

■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超音波洗浄の評価」

竹内 千恵, 小林 寛伊, 梶浦 工

東京医療保健大学大学院

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

Chie Takeuchi, Hiroyoshi Kobayashi, Takumi Kajiura

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

はじめに

医療現場では数多くの手術器械が使用されており、中央材料部門によって洗浄・消毒・滅菌の工程を経て再使用されている。手術器械の滅菌を確実にこなうためには、洗浄を適切におこなうことが重要である^{1,2)}。

洗浄方法は用手洗浄（浸漬洗浄を含む）、超音波洗浄およびウォッシャーディスイネクターに大別され^{1,3)}手術器械の材質や構造などによって選択される。なかでも、超音波洗浄機は安価なことや、極めて狭い間隙にも洗浄効果を発揮する洗浄法³⁾として、医療現場で広く使用されている。

今回我々は、臨床現場で使用されている鋼製小物のボックスロック部の交差部に形成される間隙の測定結果をもとに、細小間隙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、2種類の洗浄容器を用い、超音波洗浄を実施した前後の菌数を測定し、超音波洗浄法における微生物減少効果から洗浄の評価を試みた。

1. 実験方法

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50～100 μ mと想定し、上下2枚のステンレス板（ステンレス材質：SUS420、縦40mm×横10mm×厚さ3mm）の両端に、厚さ50, 100 μ mのワッシャー（ステンレス材質：SUS304、外径8mm×内径3mm）を挟んで図1のごとく両端をボルトで固定した。



図1 汚染モデル器材として使用したテストピース

2) 疑似汚染

供試菌 *Bacillus subtilis* ATCC 6633 芽胞液（10⁹ /mL）100 μ L と羊血液 900 μ L の混合液を疑似汚染液とした。

3) 超音波洗浄機および洗浄容器

- ① 卓上型超音波洗浄機 (US-20, サクラ精機, 28kHz, 400W)
- ② ステンレスバスケット (US-20 用洗浄カゴ, サクラ精機, ステンレス材質; SUS304 板, 360mm×230mm×200mm, 以下 S バスケットと略) (図2)
- ③ ワイヤバスケット (角型洗浄カゴ, 三和化研, ステンレス材質; SUS304, 215mm×215mm×215mm, 金網ピッチ 5.5mm, 以下 W バスケットと略) (図3)

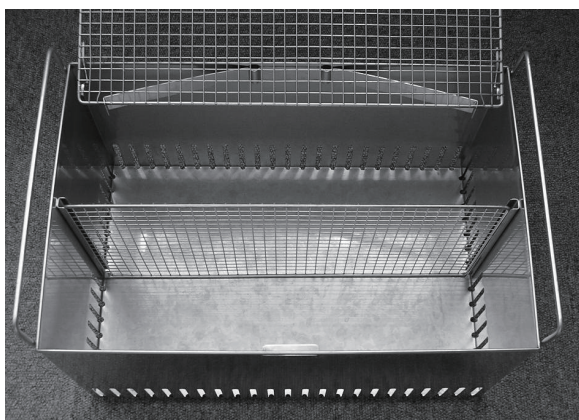


図2 ステンレスバスケット

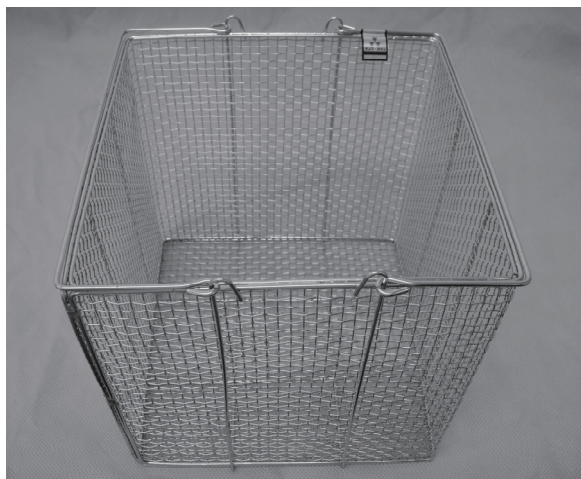


図3 ワイヤバスケット

4) 実験手順

- ① 分解したテストピースの片面中心部分に疑似汚染液 50 μ L を滴下し、マイクロピペットの先端部分で塗り拡げ均一に塗布した。
- 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 50 μ m ないし 100 μ m のワッシャーを挟んで各間隙

を有するテストピースをそれぞれ組み立てた。

- ④ 超音波洗浄機の洗浄槽内にそれぞれの洗浄容器を設置後、14.2L の 1% アルカリ洗浄液 (バイオテクト[®] 66, サクラ・花王, pH12.2) を入れ、40℃ になるまで加温しそのまま放置した。
- ⑤ 組み立てたテストピースを間隙面が水面と垂直になるように静かに浸漬させ、10 分間あるいは 20 分間超音波を発振させた。
- ⑥ 超音波洗浄後のテストピースを取り出し、流水下 (溜め水内) で 3 分間濯いだ。
- ⑦ 濯ぎ後のテストピースをシャーレ内に取り出したのち、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 (US-1KS, エスエヌディ, 38kHz, 60W) により菌を回収した。採取した回収液の一部を PBS で 10 倍段階希釈し、各 100 μ L を Trypticase Soy Agar 培地に塗抹した。
- ⑧ 30℃, 18 時間まで培養したのち、それぞれの細菌数 (colony forming unit ; CFU) をカウントした。
- ⑨ 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。
- ⑩ 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 ($\log_{10}$ CFU) に変換した。
- ⑪ 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。

2. 結果

各テストピースから検出されたコロニー数 ($\log_{10}$ CFU) の平均と標準偏差を表 1 に、対数減少値の平均を図 4, 5 に示した。対数減少における平均値の差の検定には t 検定を用い、有意水準 5% にて検定した。

S バスケットを用いた洗浄時間 10 分におけるテストピースの対数減少値は、間隙 50 μ m では 4.83 ± 0.25 (平均 $\pm$ 標準偏差、以下同)、100 μ m では 4.96 ± 0.21 であった。さらに、洗浄時間を 20 分へ延長すると、間隙 50 μ m では 5.06 ± 0.15 、100 μ m では 5.08 ± 0.17 にそれぞれ上昇した。一方、W バスケットを用いた洗浄時間 10 分におけるテストピースの対数減少値は、間隙 50 μ m では 0.31 ± 0.27 、

表1 各テストピースから検出されたテストピース1個当たりの平均菌数と標準偏差 (Log₁₀ CFU±SD)

バスケット	Sバスケット		Wバスケット	
洗浄時間	10分	20分	10分	20分
control	6.56±0.15		6.56±0.15	
テストピースの間隙 50μm	1.70±0.27	1.47±0.13	6.27±0.26	6.33±0.34
テストピースの間隙 100μm	1.57±0.22	1.45±0.08	6.16±0.84	6.29±0.26

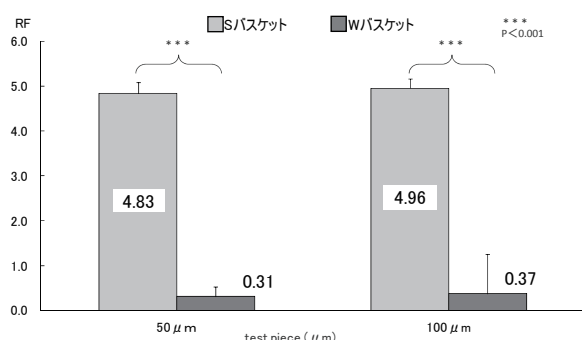


図4 洗浄時間 10 分における各テストピースの菌数の対数減少値 (n=6)

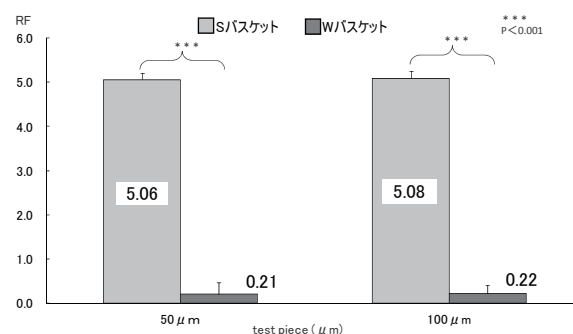


図5 洗浄時間 20 分における各テストピースの菌数の対数減少値 (n=6)

100μm では 0.37±0.88 であった。洗浄時間を 20 分へ延長しても間隙 50μm では、0.21±0.27、100μm では 0.22±0.19 であった。

洗浄時間 10 分および 20 分における 50μm、100μm の各テストピースに対する S バスケット群と W バスケット群の RF につき t 検定を行ったところ、どちらの洗浄時間、また各テストピースともに、S バスケット群は W バスケット群に比べ有意に高い RF 値を示した (すべて $p < 0.001$)。

以上をまとめると、S バスケットを使用した超音波洗浄では、間隙 50, 100μm とともに 10 分間の洗浄時間で平均 4-log₁₀ reduction 以上の菌数減少値が得られた。さらに洗浄時間を 20 分間へ延長することで、5-log₁₀ reduction 以上の菌数減少値が得られた。W バスケットを使用した超音波洗浄では、間隙 50, 100μm とともに、洗浄時間を 20 分としてもその菌数減少値は平均 1-log₁₀ reduction 未満であった。

なお、超音波洗浄中の水温は 20 分間の運転において 40℃から 42℃に上昇した。

3. 考察

超音波洗浄の鋼製小物における洗浄評価として、ボックスロック部の交差部を想定し汚染モデル器材の最小間隙を 50μm とした。また超音波洗浄では洗浄容器 (バスケット) が必須であることから、本実験にて用いた超音波洗浄機専用のオールステンレスのバスケットに加え、医療現場で繁用されるワイヤータイプのバスケットの 2 種類を用いて評価を試みた。汚染モデルに対しステンレスバスケットを使用した超音波洗浄では、通常の洗浄時間である 10 分間でも平均 4-log₁₀ reduction 以上の菌数減少値が得られ、超音波洗浄は 50μm という微細間隙に対して、良好な洗浄効果を有することが判明した。しかしながらワイヤーバスケットを使用した場合、洗浄時間を 20 分に延長しても平均 1-log₁₀ reduction 未満であった。網目 1 mm 程度のワイヤーバスケットなどでは、超音波の効果は低減することが報告されている⁴⁾ が、従来我々が用いている網目 5.5mm のワイヤーバスケットにおいても、超音波の洗浄効果は著しく低減することが、今回の検討で明らかとなった。

超音波槽内の洗浄液中には無数の気体分子が存在し、振動板を介して洗浄液中に超音波が発生されると、気体分子に対して正と負の圧力が交互に加わる。正の圧力によって圧縮された気体分子は、負の圧力により激しく膨張する。この繰り返しにより気体分子は高い圧力を持ち、その限界ではじけて消滅する。超音波洗浄は、この気体のはじける時の衝撃波（キャビテーション）により、器械に付着している汚染物を剥離させる³⁾とされている。今回のワイヤーバスケットでの結果が何に起因するかは不明であるが、超音波洗浄において期待する洗浄効果を得るためには、洗浄容器の選択は極めて重要である。

■ 文 献

- 1) 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 2010.
- 2) CDC : Guideline for Disinfection and Sterilization in Healthcare Facilities, 2008
- 3) 伏見了ほか. 洗浄・消毒・滅菌の基本と具体策. 東京. ヴァンメイディカル, 2008, 42-44.
- 4) 石井一英. 超音波洗浄器徹底ガイド. *INFECTION CONTROL* 18(8),2009, 40-43.