

及ぼすために、調査者（監査者）は洗濯取り扱い状況のすべての側面を理解しなければならず、クリーニング店だけで見つかる専門条件とプロセスにも精通していなければならない。環境健康の専門者は、訓練と経験、疫学、病院経営、配管と細菌学専門家のような領域で、病院ランドリーを援助する優れた立場にあるべきである。

- ⑨ Carr ら¹²⁾ は、塩素イオンは二酸化塩素の副産物で、一般的には最終工程でこの処理水に 0.3 から 1.0mg/L に存在する。遊離塩素と結合されるとき、これらの 2 つの反応性イオンは二酸化塩素を形成するために反応することが示された。この研究の主目的は、高濃度の次亜塩素酸塩イオンでの洗濯温度と pH 値に残留二酸化塩素があるとき、二酸化塩素形成を定量化すること、また、比較的高い次亜塩素酸塩イオン濃度があるときの、正確な二酸化塩素の分析法を開発することであり、洗濯工程処理における二酸化塩素を使用したシステムの水道水中で、二酸化塩素が形成されるかどうかを測定することであった。

二酸化塩素の形成は、シュミレーションされたランドリー漂白でごくわずかであることが明らかとなった。また、二酸化塩素形成における変動要因が pH であることも明らかとなった。塩素がベース（次亜塩素酸ナトリウム）として有効なとき、結果として生じる pH は、二酸化塩素構造を抑制するのに十分であった。

- ⑩ CDC/HICPAC¹³⁾ は、CDC と医療感染制御諮問委員会（HICPAC）の勧告として、以下のとく述べている。

G. 洗濯物と寝具

1) 一般の情報

医療施設における洗濯物とは、シーツ、毛布、タオル、個人衣類、患者衣類、外科的手技に使用したユニフォームやガウンとドレープを含み、これらを擦り洗いし、洗濯する。

医療施設での汚染された織物の病原微生物は相当数であるが、汚染されたファブリックにリンクされる健康管理関連疾患の報告はわずかである。

2) 疫学と一般的概念の感染管理

汚染した織物は、生体物質からの微生物、血液、皮膚、便、尿、嘔吐などや組織を多く含んでいる。織物が感染力のある生体物質で汚染されたとき、 $10^6\text{-}10^8\text{CFU}/100\text{cm}^2$ の細菌量を含んでいる。医療洗濯物に起因する感染経路は、汚染されたリネン類を不適当に扱った場合である。細菌（サルモネラ菌属、セレウス菌）、B 型肝炎ウイルス、真菌や疥癬等は汚染された織物から従事者に直接接触感染または空気感染している。

汚染や病原体除去、病原体不活性化の組合せを通して、汚染された織物をクリーニング部門は、きれいに衛生的にしている。個人防護具、適切な業務実践、標識、危険連絡と人間工学を用いて、汚染された織物の捕集と取扱いを区分し、従事者を感染性物質による曝露から保護する必要がある。医療施設での洗濯部門は、患者とスタッフに衛生的できれいな織物や衣類を与え、効率よく設計される必要があり、医療施設（介護施設を含む）のための洗濯物構造および作動のためのガイドラインが公表されている。洗濯部門は、通常 2 つの別々の領域—清潔区域と汚染区域に区分される。空気汚染されたリントで清浄洗濯物への再汚染を最小化するため、汚染区域は清潔区域より陰圧でなければならない。洗濯部門は、従事者が直ちに手洗いできる設備を備えておく。汚染区域では、洗濯従事者は適切な個人保護具を着用する必要がある。湿った織物は、終夜機械に残されなければならない。

3) 汚染された織物の収集、輸送、区分

汚染が起きた場所で、汚染された洗濯物を区分けし、灌ぐことは、OSHA によって禁止されている。汚染された織物は、その場所にバッグまたは他の適切な袋に入れ、漏出を防止するために閉じる。汚染された洗濯物が施設内の洗濯部門に輸送されるか、離れた洗濯部門に輸送するかどうかにかかわらず、適切に扱う必要がある。しかしながら、いずれの場合も症例はこのソースとの関連がなかった。クリーニング店は、洗う前の仕分け時に製品の組成に基づく公式のカスタム化と遭遇される土壤の型を考慮に入れる。従事者の保護衣類は、これらの曝露量を最小化することができる。

4) 洗濯プロセスのパラメータ

医療施設で使われる織物と衣類は洗浄後、消毒され、病原体を含まなくなる。清浄後の織物や衣類は、乾燥後、必要に応じてプレスされて、施設へ配送準備を行う。きれいなリネン類は、輸送前に不注意な汚染による塵とほこりを防ぐため、包装されなければならない。

洗浄後、清浄および乾燥した織物と衣類は、プレスされ折り畳み包装され、使用まで清潔な方法で輸送、配布、保管する。清潔および汚染された織物は、清潔・汚染の分離を考慮したトラックやカートで洗濯部門から医療施設まで輸送されなければならない。清潔な織物と汚染された織物は同じ媒体の中で輸送される可能性がある。

5) 特別な洗濯物状況

外科的ドレープと再使用可能な外科用ガウンは、使用前に消毒を行う必要があり、高圧蒸気滅菌を実施する。熱傷治療部署の無菌リネン類の使用については未解決のままである。ドライクリーニングは、洗剤で損傷をする可能性のある纖維製品を洗浄するための手段である。いくつかの調査において、ドライクリーニング単独では汚染されたリネン類の一般細菌数とウイルスを減らす際に比較的効果がないことを示した。従って、医療施設では纖維製品が水と洗剤で洗浄できない状況の場合にのみ検討し、洗濯物の標準工程やオプションと考えてはならない。

6) 外科ガウン、ドレープと処理可能な纖維製品

最近の懸念の問題は、医療施設での使い捨て商品対再使用可能な外科ガウンと纖維製品についてである。これらの製品は製造材料に関係なく、液体と微生物浸透を防ぐ製品でなければならない。バリアー製品を選択するとき、撥水性レベルとバリアーの型は予想される曝露に関して互換性を持たなければならぬが、手術部位感染予防のためにガウンまたはドレープ特徴とリスクに関して制限がある。医療施設は患者と医療従事者の最適予防を確実にしなければならない。

7) 抗菌ラベルの表示された抗菌物質を含浸させた消費者向け製品

製造業者は抗菌化学物質を医療部材に組み込んだ製品を販売している。家庭製品の「抗菌」ラベルは、表示のない製品より「よく」機能するという印象を与える。医療施設においては、小児用寝衣、マット

レス、シーツと枕カバー等がある。これらの製品の使用は、患者をより健康にするか、疾患を予防することを示唆するためには利用できない。データは、感染制御戦略の一部としてこれらの部材の使用法をサポートしておらず、従って、施設の寝具等を抗菌製品に置き換える追加出費は保証されない。

8) 標準的なマットレス、枕とエアーベッド

標準マットレスと枕はカバーが破損した際に患者ケア時に生体物質で汚染されることがある。マットレスカバーはベッドの全面を覆う保護生地であり、マットレスが生体物質で汚染されるのを防止する目的がある。マットレスカバーが破れたらすぐに交換されなければならない。湿ったマットレスは微生物の汚染の基となる。特に熱傷患者では、アシネットバクター属、MRSA と緑膿菌に起因する感染症やコロニー形成の報告がある。これらの報告によると湿式のマットレスの交換が有効な感染制御手段であった。熱水洗濯物サイクルでは、枕やそれらのカバーは容易に洗浄可能でなければならない。

エアーベッドは疼痛や褥瘡、熱傷治療のため、長期間、患者に使用される。つめられている微小ビーズが患者の生体物質で汚染される可能性があるが、患者の相互汚染の報告はわずかである。しかし、研究によると、患者ごとにポリエチルフィルターシートを清掃と殺菌することが必要であることが示唆された。

⑪ Christian ら¹⁴⁾は、病院のランドリーで使用される水温は、病院協会及び州の要件の推薦に基づき、71°C(160°F)以上で洗濯水温を維持することとなっている。これらの推薦と規則は主に 1938 年アーノルドによるレポートの結果に基づいている。その後の研究は、60~65°C の水温の標準的な洗濯において、病院感染に関連している細菌の除去を確実にすることが十分であることを示した。

本研究は、病院のランドリーにおいて織物の細菌学的品質が、正常な条件(75°C の標準の洗濯)と比べて、75°C より低い洗濯温度で経済的に合理的な方式と洗濯条件で維持されるかを検討し、変更された状態の有効性を評価した。品質を確認する細菌は 3 グループで、

①有機栄養細菌（環境細菌の最も一般的な組分けとしてのモニター）、②ブドウ球菌、③全大腸菌群（糞便汚染のインジケーター）とした。施設は、ペンシルベニア病院の医科大学、フィラデルフィア、ペンシルベニア州の洗濯設備を対象とし、3 タイプの布（①100%の綿の平織（綿）、②綿-50% : 50%のポリエステル（綿との混紡）、③タオル（パイル織り）を分析した。サンプルは 16 回集められ、温度は 47.8~77.2°C、基本的な洗濯操作は一般に 8 分であった。低温（47.8~60.0°C）の洗濯手順は事実上、高温の手順のように少なくとも全ての細菌のグループを排除した。洗剤は、2 つのタイプ（①アルカリ性の合成洗剤、②F-101 特に低温の洗濯のために設計されたアルカリ性の合成洗剤）が使用され、初期濃度は、水分量、加えられた漂白剤の重さ、およびそれぞれの漂白剤の有効塩素について計算し決定した。漂白の持続時間は 8~11 分に及んだ。細菌の低温での有効性は、漂白剤の濃度増加によって増大した。予想されるように、従属栄養細菌は最も一般的に検出され、ブドウ球菌は 86.3%で認められ、全大腸菌群 54.2%に検出された。汚染織物に関するすべてのグループに得られた最大濃度は、 10^3 CFU/cm² を超え、全てのグループの最小限から最大濃度までの細菌の範囲も 10^4 CFU/cm² を超えていた。47.8~50.0°C、57.2~60.0、73.9~77.2°Cまでの群では、汚染した織物の細菌の密度における規則的な変化は見られなかった。

本研究におけるより低い温度での洗濯の省エネは 1 洗濯あたり 4 万カロリー以上となる。将来洗濯水温を下げるこによって光熱費が減少することであるなら、低温の洗濯は、エネルギーと経済性の両方を病院に還元されるかもしれない。

⑫ Cody¹⁵⁾ らは、ランドリーの過程で重要なことは、潜在的に汚染された織物から病原性の細菌を取り除く能力である。織物に関連している細菌を数えるための標準方法の開発は、ランドリー手順の殺菌の有効性を算定するための必要なステップである。したがって、新しいランドリー手

順の殺菌の有効性を測定することが必要である。ここでは、大腸菌と黄色ブドウ球菌について、殺菌された病院のシーツおよびテリー織布の上に細菌を接種し、6 つの方法を評価した。6 つの内 2 つの方法は、液体培地に浸漬した後、孔径 0.45 ミクロン、直径 47mm のフィルターで濾過し、6 つの内 3 つの方法は、ペイント・シェーカーで液体培地を振盪してから濾過し、最後の 1 つは、塩化トリフェニルテトラゾリウム含有寒天培地の上に布を直接おいて培養した。最も便利な回収方法は、90 秒シェイクした後、連続希釀しフィルターで濾過をする方法であった。この方法は、テリー織布とシーツから黄色ブドウ球菌（58/57%）、テリー織布（34/74%）、シーツから（133/31%）大腸菌（44/57%）の回収ができた。浸漬方法は、大腸菌と黄色ブドウ球菌の類似した回収結果を認めたが、実用的ではない方法であった。直接培養法は、グラム陽性菌を算定するためには効果がなかった。シェイク方法では、シェーカーはそれほど高価ではなく、すぐに、装置は再利用でき、ペイント・シェーカーは高速装置を使用して、最適の震動する時間が簡潔であることがわかった。対照的に、浸漬装置は、再利用の前に洗浄・殺菌しなくてはならない。我々は、シェイク方法あるいは浸漬方法が、ランドリーの殺菌効果を評価する指標であることに期待する。

⑬ Fijan¹⁶⁾ らは、病院感染の原因の一つとして、不適切な洗濯と消毒をした病院織物（hospital textiles）があるとし、この調査研究の目的は、病院ランドリーのいろいろな管理ポイントにおいてロタウイルス RNA の存在を判定することであると述べている。

ロタウイルス糞便懸濁液を陽性コントロールとして、55°Cの工業ドライヤーの外側の金属側、折りたたみテーブル、綿 100%の織物の表面に接種した。病院洗濯室の管理ポイントのスワブは、専門機器（トンネル・ウォッシャーの出口、圧縮脱水機の底、圧縮脱水機のピストン、引き上げコンベア・ベルト、分類コンベア・ベルト）、保管備品（トレイ・カバー、フラット・ワーク・

アイロン棚、アイロン後折り畳んだ織物用保管棚、輸送媒体の横)、織物(湿った織物、アイロン後折り畳んだ織物)、手指(区分コンベア・アーベルト、フラット・ワーク・アイロン作業従事者、織物乾燥操作従事者)を選択した。スウェブ上のロタウイルス RNA の存在を決定するため、逆転写ポリメラーゼ連鎖反応 reverse transcription polymerase chain reaction (RT-PCR) と nested PCR を用いた。

陽性コントロールにおいて、ドライヤーと折りたたみテーブルは、RT-PCR と nested PCR で陽性となった。100% の織物は nested PCR のみで陽性となった。

ロタウイルス RNA は RT-PCR によって、圧縮脱水機の底、区分コンベア・ベルト、湿った織物、フラット・ワーク・アイロン棚、アイロン後折り畳んだ織物用保管棚、輸送媒体の側面、織物乾燥の操作を行なうヒトの手で検出された (9.7%: 72 検体中 7 検体陽性)。そして、nested PCR では、アイロン後折り畳んだ織物の 3 検体がさらに陽性となった (13.9%: 72 検体中 10 検体陽性)。

病院関連感染の予防の一つとして洗濯後の織物の適切な扱いを考慮に入れることはとても重要である。この論文は、織物と同様に、洗濯物と器材の表面でロタウイルス RNA の存在をはじめて報告した。

- ⑭ Holländer ら¹⁷⁾ は、トイレ洗浄、庭園灌漑、洗濯に用いられているトータル 102 の雨水貯水槽から 1,600 の水のサンプルを集め、微生物的分析を行った。好気性従属栄養細菌は、大腸菌、大腸菌群、糞便の連鎖球菌、緑膿菌、ブドウ球菌、エルシニア、サルモネラ、シゲラ、レジオネラ、酵母の同定と同じようにそれぞれ 20°C と 37°C で培養された。平均トータル数 cell/mL は、20°C で 1,200、37°C で 230 であった。およそ平均 28 の大腸菌と 198 の大腸菌群が 100mL 中に検出された。プラスチックの貯水槽の場合、細菌数は一般的にコンクリートまたはレンガで作られた貯蔵タンクから集められたサンプルよりも低くかった。遍在的に広まっている病原体、

緑膿菌 (サンプルの 11.8% で検出) と 1 サンプルのみのサルモネラが検出された以外、他の病原体は検出されなかった。分析したすべてのサンプルの 95% より多くのサンプルが、ヨーロッパ地域によって設けられた入浴水のための基準を満たした。回収場所とパイプ・ラインの正確な標識と同様に、雨水と飲み水との厳密な分離などの特定の予防が行われるならば、トイレ洗浄、庭園灌漑、洗濯に雨水を使用することは公衆衛生上受け入れ難いリスクはない。

- ⑮ Jung ら¹⁸⁾ は、電気的に銀イオンを生成する銀使用の洗濯機械を用いて、ヒトや動物で多くみられる真菌感染のうち、4 つの真菌—*Trichophyton rubrum*、*Candida albicans*、*Microsporum canis* と *Aspergillus flavus*—に対して、再汚染するか抗真菌性有効実験を行った。

Samsung 社の従来型の洗濯機と銀使用の洗濯機を用いて実験を行い、統計分析は t 検定を用いた。

洗剤使用に関係なく、銀の洗濯機で洗った場合は、従来の洗濯機と比較して、大部分の真菌に対して約 $4 \log_{10}$ (CFU mL^{-1}) 減少と効果的であり、洗剤を使用すると、ほとんどすべての真菌を除去できた。4 つの真菌について、洗剤使用の銀の洗濯機の洗浄活性は、従来の洗濯洗浄後の最終的な工程後より高かった。

汚染された洗濯物は、稀ではあるが、真菌汚染を引き起こす可能性がある。銀イオンを発生する洗濯機は、洗浄および濯ぎ工程で、経済的・効果的に真菌を除去できる。銀の洗濯機は、病院や在宅で菌汚染された繊維製品に起因する皮膚刺激を防止することに役立つ可能性がある。

- ⑯ McKernan ら¹⁹⁾ は、ドライクリーニング従業員のテトラクロロエチレン (PCE) 曝露の生物学的評価の実現可能性を評価する目的で、ドライクリーニング工場女性従業員 18 名 (オハイオ州) を対象とし、以下の検体を検討に供した。

検体：1) 被験者の周囲の吸気呼気
2) 被験者の血液
3) 被験者の尿

- 4) 被験者の呼気（少なくとも 500mL を
1 L サンプルバックに採取）

検体として、被験者の血液、尿、呼気を、2 日間継続して従事した日（水、木、金）の従事前後に採取した。

結果において、クリーニング従事後の呼気に含まれる PCE 濃度は、水、木、金と徐々に上昇し、被験者周囲から検出される PCE と呼気から排出される PCE には相関が認められた。2 日間 PCE に曝露しなかった月曜日の仕事前の呼気 PCE 濃度と、尿から検出されるトリクロ酢酸（PCE の分解生成物：TCA）は金曜日の仕事後に比べて低値だった。

このような結果から、PCE 検出には血液検査が最も適切であったが、簡便な方法ではない。今回の検討で、環境要因に左右されるとはいえ、従業員の吸気呼気環境にあるエアーは、血液検査の代用になり、かつ、従業員に浸襲を与えない簡便な検査法かもしれない。

- ⑯ Mcknight の報告²⁰⁾では、汚れたリネンの処理は、医療施設内（On-site）、共同処理（Co-op）、外部施設に委託（Outside）の 3 つの方法が取られている。On-site の場合は適切な業務の遂行、保管場所の確保、大きな資本投資が必要である。Co-op の場合は、いくつかの医療施設が共通のランドリー施設を持って処理する方法である。Outside はランドリー業務の一切を外部に頼る方法である。Palace Quality Service Industries はランドリー業務を受託する Outside に分類され、1882 年にスタートした。今日ではミシガン州の南西部の 24 施設を対象に、1 日に 50,000 ポンドから 75,000 ポンドのランドリーを処理している。Outside 委託のメリットは、Co-op や On-site に比べて少なくとも 10% 安価ということである。一方で Outside 委託の不安点は、病院がランドリーを管理しにくくなることである。この解決のためには両者が定期的に密なコンタクトをすることである。正確な新しいリネンの在庫は Sound team approach で解決する。出荷や配送のときに正確なカウントを実施し、書類に

することがカギである。

病院が、ランドリーの Outside 委託会社を通して新しいリネンを購入することはまだ一般的ではないが、手続きは極めて簡単である。リネンの委託購入契約は以下のメリットがある。病院は現物（linen inventory）が配達されるまで対価を支払う必要がない。Vendor が linen inventory を保管するので、病院は受け取りや保管の場所を確保しなくてよい。linen inventory がすぐに手に入る。これまで 15 施設が linen inventory 契約しているが大きな問題が上がったことはない。

ランドリーの Outside 委託の利点には以下があげられる。まず、リネン使用量のチェックができることがある。リネン使用量をモニター、レビューしてコストの低減をはかることができる。新しいリネンのテストも請け負うことができる。また病院スタッフの教育のためのセミナーなども実施できる。

さらに病院内施設の改造などのコンサルティングも請け負うことができる。

Outside を利用することは、病院を清潔にする有効な手段である。リネン、ガウン、シーツ、毛布、枕カバー、モップ、おむつ、手術用の織物などあらゆるリネンが簡単に処理できる。さらにバリアー性に優れた最新の布地製品も早く提供できる。

ランドリーコストを評価するのに 3 つのエレメントがある。Purchasing（購買）、Processing（処理）、Usage（使用）である。病院と外部ランドリーサービスは密に協働し、リネン管理を向上させ、使用量を調整し、廃棄物を少なくし、コストを低減化すべきである。

- ⑰ Mukherjee²¹⁾ は、2 種類の *Bacillus subtilis* の crude cyclic lipopeptide(CLPe) biosurfactants における発売されたクリーニング洗浄剤の融和性と安定性を検討した結果、2 種類の *Bacillus subtilis* strains の CLPe biosurfactants は、pH7.0-12.0 の間では安定し、80°C、60 分では表面の活動は損なわれなかった。CLPe biosurfactants は、野菜オイルによって乳液様になった。すべての洗浄剤に

融和性と安定性を示した。

- ⑯ Orr ら²²⁾ は、腸球菌は現在、病院感染をもたらす重要な病原体とされていることに鑑み、病院内での腸球菌感染の疫学についてはいまだ多くは解明されていないが、腸球菌は比較的熱耐性であることは知られている。英国保健省推奨のリネンの汚染除去の時間、温度の組合せ (71°C、3分、または、65°C、10分) で洗浄しても、いくつかの調査において、多くの腸球菌株が生存可能であることが示されている。従って、我々は病院ランドリーで病院リネンから腸球菌の汚染除去の有効性を調査したいと考え、*Enterococcus faecalis* と *E. faecium* との40株の熱耐性について研究した。10病院のランドリーにおいて実験に挑戦し、腸球菌を人工的に汚染させた洗濯物の汚染除去に成功した。10病院のうちの6施設では、洗浄工程のみでも、増菌培養をおこなっても腸球菌は生育しなかった。腸球菌で実験的に汚染された洗濯物が洗浄工程の段階までに効果的に除染されることをも示した。我々の研究は、腸球菌の相対的な熱耐性にもかかわらず、時間と温度の組合せにより、病院ランドリーで汚染を除去できており、現在のガイドラインが腸球菌の汚染除去に適切なことを示唆した。病院ランドリーの汚染除去は、十分な熱殺菌工程に加え、清潔管理および継続的な工程管理にも依存している。
- ⑰ Sellami-Kamoun ら²³⁾ は、さまざまな固形洗濯洗剤の汚水から分離されたバチルス RP1 によって作り出された細胞外のプロテアーゼの安定性を調査した。この酵素の最適条件は、PH 10.0～11.0 と温度 65～70°C で、酵素活性は、phenylmethylsulfonyl fluoride フッ化 フェニルメチルスルホライド (PMSF:セリンプロテアーゼ阻害薬)によって阻害され、セリンプロテアーゼを含有することを示唆した。RP1 プロテアーゼは、40～50°Cまでの温度で優れた安定性とさまざまな市販固形洗剤との互換性を示した。酵素は 7mg/mL の洗浄剤があるとき、プレインキュベーション 60 分の後 Axion(94%)、Dixan(93.5%)

が初期活性の 95% を保持した。また、ショ糖やポリエチレン glycole 4000 (PEG4000) は酵素の安定性などの添加剤の効果は、乾燥や New Det 洗剤で後続の収納時にも検討した。

- ⑲ Smith ら²⁴⁾ は、エネルギーの増加する費用は、低温洗濯の実現性をテストすることについて、留意を指示した。病院のランドリー使用は 66°C の高温洗濯水域で化学物質を定式化した。ひどく汚染したリネンの洗浄水流出物と織物細菌数はアルカリ性と気温測定で関連して、高温水と低温水時の洗濯の細菌数を調査した。タオルは洗浄過程の始めに 10^7 で 100cm^2 あたりの 10^9 有機体に汚染されるのがわかつた。見つけられる中で最も一般的なグラム陰性菌は、クレブシエラ属、エンテロバクター属、セラチア種であった。漂白剤サイクルを含む冷たい水と同様に熱い水での洗濯が細菌数 $3\log_{10}$ reduction で、織物における細菌数を減少した。同様に、洗浄水は $3\sim4\log_{10}$ reduction を示した。さらに $0.5\sim1.0\log_{10}$ reduction は、93.3°Cの乾燥サイクルに作用した。
- 低温洗濯は細菌数と種類に関して、高温選択に匹敵していた。31.1°Cの冷水はエネルギー消費量を減らして、細菌学と美的なリネン品質を維持するための別法として提案する。
- ⑳ Standaert ら²⁵⁾ は、*Salmonella* による院内感染アウトブレイクが療養施設で発生することは一般的に知られており、療養施設の中での人一人伝播による感染は時々発生する（報告される）が、汚れたリネンを取り扱ったランドリースタッフが感染した事例はほとんどない。
- テネシー郡（人口 75,000）の田舎の 250 床の療養施設（収容者 222 人、スタッフ 244 人）で、*Salmonella* 胃腸炎のアウトブレイク中にランドリースタッフが病院感染を起こした事例について分析した。当該療養施設のすべての収容者およびスタッフにインタビューをおこない、糞便培養を施行した。その結果、32 例の収容者および 8 例のスタッフ（調理師 1 例、看護師 4 例、ランドリースタッフ 3 例）から *Salmonella hadar*

が分離された。テネシー郡では過去 2 年間、*S. hadar* 感染事例は報告されていなかった。最初の *S. hadar* 感染者は栄養剤をチューブから投与されている収容者であり、この経腸栄養剤は *S. hadar* 陽性（アウトブレーク後の全員検査時に判明）であった調理師が調製したものであった。療養施設収容者の *S. hadar* 感染は、施設で調理された食物由来と思われた。しかし、看護師およびランドリースタッフについては、いずれも施設内で調理されたものを食べていなかったこと、さらにスタッフの発症は収容者の発症日より 10 日後であったことから、*S. hadar* 感染は二次感染であると思われた。*S. hadar* 感染した 3 例のランドリー・スタッフについては、施設収容者との接触はなかった。ほとんどの収容者（81%）は失禁状態であり、アウトブレイク期間中は、糞便の汚れの度合いや汚れたリネンの量が増加した。ランドリースタッフは通常ランドリー・ルームで食事しており、汚れたリネンの処理時に防護具やグローブを着用していなかったことから、汚れたリネンが感染源であったことが示唆された。

今回の観察で、糞便で汚れたリネンがランドリースタッフの *S. hadar* 感染の原因に関与したものと思われた。さらにリネンを処理する際に適切な防護具を使用することの重要性が浮き彫りにされた。

③ Tovey らの調査²⁶⁾ の目的は、シミュレーションによる洗濯プロセスの間、ベッドの埃から、ダニアレルゲン (Der p1) と猫アレルゲン (Fel d1) の除去の動態を決定することで、3つの実験的研究がおこなわれた。

Study1 は、4 つの洗濯用薬剤（水のみ・石鹼・酵素洗剤・酵素のない洗剤）、4 つの温度（15°C・25°C・45°C・60°C）、3 つの抽出時間（5 分・20 分・60 分）で比較され、ほとんどすべてのアレルゲンが 5 分以内、25°C で除去された。Study2 は、一般的な洗剤 11 種類で、5 分間 25°C、45°C におけるアレルゲンの除去を調べたが、11 種類が同様の除去効果を示した。Study3 は、4 つの酵素洗剤の洗浄剤含有酵素の効果を検討したが、

洗剤製剤の酵素の存在はアレルゲン抽出に対する重要な効果が発生しないことが示された。結論として、少なくとも 5 分間 25°C の洗剤を使用する洗濯で、寝具の埃からほとんどのダニと猫アレルゲンを除去するのに十分であることが明白となった。

④ Vandenhoeve ら²⁷⁾ は、毛布のダニの除去におけるドライクリーニングの効果を調査することを目的として、毛布（マルセイユのサマーハウスから）10 枚収集し、内 5 枚はドライクリーニングをおこなった。クリーニング前後に掃除機でこりを収集し、BBS 法（ホウ酸緩衝生理食塩水）でダニを収集して、ELISA 法でダニの allergen levels を判定した。また既知の 16 人のアレルギー陽性患者の血清でパークロロエチレン（ドライクリーニング溶剤）に曝露させた allergen とそうでない allergen の IgE 測定 (RAST) をおこなった。

結果において、ドライクリーニング後の毛布の allergen levels は、前に比べ 78% 減少、1 m² 中の allergen levels も 98% 減少していた。しかし、パークロロエチレンは allergen を蛋白変性させないことがわかった。

結論として、ドライクリーニングは allergen を物理的に洗い落すことがわかった。毛布をドライクリーニングすることは、安全、便利、安価な方法でアレルギー患者に推奨できる。

⑤ Vilve ら²⁸⁾ は、原子力発電所で着た防護服は洗濯するが、通常、洗浄水は放射性ではなく、処理せずに海へ放出できているものの、これから環境の法律は厳しくなるため、洗浄水の処理を研究することが望まれるとし、原子力発電所の洗浄水の有機化合物（界面活性剤など）の分解におけるオゾン処理の効果を検討した。

オゾン処理実験は、pH、過酸化水素、紫外線放射の異なる組み合わせでおこなった。有機化合物の分解は、化学的酸素要求量 (COD)、全有機炭素 (TOC)、生化学的酸素要求量 (BOC)、分子量分布測定によって分析した。サンプルは、特定のオゾン/COD 点でバルブによって採取し

分析した。

未処理の洗浄水の分析において COD、TOC、BOD は、それぞれ 300-400mg/L、90-110mg/L、160-190mg/L であった。オゾンと過酸化水素によって洗浄水の処理を行なった場合、 $0.4\text{mgO}_3/\text{mgCOD}$ のオゾンを加えてのオゾン曝露時間約 35 分で、COD、TOC、BOD の減少は pH10 で 32%、20%、35% であり、pH7.5 で 35%、27%、57% であった。オゾンと UV 放射の場合は、 $0.3\text{mgO}_3/\text{mgCOD}$ のオゾンを加えオゾン曝露時間約 35 分で、COD、TOC、BOD の減少は pH10 で 33%、23%、29% であり、pH7 で 45%、33%、45% であった。オゾンと UV 放射と過酸化水素添加の場合は、 $0.5\text{mgO}_3/\text{mgCOD}$ のオゾンを加えオゾン曝露時間約 30 分で、COD、TOC、BOD の減少は pH10 で 35%、26%、85% であり、pH7.5 で 46%、32%、70% であった。最適分解環境は、pH7 でオゾン、紫外線放射、過酸化水素添加のときであった。オゾン処理の間、サンプル水に過酸化水素を加えた我々の実験は、オゾンの移動と処理時間がかなり先行オゾン処理実験より早くなかった。分子量分布測定においても洗浄廃水の汚染の分解効果が検証された。

- ㉙ Wang ら²⁹⁾ は、現場でのランドリー廃液のリサイクルと再使用のための処理の試験的研究を、異なった膜素材であるポリアクリロニトリル (PAN)、ポリスルホン (PS)、ポリプロピレン (PP) による限外ろ過 (UF) で行った。UF の流出水質と組みあわせた汚染膜の分析において、PAN 膜は他のものより優れていた。濁り、懸濁物、脂肪、油を効果的に取り除いた、しかし、リサイクルと再利用に有益である UF の流出水に一定程度陰イオン界面活性剤 (LAS) は含まれていた。相関分析によると、流出水の高い化学的酸素要求量 Chemical Oxygen Demand (COD) 濃度は LAS の残留が原因であることがわかった。長期間の UF 流出水を用いて洗濯した綿布の白さ、柔らかさは水道水を用いた洗濯と違いはなかった。UF 膜を用いた大腸菌と細菌の除去は非常に高くなく、よって UF 流出水はさらに紫外線 (UV) によって消毒した。UV

の照射量が 3750J/m^2 以上だったので、微生物レベルは飲料水の中国国家基準に達した。最適 UF 操作状況は、30 分間のろ過ごとに 2 分間の逆流をすることである。加えて、pH11~13 のアルカリ溶液で清掃を行い、膜流動は完全に回復した。

㉗ Occupational Safety and Health

Administration (OSHA) のランドリーに関する Weller の報告³⁰⁾ は、新しい血液由来病原体規則に関する 3 部分のシリーズの 2 番目である。この記事は曝露制御計画、ランドリー労働者のための個人保護具、および遵守監視を含んでいる。要するに、規則は雇い主に対してより記録を保存することと従業員に対してより少ない曝露を強制している。1992 年 5 月 5 日までに、総てのランドリーが従業員に対して、リネンと接触して血液で汚染された、または、針または鋭利なもの接触について「合理的に予期可能」なのかどうか書かれた曝露制御計画を確立しなければならないとしている。

D. 結論

以上、感染制御に関わる dry cleaning および laundry の文献を検索して考察を試みたが、幅広い範囲において、いまだ幾つかの問題を残していることは、否めない現状である。

今後、安全性を追求していく為の問題点を究明しながら焦点を絞り込み、各課題に関して更なる検討をおこなっていくことが望まれる。

E. 文献

- 小林寛伊, 都築正和, 清水喜八郎. ドライクリーニング後の汚染度に関する研究. クリーニングと公衆衛生に関する公募研究報告書 1975; 78-79.
- Hall TJ, Wren MWD, Jean A, et al. Decontamination of laundry at low temperature with CuWB50, a novel copper-based biocidal compound. Am J Infect Control 2009; 37:478-83.
- Tinker K. Laundry Services for Health Care: Compiling Regulatory Mandates, Recommendations,

- and Best Practices for Infection Prevention. Am J Infect Control 2009; 37: E135. www.ajicjournal.org (2010年12月14日アクセス)
4. Moradian F, Khajeh K, Naderi-Manesh H, et al. Isolation, purification and characterization of a surfactants-, laundry detergents- and organic solvents-resistant alkaline protease from *Bacillus* sp. HR-08. Applied Biochem Biotechnol 2009; 159: 33-45
 5. Letter. Employers must provide suitable laundry facilities for uniforms. Nursing Standard 2010 ; 24(47) : 32-33.
 6. Anonymous. A laundry's reincarnation. American Laundry Digest 1993; 58: 20-25.
 7. Bajpai D, Tyagi VK. Laundry detergents: an overview. J Oleo Sci 2007; 56: 327-340.
 8. Banik RM, Prakash M. Laundry detergent compatibility of the alkaline protease from *Bacillus cereus*. Microbiological Research 2004; 159: 135-140.
doi: 10.1016/j.micres.2004.01.002
 9. Barrie D. How hospital linen and laundry services are provided. J Hosp Infect 1994; 27: 219-235.
 10. Bates CJ, Wilcox MH, Smith TL, Spencer, RC. The efficacy of a hospital dry cleaning cycle in disinfecting material contaminated with bacteria and viruses. J Hosp Infect 1993; 23: 255-262.
 11. Byrns GE, Bland LA. Environmental health impact in the hospital laundry. Journal of Environmental Health 1980; 42: 258-262.
 12. Carr M, Carison K, Gregory D. Formation of chlorine dioxide under laundry bleaching conditions. J Environ Eng Sci 2003; 2: 293-297. doi: 10.1139/S03-020
 13. CDC/HICPAC. G. Laundry and Bedding. In: Guidelines for environmental infection control in health-care facilities. Atlanta: CDC 2003; 98-104.
 14. Christian RR, Manchester JT, Mellor MT. Bacteriological quality of fabrics washed at lower-than-standard temperatures in a hospital laundry facility. Appl Environ Microbiol 1983; 45: 591-597.
 15. Cody HJ, Smith PF, Blaser MJ, LaForce FM, Wang WL. Comparison of methods for recovery of *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* from seeded laundry fabrics. Appl Environ Microbiol 1984; 47: 965-970.
 16. Fijan S, Steyer A, Poljšak-Prijatelj M, Cencic A, Sostar-Turk S, Koren S. Rotaviral RNA found on various surfaces in a hospital laundry. Journal of Virological Methods 2008; 148: 66-73.
doi: 10.1016/j.jviromet.2007.10.011
 17. Holländer R, Bullermann M, Groß C, et al. Microbiologisch-hygienische Aspekte bei der Nutzung von Regenwasser als Betriebswasser für Toilettenspülung, Gartenbewässerung und Wäschewaschen. Gesundheitswesen 1996; 58: 288-293.
 18. Jung WK, Kim SH, Koo HC, et al. Antifungal activity of the silver ion against contaminated fabric. Mycoses 2007; 50: 265-269.
doi: 10.1111/j.1439-0507.2007.01372.x
 19. McKernan LT, Ruder AM, Petersen MR, et al. Biological exposure assessment to tetrachloroethylene for workers in the dry cleaning industry. Environmental Health 2008; 7(12). doi: 10.1186/1476-069X-7-12
<http://www.ehjournal.net/content/7/1/12>
 20. McKnight D. Conservation and laundry: using outside vendors to clean reusable linens. Hosp Materiel Manage Q 1992; 14: 34-38.
 21. Mukherjee AK. Potential application of cyclic lipopeptide biosurfactants produced by *bacillus subtilis* strains in laundry detergent formulations. Letters in Applied Microbiology 2007; 45: 330-335. doi: 10.1111/j.1472-765X.2007.02197.x
 22. Orr KE, Holliday MG, Jones AL, Robson I, Perry JD. Survival of enterococci during hospital laundry processing. J Hosp Infect 2002; 50: 133-139.
doi: 10.1053/jhin.2001.1137
 23. Sellami-Kamoun A, Haddar A, Ali NE, Ghorbel-Frikha B, Kanoun S, Nasri M. Stability of thermostable alkaline protease from *Bacillus*

- licheniformis RP1 in commercial solid laundry detergent formulations. Microbiological Research 2008; 163: 299-306.
doi: 10.1016/j.micres.2006.06.001
24. Smith JA, Neil KR, Davidson CG, Davidson RW. Effect of water temperature on bacterial killing in laundry. Infection Control 1987; 8: 204-209.
 25. Standaert SM, Hutcheson RH, Schaffner W. Nosocomial transmission of *Salmonella* gastroenteritis to laundry workers in a nursing home. Infect Control Hosp Epidemiol 1994; 15: 22-26.
 26. Tovey ER, Taylor DJ, Mitakakis TZ, De Lucca SD. Effectiveness of laundry washing agents and conditions in the removal of cat and dust mite allergen from bedding dust. J Allergy Clin Immunol 2001; 108: 369-374. doi: 10.1067/mai.2001.117799
 27. Vandenhove T, Soler M, Birnbaum J, Charpin D, Vervloet D. Effect of dry cleaning on mite allergen levels in blankets. Allergy 1993; 48: 264-266.
 28. Vilve M, Hirvonen A, Sillanpaa M. Ozone-based advanced oxidation processes in nuclear laundry water treatment. Environmental Technology 2007; 28: 961-968.
 29. Wang J, Jiang J. Pilot Study on the treatment of ultrafiltration for laundry wastewater recycling and reuse. Environmental Science 2007; 28: 387-391.
 30. Weller SC. OSHA gets into dirty laundry. Textile Rental 1992; 75: 60-61

F. 健康危機情報

特になし

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) 小林寛伊、菅原えりさ、竹内千恵、曾川芳郎、遠藤博久、吉田理恵、黒須人見. 感染制御にかかる Dry cleaning および Laundry の文献考察. 医療関連感染 2010; 3(2): 43-56.

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

表1 病院リネンの分類

分類	定義
使用済みリネン	使用により汚染された、あるいは、排泄物および分泌物で汚染されたリネン
感染性リネン	腸熱（腸チフス）、または、その他のサルモネラ感染症、赤痢（ <i>Shigella</i> spp.）、A型/B型肝炎およびキャリアー、肺結核排菌症例、HIV 感染、届出感染症、その他ハザード・グループ3の病原体*による感染症の症例あるいは疑いのある症例に用いたリネン
非耐熱性リネン	合成繊維製で別記する範疇の熱消毒に適用する温度に耐えられないリネン

Bates CJ, et al. *J Hosp Infect* 1993; 23: 255-262. より引用和訳改変

*ハザード・グループ3の病原体：ヒトに重症疾患を惹起し、検査室職員に高い危険性を示す微生物。それらは、市井に拡大する危険性はあるが、通常は効果的予防および治療が存在する。

表2 病院リネンの取り扱いと洗浄とに関する保健省 Department of Health ガイドラインの要約

項目	対応処置
洗濯場への搬送容器のカラー・コーディング	使用済みリネン—白または薄い灰白色 感染性リネン—赤または赤と白 非耐熱性リネン—橙色縞
感染性リネンへの要求	使用後に分別しない。2重袋とし、うち袋は水溶性バッグあるいは水溶性膜のバッグとする。洗濯直前に分別しない。指定された洗浄脱水機を用い、大気中への排気パイプと密閉された排水管とお水槽を有すること。
リネンの消毒	使用済みリネンおよび感染性リネン—洗濯中に熱水消毒する。 非耐熱性リネン—化学的方法で消毒する、つまり、最後から2番目のリンスに次亜塩素酸ナトリウム、あるいは、地域の感染対策委員会が認めた代替え化学物質で消毒する。
ランドリー：職員の保護	リネンを分別する作業時は、防水性エプロンと手袋とを着用する。手指の損傷部位は防水性ドレッッシングで被覆する。職業健康管理の助言が可能なようとする。
連続式トンネル型洗浄機への必要条件	毎作業日始業全および洗浄機停止後3時間以上経過時に、リンス槽の熱水消毒を行う。熱水生産は、電気的、あるいは、コンピューターによる制御がなされること。毎作業日の最後には、総ての槽からリネンを取り出すこと（総ての槽にリネンを残さないこと）。

Bates CJ, et al. *J Hosp Infect* 1993; 23: 255-262. より引用和訳改変

表3 評価チーム・メンバーの責任

契約管理者または供給管理者	感染制御医/臨床細菌学者
商業的見地	異なる分類のリネンの取り扱い手順
契約用語および契約条件	感染性リネンのランドリー
商業的信頼性	リネンの熱水消毒
質管理	連続多槽式洗浄機の熱水消毒
顧客サービス	従業員の感染防止
配達	銳利物対策
操作	
経営責任者	洗浄あるいは支援業務管理者
契約経費	技術的支援および現場技術支援
経費計算方法	作業の流れ
直近の経費	機械設置、容量、補修状況、維持計画
レンタル/病院所有リネンの経費比較	質管理と質保障
供給業者の経済的実現可能性	
人事担当者	機器と建造物の清掃手順
適切な職員配置	会社/洗浄職員の教育理念と実際
従業員教育	
良好な工業的関係の維持	
十分な訓練と苦情処理	
法律にあつた雇用政策	
報酬の適正な規定	

Bates CJ, et al. *J Hosp Infect* 1993; 23: 255-262. より引用和訳改変

表4 手術用再使用纖維製品の性質

手術用リネンとしての性状	木綿	バリアー性纖維製品	ラミネートしたポリエスチル
73°Cのランドリーに耐える	はい	はい	はい
高圧蒸気滅菌に耐える	はい	はい	はい
細菌透過性	高い	中等度/低い	非常に低い
液体透過性	高い	中等度/低い	非常に低い
リント lint の飛散	多い/中等度	少ない	少ない
経費	安い	中等度/高い*	高い*
使い心地	良好	良好	不良**
ドレープ性 (物にフィットする性質)	良好	良好	中等度

Bates CJ, et al. *J Hosp Infect* 1993; 23: 255-262. より引用和訳改変

* : バリアー性纖維製品木綿、木綿/ポリエスチル混紡より高価である。例えば外科医のガウンは、木綿に比べ、2倍からほぼ5倍の価格の間にある。ラミネート化ガウンは、木綿のおおよそ5倍高価である。

** : ラミネート化纖維製品は‘呼吸’しない(空気を通さない)ので、通常、ガウンの前面および袖口に用いられ、ポリエスチル/木綿混紡あるいは木綿が、着衣の残りの部分に用いられる。

厚生労働科学研究費補助金
(健康安全・危機管理対策総合研究事業)
平成 22 年度 分担研究報告書

クリーニング所における洗濯物の消毒方法に関する研究
(H21-健危-一般-011)

**一般（ホーム）クリーニング所でのランドリーおよび
ドライクリーニング後の衣類の清潔度**

研究代表者 : 尾家 重治 山口大学医学部附属病院医療薬剤学 准教授

研究要旨 :

一般（ホーム）クリーニングでのランドリーおよびドライクリーニング後の各種衣類の細菌および真菌の汚染について、計 14 か所のクリーニング所を対象として調べた。1 colony-forming units (CFU ; 生菌数) /cm² 以上の微生物が検出された場合を汚染ありと判定した。ランドリー後の衣類の 28 サンプル中 6 サンプル (21.4%) が、1 ~ 1,200 CFU/cm² の汚染を受けていた。おもな汚染菌は *Bacillus cereus* などの *Bacillus* spp. や、コアグラーゼ (-) ブドウ球菌などであった。一方、ドライクリーニング後の衣類の 28 サンプル中 2 サンプル (7.1%) が、7 ~ 10 CFU/cm² の汚染を受けていた。おもな汚染菌は *Bacillus* spp. であった。ランドリー後およびドライクリーニング後の衣類いずれのサンプルからも黄色ブドウ球菌、大腸菌および緑膿菌は検出されなかった。

A. 研究目的

クリーニング所で洗濯後の衣類の清潔度について検討した。

200mL 減菌生理食塩液入りの 500mL ガラス瓶に入れて、37kHz・10 分間の超音波処理を行った。そして、この 500mL ガラス瓶中の液の細菌・真菌の定量を行うことにより、衣類に付着している菌量を求めた。

B. 研究方法

1) 用いた衣類

市販のバスタオル（木綿 100%）、シーツ（木綿 100%）、カーディガン（毛 70%，アクリル 30%）およびズボン（ポリエステル 100%）を購入した。これらの衣類を東京都内および山口県内の一般（ホーム）クリーニング所（計 14 店）へ出して、洗濯後のものをサンプルとした。バスタオルおよびシーツではランドリー処理後のものを、またカーディガンおよびズボンではドライクリーニング処理後のものを調査対象とした。

生菌数の測定は、本液の原液および減菌生理食塩液で 10 倍希釀した液の 0.5mL ずつをトリプチケースソイ寒天培地 (BBL Co.)、食塩卵寒天培地 (日水製薬 K.K.) およびサブローデキストロース寒天培地 (日研生物 K.K.) にコンラージ棒で塗り広げることにより行った。ここで、それぞれの衣類片で用いた培地の数は、トリプチケースソイ寒天培地で 8 枚、食塩卵寒天培地およびサブローデキストロース寒天培地で各 4 枚である。トリプチケースソイ寒天培地のみ 10 倍希釀液の培養にも用いた。また、本液の残液全量を 0.45 μm フィルター (Nalgene® Analytical Filter) でろ過して、そのろ紙をトリプチケースソイ寒天培地で培養する方法でも生菌数を測定した。

2) 微生物の検出法

洗濯後の衣類の 100cm² (タテ 10 cm × ヨコ 10 cm) を滅菌済みのハサミで切り取り、その衣類片を

3) 微生物の同定法

微生物の同定は、グラム染色、光学顕微鏡による形態学的検査、アピCオクサノグラム、アピ20NE同定キット、バシラス属細菌同定カード（いずれもシステムックス・ビオメリューK.K.）などを用いて行った。

(倫理面への配慮)

特になし

C. 研究結果

表1に、クリーニング所でランドリー後の衣類の微生物汚染について示した。「1cm²当たり1 colony-forming units (CFU) 以上の微生物汚染」を汚染ありと判定した。ランドリー後のバスタオルの汚染は14サンプル中3サンプル(21.4%)で、これら3サンプルは1~1,200 CFU/cm²の *Bacillus* spp.やコアグラーゼ(-)ブドウ球菌などによる汚染を受けていた。また、ランドリー後のシーツの汚染も14サンプル中3サンプル(21.4%)で、これら3サンプルは1~190CFU/cm²の *Bacillus* spp.による汚染を受けていた。

一方、ドライクリーニング後のカーディガンの汚染は14サンプル中2サンプル(14.2%)で、これらの2サンプルは7~10 CFU/cm²の *Bacillus* spp.の汚染を受けていた。また、ドライクリーニング後のズボンは、調べた14サンプルいずれも1 CFU/cm²未満の菌量であった。

なお、いずれのサンプルからも黄色ブドウ球菌、

大腸菌および緑膿菌は検出されなかった。また、クリーニング所へ洗濯を依頼する前の衣類（対照）の菌量は、いずれも1CFU/cm²未満であった。（表1）

D. 考察

クリーニング所で洗濯後の衣類の微生物汚染について調べたところ、14所中4所(28.5%)のランディー後の衣類が、また14所中2所(14.2%)のドライクリーニング後の衣類が1cm²当たり1CFU以上の汚染を受けていた。黄色ブドウ球菌や緑膿菌などの病原細菌の付着はなかったものの、クリーニング所で *Bacillus* spp.などの微生物汚染が生じる場合があることが判明した。これらのクリーニング所では洗濯法の改善が必要である。

E. 結論

ランドリー後の衣類から、100CFU/cm²以上という比較的高濃度の *Bacillus* spp.が検出されるケースがあった。

F. 健康危険情報

特になし

G. 研究発表

なし

H. 知的財産権の出願・登録状況（予定を含む）

なし

表1 洗濯後の衣類の微生物汚染^{*1}

衣類	洗濯法	サンプル No.	菌量 (colony-forming units / cm ²)	おもな汚染菌
バスタオル	ランドリー	1	1,200	<i>Bacillus</i> spp.
		2	41	<i>Staphylococcus warneri</i> , <i>Bacillus</i> spp.
		3	1	<i>Bacillus</i> spp.
		4~14	< 1	
シーツ	ランドリー	1	190	<i>Bacillus cereus</i>
		2	68	<i>Bacillus cereus</i>
		3	8	<i>Bacillus amyloliquefaciens</i>
		4~14	< 1	
カーディガン	ドライクリーニング	1	10	<i>Bacillus</i> spp.
		2	7	<i>Bacillus</i> spp.
		3~14	< 1	
ズボン	ドライクリーニング	1~14	< 1	

*1 1cm²当たり1 colony-forming units 以上を汚染ありと判定した

厚生労働科学研究費補助金
(健康安全・危機管理対策総合研究事業)
平成 22 年度 分担研究報告書

クリーニング所における洗濯物の消毒方法に関する研究
(H21-健危-一般-011)

クリーニングに使用される界面活性剤の病原細菌の増殖
およびバイオフィルム形成に及ぼす効果

分担研究者 : 神谷 茂 杏林大学医学部感染症学講座 教授

研究要旨 :

クリーニングには洗剤として陰イオン界面活性剤および非イオン界面活性剤が使用されている。これらの界面活性剤の抗菌作用およびバイオフィルム形成能に及ぼす効果について大腸菌、黄色ブドウ球菌、綠膿菌、セレウス菌を対象にして検討を加えた。

陰イオン界面活性剤としてスルホコハク酸-2-エチルヘキシルナトリウム (SS)、非イオン性界面活性剤としてポリオキシエチレンアルキルエーテル(AE)を用いた。米国臨床検査標準協会の微量液体希釈法プロトコールに準じて MIC(最小発育阻止濃度)測定を行った。マイクロプレート内にてバイオフィルム形成を行い、被験界面活性剤の効果を判定した。

AE および SS は、大腸菌 3 株と綠膿菌に対しては抗菌活性を示さなかったが、メチシリン耐性黄色ブドウ球菌(MRSA)、メチシリン感受性黄色ブドウ球菌 (MSSA)、セレウス菌に対しては抗菌活性が認められた。AE のグラム陽性細菌 3 株に対する MIC は 0.1mg/mL であった。SS の MSSA, MRSA およびセレウス菌に対する MIC はそれぞれ 0.16mg/mL, 0.08mg/mL および 0.08mg/mL であった。

SS(1.28-5.12mg/mL)は綠膿菌バイオフィルム形成を抑制したが、AE にはこのような抑制効果が見られなかつた。0.01mg/mL の SS は MRSA のバイオフィルム形成を増加させたが、0.04mg/mL の SS は同菌のバイオフィルム形成を抑制した。AE にはこのような作用は認められなかつた。

被験界面活性剤の形成済み MRSA バイオフィルムへの影響に関しては SS を添加した場合、バイオフィルムが肥厚化した。一方 AE を添加した場合は、バイオフィルム形成は変化なしか、やや減少した。綠膿菌バイオフィルムに SS および AE を添加した場合は、バイオフィルムは肥厚化した。

本研究結果より、クリーニングに使用される界面活性剤はグラム陽性菌への抗菌作用をもつことが明らかにされた。また、SS は綠膿菌および MRSA のバイオフィルム形成を抑制するが、AE にはこのような効果はなかつた。加えて、SS および AE は MRSA および綠膿菌の形成済みバイオフィルムを肥厚させる傾向が認められた。

研究協力者

花輪 智子 杏林大学医学部感染症学講座 講師
藏田 訓 杏林大学医学部感染症学講座 助教

A. 研究目的

ウェットクリーニングやドライクリーニングには洗剤として陰イオン界面活性剤および非イオン界面活性剤が使用されている。これらの界面活性剤の抗菌作用についてはこれまでに報告されているが、バイオフィルム形成能に及ぼす効果については明らかにされていない。ある種の細菌は増殖後、ポリサッカライド、アルギネートなどを分泌して、細菌集団の周囲にバイオフィルムを形成する。バイオフィルムにつつまれた細菌群は生体の免疫能や抗菌薬の作用から免れることができるとなるため、難治性感染症のもととなる。

本研究では病原細菌として大腸菌、黄色ブドウ球菌、緑膿菌、セレウス菌を取り上げ、界面活性剤の抗菌作用およびバイオフィルム形成能および形成されたバイオフィルムへの効果を測定した。

B. 研究方法

【使用細菌株および使用培地】

大腸菌として非病原性の大腸菌 ATCC25922 株、腸管出血性大腸菌 O157:H7 株、腸管凝集性大腸菌 TN2 を使用した。緑膿菌として PAO1 株を使用した。黄色ブドウ球菌としてメチシリン耐性黄色ブドウ球菌 methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) KY-mec2 株およびメチシリン感受性黄色ブドウ球菌 methicillin-sensitive *Staphylococcus aureus* (MSSA) ATCC25923 株を使用した。セレウス菌として ATCC14579 株を用いた。細菌の維持・継代には LB 培地を用いた。

【被験界面活性剤】

陰イオン界面活性剤としてスルホコハク酸-2-エチルヘキシルナトリウム (SS) (東京化成、東京)、非イオン性界面活性剤としてポリオキシエチレンアルキルエーテル (AE) (日光ケミカル、東京) を被験界面活性剤として用いた。

【各種細菌に対する被験界面活性剤 MIC の測定】

被験界面活性剤の抗菌活性を検討するため、米国臨床検査標準協会 CLSI の微量液体希釀法プロトコールに準じて MIC(最小発育阻止濃度)測定を行った。96 穴丸底マイクロプレートに被験界面活性剤を含

んだ Mueller-Hinton 液体培地を 200 μL ずつ分注した。LB 培地にて対数増殖させた細菌をマクファーランド標準濁度計 No. 0.5 に合わせて希釀し、更に 10 倍希釀して各ウェルに 10 μL 添加した。37°C、120rpm で一晩振盪培養し、被験界面活性剤を含まない陽性コントロール、細菌を含まない陰性コントロールと比較して、MIC を決定した。被験界面活性剤の濃度は、SS は 5.12mg/mL～0.01mg/mL の範囲で、AE は 51.2mg/mL～0.39mg/mL の範囲を設定し、測定を行った。

【バイオフィルムの形成能および形成されたバイオフィルムへの被験界面活性剤の影響】

Miyazaki et al. (2010) の方法に従いマイクロプレート内にてバイオフィルム形成を行い、被験界面活性剤の効果を判定した。バイオフィルムの形成能への影響の測定に関しては、緑膿菌と MRSA を用いて検討した。細菌を LB 培地にて対数増殖させ、OD₆₀₀ = 2.5 となるよう Mueller Hinton 液体培地で調整し、さらに 100 倍希釀して菌液とした。24 穴平底マイクロプレートに被験界面活性剤を含んだ Mueller-Hinton 液体培地を 500 μL ずつ分注した。37°C、90rpm で 20 時間振盪培養した後、培養液を取り除き、PBS で 3 回洗浄した。クリスタルバイオレットで染色を行い、エタノールで色素を抽出した後、OD₅₉₄ を測定してバイオフィルムを定量化した。

形成されたバイオフィルムへの影響に関しては MRSA および緑膿菌を用いて検討した。被験界面活性剤を含まない Mueller Hinton 液体培地を用いて上記と同様に培養液を作成した。37°C、90rpm で 20 時間振盪培養した後、培養液を取り除き、PBS で 3 回洗浄した。界面活性剤を添加した後、37°C、90rpm で 20 時間振盪培養した。培養液を取り除き、PBS で 3 回洗浄した上記と同様にバイオフィルムを定量化した。

C. 研究結果

【各種細菌に対する被験界面活性剤 MIC の測定】

AE および SS は、大腸菌 3 株と緑膿菌に対しては、設定した最大の濃度でも抗菌活性を示さなかった (表 1)。一方 MSSA、MRSA、セレウス菌に対しては抗菌活性が認められた (表 1)。AE のグラム陽性細

菌 3 株に対する MIC は 0.1mg/mL であった。SS の MSSA に対する MIC は 0.16mg/mL、MRSA とセレウス菌に対する MIC は 0.08mg/mL であった。

【細菌バイオフィルム形成能に対する被験界面活性剤の影響】

被験界面活性剤の綠膿菌バイオフィルム形成能への影響に関しては、SS を添加した場合、バイオフィルム形成が抑制された（図 1）。一方 AE を添加した場合は、バイオフィルム形成に変化はなかった（図 1）。

被験界面活性剤の MRSA バイオフィルム形成能への影響に関しては、0.01mg/mL の SS を添加した場合、バイオフィルム形成が促進されたが、0.04mg/mL の SS はバイオフィルム形成を抑制した（図 2）。一方 AE を添加した場合は、バイオフィルム形成は著明な変化は見られなかった（図 2）。いずれの場合も、細菌の増殖を目視にて確認した後にバイオフィルムの定量化を行っており、SS を 0.04mg/mL の濃度で添加した MRSA のウェル以外は全て細菌の増殖が確認された。

【形成された細菌バイオフィルムへの被験界面活性剤の効果】

既に形成された MRSA バイオフィルムへの被験界面活性剤の効果に関しては SS を添加した場合、バイオフィルムが肥厚化した（図 3）。一方 AE を添加した場合は、バイオフィルム形成は変化なしやや減少した。（図 3）。綠膿菌バイオフィルムに添加した場合は、バイオフィルムは肥厚化した（図 4）。

D. 考 察

今回用いた 2 種の界面活性剤はグラム陰性細菌に対する抗菌活性は見られなかつたが、グラム陽性細菌に対する抗菌活性が認められた。この結果から、今回使用した界面活性剤は露出した細胞壁を標的にしている可能性が示唆され、外膜構造を持つグラム陰性細菌はこれらに抵抗性があると考えられた。

バイオフィルム形成能への界面活性剤の効果については SS が綠膿菌に対しては抑制的に、MRSA に対しては促進的に作用した。綠膿菌に対する実験では界面活性剤が抗菌活性を持たなかつたことから、

比較的高濃度で試験を行つた。一方 MRSA に対する実験では界面活性剤は実際に使用する濃度より低い濃度で抗菌活性を示すことが MIC 測定で明らかにされた。したがつて通常使用する濃度よりも更に低濃度での実験を行つた。バイオフィルム形成は細菌が厳しい環境におかれたときに促進されるものであり、今回のバイオフィルム形成の促進は低濃度の界面活性剤がストレス物質となり、細菌のバイオフィルム形成を促進したものと考えられる。

既に形成されたバイオフィルムへの効果に関しては、高濃度で実験を行つたが、今回用いた界面活性剤では MRSA および綠膿菌のバイオフィルムを除去するには至らなかつた。既に成熟したバイオフィルムが形成された場合、構造的に界面活性剤がバイオフィルム内に浸透できず、低い濃度でしかバイオフィルム及び細菌に接触できないため、バイオフィルムが更に厚くなつたことが考えられる。

E. 結論

非イオン性の界面活性剤である AE は通常使用する濃度範囲で黄色ブドウ球菌およびセレウス菌等のグラム陽性菌の増殖を抑制した。一方、綠膿菌等のグラム陰性菌に対しては抗菌効果を示さず、さらにバイオフィルム形成能にはほとんど影響を及ぼさなかつた。綠膿菌の形成したバイオフィルムに添加した場合には肥厚化した。

陰イオン性界面活性剤である SS は使用される濃度範囲で綠膿菌等のグラム陰性菌に対して抗菌効果を示さなかつたもののバイオフィルム形成能を低下させた。ブドウ球菌およびセレウス菌等のグラム陽性菌に対しては増殖抑制効果をみとめたが、MRSA に増殖をやや抑制する濃度にて、バイオフィルム形成能の亢進がみられた。さらに形成されたバイオフィルムに添加した場合には肥厚化する傾向がみられた。

これらの結果よりクリーニングに使用される陰イオン性界面活性剤および非イオン性界面活性剤には病原細菌の増殖およびバイオフィルム形成に対して特徴的に作用する性質をもつことが明らかにされた。

F. 健康危険情報

省略

G. 研究発表

I. 論文発表

- 1) Miyazaki Y, Kamiya S, Hanawa T, Fukuda M, Kawakami H, Takahashi H, Yokota H: Effect of probiotic bacterial strains of *Lactobacillus*, *Bifidobacterium* and *Enterococcus* on enteroaggregative *Escherichia coli*. *J Infect Chemother* 16(1):10-18, 2010
- 2) Kurata S, Taguchi H, Sasaki T, Fujioka Y, Kamiya S: Antimicrobial and immunomodulatory effect of clarithromycin on macrolide-resistant *Mycoplasma pneumoniae*. *J Med Microbiol* 59(6):693-701, 2010
- 3) Zaman C, Osaki T, Hanawa T, Yonezawa H, Kurata S, Kamiya S: Analysis of the microflora in the stomach of Mongolian gerbils infected with *Helicobacter pylori*. *J Gastroenterol Hepatol*, 25(Suppl.1):S11-S14, 2010
- 4) Yonezawa H, Osaki T, Kurata S, Zaman C, Hanawa T, Kamiya S: Assessment of in vitro biofilm formation by *Helicobacter pylori*. *J Gastroenterol Hepatol* 25(Suppl.1):S90-S94, 2010
- 5) Bai CL, Osaki T, Yonezawa H, Hanawa T, Zaman C, Kurata S, Kamiya S, Tanaka H: The in vitro and in vivo effects of the Mongolian drug Amu-ru 7 on *Helicobacter pylori* growth and viability. *Microbiol Immunol* 54(9):508-515, 2010
- 6) 蔵田 訓、大崎敬子、田口晴彦、神谷 茂：*Clostridium difficile* toxin迅速検査キットの基礎的評価、臨床と微生物、37(5):465-470, 2010
- 7) 神谷 茂：ディフィシル菌感染症の基礎と臨床、モダンメディア 56(10):233-241, 2010
- 8) 神谷 茂：*H. pylori* の病原機序、medicina 47(10):1722-1725, 2010

2. 学会発表

- 1) 神谷 茂：バイオフィルム感染症－病態発現メカニズムと新たなる治療法の開発、日本整形外科学会教育研修講演（第103回 ICD 講習会）、平成22年6月19日、京王プラザホテル、東京
- 2) 神谷 茂：ヘリコバクター・ピロリ感染症の基礎と臨床、山梨県医師会、日本医師会生涯教育講座、平成22年9月4日（甲府）
- 3) 神谷 茂：腸内フローラとプロバイオティクス－常在菌の疾病予防および治療への応用、大分県北部地区小児科医会、日本医師会生涯教育講座、平成22年11月9日（別府）
- 4) 神谷 茂：ディフィシル菌感染症の基礎と臨床、第10回関東感染症懇話会、平成22年11月26日、東京

表1 各種細菌に対する被験界面活性剤 MIC の測定

	AE	SS
グラム陰性菌	<i>E. coli</i> ATCC >51.2	>5.12
	EAggEC >51.2	>5.12
	EHEC >51.2	>5.12
	<i>P. aeruginosa</i> >51.2	>5.12
グラム陽性菌	MSSA 0.1	0.16
	MRSA 0.1	0.08
	<i>B. cereus</i> 0.1	0.08

(mg/mL)

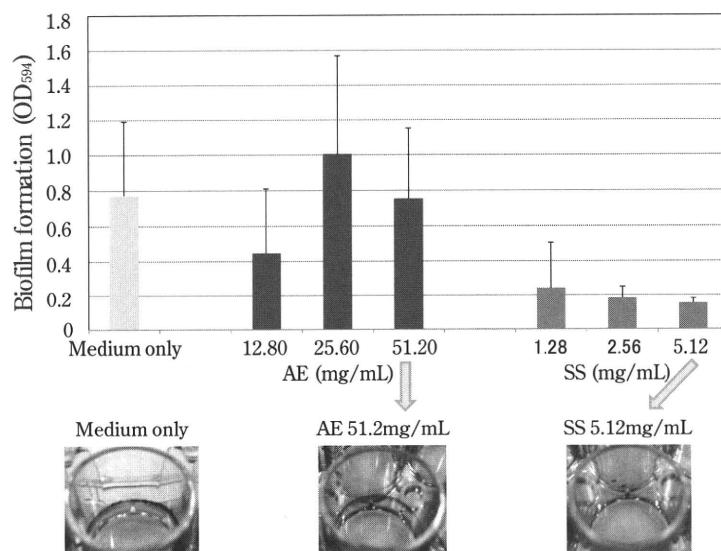


図1 緑膿菌バイオフィルム形成へのAE、SSの効果

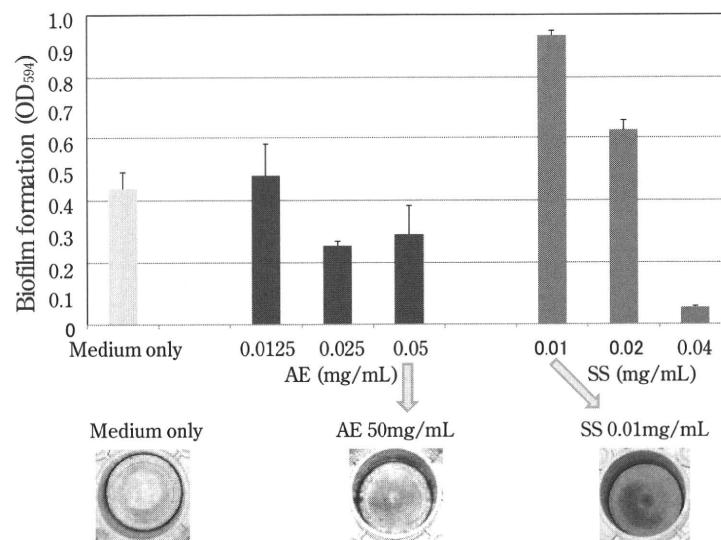


図2 MRSAバイオフィルム形成へのAE、SSの効果

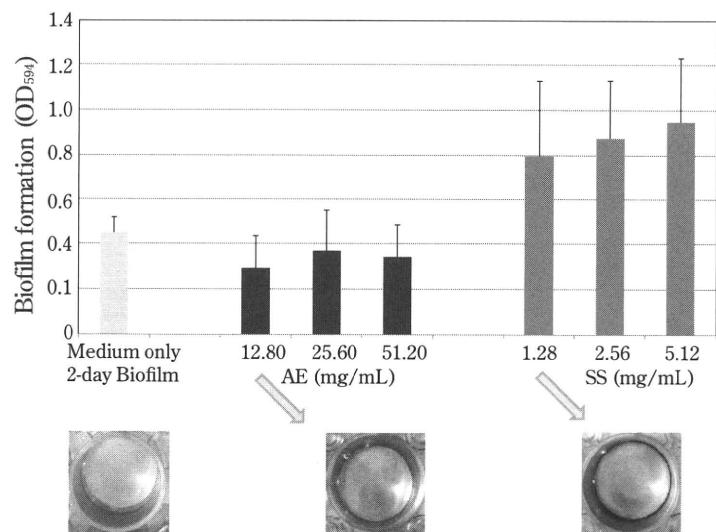


図3 形成されたMRSAバイオフィルムへのAE、SSの効果

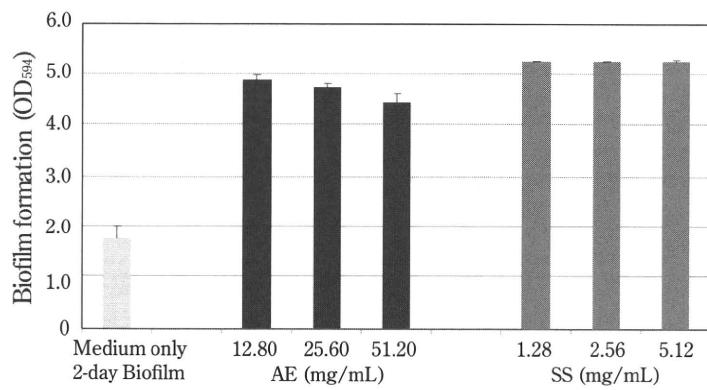


図4 形成された緑膿菌バイオフィルムへのAE、SSの効果