

## ■ Concise communications

## 鋼製小物の洗浄に関する微生物学的な研究 「汚染モデル器材を用いた用手洗浄の評価」

竹内千恵, 小林寛伊, 梶浦 工, 大久保 憲, 遠藤博久, 菅原えりさ, 曾川芳郎, 齋藤祐平

東京医療保健大学大学院

Microbiological evaluation of the brush cleaning for medical steel instruments:  
An experimental study using stainless test piece with tiny gap.

Chie Takeuchi, Hiroyoshi Kobayashi, Takumi Kajiura, Takashi Okubo,  
Hirohisa Endo, Erisa Sugawara, Yoshiro Sogawa, Yuhei Saito

Division of Infection Prevention and Control, Postgraduate School, Tokyo Healthcare University

### 要旨:

**目的:** 手術器械をはじめとする再使用機器は、使用後に洗浄、消毒、滅菌などの工程を経て再使用される。適切な洗浄をおこなうことにより器械に付着した血液・体液・組織片などの汚れだけでなく付着した微生物も効果的に除去する必要がある。

洗浄が最も困難とされる消化器内視鏡を対象とした検討では、適切な洗浄をおこなうことにより微生物減少量は3~4- $\log_{10}$  reductionと報告され<sup>1-3)</sup>、国際的な洗浄による効果の目安となっている。しかしながら、手術器械については洗浄による菌数減少の指標は示されていない。

そこで、手術器械の汚染モデル器材(テストピース)を作成し、鋼製小物における洗浄評価の基礎的検討として、一定数の芽胞で汚染させたテストピースに対して、一定条件下で用手洗浄を実施した前後の菌数を測定した。

**方法:** テストピースは間隙の異なる5種類(0, 100, 200, 300, 500 $\mu\text{m}$ )を、疑似汚染は供試菌 *Bacillus subtilis* ATCC 6633 芽胞液と羊血液の混合液を用いた。羊血液 900 $\mu\text{L}$  に枯草菌芽胞液  $10^9$  /mL の 100 $\mu\text{L}$  を混合し、その 50 $\mu\text{L}$  をテストピース片面に滴下し均一に塗り拡げ、室温で2時間放置した。その後各サイズのワッシャーを挟んでテストピースを組み立て、市販の歯ブラシによる流水下での用手洗浄(30秒あるいは60秒)をおこなった。洗浄後のテストピースを分解後、回収液の入った試験管に浸漬させ、超音波処理5分で菌を回収した。

**結果:** 間隙 300, 500 $\mu\text{m}$  のテストピースにおける60秒の用手洗浄では、概ね4- $\log_{10}$  reductionの菌数減少を認めた。しかし、間隙 0, 100 および 200 $\mu\text{m}$  のテストピースでは、30, 60秒いずれの用手洗浄においても未洗浄と同程度の菌数が検出された。手術器械は、その構造が持つ間隙と洗浄時間により、洗浄効果に違いがあることが示唆された。

Key words : surgical instruments, reusable instruments, cleaning, brushing

### 1. はじめに

手術器械をはじめとする再使用機器は、使用後に洗浄、消毒、滅菌などの工程を経て再使用される。適切な洗浄をおこなうことにより器械に付着した血液・体液・組織

片などの汚れだけでなく付着した微生物も効果的に除去する必要がある。器械に付着した汚染微生物数が少なければ、滅菌の保証レベルは高くなることから、確実な滅菌をおこなうためには、滅菌前の適切な洗浄により微生物数を低減することが重要である。特に、鉗子などの関節部(ボックス部)や先端鋸歯部分(jawsジョーズ)な

どの洗浄しにくい部分は血液、体液、組織片などが残存しないように注意しなければならない<sup>4)</sup>。

洗浄が最も困難とされる消化器内視鏡を対象とした検討では、適切な洗浄をおこなうことにより微生物減少量は3~4-log<sub>10</sub>reductionと報告され<sup>1-3)</sup>、国際的な洗浄による効果の目安となっている。一方、使用後の手術器械の微生物汚染量に関して、整形外科手術における清潔手術では47%、汚染手術では70%、感染手術では80%の器具が汚染されているとの報告があり<sup>5)</sup>、洗浄後の手術器械では、72%で10colony forming unit (CFU) 以内、14%で10<sup>-1</sup>CFU、14%でそれ以上の菌数が検出されたと報告されている<sup>6)</sup>。しかしながら、手術器械については洗浄による菌数減少の指標は示されていない。

そこで我々は、ボックス部やネジなどにより交差部が形成されている手術器械を想定した汚染モデル器材（テストピース）を作成し、鋼製小物における洗浄評価の基礎的検討として、一定数の芽胞で汚染させたテストピースに対して、市販の歯ブラシを用いた流水下での30秒あるいは60秒の用手洗浄を実施した前後の菌数を測定し、用手洗浄の微生物減少効果を調べた。

## 2. 目的

臨床現場での鋼製小物のボックス部など、細小間隙の交差部や密着部に対する洗浄評価の基礎的検討として、一定数の芽胞で汚染させたテストピースに対し、一定のブラッシングを実施したときの菌数減少効果を調べる。

## 3. 方法

### 1) テストピース

鋼製小物のボックス部やネジなどの交差部に形成される細小間隙を0~500 $\mu$ mと想定し、上下2枚のステ



図1. 汚染モデル器材として使用したテストピース

ンレス板（ステンレス材質：SUS420，縦40mm×横10mm×厚さ3mm）の両端に、厚さ0（なし）、100，200，300，500 $\mu$ mのワッシャーを挟んで図1のごとくボルトで固定した。

### 2) 疑似汚染

供試菌 *Bacillus subtilis* ATCC 6633 芽胞液 (10<sup>9</sup>/mL) 100 $\mu$ L と羊血液 900 $\mu$ L の混合液を疑似汚染液とした。

### 3) 実験手順

- (1) 分解したテストピースの片面に疑似汚染液 50 $\mu$ L を滴下し、均一に塗布した。
- (2) 安全キャビネット内で約2時間放置し、目視にて表面の乾燥を確認した。
- (3) 0，100，200，300，500 のワッシャーを挟んで各間隙を有するテストピースを組み立てた。
- (4) 組み立てたテストピースを、市販の歯ブラシを用いて流水下で30秒あるいは60秒間ブラッシングした。
- (5) ブラッシング後のテストピースを分解して試験管に入れ、リン酸緩衝生理食塩水 (PSB) +0.05% ポリソルベート 80、(以下回収液) 5mL を加え、5分間の超音波処理 (発振周波数；38KHz) により菌を回収した。
- (6) 採取した回収液の一部 (2mL) を PBS で連続希釈し、各100 $\mu$ L を Trypticase Soy Agar 培地に塗抹した。30 $^{\circ}$ C 18時間まで培養したのち、それぞれの細菌数 (CFU) をカウントした。
- (7) 洗浄をおこなわず、疑似汚染液を塗布し乾燥したテストピースを超音波処理で回収し、得られた CFU の平均をコントロールとした。
- (8) カウントしたそれぞれの培地の細菌数から各テストピース1個あたりの CFU を算出し、それぞれを対数 (Log<sub>10</sub> CFU) に変換した。
- (9) 各テストピース1個あたりの CFU について、それぞれコントロールとの差を取って、対数減少値 (Reduction Factor ; RF) を算出した。

## 4. 結果

各テストピースから検出されたコロニー数 (Log<sub>10</sub>CFU) の平均と標準偏差を表1，図2に、対数減

表1. 30 および 60 秒間のブラッシングにおける各テストピースから検出されたテストピース 1 個あたりの菌数

間隙	Log <sub>10</sub> CFU(平均)±標準偏差	
	30 秒	60 秒
0	6.28±0.34	6.23±0.33
100	6.21±0.39	6.28±0.27
200	5.87±0.20	5.47±0.35
300	5.61±0.49	2.44±0.36
500	2.68±1.17	2.37±0.23

(n=4)

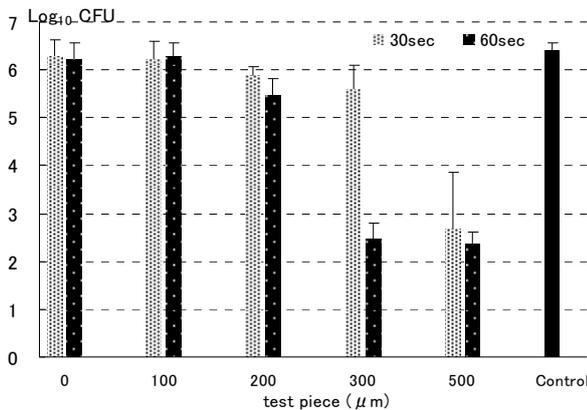


図2. 30 秒および 60 秒のブラッシングにおける各テストピース 1 個あたりの菌数

(n=4)

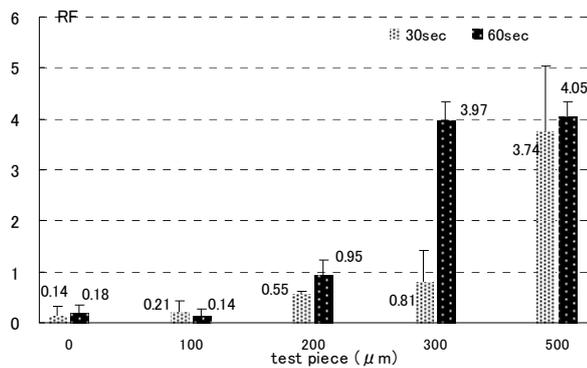


図3. 30 秒および 60 秒のブラッシングにおける各テストピースの菌数の対数減少値

(n=4)

少値を図3に示した。

30 秒のブラッシングにおけるコントロールからの対数減少値は、間隙 500 $\mu$ m では 3.74 $\pm$ 1.17 (平均 $\pm$ 標準偏差)、300 $\mu$ m では 0.81 $\pm$ 0.49、200 $\mu$ m では 0.55 $\pm$ 0.19、100 $\mu$ m では 0.21 $\pm$ 0.38、0 $\mu$ m では 0.14 $\pm$ 0.34 であった。

60 秒のブラッシングにおけるコントロールからの対数減少値は、間隙 500 $\mu$ m では 4.05 $\pm$ 0.23、300 $\mu$ m では

3.97 $\pm$ 0.36、200 $\mu$ m では 0.95 $\pm$ 0.35、100 $\mu$ m では 0.14 $\pm$ 0.27、0 $\mu$ m では 0.18 $\pm$ 0.33 であった。

以上をまとめると、間隙 300, 500 $\mu$ m のテストピースにおける 60 秒の用手洗浄では、概ね 4-log<sub>10</sub> reduction の菌数減少を認めた。しかし、間隙 300 $\mu$ m のテストピースにおける 30 秒の用手洗浄では、未洗浄と同程度の菌数が検出された。また、間隙 0, 100 および 200 $\mu$ m のテストピースでは、30 秒および 60 秒いずれの用手洗浄においても未洗浄と同程度の菌数が検出された。

### 5. 考 察

手術器械の洗浄方法は用手洗浄 (浸漬洗浄を含む)、超音波洗浄、ウォッシャー-ディスインフェクター (WD) に大別される<sup>4,7)</sup>。汚染された器械をブラシやスポンジを用いてブラッシングすることで、物理的に汚れを取り除く方法を用手洗浄、洗浄剤に浸漬することで汚れを除去する方法を浸漬洗浄といい<sup>7)</sup>、本研究では、市販の歯ブラシを用いた用手洗浄によるブラッシングの効果をテストピースを用いて評価した。

使用したテストピースは鋼製小物のボックス部をイメージした 0~500 $\mu$ m の計 5 種類の間隙差を設定した。なおウォッシャーを挟んでいない間隙 0 $\mu$ m 想定テストピースでは、疑似汚染液による厚みが生じているが、ここでは間隙 0 $\mu$ m とした。

間隙 300 $\mu$ m 以上の 60 秒のブラッシングでは平均 4-log<sub>10</sub> reduction と十分な洗浄効果が得られる結果となったが、30 秒のブラッシングにおける間隙 500 $\mu$ m では標準偏差が 1.17 と他と比べ大きく、データのばらつきがみられた。また、間隙 200 $\mu$ m 以下の場合、汚染が残存し洗浄が不十分であることが確かめられた。今回使用した市販の歯ブラシの毛の太さは、180~190 $\mu$ m (先端部分は 130~140 $\mu$ m) であり、間隙 200 $\mu$ m 以下のテストピースでは、間隙部分へのブラッシングが十分におこなえていないことが考えられた。つまり、効果的な用手洗浄をおこなうためには、手術器械の構造が持つ間隙を考慮した洗浄ブラシの選択や洗浄時間の設定が重要である。

今後さらに、洗浄剤を用いた浸漬洗浄や超音波洗浄、WD、および、実器材での各種洗浄における菌数減少効果も検討する必要がある。

## ■ 文 献

- 1) Rutala WA : APIC guideline for selection and use of disinfectants. *Am J Infect Control.* 1996 ; 24(4) : 313-342.
- 2) Rutala WA, Weber DJ. FDA labeling requirements for disinfection of endoscopes : a counterpoint. *Infect Control Hosp Epidemiol.* 1995 ; 16 : 231-5.
- 3) Vickery K, Pajkos A, Cossart Y. Removal of biofilm from endoscopes : evaluation of detergent efficiency . *Am J Infect Control.* 2004 ; 32(3) : 170-6.
- 4) 日本医療機器学会：医療現場における滅菌保証のガイドライン 2005, 日本医療機器学会, 2005
- 5) Flavia Morais, Gomes Pinto, Rafael Queiroz de Souza, Cely Barreto da Silva, Lycia Mara Jenne Mimica, Kazuko Uchikawa Graziano. Analysis of the microbial load in instruments used in orthopedic surgeries. *Am J Infect Control.* 2010 ; 38 : 229-233.
- 6) Rutala WA, Gergen MF, Jones JF, Weber DJ. Levels of microbial contamination on surgical instruments. *Am J Infect Control.* 1998 ; 26 : 183-5.
- 7) 伏見了, 島崎豊, 吉田葉子：洗浄・消毒・滅菌の基本と具体策, ヴァンメディカル, 2008 ; p. 28-72.