HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	大腸菌群の水産食品中に於ける分布の研究：第1報 函館近海にて漁獲されるスルメイカにおける大腸菌属の分布について
Author(s)	谷川, 英一; 国沢, 一夫; 阿部, 真次
Citation	北海道大學水産學部研究彙報, 4(2), 185-191
Issue Date	1953-08
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/22812
Type	departmental bulletin paper
File Information	4(2)_P185-191.pdf

Hokkaido University Collection of Scholarly and Academic Papers : HUSCAP

大腸菌群の水産食品中に於ける分布の研究

第1報　函館近海にて漁獲されるスルメイカにおける大腸菌属の分布について

谷川英一・国沢一夫・阿部真次*
（北大水産学部水産食品製造学教室）

STUDIES ON COLI-GROUP DISTRIBUTED IN MARINE FOODS

I. Coli-score in Squid (*Ommastrephes sloani pacificus*) caught in the sea near Hakodate

Eiichi TANIKAWA, Kazuo KUNISAWA and Shinji ABE

(Laboratory of Marine Food Technology, Faculty of Fisheries, Hokkaido University)

Squid meat is often eaten as sliced raw meat ('Sashimi" in Japanese). The authors have studied the coli-score in Squid before landing at several landing-places in Hakodate harbour and squid which was bought at several stores in Hakodate city. Coli-score was determined by the method using ENDO's media and by employing the American Public Health Association's method. Following results were obtained:

(1) On the skin and in viscera (mainly intestines) of squid before landing, the presence of organisms of coli-group was recognized.

(2) But, the number of organisms of coli-group on the surface of squid was not large; there were also squid having none of them.

(3) Organisms of coli-group which were present on the surface and in viscera before landing were regarded mainly as coli-group of fish origin. The organisms were present in viscera of squid more than on the surface. That is to say, the presence of coli-group of fish origin was also recognized in squid.

(4) After landing, the number of organisms of coli-group has increased over that found before landing. In this case the increased number of organisms was observed as coli-group of human origin. As to the squid after landing, generally speaking, the number of the organisms of coli-group on the surface was larger than in viscera. This may be due to the contamination by washing squid using sea-water near the landing-places after landing.

(5) In fact, there were many organisms of coli-group in the sea water near landing places and the most of them were coli-group of human origin. It must be forbidden to use sea water in the harbour for washing squid, from the sanitary point of view.

(6) Consumers must wash always squid meat sufficiently and very carefully with city service water, when they wish to eat it as sliced raw meat.

* 函館水産高等学校

魚介類は我邦国民の保健栄養上から云つても重要なものであり，従つて特に生食の場合においては腸チブス菌，赤痢菌，コレラ菌等の如き消化器系統の病原菌による汚染は絶対に避くべきである。然しながらそれら病原菌をすべての場合に検出試験することは不可能であり，かゝる場合大腸菌群を検出することゝなつている。著者等は先づ函館近海で漁獲され，且つ生食され得るような魚介類の中，今回はスルメイカについて，その表皮並びに内臓内容物について大腸菌群を検出したのでこゝに報告する。

1. イカ原料の抽出

函館近海のイカ原料として陸揚げ前のものと，陸揚げ後市内魚店舗に出されたものを農林省統計事務所の抽出方式に基づいて，昭和27年10～11月に亘つて試験した。即ち函館近海産のスルメイカ全部についての大腸菌属の分布状態を見るために全体を母集団として，それから無作為的にイカ原料を抽出する方法を採用した。(Ⅰ)陸揚げ前のイカ原料の抽出法としては函館港内の船着場を第1図の如く6地区即ちA，B，C，D，E，F 地区に分け，各地区より無作為的に2隻宛のイカ釣船を抽出し，更にこの抽出した各船より無作為的に2尾宛のイカを抽出して殺菌した採取壜に入れ持帰る。従つて結局陸揚前のイカ原料は一地区より4尾宛，全部で24尾を用いて実験を行つた。(Ⅱ)陸揚後のイカ原料の抽出法としては前述と同じく函館市内を6地区即ちG，H，I，J，K，L 地区に分け，各地区より無作為的に2ケ宛の魚店舗を抽出し，各魚店舗より更に2尾宛のイカ原料を無作為的に抽出購入し実験に供した。

2. 試料の調製

試料は前述の如き陸揚前のもの24尾，陸揚後のもの24尾，計48尾のイカより内臓（主として腸管）と，表皮とを無菌的にとつた。それら内臓試料及び表皮試料を各約1gm宛切りとり無菌箱内にてこれを擂潰し，各試料を殺菌した生理的食塩水を用いて夫々$^1/_{10}$，$^1/_{100}$，$^1/_{1,000}$に稀釈し，稀釈調製試料を得た。

3. 実験方法

(1) 遠藤氏培養基上の赤変菌集落計算：前述の稀釈調製試料を夫々遠藤氏培養基に接種し，37°Cにて24時間及び48時間培養を行つた。かくの如くして発育した赤変集落を計算し，更に赤変集落より釣菌し，染色標本を作り検鏡し，大腸菌属と思われる赤変集落のみの数を計えた。

(2) American Public Health Association Method[1] (A.P.H.A法)

(Ⅰ) 推定試験：乳糖添加肉汁醗酵管5本宛に(1)試験に用いた各稀釈調製試料を1c.c.宛注入する，これを 37°C に48時間培養し，ガスの発生を見る。

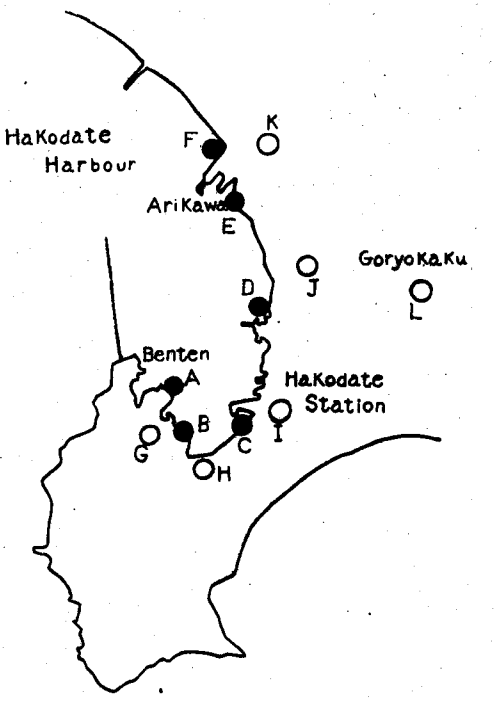

Fig. 1

● Place where raw squids were collected before landing.

○ Place where raw squids were collected after landing.

（Ⅱ） 確定試験：推定試験においてガスの発生をみたるものにつき，1白金耳釣菌し，これを，Brilliant Green 添加乳糖肉汁醗酵管（B.G.L.B）に接種し37°C，48時間培養し，再びガスの発生状態をみる。

（Ⅲ） 鑑別試験：推定試験並びに確定試験結果に於いて大腸菌属と思われるものについては，これを更に遠藤氏培養基に接種し，その赤変集落より釣菌し，Agar-agarに劃線培養し，それによりグラム染色を行い，大腸菌属たることを認める。

4. 実 験 結 果

(1) 陸揚げ前のイカに分布せる大腸菌属について

（Ⅰ） 遠藤氏培養基上の赤変集落数

Table 1. Red colony on ENDO's media with raw squid before landing.

District	Part	Sample No. I			Sample No. II			Sample No. III			Sample No. IV		
		1/10	1/100	1/1,000	1/10	1/100	1/1,000	1/10	1/100	1/1,000	1/10	1/100	1/1,000
A	Surface skin	2	1	0	0	0	0	1	0	0	1	0	0
	Viscera	4	1	0	2	0	0	0	0	0	2	0	0
B	Surface skin	0	1	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
	Viscera	2	2	0	0	0	0	2	0	0	0	0	0
C	Surface skin	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Viscera	4	1	0	3	0	0	2	0	0	3	0	0
D	Surface skin	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Viscera	4	0	0	2	0	0	4	2	0	2	0	0
E	Surface skin	0	0	0	0	1	0	2	0	0	2	1	0
	Viscera	2	0	0	0	0	0	6	2	1	4	1	0
F	Surface skin	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Viscera	5	0	0	1	0	0	5	3	0	1	1	0

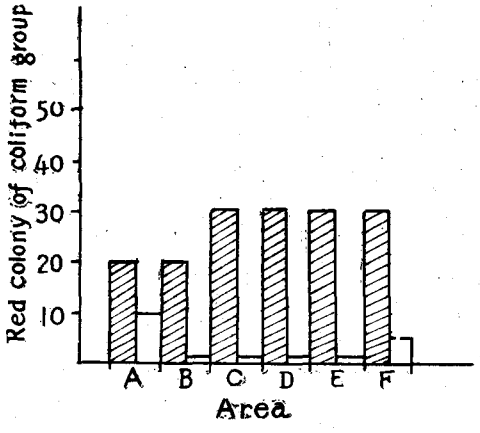

Fig. 2 //// 内臓， □ 表皮

第1表中の数字は，前述の如く遠藤氏培養基における赤変菌中でも大腸菌属と思われるものゝ集落数である。尙第1表は函館港全体に着岸し，陸揚前の全てのイカを母集団とする時の標本として得られた数値であり，何れの標本もその遠藤氏培養基の赤変集落数は少ない。且つ各地区，各試料において大差はない。尙表皮についてみるに，多くの標本において赤変集落は認められず，又認められても1/10稀釈のものゝ中には1～2ケ程度である。内臓主として腸管の場合も赤変集落数は少く1/10稀釈において1～5ケである（こゝに注目すべきことは大腸菌属中でも25°～30°Cの如き温度で発育するものが存在することで，これは恐らく魚型大腸菌と認められるもので，この点については後段において説明する）。第2図は各地区におけるイカ内臓及び表皮1gm当りの大腸菌属数の平均を示す。

以上の標本について平均値を$\overline{X}=\sum_{i=1}^{N} x_i/N$ 式で求めると，表皮の場合は$\overline{X}_1=0.457$ で 1gm中の大腸菌と思われる数は約4～5ケであり，内臓の場合は$\overline{X}_2=2.5$で1gm中約25ケ存在すると推定出来る。即ち表皮と内臓とを比較すると表皮は内臓よりも赤変菌数は少いことが判る。

（II） A.P.H.A 法による実験結果

前述の如く，推定，確定試験を行い，大腸菌群最確数を表を用い算出したが，その結果は第2,3表の如くである。

Table 2. M. P. N. of Coli-form group per 1gm of surface skin and viscera (intestines) of squid before landing.

Sample / Sample average / Part / District		Sample No. I	Sample No. II	Average
		Sample average of raw squid which was collected in the same area and same fishing-boat	Sample average of raw squid which was collected in the same area and same fishing-boat	Average for sample average of sample No. I and sample No. II
A	Surface skin	6.8	4.5	5.6
	Viscera	17.0	14.0	15.0
B	Surface skin	2.0	0	1.0
	Viscera	6.8	2.0	4.4
C	Surface skin	2.0	1.8	1.9
	Viscera	6.8	11.0	8.9
D	Surface skin	4.0	6.1	5.0
	Viscera	6.8	11.0	8.9
E	Surface skin	9.0	6.8	8.0
	Viscera	14.0	11.0	12.0
F	Surface skin	2.0	2.0	2.0
	Viscera	7.8	9.2	8.5

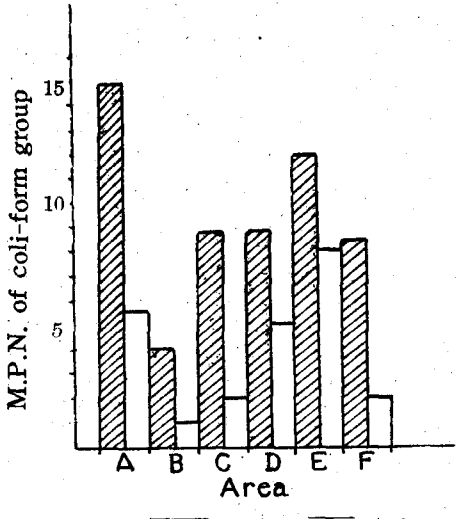

Fig. 3 //// 内臓， □ 表皮

第2表は同じ地区，例えばA地区のものゝ中，同じ船より採取せるイカ原料2尾のそれぞれ表皮及び内臓試料1gmの標本の標本平均をもつて示したものである。これには同じ船から得たものゝ試料では大腸菌群数の上に大した差がみられなかつたので，標本平均及び標本平均の平均値をもつてしても差支ないと推定された。この平均値を図示したのが第3図である。即ちこれらの数字によつて陸揚げ前のイカ原料についての大腸菌群の分布を知ることが出来るであろう。この実験結果から大腸菌群最確数は表皮においては前回の実験と同じく非常に少く，中にはその存在の認められなかつたものもある。内臓においてもその数は少い。両者を比較すると，内臓の方が大腸菌群数が多い。

次に前回同様各地区における標本平均の平均値より1gm中の大腸菌群最確数の平均値を表皮，内臓別に算出

すると次の如くである。

表皮の場合：$\overline{X}_1=3.75$ 即ち表皮試料1gm中には約4ケの大腸菌群最確数が得られたわけである。この値は陸揚げ前のイカ原料の表皮の標本の平均の平均値を求めたものであり，この値は危険率を含まないものであり，これによつて推定することも不当でないと思う。

内臓の場合：$\overline{X}_2=9.61$ 即ち内臓試料1gm中には約10ケの大腸菌群最確数が得られたわけである。

A.P.H.A 法による大腸菌群最確数と前回の遠藤氏培養基上の赤変集落数の夫々の平均値をみても大腸菌群の存在の状態はやゝ明らかとなつたことゝ思う。

次に鑑別試験として推定並びに確定試験結果において大腸菌属細菌と思われたものについて，遠藤氏培養基に接種し，その赤変集落より釣菌し Agar-agar に劃線培養後検鏡検査した結果によれば，(1)グラム陰性，(2)表皮及び内臓(腸管)より得られたものゝ集落形態は人間の糞便より分離せる大腸菌（*B. coli communis*）よりやゝ小型であり，完円に近く，その周縁は薄色で，遠藤氏培養基上では薄桃色を呈し，中心部は薄赤色を呈しているのが多く認められた。(3)芽胞を形成せず，(4)運動性は人型大腸菌よりやゝ活潑である。(5)発育適溫が 25°～30°C で発育するものが多かつた。これらの結果から分離された大腸菌群の多くのものが，著者の一人谷川[1]が曩に分離した魚型大腸菌に類似していることが判つた。こゝで魚型大腸菌と人型大腸菌との比率について検査したところ前者は何れの場合も90～95%を占めることが分つた。即ち陸揚げ前のイカにあつては人型大腸菌による汚染は少いとみて差支ないと思われる。

(2) 陸揚げ後のイカに分布せる大腸菌属について

（I） 遠藤氏培養基上の赤変集落数

Table 3. Red colony on Endo's media with raw squid after landing.

		Sample No. I	Sample No. II	Sample No. III	Sample No. IV
G	Surface skin	30	34	36	28
	Viscera	25	31	34	22
H	Surface skin	28	30	21	29
	Viscera	20	25	40	34
I	Surface skin	48	53	37	41
	Viscera	22	18	30	34
J	Surface skin	31	34	36	27
	Viscera	28	31	23	20
K	Surface skin	38	33	27	24
	Viscera	37	23	30	43
L	Surface skin	30	26	20	37
	Viscera	29	23	11	24

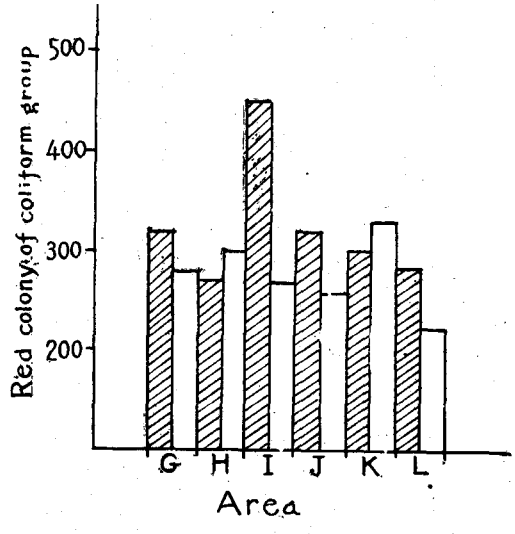

Fig. 4 //// 表皮， 内臓

第3表は½に稀釈した試料について遠藤氏培養基上の赤変集落数を示したものであるが，これを図示せるものが第4図である。この表からも明らかのように陸揚げ後のイカ試料では殆んどのものが大腸菌属を含んでいることがわかる。尙表皮と内臓とを比較すると，この場合においては陸揚げ前とは反対に表皮の方が内臓よりも大腸菌属細菌の数が多くなつていることが分る。

この表の数値から標本平均とその平均値を求め陸揚げ後のイカに分布すると思われる代表値を求めると次の如くである。

表皮の場合：$\overline{X}_1=32.4$ 即ちイカ表皮試料 1gm 中に 324 の大腸菌属細菌の分布が推定出来た。

内臓の場合：$X_2=26.75$ 従つて内臓 1gm 中には約 297 の大腸菌属細菌の分布が推定出来る。

（II） A.P.H.A 法による実験結果

陸揚げ前と同じく大腸菌群最確数を算出した結果は第 4 表の如くである。

Table 4. M.P.N. of Coli-form group per lgm of surface skin and viscera (intestines) of squid before landing.

District \ Sample Average / Part		Sample No. I	Sample No. II	Average of Sample average
G	Surface skin	11	14	12
	Viscera	21	320	170
H	Surface skin	1,600	1,800	1,700
	Viscera	540	540	540
I	Surface skin	180	180	180
	Viscera	280	350	315
J	Surface skin	540	320	430
	Viscera	420	350	375
K	Surface skin	540	920	730
	Viscera	350	280	315
L	Surface skin	320	260	290
	Viscera	540	280	460

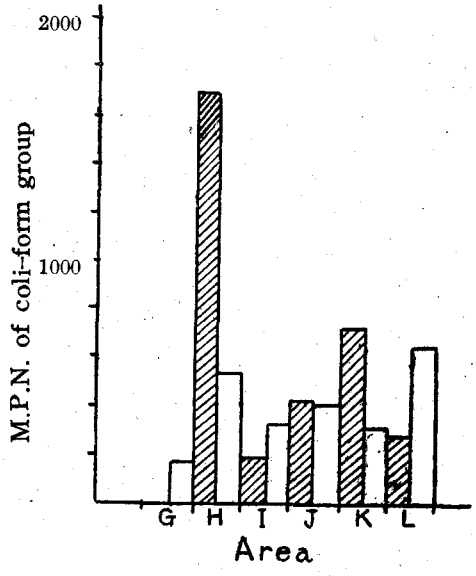

Fig. 5 //// 表皮， ▭ 内臓

陸揚げ後のイカにおける大腸菌群最確数を図示すると第 5 図の如くである。これらの結果からみるに地区によつて表皮と内臓内の大腸菌群最確数の差が区々であり，これはその取扱いの差異によるものとは思われる。こゝで標本平均の平均値を算出すると，表皮の場合：$\overline{X}_1=557$，内臓の場合：$\overline{X}_2=363$ となり，標本の代表値では表皮は 1gm 中に 557ケ，内臓では 363ケ存在するという数字が出ている。この数字からみれば陸揚げ後のイカの表皮の方が内臓より汚染度が大きいようであるが，これは地区による取扱い方の要素の方が大であると思われる。併し何れにしても陸揚げ前よりも汚染度が増していることは事実である。

次に鑑別試験の結果をみるに，陸揚げ前の場合と比較して，発育温度が 37°C とみられるもので遠藤氏培養基上の集落型態がやゝ大きい大腸菌属の認められることである。このことは著者の一人谷川の曩に行つた魚型大腸菌の研究結果からみて，人型大腸菌が多数混在してきたことを示唆するものと思われる。こゝで魚型大腸菌と思われるものと，人型大腸菌と思われるものゝ比をとつてみたが，表皮の場合は魚型大腸菌らしきもの87%，人型大腸菌と思われるもの13%，内臓の場合は前者が92%，後者が 8 %となつている。即ち陸揚げ前より陸揚げ後の場合の方が人型大腸菌が幾分でも増加していることは取扱上注意すべきことであろう。即ちイカを船より買つた小売人は屢々その附近の海水で洗滌後，呼び売りに出掛けるが，その場合かゝる海水洗滌は禁止した方がよいように思われる。これを証明するために，次の如く海水中の大腸菌群の検索を行つてみた。

（3）イカ釣船の船着場附近における海水中の大腸菌群最確数について

前記陸揚げ後のイカに大腸菌群の多数存在していた購買地区，H地区を控えている西浜岸壁船着場

(B地区内)，J地区を控えている定温倉庫前船着場(D地区内)，K，L地区を控えている有川桟橋(F地区内)の夫々の附近海水を用いてA.P.H.A法によつて大腸菌群最確数を求めた。その結果によれば海水100c.c.中，西浜岸壁附近では35,000; 定温倉庫前附近では18,000; 有川桟橋附近では22,000という数字が出た。これらを鑑別試験したところが，魚型大腸菌と人型大腸菌との比は2:8という結果を得た。これは函館港内の船着場の海水は人糞汚物によつて汚染されていることを証するものである。この結果からみても衛生上港内海水によるイカの洗滌は禁止すべきものと思われる。

5. 結論及び摘要

(1) 函館近海において漁獲されるイカについて大腸菌群の汚染状態を陸揚げ前と陸揚げ後において検査したが，イカの表皮，内臓共に大腸菌属の存在が認められた。

(2) 陸揚げ前のイカの表皮にはそれほど多数の大腸菌はみられず全然認みられないものもあつた。

(3) 陸揚げ前のイカの表皮及び内臓に存在する大腸菌属は魚型大腸菌と認められるものが大部分であり，表皮よりも内臓内に多く見られた。即ちイカにも魚型大腸菌の存在が認められた。

(4) 陸揚げ後のイカでは陸揚げ前に比し大腸菌属の数は増加している。この場合人型大腸菌の数が増加していることが認められた。而して陸揚げ後のイカでは試料採取地区によつて異るが，全般的にみて内臓より表皮の方に大腸菌群の数が大となつている。これは陸揚げ後の船着場附近における海水洗滌によるものと思われる。

(5) 事実船着場附近の海水中には多数の大腸菌属細菌が存在し，人型大腸菌がその大多数を占めていることが明らかにされた。従つてイカを港内海水にて洗滌することは衛生的見地より禁止すべきであると思われた。

(6) 購買者がイカを生食とする場合は，常に水道水によつてよく洗滌しなければ衛生的に不安である。

文　　献

(1) TANIKAWA, E: Biological studies on the organisms of coli-group isoloted from the intestincs of oysters. Arch. f. Mikrobiol. 8, 288, 1937, Berlin.

(2) 厚生省編：食品衛生指針(III)

(水産科学研究所業績 第186号)