

# 消毒剤の手指消毒効果とペプトン存在下の試験管内殺菌効果との関係

<sup>1)</sup>館林厚生病院中央検査部

<sup>2)</sup>群馬大学医療技術短期大学部

甕 その子<sup>1)</sup> 栗原 友正<sup>1)</sup> 杉田 光章<sup>1)</sup> 倉茂 達徳<sup>2)</sup>

(平成4年7月9日受付)

(平成4年8月3日受理)

---

Key words: disinfectants, hand-washing effect,  
MBC, MBC with peptone

---

## 要 旨

ポビドンヨード及び次亜塩素酸ナトリウムの2剤の試験管内殺菌効果は、著しく高かったが、手洗い消毒効果は極めて低かった。それに対して、クロラミンT、クロルヘキシジン及び塩化ベンザルコニウムの3剤は、試験管内殺菌効果は、他の2剤に比して著しく低かったが、手洗い効果は逆に他の2剤をはるかに凌駕していた。ポビドンヨード及び次亜塩素酸ナトリウムの試験管内殺菌効果は、ペプトン添加によって殺菌効果が著しく抑制されたが、クロラミンT、クロルヘキシジン及び塩化ベンザルコニウムの試験管内殺菌効果は、ペプトン添加の影響を受けなかった。これらの成績から、ペプトン存在下の試験管内殺菌効果を検討することが消毒剤の手指消毒剤としての適性を知る有効な手段となることが示唆された。

## 序 文

臨床で問題とされているMRSAや緑膿菌などによる院内感染を防ぐためには、医療従事者の手指消毒や環境の清浄化あるいは医療器具の滅菌、消毒を完全に行う必要がある。特に医療現場での問題は、医師や看護婦等の医療従事者の手指消毒である。医療従事者の消毒薬による日常の手洗い時間は、手術室やクリーンルームなどへの出入の際を除いては、10秒以内が最も多く<sup>1)</sup>、そのためもあって、十分な消毒効果をあげえないことがあると考えられる。さらに、手指消毒の効果が、試験管内の殺菌効果と著しくかけ離れた成績になることがあり、手指表面の有機物による殺菌の抑制が考えられる。我々は、有機物としてペプトンを加えたさいの試験管内殺菌効果と手指消毒効果との関係について検討した。

## 材料と方法

消毒剤：消毒剤として、ポビドンヨード(イソジン<sup>®</sup>、明治製菓(株))、次亜塩素酸ナトリウム(ミルトン<sup>®</sup>、P & G(株))、クロラミンT(p-トルエンスルホンクロラミドナトリウム<sup>®</sup>、関東化学(株))、グルコン酸クロルヘキシジン(ヒビテン<sup>®</sup>、ICIファーマー(株))及び塩化ベンザルコニウム(パラステロール<sup>®</sup>、純生製薬(株))の5剤を用い、消毒剤の希釈には、蒸留水を用いた。

使用菌株：消毒剤の試験管内抗菌効果は、館林厚生病院細菌検査室において患者より分離同定された*S. epidermidis*を用いて測定した。

培地：細菌の培養には、すべてトリプトソーヤ寒天培地(ニッスイ製薬(株))を用いた。

手指消毒効果の判定：対象として、館林高等看護学院の生徒を選び、対象者数は1群15~20例とし、フィンガーストリーク法<sup>2)</sup>の変法を用いた。すなわち水道水で5秒間前洗いをした後、右の第2、3及び4指頭を寒天平板の端から端まで擦過さ

---

別刷請求先：(〒374) 館林市成島町262番地の1  
館林厚生病院中央検査科 甕 その子

せ、消毒前とした。その後引き続いて、各種濃度の消毒薬において10秒間手洗いさせた後さらに水道水で5秒間消毒薬を洗い流した後、左の第2、3及び4指頭を同様に寒天平板上に擦過させ、消毒後とした。それぞれの寒天平板を37℃、24時間培養した後、コロニーを数え、細菌数とした。手洗い効果は、手洗い後のコロニー数と手洗い前のコロニー数の比を取り、手洗い後のコロニー数が0または前との比が1/10以下の場合にのみ有効と判定した。薬剤間の効果を比較するために有効と判定できる対象例が50%出現する濃度を図より求め、ED<sub>50</sub>値として表した。

試験管内抗菌効果の測定：トリプトソーヤ寒天平板上で37℃、20時間培養した *S. epidermidis* を生理的食塩水に1×10<sup>9</sup>/mlになるように浮遊させ細菌懸濁液とした。適当な濃度に希釈した消毒剤1mlに、細菌懸濁液0.1mlを加えて混合し、正確に10秒後に混合液0.05mlを取り、5mlの生理的食塩水に加えてよく混合して消毒剤の影響を除去した後、その1白金耳をトリプトソーヤ寒天平板上に接種し、37℃、24時間培養した後コロニー形成のない最小消毒剤濃度をその薬剤の最小殺菌濃度 (Minimal bactericidal concentration: MBC) とした。ペプトンの影響を検討する際には、消毒薬の各希釈系列に一定濃度のペプトンを混合した後細菌懸濁液と混合し、その後は同様にして MBC を求めた。ペプトンは、Oxoid 社製を蒸留水に溶解して用いた。

成 績

手指手洗い効果：ポビドンヨードによる手指消毒効果の結果を Fig. 1 に示した。ポビドンヨードを用いた場合には、20mg/ml の濃度でも24%の例でのみ有効と判定され、手指消毒効果が著しく低かった。また Table 1 に示した様に、次亜塩素酸ナトリウム溶液も10mg/ml の濃度ですら対象の5%の例でのみ有効と判定された。これらの成績より、ポビドンヨード及び次亜塩素酸ナトリウムの両剤は、手洗い消毒薬としては不向きであることが示唆された。それに対して、Fig. 2 に示した様にクロルヘキシジンでは、1mg/ml で83%の対象で有効と判定され、ED<sub>50</sub>値は0.45mg/ml と低

Fig. 1 Antibacterial effects of hand-washing with povidone-iodine.

Hand-washing was carried out with appropriate concentrations of povidone-iodine for 10 seconds and disinfecting activity was determined by modified finger streak method as described in Materials and Methods.

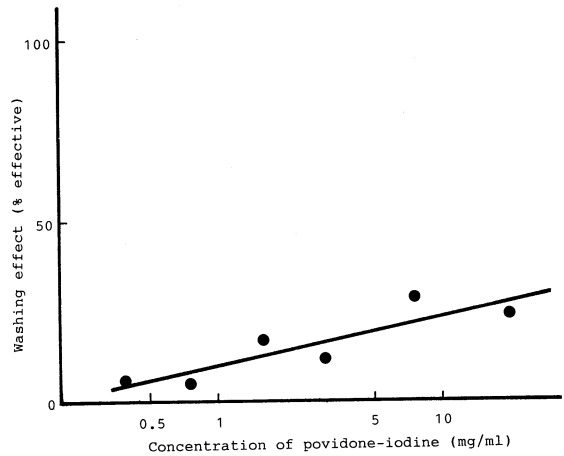


Table 1 Antibacterial activity of hand-washing with Na-hydrochloride

Conc. of drug (mg/ml)	Number tested	Effect of hand-washing	
		Effective number	% effective
10	20	1	5
5	18	0	0
2.5	19	0	0
1.25	20	0	0

濃度で効果を示した。また、Fig. 3 に示した如く、塩化ベンザルコニウムによる手洗いでは、2mg/ml の濃度では100%の対象で有効と判定され、その ED<sub>50</sub>値は0.44mg/ml であった。クロラミン T では、10mg/ml では、20人中20人(100%)、2.5mg/ml の濃度でも、15人中の10人 (66.7%) で有効と判定され、ED<sub>50</sub>値は2.0mg/ml であった (Fig. 4)。

試験管内抗菌活性と手洗い効果の関係：消毒薬5剤のMBCを比較すると (Table 2)、塩化ベンザルコニウムのMBCが50μg/ml、クロールヘキシジンのそれが100μg/ml、クロラミン T が200μg/ml だったのに対して、ポビドンヨードのMBCが3.75μg/ml、次亜塩素酸ナトリウムのそ

Fig. 2 Antibacterial effects of hand-washing with chlorhexidine gluconate.

Hand-washing was carried out with appropriate concentrations of chlorhexidine gluconate for 10 seconds and disinfecting activity was determined by modified finger streak method.

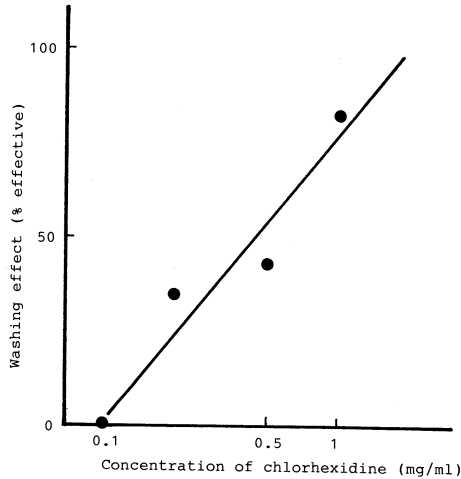
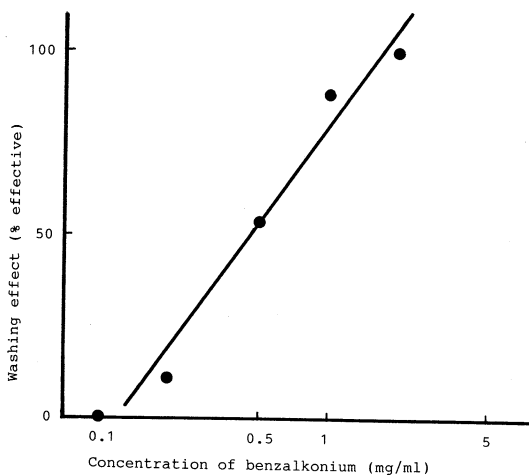


Fig. 3 Antibacterial effects of hand-washing with benzalkonium chloride.

Hand-washing was carried out with appropriate concentrations of benzalkonium chloride and disinfecting activity was determined by modified finger streak method.



れが6.25 $\mu$ g/mlで、この2剤が上の3剤をはるかに凌駕する抗菌活性を示した。しかし、手洗いによる手指消毒効果はポビドンヨードのED<sub>50</sub>は20 mg/ml以上、次亜塩素酸ナトリウムのそれも10

Fig. 4 Antibacterial activity of hand-washing with chloramin-T.

Hand-washing was carried out with appropriate concentrations of chloramin-T for 10 seconds and disinfecting activity was determined by modified finger streak method.

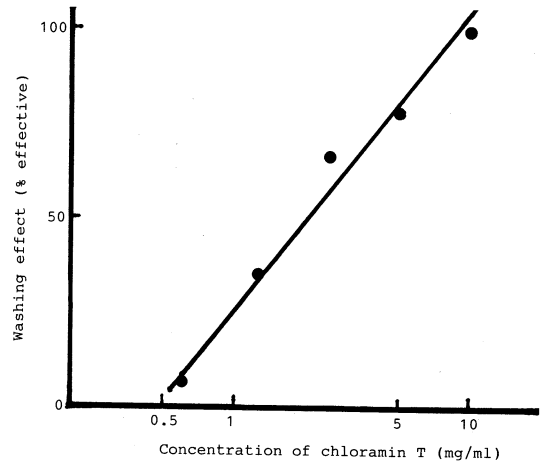


Table 2 *In vitro* bactericidal activities of disinfectants

Disinfectant	MBC( $\mu$ g/ml)
Povidone iodine	3.75
Na-hydrochloride	6.25
Chloramin-T	200.0
Chlorhexidine gluconate	100.0
Benzalkonium chloride	50.0

mg/ml以上であり、まったく手洗い効果がないと判定された。それに対して、塩化ベンザルコニウムのED<sub>50</sub>は0.44mg/ml、クロールヘキシジンのそれは0.45mg/ml、クロラミンTのED<sub>50</sub>も2.0 mg/mlと、十分に使用に耐えると判断された。

試験管内抗菌活性に対するペプトンの影響：このような試験管内の殺菌活性と手洗い消毒効果との隔たりは、手指上のたんぱく質その他の汚染物質による殺菌活性の阻害によると考えられた。そこで、蛋白質としてペプトンの影響を測定した。ポビドンヨード及び次亜塩素酸ナトリウムの*S. epidermidis*に対するMBCの測定系にペプトンを加えてその影響を検討した成績をFig. 5及びFig. 6に示した。ポビドンヨードでは、ペプトン無添加の場合のMBC値が3.75 $\mu$ g/mlであった

Fig. 5 Effect of peptone on *in vitro* bactericidal activity of povidone-iodine.

MBCs of povidone-iodine was determined in the presence of appropriate concentrations of peptone with *Staphylococcus epidermidis*.

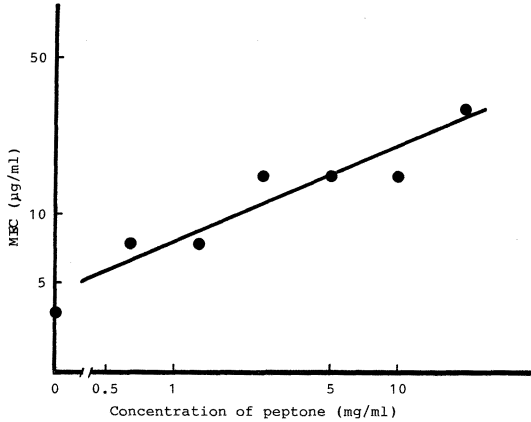


Fig. 6 Effect of peptone on *in vitro* bactericidal activity of sodium hydrochloride.

MBCs of sodium hydrochloride was determined in the presence of appropriate concentrations of peptone with *Staphylococcus epidermidis*.

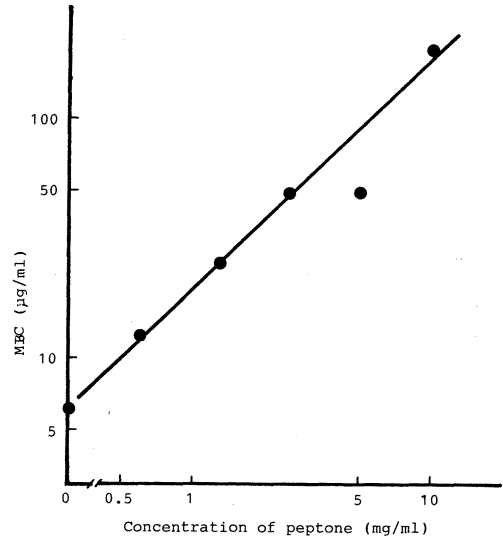


Table 3 Effect of peptone on the *in vitro* antibacterial activity of chloramin T, chlorhexidine and benzalkonium chloride

Drugs	Conc. of peptone (mg/ml)	MBC (μg/ml)
Chloramin T	20	200.0
	10	200.0
	5	200.0
	0	200.0
Chlorhexidine	20	100.0
	10	100.0
	5	100.0
	0	100.0
Benzalkonium chloride	20	100.0
	10	50.0
	5	50.0
	0	50.0

のに対し、ペプトン10mg/ml添加群ではMBC値が15.0μg/mlと4倍の高値を示し、ポビドンヨード剤の殺菌活性はペプトン添加によって著しい抑制を受けることが確認された。また、次亜塩素酸ナトリウムもペプトン添加の影響を大きく受け、無添加のMBC値が6.25μg/mlであったのに対して、10mg/mlのペプトン添加群のそれは、200.0μg/mlと32倍も高値を示した。それに対して、Table 3に示したように、クロラミンT、クロールヘキシジン及び塩化ベンザルコニウムは、ペプトン添加によって試験管内殺菌活性はほとんど変動しなかった。

Table 4 Relation between hand-washing effect and MIC with peptone

Drugs	MBC(a) (μg/ml)	MBC(b) (μg/ml)	(b)/(a)	ED <sub>50</sub> (mg/ml)	ED <sub>50</sub> /MBC(a)
Povidone iodine	3.75	15.0	4.0	>20.0	>5,333.3
Na-hydrochloride	6.25	200.0	32.0	>10.0	>1,600.0
Chloramin T	200.0	200.0	1.0	2.0	10.0
Chlorhexidine	100.0	100.0	1.0	0.45	9.0
Benzalkonium-Cl	50.0	50.0	1.0	0.44	4.4

MBC(a) : MIC without peptone    MBC(b) : MIC with 10 mg/ml of peptone

ペプトン添加時のMBCと手洗い効果：Table 4に、10mg/mlのペプトンの試験管内殺菌活性(MBC)に及ぼす影響を検討した結果と手指消毒の際のED<sub>50</sub>値をまとめた。表で示されたように、ペプトン添加時のMBCと無添加時のMBCとの比が1.0、即ちペプトン混在がMBCに影響を与えない消毒薬では手指消毒の効果が期待できるのに対して、その比が1.0より大きくペプトンの影響を受ける薬剤(ボビドンヨード4.0、次亜塩素酸ナトリウム32.0)では、試験管内での殺菌活性は充分に認められたにもかかわらず手指消毒薬としては効果が期待できないことが示唆された。

### 考 察

我々は、試験管内の殺菌効果と手洗いによる手指消毒効果との差が大きい消毒剤は、ペプトン添加時の試験管内殺菌効果の抑制によって確認できることを手指の常在菌のなかで大半を占める*S. epidermidis*<sup>2)</sup>を用いて検討した。消毒剤に対して有機物特に血清アルブミンの添加が影響を与えるという報告は多いが<sup>3)~6)</sup>、その成績はまちまちで、陽性石鹼剤については、抑制するという報告と逆に促進するという報告もある。これらの報告では、手洗い効果との比較をしていないが、我々のペプトン添加の成績とは必ずしも一致しないデータもある。消毒薬と有機物の接触時間が、我々の実験では一般的な医療従事者の手洗い時間に合わせた10秒間であるのに対して、これらの報告では、最も短い例でも30秒とかなり長いことによるのか、あるいは血清アルブミンとペプトンの違いによる

のかも知れない。我々の方法では、ペプトン添加によって殺菌効果が抑制される薬剤では手洗い効果は極端に悪く、抑制を受けない薬剤では十分な手洗い効果が期待できることが確かめられた。院内感染起因菌として注目を集めているMRSAの消毒剤に対する感受性はMSSAあるいは*S. epidermidis*と大差ないと考えられるので<sup>7)</sup>、特にMRSA汚染について、我々の方法による手指消毒剤の選択は意義あるものと思われる。

### 文 献

- 1) 山本 薫, 藤丸留里子, 米内山千賀子, 木村紀美, 今 充, 川上 澄: より清潔な手洗い方法に関する検討。看護文献, 30: 96-99, 1984.
- 2) Price, B.P.: Disinfection of the skin. Drug Standards, 19: 161, 1951.
- 3) 城野久美子, 東出英二: Dodecylmethylbenzylammoniumを主成分とする塩化ベンザルコニウム新製剤の殺菌力。防菌防黴誌, 15; 561-567, 1987.
- 4) 石井良和, 小笠原正良, 市川正孝, 入船賢司, 菅原和行, 山口恵三, 臼井敏明: 蛋白存在下における消毒剤の殺菌効果に関する基礎的検討。病院薬学, 13: 269-275, 1987.
- 5) 辻 明良, 関口金雄, 金子康子, 川崎賢二, 小川正敏, 五島嵯智子: 各種消毒薬の作用濃度, 作用時間及び血清添加による殺菌効果の変動。感染症誌, 53; 292-303, 1970.
- 6) 酒井直光, 小林 悟, 朝生 忍, 大三川裕康, 仲田欣一, 飯塚正三: 市販殺菌消毒剤のアルブミン存在下による殺菌力への影響。防菌防黴誌, 17: 377-380, 1989.
- 7) 杉浦 朗, 中村和也, 城野久美子, 東出栄治: メチシリン耐性黄色ブドウ球菌に対する殺菌消毒剤の殺菌力。Chemotherapy, 38: 203-213, 1990.

Relationship between Hand-Washing Activity of Disinfectants and *In Vitro* Bactericidal Activity in the Presence of Peptone

Sonoko MOTAI<sup>1)</sup>, Tomomasa KURIHARA<sup>1)</sup>, Mitsuki SUGITA<sup>1)</sup> & Satonori KURASHIGE<sup>2)</sup>

<sup>1)</sup>Department of Laboratory Medicine, Tatebayashi Kosei Hospital

<sup>2)</sup>College of Medical Care and Technology, Gunma University

A study was made on the relation between *in vitro* bactericidal activity against *Staphylococcus epidermidis* which is the main bacterial flora of skin and the disinfecting activity of hand-washing with povidone-iodine, sodium hydrochloride, chloramin-T, chlorhexidine gluconate and benzalkonium-chloride. Although the bactericidal activity of povidone-iodine and sodium hydrochloride was significantly high as compared with those of the other three disinfectants, both povidone-iodine and sodium hydrochloride showed no or a little hand-washing effects. *In vitro* the bactericidal activity of both povidone-iodine and sodium chloride were significantly retarded by the addition of peptone in the reaction mixture. On the other hand, chloramin-T, chlorhexidine gluconate and benzalkonium chloride showed a high disinfecting activity in hand washing in spite of low *in vitro* bactericidal activity. Moreover, the bactericidal activity of these three disinfectants were not suppressed by the addition of peptone in the reaction mixture. These results strongly suggested that hand-washing effect of disinfectant is affected by the protein on the hand and that hand-washing activity of disinfectant should be determined by *in vitro* bactericidal activity in the presence of peptone.