



[原著]

吸い飲み内残余飲料の微生物汚染状況に関する 実験的予備調査

渡辺朱理¹⁾, 長岡仁美²⁾, 中江弘美³⁾, 吉岡昌美³⁾, 横田憲治⁴⁾, 松山美和¹⁾, 苔口進⁵⁾

- 1) 徳島大学大学院医歯薬学研究部口腔機能管理学分野
- 2) 徳島大学病院医療技術部
- 3) 徳島文理大学保健福祉学部口腔保健学科
- 4) 岡山大学大学院保健学研究科
- 5) 岡山大学大学院医歯薬学総合研究科口腔微生物学分野

要旨

入院患者や要介護者を対象に用いられている吸い飲み内残余飲料の微生物汚染状況について実験的な予備調査を実施した。吸い飲み内試料はミネラルウォーター、緑茶、経口補水液、果汁飲料を用いて、pHと糖度を測定した。ブラッシング後に吸い飲みで飲用した後、吸い飲み内に残余した各飲料を28℃で2時間および5時間保管した。保管後、残余飲料の微生物数(口腔内細菌数および真菌数)を計測した。さらに、緑茶を用いて食事中に飲用した後、吸い飲み内に残余した緑茶の微生物数を計測し、ブラッシング後に飲用した吸い飲み内の残余緑茶の微生物数と比較した。吸い飲み内の残余飲料すべてに、口腔内細菌(主に *Streptococci*)と口腔内真菌(主に *Candida species*)の混入が認められた(25 to 2,827 CFU/mL)。ミネラルウォーター、緑茶では、口腔微生物数が保管2時間後で最も多くなった。また、食事中に飲用した吸い飲み内の残余緑茶には口腔内微生物がより多く混入し、保管5時間後も微生物数の減少はみられなかった。口腔内の清掃・衛生管理状態は吸い飲みの微生物汚染状況に影響を与える。吸い飲みの十分な洗浄・消毒など、適切な衛生管理が重要である。

キーワード

吸い飲み、微生物汚染状況調査、口腔内細菌と真菌、口腔衛生管理

序論

吸い飲みは病院や高齢者施設また在宅医療などの現場で、主に入院患者や要介護状態の高齢者が飲料を飲む際に使用されている。一般的な吸い飲みの形状は、ベッドに横になった状態でも飲料が飲みやすいように長いノズルの吸い口が装着されている(図1)。しかしながら、飲用中には口腔内の唾液や歯垢に含まれる口腔内微生物(細菌や真菌)が、吸い飲み内の飲料に逆流することが懸念されている。また、吸い飲みの吸い口にはキャップ等が装着され、吸い飲み内に飲料を入れたままで、長時間保管することも可能である。

近年、飲みかけのペットボトル入り飲料の微生物汚染による衛生学的問題が注目され、調査が実施されている(1~4)。ペット



図1 吸い飲み

ボトル飲用者の多くが、一度口をつけ飲用したペットボトルを飲料内容物がまだ残ったままそのまま保管し、数時間後再び飲む

連絡先：渡辺朱理

〒770-8504 徳島県徳島市蔵本町 3-18-15

TEL/FAX : 088-633-7898

Email : akari.watanabe@tokushima-u.ac.jp

2019年 7月2日受付

2019年 11月6日受理

という飲用方法でペットボトルを使用しており、この飲用方法が残余の飲料に微生物汚染を引き起こしているとの報告がある(1~4)。一方、吸い飲みの残余飲料の微生物汚染についての報告はほとんど見当たらず、吸い飲みにおいてもペットボトル同様の微生物汚染による衛生学的問題が生じるのではないかと考え、今回、実験的な予備調査を行った。本研究では、健康人被験者が飲用後、吸い飲み内の残余飲料における微生物汚染の有無を予備調査し、吸い飲みに関する衛生学的問題および管理について検討することとした。

方法

吸い飲みでの飲用調査者は、女性(年齢22歳)、喫煙歴なし、口腔内状況は、歯数28本、左側下顎大白歯にインレー、齲蝕なしである。本調査にあたって調査者へは研究参加の説明を十分に口頭また書面で行い同意を得た。

使用した試料飲料は、①ミネラルウォーター「いろはす(日本コカ・コーラ(株))」、②緑茶「お〜いお茶(伊藤園(株))」、③経口補水液「OS-1(大塚製薬(株))」、④果汁飲料「Tropicana朝のオレンジ(キリンビバレッジ(株))」の4種類である。微生物の増殖状態はpHや糖度によって左右されるため、各飲料のpHをコンパクトpHメーターLAQUAtwin(堀場製作所)、糖度をポケット糖度計PAL(株式会社アタゴ)で測定した。長瀬ら(5)の報告にある殺菌剤ジクロロイソシアヌル酸ナトリウムを含む「Milton(ミルトン)CPチャイルドブルー®」(キョーリン製薬)で消毒した吸い飲みに各試料飲料を100mL入れた。口腔内細菌数の倍化増殖時間を考慮して(6)、ブラッシングして2時間後に、飲用調査者が、吸い飲みに入れた各試料飲料を10分間隔で4回、10~15mLごと、30分間かけて飲用した。飲用後の残余試料飲料約40~50mLを用いて、サニスペック標準寒天平板培地(以下、標準寒天培地)(アズワン)、ブレインハートインフュージョン寒天平板培地(以下、BHI培地)(ニッスイ)、サブロー寒天培地(栄研化学)に塗抹して、37°Cで48時間培養した。標準寒天培地を用いて一般細菌の培養検査、栄養要求性の高いBHI培地を用いて、主に口腔内レンサ球菌の培養検査を行った。また、サブロー寒天培地(栄研化学)では、記載の*Candida species*の培養方法に準じて、口腔内*Candida*(真菌)を対象にして培養検査を行った。生じたコロニー数を計測し、吸い飲み内の残余試料飲料中の微生物数は1mLあたりのコロニー形成単位(colony forming unit: CFU)

として算出した。微生物培養は3回行い、その平均値をコロニー数とした。また、吸い飲み内の各残余試料飲料は、環境省の推進している冷房時の室温である28°C(7)で、2時間と5時間保管した。保管後、上記と同様に試料はそれぞれ標準寒天培地、BHI培地及びサブロー寒天培地に播種し、37°C、48時間培養後、培地上に生じたコロニー数を計測した。

さらに、事前にブラッシングを行わずに食事を行いながら、吸い飲みを用いて10分間隔で4回、10~15mLごと、30分間かけて飲用した。食事中に使用した吸い飲みに入れる試料は、日々の食事で常用する最も一般的な飲料水である緑茶を用いた。上記と同様に、吸い飲み内の残余緑茶約40~50mLは、冷房時の室温である28°Cで、2時間と5時間保管した。保管後、BHI培地に播種し、37°C、48時間培養後、培地上に生じたコロニー数を計測した。その後、食事中に使用した吸い飲み内の残余緑茶と、ブラッシングして2時間後に飲用した吸い飲み内の残余緑茶の各口腔微生物数について比較検討した。本調査のデータ集計は、4Stepsエクセル統計付属アドインソフトStatcel3を用いた。飲用直後と保管後の各吸い飲み内残余飲料の培養微生物数の比較については、多重比較検定Dunnnett法を行った。また、食事中とブラッシング後に使用した吸い飲み内残余緑茶の口腔微生物数についてはt検定を行った。なお、有意水準は、P値が0.05未満($p < 0.05$)の場合を有意差ありとした。

結果

使用した4種類の試料飲料のpHと糖度を測定した結果、ミネラルウォーターと緑茶では、pHは6.8と6.2で中性に近く、糖度は0.2と0.5であった。一方、経口補水液と果汁飲料においては、pHは4.1と4.0の酸性で、糖類が含まれているため糖度は3.1と11.8であった(表1)。

表1 吸い飲み内の各試料のpHと糖度

	pH	糖度
ミネラルウォーター	6.8	0.2
緑茶	6.2	0.5
経口補水液	4.1	3.1
果汁飲料	4.0	11.8

吸い飲みを使用した直後の残余飲料全てから細菌や真菌の混入がみられた。特に、全ての飲料で最も多く口腔微生物数が検出されたBHI培地では、ミネラルウォーターと緑茶で、保管2時間後の口腔微生物数

表 2 ブラッシングして 2 時間後に飲用した吸い飲み内残余飲料における微生物数

		飲用直後	2 時間保管後	5 時間保管後
ミネラルウォーター	標準寒天培地	3	0	0
	BHI 培地	2,417	3,250	1,853
	サブロー寒天培地	25	19	17
緑茶	標準寒天培地	83	87	380
	BHI 培地	1,880	2,153	1,357
	サブロー寒天培地	38	36	26
経口補水液	標準寒天培地	370	183	0
	BHI 培地	2,827	770**	20**
	サブロー寒天培地	99	7	0
果汁飲料	標準寒天培地	287	417	37
	BHI 培地	2,040	823**	417**
	サブロー寒天培地	106	54	46

CFU/mL
** $P < 0.01$

飲用直後と保管後の各吸い飲み内残余飲料の培養微生物数の比較については、多重比較検定 Dunnett 法を行った。BHI 培地において経口補水液と果汁飲料は、飲用直後の口腔微生物数に比べ保管 2 時間後と保管 5 時間後は有意に減少した。

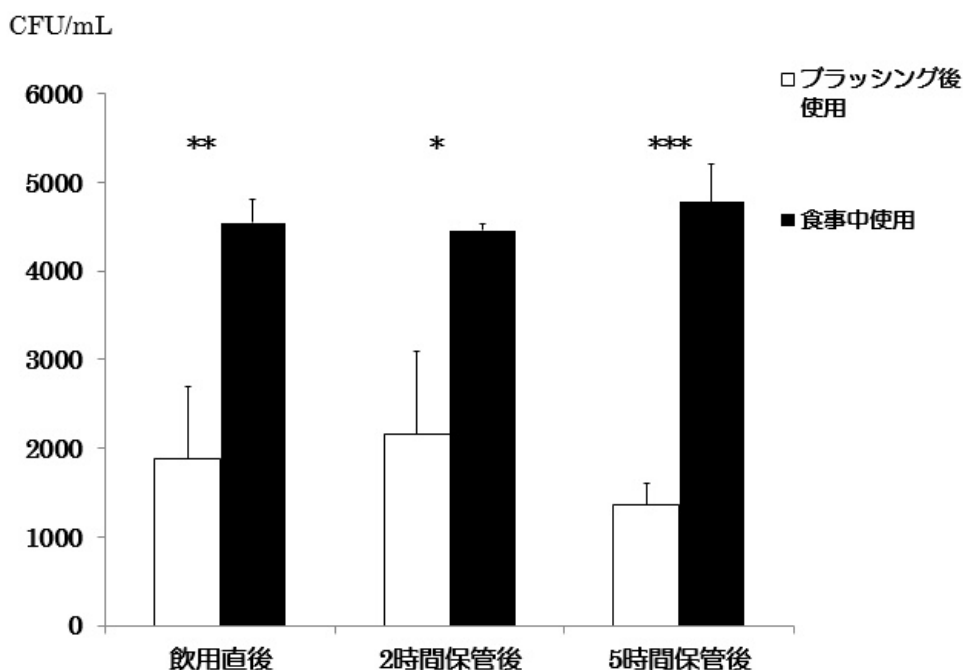


図 2 ブラッシングして 2 時間後と食事に使用された吸い飲み内残余緑茶の口腔内微生物数

ブラッシングして 2 時間後と食事に使用した吸い飲み内残余緑茶の口腔微生物数の比較については t 検定を行った。食事に飲用した吸い飲み内の残余緑茶は、ブラッシングして 2 時間後に飲用した吸い飲み内の残余緑茶と比べ、有意に多くの口腔内微生物の混入が認められた。食事に飲用した吸い飲み内の残余緑茶には、保管 2 時間後と保管 5 時間後も、ブラッシングして 2 時間後に飲用した吸い飲み内の残余緑茶よりも有意に口腔微生物数が残存していた。 * $p < 0.05$ ** $p < 0.01$ *** $p < 0.001$

は、3,250 CFU/mLと2,153 CFU/mLで最も多くなったが、保管5時間後でも口腔微生物数は持続していた。一方、経口補水液と果汁飲料では、飲用直後の口腔微生物数は、2,827CFU/mLと2,040 CFU/mLであったが、保管2時間後の口腔微生物数は770CFU/mLと823 CFU/mL、さらに保管5時間後の口腔微生物数は、20CFU/mLと417CFU/mLと優位に減少した(表2)。

食事中に飲用した吸い飲み内残余緑茶には、飲用直後の口腔微生物数は4,543 CFU/mL、保管2時間後の口腔微生物数は4,457 CFU/mL、保管5時間後の口腔微生物数4,783 CFU/mLとほぼ変動がなかった。ブラッシングして2時間後に飲用した吸い飲みの残余緑茶における口腔微生物数と比べ、有意に多くの口腔内微生物の混入が認められた。さらに、保管2時間後と保管5時間後も、ブラッシングして2時間後に飲用した吸い飲み内の残余緑茶よりも有意に多くの口腔内微生物が残存していた。(表2、図2)。

考察

4種類の飲料を用いて、吸い飲み内残余飲料の微生物汚染状況の有無を調査した結果、全ての飲料でBHI培地に生じた微生物数の方が、標準寒天培地に生じた微生物数よりも多かった。このことから、飲用後の吸い飲み内残余飲料には栄養要求性の高い口腔内微生物が混入し、微生物汚染を生じていることが認められた。

また、飲用後の吸い飲み内残余飲料を環境省の推進している冷房時の室温である28°Cで、2時間と5時間の保管を行い、吸い飲み内残余飲料の微生物数の変動を測定した結果、ミネラルウォーターと緑茶では、BHI培地において保管2時間後に口腔微生物数は最も多くなり、保管5時間後も口腔微生物数の有意な減少は見られなかった。一方、経口補水液と果汁飲料では、BHI培地において保管2時間後と保管5時間後に口腔微生物数が優位に減少した。口腔内細菌の増殖可能pH域は、歯周病の原因細菌である*Porphyromonas gingivalis*で6.5~7.0、齲蝕の原因細菌である*Streptococcus mutans*や*Streptococcus salivarius*で5.0~7.0である(8)。ミネラルウォーターと緑茶のpHは、口腔内細菌の増殖可能pH域であり、吸い飲みの残余飲料内に長時間残留できたと考えられる。一方で経口補水液と果汁飲料のpHは、口腔内細菌の増殖可能pH域より酸性であったため、BHI培地での口腔微生物数の有意な減少につながったと考える。しかしながら、口腔内には*Candida albicans*などの真菌も生息している。今回の調査において

も飲用後の吸い飲み内残余飲料からサブロー寒天培地での培養時には真菌が検出され、ミネラルウォーター、緑茶と果汁飲料に関しては、保管5時間後も真菌の存在が認められた。飲用後の吸い飲み内残余飲料には口腔内微生物が混入するため、これらの真菌の多くは環境中からではなく口腔内真菌であると考えられる。真菌の生育環境条件は、最適生育pH4.0~4.5、25°C~30°Cの温度である。増殖栄養源としては、まず糖類を利用し、無機窒素、有機窒素、リン酸塩、硫酸塩やミネラルなども必要とする(9)。特に、果汁飲料に関しては、真菌の最適生育pHであるpH4.0と酸性であり、とりわけ糖類が高く、タンパク質、リン、ナトリウム、カリウムなど多くの栄養成分も含まれている。そのため真菌が多く増殖し、28°Cの室温で長時間保管でも生存したと考えられる。しかしながら、最適pHであり、ブドウ糖を含む経口補水液に関しては、抗真菌薬の成分であるクエン酸が添加されていたこともあり、長時間保管後には、真菌は減少したと考える。

また、吸い飲み内残余飲料は、口腔内細菌や真菌が混入することに加え、吸い飲みの飲み口の部分にはキャップや栓がないものもあり、空気中からの雑菌なども混入しやすい。このことから、吸い飲みに飲料を入れたまま、室温で長時間保管することは、さらなる衛生学的問題を引き起こす可能性も考えられる。

さらに今回の調査では、日々の食事で常用することが多い緑茶を吸い飲みに入れ、食事中に用いて、吸い飲み内残余緑茶の口腔微生物汚染状況を調べた。BHI培地においては、飲用直後から保管2時間後と保管5時間後に口腔微生物数の変動はほとんどなく、食事中に使用した吸い飲みの残余緑茶は、口腔内微生物による長時間の細菌汚染が持続することが考えられる。ブラッシングして2時間後に飲用した吸い飲みの残余緑茶における口腔微生物数と比較した結果、食事中に使用した吸い飲みの方が、残余緑茶内に口腔微生物数は有意に多く、吸い飲み内により多くの口腔内微生物が混入したことが認められた。

吸い飲みは、飲み残しの飲料を入れたまま数時間室内で保管し、その間再度同じ吸い飲みで口をつけて飲むという使用方法をとる場合も多い。そのため、吸い飲みでの繰り返しの飲用の際には口腔内細菌や真菌が混入、残留し、増殖した状態の飲料を飲むことになる。飲み残しの飲料が入った吸い飲みで長時間繰り返し飲用することは食中毒のリスクもあり、衛生学的に安全でないと考えられる。これに対する具体的な対策としては、飲み残しを捨てて、吸い飲みの内の飲料をこまめに交換する、使用後の

吸い飲みを丁寧に洗浄・消毒するなどが挙げられる。洗浄の際には、今回消毒で用いたMilton(ミルトン)CPチャイルドブルーフ®や、Miltonやキッチンハイター®(花王(株))などなどの低濃度の次亜塩素酸ナトリウムを使用することで、より安全で、効果的に洗浄・消毒することができると考える。吸い飲みの使用者は、高齢者や要介護状態などの易感染性宿主であることが多く、誤嚥性肺炎などさらに深刻な問題を引き起こしやすい状態に陥りやすいため、吸い飲みにおける適切な衛生的管理を心掛けていくことが重要であると考えられる。

結論

使用した吸い飲みの残余飲料には、口腔内微生物が混入し、微生物汚染が起こりやすいことが認められた。吸い飲みの飲料として用いられることが多いミネラルウォーターや緑茶は、pHが中性で混入口腔微生物数の変動は少なく、長時間にわたり飲み残しの飲料内に残留することが可能である。ブラッシングをしていない口腔内に微生物数が多い状態では、吸い飲み内残余飲料に混入する口腔微生物数も多くなり、口腔内の清掃・衛生管理状態も吸い飲み内残余飲料の汚染状況に影響を与えることが認められた。吸い飲みの十分な洗浄・消毒など、適切な衛生管理が重要である。

引用文献

- 1) 吉井美穂, 八塚美樹, 安田智美. 小型ペットボトル飲料使用における安全性の検討. 日本看護研究学会雑誌. 2009, vol. 32, no. 1, p. 125-129.
- 2) 森岡 郁晴, 上中 亜紀, 谷河 歩美, 松本 結衣. ペットボトル飲料の直接飲用による細菌汚染状態と看護系大学生の汚染意識. 日本衛生学雑誌. 2018, vol. 73, no. 3, p. 373-378.
- 3) Ohnishi, T., Goto, K., Kanda, T., Kanazawa, Y., Ozawa, K., Sugiyama, K., Watanabe, M., Konuma, H., and Hara-Kudo, Y. Microbial contamination associated with consumption and the growth in plastic bottled beverage. J Environ Sci Health A Tox Hazard Subst Environ Eng. 2013. vol. 48, p. 781-790.
- 4) Watanabe, M., Ohnishi, T., Araki, E., Kanda, T., Tomita, A., Ozawa, K., Goto, K., Sugiyama, K., Konuma, H., and Hara-Kudo, Y. Characteristics of bacterial and fungal growth in plastic bottled beverages under a consuming condition model. J Environ Sci Health A Tox Hazard Subst Environ Eng. 2014. vol. 49, p. 819-826.
- 5) 長瀬優里, 苔口進, 横田憲治, 松山美和, 渡辺朱理. 歯ブラシへの付着・残存口腔内細菌調査. 四国公衆衛生学会雑誌. 2016, vol. 61, no. 1, p. 87-92.
- 6) “口腔内常在微生物”. 微生物学. 全国歯科衛生士教育協議会編集. 第2版, 東京, 医歯薬出版株式会社, 2009, p. 132-145, (新歯科衛生士教本).
- 7) 環境省地球環境局地球温暖化対策課. “平成28年度クールビズについて”. 環境省. <http://www.env.go.jp/press/102469.html>, (参照 2016-05-20).
- 8) Svensäter, G., Larsson, UB., Greif, EC., Cvitkovitch, DG., and Hamilton, IR. Acid tolerance response and survival by oral bacteria. Oral Microbiol Immunol. 1997. vol. 12, p. 266-273.
- 9) “カビ対策マニュアル基礎編”. 文部科学省. http://www.mext.go.jp/b_menu/shingi/chousa/sonota/003/houkoku/08111918/002.htm, (参照 2016-11-24).

Experimental Pilot Study of Microbial Contamination and Growth in Feeding Cups

Akari Watanabe¹⁾, Hitomi Nagaoka²⁾, Hiromi Nakae³⁾, Masami Yoshioka³⁾, Kenji Yokota⁴⁾,
Miwa Matsuyama¹⁾, Susumu Koikeguchi⁵⁾

- 1) Department of Oral Health Care and Rehabilitation, Graduate School of Biomedical Sciences, Tokushima University, Tokushima, Japan
- 2) Division of Clinical Technology, Tokushima University Hospital, Tokushima, Japan.
- 3) Faculty of Health and Welfare, Tokushima Bunri University, Tokushima, Japan.
- 4) Graduate School of Health Sciences, Okayama University, Okayama, Japan
- 5) Department of Oral Microbiology, Okayama University Graduate School of Medicine, Dentistry and Pharmaceutical Sciences, Okayama, Japan.

Summary

Feeding cups are used to facilitate drinking by hospital patients or nursing home residents. The aim of this study was to investigate microbial contamination and growth in unfinished drinks in feeding cups. Drinks tested in the feeding cups were mineral water, Japanese green tea, oral rehydration solution, and fruit juice. The pH and sugar content of each drink were measured. Samples were collected from feeding cups immediately after drinking, and from those stored at 28 °C for 2 or 5 h. In the case of green tea, samples were also collected during a meal. Oral bacteria (mainly Streptococci) and fungi (Candida species) were found in all samples tested ranging from range, 25 to 2,827 CFU/mL. In the mineral water and green tea, the highest numbers of bacteria were observed after 2 h of storage. Bacterial counts in the green tea samples collected during the meal were increased even after 5 h of storage. From the results of the present study, it is concluded that appropriate hygiene management of feeding cups after use is important to reduce the risk of infectious diseases.

Keywords: Feeding cup, microbial contamination and growth, Oral bacteria and fungi, hygiene management