

〈短 報〉

敗血症患者血液由来および健常者皮膚分離 *Bacillus cereus* 株芽胞の
ポビドンヨード感受性石原 由華¹⁾・柴山 恵吾²⁾・社本 生衣³⁾
宇佐美久枝¹⁾・太田美智男⁴⁾*In Vitro Susceptibility of Bacillus cereus Spores of Blood Isolates and Healthy Skin Isolates to
10% Povidone-iodine*Yuka ISHIHARA¹⁾, Keigo SHIBAYAMA²⁾, Ikue SHAMOTO³⁾,
Hisae USAMI¹⁾ and Michio OHTA⁴⁾¹⁾Sugiyama Jogakuen University School of Nursing, ²⁾Department of Microbiology and Immunology, Nagoya University Graduate School of Medicine, ³⁾Gifu University School of Medicine Nursing Course, ⁴⁾Nagoya University Graduate School of Medicine

(2022年9月12日受付・2022年12月8日受理)

要 旨

Bacillus cereus 芽胞のポビドンヨードに対する感受性を血液由来15株と健常者皮膚分離15株の芽胞を用いて作用時間と温度を変えて検討した。いずれの処理条件でも高度耐性株はなく、多くの菌株で10%ポビドンヨード処理5分で約99%の芽胞が殺菌されたが、残りの約1%の芽胞は30分処理後も生残した。皮膚由来株5株、血液由来株3株は5分処理後に生菌数が約0.1%になった。作用温度の違いによるポビドンヨードの効果には大きな差が無く、また血液由来株と皮膚由来株の間に差がほとんど見られなかった。以上により *B. cereus* 芽胞による皮膚汚染が軽度なら10%ポビドンヨードによる消毒が可能と考えられた。

Key words : *Bacillus cereus*, 芽胞, ポビドンヨード, 感受性, 消毒

Bacillus cereus は有芽胞菌であり、塵埃、土壌、腐敗物、空気中など環境に広く存在し、芽胞の状態になると熱、乾燥、皮膚消毒薬に対する抵抗性が強く100℃の加熱や70%アルコールにも耐性である¹⁾。近年、*B. cereus* による易感染患者への日和見感染により重篤な敗血症を起こし死亡した事例が幾つか報告され^{2,3)}、その原因が、清拭タオル等のリネン類や末梢静脈留置カテーテルなどルート類および患者皮膚の *B. cereus* 芽胞汚染であるとされる^{2,4)}。皮膚消毒に使用するポビドンヨードは、*Bacillus* 属などの芽胞には無効であるが *Clostridioides* 属など一部の芽胞に有効であるとされる⁵⁾。その一方で、10%ポビドンヨードは0.5%グルコン酸クロルヘキシジンアルコールよりも高い殺菌効果を示し *B. cereus* に対して

有効であったとの報告⁶⁾もある。WHOの手指衛生ガイドライン(2009年)によればポビドンヨードは芽胞に対してある程度殺菌効果を示すが、消毒薬として通常使用される濃度では芽胞を殺菌しない、と述べられている⁷⁾。しかしWHOのガイドラインは主に *Clostridioides* 属の芽胞を対象としていて、実際 *Clostridioides difficile* の芽胞に対する10%ポビドンヨードの効果についての報告は多く見られるが、*B. cereus* 芽胞に対する殺菌効果の具体的データ報告はこれまでほとんど見られない。そこで本研究では、*B. cereus* の敗血症患者血液由来15株と健常者皮膚から分離した15株を用いて *B. cereus* 芽胞の10%ポビドンヨードに対する感受性を比較検討した。

B. cereus 血液由来株(6693, 6362, T, 5999, 5354, 5904, 6000, 6564, 5102, 6441, 5538, 7111, 7333, 7245, 6912)と皮膚分離株(5, 13-2, 27-1, 30-1, 3-1, 31-1, 29-1, 1-①, 20, 17-1, 57, 59-1, 80, 100-1, 23)をそれ

¹⁾椋山女学園大学看護学部, ²⁾名古屋大学大学院医学系研究科微生物・免疫学講座, ³⁾岐阜大学医学部看護学科, ⁴⁾名古屋大学大学院医学系研究科

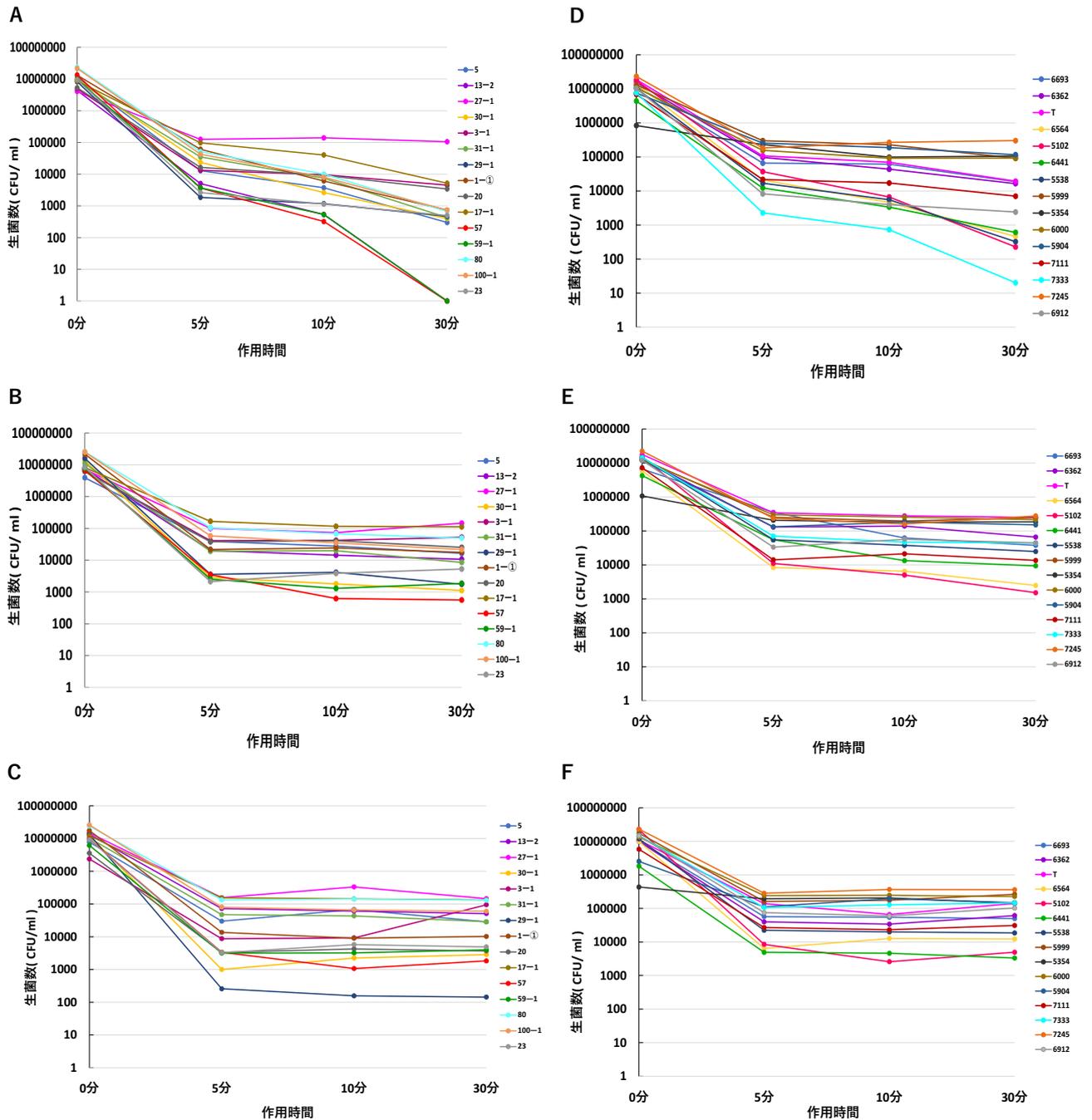


図1 *B. cereus* 皮膚分離株・血液由来株芽胞の10%ポビドンヨードに対する効果。A～C：皮膚分離株，A：37℃，B：20℃，C：4℃，D～F：血液由来株，D：37℃，E：20℃，F：4℃。

ぞれ15株使用した。各菌株をNGKG卵黄加寒天培地(栄研化学)に接種し30℃で2日培養後室温に7日間放置し芽胞形成を行った。培地から集菌した菌を滅菌水に懸濁してOD₅₅₀=0.55(マクファーランド濁度標準液No.3)に調整し80℃で30分間加熱後5℃で一晩放置し、芽胞染色によって100%(1視野)が芽胞になっていることを確認した。懸濁液から100μLを採取して、予め各処理温度で10分間保温した10%ポビドンヨード液(兼一

薬品工業株式会社。大阪)5 mLに添加して、5分、10分、30分後に各100μL採取して10倍希釈系列で希釈し、NGKG卵黄加寒天培地に接種し30℃で2日培養後コロニー数を測定した。10%ポビドンヨード液の処理温度は4℃、20℃、37℃とした。以上の実験を3回あるいはさらに数回繰り返した。

10%ポビドンヨード処理後の生菌数を図1に示す。*B. cereus* 芽胞に対する殺菌効果はどの菌株も最初の5分

で生菌が約 1/100 に減少した。すなわち高度耐性株はなく芽胞の 99% が殺菌された。しかしその後作用時間が延びても特に 20℃ と 4℃ の作用温度では生菌数にほとんど減少が見られなかった。すなわちどの菌株においても 10% ポビドンヨードに非常に耐性の芽胞が約 1% 程度存在した。ポビドンヨードに対する感受性は菌株によって違いがあり、5 分間のポビドンヨード処理によって生菌数が 0.1% になった菌株が皮膚由来株で 5 株、血液由来株で 3 株見られた。また皮膚由来株 3 株は、37℃ 30 分間作用後芽胞が全て死滅したので、作用温度が高ければ殺菌効果がより高い傾向があることが示唆された。これらの結果から、10% ポビドンヨードは室温での 5 分間の作用で *B. cereus* 芽胞を 99% 殺菌するが約 1% は生残するので、臨床的には、芽胞の濃厚汚染の可能性がある場合には消毒薬としての使用は推奨されないと考えられる。なお、測定に使用する菌株によっては芽胞に対して 10% ポビドンヨードが十分な殺菌効果を持つ、という誤った結果になる可能性が示唆された。10% ポビドンヨードは芽胞に対して 4℃ でも 20℃ とそれほど変わらない殺菌効果を示した。37℃ では作用時間 30 分後は皮膚由来株 2 株、血液由来株 1 株で強い殺菌効果を示したが、通常使用される条件に近い 5 分後の殺菌効果においては作用温度の違いによる影響は明らかではなかった。血液由来株と皮膚由来株の比較では、特に 20℃ におけるポビドンヨード感受性でそれぞれの由来株に差が見られなかった。また他の作用温度でも大部分の菌株は分離源にかかわらず同様の感受性を示した。*B. cereus* 菌血症が皮膚に汚染した菌（芽胞）から起こる可能性があるならば、血液由来株と皮膚由来株のそれぞれの芽胞の間にポビドンヨード感受性に顕著な差が見られなかったことは妥当と考えられる。

本研究は、*B. cereus* の芽胞懸濁液を用いて 10% ポビドンヨード液の殺菌効果を調べた *in vitro* の実験であり、その結果が直ちに患者皮膚に汚染する芽胞に対するポビ

ドンヨード液の殺菌効果を示すものではないが、作用時間を 5 分に近づければ、本研究で示したように 99% の *B. cereus* 芽胞の殺菌が期待できる。WHO の手指衛生ガイドラインによれば芽胞の最も効果的な除去方法として流水石けんによる洗浄が推奨されている⁷⁾。しかし鼠径部など皮膚の部位によっては流水石けん処置を適切に行うことができない。もしその部位の芽胞汚染が軽度であることが予想されれば、本研究で示されたように 10% ポビドンヨード塗布によって大部分の *B. cereus* 芽胞の殺菌が可能であり、芽胞に有効な他の皮膚消毒薬が無い現状では使用を可とすることができる。

利益相反自己申告：申告すべきものなし。

文 献

- 1) Drobniewski FA: *Bacillus cereus* and related species. Clin Microbiol Rev 1993; 6: 324-38.
- 2) Sasahara T, Hayashi S, Morisawa Y, Sakihama T, Yoshimura A, Hirai Y: *Bacillus cereus* bacteremia outbreak due to contaminated hospital linens. Eur Clin Microbiol Infect Dis 2011; 30: 219-26.
- 3) 国立がん研究センター中央病院におけるセレウス菌感染症ご報告（第 1 報）：<http://www.ncc.go.jp/jp/ncch/information/20130822/index.html>：2022 年 9 月 11 日現在。
- 4) 井沢義雄, 伊藤 誠: *Bacillus cereus* による偽アウトブレイクと清拭タオルの管理について. 臨床微生物 2005; 15(2): 82-9.
- 5) 小林寛伊, 大久保憲, 尾家重治: 新版増補版 消毒と滅菌のガイドライン, へるす出版, 東京, 2015. p. 123-4.
- 6) 橋本浩司, 三谷孝子, 千葉眞彰, 関口定美: 採血部位消毒におけるポビドンヨードの有効性について. 日輸血会誌 1999; 45(1): 20-5.
- 7) WHO Guidelines on Hand Hygiene in Health Care: World Health Organization 2009: <https://www.who.int/publications/i/item/9789241597906>. accessed September 11, 2022.

[連絡先：〒464-8662 名古屋市千種区星が丘元町 17 番 3 号
 椋山女学園大学看護学部 石原由華
 E-mail: y-ishihara@sugiyama-u.ac.jp]

In Vitro Susceptibility of Bacillus cereus Spores of Blood Isolates and Healthy Skin Isolates to 10% Povidone-iodine

Yuka ISHIHARA¹⁾, Keigo SHIBAYAMA²⁾, Ikue SHAMOTO³⁾,
Hisae USAMI¹⁾ and Michio OHTA⁴⁾

¹⁾Sugiyama Jogakuen University School of Nursing, ²⁾Department of Microbiology and Immunology, Nagoya University Graduate School of Medicine, ³⁾Gifu University School of Medicine Nursing Course, ⁴⁾Nagoya University Graduate School of Medicine

Abstract

The susceptibility of *Bacillus cereus* spores to 10% povidone-iodine was measured at 0°C, 20°C, and 37°C, respectively. The spores of 15 *B. cereus* blood isolates and 15 isolates from healthy adult skin, respectively, were used for the measurement. The spore solution was prepared 9 days after the culture of *B. cereus* on NGKG plates, and spore formation was confirmed microscopically. No *B. cereus* strain in the spore form was highly resistant to any conditions of 10% povidone-iodine treatment. Approximately 99% of the spores of most strains were killed after a 5-min treatment with 10% povidone-iodine irrespective of treatment temperature, whereas 1% of spores survived a 30-min treatment. The spores of 5 blood isolates and 3 healthy skin isolates were more sensitive to 10% povidone-iodine, and only 0.1% of the spores survived the 5-min treatment. No apparent differences in susceptibility to povidone-iodine between the blood and skin isolates were observed. From these results, 5-min treatment using 10% povidone-iodine for skin disinfection is applicable when contamination of *B. cereus* spores on the skin is expected to be mild or low.

Key words: *Bacillus cereus*, spore, povidone-iodine, susceptibility, disinfection