

論 文

殺菌剤液滴の帯電と手指殺菌の促進

大 嶋 孝 之^{*1}, 宮 下 征 吾^{*}, 小 暮 卓 夫^{*},
佐 藤 正 之^{*}, 中 根 偕 夫^{**}

(2006 年 9 月 15 日受付 ; 2007 年 2 月 19 日受理)

Enhancement of Hand Cleaning by Charged Disinfectant Mist

Takayuki OHSHIMA^{*}, Seigo MIYASHITA^{*}, Takuo KOGURE^{*}, Masayuki SATO^{*}

Masayuki SATO^{*} and Tomoo NAKANE^{**}

(Received September 15, 2006 ; Accepted February 19, 2007)

Effectiveness of liquid disinfectant mist generated by ultrasonic humidifier was studied for hand cleaning. 1 % CGH / 61 % ethanol was most effective to achieve efficient inactivation of *Escherichia coli* cells on the surface of agar medium plate. The mist of liquid disinfectant was introduced to the region of corona discharge with applying -5, 10, or 15 kV DC. The mist was negatively charged up electrically, and the charged mist efficiently attached to the surface of target agar medium plate when decoloration of chloramphenicol was examined. However, excess DC voltage, 15 kV in this study, resulted in the decrease of mist amount attached on the target than that in the case of 10 kV was applied. Although the time for sterilizing bacteria on agar medium plate without DC corona was seven minutes, it shortened to one minute with DC corona. We also examined the actual use for hand cleaning, and the enhancement of inactivating bacteria on fingers was confirmed in our hand cleaning system. After 20 seconds of treatment, the number of bacteria cells on hand was drastically decreased with our system, and it will be applicable for hand cleaning in hospitals and fast food stores.

1. はじめに

手指の衛生管理は医療・食品現場において必須であるため、マニュアル化され、義務化されている。これらのマニュアル中の洗浄・除菌のための操作は非常に煩瑣で 10 分程度の時間を要し、励行に困難が伴う^{1, 2)}。また、この手指殺菌操作の副作用として手荒れが発生し、手荒れ部分が雑菌の温床となる事例も報告されており³⁾、簡便かつ温和な手指殺菌方法が待望されている。一方、医療・ファーストフード店などには不特定多数の人々が頻繁に出入りする。院内感染や食中毒被害の拡大を防ぐ観点から、これらの人々も手指殺菌を行ったほうが好ましいが、不特定多数の人が手軽に手指殺菌できる装置・設備は皆無に等しい。

このような背景から短時間に手指殺菌が可能で、かつ手荒

れを防止するために最低限の薬剤で手指殺菌が可能な装置の開発が望まれている。そこで本研究では殺菌薬剤をミスト状に発生させ、これらの液滴を帯電させることにより手指表面への付着を促進して手指殺菌を行うことを目的とした実験的検討を行った。

本研究ではミストにして噴霧した場合に適した殺菌薬剤の選定を行った。またこれらの薬剤液滴を DC コロナ放電場に入れた時の帯電を、付着対象への付着量の変化を調べることで評価した。さらに帯電した薬剤液滴が寒天培地上の菌や実際の手の殺菌を促進するかどうか実験的に検討した。

2. 実験方法・手順

2.1 実験装置

図 1 に本研究で用いた実験装置の概略図を示す。手指殺菌用の液剤を超音波振動子(超音波加湿器 USH-400ECO, 秋月電子)を底に配置した円筒に定常運転水位まで殺菌薬剤や他の水溶液を入れた。超音波振動子には AC45 V を入力し、400 mL/mim で霧化ボックス(アクリル製, 70×100×100mm)内に霧化させた。霧化ボックスには DC ファン(12 V)が取り付けられており、霧化した薬剤液滴を放電円筒に送り込んでいる。放電円筒はアクリル円筒(45φ×65 mm)の側面に針電極を挿

キーワード: 手指、殺菌、コロナ放電、液滴、超音波振動子
* 群馬大学工学部生物化学工学科 (376-8515 群馬県桐生市天神町 1-5-1)

Department of Biological and Chemical Engineering, Gunma University, 1-5-1 Tenjin-cho, Kiryu 376-8515, Japan

** 日本大学生産工学部電気電子工学科 (275-8575 千葉県習志野市泉町 1-2-1)

Department of Electrical and Electronic Engineering, College of Industrial Technology, Nihon University, 1-2-1 Izumi-cho, Narashino, Chiba 275-8575, Japan

¹ toshima@bce.gunma-u.ac.jp

入し、円筒反対側に銅シールを貼り付けてアース電極とした。印加電圧はDC マイナス 5, 10, および 15 kV であった。放電円筒を通過した薬剤液滴は処理槽ボックスに送られ、ボックス側面に取り付けた銅板（アース電極）, 90mm φシャーレ, および手に対する付着挙動を観察した。

2.2 手指殺菌用液剤

手指殺菌用の液剤としては 0.5 % CGH (chlorhexidine gluconate, 和光純薬) 水溶液, 1 % NaClO (次亜塩素酸ナトリウム, 和光純薬) 水溶液, 70 % ethanol 水溶液, および 1 % CGH / 61 % ethanol 水溶液を実験直前に調整して用いた。

2.3 付着の観察方法・測定方法

コロナ放電場を通過した液剤液滴の付着促進効果を観察するために、寒天とキムワイブを用いた方法を行った。寒天を用いた方法は 0.01 M NaOH, フェノールフタレイン指示薬数滴を含む 1 % 寒天プレートを 90 mm φシャーレに調整し、液剤として 0.1 M 酢酸を霧化して使用した（図 1）。酢酸溶液の付着に伴うフェノールフタレイン色の脱色変化を観察した。

またシャーレ中にアースに接続したキムワイブ片（50×60 mm）をおき、0.5 % CGH 水溶液を霧化して使用した。キムワイブ片は実験処理に伴い湿潤してくるためアースになると考えられる。一定時間後のキムワイブ片の重量変化を観察

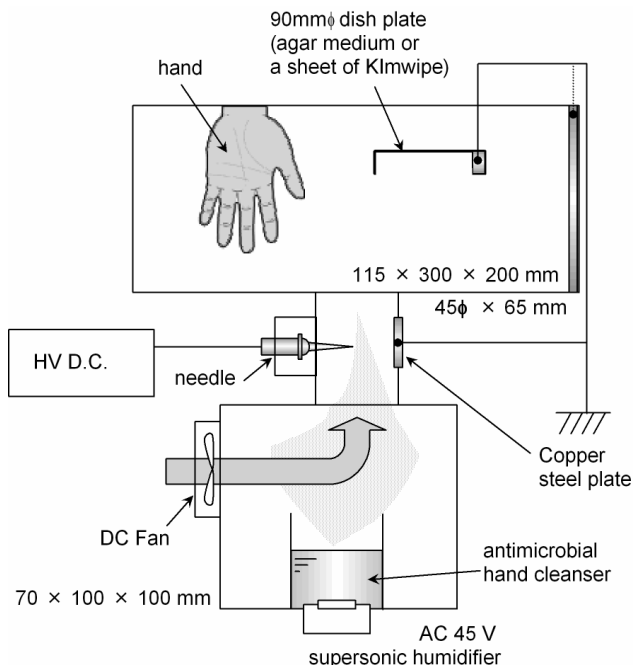


図 1 実験装置概略図

Fig.1 Experimental set up.

し、重量増を液剤付着量として評価した。

2.4 殺菌評価

殺菌対象としては大腸菌 (*Escherichia coli* K-12), およびドライイースト（三共イースト）を使用した。大腸菌は寒天培地上の殺菌評価に使用した。またイースト菌は実際の手指殺菌の評価に使用した。

大腸菌は予め LB 液体培地 (BACTO yeast extract 10 g/L, BACTO peptone 10 g/L, NaCl 5 g/L pH 7.2) で 37°C, 12 時間振とう培養した培養液を用意し, 10^4 CFU/mL 程度になるように希釈した菌懸濁液を調整した。この菌懸濁液 0.1 mL をシャーレに調整した LB 寒天培地 (BACTO yeast extract 10 g/L, BACTO peptone 10 g/L, NaCl 5 g/L, agar 15 g/L pH 7.2) に塗布してサンプルとした。

またドライイーストの場合, 1.5 g を滅菌水に懸濁し, 希釈を行って約 10^3 CFU/mL となるように希釈した菌懸濁液を調整した。また実際の被験者の手をクリーンベンチ内で 70 % ethanol 溶液で揉み洗いして手表面を滅菌した。滅菌した手の人差し指第一関節までを調整したイースト懸濁液に浸し, イースト菌を指に付着させた。十分に浸した後, ドライヤーで 20 秒間乾燥させた。イーストを付着させた手を図 1 の装置に図のように 20 秒間挿入した。処理後の手は滅菌した麦芽寒天培地（日水）を 40°C まで冷却した溶液内でよく洗い, 麦芽寒天培地をそのまま冷却固化した後, インキュベーターに移した。実験は 3 回行い, 平均値を求めて評価した。

処理後のサンプルはそのまま 37°C のインキュベーターにおいて 12 時間培養し, コロニー形成数 (Colony Formation Unit; CFU) をカウントして評価した。

3. 実験結果および考察

3.1 殺菌液剤の検討

まず図 1 の実験装置で放電円筒に高電圧を印加しない条件で、寒天培地上の大腸菌がどの程度死滅させられるかを調べた。用いた液剤は 0.5 % CGH, 1 % NaClO 水溶液, 70 % ethanol 水溶液, および 1 % CGH / 61 % ethanol 水溶液の 4 種類である。図 2 にこの結果を示す。初期大腸菌数はおよそ 3,000 CFU/plate 前後であり, いずれの薬剤でも時間と共に生菌数が低下していた。最も殺菌効果が小さかったのは病院内の滅菌洗浄剤として用いられている CGH の 0.5 % 溶液であり, 15 分後には生菌数は 1/3 以下になっていた。その他の液剤ではそれぞれ完全に死滅させることができ, 70 % ethanol 水溶液では 12 分後, 1 % NaClO 水溶液では 9 分後, 1 % CGH / 61 % ethanol では 7 分後には生菌が認められなくなっていた。Grove ら, Mulberry らは主に病院内の殺菌薬剤として 1 % CGH / 61 % ethanol が最も効果的であると述べている^{4,5)}。これらの

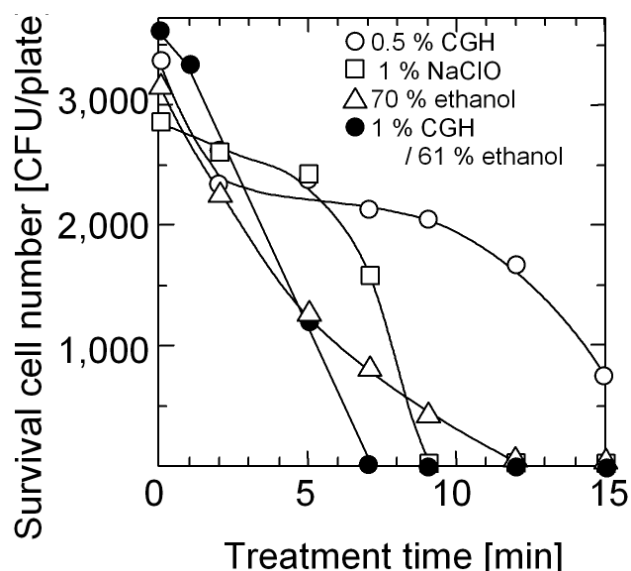


図2 各種薬剤噴霧による大腸菌菌数の減少

Fig.2 Inactivation of *E. coli* by various disinfectant mist.

実験は液剤の中で手を揉み洗いをすることを前提とした実験であったが、本研究で行っている霧化方式でも 1 % CGH / 61 % ethanol が最も効果的であることが確認できた。しかし、霧化方式で寒天培地上の大腸菌を完全に死滅させるためには 7 分間必要であることがわかった。本研究の目的は使用する薬剤量の低減と処理時間の短縮である。液剤をミスト状に薄く散布することで使用量は最低限にできると考えられる。しかし不特定多数の人が気軽に行うためにはもっと短くする必要があると考えられる。そこで処理時間 1 分以内を目標に実験を行うこととした。

3.2 液剤液滴の帯電による付着促進

超音波振動子による液剤の霧化によっても寒天培地上の大腸菌を死滅させることが確認されたが、より短時間で処理をすることを考え、薬剤液滴を帯電させて付着を促進することを考えた。まず 0.5 % CGH 水溶液を薬剤とした場合のキムワイプ上への付着（重量増）を観察した。図 3 には印加電圧を 0, 5, 10, 15 kV 印加してコロナ放電を通過した 0.5 % CGH 水溶液液滴の重量増加の経時変化を示している。0～10 kV までは印加電圧に伴い重量増加が大きくなっていた。無印加 (0 kV) のときには 1 分後までは有意な付着は認められず、3 分後には 0.05 g の液剤が付着していた。これに対し電圧を印加した場合には明らかに付着の促進が確認され、10 kV 印加 1 分後に 0.14 g、3 分後には 0.27 g の液剤が付着していた。コロナ放電により液滴が帯電することにより、付着が促進されたと考えられる。しかし 15 kV を印加した場合には 10 kV を印加した場合より付着量が減少していた。放電円筒内を目

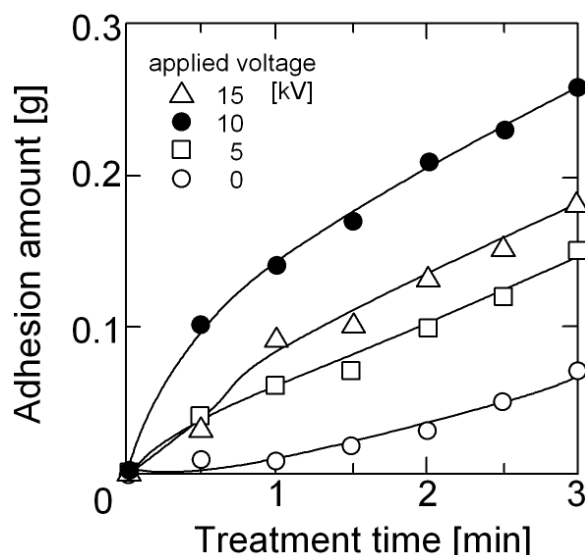


図3 キムワイプ片に付着した 0.5 % CGH の重量変化

Fig.3 Mass of 0.5 % CGH attached mist on sheets of Kimwipe.

視で観測したところ、15 kV を印加した場合には通過する液滴が明らかに減少していることを確認した。これはコロナ放電に伴う EHD 流れにより液滴が散逸してしまうことに加え、帯電した液滴がアースに引き寄せられたため、コロナ放電場を通過できる液滴量が減少したためと考えられる。そこで今後の実験は印加電圧 10 kV 以下で行うこととした。

図 4 は 0.01 M NaOH、フェノールフタレイン指示薬数滴を含む 1 % 寒天プレートに 0.1 M 酢酸溶液を 5 分間噴霧した場合の脱色の経時変化を示している。無印加の場合には 3 分後に赤色が薄くなり始め、以後徐々に全体的に薄くなっていく傾向であった。一方、電圧を 5, 10 kV 印加し、寒天プレートをアースした場合には（写真上方の四角い銅片がアース）明らかに脱色の促進が観察された。5 kV の時には 1 分後にはアース近傍の脱色が認められ始め、3 分後には完全に脱色した領域が現れていた。5 分後には周辺部を除いてほぼ完全に脱色されていたのに加え、酢酸溶液が寒天プレート上に付着している様子が確認できた。10 kV 印加した場合にも 5 kV の場合と同様の傾向であったが、より早く脱色していることが確認された。また 10 kV の場合には 3 分後には酢酸溶液の付着が目視できた。さらに 5 分後の周辺部の未脱色領域も 5 kV の場合よりも小さかった。またアースした場合としなかった場合で比較を行ったが、アースしなかった場合でも脱色の促進が見られたため、今後の実験ではアースを行わないこととした。

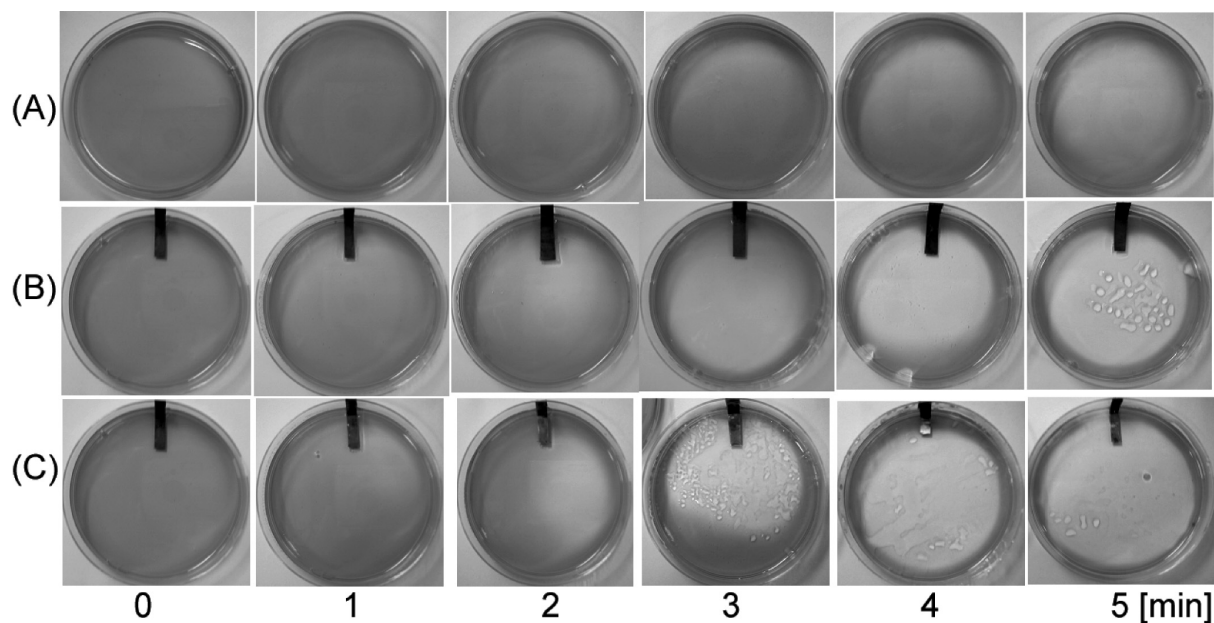


図4 0.1M 酢酸ミストによるクロラムフェニコールの脱色(A)無印加, (B)5 kV, (C)10 kV

Fig.4 Decoloration of chloramphenicol due to 0.1 M acetic acid mist, (A)0 kV, (B)5 kV, (C)10 kV.

3.3 帯電した1% CGH / 61% ethanol 液滴による寒天プレートおよび手指表面の殺菌

LB 寒天培地プレートに $10^3 \sim 10^4$ CFU の大腸菌を塗布したサンプルに対し、1% CGH / 61% ethanol 液滴を噴霧した時の経時変化を図5に示す。電圧無印加の場合は時間とともに徐々に減少し、60秒後には 10^2 CFU 程度まで減少していた。これに対し、10 kV 印加した場合には大腸菌の減少が顕著で、60秒後には検出されなくなっていた。この実験より1% CGH / 61% ethanol 液滴がコロナ放電場近傍を通過することで帯電

し、寒天培地プレートへの付着が促進され、表面の大腸菌が死滅したと考えられる。

次にこれまでの実験結果を実証するために、実際の手指殺菌への適用を考えた。実験方法で述べたように実際の被験者の指にイースト菌を付着させ、10 kV 電圧印加を行った1% CGH / 61% ethanol 液滴を20秒間噴霧させた。この結果を図6に示す。手指に残存するイースト菌数をカウントしたところ、無処理の場合がおおよそ3,800 CFU であったのに対し、無印加の場合がおおよそ半分の1950 CFU であった。10 kV 印加し

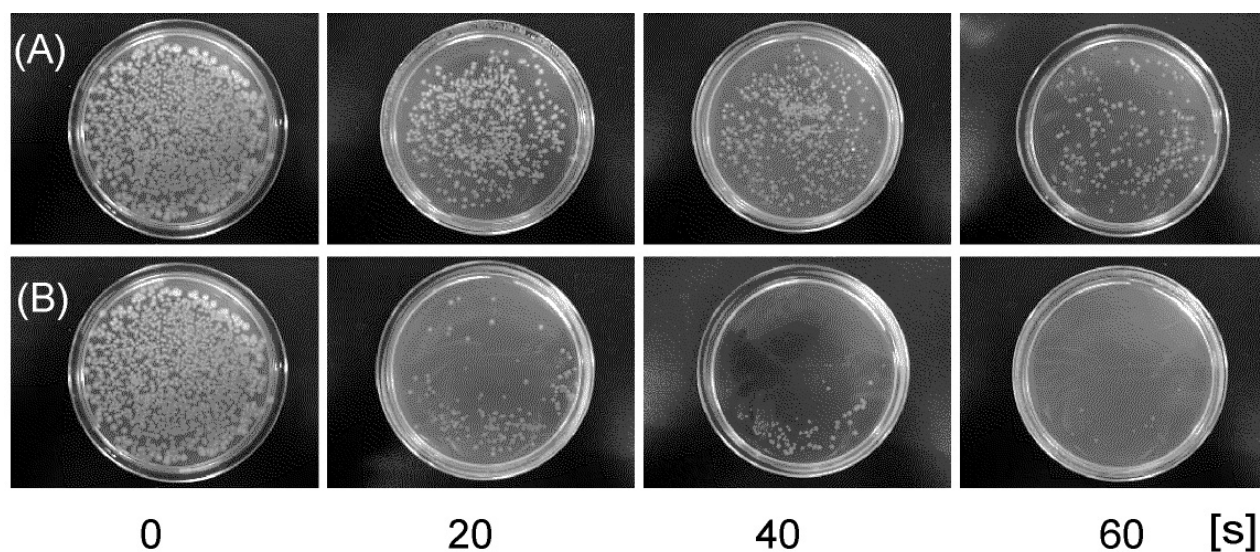


図5 寒天培地上の大腸菌の殺菌 (A) 無印加, (B) 10 kV 印加

Fig.5 Inactivation of *E. coli* on the surface of agar medium, (A) 0 kV, (B) 10 kV.

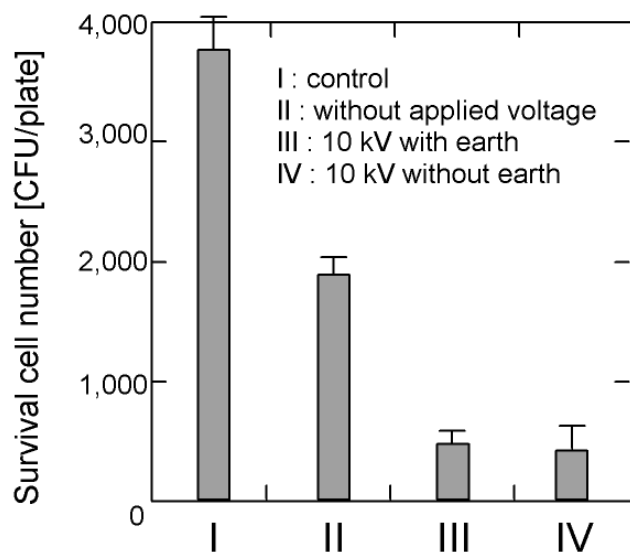


図6 手指に付着させたイースト菌の殺菌

Fig.6 Inactivation of yeast cells on hand.

た場合は400 CFU以下で、被験者をアースした場合としない場合で違いは認められなかった。この結果より帯電した1% CGH / 61 % ethanol 液滴はアースの有無にかかわらず手指に対してもよく付着し、表面のイースト菌をすばやく殺菌できることが実証できた。病院や食品業界で問題となる病原菌は無数にある。これらの病原菌伝播の原因として手の介在は大きい⁶⁾。これを防止するためには手を無菌化することが理想的であるが、現実的ではない。強力な殺菌剤を用いて、十分に処理したとしても手の溝深くに存在している菌まで殺菌するのは容易ではない。現実的な防止方法としては本研究で提案しているような簡単な装置・手順で短時間の処理を繰り返し行って手の菌数を減少しつづける、あるいは菌数が低い状態を維持することが病原菌による被害を低減させるための有効な方法ではないかと考えている。

本研究では迅速な手指殺菌を目的に、超音波振動子による薬剤の液滴噴霧方法を検討した。薬剤液滴噴霧方式でも1% CGH / 61 % ethanol 液滴が高い殺菌能力を示した。しかしコロナ放電を行って液滴の帯電させていない場合には寒天培地プレート上の大腸菌を滅菌するのに約7分必要であった(図

2)。これに対し帯電させた場合には約1分(図5)と1/7に短縮できた。付着量を測定した図3はキムワイブ片(50×60 mm)であったが、1分後の付着量は0.14 gであった。90mmφシャーレに換算すると約0.3 gであり、非常に少量の薬剤が無駄なく有効に殺菌に寄与していることが推定される。また実際の手を用いた実験でも20秒間でイースト菌数を1/10に減少させることが可能であることもわかった(図6)。人の手の表面は寒天培地プレートのような滑らかな表面ではなく、溝の部分に雑菌が残存すると考えられるが、わずか20秒間で、かつ少ない薬剤で劇的に雑菌数を減少させられることは実用上極めて価値が高いと考えられる。病院、ファーストフード店などに出入りする不特定多数の人が、手荒れを気にすることなく簡単な方法で手指殺菌できる装置開発が可能になると考えられる。

4. まとめ

本研究では超音波振動子による薬剤の液滴噴霧方法を検討した。薬剤の種類としては1% CGH / 61 % ethanol 液滴が高い殺菌能力を示した。この薬剤液滴を、コロナ放電場を通過させることで帯電し、キムワイブ片、寒天プレートへの付着促進が確認できた。この方式により寒天培地プレート上の大腸菌の殺菌を促進する効果が確認でき、滅菌するのに必要な時間を1/7に短縮できた。また実際の人の手指殺菌においても促進が確認できた。本方式の手指殺菌は使用する薬剤の少量化および時間の短縮効果が期待できる。

参考文献

- 1) G. Kampf and C. Ostermeyer: J. Hospital Infect. **52** (2002) 219
- 2) R. Montville, Y. Chen, and D. W. Schaffner: Int. J. Food Microbiol. **73** (2002) 305
- 3) C. Marena, L. Lodola, M. Zecca, A. Bulgheroni, E. Carretto, R. Maserati and L. Zambianchi: American J. Infect. Control, **30** (2002) 334
- 4) G.L. Grove, C.R. Zerweck, J.M. Heilman, and J.D. Pyrek: American J. Infect. Control, **29** (2001) 361
- 5) G. Mulberry, A. T. Snyder, J. Heilman, J. Pyrek, and J. Stahl: American J. Infect. Control, **29** (2001) 377
- 6) 松本 慶蔵 編「病原菌の今日的意味」改訂3版 医薬ジャーナル社 (2003)