

Pseudomonas 属 (緑膿菌, *P. cepacia*, *P. maltophilia*) に対するヒビテン感受性について

田 中 房 江*
伊 藤 みはる**
徳 竹 恵美子***
清 水 妙 子****
高 野 みどり****
渡 辺 千枝子****
山 田 喜 紹****

I はじめに

近年 Opportunistic Infection 日和見感染が問題となっており、しばしば臨床にて遭遇する。この日和見感染の定義には二つの条件があると言われている。^{1), 2)} ひとつは病原性がほとんどないとされている弱毒菌あるいは日和見菌によって起こること、他方は Compromised host (感染抵抗力が低下した宿主) が存在することである。とくに抗生剤、抗腫瘍剤、免疫抑制剤、消炎剤などのめざましい進歩と使用により、体内における細菌叢の変化と宿主の感染に対する全身の抵抗力の減弱を生じる。抵抗力の減弱した宿主、すなわち未熟児、新生児、高齢者、さらに基礎疾患を有するために感染に対する抵抗力の低下のある場合などに感染症が起りやすいと考えられる。

病原菌による感染は、伝染源の隔離、感染経路の遮断、生体側の抵抗力を増強し感受性を少なくすることなどにより予防できる。しかし日和見感染を起こすのは抵抗力の減弱している宿主であり、したがって患者の集まる病院などではその頻度は高い。このように抵抗力の減弱している患者を感染症から守る極めて重要な方法のひとつとして消毒がある。現在消毒薬として、クロールヘキシジン (ヒビテングルコネート)、両面界面活性剤 (ハイパール No. 3)、逆性石けん (オスパン) など多くの種類がある。これらの消毒薬の使用濃度と各種細菌に対する殺菌効果との関係については、多くの報告がある。^{3), 4), 5), 6)} とく

* 信州大学医学部附属病院放射線科看護婦

** 信州大学医学部附属病院第三内科看護婦

*** 長野県身体障害者リハビリセンター看護婦

**** 信州大学医療技術短期大学部看護学科

に日和見感染の原因の1つとして注目されている pseudomonas 属の中では菌株により、クロールヘキシジン（ヒビテングルコネート）の殺菌効果の変動域が大きいとの報告が多い。小林ら⁷⁾はヒビテンの常用濃度とされている0.02%, 0.05%では *Pseudomonas cepacia* に対してほとんど殺菌効果を示さないことを報告している。

そこでわれわれは、院内感染の原因菌として問題視されている *Pseudomonas* 属のうち、緑膿菌, *P. cepacia*, *P. maltophilia* などの20種の菌が、手洗い常用濃度を含めヒビテンに対してどこまで感受性を示すかを実験、検討したのでその結果を報告する。

II 材料と方法

1 消毒薬

ヒビテングルコネート液〔グルクロン酸クロールヘキシジン20% (w/v) 含有〕0.02%, 0.05%, 0.2%, 0.5%, 1%, 2%を使用した。

なお消毒液9mlに菌液1mlを加えるためにあらかじめ薬液濃度を調整し、上述の各濃度より稀釈されないようにした。

2 試験菌

- ① *Pseudomonas cepacia* 9株
- ② 緑膿菌 6株

表1 試験菌の由来

菌種	由来
<i>Pseudomonas cepacia</i>	① 病名不明, 尿より分離
	② 膀胱炎患者のカテーテル尿より分離
	③ 脊椎損傷患者の尿より分離
	④ 糖尿病患者のカテーテル尿より分離
	⑤ 頸骨骨折で膀胱炎を併発した患者の尿より分離
	⑥ 骨髄炎患者の膿より分離
	⑦ 中耳炎患者の膿より分離
	⑧ 脳出血患者のカテーテル尿より分離
	⑨ 不明
緑膿菌	⑩ 尿路感染症の患者の尿から分離
	⑪ 尿路感染症の患者の尿から分離
	⑫ 尿路感染症の患者の尿から分離
	⑬ オーストラリア メルボルンより
	⑭ アメリカ パークデービスより
	⑮ 尿路感染症の患者の尿から分離
<i>Pseudomonas maltophilia</i>	⑯ 尿路感染症の患者の尿から分離
	⑰ 尿道損傷患者のカテーテル尿より分離
	⑱ 病名不明 咽頭よりスワブにて分離
	⑲ 肝硬変, 肝癌の患者の喀痰より分離
	㉑ 病名不明 胆汁より分離

③ *Pseudomonas maltophilia* 5株

試験菌の由来は表1の通りである。

3 試験菌の培養

普通寒天培地に緑膿菌は37°C, また37°Cでは増殖しにくい *P. cepacia*, *P. maltophilia* については30°Cで一昼夜培養した。これらの供試菌を生理食塩水 50ml に溶解し, フラッシュミキサーで十分攪拌した後その菌液を実験に使用した。同時にその菌液 1ml あたりの菌数を測定し, その結果を表2に示した。

表2 試験菌の接種菌数 (/ml)

菌の種類	菌液菌数 (/ml)	
<i>Pseudomonas cepacia</i>	1	5.5×10^8
	2	6.5×10^7
	3	3.2×10^8
	4	4.0×10^8
	5	3.2×10^8
	6	6.9×10^8
	7	5.1×10^8
	8	1.2×10^8
	9	9.0×10^7
緑膿菌	10	9.9×10^7
	11	6.3×10^7
	12	5.1×10^8
	13	5.0×10^8
	14	6.7×10^8
	15	1.2×10^9
<i>Pseudomonas maltophilia</i>	16	4.1×10^9
	17	9.5×10^8
	18	2.6×10^8
	19	9.6×10^7
	20	1.1×10^8

4 実験方法

1) 実験1

それぞれの濃度の消毒液 9ml を試験管にとり, 菌液 1ml を混和させ十分攪拌し, 30秒, 1分, 3分, 5分, 10分, 24時間後に1白金耳を2本の普通ブイヨン培地 5ml に接種した。緑膿菌は37°C, *P. cepacia*, *P. maltophilia* は30°Cで培養し, 24時間後, 48時間後の菌の増殖の有無により殺菌効果を判定した。なお実験中は恒温槽で消毒液を25°Cに保つようにした。

2) 実験2

有機物存在下における各種ヒビテン濃度の殺菌効果を調べるために, ウマ血清を5%添加し実験1と同様の方法で行なった。

III 実験成績

1 各種濃度消毒液の殺菌効果

P. cepacia 9株については表3の結果が得られた。すなわち, 殺菌効果のみられたものは, 0.02%液では3分以内に1株 (No.6) 5分以内に2株 (No.4, 5) 10分以内に1株 (No.1) であった。0.05%液では30秒以内に2株 (No.4, 6) 3分以内に2株 (No.1, 2) 5分以内に2株 (No.5, 9) であった。0.2%液では30秒以内に5株 (No.1, 2, 4, 5, 6), 1分以内に1株 (No.9) 5分以内に2株 (No.3, 8) 10分以内に1株 (No.7) であった。0.5%液では, 30秒以内に6株 (No.1, 2, 4, 5, 6, 9) 3分以内に2株 (No.3, 8) 5分以内に1株 (No.7) であった。1%液では, 30秒以内に7株 (No.1, 2, 4, 5, 6, 8, 9) 3分以内に1株 (No.3), 5分以内に1株 (No.7) であった。2%液では30秒以内に7株 (No.1, 2, 4, 5, 6, 8, 9) 1分以内に1株 (No.3) 3分以内に1株 (No.7) であった。

表3 ヒビテン各濃度消毒液に対する殺菌効果

No. 1.

ヒビ テン 濃度 %	植 え つ 時 間	血 清 添 加											
		30''	1'	3'	5'	10'	24°	30''	1'	3'	5'	10'	24°
1	0.02	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	-	-
	0.05	+	+	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-
	0.2	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-
	0.5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
2	0.02	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	-
	0.05	+	+	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-
	0.2	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-
	0.5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
3	0.02	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+
	0.05	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+
	0.2	+	+	+	-	-	-	+	+	+	+	+	-
	0.5	+	+	-	-	-	-	+	+	+	-	-	-
	1	+	+	-	-	-	-	+	+	+	-	-	-
	2	+	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-
4	0.02	+	+	+	-	-	-	+	+	+	+	+	-
	0.05	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	0.2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	0.5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
5	0.02	+	+	+	-	-	-	+	+	+	+	+	+
	0.05	+	+	+	-	-	-	+	+	+	-	-	-
	0.2	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-
	0.5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
6	0.02	+	+	-	-	-	-	+	+	+	+	+	-
	0.05	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	0.2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	0.5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
7	0.02	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	-
	0.05	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	-
	0.2	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	+	-
	0.5	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	+	-
	1	+	+	-	-	-	-	+	+	+	-	-	-
	2	+	+	-	-	-	-	+	+	+	-	-	-
8	0.02	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	-
	0.05	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	-
	0.2	+	+	-	-	-	-	+	+	+	-	-	-
	0.5	+	+	-	-	-	-	+	+	+	-	-	-
	1	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-
	2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
9	0.02	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+
	0.05	+	+	+	-	-	-	+	+	+	+	+	-
	0.2	+	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-
	0.5	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-
	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

(+) は菌の増殖を示す

表4 ヒビテン各濃度消毒液に対する殺菌効果

No. 2.

	ヒビテン濃度 %	植えつけ時間							血清添加					
			30''	1'	3'	5'	10'	24°	30''	1'	3'	5'	10'	24°
10	0.02	+	+	+	-	-	-	+	+	+	+	+	-	
	0.05	+	-	-	-	-	-	+	+	+	-	-	-	
	0.2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
	0.5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
	2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
11	0.02	+	+	-	-	-	-	+	+	+	+	+	-	
	0.05	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	-	
	0.2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
	0.5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
	2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
12	0.02	+	+	+	-	-	-	+	+	+	+	+	-	
	0.05	-	-	-	-	-	-	+	+	+	-	-	-	
	0.2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
	0.5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
	2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
13	0.02	+	+	+	-	-	-	+	+	+	+	-	-	
	0.05	-	-	-	-	-	-	+	+	+	-	-	-	
	0.2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
	0.5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
	2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
14	0.02	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	-	
	0.05	+	+	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	
	0.2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
	0.5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
	2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
15	0.02	+	+	-	-	-	-	+	+	+	+	+	-	
	0.05	+	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	
	0.2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
	0.5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
	2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	

緑膿菌 6 株については表 4 の結果が得られた。すなわち殺菌効果のみられたものは、0.02%液では 3 分以内に 2 株 (No. 11, 15) 5 分以内に 3 株 (No. 10, 12, 13) であった。0.05%液では、30 秒以内に 3 株 (No. 11, 12, 13) 1 分以内に 2 株 (No. 10, 15) 3 分以内に 1 株 (No. 14) であった。

P. maltophilia 5 株については表 5 の結果が得られた。殺菌効果のみられたものは 0.02%液では 3 分以内に 1 株 (No. 20) 5 分以内に 1 株 (No. 16) 10 分以内に 2 株 (No. 17, 18) であった。0.05%液では、30 秒以内に 1 株 (No. 20) 1 分以内に 3 株 (No. 16, 17, 19) 3 分以内に 1 株 (No. 18) であった。

2 有機物存在下 (ウマ血清 5%添加) における各種濃度消毒液の殺菌効果

表5 ヒビテン各濃度消毒液に対する殺菌効果

No. 3.

	ヒビテン濃度%	植えつけ時間							血清添加					
			30''	1'	3'	5'	10'	24°	30''	1'	3'	5'	10'	24°
<i>P. maltophilia</i>	16	0.02	+	+	+	-	-	-	+	+	+	-	-	-
		0.05	+	+	+	-	-	-	+	+	+	-	-	-
		0.2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		0.5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	17	0.02	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	-	-
		0.05	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	-	-
		0.2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		0.5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	18	0.02	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	+	-
		0.05	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	+	-
		0.2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		0.5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	19	0.02	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	-
		0.05	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	-
0.2		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
0.5		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
1		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
2		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
20	0.02	+	+	-	-	-	-	+	+	+	+	-	-	
	0.05	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
	0.2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
	0.5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
	2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	

P. cepacia 9株については表3の結果が得られた。すなわち殺菌効果のみられたものは、0.02%液では10分以内に1株(No. 1)10分以上を要したものが5株(No. 2, 4, 6, 7, 8)であった。0.05%液では30秒以内に2株(No. 4, 6)3分以内に2株(No. 1, 2)5分以内に1株(No. 5)であった。0.2%液では30秒以内に2株(No. 4, 6)1分以内に2株(No. 1, 2)3分以内に1株(No. 5)10分以内に1株(No. 8)であった。0.5%液では30秒以内に5株(No. 1, 2, 4, 5, 6)3分以内に1株(No. 9)5分以内に1株(No. 8)であった。1%液では30秒以内に6株(No. 1, 2, 4, 5, 6, 9)1分以内に1株(No. 8)5分以内に1株(No. 3)で、10分以内に1株(No. 7)であった。2%液では30秒以内に7株(No. 1, 2, 4, 5, 6, 8, 9)3分以内に1株(No. 3)5分以内に1株(No. 7)であった。

緑膿菌6株については表4の結果が得られた。すなわち殺菌効果をみたものは、0.02%液では10分以内に1株(No. 13)10分以上を要したものが5株(No. 10, 11, 12, 14, 15)であった。0.05%液では1分以内に1株(No. 15)3分以内に3株(No. 10, 13, 14)5分

以内に1株 (No. 12) であった。

P. maltophilia 5株については表5の結果が得られた。殺菌効果をみたものは、0.02%液では5分以内に1株 (No. 16) 10分以内に2株 (No. 17, 20) 10分以上を要したものが2株 (No. 18, 19) であった。0.05%液では30秒以内に1株 (No. 20) 3分以内に4株 (No. 16, 17, 18, 19) であった。0.2%液では、30秒以内に3株 (No. 16, 17, 20) 1分以内に2株 (No. 18, 19) であった。

IV 考 察

P. cepacia 9株については、0.02% 3分以内、5分以内と比較的低濃度短時間で殺菌効果を示している菌株がある。茂田⁸⁾は、*P. cepacia* は0.05%のクロールヘキシジンに対してほとんどが抵抗性を示すと報告している。しかしわれわれの実験結果では、0.02%10分で殺菌効果を示さない菌株がいずれもヒビテンに対し強い抵抗性を持つと思われ、0.05%液では9株中2株に完全な殺菌効果を認めたのみであった。一方、手洗い常用濃度とされている0.02%の50倍あるいは100倍という高濃度で初めて殺菌効果を認める菌株も存在している。これらのことから同じ *P. cepacia* 間でも菌株により殺菌効果の差が大きいと思われる。五島は、ヒビテン (クロールヘキシジン) は菌種だけでなく菌株差が大きいと報告している。また *P. cepacia* 9株について血清添加下では、不添加の場合より殺菌効果が低下することをわれわれの実験では認めた。五島は血清添加下での実験では、*P. cepacia* においても緑膿菌においても消毒薬の効果の低下が認められなかったと報告しているが、富岡らは常用濃度とされている0.02%では *P. cepacia* をはじめとするブドウ糖非発酵性グラム陰性桿菌に、血清添加による効果減弱の傾向がみられるとしている。われわれの実験では、血清不添加の実験で0.02% 3分で殺菌効果を示したものが、血清添加の場合は0.02%10分でも効果を示さなかったり、0.2% 1分で殺菌効果を示したものが0.5% 3分ようやく殺菌効果を示したものがあった。また血清添加での実験は血清不添加の実験同様、菌株により消毒効果にかなりの差異がみられた。

緑膿菌6株については、いずれの菌株とも常用濃度とされている0.2%以下の濃度で殺菌効果を認めた。茂田は緑膿菌11株中、0.025%では2株がヒビテンに抵抗性を示し、0.2%では全ての菌株に殺菌効果が認められたと報告した。われわれの実験では緑膿菌に関しては菌株の個体差は認めるものの比較的低濃度で殺菌効果を示した。小林らの報告では、0.05%10分でも殺菌効果を認めない菌株があったとしているが、この報告でみられるほどの菌株による差異は今回は認められなかった。また血清添加下では、6株中5株が血清不添加での実験より殺菌に時間を要した。

P. maltophilia 5株については、比較的低濃度にて消毒効果を示しているが、0.02%において殺菌効果の出現時間が菌株によりかなりの差がみられた。一方、血清添加下の実験では富岡らの血清添加による *P. maltophilia* の効果減弱傾向の報告と同様、われわれも血清添加により殺菌に要する時間が延長することをいずれの菌株でも認めた。

このように *P. cepacia*, 緑膿菌, *P. maltophilia* の3種とも菌種間により殺菌効果の出現に差異がみられた。その上同菌種でも同一濃度での時間的差異, あるいは極端な濃度の違いがあり, このことから同菌種内でも個体差があると思われる。ことに *P. cepacia* については強いヒビテン抵抗性を示す菌株が存在することがわれわれの実験でも明らかになった。また, *P. maltophilia* 常用濃度内で殺菌効果が認められたが, 菌株によりかなりの時間的変動を示しているため, 消毒時間には注意を要する必要があると思われる。

V 終わりに

ヒビテンは多くの菌種に殺菌効果があるとされているが, この実験結果よりかなり強い抵抗性を示す菌株が存在することが明らかになった。また有機物存在下では消毒薬の効果が減弱するので, 消毒薬の使用にあたっては, 適切な消毒薬を選択し, 適切な濃度で使用する必要がある。

謝 辞

この実験をすすめるにあたって, 菌株の分与をいただいた信州大学医学部細菌学教室松本頼樹講師 信州大学医学部附属病院中央検査部細菌検査室に厚く御礼申し上げます。

参考文献

- 1) 池本秀雄: Opportunistic Infection の定義と実態. 臨床と細菌, 6: 137-142, 1973.
- 2) 山田喜紹他: 日和見感染について. 看護技術, 28: 925-932, 1982.
- 3) 尾台安子他: ヒビテンおよびハイパール消毒薬の持続効果に関する研究. 臨床看護, 5: 1496-1500, 1979.
- 4) 五島瑳智子: 一私の消毒薬に対する意見—殺菌効果の評価について. 臨床と細菌, 5: 229-233, 1978.
- 5) 富岡一他: 一私の消毒薬に対する意見—消毒薬の殺菌効果. 臨床と細菌, 5: 239-246, 1978.
- 6) 五島瑳智子: Opportunistic Infection と消毒薬. 臨床と細菌, 6: 177-182, 1979.
- 7) 小林順子他: Pseudomonas属 (緑膿菌, *P. cepacia*, *P. maltophilia*) に対するヒビテン, ハイパールNo.3, オスバン消毒薬の殺菌効果. 看護技術, 28: 2071-2077, 1982.
- 8) 茂田土郎: 一私の消毒薬に対する意見—抗菌力テスト実施上の問題点, および消毒薬使用上の問題点. 臨床と細菌, 5: 235-236, 1978.

(1982年9月30日 受付)