

パンナコッタ中のサルモネラの増殖態度について

首藤照信 小林 毅 川合常明 大木忠士 清水良夫
菊地由生子 及川雅子* 松尾博幸*

要 旨

札幌市内で鶏卵を用いた洋生菓子による食中毒事故が発生した。調理には冷蔵庫が活用されていたが、この条件下でサルモネラの増殖が可能かどうかを明らかにするために、再現試験を行った。その結果、増殖は認められず、調理中に高濃度の汚染があったことが推定された。

1. 緒 言

平成 6 年 6 月、札幌市内の T 病院において、*Salmonella* Enteritidis(以下 S.E と略す。)を病因物質とする食中毒事故が発生した。

原因食品とされたパンナコッタは、一部原材料の加熱工程を除き、ほとんど非加熱のまま前日に調理され、冷蔵庫内で保管後、翌日の昼食時に盛付けし病院職員に提供された。

喫食者の発症率が高いことから、原材料が調理中に S.E に均一に汚染されたものと考えられるが、この事故は、冷蔵庫保管時及び室温放置時などに低濃度の S.E が増殖したために生じたものか、または、調理時に高濃度の S.E 汚染があったために生じたものが不明であった。

そこで、この点を明らかにするため、本実験では、調理当日と同じ時間的経過をたどって調製したパンナコッタに S.E を接種し、温度条件と増殖態度の関係を調査した。

また、S.E 汚染鶏卵の関与も疑われたため、卵殻等のふきとり検査を実施したので、これらの結果をあわせて報告する。

2. 食中毒事故の概要

発生年月日平成 6 年 6 月 21 日

原因施設 札幌市東区 T 病院(集団給食施設)

患者数 58 名(喫食者 63 名, 全て病院職員
発症率 92%)

症 状 下痢(97%), 発熱(95%), 腹痛(79%)

潜伏時間 8 ~ 43.5 時間, 平均 20 時間

原因食品 パンナコッタ(残品の自主検査により S.E 検出)

細菌検査状況 有症者便 8 検体(6 検体から S.E 検出)

検 食 45 検体(S.E 不検出 探知時点で 21 日の検食なし)

原材料残品 2 検体(鶏卵 S.E 不検出)

ふきとり検査 22 検体(調理器具等 S.E 不検出)

病因物質 *Salmonella* Enteritidis

特記事項 食中毒事故が発生した病院職員用パンナコッタとは別に、同一原材料を使用し、別の調理人により 1 時間程度早く調理され同時刻に提供された入院患者用パンナコッタの喫食者 40 人からは、食中毒患者の発生はない。

3. パンナコッタの調理方法と時間的経過

* 札幌市東保健所

3-1 パンナコッタの配合(1人前のg数)
牛乳 47.0,グラニュー糖 3.3,ゼラチン 1.7,
水 10.0,生クリーム 20.0,卵白 5.3,カラメル
21.0(砂糖 5:水 1:熱湯 15),チェリー 1ケ,
アンゼリカ 0.1ケ

3-2 調理方法の概要及び時間的経過

6月20日

16:10 ゼラチンに水を加える

16:20 割卵し,卵白を分離後グラニュー糖を加え,

ミキサー後冷蔵庫に保管

16:45 生クリームをミキサー後冷蔵庫に保管

17:00 牛乳を20分加熱(人肌)、ゼラチンを電子レンジで2分間加熱

17:20 材料を全て混合

17:30 70ケに分取し,30分間室温放冷

18:00 職員用冷蔵庫に保管

6月21日

10:30 冷蔵庫から取り出し,カラメル,チェリー,
アンゼリカを盛り付け後,再び冷蔵庫保管

11:45 配膳開始

4. 材料及び方法

4-1 S.E 増殖曲線

サンプル パンナコッタ原材料混合物

使用菌株 本件食中毒事故に係る細菌検査から分離されたS.E

分離培地 DHL 寒天培地

方法 S.Eの増殖態度の概略を知るために,滅菌したガラス瓶にパンナコッタの原材料を採取し,S.Eを概ね $10^2/g$ となるよう混合した後,その10gをストマツカー袋に分取し,9で0,6,12,18,時間及び25で0,2,4,6,8,10,12,18時間培

養し,菌数をコンラージ法により測定した。

4-2 パンナコッタ中のS.Eの増殖態度

サンプル パンナコッタ(職員及び入院患者用のそれぞれについて,病院厨房内において時間経過を追いながら,当日と同じ調理人により製造されたもの)

使用菌株 4-1に同じ

使用培地 DHL 寒天培地,SS 寒天培地,標準寒天培地

方法 パンナコッタを10gずつストマツカー袋に分取し,S.Eが概ね $10^5/g$ となるよう一定量をマイクロピペットで添加し攪拌した後,9,25及びプログラムブルインキュベーターにおいて,0,12,18時間,2において0,18時間それぞれ培養しS.Eの菌数をコンラージ法により測定した。S.Eの接種については,その汚染経路・汚染時点が不明であること及び厨房の汚染を避けるため当所試験室で実施した。

プログラムブルインキュベーターの設定は,厨房内で2で管理されている冷蔵庫が,作業時間帯にはドアの開閉により9前後に,また,夜間は2なると仮定し,それぞれ時間を2,11,5時間と割り振り,連続的に変化するようにした。

また,0,18時間後サンプルの一般生菌数については,混釈法より37,48時間培養後測定した。

4-3 鶏卵卵殻表面等ふきとり検査

サンプル 事故当日のものとは別ロットであるが,同一の購入先から仕入れた在庫し

ている全ての鶏卵 298 個について、10 個の表面をふきとったものを 1 検体として 30 検体(内 1 検体については個)及び鶏卵を収納していた冷蔵庫内のふきとり 1 検体のサルモネラの汚染状況を調べた。

8

培地及び方法 ふきとり 31 検体について、EEM ブイヨンにより前増菌培養を、続いて SBG 培地により増菌培養を行った後、DHL 寒天培地によりサルモネラの分離を実施した。培養温度及び時間は、いずれも 37℃、20 時間であった。

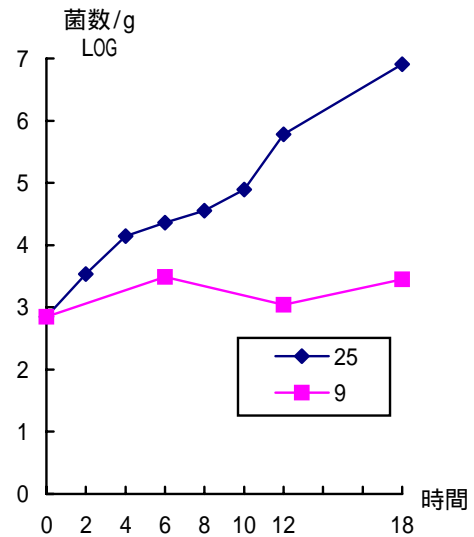


図 - 1 S. Enteritidis 増殖曲線

5. 結果

5-1 S.E 増殖曲線

パンナコッタの原材料混合物に S.E を添加したサンプルの増殖曲線は、図-1 に示すとおりであり、9℃ではわずかな増殖しかみられないものの、25℃では世代時間約 80 分の増殖を示した。

5-2 パンナコッタ中の増殖態度

実際の調理工程に従って製造された職員用パンナコッタサンプル中の S.E の増殖態度は、図-2 に示すとおりであり、プログラマブルインキュベーターで保管状況を近似させた培養条件では、増殖はみられなかった。

また、図示していないが、入院患者用パンナコッタサンプル及び分離培地として SS 寒天培地を用いた場合もほぼ同様の結果を得た。

製造直後の一般生菌数は、 $5.3 \times 10^2/g$ であった。

5-3 卵殻表面等ふきとり検査結果

31 検体について実施したが、サルモネラは検出されなかった。

6. 考察

サルモネラの推定発症菌量については、媒体となった食品、患者の感受性や血清型などの差異から実際の事故例報告ではかなりの幅があるが、通常、 $10^5 \sim 10^6$ 程度以上^{1,2)}とされており、また、ボランティア実験例や事故例では、菌量が多いと発症率が高くなる傾向がみられる^{3,4)}。

図-1 に示すとおり、厨房内室温の実測値近傍である 25℃においては、S.E は $10^2/g$ 程度の汚染があれば指数的に増殖し、12 時間前後で容易に発症量に到達することが確認された。

また、この時の世代時間は、S.E の全卵や卵黄などの添加実験におけるそれとほぼ同じである⁵⁾。

しかし、冷蔵庫内保管を想定した 9℃においてはわずかな増殖しか認めすることはできなかった。

このことから、本件食中毒については、調理段階のいずれかにおいて高濃度の汚染があったものと仮定し、実際の調理工程に従って製造された職員用パンナコッタには、 $10^5/g$ となるよう S.E を接種しその増殖態度を調査した。

その結果、プログラマブルインキュベーター内のサンプルは、温度変化のなかった場合としての 2

および 9 における菌数変化の範囲内を挙動するものとなったが、このことは、図-1 の結果とあわせて考えると、汚染レベルに拘わらずこの温度条件下では、菌数の大きな増加はないことが示唆される。

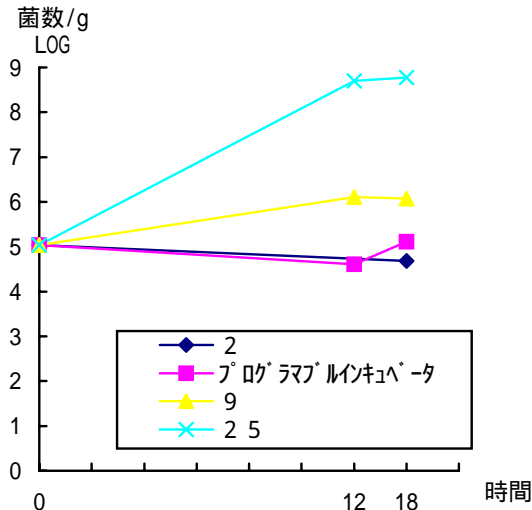


図 - 2 パンナコッタ中の S. E 増殖態度

しかし、9 定温条件においては 18 時間後に 1 オーダの菌数増加がみられ、この温度での長期にわたる冷蔵保管は好ましくないと予想された。

増殖のピークは、図-2 に示すとおり $10^8/g \sim 10^9/g$ であり、12 時間以内にこのピークに達したとすると、世代時間は図-1 の場合より 20 分以上短くなっているが、この一因としては、増殖曲線のサンプル調製には、冷蔵庫内に保管されていた原材料をそのまま使用したのに対し、再現試験時では、一部原材料の過加熱により、製品の中心温度が冷蔵庫保管直前で 30 に上昇したため、この温度差が増殖の大きさに反映したものと考えられる。

当所においては、先に、鶏卵のサルモネラ汚染が製品に移行されやすい食品として、ティラミスを製造し、S.E の添加実験を実施したことがあるが、各温度における菌数変化や増殖のピーク菌数も今回と同様の結果を示し、24 時間培養後であれば、20 でも発症レベルに達することや、10 , 96 時間の経時変

化では菌数の増加傾向がみられたため、この種の食品の温度管理の重要性について強く指摘したところである⁶⁾。

また、約 1 時間前に同一の原材料を用いてほぼ同様の調理工程をたどり、別の調理人により製造された入院患者用パンナコッタにおいては、図示していないが、同じ菌数変化を示しているものの、食中毒患者の発生をみなかった。

このことと、サルモネラの増殖態度及び発症率の高さを総合すると、職員用についてのみ調理工程中に高濃度の S.E 汚染があったものと推定することができる。

このことは、この種の最終工程が非加熱の食品の場合、温度管理の他、汚染の防止という調理の基本原則がいかに重要であるかを強く示唆している。

次に、卵殻のふきとり検査については、パンナコッタ製造時に、割卵後その卵殻を用いて卵黄と卵白の分離をしていたが、その際、分離された卵白の一部が卵殻表面により常時汚染される作業となっていたこと及び卵を除く共通の原材料が職員用と患者用に使用されていたことから、卵による汚染が疑われたため、その表面汚染の状況を知る目的で実施した。

その結果、ふきとり検体から S.E は検出されなかったが、これは、オンエッグ汚染が通常 0.1%のオーダといわれている⁷⁾ことからすると、供試した検体数が少なかったことによるものと考えられる。

また、製造直後のサンプル細菌汚染状況が不明だったため、サルモネラ分離の選択性の違いから DHL 及び SS の 2 種類の培地を使用したが、結果として製造直後のサンプルの一般生菌数が少なかったことにより、分離培地による菌数の差はみられず、一般生菌数についても、S.E 接種後の 0 及び 18 時間後の菌数は S.E とほぼ同様の挙動を示した。

7. 結 語

平成元年頃より全国的に増加したサルモネラによる食中毒は、平成4年には事件数、患者数とも第1位となったが、札幌市においても平成5年の統計では、病因物質の判明した細菌性食中毒8件のうち、サルモネラによるものが5件(S.E4件)を占め、同様の増加傾向がみられる。

これらサルモネラによる食中毒の原因として、鶏卵及びその加工品の関与が指摘され、原因となる鶏のサルモネラ汚染やその制御方法について、種々の検討がおこなわれている^{7,8)}。

この様な状況下で、鶏卵を使用した最終工程が非加熱となる洋生菓子の食中毒事故の発生を懸念していたところである⁶⁾が、汚染原因は不明であるものの、この種の事故が本市でも現実化してしまった。

本実験では、短時間であればS.Eの増殖が冷蔵庫保管で一応対処しうるものであることがわかったが、同時にこの種の食品を取扱う上では、厨房内の2次汚染及び通常の検品方法では検出困難な原材料汚染、そして、その増殖をいかに防止するかが問題となっている。

このためには、汚染の防止や冷蔵庫等の活用に努

めると共に、調理方法やメニューの検討を行い、必要に応じて殺菌した原材料を使用するなどして、食中毒防止に最大限の留意をすべきと考えられる。

8. 文 献

- 1) 仲西寿男:食衛誌,**35**,585-592,1994
- 2) Duguid,J.P.and North,R.A.E.:J.Med. Microbiol.**34**,65-72,1991
- 3) Martin,J.B.and Lee,S.N.:Rev.Infect.Dis. **4**,1096-1106,1982
- 4) Glynn,J.R.and Bradley,D.J.:Epidemiol. Infect.**109**,371-388,1992
- 5) 塩沢寛治,他:食品と微生物,**5**,113-120, 1988
- 6) 小野准子,他:札幌市衛研年報,**19**,65-70, 1992
- 7) 小沼博隆,品川邦汎:モダンメディア,**40**, 315-328,1994
- 8) 中村政幸:同上,**40**,308-314,1994

Effect of Temperature on Growth of *Salmonella* Enteritidis in Panna cotta

Terunobu Shudou, Takeshi Kobayashi, Tsuneaki Kawai, Tadashi Ooki,
Yoshio Shimizu, Yuko Kikuchi, Masako Oikawa*, Hiroyuki Matsuo*

For investigating the effect of temperature on bacterial growth, the food implicated in a food poisoning incident was reproduced and stored in a refrigerator for the same period of time as in the actual case.

No significant bacterial growth was observed under temperature conditions of 2 , 9 and a combination thereof during an 18 hour incubation period, but at 25 it reached a dangerous level which could easily cause food poisoning.

These findings, the high attack rate and other epidemiological data suggest the possibility that the

implicated food was contaminated during cooking by something unidentified which contained large amounts of bacteria.