

図2 各種EB培地の増菌効果の比較(ウオッシュタイプチーズ)

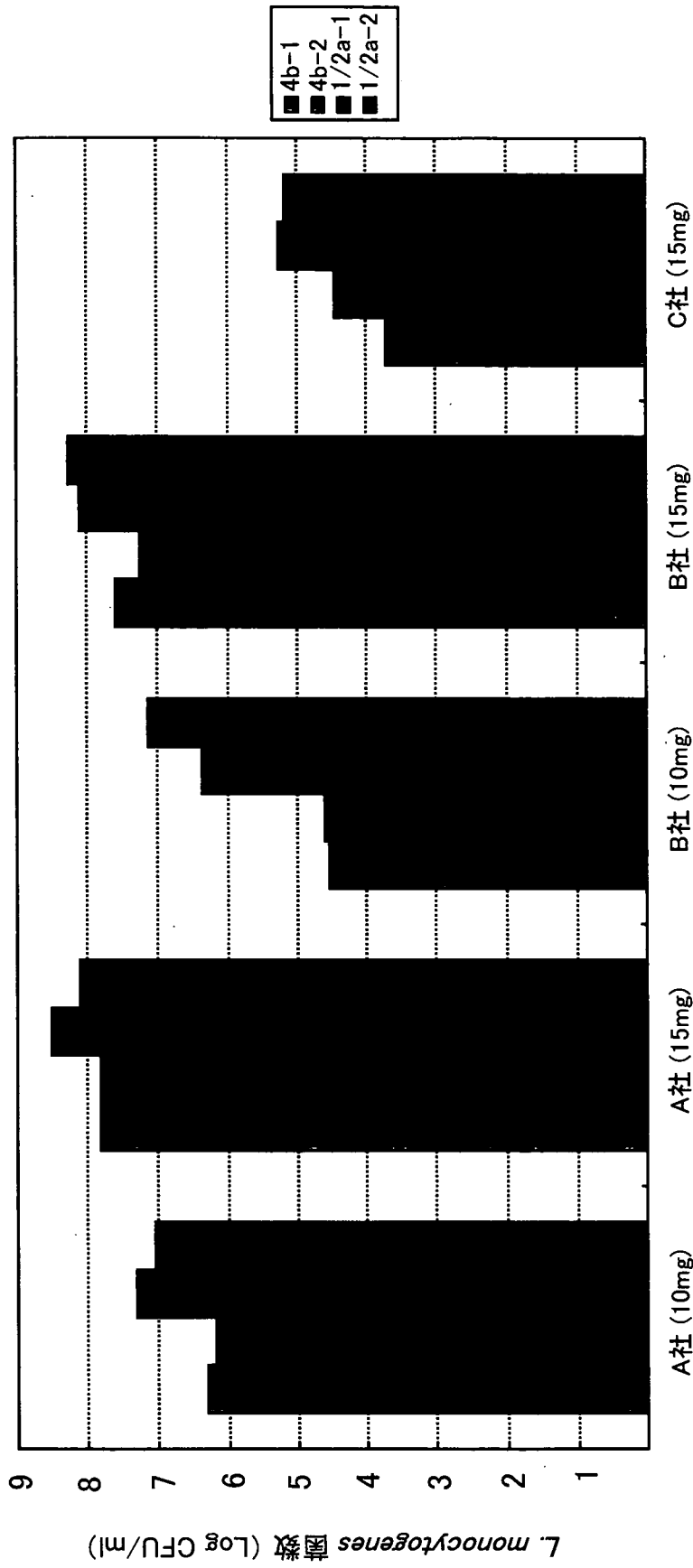


図3 各種EB培地の増菌効果の比較(セミハードタイプチーズ)

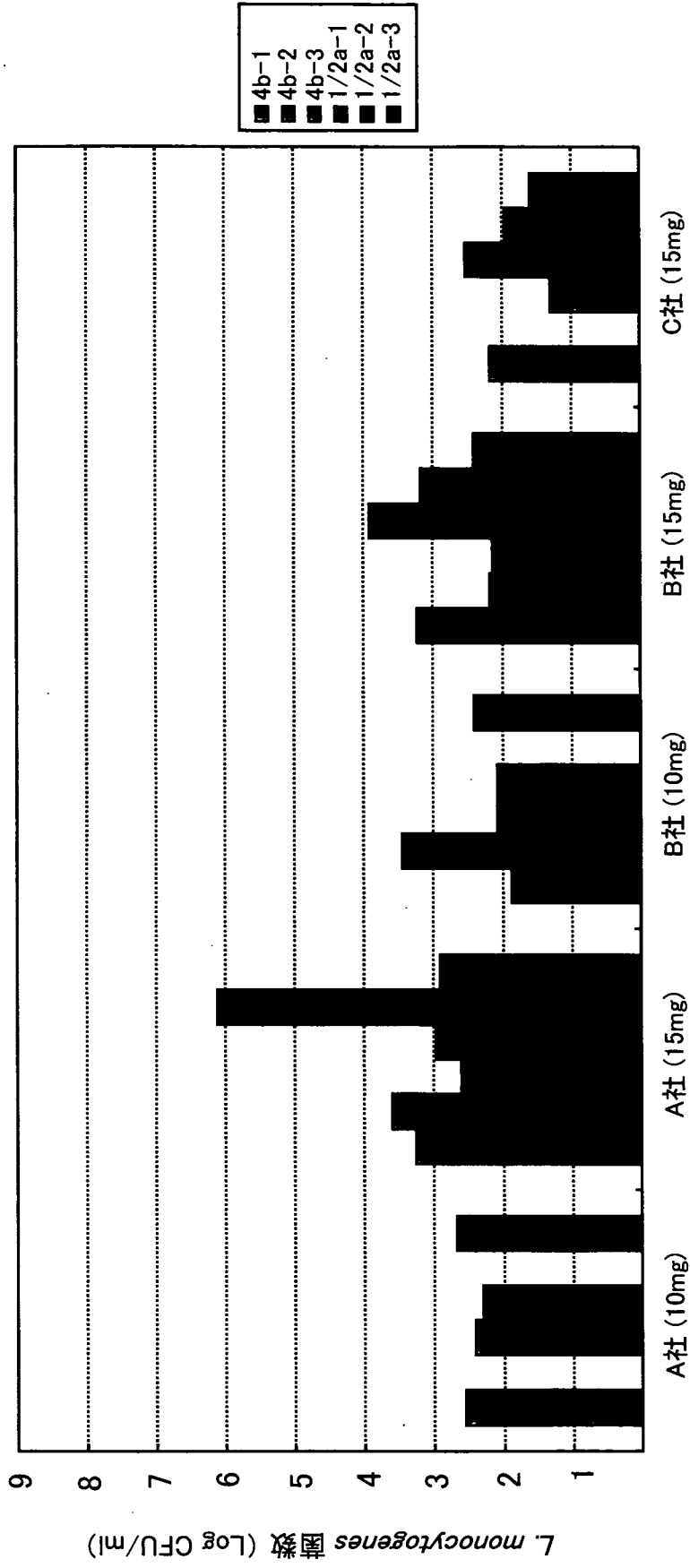
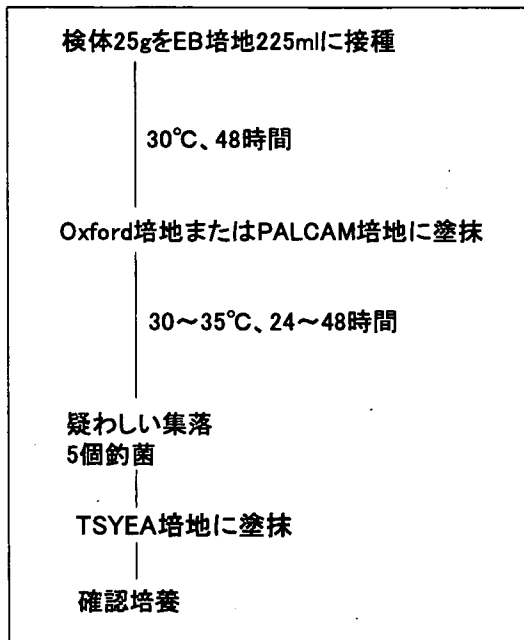


図4 各種EB培地の増菌効果の比較(青カビタプチーズ)

### 通知法



### ISO法

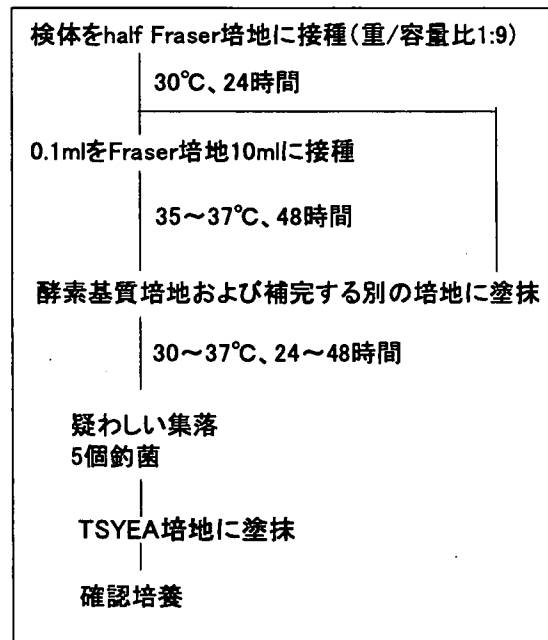


図5 食品等の*L.monocytogenes* 検査手順



表2 供試チーズの細菌数及びEB増菌後の細菌数

チーズの種類		細菌数 (CFU / g)	EB増菌後の細菌数 (CFU / ml)
白カビタイプ	中身	$8.8 \times 10^8$	$1.6 \times 10^9$
	皮	$1.6 \times 10^9$	
ウオッシュタイプ	中身	$3.2 \times 10^8$	$1.8 \times 10^8$
	皮	$4.8 \times 10^9$	
セミハードタイプ	中身	$6.8 \times 10^5$	$5.6 \times 10^8$
青カビタイプ	中身	$1.0 \times 10^7$	$4.1 \times 10^8$

表3 選択増菌培地の組成比較

(g / L)

成分	EB培地	half Fraser培地	Fraser培地
トリプトン	17.0 (カゼインペプトン)	5.0 (カゼインペプトン)	5.0 (カゼインペプトン)
プロテオースペプトン		5.0	5.0
肉エキス		5.0	5.0
ソイトン	3.0 (大豆ペプトン)		
酵母エキス	6.0	5.0	5.0
ブドウ糖	2.5		
塩化ナトリウム	5.0	20	20
リン酸水素二カリウム	2.5		
リン酸水素二ナトリウム		9.6	9.6
リン酸二水素カリウム		1.35	1.35
エスクリン		1.0	1.0
クエン酸鉄(Ⅲ)アンモニウム		0.5	0.5
塩化リチウム		3.0	3.0
アクリフラビン・HCl	10mg	12.5mg	25mg
ナリジクス酸	40mg	10mg	20mg
シクロヘキシミド	50mg		

表4 増菌培養後の培養液中の *L.monocytogenes* 菌数

供試チーズ (タイプ)	EB (48h)	h Fraser (24h)	Fraser (hF24-Fraser48h)
白カビ	6.9~8.5 *	3.9~5.1	6.6~8.5
青カビ	1.8~3.7	2.9~5.9	6.0~8.7
ウオッシュ	7.6~8.5	3.3~5.0	7.4~8.6
セミハード	8.6~9.0	4.6~5.7	7.0~8.7

\* Log CFU/ml

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）  
（受託事業報告書）

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  
イカ塩辛製造施設におけるリステリアを中心とした汚染実態調査

北海道立釧路水産試験場 利用部・加工部

担当者 北川 雅彦（利用部・主任研究員）  
宮崎亜希子（利用部・原料化学科 研究職員）  
麻生 真悟（利用部・利用技術科長）  
信太 茂春（加工部・保蔵流通科長）  
飯田 訓之（利用部長）

### 研究要旨

バイオフィーム形成が見られるリステリア菌について、非加熱製造・非加熱喫食食品の製造工程における衛生管理の最適なモニタリング手法を確立することを目的とする。

今年度は、イカ塩辛の製造工程におけるリステリア菌を中心とした危害分析を行い、汚染原因及び交叉汚染の可能性について検証し、当該菌の汚染実態を把握した。その結果、原料とした冷凍スルメイカ、中間製品と最終製品、製造環境の拭き取り検体のいずれからでも、リステリア菌は検出されず、大腸菌も陰性を示した。

解凍したスルメイカの一般生菌数は  $10^4$ cfu/g であったが、裁割・洗浄により  $10^3$ cfu/g に減少した。加圧脱水および細切工程を経た後、調味料および塩蔵スルメイカ肝臓破砕物の添加・攪拌により調製された熟成 0 日の中間製品では、 $10^4$ cfu/g まで上昇したものの、最終製品となる熟成 5 日目まで  $10^4$ cfu/g を維持した。最終製品の理化学的性状は水分 67.6%，水分活性 0.94，塩分 4.5%，pH6.05 であった。

一方、細断機のキャスターと作業台の脚ではバイオフィーム固着が確認され、一般生菌数が  $10^5 \sim 10^9$ cfu/100cm<sup>2</sup> 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、バイオフィー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。

### A. 研究目的

バイオフィーム形成が見られるリステリア菌について、非加熱製造・非加熱喫食食品の製造工程における衛生管理の最適なモニタリング手法を確立することを目的とする。

今年度は、イカ塩辛の製造工程におけるリステリア菌を中心とした危害分析を行い、汚染原因及び交叉汚染の可能性について検証し、当該菌の汚染実態を把握する。

### B. 研究方法

#### 1. 調査期間及び調査施設

本調査の実施期間は平成 20 年 1 月から平成 20 年 2 月とした。調査施設 A は北海道釧路管内にあり、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。

#### 2. 調査試料

##### (1) 原材料



原料は北海道沿岸で漁獲され、箱詰め冷凍されたスルメイカを用いている。一箱当たりの重量は約10kgで、スルメイカ20~25杯がビニルシートにより梱包されて冷凍されたものである。

## (2) 製造工程

イカ塩辛の製造工程の概略を図1に示す。解凍後の「原料」(室温にて約20時間静置して解凍)、各工程で調製された「中間製品(熟成期間を含む)」および「最終製品」について調査した。また、添加した調味料等については「液体調味料」、「粉体調味料」、「麴」および「塩蔵スルメイカ肝臓破砕物」についても調査した。

## (3) 製造環境

解凍用流し台、製造および計量・包装作業室と冷蔵庫の床面、作業員手袋、水切り用ザル、製品の計量・充填器材等を製造環境試料とした。また、製造作業室の環境温度および熟成工程における環境温度(冷蔵庫内温度)とイカ塩辛品温を測定した。

## (4) 細菌検査および理化学試験

解凍原料(室温にて約20時間静置して解凍)および各工程で得られるスルメイカ検体は1~3匹を1検体として滅菌済食品採取パック(栄研器材㈱)に分取し、工程毎に3検体を採取して検査した。各検体はハサミで切断して試料とした。なお、裁割・洗浄工程では胴肉と頭脚肉を、角切りから細切までの工程では胴肉のみを、解凍原料および熟成工程では胴肉と頭脚肉の混合物を採取した。また、液体調味料、粉体調味料、麴および塩蔵スルメイカ肝臓破砕物については、いずれも100~200gを滅菌済ネジコップ(アジア器材㈱)に採取して試料とした。

各試料について、細菌検査では一般生菌数、大腸菌(*Escherichia coli*)、リステリア菌(*Listeria monocytogenes*)について調べ、理化学試験では、水分、塩分、pHおよび水分活性を測定した。また、製造環境の拭き取り試料については、滅菌ブースを用いて約10cm×10cmを拭き取り(ふきふきチェックII, 栄研器材㈱)、これを添付の緩衝液に浮遊させて均一な試料

液とした。

**一般生菌数**：試料25gに滅菌リン酸緩衝液225mlを加え10倍乳剤を調製した。この乳剤を適宜希釈し、標準寒天培地(日水製薬㈱)による混釈培養から一般生菌数を推定した。また、拭き取り試料の検液についても、適宜希釈して同様に検査した。

**大腸菌検査**：EC培地(日水製薬㈱)発酵管各3本に上記10倍乳剤を1mlずつ加え、44.5℃にて24±2時間培養した。ガス発生試験管の培養液をクロモアガーE.coli寒天培地(CHROMagar社)に塗抹し、44.5℃にて24±2時間培養した。青色の定型的集落が出た場合、確認試験を行った。また、拭き取り試料は各検液1mlを発酵管1本にそれぞれ加え同様に検査した。

**リステリア菌**：試料25gにハーフフレーザー培地(Oxoid社)225mlを加え30℃24時間培養した。この培養液0.1mlをフレーザー培地(Oxoid社)10mlに接種し、35℃18時間培養した後、これをクロモアガーリステリア寒天培地(CHROMagar社)を用いて、37℃24~48時間画線培養した。水色ハローの定型的集落について確認試験を行った。また、拭き取り試料は各検液1mlをハーフフレーザー培地9mlにそれぞれ加え同様に検査した。

**理化学試験**：pH及び塩分は、細菌検査で用いた各試料について、蒸留水で10倍乳剤を調製して測定した。すなわち、pHはガラス電極法、塩分はN/10硝酸銀溶液を用いた滴定法により測定した。水分活性については細菌検査で用いた試料を細切し、コンウェイユニットを用いた定湿下における平衡重量測定法により求めた。

## (倫理面への配慮)

当該施設名、従業員名、製品に関する情報を匿名とした。

## C. 研究結果

### (1) イカ塩辛製造環境温度

イカ塩辛製造に係る製造環境温度として、製

造作業室の室温変化を図2に、また、熟成工程に使用される冷蔵庫内温度と熟成工程における中間製品の品温の変化を図3に示した。製造作業室温度は、解凍原料の裁割を開始した9時では約9℃であったが、洗浄・塩締めを経て加圧脱水処理開始時点では16℃前後に上昇した。昼休みの暖房休止により室温は12℃まで低下したものの、13時以降の細断機によるスルメイカ胴肉および頭脚肉の細切、調味料等の添加・攪拌工程までに17℃前後に上昇した。しかし、製造作業室温度は、熟成に供する中間製品の製造が終了した15時までの間に、18℃を超えることはなかった。

熟成工程における冷蔵庫内温度と中間製品の品温を見ると、冷蔵庫内の温度は熟成期間中ほぼ-5~-2℃の間で安定していた。一方、中間製品の品温は、冷蔵庫移動前で13℃を示し、冷蔵庫内温度と同調するまでに約5時間を要したが、それ以降は冷蔵庫内温度とほぼ同様な値を示し、熟成期間中の大きな変化は見られなかった。

## (2) 原材料、中間製品、最終製品

イカ塩辛の製造工程概略はすでに図1に示したとおりである。すなわち、冷凍スルメイカを梱包時に付されたビニルシートごと製造作業室に設置されたステンレス流し台に静置して一晩かけて解凍した。このとき、冷凍スルメイカは流し台と直接接触させていない。翌朝、半解凍状態のスルメイカを裁割用包丁を用いて内臓等を除去し、胴肉および頭脚肉に分けた。

裁割後の胴肉と頭脚肉は夾雑物除去のため水道水で洗浄した後、角切りした。この角切り肉に食塩を散布して塩漬けを行い、加圧して2時間程度脱水した。この脱水肉を細断機に供してイカ塩辛に適したサイズに細切した。得られた細切肉を熟成用蓋付きコンテナに収容し、液体および粉体調味料、麴と塩蔵スルメイカ肝臓破砕物を添加して十分に攪拌し、熟成用中間製品(熟成0日)を調製した。

この熟成0日の中間製品は冷蔵庫(設定温度-5℃)に保管し、熟成終了までの期間、毎朝9

時頃に当該コンテナを冷蔵庫より製造作業室に移動し、内容物を十分に攪拌した。冷蔵庫における貯蔵期間5日目を熟成終了とし、計量・包装作業室にて最終製品(熟成5日)を製造した。

図4に解凍原料および各工程中におけるスルメイカ中間製品の水分、塩分の変化を、また図5にpHと水分活性の変化を示した。

水分は解凍原料で76%であったが、裁割・洗浄を経て、加圧脱水処理により74.5%まで低下した。この値は細断機による細切処理でも変化は見られなかったが、液体および粉体調味料、麴、塩蔵スルメイカ肝臓破砕物を添加・攪拌することで68.8%と大きく減少した。熟成5日では約67.6%を示し、熟成中における水分の顕著な増減は認められなかった。

一方、塩分は解凍原料で1.2%であったが、塩漬け・脱水処理により3.1%まで増加した。調味料等を添加した後、塩分は4.4%に上昇し、熟成5日でもほぼ同じ値であった。

pHは調味料等の添加前後で大きく異なった。すなわち、調味料等の添加前では6.33~6.51であったが、その添加後(熟成0日)では6.02と大きく低下し、熟成5日でも6.05と熟成0日の値をほぼ維持した。

水分活性は、解凍原料から細断機による細切肉において0.96~0.98であったが、調味料等の添加・攪拌により0.94まで減少し、熟成5日においても同様な値であった。

なお、裁割・洗浄後の頭脚肉の理化学的性状はではpHは6.60と同じ工程での胴肉に比べてわずかに高いものであったが、水分(77.5%)、塩分(1.0%)および水分活性(0.98)の値はほぼ類似した値を示した。また、調味料と共に添加した塩蔵スルメイカ肝臓破砕物の理化学的性状は水分41.3%、塩分6.2%、水分活性0.97、pH5.95であった。

表1に解凍原料と各工程中の試料について、一般生菌数と大腸菌およびリステリア菌の検査結果を示した。一般生菌数では、解凍原料で $10^4$ cfu/gを示したが、裁割・洗浄後には $10^3$

cfu/gに減少し、その値は細断機による細切肉でも同様であった。しかし、調味料等を添加して攪拌した熟成0日では、再び $10^4$ cfu/gに上昇した。これは調味料等の一般生菌数は、液体および粉体調味料でいずれも $<300$ cfu/g、塩蔵スルメイカ肝臓破砕物で $10^3$ cfu/gであったが、麴では $10^4$ cfu/gを示したことから、麴の添加による上昇と推測される。しかし、熟成期間における一般生菌数の顕著な増減は認められず、熟成5日(製品)でも $10^4$ cfu/gでその値に変化は見られなかった。

大腸菌およびリステリア菌については、いずれの試料からも検出されなかった。しかしながら、熟成5日における水分活性が0.94、pHが6.05であることを考慮すると、リステリア菌の増殖限界条件をクリアしているものではないので、厳格な温度管理と作業環境の衛生管理が必要と考える。

## (2) 製造環境の拭き取り検査

図6に製造工程中の拭き取り検査結果を示した。解凍原料から脱水処理工程において、原料と直接接触する器材等の一般生菌数を見ると、まな板、作業台表面、流し台、裁割・洗浄原料保管ザル、塩漬け用たらい(金属製)、加圧脱水処理用水切りザルでは、いずれも $<300$ cfu/100cm<sup>2</sup>と顕著に低く、大腸菌およびリステリア菌も検出されず衛生的であった。しかし、解凍原料の裁割と洗浄肉の角切りに使用する包丁の一般生菌数は、いずれも $10^4$ cfu/100cm<sup>2</sup>と比較的高い値となり、包丁の適切な洗浄・殺菌が必要であると考えられた。また、加圧脱水処理工程にて使用する重石(樹脂包埋・円柱型)でも一般生菌数は $10^4$ cfu/100cm<sup>2</sup>を示した。加圧脱水工程における中間製品への交叉汚染を防除するためにも、重石については適切な洗浄・殺菌が求められると考えられた。なお、裁割および角切り用包丁、重石のいずれからも、大腸菌およびリステリア菌は検出されなかった。また、作業台の脚ではバイオフィルムの固着が認められ、その一般生菌数は $10^6$ cfu/100cm<sup>2</sup>と顕著に高い値を示したもの

の、大腸菌およびリステリア菌は検出されなかった。

加圧脱水後の角切り肉を細切する細断機では、原料投入口、丸刃、細切肉排出口とも一般生菌数は $<300$ cfu/100cm<sup>2</sup>と低い値を示し、大腸菌、リステリア菌とも検出されず、衛生的であった。一方、細断機の移動を目的として本体底部に設置されているキャスターでは、粘調性のあるバイオフィルムが検出された。キャスターの一般生菌数は $10^9$ cfu/100cm<sup>2</sup>と著しく高い値であり、キャスターを含め、本体底部の入念な洗浄・殺菌が必要であると判断された。しかしながら、このバイオフィルムからは大腸菌、リステリア菌は検出されなかった。

細断機で得られた細切肉を収容するコンテナでは、原材料と接触する内壁面では $<300$ cfu/100cm<sup>2</sup>と低かった。また、細切肉と調味料等を攪拌する際に使用する長腕型ゴム手袋でも $<300$ cfu/100cm<sup>2</sup>と低かった。いずれの拭き取り検体からも大腸菌、リステリア菌は検出されず、熟成に向けた最終製造工程は衛生的であると考えられた。

イカ塩辛製造作業室の床面における一般生菌数は $10^3$ cfu/100cm<sup>2</sup>であったが、床面からの壁立ち上がり部では $10^5$ cfu/100cm<sup>2</sup>と高く、製造作業室内の洗浄・殺菌が均一に実施されていないことが推測された。排水口(作業室中央に設置)の一般生菌数は $10^3$ cfu/100cm<sup>2</sup>であった。熟成工程で使用される冷蔵庫では、床面および床面からの壁立ち上がり部の一般生菌数は、いずれも $10^4$ cfu/100cm<sup>2</sup>であり、目視による汚れも確認されたため、汚染を蓄積しないよう洗浄・殺菌をこまめに行うことが必要であると考えられた。前述したいずれの拭き取り検体からも、大腸菌およびリステリア菌は検出されなかった。

次に、熟成5日後にイカ塩辛を計量、充填および包装して製品化する計量・包装作業室では、作業台表面、計量器具、計量器、製品が保存される充填容器(真空包装用樹脂製袋)、真空包装機内室および作業員手袋(ゴム製薄手ディス

ポーザブル手袋)の一般生菌数は $<300\text{cfu}/100\text{cm}^2$ と低く、大腸菌、リステリア菌とも陰性で衛生的な状態であった。充填容器を持つ作業員は、左手のみ素手であり、その一般生菌数は $10^2\text{cfu}/100\text{cm}^2$ を示した。これは、充填容器が真空包装用樹脂製袋のため、グリップ力を確実に維持したいとの理由による素手での対応と考えられるが、衛生管理の点から不適切な対応であると考えられた。なお、素手からも大腸菌、リステリア菌は検出されなかった。

一方、作業台の脚ではバイオフィーム固着が確認され、その一般生菌数は $10^5\text{cfu}/100\text{cm}^2$ と高い値を示した。床面および床面からの壁立ち上がり部の一般生菌数は、いずれも $10^4\text{cfu}/100\text{cm}^2$ で、当該作業室中央に設置された排水口でもその値は同様であった。これらの拭き取り検体からも、大腸菌、リステリア菌は検出されなかった。

#### D. 考察

*L. monocytogenes* は比較的乾燥に強く、低温でも増殖することが知られている。近年、塩タラコ製造過程において、ローラーコンベヤ、パレットおよび魚卵漬け込み容器外壁より当該菌を含むバイオフィームが検出されており、非加熱で製造・喫食される水産加工品では、衛生管理の最適なモニタリング手法の確立が求められると同時に、その防除方法が大きな課題となっている。

今回のイカ塩辛製造施設においてリステリア菌は検出されなかったが、バイオフィームは複数の器材への固着が確認されている。今後は様々な非加熱水産加工食品製造環境からバイオフィームを採取し、その菌叢を把握すること、並びにバイオフィームがリステリア菌増殖に与える影響について、モデル試験により検討することが必要であると考えられた。

#### E. 結論

イカ塩辛製造施設において、原材料から最終製品に至る過程でリステリア菌に対する危害分析を行った。いずれの製造環境および中間製品、製品からもリステリア菌は検出されず、大

腸菌も陰性であった。細断機のキャスターおよび作業台の脚にバイオフィーム固着が確認され、その一般生菌数は $10^5\sim 10^9\text{cfu}/100\text{cm}^2$ と高い値を示した。したがって、作業器材の目視しにくい部位については十分な点検を行い、必要に応じてバイオフィームを除去すると同時に、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。

今後、様々な非加熱水産加工食品製造環境からバイオフィームを採取し、その菌叢とリステリア菌の関係について検討することが必要であると考えられた。

#### F. 健康危険情報

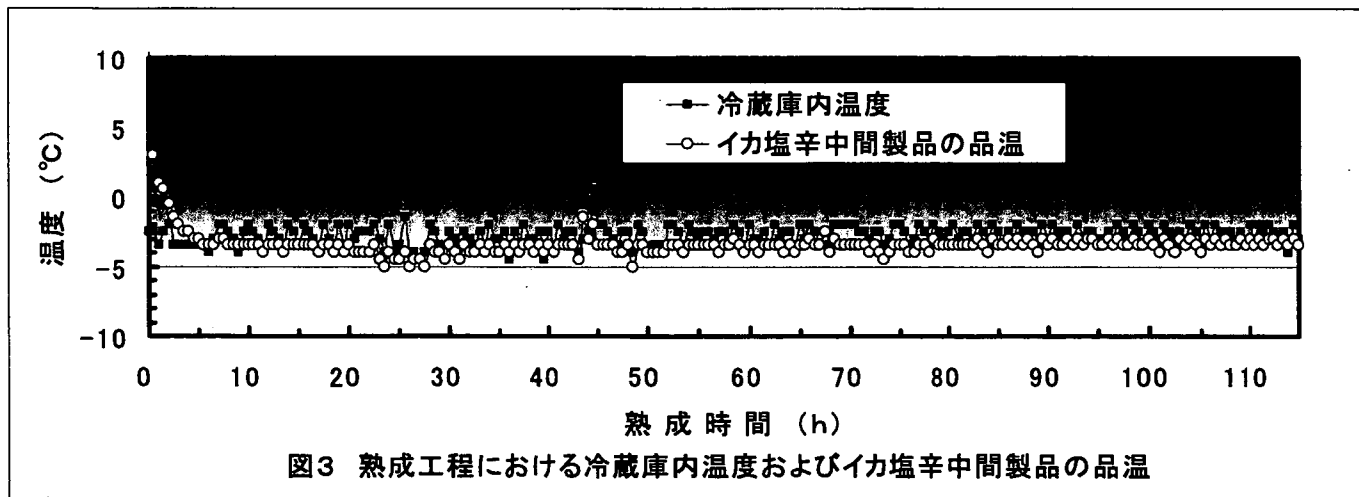
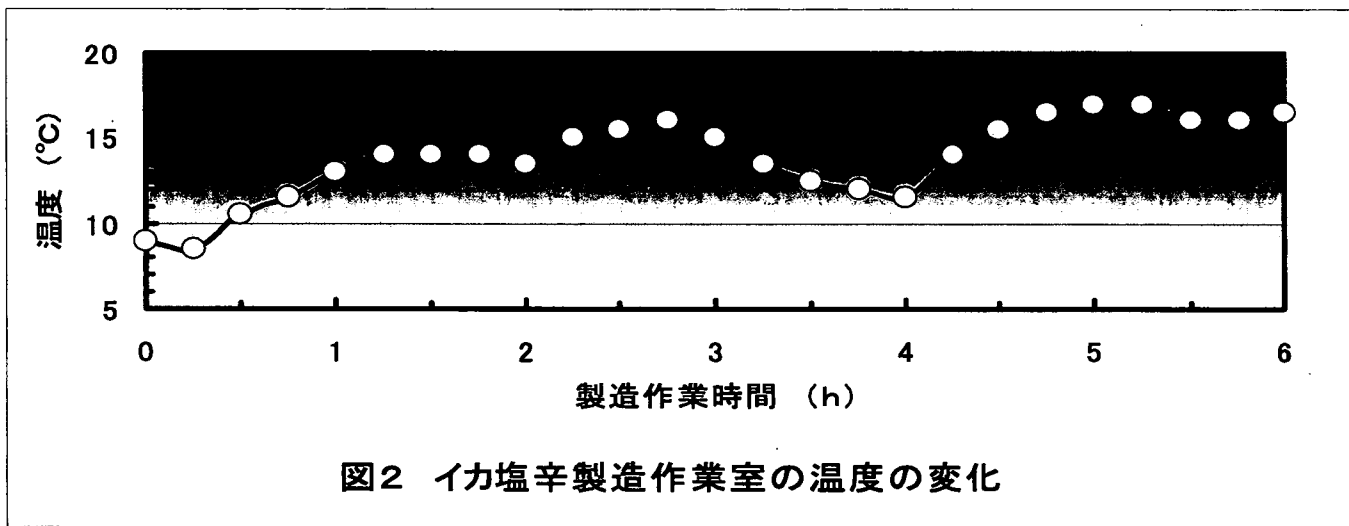
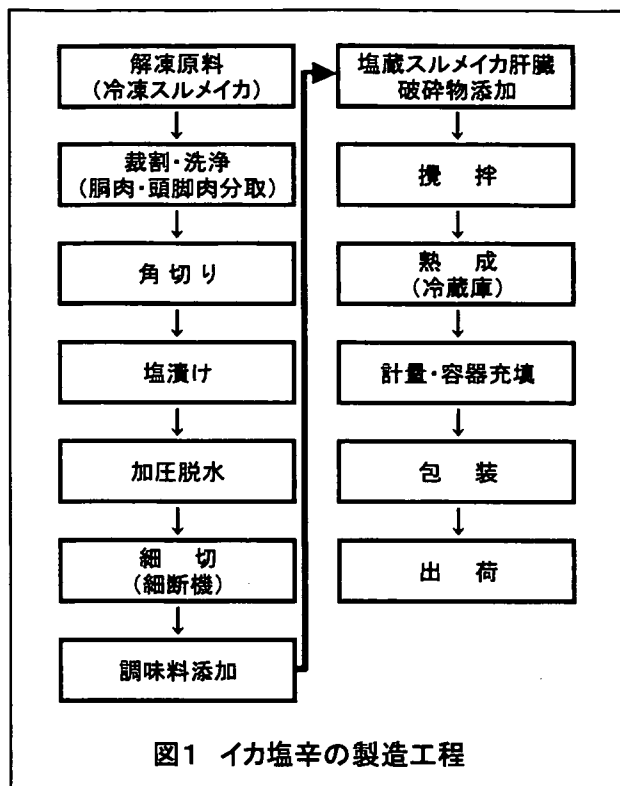
該当なし。

#### G. 研究発表

1. 論文発表  
該当なし
2. 学会発表  
該当なし

#### H. 知的財産権の出願・登録状況（予定を含む）

1. 特許取得  
該当なし
2. 実用新案登録  
該当なし
3. その他  
該当なし



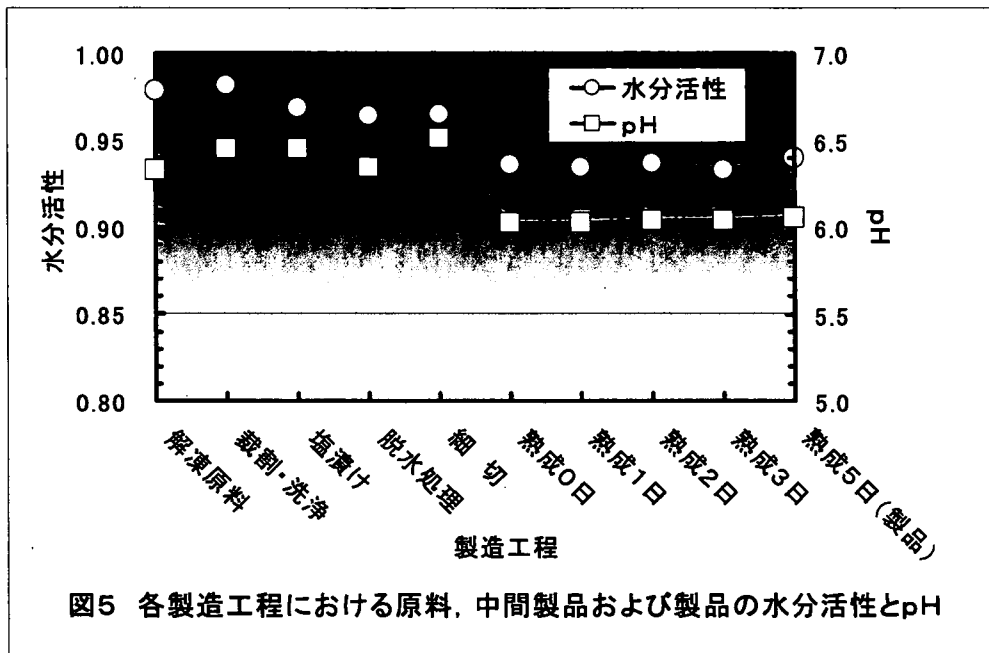
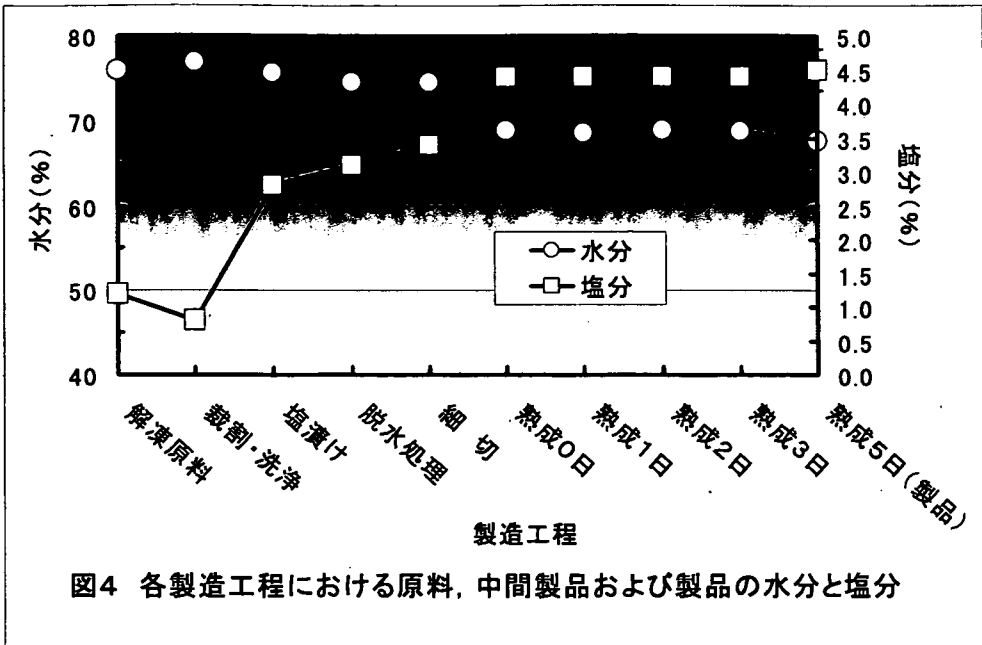


表1 解凍原料および各製造工程における中間製品と  
最終製品の微生物検査結果

試料	(CFU/g)		
	一般性菌数	大腸菌	リステリア菌
解凍原料	$5.4 \times 10^4$	陰性	陰性
裁割・洗浄	$2.3 \times 10^3$	陰性	陰性
裁割・洗浄後-頭脚肉	$4.6 \times 10^3$	陰性	陰性
塩漬け	$7.6 \times 10^3$	陰性	陰性
加圧脱水	$8.6 \times 10^3$	陰性	陰性
細切	$7.9 \times 10^3$	陰性	陰性
塩蔵スルメイカ肝臓破砕物	$1.5 \times 10^3$	陰性	陰性
液体調味料	<300	陰性	陰性
粉体調味料	<300	陰性	陰性
麴	$1.6 \times 10^4$	陰性	陰性
熟成0日	$2.1 \times 10^4$	陰性	陰性
熟成1日	$1.7 \times 10^4$	陰性	陰性
熟成2日	$2.0 \times 10^4$	陰性	陰性
熟成3日	$1.6 \times 10^4$	陰性	陰性
熟成5日(製品)	$1.3 \times 10^4$	陰性	陰性

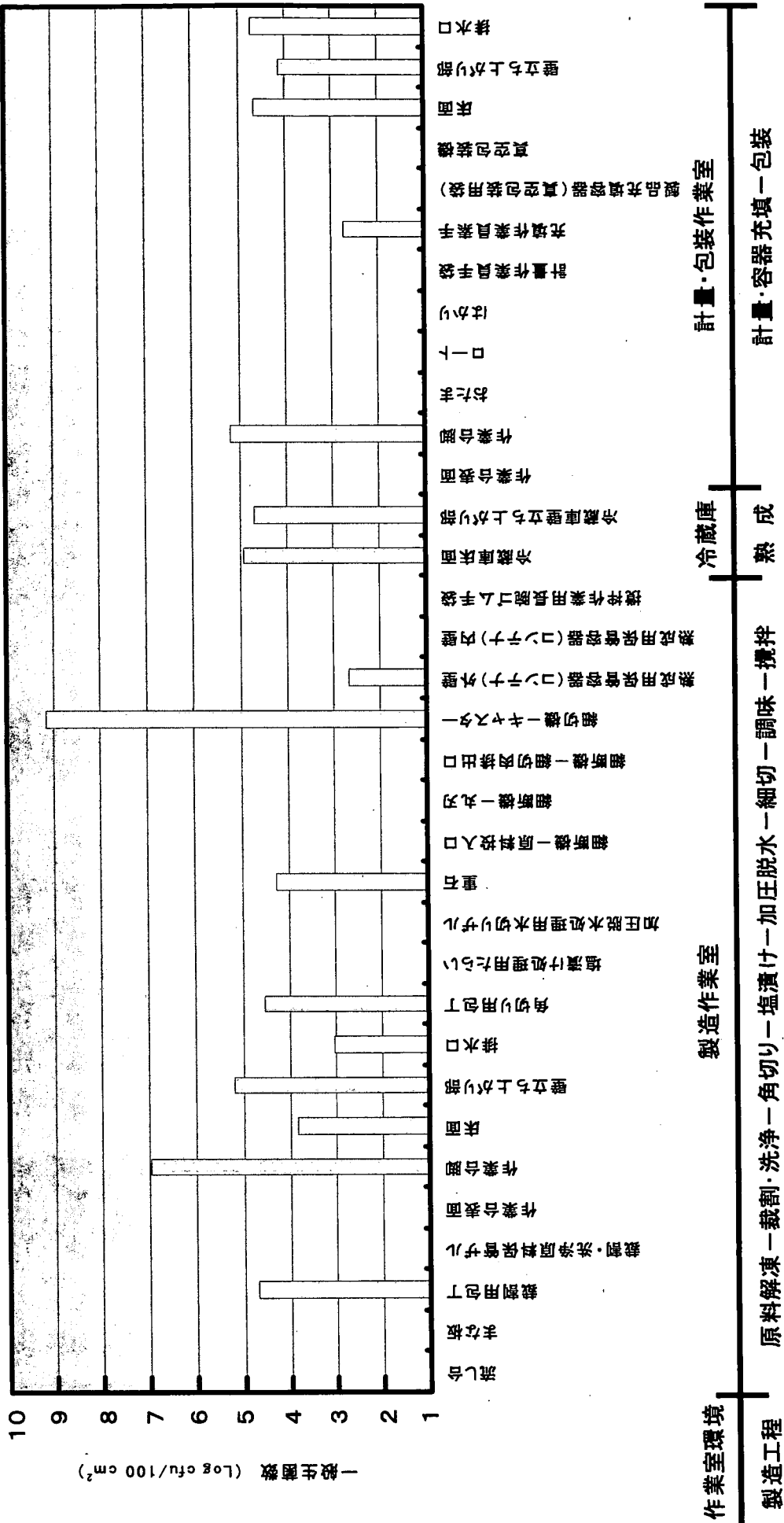


図6 イカ塩辛製造工程における拭き取り検査結果



平成 19 年度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）  
（分担研究報告書）

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

分担研究者 五十君 静信 国立医薬品食品衛生研究所

研究要旨

食中毒起因菌であるカンピロバクター・ジェジュニ／コリの試験では微好気培養を必要とし、食品等を検体とする検査においても、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。このことが本菌の食品における試験の障害となっている。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、地方衛生研究所7機関との共同研究を行いこのような培養の妥当性を評価することにした。本年度は、各機関で市販鶏肉を購入し、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を検討した。また同時に、通常のストマッカー袋および自家調製培地を用いた微好気培養による従来の増菌培養と比較を行った。この検討の結果、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。

研究協力者

石和玲子 国立医薬品食品衛生研究所  
影山亜紀子 同上  
岡田由美子 同上  
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  
甲斐明美 東京都健康安全研究センター  
横山敬子 同上  
田口真澄 大阪府立公衆衛生研究所  
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 同上

A. 研究目的

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することを目的とした。

## B. 研究方法

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。具体的な試験方法はそれぞれの分担研究者の分担研究報告書参照。

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。検体の情報については各分担研究者の分担報告書を参照。

### (倫理面への配慮)

本研究は問題になる研究内容を含まない。

## C. 研究結果

それぞれの協力研究者の結果を集計したものを表に示した。通気性の無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、通常のストマッカー袋で微好気条件で培養し

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。通常のストマッカー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、通常のストマッカー袋による微好気培養と比べると検出率は低かった。

## D. 考察

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無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、定性で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ため、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と思われる。

## E. 結論

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マ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と思われる。

#### F. 健康危険情報

なし

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

- ① 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.

- ② 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

なし

#### H. 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 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	通常ストマッカー袋	通常ストマッカー袋
		陽性数/検体数	陽性数/検体数	陽性数/検体数
冷蔵鶏肉				
秋田県	5	2/5	3/5	3/5
埼玉県	3	0/3	0/3	0/3
東京都	5	1/5	0/5	0/5
世田谷区	10	6/10	5/10	6/10
大阪府	5	3/5	3/5	3/5
山口県	5	5/5	2/5	4/5
熊本県	5	3/5	1/5	3/5
<b>計</b>	<b>38</b>	<b>20/38</b>	<b>14/38</b>	<b>19/38</b>

冷凍鶏肉 (含む解凍品)				
秋田県	5	1/5	1/5	1/5
群馬県	10	7/10	8/10	8/10
埼玉県	7	2/7	0/7	2/7
東京都	5	0/5	0/5	0/5
大阪府	5	3/5	2/3	4/5
山口県	5	0/5	1/5	0/5
熊本県	5	1/5	1/5	1/5
<b>計</b>	<b>42</b>	<b>14/42</b>	<b>13/40</b>	<b>16/42</b>

<b>合計</b>	<b>80</b>	<b>34/80</b>	<b>27/78</b>	<b>35/80</b>
-----------	-----------	--------------	--------------	--------------