〈報告〉

### 多施設間における清拭タオルの Bacillus cereus 菌数と洗濯方法の比較検討

細川 泰香<sup>1)</sup>・三星 知<sup>2)</sup>・細川 浩輝<sup>3)</sup>・石井 美帆<sup>1)</sup>・霍間 尚樹<sup>4)</sup> 武藤 浩司<sup>5)</sup>・高沢 純子<sup>6)</sup>・大久保耕嗣<sup>7)</sup>・福原 正博<sup>8)</sup>・継田 雅美<sup>9)</sup>

## Comparative Analysis of the Bacillus cereus Count and Washing Methods of Wipe Towels: A Multicenter Study

Yasuka HOSOKAWA<sup>1)</sup>, Satoru MITSUBOSHI<sup>2)</sup>, Hiroki HOSOKAWA<sup>3)</sup>, Miho ISHII<sup>1)</sup>, Naoki TSURUMA<sup>4)</sup>, Koji MUTO<sup>5)</sup>, Junko TAKASAWA<sup>6)</sup>, Koji OKUBO<sup>7)</sup>, Masahiro FUKUHARA<sup>8)</sup> and Masami TSUGITA<sup>9)</sup>

<sup>1)</sup>Department of Pharmacy, Niitsu Medical Center Hospital, <sup>2)</sup>Department of Pharmacy, Kaetsu Hospital, <sup>3)</sup>Department of Pharmacy, Agano City Hospital, <sup>4)</sup>Department of Pharmacy, Sado General Hospital, <sup>5)</sup>Department of Pharmacy, Chimeido Hospital, <sup>6)</sup>Department of Pharmacy, Niigata Cancer Center Hospital, <sup>7)</sup>Headquarters, Echigo Medical Incorporation, <sup>8)</sup>Laboratory of Microbiology, Faculty of Pharmacy, Niigata University of Pharmacy and Applied Life Sciences, <sup>9)</sup>Laboratory of Clinical Pharmacy, Faculty of Pharmacy, Niigata University of Pharmacy and Applied Life Science

(2017年6月2日受付・2018年5月30日受理)

#### 要 旨

布製の再生利用可能な清拭タオルの Bacillus cereus 汚染が洗濯方法に影響を受けるのか検討するために、複数施設間における清拭タオルの B. cereus 汚染状況と洗濯方法を調査した。さらに、清拭タオルの B. cereus 汚染状況と血液培養結果との関連性についても検討した。対象は新潟県内の病院 6 施設として、乾燥した清拭タオルを毎月 3 枚ずつ収集し、B. cereus の菌濃度を測定した。また、清拭タオルの洗濯方法と保管方法、血液培養からの B. cereus 陽性件数を調査した。各施設の菌濃度は 0 から 1142 CFU/mL であり、平均菌濃度と血液培養陽性率に正の相関傾向(R=0.72、P=0.11)を認めた。洗濯方式では連続式と比較しバッチ式で菌濃度が低い傾向を認めた。さらに、洗濯工程に次亜塩素酸ナトリウム浸漬がある場合に B. cereus 菌濃度が有意に低かった(P<0.01)、従って、清拭タオルの B. cereus 汚染は洗濯方法の違いに影響を受け、清拭タオルの B. cereus 汚染は洗濯方法の違いに影響を受け、清拭タオルの B. cereus 汚染は洗濯方法の違いに影響を受け、清拭タオルの B. cereus 汚染が血液培養陽性率に影響する可能性がある。血液培養の B. cereus 陽性件数が多い施設では、洗濯方法を確認し変更することで、血液培養陽性件数を減少できることが示唆された。これにより、B. cereus による血流感染を減らせる可能性がある。

Key words: Bacillus cereus, 清拭タオル, 血液培養, 洗濯方法, 次亜塩素酸ナトリウム

#### 序 文

Bacillus cereus は芽胞形成菌で環境に広く存在し、食中毒や静脈内カテーテル感染の原因となることが報告されている<sup>1)</sup>. また、日本の医療現場においても清拭タオルやリネン、給湯水、パーソナル・ハンディホンなどから幅広く分離されており<sup>2-6)</sup>、これらの環境からアウト

1)新津医療センター病院薬剤部、2)下越病院薬剤課、3)あがの市民病院薬剤部、4)佐渡総合病院薬剤部、5)知命堂病院薬剤科、6)新潟県立がんセンター病院薬剤部、7)株式会社えちごメディカル本部、8)新潟薬科大学薬学部微生物学研究室、9)新潟薬科大学薬学部臨床薬学研究室

ブレイクが発生したという報告もある<sup>4.5)</sup>.

病院で使用される清拭タオルは、洗濯業者に設置された洗濯機の洗濯槽が原因で B. cereus に汚染されることが知られている $^{2\sim40}$ . 汚染された清拭タオルの B. cereus は患者の皮膚に付着し、血液培養採血時、または末梢静脈留置カテーテル挿入後に血液培養からの検出が報告されている $^{70}$ . 清拭タオルの B. cereus 汚染状況は洗濯方法の違いにより異なり、血液培養結果にも影響を及ぼす可能性があるが、これまで、複数施設間において清拭タオルの B. cereus 汚染と洗濯方法、血液培養結果との関連性を検討した報告はない、そこで、複数施設間におけ

施設	洗濯 業務	納品頻度	洗濯方法	洗濯槽の 清掃頻度	次亜塩素酸 Na 濃度 と浸漬時間	洗浄温度と 時間	すすぎ 回数	乾燥温度と 時間	新しい清拭タオル への交換頻度
А	委託	6 回/週	連続式	2 回/年	30000 ppm 5分	80℃ 15分	2回	90℃ 15 分	約1年毎
В	委託	3 回/週	連続式 バッチ式	1 回/年	300 ppm 15 分	70℃ 20 分	2回	120℃ 50 分	洗濯 50 ~ 70 回毎
С	委託	1~2回/週	連続式	2 回/年	使用なし	80℃ 13分	3 🛭	160℃ 5分	洗濯 50 ~ 60 回毎
D	自施設	病棟直納	バッチ式	毎日	200 ppm 30 分	60℃ 5分	1 回	乾燥せず 清拭車へ	破損時交換
Е	委託	3 回/週	連続式*	3 回/年	使用なし	80℃ 13分	2回	80℃ 20 分	破損時交換
F	委託	1 回/週	連続式	3~4回/年	200 ppm 5~10 分	80℃ 13分	3 🛭	80℃ 20 分	破損時交換

\*2012 年 9 月より洗濯方法をバッチ式に変更し,次亜塩素酸 Na250 ppm に 3 分間の浸漬を追加した.

次亜塩素酸 Na:次亜塩素酸ナトリウム

る清拭タオルの B. cereus 汚染状況が洗濯方法によって 影響を受けるのか検討し、さらに血液培養結果との関連 性についても検討した.

#### 材料と方法

2011年12月から2012年11月までの1年間を調査期間とし、新潟県内6施設の洗濯後の乾燥清拭タオルを毎月3枚ずつ収集し、B. cereus 菌濃度を測定した。タオルはコンタミネーションの防止と温度や湿度によりB. cereus が発芽しないようシリカゲルを封入したチャック付きのビニール袋に入れ、0C~15 $^{\circ}$ C で保管した。また、対象施設に対して清拭タオルの洗濯方法と保管方法についてアンケート調査し、調査期間における対象施設の血液培養検査件数と血液培養のB. cereus 陽性件数から、血液培養陽性率を算出した。血液培養は2セット陽性になった場合も1件としてカウントした。なお、複数の洗濯方法を用いている施設においては洗濯方法毎に同様の方法で清拭タオルを収集し、B. cereus 菌濃度を測定した.

B. cereus 菌濃度の測定について、培地は B. cereus の分離選択培地である Mannitol-Egg Yolk-Polymyxin (MYP) 寒天培地 (日本ベクトン・ディッキンソン)を 用いた.粉末の MYP 寒天培地を精製水に混和して 121 で 15 分滅菌し、50 で に冷却した後、Polymixin B Sulfate (和光純薬工業)を最終濃度 100 単位/mL、50% 無菌卵黄液(アテクト)を最終濃度 2.5% となるように添加した.収集した清拭タオルは各隅の 4 カ所と中央の 3 カ所の合計 7 カ所を 4 cm² (2 cm×2 cm) のサイズで切り出し、笹原らの報告と同様の条件でビーズ抽出法により菌の抽出液を調製した30. その抽出液各 100 µL を MYP 寒天培地上に接種して、37 で 24 時間培養した

後、D-マンニトール非分解性且つ卵黄反応陽性のコロニーを B. cereus と同定した $^3$ . このように同定されたコロニーを計数し、コロニー形成単位(colony forming unit: CFU)を算出した。 CFU は清拭タオル 3 枚分の平均とした。 また、陰性コントロールは清拭タオルを加えずに同一条件で測定した。 なお、全ての実験には biosafety level: BSL2 に対応した新潟薬科大学の安全キャビネットを用いた。

統計解析は、血液培養陽性率ならびに清拭タオルの洗濯方法および保管方法と B. cereus 菌濃度の比較を相関分析により解析した。また、洗濯方法の違いにおける B. cereus 菌濃度の比較は各月の B. cereus 菌濃度を用いて Student's t-test により解析した。統計解析には JMP 9(SAS Institute Inc. Cary、NC)を用い、P<0.05 を統計学的に有意とした。

本多施設共同研究は下越病院倫理審査委員会の承認を 得ており(承認番号 H29-018),本研究において血液培養のデータについて患者情報は匿名化され,個人情報を 保護した.

#### 結 果

各施設における清拭タオルの洗濯方法を表1に示す. 洗濯方式には全行程を1サイクルとし繰り返すバッチ式と,全行程を平行して連続的に処理する連続式があり,施設Dのみが自施設にてバッチ式による洗濯方式を採用し,洗濯槽の清掃頻度は連日であった.他の施設は業者へ委託し,洗濯槽の清掃頻度は1~4回/年であった.各施設における清拭タオルの保管方法と年間のB.cereus 血液培養陽性率を表2に示す.施設Dのみが病棟での清拭タオルの保管がなく,その他の施設は室温による保管で,施設Eのみが清拭タオルをビニールで包

表 2	清拭タオルの保管方法と年間の Bacillus cereus 血液培養陽性率

施設	ビニール包装の 有無	未使用清拭タオルの 保管日数(日)	総血液培養件数	Bacillus cereus 血液 培養陽性件数	Bacillus cereus 血液 培養陽性率(%)*
Α	無	$7 \sim 14$	790	2	0.3
В	無	2~3	852	1	0.1
С	無	21 ~ 28	340	0	0
D	無	0	146	0	0
Е	有	4 ~ 7	179	2	1.1
F	無	10 ~ 14	164	0	0

<sup>\*</sup>Bacillus cereus 血液培養陽性率(%) =Bacillus cereus 血液培養陽性件数/総血液培養件数

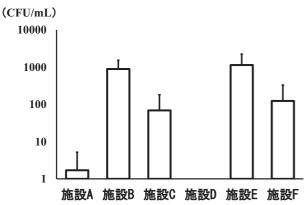


図 1 各施設における清拭タオルの平均 Bacillus cereus 菌濃度 (CFU/mL)

データは平均値 ± 標準偏差.

施設 D は検出なし.

装して保管していた. 血液培養からの B. cereus 検出については、施設 C, D, F で未検出であり、全ての施設において複数回培養陽性となった患者はいなかった.

各施設における清拭タオルの平均 B. cereus 菌濃度を 図1に示す.調査期間中のB. cereus 菌濃度は、施設A で低い傾向を認め、施設 D では未検出であった. 各施 設における平均 B. cereus 菌濃度は0から1142 CFU/ mLであった. 洗濯方式の違いによる B. cereus 菌濃度 はバッチ式が22±51 CFU/mL (n=19), 連続式が331 ±706 CFU/mL (n=38) とバッチ式で B. cereus 菌濃 度が低い傾向 (P=0.06) を認めた  $(\mathbf{Z} 2-A)$ . さらに次 亜塩素酸ナトリウムによる浸漬が洗濯工程に組み込まれ ている 4 施設の B. cereus 菌濃度は 52 ± 155 CFU/mL (n=41), 組み込まれていない場合は 682 ± 972 CFU/mL (n=16) と有意な差 (P<0.01) を認めた (図 2-B). 施 設Eは2012年9月以降、洗濯方式をバッチ式に変更し、 洗濯工程に次亜塩素酸ナトリウムを追加した. その結果, 変更前後の平均菌濃度に有意な減少(連続式、次亜塩素 酸ナトリウムなし 1704 ± 897 CFU/mL vs バッチ式,次 亜塩素酸ナトリウムあり  $20\pm22$  CFU/mL, P=0.02) を 認めた (図 2-C).

施設 B で用いられた 5 種類の洗濯機毎の B. cereus 菌濃度を表 3 に示す。施設 B では B. cereus 菌濃度はバッチ式で  $92\pm83$  CFU/mL (n=4), 連続式で 555 CFU/mL (n=1) であり,バッチ式で B. cereus 菌濃度が低い傾向を認めた。

各施設における血液培養陽性率ならびに清拭タオルの 洗濯方法および保管方法と B. cereus 菌濃度の関係を表 4 に示す。平均 B. cereus 菌濃度と血液培養陽性率また は清拭タオルの乾燥時間に正の相関傾向を認めた(R= 0.72、P=0.11、R=0.66、P=0.15). 洗濯槽の清掃頻度, すすぎ回数、乾燥温度、保管日数では相関係数が負の値 を示した。

#### 考 察

新潟県内の病院 6 施設の清拭タオルの平均 B. cereus 菌濃度は 0 から 1142 CFU/mL であり、平均菌濃度と血液培養陽性率の間には正の相関傾向を認めた。笹原らは、病院における B. cereus アウトブレイクの調査で、タオルの B. cereus による極めて高度な汚染が確認されたとしており<sup>3)</sup>、日馬らは、産科病棟におけるアウトブレイクの原因は、委託クリーニング業者におけるリネン汚染が強く疑われたとしている<sup>4)</sup>。今回の調査では各施設における清拭タオルの B. cereus 汚染状況は洗濯方法の違いにより異なり、それが血液培養結果に影響することが示唆された。本研究では血液培養からの B. cereus 検出の原因が清拭タオルの汚染であるかは判断できなかったが、B. cereus の血液培養陽性率が高い施設では、洗濯方法を変更することで、血液培養陽性件数を減少できる可能性がある.

洗濯方法については、連続式と比較しバッチ式で、また、次亜塩素酸ナトリウム浸漬が洗濯工程に組み込まれている施設において清拭タオルの菌濃度が低かった。また、バッチ式と連続式両者の洗濯方式を用いていた施設Bにおいて、バッチ式で菌濃度が低い傾向であった。施設Eにおいては洗濯方式を連続式からバッチ式に変更し、洗濯工程への次亜塩素酸ナトリウム浸漬の追加によりB. cereus 菌濃度の有意な低下を認めた。連続式では

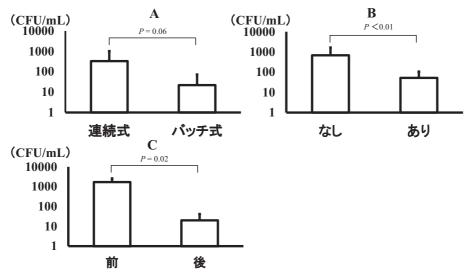


図 2 洗濯工程の違いによる Bacillus cereus 菌濃度 (CFU/mL)

連続式とバッチ式の菌濃度の比較 (A), 次亜塩素酸ナトリウム浸漬の有無による菌濃度の比較 (B), 施設 E における洗濯方法変更前後の菌濃度の比較 (C). データは平均値±標準偏差.

表 3 B 施設における清拭タオルの洗濯方法と Bacillus cereus 菌濃度 (CFU/mL)

洗濯方法*	洗浄温度と時間	菌濃度 (平均値±標準偏差)
バッチ式 A	65℃,15分	40±30
バッチ式 B	65℃,15分	134±46
バッチ式C	65℃,15分	7±7
バッチ式D	65℃,15分	187±105
連続式	70℃,15分	555±308

\*バッチ式は A~Dの異なる 4 機種を用いた.

どの機種においても、15 分洗浄、300ppm 次亜塩素酸ナトリウム 15 分浸漬、2 回のすすぎ、120℃ 50 分の乾燥を実施した、洗濯槽の清掃頻度は 1 回/年であった.

全洗濯工程を平行して連続的に行うが、バッチ式では単 独の層で工程毎に排水があり、隣接する槽からの水の流 入がない. そのため、洗濯工程間における B. cereus の 移動を抑えることができ、結果として清拭タオルの B. cereus 菌濃度が低下している可能性がある. 一方, 施 設Cは連続式で次亜塩素酸ナトリウム浸漬の工程がな いにも関わらず、B. cereus 菌濃度が低く、血液培養陽 性例もなかった。本研究結果では、平均菌濃度は洗濯槽 の清掃頻度、すすぎ回数、乾燥温度と負の相関傾向を示 しており、乾燥時間と正の相関傾向を示した. 施設 C の平均菌濃度が低い理由として、すすぎ回数が多い、乾 燥温度が高い、乾燥時間が短いとこに加え、タオルの交 換頻度が他の参加施設と比較し高いことが挙げられる. 従って、洗濯方式の変更、洗濯工程への次亜塩素酸ナト リウム浸漬の追加ならびに定期的なタオルの交換により 清拭タオルの汚染を減少できる可能性がある.

表 4 各施設における年間の平均 Bacillus cereus 菌 濃度 (CFU/mL) と血液培養陽性率,洗濯工 程や保管方法との関係

住て休日の人との内が				
説明変数	相関係数	P 値*		
血液培養陽性率	0.72	0.11		
清拭タオル納品頻度	0.20	0.70		
洗濯槽の清掃頻度	-0.36	0.49		
洗浄温度	0.10	0.84		
洗浄時間	0.48	0.34		
すすぎ回数	-0.09	0.86		
乾燥温度	-0.23	0.71		
乾燥時間	0.66	0.15		
保管日数	-0.38	0.46		

<sup>\*</sup>相関分析

清拭タオルの B. cereus が未検出であった施設 D の特異性は、バッチ式による洗濯であること、洗濯槽の清掃頻度が連日であること、タオルの交換頻度は高くないが、洗濯から使用までのタオルの保管がないことが挙げられる。加えて、自施設での洗濯により、複数施設間のリネンが交差しないことも B. cereus 汚染がなかった理由と推測される。従って、清拭タオルの交換頻度以上に、自施設でのバッチ式による洗濯や洗濯槽の清掃頻度の高さが B. cereus 菌濃度に影響を及ぼす可能性がある。さらに、他の洗濯方法や保管方法の違いについても参加施設間で大きな違いがなかったこともあり、今後施設数を増やし、保管条件等も詳しく調査する必要がある。

本研究の限界として、新潟県内の6施設を対象としており、地域や対象施設数が限られていることが挙げられる。従って、清拭タオルの洗濯方法と B. cereus 菌濃度

環境感染誌 Vol. 33 no. 5, 2018

に関連する因子を十分に検出できていない可能性があり、 本研究結果を一般化するには施設数を増やした検討が必要である.

以上、本研究では清拭タオルの B. cereus 汚染は洗濯方法の違いにより差があり、特に次亜塩素酸ナトリウムの有無や洗濯方式に影響を受ける可能性がある。また、血液培養の B. cereus 陽性件数が多い施設では、清拭タオルの洗濯方法を変更することで B. cereus 菌濃度が減少し、B. cereus 血液培養陽性件数を減少できることが示唆された。これにより、B. cereus による血流感染を減らせる可能性がある。

利益相反自己申告:申告すべきものなし.

#### 文 献

1) Bottone EJ: Bacillus cereus, a volatile human pathogen.

- Clin Microbiol Rev 2010; 23(2): 382-98.
- 宮木祐輝,栗原博子,佐藤健二:清拭タオルの汚染防止に 関する実験的検討.環境感染誌 2008; 23(5): 355-60.
- 笹原鉄平,林 俊治,森澤雄司,平井義一:病院タオルの Bacillus cereus 汚染を測定する方法の比較検討.環境感染 誌 2009; 24(5): 312-8.
- 4) 日馬由貴, 本間功武, 増田満伯, 後藤博一, 小野寺昭一: 当院で経験した正常新生児における Bacillus cereus アウト ブレイク. 環境感染誌 2015; 30(6): 385-90.
- 5) 矢野知美, 橋本好司, 田代尚崇, 棚町千代子, 堀田吏乃, 糸山貴子, 他:病院内の給水・給湯水における微生物汚染調査. 環境感染誌 2009; 24(5): 303-11.
- 6) 山田和弘, 阪口勝彦, 藤原大一朗, 谷佳津治, 小川雅史: 病院内におけるパーソナル・ハンディホン・システム (PHS) の細菌汚染調査. 環境感染誌 2010; 25(3): 163-6.
- 7) 井沢義雄, 伊藤 誠: Bacillus cereus による偽アウトブレイクと清拭タオルの管理について. 日本臨床微生物学雑誌 2005: 15(2): 82-9.

「連絡先: 〒956-0025 新潟県新潟市秋葉区古田 610 番地 新津医療センター病院薬剤部 細川泰香 E-mail: yakuzai@niitsu-kenshinkai.com〕

# Comparative Analysis of the Bacillus cereus Count and Washing Methods of Wipe Towels: A Multicenter Study

Yasuka HOSOKAWA<sup>1)</sup>, Satoru MITSUBOSHI<sup>2)</sup>, Hiroki HOSOKAWA<sup>3)</sup>, Miho ISHII<sup>1)</sup>, Naoki TSURUMA<sup>4)</sup>, Koji MUTO<sup>5)</sup>, Junko TAKASAWA<sup>6)</sup>, Koji OKUBO<sup>7)</sup>, Masahiro FUKUHARA<sup>8)</sup> and Masami TSUGITA<sup>9)</sup>

<sup>1)</sup>Department of Pharmacy, Niitsu Medical Center Hospital, <sup>2)</sup>Department of Pharmacy, Kaetsu Hospital, <sup>3)</sup>Department of Pharmacy, Agano City Hospital, <sup>4)</sup>Department of Pharmacy, Sado General Hospital, <sup>5)</sup>Department of Pharmacy, Chimeido Hospital, <sup>6)</sup>Department of Pharmacy, Niigata Cancer Center Hospital, <sup>7)</sup>Headquarters, Echigo Medical Incorporation, <sup>8)</sup>Laboratory of Microbiology, Faculty of Pharmacy, Niigata University of Pharmacy and Applied Life Sciences, <sup>9)</sup>Laboratory of Clinical Pharmacy, Faculty of Pharmacy, Niigata University of Pharmacy and Applied Life Science

#### Abstract

This study aims to investigate the contamination of wipe towels by Bacillus cereus and the washing methods followed by multiple facilities to determine whether different washing methods affect the B. cereus contamination of reusable cloth wipe towels. In addition, this study assesses the correlation between the B. cereus contamination of wipe towels and blood culture results. Subject facilities included six hospitals in the Niigata Prefecture. We collected three dry wipe towels from each hospital per month to assess the B. cereus bacterial concentration. Moreover, we surveyed the washing and storage methods of wipe towels and the number of B. cereuspositive cases from the blood culture results. The bacterial concentration in each facility was in the range of 0-1142 CFU/mL, and we observed a positive correlation (R=0.72, P=0.11) between the average bacterial concentrations and the rates of positive-blood culture results. With respect to the washing methods, the bacterial concentration tended to be lower when a batch method was followed compared with when a continuous method was followed. The B. cereus concentration was significantly lower when the washing process involved soaking in sodium hypochlorite (P < 0.01). Thus, the *B. cereus* contamination of wipe towels was affected by a difference in washing methods, and it may affect the rates of positive-blood culture results. This study suggests that in a facility with a large number B. cereus-positive cases, the number could be decreased by confirming and changing the washing method, which may decrease the bloodstream infection by B. cereus.

Key words: Bacillus cereus, wipe towel, blood culture, washing method, sodium hypochlorite