

十一

一
サルモネラグラム

年度	月	検査名	検査数	陽性数	株番	年月日	種類	O	H1	H2	血清型
								+	+	-	-
8	7	プロト-食鳥	18	1	213	281	1996/7/23				
8	3	プロト-中抜	12	1	281	397	1996/3/1				
10	11	プロト-中抜	30	4	236	310	1998/11/16				
9	11	プロト-糞便	12	0	334	490	1998/9/7				
9	12	プロト-糞便	9	2	152	199	1997/11/18		16	v	-
9	9	プロト-糞便	4	0	156	207	1998/7/13		16	v	-
9	12	プロト-糞便	9	0	158	210	1998/9/28		3,10	k	1.5
9	9	プロト-糞便	4	0	156	205	1998/7/13		3,10	k	1.5
9	9	プロト-糞便	0	0	321	462	1997/6/23		3,10	k	1.5
9	9	プロト-糞便	3	2	259	350	1997/12/26		4	f,gs-	Agona
9	9	プロト-糞便	3	255	342	1997/8/5		4	f,gs-	Agona	
9	9	プロト-糞便	0	0	253	339	1997/6/23		4	f,gs-	Agona
9	9	プロト-糞便	5	2	258	348	1997/11/11		4	L	1.7
10	6	プロト-糞便	16	6	239	313	1998/8/19		4	r	1.7
10	9	プロト-糞便	0	0	245	328	1996/10/14		4	z10 12	Halifa
10	9	プロト-糞便	0	0	253	338	1997/6/23		4	e,h	Kaapstad
10	9	プロト-糞便	0	0	254	341	1997/7/7		4	d	1.7
10	9	プロト-糞便	0	0	256	345	1997/9/16		4	d	1.7
10	9	プロト-糞便	17	2	158	209	1998/9/28		4	d	1.7
10	7	プロト-糞便	9	0	326	481	1997/11/1		4	b	Sofia
10	7	プロト-糞便	0	0	242	320	1996/6/24		4	b	Sofia
8	7	プロト-糞便	8	5	243	321	1996/7/1		4	1,2	Typhimurium
10	5	プロト-糞便	5	0	161	216	1998/6/11		4	1,2	Typhimurium
10	7	プロト-糞便	9	1	301	424	1998/7/13		4	1,2	Typhimurium
10	5	プロト-糞便	5	1	300	423	1998/5/25		4	1,2	Typhimurium
10	11	プロト-糞便	6	3	228	299	1998/11/9		4	1,2	Typhimurium
10	12	プロト-糞便	5	3	309	435	1998/12/3		4		
8	5	プロト-糞便	4	3	240	315	1996/5/14		4		
10	12	プロト-糞便	1	1	310	437	1998/12/3		4		
10	10	プロト-糞便	20	9	139	181	1998/10/6		6,8	e,h	Newpout
9	10	プロト-糞便	22	10	325	477	1997/10/1		7	r	1.5
9	11	プロト-糞便	11	8	326	479	1997/11/1		7	r	1.5
9	12	プロト-糞便	0	0	260	352	1998/1/12		7	r	1.5
10	5	プロト-糞便	20	0	260	354	1998/1/17		7	r	1.5
9	9	プロト-糞便	30	0	260	355	1998/1/19		7	r	1.5
9	11	プロト-糞便	0	0	243	323	1996/7/8		7	r	1.5
9	12	プロト-糞便	10	0	255	343	1997/8/25		7	r	1.5
10	5	プロト-糞便	20	4	132	170	1998/5/18		7	r	1.5
9	9	プロト-糞便	30	6	129	167	1998/2/2		7	r	1.5
10	4	プロト-糞便	10	0	132	171	1998/5/25		7	r	1.5
10	7	プロト-糞便	20	8	130	168	1998/4/13		7	r	1.5
10	9	プロト-糞便	20	2	134	174	1998/7/6		7	r	1.5
10	9	プロト-糞便	20	3	137	179	1998/9/7		7	r	1.5

山梨県食肉衛生検査所	10 9 プロイラー 食鳥	3	2 334 489	1998/9/7	7 r 1.5 Infantis
山梨県食肉衛生検査所	10 8 プロイラー 食鳥	2	1 332 487	1998/8/3	7 r 1.5 Infantis
山梨県食肉衛生検査所	9 11 プロイラー 食鳥	8	1 327 482	1997/11/11	7 r 1.5 Infantis
名古屋市食肉衛生検査所	10 11 プロイラー 食鳥	2	2 337 494	1998/11/9	7 r 1.5 Infantis
山梨県食肉衛生検査センター	10 5 プロイラー 食鳥	2	0 154 202	1998/6/15	7 r 1.5 Infantis
新潟県食肉衛生検査センター	10 9 プロイラー 食鳥	20	1 328 483	1998/5/18	7 r 1.5 Infantis
新潟県食肉衛生検査センター	10 5 プロイラー 食鳥	20	8 138 180	1998/9/7	7 r 1.5 Infantis
新潟県食肉衛生検査センター	10 5 プロイラー 食鳥	20	11 133 172	1998/5/18	7 r 1.5 Infantis
新潟県食肉衛生検査センター	10 7 プロイラー 食鳥	20	14 135 175	1998/7/6	7 r 1.5 Infantis
新潟県食肉衛生検査センター	10 8 プロイラー 食鳥	20	0 135 176	1998/7/13	7 r 1.5 Infantis
新潟県食肉衛生検査センター	10 7 プロイラー 食鳥	20	5 136 177	1998/8/3	7 r 1.5 Infantis
新潟県食肉衛生検査センター	10 5 プロイラー 食鳥	20	0 136 178	1998/8/10	7 r 1.5 Infantis
新潟県食肉衛生検査センター	10 4 プロイラー 食鳥	10	10 131 169	1998/4/13	7 r 1.5 Infantis
新潟県食肉衛生検査センター	10 10 プロイラー 食鳥	20	17 140 183	1998/10/6	7 r 1.5 Infantis
新潟県食肉衛生検査センター	10 10 プロイラー 食鳥	3	0 140 184	1998/10/19	7 r 1.5 Infantis
新潟県食肉衛生検査センター	10 10 プロイラー 食鳥	3	1 268 364	1998/10/5	7 r 1.5 Infantis
新潟県食肉衛生検査センター	10 6 プロイラー 食鳥	3	1 163 219	1998/6/9	7 r 1.5 Infantis
新潟県食肉衛生検査センター	10 6 プロイラー 食鳥	3	0 242 319	1996/6/10	7 r 1.2 Virchow
新潟県食肉衛生検査センター	10 10 プロイラー 食鳥	3	0 243 324	1996/7/13	7 r 1.2 Virchow
新潟県食肉衛生検査センター	10 10 プロイラー 食鳥	3	0 324 475	1997/9/17	7 r 1.2 Virchow
新潟県食肉衛生検査センター	9 7 プロイラー 食鳥	4	2 254 340	1997/7/7	7 r 1.2 Virchow
新潟県食肉衛生検査センター	8 2 プロイラー 食鳥	4	1 249 332	1997/2/3	7 r 1.5 Virchow
新潟県食肉衛生検査センター	9 6 プロイラー 食鳥	4	3 253 337	1997/6/23	7 r 1.2 Virchow
新潟県食肉衛生検査センター	8 11 プロイラー 食鳥	6	4 246 329	1996/11/25	7 r 1.2 Virchow
新潟県食肉衛生検査センター	10 7 プロイラー 食鳥	15	4 156 204	1998/7/13	7 r 1.2 Virchow
新潟県食肉衛生検査センター	10 1 7 プロイラー 食鳥	4	1 173 238	1999/1/17	7 r 1.2 Virchow
新潟県食肉衛生検査センター	9 3 プロイラー 食鳥	4	1 172 237	1998/3/5	7 r 1.2 Virchow
新潟県食肉衛生検査センター	9 8 プロイラー 食鳥	8	3 171 236	1997/8/8	7 r 1.2 Virchow
新潟県食肉衛生検査センター	7 プロイラー 食鳥	27	6 45 56	1998/10/19	7 r 1.2 Virchow
新潟県食肉衛生検査センター	7 プロイラー 食鳥	12	1 263 359	1997/10/6	7 r 1.2 Virchow
新潟県食肉衛生検査センター	7 プロイラー 食鳥	12	0 309 436	1998/12/3	7 r 1.2 Virchow
新潟県食肉衛生検査センター	7 プロイラー 食鳥	12	1 308 434	1998/5/28	7 r 1.2 Virchow
新潟県食肉衛生検査センター	7 プロイラー 食鳥	12	0 310 438	1998/12/3	7 r 1.2 Virchow
新潟県食肉衛生検査センター	10 10 プロイラー 食鳥	1	1 227 298	1998/10/19	7 r 1.2 Virchow
新潟県食肉衛生検査センター	8 6 プロイラー 食鳥	6	2 142 189	1996/6/24	7 r 1.2 Virchow
新潟県食肉衛生検査センター	9 10 7 プロイラー 食鳥	4	2 264 360	1997/10/6	7 r 1.2 Virchow
新潟県食肉衛生検査センター	10 5 プロイラー 食鳥	12	0 323 470	1997/8/25	8 k 1.5 Blockley
新潟県食肉衛生検査センター	7 プロイラー 食鳥	12	0 239 314	1998/8/19	8 k 1.5 Blockley
新潟県食肉衛生検査センター	7 プロイラー 食鳥	12	0 243 322	1996/7/8	8 z10 enx Hadar
新潟県食肉衛生検査センター	9 1 プロイラー 食鳥	9	5 260 351	1998/1/5	8 z10 enx Hadar
新潟県食肉衛生検査センター	9 10 7 プロイラー 食鳥	4	0 258 349	1999/11/17	8 z10 enx Hadar
新潟県食肉衛生検査センター	9 9 7 プロイラー 食鳥	9	1 257 347	1997/10/21	8 z10 enx Hadar
新潟県食肉衛生検査センター	9 9 7 プロイラー 食鳥	9	2 256 344	1997/9/16	8 z10 enx Hadar
新潟県食肉衛生検査センター	9 10 7 プロイラー 食鳥	0	243 325	2006/7/13	8 z10 enx Hadar

カンピロクエリー

山梨県食肉衛生検査所	ブロイラー	食鳥	0	267	331	1998/4/20	不明	1	TRUE	TRUE	
福島県食肉衛生検査所	ブロイラー	中抜	30	13	202	1998/11/16	不明	13	TRUE	TRUE	
福島県食肉衛生検査所	ブロイラー	中抜	30	17	201	1998/10/12	不明	17	TRUE	TRUE	
徳島県食肉衛生検査所	成鶏	食鳥	1	1	197	1998/11/10	coli	1	TRUE	TRUE	
神奈川県食肉衛生検査所	成鶏	食鳥	2	1	188	245	1998/7/7	jejuni	1	TRUE	TRUE
徳島県食肉衛生検査所	成鶏	食鳥	1	1	196	258	1998/10/13	jejuni	1	TRUE	TRUE
神奈川県食肉衛生検査所	成鶏	食鳥	1	1	198	260	1998/12/8	jejuni	1	TRUE	TRUE
徳島県食肉衛生検査所	成鶏	食鳥	0	186	243	1996/12/3	jejuni	1	TRUE	TRUE	

食肉のサルモネラモニタリングにおける米国連邦食肉検査規則及び食品衛生検査指針による検出状況

後藤公吉（新潟県保健環境科学研究所），渡昭博（群馬県中央食肉衛生検査所），瀬ノ口芳文（宮崎県高崎食肉衛生検査所），春口真一（鹿児島県末吉食肉衛生検査所），増田高志（静岡県環境衛生科学研究所），塚本定三（大阪府公衆衛生研究所），小沼博隆（国立衛生試験所），品川邦汎（岩手大学）

要旨

わが国の対米輸出食肉と畜場（3箇所）においては、衛生的な食肉生産を行うために米国と畜場行わされている枝肉のサルモネラのモニタリング検査を行うことが義務付けられた。このモニタリング検査では、従来より、我が国で行われている培地及び方法とは異なるのみでなく、米国FSIS（米国食品安全局）が示している食肉のサルモネラ検査法は、検出感度97%以上、検出特異性96%以上 の方法であることが規定されている。

今回、我が国で容易入手できる培地等を用いて実施できるサルモネラの検査法を確立するためにFSIS法と我が国で行われている食品衛生検査指針法（食衛法）の検査方法について比較検討した。その結果硫化水素產生サルモ

ネラ菌ではFSIS法と食衛法は同等の成績であったが、硫化水素非產生サルモネラ菌では食衛法は明らかに低い検出率であることが判った。

1 はじめに

米国では米国連邦食肉検査規則が平成8年7月25日付けで一部改正され、衛生的な食肉生産を行うために、HACCPシステムを用いた自主衛生管理を実施することに伴い行政機関による検証として指名検査員により枝肉のサルモネラモニタリング検査が義務付けられた。これに伴い、わが国の対米輸出食肉と畜場（3箇所）においても、サルモネラのモニタリングが要求されてきた。米国FSIS（米国食品安全局）が示している食肉のサルモネラ検査法は、検出感度97%以上、検出特異性96%以上 の方法であると規定されている。

今回、FSIS法とわが国で行われている食品衛生検査指針法（食衛法）を用いた食肉のサルモネラモニタリング検査について比較検討した。

材料および方法

1 試料の調整

使用菌株：食中毒由来の H_2S 产生株および弱又は非产生株の*S. Typhimurium*(ST)を使用した。検査方法は2段階の増菌培養を含む検査法の比較であるため、方法間の差異

を明らかにするために少量菌接種で行った。使用菌株はあらかじめ1週間間隔でトリプトソイ寒天平板に継代培養したものを用いた。試験前日にトリプトソイブイヨンに4時間培養した菌液を 10^{-7} 及び 10^{-8} 希釈液を高濃度及び低濃度菌液として試料に接種した。また、FSIS法に指定された試験菌量30~300個/1試料に対応して200個/1試料の接種試料についてもあわせて行った。

食肉：ブロックの豚肉（ $15 \times 15 \times 2\text{cm}$ ）および挽肉（サルモネラ陰性を確認、肉の生菌数は 2.2×10^5 ）

食肉への菌接種：ブロック肉表面および挽肉に少量（2~6cfu）、多量（14~17cfu）及び規定量（200cfu）を 100cm^2 , 25gあたり接種した。

陰性対象：菌未接種。

試料採取方法：

ふき取りには 100cm^2 の拭き取り枠とピンセット及びタンポンはスポンジWHIRL-PAK（輸入元：エルメックス）を使用した。拭き取り試料の袋ははさみで切り開いてブロック肉表面にふき取り枠をあてがい少量の培地を含ませたタンポンで 100cm^2 を拭き取りこれを増菌培養用試料とした。挽肉はストマッカ一袋に25gを入れてあるので改めてこの中から計り取ることなく、全量試料として増菌培養を行った。

2 サルモネラ試験

1) FSIS法（図1）

拭き取りタンポンは50mlのBPWをストマッカ一袋に入れて、肉試料の挽き肉はBPW225mlを加えてそれぞれ2分間ストマッキングした。それぞれ試料の入ったBPW培地は36°C, 24時間培養した。この0.5mlをTTブイヨン10mlとRVブイヨン10mlの入った試験管に加えて42°C, 24時間増菌培養を行った。サルモネラ菌の分離培養には増菌培養液の1白金耳をBGS寒天及びDMLIA寒天培地に画線塗抹して36°C, 24時間培養を行った。

BGS寒天及びDMLIA寒天培地に発育した集落の中から疑わしいコロニーをそれぞれ3個釣菌してTSI及びLIAに接種して36°C, 24時間培養して典型的なサルモネラ属の性状を示したもののはO抗原による血清型別試験を行った。典型的でないがサルモネラ属が疑われる場合は、更に生化学性状調べて判定した。

2) 食品衛生検査指針による方法(図2)

拭き取りタンポンは50mlのEEMをストマッカ一袋に入れ、挽き肉は25gを滅菌サジを用いてストマッカ一袋に計り取りEEM225mlを加えてそれぞれ2分間ストマッキングをした後、前増菌培養を行った。それぞれ試料の入ったEEM培地は35°C, 18時間培養後、この1.5mlをSCブイヨン15mlとSBGブイヨン15mlの入った試験管に加えて43°C, 18時間増菌培養を行った。培養液の1白金耳をMLCB及びDHL寒天に画線塗抹し、35°C, 18時間培養後、発育した集落の中でサルモネラを疑うコロニーは3個をTSIおよびLIM培地に

接種して性状を確認し、O抗原による血清型別試験を行った。

試験の成績は様式（表1）により記載して集計を行い、解析した。

結果及び考察

1 各種分離培地のサルモネラ様コロニーの発育状況

接種菌量の少ない試料、接種菌の硫化水素非産生菌接種ではFSIS法で高い発現率を示した。硫化水素産生菌を多く接種した試料では食衛法で高い発現率を示した（表2）。

2 サルモネラの検出率

挽肉のサルモネラ検出：ST (H_2S 産生株を少数(2~5cfu)接種した試料では、FSIS法(検出率:70~100%)および食衛法(75~100%)のいずれでも差は見られなかつた。しかし、 H_2S 弱・非産生株では、FSIS法は検出率74~100%で、食衛法は0~48%と明らかに差が見られた。同様に、 H_2S 弱産生株を多数(14~17cfu)接種した試料では、食衛法は検出率40~80%と少数接種よりも上昇した。しかし H_2S 非産生株ではいづれでも食衛法は低かった。FSIS法および食衛法による検出特異性(分離平板培地上のST陽性集落/ST疑わしい集落)は H_2S 産生株ではあまり差は見られなかつたが、 H_2S 弱・非産生株では食衛法で明らかに低かった。（表3）

肉表面のサルモネラ検出：ST (H_2S 産生株) 少数接種試

料について拭き取り検査での検出率はFSIS法で92%，食衛法では83～96%であった。しかしH₂S弱・非産生株では、食衛法は0～37%と低く、また多数接種試料でも検出率は75～87%であった。（表4）

3 サルモネラ菌の検出特異性

FSIS法の規定によれば検出感度97%以上、検出特異性96%が要求している。我々は検体からのサルモネラ様集落の釣菌率に同定率を加えた特異性を図2に示した計算式による検出特異性を比較した。H₂S非産生及び弱産生菌接種試料及び接種菌量の少ない試料ではFSIS法で特異性が高く、硫化水素産生接種菌で且つ多い接種菌量の試料では食衛法で高い傾向が見られた（表5）。

4 FSIS法で規定した菌量の試料による比較

未接種試料からの陽性は挽肉及びふき取りとも見られなかった。H₂S産生菌接種試料では挽肉、ふき取りとともにFSIS法で検出率が高く特にTT又はRVによる増菌培養からBGS寒天平板による分離で100%で規定に合致した。食衛法ではふき取りでは100%であったが挽肉では30%～70%とやや低かった。H₂S非産生株接種試料では食衛法及びTT及びRV増菌であってもDMLIA寒天平板による分離では0～40%であった（表6）。

以上の成績から、食肉のサルモネラ検査には食衛法はH₂S産生株を対象とした場合、FSIS法とはほとんど変わらないが、H₂S弱・非産生株の検出ではFSIS法に比べて明らかに

低く、さらに検出特異性も低いことが明らかとなつた。
わが国におけるサルモネラ検査法は、 H_2S 株を対象とした
ものであり、今後、食肉のサルモネラモニタリング検査
では、 H_2S 産生、非産生の両方を検出する方法が必要と考
えられる。

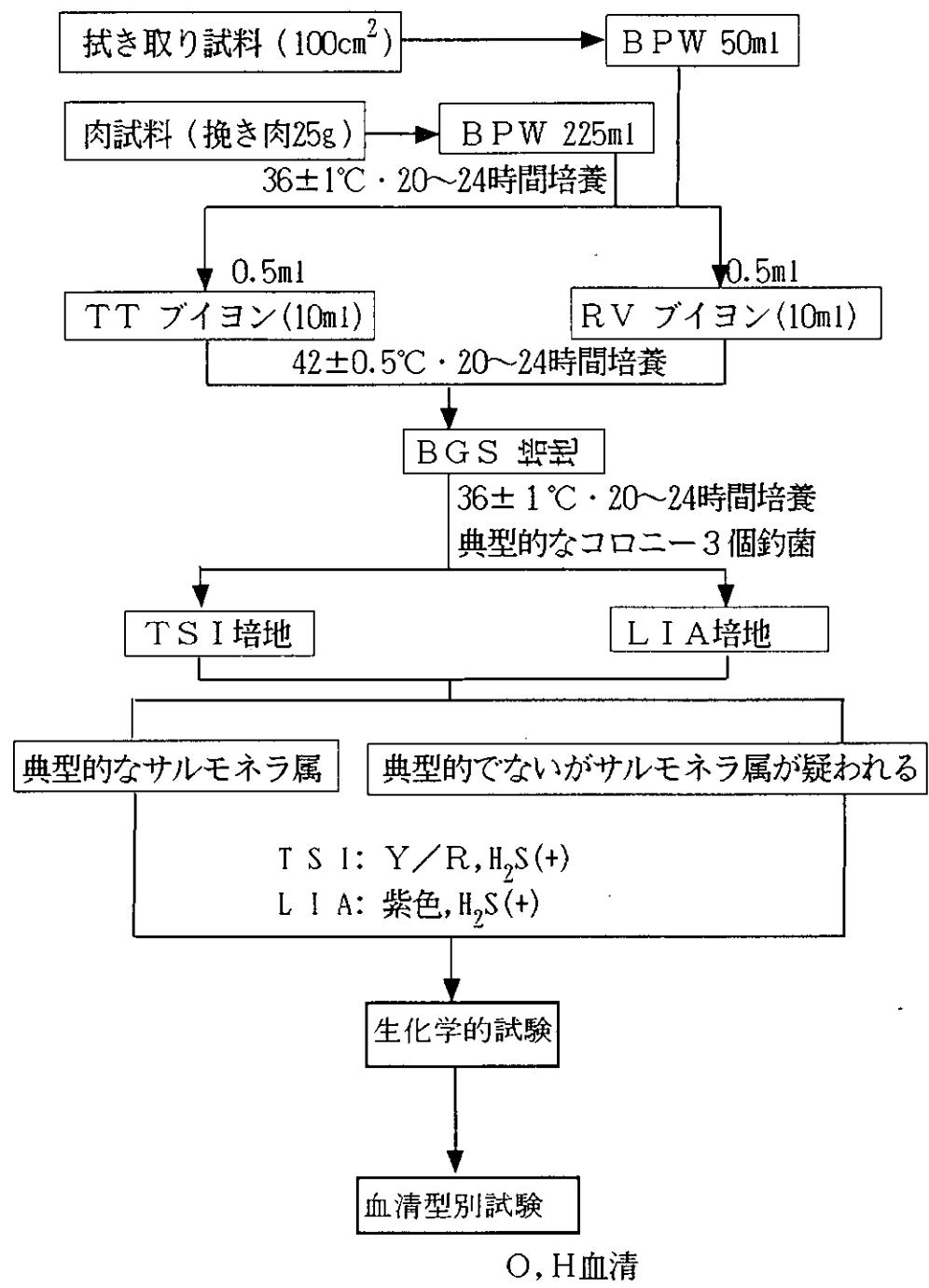


図 1 FSISによるサルモネラ検査法

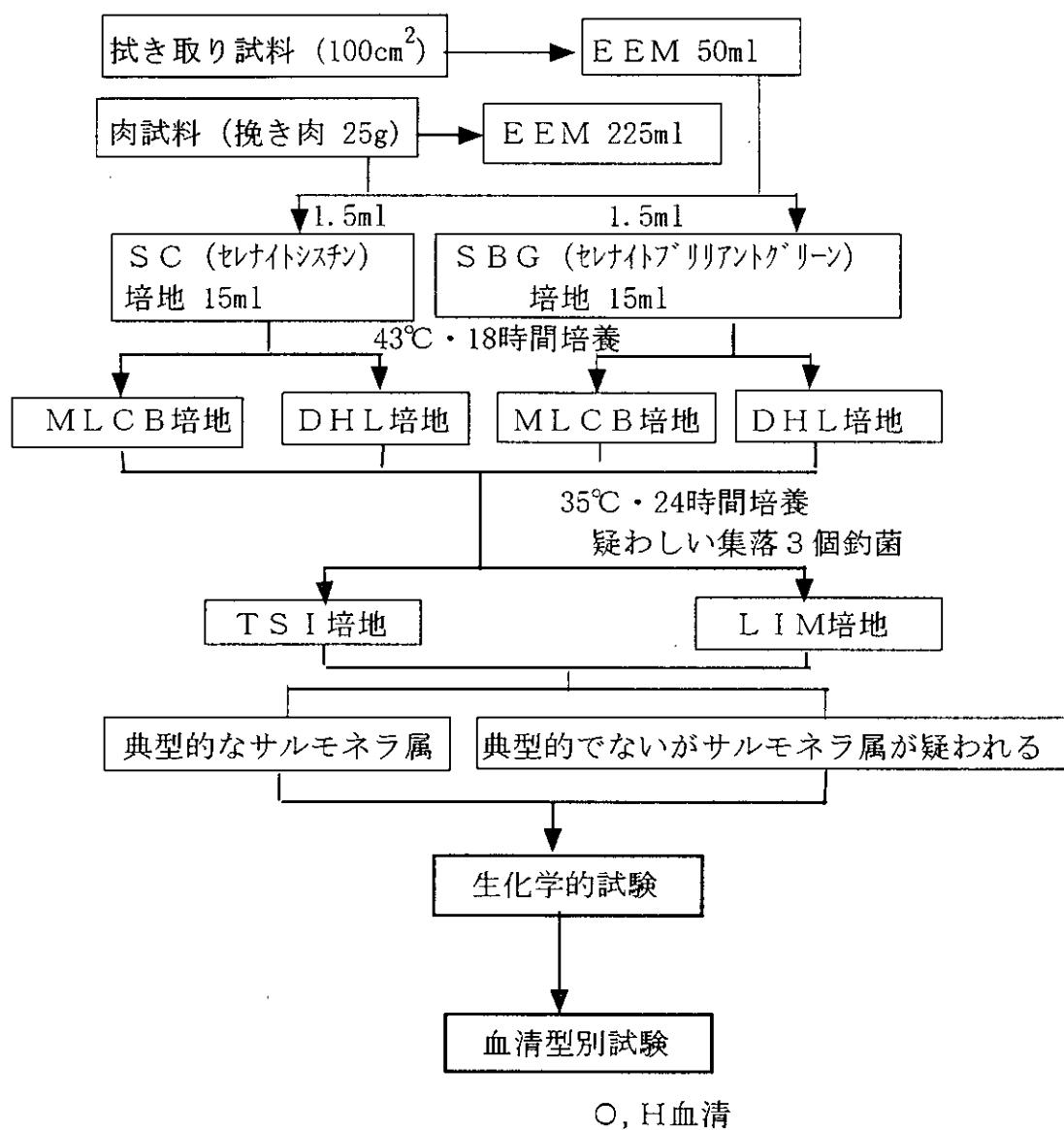


図 2 食品衛生検査指針によるサルモネラ検査法

同定率
釣菌率

$$S, T \text{ の検出特異性} (\%) = (S, T \text{ 陽性}/\text{釣菌数}) \times (\text{釣菌数}/\text{検体数} \times 3 \text{ 集落})$$

例)

$$50\% = (18 / 18) \times (18 / (12 \times 3)) \times 100$$
$$100\% = (36 / 36) \times (36 / (12 \times 3)) \times 100$$

図 3 検出特異性の計算式

品質管理手順成績

平成 年 月 日 所属
氏名

注)推定 ST 集落数 1~10 個 : + 1 , 推定 ST 集落数 11~100 : + 2 , 個推定 ST 集落数 101 以上 : +3

表 2 各種分離培地のサルモネラ様コロニーの出現率

試 料 (cfu/100ml, 25g)	接種菌量	ST _{H₂} HS産生	試験 検体数	FSIS法		食衛指針法		
				TT-BGS	RV-BGS	SC-MLCB	SC-DHL	SBG-MLCB
プロック肉	2~4	—	12*	25**	42	0	8	0
	2~4	—	12	83	92	17	17	0
	2~5	+	12*	58	52	33	25	33
	2~5	+	36	92	89	83	75	75
	14~15	+	24	79	79	88	79	79
	陰性对照		48	2	6	8	0	8
挽き肉	2~4	—	12	83	67	17	17	8
	2~4	—	12*	25	25	8	8	25
	2~5	+	12*	50	17	17	33	8
	2~5	+	36	72	61	89	92	86
	14~15	+	24	67	58	92	75	96
	陰性对照		48	4	2	16	10	13

* : 凍結試料 ** : 10個以上のコロニーが出現した割合 (%)

表 3 挽き肉から S. Typhimurium の検出率

接種菌量 (cfu/100cm ²)	STの H ₂ S産生	試験 検体数	FSIS法(検出率%)			食衛指針法(検出率%)		
			TT-BGS	RV-BGS	SC-MLCB	SC-DHL	SBG-MLCB	SBG-DHL
2~4(凍結)*	-	12	33	42	17	17	25	25
2~4	-	12	100	92	8	0	0	0
2~4	+	23	83	74	48	26	35	26
16~17	+	25	88	84	80	40	68	40
2~5(凍結)	+	12	50	33	17	25	8	17
2~5	+	12	88	71	92	92	92	100
4~5	+	24	100	92	100	100	96	75
14~15	+	24	100	96	100	96	100	96
陰性対照		72	0	0	0	0	0	0

*: 菌接種後-30°C 14日保存後試験したもの

表 4 ブロッキ肉から $S. Typhimurium$ の検出率

接種菌量 (cfu/25g)	STの H_2S 産生	試験 検体数	FSIS法(検出率%)			食衛指針法(検出率%)		
			TT-BGS	RV-BGS	SC-MLCB	SC-DHL	SBG-MLCB	SBG-DHL
2~4 (凍結) *	-	12	33	42	0	25	0	8
2~4	-	12	92	92	0	8	0	0
2~4	±	24	42	38	38	33	25	29
16~17	±	24	92	86	88	75	88	83
2~5 (凍結)	+	12	75	75	42	33	42	42
2~5	+	12	100	100	75	58	67	58
2~5	+	24	88	92	96	92	92	83
14~15	+	24	100	96	92	88	96	88
陰性対照		72	0	0	0	0	0	0

* : 菌接種後-30°C 14日保存後試験したもの