

01/30 17:02:01 0.0

79.4	79.0	24.0	23.3	23.1	23.6	23.9	23.7	23.9	185.7
------	------	------	------	------	------	------	------	------	-------

(別紙) 脂肪分30%・200gハンバーグ(10°C)の調理における温度の推移

Ch.		奥側 前側									庫内温
		001	002	003	004	005	006	007	008	009	
01/30 17:09:01	0.0	12.4	11.6	24.0	23.5	23.0	23.5	32.6	23.7	23.8	51.9
01/30 17:09:11	0.0	12.6	11.6	24.0	23.5	23.0	23.5	185.9	23.6	23.8	121.0
01/30 17:09:21	0.0	12.9	11.7	24.0	23.5	23.0	23.4	135.7	23.6	23.8	135.5
01/30 17:09:31	0.0	13.2	11.8	24.0	23.5	23.0	23.5	80.6	23.7	23.8	142.5
01/30 17:09:41	0.0	13.5	11.8	24.0	23.5	23.0	23.5	-86.3	23.6	23.8	147.9
01/30 17:09:51	0.0	13.7	11.9	23.9	23.5	23.0	23.4	188.4	23.6	23.8	152.3
01/30 17:10:01	0.0	14.1	12.0	23.9	23.5	23.0	23.3	193.4	23.6	23.8	156.2
01/30 17:10:11	0.0	14.4	12.1	24.0	23.5	23.0	23.5	200.9	23.6	23.8	160.5
01/30 17:10:21	0.0	14.8	12.2	24.0	23.6	23.1	23.6	184.7	23.6	23.8	163.9
01/30 17:10:31	0.0	15.3	12.3	24.7	23.6	23.1	23.6	200.8	23.7	23.8	168.0
01/30 17:10:41	0.0	15.8	12.5	25.0	23.6	23.1	23.9	128.7	23.7	23.8	172.3
01/30 17:10:51	0.0	16.4	12.7	25.1	23.5	23.1	24.2	198.5	23.7	23.8	176.0
01/30 17:11:01	0.0	17.0	12.9	25.1	23.6	23.1	24.4	96.5	23.7	23.7	179.2
01/30 17:11:11	0.0	17.7	13.2	25.1	23.6	23.1	24.4	-39.7	23.7	23.7	183.1
01/30 17:11:21	0.0	18.4	13.4	25.2	23.5	23.0	24.5	187.4	23.7	23.7	187.0
01/30 17:11:31	0.0	19.2	13.7	25.2	23.6	23.0	23.9	-90.0	23.7	23.7	190.9
01/30 17:11:41	0.0	20.0	14.1	25.3	23.7	23.0	23.8	-121.7	23.7	23.7	192.5
01/30 17:11:51	0.0	20.8	14.5	24.9	23.7	22.9	24.1	-103.7	23.7	23.7	192.6
01/30 17:12:01	0.0	21.6	14.8	24.6	23.6	22.9	23.3	-63.4	23.7	23.7	192.8
01/30 17:12:11	0.0	22.5	15.3	24.4	23.6	22.9	23.4	48.0	23.7	23.7	192.5
01/30 17:12:21	0.0	23.5	15.8	24.3	23.6	22.9	23.0	197.3	23.7	23.7	192.9
01/30 17:12:31	0.0	24.5	16.3	24.2	23.6	22.9	23.3	175.4	23.7	23.7	192.2
01/30 17:12:41	0.0	25.5	16.9	24.1	23.6	22.9	23.3	179.8	23.6	23.7	191.6
01/30 17:12:51	0.0	26.6	17.5	24.0	23.6	22.9	23.3	97.7	23.7	23.7	190.6
01/30 17:13:01	0.0	27.8	18.1	24.0	23.6	22.9	23.1	85.2	23.7	23.7	190.6
01/30 17:13:11	0.0	28.9	18.8	24.0	23.6	22.9	23.1	60.9	23.7	23.7	189.3
01/30 17:13:21	0.0	30.1	19.5	24.0	23.6	22.9	23.2	73.6	23.7	23.8	189.0
01/30 17:13:31	0.0	31.3	20.3	24.0	23.6	22.9	22.9	-116.9	23.7	23.8	188.0
01/30 17:13:41	0.0	32.4	21.0	24.0	23.5	22.9	22.8	-94.3	23.7	23.8	186.8
01/30 17:13:51	0.0	33.6	21.7	24.0	23.5	22.9	22.8	178.5	23.7	23.8	186.3
01/30 17:14:01	0.0	34.8	22.6	24.0	23.5	22.9	22.9	184.7	23.7	23.8	185.2
01/30 17:14:11	0.0	36.0	23.3	24.0	23.5	22.9	22.7	96.2	23.7	23.8	184.1
01/30 17:14:21	0.0	37.3	24.2	24.0	23.5	22.9	22.7	-72.4	23.7	23.8	182.4
01/30 17:14:31	0.0	38.3	25.0	23.9	23.5	22.9	22.8	-60.9	23.6	23.8	180.3
01/30 17:14:41	0.0	39.4	25.9	24.6	23.5	22.8	22.9	-103.0	23.5	23.7	180.2
01/30 17:14:51	0.0	40.5	26.7	24.9	23.5	22.9	22.9	-40.2	23.5	23.7	180.2
01/30 17:15:01	0.0	41.5	27.6	25.1	23.6	22.9	23.3	141.9	23.5	23.7	180.5
01/30 17:15:11	0.0	42.6	28.5	25.2	23.6	22.9	23.4	185.0	23.5	23.8	182.3
01/30 17:15:21	0.0	43.6	29.4	25.3	23.6	22.8	23.3	87.6	23.5	23.8	184.3
01/30 17:15:31	0.0	44.7	30.2	25.1	23.6	22.8	23.8	-94.6	23.5	23.8	186.4
01/30 17:15:41	0.0	45.7	31.1	24.7	23.6	22.9	23.8	48.4	23.5	23.8	187.2
01/30 17:15:51	0.0	46.6	31.9	24.4	23.6	22.9	23.4	154.2	23.5	23.8	187.5
01/30 17:16:01	0.0	47.6	32.9	24.3	23.5	22.9	23.3	169.8	23.5	23.8	186.2
01/30 17:16:11	0.0	48.6	33.8	24.2	23.5	22.9	23.5	177.1	23.5	23.8	185.3
01/30 17:16:21	0.0	49.8	34.9	24.1	23.6	22.9	23.5	91.9	23.6	23.8	184.2
01/30 17:16:31	0.0	50.9	36.0	24.1	23.6	23.0	23.4	66.1	23.6	23.8	183.9
01/30 17:16:41	0.0	52.1	37.2	24.0	23.6	23.0	23.4	-105.7	23.6	23.8	183.3
01/30 17:16:51	0.0	53.5	38.3	24.0	23.6	23.0	23.4	-27.4	23.6	23.8	182.8
01/30 17:17:01	0.0	55.2	39.3	24.0	23.6	23.0	23.5	-98.6	23.6	23.8	181.5
01/30 17:17:11	0.0	56.3	40.4	24.0	23.6	23.0	23.5	-96.2	23.7	23.8	181.2
01/30 17:17:21	0.0	57.0	41.6	24.0	23.6	23.0	23.6	151.1	23.7	23.9	181.6
01/30 17:17:31	0.0	58.1	42.6	24.0	23.6	23.1	23.5	182.4	23.7	23.9	182.7

01/30 17:17:41	0.0	58.9	43.6	24.0	23.6	23.0	23.6	-92.9	23.7	23.9	185.0
01/30 17:17:51	0.0	59.7	44.5	24.0	23.6	23.0	23.5	42.6	23.7	23.9	186.9
01/30 17:18:01	0.0	60.5	45.6	24.0	23.6	23.1	23.6	94.7	23.7	23.9	186.8
01/30 17:18:11	0.0	61.2	46.9	24.0	23.6	23.1	23.6	182.2	23.7	23.9	187.4
01/30 17:18:21	0.0	61.9	48.0	24.0	23.6	23.1	23.6	108.0	23.7	23.9	186.4
01/30 17:18:31	0.0	62.5	49.3	24.0	23.6	23.1	23.6	-117.9	23.7	23.9	185.7
01/30 17:18:41	0.0	63.1	49.7	24.8	23.7	23.1	23.5	28.5	23.7	23.9	184.9
01/30 17:18:51	0.0	63.6	49.0	25.1	23.7	23.1	23.6	83.0	23.7	23.9	184.4
01/30 17:19:01	0.0	64.3	49.9	25.2	23.7	23.1	23.8	-92.3	23.7	23.9	183.1
01/30 17:19:11	0.0	64.7	50.1	25.2	23.7	23.1	23.8	101.4	23.7	23.9	182.4
01/30 17:19:21	0.0	65.0	51.2	25.3	23.7	23.0	23.4	-94.2	23.6	23.8	181.3
01/30 17:19:31	0.0	64.9	52.6	25.2	23.7	23.0	23.6	183.1	23.7	23.9	181.0
01/30 17:19:41	0.0	65.8	53.2	24.7	23.7	23.0	24.2	89.6	23.7	23.9	181.8
01/30 17:19:51	0.0	66.6	53.7	24.4	23.6	23.0	23.7	18.7	23.6	23.9	184.0
01/30 17:20:01	0.0	67.3	56.0	24.3	23.6	23.0	23.7	26.2	23.6	23.9	185.8
01/30 17:20:11	0.0	67.9	57.5	24.2	23.6	23.1	23.7	-119.6	23.7	23.9	187.5
01/30 17:20:21	0.0	68.6	58.2	24.1	23.6	23.0	23.5	73.2	23.7	23.9	187.1
01/30 17:20:31	0.0	69.0	59.2	24.1	23.6	23.0	23.5	94.7	23.7	23.9	186.2
01/30 17:20:41	0.0	69.7	60.3	24.0	23.6	23.0	23.7	187.8	23.7	23.9	185.7
01/30 17:20:51	0.0	70.3	61.1	24.0	23.6	23.0	23.5	181.7	23.7	23.9	185.3
01/30 17:21:01	0.0	71.0	61.7	24.0	23.7	23.1	23.5	76.6	23.7	23.9	184.8
01/30 17:21:11	0.0	71.7	63.1	24.0	23.6	23.1	23.6	136.9	23.7	23.9	183.0
01/30 17:21:21	0.0	72.3	64.1	24.0	23.6	23.1	23.6	180.1	23.7	23.9	182.4
01/30 17:21:31	0.0	73.0	65.0	24.0	23.6	23.1	23.6	185.5	23.7	23.9	181.4
01/30 17:21:41	0.0	73.6	66.0	24.0	23.6	23.1	23.6	198.2	23.7	23.9	180.9
01/30 17:21:51	0.0	74.2	67.2	24.0	23.7	23.1	23.7	-78.6	23.7	23.9	182.4
01/30 17:22:01	0.0	74.8	68.0	24.0	23.7	23.1	23.5	56.7	23.7	23.9	184.4
01/30 17:22:11	0.0	75.3	68.6	24.1	23.7	23.1	23.3	95.5	23.8	23.9	186.3
01/30 17:22:21	0.0	75.9	69.5	24.0	23.7	23.1	23.4	195.8	23.7	23.9	186.8
01/30 17:22:31	0.0	76.5	70.5	24.5	23.7	23.1	23.4	-105.1	23.7	23.9	186.8
01/30 17:22:41	0.0	77.1	71.4	25.0	23.7	23.1	23.3	183.1	23.7	23.9	185.7
01/30 17:22:51	0.0	77.6	71.9	25.2	23.7	23.1	23.4	-64.6	23.7	23.9	185.8
01/30 17:23:01	0.0	77.6	72.9	94.2	23.7	23.1	23.8	-3276.7	23.8	24.0	184.7
01/30 17:23:11	0.0	77.6	73.6	25.7	24.5	25.0	-3276.7	109.6	24.7	24.3	183.9
01/30 17:23:21	0.0	78.1	74.2	25.8	24.4	25.3	140.9	71.0	25.1	24.4	183.9
01/30 17:23:31	0.0	78.7	75.1	26.0	24.5	25.4	80.7	-55.8	25.3	25.5	182.2
01/30 17:23:41	0.0	79.3	75.8	26.4	24.6	1.7	-3276.7	192.7	25.3	25.5	180.7
01/30 17:23:51	0.0	79.8	76.8	10.2	24.2	25.3	-191.8	185.0	24.7	23.9	180.9
01/30 17:24:01	0.0	80.4	77.9	6.6	24.6	25.4	-0.2	177.2	25.0	23.8	182.4
01/30 17:24:11	0.0	80.9	78.6	6.5	24.9	25.6	15.3	83.5	25.3	5.8	184.2
01/30 17:24:21	0.0	81.2	79.4	6.5	25.3	25.8	152.3	72.7	25.5	5.5	
01/30 17:24:31	0.0	81.5	80.2	6.5	7.2	25.9	75.4	113.6	25.6	5.4	187.4
01/30 17:24:41	0.0	81.9	81.1	6.5	5.3	26.0	-3276.7	189.5	25.7	5.4	187.2
01/30 17:24:51	0.0	82.2	81.8	6.5	5.4	23.9	23.4	94.4	25.7	5.4	186.4
01/30 17:25:01	0.0	82.4	82.6	6.5	5.6	25.4	153.0	73.9	25.8	5.4	186.7
01/30 17:25:11	0.0	82.9	83.2	6.5	5.6	7.0	-3276.7	131.7	25.8	5.4	185.9
01/30 17:25:21	0.0	83.3	84.0	6.5	5.7	8.3	-3276.7	187.7	25.5	5.4	185.2
01/30 17:25:31	0.0	83.7	84.8	6.5	5.7	6.2	11.8	50.1	24.7	5.5	184.3
01/30 17:25:41	0.0	84.0	85.5	6.6	5.8	6.2	149.8	55.6	24.1	5.5	183.9
01/30 17:25:51	0.0	84.3	86.2	6.5	5.8	-7.5	131.7	121.2	24.8	5.5	183.5
01/30 17:26:01	0.0	84.8	86.8	6.7	5.9	6.1	-3276.7	134.2	6.7	5.6	182.8
01/30 17:26:11	0.0	85.0	87.3	6.7	5.9	6.0	4.0	98.8	6.0	5.6	183.1
01/30 17:26:21	0.0	85.3	87.9	6.7	6.0	6.1	146.5	-116.0	6.1	5.6	184.9
01/30 17:26:31	0.0	85.5	88.3	6.7	6.0	6.1	51.2	120.2	6.3	5.6	187.7
01/30 17:26:41	0.0	85.8	88.8	6.7	6.0	6.1	-3276.7	187.6	6.3	5.7	189.1
01/30 17:26:51	0.0	86.1	89.3	6.7	6.0	6.1	18.6	93.1	6.4	5.7	188.4

01/30 17:27:01

0.0

85.9	89.6	6.8	6.0	6.1	152.4	41.0	6.4	5.7	183.6
------	------	-----	-----	-----	-------	------	-----	-----	-------

平成 10 年度食肉より分離された腸球菌の高度バンコマイシン耐性に関する調査、研究

分担研究者 池 康嘉

研究協力者 谷本弘一、小澤良之、野村隆浩、藤本修平、富田治芳
(群馬大学医学部微生物学教室、同薬剤耐性菌実験施設)

国内 2 施設食肉検査所由来国産鶏肉、及び横浜及び神戸検疫所由来外国産鶏肉から分離された腸球菌の高度バンコマイシン耐性 (type A VRE) を調べた。検査した国内の鶏肉検体数は鹿児島 30、宮崎 37 である。横浜、神戸検疫所由来外国産鶏肉それぞれ 62、65 検体 (計 127) である。国内 67 検体からは高度バンコマイシン耐性菌は分離されなかった。外国産鶏肉の中で、タイ、フランス、ブラジル産鶏肉からそれぞれ検査鶏肉数当たり 9/43 (21%)、2/4 (50%)、2/22 (9%) の頻度で高度バンコマイシン耐性腸球菌が分離された。アメリカ合衆国 (32 検体)、中国 (23 検体)、ベトナム (3 検体) の鶏肉からは分離されなかった。

A. 研究目的

腸球菌はグラム陽性菌で、典型的な日和見感染菌であるが、近年院内感染により易感染患者に重篤な菌血症をおこす重要な細菌の一つとして欧米において問題になっている。アメリカ合衆国の Center for Disease Control and Prevention (CDC) の報告では 1989 年から 1993 年の 5 年間で VRE による院内感染が 20 倍に増加している。この菌はグラム陽性菌の中では最も多剤耐性菌が存在することが特徴である。セフェム系、アミノ糖系薬剤に対しては薬の透過性が低いために自然耐性でありさらにほとんどすべての抗菌剤に対して獲得耐性により高度耐性になり得る。これらのなかでも特に高度バンコマイシン耐性菌 (type A VRE) は、ペニシリン系、アミノ糖系を含めすべての抗菌剤に高度耐性の多剤耐性であることが多くその感染症に有効な抗菌剤が存在しないこともおこり得る。欧米においては院内感染症、人糞便、環境、家畜等からのバンコマイシン耐性腸球菌の分離頻度が増加している。

欧州においては、バンコマイシン類似体のアポパルシンが特にトりの家畜飼料に添加され長期に用いられたことがバンコマイシン耐性腸球菌が増えたことに影響していると考えられている。我が

国においては 1996 年春に一例の尿路感染症の患者から菌交代現象として検出された腸球菌が高度バンコマイシン多剤耐性腸球菌であったことが最初に報告された。以後国内で 8 例の患者から高度バンコマイシン耐性腸球菌が分離されているが、いずれも個別感染にとどまっている。しかしながら今後院内感染原因菌として増加する可能性がある。

人の細菌叢、環境等にバンコマイシン耐性菌が入ってくる最も可能性の高い経路の一つとして欧州と同様家畜からの経路と輸入肉の汚染経路が考えられる。1998 年 3 月の輸入鶏肉、国内鶏肉の VRE の調査で、アポパルシン使用歴のあるタイ、フランスの輸入鶏肉から高頻度に type A VRE が分離された。今回の研究班の研究においては 1999 年度の鶏肉について、全国 2 カ所の食肉検査所で採取した国内産の鶏肉、及び、横浜、神戸検疫所輸入食品検疫・検査センターで取り扱う外国由来の鶏肉の高度バンコマイシン耐性腸球菌による汚染の可能性を調べた結果を報告する。

B. 材料及び方法

腸球菌分離施設 ; 1999 年 1 月及び 3 月に検体より採集した検査材料を用いた。鹿児島 (鶏肉 30 検体)、宮崎 (鶏肉 37 検体)、横浜検疫所輸入食品・

検疫検査センター（横浜）（鶏肉 62 検体）、神戸検疫所輸入食品・検疫検査センター（神戸）（鶏肉 65 検体）。

腸球菌の分離；横浜、神戸、分離株は外国産肉（鶏肉）より分離。国内施設の分離株は国内産鶏肉より分離。腸球菌の同定は API STREP を用いた。

用いた培地；腸球菌分離には Bile esculin azide agar (Difco)を使用。薬剤耐性検査は Todd Hewitt broth (Difco)及び Todd Hewitt broth agar を用いた。

用いた薬剤と用いた薬剤濃度；バンコマイシン (vancomycin)(Van)、テイコプラニン(teicoplanin) (Teic)、アンピシリン(ampicillin) (Apc)(25µg/ml)、エリスロマイシン(Em) (12.5µg/ml)、ゲンタマイシン (Gm) (500µg/ml)、カナマイシン (Km) (1000µg/ml)、ストレプトマイシン (Sm) (1000µg/ml)、テトラサイクリン(Tc) (6µg/ml)。

腸球菌の分離；type A VRE 検出のための選択的方法を用いた。検体のガーゼのふき取りサンプルを、バンコマイシン 12.5 µg/ml 加 Bile esculin azide agar 液体培地で 48 時間選択的増菌後、バンコマイシン 12.5 µg/ml 加 Bile esculin azide agar 選択培地にまくことにより選択した。選択用寒天平板の培養時間はすべて 37℃、48 時間培養。薬剤耐性検査は薬剤平板希釈法を用い、接種菌液は 1 夜液体培地培養後の菌を x100 倍希釈することにより用いた。

バンコマイシン耐性の決定；サウザンブロット法、PCR 法を用いた。

C. 結果

輸入鶏肉合計 127 検体のうち 13 検体より type A VRE が分離された。VRE が分離された施設と、検体が由来した国、VRE の菌種、glycopeptide 耐性値は表 1 に示した。VRE が分離された 13 検体のうち 9 検体はタイ産鶏肉 43 検体から (9/43 (21%))、2 検体はフランス産鶏肉 4 検体から (2/4 (50%))、2 検体はブラジル産鶏肉 22 検体から 2/22 (9%)の分離菌であった。それぞれの VRE は PCR 法により type A VRE であることが確認された。

VRE DNA の pulsed field gel electrophoresis の結果、それぞれの VRE は異なる菌株であることが解った。その他の外国産鶏肉及び国内産鶏肉からは type A VRE は分離されなかった。

D. 考察

バンコマイシン耐性腸球菌 (VRE) は、バンコマイシン及びテイコプラニン耐性値から、type A (高度耐性)、type B (中等度耐性)、type C (低度耐性) に分類される。この中で、人感染症から分離頻度が最も高く、院内感染、及び临床上最も問題となる VRE は type A である。今回の調査では、平成 9 年度の調査と同様 type A VRE を検出することをその目的とした。その結果、国内産肉からは type A VRE は検出されなかった。外国産鶏肉の中でタイ、フランス産の鶏肉から高頻度に type A VRE が分離された。タイ、フランスは最近まで鶏飼料添加物としてアボパルシンが使用されていた国である。タイにおいては平成 10 年 7 月にアボパルシン使用を法的に禁止されたところであり、今回 type A VRE が分離された検体についても、6 検体は 7 月までに、残る 3 検体も 8 月までに処理されたものであった。今年度の両国の鶏肉からの type A VRE の分離頻度は前年度の分離頻度タイ (21%)、フランス (50%) と同じ頻度である。このことは両国の養鶏環境に現在でも VRE が広く存在することが推測される。又、今回、前回分離されなかったブラジルからの鶏肉からも VRE が検出された。ブラジルにおけるアボパルシンの使用状況は不明だが少なくとも VRE が分離された養鶏場では使用された可能性が強く推測される。国内においてこれまで鶏肉調査において type A VRE が分離された例はこれまでにない。前回と同様今回の調査でも輸入鶏肉から VRE が分離されたことは、VRE が分離される国の輸入鶏肉全体の VRE 汚染率の高さが推測される。これらの輸入肉の type A VRE が環境に拡がり、人細菌叢への伝播の可能性はある。

表1 輸入鶏肉及び国内鶏肉からの type A VRE の分離

国名	検体取扱い 検疫所	検体件数 合計	type A VRE が分離された 検体番号	菌種	Glycopeptide 耐性値 (MIC, µg/ml)		分離頻度(%)
					Vancomycin	Teicoplanin	
タイ	横浜	30	2922	<i>E. faecalis</i>	512<	16	9/43 (21)
			3001	<i>E. durans</i>	256	1	
			3004	<i>E. durans</i>	256	1	
			5075	<i>E. faecalis</i>	512	4	
			4781	<i>E. durans</i>	512<	16	
			4898	<i>E. durans</i>	512<	16	
			3002	<i>E. durans</i>	512<	1	
	神戸	13	627	<i>E. durans</i>	256	0.5	
			582	<i>E. durans</i>	512	16	
					43		
フランス	横浜	2					2/4 (50)
	神戸	2	603	<i>E. faecium</i>	512	64	
			427	<i>E. faecium</i>	512	64	
		4					
ブラジル	横浜	10					2/22 (9)
	神戸	12	625	<i>E. faecium</i>	512	64	
			626	<i>E. faecium</i>	512	64	
		22					
アメリカ 合衆国	横浜	10					32
	神戸	22					
		32					
中国	横浜	10					23
	神戸	13					
		23					
ベトナム	神戸	3					3
日本	鹿児島	30					30
	宮崎	37					37

1) ベトナム産鶏肉と横浜検疫所由来フランス鶏肉は 1999 年 3 月の検体、他はすべて 1999 年 1 月の検体。

HACCPに基づく衛生管理の評価方法の開発に関する研究

分担研究者 山崎省二 国立公衆衛生院衛生獣医学部長
研究協力者 山本茂貴 国立公衆衛生院衛生獣医学部室長

(研究要旨)

動物性加工食品等の高度衛生管理を HACCP システムを用いて行うにあたり、清浄度の評価方法が問題となる。すなわち従来より清浄度の評価方法として用いられている培養法は培養時間が長く迅速性に欠ける、微生物以外の汚れを検出できないなど実用的でない。

近年にこれらに対応するため生物発光法を用いた ATP 検出法の開発が進んでいる。この ATP 検出法は現在多くの種類が市販されているが、その性能および再現性は統一されていない。そこで国内で入手可能で比較的広く用いられている 7 社の製品の性能および再現性について比較検討を行った。7 製品の性能および再現性はまちまちであり、早急な標準化が望まれる。

A. 研究目的

動物性加工食品等の高度衛生管理を HACCP システムを用いて行うにあたり、清浄度の評価方法が問題となる。すなわち従来より清浄度の評価方法として用いられている培養法は培養時間が長く迅速性に欠ける、微生物以外の汚れを検出できないなど実用的でない。近年にこれらに対応するため生物発光法を用いた ATP 検出法が開発が進んでいる。この ATP 検出法は現在多くの種類が市販されているが、その性能および再現性は統一されていない。そこで国内で入手可能で比較的広く用いられている 7 社の製品の 1)ATP 検出能 2)発光の持続性 3)発光量に及ぼす温度の影響 4)化学物質の発光に及ぼす影響 5)微生物の放出能 6)食品検体の測定能の性能および再現性について比較検討を行った。

B. 研究方法

1 測定機器及びふきとりキット

国内で入手可能な表 1 に示す 7 社の製品を使用した。

2 ATP 標準液の調整

ATP 液 (オリエンタル 酵母製) 0.0725g を、滅菌蒸留水 100ml に溶解し (1×10^3 mol/l) としたものを標準原液として、これを更に 10 倍段階希釈し、調整した。

3 ATP 検出能の比較

各キット試薬の検体ふきとり部位に、各濃度に調整した ATP 溶液を 10 μ l を直接滴下した後、各社の取扱説明書に従ってそれぞれ発光量 (RLU) を測定した。また、ブランクとして、滅菌蒸留水を用いて同様操作を行った。これらの操作を各濃度ごとに 10 回繰り返した。

対数変換した RLU 値を示す IDEXX 社の測定器以外の 6 機種については、得られた値を対数変換してデータ処理を行った。

4 発光の持続性の比較

ATP 溶液 (1×10^3 mol/l) 10 μ l を、各社試薬キットのふきとり部位に直接滴下した後、それぞれ RLU を経時的 (発光直後、30 秒後、1, 2, 3, 5 分後) に測定した。

これらの操作を 5 回繰り返した。

得られた RLU 値については、初発を 100

%としたときの相対比で比較を行った。

なお、IDEXX 社の製品については、測定値を指数変換した上で相対比を算出した。

5 温度による発光量の変化

予め室温を 10, 20, 30 °C に設定しておいた部屋に、測定機器及び試薬キットを 1 時間静置し室温に馴化させた後、ATP 標準液 ($1 \times 10^7 \text{ mol/l}$) 10 μl を、各社キット試薬のふきとり部位に直接滴下した後、RLU を測定した。

これらの操作を 5 回繰り返した。

得られた RLU 値については、最大値を 100 %としたときの相対比を算出した。

なお、IDEXX 社製品については、測定値を指数変換した上で、相対比を算出した。

6 化学物質の発光に及ぼす影響

(1) 溶液の調製

① 0.5 % 食塩水の調製

塩化ナトリウム 0.5g を蒸留水 100ml にて解し、これをさらに、蒸気滅菌した。

② 0.005 % 亜硝酸ナトリウム水溶液の調製

亜硝酸ナトリウム 0.050g を蒸留水 1000ml に溶解し、これをさらに、蒸気滅菌した。

③ 70 % エタノール

97 % エタノールを滅菌蒸留水にて、70 % となるように調製した。

④ 塩素水の調製

次亜塩素酸ナトリウムを、有効塩素濃度 100ppm となるように滅菌蒸留水にて希釈、調製した。

(2) 比較試験

上記手法により調製した化学物質溶液 10 μl と ATP 標準液 ($1 \times 10^7 \text{ mol/l}$) 10 μl を、各社キット試薬のふきとり部に直接滴下した後、RLU を測定した。また、コントロールとして滅菌蒸留水 10 μl と ATP 標準液 ($1 \times 10^7 \text{ mol/l}$) 10 μl を同様操作で測定した。

これらの操作は、それぞれ 5 回繰り返し行った。

得られた RLU 値については、コントロールを 100 %としたときの相対比で比較を行った。

なお、IDEXX 社の製品については測定器の値を指数変換した上で相対比を算出した。

7 微生物の検出能の比較

(1) 供試菌株

大腸菌として、*Escherichia coli* DH5 α を供試した。

(2) 前培養条件

滅菌 Tryptose Phosphate Broth (Difco 社製) を水に溶解させた後、中型試験管に 10ml づつ分注したものを用意し、これに、供試菌株を 1 白金線接種した。37 °C のフランキ内で 24 時間培養を行った。

(3) 比較試験

予め前培養しておいた液体培地を滅菌生理食塩水にて 10 倍段階希釈を行い、原液と 10 倍希釈液、100 倍希釈液、1,000 倍希釈液を用意した。これを各キット試薬の検体ふきとり部位に直接滴下し、各社の取扱説明書に沿った手順にて測定値を求めた。また、ブランクとして滅菌生理食塩水を用いて、同様操作を行った。

これらの操作を 5 回繰り返した。

その際、液体培地の原液及び各希釈液 1 ml を標準寒天培地 (栄研製) に混釈培養し 37 °C 24 時間培養して CFU をカウントした。

得られた測定 RLU 値については、IDEXX 社以外の 6 機種 of 測定値を対数変換を行い、データ処理を行った。

8 食品希釈液の測定能の比較

(1) 食品希釈液の調製

① 市販牛乳希釈液

市販牛乳を滅菌リン酸緩衝液にて 10 倍段階希釈を行い、原液および 10 倍希釈液、100 倍希釈液、1,000 倍希釈液を用意した。

② 肉ストマッキング液

市販牛挽肉 10g に予め殺菌した滅菌リン酸緩衝液 90ml を加え、ストマッカー (オルガノ製) にて NormalMode, 120 秒ストマッキングを行い調製したものを原液とした。

これを滅菌リン酸緩衝液にて 10 倍段階希釈を行い、10 倍希釈液、100 倍希釈

液, 1,000 倍希釈液を用意した。

(2) 比較試験

調製した各濃度の食品希釈液 10 μ l を, 各試薬キットの検体ふきとり部位に直接滴下した後, 各試薬の取扱説明書に従ってそれぞれ RLU を測定した。その際, ブランクとして, 滅菌リン酸緩衝液を用いて, 同様操作を行った。

これらの操作を 5 回繰り返した。

得られた測定 RLU 値については, IDEXX 社以外の 6 機種種の測定値を対数変換を行い, データ処理を行った。

C. D. 結果及び考察

今回選択した 7 社の製品については, 現在国内で ATP 清浄度測定システムとして販売されているものを広く選択した。このため, 各機種, 各試薬によって, 形態や, 操作性などの点で, 違いが見られる。

キット試薬としては, 大きく次の 4 つのタイプに分けることが出来る。タイプ 1) 完全なワンショットタイプのもので, これには IDEXX 社, Biotrace 社, Charm Science 社, キッコーマン社の製品がこれにあたる。このタイプは, 試薬類とふきとり部位が完全に一体のペン型となっており, 扱いも容易である反面, ふきとり部位に ATP 抽出用の酵素液がしみ込ませているため, ふきとり検査後には対象物の再洗浄の必要がある。タイプ 2) 各試薬が一体型の反応容器内に封入されており, ふきとり部分は適宜調製するタイプのもので, MERCK 社の製品がこれにあたる。このタイプは, ふきとり部位に滅菌水をしみ込ませるため, 検査後には対象物の再洗浄の必要はないが, 試薬の入った容器の操作が複雑で, さらに操作にはかなりの力が必要である。タイプ 3) ふきとり部分が滅菌水を含ませたペン型で, 試薬類はガラス瓶に専用のノズルを着け, 必要量滴下する方式のもので, 日水製薬 (株) 製品がこれに該当する。このタイプもタイプ 2) と同様, 検査後には対象物の再洗浄の必要はない。しかしながら, メーカー側が推奨している, 試薬を必要量滴下するという方式には迅速性・正確性の部分に疑問が残る。タイプ 4) ふきとり部分は適宜調製し, 試薬類は瓶容器から必要量滴下する方式のもので, ヤ

マト科学 (株) 製品がこれにあたる。これもタイプ 2), タイプ 3) と同様, 検査後には対象物の再洗浄の必要はないが, 今回選択した測定システムの中で最も操作の多い形式のものであった。

これらの各社製品について, その性能を比較した結果は, 以下の通りであった。

1 ATP 検出能の比較

各社の測定システムの比較を行う際に, まずは各社の発光試薬部分の性能比較を行った。

ATP 標準液を用いて測定した各システムの RLU 値 (対数值) を図 1 に, 都合 10 回の測定から得た RLU 値 (対数值) の平均値, 不偏標準偏差, CV 値 (%) を表 2 に示した

各試薬の検出下限については, 図 1 において破線で示した Cut Off 値からそのレベルを推定したところ, 10¹¹ mol/swab レベルであったのが Biotrace 社の製品であり, 次いで 10¹² mol/swab レベルまで測定可能なものが IDEXX 社, MERCK 社, 日水製薬 (株) の 4 社製品であった。キッコーマン (株), Charm Science 社, ヤマト科学 (株) の製品について 10¹³ mol/swab レベルまでの測定が可能であると考えられた。

また, Biotrace 社, MERCK 社, 日水製薬 (株) 製品において, 10¹⁰ mol/swab の濃度で測定値が, 各測定器の測定範囲を超えてしまうことが確認できた。ヤマト科学 (株) の製品では, 同じく 10¹⁰ mol/swab の濃度で, RLU 値が下降する現象がみられた。

今回調査した 7 社製品ともに, 低濃度域では測定値の振れの範囲が広い傾向にあった。特に Biotrace 社の製品の測定値が, 全測定レベルで他社品よりも振れが大きく, 再現性に乏しいことが確認できた。

2 発光の持続性の比較

生物発光法が酵素法で, いかに迅速性を唱ったものとはいえ, 作業動作のちょっとした振れで測定値が大きく変わるようではかえって人為的誤差を引き起こす要因となる。このため, 試薬が反応した後の発光量の持続・安定性について, 比較を行った。

図 2 に, 発光の持続性について示した。

IDEXX 社、ヤマト科学 (株)、MERCK 社、
 日本製薬 (株) の製品については、反応後徐
 々に発光量が減少していくことが確認でき
 た。減少の幅が最も大きかったのが、IDEXX
 社の製品で、5 分間の間に初発 RLU 値の 32.1
 %にまで低下した。

また、Biotrace 社、Charm Science 社、キッ
 コーマン (株) の製品については、反応後一
 旦は RLU 値が上昇した後、徐々に下降した。

5 分経過時までの全体を通して、測定値の
 変動の幅が少なかったのは Biotrace 社、キッ
 コーマン (株)、日本製薬 (株) の製品であ
 った。

3 温度による発光量の変化

食品製造施設と一口に言っても、工程によ
 って温度はまちまちであり、特に携帯して測
 定を行うことに主眼が置かれている ATP 清
 浄度測定システムは、実際の使用に当たって
 広範な温度域で使用されることが予測され
 る。しかしながら、生物発光法は、酵素反応
 を利用したものであるために温度変化によっ
 て受ける、その影響の大小は深刻な問題であ
 るとあってよいだろう。

測定時の、温度による発光量の違いを図 3
 に示した。

10℃で最も高い測定値を示したのが、
 Biotrace 社、MERCK 社、Charm Science 社の
 製品で、これらはみな温度が高くなるに連れ、
 発光量も減少した。

20℃で最も高い測定値を示したのが、
 IDEXX 社、ヤマト科学 (株)、キッコーマン
 (株)、日本製薬 (株) の製品であった。

MERCK 社の測定器は温度補正機能を有し
 ていたため、この機能を作動させる形で測定
 を行ったが、結果を見る限り、10℃を 100
 %とすると 20℃で 90.7%，30℃で 71.8 %
 と減少しており、他社品と比較しても、本機
 の温度補正機能による顕著な効能はみられな
 かった。

IDEXX 社の製品は、10℃で 88.2%，30℃
 で 93.3 %と、今回試験した 7 社製品中、最
 も温度の影響を受けなかった。

4 化学物質の発光に及ぼす影響

加工食品には様々な化学物質が含まれてお
 り、その中には発光酵素の活性に影響を与え

ると考えられるものも少なくない。また、
 食品加工設備機器を洗浄・殺菌するために使
 用する、業務用の洗浄剤が生物発光法に与え
 る影響についての報告³⁾もあることから、こ
 れらに対する感受性も、生物発光法を食品製
 造の現場に応用する上で、考慮に入れなくて
 はならない。

各種化学物質の発光量への影響を相対値で
 表 3 に示した。

食塩 0.5 %存在下では日本製薬 (株) の製
 品のみコントロールよりも測定値が 115.48
 %と高い値を示し、他社の製品は軒並み低い
 測定値を示した。最も強く影響を受けたヤマ
 ト科学 (株) 製品では、59.97 %となった。
 このうち、最も影響を受けなかったのは
 IDEXX 社の製品で、91.73 %であった。

亜硝酸ナトリウム 0.005 %存在下では、
 Biotrace 社、キッコーマン (株)、日本製薬
 (株) の製品でコントロールよりも測定値が
 高い値を示し、他は低い値となった。中でも、
 最も強く測定値に影響を受けたのは Biotrace
 社製品で、191.65 %の相対値となり、コント
 ロールと比較して約 2 倍の測定値を示した。
 最も影響を受けなかったのは日本製薬 (株)
 の製品で 100.59 %と、ほぼコントロールと
 同様の値を示した。

エタノール 70 %存在下では、Biotrace 社
 の製品がコントロール比の相対値で 142.77
 %を示し、最も強く影響を受けていた。他の
 6 社製品は全てコントロールよりも低い値を
 示したが、日本製薬 (株) の製品は 99.63 %
 とほぼコントロールと同様の値を示してい
 た。

次亜塩素酸ナトリウム 100ppm 存在下で
 は、Biotrace 社、ヤマト科学 (株)、日本製
 薬 (株) の製品でコントロールよりも測定値
 が高くなり、他は低くなった。中でも、最も
 強く測定値に影響を受けたのは Biotrace 社製
 品で、141.66 %と高い値を示した。逆に最も
 影響を受けなかったのは、ヤマト科学 (株)
 の製品で 105.36 %、日本製薬 (株) の製品
 が 106.26 %と、ほぼコントロールと同様の
 値を示した。

今回選択した化学物質において、最も感受
 性が高かったのは Biotrace 社製品であり、逆

に影響を受けにくかったのは、IDEXX 社、キッコーマン（株）、日水製菓（株）の3社の製品であった。

5 微生物の検出能の比較

生物発光法を利用した清浄度検査は、先にも述べたとおり、ATP を含むもの全てを汚染指標として捉える手法である。すなわち、微生物と食品残渣をその対象としている。

生物発光法によって微生物を測定する場合、菌体内にある ATP を菌体外へ抽出する操作操作が不可欠で、抽出を行う試薬の能力が不足していると、十分な結果が導き出せない。

大腸菌を試料とした際の、発光量と菌数を図4に示した。また、都合5回の測定から得た RLU 値（対数値）の平均値、不偏標準偏差、CV 値（%）を表3に示した。

ここでも ATP 標準を用いたときと同様に、Biotrace 社の製品の測定値が、全体的に他社品よりも振れが大きいことが確認できた他、Charm Science 社の製品は、 10^4 CFU/swab 台以下の濃度での測定が出来なかった。

測定下限については、図4中において破線で示した Cut Off 値から測定限界を推定したところ、 10^4 CFU/swab レベルの濃度を下限とするのが、IDEXX 社、ヤマト科学（株）の製品であった。その他の5社製品は、全て 10^4 CFU/swab レベルの濃度を下限とした。

今回の結果を ATP 標準液を測定した際の結果と比較してみると、各社の製品ともほぼ同様の傾向が出ているといえる。また、細菌で知られている ATP 量は 10^{11} mol/cell であるといわれている³⁾が、今回の各社の測定値は概ねこれに合致する。このことは、各社の製品ともに、菌体からの ATP の抽出は十分に行われており、抽出酵素の能力に大きな差はないことを示唆しているものと考えられる。

6 食品希釈液の測定能の比較

生物発光法を清浄度検査に応用することで、これまでのふきとり法では無視することとなった食品残渣をも汚染指標として捉えることができるというメリットがあることは、これまで重ねて述べた。しかしながら、食品の系は複雑で、脂肪分が多いものや高分子

蛋白が多く含まれるものなど、発光酵素が有効に働くかどうかは、その対象物の性質にも大きく左右されるため、実際の導入にあたっては、これらについて検討を重ねる必要がある。

ここでは仮想食品残渣として、市販牛乳と牛挽肉を選択し、試料の濃度に対する各試薬の挙動をみた。

牛乳希釈液を試料としたものの発光量を図5に、肉ストマッキング液を試料としたものの発光量を図6に示した。

全体的には、肉ストマッキング液を試料とした場合では、牛乳希釈液を使用した場合と比べて、希釈濃度による測定値の変動は各社とも低かった。

Cut Off 値から測定下限を推定すると、牛乳希釈液においては、キッコーマン（株）の製品が、100倍希釈レベルと最も低濃度レベルまで検出し、全く検出できなかったのが Biotrace 社の製品であった。他の5社製品は10倍希釈レベルまで検出できた。肉ストマッキング液においては、キッコーマン（株）、MERCK 社の2社製品が10倍希釈レベルと最も低濃度まで検出し、Biotrace 社の製品は、これらを検出することができなかった。他の4社製品は、原液レベルで検出した。

E. 結論

今回の実験結果から、以下のことが確認できた。

- 1 ATP の検出範囲が最も広範であったのは、キッコーマン（株）の製品で 10^{11} mol から 10^{10} mol/swab レベルの範囲であり、Biotrace 社の製品で 10^{11} mol/swab レベルのみ確実に測定できた。
- 2 発光開始5分で発光量が90%以上残存していたのは、キッコーマン社、Biotrace 社、日水製菓（株）の製品であった。最も発光量が下降したのは、IDEXX 社の製品であった。
- 3 20℃では全てのキットの発光量は安定していたが、10℃でキッコーマン（株）の製品が、30℃では、IDEXX 社の製品以外の全てが発光量が低下した。
- 4 測定に対する化学物質の影響試験において、食塩0.5%では、日水製菓（株）の製品

はコントロールと比べて 115.4 %と上昇したが、他は全て低下し、特にヤマト科学（株）の製品はコントロールに比べて 59.97 %と最も低下した。亜硝酸ナトリウム 0.005 %に対して、Biotrace 社の製品が 191.65 %、70 %エタノールと次亜塩素酸ナトリウムに対して約 140 %に上昇した。一方最も低下したのは MERCK 社の製品で、それぞれ 53.74 %、76.17 %、73.83 %であった。日水製薬（株）製品はほとんど影響を受けなかった。他は 10 から 26 %低下したが、キッコーマン（株）社の製品は、亜硝酸ナトリウムには影響を受けなかった。

- 5 微生物の検出能力については、IDEXX 社、ヤマト科学（株）製品の検出下限が 10^4 CFU/swab レベルであり、他の 5 社製品は 10^1 CFU/swab レベルであった。
- 6 食品希釈液の検出では、牛乳希釈液・肉ストマッキング液ともに、キッコーマン（株）の製品は、最も低濃度レベルまで検出した。全く検出できなかったのが Biotrace 社の製品であった。

今回の実験では、単純な各試薬の性能比較を行うにとどまった。清浄度検査システムとしての比較を考えると、これらに加えて綿棒部分によるふき取り効率も評価に入れて総合的に比較する必要がある。

いずれにせよ、各社性能が様々で、実務に応用するにあたっては、早急に標準化する必要がある。

F. 研究発表

1. 論文発表 なし
2. 学会発表

山本茂貴、塚下和彦、山崎省二。

生物発光法を利用した清浄度測定キットの比較。第 20 回日本食品微生物学会 学術総会講演要旨集。P. 121. 1999 年

表1 ATP測定機器及び試薬

会社名	測定機器	キット試薬
IDEXX Laboratories社	LIGHTNING	LIGHTNING Swab Device
Biotrace社	UNI-LITE Xcel	Clean-Trace Rapid Cleanliness Test
Charm Science社	Luminator	Pocket Swab
キッコーマン(株)	ルミテスター C100	ルシバック
MERCK社	HY-LiTE	HY-LiTE Refill Pack
日本製薬(株)	ルシフェライト LF100	ルシフェライト「ニッスイ」
ヤマト科学(株)	コンパクトルミ VS500	コンパクトルミ専用試薬キット ZS101

表2 ATP標準溶液をswab部分に直接滴下したときの測定値の挙動

製品名	濃度 mol/swab	平均値 log	標準偏差 n-1	CV(%)
IDEXX Laboratories社 LIGHTNING	blank	2.56	0.37	14.30
	-15	2.80	0.83	29.61
	-14	2.64	0.16	5.98
	-13	3.40	0.18	5.38
	-12	4.44	0.11	2.41
	-11	5.23	0.10	1.84
-10	6.96	0.20	2.82	
Biotrace社 UNI-LITE Xcel	blank	1.42	0.21	14.93
	-15	2.80	0.52	18.50
	-14	1.80	0.36	19.79
	-13	2.37	0.43	18.14
	-12	3.22	0.84	26.15
	-11	4.67	0.43	9.21
-10	Scale Over			
Charm Science社 Pocket Swab	blank	0.00	0.00	0.00
	-15	0.34	1.08	312.06
	-14	0.00	0.00	0.00
	-13	3.65	0.13	3.45
	-12	4.69	0.33	7.08
	-11	5.57	0.06	1.02
-10	5.88	0.03	0.51	
キッコーマン(株) ルシバック	blank	1.02	0.27	25.88
	-15	1.26	0.28	22.54
	-14	1.72	0.11	6.22
	-13	2.60	0.16	7.04
	-12	3.66	0.10	2.62
	-11	4.53	0.12	2.54
-10	5.61	0.08	1.43	
MERCK社 HY-LiTE	blank	1.58	0.22	13.71
	-15	1.64	0.23	13.90
	-14	1.95	0.40	20.26
	-13	2.58	0.24	9.07
	-12	3.51	0.09	2.54
	-11	4.46	0.13	2.80
-10	Scale Over			
日本製薬(株) ルシフェライト LF100	blank	1.43	0.56	39.09
	-15	1.89	0.22	11.59
	-14	1.90	0.12	6.21
	-13	2.60	0.19	7.27
	-12	3.32	0.13	3.89
	-11	4.51	0.14	3.19
-10	Scale Over			
ヤマト科学(株) コンパクトルミ VS500	blank	1.37	0.40	28.83
	-15	2.05	0.35	16.93
	-14	2.27	0.16	7.05
	-13	3.23	0.02	0.65
	-12	4.16	0.05	1.08
	-11	4.51	0.01	0.24
-10	1.37	1.00	72.63	

n=10

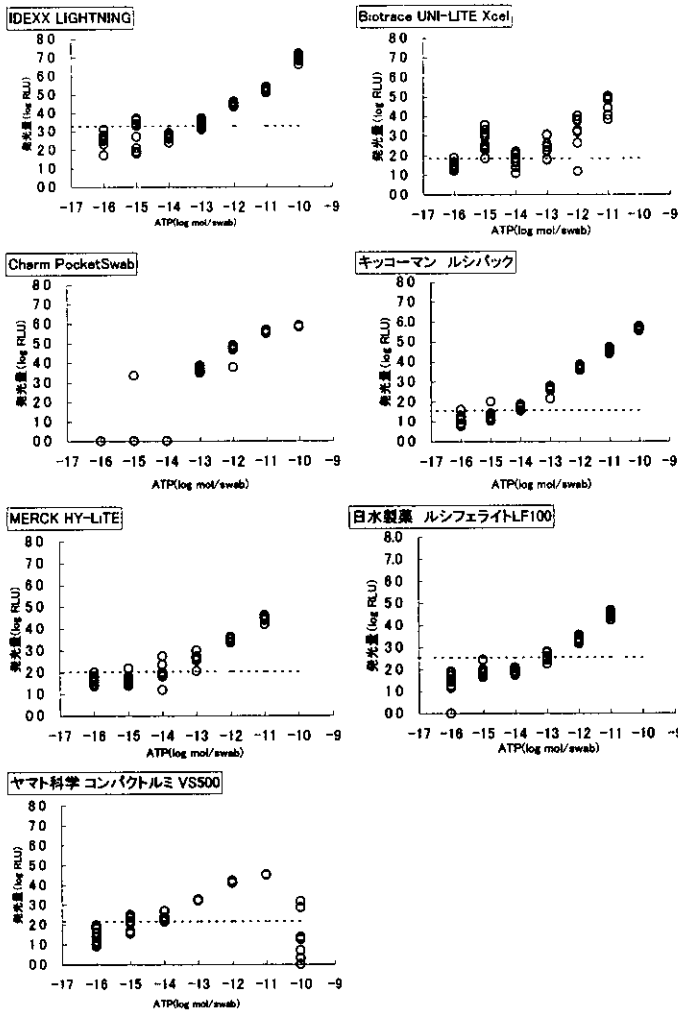


図1 ATP標準溶液をswab部分に直接滴下したときの発光量

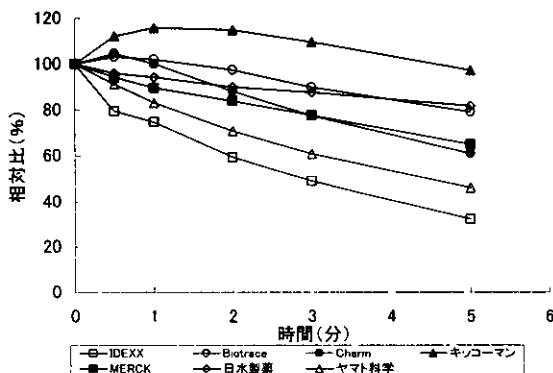


図2 各試薬の発光の経時的変化

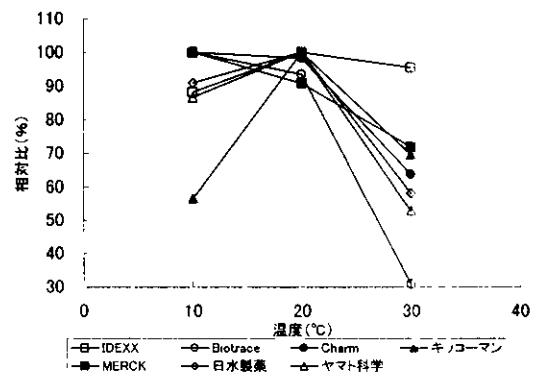


図3 各試薬の温度感受性

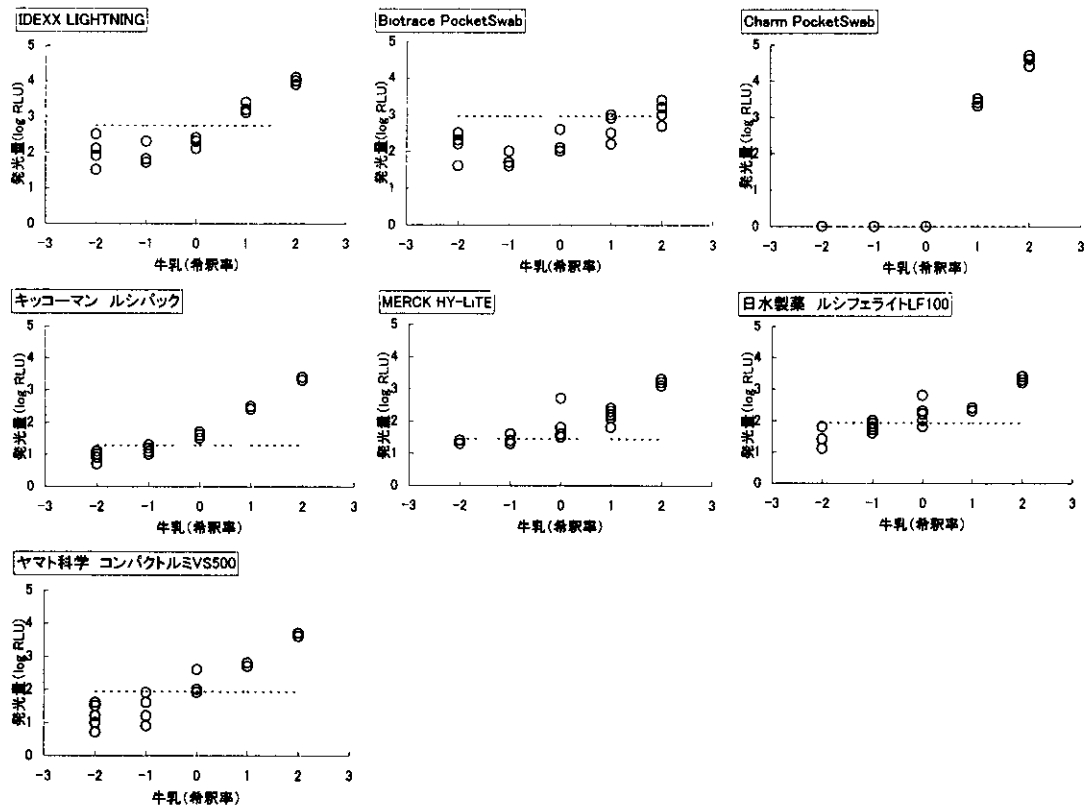


図5 市販牛乳希釈液をswab部分に直接滴下したときの発光量

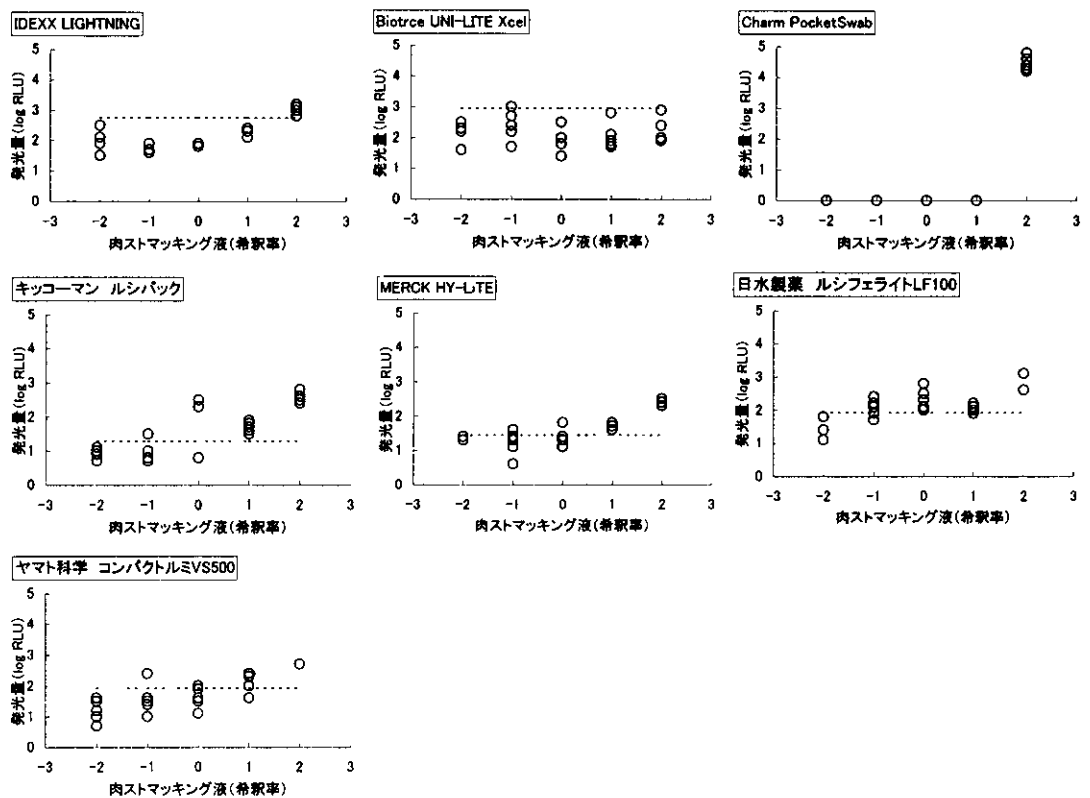


図6 肉スタマッキング液をswab部分に直接滴下したときの発光量

食品に起因する危害に関するデータベース及びプレディクティブモデルの開発に関する研究

分担研究者 難波 江
社団法人全国牛乳協会

I. 研究の目的

近年、新たな食品の衛生管理の手法としてのHACCPシステムが注目され、国際的にも広くこのシステムを導入する動きがあり、わが国においても当該システムの導入の検討が進められている。

牛乳、乳製品については、食品衛生法に基づく総合衛生管理製造過程の承認制度が導入され、その対象食品とされたことから、乳業工場における当該システムの導入が緊急の課題となっている。

HACCPシステムとは、食品中の危害の発生要因を明らかにし、それを工程中で適切に制御することにより、危害の発生を予防しようとするシステムであり、HACCPの実施計画の策定にあたっては、食品中の病原微生物の挙動及び汚染実態、その影響因子と制御方法等を的確に把握する必要がある。

そこで本研究では、乳業工場におけるHACCPプラン策定及びその評価の基礎となるデータベース及び食品中の病原微生物等の適切な除去又は低減の予測モデルについて研究班を組織し検討することとした。(研究班メンバー 別添-1)

II. 研究の方法

1. 第1段階としてデータベース開発の基礎となる乳・乳製品製造における病原微生物の消長、制御等に関わる内外の既存文献をコンピューター検索した。

- 1) 検索用ソフトは、MEDLINE, CABA, JICST, JOISを用いた。
- 2) 検索のキーワードを以下(別表1)のとおり整理し、文献タイトル(文献名、著者名、ジャーナル名、年号(Vol No)、ページ等)を検索した。
- 3) 検索した文献リストについて、文献タイトル等からその内容について評価(推測)し、活用可能と考えられる文献の絞り込みを行った。

(別表-1)

検索に用いたキーワード

(病原体等)	(製品)	(制御等)
Bacillus Bacilli Salmonella	*バター(butter) *バターオイル (butter oil) *れん乳/濃縮乳 (evaporated milk /condensed milk) *粉乳 (dried milk/dried milk products/ infant formula) *ホエー/乳清 (whey) *チーズ(cheese) *クリーム (cream) *醗酵乳/ヨーグ ルト/乳酸菌飲料 (cultured milk) *アイスクリーム (ice cream) *生乳 (raw milk) *ミルク/乳汁 (milk)	増殖(Proliferation) 発育(Growth) 死滅(Death) 殺菌(Killing) 生存性(survive. -val) 加熱(Heat) 温度(temperature) 水分活性(Water activity .Aw) pH(Hydrogen ion conce ntration. pH) 食品添加物(Food additiv es) 浸透圧(osmotic pressure) 酸化還元電位(oxidation reduction potential) 静菌(bacteriostasis)
Listeria monocytogenes Shigella		
Campylobacter Yersinia Clostridium Clostridia deterioration-control putrefaction-control		
Staphylococcus Staphylococci Brucella Streptococcus Streptococci amine-formation or production		
Escherichia coli Mycobacterium Mycobacteria Protozoa Coxiella burnetii		

Ⅲ. 結果及び考察

1. 文献タイトルの検索結果は、以下（別表2）のとおり。

（別表-2）

文献タイトル検索結果

(病原体等)	MEDLINE	CAB	JICST	計
Bacillus Bacilli Salmonella	1460 373(追加・タイトル)		238	2071
Listeria monocytogenes Shigella	727		216	943
Campylobacter	52	91	26	169
Yersinia	44	105	53	202
Clostridium	25	205	52	282
Clostridia deterioration-control putrefaction-control (乳酸菌飲料)	0 79	51 495	1 202	52 897
Staphylococcus Staphylococci	1735 457	1176	241	3609
Brucella	366	66	1	433
Streptococcus Streptococci	1428 352	2684	279	4743
amine-formation or production	24, 59	18	128	229
Escherichia coli Mycobacterium Mycobacteria Protozoa Coxiella burnetii	2166	1271	92	3529

2. 文献タイトル等からその内容について評価（推測）し、活用可能と考えられる文献の絞り込みを行ったが、その結果は別添-2のとおり。

IV. 今後の課題

来年度以降、次の項目に関する研究を継続する必要がある。

1. リストアップした文献についての更なる絞り込み及びこれに基づくオリジナル文献の収集
2. コンピューター検索でリストアップできなかった文献の収集
3. 収集された文献の解析及び評価並びにデータ等のピックアップ及び整理
4. データベースの開発
5. 既存文献から得ることができなかったデータを収集するための研究の実施
 - 1) 新たな条件下での病原微生物の消長、制御等に関わるデータの収集
 - 2) 既存文献のデータを補完するデータの収集
6. 乳・乳製品製造における病原微生物等の適切な除去又は低減の予測モデルの開発

別添－１

牛乳乳製品に起因する危害に関するデータベース及び
プレディクティブモデルの開発に関する研究班（H10）

〔主任研究者〕

熊谷 進 国立感染症研究所 食品衛生微生物部長

〔分担研究者〕

難波 江 (社)全国牛乳協会 専務理事

〔研究協力者〕

植松 豪 森永乳業(株)品質管理部 部長

亀井 俊郎 明治乳業(株)品質保証部 部長

金盛 徹 (株)ヤクルト本社 開発部部長

近 義弘 (社)全国牛乳協会 事務局長

根橋 秀邦 雪印乳業(株)品質保証部 課長

平野 進 森永製菓(株)品質管理部 部長

〔研究協力者－検索〕

井上 雄二 森永乳業(株)分析センター特殊検査室長

森 浩晴 明治乳業(株)品質保証部 商品安全G

高見沢 康太郎 (株)ヤクルト本社 中央研究所主席研究員

坂本 道生 雪印乳業(株)品質保証部分析センター

広田 哲士 森永製菓(株)品質管理部 主任研究員

(黒田 和彦)

注：()は、引継ぎ協力者