

氏 名：岡崎 悦子
学位の種類：博士(感染制御学)
学位記番号：博感制第12号
学位授与の要件：学位規則第4条第1項該当
学位論文題目：*Enterococcus faecium* を使用した
洗浄消毒装置用生物学的インジケーターの開発
研究指導教員：小林 寛伊
論文審査委員：(主査)大久保 憲 (副査)藤井 昭
(委員)尾家 重治 (委員)中田 精三

論文審査結果の要旨

熱水を使用した洗浄消毒装置(washer-disinfector; WD)の殺菌効果を微生物学的に評価するために、指標菌として *Enterococcus faecium* を使用した生物学的インジケーター(biological indicator; BI)を開発し、その BI 指標菌の安定性、WD を用いた微生物学的な評価、および WD の各種パラメータの BI に及ぼす影響等を検証した。あわせて、自施設にて BI を作製する方法、手順、保管などについて検討した研究である。

試作 BI を使用した実験方法の骨子は、キャップ付き試験管のキャップ内面に指標菌を塗布乾燥させて、WD にて洗浄消毒処理後に、培地を入れた試験管本体に接合させる方式で培養して洗浄殺菌効果を判定するものである。さらに、指標菌液に3種類の有機物を混じったものを使用して、指標菌の熱抵抗性を示す D 値(decimal reduction value)を求めた。

これらの結果から、2%乾燥酵母混合の *E. faecium* JCM 5084 株を用いた推奨 BI が作製された。この BI を使用して、WD の示す各種のパラメータについて BI に及ぼす影響を検証した。また、洗浄工程で芽胞形成菌が混入した場合の擬陽性判定を避けるために、芽胞形成菌の発育を抑制するための各種方法についても検討した。

WD にて熱水工程まで運転した場合には、すべての試作 BI は陰性化していた。使用した *E. faecium* JCM 5084 株の D_{65} 値の mean \pm SD は 24.21 ± 1.79 秒、乾燥酵母共存下では 27.39 ± 2.74 秒であった。また、洗浄剤を使用した検討ならびに噴射水の当たり方による検証では、BI 性能に影響はなく、80 $^{\circ}$ C 10分間の熱水消毒行程のみが BI の陰性化に関与していた事実が明らかとなった。

WD の評価法において、これまで物理的なモニタリングおよび直説法、間接法による洗浄効果の判定のみがおこなわれてきたが、*E. faecium* JCM 5084 株の指標菌を使用した BI が試作され、その死滅(陰性化)を確認することによる洗浄効果を判定することに成功した。

論文審査委員からの意見としては、0.05%アジ化ナトリウム加 TSB 培地で擬陽性を予防で

きるとする必要があるか？熱処理で生存するのは芽胞のみであり、その意味で芽胞の混入を考慮する必要は無いのではないかという意見、また、標準株の使用は殺滅されやすいので、臨床株での検討も考慮した方が良かった、さらに 24 時間までの安定性は確認されているがそれ以上のたとえば 30 日くらいの安定性が維持できれば素晴らしいとする意見もでた。さらに、今回の新しいインジケータの性能を WD の一機種のみで確かめて使用を推奨してよいのだろうか、などの意見が出された。

これらの指摘については今後の検討課題とするも、本研究の新規性は高く、独自の作成方法による BI を用いることによる WD の消毒殺菌効果を簡便に把握できることから、本 WD 用の BI を使用した臨床応用が期待される。

本研究成果を博士論文として認定する。

平成 26 年 12 月 18 日

論文審査委員（主査）大久保 憲