

食品衛生指導のための食中毒菌の微生物学的検討

平松 佐穂・谷脇 妙・松本 紀子^{*1}・戸梶 彰彦^{*2}・絹田 美苗^{*3}・千屋 誠造

Microbiological examination of Food poisoning bacteria for Food hygiene guidance

Saho HIRAMATSU, Tae TANIWAKI, Noriko MATSUMOTO^{*1},
Akihiko TOKAZI^{*2}, Minae KINUTA^{*3} and Seizo CHIYA

【要旨】 食中毒予防のための衛生教育資料を作成するにあたり、その科学的根拠を明らかにするため、集団食中毒の上位原因物質であるサルモネラ、カンピロバクター並びに志賀毒素産生性大腸菌 (STEC) の3菌種を用いて、①加熱調理による菌数の変動を見る実験、②カンピロバクターのまな板上での生存動態を見る実験、③調理器具を様々な方法で洗浄し、その洗浄殺菌効果を見る実験、を行った。

結果、①については、原材料に混入している食中毒菌の死滅には十分な加熱が必要である、②については、カンピロバクターは湿潤状態で有機物などと共にあると、ある一定時間生存する、③については、菌量が多くなれば適切な洗浄殺菌を行わないと調理器具に菌が残留し、また洗浄に使用したスポンジにも菌が移行する、ことが判明した。

Key words : サルモネラ エンテリティディス、志賀毒素産生性大腸菌、カンピロバクター
Salmonella Enteritidis, Shiga toxin-producing *E.coli*, *Campylobacter*

I はじめに

当所では感染症発生动向調査における感染性胃腸炎の原因細菌検査として年間200件程度の検体を検査している¹⁾。この原因細菌と高知県内での集団食中毒事件における原因細菌²⁾を比較すると検出率が異なっていることから、感染症発生动向調査における検体の多くは家庭内での散発事例と考えられる。

原因菌としては *Campylobacter* や *Salmonella* が多数検出され、特に *Campylobacter jejuni* は平成17年度には原因細菌が検出された検体のうち70.1% (68/97検体)、平成18年度は54.9% (39/71検体) と高率に検出されており、しかも季節を問わず年間を通じて検出されている。

また、両菌とも集団食中毒の上位原因物質であり、食中毒を防止するにはこれらに対する対策が重要である。
(<http://www.mhlw.go.jp/topics/syokuchu/index.html>)

今回、保健所等で解りやすく実践可能な消費者等への衛生教育を実施するための「食中毒予防のための衛生教育資料」を作成するにあたって、その科学的根拠を明らかにするため、3系統の実験を行った。上記2菌種に志賀毒素産生性大腸菌 O157 を加えた3菌種を用い実験を行ったので、これについて報告する。

II 方法

1 加熱試験

(1) *Salmonella*

試料 (卵液300ml、牛乳50ml) に *Salmonella* Enteritidis (SE) を 2.4×10^4 /ml (少量添加分) 及び 1.5×10^6 /ml (多量添加分) となるように添加し、十分に加熱したオムレット及び半熟状態のオムレットを作成し、その中心温度、表面温度並びに菌数をMPN法にて測定した。

*1 高知県須崎福祉保健所

*2 高知県食肉衛生検査所

*3 高知県中央東福祉保健所

(2) 志賀毒素産生性大腸菌 (STEC) O157

ハンバーグのたね (牛豚合挽き肉480 g, 炒めた玉ネギ110 g, パン粉45 g, 牛乳45ml, 卵1個, 塩・コショウ適量) に $1.5\sim 4.6\times 10^6$ / gとなるようにSTEC O157を添加した重さ150 g, 厚さ3 cm×幅8 cmのハンバーグを作成し、加熱条件 (中心温度: 60℃, 70℃, 70℃ 5分, 75℃ 1分, 75℃ 5分, 75℃ 10分) を変えて焼き、その菌数をMPN法にて測定した。

2 生存試験

(1) プラスチック製まな板上での*Campylobacter jejuni* (*C. jejuni*) の動態

①水でぬらしたプラスチック製まな板に 1.5×10^6 / 10cm×10cmとなるように*C. jejuni*を塗布し、塗布直後、5分、15分、30分、1時間後に綿棒で菌を回収し、MPN法にて菌数を測定した。

②鶏もも肉に 2.4×10^4 / 10 gとなるように*C. jejuni*を添加し、それを水でぬらしたプラスチック製まな板及び乾いたプラスチック製まな板にそれぞれ接触させ、①と同様に塗布直後、5分、15分、30分、1時間、2時間後まで菌数の経時的変化を見た。

(2) ゆでほうれん草における*C. jejuni*保存試験

4.3×10^5 / 10cm×10cmの*C. jejuni*を塗布したプラスチック製まな板にゆでほうれん草を接触させ、その菌数をMPN法にて測定した。

また、この接触させたほうれん草を4℃と30℃で保存し、MPN法にて菌数の経時的変化 (6, 24, 48時間後) を見た。

3 洗浄効果試験

(1) *Salmonella*

卵液250 gに 3.6×10^4 / ml (少量添加分) 及び 1.5×10^6 / ml (多量添加分) となるようにSEを添加し、ボウルに注ぎ入れた。その後、卵液を除き、

- ①スポンジでのみ洗浄
- ②洗剤を使用してスポンジで洗浄
- ③洗浄はせず、次亜塩素酸Na (300倍希釈液) に浸漬

の3種類の方法で処理したボウル表面の菌数をMPN法でそれぞれ測定した。

また、洗浄に使用したスポンジの菌数も同様に測定した。

(2) *Campylobacter*

鶏もも肉に 3.8×10^3 / 10 gとなるように*C. jejuni*を添加し、プラスチック製まな板に1分間接触させた。その後、このまな板を

①水洗いのみ

②洗剤を使用してスポンジで洗浄

③洗剤つきスポンジで洗浄後、次亜塩素酸Na (300倍希釈液) に浸漬

④洗剤をつけたスポンジで洗浄後、熱湯消毒の4種類の方法で洗浄した後、まな板上の菌数をMPN法にて測定した。

III 結 果

1 加熱試験

(1) *Salmonella*

十分に加熱したオムレットの場合、少量添加分、多量添加分ともにSEは検出されなかった (10^4 / ml: 表面温度65℃, 中心温度85℃、 10^6 / ml: 表面温度73.5℃, 中心温度72℃)。

しかし、半熟状態で加熱をやめたオムレットの場合、少量添加分ではSEが検出されなかったが (表面温度80℃, 中心温度72℃)、多量添加分では9.3 / gのSEが検出された (表面温度79℃, 中心温度72℃)。

(2) 志賀毒素産生性大腸菌 (STEC) O157

$1.5\sim 4.6\times 10^6$ / gとなるようにSTEC O157をハンバーグたねに添加し、様々な温度条件で加熱した。その結果、中心温度60℃, 70℃, 70℃ 5分, 75℃ 1分では $10^5\sim 10^6$ 台 / gのO157が検出され、少し菌数を減らすのみであったが、75℃ 5分及び10分では検出されなかった (図1)。

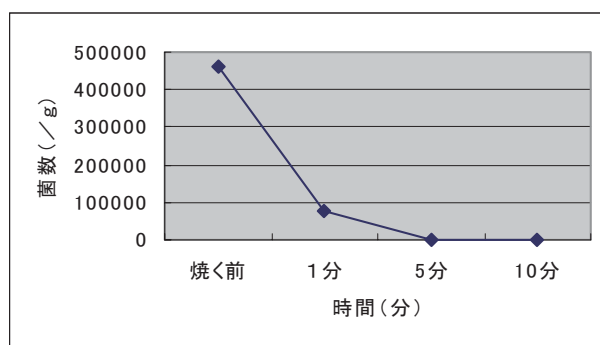


図1. STEC O157入りハンバーグを中心温度75℃で調理した時の菌数の経時的変化

2 生存試験

(1) プラスチック製まな板上での*Campylobacter jejuni* (*C. jejuni*) の動態

水でぬらしたプラスチック製まな板に*C. jejuni*の菌液のみ接種した場合、30分後には15 / 10cm×10cmと

なり、1時間後には検出されなかった(図2)。

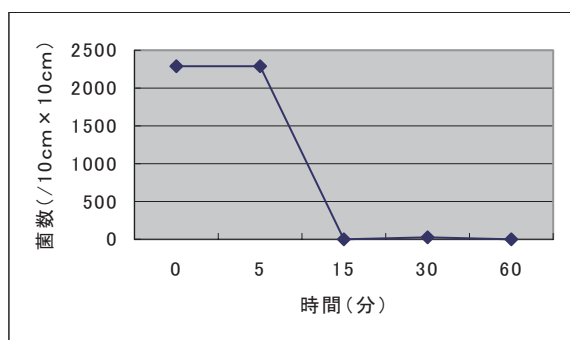


図2. まな板上での*C. jejuni*菌数の経時的変化(菌液を塗布した場合)

しかし、鶏もも肉に*C. jejuni*を添加しまな板に接触させた場合、水にぬらしたまな板では1時間後までほとんど菌数に変化がなく、2時間後にやっと検出されなくなった。乾いたまな板に*C. jejuni*添加鶏もも肉を接触した場合は、15分後に3.6/10cm×10cm、30分後に15/10cm×10cmと激減し、1時間後に検出されなくなった(図3)。

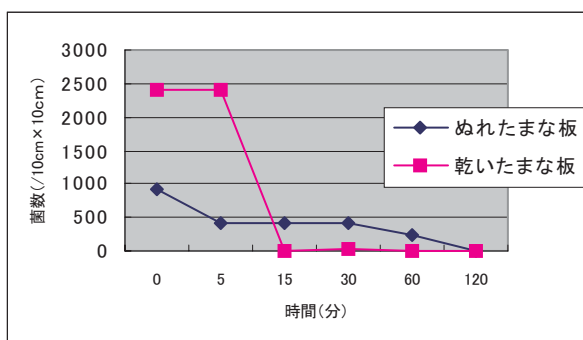


図3. まな板上での*C. jejuni*菌数の経時的変化(*C. jejuni*添加鶏肉をまな板に接触させた場合)

(2) ゆでほうれん草における*C. jejuni*保存試験

ゆでほうれん草にまな板上の*C. jejuni*を付着させて4℃及び30℃で保存し、菌の経時的変化を見た。その結果、4℃保存では43/gから若干菌数が減るものの、48時間後でも9.3/g検出された。また、30℃保存でも24時間後(7.5/g)まで検出された(図4)。

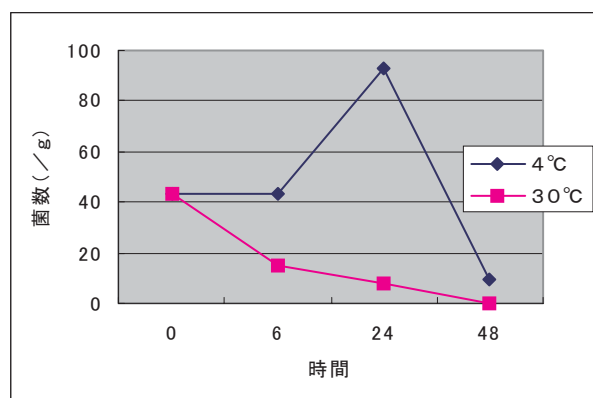


図4. *C. jejuni*に接触させたほうれん草の保存試験

3 洗浄効果試験

(1) *Salmonella*

10⁴/mlの卵液の場合、卵液を除いた後のボウルへは3.6×10⁴/ボウル 残留し、スポンジ洗い、洗剤洗い、次亜塩素酸Na浸漬ともにSEは検出されなかった。しかし、スポンジへは洗剤の有無にかかわらず10³台/スポンジ 程度移行していた。

10⁶/mlのSEを添加した卵液では、ボウルに9.3×10⁴/ボウル 残留し、スポンジ洗いでは43, 洗剤洗いでは430, 次亜塩素酸Na浸漬では93/ボウル 残留していた。次亜塩素酸Na浸漬での残留は、ボウルを洗浄しないまま直接次亜塩素酸Naに浸漬したため、有機物の存在により殺菌効果が下がったためと思われる。また、スポンジへは10⁵台/スポンジ 程度移行していた(表1)。

表1 *Salmonella*を使用した調理器具の洗浄効果試験結果

	10 ⁴ /mlの場合 (菌数)	10 ⁶ /mlの場合 (菌数)
初期菌量 (ボウル1個あたり)	36,000	9,300,000
スポンジ水洗い (ボウル1個あたり)	検出せず	43
→使用済みスポンジ (スポンジ1個あたり)	4,300	460,000
スポンジ洗剤洗い (ボウル1個あたり)	検出せず	430
→使用済みスポンジ (スポンジ1個あたり)	9,300	110,000以上
洗浄せず塩素消毒 (ボウル1個あたり)	検出せず	93

(2) *Campylobacter*

$3.8 \times 10^3 / 10\text{g}$ となるように *C. jejuni* を添加した鶏もも肉を水でぬらしたまな板に接触させると、 $2.4 \times 10^3 / 10\text{cm} \times 10\text{cm}$ 菌が移行していた。これを各条件で洗浄すると、水洗いのみでは $9.2 / 10\text{cm} \times 10\text{cm}$ と菌の残留が認められたが、洗剤洗い、次亜塩素酸Na浸漬、熱湯消毒では菌は検出されなかった。

IV 考 察

集団食中毒の上位原因物質であるSE、*C. jejuni* 並びに志賀毒素産生性大腸菌 (STEC) O157の3菌種を用いて実験を行った。

SE入りの卵液を使用した加熱試験では、十分に加熱したオムレツからはSEが検出されなかったが、半熟オムレツからはSEが検出された。また、O157入りハンバーグの加熱調理試験では様々な中心温度条件で加熱をし、その菌数の経時変化を見たが、中心温度75℃で5分間加熱すれば菌が死滅することが分かった。

以上のことより、原材料に混入している食中毒菌の死滅には十分な加熱が必要ということが分かった。

C. jejuni を使用したまな板上での生存動態を見る実験では、まな板へ菌液のみ接種した場合は1時間後に菌が検出されなかったものの、*C. jejuni* 添加鶏肉を接種した場合は2時間後でやっと菌が検出できなくなった。ただし、乾いたまな板上では1時間後に検出できなくなった。また、まな板に*C. jejuni* 菌液を塗布した部分へ接触させたゆでほうれん草の保存試験(4℃及び30℃)を行ったところ、4℃保存では48時間後でも菌が検出され、30℃でも24時間後まで検出された。

Campylobacter は乾燥に弱く、空気中では長く生存できない菌として知られているが、湿潤状態でなおかつ有機物などと一緒になった場合、長時間生存することが分かった。

SEを使用したボウルの洗浄試験では、卵液に $10^4 /$

ml添加した場合、スポンジ洗浄、洗剤付きのスポンジ洗浄、次亜塩素酸Na浸漬、全ての方法でボウルにSEは残留していなかったが、 $10^6 / \text{ml}$ 添加した場合はどの洗浄方法でも菌が残留していた。

しかし、洗浄に使用したスポンジへは洗剤の有無に関係なく菌が移行していた。また、*C. jejuni* 添加鶏肉を接触させたまな板の洗浄効果試験では水洗浄のみで菌が残留していたが、洗剤付きのスポンジ洗浄、次亜塩素酸Na浸漬、熱湯消毒、では菌が検出されなかった。

このようなことより、菌量が多くなれば適切な洗浄殺菌を行わないと調理器具に菌が残留することがわかった。また、SEを使用した試験結果から、洗浄に使用したスポンジに菌が多数移行することが立証され、洗浄器具の適正な管理も食中毒防止に重要であることが分かった。

以上の結果を踏まえ、一般家庭向けのチラシ並びに保健所等で使用するための衛生教育資料を作成し、県内各保健所へ配布するとともに、当所のホームページにもチラシ内容を掲載した。

(<http://www.kenkou.med.pref.kochi.lg.jp/eiken/>)

これらを講習会等で活用していくことで、今後の食中毒予防対策に寄与したい。

最後に、今回の調査研究に際してご協力いただきました中央東福祉保健所、中央西福祉保健所、須崎福祉保健所の方々に深謝いたします。

文 献

- 1) 高知県感染症発生動向調査部会、高知県感染症情報センター：高知県感染症発生動向調査事業報告第13号(平成17年1月～18年12月)
- 2) 高知県健康福祉部 食品・衛生課：食中毒事件調査報告書(平成17, 18年)