

短 報

使用後防じんマスク面体の嫌気性細菌汚染とその対策

Anaerobic bacterial contamination after use and assessment of countermeasures a dust mask facepiece

樋上 光雄¹, 石松 維世¹, 石田尾 徹¹, 笛田由紀子¹, 保利 一¹

¹産業医科大学産業保健学部環境マネジメント学科

Mitsuo HINOUE¹, Sumiyo ISHIMATSU¹, Toru ISHIDAO¹, Yukiko FUETA¹ and Hajime HORI¹

¹Department of Environmental Management, School of Health Sciences, University of Occupational and Environmental Health, Japan

(産衛誌 2016; 58(5): 173-178)
doi: 10.1539/sangyoeisei.C15005

I. はじめに

取替え式防じんマスクは、産業現場において作業に伴い発生する鉱物性粉じんなどの曝露から作業者を守るために使用され、ろ過材については目詰まりがおこると交換される。一方マスク面体は、劣化による破損等がおこるまで繰り返し使用されるが、着用者の顔面に直接密着させて使用するため、マスクを使用することで主にヒトの皮膚常在菌などの細菌の付着や増殖が懸念される。細

菌に汚染されたマスクを着用した場合の健康影響については不明であるが、面体部分は作業者の皮膚に直接触れるため、細菌の付着はない方がよいと考えられる。

我々は前報¹⁾において、着用後の防じんマスクにおける好気性細菌汚染状況を調べ、着用することによりマスク面体に好気性細菌が付着し、その汚染は未処理でマスク面体を保管すると24時間後も継続されていたことを確認した。また、その汚染継続を予防するための対策法として「水道水で濡らしたティッシュで払拭後、新たなティッシュで乾拭き（以下、水拭き法）」を行うことにより、消毒用エタノールで払拭した場合と同様の除菌効果が得られることを明らかにした。

一方、健康なヒトの皮膚には、およそ $10^5\sim10^6/\text{cm}^2$ 程度の細菌が常在しており、これらはすべて好気性細菌ではなく、嫌気性細菌等も含まれている²⁾。

そこで本研究では嫌気性細菌に着目し、着用後の防じんマスク面体に付着する嫌気培養によって検出される細菌の汚染状況について明らかにすること、また次回着用時においても嫌気性細菌の汚染が継続している場合は、前報¹⁾で明らかとなった面体に付着した好気性細菌の除菌方法である水拭き法が、嫌気性細菌についても適用可能であることを調べることを目的とした。

II. 方 法

1. マスク面体からの細菌回収法

防じんマスク面体の皮膚に直接接するシリコンゴム部分を皮膚接触部分、内側の皮膚に接しておらず呼吸が当たる部分を呼吸接触部分とし、以下の手順により実験を行った。

防じんマスク（サカキ式 1005R 型、興研）の面体を着用直前に消毒用エタノール（和光純薬）で払拭した。着用時間は約1時間とし、その時間中の行動制限は行わなかった。着用被験者は、健康な成人男性5名とした。

防じんマスクを1時間着用した直後、Fig. 1に示す面体の皮膚および呼吸接触部分の左半分を、リン酸緩衝生理食塩水（以下PBS）が10 mL 入ったふきとり検査用キット（佐藤化成工業所、ワイプチェック）で拭き取った。その後、ふきとり検査用キットを約1分間攪拌した試料液を原液とし、10倍および100倍希釈溶液を作製した。作製した試料溶液について、皮膚接触部分では10倍および100倍を、呼吸接触部分では原液および10倍希釈溶液をGAM寒天培地（ニッスイ、GAM寒天培地）各2枚に50 μL ずつ接種し、火炎滅菌したコンラージ棒で塗り広げた。それらの寒天培地を密閉容器に酸素吸収剤（三菱ガス化学、アネロバック・ケンキ）と同梱し、37℃の恒温槽で72時間培養後、培地に生育してきたコロニー数を計測した。この時検出された細菌を嫌気性細菌とし

2015年11月13日受付；2016年7月7日受理

J-STAGE 早期公開日：2016年8月4日

連絡先：樋上光雄 〒807-8555 北九州市八幡西区生ヶ丘1番1号 産業医科大学産業保健学部環境マネジメント学科

Correspondence to: Mitsuo Hinoue, Department of Environmental Management, School of Health Sciences, University of Occupational and Environmental Health, 1-1 Iseigaoka, Yahatanishi-ku, Kitakyushu, 807-8555, Japan

(e-mail: hinoue@health.uoeh-u.ac.jp)

た. また, 比較対象として試料原液をトリプトソイ寒天培地 (ニッスイ, SCD 寒天培地) 各 2 枚に 100 μ L ずつ接種し, 火炎滅菌したコンラージ棒で塗り広げ, 37 $^{\circ}$ C の恒温槽で 48 時間培養後, 培地に生育してきたコロニー数を計測した. この時検出された細菌を好気性細菌とした.

検出コロニー数については, 培地 2 枚の平均値 (CFU/mL) にふき取り検査用キットの液量 (10 mL) を乗じて, ふき取りを行ったマスク面体半分の検出コロニー数 (CFU) とした.

検出された嫌気性細菌コロニー数と好気性細菌コロニー数より式 (1) から対数値を算出した. 算出された値が 1.0 以上の場合, 面体に付着する細菌数は嫌気性細菌が好気性細菌よりも多いと判断した.

$$\text{対数値} = -\log \left(\frac{\text{好気培養により検出されたコロニー数 (CFU)}}{\text{嫌気培養により検出されたコロニー数 (CFU)}} \right) \dots (1)$$

着用後のマスクはポリ袋に入れ, 温度 25 $^{\circ}$ C, 湿度約 50% の恒温槽で 24 時間保管した. 保管後, Fig. 1 に示すマスク面体の皮膚および呼吸接触部分の右半分を, 左半分と同様にふきとり検査用キットで拭きとり, 回収した試料について培養操作を行い, 嫌気性細菌のコロニー数を計測した. 検出された着用直後と保管後の嫌気性細菌コロニー数より対数減少値を式 (2) により算出した^{3,5)}. 算出された値が 1.0 以上の場合, 面体に付着する嫌気性細菌数は保管後も着用直後と比較して減少すると判断した.

対数減少値 =

$$-\log \left(\frac{\text{保管後の面体から検出されたコロニー数 (CFU)}}{\text{着用直後の面体から検出されたコロニー数 (CFU)}} \right) \dots (2)$$

被験者 5 名について, 実施日を変えてさらに同様の実験を 2 回行い, 同一被験者における着用日の違いによる細菌付着数について調べた.

なお, 結果に示す細菌数は式 (3) より算出し, 払拭した面体部分から検出された CFU (Colony forming unit) で示す. また, 試料を 10 倍または 100 倍希釈後, 培地に接種した場合は, 式 (3) より算出された値に 10 倍または 100 倍を乗じた値を用いた.

表示コロニー数 (CFU) = 平均コロニー数

$$(\text{CFU}) \times \left(\frac{\text{原液全溶液量 (mL)}}{\text{培地に接種した溶液量 (mL)}} \right) \dots (3)$$

2. 除菌効果

被験者は男性 3 名とし, 1. マスク面体からの細菌回収法に示した条件で防じんマスクを着用させた.

防じんマスク着用終了直後に, 面体の皮膚および呼吸接触部分の左半分を, ふきとり検査用キットで拭き取った. 右半分は水道水で濡らしたティッシュペーパーで払拭後, さらにティッシュペーパーで乾拭きを行い, ふき

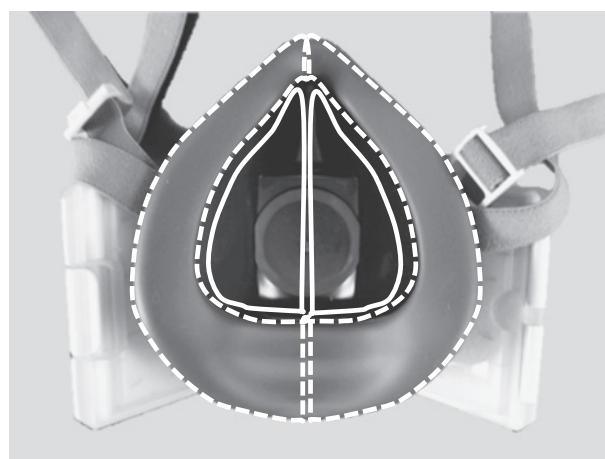


Fig. 1. Dispel portion of the mask facepiece.

Broken line was the skin contact portion and the solid line was the breathing air contact portion. In each experiment, the mask facepiece was wiped divided into left and right.

とり検査用キットで面体部分を拭き取った. それぞれの拭き取り試料を約 1 分間攪拌し, 回収菌液を GAM 寒天培地 各 2 枚に 50 μ L 接種し, 火炎滅菌したコンラージ棒で塗り広げた. 培養方法は前述 1 と同様に行った. この実験についても, 実施日を変えてさらに 2 回行った.

それぞれの実験で計測されたコロニー数を用いて, 除菌率を次式で算出した^{3,4,6)}.

除菌率 (%) =

$$\left(1 - \frac{\text{除菌直後の面体から検出された嫌気性細菌コロニー数}}{\text{着用直後の面体から検出された嫌気性細菌コロニー数}} \right) \times 100 \dots (4)$$

III. 結 果

1. 防じんマスク面体における嫌気性細菌汚染状況

被験者 5 名におけるマスク着用直後の嫌気性細菌コロニー数, 好気性細菌コロニー数および対数値を Table 1 に示す. 被験者は A~E で示した. Table 1 より, 皮膚及び呼吸接触部分ともにすべての実験で嫌気性細菌が検出された. 皮膚接触部分からは, 嫌気性細菌が 7.8×10^4 から 2.1×10^6 CFU, 好気性細菌が 0.5×10^3 から 3.3×10^4 CFU のコロニー数が検出された. 呼吸接触部分は嫌気性細菌が 0.2×10^3 から 3.1×10^5 CFU, 好気性細菌が ND (Not Detected) から 1.5×10^2 CFU のコロニー数が検出された. また, 付着細菌数についてはすべて実験において, 嫌気性細菌が好気性細菌より多かった. 対数値については, 皮膚接触部分において 0.5 から 2.8 となり, 1 例を除き 1.0 を上回った. 呼吸接触部分については 0.6 から 3.5 となり, 皮膚接触部分と同様の結果であった. また, 呼吸接触部分では嫌気性菌はすべての実験で検出さ

Table 1. Logarithmic value and anaerobic and aerobic bacteria colony count of immediately after wearing.

Subjects (Number of times)	The skin contact portion			The breathing air contact portion		
	Anaerobic (CFU) $\times 10^4$	Aerobic (CFU) $\times 10^4$	Log $\frac{\text{Anaerobic}}{\text{Aerobic}}$	Anaerobic (CFU) $\times 10^4$	Aerobic (CFU)	Logarithmic value
A (1)	30	0.34	2.0	5.8	ND	–
A (2)	210	1.5	2.2	12	150	2.9
A (3)	100	0.91	2.0	8.6	50	3.2
B (1)	25	0.14	2.3	1.6	ND	–
B (2)	20	0.050	2.6	1.5	ND	–
B (3)	7.8	2.3	0.5	0.13	ND	–
C (1)	74	0.12	2.8	31	100	3.5
C (2)	45	0.20	2.4	13	ND	–
C (3)	140	0.27	2.7	7.1	ND	–
D (1)	25	1.2	1.3	0.020	50	0.6
D (2)	46	3.3	1.1	2.6	100	2.4
D (3)	68	1.8	1.6	1.3	ND	–
E (1)	32	0.26	2.1	0.15	ND	–
E (2)	56	0.42	2.1	1.9	ND	–
E (3)	23	0.16	2.2	0.63	50	2.1

ND: Not Detected

Table 2. Logarithmic reduction value and anaerobic bacteria colony counts of immediately after being worn and after 24-hours storage.

Subjects (Number of times)	The skin contact portion			The breathing air contact portion		
	Before storage (CFU) $\times 10^4$	After 24h storage (CFU) $\times 10^4$	Logarithmic reduction value	Before storage (CFU) $\times 10^4$	After 24h storage (CFU) $\times 10^4$	Logarithmic reduction value
A (1)	30	0.65	1.7	5.8	0.20	1.5
A (2)	210	34	0.8	12	2.0	0.8
A (3)	100	52	0.3	8.6	4.4	0.3
B (1)	25	13	0.3	1.6	2.0	– 0.1
B (2)	20	20	0	1.5	0.27	0.7
B (3)	7.8	6.2	0.1	0.13	0.13	0
C (1)	74	81	0	31	10	0.5
C (2)	45	25	0.3	13	3.2	0.6
C (3)	140	28	0.7	7.1	3.2	0.4
D (1)	25	21	0.1	0.020	1.4	– 1.9
D (2)	46	170	– 0.6	2.6	0.45	0.8
D (3)	68	7.6	1.0	1.3	2.1	– 0.2
E (1)	32	3.2	1.0	0.15	ND	–
E (2)	56	25	0.4	1.9	1.4	0.1
E (3)	23	12	0.3	0.63	ND	–

ND: Not Detected

れたが、好気性菌は検出されない場合があった。

被験者 5 名におけるマスク着用直後と 24 時間室温で保存後に、マスク面体から検出されたコロニー数を Table 2 に示す。

保管後コロニー数の皮膚接触部分は 0.7×10^4 から 1.7×10^6 CFU、呼吸接触部分は ND から 1.0×10^5 CFU であった。対数減少値については、皮膚接触部分では -0.6 から 1.7 となり、 1.0 を上回った実験回数は 15 回中 2 回であった。呼吸接触部分では -1.9 から 1.5 となり、 1.0 を上回った実験回数は保管後の ND となったものを含

め、15 回の実験中 3 回であった。

2. 除菌効果

被験者 3 名における着用直後の除菌前と水拭き法での除菌後に検出されたコロニー数を Table 3 に示す。また、1 名の被験者について比較のための消毒用エタノールを使用した除菌結果を示す。皮膚接触部分では除菌前において 7.5×10^4 から 1.1×10^6 CFU、除菌後は 0.9×10^4 から 4.4×10^5 CFU となった。呼吸接触部分では除菌前において 0.7×10^3 から 1.8×10^5 CFU、除菌後は 0.2×10^3 から

Table 3. Logarithmic reduction value and the number of colonies before and after elimination of bacteria.

Subjects (Number of taimes)	Disinfection method	The skin contact portion			The breathing air contact portion		
		Immediately after wearing (CFU) × 10 ⁴	After bacteria elimination (CFU) × 10 ⁴	Elimination ratio (%)	Immediately after wearing (CFU) × 10 ⁴	After bacteria elimination (CFU) × 10 ⁴	Elimination ratio (%)
A (1)	Tap water	87	1.8	98	1.8	3.7	− 110
A (2)	Tap water	68	2.3	97	18	0.020	100
A (3)	Tap water	58	2.2	96	1.3	2.5	− 92
B (1)	Tap water	21	4.2	80	0.070	0.99	− 1300
B (2)	Tap water	7.5	0.87	88	0.23	0.87	− 280
B (3)	Tap water	5.9	0.87	85	0.18	0.050	72
C (1)	Tap water	110	1.7	98	14	0.61	96
C (2)	Tap water	88	12	86	2.3	0.92	60
C (3)	Tap water	83	4.4	95	6.8	1.0	85
A (1)	Ethanol	140	0.020	100	2.4	0.020	99
A (2)	Ethanol	110	ND	100	3.0	ND	100
A (3)	Ethanol	200	ND	100	5.4	ND	100

ND: Not Detected

3.7 × 10⁴ CFU となった。除菌率では皮膚接触部分において 80 から 100% となり、呼吸接触部分では −1.3 × 10³ から 100% となった。一方、比較のための消毒用エタノール除菌では、場所に関係なく 3 回の実験において除菌率がほぼ 100% と高い値を示した。

IV. 考 察

今回の実験結果から、マスク面体の次回着用時までの細菌汚染を防ぐためには着用後のマスク面体部分は除菌を行った方が良くと考えられ、その方法は嫌気性細菌に対して有効であることが望ましいと考えられる。以下にその論拠を述べる。

Table 1 より、1 時間着用後のマスク面体から皮膚及び呼吸接触部分において嫌気性細菌が検出され、防じんマスクを着用することにより、マスク面体に嫌気性細菌が付着することが示された。また Table 2 より、24 時間保管後に関してもそれぞれの部分から嫌気性細菌が検出され、着用直後と保管後のマスク面体から検出されたコロニー数から算出された対数減少値は、ほとんどの実験において 1.0 未満であった。対数減少値 1.0 以上を嫌気性細菌のコロニー数が時間経過とともに減少したと判断すると、マスク面体に付着した嫌気性細菌数は、24 時間保管後も減少したとは言えなく、この傾向は前報¹⁾の好気性細菌の場合とほぼ同様の結果を示した。この結果について皮膚接触部分を例に考えると、皮膚とマスク面体が接することにより、皮膚上の細菌だけではなく、それらの細菌が栄養源とする成分も同時に付着したため、減少しなかったと考えられる⁸⁾。

他方、嫌気性細菌と好気性細菌の比の対数値は、ほぼ全ての実験において 1.0 以上であった。対数値 1.0 以上を

マスク面体に付着する細菌数は嫌気性細菌が好気性細菌より多いと判断すると、着用によりマスク面体には、嫌気性細菌が好気性細菌よりも多く付着することが示されている。皮膚から検出される細菌数について、末松ら、石坂らは皮膚から直接細菌を回収した結果、嫌気性細菌が好気性細菌より 10 から 10² 倍程度多いことを示している^{8,9)}。本報の嫌気性細菌と好気性細菌の比も同程度であり、皮膚に生息している細菌としては嫌気性細菌数が多く、そのためマスク面体に付着する菌数も多くなることが考えられる。

以上のことから、防じんマスクを着用することより嫌気性細菌が付着し、その数は好気性細菌よりも多いことが示された。また、検出される嫌気性細菌のコロニー数は保管後も減少しにくいことが示された。細菌の付着した防じんマスクを着用した場合の健康影響の報告はないが、作業者の皮膚に直接接するものであることから、マスク面体に付着した細菌は除去したほうが望ましいと考えられる。

除菌方法に関して、嫌気性細菌に対しての水拭き法の除去効果は消毒用エタノールを使用した払拭よりも低いと考えられ、マスク面体に付着した細菌を除去する場合、消毒用エタノールのように溶液に殺菌効果がある溶液を使用することが望ましいと考えられる。以下にその論拠を示す。

皮膚接触部分の水拭き法の結果において、前報¹⁾の好気性細菌の除菌率は 99 ± 1%、本報の嫌気性細菌は 92 ± 7% となり、いずれも平均 90% 以上であることから、除菌率として大きな差はないと考えられる。一方、除菌後の残存菌数について考えると、好気性細菌では 15 回の実験中 ND から 2.0 × 10² CFU、嫌気性細菌では 9 回の実験で 8.7 × 10³ から 4.4 × 10⁴ CFU であり嫌気性細菌の方が多

かった。この原因としては、着用終了直後の除菌前付着細菌数において、好気性細菌が 3×10^2 から 8.8×10^4 CFU、嫌気性細菌が 5.9×10^4 から 1.1×10^5 CFUであったことから、付着細菌数の差が影響していることが考えられる。また、嫌気性細菌の残存菌数については好気性細菌の除菌前とほぼ同等の細菌数であった。

除菌後の培養結果がNDになる完全除菌率¹⁰⁾について考えると、好気性細菌では60%、嫌気性細菌では0%であった。これに対し、消毒用エタノール払拭では好気性細菌80%、嫌気性細菌67%となり、水拭き法の嫌気性細菌の完全除菌率が他の除菌率と比較して著しく低くなった。また、嫌気性細菌の除菌率はTable 3に示されたように、水拭き法による皮膚接触部分は80から98%、呼吸接触部分では1300から100%となり、特に呼吸接触部分において大きな変動を示した。一方、消毒用エタノールを使用した場合、皮膚接触部分と呼吸接触部分ともに3回の実験においてほぼ100%であった。水拭き法、消毒用エタノールによる除菌率の違いについてマンホイットニ検定を用いて調べた結果、皮膚接触部分および呼吸接触部分ともに2つの除菌方法の間には有意な差が認められた($p < 0.05$)。これらのことから、マスク面体に付着した嫌気性細菌における水拭き法による除菌効果は、消毒用エタノールを用いた除菌効果よりも低いことが考えられる。

前報¹⁾において、水拭き法はマスク面体に付着した好気性細菌の除去に消毒用エタノールを使用した除去と同等の効果が認められたが、本報における嫌気性細菌の除去に関しては同等の効果は得られなかった。水拭き法と消毒用エタノールを用いた払拭の大きな相違点は使用した液の殺菌効果である。エタノールは細菌と接触してたんぱく質を変性させることにより殺菌することから⁷⁾、面体に付着した細菌を払拭により除去できない場合においても、その殺菌効果で細菌を不検出にすると考えられる。そのため、防じんマスク面体に付着した好気性細菌および嫌気性細菌を除菌するためには、使用する溶液が殺菌効果を有することが重要であると考えられる。

現在市販されているマスク面体の材質については、本実験で使用したシリコンゴム製の他に、天然ゴム、ニトリルゴム、熱可塑性エラストマーや塩化ビニル製などがある。これらの材質については、一般的に耐薬品性があるが、エタノールの影響による劣化も考えられる。そのため、マスク面体部分をエタノールにより払拭する場合は、払拭後に面体の点検を行い、劣化が認められる場合は適時面体の交換を行う必要があると考えられる。

今後については、着用時間による付着菌数の変化、着用後の保管状況の違いによる細菌数の変化等を調査することが課題として考えられる。

V. 結 論

防じんマスクを着用することにより、マスク面体から嫌気性細菌のコロニーが検出された。着用後のマスクを24時間保管した後も、マスク面体から嫌気性細菌のコロニーが着用直後のコロニー数からほぼ減少せずに検出された。また、面体から検出されたコロニー数は嫌気性細菌が好気性細菌よりも多かった。

除菌法では、嫌気性細菌の面体からの除去については水拭き法では消毒用エタノールと同等の効果はないことが示された。

マスク面体の次回着用時までの細菌汚染を防ぐためには、使用後のマスク面体を消毒用エタノールなどの殺菌効果がある溶液を使用して払拭することが望ましい。

謝辞：本研究のデータ収集に協力していただきました安永綾氏に深謝します。

文 献

- 1) 樋上光雄, 嶋田由華, 石松維世, 石田尾徹, 笛田由紀子, 保利 一. 使用後防じんマスク面体の細菌汚染とその対策—好気培養による評価—. 産業衛生学雑誌 2014; 56(6): 237-244.
- 2) 扇元敬司. ヒトと微生物. 柳田和哉編. バイオのための微生物基礎知識. ヒトをとりまくマイクロ生命体. 第1刷発行, 東京: 講談社, 2012: 179-180.
- 3) 粕田晴之, 福田博一, 池野重雄, 清水禮壽, 林 和. 衛生学的手洗い法における擦式アルコール消毒剤と電解酸性水の比較検討. 環境感染 1997; 12(2): 103-108.
- 4) 曾川芳郎, 小林寛伊, 梶浦 工, 遠藤博久. ジェルタイプの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(2): 61-65.
- 5) 竹内千恵, 小林寛伊, 梶浦 工. 鋼製小物の洗浄に関する微生物学的な研究「汚染モデル器材を用いた超音波洗浄の評価」. 医療関連感染 2011; 4(2): 16-19.
- 6) 白石 正, 邱 龍祥, 仲川義人. 山形大学病院における医師および看護師を対象とした手指消毒調査と使用消毒剤の除菌効果. 病院薬学 1996; 22(4): 374-379.
- 7) 松 啓一, 中込 治. 病原微生物の取り扱い. 平松啓一, 中込 治編. 標準微生物学. 改訂第10版, 東京: 医学書院, 2009: 55.
- 8) 末次一博, 白石秀子, 泉 愛子, 田中 弘, 芝 篤志. 皮膚常在菌の皮膚状態に与える影響. 日本化粧品技術者会誌 1994; 28(1): 44-56.
- 9) 石坂 要, 石川敬治, 稲垣 誠, 杉浦 渉. 健康人より分離した皮膚常在菌について. 日本化粧品技術者会誌 2001; 35(1): 34-41.

- 10) 白石 正, 邱 龍祥, 仲川義人. 山形大学病院における医師および看護婦を対象とした手指消毒調査と使用消毒剤の除菌効果. 病院薬学 1996; 22(4): 374-379.