

細菌性食中毒発生における疫学調査と細菌検査の役割

1 まえがき

標題は、昭和54年10月25日に開催された本県食品衛生監視員研修会で申し上げたもので、その内容は、極めて初歩的であり、基本的なものであったが、一部の方々から、技術情報にのせるようにと勧められた。

技術情報の前号では、集団下痢症の発生に際し、どのように疫学調査（以下調査）、細菌検査（以下検査）を進めるべきかについて述べてあるが、標題のようなことは、初歩的、基本的であることから省略した。しかし、保健所や衛生研究所に入所し、食中毒を初めて担当する人にとっては、このようなことから勉強を始めねばならないので、何かのお役に立てばと考え、ペンを執った次第である。

2 食中毒調査の目的

これまで報告された数多くの食中毒調査報告書を通覧すると、まま、原因菌と原因食品を決定すれば、調査の目的は達成されたと言うような報告書にぶつかる。

勿論、食中毒発生に当って、原因菌、原因食品の決定は、最も重要なことに違いないが、調査、検査を通して、原因菌、原因食品を明らかにするとともに、如何なる機転で食中毒が発生したかを解明し、今後の食中毒予防対策の資料にすることが最終の目的であらねばならない。

従って、調査も検査も、この目的のためには、如何なる役割を果し、相互に如何なる連携をとるか充分認識する必要がある。

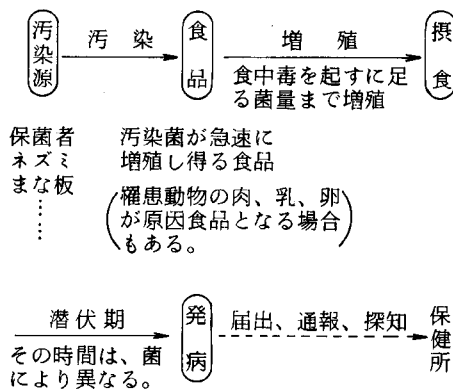
（食中毒処理要領には、上述のほか、食中毒事故の拡大防止を目的の一つに挙げてあるが、細菌性食中毒の場合は、事故発生後に原因食品を撰

食したり、経口伝染病のように、人から人への二次発生を起こす事例は、まれなので、事故の拡大防止のための措置が必要な場合は少ない。ただ、サルモネラは、排菌期間の長い場合があり、その処理については注意を要する。なお、事故を起こした食品業者に対して行う、再発防止のための措置が必要なことは、いうまでもない。

3 細菌性食中毒発生の過程

通例の既知食中毒菌による食中毒発生の過程を図1に示した。

図1. 細菌性食中毒発生過程



4 疫学調査と細菌検査の役割

それぞれの役割を表1に示した。

食中毒が発生すると、色々の調査や検査が実施されるが、その一つ一つが表に示したような明確な役割、意義をもっているわけである。逆に言えば、それぞれの意義、役割を充分理解し、認識して、調査、検査に当る必要があると言うことである。

表1. 疫学調査及び細菌検査の役割

疫 学 調 査	細 菌 検 査
(1)原因菌の推定 患者の臨床所見、潜伏期の調査	(1)原因菌の検出 患者、原因食品の検査
(2)原因機会、原因食品の決定 摂食調査(マスターテーブル)	(2)原因食品の確定 食品の検査
(3)食中毒を起こすに足る菌量まで増殖し得た理由 原因食の製造後から摂食までの保管状況調査	(3)菌の増殖 原因食品と同一食品を用いての増殖実験
(4)汚染源、汚染ルートの推定 原因食品の製造工程、製造場所、保管場所の調査	(4)汚染源の推定 調理者、ネズミ、まな板などの検査
(5)疫学調査、細菌検査を含めての総合判断	(5)その他 フェージ型別検査により、分離菌が同一系統のものであることの証明

(1) 原因菌について

患者の臨床所見、潜伏期から、どのようにして原因菌を推定して行くかについては、技術情報の前号に詳述した。また、細菌性食中毒と確定してからの検査の進め方についても述べてある。

ここで強調したいことは、患者の所見、潜伏期について速やかに集計し、検査の指標のために検査室に伝達せねばならないということである。原因菌の推定、決定を全く検査室に依存し、検査結果を見てから集計に手をつけるなどと言うのは、もっての外のことである。

その理由は、このようなことを検査結果のみに依存すると、しばしば、間違いを生ずるからである。例えば、サルモネラでは、健康者の保菌率が、およそ1%と言われており、その食中毒の原因菌としてではなく検出されるからである。

後で述べるように、たとえ、あらゆるものを検査したとしても、検査結果のみでは、その食中毒の全貌が解明されるものではなく、検査には、一定の限界があるということである。

(2) 原因機会、原因食品の決定(マスターテーブル)

マスターテーブルは、元来、会食のような場合でも一品、一品の食品が別々の器に盛られ、食べる食品は自らの選択によると言う、西欧諸国の食習慣に基いていること、また、調査は、摂食者の記憶に頼っていることを認識しておく必要がある。

原因食品の決定には、残品食品、保存食などの検査によることが望ましいが、残品食品では、菌

の増殖し得ないような食品(例えば、刺身のつま)から菌が分離されることもあるし、また、後に述べるように、残品食品検査の結果を読むに当たっては、摂食時点と検査時点の違いを考慮する必要がある。

(3) 食中毒を起こすに足る菌量まで増殖し得た理由

細菌性食中毒が発生するためには、食品中に一定量以上の菌量(又は毒素量)が必要であることは周知のことで、例えば、サルモネラでは、何十万以上、何億という大量の生菌が必要である、とされている。

食品中に初めから、これだけの菌量が存在するとは考えられず、当然、そこに増殖の過程があるはずである。菌が増殖するためには、温度、湿度、栄養源、時間の4条件が必要である。

食中毒の原因食品を決定する場合、この4条件が満たされていたか否か、充分、調査せねばならない。因みに、製造直後に食べた人からは食中毒が発生せず、時間を経てから食べた人に発生することは、しばしば報告されている。

(水系感染の場合は、食品と比べてかなり少ない菌数によって、食中毒を起こすといわれており、その理由として、水は、食品と違って、急速に胃を通過するために、胃酸の殺菌作用を受けないためであると推測されている。)

(4) 汚染源、汚染ルート

患者と同一菌を調理者(非発病)の大便から分

離しても、直ちに調理者を汚染源と極付けるのには、問題がある。調理者も、同一食品を食べている場合があるからである。

このような場合は、調理者が食べた時点、食べた量、ここ1～2ヶ月間の健康状態を調査する必要がある。

いずれにしても、汚染源を決定するには、慎重な配慮が必要である。

(5) 細菌検査の限界

以上までの記述で、検査には、一定の限界があることが理解されたと思われるが、食中毒発生に際して、色々なもの(大便、吐物、血液、食品、まな板、ふきん、調理者の咽頭液など)が検査されるが、検査結果の読みは、「検体中に既知食中毒菌が存在していた」と読むべきである。

患者の大便中から既知食中毒菌を分離しても、その菌を原因菌を決定するには、患者の症状との照らし合わせが必要であるし、原因食品と思われる食品を定量培養して、相当の菌数を証明しても、

直ちに原因菌とするのは早計である。症状との照らし合わせ、検査時点までの、その食品の保存状態を考慮せねばならない。菌は、条件により増殖するからである。

例えば、セレウス菌は、自然界に広く、高率に分布しているので、単に、原因食品や患者大便から検出されただけで、セレウス菌を原因菌とすることはできない。症状と調査結果がセレウス菌食中毒に一致し、原因食品から10%/1g以上のセレウス菌が分離され、患者の吐物や大便から高率に、多数の菌が分離され、更に分離株の血清型が一致する場合にのみ、セレウス菌を原因菌と決定することが可能となる。

5 むすび

細菌性食中毒発生に当たっての調査、検査の役割意義について大要を述べた。初めての人の人のお役に立てば幸いである。

(井上裕正 中村 章)

食品中の亜硫酸塩の分析法について

食品中の漂白剤として使われている亜硫酸塩は種々の分析法があるが、最近、ランキン法の改良法が比較的信頼できる方法としてよく使われるようになった。したがっていわゆる公定法として「食品中の添加物分析法第4集」に、比較的含有量の多い食品について対象食品を決めて収載されている。含有量の少ない食品についてはまだ収載されていないが、近く追加収載されるものとして、過日昭和54年度食品化学特殊技術講習会において講義と実習が行われたのでその内容を紹介する。

(1) 通気蒸留アルカリ滴定法

「食品中の添加物分析法」に収載されている方法であり、80年版衛生試験法注解にも載せられる予定である。内容は規定液の濃度等に若干の違いがあるが、基本的な部分は同一である。この方法はヨーロッパ諸国、オーストラリアおよび日本でぶどう酒中の亜硫酸の定量法として用いられているランキン法を改良して作られたものである。

この原理は、酸性で蒸留により亜硫酸を過酸化水素に捕集し、硫酸根とした後、アルカリにより

滴定する方法である。この方法は二重冷却管を用いるので、水、エタノール、有機酸の留出は少なく、短時間(10分間)で蒸留でき、操作も非常に簡単である。しかし、冷却管、エアポンプ等の器具を必要とする点が問題となる。この方法では、容器を冷却しながら通気することによって遊離型亜硫酸を、加熱しながら通気することによって結晶型亜硫酸をそれぞれ測定することができる。しかし日本では結晶型、遊離型亜硫酸についての食品衛生法上での明確な規定がない。実際の分析では使用基準に残存量の規定があるだけであるので、通常、結晶型、遊離型を合計した総亜硫酸量を測定することになる。

〔適用食品〕

かんぴょう、干しあんず、干しもも、干しパイナップル、果実酒、天然果汁、糖蜜、水あめ、キャンデットチェリー、甘納豆および煮豆に適用する。

〔試薬〕

水：新たに煮沸し、冷却したものを用いる。

メチルレッド・メチレンブルー混合指示液：¹⁾

メチルレッド0.2gおよびメチレンブルー0.1g

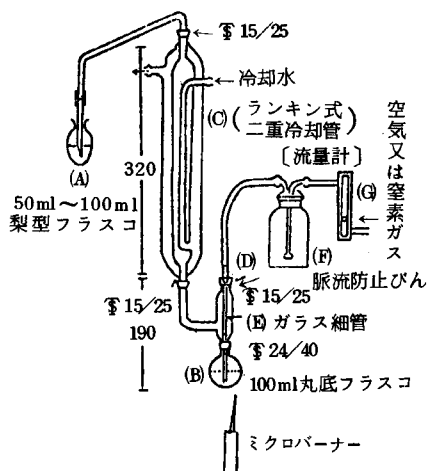
をエタノールに溶かして100 mlとする。

0.3%過酸化水素水：30%過酸化水素水(特級)
1 mlに水を加えて100 mlとする。用時調製する。

〔装置〕

図1.に示すもの²⁾、またはこれに準ずるものを用いる。

図1.



〔試料〕

かんぴょうでは細切したもの1~2 g、干しあんず、干しももでは細切または塊状にならぬように注意してすりつぶしたもの2~4 g、干しパイナップルで細切したもの4~6 g、果実酒では6~10 g、天然果汁では15~20 g、糖蜜、水あめは8~10 g、キャンデットチェリーは細切したもの8~10 g、甘納豆、煮豆は塊状にならぬように注意して押しつぶしたもの8~10 gをとり試料とする。

〔定量〕³⁾

フラスコ(A)に0.3%過酸化水素水10mlを入れ、さらにメチルレッド・メチレンブルー混合指示液3滴を加える。このとき液の色調が緑褐色を呈しないときは⁴⁾、0.02N水酸化ナトリウム溶液1~2滴を加えて調整を行なった後、(A)を装置に取り付ける。次にフラスコ(B)に試料をはかり取り、シリコン樹脂1滴および水を加えて液量を約40mlとし、さらに25%リン酸10mlを加えて直ちに栓(D)をほどこす。(G)より窒素ガス又は空気を毎分0.5~0.6 Lの速度で通気しながら、マイクロバーナーの炎の高さをほぼ3~4 cmとして10分間加熱する。次にフラスコ(A)を装置よりはらずし、導管の先端部を水少量で(A)中に

洗いこみ⁷⁾、(A)の内容液を0.02N水酸化ナトリウム溶液で滴定する。終点は液の色が緑褐色に変わるときとする。

0.02N水酸化ナトリウム溶液 1 ml = 0.641 mg SO₂

(注1) 混合指示液を長期保存しておく場合には、沈殿を生じたり、色調が変化する場合があるので次の様にしておく。メチルレッド0.2 gをエタノール50mlに溶かしたもの、およびメチレンブルー0.1 gをエタノール50mlに溶かしたものを別々に保存し、用時、等量混和して用いる。

(注2) リービッヒ冷却管を用いると測定値が変動する場合がある。

空気の流量は、毎分0.4~1.2 Lの間では一定の測定値が得られる。但し、揮発性物質を多く含んだ試料では、揮発酸の影響がみられるのであらかじめ空試験を行う必要がある。

方法は、蒸留フラスコに操作どおり試料および25%リン酸溶液を入れ、さらに、30%過酸化水素水を試料が含有している亜硫酸と当量以上(30%過酸化水素水0.2 mlが亜硫酸30 mgとほぼ当量)に加え、同様に操作して滴定する。得られた値を本法により求めた値から減じ滴定値とする。

表1. 各種食品での盲検値

食品(試料)	試料採取量	本法による測定値	盲検値
水	20 (g)	検出せず(PP)	検出せず(PP)
赤ぶどう酒	20	25.8	1以下
干しあんず	5	11.8	10.2
冷凍むきえび	5	検出せず	検出せず
切り干し大根	2	10以下	10以下
むきさといも	5	検出せず	検出せず

(日本薬学会衛生化学調査委員会資料)

マイクロバーナーはブンゼンバーナーの外とう部分を取りはずしたもので十分である。しかし、ガスのカロリー量の高い地域ではその代用はできないので専用のマイクロバーナーを用いる。

(注3) 亜硫酸は不安定な化合物であり、定量操作中に分解する可能性もあるので、定量操作は迅速に行う。

(注4) 一般に色調は紫色を呈しているのでアルカリを加える。これによって色調は緑褐色に変化する。

(注5) 乾果類などの試料については、アルカリで処理を加えた後、水およびリン酸を加えて酸性としてから蒸留を行う。

(注6) 発泡するおそれのない試料の場合には、シリコン樹脂を加える必要がない。

(注7) 滴定量が少ないときは0.01N水酸化ナトリウム溶液を用いるか、マイクロビュレットを使用する。

表2. 本法による各種食品での亜硫酸の添加回収率

食品(試料)	試料採取量	添加量	回収率
赤ぶどう酒	20 (g)	1.0 (mg)	101.9(%)
白ぶどう酒	20	1.0	102.0
だしあんず	5	1.0	96.7
冷凍むきえび	1	0.5	96.4
切り干し大根	1	0.5	89.1
むきさといも	5	0.5	88.3

(日本薬学会衛生化学調査委員会資料)

(II) 通気蒸留比色法

アルカリ滴定法では亜硫酸含有量 $32\mu\text{g}$ 以下の試料の場合は測定に困難を伴うため比色法を行う。(0.01N水酸化ナトリウムとして0.1 ml以下)

呈色の原理は亜硫酸がパラロザニリンおよびホルムアルデヒドと反応し、赤紫色の物質を生ずることによる。

この反応は亜硝酸、窒素酸化物によって妨害を受けるので窒化ナトリウムを添加する。

[試薬]

パラロザニリン溶液：パラロザニリン塩酸塩0.2 gに水100 mlを加え、一夜放置後ろ過する。そのろ液20 mlをとり、塩酸6 mlを加え、さらに水を加えて100 mlとする。

ホルムアルデヒド溶液：新しく標定したホルムアルデヒドを水で希釈し、0.2%溶液を調整する。

パラロザニリン・ホルムアルデヒド溶液：パラロザニリン溶液とホルムアルデヒド溶液を等量混合する。

塩酸・酢酸ナトリウム緩衝液(pH 1.0)：1 N塩酸600 mlに1 M酢酸ナトリウム500 mlを加える。

亜硫酸標準溶液：亜硫酸水素ナトリウム1.625 gをとり、蒸留水で全量500 mlとした後、標定し、亜硫酸として 1mg/ml になるように調整する。これを0.1 N水酸化ナトリウム溶液で希釈して5~30 $\mu\text{g/ml}$ の濃度系列を作成する。この標準溶液は用時調製する。

[装置]

通気蒸留アルカリ滴定法と同じ器具を使用する。

[定量]

フラスコ(A)に0.1 N水酸化ナトリウム溶液8 mlを入れ、装置に取りつける。次にフラスコ(B)に5%ジメドン・エタノール溶液1 ml、1%窒化ナトリウム溶液1 ml、エタノール2 ml、消泡用シリコーン樹脂2滴および25%リン酸10 mlを入れ、装置に取りつける。(G)より窒素ガスを毎分0.5~0.6 Lの速度で5分間流す。次にフラスコ(B)をはずし、試料の一定量を速やかに入れ、再び装置に取り付け、窒素ガスを毎分0.5~0.6 Lの速度で流しながら、マイクロバーナーの炎の高さを4~5 cmとし、フラスコ(B)を10分間加熱する。フラスコ(A)をはずし、少量の0.1 N水酸化ナトリウム溶液にて全量10 mlとし、試験溶液とする。

試験溶液、亜硫酸標準溶液の濃度系列および対照として、0.1 N水酸化ナトリウム溶液各5 mlをとり、それぞれにパラロザニリン・ホルムアルデヒド溶液1 mlおよび塩酸・酢酸ナトリウム緩衝液4 mlを加え、よく振り混ぜたのち、室温で35分間放置する。それぞれの呈色液の吸光度を波長560 nm付近において測定する。亜硫酸溶液の濃度系列より得られた検量線により試験溶液中の亜硫酸濃度を求める。

表3. 本法による各種食品での亜硫酸の添加回収率

食品(試料)	試料採取量	亜硫酸添加量	回収率
冷凍むきえび	1 (g)	30 (μg)	94.7(%)
甘納豆	1	10	97.2
ワサビ粉	1	30	96.5
みそ	1	30	96.4
切り干し大根	1	30	92.7
ゼラチン	1	30	93.4

(日本薬学会衛生化学調査委員会資料)

(注8) 試薬中のホルムアルデヒドの濃度が高かったり、試薬を過剰に加えたりすると、亜硫酸が存在しなくても呈色する。試薬を調製する場合には必ず脱気した水を使用しなければ、水中に存在する溶存酸素によって微量の亜硫酸は硫酸に酸化される。

(注9) 呈色はpHに関係しているのでpH調整は正確に行なわなければいけない。

(注10) アセトアルデヒド、ホルムアルデヒドなどがパラロザニリンによる亜硫酸の呈色を妨害するので加えられている。アセトアルデヒド2.5 mgが存在しても妨害はみられない。

(注11)窒素ガスの代りに空気を用いると、空气中に混在する酸素によって微量の亜硫酸が酸化され、亜硫酸10 μ gの添加での回収率は30~40%減少する。

(注12)細切またはすりつぶして均一にした試料を通常1g採取する。最適定量範囲は亜硫酸として5~30 μ g/gである。

(注13)対照液として水を使用すると検量線全体が上昇する。(食品薬品部 青山 幹)

53年度 衛生研究所購入図書を紹介

掲載しました図書は試験検査研究会からも要望がありましたので、58冊購入したもののなかから25冊を紹介いたします。ご利用ください。

書 名	著 者 名	発 行 所	保管場所
マグローヒル 科学技術用語大辞典 有害元素マニュアル 環境汚染物質の生体への影響① (マンガン・アスベスト) 環境汚染物質の生体への影響② (クロム・バナジウム)	科学技術用語大辞典編集委員会 梅川雪夫 細見祐太郎、直井家寿太 岡田太郎共編 National Research Council編	日刊工業新聞社 中央法規出版 東京化学同人	庶務課 食品薬品部 "
魚貝類の毒 放射線取扱技術 分析業務の管理と技術	橋本芳郎 飯田博美 他編 濱口博 編	東大出版 日本原子力産業会議 産業図書社	" 生活環境部 "
し尿処理ガイドブック 廃水処理の生物学 職業病ハンドブック 職業病関連法規集 病理組織検査法 技術者のための 統計的方法	し尿処理ガイドブック編集委員会編 須藤隆一 三浦豊彦 編 産業労働調査所編 三友善夫	環境技術研究会 産業用水調査会 産業労働調査所 "	" " " " 生物部
微生物細胞学 ブリオディ感染症(上) ブリオディ感染症(下) 微生物検査必携 免疫血清反応検査2版 中毒症 基礎と臨床	近藤良夫、舟阪渡 編 小川和朗、黒住一昌、 小池聖淳、佐藤正一)編 大谷杉士、小松信彦 監訳 "	共立出版株式会社 朝倉書店 廣川書店 "	細菌部 " " "
臨床ウイルス学 講義篇① 臨床ウイルス学 手技篇② 医学ウイルス学 疫学 臨床家のための方法論 免疫血清反応検査2版 感染と臨床免疫学の進歩 インフルエンザ	池田良雄、長谷川弥人 岩田和夫 編集 編集者(甲野礼作、石田名香雄 沼崎義夫 " F. J. FENNER・D. O. WHITE 北村敬 訳 重松逸造 厚生省監修 中尾亨、川名林治、 喜多村 勇 G・C・シルド C・H・シュワートーハリス	朝倉書店 講談社 " 近代出版 講談社 日本公衆衛生協会 近代出版 講談社	" " " " " " " " "