清掃用床面殺菌装置の殺菌効果の検討

平井 義一* 上田 裕之*²
新太 喜治*³ 金政 泰弘*

Germicidal Effect on Floor Surface with a New Apparatus Equipped with Ultraviolet Lamps

Yosikazu Hirai, Yasuhiro Kanemasa
Department of Microbiology,
Okayama University Medical School
2-5-1 Sikata-cho, Okayama 700 JAPAN
Hiroyuki Ueda

Department of Radiology,
Okayama University Medical School
Takiji Arata

Department of Operating Theatre,
Okayama University Hospital

Abstract

Irradiation with ultraviolet germicidal lamps is an effective method for sterilizing operating rooms when they are unoccupied. It is, however, impossible to use them in such a place as ICU where staff and patients are present all the time because of the harmful effect of ultraviolet on human body. For this reason, a special instrument equipped with several germicidal lamps to irradiate floor surface was constructed. We assessed the germicidal effect of this instrument on the floor surface.

First, we coated the surface of a smooth glass plate with various microorganisms at 25 cells/cm². Then the coated surface was exposed to irradiation with this instrument. As a result, bacteria (vegetative form) and *C. albicans* were killed in 3-4 seconds, and the spores of *B. subtilis* in more than 10 seconds.

Second, we exposed the surface of floors (ICU etc.) to irradiation with this instrument. As a result, this instrument had a good effect on sterilizing floor with 4-second irradiation (better effect with 10-second irradiation), when dust was cleared away from the floor.

We concluded that this instrument has a good effect on sterilizing the floor by passing it through at an easy pace (equivalent to 4-5 second irradiation).

* 岡山大学医学部細菌学教室

*² 岡山大学医学部放射線医学教室

*³ 岡山大学医学部附属病院中央手術部

(原稿受付：昭和63年3月8日)

(12) 医器学 Vol. 58, No. 5 (1988)

目 的

紫外線は強力な殺菌手段として多くの分野に応用されており、手術室などにおいても夜間無人の時間帯に紫外線殺菌灯を点灯することで清浄化に大きな効果をあげている¹⁾。しかし紫外線は人体に対し障害性のあるため常に医療従事者・患者の存在するICU・病室などで使用することは不可能である。しかし最近床面のみを紫外線殺菌灯で照射する装置が作成された^{2,3)}。人員の常在するICUなどでは消毒剤での床面清掃の効果が十分でない場合もあるため、我々はこれを用いてICU床面の殺菌を試みたところ、かなりの効果が確認された⁴⁾。しかしこの機器の詳細な殺菌効果及び使用条件の検討は行われていない。このためこの清掃用床面殺菌装置の殺菌効果をモデル実験及び実際の床面において検討した。

機器及び方法

1) 機 器

清掃用床面殺菌装置（以後、殺菌灯ローラーと呼称する）は、金丸 敬博士により考案され、美和医療電機にて作製されたものである。この殺菌灯ローラーは本体部分が45 cm×47 cmのボックスタイプで紫外線殺菌灯が下面に7本装着されており、床面への照射距離は0.5 cmのものである。また電源はバッテリー充電式である（図1、図2）。紫外線の照度はランプ間隔の最も広い所で900 $\mu\text{w}/\text{cm}^2$ であり、中央で最高

図1 清掃用床面殺菌装置（殺菌灯ローラー）

図2 清掃用床面殺菌装置（殺菌灯ローラー）
（裏面）

9,700 $\mu\text{w}/\text{cm}^2$ である^{2,3)}。

2) 菌株及び培養

供試菌として床面より最も多く検出されるグラム陽性球菌として *Staphylococcus epidermidis* (Sp-al-1)、グラム陰性菌として *Escherichia coli* (NIH JC-2) と代表的な日和見感染菌である *Pseudomonas aeruginosa* (NCTC 10490)、真菌の代表として *Candida albicans* (IID 867)、及び紫外線抵抗性の強いものとして *Bacillus subtilis* (PCI 219) の芽胞を使用した。

B. subtilis 以外の細菌は Heart infusion broth (日水) にて 37°C、一夜静置培養した。*C. albicans* は Sabouraud 寒天培地 (日水) で 37°C、2日培養した。

B. subtilis は Heart infusion 寒天培地 (日水) にて 37°C、10日の長期培養を行った。その後寒天培地上より菌をかきとり、PBSに懸濁しリゾチーム (0.1 mg/ml) にて 37°C、10分間処理し栄養型細菌を破壊した⁵⁾。この後遠心にて芽胞を集め、80°C 15分間の加熱処理を行い、残存している栄養型細菌及び未熟芽胞を殺した。これを -80°C で凍結保存し *B. subtilis* の芽胞画分として使用した。

3) 菌付着モデル実験

前述のごとく培養した微生物及び芽胞は、McFarland 比濁標準で #1 の濃度になるように生理食塩水 (生食) に懸濁した。この適量を 200 ml の生食に混和し、市販霧吹器にてななめ上方に噴霧し大きな水滴を落下させた後細かい霧のみをガラス板 (30 cm×30 cm) 及び樹脂タイル (P-タイル) に付着させた。その後30

分室温に放置し乾燥させた。これを照射前とし Rodac plate (Heart infusion agar) による押しつけ法にて2ヵ所より菌を採取した。ついで紫外線殺菌ローラーもしくは通常の壁設置型紫外線殺菌灯で一定時間照射後同様に Rodac plate にて2ヵ所より菌を採取した。Rodac plate は 37°C , 24時間培養しコロニー数を計測した。

上記の生食に混和する適量とは照射前の採取菌数が $500\text{ CFU}/20\text{ cm}^2$ ($25\text{ CFU}/\text{cm}^2$) になるように調整した量である。*S. epidermidis* の例を図3に示すが、この場合は菌懸濁液 (Mc

S. epidermidis cultured at 37°C , over night in heart infusion broth
↓
adjust the opacity with physiological saline to #1 of the McFarland scale
↓
add 0.2ml (for a glass plate) or 2ml (for a resin tile) to 200ml of physiological saline
↓
spray on the surface of a glass plate or a resin tile
↓
dry for 30min. at room temperature
↓
stamp by Rodac plates (20 cm^2)
↓
irradiate with germicidal lamps
↓
stamp by Rodac plates (20 cm^2)
↓
incubate Rodac plates at 37°C for 24h.
↓
count colonies

図3 菌付着モデル実験例 (*S. epidermidis*)

Farland 比濁標準 #1 濃度) を 200 ml の生食に 0.2 ml (ガラス板表面用) もしくは 2 ml (樹脂タイル表面用) を混和すると照射前菌数が $500\text{ CFU}/20\text{ cm}^2$ となった。また照射前菌数を $500\text{ CFU}/20\text{ cm}^2$ に調整したのは採用した Rodac plate (Falcon, U. S. A.) が採取面積 20 cm^2 であり、 $800\text{ CFU}/20\text{ cm}^2$ 以上になると正確なコロニー数の測定が困難になるためである。

殺菌灯ローラーは照射距離 0.5 cm と一定であるが壁面設置型の通常の紫外線殺菌灯は壁面に設置した場合と天井部へ設置した場合を考慮し照射距離を 1 m 及び 2.5 m とした。

4) 実際の床面からの検出

検査地点において照射前4ヵ所、照射後4ヵ

所を Rodac plate (Heart infusion agar) にて採取した。Rodac plate はその後 35°C , 48時間培養し、菌コロニー数を算定し平均値を求めた。

結 果

1) 菌付着モデル実験

モデル実験においてガラス板表面及び実際の床面に使用されている樹脂タイル (P-タイル) 表面全体に均一に定量的に菌を付着させることは難しく、表面を界面活性剤で処理し菌液を塗布することなどが試みられている⁶⁾が広い範囲では困難であった。このため均一に付着させるため噴霧による方法を採用した。この方法で付着した菌はグラム陽性菌 *S. epidermidis* では乾燥後3時間以上ほとんど菌数の減少を認めなかった。一方、グラム陰性菌は乾燥放置のみで菌数は減少していった。しかしこの減少は時間単位であり、この実験での紫外線照射は秒もしくは分単位であるので、この照射時間範囲内ではほぼ正確に紫外線の影響のみを反映していると考えている。ただしこの方法では付着菌数にある程度の幅 ($400\sim 800\text{ CFU}/20\text{ cm}^2$) がでることは止むを得ない。従って以下のモデル実験では照射前付着菌数を $500\text{ CFU}/20\text{ cm}^2$ に換算しその平均値で表示した。なお、この実験では供試菌を懸濁する溶液に生食を使用しているが、生食のかわりに蒸留水を使用しても実験結果に差は認められなかった。

① ガラス板及び樹脂タイル表面付着 *S. epidermidis* に対する殺菌灯ローラーの殺菌効果

S. epidermidis は照射前菌数約 $500\text{ CFU}/20\text{ cm}^2$ ではガラス板表面上で2秒以内、樹脂タイル表面上で3秒以内に死滅した(図4)。図4での菌数を対数で表示したものが図5である。これをみるとバラツキがあるものの、菌は対数的に死滅していくものと考えられるため、その他の菌における殺菌効果の図示では菌数を対数目盛りで表示した。図5の直線から概算すると *S. epidermidis* の殺菌灯ローラーによる死滅はガラス表面上でD値として約0.35秒であり、樹脂タイル上で約0.45秒であった。

② ガラス板表面付着微生物に対する殺菌灯ロー

(14) 医器学 Vol. 58, No. 5 (1988)

図 4 ガラス板及び樹脂タイル表面付着 *S. epidermidis* に対する殺菌灯ローラーの殺菌効果 (菌数は普通目盛り)

図 5 ガラス板及び樹脂タイル表面付着 *S. epidermidis* に対する殺菌灯ローラーの殺菌効果 (菌数は対数目盛り)

ラーの殺菌効果 (図 6)

細菌においては供試した菌は照射前菌数 500 CFU/20 cm² で 2 秒以内に死滅した。それぞれの細菌の D 値は *P. aeruginosa* で約 0.45 秒, *E. coli* で約 0.67 秒であった。真菌の *C. albicans*

図 6 ガラス板表面付着微生物に対する殺菌灯ローラーの殺菌効果

図 7 ガラス板表面付着 *S. epidermidis* に対する壁面設置型紫外線殺菌灯 (1 本) の殺菌効果

は細菌に比べ多少その殺菌に時間を要し、完全には死滅するのに約 3 秒を要した (D=約 1.1 秒)。 *B. subtilis* の芽胞では当然ながら殺菌に長時間を要し、照射前菌数 500 CFU/20 cm² では殺菌灯ローラー 10 秒照射後も完全には死滅しなかった (D=約 6.4 秒)。

③ガラス板表面付着 *S. epidermidis* に対する壁面設置型紫外線殺菌灯(1本)の殺菌効果(図7)

殺菌灯ローラーが秒単位で菌を殺菌するのに対し、通常の紫外線殺菌灯はm単位の照射距離で分単位の殺菌時間を要した。通常の紫外線殺菌灯1本ではガラス板表面付着 *S. epidermidis* は照射前菌数 500 CFU/20 cm² において照射距離 1 m で約3分、2 m 50 cm で約10分で死滅した。この時のD値は照射距離 1 m で約1分、2 m 50 cm では約3.6分であった。

④ガラス板表面付着 *B. subtilis* 芽胞に対する壁面設置型紫外線殺菌灯(1本)の殺菌効果(図8)

図8 ガラス板表面付着 *B. subtilis* 芽胞に対する壁面設置型紫外線殺菌灯(1本)の殺菌効果

これにおいても *B. subtilis* の芽胞は栄養型細菌に比べ殺菌に長時間を要した。照射前菌数 500 CFU/20 cm² において照射距離 1 m で完全に死滅するのに約7分を必要とし、2 m 50 cm では10分後も芽胞は低度の生菌数減少しか認めなかった。この時のD値は照射距離 1 m で約2.4分、2 m 50 cm では20分以上であった。

2) 実際の床面に対する殺菌灯ローラーの殺菌効果(図9)

検査地点として岡山大学医学部及び附属病院内の4地点を選択し殺菌灯ローラーの殺菌効果の検討を行った。第1は入室に際して専用スリ

図9 実際の床面に対する殺菌灯ローラーの殺菌効果

ッパに履き換え、床面は毎日消毒剤の塗布を含む清掃が行われている ICU 内の床面 (ICU)、第2は毎日清掃が行われているが人員の出入りの多い ICU・手術部共同出入口外側の床面 (Floor I)、第3は定期的に清掃、wax の塗布が行われているが極めて人通りの多い病院内通路床面 (Floor II)、第4は週1回程度の掃き掃除しか行わないが人通りは少ない研究室外側通路の床面 (Floor III) である。図9における地点別の最初のカラムは照射前、2番目のカラムは4秒照射後、3番目のカラムは10秒照射後を示した。それぞれのカラムの高さは総菌数を示し、カラム内斜線の部分は培地上で明らかに真菌と認められた集落数を示した。

ICU 床面は清浄度が高いため照射前菌数は低い殺菌灯ローラーによる紫外線照射の殺菌効果は高く、照射4秒で総菌数は約1/7に減少し、10秒後には床面からはほとんど菌は検出されなかった。Floor I, Floor II では ICU 床面ほどではないが、殺菌効果はかなり認められた。しかし Floor III においては殺菌効果は余り認められず10秒照射後も照射前菌数の半分以上の菌数が検出された。検出菌のうち真菌の占める割合は照射後にはいずれの地点でも増加傾向が認められた。

考 察

床面殺菌装置(殺菌灯ローラー)の殺菌効果についてガラス板と樹脂タイル表面に付着した微生物と実際の床面において検討した。

(16) 医器学 Vol. 58, No. 5 (1988)

ガラス板表面上でのモデル実験においては、*S. epidermidis* (照射前菌数 500 CFU/20 cm²) は通常の壁面設置型紫外線殺菌灯では 1 m 照射距離で D=約 1 分程度の速度で殺菌され、完全に死滅するまでに 3 分程度を要した。これに対し殺菌灯ローラーでは D=約 0.35 秒程度で殺菌され、1 秒前後で完全に死滅した。また *S. epidermidis* 以外の栄養型細菌も殺菌灯ローラーによって D 値が 1 秒以内ですみやかに殺菌されており、真菌である *C. albicans* も D 値が 1.1 秒程度であった。このことから殺菌灯ローラーは栄養型細菌及び真菌に対し強い殺菌力を有していることは確実である。一方、*B. subtilis* の芽胞は栄養型細菌に比べて紫外線にかなりの抵抗性を示し、壁面設置型紫外線殺菌灯で 1 m 照射距離で D 値は 2.4 分程度であり、殺菌灯ローラーで D 値が 6.4 秒であった。しかし通常清掃を行っている床面の菌数はほとんどの場合 100 CFU/20 cm² 以下であり⁷⁻⁹⁾、かつその中の芽胞の割合は低い。従ってガラス表面でのモデル実験から殺菌灯ローラーは 2~3 秒の照射時間でかなりの殺菌効果を実際の床面において期待し得る。しかしガラス表面と床面に使用されている樹脂タイル (P-タイル) 表面での *S. epidermidis* に対する殺菌灯ローラーの殺菌効果をみると、樹脂タイルの方が明らかに D 値が延長していた。これは樹脂タイル表面の微少な凹凸により紫外線照射が妨げられるためと考えられるが、このため実際の床面ではガラス表面上でのモデル実験に比べて殺菌に時間を要するであろう。これらのことを考慮し実際の床面での検討は照射時間 4 秒及び 10 秒で行った。

実際の床面での殺菌灯ローラーの殺菌効果を検討すると ICU 床面では照射 4 秒でかなりの効果があり、照射 10 秒ではほとんど菌は検出されなかった。しかし Floor III では照射 10 秒でもそれほどの殺菌効果はみられなかった。ICU 床面は毎日清掃消毒が行われ表面の塵埃量が少なく、Floor III ではほとんど清掃は行われておらず表面にはかなりの量の土砂、塵埃が付着していた。この表面付着の塵埃が紫外線の照射を妨げるためこのような殺菌効果の差になってくると考えられる。また、各地点での

真菌の割合は照射後増加していた。ガラス表面でのモデル実験でも *C. albicans* は栄養型細菌よりやや紫外線抵抗性であり、同じ傾向が真菌全体にあると思われる。しかし清掃度の高い床面程、全菌数に占める真菌の割合は低く、実際に殺菌灯ローラーを使用するような場所では、検討を行った照射時間で十分殺菌され得るであろう。

上記の検討から殺菌灯ローラーを実際の床面で利用するに際しては、まず通常の清掃を行い表面の塵埃を取り除き殺菌灯ローラーの殺菌効果が十分発揮できるようにすることが必要である。次に殺菌灯ローラーをゆっくり押して歩く程度のスピードで照射を行えば、照射時間は 4~5 秒となり、かなりの殺菌効果が期待できる。別方向からもう一度 (計 2 回) 照射することがより適切と考えている。

通常 ICU、手術室などのかなり高い清浄度を必要とする場所の床面においては、一般的な清掃の他に消毒剤の塗布が多く行われている^{4,7-9)}。手術室などの夜間のみでも無人となり得る場所では消毒剤の塗布、噴霧がかなり効果を上げている¹⁰⁾が、ICU などの常に患者が存在し、医療従事者が働いている場所では消毒剤を塗布してもその上をすぐ人員が動きまわるためその効果が予想ほど上がらない場合もある⁴⁾。しかも消毒剤の濃度を高くしたり塗布量を増加することは床面をすべりやすくし医療従事者に危険である。この点殺菌灯ローラーは紫外線照射で殺菌を行うため殺菌後上記のような不便さはない。その上通常の清掃で表面上の塵埃を取り除いていれば殺菌灯ローラーの殺菌効果は細菌の栄養型では菌種に関係なく強く、紫外線の特徴からしてウイルスの殺菌にも有効であろう。芽胞には殺菌効果が低いが、これは多くの消毒剤も同様である。このようなことから殺菌灯ローラーは手軽で効果的な床面殺菌装置として使用し得ると考えられる。しかしこの機器もその形状から狭い部位つまり設置機器の間やベッドの下部などでは照射が不可能であり消毒剤の塗布と併用が望ましいと考えている。

結 論

新しく作製された床面殺菌装置（殺菌灯ローラー）の殺菌効果についてモデル実験及び実際の床面で検討した。

この結果ガラス表面上では栄養型細菌はD値が1秒以下で、芽胞もD値が6.4秒で殺菌され、この機器が強い殺菌能力を持つことが判明した。実際の床面でも表面の塵埃さえ除去すれば十分な殺菌効果が確認された。

これらの実験結果から殺菌灯ローラーは通常の清掃で表面の塵埃を取り除いた後ゆっくり歩くスピードで照射すれば照射時間が4～6秒程度となり、かなりの殺菌効果を期待し得る。ただし狭い場所には照射不能のため消毒剤の塗布と併用することが望ましいと考えている。

文 献

- 1) 林英生, 平井義一ほか: 中央手術部の汚染調査とその対策, 岡山医学会誌, 91, 251-259, 1979
- 2) 西村チエ子, 金丸敬: 清掃用床面殺菌装置の効果について—改良型—, 紫外線, 5 (1), 42-45, 1986
- 3) 西村チエ子, 金丸敬: 清掃用床面殺菌装置の効果について—改良型・その2—, 紫外線, 6 (1), 20-23, 1987
- 4) 平井義一, 木村佐智子ほか: ICU の細菌汚染の現況と改善, ICU と CCU, 11 (1), 37-43, 1987
- 5) R. C. Goldmann, D. J. Tipper: *Bacillus subtilis* spore coat: Complexity and purification of a unique polypeptide component, J. Bacteriol., 135 (3) 1091-1106, 1978
- 6) 永井勲, 門田稔ほか: スタンプアガー法における物体表面付着細菌の回収率についての検討, 防菌防黴, 10 (6), 233-237, 1982
- 7) 奥村勝美: 病院病棟の清掃, 環境感染 2 (1), 22-24, 1987
- 8) 高木三保子, 野田美佐代ほか: ICU の汚染防止対策, ICU と CCU, 8 (6), 565-569, 1984
- 9) 芦山辰朗: 手術室の清潔維持と滅菌行程の確立, 医器学, 49 (11), 519-525, 1979
- 10) 門田稔, 永井勲ほか: 手術環境の清潔状態の推移, 医器学, 55 (10), 499-504, 1985