

令和4年度 厚生労働科学研究費補助金（食品の安全確保推進研究事業）

食中毒原因細菌の検査法の整備のための研究

研究代表者 工藤由起子 国立医薬品食品衛生研究所

分担研究報告書

病原大腸菌食中毒の食品検査法確立

研究分担者 工藤由起子 国立医薬品食品衛生研究所

協力研究報告書

astA 保有大腸菌の食品検査法の確立

研究要旨

近年、日本では、腸管凝集付着性大腸菌耐熱性エンテロトキシン1をコードする遺伝子である *astA* を保有する大腸菌による大規模食中毒が発生している。しかし、*astA* 保有大腸菌の食品等の検査法は国内外で確立されておらず、本菌による食中毒事例では、原因食品が不明であることが多い。そこで、原因食品特定に対応するため、食品中の *astA* 保有大腸菌を効率的に分離するための培養法の確立を目的に、多種類の食品に本菌を接種して検討した結果、本菌が 30 CFU/25 g 以上の汚染であれば、クロモアガー-STEC 培地および薬剤 C 添加クロモアガー-STEC 培地での分離培養によって、供試した全ての検体で本菌が分離されることが明らかになった。

研究協力者

宮城県保健環境センター	佐藤千鶴子、山谷聡子
埼玉県衛生研究所	土井りえ、貫洞里美
東京都健康安全研究センター	小西典子、尾畑浩魅、齊木 大
さいたま市健康科学研究センター	土屋彰彦、曾根美紀
川崎市健康安全研究所	小嶋由香、湯澤栄子、荒木靖也
(公社) 日本食品衛生協会	甲斐明美
国立医薬品食品衛生研究所	大西貴弘、廣瀬昌平、新井沙倉

A. 研究目的

近年、日本では、腸管凝集付着性

大腸菌耐熱性エンテロトキシン 1 をコードする遺伝子である *astA* を保有する大腸菌による大規模食中毒が発生している。食中毒細菌の食品検査では、培養法によっては食品由来細菌が優勢に増殖し、対象となる食中毒細菌の分離が困難な場合がある。そのため、食中毒の原因食品究明には、対象となる食中毒細菌に適した培養法の選択が重要である。そこで、本研究では、増菌培養法、分離培養法を主にして病原大腸菌に適する効率的かつ特異的な検査法について多様な食品への応用性を評価するために、5 試験機関にて各種試験条件を設定し検討した。なお、*astA* 保有大腸菌の増菌培養の温度条件については事前に検討し、37℃より 42℃が優れていること確認して本研究に採用した。また、分離培地であるソルビトールマッコンキー寒天培地およびクロモアガーSTEC 培地への薬剤 C 添加濃度は、昨年度の検討結果等をふまえて決定した。

B. 研究方法

本研究では、8 種類 36 食品を対象に試験検体の *astA* 保有を PCR で確認した (図 1)、*astA* 陰性であれば *astA* 保有大腸菌の添加回収試験を (図 2)、*astA* 保有検体陽性であ

れば自然汚染検体での試験を行った。(図 3)。

(1) 試験検体の *astA* 確認試験

1) 食品検体

食肉として鶏肉ミンチ 2 食品、豚肉スライス 10 食品、豚肉ミンチ 4 食品および牛肉スライス 4 食品、海産物としてエビ 7 食品、野菜としてオクラ 6 食品、キュウリ 2 食品およびモヤシ 1 食品を供試した。

検体 (550 g 以上) を滅菌トレーなどの上で細切した後に均一化し、検体 10 g を量り取ったストマッカー袋を 1 袋と検体 25 g を量り取ったストマッカー袋を 20 袋 (検体 1~20) 用意した。各食品の一般生菌数、大腸菌数および大腸菌群数を計測するために、各食品 10 g をストマッカー袋に秤量し、滅菌リン酸緩衝食塩水 (滅菌 PBS) 90 mL を加え 1 分間ストマッカー処理した乳剤 (10^{-1} 希釈液) を PBS 9 mL で 10 倍希釈して 10^{-2} ~ 10^{-6} 希釈液を調製した。各希釈液 0.1 mL を標準寒天培地に塗抹し、 $36\pm 1^{\circ}\text{C}$ 、48 時間培養した。同時に各希釈液 0.1 mL を XM-G 寒天培地に塗抹し、 $36\pm 1^{\circ}\text{C}$ 、18~22 時間培養した。培養後の XM-G 寒天培地の青 (青~青紫) および赤 (ピンク

～赤紫)コロニー数を計測し、それぞれの食品 1 g あたりの大腸菌数および大腸菌群数を算出した。また、標準寒天培地のコロニー数を計測し、食品 1 g あたりの生菌数を算出した。

2) 培養および *astA* 特異的 PCR 法

上記の 20 袋のうち 4 袋へ室温に戻した mEC 培地 225 mL を加え、ストマッカー処理を 1 分間行った後、 $42 \pm 1^\circ\text{C}$ にて 20～22 時間培養した。残りの 16 袋は冷蔵にて保管した。検体培養液各 0.1 mL から $10,000 \times g$ 10 分間遠心して上清を除き、50 mM NaOH を 85 μl 添加して再浮遊させた。 100°C で 10 分間加熱し、冷却後、1M Tris-HCl (pH 7.0) を 15 μl 添加して中和した。 $10,000 \times g$ 10 分間遠心し、得られた上清約 100 μl をテンプレート DNA とし、*astA* 特異的コンベンショナル PCR 法

(Yamamoto ら、以下 *astA* 特異的 PCR 法) を実施した (n2)。PCR 試薬には、QuickTaq (東洋紡) を用いた。Forward プライマーとして 5'-CCATCAACACAGTATATCCGA-3' を、Reverse プライマーとして 5'-GGTCGCGAGTGACGGCTTTGT-3' を終濃度 0.2 μM となるよう調製して用いた。反応条件は 94°C 2 分

の熱変性ののち、 94°C 30 秒 - 55°C 30 秒 - 68°C 1 分を 30 サイクル繰り返し増幅反応させ、最後に 68°C 5 分とした。PCR 産物をアガロースゲル電気泳動し、バンドを確認した。

供試した 4 検体ともに *astA* 特異的 PCR 法で *astA* 陰性の食品は、残りの 16 検体について、(2) *astA* 保有大腸菌の添加回収試験、を行った。なお、複数食品について同時に *astA* 確認試験を行い、4 検体全て陰性の食品が複数あった場合、それらの食品から選択し、(2) *astA* 保有大腸菌の添加回収試験、を行った。

また、4 検体のうち 1 検体以上が *astA* 特異的 PCR 法で *astA* 陽性の食品は、(3) *astA* 保有大腸菌自然汚染検体での試験、を行った。なお、4 検体のうち 1 検体以上陽性の食品が複数あった場合は、陽性検体数が最も多い食品を選択し、(3) *astA* 保有大腸菌自然汚染検体での試験、を行った。

(2) *astA* 保有大腸菌の添加回収試験

高菌数接種群 (100 CFU/25 g) として 2 種類 3 食品、中菌数接種群 (50 CFU/25 g) として 3 種類 5 食品および低菌数接種群 (10 CFU/25

g) として 5 種類 5 食品を供試した。菌を接種した各食品を 2 種類の増菌培地中で培養し、その培養液を PCR 法および 3 種類の分離培地を用いた分離培養法に供試した。

1) 菌株

集団食中毒事例由来株である *astA* 保有大腸菌 07:H4 (AST19) および 0166:H15 (AST204) の 2 株を供試した。

2) 食品検体

豚肉スライス 3 食品 48 検体、牛肉スライス 2 食品 32 検体、エビ 3 食品 48 検体、オクラ 3 食品 48 検体、キュウリ 1 食品 16 検体およびモヤシ 1 食品 16 検体の計 208 検体を供試した。

3) 接種菌液の調製

各試験研究機関において、*astA* 保有大腸菌菌株保存のカジトン培地から 1 エーゼ (10 μ L) を Tryptone soya broth (TSB、OXOID) 10 mL に接種し、37°C にて 18 時間培養した。増菌培養液を滅菌 PBS にて 10^{-1} から 10^{-7} まで 10 倍階段希釈し、 10^{-7} 希釈液 0.1 mL を 10 枚の Tryptic soy agar (TSA、OXOID) に塗抹し、37°C にて 18~24 時間培養した。TSA のコロニー数を計測し、接種菌数を算出した。この作業を繰り返

返し実施し、TSB 中にて 18 時間培養した場合の菌数を計算し、低菌数接種として 10 CFU/25 g、中菌数接種として 50 CFU/25 g、高菌数接種として 100 CFU/25 g となるように希釈倍率を試験機関ごとに決定した。なお、接種菌数測定のために、各接種菌液 0.1 mL を 10 枚の TSA に塗抹し、37°C にて 18~24 時間培養した。TSA のコロニー数を計測し、接種菌数を算出した。

4) 食品検体への *astA* 保有大腸菌接種および培養

検体 25 g を量り取ったストマッカー袋 16 袋に各接種菌数レベル用希釈菌液 0.1 mL を接種した。菌を接種した後、ストマッカー袋の外側から手でなじませ、8 袋に modified EC 培地 (mEC、日水製薬) および別の 8 袋にノボビオシン加 mEC (NmEC、栄研化学) 225 mL を加え、ストマッカー処理を 1 分間行った後、42°C にて 20~22 時間培養した。

5) 培養液からの DNA 抽出および *astA* 検出

4) の各増菌培養液 0.1 mL から (1) の 2) と同様の条件で DNA を抽出し、*astA* 特異的 PCR 法に供した。1 検体につき 2 反応実施した。

6) 分離培養

分離培養法では、ソルビトールマッコンキー寒天培地 (SMAC、OXIOD) に薬剤 C を添加した SMAC (C-SMAC)、クロモアガーSTEC 基礎培地 (CHSTEC、クロモアガー社製造、関東化学販売) および薬剤 C を添加した CHSTEC (C-CHSTEC) を用いた。4) の検体培養液を各 2 枚の C-SMAC、CHSTEC および C-CHSTEC に画線し、37℃にて 20 時間培養した。各寒天培地に生育したコロニーを観察し、C-SMAC では赤色のコロニー、CHSTEC および C-CHSTEC では藤色のコロニーを各培地あたり最大 3 個選択し、CHSTEC に単離して、37℃にて 20 時間培養した。培養後にコロニーの色を判定し、藤色を呈したコロニーについて 7) コロニーの *astA* 保有確認を行った。

7) コロニーの *astA* 保有確認

6) で継代培養後に CHSTEC 上で藤色を呈したコロニーを TE (pH 8.0) 100 μ l に懸濁し、100℃10 分間加熱した。加熱したサンプルを氷で急冷し、10,000 \times g 10 分間遠心した上清を DNA テンプレートとし、(1) の 2) と同様の条件で *astA* 特異的 PCR 法を 1 検体につき 1 反応実施した。

8) 生化学的性状の確認

(2) の 7) で *astA* 陽性となったコロニーを TSI 寒天培地 (TSI、日水製薬) および LIM 培地 (LIM、日水製薬) に接種し、37℃にて 18 時間培養した。培養後にブドウ糖分解能、乳糖白糖分解能、L-リジン脱炭酸能、インドール産生性および運動性を判定し、生化学的性状が接種菌株と同一であることを確認した。

(3) *astA* 保有大腸菌自然汚染検体での試験

astA 陽性の 4 種類 6 食品を供試した。各食品を 2 種類の増菌培地中で培養し、その培養液を PCR 法および 3 種類の分離培地を用いた分離培養法に供試した (図 3)。

1) 食品検体

鶏肉ミンチ 2 食品 32 検体、豚肉ミンチ 2 食品 32 検体、牛肉スライス 1 食品 16 検体およびオクラ 1 食品 16 検体の計 96 検体を供試した。

2) 食品検体の培養

検体 25 g を量り取ったストマッカー袋 16 袋のうち 8 袋に mEC を、および別の 8 袋に NmEC 225 mL を加え、ストマッカー処理を 1 分間行った後、42℃にて 20~22 時間培養した。

3) 培養液からの DNA 抽出およ

び *astA* 検出

(2) の 5) と同様に実施した。

4) 分離培養

2) の検体培養液を各 2 枚の C-SMAC、CHSTEC および C-CHSTEC に画線し、37℃にて 20 時間培養した。各寒天培地に生育したコロニーを観察し、C-SMAC では赤色のコロニー、CHSTEC および C-CHSTEC では藤色のコロニーを各培地あたり最大 10 個選択し、CHSTEC に単離し、37℃にて 20 時間培養した。培養後に藤色を呈したコロニーから DNA を熱抽出した。

5) コロニーの *astA* 保有確認

(2) の 7) と同様に実施した。

6) 生化学的性状の確認

(3) の 4) で単離したコロニーのうち、*astA* 特異的 PCR 法で陽性となったコロニーを TSI 寒天培地および LIM 培地に接種し、37℃にて 18 時間培養した。培養後にブドウ糖分解能、乳糖白糖分解能、L-リジン脱炭酸能、インドール産生性および運動性を判定して大腸菌の生化学性状と一致することを確認した。

C. 研究結果

(1) 試験検体の *astA* 確認試験

1) 食品中の生菌数、大腸菌群数、

大腸菌数

本研究にて供試した 8 種類の食品において、生菌数は豚肉ミンチで最も高く 7.1 から 8.1 Log CFU/g であった (表 1)。鶏肉ミンチ、豚肉スライス、牛肉スライス、エビ、オクラ、キュウリおよびモヤシの生菌数は、3.0 Log CFU/g 以上であった。

大腸菌群数は豚肉ミンチで最も高く 3.5 から 7.7 Log CFU/g であった (表 1)。鶏肉ミンチ、豚肉スライス、牛肉スライス、エビ、オクラ、キュウリおよびモヤシでも大腸菌群数が検出された。大腸菌は、豚肉スライス、豚肉ミンチ、オクラ、キュウリ検体の一部でのみ検出され、その他の食品では検出限界 (2 Log CFU/g) 以下であった (表 1)。

2) *astA* 陽性検体数

供試した 36 食品 144 検体のうち、48 検体 (33.3%) が *astA* 陽性であった。*astA* 陽性検体は、鶏肉ミンチ 2 食品 8 検体、豚肉スライス 4 食品 12 検体、豚肉ミンチ 4 食品 14 検体、牛肉スライス 2 食品 7 検体、オクラ 3 食品 7 検体であった。検体が *astA* 陽性であることと生菌数、大腸菌群数および大腸菌数に関連性は認められなかった (表 1)。

(2) *astA* 保有大腸菌の添加回収試験

1) 接種菌数

添加回収試験で食品に接種した *astA* 保有大腸菌菌数は、低菌数接種群で 7-18 CFU/25 g、中菌数接種群で 30-93 CFU/25 g、高菌数接種群で 105-307 CFU/25 g であった。

2) *astA* 保有大腸菌接種の食品培養液からの *astA* 検出

本研究に供試した低菌数接種群の 5 種類 5 食品（豚肉スライス、エビ、オクラ、キュウリおよびモヤシ：各 1 食品）、中菌数接種群の 3 種類 5 食品（豚肉スライス：2 食品、牛肉スライス：1 食品、オクラ：2 食品）および高菌数接種群の 2 種類 3 食品（牛肉スライス：1 食品、エビ：2 食品）は、全ての増菌培地で *astA* 陽性であった（表 2）。

3) *astA* 保有大腸菌の分離

低菌数接種群では、釣菌コロニーに対する *astA* 陽性コロニーの割合は、増菌培地での合計は mEC で 70%、NmEC で 65%であった。増菌培地と分離培地の組み合わせは、NmEC 培養の C-SMAC が最も低く 46.7%であり、NmEC 培養の CHSTEC が最も高く 91.9%であり、C-SMAC よりも CHSTEC および C-

CHSTEC で比較的高い傾向であった（表 2）。また、低菌数接種検体のうち、*astA* 陽性コロニーが分離された検体の割合は、増菌培地では mEC で 67.5%、NmEC で 72.5%であった。増菌培地と分離培地の組み合わせは、NmEC 培養の C-SMAC が最も低く 50%であり、mEC および NmEC 培養の C-CHSTEC が最も高く 65%であった。

中菌数接種群では、釣菌コロニーに対する *astA* 陽性コロニーの割合は、増菌培地での合計は mEC で 92.5%、NmEC で 84.7%であった。増菌培地と分離培地の組み合わせは、NmEC 培養の C-SMAC が最も低く 60.8%であり、mEC 培養の CHSTEC が最も高く 100%であった（表 2）。また、中菌数接種検体のうち、*astA* 陽性コロニーが分離された検体の割合は、増菌培地では mEC および NmEC とともに 100%であった。増菌培地と分離培地の組み合わせは、NmEC 培養の C-SMAC が最も低く 67.5%であり、その他の組み合わせは約 100%であった。

高菌数接種群では、釣菌コロニーに対する *astA* 陽性コロニーの割合は、いずれの増菌培地と分離培地の組み合わせも 100%であった（表 2）。また、高菌数接

種検体のうち、*astA* 陽性コロニーが分離された検体の割合も全ての組み合わせで約 100%であった。

(3) *astA* 陽性大腸菌自然汚染検体での試験

1) 増菌培養液からの *astA* 検出
供試した検体は、mEC で 48 検体中 41 検体が *astA* 陽性であり、NmEC で 48 検体中 36 検体が *astA* 陽性であった (表 3)。

2) *astA* 保有大腸菌の分離

釣菌コロニーに対する *astA* 陽性コロニーの割合は、増菌培地での合計は mEC で 25.6%、NmEC で 8.7%であった。増菌培地と分離培地の組み合わせは、NmEC 培養の C-CHSTEC が最も低く 8.2%であり、mEC 培養の CHSTEC が最も高く 29.8%であり、mEC が比較的高い傾向であった (表 3)。また、供試検体のうち *astA* 陽性コロニーが分離された検体の割合は、増菌培地では mEC で 52.1%、NmEC で 41.7%であった。増菌培地と分離培地の組み合わせは、NmEC 培養の C-CHSTEC が最も低く 27.1%であり、mEC 培養の C-CHSTEC が最も高く 45.8%であった。

D. 考察

astA 確認試験に供試した食品検

体の 33.3%が *astA* 陽性であったことから、市販食品が *astA* 保有大腸菌に比較的高頻度に汚染されている可能性が示された (表 1)。また、各食品検体の生菌数、大腸菌群数および大腸菌数と *astA* 保有大腸菌汚染に関連性は確認されなかった (表 1)。

増菌培地については、添加回収試験の釣菌コロニーに対する *astA* 陽性コロニーの割合を比較すると、低菌数群および中菌数接種群では mEC と NmEC が同等か NmEC よりも mEC がやや高い傾向であった。一方で、供試検体のうち、*astA* 陽性コロニーが分離された検体の割合は、低菌数接種群では mEC より NmEC がやや高い傾向であった。なお、中菌数接種群および高菌数接種群では、mEC および NmEC とともに 100%であった。以上から、mEC と NmEC はどちらも *astA* 保有大腸菌の分離に有用であると考えられた。一方で、*astA* 保有大腸菌自然汚染検体での試験では、釣菌コロニーに対する *astA* 陽性コロニーの割合が mEC で 25.6%、NmEC で 8.7%であったことから、供試食品中の *astA* 保有大腸菌と夾雑菌の組み合わせによっては、NmEC での増菌が分離に適さない場合があることが示された。NmEC に選択剤として添加されているノボピオ

シンが *astA* 保有大腸菌の増殖を抑制、あるいは夾雑菌の増殖を促進する可能性が推測された。また、NmECでの増菌培養と C-SMAC での分離培養の組み合わせは、食品によっては、その他の組み合わせと比較してやや劣る結果が認められたことから（詳細略）、分離培地によっては *astA* 保有大腸菌の分離に適さない選択剤の組み合わせがあることが推測された。以上の結果から、原因として *astA* 保有大腸菌が疑われる食中毒事例対応の際は、増菌培地として mEC を優先して選択し、可能であれば NmEC の併用も考慮することが望ましいと考えられる。

分離培地については、添加回収試験の釣菌コロニーに対する *astA* 陽性コロニーの割合を比較すると、C-SMAC よりも CHSTEC および C-CHSTEC で高い傾向であった（表 2）。供試検体のうち、*astA* 陽性コロニーが分離された検体の割合の比較でも同様の傾向であった。また、*astA* 保有大腸菌自然汚染検体での試験でも、概ね同様の傾向であった（表 3）。以上の結果から、*astA* 保有大腸菌の分離では、CHSTEC および C-CHSTEC が望ましいと考えられる。なお、SMAC 上では大腸菌群と *astA* 保有大腸菌が類似した赤色コロニーを形成するため判別が困難

であることが、分離率低下の原因であると推察された。その他の分離培地についても今後検討していく必要がある。

中菌数接種群および高菌数接種群では、供試検体のうち *astA* 陽性コロニーが分離された検体の割合は 100%であった。このことから、30 CFU/25 g 以上の接種菌数であれば、本研究の一連試験法でほぼ確実に *astA* 保有大腸菌の分離が期待できることが示された。

E. 結論

astA 保有大腸菌を 30 CFU/25 g 以上を食品に接種し、mEC または NmEC にて増菌培養し、C-SMAC、CHSTEC および C-CHSTEC にて分離培養する条件では、供試した全ての検体で *astA* 保有大腸菌が分離された。

本研究での分離率の差を考慮すると、*astA* 保有大腸菌が原因と疑われる食中毒事例対応の際は、増菌培地として mEC を優先して選択し、可能であれば NmEC の併用も考慮し、分離培地として CHSTEC および C-CHSTEC を選択することで分離効率が向上すると考えられる。本研究にて検討した各種条件については、さらに多機関にて検討を重ね、食品における *astA* 保有大腸菌検出法として今後提案したい。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

(誌上発表)

Hirose, S., Nakamura, Y., Arai, S., and Hara-Kudo, Y. Development of a selective enrichment medium for the detection of *Escherichia albertii* in foods and the analysis of a foodborne infection. *Foodborne Pathogens and Disease* 19(10), 704-712, 2022.

(学会等発表)

榑田希、尾畑浩魅、小西典子、土井りえ、新井沙倉、甲斐明美、廣瀬昌平、工藤由起子. 食品を対象とした *Escherichia albertii* 分離培養法の検討. 第 43 回日本食品微生物学会学術総会. 令和 4 年 9 月 29-30 日. 東京

小西典子、榑田希、新井沙倉、尾畑浩魅、土井りえ、廣瀬昌平、甲斐明美、工藤由起子. 食品を対象とした *Escherichia albertii* の効率的な検出法に関する検討. 第 118 回日本食品衛生学会学術講演会. 令和 4 年 11 月 10-11 日. 長崎

工藤由起子、新井沙倉、廣瀬昌平.

新興食中毒細菌 *Escherichia albertii*. 第 96 回日本細菌学会総会. 令和 5 年 3 月 16-18 日. 兵庫

廣瀬昌平、中村由紀子、新井沙倉、工藤由起子. 食品中の *Escherichia albertii* を検出するための選択増菌培地の開発. 第 96 回日本細菌学会総会. 令和 5 年 3 月 16-18 日. 兵庫

H. 知的所有権の取得状況・登録状況
なし

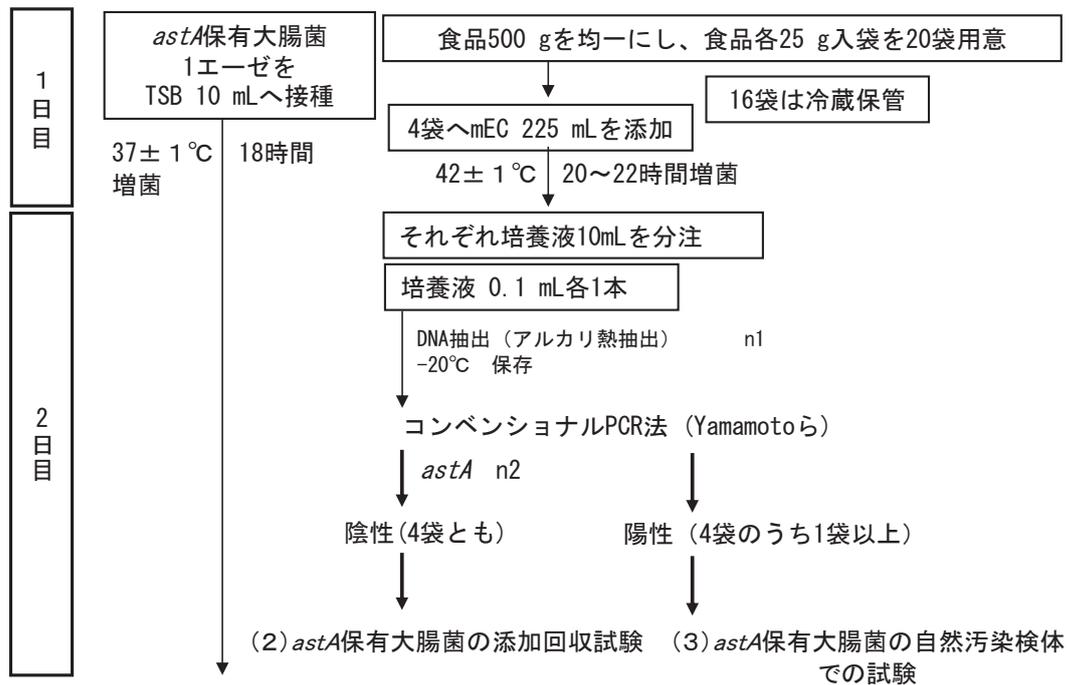


図1 試験検体の *astA* 確認試験

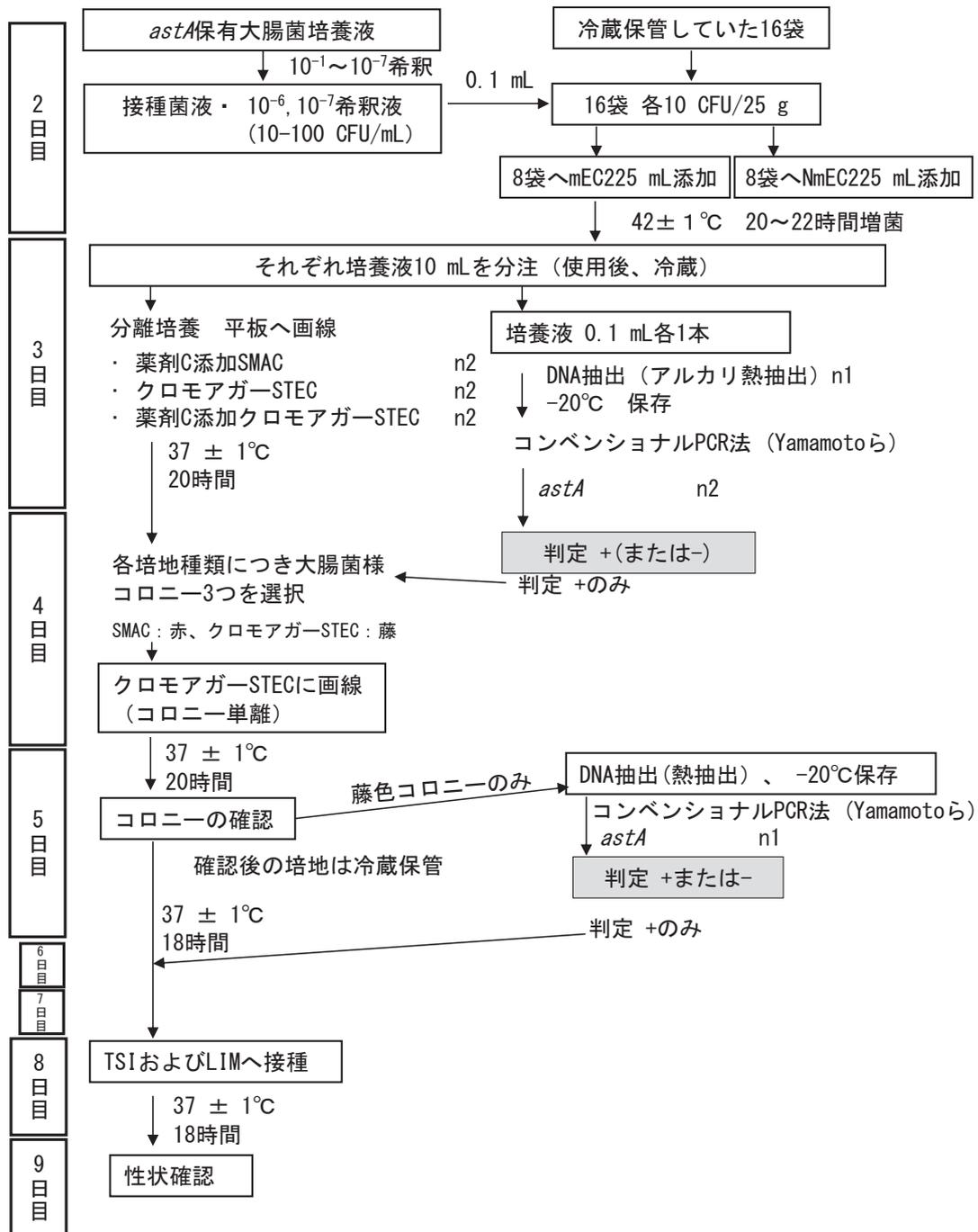


図 2 *astA* 保有大腸菌の添加回収試験

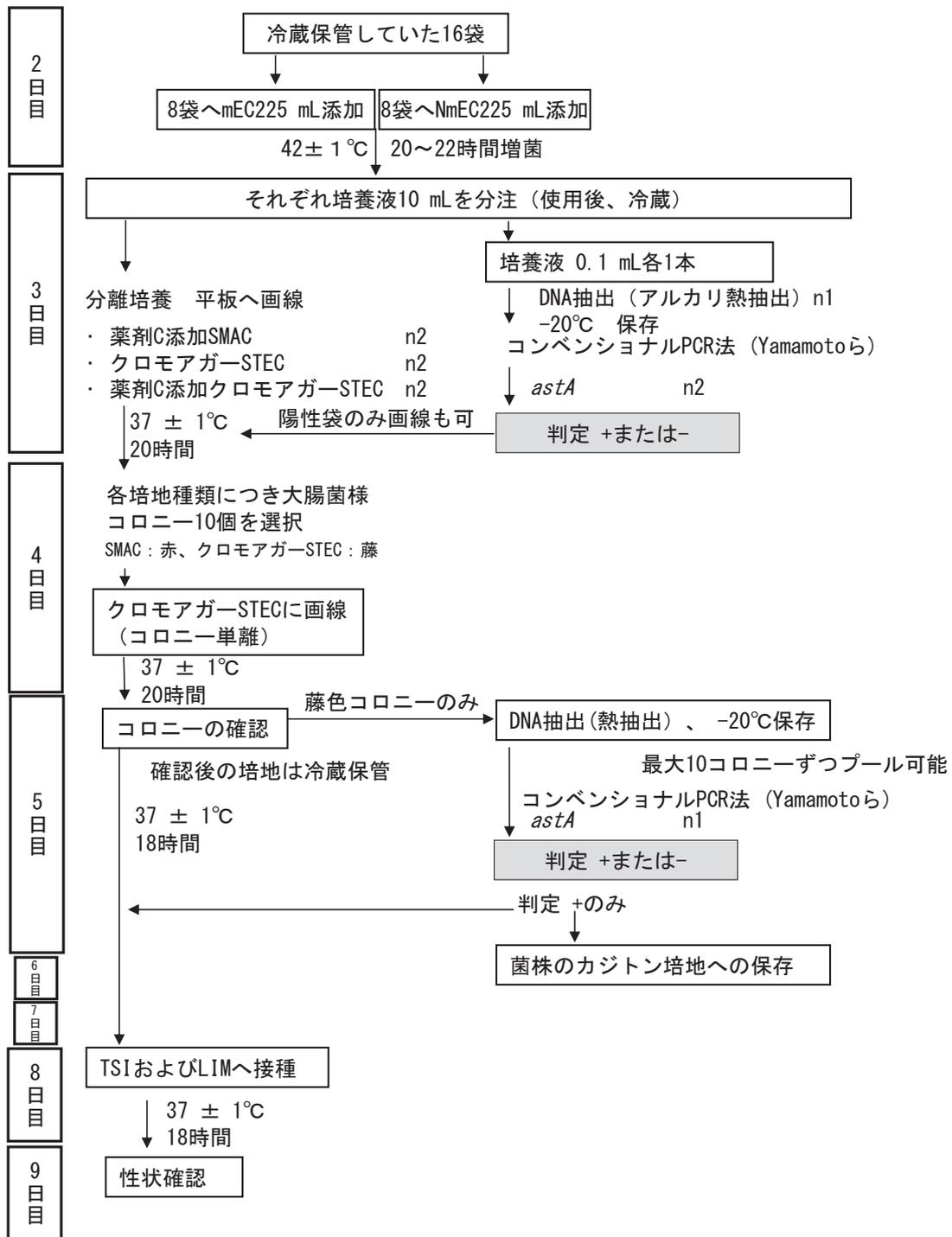


図3 *astA* 保有大腸菌の自然汚染検体での試験

表1 食品検体の *astA* 陽性数、生菌数、大腸菌群数および大腸菌数

食品の種類	<i>astA</i> 陽性 検体数 /4検体(%)	食品数	菌数 (Log CFU/g)		
			生菌数	大腸菌群	大腸菌
鶏肉ミンチ	4/4	2	4.5-4.8	2.0-3.1	<2
豚肉スライス	0/4	6	3.0-4.8	<2-3.8	<2-2.7
	1/4-4/4	4	4.1-4.9	2.3-3.5	<2
豚肉ミンチ	2/4-4/4	4	7.1-8.1	3.5-7.7	<2-6.5
牛肉スライス	0/4	2	4.9-5.4	<2	<2
	3/4-4/4	2	5.6-7.3	<2-6.9	<2
エビ	0/4	7	3.0-6.4	<2-3.1	<2
オクラ	0/4	3	5.9-7.1	5.5-7.0	<2
	1/4-4/4	3	5.1-6.4	3.4-5.9	<2-3.3
キュウリ	0/4	2	6.0-6.3	3.1-4.3	<2-2.5
モヤシ	0/4	1	7.4	7.2	<2
合計	48/144 (33.3)	36	3.0-8.1	<2-7.7	<2-6.5

* 2 検体は生菌数、大腸菌群数および大腸菌数試験を未実施

表2 *astA* 保有大腸菌の添加回収試験

接種菌数 レベル	食品	増菌 培地	陽性検体 数/供試検 体数	<i>astA</i> 陽性コロニー数 /釣菌コロニー数(%)				<i>astA</i> 陽性コロニーが分離された検体数 /供試検体数(%)			
				TM- SMAC	CHSTEC	TM- CHSTEC	合計	TM- SMAC	CHSTEC	TM- CHSTEC	合計
低	5種類 5食品*	mEC	40/40 (100)	72/118 (61.0)	68/83 (81.9)	75/106 (70.8)	215/307 (70.0)	24/40 (60.0)	25/40 (62.5)	26/40 (65.0)	27/40 (67.5)
		NmEC	40/40 (100)	56/120 (46.7)	68/74 (91.9)	71/106 (67.0)	195/300 (65.0)	20/40 (50.0)	25/40 (62.5)	26/40 (65.0)	29/40 (72.5)
中	3種類 5食品**	mEC	40/40 (100)	97/120 (80.8)	120/120 (100)	116/120 (96.7)	333/360 (92.5)	39/40 (97.5)	40/40 (100)	40/40 (100)	40/40 (100)
		NmEC	40/40 (100)	73/120 (60.8)	114/120 (95.0)	118/120 (98.3)	305/360 (84.7)	27/40 (67.5)	39/40 (97.5)	40/40 (100)	40/40 (100)
高	2種類 3食品 ***	mEC	24/24 (100)	72/72 (100)	72/72 (100)	72/72 (100)	216/216 (100)	24/24 (100)	24/24 (100)	24/24 (100)	24/24 (100)
		NmEC	24/24 (100)	72/72 (100)	72/72 (100)	72/72 (100)	216/216 (100)	24/24 (100)	24/24 (100)	24/24 (100)	24/24 (100)

菌数レベル：低は7-18 CFU/25 g、中は30-93 CFU/25 g、高は105-307 CFU/25 g

*豚肉スライス、エビ、オクラ、キュウリ、モヤシ

**豚肉スライス (2食品)、牛肉スライス、オクラ (2食品)

***牛肉スライス、エビ (2食品)

表3 *astA* 保有大腸菌の自然汚染検体での試験

食品	増菌 培地	陽性検体数 /供試検体 数	<i>astA</i> 陽性コロニー数 /釣菌コロニー数(%)				<i>astA</i> 陽性コロニーが分離された検体数 /供試検体数(%)			
			C- SMAC	CHSTEC	C- CHSTEC	合計	C- SMAC	CHSTEC	C- CHSTEC	合計
4種類 6食品 *	mEC	41/48 (85.4)	79/410 (19.3)	122/410 (29.8)	114/410 (27.8)	315/1,230 (25.6)	19/48 (39.6)	21/48 (43.8)	22/48 (45.8)	25/48 (52.1)
		NmEC	36/48 (75.0)	33/350 (9.4)	26/318 (8.2)	27/326 (8.3)	86/994 (8.7)	14/48 (29.2)	16/48 (33.3)	13/48 (27.1)

*豚肉ミンチ (2食品)、鶏肉ミンチ (2食品)、オクラ、牛肉スライス