

査結果

野菜の一般細菌数検査を5施設で実施した1,050検体の調査成績を示した(表6~10および図8)。

a. 野菜の一般細菌数汚染

野菜の一般細菌数汚染は、全体では $<10^2$ ~ 10^8 CFU/gと検体により様々な結果を示した。野菜の汚染菌数の分布は、1,050検体中 $<10^2$ CFU/g: 42検体(4.0%), $\geq 10^2$ CFU/g: 29検体(2.8%), $\geq 10^3$ CFU/g: 61検体(5.8%), $\geq 10^4$ CFU/g: 120検体(11.4%), $\geq 10^5$ CFU/g: 207検体(19.7%), $\geq 10^6$ CFU/g: 391検体(37.2%), $\geq 10^7$ CFU/g: 203検体(19.3%), $\geq 10^8$ CFU/g: 7検体(0.7%)であり、検査した野菜の約60%が 10^6 CFU/g以上のレベルであった。特に一般細菌数汚染の多い野菜(10^8 CFU/g)は、モヤシ、包菜、ニラ、ルッコラ、豆苗およびモロヘイヤであった。また、汚染菌数の少ないものは、ミニトマト、やまといも、いちご、にんにく、レタス、サニーレタス、サラダ菜、パセリおよび食用菊であった。しかし、これらの野菜は本当に汚染菌数が少ないのか、野菜に含まれる抗菌性物質(イソチアネート、アラリカラシ油他)や何らかの薬剤処理(ポストハーベスト等)のために菌が検出できないのかは現在のところ不明である。

b. 野菜の大腸菌汚染

野菜の大腸菌は、1,050検体中116検体(11.1%)に検出された。大腸菌の検出された野菜は27種類であった(表6~10)。その内訳は、オクラ、もやし、みつば、おおば、クレソン、ほうれん草、ミニトマト、グリーンリーフ、貝割れ大根、紅蓼、チシャトー、サニーレタス、ながいも、ほうれん草、ミニトマト、セロリ、あさずき、オクラ、サラダ菜、マッシュルーム、エシャレット、包菜、ズッキーニ、パセリ、春菊、もやし、みつば

等である。その中でも特に大腸菌汚染率が高かった野菜は、もやし、オクラ、あさつきおよびミニトマトであった。大腸菌が検出された野菜の中では、もやしはどの産地のものでも大腸菌は高く、一般細菌数も多くに検出されたが、O157の検出系で大腸菌が検出されることはなかった。

c. 主な野菜の一般細菌数と大腸菌汚染

主な野菜の一般細菌数と大腸菌汚染を調べ、以下の結果を得た(表12~25, 表28)。

c- 1 もやし

もやしの一般細菌数は、 10^6 CFU/g~ 10^8 CFU/gの範囲であり大部分は 10^7 CFU/g以上であった。大腸菌は46検体中32検体(69.6%)に検出された。また、大腸菌汚染の産地別の特徴(偏り)はみられなかった(表12)。

c- 2 ミニトマト

ミニトマトの一般細菌数は、 $<10^2$ ~ 10^7 CFU/gの範囲であり大部分は 10^3 CFU/g以上であった。大腸菌は58検体中5検体(8.6%)に検出された。また、大腸菌汚染の産地別の特徴(偏り)はみられなかった(表13)。

c- 3 おおば

おおばの一般細菌数は、 10^5 ~ 10^7 CFU/gの範囲であり大部分は 10^6 CFU/g以上であった。大腸菌は33検体中6検体(18.1%)に検出された。また、大腸菌汚染の産地別の特徴(偏り)がみられ、愛知県豊橋市産のみから検出された(表14)。

c- 4 モロヘイヤ

モロヘイヤの一般細菌数は、 10^5 ~ 10^8 CFU/gの範囲であり大部分は 10^6 CFU/g以上であった。大腸菌は16検体中1検体(6.3%)に検出された。また、大腸菌汚染の産地別の特徴(偏り)はモロヘイヤの産地のほとんどが今回は沖縄県であったため不明である(表15)。

c- 5 セロリ

セロリの一般細菌数は、 $10^4 \sim 10^7$ CFU/gの範囲であり大部分は $10^5 \sim 10^6$ CFU/gであった。大腸菌は37検体中検出されなかった(表16)。

c-6 クレソン

クレソンの一般細菌数は、 $10^5 \sim 10^7$ CFU/gの範囲であり大部分は 10^6 CFU/g以上であった。大腸菌は28中8体(28.6%)に検出された。また、大腸菌汚染の産地別の特徴(偏り)がみられ、静岡県産のみから検出された(表17)。

c-7 みつば

みつばの一般細菌数は、 $10^5 \sim 10^7$ CFU/gの範囲であり大部分は 10^6 CFU/g以上であった。大腸菌は39検体中3検体(7.7%)に検出された。また、大腸菌汚染の産地別の特徴(偏り)はみられなかった(表18)。

c-8 ほうれん草

ほうれん草の一般細菌数は、 $10^4 \sim 10^7$ CFU/gの範囲であり大部分は 10^5 CFU/g以上であった。大腸菌は43検体中7検体(16.3%)に検出された。また、大腸菌汚染の産地別の特徴(偏り)がみられ、茨城、埼玉県から検出された(表19)。

c-9 ルッコラ

ルッコラの一般細菌数は、 $10^4 \sim 10^8$ CFU/gの範囲であり大部分は 10^6 CFU/g以上であった。大腸菌は28検体中検出されなかった(表20)。

c-10 サニーレタス

サニーレタスの一般細菌数は、 $<10^2 \sim 10^7$ CFU/gの範囲であり大部分は 10^4 CFU/g以上であった。大腸菌は39検体中1検体(2.6%)に検出された。また、大腸菌汚染の産地別の特徴(偏り)は陽性検体が1検体のため分からなかった(表20)。

c-11 サラダ菜類(サラダ菜, 包菜, チシャト, サンチュ, グリーンレタス)

サラダ菜類の一般細菌数は、 $10^3 \sim 10^7$ CFU/gの範囲であり大部分は 10^5 CFU/g以上

であった。大腸菌は65検体中6検体(9.2%)に検出された。また、大腸菌汚染の産地別の特徴(偏り)がみられ、新潟、愛知、茨城県から検出された(表19)。

c-12 オクラ

オクラの一般細菌数は、 $10^5 \sim 10^7$ CFU/gの範囲であり大部分は 10^6 CFU/g以上であった。大腸菌は18検体中12検体(66.7%)と高率に検出された。また、大腸菌汚染の産地別の特徴(偏り)としては、フィリピンおよびタイ産から検出されたことである(表23)。しかし、今回検査に供したオクラは、すべてがフィリピンとタイ産であったため、偏りがあるかどうかは不明である。

c-13 パセリ

パセリの一般細菌数は、 $10^4 \sim 10^7$ CFU/gの範囲であり大部分は 10^5 CFU/g以上であった。大腸菌は22検体中1検体(4.6%)に検出された。また、大腸菌汚染の産地別の特徴(偏り)は陽性検体が1検体のため分からなかった(表24)。

c-14 イチゴ

イチゴの一般細菌数は、 $<10^2 \sim 10^5$ CFU/gの範囲であり大部分は 10^2 CFU/g以上であった。大腸菌は40検体中検出されなかった(表25)。

5) 野菜の腸管出血性大腸菌O157ならびにサルモネラ汚染実態

今回新たに考案した腸管出血性大腸菌O157ならびにサルモネラを効率よく検出する検査法を用いて種々の野菜1,050検体について腸管出血性大腸菌O157およびサルモネラ汚染を調べた結果、両菌共に検出されなかった(表6~10)。しかし、アイアフォス自動ビーズELISA法とNOW EH E.coli O157イムノクロマト法において陽性と判断される結果が得られた。アイアフォス自動ビーズELISA法で腸管出血性大腸菌O157陽性と判定された野菜は、みつば、おおば、

わけぎ、ほうれん草、セロリ、クレソンおよびモロヘイヤの7種類である(表26)。サルモネラ陽性と判定された野菜は、ミニトマト、サニーレタス、やまいもの3種類である。NOWEH E.coli O157イムノクロマト法で腸管出血性大腸菌O157陽性と判定された野菜は、ルッコラとセロリであった(表7)。しかし、これらの結果が真実であるか偽りの陽性(false positive)であるかは、菌が検出できないので現在のところ不明であるが、これらの試験法で陽性と判断された時の微生物叢中には *Citrobacter freundii*, *Citrobacter diversus* および *Citrobacter* spp. が存在していた。

以上、今回は主に1-3月にかけての調査であったので、一般細菌数汚染は少ない傾向にあった。国立衛研では一部10月に検討を行っていたので、そのときの調査成績と同じ種類の野菜を比較すると1月に行った検査では10月の調査成績に比べ100分の1になっていることがわかった。このことから、微生物汚染ならびに汚染菌数高くなる夏場に実態調査を再度実施することが必要であると思われる。

全体として、この今回実施した検出系では腸管出血性大腸菌O157とサルモネラ菌数は検体25g中に菌が3-5個あれば必ず検出可能な方法であるので、冬場の調査時点では、検査した野菜中の両病原菌汚染数は少なくとも25g中3個以下であるものと推察される。

6) 肥料中の腸管出血性大腸菌O157ならびにサルモネラ汚染実態

農産物に使用される肥料中の腸管出血性大腸菌O157ならびにサルモネラ汚染を調べるため、食肉センター2施設{長岡食肉センター(A施設)、下越食肉センター(B施設)}で製造された肥料(製造工程1, 2, 3, 4, 5, 6)を用いて調査した。

a. 腸管出血性大腸菌O157の汚染実態

新しく考案した一括増菌法を用いた検査では、2施設(69検体)すべて腸管出血性大腸菌O157は検出・分離されなかった。しかし、イムノクロマト法では陽性と判定された検体がみられた(表27)。イムノクロマト法で陽性になった検体については詳細な菌分離を実施したが、腸管出血性大腸菌O157は検出・分離されなかった。

b. サルモネラの汚染実態

サルモネラ汚染は、A施設の肥料のみにもみられた。その汚染率は、肥料製造工程(未発酵堆肥から製品にいたる工程)から採取した51検体中35検体(68.6%)であった。その汚染菌量は、肥料100g中<3~1,100個(1g中0.03~11個)で病原菌汚染菌量としてはかなり高い菌数汚染がみられた。検出されたサルモネラの血清型は、O4およびO3,10(*Salmonella* Muenster, *Salmonella* Brandenburg, *Salmonella* Derby)であった(表27)。

A施設の肥料製造方法は、堆肥を発酵させる発酵舎(第1舎から第6舎)を堆肥が3~4日間で移動し、約3週間で製品となる。すなわち、家畜の糞便と敷き藁に食肉センターから排出・沈殿した汚泥は、EM菌(Effective Microorganisms)をふりかけられた後、第1舎(3~4日間)で発酵される。次いで第2舎、第3舎と3~4日間の間隔で発酵され、約3週間後に第6舎で製品となる。その間、ブルトナーにより切り返し(混ぜ合わせ)が毎日行われている。このようにして製造される各工程から採取された検体すべてからサルモネラが検出された。このことは、発酵工程を経ても病原菌は生残することを意味しており、これらの肥料が氷耕栽培やビニール栽培および一般的な露地栽培用に利用され収穫された野菜は病原菌に汚染されている可能性があると考えられる。したがって、今

後は安全な堆肥製造技術を検討する必要があると思われる。

4. 結論

農産物の病原菌汚染実態を明らかにすることを目的として、今年度は農産物中の腸管出血性大腸菌O157およびサルモネラを簡易・迅速・正確に検出することのできる検査法を確立し、その検査法を用いて今まで知られていなかった各種農産物のこれら病原菌の汚染実態調査研究を行い、以下の結論を得た。

- 1) 新たに考案した腸管出血性大腸菌O157試験法（一括増菌培養法）は、厚生省改良法と同等に腸管出血性大腸菌O157を検出できることがわかった。
- 2) 新たに考案したサルモネラ試験法（一括増菌培養法）は、従来法（EEM→SBG）に比べ検出率で優れていることがわかった。
- 3) BPWで増菌する一括増菌培養法は、同一検体から腸管出血性大腸菌O157とサルモネラを効率よく検出することができた。
- 4) 野菜の一般細菌数汚染は、1,050検体中 $<10^2$ CFU/g：42検体（4.0%）、 $\geq 10^2$ CFU/g：29検体（2.8%）、 $\geq 10^3$ CFU/g：61検体（5.8%）、 $\geq 10^4$ CFU/g：120検体（11.4%）、 $\geq 10^5$ CFU/g：207検体（19.7%）、 $\geq 10^6$ CFU/g：391検体（37.2%）、 $\geq 10^7$ CFU/g：203検体（19.3%）、 $\geq 10^8$ CFU/g：7検体（0.7%）であり、検査した野菜の約60%が 10^4 CFU/g以上であった。特に一般細菌数汚染の多い野菜（ 10^4 CFU/g）は、モヤシ、包菜、ニラ、ルッコラ、豆苗およびモロヘイヤであった。
- 5) 大腸菌の検出された野菜は27種類あり、汚染の程度は1,050検体中116検体（11.1%）に検出された。その中でも特に大腸菌汚染率が高かった野菜は、もやし、オクラ、あさつきおよびミニトマトであった。
- 6) 野菜1,050検体について腸管出血性大腸菌O157およびサルモネラ汚染を調べた結果、

両菌種ともに検出されなかった。

- 7) 農産物に使用される肥料中の腸管出血性大腸菌O157ならびにサルモネラ汚染を調べた結果、腸管出血性大腸菌O157は検出されなかったが、サルモネラ汚染は、51検体中35検体（68.6%）に検出され、その汚染菌量は、肥料100g中 $<3\sim 1,100$ 個（1g中0.03 \sim 11個）で病原菌汚染菌量としてはかなり高いものもみられた。

以上、調査した農産物からは腸管出血性大腸菌O157およびサルモネラは検出されなかった。しかし、今回の調査は微生物学的に問題の少ない冬期の調査結果であるため、夏期における汚染実態調査が必要である。大腸菌汚染のみられた野菜については、定量試験を行う必要がある。また、肥料からサルモネラが多量に検出されたことから、これら病原菌に汚染された肥料が水耕栽培、ビニール栽培および路地栽培に用いられた時に病原菌が野菜に汚染していくのかどうかの挙動を調べる必要があると考える。

わが国では、カイワレ、メロン、オカカサラダ、レタスサラダ、ポテトサラダおよびキャベツサラダといった農作物を含む食材によって健康被害が発生している。また、欧米諸国でもレタス、アルファルファなどの生野菜やアップルジュースといった今まであまり問題にされていなかった農産物が腸管出血性大腸菌O157やサルモネラ食中毒の原因食品として疑われ、その危険性が指摘されている。しかし、その実態は明らかでないことから、各種農産物の病原菌汚染実態を明らかにすることが急務である。しかしながら、農産物から腸管出血性大腸菌O157やサルモネラを簡易・迅速に、しかも効率よく検出する試験法は確立されていない。そこで、農産物中の腸管出血性大腸菌O157やサルモネラを簡易・迅速・正確に検出することのできる検査法を確立し、その検査法を用いて今まで知られていなかった各種農産物の病原菌汚染実態を明

らかにするために調査研究を行い、以下の結果を得た。

2. 調査方法

農産物中の腸管出血性大腸菌O157 やサルモネラを簡易・迅速・正確に検出することのできる検査法を確立した後、市場あるいは販売店で購入した野菜・果物類29種類について、一般細菌数、大腸菌、腸管出血性大腸菌O157 およびサルモネラ検出試験を行った。

3. 結果および考察

a. 野菜の一般細菌数汚染は、全体では $<10^2$ ~ 10^8 CFU/g と検体により様々な結果を示した。野菜の汚染菌数の分布は、1,050 検体中 $<10^2$ CFU/g: 42 検体 (4.0%), $\geq 10^2$ CFU/g: 29 検体 (2.8%), $\geq 10^3$ CFU/g: 61 検体 (5.8%), $\geq 10^4$ CFU/g: 120 検体 (11.4%), $\geq 10^5$ CFU/g: 207 検体 (19.7%), $\geq 10^6$ CFU/g: 391 検体 (37.2%), $\geq 10^7$ CFU/g: 203 検体 (19.3%), $\geq 10^8$ CFU/g: 7 検体 (0.7%) であり、検査した野菜の約 60%が 10^6 CFU/g 以上のレベルであった。特に一般細菌数汚染の多い野菜 (10^8 CFU/g)は、モヤシ、包菜、ニラ、ルッコラ、豆苗およびモロヘイヤであった。

b. 野菜の大腸菌汚染は、1,050 検体中 116 検体(11.1%)に検出された。大腸菌の検出された野菜は 27 種類であった。その内訳は、オクラ、もやし、みつば、おおば、クレソン、ほうれん草、ミニトマト、グリーンリーフ、貝割れ大根、紅蓼、チシャト、サニーレタス、ながいも、ほうれん草、ミニトマト、セロリ、あさぎき、オクラ、サラダ菜、マッシュルーム、エシャレット、包菜、ズッキーニ、パセリ、春菊、もやし、みつば等である。その中でも特に大腸菌汚染率が高かった野菜は、もやし、オクラ、あさぎきおよびミニトマトであった。

c. 野菜の腸管出血性大腸菌O157 ならびにサルモネラ汚染実態

今回新たに考案した腸管出血性大腸菌O157 ならびにサルモネラを効率よく検出する検査法を用いて種々の野菜 1,050 検体について腸管出血性大腸菌O157 およびサルモネラ汚染を調べた結果、両菌共に検出されなかった。しかし、アイアフォス自動ビーズELISA法とNOW EH E.coli O157 イムノクロマト法において陽性と判断される結果が得られた。

以上、今回は主に1-3月にかけての調査であったので、一般細菌数汚染は少ない傾向にあった。国立衛研では一部10月に検討を行っていたので、そのときの調査成績と同じ種類の野菜を比較すると1月に行った検査では10月の調査成績に比べ100分の1になっていることがわかった。このことから、微生物汚染ならびに汚染菌数高くなる夏場に実態調査を再度実施することが必要であると思われる。全体として、この今回実施した検出系では腸管出血性大腸菌O157 とサルモネラ菌数は検体 25g 中に菌が3-5個あれば必ず検出可能な方法であるので、冬場の調査時点では、検査した野菜中の両病原菌汚染数は少なくとも25g中3個以下であるものと推察される。

d. 肥料中の腸管出血性大腸菌O157 ならびにサルモネラ汚染実態

農産物に使用される肥料中(速成肥料)の腸管出血性大腸菌O157 ならびにサルモネラ汚染を調べたところ、腸管出血性大腸菌O157 は検出・分離されなかったが、サルモネラが検出された。その汚染率は、肥料製造工程(未発酵堆肥から製品にいたる工程)から採取した51検体中35検体(68.6%)であった。その汚染菌量は、肥料100g中 <3 ~1,100個(1g中0.03~11個)で病原菌汚染菌量としてはかなり高い

菌数汚染がみられた。

4. 結論

農産物の病原菌汚染実態を明らかにすることを目的として、今年度は農産物中の腸管出血性大腸菌O157 およびサルモネラを簡易・迅速・正確に検出することのできる検査法を確立し、その検査法を用いて今まで知られていなかった各種農産物のこれら病原菌の汚染実態調査研究を行い、以下の結論を得た。

- 1) 新たに考案した腸管出血性大腸菌O157 試験法（一括増菌培養法）は、厚生省改良法と同等に腸管出血性大腸菌O157 を検出できることがわかった。
- 2) 新たに考案したサルモネラ試験法（一括増菌培養法）は、従来法（EEM→SBG）に比べ検出率で優れていることがわかった。
- 3) BPWで増菌する一括増菌培養法は、同一検体から腸管出血性大腸菌O157 とサルモネラを効率よく検出することができた。
- 4) 野菜の一般細菌数汚染は、1,050 検体中 $<10^4$ CFU/g : 42 検体 (4.0%), $\geq 10^4$ CFU/g : 29 検体 (2.8%), $\geq 10^5$ CFU/g : 61 検体 (5.8%), $\geq 10^6$ CFU/g : 120 検体 (11.4%), $\geq 10^7$ CFU/g : 207 検体 (19.7%), $\geq 10^8$ CFU/g : 391 検体 (37.2%), $\geq 10^9$ CFU/g : 203 検体 (19.3%), $\geq 10^{10}$ CFU/g : 7 検体 (0.7%) であり、検査した野菜の約 60% が 10^4 CFU/g 以上であった。特に一般細菌数汚染の多い野菜(10^4 CFU/g)は、モヤシ、包菜、ニラ、ルッコラ、豆苗およびモロヘイヤであった。
- 5) 大腸菌の検出された野菜は 27 種類あり、汚染の程度は 1,050 検体中 116 検体 (11.1%)に検出された。中でも特に大腸菌汚染率が高かった野菜は、もやし、オクラ、あさつきおよびミニトマトであった。
- 6) 野菜 1,050 検体について腸管出血性大腸菌O157 およびサルモネラ汚染を調べた結果、両菌種ともに検出されなかった。
- 7) 農産物に使用される肥料中の腸管出血性大腸菌O157 ならびにサルモネラ汚染を調べた結果、腸管出血性大腸菌O157 は検出されなかったが、サルモネラ汚染は、51 検体中 35 検体 (68.6%) に検出され、その汚染菌量は、肥料 100g 中 $<3 \sim 1,100$ 個 (1g 中 0.03~11 個) で病原菌汚染菌量としてはかなり高いものもみられた。

以上、調査した農産物からは腸管出血性大腸菌O157 およびサルモネラは検出されなかった。しかし、今回の調査は微生物学的に問題の少ない冬期の調査結果であるため、夏期における汚染実態調査が必要である。大腸菌汚染のみられた野菜については、定量試験を行う必要がある。また、肥料からサルモネラが多量に検出されたことから、これら病原菌に汚染された肥料が水耕栽培、ビニール栽培および路地栽培に用いられた時に病原菌が野菜に汚染していくのかどうかの挙動を調べる必要があると考える。

図2

試験法の検討 (O157) *Escherichia coli* O157 Sakai 株使用

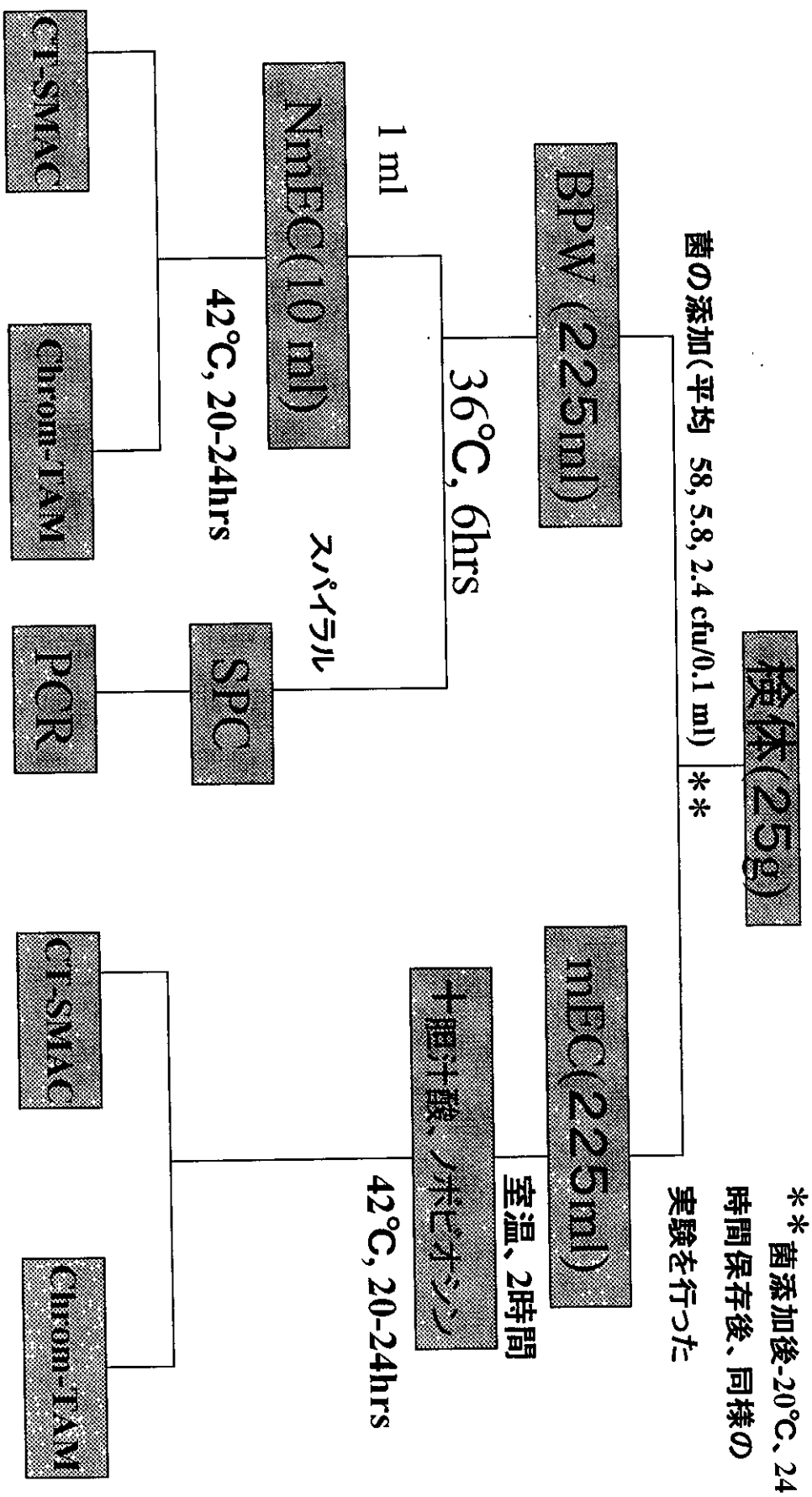


図3 サルモネラの分離・同定のためのFSIS(The Food Safety and Inspection Service)サンプル採取ガイドラインと手順

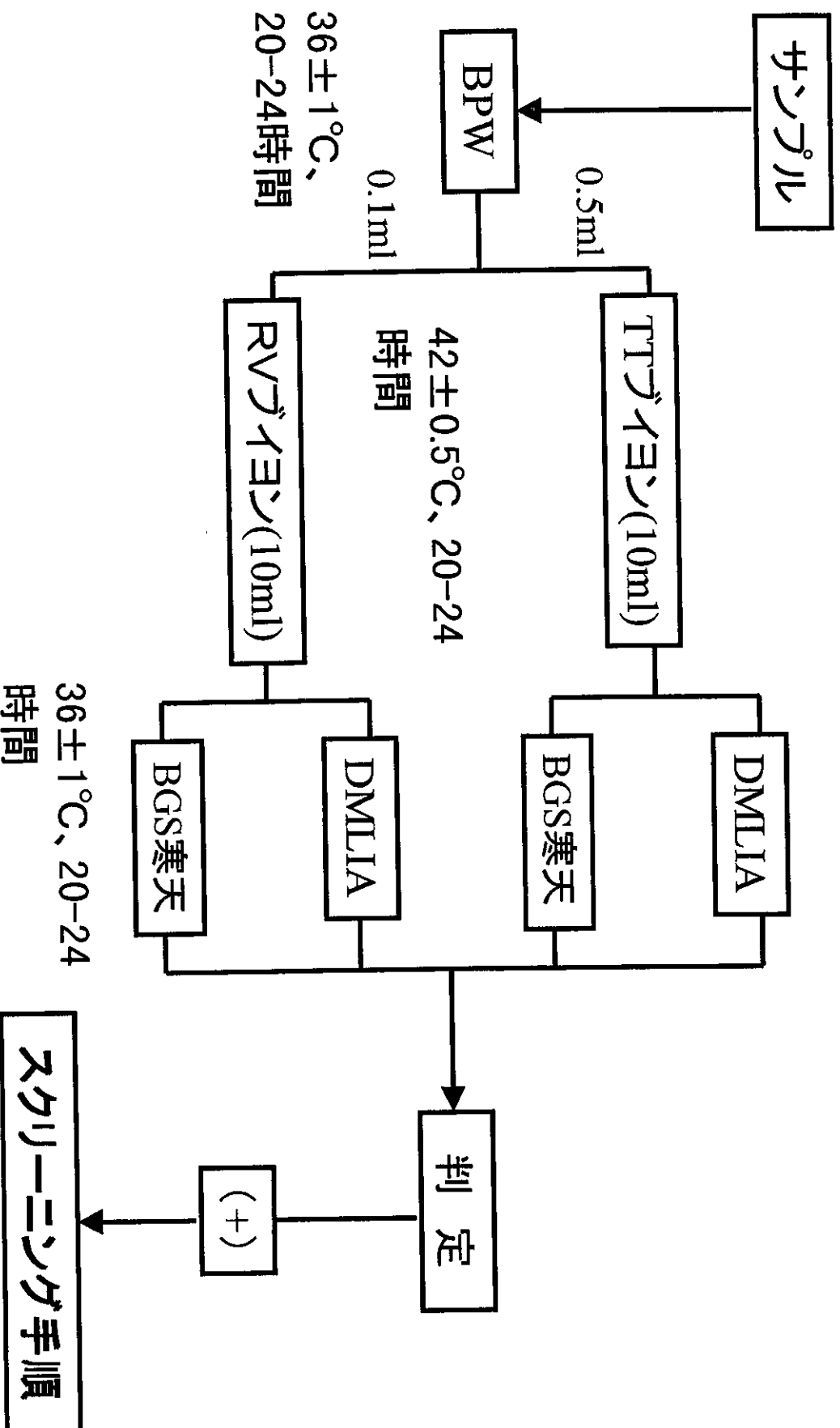


図4 食品衛生検査指針によるわが国で一般的に行われているサルモネラ検査法

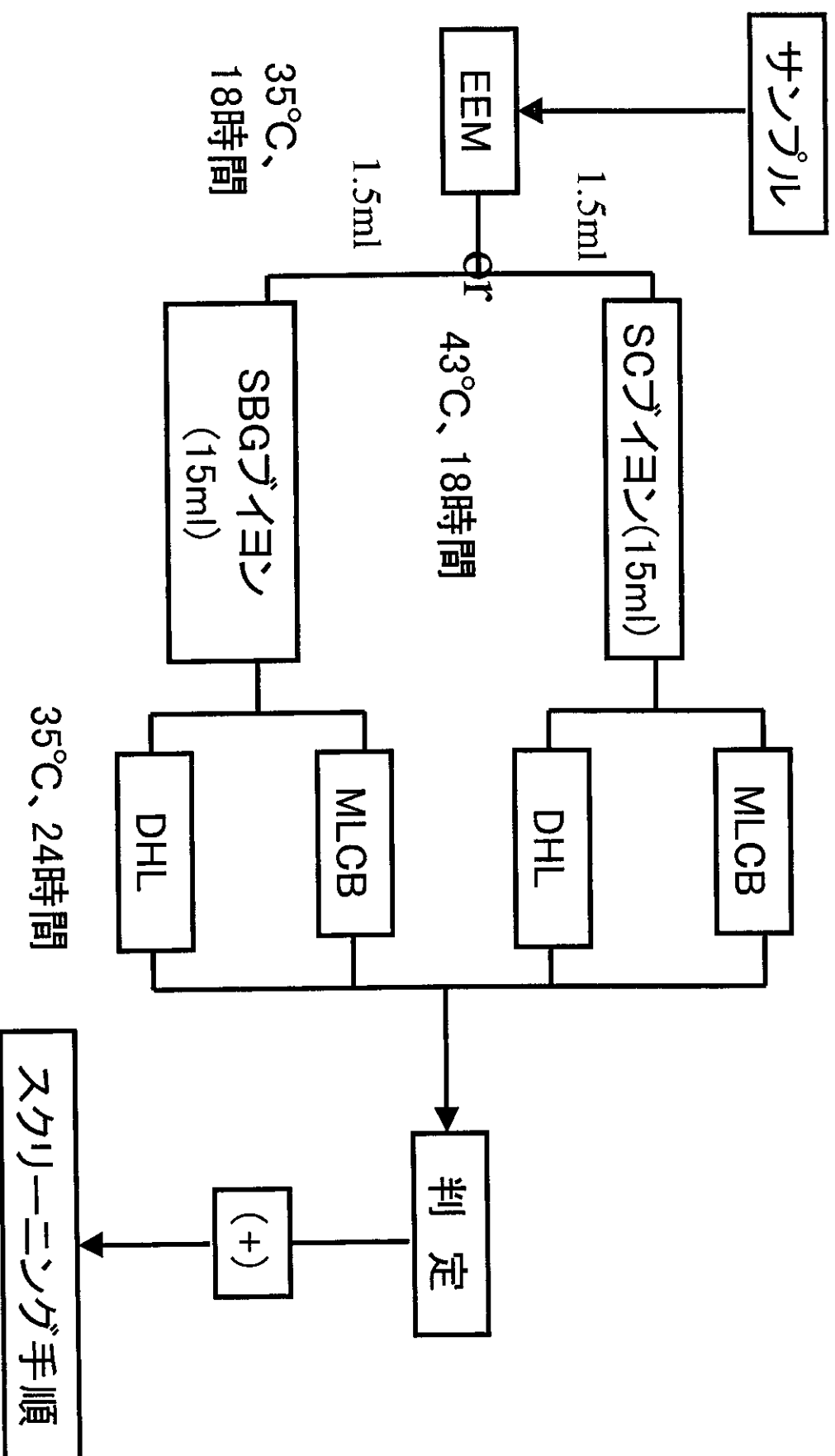


図5

凍結保存を経たサルモネラの 回収および検出法の検討

検体	ほうれん草及びメロン
増菌培地	EEM, BPW
培地	選択培地 SBG, RV
	分離用寒天培地 MLCB, DHL
菌の条件	L: 平均 4.8 cfu/0.1ml (8, 7, 6, 2, 2, 8, 3, 5, 3, 4 cfu/0.1ml) H: 平均 192 cfu/0.1 ml SE E930448株使用
接種条件	ヌトマツカー袋中に10g検体と上記濃度の菌液を接種。袋ごと-20°Cで一晩保存。その後、培養液を加えて培養。
ビーズ法及びPCR (ヤマトン)	選択増菌後の培養液を使用 ビーズ法 10ml、 PCR 1ml ビーズ法PCRには90 μ l / 150 μ l緩衝液を使用 遠心沈殿細胞を45 μ l滅菌水へ 懸濁熱湯抽出遠心上清 1 μ lをPCRに使用

図6 BPWの培養時間の検討

材料	ほうれん草
接種菌数	平均 1.0 cfu / 0.1 ml を225ml BPW SE E930448株使用
菌数計算	TSA(実測 0, 0, 0, 2, 1, 3, 1, 1, 0, 2cfu/0.1ml) BPWで6時間培養後、
実験群 I	RVで24時間培養
実験群 II	BPWで24時間培養後、 RVで24時間培養
PCR	直接法PCRには選択増菌後の培養液 1ml 選択増菌後の培養液を10ml使用
ビーズ法 (ヤトロソ)	ビーズ法 で濃縮、150 μ l 緩衝液 ビーズ法PCRには90 μ l / 150 μ l 緩衝液を使用 遠心沈殿細胞を45 μ l 滅菌水へ懸濁 1 μ l をPCR用に使用

表 1 腸管出血性大腸菌 O157 検出法
の検出率比較

検体番号	添加菌数	培養液	CT-SMAC
Control	無し	BPW- NmEC	0/1
1-5	H	BPW- NmEC	5/5
6-10	M	BPW- NmEC	5/5
11-15	L	BPW- NmEC	2/5
16-20	H	NmEC	5/5
21-25	M	NmEC	5/5
26-30	L	NmEC	4/5

M: 11, 8, 5, 2, 3 cfu/ 0.1ml

L: 0, 1, 4, 3, 4 cfu/0.1ml

H: 58, M: 5.8, L:2.4 平均 cfu/ 0.1 ml 添加

表3 BPW-RVによるSEの検出

I. BPW 36°C, 6時間—RV 42°C, 24時間培養

	直接法		ビーズ法	
	MLCB	PCR	MLCB	PCR
1 ほうれん草のみ	0/5	0/5	0/5	0/5
2 ほうれん草とSE	0/5	0/5	0/5	0/5
3 SEのみ	1/1	1/1	1/1	0/1

II. BPW 36°C, 24時間—RV 42°C, 24時間培養

	直接法		ビーズ法	
	MLCB	PCR	MLCB	PCR
1 ほうれん草のみ	0/5	0/5	0/5	0/5
2 ほうれん草とSE	2/5	3/5	3/5	3/5
3 SEのみ	1/1	1/1	1/1	1/1

表4

野菜の0157&サルモネラ添加実験結果('98.12.14~12.21)

試料に関する情報:	
`98.12.11市場検査センター経由で(株)大宮中央青果市場より買い上げ(1箱2,600円+TAX)ほうれん草;所沢市産(JA所沢,所沢市下新井1423-1,0429-94-1831)20束25gを無菌的に21個のストマフィルターに秤量した。	
接種菌に関する情報:	
`98.12.5 Dr.小沼から入手した <i>E. coli</i> 0157:H7堺212株(Stx1&2産生株)および <i>S. Enteritidis</i> E930448株(PT4)を用いた。	
NA slant→TSB35℃,18h(0157=1.1×10 ⁸ /ml, S.E=9.5×10 ⁸ /ml)の6希釈の1mlを20mlの生食に添加(高)と7希釈の1mlを20mlの生食に添加(低)を用いた。接種菌は性状と血清型で確認した。	
0157→高=50~60個/ml(Av.55/ml), 低=5~6個/ml(Av.5.5個/ml)	
S.E.→高=10~50個/ml(Av.30/ml), 低=1~5個/ml(Av.3個/ml) 各菌液の1mlを試料に添加した。	

1.0157添加ほうれん草

No.	接種菌量	増菌培地 BPW→				SPC/g	E C			結果
		NmEC→(ICE→)					10ml	1ml	0.1ml	
		Now0157	CT-SMC	Chrom0157	ChromTAM					
1	高	+	+(+)	+(+)	+(+)	2.7×10 ⁶	-	-	-	-
2	高	+	+(+)	+(+)	+(+)	1.2×10 ⁶	+	+	-	+
3	高	+	+(+)	+(+)	+(+)	4.9×10 ⁶	-	+	-	-
4	高	+	+(+)	+(+)	+(+)	2.3×10 ⁶	+	+	-	+
5	高	+	+(+)	+(+)	+(+)	3.9×10 ⁶	+	+	-	+
6	低	+	+(+)	+(+)	+(+)	2.2×10 ⁶	-	+	-	-
7	低	+	+(+)	+(+)	+(+)	7.6×10 ⁵	-	-	-	-
8	低	+	+(+)	+(+)	+(+)	2.4×10 ⁶	-	+	-	-
9	低	+	+(+)	+(+)	+(+)	1.1×10 ⁶	-	-	-	-
10	低	+	+(+)	+(+)	+(+)	2.4×10 ⁶	-	-	-	-
21	Control	-	-(-)	-(-)	-(-)	6.7×10 ⁶	-	-	-	-

各分離培地に発育したコロニーはCLIGとUNIで確認した。

ECの1mlが+で結果が-の検体はEMBの結果が-であった。

2. S.E. 添加ほうれん草

No.	接種菌量	増菌培地 BPW→				SPC/g	E C			結果
		TT→, RV→(ICS→)					10ml	1ml	0.1ml	
		XLD	BGM	Rainbow	Rambach					
11	高	+,+(+)	+,+(+)	+,+(+)	+,+(+)	4.9×10 ⁵	-	-	-	-
12	高	+,+(+)	+,+(+)	+,+(+)	+,+(+)	7.0×10 ⁵	-	-	-	-
13	高	+,+(+)	+,+(+)	+,+(+)	+,+(+)	7.4×10 ⁵	-	-	-	-
14	高	+,+(+)	+,+(+)	+,+(+)	+,+(+)	2.0×10 ⁶	-	-	-	-
15	高	+,+(+)	+,+(+)	+,+(+)	+,+(+)	1.9×10 ⁶	-	-	-	-
16	低	+,+(+)	+,+(+)	+,+(+)	+,+(+)	1.0×10 ⁷	-	-	-	-
17	低	-,(-)	-,(-)	-,(-)	-,(-)	5.8×10 ⁵	-	-	-	-
18	低	+,+(+)	+,+(+)	+,+(+)	+,+(+)	7.3×10 ⁵	-	-	-	-
19	低	+,+(+)	+,+(+)	+,+(+)	+,+(+)	4.1×10 ⁶	-	-	-	-
20	低	+,+(+)	+,+(+)	+,+(+)	+,+(+)	7.2×10 ⁵	-	-	-	-
21	Control	-,(-)	-,(-)	-,(-)	-,(-)		0157用検体と同一			

各分離培地に発育したコロニーはTSI/LIMと抗血清で確認した。

サンプル番号	サンプル	spc./g	EC 10	EC 1	EC 0.1	EMB	ATB32 同定結果	O157 CT-SMAC	直接法 CHROMagar CT-SMA	E-1法 CT-SMA
C1	ほうれん草0157低菌量	8.10E+05	—	—	—			+	+	+
C2	ほうれん草0157低菌量	2.10E+06	+	—	—			+	+	+
C3	ほうれん草0157低菌量	8.60E+05	+	—	—			+	+	+
C4	ほうれん草0157低菌量	2.20E+06	—	—	—			+	+	+
C5	ほうれん草0157低菌量	4.60E+05	—	—	—			+	+	+
C6	ほうれん草0157高菌量	3.20E+06	+	—	—			+	+	+
C7	ほうれん草0157高菌量	1.90E+06	—	—	—			+	+	+
C8	ほうれん草0157高菌量	3.10E+06	+	—	—			+	+	+
C9	ほうれん草0157高菌量	5.40E+05	—	+	—			+	+	+
C10	ほうれん草0157高菌量	3.30E+06	+	+	—			+	+	+
C11	ほうれん草サルモネラ低菌量	3.40E+06	+	—	—	*+	E. coli	(+)	(+)	(+)
C12	ほうれん草サルモネラ低菌量	2.50E+06	—	—	—			(+)	(+)	(+)
C13	ほうれん草サルモネラ低菌量	2.50E+06	—	—	—			(+)	(+)	(+)
C14	ほうれん草サルモネラ低菌量	1.10E+07	—	—	—			(+)	(+)	(+)
C15	ほうれん草サルモネラ低菌量	1.30E+07	—	—	—			(+)	(+)	(+)
C16	ほうれん草サルモネラ高菌量	2.80E+07	—	—	—			—	(+)	(+)
C17	ほうれん草サルモネラ高菌量	7.60E+06	—	—	—			(+)	(+)	(+)
C18	ほうれん草サルモネラ高菌量	1.00E+07	—	—	—			(+)	(+)	(+)
C19	ほうれん草サルモネラ高菌量	1.20E+07	—	—	—			(+)	(+)	(+)
C20	ほうれん草サルモネラ高菌量	1.10E+07	—	—	—			—	(+)	(+)

+: ガス産生
—: ガス不産生

*+: 金属光沢

分離寒天
— :
+ :
(+) :

表5 O157とサルモネラ検出法の検討 接種実験(国立衛研)

表5 O157と+

都衛研結果表6-1

検体番号	検体名	産地	搬入日	細菌数	大腸菌	A CT-SMAC	A chrom	B CT-SMAC	B chrom	C RAS	C ES
1	いちご	千葉県 小見川町農協	2月2日	1.3E+03	-	-	-	-	-	-	-
2	いちご	千葉県 小見川町農協	2月2日	0.0E+00	-	-	-	-	-	-	-
3	いちご(女峰)	栃木県 JAあわの	2月2日	6.0E+02	-	-	-	-	-	-	-
4	いちご(女峰)	栃木県 JAあわの	2月2日	1.3E+04	-	-	-	-	-	-	-
5	いちご	栃木県 とよのか	2月2日	8.0E+02	-	-	-	-	-	-	-
6	いちご	栃木県 とよのか	2月2日	3.0E+04	-	-	-	-	-	-	-
7	いちご(とちおとめ)	栃木県 JAあわの	2月2日	0.0E+00	-	-	-	-	-	-	-
8	いちご	栃木県 JAあわの	2月2日	0.0E+00	-	-	-	-	-	-	-
9	エシャレット	茨城県 北浦	2月2日	3.1E+06	-	-	-	-	-	-	-
10	エシャレット	茨城県 北浦	2月2日	1.9E+05	-	-	-	-	-	-	-
11	エシャレット	静岡県 JAとびあ浜松	2月2日	3.6E+06	-	-	-	-	-	-	-
12	エシャレット	静岡県 JAとびあ浜松	2月2日	7.2E+06	-	-	-	-	-	-	-
13	おおば	茨城県 北浦	2月2日	1.4E+07	-	-	-	-	-	-	-
14	おおば	茨城県 北浦	2月2日	2.4E+07	-	-	-	-	-	-	-
15	大葉	愛知県 豊橋	2月2日	1.7E+07	-	-	-	-	-	-	-
16	大葉	愛知県 豊橋	2月2日	1.4E+07	-	-	-	-	-	-	-
17	大葉	愛媛県 松山	2月2日	8.6E+05	-	-	-	-	-	-	-
18	大葉	愛媛県 松山	2月2日	1.5E+06	-	-	-	-	-	-	-
19	オクラ	フィリピン	2月2日	6.7E+07	+	-	-	-	-	-	-
20	オクラ	フィリピン	2月2日	2.4E+07	+	-	-	-	-	-	-
21	かぶ	埼玉	2月2日	9.9E+06	-	-	-	-	-	-	-
22	かぶ	埼玉	2月2日	7.8E+06	-	-	-	-	-	-	-
23	かぶ	千葉県 柏市	2月2日	3.8E+06	-	-	-	-	-	-	-
24	かぶ	千葉県 柏市	2月2日	6.2E+06	-	-	-	-	-	-	-
25	ラディッシュ	愛知県 豊橋	2月2日	1.2E+07	-	-	-	-	-	-	-
26	ラディッシュ	愛知県 豊橋	2月2日	6.5E+06	-	-	-	-	-	-	-
27	クレソン	鹿児島県 河内	2月2日	3.7E+05	-	-	-	-	-	-	-
28	クレソン	鹿児島県 河内	2月2日	1.3E+06	-	-	-	-	-	-	-
29	サニーレタス	千葉県 JA海上町 いいおか	2月2日	4.7E+03	-	-	-	-	-	-	-
30	サニーレタス	千葉県 JA海上町 いいおか	2月2日	2.0E+02	-	-	-	-	-	-	-
31	サニーレタス	静岡県 浜松	2月2日	3.1E+03	-	-	-	-	-	-	-
32	サニーレタス	静岡県 浜松	2月2日	1.7E+04	-	-	-	-	-	-	-
33	サニーレタス	愛知県 豊橋	2月2日	3.7E+05	-	-	-	-	-	-	-
34	サニーレタス	愛知県 豊橋	2月2日	1.4E+06	-	-	-	-	-	-	-
35	サラダ菜	千葉県 JA千葉	2月2日	1.4E+05	-	-	-	-	-	-	-
36	サラダ菜	千葉県 JA千葉	2月2日	1.9E+06	-	-	-	-	-	-	-
37	サラダ菜	福岡県 博多	2月2日	6.0E+05	-	-	-	-	-	-	-
38	サラダ菜	福岡県 博多	2月2日	9.2E+05	-	-	-	-	-	-	-
39	サラダ菜	静岡県 JAとびあ 浜松	2月2日	3.6E+06	-	-	-	-	-	-	-
40	サラダ菜	静岡県 JAとびあ 浜松	2月2日	9.6E+04	-	-	-	-	-	-	-
41	包菜	千葉県 JA東庄町	2月2日	4.1E+05	-	-	-	-	-	-	-
42	包菜	千葉県 JA東庄町	2月2日	5.3E+08	-	-	-	-	-	-	-
43	あさつき	福岡県 JA庄内	2月3日	8.8E+06	-	-	-	-	-	-	-
44	あさつき	福岡県 JA庄内	2月3日	8.7E+06	-	-	-	-	-	-	-
45	春菊	群馬県 板倉農協	2月3日	7.1E+03	-	-	-	-	-	-	-
46	春菊	群馬県 板倉農協	2月3日	6.7E+06	-	-	-	-	-	-	-
47	春菊	千葉県 JA海上町いいおか	2月3日	1.1E+06	-	-	-	-	-	-	-
48	春菊	千葉県 JA海上町いいおか	2月3日	1.8E+06	-	-	-	-	-	-	-
49	食用菊	沖縄	2月3日	4.6E+03	-	-	-	-	-	-	-
50	食用菊	沖縄	2月3日	7.5E+03	-	-	-	-	-	-	-
51	ズッキーニ	宮崎県 JA児湯	2月3日	2.7E+06	-	-	-	-	-	-	-
52	ズッキーニ	宮崎県 JA児湯	2月3日	3.6E+06	-	-	-	-	-	-	-
53	セルリー	静岡県 JA静岡 浜松	2月3日	6.6E+04	-	-	-	-	-	-	-
54	セルリー	静岡県 JA静岡 浜松	2月3日	2.0E+06	-	-	-	-	-	-	-
55	セルリー	愛知県 JAあいち JA田原町	2月3日	7.1E+06	-	-	-	-	-	-	-
56	セルリー	愛知県 JAあいち JA田原町	2月3日	1.3E+07	-	-	-	-	-	-	-
57	セルリー	香川県 JA観音寺	2月3日	2.8E+06	-	-	-	-	-	-	-
58	セルリー	香川県 JA観音寺	2月3日	1.9E+06	-	-	-	-	-	-	-
59	チシャト	千葉県	2月3日	7.8E+04	-	-	-	-	-	-	-
60	チシャト	千葉県	2月3日	2.0E+05	-	-	-	-	-	-	-
61	チンゲンサイ	静岡県 遠州中央農協	2月3日	3.2E+06	-	-	-	-	-	-	-
62	チンゲンサイ	静岡県 遠州中央農協	2月3日	1.6E+07	-	-	-	-	-	-	-
63	チンゲンサイ	茨城県	2月3日	1.1E+07	-	-	-	-	-	-	-
64	チンゲンサイ	茨城県	2月3日	4.4E+07	-	-	-	-	-	-	-
65	チンゲンサイ	千葉県 JA銚子	2月3日	9.6E+06	-	-	-	-	-	-	-
66	チンゲンサイ	千葉県 JA銚子	2月3日	8.6E+06	-	-	-	-	-	-	-
67	つまみな	千葉	2月3日	1.4E+07	-	-	-	-	-	-	-
68	つまみな	千葉	2月3日	1.6E+07	-	-	-	-	-	-	-
69	白菜	栃木県 JA栃木	2月3日	5.2E+05	-	-	-	-	-	-	-
70	白菜	栃木県 JA栃木	2月3日	9.6E+04	-	-	-	-	-	-	-
71	白菜	兵庫県 JA淡路島	2月3日	6.2E+05	-	-	-	-	-	-	-
72	白菜	兵庫県 JA淡路島	2月3日	4.5E+05	-	-	-	-	-	-	-
73	白菜	群馬県 JA群馬	2月3日	4.1E+05	-	-	-	-	-	-	-
74	白菜	群馬県 JA群馬	2月3日	6.4E+05	-	-	-	-	-	-	-
75	白菜	茨城県 岩井市農事園芸連	2月3日	2.6E+06	-	-	-	-	-	-	-
76	白菜	茨城県 岩井市農事園芸連	2月3日	3.0E+07	-	-	-	-	-	-	-
77	パセリ	千葉県 JA安房	2月3日	7.5E+06	-	-	-	-	-	-	-
78	パセリ	千葉県 JA安房	2月3日	6.8E+07	-	-	-	-	-	-	-
79	ほうれん草	千葉県 JA千葉我孫子	2月3日	5.5E+05	-	-	-	-	-	-	-
80	ほうれん草	千葉県 JA千葉我孫子	2月3日	7.1E+05	-	-	-	-	-	-	-
81	ほうれん草	茨城県 岩井市農事園芸連	2月3日	3.2E+06	-	-	-	-	-	-	-
82	ほうれん草	茨城県 岩井市農事園芸連	2月3日	8.8E+06	-	-	-	-	-	-	-
83	ほうれん草	千葉県 JA千葉県北	2月3日	3.2E+06	-	-	-	-	-	-	-
84	ほうれん草	千葉県 JA千葉県北	2月3日	1.3E+07	-	-	-	-	-	-	-
85	マッシュルーム	茨城県	2月4日	2.9E+06	-	-	-	-	-	-	-

