

## 資料

# 平成 24 年度食品の食中毒菌汚染実態調査

大石 明・前田詠里子・岡元冬樹・江藤良樹・濱崎光宏・村上光一・堀川和美

食中毒発生の未然防止対策及び流通食品の細菌汚染実態を把握するために、県内で市販されている食品を対象に調査を行った。野菜、肉類、野菜類等の合計 112 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。鶏肉、レバー (4 種計 26 検体) については、カンピロバクターも実施した。その結果、大腸菌が 49 検体、サルモネラが 6 検体、カンピロバクターが 6 検体から検出された。牛サイコロステーキからは、腸管出血性大腸菌 OUT : H16 (ベロ毒素 2 遺伝子 (VT2)) が検出され、豚レバーからは腸管出血性大腸菌 OUT (VT2, *stx*<sub>2c</sub>) が検出された。腸管出血性大腸菌 O157、O26 及び 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。

大腸菌、サルモネラ、腸管出血性大腸菌 O157/O26/O111、カンピロバクターの検査は、平成 24 年 5 月 30 日付食安発第 0530 第 1 号厚生労働省医薬食品局食品安全部長通知による“平成 24 年度食品の食中毒菌汚染実態調査実施要領”に従い、実施した。なお、岩手県、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、富山県、富山市、福井県、静岡県、静岡市、神戸市、岡山県、山口県、愛媛県、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 24 年 9 月から平成 24 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豚レバー、牛レバー及び鶏肉(ミ

ンチ、タタキ) の計 26 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±1°C で 22±2 時間前培養した。この培養液 1mL をダーラム管入り *Escherichia coli* broth に接種し、44.5±0.2°C で 24±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。IMViC については、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 連のデープウエルプレート・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 µL 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。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 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 µL

表1 各保健福祉（環境）事務所の検体搬入年月日

搬入日	搬入保健福祉（環境）事務所									総計
	筑紫	粕屋	宗像・遠賀	糸島	嘉徳・鞍手	田川	京築	北筑後	南筑後	
2012/9/24	12				6		12			30
2012/10/15						12		12	12	36
2012/10/29			12	13						25
2012/12/3		13			6					19
2012/12/10								2		2
総計	12	13	12	13	12	12	12	14	12	112

分注し判定した。同様に、VP 反応には、VP 試薬 1 を 100  $\mu$ L、VP 試薬 2 を 30  $\mu$ L 分注し、ピペッテングにて攪拌し反応後、判定した。

腸管出血性大腸菌 0157/026/0111 の検査は、平成 24 年 5 月 15 日付食安監発第 0515 第 1 号“腸管出血性大腸菌 026、0111 及び 0157 の検査法について”に従い、実施した。検体 25 g に mEC 培地を 225 mL 加え、ストマッカー処理した。培養後、アルカリ熱抽出法にて菌体 DNA を抽出し、PCR にてベロ毒素産生遺伝子を検出し、PCR 陽性検体について免疫磁気ビーズで腸管出血性大腸菌 0157、026、0111 を集菌した。分離培地としてはクロモアガー STEC 寒天培地のほか、0157 分離用に CT-SMAC 寒天培地を、026 分離用に CT-RMAC 寒天培地を、0111 分離用に CT-SBMAC 寒天培地を用い、検査を行った。

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 $\pm$ 1 $^{\circ}$ C で 22 $\pm$ 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 $\pm$ 0.5 $^{\circ}$ C で 22 $\pm$ 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 $\pm$ 1 $^{\circ}$ C で 22 $\pm$ 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 $\pm$ 1 $^{\circ}$ C で 22 $\pm$ 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（ステージ 2：作業部会案）の方法に従い、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 $\pm$ 1 $^{\circ}$ C 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 $\pm$ 1 $^{\circ}$ C 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 112 検体中 49 検体 (44%) から検出された。サルモネラは、鶏ミンチ肉 6 検体から検出された。その血清型は *Salmonella Infantis* と *S. Schwarzengrund* (2 検体)、*S. Schwarzengrund* (2 検体)、*S. Infantis* (1 検体) 及び *S. Manhattan* (1 検体) であった。

カンピロバクター・ジェジュニは鶏ミンチ肉 3 検体及び牛レバー 2 検体から検出され、カンピロバクター・コリは牛レバー 1 検体から検出された。腸管出血性大腸菌 0157/026/0111 はいずれの検体からも検出されなかった。しかし、牛サイコロステーキ 1 検体より OUT:H16 (ベロ毒素 2 遺伝子 (VT2)) が検出され、さらに豚レバー 1 検体より OUT (VT2, *stx*<sub>2e</sub>) 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 14 検体中 11 件 (79%)、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、14 検体中 13 件 (93%)、鶏タタキが 4 検体中 2 件、豚レバーが 2 検体中 2 件、牛肉 (ステーキ用) が 6 検体中 5 件、サイコロステーキが 8 検体中 6 件、馬刺しが 9 検体中 5 件、漬物が 9 検体中 2 件、カイワレ、もやし及びみつばが 1 検体中 1 検体、陽性であった。

### 文献

- 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.
- 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/salumonella\\_zokukinshikenhou.pdf](http://www.nihs.go.jp/fhm/kensa/sal/salumonella_zokukinshikenhou.pdf)，2012.

表2 食品の種類と検出された食中毒菌

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	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	4	1			
	カット野菜	6				
	きゅうり	5				
	白菜	3				
	トマト	6				
	ナス	1				
	レタス	5				
	アルファルファ	1				
	みつば	6	1			
	もやし	5	1			
	サラダ菜	1				
	大根	1				
	みずな	1				
	レッドキャベツスプラウト	1				
漬物	9	2				
獣鳥類の肉及び内臓	牛ミンチ	1	1			
	牛レバー	14	11	3 (ジェジュニ 2 件、コリ 1 件)		
	牛肉 (ステーキ用)	6	5			
	サイコロステーキ	8	6		1	OUT:H16(ベロ毒素2遺伝子 (VT2) )検出
	牛豚合挽ミンチ	4	4			
	豚ミンチ	4	3	3 (全てジェジュニ)		
	豚レバー	2	2		1	OUT (VT2, stx 2e) 検出
	鶏タタキ	4	2			
	鶏ミンチ	5	5	6		
	馬刺し	9	5			
計	112	49	6	6	0	2