

主 論 文 要 旨

論文提出者氏名：

小山 亮太

専攻分野：整形外科学

コース：

指導教授：別府 諸兄

主論文の題目：

Antimicrobial and Antibiofilm Effects of Ozonated Water for Prevention and Treatment of Bone and Joint Infections.

(骨、関節感染症予防と治療におけるオゾン水の抗菌力および抗バイオフィルム効果の検討)

共著者：

Ken-ichi Okuda, Kazuhiko Matsushita, Moroe Beppu, Yoshimitsu Mizunoe.

緒言

化膿性骨髄炎（骨髄炎）は整形外科領域における代表的な感染症で、バイオフィルムを形成すると難治性となる。骨髄炎の治療において持続洗浄療法は有用な方法であるが、バイオフィルムを形成した慢性骨髄炎に対する効果には限界がある。人工関節置換術などの手術部位感染（SSI）では、メチシリン耐性黄色ブドウ球菌（MRSA）やメチシリン耐性表皮ブドウ球菌（MRSE）の割合が増加している。整形外科では術野を生食で洗浄することが重要と考えられてきた。しかし最近、術野洗浄を繰り返しても閉創前には術野から 6.3%の症例で細菌が証明されたとの報告がみられる。術野汚染菌が多剤耐性菌であれば、抗菌薬の予防投与や

生食による術野の洗浄だけでは SSI を予防することは困難である。この様な現状において、多剤耐性菌に対しても抗菌力があり、組織毒性が低く長期間使用できる洗浄液の開発が急務である。

オゾン水は、細菌に対して強力な抗菌力を有し、生体には無害とされている。さらに、持続洗浄における洗浄液が抗バイオフィーム効果を有していれば、慢性骨髄炎の治療において非常に有用な洗浄液となり得る。また、術野の洗浄液にも応用可能である。オゾン水の抗菌力に関して、医学的に詳細を検討した報告は見られない。そこで、オゾン水の洗浄液としての臨床応用の可能性、およびバイオフィームに対する効果について検討した。

方法・対象

使用した菌株は、表皮ブドウ球菌 (SE4、SE21)、メチシリン感受性黄色ブドウ球菌 (MS3、MS18、SH1000)、MRSA (MR10、MR11、MR23) の 8 菌株である。オゾン水はオゾン水発生装置を用いて 7mg/L 濃度の試験水を生成した。各菌浮遊液に 7mg/L のオゾン水を加え、生菌数の変化を測定した。次に、Chiba 等の報告を用いてバイオフィームを形成させ、Sugimoto 等の方法に準じて 1 M NaCl または蛋白分解酵素 (proteinase K、trypsin) を用いてバイオフィーム破壊処理を行う前後に 7mg/L オゾン水を加え、その抗菌力を検討した。統計的解析には t-検定、TWO WAY-ANOVA、および Tukey's honestly significant difference test を用いた。

結果

バイオフィーム形成前の各浮遊菌に対するオゾン水の効果の検討では、8 菌株すべてにおいて、7mg/L のオゾン水を加えると $10^8 \sim 10^9$ colony-forming units (CFU)/mL の生菌数は $10^3 \sim 10^4$ CFU/mL に有意に減少した ($P < 0.05$)。

各バイオフィルム形成菌に対するオゾン水の効果、およびバイオフィルム破壊処理がオゾン水の抗菌力に与える影響の検討において、オゾン水はすべてのバイオフィルム形成菌に対しても $10^6 \sim 10^8$ colony-forming units (CFU)/mL の生菌数は $10^3 \sim 10^6$ CFU/mL に有意に減少効果が認められた ($p < 0.001$)。オゾン水とバイオフィルム破壊処置の交互作用は、細菌8株中2株のみで有意であった (SE21; $p < 0.05$, MR23; $p < 0.005$)。さらに解析すると、MR23 においてのみ proteinase K および trypsin 処理がオゾン水の抗菌力を有意に増強していた ($p < 0.05$)。

考察

オゾン水は浮遊菌のみでなくバイオフィルム形成菌に対しても抗菌力が認められた。しかし、バイオフィルムを形成するとオゾン水の抗菌力が減弱する傾向が認められ、バイオフィルムがオゾン水に対するバリアー機能を有していると推測された。そこで、バイオフィルム形成菌に対するバイオフィルム破壊処理がオゾン水の抗菌力に与える影響を検討すると、8株中2株 (SE21、MR23) のみでオゾン水とバイオフィルム破壊処置の交互作用が有意であった。しかし、蛋白分解酵素処理がオゾン水の抗菌力を有意に増強したのは MR23 の1株のみであった。この MR23 は蛋白性のバイオフィルムを形成し、蛋白分解酵素で破壊されることが知られている菌株であった。菌株によってはバイオフィルム破壊処置とオゾン水の併用により抗菌力が増強することが示唆された。

今回、オゾン水の単回投与では殺菌効果は認められなかった。これはオゾン水が有機物で不活化されるためと推測された。常に新鮮かつ大量なオゾン水が細菌と接触できるようにオゾン水で洗い流すような使い方が望ましいと考えられる。この様な持続洗浄モデルでの効果、安全性の検証、および低濃度オゾン水の抗菌力の検証が必要である。

結論

オゾン水は浮遊菌のみでなくバイオフィルム形成菌に対しても抗菌力が認められた。オゾン水が proteinase K あるいは trypsin 処理と相乗効果を認めたのは MR23 のみであった。今後、持続洗浄モデルでの効果、安全性の検証、および低濃度オゾン水の抗菌力の検証が必要である。