

大学構内で使用したサンダルの微生物汚染状況調査

小林 淳¹⁾, 田中愛佳²⁾, 池田啓一³⁾

(2020年9月25日受付, 2020年12月14日受理)

Study on the microbial contamination of sandals used on campus

Jun KOBAYASHI¹⁾, Aika TANAKA²⁾, Keiichi IKEDA³⁾

(Received : September 25, 2020, Accepted : December 14, 2020)

要 旨

新規に購入し、大学構内で使用したサンダル（ポリ塩化ビニル製）の微生物汚染状況調査を施行した。調査箇所としては、足の接するサンダルの内底面とし、約1カ月おきに綿棒でふき取り、微生物を検出した。測定対象微生物として、一般生菌、真菌、大腸菌、大腸菌群、黄色ブドウ球菌を選択した。結果として、サンダルの使用時間が汚染を進行させることが示唆されたが、未使用のサンダルからも微生物は検出される場合があり、環境由来の微生物汚染も無視できないとの結論に至った。

キーワード：サンダルの微生物汚染, 一般生菌, 真菌, 大腸菌, 黄色ブドウ球菌

Abstract

We conducted a microbial contamination study on sandals (made of polyvinyl chloride) that were newly purchased and then subsequently used on a university campus. We focused on the insoles, which were swabbed with a cotton swab approximately once a month to detect microorganisms. The microorganisms selected for evaluation were as follows: general live bacteria, fungi, *Escherichia coli*, coliform bacteria, and *Staphylococcus aureus*. Although microbial contamination increased over time, microorganisms were also detected in unused sandals; thus, we conclude that microbial contamination from the environment cannot be ignored.

Key words: microbial contamination of sandals, general live bacteria, fungus, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*

¹⁾ 高知県立大学健康栄養学部・教授・博士 Faculty of Nutrition, University of Kochi. Professor. Ph. D

²⁾ 高知県立大学健康栄養学部・卒業生 Faculty of Nutrition, University of Kochi. Graduated student.

³⁾ 北陸大学薬学部・講師・博士 Faculty of Pharmaceutical Sciences, Hokuriku University. Assistant Professor. Ph. D

緒言

感染症とは、細菌やウイルスなどの病原体が体内に入り、増殖することによって身体に様々な悪影響を及ぼす疾病のことである。その病原体は、人の呼吸器、消化器をはじめとする動物の体内や体表面のほか、海や河川の水、土壌中など広く分布している。これらの病原体が、環境や他の感染者から様々な経路で人の身体に侵入することは広く知られており、予防のための環境整備及び対策が現在も継続して行われている。例えば、病原体の根絶を目的とした消毒、予防接種や検疫、上下水道の整備のための法律やガイドラインの作成などが挙げられる。さらに、患者発生動向の情報のみならず病原体の解析を通して遺伝学的特徴等の情報を得ることも重要であると考えられることから、感染症法の範疇に病原体サーベイランスを位置づけることが決まり、病原体の検査法その精度管理が整理されたほか¹⁾、様々な危機管理に対応できる体制が求められており、社会全体で感染症予防に対する意識が高くなっていると言える。

感染症の予防には、原因となる微生物やウイルスを殺菌、除菌することはもちろん、微生物の移動や外部からの持ち込みを防止することも大変重要である。この観点から検討された先行研究の中に、真菌感染症の一つである足白癬の患者から環境中への微生物の散布に関するものがあり、白癬菌患者の家塵から白癬菌が分離され、家族への感染が見られたという報告があり²⁾、白癬菌が足などの病巣から環境中に散布されることを裏付けている。環境からの感染リスクとして日本の場合には、文化的に家庭や外部公共施設で靴を脱ぐ機会が多く、床や共用スリッパなどに存在している病原体に足が接することで感染が生じうると考えられる。つまり、微生物を媒介している物の1つとして履物が重要であると我々は考えた。加えて、先行研究の中には共同浴場やプールなど裸足で利用する環境における検討が多く見られるが、靴下を着用していてもその網目の大きさによっては白癬菌が素足まで到達してしまうという報告もあ

る³⁾。

また白癬菌は真菌の一種であるが、細菌やウイルスによる感染症には多種多様なものがあり、MRSA（メチシリン耐性黄色ブドウ球菌）の院内感染や、飲食店での腸管出血性大腸菌（O157）などの集団感染がしばしば発生し、問題となることがある。さらに先行研究では、大学などの教育機関において室内浮遊菌や落下微生物などの調査を行ったものは存在するが^{4,5)}、履物の調査を行ったものはほとんど見当たらない。そこで今回、室内用サンダルの微生物汚染の状況を公衆衛生学的見地から把握することを目的として研究を行った。これまでの本研究室におけるサンダルの微生物汚染状況調査では、既に使用中のサンダルを用いていたことにより、元々サンダルの汚染度が進行していた可能性が高いため、今回は新しく購入し未使用時から数か月間使用したサンダルについて、一般生菌、真菌、大腸菌、大腸菌群、黄色ブドウ球菌の調査を行った。

方法

1. 使用器具・装置

滅菌水の作成には、ヤマト科学株式会社の純水製造装置オートスチルWS200、アドバンテック東洋株式会社の超純水製造装置K RFU414BA、三洋電機バイオメディカ株式会社の自動式高圧蒸気滅菌器ラボ・オートクレーブMLS-3020を使用した。微生物を採取するには日水製薬株式会社の滅菌綿棒（code 06526）を使用した。超音波処理には株式会社井内盛栄堂の発振周波数43kHzの超音波洗浄器DG-1を使用した。微生物の培養には三洋電機株式会社のインキュベータMIR-154を使用した。

2. 使用培地・水

日水製薬株式会社から販売されている微生物数測定用簡易培地コンパクトドライニッスイの一般生菌測定用、酵母・カビ測定用、大腸菌・大腸菌群測定用、黄色ブドウ球菌測定用を使用した。酵

母・カビ測定用はメーカーに確認の上、今回は真菌の測定に使用した。

また、大学に設置されている純水製造装置で調製した純水を超純水製造装置にて比抵抗値 $18\text{M}\Omega \cdot \text{cm}$ 以上の超純水を作成し、高圧蒸気滅菌器にて $121^\circ\text{C} \cdot 15$ 分滅菌し、滅菌水を作成した。この水をクリーンベンチ内で無菌操作にて滅菌済みの遠沈管に 5ml ずつマイクロピペットで分注し、使用した。

3. 調査対象

アスクル株式会社から販売されているフィッティングサンダル（ポリ塩化ビニル製）7足（14個）を新規に購入し対象とした。そのうちの6足を学生及び教員の6名が大学構内で着用し、1足は未使用のまま保管した。着用した際に足の甲に接する面にアルファベットを記入したビニールテープを左右それぞれに貼り、個々を識別できるようにした。なお、組み合わせは A/B、C/D、E/F、G/H、I/J、K/L、M/N とし、それぞれのアルファベットの早い方を左足用のサンダルとした。

サンダルの特徴を以下に示す：A/Bは約26cm長で、足底が接する面積は約 170cm^2 である（小判型と仮定し算出）。C以降は約25cm長で、面積は約 160cm^2 である。後の結果に、面積による補正は行っていない。また、着用日数を記録する用紙を研究室に用意し、申告制で記録した。状況を表1に示す。

今回サンダルは、A/Bを除いて廊下に設置したカラーボックスに収納し、特に覆いをしたり埃がかからないような措置は施さなかった。M/Nも同じように、すぐに履ける状態で同じ場所で保管した。A/Bのみ室内のロッカーに同様に保管した。また今回の研究では、サンダルを履く場所や時間に特に制限は設けず、学内にいる際には自由に履いて良いこととした。

4. 採取方法・測定方法

着用を開始した6月3日から約1か月ごとのスリッパ着用による微生物数の変化を調査した。拭き取りは2019年6月3日、7月1日、8月2日、9月30日に実施した。遠沈管に小分けした滅菌水で滅菌綿棒を湿らせ、サンダルの着用時に足裏が接する面を手で触れないように注意しながら3度拭き取った。その綿棒を素手で触らないよう注意し、滅菌水の入った遠沈管に加えた。その後遠沈管を5分間超音波処理し、クリーンベンチ内でタッチミキサーを用いて攪拌し、微生物懸濁液 1ml ずつを簡易培地に播き培養した。培養条件は取扱説明書を参考にし、一般生菌は 35°C で2日間、真菌は 25°C で3日間、大腸菌・大腸菌群は 35°C で4日間、黄色ブドウ球菌は 35°C で4日間培養し、それぞれ微生物数測定を行った。また正確さを増すため1つのシャーレにつき2人が測定を行い、その平均値を1つずつのサンダルからの検出数に換算し、結果として用いた。拭き取り後のサンダルは、日差変動を見るために特に消毒などせず、そのまま保管場所に戻した。

表1 サンダル着用日数

サンダル	1回目 (使用前)	2回目 (6月3日～30日)	3回目 (7月1日～ 8月1日)	4回目 (8月2日～ 9月29日)
A/B	0	19	21	31
C/D	0	14	21	7
E/F	0	20	19	4
G/H	0	13	13	3
I/J	0	14	18	5
K/L	0	21	20	6
M/N	0	0	0	0

同じ段のサンダルは、同一人物1名が実験期間中に着用したものである。

アルファベットの早い方が、左足用のサンダルを示す。

記録は自己申告により行い、また時間については記録していない。

結果及び考察

1. サンダルごとの比較

図1-5にサンダルごとに検出された微生物数を示す。一般生菌では、A/Bで他のサンダルに比べて顕著に多く検出された。着用日数が多いものほど微生物数が多いという傾向は見られなかった

が、着用者が教員だったため、着用時間が長いかもしれないと考えられた。C-Lについては、未使用であるM/Nのサンダルからも微生物が検出されていることから、保管中の環境からも微生物の伝搬が行われたといえる。

真菌については、一般生菌とは異なりA/Bにおいてそれほど検出微生物数は多くなかった。このことは先行研究での長期間利用のない環境が発育しやすい条件⁶⁾ になることに矛盾しない。さらに至適発育温度が25-30℃と他の細菌に比べて低く、人の体温よりも低い温度で発育しやすいためと考えられる。未使用であったM/Nの検出数が多いことも結果を裏付けている。

大腸菌と大腸菌群についてはほとんどのサンダルで検出されず、A/Bで顕著に多く検出された。大腸菌は糞便由来のものが多く⁷⁾、トイレで付着することが考えられたが、本学のトイレではサンダルを着脱する機会がなく、このことによる影響かどうかはわからない。大腸菌群は人や動物の糞便だけでなく、土壌、水、空気中などに幅広く分布している⁷⁾。また、滅菌された靴下を着用した状態で靴を履き、その靴下から微生物が検出されたという報告があることから⁸⁾、土壌などの環境由来の大腸菌が大学外で着用している靴の内部に付着し、靴下を通してサンダルに伝搬されたのではないかと考える。大腸菌群がわずかに検出されたC、E、I、Nについては、同じ保管場所で未使用のまま保管していたNから検出されたことから、環境からの微生物の伝搬が要因であるといえる。

黄色ブドウ球菌については、A/Bで顕著に多く検出され、C-Lのサンダルで検出数がまばらであった。皮膚に多く存在する微生物であり、また至適発育温度は25-40℃であることから⁷⁾、足の状態（例えば、自宅で裸足でいるかなど）といった個人的な要因がより大きく関係していると推測される。M/Nで検出されたものについては、同じ場所で保管していたサンダルの出し入れの際の落下微生物が検出されたのではないかと推測している。

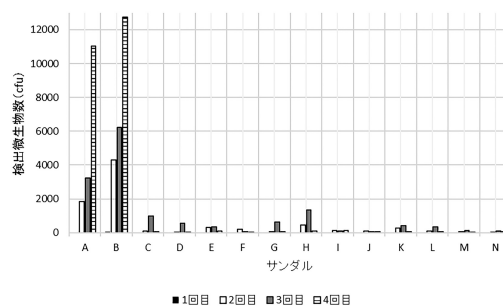


図1 サンダルからの一般生菌の検出数

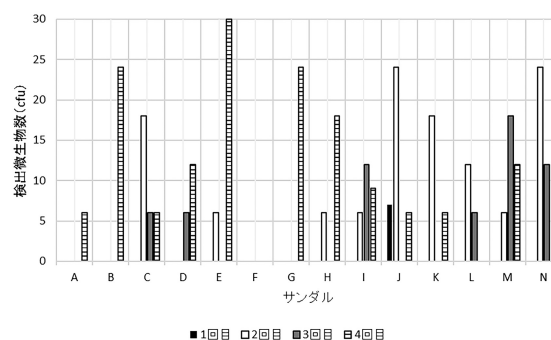


図2 サンダルからの真菌の検出数

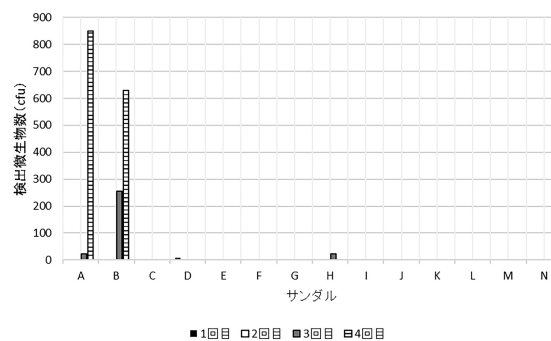


図3 サンダルからの大腸菌の検出数

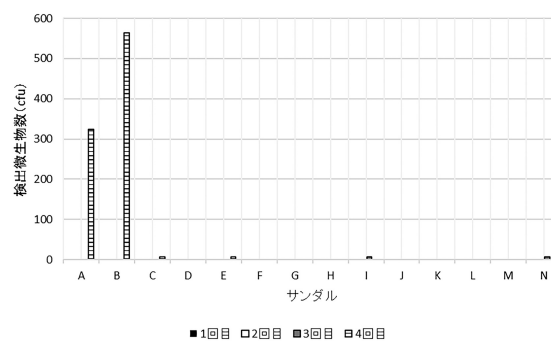


図4 サンダルからの大腸菌群の検出数

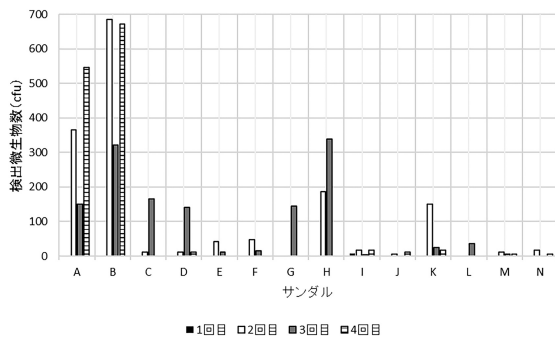


図5 サンダルからの黄色ブドウ球菌の検出数

2. 採取日ごとの比較

一般生菌について、A/Bで、1回目から4回目にかけてサンダルの着用日数に伴って増加傾向にある。したがって着用により足底からの微生物の伝搬が行われたといえる。4回目の測定の対象期間は8～9月であり、平均気温が上昇したことで靴下及びサンダル内がより高温多湿となったため微生物数が増加したと考えられる。次いでCおよびHの3回目の微生物数が他のサンダルに比べて多くなっている。また、Cのサンダルの左右ペアであるDがCと同じ傾向を示さなかったのは体重のかけ方等の個人の癖による原因が考えられる。Hについては着用日数が最も少ないにもかかわらず微生物数が多くみられ、また直近のサンダルの着用状況についても他のサンダルと同じであったため、個人の足の温度や発汗量による湿度が微生物の発育及び増殖に適していたと考えられる。C-Lのほとんどが3回目から4回目にかけて減少しており、サンダルの着用日数が減少すると微生物数も減少していることから、サンダルを着用していないことで足底からの微生物の伝搬が行われなかったためだと考えられる。

真菌については、採取日ごとの増減の仕方に大きくばらつきがあった。A/Bでは4回目のみ検出されており、4回目の着用日数が他のサンダルに比べて非常に多いため、着用したことによって付着し、加えて、真菌の発生しやすい環境条件として高湿、空気の滞留、粉塵等が挙げられ⁶⁾、8月から9月にかけての平均気温が6月や7月に比べ

高く発汗しやすいことから、靴下及びサンダル内が高湿となったと考える。C-Lでは、未使用のM/Nで非常に多く検出されたことから、環境中の微生物の伝搬が主な検出要因であるといえる。また伝搬した微生物数や、伝搬後の発育や死滅に関わる個人の足の状態によって、増減の仕方が異なると考えられる。M/Nについては、未使用の状態と同じ場所に保管していたにもかかわらず微生物数の増減の仕方が左右で異なっただけは環境から伝搬された微生物数が異なったためではないかと考える。Jについては1回目に検出されているが、これは微生物数測定時に手指や環境中の微生物が誤って付着したためかもしれない。

大腸菌については、A/Bでは2回目から4回目にかけて増加傾向が見られる。30-42℃で発育が良いという報告があることから⁹⁾、平均気温が上昇するにつれて微生物数も増加したと考える。1回目の測定時にDでわずかに検出されているが、これは微生物数測定時に手指や環境中の微生物が誤って付着したためかもしれない。3回目のHについて、C-Lの他のサンダルや左右に対応するGからは検出されなかったことから、土壌などの環境由来の微生物が大学外で着用している靴の内側に付着し、靴下を通してサンダルに伝搬されたと考える。

大腸菌群については、A/Bでは4回目のみ検出されており、C-Lの他のサンダルからは検出されなかったことから、土壌などの環境由来の大腸菌が大学外で着用している靴に付着し、靴下を通してサンダルに伝搬されたのではないかと考える。Iおよび未使用のM/Nについては、同じ場所で保管しており、環境中の微生物が伝搬されたといえる。

黄色ブドウ球菌については、A/Bについて、左右で微生物数は違うものの、増減の仕方は同じ傾向を示した。1回目から2回目にかけてすべてのサンダルで微生物数が増加しており、未使用の状態から着用したことで付着したといえる。2回目から3回目にかけては増加したものと減少したも

のが5足ずつあり、微生物数の増減は個人の足の温度や発汗量による湿度に依存すると考えられる。M/Nについては、未使用のまま保管していたにもかかわらず検出されたことから、環境中の微生物や同じ下駄箱で保管していたC-Lのサンダルに付着していた微生物が出し入れの際に落下し伝搬されたといえる。Iについては1回目に検出されており、これは微生物数測定時に手指や環境中の微生物が誤って付着したためかもしれない。

結語

気温や湿度、サンダルを着用した日数が微生物数に影響すると考え、気温及び湿度が高く、また着用日数が多いほど微生物数が増加すると予想していたが、そのような傾向が見られたサンダルは少なかった。サンダルからの微生物の検出数や月ごとの増減の仕方が個人間で大きく異なり、同様の傾向はどの微生物種でも見られなかったことから、サンダルの微生物汚染状況は個人の足の温度や発汗による湿度、靴下の種類といった個人間で異なる条件が大きく関わっていると推測される。さらに、未使用のまま他のサンダルと同様に埃などが付着可能な環境で保管していたサンダルからも微生物が検出された。特に真菌では他の微生物種と比較して未使用のサンダルから多数検出され、また最も着用日数が多かったサンダルからはそれほど検出されなかった。加えてトイレで履物を着脱する機会のない本学での着用にも拘らず大腸菌及び大腸菌群が検出されたことから、環境中から微生物の伝搬が行われ、微生物の検出数に大きく影響しているといえる。サンダルは、外履きである靴から履き替えて使用しているが、靴は学外など多くの場所との行き来に利用されており、当然着脱もされているため、靴の内側に環境由来の微生物が移動することや靴下への付着などがサンダルへの汚染につながったと推測される。以上より、サンダルの微生物汚染には気温及び湿度、着用の有無（時間）、個人の足の状態、環境からの伝搬といった様々な条件が相互に関係してい

ると考えられる。

今回の研究ではサンダルの着用日数のみを記録しており、正確なサンダルの使用状況やトイレに行った回数などが把握できていなかったため、今後は着用時間の記録も行った方がよいと考える。また1回目は、使用開始あるいはカラーボックスなどへの収納開始前に行っているため、これで微生物が検出されていることは、手技の問題もあったのかもしれないと考えられる。

謝辞

今回の研究に当たり、調査・分析に協力して頂きました健康生態学研究室の2019年度4回生の皆様に深く御礼申し上げます。

参考文献

- 1) 国立感染症研究所感染症疫学センター 日本
の感染症サーベイランス. Available from
https://www.niid.go.jp/niid/images/epi/nesid/nesid_ja.pdf (2019年10月閲覧) .
- 2) 杉本理恵, 加藤卓郎, 西岡清 (1995) 家庭
からの白癬菌分離によって家庭内複数感染が判明
した3家庭例. 日本医真菌学会雑誌 36(4):
291-295.
- 3) 二宮淳也 (2000) 温度, 湿度, 角質の外傷が
皮膚糸状菌の人角質内への侵入に及ぼす影響.
日本医真菌学会雑誌 41(1): 5-9.
- 4) 柳宇, 池田耕一, 鍵直樹, 西村直也, 吉野博,
小畑美知夫, 斎藤秀樹, 斎藤敬子, 鎌倉良太
(2007) 9病院的待合室における微生物汚染の
実態調査. 空気調和・衛生工学会大会学術講演
論文集: 1371-1374.
- 5) 柳宇 (2017) 高齢者住居の微生物環境と健康
影響. 保健医療科学 66(2): 136-140.
- 6) 高鳥浩介 (2005) 生活環境中の真菌とその生
態. アレルギー 54(6): 531-535.
- 7) 株式会社LSIメディエンス 食品微生物検査.
Available from <https://www.medience.co.jp/food/02-5.html#01> (2019年11月閲覧) .

8) 川角浩, 南和文, 大森忍 (2000) 婦人用ブーツの細菌学的検討. 日本未病システム学会雑誌 6 (2): 25-28.

9) Yuji Kawakami, Kazuhiro Hashimoto, Yuma Fukutomi, Masami Taniguchi, Akemi Saito,

Kazuo Akiyama (2014) A survey on the distribution of booklice, other allergenic arthropods, and fungi in houses in Tokyo. Urban Pest Management 4 (2): 65-77.

