

蒸気による砂場の消毒と細菌叢の変化について

千葉県衛生研究所

小倉 誠 鶴岡 佳久

(平成6年12月7日受付)

(平成6年12月21日受理)

Key words: disinfection, sandpit, steam, bacterial flora

要 旨

砂場の上をシートカバーで覆い蒸気を供給する方法により、砂場の消毒実験を行い、その影響について調査した。消毒効果を評価するために、生菌数、好気性芽胞形成菌数、大腸菌群数、糞便性大腸菌群数を、消毒4週間前、消毒直前、消毒直後、消毒2週間後および4週間後について測定した。大腸菌群、糞便性大腸菌群の消毒は、砂の温度を60°C以上に上昇させる事により達成された。生菌数、好気性芽胞形成菌数は蒸気消毒によりその数を減じた。しかしながら、消毒2週間後および4週間後の大腸菌群数、糞便性大腸菌群数は消毒前と同じ程度に回復しており、生菌数も同じ様にその数を回復していた。更に、好気性芽胞形成菌数の有意な増加を、消毒2週間後および4週間後共に認めた。これらの結果から蒸気による消毒の効果は、一時的であり、砂場の定期的な消毒方法として使用するには適していないことが判明した。

序 文

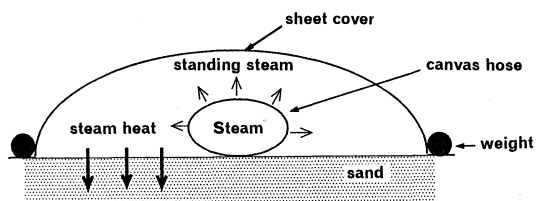
今日、大腸菌や犬猫の蛔虫卵などによる砂場の汚染について、社会的関心が高まっているが^{1)~4)}、その消毒方法や効果についての報告は少ない⁵⁾。一方農業の分野では、土壤の消毒のため圃場の高温処理が行われており、一定の効果を上げている⁶⁾。そこで我々は千葉県下の3保育所を対象として、この高温処理技術を応用した砂場の消毒実験を行い、その効果及び問題点について検討したので報告する。

材料と方法

消毒方法

蒸気による砂場の消毒は Fig. 1 に示す方法によった。砂場の上に置いたキャンバス布製パイプに蒸気を通し、上からシートで被い、蒸気溜まりを作り、熱を砂に伝えて消毒する。蒸気発生装置は(株)丸文製作所製 SAND SAFETER MB-

Fig. 1 Method for disinfection of sandpit by steam.



3500 (ボイラー形式炉筒煙管式) を用いた。砂場の各地点の到達温度を測定するため、適当な地点及び深さを設定しサーミスタ温度センサー (Grant Instrument LTD 社製) を用いた。必要とされる消毒効果を得るのには深さ30cmの地点で60~70°Cの温度上昇が起きることを目標とした。この数値は小児達の普通の遊び方と大腸菌群が死滅する温度を考慮して目標としたものである。効果的な消毒方法を検討するため、砂場を平坦なまま消毒した場合と、砂を柔らかくし畝を造った状態で消毒を行う2つの方法を比較した。

消毒効果の判定

別刷請求先：(〒260) 千葉市中央区仁戸名町666-2
千葉県衛生研究所疫学調査研究室

小倉 誠

平成7年4月20日

各砂場で4～8カ所の地点を設定し、地表、地下15cm、および30cmの深さから砂を採取した。採取は消毒4週間前、直前、直後、2週間後、4週間後の5回行った。それぞれのサンプル10gを90mlの滅菌生理リン酸緩衝液に投入し、攪拌後その上清を取ってその中に含まれる生菌数の測定に供した。標準寒天培地を用い、混釈法により接種した平板を30°C48時間培養して得られた集落数を生菌数とみなした。大腸菌群の測定は、LB-BGLB法によるMost Probable Number (MPN) 3本法⁷⁾で行った。糞便性大腸菌群数はLB-EC法によるMPN3本法⁸⁾で行った。一方好気性芽胞形成菌数の測定は、上清を100°C10分間加熱後、標準寒天平板混釈法を用い35°C48時間培養⁹⁾により行った。

成 績

各地点における到達温度

3カ所の砂場のうちG砂場は砂を平坦なままの状態消毒を行った。深さ30cmに設定した8カ所の地点における温度上昇の時間的経過をFig. 2に示す。各地点における温度上昇は全体として鈍く、温度分布は不均一であり、60°Cに到達するのに早い所でも150分、遅いところでは210分の通気時間をかけても40°C程度までしか温度の上

昇が認められなかった。一方U砂場およびS砂場では、消毒効果を上げることを目標にあらかじめ砂を柔らかくし、畝を作って実験を行った。U砂場では、畝の山の部分の2地点(AとB)を設定し、深さ10～40cmの温度変化を、またS砂場では、山の部分(No. 1)と溝の部分(No. 2)の2地点について深さ10～30cmの温度変化を測定した。その結果をFig. 3および4に示す。各地点において温度上昇はきわめて良好であり、U砂場では深さ40cmの1地点を除いて1時間以内に90°C以上に到達した。またS砂場では特に溝の部分の温度上昇が遅かったが、それでも180分以内に60°C以上の温度に達するのが認められた。

消毒による細菌叢の変化

各砂場における消毒前後の菌数をTable 1～3に示す。消毒前の菌数は場所による変動がそれほど大きくないので2カ所の菌数の平均で代表させた。なお大腸菌群数、糞便性大腸菌群数が所により 10^{-1} のオーダーになっているのは、通常これらの数値は砂100g当たりで出されるのが普通であるのを1g当りに換算したための結果である。

まずG砂場では、前述のように温度上昇が不十分であったことを反映して消毒効果は砂場表面お

Fig. 2 Time course of temperature during disinfection with steam in G-sandpit. Temperatures were measured at 8 arbitrary determined different points of 30cm deep from the surface.

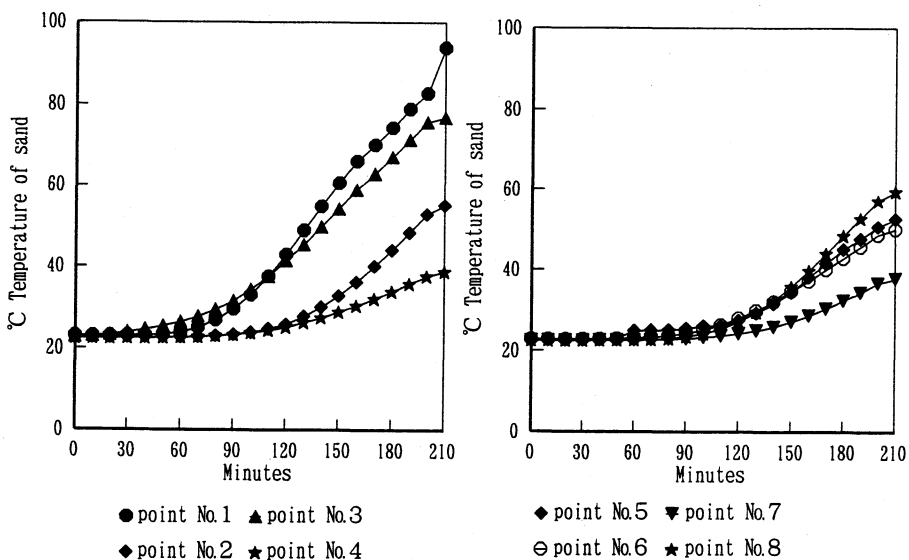


Fig. 3 Time course of temperature during disinfection with steam in U-sandpit
Temperatures were measured at 2 different spots (A and B) with varying the depth from surface.

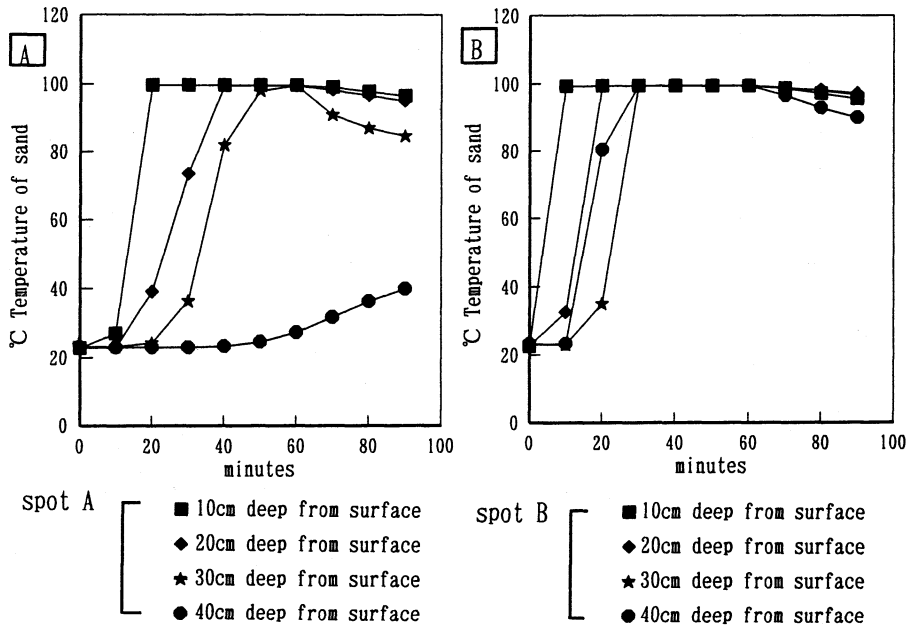
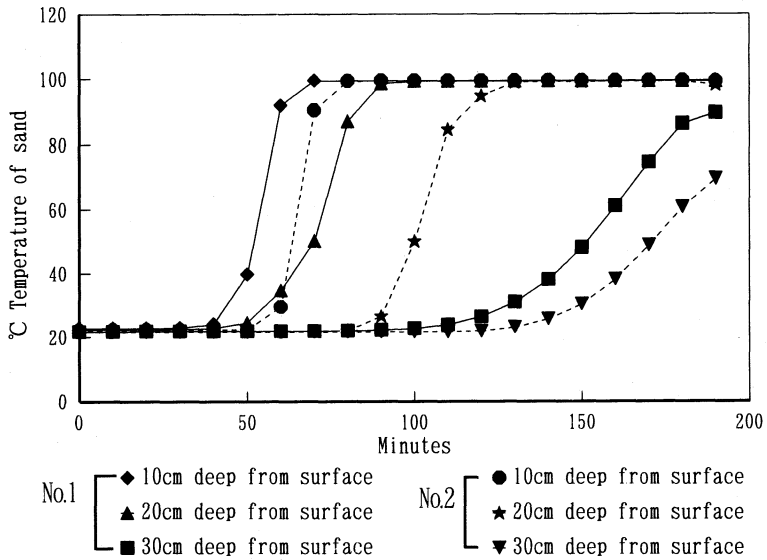


Fig. 4 Time course of temperature during disinfection with steam in S-sandpit.
Temperatures were measured at a spot on mound (No. 1) and a spot in trench (No. 2) with varying the depth from surface.



よび深さ15cmの所までは一応見られたものの、
通気時間3時間30分後においても深さ30cmの所
では8カ所中3カ所から大腸菌が検出された。た

だし温度上昇が60°C以下でしかなかった6地点の
うち3地点からは大腸菌は検出されなかったので
60°C以下の温度上昇でもある程度の消毒効果が発

Table 1 Number of bacteria just before and immediately after the disinfection in G-sandpit.

		Numerical value is number of bacteria per 1g sand			
Sample		Total number of viable bacteria	Number of aerobic sporeforming bacteria	Number of colliforms	Number of fecal colliforms
just before *					
{	0cm	1.5×10^6	4.5×10^2	8.7×10^2	8.7×10^2
	30cm	1.3×10^6	5.4×10^2	2.6×10^1	1.7×10^1
immediately after					
No. 1 {	0cm	0	0	0	0
	15cm	0	0	0	0
	30cm	1.1×10^5	1.5×10^3	0	0
No. 2 {	0cm	0	0	0	0
	15cm	0	0	0	0
	30cm	9.5×10^4	9.6×10^2	0	0
No. 3 {	0cm	0	0	0	0
	15cm	0	0	0	0
	30cm	1.0×10^2	0	0	0
No. 4 {	0cm	0	0	0	0
	15cm	1.0×10^2	0	0	0
	30cm	5.3×10^5	2.5×10^2	4.3×10^0	4.3×10^0
No. 5 {	0cm	0	0	0	0
	15cm	2.8×10^2	0	0	0
	30cm	2.4×10^4	1.6×10^2	0	0
No. 6 {	0cm	0	0	0	0
	15cm	2.2×10^3	1.3×10^1	0	0
	30cm	3.8×10^5	4.7×10^1	2.3×10^0	2.3×10^0
No. 7 {	0cm	0	0	0	0
	15cm	2.4×10^3	0	0	0
	30cm	2.4×10^6	6.8×10^2	0	0
No. 8 {	0cm	0	0	0	0
	15cm	4.2×10^2	0	0	0
	30cm	2.5×10^6	4.8×10^2	1.1×10^4	1.5×10^3

*Depths from the surface.

揮されたものと思われる。

一方、UおよびS砂場では、それぞれ1時間30分、3時間10分の消毒後、大腸菌は調べたすべての箇所から検出されなくなり、十分な効果が得られることが判明した。

消毒後の細菌叢の変化

消毒前後における細菌叢の変動、特に消毒後の回復状況を知るため消毒前4週間、消毒後2週間及び4週間目の菌数を測定した。その結果をTable 4に示す。

生菌数については消毒後2週間目、4週間目の値はいずれも消毒前の値と比較して有意の差を認めず、2週間後には元の状態に復帰していることが明らかとなった。一方好気性芽胞形成菌は消毒後2週間目、4週間目ともに消毒前に比べ有意に

その数を増していることが明らかとなった。大腸菌、糞便性大腸菌数はその数がもともと少ない上に変動幅が大きく比較は困難であったが、2週間後には各砂場から検出された。

考 察

砂場の蒸気による消毒を試みた結果、砂を柔らかくして畝を作ることにより3時間程度の加熱時間で、少なくとも大腸菌群、糞便性大腸菌群は検出されなくなった。その限りにおいてこの方法は有効な方法といって良いかもしれない。問題はしかし消毒効果に持続性がなく、遅くとも2週間後にはこれらの菌が再検出されたことである。したがって、これらの菌群の不検出を砂場の衛生管理の指標とするならば、定期的に消毒を繰り返すことが必要となり、あまり実際的な方法と言えない

Table 2 Number of bacteria just before and immediately after the disinfection in U-sandpit.

Numerical value is number of bacteria per 1g sand					
Sample	Total number of viable bacteria	Number of aerobic sporeforming bacteria	Number of colliforms	Number of fecal coliforms	
just before *					
{	0cm	2.5×10^6	1.1×10^3	5.1×10^0	1.3×10^0
	30cm	5.2×10^5	2.8×10^3	1.5×10^0	4.6×10^{-1}
immediately after					
No. 1 {	0cm	9.0×10^1	6.0×10^1	0	0
	15cm	1.7×10^3	7.0×10^1	0	0
	30cm	1.4×10^5	1.6×10^3	0	0
No. 2 {	0cm	6.0×10^1	1.6×10^2	0	0
	15cm	1.4×10^2	2.0×10^1	0	0
	30cm	1.1×10^3	7.0×10^1	0	0
No. 3 {	0cm	1.0×10^2	2.2×10^2	0	0
	15cm	2.0×10^1	9.0×10^1	0	0
	30cm	1.4×10^3	5.1×10^3	0	0
No. 4 {	0cm	4.0×10^1	1.1×10^2	0	0
	15cm	2.0×10^1	3.0×10^1	0	0
	30cm	4.0×10^1	9.0×10^1	0	0
No. 5** {	0cm	2.0×10^1	6.0×10^1	0	0
	15cm	1.2×10^5	6.0×10^1	0	0
No. 6** {	0cm	0	1.1×10^2	0	0
	15cm	2.0×10^1	0	0	0

*Deeps from the surface. **Samples No. 5 and No. 6 were taken from the spots at trench.

Table 3 Number of bacteria just before and immediately after the disinfection in S-sandpit.

Numerical value is number of bacteria per 1g sand					
Sample	Total number of viable bacteria	Number of aerobic sporeforming bacteria	Number of colliforms	Number of fecal coliforms	
just before *					
{	0cm	8.8×10^5	6.6×10^2	1.5×10^2	1.2×10^3
	15cm	4.9×10^5	6.7×10^2	9.3×10^{-1}	9.3×10^{-1}
	30cm	2.1×10^5	2.1×10^3	1.7×10^0	1.5×10^0
immediately after					
No. 1 {	0cm	0	0	0	0
	10cm	2.0×10^1	1.0×10^1	0	0
	20cm	0	0	0	0
	30cm	1.2×10^4	1.1×10^3	0	0
No. 2** {	0cm	0	0	0	0
	10cm	4.0×10^1	0	0	0
	20cm	1.0×10^1	0	0	0
No. 3 {	0cm	1.1×10^4	1.7×10^3	0	0
	10cm	1.0×10^1	2.0×10^1	0	0
	15cm	7.0×10^1	2.0×10^1	0	0
No. 4 {	30cm	5.0×10^4	1.0×10^3	0	0
	0cm	4.0×10^1	1.0×10^1	0	0
	15cm	1.0×10^1	5.0×10^1	0	0
	30cm	1.7×10^4	1.8×10^3	0	0

*Deeps from the surface. **Samples No. 2 was taken from the spot of trench.

Table 4 Changes of bacterial flora during the experimental period.

Numerical value is the mean and number of bacteria per 1g sand				
	Total number of viable bacteria	Number of aerobic sporeforming bacteria	Number of colliforms	Number of fecal coliforms
G sandpit				
4 weeks before	2.7×10^6	2.7×10^2	3.5×10^1	2.3×10^0
just before	1.4×10^6	4.9×10^2	4.5×10^2	4.4×10^2
2 weeks after	1.7×10^6	1.1×10^5	8.0×10^2	8.0×10^2
4 weeks after	4.2×10^6	7.7×10^4	4.2×10^2	7.0×10^1
U sandpit				
4 weeks before	1.2×10^6	2.3×10^3	1.9×10^1	9.0×10^{-1}
just before	1.5×10^6	1.9×10^3	3.3×10^0	9.0×10^{-1}
2 weeks after	1.3×10^6	3.9×10^4	2.5×10^1	3.4×10^1
4 weeks after	1.4×10^6	2.5×10^5	1.6×10^2	3.8×10^2
S sandpit				
4 weeks before	4.1×10^5	9.0×10^2	8.0×10^{-1}	3.0×10^{-1}
just before	5.3×10^5	1.1×10^3	5.0×10^1	4.0×10^2
2 weeks after	1.9×10^6	1.4×10^5	1.6×10^0	3.1×10^0
4 weeks after	6.6×10^5	9.8×10^4	1.3×10^0	7.3×10^{-1}

ように思える。これらの菌群の再度の検出が犬や猫による汚染によるものなのか、検出限界以下に残った菌の増殖によるものなのかは不明であるが、少なくとも本消毒方法では砂場中の有機物は除去されないので、後者の可能性は否定しきれない。事実、好気性芽胞形成菌は、おそらく熱ショックにより発芽、増殖を行った結果と思われるが、その数を有意に増加させており、その状態は4週間後でも認められている。今回は調査しなかったが、嫌気性の芽胞形成菌についても同じ現象が起こる可能性があるとするれば、破傷風のような感染症の危険性を増加させる可能性を否定しきれない。このように残存した有機物が菌の増殖をサポートするとすれば、繰り返し消毒を実施することにより長期間の砂の交換なしに使用された砂場では、有機物が蓄積しやすく、消毒後にかえって細菌数全体が増加することも考えられる。すでに農業の分野においては、蒸気消毒後の土壌に病原菌の再汚染があると起病性が増加する事等が報告されており⁶⁾、部分殺菌効果¹⁰⁾あるいは土壌細菌の復活¹¹⁾という名で呼ばれている。われわれの実験でも、消毒処理後に見られる土壌微生物の消長はこの農地の消毒の結果と似ており、ヒトと植物との違いはあるが病原菌の再汚染という問題に対し

ては、十分注意をする必要があると思われる。現在、砂場の衛生管理や消毒方法としては、公表されているものが殆どなく、実態は不明であるが、犬猫を砂場に入れられないようフェンスで囲うかシートで覆うという方法の他に、乾式加熱、消毒剤(二酸化塩素⁵⁾オゾン等)あるいは抗菌砂(金属イオンによる殺菌)などが試みられているようである。これらの方法に関してもやはり長期間にわたる管理は困難のようで、現状では砂の定期的な交換と砂遊び後の手洗いの励行が最も効果的な方法といえるであろう。

稿を終るにあたり、御協力を頂きました関係者の方々、ならびに論文をまとめるに当たり御教授を頂いた千葉県衛生研究所所長水口康雄先生に謹んで感謝の意を表します。

文 献

- 1) 林 正利, 山本和弘, 林 仁理: 公園の砂場における生菌数および大腸菌(群)数の月別変動. 日本公衛誌, 39: 45-49, 1992.
- 2) 松崎静枝, 富田正章, 片山 淳, 遠藤隆二: 大腸菌群による砂場の汚染. 山口県衛生公害研究センター業績報告, 14: 16-18, 1993.
- 3) Uga, S., Matumura, T., Aoki, N. & Kataoka, N.: Prevalence of *Toxocara* species eggs in the sandpits of public parks in Hyogo Prefecture, Japan. Jpn. J. Parasitol., 38(5): 280-284, October, 1989.
- 4) Shimizu, T.: Prevalence of *Toxocara* eggs in

- sandpits in Tokushima city and its outskirts. J. Vet. Med. Sci., 55(5): 807—811, 1993.
- 5) 赤尾信明, 岡沢孝雄, 岡田 茂, 高橋あけみ, 近藤力王至: 犬蛔虫幼虫包蔵卵に対する二酸化塩素の殺卵効果. 寄生虫学雑誌, 43: 78, 1994.
 - 6) 鈴木春男, 小林義明, 古木市重郎, 森 喜作: 蒸気土壌消毒と病害虫. 静岡県農業試験場特別報告第10号, 温室メロンの蒸気土壌消毒に関する研究, 10: 16—23.
 - 7) 厚生省生活衛生局・水道環境部監修: 上水試験法. 610—611, 日本水道協会, 東京, 1985.
 - 8) 厚生省生活衛生局・水道環境部監修: 上水試験法. 620—621, 日本水道協会, 東京, 1985.
 - 9) 厚生省生活衛生局監修: 食品衛生検査指針微生物編. 104—106, 日本食品衛生協会, 東京, 1990.
 - 10) 日本微生物学協会: 微生物学事典. 941, 技報堂出版, 東京, 1989.
 - 11) 日本微生物学協会: 微生物学事典. 934, 技報堂出版, 東京, 1989.

Disinfection of Sandpit by Steam and Changes of Bacterial Flora after the Disinfection

Makoto OGURA & Yoshihisa TSURUOKA
Public Health Laboratory of Chiba Prefecture

The effect of steam on sandpit disinfection was investigated by supplying steam into sandpits covered with a sheet cover. To evaluate the effect, total number of viable bacteria, number of aerobic sporeforming bacteria, coliforms and fecal coliforms were measured four weeks before, just before, immediately after, two and four weeks after the disinfection. Disinfection of coliforms and fecal coliforms was accomplished when temperature of sand reached more than 60°C.

Total number of viable bacteria and number of aerobic sporeforming bacteria also reduced by disinfection with steam. However, after 2 and 4 weeks of disinfection, number of coliforms and fecal coliforms recovered to the same level before disinfection, and total viable count also restored its number. In addition, a significant increase in the number of aerobic sporeforming bacteria was noted both after 2 and 4 weeks of disinfection. These results indicate that the effect of steam disinfection is transient and can not be used for the routine method of disinfection in sandpit.