

カンピロバクターに対する消毒薬の効果

Effect of Disinfectant on *Campylobacter*

小林 妙子 菅原 直子 渡邊 節
山田 わか 齋藤 紀行 廣重 憲生

Taeko KOBAYASHI, Naoko SUGAWARA, Setsu WATANABE
Waka YAMADA, Noriyuki SAITO, Norio HIROSHIGE

カンピロバクターの二次汚染防止に主点をおき、菌の消毒効果と除菌方法による検討を行った。4種類の消毒薬を用いた殺菌効果の検討結果、*Campylobacter*は次亜塩素酸ナトリウム200ppm濃度で30秒以内、過酢酸10ppm濃度30秒以内で菌は死滅した。また、湿潤条件あるいは乾燥条件下の時間経過によるカンピロバクター生存性は、湿潤条件下で4℃、25℃とも7時間後まで菌は生存し、乾燥条件下では4℃保存で7時間後に、25℃保存で3時間後に菌は死滅した。さらに*Campylobacter jejuni*で表面を汚染した各材質まな板からの除菌モデル実験の結果、各材質とも70%アルコールおよび30ppm過酢酸溶液で除菌された。除菌率でみると、各材質のうちステンレス製まな板は全ての処理方法において高い除菌率を示したが、特に木製まな板では70℃温水処理や次亜塩素酸ナトリウム処理においてカンピロバクターの除菌が困難であった。

キーワード :カンピロバクター ; 汚染防止 ; 消毒薬 ; 過酢酸

Keywords : *Campylobacter* ; pollution control ; disinfectant ; peroxyacetic acid

1 はじめに

カンピロバクターによる食中毒は増加傾向を示し、学校などの大規模食中毒事例が減少し飲食店などを原因とした小規模事例が増加してきている¹⁾。食中毒としては鶏肉が原因となる事例が多く、しかも菌で汚染された鶏肉の加熱調理不足や、器具を介した二次汚染により発生していると推察される¹⁾²⁾。そこで営業施設あるいは家庭での食品の取り扱いによる二次汚染防止に主点をおき、具体的な食中毒予防対策の構築を目的とするため、4種類の消毒薬を用いカンピロバクターに対する消毒効果と、調理器具からのカンピロバクター除菌方法について検討を行ったので報告する。

2 方法

2.1 供試菌株と培養法

食中毒分離株の*Campylobacter jejuni* C19株 (以下*C. jejuni*) を用い、Bolton培地で42℃、24時間好気培養した菌液を被検菌液とした。対照として、*Escherichia coli* ATCC 25922株 (以下*E. coli*)、*Staphylococcus aureus* ATCC25923株 (以下*S. aureus*) をハートインヒュージョンブイヨンで37℃、24時間培養し用いた。

2.1 湿潤条件あるいは乾燥条件における生存性

滅菌済み抗菌物質検査用ろ紙 (ADVANTEC : 直径

10mm) に、被検菌液および対照菌液50μlをそれぞれ接種し、35℃で10分乾燥させこれを乾燥条件検体とした。また各菌液100μlをそれぞれ接種し湿潤箱に入れ保存、これを湿潤条件検体とした³⁾。それぞれを4℃および25℃条件下に保存し、2、3、5、7、24、72時間後ろ紙を1mlのPBSに浸し、*C. jejuni*はCCDA培地 (Oxoid) 2枚に100μl塗布し42℃、48時間培養、*E. coli*はBTB乳糖寒天培地 (日水)、*S. aureus*はマンニット食塩培地 (日水) にそれぞれ100μl塗布し37℃、24時間培養後に菌数を測定した (図1)。

C. jejuni, *E. coli*および*S. aureus*の一定菌量をろ紙に接種

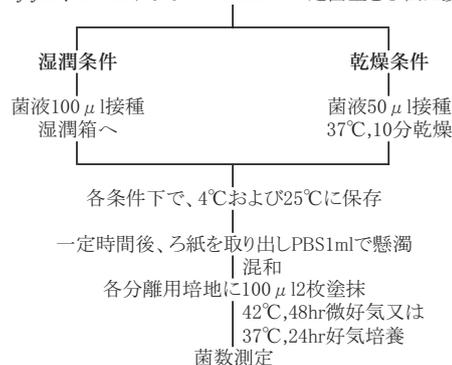


図1 湿潤・乾燥条件下における*Campylobacter*生存試験

2.3 使用消毒薬

アルコール (70% : 岩城製薬), 次亜塩素酸ナトリウム (6% : オーヤラックス)⁴⁾, 塩化ベンザルコニウム (10% : 岩城製薬), 過酢酸 (32wt.% : SIGMA) を対象消毒薬とし, 消毒薬の希釈は滅菌蒸留水を用いた。

2.4 消毒薬の殺菌効果

それぞれの濃度に希釈した消毒液を作製し, これに10⁶個/ml相当の菌液を100μlずつ添加した。混和後, それぞれから100μlをミューラーヒントン培地に接種し, 各発育条件下で18~24時間培養後, 菌の発育の有無より, 最小発育阻止濃度 (MIC) を求めた。さらに次亜塩素酸ナトリウムおよび過酢酸について, 短時間処理 (30秒, 1分, 2分) の殺菌効果を確認した。

2.5 菌汚染まな板の作成と除菌法

まな板の代替えとして, 9cm²にカットした, 木製, 合成樹脂製, ステンレス製板それぞれ20枚に, *C. jejuni*を添加した鶏肉乳剤菌液を100μl塗布し乾燥させ, これを汚染まな板とした⁵⁾。除菌は, 汚染まな板各2枚を滅菌シャーレに入れ, 水道水 (20秒), 中性洗剤 (20秒), 70℃温水 (1分), 70%アルコール噴霧, 次亜塩素酸ナトリウム100ppm, 200ppm (30秒, 1分, 2分), 過酢酸10ppm, 20ppm, 30ppm (30秒, 1分, 2分) で処理した後, 各板の表面を滅菌綿棒でよく拭き取り, カンピロバクターの生残菌数 (2枚の平均値) を測定した (図2)。

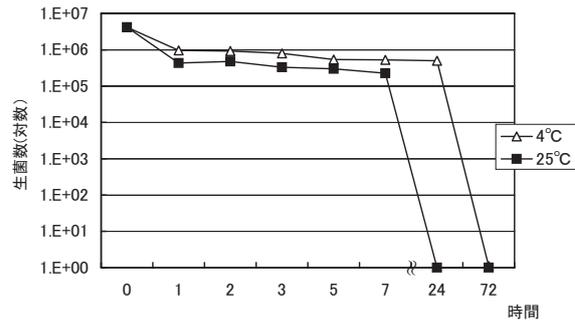


図3 湿潤条件下の*Campylobacter*生存性

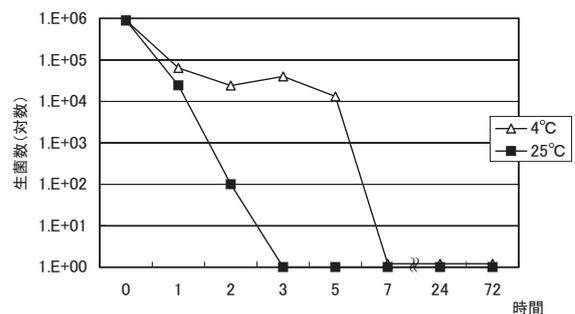


図4 乾燥条件下の*Campylobacter*生存性

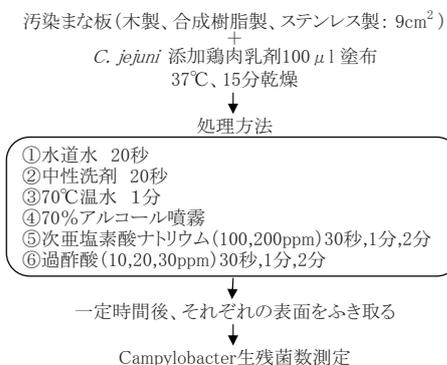


図2 まな板表面からの*Campylobacter*除菌効果試験

3 結果

3.1 湿潤条件, 乾燥条件下の時間経過によるカンピロバクター生存性

*C. jejuni*を湿潤条件下で4℃あるいは25℃で保存し, 生残菌数を測定した結果を図3に示した。4℃保存では, 10⁶個/mlの菌数が24時間後まで10⁵個生存し, 25℃保存では7時間後まで生存したが, 24時間後に急激に菌は死滅した。一方乾燥条件下の4℃保存では, 菌は序々に減少し7時間後には死滅し, 25℃保存では, 1時間後から菌数の減少がみられ3時間後には菌は死滅した (図4)。また結果を示さないが, *E. coli*および*S. aureus*は湿潤条件下は4℃, 25℃とも3日日後から14日後まで菌は生存したが, 乾燥条件下は1日後に菌は死滅した。

3.2 消毒薬の殺菌効果

4種類の消毒薬の*C. jejuni*, *E. coli*および*S. aureus*に対するMICの結果を表1に示した。*C. jejuni*は*E. coli*, *S. aureus*に比べ各消毒薬に対するMIC値が低かった。さらに表には示さないが, 2種類の消毒薬の短時間処理 (30秒, 1分, 2分) による殺菌効果の結果, *C. jejuni*は次亜塩素酸ナトリウム200ppm濃度で30秒以内, 過酢酸は10ppm濃度30秒以内で死滅した。*E. coli*は過酢酸20ppm 30秒以内, *S. aureus*は過酢酸1分以内で菌は死滅したが, 次亜塩素酸ナトリウムは100, 200ppm1分まで菌は死滅しなかった。

表1 消毒薬の最小発育阻止濃度 (MIC)

	MIC値			
	アルコール (%)	次亜塩素酸ナトリウム (ppm)	塩化ベンザルコニウム (ppm)	過酢酸 (ppm)
<i>C. jejuni</i>	4.4	180	1.6	5
<i>E. coli</i>	35	370	40	25
<i>S. aureus</i>	70	370	8	25

3.3 まな板表面からのカンピロバクター除菌効果

*C. jejuni*で汚染した各材質のまな板から各処理方法による除菌試験の結果を表2に示した。各材質を用い, 水道水20秒処理した後の菌数を無処理と比較すると, 菌数が木製では6.4%, 合成樹脂製では3.1%, ステンレス製

では0.1%に減少した。他の処理方法でも比較すると、ステンレス製が明らかに菌数減少が認められた。一方、木製を各処理方法で行った場合の菌数減少を比較すると、70%アルコールおよび過酢酸30ppm、30秒、1分、2分では菌検出0となり100%の菌減少が認められた(表2)。中性洗剤でも98%の除菌が認められたが、次亜塩素酸ナトリウム100および200ppm 2分処理、過酢酸20ppm 2分処理では、水道水と同程度あるいはそれ以下の除菌効果であった(図5)。

表2 カンピロバクター汚染まな板表面からの除菌

処理方法	処理時間	生残菌数(cfu/ml)		
		木製	合成樹脂製	ステンレス製
次亜塩素酸ナトリウム 100ppm	30秒	8.0×10^2	3.2×10^3	3.5×10^2
	1分	2.4×10^3	3.4×10^3	1.0×10^2
	2分	1.9×10^3	4.0×10^3	1.4×10^2
次亜塩素酸ナトリウム 200ppm	30秒	1.5×10^2	9.3×10^2	2.8×10^3
	1分	3.5×10^2	5.3×10^2	9.3×10^2
	2分	1.5×10^2	2.0×10^2	7.0×10^1
過酢酸 20ppm	30秒	1.8×10^3	5.4×10^3	7.5×10^2
	1分	2.4×10^3	2.3×10^3	1.0×10^1
	2分	2.4×10^2	2.6×10^3	9.0×10^1
過酢酸 30ppm	30秒	0	0	0
	1分	0	0	0
	2分	0	0	0
水道水	20秒	1.4×10^2	3.0×10^3	1.3×10^2
中性洗剤	20秒	3.0×10^1	2.1×10^3	1.0×10^1
70℃温水	1分	5.5×10^2	1.4×10^2	0
70%アルコール		0	0	0
無処理(対照)		2.2×10^8	9.6×10^1	9.7×10^1

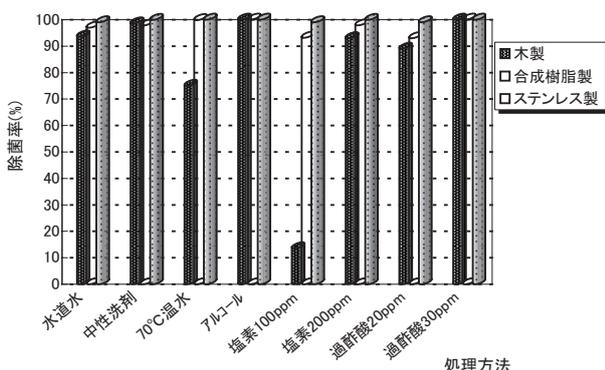


図5 カンピロバクター汚染まな板における除菌率

4 考察

カンピロバクター食中毒発生の原因の1つとして、鶏肉などの肉類を調理した後に起きる二次汚染があげられている。そこで我々は、二次汚染防止対策に主点をおき、本研究を実施した。はじめにカンピロバクターで汚染した環境中で、どれくらい菌が生残していられるかについて温度、湿度を変えて検討した。その結果、カンピロバクターの生存性には温度、湿度条件が大きく影響することが示された。次に消毒薬に対する効果を直接と間接的方法で調べた。直接方法として各菌に対する消毒薬のMIC測定を行った結果、どの消毒薬においても*C. jejuni*は*E. coli*および*S. aureus*に比較して低い濃度で有効であった。今回使用した次亜塩素酸ナトリウムは力価が低い可能性があり、実際の有効塩素濃度より高い値となってしまう。また間接的方法として、菌汚染まな板に対する

除菌効果を行った。その結果、過酢酸がカンピロバクターに対し、ほかの消毒薬と同様に有効であることが明らかになった。さらに、各種処理による除菌試験により木製まな板からの除菌が困難であることが判明した。わが国では次亜塩素酸ナトリウムによる消毒薬が推奨されているが、今回のモデル実験において、次亜塩素酸ナトリウムの短時間処理ではカンピロバクターを完全に除菌することができなかつたため、器具表面の付着菌量と薬剤濃度の関係についてはなお検討が必要である。また過酢酸溶液による消毒は外国での使用や下水道分野では許可されているが、わが国では医療分野の殺菌消毒剤としての使用のみであり知られていない。しかし、過酢酸は毒物が残留せず、最終的には水、酸素、酢酸に分解されるため安全性も高い。このことから過酢酸は、カンピロバクターに対しては除菌効果が高く効果的な消毒方法であり、二次汚染防止に有効であることから今後食品分野での使用が期待される。

5 まとめ

二次汚染によるカンピロバクター食中毒防止対策の資料作成を目指し、モデル実験を組み菌の除菌法を検討した。その結果、カンピロバクターは乾燥、消毒薬に弱いことが確かめられたことから、二次汚染防止対策としてまず食品にカンピロバクターを付着させないこと、次亜塩素酸ナトリウムや過酢酸溶液による消毒を徹底させることが第一であると考えられる。特に鶏肉ではカンピロバクターの汚染率が高いことから、調理施設の衛生管理において、適切な調理方法と肉類使用後の器具器材の消毒・殺菌・乾燥の必要性を十分指導することが大切と考える。食中毒予防には、食中毒原因菌としてカンピロバクターを周知させるとともに、食品業者や消費者の食品に対する衛生意識の向上を目指すことが食中毒防止につながる。

参考文献

- 1) 小野一晃, 辻りえ, 安藤陽子, 大塚佳代子, 柴田讓, 齋藤章暢, 増谷寿彦: 日本獣医師会雑誌, 56, 103 (2003)
- 2) 小野一晃, 安藤陽子, 土井りえ, 藤原由紀子, 濱田佳子, 大塚佳代子, 柴田讓, 佐藤秀美, 増谷寿彦, 小林留美子, 柳川敬子: 日本食品微生物学会雑誌, 20, 86 (2003)
- 3) 伊藤武, 斉藤香彦, 高橋正樹, 柳川義勢, 甲斐明美, 稲葉美佐子: 東京都衛研年報, 37, 119 (1986)
- 4) 渡辺昭宣: 食品と微生物, 7, 33 (1990)
- 5) ALESSANDRA DE CESARE, BRIAN W.SHELDON, KATIE S. SMITH, AND LEE-ANN JAYKUS: Journal of Food Protection, 66, 1587 (2003)