

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 6 月 6 日現在

機関番号：10101

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2013～2015

課題番号：25670902

研究課題名(和文) LAMP法を用いた看護ケア環境累積微生物汚染度の新評価システム構築

研究課題名(英文) Study on Environmental Cleanliness Evaluation Using the LAMP Method

研究代表者

矢野 理香 (YANO, RIKI)

北海道大学・保健科学研究所・准教授

研究者番号：50250519

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,900,000円

研究成果の概要(和文)：本研究は、病院内の新たな清浄度評価ツールとしてLamp法(Loop-mediated Isothermal Amplification)を導入することを目指して、ATPとスタンプ法に加えて菌叢解析を実施した。病院環境の清浄度指標であるATP法とスタンプ法には弱い相関がみられるもの、エラーバーが大きい傾向にあった。病院環境の清浄度測定を的確にするためには、このエラーバーの要因を明らかにすることが必要である。そこで、規模の異なる3病院の50サンプルを菌叢解析し、細菌叢に差異があるかを検証した。その結果、2病院の菌叢はバリエーションが類似していたが、1病院は特異的な細菌叢の構成を示した。

研究成果の概要(英文)：Our previous study into assessing hospital cleanliness in Japan by two common methods, ATP bioluminescence and the stamp agar method. Although a weak correlation was found between ATP-based assessments and stamp-based assessments, fluctuations by day were observed in those numbers, and the error bars were large. Therefore, to search for these factors, we used next generation sequencing to survey the microbial community membership of each sample from each hospital. The three hospitals were of different sizes, and we tested for inter-hospital differences in microbial community structure. We surveyed the microbial diversity in each of 50 environmental samples from three hospitals of different sizes. Although taxonomic diversity differed between hospitals A and B, intestinal bacteria were particularly overrepresented in hospital C. These results suggest that bacterial flora may be related to factors influencing the level of cleanliness within a hospital.

研究分野：看護学

キーワード：微生物汚染度 ATP LAMP法 病院環境 清浄度評価

1. 研究開始当初の背景

医療施設における患者を取り巻く環境を、安全で快適な状態に整えることは看護実践の基本であり、同時に全面的な責任を負う。これまで、病院内の清浄度管理については、国内外問わず ATP を指標として測定された院内累積微生物量を利用した病院内清浄度評価が普及している。しかしながら ATP は院内感染の原因となる微生物のみならず人の汗や皮膚にも大量に存在するので、ATP 値の増減は決して病原菌存在の有無や量を正確に反映するものではない。また古典的な生菌数算定法スタンプ培養も簡便で院内感染予防サーベランスの手法として良く利用されているが、“培養が可能な微生物”のみが対象であり、環境累積微生物を網羅的にしかも正確には検出できない。ATP やスタンプを用いた院内環境累積微生物調査には盲点はないのか。

そこで、私たちは規模の異なる3病院(院内計832箇所)を対象とし、病棟内の各所の環境表面細菌量の経時的変化を ATP 値と生菌数(スタンプ)の2方向より調査し、その実態を明らかにするとともに、汚染に関連する要因と考えられるスタッフ数や入院患者数、病棟規模等の影響要因との関連を検討した。その結果、ATP 量とスタンプ法による生菌数の結果が必ずしも一致せず、さらにどちらの結果も院内微生物の伝播に直接影響を与える”ヒトの流れ”(医療スタッフや患者数)とは関連しないことを明らかにした。これは私たちの予想した通りの結果であり、院内感染予防のベンチマークとして普及している ATP もスタンプにも私たち看護師が見逃してしまっている盲点が存在することを如実に現している。さらに、患者周辺以外の清浄度が維持されていたにも関わらず、最も清浄度を高めるべき重症度の高い患者周辺は清浄度が保持されているとはいえなかった。

以上のことから、患者周辺の清浄度をさらにモニタリングする必要性が示唆されたものの、ATP 量とスタンプ法はいずれも、看護師が簡便に病院内の感染管理の累積環境微生物汚染を正確に評価するには不十分であり、院内累積微生物汚染度を正確にしかも簡便にモニタリングするための新規デバイスの導入と確立が先決であると考えた。そこで簡便な微生物遺伝子検出デバイス LAMP 法に着眼しそのシステムを構築するとともに、その新規デバイスを用いて患者周辺を含め院内環境の累積微生物汚染度の横断的調査および縦断的調査を実施し、新規の院内感染予防ベンチマークを提唱したいと考えた。

2. 研究の目的

本研究では、網羅的微生物量定量 LAMP 法を導入し、その有用性を検証後、看護師がベッドサイドで簡便に取り扱い可能な院内

環境累積微生物汚染度の新たな院内評価システムの構築を目指す。

< 研究目的 1 >

病床規模の異なる3病院において、清浄度に影響すると予測される診療科と平均在院日数、患者および看護師の管理環境に焦点をあて、ATP 値を用い高頻度に接触する環境表面別清浄度の実態を明らかにする。

< 研究目的 2 >

環境表面の物性が細菌の挙動に影響している可能性を検証するために、研究目的1の調査結果を再分析し、医療現場における環境表面の物性(メラニン化粧版、ステンレス、木製、ABS樹脂、塩化ビニルなど)と ATP 値と生菌数の関連性を明らかにする。

< 研究目的 3 >

規模の異なる3病院における環境表面について、メタゲノム解析により院内環境微生物プロファイルを取得し、環境微生物汚染度の指標となる幾つかの細菌群を選定する。

3. 研究の方法

< 研究目的 1 および 2 >

1) 調査対象と方法: 病床規模の違う3病院(500床以上:A病院, 100床以上500床未満:B病院, 100床未満:C病院, 各1病院)にある2~3病棟, 計8病棟の環境表面各箇所を対象とした。各病棟週1回, 調査時間は平日午前11時前後とし、清掃から約2~3時間経過し、清掃の影響を受けない時間とした。調査期間は、2ヶ月間, 計8回測定した。

対象病棟内における高頻度接触表面として、下記の9カ所を選定した。

看護師管理環境(計3カ所): 点滴処置台, 看護師の使用しているワゴン(以下, ワゴン), ナースステーションの机(以下, 看護師机)
患者管理環境(計6カ所): 多床室, 個室における床頭台(床頭台に棚など物品が置く場所がない場合はロッカーの棚の上, 以下, 多床室床頭台, 個室床頭台), オーバーベッドテーブル(以下, 多床室オーバーベッドテーブル, 個室オーバーベッドテーブル), 窓のさん(以下, 多床室さん, 個室さん)

2) 調査方法

(1) 3M クリーントレース ATP モニタリングシステム(以下, ATP システム)による ATP 値の測定

サンプルは、測定用スティックで約10cm平方の表面を拭き採取した。本研究では、500RLU 以下が清浄度を保たれている状態として分析した。

(2) 清浄度に関連する要因のヒアリング

調査月における看護単位規模, 調査当日入院患者数および平均在院日数, 清掃管理方法を看護管理者にヒアリングした。

(3) 環境表面の物性に関するヒアリング

調査対象とした高頻度接触表面の物性に

ついて、製品番号および型番等から使用している素材をメーカーに問い合わせ、確認した。

3) 分析方法

各病院における看護管理環境および患者管理環境の2群のATP値について、Mann-Whitney's U検定を行い、比較検討した。次に、各病院内の各診療科間(産科・外科・内科)のATP値においては、AおよびB病院においては一元配置分散分析および多重比較(Bonferroni検定)を行い、C病院では、Mann-Whitney's U検定を行った。物性間のATPおよびスタンプ値についても同様に統計学的分析を行った。

4) 倫理的配慮

3病院のうち、倫理審査の対象となったのは1病院のみであり、その倫理委員会の承認後に調査を実施した。

<研究目的3>

1) データ方法

規模の違う3病院にある2病棟の環境表面各9か所、合計3回、滅菌生理食塩水に浸した滅菌綿棒でサンプルを採取した。

(1) 測定日時と場所

平日の午前中とし、測定回数は各箇所1日1回、計3回とした。測定場所は、看護師管理環境：点滴処置台、ナースステーションの机、看護師用ワゴン、患者周辺環境：多床室 床頭台、オーバーベッドテーブル、室内の棚、個室 床頭台、オーバーベッドテーブル、室内の棚等とした。

(2) サンプル採取方法

測定範囲は各箇所400cm²とした。

サンプルは、病棟内にて、滅菌生理食塩水に浸した滅菌綿棒で各箇所400cm²拭き取り、採取した。

(3) 採取したサンプルは、大学内でDNAを抽出後、外注依頼にて、環境微生物のDNA抽出後、PCR(polymerase chain reaction)法を実施し、メタゲノム解析を業者に依頼した。次世代シーケンス解析、微生物群集解析を実施し、微生物叢のゲノムDNA塩基配列を一度に取得し、微生物間の相互作用の網羅的解析を実施した。

<倫理的配慮>

有人の病床の場合は研究開始時に研究の目的、方法を口頭で説明し、口頭での同意を得た後に開始する。また、測定時、床頭台やオーバーベッドテーブルに置かれている物品移動の可能性があるが、測定は各箇所3分程度であり、環境は測定前の状態に還元して退室する。また、測定中に見聞きした個人情報については一切、記録・口外しない。また、上記に加えて、測定を拒否してもなんら不利益は生じないことを説明し同意を得る。入院患者が不快を感じないように細心の注意を払い、申し出があった場合はすぐに中止する。本研究院の倫理審査の承認を得た(13-33)

4. 研究成果

<研究目的1について>

各病院における各箇所全体のATP中央値は、全ての箇所で500RLU未満であった(図1、図2、図3)。よって、病棟環境の清掃管理は、十分に行き届いていた。また、全ての病院において、病院全体の看護師管理環境が患者管理環境よりも有意にATP値が低かった。各病院での全体のATP中央値は、点滴処置台、ワゴンにおいて値が低く、最も高い値は、全病院で多床室のオーバーベッドテーブルであった。

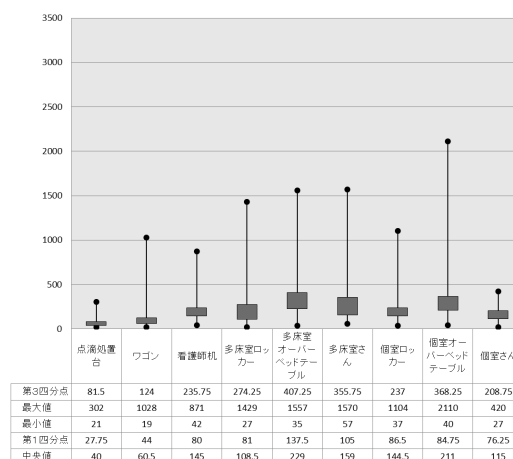


図1 A病院における各調査箇所のATP最大値および最小値

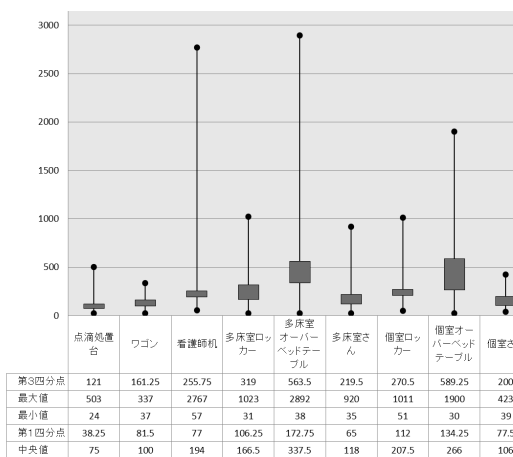


図2 B病院における各調査箇所のATP最大値および最小値

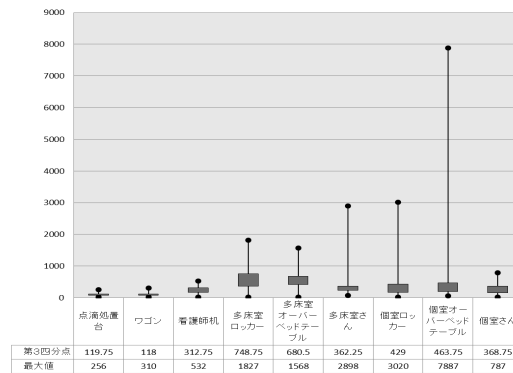


図3 C病院における各調査箇所のATP最大値および最小値

<研究目的2について>

ATP 値での環境表面評価は、物性の影響を受けた (Fig4)。一方、生菌数での評価は、物性の影響を受けなかった (Fig5)。したがって、物性によって ATP 値および生菌数の評価に差異があり、病院内の感染管理において、累積環境微生物汚染評価には、環境表面の物性を考慮する必要性が示唆できた。

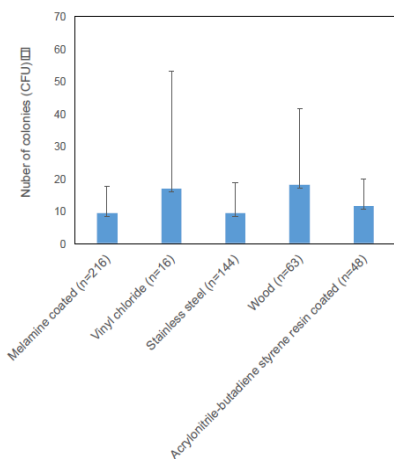


Fig4 各物性とスタンプ値の関連

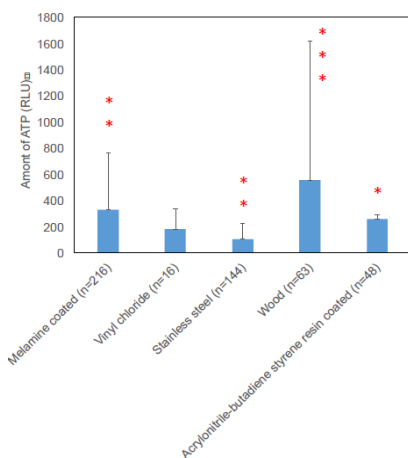


Fig5 各物性とATP値の関連

<研究目的3について>

データ収集をした病院の全サンプル数は162、そのうちDNA抽出し、分析が可能であったサンプルは50サンプルで、その内訳は、A病院 n=15、B病院 n=19、C病院 n=16であった。

各病院の菌叢解析の各門、綱、目などの割合を示している。各病院で検出された各門、綱、目などの reads 数は病院間の差はなかった。

3病院ともに、最も多かったのは、腸内細菌叢であった。また、菌叢解析の結果、AとB病院は菌叢にバリエーションがある分布になっているにも関わらず、C病院は他の病院と比較しても一部の腸内細菌叢が80%を占め、偏重が大きいことが明らかになった。

本研究の結果は、病院ごとにATPやスタンプでの数値的に測定できる数値だけでは

測定しきれない実態であり、医療機関すべてが一律の汚染状況の評価することが妥当か疑問を呈する結果ともいえる。このような細菌叢のバリエーションがある病院では、病院環境における意味がどのようなものなのか、ある特定の細菌叢に偏ることがどのような影響を及ぼすのかは検討する必要があると考える。環境累積微生物汚染度の新たな院内評価システムの構築のためには、今後、さらに他施設におけるサンプルを収集し、病院による差異があるのかを検証することが必要である。そのうえで、院内環境微生物プロファイルより指標となる細菌を10菌種程度ピックアップし、LAMP法プライマーを設計する必要があると考えられた。

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3件)

Shimoda T, Yano R, Nakamura S, Yoshida M, Matsuo J, Yoshimura S, Yamaguchi H: ATP bioluminescence values are significantly different depending upon material surface properties of the sampling location in hospitals. BMC Res Notes, 査読有, 21:8:807,2015.

Doi:10.1186/s13104-015-1757-9.

渡辺玲奈, 下田智子, 矢野理香, 良村貞子: 病床規模の異なる病院におけるATP(アデノシン三リン酸)値を用いた環境表面清浄度調査. 看護総合科学研究会誌, 査読有, 16巻, 2015, 13-21.

[http://eprints.lib.hokudai.ac.jp/dspace/bitstream/2115/60029/1/kangosogou16\(1\)_13-21.pdf](http://eprints.lib.hokudai.ac.jp/dspace/bitstream/2115/60029/1/kangosogou16(1)_13-21.pdf)

Watanabe R, Shimoda T, Yano R, Hayashi Y, Nakamura S, Matsuo J, Yamaguchi H: Visualization of hospital cleanliness in three Japanese hospitals with a tendency toward long-term care. BMC Research Notes, 査読有, 7:121, 2014. Doi:10.1186/1756-0500-7-121.

(学会発表)(計2件)

矢野理香, 山口博之, 松尾淳司, 大久保寅彦: 病院での環境清浄度評価の盲点と院内細菌叢の実態. 第89回日本細菌学会, 2016年3月25日, 大阪国際交流センター(大阪府大阪市).

Reina Watanabe, Tomoko Shimoda, Rika Yano, Hiroyuki Yamaguchi, Sadako

Yoshimura: Fundamental Inquiry of Environment Surface's Cleanliness

Using Stamp Agar Culture Methods in
Japanese Acute Care Wards , 9th
INC&3rd WANS(International Nursing
Conference & World Academy of Nursing
Science) , 2013.10.18 , The-K Seoul
Hotel(Seoul,Korea)

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

出願状況(計 0 件)

取得状況(計 0 件)

6 . 研究組織

(1)研究代表者

矢野 理香 (YANO,RIKA)

北海道大学大学院保健科学研究院・准教授
研究者番号：50250519

(2)研究分担者

良村 貞子 (YOSHIMURA,SADAKO)

北海道大学大学院保健科学研究院・教授
研究者番号：10182817

渡辺玲奈 (WATANABE, REINA)

北海道大学大学院保健科学研究院・客員研
究員

研究者番号：10431313

下田智子 (SHIMODA,TOMOKO)

北海道大学大学院保健科学研究院・助教
研究者番号：60576180