

わけて表1-2に示した。細菌数で見ると、生食用魚介類(いか・ほたて) $10^3 \sim 10^4$ cfu、加工用魚介類(むきエビ) $10^3 \sim 10^6$ cfu、水産用フライ類(魚フライ) $10^3 \sim 10^6$ cfu、畜産フライ類(チキンカツ) $10^3 \sim 10^7$ cfu、調理フライ類(コロッケ) $10^3 \sim 10^7$ cfu の範囲であった。一部に比較的高い細菌数を検出した。

大腸菌群では、加工用魚介類のむきえび、塩魚切り身の一部に検出された。大腸菌 *E. coli* については、調理フライ類コロッケに一部検出された。

それらをもとに今後高度衛生管理システムに必要な危害を抽出し、得られたデータから各製造工程の危害分析を実施する必要がある。

(2) 生食用イカ類さしみ製造工程

するめいかさしみ及びももんごういかの各工程毎の細菌検査を実施した。第1回~3回の結果を表2-1~3から5-1~3に示した。第1回目で各工程の検査結果がほとんど細菌数 300 以下/g であったため、2回目は一部の工程において、細菌数 10^3 、 10^4 /g のものについて低温細菌を検討した。2回目では1回目と異なり、低温解凍後を除き、ほとんどの工程で細菌数が上昇した。3回目もほぼ同様の結果となった。

一方、するめいか(株)宮古丸水)の各工程毎の細菌検査は、第1回目では、低温解凍後で、細菌数 10^2 /g、洗浄後で細菌数 300 以下/g、細切裁断後工程以降ではほとんど細菌数 10^4 /g であった。拭取り検査の結果では、細切裁断機で作業中のコンベアベルトの表(おもて)が細菌数 10^4 /g、裏(うら)が細菌数 10^5 /g であった。2回目以降もほぼ同様の結果が得られた。

図1 生食用冷凍スルメイカの製造工程フロー

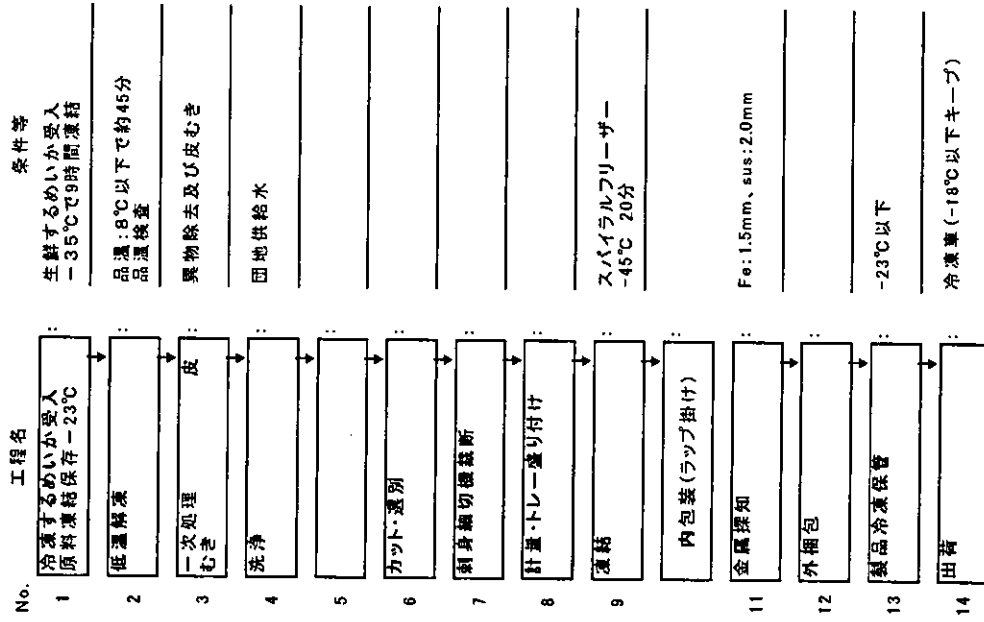


図2 生食用冷凍しぎ紋甲の製造工程フロー

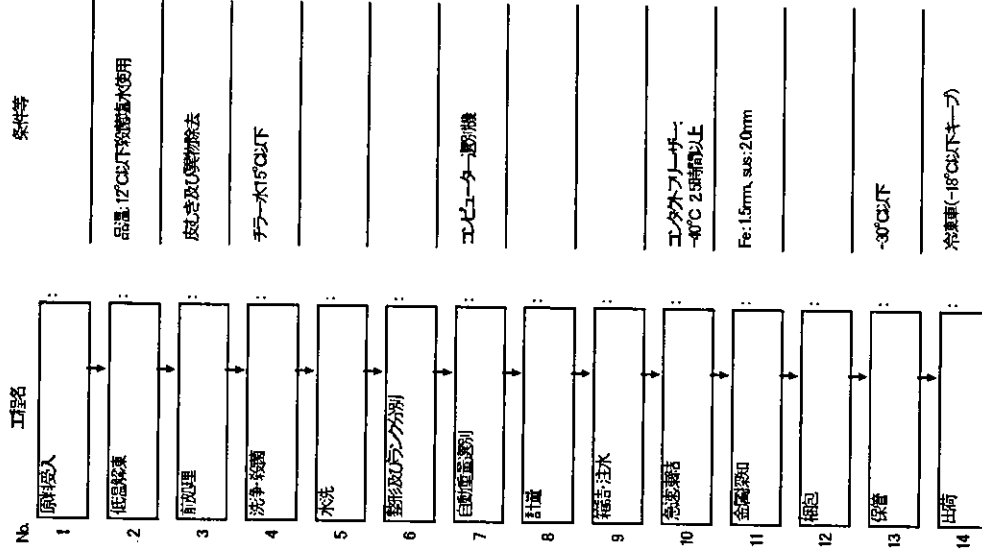


表1-1 最終製品の細菌検査データ

HACCPにおいて検討が必要な銘柄の抽出と検査件数

分類	銘柄の例	検査件数
生食用魚介類	いかさしみ・ほたて貝柱	51
加工用魚介類	むきえび	234
水産フライ類	かきフライ	629
畜産フライ類	とんかつ	141
調理フライ類	コロッケ	337
	合計	1,392

表 2-1 冷凍するめいかさしみ製造工程 (第 1 回)

	細菌数/g	大腸菌群/g	E. Coli/g	腸炎ビブリオMPN
低温解凍後	1.4×10^3	< 300	陰性	< 3.0
洗淨後	< 300	< 300	陰性	< 3.0
細切機裁断後	1.6×10^4	< 300	陰性	< 3.0
急速凍結後	2.9×10^4	< 300	陰性	< 3.0

n = 5

表 2-2 冷凍するめいかさしみ製造工程 (第 2 回)

	細菌数/g	大腸菌群/g	E. Coli/g	腸炎ビブリオMPN
低温解凍後	4.1×10^2	< 300	陰性	< 3.0
洗淨後	< 300	< 300	陰性	< 3.0
細切機裁断後	3.5×10^4	< 300	陰性	< 3.0
急速凍結後	7.8×10^3	< 300	陰性	< 3.0

n = 5

表 2-3 冷凍するめいかさしみ製造工程 (第 3 回)

	細菌数/g	大腸菌群/g	E. Coli/g	腸炎ビブリオMPN
低温解凍後	3.1×10^2	< 300	陰性	< 3.0
洗淨後	< 300	< 300	陰性	< 3.0
細切機裁断後	6.8×10^3	< 300	陰性	< 3.0
急速凍結後	1.2×10^4	< 300	陰性	< 3.0

n = 5

表 3-1 冷凍むぎもんごういかさしみ製造工程（第 1 回）

		n = 5			
	細菌数 / g	大腸菌群 / g	E. Coli / g	腸炎ビブリオ MPN	備 考
低温解凍後	2.7 × 10 ²	< 300	陰性	< 3.0	
洗浄後	< 300	< 300	陰性	< 3.0	
整形後	< 300	< 300	陰性	< 3.0	
包装・小箱包装後	< 300	< 300	陰性	< 3.0	
急凍凍結後	< 300	< 300	陰性	< 3.0	

表 3-2 冷凍むぎもんごういかさしみ製造工程（第 2 回）

		n = 5			
	細菌数 / g	大腸菌群 / g	E. Coli / g	腸炎ビブリオ MPN	低温細菌 / g
低温解凍後	< 300	< 300	陰性	< 3.0	3.4 × 10 ³
洗浄後	3.2 × 10 ³	< 300	陰性	< 3.0	1.1 × 10 ⁴
整形後	2.6 × 10 ³	< 300	陰性	< 3.0	—
包装・小箱包装後	2.4 × 10 ³	< 300	陰性	< 3.0	—
急凍凍結後	2.4 × 10 ³	< 300	陰性	< 3.0	5.4 × 10 ³

表 3-3 冷凍むぎもんごういかさしみ製造工程（第 3 回）

		n = 5			
	細菌数 / g	大腸菌群 / g	E. Coli / g	腸炎ビブリオ MPN	低温細菌 / g
低温解凍後	< 300	< 300	陰性	< 3.0	1.3 × 10 ³
洗浄後	1.3 × 10 ³	< 300	陰性	< 3.0	1.2 × 10 ⁴
整形後	8.0 × 10 ²	< 300	陰性	< 3.0	—
包装・小箱包装後	1.5 × 10 ³	< 300	陰性	< 3.0	—
急凍凍結後	1.0 × 10 ³	< 300	陰性	< 3.0	7.7 × 10 ³

表4-1 冷凍もんごういかげそ製造工程(第1回)

n = 5

	細菌数/g	大腸菌群/g	E Coli/g	腸炎ビブリオMPN	低温細菌/g
洗浄後	6.0×10^3	<300	陰性	<3.0	—

表4-2 冷凍もんごういかげそ製造工程(第2回)

n = 5

	細菌数/g	大腸菌群/g	E Coli/g	腸炎ビブリオMPN	低温細菌/g
洗浄後	1.3×10^3	<300	陰性	<3.0	7.9×10^3

表 5-1 冷凍やりいかさしみ製造工程 (第 2 回)

n = 5

	細菌数/g	大腸菌群/g	E. Coli/g	腸炎ビブリオMPN	低温細菌/g
低温解凍後	7.6×10^2	< 300	陰性	< 3.0	2.6×10^3
洗浄後	< 300	< 300	陰性	< 3.0	

表 5-2 冷凍やりいかさしみ製造工程 (第 3 回)

n = 5

	細菌数/g	大腸菌群/g	E. Coli/g	腸炎ビブリオMPN	低温細菌/g
低温解凍後	7.3×10^2	< 300	陰性	< 3.0	6.6×10^2
洗浄後	< 300	< 300	陰性	< 3.0	

厚生労働科学研究費補助金（食品の安全性高度化推進研究事業）

分担研究者報告書

協力研究者 国立医薬品食品衛生研究所 宮原美知子

食品冷凍保存における汚染腸炎ビブリオの検討

冷凍貯蔵において汚染された病原菌はいかなる経過をたどるかについての検証を行った。最近、生食用冷凍鮮魚介類において、成分規格基準には細菌数、大腸菌群に加えて、腸炎ビブリオ最確数が 100/g 以下に設定されており、冷凍保存状態においての腸炎ビブリオの生残推移は重要な問題である。培養液中 2 株の腸炎ビブリオそれぞれの保存実験では、9.5, 4.0°C に比して、-20°C 保存では 1 日後には死滅した。さらに接種菌数を多くして(10⁴CFU/ml を 10⁷CFU/ml へ)、腸炎ビブリオ 1 株での -20°C 保存を時間経過で追ってみると 5 時間保存くらいから減少がみられ、次に検査を行った 7 時間と 30 時間保存でその減少が続き、96 時間後には菌が検出されなかった。食品中での接種実験としてさしみイカでの 2 回の実験を行った。スルメイカには 72,000 CFU/g 腸炎ビブリオを接種したが、2 時間 -20°C 保存では、菌数はほぼ維持され、24 時間後に約 10% に、6 日間保存後では 0.2% に菌数が減少し、28 日間保存後にも 0.2% で維持されたが、90 日間保存後ではさらに 0.1% まで菌数が減少したが、生きていた腸炎ビブリオは 1,665 CFU/g 検出された。モンゴウイカには 760 CFU/g 腸炎ビブリオを接種した。-20°C の冷凍保存で、2 時間保存で 85% に、24 時間で 32% へ、48 時間後で 22% へ、さらに 7 日間保存後では 6% に菌数が減少した。さしみイカでどちらも同種ながら、腸炎ビブリオの生残には多少のばらつきが見られたが、どちらにしても -20°C 保存において 1 週間以上も腸炎ビブリオが生残することが分かった。今回の接種菌は TDH 産生の病原性を持った腸炎ビブリオを接種したが、冷凍保存後もコロニーとして分離できる腸炎ビブリオは TDH 産生遺伝子を維持しており、病原性も保持していると考えられた。尚、接種された腸炎ビブリオは大腸菌群数と細菌数においても検出菌数を変動させないことも分かった。

実際の冷凍魚介類は冷凍導入温度にはさらに低い温度設定等もなされているし、腸炎ビブリオ汚染菌数ももっと少数菌である場合など検討すべき項目は多いと考えられる。今後更なる検討が必要と思われる。

A. 研究目的

わが国においては食品の輸入はエネルギーベースでは 60%を越える状態が続いている。また、その食品輸入形態も常温、冷蔵そして冷凍と様々な状態で運ばれてくる。冷凍技術の進歩により、食味を損なわない冷凍運送も盛んに行われるようになってきた。冷凍食品の衛生管理においては細菌数、大腸菌群、大腸菌等により、成分規格が定められているが、生食用冷凍鮮魚介類においては、細菌数、大腸菌群に加えて、腸炎ビブリオ最確数が 100/g 以下（アルカリペプトン水、TCBS 寒天培地法）に規格基準が定められており、冷凍保存状態における腸炎ビブリオの生残推移は重要な問題と考えられる。腸炎ビブリオ食中毒は日本で 6 月から 10 月が発生時期で、例年 8 月がピークであることから、一般的には低温状態（20°C 以下）では増殖は考えられないとされているが、冷凍状態での腸炎ビブリオ生残性を改めて検討することにした。

最初に培養液（アルカリ性ペプトン水中）での 9.5, 4.0 と -20°C 保存での腸炎ビブリオの生残性推移を検討した。20°C の培養液中の保存では 2 4 時間後くらいすぐに腸炎ビブリオが消滅してしまうことから、保存時間の経過を検討した。さらに食品スルメイカとモンゴウイカへの腸炎ビブリオ接種実験により腸炎ビブリオ生残性の推移の検討を行った。また、これら食品における細菌数と大腸菌群についても併せて検出測定を行った。

これらの実験から腸炎ビブリオ汚染のある魚介類でも、冷凍保存により安全は保たれるのだろうかということに対して検証を試みた。

実験方法

「実験 1」腸炎ビブリオ O3:K6 2 株（いず

れも TDH 産生株）を使用して、アルカリ性ペプトン水培地中での保存における菌数の変動について検討した。保存温度は 9.5, 4.0 と -20°C の設定とした。アルカリ性ペプトン水培地一晚培養菌を同培地で 10 倍段階希釈を行った。10⁴ 希釈菌液を保存液として、1ml ずつ 1.5ml マイクロチューブに無菌的に分注して、それぞれの温度で保存を行った。接種菌数は 10 倍段階希釈液の 2%NaCl 加 NA（普通寒天）5 枚への各 0.1ml 塗抹培養によって出現コロニー数によって算出した。1, 2, 3 と 6 日目に分注保存されたチューブを取り出し、保存菌液の菌数を測定した。2%NaCl 加 NA 2 枚に塗抹培養して平均出現コロニーによって菌数を確認した。菌液は状況に従って、希釈や遠心による濃縮を行った。

「実験 2」腸炎ビブリオ O3:K6 2 株を使用して、アルカリ性ペプトン水培地中での -20°C 冷凍保存における菌数の変動について検討した。保存時間は時間単位で検討し、1, 3, 5, 7, 30 と 96 時間後に保存菌液の解凍を行って、菌数を測定した。上記実験と同様に 2%NaCl 加 NA を使用した。接種菌数も「実験 2」と同様に算定した。

「実験 3」市販スルメイカさしみ各 25g をストマフィルターに無菌的に分配した。食品自体の腸炎ビブリオの有無、大腸菌群数と一般生菌数を測定する 2 袋以外の検体には腸炎ビブリオを接種し、-20°C での冷凍保存を行った。接種した腸炎ビブリオは O3:K6 株（VP16）であった。冷凍保存 2 時間後に 2 袋解凍を行って、腸炎ビブリオの菌数、大腸菌群数と一般生菌数を測定した。さらに、冷凍保存検体は 2 袋ずつ 24, 144（6 日間）と 672（28 日間）時間後に解凍を行って、1 袋より 2 検体について同様項目の測定を行った。解凍には

40°C位の温水を使用した。食品自体の腸炎ビブリオの有無判定には 25g のスルメイカに 225ml のアルカリ性ペプトン水を加え、36°C、24 時間培養を行い、培養液を 10μl エーゼで TCBS 寒天培地塗抹培養を行い、腸炎ビブリオの検出判定を行った。検出したコロニーは PCR により、TDH 産生性を検討した。アルカリ性ペプトン水培養の前に大腸菌群数と細菌数測定のための懸濁液を採取し、生理食塩液で適当倍 10 倍階段希釈を行って、混釈培養によって出現コロニーによって、菌数を算定した。大腸菌群はデソキシコレート培地法 24 時間培養で、一般生菌数は標準寒天培地での混釈法により 48 時間培養によって測定した。接種後の検体から腸炎ビブリオの菌数を測定するために MPN 3 本法により、アルカリ性ペプトン水培地で培養後、TCBS 寒天培地での 10μl エーゼで塗抹培養を行い、腸炎ビブリオを検出した。検出数は 1 群 2 検体で検出しているため、平均値により算出した。

同様の接種実験をモンゴウイカにおいても行った。ただし、接種菌数は 7.6×10^2 CFU/g 腸炎ビブリオであり、スルメイカでの実験より、約 1/100 の接種菌数とした。

結果

「実験 1」 腸炎ビブリオはアルカリ性ペプトン水の中で、VP5 株では、-20°C の冷凍保存では、1 日で 10^4 分の 1 に菌数減少が見られ、2 日間保存では菌は検出されなくなった。9.5 と 4°C 保存では 3-6 日保存の間には菌数が減少し、菌はついに検出されなくなった。VP16 株では、-20°C 冷凍保存では、1 日保存で、約 10^3 分の 1 に菌数が減少し、2 日間保存で VP5 と同様に菌は検出されなくなった。9.5 と 4°C 保存では 2-3 日間は菌数を維持して

いたが徐々に減少し、6 日目の測定では約 1/5 に菌数が減少した。(図 1 と 2 参照)

「実験 2」 冷凍保存での時間経過を検討した。-20°C 冷凍保存しても 1ml 液量でもある程度温度低下が遅いのか最初の 3 時間目までは検討した 2 株とも菌数は維持された。保存 5 時間より、菌数が徐々に減少し始めた。次の測定は 30 時間保存であったが、菌数は激減したが、まだ菌を検出することが出来た。96 時間後には菌を検出することが出来なかった。(図 3 参照)

「実験 3」 スルメイカでの大腸菌群、一般生菌数と接種腸炎ビブリオの菌数の推移を保存時間の経過とともに検討した結果は表 1 に示した。0 時間での大腸菌群と細菌数は接種されていない検体からの測定結果であった。大腸菌群は僅かに検出されたが、僅かな菌数であり、時間の経過とともにさらに減少した。細菌数は測定の誤差範囲とも思えるくらいの緩やかな 1500 から 1100 への減少が 28 日間保存により見られた。

大腸菌群は 0.1g においては検出されたが、基準の 0.01g においては検出されない菌数であった。

実験に用いたスルメイカ自体には腸炎ビブリオは検出されなかった。接種された腸炎ビブリオは 2 時間程度の冷凍保存では菌数に影響はなかった。しかし、24 時間後に菌数は約 10% に減少した。また、6 日間の冷凍保存で、約 0.2% に菌数は減少した。その後、28 日間冷凍保存後の腸炎ビブリオ菌数を検査すると 6 日目に検出された菌数と同数の菌数を検出した。さらに 90 日間冷凍保存後においても 0.1% の菌数 (1665 CFU/g) が検出された。

モンゴウイカの接種実験では、モンゴウイカ自体には腸炎ビブリオは検出されなかった。

接種菌数はスルメイカでの実験と比較して低菌量であったが、同様の経過をたどり、表2に示したように7日間の-20°C保存によっても元の6%の菌は生存し、培地中で増殖してコロニーを作り得ることが分かった。大腸菌群は検出されなかった。細菌数に関しては保存期間に従って、緩やかな減少が見られた。

考察

腸炎ビブリオは培地中においては、10°C以下の温度では死滅する状況にあると考えられる結果であった。特に冷凍保存においては1日保存で劇的に菌が検出されなくなってしまう。時間経過で菌数変動を検討した実験から、冷凍5時間後くらいから減少していくことが分かった。このような培地中での解析を元に、スルメイカに腸炎ビブリオを接種して冷凍保存での変動を検討すると、培地中とは違って、ある程度減少するとそのままの菌数で維持される結果となった。この実験では、接種菌量は高かったので(7.2x10⁴ CFU/g)、冷凍による損傷に抵抗できる菌が生残した結果とも考えられる。冷凍保存28日後でも1.4x10² CFU/gの菌が検出された。スルメイカに腸炎ビブリオ生残可能な何かの物質が含まれているとも考えられる。これらの結果から、腸炎ビブリオ自体は冷凍流通下では食品に付着した場合にはかなりの菌数減少は期待されるが、腸炎ビブリオが残ると考えられる。この腸炎ビブリオに病原性毒素産生性があった場合には冷凍品だからといって、腸炎ビブリオの食中毒の原因にはならないと油断はで

きない。また、ここで用いた検出法は食品衛生法で定められているアルカリペプトン水を用い、TCBS寒天培地で検出する腸炎ビブリオ最確数によって菌数を算出したので、アルカリペプトン水での増菌が冷凍損傷した腸炎ビブリオの回復に寄与していると考えられる。このスルメイカの実験で0時間での大腸菌群数と一般生菌数は非接種検体より検査し、その後の保存時間からの結果は腸炎ビブリオを接種した検体からそのまま検査を行った。大腸菌群と一般生菌数については、腸炎ビブリオの接種菌数は反映されていなかった。一般生菌数測定に使用される標準寒天培地には食塩が含まれないため、腸炎ビブリオは検出されなかった。また、デソキシコレート培地には食塩が0.5%含まれるものの、腸炎ビブリオはコロニーとして出現しなかった。スルメイカの実験では非接種群検体の検査を別途検査しなくても、スルメイカの本来の菌数が検出された。

接種菌数を少なくした(7.6X10² CFU/g)モンゴウイカの実験においてもスルメイカでの実験と同様の傾向がみられ、一部の腸炎ビブリオは生きながらえることが判明した。

今回の実験では高濃度の腸炎ビブリオを接種して冷凍保存した結果である。また、冷凍温度も実際には導入のための冷却温度はさらに低い温度が使われている。菌数や温度条件を変えてさらに検討を重ねる必要があると思われる。

表1 スルメイカでの冷凍保存

-20°C保存経過時間	0	2	24	144 (24x6)	672 (24x28)	2160 (24x90)
大腸菌群 (CFU/g)	30	23	13	5	3	3
細菌数 (CFU/g)	1500	1400	1300	1200	1100	800
接種腸炎ビブリオ (CFU/g)	72000	>11200	6700	3500	3500	1665

表2 モンゴウイカでの冷凍保存

-20°C保存経過時間 (時間)	0	2	24	48	168
大腸菌群 (CFU/g)	<100	<100	<10	<10	<10
細菌数 (CFU/g)	1900	2000	1430	1050	760
接種腸炎ビブリオ生残数 (CFU/g)	760	605	240	167	46

図1 腸炎ビブリオ(VP5)保存

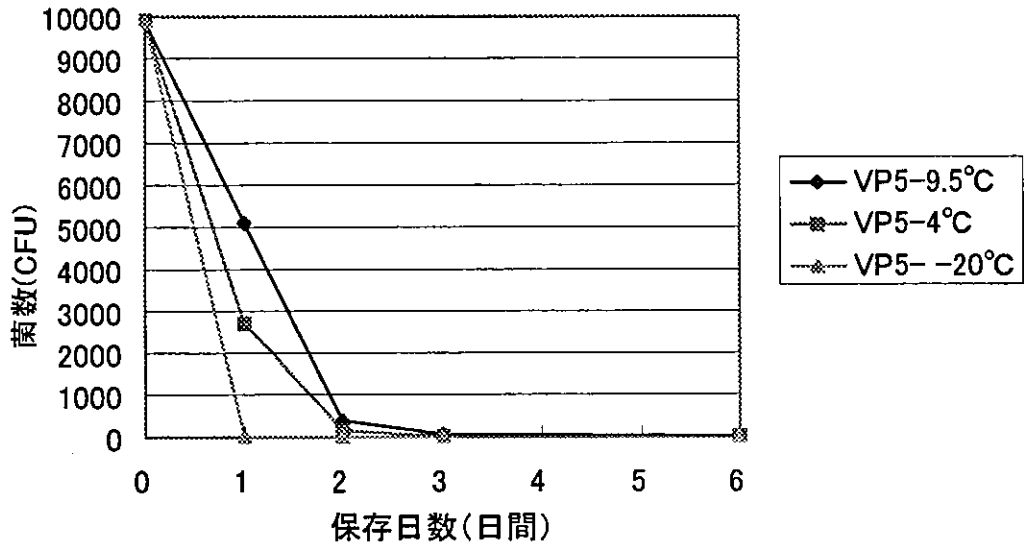


図2 腸炎ビブリオ(VP16)保存実験

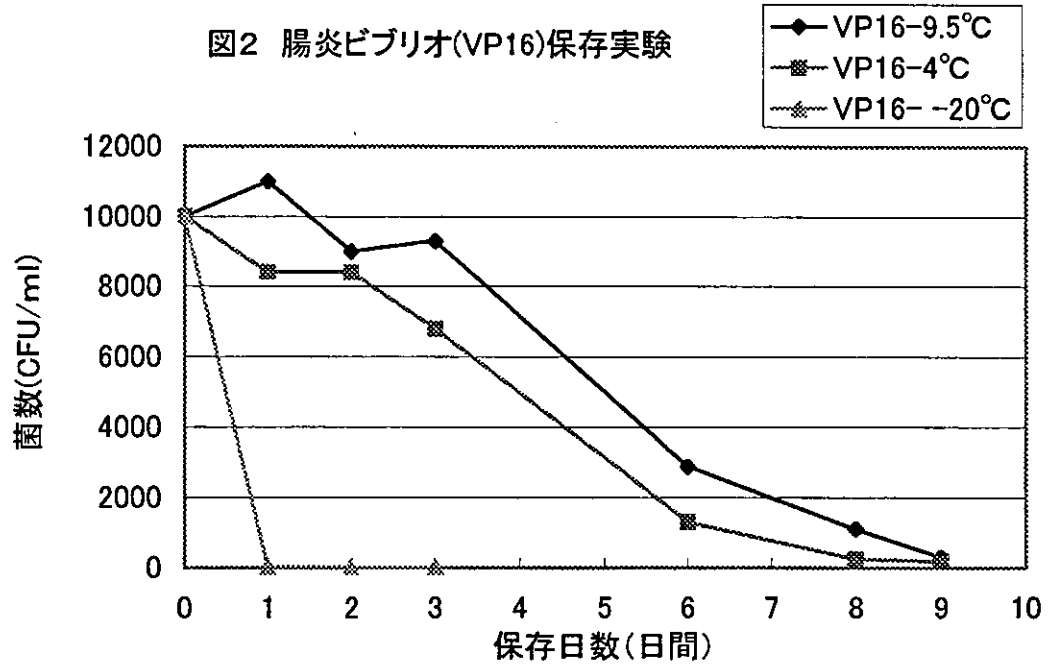
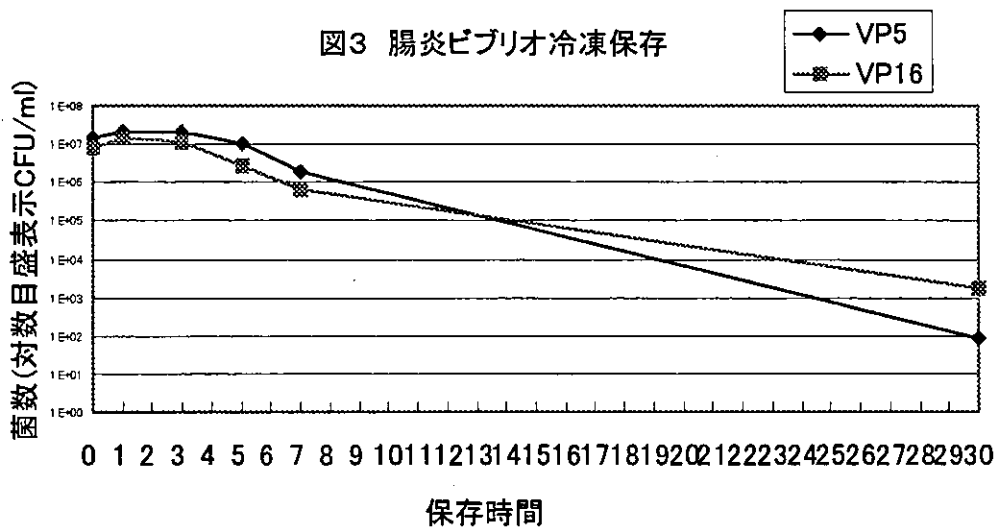


図3 腸炎ビブリオ冷凍保存



II. 分担研究報告書

II-3.

ナチュラルチーズ製造の高度衛生管理に関する研究

II-3-1. ナチュラルチーズ製造の高度衛生管理に関する研究

高谷 幸（社団法人日本乳業協会）

II-3-2. 乳関連製品によるリステリア症の発生状況に関する文献調査と考察

五十君静信（国立医薬品食品衛生研究所）

厚生労働科学研究（食品の安全性高度化推進研究事業）
分担研究報告書

食品製造の高度衛生管理に関する研究
ナチュラルチーズ製造の高度衛生管理に関する研究

主任研究者 品川 邦汎 岩手大学
分担研究者 高谷 幸 (社)日本乳業協会

研究要旨

わが国において、ナチュラルチーズの製造において原料である生乳を殺菌して製造するか、あるいは製造工程中で殺菌を行い、製品を製造・流通させている。その理由は、リステリア (*Listeria monocytogenes*) による人の健康被害を防止する観点からによる。

しかしながら、欧州においては一部地域において、未殺菌乳を原料としたナチュラルチーズを製造・流通販売している。この結果、欧州においてはリステリア症による死者も報告されている。

このような状況であるにも関わらず、近年、わが国においても中小特に小規模の乳業者の中に差別化を目指し欧州と同様に未殺菌乳を原料としたナチュラルチーズの製造を求める者がいる。

そこで、未殺菌乳を使用してナチュラルチーズを製造する際の使用原料（生乳）及び製造工程の危害分析を行い、安全確保のための HACCP 方式の確立のための科学的データを収集するとともに、ナチュラルチーズ製造のための標準的 HACCP モデルを構築するための基礎的データを得心することとした。

初年度である本年は、わが国の生乳中のリステリアの存在に関する基礎的な実態を調査し、この結果を基に次年度はナチュラルチーズの製造に適した生乳の産地あるいは生乳の条件を調査するとともに、乳関連製品によると思われるリステリア症の発生状況に関する文献調査を行いその考察を行った。次に、欧州では未殺菌乳を原料としたナチュラルチーズの生産量の多いとされているフランス及びイタリア等におけるナチュラルチーズに関する規制状況を調査した。また、ナチュラルチーズの製造工程における一般的な危害について分析を行い、未殺菌乳を使用して製造する場合どのような危害について排除すべきかを検討するための資料とする。

研究協力者

畑山昭典(株)よつ葉乳業、遠藤悟(株)雪印乳業、松崎勝(株)森永乳業、
安部俊朗(株)明治乳業、
相澤純一(社)日本乳業協会
五十君(イギミ)静信 国立医薬品食品衛生研究所

A. 研究目的

わが国におけるナチュラルチーズに関する衛生規制は、乳及び乳製品の成分規格等に関する省令（昭和26年12月27日厚生省令第52号、最終改正平成16年9月2日厚生労働省令第126号（以下乳等省令という。））に定められている。しかしながら、この省令においてはプロセスチーズについての成分規格（乳固形分、大腸菌群）について記述されているのみで他の項目、例えば製造基準といった項目及びナチュラルチーズについての規制がない現状である。法的な衛生規制という意味においては、食品衛生法（昭和22年12月24日法律第233号、最終改正平成15年5月30日法律第55号）第6条第三号において「病原微生物により汚染され、又はその疑いがあり、人の健康を損なうおそれがあるもの。はこれを販売し、又は販売の用に供するために、採取し、製造し、輸入し、加工し、使用し、調理し、貯蔵し若しくは陳列してはならない。」と規定されている。また、平成5年8月2日衛乳第169号の厚生省生活衛生局乳肉衛生課長通知「乳及び乳製品のリステリアの汚染防止対策等について」において「国内で生産されるナチュラルチーズは殺菌乳を原料としており、リステリアの感染源になる恐れはないが、衛生確保を図る上で製造工程での汚染防止に努めること。」とされている。

このように、チーズ特にナチュラルチーズに関しては具体的な特段の衛生規制は設定されていないが、わが国でナチュラルチーズを製造している各社は原料である生乳中に存在している可能性のあるリステリアを殺菌することを目的としてナチュラルチーズを製造している。そこで、本年度は未殺菌乳の原料を使用してナチュラルチーズを製造するための条件を設定するため原料生乳のリステリア汚

染状況を調査するとともに、乳関連製品によるリステリア症の発生状況に関する文献調査とその考察を行った。また、欧州特にフランス、イタリア及びオランダにおけるナチュラルチーズ製造に関する規制状況をしたので報告する。

B. 研究方法

わが国においてナチュラルチーズを製造している主な社のチーズ製造工場で使用している生乳についてリステリアの汚染状況を調査した。また、乳関連製品によるリステリア症の発生状況について文献検索し集団発生事例を収集し、考察を行った。さらに、欧州特にフランス、イタリア及びオランダにおけるナチュラルチーズ製造に係る衛生規制についてオランダ議会によって1930年に設立された欧州最大規模の中立総合試験研究機関で各国の法的規制についても調査能力のあるオランダTNO 応用科学研究機構 (Netherlands Organization for Applied Scientific Research) に委託調査をした。

（倫理面への配慮）特に必要なし

C. 研究結果及び考察

1. 生乳中のリステリア汚染状況について

わが国で比較的生乳の清浄地域と思われる地域の生乳40検体についてそれぞれ3サンプル、120サンプルについて、BB培地で雑菌後のバルカム平板培地による試験とクロモアガーによる試験を実施するとともにMPN（100ml当たり）を求めた。この試験に供した試験検査サンプルは4工場についてそれぞれ10路線の検体を1検体3サンプルについて検査を行った。その結果4工場とも使用している生乳について1路線あるいは複数路線の生乳からリステリアが検出されMPNで3~>1,100という結果であった。結果は表1

の通りである。この結果からも分かるように同一検体であってもリステリアが検出するサンプル検出しないサンプルがあることが窺われ、菌数の多少はあるものかなり広範囲に生乳中にリステリアが存在していることが推定された。また、検体の採取にあたっては、採取時の汚染を考慮し何のために使用する検体かを十分注意を払い採取を行っているところから当初1サンプルで十分との意見もあったが念のため1検体3サンプル採取し検査に供したところ、結果は同一検体であっても3サンプルの検査結果は必ずしも同じ結果ではなかった。次年度はこの結果を踏まえた生乳中のリステリア存在状況の調査をする必要がある。

2. 乳関連製品によるリステリア症の発生状況の文献調査とその考察について

文献検索により、食品を原因とするリステリア症の文献を収集し、その内容について解析を行った。海外における10人以上のリステリア集団事例では、乳関連製品が原因となっている事例が、食肉加工品、野菜類と並び多く発生していることが明らかとなった。乳関連製品では、未殺菌乳とチーズが原因として特に重要であることが確認された。わが国における食品を介したリステリア症の集団事例は、2001年の北海道で発生したチーズが原因とみられる事例のみであった。

1) 食品を介したリステリア集団事例の概要

Ryser は、これまで発生した患者10名以上のリステリア集団事例をまとめ、検討を行っている。この中で最も古い事例を1949年から1957年にかけて東ドイツで牛乳及びその加工品を原因として発生したとしている。また、1997年イタリアで発生した事例まで37件をまとめている。1975年から1997年までの23年間に31件発生しており、患者数10名以上のリステリア集団事例が毎年発生して

いることとなる。これらの合計45件のうち、原因食品が特定できなかった集団事例は13件ありリステリア症の原因食品の特定の困難さも示唆している。原因食品の特定された事例について原因食品別に分類すると、乳関連食品15事例、食肉加工品9事例、野菜類8事例（一部重複あり）であった。

2) 乳及び非発酵乳製品

牛舎を含め通常環境中にリステリアが存在しており、その結果として、乳牛が見かけ上健康であるものを含めリステリアの供給源となりうる。おおよそ3~4%の生乳から、リステリアが検出される。生乳を原因とするリステリア症は、牛乳や、羊、山羊などの生乳を殺菌しないで恒常的に摂取することで発症することが多い。

3) 発酵乳製品

乳酸菌を用いて、乳を発酵させて様々な発酵乳製品が製造されている。これらの発酵乳製品のうち、バターミルク、サワークリーム、ヨーグルトが原因となったリステリアの集団事例は報告がない。一方チーズはしばしばリステリアの集団事例の原因となっている。チーズには様々な種類があるが、リステリア症の主な原因となっているのは、熟成後か加熱処理を行わないで食べるナチュラルチーズである。原因となったチーズ中のリステリアの菌数の高いことが多い。ナチュラルチーズには、食習慣により未殺菌乳を用いる場合がある。未殺菌乳中のリステリアの汚染については指摘されているところであり、食習慣と食品衛生のどちらを優先するかといった議論もある。チーズには多くの種類があるが、熟成中にリステリアの菌数が増加するようなタイプのチーズは、リステリアの感染に関して、ハイリスクな食品であることを理解し、適切な管理が必要である。

4) わが国の事例について