

皮膚，鼻粘膜に常在する細菌を利用した
市販除菌商品の効果に関連する基礎研究
—— 市販されている商品が表記どおり除菌，殺菌効果があるのかの確認実験 ——

青 木 武 生

群馬県立県民健康科学大学

群馬県立県民健康科学大学紀要 第16巻 別刷

(令和3年3月発行)

報 告

皮膚，鼻粘膜に常在する細菌を利用した
市販除菌商品の効果に関連する基礎研究

——市販されている商品が表記どおり除菌，殺菌効果があるのかの確認実験——

青木 武生

群馬県立県民健康科学大学

目的：以前より大量の除菌，殺菌商品が販売されているが，一部の商品については殺菌効果が疑われことから，その効果を比較検証した。

方法：関連するいくつかの予備実験を基礎に，手指や鼻腔内に由来する細菌のSCD寒天培地に出現するコロニー数を用いて，消臭剤，アルコール製剤，アルコール系ジェル，ベンザルコニウム系消毒剤，次亜塩素酸水の4種類について，商品の効果を確認した。

結果：アルコールに類する物が含まれている消臭剤，アルコール製剤およびアルコールを含むジェル剤，塩化ベンザルコニウムで一定の効果があつた。しかし，明らかにアルコール濃度の低いアルコール製剤，アルコールを含むジェル剤や，規格表記に準じていない市販の次亜塩素酸水は，効果が無かつた。

結論：結果は，生物試料の限界としての播種方法の定量性に問題点があり，結果は明確ではなかつたが，市販商品の表示に多くの問題点があることが判明した。

キーワード：常在菌，ブドウ球菌，大腸菌，市販除菌商品，アルコール殺菌，次亜塩素酸水

1. 緒 言

以前より，細菌に対する手指殺菌・消毒剤としてはアルコール製剤（濃度80%以上）ポビドンヨード（10%液），塩化ベンザルコニウム（0.05%以上）などがあり，特にアルコール製剤は，人体に対する作用が少なく，効果も安定しているとして，食品衛生管理^{1,4)}や，医療現場でアルコール単独溶液および，塩化ベンザルコニウムとアルコールの混液として多用されてきた^{2,4)}。次亜塩素酸ナトリウムも0.02%相当の濃度で医療器具の消毒薬として推奨されてきた^{3,4)}。

最近市販されている次亜塩素酸水は，調理器具や容器，野菜・果物等の殺菌方法や，食品調理施設等における衛生管理の一環（食品添加物）とし

て，正しい製造法で作製されたもの（塩酸又は塩化ナトリウム水溶液を電気分解した直後）では，次亜塩素酸ナトリウムよりも強い効果があるとされているが⁵⁻⁷⁾，適正でない方法で製造されたものもあり，市販されている商品の中には，必要な表示（製法と原料，塩素濃度とpH，製造日，使用可能期間など必須事項）が無いものがあることから，神奈川県健康医療局 生活衛生部生活衛生課や独立行政法人製品評価技術基盤機構METIなどでは注意喚起がなされている⁸⁾。

市販の商品の微生物への効果を混乱させているものに，殺菌，消毒，除菌の用語が原則性を欠いて表記されていることがある。整理してみると^{9,10)}，消毒（disinfection）は食品衛生法と薬事法においても定義された言葉であり，細菌等をある程度死

滅させて感染症を防止することで、これらを行うためにエタノールや塩化ベンザルコニウムが用いられる。一方、滅菌 (sterilization) は、物理化学的に完全に微生物などを死滅させることを意味し、高圧滅菌, ガンマ線滅菌, EOG 滅菌, 紫外線殺菌, 煮沸消毒などがある。(薬事法的には、これらの他に、すべての微生物が死滅するとは限らない煮沸滅菌法やエタノールや次亜塩素酸塩を用いてある程度菌を減少させる手法も含まれており、食品工業規格や教科書的な滅菌の定義との乖離がある。) 除菌 (sanitization あるいは removal of microorganisms) は食品衛生法のみで定義されたことばで、食品の安全性、健全性、劣化防止を確保するための手段であって、除去されたものが生きている場合が通常で、それ以上の明確な定義は存在しない。(食品工業における微生物制御的には) 除菌に用いる物質として次亜塩素酸ナトリウムや、界面活性剤、第四種アンモニウム塩などがある。

一般的な細菌培地には、LB 寒天培地や SCD 寒天培地が良く用いられる。これらの培地に試料を塗布し、36℃恒温器の24時間の培養することで、細菌をコロニーとして可視化できるように、試料中の菌の有無や数を、簡単に測定できる。

著者は、検証の利便性という観点から、筆者の皮膚や鼻粘膜に存在するブドウ球菌、大腸菌を材料に、基礎知識を得るためのいくつかの予備実験を行った後に、市販されている除菌、殺菌商品の効果を検証した。なお大腸菌および、ブドウ球菌に関しては、これらの菌の選択培地における出現、およびグラム染色像から確定した。

II. 材料と方法

すべての実験を行う前に、本学の実験室二か所、大学食堂およびその他の部屋の空気中に存在する落下細菌の種類および数を調査した。また、硬貨、鍵、大学食堂の机の上5か所、木製手摺3か所、

ドアノブ3か所に存在する細菌の付着についても調べた。方法としては、それぞれの場所を綿棒で四回拭いて、SCD 培地にサンプルを塗布した。

また、プッシュ式の泡洗剤 A を使用した場合の手洗いの効果の比較 (2 回手洗い, 1 回手洗い + アルコール製剤, アルコール製剤のみ) (SARAYA のホームページの衛生的手洗いおよび消毒を参考に、手洗いと濃度 75% 以上のアルコール製剤による消毒を 30 秒程度行い、手洗いの場合には、タオルペーパー3枚で水分を拭きとった) を行った。手指に関するスタンプ操作は、筆者が朝起きてから、スタンプまでどの場所に触ったのか管理できるという理由から、異なる日の午前9時に行った。

また、寒天培地プレート上の筆者鼻粘膜由来の細菌に対するプッシュ式泡洗剤の効果は、同泡洗剤約 100ml を 1,000 倍希釈して水溶液として検証を行った。

市販の除菌目的の商品については、その効果を検証するためには、筆者の皮膚や鼻粘膜に存在するブドウ球菌、大腸菌を用いた。著者の指を培地プレートに直接スタンプした (主に左右の第1~4指)。鼻腔からは、市販綿棒を粘膜にあて、綿棒を一回転させ採取し、プレートに図形を描いて塗布した。鼻腔からの試料の採取は、図1に示すように、侵襲性を加味して、左右鼻腔の三か所から一日1回程度採取した。(よって3枚/日しかプレートは作製できないことになる) (それぞれ、図1A, B, C 参照)。

大腸菌とブドウ球菌は、X-GAL 寒天培地 (図2D) (大腸菌の選択培地) とマンニット食塩寒天培地 (ブドウ球菌の選択培地) で選択的に増えること、および火炎固定後、グラム染色 (和光純薬, A 液; 石炭酸ゲンチアナバイオレット液, B 液; ルゴール液, C 液; チールネルゼン液) を行い、顕微鏡像で同定した (図2A, B, C 参照)。なお同培地でも同定できないものについては本学微生物

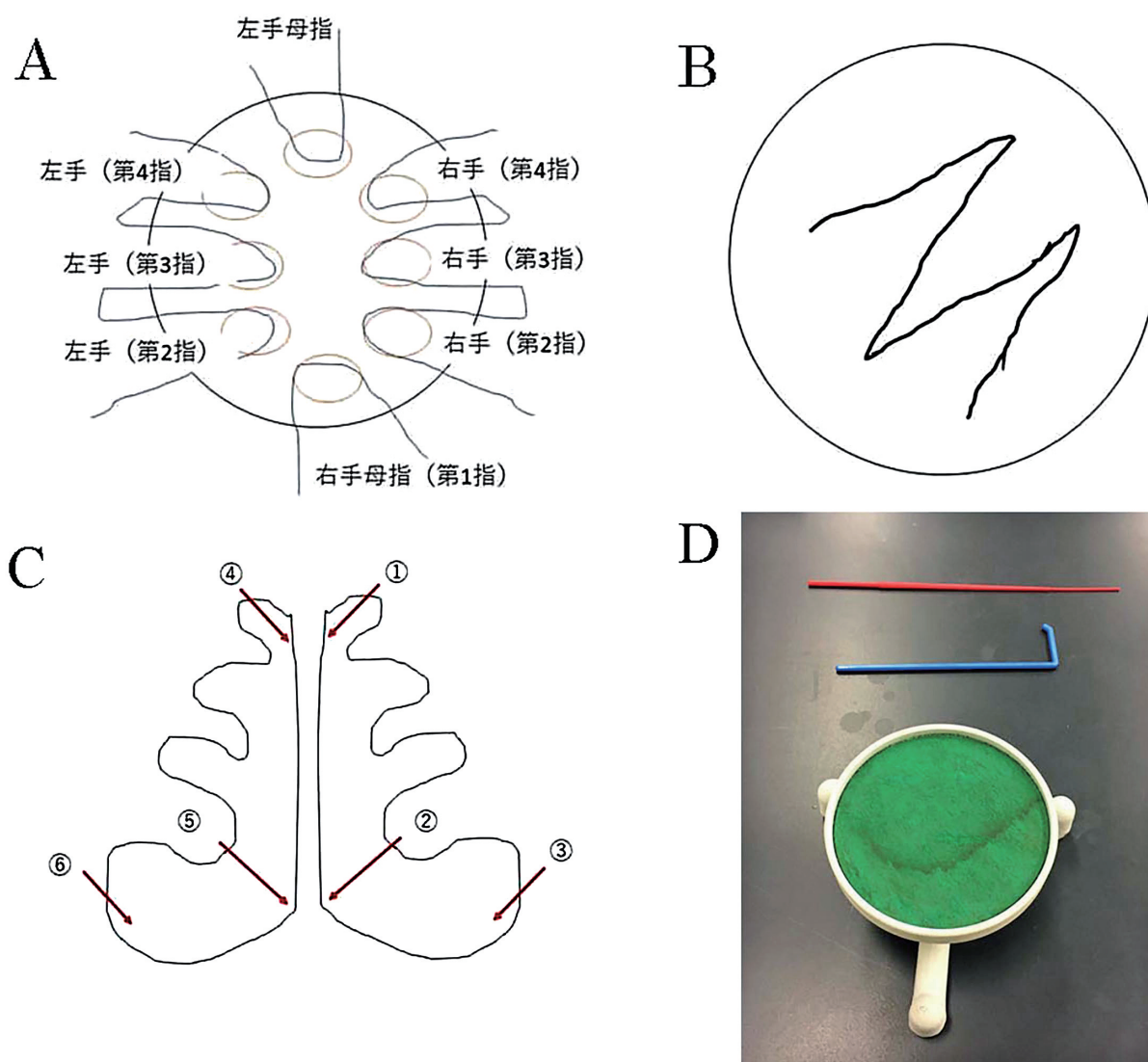


図1 A；培地プレートに対する手指スタンプの方法. B；ディッシュのサイズは90mmのものを使用し，綿棒で採取したサンプルをプレート上に播種した. C；鼻粘膜のサンプルの採取場所. D；出現したコロニーの種類を確認するために，選択培地に再度播種する場合，スライドガラスにサンプルを移す場合，あるいは液体培地に移す場合に使用した使い捨てニードルおよびスプレッダー，ターンテーブル.

物担当非常勤教員の臨床検査技師に同定していただき，筆者の手指，鼻粘膜にはグラム染色陽性で，大腸菌よりも長い杆菌として観察される *Bacillus* の一種の出現も確認した.

筆者鼻粘膜由来の3種類（大腸菌，ブドウ球菌，*Bacillus* の一種）の細菌にたいし，除菌，殺菌を表記してある市販商品を用いて，殺菌効果および増殖抑制効果があるのか実証実験を行った．SCD 寒天培地，マンニット食塩寒天培地，X-GaL 寒

天培地はすべて蒸留水に溶かし，オートクレーブにかけて滅菌溶解させた．オートクレーブの設定温度は120度20分間で，すべてクリーンベンチ内で，90mm×15mmのポリスチレン製シャーレに，寒天培地を20ml流し込んでプレートを作成した.

プレートは36℃の恒温器（アズワン，大型インキュベーター，SIC-350）で24時間培養したが，市販品の多くは液体であるので，クリーンベンチ内で30分風にあてて乾燥させるが，それでも乾

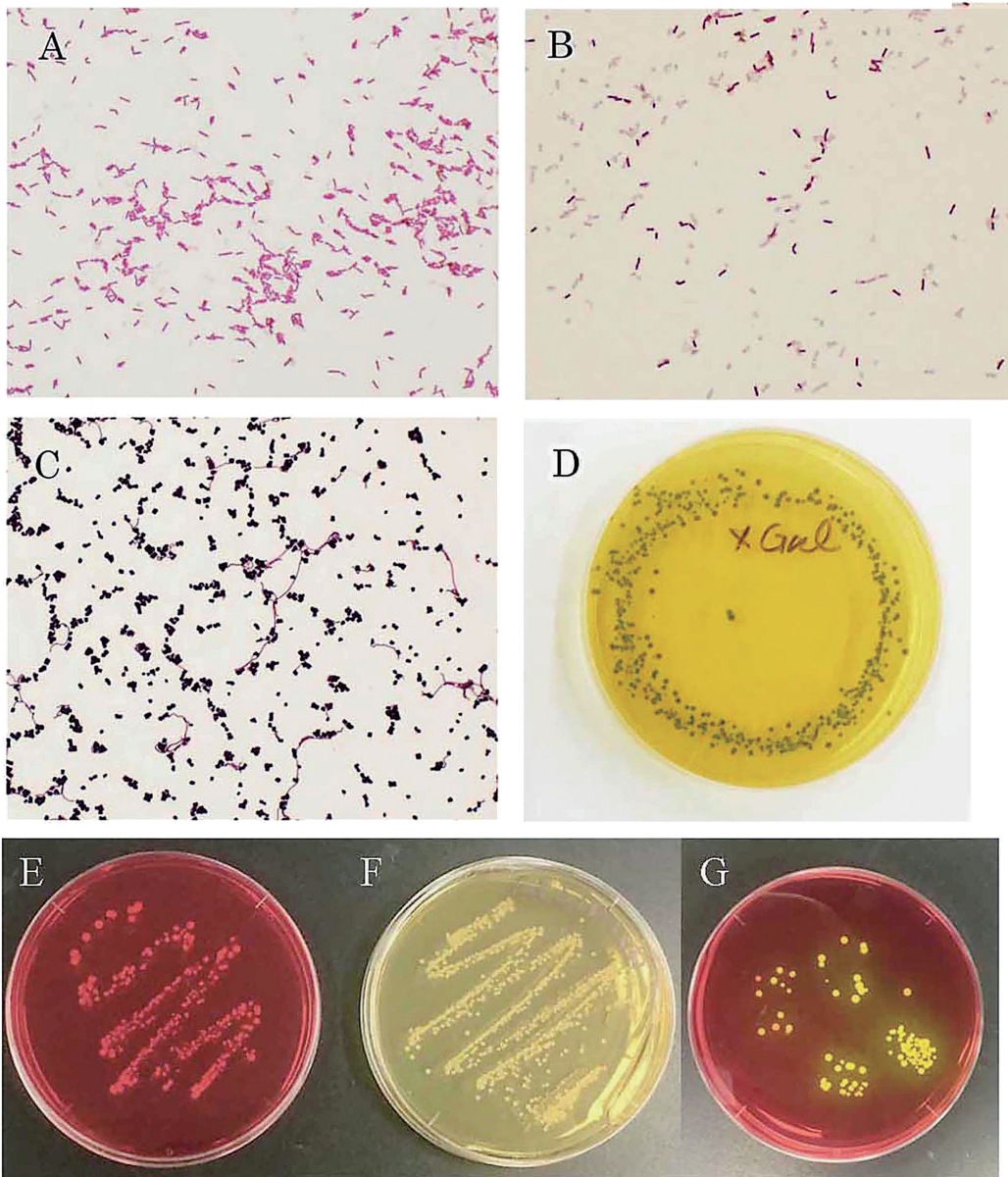


図2 グラム染色した大腸菌およびブドウ球菌の顕微鏡像 (A-C) と選択培地としての X-Gal 寒天培地, マンニット食塩寒天培地と SCD 寒天培地の比較

A; 筆者の鼻粘膜から採取した大腸菌のグラム染色顕微鏡像, B; DH α 大腸菌のグラム染色顕微鏡像, C; ブドウ球菌のグラム染色顕微鏡像, 場合によっては像で示すよう *Bacillus* の一種が混入する場合がある. D; 大腸菌の選択培地 X-Gal 培地で増殖した大腸菌 (コロニーは紺色を呈する), E; マンニット食塩寒天培地上に出現した鼻粘膜由来表皮ブドウ球菌のコロニー, F; SCD 寒天培地上に出現した鼻粘膜由来細菌のコロニー, G; マンニット食塩寒天培地に出現した手指由来黄色ブドウ球菌のコロニー (黄色を呈する)

乾燥できない場合 (ジェル状のもの) には, 一定時間後, プレート面に接触しないようにして, ドアを閉鎖した恒温器内で, 逆さにして液体を除去した.

なお, 筆者の作製したプレートが汚染されてい

ないこと, 筆者由来の大腸菌やブドウ球菌の抗生物質に対して感受性があることについての確認を行っておいた.

消臭剤系商品としては, 消臭剤 A (実測アルコール濃度 8%, 殺菌成分不明), 消臭剤 B (実測アル

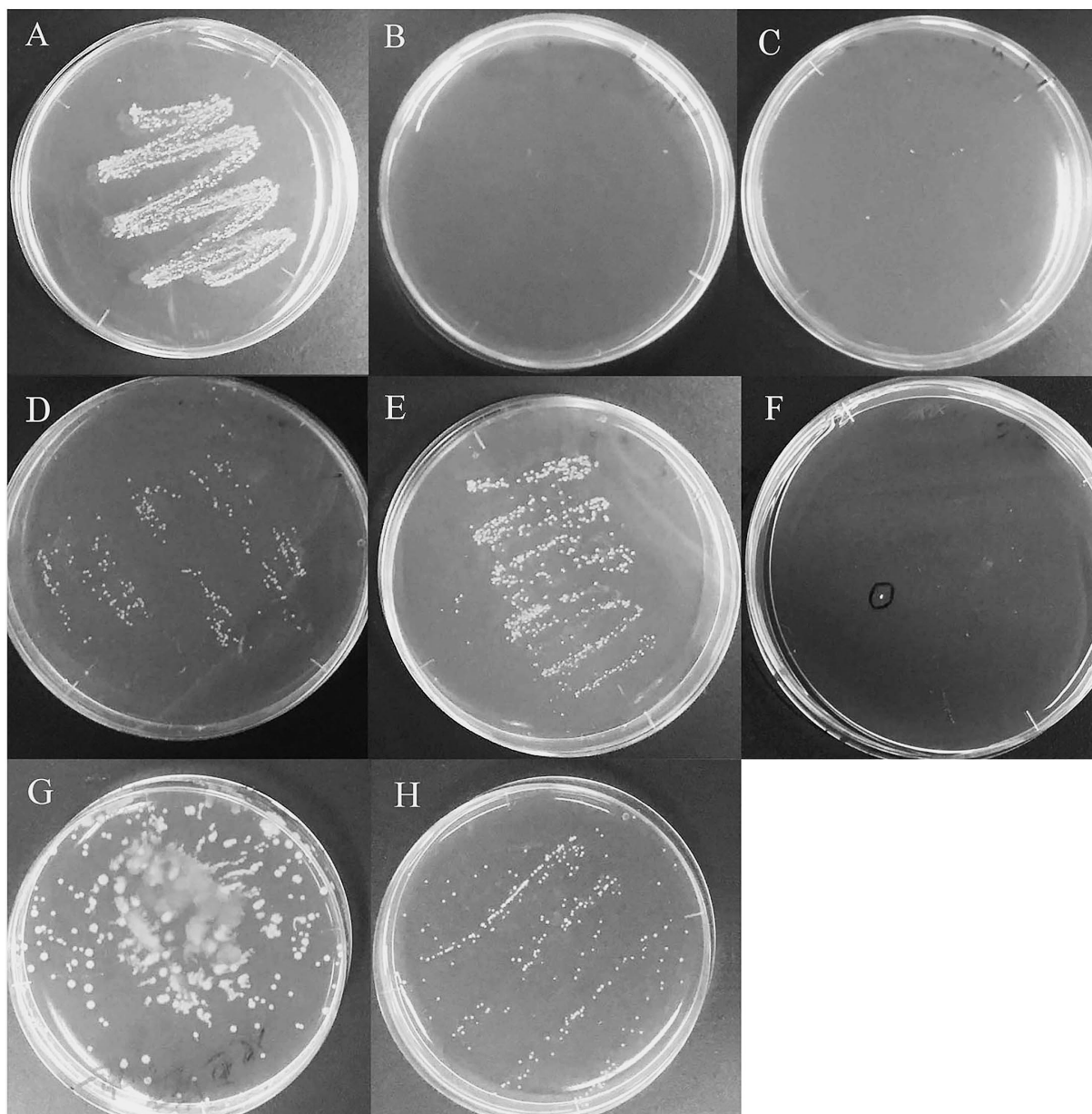


図3 SCD寒天培地に播種した鼻粘膜由来常在菌に対する市販除菌商品の効果

A：対照例，B：消臭剤Aをスプレーした例，C：消臭剤Bをスプレーした例，D：アルコール製剤Bをスプレーした例，E：アルコール系ジェルBを流し込んだ例，F：塩化ベンザルコニウム製剤Aをスプレーした例，G：次亜塩素酸水Aをスプレーした例，H：次亜塩素酸水Bをスプレーした例（方法①）

コール濃度15%，殺菌成分不明），消臭剤C（実測アルコール濃度25%，殺菌成分不明），消臭剤D（実測アルコール濃度17%，殺菌成分不明）を用いた。

アルコール系除菌商品としては，アルコール製剤A；表示アルコール度数67%（実測アルコール濃度85%），アルコール製剤B；アルコール度数，

表示無し，プロピレングリコール含む（アルコール濃度計測不可能），アルコール製剤C；表示アルコール度数75%（実測アルコール濃度75%），アルコール製剤D；表示アルコール度数75%（実測アルコール濃度75%），アルコール製剤E；表示アルコール度数58%（実測アルコール濃度68%），アルコール製剤F；表示アルコール度数

57% (実測アルコール濃度 62%) を用いた。

アルコール系ジェルとしては、アルコール系ジェル A (アルコール 85%)、アルコール系ジェル B (アルコール 74%) アルコール系ジェル C (アルコール 75%) を用いた。この種の商品は、粘度の高い B 及び C は、どのようにしても量が正確に測定できなかったの、概算で適用した。

ベンザルコニウム系消毒剤としては、ベンザルコニウム系消毒剤 A；ベンザルコニウム塩化物 0.05% (添加物としてグリセリンおよびアルコール 70%)、ベンザルコニウム系消毒剤 B；ベンザルコニウム塩化物 0.05% (添加物としてアルコール 63%) を用いた。

これらの商品はスプレーすることによって、サンプルが飛散する可能性があるの、別の容器に移して、マイクロピペットで正確に 5ml 計測して、プレートに移し、5 分間処理したのちに、液を取り除いた。

次亜塩素酸水としては、次亜塩素酸水 A (100ppm, 酸性度や pH の表示無し)、次亜塩素酸水 B (濃度記述無し、弱酸性) を使用した。なお次亜塩素酸水 B については特に、①サンプルに直接スプレーした (飛散の可能性あり) 場合と、②サンプル瓶に集めた液をプレートにそそぐ方法を区別して行った。次亜塩素酸水 A は、どちらの方法でも結果に差が無かったので、次亜塩素酸水 A については、結果は区別しなかった。

プレートに現れるコロニーは、コロニーが数えやすいようにプレートを裏返し、iPhone で撮影し、対照実験に比較して、細菌の増殖が阻害、抑制されるのかをコロニー数を数えて確認した。画像は 2.2GB であり、比較した画像は Adobe Photoshop CS5 で編集した。

なおこれらの実験では出現するコロニー数に幅があったり、多様な細菌が出現しその種類を同定することができない場合があるので、筆者由来の大腸菌および、ブドウ球菌の希釈液を作成し、常

にある程度一定のコロニーを形成する液を作製してみた。その場合、図 1D の示すように試料の採取には使い捨てニードルで行い、播種には、ターンテーブル上で、スプレッターを用いて播種した。単離した菌は、グリセリン 10% を加えて冷凍保存した。希釈には、大腸菌では、滅菌蒸留水を、ブドウ球菌では専用希釈液 (緩衝ペプトン水) を用いた。

アルコール濃度を測定するために Balance World Inc のポータブルアルコール屈折計 0~80% (KETOTEK model RHW-80ATC) を用いて測定した。その測定の中で、アルコール性ジェルがプレート上において液体化した状態において、アルコール濃度が低下したものがあつた。低下した 2 つの商品の場合には、75% → 48% および、74% → 27% であつた。

なお、コロニーの減少の割合については、実験群のコロニー数 / 対照群のコロニー数を % で求め、その指数を 100 から引いた数を減少率とした。

Ⅲ. 結 果

1. SCD 寒天培地の滅菌状態の確認、学内のさまざまな場所における落下細菌および机、手摺、ドアノブにおける基本的環境調査

実験室 1 (紫外線ランプ有り) 実験室 2 (紫外線ランプ無し) の 2 つの部屋で、大学食堂、その他の部屋で落下細菌の量を調べた (表 1-1)。結果は、紫外線ランプの有無によって、あまり差が無かつた。人の出入りの激しい食堂では、他の場所の 8 倍程度コロニーが形成された。結果から、①管理された部屋でも、扉の開け閉めで、ある程度の量の落下細菌が侵入すること、②人の出入りの激しい部屋の方が、落下細菌が多いこと、これらの部屋では、大腸菌と *Bacillus* の一種の両方が多数出現するが、ブドウ球菌は少数であることがわかつた。また机の上に付着している細菌にアルコール製剤 A、および消臭剤 A を噴霧した場合

表 1-1 SCD 寒天培地に出現するコロニー数による落下細菌の把握

	平均コロニー数	サンプル数
手指細菌数 SCD 寒天培地	56.4 ± 27.4 個	n = 14
鍵に付着している細菌	6.8 ± 7.3 個	n = 5
硬貨に付着している細菌	2.4 ± 2.2 個	n = 5
落下細菌 実験室 1 (8 時間)	4.6 ± 4.5 個	n = 4
落下細菌 実験室 2 (8 時間)	5.0 ± 3.5 個	n = 4 部屋は事前に紫外線ランプで滅菌
落下細菌 大学食堂 (12 時間)	39.2 ± 13.2 個	n = 5
落下細菌 その他の部屋	15.0 ± 6.0 個	n = 4
落下細菌 大学食堂机上	7.8 ± 2.9 個	n = 5
ドアノブ (業者により毎日 1 回除菌済み)	2.3 ± 1.4 個	n = 3
木製手すり	7.3 ± 4.1 個	n = 3

表 1-2 SCD 寒天培地に出現するコロニー数による手指常在菌に対する除菌商品の効果

	平均コロニー数	平均コロニー数	平均コロニー数	サンプル数
SCD 寒天培地	56.4 ± 27.4 個			n = 14
手指常在菌に対する洗剤の効果	手洗い無し 39.8 ± 20.7 個	手洗い 1 回後 24.1 ± 11.5 個	手洗い 2 回後 8.9 ± 14.5 個	n = 7 最終的コロニー減少率 52.5%
手指常在菌に対する消臭剤 1 の効果	手洗い無し 56.4 ± 27.4 個	消臭剤 1 後 32.0 ± 5.6 個		n = 4 最終的コロニー減少率 43.3%
手指常在菌に対する手洗いと ALC 製剤 A の効果	手洗い無し 37.3 ± 27.5 個	手洗い 1 回後 19.7 ± 9.0 個	ALC 製剤 1 後 2.5 ± 1.4 個	n = 6 最終的コロニー減少率 93.3%
手指常在菌に対する ALC 製剤 A 単独の効果	手洗い無し 50.2 ± 18.3 個	ALK 製剤 1 後 3.6 ± 2.6 個		n = 5 最終的コロニー減少率 93.8%
手指常在菌に対する BeCl 製剤 A の効果	手洗い無し 79.7 ± 18.9 個	BeCl 製剤 1 後 5.3 ± 5.4 個		n = 3 最終的コロニー減少率 93.4%

アルコール (ALC)、塩化ベンザルコニウム (BeCl)

には、それぞれ 84%、61% のコロニーが減少することがわかった。

さらに食堂の机および付近の手摺、ドアノブについても付着細菌を SCD 寒天培地で調査した。本学では、10 月から清掃業者が、毎日学生が利用する手摺やセンターホールの机、ドアノブなどを次亜塩素酸ナトリウム希釈液で滅菌していることは考慮しつつ、現在の基本的環境状態も数値化してみた (表 1-1)。結果からは、細菌の量は少ないことが判明した。意図的に衛生的でない場所 (段ボールの表面など) に触って、SCD 寒天培地に手指をスタンプすると、90 個以上のコロニーが出現することを考慮すると、清掃業者の毎日行

われている除菌作業は成果を収めていると思われる。

2. 著者の手指に常在する細菌と衛生的手洗いとアルコール製剤の手指への効果の検証

手指の衛生的手洗いによる細菌への効果とアルコール製剤の効果について検証した (表 1-2)。

まず、著者の手指に常在する細菌がどのような種類のものかを判定するために、SCD 食塩培地とマンニット食塩培地で確認したところ (図 2, E-G)、手指の常在菌は、大腸菌および、表皮ブドウ球菌か、黄色ブドウ球菌であると考えられた。また鼻腔内の常在菌は SCD 培地とマンニット食

塩培地の結果から、表皮ブドウ球菌のみであると思われる。これらの細菌についてはグラム染色を行い顕微鏡で観察し確認した（図 2A；DH α 大腸菌，図 2B；筆者由来の大腸菌，図 2C；筆者由来のブドウ球菌および *Bacillus* の一種）。大腸菌については X-GAL 寒天培地でコロニーが緑色に変化することを確認した（図 2D）。

鍵や札，貨幣などにも手指に由来するブドウ球菌や大腸菌が付着していると考えられたので，検証してみた（表 1-1）。SCD 寒天培地での検証では，コロニー数から類推すると，思ったほど汚染されていなかった。これらは，ウェットテッシュ（殺菌剤として，塩化ベンザルコニウムがしみこませている）で拭ったところ，ほとんどのものは消失した。

手指に常在する細菌に対する衛生的手洗いの効果の結果では，細菌の種類についていえば，手洗い無しの場合のスタンプでは，大腸菌とブドウ球菌が両方出現していたが，1 回目の手洗いで，大腸菌はほぼ消失しており，2 回目の手洗いでブドウ球菌の数が減少したことから（表 1-2），洗剤による手洗いは，大腸菌に関して非常に効果があることがわかった。① 2 回の手洗いでも，コロニーの減少について完全な結果が得られなかったことについて，池原らは，タオルペーパーの量も重要であるが，完全に乾燥していることの重要性を指摘している¹¹⁾。今回の検証において，ペーパータオル 3 枚を使用して手指を乾燥させたが，完全に乾燥しているかについては配慮しなかった点に影響が出たと思われる。② もう 1 点は，ディッシュの蓋の汚染への配慮である。手洗いをを行った手で，ディッシュの蓋を触ったことが原因で，汚染物が手に付着した可能性は大いにある。これらの 2 点に配慮しつつ再度検討する必要性を感じている。

次に一回手洗いした後，アルコール製剤 A で殺菌した場合のコロニー数の変化についてコロニー数の減少率でみると（表 1-2），「手洗い無し」

を 100 とすると，最終的に 7 まで減らすことができた。ちなみに，一回も手洗いを行わず，アルコール製剤のみの殺菌でも同様の効果が得られた（表 1-2）。このことから，細菌に関しては，手洗いも重要であるが，アルコール製剤を十分量利用し殺菌することが重要であると考えられる。なお消臭剤系の商品では，まだ検証の途中であるが，アルコール製剤の半分程度の効果が得られた（表 1-2）。

手指のブドウ球菌は日によってばらつきがあるので（13～95 個／ディッシュ），以下の実験は鼻腔粘膜ブドウ球菌を用いた。

3. 鼻腔粘膜細菌を利用したプッシュ式泡洗剤の効果の検証（SCD 寒天培地）

プッシュ式の泡洗剤 A を 1000 倍希釈した水溶液の効果については，（鼻腔粘膜細菌をプレートに播種した細菌が十分隠れる量の水溶液（5ml）を 5 分程度手動で攪拌させた），コロニーを 95% 程度減少させる効果があることが判明した（表 2-1）。

4. 鼻腔粘膜常在菌に対する除菌効果を掲げる商品の効果の検証（SCD 寒天培地）

1) 消臭剤系商品の効果の検証

消臭剤系商品については，4 種類の商品について検証した。いずれの商品もアルコールが少量含まれていた。また，その他に，さまざまな薬品が含まれていたが，その種類と濃度は不明であり，それらの薬品の細菌に関する検討は行わなかった。消臭剤 A～D のどれもコロニーの減少率は 96% 以上であった（表 2-2，図 3B，3C）。これらの商品は，プレート上のサンプルにかけた時，液が濁ってきたことから，タンパク質を変性させる成分が含まれていると思われたが詳細は不明である。

2) アルコール系商品および塩化ベンザルコニウム系消毒剤の効果

アルコール系商品としては、アルコール製剤 A (アルコール 85%), アルコール製剤 B (アルコール含まれていない), アルコール製剤 C (アルコール 74%), アルコール製剤 D (アルコール 75%), アルコール製剤 E (アルコール 57%), アルコール製剤 F (アルコール濃度 62%) を用いた (表 2-3). なお、塩化ベンザルコニウム系消毒剤 A と B (ア

ルコール 70% および塩化ベンザルコニウム 0.05% その他を含む) は別の表にまとめた (表 2-4). アルコール製剤 A 製剤では 99.5% の減少率であったが、アルコール製剤 C ~ D および F ではあまり効果がなかった. またアルコール製剤 B はアルコールが検知されず、この例ではコロニーが増えた (図 3D). アルコール製剤 E ではアルコールは検出されたが同様にコロニーは増えていた. これはアルコール製剤 A に比べ他の商

表 2 SCD 寒天培地に出現するコロニーによる鼻粘膜常在菌に対する除菌商品の効果
表 2-1 洗剤の効果

	平均コロニー数	実 験 数	コロニー減少率
鼻腔の細菌数 SCD 寒天培地	380.5 ± 199.8 個	n = 12	
洗剤 A の効果	1.8 ± 1.8 個	n = 4	99.5%

表 2-2 消臭剤の効果

	平均コロニー数	実 験 数	コロニー減少率
鼻腔の細菌数 SCD 寒天培地	380.5 ± 199.8 個	n = 12	
参考 洗剤 (原液の 100 倍)	1.8 ± 1.8 個	n = 4	99.7%
消臭剤 A 実測アルコール濃度 8%	1.00 ± 0.71 個	n = 4	99.7%
消臭剤 B 実測アルコール濃度 15%	0.25 ± 0.49 個	n = 4	99.9%
消臭剤 C 実測アルコール濃度 25%	13.0 ± 6.5 個	n = 4	96.6%
消臭剤 D 実測アルコール濃度 17%	0 ± 0 個	n = 5	100%

表 2-3 アルコール製剤の効果

	平均コロニー数	実 験 数	コロニー減少率
鼻腔の細菌数 SCD 寒天培地	380.5 ± 199.8 個	n = 12	
アルコール製剤 A 実測アルコール濃度 85%	2.0 ± 2.9 個	n = 4	99.4%
アルコール製剤 B アルコール濃度測定不可能	518.3 ± 271.5 個	n = 4	※コロニー増加率 136%
アルコール製剤 C 実測アルコール濃度 75%	345.8 ± 46.7 個	n = 4	9.0%
アルコール製剤 D 実測アルコール濃度 74%	227.8 ± 155.5 個	n = 5	40.1%
アルコール製剤 E 実測アルコール濃度 68%	442.3 ± 11.1 個	n = 3	※コロニー増加率 116%
アルコール製剤 F 実測アルコール濃度 62%	162.6 ± 121.8 個	n = 5	57.3%

表 2-4 塩化ベンザルコニウム（+アルコール）製剤の効果

	平均コロニー数	実 験 数	コロニー減少率
鼻腔の細菌数 SCD 寒天培地	380.5 ± 199.8 個	n = 12	
塩化ベンザルコニウム製剤 A 塩化ベンザルコニウム 0.05% + エタノール 実測アルコール濃度 62%	0.7 ± 0.7 個	n = 6	99.8%
塩化ベンザルコニウム製剤 B 塩化ベンザルコニウム 0.05% + エタノール 実測アルコール濃度 63%	0 個	n = 5	100%

表 2-5 アルコールを含むジェル製剤の効果

	平均コロニー数	実 験 数	コロニー減少率
鼻腔の細菌数 SCD 寒天培地	380.5 ± 199.8 個	n = 12	
ジェル製剤 A 実測アルコール濃度 85%	0.3 ± 0.4 個	n = 4	99.9%
ジェル製剤 B 実測アルコール濃度 74%	78.6 ± 67.5 個	n = 5	75.1%
ジェル製剤 C 実測アルコール濃度 75%	4.2 ± 3.5 個	n = 6	98.7%

表 3 SCD 寒天培地に出現するコロニー数による鼻粘膜常在菌に対する次亜塩素酸水商品の効果

	平均コロニー数	サ ン プ ル 数	コロニー減少率
鼻腔の細菌数 SCD 寒天培地	380.5 ± 199.8 個	n = 12	
次亜塩素酸水 A 100ppm 酸性度, pH 記述無し	141.6 ± 61.7 個	n = 8	62.8%
次亜塩素酸水 B 弱酸性 方法 1 濃度, pH の記述無し	203.0 ± 87.3 個	n = 6	46.6%
次亜塩素酸水 B 弱酸性 方法 2 濃度, pH の記述無し	56.5 ± 19.7 個	n = 4	85.1%

品のアルコール濃度が低いことと、混入された他の薬品によって殺菌効果を阻害している可能性が示唆された（表 2-3）。

しかし、ベンザルコニウム系消毒剤 A と B（塩化ベンザルコニウム 0.05% とアルコール 60% 程度の混液）の場合には、コロニーの減少率は 99.8% 以上であり、塩化ベンザルコニウムとアルコールの相乗効果があると考えられた（表 2-4, 図 3F）。

3）アルコール性ジェル製剤の効果の検証

アルコール性ジェル製剤に関しては、3 種類の商品について、検証した（表 2-5）。鼻腔粘膜ブド

ウ球菌は、SCD 培地では通常 380.5 ± 199.8 個程度コロニーが現れるが、アルコール系ジェル製剤 A と C では 98% 以上のコロニーが減少していたが、ジェル製剤 B では 75.1% であった。この差について考えるとき、ジェルをプレート上での液化した状態における、アルコール濃度の低下が大きく影響していると考えられた。液化によって全く変化の無かった商品はコロニーを大きく減少させたが、低下したジェル製剤 B は 75.1% しか減少させなかった（図 3E）。この結果から、商品のジェルの成分が大きく影響してアルコール濃度が著しく低下してしまう物は細菌に対しての効果は弱く

なることが示唆された。

4) 次亜塩素酸水系商品の効果の検証

次亜塩素酸水系の商品については2種類を検証した。前橋市で一般的な店で売られている次亜塩素酸水で、政府や業界の指針に従っているものは発見できなかった。次亜塩素酸水 A では（今回取りあつかった物では、100ppm と濃度は記載されていたが、精製法や、期限、pH が記載されていなかった。サンプルへのスプレーで飛散の可能性について検討したが結果は同じであったので区別しなかった）、62.7%の減少率であった（表3、図3G）次亜塩素酸水 B については、サンプルへのスプレーで飛散している可能性を考慮し、①直接スプレーでの検証と、②別の容器に液をあらかじめストックして、プレートに流し込む検証を区別した。①の検証では、減少率は46.6%であったが（表3、図3H）②の方法では、減少率は85.1%であった。結果からは、次亜塩素酸水はスプレー容器からは直接使用するには適さないこと、適切な方法で使用すれば一定の効果があることが判明した。なお次亜塩素酸ナトリウムおよび次亜塩素酸水の濃度については、残留塩素濃度計測機後の課題とする。

5. 筆者の鼻粘膜から分離した大腸菌とブドウ球菌を定量化する試み（表4）

結果からみると、鼻粘膜由来のサンプルのコロニーについても数値が安定しない（87-815）ことから、筆者の手指および鼻粘膜由来のいくつかのサンプルから選んだ大腸菌やブドウ球菌を培養ストックしてここからサンプルを作製することを思いついた。保存したサンプルを滅菌水で1000倍希釈して、SCD培地に1~2 μ l播種したところ、常にある程度の範囲のコロニーを出現させることができた。表4に示すように、標準偏差も少なく、今後の検証には、このサンプルも利用することを考えている。

表4 分離した大腸菌、ブドウ球菌のSCD寒天培地に出現するコロニー数

	平均コロニー数	サンプル数
分離大腸菌 1	25.7 \pm 2.4 個	n = 3
分離大腸菌 2	276 \pm 9.2 個	n = 3
分離大腸菌 3	324 \pm 40.4 個	n = 3
分離ブドウ球菌 1	208 \pm 15.8 個	n = 3

考 察

今回、以前から指摘されていたように、手指消毒の手段として、1) 手を洗う場合には丁寧に洗う必要があること、2) 手ぬぐいよりも紙タオルで良くふき取る方が、効果があること、3) 手にアルコール等をスプレーする時には、十分量を使用する必要があることが、実証された形となった。4) 不十分な濃度と考えられる場合には、我々の結果でもアルコールに長め（2分間よりも10分間）にさらすことで、ブドウ球菌と考えられるものは、その増殖を完全に抑えることができた。また、5) 鍵の表面にも人の常在菌が付着していることが示されたが、これはウェット・ティッシュで拭うことで細菌の増殖は抑止できた。この操作は、スマートフォンなどの携帯電話にも利用できると思われる。

以前から手指衛生に関して、看護領域の先生方が検討を重ねている¹¹⁻²⁰⁾。例えば、医療施設において15秒間の手洗いの遵守率の低さに対する懸念から、医療従事者の10秒の手洗い効果を検討し、講習などのフィードバックの有無に関わらず、85%を超える滅菌率を示し、効果的な手洗いが行われていること、一般人よりも手洗い、アルコール消毒共に非常に意識的に行われていることが示されている^{12,14)}。また、洗剤ですすぎ後にペーパータオルで拭くことが除菌に有効であること¹¹⁾、エタノールが含まれるものであれば、液状およびゲル状にかかわらず、手指上の通過菌に対する減少効果には違いは無いことなどが示されている¹⁵⁾。

これらの論文以前の病院内感染予防の殺菌効果のある薬品に関しては、2つの古い論文があるが^{16,17)}、それ以降、市販の除菌商品には関心が払われていない。

今回の実験から、1回の手洗いでは、細菌は無くなならないこと、(かなり丁寧に洗う必要があること)、鍵や札にも細菌が付着していること、適切なメーカーの適切な濃度のアルコールや、高濃度のアルコールを含む塩化ベンザルコニウムを使用すれば、ほぼ細菌をゼロにすることができることが判明した。また意外なことに、消臭剤もかなりの効果を見込めることも判明した。また、2つのメーカーの次亜塩素酸水は効果が弱いこと、表示された濃度は、まったくあてにならないことが判明した。

また、アルコール75%と表記してあってもアルコール濃度が明らかに低いものがあった。ある商品は65%と表示してあっても実測値では57%であり、殺菌力はかなり低かった。また表示されているアルコール濃度があっても、殺菌効果の弱い商品も散見され、混入されている他の薬品が、その効果を弱めていると考えられた。

皮膚の常在菌や、鼻粘膜常在菌の濃度や量は、日によって大きくばらつく。その意味では、筆者の試料から分離した、大腸菌とブドウ球菌のストック資料は、今後の実験のサンプルとして利用価値が大きいと考える。

今回の実験は、実験に使用したプレートはすべて自作のものでおこなったが、滅菌環境に関しては、まったく問題が無かったが、手洗い実験において、完全に乾燥させることに注意を払うこと、ウェットティッシュタイプの除菌に関する検証の必要性、スプレータイプおよびジェルタイプの殺菌商品の液量の定量性の問題¹⁸⁻²⁰⁾、ティッシュの蓋のコンタミネーションにも注意を払う難しさ、残留塩素感知器などの機器を確保することも含め、改めて細菌実験の難しさを実感した。

参考文献

- 1) 平成30年10月改訂 日本食品洗浄剤衛生協会,【食洗協シリーズNo.18】食品衛生に大活躍!アルコール製剤—その1—(食品添加物)
- 2) 近藤静夫(2002):花王ハイジーンソリューションNo.1,手指衛生とCDCガイドライン,手指殺菌・消毒剤の科学(塩化ベンザルコニウムについての項目)
- 3) 辻 明良(2004):花王ハイジーンソリューションNo.7,病院感染対策と次亜塩素酸ナトリウム,医療現場における次亜塩素酸ナトリウムの特性と有用性
- 4) 新見明子(2007):感染予防の対策C消毒法,深井喜代子(編集),基礎看護学 基礎看護技術I 第2編 第4章,255-260,メヂカルフレンド社,東京
- 5) 薬事・食品衛生審議会食品衛生分科会添加物部会(平成19年3月20日開催)(2007年3月20日)次亜塩素酸水の成分規格改正の可否に関する薬事・食品衛生審議会,食品衛生分科会添加物部会報告書,次亜塩素酸水の成分規格改正に係る食品健康影響評価に関する審議結果
- 6) 食品,添加物等の規格基準の一部を改正する件について2012年4月26日 食安発0426第1号(平成24年4月26日)
- 7) 小林由佳,吉澤重克,金子誠二,清水敏克(2016):次亜塩素酸水と次亜塩素酸水の有機物存在下における殺菌効果およびウイルス不活化効果,日本環境感染学会誌,31(3):158-164
- 8) 独立行政法人製品評価技術基盤機構「次亜塩素酸水」等の販売実態について,令和2年6月29日版
- 9) 芝崎勲(1984):殺菌,静菌,除菌などの用語解説,日本食品工業学会雑誌 31(3):222-223
- 10) 山本政利(2016):微生物制御に係る用語 生

- 活衛生ニュース 3(1) 通巻 25 号 静環検査センター
- 11) 池原弘展, 山本恭子, 茅野友宣, 安井久美子, 荒川満枝, 鵜飼和浩 (2011): 石けん手洗い後にペーパータオルを用いた乾燥方法の除菌効果の検討, UH CNAS, RINCPC Bulletin (兵庫県立大学看護学部・地域ケア開発研究所紀要) 18: 1-8
 - 12) 森山由紀, 小林寛伊, 梶浦 工, 吉田理香 (2013): 10 秒間の短時間手洗いについての検討～一般人と医療従事者との比較～, Journal of Healthcare-associated Infection, 6: 40-43
 - 13) 山本恭子, 鵜飼和浩, 高橋泰子 (2002): 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鹸と流水による手洗いの検討, 環境感染, 17(4): 329-334
 - 14) 橋本由利子 (2018): 学生を対象とした手洗い前後の細菌数に関する研究, 東京福祉大学・大学院紀要, 8(2): 189-195
 - 15) 梶浦 工, 和田英己, 横田勝弘, 小林寛伊 (2009): 液状ならびにゲル状アルコール手指消毒薬の殺菌活性, Journal of Healthcare-associated Infection, 2: 53-56
 - 16) 白石 正, 丘 龍祥, 仲川義人 (1998): エタノール, イソプロパノール, メタノール変性アルコール製剤に関する殺菌効力の検討, 環境感染 13(2): 108-112
 - 17) 野田伸司, 渡辺 実, 山田不二造, 藤本 進 (1981): アルコール類のウイルス不活化作用に関する研究ウイルスに対する各種アルコールの不活化効果について 感染症学雑誌 55(5): 355-365
 - 18) 速乾性擦式手指消毒薬を用いた手指消毒の方法と使用量による効果の比較, 名古屋市立大学看護学部, 感染予防看護学 2012～2013 年度総合実習・看護研究Ⅱプレゼン資料
 - 19) 指先の除菌のための手指衛生の方法に関する検討—衛生学的手指衛生とウェットティッシュ(アルコール含有・アルコール非含有) 及び速乾性擦式手指消毒薬における手指衛生の効果の比較—, 名古屋市立大学看護学部, 感染予防看護学 2018～2019 年度 総合実習・看護研究Ⅱプレゼン資料
 - 20) 速乾性擦式手指消毒薬を用いた効果的な手指衛生の方法の検討—手指の乾燥状況, 手指消毒薬の擦り込み方法, 手指消毒薬の量の比較—, 名古屋市立大学看護学部, 感染予防看護学 2017～2018 年度 総合実習・看護研究Ⅱプレゼン資料

Basic Research on the Effects of Commercial Sterilization Products on Bacteria Using Resident Bacteria of the Skin and Nasal Mucosa

—— Experiment to Confirm Whether Products on the Market Have their Claimed Sanitization and Sterilizing Effects ——

Takeo Aoki

Gunma Prefectural College of Health Sciences

Objectives: Numerous commercial sanitization and sterilization products are available, but some of them products seem to be ineffective, so we compared them and verified their effects.

Method: Based on the results of preliminary experiments, the numbers of colonies appearing on SCD agar medium derived from bacteria (e.g., *Staphylococcus*, *Escherichia coli*) that are resident in the author's fingers and nasal cavity were counted after application of the different sanitization and sterilization products. The effects of the commercial products were compared and examined from several perspectives, such as deodorant, alcohol preparation, alcohol gel, benzalkonium disinfectant and hypochlorous acid waters.

Results: Deodorants containing alcohol-like substances, alcohol preparations and gels containing alcohol, and benzalkonium chloride exhibited certain effects. However, alcohol preparations with a clearly low alcohol concentration, gels containing alcohol, and commercially available hypochlorous acid waters that do not conform to the industry standards notation had no effect.

Conclusion: Although quantitation of the seeding method for the biological samples was problematic in the present study and may have affected the clarity of the results, the labeling on some of the commercial products tested was found to be inaccurate.

Keywords: indigenous bacteria, *Staphylococcus*, *Escherichia coli*, commercial sanitizers, alcohol disinfection, hypochlorous acid waters