

論 文 要 旨

Antimicrobial Effect of an Ultrasonic Levitation Washer Disinfectant with Silver Electrolysis and Ozone Oxidation on Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA)

〔 銀イオンとオゾンを用いた超音波レビテーション
洗浄消毒装置のメチシリン耐性黄色ブドウ球菌 (MRSA)
に対する効果 〕

玉井 真理子

【序論および目的】

メチシリン耐性黄色ブドウ球菌 (*Methicillin-resistant Staphylococcus aureus*、以下 MRSA) は、院内で分離される代表的な耐性菌の 1 つで、院内感染、手術時期の延期など医学的なさまざまな問題を生じ、これらは医療経済にも影響を及ぼす。その感染のみでなく、皮膚や創表面でのバイオフィーム形成を含む colonization も除去に難渋することが多く、短期間で効果を発揮する治療法の開発が望まれている。

超音波レビテーション洗浄装置は、強力かつ均一にあらゆる材質、形状の物を洗浄することを可能にした新しい超音波発生法 (レビテーション) を用いた洗浄器として、2006 年に Shigihara らが国際特許を取得した (WO 2006/001293A1)。今回、我々は、超音波レビテーション洗浄器に広い抗菌スペクトルを有する銀イオンとオゾンの発生機能を付帯した装置を用いて、MRSA に対する効果を検討した。

【材料および方法】

銀電解・オゾン酸化併用超音波レビテーション洗浄消毒装置は、鹿児島超音波総合研究所から提供された。MRSA は、鹿児島大学病院に入院した患者の皮膚から施行した細菌培養検査で検出されたものの中から、バイオフィーム形成能を有し、その形成に関与する accessory gene regulator (*agr*) の type-1~4 の全てを含むよう 6 株 (A-F 株) を選択し使用した。

In vitro の実験は、装置の水槽内に MRSA が浮遊した状態、人工真皮であるアテロコラーゲン膜に MRSA を浸透させた状態、バイオフィームを形成した状態の 3 条件で、レビテーションと銀イオン・オゾンを組み合わせて作用させた。サンプル内の MRSA の生菌数をコロニーカウント法で経時的に評価した。さらに、バイオフィームを形成した MRSA に銀イオン・オゾンとレビテーションを作用させた後、生菌数と死菌数の変化を Syto-9 と propidium iodide を用いて染色し蛍光顕微鏡で観察した。

In vivo の実験では、C57BL/6 マウスの背部にトレパンをもちいて 5 mm の潰瘍を作成し、バイオフィームを形成させる条件で一定量の MRSA を培養した後、レビテーションと銀イオン・オゾンを用いて 1 日 1 回 15 分間、7 日間連続で作用させ、組織内の生菌数をコロニーカウント法で評価した。また、潰瘍のサイズについてノギスを用いて測定し評価した。

【結 果】

1. 水槽内に浮遊させた MRSA (A 株、*agr-2*) の菌数は、レビテーションと銀イオンによる 2 分間の処理で有意に減少した。深さによる効果の差を確認するため、水槽の中央部と水面直下からサンプルを採取したが、有意差は認めなかった。

2. 一定量の MRSA (A 株) をコラーゲン膜に浸透させた条件では、レビテーションと銀イオンまたはオゾンによる 10 分間の処理で菌数は有意に減少した。さらに、5 分の時点でオゾンによる相加効果が認められた。

3. 同実験を 6 株 (A-F 株) で行った結果、レビテーションと銀イオン・オゾンの 15 分間の処理により全ての株で有意な菌数の減少を認めた。

4. コラーゲン膜上に MRSA (A 株) がバイオフィルムを形成した条件では、レビテーションに銀イオン、オゾンのいずれか、かつどちらともを併用した 15 分の処理で有意な菌数の減少を認めた。

5. 同じ条件で、6 株に対して 30 分間レビテーションと銀イオン・オゾンを併用して処理した場合も同様に全ての株で有意な菌の減少が認められた。

4. バイオフィルムを形成した MRSA (A 株) に、レビテーションと銀イオン・オゾンによる処理を 30 分間行い、生菌・死菌をそれぞれ染色し蛍光顕微鏡で観察した結果、時間依存性に死菌数の増加、生菌数の減少がみられた。

5. マウス背部の潰瘍上に MRSA (A 株) のバイオフィルムを形成させた状態で、1 日 15 分間、7 日間のレビテーションと銀イオン・オゾンによる処置を行った結果、コントロール群と比較して有意な菌数の減少を認めた。

6. 同実験でマウス背部の潰瘍のサイズは、7 日間の処理後、コントロール群と比較して有意な縮小がみられた。

【結論及び考察】

銀電解・オゾン酸化併用レビテーション洗浄消毒装置での処理により、水槽内に MRSA が浮遊した状態、アテロコラーゲン膜に浸透した状態、バイオフィルムを形成した状態、いずれの条件においても有意な菌数の減少が認められた。今回使用した 6 株は、全てバイオフィルム形成能を有することを確認したものであり、かつバイオフィルム形成能が最も高いことが報告されている *agr-2* を含む 6 株すべてで菌数の減少が認められたことから、レビテーションと銀イオン・オゾンによる処理は *agr* 型に関わらず効果を発揮することが確認された。また、その作用時間は、バイオフィルムを形成した状態であっても 30 分と、極めて速効性があるものと思われた。

アテロコラーゲン膜を用いた実験は、それぞれ皮膚組織に MRSA が絡みつくように付着した状態、バイオフィルムを形成した状態のモデルであり、レビテーションのみでは有意な菌の減少は見られなかったが、銀イオン・オゾンと組み合わせることで絡みつく、あるいはバイオフィルムとして固着している MRSA をふるい落とししたり、銀イオンやオゾンの効果を均等に深部まで到達させる作用があることが推測された。

In vivo のマウスの潰瘍を用いた実験は、手術後の創部の MRSA colonization のモデルとして使用した。感染の所見はなくとも、創部の菌量が多いこと (critical colonization) が創の閉鎖遅延に関与することが知られており、処理による菌量の減少が潰瘍の上皮化を促進したものと考えられた。

本研究の結果から、MRSA の colonization やそれによる創傷治癒遅延、さらには医療スタッフの手指消毒のツールとして、医療現場への応用が期待される。