

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

細菌性食中毒の防止対策に関する研究

平成19年度 総括・分担研究報告書

平成20年（2008）年4月

主任研究者 熊谷 進

目 次

I. 総括研究報告		
細菌性食中毒の防止対策に関する研究	—————	1
熊谷 進		
II. 分担研究報告		
1. 食品の製造加工機器の衛生管理に関する研究	—————	15
熊谷 進		
2. 鶏卵の日付表示によるサルモネラ食中毒防止の経済効果	—————	39
山本 茂貴		
3. 腸炎ピブリオ食中毒の防止対策に関する研究	—————	51
工藤 由起子		
III. 研究成果の刊行に関する一覧表	—————	91
IV. 研究成果の刊行物・別刷	—————	93

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)

平成19年度 総括研究報告書

細菌性食中毒の防止対策に関する研究

主任研究者 熊谷進

東京大学大学院農学生命科学研究科 教授

研究要旨：

目的

1. 食品の製造加工機器の衛生管理に関する研究：食品の製造加工に用いられる機器について、食中毒細菌汚染防止の観点から機器の衛生要件を究明する。2. 鶏卵の日付表示によるサルモネラ食中毒防止の経済効果：サルモネラ食中毒防止対策の一環として平成11年度に導入された鶏卵の日付表示義務によるサルモネラ食中毒防止の経済効果を推定する。3. 腸炎ビブリオ食中毒の防止対策に関する研究：腸炎ビブリオによる二枚貝の汚染実態を究明する。

研究方法

1. 日本工業規格における安全衛生に関わる基準を精査するとともに、乳・乳製品製造工場、食肉加工品製造工場、食鳥処理工場で用いられている機器について実地調査を行なった。サルモネラ菌株をボルト上に接種してから、生残菌数の変化を測定した。
2. 鶏卵の日付表示義務に伴う社会的費用項目および社会的便益項目を整理した。定量化可能な社会的費用として、GPセンターが日付表示のために導入した新規機器の導入コストおよびランニングコストを抽出した。
3. 平成13年の汚染実態調査と同じ地域で得た2枚貝の腸炎ビブリオ汚染実態を同じ方法で調査した。

結果と考察

1. 日本工業規格の基準の一部について食中毒菌を用いたデータの裏づけを得ることが必要であると考えられた。ボルトとナットにおける菌の生残に及ぼす材質と菌液の影響が認められた。
2. 2000年から2004年の5年間を評価対象期間とした費用便益比は7.64と推定された。鶏卵の日付表示の導入効果だけでなく他の要因の効果が含まれるため、この数値は過大推計されている可能性がある。
3. 腸炎ビブリオは75.7%の検体から分離され、tdh遺伝子は6.9%の検体で陽性、平成13年の調査時とほぼ同等であった。今後は、対策の取られた項目について調査する必要がある。

結論

食品の製造加工に用いられる機器について、衛生上の問題点を見出すとともに、ボルト上における菌の生残の知見を得た。鶏卵の日付表示義務に伴う費用便益比などの推定値を得た。2枚貝の腸炎ビブリオ汚染実態の現状を見出した。

分担研究者：

山本茂樹 国立医薬品食品衛生研究所
工藤由起子 国立医薬品食品衛生研究所

研究協力者：

小野一晃 埼玉衛生研究所
森田幸雄 群馬衛生環境研究所
長谷川専 株式会社三菱総合研究所
土谷和之 株式会社三菱総合研究所
齋藤志保子 秋田県健康環境センター
大塚佳代子 埼玉県衛生研究所
杉山寛治 静岡県環境衛生科学研究所

山崎省吾 長崎県衛生公害研究所
八尋俊輔、宮坂次郎 熊本県保健環境科学研究所
大友良光 弘前大学大学院
高橋貴一、小沼博隆 東海大学海洋学部
宇田川藤江、田中廣行 (財)日本食品分析センター
矢部美穂、中川 弘 (株)BMLフード・サイエンス
権平文夫 (株)デンカ生研
池戸正成 (株)栄研化学

A. 研究目的

食品の製造加工に用いられる機器については、ISOやJISなどの規格があり、それらの中には部品混入や洗浄効率等の衛生要件を考慮したものもあるが、食中毒細菌汚染防止のための具体的な要件については不明である。

我が国においては食品衛生法の下に通知「許可営業施設の最低基準案の送付について」(昭和32年、衛環発第四三号)により、「(1) 機械器具のうち、食品に直接接触する部分は、耐水性で洗じょうしやすく、加熱又はその他の殺菌が可能なものであること。(2) 機械、器具及び容器は、計画製造量に応じた数を備え、常によく補修され、かつ、清潔で完全に使用可能な状態に保持されていること。(3) 移動性の器具及び容器類を衛生的に保管する設備を設けること。」などの指導基準が、また、通知「食鳥処理加工指導要領について」(昭和53年、環乳第二号)においては、「(1) 機械、器具類は、すべて少なくとも一日に一回は、十分に洗浄する等の清掃を行い、食鳥肉に直接接触する面は、使用前に十分に洗浄殺菌し、衛生上支障のないように保持すること。(2) 異常又はその疑いのあるものを処理し、他に汚染のおそれのある場合には、その使用した機械、器具類はその都度十分に洗浄殺菌すること。(3) 機械、器具類の洗浄殺菌に使用する洗剤及び殺菌剤は、適正な方法で使用する。(4) 機械、器具類及び分解した部分品は、それぞれ所定の場所に衛生的に保管すること。(5) 機械、器具類は常に点検し、故障、破損等があるときは、速やかに補修し、常に適正に使用できるよう整備しておくこと。(6) 温度計、圧力計及び流量計等の機器類は定期的にその正確度を点検すること。」などの指導要領が示されているが、いずれも一般的な記述に留まっており具体性に欠けている。また、HACCPによる衛生管理の前提としての一般的衛生管理計画の中で、機械器具については保守点検作業のみが取り上げられているにすぎず、食中毒事故防止の観点から機械器具が備えるべき条件や衛生管理上または監視の上で重要な点が不明である。

食品のリスク管理は、リスク評価とともに、対策を講じた場合の経済的損得の評価に基づくことが望ましいとされているが、この経済評価の推定方法については不明であるため、検討を加えることが必要である。

腸炎ビブリオは日本の特徴的な食中毒原因物質として挙げられ、古くから多数の腸炎ビブリオ食中毒の発生が報告されている。発生数は年により変動するが、1997年から1998年にかけて患者数が約2倍(12,318人)に、事件数が約4倍(839件)に急増するという異常な事態となった。特にこの多くは1996年以降東南アジアを中心に流行

が知られていた耐熱性溶血毒素(TDH)産生性血清型O3:K6によるものであった。これを重く見て、1998年(平成10年)12月に食品衛生調査会に水産食品衛生対策分科会を発足し対策に必要な科学的データの作成および解析が行われた。その一部結果を踏まえ、1999年(平成11年)8月には厚生省から「生食用魚介類」および「煮カニ等の加熱加工魚介類」について4℃以下という低温管理と汚染海水の使用回避による2次汚染の防止が通知された。2000年(平成12年)5月には水産食品衛生対策分科会による「腸炎ビブリオによる食中毒防止対策に関する報告書」がとりまとめられた。その内容の一部は、2001年(平成13年)6月に「食品衛生法施行規則」および「食品、添加物等の規格基準」の一部改正として通知され、規格基準の新設(「生食用鮮魚介類」、「ゆでがに」)、規格基準の改正(「食品一般の製造、加工及び調理基準」、「生食用鮮魚介類」、「冷凍食品(生食用冷凍鮮魚介類)」、「ゆでだこ」)、成分規格(「ゆでだこ」、「飲食の際に加熱しないゆでがに」)は腸炎ビブリオ陰性;生食用鮮魚介類、むき身の生食用かき、生食用冷凍鮮魚介類は1gあたり腸炎ビブリオが100MPN以下)、10℃以下で管理することなどが示された。これらは翌月に施行に至った。

その後、現在まで腸炎ビブリオ食中毒は減少し2007年には患者数が860名(1/10以下)に、事例数が29件(1/25以下)に減少している(図1)。しかし、その減少については対策の効果によるものか自然減少によるものか不明である。また、腸炎ビブリオの多くは、耐熱性溶血毒素(TDH)等の病原因子を保有しない菌であり、一部の魚介類や海水に汚染した病原性の腸炎ビブリオが食中毒の原因となっている。このため、直接的に病原因子を検出する方法が望ましい。病原因子の検出にはPCR法などの遺伝子を対象にした検出法が主に使われているが、TDHも直接的に食品培養液から検出できれば迅速に汚染の有無を判定できると考えられる。

以上の背景より、食中毒細菌汚染防止の観点から機器の衛生要件を究明するために、本年度は、食品製造加工に関するJISの規格、その他関連団体による既存の規格を最近汚染防止の観点から整理するとともに、乳製品や食肉製品の製造、食鳥処理に用いられている機器について実地調査を行なった。さらに、機器部品として汎用されているボルトとナットについて、サルモネラの生残実験を行なった。本研究では、サルモネラ食中毒防止対策の一環として平成11年度に導入された鶏卵の日付表示義務によるサルモネラ食中毒防止の経済効果の推定を行うことを目的とする。二枚貝等の鮮魚介類の腸炎ビブリオ汚染を調査し、対策を講じた時期の魚介類の腸炎ビブリオ汚染と現在の汚染状況が異なるのか究明した。病原因

子の検出にはPCR法などの遺伝子を対象にした検出法が主に使われている。このため、TDHも直接的に食品培養液から検出できれば迅速に汚染の有無を判定できると考えられることから、tdh陽性腸炎ビブリオの効率的な検出のための遺伝子検出法を検討した。

B. 研究方法

①日本工業規格における安全衛生に関わる基準

「JIS 機械類の安全性—設計のための基本概念、一般原則—第1部：基本用語、方法論 JIS B 9700-1」（日本規格協会，平成16年）等の日本工業規格において述べられている安全衛生を精査し、安全に関連すると考えられる基準を整理した。

②実施調査

乳・乳製品製造工場、食肉加工品製造工場、食鳥処理工場で用いられている機器について特に衛生との関連で構造に着目し、実施調査を行なった。

③ボルト上でのサルモネラ生残性

野外より分離したサルモネラ菌株のうちバイオフィーム産生性の高い菌株と低い菌株を Tryptic Soy Broth (TSB) または卵黄乳液中で一晚培養した後に、各菌培養液を 5.0 μl ボルト上に滴下し、ナットを締めてからそのまま、またはナットを外してからボルトと共にシャーレ中に納め、シリカゲル (500 g) を底面に敷き詰めてあるデシケータ (外寸 300x300x300mm) 内で 20-25℃下で保存した、逐次デシケータからシャーレを取り出し、生残菌数を測定した。

④鶏卵の日付表示によるサルモネラ食中毒防止対策の効果発現メカニズムの整理

農場から消費者に至るフードチェーンにおける関係主体に着目し、鶏卵の日付表示の導入によって発生する直接および間接的な費用やその負担状況、各主体の行動変化を、日本養鶏協会および日本卵業協会へのヒアリング調査によって把握し、日付表示の導入が食中毒防止効果を発揮するに至るまでの費用および効果の発現メカニズムを定性的に整理した。

⑤鶏卵の日付表示によるサルモネラ食中毒防止対策の社会的効果および社会的費用の体系的整理

④の整理を踏まえ、二重計上を回避しつつ、鶏卵の日付表示によるサルモネラ食中毒防止対策の社会的効果および社会的費用に係る効果・費用項目を体系的に整理した。

⑥鶏卵の日付表示によるサルモネラ食中毒患者の減少効果の推定

⑤で整理した社会的効果および社会的費用の各項

目について、その推定方法を検討し、概略的な推定を行った。社会的便益については、サルモネラ属菌による食中毒発生件数に関する時系列データを被説明変数とし、鶏卵生産量、トレンド変数および日付表示導入後トレンド変数を説明変数とする重回帰分析を行い、日付表示導入による食中毒患者の減少効果を抽出した。さらに、統計に表れない潜在的なサルモネラ食中毒患者数を既往の研究に基づく拡大係数を用いて推定した。

⑦鶏卵の日付表示によるサルモネラ食中毒防止対策の経済効果の推定

⑤で推定した鶏卵の日付表示の導入に伴う社会的費用と社会的便益を用いて、公共経済学において確立されている経済効果の分析手法である費用便益分析によってその効果を推定した。潜在的なサルモネラ食中毒患者数を推定する拡大係数や、サルモネラ食中毒による死亡者数には不確実性が伴うため、これに確率分布を与えたモンテカルロシミュレーションを行い、経済効果を分布として推定した。

⑧二枚貝等の鮮魚介類の腸炎ビブリオ汚染

平成19年7-11月に、平成13年の調査とほぼ同一の地域から247検体の二枚貝等の魚貝類を入手し検体とした。地域は、北海道、東北、関東、東海・中部、九州とし、検体はアオヤギ、アサリ、ホタテ、イワガキ等を主とした。

平成13年の調査時と同様の方法で試験を行った。

1) 増菌方法

2種類の培地を組み合わせ、三段階増菌法にて培養した。検体25gにアルカリペプトン水225mlを加え、35-37℃で18時間培養した。この培養液1mlを食塩加ポリミキシンプイオン10mlに加え35-37℃で18時間培養した。さらに、この培養液1mlを事前に35℃に加温した食塩加ポリミキシンプイオン10mlに加え35-37℃で6時間培養した。これらは、定性試験および定量試験（最確数法）の両方に共通して用いられた。

2) 分離培養方法

定性試験の3段階増菌培養液1mlを検体とし腸炎ビブリオ K6 抗原に対する免疫磁気ビーズを用いて免疫磁気ビーズ濃縮法を使用書に従って行った。最終的に0.1mlの洗浄液にビーズを浮遊させ、10-20 μlをクロモアガー・ビブリオ培地に画線し、35-37℃で18時間培養した。また、同増菌培養液10 μlをクロモアガー・ビブリオ培地に直接塗抹し、35-37℃で18時間培養した。

3) 腸炎ビブリオの確定試験

生育したクロモアガー・ビブリオ培地上のコロニーを観察し、腸炎ビブリオと思われる藤色のコロニーを釣菌し糖分解性試験、硫化水素生産性試験、塩分濃度耐性試験および toxR 遺伝子を標的にし

た PCR 法を行い確定した。

4) DNA 抽出方法

増菌液 1 ml および 0.1 ml を 10,000 × g で 10 分間遠心後、上清を除き沈殿に滅菌蒸留水を加え再浮遊させた。100℃で 5 分加熱し、10,000 × g で 5 分遠心して得られた上清を Template DNA とした。

5) tdh 遺伝子検出 PCR 法

PCR は Tada らの方法 (Molecular Cellular Prob. 1992, 6: 477-487) によって行い得られた PCR 産物を泳動し tdh 遺伝子の確認を行った。

6) 最確数 (MPN) 法

3 管法の 5 段階までの MPN 法にて腸炎ビブリオ菌数および tdh 陽性菌数を測定した。②の分離培養法に従い、各 MPN 試験管培養液をクロモアガービブリオ培地に画線し 35-37℃で 18 時間培養した。クロモアガー・ビブリオ上のコロニーを観察し、腸炎ビブリオと思われるコロニーを釣菌し性状試験を行い腸炎ビブリオであるか確認した。定性試験で tdh 陽性検体については⑤の方法に従い tdh 陽性菌をできるだけ分離するために多くのコロニーを PCR にて試験した。また、定性試験で tdh 陽性であった検体については、各 MPN 試験管培養液について PCR を行った。

7) 菌の分離および血清試験

Tdh 検出の PCR で陽性の検体については、クロモアガー・ビブリオ培地上の 100 コロニーを選択し Box screening 法を利用し PCR にて tdh の有無を試験した。Tdh 陽性コロニーが分離できた場合は血清型を確認した。

⑧ 遺伝子検出法を用いた TDH 陽性腸炎ビブリオの検出の検討

1) 供試菌株

海洋細菌である Vibrio 属および Grimontia 属菌を対象に LAMP 法による TDH 検出の特異性を試験した。各菌株は 2.0 % (W/V) 食塩加 BHI プロスに接種し、37℃18 時間培養した。その培養液を用いて PCR 法による tdh 遺伝子検出、RPLA 法による TDH 検出、5%ヒト赤血球加我妻培地による神奈川現象 (溶血反応) の確認および LAMP 法による tdh 遺伝子検出を行った。また、tdh 陽性腸炎ビブリオ培養液を 10 段階希釈して tdh 遺伝子検出の PCR 法および LAMP 法での検出特異性および感度の試験に用いた。

2) 供試検体

2007 年 8 月から 11 月に、東京都内で購入したアオヤギ 37 検体について腸炎ビブリオの検出を行った。検体を購入後、室温で 2 時間以内に研究所へ輸送し、15℃で保管し 5 時間以内に試験に供試した。

3) tdh 遺伝子検出 LAMP 法

4 種類の tdh 特異的プライマーが入った

Reaction Mix を含む試薬 21 μl のうち 20 μl を Loopamp 反応チューブに分注し、増菌 1 の増菌液から抽出した DNA を Template DNA として 5 μl を加え、計 25 μl とし、濃度測定装置 (Loopamp リアルタイム濃度測定装置: LA320C) で反応を行った。反応条件は、65℃で 1 時間の反応を行った。

4) その他の方法

腸炎ビブリオの分離、DNA 抽出方法、tdh 遺伝子検出 PCR 法、RPLA 法、血清型別試験については、上述の「1. 二枚貝等の鮮魚介類の腸炎ビブリオ汚染」に記した方法を用いた。

C. 研究結果

① 日本工業規格における安全衛生に関わる基準

「JIS 機械類の安全性—設計のための基本概念、一般原則—第 1 部：基本用語、方法論 JIS B 9700-1」(日本工業規格) 中では、機械類の安全性—設計のための基本概念の一般原則として、機械類で処理、使用、生産又は排出される材料及び物質並びに機械を製作するために使用される材料について、以下の材料及び物質による危険源を挙げている。

有害性、毒性、腐食性、はい(胚)子奇形発生性、発がん(癌)性、変異誘発性及び刺激性をもつ、ミスト、煙、繊維、粉じん、並びにエアゾルの吸飲、皮膚・目・粘膜への接触又は吸入に起因する危険源
火災と爆発の危険源
生物(例えば、かび)と微生物(ウィルス又は細菌)による危険源

「JIS 食料品加工機械の安全及び衛生に関する設計基準通則—第 2 部：衛生設計基準 JIS B 9650-2」(日本工業規格)においては、食料品加工機械の安全及び衛生に関する設計基準が掲げられている。

I. 食料品加工機械の衛生性を確保するために必要な、すべての機種に共通した要求事項
この規格では、食料品加工機械に共通して発生し得る危険を予防するために、共通する技術的対策を講じえる危険を対象とし、技術的要素は、同種の危険をもつすべての食料品加工機械に適用できるものとしている。

用語の定義：

「食品衛生」：ある食品が、人間や動物の消費に適していることを保証するために、その調製と加工期間中に取られる対策のすべて。

「有害な影響」：食品の消費に対する適性を著しく減少させることであり、また、特に好ましくない微生物、病原菌、毒素、有害動物、虫及び他の汚染物質による影響。

「汚染物質」：望ましくない任意の物質、製品残

留物、微生物、残留洗剤又は残留消毒剤を含むもの。

II. 衛生要求事項

機械・装置設計に際して、一般的に配慮すべき衛生対策選定についての方法は、ISO/DIS12100-1によるほか、生産される食品に伴う関連危険因子等の事項を検討することとしている。

リスクアセスメントの要素分析を行う際、考慮しなければならない要因の範囲と、形態に対する手引きとして、機械・装置の用途その他の事項を検討することとしている。

構成材料について以下のものについて基準を掲げている。

- ① 一般要求事項
- ② 食品接触部、及び食品飛散部の構成材料：以下の材料で構成されるもの。
- ③ 金属
- ④ 非金属
- ⑤ 非食品接触部の表面

食品接触部の設計及び製造について以下の事項を対象に基準を設定している。

- ① 表面
- ② 食品接触部の表面の洗浄及び検査
- ③ 微生物の侵入
- ④ 排液
- ⑤ デッドスペース
- ⑥ 接合部
- ⑦ コーティング
- ⑧ すみ肉、R仕上げ、及びみぞ加工
- ⑨ ガスケット
- ⑩ ベルト
- ⑪ ファスナ（ねじ、ボルト、リベットの締付け具）
- ⑫ プロセス流の阻害及び突起
- ⑬ シャフト及びベアリング
- ⑭ センサ及びセンサとの結合部
- ⑮ その他の結合部
- ⑯ 開口部、カバー及びドア

食品飛散部の設計

食品飛散部は、食品接触部と同じ原則に従って設計され、組み立てられる。食品に対して有害な影響がなければ、食品接触部の設計基準よりは厳格でない。

非食品接触部の設計及び製造

- ① 一般要求事項
非食品接触部の表面は、耐食性材料、又は耐食性をもつようにコーティング又は塗装処理したもの。洗浄・清掃が可能、必要に応じて

低温殺菌や消毒処理が可能、食品を汚染したり有害影響を及ぼさないようにする。

属間永久接合部は、可能な限り連続的溶接。金属と非金属間、非金属間永久接合部は、連続的にボンド結合。床に直接据え付ける機械・装置は、平らに置き、接地面を完全シールする必要あり。機械・装置は、水分保持、有害小動物の侵入、汚染物蓄積を防止し、検査、保持、保全、洗浄・清掃、必要に応じて、消毒を容易できるようなもの。

- ② 保温
保温材は、機械・装置に密着させ、水分や有害生物などの侵入を防ぐもの。
- ③ サポート
 - ・ 配管、機械・装置のサポートは、水分や汚染物がたまらないもの。
 - ・ 脚などのサポートは、ねじ部を外に露出させない。
中空材で作ったサポートは、全体として閉じた構造とするか、完全にシールする。洗浄・清掃と、点検のための空間が必要。
 - ・ キャスタは、機械・装置の移動が容易にできる大きさのものとし、洗浄・清掃と点検のために、ペースの一番低いところと、床の間に空間を設ける。キャスタは、容易に洗浄・清掃が可能で耐久性をもつもの。

III. 適合性検証：衛生手段の検証法

食品を特定しない食品加工機械の大部分は、II.の規定とその他関連規格の必要条件を満たしている場合は、洗浄・清掃が可能とみなす。複雑な機械については、実地に洗浄・清掃試験を行い、査定することもできる。

特定の食品向けの食料品加工機械の大部分は、実地試験によって実証できれば洗浄・清掃可とみなす。

殺菌を受けるように設計された機械・装置、又は無菌食品を製造する機械・装置は、実地試験を行う必要あり。

IV. 機械、装置、関連機器の据付け

排水装置：排水設備は、廃水が床面に流れ出さないようにする。調理タンク、浸せき用タンク、冷却用タンクその他大きな容器は、排水溝までの距離が短い場合には、作業終了後に食品をその場所から移動した後、床を横切って放水してもよい。

床、壁及び天井からの間隔：機械・装置は、洗浄・清掃、検査のために、十分な距離。

給水の防護：機械・装置中の液体の最高レベルと、水道管との間に、できる限り空間を設ける。水中に水道管を沈めるのを避けられない場合は、設置に際し、機能的な真空遮断機が必要。

バルブ：排水の出口のバルブは、容易に洗浄・

清掃できるものとする。装置の底には一度に水が流れるようなフラッシュを設置。排水パイプは、内部・外部ともに洗浄・清掃可とする。

「JIS 水産加工機械の安全及び衛生に関する設計基準 JIS B 9654」(日本工業規格)においては以下の機種別の安全及び衛生要求事項が掲げられている。

- I. フローズン・カッタ
- II. 魚肉採取機
- III. スクリュープレス
- IV. サイレントカッタ
- V. ボールカッタ
- VI. ミキサ
- VII. 裏ごし機
- VIII. 竹輪成形機
- IX. 板付かまぼこ成形機
- X. 揚げかまぼこ成形機
- XI. かに風味かまぼこ成形機
- XII. 竹輪ばい焼機
- XIII. かまぼこ蒸機
- XIV. 揚げかまぼこ用フライヤ
- XV. かに風味かまぼこ用シート加熱機
- XVI. 自動くし抜き機
- XVII. 細断機
- XVIII. 切断機
- XIX. 冷却機

②実地調査

乳・乳製品製造工場、食肉加工品製造工場、食鳥処理工場で用いられている機器について特に衛生との関連で以下の観察結果を得た。

乳・乳製品製造工場においてはダクトを主体に調査を行なった結果、ダクトの曲がりには基本的には鋭角にならない構造を確保している。液体の流れが滞ると考えられる構造が認められた。さらに複雑な構造としてパネ状の構造物が、また、Oリングを組み込んだ密着構造をとるダクト接合部が用いられている。

食鳥処理工程では、食品である食鳥と体に直接密着する部分が複雑な構造をとる機械が多い。とくに、と体部分に穴を開ける、切開する、切断する、引き出すための装置が多く、それらは各と体を次々に連続して処理する構造となっている点に特徴がある。

食肉加工では、ミンチにした肉を圧力をかけて押出す装置にミンチ肉と高い圧力で密着する小孔の構造、ミンチ肉を輸送するダクトの接合部(Oリングを持たない)、テングリングに用いる先端に小孔をもつ針などが特徴的な構造であった。また、ミンチ肉を攪拌する装置には、ミンチ肉と直接接

触するネジや小さな隙間が認められた。

③ボルトとナットにおけるサルモネラの生残実験
菌株280と54を用いて、ネジに接種後一週間目までのコロニー数をCHROMAgarとBGM培地を比較したところ、BGM培地の方がコロニー数が約2倍多かったことから、同培地の方が菌検出に優れていると判断し、以下、BGM培地の成績を用いることとした。

菌株282は、TSB懸濁菌液を接種した場合は112日まで生残したが、卵黄懸濁菌液を接種した場合は、28日以降検出されなかった。ユニット状態とセパレート状態の間には大きな差異は認められなかった。

菌株280は、TSB懸濁菌液を接種した場合は100日目まで生残し、ユニット状態とセパレート状態間で大きな差異は無かった。卵黄懸濁菌液を接種した場合には菌数の減少は顕著に早く、8日目以降は10cfu/ml未満となった。

菌株64は、TSB懸濁菌液を接種した場合は、卵黄懸濁菌液を接種した場合よりも急速に菌数が減少する傾向が見られ、ユニット状態とセパレート状態の間には顕著な差はなかった。卵黄懸濁菌液を接種した場合に、とくにユニット状態での生残菌数が高かった。

菌株54は、TSB懸濁菌液を接種した場合は、卵黄懸濁菌液を接種した場合よりも菌数が減少し難い傾向が見られた。セパレート型とユニット型との間には顕著な差は認められなかった。卵黄懸濁菌液を接種した場合には、セパレート型の方が急速に菌数が減少した。

以上要約すると、菌株280、282、54についてはTSB懸濁菌液の方が生残しやすいが、菌株64については卵黄懸濁菌液の方が生残しやすいこと、菌株54、64について卵黄懸濁菌液を接種した場合に、ユニット状態で生残しやすいことが認められた。

④鶏卵の日付表示によるサルモネラ食中毒防止対策の効果発現メカニズムの整理

鶏卵の日付表示の導入によって発生する直接的および間接的な費用およびその負担状況や、関連各主体の行動変化等を日本養鶏協会および日本卵業協会へのヒアリング調査に基づき整理した。

⑤鶏卵の日付表示によるサルモネラ食中毒防止対策の社会的効果および社会的費用の体系的整理
効果メカニズムを整理し、定量的な把握可能性を検討した結果、鶏卵日付表示の主な社会的費用としてはGPセンターが日付表示のための新規機器(ラベル)を導入することによるコスト増加が抽出され、主な社会的効果としてはサルモネラ食中毒防止による医療費、逸失利益、精神的損害等の

Cost of illness の軽減が抽出された。

⑥鶏卵の日付表示によるサルモネラ食中毒患者の減少効果の推定

日付表示の社会的費用の推定

社会的費用として、もっとも顕在化しておりかつ計測が可能と考えられる GP センターの日付ラベル機器設置コストおよびランニングコストを試算する。

ある GP センターへのヒアリングによれば、日付表示のための豆シール機の導入価格は約 250~300 万円/機、卵殻印字機は 700~800 万円程度とのことである。また豆シール機は各 GP センターについて 2 機ずつ導入している。

これらの機器が全国的にどれだけ導入されているかを把握することは困難であるが、全国の GP センターは約 500 箇所程度とのことであり（日本卵業協会へのヒアリング結果）、仮にすべての GP センターに 250 万円の豆シール機が導入されたとすると、豆シール機設置のための総コストは以下のよう

250 万円/台×500 箇所×2 台/箇所=25 億円

また、ランニングコストについては、2002 年 9 月 25 日付鶏鳴新聞においてインクジェットの場合鶏卵一個当たりのランニングコストが 0.009 円とされている。一方、豆シール機についてはその 10 倍程度との情報が東洋インクのウェブサイト¹に掲載されている。したがって、豆シール機の場合は鶏卵 1 個当たり約 0.09 円と想定した。

鶏卵 1 個当たり重量を農林水産省指定の M サイズ約 60g とし、すべての鶏卵に豆シールを貼付するものと想定すると、鶏卵の生産量 1 トンあたりのランニングコストは以下のとおり推計される。

$0.09 \text{ 円/個} \div 60 \text{ g/個} \times 1000000 = 1,500 \text{ 円/t}$

これに毎年の鶏卵生産量を乗じることで、ランニングコストは図表 3 のとおり、37~38 億円/年と推定される。

⑦日付表示による社会的便益の推定

サルモネラ食中毒患者の減少数の推定

サルモネラ食中毒患者の時系列変化を、トレンド、鶏卵日付表示ダミー、卵の消費量、トレンドで回帰して、鶏卵日付表示の効果を取り出すを試みる。

まず食中毒統計（厚生労働省）を用いて、食中毒総件数とそのうちサルモネラ属菌あるいは卵類およびその加工品由来であるもののデータを整理した。

サルモネラ属菌による食中毒件数と卵類およびその加工品による食中毒件数はおおむね同じトレンドをたどっていることが伺える。もちろん、病因

物質、原因食品が不明のもの多いため、サルモネラ属菌による食中毒に占める卵類およびその加工品による食中毒の比率は変動している可能性もあるが、その動向はおおよそ連動していると仮定しても大きな齟齬はないと考えられる。

なお、阿部(2005)²によれば、1987~1999 年にわが国で発生した Salmonella Enteritidis (SE) を原因物質とする 190 事例の食中毒調査報告書を収集・整理し、調理方法から SE 食中毒の発生要因を調査したところ、原因食品が推定された 101 事例の鶏卵の使用頻度は高く、全体の 75.2%を占めていたとの報告もあり、サルモネラ属菌による食中毒と鶏卵摂取との関連性は非常に高いことが傍証される。

次に、サルモネラ属菌による食中毒件数を被説明変数とし、鶏卵生産量およびトレンド変数などを説明変数とする重回帰分析を行うことによって、鶏卵日付表示の実施による影響を把握した。いくつかの説明変数を組み合わせて重回帰分析を行った結果、被説明変数である「サルモネラ属菌による食中毒件数」は、「鶏卵生産量」「日付表示後（2000 年以降）のトレンド変数」「1995 年を起点とするトレンド変数」を説明変数として重回帰分析を行うことで、比較的良好的な結果が得られた。なお、日付表示後（2000 年以降）のトレンド変数とは、2000 年以前はゼロ、2000 年以降は（年次-1999）の値（例えば、2003 年の値は 4）をとる変数である。また、1995 年を起点とするトレンド変数とは、1995 年以前はゼロ、1995 年以降は（年次-1994）の値（例えば、2003 年の値は 9）をとる変数である。この分析結果から、日付表示の義務付けに伴うサルモネラ属菌による食中毒の発生削減件数（Without-With）は、2000 年の 258 件から時間の経過とともに増大し、2005 年では 1,547 件になるとの結果が得られた。

食中毒統計（厚生労働省）に基づき、1996 年から 2005 年までの 10 年間におけるサルモネラ食中毒の発生件数 1 件当たりの患者数を求めると約 18 人/件であった。

また、食中毒統計（厚生労働省）に基づくサルモネラ属菌による食中毒発生件数や患者数は、保健所等を通じて報告された数であり、実際にはサルモネラ属菌による食中毒が発生したにもかかわらず、保健所等を通して報告されなかった数は入っていない。岩崎・春日・窪田(2007)³によれば、宮

² 阿部和男「食材及び調理方法から解析したサルモネラ食中毒の発生要因の研究」、宮城県保健環境センター年報、第 23 号、2005。

³ 岩崎恵美子・春日文子・窪田邦宏「宮城県における積極的食品由来感染症病原体サーベイランスならびに急性下痢症疾患の実被害数推定」、「食品衛生関連情報の効率的な活用に関する研究」(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 森川馨) 分担研

¹ 東洋インクウェブサイト
(http://www.toyoink.co.jp/prod_ch/natural/egg.html)

城県を対象としたケーススタディにおいて、サルモネラ属菌による食中毒の実被害数は報告数の約240倍であるとの結果が得られている。

そこで、食中毒発生削減件数に、上記から得られた発生件数1件当たりの実被害数=18人/件×240=4,320人/件を乗じることで、食中毒患者の削減数は2000年の約113万人から時間の経過とともに増大し、2005年では約679万人になると推計される。

山本・石渡(1998)によれば横浜市におけるサルモネラ食中毒による推定受療パターンと医療費に基づいて、サルモネラ食中毒患者1人あたりの平均的医療費が9,739円/人と推定されている。これを食中毒患者の削減数に乘じると、Cost of illness 減少効果は、2000年の約110.2億円から時間の経過とともに増大し、2005年では約661.4億円になると推計される。

⑧鶏卵の日付表示によるサルモネラ食中毒防止対策の経済効果の推定

ここまで推定した費用および効果について、日付表示導入による費用便益分析を実施することで、その経済効果を推定する。ここで、評価対象期間は豆シール機の耐用年数とする4。豆シール機の耐用年数は機種による相違も大きいと考えられるが、仮に5年と想定し、日付表示が導入された2000年から2004年の5年間とした。また現在価値換算に用いる社会的割引利率は4%と想定した5。

⑨日付表示の社会的費用の推定

日付表示のための機器導入コスト25億円は日付表示の導入年次である2000年に発生するものとし、ランニングコストは日付表示の導入年次の2000年から2004年までの5年間について発生するものを評価対象とした。これらを2000年の現在価値に換算すると、18,777百万円と推定された。

⑩日付表示の社会的便益の推定

Cost of illness 減少効果を日付表示の導入年次の2000年から2004年までの5年間について発現するものを評価対象とした。これらを2000年の現在価値に換算すると、143,365百万円と推定された。

⑪経済効果の推定

これらの社会的費用と社会的便益の推定結果から、2000年の現在価値で評価したときの鶏卵の日付表

示の導入の効果は、費用の7.64倍(費用便益比)の大きさ、費用を1,246億円上回る(純便益)との結果が得られた。

⑫モンテカルロシミュレーションによる不確実性を考慮した分析

例えば、機器導入コストは250~300万円/機と幅があるなど、変数の中には不確実性を伴うものもある。ここでは、こうした不確実性を考慮して、各変数に確率分布を設定し、モンテカルロシミュレーションを行うことにより、費用便益分析結果を確率分布として求める。1996年から2005年までの10年間における食中毒発生件数1件当たり平均死亡者数は0.00332である。死亡者の減少数は、食中毒発生減少件数とこの死亡確率を用いた二項分布としてモデル化される。しかし、ここにはPCの計算能力を超える演算が含まれるため、食中毒発生減少件数と死亡確率の積をパラメータとするポアソン分布として近似する6。ただし、これでは死亡者の減少数がもとの死亡者数を超える可能性があるため、その場合、死亡者がゼロになる(死亡者の減少数が死亡者数になる)ものとして取り扱う。

また、死亡者の社会的損失については、交通事故分野において多数の研究蓄積がある。交通事故と食中毒とでは異なる点は多々あるが、安全が前提のシステムにおいて予期せず急に死に至る点では類似している。ここでは内閣府(2007)7に示された死亡者の社会的損失のうち、人的損失については慰謝料を0、治療関係費を90千円に置き換え、その他の金銭的損失は発生しないものとして、一人当たり約242百万円と設定した。

⑬モンテカルロシミュレーションによる不確実性を考慮した分析

以上の設定に基づき、@RISKを用いてラテンハイパーキューブ法による10万回の費用便益分析のシミュレーションを実施した結果、費用便益比では最小値0.0433、平均値7.84、最大値263であり、社会経済的に施策実施の妥当性が認められるB/C \geq 1.0となる確率は96.14%となった。純便益では、最小値-18.3百万円、平均値132百万円、最大値4,941百万円であり、社会経済的に施策実施の妥当性が認められるNPV \geq 0となる確率は96.14%となった。

⑭二枚貝等の鮮魚介類の腸炎ビブリオ汚染

究報告書, 2007.

⁴ 公共事業の費用便益分析において、評価対象期間は耐用年数等を考慮して定めることとされていることに準拠した。

⁵ 公共事業の費用便益分析においては、国債等の実質利回りを参考値として社会的割引率が4%と設定されていることに準拠した。

⁶ David Vose "Risk Analysis - A Quantitative Guide", Wiley, 2000 (邦訳:長谷川専・堤盛人「入門リスク分析」勁草書房, 2003.)

⁷ 内閣府政策統括官(共生社会政策担当)「交通事故の被害・損失の経済的分析に関する調査研究報告書」平成19年3月。

全検体である 247 検体中の 187 検体 (75.7%) で腸炎ビブリオが分離された。産地別では、北海道は 60 検体中の 44 検体 (73.3%)、東北は 94 検体中の 52 検体 (55.3%)、関東は 33 検体中の 33 検体 (100%)、中部・近畿は 19 検体中の 19 検体 (100%)、九州は 38 検体中の 38 検体 (100%) で腸炎ビブリオが分離された。検体種別では、アオヤギは 73 検体中の 57 検体 (78.1%)、アサリは 54 検体中の 54 検体 (100%)、イワガキは 40 検体中の 32 検体 (80%)、ホタテガイは 37 検体中の 9 検体 (24.3%) で腸炎ビブリオが分離された。

tdh 遺伝子を対象とした PCR 法では、247 検体中の 17 検体 (6.9%) で tdh 遺伝子が検出された。検体の産地別では、北海道は 62 検体中の 8 検体 (12.9%) であり、その全てはアオヤギであった。東北は 94 検体中のムラサキイガイ 1 検体 (1.1%) であった。関東は 33 検体中の 3 検体 (9.1%) であり、検体種はアサリ、アオヤギ、不明であった。東海・中部は 19 検体中の 3 検体 (15.8%) で tdh 遺伝子が検出され、検体種はアサリであった。

腸炎ビブリオが分離された 32 検体について総腸炎ビブリオ菌数を求めた。最大値は、本研究での測定範囲の設定を超え >140,000 MPN/10 g であったが、最小定量値である 3 MPN/10 g 未満のものが多かった。その他は、比較的偏り無く広い範囲の腸炎ビブリオ定量値を示した。

定性分析で tdh 遺伝子陽性の 21 検体について tdh 遺伝子陽性腸炎ビブリオ菌数を求めた。最大値は、1,000 MPN/10 g を越えていたが、最小定量値である 3 MPN/10 g 未満のものが多かった。10 MPN/10 g 以下の総腸炎ビブリオ菌数レベルでは、tdh 遺伝子が検出されなかった。各検体の総腸炎ビブリオ菌数と tdh 遺伝子陽性腸炎ビブリオ菌数をグラフにプロットして解析した結果、両者に相関は認められなかった。

tdh 遺伝子陽性の 21 検体のうち 5 検体から tdh 遺伝子陽性菌株が分離された。血清型を確認したところ、O4:K9、O4:K37、O4:K38、O4:KUT、OUT:K37、OUT:K38、OUT:KUT であり、O 群は O4 および OUT であり、K 型は K37、K38 および KUT で類似していた。しかし、O3:K6 は分離されなかった。

tdh 遺伝子陰性菌株の血清型は、O3:K6、O11:K51、O4:KUT、O6:KUT、O10:KUT、O11:KUT、OUT:K37 および OUT:KUT であった。特に、O3:K6 についてはアオヤギ、アサリ、ハマグリなどで分離された。

⑭ 遺伝子検出法を用いた TDH 陽性腸炎ビブリオの検出の検討

特異性を検討した結果、腸炎ビブリオの神奈川現象陰性の 10 株は、PCR 法および RPLA 法で tdh

および TDH 陰性であり、LAMP 法でも陰性であった。一方、神奈川現象陽性の 31 株は、PCR 法および RPLA 法で tdh 遺伝子および TDH 陽性であり、LAMP 法でも陽性であった。腸炎ビブリオ以外の *Vibrio* 属菌や *Grimontia hollisae* は、PCR 法で tdh 陰性であり、LAMP 法でも tdh 陰性であった。

Tdh 陽性腸炎ビブリオ 5 株を用いて感度を検討した結果、1 反応あたり菌数が 42~9 cfu および 4.2~0.9 cfu では 10 反応試験中全試験で陽性であった。また、0.4~0.1 cfu では 10 検体中 PCR 法が 4 検体、LAMP 法が 3 検体陽性であった。

tdh 遺伝子を対象とした PCR 法では、37 検体中の 6 検体 (16.2%) で tdh 遺伝子の増幅と同等の大きさの明瞭な遺伝子産物が検出された。さらに、他の 5 検体で、不明瞭であるが tdh 遺伝子の増幅と同等の大きさの遺伝子産物が検出されたが、目的の大きさ以外の産物が主として認められまた多数の不明瞭な産物も認められた。

また、tdh 遺伝子を対象とした LAMP 法では、37 検体中の 6 検体 (16.2%) で tdh 遺伝子が検出された。本研究では、tdh 遺伝子を対象とした PCR 法および LAMP 法の両方法で tdh 遺伝子が検出された検体を tdh 遺伝子陽性検体としたので tdh 遺伝子陽性検体は 6 検体であった。

tdh 遺伝子陽性菌の腸炎ビブリオは 3 検体から分離された。いずれも PCR 法および LAMP 法で tdh 遺伝子が陽性結果を示した検体であった。しかし、PCR 法および LAMP 法で tdh 遺伝子が陽性であった別の 2 検体では tdh 遺伝子陽性菌の腸炎ビブリオが分離されなかった。また、LAMP 法で tdh 遺伝子陰性であり PCR 法で tdh 遺伝子と同等の大きさの産物が弱い泳動像として認められ他の増幅産物が主として認められた 5 検体でも、tdh 遺伝子陽性菌の腸炎ビブリオは分離されなかった。

tdh 遺伝子陽性菌株の血清型は、O4:K37、O4:K38、O4:KUT、OUT:K37、OUT:K38、OUT:KUT であり、O 群は O4 および OUT であり、K 型は K37、K38 および KUT で類似していた。tdh 遺伝子陰性菌株の血清型は、O11:K51、O4:KUT、O6:KUT、O10:KUT、O11:KUT、OUT:K37 および OUT:KUT であった。

D 考察

① 日本工業規格における安全衛生に関わる基準

食中毒細菌の汚染に関連し、「JIS 機械類の安全性—設計のための基本概念、一般原則—第 1 部：基本用語、方法論 JIS B 9700-1」(日本工業規格)中では、生物(例えば、かび)と微生物(ウイルス又は細菌)による危険源が考慮されている。「JIS 食料品加工機械の安全及び衛生に関する設計基準通則—第 2 部：衛生設計基準 JIS B

9650-2」(日本工業規格)中では、リスクアセスメントにおいて、対象食品の汚染、保存、防腐処理、熱処理などの追加加工が行われるのか、その機械・装置が行う加工は、最終加工か、食品の用途、洗浄・清掃及び点検の頻度などが考慮されるべきとしている。また、機械の一般要求事項として、材料は、意図した用途に適し、材料及びコーティングの表面は、意図した用途条件下で耐久性があり、洗浄・清掃しやすく、必要ならば消毒が必要で、破壊がなく、ひび割れ、傷入り、はく離、腐食、磨耗に対して抵抗力があり、好ましくない物質の浸透を防げるものなどを掲げている。とくに、食品接触部の設計と製造については、食材の除去を容易にし、汚染が起りにくく、洗浄や清掃、点検が可能で、必要に応じて消毒処理が可能、外部環境からの微生物の混入を防止できる設計としている。このような条件を満たすためのさらに具体的な設計条件が、表面やデッドスペース、接合部位、面と面との角度、すみ、部品の接合部等について定められている。

「JIS 水産加工機械の安全及び衛生に関する設計基準 JIS B 9654」(日本工業規格)においては、機種別要求事項が掲げられており、その大部分は微生物汚染の防除を考慮したものと考えられる。とくに、食品の滞留防止、完全な排水、汚染の持ち込み防止、容易な清掃可能、跳ね返り防止などに考慮した基準となっている。

ここに示されている大部分の具体的な条件は、微生物汚染の防止に有効であると考えられるが、食品接触部のボルト、小ねじ、ワッシャなどの部品の条件や面の角度の条件など、素材を含め細部については微生物汚染防止の有効性との関連についてデータを蓄積し、それに基づいた基準が必要と考えられる。

②実地調査

調査の結果、それぞれの製造加工上の必要性に応じ、洗浄しがたく、微生物の付着が生じやすく、残りやすいと考えられる構造が認められた。こうした構造については、バイオフィーム生成を含めた微生物の付着と生残や微生物の除去方法に関する検討により、リスクの有無と大小を確認することが必要であり、その成果を踏まえて機械自体の改変または微生物危害の防除方法の開発が必要か否かを判断することになるであろう。

③ボルトとナットにおけるサルモネラの生残実験

研究結果全体から、生残期間について、ユニット型とセパレート型の間に一定の関係が認められなかったことから、菌株を含め、その他の条件の影響も大きいことが示唆された。

我々の以前の研究により、菌株280と282は、ポリプロピレン上でバイオフィーム産生性が低く、乾燥条件下での生残期間が比較的短いことが観察されたが、本研究ではTSB懸濁液を使用し

た場合に280は比較的生残しやすいことが見出されたことから、生残期間は材質などに依存する可能性が考えられる。また、菌株によって生残に及ぼすTSB懸濁菌液と卵黄懸濁菌液の影響が異なることが示唆された。ポリプロピレン上でのバイオフィーム産生能が高いことが認められている2菌株については、卵黄懸濁菌液の場合にユニット状態の方がセパレート状態よりも生残性が高いことが認められたが、この状態においてバイオフィーム産生性が高いか否かについてはさらなる検討が必要である。

④鶏卵の日付表示の有無によるサルモネラ属菌による食中毒件数の差異は、年次のみが考慮されるトレンド変数を用いた重回帰分析の結果に基づいて算出している。このため、ここで得られた社会的便益には、鶏卵の日付表示だけでなく、同時期に実施された鶏へのワクチン投与やコールドチェーン導入等の他のサルモネラ食中毒防止対策の効果や、食習慣の変化による効果なども含まれていると考えられる。従って、ここでの経済効果は過大推計になっている可能性があることに留意する必要がある。

従って、鶏卵の日付表示義務が社会経済的に妥当な施策であったか否かについては、社会的便益から鶏卵の日付表示義務の効果のみを分離して評価を行わなければ判断することはできない。

今後、ここで算出された社会的便益から、各サルモネラ食中毒防止対策の導入効果をそれぞれ分離して算出する方法等について検討が必要である。④平成13年の調査ではtdh陽性腸炎ビブリオの汚染率は10%であったが、今回の調査では8.5%であり、若干の減少であった。1998年の食中毒多発時と比較し2007年は患者数が1/10以下に、事例数が1/25以下に減少していることに比べると、汚染率が減少したことが食中毒減少の理由になっているとは考えられなかった。

2001年(平成13年)6月に「食品衛生法施行規則」および「食品、添加物等の規格基準」の一部改正として通知された。この中の規格基準設定である「腸炎ビブリオ数100MPN/g」を本研究データに当てはめてみると、これを超える検体は約1/5あった。tdh陽性率は「腸炎ビブリオ数100MPN/g」を越える検体では約30%であったが、越えない検体では約5%であった。このことから、腸炎ビブリオ菌数100MPN/gを超えるとTDH陽性腸炎ビブリオの汚染が約5倍に増加することが明らかになった。平成13年の調査では腸炎ビブリオ数100MPN/gを超える検体は19.1%であり、そのtdh陽性率は24.2%で、腸炎ビブリオ数100MPN/g以下の検体ではtdh陽性率は6.4%であった。

本研究の結果から、腸炎ビブリオ食中毒発生が少なくなかった平成13年の調査時と、二枚貝を中心

とする魚介類の腸炎ビブリオおよび tdh 陽性腸炎ビブリオ汚染率は現在も大きく異なることが判明した。しかし、1996年に出現して以降、腸炎ビブリオ食中毒が激減した現在でも食中毒の主要な血清型である O3:K6 は検出されなかった。このため、腸炎ビブリオ食中毒の減少の理由として、魚介類の水揚げから市場、流通、消費の段階での魚介類取扱が改善されたこと、また、血清型 O3:K6 の tdh 陽性腸炎ビブリオの魚介類の汚染が減少したことが可能性として考えられた。今後さらに、対策の取られた項目についての調査の必要性が強く考えられる。

また、アオヤギからの tdh 遺伝子陽性腸炎ビブリオ検出において tdh 遺伝子検出 PCR 法および LAMP 法を用いて比較した結果、両方法に差が認められた。両方法ともに、37 検体中 6 検体で tdh 遺伝子が検出されたが、PCR 法では、tdh 遺伝子と同等の大きさの増幅産物が若干認められるものの、その他の多種類の増幅産物も認められ tdh 遺伝子以外の遺伝子が増幅されていたと考えられるものが 5 検体あった。PCR 法は最も汎用されている微生物遺伝子検出法であるが、増幅産物をアガロースゲル電気泳動法後に目視で産物の泳動像を観察し判定する方法が主流であり、その際に判定が難しい場合がある。本研究では、PCR 法と LAMP 法の特異性と感度が同等であることが確認された。このことから、実検体で tdh 遺伝子と同等の大きさの増幅産物が若干認められたが、その他の多種類の増幅産物が認められ tdh 遺伝子以外の遺伝子が増幅されていたものは、検体中の微量な tdh 遺伝子が LAMP 法で検出されずに PCR 法だけで検出されたとは考えられなかった。今後さらに、PCR での増幅産物の解析を行うなど検討し、確認が必要である。

腸炎ビブリオ食中毒患者分離株のほとんどが tdh または trh 遺伝子を保有する病原性菌株であるのに対し、環境中に分布する病原性株の頻度は極めて低く、魚介類などの環境サンプルから病原性菌株を分離するのは困難である。しかし、本研究では 37 検体中 6 検体から tdh 遺伝子が検出された。このことから、遺伝子検出法を用いることによって、魚介類などの環境サンプルからの tdh 遺伝子を保有する腸炎ビブリオの検出が効率よく行えると考えられた。今後さらに、リアルタイム PCR 法など他の遺伝子検出法についても応用の検討が必要と考えられた。

E. 結論

日本工業規格の基準の一部について食中毒菌を用いたデータの裏づけを得ることが必要であると考えられた。ポルトとナットにおける菌の生残

に及ぼす材質と菌液の影響が認められた。

鶏卵の日付表示義務に伴う社会的費用および便益項目を定性的に整理し、そのうち、定量化可能な社会的費用と社会的便益を抽出した。そして、これらを計測し、費用便益分析によって経済効果を推定した。さらに、不確実性を伴う変数に確率分布を設定し、モンテカルロシミュレーションを行うことによって、費用便益分析結果を確率分布として求めた。ただし、社会的便益には他のサルモネラ食中毒対策の効果が含まれていることから、鶏卵の日付表示義務の社会経済的妥当性については判断できなかった。今後、ここで算出された社会的便益から、各サルモネラ食中毒防止対策の導入効果をそれぞれ分離して算出する方法等について検討が必要である。

二枚貝を中心とする魚介類の腸炎ビブリオ汚染実態を究明した結果、腸炎ビブリオは 75.3% の検体から分離され、tdh 遺伝子は 8.5% の検体で陽性であった。また、腸炎ビブリオ菌数 100 MPN/g を超えると TDH 陽性腸炎ビブリオの汚染が約 5 倍に増加することが明らかになった。これらの結果から、腸炎ビブリオ食中毒発生が少なくなかった平成 13 年の調査時と、二枚貝を中心とする魚介類の腸炎ビブリオ汚染の状況は現在も大きく異なることが判明した。今後さらに、対策の取られた項目について調査の必要がある。さらに、遺伝子検出法を用いた TDH 陽性腸炎ビブリオの検出の検討を行った。近年開発され既に多くの病原微生物の高感度で迅速な検出方法の一つとして LAMP 法があるが、本研究では開発された tdh 遺伝子検出 LAMP 法の特異性および感度、さらに実検体からの検出において検討した。その結果、LAMP 法の特異性および感度は PCR 法と同等であり、実検体では PCR 法および LAMP 法の検出が一致する検体が 37 検体中 31 検体であったが、PCR 法で tdh 遺伝子と同等の大きさの産物が弱い泳動像として認められ他の増幅産物が主として認められるという判定が難しい検体が 6 検体あった。今後、リアルタイム PCR 法など他の遺伝子検出法についても応用の検討が必要と考えられた。

F. 研究発表

1. 論文発表

Asai, Y., Kaneko, M., Ohtsuka, K., Morita, Y., Kaneko, S., Noda, H., Furukawa, I., Takatori, K. and Hara-Kudo, Y. Salmonella prevalence in seafood imported into Japan. J. Food Prot. In press.

永島江美子, 小田雄一郎, 小澤一弘, 仁科徳啓, 工藤由起子, 小沼博隆. Vibrio vulnificus の清水港湾内における分布. 日本食品微生物学会, 24:189-193, 2007.

工藤由起子. 季節と食中毒 夏場の腸炎ビブリオ

対策.食と健康.社団法人日本食品衛生協
会.51巻:6-15.2007. 6月号

2. 学会発表

なし

G. 知的財産権の出願・登録状況

(予定も含む)

特になし

食品の製造加工機器の衛生管理に関する研究

平成19年度 分担研究報告書

分担研究者 熊谷 進 (東京大学大学院農学生命科学研究科)
協力研究者 小野一晃 埼玉衛生研究所
森田幸雄 群馬衛生環境研究所

要旨

目的：食品の製造加工に用いられる機器については、ISO や JIS などの規格があり、それらの中には部品混入や洗浄効率等の衛生要件を考慮したものもあるが、食中毒細菌汚染防止のための具体的な要件については不明である。我が国においては食品衛生法の下に通知として機器についての指導基準や指導要領が示されているが、いずれも一般的な記述に留まっており具体性に欠けている。また、HACCP による衛生管理の前提としての一般的衛生管理計画の中で、機械器具については保守点検作業が取り上げられているにすぎず、食中毒事故防止の観点から機械器具が備えるべき条件や衛生管理上または監視の上で重要な点が不明である。食中毒細菌汚染防止の観点から機器の衛生要件を究明するために、本年度は、①既存の規格の整理、②機器の実地調査、③ボルトとナットにおけるサルモネラの生残実験を行なった。

方法：日本工業規格における安全衛生に関わる基準を精査し、安全に関連する基準を整理した。乳・乳製品製造工場、食肉加工品製造工場、食鳥処理工場で用いられている機器について特に衛生との関連で実施調査を行なった。野外より分離したサルモネラ菌株のうちバイオフィーム産生性の高い2菌株と低い2菌株をボルト上に接種してから、デシケーター内で20-25℃下で保存し、逐次取り出して生残菌数を測定した。

結果と考察：①「JIS 機械類の安全性—設計のための基本概念，一般原則—第1部：基本用語，方法論 JIS B 9700-1」、「JIS 食料品加工機械の安全及び衛生に関する設計基準通則—第2部：衛生設計基準 JIS B 9650-2」に機器の一般的な衛生上の条件が、また、「JIS 水産加工機械の安全及び衛生に関する設計基準 JIS B 9654」（日本工業規格）にはさらに具体的な微生物汚染防除のための衛生基準が定められている。それら基準の一部については、食中毒菌を用いたデータの裏づけを得ることが必要であると考えられた。②実地調査の結果、それぞれの製造加工上の必要性に応じ、洗浄しがたく、微生物の付着が生じやすく、残りやすいと考えられる構造が認められた。こうした構造については、微生物の付着と生残や微生物の除去方法に関する検討により、リスクの有無と大小を確認することが必要であると考えられた。③ネジ上での菌の生残性は材質などに依存する可能性が考えられた。また、菌株によっては、ボルトとナットのユニット状態の方がセパレート状態よりも生残性が高いことが認められたが、この状態においてバイオフィーム産生性が高いか否かについてはさらなる検討が必要である。

A. 研究目的

食品の製造加工に用いられる機器については、ISO や JIS などの規格があり、それらの中には部品混入や洗浄効率等の衛生要件を考慮したものもあるが、

食中毒細菌汚染防止のための具体的な要件については不明である。

我が国においては食品衛生法の下に通知「許可営業施設の最低基準案の送付について」（昭和32年、衛環発第四三号）により、「(1) 機械器具のうち、食

品に直接接触する部分は、耐水性で洗じょうし易く、加熱又はその他の殺菌が可能なものであること。(2) 機械、器具及び容器は、計画製造量に応じた数を備え、常によく補修され、かつ、清潔で完全に使用可能な状態に保持されていること。(3) 移動性の器具及び容器類を衛生的に保管する設備を設けること。」などの指導基準が、また、通知「食鳥処理加工指導要領について」(昭和 53 年、環乳第二号)においては、「(1) 機械、器具類は、すべて少なくとも一日に一回は、十分に洗浄する等の清掃を行い、食鳥肉に直接接触する面は、使用前に十分に洗浄殺菌し、衛生上支障のないように保持すること。(2) 異常又はその疑いのあるものを処理し、他に汚染のおそれのある場合には、その使用した機械、器具類はその都度十分に洗浄殺菌すること。(3) 機械、器具類の洗浄殺菌に使用する洗剤及び殺菌剤は、適正な方法で使用すること。(4) 機械、器具類及び分解した部分は、それぞれ所定の場所に衛生的に保管すること。

(5) 機械、器具類は常に点検し、故障、破損等があるときは、速やかに補修し、常に適正に使用できるよう整備しておくこと。(6) 温度計、圧力計及び流量計等の機器類は定期的にその正確度を点検すること。」などの指導要領が示されているが、いずれも一般的な記述に留まっており具体性に欠けている。また、HACCP による衛生管理の前提としての一般的な衛生管理計画の中で、機械器具については保守点検作業のみが取り上げられているにすぎず、食中毒事故防止の観点から機械器具が備えるべき条件や衛生管理上または監視の上で重要な点が不明である。

以上の背景より、食中毒細菌汚染防止の観点から機器の衛生要件を究明するために、本年度は、食品製造加工に関する JIS の規格、その他関連団体による既存の規格を最近汚染防止の観点から整理するとともに、乳製品や食肉製品の製造、食鳥処理に用いられている機器について実地調査を行なった。さらに、機器部品として汎用されているボルトとナットについて、サルモネラの生残実験を行なった。

B. 研究方法

①日本工業規格における安全衛生に関わる基準

「JIS 機械類の安全性—設計のための基本概念、一般原則—第 1 部：基本用語、方法論 JIS B 9700-1」(日本規格協会、平成 16 年)

「JIS 機械類の安全性—設計のための基本概念、一般原則—第 2 部：技術原則 JIS B 9700-2」(日本規格協会、平成 16 年)

「JIS 食料品加工機械の安全及び衛生に関する設計基準通則—第 1 部：安全設計基準 JIS B 9650-1」(日本規格協会、平成 15 年)

「JIS 食料品加工機械の安全及び衛生に関する設計基準通則—第 2 部：衛生設計基準 JIS B 9650-2」(日本規格協会、平成 15 年)

「JIS 水産加工機械の安全及び衛生に関する設計基

準 JIS B 9654」(日本規格協会、平成 17 年)

「JIS ハンドブック 7 機械要素」(日本規格協会、平成 19 年)

「JIS ハンドブック 6-2 配管Ⅱ 製品」(日本規格協会、平成 19 年)

を精査し、安全に関連すると考えられる基準を整理した。

②実施調査

乳・乳製品製造工場、食肉加工品製造工場、食鳥処理工場で用いられている機器について特に衛生との関連で構造に着目し、実施調査を行なった。

③ボルト上でのサルモネラ生残性

野外より分離したサルモネラ菌株のうちバイオフィーム産生性の高い 2 菌株と低い 2 菌株を Tryptic Soy Broth (TSB) または卵黄乳液中で一晩培養した後、各菌培養液を 5.0 μ l ボルト上に滴下し、ナットを締めてからそのまま、またはナットを外してからボルトと共にシャーレ中に納め、シリカゲル (500 g) を底面に敷き詰めてあるデシケーター (外寸 300x300x300mm) 内で 20-25 $^{\circ}$ C 下で保存した。なお、バイオフィーム産生性は、ポリプロピレン製 9 6 穴プレートを用いるクリスタルバイレット法により判定した。ボルトとナットとしては、ステンレス製の市販六角ボルト (ピッチ 1.0mm, サイズ M6, 長さ 15mm) を用いた。逐次デシケータからシャーレを取り出し、ボルトとナットを PBS 中で攪拌してから、その 10 倍段階希釈液をプリリアントグリーン寒天培地と CHROM Agar Salmonella に接種し、コロニー数を計測することによって生残菌数を測定した (図 1 参照)。

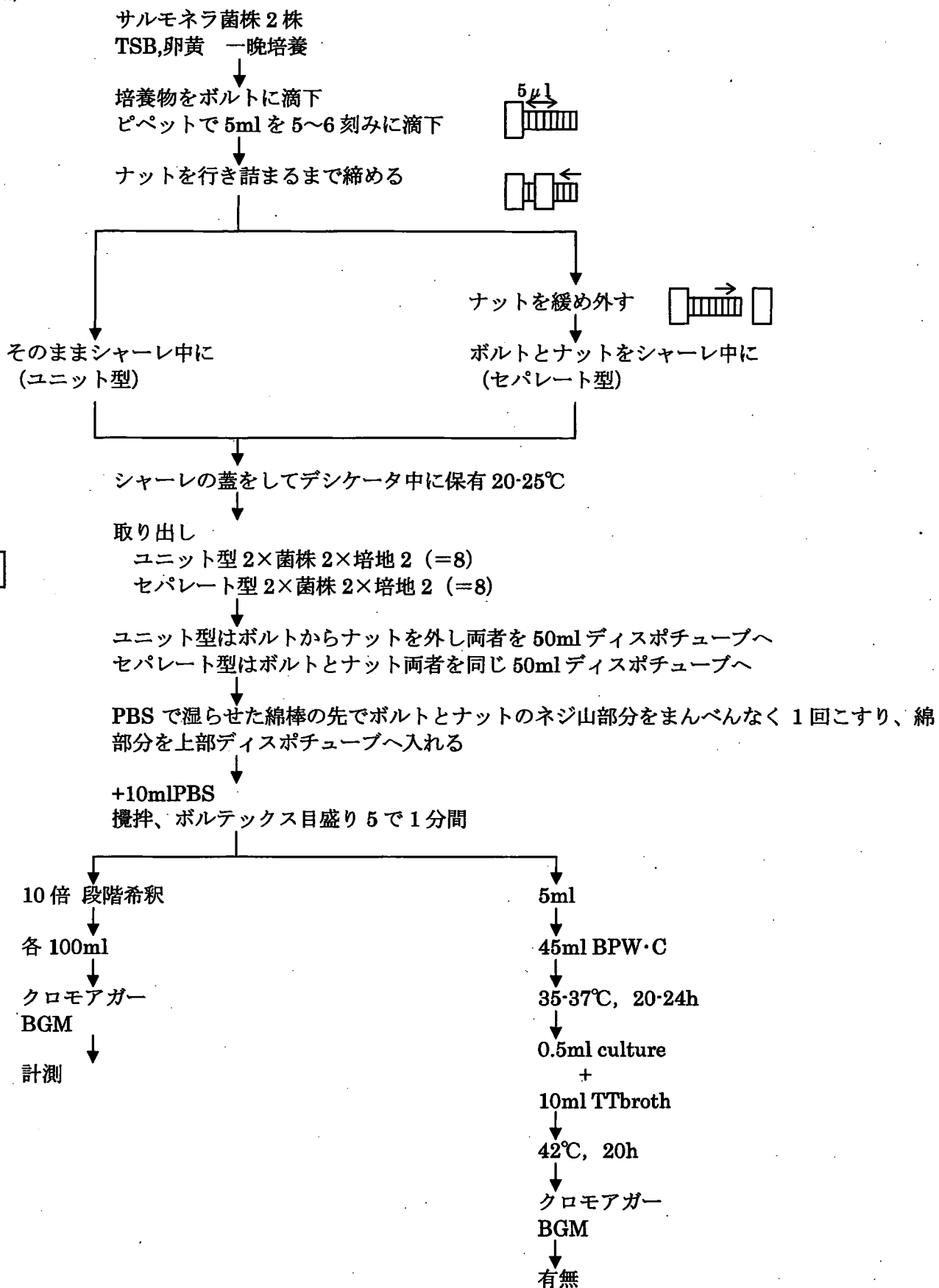
C. 研究結果

①日本工業規格における安全衛生に関わる基準

以下の基準のうち食中毒細菌汚染防止に関わると考えられる項目には下線を施した。

「JIS 機械類の安全性—設計のための基本概念、一般原則—第 1 部：基本用語、方法論 JIS B 9700-1」

(図 1)



(日本工業規格) 中では、機械類の安全性—設計のための基本概念の一般原則として、機械類で処理、使用、生産又は排出される材料及び物質並びに機械を製作するために使用される材料について、以下の材料及び物質による危険源を挙げている。

- ① 有害性、毒性、腐食性、はい(胚)子奇形発生性、発がん(癌)性、変異誘発性及び刺激性をもつ流体、ガス、ミスト、煙、繊維、粉じん、並びにエアゾルの吸飲、皮膚・目・粘膜への接触又は吸入に起因する危険源
- ② 火災と爆発の危険源
- ③ 生物(例えば、かび)と微生物(ウイルス又は細菌)による危険源

「JIS 食料品加工機械の安全及び衛生に関する設計基準通則—第2部：衛生設計基準 JIS B 9650-2」

(日本工業規格)においては、食料品加工機械の安全及び衛生に関する設計基準が掲げられている。

I. 食料品加工機械の衛生性を確保するために必要な、すべての機種に共通した要求事項

この規格では、食料品加工機械に共通して発生し得る危険を予防するために、共通する技術的対策を講じえる危険を対象とし、技術的要素は、同種の危険をもつすべての食料品加工機械に適用できるものとしている。

用語の定義：

「食品衛生」：ある食品が、人間や動物の消費に適していることを保証するために、その調製と加工期間中に取られる対策のすべて。

「有害な影響」：食品の消費に対する適性を著しく減少させることであり、また、特に好ましくない微生物、病原菌、毒素、有害動物、虫及び他の汚染物質による影響。

「汚染物質」：望ましくない任意の物質、製品残留物、微生物、残留洗剤又は残留消毒剤を含むもの。

II. 衛生要求事項

機械・装置設計に際して、一般的に配慮すべき衛生対策選定についての方法は、ISO/DIS12100-1 によるほか、次の事項を検討することとしている。

- ① 生産される食品に伴う関連危険因子
- ② 危険因子を排除し、これに伴うリスクを減じる衛生設計
- ③ 危険因子に伴うリスクを軽減するために用いる手段によって、新たに引き起こされる可能性のあるその他の何らかの衛生上の危険因子
- ④ 危険因子の排除方法、又はリスク軽減方法の有効性を検証する方法
- ⑤ 残存リスク及び適用され得る用途に関する諸情報から、必要となる何らかの追加的予防措置

リスクアセスメントの要素分析を行う際、考慮しなければならない要因の範囲と、形態に対する手引きとして、次の事項を検討することとしている。

- ① 機械・装置の用途：リスクが確認し得る一つの指定用途だけに用いられるのか、又は様々な工業で色々な製品にわたって用いることができるのか。
- ② 対象食品：食材で汚染されているか、保存されるか、防腐処理されるか。
- ③ 加工される食品：危険因子排除のために、熱処理などの追加加工が行われるのか、その機械・装置が行う加工は、最終加工か。
- ④ 食品の用途：加工後直ちに消費者の使用に供されるか、微生物の増殖等の衛生的リスクが増大する可能性。
- ⑤ 定期的な洗浄・清掃及び点検の頻度。
- ⑥ 使用法：十分に保守されるのか、不定期的に使用するのか、使用頻度は高いのか、連続して使用するのか、酷使されやすいのか。

洗浄、低温殺菌等の殺菌、微生物の侵入防護などの観点から、機械・装置は、適切に設計され、組み立てられ、据え付けられ、運転され、洗浄・清掃され、確実に保全されることによって、危険を取り除き、非衛生要因を減少させなければならないとしている。

機械・装置の衛生関連の要求事項として、食品接触部、食品飛散部、非食品接触部、加工される食品ごとに衛生的危険を検討することを挙げている。

構成材料について以下の基準を掲げている。

- ① 一般要求事項：材料は、意図した用途に適し、材料及びコーティングの表面は、意図した用途条件下で耐久性があり、洗浄・清掃しやすく、必要ならば消毒が必要で、破壊がなく、ひび割れ、傷入り、はく離、腐食、磨耗に対して抵抗力があり、好ましくない物質の浸透を防げるもの。
- ② 食品接触部、及び食品飛散部の構成材料：以下の材料で構成されるもの。
 - ・ 無害。
 - ・ 食品を汚染せず、又は食品に対して、悪影響を及ぼさない。
 - ・ 非吸収性。
 - ・ 食品、洗剤及び消毒剤に対して防食防せい(錆)。
 - ・ 必要に応じて、冷凍、低温殺菌、殺菌などの冷熱処理温度に耐える。
- ③ 金属
 - 食品接触部は、その用途に適したステンレス鋼、又は意図した用途条件に適したろう付け材を含むその他の金属とし、表面処理又はコーティングで改善可。
 - ・ ステンレス鋼：300 シリーズの鋼を使用することが望ましい。他のシリーズを使用する場合、さびや変色のため、衛生的安全性を検証する必要あり。

- ・ アルミニウム：へこんだり、薬品による腐食。陽極酸化処理を行っても、肉や脂身との摩擦によって、黒い酸化物が生じ、肉を変色。したがって、食品に触れないところ、又は食品が水中にあるところの使用に限ることが望ましい。
 - ・ カドミウム、アンチモン、鉛：鉛とすずの合金及びハンダは、有毒な物質であるので、使用してはならない。ただし、鉛に関しては、5%未満の合金であれば採用してもよい。
 - ・ 銅、青銅、真ちゅう（鍮）、モネル・メタル、その他すべての銅合金類：食用油、液状ショートニング、チョコレート液、その他の油脂製食品が、接触する部分には使用しないことが望ましい。食品接触部以外の空気や、水ライン又はギヤ、プッシングには、使用可。
- ④ 非金属
- ・ エラストマ及びポリマ
ゴム、ゴム状材料などのエラストマや、プラスチック材料などのポリマは、食品に接触する用途に使用可。
食品に接触する表面は、意図した用途及び洗浄・清掃、対微生物処理、殺菌などを施されても、表面特性と形態特性を維持できる組成とする。
接着剤やボンド類の表面は、食品、洗剤、消毒剤と接触した場合にも構成材料の一般的基準に適合するものとする。すべてのボンド類は、連続接着とし、はがれない状態が必要。
 - ・ ほうろう、磁器
食品の処理・加工には用いない。
 - ・ 堅木
食品接触部には使用する場合は、一枚の板でできていて、ひび割れない堅木製のカッティングボード（まな板）や、乾燥巻き肉用として使用される場合。
- ⑤ 非食品接触部の表面
- ・ 一般
意図した使用条件下で、食品以外のものと接触する表面に使用できる材料は以下による。
- 1) 耐食材料であるか、食品、洗剤、殺菌剤に対して、コーティングや塗装などで耐食処理された材料。コーティングを施した場合、そのコーティングは、密着しはく離してはならない。
 - 2) 技術的又は機能的に不可避である場合を除き、非吸収性。
 - 3) 食品を汚染せず、食品に対して悪影響を及ぼさない。
 - 4) 洗浄・清掃のために取り外す部品が食品、及び食品接触部と触れる場合は、食品接触部として設計。
- ・ 機械・装置用液体
機械・装置は、潤滑剤、油圧液体、信号伝達用液体が、食品に侵入しないように設計し、製作し、

据え付ける。故障の場合に、これら液体が食品に接触する可能性がある場合は、毒性がなく食品に適合する液体を用いる必要あり。

食品接触部の設計及び製造

- ① 表面
 - ・ 表面の設計と仕上げは、食品が食品接触部から偶発的に飛散することが防止されるか、又は飛散した食品が食品接触部に戻らないように設計する。
 - ・ 表面の仕上げ状態は、食材が凹所、ひだ、ひび、小さな割目、継目などに補足され、それによって除去を困難にし、汚染の危険を持込むことのないようにする。必要に応じて、表面はシールによって、満たさなければならない。これらの事項は、容易に分解し、清掃・洗浄のために取外しできる部品にも適用される。
 - ・ 表面仕上げの必要条件には、表面粗さのパラメータ Rzjis 値、Ra 値を用いることが望ましい。
- ② 食品接触部の表面の洗浄及び検査
食品接触部は、洗浄・清掃可能とする。分解するように意図された装置については、関連する場所が、洗浄・清掃、点検のため容易に接近できる設計とする。取り外しできる部品は、容易に取り外せるものとする。定置洗浄する場合は、洗浄後、点検のため、機械・装置に容易に接近できる設計とする。
- ③ 微生物の侵入
機械・装置は、食品接触部に外部環境から微生物が直接、又は汚物を介して混入してくるのを防止する設計とする。
- ④ 排液
排液できるように意図された機械・装置の表面は、排液が自然流出する構造か、又は排液できる構造とする。
- ⑤ デッドスペース
デッドスペースは、機械・装置の設計、組立て、及び据付けにおいて、技術的に不可能な場合を除き、避ける。デッドスペースが避けられない場合は、排出可能で、かつ洗浄・清掃可能な構造とする。必要に応じて、消毒処理が可能でなければならない。
- ⑥ 接合部
 - ・ 永久接合部 金属間の接合部は、シールされ衛生的でなければならない。くぼみ、ギャップ、小さな割目、突出部分、インサイドショルダ及びデッドスペースは避ける。金属と非金属間、又は非金属間永久接合部は、連続的にボンド結合する。溶接部は、滑らかで、平らで、隣接表面と連続した平面とする。
溶接又はボンドが実質的にできない場合、基本的な機能上の理由によって、必要に応じて、ろう付け、圧着又は締まりは（嵌）めが使用可。