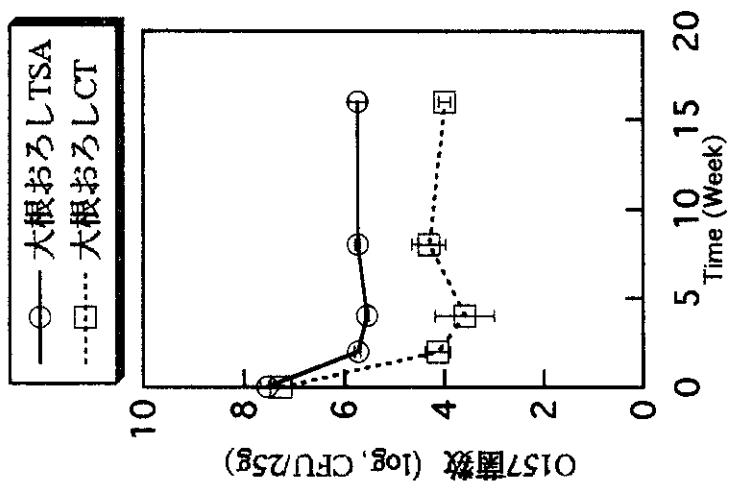
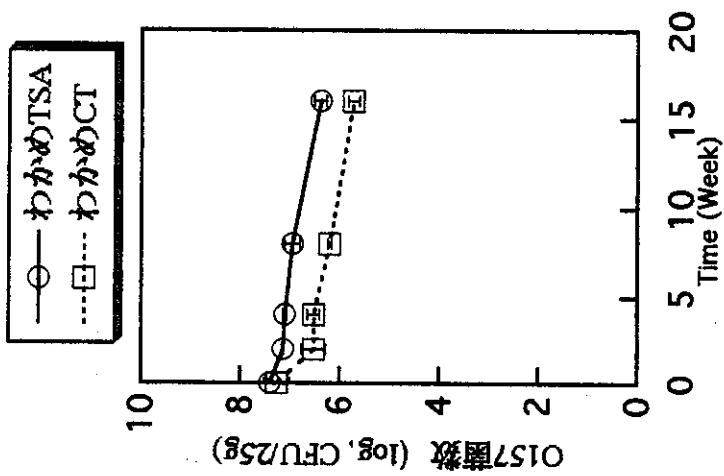
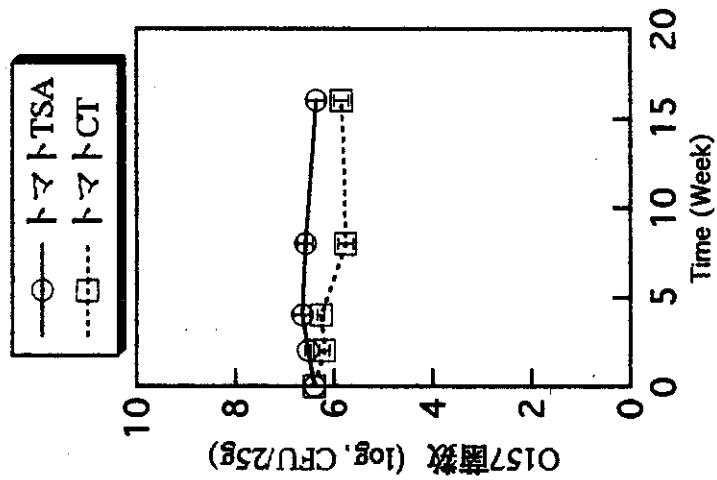
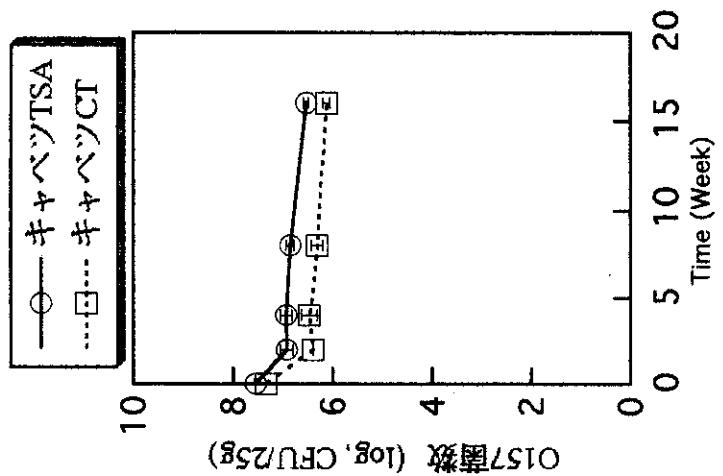
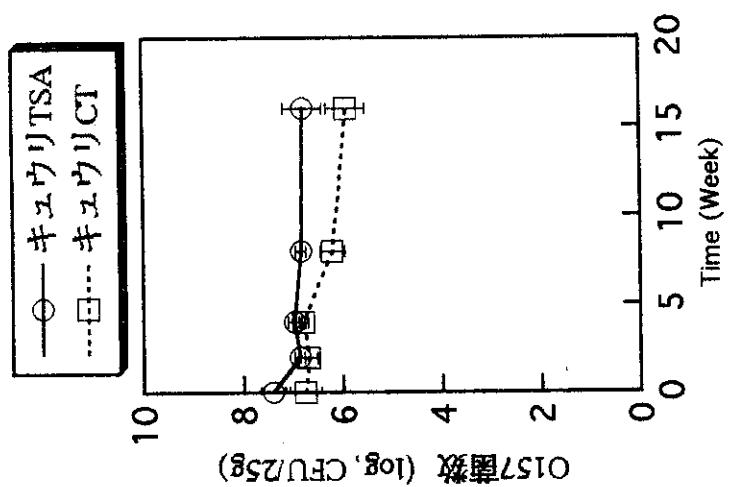
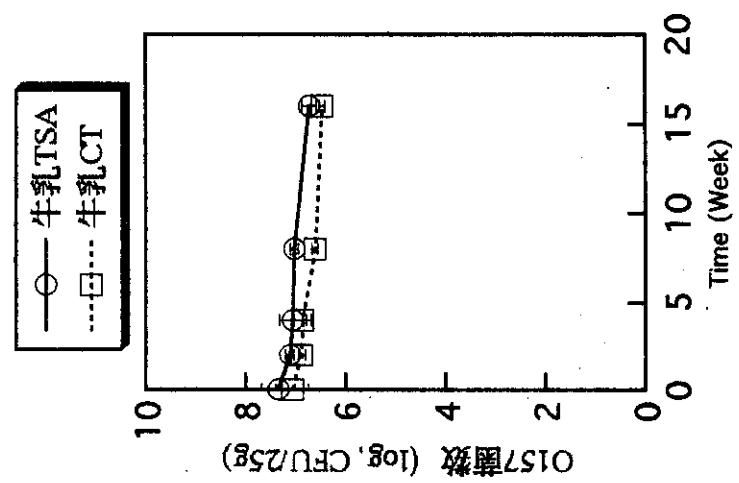
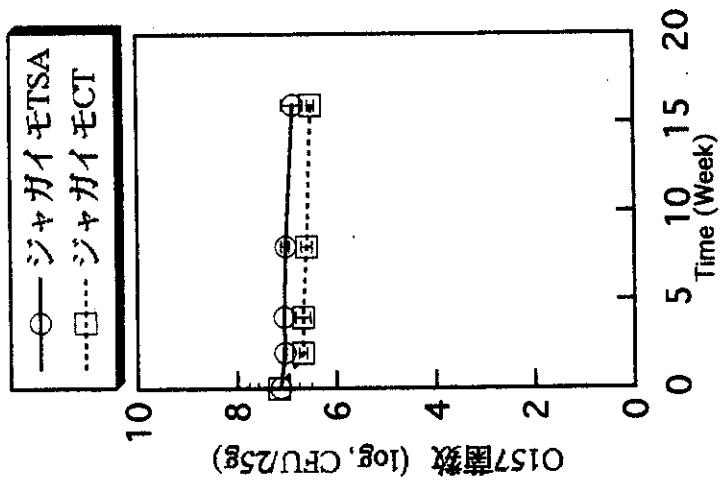


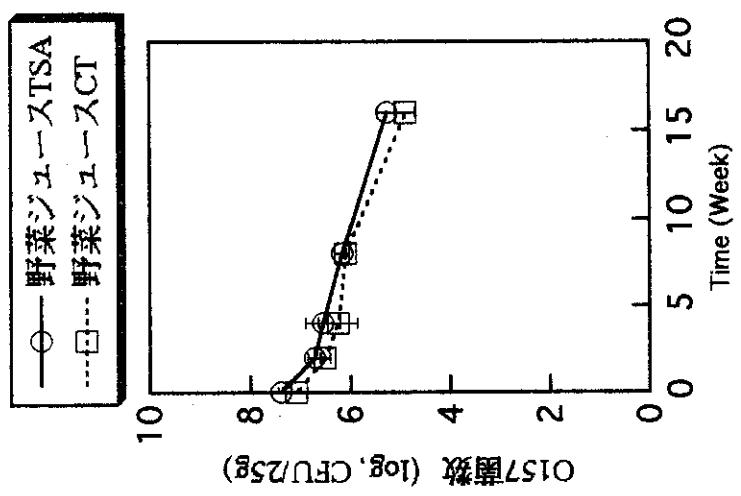
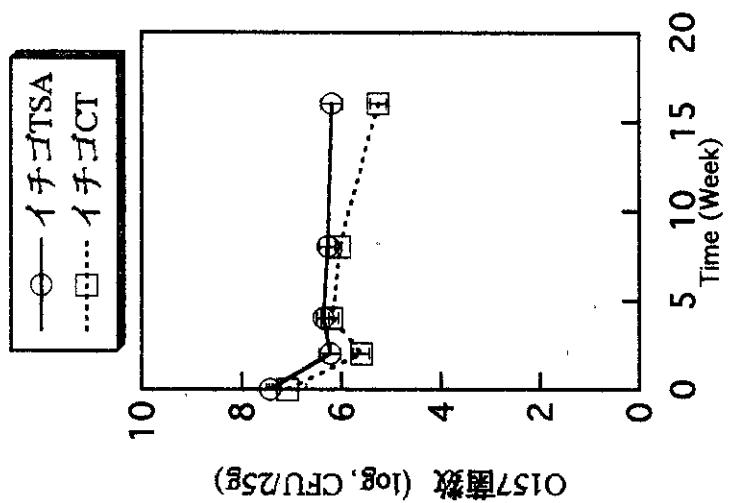
#### 実験 4

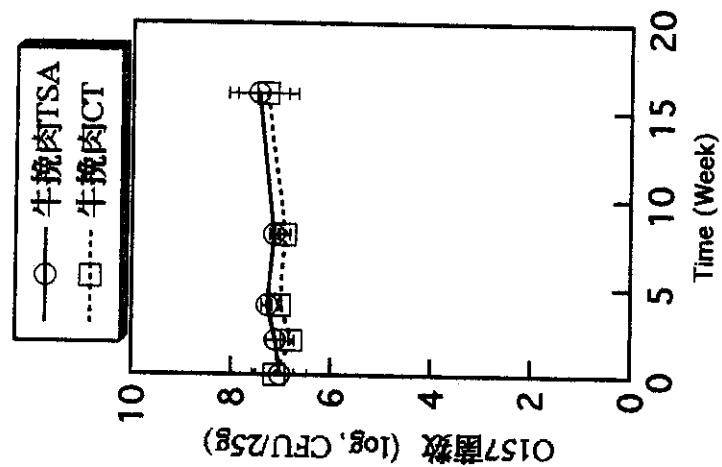
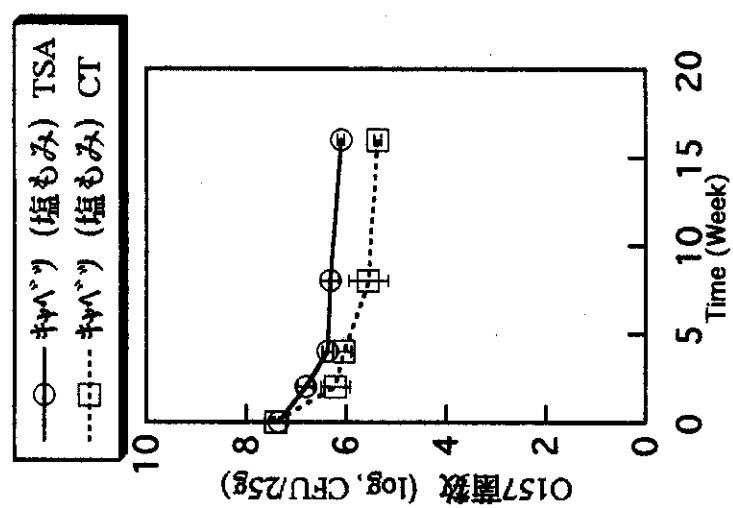




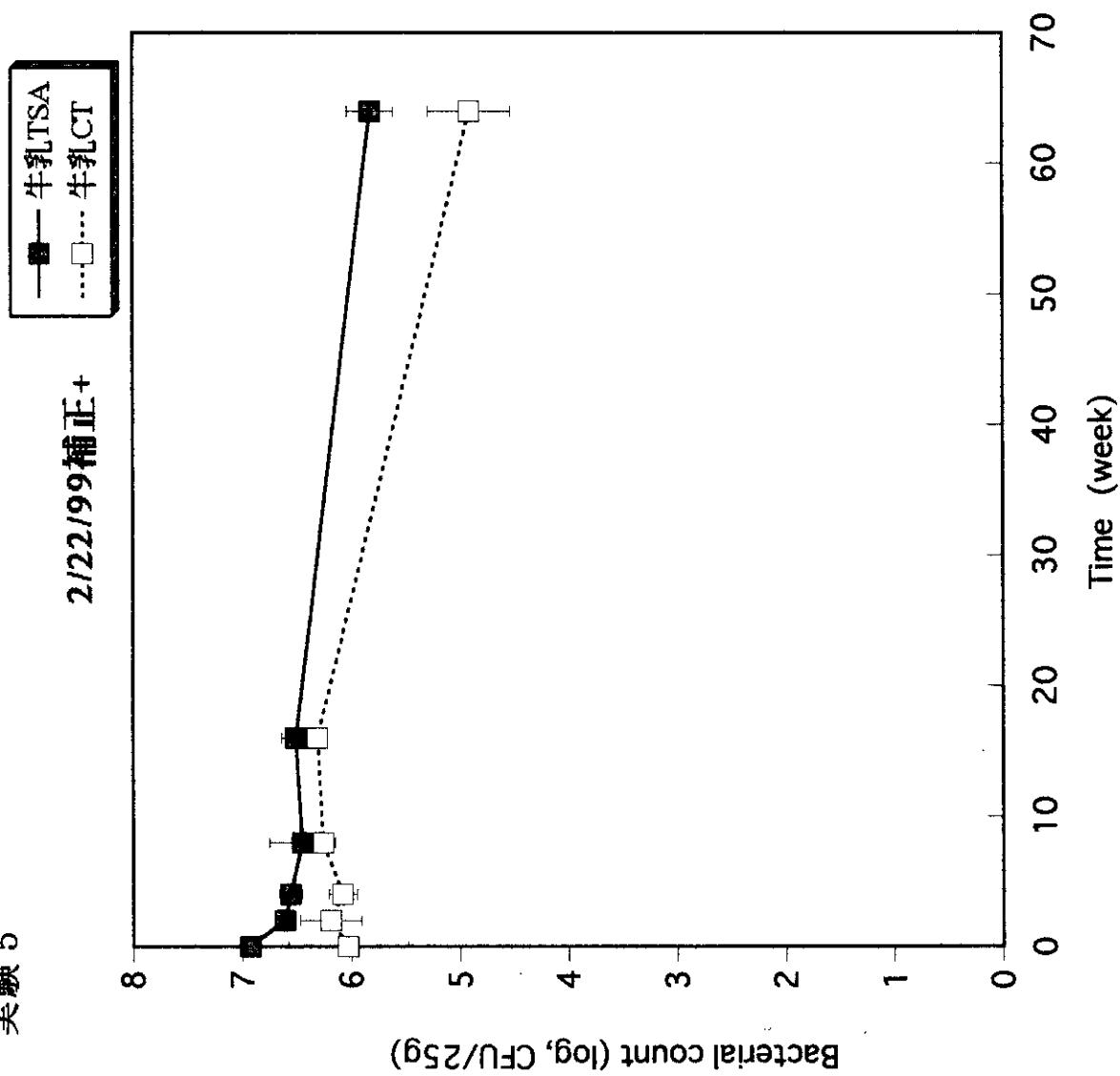


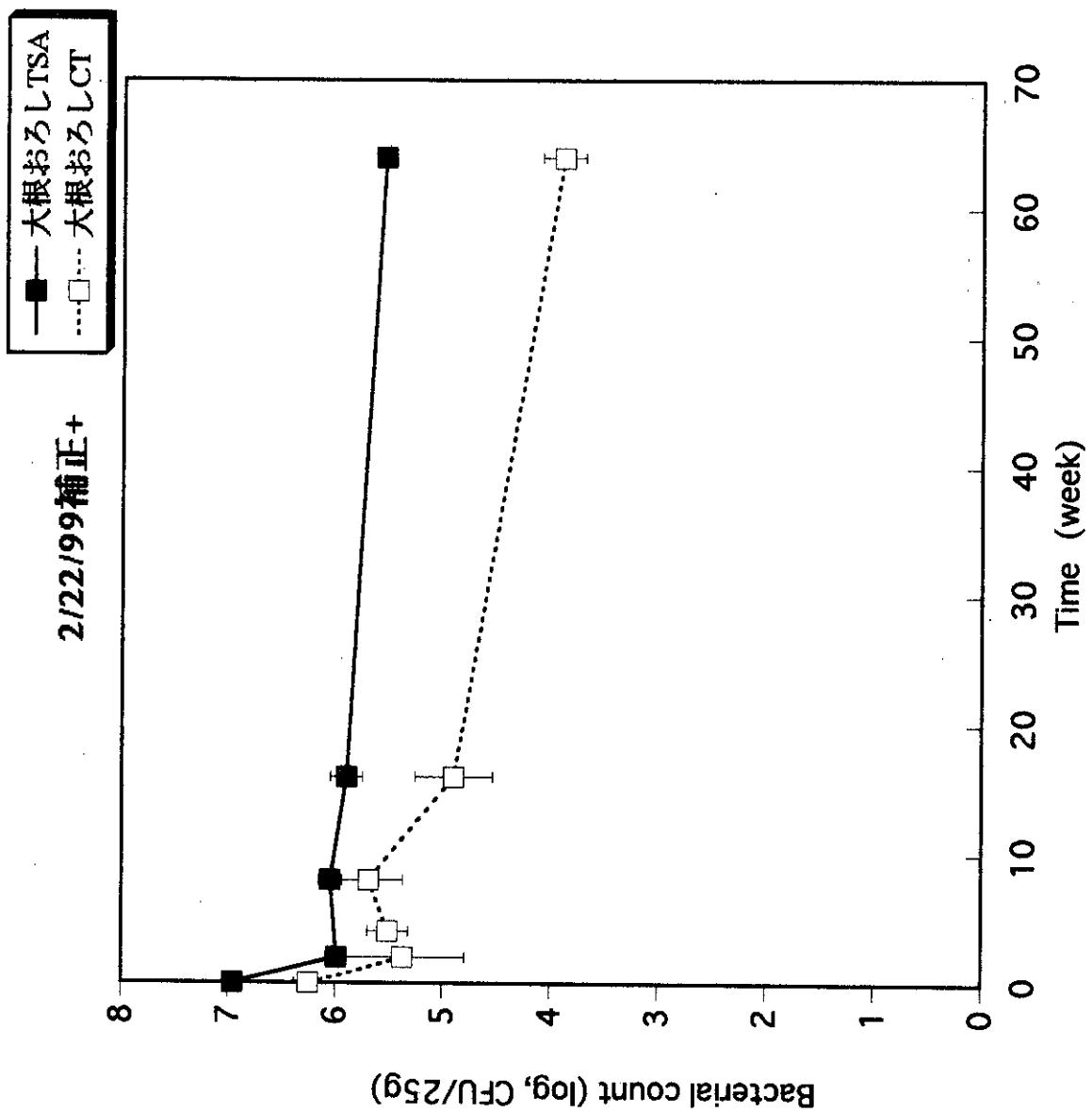




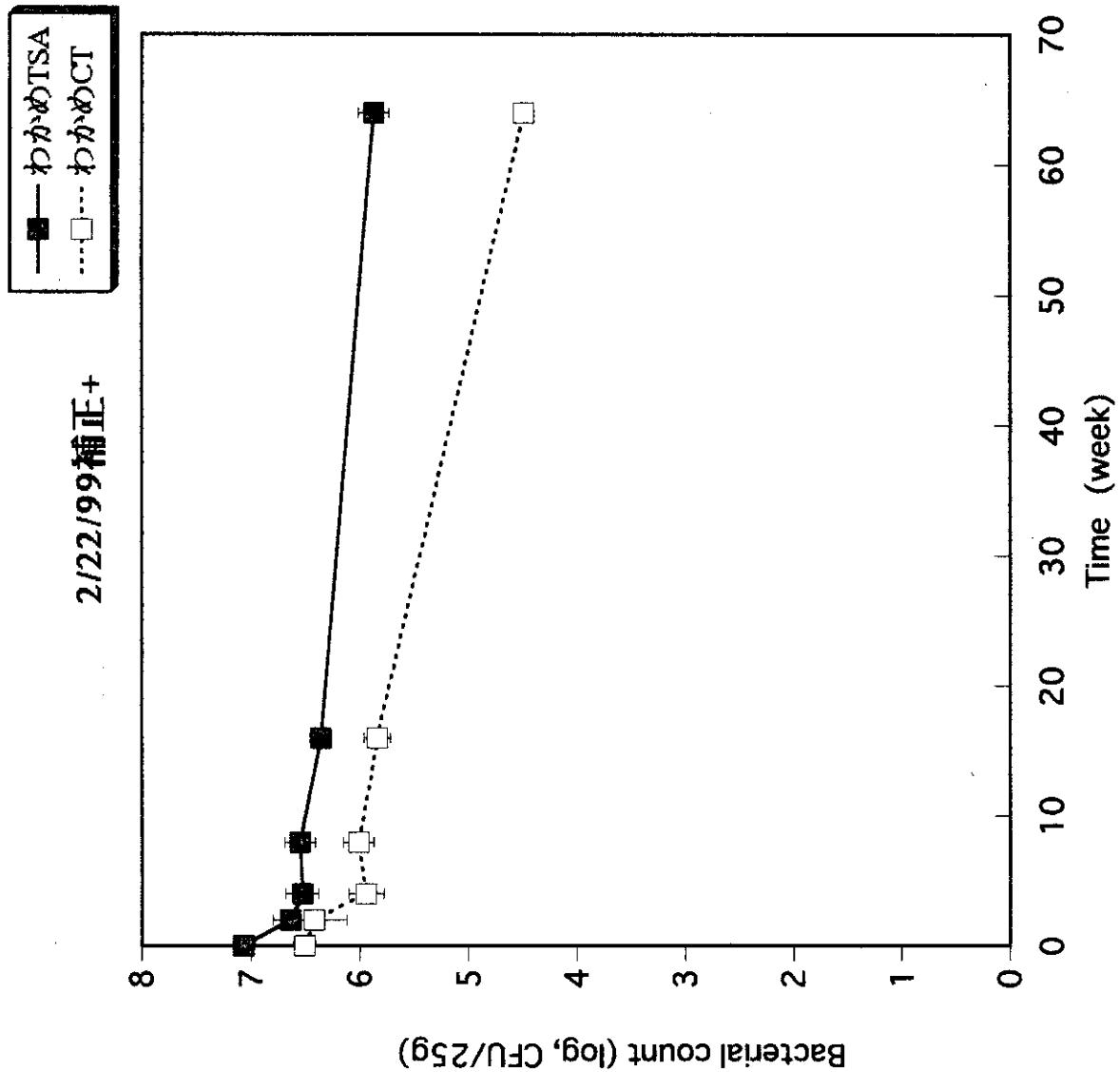


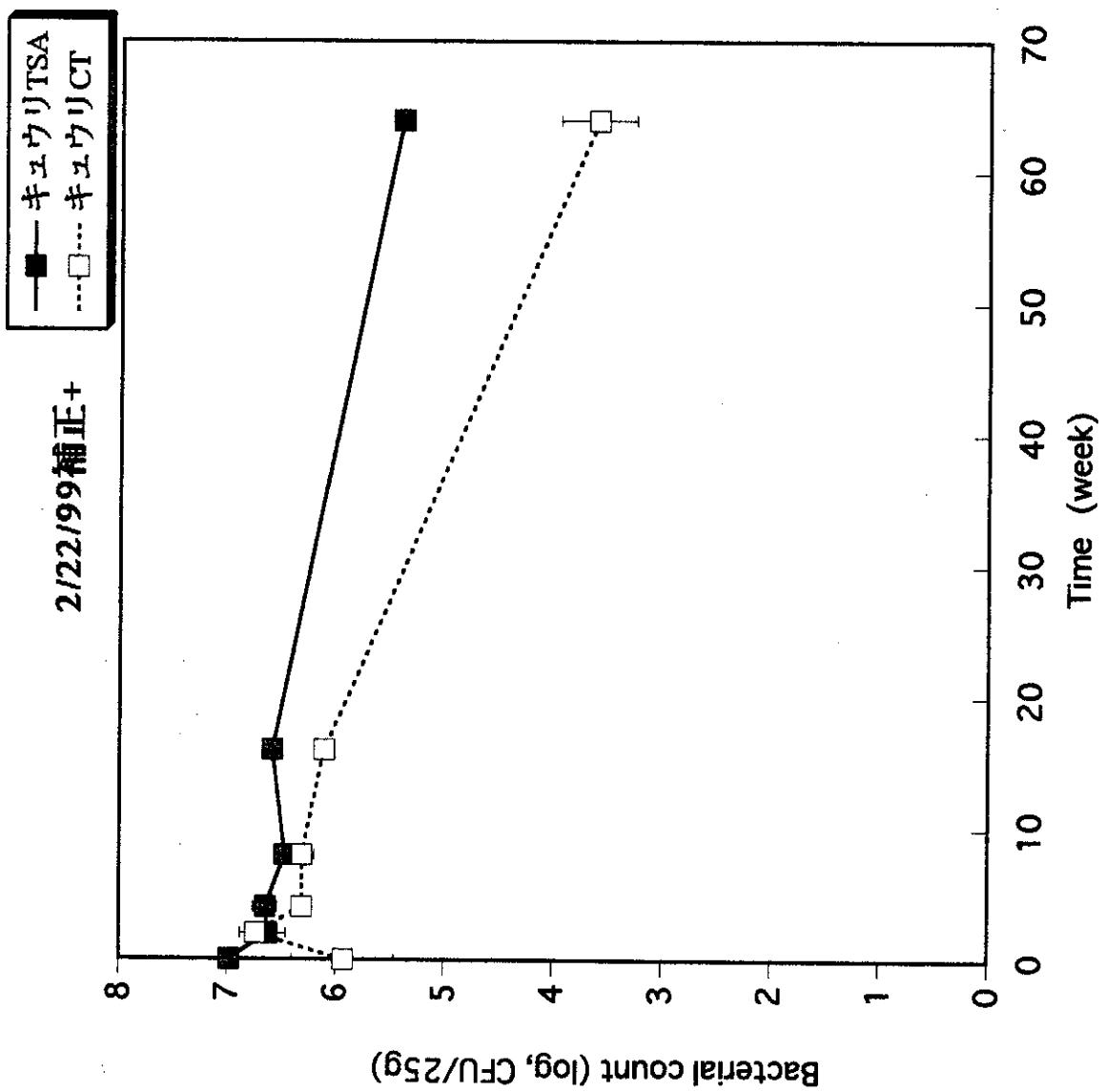
実験 5





2/22/99補正+





Detection of *E. coli* O157:H7 from frozen foods inoculated with the organism

Food	Storage period	Inoculated bacterial count (CFU/25g of sample)		Enrichment	
		mEC+n <sup>a</sup>	D-mEC(b,n) <sup>b</sup>	mEC+n <sup>a</sup>	D-mEC(b,n) <sup>b</sup>
Strawberries	2-4 weeks	7.9		1/18 (5.6) <sup>c</sup>	3/21 (14.3)
Grated radish	2-4 weeks	7.9		0/18 (0)	5/18 (27.8)
Salted cabbage	2-4 weeks	7.9		6/22 (27.3)	5/23 (21.8)
Ground beef	10 months	3.5		18/20 (90)	16/20 (80)

<sup>a</sup> 18 h incubation with modified EC broth with novobiocin.

<sup>b</sup> 2 h incubation with modified EC broth without bile salts at 25°C followed by 18 h incubation with addition of bile salts and novobiocin at 42°C.

<sup>c</sup> Number of samples from which *E. coli* O157:H7 was detected/number of samples tested (%).

厚生科学研究費補助金（新興再興研究事業）

分担研究報告書

殻付き卵の保存中の SE 菌数の変化の研究

分担研究者：熊谷 進

研究協力者：工藤由起子（国立感染症研究所）

榎原芳恵（日本獣医畜産大学）

殻付き卵の保存中の SE 菌数の変化に及ぼす産卵時期と卵殻のひび割れの影響を究明するために、鶏卵卵白の *in vitro* におけるサルモネラ・エンテリティディス増殖能に及ぼす保存条件の影響を夏期および秋期産卵の卵とひび割れ卵を用いて調べた。その結果、夏期産卵の方が卵白が保存早期に SE 増殖を促進するように変化する、ひび割れ卵においても、より早期に卵白が SE 増殖を促進するように変化することが見い出された。

A. 研究目的

近年の鶏卵を介するサルモネラ食中毒は、殻付き卵内容物のサルモネラ・エンテリティディス汚染を反映したものとされている。汚染卵の菌数は産卵時には低いが、保存温度と保存期間によって急速に増殖が起こることが見い出されている。しかし、この菌数の変化に対する産卵時期と卵殻のひび割れの影響については不明である。この点を究明するために本研究においては、鶏卵卵白の *in vitro* におけるサルモネラ・エンテリティディス増殖能に及ぼす保存条件の影響を調べることによって、卵白のサルモネラ増殖支持能に季節変動があるか否か、卵殻のひび割れによってサルモネラ増殖支持能が高まるか否かを調べた。

B. 研究方法

一農場から入手した 6 月および 10 月に産卵された鶏卵を用いた。実験に先立ちこれら鶏卵がサルモネラ・エンテリティディス（以下 SE）によって汚染されてないことを、各時期の鶏卵約 80 個を検査することによって確認した。6 月と 10 月産の両鶏卵については無傷の卵を、さらに 10 月産鶏卵については卵殻ひび割れ卵を作出し、その卵も含めてすべて産卵後 2 日目から 10 ℃、

20℃、30℃、または22日間10℃で保存後に30℃で保存し、逐次取り出して実験に供試した。増殖性実験のために、供試卵表面をイソプロパノールで消毒してからシャーレ中に割卵し、TSBで一晩培養したものを希釀して調整したSE

接種菌液0.01mlを卵黄から約2mm離れた卵白中に接種した後に、18℃下で3日間保存しその間の菌数の増加を測定した。菌数は、卵内容物をストマック処理したもの0.3mlずつMLCB培地2-4枚にコンラージ棒で塗沫し、37℃で一晩培養してからコロニー数を計測することによって求めた。

### C. 研究結果・考察

6月産卵の10℃保存の卵については、20日目まではSEが増殖する卵は無かったが、23日目には45%の卵においてSEが検出された。20℃保存では20日目以降徐々にSEが増殖する卵が見られた。30℃では、20日目以降増殖する卵が多数認められた。

10月産卵の鶏卵については、6月産卵のものに比べ、SEが増殖する卵の増加が認められる保存日数が長かった。

無傷の卵に比べ、ひび割れ卵については、比較的短い保存期間でSE増殖が認められる卵が多かった。

以上の成績から、既に他研究者によって見い出されているように、殻付き卵の保存の進行とともに卵白がSE増殖を促進するように変化することが示唆された。夏期に産卵された卵と秋期に産卵された卵は、保存に伴う卵白のSE増殖促進（抑制）効果の変化が異なり、夏期産卵の方が卵白が保存早期にSE増殖を促進するように変化することが示唆された。また、ひび割れ卵においても、より早期に卵白がSE増殖を促進するように変化することが見い出された。

### D. 結論

殻付き卵の保存中のSE菌数の変化に及ぼす産卵時期と卵殻のひび割れの影響を究明するために、鶏卵卵白のin vitroにおけるサルモネラ・エンテリティディス増殖能に及ぼす保存条件の影響を夏期および秋期産卵の卵とひび割れ卵を用いて調べた。その結果、夏期産卵の方が卵白が保存早期にSE増殖を促進するように変化する、ひび割れ卵においても、より早期に卵白がSE増殖を促進するように変化することが見い出された。

表1 夏期産卵の卵における *S. Enteritidis*増殖卵の割合

保存温度	産卵後の日数						
	6日目	9日目	13日目	16日目	20日目	23日目	27日目
10℃	NT	NT	NT	1/14*(7)	0/20(0)	9/20(45)	NT
20℃	2/20(10)	3/20(15)	3/20(15)	3/20(15)	6/25(24)	9/25(36)	11/25(44) NT
30℃	2/20(10)	3/20(15)	8/20(40)	5/20(25)	20/30(66)	16/22(72)	9/14(64) NT
22日目に10℃から 30℃へ変動	NT	NT	NT	NT	NT	11/25(44)	6/25(24) 10/25(40) 17/25(68)

\**S. Enteritidis*検出陽性卵数／供試卵数 (%)

NT:Not tested

保存前の供試卵における割合は4/20 (20%) であった。

表2 秋期産卵の卵における *S. Enteritidis*増殖卵の割合

保存温度	産卵後日の日数						NT	NT	NT
	6日目	9日目	13日目	16日目	20日目	23日目			
10℃	NT	NT	NT	2/20*(10)	1/20(5)	0/15(0)	NT	NT	NT
20℃	7/20(35)	2/20(10)	2/20(10)	4/20(20)	5/20(25)	2/20(10)	2/20(10)	NT	NT
30℃	3/20(15)	2/20(10)	5/20(25)	4/20(20)	11/20(55)	10/20(50)	9/20(45)	NT	NT
22日目に10℃から 30℃へ変動	NT	NT	NT	NT	NT	4/20(20)	0/20(0)	14/20(70)	16/20(80)

\**S. Enteritidis*検出陽性卵数／供試卵数 (%)

NT:Not tested

保存前の供試卵における割合は5/20 (25%) であった。