

| | |
|---------|--|
| 氏 名 | 林 (中川) 秀樹 |
| (ふりがな) | (はやし (なかがわ) ひでき) |
| 学位の種類 | 博士 (医学) |
| 学位授与番号 | 乙 第 1200 号 |
| 学位審査年月日 | 令和 2 年 7 月 8 日 |
| 学位授与の要件 | 学位規則第 4 条第 2 項該当 |
| 学位論文題名 | Determination of Appropriate Sodium Chloride Concentration for Use in Preparation of Electrolyzed Acid Water with Disinfection Potential of Osmotic Pressure Taken into Account. (浸透圧が与える消毒効果を考慮した強酸性電解水の調製に用いる適切な塩化ナトリウム濃度の決定) |
| 論文審査委員 | (主) 教授 矢野 貴人 教授 林 秀行 教授 小野 富三人 |

学 位 論 文 内 容 の 要 旨

《背景と目的》

強酸性電解水 (EAW) は、幅広い殺菌スペクトルをもち、医療分野において手指や軟性内視鏡の消毒に用いられている。また、これまでの研究で、EAW の物性のうち pH および遊離塩素濃度が消毒効果に大きな影響を与えることが確認されている。

EAW を用いた殺菌では、次亜塩素酸 (HClO) の酸化作用により細菌の細胞壁および細胞膜が損傷を受け、細胞質内容物が細胞外に漏れ出すブレブが発生する。水道水を用いて生成した中性付近の pH を持つ電解次亜水でも同様にブレブが発生することが確認されているが、0.9%の NaCl 水溶液を用いて生成した電解次亜水ではブレブが確認されなかったという報告があり、当該電解次亜水は消毒効果も弱いことが確認されている。これらのこ

とより、浸透圧が消毒効果に何らかの影響を与えていることが推察される。

そこで本研究では、EAW の調製に用いる NaCl 水溶液の濃度が消毒効果に与える影響を明らかにすることを目的とした。

《材料および方法》

EAW は 0.2%、1.8%、または 3.6%NaCl 水溶液を用いて作製し、遊離塩素濃度は 20.92 ± 0.63 ppm、pH は 2.62 ± 0.02 、酸化還元電位 (ORP) は 1123 ± 18 mV に調製した。これらの EAW は、最終 NaCl 濃度にもとづきそれぞれ EAW (0.1)、EAW (0.9) および EAW (1.8) と記載した。

試験には *Pseudomonas aeruginosa*、ATCC10145 株 (*P. aeruginosa*) を使用した。*P. aeruginosa* は、滅菌蒸留水に浮遊させ、 10^9 colony forming units/mL 以上になるように McFarland 濁度標準液を用いて調製した。そして、各 EAW と菌の浮遊液を 1:1 で混合し、消毒効果を確認した。

さらに消毒効果の違いが何に起因するのかを確認するために、常法を用いて透過型電子顕微鏡による菌の形態観察を行った。

《結 果》

EAW (0.9) では 60 秒以内に生菌数が $1/10^6$ 未満に減少し、360 秒の接触で生菌数が $1/10^8$ 未満程度まで減少することを確認した。一方、EAW (0.1) および EAW(1.8) では 180 秒以内に生菌数が $1/10^6$ 未満に減少したが、360 秒間の接触ではそれ以上の消毒効果は確認されなかった。そのため、EAW (0.9) が最も消毒効果が高いものと考えられた。なお、NaCl 自体が持つ消毒効果を検証したが 0.1~1.8%濃度では大きな差はなく、本試験において NaCl 自体が消毒効果に与える影響は限定的であることが示された。

次に消毒効果の違いが何に起因するのかを確認するために、電子顕微鏡を用いて EAW と接触後の菌体の形態観察を行った。各 EAW と 360 秒間接触したあとの *P. aeruginosa* の形態を確認したところ、細胞表面のブレブの数に違いがあることが確認された。ブレブ

の数は、EAW (1.8) < EAW (0.9) ≒ EAW (0.1) の順で多い結果となり、EAW (0.1) と EAW (0.9) が多い傾向であった。また、細胞質内容物の凝集も見られたが、その度合は EAW(0.1) < EAW(0.9) < EAW (1.8) という結果となり、EAW (1.8) が最も凝集の度合が高かった。

《考 察》

EAW の殺菌作用は、HCIO の濃度に強く依存するとされている。さらに、今回の実験結果では浸透圧による水の移動を考慮する必要がある。EAW (0.1) は低張液であるため、細胞外の水が細胞内へと移動したと考えられる。それに伴い、細胞内の膨圧が高くなり、殺菌成分である HCIO が細胞内に入りにくくなったと考えられる。細胞内の膨圧が高かったことがブルブが多く発生した原因であると考えられるが、時間経過とともに細胞壁が断裂し、かつ細胞膜の半透膜としての機能が消失し、最終的に HCIO が細胞内に流入したと考えた。

一方、EAW (1.8) は高張液であるため、細胞内から細胞外に水が移動することに伴って殺菌成分である HCIO が細胞内に入りにくくなっていたと考えられる。また今回の形態観察では明確には確認できなかったが、一時的に原形質分離が起こっていた可能性もあり、このことが消毒効果低下に寄与したとも考えられる。しかし EAW (0.1) と同様に時間経過とともに細胞壁が断裂し、細胞膜の半透膜としての機能が消失したために、最終的に HCIO が細胞内に流入したと考えられる。また、EAW (0.9) は *P. aeruginosa* の等張液に近く、浸透圧の影響が小さいため、殺菌成分である HCIO が比較的容易に細胞内に入ることができ、結果的に EAW (0.9) の消毒能力が最も高かったと考えられる。

今回の結果では、EAW (0.9) を用いることで最も効率的に細菌を殺滅することができることが明らかとなった。そのため、医療分野では EAW (0.9) を用いることを推奨したいところであるが、医療機器の金属腐食を考慮すると、必ずしもそうとは言い切れない。例えば鉄の腐食速度は NaCl 水溶液濃度が 3%で極大を迎える。そのため金属腐食速度は、EAW (0.1) < EAW (0.9) < EAW (1.8) の順で速くなる。また EAW (0.9) と EAW (0.1) の

消毒能力を比較した場合、金属腐食という代償に見合うほどには EAW (0.9) の消毒効果は強くなかった。つまり、金属腐食も考慮すると医療分野では一概に EAW (0.9) が最も優れているとは言い難い。

《結 論》

EAW (0.1) の消毒能力はこれまでの研究から医療分野で使用するのに十分な消毒能力があることが確認されている。消毒効果だけを考えると EAW の調製に用いる NaCl 水溶液濃度は 0.9% が最適であると考えられるが、医療現場での実際的な使用を考慮すると 0.1% が最も有用であると考ええる。

(様式 乙9)

論文審査結果の要旨

強酸性電解水 (EAW) は、幅広い殺菌スペクトルをもち、医療分野において手指や軟性内視鏡の消毒に用いられている。申請者らのこれまでの研究で、EAW の物性のうち pH および遊離塩素濃度が消毒効果に大きな影響を与えることが確認されており、また、浸透圧が消毒効果に何らかの影響を与えていることが示唆されている。

そこで申請者は、EAW の調製に用いる NaCl 水溶液の濃度が、*Pseudomonas aeruginosa* に対する消毒効果に与える影響について検討を行った。

申請者は、EAW 中に含まれる NaCl 濃度が 0.1~1.8%の間では、0.9%の NaCl を含む EAW の消毒効果が最も高いことを明らかにした。さらに、電子顕微鏡を用いた菌体の形態観察により、EAW と接触後の菌体では、含まれる NaCl 濃度の違いにより、細胞表面のブレブの数 (EAW (1.8) < EAW (0.9) ≒ EAW (0.1) の順で多い) や細胞質内容物の凝集の度合 (EAW(0.1) < EAW(0.9) < EAW (1.8)) に違いがあることも明らかにした。EAW (0.9) は *P. aeruginosa* の等張液に近く、浸透圧の影響が小さいため、殺菌成分である HClO が比較的容易に細胞内に入ることができ、結果的に EAW (0.9) の消毒能力が最も高かったと考えられる。一方、医療分野で EAW を使用する場合、金属腐食も考慮する必要があるが、金属腐食速度は 1.8 > 0.9 > 0.1%の順に速い。現状では、申請者らのこれまでの研究も含め、医療現場での実際的な使用を考慮すると 0.1%が最も有用であると結論づけた。

EAW は医療分野で使用されている他の消毒剤と比較し人体への影響が少なく、また有機物により容易に不活化されるため環境負荷も小さい。今回の知見は、EAW の医療分野における適正な使用にエビデンスを付与し、今後医療分野における EAW の適応拡大につながると期待される。

以上により、本論文は本学学位規程第 3 条第 2 項に定めるところの博士 (医学) の学位を授与するに値するものと認める。

(主論文公表誌)

Bulletin of the Osaka Medical College 66(1, 2), 2020 in press