

鍼施術における感染制御の基礎的研究

— 人工汚染鍼とヒト皮膚代替穿刺モデルの作製 —

東京医療保健大学大学院

医療保健学研究科 博士課程

2013 年 4 月 24 日

菅原 正秋

(東京医療保健大学大学院学位論文)

鍼施術における感染制御の基礎的研究

— 人工汚染鍼とヒト皮膚代替穿刺モデルの作製 —

東京医療保健大学大学院

医療保健学研究科 博士課程

2013 年 4 月 24 日

菅原 正秋

要 旨

鍼施術における感染制御の基礎的研究

—人工汚染鍼とヒト皮膚代替穿刺モデルの作製—

はじめに 鍼施術に関連した感染の報告が医学雑誌において散見される。しかし、これらの報告では感染メカニズムの詳細（施術状況、感染媒体・経路など）について情報を得ることができない。そこで著者は、ヒト皮膚に類似した素材で穿刺モデルを作製し、その検体に人工汚染させた鍼を穿刺した場合の穿通抵抗ピーク値と貫通する菌量との関連性などを検証した。そして、それらの穿刺モデルがヒト皮膚の代替モデルとして妥当か否かを検討した。

方 法 穿刺モデルの作製には、液体クロマトグラフィー用オートサンプラー・バイアルを用いた。そして、その穿刺部分にヒト皮膚およびヒト皮膚に類似した検体を取り付け固定した。ヒト皮膚に類似したモデルとしては、Yucatan Micro Pig Skin（厚さ約 2mm）、シリコン・セプタム（厚さ 1mm）、刺鍼練習用ポリ塩化ビニル（厚さ 1.5mm）の 3 種類を用いた。

最初の実験では、引張・圧縮試験機を用いてヒト皮膚およびそれに類似した穿刺モデルの穿通抵抗を測定し、穿通抵抗ピーク値を比較した。第二の実験では、*Bacillus subtilis* の芽胞によって人工的に汚染させた鍼を作製した。そして、その鍼をヒト皮膚類似穿刺モデルに穿刺し、穿刺モデルを貫通した鍼から菌を回収し、培養してコロニー数を測定した。培養結果から、貫通した菌量と貫通率を算出し、各穿刺モデルの穿通抵抗ピーク値と貫通した菌量および貫通率との相関性を求めた。

結 果 穿刺モデルにおける穿通抵抗の測定では、ヒト皮膚に鍼を穿刺した場合の穿通抵抗ピーク値は 30.2 (25.6-32.9) gram-force (gf) であった。同様に、ブタ皮膚に鍼を穿刺した場合の穿通抵抗ピーク値は 99.7 (94.0-120.6) gf、シリコンでは 40.0 (39.5-41.9) gf、塩化ビニルでは 8.4 (8.2-10.3) gf であった。

一方、人工汚染鍼を用いた穿刺実験では、人工汚染鍼（コントロール群 n=25）に付着していた *B. subtilis* の菌量は、中央値 2.56（四分位範囲 2.44-2.74）log₁₀CFU であり、最小値は 2.01 log₁₀CFU、最大値は 2.92 log₁₀CFU あった。そして、ブタ皮膚に汚染鍼を穿刺した場合、貫通した菌量は 0.30 (0.30-0.30) log₁₀CFU であった。そして、シリコンの場合では 1.22 (0.79-1.52) log₁₀CFU、塩化ビニルの場合では 1.55 (1.15-2.01) log₁₀CFU であった。そして、各穿刺モデルの穿通抵抗ピーク値と貫通した菌量の間には強い負の相関（R²=0.996）がみられた。

結 論 ヒト皮膚とそれに類似した穿刺モデルの穿刺抵抗ピーク値を比較した。穿刺抵抗ピーク値は高い順に、ブタ皮膚、シリコン、ヒト皮膚、塩化ビニルであり、ヒト皮膚に最も近似していたのはシリコンであった。人工汚染鍼を用いた穿刺実験では、ブタ皮膚における貫通菌量は極めて少なく、ついでシリコン、塩化ビニルの順に貫通菌量も多くなる傾向にあった。よって、各検体の穿通抵抗ピーク値と貫通菌量の間には相関性がみられ、穿通抵抗が高度であるほど皮下へ到達する細菌は少なくなることが示唆された。

以上のことから、貫通菌量は穿刺抵抗に依存して変化するため、穿通抵抗ピーク値がヒト皮膚に近似しているシリコンは、穿刺モデルとして妥当であると考えた。

目 次

はじめに	1～2
方 法	2～4
結 果	4～5
考 察	5～7
結 論	7
謝 辞	7
引用文献	7～8
表および図	9～27
Abstract	28～29

はじめに

Spaulding の分類では、鍼灸針（以下、鍼）は注射針と同様にクリティカル器具に分類され、生体に刺入される以上は無菌の状態が刺入の完了するまで維持されなければならない。生体に刺入される鍼の清潔状態を維持するには、滅菌済のディスポーザブル鍼の使用と手指衛生が重要であると考えられる。よって、現状では、鍼は単回使用の使い捨て、手指衛生については、入念な手洗いとアルコールによる擦式消毒、その後の指サックまたは手術用グローブの着用というような対策が推奨されている^{1,2)}。

鍼施術に関連した感染の報告は医学雑誌において散見される。著者はそれらの文献調査を行い、1991-2010 年の 20 年間で報告された鍼施術に関連した細菌感染事例の報告は英文 43 件、和文 22 件（会議録含む）の合計 65 件であったことを関連学会において報告した³⁾。その内訳は、皮膚・皮下組織膿瘍が 77%で最も多く、ついで筋炎・筋膿瘍が 9%、関節炎・関節膿瘍 5%、硬膜外膿瘍 4%などであった。また、鍼施術とウイルス感染症の関連性についての報告は、英文 29 件、和文 10 件（会議録含む）の合計 39 件で、その内訳は、C 型肝炎ウイルスが最も多く 31 件、ついで B 型肝炎ウイルスが 5 件であった。各文献における分析方法は様々であったが、患者群と対照群とで鍼治療歴の割合を比較し、オッズ比からこれを危険因子とみなす方法が多くを占めていた。このような分析から、鍼とウイルス感染との間に因果関係があると結論づけていた文献は 39 件中 14 件であった。しかし、これらの報告では多くの場合、施術者と報告者が異なるため、施術状況、感染媒体・経路などの詳細な情報は得ることができなかったが、感染の原因としては、再使用鍼の滅菌不十分、鍼の刺し直し、素手による施術などが推察された。

本邦における鍼施術では鍼を刺入する際には鍼体部分（生体に刺入される部分）を素手で触れることが衛生上問題となっている。これには、日本の伝統的な技術である「押手（おしで）」を用いることが関与している。押手とは、鍼体を母指と示指で挟み、身体への刺鍼を容易にするものである（図 1）。この技術は、細い鍼を用いた繊細な刺激を重視する日本の鍼施術で発達した手法である。新原らが 2002 年に実施した開業鍼灸師を対象としたアンケート⁴⁾では、開業鍼灸師の 93.2%が押手を用いた刺鍼法をおこなっており、その中で押手を素手でこなしている者は 73.8%であったことを報告している。よって、本邦の鍼灸師の大多数が素手による押手で刺鍼をおこなっていると推測される。また、著者らが 2008～2009 年に全国の鍼灸師養成学校に対して実施した感染防止に関するアンケート⁵⁾においても、素手による施術を容認して教育している施設は 83%であったことから、臨床現場と教育現場の双方において日常的に鍼を素手で扱っていることが示唆された。

また、前述のアンケート⁵⁾では、単回使用の鍼であっても再使用（刺し直し）を容認している施設が 75%であったことも報告しており、単回使用鍼が普及している本邦においては、素手による施術や鍼の再使用（刺し直し）などが感染リスクを高める要因になっている可能性が示唆された。しかし、本邦では、臨床現場で使用されている鍼がどのような状況下で汚染されるのか、感染を引き起こす要因になり得るのかを調査した研究はない。これは、多くの鍼灸師が個人で開業しているため、医療機関のようなサーベイランスの実施が困難であることが理由と思われる。よって、現状では、鍼施術によって発生する感染のリスク因子を科学的根拠の基に示すことができていない。

そこで、著者はヒト皮膚検体を用いた実験的検証による感染リスクの抽出を検討した。し

かし、ヒト皮膚を用いることは、均一な検体を作製することが困難であることや希少で実験例数を増やすことができないなどの理由から断念し、ヒト皮膚に類似した代替モデルでの検討を試みた。先行研究において、図 2 に示すような人体構造（皮膚）に見立てた穿刺モデルをバイアル瓶とシリコン・セプタムを用いて作製し、それに対して人工的に汚染した鍼を穿刺することにより、鍼が感染媒体になり得るかを検討した。その結果、直径の細い鍼であっても鍼体に付着した汚れ（細菌）は、アルブミンなどの血液成分と混合することで除去されにくい状態になり、そのような状況では菌などを含む汚染が容易に侵入できる可能性が示唆された⁶⁾。しかし、この研究では、ヒト皮膚との比較ができていないことや定量的な測定ができていなかったことなどの課題が残った。

よって、今回著者は、ヒト皮膚に類似した複数の素材で穿刺モデルを作製し、その検体に人工汚染させた鍼を穿刺した場合の穿通抵抗ピーク値と貫通する菌量などとの関連性を検証した。そして、それらの穿刺モデルが人体皮膚の代替モデルとして妥当か否かを検討した。

方 法

(1) ヒト皮膚およびそれに類似した穿刺モデルの穿通抵抗ピーク値の測定

図 2 に示すようなヒト皮膚およびそれに類似した穿刺モデルを作製し、引張・圧縮試験機によりそれぞれの穿刺モデルに穿刺した際の穿通抵抗ピーク値を測定した。

- ・実験場所：セイリン株式会社 品質管理部

- ・実験期間：平成 24 年 10～11 月

- ・材料：

- ①鍼灸針（単回使用ごう鍼 60mm×0.25mm セイリン製 図 3）

- ②液体クロマトグラフィー用 4mL オートサンプラー・バイアル瓶（15×45mm スクリューバイアル島津 GLC 製）

- ③ヒト凍結皮膚（40 歳代白人女性の腹部皮膚 BIOPREDIC 製）

- ※形成外科手術の際に切除された皮膚組織をフランスから輸入したものを使用。

- ④ブタ皮膚（Yucatan Micro Pig Skin Charles River 製 図 4）

- ⑤シリコン・セプタム〈厚さ 1mm、直径 12mm〉（ホワイト PTFE/ナチュラルシリコン Thermo Scientific 製）

- ⑥刺鍼練習用ポリ塩化ビニル（塩化ビニル）素材（刺鍼トレーニングパッド® 坂本モデル製 図 5）

- ⑦引張・圧縮試験機（TENSILON® 万能材料試験機 RTC-1150A ORIENTEC 製）

- ・実験方法および手順

図 6 に示すように、液体クロマトグラフィー用オートサンプラー・バイアルの穿刺部分にヒト皮膚またはブタ皮膚、シリコン・セプタム、塩化ビニル素材を直径 12mm にカットし、キャップ部分に固定した。この部に引張・圧縮試験機を用いて鍼を穿刺し、穿通抵抗ピーク値を測定した。穿刺モデルの選定は、ヒト皮膚と構造が類似していること、刺入した感覚が実際の皮膚に類似していること、実際に刺鍼練習モデルとして使用されていることの何れかを満たしていることを条件とした。

手順；図 7 に示すように、引張・圧縮試験機のテーブルに各検体のバイアルを固定した。

セプタム部分へ鍼（60mm×0.25mm）を試験速度 100mm/min、荷重 2N（Newton）で 10mm 穿刺し、鍼がセプタム部分を貫通した時に得られた値を穿通抵抗ピーク値とした。測定は各穿刺モデルにおいて 10 回施行した。

なお、本測定ではヒト皮膚を用いたため、事前に東京医療保健大学研究協力等推進部において倫理審査を受け、承認を得た。

(2)人工汚染させた鍼を用いた穿刺実験

人工汚染させた鍼を用い、ブタ皮膚、シリコン・セプタム、刺鍼練習用塩化ビニル素材のそれぞれの検体に穿刺し、鍼に付着していた菌の貫通する割合（貫通陽性率）について調べるとともに、貫通する菌量を定量した。

- ・実験場所：東京医療保健大学大学院実験室

- ・実験期間：平成 24 年 10～12 月

- ・材料：

- ①鍼灸針（単回使用ごう鍼 60mm×0.25mm セイリン製）

- ②液体クロマトグラフィー用 4mL オートサンプラー・バイアル瓶（15×45mm スクリューバイアル島津 GLC 製）

- ③枯草菌芽胞 *Bacillus subtilis* ATCC 6633（栄研化学）

- ④ブタ皮膚（Yucatan Micro Pig Skin Charles River 製）

- ⑤シリコン・セプタム〈厚さ 1mm、直径 12mm〉（ホワイテ PTFE/ナチュラルシリコン Thermo Scientific 製）

- ⑥刺鍼練習用塩化ビニル素材（刺鍼トレーニングパッド® 坂本モデル製）

※鍼灸針について

本邦の臨床においては、一般的に使用されている鍼の直径は 0.16～0.20mm であり、本実験で使用した鍼はそれに比べると直径が太い。本実験において通常よりも太い鍼を使用した理由は、人工汚染した場合に付着する菌量をより一定にするためである。

※ブタ皮膚（Yucatan Micro Pig Skin；図 4）について^{7,8)}

Yucatan Micro Pig は、家畜のブタと異なり体毛が少なく、体重が 25kg 程度のミニブタである。皮膚表面はやや肥厚しているが、ヒト皮膚に似た網目状の皮溝がみられる。また、各毛孔に 1 本の柔毛がみられるが、これはヒトの産毛よりは太いが、頭髮と同程度であり、体毛の密度もヒトと同程度である。皮膚の階層構造は、角質が約 20μm で 15 程度の層より成り、表皮は 40-100μm で、表皮と真皮の結合部はヒトと同じく不規則である。厚さも 2mm 前後でこれもヒトに近似している。研究の分野では、ヒト皮膚を用いることは倫理上、または必要量入手することが難しいため、薬物の皮膚透過試験などにヒト皮膚のモデルとして使用されている。実験に際しては、冷凍（-80℃）されている状態のものを電子線（γ線）にて滅菌処理した後に使用した。また、解凍後に皮下脂肪の除去を行ったが、除去後の皮膚の厚さは約 2mm となるようにした。

※シリコン・セプタムについて（図 2）

液体クロマトグラフィー用オートサンプラー・バイアルのセプタムに使用する直径 12mm、厚さ 1mm のシリコン板である。実験に際しては高圧蒸気滅菌による処理を行ったものを使用した。

※刺鍼練習用塩化ビニル素材について（図 5）

刺鍼に関する基礎的な技術を習得するためのシミュレーター（刺鍼トレーニングパッド[®]）に用いられている素材である。表面は皮膚に類似した柔らかさを再現するためにポリ塩化ビニル素材を使用しており、厚さは約 15mm である。実験に際しては消毒用エタノールによる消毒を行ったものを使用した。

・実験方法および手順

図 8 に実験手順をチャートで示す。

鍼の先端約 20mm を枯草菌芽胞液 *B. subtilis* ATCC 6633 (10^8 CFU/mL) に浸漬し汚染、その後クリーンベンチ内で約 1 時間乾燥させ、人工汚染鍼を作製した。菌液を作製する際、希釈液には 0.3% ウシ血清アルブミン水溶液を用いた。ウシ血清アルブミンを用いたのは、鍼に菌が付着しやすいように粘性を持たせるためである。また、これは鍼を再使用（刺し直し）した場合などで血液成分が付着し汚染された場合を想定している。

次に、バイアル瓶に回収液(0.05%ポリソルベート 80 加リン酸緩衝生理食塩水〈pH7.2〉) 500 μ L を充填し、セプタム部分にはブタ皮膚またはシリコン・セプタム、塩化ビニルのいずれかを直径 12mm にカットしてキャップに固定した（各 30 検体）。

その後、汚染鍼を用い、バイアルのセプタム部分へ 30mm 穿刺した（図 2 はセプタム部分にシリコンを用いて作製したバイアルであり、鍼を穿刺した状態を示す）。鍼が穿刺された状態のままバイアルを攪拌し、バイアル内に侵入した菌を回収した。回収したそれぞれの検体は、100 μ L ずつ 3 枚のトリプトソイ寒天培地に塗抹した後、培養庫内で $32.5\pm 1^\circ\text{C}$ 、48 時間培養した。培養後は目視にて各培地の指標菌のコロニー数を計測した。

(4)成績の検討

ヒト皮膚およびそれに類似した穿刺モデル（ブタ皮膚、シリコン・セプタム、塩化ビニル）へ穿刺して得られた穿通抵抗ピーク値から中央値および四分位範囲を算出した。

培養結果から、ブタ皮膚、シリコン・セプタム、塩化ビニルの菌の貫通陽性率を、また、貫通した菌量（CFU ; colony forming unit）から中央値および四分位範囲を算出し、穿通抵抗ピーク値と貫通菌量および貫通率との相関を求めた。統計処理には統計ソフト JMP[®] 9(SAS Institute Japan 社製)を用いた。

なお、培養の結果、コロニー数の合計が 0 であった検体については、統計処理の都合上、3 枚の培地の合計コロニー数を 1CFU として処理を行った。

結 果

(1)ヒト皮膚およびそれに類似した穿刺モデルの穿通抵抗ピーク値の測定（表 1・図 13）

TENSILON[®] 万能材料試験機を用いてヒト皮膚に鍼を穿刺した場合の穿通抵抗曲線を図 9 に示す (n=10)。また、この際の穿通抵抗ピーク値は中央値 30.2（四分位範囲 25.6-32.9）

gram-force (gf) であった。

一方、ブタ皮膚に鍼を穿刺した場合の穿通抵抗曲線を図 10 に示す (n=10)。また、この際の穿通抵抗ピーク値は 99.7 (94.0-120.6) gf、同様に、シリコン (図 11) では 40.0 (39.5-41.9) gf、塩化ビニル (図 12) では 8.4 (8.2-10.3) gf であった。

(2)人工汚染させた鍼を用いた穿刺実験 (表 2・図 14)

本実験で使用した人工汚染鍼 (コントロール群 n=25) に付着していた *B. subtilis* の菌量は、中央値 2.56 (四分位範囲 2.44-2.74) $\log_{10}$ CFU であり、最小値は 2.01 $\log_{10}$ CFU、最大値は 2.92 $\log_{10}$ CFU あった。

ブタ皮膚への穿刺実験においては、人工汚染鍼を穿刺した場合の菌の貫通陽性率は 10.0% (3/30 検体) であった。その際の貫通した菌量は 0.30 (0.30-0.30) $\log_{10}$ CFU であった。シリコンへの穿刺実験においては、人工汚染鍼を穿刺した場合の菌の貫通陽性率は 80.0% (24/30 検体) であった。その際の貫通菌量は 1.22 (0.79-1.52) $\log_{10}$ CFU であった。塩化ビニルへの穿刺実験においては、人工汚染鍼を穿刺した場合の菌の貫通陽性率 96.7% (29/30 検体) であった。その際の貫通菌量は 1.55 (1.15-2.01) $\log_{10}$ CFU であった。

また、前述の各穿刺モデルの貫通菌量をコントロール群の人工汚染鍼に付着していた菌量で除して、各穿刺モデルにおける菌の貫通率を求めた。表 3 に示すように、ブタ皮膚への穿刺実験における菌の貫通率は 0.6 (0.3-0.6) % であった。同様に、シリコンでは 1.4 (0.5-8.3) %、塩化ビニルでは 8.3 (4.0-24.5) % であった。

(3)穿刺モデルの穿通抵抗ピーク値と貫通菌量の相関性

図 15 に示すように、各穿刺モデルの穿通抵抗ピーク値 (中央値) と貫通菌量 (中央値) の間には強い負の相関 ($y = -0.014x + 1.720$, $R^2 = 0.996$) がみられた。また、各穿刺モデルの穿通抵抗ピーク値と菌の貫通率の間にも同様に相関 ($y = -0.079x + 8.425$, $R^2 = 0.952$) がみられた (図 16)。

考 察

鍼施術における有害事象の発生頻度を調査した前向き調査研究によると、その発生頻度は日本⁹⁾で 0.12%、英国¹⁰⁾で 0.13% との報告があり、医療におけるそれと比較すると低い頻度と言える。さらに、この中で感染が占める割合は低く、いずれの調査においても発症の報告はなかったと述べられている。しかし、このような前向き調査は医療機関でのものであり、個人が開業している鍼灸院における頻度がこれに一致するとは限らず、鍼施術による感染の頻度や原因についても依然として不明である。

そこで、鍼施術に関連した感染の危険性を示すためには、施術時の感染リスク要因を汚染モデルなどを用いて実験的に検証し、エビデンスを示す必要があると考え、ヒト皮膚に似せた疑似穿刺モデルの作製を試みた。そして、その穿刺モデルがヒト皮膚の代替として妥当であるかを検証するために、鍼を穿刺した際の穿刺抵抗をヒト皮膚と比較した。その結果、穿通抵抗ピーク値による比較では、ヒト皮膚と構造が類似していたブタ皮膚 (厚さ約 2mm) が最も解離した高値を示し、実際に刺鍼練習モデルとして使用されていた塩化ビ

ニル（厚さ 1.5mm）は最も低い値を示した。そして、刺入した感覚が実際の皮膚に類似していたシリコン（厚さ 1mm）が最もヒト皮膚に近似した値を示した。

一方、人工汚染鍼を用いた穿刺実験では、ブタ皮膚における貫通陽性率は極めて低く、また侵入する菌量も少量であり、ついでシリコン、塩化ビニルの順に貫通する菌量、貫通率が上昇する傾向にあった。そこで、各検体の穿通抵抗ピーク値と鍼穿刺時の貫通菌量および貫通率の相関性をみたところ、それぞれの間には負の相関がみられ、穿通抵抗ピーク値が高度であるほど細菌は皮下へ到達しがたいことが示唆された。よって、ヒト皮膚の代替モデルの選定には、組織の厚さや構造上の類似点を指標とするよりも、鍼を刺した場合の穿通抵抗ピーク値を指標とする方が適切であると考えられた。

本実験では、指標菌として枯草菌芽胞 *B. subtilis* ATCC 6633 を用いた。実際の鍼灸の臨床現場を考慮するならば、施術環境下で多く検出されるブドウ球菌属^{11,12)}などを指標としたほうが適していたとも言える。しかし、今回は確実に菌を回収することに重点を置き、乾燥などに強いことなどを考慮して芽胞を用いた。また、鍼を汚染する際に用いた菌液は 10^8 CFU/mL という極端なものであったが、実際、鍼体の先端 20mm に付着していた菌量としては 10^2 CFU/本程度にとどまった。このことは、鍼の直径が細いため、指標菌が付着しにくかったことを示しており、臨床においても同様に高濃度の汚染は起こりにくいことが示唆された。

指標菌を媒介する物質としては、0.3%ウシ血清アルブミン水溶液を用いた。これは、一度体内に刺入し、血液や体液が付着した鍼を再度手指で触れ、鍼が汚染された状態を想定したものである。0.3%ウシ血清アルブミン水溶液は、前述した先行研究⁹⁾においても使用しており、アルブミンと混合することで一度付着した菌が剥離され難くなった状態を作っている。

穿刺モデルとしては、ブタ皮膚、シリコン・セプタム、塩化ビニルをヒト皮膚の代替モデルとして検討した。今回の実験では、Yucatan Micro Pig Skin というヒトの皮膚に構造上類似している種類のものを用いた。これは薬剤の皮膚透過試験の研究⁸⁾などに用いられているものであるため穿刺モデルとして採用した。しかし、構造上の類似点はあるものの、鍼を穿刺した場合の穿刺抵抗が高く、皮膚の硬さという点でヒト皮膚の代替モデルとしては適さないことが分かった。また、刺鍼練習用塩化ビニル素材は、鍼灸教育の現場で初学者が刺鍼練習用シミュレーターとして導入されているものであるため採用した。しかし、穿通抵抗が非常に低く、刺入も容易であるためヒト皮膚と比べた場合、菌の貫通率が高値となるモデルであると考えられた。一方、シリコンについては、先行研究⁹⁾において使用していた素材であり、鍼の刺入感覚としても最もヒト皮膚に近いと、今回の実験にも採用した。穿通抵抗測定の結果からは図 9・11 に示すようにヒト皮膚の場合に描かれる曲線とは形が異なるものの、ピーク値がそれに近い値を示していた。よって、三者の比較では、シリコンがヒト皮膚の代替モデルとしては最も適していると考えられた。なお、本実験で用いたシリコン・セプタムより厚さの薄い製品であれば、ヒト皮膚の穿通抵抗ピーク値により近い値を示すものと推察されるが、シリコン・セプタム製品では厚さ 1mm が最も薄いものであるため、更なる比較はできなかった。

また、人工汚染鍼を用いた穿刺実験をヒト皮膚に置き換え行った場合、図 16 から得られた近似曲線をもとに菌の貫通率を算出すると約 6%と予想され、本実験のように鍼に 10^2

個程度の細菌汚染が起きた場合、皮下には 10^1 個程度の菌が侵入することが示唆された。この菌量は通常の施術ではあまり問題にならない程度の汚染とも考えられるが、施術対象が易感染性患者（感受性宿主）の場合や鍼が関節内・血管内に穿刺された場合には十分感染が成立する危険性があると考えられた。

現在、鍼灸の安全性に関するガイドライン^{1,2)}では、無菌的な刺鍼方法（鍼体を素手で触れない刺鍼方法）やディスポーザブル鍼の使用、鍼の単回使用などが推奨されている。しかし、これらには強い強制力はなく、開業鍼灸師において徹底されているとは言えない。現に臨床現場では、前述したように、素手による施術^{4,5)}やディスポーザブル鍼でありながら単回使用にとどめず、一度生体内に刺入した鍼を繰り返し刺入することがあり⁵⁾、ディスポーザブル鍼が普及している現在においても、感染制御策が万全でないことがうかがえる。そこで、今後は本実験で採用したシリコン穿刺モデルを用いて、様々な鍼の汚染状況を想定した実験を行うことで、臨床における感染リスク要因となる鍼の使用法や使用環境などを示すことができるものとする。

結 論

ヒト皮膚に類似した 3 種類（ブタ皮膚、シリコン、塩化ビニル）の穿刺モデルを作製し、その検体に人工汚染させた鍼を穿刺した場合の穿通抵抗ピーク値と貫通する菌量などとの関連性を検証した。

その結果、穿通抵抗ピーク値の比較では、シリコンが最もヒト皮膚に近似した値を示した。一方、人工汚染鍼を用いた穿刺実験では、ブタ皮膚、シリコン、塩化ビニルの順で貫通菌量および貫通率が高く、穿通抵抗ピーク値と貫通菌量および貫通率の間には強い負の相関がみられた。よって、三者の比較では、シリコンがヒト皮膚の代替モデルとしては最も適していると考えられた。

謝 辞

稿を終えるにあたり多大なるご指導を賜りました東京医療保健大学大学院の大久保憲教授、比江島欣慎教授、梶浦工教授、また、実験に際しご協力を頂いたセイリン株式会社生産部および品質管理部の皆様へ深謝致します。

引用文献

- 1) 坂本 歩, 尾崎昭弘, 鍼灸安全性委員会 編. 鍼灸医療安全ガイドライン. 東京: 医歯薬出版社. 2007.
- 2) 全日本鍼灸学会研究部安全委員会. 臨床で知っておきたい鍼灸安全の知識. 神奈川: 医道の日本社. 2009.
- 3) 菅原正秋, 小林寛伊, 大久保憲, 梶浦工, 坂井友実. 鍼施術に関連した感染事例の調査—細菌感染を中心とした文献的検討(会議録). 日本環境感染学会誌. 2012 ; 27 : 339.
- 4) 新原寿志, 村上高康, 池宮秀直, 西村展幸, 尾崎昭弘. 鍼灸における感染防止対策の現状 主に開業鍼灸師を対象としたアンケート調査. 全日本鍼灸学会雑誌. 2003 ; 53 : 646-

657.

- 5) 菅原正秋, 小林寛伊, 大久保憲, 比江島欣慎, 梶浦工, 坂井友実, 他. 鍼灸師養成学校における感染防止対策の実態調査. *日本環境感染学会誌*. 2010 ; 25(4) : 223-228.
- 6) 菅原正秋. 鍼施術における鍼の汚染状況の検討 ―汚染した鍼を用いた実験的検証―. *東京医療保健大学大学院 修士論文*. 2010.
- 7) Lavker RM, Dong G, Zheng PS, Murphy GF. Hairless micropig skin. A novel model for studies of cutaneous biology. *Am J Pathol*. 1991 ; 138(3) : 687-97.
- 8) 藤井まき子. In Vitro 皮膚透過試験におけるモデル皮膚としての Yucatan Micropig 摘出皮膚の評価. *CRJ Letters*. 1996 ; 9(2) : 1-8.
- 9) Yamashita H, Tsukayama H, Hori N, Kimura T, Tanno Y. Incidence of adverse reactions associated with acupuncture. *J Altern Complement Med*. 2000 ;6(4):345-50.
- 10) MacPherson H, Thomas K, Walters S, Fitter M. A prospective survey of adverse events and treatment reactions following 34,000 consultations with professional acupuncturists. *Acupunct Med*. 2001 ;19(2):93-102.
- 11) 仲西宏元, 尾崎昭弘, 芳野温, 他. 鍼灸院内の表面汚染菌と清拭による除菌の検討. *東洋医学とペインクリニック*. 1994 ; 24 : 260-266.
- 12) 尾崎昭弘, 芳野温, 仲西宏元, 他. 鍼灸にみる手指汚染菌とその除菌の検討. *東洋医学とペインクリニック*. 1994 ; 24 : 251-259.

表および図

表 1 各検体の穿通抵抗ピーク値

検 体	最小値	25%	中央値	75%	最大値
シリコン	39.0	39.5	40.0	41.9	42.0
ヒト皮膚	19.7	25.6	30.2	32.9	35.0
ブタ皮膚	78.7	94.0	99.7	120.6	124.0
塩化ビニル	7.5	8.2	8.4	10.3	12.0

(各 n=10 単位 : gf)

表 2 各穿刺モデルの貫通菌量

穿刺モデル	最小値	25%	中央値	75%	最大値
シリコン	0.30	0.79	1.22	1.52	2.80
ブタ皮膚	0.30	0.30	0.30	0.30	0.52
塩化ビニル	0.22	1.15	1.55	2.01	2.31

(各 n=30 単位 : $\log_{10}\text{CFU}$)

表 3 各穿刺モデルの菌の貫通率

穿刺モデル	最小値	25%	中央値	75%	最大値
シリコン	0.5	1.4	4.25	8.3	144.1
ブタ皮膚	0.3	0.3	0.6	0.6	0.6
塩化ビニル	0.4	4.0	8.3	24.5	46.0

(各 n=30 単位：%)

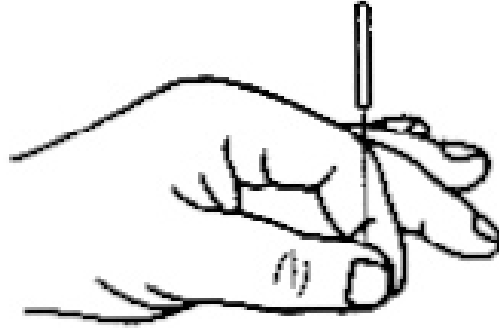


図 1 刺鍼時の押手

押手とは、鍼体を母指と示指で挟み、身体への刺鍼を容易にするものである。

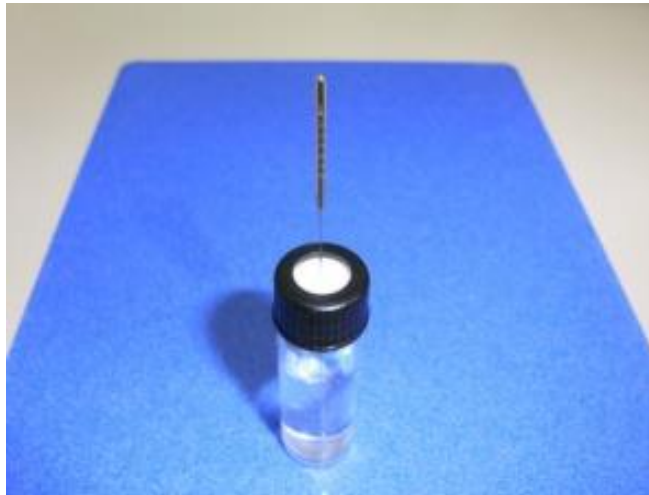


図 2 人体構造（皮膚）に見立てた穿刺モデル

液体クロマトグラフィー用のオートサンプラー・バイアル瓶とシリコン・セプタム（穿刺部分）とで作製した。シリコンは厚さ 1mm・直径 12mm のものを使用した。

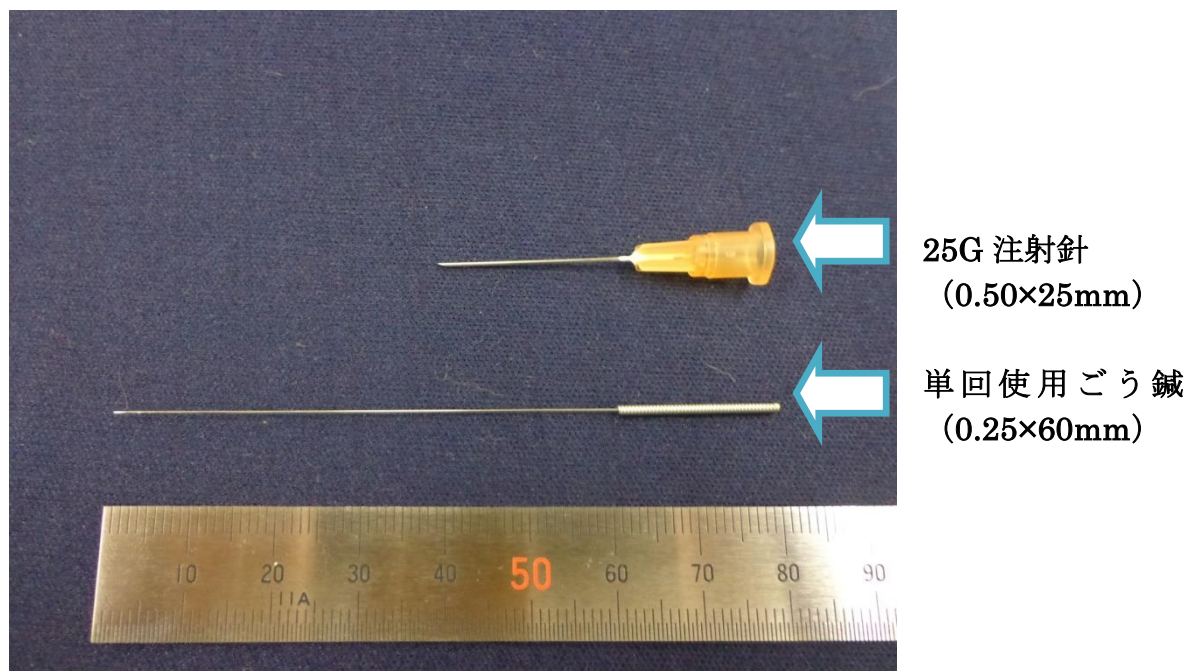


図 3 実験に使用した鍼（単回使用ごう鍼）と注射針との比較



図 4 Yucatan Micro Pig とその皮膚

Yucatan Micro Pig は、家畜のブタと異なり体毛が少なく、体重が 25kg 程度のミニブタで、ヒト皮膚と非常に近似した構造をもっている。右の写真は皮膚を 10×10cm カットして-80℃で凍結してある。

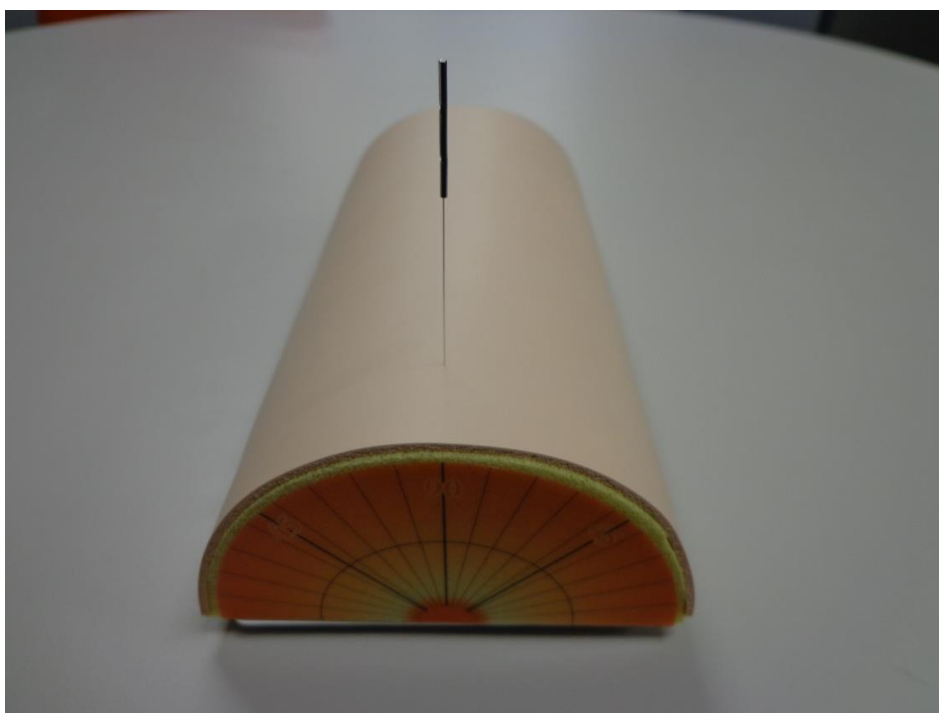


図 5 刺鍼トレーニングパッド®

刺鍼に関する基礎的な技術を習得するための練習するためのシミュレーターである。表面は皮膚に類似した柔らかさを再現するために塩化ビニール素材を使用しており、厚さは 15mm 程度である。

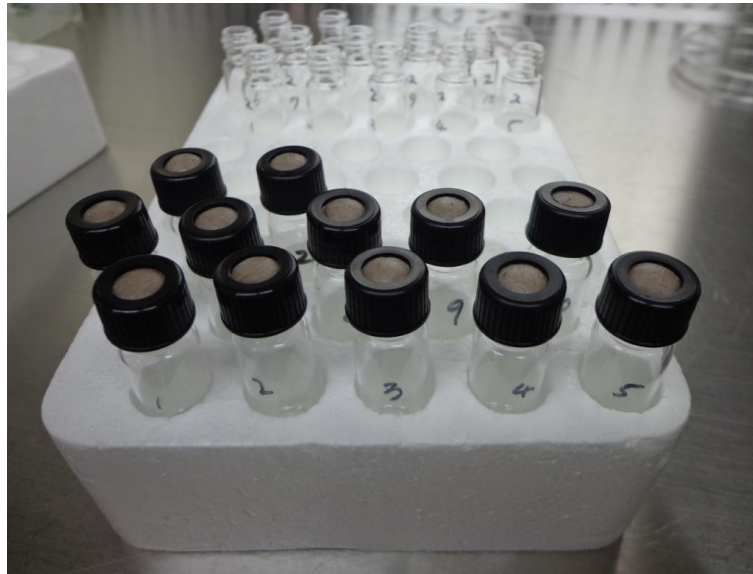


図 6 バイアルの穿刺部分（セプタム）に固定されたブタ皮膚

液体クロマトグラフィー用オートサンプラー・バイアルの穿刺部分（セプタム）にヒト皮膚またはブタ皮膚、シリコン・セプタム、刺鍼練習用塩化ビニール素材のいずれかを直径 12mm にカットし、キャップ部分に固定した。写真はブタ皮膚検体である。

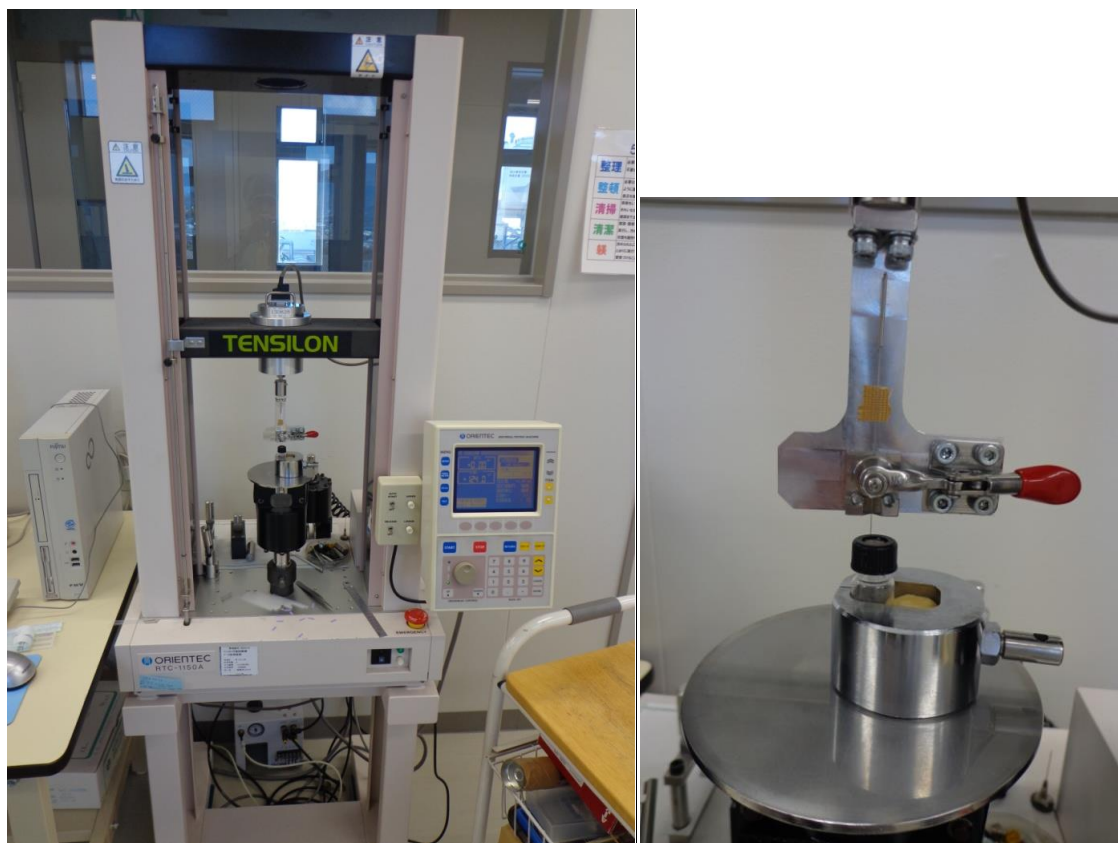


図 7 TENSILON®万能材料試験機
(RTC-1150A ORIENTEC 社製)

汚染鍼の作製

- ・供試菌を用いて $10^8/\text{mL}$ の菌液を作製する



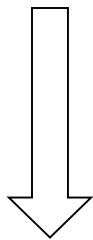
- ・鍼の先端約 20mm を菌液に浸漬し汚染する
- ・その後、1 時間乾燥する



- ・コントロールとして汚染鍼を試験管に入れ、回収液 (500 μL) と混ぜる

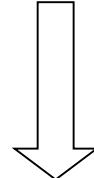


- ・回収液 (100 μL) を標準寒天培地 (各 3 枚) へ塗抹する



穿刺検体の作製

- ・ブタ皮膚、シリコン、塩化ビニルを直径 12mm の円形にカットし、バイアル瓶キャップに固定する
- ・バイアル内には回収液 500 μL を充填する



- ・バイアルの穿刺部分 (セプタム) を汚染鍼で 30mm 穿刺する



- ・バイアルを攪拌し、バイアル内の鍼とセプタム下面から菌を回収する



- ・回収液 (100 μL) を標準寒天培地 (各 3 枚) へ塗抹する



・ $30\pm 1^\circ\text{C}$ で 48 時間培養し、それぞれのコロニー数を計測する

図 8 実験手順

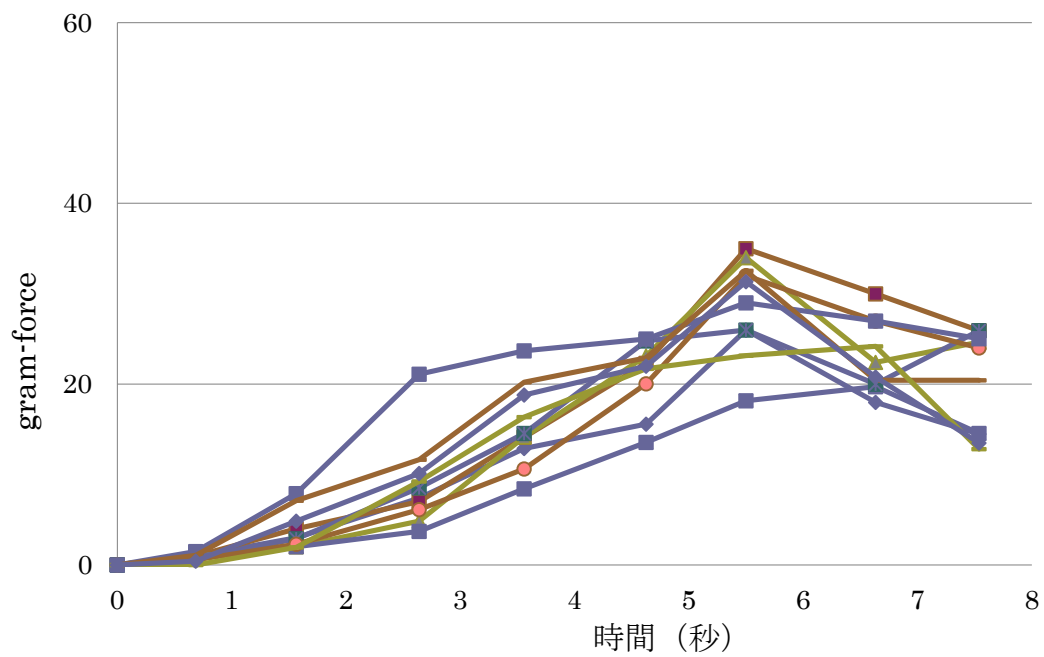


図 9 ヒト皮膚の穿通抵抗

TENSILON®万能材料試験機を用いてヒト皮膚に鍼を穿刺した場合の穿通抵抗曲線 (n=10)。

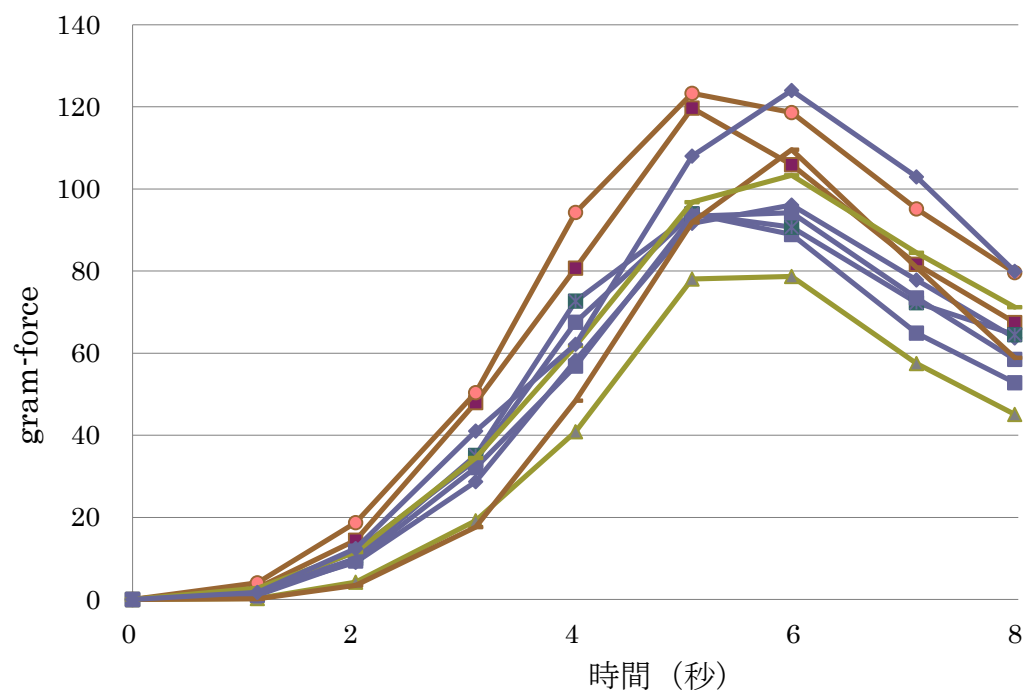


図 10 ブタ皮膚の穿通抵抗

TENSILON®万能材料試験機を用いてブタ皮膚に鍼を穿刺した場合の穿通抵抗曲線 (n=10)。

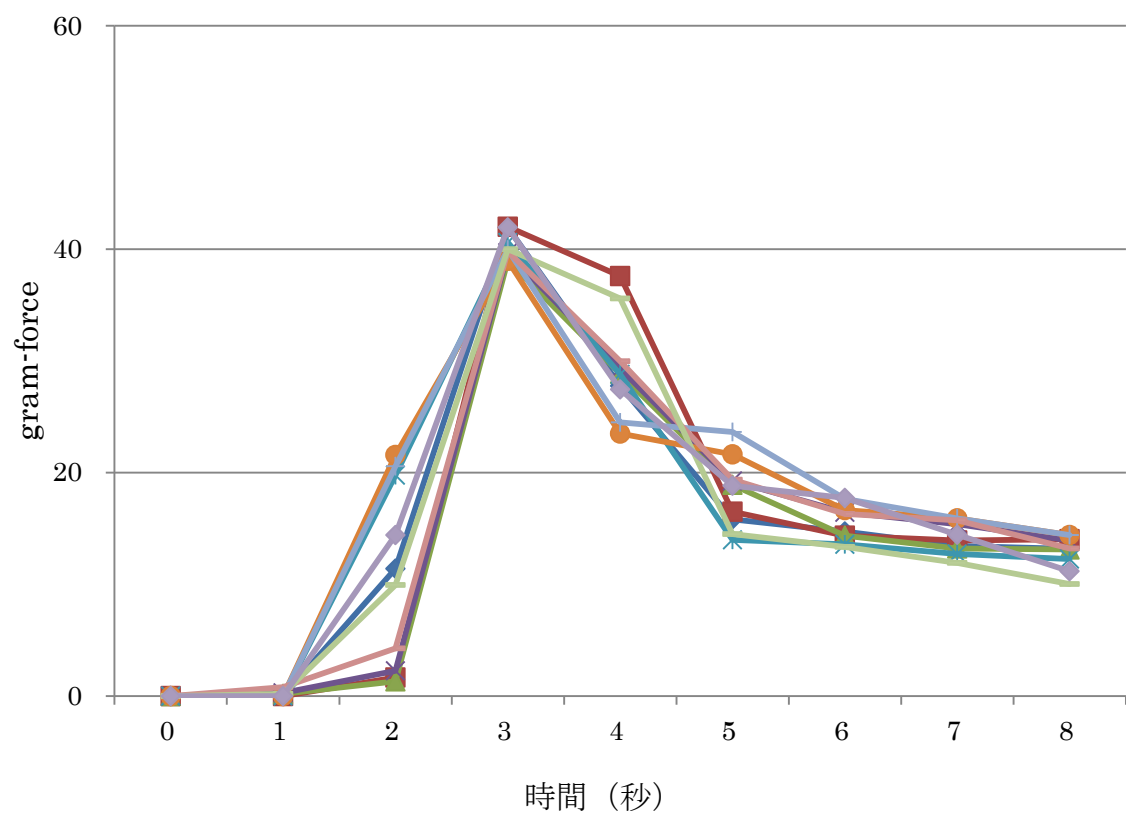


図 11 シリコンの穿通抵抗

TENSILON®万能材料試験機を用いてシリコンに鍼を穿刺した場合の穿通抵抗曲線 (n=10)。

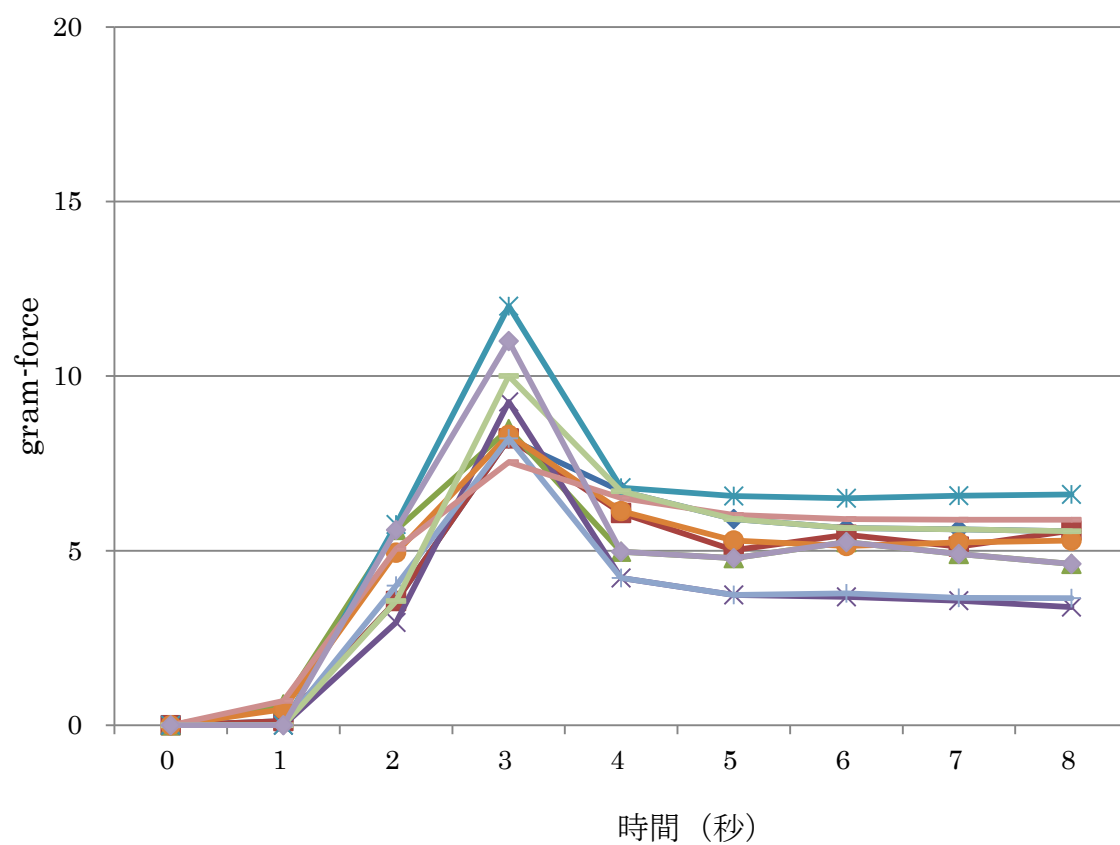


図 12 塩化ビニルの穿通抵抗

TENSILON®万能材料試験機を用いて刺鍼練習用塩化ビニル素材に鍼を穿刺した場合の穿通抵抗曲線 (n=10)。

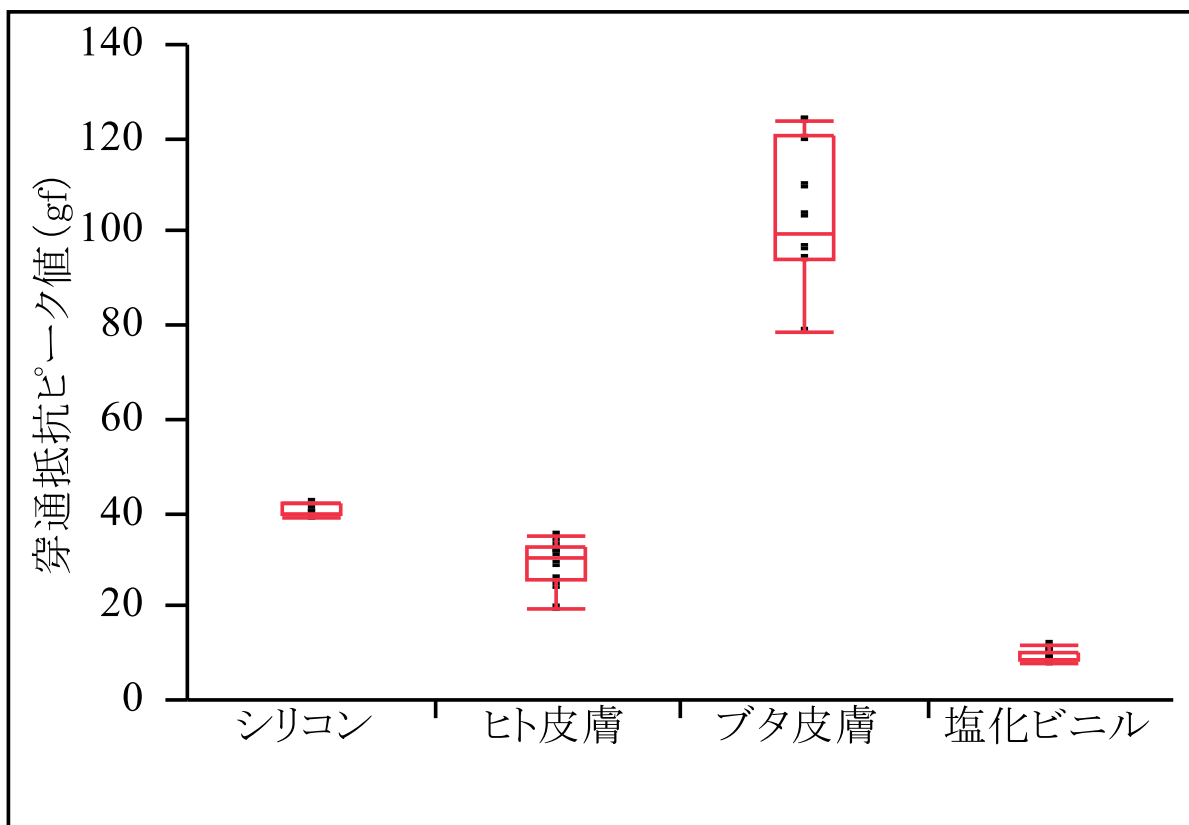


図 13 各検体の穿通抵抗ピーク値 (n=10)

箱ヒゲ図は、上から最大値、90%パーセンタイル、75%パーセンタイル、中央値、25%パーセンタイル、10%パーセンタイル、最小値をあらわしている。

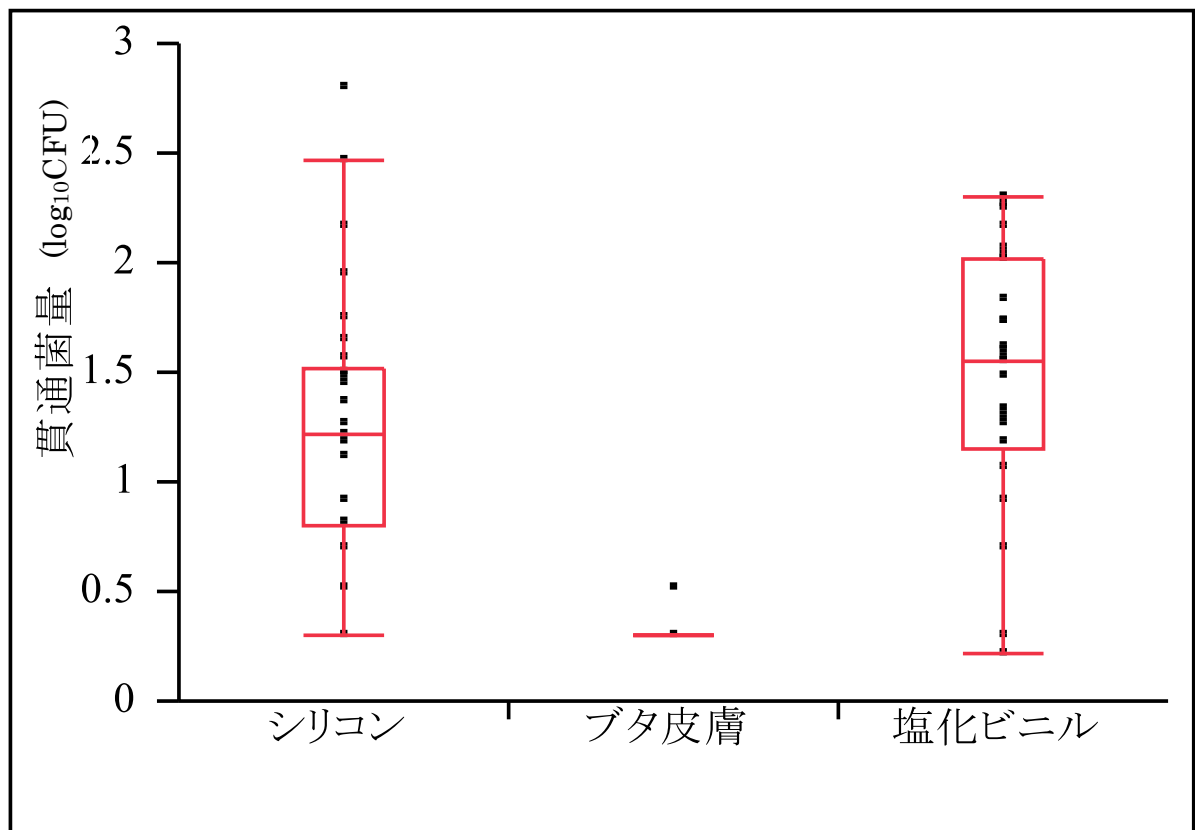


図 14 各検体の貫通菌量 (n=30)

箱ヒゲ図は、上から最大値、90%パーセンタイル、75%パーセンタイル、中央値、25%パーセンタイル、10%パーセンタイル、最小値をあらわしている。

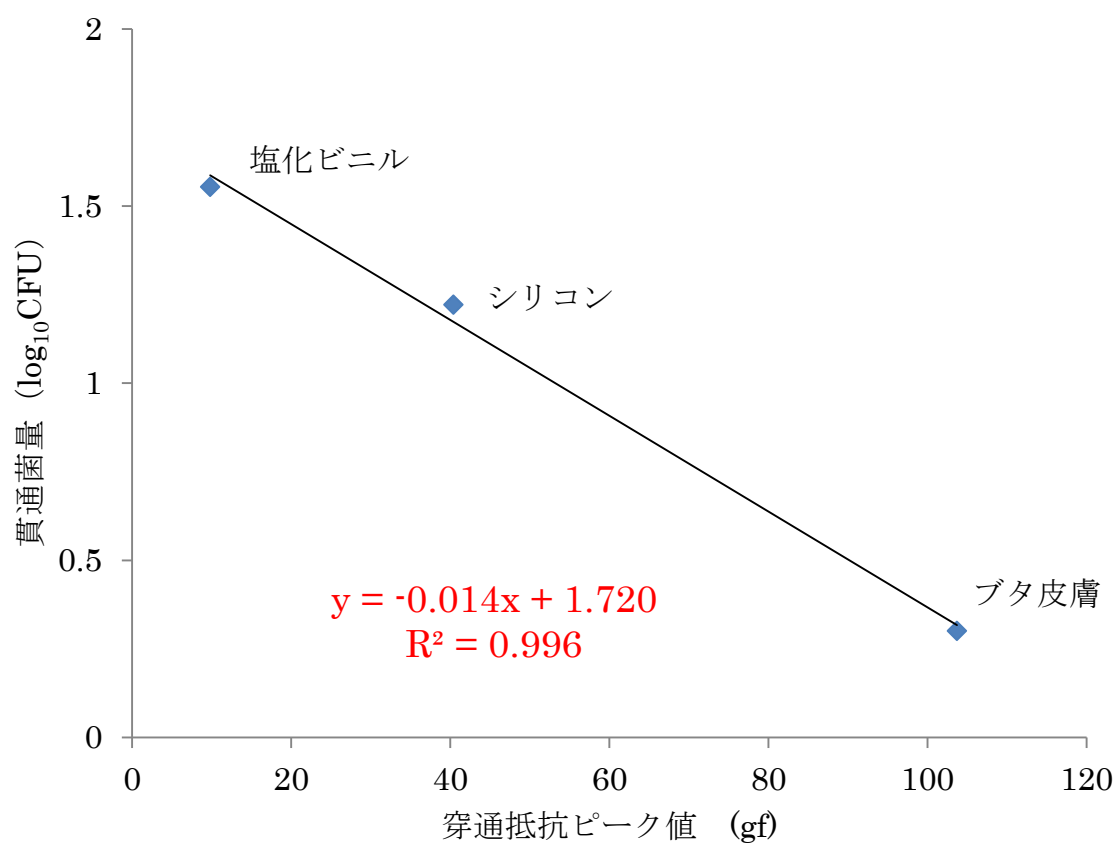


図 15 各検体の穿通抵抗ピーク値（中央値）と
貫通菌量（中央値）の関係

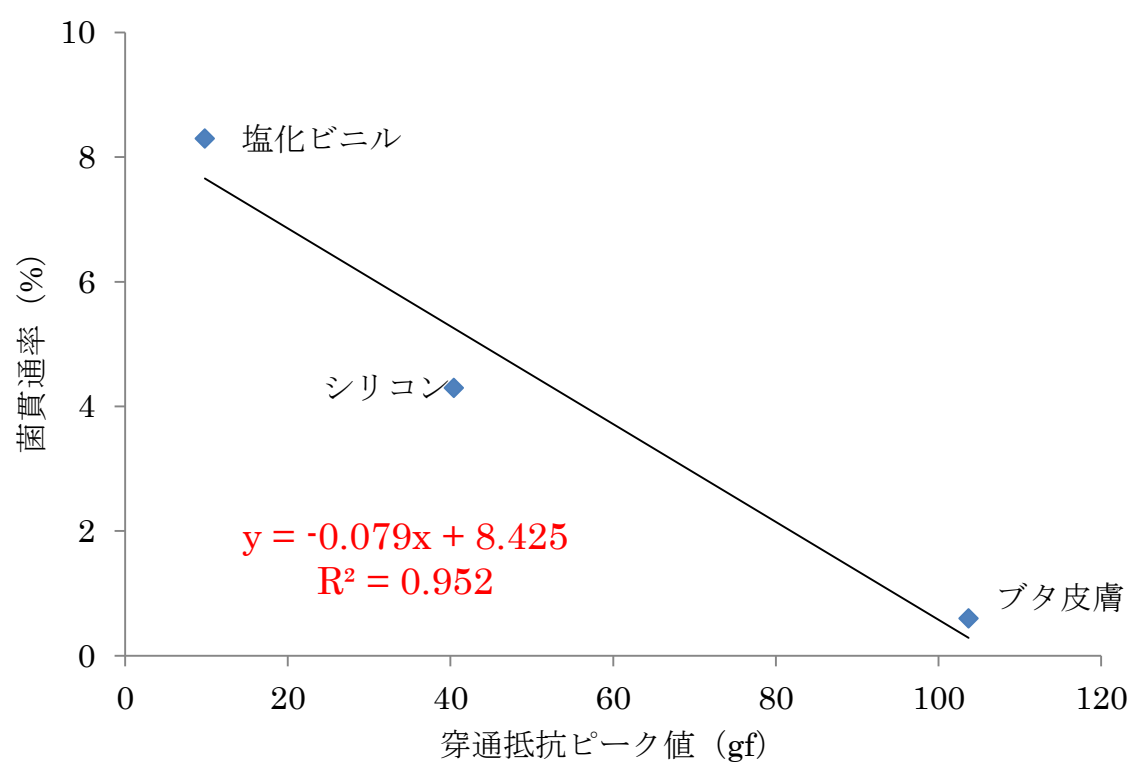


図 16 各検体の穿通抵抗ピーク値（中央値）と
菌貫通率（中央値）の関係

**A Study on Infection Control and Prevention in Acupuncture :
Evaluation of Human Skin Substitutes by Using Contaminated Acupuncture Needles**

Masaaki SUGAWARA

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

Abstract

Introduction

Many previous studies regarding the infection associated with acupuncture have been reported in many medical journals. However, we cannot obtain the detailed information about the mechanism of the infection (such as situation of procedure / vehicle for infection / infection route) in these reports. Therefore, in this study, the surrogate acupuncture models with human skin substitutes were developed and the value of puncture resistance of acupuncture needles through each substitute and the number of bacterial spores by using artificially contaminated acupuncture needles were examined.

Methods

An automatic sampler vial for liquid chromatography was used for manufacturing puncture models. And actual human skin and the substitutes were fixed on the puncture part. The substitutes were three kinds: Yucatan Micro Pig Skin (about 2mm thickness), silicone (thickness of 1mm) and polyvinyl chloride (thickness of 1.5mm).

In Experiment 1, the value of puncture resistance using the surrogate models were measured. In Experiment 2, artificially contaminated acupuncture needles by *Bacillus subtilis* spores (ATCC 6633) were prepared and tapped on the substitutes. Then the spores on the acupuncture needles which penetrated each substitute were collected and cultured on soybean casein digest agar, and then colony forming units (CFU) were counted.

Results

In case of human skins (N=10), the median peak values (25-75% percentile) of puncture resistance of acupuncture needle were 30.2 (25.6-32.9) gf. On the other hand, in case of the substitutes, the peak values were 99.7 (94.0-120.6) gf for pig skins (N=10), 40.0 (39.5-41.9) gf for silicones (N=10), and 8.4 (8.2-10.3) gf for polyvinyl chlorides (N=10).

In the puncture experiment with contaminated acupuncture needles, the median $\log_{10}$ number of spores (25-75% percentile) which penetrated pig skins (N=30) were 0.30 (0.30-0.30) $\log_{10}$ CFU, 1.22 (0.79-1.52) $\log_{10}$ CFU for silicones (N=30), and 1.55 (1.15-2.01) $\log_{10}$ CFU for polyvinyl chlorides (N=30). The puncture resistance peak value of each puncture models was negatively correlated with the number of penetrated spores ($R^2=0.996$).

Discussion

Comparing the peak value of puncture resistance of actual and resembled human skin in the surrogate models, the highest value was pig skin, then silicone, actual human skin and polyvinyl chloride in descending order. The peak value of silicones were closely related to those of actual human skins.

In the experiment results of artificially contaminated acupuncture needles, the lowest number of penetration spores was pig skins, then silicones, polyvinyl chlorides in low order. There was a negative correlation between puncture resistance peak values and number of penetrated spores of test substitute. The statistical results suggest that the number of penetrated spores through those skins by the contaminated needle-insertion became lower with the higher puncture resistance.

The results of this study indicate that the silicone is an appropriate, substitute material for human skin as a surrogate puncture model, since this puncture resistance peak value is closely related to those of actual human skin.