

表1. 新興・再興感染症調査結果 (1998~1999年)

| 種類 | 数 (件) |
|------------------|-------|
| 新たに確認されたヒト病原細菌 | 26 |
| 既知の細菌による新たな疾患 | 17 |
| 注目すべき細菌性再興感染症 | 18 |
| 新たに確認されたヒト病原真菌 | 14 |
| 免疫不全に伴い増加した真菌 | 17 |
| 新たに確認されたヒト病原ウイルス | 12 |
| 免疫不全に伴い増加したウイルス | 13 |
| 新たに確認されたヒト病原原虫 | 9 |
| 免疫不全に伴い増加した原虫 | 9 |

表2. ICUでの分離菌種

| 菌種 | 数 |
|-----------------------------|-----|
| 1 <i>S. aureus</i> | 341 |
| 2 <i>P. aeruginosa</i> | 183 |
| 3 <i>S. epidermidis</i> | 175 |
| 4 <i>E. faecalis</i> | 130 |
| 5 <i>E. cloacae</i> | 86 |
| 6 <i>H. influenzae</i> | 67 |
| 7 <i>K. pneumoniae</i> | 63 |
| 8 <i>E. coli</i> | 63 |
| 9 <i>S. marcescens</i> | 62 |
| 10 <i>H. parainfluenzae</i> | 60 |

(北里大学病院 ICU)

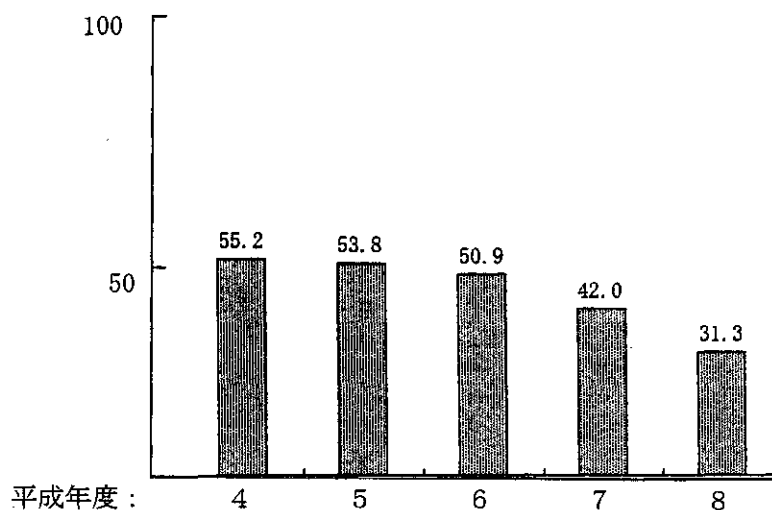


図1. 肺炎球菌の感受性率の推移

平成11年度厚生科学研究費補助金（新興・再興感染症研究事業）

「我が国における施設内感染等のあり方に関する研究」

分担研究報告書

強酸性電解水の基本性状と有効塩素測定法

分担研究者 堀田国元 国立感染症研究所生物活性物質部室長

研究協力者 西本右子 神奈川大学理学部助教授

強酸性電解生成水は塩の水溶液を電気分解することによって得られるが、電極の種類・材質、隔膜の有無、電解質の種類と量、電解電流・電圧、電解速度、バッチタイプかフロータイプか、原水の質・水温などでも生成水の特性は異なってくると考えられる。そこで本研究では隔膜を有するタイプの電解水製造装置のうちバッチタイプ、フロータイプの2機種についてそれぞれ生成条件と生成水の基本性状の関係を検討した。その結果、生成直後の強酸性電解生成水の基本性状は、pH, ORP, DO, 有効塩素量によって表すことができることがわかった。このうちpH, ORP, 有効塩素量に関しては異なった方法によっても同一の性状を有する強酸性水を調製することが可能であり、得られた各強酸性水はHClO, ClO⁻の含有量も等しいこともわかった。電解助剤がNaClとKClの場合の違いはみられないことがわかった。また、強酸性電解生成水の殺菌、除菌力は陽極室内で生成した塩素の作用によると考えられるため、強酸性電解生成水の有効塩素の測定法の確立を目的とし検討した結果、有効塩素はヨウ素滴定法、DPD吸光光度法によって測定することができ、また原理を確認した上で各種の簡易測定キットによっても測定が可能であることが確認された。

A. 研究目的

強酸性電解生成水は塩の水溶液を電気分解することによって得られる。電極の種類・材質、隔膜の有無、電解質の種類と量、電解電流・電圧、電解速度、バッチタイプかフロータイプか、原水の質・水温などでも生成水の特性は異なってくる。そこで本研究では隔膜を有するタイプの電解水製造装置のうちバッチタイプ、フロータイプの2機種についてそれぞれ生成条件と生成水の基本性状の関係を検討する。また、強酸性電解生成水の殺菌、除菌力は陽極室内で生成した塩素の作用によると考えられるため、強酸性電解生成水の有効塩素の測定法の確立を目的とする。

B. 研究方法

1. 強酸性電解生成水の調製

強酸性電解生成水は、旭硝子エンジニアリング社

製OASIS Bio OW-01Rを電解電流値が可変できるように改良したフローセルタイプ及びバッチタイプであるアルテック社製SUPER WATER mini JED-007の2機種を用い、オルガノ製カートリッジ純水器G-20による純水で調製した。電解助剤はNaCl, KCl (和光純薬製特級試薬) を使用した。

検討した生成条件は以下の通り。

フローセルタイプ：電解電流値 5A～12.5A (標準条件10A)

バッチタイプ：電解時間 7分～15分

電解助剤濃度：電解槽内で4.565～18.26mmol/l (標準条件13.7mmol/l)

2. 測定

以下の項目についていずれも採取直後に測定した。

pH：ガラス電極 (TOA HM-11P, GST-5311C)

ORP (酸化還元電位)：Pt電極 (TOA HM-11P)

参照電極 (Ag -AgCl電極-内部液3.3M KCl
DO (溶存酸素) : 隔膜型ポーラログラフ式溶存酸素計(DKK DOL40)

有効塩素濃度 : ヨウ素滴定法 (JIS K 0101)

紫外可視吸収スペクトル: 分光光度計(SHIMADZU
Multispec-1500)

フロータイプ、バッチタイプ共に各条件で調製した強酸性電解生成水のpH, ORP, DO, 有効塩素量を測定した。各測定値を標準条件での測定結果とあわせて表1に示す。電解助剤がNaClの場合とKClの場合での違いはみられなかった。

生成条件によるpH, ORP値の変動は小さいが、有効塩素量は生成条件によって大きく変化することがわかる。

C. 研究結果

1. 強酸性電解生成水の性状に対する生成条件の影響

表 1. 各条件下で生成した強酸性電解水の物性

| 測定項目 | フローセルタイプ | バッチタイプ |
|------------|-----------------------|-------------|
| pH | 2.90~2.45 (2.2) | 2.8~1.9 |
| ORP(mV) | 1110~1170 mV (1160mV) | 1120~1180mV |
| DO(ppm) | 17~ 24 ppm (22ppm) | 12~ 15 ppm |
| 有効塩素量(ppm) | 20~ 90 ppm (70ppm) | 35~105 ppm |

2. 同一性状を示す強酸性水の調製

表 1 の結果よりフローセルタイプの標準条件で調製した電解酸性水と同一のpH, ORP, 有効塩素量を示す強酸性水をバッチタイプと、電解によらずNaClとHCl, NaClOの混合から調製した。3種の強酸性水の測定値を表 2 に示した。

溶存酸素量を除く各測定値は良い一致を示し、調製条件を選択することで異なった方法によっても性状がほぼ同一の酸性水の調製が可能と考えられた。

表 2. NaClと純水から各方法で調製した酸性水の測定値

| 測定項目 | フローセルタイプ | バッチタイプ | 非電解調製水 |
|--|----------|---------|---------|
| pH | 2.2 | 2.2 | 2.2 |
| ORP (mV) | 1160 mV | 1160 mV | 1160 mV |
| DO (ppm) | 22 ppm | 12 ppm | 8 ppm |
| 有効塩素量 (ppm) | 70 ppm | 70 ppm | 70 ppm |
| ²³⁵ Abs (HClO) | 0.12 | 0.12 | 0.12 |
| ²⁹² Abs (ClO ⁻) | 0.035 | 0.035 | 0.035 |

3. 強酸性電解生成水の有効塩素の測定法

1) 有効塩素 (available chlorine) と残留塩素 (residual chlorine)、元素としての塩素

有効塩素とは漂白剤や水道水中において、漂白や殺菌に役立つ塩素である。このうち消毒などの目的で水中に加えられた塩素剤が水に溶解して生成する有効塩素は一般に残留塩素とよばれる。次亜塩素酸塩を主成分とする漂白剤（さらし粉）では有効な成分は次亜塩素酸イオン (ClO^-) であり、水道水中では次亜塩素酸 (HClO) と ClO^- (遊離残留塩素)、さらにアンモニアや有機窒素化合物と次亜塩素酸が反応して生じたクロラミン (NH_2Cl , NHCl_2) など(結合残留塩素) である。

塩素は数種の酸化状態をとり、酸化数-1 (HCl 塩化水素), 0 (Cl_2 塩素), +1 (HClO 次亜塩素酸), +3 (HClO_2 亜塩素酸), +4 (ClO_2 二酸化塩素), +5 (HClO_3 塩素酸), +7 (HClO_4 過塩素酸) などが知られている。このうち Cl^- と ClO_4^- については、pH2~12において他の酸化状態の塩素の妨害をあまり受けずにそれぞれ塩素イオン電極、過塩素酸イオン電極により測定ができる。また HClO については235nmに、 ClO^- については292nmに吸収極大により定性が可能である¹²⁾。しかしこれ以外の各酸化状態の塩素を分別定量することは容易ではない、前述の方法も酸化作用を利用するものであるから一定の酸化数の塩素にのみ特異的な反応ではない。また塩素はアルカリ性になると Cl^- と次亜塩素酸イオンになる。この反応は可逆的であり、溶液のpHが変わると各塩素の存在量に変化することになる。

2) 有効塩素の測定法

有効塩素の測定法には以下の方法がある。

- ①DPD (ジエチル-p-フェニレンジアミン) 比色法及び吸光光度法
- ②o-トリジン比色法及び吸光光度法
- ③DPD硫酸アンモニウム鉄(II)滴定法
- ④電流滴定法
- ⑤電解電流法
- ⑥ヨウ素滴定法

このうち②は、o-トリジンは発ガン性のある芳香族アミンの一つとされ、労働安全衛生法で規制する特定化学物質の第一類物質に指定されている。DPD

の呈色が消えるまで硫酸アンモニウム鉄で滴定する③や④、⑤は有効塩素が微量の場合に用いられる方法であり、⑥は有効塩素が多量に存在する場合に用いられる方法である。以下に強酸性電解生成水に適用可能な①及び⑥について内容を示す。

① DPD比色法及び吸光光度法³⁾

pH6のリン酸塩緩衝液2.5mlにDPD希釈粉末(硫酸N,N-ジエチル-p-フェニレンジアミン1gに無水硫酸ナトリウム24gを加えて混合したもの)0.5gを加え、適量の試料(有効塩素 0.1mg以下)と水とを加えて50mlとする。よくふり混ぜ1分以内に発色を測定する(遊離残留塩素)。その後ヨウ化カリウム0.5gを加えて溶解し、2分後の呈色を測定する(全残留塩素)。比色法ではC.I. Acid Red 265溶液により調製した標準比色液と色を比較する。吸光光度法では有効塩素濃度既知の塩素水を標準にし、510nm付近の吸光度を測定する。

⑥ヨウ素滴定法³⁾

試料適量 (Cl^- として0.1~7mgを含む) に水を加えて300mlとし、ヨウ化カリウム1g及び酢酸(1+1) 5mlを加える。栓をしてふり混ぜ暗所に5分放置後、遊離したヨウ素を10mmol/lのチオ硫酸ナトリウム溶液で滴定し、溶液の黄色が薄くなったらでんぷん溶液(10g/l)を1ml加え、生じたヨウ素でんぷんの青色が消えるまで滴定する。

3) 有効塩素の簡易評価

有効塩素の簡易測定用として、各種の試験紙・キットが市販されている。前述のように強酸性溶液中の有効塩素量の評価はpHが中性付近の場合と異なり、次亜塩素酸ナトリウムの加水分解によるアルカリ性の程度を測定するものは使用できない。各水質検査の試験紙、キットには呈色の原理が明示されていないものも多いため、適用できるpH範囲と有効塩素の測定範囲を確かめた上で使用する必要がある。強酸性電解水への有効性が確認されているキットも市販されている⁴⁾。これら簡易測定キットによる強酸性水の有効塩素の測定結果は一般に有効数字1桁程度であるが、上記の①、⑥による結果とほぼ一致することがわかった。

D. 考察

医療用具の認可を受けた装置から生成した強酸性電解水と認可を受けていないバッチタイプの装置から生成した強酸性電解水は、強電解水協議会がまとめた規格基準⁵⁾に規定されているpH, ORP, 有効塩素濃度に関してほぼ同等とみなすことのできる値を示した。DOに関しては有意差が認められたが、殺菌力に関して同等とみなせる活性を示すことから、pH, ORP, 有効塩素濃度に関して規格性状と同等の値が第三者機関によって確認されたものに関しては同等とみなしてもよいことを示していると考えられる。

また、有効塩素濃度のチェックに関しては、試験した簡易測定は強酸性電解水の効力を現場で使える許容範囲の中にあると考えられた。

E. 結論

- 1)生成直後の強酸性電解生成水の基本性状は、pH, ORP, DO, 有効塩素量によって表すことができる。
- 2)このうちpH, ORP, 有効塩素量に関しては異なった方法によっても同一の性状を有する強酸性水を調製することが可能であり、得られた各強酸性水はHClO, ClO⁻の含有量も等しいことがわかった。
- 3)DOに関しては、フローセルタイプ、バッチタイプ、調製酸性水の順で高いことがわかった。
- 4)電解助剤がNaClとKClの場合の違いはみられないことがわかった。
- 5)強酸性電解生成水の殺菌力の指標である有効塩素に関しては、ヨウ素滴定法、DPD吸光光度法によって測定することができる。
- 6)原理を確認した上で各種の簡易測定キットによっ

ても測定が可能であることが確認された。

参考文献

- 1)J.C. Moris: J. Phys. Chem., 70,3798(1966)
- 2)S. Nakagawara, T. Goto, M. Nara, Y. Ozawa, K. Hotta, Y. Arata: Anal. Sci., 14, 691(1998)
- 3)西本右子: フードケミカル, 14, (5)31(1998)
- 4)水質検査・評価のための関連機器: フードケミカル, 14,(5)101(1998)
- 5)蒸電解水企業協議会編: 医療用具承認生成装置による強酸性電解水の規格基準(医療編)2000年版.

F. 成果発表

論文発表他

- 1)西本右子: 「機能水の科学と利用技術(ウオーターサイエンス研究会)」4.6 機能水の物性分析・計測上の問題(1999)
- 2)西本右子: 強酸性水の化学とモニター法. 防菌防黴誌: 講座 強酸性電解水-4(1999)
- 3)西本右子: 機能水の分析. FRAGRANCE J. 27,(3) 23-26(1999)

学会発表

- 1)西本右子: 強酸性電解水の物理化学と評価. 機能水シンポジウム'99
- 2)西本右子: 強酸性電解水の物性値に対する生成条件の影響. 分析化学会第48年会, 1999年9月(西本右子, 小針秀朗)
- 3)西本右子, 大鷹義裕, 高野秀和: 強酸性電解水の安定性に対する調製条件の影響. 日本化学会第78春季年会, 2000年3月.

分担研究報告書

強酸性電解水の有機物・アミノ酸に対する影響

分担研究者 堀田国元 国立感染症研究所生物活性物質部室長

有効塩素濃度50～75ppmの強酸性電解水を用いて殺菌処理した大腸菌の菌体成分を調べた結果、核酸やタンパク質および細胞壁・細胞膜が損傷を受けていることが認められた。In vitroの実験で、1ngのDNAを50 μ lの強酸性電解水で処理するとPCR増幅が起きないレベルまで分解されたが、1/2強度の栄養ブロス存在下では λ DNAのPCR増幅が起きた。したがって、強酸性電解水はタンパク質などの有機物と容易に反応し、分解を引き起こすが同時に自分自体も不活性化されることがわかった。強酸性電解水は、アミノ酸に作用してアミノ基と反応すると判断されるが、メチオニン、シスチン、およびリジンに関しては分子の開裂を引き起こすことが認められた。

A. 研究目的

強酸性電解水は有機物が存在すると活性が顕著に低下するといわれている。これは強酸性電解水が有機物と反応している、すなわち互いに損傷を受けあうことを意味している。このことを検証し、かつどの程度の有機物の存在で強酸性電解水は機能を失うかを調べることにより、有効利用のための基礎的な情報を得ることとした。

B. 研究方法

1. 強酸性電解水処理した菌体の核酸およびタンパク質の測定

プラスミド (pBR322) を保持する *Escherichia coli* HB101 を Ampicillin 100 μ /ml 含有の栄養ブロスにおいて37 $^{\circ}$ Cで一晩培養した後、その1mlを蒸留水で洗浄・遠沈した菌体に1mlの強酸性電解水 (pH2.5, 有効塩素濃度100ppm) を加えて直ちにVortexにより混合し、10秒後に0.5mlの栄養ブロスを添加攪拌して強酸性電解水を不活性化した。遠沈・蒸留水洗浄した菌体からアルカリ法により核酸を抽出し、アガロースゲル電気泳動により核酸の測定を行った。比較のため、強酸性電解水と同じpHと有効塩素濃度に調整

した次亜塩素酸ナトリウム水溶液を用いて同じ実験を行った。

強酸性電解水処理した菌体のタンパク質に関しては、洗浄菌体を0.5mlのミリQ水に懸濁した後、超音波破碎し、SDS-PAGEにかけた。

2. PCRによる検討

1ngの λ -DNAを強酸性電解水に種々の比率で混合した後、それを鋳型としてTaq polymeraseによるPCR増幅をチェックすることにより調べた。また、1/2強度の栄養ブロスを添加した場合にどのような影響が出るかについても調べた。

2. アミノ酸に対する強酸性電解水の影響

強酸性電解水 (pH2.6, 有効塩素濃度約75ppm) 40 μ lに2mMのアミノ酸 (18種) 10 μ lを混合し、10分間室温放置した後、シリカゲルTLC (展開溶媒: ブタノール: 酢酸: 水=4:2:1) を行い、ニンヒドリン噴霧による呈色反応でアミノ酸の変化をチェックした。比較として、強アルカリ性電解水 (強酸性電解水製造の際に陰極に生成; pH11.7) を用いても同じ実験を行った。

C. 研究結果

1. 強酸性電解水処理した菌体の核酸およびタンパク質の消長

図1に示すように、コントロールの菌体に比較して、強酸性電解水で処理した菌体からは処理時間10秒でRNAもDNA(染色体とプラスミド)も僅かしか検出できなかった。一方、比較に用いた酸性化次亜塩素酸ナトリウムで処理した菌体からもRNAが少量検出されただけであった。

一方、菌体内タンパク質に関しても10秒の強酸性電解水処理により消失することが認められた。酸性化次亜塩素酸ナトリウムでも同じ結果であった。強アルカリ性電解水および強酸性電解水と強アルカリ性電解水の混合液についても同じ実験を行ったが、処理時間を長くすることにより消失する現象が認められた。

2. DNAに対する強酸性電解水の影響のPCRによる検証

図2は、1ng/mlのλDNAを3つの異なる量(1, 5, 10 μl=ng)を49, 45, 40 μlの強酸性電解水(pH2.6, 有効塩素濃度ppm)に混合し(計50 μl)、1分(レーン①~③)、5分(レーン④~⑥)、10分(レーン⑦~⑨)室温に置いた後、等量のTES bufferに混合して強酸性電解水を不活性化してからかけた電気泳動の結果を示している。

その結果、1ngのλDNAは1分の強酸性電解水処理によりPCR増幅が全く認められなかった。5ngの場合も5分処理で影響が認められ、10分の処理ではPCR増幅が起きなかった。

データは示さないが、1ngのλDNAを50 μlの強酸性電解水で5分間処理する際に1/10 x LBブrossを1 μl添加した強酸性電解水を用いるとPCR増幅が認められた。LBブrossの添加量に比例してPCR増幅は顕著になった。

3. アミノ酸に対する強酸性電解水の影響

図3は強酸性電解水で処理したアミノ酸のTLCを示している。無処理のものと比較すると、強酸性電解水処理によってニンヒドリン呈色が薄くなることが認められた。対照アミノ酸の段階希釈液の発足との比較から残存したアミノ酸量は元の40~60%と推定された。

メチオニン(Met)、リジン(Lys)およびシスチン(Cys)に関してはコントロールとは異なる位置に新しいスポットが出現した。

強アルカリ性電解水を用いて同様に試験したが、いずれのアミノ酸においても変化は認められなかった。

D. 考察

強酸性電解水処理により菌体内の核酸やタンパク質が消失することが認められた。同時に処理菌体と非処理菌体(コントロール)は遠沈したときのパッケージのされ方に明らかな差が認められた。すなわち、処理菌体の方がコンパクトにパッケージされた。このことは処理菌体が細胞壁や細胞膜にもダメージを与えていることが示唆された。そのため、核酸やタンパク質が処理菌体から消失していたのは見かけ上のことで、細胞膜の変化によってアルカリ法や超音波処理による細胞膜の破壊に抵抗性になっていることも考える余地があるように思われる。

一方、λDNAとアミノ酸は、50~75ppmの有効塩素濃度の強酸性電解水で処理すると、明らかにダメージを受けることが明らかになった。1ngのλDNAを50 μlの強酸性電解水で1分処理するとPCR増幅が認められないほど完全に分解されたが、1/2強度の栄養ブrossが1 μl共存するとPCR増幅が認められた。このことは、強酸性電解水で殺菌消毒を行うときには従来の消毒薬のように漬け置きしたのでは有機物の混在があるので効果的ではなく、流水洗浄のように多量に使うことが実効性を得るために必要というこれまでいわれてきた原則を支持している。

アミノ酸に対する影響に関しては、強酸性電解水はアミノ基に作用するといわれてきたが、このことは多くのアミノ酸ではニンヒドリン呈色が薄くなることから裏付けられた。しかしながら、メチオニンやリジンおよびシスチンでは新しいスポットがTLCで観察された。このことは少なくともこれらのアミノ酸に関してはアミノ基以外の部位で切断的な反応が起きているものと考えられた。一方、強アルカリ性電解水処理では、菌体中のタンパク質が時間をかけると消失することが認められたが、アミノ酸に対しては影響が認められなかった。従って、タンパク質の分解はどの程度まで進行するのか不明であるが、アミノ酸の分解にまで至ることはないと判断される。

F. 結論

1. 強酸性電解水は殺菌に際して菌体の核酸やタンパク質および細胞壁・細胞膜に損傷を与えると判断される。
2. 強酸性電解水はDNAやタンパク質などの有機物と容易に反応し、分解を引き起こすが同時に自分自体も不活性化される。
3. したがって、殺菌消毒に際しては漬け置きではなく流水式に多量に使用することが良いと判断さ

れる。

4. 強酸性電解水は、アミノ酸に作用してアミノ基と反応すると判断されるが、メチオニン、シスチン、およびリジンに関しては分子の開裂を引き起こす。

G. 研究発表

1. 堀田国元： 強酸性電解水の実績と課題. 第6回機能水シンポジウム'99 東京大会、(1999)

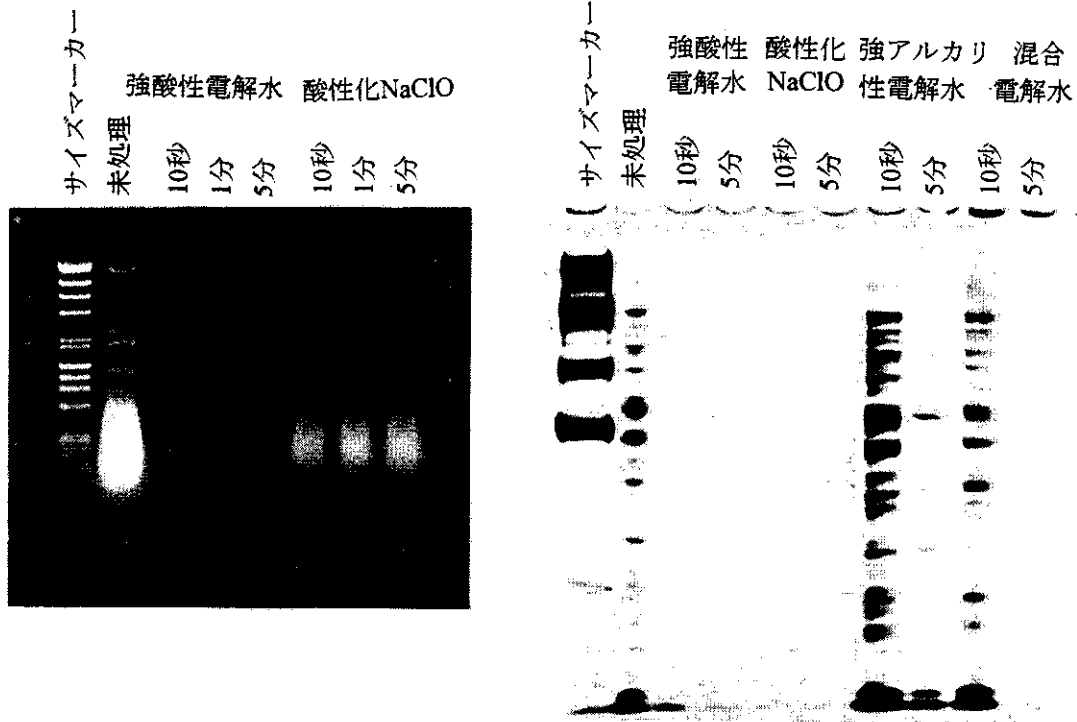


図1. 強酸性電解水処理による菌体内の核酸（左）とタンパク質の消長

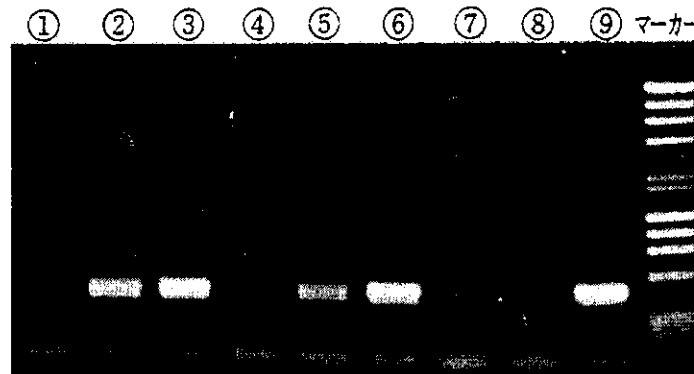


図2. λ DNAの強酸性電解水処理によるPCR増幅阻害

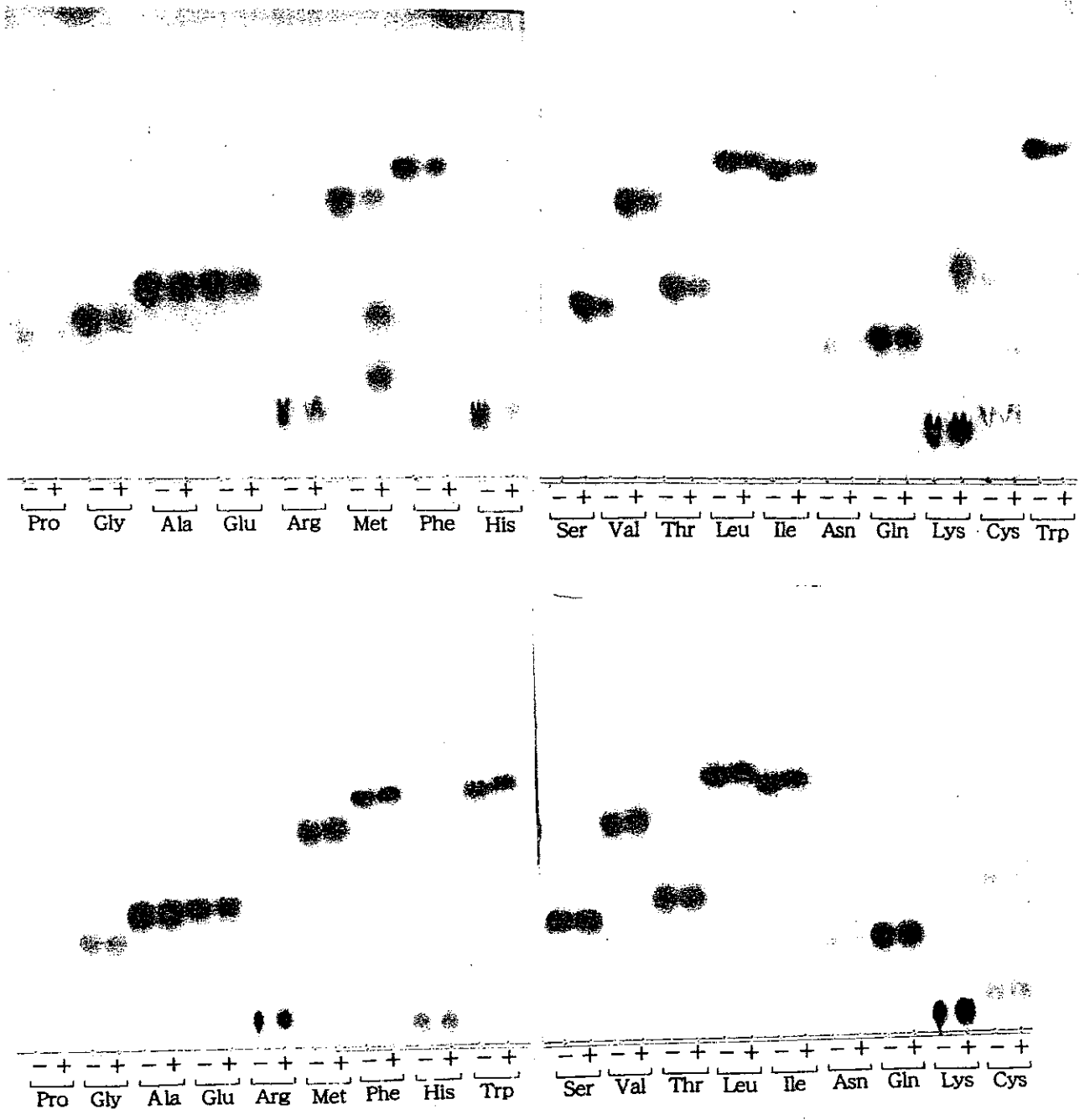


図3. アミノ酸に対する強酸性電解水（上）と強アルカリ性電解水（下）の影響

+ 電解水処理、 - 電解水無処理

人工透析機器の洗浄消毒における強酸性電解水の有効使用

分担研究者 堀田国元 国立感染症研究所
研究協力者 阿部富彌 和歌山県立医科大学・腎センター
田仲紀陽、藤原功一 田仲北野田病院

今日の透析療法（重炭酸透析療法）では、透析液の清浄化（透析機器全般の消毒）と透析機器に沈着する炭酸カルシウム・マグネシウム塩の溶解洗浄の2点が研究課題である。透析機器システム全体の消毒にあたっては、①短時間で消毒が可能なこと、②機器に腐食・損傷を起こさないこと、③使用薬品が患者やスタッフに安全であること、④汚水処理環境に影響が少ないことなどが必要条件である。強酸性電解水はこれらの条件を満たしており、消毒が完全に行われ、全システム中の細菌及びエンドトキシン濃度の検査において他の消毒方法以上の成績が得られる。透析機器への炭酸塩の沈殿に対しても効果があり、有意に酸洗浄を減少させることができる。

A. 研究目的

平成10年度のアンケート調査において強酸性電解水はすでに多くの医療施設において使用経験があり、厚生省が認可している手指や内視鏡の洗浄消毒を始め、褥瘡の洗浄除菌などにも効果的との評価が寄せられた。こうした中で、血液透析回路の洗浄消毒に関しては、効果的という回答は少なく、60%を超える回答が否定的なものであった。しかし、強酸性電解水の基本性状や適切な使用法を理解せずに試用した例がほとんどであることも十分にうかがえた。そこで、重炭酸透析療法を開発し、かつ血液透析機器の洗浄消毒に強酸性電解水を有効使用する方法を実際に確立している研究者の協力を得て、有効使用法についてまとめた。

血液透析装置は、人工腎臓（ダイアライザ）の半透膜を介して血液と透析液を接触させ、腎不全患者の血液から尿毒物質や過剰水分を除去する。個人用の装置から数十名を同時に治療する多人数用透析装置まで各種あり、後者が汎用されている。装置の基本的構成は、透析液作成用原水の処理シ

ステム、透析液供給装置、透析液原液タンク、患者監視装置、およびこれらを連結する配管である。1日の血液透析治療が終了後、透析装置は洗浄消毒されるが、配管内に透析液が滞留しやすい場所、炭酸塩の配管内析出、バイオフィーム形成などによって、細菌やエンドトキシンによる配管内汚染、ときには炭酸塩の析出による機器のトラブルが生じる。最近ハイパフォーマンスメンブレンダイアライザの使用に伴う低分子蛋白質の除去による配管内汚染も発生している。

それゆえ、洗浄消毒剤には、1) 抗菌効果、2) 炭酸塩の溶解作用、3) 配管、機器に対する非腐食性、4) 生体への安全性、5) 排水による環境への影響の低さ、6) 低ランニングコストが、透析機器システム全体（RO水→透析液供給装置→患者監視装置→廃棄）の消毒において条件として求められる。

強酸性電解水はこれらをクリアできるポテンシャルもっていると考えられたことから、血液透析装置の洗浄消毒に使用し、その有効性と有用性について検討を加えた。

B. 研究方法

1. 透析装置の洗浄消毒における従来法と強酸性電解水法との比較

図1に強酸性電解水を組み込んだ透析装置の洗浄消毒ラインを示した。洗浄消毒の操作手順は以下の通りである。事後水洗終了 → セントラルタンク内の排水 → セントラル及びB液タンクの自動洗浄 → P1を手動で作動させ、セントラルSタンク内に強酸性電解水を流入 → Sタンク満水後、送液スイッチを入れ、配管より末端コンソールへ強酸性電解水を送液。

多人数用透析液供給装置1台とコンソール15台の配管系を1ラインとし、独立した3つのライン(A, B, C)を設定し、それぞれ異なる消毒液を用いて消毒を行った。手順は、事後水洗 → 消毒液送液・滞留 → 事前水洗とした。Aラインでは、事後水洗(30分)後、強酸性電解水(RO水を原水として作成; pH2.4, 有効塩素濃度30ppm)を毎日、20分間配管内に送液し、一夜滞留させた後、事前水洗(30分)を行った。Bラインでは、200ppmの次亜塩素酸ナトリウムを月・水・木・金に使用し、火・土は1%酢酸を使用した。両消毒液とも事後水洗(60分)後45分間配管内に送液し、一夜滞留させた後、60分間事前水洗した。Cラインでは、Bラインの手順に月1回3.8%ホルマリンを10分間送液し、一夜滞留させた。

上記各ラインについて、事前水洗終了10分前に2台のコンソールのカプラージョイント部より5分間流出させた水洗RO水を採取して細菌およびエンドトキシンを測定した。また、1日の透析終了時における透析液中の細菌とエンドトキシンを約10ヶ月にわたり調査した。細菌は稀釈平板法、エンドトキシンはエンドスピーシー法(生化学工業)で測定した。

一方、1日の透析終了後、B液タンク内の残存B液を排除した後、Aラインについては強酸性電解水、BとCラインについてはRO水を用いて内壁を洗い流してから20~30L貯液し、攪拌する方法で連日Bタンク内を洗浄した。

炭酸塩の溶解能に関しては、強酸性電解水と1

%酢酸を比較した。乳鉢で十分破碎した炭酸塩を0.5gずつ試験管に分注し、そこに強酸性電解水あるいは1%酢酸を5ml添加し、37°Cで加温振盪後、遠心分離した上清を採取し測定した。

2. 強酸性電解水全自動洗浄システムによる透析装置の洗浄消毒

国内の代表的な3メーカーの透析装置を対象として強酸性電解水自動洗浄システム(図2)を用いて、以下の洗浄プロセスを実施した。

A社の装置については、RO水による事後水洗(以後、水洗と表示)20分 → 強酸性電解水による洗浄20分、貯留3分 → 水洗30分 → 貯留4~6時間 → 透析事前水洗45分 → 透析のパターンでプログラムし、1年間使用している。

B社の装置については、事後水洗20分 → 強酸性電解水洗浄20分 → 水洗30分、RO水貯留4~6時間 → 強電解水洗浄15分 → 事前水洗30分のパターンでプログラムし、3年半使用している。

C社の装置については、事後水洗30分 → 強酸性電解水洗浄20分・貯留4~6時間 → 事前水洗30分のパターンでプログラムし、4年半以上使用している。

試験期間中、血液透析装置配管末端における患者監視装置(コンソール)でのエンドトキシン測定と同時にRO膜(モジュール)直下におけるエンドトキシン(対照)測定を行った。また、血液透析装置のオーバーホールを実施し、部品の変化を観察し長期使用による材質への影響を見た。

C. 研究結果

1. 透析装置の洗浄消毒における従来法と強酸性電解水法との比較

図3は、A、B、Cの各ラインの末端コンソールにおける細菌とエンドトキシンを10ヶ月間2週間置きに測定し、そのうちから約1ヶ月半間隔の測定値を抜き出して示している。Aライン(強酸性電解水洗浄消毒)では、最初の測定においてかなりの細菌(*Enterobacter*(1200cfu)や*Pseudomonas*(220cfu)など)が検出されたが、2回目以降

は低い値（ほとんど *Pseudomonas* ）となった。同じ推移がエンドトキシンでも認められた。すなわち、最初 ($220 \pm 175 \text{ pg/ml}$) と2回目 ($158 \pm 106 \text{ pg/ml}$) は高値であったが、日数経過とともに低下し1桁のレベルとなった。Bライン（200ppm次亜塩素酸ナトリウムと1%酢酸で洗浄消毒）およびCライン（Bラインにホルマリン洗浄をプラス）では、日数経過とともに細菌数もエンドトキシン値も増加する傾向が見られ、いずれも強酸性電解水よりも高い値を示した。

図4は、各ライン別のBタンク液の細菌とエンドトキシンの測定値を示している。Aラインは細菌が検出されなかったのに対し、Bラインではすべての測定回においてかなりの細菌数が認められた。Cラインでは細菌は全体的に低く推移する傾向があったが、ときにかかなりの細菌数が検出されることがあった。エンドトキシン値は、細菌数と相関し、Aラインは低く推移したのに対し、Cライン、Bラインの順に値が増大していくことが認められた。

炭酸塩の溶解能に関しては、1%酢酸よりも強酸性電解水が顕著に低かった。Ca塩については、1%酢酸が280~290/dl、強酸性電解水が8~9mg/dlであった。Mg塩については、1%酢酸が6.2~6.5mg/ml、強酸性電解水が0.2~0.4mg/dlであった。

2. 強酸性電解水全自動洗浄システムによる透析装置の洗浄消毒

強酸性電解水で10倍希釈して2000 EU/Lのエンドトキシン液を作成し、室温に静置し経時的に測定したところ、2時間で約85%、24時間後にはほぼ100%不活性化されることを認めた。20,000 EU/Lの条件でも同様の経過でエンドトキシンは不活性化されることを観察した。

図5は、強酸性電解水全自動洗浄システムによる洗浄消毒効果を透析装置配管末端の患者監視装置（コンソール）においてエンドトキシンの推移によって見たものである（A社は約1年間、B社とC社は2年間）。対照として逆浸透装置直後のRO水のエンドトキシンを測定した。

A社の装置ではエンドトキシンのレベルは全試験期間を通じて低く推移し、RO膜（モジュール）通過後のRO水は平均3.3~3.1 EU/L、末端コンソールの平均は18.8~11.1 EU/Lであった。B社とC社の装置では、試験期間中に異常に高いエンドトキシン値を示したが、これはRO膜の破損または劣化によるもので、RO膜の交換により両方とも低下した。その後は、B社の末端コンソールの平均は58.3~35.8 EU/L、RO膜直後は31.8~18.3 EU/Lであった。C社の末端コンソールの平均値は22.7~33.0 EU/Lであった。

一方、強酸性電解水洗浄による透析装置への影響をみるために、A社の装置の洗浄消毒を開始してから1年後にオーバーホールを行い、透析液供給装置の計量カップ内フロートの状態を観察した。その結果、計量カップ内の気層部分にあたるフロートの支柱に若干の錆を認めたが、金属表面上に限局したもらい錆の可能性が高く、動作上、問題ないためその後も継続使用している。末端コンソールの漏血センサ内シリコンリングについても調べたが、1年経過後も殆ど変化がなかった。

透析液供給装置内にある送水ポンプ定流量弁については、1年経過後のオーバーホール実施後9ヶ月および2年後に調べた。オーバーホール時に送水ポンプおよびシリコンチューブに錆を認めたが、これは定流量弁内スプリングからのもらい錆と判断されたので、オーバーホールの際にスプリングの材質を変更した結果、9ヶ月後と2年後では軽微な変化に留まった。

透析液供給装置貯水槽内フロートセンサについては経年による劣化は3社とも軽微であった。

コンソールに取り付けた強酸性電解水対応シリコンチューブ（B社）は、約1年間使用後もチューブの白濁は殆ど認められなかった。

透析液供給装置（C社）のミキシングタンク内面の上部ドレン孔（気層部分に位置）では、ねじ切り部分の隙間腐蝕による錆が見られた。また、気層部分の壁面全体に軽い錆の発生が見られた。

D. 考察

1. 透析装置の洗浄消毒における従来法と強酸性電解水法との比較

1) 次亜塩素酸と酢酸を用いる従来の洗浄消毒法に比べて、細菌、エンドトキシンのレベルが経日とともに低下していくことが強酸性電解水による洗浄消毒で特徴的に認められた。これは、強酸性電解水中に生成している主殺菌因子が次亜塩素酸であり、次亜塩素酸は次亜塩素酸ナトリウムに比べて殺菌力が100倍以上強いこと、また、DNAや蛋白質と素早く反応し分解する能力をもつ活性酸素を生じることと相関していると考えられる。

2) 強酸性電解水の炭酸塩溶解能は、酢酸に比べて劣っていたが、試験期間中に炭酸塩の沈着によるトラブルは起きなかった。

2. 強酸性電解水全自動洗浄システムによる透析装置の洗浄消毒

1) 強酸性電解水を用いた消毒効果は、末端コンソールにおけるエンドトキシンの良好な推移から3社の血液透析装置の長期使用に有効であると考えられる。B社とC社の末端コンソールにおいてエンドトキシンの一時的上昇が見られたが、これは同時にRO膜直下でも上昇したこと、またRO膜の交換により改善されたことから、RO膜の破損もしくは劣化によると考えられた。全体的に見て、RO膜直下比べて末端コンソールにおけるエンドトキシンの上昇は軽度であることから強酸性電解水は有用な洗浄消毒力と考えられる。

現在、ダイアライザは使い捨てになっており、そのために環境問題を潜在的抱えているが、強酸性電解水による洗浄消毒の導入によってダイアライザの再使用の可能性が十分考えることができる。

2) 腐蝕に関しては、ねじ切り部分の隙間腐蝕による錆が観察された(A社とC社)が、樹脂などのコーティングにより錆を防止できる。また、送液ポンプおよび定流量弁の錆が認められた(B社)が、その原因であるスプリングの材質を変更することにより錆の発生を抑制できた。その他、気層部分における錆対策としては、金属ボルトを樹脂

製ボルトに変更することが有効であった。

貯水槽内フローとの錆の発生が長期にわたって軽微であったが、これは、ねじ切り部分がなく十分に密閉が保たれているためと考えられる。

E. 結論

1. 強酸性電解水による血液透析装置の洗浄消毒効果は、次亜塩素酸ナトリウムや1%酢酸を用いる従来法に比べ、細菌やエンドトキシンの制御が良好であった。但し、血液透析装置の配管にダイアライザを通じて漏出する蛋白質の除去のため、時に除蛋白剤等の併用も必要である。

2. 機器の腐蝕はねじ切り部分など部分的でかつ軽度で、ねじ切り部分の樹脂コーティングや樹脂ボルトの採用で解決可能であった。

3. 重炭酸透析療法の一つの欠点である透析機器への炭酸塩の沈殿に対する対策は、従来、酢酸や塩酸を使用していたが、強酸性電解水には塩酸が生成していて低pHであることから、消毒と同時に沈殿溶解を示し、従来の酸洗浄をほとんど必要としなくなった。

4. 経済性の面より見ても事後洗浄に使用する水の使用量が軽減され、汚水処理槽に対する影響が軽微である。

5. 今後、より精度高く強酸性電解水を安定供給できる生成器の開発が望まれる。また、性状の連続的モニタリングやpHおよび有効塩素濃度のより厳密な設定ができることが望まれる。

F. 参考文献

- 1) 藤原功一、田仲紀陽、齋尾英俊、阿部富彌：
電解強酸性水を用いた血液透析装置の洗浄消毒法。人工臓器 25(2)：393-398 (1996)。
- 2) Tanaka, N.; T. Fujiwara, T. Daimon, K. Fujiwara, M. Yamamoto and T. Abe: The cleaning and disinfecting of hemodialysis equipment using electrolyzed strong acid aqueous solution. Artificial Organs 23: 303-309 (1999)。

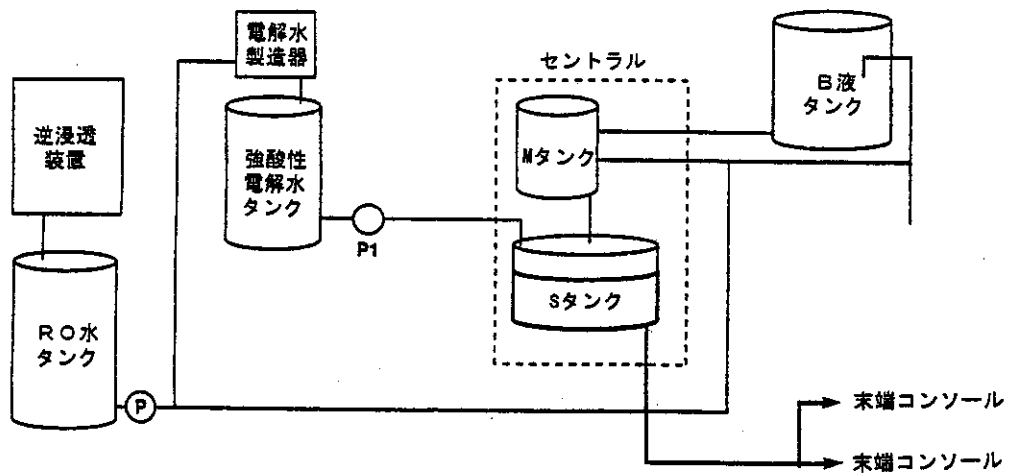


図1. 強酸性電解水による洗浄消毒を組み込んだ透析装置

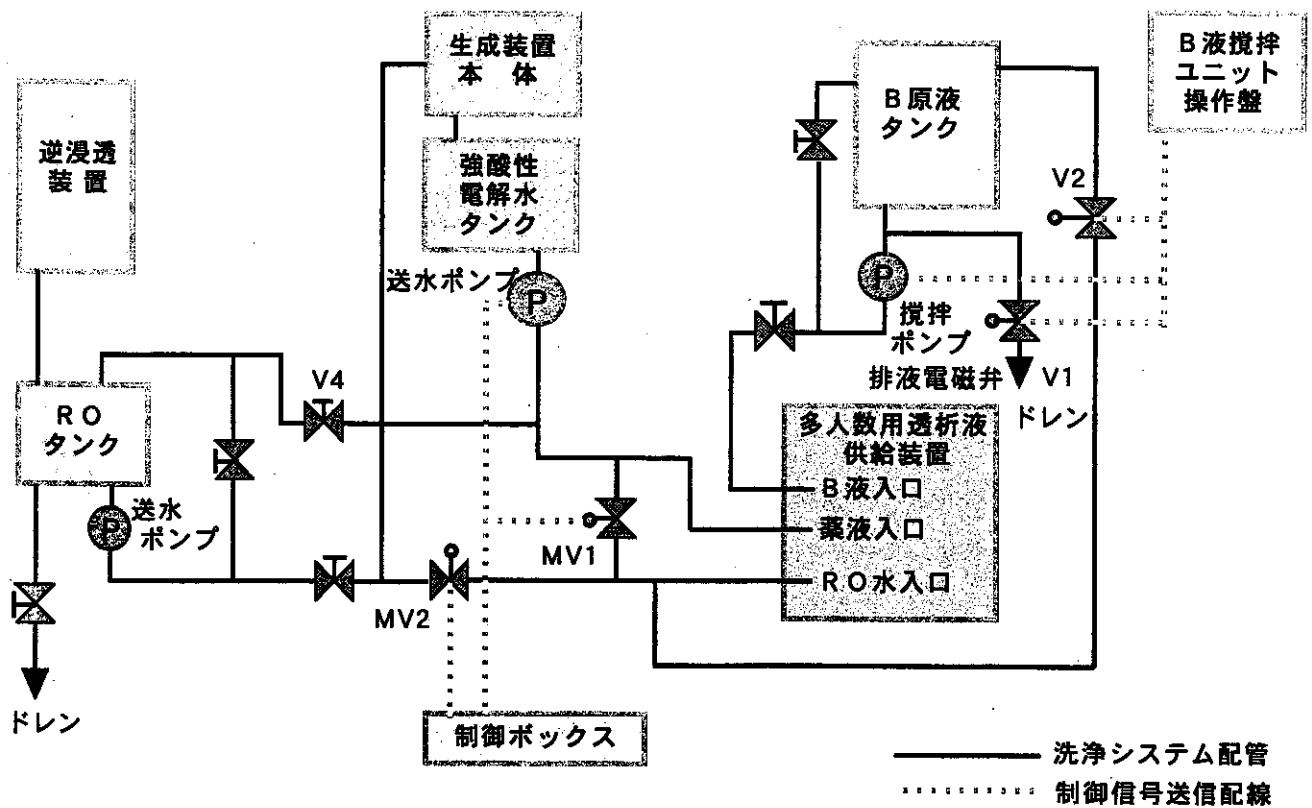
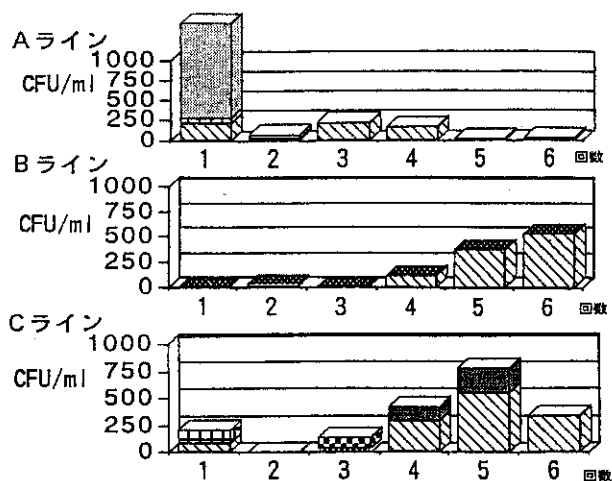


図2. 血液透析装置自動洗浄システム

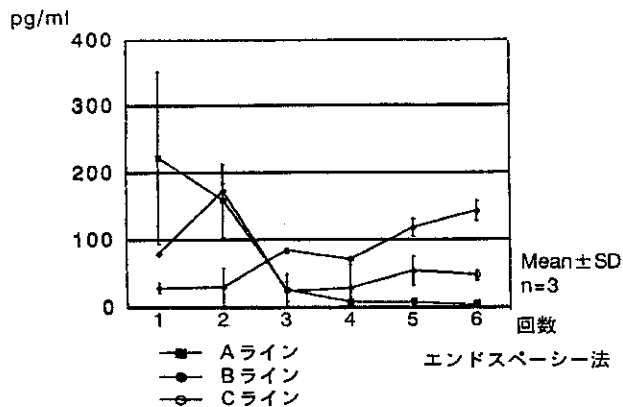
末端コンソールの細菌



- *Acinetobacter.caicoaceticus*
- ▨ *Pseudomonas.stutzeri*
- *Aeromonas.caviae*
- *Corynebacterium.sp*
- *Enterobacter.sp*
- *Bacillus.sp*
- ▨ *Pseudomonas.sp*

平板拡散法

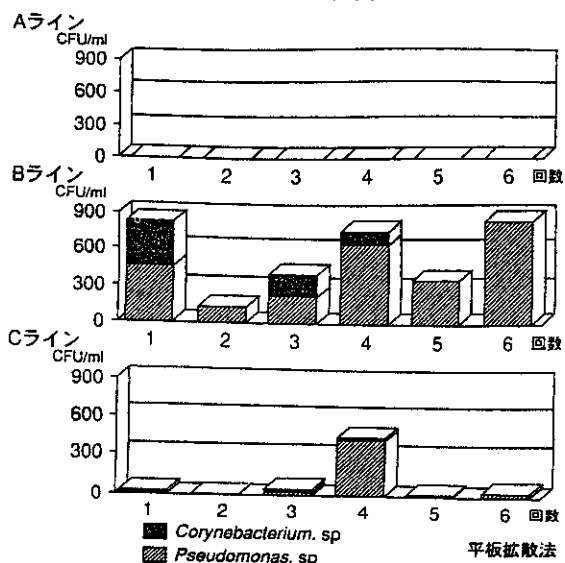
末端コンソールのET



- Aライン: 強酸性電解水 (pH2.4)
- Bライン: 200ppmNaOCl + 1%酢酸
- Cライン: 200ppmNaOCl + 1%酢酸 + 3.8%ホルマリン

図3. 透析装置 (末端コンソール: 図1) の洗浄消毒における強酸性電解水と従来消毒薬の比較

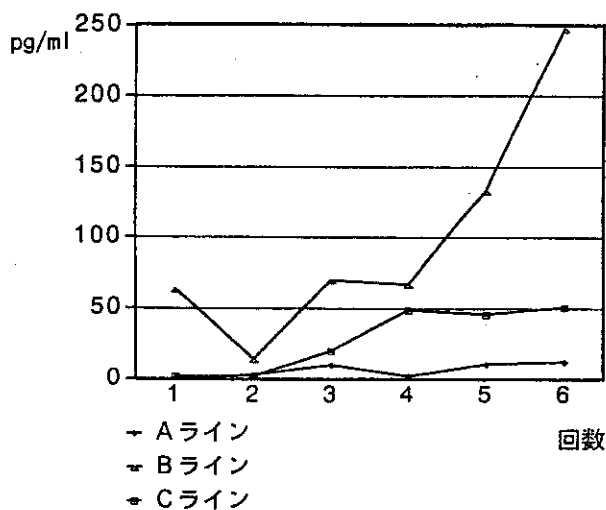
Bタンクの細菌



- *Corynebacterium.sp*
- ▨ *Pseudomonas.sp*

平板拡散法

BタンクのET



- Aライン
- Bライン
- Cライン

図4. 透析装置 (B液タンク: 図1) の洗浄消毒における強酸性電解水と従来消毒薬の比較

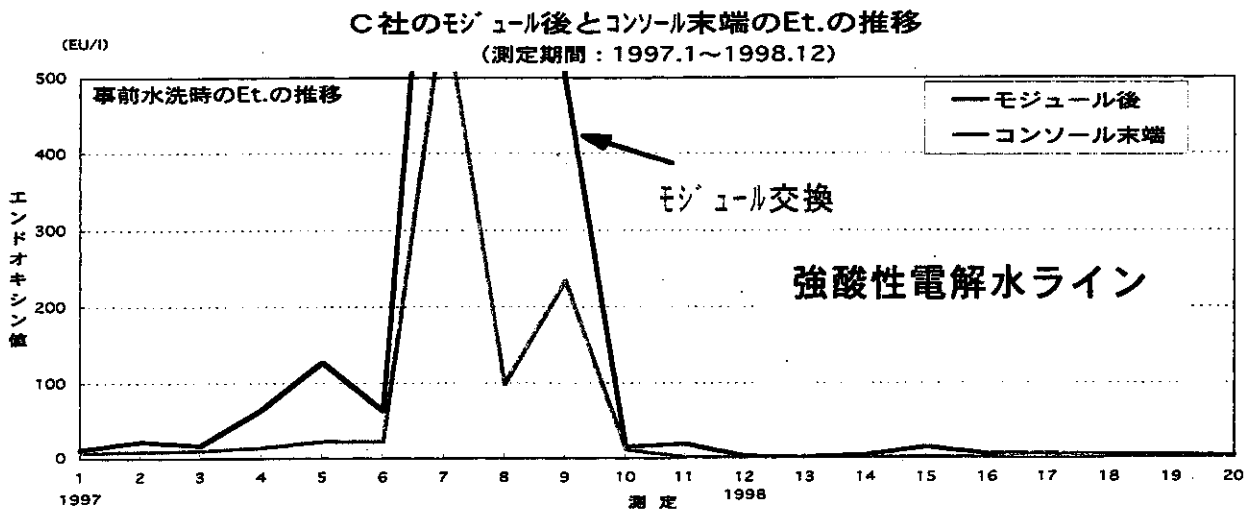
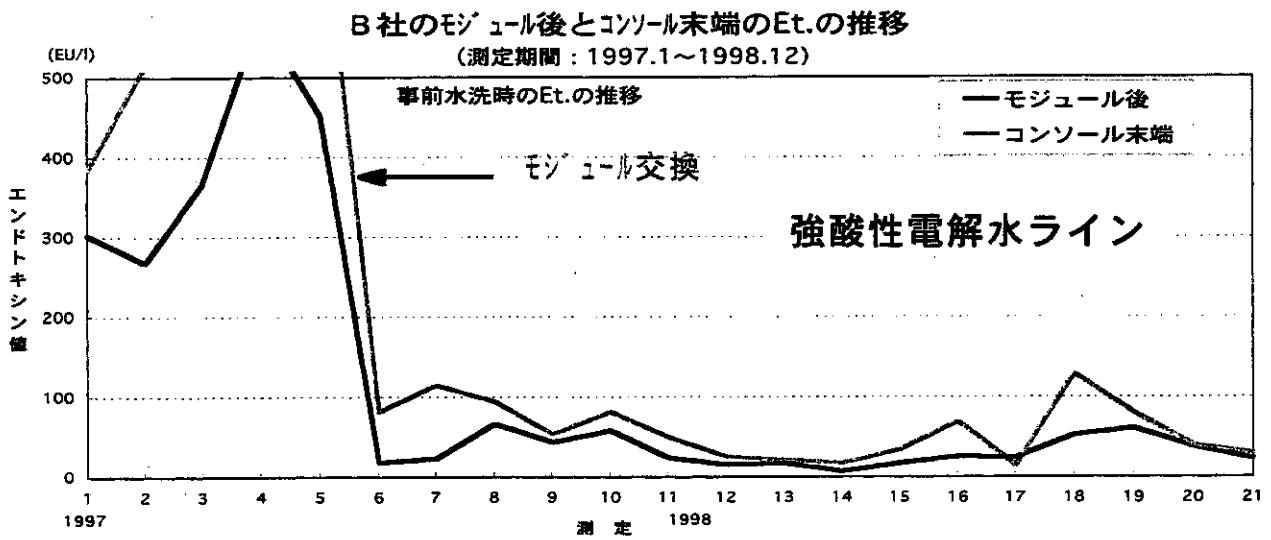
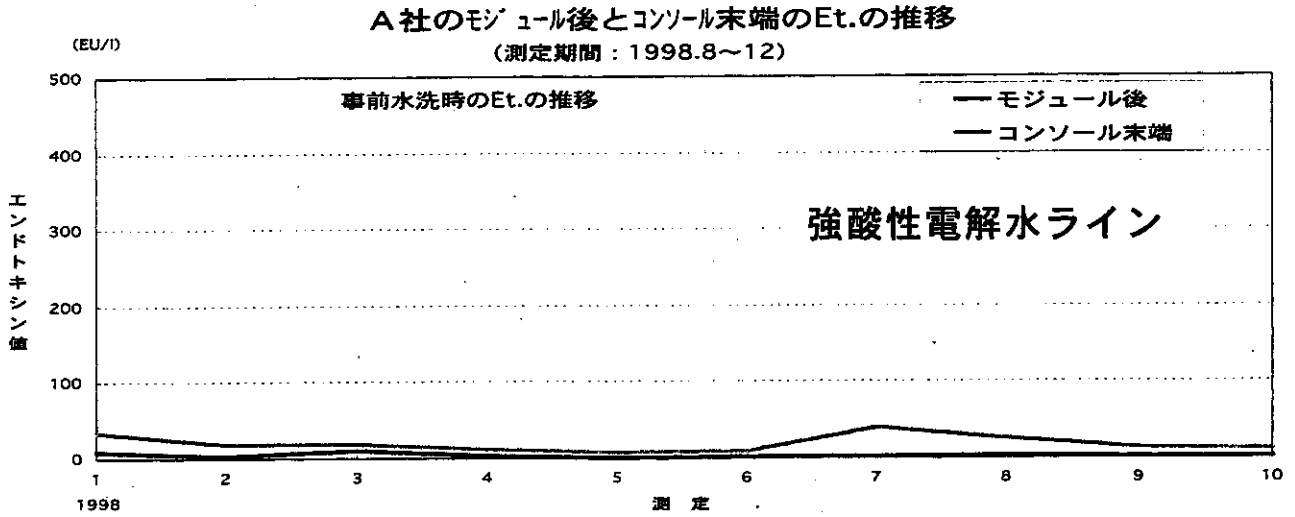


図5. 強酸性電解水全自動洗浄消毒システム稼働中のRO膜（モジュール）直下とコンソール末端の

分担研究報告書

平成11年度厚生科学研究費補助金（新興・再興感染症研究事業）

「我が国における施設内感染等のあり方に関する研究」

強酸性電解水ティッシュの有用性の検討

分担研究者 島崎 修次 杏林大学医学部救急医学教室

研究協力者 村田 厚夫 杏林大学医学部救急医学教室

強酸性電解水ティッシュを考案し、強酸性電解水ティッシュの有効性の検討と、病室内環境の汚染防止に対する有用性の検討をおこなった。強酸性電解水ティッシュの清拭により、手指の付着菌は有意に低下した（ $P < 0.05$ ）。作成18時間後でも約75%と有意（ $P < 0.05$ ）の付着菌数低下がみられ、適切な容器で保管することで強酸性電解水としての効果の持続が確認された。ティッシュ清拭によりモニター及び人工呼吸器のアラームスイッチの付着菌を100%除去することが出来た。低コストである強酸性電解水は、一般市中病院でも院内感染対策に十分応用可能と考えられた。

A. 研究目的

杏林大学高度救命救急センター内の環境（汚染）菌のサーベイランスを行ったところ、MRSA保菌患者ベッドサイドに設置されて医療機器と、一つベッドを隔てた患者の医療機器からMRSAが検出されるなど、医療機器を介した細菌汚染の伝搬の危険性については昨年度報告している。その結果を踏まえて、本年度は以下の様な観点から研究を行い、高度救命救急センターにおける薬剤耐性菌対策・院内感染対策への強酸性電解水の有用性の検討を行うこととした。

強酸性電解水は多剤耐性のMRSAや緑膿菌だけでなく、真菌やウイルスなどにも有効であり、耐性菌は出現しにくいとされ、また、他の消毒薬と比べ、細胞に対する毒性が低く、手指洗浄による肌荒れが顕著に少なく、低コストで簡単に生成できる¹⁾とされている。また、近年では集中治療病棟などでも広く採用されるようになっている²⁾こと

から、高度救命救急センターのように頻回に患者処置が必要になる病棟でのより簡便な利用と、さらに一般市中病院でも利用可能な方法を検討した。そこで、病室内環境の汚染防止のため、ベッドサイドでも簡便に強酸性電解水を利用できる方法として、強酸性電解水ティッシュを考案し、強酸性電解水ティッシュの有用性の検討と、モニターアラームやスイッチ類など病室内環境の汚染防止に対する強酸性電解水ティッシュの有用性の検討を行った。

B. 研究方法

強酸性電解水ティッシュは、不織布（PKコットンガーゼ：カワモト）50gを使用し、2リッターの強酸性電解水を浸透させ、強く絞り60gとしたものをステンレス製湿布缶で保管した。処置前後での手洗いを徹底するために、考案したものである。この容器は一般病院でも利用可能であり、また大

きくないことからベッドサイド、例えば小さなテーブルや食卓台に乗せておくこともできるし、また交換台にも設置しておくことも出来る。

1. 強酸性電解水ティッシュの有効性の検討

1) 強酸性電解水ティッシュ清拭と手洗いの効果の比較

強酸性電解水ティッシュによる清拭と、強酸性電解水手洗い器による手洗い施行前後の手指の付着菌数をスタンプアガー法（使用培地、クリーンスタンプ：日水）で検査し比較した。

2) 強酸性電解水ティッシュ清拭による手袋付着菌検出率の変化

作成後の時間経過の異なる強酸性電解水ティッシュと、滅菌精製水で作成したティッシュによる、手袋付着菌検出率の変化を比較した。一定菌量の緑膿菌液の中に、滅菌手袋（プラスチック手袋：JMS）を二重にはめた手を浸し、自然乾燥後、強酸性電解水あるいは滅菌精製水のティッシュで清拭し、手袋の指の部分を切り取り、滅菌生食とともに攪拌した後、定量培養法で付着菌数を確認した。

2. 病室内環境の汚染防止に対する強酸性電解水ティッシュの有効性の検討

作成8時間後の強酸性電解水ティッシュを用いて、モニター及び人工呼吸器のアラームスイッチを清拭し、清拭前後でのスタンプアガー法による付着菌数を測定し比較を行った。

C. 研究結果

強酸性電解水ティッシュの清拭により、図1に示すように、手指の付着菌は有意に低下した（ $P < 0.05$ ）。

強酸性電解水は作成後時間が経過すると、その殺菌効果が減弱することが分かっており、次のような実験を行った。作成経過時間の異なる強酸性電解水ティッシュによる手袋付着菌検出率の変化は、図2に示すように作成8時間後でもほぼ100%殺菌効果があり、作成18時間後でも75%と有意

（ $P < 0.05$ ）の付着菌数低下がみられた。これにより、基本的には1日2回の作成でも十分使用可能と考えられた。

昨年度の本報告で、センター内に設置されている患者監視装置や人工呼吸器などのスイッチ部分の拭き取り細菌培養検査を行ったところ、アラームスイッチの部分に最も汚染が多いことが分かったので、この強酸性電解水ティッシュにより、アラームスイッチ部分を清拭する効果の検討を行った。図3のように、ティッシュ清拭によりモニターアラームスイッチ、人工呼吸器アラームスイッチも、ほぼ100%付着菌を除去することが出来た。

従来あまり清拭することのなかったアラームスイッチ部分を、処置の前後この強酸性電解水ティッシュで軽く拭うだけでもその除菌効果が示され、また同時に手指の除菌も行えることが示唆された。

D. 考察

院内感染の予防には、いわゆるスタンダードプレコーションに加えて、マスク、ガウン、手袋のディスポ化の他、処置前後の頻回の手洗いが重要である³⁾。これを医師、看護婦だけでなく、全ての医療従事者（臨床工学技師や看護助手など）に徹底することが肝心であるとされているが、現実には余り実行されていないと考えられている。

これは、救命救急センターという特殊な病院施設だけでなく、多数の患者を抱える一般市中病院でも同様の現象と考えて良い。それは、とかく仕事に追われてしまい、「各々の処置間に頻回の手洗いをする」という行為に時間を割くことが少なくなり、また、廊下などには設置している従来の方法の手指消毒法では、ベッド間での手洗いは行うのは非現実的であるからである。

現在、手指の洗浄消毒には、ウエルパスやポビドンヨードなどが用いられているが、前者には手荒れの問題、後者には衣類への着色の問題があり、コストパフォーマンスも一般市中病院で徹底するには問題が残っている。また、これらの消毒液を入れた容器は多くの場合、先程述べたように病室の出入り口などに設置しているだけで、各ベッド

サイドには設置されていないのが現状である。

今回我々が考案した強酸性電解水を浸したティッシュによる手指の清拭法は、優れた除菌効果を示すだけでなく、ティッシュ作成後18時間を経過しても、その効果が持続することが判明した。ティッシュを小型の湿布缶に入れておけば、ベッドサイドのテーブルに乗せておくだけで、一回の処置の前後に手指を拭ったり、患者の体液で汚染した部分を瞬時に拭うことも容易である。また、強酸性電解水は従来の消毒薬に比べて低コストであり、一般市中病院でも院内感染対策に十分応用可能と考えられる。

一方、ティッシュだけでの手指の消毒は、付着している皮脂や蛋白質、汗などにより完璧とは言えないこと、保存する容器が金属の場合は腐食する可能性もあると言う問題点が残っている。この問題に関しては、今後更なる技術改良が必要であると我々は考えている。

今後は、朝夕2回作成して、適切な容器に入れた強酸性水浸透ティッシュを如何に効率的に作成して配布できるか、などの開発が望まれる。

E. 結語

年間1600例を越える3次救急患者を受け入れる我々の施設における院内感染対策として、強酸性電解水の応用の可能性について検討を行った。

まず、当高度救命救急センター集中治療室(30ベッド)における環境汚染の程度を検討し、更に入院患者の疾患別臨床分離細菌の動向やMRSAについての検討を行い、論文として研究発表した^{1, 2)}。

また、医療従事者のセンター入室前後の手洗い頻度や、各処置間での手洗い頻度などについてもDouble blindで検討した結果、手洗い用の器具は手元に置かなければならないことが判明した。

その結果から、強酸性電解水ティッシュを考案し、それを用いて、手指の消毒やアラームスイッチの清拭に応用できることを明らかにした。このティッシュは作成も簡単で、コストパフォーマンスにも優れており、多数の患者を抱える一般病院でも利用可能と考えられた。

F. 研究発表

1. 論文発表

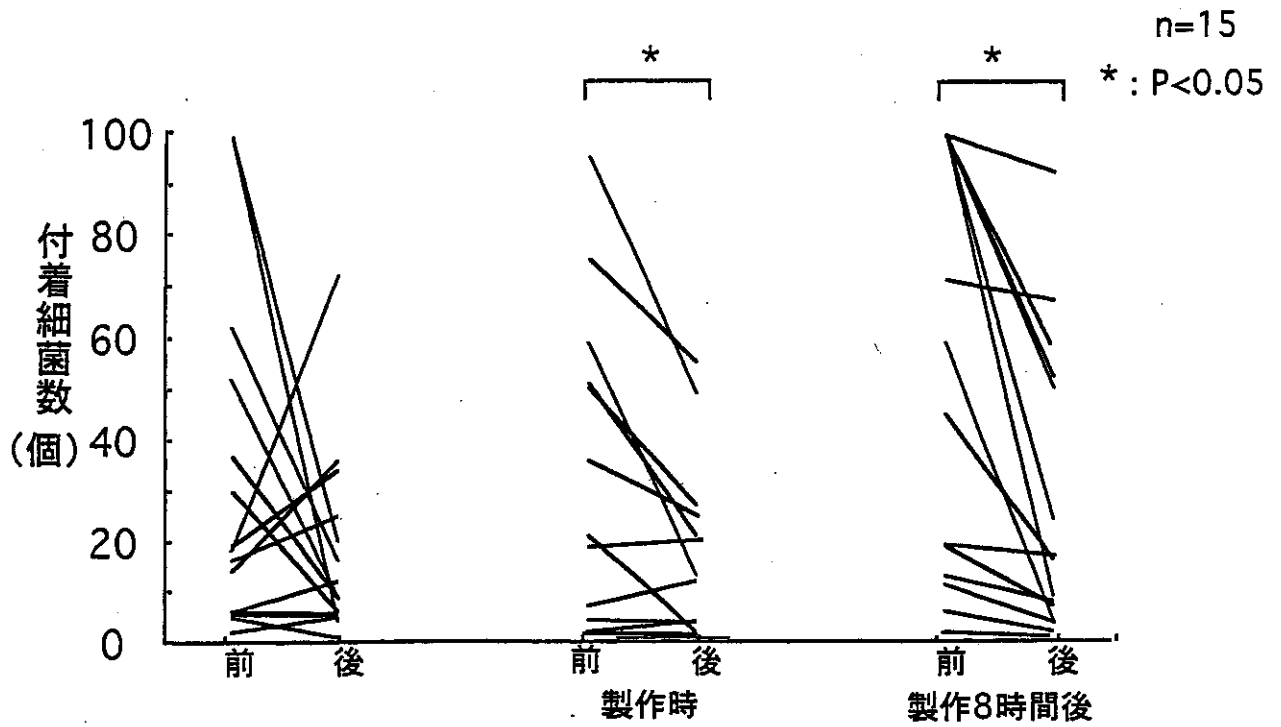
- 1) 吉沢美恵子、尾造由美子、田中秀治、村田厚夫、島崎修次：当高度救命救急センターにおける各疾患臨床分離細菌の動向。日本外科感染症研究 11: 65-69, 1999.
- 2) 尾造由美子、吉沢恵美子、田中秀治、村田厚夫、島崎修次：当高度救命救急センターにおける黄色ブドウ球菌(MRSA)感染についての検討。日本外科感染症研究 11: 88-92, 1999.

2. 学会発表

- 1) 吉沢美恵子、尾造由美子、田中秀治、村田厚夫、島崎修次：強酸性電解水ティッシュの有用性の検討。第12回日本外科感染症研究会(平成11年12月10日・盛岡)。

参考文献

- 1) アクア酸化水研究会編「アクア酸性水使用手引き」国際文献, 1995.
- 2) Kumon K: What is functional waters? Artificial Organs 21: 2-4, 1997.
- 3) 石原晋：当院救命救急センターへの standard precaution 導入の試み。日臨救医誌 1: 200-205, 1998.



強酸性電解水で手洗い 強酸性電解水ティッシュ清拭
 図1：強酸性電解水ティッシュ清拭と手洗いの効果の比較

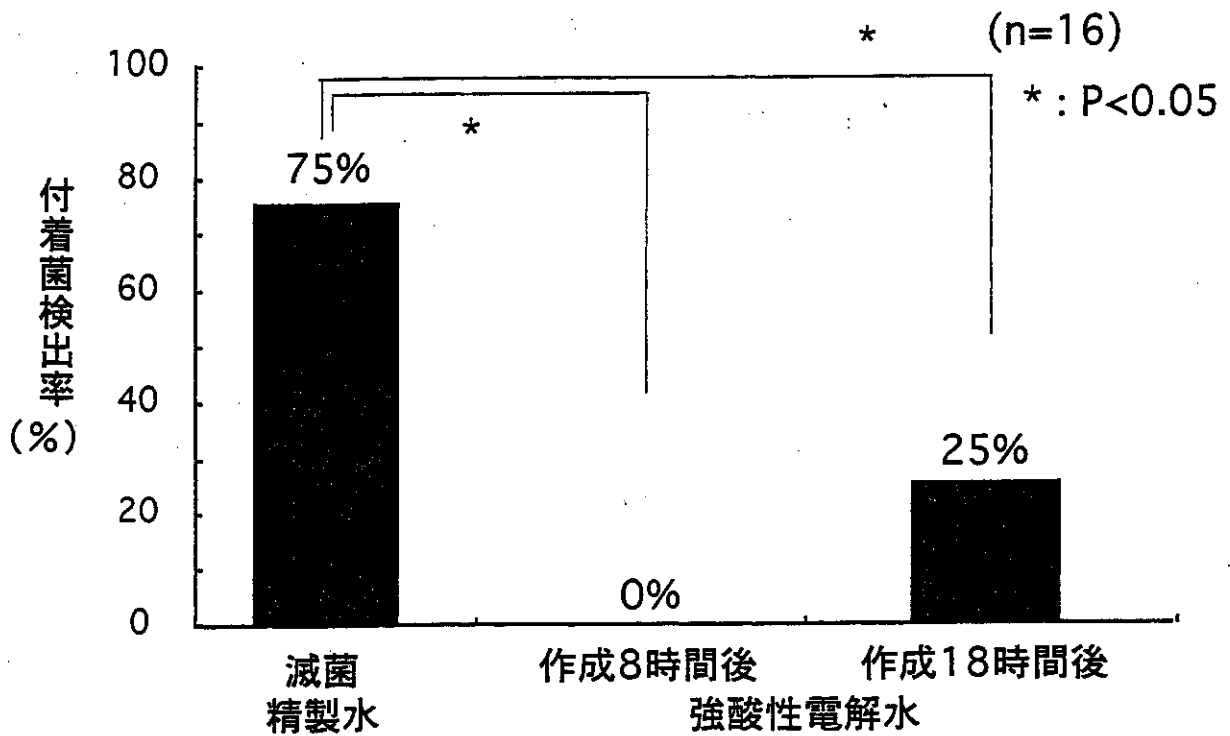


図2：強酸性電解水ティッシュ清拭による手袋付着菌検出率の変化