBSC内の微生物除染（以下、除染）が必要となる。従来のBSC用除染剤は、ホルムアルデヒドガスだけが信頼できるとされてきた。その理由はホルムアルデヒドガスが、拡散性が高い、除染効果が高い、一方で腐食性が低い、安価など他に類を見ない利点があったためと考えられる。しかし、ホルムアルデヒドは、シックハウス症候群や発がん性など人体に対して障害を与え、またパラホルムアルデヒドが除染後の表面に残存して完全に除去できない問題があることから、新しい除染方法が検討されてきた。2021年に改正されたバイオハザード対策用クラスⅡキャビネットJIS K 3800：2021[1)]の附属書B「除染及び除染方法の評価」（以下、本JIS）では、密閉キャビネットの隅々へのガス拡散性の高さおよび除染効果の標準的指示方法である枯草菌芽胞の生存率を10^{-6}未満に減少できる除染効果の高さがホルムアルデヒドと同様である点から、二酸化塩素ガス（以下、CDガス：Chlorine Dioxide Gas）を用いた除染方法が追加された。本JISのCDガスとホルムアルデヒドガスのガス総量一定方法を表1、除染時の概略図を**図1**に示す。除染方法を比較すると、ホルムアルデヒドガスの場合、排気HEPA下流部から作業台部への循環回路の有りか無しかは選択できる。一方、CDガスは、循環回路有りが必要条件になっている。しかし、CDガスの物性は拡散性が高いため、循環回路無しでも除染効果を満足できる可能性が考えられる。

本稿ではCDガス除染効果に対する循環回路の効果を確認するため、循環回路の有無で除染効果を評価した結果を報告する。

※本論文は、令和5年度空気調和・衛生工学会大会論文[2)]を加筆修正したものである。

*1 株式会社イカリステリファーム　*2 イカリ消毒株式会社

表 1 本 JIS のガス総量一定方法

除染剤	ホルムアルデヒドガス	CDガス
温湿度	21℃以上、60%～85%	15℃以上、60%～85%
循環回路	有り or 無し	有り
除染条件	パラホルムアルデヒド量 11g/m^3 CT値※1 7,200 ppm･h以上 （6時間～12時間以上）	CDガス量 4.7g/m^3 （処理時間85分以上）
中和･除去･排気	炭酸水素アンモニウムを加熱･待機後に排気	除去･排気設備を運転
効果判定	枯草菌芽胞を生残率10^{-6}未満となる "BI" または "CT値"による判定	

※CT 値:ガス濃度と暴露時間の積

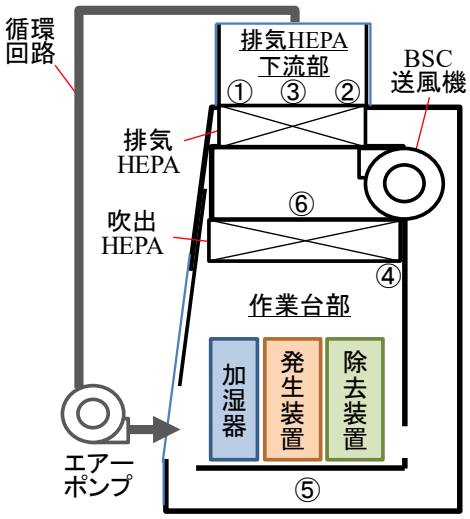

図 1 除染の概略図の一例

※①～⑥は表 3 のバイオロジカルインジケータ位置番号

2. CD ガス除染の概要

2.1 物理的性質

二酸化塩素の主な物性と許容濃度を表 2 に示す。二酸化塩素は沸点が 11℃であり常温ではガス状態として存在する。また、米国の労働安全衛生局による許容曝露濃度（PEL）は 0.1 ppm である。0.1 ppm の CD ガスは、人の嗅覚で感知できるため、万が一除染中に僅かなガス漏洩が発生したとしても、検知器など特別な分析機器を用いること無く臭気で危険を察知することが可能であり、実用に適している。

2.2 CD ガス発生方法

CD ガス発生装置の概略図を**図 2** に示す。この発生装置は、本 JIS の CD ガス総量一定方法を想定した構成となっており、従来のホルムアルデヒドガス発生法と同様に、ヒータに薬剤（固体の亜塩素酸ナトリウムとリンゴ酸溶液）を投入した反応容器を設置して加熱することで、単純かつ簡単に CD ガスが発生できる。また、装置構造が単純なため、故障等のトラブルが発生し難く安価であるため、仮にトラブルが発生しても予備を準備しておくことで容易かつ迅速に対応できる。

表 2 二酸化塩素の主な物性と許容濃度

分子式		ClO_2
沸点		11 ℃
相対蒸気密度（空気＝1）		2.3
規制値	PEL (permissible exposure limit)	0.1 ppm
	STEL (Short Term Exposure Limit)	0.3 ppm
安全性	色	除染濃度の数百ppmの時、目視確認可能（赤～黄色）
	臭い	安全濃度0.1 ppm（PEL）でも人の嗅覚で感知可能
除染効果		酸化作用

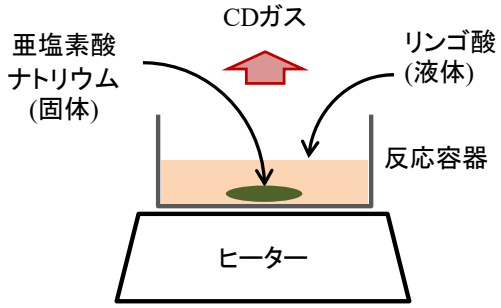

図 2 CD ガス発生装置の概要

3. CD ガス除染効果に対する循環回路の効果の確認

CD ガス除染効果に対する循環回路の効果を確認するため、CD ガス総量一定方法を基に、試験Ⓐ：循環回路有り（本 JIS）と試験Ⓑ：循環回路無しを比較評価した。

3.1 方法

試験Ⓐ循環回路有りの処理工程の様子を**写真 1** に示す。BSC（日本エアーテック社、BHC-1308 Ⅱ A2）内の本 JIS 所定 6 箇所に各 1 対のバイオロジカルインジケータ（以下 BI：枯草菌芽胞 10^6 CFU）を設置後（**写真 2**）、作業台部と排気 HEPA 下流部に CD ガス濃度センサー（ATI 社、00-1359）と温湿度計（T&D 社、RTR-53A）を設置した。また、CD ガス総量一定方法で規定の CD ガス量 4.7 g/m^3 を満足する薬剤量を投入した CD ガス発生装置、CD ガス除去装置と加湿器を作業台に設置後、開口部の養生を行い、試験Ⓐ循環回路有りの場合は排気 HEPA 下流部から作業台部に向けて循環ホースとエアーポンプを接続した。送風状態について、試験Ⓐ循環回路有りは常にエアーポンプによる送気運転、試験Ⓑ循環回路無しは BSC 送風機も含めて常に送風停止とした。除染工程は、所定の温湿度でガス処理を 90 分間行う処理工程と、それに引き続いてガスを除去する除去工程からなる。BSC 内を室内空調で約 23℃、加湿器で約 65%RH に調整後、CD ガス発生装置のヒータを起動加熱して処理開始とし、その 90 分後に除去装置を起動した。また、試験Ⓑ循環回路無しの排気 HEPA 下流部の滞留ガスは、除去開始 90 分後（処理開始 180 分後）に直近実験排気ダクトから排出した。各試験 3 回実施し、試験後に回収した BI を所定時間培養して陰性/陽性判定により除染の成功/不成功を評価した。処理条件を以下に示す。

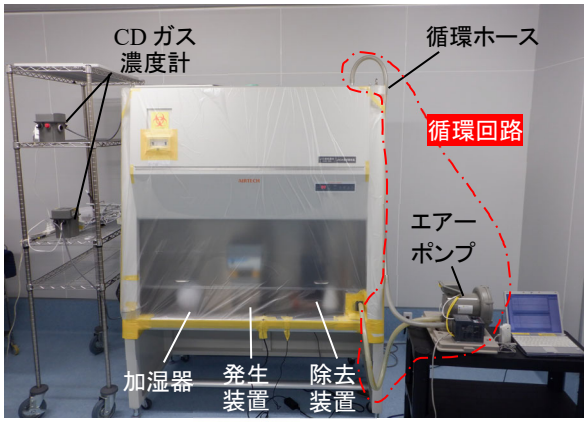

写真 1　試験Ⓐ循環回路有り処理中の様子

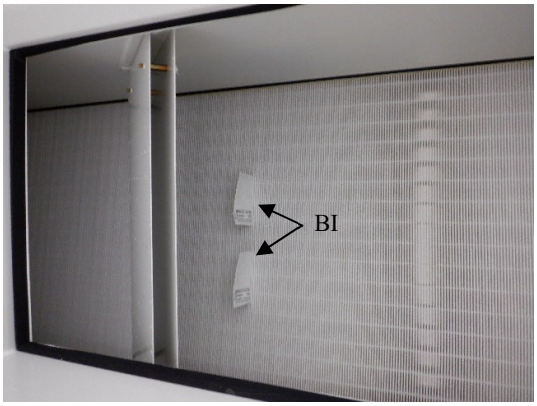

写真 2　BI 設置の様子（吹出し HEPA フィルタ上流部）

・処理工程の温湿度：約 23℃、60%RH～85%RH
・BI　　：Noxilizer、BI-S-N/100-001
　－指標菌　　：*Geobacillus Stearothermophilus*
　－芽胞菌数　　：10^6 CFU
　－培養条件　　：55℃～60℃×7 日間

3.2　結果と考察

各試験の温湿度、CD ガス濃度の経時変化の一例を**図 3**、**図 4** に、BI による除染効果判定結果と各試験時の排気 HEPA 下流部の CT 値を表 3 に示す。

3.2.1　温湿度

全ての試験で処理工程の温湿度条件を満足した。なお、処理工程条件ではないが、除去工程の湿度について、作業台部（**図 3**、**図 4** の実線）と試験Ⓐ循環回路有りの排気 HEPA 下流部（**図 3** の破線）で 60%RH 未満に低下した。これは除去装置に使用した活性炭フィルタに水分も吸着したためと考えられる。試験Ⓑ循環回路無しの排気 HEPA 下流部（**図 4** の破線）は、除去工程も 60%RH 以上であった。これは湿分が無風状態の HEPA フィルタを通過できないためと考えられる。

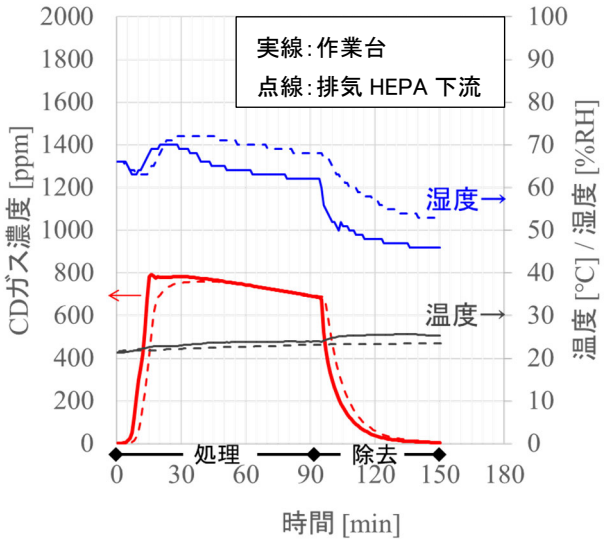

図 3　試験Ⓐの CD ガス，温湿度の経時変化の一例

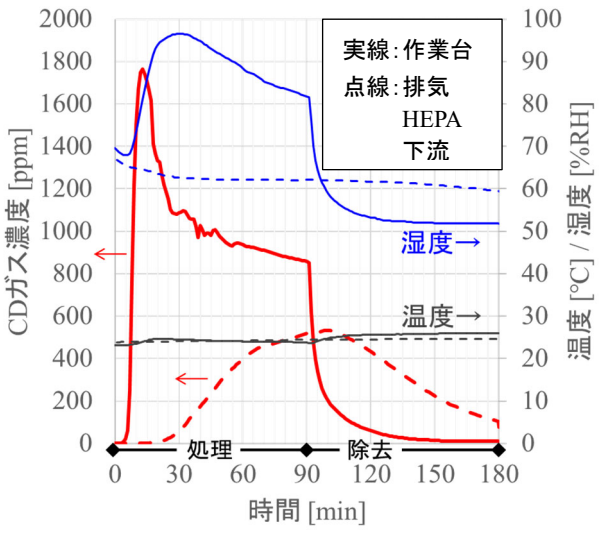

図 4　試験Ⓑの CD ガス，温湿度の経時変化の一例

表 3 BI による除染効果判定の結果と各試験時 CT 値

本JIS所定 BI設置位置		試験Ⓐ:循環有り			試験Ⓑ:循環無し		
		1回目	2回目	3回目	1回目	2回目	3回目
排気 HEPA 下流	①外壁-1	○	○	○	×	○	○
	②外壁-2	○	○	○	×	×	○
	③中央	○	○	○	×	×	×
④汚染正圧域		○	○	○	○	○	○
⑤作業台トレー下		○	○	○	○	○	○
⑥吹出しHEPA上流中央		○	○	○	○	○	×
陽性対照(未処理)		×	×	×	×	×	×
除染判定		成功	成功	成功	不成功	不成功	不成功
CT値* (≧60%RH) [ppm･h]	排気HEPA 下流部	994	1,091	996	616	849	724

＊：試験Ⓐは 90 分間，試験Ⓑは 180 分間の CT 値

○：除染有効＝1 対の BI 両方が培養陰性または片方だけ培養陽性

×：除染無効＝1 対の BI が両方とも培養陽性

成功　：陽性対照以外で×印 1 個以下

不成功：陽性対照以外で×印 2 個以上

3.2.2 CD ガス濃度

作業台部の CD ガス濃度は、全ての試験で試験開始 5 分以内にガス濃度が上昇し、10～15 分後にピークを迎え、その後は減少傾向を示した。除去開始後は速やかに濃度減少して 60 分以内に許容暴露濃度の 0.1ppm となった。一方、排気 HEPA 下流部の CD ガス濃度は、試験Ⓐ循環回路有りの場合、5 分程度の時間遅れはあったが概ね作業台部と同様に推移し、除去開始後は速やかに濃度減少して 60 分以内に許容暴露濃度の 0.1ppm となった。試験Ⓑ循環回路無しの場合、処理開始 15 分後から濃度上昇を開始し、60 分後に 400ppm 到達、その後は濃度上昇が少し緩やかになった。除去開始 15 分後まで濃度上昇が続き、その後は緩やかな濃度減少に転じるが、除去開始 90 分後（処理開始 180 分後）でも約 100 ppm の高濃度が残留した。実際のオペレーションでは安全確保のため、残留濃度が許容レベル以下に低下するまで除去時間を延長する必要が生じる。ホルムアルデヒドガスに比べて CD ガスは短時間で除染できる方法であるが、上記のような除去時間の延長は CD ガスの時短メリットに対し相殺側に働く。

3.2.3 除染効果

試験Ⓐ循環回路有りは全ての BI 設置位置で除染有効（○印）であり除染判定は成功、試験Ⓑ循環回路無しは排気 HEPA 下流で除染無効（×印）であり除染判定は不成功であった。一般に、除染効果はガス濃度と暴露時間の積である CT 値で評価される。試験Ⓐ循環回路有りと試験Ⓑ循環回路無しの排気 HEPA 下流部の CT 値の比較から、除染有効に必要な CT 値は 994 ppm・h 以上であることが分かった。試験Ⓑ循環回路無しは処理時間を低濃度側の排気 HEPA 下流部で CT 値 994 ppm・h 以上に到達するまで延長すれば、処理工程内に除染判定成功になる可能性がある。しかし、排気 HEPA 下流部の除染効果に合わせて処理時間を設定すると、高濃度側の作業台部は過剰な CT 値となる。さらに、除去工程の際、排気 HEPA 下流部は湿度と CD ガス濃度が高い状態で維持されるため、過剰な CT 値となる。CD ガスの除染効果は酸化作用（**表 2**）によるものであり、過剰な CT 値は BSC の腐食・劣化を招く恐れがあるため、適正な BSC 運用管理にとって処理時間延長の対応は許容できない。

3.2.4 その他:BSC への影響

本 JIS の方法（試験Ⓐ循環回路有り）の条件で、CD ガス除染による BSC への影響について確認した。本

表 4 キャビネット観察結果

項目	結果
作業台パネル	変化なし
吸込みスリット_手前	変化なし
吸込みスリット_奥	変化なし
作業台内コンセント	変化なし
ガスコック	変化なし
バーナー	変化なし
紫外線ランプ・ソケット	変化なし
吹出し風速センサー	性能に問題なし
吹出しHEPAフィルタ固定具	変化なし
作業台トレー下部	変化なし
BSC内ガス配管	変化なし
BSC送風機	変化なし
内装パネル_汚染正圧域	変化なし
排気HEPAフィルタ固定具	一部で腐食あり 固定ボルト、ナット、ワッシャ
内装パネル_排気HEPA下流部	変化なし
HEPAフィルタ	性能に問題なし （樹脂コーキング部が変色）

写真 3 排気 HEPA フィルタ固定ナット腐食の様子
（上段:処理前、下段:10 回処理後）

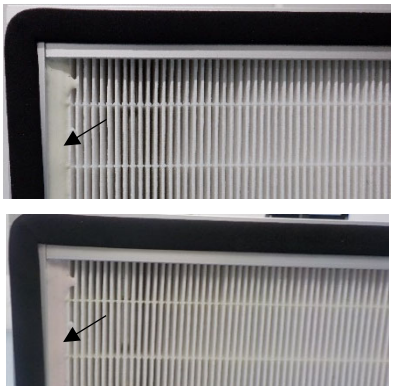

写真 4 HEPA フィルタコーキング変色の様子
（上段:処理前、下段:10 回処理後）

JIS には少なくとも 10 回処理時にキャビネットに影響がないこと、または影響する可能性がある場合は提案書などに記載することとされている。前述の処理後、追加処理を 4 回行い合計 10 回処理後のキャビネット内の腐食状況を 20 カ所で確認した結果を**表 4**、**写真 3**、**写真 4** に示す。BSC の封じ込め性能には影響は無いが、HEPA フィルタのコーキングの色変化および排気 HEPA 下流側にあるフィルタ固定具のボルト、ナット、ワッシャーで腐食が認められた。HEPA フィルタコーキング色変化は捕集性能上問題が無かった。フィルタ固定具は、除染処理毎に目視点検を行い、腐食変化があれば交換することで運用上問題ないと考える。

4. まとめ

BSC 内の除染処理は、定期の封じ込め性能検査前、HEPA フィルタ交換前、内部の大量微生物汚染時、使用目的の変更前、BSC の移送前や廃棄前に実施する非常に重要な作業であり、作業者への感染を防止するために確実に除染効果を成功させる必要がある。

本稿では CD ガス除染効果に対する循環回路の効果について、循環回路の有無の条件で比較評価した。循環回路が有る場合、除染判定は成功であり、除染効果にとって重要なパラメータである安全キャビネット内部の温湿度と CD ガス濃度は概ね均一で適正な状態であった。CD ガス除染時間は 2.5 時間程度（処理工程 1.5 時間＋除去工程 1 時間）と短く、ホルムアルデヒドガスの 7 時間以上（処理工程 6～12 時間＋除去工程 1 時間以上）と比べて 1/3 程度に短縮できるメリットがある。一方、循環回路が無い場合、排気 HEPA 下流部は除染できず、除染判定は不成功であった。排気 HEPA 下流部は CD ガスの迅速な供給や速な除去が難しい状態であった。排気 HEPA 下流部が除染有効となるまで処理時間を延長すれば、除染判定が成功する可能性はあるが、処理時間延長は先に述べた除去時間の延長と同様に CD ガスの短時間除染のメリットを相殺することになる。さらに、作業台部は過剰な CT 値によって BSC に悪影響を及ぼす可能性がある。

したがって、CD ガス除染時に循環回路を設置して BSC 内のガス分布を均一にすることは、短時間で確実な除染効果の成功と BSC の保全にとって重要である。

文　献

1) バイオハザード対策用クラスⅡキャビネット，JIS K3800：2021 付属書 B
2) 荒川宏樹，朴 民亀，岩堀伸哉，佐々木雄治：二酸化塩素ガスを利用した安全キャビネット除染方法の評価，“令和 5 年度空気調和・衛生工学会大会学術講演論文集”E-25，pp. 101-104，(2023)
3) 坂井利夫，渡邊 真，杉浦彰彦：二酸化塩素ガスによる安全キャビネットの除染についての検討，第 20 回日本バイオセーフティ学会総会学術集会，(2021)

ABSTRACT

Chlorine dioxide (CD) gas has been added to the decontamination agents list in the 2021 revision of appendix B of the JIS K 3800 Class II biosafety cabinet (BSC). According to the described JIS standard, it is essential to install a recirculation loop from downstream of the HEPA filter exhaust to the cabinet work area for CD gas decontamination. However, because CD gas is highly diffusible, satisfactory decontamination may be achievable without a recirculation loop. In this report, decontamination efficacy with and without a recirculation loop is evaluated to confirm the efficacies of both CD gas decontamination methods. The results confirmed that the absence of a recirculation loop offsets the benefits of short-term decontamination with CD gas. Additionally, they suggest the possibility of negative effects, such as increased biosafety cabinet corrosion risk. For rapid successful decontamination and maintenance of the BSC, it is important to ensure uniform gas distribution by installing a recirculation loop for CD gas decontamination.