

環境由来およびヒト由来緑膿菌のバイオフィーム形成能と消毒薬感受性に関する研究

片田裕子¹⁾, 佐藤美友紀¹⁾, 今西信子²⁾, 吉井美穂³⁾, 落合 宏¹⁾

¹⁾ 富山医科薬科大学医学部看護学科人間科学1

²⁾ 同医学部和漢診療学講座

³⁾ 富山医科薬科大学医学部看護学科基礎看護学

要 旨

医療環境より緑膿菌の分離を試み、バイオフィーム形成能と消毒薬に対する感受性をヒト由来菌と比較しながら検討した。県内5医療・保健施設のナースステーション蛇口15箇所、排水口12箇所および尿器洗い場と風呂場の各1箇所、計29箇所のうち21箇所より緑膿菌が分離された(分離率72.4%)。環境由来21株のうち20株およびヒト由来10株全てがバイオフィーム形成能を有していた。これらの菌を、テフロンシート付着性SC(バイオフィーム形成状態)と浮遊性FCに区別して、塩化ベンゼトニウムBZC(0.1%と0.2%)、グルコン酸クロルヘキシジンCHD(0.1%と0.5%)およびグルタルアルデヒド(2%)の殺菌作用に対する感受性を調べたところ、前2者の消毒剤では、60分以下で接触時間が短くなるに伴い、FCに比べSCは、より低感受性であり、かつその傾向はヒト由来菌により顕著であった。これらのことより、ヒト由来菌は環境に戻すことは回避すべきであること、また感染予防対策上環境汚染緑膿菌の撲滅が必要とされた場合、少なくともBZCでは0.2%を、またCHDでは0.5%を用い、60分以上の放置すべきものと考えられた。

キーワード

緑膿菌, バイオフィーム, 消毒薬, 環境汚染

1. はじめに

緑膿菌 *Pseudomonas (Ps.) aeruginosa* は、芽胞非形成ブドウ糖非発酵(好氣的にのみブドウ糖を分解する)グラム陰性桿菌で、菌体の一端に1~2本の鞭毛を有し運動性を示す¹⁾。種名にある「aeruginosa」は緑色のさび(緑青)を意味し、典型菌の集落は緑色を呈し芳香族特有の臭気をだす¹⁾。自然界に広く生息するいわゆる環境汚染菌の代表的存在であり、河川水、湖水、汚水、土中などから、生活環境、特に湿潤な箇所に見い出され、ときには健康人の常在細菌叢として棲息している。特に病院や介護施設における生息箇所

については、流し、消毒液や医薬品の容器・保存棚(時に消毒液そのもの)、吸入装置、食物(特に青果物)、花器水や生花などからの分離報告がある²⁾。

一般的に、細菌は、自己の棲息にとって不利な環境におかれた場合、隣接した菌が互いに凝集し一塊となって存在している。この凝集には、細菌が産生する多糖体が関与し、それに菌は付着するように集まり、膜層即ちバイオフィームが形成される。このようなバイオフィーム形成は、自然界に生息している細菌の普遍的な姿と認識されてきている。一方、バイオフィーム形成は消毒薬耐性と関連している報告がある³⁾⁻⁵⁾。しかしながら、

病院・介護施設から分離された緑膿菌のバイオフィーム形成能や消毒薬感受性に関する研究はない。

緑膿菌は元来病原性は低く、主に日和見感染起炎菌として易感染性宿主に感染を起こすが、その病像は、軽症から致死的なものまで、宿主の抵抗力に依存して様々であるとされている。しかしながら、米国CDCによる病院感染の全国調査(1980～1992年)をみると、緑膿菌感染は退院10,000回あたり36回起こり、院内感染全体の9.9%を占め、院内感染起炎菌として大腸菌、黄色ブドウ球菌、腸球菌に次いで第4位を占めており、院内感染対策上、決して無視できない重要菌としてリストアップされている²⁾。さらに、本菌は常用抗生物質や消毒薬に自然耐性を示すものが多く、治療や感染予防には難渋を覚悟しなければならないことが指摘されている²⁾。このような多彩な生息場所や菌の持つ特性からして、看護領域にとっても重要な菌である。

このような背景のもと、本研究では、まず医療・保健施設環境から緑膿菌の分離を試み、分離緑膿菌株のバイオフィーム形成と消毒薬感受性との関連性をヒト由来緑膿菌と比較しながら検討した。

II. 研究方法

1. 緑膿菌分離の対象施設、分離箇所および分離期間

富山県内の5医療施設(A～E)を対象とした。その内訳は、2病院(8病棟)、1研究施設および2老人保健施設である。それらの施設内のナースステーション内の手洗い場、器具洗浄場の蛇口周囲および排水口より分離を試みた。一施設では、尿器洗い場と風呂場からの分離も加えた。分離期間は2002年6月26日から9月10日であった。分離に際しては、調査目的、実施内容、方法、結果の公表などについて文書および口頭で説明を行い、その結果了承を得た施設において行われた。

2. 検体の採取および菌の培養と同定

生理的食塩水(生食水)を綿棒につけ採取場所を十分拭き取った後、緑膿菌分離培地(緑膿菌分離用NAC寒天培地:日水)および普通寒天培地に塗布し、37°Cで培養した。使用した生食水、綿

棒、容器は全て滅菌したものを使用した。緑膿菌分離培地に増殖した菌は、緑膿菌同定パネル(DADE-Behring)およびチトクロームオキシダーゼテストによる生化学的性状に加え緑膿菌特異的16S rRNA遺伝子の検出を行い同定した。緑膿菌と同定された分離菌株は、ミューラー・ヒントン・ブロス(MHB, DIFCO)に接種し、37°Cで一晩培養し以下の実験に用いた。得られた新鮮培養液の一部は、グリセロール培地に移し-80°Cで凍結保存した。またパームスタンプチェック(環境微生物検査用培地添付資料日研生物医学研究所)の汚染度指標をもとに検体から得られた緑膿菌分離培地上の汚染度(重度、中等度および軽度)を判定した。

3. ヒト由来緑膿菌

富山医科薬科大学附属病院検査部細菌検査室より分与を受けた種々臨床材料由来の緑膿菌10株を用いた。

4. バイオフィーム形成試験

MHB一晩培養菌を遠心(3000回転, 10分)し集菌した。生食水にて2度遠心洗浄後、その菌体を滅菌医療用テフロンシート(テラオカ)、1cm×1cm、2枚を入れた0.2%グルコース含有生食水に浮遊させ、37°Cに放置した⁶⁾。7日後、テフロンシートの1枚を取り出し、1.5%グルタルアルデヒド次いで1%オスミウム酸で二重固定し、エタノールにて脱水後、第3級ブチルアルコールに置換し乾燥した試料を金蒸着し、走査型電子顕微鏡にて観察した。観察の結果、テフロンシートに付着菌が認められたものをバイオフィーム形成菌とした。さらに、残りの1枚のテフロンシートを生食水に移し強力ボルテックス処理により得られた菌を付着性菌 sessile cell (SC)とした。また、テフロンシートに付着せず浮遊していた菌を浮遊性菌 floating cell (FC)とした⁶⁾。

5. 消毒薬感受性試験

(1) 使用消毒薬と使用濃度

第四アンモニウム塩系消毒剤塩化ベンゼトニウム(BZC, 10 w/v% ハイアミン, 三共)、ビグアナイト系消毒剤グルコン酸クロルヘキシジン(CHD, 5 w/v% ヒビテン液; 住友製薬)、およびアルデヒド系消毒剤グルタルアルデヒド(GA,

20w/v%ステリハイド；丸石製薬)を用いた。これらの消毒剤は、BZCは0.1%および0.2%，CHDは0.1%および0.5%，またGAは2%になるように滅菌蒸留水で希釈して用いた⁷⁻⁹⁾。

(2)殺菌効果の測定：SC菌液およびFC菌液をそれぞれ適宜希釈し、所定濃度の消毒薬液に接種した。この際、常法に従い、作用温度は25℃とした。その後、15、30、60、120および180分に菌液の50μlを採取し、一般細菌検査用寒天培地(栄研)に塗布し、37℃一晩培養後、菌集落数(S)を算定した。各接触時間毎に、消毒薬非含有生食菌液においても同様に集落数(C)を算定し、計算式S/C×100により、生残率(%)を求めた。

6. 統計学処理

Studentのt検定を用いP≤0.01を有意水準とした。

III. 結果

1. 施設内環境からの緑膿菌分離状況

県内5医療・保健施設の主にナースステーション手洗い場の蛇口ハンドルと排水口、尿器洗い場および風呂場の計29箇所からの緑膿菌の分離状況を表1に示した。A施設においては、蛇口ハンドルと排水口の2箇所のうち後者から緑色素産生性緑膿菌が分離された。さらに尿器洗い場およ

び風呂場の2箇所から検体を採取し分離を試みたが、そこからは色素非産生の緑膿菌が分離された。B施設においては、手洗い場の蛇口ハンドルと排水口より採取した各2検体計4検体全てから緑膿菌が分離され、そのうちの2検体からの菌は緑色素を産生し、また1検体から分離された菌は黄色色素産生菌であった。C施設では、手洗い場の蛇口ハンドルと排水口各5箇所計10箇所より分離を試みた。このうち蛇口ハンドルからの5検体全てから、緑膿菌分離培地で集落形成がみられたが、同定試験の結果、類緑膿菌属となった。しかしながら、残りの排水口由来5検体の全てから色素非産生緑膿菌が分離された。D施設での手洗いハンドルから採取した6検体のうち、3検体から緑膿菌が分離され、うち1検体より黄色色素産生菌が分離された。一方、排水口では、5検体全てから緑膿菌が分離され、そのうち1検体由来菌は緑色素産生性であった。E施設では、手洗い場の蛇口ハンドルと排水口各1箇所計2箇所より分離を試み、すべての検体より色素非産生緑膿菌が分離された。

上記のように、5施設の蛇口ハンドル15検体のうち7検体から菌が分離された(分離率47%)。また排水口では12検体全てから分離された。他2箇所の緑膿菌分離陽性2検体を加えると、分離率は72.4%に達した。これらの検体から得られた

表1. 施設からの緑膿菌分離状況と分離株の色素産生性

施設名	施設内部署別にみた緑膿菌の分離状況と色素産生性			
	NS*の手洗いハンドル	排水口	尿器洗い場	風呂場
A	(+)**	(+) 緑	(+)	(+)
B	1	(+) 緑	(-)	(-)
	2	(+) 緑	(-)	(-)
C	1	(-)	(+)	(-)
	2	(-)	(+)	(-)
	3	(-)	(+)	(-)
	4	(-)	(+)	(-)
	5	(-)	(+)	(-)
D	1	(-) 黄	(+)	(-)
	2	(-)	(+)	(-)
		(+)	(+)	(-)
	3	(-) 緑	(-)	(-)
F	(+)	(+)	(-)	(-)

* ナースステーション

**:(+), (-) はそれぞれ分離陽性および陰性を示す

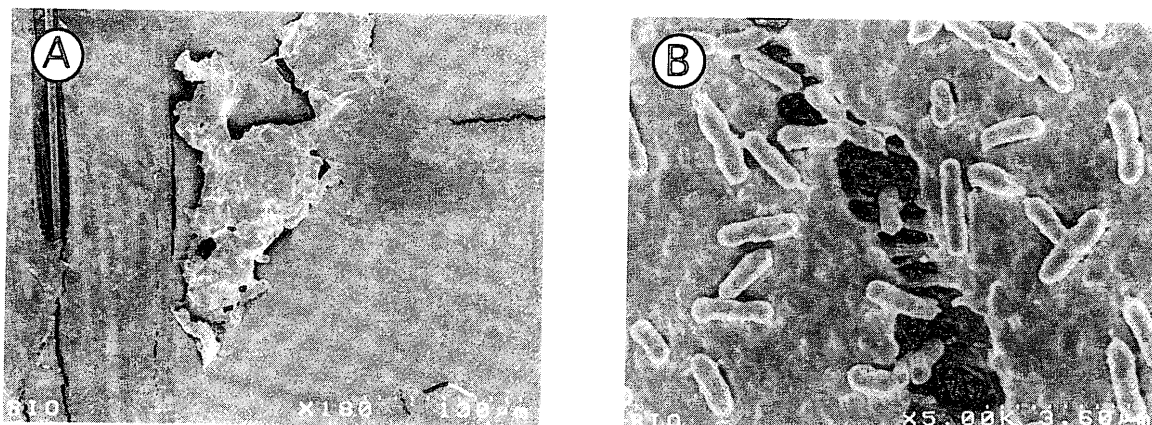


図1. テフロンシートに形成された緑膿菌のバイオフィーム

A: バイオフィーム像 (×180)

B: バイオフィーム中の緑膿菌 (×5,000)

緑膿菌分離培地上の集落数による汚染度指標によれば、1施設は、全ての分離場所で重度汚染、他の4施設は、軽度の汚染と推定された。また、色素産生性からみても、多様な緑膿菌が環境に生息していることが示唆された。

2. 環境由来緑膿菌およびヒト由来緑膿菌のバイオフィーム形成能

環境由来緑膿菌21株のバイオフィーム形成能をみると、1株を除き20株がバイオフィーム形成能があることが確認された。また、ヒト由来菌では10株全てがバイオフィーム形成能を有していた。走査電子顕微鏡により典型的なバイオフィームおよびバイオフィーム中の緑膿菌のテフロンシート附着像を図1に示した。

3. 環境由来およびヒト由来緑膿菌の消毒薬感受性

環境由来緑膿菌のうちバイオフィーム非形成の1株を除く20株を用い、SCおよびFCに分けて、消毒薬の感受性を殺菌試験で検討した。図2に示した生残率は20株の平均値である。120分以上の処理では、どの消毒薬のどの濃度においてもSCとFCの区別なく生残率は0%であった。しかし、60分以内と消毒薬との接触時間が短くなると、FCに比べSCがの生残率が高い傾向が認められた。特に、BZC (0.1%) 30分接触の生残率をみると、SCの60.3%に対してFCは40.1%であり、

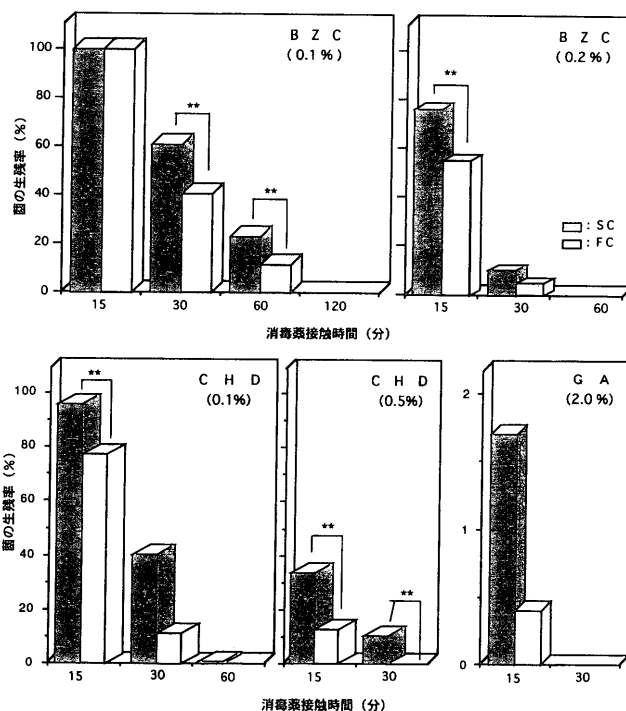


図2. 環境由来緑膿菌SCおよびFCの各種消毒薬に対する感受性

**P < 0.01

また60分接触では、SCの22.7%に対してFCは11.7%といずれ有意にSCが高い生残率を示した。さらに、BZC (0.2%) の15分接触では、SCの79.9%の生残率に対しFCは59.2%と、この場合も有意にSCが高生残率を示した。CHDの場合、0.1%の15分接触で、SCの96.1%の生残率に対しFCは77.6%、また0.5%では、15分処理および30分処理のSCとFCの生残率は、それぞれ13.4%対12.5%および5.0%対0%と、いずれの場合もSCの生

残率が有意で高かった。しかしながらGAにおいては、SCおよびFCともに15分の接触でわずかに生残は認められたが両菌群に有意差はなく、接触時間が30分以上になると、すべての菌の生残率は0%となった。

ヒト由来緑膿菌10株について同様の感受性試験を行い、10株の平均生残率を図3に示した。ヒト由来菌においても、SCの生残率がFCのそれらに対して高い傾向があった。特に有意にSCの生残率が高かったところは、BZCでは、0.1%の120分接触（2.2%対0%）、0.2%の60分接触（3.1%対1.7%）および15分処理（59.8%対42.5%）であった。また、CHDの場合、0.1%の120分接触（39.2%対16.6%）、0.5%では、30分接触（31.7%対24.9%）および15分接触（66.4%対51.7%）があげられた。さらに、GAにおいても、30分以上の接触では両菌ともに生残率は0%であったものの、15分接触では、SCは32.4%と、またFCにおいても15.4%を示した。但し、SCの生残率がFCのそれよりも有意に高かった。

環境およびヒト由来緑膿菌について、SCおよびFCに分けて消毒薬感受性の比較した結果を図4に示した。BZCの2濃度のどの接触時間においても、SCとFCのいずれにおいても、環境とヒト由来菌で感受性において有意差を認めたものは無かった。一方、CHDでは、SCにおいては、0.1%の接触時間60分と120分、またFCにおいては接触時間30分および60分の4比較群において、環境由来菌に対してヒト由来菌が有意に高い生残率を示した。高濃度の0.5%においても、ヒト由来菌SCとFC両者共に、接触時間15分および30分の短い接触時間のところで同様の有意差を認めた。GAは、接触時間30分以上ではどの群も生残菌は認められなかったが、SCにおいてのみ、接触時間15分において、ヒト由来菌は環境由来菌に対して有意に高い生残率を示した。

これらの結果より、環境由来およびヒト由来緑膿菌のいずれもFCに比べSCの方が消毒薬に対し低感受性を有すること、また環境由来菌に対してヒト由来菌の方が、特にCHDに対して、その傾向がより顕著であることが示唆された。

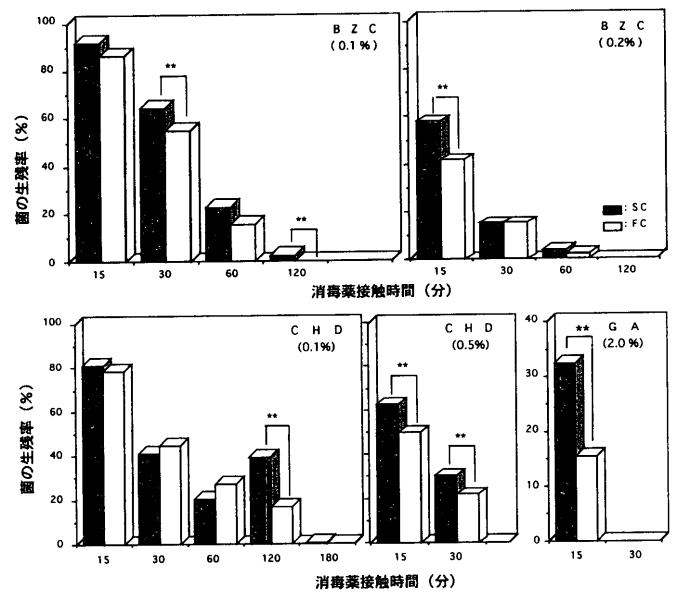


図3. ヒト由来緑膿菌SCおよびFCの各種消毒薬に対する感受性 **P<0.01

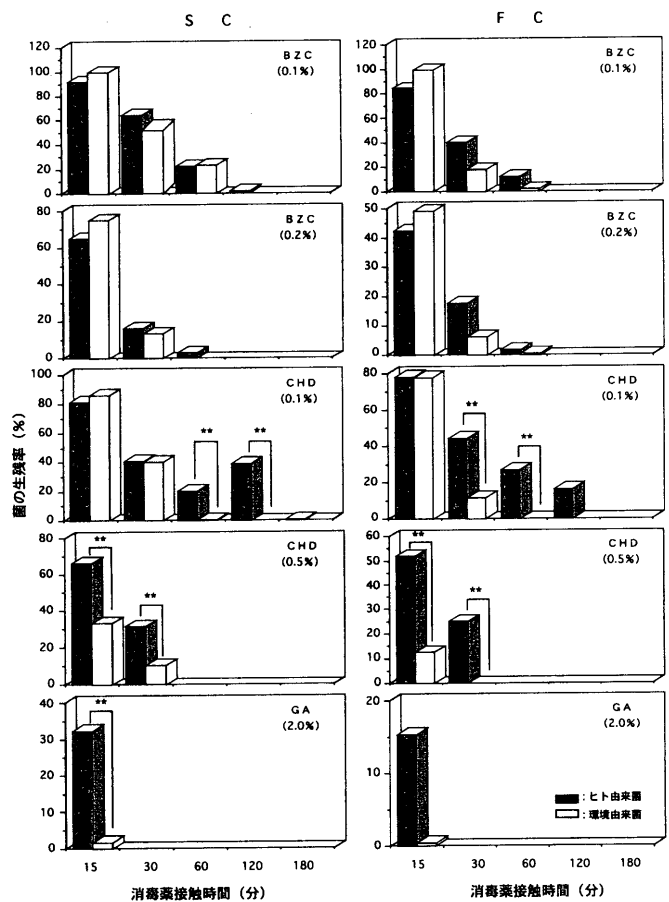


図4. ヒト由来および環境由来緑膿菌の各種消毒薬に対する感受性の比較 **P<0.01

IV. 考察

最近の緑膿菌ゲノムの塩基配列解析から、緑膿菌は非常に多くの環境センサーとそれらに対応した遺伝子発現制御機構を有し、緑膿菌の環境適応能力の高さが遺伝学的にも明らかにされてきた^{10), 11)}。さらに、多様な有機物質同化能力により種々薬剤を分解し、さらに膜通過性薬剤に対する能動的排出など薬剤に対する自然耐性の機構も明らかにされつつある^{10), 11)}。

緑膿菌の有する上記のような性状を反映し、本菌は環境特に水周りに常在し、そこが感染のリザーバになることが指摘されている¹²⁾。本邦においては、臨床材料からの本菌の分離状況に関する報告が多数あるが、医療・保健施設環境からの緑膿菌分離の報告は極めて少なく、間瀬らは病院のナースステーションなどにおかれているたわしが高度に汚染されていることを最近報告している³⁾。ドイツにおける小児科病棟からの報告では、蛇口、手洗い場などからの本菌の分離率は34～68%であった¹³⁾。本研究では、これらの報告をもとに、特に蛇口ハンドルや排水口等に焦点をあてて分離を試みた。その結果、分離率は72.4% (29検体中21検体で分離)と極めて高い頻度で分離された。このことから、院内感染対策からも施設環境の水周りは緑膿菌常在区域として認識しておく必要があることを強調しておきたい。

自然界における多くの微生物が、無生物体（無機物・有機物）表面に付着し、かつ集合して存在している。特に細菌は、自己の増殖に不利な環境におかれた場合、菌体表面に多糖体を主成分とするグリコカリックス (glycocalyx) あるいはスライム (粘液質) を産生し、それを介して互いに凝集し、被覆し、膜状を呈する状態、いわゆるバイオフィルムを形成している。長期間使用している環境備品や医療器具においても細菌はバイオフィルムの中で生息し、さらに生体内にあっては、フィブリン、血小板、あるいは血清蛋白などがこれに加わり、より強固なバイオフィルムを形成しているとされている。バイオフィルム形成菌は、各種消毒薬あるいは貪食細胞への抵抗性が高いことから、感染予防や治療上問題となっている。しかし

ながら、環境由来緑膿菌のバイオフィルム形成能を実際に調べた報告はない。今回の研究では、環境由来緑膿菌21株のうち1株を除き、20株でバイオフィルム形成能があり、環境に存在している緑膿菌にバイオフィルム形成能が高く保持されていることが明らかにされた。最近の知見によれば、菌体濃度依存的発現制御機構（細菌が持つ認識・応答機構で周囲の細菌の数を感知して応答する仕組み）がバイオフィルム形成に重要な役割を果たしているとされている。さらに、細菌が表面に付着してバイオフィルムを形成すると浮遊している細菌にはみられない数百種類の蛋白質を作ること、バイオフィルム形成のシグナルにはアミルホモセリンラクトン (N-3-oxo-dodecanoyl homoserine) が一部を担い、緑膿菌 *algC* 遺伝子を刺激することなど、そのシグナルへの菌体内の応答機構の研究がすすめられている^{14), 15)}。今回分離されたバイオフィルム非形成菌は、このような研究に有用な貴重な菌株と考えられる。また、緑膿菌が産生する色素は水溶性であり、緑色のピオシアニン、黄色がかった蛍光色素フロオレッシンに加え、褐色のピオルビンや赤色のピオメラニンが知られている¹⁾。今回の分離菌の色素産生をみると、緑色色素産生菌が5株、黄色色素産生菌は2株と色素産生株は少ないものであった。一方、緑膿菌と並び環境汚染菌の代表的存在でもあり、ピンク色の色素を産生するセラチア菌をみると、最近の分離菌が殆ど色素産生性は失っているとされている¹⁶⁾。この色素産生能の欠失の真の原因が解明されていないが、環境の変化、特に合成洗剤の普及は環境汚染菌の生態や性状を激変させたとの指摘もある (<http://village.infoweb.ne.jp/~shinikyogouseisenzai.html>)。今回のバイオフィルム形成菌や色素非産生株の分離状況を考慮すると、興味ある問題である。

従来の消毒薬感受性試験は、SCとFCを区別せず、直接FCを用いたものが殆どであり、またそれを区別しての試験においても、用いた菌株は標準菌株であり環境由来菌ではない。従って、知り得る限りにおいて、環境由来緑膿菌のバイオフィルム形成能の検証のみならず、SCとFCを区別して消毒薬感受性を測定したものは今回の研究が初

めてと思われる。現在、消毒薬の種類は多岐にわたり、それらはアルコール系、アルデヒド系、塩素系、ヨウ素系、フェノール系、第四アンモニウム塩系、両性界面活性剤系、ビッグアナイト系、過酸化物質およびこれらのうち2種類を配合した複合剤に分類されている¹⁷⁾。これらは、独自の作用機序や化学的特性を有し現在も頻用されているが、環境を対象するとなると、使用できる消毒剤にも限界がある。今回の研究では、有機物混在での殺菌力の低下、金属腐食性、水質汚濁防止法による規制などを考慮して、第四アンモニウム塩系のBZC、ビッグアナイト系のCHDおよびアルデヒド系のGA、計3剤を選択した^{8), 9)}。さらに、環境汚染の存在状態自身、静菌（生きてはいるが増殖はしていない）的要素が強いと考え、環境汚染防止の観点から敢えて殺菌作用に焦点をあて、消毒剤効果の3大要素である濃度・時間・温度を考慮し検討した。BZCは、元来殺菌作用を示す消毒剤であり、第四アンモニウム塩の陽荷電原子団が菌体表面へ吸着後、さらに菌体内部へ侵入し、主に細菌の呼吸阻害を誘発するとされている¹⁸⁾。CHDは、100 mg/L (0.01w/v%に相当)より低濃度域では静菌作用（細菌表面のリン酸基部位に吸着後、細胞膜透過性亢進を惹起）、またそれ以上の高濃度域では殺菌作用（菌体内高分子化合物の凝固・沈澱惹起）を示すことが知られている¹⁸⁾。従って今回の使用した濃度（0.1%および0.5%）は殺菌域であり、実験結果からも、接触時間依存的に殺菌作用があることが確認された。GAは、微生物に存在する種々の反応基（SH基、OH基、COOH基、NH基など）をアルキル化し、高分子合成阻害により殺菌作用を示す¹⁸⁾。現在、殺菌・殺ウイルススペクトラムの広さから、唯一高水準消毒薬にランクされているものであり、今回供試することにした¹⁸⁾。

環境由来菌のバイオフィーム形成性20株について、SCおよびFCに分けて行った消毒薬感受性試験の結果、SCはFCに比べBZCおよびCHDの殺菌作用に対してより抵抗性を示すことが明らかにされた。この結果は、辻らの報告に一致していた⁷⁾。GAに関しては、15分接触時間でも生残率は極めて低く（SCで1.7%、FCで0.4%）、30分以上

の接触時間では生菌は検出されなかった。このことは、高水準消毒薬であることを裏付けるものと考えている。さらに興味あることに、ヒト由来菌は、上記2剤に加えGAにおいてもSCがより抵抗性である傾向を認めた。また、ヒトの生体内由来と医療、保健施設環境由来菌間の比較においては、ヒト由来菌がSCとFCを問わず抵抗性が高いことが認められた。これは、環境に比べ、生体内では、多様な細胞性あるいは液性防御機構に加え抗生物質などの治療薬に遭遇し、それに打勝ったヒト生体由来の緑膿菌が選択されたことを反映しているのかもしれない。既に、BZCとCHDでは、緑膿菌を含めた多種のグラム陰性菌が抵抗性を獲得していることが報告され、特にBZCでは、0.1%液に緑膿菌が生息していたとの報告もある¹⁹⁾。もし、環境汚染緑膿菌による院内感染アウトブレイク発生など、感染予防対策上消毒が必要とされた場合、今回の結果から、既に菌はSCの状態にあるものと認識し、少なくともBZCでは0.2%を、またCHDでは0.5%を用い、60分以上の放置すべきものと考えられた。但し、GAに関しては、強い粘膜刺激などの毒性のため、環境への使用は禁忌とすべきものと思われた。

V. 結論

県内5医療・保健施設内諸部位からの緑膿菌分離を試み、分離菌株のバイオフィーム形成能、消毒薬感受性をヒト由来緑膿菌を比較しながら検討し、以下の結果を得た。

1. 県内5医療・保健施設内のナースステーション蛇口15箇所、排水口12箇所および尿器洗い場と風呂場の各1箇所、計29箇所より緑膿菌分離を試み、21箇所より分離し、分離率は72.4%に達した。
2. 環境由来21株のうち20株はバイオフィーム形成能を有していた。また、ヒト由来10株すべてが同形成能を有していた。
3. バイオフィーム形成性の環境およびヒト由来緑膿菌を、テフロンシート付着性SCと浮遊性FCに区別して、BZC (0.1%と0.2%)、CHD (0.1%と0.5%) およびGA (2%) の殺菌作用に対す

る感受性を調べたところ、FCに比べSCは、より低い感受性であることが明らかにされた。

4. 2 および 3 の結果から、感染予防対策上環境汚染緑膿菌の撲滅が必要とされた場合、少なくともBZCでは0.2%を、またCHDでは0.5%を用い、60分以上の放置すべきものと考えられた。

VI. 謝辞

使用した菌株の分与を賜りました富山医科薬科大学附属病院中央検査部細菌検査室の皆様、施設での調査を快く承諾していただきました富山県内5医療施設の皆様に深く御礼申し上げます。尚、本研究は、文部科学省科学研究費補助金（基盤研究C2，課題番号15592225）により行われた。

VII. 参考文献

- 1) 伊像部志津子：緑膿菌。細菌学，林 英生，竹田美 文編，pp205-214，朝倉書店，東京，2002.
- 2) 舟田 久：緑膿菌感染症の臨床と対策。臨床成人病24(12)：2186-2191，1994.
- 3) 間瀬清美，大蔵照子，川村久美子，長谷川忠男，鳥居啓三，太田美智男：病棟内スポンジタワシの細菌汚染と院内感染の原因としての可能性。第39回日本細菌学会中部支部総会予稿集 41，2002.
- 4) 太田さつき，小林 治：バイオフィルム形成菌による感染症の特徴，医学のあゆみ95(5)：302-308，2000.
- 5) Costerton JW：Introduction to biofilm. Antimicrob Agents 11：217-221，1999.
- 6) 藤巻一雄，池田 靖，高畑正裕，保田 隆：In vitroにおける緑膿菌のバイオフィルムの性状について。Chemotherapy 40(7)：886-893，1992.
- 7) 辻 明良，山崎智子，李 秀華，山口聖賀，五島瑳智子：バイオフィルム形成 *Staphylococcus aureus* および *Pseudomonas aeruginosa* に対する消毒薬の殺菌効果と作用温度による影響，日本環境感染雑誌13(1)：1-4，1998.
- 8) 辻 明良：細菌性バイオフィルムと消毒薬。感染症28(3)：107-111，1998.
- 9) 辻 明良：消毒薬耐性とその問題点。Infection Control 10 (2)：130-136，2001.
- 10) 江崎孝行：細菌のゲノム解読と臨床への利用。ゲノム解析と臨床微生物への利用。臨床と微生物 28 (6)：735-743，2001.
- 11) 福島 淳：細菌のゲノム解読と臨床への利用。緑膿菌。臨床と微生物 28 (6)：791-796，2001.
- 12) 小林 治，太田見さつき：病態の理解のために細菌バイオフィルムその生体への影響。臨床と微生物 25(4)：471-476，1998.
- 13) Bobhammer J, Fiedler B, Gudowius P, Hardt H, Romling U, Tummeler B：Comparative hygienic surveillance of contamination with pseudomonads in a cystic fibrosis ward over a 4-year period. J Hosp Infect 31, 261-274, 1995.
- 14) 永武 毅：主な日和見病原体とその感染像。緑膿菌と非発酵菌。臨床と微生物 29(3)：291-294，2002.
- 15) 柴田尚宏，土井洋平，荒川宜親：メトロβ-ラクタマーゼ産生グラム陰性桿菌。臨床検査 45(8)：840-850，2001.
- 16) 藪内英子：セラチア属菌。細菌学，林 英生，竹田美文編，pp384-387，朝倉書店，東京，2002.
- 17) 吉村正一郎，日比えい子，勝野陽子，早田道治，入山純司，石郷潮美，浅野裕子：各種消毒剤の殺菌効果の比較検討(第3報)。医薬ジャーナル 22(12)：2457-2462，1986.
- 18) 都築正和：殺菌・消毒マニュアル，医歯薬出版，東京，2000.
- 19) 小栗豊子：臨床検査の立場からみた日和見病原菌。臨床と微生物 29(3)：253-260，2002.

Comparative study on the biofilm forming activity and sensitivity against three kinds of disinfectants between environmental and clinical strains of *Pseudomonas aeruginosa*

Yuko Katada¹, Miyuki Sato¹, Nobuko Imanishi²,
Miho Yoshi, and Hiroshi Ochiai¹

¹ Department of Human Science, School of Nursing,
Toyama Medical and Pharmaceutical University

² Department of Oriental Medicine, Toyama Medical and
Pharmaceutical University

³ Department of Fundamental Nursing, school of Nursing,
Toyama Medical and Pharmaceutical University

Abstract

We attempted isolation of *Pseudomonas aeruginosa* (PS) from various places in the five health-care facilities in Toyama Prefecture and compared disinfectant-sensitivity between environmental and clinical strains, and between sessile cells (SC) and floating cells (FC) in the teflon-sheet biofilm formation test. When isolation was attempted from 29 places including water-plug and drainage areas in the nurse station, urinal-washing areas, and bath areas, PS could be isolated from as much as 21 places with the isolation rate of 72.4%. Furthermore, it has been shown that survival rates of SC are significantly higher than those of FC in the relatively shorter contact times (within 60 min) with benzethonium chloride (BZC, 0.1% and 0.2%) and chlorhexidine digluconate (CHD, 0.1% and 0.5%), and this tendency is shown more clearly in the clinical isolates. These data suggest that recontamination of health-care environments with the clinical isolates should be avoided and the treatment with BZC or CHD for more than 60 min is required for the clearance of PS from the environments if needed.

Key words

Pseudomonas aeruginosa, biofilm, disinfectant,
environmental contamination