

市販食品の細菌汚染に関する研究 I - 黄色ブドウ球菌汚染について

三瓶 憲一 小岩井健司 内村真佐子 七山 悠三

Bacteriological Studies in Commercial Foods I - Contamination by *Staphylococcus aureus*

Kenichi SANBE, Kenji KOIWAI, Masako UCHIMURA and Yuuso NANAYAMA

I はじめに

近年、公衆衛生の進歩に伴い、赤痢などの消化器系伝染病は減少してきたが、その中にあって食中毒は厚生省が統計をはじめた1952年以後、その発件数にはほぼ横ばい状態を続けており¹⁾予防対策の難しさを痛感させられている。中でも黄色ブドウ球菌による食中毒は腸炎ピブリオに次いで多く、1962年に腸炎ピブリオによる食中毒が統計上に現われて以来、1975年まで腸炎ピブリオが常に1位であったが、翌1976年には黄色ブドウ球菌が1位と逆転し²⁾食品衛生上ますます重要な菌種となってきている。千葉県でもここ数年、全国的な傾向と同様で、1979年は腸炎ピブリオに次いで多く、17事例の発生をみている。(表1)

これまで黄色ブドウ球菌食中毒の疫学調査の1手段としては、コアグラセ型別が広く実施されており、その結果、食中毒事例から分離される*Sta. aureus*は特定のコアグラセ型に限られていることが明らかにされてきた³⁻⁵⁾。さらに、寺山⁶⁾により、これら特定のコアグラセ型に含まれる菌株のほとんどがA-Eのいずれかのエンテロトキシンを産生することが明らかにされている。

そこで著者らは、本食中毒においてしばしば原因食品となってきた食品を対象に、本食中毒発生予防の基礎資料にする目的で、本菌の汚染実態と、産生エンテロトキシンの有無、さらにそれらからの分離株についてエンテロトキシン産生性および型別を実施したので報告する。

表1. ブドウ球菌食中毒発生状況

No.	発 月	発 日	喫食 者数	発病 者数	原因の所在	原因食品	エンテロトキシン試験			1979年(千葉県)			
							*有無	毒素型	μg/g	推定原因食 SPC/g S. au/g	原因 S. aureus Coag 型 Ent 型		
1	1	15	4	4	中華飯店	中華料理	×				III		
2	"	30	3	3	そうざい 製造業	ハンバーグ	×				VII		
3	3	20	11	4	民 宿	レンコンの煮物	×				VIII		
4	4	24	9	9	菓子製造業	レーズンクリ ームサンド	×			1.3×10 ⁸	VII		
5	5	20	5	2	食料品店	幕の内弁当	×				VII		
6	"	22	4	4	飲食店	チキン弁当	×				VIII		
7	6	20	64	16	"	卵サンド	×				VII		
8	7	26	3	3	"	チキンロール	○	A	0.1		III	A	
9	8	6	17	17	パン製造業	草だんご	○	A	0.1		VII	A	
10	"	13	10	5	家 庭	おにぎり	×				III		
11	"	13	14	5	"	"	×				VII		
12	"	14	96	38	飲食店	厚焼き卵	○	A	0.1		2.0×10 ⁷	VII	A
13	"	16	6	6	家 庭	おにぎり	○	A	0.1			VII	A
14	"	19	7	4	"	"	×				VII		
15	"	26	65	20	"	卵まき寿司	○	A	0.1			III	A
16	9	3	2	1	菓子製造業	串だんご	○					VII	A
17	"	24	9	6	パン製造業	おはぎ	○	A	0.1			VII	A
			329	(44.7%) 147									

*実施したもの○, しなかったもの×

(第3回千葉県臨床衛生検査学会, 1981, 千葉)

II 材料および方法

1. 材料

1979年に千葉県で発生した本食中毒の推定原因食品上位3者(おにぎり, だんご, 卵焼き)を対象とし, 毎月1回, 各5検体, 計15検体を小売店頭より取去し検査に供した。調査期間は本食中毒がこれまでに多発した時期にあわせ, 1980年5月~10月とした。食品は取去後, 直ちに冷蔵し検査に供した。検査項目は黄色ブドウ球菌数, セレウス菌数, 一般生菌数, 大腸菌群数とし, さらに, エンテロトキシン産生の有無も同時に実施した。

2. 方法

材料10gを滅菌生理食塩水で10倍乳剤とし, 以下10段階希釈を行なった。各段階の0.1mlを卵黄加マンニット食塩培地, NGKG 寒天培地各2枚に注入し, コンラージ棒で塗抹後, 前者は37℃, 48時間, 後者は30℃, 18時間培養した。黄色ブドウ球菌, セレウス菌は, それぞれ特徴のあるコロニーを各平板から3個ずつ釣菌した。分離株の同定は, 微生物検査必携⁶⁾に準拠した。エンテロトキシンの食品からの検出と, 分離株についてのエンテロトキシン産生性および型別試験は, 五十嵐ら⁷⁾の方法により実施した。コアグラ-ゼ型別およびエンテロトキシン検出用, RPHA キットは東芝化学の試薬を使用した。一般生菌数, 大腸菌群数は食品衛生検査指針⁸⁾に準拠して行なった。

III 成績

1. 市販食品からの *Sta. aureus* 検出状況

各食品の汚染状況を表2に示す。検査総数81件中, 10²個/g以上検出されたのは12件(14.8%)であった。品目別では, だんごの汚染が最も高く, 25.0%, おにぎり13.3%, 卵焼き4.3%の順であった。食品1g中の黄色ブドウ球菌数は表2のとおりで, 10²個が6件, 10³個が4件, 10⁴が2件であった。

表2. 市販食品からの *S. aureus* 検出状況

検体名	検体数	S. aureus 数 (1g中)				陽性数(%)
		<10 ²	10 ²	10 ³	10 ⁴	
だんご	28	21	2	3	$\frac{2}{1}$	7(25.0)
おにぎり	30	26	$\frac{4}{1}$			4(13.3)
卵焼き	23	22		1		1(4.3)
計	81	69	6	4	2	12(14.8)

注) () 内は *B. cereus* 菌陽性数を示す。

2. 分離株のコアグラ-ゼ型と月別分離状況

各食品由来のコアグラ-ゼ型と月別分離状況を表3に示す。月別では6, 7, 8月に多く分離されており, 分離株のコアグラ-ゼ型は5種類に型別された。このうちII, III, VII型はしばしば食中毒の原因食品から分離される。

表3. コアグラ-ゼ型と月別分離状況

コアグラ-ゼ型	S. 55. 5 ~ 10月						計
	5	6	7	8	9	10(月)	
I							0
II		1	2	1			4
III		1	1				2
IV				2			2
V			1		1		2
VI							0
VII		1				1	2
VIII							0
計	0	3	4	3	1	1	12

3. 市販食品由来 *Sta. aureus* のコアグラ-ゼ型と産生エンテロトキシンとの関係

市販食品由来株について, エンテロトキシン産生と型別を試みたところ, 12株中, 6株(50%)に産生が確認され型別された。(表4)毒素型は, A, B, C, ABの4種類であった。コアグラ-ゼ型と毒素型との関係は, 型別された株数が少ないため, 明らかに出来なかった。

表4. コアグラ-ゼ型とエンテロトキシン型

コアグラ-ゼ型	菌株数	エンテロトキシン産生株数				型別不能
		A	B	C	AB	
I						
II	4			1		3
III	2	2				
IV	2					2
V	2		2			
VI						
VII	2				1	1
VIII						
計	12	2	2	1	1	6

4. 市販食品からのエンテロトキシンの検出

81検体すべてについて, その10倍乳剤につき, エンテロトキシン産生の有無と型別を実施したが, すべて陰性であった。

5. 市販食品からの *B. cereus* 検出状況

市販食品からの *B. cereus* 検出状況を表2に〔 〕で示した。検出されたのは、わずかに2検体のみ(2/81, 2.5%)と少なかった。

6. 一般生菌数および大腸菌群数

(1) 一般生菌数

表5のとおり、おにぎり、だんご、卵焼きともに300/g以下から $10^6 \sim 10^8$ /gの広範囲にわたっており、おにぎり>だんご>卵焼きの傾向が見られた。

表5. 市販食品における一般生菌数の分布

検体名	検体数	一般生菌数 (1g中)							
		<300	10^2	10^3	10^4	10^5	10^6	10^7	10^8
おにぎり	30	3	3	6	3	6	8	1	
だんご	28	4	1	3	2	5	7	6	
卵焼き	23	5	1	5	5	3	4		
計	81	12	2	11	13	11	17	14	1

(2) 大腸菌群数

一般生菌数に較べ、品目による菌数の差は著しい。 $300/g$ 以下が全体では41/81, 50.6%と約半数を占める。ここでも卵焼きの汚染度は最も低かった。(表6)

表6. 市販食品における大腸菌群数の分布

検体名	検体数	大腸菌群数 (1g中)						
		<300	10^2	10^3	10^4	10^5	10^6	10^7
おにぎり	30	10	1	5	5	3	5	1
だんご	28	16		6	2	2	2	
卵焼き	23	15	2	4	2			
計	81	41	3	15	9	5	7	1

7. 黄色ブドウ球菌が検出された検体の一般生菌数と大腸菌群数

黄色ブドウ球菌が $10^2/g$ 以上検出された食品の一般生菌数と大腸菌群数を表7に示す。大腸菌群数では $10^3/g$ に、一般生菌数では $10^6 \sim 10^7/g$ に集積が見られた。

表7. *S. aureus* 陽性食品の一般生菌数と大腸菌群数

	<300	10^2	10^3	10^4	10^5	10^6	10^7	10^8
一般生菌数	1		1	1	3	6		
大腸菌群数	2	1	5	1	1	2		

IV 考察

黄色ブドウ球菌による食中毒予防の基礎資料にする目的で、1979年に県内で発生した本食中毒の推定原因食品中、上位3者(おにぎり、だんご、卵焼き)について、市販食品を取去し汚染実態を調査した。おにぎりは家庭で作ったものを喫食したことによる事例が多いものの、これを検査対象とするのは難しいところから、市販のおにぎりを対象とした。

その結果、市販食品の14.8%から *Sta. aureus* が検出された。通常本食中毒は *Sta. aureus* が $10^6/g$ 以上存在する食品により発生していることを寺山は指摘しているが⁹⁾、このことからすると、陽性の結果を得た供試食品は、店頭段階では、やや安全とも言えるが、これらの食品が菌の増殖に適した状況に放置されるなら、菌数が容易に発症量に達することは明らかであり、危険な状態にある。自然界に広く分布する本菌を食品から遮断することは不可能としても、菌数を出来るだけ少なく保ち、増殖させない努力が必要である。

黄色ブドウ球菌食中毒は、本菌が食品中で増殖し、それが産生した毒素を含んだ食品を喫食することによりおこることが明らかにされている⁷⁾。本菌が増殖した後で加熱された食品では、菌は死滅しても食中毒を起こし得ることは十分考えられることである。そこで、本菌に汚染された凍結液卵が使用される可能性が推察される厚焼き卵等を中心に、おにぎり、だんごについてもエンテロトキシンの存在の有無を調査した。しかし、今回の調査では、全く検出されなかった。液卵の細菌汚染の現状については、最近では大野により報告されており¹⁰⁾、液卵27検体中、13検体からブドウ球菌を分離している。本菌に汚染された液卵の処理、保存いかんでは本食中毒の原因となり得ることも予想される。卵を使用する菓子、そう菜等に大量に使用され、その経済性の点からも、今後、使用の増大が予想されることから、液卵の使用およびこれらを使用した食品については、本菌の汚染に加えて、産生毒素についても注意が必要と思われる。

本食中毒の原因となる *S. aureus* は、コアグラーゼII, III, VI, VII型に限られることが、ブドウ球菌エンテロトキシン研究会の報告⁹⁾からも明らかにされているが、今回の調査でも、II, III, VII型が分離株の多くを占める(8/12, 66.7%)ことから、以後の取り扱いには十分な注意が必要と思われる。

V まとめ

1. 市販食品からの *S. aureus* の検出率は14.8%であった。

食品別では、だんご、25.0%、おにぎり、13.3%、卵焼き、4.3%であった。

2. 市販食品由来株のコアグラージェ型は、供試した12株すべてが型別され、II, III, IV, V, VII型であった。特定の型への集積は見られず、調査期間（5月～10月）中の6, 7, 8月に多く分離された。

3. 市販食品由来株の毒素型は、供試した12株の50%が型別され、A, 2株, B, 2株, C, 1株, AB, 1株であった。

4. 市販食品からのエンテロトキシンの検出は、全て陰性であった。

5. 市販食品からの *B. cereus* の検出は、81検体のうち、2検体（2/18, 2.5%）と少なかった。しかし、これらが、*S. aureus* が検出された食品からの分離であることは注目される。

6. 市販食品中の一般生菌数と大腸菌群数は、品目により異なるものの、300/g以下～ 10^8 /gの広範囲に分布し、おにぎり>だんご>卵焼きの傾向が見られた。

7. *S. aureus* が検出された食品からは、一般生菌数が 10^6 ～ 10^7 /g 検出されるものが多かった。

稿を終るにあたり、食品の取去に協力いただいた、中央保健所、食品衛生課、北村忠夫技師、西田幸廣技師、井上正二技師に深謝いたします。

文献

- 1) 厚生省：厚生指標、特集号、国民衛生の傾向、166, 1979.
- 2) 厚生省：厚生指標、特集号、国民衛生の動向、272-275, 1979.
- 3) 寺山 武, 潮田 弘, 新垣正夫, 稲葉美佐子, 甲斐明美, 坂井千三：最近10年間に東京都で発生したブドウ球菌食中毒原因菌のコアグラージェ型と原因食品, 東京衛研年報, 28-1, 1-4, 1977.
- 4) ブドウ球菌エンテロトキシン研究会：ブドウ球菌食中毒におけるエンテロトキシン検査および原因菌の型別成績, 食品衛生研究, 31(3), 37-45, 1981.
- 5) 寺山 武：ブドウ球菌による食中毒と毒素, 臨床と細菌, 7(3), 67-75, 1980.
- 6) 厚生省監修：微生物検査必携, 日本公衆衛生協会, 1978.
- 7) 五十嵐英夫, 山田澄夫, 寺山 武：食品中のブドウ球菌エンテロトキシンの簡易迅速検出法, モダンメディア, 24(10), 519-528, 1978.
- 8) 厚生省監修：食品衛生検査指針I, 日本食品衛生協会, 1973.
- 9) 寺山 武：食中毒におけるブドウ球菌の検査, メディアサークル, 23(10), 25-34, 1978.
- 10) 大野 茂：液卵処理施設の現状と細菌汚染について, 日本公衆衛生雑誌, 24(10), 643, 1977.