

令和 4 年 4 月 26 日現在

機関番号：57501

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2018～2021

課題番号：18K04096

研究課題名（和文）エアロゾル中における病原性微生物の新たな滅菌技術の構築

研究課題名（英文）New sterilization techniques for pathogenic microorganisms in aerosols

研究代表者

上野 崇寿（Ueno, Takahisa）

大分工業高等専門学校・電気電子工学科・准教授

研究者番号：30508867

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,000,000円

研究成果の概要（和文）：エアロゾル中の病原性細菌による細菌感染症対策を目的とし、パルス電界を用いた放電によるエアロゾルの凝集を行った。その結果、エアロゾル凝集時にみられる不活化効果の確認及び、その要因の一つと考えられるオゾン水の濃度を測定し、その寄与が示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究では、エアロゾル中の病原性細菌に高電界を加え、高い殺菌率（101FU/ml）を実現した。しかしながら流れがある空間でエアロゾルの殺菌には至っていない。今後、電場の空間的・時間的な制御によって、空間中の病原性細菌が含まれる水粒子を引き寄せ、誘引した水粒子に対してパルス電界による殺菌・不活化を行うことが可能な新しい電氣的殺菌技術の確立を目指す。

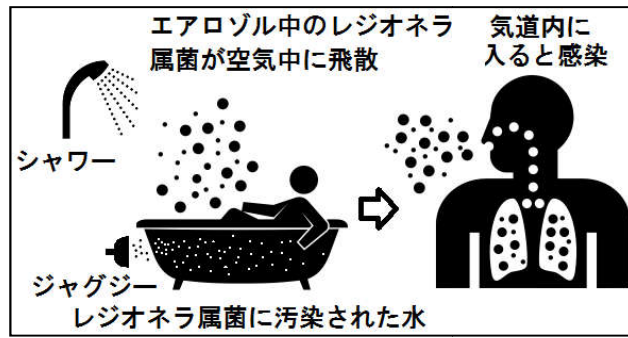
研究成果の概要（英文）：Aerosol flocculation by discharge using a pulsed electric field was conducted to prevent bacterial infection caused by pathogenic bacteria in aerosols. As a result, an inactivation effect (>106 CFU/ml) was confirmed during aerosol flocculation, and the concentration of ozone water, which is considered to be one of the factors, was measured and its contribution was suggested.

研究分野：高電圧パルスパワー工学

キーワード：エアロゾル殺菌 高電圧パルスパワー 薬剤耐性菌 高電界殺菌

1. 研究開始当初の背景

レジオネラ症は、わが国においても 2000 年頃から温泉施設や循環式風呂にて多く発生している。その 9 割以上が、浴室のシャワーや蛇口などの気泡装置でレジオネラ属菌が泡沫に含まれエアロゾルと共に飛散し、気道を介して吸入され肺に感染することが原因とされる。感染時の致死



率は 15%程度と非常に高いが、その感染を防ぐための有効な手段がなく、厚労省発行の指針にあるように、細菌の発生しやすい箇所の定期的な清掃やメンテナンスしか方策がないのが現状である。（厚生労働省、公衆浴場における衛生等管理要領、2012）

そこで申請者らは、これまでに開発したコロナ放電によって霧を捕捉・除去する装置ならびに構築したパルス高電界による薬剤耐性菌の滅菌技術を組み合わせることで、空間中に浮遊するエアロゾル中の病原性細菌を吸引・凝集し、高電界によって滅菌できる、新たな滅菌手法を考案し、検証する。

2. 研究の目的

レジオネラ感染症における主な感染経路はレジオネラ属菌が気泡装置や加湿装置等の人工水循環設備内に侵入及び繁殖後、それらの施設から発生する水の微粒子（以下、エアロゾル）を吸入することで感染する飛沫や空気感染である。紫外線滅菌ではエアロゾルや空気中に飛散する物質により減衰すること、フィルタによる除去ではフィルタ上で細菌が繁殖しやすく、その耐性による除去が困難であること等、従来の手法でエアロゾル中のレジオネラ属菌を滅菌することは困難である。そこで本研究では、電界による水蒸気の凝集に関する研究を応用し、病原性細菌を含むエアロゾルを電界により凝集し殺菌する研究を行った。本稿ではエアロゾル化した菌液を高電界による凝集を行い、凝集後菌液において確認された不活化効果を菌種や電界の種類ごとに報告する。

3. 研究の方法

エアロゾル凝集装置 図 1 にエアロゾル凝集装置の外観を示す。トロイタン樹脂製容器（210 mm×295 mm×175 mm）内に、10 mm 間隔で並行に固定した線径 0.3 mm の錫メッキ軟銅線電極（陽極）、および網目間隔 11 mm のメッキ鉄製網電極（陰極）を電極間隔 30 mm となるように設置した。装置内部に超音波エアロゾル発生器(AGPTEK, HS0005U)を設置し、菌液及び milli-Q 水のエアロゾル化に用いた。

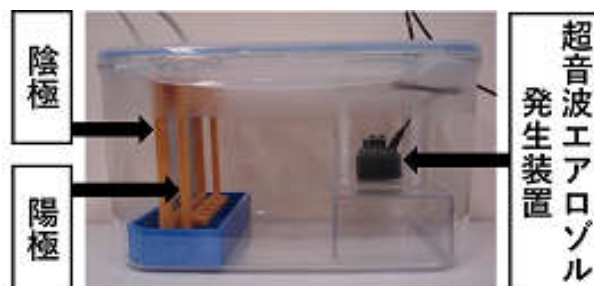


図 1. エアロゾル凝集装置外観

菌操作手順および評価法 不活化対象であるグラム陰性菌である大腸菌 (*Escherichia coli*: *E.coli* (ATCC11229)) に対し、それぞれ適温の液体培地で振とう培養を行った。培養後の液体培地を滅菌済み Milli-Q 水で菌体洗浄及び希釈し、マクファーランド比濁法によって生菌数を 10^6 CFU/ml に調整した。試験後の菌液を生菌数の計数が可能な濃度に滅菌済み Milli-Q 水を用いて再度希釈し、寒天培地に塗布を行った。培地上に形成されたコロニー数より生菌数濃度を算出し、エアロゾル化前と比の対数を取った式 (1) の不活化率を用いて不活化効果の評価を行った。

$$r = \log_{10}(C_0 / C) \quad (1)$$

r : 不活化率

C_0 : エアロゾル化前の生菌数 [CFU/ml]

C : エアロゾル凝集後の生菌数 [CFU/ml]

4. 研究成果

4.1 超音波振動を用いたエアロゾル化による不活化 菌液のエアロゾル化と電界印加による不活化影響の区別を目的とし、菌液のエアロゾル化のみを行った。 10^6 CFU/ml に希釈した *E.coli* 菌液を装置内にてエアロゾル化し 30 分間放置した。エアロゾルの自然減衰ののち、1 エアロゾル発生を起す前の水槽内の菌液、2 エアロゾル発生を行った後の水槽内の菌液、3 一度エアロゾル化され壁面に凝結した菌液の三条件における菌液を採取し、算出した生菌数を図 2 に示す。

エアロゾル化前後において水槽内、壁面の菌液ともに生菌数の減少は殆ど見られず、超音波振動装置を用いたエアロゾル化によって、菌は不活化せず、菌を含有するエアロゾルを実現した。

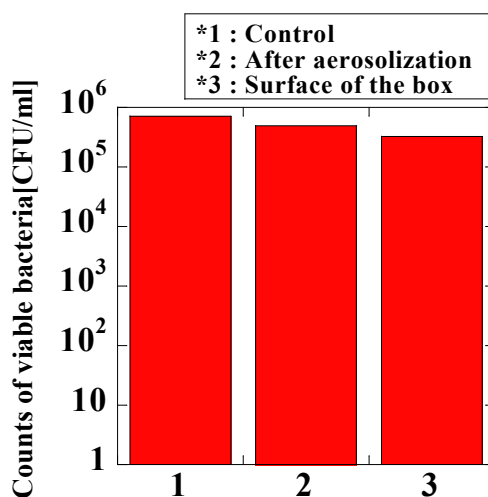


図 2. エアロゾル化前後の生菌数比較

4.2 電界印加時の菌液不活化 電界印加後のエアロゾル凝集装置内において凝集された菌液を採取し、その不活化率を測定した。 *E.coli* および *VRE* の不活化率を図 3、図 4 に示す。不活化は測定した全ての箇所において確認された。どちらの菌種も電極下部の菌液、陰極に付着した菌液はいずれも印加時間 10 分時点で、生菌数が 0 となり滅菌が確認された。壁面付着の菌液の不活化率は 0.7 log 程度に留まり、壁面に付着した菌液と比較し電極付近では生菌数が大きく減少した。

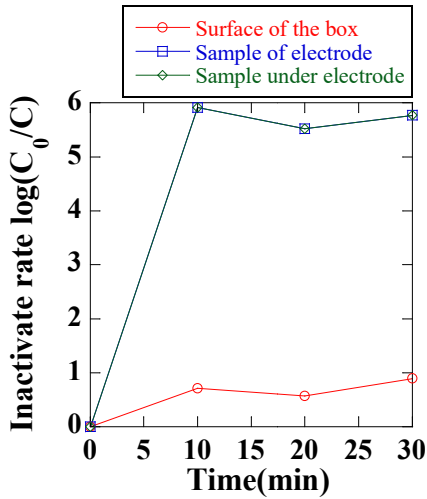


図 3. *E.coli* 不活化率

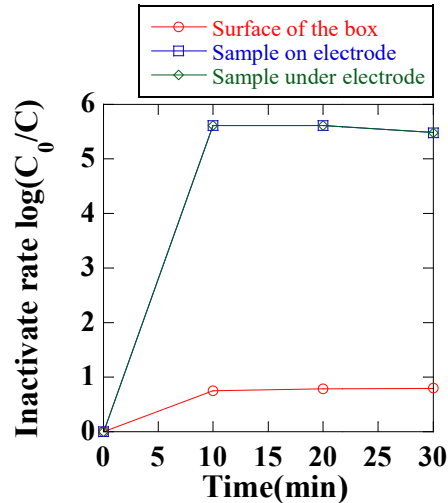


図 4. *VRE* 不活化率

4.3 エアロゾル凝集時の ROS 濃度評価 エアロゾル凝集容器の内部電極間隔を 60 mm で平行に固定し、装置内部で milli-Q 水をエアロゾル化、電圧 30 kV で 30 分間凝集を行った。その後、エアロゾルの除去を目的として 10 分間電界印加のみを行った。印加後の装置内に凝集された液滴を、図 5 に示す容器内の 6 か所(A 電極下部, B 陰極後方部分, C 菌懸濁液上面 (2 mm), D 菌懸濁液上面 (2 cm), E 陽極から容器までの空間, F 測定場所 B の容器対面部)で採取し、これらの試料に対してパックテスト(共立理化学研究所, WAK-O3)を用いたオゾン濃度測定を行った。

パックテストにより得られた、エアロゾル凝集後の装置内オゾン水濃度を図 6 及び表 2 に示す。壁面附着の水滴はいずれも 5.0 ppm 以上のオゾンが溶解しており、水容器内においても 0.20 ppm 程度のオゾンが検出された。

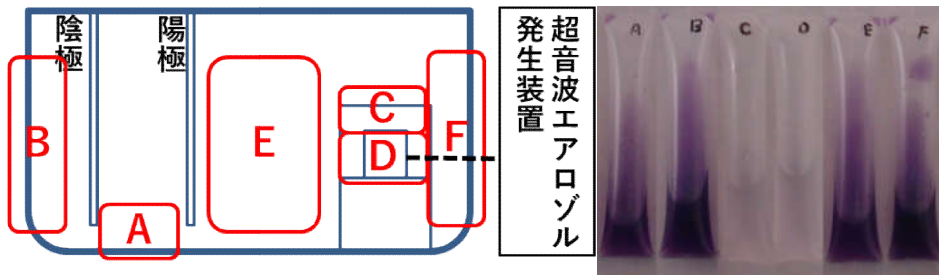


図 5. オゾン濃度測定箇所 図 6. パックテストによるオゾン濃度測定結果

(A : 電極下部, B : 陰極後方部分, C : 菌懸濁液上面 (2 mm), D : 菌懸濁液上面 (2 cm), E : 陽極から容器までの空間, F : 測定場所 B の容器対面部)

表 2. 各箇所のオゾン水濃度

A(電極下部)	5 ppm 以上
B(陰極後方部分)	5 ppm 以上
C(菌懸濁液上面 (2 mm))	約 0.2 ppm
D(菌懸濁液上面 (2 cm))	約 0.2 ppm
E(陽極から容器までの空間)	5 ppm 以上
F(測定場所 B の容器対面部)	5 ppm 以上

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計4件（うち査読付論文 3件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 上野崇寿	4. 巻 23
2. 論文標題 高電界によるエアロゾル中の病原性細菌の滅菌技術の構築	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 地域ケアリング	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Takahisa Ueno, Kyohei Asami, Junko Ninomiya	4. 巻 7
2. 論文標題 Inactivation of <i>Vibrio fischeri</i> by the Application of a Pulsed Electric Field	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Transactions on GIGAKU	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.34468/gigaku.7.1_07002-1	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -
1. 著者名 Takahisa Ueno, Kyohei Asami, Junko Ninomiya, Takashi Furukawa, Takashi Sakugawa, Sunao Katsuki	4. 巻 -
2. 論文標題 Inactivation of <i>Vibrio fischeri</i> in the Ocean by Pulsed Electric Field	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Proceedings of The 4th International Conference on Science of Technology Innovation	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Takahisa Ueno, Takashi Furukawa, Takashi Sakugawa, Sunao Katsuki	4. 巻 -
2. 論文標題 Using High Electric Field to Measure Aerosol-based Bacterial Inactivation	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Proceedings of The 11th Asia-Pacific International Symposium on the Basics and Applications of Plasma Technology	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計12件（うち招待講演 1件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 松村美那, 古川隼士, 上野崇寿, Mohan Amarasiri, 清和成
2. 発表標題 パルス電界印加技術を応用した薬剤耐性菌および耐性遺伝子の削減効果
3. 学会等名 第57回環境工学研究フォーラム
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 松村美那, 古川隼士, 上野崇寿, 亀井樹, 清和成
2. 発表標題 パルス電界印加技術を用いた薬剤耐性菌および耐性遺伝子の不活化効果の検証
3. 学会等名 水環境学会年次大会, 2021
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 林 李駆, 古川隼士, 佐久川貴志, 上野崇寿
2. 発表標題 パルス高電界を用いたエアロゾル殺菌
3. 学会等名 令和2年度電気学会九州支部高専研究講演会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 上野崇寿, 古川隼士, 勝木淳
2. 発表標題 オゾン水のエアロゾル化による微生物の殺菌
3. 学会等名 電気学会全国大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 上野崇寿
2. 発表標題 高電界によるエアロゾルへの応用
3. 学会等名 生存圏シンポジウム合同研究（招待講演）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 上野崇寿, 古川隼士, 佐久川貴志, 勝木淳
2. 発表標題 高電圧インパルスによるエアロゾル中の滅菌に関する研究
3. 学会等名 プラズマ核融合学会全国大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 柴山信之介, 古川隼士, 勝木淳, 上野崇寿
2. 発表標題 インパルス高電圧を用いたエアロゾル中の微生物の凝集および滅菌に関する研究
3. 学会等名 電気・情報関係学会九州支部連合大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 大下昂亮, 古川隼士, 勝木淳, 上野崇寿
2. 発表標題 高電界を用いたエアロゾル中の病原細菌の不活化効果に関する研究
3. 学会等名 電気学会九州支部高専研究講演会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 坂本泰都, 上野崇寿
2. 発表標題 地域温泉水の滅菌に関する研究
3. 学会等名 電気学会九州支部高専研究講演会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 川野航平, 上野崇寿, 佐久川貴志, 勝木 淳
2. 発表標題 インパルス発生装置開発のためのSiCデバイス特性試験
3. 学会等名 電気・情報関係学会九州支部第71回連合大会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 宇都宮 玄, 古川隼士, 上野崇寿
2. 発表標題 エアロゾル中の病原性微生物補足のための高電圧捕集装置の開発
3. 学会等名 平成30年度電気学会九州支部高専研究講演会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 柴山 信之介, 古川隼士, 勝木淳, 上野崇寿
2. 発表標題 高電界を用いたエアロゾル中の病原細菌の不活化効果に関する研究
3. 学会等名 平成30年度電気学会九州支部高専研究講演会
4. 発表年 2018年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究 分担 者	古川 隼士 (Furukawa Takashi) (90632729)	北里大学・医療衛生学部・講師 (32607)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------