

医療機関における環境細菌検査 に関する報告書

東北感染症研究会（令和）

金光敬二（東北大学大学院総合感染症分野 客員教授）
加來浩器（防衛医科大学校 防衛医学研究センター 教授）
仲村 究（岩手医科大学臨床検査医学・感染症学講座 教授）
遠藤史郎（東北医科薬科大学感染症内科 教授）
青柳哲史（東北大学大学院総合感染症学分野 教授）
新井和明（東北医科薬科大学研究員）

【はじめに】

医療機関において環境の整備は極めて重要である。医療機関には、外来患者、救急患者、医療従事者のみならず、患者の家族、見舞客、検査会社、リネン業者、製薬メーカーなど数多く訪来者が出入りしている。このことから定期的な清掃は環境整備には欠かすことのできないものになっている。一般に、環境が清潔かどうかの評価は、全国ビルメンテナンス協会が出版している「病院清掃の基本と実務」の清潔の定義に照らし合わせて判断される。すなわち、・床面に目に見えるほこりやごみがない、・床面に汚染による着色がない、・床面に血液などの体液及び薬液、食物、油などの異物がこびりついていない、・ベッド、テーブル、椅子などに目に見える汚れがない、・戸棚や棚などの上面にほこりやごみがたまっていない、・廃棄物が一定の保管場所に置かれている、・トイレや廃棄物置場などでは、異常な臭いがない、・水回りにはバイオフィームがない、という条件をすべて満たした場合が「清潔」である。この「清潔」であるという基準に適合すれば、気持ち良く過ごせ、また機能的にも快適であることに疑いはなく、これらの視点が重要であることに疑いはない。

一方、微生物学的にはどうであろうか？見た目はきれいであるが、微生物学的には汚染されているという状態もあり得る。逆に、散らかっているように見えるが微生物学的には汚染が少ないということもあるかもしれない。すなわち、主観的な「清潔」と微生物学的な汚染の程度は必ずしも相関しない可能性がある。

「清潔」であった病院環境は、ヒトの出入りによって外界から埃や汚れが持ち込まれ、また医療機関内でのヒトによる様々な活動に伴って清潔でない状態、不潔へと変化していく。定期的な清掃によって、再び「清潔」となるが、微生物学的な変化は検証されることはほとんどない。全協が提示する

「清潔」を担保すると共に微生物学的な汚染も軽減されるような環境整備が望まれる。

【目的】

医療機関では、清掃は日に2～3度行われている。本邦においては、経時的変化によって「清潔でない状態」になった場合においても、清掃によってほぼ「清潔」といえる状態まで回復しているものと思われる。この研究では、微生物学的視点に立って医療機関のさまざまな領域において、床の細菌汚染はどの程度なのかを検証する。また、それぞれの領域を清掃した場合に、その領域の微生物学的な汚染の変化についても検討することとする。

【実験が行われた施設】

施設：今回、実験フィールドとするのは、東北地方に所在する病床数は約150床の医療機関である。実験を行ったのは、2025年6月である。この医療機関では、この時期の建築物内の温度を25℃前後に保っている。湿度に関しては特に規定していない。

施設の清掃：当該医療機関は、清掃をW社に外部委託している。そこで使用されている除菌用製剤について確認した。使用用途によって製剤は異なるが、念のため床用以外についても聞き取りをおこなっている。

また、サンプリングは後述する8カ所について行ったが、手術室だけは委託会社でなく病院職員による清掃が行われている。

床用

製剤名：除菌クリーナーEX（シーバイエス株式会社）

希釈度：40～50倍（メーカー推奨の希釈倍数は20～120倍）

交換時期：4～5日

附）メーカーによれば、このクリーナーには2種類の除菌剤が含まれているという。問い合わせたところ、一つはベンザルコニウム塩化物であり、もう一種類は社外秘ということで教えてもらえなかった。ただ、ベンザルコニウム塩化物と同様、カチオン系除菌剤ということであった。

手すり用

製剤名：オキシヴィルファイブ（シーバイエス株式会社）

希釈度：約11倍

交換時期：4～5日

洗面台用

製剤名：バスマジックリン（花王プロフェッショナル・サービス株式会社）

希釈度：原液

交換時期：2か月

試験期間内の清掃については、いつも通りの日常清掃である。この試験では清掃における介入は行っていない。

【使用する培地・試薬および機材】

- ・ホリエステル綿棒（日本綿棒株式会社：メンディッップ 1PW1505P 綿球直径 5.3 mm、長さ 150mm）軸材質 ポリプロピレン、滅菌済 1 本入り×150 袋
- ・SCD 寒天培地（BD 会社 Code No. 252479 100 枚入り）
- ・BTB 乳糖加寒天培地（BD 会社 BBL (TM) Code No. 25125 100 枚入り）
- ・15 mL 遠心管（AGC テクノグラス株式会社 68406923 2325-MYP 1 箱）
- ・50 mL 遠心管（AGC テクノグラス株式会社 68406948 2343050-MYP 1 箱）
- ・リン酸緩衝液（富士フィルムワコー 1/15 mol/L、pH 7.2、20 包）
- ・25mL デイスポーザブルピペット（滅菌）
- ・電動ピペッター
- ・100 μ L、1000 μ L マイクロピペッターとチップ（滅菌）
- ・インキュベーター
- ・拭き取り用テンプレート（10 cm × 10 cm = 100 cm²）
- ・コーンラージ棒（滅菌）

【サンプリング場所】

今回、当該医療機関の8カ所の床面からサンプリングを行った。すなわち、①受付フロント、②ナース・ステーション（2階）、③病室、④病室廊下、⑤手術室、⑥リハビリテーション部、⑦トイレ、⑧汚物室である。この8カ所の清掃時間を確認し、清掃前と清掃後で検体を採取することにした。清掃前検体採取のタイミングは、次の清掃が開始される1時間前から清掃開始の直前である。清掃後の検体採取のタイミングは、清掃が終了した直前から清掃が終了して1時間を経過するまでに検体を採取することにした。

実際にサンプリングを行ったのは2025年6月24日（火）である。サンプリング時間（清掃前）、清掃時間、サンプリング時間（清掃後）について表1に示す。

表1. 清掃時間の前後におけるサンプリングエリア

サンプリングエリア	サンプリング時間(清掃前)	清掃時間	サンプリング時間(清掃後)
①受付フロント	13:30	13:43	13:45
②ナースステーション(2階)	14:45	15:00	15:10
③病室	11:05	11:10	11:17
④病棟廊下	13:50	13:55	14:05
⑤手術室	10:15	10:20	10:25
⑥リハビリテーション部	14:10	14:20	14:25
⑦トイレ	10:53	10:57	11:05
⑧汚物室	11:13	11:20	11:30

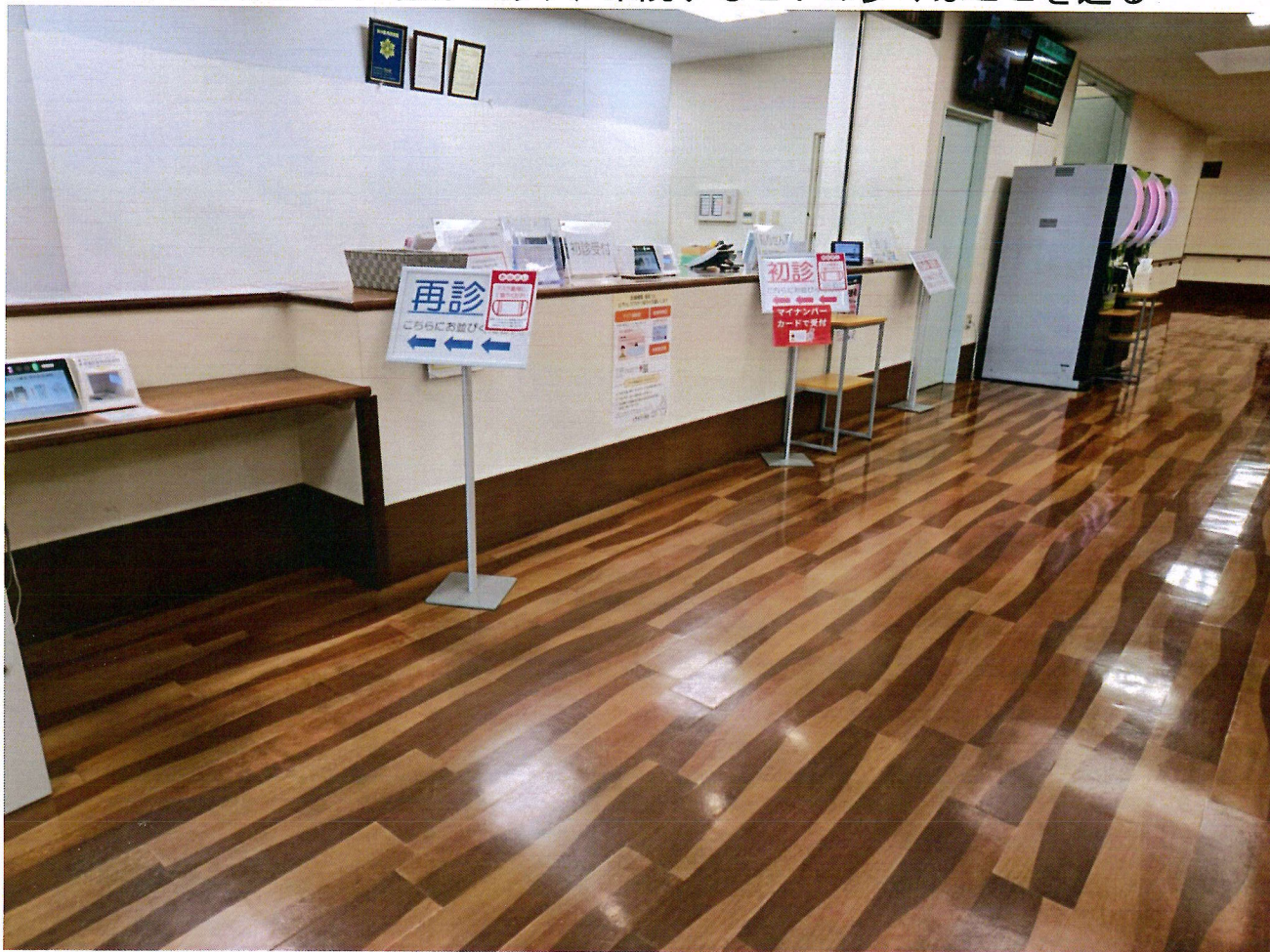
採取日6月24日

サンプリング場所1カ所につき、清掃前後でそれぞれ3つのエリアから検体を採取した。すなわち、①受付フロントでは、清掃前に①A、①B、①C、を採取した。また、清掃後に①X、①Y、①Zの3カ所から検体を採取した。具体的なサンプリング方法の詳細については、「環境細菌サンプリング方法」（14ページ）に示すが、1つのエリアについては、10 cm×10 cmの正方形の型を作成し、その領域を滅菌綿棒でぬぐい取った。①Aがサンプリングされた全く同じエリアから①Xを採取しているわけではない。基本的に、①A、①B、①C、①X、①Y、①Zの6つエリアは、すべて①受付フロントであるが同一エリアではない。検体採取時は、サンプリング場所から無作為にエリアを選定している。

採取風景

① 受付フロント

ヒトの行き来が多い場所であり、来院するヒトの多くはここを通る



② ナース・ステーション（2階）

看護師の主な業務場所で、看護、検温、検査、食事の介助などここから看護師が各病室に向かう。



③ 病室

実際に患者が入院している病室から検体を採取している。床面に検体採取用の型が見える。



④ 病棟廊下

各病室につながる病棟の廊下（2階）



⑤ 手術室

黄色のテープで囲んである部分に検体採取用の型を3つ置いて検体を採取した。清掃後も同じ黄色のテープで囲んだところから採取した。



⑥ リハビリテーション部

リハビリ室から職員の居室前の床面から採取した。



⑦ トイレ

トイレの床面は、受付フロントの素材と異なっている。



⑧ 汚物室

汚物室の床面はトイレの床面と同じ素材であった。



環境細菌サンプリング方法

【事前準備】

1. 滅菌手袋を装着する。
2. 酒精綿でテンプレートの表裏を清拭する。
3. 清拭したテンプレートを無菌不織布ではさみ、軽く押さえ残った消毒用アルコールを除去する。
(テンプレートの数:5枚分用意する。大きさがA4なのでその倍のA3より一回り大きくカットし半分に折り、その間にテンプレートをはさんでおく。移動は清拭したステンレストレイ等で行う。)

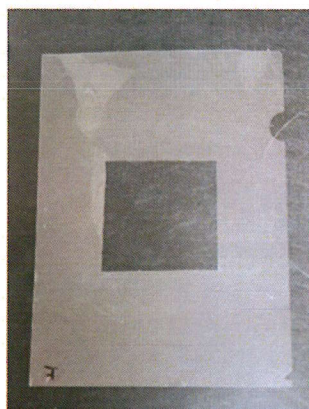
【実施方法】

1. 平坦なサンプリング個所にテンプレートを無菌不織布から取り出し、置く。(図1)
2. 滅菌綿棒を袋から出し、2mlのPBS(1/15モルリン酸緩衝液生理食塩水)の入った遠心管のキャップをはずし、その中に浸す。それを遠心管壁面で回転させ、過剰なPBSを除く。
3. 図2のように綿棒を回転させながら隙間がないように横方向で綿棒全体に付くように拭き取る。
4. 縦方向も同様に行うが、途中で水分がなくなり平坦な表面が乾燥してきたら遠心管に綿棒を戻す。
5. 綿棒の柄を回転させ付いた細菌をPBS中に分散させる。遠心管壁面に押し付け回転させ絞り取る。
6. 2に示したように同様に継続してふき取って行く。その際重要なのはすべての細菌を拭き取るつもりで行う。(100%拭き取ることは不可能)
7. また遠心管に綿棒を戻し、5に示したようにPBSに分散させ、綿棒をよく絞り、綿棒は感染性廃棄物として廃棄。遠心管のキャップをしっかりと閉める。(漏れ防止のためパラフィルムで巻くとベスト。)
8. テンプレートは場所を変えるたびに酒精綿で清拭する。アルコールが残らないように気を付ける。
9. 遠心管に油性マジックでサンプリングした場所、エリア番号、清掃前と後を記入し、送った時のステンレス験管立てに立て、それをビニール袋に入れ密封し、発泡スチロール箱で保冷剤が直接遠心管に触れないように、ガタつかないように緩衝材をいれる。フタをガムテープで止め、冷蔵便で送る。

【注意事項】

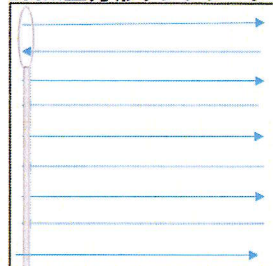
清掃後のサンプリングは同じ個所からでなく清掃前の付近とする。サンプリングの場所、箇所、清掃前後を明示したリストを保管する。

○ 10cm四方ふきとり用 テンプレート(図1)



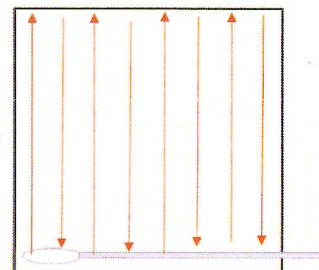
○ サンプリング方法(図2)

10cm正方形テンプレート



綿棒を

90° 方向を変える



綿棒を回転させながら丁寧に隙間なくふき取る

試験管に戻し、回転させながら中にしみ込んだ
ふき取ったものをPBS中に側面に押し付け洗



キャップをし、転倒混和。

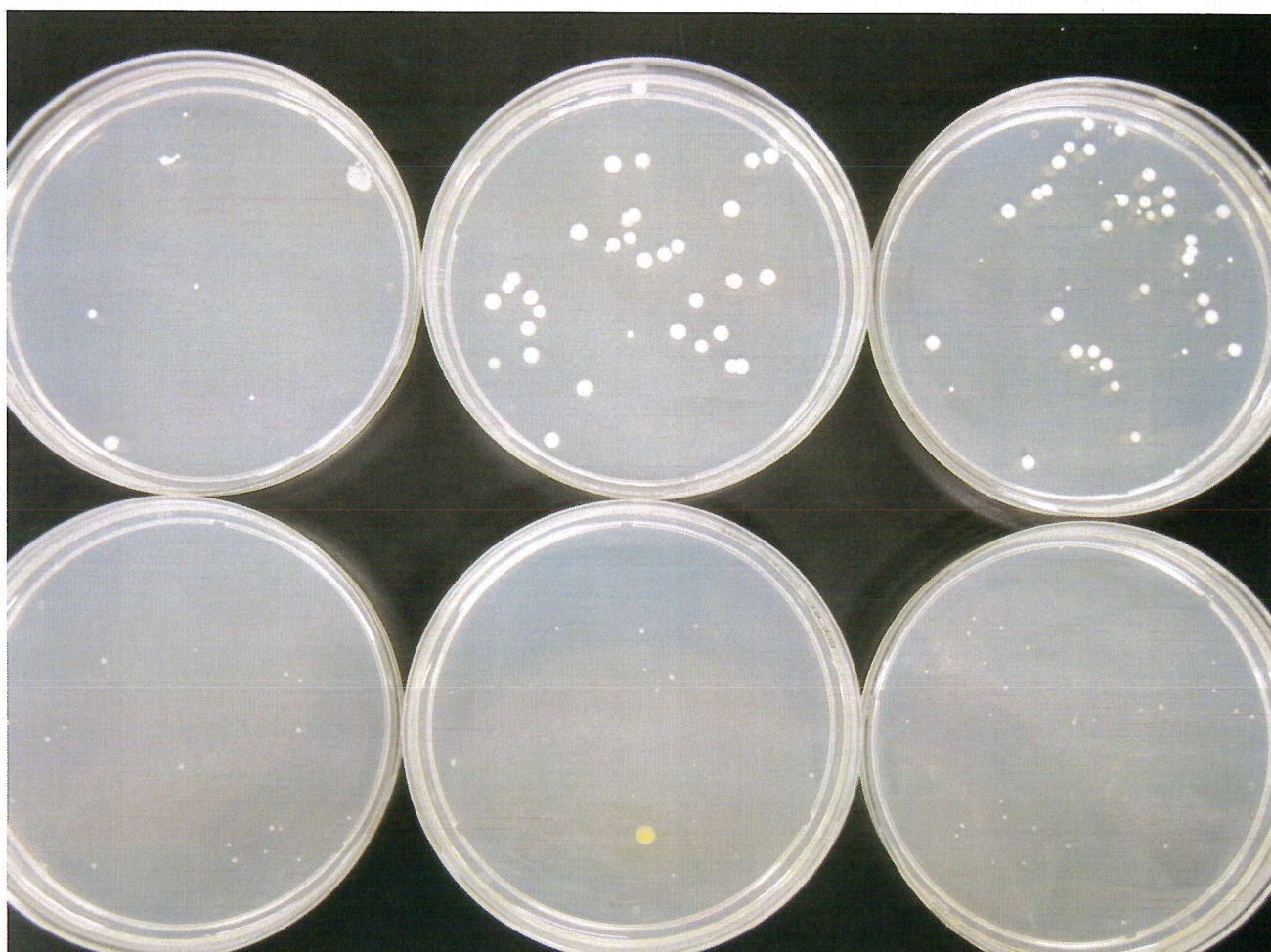


× min

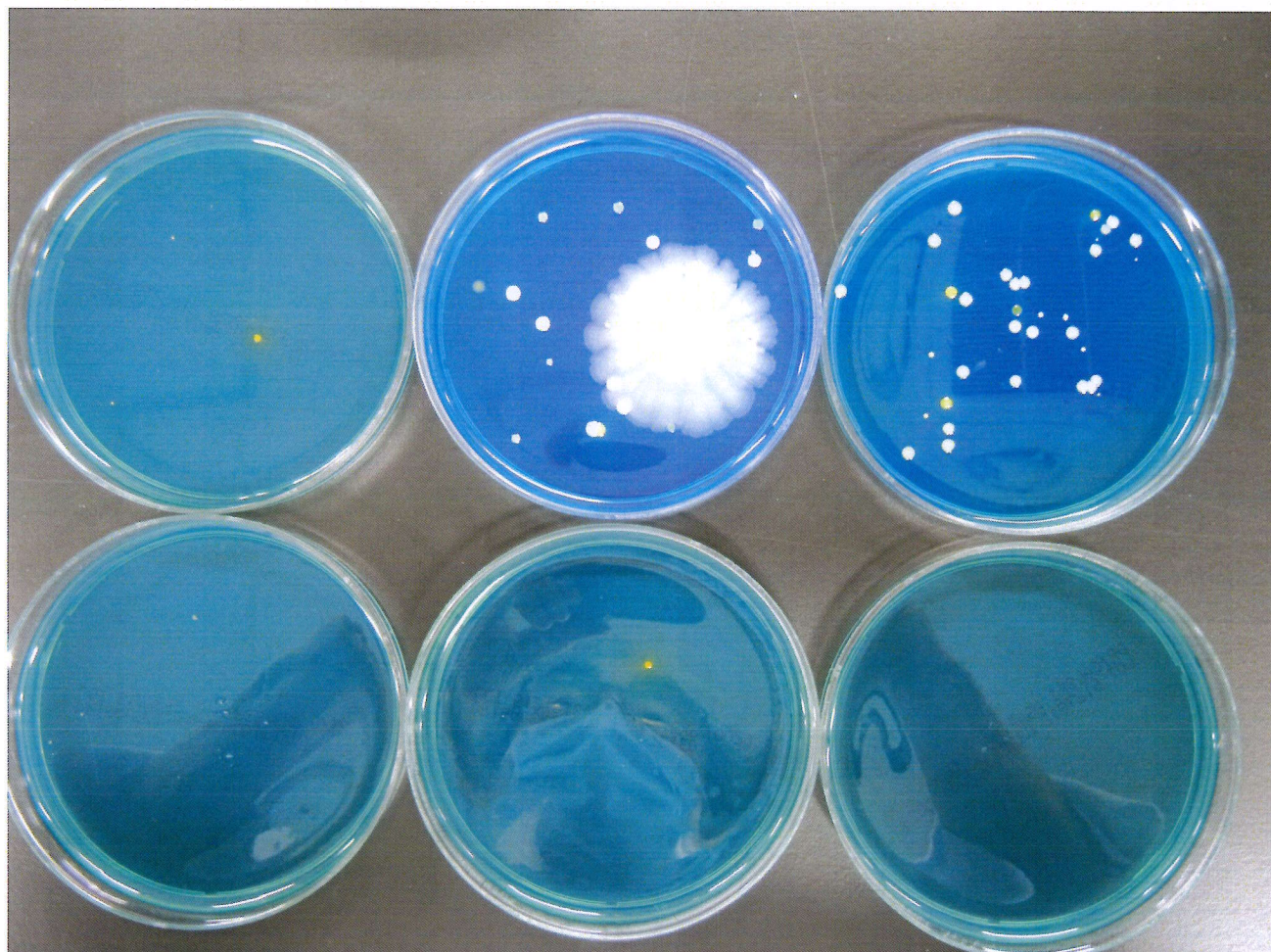
【結果】

検体を採取後、直ちにクール宅急便にて株式会社ビー・エム・エル総合研究所細菌治験課（埼玉県川越市的場）に送付した。翌日の午前中には検体は研究所に到着している。直ちに、このサンプリング検体を1倍とし、これをもとに10倍希釈および100倍希釈を調整した。サンプリング検体と2つの希釈検体を、それぞれソイビーン・カゼイン・ダイジェスト寒天培地（SCD 寒天培地）とブロムチモール・ブルー寒天培地（BTB 寒天培地）に100 μ Lをコーンラージ棒で接種し、合計288枚の培地を作成した。これを38度のふ卵器に入れ24時間後にコロニーカウントを行った。

検体を接種したプレートを24時間後にふ卵器から出した培地を下に示す。下の写真は、③病室から採取した検体で、SCD 寒天培地に菌液を接種したものである。上段が清掃前の検体で、左からA、B、Cの培地である。下段は、清掃後の検体で、左からX、Y、Zの培地である。これをみると、清掃後の培地にコロニー数が少ないのがわかる。



同様に、③病室から検体を BTB 寒天培地に接種した写真を示す。上段が清掃前の検体で、左から A、B、C の培地である。
下段は、清掃後の検体で、左から X、Y、Z の培地である。

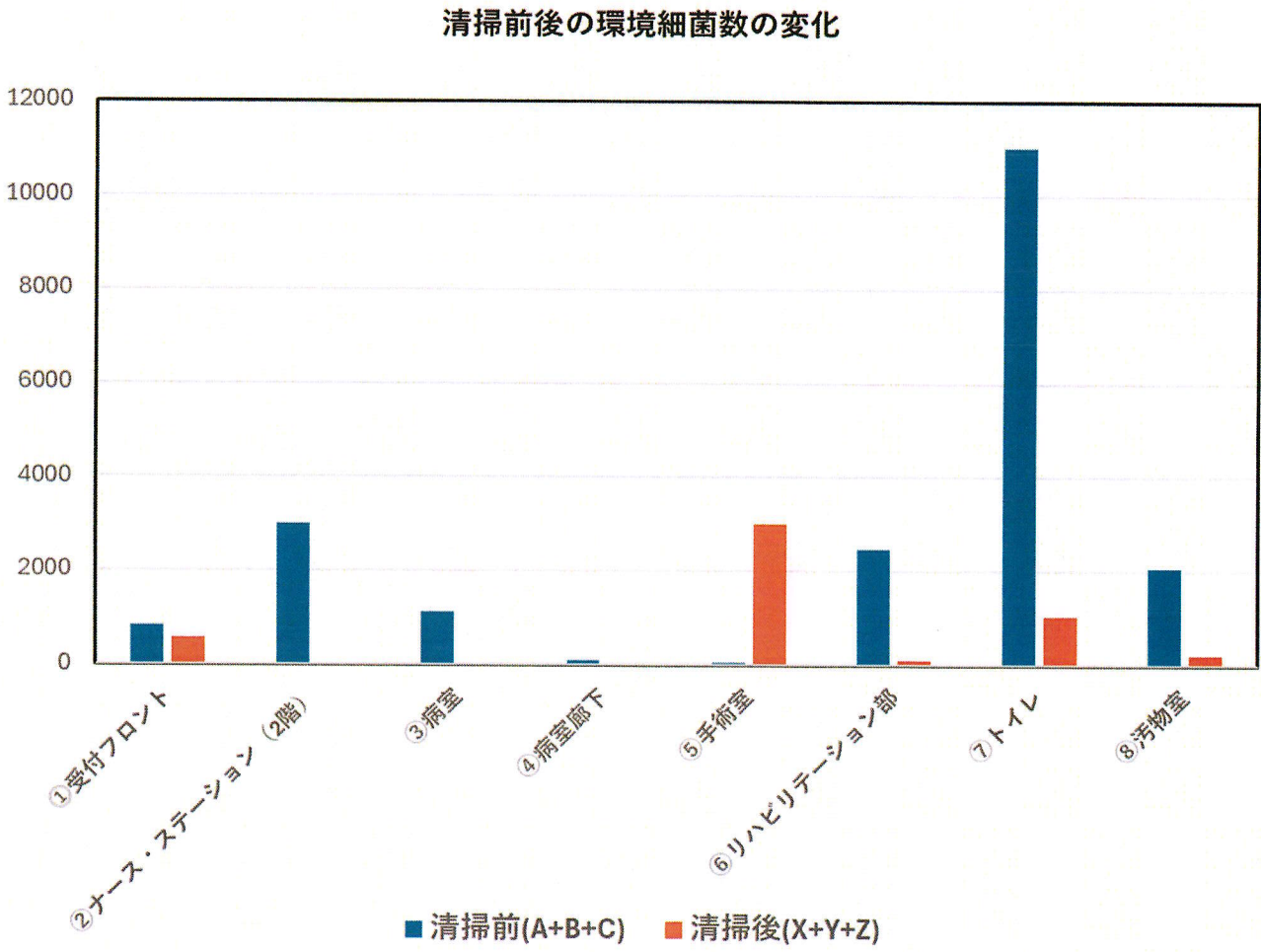


1. コロニーカウント

前述した8カ所のサンプリング場所、すなわち①受付フロント、②ナース・ステーション（2階）、③病室、④病室廊下、⑤手術室、⑥リハビリテーション部、⑦トイレ、⑧汚物室から採取した検体と希釈した希釈液を、SCD培地とBTB培地にそれぞれ100 μ Lを接種した。清掃前は、A、B、Cの3つのエリアから検体を採取している。同様に清掃後は、X、Y、Zの3つのエリアから検体を採取している。接種後、ふ卵器で24時間インキュベートした後に培地のコロニーカウントを行った。基本的に1プレートあたり、コロニー数が30～300個のものを採用した。3つのエリアの平均を求めた。その結果を下に示す。

	清掃前(A+B+C)	清掃後(X+Y+Z)
①受付フロント	840	560
②ナース・ステーション（2階）	3000	0
③病室	1120	20
④病室廊下	100	20
⑤手術室	60	3000
⑥リハビリテーション部	2460	100
⑦トイレ	11040	1040
⑧汚物室	2060	200

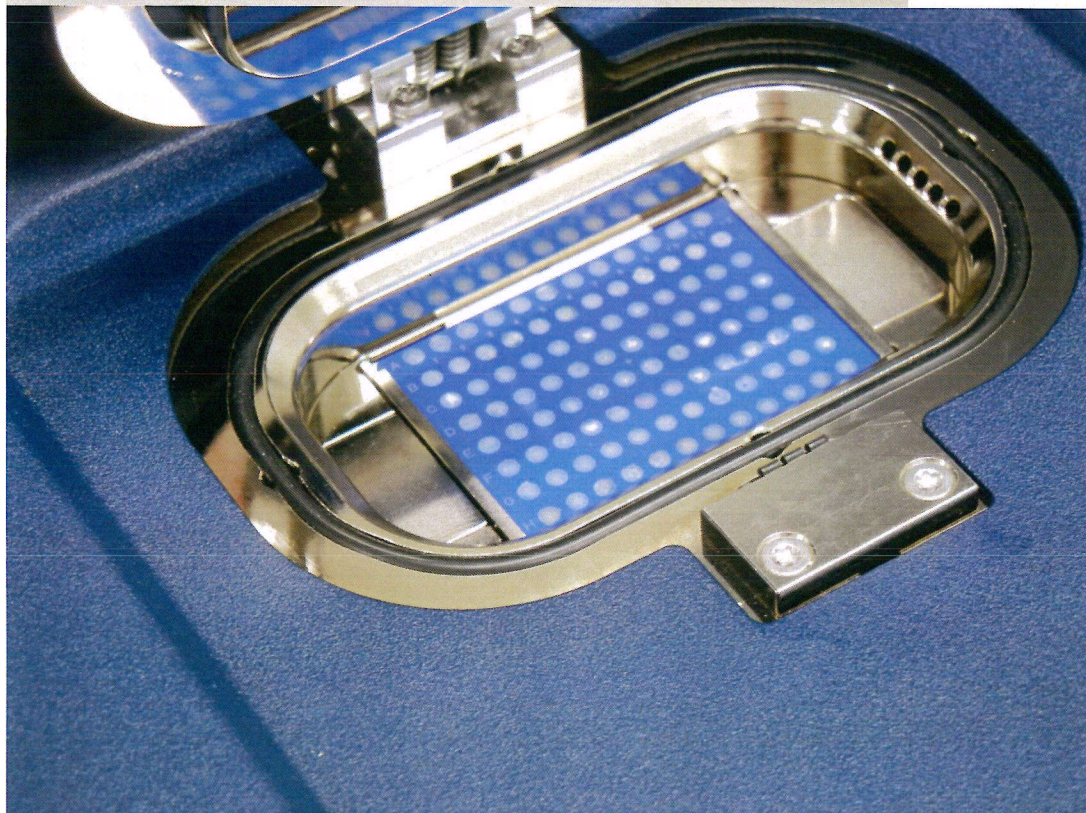
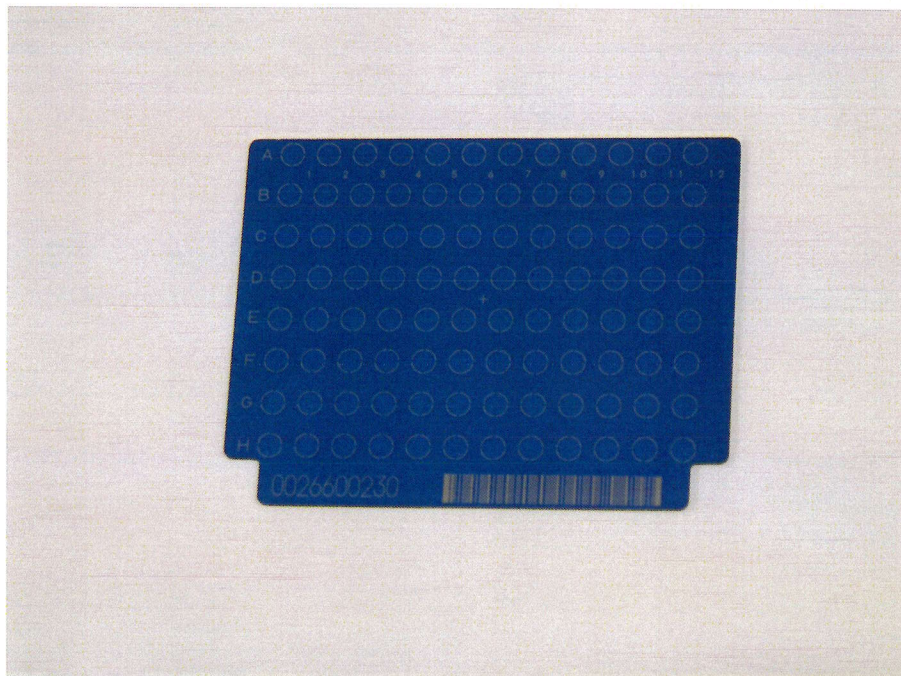
前表を用いて、清掃前後の菌数の変化をグラフ化した。に示す。
紺色が清掃前、オレンジ色が清掃後である。



2. コロニーからの菌種の同定

検体を接種した SCD 寒天培地および BTB 寒天培地からコロニーを釣菌し、微生物分類同定分析装置 MALDI バイオタイパーに供した。

プレートは、BRUKER Biotyper 細菌塗布プレートを用いた、下にプレートとプレートをセッティングした状態を示す。



実験に供した BRUKER MALDI Biotyper[®]を（ブルカージャパン）を下に示す。MALDI バイオタイパーは、MALDI-TOF（マトリックス支援レーザー脱離イオン化飛行時間型）質量分析計を用い生物特有の分子フィンガープリントを測定することで微生物を同定する方法である。



Biotyper によるコロニーの同定結果を下に示す。

分離された菌種		
場所	エリア	菌種
①受付フロント	A	①Staphylococcus epidermidis
		②Bacillus sp.
②ナース・ステーション (2階)	A	①Staphylococcus warneri
	C	②Bacillus licheniformis
③病室	A	①Enterococcus faecium
		②Staphylococcus epidermidis
④病室廊下	A	①Bacillus sp.
⑤手術室	X	①Pseudomonas stutzeri
	Y	①Acinetobacter lwoffii
		②Bacillus sp.
⑥リハビリテーション部	A	①Staphylococcus caprae
	Z	①Staphylococcus hominis
		②Bacillus sp.
⑦トイレ	A	①Staphylococcus caprae
	B	①Staphylococcus epidermidis
	C	①Staphylococcus haemolyticus
		②Staphylococcus borealis
	Z	①Sterotrophomonas maltophilia
⑧汚物室	A	①Sterotrophomonas maltophilia
	B	① Sterotrophomonas maltophilia
	C	①Staphylococcus condimenti
	Z	①Sphingobacterium thalpophilum

今回の実験で検出された主な菌は、ブドウ球菌属、バシラス属、シュードモナス属、アシネトバクター属菌であった。一部に腸球菌も検出された。

3. 耐性菌の検出

MRSA については、選択培地を用いて行った。また、Biotyper によるコロニー同定で、院内感染で問題となる菌種が検出された場合は、全自動薬剤感受性装置による耐性菌かどうかを決定することとした。その結果、MRSA は検出されなかった。また、MDRP や VRE などの耐性菌は検出されなかった。

【まとめと考察】

今回の実験では、手術室を除いたすべての場所で清掃前と清掃後の菌数を比較した場合、清掃後の方が菌数の減少がみられた。この結果から、「床面に目に見えるほこりやごみがない」という項目を含む「清潔」の定義に適合することが微生物学的な清潔にもつながる可能性が示唆された。

清掃の結果に影響する因子として、清掃資機材、清掃手技、床面などに使用する洗浄剤（あるいは洗浄消毒剤）、清掃回数などがある。今回は、実験対象となったのは1つの医療機関であり、清掃を担当した（手術室を除く）清掃会社も1社であり、この結果からすべてを考察するには限界がある。しかしながら、このW社は全国規模で医療機関の清掃を受託している企業であり、受託責任者を置き、清掃マニュアルがあり、社員教育もしっかりと行っている。また、基本的に全国ビルメンテナンス協会が推奨する清掃方法に合致した清掃方法で実務を行っている。すなわち、全国ビルメンテナンス協会が推奨する清掃資機材や清掃手技での清掃が、すくなくとも客観的な「清潔」を担保し、また微生物学的にバイオバーデンを減少する可能性が高いという結果であった。

次に影響しそうな因子としては、床に用いる洗浄剤（あるいは洗浄消毒剤）である。今回の施設では、除菌クリーナーEX（シーバイエス株式会社）が用いられており、ベンザルコニウム塩化物が含まれていた。ベンザルコニウム塩化物は、低水準消毒薬であり一般細菌に対して消毒効果をもつ。洗浄消毒剤を米国のようにEPAが承認する機関が日本にもあれば床の清掃における微生物学的な効果についてある程度言及できるかもしれない。現状では、多くの企業から洗浄剤（あるいは洗浄消毒剤）が販売されておりおのおの製品について評価することは困難である。しかし、代表的な洗浄剤（あるいは洗浄消毒剤）を用いて全国ビルメンテナンス協会が推奨する清掃資機材を使い、清掃手技を行った場合においてはバイオバーデンをある程度低下させるということを提示することには大きな意味があると考えられる。このことができて初めて客観的な「清潔」と微生物学的にバイオバーデンを減少させるという最終目標を達成することができる。これについては、全国ビルメンテナンス協会の今後の課題とすべきである。

今回の実験では、手術室を除く場所では菌数の減少率は、清掃後で十分の一から百分の一、すなわち $-1\log \sim -2\log$ であった。適切な減少率については、コンセンサスは得られていないものの、あまり汚染していない場所としては妥当かもしれない。しかし、初めからバイオバーデンが多い場所や耐性菌が検出される可能性のある場所については、清掃によってもっと高い菌の減少率が望まれるかもしれない。これらの状況においては、日常清掃のほかの特殊清掃に委ねるべきかもしれないが、特殊清掃の微生物学的効果についても未だ結論には至っていない。これについてもデータの蓄積が望まれる。

手術室において、清掃前より清掃後の方が検出された微生物の菌数が増加している点については大きな問題である。もちろん、1施設の1回の実験結果で断定的なことは言えないが、可能性としていくつか考察したい。手術室だけを受託会社に依頼しない理由は、イ. 手術室への入室する人数をできるだけ制限したい、ロ. 血液媒介感染のリスクがあるので部外者を入室させたくない、ハ. 手術時間が不定であり、清掃する時間の確保が困難である、ニ. 手術室にはさまざまな医療機器があり触れられたくない、ホ. 患者のプライバシー保護の観点から、など多くの理由がある。これらの理由については、納得できるものであるが、一方リスクも存在することになる。すなわち、院内の職員などが清掃する場合は、清掃全般の知識、清掃資機材の管理、清掃マニュアルなどが必要になる。この医療機関では、清掃マニュアルもなく、特に清掃の教育も受けておらず、ただモップで拭くということをしていた。さらにモップの洗浄についてもほとんど行っていなかった。

今回の実験で、*Staphylococcus epidermidis*、*S. warneri*、*S. hominis*、*S. caprae*、*S. borealis*、*S. condimentii*など多くのブドウ球菌属が検出されたがMRSAは検出されなかった。緑膿菌、腸球菌、アシネトバクター属菌で耐性菌は検出できなかった。その他、環境菌であるバシラス属菌が、汚物室からは、グラム陰性ブドウ糖非発酵菌である *Sterotrophomonas maltophilia* が検出された。本研究では、床に着目して菌の培養検査を行ったが、耐性菌について考えるときは、手すり、ドアノブ、テーブルなどの高頻度接触面についてのデータの蓄積が必要になる。さらには、環境の汚染と医療機関で働く者の手の汚染との関わり合いも重要になる。

環境培養検査は、解析するまでに多くの労力、時間、経費を費やすが、基礎的データとして今もなお非常に重要な情報源となっている。しかしながら、床、高頻度接触面、医療機器、ヒトの手など環境における病原体の伝播経路の解明にはさらなる研究が必要である。