

■ Concise communications

業者貸出手術器械 Loan Instruments の汚染評価に関する検討 — 尿検査試験紙による定性的評価の試み —

岡崎悦子, 小林寛伊, 梶浦 工

東京医療保健大学大学院

The examination about the contamination of Loan Instruments:
The trial of the qualitative evaluation with the urine analysis test paper

Etsuko Okazaki, Hiroyoshi Kobayashi, Takumi Kajjura

Division of Infection Prevention and Control Graduate School of Tokyo Healthcare University

要旨:

背景: 目的: 業者貸出手術器械 Loan Instruments (LI) について、手術医療の実践ガイドラインで医療施設の使用
前洗浄・滅菌を推奨しているが、その実態は目視で確認し洗浄せず滅菌している。医療施設での使用後洗浄、施設から返却後の業者による洗浄も推奨事項であるが、半数以上の施設が、受領時に汚染物の残存を見ている。LI
の汚染評価について、目視以外で簡便な評価方法として、尿検査試験紙による定性的評価を検討している。基礎
実験として、疑似汚染蛋白を使用し尿検査試験紙による蛋白の評価を行い、有効性を検討する

方法: 牛血清由来のアルブミンを使用して、複数の濃度の疑似汚染蛋白を作成し、25 μ L 滴下し室温下クリーン
ベンチ内で乾燥させたテストピース (TP) を作成した。滅菌水 100 μ l で湿らせた綿棒で TP を拭き取り、尿検査
試験紙に接触させ蛋白の定性評価を行った。また、TP を滅菌水 1ml で攪拌し、クマシー試薬と反応させて 595nm
の吸光度を測定し、蛋白量を算出した。尿検査試験紙の比色段階 (測定範囲) の基準と実験結果を比較し、汚染
評価の方法として有効性を検討した。

結果: 定性評価は蛋白量 10000 μ g/ml が 4+, 3000 μ g/ml は 3+の比色段階であるが、実験結果では 10000 μ g/ml
と 5000 μ g/ml、2500 μ g/ml でも 4+を発色した。1000 μ g/ml は比色段階 2+であるが、実験結果では 1000 μ g/ml
は全て 3+を発色し、500 μ g/ml でも 3+の発色が見られた。また、300 μ g/ml は 1+, それ以下では陰性を示す基
準であるが、250 μ g/ml では 2~3+, 100 μ g/ml でも 1~2+の結果が得られた。作成した疑似汚染蛋白と実測値
を比較すると、実測値の方が蛋白量は少なかった。

考察: 拭き残しや試験紙へ接触させるときの綿棒の残留などから、基準の比色段階までは反応しないのではない
かという懸念があったが、基準の比色段階ごおりの発色、それ以上の段階の発色まで見られた。TP の蛋白量の測
定では、想定より少ない値を示した。尿検査試験紙による汚染蛋白の定性評価において、検体を拭き取り採取し
試験紙へ接触させる方法で評価可能であった。

Key words: 業者貸出手術器械 Loan Instruments, 汚染評価, 尿検査試験紙,
蛋白質

はじめに

日本手術医学会の手術医療の実践ガイドライン¹⁾は、
業者貸出手術器械 Loan Instruments (LI) について医療施設

の使用前洗浄・滅菌を推奨している。しかし、その実
態^{2) 3)}は、目視で LI の汚染を確認し汚染がなければ洗浄
せず滅菌している。医療施設での使用後洗浄、施設から返
却後の業者による洗浄も推奨事項であるが、半数以上の施設
が受領した LI に汚染物の残存を見たことがあった。

目視の汚染検出感度は低く確実性に欠け、信頼性も低い⁴⁻⁷⁾。LIの汚染評価について、目視以外で簡便な評価方法を検討し、今回、どこの医療施設にもある尿検査試験紙による定性的評価を試みた。

1. 目的

LIの汚染について、尿検査試験紙を用いて蛋白質の定性的評価を行うために、疑似汚染蛋白を使用し、尿検査試験紙による評価の有効性を検討する。

2. 方法

試薬添付の濃度既知の牛血清アルブミン (2mg/mL) を 0、2.5、5、10、15、20、25 $\mu\text{g/mL}$ の濃度に希釈して、その 1 mL とクマシー試薬 (サーモフィッシャーサイエンティフィック (株)) 1 mL を反応させたときの吸光度 (595nm) を分光光度計 (島津製作所 UV-2200) にて測定し、検量線を求めた。

牛血清由来のアルブミン (Albumin, from Bovine Serum Cohn Fraction V, pH7.0® Wako 社) を使用し、10000 $\mu\text{g/mL}$ 、5000 $\mu\text{g/mL}$ 、2500 $\mu\text{g/mL}$ 、1000 $\mu\text{g/mL}$ 、500 $\mu\text{g/mL}$ 、250 $\mu\text{g/mL}$ 、100 $\mu\text{g/mL}$ 、50 $\mu\text{g/mL}$ 、25 $\mu\text{g/mL}$ 、10 $\mu\text{g/mL}$ の疑似汚染蛋白を作成した。直径 20mm のステンレス版 (SUS304, グレード 2B 処理、EN13697 準拠) の中央に

それぞれ 25 μL 滴下し、室温下クリーンベンチ内で乾燥させた (以下、テストピース (TP))。滅菌水 100 μl で湿らせた綿棒で、TP を拭き取り、それを尿検査試験紙 (エームス尿検査試験紙® SIEMENS 社) に接触させ蛋白の定性評価を行った。また、TP を滅菌水 1ml で攪拌し、クマシー試薬と反応させて 595nm の吸光度を測定し、蛋白量を算出した。尿検査試験紙の比色段階 (測定範囲) の基準 (表 1) とこれらの結果を比較し、汚染評価の方法として有効性を検討した。

なお、拭き取りの手技や個人の色覚による定性判定への影響を考慮し、実施者は一人に限定した。

3. 結果

タンパク濃度とクマシータンパク測定試薬による吸光度との関係について、アルブミン濃度 ($\mu\text{g/mL}$) を X 軸、吸光度を Y 軸としてプロットしたものを図 1 に示した。また、そこから得られた吸光度とタンパク量につき、以下の関係式 (一次式) を得た。

$$y (595\text{nm の吸光度}) = 0.0248x (\text{タンパク濃度}) + 0.4871$$

疑似汚染蛋白は、尿検査試験紙の基準を含めた数段階の濃度のものを作成した。各 TP の尿検査試験紙による蛋白の定性評価、蛋白量の測定値の平均と標準偏差は、表 2 のような結果であった。蛋白の定性評価は、発色にむらが見られるものもあったが、濃度の高い方で判定し

表 1 尿検査試験紙の比色段階 (測定範囲)

蛋白量 mg/dl	陰性	30	100	300	1000
比色段階		1+	2+	3+	4+

表 2 各テストピースの定性評価及び蛋白量の測定値の平均と標準偏差

疑似汚染蛋白濃度	定性判定 (n=3)			蛋白量 $\mu\text{g}/25\mu\text{l}$ (n=3)
10000 $\mu\text{g/mL}$	4+	4+	4+	168.05±45.08
5000 $\mu\text{g/mL}$	4+	4+	4+	114.12±1.54
2500 $\mu\text{g/mL}$	4+	4+	3+	56.78±12.71
1000 $\mu\text{g/mL}$	3+	3+	3+	17.23±2.88
500 $\mu\text{g/mL}$	3+	2+	3+	5.13±0.83
250 $\mu\text{g/mL}$	3+	2+	2+	0.37* ¹
100 $\mu\text{g/mL}$	2+	1+	1+	0.47* ¹
50 $\mu\text{g/mL}$	—	—	—	* ²
25 $\mu\text{g/mL}$	—	—	—	* ²
10 $\mu\text{g/mL}$	—	—	—	* ²

*¹ 1 回のみ測定

*² 検出限界以下

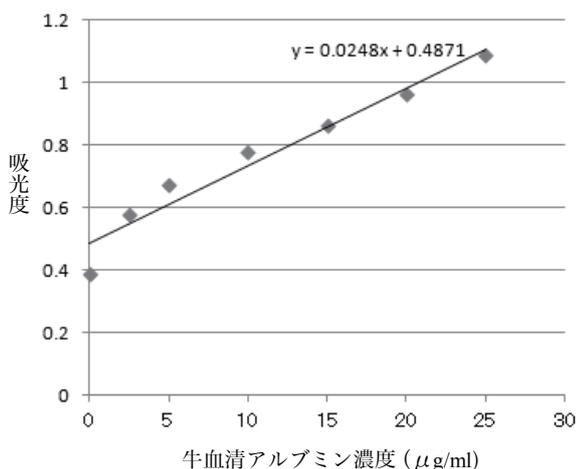


図1 標準タンパク濃度(牛血清アルブミン)と吸光度(595nm)との関係(n=3)

た⁸⁾。1mlあたりの蛋白量に換算し、疑似汚染蛋白および定性評価の基準と比較した(表3)。定性評価は、例えば、10000µg/mlは4+、3000µg/mlは3+の比色段階であるが、実験結果では10000µg/mlと5000µg/ml、2500µg/mlでも4+を発色した。1000µg/mlは比色段階2+であるが、実験結果では1000µg/mlは全てが3+を発色し、500µg/mlでも3+の発色が見られた。また、300µg/mlで1+、それ以下では陰性を示す基準であるが、250µg/mlでは2~3+、100µg/mlでも1~2+の結果が得られた。作成した疑似汚染蛋白と実測値を比較すると、表のように実測値の方が蛋白量は少なかった。

4. 考 察

洗浄効果判定⁹⁾の指標となる物質は、ヘモグロビンやアルブミンなどの蛋白質、ヘモグロビンが有するペルオキシダーゼ様活性、組織内蓄積脂肪(中性脂肪)、ATP

がある。日本医療機器学会では、汚染器械の清浄度を調査、把握し、それを踏まえて洗浄後の清浄度の指標として器械残留蛋白質許容量、目標値を示している¹⁰⁾。医療施設は「時間がない」「人手不足」などの理由から、LI受領時に目視による汚染評価に頼っている。洗浄効果の判定方法は、色素染色法、潜血反応法、化学反応法、ATP法などある。医療現場の状況を踏まえ、現場で測定できる、迅速に結果が得られる、操作が簡便、試薬の残存など器械に影響を残さない、どこの医療施設でもある尿検査試験紙による評価を選択した。

今回は、LIを測定する前に、基礎実験として疑似汚染蛋白を使用して、尿検査試験紙による評価とクーマシー法による蛋白量の測定を実施した。汚染を滅菌水で湿らせた綿棒で、TPを拭き取り、それを尿検査試験紙に接触させ定性評価を行うという方法をとった。綿棒を試験紙に接触させる方法の影響か、試験紙の発色にむらが見られるものもあった。少しでも汚染を拾い上げる目的のため、高い濃度の発色を判定結果とした。拭き残しや試験紙へ接触させるときの綿棒の残留などから、基準の比色段階までは反応しないのではないかという懸念があった。しかし、基準の比色段階どおりの発色、それ以上の段階の発色まで見られた。TPの蛋白量の測定では、想定より少ない値を示した。

尿検査試験紙による汚染蛋白の定性評価において、検体を拭き取り採取し試験紙へ接触させる方法は臨床的活用可能な半定量的評価方法であることが判明した。基準に示された蛋白量以下でも反応したことは特記に値することであり、より少ない微量な汚染でも評価、判定できることが期待できる。今後は更に検体数を増やして実験を行い、尿検査試験紙による評価の有効性を明らかにす

表3 1mlあたりに換算した蛋白量と定性評価の結果及び基準の比色段階

疑似汚染蛋白濃度	蛋白量µg/1ml (n=3)	定性判定 (n=3)	基準の比色段階
10000µg/ml	6721.83±1803.35	4+	4+
5000µg/ml	4564.84±61.46	4+	<4+
2500µg/ml	2271.02±508.45	3~4+	<3+
1000µg/ml	689.31±115.20	3+	2+
500µg/ml	205.04±33.37	2~3+	1+<
250µg/ml	14.72* ¹	2~3+	陰性
100µg/ml	18.75* ¹	1~2+	陰性
50µg/ml	* ²	—	陰性

* 1 1回のみ測定

* 2 検出限界以下

るとともに、個人差のない再現性の良い基準法を明示したい。

■ 文 献

- 1) 日本手術医学会.手術医療の実践ガイドライン 2008.東京：日本医療機器学会 2010.
- 2) 小林寛伊、岡崎悦子、竹内千恵、久保仁. 業者貸出手術器械 Loan Instruments の現状 2009. 日本手術医学会誌 2010;31:213-217
- 3) 岡崎悦子、小林寛伊. 業者貸出手術器械 Loan Instruments の使用前洗浄の現状. 医療関連感染 2010;3:14-17
- 4) Hall, J. R. Blood contamination of anesthetic equipment and monitoring equipment. *Anesthesia and Analgesia*. 1994 78: 1136-1139.
- 5) Phillips, R. A. and Monaghan, W. P. Incidence of visible and occult blood on laryngoscope blades and handles. *Journal of the American Association of Nurse Anesthetists*. 1997 65: 241-246.
- 6) Tordoff, S. G. and Scott, S. Blood contamination of laryngeal mask airways and laryngoscopes- what do we tell our patients?. *Anesthesia*. 2002 57, 505-521.
- 7) 島崎豊、高橋毅. 鋼製小物の実践的な洗浄評価を考える-目視判定と 5 種類の清浄度判定方法を検証して-. 医機学 2005 ; 75 : 625-626
- 8) 日本腎臓学会腎機能 (GFR)・尿蛋白測定委員会報告書.日腎会誌 2001 ; 43 (1) 1-9
- 9) 伏見了、小林寛伊、大久保憲他. 鋼製小物の洗浄のガイドライン 2004. 病院サプライ ; 9 : 11-14.
- 10) 伏見了、松田和久、上寺祐之他. 洗浄評価判定の指針を調査・作成するための検討 WG 報告. 病院サプライ 2007 ; 12:1-3