

健康文化

第4の滅菌法をめざして

木藤 伸夫

2008年初夏、うなぎや飛騨牛の産地偽装問題がマスコミを賑わせ、東海地方の地名が連日ニュースで流されていた。2007年の世相を表す漢字として「偽」が選ばれたが、年が改まってもその風潮は続いている様相であった。そのような折、三重県の一病院で起きた、「作り置き」した点滴用の薬剤を長時間室温に放置したことが原因と考えられるセラチア感染症の発生は、本紀要の読者である医療関係者に衝撃を与えたことは想像に難くない。微生物学を学んだ医療従事者とは到底思えないような所作の結果であった。本稿では、筆者が最近関心を持っている新たな滅菌法について紹介しようと考えているが、その前に滅菌・殺菌法の歴史に簡単に触れてみる。

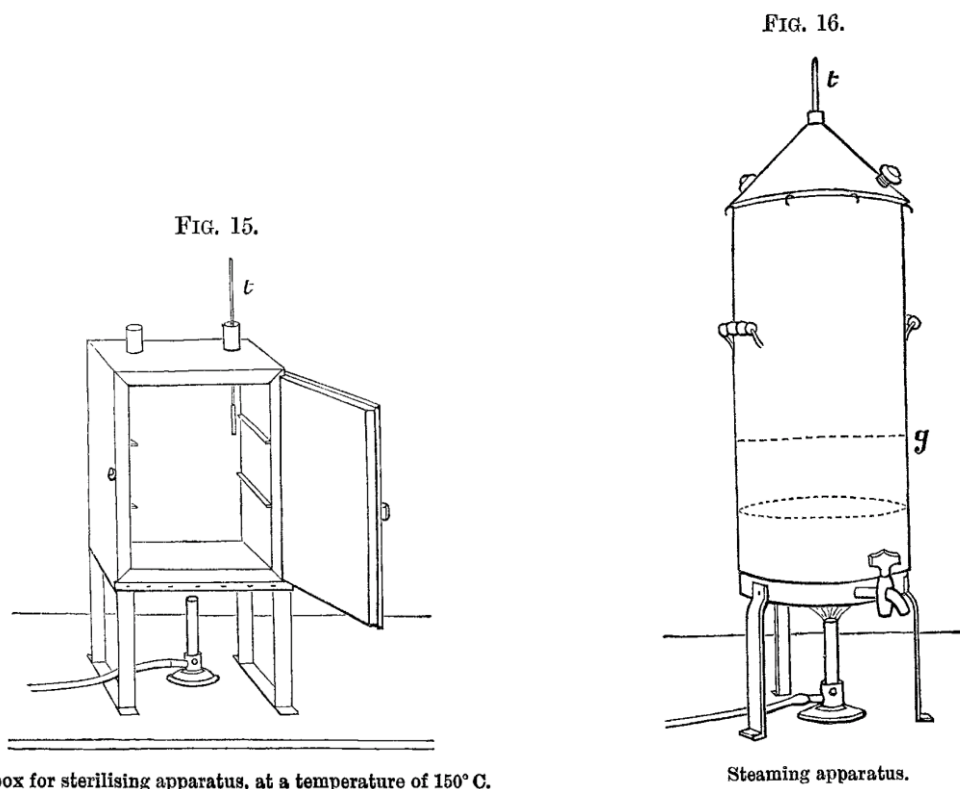
微生物を殺すことが科学として検討されたのは、19世紀も後半に入ってからであった。当時生命の自然発生説に対してはさすがに懐疑的な見方をする人が増え、最終的に酵母や細菌のように顕微鏡でしか見えない小さな生物の自然発生はおこりうるのかという議論になっていた。この議論に決着をつけたのはパスツールによる一連の実験といわれ、特に1861年に発表されたいわゆる白鳥の首フラスコを使った実験¹⁾は有名である。微生物の自然発生を否定する実験とは、つまるところ実験に使用する培地や器具を完全に滅菌する手法と、実験系への微生物の混入防止、すなわち無菌操作法の確立が決め手であった。当時の実験では加熱による殺菌法が用いられるが、自然に発生したかに見える細菌や酵母は、培地の不完全な滅菌か空気中にある微生物の混入によることが明確にされていくのである。実際にパスツールの下で1860年から1880年にかけて、消毒、滅菌法が確立していったと考えられている²⁾。パスツールの実験に刺激され、空気中や身の回りのあらゆる場所に存在する微生物が化膿の原因と考えたリスターが、石炭酸（フェノール）を使用して無菌的な外科手術の手法を開発したことも良く知られている³⁾。このように、化合物を使用しての消毒も当時既に始まっていて、石炭酸とともに硫酸（1%）、塩化亜鉛がよく使われていたようである。しかし、パスツールもリスターもこれら化合物の処理条件や、

加熱条件などをきちんと系統的に調べることはしなかった。実際白鳥の首フラスコの実験をもって自然発生説が終焉を迎えたわけではなく、その後10年近くを経ても、創刊されたばかりの **Nature** で自然発生に関する議論が続けられている（例えば C.H. Bastian⁴⁾）。この事実は、当時まだ滅菌法や無菌操作が技術的にも学問的にも確立していなかったことを示しているのではないだろうか。

同じ19世紀後半、細菌学の創始者として知られているドイツのコッホは、細菌を純（粹）培養することで、ある種の病気の原因が微生物であることを証明した。細菌の純培養には固形培地を用いた平板法の開発は必須であったが、それとともに培地や器具の滅菌法も必要と思われる。コッホはこの問題にどのように対応したのだろうか。ブロックの記述によると消毒、滅菌ともに学問的に検討を加えたのはパスツールではなく、コッホだということになる⁵⁾。コッホは固形培地を用いた細菌の純培養方法を確立するとほぼ同時に、消毒薬や加熱、蒸気による消毒、滅菌法の検討を行っている。1881年のことであった。コッホらは熱した空気や蒸気を使って芽胞の殺菌条件の検討を行った。銅の管で囲ったチャンバーを作り、加圧した蒸気を通すことで140°Cの加熱を可能にしている（この場合蒸気は直接滅菌対象物には触れない）。芽胞を形成しない菌は100°Cを少し越えた時点で死滅したが、芽胞の死滅には140°Cで3時間以上の加熱が必要であった。コッホ、ガフキー、レフレルの連名で行われた報告では、大気圧下と高圧下での蒸気滅菌について検討されている。その結果コッホらは大気圧下で蒸気を用いた滅菌法がその時点で最も効果的と結論した。理由として、殺菌の確実性、操作の簡便性、滅菌時間の短さ、安価な機器と運転時の経済性、対象物への影響の少なさ（いずれも現代の滅菌機器開発でも要求される）などをあげている。現在では大気圧下の蒸気処理では滅菌に不十分であることが明らかだが、当時の技術的な面を考えると致し方なかったと思われる。では、現在よく使われている高圧蒸気滅菌器（オートクレーブ）の発明者は誰なのであろうか？「人と細菌」⁶⁾には「初期のパスツール研究所員たち」として以下の記述がある。「シャンベルランはスタッフの中で器用な職人役を務める。彼は自分の名前を冠した濾過管と加圧蒸気滅菌器の発明者である（1884）。これが発明される以前は、沸騰させても115度にしかならない含塩濃縮溶液の中であらかじめ外で栓をしたフラスコを熱していたのだが、その後は綿栓をしたフラスコや管の中の培養液を支障なしに滅菌できるようになる。」

残念ながら原著論文を見つけることはできなかったが、現在頻繁に使用され

る高圧蒸気滅菌器の開発はパスツール側に軍配が上げられているようだ。しかし、19世紀以降の消毒薬や滅菌装置の開発は、コッホらによる詳細で系統だった研究に基盤を置いているというブロックの見解⁵⁾には完全に同意できる。下に1884年のLancet⁷⁾で紹介された、当時の滅菌装置を示した。これら以外に、滅菌した溶液を入れるフラスコや、培養皿、培養用試験管やフラスコ、滅菌対象物を入れる“かご”まで紹介されており、現代まで継承される手法が当時完成しつつあったことがうかがえる。



Hot box for sterilising apparatus, at a temperature of 150° C.

Steaming apparatus.

1884年のLancetで紹介された滅菌装置。左（Fig. 15）は鉄の薄板でできた乾熱滅菌器で、壁、床、扉は二重になっており、下からブンゼンバーナーで加熱する。培養に使う容器は綿栓をし、150°Cで3時間の滅菌を行ったとある。右（Fig. 16）は蒸気処理を行う機器で、中央より下部に鉄格子（g）があり対象物を乗せるようになっている。上部から水を入れ、やはりブンゼンバーナーで加熱する。周りや円錐状の蓋は厚いフェルトで覆い、熱の損失を防ぎ内部温度を均一にするように工夫されていた。

初期の殺菌はこのように熱や化学薬品を使って行われていたが、滅菌法はその後どのように変化したのであろうか。現在よく使われている方法のひとつに放射線による滅菌がある。一般に放射線滅菌といえばγ線滅菌をさすが、放射線滅菌の歴史はX線の発見直後の1895年から始まったとされ、1896年にはX

線の殺菌作用が報告されている⁸⁾。日本では最初の⁶⁰Co- γ 線滅菌施設が1969年に栃木県に建設され放射線滅菌が開始された。2003年時点で日本には γ 線滅菌施設が7施設10基稼動している⁸⁾。さらに、化学的方法として酸化エチレンガス滅菌がある。この方法の利点は熱による滅菌法に比べて低い温度で処理できることから、プラスチックやゴム製の医療器具に利用できる点にある。また、ガスであるため複雑な構造をしていても、隅々まで滅菌できるという点でも有利である。しかし、使用する酸化エチレンガスは空気と混ざると引火・爆発する危険性があり、取り扱いに注意が必要となる。また、1999年以降環境への排出量を把握、管理する対象薬剤となったことから代替滅菌法などの対応が迫られている。

以上のように加熱（乾熱、高圧蒸気）、 γ 線、酸化エチレンガスの3種類の方法が現在使用されている滅菌法の主流といえよう。表題の第4の滅菌法とは、これら主流となっている滅菌法に続くものとして開発が進められているプラズマ（電離によって生じた正イオンと電子を含む気体）を利用した新たな滅菌法をさす。既に過酸化水素のプラズマを用いた低温ガスプラズマ滅菌器は市販されているが、プラズマの殺菌作用がどのような機構で起きるのかは実はあまり良くわかっていない。プラズマを発生させる際の高電圧パルスや、プラズマ状態で発生する紫外線、用いたガスから生ずるラジカルなどが相乗的に作用することで殺菌作用が発揮されると考えられている。市販されているプラズマ滅菌装置では、低温かつ短時間で滅菌できる点が利点としてあげられているが、過酸化水素を使用することから残留過酸化水素の影響が心配される。我々が現在行っているのは、大気中に豊富に存在する窒素をプラズマ化して滅菌に使おうとの試みだが、窒素ガスは不活性のため非常に安全で残留物の影響はない反面、逆にプラズマ化に必要なエネルギーが高いという欠点があった。しかし、プラズマ状態のエネルギーが高いことから効率よい殺菌効果が期待でき、窒素ガスをプラズマ化する装置の開発が望まれていた。最近その装置が日本ガイシにより開発された⁹⁾。実際に窒素ガスプラズマ中に芽胞をおいてみると、4~8分の処理で芽胞は死滅し、電子顕微鏡で芽胞が壊れていることが観察できた。この研究には名古屋大学情報文化学部の教え子が参加しており、そんな縁から私も研究に参加した。芽胞が壊れている電顕写真を見て思いついたことは、エンドトキシンやタンパク質など、微生物の構成成分も窒素ガスプラズマにより壊れるのではないかというアイデアだった。ガスプラズマによりエンドトキシンを不活化するという発想は新規のものではなく、既に研究が行われていることが

わかったが、窒素ガスプラズマ中に生ずる窒素ラジカルは反応性に富み、他のガスプラズマよりも効率良く微生物成分を不活化することが予想できた。昨年窒素ガスプラズマには、滅菌作用に加えエンドトキシンの不活化作用があることを報告したが、より定量的な測定が必要と考えている。また、タンパク質に対する効果も調べ、ウシ血清アルブミンの分解を二次元電気泳動などで確認した。これらの結果から、窒素ガスプラズマ滅菌器が実用化できれば、医療器具の滅菌に加え、処理後に機器や器具に残留する菌体成分等の浄化も同時に達成できることが期待できる。

今後ガスプラズマの殺菌機構を明らかにすることで、より効率の良い滅菌装置の開発が可能になると考えている。酸化エチレンが大気汚染防止法などの規制対象薬剤となり代替滅菌法が必要とされている現在、ガスプラズマ滅菌はこれらに続く第4の滅菌法、いや酸化エチレンの代替法としての立場を確立できるだろうか。滅菌以外の付加価値も探りながら、実用化に向けた研究を進めたい。

参考文献

- 1) T. D. Brock, Milestones in Microbiology, p. 43, ASM Press (Washington, D.C.), 1999.
- 2) R. Dubos, Pasteur and modern science, ASM Press (Washington, D.C.), 1998.
- 3) J. Lister, On a new method of treating compound fracture, abscess, etc. with observations on the conditions of suppuration. *Lancet*, **89**: 326, 1867.
- 4) C. H. Bastian, Facts and reasonings concerning the heterogenous evolution of living things. *Nature*, **2**: 170, 1870.
- 5) T. D. Brock, Robert Koch -A life in medicine and bacteriology-, ASM Press (Washington, D.C.), 1999.
- 6) 人と細菌、ピエール・ダルモン著、寺田光徳・田川光照訳、藤原書店、2005年
- 7) The biological laboratory at the health exhibition. *Lancet*, **124**: 557, 1884.
- 8) 改訂 医療現場の滅菌（第2版）、小林寛伊編集、へるす出版、2003年
- 9) H. Shintani et al., *Biocontrol Sci.*, **12**: 131, 2007.

(名古屋大学理学部准教授、生命理学専攻)