

# 内視鏡定期培養検査プロトコール

日本消化器内視鏡技師会内視鏡安全管理委員会編



会報第 48 号別刷

一般社団法人日本消化器内視鏡技師会

## 内視鏡の定期培養検査プロトコール作成にあたって

内視鏡安全管理委員会

2011年10月、第66・67回日本消化器内視鏡技師学会において「内視鏡の洗浄消毒質保証のためのプロトコール」を報告しました。

内視鏡の質保証の方法については、日本消化器内視鏡学会が年1回の内視鏡の細菌培養検査を推奨していることを「内視鏡の洗浄・消毒ガイドライン：第2版」（2004年）に掲載しました。

しかしながら、推奨した方法では詳細な部分についての解説が少なかつたためか、具体的な方法についての問い合わせが少なくありませんでした。

そこで、内視鏡安全管理委員会では3年前よりヨーロッパのガイドライン（ESGE-ESGENA 再処理事業品質保証ガイドライン内視鏡の微生物検査）を参考に、培養検査のプロトコールの作成に取り組んでまいりました。ESGE-ESGENA のガイドラインには送気・送水管路の検体の採取方法や作業の進め方など具体的な処理作業の方法の解説もあります。

時間と手間のかかる作業ではありますが、本プロトコールを指標に各施設で検討していただき、内視鏡の洗浄・消毒・保管の質の保証の手段として大いに活用していただければ幸いです。

本プロトコール作成に当たり、オリンパスメディカルシステムズ株式会社、金森 洋祐様、佐藤 佐和子様には長年にわたり多大な協力を頂きました。ここに深く感謝申し上げます。

2011. 12

## 内視鏡定期培養検査プロトコール

### 1. 目的

病院で実施する消化器軟性内視鏡の定期培養検査方法

### 2. 培養検査の実施要領

以下の3項目の具体的実施方法は、病院の運用状況を考慮し判断してください。

#### (1) 培養検査の実施頻度

各病院での判断とする。

#### [参考]

日本消化器内視鏡技師会「内視鏡の洗浄・消毒に関するガイドライン（第1版）」では「少なくとも年1回以上、無作為に抽出した内視鏡に対して培養検査を実施することが推奨されている。

#### (補足)

ESGE-ESGENA ガイドラインの培養検査は、年4回の検査で保有する全スコープの検査を終了させるこ

とを推奨している。しかし、この頻度は国内の病院において手間・費用が掛かるため実施は難しい。そのため最低限の頻度として、日本消化器内視鏡技師会「内視鏡の洗浄・消毒に関するガイドライン（第2版）」が推奨する「年1回以上」とした。

## (2) 検査対象

病院で使用している全種類の消化器軟性内視鏡（上部、下部、十二指腸用）

### (補足)

ESGA-ESGENA ガイドライン及び技師会ガイドライン共に全機種が対象となっている。

## (3) 検査に必要な内視鏡数

各病院での判断とする。

### (補足)

各病院で所有している内視鏡数は、病院によって千差万別である。そのため検査に使用する内視鏡数は、通常業務に差し支えない範囲で決めてもらう。

## 3. 検査の実際

### 3-1. 検査サイト

内視鏡の対象サイト

- ①外表面
- ②吸引管路
- ③送気管路
- ④送水管路
- ⑤特殊管路（鉗子起上管路、副送水管路、ガス管路）
- ⑥付属品（送気送水ボタン、吸引ボタン、鉗子栓）

### (補足)

送水タンクは、「ESGE-ESGENA ガイドライン 2007」に検査サイトとして記載されているが、以下の理由により対象外とする。

### (理由)

送水タンクは、消化器内視鏡の洗浄・消毒マルチソサエティガイドラインでは汚染度合が低いものと考えられており、症例間で消毒・滅菌を行うことは必須になっていない。

### 3-2. 評価対象菌

一般細菌及び抗酸菌

### (補足)

ESGE-ESGENA ガイドラインには一般細菌と数種類の特定細菌〔腸球菌、グラム陰性菌、抗酸菌等〕が記載されている。この特定細菌は、既存の洗浄・消毒方法に誤りがあった場合、検出される可能性の高いものとして選ばれていると思われるが、国内の病院でこれらの特定細菌全てを対象とすることは

困難であると思われる（菌によってそれぞれ培養条件が異なり、相当の手間が掛かる）。そこで、まずは日本消化器内視鏡技師会「内視鏡の洗浄・消毒に関するガイドライン（第2版）」で推奨している一般細菌と、消毒剤に対する抵抗性が最も強い抗酸菌を対象菌として考えた。

### 3-3. 検査の合格基準

一般細菌：≦20 CFU/検査サイト、抗酸菌：0 CFU

#### (補足)

日本消化器内視鏡技師会「内視鏡の洗浄・消毒に関するガイドライン(第2版)」では明確な合格基準が示されていないため、ESGE-ESGENA ガイドラインの基準値を採用する。培養検査で不合格になった場合は、既存の洗浄・消毒方法を見直す必要がある。なお、検査をより正しく判定するために、検査エリアの環境菌を把握しておくことが望ましい。これは、検査で抗酸菌以外の一般細菌が検出された場合、それが環境由来のものか、患者体内由来のものかを見極める判断材料になり得る。

### 3-4. 培養検査プロトコール

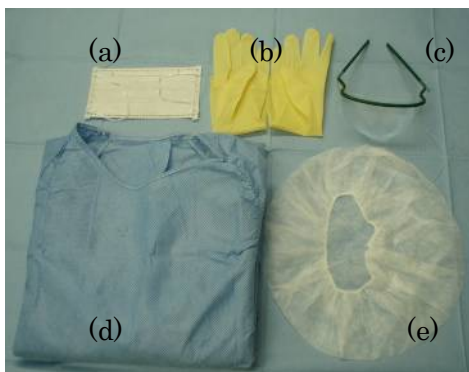
#### 3-4-1. 使用部材

##### (1) 作業者の防御 (図1)

検査作業を行う際は、清潔な作業着を着用し、安全メガネ、滅菌済みの手袋、マスクを装着する。

表1. 作業者の保護具

準備物	個数/人
安全メガネ	1
滅菌済み手袋	1
清潔な作業衣	1
マスク	1
キャップ	1



(図1)

(a)マスク (b)滅菌済み手袋 (c)安全メガネ  
(d)清潔な作業着 (e)キャップ

##### (2) 検査に使用する部材

①胃/大腸内視鏡のように特殊管路（鉗子起上管路、副送水管路、ガス管路等）を持たない内視鏡の場合の使用部材を表2に記載する。

表 2. 特殊管路を持たない内視鏡の使用部材

	品目 <sup>※1</sup>	使用目的	個数/内視鏡
試験部材	管路洗浄用チューブ	送気送水管路内への剥離液注入用	1
	サンプル回収用滅菌済み容器(蓋付) * 管路用:約200mlの容器 * 付属品用:100mm×200mm程度の滅菌バック (滅菌したビニール袋でも可)	管路の菌採取用	検査管路数分
		付属品の菌採取用	検査付属品数分
	30mlシリンジ	剥離液注入用	1
不織布	内視鏡の汚染防止	1	
剥離液	生理食塩水 <sup>※2</sup>	菌採取用剥離液	表4参照 <sup>※4</sup>
培地	一般細菌用寒天培地 <sup>※3</sup> (普通寒天培地/ソイビーンカゼイン寒天培地)	サンプル培養用	検査サイト数分
	抗酸菌用寒天培地 (Middlebrook寒天など)	サンプル培養用	検査サイト数分

②十二指腸内視鏡のように特殊管路(鉗子起上管路、副送水管路、ガス管路等)を持つ内視鏡の場合の使用部材を表3に記載する。

表 3. 特殊管路を持つ内視鏡の使用部材

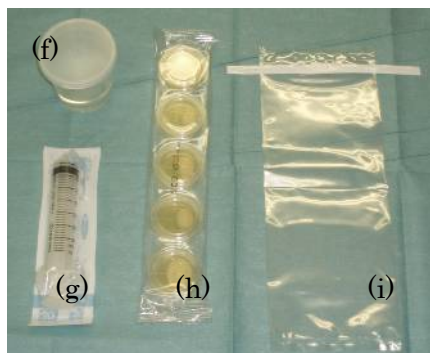
	品目 <sup>※1</sup>	使用目的	個数/内視鏡
試験部材	管路洗浄用チューブ	送気送水管路内への剥離液注入用	1
	特殊管路(鉗子起上管路、副送水管路、ガス管路)用洗浄チューブ	特殊管路内への剥離液注入用	各1
	サンプル回収用滅菌済み容器(蓋付) * 管路用:約200mlの容器 * 付属品用:100mm×200mm程度の滅菌バック (滅菌したビニール袋でも可)	管路の菌採取用	検査管路数分
		付属品の菌採取用	検査付属品数分
	シリンジ 5mlシリンジ:鉗子起上管路用 30mlシリンジ:その他管路用	剥離液注入用	各1
不織布	内視鏡の汚染防止	1	
剥離液	生理食塩水 <sup>※2</sup>	菌採取用剥離液	表4参照 <sup>※4</sup>
培地	一般細菌用寒天培地 <sup>※3</sup> (普通寒天培地/ソイビーンカゼイン寒天培地)	サンプル培養用	検査サイト数分
	抗酸菌用寒天培地 (Middlebrook寒天など)	サンプル培養用	検査サイト数分

※1 準備物は全て滅菌処理済みのものを準備する必要がある。再使用可能な回収容器を使用する場合は、滅菌ができる材質の容器(蓋付)を準備すること。市販のディスポーザブル製品を使用すると準備の手間を省くことができる。

※2 剥離液は技師会ガイドライン(第2版)に従い、生理食塩水を採用する。

※3 当試験では、一般細菌用培地として、他種類の微生物を育成することのできる普通寒天培地やソイビーンカゼイン寒天培地を提案する。各施設で特定の菌種を確認したい場合は、目的の菌の発育に適した培地を準備すること。培養については専門部署または外部検査センターの指示に従うこと。

※4 剥離液量は表4を参照のこと



(f)管路用回収容器(g)シリンジ  
(h)寒天培地(i)付属品用回収容器 (図2)

表4. 剥離液の目安量 (各管路容積の約3倍量)

管 路	剥離準備液量(ml)
吸引管路	100
送気管路	50
送水管路	50
鉗子起上管路	10
副送水管路	30
ガス管路	30
付属品	30

### 《提案事項》

ASTM E1837-96 (Standard Test Method to Determine Efficacy of Disinfection Processes for Reusable Medical Devices (Simulated Use Test))に、剥離液量として管路容積の9倍量が推奨されている。しかし、オリンパスの要素検討より、菌回収率は剥離液が管路容積の3倍であれば、9倍量と同程度の回収率が得られることが分かった。そこで、準備量が少量ですむ管路容積の3倍量を提案する。なお、表2に示した剥離液量は、各管路容積の約3倍になっている。

### 3-4-2. 培養検査方法

培養検査の作業は、2名1組で行う。

#### ※注意

- ・清潔な作業着を着用し、安全メガネ、滅菌済みの手袋、マスクを装着すること。
- ・回収作業に使用する器具は全て滅菌されたものを用いること。
- ・回収した剥離液は直ちに培養を行うこと。直ぐに処理できない場合は冷蔵保管すること。

#### (1)準備

- ①内視鏡が置ける大きさの作業台を準備する。
- ②作業台の上に滅菌済み不織布を敷き、その上に内視鏡を置く。(図3)

#### (2)外表面

- ①スタンプ培地を内視鏡外表面(先端側)に密着させる(スタンプ法)。(図4)
- ②速やかに培地に蓋をし、培養担当部署に搬送する。

**(補足)**

外表面の回収方法にはスタンプ法とスワブ法がある (ISO11737 2006 Sterilization of medical devices -- Microbiological methods -- Part 1: Determination of a population of microorganisms on products)。スワブ法よりスタンプ法の方が作業性は良い。



(図 3)

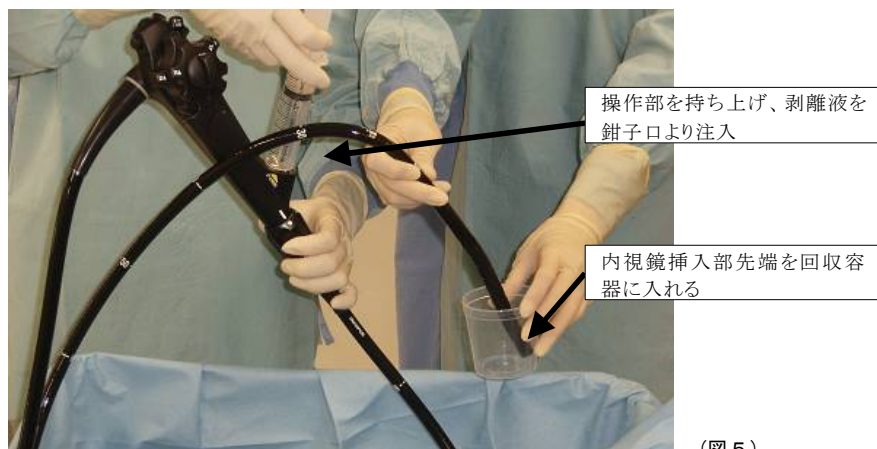


スタンプ培地を内視鏡外表面  
(先端側)に密着させる

(図 4)

**(3) 吸引管路**

- ①剥離液を準備する。
- ②30ml シリンジに剥離液を吸引する。
- ③内視鏡挿入部先端を回収容器(蓋付)に入れる(回収容器が倒れないように、もう一人が支えると良い)。(図 5)
- ④内視鏡操作部を持ち上げ、②の剥離液を鉗子挿入口より注入する。
- ⑤②～④の作業を繰り返しおこない、100ml の剥離液を送液する。
- ⑥シリンジで、内視鏡先端より剥離液が出なくなるまで送気する。
- ⑦回収容器の蓋をすばやく閉め、培養担当部署に搬送する。



操作部を持ち上げ、剥離液を  
鉗子挿入口より注入

内視鏡挿入部先端を回収容  
器に入れる

(図 5)

### (補足)

手法としては上記の押し出し法と下記の吸引法がある。押し出し法は、吸引システムを使わずにシリンジのみで処理ができるため、作業性は良い。

### 《参考：吸引法》

- ①剥離液を準備する。
- ②内視鏡をシステムセンターや吸引器等に接続し、①の剥離液を吸引できる状態にする。  
この時、滅菌された接続チューブ及び吸引器ボトルが設置されている。
- ③内視鏡先端を①の剥離液容器に入れ、先端より吸引し吸引器ボトルに剥離液を回収する。
- ④吸引器ボトルを培養担当部署に搬送する。

### (4)送気管路 (図6-1～4)

- ①管路洗浄用チューブを内視鏡に取り付ける。
- ②内視鏡挿入部先端を回収容器に入れる (回収容器が倒れないように注意)。
- ③送気送水ボタンの穴を、滅菌手袋をした指で塞ぐ (ボタンは押し込まないこと)。
- ④剥離液を吸引した 30ml シリンジを管路洗浄用チューブの送気送水管路側に取り付ける。
- ⑤剥離液をゆっくり送液する。
- ⑥内視鏡先端から出てくる剥離液を回収容器で受ける。
- ⑦上記④～⑥の作業を繰り返し、50ml の剥離液を送液する。
- ⑧空気を吸引した 30ml シリンジを管路洗浄用チューブの送気管路側に取り付け、先端から剥離液が出なくなるまで送気する。
- ⑨回収容器の蓋を閉め、培養担当部署に搬送する。



管路洗浄用チューブ

(図6-1)

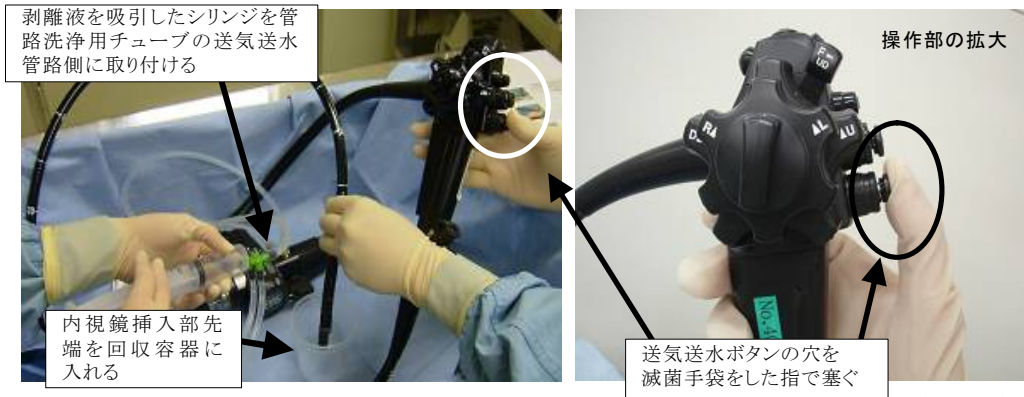


(図6-2)



(図6-3)





(図 6-4)

### (5) 送水管路

① 管路洗浄用チューブを内視鏡に取り付ける。

(上記(4)に続き作業を実施する場合は、管路洗浄チューブは接続された状態になっている)。

② 内視鏡挿入部先端を回収容器に入れる (回収容器が倒れないように一人が支えておくのが良い)。

③ 送気送水ボタンを押し込む。(図 7)

④ 剥離液を吸引した 30ml シリンジを管路洗浄用チューブの送気送水管路側に取り付ける。

⑤ 剥離液をゆっくり送液する。

⑥ 内視鏡先端から出てくる剥離液を回収容器で受ける。

⑦ 上記④～⑥の作業を繰り返し、50ml の剥離液を送液する。

⑧ 空気を吸引した 30ml シリンジを管路洗浄チューブ送水管路側に取り付け、先端から剥離液が出なくなるまで送気する。

⑨ 回収容器の蓋を閉め、培養担当部署に搬送する。



(図 7)

### (6) 特殊管路 (鉗子起上管路、副送水管路、ガス管路)

① 特殊管路用の洗浄チューブを内視鏡に接続する。

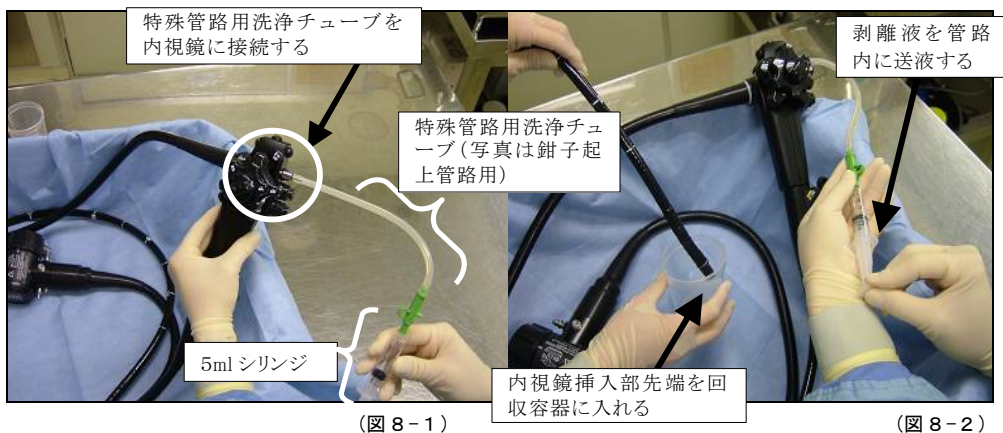
② 内視鏡挿入部先端を回収容器に入れる (回収容器が倒れないように一人が支えておくのが良い)。

③ 剥離液を吸引したシリンジ (鉗子起上管路は 5ml シリンジ、副送水及びガス管路は 30ml シリンジ)

を特殊管路専用の洗浄チューブに取り付ける。

- ④剥離液をゆっくり送液する。
- ⑤内視鏡先端から出てくる剥離液を回収容器で受ける。
- ⑥上記④～⑤の作業を繰り返し、剥離液全量を送液する（鉗子起上管路は 10ml、副送水及びガス管路は 30ml）。
- ⑦空気を吸引したシリンジを特殊管路専用の洗浄チューブに取り付け、先端から剥離液が出なくなるまで送気する。
- ⑧回収容器の蓋を閉め、培養担当部署に搬送する。

※以下の写真には特殊管路の代表として鉗子起上管路を示す。（図 8-1～2）

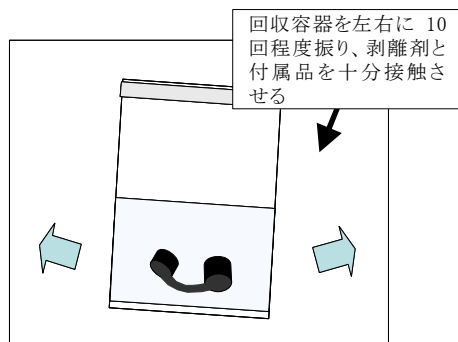


### (7) 付属品（送気送水ボタン、吸引ボタン、鉗子栓）

- ①剥離液 30ml の入った回収容器に各付属品を入れる。（図 9-1）
- ②①の回収容器の蓋を閉め、5 分程度浸漬する。
- ③②の回収容器を左右に 10 回程度振り、剥離剤と付属品を十分接触させる。（図 9-2）（超音波洗浄装置がある場合は、容器の蓋をしっかりと閉め 10 分程度超音波処理を行うとより効果的に剥離ができる。）
- ④培養担当部署に搬送する。



(図 9-1)



(図 9-2)

(8) 片付け

- ① 検査に使用した内視鏡は、施設で実施されている通常の方法でリセットを行う。
- ② 使用したオリーブ、手袋等は施設の廃棄ルールに従い処理を行う。

資料：品質管理に使用する指標菌

微生物検査の対象となる微生物	指標菌	トラブルシューティング
<i>Escherichia coli</i> 、 <i>Enterococci</i> (腸球菌)、 <i>Enterobacteriaceae</i> (腸内細菌)	A: 洗浄・消毒の不足 例: ・ブラッシングなし ・化学薬品の濃度が不適切または処理時間が不足 B: 洗浄消毒装置の機構的・電氣的欠陥 例: ・化学薬品の用量や濃度が不適切 ・洗浄消毒装置の設計ミス(化学薬品のよどみ等の発生)	A: 手作業洗浄については特に注意して全体の再処理サイクルを再検討する。  B: 洗浄消毒装置を全面的にメンテナンスする
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> 、 other gramnegative nonfermenters(他のグラム陰性非醗酵性菌類)	A: ・最終リンスの不足 ・最終リンス水の汚染 ・機構的電氣的欠陥に起因する洗浄消毒装置の汚染 ・フィルター系の汚染 ・洗浄消毒装置の設計ミス(化学薬品のよどみ等の発生)  B: 内視鏡を保管する際の乾燥不足	A: 給水系と給水方法の再検討 ・水質 ・手作業および/または洗浄消毒装置による水洗 ・洗浄消毒装置やフィルター系を全面的にメンテナンスする ・製造メーカーのマニュアルを参照して自動消毒サイクルを行う(加熱消毒が望ましい) B: 保管する際の乾燥手順や保管場所の換気について再検討
<i>Staphylococcus aureus</i> <i>Staphylococcus epidermidis</i>	以下の原因による内視鏡の再汚染 ・不適切な保管や移送 ・不衛生なハンドリング	保管時、移送時およびハンドリング時の衛生面について再検討
	サンプリング時の感染	サンプリングのやり直し
Atypical mycobacteria (非定型マイコバクテリア) <i>Legionella</i> organisms	洗浄消毒装置および給排水系の汚染	給水系や給水方法についての再検討 ・手作業および/または洗浄消毒装置による水洗 ・製造メーカーのマニュアルを参照して自動消毒サイクルを行う(加熱消毒が望ましい) ・洗浄消毒装置やフィルター系を全面的にメンテナンスする

【日本消化器内視鏡技師会内視鏡安全管理委員会】

委員長	佐藤 絹子	N T T 東日本関東病院
副委員長	上田多加子	公立南丹病院
委員	荒木ひろえ	宮城県立がんセンター
〃	天野 利江	愛媛大学医学部附属病院
〃	木下千万子	淵野辺総合病院
〃	佐伯 美奈	聖マリアンナ医科大学 横浜市西部病院
〃	縄田 園美	JR九州病院
〃	藤田 賢一	帝京大学溝口病院

日本消化器内視鏡技師会会報 No. 48 別刷

平成 24 年 3 月 25 日 発行

編集者 深井 学

発行者 田村 君英

発行所 一般社団法人

日本消化器内視鏡技師会

〒171-0021 東京都豊島区西池袋 3-22-7

池田ビル 302 号

TEL 03-5992-1520 FAX 03-5992-1521

E-mail : info@jgets

---

制作 三協印刷有限会社

TEL 03-3944-1355 FAX 03-3944-7966

E-mail : sankyo-p@helen.ocn.ne.jp