

平成 30 年 6 月 19 日現在

機関番号：24402

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2015～2017

課題番号：15K08852

研究課題名(和文) 抗菌性金属材料の表面汚損とその除去，抗菌性回復に関する研究

研究課題名(英文) Effects of surface contamination on antibacterial activity of antibacterial metals

研究代表者

川上 洋司 (Kawakami, Hiroshi)

大阪市立大学・大学院工学研究科・准教授

研究者番号：90305615

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：銅合金を対象とし，1) 表面汚損が抗菌性能に及ぼす影響，2) 清拭に用いる薬剤が抗菌性能に及ぼす影響について調べ，3) 抗菌性能を維持，回復させるために有効な清拭方法について検討した．高濃度エタノールおよび次亜塩素酸ナトリウム水溶液を用いた清拭を施した所，トリオレインを塗布されることにより低下した無酸素銅の抗菌性能は清浄な表面での抗菌性能とほぼ同じ程度まで回復した．牛血清アルブミンを塗布された後に次亜塩素酸ナトリウム水溶液を用いた清拭を1往復施された各種銅合金の抗菌性能は改善はしたが清浄な表面での抗菌性能には劣った．また，薬剤による抗菌性金属材料表面の劣化を防ぐ方法を開発する必要がある．

研究成果の概要(英文)：In this study, effects of i) surface contamination and ii) cleaning agents on antibacterial activities, and iii) effective cleaning methods for recovering the antibacterial activities of copper alloys, which were degraded by surface contamination, were studied. When the triolein contaminated surfaces were wiped clean with ethanol or 0.05 mass% sodium hypochlorite aq., the degraded antibacterial activities recovered to levels close to those with clean surfaces. For protein surface contamination, one cycle of wipe cleaning with sodium hypochlorite aq. did not result in complete recovery of degraded antibacterial activities. It is necessary to develop measure to prevent antibacterial metals from surface deterioration caused by cleaning agents.

研究分野：機械材料学

キーワード：抗菌性金属材料 銅合金 表面汚損 院内感染対策 食中毒対策

1. 研究開始当初の背景

米国においては年間 10 万人が院内感染により死亡しており、米国保健福祉省によると院内感染対策費は 50 億ドル/年以上と見積もられている。多剤耐性菌の出現後、院内感染対策の必要性が認識されるようになった。病原菌がドアノブや手すり、蛇口など、人が頻繁に触れる環境表面を介して感染者から非感染者へ伝播する感染経路が院内感染全体の 80 %を占める。従って、環境表面から病原菌を取り除くことは効果的な院内感染対策となると期待される。

医療福祉施設において環境表面には金属やプラスチックなど様々な材料が用いられている。これらの材料は抗菌機能を有しない。また、乾燥した環境表面上でも数週間から数か月にわたり生存する病原菌も存在する。そのため、清拭、消毒により環境表面が定期的に殺菌されても、これらの作業後に付着した病原菌は環境表面上で生存し続け、汚損された環境表面に触れた人へと感染する可能性がある。実際、消毒により無菌状態にされた病室にメチシリン耐性黄色ブドウ球菌に感染した患者を再度入室させたところ、24 時間後には病室は殺菌前の状態まで病原菌に汚損されることが報告されている。

銀や銅は殺菌性に優れ、かつ(i) 広い殺菌スペクトルを有する、(ii) 耐性菌の発現も少ない、(iii) 哺乳類に対しては影響が比較的少ないなどの優れた特徴を有する。このような特徴を鑑み、米国環境保護庁(EPA)は 2008 年に銅及び銅合金が公衆衛生において殺菌力があるという表示をすることを認可した。その後、医療福祉施設において銅合金が手すりやベットフレームなどの環境表面に導入されつつある。また、従来から環境表面に多く用いられているステンレス鋼に銅を含有させることにより抗菌性を付与した抗菌性ステンレス鋼も開発されている。抗菌性ステンレス鋼は抗菌性能では銅合金に劣るが、清涼な表面を保ち続ける、比較的安価である、強度と耐食性に優れるなど、銅合金より優れた特性を有する。今後、これらの抗菌性金属材料を医療福祉施設などの環境表面に導入することにより、院内感染のリスク軽減が期待できる。

環境表面に抗菌性金属材料が用いられるとその表面は種々の物質により汚損される。医療福祉施設では環境表面の清拭と殺菌が定期的に行われてはいるが、清拭が不十分であれば抗菌性金属材料表面の汚損物質が十分に取り除かれず、抗菌性が回復しないことも危惧される。また、清拭や消毒には種々の薬剤が使用されるが、薬剤により抗菌性金属材料の表面が変質し、抗菌性金属材料が有する抗菌性能が失われることも危惧される。

2. 研究の目的

本研究課題では銅合金を対象とし、

- i) 表面汚損が抗菌性能に及ぼす影響

- ii) 薬剤が抗菌性能に及ぼす影響について調べ、それらの結果を基に
- iii) 抗菌性能を維持、回復させるために有効な清拭方法について検討した。

3. 研究の方法

無酸素銅、真鍮や黄銅などの各種銅合金、銅含有抗菌性ステンレス鋼を試料に用いた。試験片(25mm×25mm)にエメリー紙による湿式研磨を施した。研磨後、アセトン、蒸留水、エタノールを用いてそれぞれ 15 分間超音波洗浄を施した。乾燥後の試験片を紫外線照射の下に 3 時間放置し試験表面を滅菌した。

表面汚損物質にはタンパク質の一例として牛血清アルブミン、および、油脂汚損物質の一例として JIS C 9811 に定められている油脂成分であるトリオレインを用いた。試験表面にこれらの汚損物質を種々の濃度塗布し、25、24 時間乾燥させた。汚損された試験表面の抗菌性評価を行った。また、汚損された試験表面に対し、薬剤を用いた清拭を施した。清拭には蒸留水、アルコール水溶液(70%、99%)、次亜塩素酸ナトリウム水溶液(pH=12)を用いた。清拭後、試験片を紫外線照射の下に 1 時間保持し、試験表面を滅菌した。滅菌後の試験表面の抗菌性評価を行った。

抗菌性評価は ISO 22196 (JIS Z 2801) に準拠したフィルム密着法により行った。試験菌には大腸菌(NBRC 3972) (グラム陰性菌)と黄色ブドウ球菌(NBRC 12732) (グラム陽性菌)を用いた。対照区(control)として滅菌シャーレ表面の抗菌性評価もあわせて行った。

4. 研究成果

油脂による表面汚損とその後の清拭が無酸素銅の抗菌性に及ぼす影響

トリオレインによる表面汚損量と無酸素銅の抗菌性の関係を図 1 に示す。表面汚損量が 16 $\mu\text{g}/\text{mm}^2$ の時に抗菌性はほぼ失われた。そこで、清拭を施す試験片の表面汚損量を 16 $\mu\text{g}/\text{mm}^2$ とした。

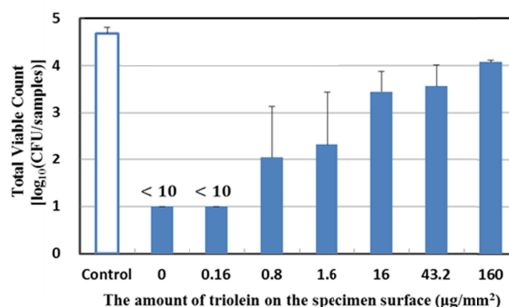


図 1 トリオレインによる表面汚損量と無酸素銅の抗菌性。(大腸菌)

トリオレインにより汚損された無酸素銅表面に対し清拭を施した後の抗菌性評価結果を図 2 に示す。蒸留水による清拭を含め、全

での試験片において抗菌性は回復した．特に高濃度エタノールおよび 0.05 mass% 次亜塩素酸ナトリウム水溶液を用いた清拭が施された試験片において抗菌性の回復が顕著であった．

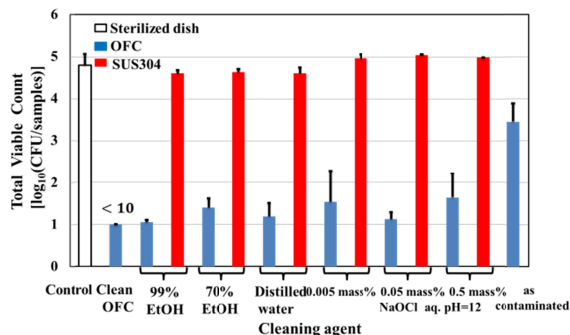


図 2 油脂を塗布された後，各種薬剤を用いた清拭が施された無酸素銅表面の抗菌性評価結果．(大腸菌)

タンパク質による表面汚損とその後の清拭が銅合金の抗菌性に及ぼす影響

過去に行われたタンパク質を表面汚損物質に用いた抗菌性ステンレス鋼の抗菌性に及ぼす清拭の影響に関する研究では次亜塩素酸ナトリウム水溶液を用いた清拭は表面汚損物質の除去と抗菌性回復に有効である一方，エタノール水溶液を用いた清拭の効果は小さいことが明らかにされている．そこで，この実験では清拭には 0.05 mass% の次亜塩素酸ナトリウム水溶液のみを用いた．

図 3 にタンパク質による表面汚損を施された銅合金の抗菌性評価試験結果を示す．ただし，これらの試験ではフィルム密着時間を 30 分として試験を行った．汚損量によらず，SUS304 鋼表面上の生菌数は一定であった．したがってタンパク質による表面汚損が菌を殺菌および増殖させないと考えられる．0.0016 $\mu\text{g}/\text{mm}^2$ の表面汚損を施された全ての銅合金表面上の生菌数はそれぞれ清浄な銅合金表面の生菌数と等しくなった．汚損量が 0.016 $\mu\text{g}/\text{mm}^2$ 以上では，汚損試験片表面に塗布した汚損量の増加に伴い，全ての銅合金の生菌数は増加し，汚損量が 0.80 $\mu\text{g}/\text{mm}^2$ のとき，全ての銅合金の生菌数は SUS304 鋼表面の生菌数と等しくなった．したがって，タンパク質による汚損量が 0.0016 $\mu\text{g}/\text{mm}^2$ 以下である銅合金の抗菌性は清浄な銅合金の抗菌性と等しく，試験片表面に塗布した汚損量の増加に伴い，それぞれの銅合金の抗菌性は低下し，汚損量が 0.80 $\mu\text{g}/\text{mm}^2$ では全ての銅合金の抗菌性は失われた．

タンパク質による汚損量が 0.0016 $\mu\text{g}/\text{mm}^2$ の場合，試験片表面上にタンパク質分子の単分子層が吸着している．タンパク質による汚損量が 0.016 $\mu\text{g}/\text{mm}^2$ および 0.16 $\mu\text{g}/\text{mm}^2$ のとき，すなわち試験片表面全体がタンパク質分

子により覆われている状態でも，全ての銅合金の生菌数は SUS304 の生菌数よりも 1~2 ケタ程度少なかった．

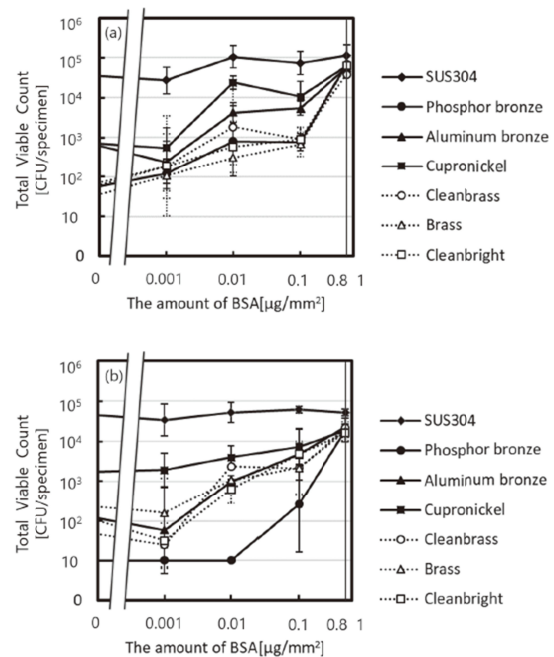


図 3 各種銅合金の抗菌性に及ぼすタンパク質表面汚損量の影響 (フィルム密着時間=30 分) (a) 大腸菌, (b) 黄色ブドウ球菌

タンパク質による表面汚損量が 0.8 $\mu\text{g}/\text{mm}^2$ の時に抗菌性はほぼ失われた．そこで，清拭を施す試験片のタンパク質による表面汚損量を 0.8 $\mu\text{g}/\text{mm}^2$ とした．0.8 $\mu\text{g}/\text{mm}^2$ の表面汚損を施された後に次亜塩素酸ナトリウム水溶液を用いた清拭を 1 往復施された各種銅合金の抗菌性試験結果を図 4 に示す．清拭を施されることにより生菌数は低下したがその値は清浄な表面での値よりも大きく，清拭を 1 往復することによる抗菌性の回復量は小さかった．

0.80 $\mu\text{g}/\text{mm}^2$ のタンパク質を塗布した後に次亜塩素酸ナトリウム水溶液を用いた清拭を 1 往復施した試験片上に残留したタンパク質量をローリー法により測定した．その結果，清拭後に残留したタンパク質量は，試験毎のばらつきは大きいですが，試料によらず 0.08 ~ 0.22 $\mu\text{g}/\text{mm}^2$ であった．この値は清浄な銅合金と抗菌性が等しくなる 0.0016 $\mu\text{g}/\text{mm}^2$ よりも 2 ケタ程度多かった．以上の結果より，清浄な銅合金表面と抗菌性が等しくなる 0.0016 $\mu\text{g}/\text{mm}^2$ 以下となるような清拭条件，例えば清拭回数を増やすなど，を検討する必要がある．また，図 5 に示すように次亜塩素酸ナトリウム水溶液は銅合金表面を劣化させるところがあり，その対策が必要である．

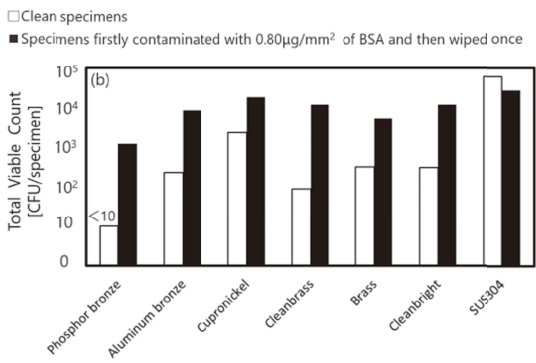
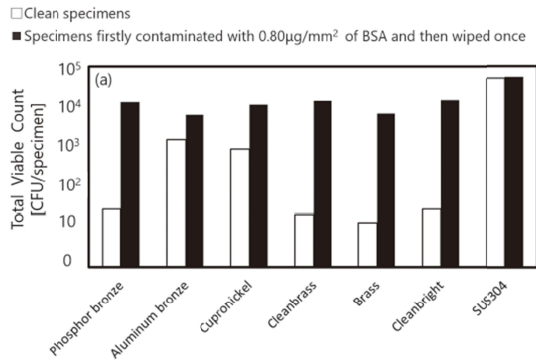


図 4 タンパク質が塗布された後に次亜塩素酸ナトリウム水溶液を用いた清拭が施された銅合金の抗菌性評価結果(フィルム密着時間=30分)(a)大腸菌,(b)黄色ブドウ球菌

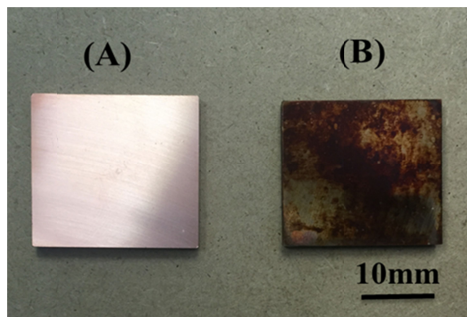


図 5 無酸素銅表面(A) 浸漬前, (B) 0.05 mass% 次亜塩素酸ナトリウム水溶液に 24 時間浸漬した後.

5. 主な発表論文等

[雑誌論文](計 3 件)

加藤央士, 川上洋司, 佐藤嘉洋, 菊地靖志, 銅および白銅の抗菌性に及ぼす表面粗さの影響, 銅と銅合金, 査読有り, 57, (2018), 掲載許諾

戸田雄三, 高嶋悠多, 川上洋司, 佐藤嘉洋, 菊地靖志, タンパク質による表面汚損が銅合金の抗菌性に及ぼす影響, 銅と銅合金, 査読有り, 57, (2018), 掲載許諾

王鵬遠, 川上洋司, 佐藤嘉洋, 清拭に用いた薬剤が銅表面の抗菌性に及ぼす影響, 銅と銅合金, 査読有り, 56, (2017), 323-328

[学会発表](計 13 件)

H. Kawakami, P. Wang, Y. Sato, Y. Kikuchi, Effects of surface stain and wiping using detergents on antibacterial activities of copper, International Conference on Prevention & Infection Control (2017), USA

戸田雄三, 高嶋悠多, 川上洋司, 佐藤嘉洋, 菊地靖志, タンパク質による表面汚損が銅合金の抗菌性に及ぼす影響, 日本銅学会第 57 回講演大会 (2017), 富山

高嶋悠多, 戸田雄三, 川上洋司, 佐藤嘉洋, 菊地靖志, 銅合金の抗菌性にタンパク質による表面汚損が及ぼす影響, 日本防菌防黴学会 第 44 回年次大会 (2017), 大坂

小林佑輔, 平山堅太, 川上洋司, 佐藤嘉洋, 菊地靖志, 鈴木聡, 油脂汚損された銅含有ステンレス鋼の清拭後の抗菌性, 日本防菌防黴学会 第 44 回年次大会 (2017), 大坂

H. Kawakami, K. Hirayama, Y. Sato, Y. Kikuchi, Wipe Cleaning Method for Restoring Antibacterial Activities of Soiled Surfaces of an Antibacterial Stainless Steels, The American Society of Microbes (2016), USA

6. 研究組織

(1) 研究代表者

川上 洋司 (KAWAKAMI, Hiroshi)
大阪市立大学・大学院工学研究科・准教授
研究者番号: 90305615

(2) 研究分担者

佐藤 嘉洋 (SATO, Yoshihiro)
大阪市立大学・大学院工学研究科・教授
研究者番号: 00170796

(3) 共同協力者

王 鵬遠 (Wang, Pengyuan)
加藤 央士 (KATO, Hisashi)
菊地 靖志 (KIKUCHI, Yasushi)
鈴木 聡 (SUZUKI, Satoshi)
高嶋 悠多 (TAKASHIMA, Yuta)
戸田 雄三 (TODA, Yuzo)
平山 堅太 (HIRAYAMA, Kenta)