

ミスト噴霧による除菌技術「マルチミスト[®]」の性能評価

四本 瑞世 緒方 浩基 相賀 洋
 沼田 和清 酒巻 佳江 木村 公則
(本社設計本部) (本社技術本部) (大阪本店建築事業部)

Decontamination Performance Evaluation of the Mist Spraying System “Multi Mist[®]”

Mizuyo Yotsumoto Hiroki Ogata Hiroshi Ohga
 Kazukiyo Numata Yoshie Sakamaki Kiminori Kimura

Abstract

The mist spraying system “Multi Mist[®]” has been developed as a decontamination technology against food poisoning in food manufacturing factories and as an infection measure in medical facilities. This technology uses the humidifying evaporative cooling system “Saratto Mist[®],” and it has a feature that enables the decontamination of the entire room without wetting the facility surfaces by spraying a small quantity. This study evaluates its decontaminating performance. We confirmed that “Multi Mist[®]” was capable of decontaminating bacteria with more than 99% reduction and fungi with 90%~99% reduction, and the decontamination was performed without wetting the facility surfaces in the verification test in a mock-up laboratory of a hospital room.

概要

これまでに筆者らは食品工場の食中毒菌対策、医療施設の感染対策として、ミスト噴霧による除菌技術「マルチミスト[®]」を開発している。本技術は、大林組保有技術である二流体細霧空調システム「さらっとミスト[®]」を応用したものであり、少ない薬剤量で室内全体を除菌できる特長がある。本報では、マルチミストの除菌性能について述べる。食中毒菌の原因菌や院内感染菌、主要カビなど11種の微生物を用いた除菌性能評価試験を実施し、マルチミストにより細菌において99%以上の除菌効果、カビにおいても90~99%の除菌効果を確認した。更に、病室モックアップ実験室においてマルチミストの検証試験を実施し、表面を濡らさずに除菌できることを確認した。

1. はじめに

近年、新型インフルエンザの発生やノロウイルス・O157による食中毒の発生などから、微生物対策への需要が高まっている。食品工場では衛生環境の改善技術、医療・福祉施設では施設内の感染対策に繋がる技術の提案が求められている。特に病院では、免疫力の低下した患者に対する感染対策が重要な課題となっており、感染リスクを低減させる技術が求められている。中でも、メチシリン耐性黄色ブドウ球菌(MRSA)に代表される院内感染菌は接触感染¹⁾であるため、環境表面の除菌が有効な手段と考えられる。また、年間の食中毒患者数の半数以上を占めるノロウイルスは、食品取扱者が介する場合、トイレが汚染源の一つである²⁾ため、トイレを除菌することはノロウイルス対策として有効な手段と考えられる。

筆者らは、環境表面の除菌方法として、少ない薬剤量で、施設表面を濡らさずに均一に除菌できる室内除菌システムとして、大林組保有技術である二流体細霧空調システム「さらっとミスト」を用いたミスト噴霧による除菌技術「マルチミスト」を開発した。必要な設備は、薬剤供給ユニット、コンプレッサ、噴霧ノズルであり、大型の設備は必要としないことが特長である (Fig. 1)。

これまでに実施した実規模レベルの噴霧実験より、薬剤を微細なミストで噴霧することで少ない噴霧量で表面を濡らさず全体を除菌できること、設備や什器のある室内でも、噴霧液量と薬液濃度を制御することで、設備の背面や狭い隙間の部分まで除菌できることがわかっている³⁾。

本報では、マルチミストの除菌性能について、食中毒の原因菌や院内感染菌、室内主要カビなど、数種の細菌、薬剤耐性菌、カビを用いた除菌性能評価試験と病室モックアップ実験室にて行った検証試験の結果について報告する。

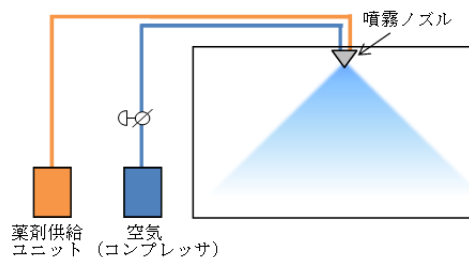


Fig. 1 ミスト除菌「マルチミスト」のシステム図
 System Diagram of Decontamination Technology by 「Multi Mist」

2. 試験に使用した微生物

本技術の適用先として、食品工場や医療・福祉施設の食中毒菌対策、感染対策が挙げられる。そこで、今回、実験に供した微生物は、食中毒菌3種類(黄色ブドウ球菌、病原性大腸菌、サルモネラ菌)、日和見感染菌1種類(緑膿菌)、食中毒菌や日和見感染菌の代替菌として病原性の低い細菌3種類(表皮ブドウ球菌、シュードモナス・プチダ、非病原性大腸菌)、院内感染の主要原因菌である薬剤耐性菌2種類(メチシリン耐性黄色ブドウ球菌;MRSA、多剤耐性緑膿菌;MDRP)、ほこりや粉塵に含まれる主たる細菌の枯草菌、食品工場製造室で水蒸気発生による天井結露で高頻度確認されるクロカビの合計11種類とした。それぞれの微生物毎に実施した試験との対応をTable 1に示す。

3. 除菌性能評価試験

3.1 性能評価試験の進め方

今回試験に使用した11種類の微生物のうち、薬剤耐性菌以外の病原性のある細菌(No.1, 4, 7, 9)及びクロカビ(No.11)を用いて、まず、大林組技術研究所内の安全キャビネットにて薬剤との液系接触による除菌試験を行い、薬剤の除菌効果のポテンシャルを評価した。次に、分類上上記に近いが病原性の低いことがわかっている細菌とカビを用いて、大林組技術研究所の52m³実規模実験室にてミスト噴霧による除菌試験を実施し除菌効果を評価した。薬剤耐性菌2種類は、(一財)北里環境科学センターの25m³試験チャンパー内にてミスト噴霧による除菌試

験を実施し、除菌効果を評価した。

3.2 安全キャビネット内での液系接触試験

3.2.1 試験概要 供試薬剤は、食品添加物に認可されている次亜塩素酸ナトリウム水溶液と塩酸を蒸留水で希釈混合し、pHおよび有効塩素濃度を調整した次亜塩素酸水溶液を用いた。調整後の有効塩素(Free Available chlorine;FAC)濃度はDPD(ジエチル-*p*-フェニレンジアミン)比色法により測定した。なお、25m³および52m³実験室でのミスト噴霧試験、病室モックアップ実験室における検証試験で使用した薬剤も次亜塩素酸水溶液である。

液系接触試験は、FAC濃度として20mg/L(細菌)もしくは70mg/L(カビ)に調整した次亜塩素酸水溶液10mLに、各種微生物懸濁液を1mL添加し、一定時間薬剤と接触させる方法とした。各微生物の添加量は、次亜塩素酸水溶液1mLあたり10⁶~10⁷cfuとした。なお、cfu(colony forming unit)とは培地で培養した際に形成されるコロニー数のことである。微生物と薬剤を接触後、10%チオ硫酸ナトリウムを含むソイビーン・カゼイン・ダイジェスト(SCD)液体培地(細菌)もしくはグルコース・ペプトン(GP)液体培地(カビ)を用いて薬剤を中和するとともに、中和後の反応液を段階希釈してソイビーン・カゼイン・ダイジェスト・レシチン・ポリソルベート(SCDLP)培地(細菌)もしくはグルコース・ペプトン・レシチン・ポリソルベート(GPLP)培地(カビ)に塗布し、32℃のインキュベーターで1~2日間もしくは25℃・7日間培養し菌数を測定することで、除菌効果を評価した。なお、細菌やカビの希釈や接触試験はすべて安全キャビネット内で実施した。

Table 1 実験に供した微生物
Microorganisms for Experiments

No.	微生物	分類	和名	菌株名	病原性	大津組技術研究所			
						(一財)北里環境科学センター 25m ³ 実験室におけるミスト噴霧試験	安全キャビネット内での液系接触試験	52m ³ 実験室におけるミスト噴霧試験	病室モックアップ実験室における検証試験
1	細菌	ブドウ球菌	食中毒菌	黄色ブドウ球菌	<i>Staphylococcus aureus</i> NBRC13276	高	○		
2			薬剤耐性菌	メチシリン耐性黄色ブドウ球菌	<i>Staphylococcus aureus</i> IID1677 (MRSA)	高	○		
3			黄色ブドウ球菌の代替菌	表皮ブドウ球菌	<i>Staphylococcus epidermidis</i> NBRC12993	低		○	○
4		シュードモナス	日和見病原細菌	緑膿菌	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> NBRC13275	高	○		
5			薬剤耐性菌	多剤耐性緑膿菌	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> GTC14659(MDRP)	高	○		
6			緑膿菌の代替菌	シュードモナス・プチダ	<i>Pseudomonas putida</i> NBRC12668	低		○	
7		大腸菌	食中毒菌	病原性大腸菌	<i>Escherichia coli</i> NBRC3972	高	○		
8			病原性大腸菌の代替菌	非病原性大腸菌	<i>Escherichia coli</i> NBRC13965	低		○	
9		サルモネラ	食中毒菌	サルモネラ菌	<i>Salmonella enterica</i> NBRC100797	高	○		
10		バシラス	埃由来の主たる細菌	枯草菌	<i>Bacillus subtilis</i> NBRC3134	低		○	
11	カビ	好湿性カビ	結露由来の主たるカビ	クロカビ	<i>Cladosporium cladosproides</i> NBRC6348	低	○	○	

Table 2 各種微生物の薬剤接触時間と生存菌数の関係
Relation between Contact Time of Disinfectant and Survival Bacterium Number

種類	次亜塩素酸濃度 (mg/L)	反応系のpH	薬剤との接触時間の違いによる残存菌数 (cfu/薬剤1mL)					
			0分	30秒	1分	3分	5分	10分
黄色ブドウ球菌	20	8.1	7.6E+06	1.5E+03	9.6E+03	<5	<5	<5
	20	5.8	1.7E+06	<5	<5	<5	<5	<5
緑膿菌	20	6.6	2.9E+06	<5	<5	<5	<5	<5
病原性大腸菌	20	7.6	7.8E+06	<5	<5	<5	<5	<5
サルモネラ菌	20	6.8	1.5E+07	<5	<5	<5	<5	<5
クロカビ	70	5.3	1.5E+06	5.2E+04	3.4E+03	<5	<5	<5



Photo 1 52m³実験施設
Experimental Facilities

3.2.2 試験結果 次亜塩素酸水溶液と各種微生物を接触させた際の接触時間と生存菌数の関係について Table 2に示す。

これより、緑膿菌、病原性大腸菌、サルモネラ菌では、次亜塩素酸水溶液の濃度が20mg/Lと低濃度であっても、pHが6.6～7.6の範囲において、30秒と短い接触時間で $2.9 \times 10^6 \sim 1.5 \times 10^7$ cfu/mLの菌数が検出下限値未満にまで減少することを確認した。黄色ブドウ球菌では、反応系のpHが8.1とややアルカリ性を示した試験において、接触時間が30秒～1分の際に菌が残存したが、反応系のpHを5.8まで下げたところ、30秒の接触時間で 1.7×10^6 cfu/mLの菌数が検出下限値未満にまで減少することを確認した。

一方、クロカビは細菌よりも死滅までに時間がかかり、70mg/Lの薬液濃度において、3分の接触時間で 1.5×10^6 cfu/mLの菌数が検出下限値未満にまで減少することを確認した。

3.3 細菌に対する除菌性能評価試験 (52m³実験室)

3.3.1 試験概要

(1) 実験施設および噴霧装置 噴霧実験は、容積約52m³ (幅4.95×奥行3.95×高さ2.67m)、表面積約87m²の実験施設にて行った (Photo 1)。噴霧装置は二流体サイフォン式噴霧ノズルを用いた。コンプレッサにより圧縮空気を供給し、薬液は加圧タンクから供給した。時間当たりの噴霧液量と噴霧エア量は、ノズルの口径や空気圧により制御が可能である。

(2) 障害物の設置 本報では、実施に近い空間での除菌性能を評価するため、障害物を設置した状態でミスト噴霧実験を行った。障害物の種類と配置場所をFig. 2に、配置状況をPhoto 2に示す。

(3) 除菌性能の評価方法 薬剤のミスト噴霧による除菌試験において除菌性能を評価するには、対象とする細菌を附着させて固定化した担体 (バイオロジカルインジケータ、以下BI) を作成する必要がある。これまでの実験では、乾燥に強い表皮ブドウ球菌を碗型ステンレス板に塗布して乾燥させたもの (自作BI) を用いて除菌性能の評価を行ってきた³⁾。今回、新たにミスト噴霧除菌試験に供試した細菌は、シュードモナス・プチダ、非病原性大腸菌、枯草菌の3種類である。表皮ブドウ球菌と

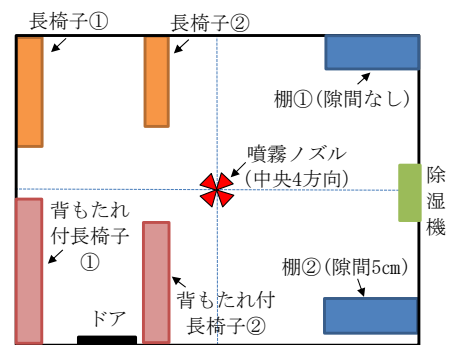


Fig. 2 障害物の種類と配置場所
Kinds and the Position of Obstacles



Photo 2 障害物の配置状況
Position of Obstacles

同様の方法でBIを作成したところ、いずれも乾燥などに極めて弱く、BIとしての使用に堪えなかったため、小型シャーレ (内径23mm) に滅菌生理食塩水に懸濁させた菌液を100μL塗布し、液滴の状態を維持したBI (湿潤BI) を作成して実験に供した。噴霧試験終了後に湿潤BIを回収し、滅菌生理食塩水を添加後、ピペッティングによる洗い出しを行って菌体を回収した。回収液を段階希釈してSCDLP培地に塗布後、32°Cのインキュベーターで1～2日間培養し、菌数を測定した。除菌効果の評価は3連で実施し、3個中2個以上で、噴霧後の菌数が対照区 (薬剤の噴霧しないで2時間放置した区) の菌数よりも1/100未満に減少した際に除菌できたと判断した。

(4) 温湿度と濡れの有無の測定方法 室内の温湿度はボタン型温湿度データロガーを用いて測定した。表面の濡れは、水滴に触れると不可逆的に発色する試験紙 (以下、水分試験紙) により確認した。

(5) 試験条件 Fig. 2に示すように、ノズルを部屋中央に配置(天井から2cm下)し、Table 3に示す条件で薬剤を噴霧した。この条件は、表皮ブドウ球菌による乾燥BIを用いて最適化した条件(障害物を配置した状態で、乾燥BIを50カ所に設置し、50カ所中49カ所で噴霧後の菌数が初期の菌数の1/100未満に減少するとともに50カ所すべてで濡れなかった条件)³⁾と同じであり、他の微生物でも表皮ブドウ球菌と同じように除菌できるかを評価した。

測定点について、今回、小型シャーレによる湿潤BIを用いるため、天井や什器側面に測定点を設けられないこと、また4種類の細菌に対してそれぞれ3連で評価するため、測定点1カ所あたり12個の湿潤BIを設置しなければならない為、測定点はこれまでの50カ所から3カ所に減らした。測定点をTable 4およびFig. 3に示す。

なお、室内の温湿度は、エアコンと加湿器により、噴霧前に約25℃・50%RHに調整し、噴霧時にはエアコンを止めた。Table 4に示す測定点に、湿潤BI、温湿度データロガー、水分試験紙を設置後、次亜塩素酸水溶液をTable 3の条件で噴霧し、1時間保持した。試験後、湿潤BIを回収し、薬剤噴霧後の生存菌数を計測することで、除菌効果を評価した。対照区は、25℃室内に湿潤BIを設置して、薬剤を噴霧しないで1時間放置した。

3.3.2 試験結果 ミスト噴霧による実験結果をTable 5(各種細菌の除菌効果)とTable 6(相対湿度の変化と濡れの影響)に示す。なお、1回目と2回目の試験は、薬液濃度や噴霧液量は同じであるが、各細菌の湿潤BIの菌数が異なる。

これより、表皮ブドウ球菌による乾燥BIを用いて最適化した噴霧条件で、 $7.1 \times 10^3 \sim 7.6 \times 10^4$ cfu/Biのシュードモナス・プチダ、非病原性大腸菌、枯草菌を検出下限値未満にまで除菌できることを確認した。また、Table 6より、

Table 3 試験条件
Test Conditions

部屋の大きさ (m ³)	噴霧液量 (mL/部屋)	噴霧時間 (min)	1m ³ 当たりの噴霧液量 (mL/m ³)	次亜塩素酸水溶液		1m ³ 当たりの次亜塩素酸投入量 (mg/m ³)	保持時間 (h)
				濃度 (mg/L)	pH		
52	412	15	8.0	116	5.3	1.0	1

Table 4 測定点
Measurement Points

設置した障害物		測定点	
長椅子	2脚	-	合計 3カ所
背もたれ付き長椅子	2脚	椅子①直下床面 1カ所	
棚 (複数の箱などを設置)	2台	棚①中央棚板の上 棚①前の床 2カ所	

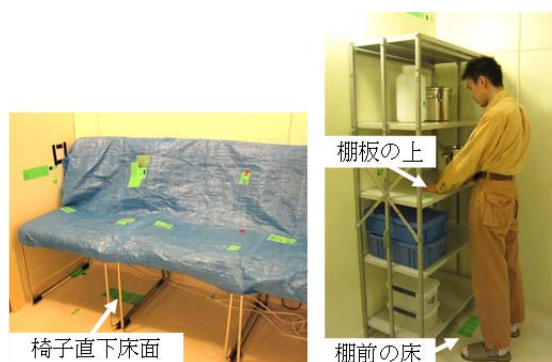


Fig. 3 測定点
Measurement Points

Table 5 ミスト噴霧による各種細菌の除菌効果
Decontamination Effect by Mist Atomizing

試験	障害物	測定点	No.	表皮ブドウ球菌			シュードモナス・プチダ			非病原性大腸菌			枯草菌				
				対照区の菌数 (cfu/Bi)	噴霧後の菌数 (cfu/Bi)	1/100未満除菌判定	対照区の菌数 (cfu/Bi)	噴霧後の菌数 (cfu/Bi)	1/100未満除菌判定	対照区の菌数 (cfu/Bi)	噴霧後の菌数 (cfu/Bi)	1/100未満除菌判定	対照区の菌数 (cfu/Bi)	噴霧後の菌数 (cfu/Bi)	1/100未満除菌判定		
1回目	背もたれ付き長椅子①	直下床面	1	2.5×10^4	<25	3/3	6.7×10^4	<25	3/3	4.7×10^4	<25	3/3	7.1×10^3	<25	3/3		
			2		<25	3/3		<25	3/3		<25	3/3					
			3		<25	3/3		<25	3/3		<25	3/3					
	棚①	中央棚板の上	1		<25	3/3		<25	3/3		<25	3/3		<25	3/3	<25	3/3
			2		<25	3/3		<25	3/3		<25	3/3		<25	3/3		
			3		<25	3/3		<25	3/3		<25	3/3		<25	3/3		
		前の床	1		<25	3/3		<25	3/3		<25	3/3		<25	3/3	<25	3/3
			2		<25	3/3		<25	3/3		<25	3/3		<25	3/3	<25	3/3
			3		<25	3/3		<25	3/3		<25	3/3		<25	3/3	<25	3/3
2回目	背もたれ付き長椅子①	直下床面	1	1.5×10^4	<25	3/3	7.6×10^4	<25	3/3	1.2×10^4	<25	3/3	1.5×10^5	5.3×10^2	3/3		
			2		<25	3/3		<25	3/3		<25	3/3		<25	3/3		
			3		<25	3/3		<25	3/3		<25	3/3		4.8×10^2	3/3		
	棚①	中央棚板の上	1		<25	3/3		<25	3/3		<25	3/3		<25	3/3	4.1×10^2	2/3
			2		<25	3/3		<25	3/3		<25	3/3		<25	3/3	1.0×10^3	除菌可
			3		<25	3/3		<25	3/3		<25	3/3		<25	3/3	2.3×10^3	除菌可
		前の床	1		<25	3/3		<25	3/3		<25	3/3		<25	3/3	4.3×10^2	2/3
			2		<25	3/3		<25	3/3		<25	3/3		<25	3/3	1.6×10^3	除菌可
			3		<25	3/3		<25	3/3		<25	3/3		<25	3/3	1.4×10^3	除菌可

Table 6 ミスト噴霧による温湿度および濡れへの影響
Changes of Temperature and Humidity and Degree of Wetting by Mist Atomizing

試験	障害物	測定点	噴霧直前		噴霧直後		水分試験紙の結果
			温度(°C)	相対湿度(%RH)	温度(°C)	相対湿度(%RH)	
1回目	背もたれ付き長椅子① 棚①	直下床面	24.5	59.7	24.0	82.2	濡れなし
		中央棚板の上	27.0	53.4	25.0	76.0	濡れなし
		前の床	24.5	58.6	24.0	78.1	濡れなし
2回目	背もたれ付き長椅子① 棚①	直下床面	24.0	60.8	23.0	82.6	濡れなし
		中央棚板の上	24.5	57.4	23.5	77.0	濡れなし
		前の床	26.5	53.3	24.5	75.9	濡れなし



Photo 3 25m³試験チャンパー外観
Appearance of 25m³ Chamber



Photo 4 噴霧ノズル
Atomizing Nozzle

Table 7 試験条件
Test Conditions

試験条件	部屋の大きさ(m ³)	噴霧液量(ml/部屋)	噴霧時間(min)	1m ³ 当たりの噴霧液量(ml/m ³)	次亜塩素酸水溶液		1m ³ 当たりの次亜塩素酸投入量(mg/m ³)	保持時間(h)
					濃度(mg/L)	pH		
今回	25	203	15	8.0	100	5.2	0.8	1
これまでの実験で最適化した条件	52	415	29	8.0	100	5.2	0.8	1

噴霧直後の相対湿度は75.9~82.6%RHであり、水滴の付着(濡れ)は確認されなかった。

一方、1.5×10⁵cfu/Biの枯草菌の除菌試験では、長椅子直下床面において、3個の湿潤Biすべてで対照区よりも1/100未満に減少したが、棚①の床と中央棚板の上では、3個の湿潤Biのうち2個で1/100未満、1個で1/100以上の菌数が確認された。Biの菌数が10⁵オーダーになると、除菌効果は得られるもの、菌が残存する可能性が示唆された。

10⁵オーダーの菌数が確認される場所とは、栄養分や水分等により微生物が増殖している場所と考えられる。そのため、目に見える粉塵や汚れなどは清掃等で取り除いた後に「マルチミスト」による除菌を実施することが効果的である。

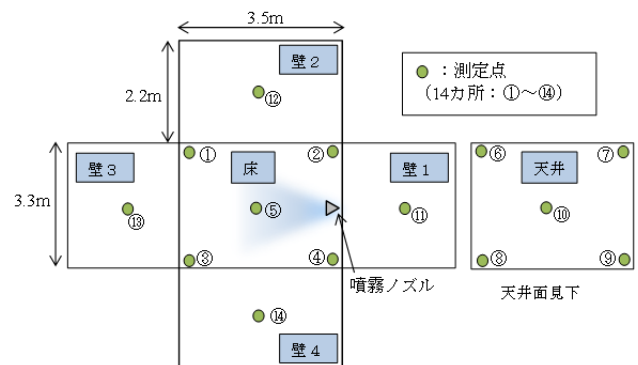


Fig. 4 温湿度および濡れ評価の測定点
Measurement Points of Temperature and Humidity and Wetting Evaluation

3.4 薬剤耐性菌に対する除菌性能評価試験(25m³試験チャンパー)

3.4.1 試験概要

(1) 実験施設および噴霧装置 実験は、(一財)北里環境科学センターの25m³試験チャンパー(3.3×3.5×2.2m)に噴霧ノズル(二流体サイフォン式噴霧ノズル)を1本壁面に配置(天井から20cm下)して実施した。

試験チャンパーと噴霧ノズルをPhoto 3, 4に示す。

(2) 除菌効果の評価方法 今回、室内の壁や設備・什器の表面に付着している薬剤耐性菌を対象としているため、プラスチックシャーレ中央に、滅菌イオン交換水に懸濁させた菌液を200μL滴下し付着させたもの(薬剤耐性菌バイオロジカルインジケータ、以下、薬剤耐性菌BI)を作成し、実験に供した。噴霧試験終了後に薬剤耐性菌BIを回収し、0.3%チオ硫酸ナトリウム添加SCDLP培地を添加後、ピペッティングによる洗い出しを行って菌体を回収した。回収液を段階希釈後、希釈液とトリプケースソイ寒天培地とをシャーレ中で混和した後固化させ、36±2°Cで48時間培養し、薬剤耐性菌BI 1枚あ

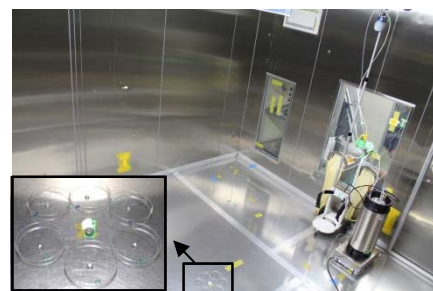


Photo 5 薬剤耐性菌BIの設置状況(2回目試験)
Installation States of the Drug-Resistant Bacteria
(Second Examination)

たりの菌数を測定した。対照区は、400L試験チャンパーに薬剤耐性菌BIを設置して、薬剤を噴霧しないで1時間放置した。なお、菌液の調整、回収、培養後の菌数測定までの作業は、すべて(一財)北里環境科学センターに依頼し実施した。

(3) 試験条件 Table 7に示す条件で薬剤を噴霧した。この条件は、筆者らの実験室で、表皮ブドウ球菌を固定化させて独自で作成したバイオロジカルインジケータ（以下、自作BI）を用いて最適化した条件（容積52m³の実験施設に、自作BIを47カ所に設置し、47カ所すべてで噴霧後の菌数が初期の菌数の1/100未満に減少するとともに47カ所すべてで濡れなかった条件）³⁾と同じであり、薬剤耐性菌でも表皮ブドウ球菌と同じように除菌できるかを評価した。

測定点について、Fig. 4に示す14カ所に、温湿度データロガー、水分試験紙を設置した。噴霧試験は2回実施した。1回目の試験では、床面5カ所にMRSAおよびMDRPの薬剤耐性菌BIをそれぞれ1枚ずつ設置し、除菌効果が得られるか評価した。2回目の試験では、床面中央1カ所に、MRSAおよびMDRPの薬剤耐性菌BIをそれぞれ3枚ずつ設置し、除菌効果の再現性を評価した。

2回目試験の薬剤耐性菌BI設置状況をPhoto 5に示す。

なお、室内の温湿度は、噴霧前に約25℃・50%RHに調整し、噴霧時には空調を止めた。薬剤噴霧後1時間保持した後、薬剤耐性菌BIを回収し、薬剤噴霧後の生存菌数を計測することで、除菌効果を評価した。

3.4.2 試験結果 薬剤耐性菌の除菌試験の結果をTable 8に示す。これより、MRSAおよびMDRPの初期の菌数 $6.5 \times 10^4 \sim 3.2 \times 10^5$ cfu/BIに対して、対照区の菌数は $5.6 \times 10^4 \sim 2.9 \times 10^5$ cfu/BIと、自然減衰による薬剤耐性菌の死滅はほとんど認められなかった。一方、表皮ブドウ球菌による乾燥BIで最適化した噴霧条件で薬剤をミスト噴霧したところ、MRSAおよびMDRPの菌数は、1回目、2回目ともに、薬剤耐性菌BIを設置したすべての場所において検出下限値未満となり、99.98～99.99%の除菌効果が確認された。Table 9にミスト噴霧による温湿度変化と水分試験紙の結果を示す。これより、噴霧直後の相対湿度は、84.8～85.4%RHと、これまでの実験施設（52m³）の結果（80.8%RH）に比べて、やや高い値を示した。その結果、測定点14カ所中3カ所で濡れが確認されたが、濡れが確認されなかった測定点4及び5においても、99.98～99.99%の除菌効果が得られたことから、表面が濡れないレベルの少ない薬剤噴霧量でも薬剤耐性菌を十分に除菌できることが明らかとなった。

3.5 カビに対する除菌性能評価試験（52m³実験施設）

3.5.1 試験概要

(1) 実験施設および噴霧装置 噴霧実験は、3.3と同様に、約52m³の実験施設に、障害物を設置した状態で噴霧ノズルを1本壁面に配置（天井から20cm下）して実施した（Fig. 5）。

(2) 除菌効果の評価方法および試験条件 今回天井面や壁面に付着しているカビに対して除菌効果を評価するため、主要な内装材3種類（ロックウール吸音板、化粧ケイ酸カルシウム板、ビニルクロス）を9cm²にカットし、建材片表面にクロカビ胞子液を建材片1枚当たり約

Table 8 薬剤耐性菌(MRSA,MDRP)の除菌効果
Decontamination Effect for Drug-Resistant Bacteria

試験	試験条件	設置場所	No	MRSA		MDRP	
				菌数 (cfu/BI)	除菌率*	菌数 (cfu/BI)	除菌率*
1回目	初期の菌数	-	-	6.5×10^4		3.2×10^5	
	対照区 (自然減衰)	-	-	5.6×10^4		1.8×10^5	
	ミスト噴霧区	1	-	<10	>99.98%	<10	>99.99%
		2	-	<10	>99.98%	<10	>99.99%
		3	-	<10	>99.98%	<10	>99.99%
4		-	<10	>99.98%	<10	>99.99%	
2回目	初期の菌数	-	1	2.3×10^5		2.3×10^5	
		-	2	2.9×10^5		2.6×10^5	
		-	3	2.7×10^5		2.6×10^5	
	対照区 (自然減衰)	-	1	2.9×10^5		2.2×10^5	
		-	2	2.9×10^5		1.9×10^5	
		-	3	2.8×10^5		2.1×10^5	
	ミスト噴霧区	5	1	<10	>99.99%	<10	>99.99%
		2	<10	>99.99%	<10	>99.99%	
		3	<10	>99.99%	<10	>99.99%	

* 除菌率(%) = (1 - 1/10^{減少桁数}) × 100

Table 9 ミスト噴霧による温湿度および濡れへの影響
Changes of Temperature and Humidity and Degree of Wetting by Mist Atomizing

試験	噴霧直前		噴霧直後		水分試験紙の反応
	温度 (℃)	相対湿度 (%RH)	温度 (℃)	相対湿度 (%RH)	
1回目	25.4	56.4	23.6	85.4	14カ所中3カ所(1,2,3)で濡れを確認
2回目	24.9	60.3	23.5	84.8	14カ所中3カ所(1,2,3)で濡れを確認
これまでの実験結果	25.5	55.1	24.3	80.8	47カ所すべてで濡れなし

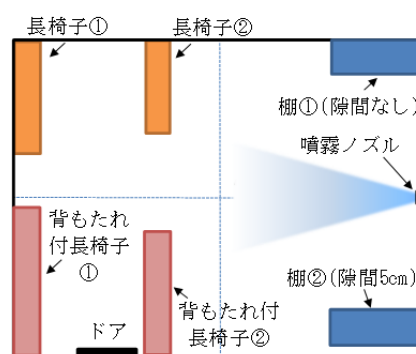


Fig. 5 ノズル配置
Positions of the Atomizing Nozzles

10⁴cfuとなるよう塗布し、乾燥・固定化させたもの（以下、クロカビ付着建材）を作成し実験に供した。クロカビ付着建材を天井中央と床中央に設置後、FAC濃度116mg/L・pH5.5の次亜塩素酸水溶液を581mL噴霧し、翌日（噴霧14時間後）クロカビ付着建材を回収した。

回収したクロカビ付着建材1（ロックウール吸音板）と2（化粧ケイ酸カルシウム板）は広口ポリ瓶に投入し、25mLのGPLP液体培地を添加後1時間振とう抽出を行い、菌体を回収した。建材3（ビニルクロス）は、10mLのGPLP液体培地を添加し、残存する菌体を滅菌綿棒により回収した。回収液を段階希釈して抗生物質添加ポテト・デキストロース寒天培地に塗布後、25°Cのインキュベーターで1週間培養し、発育したコロニー数を計測した。試験はすべて3連で実施した。薬剤を噴霧しないで25°Cで14時間放置した区（対照区）と、ポジティブコントロールとして、安全キャビネット内で、建材から15cm離して2回スプレー噴霧した後、14時間放置した試験区（スプレー区）を作成し、ミスト噴霧区と比較した。

3.5.2 試験結果 ミスト噴霧によるクロカビの除カビ試験の結果をTable 10に示す。これより、今回評価した3種類の建材すべてにおいて、噴霧後のクロカビ生菌数は、検出下限値未満となり、除カビ効果が認められた。Table 11にミスト噴霧による温湿度変化と水分試験紙の結果を示す。今回、噴霧液量が581mLとこれまでの液量（約410mL）よりも1.4倍多かった分、噴霧直後の相対湿度は、平均で86.5%RHとやや高かったものの、水分試験紙は、52カ所中2ヶ所でごくわずかな反応を示しただけであった。以上より、マルチミストによる薬剤のミスト噴霧により、建材表面に付着したクロカビに対して除カビ効果が認められることが明らかとなった。

4. 病室モックアップ実験室における検証試験

4.1 目的

これまで、52m³の実規模実験室でミスト除菌に関する検討を行ってきたが、気密性や断熱性が確保された実験室での評価であり、実際にマルチミストを適用する場所には、ドアや空調の吸込口やダクトがあり、気密性や断熱性が低い環境が想定される。そこで、薬剤耐性菌等の院内感染菌の接触感染防止対策として、患者退出後の病室への適用を想定し、病室モックアップ実験室にて検証試験を行い、マルチミストの適用性を評価した。

4.2 試験内容と方法

4.2.1 実験施設および噴霧装置 検証試験は、容積約72m³（幅6×奥行き4.6×高さ2.6m）の病室モックアップ実験室にて行った。実験室にはベッドが一台、東側に腰窓（幅6×高さ1.3m）、西側に片引き戸（幅1.2×高さ2m）、天井にはエアコン吹き出し口とダクトが設置されている。噴霧実験は、部屋中央に噴霧ノズルを2方向に配置（天井から30cm下）し実施した。実験室の平面概略図と実験状況をFig. 6とPhoto 6に示す。今回、噴霧ノズルはこれまで使用してきたもの（ノズルA）以外に、時間当たりの噴霧液量が約5倍のノズル（ノズルB）の2種類を使用した。なお、ノズルBを使用した場合、ミスト粒子径はノズルAに比べて約1.5倍大きくなる。

Table 10 カビに対する除菌効果
Decontamination Effect for Fungi

No.	建材の種類	試験区	カビ数 cfu/9cm ²	試験区の菌数/対照区の菌数	
1	ロックウール吸音板	対照区(薬剤噴霧なし)	2.2E+04	-	
		スプレー区(2回噴霧)	9.9E+03	0.45	
		ミスト噴霧区	天井	<125	0.01
			床	<125	0.01
2	化粧ケイ酸カルシウム板	対照区(薬剤噴霧なし)	1.3E+03	-	
		スプレー区(2回噴霧)	<125	0.10	
		ミスト噴霧区	天井	<125	0.10
			床	<125	0.10
3	ビニルクロス	対照区(薬剤噴霧なし)	1.1E+03	-	
		スプレー区(2回噴霧)	<50	0.05	
		ミスト噴霧区	天井	<50	0.05
			床	<50	0.05

Table 11 ミスト噴霧による温湿度および濡れへの影響
Changes of Temperature and Humidity and Degree of Wetting by Mist Atomizing

測定点	噴霧直前		噴霧直後		水分試験紙の反応
	温度(°C)	相対湿度(%RH)	温度(°C)	相対湿度(%RH)	
天井中央	27	46	22.5	92.9	濡れなし
床中央	26	49.2	23	88.6	濡れなし
52カ所の平均	25.9	51.3	23.6	86.5	52カ所中2ヶ所（天井角面、長椅子①の座面上）で微かな濡れあり

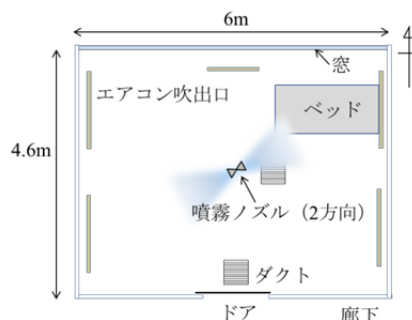


Fig. 6 病室モックアップ実験室平面概略図
Schematic Drawings of Mock-up Laboratory of Hospital Room



Photo 6 病室モックアップ実験室実験状況
Experimental Condition of Mock-up Laboratory of Hospital Room

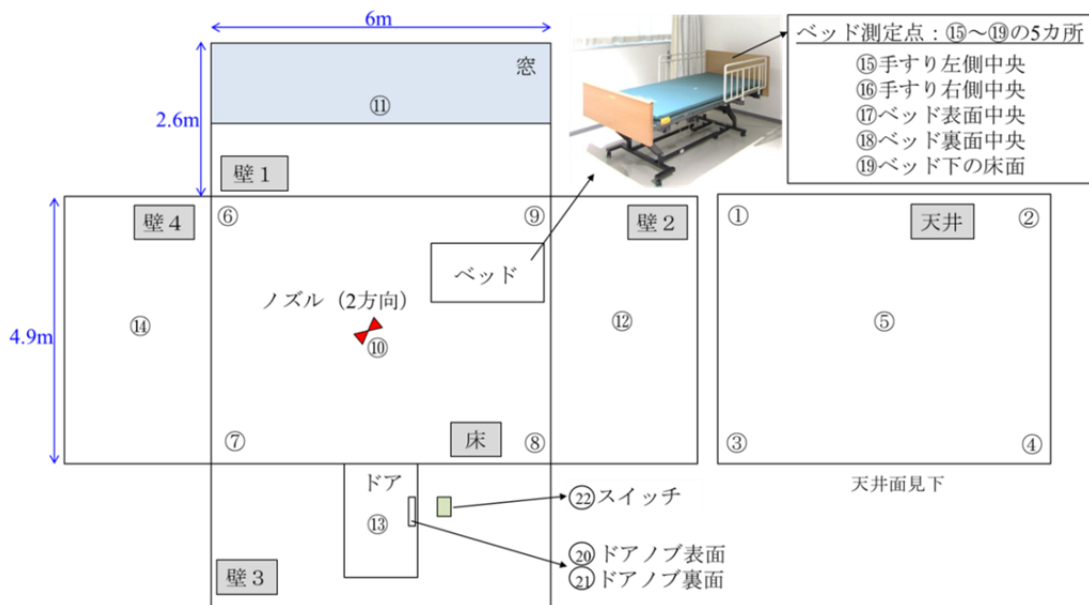


Fig. 7 病室モックアップ実験室測定点
Measurement Points of Mock-up Laboratory of Hospital Room

4.2.2 試験方法 Fig. 7に示す測定点(1~22)に、表皮ブドウ球菌の自作BIと温湿度データロガー、水分試験紙を設置後、Table 12に示す条件で薬剤のミスト噴霧を行った。薬剤の噴霧は、部屋内に設置した湿度センサー(測定点13に設置)が85%RHもしくは80%RHになった時点で止めた。薬剤噴霧後30分保持した後に、自作BIを回収し、薬剤噴霧後の生存菌数を計測して除菌効果を評価した。自作BIの作成方法および生存菌数の計測方法は既報³⁾の通りである。なお、室内の温度は、噴霧前にエアコンで約25℃に調整し、噴霧時にはエアコンを止めた。室の温湿度はなりゆきとし、実験は6月初旬に実施した。

4.3 試験結果と考察

条件1~5における結果をTable 13に示す。ミスト噴霧による相対湿度の変化について、測定点22カ所の平均値をFig. 8に示す。除菌効果について、噴霧後の菌数が対照区の菌数に比べて1/100未満に減少した際に除菌できた(除菌効果99%)と判断し、除菌できたか否かの測定点の数と相対湿度(噴霧直後からBI回収時までの平均値を表示)の関係をFig. 9に示す。

Fig. 8より、これまで使用してきたノズルAを用いて噴霧した際の相対湿度の変化は、気密性・断熱性のある52m³実験室の結果に比べて、相対湿度の上昇速度はほぼ同じであるが、噴霧停止後保持30分の間に徐々に相対湿度が下がる傾向を示した。時間当たりの噴霧液量が5倍のノズルBを用いた場合(条件4, 5), Fig. 8より、ノズルAに比べて相対湿度の上昇速度は約4倍早くなり、Table 13より、条件1と同量噴霧した条件4および5では、噴霧直後の相対湿度は83.1~83.8%RHと、条件1の80.5%RHよりも高くなった。一方で、ノズルBでの噴霧直後の相対湿度

Table 12 試験条件
Test Conditions

No.	条件	使用するノズル	噴霧ミストのザウター平均粒子径(μm)	時間当たりの噴霧液量(mL/min)	噴霧を停止する際の湿度センサー表示値	次亜塩素酸水溶液		保持時間(h)
						濃度(mg/L)	pH	
1	噴霧量増量区	A	7.6	25	85%RH	116	5.8	0.5
2	標準区(52m ³ 実験室最適化条件)					116	5.4	
3	条件2の薬剤濃度低減区				80%RH	76	5.6	
4	条件2の噴霧速度上昇区	B	11.2	124		112	5.4	
5	条件2の噴霧速度上昇+薬剤濃度低減区					78	5.7	

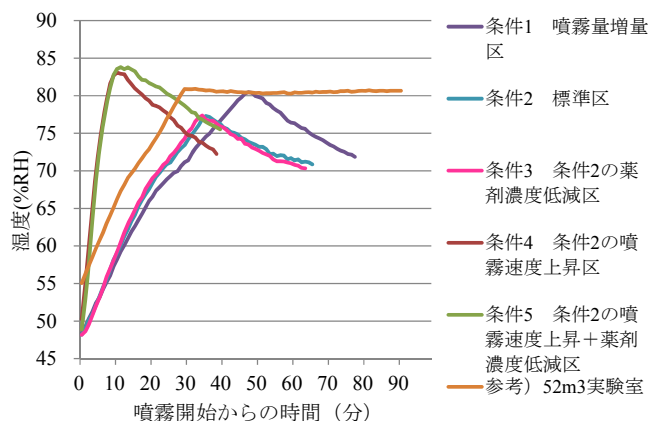


Fig. 8 ミスト噴霧による湿度変化
Changes Humidity by Mist Atomizing

Table 13 病室モックアップ実験室における除菌試験結果
Results of Decontamination Test on Mock-up Laboratory of Hospital Room

No.	条件	使用するノズル	噴霧液量			除菌時間(min)	total	次亜塩素酸投入量 (mg/72m ³)	除菌効果			噴霧直前		噴霧直後		水分試験紙の反応
			mL/72m ³	噴霧時間	保持時間				1/10未満の減少が認められた測定点数	除菌率 (%)	除菌できなかった場所	温度 (°C)	相対湿度 (%RH)	温度 (°C)	相対湿度 (%RH)	
1	噴霧量増量区	A	1080 (15.0)	46	30	76	125	19カ所/22カ所	86	天井3カ所 (1,4,5)	25.6	48.4	24.6	80.5	3.7	なし
2	標準区 (52m ³ 実験室最適化条件)		829 (11.5)	35	30	68	96	19カ所/22カ所	86	天井3カ所 (1,4,5)	25.8	48.2	24	77.3	3.8	
3	条件2の薬剤濃度低減区		818 (11.4)	33	30	63	62	12カ所/22カ所	55	天井壁, ドアノブなど10カ所	25.6	48.2	23.9	77.4	3.1	
4	条件2の噴霧速度上昇区	B	1028 (14.3)	8	30	38	115	19カ所/22カ所	86	天井3カ所 (1,4,5)	25.8	50.2	24.5	83.1	7	5カ所/22カ所で濡れを確認 床2ヶ所(7,8) ベッド3カ所 (15,17,19)
5	条件2の噴霧速度上昇+薬剤濃度低減区		1030 (14.3)	8	30	38	80	19カ所/22カ所	86	天井3カ所 (1,4,5)	25.8	48.9	24	83.8	6.8	

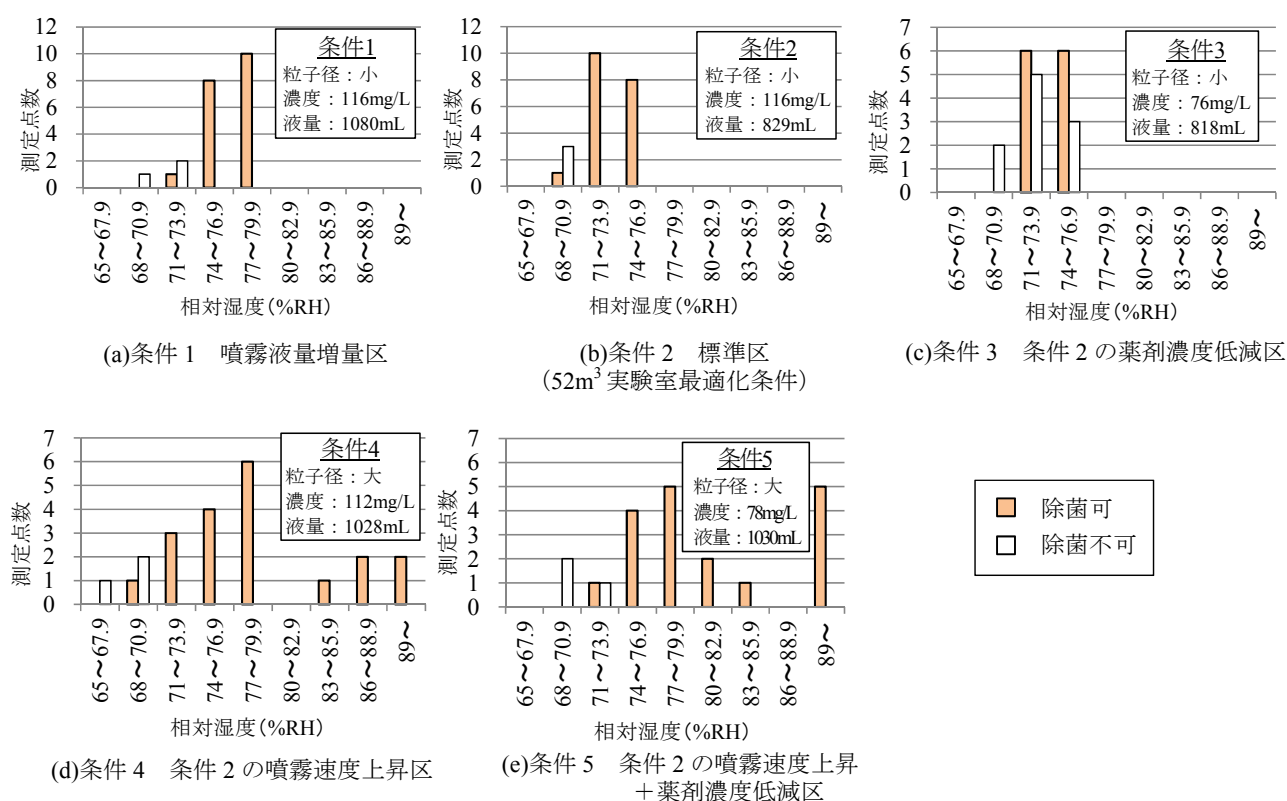


Fig. 9 除菌効果と噴霧直後～回収時までの相対湿度平均値の関係
Relation between Decontamination Effect and Relative Humidity

度のばらつきは6.8～7%と、ノズルAの3.1～3.8%よりも大きく、ノズル噴霧方向の床面とノズル噴霧方向に設置したベッドで濡れが確認された。短時間で除菌しやすい湿度環境を作るには、ノズルAよりもノズルBの方が優れているが、ノズル直近では濡れることがわかった。

除菌効果について、条件3の薬剤濃度を80mg/L以下に低減させた区以外は、22カ所中19カ所で除菌効果が認められた(除菌率86%)。52m³実験室で最適化した条件と同じ条件2では、68分の除菌時間で、22カ所中19カ所で99%の除菌効果が得られ(除菌率86%)、濡れも確認されなかった。除菌できなかった場所は、天井3カ所(1, 4,

であり、Fig. 9より、相対湿度が73.9%RH以下と除菌を行う条件としては低かったことが原因と考えられた。

Fig. 9(c)より、今回の試験で除菌率が55%と低かった条件3(薬液濃度76mg/L)では、除菌できなかった測定点の相対湿度は、68～76.9%RHであった。Fig. 9(b)の条件2(条件3と噴霧液量は同じで薬液濃度が高い)やFig. 9(e)の条件5(条件3よりも薬液量が多く薬液濃度は同じ)では少なくとも74～76.9%RHの相対湿度では除菌効果が得られたことから、このあたりの相対湿度がマルチミスト除菌の閾値と考えられた。

以上より、今回、一般の病室環境に近い病室モックア

ップ実験室（72m³）において、マルチミスト除菌の検証試験を実施し、測定点22カ所中19カ所で99%の除菌効果が得られ、表面も濡れないことを確認した。更に、ノズルを変更することで、除菌時間の短縮やより低濃度の薬液利用も可能であること、その場合、一部の場所で濡れる可能性があることを確認した。

5. まとめ

ミスト噴霧による除菌技術「マルチミスト」の除菌性能について、食中毒菌の原因菌や院内感染菌、主要カビなど11種の微生物を用いた除菌性能評価試験を実施するとともに、病室モックアップ実験室において検証試験を実施し、マルチミストの適用性を評価した。

以下に結果を示す。

- 1) 黄色ブドウ球菌（食中毒菌）、病原性大腸菌（食中毒菌）、緑膿菌（日和見感染菌）の代替菌を用いて実規模実験室にてミスト噴霧試験を行い、99%の除菌効果を確認した。結露由来のカビとして知られているクロカビにおいても90～99%の除菌効果を確認した。
- 2) 院内感染の主要原因菌である薬剤耐性菌MRSAおよびMDRPを用いて、25m³チャンバーにてミスト噴霧試験を行い、99.98～99.99%の除菌効果を確認

した。

- 3) 72m³の病室モックアップ実験室でマルチミスト除菌の検証試験を実施し、測定点22カ所中19カ所で99%の除菌効果が得られ、表面も濡れないことを確認した。更に、ノズルを変更することで、除菌時間の短縮やより低濃度の薬液利用も可能であること、その場合、一部の場所で濡れる可能性があることを確認した。

今後は、除菌だけでなく、病室等で問題となっている臭気も併せて対策できる技術にマルチミストを発展させていく予定である。

参考文献

- 1) 堀賢：感染対策実践マニュアル 第3版，じほう，pp.77，2015.12
- 2) 野田衛：ノロウイルス食中毒・感染症からまもる その知識と対策，公益社団法人日本食品衛生協会，pp.42，2013.11
- 3) 四本瑞世，他：ミスト噴霧による除菌技術「マルチミストTM」の開発，大林組技術研究所報，No.79，2015.12