〈原 著〉

当院で経験した正常新生児における *Bacillus cereus* アウトブレイク日馬 由貴^{1,4)}・本間 功武^{2,4)}・増田 満伯^{2,4)}・後藤 博一^{3,4)}・小野寺昭一^{3,4)}*Bacillus cereus* Outbreak in Normal Neonates at Our HospitalYoshiki KUSAMA^{1,4)}, Isamu HONMA^{2,4)}, Mitsunori MASUDA^{2,4)}, Hirokazu GOTO^{3,4)} and Shoichi ONODERA^{3,4)}¹⁾Department of Pediatrics, ²⁾Department of Nursing, ³⁾Department of Urology, ⁴⁾Department of Infection Control Team, Fuji City General Hospital

(2015 年 4 月 10 日 受付・2015 年 7 月 13 日 受理)

要 旨

当院において、2009 年、産科病棟で発熱する新生児症例が急増した。また、ほぼ同時期に、同院新生児室に入院した症例から *Bacillus cereus* (*B. cereus*) が高頻度に検出された。院内インフェクション・コントロールチームと協力し環境調査を行ったところ、産科病棟のリネンに幅広く *Bacillus* 属菌の汚染が認められた。このため、産科病棟における新生児発熱の増加の原因は *B. cereus* のアウトブレイクであると判断し、感染対策を行った。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。感染対策により新生児室から *B. cereus* が検出されることはなくなり、産科病棟における発熱症例の増加にも終息がみられた。*B. cereus* は環境常在菌であり、ほとんどの消毒薬に耐性を示すため、委託クリーニング業者に完全な対策を求めることは困難である。病院は常に *B. cereus* 検出の動向に注目し、急速な検出数の増加がみられた場合はアウトブレイクを疑い、環境調査を行うことが求められる。

Key words : *Bacillus cereus*, 新生児発熱, リネン汚染, アウトブレイク, インフェクションコントロール

はじめに

Bacillus cereus (以下、*B. cereus*) は、土壌内や汚水などに広く存在する大型のグラム陽性通性嫌気性菌である。同菌は、汚染された食物を介しての食中毒や、免疫機能が低下している患者における日和見感染症の原因菌として知られている¹⁾。*B. cereus* はありふれた環境細菌であるが、擦式消毒用アルコール製剤にも耐性を示すため、治療現場からの完全な除去は極めて困難である²⁾。当院は、520 床、20 の診療科からなる地域の基幹病院で、10 床の新生児病棟(2009 年当時)を有する。2009 年 7 月に 2 例、8 月に 3 例、9 月に 4 例、合計 9 例の新生児が、出生後に産科病棟で発熱したため新生児病棟に入院した(図 1-1)。一方、当院新生児室に入院した新生児の鼻腔、咽頭、便などから、2009 年 5 月に 1 例、6

月に 1 例、8 月に 1 例、9 月に 5 例、合計 8 例の *B. cereus* が検出された(図 1-2)。7 月から 9 月の間で起こった 9 例の新生児発熱症例のプロファイルを表 1-1 に、*B. cereus* が検出された 8 例の新生児プロファイルを表 1-2 に示す。実際に *B. cereus* が検出された新生児発熱は表 1-1 に示した症例 6、症例 8、症例 9 の 3 例であり、それぞれ表 1-2 の症例 D、症例 E、症例 G に対応している。新生児発熱症例の急増と *B. cereus* が検出され始めた時期がほぼ一致していたこと、また、前年の 2008 年には新生児からの *B. cereus* 検出がなかったことなどから、産科病棟が *B. cereus* に汚染され、新生児にアウトブレイクを起こしている可能性を疑った。そこで、当院インフェクション・コントロールチーム(以下、ICT)に協力を依頼し、原因究明のため環境調査を行った。

富士市立中央病院 ¹⁾小児科, ²⁾看護部, ³⁾泌尿器科, ⁴⁾インフェクション・コントロールチーム

図 1 2009年度新生児発熱入院数(図 1-1)と2009年度 *Bacillus cereus* 検出数(図 1-2)

表 1-1 発熱した新生児 9 症例のプロファイル

症例	出生日	出生体重 (g)	在胎週数 (週+日)	分娩形態	発熱した 日齢	検 出 菌	検出部位
1	6/26	3126	40+4	帝王切開	6	な し	—
2	7/1	3564	40+3	帝王切開	4	な し	—
3	8/20	3708	40+6	帝王切開	0	な し	—
4	8/20	3348	40+3	吸引	0	な し	—
5	8/26	3552	38+6	正常経腔	0	<i>Corynebacterium species</i>	鼻腔
6	9/2	3450	39+4	帝王切開	0	<i>Bacillus cereus</i> , <i>Streptococcus mitis</i>	鼻腔
7	9/17	3226	38+4	吸引	1	な し	—
8	9/19	3282	41+1	帝王切開	1	<i>Bacillus cereus</i>	鼻腔
9	9/25	3326	39+2	正常経腔	1	<i>Bacillus cereus</i> , <i>Staphylococcus haemolyticus</i>	鼻腔

表 1-1 症例 6→表 1-2 症例 D
表 1-1 症例 8→表 1-2 症例 E
表 1-1 症例 9→表 1-2 症例 G

表 1-2 *Bacillus cereus* が検出された新生児 8 症例のプロファイル

症例	出生 日	出生 体重 (g)	在胎週数 (週+日)	分娩形態	検出 された 日齢	検出 部位	症状
A	5/15	1328	35+4	帝王切開	0	便	呼吸障害
B	6/21	2322	37+1	帝王切開	0	鼻腔	呼吸障害
C	8/29	2110	35+5	帝王切開	0	咽頭	特になし
D	9/2	3450	39+4	帝王切開	0	鼻腔	発熱
E	9/19	3282	41+1	帝王切開	1	鼻腔	発熱
F	9/24	2970	36+2	帝王切開	1	鼻腔	呼吸障害
G	9/25	3326	39+2	正常経腔	1	鼻腔	発熱
H	9/29	2320	34+0	帝王切開	0	鼻腔	呼吸障害

表 1-1 症例 6→表 1-2 症例 D
表 1-1 症例 8→表 1-2 症例 E
表 1-1 症例 9→表 1-2 症例 G

材料と方法

1) 材料

2009 年 9 月下旬，産科病棟の環境調査を行った．主に分娩に関わる環境として，分娩台，分娩台に設置されている吸引機，流し，流しの横に位置する作業台を調査した．また，出生後の新生児に関わる環境として，沐浴台，インファントウォーマー，新生児用ベッド，新生児体重計，移動用保育器，移動用保育器内で使用するタオル，新生児を包むためのタオルを調査した．当院では新生児に使用するリネンなどのクリーニングは外部に委託しているため，委託業者が汚染されている可能性も考慮し，洗濯後に倉庫に保管されているリネン(シーツ，パジャマ，カーテン，ふとん，ふとんカバー，まくら，まくらカバー)，また，委託業者から直送された未開封の

リネン(タオル, シーツ, ふとんカバー, ベビー肌着)についても同様に調査した。

2) 方法

NGKG 寒天培地(べたんチェック®25, 栄研化学㈱)を用いて, 直接スタンプ法による環境表面の細菌培養検査を行った。NGKG 寒天培地は *B. cereus* の選択培地として一般的に用いられ, 生育したコロニー数により汚染程度の推測が可能である³⁾。一方, *Bacillus anthracis*, *Bacillus mycoides* などその他の *Bacillus* 属菌も *B. cereus* と同様に発育し, 卵黄反応を示すため, NGKG 寒天培地のみで *B. cereus* とこれらの *Bacillus* 属菌との鑑別を行うことは困難である³⁾。これらを鑑別するためには血液寒天培地を用いて溶血性の確認をするなどの追加検査が必要であるが, 今回の調査では検体が多量であり, *B. cereus* の同定には細菌検査室業務量や費用などの大きな負担が予想されたため, 環境検査の結果は「*Bacillus* 属菌」として報告することとした。

結 果

1) 環境培養調査結果

産科病棟における調査結果を表 2-1 に示す。分娩に関わる環境では分娩台吸引機に *Bacillus* 属菌の検出を多数認めたが, 分娩台や流し, 作業台の汚染は軽度であった。一方, 出生後の新生児に関わる環境は, 沐浴台, インファントウォーマー, 新生児用ベッド, 体重計, 移動用保育器, 移動用保育器内に使用するタオルなど, 幅広く *Bacillus* 属菌汚染が認められた。委託業者でクリーニング後, 倉庫に保管されているリネン, 委託業者から直送された未開封のリネンの環境調査結果を表 2-2 に示す。倉庫に保管されていたリネンから幅広く *Bacillus* 属菌が検出され, さらに, 直送後未開封のリネンには高度の *Bacillus* 属菌汚染が認められた。ここから, クリーニングを委託している工場が *Bacillus* 属菌に汚染されている可能性が強く疑われた。

表 2-1 産科病棟の環境から培養された *Bacillus* spp. コロニー数

場 所	コロニー数
分娩台	3-4
分娩台吸引機	>50
流 し	9
流し横の作業台	4
沐浴台	>50
インファントウォーマー	>50
新生児用ベッド	40
新生児体重計	>50
移動用保育器	42
移動用保育器内に使用するタオル	>50
新生児を包むタオル	20

2) ICT の介入

全ての使用済みリネンを 0.1 w/v% 次亜塩素酸消毒し, 新生児の使用するバスタオル, 肌着に対してはオートクレープで滅菌処置を施した。清拭タオルは, 電子レンジを用いた高周波照射による殺菌を行った後に使用することとした。また, アウトブレイクが終息するまで, 産科病棟のタオル置場など, 汚染が予想される場所に対して *B. cereus* 菌の定期的な環境培養を継続した。クリーニングを委託している業者には, 全ての洗濯槽に対する 0.1% 次亜塩素酸消毒, 100℃ 以上で 30 分間以上の乾燥機の空運転を要請した。

3) 介入後変化

介入後, 10 月 14 日, 22 日に追加の環境調査を行った。産科病棟のタオル置場から検出された *Bacillus* 属菌は, 10 月 14 日, 22 日の環境調査でそれぞれ 10 コロニー, 5 コロニーと少量であり, タオル滅菌の効果が示唆された。10 月 29 日にアウトブレイク終息と判断し, 院内で新生児に使用するタオルのオートクレープ処理, 清拭タオルに対する電子レンジを用いた高周波照射による殺菌処理を終了した。12 月 3 日, 1 月 25 日に新生児用リネンを中心として再調査を実施した。両日とも産科病棟で使用されていたバスタオルから *Bacillus* 属菌が 1 コロニーのみ検出されたのみで, 産科病棟で使用されて

表 2-2 クリーニングを外部に委託しているリネン環境の *Bacillus* spp. コロニー数

リネン関連環境	コロニー数
保管シーツ	5
保管パジャマ	10
保管カーテン	0
保管ふとん	1
保管ふとんカバー	40
保管まくら	15
保管まくらカバー	15
工場直送タオル	>50
工場直送シーツ	20
工場直送ふとんカバー	20
工場直送ベビー肌着	>50

表 3 外部調査機関による, 委託クリーニング会社で洗濯された新生児用リネンにおける *Bacillus cereus* 検査

検査品	<i>Bacillus cereus</i> /10×10 cm	官能検査
シーツ	陰 性	変色, 臭気なし
タオル	陰 性	変色, 臭気なし
ベビー肌着	陰 性	変色, 臭気なし

10×10 cm の検査品に滅菌生理食塩水 100 mL を加え, ストマッカー 1 分間処理後に検査を実施。NGKG 寒天培地上で卵黄反応陽性のセレウス菌の定型的性状を示す *Bacillus* 属をセレウス菌としてカウントしている。陰性は検出下限値未満 (<500 CFU/m²) を示す。

いた肌着、新生児病棟で使用されていたバスタオル、肌着には *Bacillus* 属菌の検出を認めなかった。このため、院内で新生児に使用するタオルのオートクレーブ処理、清拭タオルに対する電子レンジを用いた高周波照射による殺菌処理の再開は不要と判断した。委託クリーニング業者に対しては、感染対策を行った後に、今回のアウトブレイクの原因と考えられた新生児用リネンの *B. cereus* 検査を外部調査機関に行うよう要請した。10月13日に外部調査機関の行った検査結果を表3に示す。調査したシーツ、タオル、ベビー肌着は *B. cereus* 陰性であり、委託クリーニング会社の行った感染対策は有効であったと考えられた。

B. cereus が検出された新生児8例は、感染症による後遺症や死亡なく、全例が無事に退院した。新生児発熱を呈した9例は *B. cereus* が同定された3例を含め、いずれの症例も臨床症状は発熱のみで、その他の臓器特異的な症状を示さなかった。血液培養陰性であり、レントゲンや超音波などの画像検索でも明らかな異常所見は認められなかったため、発熱の原因は不明であった。後遺症や死亡なく、全例が無事に退院した。感染対策後、産科病棟における新生児発熱症例は顕著に減少し、対策後6か月間、新たな症例を認めなかった(図1-1)。新生児からの *B. cereus* 検出数も顕著に減少し、対策後15か月間、新たな *B. cereus* の検出がみられなかった(図1-2)。

考 察

リネンを介した *B. cereus* のアウトブレイクは、過去にも多くの事例が報告されている⁴⁻⁶⁾。新生児においては、2007年に新生児救急医療施設でのアウトブレイク事例が報告⁴⁾されており、原因は当院での事例と同様、外部洗濯業者における汚染であった。この事例では、洗濯業者は医療法で定められた80℃で10分以上、もしくは塩素剤を使用の上で60℃10分の洗濯方法を採用していたにもかかわらず、洗濯業者に設置された洗濯槽や、洗濯前後のリネン全てから *B. cereus* が検出されたことが報告されている。当院が委託している洗濯業者でも塩素剤を使用し60℃10分以上の洗濯が行われていたが、

未開封のリネンから多くの *Bacillus* 属菌が検出された。*B. cereus* を含む *Bacillus* 属菌は芽胞形成菌であり、増殖に適さない環境下では芽胞の状態では生存する。100℃30分間の加熱に耐え、アルコールなどの消毒薬にも耐性を示すため、現行の洗濯方法では除菌困難である³⁾。*B. cereus* に汚染されたリネン類に関しては、現在のところオートクレーブによる滅菌以外に効果的な芽胞の除去方法が確立されていない。さらに、クリーニング業者は有効な洗濯消毒が行われているかの基準として黄色ブドウ球菌や大腸菌などを採用することが多く、通常、*B. cereus* は基準に含まれない。これは、普通の洗濯では消毒できず、さらに環境に幅広く常在する同菌に対して、除菌の基準を設定することが困難であるためと考えられる。このような状況から、クリーニング業者に *B. cereus* の完全な除菌を要請することは現状不可能であり、病院ごとの対応が求められる⁷⁾。そのため、中規模以上の病院においては、常に患者から培養される *B. cereus* の動向に注目し、院内で *B. cereus* の検出頻度が急速に増加した場合、積極的な環境調査を行いアウトブレイクの有無を確認する必要がある。また、アウトブレイクが疑われた場合には、その原因を調査しなければならない。本事例においても、アウトブレイクが発生した原因となった場所は産科病棟であったが、実際には病院全体において患者から分離される *B. cereus* の検出数は2007年から緩やかに増加し、2009年になって急増していた(図2)。これらの *B. cereus* は、全て汚染菌として片づけられ、詳細な検討はなされていなかった。環境調査によりリネン汚染を推定できたことで適切なアウトブレイク対応が行われ、二次的なアウトブレイクを未然に防ぐことができたと考えられる。新生児8例から検出された *B. cereus* の薬剤感受性パターンを表4に示す。それぞれの感受性パターンが大きく異なることから、アウトブレイクは同一菌種が接触により伝搬していったものではないことが推測される。調査した医療者に *B. cereus* アウトブレイクについての知識が不足していた場合、この感受性パターンの差によりアウトブレイクを偽アウトブレイクと見誤りかねない。藤田らは院内で使用

図2 病院全体で患者から分離されたセレウス菌検出数の年次推移

表4 検出された *Bacillus cereus* の薬剤感受性

症例	PIPC	CEZ	CAZ	CMZ	IPM	FMOX	AZT	CLDM	MINO	GM	TOB	OFLX/ LVFX*	FOM
1	R	R	R	R	R	R	R	I	R	S	S	S	R
2	R	R	R	I	I	S	R	S	S	S	S	S	R
3	I	S	R	S	S	S	R	R	S	S	S	R	R
4	S	R	R	I	S	S	R	S	S	S	S	S	S
5	I	R	R	S	S	S	R	I	I	S	S	S	R
6	R	R	R	I	S	S	R	I	S	S	S	R	I
7	R	R	R	I	S	S	R	S	S	S	S	R	S
8	R	R	R	S	S	S	R	I	S	S	S	S	S

* 試験キットの変更に伴い、症例1～2はOFLX、症例3からはLVFXで薬剤感受性試験を行った

PIPC: piperacillin, CEZ: cefazolin, CAZ: ceftazidime, CMZ: cefmetazole, IPM: imipenem, FMOX: flomoxef, AZT: aztreonam, CLDM: clindamycin, MINO: minocycline, GM: gentamicin, TOB: tobramycin, OFLX: ofloxacin, LVFX: levofloxacin, FOM: fosfomycin

していたタオルに定着していた *B. cereus* をパルスフィールドゲル電気泳動によりDNA解析し、多種類のDNA型を示したことを報告⁸⁾している。リネン経由で汚染が生じる場合には単一の遺伝子系ではなく多種類の遺伝子系の *B. cereus* が混在することが予測されるため、*B. cereus* のアウトブレイクを疑った場合、感受性パターン之差から性急に偽アウトブレイクと判断せず、慎重に汚染経路を検索していくことが大切である。

本事例の興味深い点は、産科病棟における新生児発熱症例の急増によって *B. cereus* のアウトブレイクの可能性を疑い、アウトブレイク対策により、実際に新生児発熱の増加が終息した点である。新生児発熱を認めた症例は、早産、低出生体重児であった1例(在胎34週0日、出生体重2320g)を除き、全員が体重3000g以上の正期産児であった。一般に *B. cereus* は正常新生児に感染をおこすことはないと考えられているが、今回の事例では、アウトブレイクへの対応前後で明らかな新生児発熱症例数の変化が認められ、正常新生児における *B. cereus* のアウトブレイクと考えられた。正常新生児の発熱と *B. cereus* の関連について検討された報告は少ないが、*B. cereus* の病原性については現在でも不明な点が多い。菌体外毒素には、hemolysinBL(HBL), non-hemolytic enterotoxin(NHE), cytotoxinK, hemolysinIII, phospholipaseC などがあるが、この中でHBL, NHE, cytotoxinKは食中毒を発症させる毒素として、hemolysinIII, phospholipaseCは非食中毒症状を生じさせる毒素として知られている⁹⁾。HemolysinIIIは赤血球を破壊し、phospholipaseCは好中球の脱顆粒を刺激することで細胞障害を起こすことがわかっており¹⁾、これらの毒素は炎症性サイトカインを誘導し、生体に発熱を生じさせる可能性がある。正常新生児においては、血液や髄液以外から *B. cereus* が分離された場合、詳細な検討はなされずに汚染や定着と判断されることがほとんどであると予想されるため、いままで原因不明とされてきた新生

児発熱の原因に、それらの *B. cereus* 毒素が関与していた可能性は否定できない。*B. cereus* と新生児発熱の関連については、今後さらなる症例の蓄積や、微生物学的な検討が必要である。

利益相反自己申告：申告すべきものなし。

文 献

- 1) Kotiranta A, Lounatmaa K, Haapasalo M: Epidemiology and pathogenesis of *Bacillus cereus* infections. *Microbes Infect* 2000; 2: 189-98.
- 2) 笹原鉄平, 林 俊治, 森澤雄司, 平井義一: *Bacillus cereus* に汚染された手指の衛生管理方法の検討. *環境感染誌* 2008; 23Suppl: 246.
- 3) 余 明順, 松山純子, 志馬景子, 岡山加奈, 阪本 怜, 本田武司. クリーニングによるセレウス菌除菌効果の検討. *感染症誌* 2010; 84(5): 583-7.
- 4) 埋田聖子, 小澤道子, 鎌田孝寿, 鳥居裕一: 聖隷浜松病院における *Bacillus cereus* アウトブレイクへの対応. *聖隷浜松病誌* 2009; 9(1): 44-9.
- 5) 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. *日臨微生物誌* 2005; 15(2): 82-9.
- 6) Ohsaki Y, Koyano S, Tachibana M, Shibukawa K, Kuroki M, Yoshida I, et al.: Undetected *Bacillus pseudo-outbreak* after renovation work in a teaching hospital. *J infect* 2007; 6: 617-22.
- 7) 大木 茂: 細菌感染セレウス菌. *小児診療* 2009; 72(9): 1619-25.
- 8) 藤田昌久, 中川仁美, 三浦義彦, 根井貴仁, 前田美穂, 野呂瀬嘉彦: 清拭タオルの *Bacillus cereus* 汚染調査と分離菌株の性状. *日医大医会誌* 2013; 9(4): 259.
- 9) Wijnands LM, Dufrenne JB, Zwietering MH, van Leusden FM: Spores from mesophilic *Bacillus cereus* strains germinate better and grow faster in simulated gastrointestinal conditions than spores from psychrotrophic strains. *Int J Food Microbiol* 2006; 112(2): 120-8.

〔連絡先〕〒417-8567 静岡県富士市高島町50番地
富士市立中央病院小児科 日馬由貴
E-mail: unexpected_players2000@yahoo.co.jp〕

***Bacillus cereus* Outbreak in Normal Neonates at Our Hospital**

Yoshiki KUSAMA^{1,4)}, Isamu HONMA^{2,4)}, Mitsunori MASUDA^{2,4)}, Hirokazu GOTO^{3,4)} and Shoichi ONODERA^{3,4)}

¹⁾*Department of Pediatrics*, ²⁾*Department of Nursing*, ³⁾*Department of Urology*, ⁴⁾*Department of Infection Control Team, Fuji City General Hospital*

Abstract

A sudden increase in cases of neonatal fever was observed at our hospital in 2009. Moreover, *Bacillus cereus* was detected in a large number of cultures taken from hospitalized neonates during the same period. An infection control team examined the hospital environment and revealed widespread *B. cereus* contamination of the linen used in the maternity ward. Therefore, the increase in cases of neonatal fever resulted from a *B. cereus* outbreak and antiseptic and preventative measures were implemented to halt the spread of contamination. *B. cereus* contamination at the company commissioned to handle the hospital's laundry was suspected to be the underlying cause of the outbreak at our hospital. Our measures resulted in the elimination of *B. cereus* infections in hospitalized neonates, and no new cases of neonatal fever were detected. *B. cereus* resides in the environment and shows resistance to antiseptics, so complete elimination from laundry is difficult. Therefore, the number of *B. cereus*-positive specimens in hospitals should be monitored, and if an increase in positive samples is detected, the hospital's infection control team must examine if the increase should be considered a *B. cereus* outbreak.

Key words : *Bacillus cereus*, neonatal fever, contamination of hospital linen, outbreak, infection control