

- 22)Netten,P.V., Valentijn,A., Mossel,D.A.A., and Huisin'tVeld,J.H.J.,
1997. Fate of low temperature and acid-adapted *Yersinia enterocolitica*
and *Listeria monocytogenes* that contaminate lactic acid
decontaminated meat during chill storage. J.Appl.Microbiol.
82:769-779.
- 23)Nottingham,P.M., 1987. 枝肉の微生物学 , 食肉微生物学 ,pp12-54,
Brown,M.H.編 ,春田三佐夫、森地敏樹、矢野幸男監訳、建帛社、
東京
- 24)Raccach,M., and Henningsen,E.C., 1984. Role of lactic acid bacteria,
curing salts,spices and temperature in controlling the growth of
Yersinia enterocolitica. J.Food Prot. 47:354-358.
- 25)Schiemann, D.A., 1980. Isolation of toxigenic *Yerisia enterocolitica*
from retail pork products. J.Food Prot. 43:360-365.
- 26)Schiemann,D.A., 1989. *Yersinia enterocolitica* and *Yersinia*
pseudotuberculosis. Doyle,M.P (ed.). In Foodborne bacterial
pathogens, pp.601-672., Marcel Dekker, New York.
- 27)塩沢寛治, 1991. *Yersinia enterocolitic*.. 坂崎利一編,食水系感染症
と細菌性食中毒, pp.221-250,中央法規出版, 東京.
- 28)Tsubokura. M., Fukuda.T., Otsuki,K., Kubota, M., and Itagaki, K.,
1975. Isolation of *Yersinia enterocolitica* from some animals and
meats.,Jpn. J.Vet.Sci. 37:213-215.
- 29)Wauters,G., Alecsic,S., Charlier,J., and Schluze,G., 1991. Somatic
and flagellar antigens of *Yersinia enterocolitica* and related species.
Contrib. Microbiol. Immunol. 12:239-243.

E. 結論

病原性 *Yersinia enterocolitica* 血清型 O:3、O:5,27、O:8 および O:9 を接種して真空包装または好気条件下で低温保存した豚肉における本菌の消長について検討した結果、病原性 *Y. enterocolitica* は、真空包装あるいは好気保存した豚肉において、豚肉が可食性を有する限りは、増殖することはないが死滅することもなく長期間に渡り生残することが明らかになった。また、本菌の豚肉での増殖を抑制する要因として、豚肉の汚染細菌の拮抗によるものではなく、pHなどの肉の成分が関与している可能性が示された。

F. 研究発表

1. 学会発表

真空包装あるいは好気条件下で低温保存した豚肉における病原性 *Yersinia enterocolitica* の消長、林谷秀樹、山口聡子、Okatani Alexandre Tomomitsu、金子賢一、工藤由起子、熊谷進、日本食品衛生学会第79回学術講演会、2000年5月発表予定

分担研究報告書

腸炎ビブリオの増殖

分担研究者：小沼博隆（国立医薬品食品衛生研究所）

研究協力者：仁科徳啓・小澤一弘・浅川 豊（(株) 中部衛生検査センター）、

金子孝昌・久保亮一（関東化学（株））

O3K6 を含めた腸炎ビブリオの 1%ペプトン水中における増殖に及ぼす温度、pH、食塩濃度の影響を実験的に調べた結果、15℃下で pH と食塩濃度が適切であれば良好に増殖できること、pH5.8 においても他の条件が適切であれば良好に増殖できることが判明した。ただし、15℃、pH5.8、食塩濃度7%においては、菌が増殖し難いことが判った。

1. 研究目的

昨年より腸炎ビブリオによる食中毒が増加傾向を示し、とくに血清型 O3K6 による事例が増加してきた。この血清型の増加傾向は我が国のみならず、米国等においても認められており、世界的にその対策が必要とされている。増加の原因については不明であり、その究明のための調査研究も必要とされているが、一方では、既に増加している菌による食品汚染を防止し、食品中での増殖を防止することも急務とされている。本研究の目的は、食品中での腸炎ビブリオ増殖の制御に必要な基礎的知見として、血清型 O3K6 を含む腸炎ビブリオの増殖を、食塩濃度、温度、pH との関連において明らかにすることにある。

2. 研究方法

供試菌株：O1、ATCC17802、1962年大阪、TDH-

O4K8、静岡、患者由来、TDH+

O3K6（以下 O3K6a）、秋田、食品由来、TDH+

O3K6（以下 O3K6b）、秋田、患者由来、TDH+

各菌株を、食塩濃度1%の緩衝ペプトン水（OXOID）中で35℃下18時間静置培養した後、培養菌体を新鮮な同ペプトン水でさらに同条件下で培養した。ついで培養菌液を1%ペプトン加生理食塩水で希釈し、その希釈菌液を接種菌液とした。その菌液を、食塩濃度を1、3または7%に、pHを5.8、7.0または8.0に調整した1%緩衝ペプトン水に、101~102 cfu/ml接種した後に、15、20または25℃下で静置培養した。なお、緩衝ペプトン水のpHは、リン酸緩衝液とクエン酸緩衝液を混合することによって調整した。

培養48時間目まで逐次培養液を採取し、ペプトン水で希釈倍列を作成し、それらの100 μ lを2枚のTCBS寒天平板培地上へコンラージを用いて塗抹してから37℃下で一晩培養し、発育した集落数を計測することによって、0.1ml当たりの菌数を求めた。

3. 研究結果と考察

食塩濃度による影響については、いずれの菌株も1および3%よりも7%において増殖が抑制される傾向が認められた。とくにpH5.8においてその傾向が強く認められた。

食塩濃度7%においては、pH7.0でO3K6aが48時間目に明らかに増殖していたのを除けば、15℃下においていずれのpHにおいても菌数の増加は認め難かった。

食塩濃度1および3%においては、15℃下でいずれのpHにおいても菌が増加する傾向が認められた。ただし、食塩濃度1%においてはpH5.8でO3K6株が他の株よりも適応期が短く、増殖速度が早い傾向が見られた。（以上図1）

各要因の分散分析（統計ソフト StatView による）の結果には、列 1、列 2、列 3、列 4、列 5、列 6、列 7 にそれぞれ菌数、時間、血清型 O3K6 またはその他、食塩濃度、血清型、温度、pH を示してある。表から、時間、pH、食塩濃度、温度によって菌数が影響を受けるが、血清型単独による影響は小さいことが示唆された。しかし、時間と pH、時間と O3K6 か否か、時間と食塩濃度、時間と温度、温度と pH、食塩濃度と温度との間には交互作用があることが認められた。

以上より、O3K6 株は、増殖に影響する要因である pH、温度、食塩濃度が、菌の増殖に不利な条件下では、O3K6 以外の株よりも増殖しやすい傾向が認められ、また時間との組み合わせにおいてこの血清型による相違による影響が統計的に認められたが、本研究で用いた株数は 4 株のみであるため、ここで認められたことが O3K6 全体の特徴であるか否かについてはさらに多数の株を用いなければわからない。いずれにしても本研究により、腸炎ビブリオが 15℃ 下では、pH と食塩濃度が適切であれば良好に増殖できること、pH5.8 においても他の条件が適切であれば良好に増殖できることが、最近、食中毒原因菌として増加してきた O3K6 において成り立つことが判明した。

4. 結論

O3K6 を含めた腸炎ビブリオの 1%ペプトン水中における増殖に及ぼす温度、pH、食塩濃度の影響を実験的に調べた結果、15℃ 下で pH と食塩濃度が適切であれば良好に増殖できること、pH5.8 においても他の条件が適切であれば良好に増殖できることが判明した。ただし、15℃、pH5.8、食塩濃度 7%においては、菌が増殖し難いことが判った。

5. 発表

小澤一弘、仁科徳啓、浅川豊、金子孝昌、久保亮一、小沼博隆、熊谷進。多発している *Vibrio parahaemolyticus* 血清型 O3K6 株の増殖態度。食品微生物学会学術講演会。平成 11 年 10 月。

盛岡。

和田正道、仁科徳啓、久保亮一、小沼博隆、熊谷進。ゴンベルツモデルに基づく腸炎

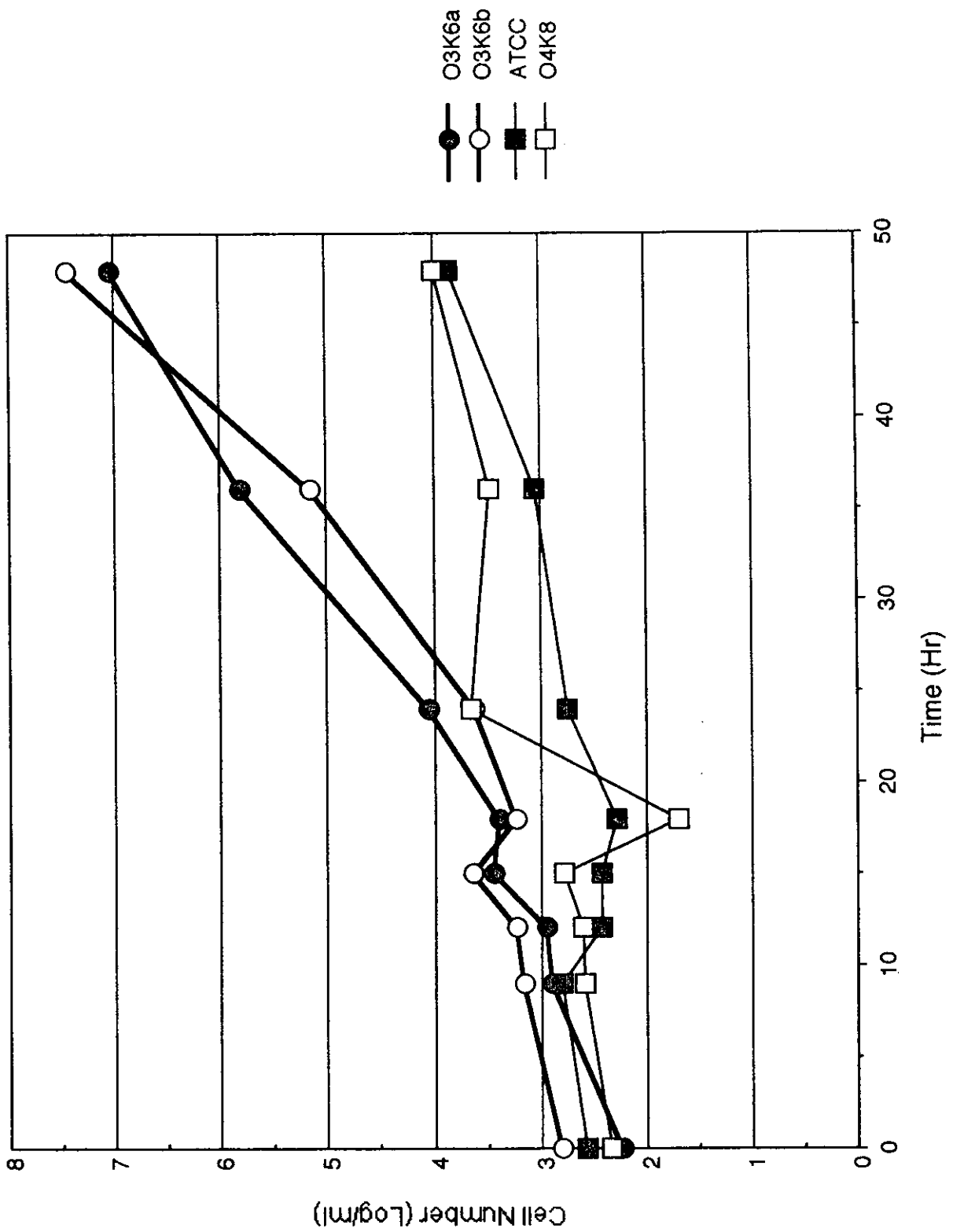
ビブリオの増殖予測式の作成。日本食品衛生学会第 79 回学術講演会。平成 12 年 5 月。

東京。

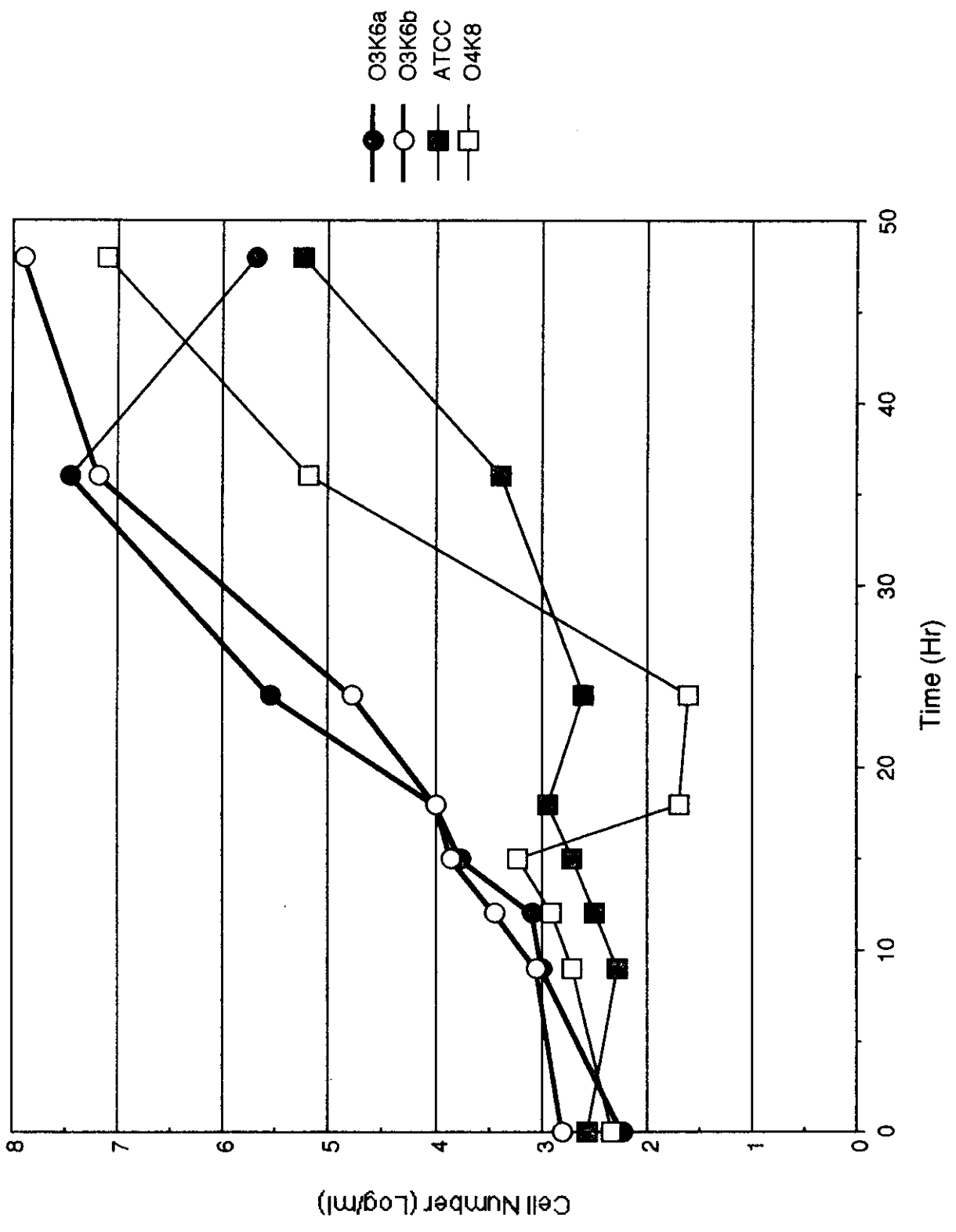
仁科徳啓、小沼博隆、杉山寛治、熊谷進。低温領域における *Vibrio parahaemolyticus* の増殖態

度。第 129 回日本獣医学会学術集会。平成 12 年 4 月。

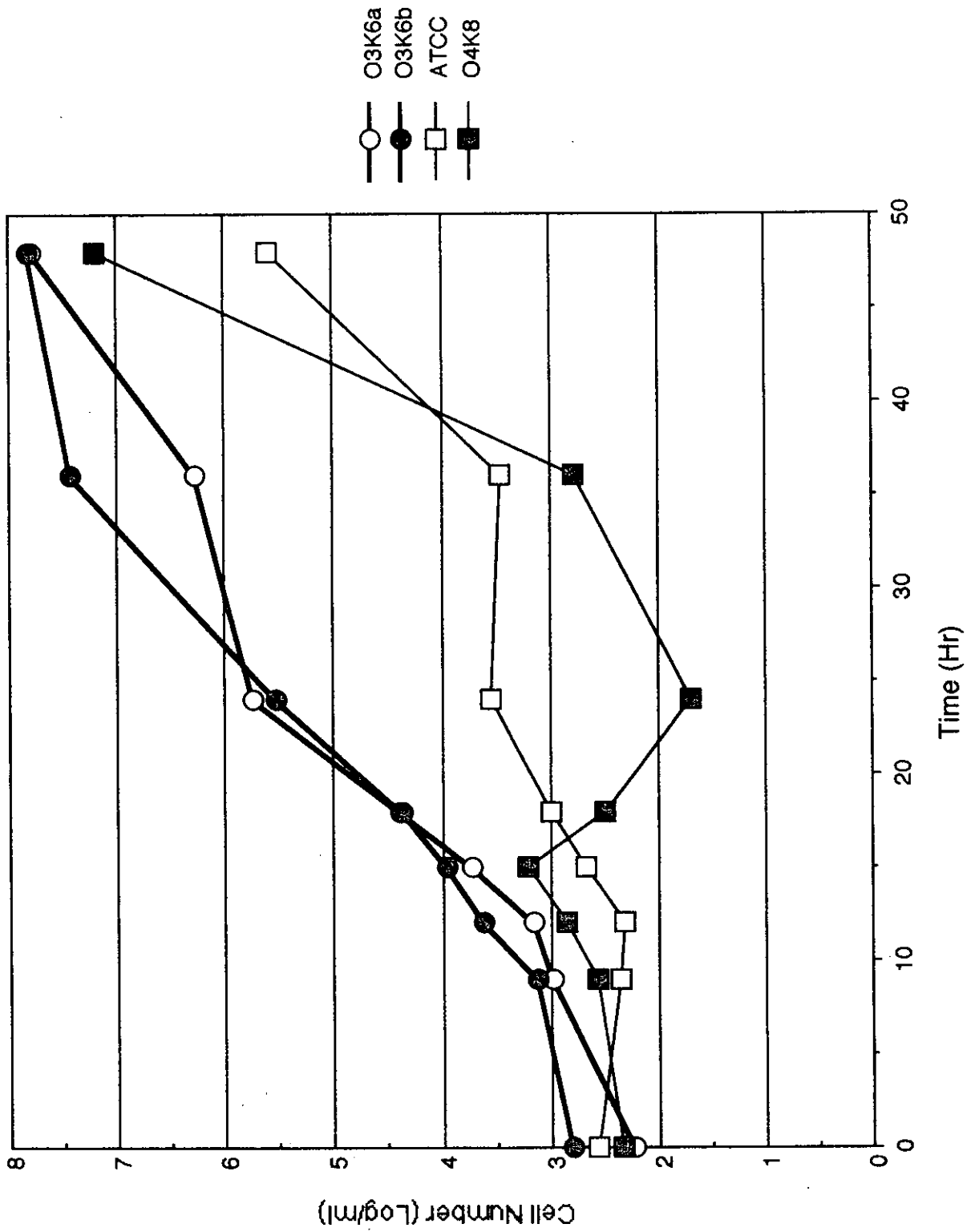
15C pH5.8 1%



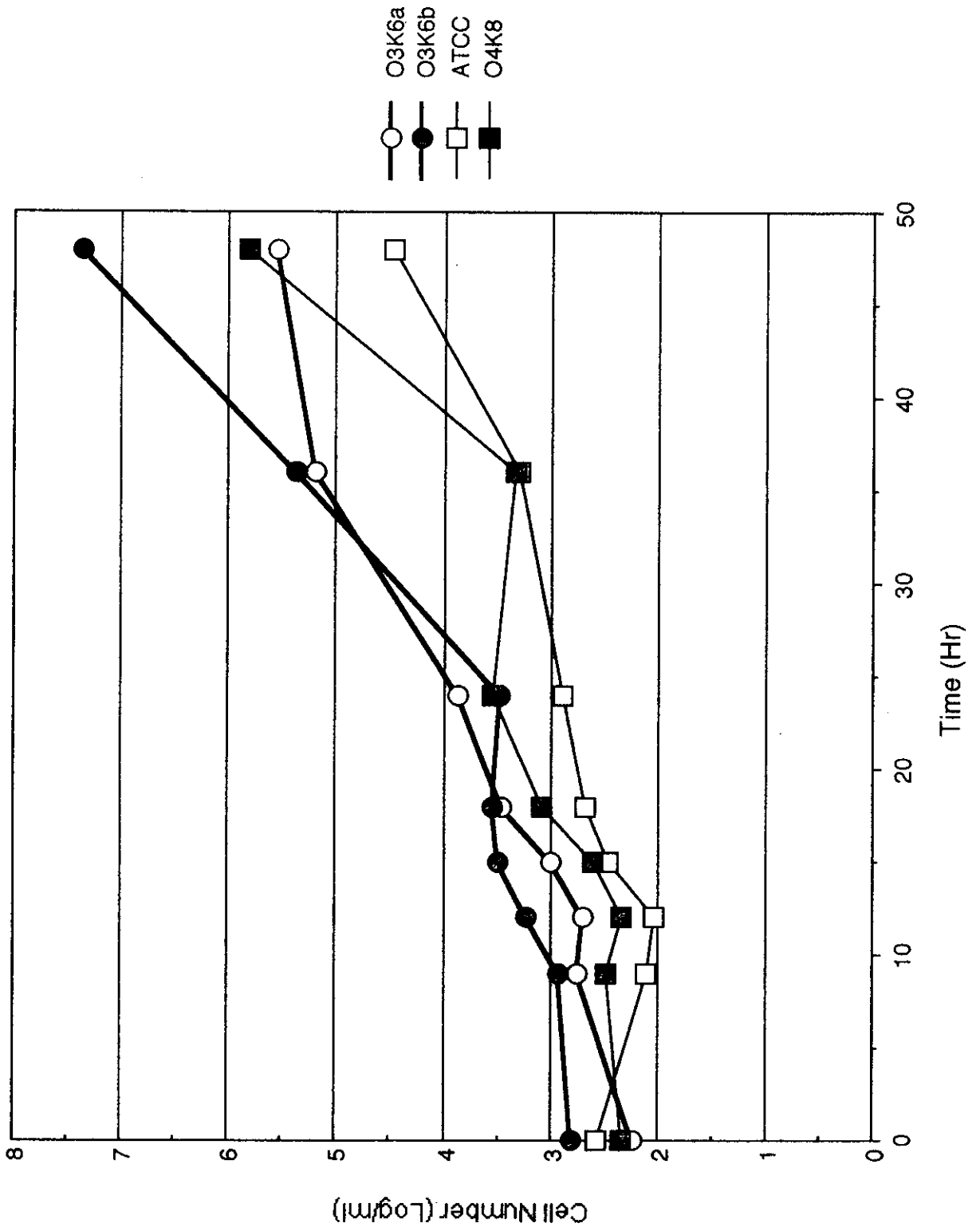
15C pH7 1%



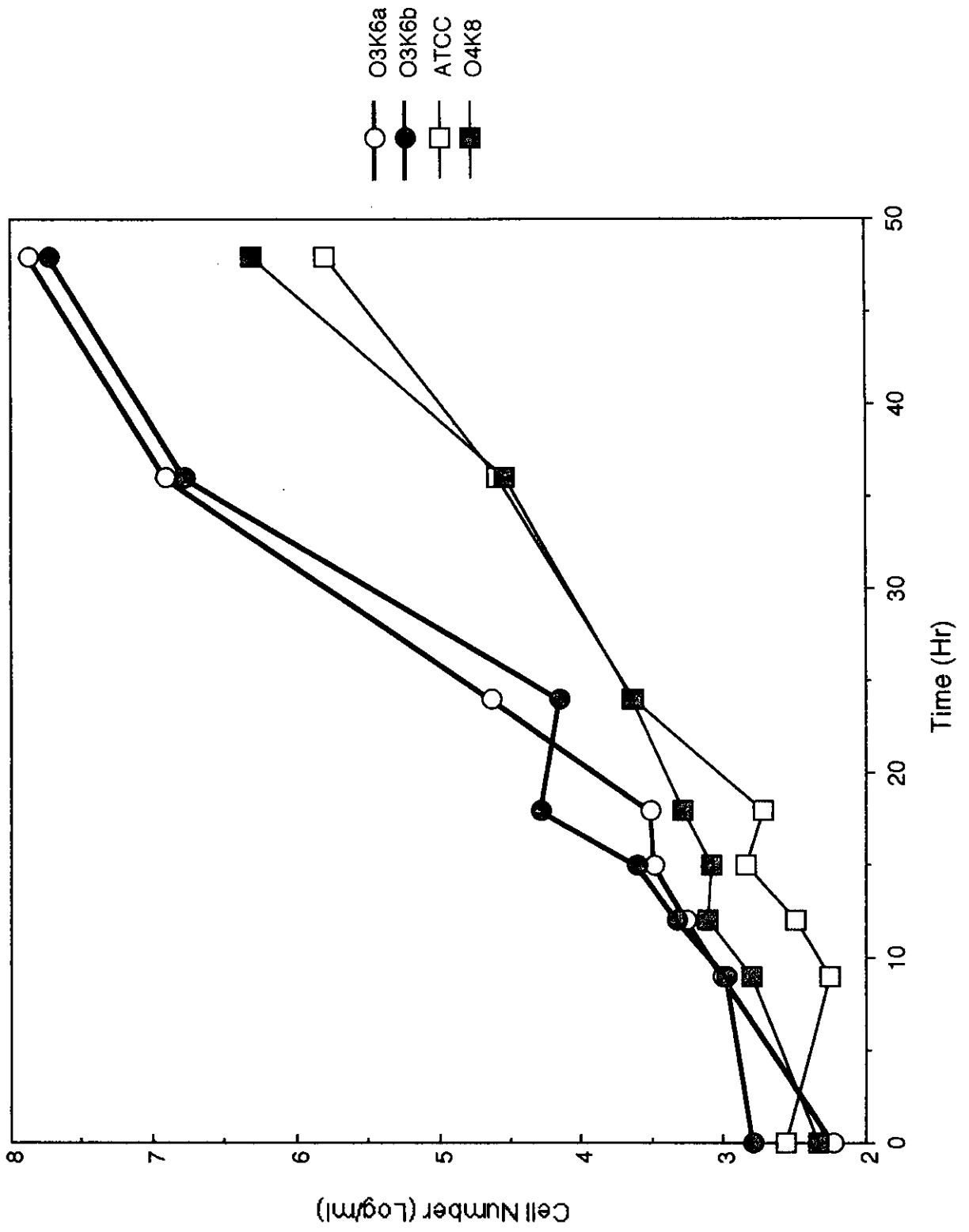
15C pH8 1%



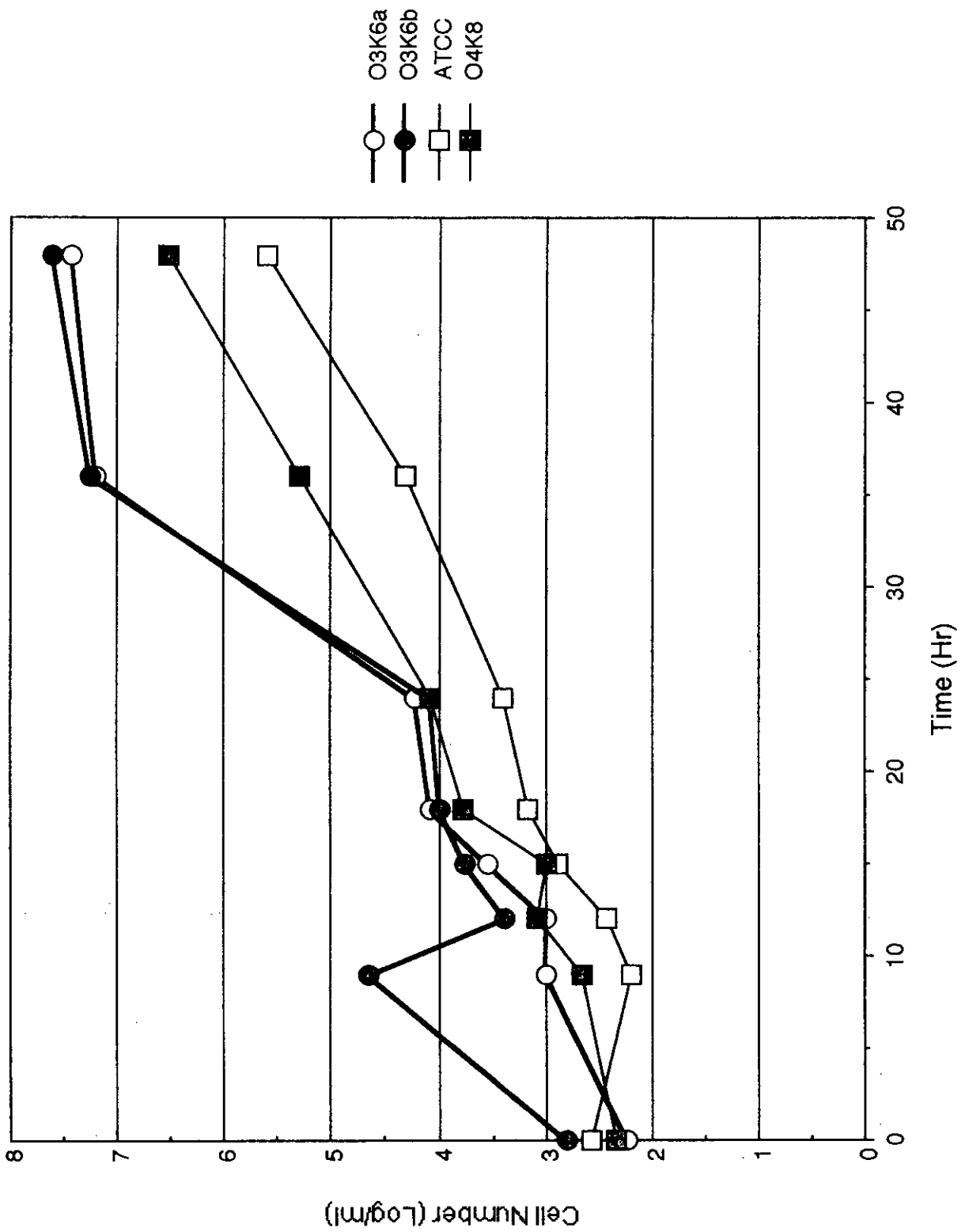
15C pH5.8 3%



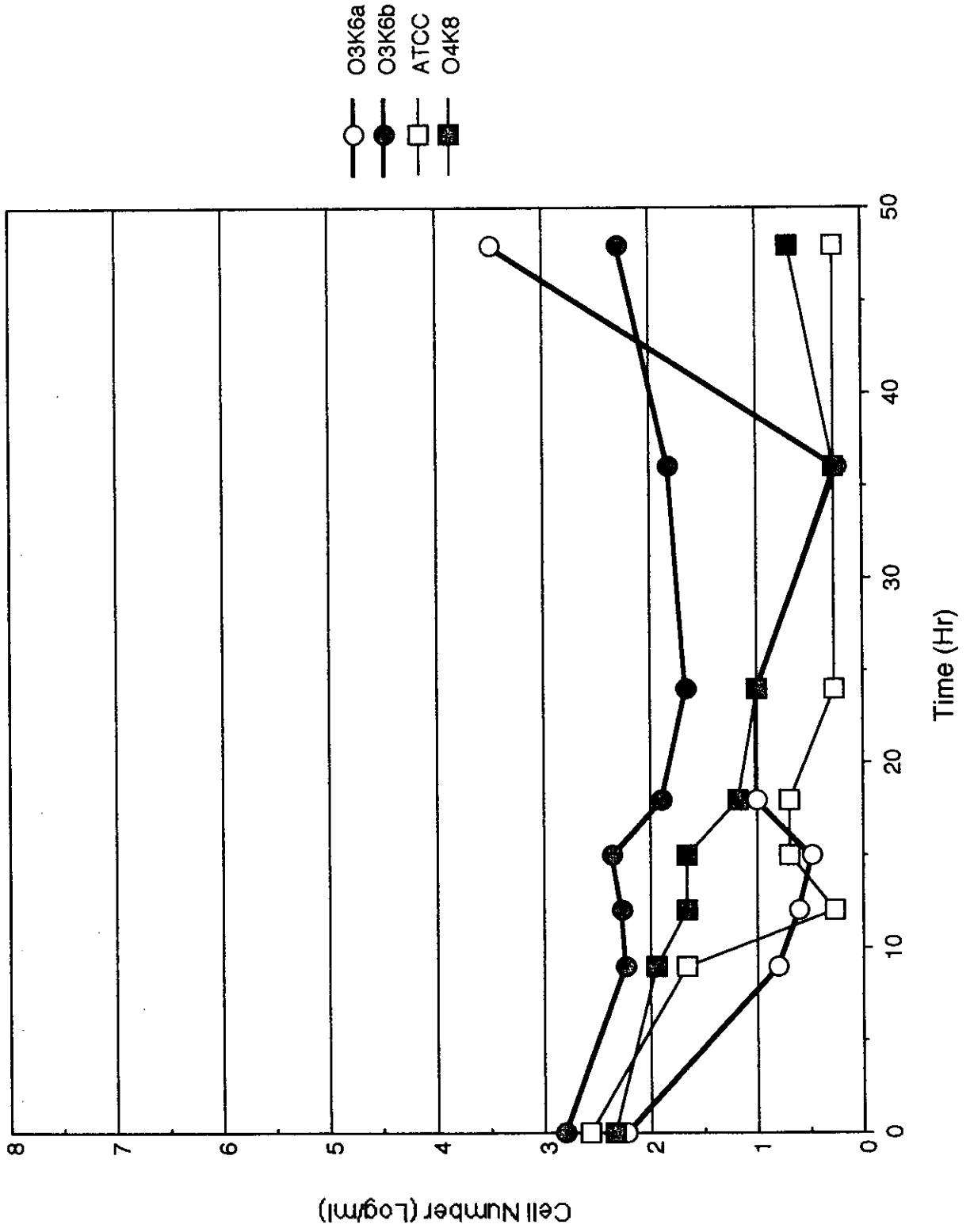
15C pH7 3%



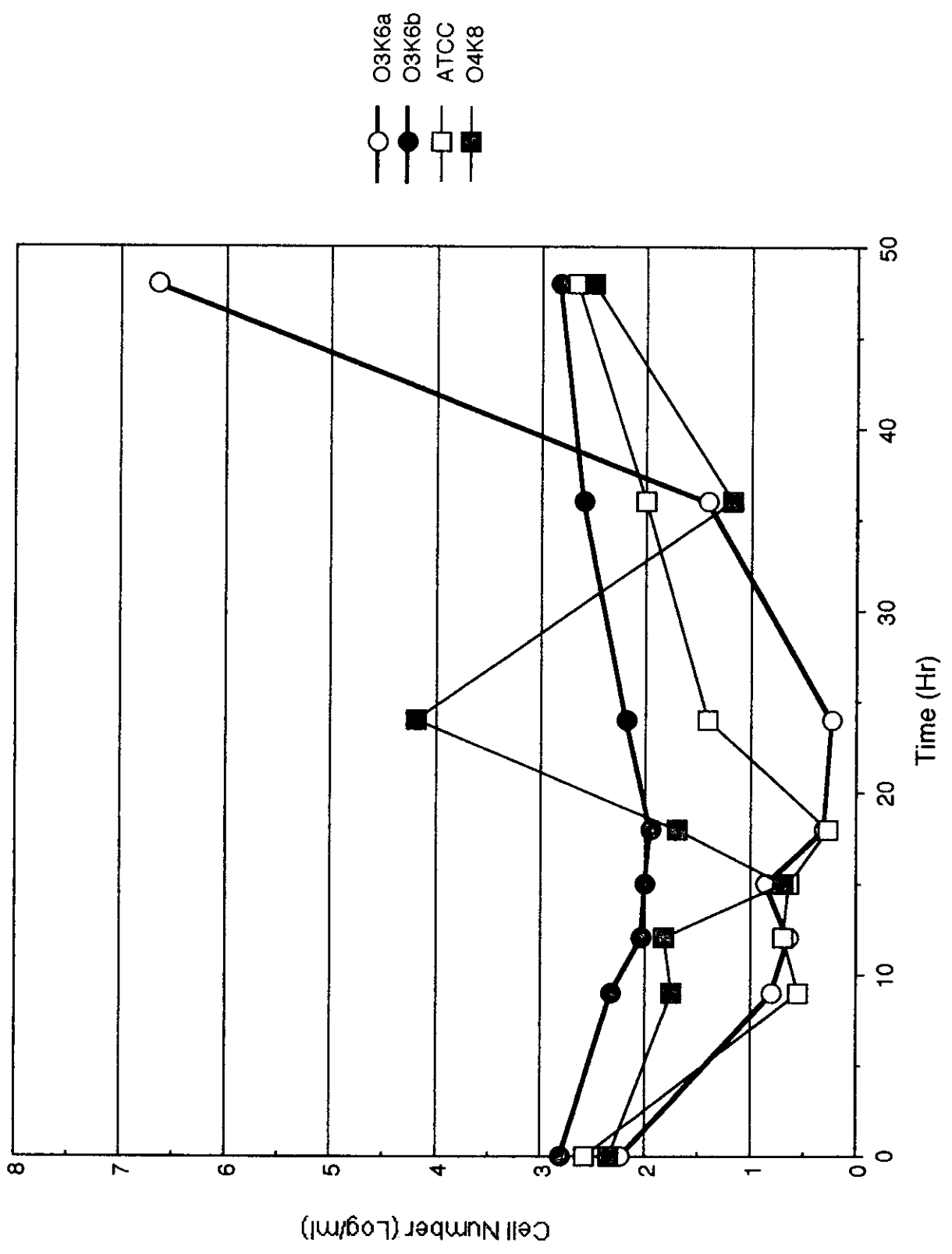
15C pH8 3%



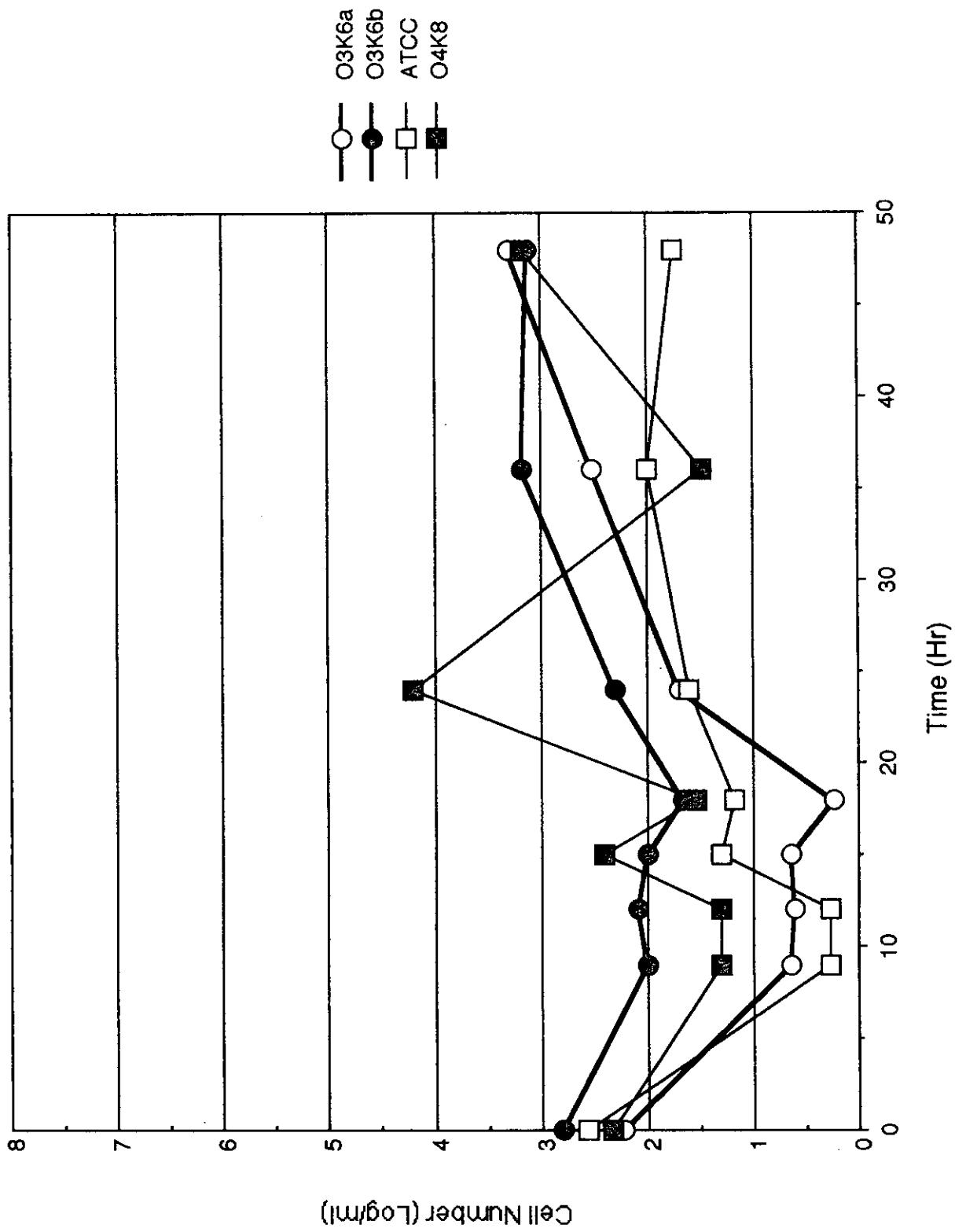
15C pH5.8 7%



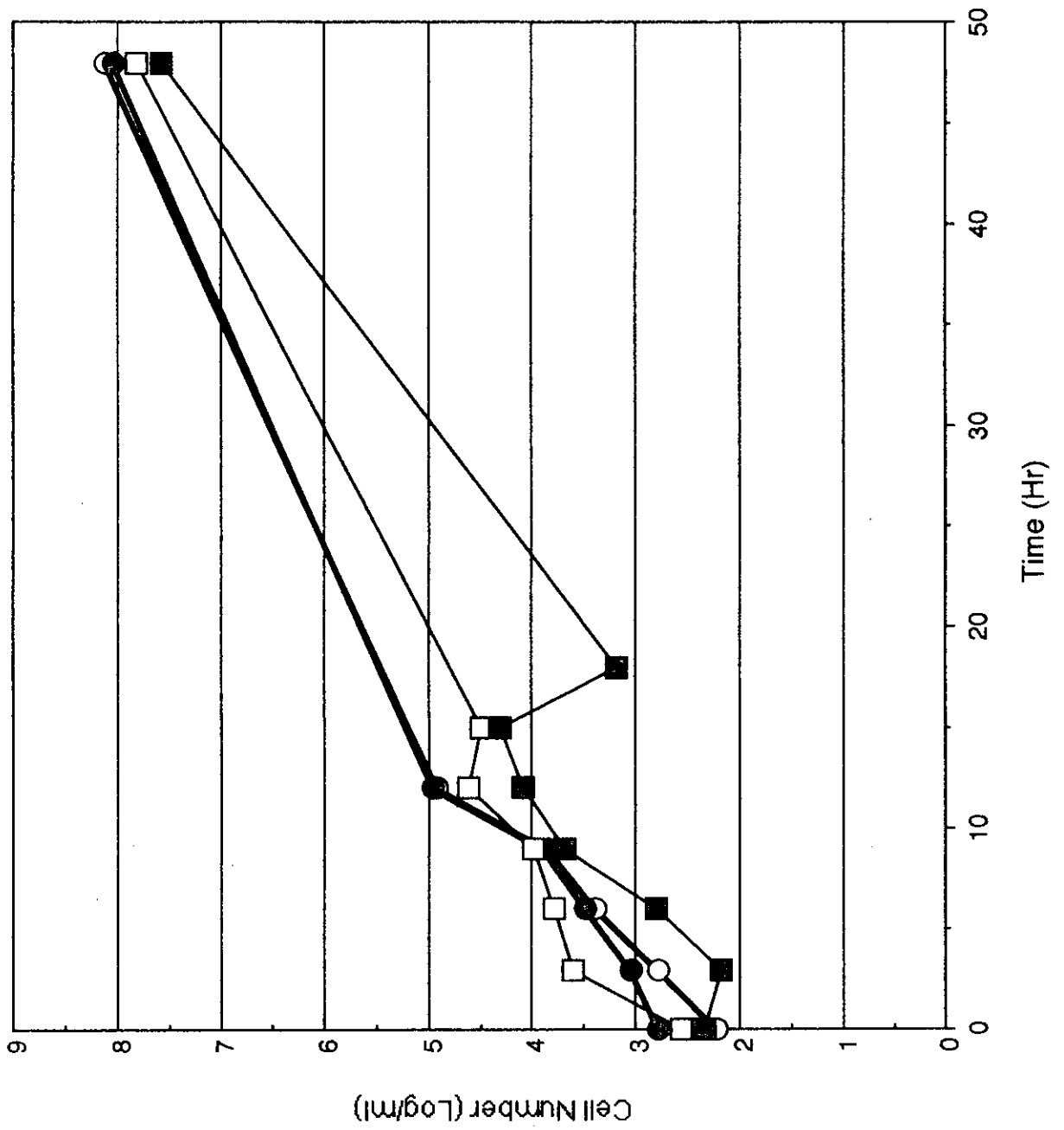
15C pH7 7%



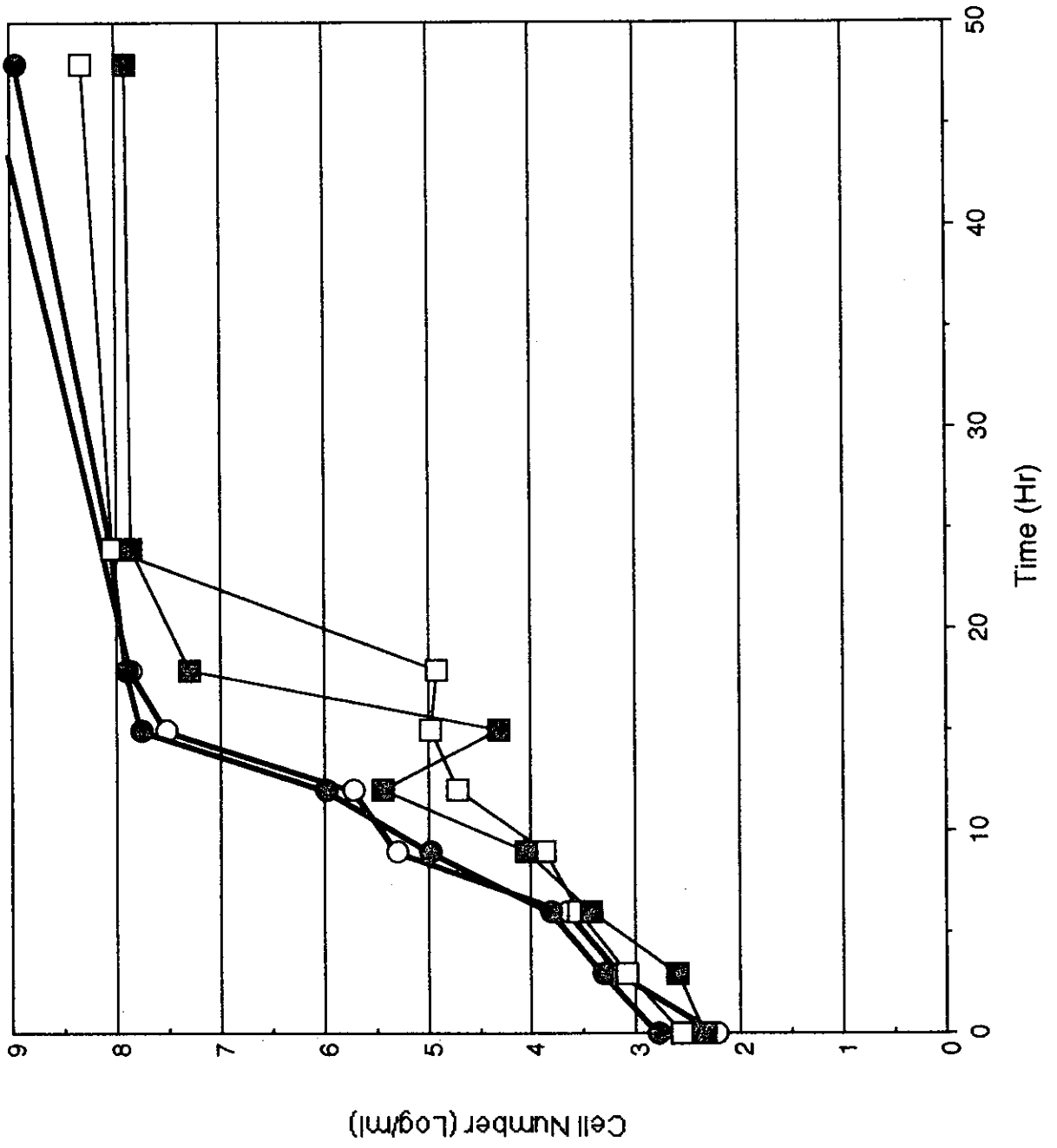
15C pH8 7%



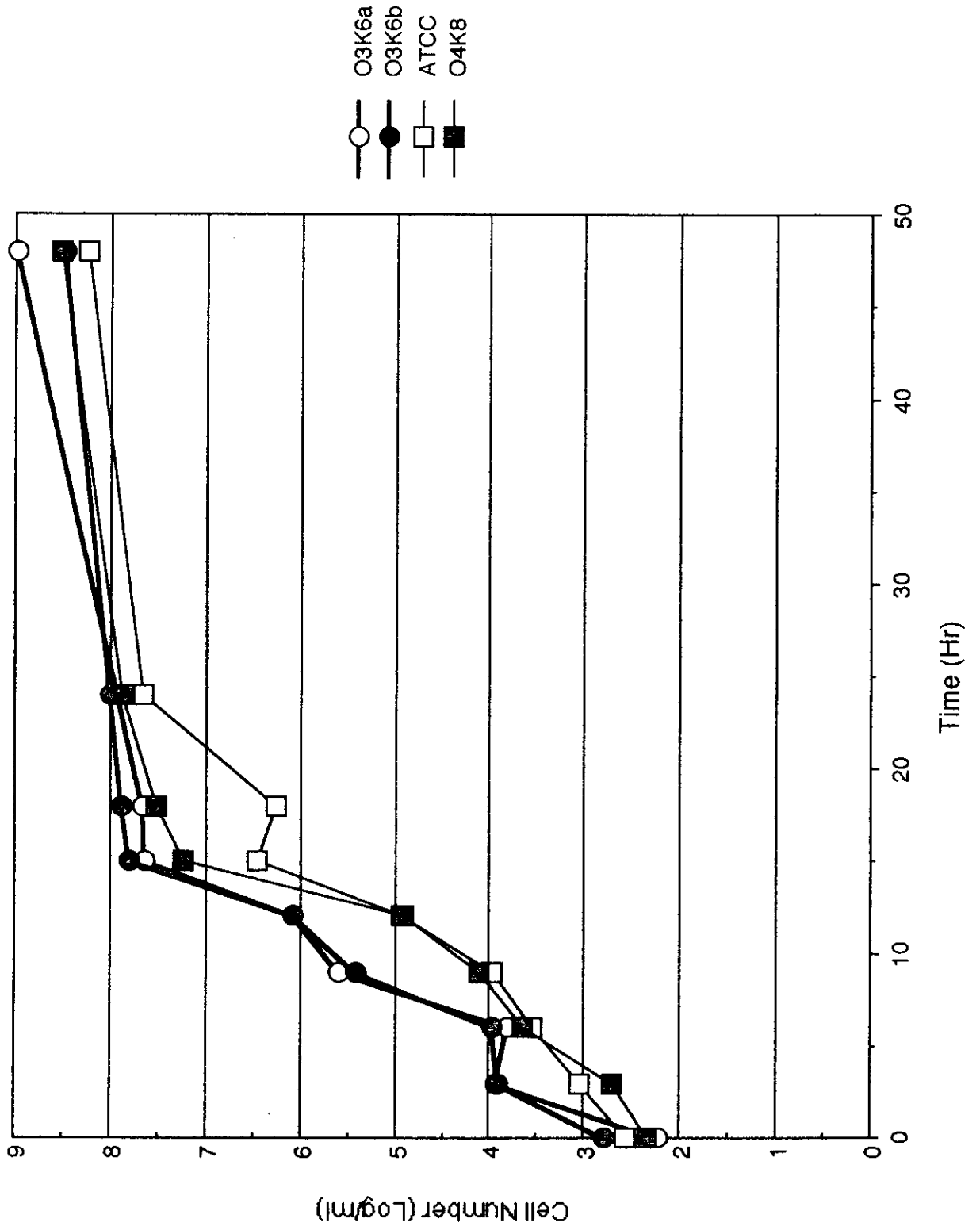
20C pH5.8 1%



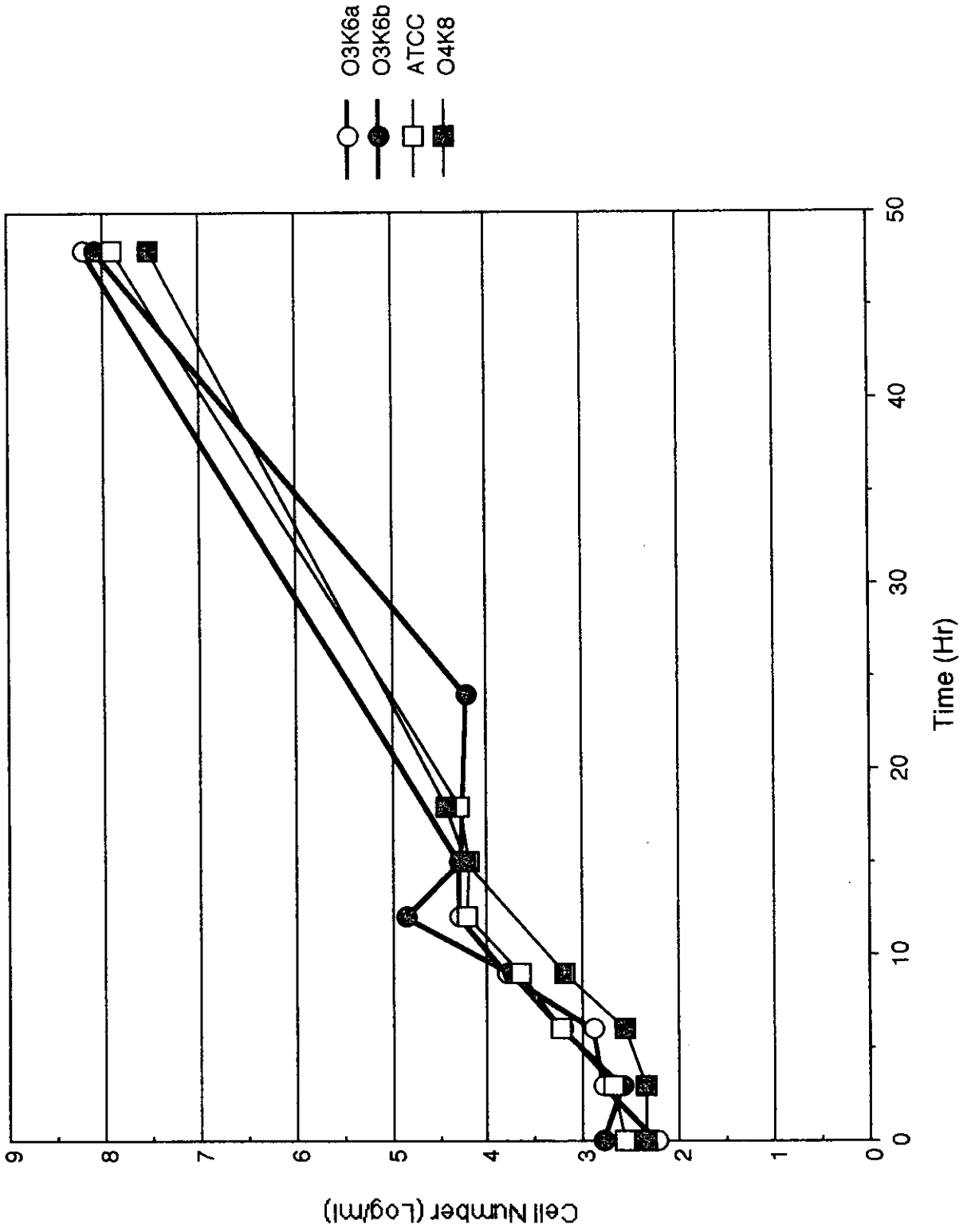
20C pH7 1%



20C pH8 1%



20C pH5.8 3%



20C pH7 3%

