

200734043A

厚生労働科学研究費補助金

食品の安心・安全確保推進研究事業

食品製造における食中毒菌汚染防止の
ための高度衛生管理に関する研究

平成 19 年度総括研究報告書

主任研究者 品川邦汎

平成 20 年 4 月

目 次

I. 総括研究報告書

食品製造における食中毒菌汚染防止のための高度衛生管理に関する研究
品川邦汎（岩手大学農学部）

II. 分担研究報告書

II-1. と畜場における食肉（豚）製造のための高度衛生管理に関する研究

II-1-1. と畜場における食肉（豚）製造のための高度衛生管理
に関する研究 分担研究報告書

品川邦汎（岩手大学農学部）

II-1-2. 参考資料

II-2. 果実・野菜・漬け物等における食中毒菌の衛生管理に関する研究 分担
研究報告書

牧野壮一（帯広畜産大学）

II-2-1. 浅漬けにおける食中毒菌の衛生管理に関する研究

牧野壮一（帯広畜産大学）

II-2-2. 漬け物に関する疫学調査のまとめ

牧野壮一（帯広畜産大学）

II-3. 衛生管理における食中毒菌のモニタリングに関する研究

II-3-1. バイオフィルムを形成するリステリアの食品製造工程における衛生管
理に関する研究

五十君静信（国立医薬品食品衛生研究所）

II-3-2. カンピロバクター試験法に関する検討

五十君静信（国立医薬品食品衛生研究所）

厚生労働科学研究費補助金（食品の安心・安全確保推進研究事業）

主任研究者 品川邦汎 岩手大学

食品製造における食中毒菌汚染防止のための高度衛生管理に関する研究

本研究は、食肉（豚肉）、果実・野菜・漬け物類、および ready to eat 食品を対象食品とし、その有害微生物のコントロール手法を確立するために各製造工程における危害分析を行い、最終的には安全な食品（食肉）製造における HACCP モデルを作成することを目的とする。今年度は、以下の成果を得た。

豚のサルモネラ属菌保菌実態と処理工程での汚染動態について調査した結果、サルモネラ保有率は地域により大きな差異（個体別の陽性率は 0.9%～32.4%；農場別の陽性率は 3.8%～40%）があり、また高度に汚染されている農場（40%以上）が存在することが明らかになった。また、今回分離された菌株の血清型は、*Salmonella* Typhimurium が 33 株と最も多く、次いで *S. Derby*、*S. Infantis*、および *S. Agona* であった。さらに *S. Typhimurium* 33 株中 15 株（45.5%）は多剤耐性を示す *S. Typhimurium* DT104 であることが確認された。

漬け物類の汚染は、浅漬け製造工場 2 箇所について製造工程を調査すると共に、食中毒起因菌の危害分析を行った。さらに、市販の浅漬けを中心とした漬物について一般小売店から購入し、リステリア汚染状況を調べた。本菌の汚染率は A 工場に比して B 工場が高かったが、これは原材料の汚染が高いこと、周囲の環境汚染が高いことなどの要因が考えられ、衛生環境の向上を目指す必要があると考えられた。また、市販の浅漬けからもリステリア属菌が分離された。現在、漬け物については食品衛生法で規制されていないが、今後行政的な対応が必要かもしれない。

非加熱喫食食品に汚染が認められるリステリア・モノサイトゲネスは、その製造工程におけるバイオフィーム形成が認められることから本菌の食品への汚染の原因となっている。食品製造工場（イカ塩から）の調査により、製造工程における一般生菌数、大腸菌群の汚染実態を検査し、バイオフィームの形成されやすい箇所（裁断機キヤスター、作業台の脚）を特定した。さらに、リステリアのモニタリング方法として増菌培地に添加するアクリフラビン量を検討し、検出結果に与える影響を評価した。さらに、リステリア試験法に関する問題点を整理し、今後の試験法の検討事項を明確

にした。

カンピロバクター・ジェジュニ／コリ検査では微好気培養を必要とし、食品等の検査においても、特殊な装置を用いた微好気培養を行わなければならない。一方、通気性の無い特殊フィルムを用いたストマッカー袋を用いると、通常の好気培養用のインキュベーターで本菌の増菌培養が可能であることが示されている。そこで、本培養法の妥当性について地方衛生研究所7機関との共同研究により評価した。市販鶏肉をそれぞれ特殊ストマッカー袋(内気を混合ガスで置換)および通常のストマッカー袋(内気は通常の空気)を用いて好気培養し、カンピロバクターの分離状況を検討した。この結果、通気性の無い特殊フィルムを用いたストマッカー袋を用いた増菌培養では、カンピロバクターの増菌が可能であり、特殊な機器を持たない施設での培養に有用と思われた。

分担研究者

牧野壮一 帯広畜産大学
五十君静信 国立医薬品食品衛生
研究所

協力研究者

齋藤志保子 秋田県健康環境センター
瀬川俊夫 岩手県食肉衛生検査所
小川修平 宮城県食肉衛生検査所
森崎 昇 群馬県食肉衛生検査所
西脇 寿 新潟県長岡食肉衛生

検査センター

佐久間靖子 新潟県長岡食肉衛生
検査センター
小長井春夫 静岡県西部食肉衛生
検査所
廣 幸音 三重県松阪食肉衛生
検査所
柴折浩幸 兵庫県食肉衛生検査
センター西播磨食肉
衛生検査所
堀内道生 愛媛県食肉衛生検査

センター

湯口俊之 鳥取県食肉衛生検査所
赤坂敬史郎 鹿児島県末吉食肉衛生
検査所
上村祐治 鹿児島県末吉食肉衛生
検査所
大野明美 沖縄県中央食肉衛生
検査所
重茂克彦 岩手大学農学部
武士甲一 帯広畜産大学
川本恵子 帯広畜産大学
上田成子 女子栄養大学
北川雅彦 北海道立釧路水産試験場
宮原亜希子 北海道立釧路水産試験場
麻生真悟 北海道立釧路水産試験場
信太茂春 北海道立釧路水産試験場
飯田訓之 北海道立釧路水産試験場
石和玲子 国立医薬品食品衛生
研究所
影山亜紀子 国立医薬品食品衛生
研究所
岡田由美子 国立医薬品食品衛生
研究所

齊藤志保子 秋田県健康環境センター
藤田雅弘 群馬県衛生環境研究所
小野一晃 埼玉県衛生研究所
仲真晶子 東京都健康安全研究センター
井田美樹 東京都健康安全研究センター
加藤 玲 東京都健康安全研究センター
平井昭彦 東京都健康安全研究センター
金子誠二 東京都健康安全研究センター
甲斐明美 東京都健康安全研究センター
横山敬子 東京都健康安全研究センター
田口真澄 大阪府公衆衛生研究所
富永潔 山口県環境保健センター
八尋俊輔 熊本県保健環境科学研究所
宮坂次郎 熊本県保健環境科学研究所

A. 研究目的

近年、各種食品製造施設において、食品の安全性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、食肉(豚肉)、果実・野菜・漬け物類、および ready to eat 食品を対象食品とし、各製造工程における危害分析を行い、その有害微生物のコントロール手法を確立するとともに、安全な食品(食肉)製造における HACCP モデルを作成する。

これまで食肉生産における高度衛生管理の確立に向けて、と畜場での牛解体処理における腸管出血性大腸菌 O157 などの危害微生物汚染防止のため、HACCP 方式について検討を行ってきた。本研究では、豚の解体処理工程における微生物汚染と危害発生として、サルモネラ属菌を対象に汚染実態と処理工程での汚染動態を解明し、これらの有害微生物のコントロール手法を確立する。最終的には、安全な食肉製造のための高度衛生管理として HACCP モデルを作成する。

また、果実・野菜(野菜サラダ等)・漬け物等の製造過程における微生物危害発生防止方策として HACCP モデルプランの構築を目的に、各製造過程における微生物学的危害について実態調査を実施する。また、環境中での微生物の生残性(ストレス抵抗性)、増殖性等を調査し、食品の製造工程及び保存条件などについて HACCP モデルの構築を行う。本年度は、浅漬工場 2 箇所を対象として製造工程を調査すると共に、実際に食中毒原因菌

について危害分析を行った。さらに、浅漬けを主体とした漬物を小売店から購入し、汚染状況を調べた。同時に、これまでわが国で発生した漬物による食中毒事例に関する情報を収集し、食中毒との関連についてまとめた。

ready to eat 食品等に汚染が認められるリステリア・モノサイトゲネスは、その製造工程においてバイオフィルムを形成しており、これが本菌の食品への汚染原因となっていることが指摘されている。本菌は乾燥や高濃度の食塩耐性、低温増殖性といった環境抵抗性を示し、バイオフィルム形成が見られる。そこで、本研究ではリステリアの食品製造工程における衛生管理に適したモニタリング方法を確立し、食品製造工程や保存における増殖性の評価を行うと共に、バイオフィルムの形成防止と本菌の除去を目指した管理法を検討することを目的とした。

さらに、カンピロバクターは微好気培養を必要とする細菌であり、食品の汚染実態調査を行う場合、特殊な培養装置を必要とすることから、このような装置が無い場合、食品における本菌の汚染を調べることは困難であった。以前の検討から通気性の無い特殊フィルムを用いたストマッカー袋を用いることにより、好気培養下においても本菌の増菌培養が可能であることが示されている。そこで、8箇所の機関で、同一な試験法を用いて市販の鶏肉について汚染実態調査を行い、

通気性の無い特殊フィルムを用いたストマッカー袋を用いた試験方法の妥当性を検証した。

B. 検査方法

B-1. と畜場における食肉（豚）製造のための高度衛生管理に関する研究

平成19年11月～20年3月に北海道、秋田、岩手、新潟、群馬、静岡、三重、兵庫、鳥取、鹿児島、沖縄各県の食肉処理場に搬入された豚1,318頭を対象とし、盲腸便からのサルモネラ属菌分離を行った。盲腸内容物1gをラポポート・バシリアデイス培地100mlに接種し42℃で18～24時間培養後、その1白金耳をXLD寒天平板（OXOID）、クロモアガールサルモネラ平板（CHROMagar）に塗布し37℃で18～24時間培養した。分離コロニーはTSI、LIMに接種し鑑別試験を行いサルモネラの生化学性状を確認後、凝集試験を実施した。これらの分離株について薬剤感受性試験を行った。

B-2. 果実・野菜・漬物等における食中毒菌の衛生管理に関する研究

疫学調査研究に関する情報収集を行い、厚生労働省の情報を中心にデータ整理を行った。また、北海道内の漬物工場2件（A工場、B工場）に協力を願い、製造工程における細菌検査を行った。また、市販品は一般小売店より購入し実施した。購入サンプルは、225グラムをストマッ

カー処理に供し、検査に使用した。一般性菌数、大腸菌 (*E. coli*)、サルモネラ属菌、腸管出血性大腸菌 O157、リステリア属菌の検出を行った。必要に応じて O157 の検査において、増菌培養後 O157 特異的 PCR 方によりスクリーニングを行い、陽性のみ以下の試験を行った。同様に、リステリアの検査では、二次増菌にて培地が黒変した場合に、以下の試験を実施した。また、クロモアガーリステリア寒天平板上において定型的な集落が分離された場合、必要に応じ、糖分解能試験や溶血反応、PCR を行い *L. monocytogenes* を決定した。

B-3. バイオフィルムを形成するリステリアの食品製造工程における衛生管理に関する研究

文献調査と web 情報の収集により、バイオフィルムに関する情報収集を行った。製造工程におけるバイオフィルム形成の実態調査は、北海道立釧路水産試験場の協力により、イカ塩辛の製造工程における一般生菌数、大腸菌群、リステリアの汚染実態について検討した。本調査の実施期間は平成 20 年 1 月から 2 月とした。調査施設は北海道釧路にあり、イカ塩辛製品をはじめ魚卵、貝類などを原料とした水産加工品を製造している。リステリアの試験法については、アクリフラビンの異なる (10~15mg/L) 各種市販 EB 培地を用い、増菌培地について検討を行っ

た。白カビ、ウオッシュ、セミハード、青カビの各タイプのチーズに血清型 4b 菌 (ATCC43256) あるいは血清型 1/2a 菌 (ゴードチーズからの分離株) を 30~40CFU / 25g 接種して、各種 EB 培地で 48 時間増菌後、増菌液中のリステリア・モノサイトゲネス菌数を測定した。

B-4. 衛生管理における食中毒菌のモニタリング方法に関する研究-カンピロバクター試験法に関する検討

国立医薬品食品衛生研究所食品衛生管理部より配布された通気性の無い特殊フィルムを用いたストマッカー袋 (A 法、10 袋) および通常のストマッカー袋 (B 法、10 袋) に入れられた凍結ボルトン培地を解凍し、添加液を封入した小袋を破壊後、混和し実験に用いた。培養は、通常のインキュベーターを用いた好気培養で行った。試験方法は、国立医薬品食品衛生研究所が web 上で公開している“食品からのカンピロバクター (ジェジュニ/コリ) の試験法案 (ステージ 2 : 作業部会案) NIHSJ-02-ST2”に従って実施した。また、試験方法の対照として、自家調製のボルトン培地 (Oxoid) と通常のストマッカー袋を用いた微好気培養を行い (C 法) 上記方法との成績を比較した。供試検体は市販鶏肉をチルド 5 検体、凍結 5 検体を目安として検出を試みた

C. 結果と考察

C-1. と畜場における食肉（豚）製造のための高度衛生管理に関する研究

1,318 頭の豚から採取した盲腸便からサルモネラ属菌分離を試みたところ、138 頭 (10.5%) がサルモネラ属菌を保有していた。検査機関ごとにサルモネラ陽性率は大きく異なり、陽性豚が少ない検査所では 110 頭中 1 頭 (0.9%) であったのに対し、陽性率が高い検査所では 150 頭中 26 頭 (17.3%) ~ 54 頭中 22 頭 (40.7%) であった。月別の分離状況は、1 月の陽性率が最も低く 5.4% であった (表 1)。季節性については、引き続き次年度も調査を進め、1 年間のサルモネラの動態を観察する予定である。

今回の調査で、88 養豚場から 22 種類の血清型のサルモネラが分離された。88 養豚場のうち 75 養豚場では分離された株の血清型は 1 種類であったが、2 種類の血清型が分離された農場が 10 カ所、3 種類の血清型が分離された養豚場が 3 カ所認められた。食肉衛生検査所別の分離陽性養豚場数は 1 から 35 と施設によって異なり、サルモネラ汚染状況は地域によってかなり異なっていると考えられた。分離血清型は *S.Typhimurium* が最も多く 5 カ所の食肉検査所の検査で 33 養豚場から分離された (表 2)。次いで *S.Derby* が 6 カ所の食肉衛生検査所で 21 養豚場から、*S.Infantis* が 5 カ所の食肉衛生検査所で 14 養豚場、*S.Agona* が 3 カ所の食肉衛生検査所で 7 養豚場から分離された。

S.Choleraesuis Kunzendorf 生物型は 7 養豚場から分離されたが、鹿児島県末吉食肉衛生検査所でのみ検出された。

上位 4 血清型 (*S.Typhimurium*、*S.Derby*、*S.Infantis*、*S.Agona*) と O4:i:-、*S.Miyazaki*、*S.Saintpaul* の 7 血清型は 2005~2007 年のヒト由来株の集計の上位 15 サルモネラ血清型 (国立感染症研究所感染症情報センター 病原検出情報) に該当する血清型であった。豚のサルモネラ汚染が、ヒトの健康被害の一因となっている可能性が示唆された。

薬剤感受性については血清型により耐性株の割合が異なった。*S.Typhimurium* の約 85% は共試薬剤のいずれかに耐性を示したが、*S.Derby* は 81% が感受性株であった。*S.Infantis* は 14 株中 5 株が耐性株であり、5 株とも多剤耐性を示した。*S.Miyazaki* も 6 種類の薬剤に耐性を示した。FOM 誘導耐性の株が *S.Agona*、*S.Choleraesuis* Kunzendorf 生物型、*S.Miyazaki* に認められた。FOM は治療に汎用されることから、FOM 耐性株についてはヒト由来株との関連を含め豚の保菌や市販食肉汚染の動向には注意が必要と考えられる。

近年多剤耐性の *S.Typhimurium* DT104 (ファージ型別法で definitive type 104 に分類) の増加が大きな問題となっている。*S.Typhimurium* DT104 はペニシリン、テトラサイクリン、クロラムフェニコール、ストレプトマイシン、

サルファ剤等の各種の抗菌薬に耐性のことが多く、欧米ではキノロン薬にも耐性を獲得した株が確認されている。表 2、3 に示すように、今回の調査では分離株 33 株中 15 株 45.5%が DT104 であることが確認され、食肉衛生検査所により DT104 の占める割合が異なり、兵庫県西播磨食肉衛生検査所、鳥取県食肉衛生検査所では非常に高率であった。DT104 15 株は SM、CP、TC、G、ABPC の 5 薬剤にすべて耐性を示した。

各食肉衛生検査所が管轄する食肉処理場の処理工程表を作成し、相互に比較した。豚の処理工程は、大きく分けて 1) 放血後片足懸垂した状態で解体を進めるオーバーヘッド方式、2) 放血後自動搬送ベッドにと体を移し、頭側と尾側で対面して処理を進める対面方式、3) 放血後飽和蒸気あるいは温湯プールによる湯漬けを実施し、その後剥皮を行う湯剥ぎ方式、の 3 タイプに分類することができた。現在、各方式における体表からの細菌汚染、消化管破損等による腸管内容物汚染の状況を調査しており、将来的にはこれらの 3 方式について標準的な HACCP モデルプランを構築する。

C-2. 果実・野菜・漬物等における食中毒菌の衛生管理に関する研究

表 3 に示すように、白菜の原材料からリステリア属菌 (*Listeria spp.*) が分離されたが、製品や製品製造途中の他の食材

からは分離されなかった。その他、リステリア、サルモネラ、O157 および *E. coli* は分離されなかった。さらに、工場内のふき取り検査では上記菌種は分離されなかった。しかし、一般性菌数はサンプル場所や食品、製品により異なっていたが、*Listeria spp.* が分離された白菜においては、一般性菌数が高かった。

B 工場における検査結果を表 4 に示す。工場内ふき取り検査および食材や製品から *Listeria spp.* が高頻度に分離された。一般性菌数とは相関性はなかったが、一般性菌数の高い場所では、*Listeria spp.* が分離されやすい傾向はみられた。その他の病原菌に関しては分離されなかった。なお、分離された *Listeria spp.* の血清型別は実施中である。

市販されている浅漬けを中心に、14 店舗から 108 サンプル数を購入し、*Listeria spp.*、*Salmonella*、Coliform、*E. coli* O157、一般生菌数を調べた。その結果を表 5 に示す。浅漬けの内容は、白菜やキャベツを中心に製造されたものである。

A 工場は原材料の白菜のみからリステリアが分離されたが、B 工場では原材料のみならず製品や工場内の各所からリステリアが分離された。また、市販製品においてもリステリアが分離された。しかし、大腸菌、サルモネラ、O157 は分離されなかった。このことは、漬物に関しては、リステリアが一番重要な微生物学的

な危害になるといえる。

C-3. バイオフィルムを形成するリステリアの食品製造工程における衛生管理に関する研究

バイオフィルムに関する文献調査と情報収集を行い、バイオフィルムに関する情報を整理した。リステリアでは、製造工程に形成されたバイオフィルムが、最終製品のリステリア汚染に大きく関わっており、その除去が本菌の管理に重要であることが確認された。リステリアの現場におけるバイオフィルムに関する検討としては、北海道立釧路水産試験場の協力により、イカ塩辛の製造工程における調査を行った。製造工程をとおして、一般生菌数、大腸菌群、リステリアの汚染実態について調査した。今回の調査ではリステリアは検出されなかったが、一般生菌数の高い作業工程において、バイオフィルムの形成が観察された。リステリアの検出方法では、アクリフラビン量を変え、EB 培地の増菌効果について検討を行った。各種チーズを対象として検討を行ったところ、アクリフラビン量による増菌効果の大きな違いは認められなかった。一方、チーズの種類により増菌後の菌数に違いが認められた。白カビタイプチーズでは $10^7 \sim 10^9 \text{CFU/ml}$ に増菌された。一方、青カビタイプチーズでは大部分の試料で 10^3CFU/ml に達せず、 10CFU/ml 未満のものもあった。

バイオフィルムに関する情報収集によりその現状が明らかとなり、更にリステリアの除去を具体的にどのように検討していったら良いかについて多くの情報が収集できた。バイオフィルムを人工的に作成する方法が報告されていることから、これらの情報を基に次年度以降リステリアに関するバイオフィルムのモデル実験系を確立すること、そのバイオフィルムの性質の解析、形成されたバイオフィルムからのリステリアの検出方法の提供、およびバイオフィルムの処理方法の検討を行う予定である。イカ塩辛の製造工程における調査により、製造工程をとおして、一般生菌数、大腸菌群の汚染実態について確認できた。今回の実態調査では、リステリアは検出されなかったが、バイオフィルムの形成されやすい箇所は特定された。細断機のキャスターと作業台の脚ではバイオフィルム固着が確認され、一般生菌数が $10^5 \sim 10^9 \text{cfu}/100\text{cm}^2$ と高い値を示した。これらからの交叉汚染により、中間製品あるいは最終製品が汚染を受ける可能性があるため、作業器材の目視しにくい部位について十分な点検を行うと同時に、バイオフィルム除去をはじめとする一般的衛生管理事項の再点検と徹底した洗浄・殺菌を行い、定期的な細菌検査によって常に衛生状態を確認する必要がある。このような箇所は、リステリアのバイオフィルムの形成されやすい箇所でもあると思われる。

C-4. 衛生管理における食中毒菌のモニタリング方法に関する研究-カンピロバクター試験法に関する検討

通気性のない素材を用いた特殊ストマッカー袋で、好気培養を行った結果と、通常のスTomacker袋で微好気条件下で培養した場合の検出は、冷蔵鶏肉で38検体中それぞれ20と19の検出、凍結鶏肉（解凍品を含む）で42検体中それぞれ14と16、合計で80検体中それぞれ34と35で、検出率はほぼ均しかった（表5）。通常のスTomacker袋で好気培養を行った場合も増菌が認められたが、特殊ストマッカー袋での好気培養や、通常のスTomacker袋による微好気培養と比べると検出率は低かった。

カンピロバクターは、微好気培養を必要とする細菌であり、食品の汚染実態調査を行う場合、特殊な培養装置を必要とすることから、このような装置が無い場合、食品における本菌の汚染を調べることは困難であった。今回は特殊な機械を必要としないで、通常のインキュベーターを用いてカンピロバクターの増菌が出来ると思われる特殊ストマッカー袋による培養を検証した。ボルトン培地を通気性のない特殊ストマッカー袋に入れ、微好気ガス置換を行うことにより、従来の微好気培養で増菌した場合とほぼ同等の増菌結果が得られた。さらにボルトン培地を好気培養した場合も、かなりの検体

でカンピロバクターが検出されたが、この方法では、上記の方法と比べると明らかに検出率は低下した。今回の検討では、定性的に行っているので統計的な考察は難しいが、特殊フィルムを用いる増菌法は、大変有用な方法と期待される。今後更に検体数を増やして、その検出精度を検証してゆくべきである。

D. 結論

今年度の調査の結果から、地域差はあるものの全国的にサルモネラ汚染養豚場が存在することか確認され、豚盲腸由来株で患者由来株と共通する血清型が認められたことから、今後も豚のサルモネラ汚染状況の動向に注意が必要である。豚食肉の安全性を確保するためには保菌豚からの解体処理時の汚染の防止が重要と考えられ、HACCPに基づく高度衛生管理手法の構築が必要である。

また、浅漬け工場におけるリステリアの分離では、B工場の方が高かった。これは原材料の汚染が高いこと、周囲の環境に汚染が高いこと、など多くの要因が考えられるが、以上の結果をもとにB工場では危害分析を行い、衛生環境の向上を目指す必要がある。リステリア属菌が浅漬け製造過程で最も危害が高い微生物なので、次年度は、製造工程で減少する方策についても検討する必要がある。

非加熱喫食食品に汚染が認められるリステリアでは、製造工程に形成さ

れたバイオフィルムが、最終製品のリストテリア汚染に大きく関わっており、その除去が本菌の管理に重要であることが確認された。製造工程における現地調査により、一般生菌数、大腸菌群の汚染実態について確認し、バイオフィルムが形成されやすい箇所が特定された。リストテリアの増菌培地に添加するアクリフラビンの量について検討し、検出結果に与える影響を評価した。さらに、リストテリアの試験法に関する問題点を整理し、今後の試験法の検討項目を明らかにした。

カンピロバクターについては、今回検討した市販鶏肉からのボルトン培地を用いた通気性のない特殊ストッカー袋による好気培養は、従来の微好気培養によるカンピロバクター検出法とほぼ同等の成績を示した。この方法は、微好気培養用の特殊な機械のない試験室においてもカンピロバクター試験を行うことを可能とする有用な方法であると思われる。今後、この方法については検体数を増やし、定量的考察を加えたさらなる検証を行う必要がある。

E. 健康危害情報

浅漬けからリストテリア属菌が分離されているが、現在食品衛生法での規制がないため、今回の調査研究の結果、行政的な対応が必要になってくるかも

しれない。

F. 研究発表

1. 論文発表

1) Okada Y, Makino SI, Okada N., Asakura H, Yamamoto S and Igimi S. Identification and analysis of the osmotolerance associated genes in *Listeria monocytogenes*. *Food Additives and Contaminants*. in press.

2) 仲真晶子. 食品の微生物検査法と食中毒発生時の疫学調査法[11] リステリア. 防菌防黴学会誌, 36(3) :173-182 (2008).

3) 仲真晶子. 食品媒介リストテリア症について. 食品機械装置, 45(3):47-51(2008).

4) 五十君静信. リステリアの汚染実態とその制御。月刊 HACCP。14(No.3):20-26(2008)

5) Asakura H, Yamasaki M, Yamamoto S, and Igimi S. (2007) Deletion of *peb4* gene impairs cell adhesion and biofilm formation in *Campylobacter jejuni*. *FEMS Microbiology Letters*. 275(2): 278-285.

6) 山崎学、天野富美夫、山本茂貴、五十君静信. (2007) カンピロバクターの酸素ストレス下での生残。獣医畜産新報。60(11):906-910.

2. 学会発表

1) Nakama, A., Konish, N. Shimojima, Y., Obata, H., Monma, C., Kai, A., Igimi, S., Yamada, S. Prevalence

of *Listeria* in feces of patients with gastroenteritis and of healthy food handlers in Tokyo, JAPAN, The 16th International Symposium on Problems of Listeriosis, Savannah, Georgia, USA (2007).

2) 岡田由美子、石和玲子、高谷幸、山本茂貴、五十君静信。未殺菌乳を原料とするチーズ製造工程における *Listeria monocytogenes* の消長。日本細菌学会 2007.3.26。

3) 五十君静信、岡田由美子、石和玲子、森田邦雄、松崎勝。ナチュラルチーズ製造工程におけるリステリアの増殖性に影響を及ぼす環境要因について。第 93 回日本食品衛生学会学術講演会。2007.5.10。

4) 岡田由美子、岡田信彦、山本茂貴、五十君静信。*Listeria monocytogenes* の定常期における増殖性に関わる遺伝子の網羅的解析。第 81 回日本細菌学会総会。2008.3.25。

G. 知的財産権の出願・登録状況（予定を含む）

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

表1. 月別によるサルモネラ属菌分離状況

(陽性頭数/検査頭数(陽性率))

検査機関	10月	11月	12月	1月	2月	計
A		3/96	2/125	0/50		5/271 (1.8)
B		0/9	4/9	0/18		4/36 (11.1)
C		26/70	0/40			26/110 (23.6)
D		0/41	1/49	0/20		1/110 (0.9)
E	1/10	1/30	0/15	4/40	0/30	6/125 (4.8)
F		1/40	0/38	2/40	0/45	3/163 (1.8)
G		1/15	0/15		0/24	1/54 (1.9)
H		17/60	4/36	9/60	9/24	39/180 (21.7)
I	9/12	3/9	0/6	7/12	3/15	22/54 (40.7)
J		14/72	12/78			26/150 (17.3)
K	2/4	3/47	0/14			5/65 (7.7)
計	12/26 (46.2)	69/489 (14.1)	23/425 (5.4)	22/240 (9.2)	12/138 (8.7)	138/1,318 (10.5)

A : 北海道早来食肉衛生検査所 B : 岩手県食肉衛生検査所 C : 秋田県食肉衛生検査所
D : 群馬県食肉衛生検査所 E : 新潟県長岡食肉衛生検査センター F : 静岡県西部食肉衛生検査所
G : 三重県松坂食肉衛生検査所 H : 兵庫県西播磨食肉衛生検査所 I : 鳥取県食肉衛生検査所
J : 鹿児島県末吉食肉衛生検査所 K : 沖縄県中央食肉衛生検査所

表 2. 分離されたサルモネラの血清型と 12 薬剤に対する感受性

○ 群別	血清型	株数	耐性薬剤 (株数)	感受性株数 (%)	分離施設 (株数)
4	Typhimurium	33	ABPC/CET/TC(1)、 ABPC/TC(18)、KM/TC(1)、 ABPC(3)、TC(5)	5 (15.2)	兵庫(17)、沖縄(1)、 鹿児島(12)、静岡 (1)、鳥取(2)、
4	Derby	21	TC(4)	17 (81.0)	鹿児島(7)鳥取(6)兵 庫(3)北海道(3)秋田 (1)沖縄(1)
7	Infantis	14	ABPC/CAZ/CET/CFX/CTX/TC(1))、ABPC/CAZ/CET/CFX/TC(3)、 ABPC/CET/TC(1)	9 (64.3)	岩手(1)、三重(1)、 鹿児島(4)、鳥取(6)、 新潟(2)
4	Agona	7	FOM 誘導耐性(3)	4 (57.1)	兵庫(4)、鹿児島(1)、 秋田(2)
7	Choleraesuis Kunzendorf 生物 型	7	ABPC/KM/TC(1) ABPC/TC/FOM 誘導耐性(1)、 FOM 誘導耐性(4)	1 (14.3)	鹿児島(7)
8	Kottbus	3		3	鹿児島(3)
7	Livingstone	3		3	岩手(1)、秋田(2)
4	O4:i:-	2	ABPC/TC(1)	1	静岡(1)、岩手(1)
7	Tennessee	2		2	静岡(1)、鹿児島(1)
8	Albany	1		1	沖縄
3,10	Anatum	1		1	秋田
4	Brandenburg	1		1	北海道
16	Caen	1		1	北海道
7	Choleraesuis	1	TC(1)	0	群馬
8	Kentucky	1		1	鹿児島
3,10	London	1		1	鹿児島
9	Miyazaki	1	ABPC/CAZ/CET/CFX/TC/FOM 誘導耐性(1)	0	鹿児島
4	O4:i:-	1	ABPC/TC(1)	0	鹿児島
4	Saintpaul	1		1	鹿児島
4	Schwarzengurund	1	TC(1)	0	鹿児島
1,3,19	Senftenberg	1		1	沖縄
3,10	Weltevreden	1	ABPC/TC(1)	0	沖縄

表3. A工場内拭き取り検査

(単位:100cm²当たり)

No	室名	拭き取り箇所	一般生菌数	E.coli	リステリア 属菌	サルモネラ 属菌	EHEC O157
1	原料搬入口	床	6,500,000	陰性	陰性	陰性	陰性
2	原料搬入口	青コンテナ(1)	700,000	陰性	陰性	陰性	陰性
3	原料搬入口	青コンテナ(2)	520,000	陰性	陰性	陰性	陰性
4	原料搬入口	廃棄物容器(ふた)	2,400	陰性	陰性	陰性	陰性
5	原料搬入口	廃棄物容器(内部)	3,900,000	陰性	陰性	陰性	陰性
6	原料搬入口	樽(外保管)	2,500	陰性	陰性	陰性	陰性
7	風除室	スライドドア取手	290	陰性	陰性	陰性	陰性
8	風除室	床	1,200,000	陰性	陰性	陰性	陰性
9	風除室	スイングドア	7,600	陰性	陰性	陰性	陰性
10	風除室	壁	5,300	陰性	陰性	陰性	陰性
11	原料庫	床	18,000	陰性	陰性	陰性	陰性
12	原料庫	木すのこ	51,000	陰性	陰性	陰性	陰性
13	原料庫	壁	21,000	陰性	陰性	陰性	陰性
14	原料庫	搬入口取手	1,500	陰性	陰性	陰性	陰性
15	原料庫	ビニールカーテン	600	陰性	陰性	陰性	陰性
16	冷蔵庫	入口取手	280,000	陰性	陰性	陰性	陰性
17	冷蔵庫	床	4,600,000	陰性	陰性	陰性	陰性
18	冷蔵庫	壁	5,700	陰性	陰性	陰性	陰性
19	冷蔵庫	プラスチックすのこ	950,000	陰性	陰性	陰性	陰性
20	冷蔵庫	漬込樽フタ<黄>	36,000	陰性	陰性	陰性	陰性
21	冷蔵庫	漬込樽本体(内部)漬込中	65,000	陰性	陰性	陰性	陰性
22	冷蔵庫	木板(壁衝突防止用)	5,400	陰性	陰性	陰性	陰性
23	冷蔵庫	ビニールカーテン	240	陰性	陰性	陰性	陰性
24	加工室	前処理まな板(キャベツ処理中)	40,000	陰性	陰性	陰性	陰性
25	加工室	ザル(青、大)	310	陰性	陰性	陰性	陰性
26	加工室	洗浄樽(内部)	3,600	陰性	陰性	陰性	陰性
27	加工室	二次処理作業台	58,000	陰性	陰性	陰性	陰性
28	加工室	まな板	250,000	陰性	陰性	陰性	陰性
29	加工室	作業者手指1	110,000	陰性	陰性	陰性	陰性
30	加工室	作業者手指2	54,000	陰性	陰性	陰性	陰性
31	洗浄済器具	フタ水色	96,000	陰性	陰性	陰性	陰性
32	洗浄済器具	重石	840,000	陰性	陰性	陰性	陰性
33	洗浄済器具	まな板(プラスチック)	0	陰性	陰性	陰性	陰性
34	洗浄済器具	樽(薄オレンジ 大)	220	陰性	陰性	陰性	陰性
35	洗浄済器具	ザル(水色 小)	800	陰性	陰性	陰性	陰性
36	洗浄済器具	バット(クリーム色)	89,000	陰性	陰性	陰性	陰性
37	洗浄済器具	包丁	34,000	陰性	陰性	陰性	陰性
38	洗浄済器具	ピーラー	710,000	陰性	陰性	陰性	陰性
39	加工室	壁<1>	2,700,000	陰性	陰性	陰性	陰性
40	加工室	壁<2>	7,600	陰性	陰性	陰性	陰性
41	加工室	床<1>(排水溝)	6,100,000	陰性	陰性	陰性	陰性
42	加工室	床<2>(排水溝)	4,300,000	陰性	陰性	陰性	陰性

表4. B工場内拭き取り検査

No	室名	拭き取り箇所	一般生菌数	E.coli	リステリア 属菌	サルモネラ 属菌	EHEC O157
1	サニタリールーム	手洗いシンク水道栓	560,000	陰性	陰性	陰性	陰性
2	サニタリールーム	足洗槽内	1,200,000	陰性	陽性	陰性	陰性
3	サニタリールーム	エアシャワー取手	37,000	陰性	陰性	陰性	陰性
4	サニタリールーム	床	5,700,000	陰性	陽性	陰性	陰性
5	風除室	床	790,000	陰性	陽性	陰性	陰性
6	風除室	壁	40,000	陰性	陰性	陰性	陰性
7	風除室	木パレット	43,000	陰性	陰性	陰性	陰性
8	風除室	原料冷蔵庫 床	1,100,000	陰性	陽性	陰性	陰性
9	風除室	原料冷蔵庫 壁	610	陰性	陰性	陰性	陰性
10	風除室	ビニールカーテン	37,000	陰性	陰性	陰性	陰性
11	風除室	ダンボール (原料白菜入)	6,500	陰性	陰性	陰性	陰性
12	一次処理室	まな板(作業中)	270,000	陰性	陽性	陰性	陰性
13	一次処理室	包丁	150,000	陰性	陽性	陰性	陰性
14	一次処理室	青コンテナ(原料キャベツ外葉廃棄用)	480,000	陰性	陽性	陰性	陰性
15	一次処理室	漬け込み樽(洗浄用、オレンジ丸)	250,000	陰性	陰性	陰性	陰性
16	一次処理室	漬け込み樽(洗浄用、青角大)	210,000	陰性	陰性	陰性	陰性
17	一次処理室	スライサー(大)(ベルト、緑)	34,000	陰性	陰性	陰性	陰性
18	一次処理室	スライサー(大)(引き上げベルト、ステンメッシュ)	10	陰性	陰性	陰性	陰性
19	一次処理室	パレット	5,000,000	陰性	陽性	陰性	陰性
20	一次処理室	キャスター持ち手	340,000	陰性	陰性	陰性	陰性
21	一次処理室	床	4,500,000	陰性	陽性	陰性	陰性
22	一次処理室	壁	200	陰性	陰性	陰性	陰性
23	一次処理室	器具(ピーラー)	380,000	陰性	陰性	陰性	陰性
24	一次処理室	器具(スライサー刃)	260,000	陰性	陰性	陰性	陰性
25	一次処理室	スライサー(小)(ベルト、緑)	620,000	陰性	陰性	陰性	陰性
26	一次処理室	重石	830,000	陰性	陽性	陰性	陰性
27	熟成室	熟成庫入口 引戸	13,000	陰性	陰性	陰性	陰性
28	熟成室	漬け込み樽 (オレンジ)	320,000	陰性	陽性	陰性	陰性
29	熟成室	重石	45,000	陰性	陰性	陰性	陰性
30	熟成室	床	750,000	陰性	陽性	陰性	陰性
31	熟成室	壁	310	陰性	陰性	陰性	陰性
32	熟成室	パレット	3,400,000	陰性	陽性	陰性	陰性
33	充填・包装室	作業台1	410,000	陰性	陽性	陰性	陰性
34	充填・包装室	作業台2	48,000	陰性	陰性	陰性	陰性
35	充填・包装室	作業台3	44,000	陰性	陰性	陰性	陰性
36	充填・包装室	ジャンボボックス(青、白菜入り)	370,000	陰性	陰性	陰性	陰性
37	充填・包装室	洗浄済器具 (青、角ザル)	51,000	陰性	陰性	陰性	陰性
38	充填・包装室	洗浄済器具 (青、丸ザル(大))	120,000	陰性	陰性	陰性	陰性
39	充填・包装室	洗浄済器具 (青樽)	180,000	陰性	陽性	陰性	陰性
40	充填・包装室	洗浄済器具 (青コンテナ)	5,400	陰性	陰性	陰性	陰性
41	充填・包装室	ふきん (作業台、作業中)	250,000	陰性	陰性	陰性	陰性
42	充填・包装室	作業者 手指(1) (キムチ作業中)	110,000	陰性	陰性	陰性	陰性
43	充填・包装室	作業者 手指(2) (大根はさみ漬、作業中)	17,000	陰性	陰性	陰性	陰性
44	充填・包装室	作業者 手指(3) (カップ詰、作業中)	6,700	陰性	陰性	陰性	陰性
45	充填・包装室	手洗いシンク水道栓	740,000	陰性	陰性	陰性	陰性
46	充填・包装室	青コンテナ (白菜入)	350,000	陰性	陰性	陰性	陰性
47	充填・包装室	青丸ザル(小)	110,000	陰性	陰性	陰性	陰性
48	充填・包装室	青丸ザル(小) (鮭入)	12,000	陰性	陰性	陰性	陰性
49	充填・包装室	ステンボール(小)	3,800	陰性	陽性	陰性	陰性
50	充填・包装室	黄樽(小) (人参入)	110,000	陰性	陰性	陰性	陰性
51	充填・包装室	床(1)	3,600,000	陰性	陽性	陰性	陰性
52	充填・包装室	床(2)	4,600,000	陰性	陽性	陰性	陰性
53	充填・包装室	床(3)	1,200,000	陰性	陽性	陰性	陰性
54	充填・包装室	樽ふた (木製)	580,000	陰性	陽性	陰性	陰性
55	充填・包装室	まな板	120,000	陰性	陽性	陰性	陰性
56	充填・包装室	壁	36,000	陰性	陰性	陰性	陰性
57	出荷・風除室	壁	0	陰性	陰性	陰性	陰性
58	出荷・風除室	床(1)	2,900,000	陰性	陽性	陰性	陰性
59	出荷・風除室	床(2)	5,400,000	陰性	陽性	陰性	陰性
60	出荷・風除室	ビニールカーテン	80	陰性	陰性	陰性	陰性

表5. 市販鶏肉からのカンピロバクター検出結果集計

検体種	検体数	好気培養		微好気培養	
		特殊ストマッカー袋 陽性数/検体数	通常ストマッカー袋 陽性数/検体数	通常ストマッカー袋 陽性数/検体数	通常ストマッカー袋 陽性数/検体数
冷蔵鶏肉					
秋田県	5	2/5	3/5	3/5	3/5
埼玉県	3	0/3	0/3	0/3	0/3
東京都	5	1/5	0/5	0/5	0/5
世田谷区	10	6/10	5/10	6/10	6/10
大阪府	5	3/5	3/5	3/5	3/5
山口県	5	5/5	2/5	4/5	4/5
熊本県	5	3/5	1/5	3/5	3/5
計	38	20/38	14/38	19/38	19/38
冷凍鶏肉 (含む解凍品)					
秋田県	5	1/5	1/5	1/5	1/5
群馬県	10	7/10	8/10	8/10	8/10
埼玉県	7	2/7	0/7	2/7	2/7
東京都	5	0/5	0/5	0/5	0/5
大阪府	5	3/5	2/3	4/5	4/5
山口県	5	0/5	1/5	0/5	0/5
熊本県	5	1/5	1/5	1/5	1/5
計	42	14/42	13/40	16/42	16/42
合計	80	34/80	27/78	35/80	35/80

II. 分担研究報告書

II-1. と畜場における食肉（豚）製造のための高度衛生管理
に関する研究

II-1-1. と畜場における食肉（豚）製造のための高度衛生管理
に関する研究 分担研究報告書

品川邦汎（岩手大学農学部）

II-1-2. 参考資料

厚生労働科学研究費補助金（食品の安心・安全確保推進研究事業）

分担研究者 品川邦汎 岩手大学

と畜場における食肉（豚）製造のための高度衛生管理に関する研究

豚の解体処理工程における汚染微生物としては、サルモネラが最も危害性が高いと考えられることから、本菌を対象に豚の保菌実態と処理工程での汚染実態の解明を行った。全国における豚のサルモネラ保菌実態を把握することを目的とし、北海道、岩手、秋田、群馬、新潟、静岡、三重、兵庫、鳥取、鹿児島、沖縄の各県の食肉衛生検査所の協力のもとに、食肉処理場に搬入された豚（1,318頭）の盲腸内容物について検査を行った。サルモネラ保有率は地域により大きな差異（個体陽性率 0.9%～32.4%；農場陽性率 3.8%～40%）があり、また高い汚染率を示す農場が存在することが明らかになった。今回の調査により、と畜場での処理工程において消化管内容物を枝肉に付けないための高度衛生管理手法の必要性が認識された。また、今回分離された株の血清型は、*Salmonella* Typhimurium が 33 株と最も多く、次いで *S. Derby*、*S. Infantis*、および *S. Agona* であった。*S. Typhimurium* 33 株中 15 株（45.5%）が多剤耐性を示す *S. Typhimurium* DT104 であることが確認された。さらに、豚と殺・解体工程を調査し、処理方法を大きく 3 つに区分できることが明らかになった。

研究協力者

小笠原 徹 北海道早来食肉衛生
検査所
金沢 亨 秋田県食肉衛生検査所
齋藤志保子 秋田県健康環境センター
瀬川俊夫 岩手県食肉衛生検査所
小川修平 宮城県食肉衛生検査所
森崎 昇 群馬県食肉衛生検査所
西脇 寿 新潟県長岡食肉衛生
検査センター
佐久間靖子 新潟県長岡食肉衛生

検査センター

小長井春夫 静岡県西部食肉衛生
検査所
廣 幸音 三重県松阪食肉衛生
検査所
柴折浩幸 兵庫県食肉衛生検査
センター西播磨食肉
衛生検査所
堀内道生 愛媛県食肉衛生検査
センター
湯口俊之 鳥取県食肉衛生検査所
赤坂敬史郎 鹿児島県末吉食肉衛生