



ATP+AMP ふき取り検査による院内環境表面のモニタリング

前 徳島大学大学院ヘルスバイオサイエンス研究部 臨床薬学実務教育室

柴田 洋文 助教

要旨

目的

院内感染の危険性のある微生物汚染の**迅速な検知方法**を開発すること。

方法

ATP+AMP ふきとり検査及びプレート培養による微生物学的検査を外来患者病棟におけるトイレ設備の5ヶ所で実施。

- ① トイレの壁
- ② 個室内つかまり棒
- ③ 温水洗浄便座 リモコンユニット
- ④ ドアロック
- ⑤ トイレトペーパーホルダーのステンレス鋼カバー

結果

洗浄、消毒したステンレス鋼表面のサンプルに比べて、**5ヶ所のATP+AMP値は著しく高い**。
高頻度接触面で、有意に高い濃度の有機物を保持している状態が明らかに。

微生物学的検定の結果、**微生物汚染が5ヶ所のいたるところで確認された**。

微生物が検出される箇所とのATP+AMP値は、検出されない箇所と比べて**有意に高い ($p < 0.01$)**。

ATP+AMP値と好気コロニー数との**直線的な関係は確立されなかった**。

(菌由来のATP+AMP値だけでなく環境表面の有機物などの汚れ由来のATP+AMPも数値化するため)

環境の微生物汚染の測定において、ATP+AMP検査は定量的なものではなく**定性的なツール**である。

結論

ATP+AMP検査は、微生物による環境汚染およびそれが持続的な汚染状態になる可能性を把握して、院内環境に対する現在の清掃方法を確認する上で、**迅速かつ簡便で優れた方法**である。

はじめに

環境表面の汚れや微生物のコンタミリスクを評価するために
ATP+AMP 検査とプレート培養（好気コロニー数）による微生物学的検査を実施した。



方法

1. 検査場所および頻度

- 検査場所** 徳島市内にある教育病院 外来病棟トイレ設備
① トイレの壁 ② 個室内つかまり棒 ③ 温水洗浄便座 リモコンユニット
④ ドアロック ⑤ トイレトペーパーホルダーのステンレス鋼カバー
ATP+AMP 検査箇所：152 サンプル、微生物検査：106 サンプル
- 検査頻度** 各試験箇所について 2 回実施

2. ATP+AMP 検査

- 試薬** ルシパック Pen、測定機：ルミテスター PD-20（キッコーマンバイオケミファ㈱）
- 検査方法** 取扱説明書に従いルシパック Pen の綿棒を事前に滅菌水で湿らせて検査箇所をジグザクにふき取り、ルミテスター PD-20 で測定（RLU 値を表示）。



ルミテスター PD-20、ルシパック Pen
※現在は、ルミテスター PD-30、ルシパック A3
が販売されている。

3. 微生物検査

- 試験材料・試薬** 滅菌綿棒、0.01M リン酸緩衝液、pH7.5、トリプチケースソイ寒天培地（BD ㈱）
- 検査方法**
① 滅菌した 0.01M リン酸緩衝液で事前に湿らせた滅菌綿棒で検査箇所をふき取り。
② 綿棒を 2ml 滅菌リン酸緩衝液に入れて、ボルテックスで 1 分間攪拌（サンプル溶液）。
③ サンプル溶液を 10 倍希釈して 100 μ l をトリプチケースソイ寒天培地に塗布。
④ 30 $^{\circ}$ C、4 日間培養（好気コロニー数の決定）。

4. データ解析

データは、中央値（第 1-3 四分位値）で表した。結果は、最初にバーレット検定で等分散性のテストを実施した。正規分布を示さない場合、標準記述統計演算（平均、標準偏差、中央値、四分位範囲）に加えて、ノンパラメトリックなクラスカル・ウォリス検定で各グループを比較した。また、テューキー・クレーマー多重比較検定をサブグループの比較に使用した。統計的な有意差レベルは、 $p < 0.05$ とし、全ての統計分析は、Statcel 3 で実施した。

結果&考察

1. 外来病棟のトイレ設備のATP+AMP値 (図1)

トイレ設備の5ヶ所、152 サンプルの結果

高い値のグループ：つかまり棒、リモコンユニット

低い値のグループ：壁、ドアロック

有意差有
壁 vs つかまり棒
壁 vs ステンレス鋼カバー
つかまり棒 vs ドアロック

洗浄・消毒したステンレス鋼の表面 (40 ~ 80RLU) と比較して全てのグループで高い値がでている。

最も高い中央値は、最も低いものと比べて 4.4 倍しかない。高頻度接触表面は、恐らく微生物を含む有機物が高いレベルにあることを示している。

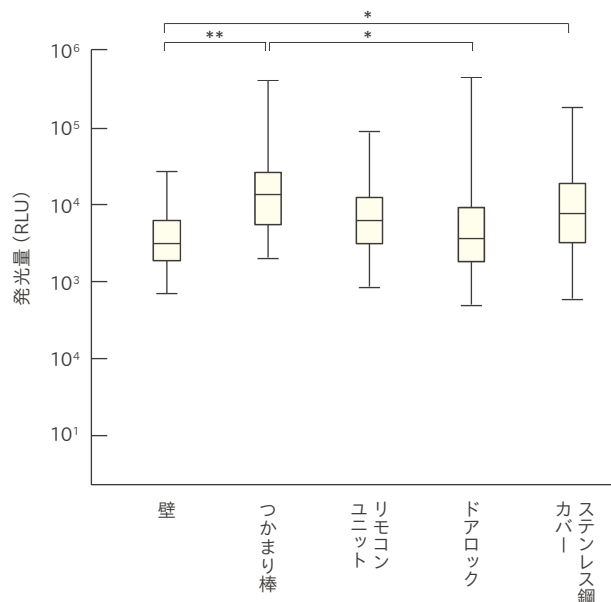


図1 病院設備トイレ個室の環境表面のATP+AMP値

2. 外来病棟のトイレ設備の好気コロニー数 (図2)

トイレ設備の5ヶ所、106 サンプルの結果

好気コロニー数は、壁とステンレス鋼カバーが他のグループより少ない。21 サンプルが、コロニー不検出。

有意差有
壁 vs つかまり棒 / リモコンユニット / ドアロック
ステンレス鋼カバー vs つかまり棒 / リモコンユニット / ドアロック

ステンレス鋼カバーのATP+AMP値は高く、好気コロニー数が少ない結果と一致しない。

様々な表面の慣例的な清掃や消毒では、形状や材質により好気コロニー数は減少していても、持続的に生育可能となりうる。

微生物の栄養分を取り除けていない可能性が考えられた。

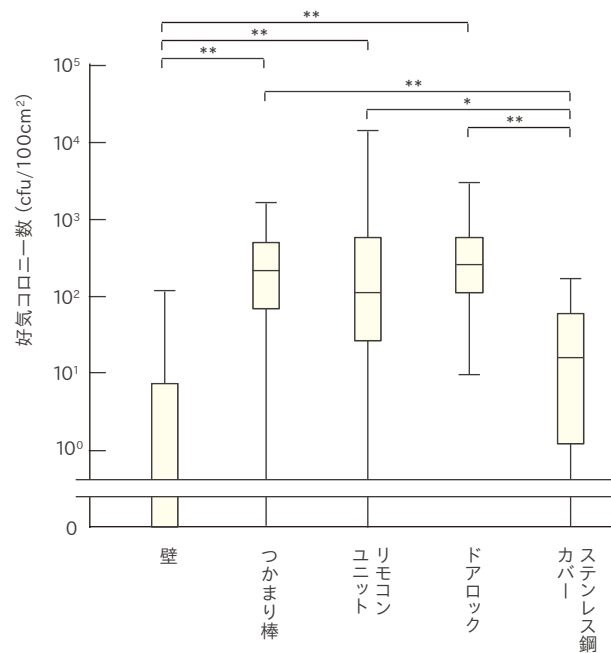


図2 病院設備トイレ個室の高頻度接触表面の好気コロニー数

3. 生育の有無とATP+AMP値 (図3)

好気コロニーが不検出のグループと検出したグループでは有意に検出したグループのATP+AMP値が高かった。

しかしながら、ATP+AMP値と好気コロニー数の間では、直線的な関係は示さなかった。

4. ATP+AMP値と菌の生育カテゴリーの解析 (図4、図5、表1)

菌の生育別のグループ分け

	好気コロニー数
NG:no growth	不検出のグループ
SG:scanty growth	ごくわずかなグループ (<2.5cfu/cm2)
LG:light growth	少ないグループ (2.5-12cfu/cm2)
MG: moderate growth	中程度のグループ (12-40cfu/cm2)
HG: hight growth	多いグループ (>40cfu/cm2)

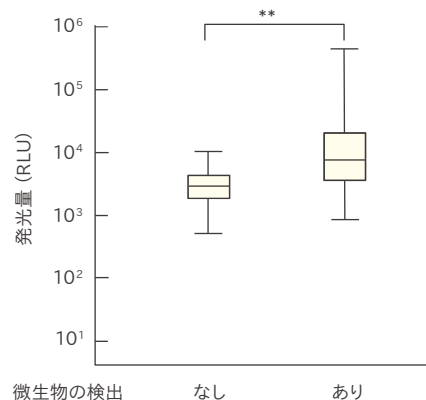


図3 微生物の検出の有無とATP+AMP値

(1) 生育別グループの ATP+AMP 値 (図 4)

好気コロニー不検出のグループと検出したグループとの ATP+AMP 値は、有意に差が見られた (HG は、1 サンプルだけなので MG とカテゴリーを同じにして解析)。

好気コロニーを検出したグループ (SG、LG、MG&HG) 間では有意差が見られなかったことから、環境の微生物汚染に対する ATP+AMP 検査は、定量的でなく定性的な検査といえる。

(2) 生育別グループの ATP+AMP 値における好気コロニー数の分布 (図 5、表 1)

カテゴリー

1,000RLU : 1,000RLU 以上の好気コロニー数と比率

5,000RLU : 5,000RLU 以上の好気コロニー数と比率

10,000RLU : 10,000RLU 以上の好気コロニー数と比率

50,000RLU : 50,000RLU 以上の好気コロニー数と比率

生育別グループが NG のサンプルは、他のグループ比べて、5,000、10,000RLU の減少度が大きかった (図 5)。

表 1 生育別グループの ATP+AMP 値における好気コロニー数の分布

生育カテゴリー	(総数)	微生物生育カテゴリー別 各ATP+AMP値を超えた数							
		1,000 RLU		5,000 RLU		10,000 RLU		50,000 RLU	
NG	(21)	17	(81%)	4	(19%)	1	(5%)	0	(0%)
SG (<2.5 cfu)	(52)	51	(98%)	32	(62%)	32	(62%)	4	(8%)
LG (2.5-2 cfu)	(25)	25	(100%)	17	(68%)	11	(44%)	4	(16%)
MG (12-40 cfu)	(7)	7	(100%)	7	(100%)	4	(57%)	1	(14%)
HG (>40 cfu)	(1)	1	(100%)	1	(100%)	0	(0%)	0	(0%)

トイレの定期清掃は、細菌の拡散リスクの防止に重要である。しかしながら、綺麗に洗浄・消毒したステンレス鋼表面は、40-80RLU であるのに対して、異なる場所から高い値の ATP+AMP 値が検出された。過去の文献では、よく清掃された表面は、<250RLU で、一方あまり清掃されていない表面は>1,000 という結果が示されている。現在のトイレ設備の清掃方法では、十分な衛生環境を維持できているとはいえない。より効果的な洗浄方法の教育やトレーニングが求められる。

ATP+AMP 検査や微生物学的検査によって、微生物による環境汚染や持続的な汚染状態が明らかになり、病院における清掃方法の効果を定量することもできた。

トイレや手洗い設備は、多くの人々が使用するので接触のリスクが高まる。汚染した手から細菌が環境にうつることが知られている。最初の汚染から数時間あるいは 1 日は、さまざまな細菌が手や環境表面で生きることができる。環境表面の清掃や消毒は繰り返し実行するタスクであり、プロフェッショナルな手法が求められる。きわめて細かく注意深い清掃や消毒がクロスコンタミネーションを防ぐのに必要である。

ATP+AMP 検査は、環境表面における微生物汚染の迅速で簡便に評価する優れたツールである。

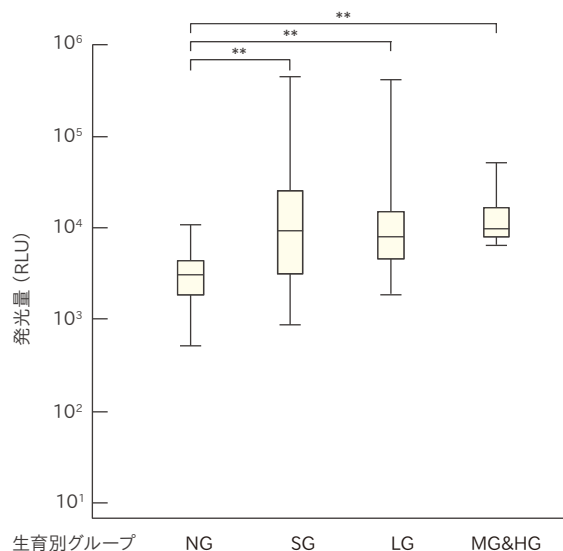


図 4 生育別グループと ATP+AMP 値

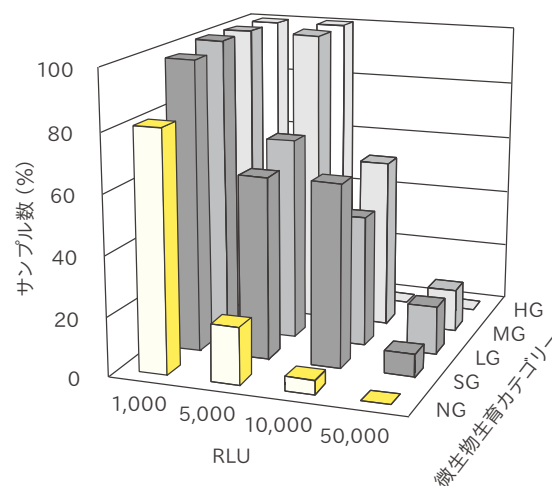


図 5 生育別グループの ATP+AMP 値における好気コロニー数の比率

発行元

kikkoman

キッコマンバイオケミファ株式会社

〒105-0003 東京都港区西新橋2-1-1

TEL 03-5521-5490 FAX 03-5521-5498

<http://biochemifa.kikkoman.co.jp>

biochemifa@mail.kikkoman.co.jp