

食品におけるアメーバ汚染の実態調査 (平成 12~15 年度)

石上 武^{*}, 楠 くみ子^{*}, 岩谷 美枝^{*}, 高橋 由美^{*},
森本 敬子^{*}, 神 眞知子^{*}, 矢野 一好^{*}, 吉田 靖子^{*}

Survey of Amoebae Contamination in Foods (2000.4 ~ 2004.3)

Takeshi ISHIKAMI^{*}, Kumiko KUSUNOKI^{*}, Mie IWAYA^{*}, Yumi TAKAHASHI^{*},
Keiko MORIMOTO^{*}, Machiko JIN^{*}, Kazuyoshi YANO^{**} and Yasuko YOSHIDA^{*}

Keywords: アメーバ amoebae, 一般細菌数 standard plate count, 大腸菌群 coliforms, 豆腐 tofu, 生食用カキ raw oyster, コンニャク konjaku, 漬け物 pickles.

緒 言

アメーバは細菌類を主な栄養源として、自然界に広く分布・生息している。しかし、アメーバについてこれまでの報告は、病原性のある赤痢アメーバやアカンソアメーバ、レジオネラ属菌の宿主としてのアメーバ等についてであり、食品のアメーバ汚染についての報告は、サラダ用の生野菜や食用きのこからのアメーバ分離状況^{1,2)}のみである。

そこで我々は、製造工程を含め常時湿潤な状況におかれている食品の中から、豆腐、生食用カキ、コンニャク及び漬け物の泳がせ水（製品を浮遊させておく水）または漬け汁についてアメーバの検索を試みたので報告する。

検査材料と方法

1. 検査材料

1) 豆腐 平成 12~14 年度に多摩地区の小規模豆腐製造業者で作られた製品について東京都が行った一斉監視事業及び保健所独自事業で収去した豆腐 234 件と、比較参考のため買い上げた 13 件の豆腐について行った。

なお、豆腐の包装形態（無包装とパック詰め）、きぬごし豆腐（以下絹豆腐と略）・もめん（木綿）豆腐の種別、収去時の泳がせ水の水温については、収去調査票に基づいて集計した。

2) 生食用カキ 平成 12 年度の歳末一斉事業で収去した生食用カキ 59 件について行った。

3) コンニャク 平成 13~14 年度に買い上げたコンニャク・サシミコンニャク・シラタキの 5 件について行った。

4) 漬け物 平成 14~15 年度に買い上げた 32 件の漬け物

について行った。

2. 検査方法

1) 一般細菌数

食品衛生検査指針³⁾及び東京都食品衛生細菌検査マニュアル⁴⁾に準拠した。被検体を標準寒天培地（日水製薬）で混釈し 35 48 時間培養後、出現した集落数（CFU: Colony Forming Unit）を計数した。なお、豆腐と生食用カキ及びコンニャクについては、滅菌生理食塩水でホモジナイズした 10 倍希釈乳剤液を用いて 1 g 当たりの菌数を、豆腐とコンニャクの泳がせ水及び漬け物の漬け汁については 1 mL 当たりの菌数を算出した。

2) 大腸菌群

食品衛生検査指針及び東京都食品衛生細菌検査マニュアルに準拠した。豆腐と生食用カキについては、デソキシコレート寒天培地（日水製薬）に、10 倍希釈乳剤液 1 mL を混釈し、35 18 時間培養後に出現した集落数を計数した。

増菌培養は、10 倍希釈乳剤液 10 mL を 2 倍濃度 BGLB 培地 10 mL に接種し 35 48 時間培養後、EMB 寒天培地に塗抹し発育した疑わしいコロニーをクリグラ-斜面培地（栄研化学）、LIM 半流動培地（栄研化学）、シモンズクエン酸塩培地（栄研化学）に接種して生化学的性状を確認した。

3) アメーバの分離・培養と算定

アメーバの分離・培養は、厚生省監修のレジオネラ症防止指針⁵⁾とアメーバ図鑑⁶⁾を参考に行った。検水量は豆腐と生食用カキの泳がせ水については 10 mL を、コンニャクの泳がせ水と漬け物の漬け汁については 50 mL を用い

* 東京都健康安全研究センター - 多摩支所微生物研究科 190-0023 東京都立川市柴崎町 3-16-25

* Tama Branch Institute, Tokyo Metropolitan Institute of Public Health
3-16-25, Shibasaki-cho, Tachikawa, Tokyo 190-0023 Japan

** 東京都健康安全研究センター - 微生物部食品微生物研究科

表1. 豆腐における一般細菌数に対する大腸菌群検出パターン別アメーバ検出数

一般細菌数	検体数	大腸菌群検出パターン			大腸菌群 検出数(%)	アメーバ 検出数(%)
		(-) < 10 ^{*1}	(+) < 10 ^{*2}	10 [≦] ^{*3}		
< 10	9	8	1	1 ^{*4}	1 (11.1)	1 (11.1)
≧10 ¹ ~ < 10 ²	16	13	3		3 (18.8)	2 (12.5)
≧10 ² ~ < 10 ³	29	22	7		7 (24.1)	7 (24.1)
≧10 ³ ~ < 10 ⁴	73	34	36	3	39 (53.4)	26 (35.6)
≧10 ⁴ ~ < 10 ⁵	78	25	38	15	53 (67.9)	38 (48.7)
≧10 ⁵ ~ < 10 ⁶	25	4	13	8	21 (84.0)	16 (64.0)
≧10 ⁶ ~ < 10 ⁷	4		3	1	4 (100)	4 (100)
合計	234	106	101	27	128 (54.7)	94 (40.1)
		22	59	13		

*1 (-) < 10 : BGLB増菌培養法不検出でデソキシコレート寒天培地不検出
 *2 (+) < 10 : BGLB増菌培養法検出でデソキシコレート寒天培地不検出
 *3 10[≦] : デソキシコレート寒天培地検出
 *4 下段数字は大腸菌群検出パターンごとのアメーバ検出数

1,500rpm, 15 分間遠心分離した。この沈渣をアメーバ分離用寒天平板(無栄養 1.5 %寒天平板培地に 60 1h 熱処理した大腸菌液を塗抹したもの)に塗抹後, 25 ~ 30 で培養し, 2 週間毎日顕微鏡観察を行った。なお, 14 年度途中からアメーバの定量を行い, その数は形成されたプラークを基に PFU (Plaque Forming Unit) として計数した。

結 果

1. 豆腐

1) 一般細菌数・大腸菌群・アメーバの検出状況 豆腐の一般細菌数に対する大腸菌群検出パターンとそのパターンごとにおけるアメーバの検出数を表 1 に示した。

豆腐の一般細菌数は 10³ ~ < 10⁵ CFU/g のものが全体の約 65 % を占め, 東京都の指導基準⁷⁾ である 10⁵ CFU/g 以上に該当する豆腐は 29 件(12.4 %)であった。この指導基準に適合しない不良数及び不良率を表 2 に示した。12・13 年度では大きな差がみられなかったが 14 年度は明らかな減少が認められた。

また, 大腸菌群についてみると, デソキシコレート寒天培地で検出されたもの(東京都の指導基準に適合しないもの)は 27 件(11.5 %)であり, 14 年度の不良率は 12・13 年度に比べ明らかな減少が認められた(表 2)。また, デソキシコレート寒天培地では検出されなかったものの BGLB

増菌法で検出された 101 件を含めると 128 件(54.7 %)に大腸菌群が検出された。

アメーバについてみると, 一般細菌数が多くなるとその検出率が高くなる傾向にあり, 3 年間の調査期間全体では 40.1 % (94/234) であった。これを年次ごとにみるとそれぞれ 32.9 %, 40.0 %, 48.1 % と明らかな増加傾向が認められた(表 2)。

2) 豆腐の包装形態別・種別のアメーバ検出状況 豆腐の包装形態別及び豆腐種別のアメーバの検出数を表 3, 表 4 に示した。これらにアメーバ検出の差があるかを確認するため母比率の検定を行った。検定は収去調査票で包装形態が不明な 4 件と豆腐種別が判定できなかった 16 件を除いたものについて行った。パック詰めした豆腐と無包装の豆腐のアメーバ検出率について比較すると 5 % 以下の危険率で有意な差が認められたが, 絹豆腐と木綿豆腐では有意差が認められなかった。

表3. 包装形態別のアメーバ検出数

	アメーバ		合計
	検出数	不検出数	
無包装	48	46	94
パック詰め	44	92	136

表2. 年度別不良件数とアメーバ検出数

年度	検体数	一般細菌 不良件数	大腸菌群 不良件数	アメーバ 検出数
12	82	13 (15.9)	11 (13.4)	27 (32.9)
13	75	11 (14.7)	14 (18.7)	30 (40.0)
14	77	5 (6.5)	2 (3.0)	37 (48.1)

() 内は%

表4. 絹・木綿豆腐からのアメーバ検出数

	アメーバ		合計
	検出数	不検出数	
絹豆腐	27	38	65
木綿豆腐	64	89	153

3) 泳がせ水の水温とアメーバ検出状況 豆腐収去時の泳がせ水の水温は、0~34 と幅があったが、この水温と一般細菌数には相関関係がほとんどなかった。これをさらにアメーバ検出・不検出群に分けた解析でも、検出群で $r^2 = 0.141$ 、不検出群で $r^2 = 0.136$ となり、泳がせ水の水温との関連性は認められなかった。

今回の調査では、一般細菌数検査を豆腐の10倍希釈乳剤で、アメーバ検査を豆腐の泳がせ水で行ったため、豆腐とその泳がせ水の一般細菌数の対比を図1に示した。これについては17件の豆腐で行った。そのうち16件は豆腐より泳がせ水の方が1.2倍から24倍菌数が多かったが、1件のみ泳がせ水の菌数が少なかった。

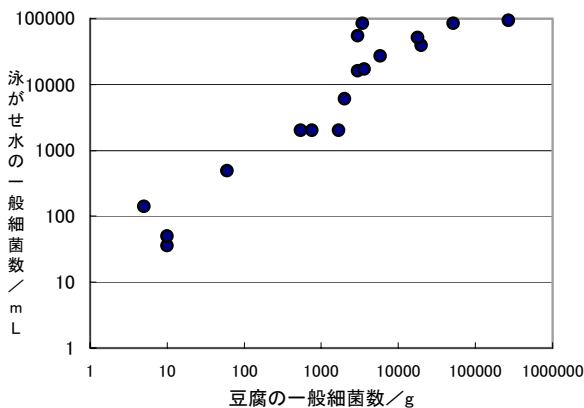


図1. 豆腐と泳がせ水の一般細菌数の対比

また、14年度にアメーバが検出された37件のうち21件についてアメーバ数の算定を行ったが、そのすべてが10 PFU/10 mL以下と少なかった。

なお、これら収去品とは別に小売店で買い求めた13件のパック詰め豆腐の泳がせ水の一般細菌数は、 10^2 CFU/mL以下のものが9件、 $10^2 \sim 10^3$ CFU/mLのものが3件、 10^3 CFU/mL以上のものが1件と収去品よりも菌数が少なく、アメーバも検出されなかった。

2. 生食用カキ

生食用カキ59検体の一般細菌数は、 10^3 CFU/g未満のものが40検体(67.8%)、 $10^3 \sim 10^4$ CFU/gのものが18検体(30.5%)、 10^4 CFU/g以上のものが1件であった⁸⁾。また、デソキシコレ-ト寒天培地による大腸菌群は2検体で確認されたが、それぞれ1 CFU/gと2 CFU/gであった。しかし、アメーバはこれら全てから検出されなかった。

3. コンニャク

コンニャクからのアメーバ検索は、サシミコンニャク2件、コンニャク2件、シラタキ1件の計5件の泳がせ水について行ったが、いずれからも検出されなかった。これらコンニャクの一般細菌数は、いずれも10 CFU/g以下であり、またコンニャクの泳がせ水の一般細菌数も0 CFU/mLであった。

4. 漬け物

漬け物からのアメーバ検索は、塩漬け・しょうゆ漬けでかつ漬け汁の多いものを選び、その漬け汁について行った。漬け汁の一般細菌数別のアメーバ検出数を表5に示した。漬け物32件中19件からアメーバが検出され、その検出率は59.4%と高率であった。検出率を野菜別にみると、表6に示したように葉菜類が75.0%、根菜類が44.4%、果菜類が37.5%であったが、これらを2種類以上混合した漬け物では100%であった。

表5. 漬け汁の一般細菌数別のアメーバ検出数

一般細菌数	検体数	アメーバ検出数(%)
$< 10^3$	4	1 (25.0)
$\geq 10^3 \sim < 10^4$	8	2 (25.0)
$\geq 10^4 \sim < 10^5$	9	6 (66.6)
$\geq 10^5 \sim < 10^6$	8	7 (87.5)
$\geq 10^6 \sim < 10^7$	2	2 (100)
$\geq 10^7 \sim < 10^8$	1	1 (100)
合計	32	19 (59.4)

表6. 漬け物の野菜別のアメーバ検出数

野菜名	件数	検出数(%)
葉菜類		
タカナ・野沢菜	12	9 (75.0)
キャベツ・白菜		
根菜類		
大根・カブ	9	4 (44.4)
ラッキョウ		
果菜類		
ウリ・キュウリ	8	3 (37.5)
なすの単品・混合		
混合		
キャベツ・カブ	3	3 (100)
ニンジン・キュウリ		
合計	32	19 (59.4)

また、アメーバが検出された19検体のうちアメーバ数の算定を行ったのは15検体であるが、そのうち9件(60.0%)は10 PFU/50 mL以下であった。

考 察

今回調査対象とした多摩地区の小規模豆腐製造業者で製造された豆腐における一般細菌数は、参考品として買い上げた豆腐のそれより100倍程度多く検出された。しかし、対象とした豆腐の一般細菌において、東京都の指導基準を超える不良率が年を追うごとに低下傾向にあることは、都の指導により製造業者の衛生管理が向上しているためと考えられる。

一方、アメーバは細菌類を主な栄養源として増殖するため、一過性の細菌汚染では増殖しにくく、中・長期的な細菌汚染がなければ増殖できないと考えられる。このことからアメーバが豆腐の泳がせ水から検出されたことは、その製造工程に中・長期的な細菌汚染があったことが推察される。したがって、アメーバが検出された94件の豆腐製造

施設においては、収去時点において一般細菌数が比較的少なかったとしても、衛生管理を少しでも怠ると、高度な細菌汚染につながる可能性が高いと考えられる。アメ - バの検出率が増加傾向にあることを考慮すると、更なる衛生管理の向上を図る必要があると考えられる。

また、無包装の豆腐がパック詰め豆腐よりアメ - バの検出率が高かったことは、パック詰めにすることが、汚染を防ぐ一つの方法として有効であると示唆されるとともに、無包装の豆腐が製造工程のみならず製品管理時にアメ - バ汚染を受けている可能性があるとも推察される。このことは泳がせ水の一般細菌数が豆腐のそれより多かったことから推測される。

生食用カキの泳がせ水からアメ - バが検出されなかった理由としては、生食用カキの泳がせ水が清浄な海水等を使用しているため、あるいは海産アメ - バが今回分離に用いた無塩培地で生育できなかったためと考えられる。

コンニャクの泳がせ水からは、一般細菌もアメ - バも検出されなかった。この理由としては、これらコンニャクの泳がせ水の pH が 9.7 から 11.6 と高かったことに起因すると考えられる。

漬け物の製造には加熱工程がないため、細菌の存在は当然のことであると考えられる。また、アメ - バは自然界に広く存在するため、漬け物中のアメ - バの存在は、原材料に由来するとも考えられる。このことはアメ - バの検出率が、十分な洗浄をしにくい葉菜類⁹⁾で高く、根菜・果菜類の順に低下していることから推察できる。しかし、漬け樽等の中・長期的な細菌汚染の可能性のあることは、漬け物においてもアメ - バの検出率が高いことや一般細菌数が多いことからしても否定できない。

今回調査した漬け物は、塩漬け・しょうゆ漬けのみであるが、一般家庭でのぬか床からもアメ - バが検出された(未発表)ことから、今後カス漬け・ぬか漬け・ミソ漬け等についての検討も必要ではないかと考えられる。

食品の衛生指標としては、一般細菌数や大腸菌群数などが用いられるが、これらの細菌試験結果は、当該食品の細菌汚染についての評価はできるが、汚染が一過性のものか設備等の汚染による長期的なものなのかの判定は困難である。アメ - バ汚染は細菌汚染の後に継続しているものが多いのではないかと考えられることから、食品中のアメ - バ検索は、この判定を比較的容易にするための一つの方法と考えられるだけでなく、衛生管理対策の点からも有効なこ

とと考えられる。

食品中のアメ - バの存在は、法的にも規定されていないが、製造工程の継続的な汚染の可能性を強く反映していると考えられるため、アメ - バを衛生指標の一つとして加えることを検討していくことも必要ではないかと思われる。

ま と め

平成 12~15 度年にかけて多摩地区で収去・購入した豆腐・コンニャク・生食用カキ及び漬け物、合計 343 件の泳がせ水・漬け汁についてアメ - バの検索を行い次の結果を得た。

- 1) 多摩地区の小規模豆腐製造業者で作られた豆腐の泳がせ水のアメ - バ検出率は 40.1 %であった。検出率を調査年次別にみると年を追うごとに上昇する傾向があった。
- 2) 市販の漬け物の漬け汁からのアメ - バ検出率は 59.4 %であった。
- 3) コンニャクと生食用カキの泳がせ水からは、アメ - バが不検出であった。

文 献

- 1) Rude R.A., Risty N.G., Jackson G.J., et al. : *J Assoc Off Anal Chem*, **67-3**, 613-615, 1984.
- 2) Napolitano J.J. : *Applied Environmental Microbiology*, **44-1**, 255-257, 1982.
- 3) 厚生省環境衛生局監修：食品衛生検査指針 , 100-131, 1973, 日本食品衛生協会, 東京。
- 4) 東京都立衛生研究所・特別区保健衛生試験検査主管課長会監修：食品衛生細菌検査マニュアル, 8-47, 1992, 東京都立衛生研究所, 東京。
- 5) 厚生省生活衛生局企画課監修：新版レジオネラ症防止指針, 95-98, 1999, 財団法人ビル管理教育センター, 東京。
- 6) 石井圭一：坂上英紀, 木原章編, アメ - バ図鑑, 1999, 金原出版株式会社, 東京。
- 7) 東京都健康局監修：食品衛生関係法規集別巻東京都令規版, 平成 10 年, 中央法規出版株式会社, 東京。
- 8) 森本敬子, 神眞知子, 石上武, 他：東京衛研年報, **53**, 173-175, 2002。
- 9) 上田成子：野菜・果実とその加工品, 藤井建夫編, 食品の保全と微生物, 97-112, 2001, 平文社, 東京。