

Table 2 未殺菌夜卵の一般生菌数とサルモネラ検出状況

製造施設	検査検体数	平均±標準偏差	一般生菌数 (log 個/g)	サルモネラ陽性検体数 性率%	(陽
A工場	28		4.20±0.30	26 (92.9)	
B工場	26		3.92±0.41	24 (92.3)	
C工場	29		5.03±0.59	23 (79.3)	
D工場	28		4.29±0.52	27 (96.4)	
全工場	110		4.38±0.62	100 (90.9)	

Table 3 未殺菌夜卵から検出されたサルモネラの血清型

製造施設	血清型(検体数)		
A工場	Enteritidis(16)	Emek(4)	Havana(1)
	Cerro(6)	Virchow(1)	Derby(1)
	Infantis(3)	Corvallis(2)	Livingstone(1)
	Thompson(1)	Mbandaka(1)	Saintpaul(1)
B工場	Enteritidis(8)	Typhimurium(3)	Bareilly(1)
	Cerro(2)	Virchow(3)	Yoruba(1)
	Infantis(2)	Agona(1)	
	Braenderup(11)	Lockleaze(2)	
C工場	Enteritidis(13)	Montevideo(1)	
	Cerro(10)	Haifa(1)	
	Infantis(8)	Mbandaka(1)	
	Thompson(2)		
D工場	Enteritidis(16)	Typhimurium(3)	Hadar(1)
	Cerro(2)	Virchow(1)	Schwarzengrund(1)
	Infantis(4)	Corvallis(2)	Heidelberg(1)
	Thompson(5)	Mbandaka(7)	O8 Z4,Z24 -(1)

Table 4 未殺菌夜卵から検出されたサルモネラの薬剤耐性パターン

供試件血清型 (株数)	耐性パターン (耐性株数)	
	SM	SM・TC
Salmonella Enteritidis (54)	17	1
Salmonella Typhimurium (6)	—	—

使用薬剤は、Ampicillin (ABPC) , Streptomycin (SM) , Chloramphenicol (CP) , Tetracycline (TC) , Kanamycin (KM) , Gentamicin (GM) , Nalidixic acid (NA) , Cefotaxime (CTX) , Ciprofloxacin (CPFX) , Fosfomycin (FOM) , Norfloxacin (NFI X) Sulfamethoxazole+Trimethoprim (SXT)

平成 15 年度厚生労働科学研究費補助金
(食品安全確保研究事業)

分担研究報告書

3 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) 養鶏場の施設及びひ鶏，卵の *Salmonella* sp 汚染状況と浄化対策

三重県では，1987 年頃 *Salmonella* sp *Infantis* による散発性下痢症が多発していたため，その感染源を特定すべく食鳥処理場で *Salmonella* sp のサーベイランスを 5 回実施した。そのうち 4 回 *Salmonella* sp が分離された。いずれも場内各施設の拭き取り検体からの分離は少ないが，2 回は搬入鶏の腸管や手羽，もも肉等の拭き取りから *Salmonella* sp が高率に分離された。うち 1 回は *S* sp *Infantis* で，搬入鶏腸管 30 検体中 12 検体(40%)から分離された。この serovar は，処理された手羽やもも肉からも分離された。同時期三重県内で養鶏用飼料に加工される魚粉等動物用飼料原料及び養鶏場で使用されている配合飼料の *Salmonella* sp から分離された *Salmonella* sp の中では *S* sp *Infantis* が一番多かった。本 serovar は，7 月を除く検査した各月に分離された。そこで，飼料，養鶏場の鶏，食鳥処理場，市販肉，散発性下痢症由来 *S* sp *Infantis* について疫学マーカーによる関連性を検討したところ，市販鶏肉由来株は，動物用飼料原料，鶏（養鶏場で分離した株），食鳥処理場搬入鶏，散発性下痢症，食中毒由来株とは薬剤感受性パターン，プラスミトプロファイル，PFGE パターンから関連性が見いだせなかった。しかし，動物用飼料原料，鶏（養鶏場で分離した株），食鳥処理場搬入鶏，散発性下痢症，食中毒由来株の間には関連性があるものも認められた。2003 年 9 月に三重県で *S* sp *Enteritidis* による下痢症患者が 2 家族 4 名発生した。その感染源として県内某養鶏場が疑われたので，その養鶏場の飼育鶏のうち当該卵を出荷していた鶏（2 群），近日中に出荷予定の廃鶏，鶏卵出荷鶏に給餌していた餌，鶏舎内の拭き取り，鶏舎の空気，出荷卵について *Salmonella* sp を検索した。その結果，

鶏卵出荷鶏に給餌していた餌（配合飼料），鶏舎内の拭取り，鶏舎の空気，出荷卵（卵殻，卵黄，卵白）とも *S sp Enteritidis* を始めとする *Salmonella sp* は分離されなかった。しかし，この卵を産卵した 2 鶏群のクロアカスワフから 1 群では 61 羽中 3 羽から *S sp Bredeney*，2 群から *S sp Bredeney* が 4 羽，*S sp Thompson* が 2 羽から分離された。

研究協力者

杉山明，山内昭則，岩出義人
三重県科学技術新興センター
保健環境研究部
微生物研究グループ

A 研究目的

近年，我国の生活環境は非常に改善されてきたため，赤痢，チフス，パラチフス，回虫，条虫等寄生虫感染症等は激減してきたか，食中毒は全国各地で毎年普遍的に発生している。この原因として，食品の大量生産，輸入食品の増大，クルメ嗜好による種々雑多な食品流通及び流通範囲の拡大，家庭外における外食の増加，学校や企業における集団給食等があげられている。さらに食品の生産，加工，貯蔵，流通技術の飛躍的な進歩によって，年中，居ながらにして世界各地の食品を喫食することか可能になり，地域性や季節性が失われるとともにこれら食品に付

着して今まで我国には存在しないか存在しても希有な食中毒原因菌や感染症微生物も常在化し，国内で生産される食品への 2 次汚染も考えられるようになってきた。

食中毒起因菌の 1 つである *Salmonella sp* は，牛，豚等の家畜，鶏，七面鳥，ウズラ等家禽，野生動物，ペット，爬虫類等に至るまで多種の動物の腸管，家畜や動物用飼料に分布していることか多くの研究者によって報告されている。したがって，これらから直接あるいは感染家畜の生産物の喫食によってヒトに感染して食中毒を引き起こしたり菌血症になる場合がある。また，都市部では，下水や河川か

高度に汚染されている事例も増加してきている。これらの汚染源として、上流の養鶏場、養豚場、食肉処理場等からの放流水が考えられる。サルモネラは、菌体(O)と鞭毛(H)抗原の組み合わせによって serovar が決定され、現在約 2,500 種の serovar に分類されている。さらに、*Salmonella* sp には、病原性の面からみると宿主特異性の強い serovar があり、ヒトにチフス及びパラチフスを起こさせるもの、動物にチフスを起こさせるもの、人に食中毒を起こさせるもの等に分類することができる。中でも鶏が保菌している *Salmonella* sp, とりわけ *S* sp Enteritidis による食中毒は、発生件数が多く、1 件あたりの患者数が多くなっている。

そこで、本研究では、養鶏場に由来する *Salmonella* sp による食中毒防止を図るための基礎資料を得る目的で、三重県における動物用飼料原料、食鳥処理場処理鶏、養鶏場において *Salmonella* sp サーベイランスを実施した。さらに、動物用飼料、食鳥処理場処理鶏、採卵鶏、食中毒患者、散發性下痢症患者か

ら分離された *S* sp Infantis については、Pulsed field gel electrophoresis (PFGE)、プラスミドプロファイル、薬剤感受性試験を実施し、株間の関連性について疫学的に考察したのでその概要を報告する。

B 材料と方法

1 動物用飼料からの *Salmonella* sp 検索

動物用飼料 30g を 300mL の SBG スルファ培地及びラパポート培地に接種、各々の培地を 37°C、24 時間及び 48 時間増菌後その 1 白金耳を DHL 寒天培地に塗抹し 37°C、24 時間培養した DHL 寒天培地に発育した集落のうち、乳糖非分解、硫化水素産生のものについて生化学性状を確認後市販抗血清で O 及び H 免疫血清で凝集反応し、serovar を決定した。

2 食鳥処理場各施設等からの *Salmonella* sp 検査法

食鳥処理場施設の拭取りカーセは、採取後 10mL の 20%滅菌スキムミルクの入った容器に収納し、そのうちの 5mL を 100mL、食鳥処理場搬入鶏の腸管内容物については 0.5g を 10mL、手羽、

もも肉については滅菌カーセで約 100cm² を拭取り，そのカーセを 20mL のラパポート培地に接種して 42℃，20 時間増菌した 増菌後 1 エーセを DHL 寒天培地に塗抹，37℃，20 時間培養した *Salmonella* sp 検査手順は 1 に準じた 食鳥処理場冷却水，処理水，廃水については 200mL 滅菌プラスチック容器に採取し，そのうちの 20mL を 180mL のラパポート培地に接種し 42℃，20 時間増菌した 増菌後 1 エーセを DHL 寒天培地に塗抹，37℃，20 時間培養した *Salmonella* sp 検査手順は 1 に準じた

3 動物用飼料原料，食鳥処理場搬入鶏，散發性下痢症，食中毒患者等由来 *S* sp *Infantis* の解析

1987 年から 2002 年までに三重県で動物用飼料原料，食鳥処理場搬入鶏，散發性下痢症，食中毒患者等から分離された *S* sp *Infantis* について PFGE，プラスミドプロファイル，薬剤感受性パターンによりその疫学的関連性を解析した プラスミドプロファイルは，Kado-Liu の方法に従ってプラスミドを抽出し

た プラスミドの抽出は 0.7%アカロースを TAE 緩衝液を用いてサブマリンタイプの泳動槽にて 110mA で約 2 時間泳動後，エチジウムフロマイドで染色後，トランスイルミネーター上でポラロイドカメラを用いて DNA ハントを撮影した 薬剤感受性試験は，セファロスポリン，コリスチン，ポリミキシン，フォスфоマイシン，ペニシリン，テトラサイクリン，オキシテトラサイクリン，クロラムフェニコール，ストレプトマイシン，カナマイシンについて 1 濃度法で検査した

4 養鶏場及び鶏卵の *Salmonella* sp 汚染状況調査

三重県内の養鶏場内各施設及びそこで生産された卵の *Salmonella* sp 汚染状況を *on egg* 及び *in eeg* に分けて調査した 具体的な検査方法は以下のとおりである 飼育鶏の *Salmonella* sp 保菌状況調査は，綿棒でクロアカスワフを採取しその 1 スワフを，鶏舎施設については滅菌カーセで拭取りそのカーセをそれぞれ 10mL のハーナーテトラチオネイト培地に接種し 42℃，20 時間増菌後した その 1 白金

耳を DHL 寒天培地に塗抹し 37℃, 20 時間培養した *Salmonella* sp 検査手順は 1 に準じた 鶏卵表面の *Salmonella* sp 汚染状況調査については, 鶏卵表面を 100mL のトリプトソイフロス(TSB)に入れて 37℃, 20 時間増菌した増菌後 1 エーセを DHL 寒天培地に塗抹, 37℃, 20 時間培養した *Salmonella* sp 検査手順は 1 に準じた 卵黄については, 1% 次亜塩素酸ナトリウムに浸漬, 乾燥後, 70%エタノールで表面を清拭し, 殻を割り, 卵黄ならびに卵白分け, 各々を 200mL のプラスチック滅菌ティスプーサフル容器に約 20mL 採取, これに TSB を 100mL 入れて平等浮遊液にした後, 37℃, 20 時間増菌した その 1 白金耳を DHL 寒天培地に塗抹し 37℃, 20 時間培養し *Salmonella* sp 検査手順は 1 に準じた 養鶏場内の空気は, エアーサンプラーで 100L 吸引し, フィルターを切り刻み 300mL のハーナーテトラチオナイト培地に接種し, 42℃, 20 時間増菌後した その 1 白金耳を DHL 寒天培地に塗抹し 37℃, 20 時間培養し *Salmonella* sp 検査手順は 1 に準じた

5 PFGE による分離菌の解析

動物用飼料, 食鳥処理場処理鶏, 採卵鶏, 食中毒患者, 散发性下痢症患者から分離された *S* sp *Infantis*, 2003 年に発生した下痢症事例由来 *S* sp *Enteritidis* については, PFGE によって DNA パターンを検査した PFGE は, LB 培地で 37℃, 18 時間培養後, 2 回洗浄し, 再浮遊したものをシーンパス試薬キット 6 の説明書に従って実施した 制限酵素 *Bln* I で処理, Bio-Rad CHEF-DR III を用い, Initial Switch Time 5 Sec, Final Switch Time 50 Sec, Included Angle 120°で 24 時間泳動した

C 成績

1 食鳥処理場における *Salmonella* sp サーヘイランス

1986 年から三重県下で *S* sp *Infantis* による散发性下痢症や食中毒が多発していたことから, その原因追及の一環として三重県下の食鳥処理場で実施した搬入鶏及び処理場内各施設の *Salmonella* sp サーヘイランスを実施した その成績を表 1 に

示した

サーベイランスは 1987 年 1 月から 3 月に 5 回実施した *Salmonella* sp が分離されたのは、1 月 19 日、2 月 17 日、2 月 23 日、3 月 16 日の 4 回であった。いずれも場内各施設の拭き取り検体からの分離は少ないが、搬入鶏の腸管や手羽、もも肉等の拭き取りからは 1 月 19 日、3 月 16 日には高率に分離された。当時多発していた散发性下痢症からよく分離された *S* sp *Infantis* は、1 月 19 日搬入鶏腸管 30 検体中 12 検体(40%)から分離された。この serovar は、処理された手羽やもも肉からも分離された。このほか、腸管からは *S* sp *Typhimurium* も分離された。しかし、同日処理場内各施設拭き取りからは *Salmonella* sp が分離されなかった。3 月 16 日搬入鶏の腸管からは、*S* sp *Mbandaka* が 21 検体中 10 検体(47.6%)から分離された。この serovar は、手羽のほか、作業台、ヘルトコンヘアー、冷却水等処理場施設及び処理に使用していた包丁の拭き取りからも分離された。5 回のこの処理場の各施設の拭き取りでは、作業台 58 検体中 5

検体(8.6%)、包丁 21 検体中 1 検体(4.8%)、ヘルトコンヘアー 15 検体中 1 検体(6.7%)から *Salmonella* sp が分離された。この表には示されていないが、*Salmonella* sp が検出された鶏が搬入された場合、最短 30 分程度で処理場内各施設に汚染が拡大することも確認している。

2 動物用飼料等からの *Salmonella* sp 検出成績

表 1 には、1987 年 3 月から 9 月に三重県で養鶏用飼料に加工される魚粉等動物用飼料原料及び養鶏場で使用されている配合飼料の *Salmonella* sp 検出成績を示した。動物用飼料等から分離された *Salmonella* sp の中では *S* sp *Infantis* が一番多かった。本 serovar は、7 月を除く検査した各月に分離された。分離された serovar は、3 月が一番多く 5 型、以下 4 月 4 型、5 及び 9 月 3 型と続いた。表には示していないが、三重県では 1986 年から 1990 年まで *S* sp *Infantis* による散发性下痢症が各地の病院で報告されている。

3 動物用飼料原料、食鳥処理場搬入鶏、散发性下痢症、食中毒患者等由来 *S* sp *Infantis* の

解析

動物用飼料原料，食鳥処理場搬入鶏，散發性下痢症，食中毒患者等由来 *S sp Infantis* の解析した成績を表 3 に示した。*S sp Infantis* は，動物用飼料原料からは，77 検体中 14 検体 (18.2%) から，県内養鶏場での汚染率は，発症の有無や養鶏場立地場所等によって異なるが 12.5～40% であった。市販鶏肉由来 *S sp Infantis* は，動物用飼料原料，鶏（養鶏場で分離した株），食鳥処理場搬入鶏，散發性下痢症，食中毒由来株とは薬剤感受性パターン，プラスミトプロファイル，PFGE パターンとも関連性が見いだせなかった。しかし，動物用飼料原料，鶏（養鶏場で分離した株），食鳥処理場搬入鶏，散發性下痢症，食中毒由来株の間には関連性があるものも認められた。

4 下痢症患者由来 *S sp Enteritidis* の PFGE

2003 年 9 月に三重県で *S sp Enteritidis* による下痢症患者が 2 家族 4 名発生した。発症は約 1 週間のうちに起こっており，発症したのは A 家族では夫婦とその息子 3 名，B 家族では

夫婦と女兒の 3 名である。このうち A 家族の 3 名と B 家族の女兒，計 4 名から *S sp Enteritidis* が分離されている。これらの患者由来株について PFGE を実施したところ 4 名のパターンは一致した。

5 養鶏場及び鶏卵の *Salmonella sp* 汚染状況調査

2003 年 8 月に四日市市で *S sp Enteritidis* による下痢症患者が 4 名発生し，その感染源として県内某養鶏場が疑われたので，その養鶏場の飼育鶏のうち当該卵を出荷していた鶏 (2 群)，近日中に出荷予定の廃鶏，鶏卵出荷鶏に給餌していた餌，鶏舎内の拭取り，鶏舎の空気，出荷卵について *Salmonella sp* を検索した。その結果，鶏卵出荷鶏に給餌していた餌（配合飼料），鶏舎内の拭取り，鶏舎の空気，出荷卵（卵殻，卵黄，卵白）とも *S sp Enteritidis* を始めとする *Salmonella sp* は分離されなかった。しかし，この卵を産卵した 2 鶏群のクロアカスワフから 1 群では 61 羽中 3 羽から *S sp Bredeney*，2 群から *S sp Bredeney* が 4 羽，*S sp Thompson* が 2 羽から分離さ

れた。そのほか、出荷予定の廃鶏からは *Salmonella* sp は分離されなかった。なお、本養鶏場では、今まで *Salmonella* sp 感染症の発生もなく、保菌鶏も確認されていなかった。

D 考察

食鳥処理場に搬入される鶏が腸管に *Salmonella* sp を保菌していた場合、そこで処理された鶏の手羽やもも肉も比較的短時間のうちに汚染されることか判明した。また、食鳥処理場における毎日の経時的拭取り方による *Salmonella* sp 汚染状況調査では、処理開始直後は、処理場内のどの施設や器具からも分離されていないか、保菌鶏が搬入され処理が始まると脱羽槽、処理台、処理用機器、コンテナ等が順次汚染されていくことか明白となった。これらのことから、食鳥処理場にひとたび *Salmonella* sp が搬入されるとそこで処理された他の清浄な鶏の肉も汚染され、それか食中毒原因食品になりうることか示唆される。採卵またはフロイラーへの本菌汚染源については、保菌輸入ヒナ、飼料、管理人やサービスマン、野生動

物等の様々な場合か考えられるが、三重県において散发性下痢症患者数か上位の *S* sp *Infantis* に絞り込んだ調査結果からは汚染源は特定することかできなかつた。しかし、散发性下痢症患者由来 *S* sp *Infantis* の中には、保菌鶏や発症鶏、食鳥処理場由来株と同一の PFGE パターンを示すものが認められた。すなわち、下痢症患者の一部は本菌に汚染した鶏肉の喫食による感染ではないかと推測された。さらに、動物用飼料原料は種々の *Salmonella* sp に汚染されており、これか鶏への新たな汚染源になりうる可能性かあると考えられる。したがって、これを飼料製造段階で防止するためには *Salmonella* sp を始めとする各種微生物による各種危害防止のため、汚染菌除去に主眼をおいた作業工程、日程等を決定することが必要である。さらに、生産農家での段階では、畜主はいうに及はず担当の管理獣医師、衛生や経営担当部所の技術者や指導員等の意見や指導方法等も参考にすること。また、生産や処理段階では、現場の技術者や品質管理ならびに検査技術者は、

問題点か起これば直ちにそのセクションの責任者や工場長に報告し、これに基づいて対策会議を開くことか必要である。このように実践に即した意見や考え方は危険因子防除のために有用であると考える。

また、2003年に発生した下痢症患者の起因菌か可能性か強いと考えられる。

S. sp. Enteritidis であり、その感染源として県内某養鶏場か疑われたか、その養鶏場の飼育鶏や生産された卵から本 serovar 分離されなかつたことから明らかに否定された。したかつて、これらの家族は、他の食品も共同購入しており他の食品からの感染の可

表1 食鶏処理場における*Salmonella* sp 検査成績

検査材料	検査月日					
	1月12日	1月19日	2月17日	2月23日	3月16日	
ふきとり	作業台	*0/11	0/11	0/12	1/12 ^E	4/12 ^G
	包丁	0/3	0/4	0/4	0/5	1/5 ^H
	ベルトコンベアー	0/2	0/4	0/3	0/3	1/3 ^I
生肉	手羽	0/9	1/10 ^A	0/10	0/10	3/5 ^J
	もも	0/9	2/10 ^B	0/10	0/9	0/5
	腸管	0/30	12/30 ^C	1/30 ^D	2/30 ^F	10/21 ^K
水	洗浄水	ND	ND	ND	ND	ND
	冷却水	ND	ND	ND	ND	1/1 ^L
	廃水	ND	ND	ND	ND	1/1 ^M

ND 実施せず, * 陽性数/検査数

血清型 (菌株数)

A *S. Infantis*(1), *S. Typhimurium*(1)

B *S. Infantis*(2)

C *S. Infantis*(12), *S. Typhimurium*(1)

D *S. Typhimurium*(1)

E *S. Dallgow*(1), O1,3,19群(1)

F O7分(1), O1,3,19群(1)

G *S. Mbandaka*(4)

H *S. Mbandaka*(1)

I *S. Mbandaka*(1)

J *S. Mbandaka*(3)

K *S. Mbandaka*(10)

L *S. Mbandaka*(1)

M *S. Typhimurium*(1)

表2 動物用飼料原料からの*Salmonella* sp 分離成績

月	検体数	陽性数	陽性率	分離serovar
3	13	4	30.8	Anatum, Infantis, Senftenberg, Stanley, Typhimurium
4	14	6	42.9	Derby, Infantis, Senftenberg, Stanley
5	20	5	25	Infantis, Senftenberg, Stanley
6	7	2	28.6	Infantis, Senftenberg
7	4	2	50	Cerro, Senftenberg
8	0	—	—	—
9	19	12	63.2	Mbandaka, Senftenberg, Stanley
計	77	31	40.3	

表3 動物用飼料原料, 食鳥処理場搬入鶏, 散発性下痢症,
食中毒患者等由来*S. sp. Infantis*の解析

検査項目	薬剤感受性	プラスミドプロファイル	PFGE
動物用飼料原料	△	×	×
発症 保菌鶏群	○	○	○
食鳥処理場搬入鶏	○	○	○
食鳥処理場施設	△	△	△
市販鶏肉	×	×	×
散発性下痢症患者	△	△	△
食中毒患者	△	△	×

表4 養鶏場の*Salmonella* sp 検査状況

検体名	検査数	検出数	検出serovar
鶏卵出荷採卵鶏 1	61	3	<i>S. sp. Bredeney</i> (3)
鶏卵出荷採卵鶏 2	65	5	<i>S. sp. Bredeney</i> (4), <i>S. sp. Thompson</i> (2)
出荷予定産鶏	134	0	—
給餌中の餌	2	0	—
鶏舎の拭取り	10	0	—
鶏舎の空気	5	0	—
卵殻 (外側)	1690	0	—
卵黄	1612	0	—
卵白	1612	0	—

分担研究報告書

3 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

(4) 未殺菌液卵製造におけるサルモネラコントロールに関する研究

東京都内のサルモネラ食中毒発生件数は、1989年～1999年までの年間20事例以上に比べると2000年以降減少傾向にあるが、2003年においても10事例の発生が報告されている。原因菌の血清型としては、Enteritidisが依然として多く、鶏卵関連事例が多いが、使われた鶏卵は殻付卵によるものが主体であった。しかし、液卵のサルモネラ汚染は依然として認められる。液卵を原因とした食中毒事例は大規模化する危険性が高いので、今後も監視が必要である。

業務用の大型容器入り液卵が、室温あるいは温度の高い調理場に長時間保存されていたことにより温度が上昇した場合、冷蔵庫に移したとしても、完全に冷却されるまでには非常に時間を要することが明らかとなった。すなわち30℃から20℃に下げるのに3時間程度、さらに20℃から10℃まで下げるのに6時間以上を要した。このような成績から、業務用の大型容器入り液卵の温度を下げるには長時間を要し、その間にサルモネラ汚染のある液卵においては増殖がおこる可能性が明らかになった。食中毒予防対策を講じる上からは、液卵製造工程や流通過程、調理、喫食に至るまでの一貫した低温管理の重要性が示唆された。

研究協力者

甲斐明美 小西典子 下島優香子

尾畑浩魅

東京都健康安全研究センター

A 目的

東京都内で発生したサルモネラ食中毒事例について解析を行い、発生状況と鶏卵の関与を調べる。更に、液卵のサルモネラ汚染状況を調べ、1992年から1993

年に調査した汚染調査成績と比較し、汚染状況の変化を検討する。

次に、業務用液卵（大容量の液卵）が室温、特に夏季の高温下等に放置されて温度が上昇した後冷蔵庫に移した場合を想定して、冷却に要する時間について検討し、得られた冷却曲線とサルモネラの増殖曲線を比較することで、食中毒予防のための科学的根拠を得る。

B 方法

1 東京都内で発生したサルモネラ食中毒事例について

1971年から2003年に東京都内で発生したサルモネラ食中毒のうちSEを原因菌とした事例について、患者数、原因食品、液卵使用の有無等について解析する。

2 液卵の汚染状況

1999年から2002年に東京都で調査された液卵の細菌検査成績についてまとめる。また、最近の液卵のサルモネラ汚染状況を調べる。サルモネラの検出は、前増菌培地としてBPW、選択増菌培地として、RVブイヨンおよびセレナイト・シスチン培地を用いた。分離培地としては、SS寒天平板およびDHL寒天平板を用いた。

3 液卵の冷却時間と温度変化

業務用液卵、すなわち合成樹脂容器10L入りおよびスチール缶16L入りを

37℃の孵卵器に入れ、中心温度25℃～30℃にした。その後、液卵を容器ごと冷蔵庫（4℃）に移し、時間の経過と中心部分の温度変化について記録した。

4 液卵中でのサルモネラおよび大腸菌の増殖態度

液卵100mlに30～50個の*S*Enteritidis（菌株1, 2）、および大腸菌（菌株3, 4）をそれぞれ接種し、15℃、20℃、25℃、30℃に保存して、2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 12, 22, 24時間後まで、経時的にサンプリングし菌数測定を行った。

C 結果と考察

1 東京都内で発生したサルモネラ食中毒事例について

1971年から2003年に東京都内で発生したサルモネラ食中毒事例を表1にまとめた。1989年から1999年までは、年間20事例以上のサルモネラ食中毒が発生しており、それに比べると2000年以降減少傾向にあるが、2003年においても10事例の発生が報告されている。2003年に発生した10事例の原因菌血清型は、Enteritidisが7事例、London, Singapore, Litchfield が各1事例であった（表2）。鶏卵の関与が疑われた事例が5事例、いずれもEnteritidisによる事例であった。5事例中4事例では殻付卵が使われてい

たが、1事例では不明であった。特記すべき事例は事例 No 4で、本事例の推定原因食品はマグロのムースだったが、参考に検査された殻付卵の表面（卵殻）から Enteritidis が検出された。すなわち本事例の鶏卵汚染は、on-egg 汚染であり、わが国で 1989 年以降サルモネラ食中毒が急増した原因である鶏卵の in-egg 汚染（内部汚染）とは異なる注目すべき事例であった。

2002 年に発生した大規模なサルモネラ食中毒事例は、液卵のサルモネラ汚染が発生要因の 1つと考えられたので、その概要を表 3 に示した。本事例は、東京都および神奈川県で発生した食中毒事例（患者数 123 名）で、「かまぼこ」が原因食品であった。原因となったかまぼこは、既製のかまぼこの上に、色付きかまぼこで文字が描かれていた。この文字用色付きかまぼこには、無殺菌凍結卵白（*S. Enteritidis* 検出）が使用されており、このかまぼこを使って加工した後の加熱不足が原因と考えられた（写真 1, 2, 図 1）。

2 液卵のサルモネラ汚染状況

1999 年から 2002 年に東京都で調査された 49 件の液卵の細菌検査成績を表 4, 5 にまとめた。未殺菌液卵 29 件中、サルモネラおよび大腸菌が検出されたものがそれぞれ 1 件あった。殺菌液卵 20 件中 1

件からもサルモネラが検出されていた。一方、2004 年 1 月に調べた 7 件の未殺菌液卵からは、サルモネラ、大腸菌、黄色ブドウ球菌は検出されなかった（表 6）。1999 年から 2004 年に調べた液卵のサルモネラ汚染率は 5%以下であり、1992 年から 1993 年に調査した汚染調査成績と比較して低下している傾向が認められた。

3 液卵の冷却時間の検討

中心温度 25℃から 30℃に達した液卵（合成樹脂容器 10L 入りおよびスチール缶 16L 入り）を容器ごと冷蔵庫（4℃）に移し、時間の経過と中心温度変化について記録した（写真 3, 写真 4, 写真 5, 写真 6）。それぞれ 2 回実施した成績を図 2 および図 3 に示した。冷却曲線は、2 回の実験でほぼ同等であり、また合成樹脂容器入りとスチール缶入りでもほぼ同じ成績であった。すなわち、1 回目の実験では、30℃～20℃に下がるのに 160～200 分、さらに 20℃から 10℃まで下がるのに 390～480 分を要した。2 回目の実験では、25℃から 20℃に下がるのに 90～110 分、さらに 20℃から 10℃まで下がるのに 480～550 分を要した。すなわち、25℃～30℃の液卵を 10℃まで冷却するには 10 時間以上が必要であるという結果であった。

4 液卵中でのサルモネラおよび大腸菌の増殖態度

液卵 100ml あたり 30 ～50 個の S Enteritidis を接種し、15℃、20℃、25℃、30℃に保存した結果、30℃では5時間後から菌数の増加が認められ、6時間後には 10^3 個/ml、8時間後には 10^4 個/ml に達した。25℃では、菌株により増殖曲線に差異は認められたが、いずれも10時間後には 10^3 個/ml に達していた。20℃では10時間後からサルモネラの著しい増殖が認められた（図4、図5）。

一方、大腸菌は20℃以上で活発な増殖が認められ、30℃では6時間後には 10^4 個/ml、8時間後には 10^5 個/ml に達した。25℃では、菌株により増殖曲線に差異は認められたが、いずれも8時間後には 10^4 個/ml に達していた。（図6、図7）。

D 結論

東京都内でのサルモネラ食中毒発生は、1989年～1999年までの年間20事例以上に比べると2000年以降減少傾向にあるか、2003年においても、10事例の発生が報告されている。原因菌の血清型は、Enteritidis が依然として多く、鶏卵関連事例が多いが殻付卵によるものが主体であった。しかし、液卵のサルモネラ汚染は依然として認められる。液卵を原因とした食中毒事例は大規模化する危険性が高いので今後も監視が必要である。

液卵を室温あるいは温度の高い調理場に保存して液卵の温度が上昇した場合、その後冷蔵庫に移したとしても、業務用の容器に入っている場合には、冷却に非常に時間がかかった。すなわち30℃から20℃に下げるのに3時間程度、さらに20℃から10℃まで下げるのには6時間以上を要した。今回の成績から、業務用の大型容器入り液卵の温度が上がった場合、冷蔵庫に移したとしても、温度を下げるには長時間を要し、その間にサルモネラ汚染のある液卵においては増殖がおこる可能性が明らかになった。食中毒予防対策を講じる上からは、液卵製造工程や流通過程、調理、喫食に至るまでの一貫した低温管理の重要性が示唆された。

F 研究発表

小西典子，秋場哲哉，下島優香子，柴田幹良，尾畑浩魅，門間千枝，横山敬子，甲斐明美，諸角 聖，泉谷秀昌，寺嶋 厚 鶏卵が関与したと推定されたサルモネラ食中毒について，日本食品衛生学会第86回学術講演会(2003, 10)

G 知的所有権の取得状況

無し

表1 東京都内で発生したサルモネラ食中毒のうち鶏卵喫食が確認された事例

年	サルモネラ 事例数	鶏卵関連事例			備 考
		SEによる事例	その他の血清型	計	
1971	19		1	1	Bareilly
1972	18	1	2	3	Kottbus, Infantis
1973	11	1	2	3	Typhimurium, Infantis, Krefeld
1974	9				
1975	11		2	2	Typhimurium (2)
1976	16		3	3	Oslo, Typhimurium, Schwarzengrund
1977	17	1		1	
1978	13				
1979	10		2	2	Typhimurium (2)
1980	20				
1981	17	1		1	
1982	18				
1983	18				
1984	13				
1985	8		1	1	Hadar
1986	10	1		1	
1987	7				
1988	11	1		1	
1989	25	7		7	
1990	20	2	1	3	Mbandaka, Tennessee, Thompson
1991	22	3	1	4	Thompson, Potudam
1992	11	5	1	6	Montevideo
1993	17	4	1	5	Infantis
1994	22	6	1	7	Infantis
1995	22	4	1	5	Braenderup
1996	23	5		5	
1997	26	3		3	
1998	21	3		3	
1999	27	7		7	
2000	19	5		5	
2001	15	2		2	
2002	9	3		3	
2003	10	5		5	
計	535	70	19	89	

SE サルモネラ 血清型 Enteritidis