〈報 告〉

手術時手指消毒における速乾性手指消毒剤の消毒効果の比較検討

中村 忠之^{1,4)}・西條 美恵²⁾・田口 実里³⁾・丸茂 健治⁴⁾・柳川 容子⁴⁾**Comparison of Disinfection Efficacy of Alcoholic Hand Rubbing Preparations (Surgical Hand Antisepsis) Against Bacteria on Hands of Nurses**Tadashi NAKAMURA^{1,4)}, Mie SAIJO²⁾, Misato TAGUCHI³⁾, Kenji MARUMO⁴⁾ and Yoko YANAGAWA⁴⁾¹⁾Department of Medical Safety Control, Japanese Red Cross Society Nagahama Hospital,²⁾Department of Nursing, Japanese Red Cross Society Ishinomaki Hospital,³⁾Japanese Red Cross College of Nursing Graduate School,⁴⁾Department of Microbiology and Immunology, School of Medicine, Showa University

(2014 年 12 月 2 日 受付・2016 年 4 月 25 日 受理)

要 旨

我々は、1.0 w/v%および 0.5 w/v%クロルヘキシジングルコン酸塩エタノール液(1.0%および 0.5%CHG-AL)における即時効果および持続効果を、0.2 w/v%ベンザルコニウム塩化物エタノール液(0.2%BAC-AL)を対照として、看護師 41 名を対象にグローブジュース法(一部改変)にて比較検討した。1.0%CHG-AL 群における消毒直後と消毒 3 時間後の細菌数は、0.2%BAC-AL 群に比べて有意に減少し即時効果と持続効果は統計学的に優れていた。CHG-AL 群の両濃度による消毒後に検出された主な細菌は *Bacillus* 属およびコアグラゼ陰性ブドウ球菌(CNS)であった。CHG-AL 群の両濃度を比較すると、CNS 生残菌数は 1.0%CHG-AL 群で 1/170~1/219、0.5%CHG-AL 群では 1/513 と有意に減少し、*Bacillus* 属は 1.0%CHG-AL 群で 1/7~1/11 に有意に減少したが、0.5%CHG-AL 群では減少しなかった。CHG-AL 群の両濃度の消毒直後と消毒 3 時間後で、全分離細菌数、CNS 菌数は指数減少が有意に認められ CHG-AL が強い持続効果を有することを示した。以上の結果から、1.0%CHG-AL 群の消毒効果は *Bacillus* 属の除菌効果を考慮すると 0.5%CHG-AL 群より優れていると考えられた。

Key words : クロルヘキシジングルコン酸塩エタノール液(CHG-AL), 手術時手指消毒, 持続効果, *Bacillus* 属, コアグラゼ陰性ブドウ球菌(CNS)

はじめに

手術時手指消毒は手術部位感染対策において必須項目であり、手指常在菌を可能な限り減少させることを目的とした最も衛生水準の高い手洗いである。その際に使用する消毒薬は、手指消毒後の即時効果と共に持続効果が求められる。2002 年に Centers for Disease Control and Prevention(CDC)が発表した「医療現場における手指衛生のガイドライン」では、低濃度のクロルヘキシジングルコン酸塩をアルコールベースの製剤に添加することに

より、アルコール単剤よりも優れた残留活性が得られると報告し使用が推奨されている¹⁾。わが国でも 1.0 w/v%および 0.5 w/v%クロルヘキシジングルコン酸塩エタノール液(以下、1.0%CHG-AL および 0.5%CHG-AL)を使用するようになってきた。しかし、手術時手指消毒の方法の違いによる消毒効果の報告はあるが CHG-AL 濃度の違いによる報告はなく、1.0%CHG-AL および 0.5%CHG-AL の手指消毒効果に関する実験的評価が必要になった。

本研究では 1.0%CHG-AL および 0.5%CHG-AL の手指消毒効果について、手術時手指消毒法の 1 方法であるウォーターレス法を用いて、手指消毒直後(即時効

¹⁾長浜赤十字病院医療安全推進室, ²⁾石巻赤十字病院看護部,³⁾日本赤十字看護大学大学院, ⁴⁾昭和大学医学部微生物学講座

果)および手術時手袋交換の目安である消毒3時間後(持続効果)における手指常在菌を同定し、その生残菌数を定量法であるグローブジュース法(以下、GJ法)を一部改変して測定し、通常の速乾性擦式手指消毒剤である0.2 w/v%ベンザルコニウム塩化物エタノール液(以下、0.2%BAC-AL)を対照としてその結果を評価した。

データ概要

本研究で使用したデータは、A施設で実施された「手洗いと手指消毒」の演習で得られた結果で、かつ使用許可を承諾した者のデータである。これらを元に二次分析を行った。

材料と方法

1. 試験製剤

試験製剤は1.0%CHG-ALおよび0.5%CHG-AL(1.0%および0.5%ウエルアップハンドローション®, 吉田製薬㈱)と0.2%BAC-AL(ウエルパス手指消毒液0.2%®, 丸石製薬㈱)を使用した。

2. 対象

試験実施前に手技説明を受け同意を得た被験者(看護師41名)に対して、試験群1.0%CHG-AL15名、試験群0.5%CHG-AL15名、対照群0.2%BAC-AL11名の3群を無作為に分けて実施した。被験者には手指に皮膚損傷がなく、CHG-AL製剤とBAC-AL製剤による過敏症のないことを確認した。

3. 手指消毒法

手指菌数測定は、米国食品医薬品局(FDA)の「医療用手指消毒薬製品暫定的最終基準」において推奨しているGJ法に準拠し、その一部を改変して手指消毒直前、直後と手術用手袋着用3時間後(手術時手袋交換の目安となる時間)の生残菌数(集落数)を調べた²⁾。

消毒前のサンプル採取は、通常で用いる普通石鹸と流水を用いた手洗いを実施しない状態で、左手に手術用滅菌手袋(パウダーフリー、ニトリル製)を着用し、介助者が左手袋に滅菌サンプリング液(精製水1,000 ml中、 Na_2HPO_4 10.1 g, KH_2PO_4 0.4 g, Triton X-100 1 g) 50 mLを注入した。1分間良くマッサージしたのち滅菌サンプリング液が漏れないように介助者が外し、滅菌サンプリング液を50 mL滅菌チューブ(ファルコン社)に無菌的に回収しこれを手指消毒直前液とした。したがって今回の実験ではベースラインの測定は実施せず、消毒直前のサンプリング液は個々の被験者の手指常在菌のほか通過菌も含むものとした。

手指消毒直後および消毒3時間後のサンプル採取は、1.0%CHG-AL群および0.5%CHG-AL群では、流水と普通石鹸での手洗い後に未滅菌のペーパータオルで水分を拭き取り速乾性擦式手指消毒剤による手指消毒(ウ

ォーターレス法)を行い、手術用滅菌手袋を着用した。一方0.2%BAC-AL群では流水と普通石鹸の手洗いは実施せず直接、消毒薬を手に取り手指消毒を行った。その後消毒前のサンプル採取と同様にGJ法(一部改変)で左手よりサンプリング液を採取し即時効果のサンプルとした。サンプリング液採取後は、自然乾燥後に手術用滅菌手袋を再度着用し、消毒3時間後に左手袋より同様にサンプリング液を採取し持続効果のサンプルとした。

4. 菌種の同定法

各サンプル0.1 mLをSCDLP寒天培地(レシチンとTween 80添加トリプトソイ寒天培地; 栄研化学㈱)に滴下し滅菌コンラージ棒で塗抹した。培養は35°Cで48時間好氣的に行い形成した集落は形状を観察し、その数を目視で計数した。

培地上に形成した集落の同定は同一形状の集落から1集落を純培養後、以下の方法で行った。最初にグラム染色法でグラム陽性桿菌、グラム陽性球菌、グラム陰性桿菌に分類した。*Bacillus*属は肉眼でR型集落を確認後、グラム染色で有芽胞グラム陽性桿菌であることを観察し同定した。*Staphylococcus*属と*Micrococcus*属はS型集落からグラム染色でグラム陽性球菌であることを観察し、次にブドウ糖の嫌氣的分解の有無(OFテスト)を調べて同定した。さらに前者と同定された場合、*Staphylococcus aureus*とコアグララーゼ陰性ブドウ球菌(coagulase-negative staphylococci, 以下、CNS)の鑑別は、遊離型コアグララーゼ試験および膜結合型コアグララーゼ試験(栄研化学㈱)、プロテインA検出をF-スタフィロ(デンカ生研㈱)を用いて行った。グラム陰性桿菌は、TSI寒天培地(栄研化学㈱)でのブドウ糖発酵能の観察からブドウ糖非発酵と発酵を鑑別した。真菌は酵母状真菌がS型集落、菌糸状真菌がモール状集落をグラム染色した形態を観察して同定した。

5. 分析方法

1) 各試験群の手指消毒効果の比較

取得データの分析は、“即時効果あり”または“持続効果あり”の消毒効果判定が目視で集落が全く観察されない場合とし、これに対し、“効果なし”は1集落以上観察された場合と便宜的にした(集落検出限界値 5×10^2 cfu/hand)。これらの統計解析は、標本数が少ない時に用いるFisher's exact test (Microsoft Excel 2010)で行った。

2) 各試験群の手指消毒時の細菌生残菌数

集落数から算出された細菌数は常用対数で表し、消毒直後と消毒3時間後の効果判定には指数減少値(RF: reduction factors = $\log_{10}$ [消毒前菌数/消毒後菌数], mean $\pm$ SD)を算出した。統計解析はStudent's *t* test (Microsoft Excel 2010)で行った。

6. 倫理的配慮

本研究を実施するにあたり、日本赤十字看護大学研究倫理審査委員会の承認後(2012-55)、被験者から同意を得た上で分析を開始した。

結 果

1. 各試験群の手指消毒効果の比較

各試験群の消毒効果の比較成績を表1に示した。1.0%CHG-AL群および0.5%CHG-AL群の手指消毒直

表1 各試験群の手指消毒効果の比較

a. 消毒直後

試験群	効果ありの人数 /被験者数	効果なしの人数 /被験者数	Fisher's exact test*
1.0%CHG-AL ¹	9/15(60%)	6/15(40%)	p=0.466
0.5%CHG-AL ²	6/15(40%)	9/15(60%)	
1.0%CHG-AL	9/15(60%)	6/15(40%)	p=0.0143
0.2%BAC-AL ³	1/11(9%)	10/11(91%)	
0.5%CHG-AL	6/15(40%)	9/15(60%)	p=0.178
0.2%BAC-AL	1/11(9%)	10/11(91%)	

b. 消毒3時間後間後

試験群	効果ありの人数 /被験者数	効果なしの人数 /被験者数	Fisher's exact test*
1.0%CHG-AL	10/15(67%)	5/15(33%)	p=0.301
0.5%CHG-AL	7/15(47%)	8/15(53%)	
1.0%CHG-AL	10/15(67%)	5/15(33%)	p=0.0214
0.2%BAC-AL	2/11(18%)	9/11(82%)	
0.5%CHG-AL	7/15(47%)	8/15(53%)	p=0.216
0.2%BAC-AL	2/11(18%)	9/11(82%)	

* p<0.05 で有意差有り

¹ 1.0 w/v% クロルヘキシジングルコン酸エタノール液

² 0.5 w/v% クロルヘキシジングルコン酸塩エタノール液

³ 0.2 w/v% ペンザルコニウム塩化物エタノール液

後の「効果あり」は、各々15名中9名(60%)および6名(40%)、消毒3時間後の「効果あり」は、各々15名中10名(67%)および7名(47%)であった。しかし、CHG-ALの濃度の違いによる手指消毒効果に有意差はなかった。1.0%CHG-AL群の手指消毒直後と消毒3時間後の消毒効果は、0.2%BAC-AL群に対して有意差が認められた。一方0.5%CHG-AL群の手指消毒直後と消毒3時間後の消毒効果は、0.2%BAC-AL群に対して有意差は認められなかった。

2. 各試験群の手指消毒時に細菌と真菌が生残した被験者数

各試験群の手指消毒直後と消毒3時間後に生残した細菌と真菌の種類、さらにこれらの細菌が分離された被験者数を表2に示した。0.2%BAC-AL群は、手指消毒直前に検出されたCNSと*Bacillus*属が手指消毒直後と消毒3時間後で高率(50%以上)に検出されたのに対し、CHG-AL両濃度群では*Bacillus*属が高率に生残するのみであった。また1.0%CHG-AL群の手指消毒3時間後のCNS2例は共に1集落のみ形成した。その他少数ではあるが手指消毒直前に*Micrococcus*属、*Staphylococcus aureus*などが検出されたが、手指消毒後はほとんど検出されなかった。

3. 各試験群の手指消毒時の細菌生残菌数

本試験で被験者から分離された手指消毒直前の全細菌数は $10^4 \sim 10^5$ cfu/handで、主に分離されたCNSと*Bacillus*属に対する手指消毒直前、直後および消毒3時間後の生残菌数を図1に示した。

全細菌は、手指消毒直前に比べ消毒直後と消毒3時間後の生残菌数が1.0%CHG-AL群で1/204と1/110で消毒3時間後は有意に減少しなかったが、0.5%CHG-AL群で1/129と1/324、0.2%BAC-AL群で1/10と1/8に有意に減少した。CNSは手指消毒直前に比

表2 手指消毒で生残した細菌および真菌とその被験者数

検出菌	a. 1.0%CHG-AL ¹ 手指消毒(n=15)			b. 0.5%CHG-AL ² 手指消毒(n=15)			c. 0.2%BAC-AL ³ 手指消毒(n=11)		
	直 前	直 後	3時間後	直 前	直 後	3時間後	直 前	直 後	3時間後
CNS	13名 (87%)	0名 (0%)	2名 (13%)	12名 (80%)	0名 (0%)	0名 (0%)	11名 (100%)	6名 (55%)	7名 (64%)
<i>Micrococcus</i> 属	5名 (33%)	0名 (0%)	0名 (0%)	4名 (27%)	0名 (0%)	0名 (0%)	3名 (27%)	1名 (9%)	0名 (0%)
<i>Staphylococcus aureus</i>	0名 (0%)	0名 (0%)	0名 (0%)	3名 (20%)	0名 (0%)	0名 (0%)	0名 (0%)	0名 (0%)	0名 (0%)
<i>Bacillus</i> 属	14名 (93%)	5名 (33%)	5名 (33%)	14名 (93%)	9名 (60%)	8名 (53%)	9名 (82%)	7名 (64%)	6名 (55%)
ブドウ糖非発酵 グラム陰性桿菌	0名 (0%)	1名 (7%)	0名 (0%)	2名 (13%)	0名 (0%)	0名 (0%)	0名 (0%)	0名 (0%)	0名 (0%)

¹ 1.0 w/v% クロルヘキシジングルコン酸エタノール液

² 0.5 w/v% クロルヘキシジングルコン酸塩エタノール液

³ 0.2 w/v% ペンザルコニウム塩化物エタノール液

図1 各試験群の手指消毒直後と3時間後の全細菌、CNS および *Bacillus* 属生残数の比較

べ消毒直後と消毒3時間後の生残菌数が、1.0%CHG-AL 群で1/219 と1/170, 0.5%CHG-AL 群で共に1/513, 0.2%BAC-AL 群で1/91 と1/11 に有意に減少した。*Bacillus* 属は、1.0%CHG-AL 群が手指消毒直前に比べ消毒直後と消毒3時間後で1/11 と1/7 に有意に減少したが、0.5%CHG-AL 群と0.2%BAC-AL 群は有意に減少しなかった。したがって1.0%CHG-AL 群は、0.2%BAC-AL 群と比べ全細菌、CNS の生残菌数を手指消毒直後と消毒3時間後で有意に低下させたが、0.5%CHG-AL 群との比較では有意な低下はみられなかった。今回の検討では、各消毒薬における手指消毒直後と消毒3時間後との間の全細菌、CNS および *Bacillus* 属の RF 値に有意差を認めなかった。0.5%CHG-AL 群は手指消毒直後と消毒3時間後で CNS の集落が全く形成しなかったことから、1.0%CHG-AL 群と0.5%CHG-AL 群の両者間の効果に差がないとした。以上の成績から、1.0%CHG-AL 群および0.5%CHG-AL 群の両者は消毒3時間後でも消毒効果を持続していた。

考 察

今回の検討で、ウォーターレス法である1.0%CHG-AL 群および0.5%CHG-AL 群の手指消毒効果は消毒直後(即時効果)で細菌数が有意に減少し、消毒3時間後(持続効果)でも効果が持続した。通常消毒前の手指菌数を測定するには、流水や石鹸を用いての手洗いを実施し手洗い後に検出された菌数を消毒前のベースライン値とする。今回我々はベースライン値ではなく手洗いをしない、すなわち被験者個々の常在菌のほかに通過菌が混入した手指細菌数を測定し、それらを消毒直後および消毒3時間後の細菌数と比較した。よってベースラインを測定した今村ら³⁾の成績と正確な比較はできないが、被験

者から分離された細菌の種類(*Bacillus* 属、CNS、*Micrococcus* 属など)はほぼ類似していた。また熊谷らはベースラインを測定した上で0.2%BAC-AL と1.0%CHG-AL の比較を行い、1.0%CHG-AL は持続殺菌効果が期待できる手術用手指消毒剤であると報告した⁴⁾。我々の結果においても、1.0%CHG-AL 群の手指消毒効果は消毒直後の効果を3時間持続する結果となった。

今回の検討で培養後の集落同定とその集落数から、手指消毒直前の全細菌数は $10^4 \sim 10^5$ cfu/hand であり、1.0%CHG-AL 群および0.5%CHG-AL 群は全細菌を手指消毒直後と消毒3時間後に1/100 以下に有意に減少させた。1.0%CHG-AL 群は *Bacillus* 属を手指消毒直後と消毒3時間後でそれぞれ1/11 と1/7 に有意に減少させたが、0.5%CHG-AL 群は有意な減少を認めなかった。このような *Bacillus* 属生残に関する0.5%CHG-AL 群の成績は今村らの報告と同様であった³⁾。1.0%CHG-AL および0.5%CHG-AL は共に有芽胞細菌である *Bacillus* 属には無効の中水準消毒薬である⁵⁾。*Bacillus* 属に対するこのような1.0%CHG-AL 優位性の理由は不明であるが、CHG は皮膚親和性が高い⁶⁾。このためCHG 濃度倍加による手指表面での完全な栄養型状態や芽胞形成途中(未熟な芽胞)状態にある *Bacillus* 属への消毒効果の増加が原因であると考えた。一方、皮膚常在菌である CNS は手指消毒直前の細菌数に対しCHG-AL 群の両濃度で1/170~1/513 の即時効果と持続効果が認められた。しかし0.5%CHG-AL 群と比較して1.0%CHG-AL 群の手指消毒後の生残菌数は有意な減少がみられなかった。1.0%CHG-AL 群の消毒3時間後に2例で生残がみられ、0.5%CHG-AL 群の生残なしと矛盾がみられたが、2例における生残数はともに1集落のみであったことから、GJ 法(一部改変)施行中の汚染が考え

られた。手指消毒直後の生残菌数は、CNS では 1.0% CHG-AL 群(1/219)より 0.5%CHG-AL 群(1/513)で少ない結果となったが、CNS を含む全細菌数の手指消毒直後の比較では 1.0%CHG-AL 群(1/204)が 0.5%CHG-AL 群(1/129)より少ない結果であった。このような無芽胞細菌である CNS, さらにそれほどの頻度ではなかった *Micrococcus* 属などに対する 0.5%CHG-AL 群の優れた手指消毒効果は、今村らの報告と同様であった³⁾。西原らはカテーテル関連血流感染予防に向けた皮膚消毒の研究で菌種別消毒効果の言及がなかったものの、CHG-AL 両濃度間に微生物学的薬効に統計学的有意差がないとしており⁷⁾、今回の結果を反映させる成績であった。

ウォーターレス法による手指消毒は簡易性や費用対効果の観点から、今後さらに増加することが考えられる⁷⁾。今回の結果から、手術時手指消毒のような長時間持続効果が要求される場合、*Bacillus* 属の汚染を考慮すると 1.0%CHG-AL は 0.5%CHG-AL よりも優れた持続殺菌効果が期待できると考えられた。

謝 辞：本研究において多大なるご指導とご協力を頂いた昭和大学医学部微生物学教室教授田中和生先生、並びに日赤看護大学看護管理学教授鶴田恵子先生、被験者としてご協力頂きました皆様に深謝致します。

利益相反自己申告：申告すべきものなし。

文 献

- 1) Boyce JM, Pittet D: CDC guideline for hand hygiene in health-care settings. MMWR Recomm Rep 2002;

51(rr16): 1-44.

- 2) Food and Drug Administration: Tentative final monograph for health-care antiseptic drug products; Proposed rules: Federal Register 1994; 59: 31401-52.
- 3) 今村 豊, 山下葉子, 因幡美津子, 石橋和重: 0.5 w/v%グルコン酸クロルヘキシジン含有エタノール製剤の手指消毒効果の検討. 環境感染 2007; 22(1): 28-32.
- 4) 熊谷あゆ美, 平内美雪, 和田祐爾, 馬場尚志, 飯沼由嗣: 1.0 w/v%クロルヘキシジングルコン酸塩含有エタノール製剤を用いたウォーターレス手術時手指消毒の効果〜ツーステージ法との比較. 環境感染誌 2012; 27(6): 375-9.
- 5) 吉田真一, 柳 雄介, 吉開泰信: 戸田新細菌学(34版). 東京. 南山堂. 2013. p.236-44.
- 6) Larson EL: APIC guidelines for infection control practice, guideline for use of topical antimicrobial agents. Am J Infect Control 1988; 16: 253-66.
- 7) 西原 豊, 梶浦 工, 横田勝弘, 小林寛伊, 菅原えりさ, 大久保憲: カテーテル関連血流感染予防に向けた皮膚消毒薬としての 1 w/v%クロルヘキシジン(CHG)エタノールの有効性と安全性. 環境感染誌 2013; 28(3): 132-7.
- 8) 臼杵尚志, 宮脇有紀: 2010 年の国内における術前手指消毒法の実態調査. 手術医学 2011; 32(4): 317-22.
- 9) 深田民人: 手術時手洗い法に対するラビング法とスクラビング法による手術部位感染発生率の比較. 日外感染症会誌 2006; 3(4): 515-9.
- 10) 中居 肇, 吉田泰憲, 澤田とも子: 0.5 w/v%クロルヘキシジングルコン酸塩含有エタノール製剤を用いたウォーターレス法の手術時手指消毒としての評価. 環境感染誌 2009; 24(5): 342-6.
- 11) 中川博雄, 松田淳一, 柳原克紀, 北原隆志, 佐々木均: 0.5 w/v%グルコン酸クロルヘキシジンおよび 0.2 w/v%塩化ベンザルコニウム含有エタノール液の手指消毒効果に対する比較検討. 環境感染誌 2009; 24(3): 167-9.

〔連絡先: 〒526-0103 滋賀県長浜市宮前町 14-7
長浜赤十字病院医療安全推進室 中村忠之
E-mail: cn-t.nakamura@nagahama.jrc.or.jp〕

Comparison of Disinfection Efficacy of Alcoholic Hand Rubbing Preparations (Surgical Hand Antisepsis) Against Bacteria on Hands of Nurses

Tadashi NAKAMURA^{1,4)}, Mie SAIJO²⁾, Misato TAGUCHI³⁾, Kenji MARUMO⁴⁾ and Yoko YANAGAWA⁴⁾

¹⁾*Department of Medical Safety Control, Japanese Red Cross Society Nagahama Hospital,*

²⁾*Department of Nursing, Japanese Red Cross Society Ishinomaki Hospital,*

³⁾*Japanese Red Cross College of Nursing Graduate School,*

⁴⁾*Department of Microbiology and Immunology, School of Medicine, Showa University*

Abstract

Various rub-in hand disinfectants have been developed for hygienic and surgical hand disinfection. In this study, the immediate and persistent effects of 1.0 w/v% and 0.5 w/v% chlorhexidine gluconate/ethanol preparations (1.0% CHG-AL and 0.5% CHG-AL, respectively) on the numbers of bacteria on the hands of 41 experienced nurses were investigated using the glove juice method. 1.0% CHG-AL and 0.5% CHG-AL exhibited significantly greater efficacy than 0.2 w/v% benzalkonium chloride/ethanol preparation immediately and 3 hours after disinfection ($p \leq 0.05$, Fisher's exact test). The most common microorganisms isolated in this study were coagulase-negative staphylococci (CNS) and *Bacillus* spp. Immediately after and 3 hours after disinfection with 1.0% CHG-AL, the counts of CNS were significantly reduced by 180- and 170-fold, respectively, compared with those seen before disinfection ($p \leq 0.05$, Student's *t*-test). Immediately after and 3 hours after disinfection with 0.5% CHG-AL, the counts of CNS were significantly reduced by 513-fold, compared with those detected before disinfection ($p \leq 0.05$, Student's *t*-test). Immediately after and 3 hours after disinfection with 1.0% CHG-AL, the counts of *Bacillus* spp. were significantly reduced by more than eleven- and seven-fold, compared with those observed before disinfection, respectively, but 0.5% CHG-AL had no effect on the counts of these bacteria. In comparisons between the two timepoints, neither 1.0% CHG-AL nor 0.5% CHG-AL exhibited significant $\log_{10}$ reduction factors for the numbers of total microorganisms, CNS, or isolated *Bacillus* spp., indicating that both disinfectants had strong persistent effects ($p \leq 0.05$, Student's *t*-test). Therefore, the disinfection efficacy of 1.0% CHG-AL was superior to that of 0.5% CHG-AL, based on the significantly more effective action against *Bacillus* spp.

Key words : chlorhexidine gluconate/ethanol preparation (CHG-AL), surgical hand disinfection, persistent effect, *Bacillus* spp., coagulase-negative staphylococci (CNS)