

〔原 著〕

歯科用器材の消毒液の継続使用と
その有効性に関する研究

阪田 久美子, 石川 良子, 千葉 智子, 馬場 久衛*

東日本学園大学歯学部附属病院薬剤部
*口腔細菌学講座

(主任: 阪田久美子薬局長)

*(主任: 馬場 久衛教授)

Studies on the Running Use and the Decrease of
Effect of a Disinfectant for Dental Instruments

Kumiko Sakata, Ryoko Ishikawa,
Tomoko Chiba, Hisae Baba*

Department of Pharmacy,
Higashi Nippon Gakuen University Hospital

*Department of Oral Microbiology, School of Dentistry,
Higashi Nippon Gakuen University

(Chief: Kumiko SAKATA)

*(Chief: Prof. Hisae BABA)

Abstract

The possibility of the running use and the decrease of effect of N-osban solution containing 0.2% of benzalkonium chloride and 0.5% of sodium nitrite were examined for rational usage of a disinfectant for dental instruments in our hospital.

The number of viable organisms and the amount of the effective disinfectant in N-osban solution used continuously for 5 days in regular practice were determined by the method of the modified "in use test" and the minimum inhibitory concentration (MIC) using the strain of *Staphylococcus aureus* 209P, respectively.

Even in N-osban solution used most frequently for 5 days, no viable cells were detected and its MIC decreased most frequently at 3 days use.

Therefore, making allowance for a safety margin, the term of running use of N-osban

solution was established as 2 days.

To confirm the reliability of this, the number of viable cells of N-osban solution used continuously for 2 days at the dental offices of the conservative dentistry, prosthetic dentistry, and pedodontics were measured.

No viable bacteria in these N-osban solutions were detected.

From the results, it was confirmed that this term was quite adequate for use under clinical circumstances.

Key words : benzalkonium chloride, dental instrument, in use test

緒 言

1981年にアメリカの CDC が中心となって刊行した「Guidelines for the Nosocomial Infections」の緒言には、院内感染の重要性を次のように説明している。「アメリカ合衆国での院内感染の発現率は、急性疾患入院患者の約 5%であり、この感染のため平均 5 - 6 日間の入院の延長がみられる。従って年間 10 億ドル以上の余分な医療費が支払われている。」¹⁾わが国においては具体的なデータはないが、ほぼ同様の状況と推測されている。

院内感染は微生物、人（患者、医療従事者）、環境等の要因が複雑に絡み合って発生するものであり、その予防の基本としては院内感染予防委員会の設置があげられている。委員会の具体的業務の中には、消毒薬の使用基準の設定とその監視もあげられており、院内感染予防における消毒薬の役割は大きい²⁾。グルコン酸クロロヘキシジン製剤の *Pseudo-monas cepacia* 汚染による院内感染については以前から報告されていたが³⁾⁴⁾、最近、その使用濃度が従来の 0.02% から 0.1~0.5% に引き上げられたことは、注目されることである⁵⁾。消毒液の効果は被消毒物の量やその汚染の程度等によって変化するため、使用中に消毒効果が減弱し、さらに微生物で汚染された消毒液が院内感染の原因となることがある。従って、それを防止するためには、

使用中の消毒液の薬効を確認する必要がある。

一般に歯科診療で使用する器材は、使用後の汚染の程度がそれほどひどくなく、またその程度にもあまり差がないと考えられるものが多いので、それらの消毒に使用する消毒液は、一定の基準に従って管理することが可能と考えられる。

今回、当院の診療室で使用中の N-オスバン液について消毒効果と継続使用の可能性について検討を行い、当院における消毒液の使用基準の設定を試みたので報告する。

方 法

1 N-オスバン液の継続使用の可能性の検討

1) N-オスバン液中の生菌数の測定

当院保存科診療室で、最も使用頻度の高いユニットの消毒槽を試験場所に選定した。1 ユニットは、1 台の診療台に診療に必要な装置や器具がセットされており、手洗い・器具消毒用の消毒槽も設置されている。器具消毒用の消毒槽の容量は約 1 l であり、カートリッジ注射器や充填用器具、バー、ポイント等滅菌を必要としない金属器具は、その消毒槽の N-オスバン液 (0.5% 亜硝酸ナトリウム加 0.2% 塩化ベンザルコニウム液) に 30 分以上浸漬し消毒を行っている。その消毒槽に新たに調製した N-オスバン液をいれ、5 日間薬液を交換せずに継続使用

した。その薬液を毎日50ml採取し検液とした。この検液中の生菌数を in use test⁶⁷⁾に準じて検討した。即ち、検液50mlを滅菌メンブランフィルター(0.45 μ m)で濾過し、検液中の細菌をフィルター上に採取し、濾液は元の消毒槽へもどした。フィルターを10mlの滅菌生理食塩水に入れ10秒間超音波処理をし、さらにマグネッツアーラーで10分間攪拌し、細菌を分散させた。この液1mlを、残存消毒薬を不活化するため、3%にTween80を加えたNutrient broth 9mlで希釈した。その希釈液各0.1mlを培地1(Nutrient agar)2枚と培地2(5%馬血加Nutrient agar)3枚に塗抹した。培地1の1枚は37°Cで3日間、他の1枚は28°Cで7日間、好氣的条件で培養した。培地2の2枚は好氣的条件で培地1と同様に、他の1枚は嫌氣的条件で37°Cで7日間培養した。

2) N-オスバン液中の有効薬剤量の測定

検液中の有効N-オスバン量を *Staphylococcus aureus* 209p に対する最小発育阻止濃度(MIC)で表した。Bacto-Penassay Broth(Difco)を用い、日本化学療法学会標準法に準じ

て測定した。

3) 消毒した器具の品目・数量等

実験期間中に検液に浸漬した器具の品目、数量並びに検液の外観変化についても調査をおこなった。

以上の実験を3回繰り返す、この結果をもとに、N-オスバン液の「継続使用基準」を設定した。

2 各科診療室における消毒液の効果の検討

1の実験結果から設定された「継続使用基準」に従って、保存科、補綴科、小児歯科の各診療室で継続使用したN-オスバン液についてその有効性の検査を行った。なお、検液中の生菌数が少ないことが予測されたため、本実験では生理食塩水への分散を止め、以下の方法により生菌数の測定を行った。

検液150mlを50mlづつに分け、各々別な滅菌メンブランフィルターで濾過し、さらにフィルターに付着した消毒薬を不活化するため、滅菌した10% Tween80含有蒸留水で洗浄した。そのフィルターをそのまま5%-馬血加Nutrient Agar plate上に置き、1枚は好氣的に37°Cで1

表1 N-オスバン液の使用日数、消毒器具数、検液の外観変化および生菌数

条件 回数	使用 日数	消毒 器具数	37°C 3日間		28°C 7日間			観察項目	
			培地1	培地2	培地1	培地2			
			好氣的	好氣的	好氣的	好氣的	嫌氣的(37°C)	濁度	着色
実験1	1日目	45	0	0	0	0	0	-	-
	2日目	14	0	0	0	0	0	-	+
	3日目	34	0	0	0	0	0	-	+
	4日目	21	0	0	0	0	0	+	++
	5日目	28 (142)	0	0	0	0	0	+	+++
実験2	1日目	14	0	0	0	0	0	-	++
	2日目	9	0	0	0	0	0	-	++
	3日目	16	0	0	0	0	0	-	++
	4日目	16	0	0	0	0	0	+	+++
	5日目	18 (73)	0	0	0	0	0	+	+++
実験3	1日目	8	0	0	0	0	0	-	-
	2日目	12	0	0	0	0	0	-	+
	3日目	25	0	0	0	0	0	-	+
	4日目	17	0	0	0	0	0	-	++
	5日目	13 (75)	0	0	0	0	0	-	++

表2 N-オスバン液の継続使用日数と残存有効薬剤量(MIC)

日	$\mu\text{g/ml}$	100	50	25	12.5	6.25	3.13	1.56	0.78	0.39	0.20	対照**
コントロール*		-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+
1日目		-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+
2日目		-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+
3日目		-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+
4日目		-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+
5日目		-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+

使用培地：Bacto-penassay Broth (Difco) 使用菌株：Staphylococcus aureus 209P

*：新鮮な0.2%N-オスバン液

**：S. aureus 209p 菌液

日間，2枚目は28°Cで7日間，3枚目は嫌氣的に37°Cで7日間培養を行った。

MICの測定は1と同様に行った。以上の実験を，繰り返し2回行った。

結 果

1. N-オスバン液の継続使用日数，消毒器具数，検液の外観及び生菌数

結果は表1の通りで，3回の実験においてN-オスバン液に浸漬した器具数は1回目が多く，他の2回の倍であった。薬液の濁度が

表3 各科診療室におけるN-オスバン液からの検出細菌数

診療科名	培養条件	好 気 的		嫌 気 的
		37°C 1day	28°C 7days	37°C 7days
保存科	検液1	0	0	0
	2	0	0	0
補綴科	検液1	2*	0	0
	2	1*	0	0
小児歯科	検液1	0	0	0
	2	0	0	0

*：検査の結果，オスバン耐性菌ではない事が確認された。

認められるかどうかを+，-で，着色については，認められないものを-とし，その程度によって+から+++で示した。着色，濁度とも器具の数量との直接的な関係は認められなかった。

細菌培養の結果，生菌はまったく検出されなかった。即ち，5日間継続使用中のN-オスバン液中には生菌は全くいないか，又は生菌がいたとしてもこの試験法では検出できない程度の数と推測された。

2. N-オスバン液の継続使用日数と残存有効薬剤量(MIC)

N-オスバン液を5日間継続使用したときの残存有効薬剤量をS. aureus 209pを使用してMICで測定した。その結果をまとめて表2に示した。使用後1日目，2日目はコントロールと同じであったが，3日目以降は経時的にMICの減少が認められた。

消毒器具数からみると，1回目の実験の1日目の45が1日の最大消毒器具数であることから，その数が3日続いたとしても1回目の実験

表4 各科診療室のN-オスバン液の残存有効薬剤量(MIC)

診療科名	$\mu\text{g/ml}$	100	50	25	12.5	6.25	3.13	1.56	0.78	0.39	対照**
保存科	コントロール*	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+
	検液	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+
補綴科	コントロール*	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+
	検液	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+
小児歯科	コントロール*	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+
	検液	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+

*：新鮮な0.2%N-オスバン液

**：S. aureus 209P 菌液

の5日間の消毒器具数より少ないものであることがわかる。従って毎日最大数の器具を消毒したとしても、3日間の継続使用が可能と考えられたが、さらに1日の安全性を見込んで通常の使用においては、N-オスバン液は2日毎に交換することが可能であろうと推測し、これをユニット消毒槽におけるN-オスバン液の「継続使用基準」とした。

3. 各科診療室における消毒液の汚染試験

基準に従って各科診療室で2日間継続使用したN-オスバン液中の細菌数並びに残存有効薬剂量(MIC)は表3ならびに表4の通りであり、特に問題となるような変化は認められなかった。ただし、補綴科の検液から検出された3個のコロニーは、培養して染色、鏡検し、さらにN-オスバン液に対するMICを測定したが、N-オスバン耐性菌ではないことが確認された。

従って、初めの実験結果から設定したN-オスバン液の「継続使用基準」は妥当であることが確認された。

考 察

現在わが国で市販されている消毒液は、アルコール系、アルデヒド系、両性石鹼系、第四級アンモニウム系、ビグアナイド系、フェノール系、ヨウ素系、水銀系、過酸化物系、塩素系、色素系の11種類に分類される。

病院においてはこのような多くの消毒薬の中から、適当なものを選び、正しく使用することが必要である。さらに、院内感染予防の点からも消毒薬の管理にあたっている薬剤部と関係者の間で、消毒薬の特性、被消毒物の特性、経済性等について検討していかなければならない。

消毒薬の使用に関する細かな対応は、個々の病院の実状に合わせて検討されるべきであり、歯科診療の特殊性を考慮した消毒に関する報告も多い。特に歯科用金属器具は、鋭利で繊細な

ものが多く、薬液消毒による錆の発生が問題となることが多い。以前から金属器具の薬液消毒における防錆剤の検討がなされてきたが⁸⁾⁹⁾¹⁰⁾、現在グルコン酸クロルヘキシジンや塩化ベンザルコニウム等の添付文書にも、防錆剤としての亜硝酸ナトリウム添加の有用性が明記されており、当院においてもそれを用いている。

使用中の消毒薬の効果を確認する方法としては、石炭酸係数法が最も古くから用いられている¹¹⁾。しかし、この方法の問題点として、第一に試験菌として *Salmonella typhi* を用いており、現在病院で使用している消毒薬が対象としている細菌と異なっていることと、第二に再現性に乏しいと言うことがあげられている。

その点を改良したものとして、Kelsey-Sykes法が1974年に発表されているが¹²⁾、これは消毒薬の有効濃度を推定するための試験法であり、前述の石炭酸法とともに主として消毒薬の環境衛生学的方面からみた検査法であり、医療の現場における消毒薬の検査法としては適当ではないと考えられる¹³⁾¹⁴⁾。

しかし、Kelsey等は、日常使用している消毒薬の有効性を確認する方法として、in use testを報告している⁶⁾。この試験は、「消毒液の不適切な使用の問題点は、使用中の消毒液中に生存したり、増殖した細菌が、被消毒物によって院内に伝搬されることである。従って、使用中の消毒液中の細菌数を測定することによって、その消毒液の有効性、安全性を確認することができる」という考えに基づくものである。

その方法は使用中の消毒液1 mlを用い、消毒薬を不活化する中和剤を含む希釈液で10倍に希釈し、その希釈液0.2mlを直接培地に滴下し培養する比較的簡単なものである。結果の判定は、1プレート上のコロニー数で行い、1プレートに5個以上のコロニーが検出されれば、検液1 ml中に250個以上の細菌が生存していることになり、この程度以上に細菌で汚染されてい

る消毒液は、被消毒物を通して感染の原因となる可能性があるため使用不適とするものである。

しかし、この方法では消毒液中の細菌数が少ない場合、細菌汚染の程度を把握することはできない。本実験においては、細菌汚染の程度を確認し、安全な継続使用期間を決めることが必要であったため、Prince 等が報告している¹⁵⁾ フィルター法を併用した。さらに、培地も in use test では Nutrient agar のみであったが、消毒薬に接触し増殖力の低下した細菌や、より栄養要求性の高い細菌をも検出するため、馬血加 Nutrient agar も使用した。また、培養方法も、口腔感染症の起炎菌であることが多い嫌気性菌をも検出するため、嫌気性培養を行い、更に真菌をも検出するため、28°Cでの培養を試みた。

初めの実験では、1プレート上に1個以上のコロニーが検出されれば、検液1 ml 中20個以上の細菌が存在することになる。しかし、5日間使用後のN-オスバン液から細菌が検出されなかったことは、使用中のN-オスバン液中には生菌は殆どいないものと考えられた。

また、MICも薬液の着色や濁りとは無関係であり、5日間使用後も著しい低下が認められなかった。一般に第四級アンモニウム化合物である塩化ベンザルコニウムは、石鹼等の混入による消毒効果の低下が著しいとされているが、消毒槽に入れる前の器具の洗浄や、併用している洗剤の除去なども十分になされているためか、今回の実験においては消毒効果の低下は認められなかった。

実験の結果からは、5日間の継続使用の可能性も推測されたが、診療室における毎日の消毒は、被消毒物の汚染の度合、汚染細菌の種類等変動する要因が多いため、十分な安全性を見込んで2日間を継続使用の基準とした。その基準に従ってN-オスバン液を使用した場合の安全性を、次の実験2で確認したが、初めの実験

1の結果から、検液の細菌汚染の可能性は低いことが予測されたため、更に生菌検出効果を高めるため、検液をメンブランフィルターで直接濾過し、そのフィルターに残存する消毒薬を中和剤で不活化したのち、フィルターを直接培地において培養する方法を採用した。培地は馬血加 Nutrient agar plate を用い、培養条件も嫌氣的、あるいは好氣的に37°Cで1日間と7日間とした。この結果においては、フィルター上のコロニー数がそのまま検液50ml中の生菌数となるが、フィルター上コロニーは検出されず、検液のMICの変化も殆ど認められなかった。補綴科の検液の濾過フィルターに認められたコロニーは、さらにBacto-Penassay Brothで培養し、N-オスバン液に対するMICを測定した。いずれのコロニーの細菌も、低濃度のN-オスバン液でも増殖しなかったことから、耐性菌ではなく実験操作中の汚染と考えられた。

以上の結果から、当院の各診療室の消毒槽で使用されているN-オスバン液は、2日毎に交換することでも院内感染の原因となるような細菌汚染はなく、十分安全で有効に使用されていることが確認された。その結果、当院におけるオスバンの消費量を大幅に抑制することが出来た。

日常的な消毒液のチェックが、消毒液による院内感染の危険性を少なくし、さらに経済的にも有効な使用を可能にするものである。そのため in use test は中和剤の使用に注意をすれば、操作も簡単で特殊な器具などもいらず、病院薬局で容易に出来る方法と言える。但し、消毒液中の少ない細菌を確認するためには、メンブランフィルターの併用が有効である。

今後、N-オスバン液の継続使用期間の延長の可能性を検討し、さらに院内で使用されているこの他の消毒液についても、関係者と意見を交換し、必要に応じて試験を行い、適正な消毒薬の使用を進めて行きたい。

引用文献

1. U. S. Department of Health and Human Services ; 實川佐太郎, 永井勲共訳 : 院内感染防止と対策のためのガイドライン, 2-3, I.C.I ファーマ株式会社, 大阪, 1986
2. 福見秀夫 ; 病院内感染—その要因と予防, 32-34, 医学書院, 東京, 1980
3. Burdon et al : Contamination of hospital disinfectants with *Pseudomonas* species., Br. Med. j., 2:153-155, 1967
4. 藪内英子 他 : 消毒と院内感染, 臨床と細菌, 3 : 327-331, 1976
5. 日本製薬団体連合会 : 医療用医薬品再評価結果 No 21, 日本病院薬剤師会雑誌, 9 : 37-39, 1985
6. Kelsey J. C., Maurer I. S. : An in-use test for hospital disinfectants, Mon. Bull. Minist. Hlth. Lab. Serv., 180-184, vol. 25, 1966
7. Maurer I. M. : Hospital Hygiene, 2nd. ed., 86-101, Edward Arnold, London, 1978
8. American Hospital Formulary Service : Drug Information, 1446, American Society of Hospital Pharmacists Inc. U. S. A. 1984
9. 佐藤精一, 小川幸彦, 竹村照美 : 消毒薬の鉄防錆に関する研究, 歯科医学, 23(6) ; 2350-2353, 1960
10. 木戸晴康, 古泉秀夫, 吉本与一 : 消毒剤の消毒物に対する影響, 日本病院薬剤師会雑誌, 16(10) ; 20-25, 1980
11. 戸田忠雄, 武谷健二 : 戸田新細菌学, 125, 南山堂, 東京, 1983
12. Kelsey, J. C. and Maurer I. M. : An Improved (1974) Kelsey-Sykes test for Disinfectants, Pharm. J., 528-530, 1974
13. 藤本進 : 使用中の消毒薬の殺菌効果判定法, 臨床検査, 26(12) ; 1447-1453, 1982
14. 野尻努, 奥村実 : 新しい消毒剤の試験法—Kelsey-Sykes 法について—, 防菌防黴, 4(4) : 20-26, 1976
15. Prince J., Ayliffe G. A. J. : In-use testing of disinfectants in hospitals, J. Clin. Path., 25 ; 586-589, 1972