

## ■Original Article : Study on the Recovery of Hand Skin Flora

# 手指細菌叢回収に関する検討

菅原えりさ\*、梶浦 工\*、小林 寛伊\*、大久保 憲\*、尾家 重治\*、齋藤 祐平\*、  
遠藤 博久\*、竹内 千恵\*、佐々木昌茂\*、高橋 敦子\*、宇賀神 論\*、鶴島 信孝\*

### はじめに

手指常在菌叢の手洗いによる変化をベイスンへの洗い出し法で検討した Price の報告<sup>1)</sup>以来、手指消毒薬による手指衛生に関する検討は数多くなされているが、手指衛生を評価する方法としてのグローブジュース法は、手術時手指消毒等、手指の常在菌叢の減少を要求される場合の評価方法として広く採用されるようになった<sup>2-9)</sup>。その際、生体消毒薬 antiseptics を適用せずに繰り返して手指の細菌叢を回収した場合、回収される細菌数はどのように変化していくかを知っておくことは重要であり、今回、グローブジュース法を繰り返しおこなう検討を企画した。併せて、手掌を培地に押し付けて表面の菌数を調べるパームスタンプ法をも比較検討した。

### 1. 方 法

手指に損傷のない健康人5名(男性3名、女性2名)を対象とした。抗菌成分を含まない液体石けん(ミヨシM泡のハンドソープ;ミヨシ石けん)と水道水で衛生的な手洗いを行った後、グローブジュース法により手指の菌を採取した。すなわち、両手に手術用手袋(ゲーマブレン、ノンパウダー;ジェイ・エム・エス)を装着し、他方の手に回収液( $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ (リン酸水素二ナトリウム);10.1g,  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ (リン酸二水素カリウム);0.4g, TritonX-100;1g, ポリソルベート80;10g, レシチン;3g, 精製水;1000mL)50mLを加え、手指の屈伸運動を1回1秒の速度で1分間おこなった。運動後、手袋中の液1mLをピペットで採取し、1mLの希釈液(ポリソルベート80;100g, レシチン;30g, 精製水;1000mL)で

2倍に希釈した。他方の手も同様に実施した。この操作を5分間隔で10回繰り返した。2倍希釈した回収液の50 $\mu\text{L}$ をスパイラルプレーター(WASP;Don Whitley Scientific)でソイビーン・カゼイン・ダイジェスト寒天(SCDA)培地に塗布した。

また、これと平行して、回収偶数回の前にパームスタンプ法、すなわち、スタンプ培地(パームチェック、SCDLP培地;日研生物医学研究所)に手掌を数秒押し付けることによる細菌回収もおこなった。

各培地は $32.5\pm 2^\circ\text{C}$ で3~5日間培養したのち、発育コロニーを計数し、片手あたりの菌数を算出した。なお各回収操作間の手洗いは流水のみとした。また、得られた菌数の統計解析にはSPSS Statistics 17.0(エス・ピー・エス・エス)を用いた。

### 2. 結 果

グローブジュース法、繰り返し10回の、被験者(A~E)ごとの左右手指の細菌数( $\text{Log}_{10}$  colony forming unit (CFU)/片手)の平均と標準偏差(S)、最大および最小細菌数、および、被験者全員の平均細菌数を表1に示した。片手あたりの細菌数は、最大 $2.0\times 10^6$ 、最小 $2.0\times 10^3$ で、被験者に固有の傾向があり、A, D, Eの3名は左右の手指細菌数に有意差が認められた(Wilcoxonの符号付き順位検定)。繰り返しの回収において、回数に伴い細菌数が増加する傾向が2名の被験者にみられたが、図1に示す如く、初回収細菌数を対照とした各回収回数における細菌数の比較検定(Dunnettの多重比較)においては、左右ともに有意差は認められなかった。

パームスタンプ法を繰り返し5回おこなった際の、被

\* 東京医療保健大学大学院

表 1. グローブジュース法 各被験者 10 回的手指細菌数 ( $\log_{10}$ CFU/hand)

被験者	右手指				左手指				$P^*$
	平均	S	最大	最小	平均	S	最大	最小	
A	5.71	0.17	5.99	5.51	5.99	0.19	6.30	5.79	0.005
B	4.87	0.16	5.10	4.63	4.87	0.14	5.00	4.63	0.878
C	3.97	0.29	4.40	3.54	3.85	0.19	4.16	3.54	0.249
D	4.39	0.36	4.87	3.75	4.66	0.32	4.99	4.02	0.017
E	4.31	0.45	4.73	3.30	4.69	0.31	5.16	4.02	0.005
平均	4.65				4.81				

$P$ : 有意確率      S: 標準偏差

\*: 各被験者A-Eの左右細菌数の比較はWilcoxon の符号付き順位検定

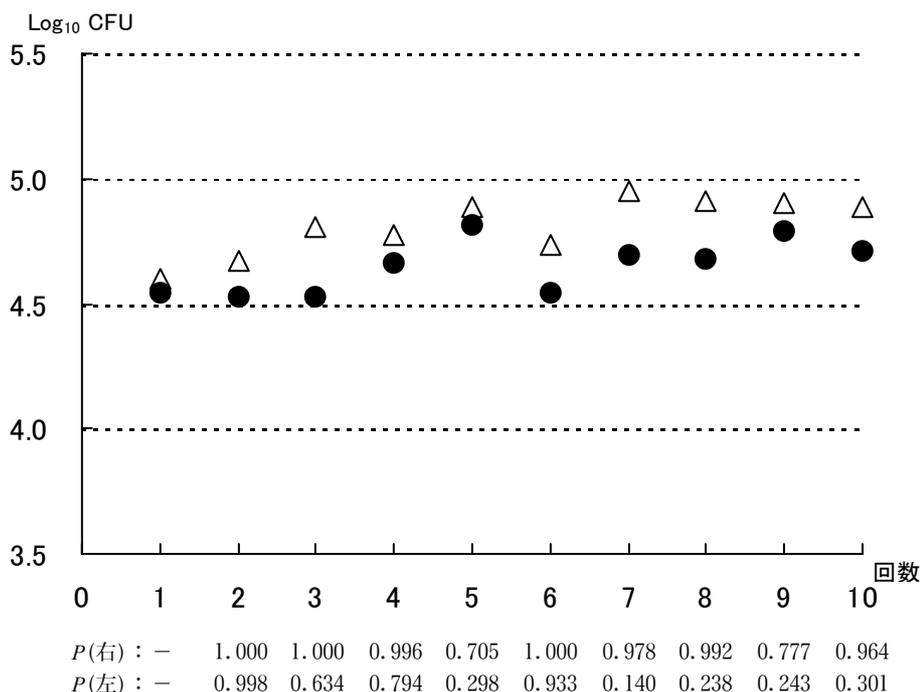


図 1. グローブジュース法

各回収回数における手指細菌数 (対数値平均)、ならびに初回収細菌数を対照とした各回収回数における細菌数の比較検定 ( $P$ )

各回収回数における右手指 (●)、左手指 (△) の被験者 5 名の手指細菌数対数値を平均してプロットした。初回収細菌数を対照とした各回収回数における細菌数の比較検定はDunnnettの多重比較を用いた。

験者ごとの左右の手指平均細菌数、標準偏差、最大および最小、また被験者全員の平均細菌数を表 2 に示した。パームスタンプ法で検出された片手あたりの細菌数は、最大 195CFU/hand、最小 2CFU/hand で、5 名とも左右の細菌数に有意差は検出されなかった (Wilcoxon の符号付き順位検定)。

パームスタンプ法での検出細菌数は、グローブジュース法でのそれに比べ 2~4 オーダー低く、両法における検出細菌数の間の相関は、左右それぞれ、 $r = 0.488$ ,  $r = 0.654$  (Spearman の順位相関係数) であった。各回収回数における被験者 5 名の平均細菌数を図 2 に示した。左

右とも、回収初回 (2 回目) での細菌数は低く、その後わずかに増加する傾向がみられ、初回と各回の菌数の比較検定 (Dunnnett の多重比較) においては図 2 の通り、左手では初回と最終回 (10 回目) との間に有意な差が検出された ( $P=0.008$ )。

### 3. 考 察

今回の検討で、生体消毒薬を用いずに、抗菌成分を含まない液体石けんで手洗いの後、流水で繰り返し手洗いをおこなった場合、グローブジュース法によって回

表 2. スタンプ法 各被験者 5 回の手指細菌数 (log<sub>10</sub>CFU/hand)

被験者	右手指				左手指				P*
	平均	S	最大	最小	平均	S	最大	最小	
A	1.92	0.14	2.08	1.72	1.66	0.40	2.14	1.18	0.225
B	1.34	0.24	1.71	1.04	1.38	0.40	2.06	1.11	0.893
C	1.06	0.11	1.18	0.90	1.02	0.32	1.46	0.70	0.686
D	0.98	0.46	1.61	0.48	0.74	0.53	1.34	0.30	0.345
E	1.64	0.52	2.21	0.90	1.54	0.61	2.29	0.78	0.500
平均	1.39				1.27				

P: 有意確率

S: 標準偏差

\*: 各被験者A-Eの左右細菌数の比較はWilcoxon の符号付き順位検定

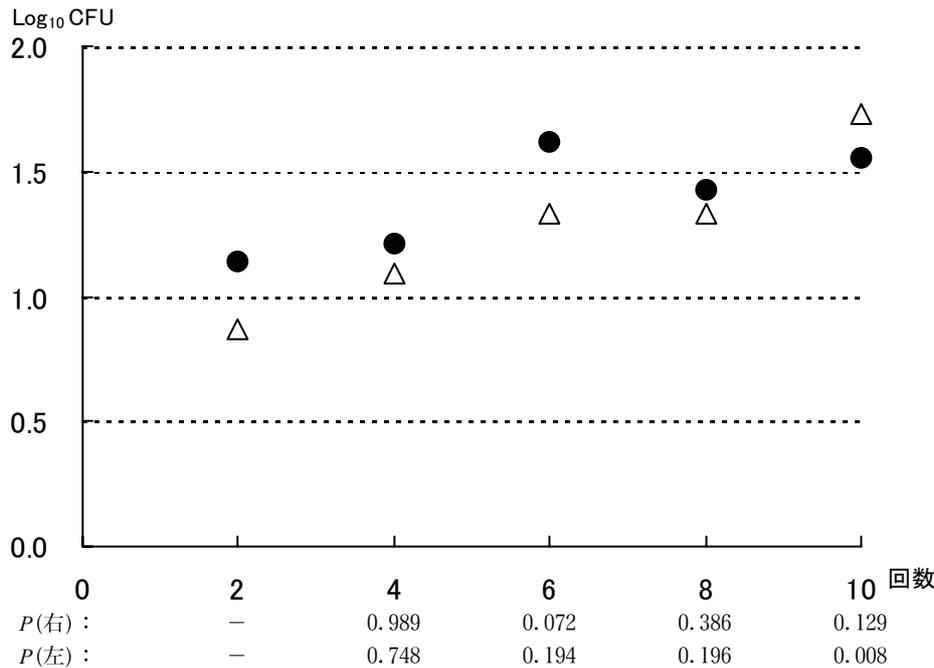


図 2. スタンプ法

各回収回数における手指細菌数 (対数値平均)、ならびに初回収細菌数を対照とした各回収回数における細菌数の比較検定 (P)

各回収回数における右手指 (●)、左手指 (△) の被験者 5 名の手指細菌数対数値を平均してプロットした。初回収細菌数を対照とした各回収回数における細菌数の比較検定はDunnettの多重比較を用いた。

取される細菌数は、10 回の繰り返しにおいても有意な低減を見ないことがわかった。

グローブジュース法による検討はこれまでに数多く報告されている<sup>2-9)</sup>。Lowbury ら<sup>2)</sup>は対照とする細菌回収を 5 分間のスクラブのみでおこなった後、約 1 週間をあけて本実験をおこなっている。Michaud ら<sup>3,4)</sup>、Waterman ら<sup>9)</sup>もグローブジュース法で手洗い用消毒薬の検討をおこなっているが、対照は実験直前に回収しており、対照とする細菌回収から消毒薬を使つての実験に入る間隔は、まちまちである。今回の検討結果から、グローブジュース法において、対照たる細菌回収から、消毒薬等の効果

検討を始めるまでの時間的間隔は、こだわる必要が無いことが判明した。

なお、グローブジュース法とパームスタンプ法とで回収される細菌数には、相関性は認められなかった。両法の対象としている菌叢の違いによるものである。

また、消毒薬を使つての手指衛生後のグローブジュース法細菌回収実験から、その影響が消えて常在菌叢が回復するまでの期間を報告から見ると、24 時間<sup>8)</sup>、3 日<sup>4)</sup>、4 週間<sup>2)</sup>とばらついており、Price の Basin 法では 1 週間以上<sup>1)</sup>と報告されている。しかし、今回の検討結果からは、この点に関しては言及できず、今後の検討が必要で

ある。

## ■ 文 献

1. Price PB. The bacteriology of normal skin; a new quantitative test applied to a study of the bacterial flora and the disinfectant action of mechanical cleaning. *J Infect Dis* 1938; 63: 301-318.
2. Lowbury EJJ, Lilly HA. Disinfection of the hands of surgeons and nurses. *Brit Med J* 1960; 2: 1445-1450.
3. Michaud RN, McGrath MB, Goss WA. Improved experimental model for measuring skin degerming activity on the human hand. *Antimicrob Agents Chemother* 1972; 2: 8-15.
4. Michaud RN, McGrath MB, Goss WA. Application of a gloved-hand model for multiparameter measurements of skin-degerming activity. *J Clin Microbiol* 1976; 3: 406-413.
5. Casewell MW, Phillippe I. Hands as route of transmission for *Klebsiella* species. *Brit Med J* 1977; 2: 1315-1317
6. Wan PY, Blackford JT, Bemis DA, Rohrbach BW, Knoll DE, Provenza MK. Evaluation of surgical scrub methods for large animal surgeons. *Veterinary Surg* 1997; 26: 382-385.
7. Wheelock SM, Lookinland S. Effect of surgical hand scrub time on subsequent bacterial growth. *AORN J* 1997; 65: 1087-1098.
8. Larson EL, Strom MS, Evans CA. Analysis of three variables in sampling solutions used to assay bacteria of hands: Type of solution, use of antiseptic neutralizers, and solution temperature. *J Clin Microbiol* 1980: 355-360.
9. Waterman TR, Smeak DD, Kowalski J, Hade EM. Comparison of bacterial counts in glove juice of surgeons wearing smooth band rings versus those without rings. *Am J Infect Control* 2006; 34: 421-425.