

■ Original article

in vitro での塩化ベンザルコニウムの殺菌効果に対するクロスの影響

片瀧盛将^{1,2}、飯島広和²、渡部和巨²、松村有里子¹、岩澤篤郎¹、木村 哲¹

¹ 東京医療保健大学大学院

² 東京西徳洲会病院

Influence of cloth for bactericidal activities of benzalkonium chloride

Shigemasa Katafuchi^{1,2}, Iijima Hirokazu², Watanabe Kazunao², Yuriko Matsumura¹, Atsuo Iwasawa¹, Satoshi Kimura¹

¹ Division of Infection Prevention and Control, Tokyo Healthcare University Postgraduate School

² Tokyo Nishi Tokushukai Hospital

背景: 感染制御対策のひとつとして、日常的に環境表面の清拭と消毒が行われている。環境整備に使用されるクロスは、不織布に塩化ベンザルコニウム (Benzalkonium chloride: BZC) 等の消毒薬があらかじめ含浸されたものである。しかし、不織布素材であるレーヨン等に有効成分が吸着することによる濃度低下等が原因で、十分な殺菌効果を示さない可能性が示唆されている。

目的: 適切な環境整備方法に関する基礎的検討として、*in vitro* で菌懸濁液と乾燥菌体を用いて環境清拭クロスに主に含浸されている BZC の殺菌効果を検証するとともに、クロスの有無及びクロスの材質の違いによる影響を明らかにすることを目的とした。

方法: *Staphylococcus aureus* ATCC25923、*Staphylococcus epidermidis* ATCC12228、*Enterococcus faecalis* ATCC29212、*Pseudomonas aeruginosa* ATCC27853、*Escherichia coli* ATCC25922、*Candida albicans* ATCC10231 と市販の4種類のクロス材を使用した。種々の濃度の BZC 水溶液を菌懸濁液と一定時間接触させ中和後、生菌数を計測した。ステンレス上に菌懸濁液を塗布乾燥して乾燥菌体とし、0.2%BZC 水溶液をクロスの有無で一定時間処理し、生菌数を求めた。

結果: BZC 水溶液は、菌懸濁液との接触で即効的な殺菌効果を示したが、その濃度は菌種により異なった。乾燥菌体への接触でも、0.2% BZC 水溶液で即効的な殺菌効果が確認された。クロスに BZC 水溶液を含浸すると、材質により殺菌効果が異なった。

結論: 薬剤の殺菌効果に対するクロスの材質の影響を考慮して、消毒薬の濃度と含浸量を適切に設定することが重要である。

Key words : 塩化ベンザルコニウム (Benzalkonium chloride)、殺菌効果 (Bactericidal effect)、吸着 (Adsorption)、環境表面 (Environmental surface)、環境清拭クロス (Environmental cloth)

1. はじめに

医療施設における感染制御策として、日常的に療養環境を消毒する必要はないとされている。しかし、患者や医療従事者が頻繁に触れるベッド柵などの患者に近い表

面が薬剤耐性菌や *Clostridioides difficile* 等により汚染された可能性に加えて汚染時には患者または医療従事者への暴露・拡散が危惧されることから、医療関連感染防止の観点において定期的な環境表面の清掃と消毒が重要となる¹⁻³⁾。

アメリカ疾病管理予防センター (Centers for Disease

Control and Prevention : CDC) の Guideline for Disinfection and Sterilization in Healthcare Facilities では、患者ケア区域において、表面上の汚れの性質が不明な場合、または表面上にある多剤耐性菌が存在するかどうか不明な場合には、United States Environmental Protection Agency, (EPA; 米国環境保護庁) 承認の消毒薬を使用することと勧告している⁴⁾。

日常的な環境整備では、レーヨン等を素材とする不織布にあらかじめ消毒薬を含浸した市販の清拭クロスが使用されている。消毒薬には、塩化ベンザルコニウム (Benzalkonium chloride : BZC) などの第4級アンモニウム塩、次亜塩素酸ナトリウム、消毒用アルコール等が使用されている。特に BZC は、低濃度でも広範な殺菌スペクトルを有する。この性質から、皮膚や粘膜などの生体表面の消毒や、医療環境の消毒、物品の消毒などに広く使用されている。

レーヨン等を素材とするクロスに BZC を含浸させると、10分とごく短時間でクロス材への吸着が起こり、有効成分である BZC 濃度が低下することが報告^{5,6)}され、様々な素材に対する薬剤吸着についても検討されている^{7,8)}。特に、薬剤含浸清拭クロスのパフォーマンス評価では、BZC を薬剤として用いてクロス絞り液の殺菌効果試験と拭き取り装置を使用した清拭法による評価が行われ、クロスにレーヨン等のセルロース系素材が含まれると十分な殺菌効果を示さないことが報告され、クロスへの薬剤吸着による BZC 濃度低下が原因であるものとして考察されている⁸⁾。同報告において、クロスからの絞り液に十分な殺菌効果を確保できなければ、薬剤含浸クロスによる殺菌効果が期待できないことも考察されており、環境整備を行う上でクロスに含浸されている BZC 水溶

液の殺菌効果の担保が重要となる。

今回我々は、適切な環境整備方法の提示に向けた基礎的検討として、まず、環境清拭クロスに主に含浸されている BZC 水溶液の殺菌効果について、薬剤濃度と作用時間の関係を検討した。次に、環境清拭クロスの素材として汎用されている4種類のクロスを用いて、2通りの BZC 水溶液の含浸方法で乾燥菌体に対する殺菌効果を評価し、クロスの有無およびクロス材質の違いによる殺菌効果への影響を検討したので報告する。

2. 方法

2.1 試薬とクロス、試験菌株

1) 試薬

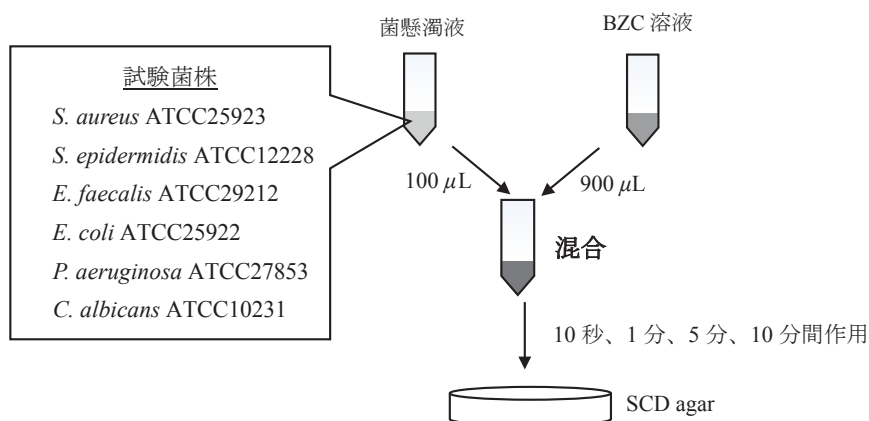
試験に供した BZC 水溶液は、10%塩化ベンザルコニウム溶液 (10% Benzalkonium Chloride Solution, BZC、富士フィルム和光純薬株式会社) から Milli Q 水 (Direct-Q[®] 3 UV、メルク株式会社) を用いて適宜調整した。

2) クロス

クロスは、レーヨン (以下クロス A)、レーヨン + ポリエチレン (以下クロス B)、マイクロファイバー (以下クロス C)、パルプ + ポリエステル (以下クロス D) を用い、それぞれ 50 mm × 50 mm のサイズに裁断した。

3) 試験菌株

Staphylococcus aureus ATCC25923、*Staphylococcus epidermidis* ATCC12228、*Enterococcus faecalis* ATCC29212、*Pseudomonas aeruginosa* ATCC27853、*Escherichia coli* ATCC25922、*Candida albicans* ATCC10231 を用いた。各種試験菌株を培養後、滅菌リン酸緩衝液 (ダルベッコ PBS(-)、日水製薬株式会社) で約 10^8 CFU/mL に調整し



ふらん器で24時間培養後、コロニー数を計測

図1 菌懸濁液を用いた殺菌効果試験方法

たものを菌懸濁液とした。血液含有菌懸濁液は、約 10^9 CFU/mL に調整した菌懸濁液 $10 \mu\text{L}$ と綿羊無菌脱繊維血液（コージンバイオ株式会社） $90 \mu\text{L}$ を懸濁して作成した。

2.2 菌懸濁液を用いた BZC 水溶液の殺菌効果試験

菌懸濁液 $100 \mu\text{L}$ と BZC 水溶液 $900 \mu\text{L}$ を混合して 10 秒、1 分、5 分、10 分間作用させた後、 $20 \mu\text{L}$ をレチシン・ポリソルベート含有中和剤添加培地（SCDLP 培地、富士フィルム和光純薬株式会社） $180 \mu\text{L}$ に添加して 10 倍希釈系列を作成した。その後、SCD 寒天培地またはサブロー寒天培地に $10 \mu\text{L}$ 塗布し、 37°C で 24 時間好気培養して生菌数を計測した（図 1）（ $n=3$ ）。

2.3 乾燥菌体を用いた BZC 水溶液の殺菌効果試験

ステンレス板上の試験担体領域（ $30 \text{ mm} \times 30 \text{ mm}$ ）に菌懸濁液または血液含有菌懸濁液 $10 \mu\text{L}$ を塗沫、自然乾燥させた。乾燥に要した時間は、菌懸濁液で 3～5 分、血液含有菌懸濁液で 8～10 分であった。乾燥菌体へ 0.2% BZC 水溶液 $500 \mu\text{L}$ を 10 秒、30 秒、60 秒間接触後、試験担体領域より滅菌綿棒（メンティブ® 病院用綿棒 1P1504、日本綿棒株式会社）で拭い取り、SCDLP 培地

で 2 分間ボルテックスにて攪拌した後、2.2 で記載した殺菌効果試験と同様に試験担体における生菌数を計測した。

2.4 乾燥菌体を用いた BZC 水溶液含浸クロス of 殺菌効果試験

1) 試験方法 1

乾燥菌体に BZC 水溶液含浸クロスを接触させ、生菌数を測定した系を試験方法 1 とした。菌懸濁液および血液含有菌懸濁液より 2.3 で記載した殺菌試験方法と同様に乾燥菌体を作成した。 $50 \text{ mm} \times 50 \text{ mm}$ に裁断したクロスに 0.2% BZC 水溶液を 10 分間浸漬した。クロスに含浸させる BZC 水溶液量は、各クロスの厚みに応じた含浸量とし、クロス A には $700 \mu\text{L}$ 、クロス B とクロス D には $500 \mu\text{L}$ 、クロス C には $800 \mu\text{L}$ とした。乾燥菌体に BZC 水溶液含浸クロスを 10 秒、30 秒、60 秒間接触させた後、クロスを取り除き、試験担体上を滅菌綿棒で拭い取り生菌数を計測した（図 2(1)）。

2) 試験方法 2

乾燥菌体にクロスを接触後に BZC 水溶液を塗布し、生菌数を測定した系を試験方法 2 とした。菌懸濁液および血液含有菌懸濁液より 2.3 で記載した殺菌試験方法

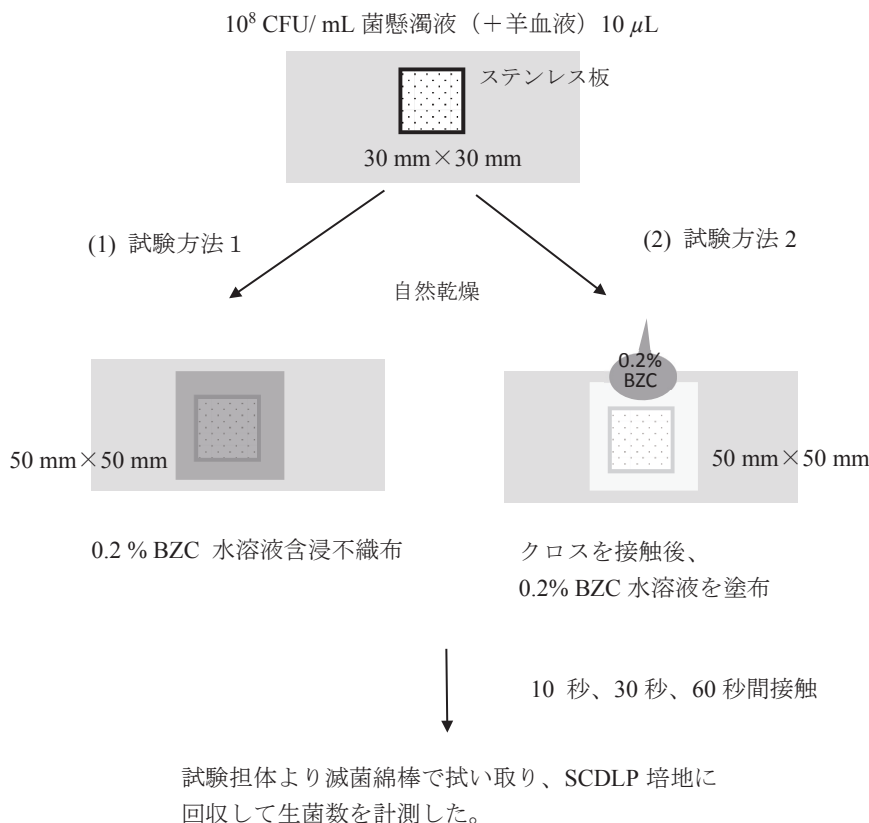


図 2 乾燥菌体を用いた殺菌効果試験方法

と同様に乾燥菌体を作成した。乾燥菌体上に 50 mm × 50 mm に裁断した乾燥クロスを覆いかぶせた後、0.2% BZC 水溶液を乾燥クロスの上から塗布した。試験方法 1 と同様に、BZC 水溶液量はクロス A には 700 μ L、クロス B とクロス D には 500 μ L、クロス C には 800 μ L とし、乾燥菌体に 10 秒、30 秒、60 秒間接触させた後の生菌数を計測した (図 2(2))。

2.5 倫理的配慮

本研究は、微生物安全管理者の指導のもと、東京医療保健大学大学院で実施した。

3. 結 果

3.1 菌懸濁液を用いた BZC 水溶液の殺菌効果

供試したすべての試験菌株において、高濃度の BZC 水溶液では接触 10 秒後に即効的な殺菌効果が認められた。その有効最小濃度は菌種により異なり、*S. aureus*、*E. coli*、*P. aeruginosa* で 0.005%、*S. epidermidis*、*E. faecalis*、*C.*

albicans では 0.01% で検出限界以下となった。また、BZC 水溶液と 10 分間接触しても十分な殺菌効果が認められない BZC 最大濃度は、*S. aureus*、*S. epidermidis*、*E. coli* で 0.0001%、*E. faecalis*、*P. aeruginosa* で 0.0005%、*C. albicans* で 0.001% であり、菌種により殺菌効果を示す BZC 濃度や接触時間に違いが認められた (表 1)。

3.2 乾燥菌体を用いた BZC 水溶液の殺菌効果

供試したすべての試験菌株において、0.2%BZC 水溶液では血液共存の有無によらず、いずれの接触時間でも菌の検出は確認されなかった (表 2)。

3.3 乾燥菌体を用いた BZC 水溶液の殺菌効果

乾燥菌体に BZC 含浸クロスを接触させる試験方法 1 において、*S. aureus* を用いた検討では (表 3)、菌懸濁液より作成した乾燥菌体への接触ではいずれのクロスも接触させても検出限界以下となり、血液含有菌懸濁液より作成した乾燥菌体への接触では菌が検出された。特にクロス B、C、D で $10^4 \sim 10^5$ CFU/mL の菌が検出された。

表 1 各濃度の BZC 水溶液と菌懸濁液の接触時間と殺菌効果との関係

菌 名		10 秒後の検出限界以下 BZC 最小濃度 (%)	10 分間で殺菌効果が認め られない BZC 最大濃度 (%)
グラム陽性菌	<i>S. aureus</i> ATCC25923	0.005	0.0001
	<i>S. epidermidis</i> ATCC12228	0.01	0.0001
	<i>E. faecalis</i> ATCC29212	0.01	0.0005
グラム陰性菌	<i>E. coli</i> ATCC25922	0.005	0.0001
	<i>P. aeruginosa</i> ATCC27853	0.005	0.0005
真 菌	<i>C. albicans</i> ATCC10231	0.01	0.001

約 10^8 CFU/mL に調整した菌懸濁液 100 μ L を BZC 水溶液 900 μ L と混合して 10 秒後の生菌数を測定して菌懸濁液と接触 10 秒後に検出限界以下となる BZC 最小濃度とし、混合して 10 分後の生菌数を測定し、検出限界以下とならなかった BZC 水溶液の最低濃度を BZC 水溶液の接触 10 分間で殺菌効果が認められない BZC 最大濃度として示した。(n=3)

表 2 乾燥菌体に対する BZC 水溶液の殺菌効果

血 液	接 触 時 間	<i>S. aureus</i> ATCC25923	<i>S. epidermidis</i> ATCC12228	<i>E. faecalis</i> ATCC29212	<i>E. coli</i> ATCC25922	<i>P. aeruginosa</i> ATCC27853	<i>C. albicans</i> ATCC10231
無	10sec	< 100	< 100	< 100	< 100	< 100	< 100
	30sec	< 100	< 100	< 100	< 100	< 100	< 100
	60sec	< 100	< 100	< 100	< 100	< 100	< 100
有	10sec	< 100	< 100	< 100	< 100	< 100	< 100
	30sec	< 100	< 100	< 100	< 100	< 100	< 100
	60sec	< 100	< 100	< 100	< 100	< 100	< 100

ステンレス板の試験担体領域 (30 mm × 30 mm) に約 10^8 CFU/mL に調整した菌懸濁液または血液含有菌懸濁液 10 μ L を塗抹、自然乾燥させて作成した乾燥菌体に、0.2 % BZC 水溶液 500 μ L を接触後、試験担体より滅菌綿棒で拭き取り、SCDLP 培地に回収して生菌数を計測した。(n=3)
<100 は検出限界以下を示す。

表3 *S. aureus* の乾燥菌体を用いた BZC 水溶液含浸クロスの殺菌効果

試験方法	血液	接触時間	クロス A	クロス B	クロス C	クロス D
1	無	10sec	< 100	< 100	< 100	< 100
		30sec	< 100	< 100	< 100	< 100
		60sec	< 100	< 100	< 100	< 100
	有	10sec	6.8×10^3	3.3×10^5	3.9×10^5	3.9×10^5
		30sec	2.6×10^3	1.5×10^5	2.2×10^5	2.2×10^5
		60sec	6.0×10^2	1.8×10^4	1.2×10^5	1.2×10^5
2	無	10sec	< 100	< 100	< 100	< 100
		30sec	< 100	< 100	< 100	< 100
		60sec	< 100	< 100	< 100	< 100
	有	10sec	< 100	< 100	< 100	< 100
		30sec	< 100	< 100	< 100	< 100
		60sec	< 100	< 100	< 100	< 100

ステンレス板の試験担体領域 (30 mm × 30 mm) に約 10^8 CFU/mL に調整した菌懸濁液または血液含有菌懸濁液 10 μ L を塗抹、自然乾燥させて作成した乾燥菌体に、以下に示す試験方法 1 または 2 でクロスを接触後、試験担体より滅菌綿棒で拭い取り、SCDLP 培地に回収して生菌数を計測した。(n=3)

試験方法 1: 乾燥菌体に BZC 水溶液含浸クロスを接触させた。

試験方法 2: 乾燥クロスを乾燥菌体に覆い BZC 水溶液を塗布した。

<100 は検出限界以下を示す。

クロス A: レーヨン (50 mm × 50 mm に裁断したクロス)

クロス B: レーヨン + ポリエチレン (50 mm × 50 mm に裁断したクロス)

クロス C: マイクロファイバー (50 mm × 50 mm に裁断したクロス)

クロス D: パルプ + ポリエステル (50 mm × 50 mm に裁断したクロス)

表4 *S. epidermidis* の乾燥菌体を用いた BZC 水溶液含浸クロスの殺菌効果

試験方法	血液	接触時間	クロス A	クロス B	クロス C	クロス D
1	無	10sec	< 100	< 100	< 100	2.0×10^2
		30sec	< 100	< 100	< 100	< 100
		60sec	< 100	< 100	< 100	< 100
	有	10sec	1.9×10^4	2.0×10^2	4.0×10^2	2.8×10^5
		30sec	< 100	< 100	4.0×10^2	7.5×10^4
		60sec	< 100	< 100	1.0×10^2	1.1×10^4
2	無	10sec	< 100	< 100	< 100	< 100
		30sec	< 100	< 100	< 100	< 100
		60sec	< 100	< 100	< 100	< 100
	有	10sec	< 100	< 100	< 100	< 100
		30sec	< 100	< 100	< 100	< 100
		60sec	< 100	< 100	< 100	< 100

ステンレス板の試験担体領域 (30 mm × 30 mm) に約 10^8 CFU/mL に調整した菌懸濁液または血液含有菌懸濁液 10 μ L を塗抹、自然乾燥させて作成した乾燥菌体に、以下に示す試験方法 1 または 2 でクロスを接触後、試験担体より滅菌綿棒で拭い取り、SCDLP 培地に回収して生菌数を計測した。(n=3)

試験方法 1: 乾燥菌体に BZC 水溶液含浸クロスを接触させた。

試験方法 2: 乾燥クロスを乾燥菌体に覆い BZC 水溶液を塗布した。

<100 は検出限界以下を示す。

クロス A: レーヨン (50 mm × 50 mm に裁断したクロス)

クロス B: レーヨン + ポリエチレン (50 mm × 50 mm に裁断したクロス)

クロス C: マイクロファイバー (50 mm × 50 mm に裁断したクロス)

クロス D: パルプ + ポリエステル (50 mm × 50 mm に裁断したクロス)

表5 *E. faecalis* の乾燥菌体を用いた BZC 水溶液含浸クロスの殺菌効果

試験方法	血液	接触時間	クロス A	クロス B	クロス C	クロス D
1	無	10sec	< 100	2.0×10^2	1.0×10^2	3.8×10^2
		30sec	< 100	1.5×10^2	2.6×10^2	< 100
		60sec	< 100	< 100	1.0×10^2	< 100
	有	10sec	8.0×10^5	9.5×10^5	6.0×10^5	6.5×10^4
		30sec	4.4×10^5	5.1×10^5	3.2×10^5	1.1×10^4
		60sec	9.1×10^4	7.5×10^4	7.9×10^4	1.0×10^2
2	無	10sec	< 100	< 100	< 100	< 100
		30sec	< 100	< 100	< 100	< 100
		60sec	< 100	< 100	< 100	< 100
	有	10sec	< 100	2.4×10^5	7.0×10^5	< 100
		30sec	< 100	8.5×10^4	2.0×10^4	< 100
		60sec	< 100	4.8×10^4	1.8×10^4	< 100

ステンレス板の試験担体領域 (30 mm × 30 mm) に約 10^8 CFU/mL に調整した菌懸濁液または血液含有菌懸濁液 10 μ L を塗抹、自然乾燥させて作成した乾燥菌体に、以下に示す試験方法 1 または 2 でクロスを接触後、試験担体より滅菌綿棒で拭い取り、SCDLP 培地に回収して生菌数を計測した。(n=3)

試験方法 1: 乾燥菌体に BZC 水溶液含浸クロスを接触させた。

試験方法 2: 乾燥クロスを乾燥菌体に覆い BZC 水溶液を塗布した。

<100 は検出限界以下を示す。

クロス A: レーヨン (50 mm × 50 mm に裁断したクロス)

クロス B: レーヨン + ポリエチレン (50 mm × 50 mm に裁断したクロス)

クロス C: マイクロファイバー (50 mm × 50 mm に裁断したクロス)

クロス D: パルプ + ポリエステル (50 mm × 50 mm に裁断したクロス)

表6 *E. coli* の乾燥菌体を用いた BZC 水溶液含浸クロスの殺菌効果

試験方法	血液	接触時間	クロス A	クロス B	クロス C	クロス D
1	無	10sec	< 100	2.5×10^2	2.0×10^2	3.0×10^2
		30sec	< 100	< 100	< 100	< 100
		60sec	< 100	< 100	< 100	< 100
	有	10sec	3.1×10^5	2.7×10^4	2.8×10^5	4.6×10^5
		30sec	2.3×10^4	2.3×10^4	2.7×10^4	2.8×10^5
		60sec	2.6×10^4	1.3×10^4	1.6×10^4	1.7×10^5
2	無	10sec	< 100	< 100	< 100	< 100
		30sec	< 100	< 100	< 100	< 100
		60sec	< 100	< 100	< 100	< 100
	有	10sec	< 100	7.0×10^2	3.0×10^4	5.5×10^4
		30sec	< 100	4.0×10^2	2.2×10^3	2.1×10^3
		60sec	< 100	3.5×10^2	2.0×10^2	7.5×10^2

ステンレス板の試験担体領域 (30 mm × 30 mm) に約 10^8 CFU/mL に調整した菌懸濁液または血液含有菌懸濁液 10 μ L を塗抹、自然乾燥させて作成した乾燥菌体に、以下に示す試験方法 1 または 2 でクロスを接触後、試験担体より滅菌綿棒で拭い取り、SCDLP 培地に回収して生菌数を計測した。(n=3)

試験方法 1: 乾燥菌体に BZC 水溶液含浸クロスを接触させた。

試験方法 2: 乾燥クロスを乾燥菌体に覆い BZC 水溶液を塗布した。

<100 は検出限界以下を示す。

クロス A: レーヨン (50 mm × 50 mm に裁断したクロス)

クロス B: レーヨン + ポリエチレン (50 mm × 50 mm に裁断したクロス)

クロス C: マイクロファイバー (50 mm × 50 mm に裁断したクロス)

クロス D: パルプ + ポリエステル (50 mm × 50 mm に裁断したクロス)

表7 *P. aeruginosa* の乾燥菌体を用いた BZC 水溶液含浸クロスの殺菌効果

試験方法	血液	接触時間	クロス A	クロス B	クロス C	クロス D
1	無	10sec	1.6×10^3	1.5×10^2	1.0×10^2	4.0×10^2
		30sec	5.0×10^2	1.5×10^2	< 100	< 100
		60sec	< 100	1.0×10^2	< 100	< 100
	有	10sec	3.2×10^5	5.9×10^4	5.4×10^5	4.4×10^5
		30sec	2.0×10^5	4.6×10^4	5.2×10^5	2.7×10^5
		60sec	3.9×10^4	1.2×10^4	3.5×10^4	2.8×10^4
2	無	10sec	< 100	< 100	< 100	< 100
		30sec	< 100	< 100	< 100	< 100
		60sec	< 100	< 100	< 100	< 100
	有	10sec	< 100	2.5×10^4	4.5×10^3	4.5×10^3
		30sec	< 100	1.0×10^2	1.0×10^2	2.0×10^2
		60sec	< 100	< 100	< 100	1.0×10^2

ステンレス板の試験担体領域 (30 mm × 30 mm) に約 10^8 CFU/mL に調整した菌懸濁液または血液含有菌懸濁液 10 μ L を塗抹、自然乾燥させて作成した乾燥菌体に、以下に示す試験方法 1 または 2 でクロスを接触後、試験担体より滅菌綿棒で拭い取り、SCDLP 培地に回収して生菌数を計測した。(n=3)

試験方法 1: 乾燥菌体に BZC 水溶液含浸クロスを接触させた。

試験方法 2: 乾燥クロスを乾燥菌体に覆い BZC 水溶液を塗布した。

<100 は検出限界以下を示す。

クロス A: レーヨン (50 mm × 50 mm に裁断したクロス)

クロス B: レーヨン + ポリエチレン (50 mm × 50 mm に裁断したクロス)

クロス C: マイクロファイバー (50 mm × 50 mm に裁断したクロス)

クロス D: パルプ + ポリエステル (50 mm × 50 mm に裁断したクロス)

表8 *C. albicans* の乾燥菌体を用いた BZC 水溶液含浸クロスの殺菌効果

試験方法	血液	接触時間	クロス A	クロス B	クロス C	クロス D
1	無	10sec	6.0×10^3	3.1×10^4	2.2×10^4	3.1×10^4
		30sec	2.0×10^3	1.9×10^3	1.0×10^3	6.5×10^3
		60sec	4.3×10^2	1.8×10^4	< 100	3.0×10^2
	有	10sec	8.9×10^4	9.0×10^4	6.1×10^5	1.7×10^5
		30sec	8.0×10^4	8.6×10^4	6.5×10^4	2.6×10^4
		60sec	5.0×10^4	5.2×10^4	3.6×10^4	2.5×10^4
2	無	10sec	< 100	< 100	< 100	< 100
		30sec	< 100	< 100	< 100	< 100
		60sec	< 100	< 100	< 100	< 100
	有	10sec	6.0×10^3	2.3×10^4	1.5×10^3	9.5×10^4
		30sec	2.8×10^3	2.3×10^4	1.0×10^2	3.5×10^4
		60sec	2.0×10^3	1.6×10^4	< 100	2.4×10^4

ステンレス板の試験担体領域 (30 mm × 30 mm) に約 10^8 CFU/mL に調整した菌懸濁液または血液含有菌懸濁液 10 μ L を塗抹、自然乾燥させて作成した乾燥菌体に、以下に示す試験方法 1 または 2 でクロスを接触後、試験担体より滅菌綿棒で拭い取り、SCDLP 培地に回収して生菌数を計測した。(n=3)

試験方法 1: 乾燥菌体に BZC 水溶液含浸クロスを接触させた。

試験方法 2: 乾燥クロスを乾燥菌体に覆い BZC 水溶液を塗布した。

<100 は検出限界以下を示す。

クロス A: レーヨン (50 mm × 50 mm に裁断したクロス)

クロス B: レーヨン + ポリエチレン (50 mm × 50 mm に裁断したクロス)

クロス C: マイクロファイバー (50 mm × 50 mm に裁断したクロス)

クロス D: パルプ + ポリエステル (50 mm × 50 mm に裁断したクロス)

乾燥クロスに乾燥菌体に覆い BZC 水溶液を塗布した試験方法 2 では、血液の有無によらずいずれも検出限界以下となった。

S. epidermidis を用いた検討では、いずれの試験方法でも *S. aureus* と類似の結果となったが、抵抗性は *S. aureus* より低かった。特に、試験方法 1 の血液含有菌懸濁液より作成した乾燥菌体への接触では、クロス C とクロス D で $10^2 \sim 10^5$ CFU/mL の菌が検出された (表 4)。

E. faecalis を用いた検討では、試験方法 1 の菌懸濁液より作成した乾燥菌体への接触において、クロス A を 10 秒間接触、クロス B を 60 秒間接触、クロス D を 30 秒および 60 秒間接触した時に検出限界以下となった。試験方法 2 の菌懸濁液より作成した乾燥菌体への接触では、いずれのクロスを接触させても検出限界以下となり、血液含有菌懸濁液より作成した乾燥菌体への接触においてクロス A とクロス D で検出限界以下となったのに対し、クロス B とクロス C で $10^4 \sim 10^5$ CFU/mL の菌が検出された (表 5)。

E. coli を用いた検討では、いずれの試験方法でも *E. faecalis* と同様の傾向が認められたが、試験方法 2 の血液含有菌懸濁液より作成した乾燥菌体への接触においてクロス D で菌が検出され、*E. faecalis* の結果とは違いが認められた (表 6)。

P. aeruginosa を用いた検討では、いずれの試験方法でも *E. coli* と同様の傾向が認められたが、試験方法 1 の菌懸濁液より作成した乾燥菌体への接触において、クロス B を 30 秒間および 60 秒間接触しても菌が検出され、*E. coli* の結果とは違いが認められた (表 7)。

C. albicans を用いた検討では、試験方法 1 の菌懸濁液から作成した乾燥菌体に対してクロス C を 60 秒間接触した時のみ検出限界以下となり、試験方法 2 の菌懸濁液から作成した乾燥菌体への接触において、いずれのクロスを接触しても検出限界以下となった。また、試験方法 2 で血液含有菌懸濁液より作成した乾燥菌体にクロス C を 60 秒間接触した場合のみ検出限界以下となり、いずれのクロスを接触しても菌が検出され、細菌の結果とは違いが認められた (表 8)。

4. 考 察

CDC のガイドライン⁴⁾に沿った感染制御策として、日常的な清拭にはあらかじめ BZC などの消毒薬が含浸

された市販の清拭クロスが用いられている。本稿で検討した BZC の菌懸濁液に対する殺菌効果は、図 3、表 1、表 2 に示すように、使用した全ての試験菌株において、既報の 0.01% ~ 0.2% の濃度範囲における殺菌効果⁹⁾と同様の殺菌効力が示された。しかし検出限界以下となる濃度は、*C. albicans*、*S. epidermidis*、*E. faecalis* では 0.01% であるのに対して、*E. coli* と *P. aeruginosa* では 0.005% と、より低濃度で殺菌効果が認められ、菌種により殺菌効果を示す BZC 濃度が異なることが明らかとなった。これは、消毒対象となる菌種に適した濃度以上で BZC を適用する必要があることを示唆している。一方、0.2%BZC 水溶液を乾燥菌体に作用すると、表 3 に示すように、乾燥状態にある菌体に対しても殺菌効果を有し、主として 0.05% ~ 0.2% の BZC 水溶液が含浸されている市販の環境清拭クロスは、今回供試した *S. aureus*、*S. epidermidis*、*E. coli*、*P. aeruginosa*、*E. faecalis*、*C. albicans* に対して十分な殺菌効果が期待できるものと示唆された。

次に、消毒対象となる細菌は、臨床現場において体液や血液などの有機物質と共に、さまざまな場所に乾燥した状態で環境表面に存在する。血液存在下における乾燥菌体に対する 0.2%BZC 水溶液の殺菌効果は、表 3 に示すように、供試した全ての試験菌株において 10 秒間の接触で即効的な殺菌効果を示し、血液などの有機物質が存在すると殺菌作用が減弱するとの報告¹⁰⁾とは異なる結果となった。これは、本研究では、ステンレス板という平坦な試験担体を使用しており BZC 水溶液が乾燥菌体に接触し易い状態であったためと考えられることから、消毒薬が菌体表面に確実に接触すれば、菌体を含む有機物質が乾燥している状態でも殺菌効果を示すことが明らかになった。しかし、臨床現場における環境清拭の対象物である器具や環境表面はすべてが平坦ではなく、溝などの凹凸を有することが多い。さらに、菌体を含む有機物質は、付着後に塗り広げられることなく、そのまま乾燥した状態であるものと考えられる。以上より、臨床現場で適用可能な環境整備方法の確立には、乾燥による減菌の影響も考慮して、菌液を塗り広げた場合と塗り広げない場合等の現場に近い状態を再現して、さらなる検討を行う必要がある。

臨床現場で環境清拭を行う場合、あらかじめクロス材に BZC 水溶液が含浸されたものを使用する。レーヨン等の不織布に BZC 水溶液を含浸させると、有効成分が 10 分間とごく短時間でクロス材に吸着し、有効成

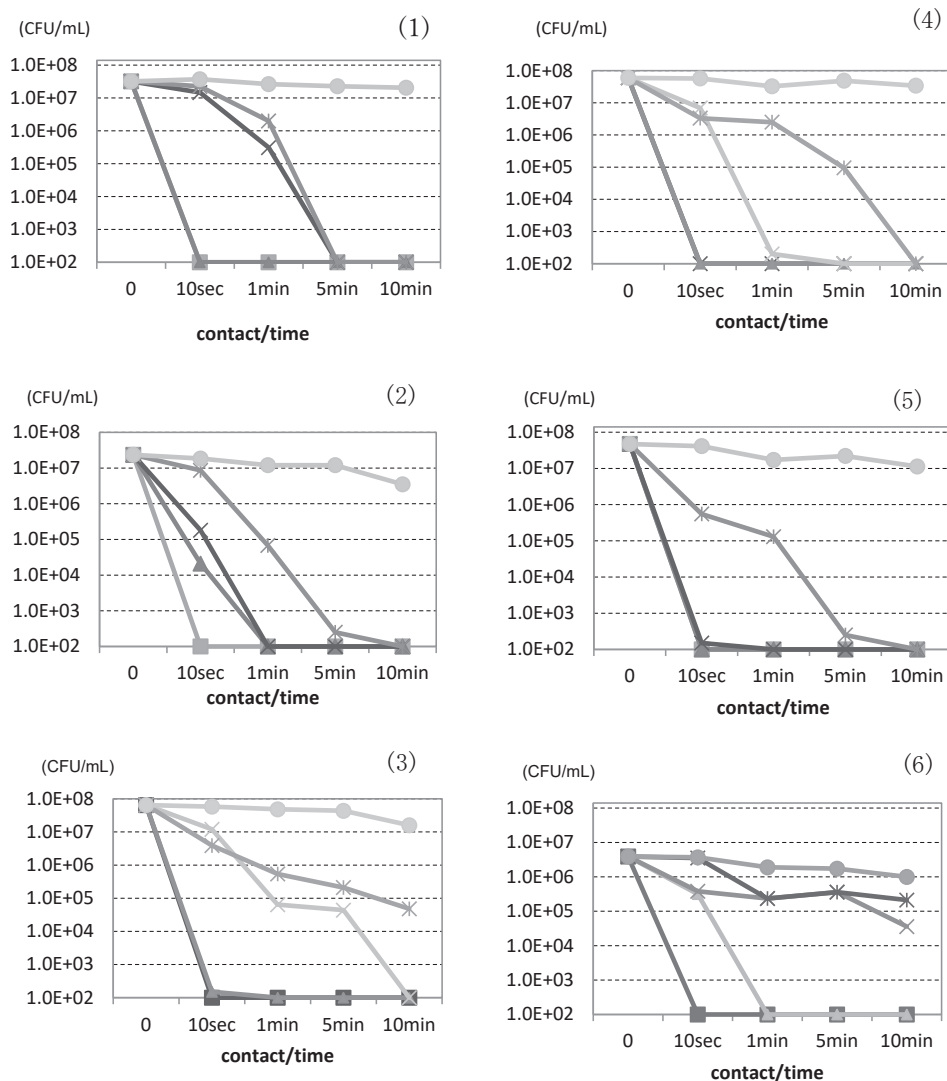


図3 菌懸濁液に対する BZC 水溶液の殺菌効果

(1) *S. aureus* ATCC25923 (2) *S. epidermidis* ATCC12228 (3) *E. faecalis* ATCC29212
 (4) *P. aeruginosa* ATCC27853 (5) *E. coli* ATCC29212 (6) *C. albican* ATCC10231
 BZC 濃度(%) : ■-0.01 ▲-0.005 ×-0.001 * -0.0005 ●-0.0001
 n=3

分である BZC の濃度低下が認められることにより、消毒・殺菌効果を期待できなくなる場合がある⁷⁾。素材の異なる 4 種類のクロスを使用して、2 通りの含浸方法で BZC 水溶液を含浸したクロスに乾燥菌体に接触させた時の殺菌効果について検討した。表 4～表 8 に示すように、乾燥菌体に BZC 水溶液含浸クロスに接触させた試験方法 1 の殺菌効果は、血液の無い状態では多くの菌で検出限界以下となったが、血液が存在すると検出される菌種および菌量が多くなった。BZC 水溶液は血液共存下でも乾燥菌体に対し殺菌効果を示すことから、BZC 含浸クロスが菌に十分接触していないものと考えられた。また、菌種間で比較すると、*S. aureus* は血液の無い状態でいずれのクロスを用いても 10 秒間の接触で殺

菌効果が認められた。このことは、BZC 水溶液を菌懸濁液に 10 分間接触しても殺菌効果が認められない濃度が 0.0001% と他の菌より低濃度であったことから裏付けられると考えられた。しかし、*S. aureus* と同様に、BZC 水溶液を菌懸濁液に 10 分間接触しても十分な殺菌効果が認められない濃度が 0.0001% と低濃度であった *S. epidermidis* と *E. coli* では、10 秒間の接触で菌が検出され、菌種により、殺菌効果に違いが認められた。乾燥クロスを乾燥菌体に覆い BZC 水溶液を塗布する試験方法 2 では、試験方法 1 より高い殺菌効果が認められた。これは、試験方法 2 では BZC 水溶液とクロスの接触時間が試験方法 1 より短いことから、クロスに BZC が吸収される前に菌体に接触している点と、クロスに BZC の

有効成分が完全に吸着されない状態で菌に作用している点で殺菌効果に相違がみられたものと推察された。また、BZC水溶液を予め含浸したクロスを用いた場合より、乾燥クロスの上からBZC水溶液を塗布する方法の方が、凹凸を有する乾燥菌体にBZC水溶液が接触しやすい状況が生まれた可能性が考えられた。今回使用したクロスのなかでも、特に、クロスB(レーヨン+ポリエチレン)とクロスD(パルプ+ポリエステル)を使用したときに殺菌効果が弱かった。レーヨンは、木材パルプを主原料として作られた再生セルロース繊維である。セルロース系の繊維とパルプは漂白工程における酸化により生じるカルボキシラートアニオン(COO⁻)に起因して負のゼータ電位を有するため、BZCなどのカチオン性薬物はアニオン性薬物や非イオン性薬物に比べて繊維やパルプへの吸着が著しいことが報告されており^{11,12)}。本研究でもクロスへの有効成分の吸着により殺菌効果が減弱したと考えられた。

以上より、医療現場で汎用されているBZC含浸クロスの適切な清拭方法は、本研究で明らかにした薬剤の殺菌効力に対するクロスの材質の影響を考慮した適切な消毒薬の濃度と含浸量を設定し使用することが重要であり、さらに物理的な除去力を加えた拭き取り評価を行い、多角的な観点を総合して提示することが望まれる。

■利益相反

なし

■文 献

- 1) Rutala WA, Weber DJ: The benefits of surface disinfection. *Am J Infect Control* 2004; **27**: 226-231.
- 2) Weber DJ, Andreson D, Rutala WA: The role of the surface environment in healthcare-associated infection. *Curr Opin Infect Dis* 2013; **26**: 338-344.
- 3) Chowdhury D, Tahir S, Legge, M. et al. Transfer of dry surface biofilm in the healthcare environment: the role of healthcare workers hands as vehicles. *J Hosp Infect* 2018; **100**: e85-90.
- 4) CDC: Guideline for Disinfection and Sterilization in Healthcare Facilities. 2008;133.
- 5) 影向範昭. 塩化ベンザルコニウムの綿製品への吸着. 歯薬療法. 1986; **5**(2): 105-108.
- 6) 梶本晴彦, 綾田直美. キトサン表面処理綿の薬剤吸着特性. 一般論文 *Jpn J Hosp Pharm* 1997; 189-193.
- 7) 中田清三, 伏見了, 門田守人. 消毒薬の医療材料への吸着について. 手術医学 2004; **25**(2): 43-45.
- 8) 中村絵美, 高見貴之, 加藤頼子. 環境清拭用クロスの微生物に対する性能評価. 環境感染誌 2016; **31**(2): 100-106.
- 9) 岩澤篤郎, 松村有里子. 生体消毒薬の抗微生物効果と細胞毒性. *J Healthcare-associated Infection* 2016; **9**: 1-13.
- 10) Otter JA, Vickery K, de Lancey KP. Surface-attached cells biofilms and biocide susceptibility: implications for hospital cleaning and disinfection. *J Hosp Infect* 2015; **89**: 16-27.
- 11) 梶本晴彦, 野口道子, 梶本光代. 薬剤吸着に配慮した脱脂綿製造工程中における漂白処理剤の選定. 病院薬学 1999; **25**(6): 614-620.
- 12) 小林義正, 小林寛伊, 梶浦工, 菅原えりさ. 次亜塩素酸ナトリウム含浸環境清拭クロスの残留塩素濃度に関する検討. *J Healthcare-associated Infection* 2015; **8**: 17-26.

Influence of cloth for bactericidal activities of benzalkonium chloride

Shigemasa Katafuchi^{1,2}, Iijima Hirokazu², Watanabe Kazunao², Yuriko Matsumura¹, Atsuo Iwasawa¹,
Satoshi Kimura¹

¹ Division of Infection Prevention and Control, Tokyo Healthcare University Postgraduate School

² Tokyo Nishi Tokushukai Hospital

BACK GROUND

A routine cleaning and disinfection for the hospital environmental surfaces has been performed using the prepackaged disposable disinfectant wipers as infection control measures. The disinfectant wipers are made with rayon, cotton and cellulose, or polyethylene based nonwoven cloth, and disinfectants such as benzalkonium chloride (BZC) are impregnated. A reduction of disinfectant concentration, however, is the crucial problem for the sterilization of bacteria.

OBJECTIVE

In order to propose the appropriate environmental improvement, the basic study of the bactericidal activities of BZC was performed using different kinds of nonwoven fabrics.

METHODS

Staphylococcus aureus ATCC25923, *Staphylococcus epidermidis* ATCC12228, *Enterococcus faecalis* ATCC29212, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC27853, *Escherichia coli* ATCC25922, *Candida albicans* ATCC10231 were used for strains. Four kinds of fabrics were used for the cloths. The bactericidal effects were evaluated by means of colony-forming unit assay using bacterial suspensions and dried bacterial suspensions.

RESULTS

BZC showed the rapid bactericidal effect for the bacterial suspensions. The minimum concentration which showed the bactericidal activity was depended on the kinds of strains. The rapid bactericidal activities were also observed for the dried bacteria when 0.2% BZC was used. Its activity was depended on the material of the cloths. Especially, rayon material was the lowest of the four cloths.

CONCLUSION

It is important to set the appropriate BZC concentration and the impregnation amount by considering the influence of the cloth material to the bactericidal activities.

KEY WORDS

Benzalkonium chloride, Bactericidal effect, Adsorption, Environmental surface, Environmental cloth