

日本医療研究開発機構 医薬品等規制調和・評価研究事業
事後評価報告書

公開

I 基本情報

研究開発課題名: (日本語) 再製造単回使用医療機器の洗浄工程における清浄性評価に関する研究
(英語) Study on cleanliness assessment for biological safety of reprocessed single-use medical devices

研究開発実施期間: 令和2年4月1日～令和5年3月31日

研究開発代表者 氏名: (日本語) 山本栄一 (令和2年4月1日～令和4年3月31日 齧島由二)
(英語) Eiichi Yamamoto (Yuji Haishima, April 1, 2020 - March 31, 2022)

研究開発代表者 所属機関・部署・役職:

(日本語) 国立医薬品食品衛生研究所・医療機器部・部長

(英語) Director, Division of Medical Devices, National Institute of Health Sciences

II 研究開発の概要

研究開発の成果およびその意義等

近年、単回使用医療機器（SUD）の再製造は、資源の有効活用や医療機関における廃棄物の削減、さらには医療費を低減し得ることから、今日の医療システムを維持し続けるための一助となると期待されている。厚生労働省は平成 29 年 7 月 31 日付で SUD の再製造に関する新たな仕組みを発表し、法令整備に関する通知を发出した。一方、再製造 SUD（RSUD）の品質は原製品と同等であることが必要条件であるが、その清浄性に着目した研究は世界的にも実施されていない。また、残留物の回収法や測定法については多くの報告があるが、統一された手法が存在しない。そこで本研究では、再製造 SUD の清浄性や使用済み SUD の回収等の取扱い時における安全性情報の提供等を目的として、残留蛋白質及び残留エンドトキシン評価法の最適化、バイオバーデンに基づく使用済み SUD の清浄性の考え方の整理を図った。

（1）研究総括・産官学連携体制構築

適切な産官学連携体制を整備し、研究班を統括することを目的とした。各分担課題を効率的に推進すべく、進捗を管理した。得られた成果を国内規制に反映させると共に、我が国の医療における RSUD 利活用の一般化、さらには RSUD 等の清浄性評価に係る国際標準獲得に繋げることを志向して、ステークホルダーズと情報や意見を交換できる機会や場を設定した。

（2）単回使用医療機器の再製造洗浄工程における残留蛋白質評価法の最適化に関する研究

再製造 SUD の清浄性評価法については、国内外で特にガイドラインや規格等が存在するわけではなく、再使用可能な医療機器をウォッシャーディスインフェクターで洗浄した際の評価法が参考として引用されている。再使用可能な医療機器の清浄性評価においては、残留物の回収にあたり、様々な溶媒が使用されているばかりでなく、処理時間・温度等の抽出条件や回収物の定量法も統一されていない。そこで本課題では、再製造 SUD の清浄性評価における主要マーカの一つである残留蛋白質の評価法の最適化を行った。回収法については、材質の異なる各種プラスチック及び金属にウシ血清やブタ全血及びヒツジ全血を塗布・乾燥した疑似サンプルを使用し、適切な洗浄を施した後、界面活性剤やウレア系細胞溶解液を含めた種々の溶媒を用いて、振とう、超音波処理、加温等、様々な条件下における蛋白質回収率を比較検討した。蛋白質の定量については、Micro BCA 法を含む種々の手法を適用し、各測定法の特性を比較した。残留蛋白質の回収・定量法の最適化を進めた後、適切な洗浄・滅菌を施した実製品（再使用可能な医療機器及び再製造 SUD）を使用した検証を実施した。最終年度には国内ラウンドロビンテストを行い、回収・定量法に関する技術移譲及び定量法の再現性評価及び回収効率に関する有効性評価を 9 施設で実施した。

（3）単回使用医療機器の再製造洗浄工程における残留エンドトキシン評価法の最適化に関する研究

医用材料からのエンドトキシン回収溶媒としてはエンドトキシン試験用水が汎用されているが、プラスチック及び金属材料の場合、水抽出では十分な回収率が得られないことが報告されている。また、ISO/PDTR 21585 「Pyrogenicity」では、試験の目的に応じて適切な試験法を選択することと規定されている。本課題では、適切な洗浄・滅菌を施した疑似サンプル又は使用済み SUD を使用し、エンドトキシン試験と direct HCPT との性能を比較検証し、再製造 SUD の in vitro 発熱性物質試験として最適な手法を検証した。エンドトキシン試験と比べて、direct HCPT は高感度であり、特に金属材料における検出能に優れていることが判明した。ライン化細胞は有用かつ継代維持が可能であり、ヒト凍結細胞は有用かつ高感度だが、継代不可であることから、目的等に合わせて細胞を選定することが重要であることが判明した。また、エンドトキシンの蓄積について検

証した結果、繰り返し使用に伴う金属及び高分子材料へのエンドトキシンの蓄積は、生物学的安全性上無視できることが確認された。

(4) ヒトに対する安全性を考慮した清浄性評価における許容基準値の設定に関する研究

再製造 SUD の残留蛋白質許容値を各種の毒性試験により設定することは現実的に困難であるが、バイオバーデンに着目した評価は有用であると考えられる。脳・脊髄等のプリオン感染リスクを有する組織に接触した SUD、一類から四類やその他の指定感染症患者の治療に使用した SUD の再製造は禁止されているため、患者由来のリスクは比較的 low、使用済み SUD の院内保管から再製造業者への運搬過程における微生物汚染が主なリスクになると考えられる。そこで本課題では、使用済み SUD のバイオバーデンを調査し、残存し得る最も毒性の高い外毒素等を指標としたワーストケースを想定して、その毒性データから残留蛋白質許容値を推定する考え方の構築を目指した。東大病院と阪大病院から提供された使用済み SUD の表面をスワブして回収したサンプルより DNA を抽出し、遺伝子解析法を用いてバイオバーデンを同定した。サンプルは適用部位により大別し、4~5 サンプルの DNA をまとめて、微生物 DNA の濃縮を行い、次世代シーケンサーによるメタショットガン解析を実施した。190 手術（患者数）で使用された SUD より同定された 226 種のバイオバーデンについて、情報収集を行った結果、外毒素が懸念される菌（種レベルまで）は 7 種であった。その中には大腸菌が含まれていたが、外毒素の強い毒性が知られている腸管出血性大腸菌は三類感染症であるため、回収対象から除外される。残りの 6 種の菌については、外毒素の高い毒性が懸念されているものはなかった。今回の結果より、外毒素のワーストケースからの残留蛋白質許容値の設定に対する議論は必要ないと考えられ、検出されたバイオバーデンについて、今後参入を考えている製造販売業者に向けて情報提供することが有用であると思われる。

Outline of Research and Development

In recent years, the remanufacturing of single-use medical devices (SUDs) has contributed to the continued maintenance of today's medical systems, as it can effectively utilize resources, reduce waste in medical institutions, and reduce medical costs, are expected. In the present study, to provide safety information at the time of handling such as cleanliness of remanufactured SUD and collection of used SUD, optimization of residual protein and residual endotoxin evaluation method, used SUD based on bioburden I tried to organize the concept of cleanliness.

(1) Research on optimization of residual protein evaluation method in the remanufacturing cleaning process of single-use medical devices

Regarding the method of assessing the cleanliness of the reprocessed SUDs, neither guidelines nor standards exist in Japan or abroad. Therefore, an evaluation method was cited from an ISO standard of test method criteria to demonstrate the cleaning effectiveness of washer-disinfectors, which was based on two papers. However, medical device materials have a wide variety of characteristics such as structures and properties. Various solvents have been used to recover residues under different conditions such as pH of buffer solutions, temperature, treatment time, and extraction methods. It is difficult to quantify accurate recovered substances for all medical devices uniformly. In this study, we have optimized the evaluation method of residual proteins, which is one of the main markers in the cleanliness evaluation of the reprocessed SUDs. To develop the recovery method, we used sample plates, which were made of two plastics (polycarbonate and polyethylene terephthalate) and two metals (stainless steel and titanium), and fetal bovine serum, porcine whole blood, and sheep whole blood were applied to and dried under 25°C-240°C. To extract residual proteins from the sample plates, various conditions were compared by shaking, sonication, and heating for several solutions. Finally, we proposed 1% SDS, 10 mM TCEP, 10 mM HEPES (pH 7.0) as a solution, to leave the samples in the solution at 25°C overnight as an extraction method after shaking, measure the ultraviolet-visible adsorption at 340 nm for reacting with *o*-phthalaldehyde under a reducing agent as a quantification method in order to simplify the extract and quantify method and to use for various materials. To verify the extraction and quantification method, reusable medical devices and reprocessed SUDs were examined by the method after appropriate cleaning and sterilization. In the final year, a domestic inter laboratory test was conducted to transfer the new technique and to validate the method by 9 facilities. We confirmed the protein recovery rate of the solution was more efficient than the current one and the evaluation method was effective.

(2) Study on optimization of residual endotoxin evaluation method in the remanufacturing cleaning process of single-use medical devices

In this study, test samples or used SUDs that have been appropriately cleaned and sterilised were used to compare and validate the performance of the endotoxin test with the direct HCPT and the optimal method for in vitro pyrogenicity testing of remanufactured SUDs. Compared to the endotoxin test, direct HCPT was shown to be more sensitive and to have superior detection capacity, especially in metallic materials. Cell lines are can be passaged and maintained, while human frozen cells are sensitive but not passatable. It is therefore important to select cells according to their purpose. The accumulation of endotoxins on metals and polymeric materials due to repeated use was shown to be negligible in terms of biological safety.

(3) Research on establishment of acceptable standard values in cleanliness evaluation considering human safety

Although it is practically difficult to set the permissible residual protein level of remanufactured SUD through various toxicity tests, an evaluation focusing on bioburden is considered useful. Remanufacturing of SUDs that have been in contact with tissues at risk of prion infection, such as the brain and spinal cord, and SUDs that have been used to treat

patients with category I to IV or other designated infectious diseases are prohibited, so patient-derived risks are relatively low. The microbial contamination during transport of used SUDs from hospital storage to remanufacturers is the main risk. Therefore, in this project, we investigated the bioburden of used SUDs, assume the worst case using the most toxic exotoxins, etc. that can remain as an index, and aimed to build a concept to estimate the allowable residual protein value from the toxicity data. DNA was extracted from samples collected by swabbing the surface of used SUDs provided by the University of Tokyo hospital and Osaka University hospital, and bioburden was identified using genetic analysis methods. The samples were roughly divided according to the application site, and the DNA of 4 to 5 samples was collected, the microbial DNA was concentrated, and meta-shotgun analysis was performed using a next-generation sequencer. As a result of collecting information on 226 species of bioburden identified from SUDs used in 190 surgeries (number of patients), and the number of exotoxin-producing bacteria was 7. *E. coli* was included among them, but since enterohemorrhagic *E. coli*, which is known to have a highly toxic exotoxin, is classified as a category III infectious disease, it is excluded from collection targets. None of the remaining 6 bacteria were concerned about high exotoxin toxicity. Based on the results of this study, it is considered unnecessary to discuss the establishment of residual protein tolerance values from the worst case of exotoxins, and it seems be useful to provide information on the detected bioburden to manufacturers who are planning to enter the market in the future.