

医療機器からのエンドトキシンの回収方法

細渕 和成* 後藤 亮** 関口 正之* 棚元 憲一***

Recovery of Bacterial Endotoxin from Medical Devices

Kazunari Hosobuchi*, Akira Goto**, Masayuki Sekiguchi*, Kenichi Tanamoto***

キーワード：エンドトキシン，医療機器，パイロジェン

Keywords: Endotoxin, Medical devices, Pyrogen

1. はじめに

エンドトキシン（内毒素）は，自然界の中で最も強力な発熱性物質（パイロジェン）の一つである。このエンドトキシンは，熱に安定で，メンブランフィルターを通過できるほど小さい物質であるため，エンドトキシン汚染を防ぐことが非常に難しい。事実，エンドトキシンに汚染した医薬品や医療機器を使用し，患者が発熱事故を起こした事故例が報じられている。このような医療事故を未然に防ぐためには，医薬品や医療機器にエンドトキシン汚染がないか調べる必要がある。そこで，医薬品では，エンドトキシン試験法が多く品の品目に適用されているが，医療機器では注射筒や注射針などの14品目しか適用されていない。この理由として，①医療機器の構造が複雑であり，素材が多種多様であること，②医療機器を構成しているある種の金属イオンがエンドトキシンと反応し，阻害作用を及ぼすこと，③医療機器にエンドトキシンが吸着すること，などがあり，医療機器に汚染しているエンドトキシンを正確に求めることが困難であると考えられている。そこで，医療機器からエンドトキシンを回収するための検討を行ったので報告する。

2. 実験方法

2.1 エンドトキシン エンドトキシンとしては，*Escherichia coli* R3F653株由来のものを用いた。

2.2 医療機器 医療機器としては，AVF金属針，注射針，ブレード（替え刃メス）を用いた。

2.3 添加回収試験 既知濃度のエンドトキシン水溶液を医療機器に塗布・乾燥し，この医療機器からエンドトキシンを回収（抽出）した。なお，回収方法としては，超音波処理（28kHz，10分）とミキサー処理（2500r/分，1分）を併用処理した。また，回収液としては，水，界面活性剤，キレート剤を用いた。

2.4 反応干渉因子試験 対象医療機器からエンドトキシン試験の反応を促進または阻害する因子が出ていないかを調べるために，医療機器を浸漬した水溶液中にエンドトキシンを添加し，添加前後のエンドトキシン濃度変化を求めた。

2.5 エンドトキシンの定量 エンドトキシンの定量は，光学的測定法である比色法（合成基質法）によって行った。なお，ライセート試液には特異的試薬であるエンドスペシー®を用いた。測定装置にはウェルリーダーSK601®を用いた。また，実験に用いた水は，すべてエンドトキシン試験用水（注射用水）とした。

3. 結果

3.1 回収液に水を用いた添加回収試験 添加回収試験での研究報告等では，回収液として水が多く用いられている¹⁾。そこで，回収液に水を用いて添加回収試験を行った。この結果を図1に示す。

図からわかるように，AVF金属針の構成部材である翼付針基やチューブからのエンドトキシンの回収率は20～30%，針キャップ，針管，回路接続用コネクタ，止血栓では10%以下という低い値であった。さらに，AVF金属針以外の注射針，ブレードでは数%という非常に低い回収率であ

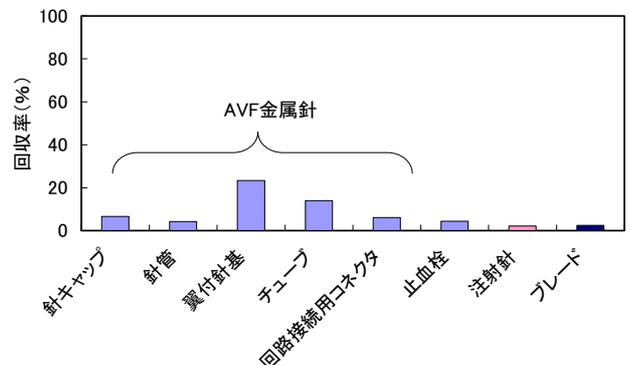


図1. 回収液に水を用いたときの AVF 金属針等の添加回収試験結果

* ライフサイエンスグループ
** 元ライフサイエンスグループ
*** 国立医薬品食品衛生研究所

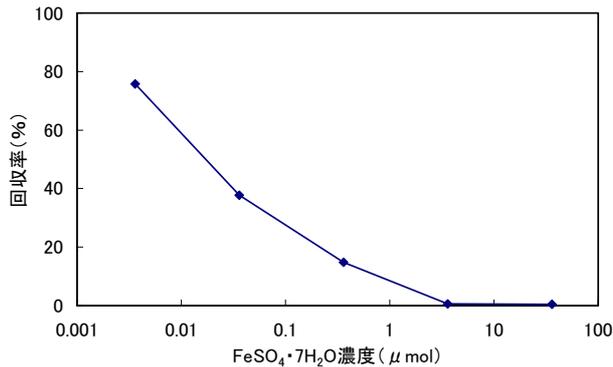


図2. 鉄イオンを添加した水溶液中からのエンドトキシンの回収率

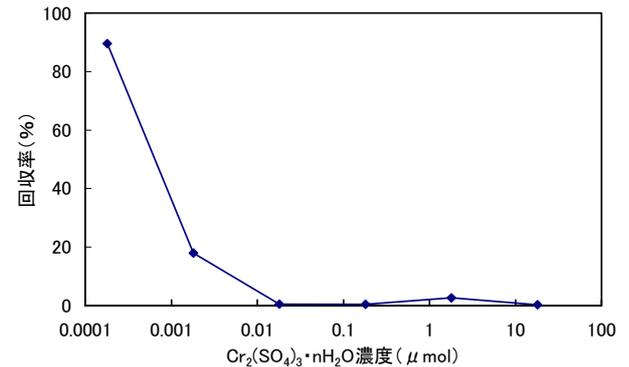


図3. クロムイオンを添加した水溶液中からのエンドトキシンの回収率

った。このように、回収液に水を用いて、超音波処理やミキサー処理を試みても医療機器からエンドトキシンを回収できないことがわかった。

この回収率が低い原因としては、①医療機器の素材である金属イオンがエンドトキシン測定系に阻害作用を及ぼすこと、②医療機器にエンドトキシンが吸着すること、などが考えられた。

そこで、①の阻害効果の有無を調べるために、反応干渉因子試験を行った。

3.2 反応干渉因子試験 ステンレス製品（注射針、ブレード）からのエンドトキシンの回収率が低いことから、ステンレスの素材である金属イオンがエンドトキシン測定系に阻害作用を及ぼしていることが考えられた²⁾。そこで、ステンレスの構成素材である鉄イオンとクロムイオンの阻害作用の有無を調べてみた。この結果を図2, 3に示す。

図2からわかるように、FeSO₄·7H₂Oの濃度が0.01 μmolの場合で、エンドトキシンが80%回収できたが、FeSO₄·7H₂Oの濃度が濃くなるに従ってエンドトキシンが回収できなくなり、1 μmol以上の存在下では、エンドトキシンがほとんど回収できないことがわかった。

また、図4のCr₂(SO₄)₃·nH₂Oの場合でも、鉄イオンと同じような傾向を示し、Cr₂(SO₄)₃·nH₂Oの濃度が0.01 μmol以上の存在下では、エンドトキシンがほとんど回収できないことがわかった。このように、鉄イオンまたはクロムイオンの存在下では溶液中のエンドトキシンの回収が非常に困難なことがわかった。特に、クロムイオンは鉄イオンの百倍近くエンドトキシンの測定系に強く影響を及ぼしていることがわかった。

そこで、金属イオンの影響を防ぐためには、キレート剤等の使用が考えられる。

3.3 回収液にキレート剤などを用いた添加回収試験

キレート剤であるエチレンジアミン四酢酸 (EDTA-4Na)、界面活性剤であるポリソルベート 20 (Tween-20®) を回収液に用いて添加回収試験を行った。

この結果を図4に示す。図から明らかなように、水と比較した場合に、回収液にEDTA-4Naを用いることによって

回収率が高まることがわかった。しかしながら、ポリソルベート 20 の場合では、回収率の向上は認められなかった。

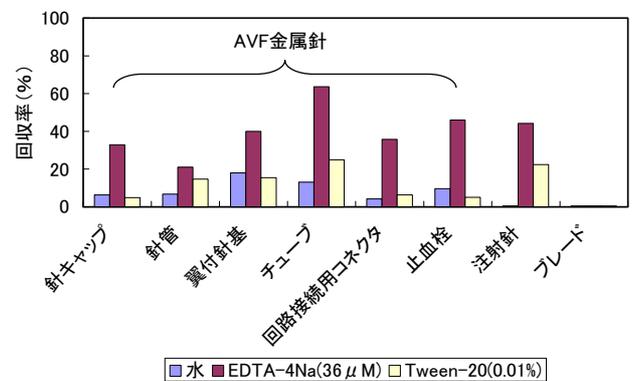


図4. 各種回収液を用いたときのAVF金属針等の添加回収試験結果

4. まとめ

医療機器からエンドトキシンを回収するための検討を行った結果、次の点を明らかにした。

- ・ 回収液に水を用いて、超音波とミキサーによる処理方法で回収を行っても医療機器からエンドトキシンを回収することが難しいこと。
- ・ 金属イオン、特にクロムイオンによりエンドトキシン測定系が阻害されること。
- ・ キレート剤であるエチレンジアミン四酢酸を回収液に用いると、医療機器からのエンドトキシンの回収率が向上すること。

(平成18年10月23日受付, 平成18年12月4日再受付)

文 献

- (1) TD.Bryans, C.Braithwaite, J.Broad, et al.: "Bacterial Endotoxin Testing", Biomedical Instrumentation & Technology, Vol.37, No.1, pp.73-78 (2004)
- (2) 土谷正和, 高岡文, 片山ゆかりら: 「リムルス試験の各種医療用具への適用」, 抗菌防黴, Vol.20, No.3, pp.139-145 (1992)