

氏名	あべ しんたろう 安部 伸太郎		
学位の種類	博士（医学）		
報告番号	乙第1789号		
学位授与の日付	令和1年10月3日		
学位授与の要件	学位規則第4条第2項該当（論文博士）		
学位論文題目	Bacterial contamination upon the opening of injection needles （注射針開封時の細菌汚染）		
論文審査委員	（主査）福岡大学	教授	高田 徹
	（副査）福岡大学	教授	松永 彰
	福岡大学	講師	石井 一成

内容の要旨

【目的】

注射針の汚染は注射器を介して輸液路の感染につながる可能性がある。近年、輸液路の細菌汚染により敗血症がおこり、人工呼吸の長期化や集中治療室滞在日数、入院日数の増加などの影響があるとの報告がなされている。注射針開封時の主な開封方法（台紙を剥がして開封する「めくり法」と台紙をつき破って開封する「つき破り法」）による注射針の汚染について、台紙表面の汚染の程度、台紙表面の乾湿、台紙の材質（紙製とビニール製）などの因子別に定量化して評価した。

【対象と方法】

メチシリン感受性黄色ブドウ球菌基準株を使用した。菌液を10時間振盪培養し、578nmの吸光度計で吸光度を0.3になるように生理食塩液で希釈して使用した。この菌液の濃度は 10^8 colony-forming units/ml (CFUs/ml)であることを実験の際に確認した。生理食塩液で希釈して濃度が 10^8 、 10^7 、 10^6 、 10^5 、 10^4 、 10^3 CFUs/mlの6種類の濃度の菌液を作製した。

実験的汚染の検討では、台紙の素材が紙製の注射針120本、ビニール製の注射針120本の計240本をそれぞれめくり法60本、つき破り法60本の2群に分けた。それぞれの濃度の黄色ブドウ球菌液(10 μ L)をめくり法では開封する際に把持する部分の内側に、つき破り法では台紙表面が破れて針基が出てくる部位の表層にクリーンベンチ内で塗布した。塗布後、各群の半数をすぐに開封して湿潤群とし、残りの半数をクリーンベンチ内

で1時間乾燥させて乾燥群とした。めくり法やつき破り法で取り出した注射針の針基の部位別の汚染度を調べるために、まず針基の側面を寒天培地の上に乗せて側面の全てが寒天培地と接するように転がして針を回転させ、次に底面を寒天培地に押しつけた。最後に内腔の汚染を調べるために、生理食塩液を0.1ml吸引した1mlシリンジを注射針に接続して生理食塩液0.1mlを全て寒天培地上に排出した。寒天培地を37℃で30時間培養し、コロニーの形成数を計測した。

臨床的汚染の検討では、台紙の素材が紙製の注射針75本、ビニール製の注射針75本の計150本を使用し、5人の麻酔科医のそれぞれ乾いた手、生理食塩液で濡れた手、唾液の付着した手を注射針の台紙に擦り付けた後に、つき破り法で開封して注射針の針基の汚染を定量化した。定量の方法は実験的汚染と同様の方法で行った。各麻酔科医の唾液を希釈して寒天培地上で培養し、コロニーの形成数を計測して唾液の菌の濃度を測定した。

統計はCochran-Mantel-Haenszel検定、Jonckheere検定、Fisherの正確検定を用い、p値が0.05未満を有意とした。

【結果】

実験的汚染では、菌液が 10^3 CFUs/mlの濃度では汚染は認められず、 10^4 CFUs/ml以上の濃度では濃度依存性に針基の側面や底面の汚染は増加した ($p<0.01$)。つき破り法はめくり法に比べて、有意に針基の側面や底面が汚染していた ($p<0.01$)。内腔はいずれの開封方法や濃度においても汚染がほとんど無く、有意な違いは無かった。つき破り法における開封部の菌液が湿潤な場合、乾燥しているよりも針基は有意に汚染していた ($p<0.01$)。台紙の素材(紙製とビニール製)の違いによる針基の汚染は有意差が無かった。

臨床的汚染では、乾いた手と生理食塩液で濡れた手では針基の汚染は側面・底面・内腔のいずれもほとんど汚染しておらず、有意な違いは無かった。唾液が付着した手では、乾いた手や生理食塩液で濡れた手と比較して針基の側面や底面が有意に汚染していた ($p<0.01$) が、内腔の汚染はほとんど無かった。台紙の素材(紙製とビニール製)の違いによる針基の汚染は有意差が無かった。各麻酔科医の唾液の菌数の平均は 2.36×10^7 CFUs/mlであった。

【結論】

めくり法では注射針の台紙の菌数の増加に伴う針基の汚染は無く、本来の開封方法として推奨される。つき破り法では台紙の汚染が軽度である場合、針基が汚染することは少ないが、濃度依存性に針基の汚染の危険性は増大する。したがって、清潔が求められる医療現場においては、めくり法で注射針を開封することが望ましい。

審査の結果の要旨

令和元年8月7日14時より、医学部研究棟本館3階A会議室において、略歴紹介等約2分、発表時間約20分、質疑応答時間約23分、計約45分での博士学位申請論文審査が行われた。

本論文は、注射針開封時の主な開封方法として用いられる二つの方法、即ち、①台紙を剥がして開封する「めくり法」と②台紙をつき破って開封する「つき破り法」との間で、開封時の注射針の汚染について、台紙表面の汚染の程度、台紙表面の乾湿、台紙の材質（紙製とビニール製）などの因子別に定量化し比較評価したものである。

主要な結果として、実験的汚染では、①菌液が 10^3 CFUs/mlの濃度では汚染は認められず、 10^4 CFUs/ml以上の濃度では濃度依存性に針基の側面や底面の汚染は増加した($p < 0.01$)。②つき破り法はめくり法に比べて、有意に針基の側面や底面が汚染していた($p < 0.01$)。③内腔はいずれの開封方法や濃度においても汚染がほとんどなく、有意な違いは無かった。④つき破り法における開封部の菌液が湿潤な場合、乾燥の場合よりも針基は有意に汚染していた($p < 0.01$)。

臨床的汚染では、①乾いた手と生理食塩液で濡れた手では針基の汚染は何れもほとんどみられなかった。②唾液が付着した手では、乾いた手や生理食塩液で濡れた手と比較して針基の側面や底面が有意に汚染していた($p < 0.01$)が、内腔の汚染はほとんど無かった。③台紙の材質の違いによる針基の汚染は有意差がなかった。

以上の結果より、清潔が求められる医療現場においては、めくり法で注射針を開封することが望ましい、と結論された。

1. 斬新さ

二つの方法間で、菌の汚染率を比較した報告は過去にもみられる。しかし、本試験の様に注射針の部位別の汚染度を定量的に解析した報告は無い点が斬新であり、用いられた菌種も以前の報告とは異なっている。

2. 重要性

注射針の汚染は注射器を介して輸液路の感染につながる可能性がある。輸液路の細菌汚染は敗血症の原因となり、清潔手技であるべき注射針の開封において、汚染を生じないことは感染対策の基本である。「つき破り法」は開封方法として推奨されていないが、日常診療の場面ではしばしば見受けられ、開封法による開封時の注射針の汚染の有無と程度を検討することは重要である。本研究では実験的汚染においては輸液路の汚染時に問題となる頻度の高い黄色ブドウ球菌の国際標準株が用いられた。また、臨床的汚染においては5名の臨床医の乾いた手、生理食塩液でぬれた手、唾液の付着した手による汚染での検討が加えられ、実際の診療場面に近い想定に基づく実験

がなされており、臨床的観点からも意義が認められる。

3. 実験方法の正確性

実験的汚染では注射針計 240 本につき、段階希釈した黄色ブドウ球菌の各濃度で、臨床的汚染では注射針計 150 本、各実験設定につき 10 本単位で検討がなされ、再現性が担保されている。適切な統計学的解析法により有意差検定による比較検討が加えられている。

4. 表現の明確さ

シンプルだが明快な実験および結果であり、明確なプレゼンテーションがなされた。

5. 主な質疑応答

Q: つき破り法を看護師の教科書や医療書などで調べてみたが、見当たらなかった。実際に臨床現場ではどれくらいつき破り法が行われているものなのか。

A: 以前、同じ疑問を私も抱いたことがあり、福岡大学麻酔科の同僚に確認したところ、約 3 割がつき破り法を行っていた。看護師がどのくらいの割合でつき破り法を行っているのかは把握できていないが、つき破り法を行っている看護師がいるという話は聞いている。

Q: 今回の実験で菌体として黄色ブドウ球菌を使用しているが、その理由は何か。

A: 常在菌であり、カテーテル関連血流感染症の原因菌の 1 つであること、副論文などで当教室でも使用していた標準株であることなどから、メチシリン感受性黄色ブドウ球菌を使用した。

Q: 論文の考察において、菌種によるバイオフィーム形成能力の違いが影響する可能性があるかと考察していた。大腸菌のようなグラム陰性菌では、鞭毛があり、移動して付着してバイオフィームを形成するというようなイメージをもっているが、黄色ブドウ球菌において、どのようにバイオフィームが形成されるものなのか。

A: 菌が付着してその場で増殖し、その周りにバイオフィームが形成されると考えられる。

Q: バイオフィームを形成するには、浮遊している菌が定着して一定時間経過し、菌体成分のようなものが出てこないバイオフィームを形成できないのではないかとと思われるが、どのように考えているか。

A: 今回の実験では菌液を台紙の表面に塗布した後、1 時間しか経過していないので、取り出した針基の汚染の程度とバイオフィーム形成能力の関連性はあまりない可能性もあり、今後の検討課題である。

Q: 今回の論文では引用されていないが、1987年に日本看護研究学会雑誌という雑誌に「ディスポーザブル注射針の開封方法と汚染について」という論文が出ているが、その論文は知っているか。

A: 知っている。

Q: その論文と、今回の論文の相違点はどうか。

A: その論文では、取り出した注射針全体を培養液に浸して培養し、培養液が白濁して菌が増殖するかどうかを定性的に調べた論文であり、今回の論文では注射針の部位別の汚染度を定量的に調べたことがその論文との相違点である。

Q: その論文では表皮ブドウ球菌を使用しており、今回の実験では黄色ブドウ球菌が使用されている。その菌種の違いが、結果に違いをもたらす可能性はどうか。

A: そのことに関しては今後の検討課題ではあるが、現時点ではそれほど結果に違いがないのではないかと考えている。

Q: シンプルで分かりやすい実験であり、つき破り法が注射針の汚染をもたらす可能性があるということがわかった。臨床現場では、注射針の包装が雑然と置かれているが、そのまま（台紙の表面を触らずに）つき破り法で開封したら注射針の汚染はどのようになるかと考えているか。

A: 今回、台紙の表面を触らずに開封した実験は行っていないが、箱から取り出して台紙の表面を触らずに開封した場合、注射針の汚染は非常に少ないと考えられる。

Q: 今回、内腔の汚染は非常に少なかったが、一部汚染が見られていた。これは臨床的に影響するものか。

A: わずかな汚染がどの程度臨床的に影響を及ぼすのかは今後の検討課題だと考えている。菌が1つでも入っていると、増殖して影響を及ぼす可能性はある。今回、内腔の汚染は生理食塩液0.1mlを通して培養することで行っているが、その方法で完全に内腔の汚染を評価できていない可能性もある。方法論として現在考えているのは、取り出した注射針で培養液を吸引し、シリンジごと培養して培養液が菌の増殖で白濁するかどうか、定性的な評価を行うことで内腔が汚染しているかどうかを確認することができるのではないかと考えている。

Q: 論文の菌数を示す結果の図において、線が一本しかないのは、どのようなことを示しているのか。

A: 菌が全く検出されなかったということを示している。

Q: 副論文の手法も興味深かった。5 cmの寒天培地に10 cmのカテーテルをどのように

置いて、どのように実験を行うのか、方法論が良くわからなかったので示してほしい。

A:カテーテルが寒天培地を貫いたような形で作成しており、カテーテルを5 mm引き抜いて、反対側に5 mm引き戻すという操作を8時間毎に繰り返した。これは硬膜外麻酔でのカテーテル留置におけるカテーテル表面の菌の移動を調べた実験である。

Q:寒天培地は立ててあるのか、寝かせてあるのか。

A:寝かせてある。まず寒天培地を作製し、その上にカテーテルを置き、更にその上から再度培地を流して固めることでモデルを作製している。

Q:論文に掲載されている培地の写真で、菌の移動が0 mmでも培地の深部の色が変わっているが、どうしてか。

A:カテーテル表面での菌の移動の計測は、培地の色ではなくコロニーが形成されている部分を肉眼で計測している。菌が培地内に移動していなくても、培地表面のコロニーにより pH が下がることで培地内部が黄色に変化する。

Q:この論文のテーマは本来、我々感染制御部が行うような内容であり、シンプルな方法で明快な検討がなされたことに敬意を表したい。菌液を塗布した部位についての質問であるが、手で汚染しやすいところだからという理由でその部位（めくり法では把持する部位の台紙の裏側、つき破り法では台紙表面の針基が突出する部位）に塗布したのか。

A:めくり法では、汚染した手で把持して開封することを想定して把持する部位に菌液を塗布した。つき破り法では、把持する部位に菌液を塗布してもつき破り法での汚染のリスクを評価することはできないと考え、針基が突出して出てくる部位に菌液を塗布した。

Q:基本的には接触によって汚染がおこることが考えられ、汚染しやすい部位ということで、めくり法では台紙の裏側、つき破り法では台紙の表側に菌液を塗布したという理由は理解できる。臨床的に考えると、理屈の上ではこの実験で行われたように、めくり法とつき破り法の間で違う部位に菌液を塗布してもリスクを評価することは可能であろう。しかし基礎的な科学実験として厳密に2つの方法を比較するのであれば、菌液を塗布する部位を同一にする必要があるのではないか。めくり法とつき破り法のどちらにおいても、台紙の表面と裏面の両方に菌液を塗布するという方法で塗布する部位を統一できたのではないか。

A:たしかに仰る通り、その方法で同一の条件で厳密に比較することができたのではないかと考えられる。

Q:手術室で医療者はマスクをしており、医療者の唾液の飛沫が飛散することは無いので、

実験において唾液を使用したのは患者の唾液が手に付着することを想定したものである。臨床的汚染での検討で培養して確認しなかったのは黄色ブドウ球菌なのか、それとも口腔内の菌なのか。

A: BHI 寒天培地は多くの種類の菌を培養することができ、臨床的汚染での検討においては黄色ブドウ球菌だけでなくその他の菌も培養して菌数を計測しているが、菌の種類は同定していない。

Q: 口腔内の菌は嫌気性菌や微好気性菌が多く、実験では空気中で培養したとのことであるので、注射針の汚染は計測されたものよりも実際はさらに多かったのではないか。

A: 今回の実験では嫌気性菌の計測は行っていないので、今後同様の実験を行う場合はその点も検討した方が望ましいと考えられる。

Q: 論文での英語の表現で、「gloved fingers licked by anesthesiologists」とあるが、実際にはどのように唾液を採取したのか。

A: 手袋を着用し、指で自分の口腔内をぬぐうようにして唾液を採取している。

Q: 確認であるが、実験的汚染での検討は黄色ブドウ球菌の菌液を使用しているが、臨床的汚染での検討においては黄色ブドウ球菌の菌液を使用していない、という理解で正しいか。

A: 正しい。臨床的汚染での検討においては黄色ブドウ球菌の菌液は使用しておらず、唾液中の菌や手に付着した菌からの汚染のみを検出している。

Q: 手袋に付着した唾液の量は個人差があると考えられるが、wet hand 群では $10\mu\text{l}$ の生理食塩液を使用しており、saliva hand 群では唾液の量は $10\mu\text{l}$ と比較してどうだったと思われるか。

A: 実際に実験を行っている際、唾液の量が麻酔科医によって差があるような印象を受けた。厳密に実験を行うためには、ピペットで $10\mu\text{l}$ の唾液を吸引して台紙に塗布した方がより正確に評価できたのではないかと考えられる。

Q: 直感的には、唾液の量は $10\mu\text{l}$ より多いか少ないか、どのように感じたか。

A: $10\mu\text{l}$ の生理食塩液と同じような濡れ方で唾液を塗布していた麻酔科医と、口腔内が乾燥していたためか $10\mu\text{l}$ より少ないと思われる濡れ方で塗布していた麻酔科医とがみられた。

Q: 他に副査や聴衆の方で、何か質問等はあるか。
特に無いようなので、これで審査を終わる。

本論文は、斬新さ、重要性、実験方法の正確性、表現の明確さおよび質疑応答内容の妥当性から判断し、論文博士の学位論文に値すると評価された。