



# VHP - Technologia biodekontaminacji nadtlenkiem wodoru

Monografia, dane techniczne - styczeń 2003



badania

planowanie

produkcja

droga do perfekcji



STERIS®

# droga do perfekcji

## Wprowadzenie

Systemy biodekontaminacji nadtlaniem wodoru (VHP), zapewniają szybkie, bezpieczne i niskotemperaturowe odkażanie zamkniętych pomieszczeń skażonych mikroorganizmami, w tym przetrwalników bakterii. Systemy VHP znajdują szerokie zastosowanie do dekontaminacji powietrza wewnątrz pomieszczeń lub ich powierzchni oraz przedmiotów znajdujących się wewnątrz tych pomieszczeń (w tym sprzętu elektrycznego i elektronicznego), kanałów roboczych oraz filtrów. Systemy VHP stosowane są jako szybkie i niskotemperaturowe technologie dekontaminacji produkcyjnych linii napełniania, izolatorów wykorzystywanych do testowania sterylności, uszczelnionych pomieszczeń oraz różnorodnych przepustów / śluz stosowanych podczas produkcji i badaniach farmakologicznych oraz laboratoriach wymagających zapewnienia bezpieczeństwa biologicznego.

W ostatnim okresie technologia biodekontaminacji VHP znalazła zastosowanie do biologicznego zabezpieczania pomieszczeń zamkniętych, w tym laboratoriów skażonych wirusami oraz pomieszczeń skażonych kulturami bakterii / grzybów (np. laseczki wąglika).

## Opis systemu biodekontaminacji VHP

Dostępny typoszereg systemów biodekontaminacji VHP zapewnia dekontaminację małych, średnich oraz dużych pomieszczeń.

System biodekontaminacji typu VHP1000 jest kompaktowym i mobilnym systemem dekontaminacji, zapewniającym wytwarzanie i dostarczanie do pomieszczenia zamkniętego gazowej postaci nadtlenu wodoru w sposób kontrolowany. Do produkcji została wdrożona kolejna wersja systemu biodekontaminacji typu VHP 1000ED, w której zostały zaimplementowane dodatkowe opcje (Rysunek 1).

**Rysunek 1.** System biodekontaminacji typu VHP 1000ED.



System biodekontaminacji typu VHP 1000 wykorzystywany jest od ponad 10 lat w wielu państwach do sterylizacji zamkniętych pomieszczeń: na przykład najpopularniejszym

zastosowaniem systemu jest odkażanie izolatorów oraz pomieszczeń o kubaturze do 8 000 ft<sup>3</sup> (230 m<sup>3</sup>). Możliwe jest przeprowadzenie dekontaminacji pomieszczeń o większych kubaturach poprzez jednoczesne wykorzystanie kilku systemów.

Systemy biodekontaminacyjne typu VHP 1000 dostępne są również w wersji modularnej (VHP M1000), umożliwiającej zintegrowanie z systemem ogrzewania, wentylacji i klimatyzacji pomieszczenia lub aseptyczną produkcyjną linię napełniania (Rysunek 2).

Firma STERIS może – zgodnie z warunkami kontraktu – dokonać adaptacji wersji bazowych systemów dekontaminacji VHP do wymogów wynikających ze specyficznych wymagań / projektów użytkownika, dotyczących w szczególności procesów wymagających zachowania warunków aseptycznych, pomieszczeń o zastrzonych wymaganiach czystości i sterylności powietrza, przetwórstwa żywności i pakowania oraz innych zastosowań przemysłowych.

**Rysunek 2.** System biodekontaminacji typu VHP M1000.



Do przeprowadzania dekontaminacji pomieszczeń o małych kubaturach mniejszych niż 70 ft<sup>3</sup> (2 m<sup>3</sup>) zaleca się stosowanie systemu mobilnego typu VHP 100P (Rysunek 3). System VHP 100P dostępny jest również w wersji modularnej (VHP M100).

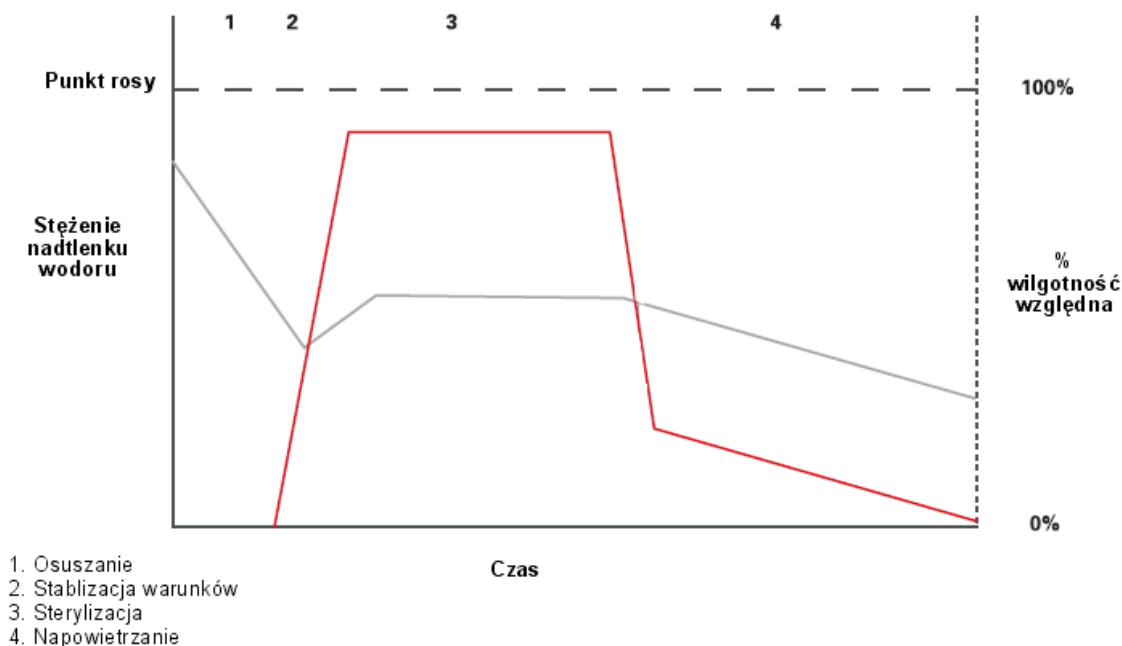
**Rysunek 3.** System biodekontaminacji typu VHP 100P.



## Typowy cykl dekontaminacji

Przebieg typowego cyklu biodekontaminacji przedstawiono na Rysunku 4.

Rysunek 4. Typowy cykl biodekontaminacji.



Cykl składa się z 4 faz: (1) osuszania, (2) stabilizacji warunków, (3) biodekontaminacji (sterylizacji) oraz (4) napowietrzania, których przebieg jest monitorowany przez zespół sterowania. Gazowa postać nadtlenu wodoru uzyskiwana jest poprzez odparowywanie 35% ciekłego nadtlenu wodoru (preparat sterylizacyjny Vaprox™), który przy niskim stężeniu (wartość typowa od 0,1 do 3 mg/l przy temperaturze 25 °C) wykazuje bardzo wysokie właściwości przetrwalnikobójcze. Podczas fazy biodekontaminacji (sterylizacji) wartość stężenia nadtlenu wodoru w pomieszczeniu utrzymywana jest na tym samym poziomie poprzez doprowadzanie powietrza z nadtlentkiem wodoru. Powietrze z nadtlentkiem wodoru, odprowadzane z pomieszczenia, przepływa przez katalizator zapewniający redukcję nadtlenu do postaci pary wodnej i tlenu.

Cykl dekontaminacji z wykorzystaniem nadtlenu wodoru nazywany jest *cyklem suchym*, ponieważ wielkość stężenia nadtlenu wodoru utrzymywana jest poniżej wartości punktu rosy. Właściwość ta zapewnia bezpieczną dekontaminację powierzchni wrażliwych, w tym urządzeń elektronicznych.

Włączenie wewnętrznego systemu wentylacji pomieszczenia podczas wykonywania fazy napowietrzania spowoduje znaczne skrócenie czasu trwania cyklu dekontaminacji.

Mikroprocesorowy zespół sterowania zapewnia ciągłe monitorowanie parametrów procesu dekontaminacji podczas każdej z faz cyklu.

Systemy biodekontaminacji VHP wykorzystywane są do odkażania różnorodnych pomieszczeń i w porównaniu z technologiami wykorzystującymi gazowe postacie biocydów (np. formaldehyd lub dwutlenek chloru) zaczynają być traktowane jako technologia alternatywna i przyjazna dla środowiska.

Inne technologie dekontaminacji, oparte na środkach ciekłych lub piankowych, w celu zapewnienia porównywalnych właściwości przetrwalnikobójczych wymagają znacznie dłuższego czasu oddziaływania preparatu sterylizującego, nie zapewniają utrzymania identycznych parametrów procesu, a także są czasochłonne i niejednokrotnie trudne do zastosowania (np. odkażanie kanałów roboczych).

### Skuteczność antybakteryjna

W okresie minionych 10 lat potwierdzono i udokumentowano wieloma publikacjami szeroki zakres skuteczności antybakteryjnej systemów biodekontaminacyjnych podczas oddziaływania niskiego stężenia gazowej postaci nadtlenu wodoru na mikroorganizmy (na poziomie 0,1 mg/l) (zestawienie sumaryczne przedstawiono na Rysunku 5). Umożliwia to wykorzystanie biodekontaminacji, zamiast technologii wykorzystujących gazową postać formaldehydu, do rutynowej sterylizacji pomieszczeń zamkniętych.

**Rysunek 5.** Odporność mikroorganizmów (kolejność zstępująca) na oddziaływanie nadtlenu wodoru. Dodatkowo przedstawiono neutralizujące oddziaływanie nadtlenu wodoru na toksyny białkopodobne (np. na toksyny botulinowe)



### Właściwości przetrwalnikobójcze

Gazowa postać nadtlenu wodoru w porównaniu z postacią ciekłą, ma właściwości przetrwalnikobójcze, o większej skuteczności przy niższym stężeniu

i oddziaływanu na większej powierzchni (zob. Block, 1991; przykład w Tabeli 1).

**Tabela 1.** Porównanie właściwości przetrwalnikobójczych ciekłej i gazowych postaci nadtlenu wodoru.

| Organizm poddawany testom                   | Parametr D, (czas w minutach, po którym wartość $\log_{10}$ (liczność przeżywających) zmieni się o jedność |   |
|---|--|---|
|   | Postać ciekła <sup>(b)</sup>   | Postać gazowa                                       |
|   | Stężenie H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> : 370 mg/l  | Stężenie H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> : 1 – 2 mg/l |
|   | Temperatura: 24 °C – 25 °C   | Temperatura: 24 °C – 25 °C                          |
| <i>B. stearothermophilus</i> <sup>(a)</sup> | 1,5  | 1 – 2   |
| <i>B. subtilis</i>                          | 2,0 – 7,3  | 0,5 – 1,0   |
| <i>C. sporogenes</i>                        | 0,8  | 0,5 – 1,0   |

<sup>(a)</sup> stężenie postaci ciekłej jest około 200 razy większe od stężenia postaci gazowej nadtlenu wodoru i osiągnięto identyczne właściwości przetrwalnikobójcze.

<sup>(b)</sup> kultura *B. stearothermophilus* jest bardziej odporna na oddziaływanie postaci gazowej nadtlenu wodoru, natomiast odporność kultury *subtilis* B. na oddziaływanie postaci ciekłej nadtlenu wodoru jest większa i znacząco zmienna.

Uogólniając, kultury bakterii (w szczególności *Bacillus stearothermophilus*) przedstawiono jako najbardziej odporne na oddziaływanie postaci gazowej nadtlenu wodoru, zarówno przy obecności jak i braku zanieczyszczeń organicznych (5% surowica; Klapes & Vesley, 1990; Kokubo, 1998).

Kultury bakterii *B. stearothermophilus*, jako najbardziej odporne mikroorganizmy (Kubodo, 1998) wykorzystywane są do weryfikacji i walidacji cykli

sterylizacyjnych z wykorzystaniem gazowej postaci nadtlenu wodoru w miejscu instalacji systemu i dostępne są w firmie STERIS w postaci zawieszin lub szczepów rozmieszczonych na wskaźnikach monitoringu biologicznego.

Wartość czasu biodekontaminacji uzależniona jest od stężenia gazowej postaci nadtlenu wodoru oraz temperatury w pomieszczeniu (wartości przykładowe przedstawiono w Tabeli 2).

**Tabela 2.** Porównanie właściwości przetrwalnikobójczych ciekłej i gazowych postaci nadtlenu wodoru.

| Temperatura (°C) | Stężenie (mg/l) | Stężenie (ppm) | Typowa wartość parametru D |
|------------------|-----------------|----------------|----------------------------|
| 4                | 0,1 – 0,5       | 350            | 8 min – 12 min             |
| 25               | 1 – 2           | 700 – 1 500    | 1 min – 2 min              |
| 37               | 3 – 4           | 2 000 – 3 000  | 30 s – 1 min               |
| 55               | 10 – 12         | 7 000+         | 1 s                        |

**Uwaga:** Temperatura punktu rosy zwiększa się ze wzrostem temperatury.

Podczas dekontaminacji pomieszczenia typowego wartości temperatury oraz stężenia gazowej postaci nadtlenu wodoru wynoszą odpowiednio od 20 °C do 30 °C oraz od 0,1 mg/l do 3,0 mg/l.

Proces biodekontaminacji z wykorzystaniem preparatu sterylizującego zarejestrowanego w EPA (*Environmental Protection Agency, Agencja Ochrony Środowiska, USA*) uzyskał również pozytywny wynik testów właściwości przetrwalnikobójczych wykonanych zgodnie z oficjalną metodyką analityki AOAC (*Association of Official Analytical Chemists, Stowarzyszenie Chemików Analityków, USA*), (15 edycja 1990, Rozdział 6, Sekcja 966.04, aktywność przetrwalnikobójcza środków dezynfekcyjnych), zgodnie z którą testowi poddawane są dwa nośniki (porcelanowy oraz jedwabne pętle szwu) pokryte kulturami *Clostridium sporogenes* oraz *Bacillus subtilis* w obecności zanieczyszczeń organicznych i nieorganicznych, a następnie wysuszonych. Dwukrotnym testom poddano ponad 800 nośników i nie stwierdzono wzrostu kultur po poddaniu ich oddziaływaniu gazowej postaci nadtlenu wodoru,

W szczególności proces dekontaminacji z wykorzystaniem gazowej postaci nadtlenu wodoru uzyskał walidację w zakresie dekontaminacji laboratoriów / pomieszczeń skażonych kulturami *B. anthracis* (toksynami wąglika).

### Właściwości wirusobójcze

Dekontaminacja z wykorzystaniem gazowej postaci nadtlenu wodoru wykazuje silne właściwości wirusobójcze w szerokim zakresie (Rysunek 5), które to wyniki zostały wcześniej opublikowane (Heckert, 1997). Wirusami o najwyższej odporności na oddziaływanie gazowej postaci nadtlenu wodoru są nielipidowe wirusy bez otoczki, co wynika z ich natury (McDonnell & Russell, 1999. Clin. Micro. Rev. 12: 147 - 179). Ostatnie laboratoryjnie analizy przypadków przeprowadzone w kontrolowanym środowisku parwowirusów potwierdziły skuteczność oddziaływania gazowej postaci nadtlenu wodoru na reprezentatywne próby powyższych rodzin wirusów. Parwowirusy charakteryzują się niską czułością na oddziaływanie chemicznych biocydów i są rozpoznawane jako rodzina wirusów o największej odporności na preparaty

dezynfekujące i sterylizujące. Dzięki właściwościom do przetrwania w niesprzyjającym środowisku parowirusy są szczególnie zakaźne i trudne do zneutralizowania w środowiskach wymagających sterylności. Opisano skuteczną 3 godzinną dekontaminację pomieszczenia prostokątnego o kubaturze 5 600 ft<sup>3</sup> (170 m<sup>3</sup>), w którym nie zaobserwowano destrukcyjnego oddziaływania na materiały. Oceny potrójnego cyklu dekontaminacyjnego z wykorzystaniem gazowej postaci nadtlenu wodoru dokonano za pomocą wskaźników biologicznych (10<sup>5</sup> kultur *Bacillus stearothermophilus*) oraz wskaźników chemicznych, rozmieszczonych losowo na ścianach, podłodze i suficie pomieszczenia. Dodatkowo losowo rozmieszczono nośniki parwowirusów mysich (10<sup>3</sup> żywych kultur wirusa na podłożu 10% surowicy wysuszone na plastikowej powierzchni płytki Petriego). Dokonano oceny sześćdziesięciu wskaźnik biologicznych, trzydziestu wskaźników chemicznych oraz siedmiu nośników parwowirusów i nie stwierdzono wzrostu liczności kultur po zakończeniu cyklu biodekontaminacji o całkowitym czasie trwania 3 godziny (McDonnell, 2001). Równocześnie pomyślnie wykonano czynności w zakresie walidacji pomieszczeń o kubaturach 1 700 ft<sup>3</sup> (50 m<sup>3</sup>), skażonych w celach testu poniższymi mikroorganizmami:

- ♦ *Canine parvovirus (CPV)*
- ♦ *Bovine Viral Diarrhea (BVD)*
- ♦ *Avian Reovirus (ARV)*
- ♦ kultury *Clostridium tentani*
- ♦ kultury *Bacillus stearothermophilus*
- ♦ *Escherichia coli*

### Właściwości bakteriobójcze

Proces dekontaminacji z wykorzystaniem gazowej postaci nadtlenu wodoru wykazuje dużą skuteczność w odniesieniu do bakterii gram-dodatnich oraz gram-ujemnych (Rysunek 5). Ostatnio przeprowadzane badania były skierowane na kluczowe szpitalne i środowiskowe czynniki chorobotwórcze, w tym:

- ♦ Czynniki chorobotwórcze związane z produktami żywnościowymi:
  - pałeczki okrężnicy

- pałeczki okrężnicy 0157:H7
- pałeczki listeriozy
- salmonella
- gronkowiec
- laseczki węglik

♦ Czynniki chorobotwórcze szpitalne i środowiskowe:

- gronkowiec złocisty odporny na metycylinę
- paciorkowiec jelitowy odporny na vancomycynę
- pałeczki Klebsiella
- zarazki choroby legionistów

Ostatni przykład wykorzystania gazowej postaci nadtlenu wodoru do zwalczania środowiskowych czynników chorobotwórczych został opublikowany dla potrzeb przemysłu spożywczego (McDonnell, 2002).

### Właściwości grzybobójcze

Proces dekontaminacji z wykorzystaniem gazowej postaci nadtlenu wodoru wykazuje dużą skuteczność w odniesieniu do szerokiego zakresu grzybów (w tym

pleśni i drożdży) uwzględniając kluczowe skażenia środowiska grzybami i patogenami:

♦ Pleśnie:

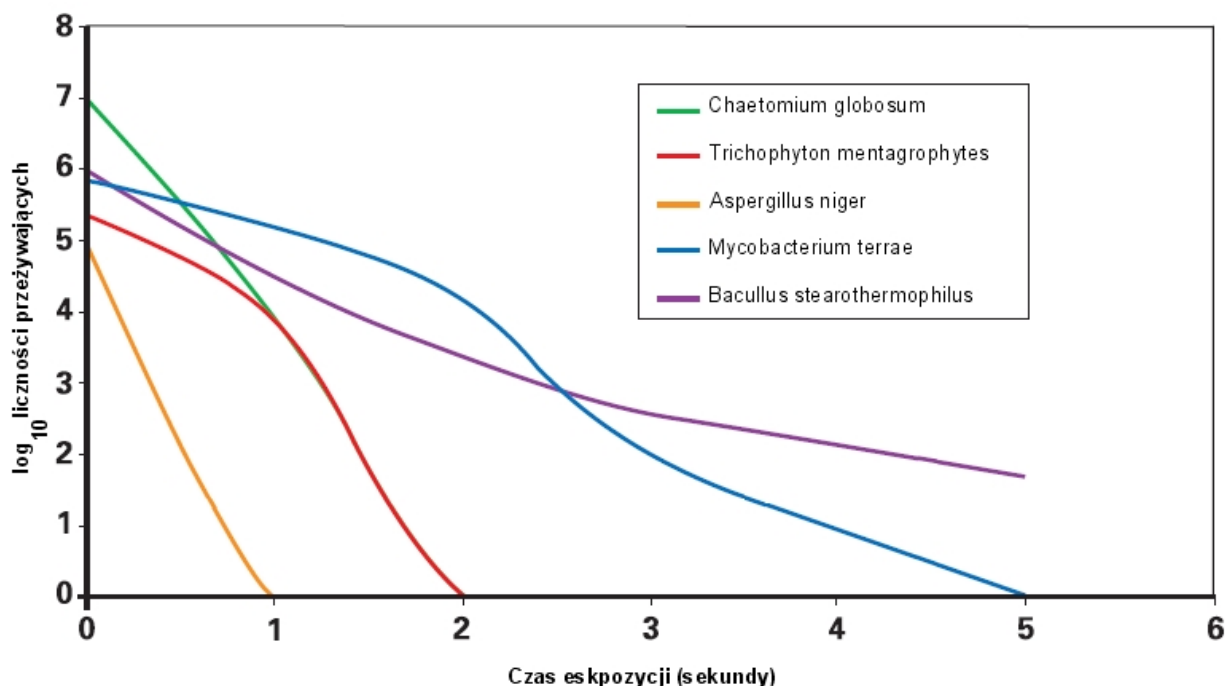
- Aspergillus
- Fusarium
- Penicillium
- Stachybotrys
- Chaetomium
- Trichophyton
- Fusarium

♦ Drożdże:

- Candida
- Saccharomyces
- Rhodotorula

Gazowa postać nadtlenu wodoru charakteryzuje się szybkim oddziaływaniem na kultury grzybów oraz ich formy wegetatywne. Kultury bakterii, tak jak przedstawiono na Rysunku 6 (stężenie około 1 mg/l), charakteryzują się większą odpornością w porównaniu z kulturami grzybów.

Rysunek 6. Skuteczność oddziaływania gazowej postaci nadtlenu wodoru na niektóre mikroorganizmy w funkcji czasu.



### Właściwości prątkobójcze

Pomimo dużej wewnętrznej odporności ścianek komórek prątków, proces dekontaminacji z wykorzystaniem gazowej postaci nadtlenu wodoru wykazuje dużą skuteczność i szybkość działania w odniesieniu do prątków i innych mikroorganizmów o podobnej strukturze ścianki komórkowej:

- ♦ Mycobacterium tuberculosis
- ♦ Mycobacterium bovis
- ♦ Mycobacterium terrae
- ♦ Mycobacterium smegmatis
- ♦ Nocardia

Przykład skuteczności oddziaływania gazowej postaci nadtlenu wodoru na prątki przedstawiono na Rysunku 6.

### Jajeczka nicieni

Grupa nicieni składa się z około 20 000 opisanych gatunków. Szacuje się, iż liczba aktualnie żyjących gatunków nicieni zawiera się w granicach od 40 000 do 10 milionów.

Grupy systematyczne pasożytów *Rhabodita*, *Ascaridida*, *Oxyurida* oraz *Spirurida* stanowią problem zdrowotny dla ludzi oraz innych kręgowców. Przykładowo skażenie jajeczkami nicieni pomieszczeń badawczych może

spowodować poważne straty czasu, materiałowe oraz finansowe. W celu dokonania oceny skuteczności oddziaływania gazowej postaci nadtlenu wodoru na nicienie jako przedstawiciel innych nicieni pasożytniczych, takich jak *Enterobius*, *Syphacia*, *Aspicularis* oraz *Ascaris* wykorzystano *Caenorhabditis elegans* z grupy *Rhabodita*. Nicienie *Caenorhabditis elegans* został zatwierdzony do przeprowadzania podobnych testów z uwagi na brak jego cech pasożytniczych w odniesieniu do ludzi, gryzoni oraz innych kręgowców i podobną odporność na dekontaminację. Podczas wykonywania badań dokonano wyizolowania jajeczek nicieni i jako żywe poddano 10 minutowemu oddziaływaniu 0,5 – 1% środka wybielającego. Pomieszczenie o kubaturze 2 000 ft<sup>3</sup> (60 m<sup>3</sup>) poddano czterogodzinnej biodekontaminacji z wykorzystaniem gazowej postaci nadtlenu wodoru i całkowite zniszczenie jajeczek *Caenorhabditis elegans*, larw i form dorosłych zostało potwierdzone przez (Gustin, 2002). Potwierdzono również skuteczność oddziaływania gazowej postaci nadtlenu wodoru na *Syphacia muris* oraz *Syphacia obvelata*. Kolejne wyniki badań oddziaływania gazowej postaci nadtlenu wodoru na nicienie są publikowane (Riedesel, AALAS 2002).

### Penetracja i dekontaminacja w możliwie najgorszych warunkach

W celu sprawdzenia skuteczności oddziaływania gazowej postaci nadtlenu wodoru w możliwie najgorszych warunkach przeprowadzono szereg testów:

- 1) Weryfikacja kultur bakterii najbardziej odpornych na oddziaływanie gazowej postaci nadtlenu wodoru.

Podczas testów dokonano oceny zróżnicowania odporności kultur bakterii na oddziaływanie gazowej postaci nadtlenu wodoru o stężeniu 1,0 mg/l. Podczas testów zastosowano kultury *Aspergillus niger*, *Bacillus stearothermophilus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Mycobacterium terrae*, *Staphylococcus aureus*, *Trichophyton mentagrophytes* oraz bakteriofagi T2 (fagi wykorzystywane są jako wskaźniki skuteczności oddziaływania na wirusy z uwagi na ich wyjątkową odporność na biocydy). Kultury były hodowane na podłożu 10 % bydłczej surowicy na płytkach wykonanych ze stali nierdzewnej, a następnie suszone w czasie 50 minut. Płytki z kulturami zostały następnie poddane cykлом biodekontaminacyjnym z oddziaływaniem gazowej postaci nadtlenu wodoru o czasach trwania

odpowiednio 1 min, 2 min oraz 5 minut. Po zakończeniu wykonywania cyklu określono logarytmiczną wartość współczynnika redukcji żywych kultur. Uśrednione wartości współczynników redukcji dla najbardziej odpornych kultur bakterii przedstawiono w Tabeli 3.

**Tabela 3.** Wartości współczynnika redukcji D po oddziaływaniu gazowej postaci nadtlenu wodoru o stężeniu 1 mg/l na kultury wyhodowane na podłożu 10% surowicy

| Organizm poddawany testom          | Wartość parametru D ( sekundy ) |
|------------------------------------|---------------------------------|
| <i>Bacillus stearothermophilus</i> | 150                             |
| <i>Mycobacterium Terre</i>         | < 50                            |
| <i>Staphylococcus ureus</i>        | < 50                            |
| <i>Aspergillus Niger</i>           | < 24                            |
| <i>Klebsiella pneumoniae</i>       | < 24                            |
| <i>Trichophyton mentagrophytes</i> | < 24                            |
| <i>Bakteriofagi T2</i>             | < 24                            |

\*Parametr D czas w minutach, po upływie którego wartość  $\log_{10}$  (liczność przeżywających) zmieni się o jedność.

- 2) Weryfikacja kultury *Bacillus stearothermophilus* jako najbardziej odpornej kultury na oddziaływanie gazowej postaci nadtlenu wodoru.

Powtórnie wykonano test zgodnie z powyżej przedstawioną procedurą, bez hodowania kultur bakterii na pożywce z surowicy, w celu potwierdzenia najbardziej odpornej kultury (Tabela 4). Zgodnie z wynikami powyżej przeprowadzonego testu uzyskano potwierdzenie, iż kultura *Bacillus stearothermophilus* jest najbardziej odporną kulturą na oddziaływanie gazowej postaci nadtlenu wodoru.

**Tabela 4.** Weryfikacja kultur najbardziej odpornych na oddziaływanie gazowej postaci nadtlenu wodoru.

| Organizm poddawany testom          | Wartość parametru D ( sekundy ) |
|------------------------------------|---------------------------------|
| <i>Bacillus stearothermophilus</i> | 42                              |
| <i>Bacillus subtilis</i>           | 19                              |
| <i>Clostridium sporogenes</i>      | 16                              |
| <i>Bacillus circulans</i>          | 14                              |
| <i>Bacillus cereus</i>             | 10                              |

- 3) Identyfikacja materiału najmniej podatnego na biodekontaminację wykonaną poprzez oddziaływanie gazowej postaci nadtlenu wodoru.

Test wykonano zgodnie z powyższą przedstawioną procedurą, z kulturami bakterii *Bacillus stearothermophilus* o liczności  $1 \cdot 10^6$  wysuszonymi na próbkach wykonanych z różnych materiałów w celu dokonania identyfikacji materiału najmniej

podatnego na biodekontaminację wykonaną poprzez oddziaływanie gazowej postaci nadtlenu wodoru (Tabela 5). Aktywność antybakteryjna dowolnego biocydu będzie ulegała zmianom w zależności od powierzchni poddawanej oddziaływaniu i często nie jest doszacowana podczas dokonywania oceny procesów antybakteryjnych.

**Tabela 5.** Identyfikacja materiału najmniej podatnego na biodekontaminację wykonaną poprzez oddziaływanie gazowej postaci nadtlenu wodoru.

Na podstawie uzyskanych wyników oczywistym jest, iż papier (do testów wykorzystano papier filtracyjny *Whatman No.2*) stanowi materiał / powierzchnię najmniej podatną na biodekontaminację wykonaną poprzez oddziaływanie gazowej postaci nadtlenu wodoru, co wynika z właściwości celulozy. Podczas testu papier uległ rozkładowi, jednakże odnotowano 6-krotną redukcję liczności żywych kultur bakterii po 60-minutowym oddziaływaniu gazowej postaci nadtlenu wodoru. Uogólniając, obecność jakichkolwiek włókien i tworzyw celulozowych w przestrzeni poddawanej dekontaminacji z wykorzystaniem gazowej postaci nadtlenu wodoru wymaga specjalnego rozważenia i doboru parametrów roboczych cyklu dekontaminacyjnego.

| Materiał                            | Czas ekspozycji - wartości uśrednione |                  |        |        |        |
|-------------------------------------|---------------------------------------|------------------|--------|--------|--------|
|                                     | 10 min                                | 20 min           | 30 min | 45 min | 60 min |
| Stal nierdzewna                     | < 10                                  | 0                | 0      | 0      | 0      |
| Aluminium anodyzowane               | 0                                     | 0                | 0      | 0      | 0      |
| Szkoło optyczne                     | 15                                    | 12               | 0      | 0      | 0      |
| Płytki ceramiczne                   | 0                                     | 0                | 0      | 0      | 0      |
| Drewno bukowe                       | 0                                     | 0                | 0      | 0      | 0      |
| PET, politereftalan etylenu         | 0                                     | 0                | 0      | 0      | 0      |
| LDPE, polietylen wysokociśnieniowy  | 63                                    | < 10             | 0      | 0      | 0      |
| Polipropylen                        | < 10                                  | 0                | 0      | 0      | 0      |
| Silikon                             | < 10                                  | 0                | 0      | 0      | 0      |
| Papier                              | $2,3 \cdot 10^5$                      | $1,2 \cdot 10^5$ | 86     | < 10   | 0      |
| Włókno szklane                      | 18                                    | 0                | 0      | 0      | 0      |
| PCW, polichlorek winylu             | < 10                                  | 0                | 0      | 0      | 0      |
| Poliuretan                          | $1,8 \cdot 10^4$                      | < 10             | 0      | 0      | 0      |
| Neopren                             | < 10                                  | 0                | 0      | 0      | 0      |
| Viton                               | $3,7 \cdot 10^3$                      | < 10             | 80     | 0      | 0      |
| EPDM, kauczuk etylenowo-propylenowy | 0                                     | 0                | 0      | 0      | 0      |

- 4) Demonstracja skuteczności procesu biodekontaminacyjnego wykonanego poprzez oddziaływanie gazowej postaci nadtlenu wodoru na kultury najbardziej odporne rozmieszczone na materiale najmniej podatnym, zanieczyszczonym dodatkowo krwią.

Skuteczność dekontaminacji pomieszczenia zamkniętego w najbardziej niekorzystnych warunkach, wykonanej poprzez oddziaływanie gazowej postaci nadtlenu wodoru, została potwierdzona poprzez wyhodowanie na najmniej podatnym materiale (papier filtracyjny *Whatman*

*No.2*) kultur najbardziej odpornych organizmów (*Bacillus stearothermophilus*) o liczności  $1 \cdot 10^6$  w obecności 50% roztworu krwi. Próbkę testową po ich wysuszeniu zostały rozmieszczone w sztywnej komorze (*SPACE Bio-safety Cabinet; Envair Ltd., Lancashire, UK*) oraz w izolatorze o kubaturze 21 ft<sup>3</sup> (0,7 m<sup>3</sup>) o ścianach elastycznych (*Model No. 156143; La Calhene, Rush City, MN, USA*). Powyższe warunki odzwierciedlały najgorsze kombinacje warunków fizycznych, chemicznych i mikrobiologicznych podczas



wykonywania fumigacji. Obydwa izolatory zostały poddane dekontaminacji, wykonanej podczas standardowego cyklu pracy (czas trwania cyklu około 2,5 godz., w tym faza sterylizacji o czasie trwania od 45 min do 60 min) systemu VHP 1000. Poszczególne próbki pozostały sterylne pomimo poddania ich inkubacji, w celu wyhodowania przetrwałych kultur bakterii.

### Zapobieganie bioterroryzmowi

Zademonstrowano dekontaminację pomieszczeń i budynków, w tym ich wewnętrznych systemów ogrzewania, wentylacji i klimatyzacji, z wykorzystaniem oddziaływania gazowej postaci nadtlenu wodoru jako efektywnej metody zapobiegania skażeniu biologicznemu. Do dekontaminacji skażeń bakteriami *Bacillus anthracis* zastosowano systemy VHP 1000 oraz specjalnie zaprojektowane systemy o większej wydajności. Badania zakończone wynikami pozytywnymi przeprowadzono dla pomieszczeń zamkniętych o kubaturach 1 500 000 ft<sup>3</sup> (43 000 m<sup>3</sup>). Prowadzone są prace badawcze w zakresie dekontaminacji powietrznych instalacji ogrzewania, wentylacji i klimatyzacji z wykorzystaniem gazowej postaci nadtlenu wodoru oraz dekontaminacji po zastosowaniu broni chemicznej

## Środki chemiczne

### Preparat sterylizujący VAPROX

Gazowa postać nadtlenu wodoru jest uzyskiwana w wyniku odparowywania ciekłego nadtlenu wodoru (VAPROX) o stężeniu 35%, dostarczanego w wentylowanych pojemnikach polietylenowych o pojemności 950 ml, zapewniających łatwe posługiwanie się preparatem sterylizującym. Pojemniki zostały zaprojektowane w sposób umożliwiający bezpośrednio ich wstawianie do systemów dekontaminacyjnych i pobieranie preparatu bezpośrednio z pojemnika. Brak jakiegokolwiek czynności użytkownika w zakresie dawkowania i przemieszczania płynnego nadtlenu wodoru zmniejsza zagrożenie bezpośredniej styczności użytkownika z oparami nadtlenu wodoru oraz minimalizuje ryzyko wystąpienia rozlań preparatu. Ciekły Nadtlenek wodoru w płynnej postaci stanowi bezbarwna i bezwonna ciecz. Wraz z pojemnikami dostarczane są karty bezpieczeństwa medycznego (MSDS, *Medical Safety Data Sheets*). Preparat VAPROX jest preparatem sterylizacyjnym zarejestrowanym w Agencji Ochrony Środowiska (EPA, *Environmental Protection Agency, USA*), numer rejestracyjny EPA. No. 58779-4, do stosowania w

systemach biodekontaminacyjnych VHP, produkowanych przez firmę STERIS.

### Ochrona środowiska

Okres półrozpadu gazowej postaci nadtlenu wodoru w środowisku jest relatywnie krótki. W wyniku rozpadu nadtlenu wodoru powstaje woda oraz tlen.

Podczas cyklu dekontaminacji wykonywana jest faza napowietrzania, podczas trwania której pozostałość oparów nadtlenu wodoru w powietrzu odprowadzanym z dekontaminowanego pomieszczenia redukowana jest w wymienniku katalitycznym do poziomu 1 ppm, poniżej ustalonego dopuszczalnego progu ekspozycji (PEL, *Permissible Exposure Level*)

### Kompatybilność materiałowa

Dekontaminacja z wykorzystaniem gazowej postaci nadtlenu dokonywana jest poprzez wykorzystanie *suchego* procesu z możliwie najniższym stężeniem preparatu sterylizacyjnego. W alternatywnych metodach dekontaminacji z wykorzystaniem utleniania ciekłych preparatów sterylizacyjnych (środki wybielające, mieszaniny nadtlenu wodoru i kwasu nadoctowego) lub gazowych preparatów sterylizacyjnych wymagana jest wysoka wartość wilgotności względnej, większa od 70%, zapewniająca uaktywnienie preparatu dekontaminacyjnego). Dekontaminacja z wykorzystaniem gazowej postaci nadtlenu zapewnia kompatybilność z szerokim zakresem różnorodnych materiałów, w tym z podzespołami i urządzeniami elektronicznymi. W Tabeli 6 zamieszczono wykaz najczęściej spotykanych materiałów, kompatybilnych z procesem dekontaminacji wykorzystującym gazową postać nadtlenu wodoru. Kompatybilność jest rozumiana jako odporność danego materiału na oddziaływanie nadtlenu wodoru bez widocznych zmian właściwości fizykochemicznych materiału (tj. brak zmian wytrzymałościowych, elastyczności, struktury chemicznej itp.). Przykładowo, systemy biodekontaminacji typu VHP 1000, wykorzystywane w różnorodnych zastosowaniach przemysłowych i farmakologicznych w ponad dziesięcioletnim okresie, okazały się systemami bezpiecznymi i właściwymi do odkażania powierzchni, zapewniającymi powtarzalność ekspozycji izolatorów i pomieszczeń czystych posiadających wymagane certyfikaty walidacji.

**Tabela 6.** Przykłady materiałów kompatybilnych z procesem dekontaminacji z wykorzystaniem gazowej postaci nadtlenu wodoru.

|  |
|--|
| <b>Metale</b>  |
| Aluminium  |
| Stal nierdzewna  |
| Tytan  |
| <b>Tworzywa sztuczne</b>   |
| Poliwęglan   |
| Nylon  |
| Kopolimery ABS   |
| PCW, polichlorek winylu  |
| Polipropylen   |
| <b>Elastomery</b>  |
| Viton  |
| Poliuretan   |
| <b>Inne</b>  |
| Farby olejne i kauczukowe  |
| Wykładziny z mieszanek olefin i poliestrów   |
| Płytki podsufitowe, wykonane z drewna utwardzonego, włókien szklanych, o strukturze plastra, |
| Sprzęt elektroniczny (w tym komputery, kalkulatory, skanery, aparatura)                      |

Pomieszczenia zamknięte, które mogą zawierać znaczne ilości materiałów absorpcyjnych lub proteinowych (np. celuloza) wymagają specjalnego doboru parametrów roboczych cyklu dekontaminacyjnego. Wydłużenie czasu trwania cyklu sterylizacyjnego może być przyczyną odbarwienia (płowienia) niektórych powierzchni.

### Czujniki i wskaźniki

Dostępne czujniki i wskaźniki umożliwiają wykrycie i określenie stężenia nadtlenu wodoru podczas procesu biodekontaminacyjnego.

W celu wykrycia bezpiecznego poziomu stężenia nadtlenu wodoru zaleca się stosowanie ręcznych lub ściennych monitorów *Draeger Pac III*, np. monitorów (PN 4530010) z czujnikiem nadtlenu wodoru (PN 6809170) lub rurkowych wskaźników chemicznych *Draeger* (PN 8101041) z pompką. Czujniki stężenia nadtlenu wodoru innego typu dostępne są u producenta – w firmie ATI (*Analytical Technology Inc.*).

Elektromechaniczne oraz spektrofotometryczne czujniki mogą być wykorzystywane do wykrywania i monitorowania większych stężeń nadtlenu wodoru podczas procesu biodekontaminacyjnego.

Wskaźniki chemiczne obecności nadtlenu wodoru mogą być wykorzystywane do monitorowania lub walidacji procesów biodekontaminacyjnych wykorzystujących gazową postać nadtlenu wodoru.

## Warunki bezpieczeństwa

### Toksyczność

Ze wszystkich aktualnie dostępnych metod dekontaminacji pomieszczeń zamkniętych z wykorzystaniem gazowej postaci czynnika sterylizującego, dekontaminacja z wykorzystaniem gazowej postaci nadtlenu wodoru zapewnia najwyższy poziom bezpieczeństwa oraz ochrony środowiska. W szczególności ograniczenie uśrednionego stężenia nadtlenu wodoru w powietrzu do wartości 1 ppm (0,0014 mg/l) dla okresu ośmiogodzinnego podczas ośmiogodzinnego okresu pracy jednej zmiany użytkowników jest zgodne z wymaganiami bezpieczeństwa - dopuszczalnego progu ekspozycji (*PEL, Permissible Exposure Level*) ustalonego przez OSHA (*Occupational Safety and Health Administration, USA*). Dopuszczalny chwilowy próg ekspozycji nadtlenu wodoru dla czasu do 30 minut został ustalony dla stężenia nadtlenu wodoru na poziomie 75 ppm (0,0105 mg/l). Stężenie nadtlenu wodoru większe niż 1 ppm powoduje wystąpienie podrażnień. Powyżej określone ryzyka były brane pod uwagę przez producenta systemu – firmę STERIS – podczas procesu wyznaczania roboczych wartości parametrów cyklu dekontaminacyjnego. Proste metody z wykorzystaniem sprzętu ręcznego umożliwiają szybkie określenie progowych wartości stężeń nadtlenu. Dodatkowo nadtlenek wodoru ulega szybkiej degradacji w parę wodną oraz w tlen, które nie stanowią zagrożenia toksycznego. Należy zauważyć, iż nadtlenek wodoru o stężeniu 3% (30 000 ppm) stosowany jest jako środek aseptyczny do zastosowań zewnętrznych i doustnych, o stężeniu 6% (60 000 ppm) stosowany jest jako środek aseptyczny oraz rozjaśniacz włosów.

Nadtlenek wodoru o stężeniu 1% (10 000 ppm) został zatwierdzony przez EPA (*Environmental Protection Agency, Agencja Ochrony Środowiska, USA*) do bezpośredniej styczności z żywnością, bez powodowania objawów toksycznych oraz jest zamieszczony na wykazie substancji bezpiecznych (*GRAS, Generally Regarded As Safe*).

Nadtlenek wodoru jest środkiem niepalnym, a jego opary nie powodują zagrożenia eksplozji i dlatego też nie zostały ustalone jakiegokolwiek ograniczenia w zakresie zagrożenia wybuchem. Stężenia nadtlenu wodoru wykorzystywane w systemach biodekontaminacji produkowanych przez firmę STERIS mogą powodować uwalnianie do atmosfery dodatkowej ilości tlenu w ilości poniżej 0,2 % o pomijalnie małym znaczeniu.

## Procesy suche i mokre

Systemy dekontaminacyjne wykorzystujące nadtlenek wodoru mogą być klasyfikowane jako systemy wykorzystujące procesy *suche* lub *mokre*. Nadtlenek wodoru w postaci gazowej może być wprowadzany do pomieszczenia zamkniętego poddawanego dekontaminacji do czasu osiągnięcia zadanego stężenia (punkt nasycenia lub punkt rosy), będącego funkcją temperatury i wilgotności wewnątrz pomieszczenia. Jeżeli stężenie nadtlenu wodoru przekracza wartość właściwą dla punktu rosy, to wówczas występuje zjawisko kondensacji (kondensacji lub mikrokondensacji) czynnika sterylizującego na powierzchniach wewnątrz pomieszczenia zamkniętego. Zjawisko to jest dokładnie znane pod względem fizycznym i chemicznym od ponad pięćdziesięciu lat. Jeżeli zjawisko *mikrokondensacji* występuje i jest utrzymywane podczas całego cyklu, to proces dekontaminacji rozpatrywany jest jako proces *mokry*. Jeżeli stężenie nadtlenu wodoru wewnątrz pomieszczenia zamkniętego podczas całego cyklu jest utrzymywane poniżej wartości

parametrów punktu rosy, to proces dekontaminacji rozpatrywany jest jako proces *suchy* (proces wykorzystywany w systemach biodekontaminacji z wykorzystaniem gazowej postaci nadtlenu wodoru). Właściwości przeciwbakteryjne, charakterystyki cyklu, kompatybilność materiałowa i aspekty bezpieczeństwa winny być rozpatrywane oddzielnie dla każdego z typów procesu. Systemy biodekontaminacji z wykorzystaniem gazowej postaci nadtlenu wodoru zostały zaprojektowane jako systemy wykorzystujące procesy *suche*. Procesy *mokre*, z uwagi na swoją naturę - nierówność powierzchni - są procesami niestabilnymi o wydłużonym czasie trwania wynikającym z konieczności usunięcia podczas fazy napowietrzania czynnika sterylizującego i wilgoci z powierzchni oraz o dużych utrudnieniach podczas walidacji, powodującymi korozję oraz mogącymi powodować zwiększenie stopnia zagrożenia bezpieczeństwa. Porównanie procesów dekontaminacyjnych *suchych* oraz *mokrych* zawarto w Tabeli 7.

Tabela 7. Porównanie *suchych* i *wilgotnych* gazowych postaci nadtlenu wodoru.

|  | <b>Sucha</b><br>gazowa postać nadtlenu wodoru                                   | <b>Wilgotna</b><br>gazowa postać nadtlenu wodoru                          |
|--|---|---|
| Proces sterylizacji  | Suchy   | Wilgotny (kondensacja)  |
| Powtarzalność procesu, łatwość walidacji   | Tak   | Nie, zwłaszcza dla pomieszczeń o dużych kubaturach                        |
| Osiąganie niskiego poziomu wilgotności względnej                                     | Tak   | Nie   |
| Sterowanie stężeniem H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>                                   | Tak   | Nie, tylko warunki punktu rosy w jednym miejscu pomieszczenia zamkniętego |
| Typowe stężenie czynnika sterylizacyjnego  | 0,1 – 2 mg/l  | Nieznane, zmienne   |
| Czas napowietrzania  | Krótki  | Bardzo długi  |
| Kompatybilność materiałów  | Dobra / wysoka  | Słaba   |
| Zakres zastosowania  | Pomieszczenia zamknięte o wartościach kubatur od bardzo małych do bardzo dużych | Do 3 500 ft <sup>3</sup> (do 100 m <sup>3</sup> )                         |
| Mobilność systemu  | Tak   | Tak   |
| Modułowa wersja wykonania  | Tak   | Nie   |
| Zapewnienie bezpieczeństwa dla podzespołów elektronicznych / sprzętu elektronicznego | Tak   | Niezalecana   |
| Ilość systemów posiadających certyfikat walidacji                                    | > 500 zasięg światowa   | Kilka, informacja dostępna podczas przygotowywania niniejszej monografii  |

Udostępniane są do wglądu niezależne analizy porównawcze w zakresie bezpieczeństwa, kompatybilności oraz czasów trwania cykli dekontaminacyjnych, właściwych dla procesów *suchych* i *wilgotnych*

## Prace analityczne i referencyjne

Dostępne są liczne publikacje (studia przypadków oraz referencyjne).

## Publikacje

Poniżej przedstawiono przykładowe opublikowane informacje dotyczące nadtlenu wodoru:

**Akers JE, Agalloco JP, Kennedy CM.** 1995.

Experience in the design and use of isolator systems for sterility testing.

PDA J Pharm Sci Technol. 49(3):140-4.

**Corveleyn S, Vandenbossche GM, Remon JP.** 1997.

Near-infrared (NIR) monitoring of H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> vapor concentration during vapor hydrogen peroxide (VHP) sterilisation. Pharm Res. 14(3):294-8.

**Graham GS, Rickloff JR.** 1992.

Development of VHP sterilization technology. J Healthc Mater Manage. 10(8):54, 56-8.

**Gustin, E.J., G.E. McDonnell, G. Mullen, and B.E. Gordon.** 2002.

The efficacy of vapor phase hydrogen peroxide against nematode infestation: the *Caenorhabditis elegans* model. American Association for Laboratory Animal Science (AALAS), Annual meeting, San Antonio, TX. October 27-31, 2002.

**Heckert, R.A., M. Best, L.T. Jordan, G.C. Dulac, D.L. Eddington and W.G. Sterritt.** 1997.

Efficacy of vaporized hydrogen peroxide against exotic animal viruses. Appl. Environ. Microbiol. 63: 3916-3918.

**Jahnke, M., and G. Lauth.** 1997.

Bio-decontamination of a large volume filling room with hydrogen peroxide. Pharm. Eng. 17: 96-108.

**Johnson, J.W., J.F. Arnold, S.L. Nail, and E. Renzi.** 1992.

Vaporized hydrogen peroxide sterilization of freeze dryers. J. Parent. Sci. Technol. 46: 215-225.

**Klapes, N.A., and D. Vesley.** 1990.

Vapor-phase hydrogen peroxide as a surface decontaminant and sterilant. Appl. Environ. Microbiol. 56: 503-506.

**Kokubo, M., T. Inoue, and J. Akers.** 1998.

Resistance of common environmental spores of the genus *Bacillus* to vapor hydrogen peroxide vapor.

PDA J. Pharm. Sci. Technol. 52: 228-231.

**Krause, J., G. McDonnell and H. Riedesel.** 2001.

Bio-decontamination of animal rooms and heat-sensitive equipment with Vaporized Hydrogen Peroxide. Cont. Topics. 40:18-21.

**Lentine, K.R., and R.J. Keller.** 2003.

The effect of vaporous phase hydrogen peroxide on sterility test devices. Pharm. Techn. Europe. February 2003. p31-42.

**Malmborg, A., M. Wingren, P. Bonfield, and G. McDonnell.** 2001.

Room decontamination with vaporized hydrogen peroxide. Cleanrooms. Nov, 2001.

**Manzati C.** 1995.

Gas sterilization with gas hydrogen peroxide: a new technology in the pharmaceutical industry. Boll Chim Farm. 134(8):413-33 < Italian >.

**McDonnell, G.** 2002.

Vaporized Hydrogen Peroxide (VHP®) decontamination and sterilization processes for Pharmaceutical, Laboratory Research and Medical Device Applications. Cleanroom Technology. Oct/Nov 2002. p 13-16.

**McDonnell, G.** 2002.

Sterile environment.

Manufacturing Chemist. Sept. 2002. p. 69-71.

**McDonnell, G.** 2002.

Decontamination of workstations and enclosed areas with Vapor Phase Hydrogen Peroxide (VHP).

Hospital Pharmacy Europe Winter 2002.

**McDonnell G., G. Grignol, and K. Antloga.** 2002.

Vapor phase hydrogen peroxide decontamination of food contact surfaces.

Dairy, Food Environ. Sanit. 22: 23-28.

**McDonnell G, B. Belete, C. Fritz, and J. Hartling.** 2001.

Room decontamination with Vapor Hydrogen Peroxide VHP for environmental control of parvovirus. American Association for Laboratory Animal Science (AALAS), Annual meeting, Baltimore, MD, October 21-25, 2001.

**McDonnell G, B. Belete, C. Fritz, E. Gustin,  
J. Hartling.** 2001.

Room decontamination with Vapor Hydrogen Peroxide VHP7 for environmental control of parvovirus. American Biological Safety Association (ABSA), Annual meeting, New Orleans, LA, October 21-24, 2001.

**McVey, I, E. Gustin, and G. McDonnell.** 2002.

Large area volume biological remediation with Vaporized Hydrogen Peroxide (VHP) technology.

45th Annual American Biological Safety Association meeting, October 22, 2002; San Francisco, CA, USA.

© 2003 STERIS

STERIS Ltd. STERIS House, Jays Close,  
Viables, Basingstoke, Hampshire RG22 4AX, UK  
Tel +44 1256 840 400 Fax +44 1256 866 502 [www.steris.com](http://www.steris.com)

