

## 流過程における腸炎ビブリオの汚染に関する研究

### II 生食用魚介類(刺身, すし種)の汚染状況および衛生指導基準の検討

岡崎秀信・別所元茂・※三守 弘

#### I はじめに

1962年衛生統計に登場して以来, 細菌性食中毒の50%以上を占める腸炎ビブリオ食中毒の予防対策として, 衛生指導基準設定の基礎資料と, 基準が設定された際の自主検査, あるいは現場における簡易検査法としての Agar Stamp 法(以下AS法)の実用性を検討する目的で, 50年度は小売店舗における非生食用魚介類の腸炎ビブリオ汚染状況を追求し, 加熱調理を原則とする非生食用魚介類の腸炎ビブリオ汚染許容菌数は, その実態から  $1 \times 10^4 \sim 1 \times 10^5 / 100g$  以下とすべきことを報告した<sup>5)</sup>

腸炎ビブリオ食中毒発生の大な原因の1つに, 生食用魚介類があげられ, 刺身, すし種など魚介類の生食を好む国民性は, 我国に本菌による食中毒が多発する所以でもあり, 夏季散发下痢症の80%は本菌によるとの報告<sup>3)</sup>もある。非生食用魚介類は環境由来の本菌汚染は避け難く, また鱗を有する魚体では機械的な洗滌効果も充分に行い難いが, 生食用にあっては本来無菌的な魚肉を調理加工することから, 完全な汚染防止は無理としても, 二次汚染に充分対処するならば, 非生食用魚体よりも汚染菌量を相当減少せしめることが可能である。生食用魚介類の量的汚染に関する研究は浅川<sup>1)</sup>, 仲西<sup>10)</sup>らの報告もあるが比較的少い。そこで51年度は, 生食用魚介類の汚染状況を調査し, 業態, 店舗, 衛生状態などとの関連性をみると共に, その実態から衛生指導基準の根拠となる腸炎ビブリオ汚染許容菌数を提案し, 併せてAS法における *V. alginolyticus* を指標とした場合, 定量法での腸炎ビブリオとの関連性について検討を行った。

#### II 材料および方法

1 店舗の選定; 調査店舗は, 営業状態を主に次の4業態を選定した。

1) A業態……一般食堂として生食用魚介類のほか, 種々の飲食物も提供する4店舗, 営業時間9.00~22.00前後。

2) B業態……にぎり寿司専門店, 3店舗, 営業時間16.00~24.00

3) C業態……魚介類小売店舗における刺身, 4店舗 営業時間9.00~17.00

4) D業態……スーパーマーケットにおける包装刺身3店舗, 営業時間9.00~18.00

2 調査魚種および期間; 一般に刺身, すし種として消費の多いマグロ, イカ, タコ, ハマチ, トリガイの5魚種(タコはすべて茹タコで他は生魚肉)とし, 7月から10月初旬にかけて計6回調査した。

3 実験方法; 検体はすべて調理後の生食可能な商品の状態としたものを約15g減菌シャーレに採取し, スーパーの包装刺身は1ケースそのままをクーラーに入れて持帰り, 第1報と同様の方法で行った。検体はいずれも5℃前後のショーケースに置かれ, 温度管理は十分にされていた。

#### III 研究成績

1 定量培養法による腸炎ビブリオ汚染

1) 月別汚染状況

検査総数は159検体, 魚種別にすると, ハマチ(32), トリガイ(14), タコ(19), マグロ(40), イカ(39), その他(15)である。

表1 生食用魚介類月別陽性率

調査月	調査数	定量法検出数		100g中腸炎ビブリオ数				AS法 陽性数	%
		陽性数	%	$10^3$ 以下	%	$10^3$ 以上	%		
7	56	13	23.2	13	23.2	0	0	0	0
8	35	23	65.7	17	48.5	6	16.0	3	8.5
9	50	29	58.0	25	50.0	4	8.0	6	12.0
10	18	11	61.1	9	50.0	2	11.1	0	0
計	159	76	47.7	64	40.0	12	7.5	9	5.6

※ 高松保健所

月別陽性率は表1に示すように、7月23.2%でやゝ低く、8月が最高で65.7%、9月10月上旬はやゝ低下して58%、61.1%、平均47.7%を示し、食中毒多発期間中の汚染率は高い。このことは菌量にも現れ $10^3/100g$ 以上の汚染菌量を示すものが、7月0%、8月16.0%、9月8.0%、10月初旬11.1%で平均7.5%

みられた。この陽性率、汚染菌量の月別推移は非生食用魚介類と同様のパターンを示し、生食用魚体が調理後の温度管理は充分行われているところから、調理加工の際における二次汚染菌量をほぼ正確に表している。

2) 業態別汚染状況

表2 業態別陽性率

業態	A (4店舗)			B (3店舗)			C (4店舗)			D (3店舗)			計		
	月	検体数	陽性 %	検体数	陽性 %	検体数	陽性 %	検体数	陽性 %	検体数	陽性 %	検体数	陽性 %		
7	20	$\frac{1}{(0)}$	5	15	$\frac{4}{(0)}$	26.6	12	$\frac{6}{(0)}$	50.0	9	$\frac{2}{(0)}$	22.2	56	13	23.2
8	20	$\frac{14}{(3)}$	70	15	$\frac{9}{(3)}$	60.0	.	.	.	.	.	.	35	23	65.7
9	15	$\frac{3}{(1)}$	20	15	$\frac{12}{(1)}$	80.0	12	$\frac{9}{(1)}$	75.0	8	$\frac{5}{(1)}$	62.5	50	29	58.0
10	.	.	.	.	.	.	12	$\frac{10}{(2)}$	83.3	6	$\frac{1}{(0)}$	16.6	18	11	61.1
計	55	$\frac{18}{(4)}$	32.6	45	$\frac{25}{(4)}$	55.5	36	$\frac{25}{(3)}$	69.4	23	$\frac{8}{(1)}$	34.7	159	$\frac{76}{(12)}$	$\frac{47.7}{(7.5)}$

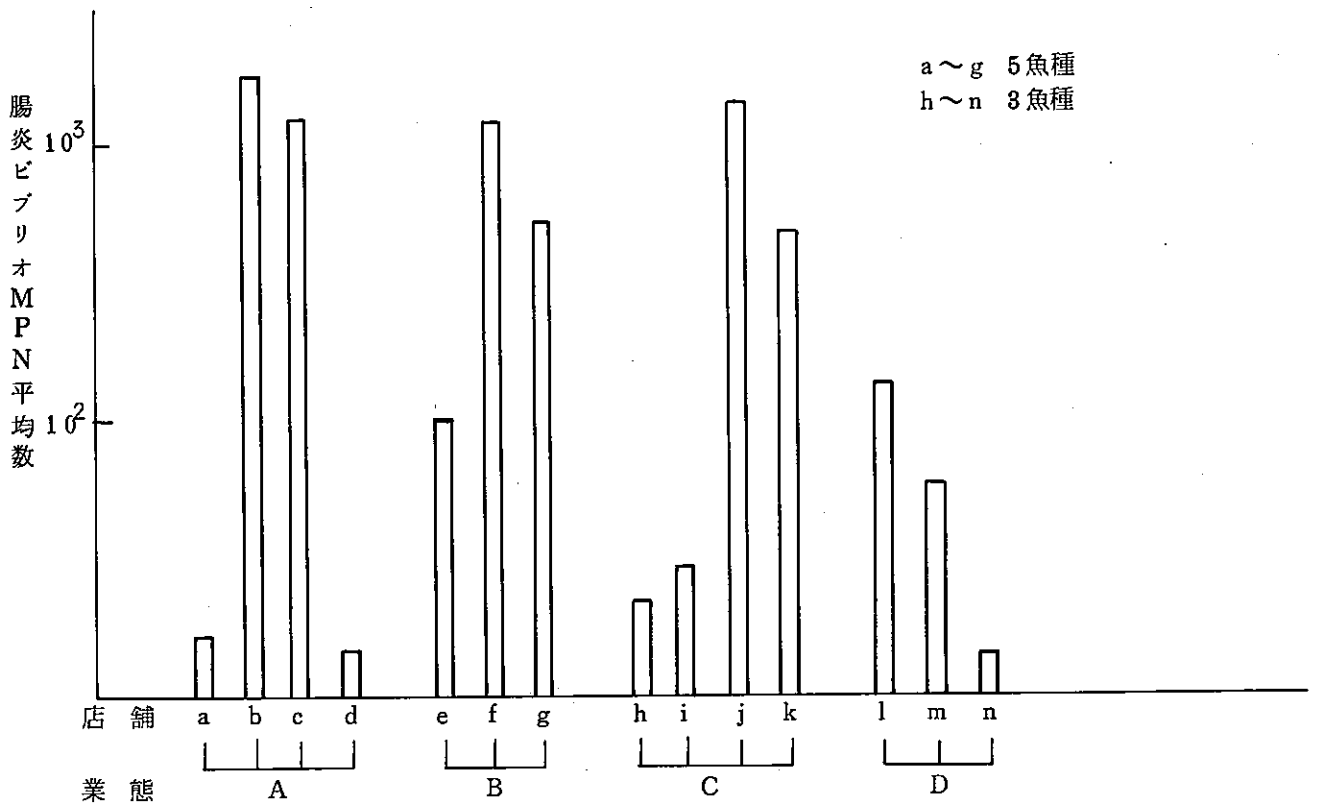
※ ( )内の数字は $10^3/100g \geq$ の数を示す。

4業態の汚染状況は、A業態32.6%、B業態55.5%、C業態69.4%、D業態34.7%で、A、D業態に比べ、B、C業態の汚染率が高く、 $10^3 > 100g$ の高汚染率も、A業態7.2%、D業態4.3%に対し、B業態

8.8%、C業態8.3%と同様の傾向を示している。とくにD業態の包装刺身の汚染が低かった。

3) 店舗別汚染状況

図1 店舗別腸炎ビブリオMPN平均数

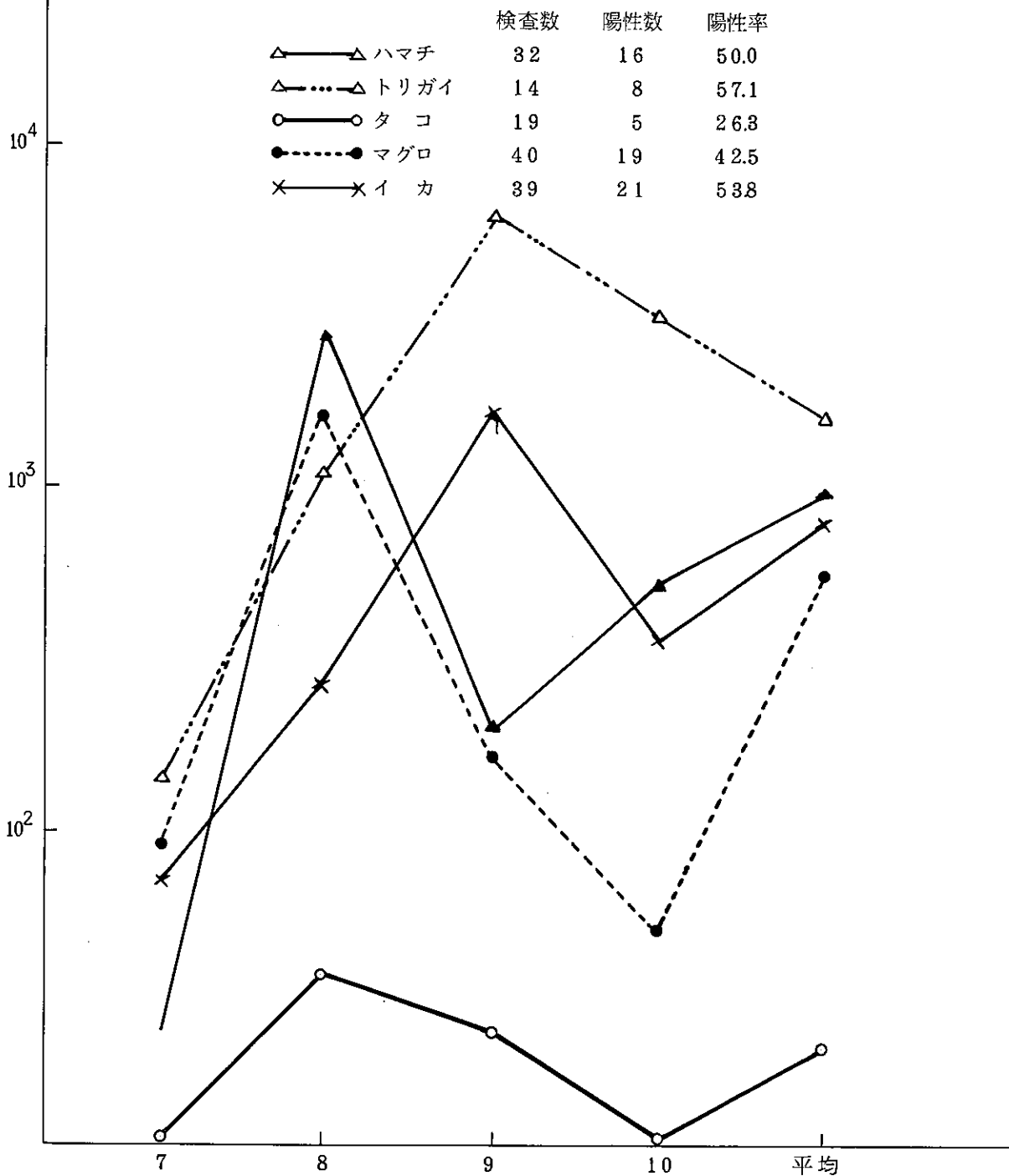


業態別ではB, C業態の汚染率が高く, A, D業態が低い成績が得られたが, これを各店舗別に腸炎ビブリオ菌数の平均値をとってみると図1に示すようにA業態4店舗ではb, cの2店舗が $10^3/100g$ 以上, a, dの2店舗は $10^2/100g$ 以下であり, B業態3店舗ではe, gの2店舗が $10^2/100g >$ , f店舗が $10^3/100g >$ , C業態4店舗ではj店が $10^3/100g >$ , k店舗が $10^2/100g >$ , h, iの2店舗は $10^2/100g >$ である。またD業態3店舗ではl店舗のみ $10^2/100g >$ で, m

店舗は $10^2/100g <$ , n店舗にあっては $10/100g <$ である。このことは当然陽性率に現れ, 菌数の少ないa店舗が20%, n店舗11%, d店舗33%に対して,  $10^3/100g >$ を示すb店舗は60%, j店舗は66.6%を示している。生食用魚介類の場合, ほとんど店舗差がみられなかったのに対し, 生食用魚介類では, 業態別より各店舗間に明らかに差がみられ, 汚染菌量も相当低値に抑えられる可能性を示している。

4) 魚種別汚染状況

図2 魚種別腸炎ビブリオMPN平均数



魚種別汚染状況では、汚染率と汚染菌量は同一のパターンを示し、トリガイ、イカ、ハマチ、マグロ、タコの順に高く、それぞれ57.1%、53.8%、50%、47.5%、26.3%の汚染率を、汚染菌量はトリガイ  $3.6 \times 10^3$ 、イカ  $1.3 \times 10^3$ 、ハマチ  $1.1 \times 10^3$ 、マグロ  $7.3 \times 10^2$ 、タコ  $4.1 \times 10^1$  の平均値を示した。タコの汚染菌量が低いのは、加熱操作による一次汚染菌量の減少のため、調理後の二次汚染菌量も少ないものと思われる。なおトリガイについては、一般に汚染菌量が高いが、低値のものもあり、また貝類はその生態的あるいは構造上、魚体に比べ1オーダー程度高いという報告<sup>1), 4)</sup>もあり、さらに検討が必要と思われる。

5) 分離株の血清型および神奈川現象

調査総数 159 検体中 75 検体から腸炎ビブリオが検出

され、そのうち 25 検体 (32.9%) から分離した菌株が型別出来た。K 血清は 15 血清型で、K 28 (26.6%)、K 30、K 34 (各 20%)、K 37、K 31、K 42 (各 13.3%) が多く、他はそれぞれ 1 株程度で、非生食用魚体分離血清型と相似のパターンを示し、同様に店舗間、魚種間に一定の傾向は認められず、神奈川現象はすべて陰性であった。

2 Agar Stamp 法と定量法の関連性

AS法による腸炎ビブリオの直接検出率は、非生食用魚介類で3.2%、生食用魚介類で5.6%なのに対し、定量法では非生食用83%、生食用47.7%で、AS法は定量法に比し極めて低率で、直接腸炎ビブリオ検出には不適當と考える。そこで同時に検出される *V. alginolyticus* との関連性を検討してみた。

表 3-a 生食用魚介類の腸炎ビブリオ数と *V. alginolyticus* 数

	マグロ	イカ	ハマチ	タコ	トリガイ	その他	計
調査数	40	39	32	19	14	15	159
V. alg,	23	26	24	11	12	9	105
V. parah,	19	21	16	5	8	7	76
平均 V. alg,	8,319	22,026	19,326	3,099	56,723	37,525	232,65
V. parah,	727	1,324	1,119	41	3,674	5,274	1,658
$\frac{V. parah,}{V. alg,}$	11.4	16.6	17.3	75.6	15.4	7.1	13.4

表 3-b 定量法による腸炎ビブリオと AS 法による *V. alginolyticus* の関係

定量法による V. parah,	V. parah, 陽性	V. parah 陰性	V. parah, 陽性	AS 法陽性数	調査総数
AS 法による V. alg 数 10 <sup>3</sup> >	AS 法で 10 <sup>3</sup> <	AS 法で 10 <sup>3</sup> >	AS 法で 10 <sup>3</sup> <	AS 法で 陰性	99 (62.2)
29 (29.2)	38 (38.3)	16 (16.1)	16 (16.1)	8 (5.0)	159
V. parah, 10 <sup>3</sup> <	18 (28.1)	38 (59.3)			
陽性区分 10 <sup>3</sup> >	11 (91.7)	1 (8.3)			

すなわち、定量法による腸炎ビブリオと AS 法による *V. alginolyticus* の両者ともに陽性が  $\frac{67}{159}$  42.8%、ともに陰性が  $\frac{60}{159}$  37.7%、*V. alginolyticus* のみ陽性  $\frac{32}{159}$  20.1% と両者の一致

したものは 80.5% となり、僅かに定量法で腸炎ビブリオ陽性、AS 法で *V. alginolyticus* 陰性が 5% みられたに過ぎない。さらに、AS 法陽性 99 例を *V. alginolyticus* 集落数でみると、10<sup>3</sup> 以上 29 例

29.2%, 10ヶ以下38例38.8%で、これを定量法での腸炎ビブリオ数と対応させてみると、腸炎ビブリオ数  $10^3/100g$  以上では91.7%が10ヶ以上、8.8%が10ヶ以下で、大部分が10ヶ以上の *V. alginolyticus* を検出している。さらに、定量法による腸炎ビブリオ数と、*V. alginolyticus* 数の比をみると表3-aのように、加熱により汚染の少ないタコのような例もあるが、生食用魚体においては平均13.4で、*V. alginolyticus* 数は腸炎ビブリオ数のほぼ10倍~20倍の間にあると推測される。

### 3 生食用魚介類の衛生指導基準

腸炎ビブリオ食中毒多発期における生食用魚介類の陽性率は、表1に示したように  $10^3/100g$  以上が7.5%、 $10^3/100g$  以下が40.2%で約半数から検出され、とくに8月9月には65%に達している。自然環境汚染による一次汚染が避けられず、加熱調理を原則とする非生食用魚体と異り、高汚染は食中毒に直結する生食用魚体においては、当然その許容菌数も厳しさが要求される。今回得られた成績でも、 $10^3/100g$  あるいは  $10^4/100g$  を起す高汚染もみられたが、同一魚種、同一調査時に遙かに低い  $10^2/100g$  程度の菌数を示した店舗もあった。一般に汚染菌量の少ない店舗は他の魚種も同様に少く、高い店舗はすべての魚種に高汚染の傾向がみられた。このことは、調理に際し、二次汚染に対する配慮如何がそのまゝ生食用魚体に反映しているといえよう。

前報<sup>5)</sup>において、非生食用魚介類の衛生指導基準を  $100g$  中  $1 \times 10^4 \sim 1 \times 10^5$  とすべきを提案したが、これは加熱調理を原則とし、自然環境からの一次汚染が不可避な現時点を考慮したもので、さらに有効な菌数減少法が研究されたなら、当然もっと低値とすべきであろう。生食用魚体は、本来無菌的な魚肉が対象であり、若干の二次汚染は避けられないが、現実には  $10^2/100g$  程度の店舗もあることから  $1 \times 10^3/100g$ 、少くも  $1 \times 10^4$  以下とすべきであろう。この基準は非生食用魚体と異り、生食用魚体においては容易に達成し得る基準といえる。

なお生食用貝類については、生食用魚体より1~2オーダー菌数が多いといわれ、同一基準は難しいかも知れず、さらに調査研究が必要である。

AS法による直接腸炎ビブリオ検出は非生食用、生食用ともに低率で不相当と考えられる。しかし、同時に検出される *V. alginolyticus* を指標菌とするなら、腸炎ビブリオとの関連性が充分うかがわれることから、自主検査、あるいは現場におけるスクリーニングのための簡易検査法として用いることが可能で、その場合の基準として、*V. alginolyticus* 集落数は、10個以下が相当と考える。

## III 考 察

前報につづいて、生食用魚介類の衛生指導基準設定の基礎資料を得るため行った今回の調査では、月別汚染状況は非生食用魚体の場合と完全に一致し、8月、9月に高い汚染がみられた。このことは、非生食用魚体の一次汚染をそのまま反映しており、汚染度の高い食中毒多発期の生食用調理に際し、二次汚染防止が強く望まれる。得られた成績から魚種、業態、調査時が同一にもかかわらずa店舗のイカは  $10^1/100g$  なのにb店舗では  $10^4/100g$  と大きな菌数差があり、一般に生食用魚体においては、店舗差が極めて著しい。非生食用魚体の場合、店舗間の差が余り認められなかったのと極めて対照的であった。非生食用魚体の一次汚染が不可避な現状では、流通過程における本菌の増殖を防止するとともに、生食用魚体を供する店舗においては、調理に際し、二次汚染に注意することによって、一次汚染菌量を相当減少させることが可能である。調査期間の汚染菌量をみると、非生食用魚体では  $10^3/100g$  以上が48%、生食用魚体では7.5%と少数で、汚染のピーク時においても  $10^3/100g$  台に抑えることも可能といえる。

藤原<sup>6)</sup>、坂崎<sup>7)</sup>らの人体実験の報告によれば、 $1g$  中  $10^5$  で軽度の下痢、 $10^7$  で確実に発症といわれ、本菌の増殖速度、仕出し、会食などにおける喫食までの時間などを考慮し、さらに安全性を加味するならば、腸炎ビブリオの汚染許容菌数、すなわち、衛生指導基準として  $1 \times 10^3/100g$  以下を提案したい。宮崎<sup>8)</sup>らは同様の調査ですべて  $10^2/100g$  以下であったと報告し、また、著者らも参加した腸炎ビブリオ食中毒予防対策研究班<sup>9)</sup>では  $1 \times 10^4/100g$  以下を相当とする意見が多かったが、上述の理由で  $1 \times 10^3/100g$  以下が妥当と考える。

なお貝類については、その特徴的構造による蓄積作用から、魚体に比し高度の汚染がみられ、しばしば食中毒の原因となっている。<sup>12), 13)</sup> 著者らも本県産バカ貝の腸炎ビブリオ年間消長を調査しているが(未発表)、8月9月には  $10^6/100g$ 、なかには  $10^7/100g$  を越すものもあり、食中毒多発時期における要因の1つと考えられ、現状のまま生食用に供するならば、その予防は難しく、なんらかの除菌操作を行うか、サーベイを行って菌数が一定限度に達した場合、生食用に供しないよう行政指導が望まれる。

## IV ま と め

生食用魚介類の衛生指導基準設定のための基礎資料を得る目的で、小売店舗における刺身、にぎり寿司専門店のすし種、スーパーの包装刺身など159検体について、腸炎ビブリオ汚染実態を追求した。

1. 月別腸炎ビブリオ陽性率は8月, 9月が高く, 非生食用魚体と一致した傾向を示した, 汚染菌量もほぼ同様の傾向で,  $1 \times 10^3/100g$  以下が40.2%,  $1 \times 10^5/100g$  以上は7.5%であった。

2. 業態, 店舗別汚染状況は, にぎり 専門店が高く他の業態では店舗間に明らかに汚染度に差がみられた。

3. 魚種別汚染状況はタコが最低で, トリガイ, イカ, ハマチに高汚染がみられたが, 店舗による影響も大きい。

4. AS法による腸炎ビブリオ検出は, 非生食用魚体の場合と同様低率(5.6%)であったが, *V.alginolyticus* は62.2%が陽性で, 定量法による両者の菌数比は平均13.4%であった。

5. 貝類を除く生食用魚介類の衛生指導基準は, 腸炎ビブリオ  $1 \times 10^3/100g$  以下, 腸炎ビブリオの汚染指標菌としての *V.alginolyticus* 数は, AS法の場合一平板10個以下が適当と考える。

本報告の要旨は昭和52年度日本獣医公衆衛生学会(徳島)において発表した。

なお, 本研究は, 厚生省腸炎ビブリオ食中毒予防対策研究班の研究の一端として行ったものであることを付記する。

## 文 献

1. 浅川豊, 赤羽荘介, 和田直子; 生食用魚介類の汚染調査, 静岡県衛生研究所報告, 19:7~11, 1976
2. 浅川豊; 腸炎ビブリオの食品汚染とその対策について, 食品衛生研究, 25:7, 545~547, 1975
3. 加藤貞治, 小原寧, 山井志郎, 保母京子; 腸炎ビブリオの病原性, メディアサークル, 13:4, 155~158, 1968
4. 駒井嘉明, 山本晃, 平川正男, 嶋田暁, 石崎衛治; バカ貝の流通経路における腸炎ビブリオの汚染実態調査, 食品衛生研究, 26:1, 65~70, 1976
5. 岡崎秀信, 別所元茂; 流通過程における腸炎ビブリオの研究, I 小売店舗における生食用魚体の汚染状況について, 香川県衛生研究所報 Vol.5 33~39, 1978
6. 藤原喜久夫; 経口投与試験成績について, 日細菌誌 17:12, 968~969, 1962
7. 坂崎利一, 田村和満, 加藤貞治, 小原寧; 腸炎ビブリオの人体投与実験, メディアサークル, 13:4, 159, 1968
8. 宮崎佳都夫, 中森純三, 西尾隆昌; 小売店舗における海産魚介類の腸炎ビブリオ汚染実態, II 生食魚体(刺身)の腸炎ビブリオ汚染状況およびその許容基準の検討, 広島県衛生研究所, 公害研究所研究報告, 24:30~37, 1977
9. 坂崎利一, 仲西寿男; 腸炎ビブリオ食中毒予防に関する基本的条件とその応用, 食品衛生研究, 27:6, 527~532, 1977
10. 仲西寿男, 村瀬稔, 寺本忠司; 腸炎ビブリオ性食中毒とフィールド分布, 食品衛生研究, 25:7, 543~544, 1975
11. 加藤博; 各種食品細菌の増殖速度に関する研究, 第3報生鮮魚肉中における *V.parahaemolyticus* の増殖について, 20:9, 541~544, 1965
12. 村上一, 神保勝彦, 神崎政子, 小久保弥太郎, 春田三佐夫, 山田満; 最確数法による生食用むき身貝中の推定腸炎ビブリオ数の測定, 食衛誌, 16:247~252, 1975
13. 坂井千三, 寺山武, 伊藤武, 善養寺浩, 山田満, 岩根善郎; 腸炎ビブリオ中毒の予防に関する研究, 食品衛生研究, 25:537~540, 1975
14. 藤野恒三郎; 腸炎ビブリオに関する最近の知見, 食衛誌, 18:2, 131~141, 1977