

手洗い前後と消毒による細菌数の変化

抄 録

2020年以降、新型コロナウイルス感染症（COVID-19）の世界的流行により、手洗い、消毒の遂行や、除菌、抗菌グッズが取り沙汰されるようになった。そこで、実際に手洗いや消毒にどれだけの除菌効果があるのか、また、具体的にどの菌に効果があるのかということに興味を持った。今回、5通りの洗浄消毒方法で、手指の生菌数を一般細菌の培地で培養し比較した。結果、手洗いの効果は、適量のアルコール消毒≫少量のアルコール消毒≒厚生労働省が推奨する石鹸洗い>普段の石鹸洗い>水洗いの順に効果があった。さらに、残存した菌の種類を特定するため、二種類の寒天培地で培養した。その結果、手に一時的に付着する大腸菌、サルモネラ菌、緑膿菌などは手洗い前や水洗い後は生育したが、石鹸洗い後とアルコール消毒後は存在せず、また残存菌の大部分が皮膚の常在菌であるブドウ球菌であると推測できた。以上から、一時的に付着した菌には石鹸洗い、アルコール消毒が確実に効果があると示唆された。しかし、残存した菌には食中毒の原因となりうる黄色ブドウ球菌なども含まれているため、十分な石鹸洗い、適切なアルコール消毒が必要であると考察した。

キーワード：手洗い、アルコール、消毒、常在菌、培養

1. はじめに

1.1 研究動機

2020年、新型コロナウイルス感染症（COVID-19）が世界的に流行し、手洗い、消毒が喚起され、街中のあらゆるところに消毒液が配置されるようになった。普段の手洗いや消毒がどれだけ効果があるのか、また洗い方によって差があるのなら、少し意識することで今以上の手洗い効果をもたらすことができるのではないかと推測した。

1.2 研究目的

細菌の大きさは約 $1\mu\text{m}$ 、 1mm の1000分の1と非常に小さく肉眼で見ることが出来ない。しかし、寒天培地など栄養のある住みかに付着すると、分裂増殖し集団（コロニー）を形成し肉眼で確認することができる。手洗い前と洗浄消毒後で、寒天培地で菌を培養しコロニー数を比較し手洗いの効果を確認する。

また、菌の種類の特定には菌を染色し顕微鏡で確認する必要があるが、基本的なグラム染色でも操作や薬剤が多く、困難な作業であった。そこで、さらに、特定の細菌のみを選択的に発育させることのできる選択分離培地で培養し比較することで菌の種類を推定できるのではないかと考察した。

2. 研究方法

2.1 実験・調査対象者

手に傷のない10代から40代の男女3名（男性1名、女性2名 平均年齢±標準偏差 23±17.35歳）

2.2 実験手順

寒天培地を用いて手指の菌を培養する。洗浄前、洗浄消毒後に、それぞれ被験者の右手第一指から第五指を、以下の三種類の供試培地に一定圧力をかけ10秒間押しつけ、アルミホイルで包んだ容器に培地を入れ、Dyson Purifier Hot+Cool空気洗浄ファンヒーターを前に設置し、容器内を36±1℃に維持、48時間培養し、生育するコロニー数を比較した。

2.3 供試培地

- A SCD（ソイビーン・カゼイン・ダイジェスト）寒天培地：手指の生菌数の測定に使用。
- B マッコンキー寒天培地：大腸菌、サルモネラ菌、緑膿菌の確認に使用。ブドウ球菌は発育できない。
- C 卵黄加マンニット食塩寒天培地：ブドウ球菌のみが発育できる。

2.4 洗浄、消毒方法

- 1 通常の水道水で15秒手洗い後、ペーパータオルでふきとり乾燥させる。
- 2 薬用泡石鹸ミューズを用いて、5秒揉み洗いし15秒流水で洗浄後、ペーパータオルでふきとり乾燥させる。
- 3 流水で十分に手を濡らした後、薬用泡石鹸ミューズを用いて10秒揉み洗いし、15秒流水で洗浄後、ペーパータオルでふきとり乾燥させる。
- 4 76.9～81.4%エタノール消毒液を少量噴霧し、乾燥するまで手をこすりあわせる。
- 5 76.9～81.4%エタノール消毒液を1push（1.5ml）噴霧し、乾燥するまで手をこすりあわせる。

厚生労働省のホームページでは、新型コロナウイルス感染予防の手洗いは、日常生活では、流水で十分に手を濡らした後、ハンドソープで10秒揉み洗いし、さらに流水で15秒洗い流すことを勧めている。また水やハンドソープでの手洗いがすぐにできない状況では、濃度70%以上95%以下のエタノールを用いてよく刷り込む、入手困難な場合には60%台のエタノールを用いてよく刷り込むことを推奨している。しかし、2012年に日本ユニセフ協会が発表した『手洗い白書2012』では、1回の手洗い時間が対象者536名の約半数で20秒以下であったことが分かっており、また、自分自身を含めた家族の日常の手洗い時間を測定したところ、十分に手を濡らさず、石鹸の揉み洗いが約5秒、流水での洗浄が15秒と厚生労働省が推奨する手洗い時間より短かった。そのため、石鹸洗いを、普段通りの石鹸洗いと、厚生労働省の推奨する石鹸洗いの2通り設定した。また、アルコールの使用は手荒れの原因となり、液が垂れることも気になるため、日常ではボトルを軽くしか押さず、手掌のみに塗布していることも多い。一方メーカーは1push押しきってアルコールを塗布することを勧めている。この2通りの消毒方法を条件にした。今回、エタノール製品は吐出量が1.5ml/

pushのものを使用した。また、全方法とも手指を十分に乾燥させてから培地に押し付けた。

2.5 分析方法

それぞれの培地に出現したコロニーの数を測定し比較した。

3. 結果

3.1 SCD（ソイビーン・カゼイン・ダイジェスト）寒天培地でのコロニー数の比較

SCD寒天培地は好気性菌や真菌をはじめ一般細菌の培地で、ダイズペプトンのもつビタミン効果や発育阻害物質の中和作用により細菌が極めてよく育つ。実際のシャーレの結果を図1に示す。コロニー数の比較を表1に示す。左から手洗い前、水洗い後、普段通りの石鹼洗い後、厚生労働省が推奨する石鹼洗い後、普段通り少量のエタノール噴霧後、適量（1.5ml/push）のエタノール噴霧後の順に、上から被験者Ⅰ、Ⅱ、Ⅲそれぞれの結果である。手洗い前に比べ水洗い後は全員菌量が増加した。また被験者Ⅰは普段通りの石鹼洗い後も菌量が増加した。普段通りの石鹼洗い後より、厚生労働省が推奨する石鹼洗い後の方がコロニー数は減少した。しかし、厚生労働省が推奨する石鹼洗い後とアルコール少量使用後ではコロニー数に有意差はなく、2名はアルコール少量使用後の方が若干コロニー数の増加を認めた。適量のアルコール消毒後が最もコロニー数が減少した。

表1 SCD寒天培地でのコロニー数の比較

	手洗い前	水洗い	石鹼20秒	石鹼40秒	Alc少量	Alc適量
被験者Ⅰ	162	330	216	81	77	17
被験者Ⅱ	438	621	91	83	98	54
被験者Ⅲ	27	164	24	17	23	11
平均	209	231	97	38	39	23

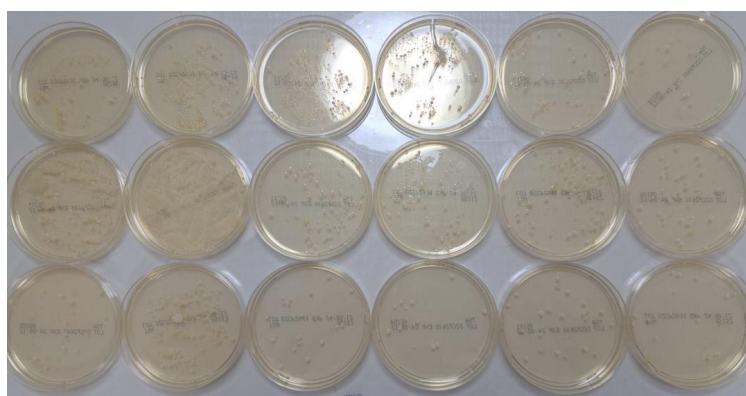


図1 SCD寒天培地の結果

左から手洗い前、水洗い後、普段の石鹼洗い後、厚生労働省が推奨する石鹼洗い後、少量のアルコール使用後、適量のアルコール使用後の順に、上から被験者Ⅰ、Ⅱ、Ⅲで配置している。

3.2 マッコンキー寒天培地でのコロニー数の比較

マッコンキー寒天培地はグラム陰性桿菌の選択分離培地であり、胆汁酸塩によりブドウ球菌のようなグラム陽性菌の発育が抑制される。大腸菌、サルモネラ菌、緑膿菌などが発育できる。2名から手洗い前にコロニーが検出され、水洗いだけではなくならず、石鹼洗後とエタノール消毒後はコロニーが生育しなかった。

表2 マッコンキー寒天培地でのコロニー数の比較

	手洗い前	水洗い	石鹼20秒	石鹼40秒	Alc少量	Alc適量
被験者Ⅰ	5	2	0	0	0	0
被験者Ⅱ	0	0	0	0	0	0
被験者Ⅲ	6	3	0	0	0	0
平均	3.7	1.7	0	0	0	0

3.3 卵黄加マンニット食塩寒天培地でのコロニー数の比較

卵黄加マンニット食塩寒天培地は高濃度の食塩によりブドウ球菌以外の菌は増殖せず、ブドウ球菌のみが生育する。結果を表3に示す。手洗いによってコロニー数は減少したが、全ての培地で多数のコロニーを確認した。また、培地が赤色から黄色に変わる、黄色ブドウ球菌特有のマンニット反応も大部分の培地で認めた。

表3 卵黄加マンニット食塩寒天培地でのコロニー数の比較

	手洗い前	水洗い	石鹼20秒	石鹼40秒	Alc少量	Alc適量
被験者Ⅰ	128	99	311	145	49	48
被験者Ⅱ	1140	170	111	75	26	23
被験者Ⅲ	91	26	20	22	25	21
平均	453	98	147	81	33	31

4. 考察

人間の皮膚は細菌が定着しており、皮膚の常在菌は200種類以上、1兆個も生息している。手指の検出総細菌は約4万～400万個と個人によって幅があり、主に、表皮ブドウ球菌、アクネ菌、黄色ブドウ球菌などがいる。表皮ブドウ球菌はリパーゼを分泌し、皮脂から保湿成分（グリセリン）と弱酸性成分を分泌し、皮膚のバリア機能を作り外的刺激から守ってくれる。アクネ菌は嫌気性菌で、毛穴や皮脂腺に存在し、プロピオン酸などを作り、皮膚を弱酸性に保ち病原菌から守ってくれる。増殖するとニキビの原因にもなる。黄色ブドウ球菌は存在するだけでは問題はないが、皮膚がアルカリ性に傾くと皮膚炎の原因になるし、食品に付着すると食中毒の原因になりうる。一方、手指に一時的に付着する主な菌には大腸菌、緑膿菌、カンジダ属菌などがあり、感染源となりうる。今回、一般細菌の培地であるSCD寒天培地で培養したところ、全員、手洗い前に比べ水洗い後にコロニー数が

増加し、また1名は普段通りの石鹸洗い後もコロニー数が増加した。これは単に水洗いや不十分な石鹸洗いだけでは、爪の中や指紋、しわなどに入り込んでいた菌が水分により手指表面に浮き出てしまい逆に多く検出されるようになったと考察される。また、厚生労働省が推奨する手洗い方法の方が普段の手洗いよりコロニー数が減少したことから、病原体を取り除くためには時間をかけ十分に流水で洗い流す必要があると推測する。さらに、アルコールを普段のように少量使用したときは厚生労働省の推奨する石鹸洗い後とコロニー数に有意な差はなく、アルコールを1push（1.5ml）塗布した方がコロニー数は減少した。以上から、手洗いによる菌量の減少効果は、適量のアルコール消毒≫少量のアルコール消毒≒厚生労働省が推奨する石鹸洗い>普段の石鹸洗い>水洗いの順に効果があった。

次に、残存菌の種類を特定するため、菌特有の選択培地で培養した。マッコンキー寒天培地で、大腸菌、サルモネラ菌、緑膿菌などを疑う菌が、手洗い前と水洗い後に残存し、石鹸洗い後とアルコール消毒後には生育しなかったこと、卵黄加マンニット食塩寒天培地の全ての培地でブドウ球菌が残存していたことから、手洗い消毒後に検出された菌の多くが皮膚の常在菌であるブドウ球菌であると推測した。ブドウ球菌は皮膚の内部などに深く入り込み保護されており、また菌量も圧倒的に多いため手洗い消毒後も出現すると推定される。今回、アクネ菌は嫌気性菌のため培養が難しく検討していないが、高橋ら（2023）が皮脂を好むアクネ菌は手洗いで最も減少すると報告していた。

以上から、石鹸洗い後とアルコール消毒後は、常在菌であるブドウ球菌以外の菌は明らかに減少しており、一時的に付着した菌には手洗い消毒の効果が確実にあると証明できるのではないかと分析した。しかし、残存した菌には食中毒の原因となりうる黄色ブドウ球菌なども含まれているため、十分な石鹸洗い、適切なアルコール消毒が必要であると考察した。また、手洗い後の乾燥も非常に重要である。池原ら（2011）が石鹸洗い後の乾燥に除菌効果がとても高いこと、Patrickら（1997）が、15秒の布タオルでの乾燥後、乾燥前を100%にした手指の水分は1%に減少し、伝播可能な細菌が11%まで減少すると報告していた。

5. 今後の課題

今回の実験では手洗い消毒直後の菌量を比較したが、持続性については検証していない。2002年にCDC（Centers for Disease Control and Prevention アメリカ疾病予防管理センター）が公開した『医療現場における手指衛生のためのCDCガイドライン』は、432件の文献を引用し、科学的根拠に基づき、また日常的に施行できることを考慮し、アルコールベースの手指消毒薬の汎用を推奨している。また、2009年にWHO（World Health Organization

世界保健機関）が公開した『医療における手指衛生についてのガイドライン』も同様に、アルコール手指消毒が手指衛生の基本であると記載している。アルコール消毒はウイルスを含むほとんどの微生物を除去でき、また短時間（20-30秒）で効果を得られ、皮膚障害が少なく、洗面台、石鹸、タオルなど特別な設備がないどのような環境でも確実に遂行できる。

しかし、アルコールは揮発し残留しないため持続的な抗菌作用はなく、滅菌手袋をしていても1-3時間後には細菌数が増加してしまうことが明らかになっている。藤澤ら（2014）は滅菌手袋をした際、手洗いや手指消毒の効果は30分以上は持続しているが、4%クロル

ヘキシジングルコン酸塩含有の石鹸を用いた手洗いの方がアルコール製剤よりも優れていたと報告している。また、武井ら（2006）は滅菌手袋をした際、エタノールのみやエタノール含有の石鹸洗いでは、直後は有意に細菌数は減少するが、1時間後には増加傾向を示し、3時間後には手洗い前を上回る菌が検出されたと報告している。一方、抗菌作用のあるトリクロカルバン、トリクロサン、安息香酸が含有された薬用石鹸ミューズでは直後より1時間後の方がさらに菌が減少し、3時間後も菌量は手洗い前の半分程度に維持できていた。さらに、0.1%グルコン酸クロルヘキシジン含有エタノール製剤や0.2%塩化ベンザルコニウム含有エタノール製剤は他の方法に比べ細菌数が最も減少し、1時間後も、3時間後も菌は増殖しなかったと報告している。同様に中川ら（2009）が、0.5%グルコン酸クロルヘキシジン含有エタノール製剤及び0.2%塩化ベンザルコニウム含有エタノール製剤の3時間後の持続性を報告している。廣瀬ら（2021）も、エタノールやイソプロパノールなどのアルコール系消毒薬には持続効果がほとんど認められなかったが、グルコン酸クロルヘキシジンや塩化ベンザルコニウムには持続的な消毒効果があり、特に0.2%塩化ベンザルコニウム含有エタノール製剤は新型コロナウイルスの生存時間を665分から5分（1%未満）に、インフルエンザウイルスの生存時間を121分から4分（約3%）に短縮し、残留消毒効果は、皮膚モデルで4時間、実使用で発汗や他の物体との接触により消毒成分が流出しても、少なくとも2時間は維持すると報告している。

また現在、花王株式会社パーソナルヘルス研究所、生物化学研究所、解析科学研究所と京都府立医科大学大学院医学研究科らの研究グループが、乳酸とポリオキシエチレンアルキルエーテルという物質が手指バリア機能を補い、皮膚表面の菌やウイルスを不活性化化する環境に変えることを明らかにしている。新型コロナウイルスの生存時間を10.8時間から0.3時間（約3%）に、インフルエンザウイルスの生存期間を1.8時間から0.2時間（約11%）に大幅に短縮できることが確認でき、その効果は実使用でも2時間は続くと公表している。現在、製品化に向けてさらに研究が進められている。今後、持続性も検討し、状況に応じて石鹸洗いや消毒を効率的に心がけたいと改めて認識した。

6. 参考文献

- 池原弘展・山本恭子・茅野友宣・安井久美子・荒川満枝・鶴飼和浩（2011）『石けん手洗い後にペーパータオルを用いた乾燥方法の除菌効果の検討』 UH CNAS, RINCPC Bulletin Vol.18, 2011
- 石田和夫・三浦英雄（2000）『手洗い効果の細菌学的考察』 名古屋文理短期大学紀要 第25号
- 大久保憲（2003）『医療現場における手指衛生のためのCDCガイドライン』
- 高橋七瀬（2023）『手指の常在菌叢：エタノール消毒および手洗いの効果』 新潟大学社会連携推進機構
- 武井奏・糠信憲明・横山久美・石井美里・築地真実・石田裕・田爪正氣（2006）『手袋装着時の手指付着細菌に対する各種洗剤・消毒薬の抗菌持続効果』 東海大学健康科学部紀要筆12号
- 中川博雄・田淳一・榊原克起・北原隆志・佐々木均（2009）『0.5w/v%グルコン酸クロルヘキシジンおよび0.2w/v%塩化ベンザルコニウム含有エタノール製剤の手指消

毒効果に対する比較検討』環境感染誌 Vol.24 no.3

橋本由利子（2018）『学生を対象とした手洗い前後の細菌数に関する研究』東京福祉大学・
大学院紀要第8巻第2号 189-195

廣瀬亮平・伊藤義人・池谷博・中屋隆明（2021）『消毒薬のウイルスに対する残留消毒効果の
評価～ヒト皮膚上のウイルスの生存時間を大幅に短縮させる方法を構築～』
Environmental Science & Technology 55, 23, 16044–16055

藤澤隆一・高橋宏明・大関京子・田中由美子・奥住捷子・増田道明（2014）『手袋使用時の
手指衛生に関する学生教育の試み』環境感染誌 Vol.29 no.3

D.R.PATRICK・G.FINDON・T.E.MILLER（1997）『Residual moisture determines the
level of touch-contact-associated bacterial transfer following hand washing』
Epidemiol. Infect. 119, 319-325

厚生労働省 新型コロナウイルスの消毒除菌方法について（2024年4月19日）

http://www.mhlw.go.jp>stf>bunya>syoudoku_00001

日本ユニセフ協会 『手洗い白書2012』（2024年4月19日）

<http://handwashing.jp/dl/hakusyo.pdf>

日本環境感染学会 手指衛生（2024年4月19日）

http://www.kankyokansen.org/other/edu_pdf/3-04.pdf

花王 菌・ウイルスに対する“手指バリア”機能を補う技術を開発 皮膚表面で菌・ウイルスの
生存時間を大幅に短縮（2024年6月6日）

<http://www.kao.com>newsroom>news>release>

WHO手指衛生ガイドラインスライド日本語版（2024年8月2日）

<http://www.goodhandhygiene.jp/basic/whohhguideline/>

