

Bacillus cereus 芽胞の各種医療用ディスポーザブル手袋への付着に関する 定量的評価

石原 由華¹⁾・宇佐美久枝¹⁾・社本 生衣²⁾・太田美智男³⁾

Quantitative Evaluation of *Bacillus Cereus* Spore Attachment to the Surface of Disposable Medical Gloves Made from Various Materials

Yuka ISHIHARA¹⁾, Hisae USAMI¹⁾, Ikue SHAMOTO²⁾ and Michio OHTA³⁾

¹⁾Sugiyama Jogakuen University School of Nursing, ²⁾Gif University School of Medicine Nursing Course,

³⁾Nagoya University School of Medicine

(2020年2月12日受付・2020年6月16日受理)

要 旨

Bacillus cereus による敗血症は、清拭タオル等のリネン類の芽胞汚染による患者皮膚・医療者の手指などを介した輸液ラインの汚染が主要な原因であるとされる。医療現場で用いるディスポーザブル手袋に芽胞が付着して汚染源となる可能性があり、そこで手袋の素材別に *B. cereus* 芽胞の付着しやすさを改良ビーズ抽出法で定量測定した。その結果、ラテックス、塩化ビニル、ニトリル製手袋の中で塩化ビニル製に最も多くの芽胞が付着していた。ニトリル製と塩化ビニル製とでは芽胞の付着量で有意差 ($P=0.028$, <0.05) があり、ニトリル製はラテックス製との間に有意差は無いが、最も芽胞の付着しない素材であった。

Key words : *Bacillus cereus*, 芽胞, ディスポーザブル手袋, ニトリル製, 改良ビーズ抽出法

有芽胞菌である *Bacillus cereus* は、塵埃、土壌、腐敗物、空気中など環境に広く存在し、芽胞の状態になると熱、乾燥、消毒薬に対する抵抗性が強く 100 埃の加熱やアルコールにも耐性化する¹⁾。近年、*B. cereus* による易感染患者への日和見感染により重篤な敗血症を起こし死亡した事例が幾つか報告されている^{2,3)}。その原因は、清拭タオルなどのリネン類の *B. cereus* 芽胞汚染から患者皮膚・医療者の手指などを介したライン関連血流感染であるとされる^{2,4)}。*B. cereus* はバイオフィルムをつくり、カテーテルなどの表面に付着する⁵⁾。こうした末梢静脈カテーテルや輸液ラインからの感染を防ぐために、未滅菌のディスポーザブル手袋を着用する^{6,7)}。しかし、感染防止のためのディスポーザブル手袋そのものに皮膚などから菌が付着することによって、輸液ラインに汚染する可能性がある。また手袋を外した時に病原体が付着した手袋を介して手指が汚染されることがある⁸⁾。医療

用ディスポーザブル手袋は JIS 規格により手袋の寸法や水密性、性能値、検査水準などが定められている⁹⁾ が、手袋の素材については規定がなく、ラテックス (ラテックスゴム)、ニトリル (ニトリルゴム)、塩化ビニル樹脂など様々な素材から製造されている。ディスポーザブル手袋の素材によるフィット感、価格、ピンホール数等の違いやアレルギー惹起性の有無は指摘されるが、これまでディスポーザブル手袋の素材の違いに対する *B. cereus* 芽胞の付着しやすさについて定量的に調べた報告はない。

本研究では我々が考案した清拭タオルの *B. cereus* 汚染を高感度に検出する改良ビーズ抽出法を応用して¹⁰⁾、各種素材を材料とするディスポーザブル手袋について *B. cereus* 芽胞がどのくらい付着するのかを定量的に測定した。ディスポーザブル手袋はラテックス製グローブ (天然ゴム製、帝人フロンティア、大阪)、塩化ビニル樹脂製グローブ (アスカル、東京)、ニトリル製グローブ (Kimberly-Clark, 米国) を被験対象とした。全てのグローブはパウダーフリーとした。*B. cereus* は通常環境

¹⁾ 椋山学園大学看護学部, ²⁾ 岐阜大学医学部看護学科, ³⁾ 名古屋大学医学部

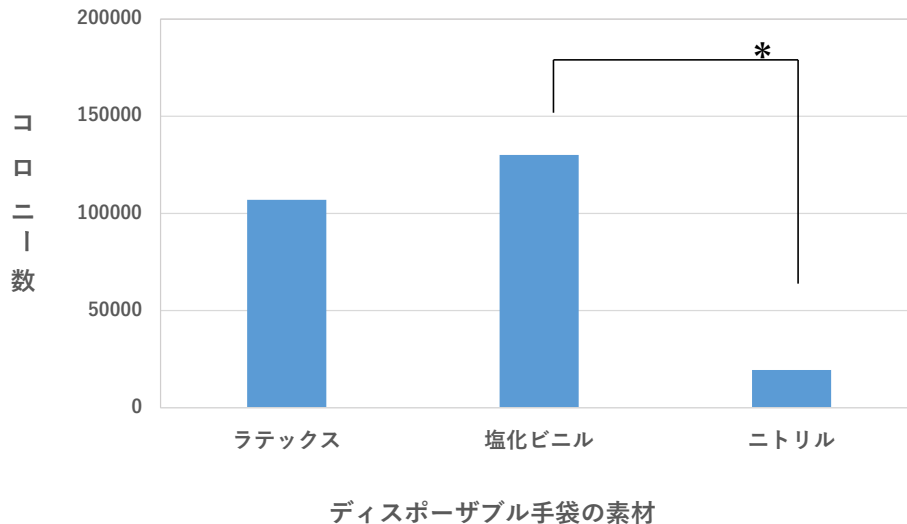


図1 ディスポーザブル手袋の素材別の *B. cereus* NC1241 株芽胞の付着量 (1 cm 平方あたり).
*は t 検定で <0.05 を示す.

中では芽胞の状態で存在するため、*B. cereus* NC1241 株 (食品由来株、嘔吐毒素非産生) から芽胞粉末を次のように作製した。*B. cereus* NC1241 株を NGKG 卵黄加寒天培地 (栄研化学) に接種し 30°C で 2 日培養後室温に 7 日間放置し、芽胞染色によってほぼ 100% (1 視野) が芽胞になっていることを確認後、滅菌水に懸濁して $OD_{550} = 0.55$ (マクファーランド濁度標準液 No.3) に調整した。懸濁液をエッペンドルフチューブに 1000 μ L 分注後、5°C、12000 rpm で 2 分間遠心して上清を捨てた。沈殿に 99% エタノールを 1000 μ L 添加後、ボルテックス・ミキサーで最大強度で 20 秒間振とうして、上記と同様の条件で遠心後上清を捨てた。沈殿をデシケーターで 2 日間乾燥後、ボルテックス・ミキサーで最大強度/20 秒間の振とうを 20 回実施して粉末状にして芽胞粉末とした。ディスポーザブル手袋への芽胞付着実験は以下の手順で行った。芽胞粉末に市販の各ディスポーザブル手袋 (非滅菌製品) から無菌的に切り取った切片 (1 cm \times 1 cm) を入れ、ボルテックス・ミキサーで最大強度/20 秒間振とう後、5 分間放置した。すなわち乾燥状態での芽胞の付着を行った。放置後各切片をそれぞれ 20 mL の滅菌生理食塩水と直径 5 mm の滅菌ガラスビーズ (アズワン、大阪) 30 個が入った滅菌遠心管 (50 mL) に入れた。これをボルテックス・ミキサーで最大強度/20 秒間の振とうを 10 回実施して付着芽胞を洗い出し、洗浄液 20 μ L を採取して 2 mL の滅菌水が入ったプラスチック管に添加した。ボルテックス・ミキサーで最大強度/10 秒間振とう後、100 μ L を採取し 10 倍希釈系列液をつくり、希釈液 100 μ L を採取し NGKG 卵黄加寒天培地に接種して 30°C で一晚培養した。培養後、培地上に発育してきたコロニーを観察し、卵黄反応陽性のコロ

ニーを *B. cereus* と推定し、コロニー数を測定した。なお必要に応じグラム染色によって確認した。さらに、羊血液寒天培地 (栄研化学) に接種して β 溶血の有無を確認して *B. cereus* と同定した。対照として、芽胞粉末を付着させずに上記の改良ビーズ抽出法を実施し培養した。以上の実験は 3 回あるいはさらに数回繰り返した。培養後の結果は、対照実験では 3 種類の素材のディスポーザブル手袋の切片において、*B. cereus* のコロニーはまったく検出されなかった。芽胞付着実験ではラテックス製手袋の 1 cm 平方あたりのコロニー数 (平均値) は 106990 で、塩化ビニル製手袋は 130090、ニトリル製手袋は 19380 であった。塩化ビニル製手袋とニトリル製手袋との間では、 $p=0.028$ (t 検定、 <0.05) で有意差があった (図 1)。

本研究では、市販のディスポーザブル手袋の素材の違いにより、*B. cereus* 芽胞の付着のしやすさに差があることを初めて見出した。安価でよく使われる塩化ビニル製手袋がもっとも芽胞を付着しやすく、したがって輸液ラインなどの汚染を引き起こす可能性が他の手袋よりも高い可能性がある。*B. cereus* 芽胞はどこにも見られ、人の皮膚にもしばしば付着している。また芽胞に高度に汚染されたおしぼりタオルで拭いた皮膚には無数の芽胞が付着している。その芽胞がディスポーザブル手袋表面に付着し、輸液ラインの操作に伴って輸液から血流感染を引き起こす危険がある。今回の実験によって、ニトリル製手袋はラテックス製手袋との結果に有意差が無いが、実験結果から *B. cereus* 芽胞がより付着しない素材であることが示された。今後は臨床の場で用いられているディスポーザブル手袋の芽胞汚染状況を広く調べ、今回の実験結果と併せて芽胞付着性の低い材質の手袋の医療

現場での使用を提言したい。

利益相反自己申告：申告すべきものなし。

文 献

- 1) Drobniewski FA: *Bacillus cereus* and related species. *Clin Microbiol Rev* 1993; 6(4): 324-38.
- 2) Sasahara T, Hayashi S, Morisawa Y, Sakihama T, Yoshimura A, Hirai Y: *Bacillus cereus* bacteremia outbreak due to contaminated hospital linens. *Eur Clin Microbiol Infect Dis* 2011; 30(2): 219-26.
- 3) 国立がん研究センター中央病院におけるセレウス菌感染症ご報告（第1報）：<http://www.ncc.go.jp/jp/ncch/information/20130822/index.html>：2020年2月7日現在。
- 4) 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.
- 5) E. J. Bottone EJ: *Bacillus cereus*, a volatile human pathogen. *Clin Microbiol Rev* 2010; 23(2): 382-98.

- 6) WHO Guidelines on Hand Hygiene in Health Care, WHO 2009: <https://www.who.int/gpsc/5may/tools/9789241597906/en/>. accessed April 20, 2020.
- 7) Guidelines for the Prevention of Intravascular Catheter-Related Infections, CDC 2011: <https://www.cdc.gov/infectioncontrol/guidelines/bsi/index.html>. accessed April 20, 2020.
- 8) Larson EL: APIC guideline for hand washing and hand antisepsis in health care setting. *Am J Infect Control* 1995; 23(24): 251-69.
- 9) 医療用手袋のJIS規格とAQLについて：<http://www.nihon-glove.com/medicalTreatment.html>：2019年12月30日現在。
- 10) 石原由華, 宇佐美久枝, 畠山和人, 太田美智男：清拭タオルの*Bacillus cereus*汚染を高感度に検出する改良ビーズ抽出法。日本環境感染学会誌 2017; 32(2): 85-8.

[連絡先：〒464-8662 名古屋市千種区星が丘元町17番地3号
相山女学園大学看護学部 石原由華
E-mail: y-ishihara@sugiyama-u.ac.jp]

Quantitative Evaluation of Bacillus Cereus Spore Attachment to the Surface of Disposable Medical Gloves Made from Various Materials

Yuka ISHIHARA¹⁾, Hisae USAMI¹⁾, Ikue SHAMOTO²⁾ and Michio OHTA³⁾

¹⁾Sugiyama Jogakuen University School of Nursing, ²⁾Gif University School of Medicine Nursing Course,

³⁾Nagoya University School of Medicine

Abstract

It is generally recognized that most *Bacillus cereus* blood stream infections are caused by the contamination of infusion solution due to contaminated hands of healthcare personnel and skin of patients. The contamination of hands and skin with *B. cereus* spores frequently occur from contaminated hospital linens such as reused towels. Disposable medical gloves can also be a source of *B. cereus* spore contamination. The present study was therefore undertaken to quantitatively measure the attachment behavior of *B. cereus* spores to the surface of disposable gloves made from various materials, such as latex, nitrile rubber, and vinyl chloride plastic. Our modified bead extraction method was used for the assay. The number of spores attaching to gloves was highest for vinyl chloride gloves, followed by latex gloves and nitrile rubber gloves, and the difference in the numbers of attached spores between vinyl chloride gloves and nitrile rubber gloves was significant ($P = 0.028, < 0.05$). We therefore recommend nitrile rubber gloves for medical use rather than other gloves.

Key words: *Bacillus cereus*, spore, disposable gloves, nitrile rubber gloves, modified bead extraction method