

表 2 分離株の病原因子保有状況

O157

	VT1	VT2	VT1+VT2	eaeA
O157:H7	5	42	26	73
O157:H-	2		1	3

O26

	VT1	VT2	VT1+VT2	eaeA
O26:H-	3			3
O26:H11	2			2

表 3 O157分離株の薬剤感受性試験

	耐性薬剤	株数	%
12薬剤感受性		51	67
1剤耐性	SM	3	4
2剤耐性	SM,TC	20	26
	ABPC,SM	2	3

表 4 O26分離株の薬剤感受性試験

	耐性薬剤	株数	%
12薬剤感受性		2	40
3剤耐性	ABPC,SM,KM	1	20
	SM,TC,CP	1	20
4剤耐性	ABPC,SM,TC,ST	1	20

図1 生食用ほたて貝柱

サンプリング：平成17年8月29日及び9月27日

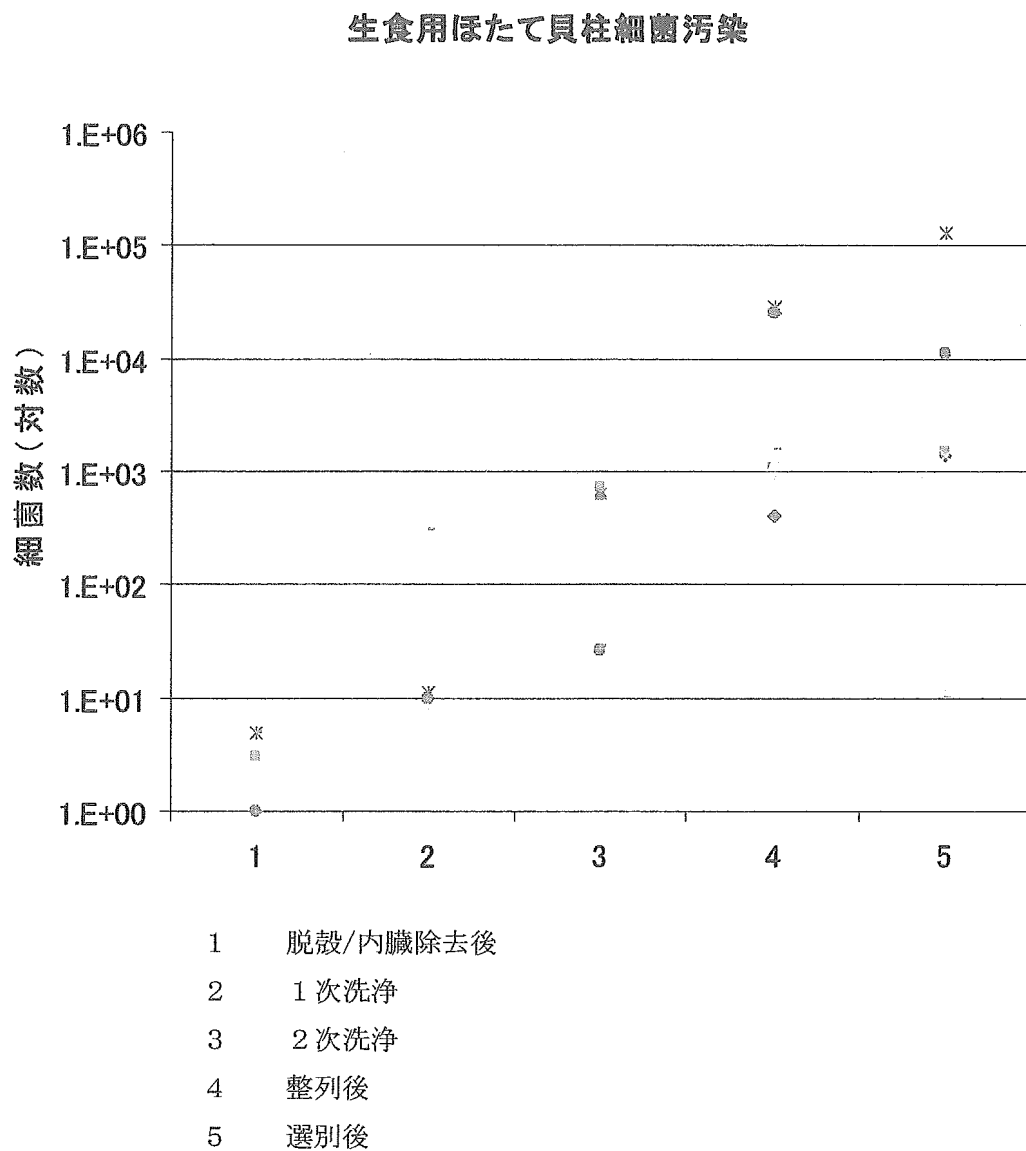


表5

ポテトコロッケ細菌検査結果(製品):[A工場]

2006年度

検査月	検体数	細菌数(X ²)					大腸菌		サルモネラ		ブドウ球菌	
		<300	2	3	4	5	陰性	陽性	陰性	陽性	陰性	陽性
4月	57	3	14	37	3		57		4		57	
5月	37	3	15	17	2		37		3		37	
6月	53	4	15	32	2		53		2		53	
7月	58	2	26	26	4		58		4		58	
8月	56	2	27	23	4		56		5		56	
9月	60	4	17	30	7	2	60		5		60	
10月												
11月												
12月												
1月	48	9	17	21	1		48		3		48	
合計	369	27	131	186	23	2	369	0	26	0	369	0

ポテトコロッケ細菌検査結果(製品):[B工場]

2006年度

検査月	検体数	細菌数(X ²)					大腸菌		サルモネラ		ブドウ球菌	
		<300	2	3	4	5	陰性	陽性	陰性	陽性	陰性	陽性
4月	16	11	3	2			16		16		16	
5月	9	4	4	1			9		9		9	
6月	12	5	6	1			12		12		12	
7月	11	2	8	1			11		11		11	
8月	9	1	3	5			9		9		9	
9月	8		5	3			8		8		8	
10月	8	1	1	6			8		8		8	
11月	8	2	1	5			8		8		8	
12月	9			9			9		9		9	
1月	7	7					7		7		7	
合計	97	33	31	33	0	0	97	0	97	0	97	0

ポテトコロッケ細菌検査結果(製品):[2工場の集計]

2006年度

検査月	検体数	細菌数(X ²)					大腸菌		サルモネラ		ブドウ球菌	
		<300	2	3	4	5	陰性	陽性	陰性	陽性	陰性	陽性
4月	73	14	17	39	3		73		20		73	
5月	46	7	19	18	2		46		12		46	
6月	65	9	21	33	2		65		14		65	
7月	69	4	34	27	4		69		15		69	
8月	65	3	30	28	4		65		14		65	
9月	68	4	22	33	7	2	68		13		68	
10月	8	1	1	6			8		8		8	
11月	8	2	1	5			8		8		8	
12月	9			9			9		9		9	
1月	55	16	17	21	1		55		10		55	
合計	466	60	162	219	23	2	466	0	123	0	466	0

図2

ゴーダチーズ カード形成後

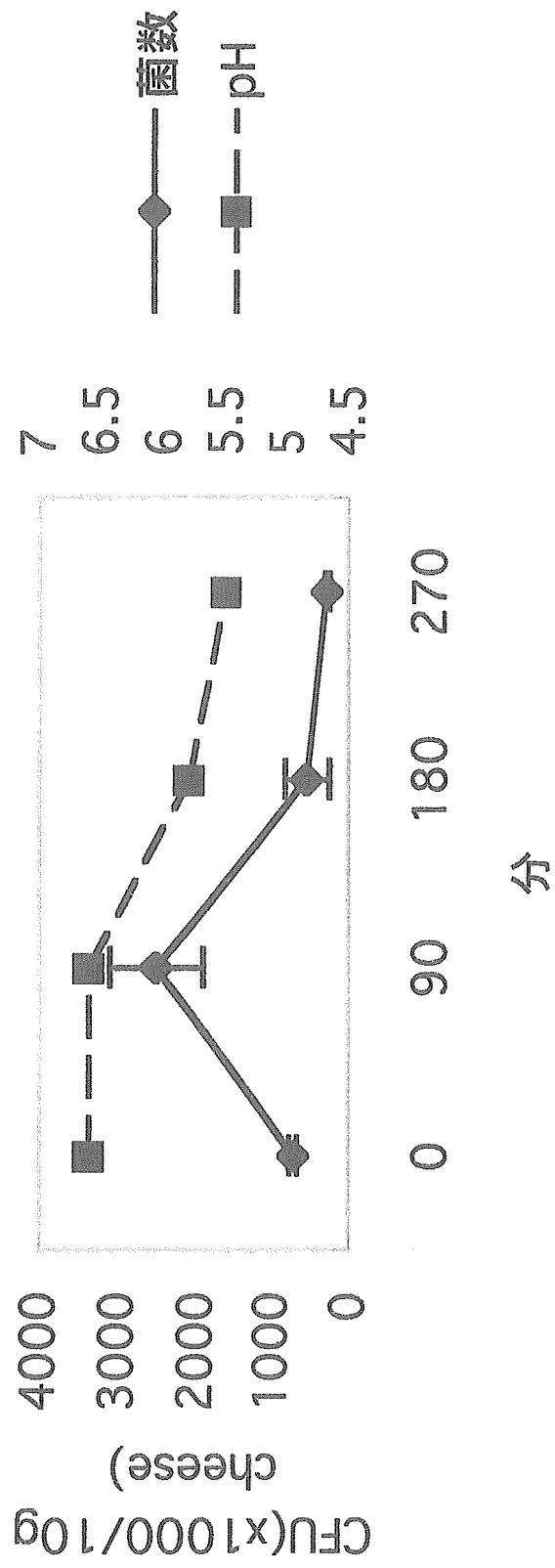


図3

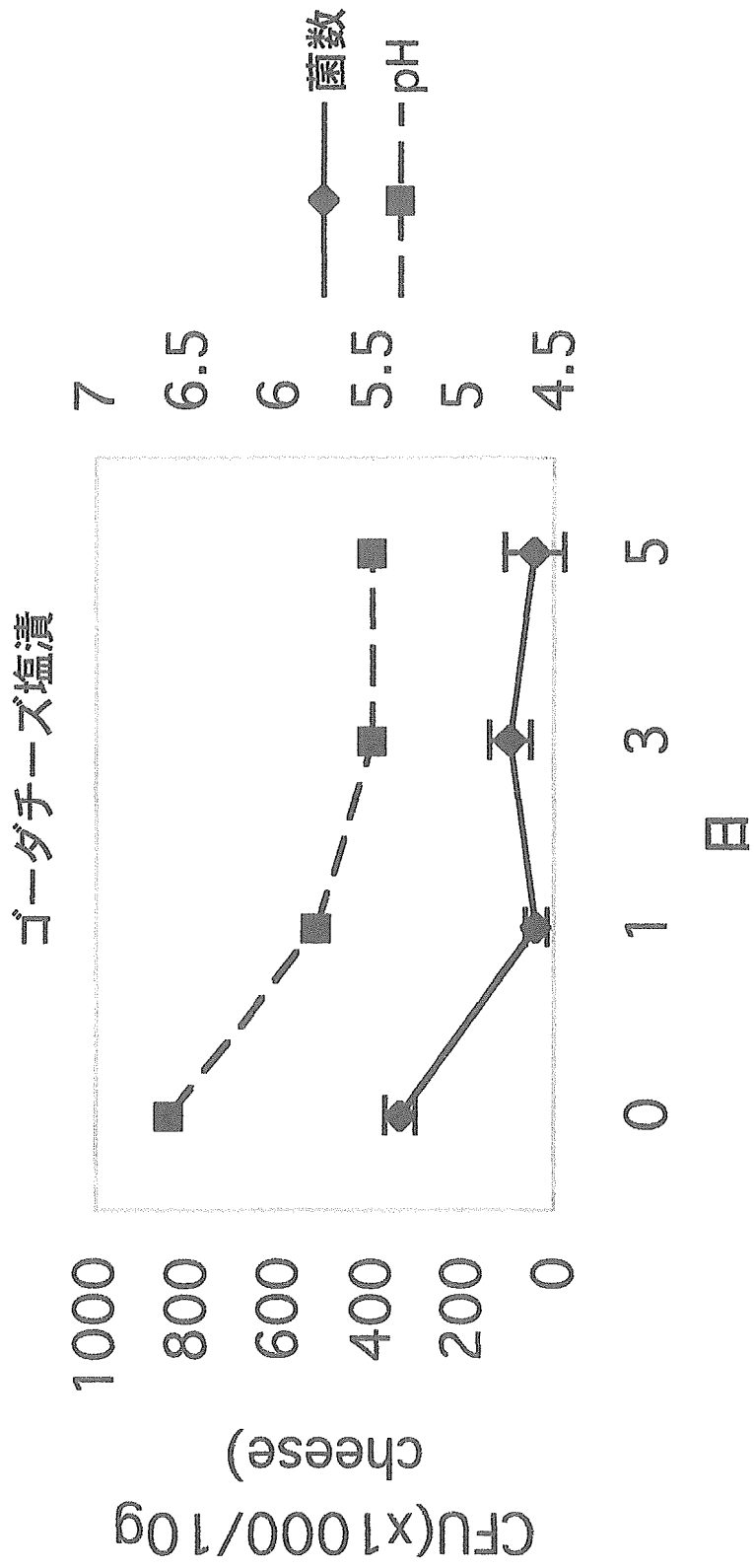


図4

ゴーダチーズ熟成

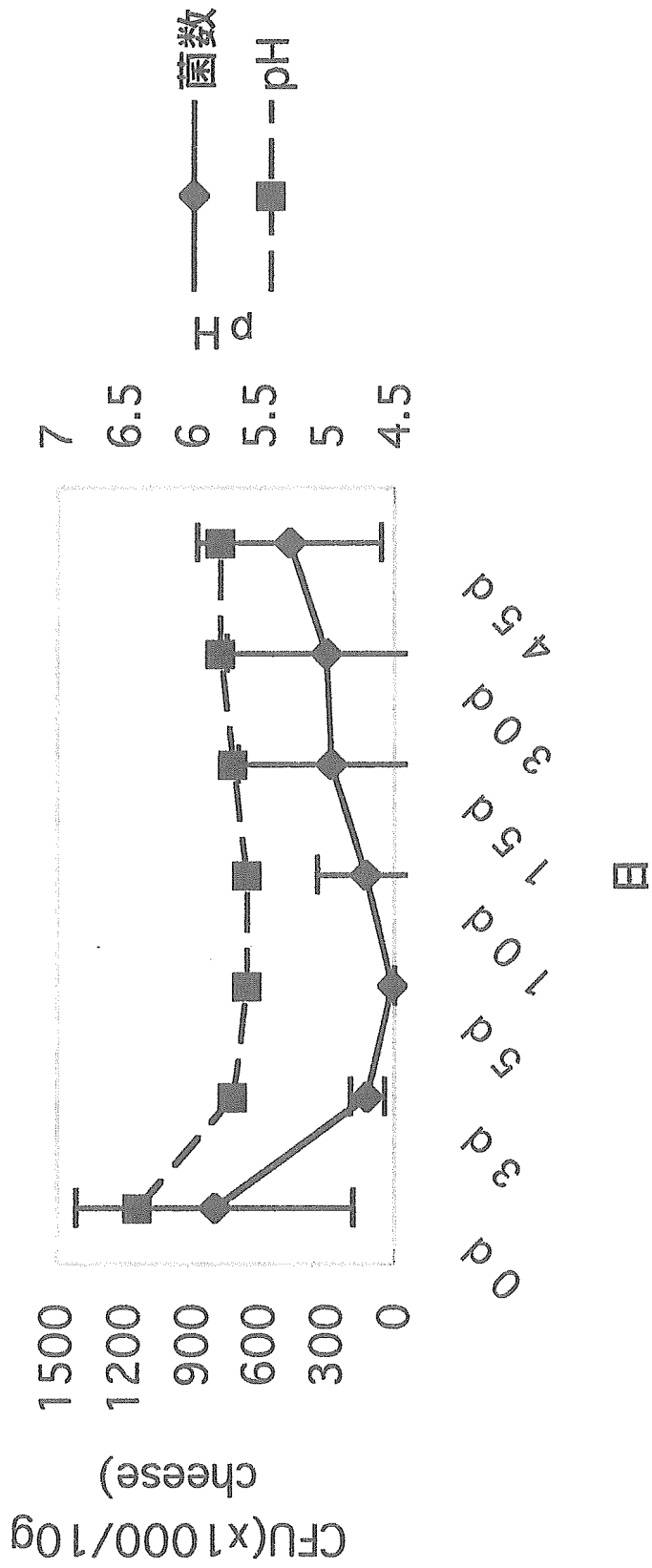


図5

カマンベール#1 型詰め後

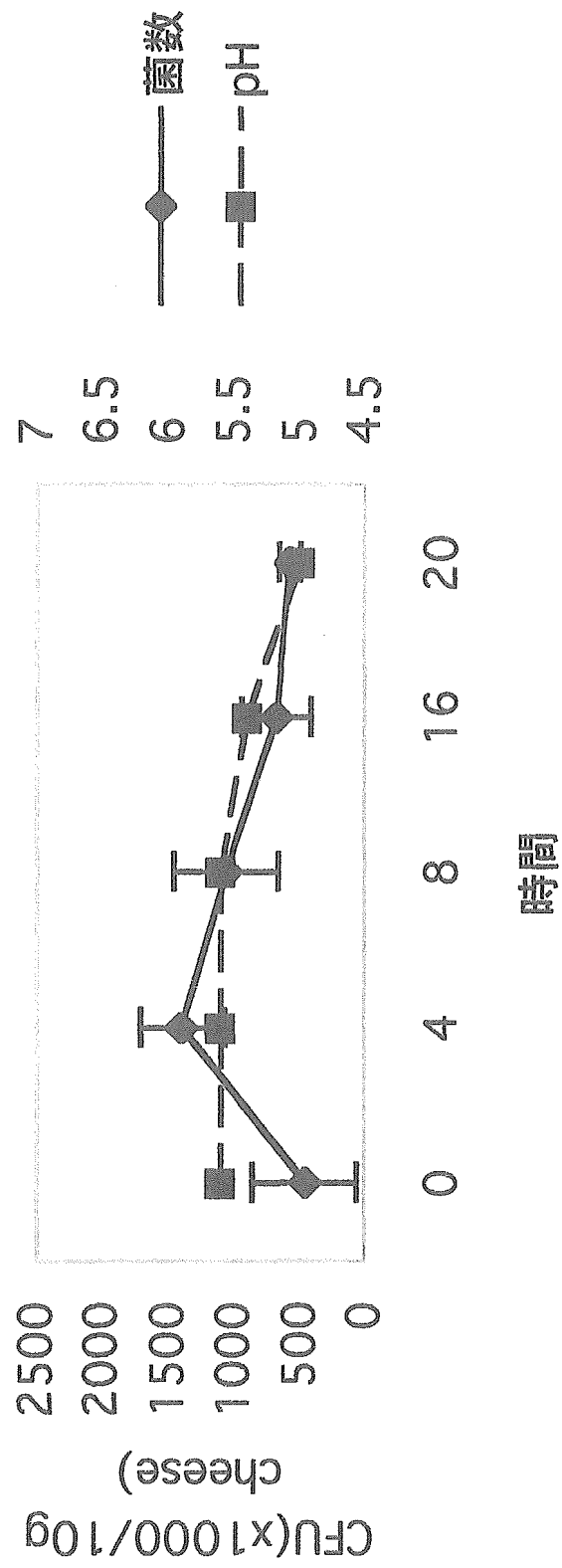
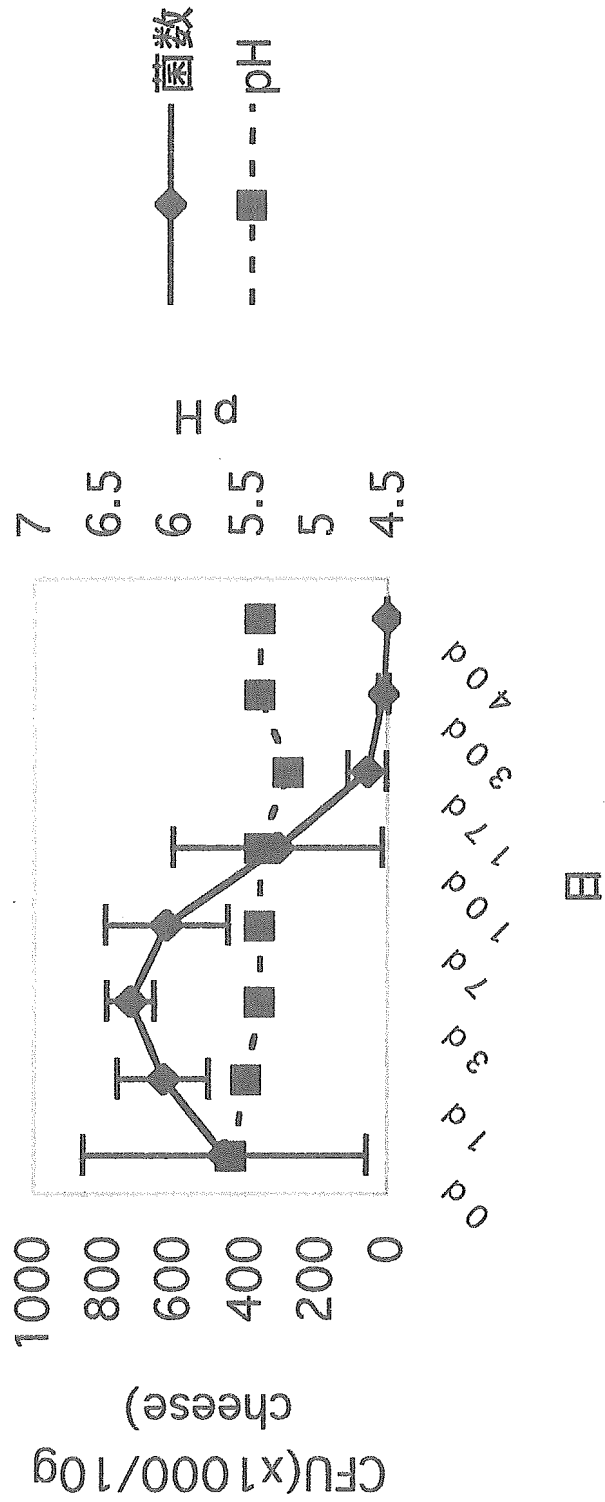


図6

カマンベール#1熟成



製品名 ゴーダチーズ（貯乳～分離～貯乳）

No.	危害に関する工程	危害の原因物質	危害の要因	防止措置	管理点	管理基準	確認方法	改善措置方法	検証方法	記録文書名
2	貯乳	微生物	貯乳タンク内での繰越し乳温上昇による増殖	CIP殺菌後、受入ライン・貯乳タンクの冷却	PP	10℃以下	温度確認（温度計） 頻度：タンク毎	品質確認後、異常あれば廃棄	製造日報の確認	製造日報
		微生物	タンクの破損、ピンホールによる微生物汚染	定期的な保守点検	PP	破損、ピンホールがないこと	目視確認 頻度：〇回／年	修理	保全記録の確認	保全記録
		微生物	機器の洗浄不良による汚染	工程制御コンピューターによる温度・時間の管理	PP	プログラムタマイマー通りであること	プログラムの確認 頻度：洗浄毎	再洗浄	洗浄記録の確認	洗浄記録
3	分離	微生物	長時間運転による微生物の増殖	定期的な中間洗浄	PP	〇時間処理毎	運転記録にて確認 頻度：〇時間毎	中間洗浄	洗浄記録の確認	洗浄記録
4	冷却	微生物	脱脂乳冷却温度上昇による微生物の増殖	冷却温度の管理	PP	冷却温度 10℃以下	温度計確認 頻度：〇時間毎	品質確認後、異常あれば廃棄	製造日報の確認	製造日報
		微生物	プレートのピンホールによる汚染	定期的な保守点検	PP	ピンホールのないこと	目視確認 頻度：〇回／年	修理	保全記録の確認	保全記録
		微生物	機器の洗浄不良による微生物汚染	工程制御コンピューターによる温度・時間の管理	PP	プログラム通りであること	プログラムの確認 頻度：洗浄毎	再洗浄	洗浄記録の確認	洗浄記録
5	貯乳	微生物	貯乳タンク内での繰越し乳温上昇による微生物の増殖	冷却温度の管理	PP	10℃以下	温度計での確認 頻度：タンク毎	品質確認後、異常あれば廃棄	製造日報の確認	製造日報
		微生物	機器の洗浄不良による微生物汚染	工程制御コンピューターによる温度・時間の管理	PP	プログラムタマイマー通りであること	プログラムの確認 頻度：洗浄毎	再洗浄	洗浄記録の確認	洗浄記録

製品名 ゴードチーズ (殺菌～圧搾)

No.	危害に関する工程	危害の原因物質	危害の要因	防止措置	管理点	管理基準	確認方法	改善措置方法	検証方法	記録文書名
6	殺菌	微生物	殺菌温度低下による微生物汚染	殺菌温度管理 (CCP2 参照)	CCP2	0~0℃	自記温度計での確認 頻度：○時間毎	殺菌温度の下限値を逸脱した場合、直ちに殺菌操作を停止し、製造責任者は連絡。製造責任者は下記の措置について指示を行う。 ・自記温度記録計精度確認 ・殺菌機正常復帰確認 ・当該製品回収、ライン洗浄、殺菌	保全記録の確認 殺菌記録の確認 計測器校正記録確認	保全記録 殺菌日報 校正記録
7	冷却	微生物	プレート式熱交換機の洗浄不良による微生物汚染	工程制御コンピューターによる温度、時間の管理	PP	プログラム通りであること	プログラムの確認 頻度：洗浄毎	再洗浄	洗浄記録の確認	洗浄記録
8	カード形成 / カップソグ	微生物	プレート式熱交換機のピンホールによる洗浄殺菌不良による微生物汚染	定期的な保守点検	PP	ピンホールのないこと	目視確認 頻度：○回/年	修理	保全記録の確認	保全記録
9	予備圧搾	微生物	洗浄殺菌不良による微生物汚染	工程制御コンピューターによる温度、時間の管理	PP	プログラム通りであること	プログラムの確認 頻度：洗浄毎	再洗浄	洗浄記録の確認	洗浄記録
10	本圧搾	微生物	洗浄殺菌不良による微生物汚染	工程制御コンピューターによる温度、時間の管理	PP	プログラム通りであること	プログラムの確認 頻度：洗浄毎	再洗浄	洗浄記録の確認	洗浄記録

製品名 ゴーダチーズ (加塩～醗酵)

No.	危害に関する工程	危害の原因物質	危害の要因	防止措置	管理点	管理基準	確認方法	改善措置方法	検証方法	記録文書名
11	加塩	微生物	加塩不足による微生物増殖	食塩水の濃度浸漬時間の管理	PP	食塩水比重： ○～○	比重計記録の確認 頻度：○回/日	食塩水の濃度調整	作業記録の確認	製造日報
12	醗酵	微生物	醗酵室温度上昇による微生物増殖	醗酵室の温度管理	PP	10℃以下	温度計確認 頻度：○回/日	品質確認を行い異常の認められるものは廃棄する	作業記録の確認	製造日報

II. 分担研究報告書

II-1. 食肉製造の高度衛生管理に関する研究

II-1-1. と畜場における高度衛生管理の確立のための病原体汚染実態調査

品川邦汎（岩手大学農学部）

II-1-2. とちく処理工程における重要管理点に関する研究

品川邦汎（岩手大学農学部）

II-1-3. 牛のとちく処理における白物内臓摘出時における腸切れに関する調査

品川邦汎（岩手大学農学部）

II-1-4. 外皮由来枝肉汚染に関する研究

ー特に残毛と枝肉汚染の関係についてー

品川邦汎（岩手大学農学部）

II-1-5. 参考資料

厚生労働科学研究費補助金
(食品の安心・安全確保研究事業)

分担研究報告書

主任研究者 品川邦汎 岩手大学

と畜場における高度衛生管理の確立のための病原体汚染実態調査

研究要旨

全国 6 カ所 (岩手、群馬、新潟、静岡、宮崎、鹿児島) のと畜場に搬入された牛 506 頭について直腸内容物、口腔内唾液、一部剥皮後切皮部ふき取り (肛門周囲)、外皮ふき取り (肛門周囲) および枝肉ふき取り (胸部及+肛門周囲) を材料として腸管出血性大腸菌 (EHEC) 026、0157 (以下 026、0157 と略す) の分離を試みた結果、直腸便では 506 検体中 60 検体 (10.7%)、口腔内唾液では 329 検体中 2 検体 (0.6%)、枝肉では 338 検体中 4 検体 (1.2%)、外皮の拭き取りでは 228 検体中 15 検体 (6.6%)、一部剥皮後の拭き取りでは 243 検体中 11 検体 (4.5%) が陽性であった。さらに、同一個体の直腸内容物、一部剥皮後切皮部および外皮由来の 0157 は PFGE パターンが同じであったことから、一部剥皮工程が汚染要因であることが示唆された。

と畜場における高度衛生管理のためには生産段階からと畜場搬入、解体処理にわたる全ての過程で EHEC 特に 0157 のコントロールが重要である。

協力研究者

高田清巳

瀬川俊夫

高橋雅輝

岩手県食肉衛生検査所

西脇 寿

新潟県食肉衛生検査センター

井上伸子

間瀬 徹

群馬県食肉衛生検査所

神田 隆

静岡県東部食肉衛生検査所

佐藤克巳

宮崎県都城食肉衛生検査所

安武康一郎

鹿児島県末吉食肉衛生検査

重茂克彦

岩手大学農学部

A. 研究目的

近年、各種食品製造施設において、食品の安全確保についてより一層の向上を図るため、危害分析・重要管理点方式 (HACCP) を導入した衛生管理システムの構築が進められている。HACCP 導入にあたっては、対象食品について発生しうる危害を科学的データに基づいて評価し、原料の搬入から製品となる製造の各段階で発生する危害を分析し、その管理手法を確立することが重要である。

本研究では、と畜場における高度衛生管理 (HACCP) 確立し、食肉を原因とする食品媒介細菌感染症を防止するために、牛が保有する重要な危害である 026、0157 を対象に、全国 6 カ所 (岩手、群馬、新潟、静岡、宮崎、鹿児島) のと畜場搬入牛の保菌状況を調査した。

B. 材料及び方法

1. 材料

平成 17 年 4 月～18 年 3 月に各と畜場に搬入された牛 506 頭の糞便 (0157; 506 検体、026; 481 検体)、口腔内唾液 (0157, 026 共に 329 検体)、枝肉ふき取り (0157; 338 検体、026; 298 検体、胸部+肛門周囲)、外皮ふき取り (0157, 026 共に 228 検体、肛門周囲)、および一部剥皮後切皮部ふき取り (0157; 243 検体、026; 213 検体、肛門周囲) を検査材料とした。

糞便は内臓摘出後、汚染しないように直腸便を採取した。

唾液はと殺後、滅菌綿棒 (メンテップ 綿球径 2cm) で口腔内をめぐって唾液を採取した。

外皮はと殺後、剥皮前に増菌培地 (mEC) 10mL を加えたふき取り検査用滅菌スポンジ (WHIRL PAK) で肛門周囲部 10×10cm² をふき取った。一部剥皮後切皮部は肛門周囲の切皮部を中心に 10×10cm² をふき取った。枝肉は胸部 10×10cm² および肛門周囲部 10×10cm² をふき取り、併せて 1 検体とした。

2. 方法

1) 026、0157 分離

材料 (糞便、唾液は各 1g、スポンジは 1 個) を novobiocin 添加 mEC (NmEC) に

接種し 42°C で 18～24 時間培養後、026 および 0157 免疫磁気ビーズ (DYNAL) で集菌処理して各分離培地を用い 36°C で 18～24 時間分離培養を行った。026 の分離培地は Cefixime-Tellurite 添加 Rhamnose MacConkey (CT-RMAC) を 0157 は CT 添加 Sorbitol MacConkey (CT-SMAC) およびクロモアガー 0157 (CHROM agar) を用いた。026、0157 を疑うコロニーについて TSI、LIM、CLIG で生化学性状を確認し、026、0157 診断用免疫血清 (デンカ生研) でスライド凝集反応を行った。スライド凝集反応で陽性の菌株については市販の RPLA 法による毒素検出キット (デンカ生研) を用いてベロ毒素 (VT) 産生性試験を行った。

2) 分離菌株の血清型別、病原因子保有状況調査、薬剤感受性試験およびパルスフィールドゲル電気泳動 (PFGE) 試験

今年度に分離した 026 の 5 株、0157 の 76 株について血清型別、薬剤感受性試験 (ABPC、SM、TC、CPFX、KM、CTX、CP、ST、NFLX、GM、NA、FOM) および PFGE (制限酵素: Xba I) を実施した。

C. 結果および考察

1) EHEC (026、0157) 分離成績

直腸便では、0157 は 506 検体、026 は 481 検体について検査を行った。分離生成期を表 1 に示す。0157 の 60 検体 (10.7%)、026 の 3 検体 (0.3%) がそれぞれ陽性であった。口腔内唾液では、0157 および 026 共に 329 検体を検査し、0157 は 2 検体 (0.6%)、026 は 1 検体 (0.3%) が陽性であった。枝肉では、0157 は 338 検体、026 は 298 検体について検査を行い、0157 では 4 検体 (1.2%) が陽性であった。026 は検出されなかった。外皮の拭き取りでは、0157、026 共に 228 検体を検査し、0157 では 15 検体 (6.6%)、026 では 1 検体 (0.4%) が陽性であった。さらに、一部剥皮後の拭き取りでは、0157 では 243 検体、026 では 213 検体を検査し、0157 は 11 検体 (4.5%) が陽性であった。026 は検出されなかった。

分離された 0157 76 株について H 抗原型別を行ったところ、73 株が 0157:H7 であり、3 株が 0157:H- であった。026 5 株は、2 株が 026:H11、3 株が 026:H- と型別された。これらの菌株の病原因子保有状況を調査したところ、0157:H7 の 73 株は全て stx 遺伝子と eaeA 遺伝子を保有していた。stx 遺伝子の内訳は、stx1 のみ保

有するものが5株、stx2のみを保有するものが42株、stx1とstx2両者を保有するものが26株であった。0157:H-の3株も、全てstx遺伝子とeaeA遺伝子を保有していた。stx1のみ保有するものが2株、stx1とstx2両者を保有するものが1株で、stx2のみを保有するものは認められなかった。026:H11、026H-は、全てstx1とeaeA遺伝子を保有していた(表2)。

薬剤(ABPC, SM, TC, CPF, KM, CTX, CP, ST, NFLX, GM, NA, FOM)感受性試験では、0157の76株中、いずれの抗生物質にも感受性を示す株が51株(67%)で、1剤耐性が3株(4%)認められ、これらはいずれもSM耐性であった。また、2剤耐性が22株(29%)認められ、内訳はSM, TC耐性が20株(26%)、ABPC, SM耐性が2株(3%)であった(表3)。026の5株では、2株が全ての抗生物質に感受性を示したが、2株が3剤耐性(ABPC, SM, KM耐性およびSM, TC, CP耐性)、1株が4剤耐性(ABPC, SM, TC, ST耐性)であった(表4)。PFGEによるgenotyping解析では、STEC 0157および026共に、それぞれ分離された菌株の地域、および農場によってそれぞれ特有なパターンが観察され、ウシ由来STECはheterogeneousな集団で

あると考えられた。地域をまたがって共通なバンドパターンを示す菌株は認められなかった。PFGEによる遺伝学的関連性の結果から、それぞれの地域で特有のSTECが保持されていると推定された。しかしながら、農場由来別では同一のパターンを示すものも認められており、このような事例ではSTECは同一の汚染源であることが明らかになった。さらに、同一個体の直腸内容物、一部剥皮後切皮部および外皮由来の0157はPFGEパターンが同じ例が認められたことから、一部剥皮工程が汚染要因であることが示唆され、衛生管理のうえで最も重要であることが明らかになった。

今回の調査では、検査した牛直腸内容物の0.3%から026が分離され、10.7%から0157が分離されたことからと畜場搬入牛は腸管出血性大腸菌の重要な汚染要因であることが再確認された。同一生産者由来の複数の牛で同じPFGEパターンの0157が分離される例があることから、同一牛舎内で牛の間に同じクローンの0157が維持されている高度に汚染された生産者の存在が確認された。しかしながら、複数回の調査で同じ生産者由来の牛から異なるPFGEパターンの0157が

分離される例も見られることから、0157 は遺伝子変異をしながら牛群内で維持されている可能性、および人や物の移動に伴って新しい遺伝子型の 0157 が牛群に侵入している可能性が考えられた。牛群に菌が蔓延し定着していることが窺われる農場は最も重要な汚染源であると考えられる。

以上、今回の調査から EHEC 特に 0157 は牛が保有する重要な微生物学的危害であり、と畜場の衛生を確保していくためには生産段階からと畜場搬入、解体処理の全て過程で 0157 のコントロールが重要である。

E. 成果発表

1. 品川邦汎, 重茂克彦 (2005) 牛の腸管出血性大腸菌 0157 および 026 保菌実態と子牛の保菌動態. シンポジウム—0157 感染症の現況と将来— 第 9 回腸管出血性大腸菌感染症シンポジウム 抄録集 : 16.
2. 大谷勝実, 池田辰也, 瀬川俊夫, 高橋雅輝, 浅見成志, 佐藤 博, 神田 隆, 井田正巳, 佐藤克巳, 中本成彦, 重茂克彦, 品川邦汎 (2005) ウシから分離された腸管出血性大腸菌 0157 および 026 の細菌学および分子遺伝学的性状. 第 9 回腸管出血性大腸菌感染症シンポジウム 抄録集 : 35.

3. 高橋雅輝, 瀬川俊夫, 浅見成志, 佐藤 博, 神田 隆, 井田正巳, 佐藤克巳, 中本成彦, 重茂克彦, 品川邦汎 (2005) と畜場に搬入されたウシにおける腸管出血性大腸菌 0157 および 026 の保有状況. 第 9 回腸管出血性大腸菌感染症シンポジウム 抄録集 : 36.

4. 大谷勝実, 池田辰也, 瀬川俊夫, 高橋雅輝, 浅見成志, 佐藤 博, 神田 隆, 井田正巳, 佐藤克巳, 中本成彦, 重茂克彦, 品川邦汎 (2005) と畜場に搬入されたウシにおける腸管出血性大腸菌 0157 および 026 の保有状況. 第 59 回日本細菌学会東北支部総会 講演要旨集 : 16.

5. 瀬川俊夫, 高田清己, 浅見成志, 佐藤 博, 神田 隆, 井田正巳, 佐藤克巳, 中本成彦, 重茂克彦, 品川邦汎 (2005) と畜場への搬入牛および枝肉の腸管出血性大腸菌 0157 および 026 の汚染 (全国的調査). 第 90 回日本食品衛生学会学術講演会 講演要旨集 : 69.

6. 村田敏夫, 大谷勝実, 瀬川俊夫, 高田清己, 高橋雅輝, 浅見成志, 佐藤 博, 神田 隆, 井田正巳, 佐藤克巳, 中本成彦, 重茂克彦, 品川邦汎 (2005) ウシ由来腸管出血性大腸菌 0157 および 026 の各種性状. 第 90 回日本食品衛生学会学術講演会 講演要旨集 : 70.

検査機関別STEC検出結果

表 1 腸管出血性大腸菌 O157およびO26の分離状況

検査頭数	直腸便・陽性数		口腔内・陽性数		枝肉・陽性数		外皮・陽性数		一部剥皮・陽性数	
	O157	O26	O157	O26	O157	O26	O157	O26	O157	O26
506	54	3	2	1	4	0	15	1	11	0
各材料ごとの検体数	506	481	329	329	338	298	228	228	243	213

表 2 分離株の病原因子保有状況

O157

	VT1	VT2	VT1+VT2	eaeA
O157:H7	5	42	26	73
O157:H-	2		1	3

O26

	VT1	VT2	VT1+VT2	eaeA
O26:H-	3			3
O26:H11	2			2

表 3 O157分離株の薬剤感受性試験

	耐性薬剤	株数	%
12薬剤感受性		51	67
1剤耐性	SM	3	4
2剤耐性	SM,TC	20	26
	ABPC,SM	2	3

表 4 O26分離株の薬剤感受性試験

	耐性薬剤	株数	%
12薬剤感受性		2	40
3剤耐性	ABPC,SM,KM	1	20
	SM,TC,CP	1	20
4剤耐性	ABPC,SM,TC,ST	1	20

厚生労働科学研究費補助金
(食品の安心・安全確保研究事業)

分担研究報告書

主任研究者 品川邦汎 岩手大学

とちく処理工程における重要管理点に関する研究

と畜場において食肉の衛生を確保するにあたって重要となる項目のひとつに、と畜業者等が自ら作成したHACCPの考え方に沿った文書(標準的な作業手順書)が有効に機能していることがあげられる。しかしながら、本研究の一環として調査したとさつ解体後の牛枝肉の拭取り検査において、腸管出血性大腸菌O157およびO26がたびたび検出される実態が明らかとなったことから、実際には作業手順書に従ったとちく処理が行われていないか、あるいは作業手順書自体に問題点があることが推察された。そこで、これらの微生物学的危害がとちく処理のどの工程で最も影響を与えているかを把握するため、食肉衛生検査所の立場から、全国9個所のと畜場において、処理工程ごとに衛生確保に係る重要度の評価を行った。その結果、内臓(赤物、白物)摘出、食道結紮、肛門結紮、枝肉洗浄、枝肉冷却の各工程が枝肉の衛生確保を図る上で極めて重要であると評価された。さらに一部剥皮、全剥皮、スチームバキュームおよびトリミングの各工程についても重要であるとの認識が示された。

研究協力機関

岩手県食肉衛生検査所
群馬県中央食肉衛生検査所
新潟県長岡食肉衛生検査センター
静岡県東部食肉衛生検査所
静岡県西部食肉衛生検査所
兵庫県食肉衛生検査センター
宮崎県都城食肉衛生検査所
鹿児島県末吉食肉衛生検査所
青森県十和田食肉衛生検査所

たり、家畜の生産飼育と食肉の流通消費の中間に位置されると畜場において、疾病等の排除および残留有害物質の排除はと畜場法に基づき食肉衛生検査所が対応しているが、とちく解体における衛生的処理については、とちく業者等がと畜場法施行令および同法施行規則に基づき、HACCPの考え方に沿って作成した標準作業手順書により処理を行うこととなっている。

A. 研究目的

安全で衛生的な食肉を生産するにあ

しかしながら、全国的に多くのと畜場においては、とちく処理における標準作業書は作成されているものの、とちく業