

[Jpn. J. Hosp. Pharm.]
資料
20(5) 431-436 (1994)

メチシリン耐性黄色ブドウ球菌の消毒剤耐性株に対する
両性界面活性剤の殺菌効果

笹津備規*, 清水慶一, 白井裕二, 野口雅久, 河野 恵
東京薬科大学第2微生物学教室†

**Disinfective Effect of Both Ionic Surface Active
Agents on Antiseptic-Resistant Strains of
Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus***

MASANORI SASATSU*, KEIICHI SHIMIZU, YUJI SHIRAI,
NORIHISA NOGUCHI and MEGUMI KONO
Department of Microbiology, Tokyo College of Pharmacy†

(Received April 12, 1994)
(Accepted April 27, 1994)

The disinfective effects of both ionic surface active agents sold in Japan were evaluated in antiseptic-resistant strains of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. The four agents used in this experiment were TEGO®-51, HYPAL® No.20, HYPAL® No.5, and OBANOL (Mitsumaru). Minimum inhibitory concentrations (MICs) of OBANOL and HYPAL® No.20 were almost the same as all of the strains used by the broth dilution method. The MICs of HYPAL® No.3 and TEGO®-51 were higher than those of OBANOL and HYPAL® No.20. There was little difference in the MICs of the four agents to all strains used in the agar dilution methods. The MIC of OBANOL to antiseptic-high level-resistant strain was the same as that to the sensitive strains.

The effects of the concentration of the agents and the duration of exposure on the survival of the strains were also determined. The antiseptic-high level-resistant strain N20 was killed by OBANOL, HYPAL® No.20, and HYPAL® No.3 at the concentration of 0.031% within 1.5 minutes, but was not killed by TEGO®-51 under the same conditions. The effects of the four agents for disinfecting the hands were additionally evaluated. After 10^5 cells of bacteria were inoculated on hands, the hands were disinfected with the agents under the accompanying references. OBANOL killed all strains including the high-level antiseptic-resistant strain in three different experiments. From these results, the most effective agent for disinfecting against the high-level antiseptic-resistant strain among those agents used in this experiment was OBANOL.

Keywords—methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*, MRSA, antiseptic-resistance, evaluation, disinfection, both ionic surface active agents

† 東京都八王子市堀之内1432-1; 1432-1, Horinouchi, Hachioji-shi, Tokyo, 192-03 Japan

緒 言

われわれはメチシリン耐性黄色ブドウ球菌(MRSA)の消毒剤耐性について研究を進めており、わが国で分離されたMRSAより消毒剤耐性遺伝子を分離し、その全塩基配列を決定し、その性状を報告してきた¹⁻⁷⁾。

今回はこのような消毒剤耐性MRSA株に対する、日本で市販されている両性界面活性剤の消毒殺菌効果の比較を行った。両性界面活性剤は陽イオン性界面活性剤の殺菌力と陰イオン性界面活性剤の洗浄力を併せ持つ温和な消毒剤で毒性と刺激性は少ないことが知られている⁸⁾。手指、皮膚、粘膜、病室などの医療環境、あるいは医療器具の消毒に幅広く使用されている。このような市販の両性界面活性剤の消毒剤耐性MRSA株に対する殺菌効果について検討した。

実験材料・方法

1. 使用菌株

実験に使用した黄色ブドウ球菌(*Staphylococcus aureus*)は次の4株である。伝達性プラスミドpTZ22を持つMRSA N20株は臨床分離株であり、プラスミド上に存在する消毒剤耐性遺伝子により高度耐性を示す²⁾。消毒剤低度耐性を示すMRSA L20A株もまた臨床分離株であり、消毒剤耐性伝達性プラスミドpTZ21を持っている³⁾。RN2677株は消毒剤感受性、メチシリン感受性の黄色ブドウ球菌である³⁾。FDA209P株も消毒剤感受性、メチシリン感受性の通常の黄色ブドウ球菌の標準株として用いた。

2. 実験に使用した両性界面活性剤

実験に用いた両性界面活性剤は日本で市販されているテゴ-51(日本商事)、ハイパール No. 20(大日本製薬)、ハイパール No. 3(大日本製薬)、オバノール「ミツマル」(三丸製薬; 現サンケミファ)の4種類である。テゴ-51は塩酸アルキルジアミノエチルグリシンの10%溶液として市販されている。ハイパール No. 20は塩酸アルキルポリアミノエチルグリシン10%、およびポリオキシエチレンアルキルフェニルエーテル20%を含有し

ており、ハイパール No. 3は塩酸アルキルポリアミノエチルグリシン10%、およびポリオキシエチレンアルキルフェニルエーテル3%を含有している。オバノール「ミツマル」は塩酸アルキルポリアミノエチルグリシン6%、およびポリオキシエチレンアルキルフェニルエーテル4%を含有している。

3. 最小発育阻止濃度の測定

最小発育阻止濃度(MIC)の測定は日本化学療法学会標準法に準じ、ミューラーヒントンブロス(Difco Laboratories, Detroit, Mich)またはミューラーヒントニアガーを用いた液体培地希釈法⁹⁾および寒天平板希釈法¹⁰⁾により行った。

4. 接触時間と最小殺菌濃度の測定

接触時間と最小殺菌濃度の測定は、MIC2000システムを用いた石炭酸係数法の変法⁴⁾により行った。

5. 消毒剤による掌の殺菌効果の判定

消毒剤による掌の殺菌効果の判定は前報⁵⁾に従い行った。すなわち、被検菌株のミューラーヒントンブロスによる37°C一夜培養液を、滅菌生理食塩水にて10倍希釈し、この希釈菌液(約10⁷ cells/ml)を試験菌液として用いた。試験菌液10 µl(約10⁵ cells)を掌に塗抹し、被検消毒剤で添付文書に従い消毒した。消毒前と消毒後の掌をマンニット食塩寒天平板(日水製薬、東京)に押しつけ、37°C 48時間培養後、菌の生存の有無を確認した。

消毒剤の処置方法は、添付文書に従い消毒した後の掌の付着菌について調べた。

結果並びに考察

1. 液体培地希釈法によるMIC値の測定結果

液体培地希釈法によるMIC値の測定結果を表1に示した。オバノール「ミツマル」とハイパール No. 20はほぼ同様のMIC値を示しているが、高度耐性株N20に対してはハイパール No. 20はオバノール「ミツマル」より一段階高いMIC値を示している。ハイパール No. 3とテゴ-51は各菌株に対し全く同じMIC値を示しており、オバノール「ミツマル」とハイパール No. 20に比

表 1. 両性界面活性剤の液体培地希釈法による最小発育阻止濃度の比較 (%)

菌 株	オバノール 「ミツマル」	ハイパール No. 20	ハイパール No. 3	テゴ-51
N20	0.0005	0.001	0.002	0.002
L20A	0.0005	0.0005	0.002	0.002
RN2677	0.0005	0.0005	0.001	0.001
209P	≤ 0.00025	≤ 0.00025	0.001	0.001

表 2. 両性界面活性剤の寒天平板希釈法による最小発育阻止濃度の比較 (%)

菌 株	オバノール 「ミツマル」	ハイパール No. 20	ハイパール No. 3	テゴ-51
N20	0.001	0.002	0.002	0.002
L20A	0.001	0.001	0.001	0.001
RN2677	0.001	0.001	0.001	0.001
209P	0.001	0.001	0.001	0.001

べて各菌株に対し高い MIC 値を示している。全体に消毒剤耐性株は感受性株より両性界面活性剤に対する感受性が低い。オバノール「ミツマル」は菌株による感受性の差が最も小さかった。

2. 寒天平板希釈法による MIC の測定結果

寒天平板希釈法による MIC の測定結果を表 2 に示した。実験に使用した 4 菌株に対して、各薬剤とも 0.001% から 0.002% であり、薬剤によりあまり大きな差は認められない。しかし、MIC 値 0.002% を示したのは、ハイパール No. 20、ハイパール No. 3、テゴ-51 の消毒剤高度耐性株に対する値であった。液体培地希釈法と同様に、オバノール「ミツマル」は菌株による感受性の差が認められず消毒剤高度耐性株にも感受性株と同じ MIC 値を示している。

3. 各薬剤の接触時間と最小殺菌濃度の比較

各薬剤の 1.5 分接触後の最小殺菌濃度の比較を

表 3 に、3 分接触後の最小殺菌濃度の比較を表 4 に示した。オバノール「ミツマル」、ハイパール No. 20、ハイパール No. 3 は消毒剤高度耐性株を 0.031% で 1.5 分以内に殺菌したが、テゴ-51 は 0.031% では殺菌できなかった。3 分後の結果も同様に、消毒剤高度耐性株に対し、オバノール「ミツマル」は 0.004%、ハイパール No. 20 は 0.016%、ハイパール No. 3 も 0.016%、テゴ-51 は 0.031% であり、MIC のデータと同様に消毒剤高度耐性株はオバノール「ミツマル」に対し感受性が高く、テゴ-51 に対し比較的に感受性が低かった。

4. 実際の手指の消毒効果の判定

実際の手指の消毒効果の判定は、消毒剤高度耐性 MRSA 株 N20、消毒剤低度耐性 MRSA 株 L20A、および消毒剤感受性黄色ブドウ球菌 RN 2677 株の 3 株について行った。培養液 10^5 cells を

表 3. 両性界面活性剤の1.5分接触後の最小殺菌濃度の比較 (%)

菌 株	オバノール 「ミツマル」	ハイパール No. 20	ハイパール No. 3	テゴ-51
N20	0.031	0.031	0.031	0.063
L20A	0.016	0.016	0.031	0.031
RN2677	0.008	0.008	0.016	0.016
209P	0.0005	0.008	0.002	0.004

表 4. 両性界面活性剤の3分接触後の最小殺菌濃度の比較 (%)

菌 株	オバノール 「ミツマル」	ハイパール No. 20	ハイパール No. 3	テゴ-51
N20	0.004	0.016	0.016	0.031
L20A	0.002	0.004	0.016	0.016
RN2677	0.001	0.002	0.004	0.008
209P	0.0005	0.002	0.002	0.004

表 5. 両性界面活性剤により実際に手指消毒後の殺菌効果の比較 (0.2%)

菌 株	オバノール 「ミツマル」	ハイパール No. 20	ハイパール No. 3	テゴ-51
N20	+++ , +++ , +++	++, +++ , +++	+, +++ , +++	+, + , ++
L20A	+++ , +++ , +++	+++ , +++ , +++	+++ , +++ , +++	++, + , +
RN2677	+++ , +++ , +++	+++ , +++ , +++	+++ , +++ , +++	+, ++ , ++

+++ , 完全に除菌されている。

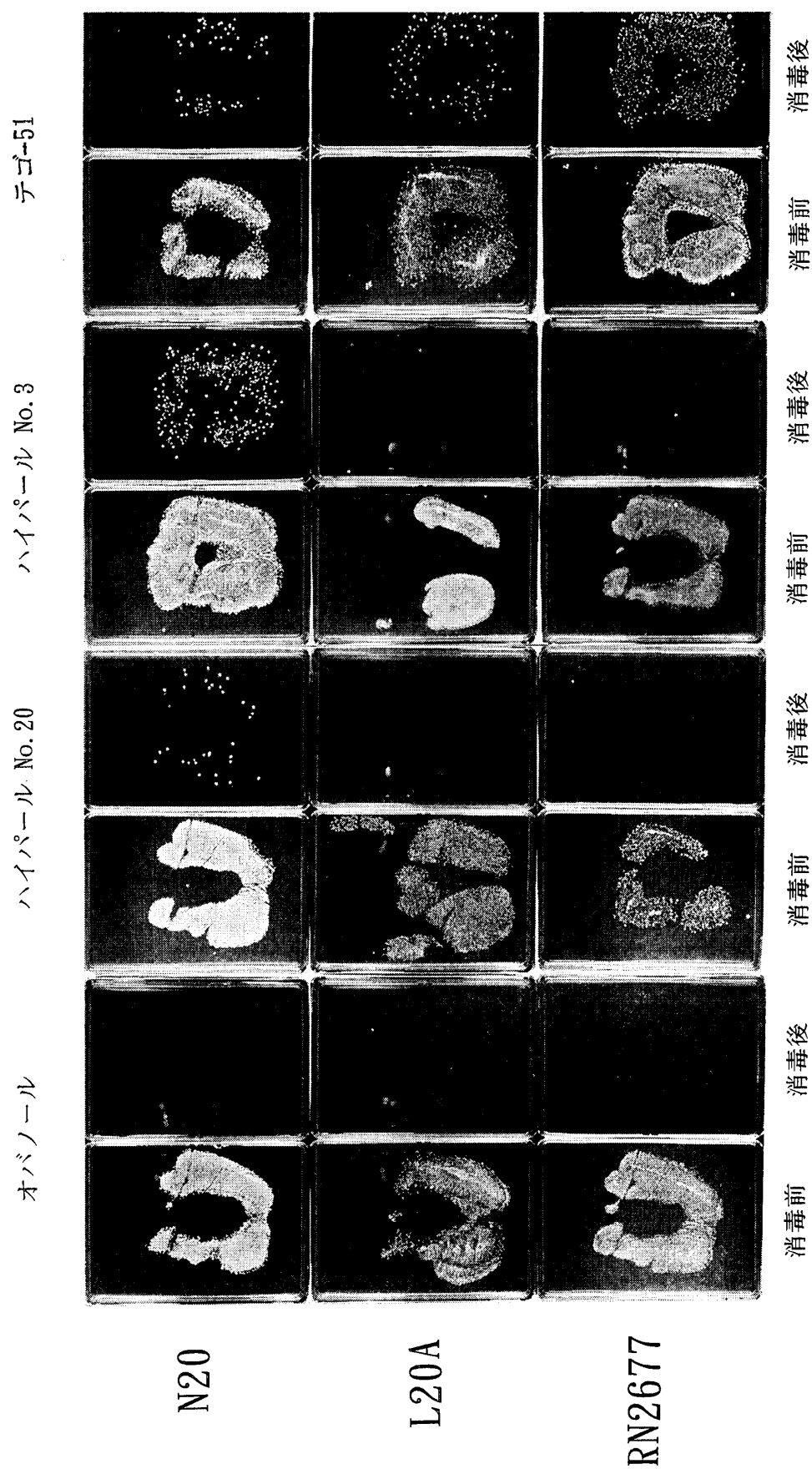
++, 100個以下のコロニーが検出される

+, 100個以上のコロニーが検出される。-, 全く除菌されていない。

各薬剤についての3回の実験結果を示している。

掌に塗抹し、添付文書に従い5分間消毒した後、マンニット食塩寒天培地に掌を押しつけ培養した。試験は被験者を変えて3回行った。3回の実

験結果を表5に、各薬剤による消毒後の代表的な写真を図1に示した。添付文書に従い、各薬剤0.2%濃度で手指の消毒を行った場合、オバノー



ル「ミツマル」は消毒剤耐性株に対しても安定した消毒効果を示した。ハイパール No. 20, およびハイパール No. 3 も比較的良い結果であったが、消毒剤高度耐性株が3回に1回は検出された。テゴ-51は殺菌力が最も低く感受性株も3回とも検出された。0.2%より低い濃度で手指の消毒を行った場合は、各薬剤ともデータが安定せず、感受性株までもが検出される場合とされない場合があった。実験に使用した4種の両性界面活性剤ともに、その添付文書に手指、および皮膚の消毒は0.05%~0.2%で5分間洗うと記載されている。実際には0.2%濃度、5分間の消毒で消毒剤高度耐性株が完全に殺菌されたのは、オパノール「ミツマル」だけであった。しかし、5分間の手指の消毒は非常に長く、苦痛までも感じる時間であり医療現場においては実用的な指示ではないと感じた。

今回の実験結果から、現在市販されている4種の両性界面活性剤には、その消毒殺菌能力にあまり大きな差は認められない。しかし、いずれの測定結果からも消毒剤高度耐性株に最も有効なのはオパノール「ミツマル」であり、消毒剤高度耐性株に最も弱いのはテゴ-51であった。同じグリシン系の両性界面活性剤で殺菌力、あるいは洗浄力にこのような差が認められた原因として、アルキル基のモル数が異なると殺菌効果が異なること、

あるいはテゴ-51以外の3薬剤は洗浄作用のある非イオン性界面活性剤ポリオキシエチレンアルキルフェニルエーテルを各々異なった濃度で含有しており、この非イオン性界面活性剤の濃度の違いが反映されたことなどが考えられる。

引 用 文 献

- 1) M. Sasatsu, K. Shima, Y. Shibata and M. Kono, *Nucleic Acid Res.*, **17**, 10103 (1989).
- 2) M. Sasatsu, Y. Shibata, N. Noguchi and M. Kono, *FEMS Microbiol. Lett.*, **93**, 109-113 (1992).
- 3) M. Sasatsu, Y. Shibata, S. Tamura and M. Kono, *Microbios Lett.*, **43**, 105-112 (1990).
- 4) M. Sasatsu, K. Shimizu, N. Noguchi and M. Kono, *Biol. Pharm. Bull.*, **17**, 136-138 (1994).
- 5) 笹津備規, 白井裕二, 清水慶一, 野口雅久, 河野恵, 病院薬学, **19**, 516-521 (1993).
- 6) 笹津備規, *INFECTION CONTROLL*, **1**, 357-363 (1992).
- 7) M. Sasatsu, Y. Shibata, N. Noguchi and M. Kono, *Biol. Pharm. Bull.*, **17**, 163-165 (1994).
- 8) 新太喜治, 鈴木朝勝, 永井 勲, “滅菌・消毒ハンドブック”, メディカ出版, 大阪, 1988, p. 96.
- 9) 日本化学療法学会抗菌薬感受性測定法検討委員会, *Chemotherapy*, **38**, 103-105 (1990).
- 10) 日本化学療法学会抗菌薬感受性測定法検討委員会, *Chemotherapy*, **29**, 76-79 (1981).