原 著

紫外線殺菌装置の各種細菌およびウイルス
に対する殺菌効果に関する研究

川 名 林 治* 前 川 裕 子*

Studies on the Microbialcidal Effects on Ultra-Violet Sterilizer
against Several Kinds of Bacteria and Viruses

Rinji KAWANA, Yuko MAEKAWA
Department of Bacteriology, School of
Medicine Iwate University, Morioka, Japan

Abstract

This study was performed for the purpose of determining the effects of ultraviolet ray against several kinds of bacteria and viruses. The experimental method was to irradiate ultraviolet ray with some distance, against petri dishes containing some bacteria or viruses.

Following results were obtained :

- (1) With one minute irradiation of ultraviolet ray, *E. coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Serratia marcescens*, *Klebsiella pneumonia* and *Staphylococcus aureus* were decreased in number by 1/1,000. They were almost killed with five to ten minutes irradiation.
- (2) Herpes simplex virus type I, Parainfluenzavirus type 3 and Rhinovirus type 13 were completely inactivated after being irradiated to ultraviolet ray for five minutes.
- (3) Coxsackie B3 and Adenovirus type 3 were inactivated by about one half after five-minutes irradiation to ultraviolet ray.

Judging from the results of these experiments, it can be said that this ultraviolet ray irradiation apparatus has an excellent microbialcidal activities not only against bacteria but also to viruses. This apparatus may be useful for the control of the nosocomial infection.

* 岩手医科大学医学部細菌学教室
(原稿受付：昭和57年10月13日)

まえがき

紫外線殺菌灯による殺菌法は、近年院内感染防止の面からも広く応用されるに至っている。^{1~4)}種々のものが工夫されているが、最近製造市販された紫外線殺菌装置（スペースライザー[®]、豊田メディカル[®]製造、[®]エムエス市販：TMS-304M）は、紫外線ランプ GL-30 を4本と、底部に GL-81 本を装置するなど独創的に考案されたものとして注目されている¹⁾。

私たちは本装置の殺菌効果を検討するため、種々の細菌およびウイルスを対象として実験をすすめた結果、強力な効力を有することを認めたので、その成績の概要について報告したい。

実験方法

1. 使用装置

移動式室内殺菌装置（TMS-304M）を用い、一定時間殺菌灯を照射した。実験はすべて当教室のバイオクリーン・ルーム内で実施した。

表1 仕様

形 式	TMS-304M
電 圧 周 波 数	AC100V 50/60Hz (3芯コード、プラグ、5mコード付)
消 費 電 力	170W
紫 外 線 ランプ	GL-30×4本 GL-8×1本
ランプ有効寿命	3000時間
製 品 重 量	28kg
寸 法	幅940×奥行940×高1,250(mm) 最大寸法

2. 使用微生物

1) 使用細菌

教室に保存してある次の菌を使用した。

- (1) 大腸菌
- (2) 黄色ブドウ球菌
- (3) クレブシエラ・ニューモニエ
- (4) 緑膿菌
- (5) セラチア・マルセッセンス

2) 使用ウイルス

- (1) 単純ヘルペスウイルス 1型

図1 移動式室内殺菌装置（スペースライザー）
使用時

- ①殺菌ランプ ②ランプガード ③ハンドル ④固定金具

図2 スペースライザー

- (2) アデノウイルス 3型
- (3) パラインフルエンザウイルス 3型
- (4) ライノウイルス 13型
- (5) コクサッキーウイルス B 3型

3. 実験操作

1) 細菌の場合

(1) 上述の細菌はそれぞれ別個に実験をすすめた。普通寒天培地に 37°C 24時間培養したものを釣菌し、これらのそれぞれ 10⁸/ml の細菌浮遊液を生理食塩水で調製する。

(2) それらを菌原液として、10⁻⁸まで希釈し、10⁸/0.1ml~10⁵/0.1ml の菌濃度のものをそれぞれ 0.1ml ずつ普通寒天培地を入れた直径 9cm のペトリー・シャーレ内の平板に、コンラージ棒で十分にひろげ塗抹する。

(18) 医 器 学 Vol. 53, No. 6 (1983)

(3) 1枚を対照とし、各菌濃度の平板培地を1分、5分、10分、20分、30分間、本紫外線殺菌装置で、紫外線照射を行う。

(4) その際、シャーレの外ぶたをとり、また本紫外線殺菌装置の殺菌灯を4本とも完全に広げた状態にし、殺菌灯のランプガードの中央直下に置く。その距離は平板培地面まで64cmである。

(5) 上記のようにして紫外線照射を行った平板培地と対照の平板培地、また $10^{-5} \sim 10^{-8}$ に希釈された菌液を同様に0.1mlずつ塗抹したものを菌液の2次定量として、 37°C のふ卵器で、24時間培養し、そのコロニー数を計算した。紫外線殺菌灯はGL-30×4本、底面にGL-8×1本となっている。

2) ウイルスの場合

(1) 上述の各ウイルスの組織培養して得られた原液を、各ガラス製ペトリーシャーレに1mlずつ分注し、均等になるように広げる。シャーレは9cmの底面の完全に平らなものを用いた。

(2) 細菌の場合と同様に、本紫外線殺菌装置のランプガードの中央直下に外ぶたをとって置き、それぞれ同量の同力価のウイルスの入ったペトリーシャーレを、1分、5分、10分、さらに必要に応じて20分、30分間と紫外線照射を行った。

(3) 紫外線照射が終わったなら、直ちに9mlのEagle's MENを加え、よく混和したのち、滅菌スピッツ管に回収する。

(4) 氷中にて、ウイルス液を10倍階段希釈し、用意しておいた組織培養細胞に接種し、ウイルス力価の測定を行う。定量法はマイクロタイター法を用いた。

(5) 細胞はあらかじめマイクロプレートに、HeLa細胞またはVero細胞を $3 \times 10^4/\text{ml}$ まいておき、3日目に2%コウシ血清加Eagle's MEMで液交換をしたものを用いた。

(6) 0.025mlずつ、ドロップでウイルスを組織培養細胞に接種後、 37°C で5% CO_2 培養ふ卵器で培養を行い、毎日細胞変性効果(CPE)の観察を行った。

(7) ウイルス対照としては、ウイルス原液

そのものを紫外線照射時間を0とし、1mlのウイルス液を9cmのペトリーガラスシャーレに広げて、10分間、場合によっては30分間室温に放置したものを用いた。

実 験 成 績

実験の結果はおおむね次のとおりである。

1) 細菌の場合

(1) 大腸菌

2×10^6 の場合は5分間位で、 2×10^8 では10～20分くらいでほとんど死滅する。極めて紫外線が有効であった。両者の場合とも1分間ですでに 2×10^2 くらいまで急速に菌数が減数し、強い殺菌効果のあることが認められた。

図 3

(2) 黄色ブドウ球菌

この場合も、 2×10^8 、 2×10^6 いずれも1分間で急速に 10^2 台まで減数し、ことに後者では5分間で0となる。前者では20～30分間を要し、菌数によって差がみられた。

(3) クレブシエラ・ニューモニエ

2×10^8 、 2×10^6 の両者ともやはり、1分間で 10^2 台まで急速に減数する。前者では約20分、後者では5分間で0となり、この場合にも強力な殺菌効果のあることが認められた。

(4) 緑膿菌

2×10^6 では、1分間でほとんど0に近く、5分間で完全に殺菌されるが、 2×10^8 では、約20～30分を要し、菌数による差がみられた。

(5) セラチア・マルセッセンス

1×10^6 では、 10^1 台に1分間で、5分間で0

図 4

図 7

図 5

図 6

となる。 1×10^8 では、1分間で 10^2 に、その後は20分から30分で0と漸次減数する。

2) ウイルスの場合

各紫外線照射時間とウイルス力価との関係は次のようであった。

(1) 単純ヘルペスウイルス1型

ウイルス力価を $\text{TCID}_{50}/0.025\text{ml}$ で示すと、 10^5 から1分でやや減り、5分間では0となり、本ウイルスに対し、強力なウイルス不活化作用のあることがみられた。

図 8

(2) アデノウイルス3型

比較的抵抗性を示し、10分から30分間で約 $1/2$ に力価が低下した。これはおそらく遊離ウイルスは速やかに不活化されるが、細胞内のウイルスには直接紫外線的作用が及ぶのに困難であると推定された。

(3) パラインフルエンザウイルス3型

この場合も、1分間でやや減り、5分間では完全に不活化される。紫外線の強いウイルス不活化作用を認めた。

(4) ライノウイルス13型

紫外線照射後1分、5分、10分間と徐々にウイルス力価が減り、20分間で0となる。ライノ

(20) 医器学 Vol. 53, No. 6 (1983)

図 9

図 10

図 11

ウイルスに対しても、紫外線の効果を確認できた。

(5) コクサッキーウイルス 3 型

かなり高いウイルス力価、すなわち TCID₅₀/0.025ml で、10⁷のものが、漸減したが、10分、20分、30分間と、ほぼ平行的であった。この場合もアデノウイルスのように細胞外のウイルスには直ちに紫外線が有効に作用するが、細胞内のウイルスには十分な作用が及ばないので

図 12

はないかと思われた。

考 察

細菌およびウイルスに対する本紫外線殺菌装置の効果を判定する目的で実験をすすめた。

従来から紫外線の細菌に対する殺菌効果に関する研究は多くみられているが、¹⁻⁴⁾ウイルスについての研究は極めて少なく、本実験で用いたように、本紫外線殺菌装置による種々のウイルスに対する不活化作用に関する研究はみられなかった。

本紫外線殺菌装置の殺菌効果は細菌の場合 10⁸ のオーダーの菌数のものと 10⁶ のオーダーのものを比較すると、10⁶ の場合には極めて有効であるといえる。どの細菌についても 1 分間ですでに著しい減数が認められ、5 分間の照射ではすべてのものが死滅している。10⁸ の場合には、やはり 5 分間くらいでかなり減数するが、30 分間の照射でも 1~3 コくらい残る場合もあり、また 1 分から 10 分間くらいの照射では、シャーレの周辺部付近に残るものが多く、紫外線の直射のかげになる部分が多少あることが推定された。

またウイルスについては、それぞれのウイルスによって、本紫外線殺菌装置の不活化効果が異なっている。単純ヘルペスウイルス 1 型やパラインフルエンザウイルス 3 型の場合では、5 分間の照射でウイルスが完全に不活化されている。このことからエンベロープを有するこれらのウイルスに対しては強力な作用を与えるもの

と思われる。また細胞外のウイルスの多いことも推定される。

原液のウイルスの力価にもよると思われるが、遊離ウイルスと細胞内ウイルスが混在しているとも考えられるアデノウイルス3型およびコクサッキーウイルス3型などは、比較的他の物理化学的影響にも抵抗性をみるが、本実験においても不活化するのに長時間を要した。

ライノウイルス13型の場合は、30分間くらいの間に次第に不活化され、本紫外線殺菌装置が有用であることを認めた。

いずれにせよ、本紫外線殺菌装置は、本実験の成績からみて、細菌およびウイルスに対して、強力な殺菌ないしは不活化効果のあることを確認した。

本実験に使用した細菌およびウイルスはいずれも多数菌あるいは高力価のものでありながら、本紫外線殺菌装置は優れた作用を示していた。

滅菌、消毒などには種々の方法があり、また紫外線殺菌灯にもいろいろのものがあがるが、本紫外線殺菌装置は可動式で、しかも四灯式であり、しかも底面につけた殺菌灯など工夫がされている。

本器による空中細菌の殺菌効果はことに照射後数分間で、浮遊菌数が激減し有意の差を認め、また付着細菌においても効果があるというが¹⁾、私たちの今回の実験では、ウイルスおよび細菌について極めて有効であることを確認したものといえる。

院内感染防止の面ですでにわれわれは殺菌灯を広く活用しているが^{5,6)} 本紫外線殺菌装置がその特徴的な細菌の殺菌、ウイルス不活化作用を発揮し、広く臨床各科はもとより手術室ICU, CCU, NICU, さらに中央材料部、さらに研究室の照射面の無菌化および室内空気の清浄化などのため、とくに院内感染防止に応用されることを期待したい。

本紫外線殺菌装置の殺菌効果を検討する目的で、数種の細菌およびウイルスを対象として実験を行った。

実験方法は一定数の細菌あるいはウイルスを入れたガラスペトリシャーレの上ぶたをとり、これに一定の距離で紫外線を照射した。

その結果、黄色ブドウ球菌、大腸菌、クレブシエラ・ニューモニエ、セラチア・マルセッセンス、緑膿菌などには紫外線照射は極めて有効であり、照射5分間位で菌数は激減し、少なくとも1/1000位になり長くとも30分以内に完全に死滅させることができた。

一方、単純ヘルペスウイルス1型、パラインフルエンザウイルス3型では5分間で、ライノウイルス13型は20分間で全く不活化することができた。コクサッキーウイルスB3型やアデノウイルス3型にはやや長時間を要した。

以上の結果から、種々の点で改良工夫された紫外線殺菌装置である本器は細菌のみならず、ウイルスに対しても強力な殺菌ないしウイルス不活化効果を示すことを確認した。とくにウイルスに対する作用については新たな知見であるといえる。

本紫外線殺菌装置の創意された構造と機能は、院内感染防止のためにも今後大いに活用されるべき有用な装置であると考える。

ご教示くださった豊田メディカル㈱およびエムエス㈱に深謝する。

文 献

- 1) 酒井順哉, 藤村 剛, 大山 満: 可動式室内紫外線殺菌装置の無指向性配光曲線とその効果, 医科器械学 52(6), 286-292, 1982.
- 2) 日本医科器械学会監修, 綿貫 詰, 実川佐太郎, 榊原欣作編: 滅菌法・消毒法, 第1, 2, 3, 4集, 文光堂, 1974, 1979, 1976, 1979.
- 3) Block, S. S. ed: Disinfection, Sterilization, and Preservation. 2nd Edition., Lea & Febiger, Philadelphia, 1977.
- 4) Benarde, M. A. ed: Disinfection. Marcel Dekker, Inc., New York, 1970.
- 5) 川名林治編: 岩手医科大学医学部・歯学部附属病院, 院内感染予防のためのマニュアル, 岩手医科大学院内感染対策委員会, 1982.
- 6) 川名林治: ウイルスによる院内感染とその対策, ウイルス. 32(1)21-33, 1982.