



GE Power & Water
Water & Process Technologies

JM Hyde Consulting, Inc.

ASEPCO 社攪拌機洗淨試験報告書

攪拌機の洗淨性評価



6685 Gunpark Drive, Suite 230, Boulder, CO 80301

この報告書はJM Hyde Consultingより日本語訳による複製の許諾を得ています。
This report was received permission from JM Hyde Consulting to translate in Japanese.

GEヘルスケア・ジャパン株式会社

ライフサイエンス統括本部

〒169-0073

東京都新宿区百人町 3-25-1 サンケンビルディング

お問合せ：バイオダイレクトライン

TEL: 03-5331-9336 FAX: 03-5331-9370

e-mail: Tech-JP@ge.com



ISO 9001:2008 認証取得

目次

はじめに	2
概要	2
洗浄性の評価方法	2
結果	6
回収試験およびサンプリング作業適格性評価	6
攪拌機洗浄試験	9
結論	14
要約	14
謝辞	15

はじめに

概要

製薬業界および生物医薬品業界において、汚染管理を通じて製品の純度を維持することは非常に重要であり、洗浄プロセスは製造バッチ間の主要な汚染管理手段の一つです。汚染に対する一次防御として、洗浄プロセスに信頼性と再現性がなくてはなりません。信頼性と再現性を達成するために、時間、温度、洗浄剤濃度、付与された力学的エネルギーなどの重要なパラメータを適切に制御し、洗浄サイクルの操作時は常に再現性を示さなければなりません。さらに、どのようなシステムでも、全体の清浄度は製品に接触する各部品に依存するため、プロセス装置の構造は衛生的なデザインを考慮する必要があります。したがって、エンドユーザーにとって合成医薬品／生物医薬品の製造に使用する装置の選択に十分な注意を払うことは非常に重要です。

この選択を容易にするために、ASEPCO社は、新しい Polymixer™の底部取付式攪拌機の洗浄性能が、エンドユーザーが現在利用できる類似の攪拌機と同等またはそれを上回ることを検証する評価試験を実施しました。ASEPCO社は Polymixer™の洗浄性能を確認するために、外部の専門家と契約を結び、Clean in Place (CIP) システムをデザインし、業界で実施されているのと同様の再現性のある CIP プロセスを開発し、一般的に広く取り入れられている自動洗浄法を用いて Polymixer™デザインの CIP 性能の再現性と効率性を検証する試験手順を作成しました。同等の機器構成と洗浄方法を用いて競合ブランドの 2 機種 of 攪拌機と Polymixer™を直接比較すると、Polymixer™は試験した他の攪拌機より一貫して少ない総残留物量を示しました。

洗浄性の評価方法

試験方法：

再現性と信頼性のある洗浄性に関して攪拌機のデザインを試験するために、工業的に用いられている典型的な作業環境と機器配置を使用しました。各攪拌機を 1000 L 容器内の適切な位置に取り付け、CIP 洗浄計画のプロセスまたは対象容器として取り扱いました。

攪拌機の洗浄性能の試験に使用した CIP スキッドは、洗浄サイクルのパラメータを再現性よく制御できる単一タンクシステムです。CIP システムの試運転を行った後洗浄サイクルを開発し、洗浄プロセスの流量で容器の噴霧装置を検査し、1000 L の処理タンク内全体に洗浄液を適切に噴霧できることを検証しました。

試験では各攪拌機を容器内に取り付け、プロセスの疑似汚染物としてウシ血清アルブミン (BSA) を塗布して乾燥させ、本報告書の次項に記述した CIP サイクルを実施して洗浄しました。

洗浄サイクルの最後のリンス作業中およびリンス後に検証用のサンプリングを行い、各攪拌機を相互に関連付けて攪拌機の性能を定量化しました。具体的には、最後のリンス液を自動オンライン型 TOC・導電率分析計で採取します。自動リンスサンプルを確認するために、手動でもリンスサンプルを採取しました。最後に、直接サンプリングとして攪拌機の様々な部位から TOC 表面スワブサンプルを採取して、CIP サイクルにより製品の接触表面から残留物がすべて除去されることを検証しました。サンプリング法についても本報告書の後の項で詳述します。

分析法：

高感度かつ非特異的な分析法として、全有機炭素 (TOC) 試験を選択し、リンス液から採取した洗浄バリデーション用サンプルおよび表面スワブサンプルを評価しました。TOC 分析と導電率を用いてオンラインによるリンス液サンプルを評価しました。TOC 分析は洗浄プロセスの評価で中心的な役割を果たしますので、採用した分析法は適切に開発され、立証されなければなりません。

分析法の開発：

試験用の TOC 測定が信頼できることを保証するために、分析法の開発を行いました。分析室でのオフライン分析に使用する分析計は GE Analytical Instruments 社の Sievers 900 TOC 分析計を用いました。モデル 900 TOC 分析計は分析性能、携帯性、使いやすさの観点から選択しました。モデル 900 は、1 点校正で低 ppb レベルの TOC サンプルに優れた感度を示すとともに、高濃度の TOC サンプルでも正確な結果が得られる特許技術を使用しています。また、モデル 900 では特許を取得しているサンプリング装置（内蔵型オンラインサンプラー：iOS）を利用して、連続的なオンラインモニタリングから 40 ml ガラスバイアルを用いるオフラインモニタリングに迅速に移行できます。本試験に用いた特定のモデルは、モデル 900 ポータブル型 TOC 分析計でした。完全内蔵型（外部試薬とキャリアガス不使用）で、携帯性が高くサンプリング場所間の移動が容易です。しかし、表面サンプリング法はこのような環境変動の影響を受けやすい方法です。

このような環境変化を明らかにするために、TOC 表面サンプリング法の開発では、汚染残留物、現場の水質、残留物の採取部の材質、スワブを湿らせる溶媒、作業員間のサンプリング技術のばらつきなどの因子を考慮しました。

容器と攪拌機の汚染に使用した BSA の特性を明らかにするために、一連の希釈液を調製して、オフライン TOC 分析計で分析しました。BSA の特性を明らかにすることにより、攪拌機表面と同じ材質のクーポンに使用する汚染液の正確な調製が可能になりました。電解研磨された 316L ステンレススチール製のクーポンを作製し、攪拌機のブレードと同じ表面処理をしました。その後クーポンを洗浄して様々な量の BSA を塗布して汚染した後、サンプリングして回収率をポジティブコントロールのサンプルと比較して評価しました。

ポジティブコントロールサンプルは、スワブサンプリングで使用するスワブ湿潤液の入ったバイアルに同量の汚染物のみを添加したものとしました。ステンレススチール製クーポンは TOC 測定全体に影響を及ぼす可能性のある汚染物質から離れた場所で、苛性溶液と酸溶液で洗浄して乾燥させるように注意しました。

表面スワブサンプリングによる TOC 測定法を攪拌機の清浄度評価に信頼して使用するためには、サンプリング法と洗浄試験に影響を及ぼす環境変数に基づき基準を確立しなければなりません。結果に影響を及ぼす変数および環境因子の例として、作業員間のサンプリング技術のばらつきや洗浄プロセスに使用した水質（バックグラウンドの TOC 濃度）があります。

この場合の決定すべき適切な測定基準は定量限界（LOQ）です。LOQ は、固有の測定ノイズを上回って明確に識別可能で数値化できる測定濃度と定義されます。

全有機炭素（TOC）表面サンプリング法の開発後に、サンプリングと作業員の適格性評価の標準操作手順を社内の検査室記録書に記録し、方法の一貫性と再現性を確保しました。

サンプリング技術：

攪拌機の洗浄性を評価するために、間接および直接のサンプリング法を採用しました。間接サンプリング法では、循環させている最終のリンス液からサンプルを採取しました。直接サンプリング法では、清浄なリンス液で湿らせたポリエステルスワブを使用して、機器表面から得た残留物をスワブ湿潤液の入っているバイアルに移しました。スワブで拭き取った残留物を適切な時間をかけて溶液中に抽出した後、残留物を分析しました。さらに、最終的に機器の目視検査により、各洗浄サイクル終了後に明らかな変色、異常、明白な残留物の付着がないことを確認しました。

拭き取り部位はベストケースとワーストケースのサンプルに基づき選択し、基本情報を提供するとともに、適切に開発された CIP サイクルと組み合わせることにより ASEPCO の Polymixer™ の

新しいデザイン特性が汚染リスクを最小にすることを検証しました。Polymixer™を例として用い、TOC 表面スワブサンプリング用に選択した代表的な部位を図 1 に示します。

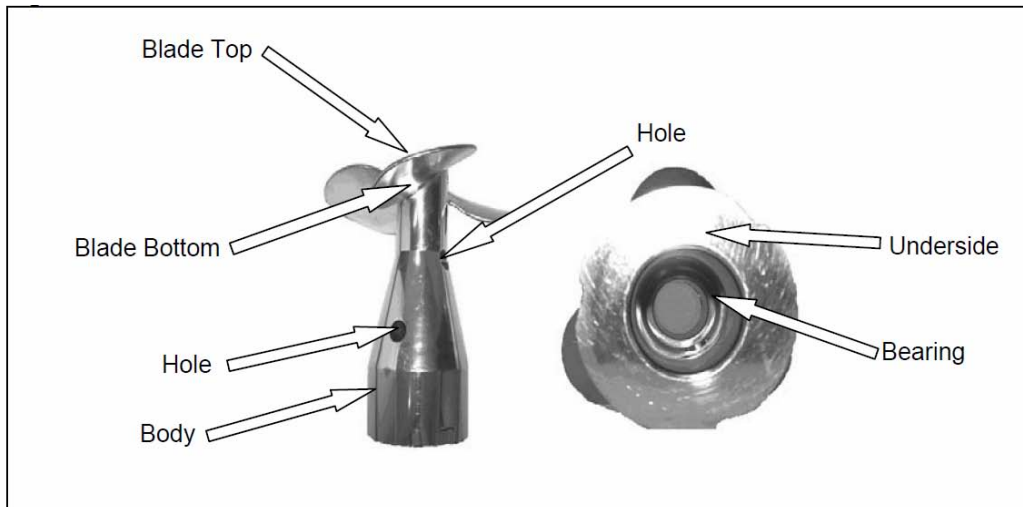


図 1 : スワブ部位

代表的なベストケースの部位はインペラーブレード上面であり、容器の噴霧装置からの洗浄液の直接のジェット流がこの面に接触するためです。一方、攪拌機のベアリング表面と取り付けシャフトのベアリング表面との間隙は直接のジェット流を受けず、循環する洗浄液が到達しなければ残留物が蓄積する可能性があります。したがって、攪拌機本体と取り付けシャフトのベアリング表面（図示せず）がワーストケース部位の代表です。

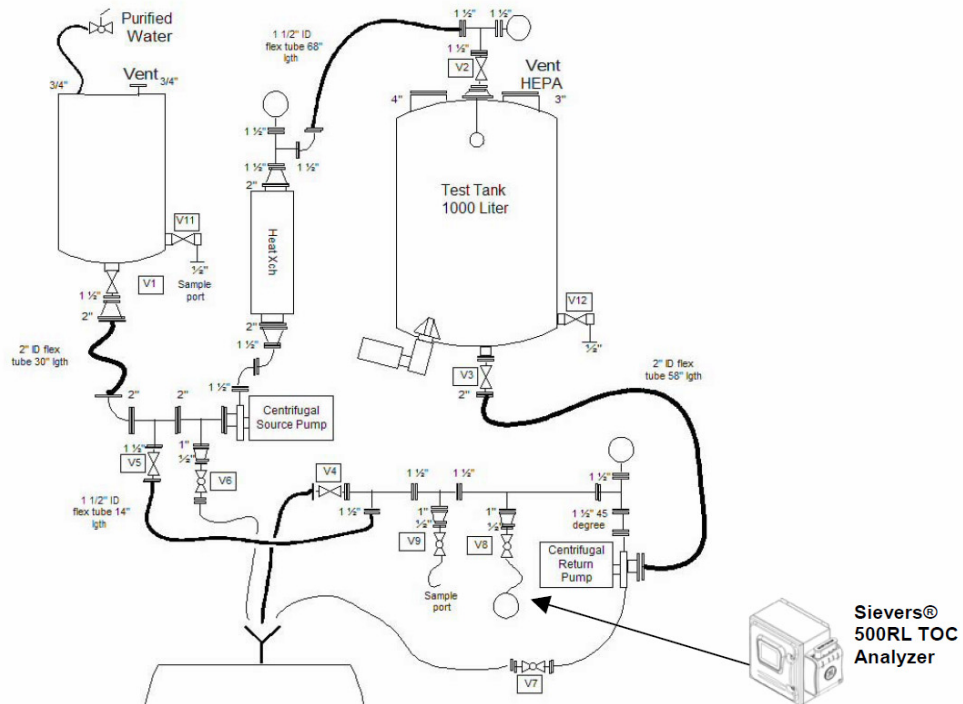


図 2 : ASEPCO CIP システムのシステムフロー図

CIPスキッドの設置確認と洗浄サイクル開発：

洗浄パラメータに再現性のあることを確認するために、Polymixer™を取り付けた 1000 L 容器に対する厳格に管理され再現性のある CIP プロセスの開発に時間を費やしました。洗浄液の乱流膜形成に必要な十分な水量を機器の内部表面が受けるためには、流入と流出の水圧平衡が必要でした。機器表面の残留物への洗浄液の移動を増加させるためには乱流が望ましく、これにより、洗浄効率が対象残留物の拡散性にのみ依存する層流による場合の 1000 倍にも達しますⁱ。

流入速度は、文献に記載された、容器の大きさと乱流膜の形成に必要な流速との関係の実験式から決定することができますⁱⁱ。洗浄液の容器への添加と除去が定常状態になるように、流出速度は流入量と釣り合わなければなりません。これは容器の底に水が静止状態でたまらないようにするために必要です。このような静的な水たまりは、乱流により機器に付与される機械的な洗浄エネルギーを阻害し、サイクル時間の延長が必要になりますので避けなければなりません。

流入速度と流出速度の決定後、リボフラビン噴霧試験により、噴霧装置の被覆パターンが、溶液の直接噴霧または直接噴霧を受けた表面から落ちる試験液によって機器表面全体に均一に、洗浄液を適切に分配することを確実にすることによって被覆試験を完了しました。

開発中に洗剤濃度、洗浄温度、循環洗浄時間も決定しました。本試験用に選択した値は、一般的な工業用 CIP サイクルで採用される代表的な値であり、製薬業界および生物医薬品業界での Polymixer™ の使用とほぼ同等です。

洗浄サイクル：

本試験用に開発した洗浄サイクルは、5 つに区分された再現性のある段階から構成されています。(1) 最初のリンス（予備洗浄）と排水、(2) 苛性洗浄液の循環と排水、(3) 中間のリンスと排水、(4) 酸洗浄液の循環と排水、(3b) 中間のリンスと排水、(5) 最終の循環リンス

最初のリンス（予備洗浄）は、機器表面の易溶性残留物を除去し、大きな浮遊微粒子を洗い流します。この段階および中間のリンス段階はワンパス方式で、直接排水されるか除染エリアに移動します。苛性洗浄の前にできる限りの可溶性残留物とプロセス材料を洗浄回路と機器から除去します。

ペプチゼーションというプロセスで、苛性洗浄液が、機器表面に付着する大きな不溶性または変性したタンパク質をペプチドという小さな水溶性タンパク質断片に加水分解します。苛性洗浄液は CIP 回路を循環し、所定の温度と洗剤濃度の限度範囲を一定時間保ちます。水酸化カリウムまたは水酸化ナトリウムを主成分とする苛性洗剤を界面活性剤と組み合わせて、表面の湿潤および洗剤のリンスと除去を助けます。機器の苛性洗浄後すべてを排水して CIP 回路をワンパス方式の中間リンス（および排水）により洗い流します。

洗浄サイクルの 2 番目の化学洗浄段階では、緩衝液および溶媒中に存在する無機質が苛性洗浄段階で使用した水酸化物に接触して形成した不溶性無機水酸化物の沈殿を、リン酸が除去します。酸には、機器表面から十分すぎ落とされなかった残留苛性を中和する副次的な目的もあります。前段階と同様に、この段階も温度と酸濃度が一定時間調節されて CIP 回路を循環します。酸洗浄の段階が終了すると、機器の洗浄液が排出され CIP 回路のリンスと排水が行われます。

オンライン分析計でのサンプリングを容易にするために、洗浄サイクルの最後のリンス液を循環させてオンラインで TOC および導電率測定用サンプルを採取しました。最後に、最終リンス段階で、TOC および導電率測定用のリンス液のサンプルも手動で採取しました。

稼働時適格性確認 (PQ) 試験 :

洗浄サイクルの性能を評価するのに必要な洗浄プロセスと分析法を決定した後、洗浄運転を複数回行って再現性を立証しました。

濃縮 BSA 溶液をタンクの内部表面および攪拌機の全表面に直接塗布して、汚染させました。製造環境で頻発する処理間隔の延長をシミュレートするために、洗浄サイクルを開始する前に BSA を乾燥させました。業界での洗浄サイクル性能試験と同様に、洗浄サイクルを 3 回反復し、前述のサンプリング法と測定技術により洗浄サイクルの成否を判定しました。

最終の循環リンス中に、TOC および導電率分析用に水サンプルを採取しました。サイクル終了後、目視検査を実施して明らかな異常を記録し、攪拌機の全工業的利用のために慎重に選択した関心のある部位の攪拌機表面から直接サンプリングを行いました。

結果

回収試験およびサンプリング作業者の適格性評価

方法開発の第 1 段階で、プロセスの疑似汚染物として使用した BSA の炭素量を測定しました。最初に 10% (W/V : g [BSA] / ml [水]) の原液を調製し、この液から複数の希釈液を作製しました。特性の評価結果を下の表 1 に示します。

表 1 - BSA の炭素量測定

Sample ID	Blank Corrected TOC (ppm)	Standard Deviation	% RSD
BSA_10	11.99	0.252	2.07
BSA_7.5	8.92	0.115	1.27
BSA_5	5.76	0.101	1.72
BSA_2	2.09	0.059	2.62
BSA_1	0.756	0.012	1.32

The graph displays a scatter plot of data points with a dashed trendline. The x-axis is labeled 'Target Concentration (ppm)' and ranges from 0 to 12. The y-axis is labeled 'Blank Corrected Measured TOC (ppm)' and ranges from 0.00 to 14.00. The data points are approximately at (1, 0.756), (2, 2.09), (5, 5.76), (7.5, 8.92), and (10, 11.99). The regression equation is $y = 1.2385x - 0.3992$ and the coefficient of determination is $R^2 = 0.9999$.

最初のサンプルの分析に基づき、BSA 原液は約 5995 ppm の TOC を含有すると決定しました。以降試験中に作製した全溶液はこの結果に基づき調製しました。分析計と溶液調製の精度および直線性は、表 1 に示す相関係数 ($R^2=0.9999$) および相対標準偏差により許容可能であることが証明されました。

次に、ステンレススチール製クーポンに、表 2 のサンプル ID 番号で示す既知量の BSA を添加しました。個人間のばらつきを考慮して、スワブサンプリング法に関して 3 名の作業者を適任としました。作業者の適格性評価は、クーポンから回収した TOC 量をポジティブコントロールサンプルの TOC 量と比較して実施しました。ポジティブコントロールサンプルは、対応するクーポン表面へ添加した量と同量をバイアルに添加して調製しました。

表 2 - 最初のスワブ適格性評価結果

Sampling Technician	Sample ID	Blank Corrected TOC (ppb)	Standard Deviation	% RSD	Percent Recovery
1	250	181	9.85	2.9	78.5
	500	594	23.90	3.2	93.8
	1000	1016	35.12	3.0	89.3
2	250	194	44.00	12.4	84.1
	500	561	122.66	17.0	88.5
	1000	936	90.74	8.3	82.3
3	250	193	36.91	9.6	68.8
	500	649	68.77	8.2	80.2
	1000	1017	70.00	5.8	92.0

各作業者の表面スワブの回収結果プロットと回帰直線を表 2 に示します。直線の傾きは、特定の作業者に関していくつかの負荷量の残留物全体の回収率を示し、精度は個別の回収結果の相対標準偏差で判定しました。各作業者のデータ信頼性の評価では、関心のある主要統計量として精度を使用しました。回収率の測定基準として傾きを使用することに基づくと、作業者間のばらつきはこの不一致を考慮した包括的なモデルの必要性を示しています。個々の作業者に対して個別の調整を行うのではなく、回収率データを 1 つのセットとして統合して分析し、図 3 に示すように、データセット全体に対して類似の回帰統計量を生成させました。

各作業者の個別の相対標準偏差値と R^2 値に基づくと、表面スワブサンプリング法に適切な一貫性が存在し、洗浄検証試験に関して信頼できます。したがって、この方法は、洗浄後の機器表面に有機化合物が残留しているかを確実に評価するのに適切と考えられます。

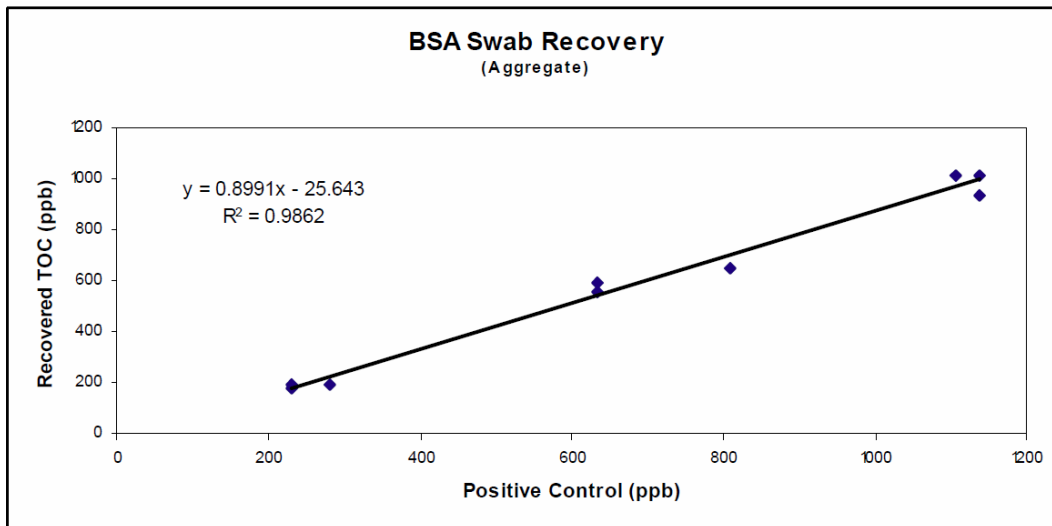


図 3：表面スワブの統合した回収データ

回収した TOC 測定値と各ポジティブコントロールの予想値との誤差を評価することにより、検出限界 (LOD) と定量限界 (LOQ) を計算しました。以下の式に示すとおり、回帰直線のデータを用いて計算しました：

$$LOD = \frac{3.3s}{m}, \quad LOQ = \frac{10s}{m}$$

上記の式で、s は残留物の標準偏差、m は回帰直線の傾きと定義しますⁱⁱⁱ。

最初の式から、表面スワブ法の LOD は 78 ppb TOC となります。しかし、回収試験に使用したステンレススチール製クーポンで測定したバックグラウンドの TOC を実験的に評価すると、この値は、表面スワブ法の検出限界とするには最良の値ではありませんでした。

表 3 に示すように、洗浄して炭素残留物を除去した 10 片の 316L ステンレススチール製クーポンのスワブから得た TOC 平均値は約 161 ppb で、相対標準偏差は 9.3% でした。実験的に決定したバックグラウンドは計算した LOD 値より高かったため、161 ppb TOC を最も妥当な LOD としました。

2 番目の式から LOQ は 238 ppb TOC と計算されました。幾分安全を見過ぎた数値ではありますが、238 ppb TOC を洗浄バリデーションの許容基準として選択しました。したがって、スワブの 238 ppb 未満、161 ppb 以上の TOC は検出可能ですが、技術的に定量化はできないこととなります。より具体的にいえば、これらの限度は、開発した分析法の測定能力未満にまでプロセス残留物を除去することに対する洗浄サイクルの有効性を評価し証明するための基準でした。上記の基準を超える結果が得られた場合に、オンラインおよびオフラインのリンサンプルを用いた実証により、この結果を洗浄プロセスの失敗に帰することができるかどうか評価されます。

表 3：ブランククーポンの結果

Stainless Steel Coupon Blanks	
SS1	164
SS2	143
SS3	154
SS4	139
SS5	174
SS6	160
SS7	160
SS8	155
SS9	191
SS10	167
Average	160.7
Standard Deviation	14.93727627
%RSD	9.295131466

攪拌機洗浄試験

洗浄サイクルの酸洗浄段階で、洗浄液中の洗剤濃度を確認するために導電率測定を行いました。測定は携帯型導電率計を用いて行いました。苛性洗浄および酸洗浄段階での携帯型導電率測定の結果は、12~13 mS/cm でした。苛性洗浄段階について TOC 濃度^{iv}に変換すると、12~13 mS/cm の導電率は約 261 ppm の TOC 値に相当します。

最終の循環リンス段階で、リンス液の分析に使用した GE Analytical Instruments 社の 500 RL オンライン型 TOC 分析計により、各洗浄サイクルの TOC および導電率を測定しました。分析計の結果は、手動のサンプル採取および分析前に、CIP サイクルでイオン性化合物および TOC 含有化合物の両方が機器表面から除去されていることを立証しました。

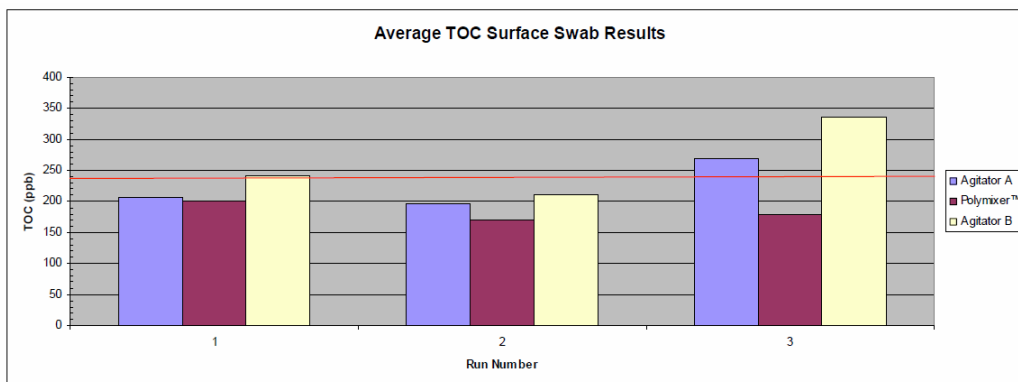
最後のリンス液の導電率と TOC 測定により、検出された TOC はプロセスの疑似汚染物または洗剤中の界面活性剤に由来すると考えられます。バックグラウンドの予想値を超えて測定された導電率はすべて主に酸洗浄段階のリンス酸、または洗剤中のその他のイオン性物質に由来すると考えられます。

結果の検討：

洗浄液による TOC 予想値と洗浄サイクルでのオンラインのリンスサンプルの測定値を全攪拌機について総合的に比較すると、TOC で約 3 桁 (2.1×10^3)、導電率でほぼ 2 桁の減少が認められました。したがって、各攪拌機について洗浄サイクル全体の性能は、製薬およびバイオテクノロジー分野での利用および要件の観点から許容できました。

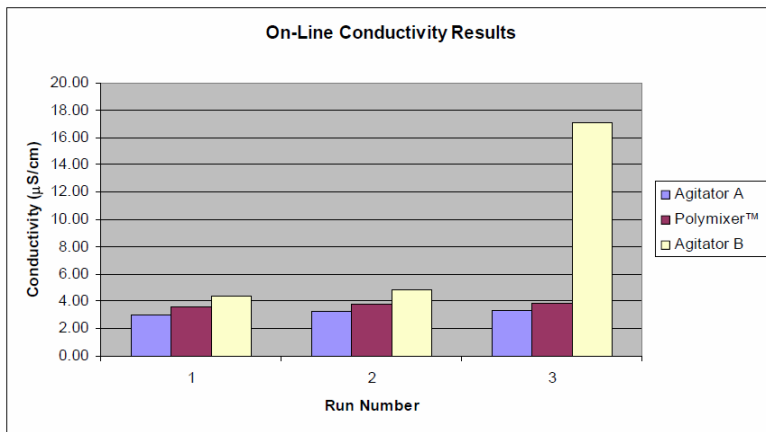
洗浄バリデーションのスワブサンプルの結果と先に導いた 238 ppb TOC という LOQ を比較すると、ASEPCO 社の Polymixer™ のデザインでは CIP により一貫してプロセス残留物が容易に除去されましたが、攪拌機 A と B ではいずれも 1 回以上の運転で LOQ を超える TOC 値を示しました。このことを図 4 に示します (横線は LOQ)。

図 4：スワブサンプルの平均 TOC の結果



攪拌機 A および B の 3 回目の運転では、平均して 1 回目と 2 回目の運転より高い値を示しました。図 5 に導電率を、図 6 に TOC 結果を示します。

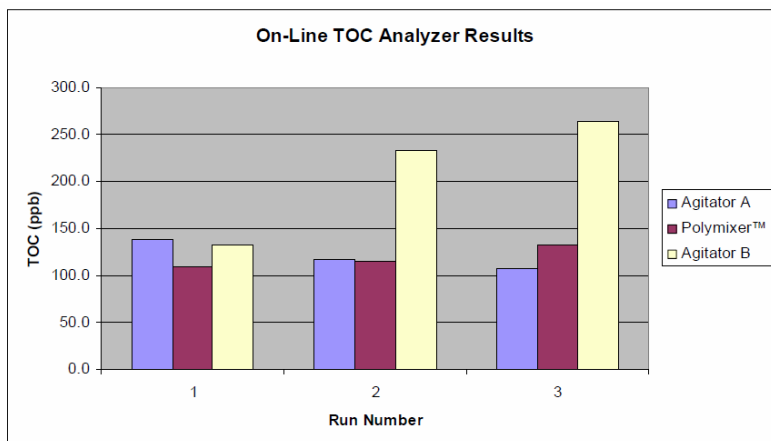
図 5 - オンラインによる導電率の結果



攪拌機Bについて残りの結果を検討したところ、3回目の運転結果に関してマニュアルで採取したリンス液サンプルにおいて、供給液と最後のリンス液で高いTOC値が認められました。実際、攪拌機Bのベースライン値のほとんどが、平均してPolymixer™と攪拌機Aのいずれよりも高い値を示しました。これらの高い結果の理由を説明するために、オンラインと

オフラインのリンスサンプルでの結果の違い、試験中に発生した事象、結果に関与する時間依存性の要因、最後に、運転ごとに残留物を蓄積させる可能性のある攪拌機間のデザインの違いについて調査しました。

図 6 - オンラインによる TOC の結果



実施記録の検討で、CIP サイクル実施中に生じた手順の逸脱が明らかになり、10 回目の運転での比較的高い結果に関与していました。図 7 に縦線で示すように 72:45:00 頃に誤動作が発生していました。

攪拌機 A の 3 回目の運転で、オンラインによる TOC と導電率データ、および手動で採取したサンプルのデータ値にスパイクはなく、そのため、TOC 測定値

の上昇の根本的原因を確定するためにはさらなる分析を行わなければなりません。

表 4 に、3 台の攪拌機の試験順序、および各運転で採取したリンス液とスワブサンプルの TOC および導電率の測定結果を示します。攪拌機 B の最後の運転中に、給水容器の水位が最大容量を超えて、不注意により供給水が汚染されました¹。

一見ささいな事故でしたが、10 回目（攪拌機 B の 3 回目の運転）と 11 回目（攪拌機 B のブランクの運転）の運転で高い TOC および導電率を示す結果となりました。したがって、3 台の攪拌機の洗浄性の相対的な比較では、評価の歪みを防ぐために 10 回目の運転を考慮しませんでした。図 7 に、洗浄サイクルの性能評価のために採取したサンプルの TOC 値の傾向を、運転時間に対して示しました。右側の赤線は、汚染が発生した時期を示します。

¹ 汚染物質は、供給タンク内で容器の蓋のポリマーガスケットシールと水の接触により持ち込まれました。

表 4：洗浄バリデーション実施順序とサンプルの結果の要約

Run #	Run Designation	Manual Final Rinse Sample TOC (ppb)	Average Online Final Rinse TOC (ppb)	Manual Final Rinse Conductivity (μS/cm)	Average Online Final Rinse Conductivity (μS/cm)	Average TOC Swab (ppb)
1	Agitator A	96	139.0	3.47	2.97	207
2	Agitator A	80.1	116.4	3.67	3.26	197
3	Agitator A	90.9	108.3	4.09	3.31	268
4	Agitator A Blank ²	114	168.7	4.72	4.58	237
5	Polymixer™	89	109.3	4.03	3.58	200
6	Polymixer™	100	115.3	3.87	3.74	172
7	Polymixer™	84.1	132.0	4.38	3.83	179
8	Polymixer™ Blank [†]	114	168.7	4.72	4.58	237
9	Agitator B	39.4	132.0	4.77	4.40	241
10	Agitator B	138	233.3	6.07	4.86	211
11	Agitator B	262	264.7	19.37	17.14	337
12	Agitator B Blank [†]	300	272.7	36.26	31.14	307

表 4 に示す手動で採取したサンプルの導電率は、常にオンライン分析計より高い値を示しました。これは適切に構成されたオンライン分析計の特色ですが、工程流から直接サンプルを採取することにより、手動によるサンプル採取で生じる汚染物質の混入が防止できるからです。これは TOC サンプルすべてについて言えるわけではありませんが、TOC 分析は導電率より有機汚染物質に対する感度がきわめて高いので、オンライン分析計のサンプリングラインを適切に設定してサンプル滞留時間（デッドレグ）を最小にし、洗浄バリデーションサンプル採取前のラインの適切な洗い流しを確保することが必要です。

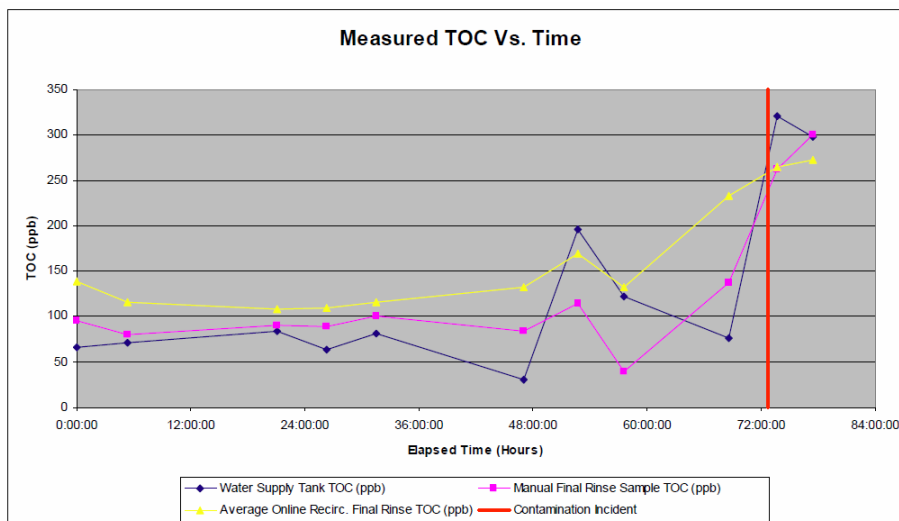


図 7：運転時間に対するリンス液サンプルの TOC の結果

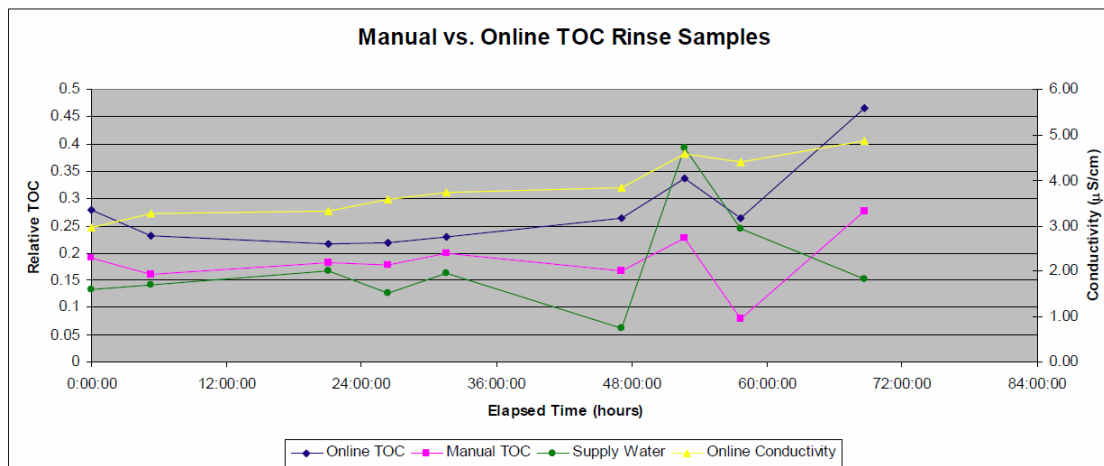
リンス液の TOC 測定値の検討で、CIP サイクルの結果は洗浄用として CIP スキッドに供給される水質と密接に関連するという明白で基本的な事実が一見して明らかになりました。次に、排水サンプルが CIP 用の供給水の TOC より低い場

合、CIP プロセスが TOC の変動を緩和している可能性が示されています。重要な概念は、これらの結果の解釈は、リンス液の一般的な許容基準と比較する相対的な値であったということ

² ブランク運転とは、CIP 後の全サンプリングに引き続き BSA 汚染を行わずにリンスサイクルのみを実施した後測定したデータを指します。

です。図8に、リンスサンプルのTOCの測定結果(10回目と11回目の運転を除く)を500 ppb TOCと比較して表しています。さらに、分析結果の変動は供給水のTOCの変化を厳密に反映し、同じ増減傾向を示しています。

図 8 : リンスサンプルの結果



使いやすい CIP デザインの要素

バッチ間の交差汚染を防ぐために、ほとんどの無菌攪拌機のデザインはオープンミキシングヘッド構造を取り入れようとしています。オープン構造ではベアリング表面を含めた攪拌機の全表面に洗浄液が接触できます。さらに、ほとんどの攪拌機でベアリング表面間の間隔がきわめて狭いため、オープン構造はプロセス液が潤滑剤として間隙に入るのに望ましい構造です。

ベアリング表面自体も底部取付式攪拌機的设计を進めるうえで精査対象であり、通常 2 つの構造のうち 1 つを使用します。従来のデザインで最も多いのはボールベアリングとベアリング溝軸受の組み立て構造で、2 番目はスリーブ構造とシャフト構造です。2 番目のデザインでは、ベアリングの材質は通常シリコンやタンゲステンカーバイドなどの硬質セラミック材です。

工程でのベアリング表面の利用効率を向上させるために行われている 1 つの方法は、ハイブリッドセラミック・ボールベアリングデザインです。このデザインでは、合金の溝の中に硬質セラミックボールをはめ込んだベアリングです。ベアリング溝がプロセス溶液に曝露されますので、ベアリングへの流量は一般的なセラミックスリーブのベアリングより多くなります。

Polymixer™のデザインではセラミックスリーブベアリングのオープンヘッド構造を採用し、上部装置から噴霧されたジェット流が直接ベアリング面の間隙に侵入することができます。さらに、攪拌中の流体力学的なフローパターンを利用するポートを攪拌機本体に組み入れるデザインとし、標準運転中絶えずプロセス液がベアリング表面に流れ、摩耗を減少させます。CIP 中に、攪拌機のオープンヘッド構造は低速の回転速度と共役して、洗浄液がベアリング表面に到達して残留するあらゆるプロセス残留物を除去することを可能にします。CIP で採用された低速の回転速度はベアリング表面の摩耗と応力も防ぎつつ、十分な機械的エネルギーを与えて洗浄プロセスを促進します。

Polymixer™に取り入れたもう一つの強化点は、ジェット流に対して単一の非水平面で回転することです。他の攪拌機は通常多平面で、攪拌機表面からプロセス液または洗浄液を排水するには特定の方向が必要です。Polymixer™は様々な方向で設置することができ、かつ攪拌機からプロセス液を効果的に排水します。

上述のような従来のデザインの特徴が攪拌機 A および B にみられました。その特徴は、多面式ブレード、ハイブリッドおよびセラミックスリーブベアリングを有するオープンヘッドデザインです。

サンプリング技術の項で述べたように、各攪拌機のデザインの特徴を評価するために、洗浄が容易／困難と思われる部位からスワブサンプルを採取しました。各攪拌機の採取部位のスワブデータ（表 5 参照）を検討すると、各攪拌機を個別に評価した場合、どのスワブ採取部位も他より高いか、或いは低い結果を一貫して示すことはなく、これは、スワブ採取部位間の TOC のわずかな変動が手動のサンプリングに内在するランダムな誤差の結果であると考えられます。しかし、各攪拌機間の対応する部位の TOC の結果を比較すると、攪拌機 B が最も高い測定値を示し（10 回目の運転を除く）、次が攪拌機 A で、Polymixer™は最も低い TOC 値を示しています。

表 5：攪拌機 A および B の洗浄検証結果

Cleaning Sample Results (ppb TOC)												
Sample Site Description	Agitator A				Polymixer™				Agitator B			
	Run 1	Run 2	Run 3	Avg.	Run 1	Run 2	Run 3	Avg.	Run 1	Run 2	Run 3	Avg.
Inlet (Rinse)	66.1	71.1	83.9	73.7	63.4	81.1	30.8	58.4	122	76.6	321	173.2
Outlet (Rinse)	96	80.1	90.9	89.0	89	100	84.1	91.0	39.4	138	262	146.5
Bearing 1	208	242	215	221.7	218	189	144	183.7	243	255	277	258.3
Bearing 2	209	198	556	321.0	206	197	275	226.0	273	189	316	259.3
Body	202	193	675	356.7	196	185	194	191.7	257	215	324	265.3
Under	192	209	216	205.7	182	204	198	194.7	327	173	272	257.3
Blade 1 (top)	243	175	196	204.7	228	163	162	184.3	238	197	297	244.0
Blade 2 (top)	207	190	175	190.7	207	169	196	190.7	217	199	284	233.3
Blade 3 (top)	211	195	168	191.3	208	156	161	175.0	223	213	278	238.0
Blade 4 (top)									241	167	261	223.0
Blade 1 (bottom)	181	184	157	174.0	180	186	160	175.3	205	296	469	323.3
Blade 2 (bottom)	244	208	165	205.7	205	176	184	188.3	210	248	457	305.0
Blade 3 (bottom)	173	179	160	170.7	204	173	156	177.7	238	196	502	312.0
Blade 4 (bottom)									225	180	305	236.7
Hole					190	166	141					
Hole					185	140	174					
Hole					212	155	179					
Hole					185	142	179					
Run Average	207	197	268	224	200	172	179	189	241	211	337	263

結論

要約

適切なツールと技術の利用により、ASEPCO 社の Polymixer™底部取付式攪拌機の衛生的なデザインの特徴が立証されました。デザイン適合性を示すうえで重要なツールは、適切な分析法の開発です。開発した分析方法を用いてオンライン TOC 分析および間接的／直接的に採取したサンプルのオフライン TOC 分析を行い、競合する攪拌機と Polymixer™の性能を比較評価するために必要で十分な情報を収集しました。

適用可能な製品の用量や毒性の情報がないため、分析法の開発で TOC 分析のパラメータを検討して検出限界および定量限界を決定し、洗浄バリデーションのための適切な許容基準を設定しました。このような限度の決定時に、他の環境変数を考慮して適宜限度パラメータを補正することも重要です。環境変数として、汚染残留物、現場の水質、残留物を採取した部位の材質、スワブ湿潤溶媒、サンプリング技術の差による作業者間のばらつきなどを分析法開発時に考慮しました。定量限界 (LOQ) の使用により ASEPCO Polymixer™のデザインを評価するための公平に決定された測定基準が得られ、無菌プロセスの攪拌アプリケーションに採用される他の底部取付式攪拌機と比較することが可能でした。

真の意味でのプロセス分析技術 (PAT) の実施ではありませんが、オンライン型 TOC 分析計の使用は貴重なリアルタイム情報を提供し、迅速に攪拌機を評価することが可能でした。さらに、オンライン型 TOC 分析計で得た結果をオフラインの TOC 分析計の結果と比較できることは、異常データの評価ならびにデータへの信頼性と確証を与えるうえで非常に有用であり、3 台の攪拌機の比較評価が可能になりました。このような技術応用は時間とコストが重要なプロジェクトや製造作業にとってまさに貴重なものです。

謝辞

AsepcO および JM Hyde Consulting は、900 および 500 シリーズの分析計を快く貸与していただいたことに対し GE Analytical Instruments 社に感謝いたします。これらの分析計なしには、品質管理ならびに本試験の継続および完成はありませんでした。

References

- ⁱ Fundamentals of CIP Design, David DeLucia, ASME Bioprocess Engineering Seminars, Boston, MA November 1998.
- ⁱⁱ Ibid.
- ⁱⁱⁱ Validation of Analytical Procedures: Text and Methodology Q2(R1), International Conference on Harmonisation of Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals for Human Use.
- ^{iv} The Determination of CIP 100 in Solutions by Total Organic Carbon (TOC) Analysis, Steris Analytical Method # 3409.
- ^v Clean in Place (CIP) Design Considerations for Bottom Entry Magnetically Driven Mixers, Gambrell, Jeffrey S., Interphex West 1996 Conference, San Diego, California, October 8 1996

GEヘルスケア・ジャパン株式会社

ライフサイエンス統括本部

〒169-0073

東京都新宿区百人町 3-25-1 サンケンビルディング

お問合せ：バイオダイレクトライン

TEL: 03-5331-9336 FAX: 03-5331-9370

e-mail: Tech-JP@ge.com



ISO 9001:2008 認証取得