

## 病院内の環境汚染菌調査 - 2 病院における測定成績 -

狩野 文雄\*

### Survey of airborne bacteria in the 2 general hospital

Fumio KANO\*<sup>\*</sup>

We investigated the dynamic state of microorganisms inside medical facilities at two general hospitals. The sampling was done in March and July 2002 and January 2003 at Hospital A and in March 2002 at Hospital B, measuring suspended particulate matter, airborne bacteria and population of persons. It was found that most airborne bacteria in waiting rooms were associated with the population of persons, and that there was a high correlation between the quantity of airborne bacteria and that of suspended particulate matter (particle diameter : 5 microns and greater) in the waiting rooms.

**Keywords :** レプリカ法 replica method, 一般病院 : general hospital, 浮遊細菌 airborne bacteria, 付着細菌 surface colonized bacteria, 待合室 waiting room, 浮遊塵埃 suspended particulate matter,

#### 緒 言

最近、建築物内の空気環境における微生物（細菌，真菌，原生動物，藻類）に対する関心が高まっている。特に，病院においては，院内感染を防止するために，空気環境における浮遊菌・付着菌の動態を把握することが重要である。しかし，実際の病院での環境菌の測定報告は比較的少ない<sup>1), 2), 3)</sup>。また，従来から使用されている病院空調設備の設計管理指針<sup>4)</sup>と NASA 基準<sup>5)</sup>には，浮遊細菌数と浮遊粒子数の関係が記載されているが，実測値及び測定条件などの記載が不明確である。最近，感染症新法の施行に伴い，新しいタイプの陰圧病室などが設置され，そうした病室内における環境汚染菌の動態や分布を調べることが求められている。さらに，常在菌と通過菌の判定や環境中での生存期間を明らかにして，病院内清掃・除菌作業の根拠となる資料を提供することが重要である。そのための実態把握が是非とも必要となる。そこで今回，一般病院の外来待合室（トイレ，中待合室を含む）及び診察室，処置室における空気環境調査（浮遊菌・付着菌及び浮遊塵埃）を実施し，空調運転時及び空調停止時の各菌数を測定した。また，浮遊菌の発生源を推定するために，付着菌調査を行うとともに，在室者数の測定を実施した。さらに，浮遊細菌の種類を同定するため，従来の煩雑な菌種同定操作に替えて，遺伝子実験で汎用されているレプリカ法<sup>6)</sup>を応用し，実施した測定成績について報告する。

#### 調査概要

##### 1. 調査施設



図 1. 浮遊菌測定位置

A 病院と B 病院の 2 つの一般病院で調査した。A 病院の延べ床面積は，60,000m<sup>2</sup>，建築竣工後 1 年の新病棟で実施した。空調システムは，外気の空気調和機にプレフィルタ及び中性能フィルタを 2 段に使用し，加湿装置として，

\* 東京都健康安全研究センター環境保健部環境衛生研究科 169-0073 東京都新宿区百人町 3-24-1

\* Tokyo Metropolitan Institute of Public Health

3-24-1, Hyakunin-cho, Shinjuku-ku, Tokyo 169-0073 Japan

蒸気方式を採用している。室内天井には、ファンコイルユニットを装填し、室内空気を循環する方式である。外気導入率は、自動制御されて、年間を通じて概ね38%に調整されている。今回調査を行った箇所は、1階に位置する形成・整形外科の外来待合室及び処置室と診察室である。(図1a)

一方、B病院は、延べ床面積50,000m<sup>2</sup>、建築竣工後6年の病棟で実施した。空調システムは、外気の空気調和機にプレフィルターと中性能フィルターを2段に使用し、蒸気式加湿装置を中間にもち、室内に給気するタイプである。ファンコイルユニットは、室内循環式のものである。測定箇所は、1階の内科の外来待合室である。(図1b)

A病院は、外来の形成・整形外科待合室であり、B病院の内科外来待合室に比べて外来者数が比較的少ない環境であった。各病院の浮遊細菌及び付着細菌の採取箇所を図1、2に示した。

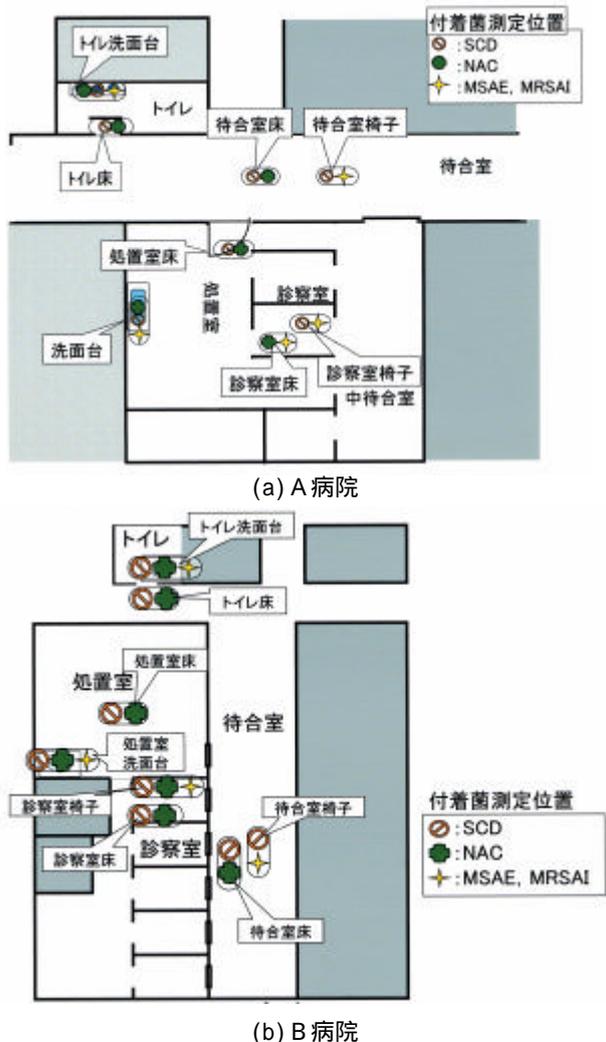


図2. 付着菌測定位置

2. 調査年月日と測定項目

各病院の調査概要(日時と測定項目)を表1に示した。

表1. 測定の概要

測定項目	病院名	A病院 形成, 整形外科		B病院 内科	
	測定日時	2002年 3月14日	2002年 7月10,11日	2003年 1月24日	2002年 3月26日
測定項目	浮遊菌				
	付着菌 (スタンプ法)				
	浮遊塵埃				
	温湿度				
測定場所	処置室				
	診察室				
	中待合室				
	待合室				
	トイレ入口				
	外気取り込み口				

3. 測定装置及び使用器材

浮遊細菌の測定には、多孔板慣性衝突式サンプラー(ミドリ安全社製 BIOSAMP MBS-1000)を使用した。装置の概要は、図3に示した通りである。

付着細菌の測定は、スタンプ法により行った。スタンプ培地は、バイオキャッチ+(日研生物医学研究所製)のSCD寒天, MSAE寒天, NAC寒天, MRSA寒天を用いた。

浮遊塵埃数の測定は、光散乱検出式粒子測定器(MET ONE社製 237B型)を用いて行った。

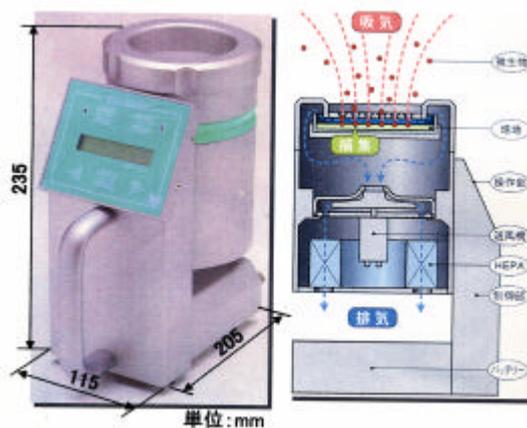


図3. 浮遊細菌の採取機器の構造

測定方法

1. 浮遊細菌測定法

浮遊細菌測定は、エアースAMPLERの空気吸引口が床から900mmとなる高さで実施した。測定用培地には、トリプトソイ寒天培地(SCD: 栄研化学)を使用した。エアースAMPLERの吸引空気量は0.1m<sup>3</sup>/分で採取時間は2.5分に設定した。測定は、1箇所あたり3枚の培地を使用した。A病院とB病院とも待合室における浮遊細菌は、1時間おきに実施し、最長24時間連続して測定した。

サンプリングを終了したSCD寒天培地(マスタープレート)を、インキュベーターで37℃, 48時間培養した後、培地表面に生育したコロニーを計数した。その後、細菌の菌種を同定するために、図4に示した方法<sup>2)</sup>により、シン

グルコニーを選択培地にレプリカした。選択培地として使用した培地は表2に示す通りである。すなわち、マスタープレート上に発育した菌のコロニーから、4種類の選択培地にスタンプすることでコロニーの菌種を限定し、同定操作を迅速化した。次に、各選択培地からSCD寒天に鈎菌し分離純化した菌を、表3に示した同定キットを用いて菌種を確定した。なお、レプリカする順序は、DHL寒天、NAC寒天、MSAE寒天、MRSA寒天で行った。分離同定した菌種と同じ形態を示す菌をマスタープレート上のコロニーから検索し、同属菌の全浮遊菌中に占める割合を求めた。

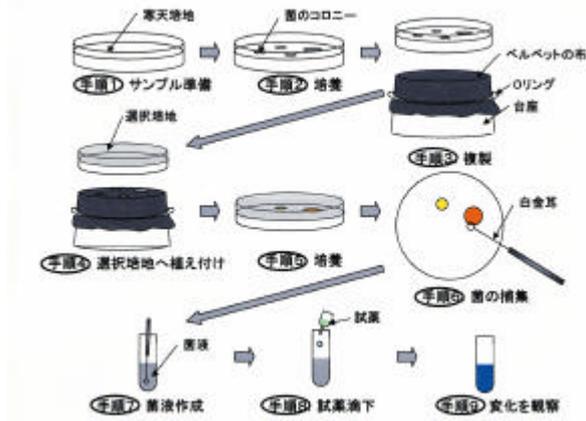


図4. レプリカ法の試験手順

表2. レプリカに用いた選択培地

培地種類	検出対象	メーカー名
SCD (Soybean Casein Digest)	General Bacteria	栄研器材
DHL (Desoxycholate Hydrogen sulfide Lactose Agar)	Enterococcus	日研 生物医学 研究所
NAC (Nalidixic Acid-Cetrimide)	Pseudomonas	
MSAE (Mannitol Salt Agar with Egg Yolk)	Staphylococcus & Micrococcus	
MRSAL (Manitol Egg yolk with CZX, AZT, PLB)	Methicillin-resistant Staphylococcus	

表3. 菌種同定キット

キット名	測定対象	メーカー名
RapID NF Plus	Pseudomonas	アムコ
PapID ONE	Enterococcus	
API STAPH	Staphylococcus & Micrococcus	日本ビオメリュー

2. 付着細菌測定法

床面及びトイレ洗面台、待合室の椅子表面をスタンプ法により調査した。すなわち、抗菌剤を不活性化するレシチン・ポリソルベートを添加したトリプトソイ寒天培地(S

CDLP寒天)と選択培地であるNAC寒天,MSAE寒天,MRSA寒天などを採取箇所に押し当てて採取した。それらの培地を37℃,48時間培養し,生育したコロニーを計数し,計算により25cm<sup>2</sup>あたりの付着細菌数を求めた。

3. 浮遊塵埃数測定法

浮遊菌の測定と平行して,待合室の浮遊塵埃数を連続測定した。光散乱式自動粒子計数器の吸引口は,待合室の中央部で人の影響が少ない場所で床から900mmの位置に取付けた。吸引空気量はA病院,B病院ともに0.00283m<sup>3</sup>/分で採取時間を1分とし,測定間隔は5分間として連続測定した。データの解析には,粒径サイズを,0.5µm以上及び5µm以上に分けて,それぞれの値について時系列的解析した。

4. 在室人数測定

在室者の人数を計数した範囲は,A病院の3月調査では,測定場所の周囲に配置された椅子(6脚:3人用椅子)に在席している人とした。A病院の7月調査およびB病院の3月調査では,待合室全体の人数として,着座者と歩行者の両方の人数を計数した。

測定成績及び考察

1. 待合室及び外気の浮遊細菌数

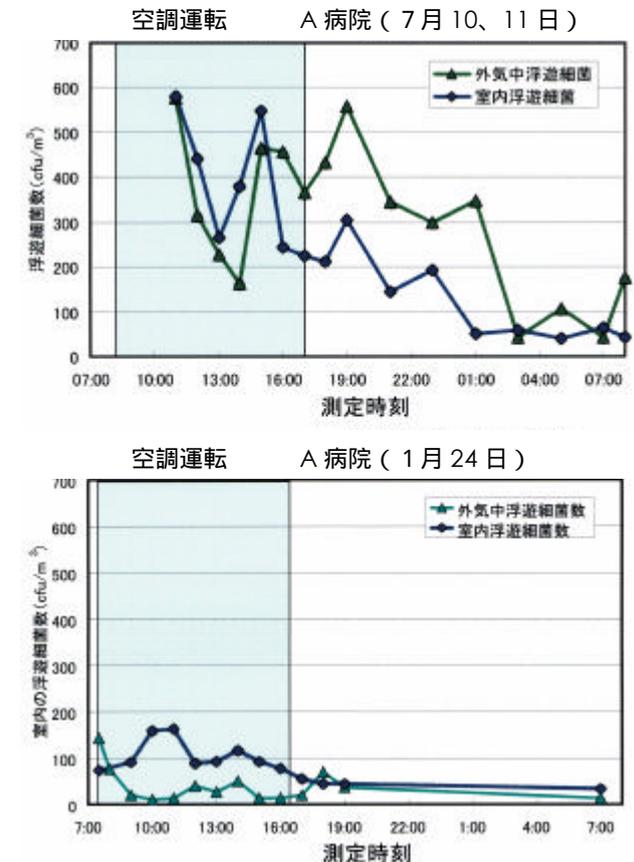


図5. 室内及び外気中の浮遊細菌数

図5に7月および1月のA病院の待合室と外気取込口で測定した浮遊細菌数の時系列変化を示した。室内と外気の

浮遊細菌数は、空調運転時と空調停止時（17時以降）の傾向が若干異なっている。両者の相関係数を計算した結果、7月では、0.58、1月での結果は、-0.25を示した。7月の相関係数はやや高めであるが、1月の相関係数は負を示したことから、室内と外気の浮遊細菌数の相関はないと判断した。すなわち、外気の浮遊細菌は、空気調和機に取付けられた高性能フィルターによってほとんど捕捉されること、自然換気によって外気の浮遊細菌は室内へほとんど入ってこないためと考えられた。したがって、待合室内の浮遊細菌数は、室内の浮遊菌の動態をそのまま反映しているものと判断した。

2. 待合室の浮遊細菌数と浮遊塵埃数及び在室人数

A病院とB病院の待合室における浮遊細菌数と粒子径が5μm以上の浮遊塵埃数の時間的変動を図6に示した。浮遊細菌数は、A病院、B病院ともに午前8時から11時頃にかけて増加し、11時以降は時間経過と共に減少していく傾向を示し、両病院とも変動傾向はよく似ていた。

表4. 浮遊細菌数と浮遊塵埃数及び在室人数との相関係数

測定場所	測定日	浮遊塵埃数と浮遊細菌数		浮遊細菌数と在室人数
		粒径:0.5μm以上	粒径:5μm以上	
A病院	3月14日	0.55	0.68	0.94
	7月10日	0.52	0.83	0.8
	1月10日	0.31	0.68	0.71
B病院	3月26日	-0.28	0.8	0.89

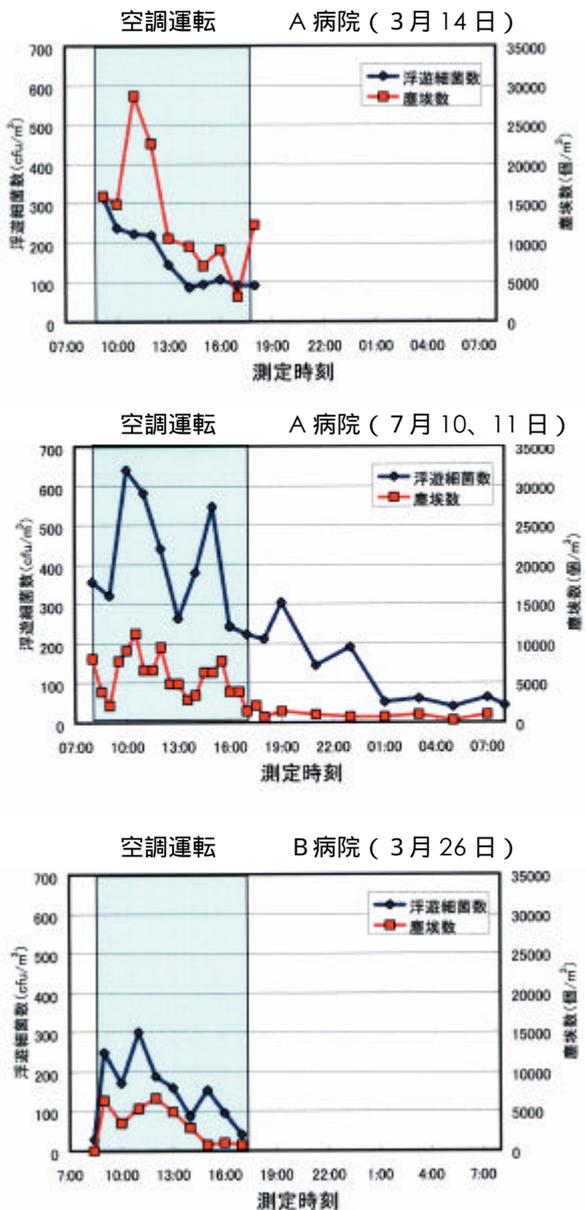


図6. 浮遊細菌と塵埃数（5μm以上）の時系列変化

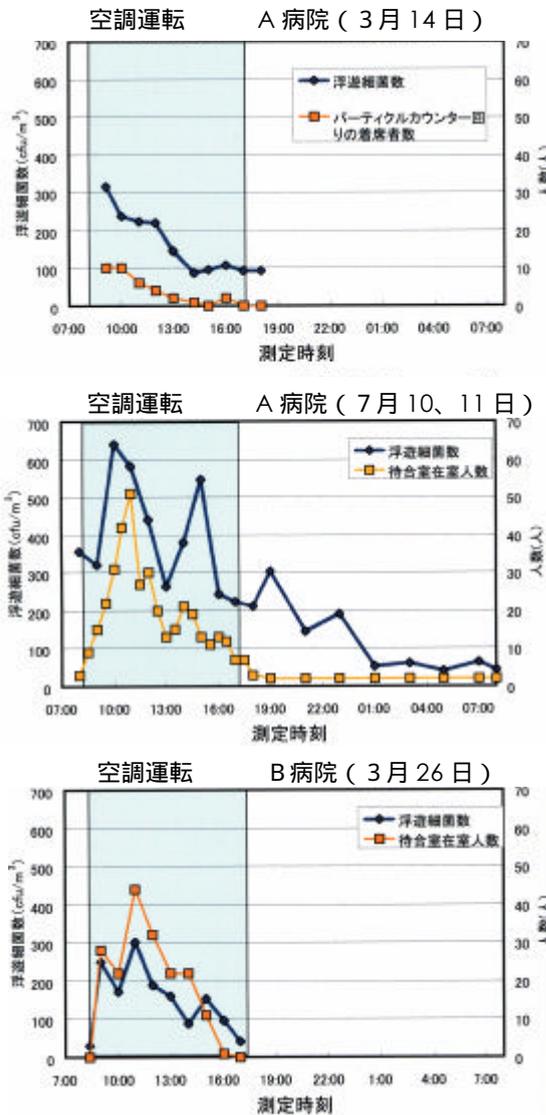


図7. 浮遊細菌数と在室人数の時系列変化

図7にA病院とB病院の在室人数の変動と浮遊細菌数の時系列変動を示した。A、B病院とも、午前11時まで在室者が増加し、その後は、時間経過とともに減少した。浮遊塵埃数と浮遊細菌数及び在室人数の時系列変化から相関係数を計算した結果を表4に示した。この結果から、粒子径が5μm以上の浮遊塵埃数が0.5μm以上のそれよりも浮遊細菌数との相関係数が高いことがわかった。A病院で3月、1月に測定した結果を除くと、相関係数には有意差が見られ、浮遊塵埃数と浮遊細菌数には両病院とも共通の相関が認められた。なお、A病院の3月、1月調査の結果は相関を示さなかったが、図7に示す通り浮遊塵埃の測定機器近傍にいた人数のみの計測のため、人数が少なく、待合室全体の人の動きによる変動が現れていないためと思われる。なお、

浮遊細菌数と在室人数の間には、0.7 以上と高い相関係数が認められ、両者間には密接な関連があるものと判断した。

3. レプリカ法の選択培地分離結果

A 病院と B 病院の待合室の浮遊細菌をレプリカ法で分離した結果を図 8 に示した。各棒グラフは、DHL 寒天、NAC 寒天、MSAE 寒天、MRSA 寒天培地上に生育した細菌数のマスタープレートである SCD 寒天培地に生育した総細菌数における比率を示しており、各属菌が浮遊菌に占める割合を表している。その結果、両病院とも、MSAE 寒天で検出された細菌の割合が他の培地のそれよりも高く、その傾向は、両病院とも全く同じであった。

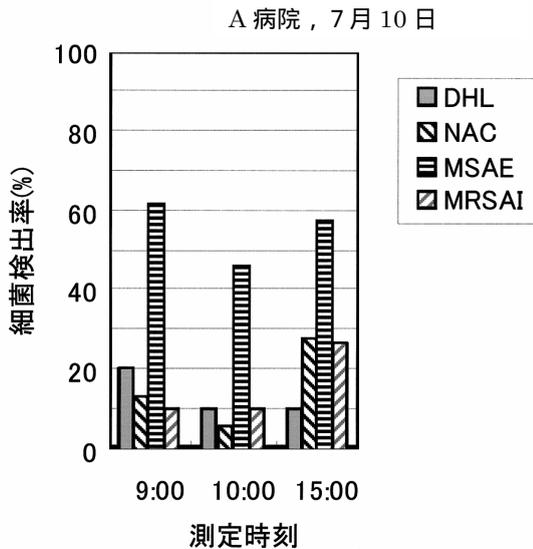


図 8. レプリカ法の選択培地による細菌検出率

4. 浮遊細菌の菌種同定結果

MSAE 寒天及び NAC 寒天上に生育した細菌を分離培養し、同定キットにより菌種を確定した結果を表 5 に示した。人に由来すると思われる細菌、*Staphylococcus epidermidis*, *S. capitis*, *S. hominis*, *Proteus penneri*, *Micrococcus spp.* などが検出された。これらの菌は、従来病院内の環境汚染菌と言われていた *Pseudomonas* 属菌よりも検出率が高かった。

同定した浮遊細菌には人由来の細菌が多く検出されたことから、両病院の外来待合室には、人を発生源とする細菌が高い割合で含まれていることがわかった。薬剤耐性菌のスクリーニングに使用した MRSA 培地には MRSA (methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*) 以外の多くの菌が検出された。なお、A 病院の 1 箇所から MRSA を検出したが、抗生薬剤の耐性度についてはさらに調査が必要である。それ以外のほとんどの菌種は、MRSE (methicillin-resistant *Staphylococcus epidermidis*) と MRCNS (methicillin-resistant coagulase negative *Staphylococcus*) であった。

5. 待合室の付着細菌数

図 9 に、スタンプ法による付着細菌の測定結果を示した。NAC 寒天培地に生育する付着菌はトイレ床や洗面台に限

表 5. 浮遊細菌同定結果

A 病院 (3月14日)

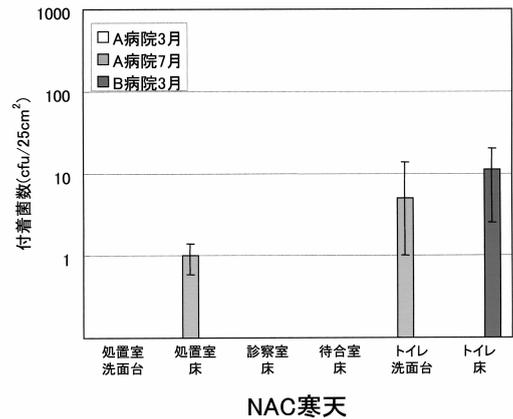
測定場所	空調運転状態	細菌名	検出率(%)
処置室	運転時	<i>Micrococcus spp.</i>	3.8
		<i>Acinetobacter calcoaceticus</i>	3.8
	停止時	<i>Micrococcus spp.</i>	14.3
		<i>Pseudomonas diminuta</i>	9.5
待合室	運転時	<i>Staphylococcus hominis</i>	4.8
		<i>Acinetobacter calcoaceticus</i>	4.8
		<i>Micrococcus spp.</i>	4.8
	停止時	<i>Staphylococcus xylosum</i>	4.8
		<i>Sternotrophomonas maltophilia</i>	9.5
		<i>Micrococcus spp.</i>	8.0
診察室	運転時	<i>Rhodotulula (Yeast)</i>	4.0
中待合室	運転時	<i>Micrococcus spp.</i>	4.8
	停止時	<i>Alcaligenes xylooxidans</i>	4.5
待合室(トイレ入口)	運転時	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	4.5

A 病院 (7月10日)

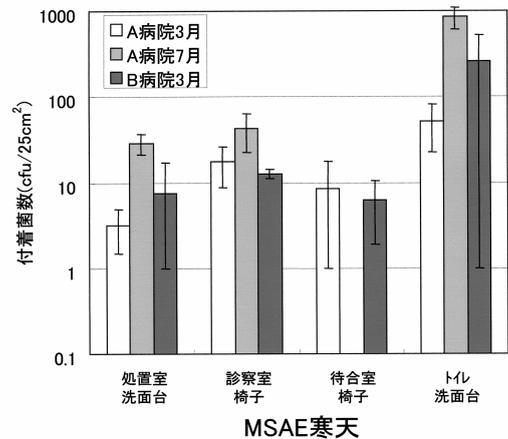
測定場所	空調運転状態	細菌名	検出率(%)
処置室	運転時	<i>Micrococcus luteus</i>	3.0
	停止時	<i>Staphylococcus aureus</i>	2.5
診察室	停止時	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	2.6
待合室	運転時	<i>Burkholderia cepacia</i>	1.8
	停止時	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	1.4
トイレ前	運転時	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	1.7
	停止時	<i>Staphylococcus capitis</i>	1.0

B 病院 (3月26日)

測定場所	空調運転状態	細菌名	検出率(%)
病室前廊下	運転時	<i>Proteus penneri</i>	6.3
待合室	運転時	<i>Acinetobacter calcoaceticus</i>	2.1
処置室	運転時	<i>Acinetobacter calcoaceticus</i>	5.3



NAC 寒天



MSAE 寒天

図 9. 採取箇所別の付着細菌数

局して検出され、MSAE 寒天培地に生育する付着菌は調査箇所のほとんどすべてから検出された。菌種の同定結果を表 6 に示した。*Pseudomonas* 属菌に比べ、*Staphylococcus* 属菌が付着細菌としての有意に多く検出された。したがっ

表6 付着細菌同定結果

A 病院 (7月10日)

測定場所	菌種
トイレ洗面台	<i>Staphylococcus hominis</i>
	<i>Staphylococcus epidermidis</i>
	<i>Staphylococcus epidermidis</i>
中待合室椅子	<i>Staphylococcus cohnii</i>
	<i>Kocuria varians</i>

B 病院 (3月26日)

測定場所	細菌名
トイレ床	<i>Pseudomonas alcaligenes</i>
	<i>Burkholderia cepacia</i>
	<i>Oligella urethralis</i>

A 病院 (1月10日)

測定場所	細菌名
トイレ洗面台 (ホールの底面)	<i>Enterococcus cloacae</i>
トイレ床	<i>Bacillus pumilus</i>

て、浮遊細菌の発生源として人由来のみでなく、床面や椅子などからの発塵も関係することが示唆された。

#### 結 語

以上の結果から、以下のことが結論として言える。

1) 浮遊細菌数と浮遊塵埃数の関係は、粒子径が $5\mu\text{m}$ 以上の浮遊塵埃数が、 $0.5\mu\text{m}$ 以上の浮遊塵埃数よりも相関係数が高かった。同定の結果から、検出された細菌の大きさが $0.5\mu\text{m}$ から $5\mu\text{m}$ 程度であることを考えると、空中浮遊細菌のほとんどは、細菌単体で浮遊しているものよりも、何らかの粒子に付着しているものの割合が多いと考えられる。そのため、粒子径が $5\mu\text{m}$ 以上の浮遊粒子数を環境汚染細菌の日常的モニターとして代替できることが示唆された。今後は、病院以外の施設でも環境調査を実施して、人の集まる場所の浮遊細菌の菌種や各属菌の検出率に違い

があるかどうかを調べていく必要がある。

2) 空調システムを異にする総合病院のA病院及びB病院の待合室において実施した浮遊細菌数の測定結果を分析した結果から、在室者数と浮遊細菌数が有意の相関をもつことがわかった。浮遊細菌数と在室人数の相関係数は0.7以上と高く、待合室の浮遊細菌には、人を発生源とする細菌が高い割合で含まれている。

3) 環境細菌を簡易迅速に分離同定するのに際して、浮遊細菌のレプリカ法は、従来の方法に比べ、同定操作の煩雑な過程を省力化することで迅速化でき、病院内の環境汚染菌調査や日常モニタリングに有効な手段であると思われる。

#### 謝 辞

本調査を実施するにあたり、御指導頂きました特定非営利活動法人バイオメディカルサイエンス研究会の病院設備研究班の皆様および日立プラント建設(株)の松戸研究所の方々に深謝いたします。また、本測定を行うに当たりご理解とご協力を頂きましたA及びB病院の職員の皆様に厚くお礼申し上げます。

(本研究は、平成14年度受託研究「病院内の環境調査(院内感染防止のための基礎調査)」(バイオメディカルサイエンス研究会)により実施したものである。)

(本研究の概要は平成15年度空気調和・衛生工学会学術講演会2003年9月で発表した。)

#### 参 考 文 献

- 1) 須山祐之、村松淳、高久悟ら：日歯医学会誌：18, 93-99, 1999
- 2) 福島真貴子、軽部裕代、北村中也：鶴見歯学，25(2)：187-194, 1999
- 3) 森正夫、柏貴浩、田中辰明：建築設備士，5, 44-48, 2002
- 4) 日本医療福祉設備学会：病院空調設備の設計・管理指針(HEAS-02-1998)，8, 1998
- 5) Newell, H. F., : NASA NHB 5340-1, 2 (ISO TC 209), 1967
- 6) 杉山純多、渡辺信、黒岩常祥ら：微生物実験法，138, 1999, 講談社サイエンティフィック，東京