

研究報告

療養環境の清掃・消毒の効果に関する検証

東野 督子¹ 神谷 和人² 藤井 徹也³

要旨

医療施設において耐性菌で最も多く分離される methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) は、材質によっては 30 日以上生存が確認され、殺菌効果があるとされる銅や真鍮においても牛胎児血清が加わると *S. aureus* の 15 日以上生存が示された (東野・神谷, 2011, 2012)。本研究では、療養環境に生存する病原微生物を除去できる住宅用洗剤の使用に関する検討を行う。

方法は、EN 13697 (European Norm: 欧州標準規格) を踏まえて、日本石鹼洗剤工業界の方法を参考にして、牛胎児血清が加わった MRSA などの疑似汚染における水拭き清掃と環境消毒剤含有の環境用合成洗剤を使用した細菌の生菌数の減少率を比較した。

試験菌の付着片作成法: 非耐性株である methicillin-sensitive *Staphylococcus aureus* [MSSA (ATCC29213 株)]、及び MRSA である ATCC43300 株を用いた。試験菌の付着片は、ステンレス片を 2 cm × 2 cm 大にカットし滅菌した後牛胎児性血清を含む菌液を滴下しデシケーター中で乾燥させ作成した。試験菌の回収は、供試薬剤 100 μ l を 1 分間作用させた後、消毒効果を止めるための中和剤の使用の有無の比較で行った。

四級アンモニウム塩の効果は 1 分以上の作用を必要とする。四級アンモニウム塩を含む環境用合成洗剤であっても、1 分より短い接触時間で乾燥する程度の使用量では、四級アンモニウム塩配合の効果は期待できない。

キーワード MRSA、療養環境の清掃、4 級アンモニウム塩、環境用合成洗剤

I. はじめに

医療における感染は、患者自身の常在細菌叢に起因する感染、医療従事者の手指汚染に起因する感染、患者周囲環境や周辺にある医療器具の汚染に起因する感染がある。このうち、患者周囲環境に起因する感染が成立するには、環境に病原微生物が生存できること、環境以外の伝播の手段がないこと、環境と患者から検出された病原微生物が遺伝子検査で同一であること、加えて原因と考えられる病原微生物汚染の除去によって伝播が削減できることと記載されている (Weber & Rutala, 2003)。

Ramping et al. (2001) は、集団発生事例の対策として隔離予防策を実施しても伝播が終息しなかったが、療養環境の清掃を強化したところ終息に寄与したと結論付けている。我が国でも、大湾ら (2004) が清掃方法の変更により伝播が終息したと報告していて、伝播の削減に寄与できる対策の 1 つとして清掃の役割りが示されている。

米国 CDC (2007) は、療養環境の清掃は日常的清掃を基本として、頻回に接触する患者周囲環境 (ベッド柵、オーバーテーブル、ドアノブ、病室のトイレの中など) は高頻度に清掃・消毒することとしていて、最も汚染している可能性のある病原微生物に対して環境保護庁 (Environmental Protection Agency: EPA) 承認の消毒入り洗剤 (ベンザルコニウム塩化物、ベンゼトニウム塩化物などの四級アンモニウム塩などを配合) を用い

¹ 日本赤十字豊田看護大学看護学部

² 愛知県立大学

³ 聖隷クリストファー大学看護学部

ることを勧告した。我が国でも、厚生労働省医政局指導課長通知（2011）の医療機関等における院内感染対策において「院内感染は、人から人への直接接触、又は医療機器、環境等を介して発生する」の記述が示され、環境整備においても多剤耐性菌患者が使用した病室等には低水準消毒を用いることを求めている。

しかし、療養環境に対する効果的な清掃方法の検討の報告は少なく（遠藤他、2012；Oie et al., 2011）、臨床で実施される水拭き清掃や消毒剤を含有する環境等合成洗剤の使用の有無による違いを評価した報告もほとんど見当たらない。そこで今回、4級アンモニウム塩を配合した環境用合成洗剤を使用して療養環境の清掃の効果に関する検証を行った。

II. 方法

1. 用語の定義

環境用合成洗剤：洗剤・石けん公正取引協議会の定義を参考にして家庭用品品質表示法に規定される合成洗剤・石鹸のうちの住宅用または医療施設の環境用に用いられるものを「環境用合成洗剤」と定義した。

除菌：洗剤が菌に与える影響については薬事法の規定により殺菌、消毒の用語が使用できないことから、蓼沼（2012）の定義を参考に洗剤が細菌数を有効量減少させることと定義した。除菌効果の判定基準は後述した。

2. 調査方法

環境表面の洗剤・石鹸における洗浄・除菌評価法については、欧州の標準規格である European Norm 13697：EN13697（European Norm, 2001）と我が国の公正取引委員会から認定を受けた洗剤・石けんにおける洗浄・除菌評価法（洗剤・石けん公正取引協議会、2007）を参考にした。*S. aureus* は基準株を用いて実施した。試験洗剤の作用時間は1分間とした（Rutula & Weber, 2004）。

3. 材料

1) 試験洗剤

環境用合成洗剤 A（四級アンモニウム塩含有あり）、環境用合成洗剤 B（四級アンモニウム塩含有なし）の2種類を選定した。試験剤の使用濃度は製造会社の示した適正使用濃度に調整した。

2) 試験菌

MSSA の標準株として ATCC 29213、MRSA は ATCC 43300 の2種類の菌株を使用した。

3) 試験菌の付着片作成法

SUS304 のステンレス片を 2 cm × 2 cm 大にカットし滅菌した後に牛胎児性血清を含む菌液 50 μ l [10⁶ colony forming units (cfu)] を滴下した。試験菌を付着させたステンレス片を五酸化ニリン入りのデシケーター中に入れ、真空に吸引して急速に乾燥させた。これを試験菌の付着片として実験に使用した。試験菌の付着片は調査目的毎に4つ作成した。

4) 試験試料の接種量・時間と培地への接種・培養

ステンレス片に付着した菌液に洗浄剤の 1 ml を 1 分間作用させた後、中和剤である LP 希釈液（ダイゴ）9 ml を加えて 10 分間放置した。なお、この液を 10 倍段階希釈法によって希釈し、100 μ l をトリプチケースソイ寒天培地（日本ベクトン・ディッキンソン）に接種して生菌数を求め、底が 10 の対数 (\log_{10}) に変換した cfu で減少数を算出した。コントロールとしては水を用いた。測定は室温 20℃～25℃、相対湿度平均 53.9% の環境で行った。

4. 減少数算出方法と除菌効果判定基準

減少数 = 試験洗剤を使用する前の生菌数 (\log_{10}) - 試験洗剤を用いた後の生菌数 (\log_{10})。除菌効果判定は、対数で 4 以上減少した場合を有効とした。

III. 結果

環境用合成洗剤の使用における除菌効果の検討結果を表 1 に示した。

1. 四級アンモニウム塩含有の環境用合成洗剤 A を 1 分間作用させた後に中和剤を使用した場合は、適正濃度であっても、MRSA、MSSA とともに細菌の減少数は有効ではなかった。
2. 四級アンモニウム塩含有の環境用合成洗剤 A を 1 分間作用させた後に中和剤を使用しない場合は、試験菌が MRSA であっても、MSSA であっても生存は認められなかった。減少数は有効であった。
3. 環境用合成洗剤 B を 1 分間作用させた場合は、中和剤の使用の有無にかかわらず、適正濃度であっても、MRSA、MSSA とともに減少数は有効ではなかった。

表1 ステンレス片の細菌汚染に対して住宅用洗剤の効果

環境用合成洗剤	洗剤の濃度 中和剤の使用の有無	MRSA			MSSA		
		平均数	SD	減少数	平均数	SD	減少数
A 四級アンモニウム塩あり	適正濃度 1分作用後の中和剤あり	5.3	0.3	0.7	4.9	0.3	1.1
	0.5倍濃度 1分作用後の中和剤あり	4.9	0.4	1.1	5.0	0.3	1.0
	適正濃度 1分作用後の中和剤なし	0	0	6*	0	0	6*
水		5.6	0.1	0.4	5.3	0.4	0.7
B 四級アンモニウム塩なし	適正濃度 1分作用後の中和剤あり	5.3	0.1	0.7	5.6	0.0	0.4
	0.5倍濃度 1分作用後の中和剤あり	5.3	0.2	0.7	5.4	0.1	0.6
	適正濃度 1分作用後の中和剤なし	5.7	0.1	0.3	5.9	0.2	0.1
水		5.7	0.2	0.3	5.9	0.1	0.1

1. 数値は底が10の対数 (log₁₀) に変換した colony forming units (CFU) ± SD で示した
 2. 中和剤: LP希釈液(ダイゴ) 四級アンモニウム塩の作用を止める
 3. 減少数 = 試験洗剤を使用する前の生菌数 (log₁₀) - 試験洗剤を用いた後の生菌数 (log₁₀)
 4. *: 減少数が対数で4以上の場合を有効として記した

4. コントロールとした水を1分間作用させた場合は、MRSA、MSSAともに細菌の減少数は有効ではなかった。

IV. 考察

四級アンモニウム塩を含む環境用合成洗剤 A に中和剤を用いないと MSSA、MRSA ともに減少数は有効を示し細菌の生存はなく除菌効果が認められた。しかし、四級アンモニウム塩を1分間作用させて中和剤を混入して効力を抑制すると細菌の発育が認められ、コントロールの水を作用させた場合と同程度となった。このことは、四級アンモニウム塩を含む環境用合成洗剤は効果があるが、その作用を発揮するには1分より長い接触時間が必要であることを示している。そのため、臨床において四級アンモニウム塩を含む環境用合成洗剤を使用したとしても、1分以内に乾燥するほどの少量の使用状況では効果が期待できない事が考えられた。洗浄剤を含ませる場合は、1分以内に乾燥しない程度の分量を含ませるか、市販されている湿潤式使い捨てクロスにおいても1分以内に乾燥しないような厚手のクロスを選択するなど、四級アンモニウム塩が作用できる時間を確保する工夫が必要であると考えた。

また、四級アンモニウム塩を含まない環境用合成洗剤

やコントロールの水の使用では MRSA や MSSA に対して全く除菌効果が確認されなかった。このことから、水拭きや消毒効果を含まないクロスを連続して用いて別の患者の療養環境を清掃することは、病原微生物を拡散させることが考えられた。これまでも、患者退院に伴う清掃後にも病原微生物による汚染があるなどの報告は不十分な清掃の証拠であり (French et al., 2004; Weber & Rutala, 1997)、MRSA を保菌する同室者が MRSA の獲得のリスク因子となっている報告 (Huang, S.S., Datta, & Platt, 2006; Moore, C. et al., 2008)、鼻腔から MRSA を検出した患者の腹部と環境は同程度汚染している報告 (Chang et al., 2010) は、療養環境の汚染を軽視できないことを示している。適正な環境用合成洗剤の選択と清掃方法によって、少なくとも MRSA、MSSA の周囲環境の汚染を広げるリスクを低減できると考えた。

今後は、本研究で得られた結果を看護師が臨床の場で実践することで、療養環境の清掃効果が期待される。

IV. 結論

四級アンモニウム塩を含む環境用合成洗剤は1分より長く作用させると細菌の減少数が100%となった。しかし、1分以内では四級アンモニウム塩の効力は、不十分で、水と同程度であった。以上より、四級アンモニウム塩を含む環境用合成洗剤の使用による効果を期待するならば、1分より長く作用させる必要がある。

患者療養環境の清掃において、四級アンモニウム塩を含む環境用合成洗剤の使用では、1分以内に、乾燥しない水分量で使用する必要がある。

市販の四級アンモニウム塩含有の使い捨てクロスを用いる場合は、拭き取り後1分以上要するに、洗浄剤を多く含むことができる厚手のクロスを選択する必要がある。

本研究は、第28回日本環境感染学会で発表しました (2013年3月)。

文献

- CDC (2007). Guideline for isolation precautions: Preventing transmission of infectious agents in healthcare settings. <http://www.cdc.gov/>, 2007.
- Chang, S., Sethi, A. K., Stiefel, U., Cadnum, J. L., &

- Donskey, C. J. (2010). Occurrence of skin and environmental contamination with methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* before results of polymerase chain reaction at hospital admission become available. *Infection Control and Hospital Epidemiology*, 31, 607-612.
- 遠藤博久, 小林寛伊, 梶浦工, 大久保憲, 吉田敦, & 奥住捷子 (2012). 臨床分離 *Acinetobacter* 属の消毒薬感受性. *日本環境感染学会誌*, Supplement 27, 167.
- European Norm (2001). BS EN 13697 chemical disinfectants and antiseptics—quantitative non-porous surface test for the evaluation of bactericidal and/or fungicidal activity of chemical disinfectants used in food, industrial, domestic and institutional areas—Test method and requirements without mechanical action. Japan : Japan standards association.
- French, G. L., Otter, J. A., Shannon, K. P., Adams, N. M., Watling, D., & Parks, M. J. (2004). Tackling contamination of the hospital environment by methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) : A comparison between conventional terminal cleaning and hydrogen peroxide vapour decontamination. *The Journal of Hospital Infection*, 57, 31-37.
- 東野督子 & 神谷和人 (2011). 医療施設で使用される資材や器材に付着した Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* の各種温度条件における生存性. *日本環境感染学会誌*, 26, 67-73.
- 東野督子 & 神谷和人 (2012). 病院で使用される資材に付着した血清が及ぼす MRSA の生存性. *感染症学雑誌*, 86 (6), 784-5.
- Huang, S. S., Datta, R., & Platt, R. (2006). Risk of acquiring antibiotic-resistant bacteria from prior room occupants. *Archives of Internal Medicine*, 166, 1945-1951.
- 厚生労働省 (2013). 院内感染サーベイランス事業 全入院患者部門 JANIS (一般向け) 期報・年報. <http://www.nih-janis.jp/report/index.html>, 2013.
- 厚生労働省医政局指導課長通知 (2011). 医療機関等における院内感染対策について 医政指発 0617 第 1 号 別記. <http://www.nih-janis.jp/report/index.html>, 2013.
- Moore, C., Dhaliwal, J., Tong, A., Eden, S., Wigston, C., Willey, B., & McGeer, A. (2008). Risk factors for methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) acquisition in roommate contacts of patients colonized or infected with MRSA in an acute-care hospital. *Infection Control and Hospital Epidemiology*, 29, 600-606.
- 日本工業標準調査会 (2010). 日本工業規格 (JIS Z2801) 抗菌加工製品—抗菌性試験方法・抗菌効果. 東京 : 日本規格協会.
- Oie S., Obayashi A., Yamasaki H., Furukawa H., Kenri T., Takahashi M., Kawamoto K., & Makino S. (2011). Disinfection Methods *Bacillus atrophaeus*, *B.anthraxis*, *Clostridium tetani*, *C.botulinum*, *C.difficile*. *Biological & Pharmaceutical Bulletin*, 34, 1325-1329.
- 大湾知子, 高良武博, 玉那覇利江子, 仲村富江, 呉屋高広, 室岡美和子, 宮城今日子, 備瀬敏子, 佐久川廣美, 新川博美, 前川和代, 野中薫雄, 健山正男, 草野展周, & 斎藤厚 (2004). 皮膚疾患患者の診療および看護行為に関連した感染防止対策の意識調査 シャワーベッドによる MRSA 接触伝播経路の遮断. *環境感染*, 19, 451-457.
- Rampling, A., Wiseman, S., Davis, L., Hyett, A. P., Walbridge, A. N., Payne, G. C., & Cornaby, A. J. (2001). Evidence that hospital hygiene is important in the control of methicillin-resistant *staphylococcus aureus*. *The Journal of Hospital Infection*, 49, 109-116.
- Rutala, W. A. & Weber, D. J. (2004). Disinfection and sterilization in health care facilities: What clinicians need to know. *Clinical infectious diseases*, 39, 702-709.
- 洗剤・石鹼公正取引協議会 (2007). 住宅用合成洗剤および石けんの除菌活性試験方法. <Http://jsda.org/w/index.html>, 2012.
- Weber, D. J. & Rutala, W. A. (1997). Role of environmental contamination in the transmission of vancomycin-resistant enterococci. *Infection Control and Hospital Epidemiology*, 18, 306-309.

Weber, D. J. & Rutala, W. A. (2003). The environment as a source of nosocomial infections. In R.P. Wenzel (Ed.), *Prevention and control of nosocomial infections*. 4th (pp.575-597). USA : Lippincott

Williams & Wilkins.

蓼沼裕彦 (2012). 抗菌加工製品の抗微生物活性の評価・測定法とその課題 洗剤・石けんにおける洗浄・除菌評価. *防菌防黴*, 40, 237-245.

Verification of the Effects of Cleaning and Disinfection in Medical Treatment Environments

HIGASHINO Tokuko¹, KAMIYA Kazuhito², FUJII Tetsuya³

¹Japanese Red Cross Toyota College of Nursing,

²Aichi Prefectural University,

³Seirei Christopher University

Abstract

Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA), the most frequently isolated resistant bacterium in medical institutions, has been demonstrated to survive for over 30 days, depending on the materials on which they grow. *S. aureus* has been shown to have the ability to survive for over 15 days even on copper and brass, which are said to be bactericidal, in the presence of fetal bovine serum (FBS) (Higashino and Kamiya,2011,2012). In this study, the efficacy of environmental detergents in eliminating pathogenic microbes surviving in medical treatment environments was evaluated.

Based on EN 13697 (European Norm), taking into account the method recommended by the Japan Soap and Detergent Association, the rates of decrease of the viable bacteria were compared between wiping with water alone and wiping with an environmental detergent containing an environmental disinfectant for pseudo contamination, such as MRSA growing in FBS. Method of preparation of the small pieces of material carrying the test bacteria: Methicillin-sensitive *Staphylococcus aureus* (MSSA [ATCC29213]), which is non-resistant strain, and the MRSA strain, ATCC43300, were used. Small pieces carrying the test bacteria were prepared by cutting a stainless steel plate into 2 cm × 2 cm pieces, sterilizing the pieces, dropping bacterial solution containing FBS on them, and then drying the pieces in a desiccator. The test bacteria were recovered after applying 100 $\mu\ell$ of the test detergent to the pieces for one minute and then using a neutralizing agent.

Environmental detergents containing quaternary ammonium salt were bactericidal only when the application time was longer than one minute. Bactericidal effects cannot be expected of environmental detergents, even when they contain quaternary ammonium salt, if the contents of these compounds are so small as to cause drying of the detergent within one minute of application.

Key words: MRSA, cleaning of medical treatment environment, quaternary ammonium salt, environmental detergent