

## ■ Concise communications

## ラバーポリスマンを用いたカップスクラブ法による 皮膚細菌の採取法の有用性

曾川芳郎, 小林寛伊, 梶浦 工, 菅原えりさ, 竹内千恵, 遠藤博久

東京医療保健大学大学院

### Use of cup scrub technique with Rubber Policeman for collection of bacteria on the skin

Yoshiro Sogawa, Hiroyoshi Kobayashi, Takumi Kajiura, Erisa Sugawara, Chie Takeuchi, Hirohisa Endo

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

#### 要旨:

**背景・目的:** 皮膚常在菌あるいは皮膚通過菌の採取方法のひとつにカップスクラブ法がある。米国の標準的な抗菌効果評価方法が記載されている American Society for Testing and Materials (ASTM) では、カップスクラブ法で皮膚細菌を採取する用具としてラバーポリスマンあるいはテフロン®スクラバーが使用できると記載されている。そこで我々は、ラバーポリスマンを入手し、プラスチック棒でスクラブする方法と比較した。

**方法:** 健康成人被験者の左右前腕屈側皮膚から、ラバーポリスマンでスクラブする方法とプラスチック棒でスクラブする方法でそれぞれ皮膚常在菌を採取した。また左右前腕屈側皮膚にあらかじめ調製しておいた *Serratia marcescens* 菌液を播種し、同様にラバーポリスマンでスクラブする方法とプラスチック棒でスクラブする方法で細菌を回収した。スクラブ時間はいずれも 45 秒間とした。採取 (回収) したサンプリング液は、直ちに連続段階希釈し、寒天培地にコンラージし、30°C で 48 時間 (*S. marcescens* の場合は 24 時間) まで培養して、発育した細菌コロニー数 (CFU) をカウントした。

**結果:** 左右前腕屈側皮膚の常在菌数は、ラバーポリスマンでスクラブする方法では  $6.5 \pm 5.4$  CFU/cm<sup>2</sup> (平均値 ± 標準偏差, n=6) で、6ヶ所の採取部位中2部位で細菌は検出されなかった。一方、プラスチック棒でスクラブする方法では  $5.5 \pm 7.0$  CFU/cm<sup>2</sup> (平均値 ± 標準偏差, n=6) で、6ヶ所の採取部位中3部位で細菌は検出されなかった。両採取方法による細菌数には有意な差はみられなかった (p=0.8040)。

左右前腕屈側皮膚に *S. marcescens* を播種した場合は、ラバーポリスマンでスクラブする方法では  $5.52 \pm 0.13$  Log<sub>10</sub>CFU/cm<sup>2</sup> (平均値 ± 標準偏差, n=6) の *S. marcescens* が回収され、プラスチック棒でスクラブする方法では  $5.44 \pm 0.13$  Log<sub>10</sub>CFU/cm<sup>2</sup> (平均値 ± 標準偏差, n=6) の *S. marcescens* が回収された。両採取方法による細菌数には有意な差はみられなかった (p=0.7266)。

**考察・結論:** 前腕屈側部皮膚の常在菌は、ラバーポリスマンでスクラブする方法とプラスチック棒でスクラブする方法ともに細菌学的に抗菌効果を評価するに十分な細菌数を安定的に採取することができず、両方法の比較には更なる検討が必要と思われた。一方、細菌を人為的に播種した皮膚から回収する場合には、ラバーポリスマンでスクラブする方法とプラスチック棒でスクラブする方法のいずれの場合でも安定的に十分な細菌数が回収でき、どちらの方法であっても回収細菌数に差は生じないものと考えられた。

Key words : Rubber Policeman, cup scrub technique, forearm,  
resident bacterial flora

## はじめに

皮膚常在菌あるいは皮膚通過菌の採取方法のひとつにカップスクラブ法がある。これは、Price PBがSpot testとして1951年に発表した方法<sup>1)</sup>がベースであり、細菌採取対象によって変更・最適化<sup>2,3)</sup>されながら今日でも利用されている細菌採取法である。カップスクラブ法は、皮膚等の細菌採取対象にガラス製あるいは金属製のシリンダーを押し付け、シリンダーの中に細菌サンプリング液を注入し、ガラス棒あるいは金属棒などで採取対象を一定時間スクラブして細菌を採取する方法である。我々は、これまでにプラスチック棒で皮膚をスクラブして細菌を採取するカップスクラブ法を用いて様々な検討を行ってきた<sup>4-6)</sup>。

一方、米国の標準的な抗菌効果評価方法であるAmerican Society for Testing and Materials (ASTM)では、手術前やカテーテル刺入前等の皮膚消毒評価をカップスクラブ法で実施することを求めており、皮膚細菌を採取する用具としてラバーポリスマンあるいはテフロン<sup>®</sup>スクラバーを例示している<sup>7,8)</sup>。そこで我々は、ラバーポリスマンを入手し、これまで我々が用いてきたプラスチック棒でスクラブする方法と比較し、ラバーポリスマンの有用性を検討した。

## 1. 目的

皮膚常在菌、あるいは、人為的に播種した細菌をカップスクラブ法で採取する際に、ラバーポリスマンでスクラブする方法と、プラスチック棒でスクラブする方法で、採取した細菌数に違いがあるかどうか比較した。

## 2. 方法

健常成人ボランティアの左右前腕屈側皮膚から、ラバーポリスマン (Rubber Policemen, Fisher Scientific Inc. Cincinnati, OH) でスクラブする方法で皮膚常在菌を採取して、プラスチック棒 (ディスボループ、(株)サンエス) でスクラブする方法での結果と比較した。また、健常成人ボランティアの左右前腕屈側皮膚に *Serratia marcescens* (ATCC 14756) を播種したのちにラバーポリスマンで回収し、プラスチック棒で回収した結果と比較

した。

### 2.1 細菌の採取部位

健常成人ボランティアの右前腕屈側部に6ヶ所、左前腕屈側部に6ヶ所 (それぞれ直径2.4cm) 設け、手指側と肘側の3ヶ所をそれぞれラバーポリスマンでスクラブする方法とプラスチック棒でスクラブする方法に割り当てた (図1)。

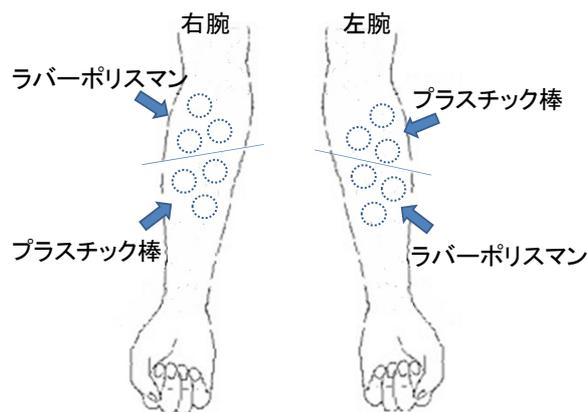


図1 左右前腕屈側部の細菌採取部位：ラバーポリスマンでスクラブする方法の採取部位とプラスチック棒でスクラブする方法の採取部位 (直径2.4cm)

### 2.2 皮膚常在菌の採取

健常成人ボランティアの左右前腕屈側部全体を抗菌成分無添加の石けん (泡のハンドソープ、ミヨシ石鹼(株)) で30秒間洗浄し、流水で30秒間洗い流したのち、さらに3mLの1% Triton X-100で30秒間洗浄し、流水で30秒間洗い流した。滅菌ペーパータオルで水分を取って乾燥させたのち、図1に示す採取部位に内径2.4cmの滅菌ステンレスシリンダーを押し当て、シリンダー内にサンプリング液 (0.01mol/L PBS) を5mL注入し、ラバーポリスマン、あるいは、プラスチック棒で45秒間縦横にスクラブした。

### 2.3 *S. marcescens* の播種と回収

皮膚常在菌採取対象ボランティアとは別の健常成人ボランティアの左右前腕屈側部全体を抗菌成分無添加の石けん (泡のハンドソープ、ミヨシ石鹼(株)) で30秒間洗浄し、流水で30秒間洗い流したのち、さらに3mLの1% Triton X-100で30秒間洗浄し、流水で30秒間洗い流した。滅菌ペーパータオルで水分を取って乾燥させたのち、図1に示す採取部位に、あらかじめ約 $10^9$ /mLに調製<sup>6)</sup>

した *S. marcescens* (ATCC 14756) 菌液を人為的に播種した。播種 5 分後に、採取部位に内径 2.4cm の滅菌ステンレスシリンダーを押し当て、シリンダー内にサンプリング液 (0.01mol/L PBS) を 5mL 注入し、ラバーポリスマン、あるいは、プラスチック棒で 45 秒間縦横にスクラブして *S. marcescens* を回収した。

## 2.4. 細菌培養

皮膚常在菌の採取時、播種した *S. marcescens* の回収時とも、採取したサンプリング液は、直ちに連続段階希釈し、トリプトソイ寒天培地にコンラージし、30°C で 48 時間 (*S. marcescens* の場合は 24 時間) まで培養して、発育した細菌コロニー数 (CFU) をカウントした。

## 2.5. 統計学的分析

細菌コロニー数は、採取部位 1cm<sup>2</sup> 当たりのコロニー数で表し、ラバーポリスマンでスクラブする方法で採取した検体 (n=6) の細菌数と、プラスチック棒でスクラブする方法で採取した検体 (n=6) の細菌数についてそれぞれ統計学的パラメーターを算出し、分散分析で比較した。

## 3. 結果

左右前腕屈側皮膚の採取部位の常在菌数は、ラバーポリスマンでスクラブする方法では 6.5±5.4 CFU/cm<sup>2</sup> (平均値±標準偏差, n=6), 最小値 0 CFU/cm<sup>2</sup>, 最大値 11.1 CFU/cm<sup>2</sup> で、6ヶ所の採取部位中 2 部位で細菌は検出されなかった。プラスチック棒でスクラブする方法では 5.5±7.0 CFU/cm<sup>2</sup> (平均値±標準偏差, n=6), 最小値 0 CFU/cm<sup>2</sup>, 最大値 16.6 CFU/cm<sup>2</sup> で、6箇所の採取部位中 3 部位で細菌は検出されなかった (表 1)。両サンプリング方法による細菌数には有意な差はみられなかった (p=0.8040, 分散分析)。

表 1 前腕屈側部皮膚の常在菌をラバーポリスマンでスクラブする方法とプラスチック棒でスクラブする方法でサンプリングした場合の菌数 (CFU/cm<sup>2</sup>, n=6)

	n	Mean	SD	Min	Max
Rubber Policeman	6	6.5	5.4	0.0	11.1
Plastic rod	6	5.5	7.0	0.0	16.6

左右前腕屈側皮膚に *S. marcescens* を播種した場合、ラバーポリスマンでスクラブする方法では 5.52±0.13

Log<sub>10</sub>CFU/cm<sup>2</sup> (平均値±標準偏差, n=6) が回収され、最大値は 5.67 Log<sub>10</sub>CFU/cm<sup>2</sup> 最小値は 5.38 Log<sub>10</sub>CFU/cm<sup>2</sup> であった。またプラスチック棒でスクラブする方法では 5.44±0.13 Log<sub>10</sub>CFU/cm<sup>2</sup> (平均値±標準偏差, n=6) の *S. marcescens* が回収され、最大値は 5.63 Log<sub>10</sub>CFU/cm<sup>2</sup> 最小値は 5.25 Log<sub>10</sub>CFU/cm<sup>2</sup> であった (図 2)。両サンプリング方法による細菌数には有意な差はみられなかった (p=0.7266, 分散分析)。

Log<sub>10</sub>CFU/cm<sup>2</sup>

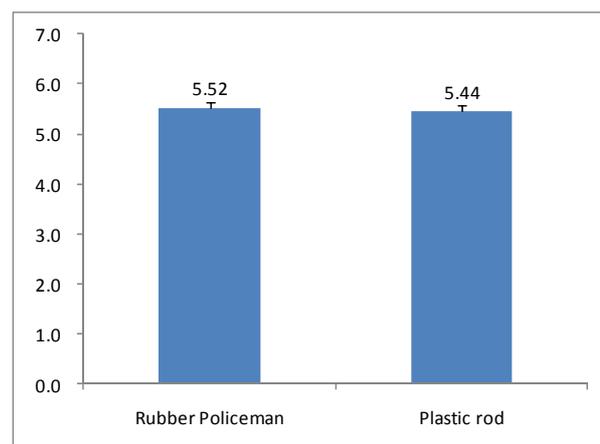


図 2 前腕屈側部に播種した *S. marcescens* をラバーポリスマンでスクラブして回収した場合とプラスチック棒でスクラブして回収した場合の菌数 (Log<sub>10</sub>CFU/cm<sup>2</sup>, 平均値±標準偏差, n=6)

## 4. 考察・結論

前腕屈側部皮膚における皮膚常在菌の採取に、また前腕屈側部皮膚に *S. marcescens* を播種したのちの細菌回収にラバーポリスマンでスクラブする方法とプラスチック棒でスクラブする方法を適用した。

常在菌数については、いずれの方法を用いても細菌が検出されなかった部位があるなど、細菌学的に抗菌効果を評価するに十分な常在菌数を採取することができなかった。ラバーポリスマンによるスクラブ方法での細菌数と、プラスチック棒によるスクラブ方法での細菌数の間に有意差はみられなかったものの、両方法の比較には更なる検討が必要と思われた。

一方、*S. marcescens* を播種した場合は、ラバーポリスマンでスクラブする方法とプラスチック棒でスクラブする方法ともに安定的に十分量の細菌回収ができ、回収菌数のバラツキも小さいものであった。ラバーポリスマンによるスクラブ方法と、プラスチック棒によるスクラブ方法との回収菌数の間に有意差はみられず、人為的に

細菌を播種したのちにその細菌を回収する場合には、ラバーポリスマンを使用したスクラブでも、プラスチック棒を使用したスクラブでも、回収細菌数に差は生じないものと考えられた。

## ■ 文 献

- 1) Price PB: Fallacy of current surgical fad-The three minutes preoperative scrub with hexachlorophene soap. *Ann Surg* 1951;134:476-85
- 2) 小林寛伊：手術室内の床，壁の汚染度とその対策．*医器誌* 1974;44:403-6
- 3) Billhimer WL, Berge CA, Englehart JS, Rains GY, Keswick BH : A modified cup scrub method for assessing the antibacterial substantively of personal cleansing products. *J Cosmet Chem* 2001 ; 52 : 369-75.
- 4) 曾川芳郎, 小林寛伊, 梶浦 工, 遠藤博久: ジェルタイプのアアルコール手指消毒薬はクロルヘキシジンの持続的殺菌効果を阻害するか? *医療関連感染* 2009 ; 2 : 61-5.
- 5) 曾川芳郎, 小林寛伊, 梶浦 工, 遠藤博久: アルコール製剤のクロルヘキシジン活性阻害について-中間報告-. *医療関連感染* 2010; 3: 1-5.
- 6) 曾川芳郎, 小林寛伊, 梶浦 工: 抗菌効果の評価のための細菌播種試験の実験条件に関する検討-皮膚に播種された細菌の生残菌数の推移の視点から-. *医療関連感染* 2010; 3: 6-9.
- 7) ASTM International. E 1173. Standard Test Method for Evaluation of Preoperative, Precatheterization, or Preinjection Skin Preparations. 2002.
- 8) ASTM International. E 1874. Test Method for Evaluation of Antibacterial Washes by Cup Scrub Technique. 2006.

## Use of cup scrub technique with Rubber Policeman for collection of bacteria on the skin

Yoshiro Sogawa, Hiroyoshi Kobayashi, Takumi Kajiura, Erisa Sugawara, Chie Takeuchi, Hirohisa Endo

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

**Background and objective:** Cup scrub technique is commonly used for the collection of resident bacterial flora and/or transient bacterial flora on the skin. The standardized method of antimicrobial efficacy evaluation in the US, American Society for Testing and Materials (ASTM), states that Rubber Policeman or Teflon® Scrubbers can be used as skin scrubbing material for cup scrubbing technique. In the current study, the usability of Rubber Policeman for collection of microorganism on the skin is evaluated in comparison with that of conventional plastic rod.

**Materials and Methods:** Resident bacterial flora on the anterior part of the right and left forearms of healthy volunteers were collected using either Rubber Policeman or plastic rod. Also, *Serratia marcescens* (ATCC 14756), which was artificially contaminated on the forearms, were collected using either Rubber Policeman or plastic rod. Also, artificially contaminated by *Serratia marcescens* (ATCC 14756) on the forearm was collected using both Rubber Policeman and plastic rod. The duration of skin scrubbing was 45 seconds in both cases. Collected samples were diluted and spread on trypticase soy agar plates. Colony forming unit (CFU) of each plate was counted after 48 hours' culture (24 hours' culture for *S. marcescens*) at 30 degrees Celsius.

**Results:** When collection was performed using Rubber

Policeman, average counts of resident bacterial flora on the forearm was 6.5 CFU/cm<sup>2</sup> (n=6) and no bacterial growth was seen in 2 of 6 sampling sites. When collection was performed using plastic rod, average counts of resident bacterial flora was 5.5 CFU/cm<sup>2</sup> (n=6) and no bacterial growth was seen in 3 of 6 sampling sites. No significant difference was observed between the groups (p=0.8040, analysis of variance).

As for the recovery of *S. marcescens*, bacterial count was  $5.52 \pm 0.13 \text{ Log}_{10}\text{CFU}/\text{cm}^2$  (mean  $\pm$  SD, n=6) when collection was performed with Rubber Policeman, and was  $5.44 \pm 0.13 \text{ Log}_{10}\text{CFU}/\text{cm}^2$  (mean  $\pm$  SD, n=6) when collection was performed with plastic rod. No significant difference was observed between the groups (p=0.7266, analysis of variance).

**Discussion and conclusion:** Our results indicate that in the case of resident bacterial flora on the anterior part of human forearm, a count sufficient for evaluation could not be obtained when using either Rubber Policeman or plastic rod. However, when the forearm was artificially contaminated, a sufficient count was recovered consistently when using both Rubber Policeman and plastic rod. No difference was seen in recovered bacterial counts between Rubber Policeman scrubbing method and plastic rod scrubbing method.