

原 著

手術顕微鏡短時間滅菌装置の試作

松 尾 宏 一

信州大学医学部脳神経外科学教室

(主任 : 杉田慶一郎)

A NEWLY DESIGNED STERILIZATION SYSTEM FOR THE OPERATING MICROSCOPE

Koich MATSUO

Department of Neurosurgery, Shinshu University School of Medicine

(Director : Prof. Kenichiro SUGITA)

MATSUO, K. *A newly designed sterilization system for the operating microscope.* Shinshu Med. J., 29 : 318-325, 1981

A newly designed sterilization system for the operating microscope and its accessories is introduced. The system is compact, consisting of two parts ; a main apparatus which includes the vapor generator for formalin and ammonia, and a sterilizing bag which envelops the microscope. Ten percent formalin (ca. 7ml) is dropped on a heating plate and vaporised. Formaldehyde in the gas-aerosol phase is then rapidly circulated by the ring fan built into the system. When sterilization is completed, paraformaldehyde is neutralized by gaseous ammonia. The whole system is finally ventilated with fresh air introduced through the milipore filter, which allows immediate use of the microscope without irritating odor.

To evaluate the sterilizing effects of the system, quantitative studies on microbial inactivation were carried out. An exposure time of 30 min has proved sufficient for total surface decontamination of the microscope.

In conclusion, formalin gas sterilization of the operating microscope is a feasible and desirable alternative to the conventional draping techniques.

(Received for publication ; February 5, 1981)

Key words ; 手術顕微鏡 (operating microscope)

滅菌 (sterilization)

ガス滅菌 (gas sterilization)

ホルマリン (formalin)

I はじめに

手術顕微鏡は現在、ほとんどすべての外科領域で使用される機器になりつつあり、特に脳神経外科ではほぼすべての手術に使われるといっても過言ではない。また、その照明装置や助手用顕微鏡（助手鏡）、支持・懸垂装置にも日進月歩の改良がなされており、カメラやカラーテレビビデオなどの付属補助装置の併用も必須のこととなった¹⁾²⁾。手術顕微鏡を使用する際には、術中、頻繁に観察角度を変えるために顕微鏡本体を動かさなければならないことや、多数の付属装置を着脱しなければならないことなどから、その完全な滅菌消毒法が以前から強く要望されていた。従来、滅菌布や滅菌したビニールバッグで顕微鏡を被覆する方法が一般的に用いられているが、この方法では術中、顕微鏡自体の操作が不自由であり、またカメラ、助手鏡の着脱が制限される。一方、被覆布などを使用せずに手術顕微鏡自体を滅菌消毒する方法としてはエチレンオキサイドガス⁴⁾やホルマリン⁵⁾⁶⁾、紫外線などを使用する方法があるが現在までのところこれらの方法は満足すべきものとはいえない。そこで我々は手術顕微鏡の滅菌に最も理想的な方法を検討し、ホルマリンガスを利用した短時間滅菌装置を開発、試作した。本装置の構造と、その性能を確認するために生菌を用いて行った消毒実験を中心に報告する。

II 材料と方法

A 滅菌装置

本装置の構造は、基本的には気化ヒーターおよび強制循環のための送風器を容れた「消毒ガス発生部」とこれに接続する「消毒空間（ビニールバッグ）」とからなる（写真1）。

まず、滅菌しようとする手術顕微鏡を支持装置に取り付けたままの状態をビニールバッグに入れ、支持腕の部分でバッグを完全に密封する。これにより装置全体が1つの閉鎖回路となる。装置を始動させるとエアフィルター（0.5 μ 、ミリポアフィルター）を通して空気が取り込まれ、ヒーター（図1、H₁）で加温され装置の回路内を循環する。次に電磁弁が開いて10%ホルマリン液7mlが気化ヒーター（図1、H₂）上に滴下、蒸発してホルムアルデヒド水蒸気が発生する。このガスを送風器（ring blower）で回路内に圧送し強制循環させ一定時間、滅菌を続ける。この時バッグ内の湿度はほぼ100%に達する。滅菌工程が終わると活性炭を通してガスを一旦、排除した後20%アンモニア水2mlを同様に気化ヒーター上に滴下、蒸発させアンモニアガスによって顕微鏡のレンズ面などに残留しているホルムアルデヒドを中和し完全に残留ガスを排除して全工程を完了する。装置の本体前面には制御板があり加温、消毒、中和、排気などの各工程はタイムス

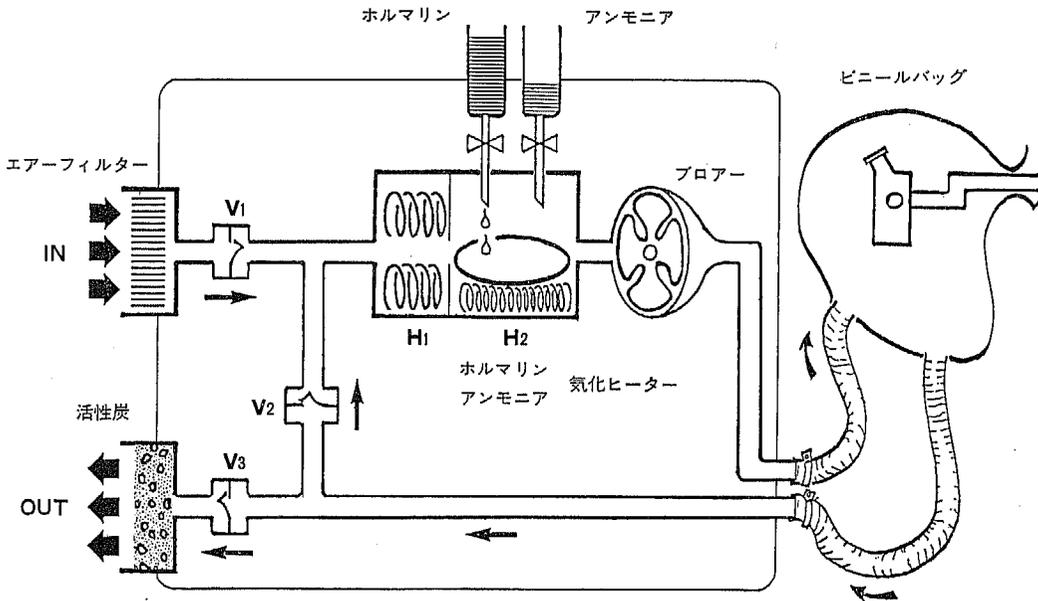


図1 消毒装置の模式図



写真1 消毒装置本体
手術室内で、支持腕上の手術顕微鏡にビニールバッグを取り付けたところ。

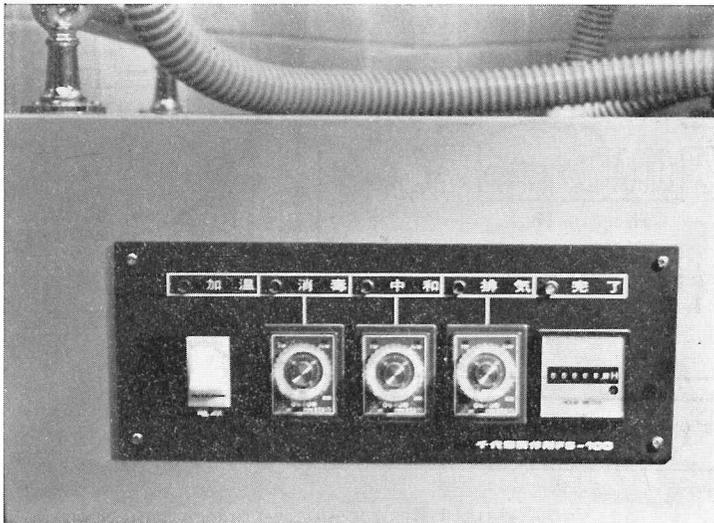


写真2 消毒装置前面の制御板

イッチで自由に操作時間を設定することができる。設定後は全工程は自動的に進行しパイロットランプで標示される(写真2)。

B 使用菌株

次の4菌株を滅菌実験に使用した。

大腸菌 *Escherichia coli* K-12 W677

緑膿菌 *Pseudomonas aeruginosa* PAO 1

黄色ブドウ球菌 *Staphylococcus aureus* (臨床分離株)

枯草菌(栄養型) *Bacillus subtilis* ATCC 6633

これらの細菌は環境中に常在する菌種であること、そして物理的、化学的因子に対する抵抗性が異なる(枯草菌が最も抵抗性大)ことから被検菌として選んだ。

C 菌の培養および被検菌の実験条件

菌の培養: 培地として Penassay broth (Antibiotic medium No. 3, Difco) にてあらかじめ37°C、約20時間培養した上記の各菌液5mlを、それぞれオートインフュージョンブイヨン50mlに加え37°Cで振盪培養し、対数増殖期にある細菌を使用した。培養後、各菌液を滅菌生理食塩水にて一定量の菌数に調整し実験に供した。

被検菌の実験条件: 10⁸個/1mlに調整した細菌浮遊液0.05mlを、光頭用のカバーガラス(1/4角に切ったものを乾熱滅菌)にマイクロピペットで滴下したものに孵卵器に入れて37°Cで加温乾燥させた。約2時間後、カバーガラス上に円形の白斑となって乾燥付着した状態の菌を、手術顕微鏡の外表面(レンズなど光学系の表面および鏡体の塗装面)に付着している細菌とみなして滅菌実験を行った。

D 滅菌実験

細菌浮遊液を乾燥、付着せしめたカバーガラスを滅菌装置付属のビニールバッグに入れ密封して一定時間、滅菌工程を実施した。

滅菌条件を一定にするために、加温工程は行わず初めから滅菌工程(ホルマリンガス発生—循環)に入り、一定時間(5, 10, 15, 30, 45, 60分間)滅菌を行った後、中和5分、排気5分の各工程を順次終了した。滅菌工程実験時のバッグ内の温度は20±2°Cであった。全工程完了と同時にカバーガラスをバッグから取り出し、試験管中にあらかじめ用意しておいた0.8mM MgCl₂加滅菌加生理食塩水1ml中へ投入、充分に攪拌してカバーガラス上の残留菌を生食水中に回収した。

E 培養

カバーガラスに残留付着した細菌を充分ふるい落と

したMgCl₂加生理食塩水0.1mlをマイクロピペットで採取し、Penassay broth 寒天平板上に塗布、培地表面を充分乾燥させてから37°Cで約20時間培養して発育したコロニー数を判定した。

以上のように一定時間ホルマリンガスにさらした細菌をロスなく回収後、培地に移し、まったくホルマリンガスの影響を受けない環境で培養を行った。つまり滅菌過程と培養過程をまったく分離することによって従来この種の実験で問題とされた「培地中に溶け込んだホルマリンガス」の影響を排除することができ、本装置の滅菌効果の正確な判定が可能となった。

III 成 績

A 実験における被検菌の自然死滅

カバーガラス上に滴下、乾燥した細菌浮遊液からは、時間の経過とともに細菌が死滅すると考えられる。その程度を調べたところ次の結果を得た。すなわち乾燥に比較的弱いとされている大腸菌でも、滴下乾燥後6時間放置した場合、1カバーガラス当たり5×10⁵個以上の細菌が生存していた。したがって本実験における滅菌時間(1~2時間)内での細菌の自然死滅はほとんど問題にならないと推定される(表1)。

表1 細菌の自然死滅

乾燥前の細菌数 (1カバーガラスあたり)	乾燥時間 (時間)	乾燥後の細菌数 (1カバーガラスあたり)
2.5 × 10 ⁷	1.5	9.9 × 10 ⁵
〃	3	7.5 × 10 ⁵
〃	6	5.5 × 10 ⁵

5×10⁸/ml浮遊液の0.05mlをカバーガラス上に滴下乾燥。これを生食5ml中に再浮遊し適宜稀釈後、寒天平板上に塗布、培養し生残菌数を調べた。使用菌種 *E. coli* W677。

B 滅菌効果

大腸菌、緑膿菌に対し5~10分間の滅菌工程を行ったとき、平板培地上にコロニーの発育が1~2個認められた。15分間の滅菌ではコロニーは全く認められなくなり、これはカバーガラス上の被検菌は完全に死滅したことを示す。ブドウ球菌では10分間の滅菌で1~2個のコロニーが認められたが、15分間の滅菌ではコロニーの発育は認められなかった。これに対して枯草菌を被検菌としたときは、5分間の滅菌により1平板培地当たり400~500個、10分間では数個、15分間では

1~2個のコロニーの発育が、それぞれ認められた。しかし20~30分間の滅菌を行った場合にはコロニー数は0であった(表2)。

表2 滅菌工程終了後の生残菌数

菌種	滅菌時間(分)		5	10	15	30	60
	検体						
大腸菌	1	0	0	0	0	0	0
	2	0	1	0	0	0	0
	3	2	0	0	0	0	0
緑膿菌	1	0	0	0	0	0	0
	2	1	0	0	0	0	0
	3	0	1	0	0	0	0
ブドウ球菌	1	54	2	0	0	0	0
	2	34	0	0	0	0	0
	3	95	1	0	0	0	0
枯草菌	1	400 } 500	2	3	0	0	0
	2		1	0	0	0	
	3		6	1	0	0	

(発育コロニー数)

C 滅菌効果と温度

滅菌時の温度を上げると滅菌効果は増強されると考えられるが、この点を確認するため比較的抵抗力の強い枯草菌を用いて、温度差による滅菌効果の変化について実験した。

室温(18~19°C)で加温工程を省略して滅菌工程に入った場合(バッグ内温度約20°C)と、加温工程を10分間行ってから滅菌工程に移った場合(バッグ内温度約30°C)とでは、30°Cの方が滅菌効果が大きかった。この温度差による変化は比較的短い滅菌時間(10分間以下)では明らかに認められたが15分間の滅菌ではコロニーの発育がほとんどないためはっきりし

表3 滅菌効果におよぼす温度の影響

滅菌温度	滅菌時間(分)		5	10	15
	検体				
低温 (バッグ内20°C)	1	87	5	1	
	2	18	2	0	
	3	58	5	2	
高温 (バッグ内30°C)	1	0	0	0	
	2	3	1	0	
	3	0	1	0	

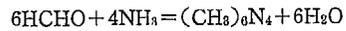
1カバーガラスあたりの生残菌数
使用菌種 *B. subtilis*

なかった(表3)。実際の滅菌実験は、条件の一定化をはかって(滅菌効果の低い)20°Cで行った。

D 滅菌ガスの器機への影響

最長1時間半の滅菌でも手術顕微鏡の塗装面には何ら変化はみられなかった。顕微鏡の鏡筒断端部などには未塗装の金属面もあるが、この部分が直接ホルマリンガスにさらされることはなくまた滅菌時の温度も高くないことから顕微鏡自体がホルマリンガスによって腐食などの影響をうける心配は、ほとんどないと思われる。

中和工程においてアンモニアでホルムアルデヒドを中和すると次のような化学反応によりウロトロピン(CH₃)₆N₄が生成される。



同一バッグを使用したまま数回連続して全工程を行うと、顕微鏡の表面やバッグ内面に薄く白い粉状となってウロトロピンが認められることがあったがレンズがくもるほどではなく、滅菌ガーゼで軽く拭うと容易に除去できた。ウロトロピン自体は、かつて尿路系の消毒剤としても使用されたこともある薬剤であり¹⁾、腐食性もなくまた何ら毒性もない。

E 排ガスなど装置の安全性

本装置から活性炭を通して排出されるガスは、ホルマリン特有の刺激臭はまったく感知されず、また全工程終了時、バッグを開いて取り出した顕微鏡もまったく無臭でただちに使用に供することができた。装置使用時、室内空気中のホルマリンガスの正確な測定は行っていないが、一般に嗅覚で刺激臭を感知する限界が0.8ppmとされるから、それ以下の濃度であろうと考えられる。

ただし、ビニールバッグに微細な破損孔があるとただちに刺激臭が感ぜられ、滅菌効果も低下する傾向が認められた。したがってバッグは一回で使い捨てのものとし、また顕鏡微を入れる際、バッグの支持腕取り付け部分は念入りに密封する必要がある。

IV 考 察

手術顕微鏡の滅菌法として最も一般的なのは、滅菌布ドレープで顕微鏡本体を被覆する方法であるが、これは感染防止のうえから完全といえないばかりでなく術中の微細な顕微鏡操作に円滑を欠き、また助手鏡やカメラ、ビデオ装置などの取り付けに際してもきわめて煩雑である。これに対して各種のガス滅菌法や、最

近は紫外線による滅菌も試みられているが、現在のところこれらの評価は一定せず、長時間を要するなどの問題も少なくない。

手術顕微鏡の理想的な滅菌法の条件として

- 1 顕微鏡（特にそのレンズ系）に障害を与えない；カメラ、TVなども含む。
- 2 短時間で完了する（30～60分以内）。
- 3 手術室内で滅菌が可能である；手術室内へ滅菌器を持ち込める。顕微鏡を取りはずす必要がない（特に天井懸垂型の場合）。
- 4 安全性；人体に対する毒性がない。引火性および爆発性がない。
- 5 経済性

などがあげられよう。これらのうち2の短時間滅菌の必要性については、たとえば1つの顕微鏡下手術の施行中に、ほかの緊急手術症例が発生する場合がありますので、1時間以内程度で滅菌が完了することが望まれる。3については装置自体も小型、簡便で、狭い手術室内でも滅菌が行え手軽な取り扱いが可能でなければならず、当然4の安全面は完璧でなくてはならない。また最近では天井懸垂方式が主流となっているので手術室内で滅菌できることがどうしても必要となる。

表4 各滅菌法の問題点（短時間滅菌法）

A 紫外線	
1	紫外線の当たらない陰の部分は滅菌不十分。
2	滅菌に際して顕微鏡本体の取りはずしが必要。
B エチレンオキシドガス	
1	残留ガス排除に長時間を要する。
2	滅菌装置が大きくまたガスの毒性も強いので手術室への持ち込み困難。
3	フッ素混入ガスの場合レンズなどに障害を与える。
C ホルマリン	
1	刺激臭がある。
2	気化ガス濃度が不安定。
3	パラホルムアルデヒドが顕微鏡に付着する。

そこで各種滅菌法の問題点を比較、検討した（表4）。まず紫外線では光のあたらない陰の部分が滅菌不十分であり、また顕微鏡を脱着しなければならない。エチレンオキシドはきわめて強力な殺菌作用を有し、短時間の滅菌が可能であるものの、毒性の強い

残留ガスの排除に長時間を要する難点があり、滅菌装置自体も大きなものとなる。これに対してホルマリンによる方法は、その刺激臭や濃度の不安定といった問題はあるものの、毒性が比較的少なく取り扱いが簡単な点は手術顕微鏡の滅菌法として有望と考えられる。しかし従来のように手術顕微鏡を包んだバッグにパラホルムアルデヒドを入れ、自然気化させながら数十時間放置する簡易法⁵⁾では、緊急時に適さないばかりでなく、ホルマリンガス濃度が一定しないため滅菌効果も不安定であり、またパラホルムアルデヒドが鏡体に付着残存するなど問題点が多い。

榊山と森岡⁷⁾は麻酔器などの回路内消毒を対象とした装置を考案し、ホルマリンガスの送入に際してポンプで陽圧、陰圧を交互に加えることにより回路内にガスの流れを作って滅菌効率の向上をはかっている。これはホルマリン滅菌の最大の難点であるガス濃度の不均一への対策といえるが、弁装置やポンプなど、機構上はかなり複雑なものになる。

そこで我々はホルマリン滅菌法のこれらの問題点を検討、改良して本装置を開発、作製した。

その特徴は、

1 消毒薬としては、パラホルムアルデヒドなどを自然気化させるのではなく、殺菌効率のよいホルムアルデヒド含有水蒸気を用いた。水蒸気を含むことによって殺菌効率は著しく上昇する⁸⁾。

2 ガス濃度の不均一を解消するため、高風圧の輪状送風機 ring blower を使用し、ホルマリンガスを回路内に強制循環させ安定したガス濃度が得られるようにした。

3 この高風圧送風機の使用により、装置内部の配管系やバッグとの接続管などのダクト径を細くすることに成功し、したがって装置自体、小型になって持ち運びが容易である。

4 装置内のホルマリンガスは、滅菌終了後アンモニアで中和、排気することによって顕微鏡レンズ面への付着をふせぎまた刺激臭を除去した。さらに装置の排気口に活性炭を使用し排気の無臭化を徹底させたので、狭い手術室内でも運転可能である。

5 1回の消毒滅菌に要するホルマリンおよびアンモニアの水溶液は10ml以下とごく少量で、排気など環境衛生上ほとんど問題ない。

本装置の滅菌効果を実際の生菌を用いて実験した。一般にガス滅菌器などの性能を、いかに正確に、定量的に評価するかについては一定の方法がなく、また薬

事法などにも詳細な規定はない⁹⁾。通常これら滅菌器の性能テストは、生菌浮遊液をしみ込ませた濾紙片などを器内へ入れて一定時間、消毒工程を行った後、濾紙ごと培地に接種し細菌の発育の有無を定性的に判定することが多い。この場合ガスによる滅菌消毒が一種の化学反応である以上、濾紙に含まれる水分の多寡が消毒効果を左右するおそれがある¹⁰⁾¹¹⁾。またガスの浸透性の点で問題があり、定量的な効果判定も不可能である。ふつう手術用顕微鏡の外表面は非吸湿性である。そこで我々はカバーガラス片に一定量の生菌を含む浮遊液を滴下、乾燥させ、これを実験モデルとして用いた。つまり顕微鏡と同様な非吸湿性の表面を設定することによって、消毒工程における水分の影響や吸着ガスによる生残菌への「後効果」を排除しえた。次に問題となるのは生残菌をいかにロスなく培地に回収するかであるが、綿棒などで拭き取る方法は菌の大半が綿の線維中に浸透、付着してしまい定量的にはまったく意味がない。そこで菌の付着したカバーガラス片をそのまま一定量の生理的食塩水中に浸し攪拌して生残菌をふるい落とす方法をとった。この方法により生残菌の回収は完全となり、最終的にその一定量を培養することにより定量的に生残菌数を算定することができた。

以上のごとく、抵抗性の異なる4種類の常在菌を用いて滅菌実験を行った。大腸菌、緑膿菌、ブドウ球菌に対しては15分で完全に滅菌が行われ、最も抵抗性が強いとされる枯草菌でも30分間の滅菌時間で十分な滅菌効果が得られた。実験に使用した接種菌量は通常の臨床の場では考えられない大量の菌数であることから、実際には、より短時間の滅菌で充分と思われる。

これまで発表されたホルマリンガス利用の手術顕微鏡滅菌⁵⁾⁶⁾が数十時間を要したのに比べ、本装置では滅菌時間を著しく短縮しえた。これは開発当初から顕微鏡の外表面の滅菌に重点をおき、以前からいわれているように「浸透性には乏しいが表面消毒剤としては十分¹²⁾なホルマリンガスに水蒸気を含ませ殺菌作用を強力にしたこと、さらにこのガスを容積を極力小さくした回路内に圧送し強制循環させることによってガス滅菌の効率を高めたことなどによる効果と考えられる。したがって回路のガス漏れは重大で、ビニールバッグの微細な破損孔は刺激臭の問題ばかりでなく、ただちに滅菌効果の低下につながる。

また、気温が低い時(室温12~13°C、湿度60%)には装置始動後ヒーターが働き始めると顕微鏡本体の表

面やビニールバッグの内面に僅かながら細かい水滴が認められることがあった。これによってホルマリンガスの滅菌効果が影響されたり、アンモニアとの中和生成物が多量に析出し鏡体に付着する可能性がある¹³⁾。したがって滅菌効果の点のみならず、水滴の発生を防止するうえからも一定時間の加温工程は必須で、バッグ内温度が約30°Cになってから滅菌工程に入るのが理想的である。

現在のところホルマリン滅菌消毒に適したインジケーターは開発されていない。鈴木と中村⁵⁾は、すでに市販されている生物学的インジケーターの一種(Attest)を用いてエフゲン(焼石膏にホルマリンを吸着させたもの)による手術顕微鏡の消毒効果を検討した結果、オートクレープ用のAttest(*B. stearrowthermophilus*)が使用可能であることを報告している。しかし本装置による消毒滅菌は、きわめて短時間で、外表面のみを目標にしているところから、ホルムアルデヒドガスの浸透性の点からみてもこの種のインジケーターは適当でない。ホルムアルデヒドによって呈色する、比較的簡単な化学的インジケーターが望ましく、今後、検討を要する問題である。

V 結 論

最近、汎用されるようになった手術用顕微鏡の滅菌消毒に最も理想的な方法を検討し、ホルマリンガスを利用した簡便な短時間滅菌装置を試作した。ホルマリン水蒸気を装置内に強制循環させガス濃度の均一化をはかって殺菌効率を高め、滅菌終了後ホルマリンをアンモニアで中和してレンズ面への析出を防ぐとともに無臭化することによって狭い手術室内でも使用できる。装置の性能実験にあたって、非吸湿性の表面に付着した生菌を用い滅菌過程と培養過程を完全に分離することにより、ホルマリンガスの短時間滅菌の効果を定量的に判定しえた。4種類の常在菌を使った実験で、30分間の滅菌時間で充分有効であり、加温、中和、排気などの各工程を加えてもきわめて短時間で顕微鏡を滅菌しただちに使用に供することができる。

稿を終えるにあたり、御指導頂いた信州大学細菌学教室、寺脇良郎教授、神尾好是助教授、松本頼樹講師に深く感謝する。多大な協力を頂いた当教室京島和彦助手に謝意を表す。また御助力下さった千代田製作所施設部課長、村田和彦氏に感謝する。

本論文の要旨は、第36回日本神経学会東海北陸地方

会（1980年3月，名古屋）および第55回日本医科器械
学会（1980年5月，東京）において発表した。

本装置は千代田製作所（長野県更埴市鋳物師屋75）
にて作製した。

文 献

- 1) Yasargil, M. G. : In "Microsurgery", pp. 12-32, Georg Thieme Verlag, Stuttgart, 1969
- 2) Rand, R. W. : In "Microneurosurgery", pp. 7-19, C. V. Mosby Co. St. Louis, 1978
- 3) 馬杉則彦：手術用顕微鏡および脳神経外科領域におけるマイクロサージャリ。医器械誌，45：244-247，1975
- 4) Kurze, T., Apuzzo, M.L.J., Weiss, M. H. and Heiden, J. S. : Experience with sterilization of the operating microscope. J Neurosurg, 47 : 861-863, 1977
- 5) 鈴木朝勝，中村せい：生物学的インジケーターによるホルムアルデヒドガス消毒法の検討。医器械誌，49：186-188（臨時号），1977
- 6) 杉田虔一郎：二人または三人用手術顕微鏡の試作。外科治療，27：268-274，1972
- 7) 榊山三蔵，森岡 享：麻酔器などの回路内消毒装置。医器械誌，47：1-3（臨時号），1976
- 8) 小林寛伊，高橋泰子，林キイ子，都築正和，清水喜八郎，大塚正和：ホルムアルデヒドガス殺菌器について。医器械誌，47：4-6（臨時号），1976
- 9) 実川佐太郎：滅菌法消毒法，第1集。綿貫 喆，実川佐太郎，榊原欣作編，pp.1-7，文光堂，東京
- 10) 実川佐太郎：滅菌法消毒法。第2集。綿貫 喆，実川佐太郎，榊原欣作編，pp.110-126，文光堂，東京
- 11) Braswell, J. R., Spiner, D. R. and Hoffman, R. K. : Absorption of formaldehyde by various surfaces during gaseous decontamination. Appl Environ Microbiol, 20 : 765-769, 1970
- 12) Sykes, G. : In "Disinfection and Sterilization" pp. 207-212, E. and F. N. Spon Ltd., London, 1965
- 13) Ackland, N. R., Hinton, M. R. and Denmeade, K. R. : Controlled formaldehyde fumigation system. Appl Environ Microbiol, 39 : 480-487, 1980

(56.2.5 受稿)