

[Original Paper]

The effect of hand washing on the reduction of resident bacteria

Yoko Takehisa*, Tamaki Maeda* and Yuji Nakada*

* Department of Nursing, Faculty of Nursing and Rehabilitation, Aino University

Abstract

In order to discover effective ways of cleaning the hands in general medical facilities, we compared the amount of bacteria on fingers of nursing students before and after washing the hands in six ways: with a standard soap, with a benzalkonium chloride solution, with a standard soap followed by a benzalkonium chloride solution, with 70% ethyl alcohol, with a commercial disinfectant called Welpas[®] and with a commercial medicated soap. The effects of washing with standard and medicated soaps were different among individuals, as the number of bacteria increased in some cases and decreased in others. However, other four ways were found to be significantly effective. We also confirmed the presence of bacteria resistant to ampicillin or kanamycin. This suggests that the appropriate choice of detergents as well as washing and rinsing procedures is important to remove bacteria from the hands.

Key words : hand washing, resident bacteria, antibiotics, resistant bacteria

示指細菌数の測定と手洗い効果判定について

竹 久 洋 子*, 前 田 環*, 中 田 裕 二*

【要 旨】 一般的な医療現場における有効な手洗い方法を明らかにするために、看護学生を対象とした示指細菌数の測定と手洗い効果判定を行った。手洗いの方法は、通常石鹼、0.1% 塩化ベンザルコニウム液、通常石鹼+0.1% 塩化ベンザルコニウム液、70% エタノール、ウエルパス、市販薬用石鹼の6通りを比較した。手洗い前後の菌数の比較では、0.1% 塩化ベンザルコニウム液、通常石鹼+0.1% 塩化ベンザルコニウム液、70% エタノール、ウエルパスについてはそれぞれ手洗いの後に有意に細菌数が減少していたが、通常石鹼・市販薬用石鹼では有意な減少が見られなかった。また、示指に存在する抗生物質（アンピシリン、カナマイシン）耐性菌の構成率を測定し、耐性菌の存在が確認された。以上より、各段階における結果を踏まえた上でより有効な手洗い方法を確立していくことが重要と考える。

キーワード：手洗い、常在菌、抗生物質、耐性菌

はじめに

公衆衛生や抗生物質の進歩によって、一時期には感染症は過去の疾病であるかのように錯覚された。しかし、現実には未知の病原体の出現や既存の病原体の変異によって、感染症は新たな脅威となっている。医療現場において感染対策は重要な課題のひとつであり、看護師はその重要性を認識してはならない。そのため、本学では看護学科において必修科目として開講している基礎医学実習の中で、微生物実習として「手指の細菌数測定と手洗い効果判定」を実施している。

人間では、皮膚には表皮ブドウ球菌、アクネ菌、コリネバクテリウム属やアシネトバクター属のような表皮常在菌が、消化管にはエンテロコッカス属やラクトバシラス属のような腸内細菌が多数存在している¹⁾。

また、通常の生活において、日和見感染症の原因となる緑膿菌、セラチア菌などのグラム陰性菌や、黄色ブドウ球菌（MRSA）、肺炎球菌などのグラム陽性菌、カンジダ・アルビカンズ、ニューモシスチス・イロベチ等様々な微生物が一時的に表皮および腸管内に滞留している^{1,2)}。さらに、傷口付近では食中毒の原因菌となるサルモネラ属やストレプトコッカス属³⁾も存在し、これらの細菌では抗生物質の汎用による薬剤耐性化が懸念されている¹⁾。感染症の原因菌を医療現場で拡散させないために、医療従事者が効果的な手洗いをすることは、感染防止対策の基本である。

今回、我々は「一般的な医療現場において有効な手洗い方法を明らかにする」という目的のもとに、毎年1年生の看護学生が行った3年分の微生物学実習の結果を報告し、微生物学的な見地からの問題点や課題について検討した。

* 藍野大学医療保健学部看護学科

対象と方法

1. 対象

手洗い対象者（被験者）は20歳前後の看護学生36名を対象とし、6種類の手洗い方法（通常石鹼、0.1%塩化ベンザルコニウム、通常石鹼+0.1%塩化ベンザルコニウム、70%エタノール、ウエルパス、市販薬用石鹼）についてそれぞれ6名ずつを割り当て、後述にしたがって手洗い前後の示指菌数を測定、比較した。

菌体採取には常に示指で行い、手洗い前に左右どちらかの示指を、手洗い後には反対側示指を用いた。

なお、事前に通常の左右の示指菌数を後述の菌数測定方法で3名測定したところ、A)左：600、右630 B)左：90、右80 C)左：750、右920 (c.f.u.)となり、t検定、ハンディキャップ方式いずれも、同等性を否定する結果はでなかった。よって、左右の示指菌数は、後述の測定方法ではほぼ同数とみなし実験を行っている。

2. 材料

- ① 滅菌生理食塩水（0.9% NaCl 溶液を小試験管に1 ml ずつ分注）
 - ② 普通寒天培地（Nutrient Broth 2.5%, Agar 1.5% 日水製薬株式会社）
 - ③ 滅菌ペーパータオル
 - ④ 滅菌綿棒
 - ⑤ 70% エタノール
 - ⑥ ウエルパス（成分：100 ml/中 塩化ベンザルコニウム 0.2 g, エタノール含有 丸石製薬株式会社）
 - ⑦ 0.1% 塩化ベンザルコニウム液（日本製薬株式会社）
 - ⑧ 通常石鹼（成分：ジブチルヒドロキシトルエン, エデト酸 資生堂石鹼）
 - ⑨ 市販薬用石鹼（商品名：ミューズ 成分：トリクロロカルバン, トリクロロサン, エデト塩酸ジブチルヒドロキシトルエン, プリエチレングリコール他 P&G）
 - ⑩ アンピシリン 100 mg/ml, カナマイシン 30 mg/ml 水溶液
（普通寒天培地に1/1000量添加し、終濃度をそれぞれ100 µg/ml-medium, 30 µg/ml-medium としたものを使用）
- ①～④は、オートクレーブ（121℃, 15分）処理。

⑤・⑥は1回3 ml が押し出される同型の押し出し入容器に保存。

⑦は洗面器に1リットル作成したものを使用。

⑩はフィルター濾過滅菌（φ0.45 µm）したものを使用。

3. 研究方法

1) 菌体の採取方法

看護学生の実習として、手指の細菌数の測定と手洗いの効果について検討を行った。手洗い前および手洗い後にそれぞれ以下の方法で検体を採取した。

- ① 1 ml の滅菌生理食塩水が入った試験管を、被験者毎に2本準備し、手洗い前と手洗い後に1本ずつ使用する。
- ② 2時間以上手洗いをしていない被験者を対象とし、片方の示指の中手指関節より末端側表面全体を、滅菌生理食塩水を含ませた綿棒で拭き取る。
- ③ 綿棒を滅菌生理食塩水に浸してよく懸濁する。
- ④ 拭き取り②と懸濁③をさらに2回繰り返し、合計3回行う。
- ⑤ 次の項で示した手洗い後を行った後、手洗い前とは逆の手の示指について同様の拭き取り、懸濁を3回繰り返し、採取懸濁液とする。

2) 手洗い方法

手洗い前の菌体を採取した後、各々以下の6通りのいずれかの方法で両手の手洗いをを行う。

(1) 通常石鹼

30秒間よく泡立てた後、水道水流水での水洗いを30秒間行い、滅菌キムタオルで拭く。

(2) 0.1% 塩化ベンザルコニウム液

洗面器に入れた1リットルの0.1%塩化ベンザルコニウム液に30秒間浸し、滅菌キムタオルで拭く。

(3) 通常石鹼・0.1% 塩化ベンザルコニウム液併用

通常石鹼で30秒間泡立てた後、水道水流水での水洗いを30秒間行う。その後、(2)の0.1%塩化ベンザルコニウム液に30秒間浸し、滅菌キムタオルで拭く。

(4) 70% エタノール

押し出し式の容器を1回（約3 ml）プッシュし、液が無くなるまで刷り込む。

(5) ウエルパス

押し出し式の容器を1回（約3 ml）プッ

シュし、液が無くなるまで刷り込む。

(6) 市販薬用石鹼：

30秒間泡立てた後、水道水流水での水洗いを30秒間行い、滅菌キムタオルで拭く。

3) 採取菌体の培養

手洗い前後の採取懸濁液からマイクロピペットでそれぞれ100 μ l取り、シャーレ上の普通寒天培地に滴下し、コンラージ棒を用いて塗抹し、37 $^{\circ}$ Cの孵卵器で24時間培養する。

4) 菌数の計測方法

上記条件で生育した、直径1mm以上のコロニーを目視により計測した。コロニー数が1000を超える場合と予想される場合には、シャーレ面を4分割し、1区画を計測し、4倍することで細菌数を求めた。なお、測定したコロニー数は、採取懸濁液を1/10量塗抹した結果であることから、10倍することで、同条件下で生育する示指1本あたりの菌数とし、c. f. u. (colony forming unit) で表記した。菌体残存率とは、“手洗い後の示指菌数/手洗い前の示指菌数 \times 100(%)”と定義した。

5) アンピシリン・カナマイシン耐性菌の検索

手洗い前の採取懸濁液を試料とし、アンピシリンあるいはカナマイシンを含む普通寒天培地を用い上記の条件で培養、菌数計測を行う。これらの結果から、各耐性菌保有者率を求め、“耐性菌検出者数/被験者数 \times 100(%)”と定義し、耐性菌検出者はコロニー数の多少に関わらず、検出された全ての被験者を該当者とした。また、各耐性菌構成率を求め、各耐性菌保有者の示指における“耐性菌数/総菌数(手洗い前の示指菌数) \times 100(%)”と定義した。

6) 統計学的処理

以下の3項目について、それぞれt検定^{4,7)}を行った。なお、(2)については対応のあるt検定を行った。

- (1) 手洗い前菌数の各グループ間のパラメトリック検定
- (2) 手洗い前後の菌数のパラメトリック検定
- (3) 手洗い後菌数の各グループ間のパラメトリック検定

結 果

手洗いによる菌の総菌数と菌体残存率を表1および図1に示した。通常石鹼および市販薬用石鹼では、半数以上で手洗い前より手洗い後に菌数が増加するという結果を得た。0.1%塩化ベンザルコニウム、通常石鹼+0.1%塩化ベンザルコニウム、70%エタノール、ウエルパスでは、いずれも手洗い後に菌数が減少していた。

個々の手洗い方法についてまとめると、通常石鹼は75%(12人中9人)の被験者で菌数が増加し、10倍以上増加したケースも見られた。通常石鹼と0.1%塩化ベンザルコニウム液との併用では、通常石鹼だけの場合よりも著しく菌数が減少した。0.1%塩化ベンザルコニウム液では全ての被験者で菌数が減少しており、通常石鹼併用によりさらに効果が増す傾向が見られた。70%エタノールでは、半数の被験者で菌体残存率が0%となり、12例すべてが25%以下であった。ウエルパスは2/3の被験者で10%以下の菌体残存率となった。市販薬用石鹼では50%(12人中6人)の被験者で菌数が増加したが、通常石鹼よりは菌数の増加

表1 手洗い前後の総菌数 (c. f. u.)

消毒剤	通常石鹼		0.1%塩化ベンザルコニウム		通常石鹼+0.1%塩化ベンザルコニウム		70%エタノール		ウエルパス		市販薬用石鹼	
	手洗い前	手洗い後	手洗い前	手洗い後	手洗い前	手洗い後	手洗い前	手洗い後	手洗い前	手洗い後	手洗い前	手洗い後
個別データ	210	3680	230	40	1030	230	15480	3710	8800	2160	670	1760
	2680	230	5920	110	1100	50	5920	10	6920	30	2180	930
	140	1210	160	100	30	0	1400	0	420	10	1180	1410
	620	6360	1110	660	1330	30	180	0	300	25	70	360
	620	1550	1390	30	170	50	180	10	1930	10	4270	6690
	1880	6420	580	130	3550	740	300	0	220	20	40	70
	610	430	6040	350	1520	20	160	0	380	20	1000	40
	7920	3740	230	20	160	10	90	0	1400	10	570	270
	230	230	1200	50	1060	70	16920	0	110	60	770	50
	370	1560	380	80	270	0	860	30	200	50	450	110
	620	4030	1180	0	330	40	4350	90	12640	0	90	950
	350	670	30	10	90	0	370	30	50	10	1610	580
	平均値	1354	2509	1538	132	887	103	3851	323	2781	200	1075
p値	0.186		0.039		0.007		0.048		0.048		0.932	

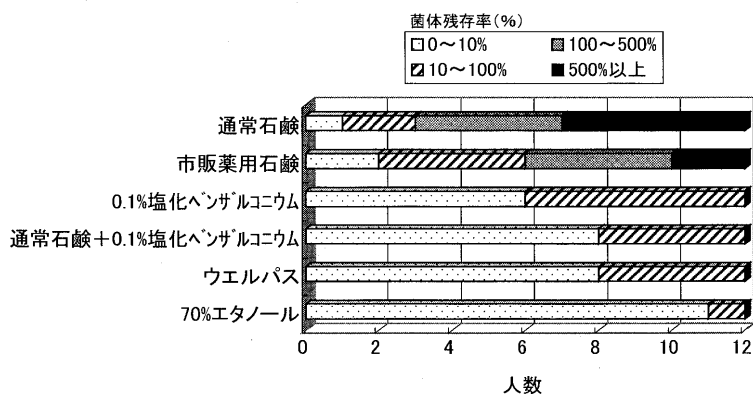


図1 手洗い後の細菌残存率

表2 薬剤耐性菌保有者率

抗生物質名	保有者率 (%)
アンピシリン	9.7
カナマイシン	28.0

表3 薬剤耐性菌保菌者における耐性菌構成率

抗生物質名	構成率 (%)
アンピシリン	7.2 ± 5.9 (n=7)
カナマイシン	10.4 ± 9.6 (n=20)

が低い傾向にあった。

手洗い前の菌数の各グループ間においてはいずれの組合せでも、有意差は認められなかった。手洗い前後の比較について、細菌数は0.1%塩化ベンザルコニウム、通常石鹼+0.1%塩化ベンザルコニウム、70%エタノール、ウエルパスで有意に低下していた。

手洗い後の菌数において、効果が確認された4薬剤(0.1%塩化ベンザルコニウム、通常石鹼+0.1%塩化ベンザルコニウム、70%エタノール、ウエルパス)間の比較について検討したところ有意な差はなかった。

アンピシリン、カナマイシン耐性菌の検索では、各々の手洗い方法による合計人数72名の被験者のうち、アンピシリン耐性菌保有者は7名(9.7%)、カナマイシン耐性菌は20名(28.0%)であった(表2)。また、耐性菌構成率の平均はそれぞれ1割前後であった(表3)。

考 察

3学年にわたる実習結果のデータを概観すると、0.1%塩化ベンザルコニウム、通常石鹼+0.1%塩化ベンザルコニウム、70%エタノール、ウエルパスで効果が確認された。指先に存在し、普通寒天培地に

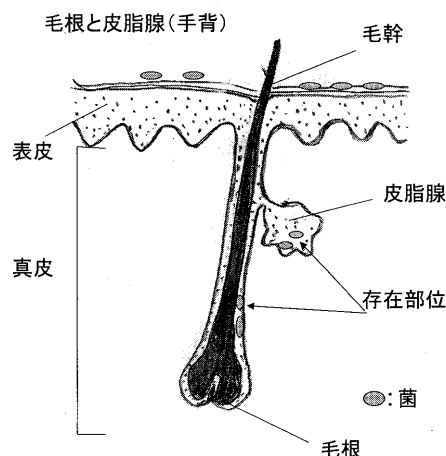


図2 皮膚における細菌の存在部位
表皮、毛根(手指では手背)、皮脂腺において細菌が存在する可能性のある部位を示した。

37℃、24時間で生育する菌についてはこれら4剤間での有意差はなかったが、臨床の場合においては使用目的(標的となる菌)により使い分けが必要である。通常石鹼・市販薬用石鹼について、個々のデータをみるとむしろ増加している場合があった。この結果の一因として、これまでの報告⁸⁻¹⁰⁾から、皮膚と共に深部に存在している表皮ブドウ球菌やアクネ菌などの常在菌が、通常石鹼や市販薬用石鹼の使用時に失われた皮脂成分と共に皮膚表面に湧出した(図2)ことが考えられる。

石鹼による手洗い後に検出された菌が皮膚深部から湧出したのであれば、健康人には無害な常在菌である場合が多い。従って、この2剤による手洗いも表面に付着している有機物や最上層に新たに付着した感染症を引き起こす通過菌を除去するという観点からは有用であることになる。今後、石鹼での手洗い後に検出さ

れた細菌が、常在菌か通過菌かを同定することも課題である。

塩化ベンザルコニウム（逆性石鹼）は、長鎖のアルキル基が溶液中で陽イオンとして解離した界面活性が主体となる石鹼で¹⁾、汚染物の消毒・手洗い・床の清拭・ガラスや金属器具の消毒²⁾に広く使用される。また、陽イオン型界面活性剤であるため、陰イオン型界面活性剤である通常石鹼や有機物の混入で著しく効果が減少することから、手洗い前に通常石鹼で汚れを落とし十分なすすぎを行うことが重要である。通常石鹼との併用後に十分な効果が得られなかった例があるが、通常石鹼のすすぎが不十分だった可能性と有機物の混入が考えられる。この中で、学生レポートの考察から、被験者がハンドクリームを使用していたことが判明した。手の荒れを防ぐために使用しているハンドクリームはグリセリン、尿素等の有機物を多量に含むことから、逆性石鹼の効果に影響を及ぼすことが推測できる。今後、ハンドクリーム使用と界面活性剤の消毒薬効果の関係についても検討していく余地がある。一方、このような例外は統一した実験系では生じにくい現象である。学生たちに実習を通じて、さまざまな要素が実験にあるいは実際の手洗い効果に影響を及ぼすことを実感させる事例としては有効であったと考える。

70% エタノールおよびウエルパスのアルコール系は浸透力が大きく、皺や毛穴の奥まで成分が行き渡るため十分な効力を発揮し表皮常在菌を含めた総菌数が激減したと考えられる。また、70% エタノールは連続使用で肌荒れを引き起こしやすいことから、エタノール消毒の励行はハンドクリーム使用者を増加させる可能性がある。今後ハンドクリームの併用が、70% エタノールや、イソプロパノール、ジェルローションタイプ消毒剤、ウエルパスといったアルコール系消毒薬の手洗い効果にどのような影響を及ぼすのか塩化ベンザルコニウムの場合と比較して研究を進めていきたい。

今回の実験では、医療現場での増加が問題となっている抗生物質耐性菌の分布状況について、代表としてアンピシリン、カナマイシンを用いて検索した。アンピシリンはグラム陽性菌、グラム陰性桿菌に有効な広域ペニシリンであり、ヒトに対してだけでなく畜産・水産養殖業にも広く用いられている¹⁾。また、カナマイシンは結核菌に対しても使用される広域抗菌スペクトラムをもつ抗アミノグリコシド系抗生物質であり、両薬剤とも長年使用されている¹⁾。

今回市中においても、一定の割合で薬剤耐性能を持つ菌が検出されることが再確認できた。今後、自然耐性を持つセラチア菌等であるか、医療行為により新たに薬剤耐性能を獲得した菌であるかを判定し、市中での薬剤耐性獲得菌の経年動態を調査していきたい。また、被験者となった看護学生の耐性菌保有者が、医療現場に出ることによってどのように変化するのか追跡することも課題のひとつといえよう。

謝 辞

本研究にあたり、ご協力いただいた藍野大学理学療法学科野田亨教授に感謝申し上げます。なお、本研究は基礎医学実習で得られたデータを使用させていただきました。

本稿における研究は、平成18年度藍野大学校外研究費助成金により推進された。

文 献

- 1) 岡田淳, 設楽政次他. 代表的な消毒薬. In: 微生物学/臨床微生物学(臨床検査学講座). 東京: 医歯薬出版; 2000. p. 54, 71.
- 2) 児島純司. 臨床微生物学. In: 児島純司編. 臨床検査技師国家試験対策エッセンス・プラス. 大阪: メディカ出版; 2004. p. 376-9.
- 3) 伊藤機一. 細菌(微生物)検査. In: 臨床検査(新版看護学全書 別巻5). 東京: メヂカルフレンド社; 1993. p. 140.
- 4) 山本恭子, 高橋泰子他. 手洗い過程における手指の細菌数の変化から見た有効な石鹼と流水による手洗いの検討. 環境感染 2002; 17(4): 329-34.
- 5) 山田寛. 仮説をたしかめよう. In: 医療・看護のためのやさしい統計学. 東京: 東京図書; 2002. p. 59-109.
- 6) 田代嘉宏. 適合度の検定. In: 確率と統計要論. 東京: 森北出版; 1979. p. 97, 143.
- 7) 広瀬幸美, 矢野久子他. 衛生的な手洗い実習における看護学生への教育効果. 環境感染 1999; 14(2): 123-6.
- 8) 山本恭子. 手洗い技術のエビデンス. 臨床看護 2003; 29(13): 1924-33.
- 9) 小島英明, 下正宗他. 人体をおおう組織の構造と機能. In: 下正宗. 人体の構造と機能(コアテキスト1). 東京: 医学書院; 2003. p. 32.
- 10) 三輪木君子. 感染予防に関する教育方法の検討——手洗いの効果を用いて——. 静岡県立大学短期大学部研究紀要 2003; 17-W.
- 11) 矢野郁也, 内山竹彦他. 細菌学総論. In: 病原微生物学. 東京: 東京化学同人; 2002. p. 61.