

## 論 文

## 手指消毒方法の違いによる微生物コロニー数の変化

斎藤佳菜子<sup>1★</sup>, 本間和代<sup>2</sup><sup>1</sup>白幡歯科医院 (鶴岡市), <sup>2</sup>明倫短期大学 歯科衛生士学科

## A Change in the Number of Microbial Colonies by the Difference of Hand Antisepsis Methods

Kanako Saitou<sup>1</sup>, Kazuyo Honma<sup>2</sup><sup>1</sup>Shirohata Dental Clinic<sup>2</sup>Department of Dental Hygiene and Welfare, Meirin College

ヒトの生活環境には多種類の微生物が無数に存在しているため、歯科医療の現場では、手指の消毒は非常に大切な行動である。歯科医療従事者の手指が微生物にどの程度汚染されているか否か、日頃の手洗いににより、手指が確実に消毒されているか否か等の疑問を解決し、今後の歯科衛生業務実施時の感染予防に役立てるため、様々な条件下で手洗いおよび消毒を行い、手指の微生物残存数を調べた。

被験者はM短期大学歯科衛生士学科専攻科に在籍する女子学生4名で、手指微生物汚染検査用生培地に手の平を押し当てた後、37℃の孵卵器に入れ、48時間静置培養し微生物のコロニー数を調べた。また、SCD寒天培地と、防腐剤と殺菌剤の不活化剤が添加されているSCDLP寒天培地を用い、両者間のコロニー形成の違いについても調べた。

SCD培地では、未消毒の検体から種々の種類のコロニーが形成され、水洗後はコロニー数が減少した。また、ハンドソープ洗浄のみの場合に比べ、ハンドソープ洗浄後ウェルパス消毒をすると、全ての検体でコロニー数が増えた。この原因は、ウェルパスに含有されている塩化ベンザルコニウムの成分と、手の平に残った普通石鹼成分が互いの効果を打ち消しあったと推察される。しかし、5パターンの結果から有意差は見られなかった。これは、皮膚に存在している常在菌数の個人差が大きく、4名のみの被験者では結果が出せなかったと推察される。グローブ装着後ウェルパス消毒をすると、全ての人の手でコロニーが全く形成されなかったことから、この方法は効果的であると言える。SCDLP培地では、コロニー数が何倍も増える場合もあれば減少した場合もあり、個人差が非常に大きく、有意差がみられなかった。

普段から使用している石鹼や消毒薬の組み合わせ等についてよく理解し、今後の歯科衛生業務実施時の手指消毒に役立てていきたい。

キーワード：手指消毒方法、微生物コロニー数、変化

Keywords: Hand Antisepsis Methods, the Number of Microbial Colonies, Change

## I. 緒 言

ヒトの生活環境には多種類の目に見えない微生物が無数に存在している。微生物とは、肉眼で観察できない微細な生物の総称で、細菌、真菌、藻類、ウイルス、原虫などが含まれる。そのすべてがヒトに病害を与えるわけではなく、ヒトに感染症を起こす

のは、ごく一部の微生物である<sup>1)</sup>。

人が手をよく洗うという行為は、幼少の頃から自身が風邪を引いたり病気になったりしないために誰も行ってきた習慣的な行為であり、手指消毒は医療現場に限らず、日常生活においても感染防止のために十分に留意しなければならないことである。

口腔内には約500~700種に及ぶ常在細菌が生息し

★斎藤佳菜子：明倫短期大学歯科衛生士学科第16回生、同専攻科口腔保健衛生学専攻第5回生

原稿受付：2015年3月19日、受理 2015年6月29日

連絡先：〒950-2086 新潟市西区真砂3-16-10 明倫短期大学 本間和代 TEL.025-232-6351 (内線183)

本論文は2015年2月、独立行政法人大学評価・学位授与機構の学士の学位授与の申請に係わる「学修成果・試験の審査」に合格したものに加筆・修正したものである。



ていると言われている<sup>2) 3)</sup>。また、清潔な環境で働いていると思われる医療従事者ですら、1 cm×1 cmの面積に39,000個から4,600,000個もの細菌が付着していると言われている<sup>4)</sup>。患者の口腔内に手を入れて行う処置が非常に多い歯科医療の現場では、歯科医師や歯科衛生士らの手指の消毒は、患者への感染防止、自己を介しての患者から患者への病原体や細菌の感染、さらに自身への感染防止のためにも非常に大切な行動である。しかし、目に見える汚れや血液などの有機物以外に、どの程度、微生物に汚染されているか否か、また、確実に消毒されているか否かということは、肉眼で見ただけでは知ることができない。さらに、日頃から業務に使用している歯科用グローブが清潔であるか否かも疑問に思ってきたところである。

そこで、今後の歯科衛生業務実施時の手指消毒に役立てるため、簡易的な寒天培地である手指微生物汚染検査用生培地ハンドぺたんチェック<sup>®</sup>（SCD寒天培地）とハンドぺたんチェック<sup>®</sup>（SCDLP寒天培地）を用いて、様々な状況下での手指消毒法による微生物コロニー数（以下、コロニー数）を調べた。

## II. 対象および研究方法

### 1. 対象

被験者は、M短期大学歯科衛生士学科専攻科口腔保健衛生学専攻に在籍する女子学生4名（A, B, C, D）、（平均年齢±標準偏差：21.8±0.8歳）である。

### 2. 時期

平成26年7月中旬～8月下旬の間、実験日の午後に行った。

### 3. 材料

実験には次の材料を使用した。

- ①手指微生物汚染検査用生培地ハンドぺたんチェック<sup>®</sup> SCD寒天培地（以下、SCD培地）（栄研化学社製）（図1-A）
- ②手指微生物汚染検査用生培地ハンドぺたんチェック<sup>®</sup> SCDLP培地（以下、SCDLP培地）、（栄研化学社製）
- ③キレイキレイ<sup>®</sup>薬用液体ハンドソープ（以下、ハンドソープ）（LION社製）（図1-B）
- ④速乾性擦式手指消毒剤ウェルパス<sup>®</sup>（以下、ウェルパス）（丸石製薬社製）（図1-C）
- ⑤歯科用ラテックスグローブ（以下、歯科用グローブ）（GC社製）（図1-D）

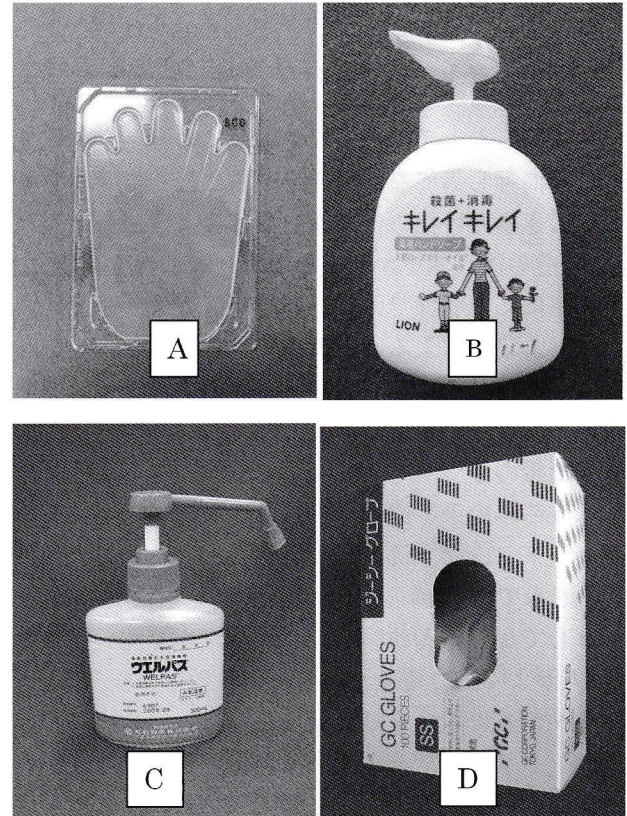


図1 実験に使用した材料

A SCD培地 B ハンドソープ  
C ウェルパス<sup>®</sup> D 歯科用グローブ

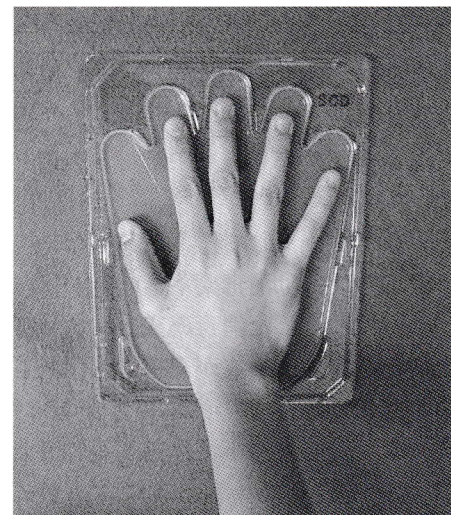


図2 SCD培地に手の平を付けた実験の様子

ブ）（GC社製）（図1-D）

ウェルパスは、本体容器とポンプをエチレンオキサイドガス滅菌（以下、EOG滅菌）した後、使用期限内の液を入れ、使用した。また、歯科用グローブは、歯科医院で一般的に使われているGC社製の歯科用ラテックスグローブを使用した。さらに、手



術時手洗いではEOG滅菌済みのブラシを使用した。

#### 4. 方法

培地による実験方法は、メーカーによる説明書に従って行った。手の平を軽く培地にのせ、全体を4～5秒間押し当てながら上下左右に軽くロールさせて、できるだけ指の付着面を広げるようにした(図2)。その後、速やかに蓋を閉め、37℃の孵卵器に、蓋を下にした状態で入れ、48時間静置培養した。

##### 1) SCD培地による手指微生物汚染検査

SCD培地による検査内容は、次の7パターンである。

##### ①未消毒の手

②水洗のみの手：流水で10秒間洗浄する。

##### ③ハンドソープで洗浄した手

：流水で手を濡らし、ハンドソープを2回プッシュして出し、20秒間手洗い後、流水で20～35秒間(個人がよく洗い流せたと感じた秒数)水洗し、ペーパータオルで水分を拭き取る。

##### ④ハンドソープで洗浄後、消毒した手

：流水で手を濡らし、ハンドソープを2回プッシュして出し、20秒間手を洗い、流水で20～35秒間水洗して、ペーパータオルで水分をよく拭き取り、ウェルパス1回(3mL)をプッシュして擦り込む。

##### ⑤手術時手洗い<sup>5)</sup>を行った手

：ハンドソープおよび滅菌済み手術用ブラシを使用して洗浄後、ウェルパス1回(3mL)をプッシュして擦り込む。

##### ⑥歯科用グローブを装着した手

##### ⑦歯科用グローブを装着し、ウェルパス1回(3mL)をプッシュして擦り込んだ手

なお、SCD培地には消毒薬不活化剤が添加されておらず、手指に残存した消毒薬成分によって、培地での微生物のコロニー形成が阻害され、正しい結果が出ない可能性があるとの注意書きがあった<sup>6)</sup>。そこで、防腐剤と殺菌剤の不活化剤が添加されているSCDLP培地を用い、両者間のコロニー形成にどのような違いがあるかについても調べた。

##### 2) SCDLP培地による手指微生物汚染検査

SCDLP培地による検査の内容は次の2通りである。

①ハンドソープで洗浄した手：流水で手を濡らし、ハンドソープを2回プッシュして出し、20秒間手を洗い、流水で20～35秒間水洗し、ペーパータオルで水分を拭き取る(1)の③と同一条件)。

②ハンドソープで洗浄後、消毒した手：流水で10秒

間手を濡らし、ハンドソープを2回プッシュして出し、20秒間手を洗い、流水で20～35秒間水洗して、ペーパータオルで水分を拭き取り後、ウェルパス1回(3mL)をプッシュして擦り込む(1)の④と同一条件)。

##### 3) 微生物数の判定

微生物数の判定は、生育したコロニーの数を目で見て確認した。生育したコロニーを「1個の集落は1生菌に由来する」との仮定に基づいて<sup>2)</sup>、円形に成長したコロニーの中心部に印をつけ、その点の数を数えた。

##### 5. 倫理的な配慮

本研究にあたっては、被験者に本実験の趣旨、内容を事前に説明し、得られたデータは匿名化して、被験者を特定できないよう配慮する旨を伝え、書面にて同意を得て行った。

### III. 結 果

#### 1. SCD培地による手指微生物汚染検査結果

1) SCD培地を用いた手指消毒法の違いによるコロニー数は、図3-1～3-5に示すとおりである。

##### ①未消毒の手

未消毒の手のコロニー数は図3-1に示すとおり、Dの252が最多で、Cの94が最少の結果となり、平均は175(平均値±標準偏差：175±79.1)であった。

##### ②水洗のみの手

水洗のみの手のコロニー数は、図3-2に示すとおり、Aの164が最多で、Bの4が最少の結果となり、平均は65(平均値±標準偏差：65±69.8)であった。

##### ③ハンドソープで洗浄した手

ハンドソープで洗浄した手のコロニー数は図3-3に示すとおり、Cの167が最多で、Bの12が最少の結果となり、平均は89(平均値±標準偏差：89±64.4)であった。

##### ④ハンドソープ洗浄後、消毒をした手

ハンドソープ洗浄後ウェルパス消毒をした手のコロニー数は図3-4に示すとおり、Cの416が最多で、Bの81が最少の結果となり、平均は211(平均値±標準偏差：211±159.4)であった。

##### ⑤手術時手洗いを行った手

手術時手洗い後にウェルパス消毒をした手のコロニー数は図3-5に示すとおり、Cの273が最多で、Bの3が最少の結果となり、平均は178(平均値±標準偏差：178±123.0)であった。また、手術時手洗い後にウェルパス消毒をした手では、全員の手の



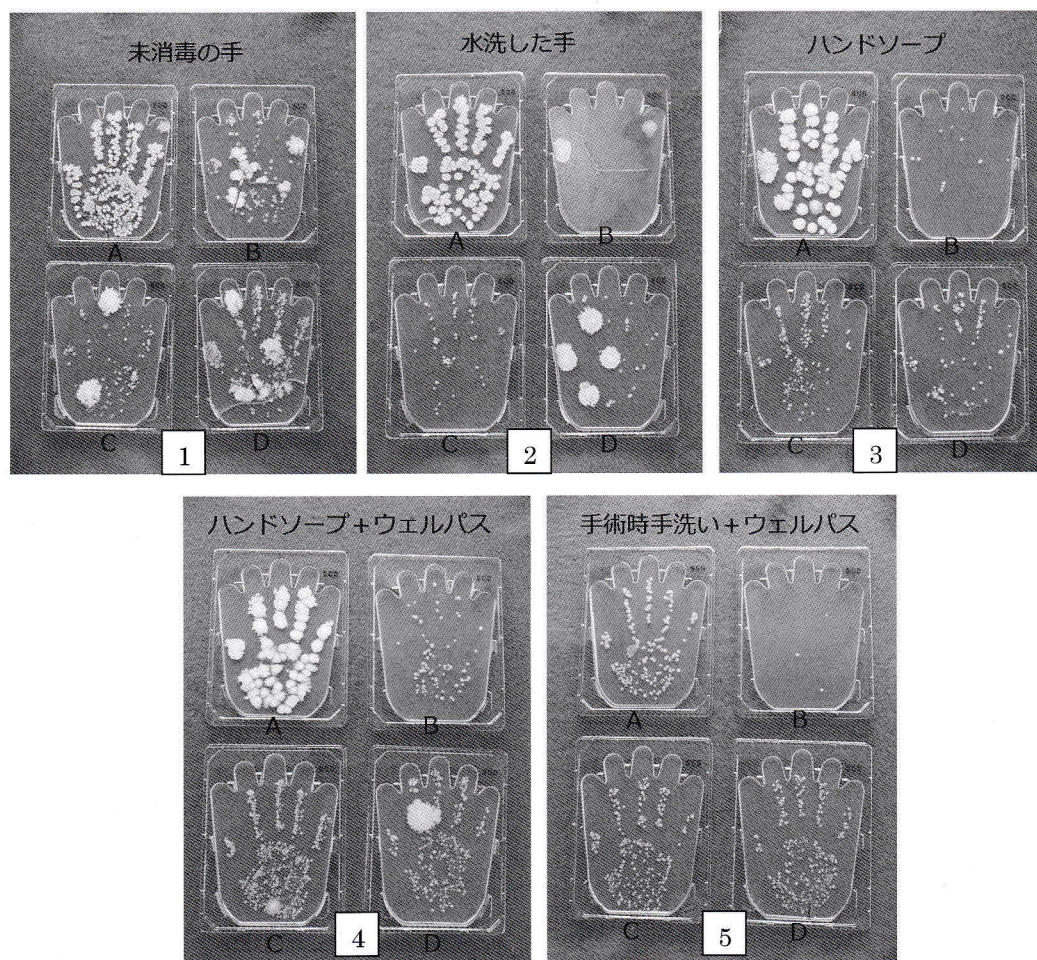


図3 5パターンの手指消毒法別コロニー数

- 1 : 未消毒の手 (A : 233, B : 121, C : 94, D : 252)  
 2 : 水洗した手 (A : 164, B : 4, C : 60, D : 32)  
 3 : ハンドソープで洗浄 (A : 74, B : 12, C : 167, D : 103)  
 4 : ハンドソープで洗浄+ウェルパス消毒 (A : 88, B : 81, C : 416, D : 258)  
 5 : 手術時手洗い+ウェルパス消毒 (A : 183, B : 3, C : 273, D : 254)

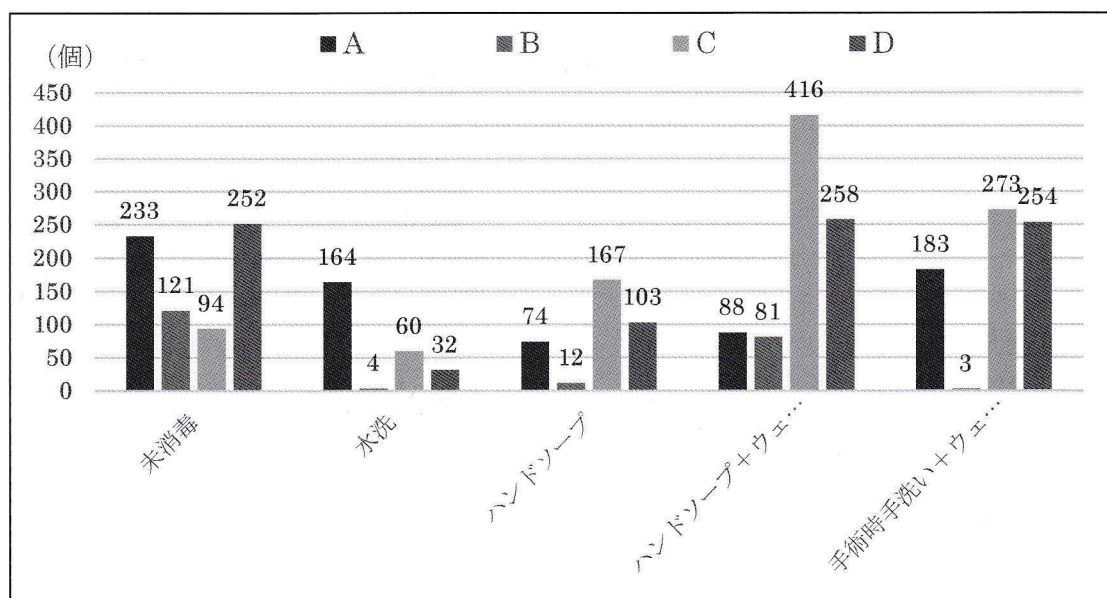


図4-1 被験者の手指消毒法別コロニー数の分布



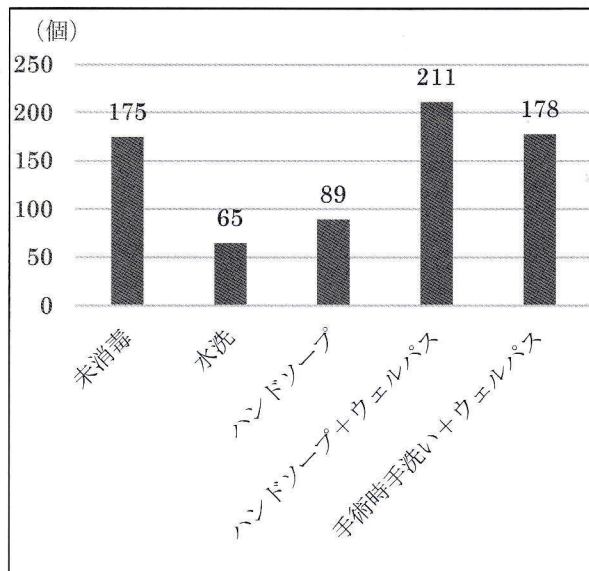


図4-2 手指消毒法別のコロニー数の平均値の比較

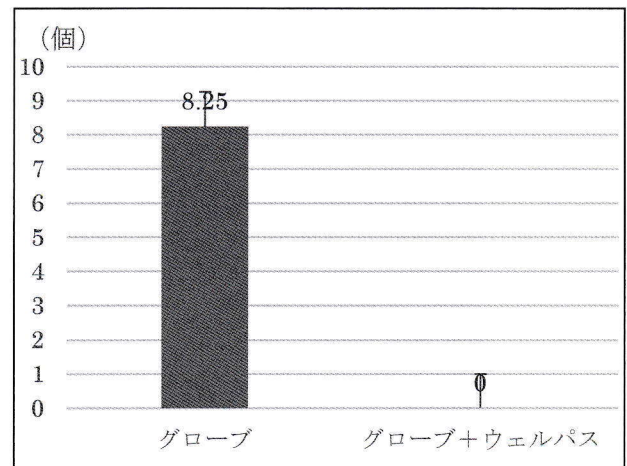


図6 SCD培地を用いたグローブを装着した手とグローブ装着後ウエルパス消毒した手のコロニー数の平均値の比較

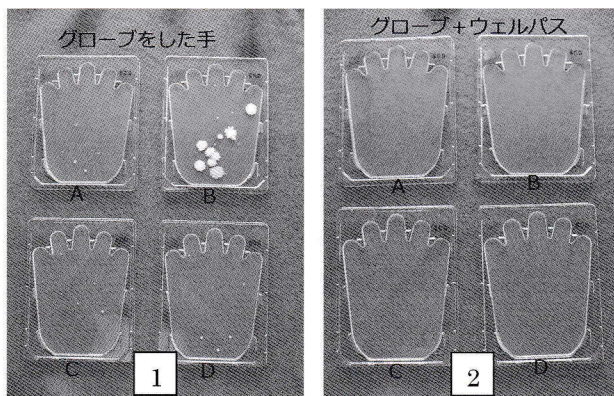


図5 SCD培地を用いて行った手指消毒法別のコロニー数

- 1: 歯科用グローブを装着し、ハンドソープ洗浄を行った手 (A:7, B:16, C:5, D:5)  
 2: 歯科用グローブを装着し、ウエルパス消毒をした手 (A:0, B:0, C:0, D:0)

コロニーが小さく、ほぼ同一の大きさであった。

以上、5パターンの条件におけるコロニー数の結果を図4-1に示す。

各パターンにおける被験者のコロニー数には大きなばらつきがあった。また、これらの平均値を求め、グラフ化し、一元配置分散分析法を用いたところ、 $P=0.2754$ であり、有意差は見られなかった。さらに、図4-2に示すとおり、コロニー数の平均値のみで比較すると、ハンドソープ洗浄後ウエルパス消毒をした手が最多の211で、水洗した手が最少の65であった。

## 2) SCD培地を用いた歯科用グローブ装着時のコロニー数

SCD培地を用いた歯科用グローブ装着時のコロ

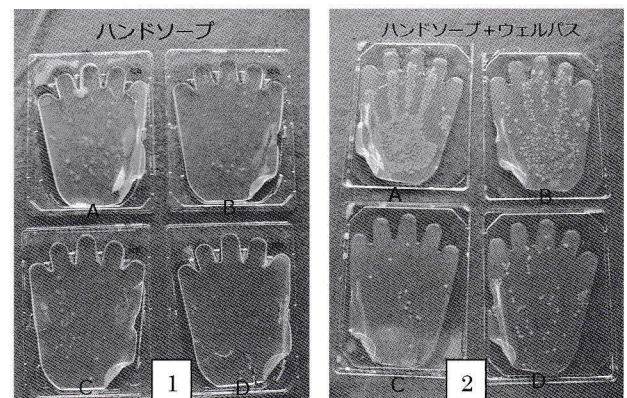


図7 SCDLP培地を用いて行った手指消毒法別のコロニー数

- 1: ハンドソープ洗浄のみを行った手 (A:41, B:19, C:67, D:23)  
 2: ハンドソープ洗浄+ウエルパス消毒をした手 (A:1236, B:296, C:20, D:70)

ニー数は図5-1, 5-2に示すとおりである。

### ① 歯科用グローブを装着した手

歯科用グローブを装着した手のコロニー数は図5-1に示すとおり、CとDの5が最少の結果となり、平均は8 (平均値±標準偏差:  $8 \pm 5.3$ ) であった。

### ② 歯科用グローブ装着後ウエルパス消毒をした手

歯科用グローブ装着後ウエルパス消毒をした手のコロニー数は図5-2に示すとおり、全被験者の手でコロニーは形成されなかった。

歯科用グローブを装着した手および歯科用グローブ装着後ウエルパス消毒をした手のコロニー数の平均値の比較を図6に示す。2パターンの条件におけるコロニー数の平均値をグラフ化してt検定を行った結果、明らかな有意差が見られた ( $P=0.01<0.05$ )。



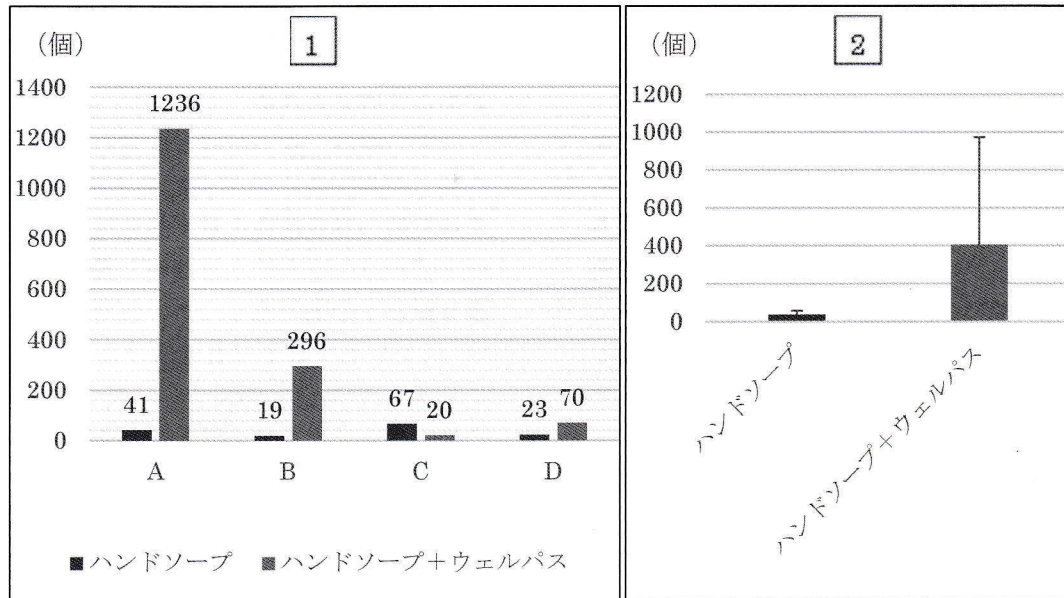


図8 SCDLP培地を用いた手指消毒法別のコロニー数の分布

1：ハンドソープとハンドソープ+ウエルパス消毒の被験者別コロニー数の比較

2：ハンドソープとハンドソープ+ウエルパス消毒平均値の比較

表1 SCD培地とSCDLP培地を用いてハンドソープ洗浄を行った手のコロニー数の比較

| 被験者 | SCD培地     | SCDLP培地   |
|-----|-----------|-----------|
| A   | 74        | 41        |
| B   | 12        | 19        |
| C   | 167       | 67        |
| D   | 103       | 23        |
| 平均  | 89 ± 64.4 | 38 ± 21.9 |

表2 SCD培地とSCDLP培地を用いてハンドソープ洗浄+ウエルパス消毒を行った手のコロニー数の比較

| 被験者 | SCD培地       | SCDLP培地     |
|-----|-------------|-------------|
| A   | 88          | 1236        |
| B   | 81          | 296         |
| C   | 416         | 20          |
| D   | 258         | 70          |
| 平均  | 211 ± 159.4 | 406 ± 566.5 |

## 2. SCDLP培地による手指微生物汚染検査結果

SCDLP培地を用いた手指消毒法の違いによるコロニー数は、図7-1、7-2に示すとおりである。

## ①ハンドソープで洗浄した手

ハンドソープで洗浄した手のコロニー数は図7-1に示すとおり、Cの67が最多で、Bの19が最少の結果となり、平均は38（平均値±標準偏差：38±21.9）であった。

## ②ハンドソープ洗浄後ウエルパス消毒をした手

ハンドソープで洗浄後ウエルパス消毒をした手のコロニー数は図7-2に示すとおり、Aの1236が最

多で、Cの20が最少の結果となり、平均は406（平均値±標準偏差：406±566.5）であった。

以上、SCDLP培地での2パターンの条件におけるコロニー数の結果を図8-1に示す。

各パターンにおける被験者のコロニー数は、ハンドソープ洗浄のみにおいてはあまり大きな差はなかったが、ハンドソープ洗浄後ウエルパス消毒を行った手においては大きなばらつきがあった。また、図8-2に示すとおり、これらの2つの結果の平均値をグラフ化し、t検定を行った結果、明らかな有意差は見られなかった（ $P=0.1209>0.05$ ）。

## 3. 同一条件下におけるSCD培地とSCDLP培地を使用した手指微生物汚染検査結果

SCD培地およびSCDLP培地でのハンドソープ洗浄をした手とハンドソープ洗浄後ウエルパス消毒をした結果は図3-3、3-4および図7-1、7-2に示すとおりであった。

SCD培地とSCDLP培地でのハンドソープ洗浄を行った手のコロニー数を表1に示す。表1から、SCDLP培地を使用した場合の方が、コロニー数が少ない結果であったが、2つの結果の平均値でt検定を行った結果、明らかな有意差は見られなかった（ $P=0.145>0.05$ ）。表2から、SCDLP培地を使用した場合の方が、コロニー数が多い結果であったが、2つの結果の平均値でt検定を行った結果、明らかな

な有意差は見られなかった ( $P=0.266>0.05$ ).

#### IV. 考 察

##### 1. SCD培地を用いた手指消毒法の違いによるコロニー数の変化

SCD培地を用いた5パターンの条件下におけるコロニー数(図4-1)は、各パターンにおける被験者のコロニー数には大きなばらつきがあった。これは、正常な皮膚に生息している通過菌と常在菌のためと推察される。皮膚の通過菌は、皮膚表面に付着し皮膚角質層で生息するため、水洗やハンドソープでの洗浄により容易に除去できると言われている<sup>5)</sup>。

正常な皮膚には、通常は通過菌と常在菌が生息している。未消毒の手からは様々な大きさや色のコロニーが形成されたが、水洗やハンドソープで洗浄した後コロニーの種類が減ったため、未消毒の手には通過菌が多数付着したと考えられる。未消毒の手と、水洗をした手を比べると、水洗をした手で全ての被験者のコロニー数が大きく減ったことは、皮膚に付着している通過菌が流水によって洗い流されたためと推察される。皮膚の常在菌は、皮膚の表皮内深く生息するため除去が容易ではないと言われている<sup>5)</sup>。ハンドソープ洗浄後や手術時手洗いに、ほぼ同一の大きさで確認されたコロニーは、皮膚に生息する常在菌であったと考えられる。

また、歯科用グローブは、素手よりもコロニー数が少ない傾向にあった。これは皮膚の常在菌が生息せず、通過菌のみが付着しているためであると考えられる。歯科用グローブ装着後にウェルパス消毒をすると、付着している通過菌を消毒し、効果的に減らすことができたと推察される。

##### 2. SCD培地とSCDLP培地の違いによるコロニー数の変化

SCD培地を用いてハンドソープ洗浄後ウェルパス消毒をした結果、コロニー数が増える傾向にあったため、消毒薬によって培地に何らかの影響があったと仮定して、消毒薬不活化剤が添加されているSCDLP培地での実験を行い、比較した。

しかし、SCDLP培地でもSCD培地同様、ハンドソープ洗浄後にウェルパス消毒を行うとコロニー数が増加する傾向にあったが、ハンドソープ洗浄後ウェルパス消毒をしてコロニー数が何倍も増える被験者がいた反面、逆にコロニー数が減少した被験者

もいて、個人差が非常に大きく、有意差がみられなかった。これは、普通石鹸と逆性石鹸の混用に原因があると考えられる。

逆性石鹸は、普通石鹸とは逆の荷電を持っているため、混用すると効果が消失すると言われている。普通石鹸の界面活性を示す部分は陰性であり、塩化ベンザルコニウムは水溶液中で陽性であるため、普通石鹸を十分に洗い流した上で使用しなければならない<sup>7)</sup>。キレイキレイの有効成分はイソプロピルメチルフェノール(IPMP)で<sup>8)</sup>、陰性の荷電ではないため、キレイキレイのIPMPではない石鹸の成分が関与したと考えられる。本実験では、ハンドソープに含有されている普通石鹸の成分がよく洗い流されていなかったためにウェルパスの効果が打ち消され、ウェルパス使用後にコロニー数が増えたものと考えられる。しかし、個人によって手指に付着しているコロニー数に大きな差があることと、被験者に、ハンドソープを十分に洗い流さないと、ウェルパスの効果が減弱するという知識が薄かったことも影響したのではないかと考えられる。

#### V. 結 論

様々な手指消毒方法における手指微生物検査により形成されたコロニー数を調べた結果、以下の結論を得た。

1. SCD培地を用いた5パターン(①未消毒の手、②水洗のみの手、③ハンドソープで洗浄した手、④ハンドソープ洗浄後ウェルパス消毒した手、⑤手術時手洗いをを行った手)における被験者のコロニー数には大きなばらつきがあった。
2. 歯科用グローブを装着し、ウェルパス消毒を行うことは効果的な消毒法であった。
3. SCD培地とSCDLP培地の違いによる2パターン(①ハンドソープ洗浄、②ハンドソープ洗浄後ウェルパス消毒)のコロニー数に有意差は見られなかった。(ハンドソープ洗浄:  $P=0.145>0.05$ )(ハンドソープ洗浄後ウェルパス消毒:  $P=0.266>0.05$ )
4. ハンドソープ洗浄後、ウェルパス消毒を行うとコロニー数が増える傾向にあった。

#### 参考文献

- 1) 平松啓一,中込治: 標準微生物学第10版, 20-23,49-51,54-57, 医学書院, 東京, 2009
- 2) 浜田茂幸,川端重忠,西原達次,菅井基行,中川一路: 口腔微生物学・免疫学第3版, 191, 医歯



薬出版, 東京, 2010

- 3) 口腔感染症とは (日本大学歯学部細菌学教室/  
総合歯学研究所生体防御部門): [http://  
www2.dent.nihon-u.ac.jp/microbiology/oral\\_  
infection/index.html](http://www2.dent.nihon-u.ac.jp/microbiology/oral_infection/index.html) (2014.10.6閲覧)
- 4) 手洗い  
[http://www.geocities.jp/dogcat1111122222/  
handwashing.html](http://www.geocities.jp/dogcat1111122222/handwashing.html) (2015.6.9閲覧)
- 5) ICHG研究会編集: 歯科医療における院内感染  
予防策マニュアル&研修テキスト, 20-21,122,

医歯薬出版, 東京, 2007

- 6) SCDLP培地のLとPについて (栄研器材株式会  
社 渡辺浩行): [http://www.eiken.co.jp/technique/  
es/pdf/es31c.pdf](http://www.eiken.co.jp/technique/es/pdf/es31c.pdf) (2014.7.25閲覧)
- 7) 東匡伸, 小熊恵二: シンプル微生物学改訂第4版,  
23-24,366-367, 南江堂, 2009
- 8) イソプロピルメチルフェノール (IPMP) (ライオン  
歯科材株式会社): [http://www.lion-dent.com/  
dental/news/recommend/ipmp.htm](http://www.lion-dent.com/dental/news/recommend/ipmp.htm) (2014.9.25  
閲覧)