

特徴：各種選択培地を組み合わせることで、一定面積あたり検出された菌数が算定できる。各種細菌毎に分布率などで汚染度を評価する。特別の機器や、培地を必要としないため、比較的容易に実施できる。菌数の多少に拘わらず検出可能であること。採取後なるべく迅速に処理する。採取時に残留抗菌物質などの混入が考えられるときがあるので注意が必要なことがある。

2) 捺印・スタンプ法

方法：検査する物体の平らな表面に、寒天培地を直接接触させて、そのまま培養する。検査目的に応じた培地を使用する。寒天培地上に発育した集落数によって、一定の寒天面積当たりの細菌数を算出する。

特徴：同一個所からは、一つの培地にしか採取できない。同時に各種選択培地を、組み合わせて使用し各種細菌毎に分布を調査しようとしても微妙に検査する場所が変わる。操作性は、簡便で定量性がある。菌量が、多いと算定不能になる事がある。

2. 空中浮遊細菌の調査法

環境微生物やヒトの排泄物、喀出痰、咳、皮膚落屑などとともに排出されたヒトの常在菌や病原細菌などは、塵埃とともに気流に伴い空中に浮遊する。空中滞留時間は、飛沫の大きさで異なり大きい物ほど落下速度が早いと言われる。感染経路別感染対策が提唱され、結核などが空気感染という範疇に区分されたので、調査依頼があるが、空中細菌数は、部屋の大きさ、天井の高さ、空調装置の性能や、ヒトの動き、湿度などで極めて左右されやすいので注意が必要である。

1) 落下細菌測定法

方法：寒天培地の蓋をあけあるいは、滅菌試験用金属板を検査する場所に一定時間静置し、落下した比較のおおきな塵埃に付着した空中細菌を検出するものである。

特徴：室内空気の流れ、速度、寒天平板の開放時間、滅菌試験用金属板の培養に使用する培地などで検査結果が異なる。操作性は、簡便であるが再現性に乏しい。

2) 衝突法

液体の中に採取する方法や、培地表面に採取する方法などがある。塵埃に付着した細菌を含んだ空気の一部を、吸引、噴射などで液体中に集菌したり、固形培地表面上に直接に捕捉する。専用の機器が必要になる。詳細については病院感染防止指針参照。固形培地表面に採取する方法である携帯可能なエアサンプラーが、操作性が簡便で持ち運びも容易なので比較的普及している

3) フィルターを使用した空気濾過法

ミリポアフィルターなどのメンブランフィルターで、空気の一部を濾過し、そのフィルターを培地表面に貼付して培養すると、フィルター上の集落が発育してくるので菌数算定できる。ポアサイズ $0.45\mu\text{m}$ を使用している。

まとめ

このように環境調査法にはさまざまな調査方法があるが、検査目的に応じ選択する必要がある。検査に要する費用などについての予算的な措置も、院内で合意した上で行うこと

が望ましいし、さらに検査結果から、感染ルートの推定、環境からの伝播の有無などの判断が求められることが多いが、検査結果の評価解釈について慎重に対処する。その他の疫学調査とともに専門家に相談できる体制作りも必要になる。

参考書

- ・日本環境感染学会編「病院感染防止指針」 南山堂
- ・日臨技微生物検査研究班編「院内感染の臨床と微生物検査」

バイオハザード対策

岡田 淳 (NTT 東日本関東病院臨床検査科)

バイオハザード (Biohazard) 対策として、滅菌・消毒法、スタンダードプレコーション、医療廃棄物の適正処理等について述べる。

1. 消毒・滅菌 sterilization、disinfection

1) 消毒・滅菌の意義

医療現場における消毒・滅菌は、環境や医療用具および生体などの消毒において、期待される消毒水準と患者に適應される器材の感染の危険度に応じて消毒薬およびその使用法を選択しなければならない。滅菌及び消毒の分類は下記のように定義されている。

滅菌		芽胞を含むすべての微生物を殺滅
消毒	高水準消毒	大量の芽胞を除いて、全ての微生物を殺滅
	中水準消毒	芽胞以外の全ての微生物を殺滅するが、中には芽胞に有効なものがある
	低水準消毒	結核菌などの抵抗性を有する菌及び消毒薬に耐性を有する一部の菌以外の微生物を殺滅

微生物を死滅させる方法は、操作の内容によって物理的方法と化学的方法に分けられる。物理的方法は主として滅菌に用いられ、薬液（消毒薬など）を使用する化学的方法は、主として消毒に用いられるが、ガス滅菌のように化学的方法であっても滅菌に用いられる方法もある。本講では消毒薬を中心に解説する。

2) 滅菌法

汎用されている滅菌法としては、乾熱滅菌と高圧蒸気滅菌とがある。

① 乾熱滅菌 hot air sterilization

乾熱滅菌器を使用し、180°Cで15分以上（160°Cで45分）加熱する。乾燥状態で使用するガラス器具、金属製品などの滅菌に用いる。プラスチック製品、ゴム製品、一部の金属など高温で変質するものの滅菌には使用できない。

② 高圧蒸気滅菌 high pressure steam sterilization

高圧蒸気滅菌装置 (autoclave) を用い、適当な温度、圧力の水蒸気を発生させ加熱によって微生物を殺菌する。通常は121°C、20分で行われるが、115°C、30分、126°C、15分でもよい。広範囲な物品の滅菌に用いるが、主として金属製、ガラス製、ゴム製、磁製、紙製、繊維物品、培地、試薬または液状の医薬品などの高温高圧水蒸気に耐えるものに用いる。また、手術中など緊急時の滅菌用のハイスピード高圧蒸気滅菌装置（132°C、3分）もある。これらの他に、火炎滅菌、放射線滅菌、超音波による滅菌、濾過滅菌などがある（成書参照）。

3) 消毒法

消毒方法には、湿熱や紫外線などを用いる物理的消毒法と消毒薬を使用する化学的消毒法があるが、適当な熱消毒設備がない場合、生体及び環境と非耐熱性の医療用具など、熱が使用できない場合化学的消毒法が適応となる。

① 消毒薬の分類

処理可能な微生物による消毒薬の分類と特性は以下のようになる。

高水準消毒薬：接触時間を長くすれば真菌及び芽胞など、あらゆる微生物に有効。
短時間の接触では大量の芽胞を除いて、すべての微生物に有効。

分類（一般名）	製品名	特 徴	手指・皮膚・粘膜
アルデヒド類 （グルタール）	サイデックス® ステリハイド® ステリスコープ®	抗菌スペクトルが広く、 かつ材質を傷めにくい ため、内視鏡の第一選択薬 でもある。また B 型肝炎 ウイルスなどのウイルス で汚染された手術器具類 などの消毒にも使用可能。	蒸気が眼や呼吸器の粘 膜を刺激。液の付着で 化学熱傷が起こる。

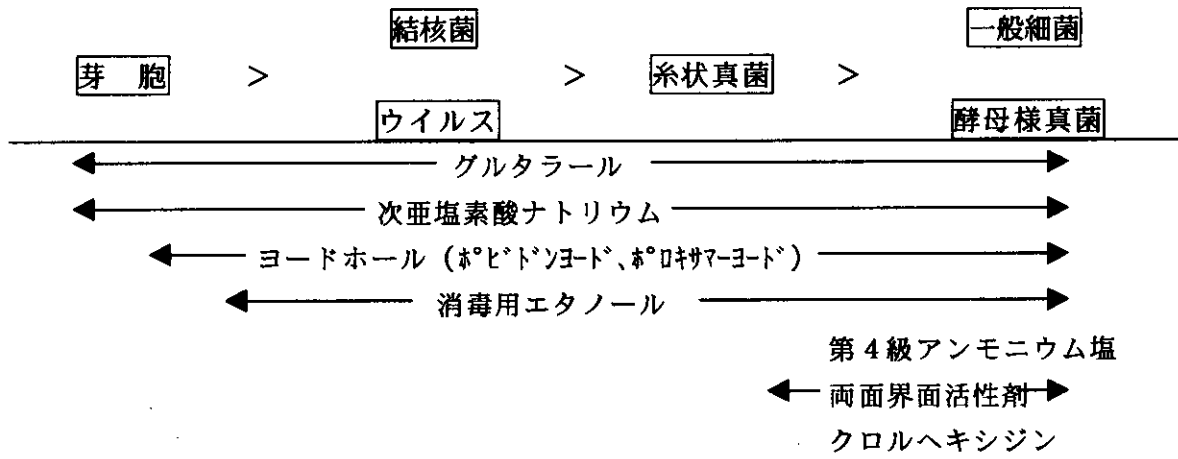
中水準消毒薬：結核菌、栄養型細菌、ほとんどのウイルスや真菌を不活性化もしくは死滅させることができる。この中には芽胞に有効な消毒薬も存在する。

分類（一般名）	製品名	特 徴	手指・皮膚・粘膜
ハロゲン系薬剤 ：塩素系 （次亜塩素酸 ナトリウム）	ミルトン®（1%） ビューラックス® （6%）	低残留性であることか ら、「食」に関係する器具 類やリネン類の消毒に汎 用される。また、抗ウイ ルス作用を利用して、ウ イルス汚染血液の消毒な ども用いられる。 金属腐食性などがある。	塩素ガスが粘膜を刺 激。手指の消毒には使 われない。
ハロゲン系薬剤 ：ヨード系 （ポビドン ヨード）	イソジン®（10%） 手術用イソジン® （7.5%：洗浄剤含 有） イソジンゲル® （10%） イソジンガーゲル® （10～30 倍希釈： 含嗽）	広範囲抗菌スペクトルを 示すが、パチルス属の芽 胞には無効。粘膜、損傷 皮膚及び新生児の皮膚か ら吸収されやすい。	人体の消毒、手指消毒 に使用される。頻回の 手洗で手荒れ。腹腔内 洗浄ではショック発現 の可能性がある為使用 しない。
アルコール類	消毒用エタノール® ヒピソフト® （0.2%） ウェルアップ® （0.2%） ヘキサックアルコール® ヘルコムローション® ビビテンアルコール液（1%）	芽胞を除くすべての微生 物に有効で、短時間に効 力を発現する。揮発性で 引火性がある。	粘膜や損傷皮膚に対し ては刺激性を示すの で、これらの部位への 使用は禁忌。手荒れの ある手指には刺激性が あるので使用しない。

低水準消毒薬：ほとんどの細菌や真菌と一部のウイルスには有効であるが、結核菌や芽胞には無効である。

分類（一般名）	製品名	特徴	手指・皮膚・粘膜
第4級アンモニウム塩（塩化ベンゼトニウム）	ハイアミンT [®] (10%：洗浄剤含有)	臭気がなく、毒性も少ない。金属・布などに対して腐食性がほとんどない。	皮膚や粘膜に対しても刺激性は見られない。皮膚・粘膜使用可。
両性界面活性剤塩（酸アルキルジアミノエチルグリシン）	エルエイジー10液 [®] (10%)	生体皮膚、粘膜、環境、金属・非金属の医療器材など幅広く適用があるが、基本的には環境消毒薬である。	皮膚、粘膜には特別な刺激性はない。生体に対して低毒性であるが、脱脂作用のため手荒れが激しく、手指消毒には適しない。
ピグアナイド類（クロルヘキシジン）	ヒピテン [®] (5%、1%) ステリクロンR [®] (0.05%、0.1%) ヒピテングルコネート液 [®] (20%) ヒピスクラブ [®] (4%)	金属や布などにも腐食性を示さない。まれにシヨックなどのアレルギー症状をおこすことがあり、通常粘膜には使用不可	皮膚に対して刺激性は見られず毒性も少ない。アライキーンシヨックを起こす可能性から、膀胱洗浄や、腔洗浄などの粘膜部位への使用は禁忌。眼に対して高い毒性を示すため、顔面への適用へは注意が必要

参考；微生物の消毒薬抵抗性の強さ、および各消毒薬の抗菌スペクトル



②消毒方法

医療用器材

患者に使用される医療器材を、それが使用される部位に対する感染の危険度に応じて分類すると以下ようになる。

クリティカル器具：無菌の体内に埋め込むか血液と長時間接触するもので、滅菌を必要とする。消毒薬での対応は困難であるが、どうしても滅菌できないものに対しては高水準消毒薬にて長時間処理する。

(対象物) 手術器械、腹腔鏡、関節鏡、点滴、注射、針、シリンジ、眼内レンズ、心臓・尿路カテーテルなど

セミクリティカル器具：粘膜及び創のある皮膚と接触する医療器具をいう。

(対象物) 呼吸器系に接触する用具、麻酔用具、眼圧計、凍結手術用器具、内視鏡、膀胱鏡、体温計、便器、尿器など

ノンクリティカル器具：創の無い正常な皮膚と接触するもので、粘膜とは接触しない器材をいう。

(対象物) 手術台、聴診器、便座、血圧測定用カフ、松葉杖、ベッド枠、リネン類、ベッドサイドテーブル、食器、洗面器、浴室、患者用備品など

4) 対象別にみた消毒・滅菌の処理条件

高レベル消毒または滅菌を行うものはすべて有機物（血液・組織など）その他の残留物をすべて除去するために、まず十分洗浄する。

感染リスク	クリティカル	セミクリティカル		ノンクリティカル	
	組織・血管・血液中に入れるもの	粘膜・創の有る皮膚と接する	呼吸器系に接触する用具、麻酔用具、眼圧計、凍結手術用器具、内視鏡、膀胱鏡、便器、尿器など	体温計など	創の無い皮膚と接する
対象器材の例	手術器械、腹腔鏡、関節鏡、点滴、注射、針、シリンジ、眼内レンズ、心臓・尿路カテーテルなど				手術台、聴診器、便座、血圧測定用カフ、松葉杖、ベッド枠、リネン類、ベッドサイドテーブル、食器、洗面器、浴室、患者用備品など
処理方法	滅菌	消毒			
		高水準消毒	中水準消毒	低水準消毒	
	蒸気、ガス滅菌が使えない場合はいずれか一つの消毒薬をメーカーの指示通り使用	20分以上※ 消毒後は滅菌水ですすぐ	清拭	清拭	
耐熱性のもの	・高圧蒸気滅菌	・熱水消毒	・消毒用エタノール	・ハイアミ T [®] 、ジアミトル [®] (註1) ・エルエイジー [®] ・ヒビテン [®] (5%、1%)、ステリクロン R [®] (0.05%、0.1%) ・ヒビテングルコネート液 [®] (20%) ・ヒビスクラブ [®] (4%)	
耐熱性の弱いもの	・酸化エチレンガス滅菌 (耐熱性のないもの)	・サイデックスプラス [®] 、ステリスコープ [®]			

※ 消毒時間が長いほど残存菌量は減少する。結核菌、非定型抗酸菌をグルタラールで死滅させるのに要する最小時間は20分間。

CJDで汚染された患者治療機器	クリティカル、セミクリティカル治療用機器 ・高圧蒸気滅菌器であれば134~138℃で18分間の滅菌 ・1N水酸化ナトリウム (腐食性) 中に室温で1時間浸漬後121℃ 30分滅菌	ノンクリティカル ・漂白剤 (無希釈又は10倍までの希釈) または1N水酸化ナトリウムで15分の消毒
-----------------	---	---

2. 基本的な感染対策

1) 標準予防策と感染経路対策の概説

①標準予防策 Standard Precautions

全ての患者のケアに適用する予防策である。その基本的理念は患者の血液・体液や痰・便・尿などの分泌物・排泄物をすべて感染症ありと見なして対処することである。

②感染経路別予防策 transmission-based Precautions

標準予防策に追加されるもので、感染力が強く、感染症としても重要な疾患に適用される。

感染経路として、空気（飛沫核）、飛沫、接触感染の3つが重視されており、それに応じた3つの予防策が提案されている。

病院における隔離予防策のガイドライン(CDC, 1996)より抜粋 —：規定なし

	標準予防策（全患者共通）	空気予防策	飛沫予防策	接触予防策
手洗い	<ul style="list-style-type: none"> ・体液・体物質に触れた後 ・手袋を外した後 ・患者接触の間 ・通常、普通の石鹸を使う 	—	—	—
手袋	<ul style="list-style-type: none"> ・体液・体物質に触る時 ・粘膜・無傷でない皮膚に触る時 ・使用后、非汚染物・環境表面に触る前、他の患者の所へ行く時は、手袋を外し、手洗いする 	—	—	<ul style="list-style-type: none"> ・部屋に入る時は手袋を着用する ・汚染物に触った後は交換する ・部屋を出る時は外し、消毒剤で手洗いする
マスク (サージカルマスク)	<ul style="list-style-type: none"> ・体液・体物質が飛び散って、目、鼻、口を汚染しそうな時 	部屋に入る時、N95 マスクを付ける	1m以内で働く時は着用する	—
ガウン	<ul style="list-style-type: none"> ・衣服が汚染しそうな時、着用する ・汚れたガウンはすぐに脱ぎ、手洗いをする 	—	—	患者に接触しそうな時は部屋に入る時に着用し、部屋を離れる時に脱ぐ
器具	<ul style="list-style-type: none"> ・汚染した器具は、粘膜、衣服、環境などを汚染しないように注意深く操作する ・再使用のものは清潔であることを確かめる 	—	—	<ul style="list-style-type: none"> ・できれば専用にする ・できなければ、他患者に使用前に消毒する
リネン	<ul style="list-style-type: none"> ・汚染されたリネンは粘膜、衣服、他の患者や環境を汚染しないように操作、移送、処理する 	—	—	—
患者配置	<ul style="list-style-type: none"> ・環境を汚染させるおそれのある患者は個室に入れる ・個室がないときは専門家に相談する 	個室隔離： 部屋の条件 (1)陰圧 (2)1時間に6回の換気 (3)院外排気	個室隔離あるいは集団隔離あるいは1m離す	個室隔離あるいは集団隔離あるいは病原体の疫学と患者集団を考えて対処する
患者移送	—	<ul style="list-style-type: none"> ・制限する ・必要な時、サージカルマスクを着用 	<ul style="list-style-type: none"> ・制限する ・必要な時、マスク着用 	制限する
環境対策	日常清掃	—	—	手指が触れる環境表面を毎日清拭
その他	針刺し事故対策	—	—	バンコマイシン耐性菌対策

2) 標準予防策

手洗い・・・普通の石鹸で

1. 侵襲的手技の前後…手袋を外した後も
2. 血液、体液、分泌物（汗・唾液を除く）、排泄物、汚物器具に触れた後
3. 患者の診察前後
4. 蛇口で手を洗った後は、ペーパータオルで栓を閉める。

手指消毒法

基本的な手指消毒方法は、まず石鹸と流水とで皮膚に付着している微生物や汚れを洗い落としてから、消毒薬を使用して手指や前腕皮膚表面を殺菌する。

清潔度から手洗いを分類すると下記のようなになる。

1. 日常的手洗い：手指を清浄にし、一過性の微生物を除去するために行う手洗い法。

時期 食事の前や日常的な行動に伴う

方法 石鹸と流水を使って、15秒以上洗う

2. 衛生的手洗い：一過性の微生物を除去・殺菌するために日常業務全体で行う手洗法。

時期 医療行為の前後や、手指が細菌により汚染されたと思われる時に行う。

隔離室やICUのようなリスクの高い場所。

方法 ウォッシュボン G[®]（薬用石鹸）またはヒビスクラブ[®]（クロルヘキシジン）

などを使って、15秒以上下記の方法で洗浄する。

流水設備のない場合には、代替方法としてヒビソフト[®]（グルコン酸クロルヘキシジン含有エタノール）やベルコムローション[®]（塩化ベンザルコニウム含有エタノール）などの速乾式手指消毒薬で擦式消毒を行う。

3. 手術時手洗い：一過性の微生物を除去または殺菌し、常在細菌叢を手術に問題のないレベルまで十分に減少させるため、術前にブラシと消毒薬を使用して行う手洗い法。使用される消毒薬はスペクトルが広く、即効的で効果の持続するもの。

時期 手術や侵襲性処置、IVH挿入時などの施行前

方法 ①両手 30秒

指先から肘関節上部まで、手術用イソジン液[®]（ポピドンヨード）またはヒビスクラブ[®]（クロルヘキシジン）で素洗い（普通に手洗いすること）し、流水で流す。

②片手 1分

指先から肘関節上部まで、手術用イソジン液[®]（ポピドンヨード）またはヒビスクラブ[®]（クロルヘキシジン）でもみ洗い（泡立てて手洗いすること）し、流水で流す。

③片手 2分

爪・指・指間を手術用イソジン液[®]（ポピドンヨード）またはヒビスクラブ[®]（クロルヘキシジン）でブラッシング、さらに前腕から肘関節までスポンジを使って洗い、流水で流す。

手掌……30秒

手首～前腕 1 / 2 ……30秒

手背……30秒

前腕 1 / 2 ～肘関節……30秒

- ④滅菌タオルで水分を十分拭き取った後、必ずヒビソフト®（グルコン酸ク
ロールヘキシジン含有エタノール：速乾式手指消毒薬）で擦式消毒を行う。

手袋

1. 患者の血液、体液、分泌物、排泄物、創部、粘膜に触れるような手技の間は常に手袋をする。
2. 静脈切開のような血管侵襲手技のときは、必ず手袋をする。
3. 使用後はすぐ外し、清潔な物品や他の患者に触れる前に手を洗う。
4. 必要な場合は交換する。
たとえば、ある患者の感染創部をケアした後、同じ患者の他の部位のケアが必要な場合は手袋を外し、手を洗い、新しい手袋をする。

ガウン・ゴーグル・マスク

患者の血液、体液、分泌物、排泄物が飛び散るような手技を行う時はガウン、ゴーグル、マスクをする。

血液をこぼした時

1. 手袋をする。
2. ペーパータオルで拭き取る。
3. 感染性廃棄物専用のダンボール箱に捨てる。
4. ショードックプラス®(塩化ベンザルコニウム含有エタノール製剤)で拭く。

針刺し事故防止対策

1. 使用後の針はリキャップしない。
2. どうしてもリキャップが必要な時でも、
 - (1) 両手でしない。
 - (2) 針先が体に向くような方法でしない。
3. 片手すくい法か、リキャップ用器具を使う。
4. 手で使用後の針を注射器から外さない。
5. 穿刺耐性の硬い容器にディスプレイ注射器・針、メス、ガラス片、トロッカーなどを捨てる。

3) 感染経路別予防策

① 空気予防策

標準予防策に加えて、空気媒介性飛沫核で伝播される重篤な疾患を持っていることが知られている、あるいは疑われている患者に対し、空気予防策を使用する。このような疾患例として次のようなものがある。

1. 結核
2. 麻疹
3. 水痘(播種性帯状疱疹を含む)

② 飛沫予防策

標準予防策に加えて、大飛沫粒子で伝播される重篤な疾患を持っていることが知られている、あるいは疑われている患者に対し、飛沫予防策を使用する。このような疾患例として次のようなものがある。

1. 侵襲性B型インフルエンザ菌疾患（髄膜炎、肺炎、喉頭炎、敗血症を含む）
2. 侵襲性髄膜炎菌疾患（髄膜炎、肺炎、敗血症を含む）
3. 飛沫感染で広がる他の重症細菌性呼吸器感染症、下記のものを含む。
 - a. ジフテリア(喉頭) b. マイコプラズマ肺炎 c. 百日咳 d. 肺ペスト
 - e. 溶連菌性咽頭炎、肺炎、猩紅熱(乳幼児における)
4. 飛沫感染で広がる重症ウイルス感染症、下記のものを含む。
 - a. アデノウイルス b. インフルエンザ c. ムンプス(流行性耳下腺炎)
 - d. パルボウイルスB19 e. 風疹

③接触予防策

標準予防策に加えて、直接患者接触あるいは患者周辺にある物品との接触によって容易に伝播される重篤な疾患を持っていることが知られている、あるいは疑われている者に対し、接触予防策を使用する。このような疾患例として次のようなものがある。

1. 現在の州・地域・国の勧告を基に、感染対策プログラムによって特別の臨床的・疫学的意義があると判断された多剤耐性菌による胃腸管、呼吸器、皮膚、および創部の感染症あるいは定着状態
2. 少量で感染する、あるいは環境での長期生存性を持つ腸管感染症、下記の物を含む。
 - a. クロストリジウム・ディフィシル
 - b. おむつをしているあるいは失禁状態の患者の場合：
腸管出血性大腸菌O157:H7、赤痢、A型肝炎、ロタウイルス
3. 乳幼児におけるRSウイルス、パラインフルエンザウイルス、腸管ウイルス感染症
4. 接触感染性の強い、あるいは、乾燥皮膚に起こりうる皮膚感染症、下記のものを含む。
 - a. ジフテリア（皮膚）
 - b. 単純ヘルペスウイルス（新生児あるいは粘膜皮膚の）
 - c. 膿痂疹
 - d. 大きな（封じ込められていない）膿瘍、蜂窩織炎、褥瘡
 - e. しらみ寄生症
 - f. 疥癬
 - g. 乳幼児におけるブドウ球菌性せつ
 - h. ブドウ球菌性熱傷皮膚症候群
 - i. 帯状疱疹（播種性あるいは免疫不全患者の）
5. ウイルス性／出血性結膜炎
6. ウイルス出血熱（エボラ、ラッサ、マールブルク）

3. 医療廃棄物の適正処理

感染性廃棄物 (infectious waste)は、感染症患者から排出される廃棄物である。適切な分別、適切な処理・処分が要求される。

1) 感染性廃棄物の処理・処分

1. 分別・容器・梱包

医療従事者などへの感染を防止するために、排出時に①液状のもの、②固形状のもの

の、③鋭利なもの、に分別し他の非感染性廃棄物と分ける。分別および梱包容器は、収納しやすく、損傷しにくい（耐貫通性）、密閉できるものを使用し、バイオハザードマークを添付する。

2. 保管

施設内に専用の保管場所を設置し、他の非感染性廃棄物と区別する。なお、室温で保管する時はできるだけ短期間（1週間程度）とし、長期保管の場合は保冷庫を使用する。

3. 中間処理

施設内の焼却施設で消却、溶融設備で溶融、滅菌装置（高圧蒸気滅菌など）で滅菌する。消却炉等のない場合でも危険性の高い感染性廃棄物については、施設内で消毒ないし滅菌処理を行う。また、HBV 関連廃棄物は有効な薬剤または加熱により消毒する。（付記；高圧蒸気滅菌は簡便で有効な方法として汎用されているが、中心に近い部分の微生物は死滅しないことがあるので、滅菌後に開放したり、一般廃棄物として処分してはならない）

4. 委託処理

高温消却（焼却炉の出口温度 800℃以上）を行える業者と契約する。マニフェストシステムを遵守した方法で処理・処分を行うことを徹底する。

2) 感染性廃棄物の危険性

病原体が廃棄物の中で生存しうる期間についてのデータは殆どないが、リスクの高い病原体が含まれている可能性があることを常に念頭に置くことが大切である。すなわち、患者の血液、体液、喀痰、排泄物（尿、便等）、膿などが付着した廃棄物は、原則として感染の危険性ありと考え、その取り扱いに注意する。また、針刺し事故等の汚染事故では、菌血症や敗血症を起こす可能性があることを銘記すべきである。感染性廃棄物との関連が問題となる感染症としては、わが国では肝炎ウイルスや結核菌などが挙げられるが、バイオハザードレベル 3 以上の微生物については注意する必要がある。

3) 事故に対する具体的な対策

廃棄物による汚染ないし感染事故が発生した場合には、感染源に含まれる病原微生物を推定し、対策を考慮する。

1. 原則

感染性廃棄物に触れる可能性のある作業を行う場合には、事故を未然に防ぐために必ず手袋を着用する。

2. 感染事故発生時の対応

医療機関における職業感染防止対策に準じて以下のように行う。

- ① 感染または汚染事故を起こした場合には、直ちに流水で十分洗浄する。汚染源（患者）の HBs 抗原を調べ、陽性の場合には HBs 抗体を調べ、抗体陰性の場合には HB 免疫グロブリンを注射する。さらに汚染源の Hbe 抗原を調べ、陽性の場合には HB ワクチンを接種する。
- ② C 型肝炎の汚染事故では、受傷部の十分な洗浄、受傷者の肝機能検査、C 型肝炎マーカー検査を行う。定期的な血液検査以後半年間行い、万一異常のある場合はインターフェロンの筋注を行う。

③ エイズに関しては針刺し事故による感染率は低いですが、受傷部の洗浄を行い、抗体のチェックを半年間位継続する。3剤併用〔レトロビル® (AZTA)、エピビル® (3TC:ラゴブジン)、クリキシバン® (インジナビル)]を行うことが推奨されている(厚生省通達)。

④ その他

クロイツフェルト・ヤコブ病などの病原体であるプリオンの感染力の詳細は不明であるが、リスクの高い細胞や組織から感染するとの報告がある。なお、ヤコブ病患者に使用した器具類の消毒としては、消却、高圧蒸気滅菌(132°C、1時間)、1N NaOH(1時間)、1~5%次亜塩素酸ナトリウム(2時間)、3%SDS(100°C、5分)が推奨されている。

また、梅毒が針刺し事故で感染する可能性は極めて低いですが、患者が活動期にある場合にはペニシリンなどの抗菌薬の投与を考慮する。

参考文献

1. APIC Guideline for Selection and Use of Disinfectants:Am J infect Control 1996; 24:313-342
2. Guideline for Handwashing and Hospital Environmental Control,1985:Am J Infect 1986;14(3):110-129
3. 厚生省保健医療局結核感染症課監修、小林寛伊編 消毒と滅菌のガイドライン へるす出版 1999
3. 小林 寛伊監修：新しい感染制御看護の知識と実際、へるす出版、1996
4. 向野 賢治訳、小林 寛伊監訳：病院における隔離予防策のための CDC 最新ガイドライン、メディカ出版、1996 (Julia S.Garner,RN,MN : Guideline for Isolation Precautions in Hospitals)
5. 岡田 淳：病院感染の現状と医療廃棄物の危険性、臨床病理(特集)、臨床病理刊行会、2000

厚生省における最近の院内感染対策への取り組み

郡司一明（厚生省医薬安全局安全対策課医療放射線管理専門官）

1. 感染症新法について

1) 感染症新法の基本的方向性

- ① 感染症の発生・拡大に備えた事前対応型行政の構築
- ② 感染症類型と医療体制の再整理
- ③ 患者等の人権尊重に配慮した入院手続の整備
- ④ 感染症のまん延防止に資する必要十分な消毒等の措置の整備
- ⑤ 検疫体制・動物由来感染症対策の整備

2) 感染症発生動向調査体制の整備・確立

3) 国、都道府県における総合的な取り組みの推進

4) インフルエンザ、性感染症、エイズについて特定感染症予防指針の策定

2. 院内感染対策サーベイランス事業について

薬剤耐性菌の出現の早期発見及び患者の背景情報の解析等を目的として、平成9年度から11年度にかけて、国立感染症研究所を中心に、薬剤耐性菌による院内感染対策のためのサーベイランスの研究、システム開発、及び試行を実施してきた。

これを基に、平成12年度から、全国の約70医療機関の協力を得て、情報の収集及び解析を行う「院内感染対策サーベイランス事業」の運用を開始した。事業では、協力医療機関を集中治療部門サーベイランス、検査部門サーベイランス、及び全入院患者サーベイランスの3つのカテゴリーに分け、それぞれ詳細な、耐性菌情報及び患者情報を収集し、医療機関における院内感染対策を支援するために必要なデータ分析を行うこととしている。

3. その他の院内感染対策事業について

1) 院内感染対策講習会

平成5年度より全国の医師、看護婦を対象とし、院内感染対策に関する講習会を日本感染症学会に委託して開催している。平成11年度からは医師、看護婦に加え新たに薬剤師、臨床検査技師を対象とし、全国8カ所で約4,000人が参加を予定している。

2) 施設内感染対策相談窓口の設置

平成5年度より、医療機関、社会福祉施設等における施設内感染についてのより具体的な問い合わせに回答し、施設内感染対策に関する知識の普及啓発を図るため、施設

内感染対策に関する相談窓口を日本感染症学会に委託して設置している。

3) 抗菌薬安全使用ガイドラインの作成

平成 10 年度より、日本感染症学会と日本化学療法学会と合同による抗菌薬についての副作用の予防と耐性菌出現の予防のためのガイドラインの作成を委託しており、学会のチャンネルを活用して普及啓発を行うこととしている。

4) 各種ガイドラインの作成

平成 10 年 5 月には、これまでの B 型肝炎ウイルス、MRSA、VRE の他、レジオネラ肺炎、結核等の通知を盛り込んだ指導要領を作成し、医療機関の指導・監督を行う各都道府県及び保健所等に配布した。

実 習 編

10月28日（第3日目）

薬剤感受性測定法と耐性菌検出

大野 章（東邦大学医学部微生物学教室）

はじめに

日常検査における感染症への対応は、原因菌の迅速な同定と、薬剤感受性試験による適切な抗菌薬の選択に集約されるといっても過言ではない。特に最近では多剤耐性 MRSA、多剤耐性 PRSP、多剤耐性 VRE、ESBL 産生大腸菌・肺炎桿菌など、症例によっては治療困難となりえる抗菌薬耐性菌の蔓延が大きな問題となっている。そのため、これらの抗菌薬耐性菌をいかに早く正確に検出するかが、日常検査において求められている。

本実習は、抗菌薬耐性菌に対する検出法や、微量液体希釈法への理解を深めることを目的とする。実際には PRSP、VRE、および ESBL 産生大腸菌など、現在最も問題となっている耐性菌を対象に、微量液体希釈法による薬剤感受性試験法、E-test による薬剤感受性法あるいは寒天スクリーニング法を供覧しその結果を判定する。また微量液体希釈法の一部の過程を実習する。

1. 対象菌

- 1) ペニシリン耐性肺炎球菌 (PRSP)
- 2) バンコマイシン耐性腸球菌 (VRE)
- 3) 基本特異性拡張型 β -ラクタマーゼ (ESBL) 産生大腸菌

2. 対象薬剤

1) PRSP

ペニシリン G、アモキシシリン、セフトキシム、パニペネム、エリスロマイシン、テトラサイクリン、クリンダマイシン、トスフロキサシン

2) VRE

バンコマイシン、テイコブラニン、ゲンタミシン、イミペネム

3) ESBL

セフトキシム、セフトキシム・クラバン酸、セフトチジム、セフトチジム・クラバン酸、イミペネム、アズトレオナム

*使用する抗菌薬は、有効期限内にある力価の明らかな原末を用いる。

3. 微量液体菌量積法

希釈法の目的は、対象菌株に対する、臨床上使用可能な複数の抗菌薬に対する最小発育阻止濃度 (MIC: $\mu\text{g/ml}$) を求め、感性か耐性かの分類を行うとともに、得られた MIC 値を中心に、副作用、感染症部位に対する移行性などの特徴を考慮して、最も適切な抗菌

薬を選択することにある。希釈法はディスク法に比べて正確性を持つ特徴があり、さらに液体希釈法は最小殺菌濃度を続いて求めることも可能で、殺菌力の強い治療薬の選択を行うことができる。また従来希釈法はディスク法に比べて煩雑である欠点があったが、微量液体希釈法は、96穴のマイクロプレートを用いるので、一枚で多数の薬剤のMICを測定することが可能となり、さらに一度に例えば数百枚を作製し、 -80°C でストックすることができるため非常に便利となった。そのため世界的に微量液体希釈法の利用が主流になってきている。また一方で微量液体希釈法を応用した自動測定機器も普及しつつある。

1) 使用プレート

滅菌済み 96 穴マイクロプレート

2) 培地

Difco 社製ミュラーヒントンプロスを用い、高圧蒸気滅菌後に、培地に表示されている 2 価カチオン濃度を下記の最終濃度になるようカチオンストック液の必要量を添加して調整する* (カチオン調整済みミュラーヒントンプロス)。

*Ca⁺⁺ 最終 25mg/L (ストック液 10mg/L),

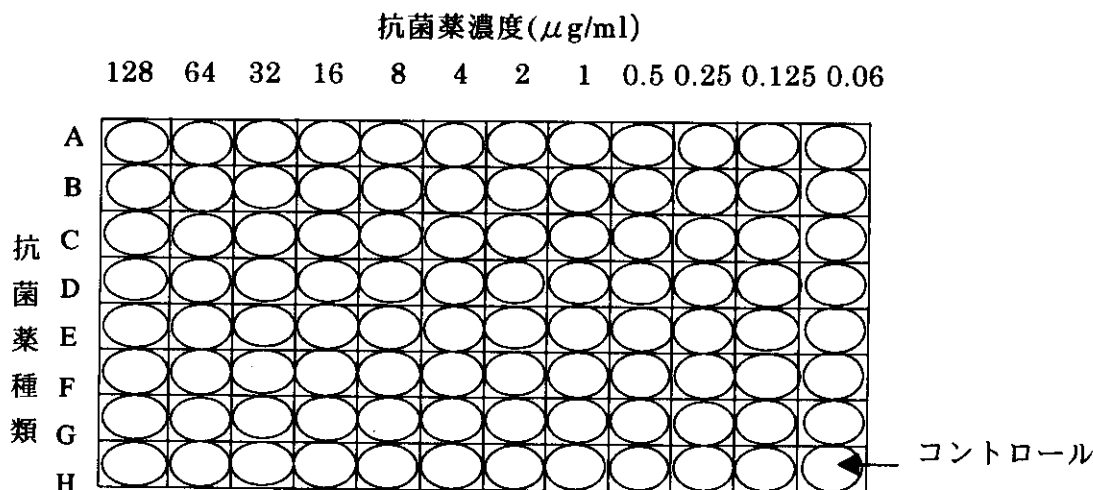
Mg⁺⁺ 最終 12.5mg/L (ストック液 10mg/L)

*肺炎球菌を含む連鎖球菌など培養の難しい菌種には、カチオン調整済みミュラーヒントンプロスに最終 2-5%の馬溶血液を添加する。

3) 薬剤の希釈

対象薬剤を、セミマイクロあるいはマイクロ天秤で 10mg 程度を精密に秤量し、力価とし 128 $\mu\text{g/ml}$ (カチオン調整済みミュラーヒントンプロス) の濃度になるよう調整する。これを原液として、例えば 1ml の培地に 1ml の原液を加えて 2 倍、3ml の培地に 1ml の原液を加えて 4 倍、7ml の培地に 1ml の原液を加えて 8 倍にする。続いて 8 倍の希釈液から、同様の操作で 16 倍、32 倍、64 倍の希釈液を作る。この希釈操作を繰り返し、例えば 128 $\mu\text{g/ml}$ から 0.063 $\mu\text{g/ml}$ の 12 段階の 2 倍希釈系列を作製する。

これら薬剤毎の希釈液を 96 穴のプレートに穴あたり 100 μl ずつ下記の濃度順に分注する。



4) 接種菌液の調整

ミューラーヒントン寒天培地上に純粋培養した集落の数個を、滅菌綿棒でかきとり、滅菌生理食塩水中に、MacFarland 0.5 の濁度になるようにけんだくする（グラム陽性球菌の場合は MacFarland 1.0 に調整）。このけんだく液の菌量は 1ml あたり約 1×10^8 CFU である。けんだく液 3ml を、27ml の滅菌生理食塩水の入った菌接種用プレートに添加したものを接種菌液とする（あたり約 1×10^7 CFU）。

5) 菌接種

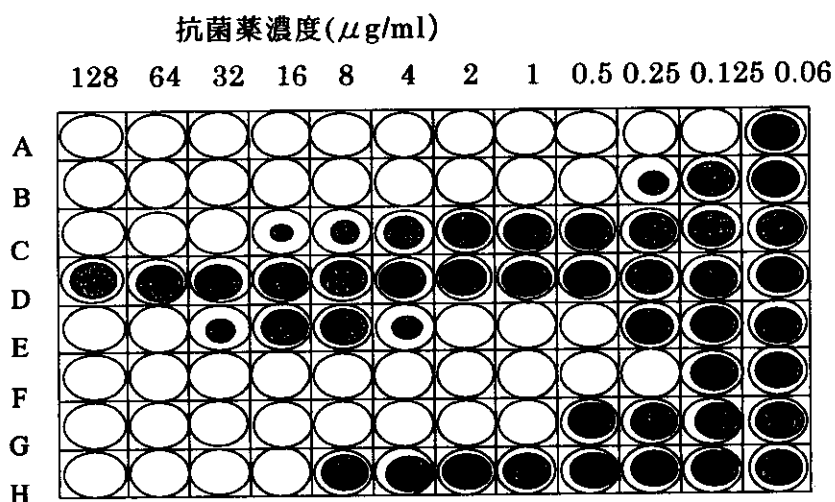
96 穴マイクロプレート用菌接種器の接種棒先端を 100%エチルアルコールの入った菌接種用プレートに浸し、バーナーで焼いて滅菌する。空気中で十分に冷やした後、接種用菌液のプレートに先端を浸した後、薬剤プレートの方に移し、96 の穴に、接種棒先端をふれないように注意しながら差し入れて菌を接種する（最終菌濃度： 1×10^5 CFU/well）。接種後、別に用意した 100%エチルアルコール入りプレートに先端を十分に浸した後、バーナーで良く焼き滅菌する。

6) 培養

接種を終えたマイクロプレートに、シールをするか、あるいは未使用のプレートで蓋をしてビニール袋に入れる。水を含ませた綿を絞ったものを一緒に袋に入れて、35℃でインキュベートする。通常は 16 - 18 時間培養するが、耐性菌の検出を目的にする場合は、24 時間まで培養するものもある。また増殖の遅い菌種は 48 時間以上の培養を行うこともある。

7) 判定

培養後、判定用ミラーを用いて、下図に示すように生育が阻止された最小希釈濃度を持って MIC 値とする。また菌によっては生育が阻止された濃度よりさらに濃い濃度域で生育がみとめられるスキップ現象を生じるものもある。その場合は、再現性試験を行い、同じ現象が見られることを確認する。確認できたらスキップ現象ありと記載し、スキップしたところの生育が阻止された最小希釈濃度を持って MIC 値とする（スキップ現象は至的濃度における耐性の誘導を反映したものと考える）。



MIC 値: A: 0.125 B: 0.5 C: 32 D: >128 E: 64 (スキップ現象あり)
F: 0.25 G: 1 H: 16

8) NCCLS感受性分類による感受性の判定

各菌種に対応するNCCLSの希釈法の感受性の分類表に照らし合わせ、耐性(R)か感性(S)かあるいは中等度耐性(I)かを判定する。

9) 最小殺菌濃度(MBC)の測定

MIC値を含め、MIC値から上の各希釈段階の液を十分にピペティング操作で十分にけんだくさせ、それぞれ10 μ lをサンプリングし、薬剤不含の寒天培地にスポットする。35 $^{\circ}$ Cで一夜培養した後、菌の生育の有無を観察する。理論的には1000個の菌細胞をスポットしたのであるから、コロニーが一個生育した場合は、99.9%が殺菌されたことになる(実際は接種菌量は多少の誤差があるので、数個程度のコロニーが生育してもOKである)。コロニーがまったく見られないこともあり、その場合は99.9%以上の殺菌ということになる。MBC値は99.9%以上を殺菌する最小希釈濃度を示し、MIC値とMBCの値が近接しているほど、殺菌力の強い抗菌薬ということになる。

4. 寒天スクリーニング法

抗菌薬耐性菌を、より迅速に検出するためのスクリーニング法である。NCCLSではメチシリン耐性ブドウ球菌とバンコマイシン耐性腸球菌について記載されている。基本的には耐性を検出するのに相応しい抗菌薬を一定濃度寒天培地に添加したものをを用い、コロニー形成の有無で判定する。

詳細は各種抗菌薬耐性菌の検出法参照。

5. 各種耐性菌の具体的な検出法

1) メチシリン耐性ブドウ球菌、MRSA、MRCNAの検出

ディスク法

抗菌薬 (ディスク濃度)	培地	阻止円直径 (mm)		
		感性	中等度耐性	耐性
オキサシリン (1 μ g)	ミュラーヒントン寒天培地 (Difco社)	≥ 13 mm	11 - 12mm	≤ 10 mm

*培養: 35 $^{\circ}$ C, 24h
↓
精度管理用: *Staphylococcus aureus* ATCC25923 寒天スクリーニング法にて確認
ディスク法: Oxacillin; 18 - 24mm

MIC法

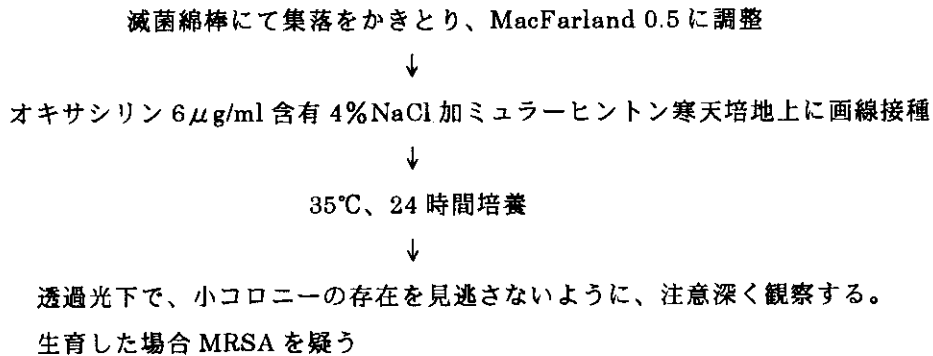
抗菌薬	培地	MIC値			
		感性	中等度耐性	耐性	
オキサシリン	2%NaCl加カチオン調整ミュラーヒントン 液体培地 (Difco社)	MRSA	≤ 2	-	≥ 4
		MRCNA	≤ 0.25	-	≥ 0.5

*培養: 35 $^{\circ}$ C, 24h

精度管理用: *Staphylococcus aureus* ATCC29213

希釈法: Oxacillin; 0.12 - 0.5 μ g/ml

2) MRSA, MRCNA 検出寒天スクリーニング法



3) PRSP の検出

ディスク法

培地	抗菌薬 (ディスク濃度)	阻止円直径 (mm)		
		感性	中等度耐性	耐性
2.5%馬溶血液添加ミュラーヒントン寒天培地	オキサシリン (1 μ g)	≥ 20 mm	-	-

↓

≤ 19 mm であった場合は、MIC 法をペニシリン、セフトキサシム、セフトリアキソンに対して行う

MIC 法

培地	抗菌薬	MIC 値		
		感性	中等度耐性	耐性
カチオン調整 2-5%馬溶血液添加ミュラーヒントン液体培地	ペニシリン G	≤ 0.06	0.12 - 1	≥ 2
	アモキシシリン	≤ 2	4	≥ 8
	アモキサシリン/クラブラン酸	$\leq 2/1$	4/2	$\geq 8/4$
	セフトキサシム or セフトリアキソン	≤ 0.5	1	≥ 2

*培養：35°C，5%CO₂，24h

精度管理用：*Streptococcus pneumoniae* ATCC49619

ディスク法：Oxacillin；8 - 12mm

希釈法：Penicillin；0.25 - 1 μ g/ml