〈報 告〉

集中治療室における滅菌水手洗い装置に対する管理の重要性

山田 景士^{1,2)}・佐野 美樹^{1,2)}・久原 嘉子^{2,3)}・中村 造⁵⁾・足立 拓也^{2,4)}

Importance of Management of Hand-Washing Devices with Sterile Water in The Intensive Care Unit

Kageto YAMADA^{1,2)}, Miki SANO^{1,2)}, Yoshiko HISAHARA^{2,3)}, Itaru NAKAMURA⁵⁾ and Takuya ADACHI^{2,4)}

¹⁾Department of Clinical Laboratory, ²⁾Infection Control Team, ³⁾Department of Nursing,

⁴⁾Department of Infectious Disease, Toshima Hospital,

⁵⁾Department of Infectious Disease, Tokyo Medical University Hospital

(2013年8月22日 受付・2014年1月8日 受理)

要 旨

Enterobacter cloacae は近年多剤耐性化が著しく、特に免疫力が低下した患者に対して感染した場合、治療が困難となる可能性がある。今回、我々は当院の集中治療室(ICU)の滅菌水手洗い装置の蛇口部分を培養し、そこから第4世代セファロスポリン系抗菌薬にまで耐性を獲得した *E. cloacae* を分離した。ICUでの患者伝播を疑い、半年間のうちにICUに入院歴のある患者を調査した。環境由来の *E. cloacae* と同じ薬剤感受性を示した *E. cloacae* はICU患者2名から分離された。環境および患者由来菌株の疫学解析のために Pulsed-field gel electrophoresis と plasmid プロファイルを実施した結果、泳動パターンは同一であり環境由来および患者由来菌は同一起源である可能性が示唆されたが、詳細な感染経路の特定や院内感染の確証を得るには至らなかった。その後、汚染が確認された滅菌水手洗い装置のフィルターを除去し水道水へ変更し、手洗い装置のメンテナンスを見直したことで蛇口部分への汚染菌の定着を防止した。積極的に環境調査を実施することは、大規模なアウトブレイクを未然に防止することが出来るため有用であり、環境調査により滅菌水手洗い装置に対する管理の重要性が示された事例であった。

Key words : *Enterobacter cloacae*, Pulsed-field gel electrophoresis, 集中治療室, 滅菌水手洗い装置

はじめに

近年、医療現場における耐性菌の環境汚染は院内感染対策上大きな問題となっている。特に集中治療室(intensive care unit: ICU)における *Acinetobacter baumannii* や *Pseudomonas aeruginosa* などによる水道蛇口部の汚染は過去にも報告されており^{1,2)}、ICUにおける水回りの環境整備は重要である。

Enterobacter 属には *Enterobacter cloacae* (*E. cloacae*)、*Enterobacter aerogenes* など複数の菌種が存在し、ヒトや動物の腸内常在菌として、尿、便から検出され、下水、河川、土壌および食品等幅広く分布している³⁾。*E. cloacae* は易感染性宿主に対し、尿路感染、人工呼吸器関連

肺炎および敗血症を起こす原因菌として知られており^{3~6)}、本菌は染色体性の class C 型 β -lactamase を産生するため、ペニシリン系および第2世代セファロスポリン系抗菌薬に対し自然耐性を有する^{3,7)}。また、一部の *E. cloacae* は脱抑制型として class C 型 β -lactamase を過剰に産生し、第3および4世代セファロスポリン系抗菌薬に耐性を示す株も散在する⁸⁾。このような株は特に外科的手術後等、免疫力が低下した患者に対して感染した場合に治療が難渋する可能性がある。*E. cloacae* の院内感染は過去に報告されているが、ICUの滅菌水手洗い装置からの分離例は稀である。

当院ICUの滅菌水手洗い装置は開設時から特別な定期メンテナンスが施行されておらず、管理状況の不備が疑われた。そこで我々はICUにおいて、滅菌水手洗い装置の管理状況を調査するために、滅菌水手洗い装置の

公益財団法人東京都保健医療公社豊島病院 ¹⁾検査科, ²⁾ICT, ³⁾看護部, ⁴⁾感染症内科, ⁵⁾東京医科大学付属病院感染症科

蛇口部および濾過フィルターの環境培養を実施した。その結果、蛇口部より第4世代セファロsporin系抗菌薬まで耐性を獲得した *E. cloacae* を分離した。蛇口部から入院患者への *E. cloacae* の伝播が危惧されたため、ICU 入院患者における *E. cloacae* の分離状況を調査し、菌株間の分子疫学解析を実施するとともに、医療関連感染対策の一環として、滅菌水手洗い装置の環境整備を行ったので報告する。

方 法

1. 環境培養・細菌学的検査

2012年6月、当院ICUにおける滅菌水手洗い装置の蛇口部とフィルター部分の培養を実施した。滅菌水手洗い装置蛇口部を滅菌綿棒で拭い、TSII5%ヒツジ血液寒天培地(日本ペクトン・ディッキンソン株)に塗布し、35°C 好気条件下で2日間培養した。また、水道のフィルター部に溜まった水を15 mL 採取して遠心分離した後に沈渣 200 μ L を同条件で培養した。同定および薬剤感受性検査は Micro Scan WalkAway96 (シーメンスヘルスケア・ダイアグノスティックス株)およびマイクロスキャン NC6.11J パネル(シーメンスヘルスケア・ダイアグノスティックス株)を使用した。耐性菌の確認試験として Double-disk synergy test (DDST) 法およびメルカプト酢酸ナトリウム(SMA)阻害試験を実施した。DDST 法は amoxicillin/clavulanate, ceftazidime (CAZ), cefotaxime, cefpirome および cefepime の各々のディスク(日本ペクトン・ディッキンソン株)を使用し、SMA 阻害試験では SMA ディスク(栄研化学株)、CAZ および imipenem (共に日本ペクトン・ディッキンソン株)を使用した。

2. 患者情報の抽出・薬剤感受性調査

2012年1月～6月の半年間のうちにICUに入院歴の

ある患者で、環境培養から分離された *E. cloacae* と同様の薬剤感受性パターンを示す菌株の検出歴がある患者を検索し、培養検査とその検体種別および患者情報等を調査した。また、過去7年間ICUにおいて同様の薬剤感受性パターンを示す *E. cloacae* の検出状況について調査した。

3. 疫学解析

環境培養から分離された菌株と患者由来株の薬剤感受性を比較し、同一と判定した株について Pulsed-field gel electrophoresis (PFGE) によるタイピングと plasmid プロファイルによる分子疫学解析を実施した。即ち、PFGE は泳動に GenePath システム(Bio-Rad 社)、制限酵素に SpeI を用い、電圧 6.0 V/cm, スイッチングタイム 2.0 秒で 14°C, 17 時間の条件で泳動した。コントロールとして ICU 以外の入院患者から分離された *E. cloacae* を用いた。Plasmid プロファイルはアルカリ SDS 法で plasmid を抽出し、0.8% アガロース(ナカライテスク)で電気泳動後、エチジウムブロマイド(ナカライテスク)で染色しトランスイルミネーター下で観察した。コントロールとして他病棟から分離された *E. cloacae* と *Escherichia coli* ATCC25922 を使用した。

結 果

1. 環境培養・細菌学的検査

蛇口部を拭った綿棒の培養から第4世代セファロsporin系抗菌薬に耐性を認める *E. cloacae* (EcF-1) を少数とその他数種類の環境由来菌を分離した。フィルター部に溜まった水の沈渣では数種類の環境由来菌を認めたものの *E. cloacae* は分離されなかった(データ示さず)。EcF-1 に対する DDST 法および SMA 阻害試験はいずれも陰性であり、extended-spectrum- β -lactamase (ESBLs) および metallo- β -lactamase (MBL) の産生は否

表1 EcF-1, EcA および EcB の薬剤感受性比較

Antimicrobial	MIC (μ g/mL)			Antimicrobial	MIC (μ g/mL)		
	EcA	EcB	EcF-1		EcA	EcB	EcF-1
ampicillin	>16	>16	>16	cefpirome	>16	>16	>16
piperacillin	>64	>64	>64	cefcape	>1	>1	>1
amoxicillin/clavulanate	>16	>16	>16	cefoperazone/sulbactam	>32	>32	>32
cefazolin	>16	>16	>16	imipenem	<1	<1	<1
cefaclor	>16	>16	>16	aztreonam	>16	>16	>16
cefmetazole	>32	>32	>32	minocyclin	4	4	4
cefotiam	>16	>16	>16	gentamicin	<1	<1	<1
cefotaxime	>32	>32	>32	amikacin	<4	<4	<4
ceftazidime	>16	>16	>16	levofloxacin	2	4	2
cefepime	>4	>4	>4	fosfomycin	16	16	16
flomoxef	>32	>32	>32	sulfamethoxazole/trimethoprim	>2	>2	>2

(EcA; 患者 A 由来, EcB; 患者 B 由来, EcF-1; 蛇口部由来)

図1 患者A, 患者Bおよび蛇口部より分離された *E. cloacae* (EcF-1, EcA および EcB) の分離状況

図2 PFGE 結果

M: マーカー, 1: 他病棟患者由来 *Enterobacter cloacae*, 2: EcF-1 (蛇口部由来), 3: EcA (患者 A 由来), 4: EcB (患者 B 由来)

定された。

2. 患者情報・薬剤感受性調査

過去半年間で EcF-1 と同一の薬剤感受性パターンを示す株が分離された患者は環境培養実施の3ヶ月前に1名(患者A; EcA株)と環境培養実施2週間後に1名(患者B; EcB株)の2名であった(表1, 図1)。EcA および EcB とともに分離された材料は喀痰であり, 患者2名とも過去に EcF-1 と同じ薬剤感受性パターンを示す *E. cloacae* の分離は認められなかった。また, ICUにおいて EcF-1 と同一の薬剤感受性パターンを示した株の分離状況は2005年に1株, 2006年に1株, 2009年に1株のみであり, 過去7年間における第4世代セファロ

図3 plasmid プロファイル結果

1: *Escherichia coli* (ATCC25922), 2: 他病棟由来 *Enterobacter cloacae*, 3: EcF-1 (蛇口部由来), 4: EcA (患者 A 由来), 5: EcB (患者 B 由来)

スポリン系抗菌薬にまで耐性を獲得した *E. cloacae* の分離頻度は低かった。

3. PFGE・plasmid プロファイル

PFGE では EcF-1, EcA および EcB の3株は PFGE で同一の泳動パターンを示し, 他病棟から分離された *E. cloacae* の泳動パターンとは明らかな違いを認めた(図2)。Plasmid プロファイルにおいては他病棟から分離された *E. cloacae* では plasmid は認められなかったが, EcF-1, EcA および EcB の3株は泳動パターンが一致していた(図3)。

考 察

近年, *E. cloacae* の多剤耐性化は著しく, 染色体性セファロスポリナーゼの過剰産生に留まらず, MBL や

ESBLs 産生株が散見されるようになった⁹⁾。脱抑制型 *E. cloacae* のセファロスポリン系抗菌薬への耐性は染色体上の遺伝子変異により、class C 型 β -lactamase の過剰産生されることが原因であると報告されている⁸⁾。MBL や ESBLs と異なり plasmid を介した耐性機序が伝播することはないが、第 4 世代セファロスポリン系抗菌薬にまで耐性を獲得した *E. cloacae* が院内で蔓延することは感染対策上脅威であり、感染症治療においても難治する可能性が高い。過去に ICU において *E. cloacae* がアウトブレイクを起こした事例も報告されている⁵⁾。

今回我々が経験した事例においては EcF-1, EcA および EcB は MBL と ESBLs の産生は否定され、薬剤感受性の結果から、上記のような遺伝子に変異が生じた脱抑制型と考えられる。また、分離菌株の薬剤感受性、PFGE および plasmid プロファイルの結果から、本事例で検出された EcF-1, EcA および EcB は同一起源である可能性が示唆された。EcA および EcB が分離された両患者とも EcF-1 が分離された水道の滅菌水を口腔ケアに使用し、口腔ケア後に喀痰から *E. cloacae* の分離が認められていたため、EcF-1 が口腔ケアに伴い患者 A および患者 B に拡散した可能性を疑った。しかし、本事例では菌株間の薬剤感受性比較と分子疫学解析を実施したのみであり、詳細な伝播経路の調査や蛇口部から放出された水道水中の *E. cloacae* の菌量測定は行っておらず、蛇口部から患者へ *E. cloacae* が拡散したという確証を得るには至らなかった。

一方、水回りは環境由来の微生物が定着しやすいため、その環境整備は特に重要である。現在、ICU において滅菌水による手洗いの必要性は論じられておらず、日本手術医学会の定める手術医療実践ガイドラインによると、手術時の手洗いは滅菌水でなく水道水で良いとされており、白石ら¹⁰⁾は手術前の手洗いに滅菌水の代わりとして水道水の使用が可能であると報告している。一般的に手洗い用滅菌水は消毒用の塩素を含有していないため、設備管理を実施していない場合に微生物の汚染を受けやすいことが指摘されており、実際に病院で使用されている滅菌水の検査において $10^3 \sim 10^4$ cfu/mL の微生物が検出されたという報告がある¹¹⁾。当院の滅菌水手洗い装置は、フィルター部の貯留水から多数の環境由来菌と蛇口部の環境培養から多数の環境由来菌および EcF-1 を認めたことから管理が不十分であったと考えられる。事実、当院に設置してある滅菌水手洗い装置は内部に UV ランプを装着しているが、その UV ランプは定期交換されておらず、内部濾過フィルター等のメンテナンスもされていなかった。今回の環境培養の結果を受け、infection control team により現場スタッフに対し滅菌水汚染の事実を周知し、さらに、手洗い装置の環境整備として、装置自体は現状を維持し UV ランプを 1 年間

で交換、1 ヶ月に 1 回程度蛇口の備品交換清掃を専門スタッフが行うこととした。フィルター部分から *E. cloacae* は分離されなかったが、フィルター内部が *E. cloacae* によって汚染されている可能性が否定出来ず、多数の環境由来菌を認めたことから濾過フィルターは完全に取り外し水道水へと変更した。滅菌水手洗い装置の環境整備を実施後、環境および ICU 入院患者からの EcF-1 と同様の感受性パターンを示す *E. cloacae* の分離はなくなり、手洗い装置の汚染は解消されたと考えられる。

本事例では、過去 7 年間の調査により EcF-1 と同様の薬剤感受性パターンを示す株の分離頻度が低かったため、ICU において大規模な *E. cloacae* の拡散は起こっていなかったと推測された。

PFGE はその手技の煩雑さや、結果を得るまでに要する時間を考慮すると、一般病院では日常業務に組み込むことは困難である。また、分子疫学解析のみで伝播の証明をすることも困難であるが、環境分離菌と患者から分離された菌株をタイピングするために、自施設において PFGE 等を実施し、アウトブレイクを疑う事例に関して早期に裏付けされたデータを得ることにより、現場職員を啓発することは重要である。

本事例では、積極的に環境培養を行うことで、滅菌水手洗い装置の管理不良はフィルター部に菌の温床を作り得る事が証明された。さらに汚染状況を把握し、速やかに環境整備を行ったことで大規模なアウトブレイクを未然に防止することが出来たと考えられる。滅菌水手洗い装置の環境調査を実施することで、滅菌水手洗い装置における管理の重要性が示された事例であった。

利益相反について：利益相反はない。

文 献

- 1) Wang JL, Chen ML, Lin YE, Chang SC, Chen YC: Association between contaminated faucets and colonization or infection by nonfermenting gram-negative bacteria in intensive care units in Taiwan. *J Clin Microbiol* 2009; 47: 3226-30.
- 2) Blanc DS, Nahimana I, Petignat C, Wenger A, Bille J, Francioli P: Faucets as a reservoir of endemic *Pseudomonas aeruginosa* colonization/infections in intensive care units. *Intensive Care Med* 2004; 30: 1964-8.
- 3) 荒川宜親：エンテロバクター属。朝倉書店、東京、2002. p. 379-83.
- 4) Sanders WE Jr, Sanders CC: *Enterobacter* spp.: Pathogens poised to flourish at the turn of the century. *Clin Microbiol Rev* 1997; 10: 220-41.
- 5) Manzur A, Tubau F, Pujol M, Calatayud L, Dominguez MA, Pena C, et al.: Nosocomial outbreak due to extended-spectrum-beta-lactamase-producing *Enterobacter cloacae* in a cardiothoracic intensive care unit. *J Clin Microbiol* 2007; 45: 2365-9.
- 6) 本間 操, 柴田尚宏, 鈴木智一, 荒川宜親：骨髄移植後患者で経験した SHV-12 型と CTX-M14 型 ESBL

- 産生 *Enterobacter cloacae* による敗血症の1症例. 感染症誌 2007; 81: 745-50.
- 7) Jacoby GA: AmpC β -lactamase. J Clin Microbiol Rev 2009; 22: 161-82.
- 8) Kuga A, Okamoto R, Inoue M: *ampR* gene mutations that greatly increase class C beta-lactamase activity in *Enterobacter cloacae*. Antimicrob Agents Chemother 2000; 44: 561-7.
- 9) 高橋奈々子, 山口史博, 陳 戈 林, 安原 努, 伊藤里歩, 和久田梨香, 福地邦彦: 昭和大学病院で分離された多剤耐性 *Enterobacter cloacae* の耐性遺伝子解析. 臨病理 2010; 58: 442-7.
- 10) 白石 正, 中川義人, 長岡栄子: 術前の手洗い水に関する細菌学的研究—滅菌水と水道水の比較—. 日病薬師会誌 2004; 40(9): 1133-5.
- 11) Oie S, Oomaki M, Yorioka K, Tatsumi T, Amasaki M, Fukuda T, *et al.*: Microbial contamination of 'sterile water' used in Japanese hospitals. J Hosp Infect 1998; 38: 61-5.
- 〔連絡先: 〒173-0015 東京都板橋区栄町 33-1
公益財団法人東京都保健医療公社豊島病院検査科
山田景土 E-mail: kageto_yamada@tokyo-hmt.jp〕

Importance of Management of Hand-Washing Devices with Sterile Water in The Intensive Care Unit

Kageto YAMADA^{1,2)}, Miki SANO^{1,2)}, Yoshiko HISAHARA^{2,3)}, Itaru NAKAMURA⁵⁾ and Takuya ADACHI^{2,4)}

¹⁾Department of Clinical Laboratory, ²⁾Infection Control Team, ³⁾Department of Nursing,

⁴⁾Department of Infectious Disease, Toshima Hospital,

⁵⁾Department of Infectious Disease, Tokyo Medical University Hospital

Abstract

Enterobacter cloacae strains have recently acquired multidrug resistance, and antibiotic therapies are difficult to apply if immune compromised patients are infected by these strains. *E. cloacae* with acquired resistance to fourth-generation cephalosporin was isolated from the faucet of a hand-washing device with sterile water in the intensive care unit (ICU). We suspected transmission of *E. cloacae* within the ICU and surveyed patients admitted to the immediate vicinity of the faucet. *E. cloacae* strains with the same drug sensitivity profile as the strain derived from the faucet were isolated from 2 inpatients in the ICU. Pulsed-field gel electrophoresis and plasmid profile were performed for epidemiological research of these strains. Electrophoretic patterns of the strain from the faucet were the same as the strains from the inpatients. These results suggested that only one strain had been transmitted within the ICU. However, we were not able to specify the infection route to confirm the transmission mode. Thereafter, the maintenance of the hand-washing device with sterile water was reconsidered to prevent colonization of the faucet with contaminants. This study shows that active environmental research may prevent a more extensive outbreak, and indicates the importance of careful management of hand-washing devices with sterile water.

Key words : *Enterobacter cloacae*, Pulsed-field gel electrophoresis, intensive care unit, sterile water