

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 6 月 15 日現在

機関番号：32202

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2013～2015

課題番号：25860482

研究課題名(和文)芽胞産生菌による病院内感染の予防策の構築

研究課題名(英文) Establishment of measures to prevent hospital infections due to spore-forming bacteria

研究代表者

笹原 鉄平 (Sasahara, Tepei)

自治医科大学・医学部・講師

研究者番号：30448849

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,500,000円

研究成果の概要(和文)：芽胞産生菌による病院環境汚染と、そのリスクの解析を実施した。ディフィシル菌感染患者の35%の病室でディフィシル菌が検出された。検出場所は患者の接触が多い部位で、非感染患者周囲環境からは検出されなかった。環境汚染リスクとして、患者糞便の本菌培養陽性が挙げられた。本菌のPFGE解析では特定菌株が長期に病棟内に蔓延していることが示唆された。枯草菌とセレウス菌は全対象患者の環境から広く頻繁に検出された。医療従事者手指の芽胞汚染調査では、76.1%の医療従事者において汚染が見られた。汚染程度と、手指洗浄回数との間に有意な負の相関が見られ、芽胞汚染防止のため、2回/時間以上の手指洗浄が必要と考えられた。

研究成果の概要(英文)：Hospital environments were evaluated for bacterial spore contamination, and risk factors for the contamination was analyzed. The environments around 35% of the patients who had Clostridium difficile infections (CDI) were contaminated with CD spores. The spores were detected from the high-frequency contact objects, and not from the environments around non-CDI patients. The stool culture positive for CD was suspected as a risk factor for the contamination. PFGE analysis suggested that specific strain of CD had spread among the ward for the long term. Bacillus subtilis and B. cereus were widely detected from the environments around 86% of the all subjects. Medical staff were also evaluated for the contamination. Spores were detected on the hands of 76.1% of them. There was a significant negative correlation between the contamination level and the frequency of handwashing. Our results suggest that medical staff should wash their hands more than twice/hour to prevent spore contamination.

研究分野：感染制御

キーワード：感染対策 芽胞産生菌 病院環境 院内感染 手指衛生

1. 研究開始当初の背景

一部の細菌は、自己生存に不利な環境において、芽胞という構造物を産生することが可能であり、芽胞産生菌と呼ばれる。病院内感染を起こす芽胞産生菌として、ディフィシル菌 (*Clostridium difficile*) やセレウス菌 (*Bacillus cereus*)、さらに枯草菌 (*Bacillus subtilis*) が挙げられる。とくに近年、ディフィシル菌による病院内下痢症のアウトブレイク (Kato H et al. J Clin Microbiol. 2001) や、セレウス菌による病院内菌血症のアウトブレイク (Balm MN et al. J Hosp Infect. 2012) が複数の病院から報告されており、芽胞産生菌の病院内感染に対する予防策の確立が強く求められている。申請者は、これまでに芽胞産生菌アウトブレイクの解析を行ってきた。そして、芽胞による病院環境汚染が芽胞産生菌感染症の流行に深く関わっており、芽胞産生菌感染症を予防するためには、病院環境からの芽胞除去が必須であることを明らかにしてきた (Sasahara T et al. Eur J Clin Microbiol Infect Dis. 2011)。

申請者のこれまでの研究結果から、病院環境における芽胞汚染には高度汚染のポイントが存在し、そこが芽胞産生菌を供給するリザーバーとなっている可能性が考えられた。患者周囲の環境を調査して芽胞汚染部位を明らかにし、その結果を基に汚染の多い環境を重点的に効果よく芽胞を除去できる環境整備方法を提唱が可能となると考えられた。そして病院における芽胞産生菌感染症の予防が可能になるだけでなく、費用対効果の優れた環境整備方法が提供できると考えられた。

2. 研究の目的

本研究によって、病院環境、とくに患者病室の「どこに」「どの菌の芽胞が」「どの程度」汚染しているのかを明らかにすることを目的とした。また、芽胞汚染の環境汚染リスク因子を検索し、さらにその結果から効率的な環境整備方法の提唱を行うことを目標とした。また環境から患者へ芽胞を伝達する媒体として重要な、医療従事者の手指の芽胞汚染と手指衛生の実施状況の関係も明らかにし、望ましい手指衛生の方法についても提唱を行うことも目的とした。

3. 研究の方法

芽胞産生菌による病棟環境汚染調査の期間は、2012年4月-2015年3月とした。この期間において、病院感染制御部データベースを用い疫学的に関連する芽胞産生菌感染がないか、解析を行った。病棟環境調査は、自治医科大学附属病院救急病棟に入院中の

ディフィシル菌感染 (CDI) 患者 17 名およびコントロール患者 34 名の病室環境を対象として実施した。ベッドシート・ベッド柵・ベッドフレーム・ベッドテーブル・ドアノブ・床・洗面台に付着している芽胞をスワブ法で採取し、定量培養法で、枯草菌・セレウス菌・ディフィシル菌それぞれの汚染度を評価した。患者背景や実施されている環境整備方法を調査し、芽胞汚染のリスク因子を検討した。ディフィシル菌については、パルスフィールドゲル電気泳動法 (pulsed-field gel electrophoresis ; PFGE) を用いた遺伝学的タイピングを実施し、どのような菌株群が患者間・環境内に多く分布しているのかを分析した。

医療従事者の手指芽胞汚染の調査に関しては、71 名の医療従事者を対象として、芽胞による手指汚染の状況が分析された。各被験者が約 9 時間の勤務を終えた後に、手指に付着している芽胞が定量的に測定され、枯草菌・セレウス菌・ディフィシル菌それぞれの汚染度が調査された。同時に各被験者が実施した手指衛生の状況を聞き取り調査し、芽胞汚染の程度と手指衛生の実施状況との関係が統計学的に解析された。

4. 研究成果

調査期間において、疫学的に関連すると考えられる芽胞産生菌感染症について、孤発例は認める者の、集団発生は認められなかった。しかしながら、PFGE を用いたディフィシル菌菌株の解析では、12 名の患者由来菌株のうち、同一病棟 A に入院していた 4 名から検出された菌株、および同一病棟 B に入院していた 2 名から検出された菌株の遺伝子タイピングが一致した。大規模な水平感染は起こさないものの、特定の菌株群が長期にわたって患者間に蔓延している可能性が示唆された。また、ディフィシル菌に関しては、患者糞便中の菌株と、その患者周囲の環境から検出された菌株の PFGE パターンが一致しないケースも見られた。したがって、患者糞便から複数菌株が環境へ拡散されている可能性や、特定の菌株だけが環境中に残存していらる可能性なども考えられた。これらに関しては、菌株の解析を通してさらなる検討が必要と考えられた。

病棟環境調査では、合計 51 名の患者のベッド周囲の環境が調査された。ディフィシル菌に関しては、環境から菌が検出されたのは CDI 患者 17 名中 6 例 (35.3%) で、非感染患者の環境からは検出されなかった。検出場所は患者が直接触れるシートとベッド柵が主であった。ベッドテーブルから検出されたのは 1 例のみだった。それ以外の場所からは検出されなかった。また汚染度は 0.5 CFU/cm² 未満の場所が大部分で、それ以上となったのは、2 例のベッドシートとベッド柵のみで、

最大 1.8 CFU/ cm² だった。後述するような枯草菌やセレウス菌などのような高度汚染は見られなかった。ディフィシル菌の環境汚染因子の解析では、リスクとして、「患者背景が重症であること(ベッド上で排泄を行うほど全身状態が悪い)」「患者糞便のディフィシル菌培養が陽性」「頻回の水様便」が挙げられた。臨床現場で CDI を診断する検査として最も利用される患者糞便中の CD トキシン(毒素) 検出に関しては、トキシン検出の有無と環境汚染とは関係ないようであった。また本菌が検出された環境 6 例のうち、2 例ではアルコール式紙ワイプを用いた通常環境整備を 1 日 1 回実施していたが、4 例では高濃度の次亜塩素酸ナトリウム(1,000 ppm) 浸漬ガーゼを用いた環境消毒を 1 日 2 回以上実施していた。したがって、芽胞汚染に対し有効とされている高濃度次亜塩素酸ナトリウムによる環境消毒を実施していても、芽胞汚染が生じる条件が存在することを示唆している。一方、セレウス菌と枯草菌は、調査対象となった 51 例すべての患者周囲環境から検出された。これらの菌は、環境表面から広く検出されたが、枯草菌がどの環境表面からも同じように検出されるのに対し、セレウス菌はベッドシーツやベッド柵から集中的に検出されることが多かった。一方、これらの菌によるベッドテーブルの汚染は 47% の患者でしか見られず、他の環境表面よりも汚染頻度が少なかった。これらの菌の汚染度は、ほとんどの環境表面では 0.5 CFU/ cm² 未満だったが、ベッドシーツでは 20 CFU/ cm² を超える汚染も見られ、ベッドシーツは芽胞産生菌汚染リスクの高い環境表面と考えられた。ベッドシーツは日常的な消毒が実施できない物品であるため、医療従事者はその取扱い時に手指汚染が発生しないように十分な注意が必要である。また、本研究の結果から、環境表面の芽胞汚染の管理には、消毒方法の違いよりも、むしろ環境整備の頻度やタイミングを重視すべきではないかと思われる。今回芽胞汚染のリスクが高いと考えられたベッドシーツの交換頻度や、ベッド柵の消毒頻度など、適切な環境整備を実施するために、これらの汚染箇所を対象としたさらなる検討が必要であると考えられた。

医療従事者の手指汚染の調査：71 名中 54 名(76.1%) の手指から芽胞産生菌が検出された。検出された芽胞数の平均は、468.3 CFU/ 手(最高 3300 CFU/ 手) で、かなりの芽胞数に汚染されている被験者も存在した。枯草菌が検出されたのが 37 名(52.1%)、セレウス菌が検出されたのが 36 名(50.7%) いた。19 名の被験者(26.8%) は、両方の菌種に汚染されていた。ディフィシル菌は 1 名の被験者の手指からのみ検出された。手指汚染の程度と、手指洗浄の回数との間に、有意な負の相関があり($r = -0.44$, $P < 0.01$)、芽胞汚染を防止するためには、1 時間あたり 2 回以上の手指洗浄が必要と考えられた。一方、手指汚染

の程度と、手指洗浄を実施してからの経過時間の間には、有意な正の相関がみられ($r = 0.34$, $P < 0.01$)、手指洗浄を実施しないと時間経過とともに芽胞汚染が悪化することが示唆された。現在医療現場で日常的に実施されているアルコール製剤による手指消毒に加え、古典的な流水と石けんによる手指洗浄も定期的に行うことが、芽胞産生菌感染症を防止する上で重要であることが明らかとなった。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計 1 件)

Sasahara T, Ae R, Watanabe M, Kimura Y, Yonekawa C, Hayashi S, Morisawa Y. Contamination of healthcare workers' hands with bacterial spores. *J Infect Chemother.* 2016 May 25. pii: S1341-321X(16)30056-3. doi: 10.1016/j.jiac.2016.04.007

[学会発表](計 3 件)

笹原鉄平、菅原香織、渡辺美智代、稲川秀樹、林俊治、森澤雄司、平井義一．医療スタッフにおける手指衛生と手指芽胞汚染の関係．第 29 回日本環境感染学会総会学術集会、2014 年 2 月 14 日～15 日、東京

Sasahara T, Hayashi S, Morisawa Y, Hirai Y. Investigation and control measures of *Bacillus cereus* outbreak due to contaminated hospital linens. 第 88 回日本細菌学会総会、2015 年 3 月 26 日～28 日、岐阜

笹原鉄平、渡辺美智代、山越裕美、林俊治、森澤雄司．*Clostridium difficile* 感染患者周囲環境の芽胞汚染．第 31 回日本環境感染学会総会学術集会、2016 年 2 月 19 日～20 日、京都

[図書](計 0 件)

[産業財産権]

出願状況(計 0 件)

取得状況(計 0 件)

[その他]

<記事> 笹原鉄平．医療スタッフにおける手指衛生と手指芽胞汚染の関係．*Medical Tribune* (株式会社メディカルトリビューン発行) 2014 年 3 月 6 日号

6 . 研究組織

(1)研究代表者

笹原 鉄平 (SASAHARA, Teppei)

自治医科大学 医学部 講師

研究者番号 : 30448849