

【原著】

食品および手指を介した細菌汚染に関する調査

藤岡美幸*1 中村 愛*2 大内康平*2 野坂大喜*1

(2019年7月16日受付, 2019年9月9日受理)

要旨: 原因施設別の食中毒発生は飲食店に次いで家庭が多いとされる。本研究では家庭での調理時における食中毒発生経路を探るため、食品および手指を介した細菌汚染に関して調査した。協力家庭7世帯のべ20検体を対象に調理使用前後のまな板の生菌数算定および大腸菌や黄色ブドウ球菌の検出を試みた。さらに手指を介した細菌汚染を調査するため、キュウリを用いた大腸菌移行に関して検討した。その結果、供試した20検体の使用前まな板の生菌数は $0\sim 1.4\times 10^3$ CFU/mL、使用後は $0\sim 2.5\times 10^5$ CFU/mLであり、2検体から大腸菌が検出され、うち1検体から下痢原性大腸菌関連遺伝子 *eaeA* が検出された。また手指を介した大腸菌の移行は無洗40.9%、流水水洗、洗剤水洗はいずれも0%であった。使用後まな板の生菌数は使用食材の汚染を反映することから、まな板や手指のこまめな洗浄が望まれる。

キーワード: 食中毒, 食品汚染, 細菌移行, 流水水洗

I. はじめに

食水系感染症は環境から食品中汚染した病原菌が生存または増殖し、発症に必要な菌量に達することによって起こるとされる¹⁾。厚生労働省による原因施設別の食中毒発生状況調査²⁾では、飲食店が約60%を占め、次いで家庭、旅館等と続く。家庭は発生件数では第2位であるが、患者数は飲食店や学校、旅館、仕出し店が上位を占め、家庭は1%と低い。また食中毒の原因は患者数ではノロウイルス、発生件数ではカンピロバクターが1位とされる²⁾が、家庭内での原因は不明のことが多い。これは家庭1事件あたりの患者数が比較的少なく、散發発生例では食中毒が発生しても原因を追究せず、報告されない例が多いことが予想される。

食品衛生法では食品汚染指標として一般細菌や大腸菌群の生菌数があり、これらは対象とする食品により成分規格や衛生規範が異なり、生食用と加熱用では菌種や生菌数の規格が全く異なる³⁾。一般的に、調理する際にはこれらの食品が混在することは日常的であり、このことが食品の二次汚染に関与すると思われる。そこで本研究では発生件数上位である家庭を対象に、調理時における食中毒発生経路を探るため、食品および手指を介した細菌汚染に関して調査した。

III. 対象および方法

1. 食品調理時におけるまな板の細菌汚染状況

協力家庭7世帯における調理使用前・後のまな板20検体を対象とした。調理前に手指は十分に洗浄し、使用前後のまな板 10×10 cmの範囲をシードスワブ(栄研化学)で擦過後、使用まで4°Cで保存した。使用時に滅菌生理食塩水1 mLに懸濁し、まな板由来原液とした。この原液は10倍、100倍まで階段希釈系列を作製し、各20 μ Lを普通寒天培地(ニッスイ)に塗抹後、35°C、 22 ± 2 時間培養し、二重測定にて生菌数を算定した。またこの原液では、食中毒関連菌でもある大腸菌および黄色ブドウ球菌を標的とした検索を行った。

1) 大腸菌の検索

まな板由来原液300 μ LをECブロス(DAIGO)3 mLに加え、44.5°C、 22 ± 2 時間浸透培養を行い、EMB寒天培地(栄研)に白金耳塗抹後、35°C、 18 ± 2 時間培養した。培地上に発育したコロニーをシモンズクエン酸塩寒天培地(ニッスイ)、VP半流動寒天培地(栄研)に塗抹・鑑別した。その結果、大腸菌を疑う株は発育してきたEMB培地上からコロニー3個をコロニスweepし、LBブロス(シグマ)に接種・増菌後テンプレートを作製した。このテン

表1 下痢原性大腸菌の標的遺伝子

DEC分類	標的遺伝子
腸管出血性大腸菌	<i>stx1, stx2</i>
腸管病原性大腸菌	<i>eaeA</i>
腸管毒素原性大腸菌	<i>esth, estp, elt</i>
腸管侵入性大腸菌	<i>invE</i>
腸管凝集付着性大腸菌	<i>aggR, astA</i>

*1 弘前大学大学院保健学研究科
Hirosaki University Graduate School of Health Sciences
〒036-8564 青森県弘前市本町66-1 TEL:0172-39-5970
66-1, Honcho, Hirosaki-shi, Aomori, 036-8564, Japan

*2 弘前大学医学部保健学科
Hirosaki University School of Health Sciences
〒036-8564 青森県弘前市本町66-1 TEL:0172-33-5111

プレートは PCR にて大腸菌 16S rRNA 遺伝子検索後、大腸菌と同定された際には下痢原性大腸菌 (DEC) の 9 種類の遺伝子検索⁴⁾も行った (表 1)。

2) 黄色ブドウ球菌の検索

生菌数算定用の普通寒天培地上に発育したまな板由来コロニーについて、5 個程度を目安にグラム染色を行い、グラム陽性球菌だった際には卵黄加マンニット食塩培地 (ニッスイ)、黄色ブドウ球菌鑑別キット (ラテックス PS、栄研) を用いて菌種の同定をした。

2. 調理想定時の手指を介した食品への細菌汚染

野菜サラダの盛り付けを想定した際に、手指からサラダに移行する菌数および手指洗浄の影響について 5 サンプルを対象に無洗、流水水洗、洗剤水洗の 3 工程で比較した。前処理として市販キュウリを水洗し、外側を 70%エタノールで消毒後、消毒したまな板と包丁を用いて 10 g ずつ切り分けた。使用菌株は大腸菌 (CCMT037) とし、McF 0.5 に調整後、1,000 倍希釈し、 1×10^5 CFU/mL 程度に菌液調整した。この菌液をさらに 10^2 倍~ 10^4 倍に希釈し、各濃度の菌液 20 μ L を普通寒天培地に塗抹、35°C、 22 ± 2 時間培養し、生菌数をカウントした (二重測定)。

調整菌液 2 μ L を左手各指に塗布し、包丁を右手に持ち、まな板上で切り分けていたキュウリ 10 g をスライスし、滅菌生食 30 mL 中に入れ、ガラス棒で混和したものを「無洗」操作とした。菌液塗布後、15 秒間流水水洗したものを「流水水洗」操作、洗剤を用いて同様に流水水洗したものを「洗剤水洗」操作とした。水洗後はペーパータオルで軽く水分をふき取った後、無洗操作と同様に行った。これら混和液の希釈系列を作製し、普通寒天培地を用いて生菌数測定を行った (二重測定)。また、無洗操作後の手指およびキュウリに残存した生菌数の測定をした。手指は滅菌シャーレ中の滅菌生理食塩水 20 mL 中で振り洗いし、この中に含まれる菌数を二重測定にて算定した。さらにキュウリは滅菌生理食塩水から取り出し、普通寒天培地上にすべてのキュウリの表裏をスタンプし、発育してきたコロニー数を算定した。

表 2 各使用食材におけるまな板の生菌数

No.	使用食材	生菌数(CFU/mL)		No.	使用食材	生菌数(CFU/mL)	
		使用前	使用后			使用前	使用后
1	豚肉	2.0×10^2	1.7×10^5	11	生タコ, キュウリ, 大根	5.0×10	1.4×10^4
2	豚肉	7.5×10^2	2.5×10^5	12	鳥レバー, 野菜	0	9.3×10^4
3	豆腐	5.0×10	1.8×10^6	13	鳥肉, 玉ねぎ, エリンギ	2.0×10^2	5.6×10^4
4	豚肉, 野菜	5.0×10	8.6×10^3	14	鳥肉	7.0×10^2	8.5×10^4
5	鳥肉, 野菜	1.2×10^3	1.0×10^4	15	豚バラ, 野菜	1.0×10^2	8.7×10^4
6	生ハンバーグ	1.0×10^2	5.0×10^4	16	キャベツ	0	6.5×10^2
7	野菜	1.1×10^3	2.0×10^3	17	鳥肉	0	5.7×10^4
8	鳥肉, 野菜	0	2.2×10^3	18	加熱済鳥肉	0	0
9	野菜	0	1.5×10^2	19	鳥肉	0	1.0×10^4
10	玉ねぎ, 鳥肉, ジャガイモ	0	1.5×10^5	20	鳥肉	9.5×10^2	1.3×10^4

III. 結果

1. 食品調理時におけるまな板の細菌汚染状況

まな板 20 検体について、各使用前後の原液の二重測定値を平均し、まな板 100 cm^2 あたりの生菌数をカウントした。使用前まな板の生菌数は $0 \sim 1.4 \times 10^3$ CFU/mL だった。各食材使用後のまな板の生菌数は $0 \sim 2.5 \times 10^5$ CFU/mL だった。大腸菌は使用前のまな板からは検出されなかったが、鳥レバーおよび鳥肉・野菜を使用したまな板の 2 検体から検出された。このうち鳥レバー検体から DEC 関連遺伝子 *eaeA* が検出された。一方、黄色ブドウ球菌は検出されなかった。野菜のみ使用した検体に比して肉類使用検体では生菌数が多く、また加熱鳥肉使用検体の生菌数は 0 であった (表 2)。

2. 調理想定時の手指を介した食品への細菌汚染

手指の洗浄別「無洗」、「流水水洗」、「洗剤水洗」操作 3 工程におけるキュウリへの大腸菌移行の割合を表 3 に示す。「無洗」における大腸菌の移行は 23.1~52.9%、平均は 40.9%、「流水水洗」および「洗剤水洗」ではいずれも大腸菌の移行は認められなかった。また手指およびキュウリの残存生菌数算定後の割合を図 1 に示す。5 サンプルにおける手指の残存は 13.0~61.1%、平均 32.6%、キュウリの残存は 0.5~1.4%、平均 1.0% であった。

IV. 考察

食中毒の年間発生件数は 1,000 件以上にのぼり、原因施設別発生件数は事件数、患者数ともに飲食店が 2 位以下に大差をつけて 1 位である²⁾。しかし多くの人にとって、もっとも身近である家庭においても食中毒は多数発生しており、平成 30 年における家庭の発生件数は 2 位となっている²⁾。また家庭での発生は軽症であることや、発症人数が少ないことが多い⁵⁾ ことから、病院を受診せず、報告されない例が多いことが予想される。

まな板の殺菌に関して、小沼⁶⁾ は洗浄、乾燥により菌の除去・殺菌効果が期待でき、さらに熱湯殺菌・乾燥殺菌はより確実な殺菌手段であるとしている。内藤⁷⁾ は食酢に一

表3 手指の洗浄別による大腸菌移行割合 (n = 5)

No.	無洗	流水水洗	洗剤水洗
1	37.5(%)	0	0
2	23.1	0	0
3	40.9	0	0
4	50.0	0	0
5	52.9	0	0

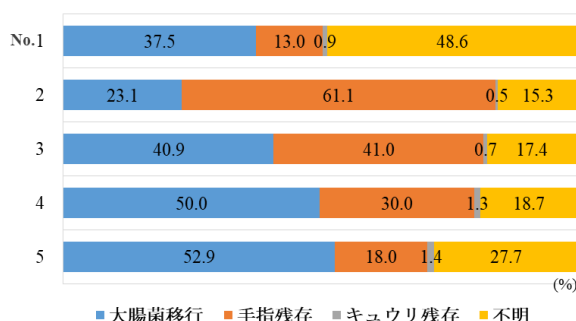


図1 大腸菌の移行割合 (n = 5)

一般細菌, 黄色ブドウ球菌, 大腸菌群への殺菌効果があると報告している。使用後のまな板の生菌数は原材料の購入前からの汚染や鮮度低下に伴う菌数増加など, 使用食材の汚染に影響されることが予想される。また本研究では, 加熱後の鳥肉を使用した検体については生菌が検出されなかったことから, 一定菌数が付着している肉類でも加熱することにより生菌数を減少させることが再認識された。大腸菌は鳥レバーおよび鳥肉・野菜使用の2検体から検出され, 鳥レバー使用後検体はDEC関連遺伝子 *eaeA* を保有していた。ヒトに下痢症を引き起こす下痢原性大腸菌はその病原性の違いから5種類に大別され, 接着因子インチミン *eaeA* を持つ大腸菌を腸管病原性大腸菌という⁴⁾。この大腸菌は発展途上国において下痢症患者から多く分離されるが, わが国での分離報告も珍しくなく, さらに健康人からの分離報告もある⁸⁾ ことから, その病原性は慎重に判断されなくてはならないと考える。厚生労働省による平成30年度食品の食中毒汚染実態調査²⁾ においても, 鳥肉の大腸菌検出率は牛肉・豚肉よりも高く, さらに今回は調査対象としなかったサルモネラやカンピロバクターも高率に検出されているため, 特に細菌汚染への注意が必要である。

今回, 汚染された手指での野菜サラダ盛り付けを想定し, 移行する菌数の調査を行った。その結果, 接種菌数の約40%がキュウリに移行した。使用後まな板の生菌数の最大値は 1.8×10^6 個であったことから, 換算すると 7.2×10^5 個の菌数が移行すると推測される。食中毒を引き起こすサルモネラや腸炎ビブリオの感染数は約 $10^5 \sim 10^6$ 個, カンピロバクターは数100個と報告されている¹⁾ ことから, まな板の付着菌が食中毒起因菌であれば, 感染が成立する可能性が考えられた。今後はまな板の残存菌数も検討したい。

キュウリへの大腸菌移行における手指の「無洗」, 「流水水洗」, 「洗剤水洗」操作別による洗浄の影響に関して, 水

洗, 洗剤水洗施行後はいずれもキュウリの移行菌数は0となった。小田ら⁸⁾ は手洗い時, 流水のみの場合には, 手洗い時間を長くすることで菌数が減少したと報告している。このことから洗剤の有無にかかわらず, 十分な流水水洗が生菌数の減少に有効であることが示された。現在, 原則としてすべての食品等事業者はHACCPに沿った衛生管理に取り組むことが食品衛生法に盛り込まれている。また野菜等の殺菌は大容量を扱う施設用のマニュアル¹⁰⁾ 等にも示されており, 一般家庭でもNaClOをはじめとした様々な方法で生食する野菜の殺菌を行うことが多くなってきた^{11, 12)}。食中毒防止の観点からも適切な方法を用いることが望ましいと考える。

使用後まな板の生菌数は使用食材の汚染を反映しており, 食材を購入する際には鮮度の良い安心・安全なものを選択し, 食材によっては調理前の十分な水洗などの予防対策が必要である。さらに食材は早期に使い切る, 食材の適切な保存, 肉類や野菜等とのまな板の使い分け, 十分な加熱処理といった調理方法の工夫が必要であり, 調理中は二次汚染を防ぐため, まな板や手指のこまめな洗浄が望まれる。

利益相反 開示すべき利益相反はありません。

謝辞 本研究にご協力いただきました皆様に, 謹んで感謝の意を表します。

引用文献

- 1) 坂崎利一. 新訂 食水系感染症と細菌性食中毒. pp 12, 中央法規出版株式会社, 東京, 2000.
- 2) 厚生労働省: 平成30年度食中毒発生状況. https://www.mhlw.go.jp/stf/seisakunitsuite/bunya/kenkou_iryuu/shokuhin/syokuchu/04.html (2019-07-01).
- 3) 日本食品衛生協会: 食品衛生検査指針 微生物編 改訂第2版. 大和綜合印刷株式会社, 東京, 2018.
- 4) Fujioka M, Kasai K, et al.: Rapid diagnostic method for the detection of diarrheagenic *Escherichia coli* by multiplex PCR. *Jpn J Infect Dis*, 62: 476-480, 2009.
- 5) 東京都福祉保健局: 家庭における食中毒予防に関する調査報告書. 2018(2).
- 6) 小沼博隆: (プラスチック製) まな板表面に滴下したサルモネラおよび腸炎ビブリオの各種除菌操作を行った時の消長に関する研究. 平成16年度病原微生物データ分析実験作業成果報告書, 2005.
- 7) 内藤初枝: 生食用野菜や調理器具の洗浄・殺菌におよぼす食酢の効果について. 静岡県立大学短期大学部浜松校特別研究報告書, 14(1): 99-104, 2000.
- 8) 藤岡美幸, 月足正辰, 他: Multiplex PCRを用いた健康人における下痢原性大腸菌の保有状況. *医学検査* 60(6): 871-874, 2011.
- 9) 小田 浩子, 大久保 憲, 他: 手指通過菌叢の流水のみによる手洗い効果の実験的検討—一般市民の手洗い行動を想定して—. *医療関連感染*, 5(2): 59-62, 2012.
- 10) 近江雅代, 青木るみ子, 他: 大量調理における生食用野菜の殺菌方法の有効性についての検討. *西南女学院大学紀要*, 20:67-76, 2016.
- 11) 厚生労働省生活衛生局局長通知: 大量調理施設衛生管理マニ

ユアル. 平成9年3月24日, 衛食第85号, 1997 (最終改正:
平成29年6月16日付 生食発0616第1号, 2017).

- 12) 種田耕藏: 新しい食品殺菌技術の動向と期待される酸性電解水への課題. 食品工業, 45(12): 26-34, 2002.

【Original article】

Study of bacterial contamination via foods and hands

MIYUKI FUJIOKA^{*1} AI NAKAMURA^{*2}
KOUHEI OHUCHI^{*2} HIROYUKI NOZAKA^{*1}

(Received July 16, 2019 ; Accepted September 9, 2019)

Abstract: It has been considered that the most cases of food poisoning occur in households following restaurants. In this study, we studied food and hand-borne bacterial contamination in order to elucidate the pathogenesis for food poisoning during cooking in households. We estimated the number of viable bacteria in chopping boards before and after using for cooking, and examined detection of *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* for 20 samples from seven households. Furthermore, we carried out the *E. coli* transferring experiments using cucumbers in order to investigate bacterial contamination via hands. As a result, the viable count on chopping boards was 0 to 1.4×10^3 CFU/mL before use in 20 samples tested, while it was 0 to 2.5×10^5 CFU/mL after use. *E. coli* was detected in two samples and diarrheagenic *E. coli*-related gene *eaeA* was identified in one of these samples. In addition, the transfer of *E. coli* via hands was 40.9% without washing, and 0% for either water-washing or detergent-washing of hands. As the viable bacterial count on chopping boards after use is associated with contamination of the ingredients used, careful washing of chopping boards and hands is desirable.

Keywords: Food poisoning, Food pollution, Bacterial transfer, Wash with flowing water