

内視鏡洗浄用消毒装置 CM-5 の洗浄消毒効果

岩沢篤郎^{1,3}、古田美香²、菅野稔²、目代貴之³、河野雅弘³、庭野吉己^{2,3}

¹昭和大学藤が丘病院 臨床病理科、²株式会社エーゼット中央研究所、

³東北大学未来科学技術共同研究センター

2010.8.25 受付

2011.4.1 受理

要約

2010年5月に医療機器製造販売承認を取得した内視鏡洗浄用消毒装置 CM-5 の洗浄消毒効果を以下の2点から検証した。1) CM-5 が生成する強酸性電解水の殺菌・ウイルス不活化効果、2) CM-5 の臨床的使用条件での洗浄消毒効果。細菌 18 種 20 株、真菌 3 種およびウイルス 3 種 4 株を用いた 1) の試験においては、芽胞形成菌である *Bacillus subtilis* および *Clostridium sporogenes* に対しては、それぞれ 5 分未満および 60 秒未満、莢膜を形成する真菌 *Cryptococcus neoformans* に対しては 30 秒未満と比較的長めの殺菌時間が必要であったが、それ以外の細菌、真菌、ウイルスに対しては、5～15 秒未満で十分な殺菌・不活化効果が得られた。2) の試験においては、供試した細菌 13 種 14 株、真菌 3 種、ウイルス 2 種 3 株を内視鏡内外部に付着させ、臨床使用の条件で洗浄消毒を行った。その結果、*Helicobacter pylori* は洗浄操作なしでも菌が検出できず、評価はできなかったが、それ以外の細菌および真菌に対しては十分な消毒効果 (10⁶ オーダーの殺菌・除菌効果) が得られ、ウイルスも洗浄消毒操作後には分離されなかった。

以上、「内視鏡の洗浄・消毒に関するガイドライン」に従い洗浄機による洗浄消毒の前に予備洗浄を行うことを考えると、内視鏡洗浄用消毒装置 CM-5 を用いた洗浄消毒は、実際の臨床使用に適するものであることが示唆された。

諸言

希薄な食塩水の電気分解で陽極側に生成する強酸性電解水が強力な殺菌作用を示し、様々な分野で注目を集めている。強酸性電解水が殺菌力を有する要因として、低 pH (2.7 以下)、高 ORP (+1100 mV 以上) という強酸性電解水の特長値が Becking ら¹⁾ が示した微生物の生育範囲 (ORP+900～-400 mV, pH 3～10) を逸脱していることがあげられていた。しかし、その後の研究により、現在では電解時に発生する次亜塩素酸を主体とする有効塩素の酸化力によるものであるという説が有力視されている^{2,3)}。強酸性電解水は、食品分野ではカット野菜などの洗浄消毒用として応用され^{4,5)}、医療現場では血液透析装置の洗浄消毒^{6,7)}、透析液ラインの洗浄^{8,9)}、および内視鏡の洗浄消毒^{10,11)}などへの応用が報告されている。内視鏡洗浄用消毒装置 CM-5 (株エーゼット製) は、強酸性および強アルカリ性電解水生成装置を内蔵し、強アルカリ性電解水により洗浄した後、強酸性電解水により殺菌消

毒を行う特定保守管理医療機器として、2010年5月に医療機器製造承認を取得している。本報では、CM-5 の各種病原性微生物に対する殺菌 (ウイルス不活化)・消毒効果を検討した成績を報告する。

材料および方法

被験装置および被験物質

図 1 に示す CM-5 を用いた。図 2 に CM-5 の電解水生成様式を示す。陽極と陰極に内接した 2 つの隔膜に仕切られた 3 室構造を呈し、陽極から強酸性電解水、陰極から強アルカリ性電解水を生成する。殺菌・ウイルス不活化試験に供した被験物質である CM-5 から得られた強酸性電解水は、水道水および電解促進液 (20% 塩化ナトリウム水溶液) を用いて生成した。強酸性電解水の物性値として pH は Model PH82 パーソナル pH メータ・KCl 無補給形電極 K9220YL (横河電機株)、塩素量は高濃度有効塩素計 RC-2Z (笠原理化工業株)、酸化還元電位は Model

庭野吉己：〒980-8575 宮城県仙台市青葉区星陵町 4-1 東北大学大学院歯学研究科
Tel : 022-342-1681 Fax : 022-342-1682 E-mail : niwano@m.tohoku.ac.jp



図1 内視鏡洗浄用消毒装置 CM-5

PH82 パーソナル pH メータ・KCl 無補給形電極 K9220YA (横河電機株) を用いて測定した。生成された強酸性電解水の物性値は、pH 2.68 ± 0.02 有効塩素量 49 ± 13 mg/L 酸化還元電位 1163 ± 18 mV であった。

供試微生物

供試微生物は、消化器内視鏡検査において、感染頻度が多く問題視されている細菌¹²⁻¹⁴)を中心に選定した。真菌については、深在性真菌症の代表的起因菌である *Cryptococcus* 属、*Candida* 属および *Aspergillus* 属からそれぞれ1種を選定した¹⁵)。ウイルスは、Influenza virus および代表的な腸内ウイルスである Coxsackie virus を選定し

た。加えて、ノロウイルスは急性胃腸炎を誘発し、かつ医療機関等で爆発的大発生し世界的に問題視されているウイルスであることから^{16, 17})、ヒトノロウイルスの代替指標である Feline calicivirus^{18, 19})も選定した。表1に供試微生物を示す。

強酸性電解水の殺菌・ウイルス不活化試験

H. pylori および芽胞形成菌以外の栄養型細菌については、以下のように行った。*Campylobacter jejuni* および *Mycobacterium terrae* 以外の細菌は、ソイビーン・カゼイン・ダイジェスト (SCD) 寒天培地で 37°C 、一夜培養した後、滅菌生理食塩水に懸濁し、標準菌濁度液 (栄研化学) を用いて $1.0 \sim 3.0 \times 10^8/\text{mL}$ に調整したものを供試菌液とした。*C. jejuni* は、血液寒天培地で 37°C 、3日間微好気培養、*M. terrae* は、Middlebrook 7H9 液体培地 1 mL 中で 37°C 、14日間培養し、それぞれ同様に $1.0 \sim 3.0 \times 10^8/\text{mL}$ に調整したものを供試菌液とした。この供試菌液 10 μL を強酸性電解水 1 mL に接種混合した。経時的に 10 μL をレシチン・ポリソルベート加ソイビーン・カゼイン・ダイジェスト (SCDLP) 液体培地 1 mL に添加後、 37°C で2日間培養し、目視にて菌の増殖の有無を判定した。また、一部の菌株では強酸性電解水に FBS (ウシ胎児血清、cellect、大日本住友製薬) を添加し同様に殺菌効果試験を行った。

H. pylori は、血液寒天培地で 37°C 、3日間微好気培養した後、上記と同様に滅菌生理食塩水で懸濁し、 $1.0 \sim 3.0 \times 10^8/\text{mL}$ に調整したものを供試菌液とした。この供試菌液 10 μL を強酸性電解水 1 mL に接種混合した。経時的に 10 μL を 7% FBS 添加ブルセラ液体培地 1 mL に添加後、 37°C にて 10% CO_2 インキュベーター内で 3~5 日間培養し、目視にて菌の増殖の有無を判定した。

芽胞形成菌 *B. subtilis* は、SCD 寒天培地で 37°C 、一週間培養したシャーレより集菌し、 65°C 、30分加熱後 4°C 保存したものを使用した。この保存菌液を、上記と同様に $1.0 \sim 3.0 \times 10^8/\text{mL}$ に調整した。この供試菌液 10 μL を強酸性電解水 1 mL に接種混合した。経時的に 10 μL を SCDLP 液体培地 1 mL に

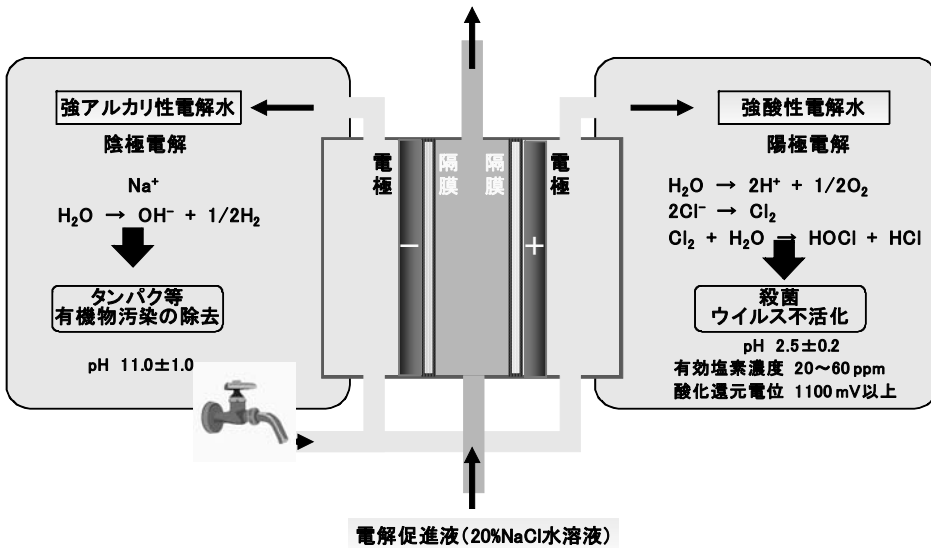


図2 CM-5 電解水生成様式

表1 供試微生物およびウイルス

細菌	
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC25923	<i>Staphylococcus aureus</i> (MRSA) 臨床分離株
<i>Staphylococcus epidermidis</i> ATCC12228	<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC29212
<i>Escherichia coli</i> ATCC25922	<i>Escherichia coli</i> O157:H7 臨床分離株
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC27853	<i>Burkholderia cepacia</i> IFO15124
<i>Xanthomonas maltophilia</i> 臨床分離株	<i>Serratia marcescens</i> 臨床分離株
<i>Klebsiella pneumoniae</i> ATCC13883	<i>Salmonella</i> Typhimurium ATCC14028
<i>Salmonella</i> Enteritidis IFO3313	<i>Vibrio parahaemolyticus</i> IFO12711
<i>Acinetobacter calcoaceticus</i> 臨床分離株	<i>Campylobacter jejuni</i> 臨床分離株
<i>Helicobacter pylori</i> ATCC43504	<i>Mycobacterium terrae</i> JCM12143
<i>Bacillus subtilis</i> IFO13722 (芽胞)	<i>Clostridium sporogenes</i> IFO13950 (芽胞)
真菌	
<i>Candida albicans</i> TIMM1623	<i>Cryptococcus neoformans</i> 臨床分離株
<i>Aspergillus terreus</i> 臨床分離株	—
ウイルス	
Feline calicivirus (FCV/F9)	Coxsackie virus A7 (CA7)
Coxsackie virus B5 (CB5)	Influenza virus A/PR8 (Inf. A)

添加後、37°Cで2～5日間培養し、目視にて菌の増殖の有無を判定した。同じく芽胞形成菌である *C. sporogenes* は、チオグリコール酸液体培地Ⅱで37°C、5日間培養した菌液を遠心集菌後、上記と同様に濁度を調整した供試菌液10 μLを採取した強酸性電解水1 mLに接種混合した。経時的に10 μLをチオグリコール酸培地Ⅰ1 mLに添加後、37°Cの孵卵器で3～5日間培養し、目視にて菌の増殖の有無を判定した。

酵母様真菌である *Cr. neoformans* および *C. albicans* は、サブロー寒天培地（ペプトン1%、スクロース4%、寒天1.5%）で室温にて3～5日間培養した後、上記と同様に1.0～3.0×10⁸/mLになるよう調整した供試菌液10 μLを採取した強酸性電解水1 mLに接種混合した。経時的に10 μLをサブロー寒天培地に塗布後、室温にて3～5日間培養し、目視にて菌の増殖の有無で判定した。糸状菌真菌である *Aspergillus terreus* は、サブロー寒天斜面培地で室温にて3～5日間培養後、滅菌生理食塩水を添加、混和回収し、メッシュで濾過した胞子菌液を、上記と同様に1.0

～3.0×10⁸/mLになるよう調整した。この供試菌液10 μLを採取した強酸性電解水1 mLに接種混合した。経時的に10 μLをサブロー寒天培地に塗布後、室温にて3～5日間培養し、目視にて菌の増殖の有無で判定した。

ウイルスとして供試した Feline calicivirus (FCV/F9) は、CRFK 細胞（ネコ腎臓由来）、Coxsackie virus A7 (CA7)、Coxsackie virus B5 (CB5) は、Vero 細胞（アフリカミドリザル腎臓由来）、および Influenza virus A/PR8 (Inf.A) は MDCK 細胞（イヌ腎臓由来）を感受性細胞として用いた。CRFK 細胞は、10% FBS、NEAA（非必須アミノ酸）加 Eagle's-MEM、Vero 細胞および MDCK 細胞は、5% FBS 加 Eagle's-MEM を用い、37°C、5% CO₂ インキュベーター内で培養した。ウイルス感染後の維持培地は上記培養液の FBS 濃度を 1% とした。使用したウイルス液の感染価（50%細胞変性終末点、TCID₅₀）は、FCV/F9 は 10^{6.75}TCID₅₀/10μL、CA7 は 10^{6.9}TCID₅₀/10μL、CB5 は 10^{8.0}TCID₅₀/10μL、Inf. A は 10^{4.33}TCID₅₀/10μL であった。このウイルス液 10 μL を採取した強酸性電解水 1 mL に接種混合した。経時的に 10 μL を 24 well plate に培養した感受性細胞に接種し 5% CO₂ インキュベーターで 37°C、3～5 日間培養後、細胞変性効果（CPE）を観察し、CPE 出現の有無を判定した。

以上の試験は、すべて2連で実施した。

CM-5 の臨床的使用試験

内視鏡の臨床使用の状況を考え、細菌、真菌およびウイルスを内視鏡の表面およびチャンネル内に付着させ、CM-5 による洗浄消毒を行い、その消毒効果を検証した。内視鏡は、オリンパス光学工業株式会社製上部内視鏡 GIF-XP20 を用いた。供試菌液およびウイルス液の調

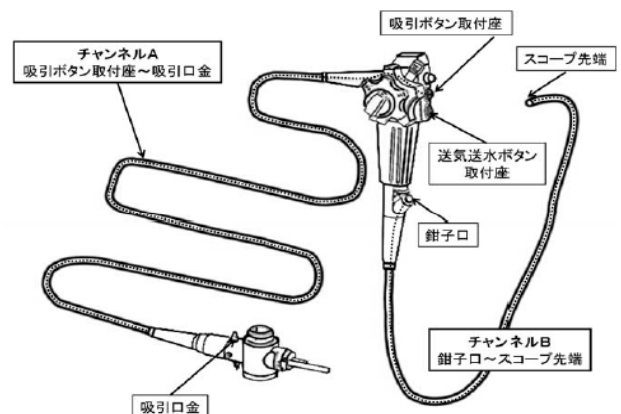


図3 内視鏡の模式図



図4 内視鏡洗浄用消毒装置 CM-5 による内視鏡の洗浄消毒

製は上記の強酸性電解水の殺菌・ウイルス不活化試験と同様に行い、内視鏡への付着は以下のように行った。内視鏡の模式図を図3に示す。吸引ボタン取付座から吸引口金までのチャンネル（チャンネルAとする）に滅菌シリンジを用い、供試菌液あるいはウイルス液を8 mL 注入した。同様に、鉗子口から内視鏡スコープ先端方向までのチャンネル（チャンネルBとする）に滅菌シリンジを用い、供試菌液あるいはウイルス液を8 mL 注入した。内視鏡挿入部分の外表面に菌液あるいはウイルス液を含浸させた滅菌ガーゼを用いて供試菌液あるいはウイルス液を均一に塗布した。常温にて10分間放置し乾燥させることにより、供試菌あるいはウイルスを付着させた。内視鏡の洗浄消毒は、CM-5を用いて図4に示すように、内視鏡をセットし、強アルカリ性電解水洗浄約1分、強酸性電解水消毒約1分30秒からなる全工程約6分の洗浄消毒を実施した。なお対照洗浄として*S. aureus* および*B. subtilis*の2菌種を用い、強アルカリ性電解水洗浄および強酸性電解水消毒の代わりに水道水で同様に処理を行った。検体の採取は、供試菌液付着汚染後、洗浄消毒前（コントロール）と、洗浄消毒後（3回実施）に行った。洗浄消毒後の検体採取は以下のように行った。内視鏡挿入部表面については、滅菌手袋を着用し滅菌ガーゼにて、

内視鏡挿入部の外表面を強く拭き取り、20 mL の滅菌生理食塩水を入れた滅菌チューブに移しサンプル水として回収した。チャンネルAでは、吸引ボタン取付座から滅菌生理食塩水を20 mL 注入し、洗い流された液をサンプル水として回収した。チャンネルBでは、鉗子口から滅菌生理食塩水を20 mL 注入し、洗い流された液をサンプル水として回収した。採取検体の培養は、次のように行った。内視鏡外表面からの採取検体は、vortex mixer で激しく2分間以上攪拌後、寒天平板培地2枚に200 μ L ずつ添加し、滅菌コンラージ棒で均等に塗抹した。チャンネルAおよびBからの採取検体は、3000 rpm、30分間遠心後、上清を除去し残渣をvortex mixer による攪拌後、全量を寒天平板培地に添加し滅菌コンラージ棒で均等に塗抹

表2 強酸性電解水の殺菌・ウイルス不活化効果

微生物名	初発菌数・ウイルス量 (mL)	殺菌時間
<i>S. aureus</i> ATCC25923	2.1×10^6 CFU	< 5 sec.
MRSA 臨床分離株	2.3×10^6 CFU	< 5 sec.
<i>S. epidermidis</i> ATCC12228	3.6×10^6 CFU	< 5 sec.
<i>E. faecalis</i> ATCC29212	2.4×10^6 CFU	< 5 sec.
<i>E. coli</i> ATCC25922	3.2×10^6 CFU	< 5 sec.
<i>E. coli</i> O157:H7	3.1×10^6 CFU	< 5 sec.
<i>P. aeruginosa</i> ATCC27853	6.5×10^6 CFU	< 5 sec.
<i>B. cepacia</i> IFO15124	2.3×10^6 CFU	< 5 sec.
<i>X. maltophilia</i> 臨床分離株	1.3×10^6 CFU	< 5 sec.
<i>S. marcescens</i> 臨床分離株	3.3×10^6 CFU	< 5 sec.
<i>K. pneumoniae</i> ATCC13883	2.1×10^6 CFU	< 5 sec.
<i>S. Typhimurium</i> ATCC14028	1.8×10^6 CFU	< 5 sec.
<i>S. Enteritidis</i> IFO3313	1.5×10^6 CFU	< 5 sec.
<i>V. parahaemolyticus</i> IFO12711	2.0×10^6 CFU	< 5 sec.
<i>A. calcoaceticus</i> 臨床分離株	2.3×10^6 CFU	< 5 sec.
<i>C. jejuni</i> 臨床分離株	3.0×10^6 CFU	< 5 sec.
<i>H. pylori</i> ATCC43504	1.1×10^6 CFU	< 5 sec.
<i>M. terrae</i> JCM12143	4.9×10^6 CFU	< 15 sec.
<i>B. subtilis</i> IFO13722 (芽胞)	4.3×10^6 CFU	< 5 min.
<i>C. sporogenes</i> IFO13950 (芽胞)	4.5×10^6 CFU	< 60 sec.
<i>C. albicans</i> TIMM1623	4.3×10^6 CFU	< 5 sec.
<i>Cr. neoformans</i> 臨床分離株	2.6×10^6 CFU	< 30 sec.
<i>A. terreus</i> 臨床分離株	1.2×10^6 CFU	< 15 sec.
FCV/F9	$10^{6.75}$ TCID ₅₀	< 5 sec.
CA7	$10^{6.9}$ TCID ₅₀	< 5 sec.
CB5	$10^{8.0}$ TCID ₅₀	< 5 sec.
Inf. A	$10^{4.33}$ TCID ₅₀	< 5 sec.

した。消毒前のコントロールは、いずれもそのままの検体の10倍希釈系列を作製し、菌量を測定した。培養試験条件は、上述の強酸性電解水の殺菌・ウイルス不活化試験に準じた。

結果および考察

CM-5 から得られた強酸性電解水の殺菌・ウイルス不活化効果を表2にまとめた。殺菌効果は、検出限界以下になった時間で示した。芽胞形成菌である *B. subtilis* および *Cl. sporogenes* に対しては、それぞれ5分未満および60秒未満、莢膜を形成する真菌 *Cr. neoformans* に対しては30秒未満と比較的長めの殺菌時間が必要であったが、それ以外の細菌、真菌、ウイルスに対しては、5~15秒未満で十分な殺菌効果が得られた。

強酸性電解水の殺菌効果は、たんぱく質などの有機物が存在すると減弱することが知られている^{20,21)}。そこで有機物としてFBSを0.1% (v/v) および0.01% (v/v) になるように強酸性電解水に添加し、殺菌・ウイルス不活化効果

を調べた。結果を表3に示す。0.1% (v/v) 添加では、殺菌に要する時間が延長したが、0.01% (v/v) 添加では強酸性電解水の即効的な殺菌効果は保持されていた。本成績は、強酸性電解水の殺菌・ウイルス不活化効果を十分に引き出すためには、たんぱく質などの有機物を事前に予備洗浄や強アルカリ性電解水による洗浄で除去しておく必要があることを示唆している。

表3-1 強酸性電解水の殺菌効果試験に及ぼす0.1%血清添加の影響

菌種	初発菌数 (CFU/mL)	5秒	15秒	30秒	1分	5分	10分
<i>Staphylococcus aureus</i>	2.1×10^6	+	+	+	+	-	-
<i>Staphylococcus aureus</i> (MRSA)	2.3×10^6	+	+	+	+	-	-
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	3.6×10^6	+	+	+	+	-	-
<i>Escherichia coli</i>	3.2×10^6	-	-	-	-	-	-
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	6.5×10^6	+	+	-	-	-	-
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	2.1×10^6	+	+	+	+	-	-
<i>Serratia marcescens</i>	3.3×10^6	+	+	+	+	-	-

+ : 菌は検出された。 - : 菌は検出されず。

表3-2 強酸性電解水の殺菌効果に及ぼす0.01%血清添加の影響

菌種	初発菌数 (CFU/mL)	5秒	15秒	30秒	1分	5分	10分
<i>Staphylococcus aureus</i>	2.1×10^6	-	-	-	-	-	-
<i>Staphylococcus aureus</i> (MRSA)	2.3×10^6	-	-	-	-	-	-
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	3.6×10^6	-	-	-	-	-	-
<i>Escherichia coli</i>	3.2×10^6	-	-	-	-	-	-
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	6.5×10^6	-	-	-	-	-	-
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	2.1×10^6	-	-	-	-	-	-
<i>Serratia marcescens</i>	3.3×10^6	-	-	-	-	-	-

+ : 菌は検出された。 - : 菌は検出されず。

表4 CM-5 を用いた水道水洗浄試験成績

菌種	挿入部表面	チャンネルA	チャンネルB
<i>Staphylococcus aureus</i>			
コントロール	7.7×10^5 CFU/mL*	1.4×10^9 CFU/mL*	2.2×10^8 CFU/mL*
No.1	2.8×10^4 CFU/mL	9.0×10^3 CFU**	7.5×10^3 CFU**
No.2	2.8×10^4 CFU/mL	7.4×10^3 CFU	9.6×10^3 CFU
No.3	3.1×10^4 CFU/mL	1.1×10^3 CFU	1.0×10^3 CFU
<i>Bacillus subtilis</i>			
コントロール	1.0×10^4 CFU/mL*	8.0×10^6 CFU/mL	2.0×10^4 CFU/mL
No.1	2.6×10^3 CFU/mL	2.7×10 CFU	2.6×10^2 CFU
No.2	3.5×10^3 CFU/mL	1.5×10 CFU	2.0×10 CFU
No.3	4.6×10^3 CFU/mL	2.4×10 CFU	7.6×10^2 CFU

* : 回収したサンプル液の菌濃度を示す。

** : 各チャンネルから回収した全菌量を示す。

次に内視鏡の臨床使用の状況を想定し、供試菌液あるいはウイルス液を内視鏡の表面およびチャンネル内に付着させ、CM-5による洗浄消毒を行い、その消毒効果を検証した。結果を表4および5に示す。水道水を用いた対照洗浄消毒実験(表4)では、*S. aureus*に加え消毒剤に対する抵抗性が高い芽胞形成の*B. subtilis*を用いた。その結果、水道水による洗浄操作のみでも回収菌量の低下が

表5 臨床使用場面を想定したCM-5の洗浄消毒試験成績

細菌	挿入部表面	チャンネルA	チャンネルB
<i>Staphylococcus aureus</i>			
コントロール	7.0×10^5 CFU/mL*	4.6×10^7 CFU/mL*	9.6×10^6 CFU/mL*
No.1	検出されず	検出されず	検出されず
No.2	検出されず	検出されず	検出されず
No.3	検出されず	検出されず	検出されず
<i>Staphylococcus aureus</i> (MRSA)			
コントロール	1.9×10^6 CFU/mL	1.3×10^7 CFU/mL	3.6×10^6 CFU/mL
No.1	検出されず	検出されず	検出されず
No.2	検出されず	検出されず	検出されず
No.3	検出されず	検出されず	検出されず
<i>Enterococcus faecalis</i>			
コントロール	1.0×10^5 CFU/mL	3.6×10^7 CFU/mL	8.2×10^7 CFU/mL
No.1	検出されず	検出されず	検出されず
No.2	検出されず	検出されず	検出されず
No.3	検出されず	検出されず	検出されず
<i>Escherichia coli</i>			
コントロール	4.6×10^6 CFU/mL	1.3×10^8 CFU/mL	5.8×10^7 CFU/mL
No.1	検出されず	検出されず	検出されず
No.2	検出されず	検出されず	検出されず
No.3	検出されず	検出されず	検出されず
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>			
コントロール	2.2×10^5 CFU/mL	2.4×10^7 CFU/mL	8.6×10^6 CFU/mL
No.1	≤ 5 CFU/mL	検出されず	検出されず
No.2	検出されず	検出されず	検出されず
No.3	検出されず	検出されず	検出されず
<i>Xanthomonas maltophilia</i>			
コントロール	3.2×10^6 CFU/mL	1.3×10^8 CFU/mL	7.6×10^7 CFU/mL
No.1	検出されず	検出されず	検出されず
No.2	検出されず	検出されず	検出されず
No.3	検出されず	検出されず	検出されず
<i>Serratia marcescens</i>			
コントロール	8.6×10^5 CFU/mL	1.3×10^7 CFU/mL	1.5×10^6 CFU/mL
No.1	検出されず	検出されず	検出されず
No.2	検出されず	検出されず	検出されず
No.3	検出されず	検出されず	検出されず

表5 臨床使用場面を想定した CM-5 の洗浄消毒試験成績 (続き)

細菌	挿入部表面	チャンネルA	チャンネルB
<i>Klebsiella pneumoniae</i>			
コントロール	7.8×10 ⁶ CFU/mL	8.0×10 ⁶ CFU/mL	1.8×10 ⁶ CFU/mL
No.1	検出されず	検出されず	検出されず
No.2	検出されず	検出されず	検出されず
No.3	検出されず	検出されず	検出されず
<i>Salmonella Typhimurium</i>			
コントロール	7.8×10 ⁶ CFU/mL	9.4×10 ⁷ CFU/mL	8.0×10 ⁷ CFU/mL
No.1	検出されず	検出されず	検出されず
No.2	検出されず	検出されず	検出されず
No.3	検出されず	検出されず	検出されず
<i>Acinetobacter calcoaceticus</i>			
コントロール	2.8×10 ⁶ CFU/mL	8.2×10 ⁷ CFU/mL	2.0×10 ⁷ CFU/mL
No.1	検出されず	検出されず	検出されず
No.2	検出されず	検出されず	検出されず
No.3	検出されず	検出されず	検出されず
<i>Helicobacter pylori</i>			
コントロール	検出されず	検出されず	検出されず
No.1	検出されず	検出されず	検出されず
No.2	検出されず	検出されず	検出されず
No.3	検出されず	検出されず	検出されず
<i>Mycobacterium terrae</i>			
コントロール	6.0×10 ⁵ CFU/mL	5.8×10 ⁶ CFU/mL	4.2×10 ⁶ CFU/mL
No.1	検出されず	検出されず	検出されず
No.2	検出されず	1 CFU**	2 CFU**
No.3	検出されず	検出されず	検出されず
<i>Bacillus subtilis</i>			
コントロール	9.0×10 ⁵ CFU/mL	6.4×10 ⁶ CFU/mL	1.9×10 ⁶ CFU/mL
No.1	≤5 CFU/mL	10 CFU	1 CFU
No.2	検出されず	検出されず	検出されず
No.3	≤5 CFU/mL	8 CFU	検出されず
<i>Clostridium sporogenes</i>			
コントロール	1.2×10 ⁴ CFU/mL	6.7×10 ⁵ CFU/mL	1.3×10 ⁵ CFU/mL
No.1	検出されず	検出されず	検出されず
No.2	検出されず	検出されず	検出されず
No.3	検出されず	検出されず	検出されず

表5 臨床使用場面を想定した CM-5 の洗浄消毒試験成績 (続き)

真 菌	挿入部表面	チャンネル A	チャンネル B
<i>Candida albicans</i>			
コントロール	7.0×10^4 CFU/mL	8.8×10^5 CFU/mL	7.2×10^5 CFU/mL
No.1	検出されず	検出されず	検出されず
No.2	検出されず	検出されず	1 CFU
No.3	検出されず	検出されず	検出されず
<i>Cryptococcus neoformans</i>			
コントロール	1.9×10^5 CFU/mL	1.3×10^6 CFU/mL	1.1×10^6 CFU/mL
No.1	検出されず	検出されず	検出されず
No.2	検出されず	検出されず	検出されず
No.3	検出されず	検出されず	検出されず
<i>Aspergillus terreus</i>			
コントロール	5.0×10^3 CFU/mL	6.6×10^5 CFU/mL	1.2×10^5 CFU/mL
No.1	検出されず	検出されず	検出されず
No.2	検出されず	検出されず	検出されず
No.3	検出されず	検出されず	検出されず
ウイルス	挿入部表面	チャンネル A	チャンネル B
Feline calicivirus FCV/F9			
コントロール	10^{283} TCID ₅₀ /10 μ L	10^{267} TCID ₅₀ /10 μ L	10^{217} TCID ₅₀ /10 μ L
No.1	分離されず****	分離されず****	分離されず****
No.2	分離されず	分離されず	分離されず
No.3	分離されず	分離されず	分離されず
Coxsackie virus A7			
コントロール	10^{317} TCID ₅₀ /10 μ L***	10^{50} TCID ₅₀ /10 μ L***	10^{583} TCID ₅₀ /10 μ L***
No.1	分離されず	分離されず	分離されず
No.2	分離されず	分離されず	分離されず
No.3	分離されず	分離されず	分離されず
Coxsackie virus B5			
コントロール	10^{40} TCID ₅₀ /10 μ l	10^{383} TCID ₅₀ /10 μ l	10^{283} TCID ₅₀ /10 μ l
No.1	分離されず	分離されず	分離されず
No.2	分離されず	分離されず	分離されず
No.3	分離されず	分離されず	分離されず

* : 回収したサンプル液の菌濃度を示す。

** : 各チャンネルから回収した全菌量を示す。

*** : 回収したサンプル液の感染価を示す。

**** (分離されず) : ウイルスによる細胞変性効果が認められなかった (ウイルス感染せず)。

認められたが、完全な除菌・消毒効果には至らないことが確認された。水道水による洗浄効果は、特にチャンネル A およびチャンネル B で強い傾向にあった。上部内視鏡に細菌・真菌・ウイルスを汚染させた本実験において、洗浄消毒後、チャンネル A から *M. terrae* で3回の試験のうち1回で1 CFU、*B. subtilis* で3回の試験のうち2回で10 および8 CFU、チャンネル B から *M. terrae* で3回の試験のうち1回で2 CFU、*B. subtilis* で同様に1 CFU および *C. albicans* で同様に1 CFU とわずかな菌数が検出された以外全て陰性であった。挿入部表面では、*P. aeruginosa* で3回の試験のうち1回で、*B. subtilis* で3回の試験のうち2回で1 CFU 検出されたのみであった（結果の表記は ≤ 5 CFU/mL）。*H. pylori* は未処理検体（コントロール）からも菌を検出することができなかった。*H. pylori* は、微好気環境下でのみ発育可能であるため、供試菌液を注入あるいは塗布した後の常温での10分間の放置乾燥操作で死滅してしまった可能性が考えられる。CM-5 が産生する強酸性電解水による抗微生物試験結果（表2）では、5秒未満で検出限界以下まで殺菌されたことから、CM-5 による洗浄消毒は本菌に対して有効であると推察される。

Spaulding による器具分類では軟性内視鏡はセミクリティカル器具に分類され、高水準消毒が必要とされる（表6）²²⁾。高水準消毒は芽胞が多数存在する場合を除きすべての微生物を死滅させることが基準となっている。ひとつの指標として抵抗性が高い抗酸菌を使用して 10^6 オーダーの洗浄消毒（除菌・殺菌）効果を確認することが挙げられる。今回、*M. terrae* を用いて評価した。挿入部表面の未処理菌数が回収液中濃度換算として 6.0×10^5 CFU/mL となり 10^6 CFU に達しなかったが、ほぼ 10^6 オーダーに近い洗浄消毒効果を確認することができた。さらに、芽胞形成の *B. subtilis* および *Cl. sporogenes* を使用した場合においても、前者で処理後にわずかに菌が認められたもののほぼ 10^6 オーダーの洗浄消毒効果を示すことができたことを考えると、本装置による内視鏡洗浄消毒は十分に効果的と考えられる。また、hepatitis B virus (HBV) や hepatitis C virus (HCV) の内視鏡を介した感染例（HCV の場合は大腸内視鏡）も報告されているが^{23, 24)}、今回用いた Cocksackie virus はポリオウイルスと同じエンテロウイルスに属し、アルコール消毒薬をはじめとする物理化学的処理に抵抗性を示すウイルスである²⁵⁻²⁷⁾。このエンテロウイルスに対しても CM-5 は、強力な洗浄消毒効果を示したことから、CM-5 は HBV や HCV も含めて十分な抗ウイルス効果を発揮すると考えられる。事実、近年注目を集めているノロウイルスに関しても、代替に使用したネコカリシウイルスに対して有効であり、ウイルス

表6 Spaulding による消毒水準分類

滅菌 (sterilization)	いかなる形態の微生物の生命をも完全に排除または死滅させる。
高水準消毒 (high-level disinfection)	芽胞が多数存在する場合を除き、すべての微生物を死滅させる。
中水準消毒 (intermediate-level disinfection)	結核菌、栄養型細菌、ほとんどのウイルス、ほとんどの真菌を殺滅するが、必ずしも芽胞を殺滅しない。
低水準消毒 (low-level disinfection)	ほとんどの栄養型細菌、ある種のウイルス、ある種の真菌を殺滅する。

性胃腸炎患者使用後であっても効果的に使用できることを示唆している。CM-5 の特長は、強アルカリ性電解水および強酸性電解水の生成に3室型電解槽を採用することで（図2）、隔膜（イオン交換膜）を通して電極側に透析されたイオンに水道水を加える方式により豊富な電解水の生成を可能にし、常に新鮮な電解水による洗浄消毒を可能にしている点である。従って、実際の臨床使用場面でも常に用事調製された電解水を用いて洗浄消毒を行うことになるので、今回得られた洗浄消毒効果は、臨床使用場面において良く反映されることが期待される。

内視鏡技師会による「内視鏡の洗浄・消毒に関するガイドライン」第2版¹⁴⁾では、洗浄機による洗浄消毒の前に、内視鏡の吸引洗浄、内視鏡外側の洗浄そして吸引・生検チャンネルのブラッシングを行った後に行うと明記している。したがって、これら予備洗浄を行うことで、CM-5 はより確実な消毒効果を発揮するものと考えられる。

文献

- 1) Becking LGMB, Kaplan IR, Moore D: Limits of the natural environment in terms of pH and oxidation-reduction potentials. *J. Geolog.*, **68**, 243-284, 1960.
- 2) 堀田国元：機能水の利用 強酸性電解水の殺菌機構と応用. *食品と開発*, **33**, 5-7, 1998.
- 3) 岩沢篤郎、中村良子：酸性電解水と擬似的酸性水との殺菌効果の比較検討. *感染症学雑誌*, **70**, 915-922, 1996.
- 4) 小関成樹、伊藤和彦：強酸性電解水を用いたカット野菜の殺菌（第1報）. *日本食品科学工学会誌*, **47**, 722-726, 2000.
- 5) 小関成樹、伊藤和彦：強酸性電解水の有効塩素濃度

- がカット野菜の殺菌効果に及ぼす影響. *日本食品科学工学会誌*, **47**, 888-898, 2000.
- 6) 藤原功一、田仲紀陽、阿部富彌 ほか: 電解強酸性水を用いた血液透析装置の洗浄消毒法. *人口臓器*, **25**, 393-398, 1996.
 - 7) 阿部富彌: 強酸性電解水による透析機器の消毒・洗浄. *機能水医療研究*, **1**, 75-78, 1999.
 - 8) 山本昌則、大門敏也、阿部富彌 ほか: 電解強酸性水による透析液ラインの洗浄 (第1報). *腎と透析*, **40**, 641-645, 1996.
 - 9) 山本昌則、大門敏也、阿部富彌 ほか: 電解強酸性水による透析液ラインの洗浄 (第2報). *腎と透析*, **41**, 133-136, 1996.
 - 10) 佐藤絹子: 強酸性電解水を使用した内視鏡の洗浄消毒. *機能水医療研究*, **1**, 44-46, 1999.
 - 11) 岩沢篤郎、中村良子: 内視鏡 内視鏡機器洗浄・消毒の新しい波 —機能水の活用と効果—. *総合消化器ケア*, **4**, 58-63, 1999.
 - 12) Spach DH, Silverstein FE, Stamm WE: Transmission of infection by gastrointestinal endoscopy and bronchoscopy. *Ann. Intern. Med.*, **118**, 117-128, 1993.
 - 13) Sugiyama T, Naka H, Yabana Y, *et al.*: Is *Helicobacter pylori* infection responsible for postendoscopic acute gastric mucosal lesions? . *Eur. J. Gastroenterol. Hepatol.*, **4(Suppl. 1)**, S93-S96, 1992.
 - 14) 日本消化器内視鏡技師会安全管理委員会: 内視鏡の洗浄・消毒に関するガイドライン (第2版) http://www.jgets.jp/CD_GL2.html
 - 15) Niwano Y: Antifungal Drugs in Fungal Infections. 2003, In Handbook of Fungal Biotechnology, Second Edition, p.453-468, Edited by Drs. Arora, Bridge, and Bhatnagar, Marcel Dekker, Inc. NY, USA.
 - 16) Fankhauser RL, Monroe SS, Noel JS, *et al.*: Epidemiologic and molecular trends of "Norwalk-like viruses" associated with outbreaks of gastroenteritis in the United States. *J. Infect. Dis.*, **186**, 1-7, 2002.
 - 17) Inoue S, Yamashita K, Yamadera S, *et al.*: Surveillance of viral gastroenteritis in Japan: pediatric cases and outbreak incidents. *J. Infect. Dis.*, **181 (Suppl. 2)**, S270-S274, 2000.
 - 18) Doultree JC, Druce JD, Birch CJ, *et al.*: Inactivation of feline calicivirus, a Norwalk virus surrogate. *J. Hosp. Infect.*, **41**, 51-57, 1999.
 - 19) Gehrke C, Steinmann J, Goroncy-Bermes P: Inactivation of feline calicivirus, a surrogate of norovirus (formerly Norwalk-like viruses), by different types of alcohol in vitro and in vivo. *J. Hosp. Infect.*, **56**, 49-55, 2004.
 - 20) 岸井次郎、山内六男、長沢亨: 義歯床用レジンおよび唾液タンパクによる強酸性電解水の性状変化 第1報 pH,酸化還元電位および残留塩素濃度の変化. *歯科材料・器械*, **19**, 27-33, 2000.
 - 21) 岸井次郎、山内六男、長沢亨: 義歯床用レジンおよび唾液タンパクによる強酸性電解水の性状変化 第2報 活性酸素の変化. *歯科材料・器械*, **19**, 34-38, 2000.
 - 22) Rutala WA: APIC guideline for selection and use of disinfectants. 1994, 1995, and 1996 APIC Guidelines Committee. Association for Professionals in Infection Control and Epidemiology, Inc. *Am J Infect Control*, **24**, 313-342, 1996.
 - 23) Birnie GG, Quigley EM, Clements GB, *et al.*: Endoscopic transmission of hepatitis B virus. *Gut*, **24**, 171-174, 1983.
 - 24) Bronowicki JP, Venard V, Botte C, *et al.*: Patient-to-patient transmission of hepatitis C virus during colonoscopy. *N. Engl. J. Med.*, **337**, 237-240, 1997.
 - 25) 野田伸司、渡辺実、山田不二造 ほか: アルコール類のウイルス不活化作用に関する研究 - ウイルスに対する各種アルコールの不活化効果について. *感染症学雑誌*, **55**, 355-366, 1981.
 - 26) Ali Y, Dolan MJ, Fendler EJ, *et al.*: Alcohols. 2001, In Disinfection, Sterilization, and Preservation. 5th Edition, p.229-253, Edited by Block, SS, Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia, USA.
 - 27) 佐藤隆一、和田英己、滝沢真紀 ほか: 各種アルコール系消毒薬の評価. *医学と薬学*, **49**, 713-724, 2003.

Washing and Disinfection Efficacy of the Endoscope Disinfection Device CM-5

**Atsuo IWASAWA^{1,3}, Mika FURUTA², Minoru KANNO², Takayuki MOKUDAI³,
Masahiro KOHNO³, Yoshimi NIWANO^{1,3}**

¹Department of Clinical Pathology, Showa University Fujigaoka Hospital

²Bioscience R & D Center, A to Z Co., Ltd.

³New Industry Creation Hatchery Center, Tohoku University

Abstract

Washing and disinfection efficacy of a newly developed endoscope disinfection device CM-5, which was certificated as a medical device by the Health, Labor and Welfare Ministry of Japan in May 2010, was examined in the following two points. That is, 1) antimicrobial and antiviral efficacy of strong acid electrolyzed water (SAEW) produced by CM-5, and 2) washing and disinfection efficacy of CM-5 under the conditions of clinical use. In the study of 1) in which 20 strains of 18 bacterial species, 3 fungal species, and 4 strains of 3 viral species were used, SAEW needed <5 min and <60 sec to kill *Bacillus subtilis* and *Clostridium sporogenes*, both of which are spore forming bacteria, respectively, and <30 sec to kill *Cryptococcus neoformans*, which is a capsulated fungus. Against any other pathogens, SAEW needed only <5 to 15 sec to kill them. In the study of 2), each pathogen from 14 strains of 13 bacterial species, 3 fungal species, and 3 strains of 2 viral species was attached to both the inside and outside of an endoscope, and then the contaminated endoscope was subjected to the treatment of disinfection process of CM-5. As a result, efficacy against *Helicobacter pylori* was not evaluated because no *H. pylori* were detected even before the treatment. Against any other pathogens, the treatment of CM-5 exerted potent disinfectant efficacy enough to eliminate bacteria and fungi with 6 logarithmic reductions. In addition, no viruses were isolated after the treatment.

Considering the preliminary washing for endoscope as described in the “guideline for disinfection of endoscope”, the endoscope disinfectant device CM-5 is most likely effective for clinical use.