

## 原著論文

# 花き類生け水中の緑膿菌等の発生消長と品質保持剤による菌数抑制†

築尾嘉章・月星隆雄\*・松下陽介・伊藤陽子\*\*・市村一雄・湯本弘子・岡野邦夫

(平成 20 年 7 月 1 日受理)

## Population Dynamics of *Pseudomonas aeruginosa* in Vase Water and its Control with Preservatives

Yoshiaki CHIKUO, Takao TSUKIBOSHI, Yohsuke MATSUSHITA, Yoko ITOH, Kazuo ICHIMURA,  
Hiroko YUMOTO and Kunio OKANO

### Summary

There have been newspaper reports that cut flowers in hospitals are harmful because of opportunistic infection of *Pseudomonas aeruginosa* which propagates in vase water. We investigated whether infectious bacteria can propagate in vase water under experimental and hospital conditions. *P. aeruginosa* was not detected in vase water with cut flowers placed in the waiting room of a particular hospital. The addition of preservatives for cut flowers effectively prevented the propagation of bacteria including *P. aeruginosa* in vase water.

**Key Words:** 生け水, 緑膿菌, 品質保持剤, 菌量

---

† 本論文の要旨は園芸学会 (2006.9) で口頭発表した (松下ら, 2006) .

\* 現畜産草地研究所

\* 現農業・食品産業技術総合研究機構本部

## 緒言

花き類の生け水から緑膿菌 (*Pseudomonas aeruginosa*) が検出されるため、衛生上の理由で生け花の持ち込みを禁止する病院が増加しているとの新聞報道がある(朝日新聞,2005 花卉園芸新聞,2005)。しかし、これらが事実に基づくものかどうかは明らかではない。一般に緑膿菌は常在菌であり、ヒトに対し病原性はあるが病原力は比較的弱く、免疫力の低下したヒトを中心に日和見感染するとされる。花き類は患者にとってアメニティ効果もあるため、病院から一律に生け花を排除することは、考慮を要すると考えられる。そこで果たして生け水中に緑膿菌が発生するのか、発生する場合はその発生消長を調査し、切り花品質保持剤による緑膿菌数抑制法を検討する。

## 材料および方法

### 1. 生け水中の細菌の増殖

代表的切り花花き類であるキンギョソウ(ゴマノハグサ科)、ブルースター(ガガイモ科)およびデルフィニウム(キンボウゲ科)を混合して水道水中に生け、花き研究所の一般実験室内に暴露し、当日、3および6日目に生け水を採取し、細菌数を希釈平板法で測定した。すなわち一般細菌の測定にはNA培地(Nutrient agar)を、緑膿菌の測定には選択培地であるPASA培地(日本ベクトン・ディッキンソン社製)を用い、NA培地には1,000-10,000倍希釈液を、PASA培地には原液を0.1mlずつ塗布し、35℃暗黒下で1晩培養し、翌日コロニー数を計測した。PASA培地ではさらに30℃で8日間培養し、生育したコロニーを分離し、16S rDNA領域の塩基配列から種を簡易同定した。

### 2. 病院待合い室に配置した花瓶生け水の細菌数

バラ(バラ科)、カーネーション(ナデシコ科)、トルコギキョウ(リンドウ科)各5本混合を水道水の入った円筒型白色陶器花瓶(1.7ℓ容量)3基に生け、T病院(つくば市内)の階の異なる待合室3カ所(室温は終日25℃に設定)に配置して、1)と同様に調査した。期間中は水の交換は行わず、吸水と蒸発による自然減分だけ水道水を追加した。菌量測定のための水の採集は各区1mlとした。

### 3. 品質保持剤の緑膿菌に対する効果

品質保持剤3種(美咲®、クリザール®, GLCA [Ichimuraら,2006])を標準濃度の0.5倍,等倍および2倍の3段階で添加したLB(Luria-Bertani)培地1mlに緑膿菌(菌株番号JCM5962)を約 $10^{10}$ cells/ml濃度で $10\mu$ l接種し、37℃暗黒下で16時間振とう培養した後に溶液の濁度(波長600nm)を分光光度計で測定し、細菌濃度を推定した。

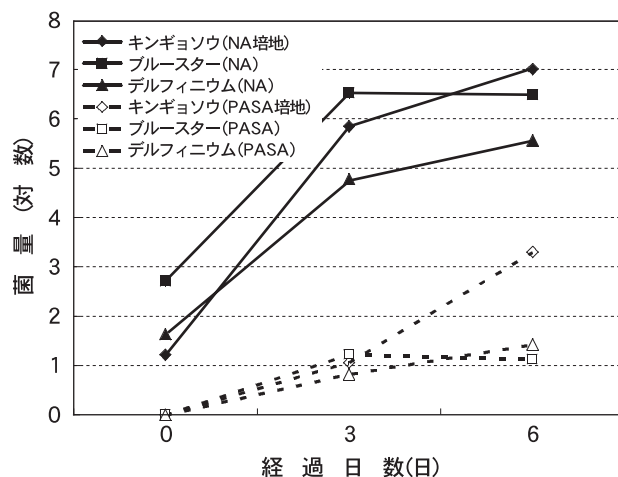
### 4. 生け水に添加した緑膿菌の品質保持剤による増殖抑制

緑膿菌(菌株番号JCM5962)をPASA培地上で培養し、約 $10^{10}$ cells/ml濃度の菌液を調製した。生け水80mlを入れたガラス製管びんに花き類(カーネーション、キンギョソウ、ブルースター各1本混合)を生け、これに緑膿菌液 $80\mu$ lを添加した。よく攪拌後さらに各品質保持剤を添加した(5反復)、添加直後および室温での培養1,2および3日後に生け水を採取し、緑膿菌数の推移を希釈平板法で測定した。すなわちPASA培地に1,000-10,000倍希釈液を $50\mu$ lずつ塗布し35℃暗黒下で培養し翌日出現したコロニー数を計測した。

## 結果

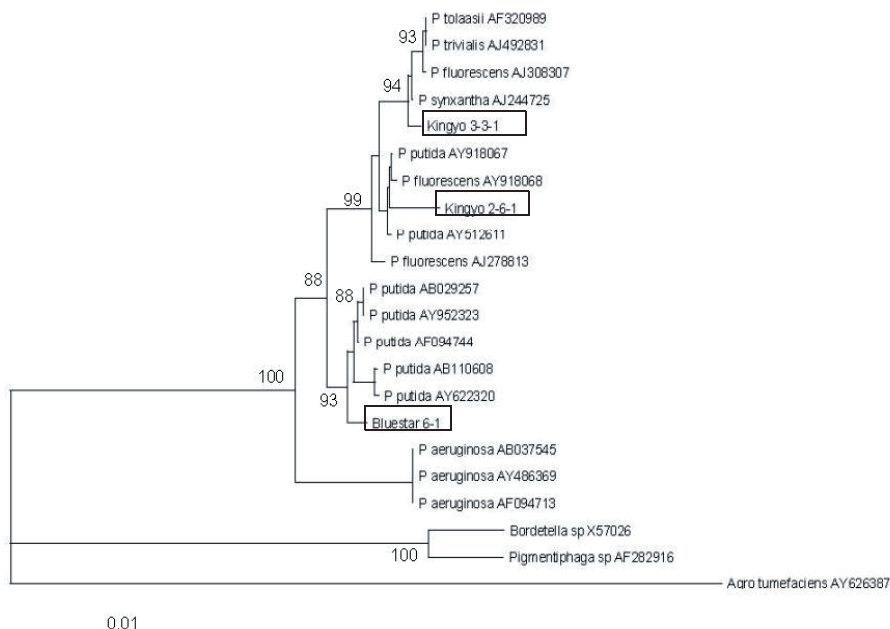
### 1. 生け水中の細菌の増殖

供試したいずれの花きでも、生け水中の一般細菌数は培養3日目には急激に上昇し、 $10^4\sim 10^6$  cells/mlまで達したが、PASA培地上で生育する細菌は検出されなかった(図1)。ただし、さらに8日間培養を延長したPASA培地ではキンギョソウ区から $10^3$ cells/mの濃度で細菌が検出された。この細菌では緑膿菌特有の黄緑色素の生産が認められず、r-DNA塩基配列(図2)から生け水中に普通に出現する*Pseudomonas fluorescens*, *P. putida*等であると考えられ、緑膿菌(*P. aeruginosa*)ではないと判定した。

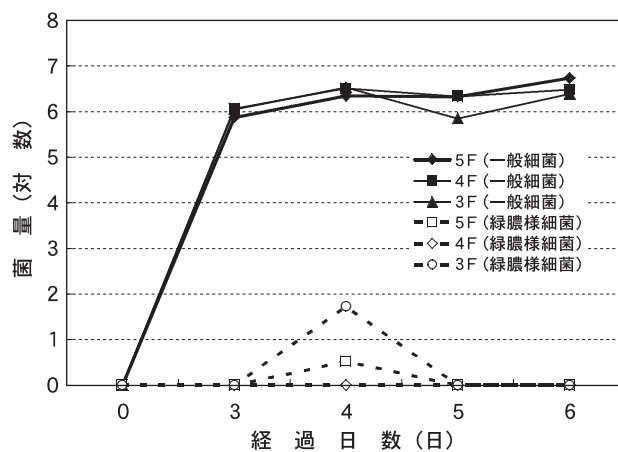


第1図 花き類生け水中の細菌数推移

緑膿菌様細菌はPASA上で培養8日目に測定した。菌数は1ml当りの常用対数値



第2図 緑膿菌選択培地から検出された細菌のr-DNA塩基配列に基づいた簡易分類枠で囲ったものがそれぞれの切り花生け水から分離された細菌



第3図 病院内生け水中の細菌数推移

## 2. 病院待合室に配置した花瓶生け水の細菌数

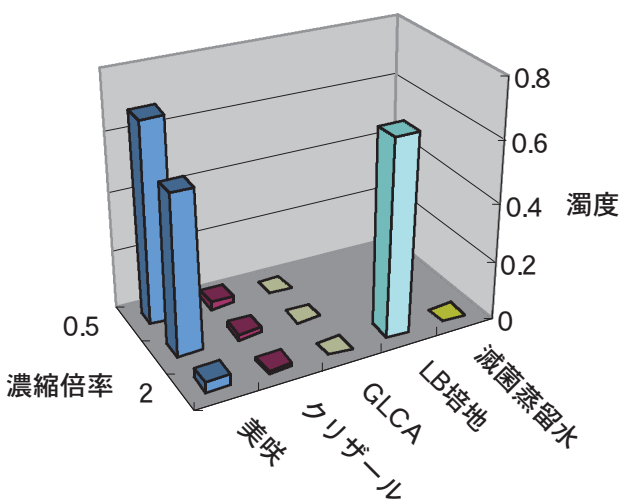
病院内でも同様に一般細菌は $10^6$ cells/mlで検出され、培養4日目には一部の階で一晩でPASA培地上で生育する緑膿菌様細菌が検出されたが(図3)、培養性状から緑膿菌ではないと判定した。以上から、今回の試験の範囲内では花き生け水から緑膿菌は検出されなかった。

## 3. 品質保持剤の緑膿菌に対する効果

各種品質保持剤を添加したLB培地で緑膿菌を培養した結果、品質保持剤無添加LB培地では菌は濁度0.5と増殖した。一方、GLCA添加区ではいずれの濃度でも全く増殖せず、クリザール添加区では0.5倍濃度でわずかに増殖したが、ほぼ緑膿菌の繁殖を抑制した。これに対し美咲添加区では0.5および1倍濃度区で濁度が無添加区並みに高くなり、ほとんど抑制しなかったが、2倍濃度で大幅に抑制した。滅菌蒸留水では菌の増殖は認められなかった(図4)。

## 4. 生け水に添加した緑膿菌の品質保持剤による増殖抑制

品質保持剤を添加しない蒸留水中(対照区)では緑膿菌は当初約 $10^7$ cells/mlの菌量が徐々に減少し、3日目には $10^5$ cells/mlに低下した。一方、クリザール区では添加当日から緑膿菌が分離されなくなり、3日の培養期間中検出されなかった。GLCA区では添加直後で無添加区に比べ



第4図 各種品質保持剤による緑膿菌抑制効果  
濁度0.6で菌数 $2 \times 10^8$ /mlに相当

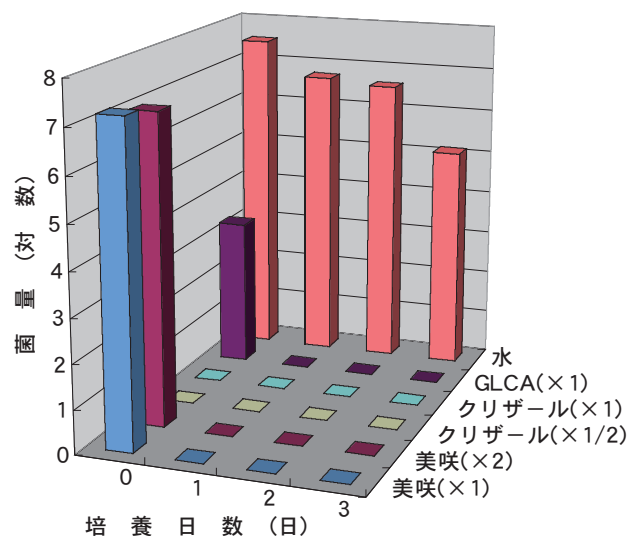
半減し、翌日2, 3日目には検出されなくなった。美咲区では2濃度とも当日は無添加区と同程度の菌量であったが、2, 3日目には検出されなくなった(図5)。

## 考 察

生け水中では切り花から分泌される有機物を栄養源とする一般細菌が急速に増殖したが、緑膿菌は検出されなかった。一方、選択培地でも培養期間が長くなると生育する菌株が現れたが、細菌学的性質から緑膿菌ではないと考えられた。選択培地添付のマニュアルには検定は培養1日後が推奨されており長期の培養は想定されていない。たとえ選択培地と言えども緑膿菌以外の菌を完全に生育阻止できるわけではない。報道による病院内の花び生け水から緑膿菌が検出された例の経緯は不明のため判断できないが、選択培地でも緑膿菌様細菌は検出されるため、これらが緑膿菌と誤認された可能性は否定できない。

病院内に配置した花瓶中の生け水では6日の試験期間中、一般細菌が増殖したが緑膿菌は検出されなかった。しかし、より期間が長くなった場合や生け水を交換・補充しない場合等は常在菌の性質から増殖する可能性はある。

各種品質保持剤は濃度による程度の違いはあるがいずれの保持剤も緑膿菌を抑制する効果が認められたので、緑膿菌を含む細菌類の菌量抑制に有効であると考えられた。なお、蒸留水のみ対照区の緑膿菌数がやや低下し



第5図 生け水に添加した各種品質保持剤の緑膿菌抑制効果

たが、これは一般細菌の増殖による相対的な低下と考えられた。

各種品質保持剤による緑膿菌数抑制効果は、実験レベルでは高かったが、現場で実際に緑膿菌が発生している花き類生け水中では菌がバイオフィルムを形成していると予想され、そのような状況下での効果についても判定試験を行う必要がある。

病院内でも緑膿菌は検出されなかったことから、緑膿菌は衛生状態の悪い病院でのみ生け水中に検出されると推察される。緑膿菌選択培地PASAで、緑膿菌と同属の他の細菌種が検出されたことから、この培地を使った判定に際しては、培養日数および出現したコロニーの性状などに十分に注意して、細菌種を判定する必要がある。各種品質保持剤は緑膿菌抑制に有効であったため、現場での積極的活用が可能である。

## 摘 要

生け水中の細菌量の推移や緑膿菌の有無を検討した。今回の試験の範囲内では緑膿菌は生け水から検出されなかった。一方、切り花品質保持剤を生け水に添加すると一般細菌のみならず緑膿菌でも増殖を抑制できた。

## 引用文献

朝日新聞. 2005.2.25 (大阪地方版)

花卉園芸新聞. 2005.8.15

松下陽介ら. 2006. 花き生け水中の緑膿菌等細菌の発生活長と品質保持剤による菌数抑制. 園学雑. 75 (別2) :410

Ichimura, K., M.Taguchi and R.Norikoshi. 2006. Extension of the vase life in cut roses by treatment with glucose, isothiazolinonic germicide, citric acid and aluminum sulphate solution. JARQ 40:263-269.