

## 資料

# 平成 23 年度食品の食中毒菌汚染実態調査

村上光一・前田詠里子・市原祥子・大石 明・江藤良樹・濱崎光宏・竹中重幸・堀川和美

食中毒発生の未然防止対策を図り、流通食品の細菌汚染実態を把握することを目的として、福岡県内で市販されている食品を対象に食中毒菌汚染実態調査を行った。野菜、ミンチ肉、牛レバー、牛肉（ステーキ用）、生食用食肉及び漬物等の合計 115 検体について、大腸菌、サルモネラ、腸管出血性大腸菌（O157、O26 及び O111）の検査を行った。加えて、鶏肉を含むミンチ肉と生食用鶏肉及び牛レバー（3 種計 20 検体）については、カンピロバクターの検査も実施した。その結果、大腸菌が 50 検体から、サルモネラが 4 検体から、カンピロバクターが 1 検体から検出された。牛肉（ステーキ用）からは、腸管出血性大腸菌 O168 が検出され、サイコロステーキからは腸管出血性大腸菌関連のペロ毒素遺伝子のみが検出された（腸管出血性大腸菌そのものは検出されなかった）。腸管出血性大腸菌 O157/O26/O111 はいずれの検体からも検出されなかった。

[キーワード: 食品検査、食中毒細菌、汚染実態調査、鶏肉、牛レバー]

## 1 はじめに

食中毒発生の未然防止対策を図り、流通食品の細菌汚染実態を把握することを目的として、福岡県内で流通している市販食品を対象に食中毒菌検査を行なった。本調査は、日常摂取する食品の食中毒菌汚染状況を明らかにし、食品取扱業者への食品等の衛生的な取り扱いに関する指導や、営業施設への効率的監視による食中毒菌汚染防止対策の一環として、毎年行っている。

平成 23 年 6 月 20 日付食安発第 0620 第 2 号厚生労働省医薬食品局食品安全部長通知による、平成 23 年度食品の食中毒菌汚染実態調査実施要領に基づき、大腸菌、サルモネラ、腸管出血性大腸菌 O157/O26/O111、カンピロバクターを対象とした調査を行った。なお、秋田県、山形県、埼玉県、さいたま市、千葉県、東京都、神奈川県、横浜市、川崎市、福井県、静岡県、静岡市、神戸市、岡山県、山口県、愛媛県、富山県、北九州市、福岡市、宮崎県及び沖縄県の各自治体でも同様の検査を行っている。

## 2 方法

### 2・1 検体

平成 23 年 9 月から平成 23 年 12 月にかけて、福岡県内 9 保健福祉（環境）事務所で買い上げた食品等を対象とした。詳細は表 1 に示す期間であり、表 2 に示す食品を対象とした。

### 2・2 検査項目

大腸菌、サルモネラ及び腸管出血性大腸菌 O157/O26/O111 検査は、すべての食品を対象に行った。

カンピロバクター検査は牛レバー及び鶏肉（ミンチ、タタキ）の計 20 検体を対象に行った。

### 2・3 検査方法

大腸菌検査法は次のとおりである。検体 25g に buffered peptone water (BPW) を 225ml 加え、ストマッキングした後、 $35\pm 1^{\circ}\text{C}$  で  $22\pm 2$  時間前培養した。この培養液 1 ml をダーラム管入り *Escherichia coli* broth に接種し、 $44.5\pm 0.2^{\circ}\text{C}$  で  $24\pm 2$  時間培養した。その後の操作は、食品衛生検査指針微生物編<sup>1)</sup>及び国立医薬品食品衛生研究所からの助言に従い実施した。本調査における大腸菌の同定は、培地で大腸菌群と視認される集落を釣菌し、次いで IMViC 試験（インドール産生能試験、メチルレッド反応試験、Voges-Proskauer (VP) 反応、クエン酸塩利用性）のパターン中「++-」の菌株を大腸菌と同定する規定となっている。しかし、IMViC 試験では、釣菌する集落 1 つに対して、インドール産生能試験、メチルレッド反応試験、VP 反応試験、クエン酸塩利用性試験に対応する 4 種の培地（4 本の試験管）が必要である。そのため、仮に 10 検体に対して、1 検体に 10 集落釣菌すると 400 本の培地（試験管）を用意しなければならず、大きな労力を要する。

そこで、我々は、従来、試験管内で行ってきた IMViC システムを 96 穴マイクロプレートと同形の（2:3 長方形マトリックの）96 本小試験管システムを用いて実施した。用いたマイクロプレートは、旭硝子（株）社製バイオチューブシステム シリーズ F-T101、12 連のディーブウエルプレート・チューブであり、これにインドール産生能試験、メチルレッド反応試験、VP 反応試験、クエ

表 1 各保健福祉（環境）事務所の検体搬入月日

搬入日	搬入保健福祉（環境）事務所									総計
	嘉穂・鞍手	京築	糸島	宗像・遠賀	筑紫	田川	南筑	粕屋	北筑後	
2011/9/27	11			10		4			10	35
2011/10/24				1	6		13	6		26
2011/11/7		12				10		8		30
2011/12/5			13		11					24
総計	11	12	13	11	17	14	13	14	10	115

ン酸塩利用性試験に対応する 4 種の培地を、それぞれ長軸方向に 100 μ リットルずつ分注した。これに検体を短軸方向に 4 穴ずつ接種した。このプレート 1 枚にて 24 の集落を釣菌することが可能であった。接種後プレートに付属の蓋を被せ、蓋と本体の間隙をビニールテープにて密着させ培養した。これを 24 時間後にはインドール産生能試験及びメチルレッド反応試験を、48 時間後には VP 反応試験を、72 時間後にはクエン酸塩利用性を判定した。インドール産生能試験とメチルレッド反応にはクロロホルム、コバックの試薬及びメチルレッド試薬をそれぞれ、12 チャンネルマイクロピペットを用いて 25 μ リットル分注し判定した。同様に、VP 反応には、VP 試薬 1 を 100 μl、VP 試薬 2 を 30 μl 分注し、ピペッティングにて攪拌し反応後、判定した（図 1）。

腸管出血性大腸菌 O157/O26/O111 の検査は、平成 18 年 11 月 2 日付食安監発第 1102004 号「腸管出血性大腸菌 O157 及び O26 の検査法について」及び平成 23 年 6 月 3 日付食安監発第 0603 第 2 号「腸管出血性大腸菌 O111 の検査法について」に従い、実施した。

サルモネラの検査は、「食品からの微生物標準試験法検討委員会」が定めたサルモネラ標準試験法<sup>2)</sup>に従い、実施した。すなわち、検体 25 g に BPW を 225 ml 加えストマッキングし、35±1℃で 22±2 時間 前増菌培養した。その後、その培養液、0.1 及び 1 ml を Rappaport - Vassiliadis 培地及びテトラチオン酸塩培地 10ml に接種し、42±0.5℃で 22±2 時間培養した。それぞれの培地をよく混和後、1 白金耳量を DHL 寒天培地及び Chromoagar Salmonella 培地に画線塗抹し、35±1℃で 22±2 時間培養した。培養後、各分離平板培地の発育した定型的コロニーを 3 - 4 個ずつ釣菌して、TSI 寒天培地、SIM 寒天培地及びリジン脱炭酸試験用培地等に接種し、35±1℃で 22±2 時間培養した。その後、生化学性状を確認し、血清型別試験や必要に応じて他の細菌学的検査を行い同定した。

カンピロバクターの検査は、「食品からの微生物標準試験法検討委員会」が検討中のカンピロバクター・ジェジュニ/コリ標準試験法案を一部修正した方法に従い、実施した。すなわち、検体 25 g にカンピロバクター選択増菌培地（プレストン組成）を 100 ml 加えストマッキングし、42±1℃で 48 時間、微好気条件下で増菌培養した。

その後、その培養液 1 白金耳量を Butzler 培地及び mCCDA 培地に画線塗抹し、42±1℃で 48 時間、微好気培養した。培養後、各分離平板培地の発育した定型的コロニーを 3 - 4 個ずつ釣菌し、生化学性状を確認し、同定した。

### 3 結果及び考察

検査結果を表 2 に示す。大腸菌は 115 検体中 50 検体（43%）から、サルモネラは、鶏ミンチ肉（3 検体）および水耕栽培みつば（1 検体）の計 4 検体から検出された。すなわち鶏ミンチ肉から *Salmonella* *Infantis*（2 検体）及び *S. Manhattan*（1 検体）が、水耕みつばから *S. Newport* が検出された。

カンピロバクター・ジェジュニは牛レバー 1 検体から検出された。腸管出血性大腸菌 O157O26/O111 はいずれの検体からも検出されなかった。しかし、牛肉（ステーキ用）1 検体よりベロ毒素 VT1 産生性大腸菌 O168 が、さらにサイコロステーキ 1 検体よりベロ毒素遺伝子検出のみ（菌は不検出）が検出された。

大腸菌は、糞便あるいは腸管系病原細菌の汚染指標として、最も一般的に使用されている。今回の検査では、大腸菌は、牛レバーが 13 検体中 12 件（92%）、ミンチ肉（牛ミンチ、豚ミンチ、鶏ミンチ及び牛豚合ミンチ）が、21 検体中 18 件（86%）、鶏タタキが 3 検体中 3 検体、牛肉（ステーキ用）が 4 検体中 3 件、サイコロステーキが 3 検体中 2 件、もやしが 11 検体中 5 検体、陽性であった。

### 文献

- 1) 厚生労働省監修：食品衛生検査指針・微生物編，116-235，東京，日本公衆衛生協会，2004.
- 2) 食品からの微生物標準試験法検討委員会，[http://www.nihs.go.jp/fhm/kensa/sal/salumonellazokukins\\_hikenhou.pdf](http://www.nihs.go.jp/fhm/kensa/sal/salumonellazokukins_hikenhou.pdf), 2012.

表2 食品の種類と検出された病原菌

検体	検体数	検出された病原菌					備考
		大腸菌	サルモネラ	カンピロバクター・ ジェジュニ	腸管出血性大腸菌 O157/O26/ O111	その他の腸管出血性大腸菌	
野菜類及びその加工品							
カイワレ大根	5	1					
カット野菜	5						
きゅうり	8						
白菜	2						
トマト	7	1					
ナス	1						
レタス	7	1					
ほうれんそう	1						
みつば	6		1				
もやし	11	5					
ブロッコリースプラウト	1						
大根	2						
漬物							
漬物	5	2					
獣鳥類の肉及び内臓							
牛ミンチ	8	8					
牛レバー	13	12		1			
牛肉(ステーキ用)	4	3				1	1 検体よりペロ毒素VT1産生性大腸菌 O168 検出
サイコロステーキ	3	2					1 検体より ペロ毒素遺伝子検出(菌 不検出)
牛豚合ミンチ	1	1					
豚ミンチ	8	5					
鶏タタキ	3	3					
鶏ミンチ	4	4	3				
馬刺し	10	1					
計	115	50	4	1	0	1	

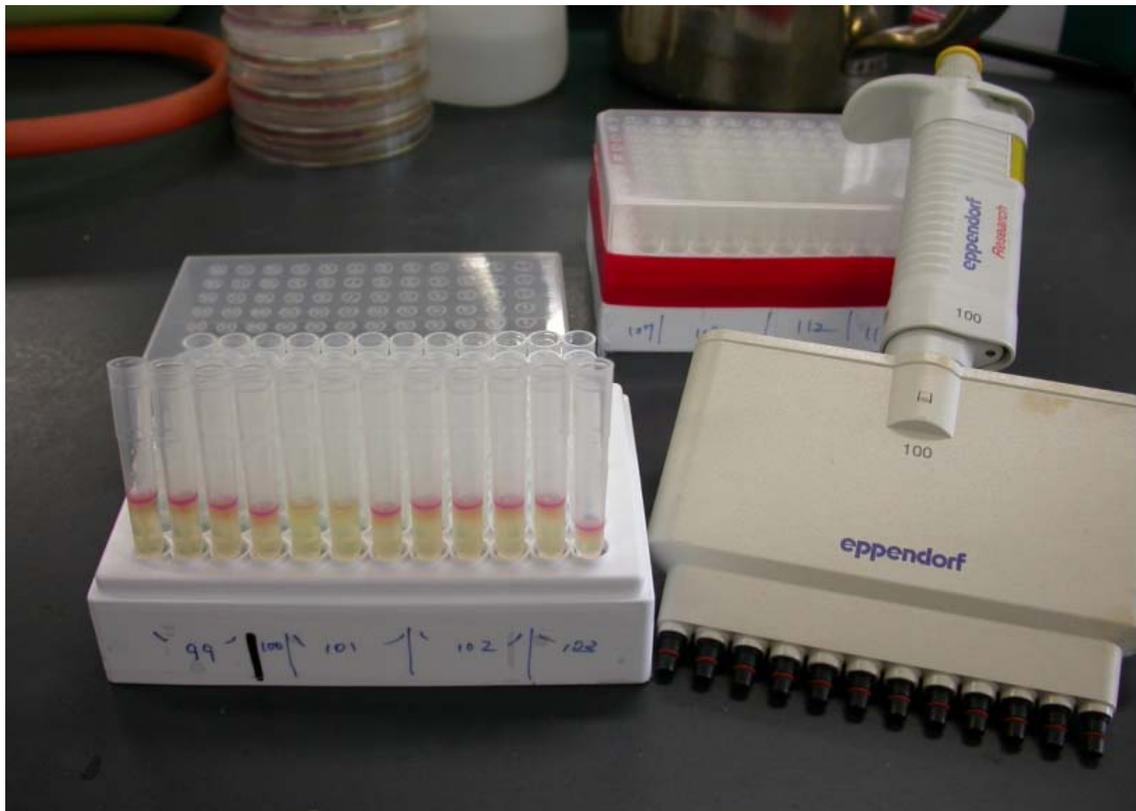


図1 ディープウェルプレート・チューブを用いた大腸菌の IMViC 試験 (インドール産生能試験)の様子