

## 各種ふきとり液中における食中毒菌の消長について

梶原 一人<sup>1</sup>・西本 幸一<sup>1</sup>  
犬飼 妙<sup>1</sup>・小田 隆弘<sup>1</sup>

### Growth and Survival in some swab solutions of Food Poisoning Bacteria.

Kazuto KAJIWARA, Koichi NISHIMOTO  
Tae INUKAI and Takahiro ODA

食中毒検査時に用いるふきとり液として何が最も適当かを知る基礎資料を得る目的で、3種類のふきとり液（生理食塩水、リン酸緩衝液（以下PBSと略）、ペプトン水）を用いて、3種類の食中毒菌（サルモネラ、ブドウ球菌、腸炎ビブリオ）の消長を、4種類の温度条件（4℃、10℃、25℃、35℃）のもとに6時間後、24時間後8時間後で調査した結果、以下の成績を得た。

1. 生理食塩水はサルモネラについては菌の増減が比較的少なかったが、ブドウ球菌、腸炎ビブリオでは減少傾向が著しく、両者を対象としたふきとり液には不向きだと思われた。
2. PBSは4～10℃と低温に維持すれば最も菌数の変化が少なく、ふきとり液として適当だと思われた。しかし25～35℃ではサルモネラは増菌傾向、ブドウ球菌は減少傾向が顕著であった。
3. ペプトン水は4℃では菌数の増減は比較的少なかったが、10℃になるとやや増菌傾向が現れ、25～35℃では菌数が著しく増加し、この液の温度差による菌数の変化の激しさをあらわした。
4. 以上より今回の3菌種に関しては、ふきとり液にPBSを用い、検査時まで4～10℃に保持する方法がふきとった状態を長時間維持し、食中毒検査用のふきとり液として最良だと思われた。

Key Words: ふきとり Swab, 生理食塩水 Saline, リン酸緩衝液 Phosphate Buffer  
Saline (PBS), ペプトン水 Pepton Water, サルモネラ (*S.Typhimurium*),  
ブドウ球菌 (*S.aureus*), 腸炎ビブリオ (*V.parahaemolyticus*)

### I は じ め に

食中毒検査において、調理施設、器具、従事者手指等のふきとり検査は、食中毒の因果関係を把握する上で重要な要素となっている。ふきとり液としては別に指定があるわけではないので、当市では長年市販の滅菌生理食塩水（以下生食と略）を使用してきたが、この液から原

因菌を検出する頻度は非常に低率であった。また食中毒検査時には患者由来の便や吐物等を最優先することから、ふきとり液の検査は冷蔵後、患者便等から検出した菌を対象に後日実施することも多かった。

ふきとり液から原因菌の検出が低率である理由として、ふきとりの方法、時期、対象物の選択等の問題も考えられたが、今回はふきとり液とその保存方法に着目し、各種ふきとり液中における菌の消長を各種温度条件のもとに観察し、ふきとり液として何が最も適当かを検討した

1. 福岡市衛生試験所 微生物課

ので報告する。

## II 材料および方法

実験に用いたふきとり液は、下記の3種である。いずれも9 mlずつ中試験管に分注した。

生理食塩水：0.85 %NaCl 121 °C 15分  
オートクレーブ  
リン酸緩衝液：市販PBSダルベッコ粉末 pH 7.2  
121 °C 15分 オートクレーブ  
ペプトン水：1 %ペプトン 0.5 %NaCl  
pH 7.0 121 °C 15分 オートクレーブ

実験菌は三大食中毒菌といわれる下記の3菌を使用した。いずれも当所における分離株で、継代保存中の株である。

ブドウ球菌：*S. aureus* (コアグラゼII, エンテロトキシンA)  
サルモネラ：*S. Typhimurium*  
(04 : Hi, 1, 2)  
腸炎ビブリオ：*V. parahaemolyticus*  
(04 : K8 KP+)

培地は下記のものを使用した。

増菌用ブイヨン：ハートインフュージョンブイヨン(栄研) 腸炎ビブリオ用のみ食塩2%を添加  
ブドウ球菌分離用：マンニット食塩培地(栄研)に3%に卵黄液を添加  
サルモネラ分離用：DHL寒天(日水)  
腸炎ビブリオ分離用：TCBS寒天(日水)

保存温度条件は下記のとおりである。

4 °C：市販冷蔵庫  
10 °C：低温恒温器 いずれも温度誤差が  
25 °C：低温恒温器 ±2 °C程度のもの  
35 °C：ふらん器

各菌の純培養1白金耳を上記ブイヨンにて37 °C一晩増菌したところ、いずれも $10^8$  /mlオーダーに達した。これを $10^2$  および $10^5$  倍希釈し、それぞれ1 mlを上記のふきとり液(3種類) 9 mlに接種した。したがって実験開始(スタート)時の菌濃度は $10^5$  /mlオーダー(高濃度)と、 $10^2$  /mlオーダー(低濃度)の2段階とした。

上記4種類の温度条件で保存し、6時間後、24時間後、48時間後について、上記培地に0.1 ml塗抹培養後のCFU(2枚法)により菌数をもとめた。

## III 結果

### 1. 生理食塩水

4 °Cにおいては、サルモネラは48時間後まであまり菌数の変化がなかったが、ブドウ球菌(以下ブ菌と略)はやや減少傾向を示し、腸炎ビブリオ(以下腸ビと略)では菌数の減少が著しく、低濃度スタートでは24時間後には検出不能な菌数まで減少していた。

10 °Cにおいては、おおむね4 °Cと同様な傾向で、サルモネラはあまり菌数の変化を認めなかった。しかし、ブ菌は4 °Cよりもさらに菌数の減少傾向が強くなり、腸ビも同様であった。

25 °Cにおいては、サルモネラはやや増菌傾向を示し、48時間後には菌数が約 $10^1$  オーダーほど上昇していた。ブ菌と腸ビでは菌数が減少傾向で、特に初めの6時間における菌数の急降下が目立ち、特に腸ビの低濃度スタートでは6時間後には検出不能になっていた。

35 °Cにおいては、25 °Cと同様な傾向で、サルモネラは菌数が増加したが、ブ菌と腸ビは菌数の減少傾向が25 °Cの時よりもさらに強くあらわれ、低濃度スタートのブ菌と腸ビでは6時間後にも検出不能なまでに菌数が減少した。

### 2. PBS

4 °Cにおいては、サルモネラが僅かに上昇傾向であったが、3菌とも48時間後までほぼ菌数の変化が認められず、当初の菌数を維持していた。

10 °Cにおいては、4 °Cと同様に3菌とも菌数の大きな変化がなかったが、ブ菌は僅かに減少する傾向が認められた。

25 °Cにおいては、サルモネラと腸ビの2菌は増菌傾向が著しく、特に低濃度スタートでは顕著であった。ブ菌は逆に減少傾向で、特に低濃度スタートでは24 ~ 48時間後には検出不能に近い菌数にまで減少していた。

35 °Cにおいては、サルモネラは増菌傾向が25 °Cの時よりもさらに強まったが、腸ビはほぼ当初の菌数を維持

●—● ブドウ球菌    □—□ サルモネラ    △- - -△ 腸炎ビブリオ

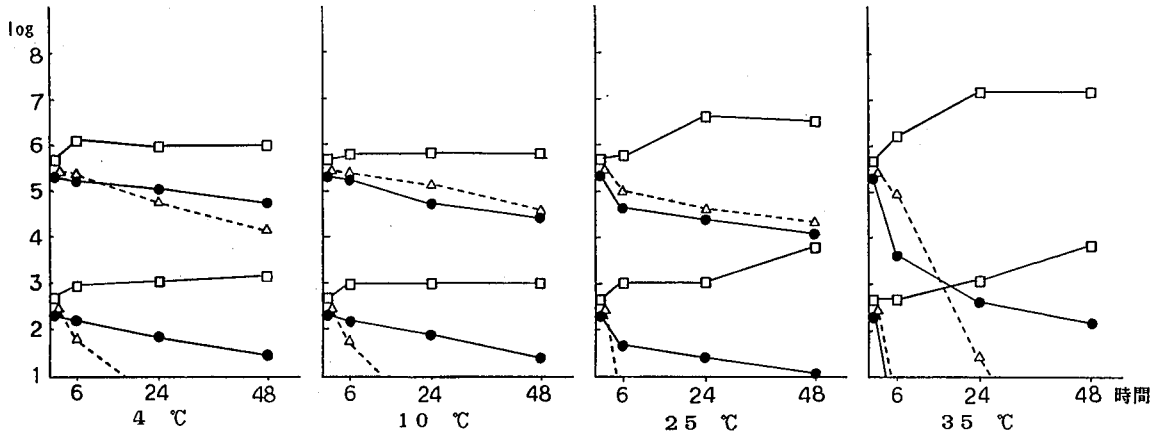


図1. 生理食塩水(0.85%NaCl)

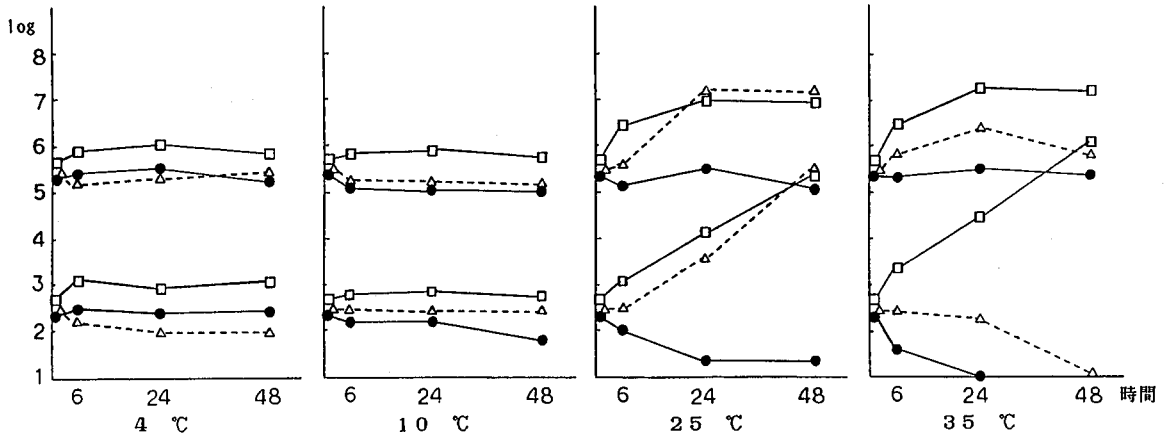


図2. リン酸緩衝液(PBS)

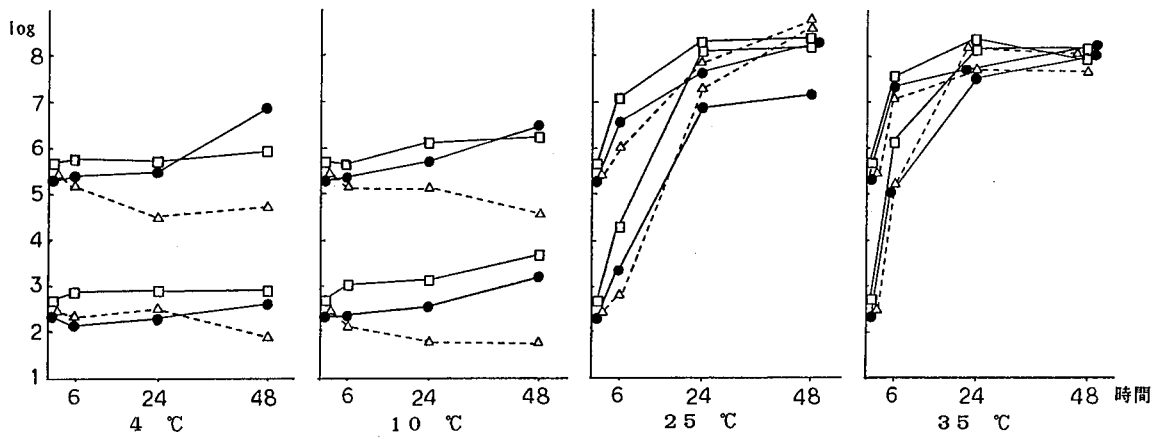


図3. ペプトン水(0.5%NaCl)

するか（高濃度スタート）、減少傾向（低濃度スタート）であった。

### 3. ペプトン水

4℃においては、サルモネラは菌数の変化をあまり認めなかったが、ブ菌は僅かに増菌傾向があり、逆に腸ビは菌数の減少傾向が認められた。

10℃においては4℃とおおむね同様で、ブ菌は菌数が増加した。サルモネラは4℃に比べて菌数が増加する傾向が強くなった。腸ビは4℃よりもさらに菌数の減少が顕著であった。

25℃においては、いずれの菌でも増菌傾向が著しく、特に低濃度スタートの3菌の菌数の増加が目についたが、48時間後の菌数はいずれも $10^7 \sim 10^8 / \text{ml}$ オーダーであった。

35℃においては、25℃と同様に著しい増菌が認められ、特に初めの6時間における顕著な増菌傾向が目についた。またサルモネラと腸ビは24時間後がピークで、48時間後はやや菌数が減少する傾向があった。

## IV 考 察

今回、食中毒時のふきとり液から食中毒菌の回収率が低いという単純な疑問から出発し、3種の食中毒菌を用いて、3種類のふきとり液を4段階の温度で48時間後まで追跡調査し、各菌の消長を把握することができた。

実験開始時の菌濃度を $10^2 / \text{ml}$ と $10^5 / \text{ml}$ の2段階に設定した理由は、各菌が諸条件によって増加もしくは減少しても、菌数の動向を把握できるためであるが、実際の食中毒時におけるふきとり液中の菌濃度はそれほど高いとは考えられず、どちらかといえば低濃度の方が菌の動向を反映していると思われる。

藤原<sup>1)</sup>、伊藤<sup>2)</sup>は食品中における病原細菌の消長について報告している。また平田<sup>3)</sup>は、各種の食品や井戸水中における腸炎起病性大腸菌（腸管病原性大腸菌）の動態を調査している。これらはいずれも温度、pH、水分活性、食塩濃度等の諸条件により菌の動向に差が認められることを報告している。また上野<sup>4)</sup>は保健所が実際に実施する「ふきとり」という行為に注目し、ふきとり瓶の改良について報告している。

しかし、保健所等が実際の食中毒時に使用する「ふきとり液」そのものの良否については検討が加えられていないので、今回の実験を試みた。

実験結果から、生食はサルモネラのふきとりには充分使用できるが、ブ菌、腸ビの2菌に対しては菌数の減少が著しく（特に25～35℃）、ふきとり液としては不向きだと思われる。

PBSは4～10℃と低温に維持すれば最も菌数の変化が少なく、ふきとった状態を48時間後まで維持し、ふきとり液として適当だと思われる。PBSは適当な緩衝作用で菌が死滅することなく、かつペプトン等の栄養源もないので4～10℃では著しく菌数が増加することもなく、当初の菌数を維持するものと思われる。しかし、PBSにおいても25～35℃に温度が上昇すると、サルモネラと腸ビの2菌は菌数が急増するので、ふきとり後の保存温度に十分な注意が必要だと思われる。

ペプトン水はペプトンという栄養源を持つことから、25～35℃の温度があれば、3菌とも菌数が著しく増加し、ふきとり液としては不向きであるが、4～10℃に維持すれば3菌とも比較的菌数の増減が少なく、ふきとり液として使用可能だと思われる。

そこで実際の食中毒時に使用するふきとり液には、その作成等の手間、冷蔵庫やクーラーボックス内における保存条件等を考慮すれば、PBSがふきとり液として適当だと思われる。

今回は純培養した菌の動向のみを調査したが、実際のふきとり時には種々の細菌（雑菌）等が複雑にからんで、菌の動態に影響すると思われる。グラム陽性球菌、グラム陰性桿菌2種の今回の3菌種については、PBSで4～10℃に保存する方法が菌の増減が最も少なかったことから、他の雑菌についてもほぼ同様であろうと考えられ、実際のふきとりにも充分使えると思われる。

今後は今回の3菌種以外に、セレウス菌やカンピロバクター、病原大腸菌等についても同様な調査を実施していかねばならないと考える。

## 文 献

- 1) 藤原喜久夫：食品中における病原細菌の消長について、食品衛生誌，9，81～90，1968
- 2) 伊藤 武，他：主な食中毒起因細菌の食品中における増殖について、食品衛生誌，30，123～137，1989
- 3) 平田一郎，他：腸炎起病性大腸菌の食品及び井戸水における生存と増殖，東京衛研年報，41，33～39，1990
- 4) 上野祥二，他：ふきとり瓶の改良について，食品衛生研究，39，2，67～71，1989