

研究ノート

市販刺身の細菌汚染状況

肥田 崇*, 岩崎 啓子, 野村 秀一
(長崎国際大学 健康管理学部 健康栄養学科, *連絡対応著者)

Bacterial Contamination of Commercial Sliced Raw Fish

Takashi HIDA*, Keiko IWASAKI and Shuichi NOMURA
(Dept. of Health and Nutrition, Faculty of Health and Management,
Nagasaki International University, *Corresponding author)

Abstract

To clarify the bacterial contamination of commercial sliced raw fish purchased from fish dealer and supermarket, we measured the numbers of general bacteria, psychrotrophs, *Escherichia coli*, coliforms, *Enterococci*, *Staphylococcus aureus*, coagulase negative staphylococci (CNS), and *Vibrio* according to the Standard methods of analysis in food safety regulation, and compared them. The number of general bacteria, psychrotrophs, coliforms, *Enterococci*, or *S.aureus* did not significantly change according to seasons and temperatures, while the number of *E.coli* detected and numbers of CNS and *Vibrio* increased particularly in the summer season. The number of each type of bacteria, except *Enterococci*, was higher for fish dealer compared to supermarket.

These results showed that commercial sliced raw fish purchased from fish dealer and supermarket was contaminated by many kinds of bacteria regardless of seasons and temperatures.

Therefore, it is necessary to pay attention to the outbreak of foodborne disease and generating of putrefaction regardless of seasons and temperatures.

Key words

commercial sliced raw fish, bacterial contamination

要旨

市販されている刺身の細菌汚染状況を明らかにするために、鮮魚店とスーパーマーケットの店舗別に、食品衛生検査指針に従って、一般細菌、低温細菌、大腸菌、大腸菌群、腸球菌属、黄色ブドウ球菌、コアグラゼ陰性ブドウ球菌（CNS）、ビブリオ属の生菌数を測定し、比較検討した。一般細菌と低温細菌、大腸菌群、黄色ブドウ球菌、腸球菌属の生菌数において、季節、気温による変動はなかった。また、大腸菌の検出数と CNS とビブリオ属の生菌数では、季節、気温による変動があり、気温が高い夏季にそれぞれ増加していた。鮮魚店とスーパーマーケットにおける生菌数の比較では、腸球菌属を除いてスーパーマーケットより、鮮魚店の方が多かった。このことから、季節、気温に関わらず、刺身を原因とする食中毒の発生と刺身の腐敗に注意を払う必要がある。

キーワード

市販刺身、細菌汚染

I はじめに

近年、家庭での魚介類の購入形態をみると、刺身などの下ごしらえが不要な形態での購入が多くなっている¹⁾。また、清水らは、市販刺身の一般細菌の生菌数が $10^4\sim 10^5/g$ 、大腸菌群の生菌数が $10^2\sim 10^3/g$ であったと報告している²⁾。

市販刺身の細菌汚染の主な汚染経路は、処理・加工工程における汚染などである。市販刺身は、そのまま生食されるので、市販刺身の細菌汚染状況の調査を行うことは、刺身に起因する食中毒や刺身自身の腐敗の予防に重要である。市販刺身に起因する食中毒の予防のための保健所による除去検査は、管轄内の店舗を月別に分けて行われており³⁾、特定の店舗を長期間にわたり、細菌汚染状況を追跡調査したものはない。

そこで、市販されている刺身の細菌汚染状況を明らかにするために、鮮魚店とスーパーマーケットの店舗別に、一般細菌、低温細菌、大腸菌群、大腸菌、腸球菌属、黄色ブドウ球菌、CNS、ビブリオ属について、1年間にわたり、細菌汚染状況を調べた。

これらの研究を通して、店舗別による市販刺身の細菌汚染状況の変動を1年間通して把握することを目的とした。

また、黄色ブドウ球菌の検査は、平板培養法が公定法として使用されているが、この平板培養法では、食品検体中に黄色ブドウ球菌が少量の場合には検出されないことがあり、一部の検査室では黄色ブドウ球菌の検出を上げるために、増菌培養法が試みられ、本菌の検出率が平板培養法と比較して増加することが報告されている⁴⁾。

このことから、店舗別による市販刺身について平板培養法と増菌培養法を用いて黄色ブドウ球菌の汚染状況について比較検討した。

II 方法

1. 検査材料

平成23年8月～平成24年7月の期間に長崎県佐世保市内の個人経営の鮮魚店と大手のスーパー

マーケットで市販されている刺身を鮮魚店から20検体ずつ、スーパーからトレイパック詰め刺身20検体ずつを購入し、計40検体を毎月1回、1年間で計480検体を供試した。また、1トレイパックに1魚種だけ入っているものを1検体とし、毎月、各店舗で購入する魚種、天然、養殖、国産は特定しなかった。購入日は、毎月第3週の水曜日とし、調理加工後1時間以内の刺身を購入した。購入時の気温は気象庁⁵⁾より発表されたものを用いた。また、刺身の陳列ケースの温度が 10°C 以下であることを確認した。検体は購入後、実験に供するまで -80°C の冷凍庫で保管した。

2. 検査試料の調製

試料原液は検体25gをストマッカー用ポリエチレンバックに無菌的に秤量採取し、0.1%ペプトン加生理食塩水225mlを加えてストマッカー(インターサイエンス)を用いて30秒間ホモジナイズした。これを希釈原液(10倍希釈液)とし、さらに、0.9%生理食塩水で10倍段階希釈液を作製した(ビブリオ属の検出を除く)。

3. 検査項目

検査項目は、一般細菌、低温細菌、大腸菌群、大腸菌、腸球菌属、黄色ブドウ球菌、CNS、ビブリオ属について検討した。検出法は食品衛生検査指針⁶⁾に従った。

1) 一般細菌の検出

試料原液および10倍段階希釈液それぞれ1mlをシャーレに入れ、普通寒天培地(ニッスイ)で混釈を行い、 37°C で、48時間培養した。形成した集落を計測し、検体1g当たりの各細菌の生菌数を測定した。生食用魚介類の食品衛生的評価については、食品衛生法で一般細菌の生菌数の規格基準はないため、小田⁷⁾の非加熱食品の評価法の基準を使用した。

2) 低温細菌の検出

低温細菌数は、2.5%食塩添加普通寒天培地（ニッスイ）を用いて一般細菌数と同様の方法で生菌数を測定した。ただし、培養条件を $7.0 \pm 1.0^\circ\text{C}$ で、10日間培養とした。

3) 大腸菌群の検出

大腸菌群は、DHL 寒天培地（ニッスイ）を用いて一般細菌と同様の方法で生菌数を測定した。ただし、培養条件を 37°C で、 24 ± 2 時間とした。生食用鮮魚介類の衛生的評価については、小田⁷⁾の基準を使用した。

4) 糞便系大腸菌群の検出と大腸菌の判定

糞便系大腸菌群の検査は、EC テストを行った。試料原液 10ml、1 ml、0.1ml それぞれを直接、EC 培地（ニッスイ）の入った試験管内にダーラム管を倒置した EC 発酵管に接種し、 $44.5 \pm 0.2^\circ\text{C}$ の恒温水中で、 24 ± 2 時間培養し、ガス発生が認められた発酵管について、1白金耳を EMB 培地（ニッスイ）に塗抹し、 37°C で、 24 ± 2 時間培養した。培養後、平板培地上に集落が金属光沢または紫赤色の定型的集落が確認されたものを糞便系大腸菌群陽性と判定した。また、本研究では、糞便系大腸菌群陽性の菌株を大腸菌（*E.coli*）陽性と判定した。

5) 黄色ブドウ球菌と CNS の検出

黄色ブドウ球菌の検査法では、平板培養法と増菌培養法の2種の検出法を用いて検討した。CNS の検出法では、平板培養法のみを用いた。

(1) 平板培養法

試料原液及び10倍段階希釈液それぞれ 0.1ml を食塩卵黄寒天基礎培地（ニッスイ）に塗抹し、 37°C で、 48 ± 3 時間培養した。培養後、形成された集落の中で、卵黄反応陽性の集落を黄色ブドウ球菌、卵黄反応陰性の集落を CNS として計測し、それぞれ検体 1g 当たりの生菌数を測定した。

生食用鮮魚介類の食品衛生的評価については、

小田⁷⁾の基準を使用した（CNS を除く）。

(2) 増菌培養法

野村らの改良増菌培地（Beef extract: 5.0g、Polypeptone: 10.0g、NaCl: 50.0g、 K_2HPO_4 : 5.0g、Yeast extract: 3.0g、 $\text{C}_3\text{H}_3\text{NaO}_3$: 10.0g、精製水: 500ml⁸⁾）を 10ml ずつ分注したものに試料原液 10ml を加え、 37°C で、24時間培養した。これをよく攪拌し、1白金耳を食塩卵黄寒天基礎培地に塗抹し、 37°C で、 48 ± 3 時間培養後、卵黄反応陽性の集落を認めたものを黄色ブドウ球菌陽性と判定した。

6) 腸球菌属の検出

腸球菌属は、試料原液及び10倍段階希釈液それぞれ 0.1ml を EF 寒天基礎培地（ニッスイ）に塗抹し、 37°C で、 48 ± 3 時間培養した。培養後、形成された集落を計測し、検体 1g 当たりの生菌数を測定した。

7) ビブリオ属の検出

(1) 検査試料の調製

試料原液は、検体 25g をストマッカー用ポリエチレンバックに無菌的に秤量採取し、アルカリ性ペプトン水（ニッスイ）225ml を加えてストマッカーを用いて30秒間ホモジナイズした。これを希釈原液（10倍希釈液）とした。なお、希釈原液は損傷菌の回復のため60分、 $20 \pm 2^\circ\text{C}$ で培養後⁶⁾、さらにアルカリ性ペプトン水を用いて10倍段階希釈液を作製した。

(2) ビブリオ属の検出

希釈原液および、10倍段階希釈液それぞれ 0.1ml を TCBS 寒天培地（ニッスイ）に移し、平板培養法を行った。その後、 37°C で 48 ± 3 時間で培養を行った。培養後、形成された集落を計測し、検体 1g 当たりの生菌数を測定した。

8) 統計処理

市販刺身における生菌数は、解析用ソフト 4 Step エクセル統計 Statcel 3（オーエムエス出版⁹⁾）を用いて、t 検定を行った。

Ⅲ 結 果

1. 検体購入時の気温

気象庁より発表された検体購入時の気温のグラフを図1に示した。季節による気温に変動が見られた。

2. 一般細菌の生菌数

鮮魚店とスーパーマーケットでの生菌数の比較を図2に示した。店舗別による比較においては、どの月においても鮮魚店の方がスーパーマーケットよりも多く、危険率5%で有意な差を認

められた。また、7月～10月においては、危険率1%で有意な差が認められた。生菌数の季節、気温による変動を見てみると、季節、気温による生菌数の変動はなかった。

また、小田⁷⁾の非加熱食品の評価法の基準に従って評価し、7 log (cfu/g) 以上を不適とした。7 log (cfu/g) 以上の汚染は、両店舗ともなかった。

3. 低温細菌の生菌数

鮮魚店とスーパーマーケットでの生菌数の比

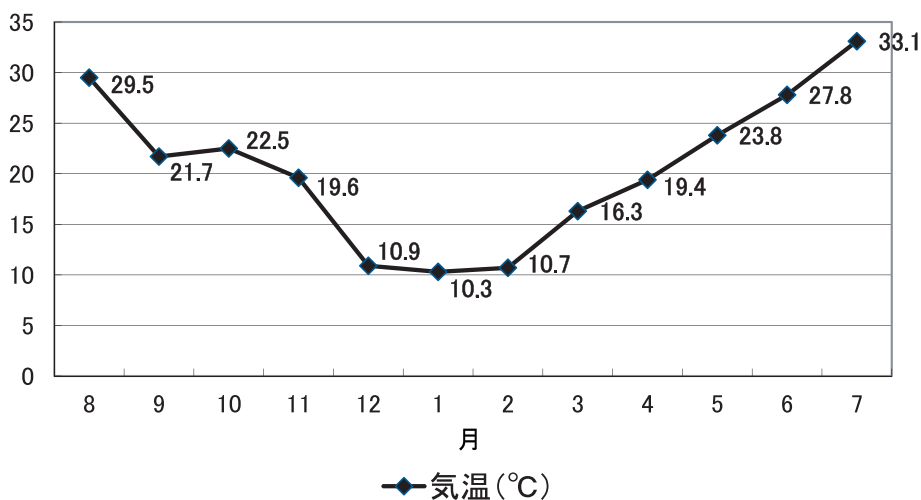


図1 市販刺身購入時の気温

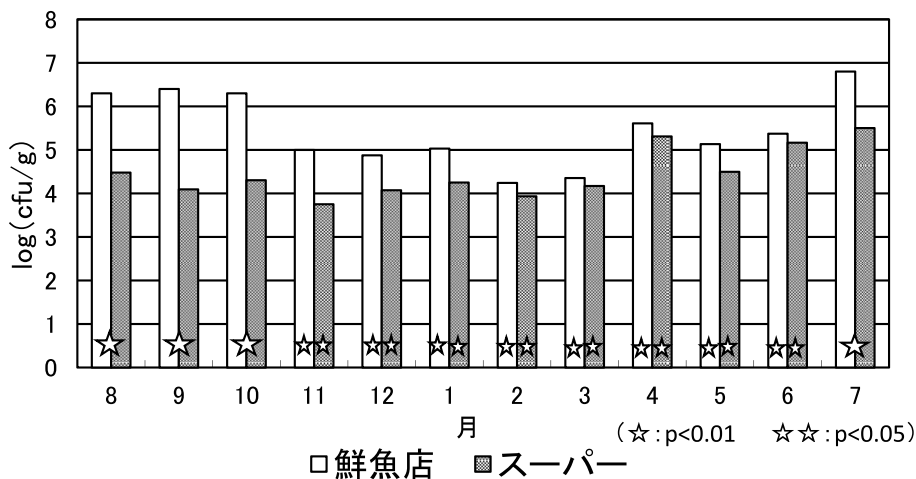


図2 店舗別による一般細菌の比較

較を図3に示した。店舗別による比較においては、どの月においても鮮魚店の方がスーパーマーケットよりも生菌数が多かったが、有意な差を認められなかった。また、季節、気温による生菌数の変動はなかった。

4. 大腸菌群の生菌数

鮮魚店とスーパーマーケットでの生菌数の比較を図4に示した。店舗別による比較においては、有意な差を認められなかった。しかし、鮮魚店の方がスーパーマーケットよりも生菌数が

多い傾向を示した。また、季節、気温による生菌数の変動はなかった。

また、小田⁷⁾の非加熱食品の評価法の基準に従って評価し、 $6 \log(\text{cfu/g})$ 以上を不適とした。 $6 \log(\text{cfu/g})$ 以上の汚染は、両店舗ともなかった。

5. 大腸菌の検出

各店舗における月別の大腸菌の検出数を図5に示した。全体においては、鮮魚店での大腸菌の検出数は240検体中31検体(12.9%)、スーパー

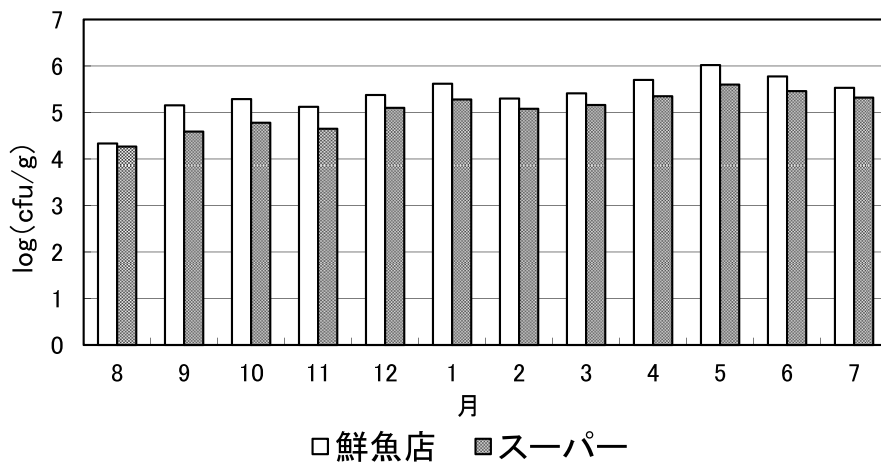


図3 店舗別による低温細菌の生菌数の比較

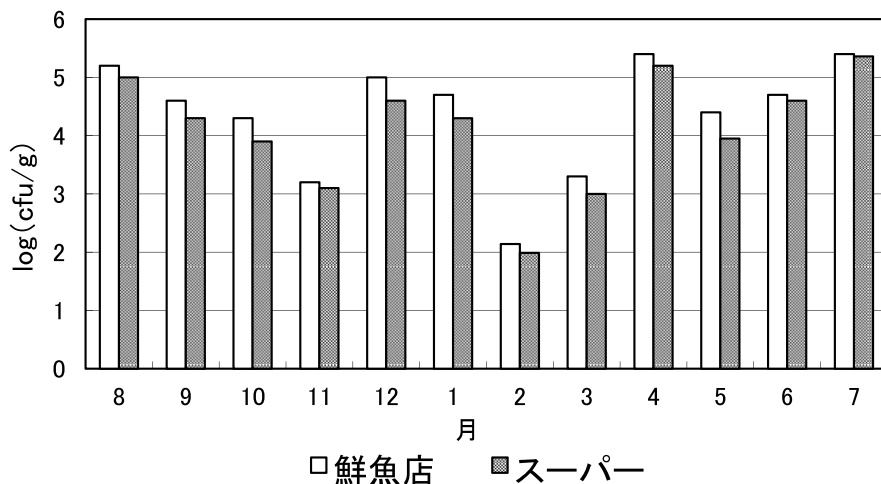


図4 店舗別による大腸菌群の生菌数の比較

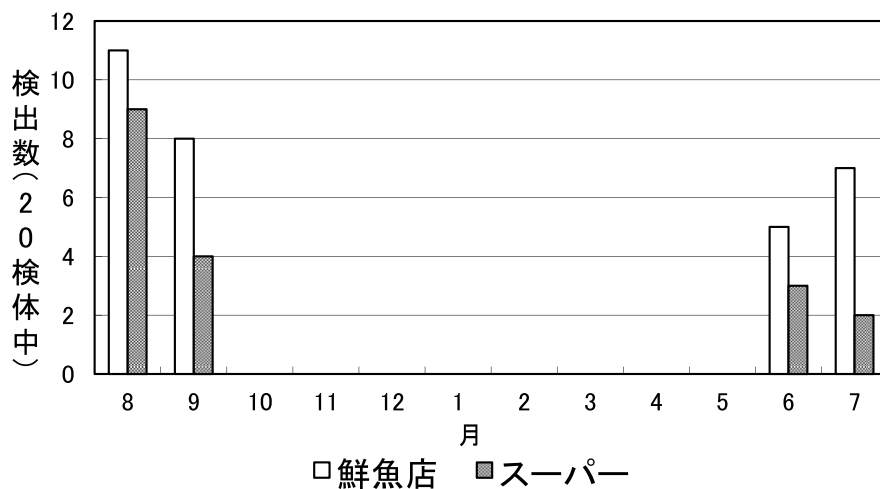


図5 店舗別による大腸菌の検出の比較

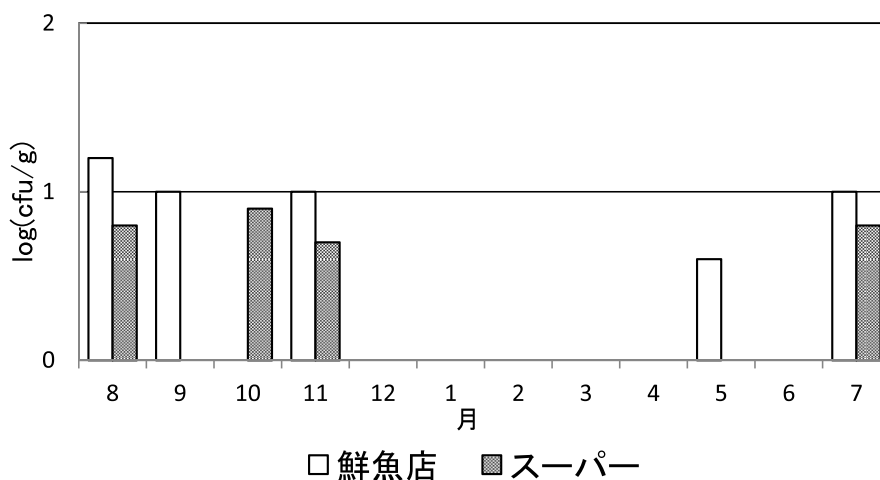


図6 平板培養法による店舗別の黄色ブドウ球菌の生菌数の比較

マーケットでの検出数は240検体中18検体 (7.5%) であった。月別に見てみると、鮮魚店では、20検体中6月に5検体 (25%)、7月に7検体 (35%)、8月に11検体 (55%)、9月に8検体 (40%) が検出され、スーパーマーケットでは、6月に3検体 (15%)、7月に2検体 (10%)、8月に9検体 (45%)、9月に4検体 (20%) であり、両店舗とも気温が高い時期に検出数が多かった。

6. 黄色ブドウ球菌および CNS の生菌数

鮮魚店とスーパーマーケットでの黄色ブドウ球菌数の比較を図6に、CNS数の比較を図7に示した。

店舗別による比較においては、有意な差を認められなかった。生菌数の季節、気温による変動を見てみると、季節、気温による生菌数の変動はなかった。また、黄色ブドウ球菌の生菌数を小田⁷⁾ の非加熱食品の評価法の基準に従って評価し、3 log (cfu/g) 以上を不適とした。3 log (cfu/g) 以上の汚染は、両店舗ともなかつ

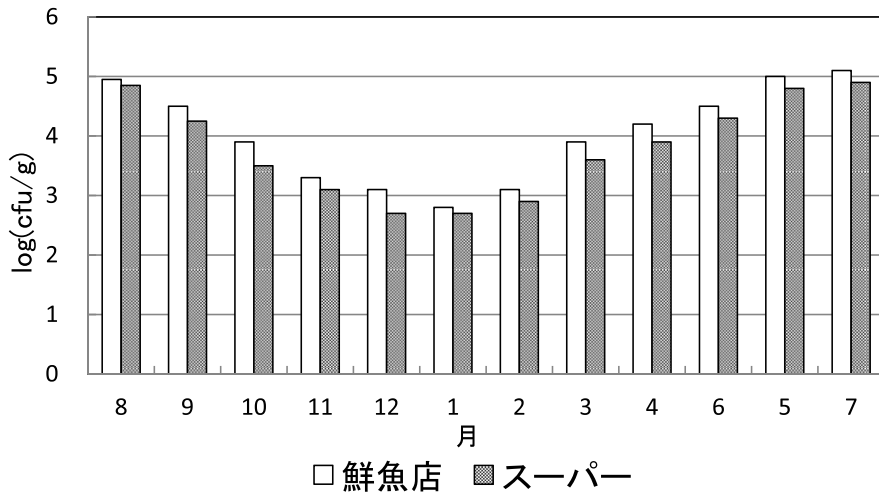


図7 店舗別による CNS の生菌数の比較

表1 平板培養法による店舗別の黄色ブドウ球菌の検出の比較

月		8	9	10	11	12	1	2	3	4	5	6	7	検出率 (240検体中)
検体数 (20検体中)	鮮魚店	6	3	0	3	0	0	0	0	0	2	0	4	7.5%
	スーパー	3	0	2	2	0	0	0	0	0	0	0	2	4.2%

表2 増菌培養法による店舗別の黄色ブドウ球菌の検出の比較

月		8	9	10	11	12	1	2	3	4	5	6	7	検出率 (240検体中)
検体数 (20検体中)	鮮魚店	13	10	6	8	6	3	4	8	7	7	6	13	37.5%
	スーパー	8	3	6	5	2	3	3	7	6	3	4	5	22.9%

た。

また、店舗別による黄色ブドウ球菌の検出の比較を表1に示した。それぞれの検出は、鮮魚店で240検体中18検体(7.5%)、スーパーマーケットで240検体中10検体(4.2%)であった。

また、CNSでは、黄色ブドウ球菌と同様に、鮮魚店とスーパーマーケットの生菌数の比較においては、どの月においても鮮魚店の方がスーパーマーケットよりも生菌数が多かったが、有意な差を認められなかった。生菌数の季節、気温による変動を見てみると、11月～2月まで生菌数が減少しており、季節、気温によって、生菌数が変動した。

7. 増菌培養法による黄色ブドウ球菌の検出

増菌培養法による各店舗の黄色ブドウ球菌の検出の比較を表2に示した。増菌培養法による黄色ブドウ球菌の検出は、鮮魚店では、240検体中91検体(37.5%)で、平板培養法に比べて5倍、スーパーマーケットでは、240検体中55検体(22.9%)で、平板培養法に比べて約5.5倍高かった。全体としての検出率の比較では、平板培養法は5.8%、増菌培養法では30.4%であり、約5倍の検出率の増加が認められた。

増菌培養法による月別の黄色ブドウ球菌の検出の比較では、両店舗とも、平板培養法で検出された月からも、検出されなかった月からも同様に検出された。

8. 腸球菌属の生菌数

鮮魚店とスーパーマーケットでの腸球菌属の生菌数の比較を図8に示した。店舗別による比較においては、有意な差を認められなかった。生菌数の季節、気温による変動はなかった。

9. ビブリオ属の生菌数

鮮魚店とスーパーマーケットでの腸球菌属の生菌数の比較を図9に示した。店舗別による比較においては、有意な差を認められなかった。

生菌数の季節、気温による変動をしてみると、両店舗とも11～3月まで生菌数が減少しており、季節、気温によって、生菌数が変動した。

IV 考 察

店舗別による刺身の細菌汚染状況の違いを比較すると、一般細菌では、すべての月において鮮魚店の方がスーパーマーケットよりも生菌数は多く、有意な差が認められ、特に、夏季においては、その差が顕著であった。これらの結果

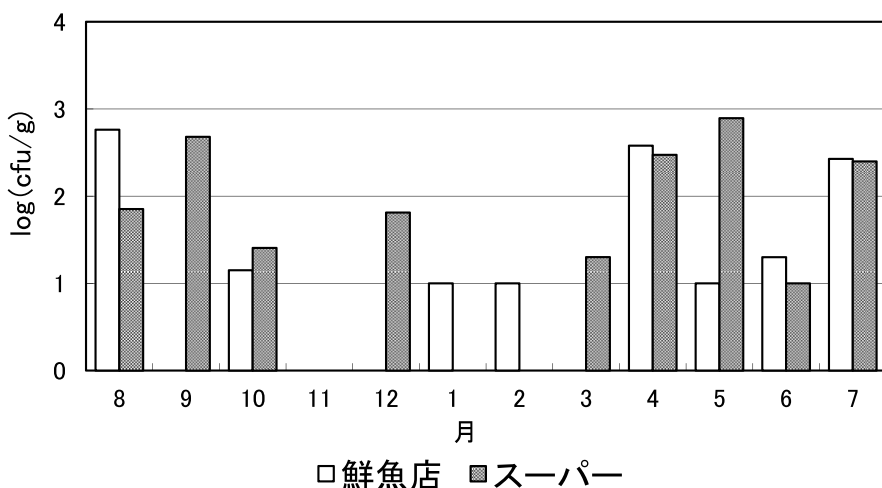


図8 店舗別による腸球菌属の生菌数の比較

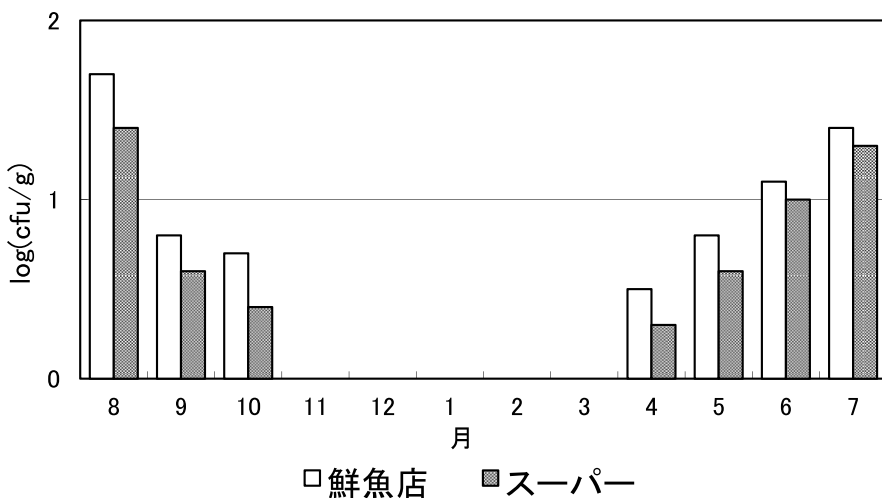


図9 店舗別によるビブリオ属の生菌数の比較

は、1年間を通して、鮮魚店の刺身が多くの細菌に汚染されていることを示唆している。さらに、気温が高い夏季では、鮮魚店の方が細菌の増殖が盛んになる条件にあることが示唆される。また、その生菌数を小田⁷⁾の非加熱食品の評価法の基準に従って評価したところ摂食可能であった。一般細菌が1年間を通して検出されたことから、刺身は常に細菌によって汚染されていること、またその生菌数の変動が少なかったことは、季節に関わらず刺身は、冷蔵保存されることから、気温変化の影響が少なく、細菌の増殖が抑制されていることを示している。

食品衛生法で定められている一般細菌数測定法では、中温細菌が対象であるため、低温細菌は測定できない¹⁰⁾。また、低温細菌は、低温で増殖するという性状以外は、通常の一般的な細菌と同じであり、低温細菌を検出することは、刺身の細菌学的品質を総合的に評価する際のきわめて重要な指標のひとつである⁶⁾。また、低温細菌の検出は、比較的長時間を要する。一般的に、刺身を長期冷蔵保存することは少ないため、低温細菌が検出されるということは、冷蔵期間が長いことが示唆される。したがって、刺身の品質・鮮度や冷蔵期間を評価する低温細菌の食品衛生学的指標菌としての意義は高いと考えられる。

大腸菌群、大腸菌の検出は、食品の糞便汚染の可能性と調理加工環境の食品衛生状態の評価に用いられる。店舗に関係なく、大腸菌群が検出された。また、大腸菌群の検出は、季節、気温による変動がなかったことから、季節、気温に関わらず、刺身を調理加工した環境に大腸菌群が存在し、衛生状態が悪いことが示唆される。しかし、大腸菌群は、自然界にも広く存在しており、必ずしも糞便汚染されていると断定できない。また、小田⁷⁾の非加熱食品の評価法の基準では、摂食可能であった。これより、今回、両店舗とも、糞便汚染の可能性は考えられるが、刺身を調理加工した環境の衛生状態は刺身の調理に適していると考えられた。しかし、気温が

高い夏季において、両店舗から大腸菌が検出された。大腸菌の検出は、直接的または間接的に糞便汚染があったことを示し、それだけ腸管系病原菌の汚染が高いと考えられ⁶⁾、食品における腸管系病原菌による食中毒は夏季に集中する¹¹⁾。また、楠らの報告によると、1986年から1999年の間に市販生食用鮮魚介類から大腸菌が計7件検出されている¹²⁾。このことから、市販刺身を大腸菌が汚染していることが示唆され、食品衛生学的指標菌として、大腸菌の測定が必要であると考えられる。

流通段階で市販刺身は、冷蔵されている。腸球菌属は、冷凍や冷蔵の条件下で比較的高率に生存することから、冷凍食品や冷蔵食品に適応される⁶⁾が、今回、腸球菌属が検出されたことから、冷蔵前の糞便汚染の可能性が示唆された。また、これらのことから、冷蔵されることが多い市販刺身などの生食用鮮魚介類において糞便汚染指標菌として腸球菌属を測定することが必要であると考えられる。

CNSが検出されたことは、刺身がヒトの手で直接調理加工されることとその調理加工に介入した調理従事者が多いことによると考えられる。また、夏季に生菌数が増加したことから、夏季においては、特に調理加工の際に直接手で刺身に触らないこと、調理加工時の調理従事者の介入人数を少なくすることが必要である。また、黄色ブドウ球菌が検出されたことから、調理従事者の手指による直接の汚染と調理器具からの二次汚染が示唆される。平板培養法と増菌培養法での黄色ブドウ球菌の検出率を比較すると、その検出率は、増菌培養法において平板培養法よりも鮮魚店で5倍、スーパーマーケットで5.5倍検出率が増加した。全体としての検出率は5倍であった。野村ら⁸⁾は、市販刺身の黄色ブドウ球菌による汚染状況調査において、黄色ブドウ球菌の増菌培養法によって平板培養法のその検出率が2.2倍に増加したことを報告しており、楠ら¹²⁾は、増菌培養により検出率が5～7倍に増加したと報告している。また、わが国の食品

衛生法で規定された黄色ブドウ球菌の公定法では、平板培養法となっている⁴⁾。これらのことから、市販刺身が黄色ブドウ球菌によって汚染されているのは明らかであり、増菌培養することによって、検出率が増加することで、調理従事者、食品の製造・調理加工環境における汚染実態が分かるようになる⁴⁾ ことから、市販刺身の食品衛生的指標菌として黄色ブドウ球菌の測定が必要であると考えられる。

ビブリオ属は、両店舗とも11～3月まで検出されなかった。これは、ビブリオ属は、海水温度が17℃以下では増殖せず、15℃以下では、発育しない⁶⁾ ことによる。また、ビブリオ属食中毒の発生要因は、二次汚染が多く、次いで原材料、長時間放置（不適切な温度管理、作り置き、前日調理、持ち帰り）などである¹³⁾。したがって、ビブリオ属が検出された期間は、鮮魚類、刺身などの取り扱いには十分に注意を払い、冷蔵保存を行うことが必要である。魚介類を1～5℃で冷蔵した場合、腸炎ビブリオは1日で当初菌数の1/10～1/10,000に減少し、7℃での保蔵でも1日で1/10程度まで減少する¹⁴⁾。

以上より、一般細菌、低温細菌、大腸菌群、CNS、ビブリオ属において、それらの生菌数が鮮魚店の方が高い傾向を示した。さらに、大腸菌と黄色ブドウ球菌の検出も鮮魚店の方が高い傾向を示した。しかし、両店舗とも刺身が細菌によって汚染されていることから、刺身を原因とする食中毒の発生と刺身自身の腐敗を予防するために、季節、気温を問わず、刺身を購入後、室温に放置せずに、直ちに刺身を冷蔵すること、また、長時間冷蔵保存することなく早く喫食することが重要である。また、夏季においては、

さらなる注意が必要である。

V 引用文献

- 1) 水産庁 平成22年度 水産の動向.
- 2) 清水英世, 渡辺優子 (2004) 「市販刺身の細菌汚染実態調査」『岐阜市立女子短期大学研究紀要』第53輯, 101-102頁.
- 3) 長崎県 生活衛生課 食品の収去検査の状況 (平成23・24年度)
- 4) 松村浩介, 清水晃, 河野潤一, 他 (2009) 「畜水産食品からの黄色ブドウ球菌検出のための選択分離培地および選択増菌培地の検討」『日本食品微生物学会雑誌』第26巻, 23-27頁.
- 5) 気象庁 気象統計情報.
- 6) 厚生労働省監修 (2005) 『食品衛生検査指針 微生物編 2004』社団法人 日本食品衛生協会.
- 7) 小田隆弘 (2006) 『食品衛生学実験テキスト』中村学園大学短期大学部.
- 8) 野村秀一, 原賀壮勇, 花木秀明, 他 (2002) 「市販刺身の黄色ブドウ球菌による汚染状況調査—平板培養法と増菌培養法での比較検討」『日本食品微生物学会雑誌』第19巻, 17-20頁.
- 9) 柳井久江著 (2012) 『4 Steps エクセル統計 第3版』オーエスエム出版.
- 10) 吉田勉監修 (2012) 『わかりやすい食物と健康 4 食品の安全性』三共出版.
- 11) 厚生労働省 平成23年 (2011) 食中毒発生状況.
- 12) 楠くみ子, 潮田弘, 神真知子, 他 (1998) 「東京都多摩地区における市販生食用魚介類の細菌汚染調査成績 (1986-1996)」『日本食品微生物学会雑誌』第15巻, 161-165頁.
- 13) 熊谷進他編 (2013) 『衛生管理計画の作成と実践 改訂データ編』中央法規出版.
- 14) 食品安全委員会 (2012) 『食品健康影響評価のためのリスクプロファイル: 生鮮魚介類における腸炎ビブリオ (改訂版)』