洗髪液の細菌による汚染

(社)浦和市医師会メディカルセンター1),北里大学衛生学部微生物学教室2)

雨宮一彦1)田口文章2

(平成5年9月13日受付) (平成5年10月12日受理)

Key words: bacterial contamination, shampoo, rinse, gram-negative bacilli

要旨

業務用に使用されているシャンプーとリンスの細菌汚染の実態を知ることを目的に、無作為に抽出した理容店と美容店17施設から分与して貰った39検体の洗髪液について、血液寒天培地を用いて、細菌の分離試験を実施した。原液を希釈して用いるシャンプーやリンス(希釈型、21検体)と、ボトルから直接使用するもの(ポンプ型、18検体)の細菌検出率は、各々76.2%と33.3%であった。細菌が検出されたシャンプーとリンス中の総細菌数は最少 1.0×10^2 CFU/ml から最大 7.0×10^7 CFU/ml であった。分離菌は、Serratia marcescens が43.3%と最も多く、他に Enterobacter aerogenes、Klebsiella pneumoniaeなどの腸内細菌と Pseudomonas aeruginosa や Pseudomonas cepacia などのブドウ糖非発酵グラム陰性桿菌等日和見感染の原因となりうる細菌であった。

以上の結果は、業務用シャンプーとリンスが細菌に汚染されている実態と、洗髪剤の衛生的な取り扱いの必要性を明らかにした。

序 文

生鮮食料品や日用品などの健康に対する安全性と衛生的で快適な生活環境を守ることに、強い関心が注がれるようになってきた。そのような背景から、脱臭、洗顔、洗髪および入浴等に、洗浄液、柔軟剤ならびに石鹸などが非常に多く使われるようになった。そこで我々は、清潔さを保持増進のために用いられる洗浄液の細菌学的汚染度を調査してきた。その第一報として、公衆の洗面所などに備え付けてある手洗用洗浄液が予想外に多量なに備え付けてある手洗用洗浄液が予想外に多量なに動に汚染されていることを既に報告した1)。また別にコンタクトレンズの洗浄消毒液が細菌に汚染されているとの報告2)や消毒液中で増殖する細菌の存在も既に報告されている3³⁾⁻⁵⁾。しかし、不特

別刷請求先: (〒228) 神奈川県相模原市北里 1 -15-1

北里大学衛生学部微生物学教室

田口 文章

定多数の客に多量に使用されている業務用シャンプーやリンスについての細菌学的な調査報告はみあたらない。そこで今回,理容店や美容店で実際に使用しているシャンプーとリンスを分与して貰い細菌汚染の実態調査を実施した。その結果、シャンプーやリンスは,高率にかつ高濃度の細菌に汚染されている実態が明らかになった。

材料と方法

1. 検査材料

1992年12月から1993年4月の間に都内および東京近郊の理容店と美容店17施設を無作為的に抽出し、その施設で使用されているシャンプーとリンス約10mlを滅菌試験管に分与して貰った。

採取したシャンプーとリンスの内訳は、シャンプー28検体とリンス11検体の合計39検体で、そのうち、購入した原液を各店で希釈調整(希釈型)したものが21検体、ボトルから直接使用(ポンプ型)のものが18検体であった。また、店によって

は希釈前の原液と希釈液の両方を入手した。シャンプーとリンスの色調は緑・青色系19検体、白色系11検体、透明6検体、黄色系3検体であった。製造会社名を明らかにして貰えたものは39検体中29検体で、A社製12検体、B社製9検体その他8検体で、残りの10検体の会社名は不明であった。希釈度、保存日数、洗髪液の組成等については調査できなかった。

2. 細菌の分離

分離用培地は既報¹⁾の結果に従い, 5%緬羊血液加寒天培地(BBL 社製市販生培地,以下血液寒天培地)を使用し、主に平板塗抹法で分離を行った。また孔径0.45mμのメンブランフィルターで検体1mlを濾過し、10mlの滅菌生理食塩水で2回洗浄後、フィルターを血液寒天培地上にのせて補捉培養法にても行った。

室温に保存した検体は、採取した翌日滅菌生理 食塩水で10倍段階希釈し、その0.1ml を血液寒天 培地上にコンラージ棒で直接塗抹し、37℃で18時 間から5日間培養した。培養は、最長5日間行い、 細菌集落形成がなかったものを細菌検出陰性と判 定した。

3. 生菌数の測定と分離菌の同定

培地上に発育した集落は、色調や大きさから肉 眼的に異なると思われる集落を識別し、特徴のあ る集落を別々に算定し、検体中の生菌数を colony forming unit (CFU)/ml で表現した。培地上の特 徴で区分した各々の集落をグラム染色し、同定試 験を行った。

グラム陰性桿菌は、TSI 培地、シモンズクエン酸塩培地、SIM 培地、リジン脱炭酸試験用培地、VP 試験用培地に接種し、それらの性状から腸内

細菌科に属すると思われるものは簡易同定キット (エンテオグラム:テルモ製)を用いて同定試験を 行った。またブドウ糖非発酵グラム陰性桿菌はオ キシダーゼ試験を行った後,簡易同定キット (ノ ンファグラム:テルモ製)を用いて同定した。

グラム陽性球菌はカタラーゼ試験を行い,再びマンニット食塩寒天培地で培養した。コアグラーゼ試験を実施した後,簡易同定キット(スタフォグラム:テルモ製)を用いて同定した。グラム陽性桿菌はグラム染色で形態を観察したが詳細な性状は調べられなかった。

成 績

1. 洗髪液の細菌汚染率

血液寒天培地上で5日以内に細菌集落の形成が 認められたものを細菌汚染が陽性と判定し、その 細菌汚染率を算出し、Table 1と Table 2に示し た、

細菌汚染率は、シャンプーで60.7%(28検体中17検体陽性)、リンスで45.5%(11検体中5 検体陽性)、全体で56.4%(39検体中22検体陽性)と非常に高率であった。使用形態別の細菌汚染率は、希釈型では76.2%(21検体中16検体陽性)であり、ポンプ型では33.3%(18検体中6 検体陽性)と汚染率に著明な違いがあった。以上のようにシャン

Table 1 Prevalence of bacterial contaminations of hair-washing liquids

Samples	No. of tested	No. of positive	Positive %
Shampoo	28	17	60.7
Rinse	11	5	45.5
Total	39	22	56.4

Table 2 Detection of bacteria in hair-washing liquids

Type of No of	No of		Positive	No of bacteria (CFU/ml)		
samples	tested		%	maximum	minimum	mean
Dilution	21	16	76.2	7.0×10 ⁷	5.0×10^{2}	5.0×10 ⁵
Pomp	18	6 -	33.3	$2.0\!\times\!10^{7}$	$1.0\!\times\!10^{2}$	5.0×10 ⁴
Total	39	22	56.4	7.0×10 ⁷	1.0×10^{2}	2.5×10 ⁵

Dilution and pomp indicate the diluted samples from hand-bottles, and the samples from pomping bottles.

Table 3 Isolates from hair-washings

Gram negative bacilli	29
S. marcescens	14
E. cloacae	1
E. aerogenes	1
K. pneumoniae	2
P. cepacia	4
P. fluorescens	3
P. aeruginosa	2
Pseudomonas sp.	2
Coagulase negative staphylococcus (CNS)	. 1
Gram positive cocci	2
Gram positive bacilli	1
Total	33

プーとリンスの細菌汚染率は比較的近似値を示したが、希釈型ではポンプ型より汚染率が高く、細菌の検出される割合は使用法により異なった。しかし、検体の製造会社別および色調別の細菌汚染率には、有意な差は認められなかった。また希釈前の原液からは全く細菌は検出されなかった。

2. 洗髪液中の細菌数と分離菌種

各検体中の総細菌数を平板塗抹法により求め、 その値を CFU で表示した.

希釈型のシャンプーとリンスでは、最少 $5.0 \times 10^2 \text{CFU/ml}$ から最大 $7.0 \times 10^7 \text{CFU/ml}$ の細菌数が検出された。またポンプ型では $1.0 \times 10^2 \text{CFU/ml}$ から $2.0 \times 10^7 \text{CFU/ml}$ であった。希釈型とポンプ型の検出細菌数に大きな差はみられなかった (Table 2)。

22検体のシャンプーとリンスから分離した33菌株の細菌を同定した (Table 3). グラム陰性桿菌は48時間以内に発育がみられたが、グラム陽性桿菌は3日から5日で集落を形成した.

分離した33菌株の内訳はグラム陰性桿菌が29株(87.9%)と最も多く、次にグラム陽性球菌 3 株(9.1%)、グラム陽性桿菌 1 株(3.0%)であった。29菌株のグラム陰性桿菌の内訳は、腸内細菌科(18株)では Serratia marcescens が14株(42.4%)、Klebsiella pneumoniae が 2 株(6.1%)、Enterobacter aerogenes と Enterobacter cloacae が各1株(3.0%)であった。ブドウ糖非発酵グラム陰性桿菌(11株)では Pseudomonas cepacia 4 株

Table 4 Bacterial isolates in hair-washing liquids

Species of isolated bacteria	No. of samples	Total	%
S. marcescens only	7	13	(59.1)
P. cepacia only	3		
E. aerogenes only	1		
K. pneumoniae only	1		
Gram-positive-cocci only	1		
S. marcescens and P. fluorescens	2	7	(31.8)
S. marcescens and E. cloacae	1		
S. marcescens and P. aeruginosa	1		
S. marcescens and Pseudomonas sp.	1		
P. cepacia and CNS	1 .		
Pseudomonas sp. and Gram-positive-bacilli	1		
S. marcescens, K. pneumoniae and P. aeruginosa	1	2	(9.1)
S. marcescens, P. fluorescens and Gram-positive-cocci	1		
Total		22	(100)

(12.1%), Pseudomonas fluorescens 3 株 (9.1%), Pseudomonas aeruginosa 2 株 (6.1%) と Pseudomonas sp. 2 株 (6.1%) であった。 グラム陽性球菌 3 株のうち 1 株はコアグラーゼ陰性の Staphylococcus 属 (CNS) であったが残り 2 株はマンニット食塩寒天培地に発育し,耐塩性をもつ菌であるが同定はできなかった。またグラム陽性 桿菌 1 株は形態から coryneform bacteria を疑えるが同定はできなかった。

細菌が検出された22検体のなかで、1菌種のみが純培養様に分離された検体は13検体(59.0%),2菌種が分離された検体は7検体(31.8%),3菌種が混在して分離された検体は2検体(9.1%)であった。細菌が検出された検体の半数からは単独菌種が分離され、複数菌種が分離されたなかでも4菌種以上が検出されたものは認められなかった。複数菌種が検出された9検体は全てグラム陰性桿菌との組み合わせであったが、そのうち7検体から S. marcescens が検出された。この結果から汚染の主な原因菌はグラム陰性桿菌であり、なかでも Serratia marcescens が優勢菌であることが認められた(Table 4)。また検体の製造会社お

Samples	Collection date	No of bacteria (CFU)/ml	Isolates	
Shampoo	Jan, 27, 1993. Apr, 1, 1993.	7.3×10 ⁶ CFU/ml 1.2×10 ⁴ CFU/ml	S. marcescens only S. marcescens only	
Shampoo	Jan, 24, 1993. Apr, 16, 1993.	8.5×10 ⁶ CFU/ml 5.0×10 ⁶ CFU/ml	S. marcescens only S. marcescens only	
Rinse	Jan, 24, 1993. Apr, 16, 1993.	2.0×10 ⁶ CFU/ml 1.3×10 ⁷ CFU/ml	P. cepacia only P. cepacia only	

Table 5 Time variation in species of bacteria isolated

よび色調と検出菌数ならびに分離菌種との関連性は認められなかった。

3. 分離菌の経時変化

洗髪液から細菌が検出された2施設で1回目の 採取時から3ヵ月後に再び検体を採取して検出菌 数と分離菌種の変化を調べた(Table 5). その結 果全ての検体で2回とも同一菌種が多量に検出さ れた. 同じ施設では汚染が少なくとも3ヵ月間持 続していた.

考察

幼児から老人まで、時にはアトビー性皮膚炎など何等かの皮膚異常を有する人を含む不特定多数の客に使用する業務用洗髪剤の細菌汚染の実態を知る目的で、理容店と美容店で実際に使用しているシャンプーとリンスについて細菌学的な調査を実施した。任意に入手した39検体の中で22検体(56.4%)のシャンプーとリンスから細菌が検出され、特に購入原液を希釈して使用する希釈型が高率に汚染されていた。検出総菌数は最大 $7.0\times10^\circ$ CFU/ml であり、分離菌種は S. marcescens が最も多く、次いで P. cepacia であった。ほかに P. aeruginosa や K. pneumoniae のグラム陰性桿菌と CNS など日和見感染の原因菌が分離された。また期間をおいて同じ施設から採取した検体では同一菌種が検出された。

多数の者が共用している公共施設内の手洗用洗浄液の細菌汚染状況を調査し、一般に使用されている手洗用洗浄液が高率に細菌で汚染されていることを、既に我々は明らかにしたり。それらの汚染菌は、S. marcescens や Pseudomonas 属など17菌種のグラム陰性桿菌であった。また希釈して保存した手洗用洗浄液中では洗浄液から分離した細菌

の増殖が認められた. 手洗用洗浄液の汚染は、容 器の洗浄不足や希釈水の汚染によることが推測さ れる。今回、調査したシャンプーとリンスは水道 水で適当濃度に希釈(詳細は不明)した後容器に 小分けして使用し、残りが少量になるとつぎたし ていることが窺えた、細菌が検出された希釈使用 液の原液からは細菌が検出されなかったが、期間 をおいて同じ施設で採取した検体から同一菌種が 検出されたことから、希釈・保存中の細菌汚染と 考えられる. 希釈型のシャンプーやリンスの汚染 率は76.2%で高かったが、ポンプ型でも33.3%に 汚染がみられた。ポンプ型の汚染は、手指や頭髪 の付着菌がボトルへ逆流している可能性が推測さ れる. このほかにも公衆浴場並びに旅館やゴルフ 場の浴場で使用されているシャンプー(ポンプ型) を調べたところ理容店や美容店と同様に細菌汚染 が認められた(未発表)。

今回の結果から、最大検出菌量は10°CFU/mlにも達しており一時的に混入した菌量とは考えにくく、手洗用洗浄液の細菌汚染と同様に、シャンプーやリンス中での細菌の増殖が考えられる。汚染した手洗用洗浄液からは前回の調査で17菌種のグラム陰性桿菌が分離されたが、シャンプーやリンスから分離されたグラム陰性桿菌は、8菌種で手洗用洗浄液より少なかった。手洗用洗浄液は不特定多数の人が使用し、設置場所も屋外のことも多いがシャンプーやリンスを取り扱う人は限られており、また室内で使用するため汚染菌の種類が限定されているものと思われる。

シャンプー・リンスの成分はやし油アルキル(コ) アミドポリオキシエチレンサルフェート (CAES)で、アニオン系界面活性剤が主である.

しかし、これらはグラム陰性桿菌に対して抗菌活性はなく、Staphylococcus 属の発育も阻害しないとの報告がある⁶. シャンプーやリンスのなかには防腐剤としてバラヒドロキシ安息香酸エステル類(パラベン類)が含まれているものがあるが、希釈の不正確さ、希釈液の保存、希釈後の成分の物理化学的不安定さ等により、その効果が減少する可能性が考えられる。

S. marcescens や P. aeruginosa をはじめとす る今回分離された細菌は、日和見感染の原因とな る⁷⁾⁸⁾. S. marcescens や P. aeruginosa は家庭の洗 面所や流し台などの水環境に棲息し、貯溜された 飲料水の細菌汚染の原因となることが知られてい る⁹⁾、 また、P. aeruginosa 毛包炎の発生やコンタ クトレンズの洗浄液の P. aeruginosa 汚染による 角膜潰瘍との関連性の報告もある8)10)~12)。不特定 多数の人々を対象とする業務用洗髪剤の P. aeruginosa や S. marcescens による汚染は、理・美容 師の手を汚染し,使用者自身を含む家族への汚染 菌の伝播も考えられる。また洗髪時に汚染菌が眼, 耳,皮膚,傷口などに付着,侵入し,外耳炎,角 結膜炎, その他の感染症の原因となる可能性も示 唆される。 またアトピー性皮膚炎の患者, 幼児や 高齢者などの感染症に対して防御力の弱い者への 感染源とならないよう注意する必要がある.

シャンプーやリンスは医薬部外品として法的基準はないが、Good Manufacturing Practice (GMP)として製造管理がなされている¹³⁾.しかし、販売後の取り扱い上の注意事項は明確でなく、使用者の一般的な衛生知識に任されているように感じた。今回の調査結果が示すとおりシャンプーとリンスに細菌汚染が認められたことから、製造会社は細菌汚染防止を目的とした衛生的扱いや保管などに関する注意事項を明確にし、理容師・美容師等の所属する協会並びに保健所等は使用者に洗髪液の取り扱い方法および施設内感染の可能性

についての教育を実施する必要があろう.

文 献

- 雨宮一彦,田口文章:手洗用洗浄液の細菌に関する調査.防菌防黴,20:459-463,1992.
- Gandhi, P.A., Sawant, A.D., Wilson, L.A. & Ahearn, D.G.: Adaptation and growth of Serratia marcescens in contactlens disinfectant solutions containg chlorhexidine gluconate. Appl. Environ. Microbiol., 59: 183—188, 1993.
- 3) 中野愛子: 逆性石鹸中で増殖する細菌について. 日細学誌, 15: 1269-1274, 1960.
- Anderson, R.L., Vess, R.W., Panlilio, A.L. & Favero, M.S.: Prolonged survival of Pseudomonas cepacia in commercially manufactured povidone—Iodine. Appl. Environ. Microbiol., 56: 3598—3600, 1990.
- 5) 久米 光:新しい消毒薬の細菌学的評価. 臨床と細菌, 5:253-257,1978.
- 6) 古田太郎:やし油アルキルアミドポリオキシエチレンサルフェートのグラム陽性菌に対する抗菌活性とカチオン系殺菌剤の不活化剤としての利用の可能性.防菌防黴,21:189—193,1993.
- 7) 林 泉:Serratia 病院感染. 臨床医, 11:298 -302, 1985.
- 8) 上田 泰: Opportunistic infection. p. 94—99,上 田 泰, 五島嵯智子, 坂崎利一, 清水喜八郎, 松 本文夫編: 感染症学; 基礎と臨床, 1982年, メ ディカルビュー社, 東京.
- 9) 古畑勝則, 松本淳彦,福山正文,田渕 清:飲食 用タンク水中のエンドトキシンに関する一考察. 防菌防黴,20:519-523,1992.
- 10) 滝上 正,丸山光雄:緑膿菌性毛包炎の多発例に 関する臨床的研究. 一わが国での最初の報告及び 文献的考察一. 感染症誌,66:360-365,1992.
- Price, D. & Ahearn, D.G.: Incidence and persistence of *Pseudomonas aeruginosa* in whirlpools. J. Clin. Microbiol., 26: 1650—1654, 1988.
- 12) Mayo, M.S., Cook, W.L., Schlitzer, R.L., Ward, M.A., Wilson, L.A. & Ahearn, D.G.: Antibiograms, serotypes, and plasmid profiles of *Pseudomonas aeruginosa* associated with corneal ulcers and contact lens water. J. Clin. Microbiol., 24: 372—376, 1986.
- 13) 浅賀良雄: 化粧品領域における除菌・殺菌のバリデーションについて. 防菌防黴, 19: 319-324, 1991.

雨宮 一彦 他

Bacterial Contamination of Hair Washing Liquids

Kazuhiko AMEMIYA¹⁾ and Fumiaki TAGUCHI²⁾

¹⁾Medical Diagnostic Center of Urawa-shi Medical Association

²⁾Department of Microbiology, School of Hygienic Sciences, Kitasato University

To determine the extent of contamination by bacteria of hair-washing shampoo and rinse used professionally at barber shops and hair-dressing saloons, quantitative isolation of bacteria were performed by using a total of 39 samples of shampoo and rinse fluid obtained from 17 facilities. It was found that a maximal number of $1 \times 10^7/\text{ml}$ colony forming units/ml of bacteria were isolated from 60.7% (17 out of 28 samples) of the shampoo and 45.5% (5 out of 11) of the rinse. Gram-negative bacilli were the predominant strains (87.9%) involved in bacterial contamination and the major isolates were Serratia marcescens (43.3%, most frequently isolated), Pseudomonas cepacia, P. fluorescens, P. aeruginosa and Klebsiella pneumoniae, all which are widely recognized as nosocomial-infection causing pathogens. These results indicate hair-washing liquids for professional use are contaminated with a great number of gram-negative bacteria, being possible causes of nosocomial infections, and much attention should be paid to the sanitation and cleanliness of the shampoo and rinse for hair-washing.