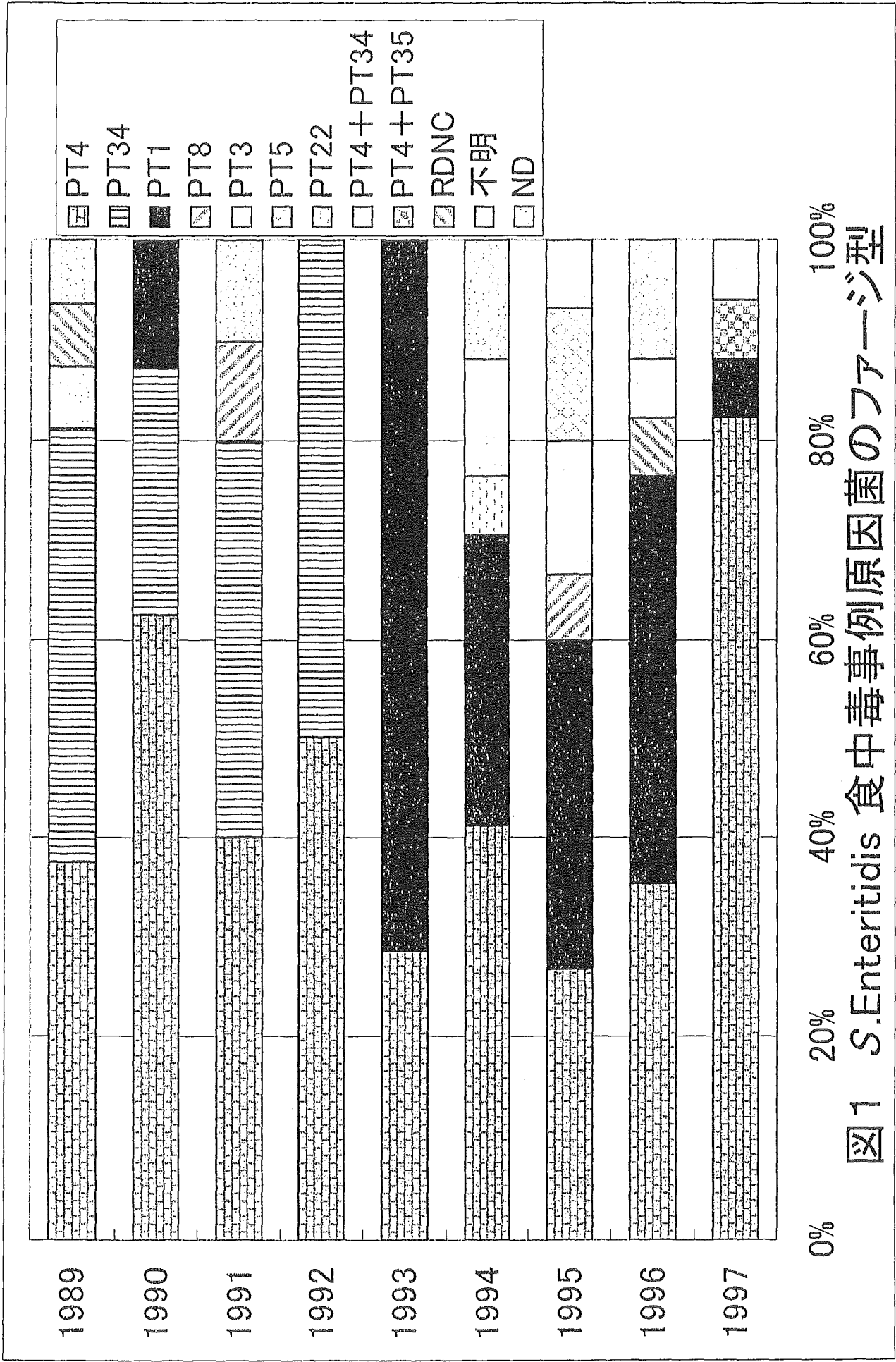


表4 S.Enteritidis 食中毒事例原因菌のファージ型

年	供試事例数	PT4	PT34	PT1	PT8	PT3	PT5	PT22	PT4+ PT34	PT4+ PT35	RDNC	不明	ND
1971	0												
1972	0												
1973	1*												
1974	0												
1975	0												
1976	0												
1977	1*												
1978	0												
1979	1*												
1980	0												
1981	2*												
1982	0												
1983	2*												
1984	0												
1985	0												
1986	1*												
1987	0												
1988	2*												
1989	16	6	7						1		1		1
1990	8	5	2	1									
1991	10	4	4		1								1
1992	6	3	3										
1993	7	2		5									
1994	17	7		5				1				2	2
1995	15	4		5	1	2	2					1	
1996	17	6		7			1				1	1	2
1997	17	14		1						1		1	
1998	6*												
1999	18*												
2000	11*												
2001	5*												
2002	5*												
計	168	51	16	24	2	2	3	1	1	1	2	5	6

\*型別依頼中



0% 20% 40% 60% 80% 100%  
 図1 S. Enteritidis 食中毒事例原因菌のファージ型

表5 液卵のサルモネラ汚染状況(1992～1993年, 東京)

種類			検体数	サルモネラ (%) 陽性数
国産	殺菌	冷凍	2	0
	未殺菌	冷凍	345	28 (8.1)
		冷蔵	14	0
輸入	殺菌	冷凍	24	0
計			385	28 (7.3)

表6 国産, 未殺菌, 冷凍液卵の種類と検出されたサルモネラ血清型(1992～1993年, 東京)

種類	検査 件数	サルモネラ 陽性数	サルモネラ (%)	血清型			
				Enteritidis	Bareilly	Braenderup	その他
全卵	83	9	10.8	5	3	1*	Agona (1)
卵黄	83	11	13.3	8	2		Cerro (1)
卵白	78	6	7.7	4	1	1	
ホール卵	100	2	2.0	2			
加糖卵黄	1	0					
計	345	28	8.1	19**	6	2	2

\* 同一検体からSEも検出

\*\* フェージ型は全てPT4

表7 国産、未殺菌、冷凍液卵の生菌数分布 (1992~1993年, 東京)

種類	サルモネラ		生菌数(cfu/g)					
	検出	検体数	<10	10 <sup>1</sup>	10 <sup>2</sup>	10 <sup>3</sup>	10 <sup>4</sup>	10 <sup>5</sup>
全卵	-	74	20	10	7	17	11	9
	+	9				1	5	3
卵黄	-	72	18	17	12	17	8	
	+	11		1	1	6	3	
卵白	-	72	15	17	29	6	5	1
	+	6			4	2		
ホール卵	-	98	5	24	13	35	17	4
	+	2		1			1	
加糖卵黄	-	1		1				
小計	-	318	58	69	61	75	41	14
	+	27		2	4	9	9	3
計		345	58	71	65	84	50	17

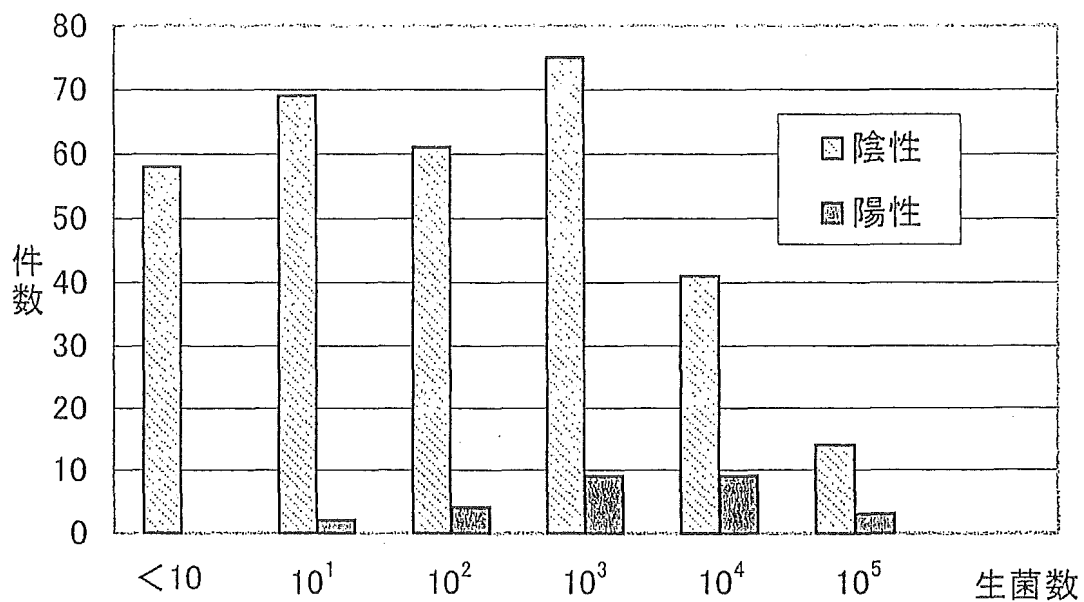


図2 国産、未殺菌、冷凍液卵の生菌数分布

平成14年度厚生労働科学研究費補助金（生活安全総合研究事業）  
分担研究報告書

液卵製造の高度衛生管理に関する研究

分担研究者 高鳥浩介 国立医薬品食品衛生研究所

3) サルモネラに関する研究

(2) *Salmonella* Enteritidis の生残性に及ぼす相対湿度の影響

食品製造工場においては機器の表面に付着した細菌が製造工程を流れる食品を汚染し、汚染を広げることが危惧され、食品衛生学分野においてはその生残性は大きな問題となっている。装置の表面は微少な水分環境を形成しており、この環境は空気と接触した表面からの水分蒸発のやりとりによって変化し、相対湿度、表面の水分活性によって決まる。*Salmonella* はチョコレートや粉ミルクのような低水分活性下での生残性が高いことが報告されており、このような低水分活性下で生残可能な菌は、食品製造工場において注目すべき微生物である。液卵工場内や液卵を用いた食品加工工場においては原料卵に由来する *Salmonella* Enteritidis が機器や工場内環境下の低水分活性下で長期間生存し、継続的な汚染源となる危険性が考えられる。

本実験においては、食品加工工場の環境内の装置表面の環境条件と *S. Enteritidis* の生残性を探るために、飽和塩溶液により相対湿度を調整した環境下における生残性試験を行った。食中毒事例の多いフェージ型を含めた6種のフェージ型の *S. Enteritidis* を用いることにより実施し、低湿度環境下における *S. Enteritidis* のフェージ型の違いによる生残性の相違を調べたので報告する。

研究協力者

尾上洋一

神奈川県衛生研究所

古川一郎

神奈川県衛生研究所

食品衛生学分野においてはその生残性は大きな問題となっている。本研究では工場内で予想される低水分活性下を想定し *Salmonella* を対象に生残性について研究を行った。

A. 目的

食品製造工場においては機器の表面に付着した細菌が製造工程を流れる食品を汚染し、汚染を広げることが危惧され、

B. 方法

1 供試菌株

菌株は東京都立衛生研究所において分離した *S. Enteritidis* 97-20(PT 4), 97-109(PT 1), 97-324(PT 6), 97-378(PT 34), 95-

230(PT 8)及び 02-26(PT 29)を試験に供した。

## 2 供試菌の調製

各供試菌株を Tryptic Soy Broth(Difco)で 25°C、48 時間培養により、2 回植えついだ菌液を 0.1%ペプトン加生理食塩水 9ml で 100 倍まで階段希釈し、その 100 $\mu$ l をシャーレ上においた直径 10mm の枝肉の抗菌性物質検査用ペーパーディスク（東洋濾紙）に接種した。接種後、50°Cのふらん器中で 30 分間乾燥し、その後の相対湿度調整環境下の生残性試験に供した。

## 3 相対湿度調整用容器を用いた生残性試験モデル

McDate<sup>5)</sup>の方法に準じて、菌を接種したペーパーディスクをプラスチック製の滅菌バイプレートシャーレ（栄研器材）の各分割に菌株ごとに 5 枚ずつ置き、3 段重ねて、図 1 のように各種の飽和塩溶液 20ml を底部に入れた 500ml 用のポリカーボネート製容器（NALGEN、226-0500）内に設置し、25°Cのふらん器中で保存した。

## 4 相対湿度調整用飽和塩溶液の調製

適当な塩溶液とともに試料を容器の中に閉じこめることにより、試料はあらかじめ定めた水分活性で平衡の相対湿度になるとされている。Rockland<sup>6)</sup>が報告している飽和塩溶液の水分活性値から表 1 のように 4 種の飽和塩溶液を選定し相対湿度条件を調整した。

## 5 *Salmonella* 菌数の測定

0,3,6,9,15 および 24 日後に菌を接種したペーパーディスクを 1 枚取り出し、ストマッカー袋に入れ、10ml の滅菌 0.1%ペプトン加生理食塩水を加えた後、ディスクをきづちで完全に破碎後、そのホモジナイズ溶液を表面をよく乾燥させた菌数測定用の平板 2 枚に 0.5ml ずつ塗抹し、また、0.1ml 量を 1 平板に塗抹した。さらに、必要に応じ 10 倍段階希釈を行い、その 0.1ml を同様に塗抹した。培養は各培地とも 35°C、48 時間培養後、発育した *Salmonella* の集落数を測定した。

## 6 菌数測定用培地

菌数測定の基本培地として Trypticase Soy Agar II (BBL,TSA II 培地)を用い、さらに損傷菌測定用として Trypticase Soy Agar II に 1%量のピルビン酸ナトリウムを加えた TSA II+P 培地を用いた。また、非損傷菌検出用培地として選択培地である DHL 寒天培地（日水製薬）を用いた。

## C. 結果および考察

*S.Enteritidis* の環境中における生残性を探るために、相対湿度を調整した密閉容器を用いて実験を行った。湿度の調整は各水分活性を示す飽和塩溶液を用いて雰囲気中の相対湿度を 12,33,52 および 72%に調整し、25°Cのふらん器中で測定した。接種後から保存 24 日までの生残性試験結果を表 2 から 7 に示した。

接種した *S.Enteritidis* 6 菌株の 1 Disk

あたりの初発菌数は TSA II 培地平板の測定菌数では  $1.5 \times 10^6 \sim 2.6 \times 10^6/\text{Disk}$ 、TSA II +P 培地平板では  $1.7 \times 10^6 \sim 2.6 \times 10^6/\text{Disk}$ 、DHL 培地平板では  $1.1 \times 10^6 \sim 2.3 \times 10^6/\text{Disk}$  であり、3 培地平板はほぼ同様の菌数を示し、損傷状態の菌はわずかであった。

25°Cで3日保存後では、相対湿度 76%では各菌株は  $10^5/\text{Disk}$  の菌数を保っていたが、12,33 および 52%の相対湿度では PT 1, 6, 3 4 および 2 9 株の菌数の減少が大きかった。その中では、TSA II 培地平板の測定菌数では  $10^2 \sim 10^4/\text{Disk}$ 、TSA II +P 培地平板では  $10^3 \sim 10^4/\text{Disk}$ 、DHL 培地平板では  $< 10 \sim 10^4/\text{Disk}$  であった。また、これらの菌数減少の大きかった4株のフェージ型においては、胆汁酸塩の加えられた選択培地であることから非損傷菌のみが発育するとされる DHL 培地上の菌数は、非選択培地発育菌数の  $1/100 \sim 1/1000$  にすぎず、多くの菌が損傷状態にあったと考えられる。

保存6日後では相対湿度 76%においても3日後の 12~52%と似た菌数減少の傾向を示した。相対湿度 12~52%では DHL 培地では発育しなくなる菌株が認められ、すべての菌が損傷状態にあると考えられた。

保存9日後では P T 6 株は相対湿度 12%および 52%において、3種類の培地すべてで発育が認められなかった。一方、P T 8 株は TSA+P 培地で  $10^2$  から  $10^4$  の菌数が維持されており、菌株により生残性に大きな違いがあることが示さ

れた。

保存 15 日後の相対湿度 12%では PT8 および 29 株のみに生残が認められた。相対湿度 52 および 76%においては非選択培地、選択培地の3培地ともに発育が認められない菌株が増え、この傾向は保存 24 日においてはさらに顕著となり、全菌株の生残が認められた相対湿度は 33%のみとなり、33%が最も生残性を維持しやすいことが示された。

また、各菌株の各相対湿度に対する生残性をみると、生残性の高い菌株はいずれの湿度条件においても、高い生残性を示していた。

村瀬ら<sup>7)</sup>は神戸市における 1989 年から 2002 年の *S. Enteritidis* による食中毒事例等のフェージ型を解析し、ほとんどが PT1, PT4, PT6 および PT34 による食中毒であった報告しており、また、未殺菌液卵の調査では PT1 および PT4 は全国の液卵から分離されているが、PT34 は北海道を除く地域から分離され、PT6 は関西、中国地方から高頻度に分離されるというフェージ型の分布の偏りを報告している。

また、1996 年から 2000 年までの *S. Enteritidis* の全国の集団および家族内感染事件集計におけるフェージ型分布では<sup>8)</sup>、648 事件中 PT4 が最も多く 267 件 (41.2%) であり、ついで PT1、215 件 (33.1%)、PT6、25 件 (3.9%)、PT47、20 件 (3.1%)、PT6a、17 件 (2.6%)、PT5 と PT21 とともに各 13 件 (2.0%)、PT34 は 6 件 (0.9%) であることが示されている。



村瀬らは食中毒事例同様に液卵の *S. Enteritidis* の汚染は PT1 および PT4 が多いことを報告し、分布と食中毒事例との関連がうかがえるが、今回の生残性試験においては、これらの PT1 および PT4 のフェージ型の *S. Enteritidis* は生残性が比較的低かったことから、分布の多さと生残性の間に関わりは認められないと推察される。

Mattick, K.L. ら<sup>9)</sup>は NaCl で水分活性 ( $A_w$ ) を調整した TSB 培地に *S. Enteritidis* PT4 を接種し、生残性を検討したところ、 $A_w$  0.95 では 21°C で 57 日間生残する菌株が認められたが、 $A_w$  0.92 では 14 日後には検出されなかったことを報告している。一方、今回の湿度調整下の雰囲気中の実験では相対湿度 33% においては 24 日後にも生残し、同じ  $A_w$  値であっても培養液中と雰囲気中の  $A_w$  (相対湿度) では死滅速度が大きく異なると考えられる。

#### D. 結論

*S. Enteritidis* の生残性におよぼす相対湿度の影響を温度 25°C 保存で 12, 33, 52, 76% の相対湿度環境下で調べたところ、相対湿度 33% で最も生残性が高く、損傷菌の状態ではあるものの全供試菌株が 24 日後においても生残することが示されており、施設内の清掃、消毒の管理の重要性が改めて示された。

#### E. 文献

1) John A. Troller and Christian J.H.B. (平田 孝、林 徹 訳)、食品と水分活

性、p.44、学会出版センター、東京 (1981)

- 2) Gill, O.N. et al.: Outbreak of *Salmonella napoli* infection caused by contaminated chocolate bars. *Lancet* i, 574-577 (1983)
- 3) Rowe, B. et al.: *Salmonella ealing* infections associated with consumption of infant dried milk. *Lancet* ii, 900-903 (1987)
- 4) Tamminga, S.K. et al.: Survival of *Salmonella eastborne* and *Salmonella typhimurium* in chocolate. *J. Hyg.*, 76, 41-48 (1976)
- 5) MaDate J.J. and Hall L.B.: Survival of *Staphylococcus aureus* in the environment. *Am. J. Hyg.* 78, 330-337 (1963)
- 6) Rockland, L.B.; Saturated salt solutions for static control of relative humidity between 5 and 40 °C. *Anal. Chem.* 32, 1375-1376 (1960)
- 7) 村瀬 稔、黒川 学、栗原健志、池田律子、泉谷秀昌、渡辺治雄：神戸市における過去 14 年間(1989~2002 年)の *Salmonella Enteritidis* による食中毒事例のフェージ型による解析、*日本食品微生物学雑誌*、19, 195-199 (2002)
- 8) 感染症研究所、厚生省保健医療局結核感染症課：病原微生物検出情報, 21, No.8 (2000)
- 9) Mattick, K.L. et al.: Survival and filamentation of *Salmonella enterica* serovar *Enteritidis* PT4 and

*Salmonella enterica* serovar  
Typhimurium DT104 at low water  
activity. Appl. Environ. Microbiol.  
66,1274-1279 (2000)

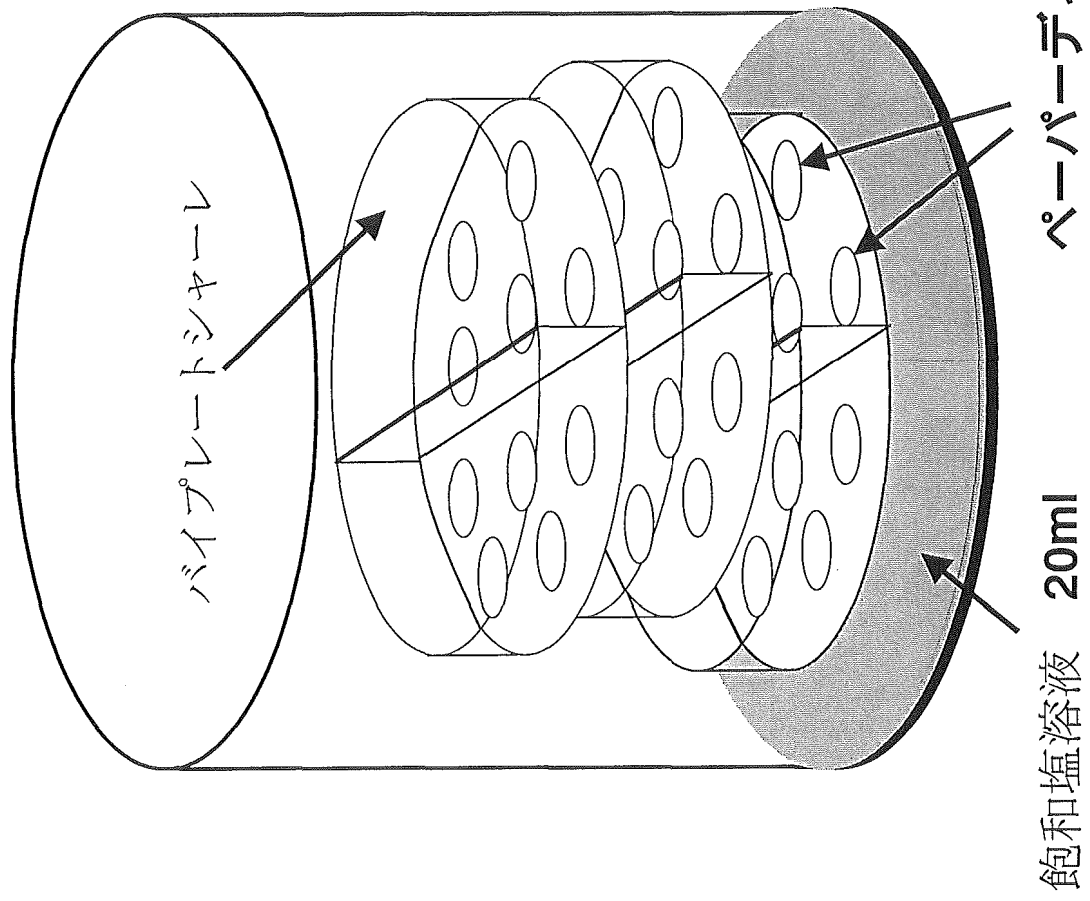


図1 相対湿度調整用容器を用いた生残性試験モデル

表1 相対湿度調整用飽和塩溶液

飽和塩溶液	相対湿度
LiCl · H <sub>2</sub> O	12%
MgCl <sub>2</sub> · 6H <sub>2</sub> O	33%
Mg(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> · 6H <sub>2</sub> O	52%
NaCl	76%

表2 Salmonella Enteritidisの生残性に及ぼす相対湿度の影響 (接種時)

菌株名	ファージ型	検出培地		
		TSA II 培地 (非選択培地)	1%ピリノ酸Na加TSA II 培地 (損傷菌回復用培地)	DHL培地 (選択培地)
		/Disk	/Disk	/Disk
97-20	PT4	1,500,000	1,700,000	1,100,000
97-109	PT1	2,500,000	2,600,000	2,200,000
97-324	PT6	2,400,000	2,300,000	2,300,000
97-378	PT34	2,400,000	2,200,000	1,900,000
95-230	PT8	2,200,000	2,000,000	1,700,000
02-26	PT29	2,600,000	2,400,000	2,300,000

表3 Salmonella Enteritidisの生残性に及ぼす相対湿度の影響

(保存3日後)

相対湿度	菌株名	ファージ型	検出培地		
			TSA II 培地 (非選択培地)	1%ピリン酸Na加TSA II 培地 (損傷菌回復用培地)	DHL培地 (選択培地)
12%	97-20	PT4	/Disk 6,100	/Disk 4,200	/Disk 2,500
	97-109	PT1	500	2,600	700
	97-324	PT6	900	2,300	200
	97-378	PT34	2,400	9,500	1,200
	95-230	PT8	10,000	18,000	5,900
	02-26	PT29	800	3,100	100
33%	97-20	PT4	/Disk 56,000	/Disk 50,000	/Disk 25,000
	97-109	PT1	1,100	12,000	500
	97-324	PT6	2,700	11,000	800
	97-378	PT34	3,600	17,000	2,300
	95-230	PT8	8,500	11,000	6,200
	02-26	PT29	1,500	4,300	100
52%	97-20	PT4	/Disk 35,000	/Disk 31,000	/Disk 25,000
	97-109	PT1	2,900	13,000	800
	97-324	PT6	900	2,500	<10
	97-378	PT34	1,400	3,200	400
	95-230	PT8	56,000	52,000	36,000
	02-26	PT29	1,600	4,100	700
76%	97-20	PT4	/Disk >10 <sup>5</sup>	/Disk >10 <sup>5</sup>	/Disk >10 <sup>5</sup>
	97-109	PT1	>10 <sup>5</sup>	>10 <sup>5</sup>	>10 <sup>5</sup>
	97-324	PT6	>10 <sup>5</sup>	>10 <sup>5</sup>	>10 <sup>5</sup>
	97-378	PT34	>10 <sup>5</sup>	>10 <sup>5</sup>	>10 <sup>5</sup>
	95-230	PT8	>10 <sup>5</sup>	>10 <sup>5</sup>	>10 <sup>5</sup>
	02-26	PT29	>10 <sup>5</sup>	>10 <sup>5</sup>	>10 <sup>5</sup>

表4 Salmonella Enteritidisの生残性に及ぼす相対湿度の影響  
保存6日後

相対湿度	菌株名	ファージ型	検出培地		
			TSA II 培地 (非選択培地)	1% 塩化ナトリウム TSA II 培地 (損傷菌回復用培地)	DHL 培地 (選択培地)
12%	97-20	PT4	/Disk 100	/Disk 100	/Disk <10
	97-109	PT1	<10	100	<10
	97-324	PT6	100	230	<10
	97-378	PT34	100	500	<10
	95-230	PT8	700	4,100	400
	02-26	PT29	100	500	<10
	33%	97-20	PT4	/Disk 200	/Disk 200
97-109		PT1	<10	5,300	100
97-324		PT6	100	2,500	100
97-378		PT34	100	2,700	<10
95-230		PT8	2,600	2,900	1,000
02-26		PT29	700	2,200	300
52%		97-20	PT4	/Disk 9,500	/Disk 10,000
	97-109	PT1	<10	900	<10
	97-324	PT6	<10	400	<10
	97-378	PT34	<10	500	<10
	95-230	PT8	60,000	60,000	46,000
	02-26	PT29	600	1,700	500
	76%	97-20	PT4	/Disk 10,000	/Disk 13,000
97-109		PT1	<10	1,800	<10
97-324		PT6	1,300	7,800	1,300
97-378		PT34	200	2,100	100
95-230		PT8	80,000	92,000	14,000
02-26		PT29	2,400	3,500	1,200

表5 Salmonella Enteritidisの生残性に及ぼす相対湿度の影響

(保存9日後)

相対湿度	菌株名	ファージ型	検出培地		
			TSA II 培地	1%ピルリチン酸Na加TSA II 培地	DHL培地
			(非選択培地)	(損傷菌回復用培地)	(選択培地)
			/Disk	/Disk	/Disk
12%	97-20	PT4	<10	20	<10
	97-109	PT1	<10	20	<10
	97-324	PT6	<10	<10	<10
	97-378	PT34	10	10	<10
	95-230	PT8	520	950	300
	02-26	PT29	30	20	40
			/Disk	/Disk	/Disk
33%	97-20	PT4	110	170	20
	97-109	PT1	<10	530	<10
	97-324	PT6	10	180	<10
	97-378	PT34	10	210	<10
	95-230	PT8	2,500	2,500	2,300
	02-26	PT29	90	90	80
			/Disk	/Disk	/Disk
52%	97-20	PT4	2,100	2,300	950
	97-109	PT1	<10	30	<10
	97-324	PT6	<10	<10	<10
	97-378	PT34	<10	40	<10
	95-230	PT8	7,400	9,000	6,000
	02-26	PT29	230	260	240
			/Disk	/Disk	/Disk
76%	97-20	PT4	600	900	60
	97-109	PT1	<10	10	<10
	97-324	PT6	130	280	70
	97-378	PT34	10	10	<10
	95-230	PT8	42,000	43,000	3,200
	02-26	PT29	620	920	140

表6 Salmonella Enteritidisの生残性に及ぼす相対湿度の影響

(保存15日後)

相対湿度	菌株名	フェージ型	検出培地		
			TSA II 培地	1%ピリノ酸Na加TSA II	
			(非選択培地)	培地	DHL培地
			(損傷菌回復用培地)	(選択培地)	
12%	97-20	PT4	/Disk	/Disk	/Disk
	97-109	PT1	<10	<10	<10
	97-324	PT6	<10	<10	<10
	97-378	PT34	<10	<10	<10
	95-230	PT8	<10	20	<10
	02-26	PT29	50	60	40
33%	97-20	PT4	/Disk	/Disk	/Disk
	97-109	PT1	190	750	50
	97-324	PT6	<10	80	<10
	97-378	PT34	10	150	<10
	95-230	PT8	<10	210	<10
	02-26	PT29	1,100	2,000	580
52%	97-20	PT4	/Disk	/Disk	/Disk
	97-109	PT1	160	380	30
	97-324	PT6	<10	10	<10
	97-378	PT34	<10	<10	<10
	95-230	PT8	<10	<10	<10
	02-26	PT29	3,300	6,600	1,700
76%	97-20	PT4	/Disk	/Disk	/Disk
	97-109	PT1	40	40	<10
	97-324	PT6	<10	<10	<10
	97-378	PT34	10	10	<10
	95-230	PT8	<10	<10	<10
	02-26	PT29	17,000	23,000	14,000
			70	240	70



表7 *Salmonella* Enteritidisの生残性に及ぼす相対湿度の影響 (保存24日後)

相対湿度	菌株名	ファージ型	検出培地		
			TSA II 培地 (非選択培地)	1%ピルリノ酸Na加TSA II 培地 (損傷菌回復用培地)	DHL培地 (選択培地)
			/Disk	/Disk	/Disk
12%	97-20	PT4	<10	<10	<10
	97-109	PT1	<10	<10	<10
	97-324	PT6	<10	<10	<10
	97-378	PT34	<10	<10	<10
	95-230	PT8	<10	20	<10
	02-26	PT29	50	60	60
33%	97-20	PT4	80	190	10
	97-109	PT1	<10	100	<10
	97-324	PT6	10	30	<10
	97-378	PT34	<10	160	<10
	95-230	PT8	40	420	<10
	02-26	PT29	40	200	40
52%	97-20	PT4	<10	<10	<10
	97-109	PT1	<10	<10	<10
	97-324	PT6	<10	<10	<10
	97-378	PT34	<10	<10	<10
	95-230	PT8	110	320	30
	02-26	PT29	210	270	100
76%	97-20	PT4	<10	<10	<10
	97-109	PT1	<10	<10	<10
	97-324	PT6	10	<10	<10
	97-378	PT34	<10	<10	<10
	95-230	PT8	100	40	10
	02-26	PT29	50	20	<10

平成14年度厚生労働科学研究費補助金（生活安全総合研究事業）  
分担研究報告書

液卵製造の高度衛生管理に関する研究

分担研究者 高鳥浩介 国立医薬品食品衛生研究所

3) サルモネラに関する研究

(3) 鶏卵及び採卵廃鶏におけるサルモネラ属菌汚染状況

青森県内では1994年からサルモネラ属菌による食中毒が急増した。このサルモネラ属菌についての資料を作成するため、過去に青森県内で鶏卵関連食品を原因とするサルモネラ属菌食中毒発生に際して実施した関連鶏卵からのサルモネラ属菌分離状況、並びに、サルモネラ属菌食中毒防止対策の一環として1996年から1998年にかけて調査された県内16養鶏場における採卵廃鶏についてのサルモネラ属菌分離状況をまとめた。その結果、サルモネラ属菌食中毒事件関連の汚染鶏卵数は、多いもので38個中1個、概ね1,000個中に1個の割合と極めて高く、汚染菌数が推測されたものでは、1個当たり最小で50細胞、あるいは100g中のMPN値が93細胞のものも見受けられた。また菌の汚染部位として明らかに鶏卵内（in egg）と言えるもの（事件No.1、2、4）が認められた。これら鶏卵のサルモネラ属菌汚染は、採卵廃鶏における消化器系及び生殖器系のサルモネラ属菌汚染状況からも裏付けられた。

研究協力者

大友良光 青森県環境保健センター

A. 目的

1987年、イングランドとウェールズで急増したサルモネラ・エンテリティディス（*Salmonella enterica* subsp. *enterica*

*serovar Enteritidis*、以下SE)

による急性胃腸炎事例は瞬く間に世界中サルモネラ属菌による食中毒件数が食中毒事件数の第一位となった。この原因食品の多くは鶏卵及びその加工品である。感染様式として、SEは感染鶏の卵巣から卵黄内に、あるいは鶏糞等が付

着した卵殻から卵内に侵入し、以後の不適切な取り扱いと調理によりヒトに発病可能な菌数に増加すると考えられている。青森県においても1994年からサルモネラ属菌による食中毒が急増し<sup>1, 2)</sup>、多くの事例で関連鶏卵からSEなどのサルモネラ属菌が検出され、鶏卵中におけるサルモネラ属菌の汚染状況調査の必要性が示された<sup>3)</sup>。また一方では、徹底した汚染源と感染経路の追及を行って予防に寄与する目的で1996年6月に「サルモネラ食中毒防止対策会議」が設けられ、その一環として食鳥処理場において養鶏場別に採卵廃鶏のサルモネラ汚染実態調査が行われた<sup>4, 5)</sup>。近年、病原微生物による食害防止の観点から、サルモネラ属菌についてもリスクアセスメントの作成が試みられており、今回はその資料に資することを目的に、これまでに得られた鶏卵及び採卵廃鶏におけるサルモネラ属菌汚染状況をまとめたので報告する。

## B. 方法

### 1. 食中毒関連鶏卵の検査

査鶏卵の関与が考えられたサルモネラ菌食中毒事件のうち、残置鶏卵があるか、または同一ロットの鶏卵が採取された5事件例についてサルモネラ属菌の検査を行った。

培養方法は一次増菌培養にはE

EMブイヨン培地（日水）、二次増菌培養にはセレナイトシスチンブローズ（Difco）、そして分離培養にはDHL寒天培地（栄研）を用いた。

検査は基本的には単一の鶏卵を個々に行う必要があったが、食中毒検査中に他の検査も平行して実施する都合上、一層効率的な検査方法の確立を目指しながら実施した。すなわち、事件例毎に10個まとめたの処理、あるいは殻部と内容部に分けたり、培地への接種量を変えたり、さらに割卵したものをそのまま培養する方法等を採用した。分離菌株は市販血清（デンカ生研）を用いて血清型別を実施し、SEのフェージ型（PT）別は国立感染症研究所細菌部に依頼した。

### 2. 採卵鶏のサルモネラ属菌保菌検査

1996年から1998年にかけて十和田食肉衛生検査所と田舎館食肉衛生検査所において養鶏場の採卵廃鶏のサルモネラ汚染実態調査が実施された。

（1）十和田食肉衛生検査所での実施<sup>1)</sup>

1996年6月から1998年2月までに食鳥処理場に搬入された管轄内の16（延べ23）養鶏場の採卵廃鶏について検査が行われた。検体は採卵廃鶏盲腸便（盲腸便）22

9 検体、卵管内から採取した未熟卵卵黄（未熟卵）47 検体、そして総排泄腔から採取した未熟卵卵黄（殻付卵）557 検体であった（表2）。一次増菌培養はEEM培地、二次増菌培養はHTT培地を用い、次に簡易検出キット（DNAプローブ法（核さんテストサルモネラ、科飼研）、イムノバンド法（1-2テスト、Biocontrol System））、あるいは一部ネステイド・ポリメラーゼ連鎖反応法（Nested PCR法）でスクリーニングし、MLCB平板培地（日水）で分離培養した。ただし、未熟卵は一次増菌培養前に37℃で18～24時間培養した。分離菌株は前述と同様に血清型別及びPT別が実施された。

（2）田舎館食肉衛生検査所での実施<sup>4)</sup>

1996年6月から1997年12月までに食鳥処理場に搬入された管轄内の5（延べ23）養鶏場の採卵廃鶏について検査が行われた。検体はクロアカスワブ（総排泄腔、並びに一部直腸及び盲腸内容物を綿棒で採取したもの）795検体、卵巣・未熟卵胞47検体、そして、総排泄腔内の残留殻付卵535検体であった（表3）。

検査方法は概ね前述の十和田食肉衛生検査所と同様であったが、分離培養にはノボビオシン加DH

L寒天培地も用い、通常の二次増菌培養終了後に、21℃で5～7日培養する遅延二次培養法、さらに免疫磁気ビーズ法も併用した。Nested PCR法は行わなかった。

## C. 結果

### 1. 食中毒関連鶏卵のサルモネラ属菌保菌

5事件に関連した鶏卵から各事件に関連した血清型と同じ血清型のサルモネラ属菌が分離された。鶏卵から分離されたSEのPTは、当該鶏卵に関連した食中毒患者から分離されたものと同じの型であった（事件No. 1、2、3、5）。ただし、事件No. 1関連の鶏卵からは異なるPT7a型も分離された（表1）。

各事件関連の鶏卵の汚染頻度、汚染部位、あるいは汚染菌量等については次のとおりである。

事件No. 1：100個の鶏卵の卵殻を以外の内容物を10個まとめて検査したI検体（100g中のMPN値が93細胞）、並びに個別に卵殻を含めて培養した130個中1個からサルモネラ属菌が検出され、汚染割合は最低限約100個に1個と高率であった。汚染部位は卵殻から不検出のため卵内（in egg）と考えられた。

事件No. 2：10個まとめた卵殻及び卵内容物の異なる組み合わせ