

常用消毒薬の現状における殺菌効果の検討

柴田悠喜, 藤井喜一郎, *¹今泉厚子, 大長美穂子, *²鈴木雅也*³浜松医科大学医学部附属病院薬剤部*¹清水市立病院薬局*²袋井市立市民病院薬局*³Bactericidal Effects of Today's Commonly
Used DisinfectantsYUKI SHIBATA, KIICHIRO FUJII, *¹ ATSUKO IMAIZUMIMIHOKO DAICHO, *² MASAYA SUZUKI*³Pharmacy of Hamamatsu University School of Medicine Hospital*¹Pharmacy of Shimizu General Hospital*²Pharmacy of Fukuroi Municipal Hospital*³

(Received September 27, 1984)

The bactericidal effects of commonly used disinfectants against clinically isolated bacteria were examined by the applied method of phenol coefficient measurement. The bacteria examined were 4 species of the clinically isolated strain, *E. coli*, *P. aeruginosa*, *K. Pneumoniae* and *S. aureus*, which were known to be the main bacteria causing the opportunistic infection. The bacterial broth was put into various concentrations of 9 different disinfectants, and each was inoculated into a fresh medium after 0.5, 2, 5, 15 and 30 minutes. This experiment revealed that there were many ineffective cases in the generally used concentrations.

We also did a questionnaire survey regarding the preparation and usage of disinfectants. The result showed that in many cases the preparation of disinfectant was made by eye measure, which might cause inaccurate concentrations. Therefore, we hospital pharmacists should be more concerned with hospital disinfection.

Keywords—disinfectants ; phenol coefficient ; clinically isolated strains ; benzethonium chloride ; chlorhexidine ; cresols ; povidone-iodine

はじめに

今日, 化学療法剤の驚異的な進歩に伴い, 薬剤耐性菌の問題も一層深刻化している. 抗生物質を始めとする化学療法剤については, その作用機序, 抗菌スペクトル等詳細な検討がなされているが, その一方で, 感染防止上もう一つの重要な役割を担っている消毒薬についての検

討は十分にはなされていない.

近年, クロルヘキシジン, 塩化ベンゼトニウム, ポビドンヨード等の新しい消毒薬が繁用されている. これら消毒薬について標準株での消毒効果の検討はなされているが, 日々耐性化の進んでいる臨床分離株に対して, 手指消毒または器具消毒等さまざまな使用法において, どの程度の濃度でどれだけの時間作用させればよいのか, という疑問のすべてを満足させてくれる答は見つからなかった. また, 殺菌力の評価法も種々の問題点を含んでおり, 決定的な測定法というほどのものはないことも判明した.

今回, 当院採用消毒薬について石炭酸係数測定法を準用し, 殺菌効果の検討を行い, また各病棟における消毒

*¹ 浜松市半田町3600 ; 3600, Handa-cho, Hamamatsu-shi, 431-31 Japan

*² 清水市松原町2-19 ; 2-19, Matsubara-cho, Shimizu-shi, 424 Japan

*³ 袋井市久能2515-1 ; 2515-1, Kuno, Fukuroi-shi, 437 Japan

薬の使用実態調査も行ったのでここに報告する。

材料および方法

1. 使用消毒薬

- 1) 塩化ベンゼトニウム液 (10w/v%) : ハイアミン液 (三共)
- 2) グルコン酸クロルヘキシジン液 (20w/v%) : ヒビテングルコネート液 (ICI)
- 3) クレゾール石ケン液 (42~52v/v%) : (日興製薬)
- 4) 消毒用フェノール (95.0%以上) : (シオエ)
- 5) テゴ-51 (アルキルジ<アミノエチル>グリシン塩酸塩, 10w/v%) : (日本商事)
- 6) ミルトン (次亜塩素酸ナトリウム 1%, 塩化ナトリウム 16.5%) : (日本ヴィックス)
- 7) イソジン液 (ポビドンヨード 100mg/ml, 有効ヨウ素 10mg/ml) : (明治製薬)
- 8) ステリハイド 2w/v%液 (グルタラル 2w/v%) : (丸石製薬)
- 9) 消毒用エタノール (76.9~81.4v/v%) : (日興製薬)

クレゾール石ケン液, 消毒用フェノール, ミルトンは, 市販品を 100% とした希釈濃度で表わした。

2. 使用菌株

Opportunistic infection の原因菌として代表的な 4 菌種を選び, 浜松医大病院検査部から分与された臨床分離株を用いた。

- 1) *Escherichia coli*
- 2) *Pseudomonas aeruginosa*
- 3) *Klebsiella pneumoniae*
- 4) *Staphylococcus aureus*

3. 実験方法

1) 殺菌効果の測定

石炭酸係数測定法¹⁾に準じて行い, 供試菌はハートインフュージョンブイヨン (HIB) で 2 回以上継代培養したものを, さらに HIB 中で 37°C, 24 時間培養して試験菌液とした。消毒薬溶液は市販品を原液として滅菌蒸留水で希釈し, 濃度は予備実験を行って決定した。作用時間は, 30 秒, 2 分, 5 分, 15 分および 30 分とし, 室温で各時間作用後, 一白金耳を HIB 2 ml の後培養培地に接種した。これを 37°C で 48 時間培養して, 肉眼で菌の増殖の有無を判定した。

2) 最小発育阻止濃度 (MIC) の測定

寒天平板希釈法を用いて測定した。培地はハートインフュージョン寒天を用い, 供試菌は 1) と同じものを用いた。作用濃度は予備実験により決定し, 37°C, 48 時

間培養後判定した。

3) 消毒薬使用実態および消毒意識調査

浜松医大病院の病棟, 外来各ナースステーションおよびパラメディカル各セクション計 38 カ所において, 消毒薬の調製法, 使用している消毒薬の種類, 濃度および交換回数について実態調査を行った。また, 医師, 看護婦, 検査技師および薬剤師計 57 名について, 消毒に対する意識, 実施実態調査を行った。

実験結果

1. 殺菌効果

1) 塩化ベンゼトニウム

各菌種に対して, 常用濃度の 1/5 レベルで十分な殺菌力が認められた (Table 1)。また 30 秒の接触で殺菌される最小濃度も, 最も感受性の低い緑膿菌で 0.1% と常用濃度のレベルであった (Table 8)。しかしながら, MIC は黄色ブドウ球菌を除いて殺菌濃度よりも高いという結果であった。

2) グルコン酸クロルヘキシジン

大腸菌, 黄色ブドウ球菌に対しては十分な効果を示したが, 緑膿菌, 肺炎桿菌については 30 秒で殺菌されるには 0.1% の濃度を要した (Table 2 および 8)。しかし浸漬用として用いる場合には, 0.01% でも有効であることが認められた (Table 9)。また, MIC については塩化ベンゼトニウムとは逆に, 殺菌濃度よりもはるかに低いレベルであった。

3) クレゾール石ケン

各菌種に対してほぼ同様の傾向を示し, 2% の濃度で確実な効果を示した。しかしながら, 濃度による殺菌力の差が著しく, 市販品の指示濃度である 0.5% では, 大腸菌, 黄色ブドウ球菌に対して無効であった (Table 3)。MIC においても殺菌濃度と同様の傾向を示し, 菌種による違いはごくわずかであった。

4) 消毒用フェノール

消毒薬検定の標準品とされているフェノールであるが, その毒性により今日ではほとんど使われていない。今回も実験系そのものを評価するための参考として実験を行った (Table 4)。その結果, 菌種による効果の変動はほとんど認められず, 安定した殺菌力を有していることが認められた。

5) テゴ-51

両性界面活性剤で, 主として浸漬法で器具類の消毒に用いられている本剤は, 30 分の接触により常用濃度の 1/10 以下の濃度で各菌種共に殺菌された (Table 5 および 9)。MIC も最も感受性の低い緑膿菌で 0.1% であ

Table 1. Bactericidal Effects of Benzethonium Chloride Solution

Strains	Concentrations (W/V%)	Time in minutes					MIC
		½	2	5	15	30	
<i>E.coli</i>	0.02	-	-	-	-	-	0.02% (200µg/ml)
	0.01	+	-	-	-	-	
	0.005	+	+	+	+	+	
	0.002	+	+	+	+	+	
<i>P.aeruginosa</i>	0.02	+	-	-	-	-	0.04% (400µg/ml)
	0.01	+	-	-	-	-	
	0.005	+	+	+	-	-	
	0.002	+	+	+	+	+	
<i>K.pneumoniae</i>	0.02	+	-	-	-	-	0.02% (200µg/ml)
	0.01	+	+	-	-	-	
	0.005	+	+	+	-	-	
	0.002	+	+	+	+	-	
<i>S.aureus</i>	0.02	-	-	-	-	-	0.000625% (6.25µg/ml)
	0.01	+	-	-	-	-	
	0.005	+	+	-	-	-	
	0.002	+	+	+	+	-	

Table 2. Bactericidal Effects of Chlorhexidine Gluconate Solution

Strains	Concentrations (W/V%)	Time in minutes					MIC
		½	2	5	15	30	
<i>E.coli</i>	0.02	-	-	-	-	-	0.000125% (1.25µg/ml)
	0.01	-	-	-	-	-	
	0.005	+	+	+	-	-	
	0.0025	+	+	+	+	+	
<i>P.aeruginosa</i>	0.02	+	+	+	-	-	0.02% (200µg/ml)
	0.01	+	+	+	+	-	
	0.005	+	+	+	+	+	
	0.0025	+	+	+	+	+	
<i>K.pneumoniae</i>	0.02	+	+	-	-	-	0.002% (20µg/ml)
	0.01	+	+	-	-	-	
	0.005	+	+	+	-	-	
	0.0025	+	+	+	+	+	
<i>S.aureus</i>	0.02	+	-	-	-	-	0.000125% (1.25µg/ml)
	0.01	+	+	-	-	-	
	0.005	+	+	+	+	-	
	0.0025	+	+	+	+	+	

Table 3. Bactericidal Effects of Saponated Cresol Solution

Strains	Concentrations (V/V%)	Time in minutes					MIC
		½	2	5	15	30	
<i>E.coli</i>	2.0	-	-	-	-	-	0.4%
	1.0	+	-	-	-	-	
	0.5	+	+	+	+	+	
	0.2	+	+	+	+	+	
<i>P.aeruginosa</i>	2.0	-	-	-	-	-	0.4%
	1.0	-	-	-	-	-	
	0.5	+	+	+	+	-	
	0.2	+	+	+	+	+	
<i>K.pneumoniae</i>	2.0	-	-	-	-	-	0.2%
	1.0	+	+	-	-	-	
	0.5	+	+	+	+	-	
	0.2	+	+	+	+	+	
<i>S.aureus</i>	2.0	-	-	-	-	-	0.2%
	1.0	+	+	-	-	-	
	0.5	+	+	+	+	+	
	0.2	+	+	+	+	+	

Table 4. Bactericidal Effects of Phenol for Disinfection

Strains	Concentrations (V/V%)	Time in minutes					MIC
		½	2	5	15	30	
<i>E.coli</i>	5.0	-	-	-	-	-	0.25%
	2.5	-	-	-	-	-	
	1.25	+	+	-	-	-	
	0.625	+	+	+	+	+	
<i>P.aeruginosa</i>	5.0	-	-	-	-	-	<0.25%
	2.5	-	-	-	-	-	
	1.25	+	+	+	-	-	
	0.625	+	+	+	+	+	
<i>K.pneumoniae</i>	5.0	-	-	-	-	-	0.25%
	2.5	-	-	-	-	-	
	1.25	+	-	-	-	-	
	0.625	+	+	+	+	+	
<i>S.aureus</i>	5.0	-	-	-	-	-	0.25%
	2.5	-	-	-	-	-	
	1.25	+	+	+	+	-	
	0.625	+	+	+	+	+	

Table 5. Bactericidal Effects of Tego-51

Strains	Concentrations (W/V%)	Time in minutes					MIC
		½	2	5	15	30	
<i>E.coli</i>	0.2	--	--	--	--	--	0.01% (100µg/ml)
	0.1	+	--	--	--	--	
	0.05	+	+	--	--	--	
	0.02	+	+	+	--	--	
<i>P.aeruginosa</i>	0.2	+	+	--	--	--	0.1% (1000µg/ml)
	0.1	+	+	+	--	--	
	0.05	+	+	+	--	--	
	0.02	+	+	+	+	+	
<i>K.pneumoniae</i>	0.2	+	--	--	--	--	0.02% (200µg/ml)
	0.1	+	--	--	--	--	
	0.05	+	+	--	--	--	
	0.02	+	+	+	+	--	
<i>S.aureus</i>	0.2	--	--	--	--	--	0.0025% (25µg/ml)
	0.1	+	--	--	--	--	
	0.05	+	+	+	--	--	
	0.02	+	+	+	+	+	

Table 6. Bactericidal Effects of Milton

Strains	Concentrations (V/V%)	Time in minutes					MIC
		½	2	5	15	30	
<i>E.coli</i>	10.0	+	--	--	--	--	10.0%
	2.0	+	--	--	--	--	
	1.25	+	+	--	--	--	
	0.5	+	+	+	+	+	
<i>P.aeruginosa</i>	10.0	--	--	--	--	--	10.0%
	2.0	+	+	--	--	--	
	1.25	+	+	+	+	--	
	0.5	+	+	+	+	+	
<i>K.pneumoniae</i>	10.0	--	--	--	--	--	10.0%
	2.0	+	--	--	--	--	
	1.25	+	+	+	--	--	
	0.5	+	+	+	+	+	
<i>S.aureus</i>	10.0	--	--	--	--	--	10.0%
	2.0	+	+	+	+	--	
	1.25	+	+	+	+	+	
	0.5	+	+	+	+	+	

Table 7. Bactericidal Effects of Isodine Solution

Strains	Concentrations (W/V%)	Time in minutes					MIC
		¼	½	1	2	5	
<i>E.coli</i>	10.0	+	+	+	+	-	1.0%
	7.5	+	+	-	-	-	
	0.2	+	-	-	-	-	
<i>P.aeruginosa</i>	10.0	+	+	-	-	-	≧1.0%
	7.5	+	+	-	-	-	
	0.2	+	-	-	-	-	
<i>K.pneumoniae</i>	10.0	+	+	-	-	-	1.0%
	7.5	+	+	-	-	-	
	0.2	+	+	-	-	-	
<i>S.aureus</i>	10.0	+	+	+	+	+	1.0%
	7.5	+	+	+	+	+	
	0.2	+	+	-	-	-	

Table 8. Minimum Bactericidal Concentrations of Various Disinfectants in 30 Seconds

Disinfectants	General used concentrations	Strains			
		<i>E.coli</i>	<i>P.aeruginosa</i>	<i>K.pneumoniae</i>	<i>S.aureus</i>
Benzethonium chloride ¹⁾	(0.05-0.1)	0.02	0.1	0.05	0.02
Chlorhexidine gluconate ¹⁾	(0.02-0.05)	0.01	0.1	0.1	0.05
Saponated cresol ²⁾	(0.5-1.0)	2.0	1.0	2.0	2.0
Phenol for disinfection ²⁾	(3.0-4.0)	2.5	2.5	2.5	2.5
Tego-51 ¹⁾	(0.1-0.5)	0.2	0.5	0.5	0.2
Milton ²⁾	(1.25)	10.0	10.0	10.0	10.0

1) W/V% 2) V/V%

Table 9. Minimum Bactericidal Concentrations of Various Disinfectants in 30 Minutes

Disinfectants	General used concentrations	Strains			
		<i>E.coli</i>	<i>P.aeruginosa</i>	<i>K.pneumoniae</i>	<i>S.aureus</i>
Benzethonium chloride ¹⁾	(0.05-0.1)	0.01	0.005	<0.002	<0.002
Chlorhexidine gluconate ¹⁾	(0.02-0.05)	0.005	0.01	0.005	0.005
Saponated cresol ²⁾	(0.5-1.0)	1.0	0.5	0.5	1.0
Phenol for disinfection ²⁾	(3.0-4.0)	1.25	1.25	1.25	1.25
Tego-51 ¹⁾	(0.1-0.5)	<0.02	0.05	<0.02	0.05
Milton ²⁾	(1.25)	1.25	1.25	1.25	2.0

1) W/V% 2) V/V%

1) 消毒薬をどのようにして調製しているか。

メスシリンダー等で正確に調製 (33.3)	目分量で調製 (52.8)	その他 (8.3)	無回答 (5.6)
-----------------------	---------------	-----------	-----------

2) 手洗いベースン用消毒薬は何を使用しているか。

塩化ベンゼトニウム (58.6)	クロルヘキシジン (17.2)	無回答 (17.2)
------------------	-----------------	------------

↑ イソジン(3.4) ↑ ヒビスクラブ(3.4)

3) 浸漬用消毒薬は何を使用しているか。

塩化ベンゼトニウム (30.2)	クレゾール石ケン (20.8)	ミルトン (15.1)	クロルヘキシジン (15.1)	無回答 (11.3)
------------------	-----------------	-------------	-----------------	------------

↑ 次亜塩素酸ナトリウム (1.9)

↑ ステリハイド(3.8) ↑ イソジン(1.9)

4) 消毒薬の交換はどの程度行っているか。

1日1回 (54.1)	2回 (6.6)	3回 (9.8)	汚染時等適宜交換 (27.9)
-------------	----------	----------	-----------------

↑ 4~5回(1.6)

5) 手洗にかける時間はどの程度か。

3秒 (6.4)	10秒程度 (56.8)	20秒程度 (21.6)	30秒 (10.8)	無回答 (5.4)
----------	--------------	--------------	------------	-----------

50

100%

図1. 消毒薬使用実態および消毒意識調査の結果

た。

6) ミルトン

1%の次亜塩素酸ナトリウムを含み、一般に80倍希釈して浸漬に用いる本剤であるが、今回の実験結果では、黄色ブドウ球菌に対して30分の接触でも無効であった。HB抗原に有効なことから使用頻度の増している本剤ではあるが、使用濃度の点では再考を要すると思われる。また、MICについては、寒天平板法で測定することに問題があるようである (Table 6)。

7) イソジン

10%のポピドンヨードを含むイソジンは、通常即座の効果を期待して使用されるため、実験においても接触時間を1/4, 1/2, 1, 2および5分とした。作用濃度は原液そのまま、手術用イソジンのポピドンヨード濃度である7.5%水溶液、また当院において内視鏡ファイバースコープ等の消毒に使用している50倍希釈液の3濃度について実験を行った。その結果、大腸菌については2分後でも生菌が認められ、黄色ブドウ球菌においては、10%, 7.5%液いずれも5分以内には殺菌効果が認められなかった。また、50倍希釈液の方が高濃度の場合よりも殺菌力が優れているという結果であった (Table 7)。MICについては、緑膿菌は1%で陽性であったが、寒天平板上で10倍希釈する操作法のため、1%以上の濃度では実験できない。

8) その他

ステリハイド2w/v液および消毒用エタノールは、すべての菌種に対して30秒以内で殺菌効果が認められた。

2. 消毒薬使用実態および消毒意識調査

アンケート型式で調査を行い、回収率は81.6%であった。その結果の主なものは図1に示すとおりである。

1) の項で、「その他」にはメジャーカップ等大まかな容器での測定、および容器に直接印をつけて使用している場合が含まれている。また各消毒薬について使用している濃度を調査したところ、塩化ベンゼトニウムについては約半数の使用濃度が不相当であった。

考察および結論

1. 消毒薬の評価法

消毒薬の殺菌力評価法としては、石炭酸係数測定法を始めとして、MIC 測定法、最小殺菌濃度 (MBC) 測定法、また Kelsey-Sykes の改良型ブイヨン培養法³⁾などが唱えられている。安生らは、主としてシュードモナス属に対する各種消毒薬の殺菌効果を、臨床分離株について石炭酸係数法を用いて検討している。⁴⁾しかしながら、

石炭酸係数法そのものは5分間では生存し、10分間では死滅する濃度を石炭酸のそれとの比で表わすというもので、手指消毒などの場合では参考にならない条件である。また、使用菌株もチフス菌または黄色ブドウ球菌とされている。MIC および MBC 測定法では、培地中で薬剤を作用させ、かつ少なくとも十数時間の培養時間が必要なため、短時間での殺菌効果は測定できない。また、培地による薬剤の不活化という問題も惹き起される。Kelsey-Sykes 法は、多くの因子を考慮したすぐれた方法であるが、操作が複雑で実用には適さない。

五島らは、石炭酸係数法、MIC およびMBC を比較実験し、いずれの方法も適当でないとしている。⁵⁾辻らは、石炭酸係数法の改良型として菌を生食で希釈する方法を唱えているが、作用時間は5分までしか測定していない。⁶⁾島田は混積培養法により多種消毒薬の殺菌力を検討しているが、使用菌株は保存株であり、3菌種のみでの検討である。⁷⁾

今回の実験においては消毒薬の2つの大きな使用法、すなわち一般手指消毒と浸漬法による器具消毒の両面について検討するために、作用時間を30秒から30分に設定した。また、病院薬局における実験という観点から、操作の比較的簡便な培養菌液をそのまま消毒薬溶液に添加するという方法を採用した。辻らが主張するように、培地が消毒薬を不活化するおそれは多分にあるが、その反面実際の使用においてもタンパク等の混入を避けることはできず、本法において陰性となった使用条件であれば、一般の使用の上では十分信頼できるのではないかと考えられる。

2. 各消毒薬の殺菌効果

今回の実験の結果、本実験の条件下で各菌種につき一株のみの検討ではあるが、多くの消毒薬において常用濃度とされている使用濃度では、効果が不十分であることが認められた。グルコン酸クロロヘキシジンでは0.05%、クレゾール石ケン液では5%、ミルトンでは2%以上の濃度が必要ではないかと考えられる。

イソジン液においても、短時間での殺菌は必ずしも有効ではなく、最低1分間の接触は必要であることが示唆された。特に今回の実験においては、黄色ブドウ球菌に対する効果が弱いことが認められた。また、50倍希釈液の方が殺菌効果が高い傾向が見受けられるが、この点については現在検討中である。

塩化ベンゼトニウムについては、今回の実験では十分な殺菌力を保持していると考えられる結果であった。しかしながら、辻らの報告をはじめ、多数の報告において汚染による効力低下が述べられている。^{8),9)}MIC 測定結

果も、短時間での殺菌効果と比較して高い値であった。このことから、長時間タンパク等と共存する条件では、その効力が急激に低下するものと考えられる。また使用実態調査の結果においても、使用濃度をクロルヘキシジンと誤っている例が多く、消毒液の交換も1日1回の場合が過半数であった。

以上の点を考えあわせると、手洗い用ペースンについては塩化ベンゼトニウム含有量を0.1%に調製し、1日2回以上交換するのが適当であると思われる。浸漬用にはむしろクロルヘキシジン、クレゾール石ケン液およびテゴ-51の方が適当である。全体として菌の消毒薬に対する抵抗性が高まっている傾向が見受けられ、定期的に検査することが必要であると思われる。

3. 消毒薬使用上の実態

今回の調査の結果、メスシリンダー等で正確に消毒液を調製しているのは全体の1/3にすぎないことが判明した。実験の結果から明らかなように、わずかな濃度の違いで無効となる場合もあるので、使用濃度、調製法の再教育の必要性を痛感させられた。

また一般手洗いについては、1分以上行っている例は全くなく、消毒薬を使用していない人が約半数であった。実際の使用の点を考えると、30秒以内で確実に殺菌

できる条件で、かつ使いやすいようにしておかなければ意味がないものと改めて認識させられた。

手洗い用ペースンについては、塩化ベンゼトニウムは0.1%、クロルヘキシジンを使用する場合には0.05%とし、なるべく頻繁に調製を行うべきである。また同時に、そのまま使用できるヒビスクラブ等の洗剤を含んだ製品を合わせて用意することが、よりよい方法ではないかと考える。

文 献

- 1) 医科学研究所学友会編：“細菌学実習提要,”第4版,丸善,1973.
- 2) 日本化学療法学会 MIC 測定法改訂委員会編: Chemotherapy, 23, 1 (1974).
- 3) J.C.Kelsey and I.M.Maurer: Pharm.J., 213, 528 (1974).
- 4) 安生紗枝子,佐藤たか子,加賀美操ほか: 病院薬学, 2, 84 (1976).
- 5) 五島瑳智子,金子康子,川崎賢二ほか: 臨床病理, 25, 684 (1977).
- 6) 辻明良,関口金雄,金子康子ほか: 感染症学雑誌, 53, 292 (1979).
- 7) 島田慈彦: 北里医学, 12, 512 (1982).
- 8) 富岡一,小林芳夫,内田博,萩原董: 臨床と細菌, 5, 239 (1978).
- 9) 近藤由利子: 薬局, 34, 1049 (1983).