

200837029A

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 20 年度総括研究報告書

主任研究者 品川邦汎

平成 21 年 9 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  
分担研究者 品川邦汎（岩手大学農学部）

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  
(と畜場に搬入された豚のサルモネラ保菌等調査)

II-1-2. と畜場（豚処理施設）の衛生管理に関する研究

II-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  
分担研究者 牧野壯一（帯広畜産大学）

II-2-1. 漬物工場の衛生微生物学的実態について

II-2-2. 身欠きニシン製造工程における衛生調査

II-2-3. ニシン漬物の製造工程における衛生調査

II-2-4. 市販食品から分離したリストリア菌の遺伝型の研究

II-2-5. キュウリ浅漬冷蔵保存中のリストリア菌の菌数変化と各種抗菌物質  
添加の影響（論文）

II-3. 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

分担研究者 五十君靜信（国立医薬品食品衛生研究所）

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

II-3-2. カンピロバクター試験法に関する検討

## I . 総括研究報告書

食品製造における食中毒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）

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

総括研究報告書

代表研究者 品川邦汎（岩手大学農学部）

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に、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。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とを目的として取り組んでいる。本年度は、以下に示す成果が得られた。

- 1) 豚の解体処理工程における生物学的危険として、サルモネラを対象に汚染実態と処理工程での汚染動態の解明を行った。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のサルモネラ保有状況および枝肉のサルモネラ、一般細菌、大腸菌群の汚染状況を調査した。その結果、高度にサルモネラにより汚染されている農場が存在すること、枝肉へのサルモネラ汚染も一定頻度発生していること、さらにブタ由来株はヒト食中毒から分離される血清型と同様のものが多いことを明らかにした。さらに、食肉処理場における豚肉処理工程を 3 タイプに分類し、枝肉へのサルモネラ汚染が生じる工程について、肉眼的および細菌学的調査を行い、重要な管理工程を明らかにした。
- 2) 前年度に行った浅漬け工場 2箇所の製造工程調査に基づき、HACCP プランを作成した。ゾーニング及び作業導線により製造工程における汚染指標菌とリストeria 属菌の交叉汚染を排除した後、洗浄・除菌、塩蔵、金属探知の各工程を CCP として管理基準を設定した。さらに、魚肉タンパク質を含む漬物としてニシン漬けに着目し、その製造における危害分析を行い、原材料の一つである身欠きニシンにおいてリストeria 属菌による汚染が著しいことを明らかにした。
- 3) ready-to-eat 食品のリストeria 属菌制御に関しては、製造ラインに形成されるバイオフィルムが本菌の食品への汚染に重要であることから、バイオフィルムに関し情報収集を行うと共に、塩タラコの製造工程における細菌汚染とバイオフィルム形成について現地調査を行い、バイオフィルムが形成されやすい施設・設備の同定を行った。またカンピロバクター試験法の検討について研究を進めた。カンピロバクター試験法について、微好気培養を可能とする特殊ストマッカーバッグによる増菌方法を開発し、コラボレイティブスタディによりその有効性を明らかにした。従来法と比較し、本方法は特殊なインキュベータを必要とせず、試験終了後の検体の処理も容易であり、これまで不可能であったカンピロバクターのモニタリングを可能とするものである。

分担研究者

牧野壯一 帯広畜産大学

五十君靜信 国立医薬品食品衛生研究所

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とを目的として、1) と畜場における食肉（豚肉）製造のための高度衛生管理に関する研究、2) 野菜・漬け物製造における高度衛生管理に関する研究、3) 卫生管理における食中毒菌のモニタリング法の開発に関する研究、をすすめている。本年度に得

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に、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。本研究では、食肉（豚肉）、果実・野菜・漬け物類、および ready

られた成果について、以下に示す。

## 1. と畜場における食肉（豚肉）製造のための高度衛生管理に関する研究

と畜場における高度衛生管理（HACCP）確立のための基礎資料とするため、豚が保有する重要な危害微生物であるサルモネラを対象にと畜場搬入豚の保菌状況調査および分離菌株の血清型別、薬剤感受性試験を実施した。

豚盲腸便からの分離陽性率は、検査頭数では 3,484 頭中 413 頭 (11.9%) であり、農場別では 1130 農場中 238 農場 (21.1%) であった（表 1）。特定の農場がサルモネラ属菌によって汚染されており、また、このようなサルモネラ属菌保有農場は全国に存在することが明らかとなった。外皮ふき取りは肛門周囲 13.8%、腹部 17.7% が分離陽性であり、枝肉ふき取りは骨盤腔 2.7%、胸骨割面 4.5% が陽性であった。季節によるサルモネラ分離陽性率の変化は顕著ではなかったが、検査機関により分離陽性率、主要血清型は異なり、地域差が認められた。盲腸便からは 34 種類、ふき取りからは 14 種類の血清型が分離された。主要菌型は *S. Typhimurium*、*S. Derby*、*S. Infantis* などであり、7 種の血清型は、ヒト由来株の血清型として多く認められるものであった。分離株の薬剤感受性は血清型により耐性株の占める割合が異なっていた。*S. Typhimurium* の 84.3% は試験薬剤のいずれかに耐性を示し、*S. Infantis* では耐性株は 27.3% であったが全株が複数の薬剤に耐性を示した。近年増加が問題となっている *S. Typhimurium* DT104 については、*S. Typhimurium* 分離株の 45.6% が DT104 であることが確認された。

さらに、安全な豚肉を生産するためには、豚と畜場への搬入からと殺・解体、冷蔵まで衛生管理

が必要であることから、処理工程での枝肉への汚染状況、および汚染の除去・低減状況を明らかにし、それらの工程を重点的に管理することを試みた。食肉処理場における豚肉処理工程に関する情報を収集し、処理工程の違いにより大きく 3 つのタイプ、①放血後、後肢を懸垂した状態で解体を行う「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、内臓摘出まで頭側と尾側で対面して作業を行う「対面方式」、および③放血後、飽和水蒸気噴霧あるいは湯漬けを行う「湯はぎ方式」に分類した。何れの工程でも一定頻度 (1.6~7.4%) で腸切れの発生が見られ、またその発生頻度は工程型で差が見られなかった。腸切れの原因を解析したところ、農場側の要因と処理場側の要因が存在することが明らかになった。

## 2. 野菜・漬け物製造における高度衛生管理に関する研究

安全で衛生的な食品製造を行うための科学的根拠となるデータ取得を目的とし、北海道胆振管内の漬け物工場を対象として微生物汚染実態調査を行った。生鮮野菜を原材料とし、非加熱で採取する「浅漬け」製造において、工場内外の環境、製造工程および半製品、製品での汚染状況調査を進めた。さらに、平成 19 年度の検査結果を踏まえ、リステリア属菌の重点的な制御を試みた。その結果、本年度の拭き取り検査の結果を、平成 19 年に比べ大きな改善がみられた。半製品および製品検査の結果も平成 20 年度は検出されなかった。さらに、工場周囲のリステリア属菌汚染調査の結果は、平成 19 年度は工場周囲 10 箇所中、7 箇所からリステリア属菌が検出されたのに対し、平成 20 年度は 1 箇所のみであった。

さらに、北海道の代表的な漬け物製品であるニシン漬け製品において、原料となる身欠きニシン

製造工程における食中毒菌に対する危害分析を行った。その結果、冷凍ニシン原料、最終製品および各工程での拭き取り検査から大腸菌、腸管出血性大腸菌O157、サルモネラ属菌、*Listeria monocytogenes*は検出されなかった。しかし、中間工程で仕上がる八分乾製品の一部に*L. monocytogenes*が検出された。原料にはアラスカ産冷凍抱卵ニシンを使用し、一般生菌数が300以下/gと低く問題はなかったが、八分乾製品では一般生菌数、大腸菌群ともに $10^6$ cfu/gまで急増した。乾燥温度は18°Cで、ニシンの水分活性が0.95と高く菌数が増加したと考えられた。一方、最終製品となる本乾では、水分が11%、水分活性が0.742と低く、大腸菌群も $10^4$ cfu/gと急激に減少し、*L. monocytogenes*を含む食中毒菌も検出されなかった。

しかしながら、「ニシン漬け」の製造工程で食中毒菌に対する危害分析を行ったところ、各工程での拭き取り検査から大腸菌、腸管出血性大腸菌O157、サルモネラ属菌、*Listeria monocytogenes*は検出されなかったが、原料として使用した身欠きニシンから*L. monocytogenes*が検出され、さらに漬け物製品10検体すべてが*L. monocytogenes*陽性と判定された。本ニシン漬け製造工場で用いられている身欠きニシンは製造工程を調査した業者とは異なる業者によって製造されたものである。冷凍原料の身欠きニシンは、一般生菌数が $3.4\sim6.1\times10^7$ cfu/g、大腸菌群が $1.8\sim2.9\times10^7$ cfu/gと非常に高く、水戻し後に殺菌剤で処理しても菌数は減少せず、製品中の身欠きニシンもほぼ同様の菌数であった。このように冷凍原料段階での菌数が高く、さらに検査した全ての身欠きニシンに*L. monocytogenes*が検出されており、身欠きニシン製造時の衛生環境に問題があったと推察され

た（表2）。また、漬け物製品中の身欠きニシンは、水分活性0.963、pH6.7と*L. monocytogenes*が増殖可能な値であり、保管温度には十分注意が必要と考えられた。なお、使用した身欠きニシンの製造業者は特定されなかったことから、購入原料の履歴を明らかにすることも重要である。副原料の野菜類については、カット前のダイコンとキャベツで、一般生菌数 $10^6\sim10^7$ cfu/g、大腸菌群 $1.0\sim1.8\times10^4$ cfu/gと非常に高かったが、カット後の野菜類は一般生菌数 $1.2\sim5.3\times10^3$ cfu/g、大腸菌群300cfu/g以下と低くなった。これは、カット時に野菜類の皮や泥の付いた部分を除去したことやオゾン水による洗浄効果であることが明らかとなった。また、カットしたニンジンから*L. monocytogenes*が検出されたが、これは身欠きニシンとの接触が原因と考えられた（表3）。以上のように、カット後の野菜へ泥や食中毒菌が汚染しないためには、作業手順の遵守が重要と思われた。

### 3. 衛生管理における食中毒菌のモニタリング法の開発に関する研究

非加熱喫食食品に汚染が認められる*Listeria monocytogenes*は、その製造工程におけるバイオフィルム形成が本菌の食品への汚染の原因となっていることが指摘されている。リステリア属菌では、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属菌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。前年度の食品製造工場の現地調査では、製造工程における一般生菌数、大腸菌群の汚染実態について確認し、バイオフィルムの形成されやすい箇所を特定することが出来た。本年度も食品製造工場の協力もとに、形成されたバイオフィルムからリステリアをどのように検知し、どのように制御す

るかについて研究を進めた。本年度は塩タラコの製造工場をフィールドとし、各作業工程についてバイオフィルムの形成危険箇所の特定と形成されたバイオフィルムの解析を行った（図1）。リストリア属菌が分離されたバイオフィルムについては、構成細菌を分離し、細菌学的に解析した。バイオフィルム構成菌を遺伝子レベルで解析し、どのような菌叢でバイオフィルムが形成されているかを明らかにした。さらに、バイオフィルムに関する文献を調べ、バイオフィルムモデル系の検討と形成されたバイオフィルムの除去方法を整理した。

また、食中毒起因菌である*Campylobacter jejuni/coli*の試験では微好気培養を必要とし、食品等を検体とする試験においても、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。このことが食品における本菌の試験を一般の試験室で行う場合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昨年度の研究班の検討で示されている。そこで、地方衛生研究所9機関との共同研究を行い、実効性の高いと思われるこの培養方法の妥当性を評価した。本年度は、開発した試験法の妥当性を評価するのに必要な標準試験法の検討を進めた。国際的な試験法であるISO法に準じた標準となるカンピロバクター試験法案を作成し、研究室間共同試験により試験法案のバリデーションを試みた（図2）。鶏肉に人工的に菌株を接種した検体を共同研究者に送付し、各機関で試験を行いその結果を集計、評価した。増菌培地については、ISO法で用いられているボルトン培地と、これまで国内で一般的に用いられてきたプレストン培地の性能比較を行った。選択寒天平板培地は、mCCDA 培地とバツ

ラー培地について評価した。今回の研究室間共同試験により、プレストン培地での増菌の方がボルトン培地での増菌に比べ検出率が高いこと、ボルトン培地で増菌した場合は、選択平板培地は選択力の強いバツラー培地を用いないと分離率が低下することが明らかとなった。

以上の調査・研究成果は、安全で衛生的な食品製造を行うための科学的根拠となるデータを提供するものであり、食品製造における高度衛生管理を行う上で活用されるべきものである。

表1 盲腸便からのサルモネラ検出状況

検査機関	農場			頭数		
	検査数	陽性数	%	検査数	陽性数	%
北海道	160	12	7.5	499	18	3.6
岩手県	36	9	25.0	108	16	14.8
宮城県	51	4	7.8	157	4	2.5
秋田県	20	9	45.0	163	43	26.4
群馬県	126	8	6.3	382	8	2.1
新潟県	68	5	7.4	284	9	3.2
静岡県	75	6	8.0	259	8	3.1
三重県	70	9	12.9	218	14	6.4
兵庫県	86	34	39.5	337	77	22.8
鳥取県	60	34	56.7	192	70	36.5
愛媛県	34	22	64.7	105	40	38.1
鹿児島県	265	71	26.8	530	89	16.8
沖縄県	79	15	19.0	250	17	6.8
合計	1130	238	21.1	3484	413	11.9

月別検査数・陽性数からの集計(同一農場の複数回検査について、検査日が同じ月内の場合は1農場として、異なる月に実施した場合はそれぞれの月で1農場として計上)

表2 加工工程中における身欠きニシンの細菌検査結果

n=1~3	一般生菌数 CFU/g	大腸菌群 CFU/g	大腸菌 O157	サルモネラ属菌 <i>L.monocytogenes</i>	
冷凍原料1	$6.1 \times 10^7$	$2.9 \times 10^7$	—	—	+
冷凍原料2	$5.6 \times 10^7$	$2.9 \times 10^7$	—	—	+
冷凍原料3	$3.4 \times 10^7$	$1.8 \times 10^7$	—	—	+
水戻し後	$5.6 \times 10^7$	$3.2 \times 10^7$	—	—	+
殺菌剤処理後1	$6.4 \times 10^7$	$3.2 \times 10^7$	—	—	+
殺菌剤処理後2	$8.2 \times 10^7$	$3.7 \times 10^7$	—	—	+
殺菌剤処理後3	$7.0 \times 10^7$	$4.0 \times 10^7$	—	—	+

表3 加工工程中における副原料の細菌検査結果

カット前	一般生菌数 CFU/g	大腸菌群 CFU/g	大腸菌 O157	サルモネラ属菌 <i>L.monocytogenes</i>		
キャベツ	$2.0 \times 10^7$	$1.0 \times 10^4$	—	—	—	—
ダイコン	$4.6 \times 10^6$	$1.8 \times 10^4$	—	—	—	—
カット後	一般生菌数 CFU/g	大腸菌群 CFU/g	大腸菌 O157	サルモネラ属菌 <i>L.monocytogenes</i>		
キャベツ	$5.3 \times 10^3$	300以下	—	—	—	—
ダイコン	$4.1 \times 10^3$	300以下	—	—	—	—
ニンジン	$1.2 \times 10^3$	300以下	—	—	—	+

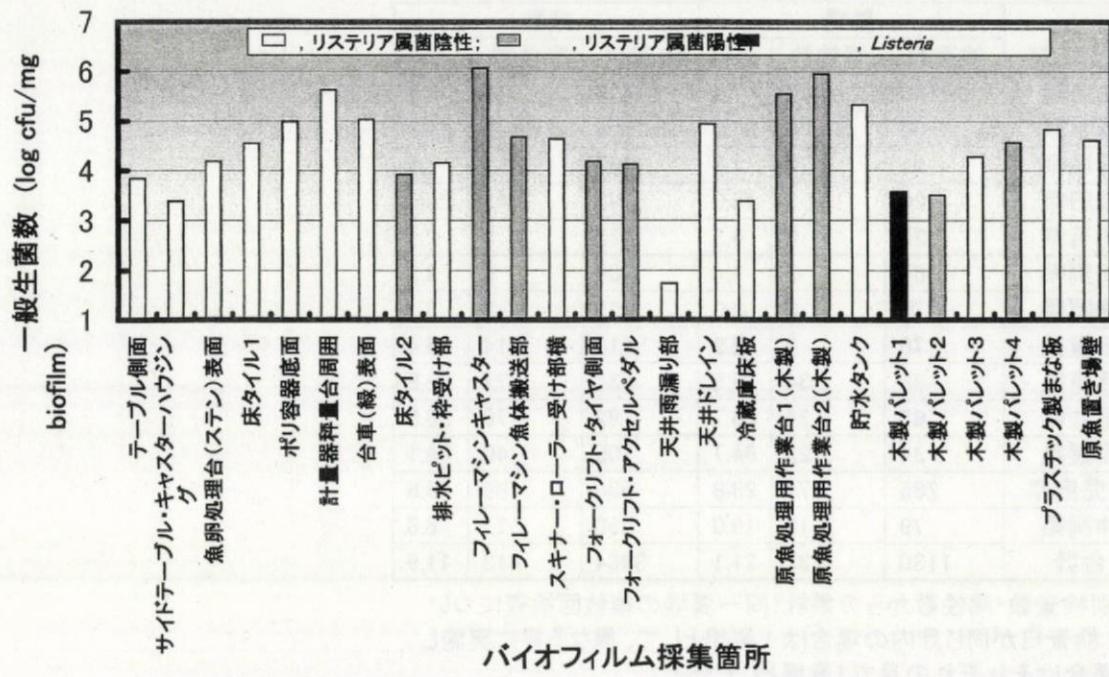
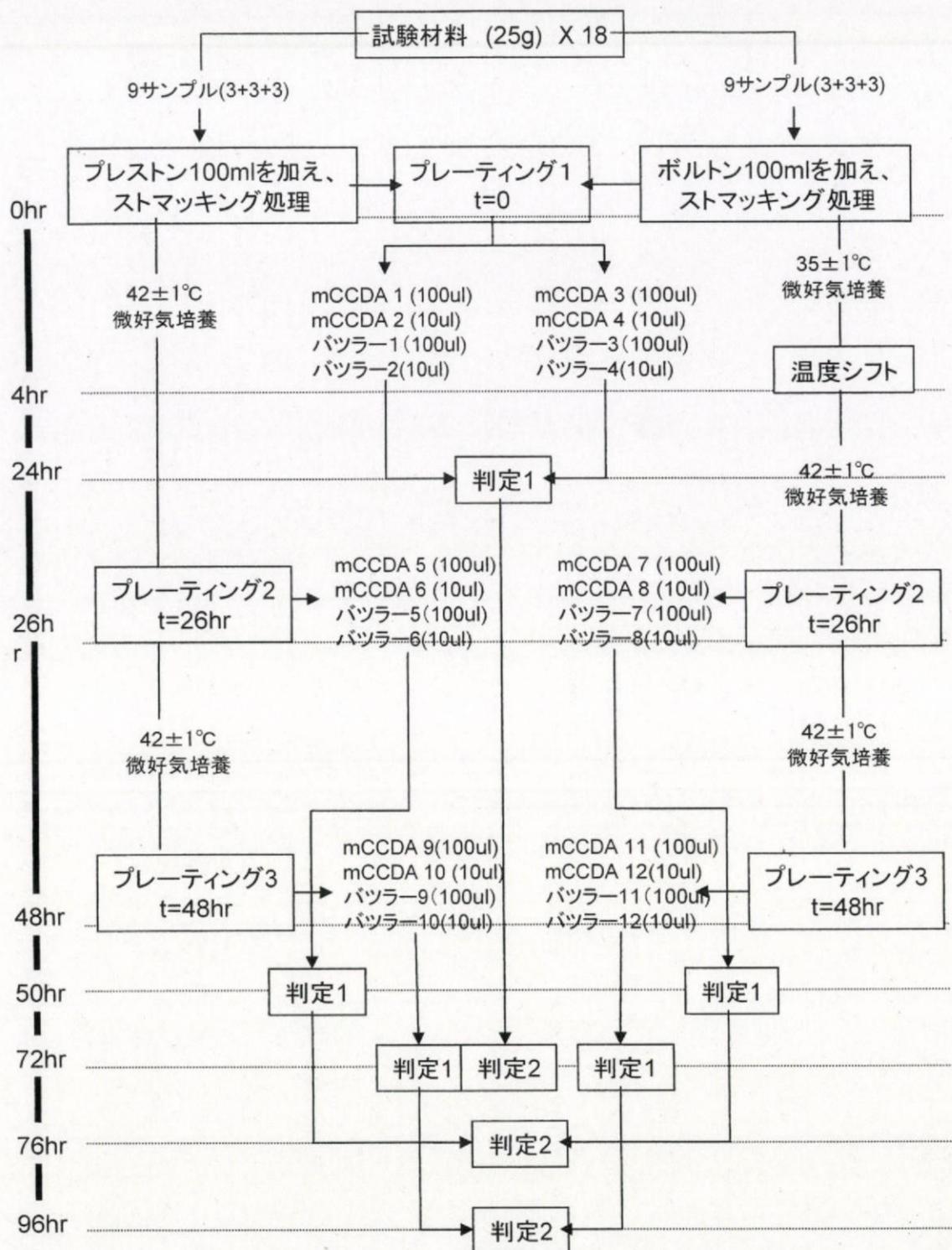


図1 水産加工施設で採取したバイオフィルムの一般生菌数とリステリア属菌

図2 カンピロバクタープレコラボ実験の実施フロー図



## 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

分担研究者 品川邦汎（岩手大学農学部）

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（と畜場に搬入された豚のサルモネラ保菌等  
調査）

II-1-2. と畜場（豚処理施設）の衛生管理に関する研究

平成20年度厚生労働科学研究費補助金事業 分担研究報告書  
(食品の安心・安全確保推進研究事業)

分担研究者 品川邦汎 岩手大学農学部

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(と畜場に搬入された豚のサルモネラ保菌等実態調査)

と畜場における高度衛生管理(HACCP)確立のための基礎資料とするため、豚が保有する重要な危害微生物であるサルモネラを対象にと畜場搬入豚の保菌状況調査および分離菌株の血清型別、薬剤感受性試験を実施した。

豚盲腸便からの分離陽性率は、検査頭数では11.9%、農場別では21.1%であった。外皮ふき取りは肛門周囲13.8%、腹部17.7%が分離陽性であり、枝肉ふき取りは骨盤腔2.7%、胸骨割面4.5%が陽性であった。季節によるサルモネラ分離陽性率の変化は顕著ではなかったが、検査機関により分離陽性率、主要血清型は異なり、地域差が認められた。盲腸便からは34種類、ふき取りからは14種類の血清型が分離された。主要菌型はS.Typhimurium、S.Derby、S.Infantisなどであり、7種の血清型は、ヒト由来株の血清型として多く認められるものであった。分離株の薬剤感受性は血清型により耐性株の占める割合が異なっていた。S.Typhimuriumの84.3%は試験薬剤のいずれかに耐性を示し、S.Infantisでは耐性株は27.3%であったが全株が複数の薬剤に耐性を示した。近年増加が問題となっているS.Typhimurium DT104については、S.Typhimurium分離株の45.6%がDT104であることが確認された。

#### 研究協力機関

北海道早来食肉衛生検査所、岩手県食肉衛生検査所、宮城県食肉衛生検査所、秋田県食肉衛生検査所、群馬県食肉衛生検査所、新潟県長岡食肉衛生検査センター、静岡県西部食肉衛生検査所、三重県松坂食肉衛生検査所、兵庫県西播磨食肉衛生検査所、鳥取県食肉衛生検査所、愛媛県食肉検査センター、鹿児島県末吉食肉衛生検査所、沖縄県中央食肉衛生検査所、秋田県健康環境センター

#### A. 研究目的

と畜場における高度衛生管理(HACCP)確立のための基礎資料とするため、豚が保有する重要な危害であるサルモネラを対象にと畜場搬入豚の盲腸便の保菌状況調査およびと畜場搬入豚の盲腸便の保菌状況調査およびと体汚染実態調査を実施した。秋田県健康環境セン

ターは食肉衛生検査所13機関で分離されたサルモネラ菌株について血清型別、薬剤感受性試験を実施した。

#### B. 検査方法

1. 調査期間：平成19年10月～平成20年11月

#### 2. 検査材料

供試株：食肉衛生検査所で豚盲腸便（1130農場、3484頭）および外皮ふき取り（67農場、305頭）、枝肉ふき取り（272農場、738頭）検体から分離し、TSI培地、LIM培地で性状確認し、さらにサルモネラ型別用免疫血清0多価、01多価の凝集が確認された株を検査に供した。供試株数は表1に示すとおり、血清型別検査に2254株、そのうち629株を薬剤感受性試験に供した。

### 3. 方法

#### 3. 1 血清型別

型別にはデンカ生研のサルモネラ免疫血清「生研」を用いた。まず供試株すべてについてO群とH抗原1相の型別を実施し、同じ個体由来の複数の分離株でO群とH抗原1相のいずれも一致した場合はその代表株について相誘導し、H抗原の2相を確認し、血清型を決定した。

#### 3. 2 薬剤感受性試験

アンピシリン(ABPC)、セフタジジム(CAZ)、セファロチノン(CET)、セフェビム(CFPM)、セフォキシチン(CFX)、セフォタキシム(CTX)、ホスホマイシン(FOM)、イムペネム(IPM)、カナマイシン(KM)、ノルフルオキサシン(NFLX)、テトラサイクリン(TC)、ゲンタマイシン(GM)の12種類のセンシティスク用いてKB法で実施した。

*S. Typhimurium*については多剤耐性で問題となっている*S. Typhimurium* DT104

(definitive type 104)であるかどうかを確認するため5種類の薬剤、アンピシリン(ABPC)、テトラサイクリン(TC)、クロラムフェニコール(CP)、ストレプトマイシン(SM)、スルフィソキサゾール(G)に対する感受性についてセンシティスク用いてKB法で検査した。また、Loriらの方法(Lori C. et al. Identification of DT104 and U302 Phage Types among *Salmonella enterica* Serotype Typhimurium Isolates by PCR. J. clin. Microbiol., 2000)によるDT104の特異遺伝子をターゲットとしたPCRを行いDT104か否かを判定した。

### C. 結果および考察

#### 1. 盲腸便

##### 1. 1 豚盲腸便からのサルモネラ分離状況

豚盲腸便からのサルモネラ分離状況は表2(月別)、表3(機関別)に示した。検査頭数3484頭中413頭(11.9%)からサルモネラが検出され、陽性の豚が認められた農場は1130農場中238農場(21.1%)であった。月別の分離状況は検査数が少なかった平成19年10月と平

成20年11月を除くと平成20年8月が最も陽性率が高かったが、顕著な季節的変動は認められなかった。機関別の分離状況は農場陽性率で6.3~64.7%、頭数陽性率で2.1~38.1%と食肉衛生検査所により異なり、地域差が認められた。

#### 1. 2 豚盲腸便由来株の血清型

同じ農場の検体から分離された同じ血清型の複数の株について1農場当たり1株として集計した結果を表4に示した。盲腸便由来株は34種類の血清型に型別された。分離血清型は*S. Typhimurium*が最も多く、次いで*S. Derby*、*S. Infantis*、*S. Agona*が多かった。これらの主要菌型は分離した食肉衛生検査所の機関数も多かったが、1機関のみで検出された血清型も18種類認められた。

同一農場における複数の血清型の分離状況は表5に示した。同じ検査日に同一農場で2種類の血清型が分離された例は24、3種類の血清型が分離された例は1であった。また、陽性農場のうち複数回の検査を実施した95農場中47農場が複数回で陽性が認められたが、48農場は1回のみの陽性であった(表6)。少数であるが、継続して同じ血清型が分離された農場も存在し、当該農場ではサルモネラが定着していると考えられた。

複数の種類の培地から釣菌された株であっても同一個体由来の株は同じ血清型である場合がほとんどであったが、同一個体から2種類の血清型が分離された例が9検体あった(表7)。

#### 2. ふき取り

##### 2. 1 外皮(体表)のふき取り

外皮のふき取りは67農場、305頭の肛門周囲、腹部について実施したところ、肛門周囲の検査頭数陽性率が13.8%、腹部が17.7%と盲腸便の陽性率(11.9%)よりやや高かった(表8)。また、外皮ふき取り由来株と盲腸便由来株の血清型の一一致性を表9に示した。同じ個体の検査で外皮および盲腸便の両者が分離陽性であった検体において、肛門周囲ふき取りで15/17、腹部ふき取りで17/20と分離株の血清型が一

致したもののが多かった。同じ個体は検査していないがサルモネラが陽性であった農場の検体において外皮ふき取りから分離された株も肛門周囲ふき取り14/15、腹部ふき取り13/19と当該農場の豚盲腸便由来株の血清型と一致したものが多かった。これらのことから、繫留時の接触などにより豚糞便中のサルモネラの外皮への汚染が広がっているものと考えられた。

## 2. 2 枝肉のふき取り

枝肉ふき取りは表8に示すように272農場、738頭の骨盤腔、胸骨割面について実施したところ、骨盤腔の検査頭数陽性率が2.7%、胸骨割面が4.5%であった。外皮ふき取りに比較すると陽性率は低率であった。また枝肉ふき取り由来株と他検体由来株の血清型の一致性を表10に示した。同じ個体の検査で枝肉ふき取りおよび盲腸便の両者が分離陽性であった検体で盲腸便由来株と血清型が一致したものは骨盤腔ふき取り7/12、胸骨割面ふき取り2/8と、半数以上が盲腸便由来株と不一致であった。同じ個体の検査で枝肉ふき取りおよび外皮ふき取りの両者が分離陽性であった検体では、血清型一致が9、不一致が5であった。これらのことから、枝肉について、同じ個体における盲腸便や外皮からの二次汚染に加えて、他の個体からの器具などを介した汚染の広がりの可能性が示唆され、また、外皮を介しての汚染の危害度が高い可能性が考えられた。

## 2. 3 分離サルモネラ菌株の血清型

ふき取りからは14種分離され、そのうち12種類は盲腸便から検出されている型であった。*S. Typhimurium*が最も多く、*S. Derby*、*S. Agona*と*S. Infantis*などが主要な型であった(表11)。

## 3. ヒト由来株との比較

本調査で豚から分離された血清型のうち7種類、分離数が多かった*S. Typhimurium*、*S. Infantis*、*S. Agona*および04:i:-、*S. Schwarzengrund*、*S. Saintpaul*、*S. Newport*は平成19~20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)に該当する型であった。*S. Derby*は平成19~20年の上位15には含まれていなかったが、平成17年の集計ではヒト由来株の上位であった。これらのことから、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。

## 4. 薬剤感受性試験

盲腸便およびふき取り由来株を合わせた主要菌型の12薬剤に対する薬剤感受性を表12に示した。*S. Typhimurium*の84.3%、*S. Choleraesuis*(Kunzendorf生物型も含む)の95%は供試薬剤のいずれかに耐性を示した。一方、*S. Agona*の82.9%、*S. Derby*の76.5%は感受性株であり、血清型により耐性株の割合が異なっていた。*S. Infantis*は27.3%が耐性株であり、その全てが複数の薬剤に耐性を示した。さらにCFXに耐性であった株はbla<sub>CMY-2</sub>遺伝子を保有しており、プラスミド性AmpC(セフォキシチン等のセファマイシン系を筆頭とする多くのβ-ラクタム剤を加水分解する、プラスミドにコードされたβ-ラクタマーゼの1種のセファロスポリナーゼ)産生株と考えられた。プラスミドの伝播によるCMY-2遺伝子保有株の浸淫拡大が欧米ではすでに問題となっており、国内でも今後の増加が懸念される。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た。

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はペニシリノ、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13、14に示すように、今回の調査では*S. Typhimurium*分離株の45.6%がDT104であることが確認されたが、食肉衛生検査所によりDT104の占める割合は異なっていた。また

DT104 と確認された株はSM、CP、TC、G、ABPC の5薬剤にすべて耐性を示した。

### 5. まとめ

本調査では、地域差はあるものの全国的にサルモネラ汚染農場が存在することが明らかとなった。外皮ふき取りからの分離率は盲腸便よりやや高率であり、枝肉の汚染危険因子として重要と考えられた。枝肉ふき取りも低率ではあるが汚染が認められ、同じ個体の盲

腸便や外皮から分離されている血清型以外の型の汚染も確認されたことから、処理工程における器具を介した汚染の可能性も考えられた。分離株の血清型は多岐に渡り、ヒト由来主要菌型と同じ型も認められた。また、血清型によって高度な薬剤耐性を保有していた。

これらの結果から、保菌豚からの解体処理時における汚染の防止が重要と考えられ、よりいっそう高度な衛生管理のためのHACCPの確立が望まれる。

表1 由来別供試株数

由来	株数	感受性試験数
盲腸便	1956	477
ふき取り	598	152
合計	2554	629

表2 盲腸便からのサルモネラ分離状況(月別)

年月	農場			頭数		
	検査数	陽性数	%	検査数	陽性数	%
平成19年10月	7	5	71.4	26	12	46.2
平成19年11月	156	33	21.2	490	69	14.1
平成19年12月	148	16	10.8	425	23	5.4
平成20年1月	45	11	24.4	227	19	8.4
平成20年2月	46	10	21.7	171	20	11.7
平成20年3月	99	22	22.2	243	31	12.8
平成20年4月	41	10	24.4	118	18	15.3
平成20年5月	148	29	19.6	446	43	9.6
平成20年6月	84	14	16.7	257	23	8.9
平成20年7月	101	23	22.8	319	39	12.2
平成20年8月	80	27	33.8	253	59	23.3
平成20年9月	94	19	20.2	264	30	11.4
平成20年10月	74	16	21.6	224	24	10.7
平成20年11月	7	3	42.9	21	3	14.3
計	1130	238	21.1	3484	413	11.9

\* 同一農場の複数回検査について、検査日が同じ月内の場合は1農場として、異なる月に実施した場合はそれぞれの月で1農場として計上

表3 盲腸便からのサルモネラ検出状況(施設)

検査機関	農場			頭数		
	検査数	陽性数	%	検査数	陽性数	%
北海道	160	12	7.5	499	18	3.6
岩手県	36	9	25.0	108	16	14.8
宮城県	51	4	7.8	157	4	2.5
秋田県	20	9	45.0	163	43	26.4
群馬県	126	8	6.3	382	8	2.1
新潟県	68	5	7.4	284	9	3.2
静岡県	75	6	8.0	259	8	3.1
三重県	70	9	12.9	218	14	6.4
兵庫県	86	34	39.5	337	77	22.8
鳥取県	60	34	56.7	192	70	36.5
愛媛県	34	22	64.7	105	40	38.1
鹿児島県	265	71	26.8	530	89	16.8
沖縄県	79	15	19.0	250	17	6.8
合計	1130	238	21.1	3484	413	11.9

月別検査数・陽性数からの集計(同一農場の複数回検査について、検査日が同じ月内の場合は1農場として、異なる月に実施した場合はそれぞれの月で1農場として計上)

表4 盲腸便由来株の血清型と12薬剤に対する感受性

	O群	血清型	株数	耐性薬剤(株数)	感受性株数	分離施設(株数)
1	4	Typhimurium	84	ABPC/CET/CFX/KM/TC(1)、 ABPC/CET/TC(2)、 ABPC/TC/GM(1)、ABPC/TC(9)、 ABPC/TC-DT104(30)、KM/TC(2)、 ABPC/CET(1)、CET/TC(1)、 CET(1)、ABPC(6)、TC(17)	13	岩手(2)、静岡(13)、 兵庫(21)、三重(2)、 鳥取(3)、鹿児島 (25)、沖縄(2)愛媛 (14)、宮城(2)
2		Derby	70	ABPC/KM/TC(1)、ABPC/TC(1)、 ABPC(1)、CET(2)、TC(13)	52	北海道(8)、岩手 (2)、秋田(2)、新潟 (1)、静岡(1)、三重 (3)、兵庫(5)、鳥取 (21)、鹿児島(17)、 沖縄(4)、愛媛(5)、 宮城(1)
3		Agona	22	CET/TC(1)、KM/TC(1)、 FOM誘導耐性(3)	17	岩手(3)、秋田(8)、 群馬(1)、兵庫(6)、 鹿児島(4)

4		O4:i:-	5	ABPC/TC/CET(1)、ABPC/TC(1)	3	岩手(1)、静岡(1)、鹿児島(3)
5		Schwarzengurund	4	TC(2)	2	群馬(2)、兵庫(1)、鹿児島(1)
6		Saintpaul	3		3	宮城(1)、鹿児島(2)
7		Brandenburg	1		1	北海道
8		O4:-	1	ABPC/TC(1)	0	鹿児島
9		O4:d:-	3		3	北海道(1)、鳥取(1)、静岡(1)
10		O4:i:Z4Z32	2	ABPC/TC(1)、TC(1)	0	群馬(2)
11	7	Infantis	34	ABPC/CAZ/CET/CFX/CTX/TC(1) 、ABPC/CAZ/CET/CFX/TC(7)、 ABPC/CET/TC(1)、 ABPC/FOM/TC(1)	24	岩手(1)、新潟(3)、三重(7)、兵庫、鳥取(13)、鹿児島(7)、愛媛(3)
12		Livingstone	6		6	岩手(1)、秋田(4)、鳥取(1)
13		Tennessee	2		2	静岡(1)、鹿児島(1)
14		Choleraesuis	4	ABPC/TC(1)、ABPC(1)、TC(2)	0	群馬(2)、鹿児島(1)、沖縄(1)
15		Choleraesuis Kunzendorf 生物型	8	ABPC/KM/TC(1)、ABPC/TC/FOM 誘導耐性(1)、FOM 誘導耐性(4)、 ABPC/TC(1)	1	鹿児島(8)
16		Lockleaze	5		5	鳥取(5)
17		Mbandaka	4	TC(4)	0	鹿児島(1)、沖縄(3)
18		7 : - : 1,5	2	TC(1)	1	群馬(1)、鹿児島(1)
19	8	Kottbus	4		4	鹿児島(4)
20		Albany	1		1	沖縄(1)
21		Kentucky	1		1	鹿児島(1)
22		Manhattan	1	TC(1)	0	鹿児島(1)
23	6,8	Newport	2	TC(1)	1	愛媛(1)、鹿児島(1)
24		Muenchen	1		1	兵庫(1)
25	9	Miyazaki	1	ABPC/CAZ/CET/CFX/TC/FOM 誘導耐性(1)	0	鹿児島(1)
26		Panama	1	TC(1)	0	愛媛(1)
27	3,10	Senftenberg	2		2	群馬(1)、沖縄(1)
28		Weltevreden	4	ABPC/TC(1)、TC(2)	1	沖縄(4)
29		London	2	TC(1)	1	兵庫(1)、鹿児島(1)
30		Anatum	1		1	秋田(1)
31		<i>S.enterica</i> subsp. <i>salamae</i>	1	ABPC/CET/CFX/TC(1)	0	鹿児島(1)
32		Meleagridis	1	TC(1)	0	兵庫(1)
33	13	Havana	1		1	岩手(1)
34	16	Caen	1		1	北海道(1)
		合計	285	137	148	

表5 同一農場から分離された株の血清型数

	同一農場の同一日検査で分離された 血清型数		
	1種	2種	3種
農場数	202	24	1

\* 同じ農場であっても、検査日が異なる場合はそれぞれ計上した。

表6 複数回検査を実施した分離陽性農場における分離株の血清型数

分離陽性回数	農場数	同一農場から分離された血清型数			
		1種	2種	3種	4種
1	48	48	0	0	0
2	24	13	8	3	0
3	18	8	3	6	1
4	2	0	0	1	1
≥5	3	1	0	2	0
合計	95	70	11	12	2

表7 同一個体からの複数血清型検出例

No	分離機 関	分離株1	分離株2
1	秋田	Livingstone	Derby
2	秋田	Livingstone	Anatum
3	鳥取	Infantis	Typhimurium
4	鳥取	Infantis	Derby
5	鹿児島	Infantis	Typhimurium
6	沖縄	Senftenberg	Albany
7	群馬	Agona	Schwarzengrund
8	静岡	Derby	O4:d:-
9	鹿児島	Typhimurium	<i>S.enterica</i> subsp. <i>salamae</i>

表8 農場別、個体別(頭数)別サルモネラ分離状況

		農場数			頭数		
		陽性数	検査数	%	陽性数	検査数	%
	盲腸便	238	1130	21.1	413	3484	11.9
外皮ふ き取り	肛門周囲	17	67	25.4	42	305	13.8
	腹部	21	67	31.3	54	305	17.7

枝肉ふき取り	骨盤腔	12	272	4.4	20	738	2.7
	胸骨割面	24	272	8.8	33	738	4.5

表9 外皮ふき取り由来株と盲腸便由来株の血清型の一致性

検体の種類(盲腸便検査との関係)	検体数	肛門周囲ふき取り陽性数			腹部ふき取り陽性数				
		内訳		計	内訳		計		
同じ個体について盲腸便と外皮ふき取りを検査した検体	65	盲腸便と同型	15	21	盲腸便と同型	17	27		
		盲腸便と異型	2		盲腸便と異型	3			
		盲腸便(-)	4		盲腸便(-)	7			
盲腸便検査(+)農場の豚の外皮ふき取り検体(同じ個体は未検査)	120	盲腸便と同型	14	15	盲腸便と同型	13	19		
		盲腸便と異型	1		盲腸便と異型	6			
盲腸便検査(-)農場の豚の外皮ふき取り検体(同じ個体は未検査)	1	0			0				
盲腸便未検査農場の豚の外皮ふき取り検体	35	4			8				

表 10-1 枝肉ふき取り由来株と盲腸便由来株の血清型の一致性

検体の種類(盲腸便検査との関係)	検体数	枝肉の骨盤腔ふき取り陽性数			枝肉の胸骨ふき取り陽性数		
		内訳		計	内訳		計
同じ個体について盲腸便と枝肉ふき取りを検査した検体	243	盲腸便と同型	7	12	盲腸便と同型	2	8
		盲腸便と異型	5		盲腸便と異型	6	

表 10-2 枝肉ふき取り由来株と外皮ふき取り由来株の血清型の一致性

検体の種類(外皮ふき取り検査との関係)	検体数	ふき取り(枝肉)陽性数			陽性部位(数)		
		内訳		計			計
同じ個体について外皮ふき取りと枝肉ふき取りを検査した検体	66	外皮と同型	9	17	肛門周囲(0)	腹部(3)	両方(6)
		外皮と異型	5		肛門周囲(1)	腹部(3)	両方(1)
		外皮(-)	3				

表 11 ふきとり由来株の血清型と12薬剤に対する感受性

No	O群	血清型	株数	耐性薬剤(株数)	感受性株数	分離施設(株数)
1	4	Agona	13	TC(1)	12	秋田(9)、鳥取(3)、沖縄(1)
2		Derby	15	ABPC/TC(2)	13	北海道(2)、岩手(2)、新潟(2)、鳥取(8)、愛媛(1)
3		Typhimurium	18	ABPC/TC・DT104(7)、TC(7)、ABPC(1)	3	愛媛(5)、鹿児島(1)、兵庫(3)、宮城(5)、沖縄(3)、静岡(1)
4	7	Choleraesuis	1	ABPC/TC(1)	0	沖縄(1)
5		Choleraesuis Kunzendorf生物型	7	TC(6)、FF/TC(1)	0	鹿児島(7)
6		Infantis	10	ABPC/CAZ/CFX/CTX/TC(2)	8	愛媛(3)、鳥取(5)、兵庫(2)
7		Livingstone	1		1	静岡(1)
8		Lockleaze	1		1	鳥取(1)
9		Mbandaka	2	TC(2)	0	沖縄(2)
10		Othmarschen	1		1	沖縄(1)
11	13	Havana	1		1	北海道(1)
12	1,3,19	Liverpool	2		2	三重(2)
13	3,10	Anatum	1		1	北海道(1)
14		London	1		1	宮城(1)
合計			74	30	44	