

原著

日本と中国における急性胃腸炎起因微生物の汚染調査

胡 東良¹⁾ 錢 愛東²⁾ 単 曉風²⁾ 成田 浩司¹⁾
差波 拓志¹⁾ 長内 理大¹⁾ 阿部 由紀子^{1,3)} 平賀 寛人¹⁾
工藤 幸清^{1,3)} 劉 勇^{1,4)} 中根 明夫¹⁾

抄録 本研究では、日本と中国の食肉 179 検体、鶏卵 35 検体におけるの大腸菌、サルモネラ及び黄色ブドウ球菌の汚染状況を統一検査法により調査した。食肉検査結果により、日本において、大腸菌の検出率は 46.4%、サルモネラは 4.4%、黄色ブドウ球菌は 36.2%であった。中国において、大腸菌の検出率は 37.9%、サルモネラは 5.5%、黄色ブドウ球菌は 44.1%であった。大腸菌の検出率が日本の方 (46.4%) が中国 (37.9%) よりやや高く、これに対し、黄色ブドウ球菌は中国の方 (44.1%) が日本 (36.2%) よりやや高い結果が見られたが、いずれも有意差がなかった。汚染菌数について、 10^4 CFU/g を超えるのは、大腸菌では 4/69 (日本)、4/145 (中国)、黄色ブドウ球菌では 2/69 (日本) と 7/145 (中国) であった。これらの結果により、食肉の加工、保管、流通、販売において、徹底的な温度管理と衛生管理が必要であると考えられる。
弘前医学 59:1-6, 2007

キーワード：大腸菌；サルモネラ；黄色ブドウ球菌；食肉；汚染

ORIGINAL ARTICLE

POLLUTION OF ENTEROPATHOGENIC BACTERIA IN MEATS AND EGG IN JAPAN AND CHINA

Dong-Liang Hu¹⁾, Ai-Dong Qian²⁾, Xiao-Feng San²⁾, Kouji Narita¹⁾,
Hiroshi Sashinami¹⁾, Arihiro Osanai¹⁾, Yukiko Abe^{1,3)}, Hiroto Hiraga¹⁾,
Kohsei Kudo^{1,3)}, Yong Liu^{1,4)}, and Akio Nakane¹⁾

Abstract A total of 179 samples of meat and 35 samples of egg from Japan and China were examined for the pollution of *Escherichia coli*, *Salmonella enterica* serovar Enteritidis and *Staphylococcus aureus* using the identical assay methods. The results showed that the pollution rates of *E. coli*, *S. Enteritidis* and *S. aureus* were 46.4%, 4.4% and 36.2% in Japan and were 37.9%, 5.5% and 44.1% in China, respectively. The pollution rate of *E. coli* in Japan (46.4%) was higher than that in China (37.9%). In contrast, the pollution rate of *S. aureus* in China (44.1%) was higher than that in Japan (36.2%). For the bacterial numbers in the contaminant meats, 4 of 69 samples in Japan and 4 of 145 samples in China were over 10^4 colony-forming units (CFU)/g for *E. coli*, and 2 of 69 samples in Japan and 7 of 145 samples in China were over 10^4 CFU/g for *S. aureus*. These results suggest that more thorough temperature control and hygiene management are necessary in the processing, safekeeping, circulation and sales of meats.
Hirosaki Med. J. 59:1-6, 2007

Key words: *Escherichia coli*; *Salmonella* Enteritidis; *Staphylococcus aureus*; meat; pollution.

¹⁾ Department of Microbiology and Immunology, Hirosaki University School of Medicine, Japan

²⁾ School of Animal Science and Technology, Jilin Agricultural University, China

³⁾ School of Health Science, Hirosaki University, Japan

⁴⁾ Department of Radiology, Hirosaki University School of Medicine, Japan

Correspondence: Hu DL

Received for publication, March 12, 2007

Accepted for publication, May 2, 2007

¹⁾ 弘前大学医学部感染生体防御学講座

²⁾ 中国吉林農業大学動物科学技術学院

³⁾ 弘前大学医学部保健学科

⁴⁾ 弘前大学医学部放射線医学講座

別刷請求先：胡 東良

平成19年3月12日受付

平成19年5月2日受理

緒 言

近年続発した腸管出血性大腸菌 O157 感染症やノロウイルス感染, また 10,000 人を越えた大規模なブドウ球菌食中毒等の発生は, 大きな社会問題となっている. これらの感染症及び食中毒はいずれも食品を媒介した微生物によるものである. 食品中における病原微生物の汚染状況を把握し, いかに食品汚染及び食品中での微生物の増殖を有効に制御することは, 急性胃腸炎と食中毒の発生を予防するには極めて重要である^{1,3)}.

また, 食品流通はすでに国境を越えてグローバル時代になっている. 日本と中国の間では食品の流通が盛んに行われており, 特に食肉 (鶏肉, 豚肉等) に関しては相当量が日本に輸入されており, 日本の食卓をにぎわせている. 一方, 日本の大量加工食品は中国に輸出されている¹⁾. お互いに輸出・輸入先の食品安全性を確認することは消費者の健康を確保することができるだけでなく, 生産者や関係業者の利益にもなる. このような事情を鑑み, 日本と中国の研究者により共同研究を行い, 急性胃腸炎起因微生物の検査・診断法を両国間で統一し, 食品中におけるこれら微生物の汚染実態を調べ, 微生物コントロール方策を検討した.

材料と方法

1. サンプリング

鶏肉, 豚肉および牛肉のひき肉と部分分割肉について, 弘前近郊と中国長春市内のスーパーマーケットと食肉市場で無菌的に採取し, 調査した. 鶏肉は日本 20 検体と中国 40 検体の合計 60 検体を用いた. 豚肉も日本 20 検体と中国 40 検体の合計 60 検体を用いた. 牛肉は日本 19 検体と中国 40 検体の合計 59 検体を用いた. また, 鶏卵については日本 10 検体と中国 25 検体の合計 35 検体を検査した. 以上に示した各検体は, 4℃で冷蔵保存し, 3 時間以内に検査に供した.

2. 検体の調製

各検体を無菌的に 1 g を秤量し, 滅菌リン酸緩衝生理食塩水 (PBS) 9 ml 中でホモジナイズし, 10% 乳剤を作製した. 本乳剤をさらに滅菌 PBS

で 10 倍段階で希釈し, 各濃度の乳剤を 0.1 ml を取り, 各細菌分離培地に塗抹した.

3. 大腸菌の検出・定量

上記作製した各濃度の乳剤 0.1 ml を DHL 寒天培地 (栄研化学) に塗抹し, 37℃ のインキュベーターで 24 時間培養し, 赤色混濁コロニーをカウントした. さらに, 大腸菌であることを確認するために, コロニーを TSI 寒天培地 (日水製薬) に接種し, 37℃, 24 時間培養した. 培地の高層部と斜面部の色の変化, 糖の分解, ガス産生の有無を観察し, 大腸菌を同定した. また, カウントしたコロニーの数を計算し, 1 g あたりの colony forming units (CFU) で表し, 検体中の大腸菌数を定量した.

4. 黄色ブドウ球菌の検出・定量

作製した各濃度の乳剤をそれぞれ 0.1 ml をマニット食塩卵黄寒天培地 (栄研化学) に塗抹し, 37℃ のインキュベーターで 24-48 時間培養した. 本培地上で黄色ブドウ球菌は黄色のコロニーを形成し, 周辺部は黄変し, 卵黄反応による白濁と真珠様光沢を示す. これらの特徴を持つコロニーをカウントした. さらに, 黄色ブドウ球菌を確認するために, 疑われるコロニーをウサギ血漿 (栄研化学) に接種し, コアグラゼ試験を行った. また, 大腸菌と同様に, カウントしたコロニーの数を計算し, 1 g あたりの CFU で表し, 検体中の黄色ブドウ球菌を定量した.

5. サルモネラの検出・定量

作製した各濃度の食品乳剤をそれぞれ 0.1 ml を DHL 寒天培地に塗抹し, 37℃ のインキュベーターで 24 時間培養した. 本培地でサルモネラは中心部または全体が黒色のコロニーを形成し, これらのコロニーをカウントした. また, カウントしたコロニーを 1 g あたりの CFU で表し, 検体中のサルモネラを定量した. さらに, サルモネラを確認するため, 大腸菌と同様に, 疑われるコロニーを TSI 寒天培地に接種し, 37℃, 24 時間培養した. 培地の高層部と斜面部の色の変化, 糖の分解, ガス産生の有無を観察し, 他の腸内細菌と鑑別・同定した.

Table 1. Incidence of *Escherichia coli* in raw meats and eggs in Japan and China

Sample	No. of samples	No. of Positive samples	%	No. of bacteria (CFU/g)			
				10 ⁻¹⁰ ²	10 ³	10 ⁴	10 ⁵
Japan							
Chicken	20	15	75.0	7	5	2	1
Pork	20	8	40.0	5	2	1	-
Beef	19	9	47.4	8	1	-	-
Egg	10	0	0.0	-	-	-	-
Total	69	32	46.4	20	8	3	1
China							
Chicken	40	26	65.0	8	12	4	2
Pork	40	19	47.5	11	6	1	1
Beef	40	10	25.0	6	4	-	-
Egg	25	0	0.0	-	-	-	-
Total	145	55	37.9	25	22	5	3

6. 統計処理

検出陽性率の日中間の差, 各食品間の差は Chi-square test 及び Fisher's test により検定した。

結果と考察

1. 食肉及び鶏卵における大腸菌の検出

日本においては, 69 検体についての大腸菌の汚染状況を調べた, そのうち, 鶏肉, 豚肉および牛肉はそれぞれ 20, 20 と 19 検体で, 鶏卵は 10 検体であった。鶏肉においては 20 検体中, 大腸菌陽性検体は 15 検体で, 検出率は 75% であった。大腸菌数は 10²CFU/g 以下が 7 検体, 10³CFU/g は 5 検体, 10⁴CFU/g は 2 検体, 10⁵CFU/g は 1 検体であった (Table 1)。豚肉においては 20 検体中, 大腸菌陽性検体は 8 検体で, 検出率は 40% であった。大腸菌数は 10²CFU/g 以下が 5 検体, 10³CFU/g は 2 検体, 10⁴CFU/g は 1 検体であった。牛肉においては 19 検体中, 陽性検体は 9 検体で, 検出率は 47.4% であった。大腸菌数は 10²CFU/g 以下が 8 検体, 10³CFU/g は 1 検体であった。鶏卵 10 検体については, 大腸菌はすべて陰性であった。

中国においては, 145 検体について調べた, そのうち, 鶏肉, 豚肉, 牛肉はそれぞれ 40 検体で, 鶏卵は 25 検体であった。鶏肉において大腸菌陽性率は 65% (26/40) で, 大腸菌数は 10²CFU/g 以下が 8 検体, 10³CFU/g は 12 検体, 10⁴CFU/g

は 4 検体, 10⁵CFU/g は 2 検体であった (Table 1)。豚肉 40 検体中, 大腸菌陽性は 19 検体で, 検出率は 47.5% であった。大腸菌数は 10²CFU/g 以下が 11 検体, 10³CFU/g は 6 検体, 10⁴CFU/g は 1 検体, 10⁵CFU/g は 1 検体であった。牛肉の大腸菌検出率は 25% (10/40) で, 菌数は 10²CFU/g 以下が 6 検体, 10³CFU/g は 4 検体であった。鶏卵 20 検体はすべて陰性であった。

2. 食肉及び鶏卵におけるサルモネラの検出

日本の 69 検体の食肉及び鶏卵について, サルモネラの汚染状況を調べた。鶏肉の 20 検体中, サルモネラ陽性検体は 1 検体 (5%) で, 菌数は 10³CFU/g であった (Table 2)。豚肉においては 20 検体中, 陽性検体は 2 検体で, 検出率は 10% であった。菌数は 10²CFU/g 以下であった。牛肉の 19 検体及び鶏卵 10 検体については, サルモネラは検出されなかった。

中国の 145 検体についてのサルモネラの検出は, 鶏肉 10% (4/40) で, 汚染菌数は 10²CFU/g 以下が 2 検体, 10³CFU/g は 2 検体であった (Table 2)。豚肉の 40 検体中, 陽性は 3 検体 (7.5%) で, 菌数はすべて 10²CFU/g 以下であった。牛肉 40 検体について, サルモネラは検出されなかった。鶏卵 25 検体はサルモネラ陽性が 1 検体で, 菌数は 10²CFU/g であった。

Table 2. Incidence of *Salmonella* Enteritidis in raw meats and eggs in Japan and China

Sample	No. of samples	No. of Positive samples	%	No. of bacteria (CFU/g)			
				10 ¹ -10 ²	10 ³	10 ⁴	10 ⁵
Japan							
Chicken	20	1	5.0	-	1	-	-
Pork	20	2	10.0	2	-	-	-
Beef	19	0	0.0	-	-	-	-
Egg	10	0	0.0	-	-	-	-
Total	69	3	4.3	2	1	0	0
China							
Chicken	40	4	10.0	2	2	-	-
Pork	40	3	7.5	3	-	-	-
Beef	40	0	0.0	-	-	-	-
Egg	25	1	4.0	1	-	-	-
Total	145	8	5.5	6	2	0	0

Table 3. Incidence of *Staphylococcus aureus* in raw meats and eggs in Japan and China

Sample	No. of samples	No. of Positive samples	%	No. of bacteria (CFU/g)			
				10 ¹ -10 ²	10 ³	10 ⁴	10 ⁵
Japan							
Chicken	20	12	60.0	7	4	1	-
Pork	20	8	40.0	2	3	1	-
Beef	19	5	26.3	3	2	-	-
Egg	10	0	0.0	-	-	-	-
Total	69	25	36.2	12	9	2	0
China							
Chicken	40	29	72.5	12	15	2	-
Pork	40	23	57.5	11	9	2	1
Beef	40	12	30.0	7	3	2	-
Egg	25	0	0.0	-	-	-	-
Total	145	64	44.1	30	27	6	1

3. 食肉及び鶏卵における黄色ブドウ球菌の検出

さらに、日本において69検体の食肉及び鶏卵についての黄色ブドウ球菌の汚染状況を調べた。鶏肉の20検体中、黄色ブドウ球菌陽性検体は12検体で、検出率は60%で、汚染菌数は10²CFU/g以下が7検体、10³CFU/gは4検体、10⁴CFU/gは1検体であった (Table 3)。豚肉においては20検体中、陽性検体は8検体で、検出率は40%であった。牛肉の19検体は5検体が黄色ブドウ球菌陽性で、汚染菌数は10²CFU/g以下は3検体、10³CFU/gは2検体であった。鶏卵10検体のす

べては陰性であった。

中国の145検体については、黄色ブドウ球菌の検出率は鶏肉72.5%で、汚染菌数は10²CFU/g以下が12検体、10³CFU/gは15検体、10⁴CFU/gは2検体であった (Table 3)。豚肉の検出率は57.5%で、牛肉は30%であった。鶏卵25検体はすべて陰性であった。

食品流通のグローバル化が進んでおり、また動物性食品の消費が年々増加の傾向を示している。食品の安全・安心及び食品媒介感染症はますます

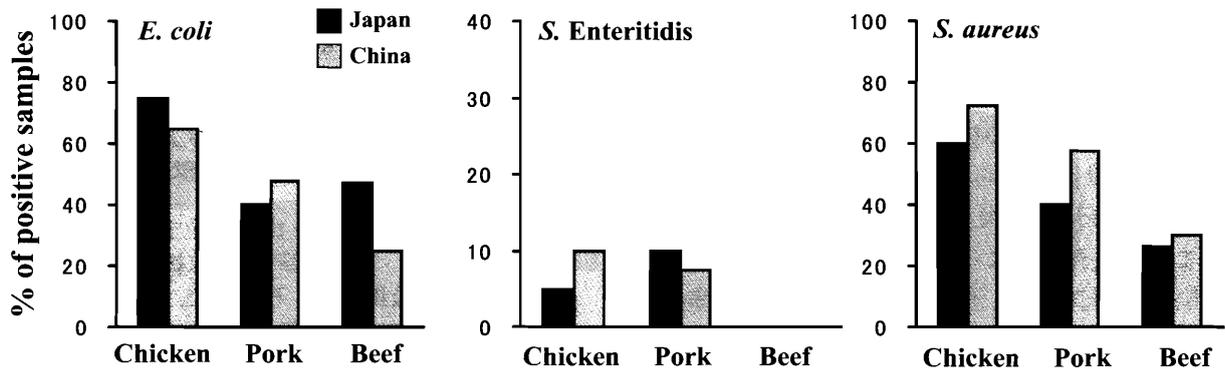


Fig. 1 Incidence of *E. coli*, *S. Enteritidis* and *S. aureus* in raw meats and eggs.

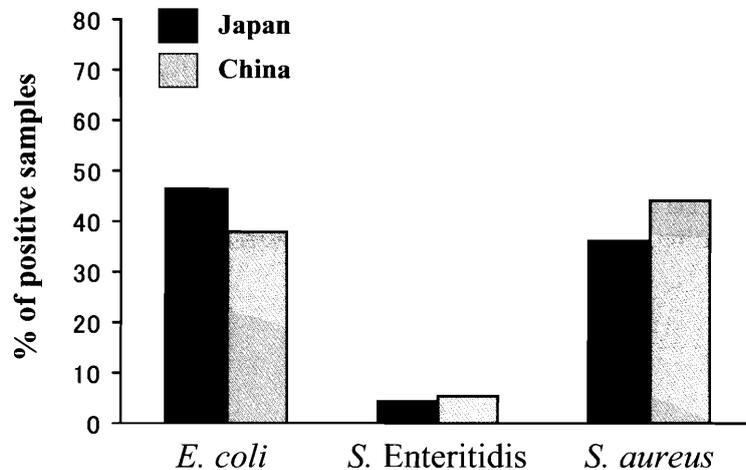


Fig. 2 Total incidence of *E. coli*, *S. Enteritidis* and *S. aureus* in raw meats and eggs in Japan and China.

重要視されている。今回、日本と中国における急性胃腸炎起因性細菌、特に食中毒の原因菌である大腸菌、サルモネラと黄色ブドウ球菌についての分離培養・同定法を統一し、それぞれの国の食品について検査を行った。共通検査法を用いて、日本及び中国における食肉 179 検体、鶏卵 35 検体についての大腸菌、サルモネラ及び黄色ブドウ球菌の汚染状況を統一検査法により調べた。各食肉検体の汚染率は Fig. 1 にまとめた。大腸菌と黄色ブドウ球菌の汚染率はサルモネラより高いことが示された。また各細菌の検査結果により、日本での大腸菌の検出率は 46.4%、サルモネラは 4.4% で、黄色ブドウ球菌は 36.2% であった。中国において、大腸菌の検出率は 37.9%、サルモネラは 5.5% で、黄色ブドウ球菌は 44.1% であった。大腸菌の検出率が日本の方 (46.4%) が中国 (37.9%)

よりやや高く、これに対し、黄色ブドウ球菌は中国の方 (44.1%) が日本 (36.2%) よりやや高い結果が得られたが、いずれも有意差がなかった (Fig. 2)。汚染菌数について、 10^4 CFU/g を超えるものは、大腸菌では 4/69 (日本)、4/145 (中国)；黄色ブドウ球菌では 2/69 (日本) と 7/145 (中国) であった。

食肉から検出された大腸菌は、食肉処理または流通の過程で汚染されたと推察される。食肉を家庭で調理する際には、十分な加熱が必要であり、使用する調理機材も他の食品と区別するのが望ましいと考えられる。また、これらの食品は、長時間室温に放置せず、適切な温度管理を行い保存しなければならないと考えられる。サルモネラは、動物の腸管内に保有されており、食肉処理の過程で汚染が広がり、また、サルモネラは産卵による

卵内または卵外をにおいて汚染することが知られている^{2,3)}。当調査で、サルモネラの検出率は比較的 low、適切な管理がなされていると考えられる。黄色ブドウ球菌の検出状況については、これまで多数の報告が見られ、鶏肉では 10～95%、豚肉 4～76.3%、牛肉 27.9～40%と、調査された国または検査法によって異なっている^{4,6)}。今回の両国での調査でも、食肉特に鶏肉は高率に黄色ブドウ球菌に汚染されていることが判明した。これは食鳥の保菌率は高く、食鳥処理場での解体工程で食鳥肉への汚染を示すことが示唆される。今後、これらの動物性食品の処理、製造・加工及び販売店における細菌汚染経路などの調査を行い、汚染防止対策を検討する必要があると考えられる。

文 献

- 1) Jiang CM, Liu PH, Ding JP, Liu XG, Hu DL, Shinagawa K. Incidence and pollution of enterotoxigenic *Staphylococcus aureus* in milk, meat and fish in China. *Jpn J Food Microbiol* 2001;18:43-7.
- 2) 板屋民子, 徳丸雅一, 砂川 誠, 正木広幸, 青木敦子, 岩崎久夫. 食鳥, 食鳥処理場および市販食鳥肉の食中毒細菌の汚染状況調査. *日獣会誌* 1987;40:91-6.
- 3) 板垣道代, 白木 豊, 山田万希子, 所 光男, 河合直樹, 長井 章, 水谷芳昭, 末松寛之, 森 勝一, 寺地真弓, 松川洋子, 石郷潮美, 三輪まゆみ, 高田孝子. 2000～2003年におけるサルモネラ属菌検出状況. *日食微誌* 2004;21:62-8.
- 4) Ayulo, AMR, Mschado RA, Scussel VM. Enterotoxigenic *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* in fish and seafood from the southern region of Brazil. *Int J Food Microbiol* 1994;24:171-8.
- 5) 小田隆弘. ブドウ球菌食中毒の最近の動向. *日食微誌* 1998;39:179-85.
- 6) 中峰 松, 清水 晃, 河野潤一, 五十君静信. 市販ミンチ肉における黄色ブドウ球菌汚染調査と分離株の性状. *日食微誌* 2006;23:217-23.