

表23. 代表的な食品微生物学用語についての概要

名称	概要
大腸菌群	グラム陰性の無芽胞桿菌で、48時間以内に乳糖を分解して、酸とガスを産生する好気性または通性嫌気性の細菌の総称。この名称は、食品衛生細菌学領域で使用される用語であり、細菌学上の分類に基づくものではなく、 <i>Escherichia</i> , <i>Citrobacter</i> , <i>Klebsiella</i> , <i>Enterobacter</i> 等多くの腸内細菌科の菌属が含まれ、糞便と直接関係のない <i>Aeromonas</i> 属菌なども含まれる。
糞便系大腸菌 (Fecal coliformsもしくはE.coli)	大腸菌群の中で44.5°Cで発育して乳糖を分解し、ガスを産生する菌群の総称。これを食品衛生学上では、“E.coli”(イタリックではない)と総称している。
大腸菌 ( <i>E.coli</i> ) (イタリック表記)	糞便系大腸菌の中で、インドール産生能陽性、メチルレッド反応陽性、Voges-Proskauer (VP) 反応陰性、およびシモノズクエン酸塩利用能陰性の生化学性状を示すものを大腸菌 ( <i>E.coli</i> ) と呼称している。上記4種の生化学的性状はIMVICテストとして現在でも細菌学領域で広く用いられている。糞便系大腸菌群の利用意図としては、この煩雑なIMVICテストを行わずに、大腸菌 ( <i>E.coli</i> ) の存在を推定しようとする意図で考えられた経緯がある。 上記名称の用途例 ①「乳等省令」における乳・乳製品全般、或いは「食品、添加物等の規格基準」におけるミネラルウォーターや氷雪を除く主に加熱処理された食品：大腸菌群 ②生食用カキ等の非加熱食品：糞便系大腸菌
一般細菌 (Standard Plate Count)	その他：腸内細菌と類似した言葉に、「腸球菌」があるが、これはグラム陽性球菌の <i>Enterococcus</i> 属を指す。ヒトや動物の腸管内に常在する点では類似しており、上記の大腸菌群・糞便系大腸菌・大腸菌等に比べて、冷凍・加熱・乾燥等に対する抵抗性が強いことから、冷凍食品等において糞便汚染指標菌として使用される場合がある。
従属栄養細菌 (Heterotrophic Plate Count, HPC)	標準寒天培地上で中温・好気培養した際に発育を示す細菌群を示し、嫌気性菌や低温細菌は含まない。食品及びそれが生産された環境全般の細菌汚染状況を反映しており、食品の安全性・保存性、衛生的取り扱いの良否などを総合的に評価する際の指標として広く用いられる。
芽胞形成亜硫酸還元嫌気性菌 (Clostridia)	低栄養培地上で低温・長時間好気培養した際に発育を示す細菌群を示す。水中には本来、自然の水環境を生息場所とする多数の細菌があり、これらのは多くは低・中温かつ低有機栄養環境下で生息するため、低い温度帯で微量の有機物を利用できる能力を獲得している。一般細菌試験で用いられる、比較的高栄養な培地上では増殖できないか、或いは増殖できたとしても集落を形成するほどには増殖できないものが多い。栄養要求性の高い一部の細菌は、本法では検出できない(例：レジオネラ)。
	クロストリジア ( <i>Clostridium</i> 属菌) を指す。加工時の加熱により、競合菌が死滅し、製品内部が嫌気状態になる条件下で、当該菌が混在していた場合、発芽・増殖しやすい環境が形成され、食中毒が発生する危険性が高まる。ボツリヌス菌 ( <i>C. botulinum</i> )、ウェルシュ菌 ( <i>C. perfringens</i> ) 等が含まれる。

食品衛生法における食肉製品の微生物学的成分規格と衛生上の意義

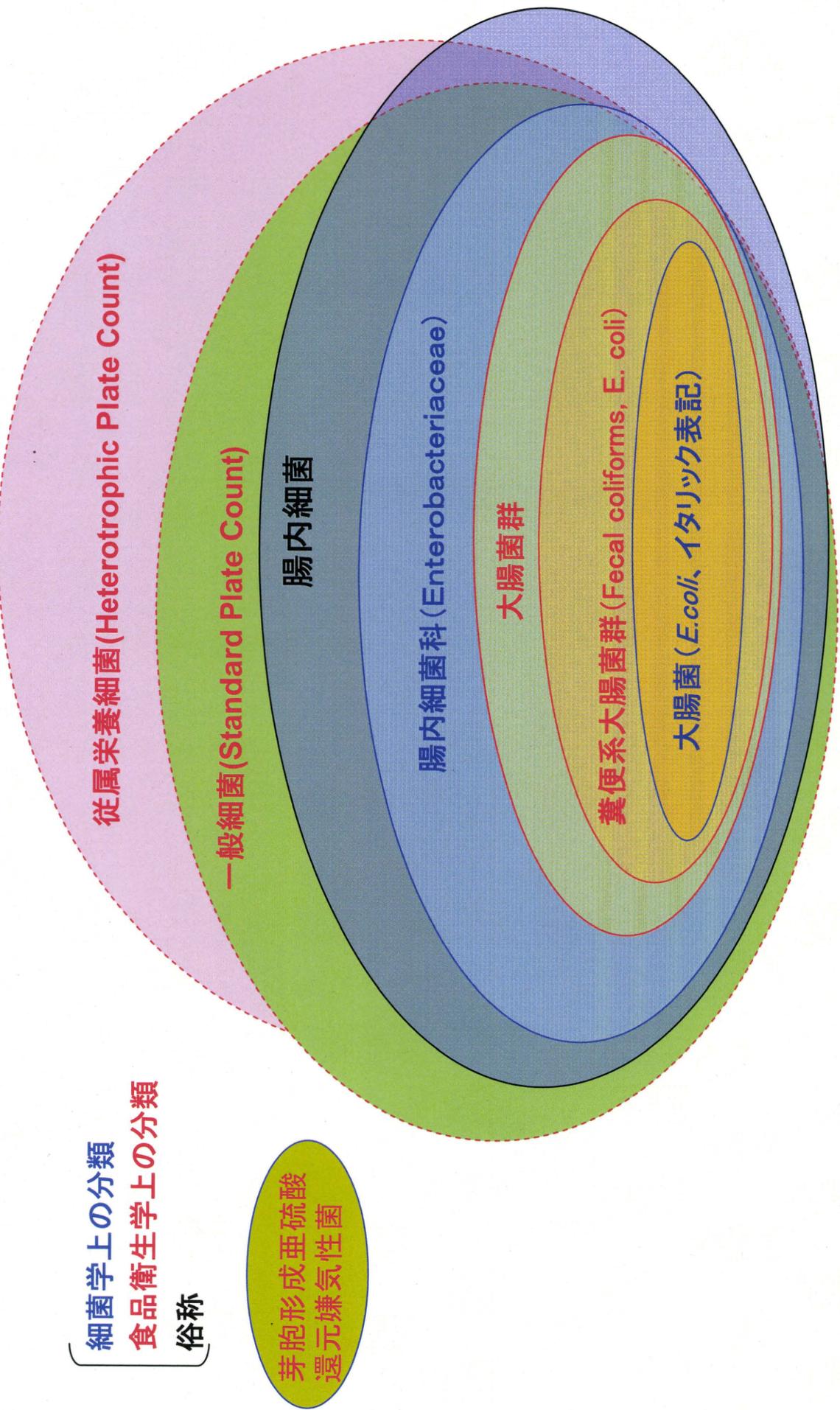
表24. 国内における食肉製品の成分規格

項目	加熱食肉製品		特定加熱食肉製品	非加熱食肉製品	乾燥食肉製品	生食用食肉 (牛馬肉、内臓含)	衛生上の意義
	包装後加熱	加熱後包装					
大腸菌群	陰性	-	-	-	-	-	加熱殺菌の指標
E.coli	-	陰性	100/g以下	100/g以下	陰性	陰性	製造時における糞便汚染の指標
Clostridium 属菌	1,000/g以下	-	1,000/g以下	-	-	-	加熱後の適正冷却の指標
黄色ブドウ球菌	-	1,000/g以下	1,000/g以下	1,000/g以下	-	-	製造時における手指及び器具からの汚染の指標
Salmonella 属菌	-	陰性	陰性	陰性	-	陰性	食肉製品に関連の高い食中毒菌の指標
代表的製品例	プレスハム ソーセージ	ロースハム ウインナーソーセージ	ローストビーフ スモークドビーフ	ラックスハム ラックスシンケン (いわゆる生ハム)	ビーフジャーキー サラミノソーセージ ドライビーフ	生レバー 生センマイ 牛サシ	

食品衛生法(食品・食品添加物規格基準)

生衛発第1358号通知

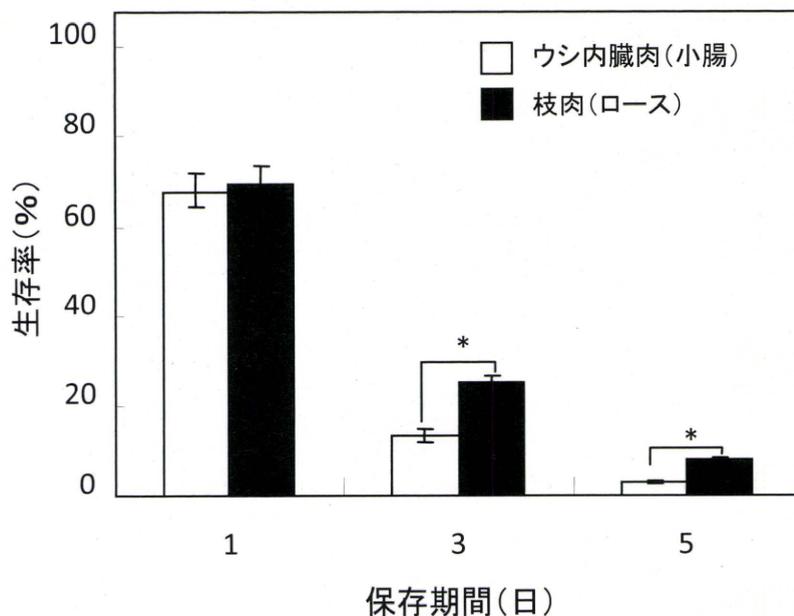
図1.食品衛生上の汚染指標菌の分類体系概要図



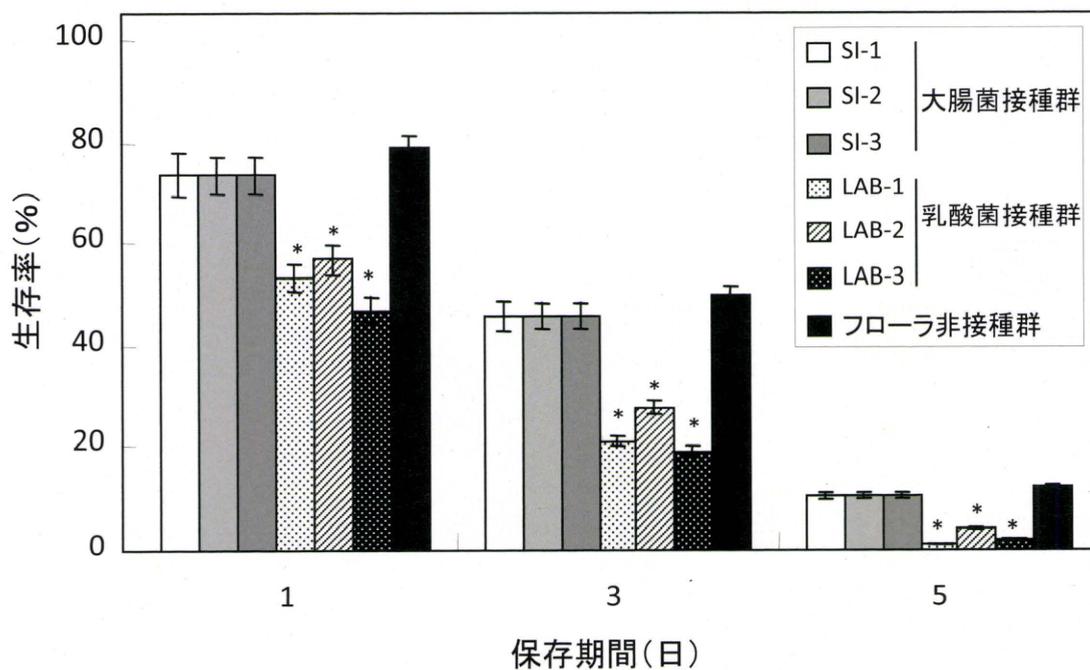
注記:対象となる汚染指標菌は試験法に依存するので、留意されたい。

図2. ウシ内臓肉中における腸管出血性大腸菌O157の消長

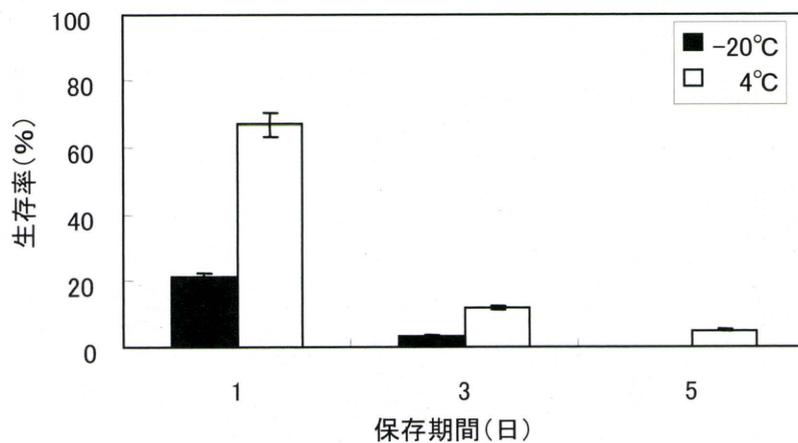
A



B



C



## 冷凍食品の安全性確保のための微生物規格基準設定に関する研究

研究分担者 椿 広計 統計数理研究所 副所長 教授

研究分担者 大西 俊郎 九州大学 経済学研究院 准教授

研究要旨 食品の微生物規格基準で用いられる 2 階級サンプリングプランおよび 3 階級サンプリングプランについて統計学的見地から考察し、同じ生産者リスクをもつ統計的仮説検定の中で消費者リスクを最小にするという意味で最適な検定方式になっていることを示した。

### A. 研究目的

ICMSF (2002) によると、食品の安全性確保のための微生物規格基準では 2 階級または 3 階級サンプリングプランが用いられている。サンプリングプランとは抜取検査の方式である。食品のロットから検体を採取し、そのロットの合否を判定する方法を規定する。2 階級サンプリングプランでは検体を汚染濃度に応じて acceptable および defective という 2 属性の階級に分け、defective なサンプルの個数が所与の値以下のときにロットを合格と判定する。3 階級サンプリングプランでは acceptable, marginally acceptable および defective の 3 属性の階級に分ける。合格と判定するのは defective なサンプルが 0 個、かつ、marginally acceptable なサンプルが所与の値以下のときだけである。詳細については ICMSF (2002) または春日 (2008) を参照されたい。

本研究課題では冷凍食品についても 2 階級または 3 階級サンプリングプランを設定することを考えている。椿・大西は統計グループとして本研究課題に参画し、統計学的な根拠に基づく微生物規格基準設定に貢献することを目指している。

### B. 研究方法

1. サンプリングプランの数理的検討の歴史について文献サーベイを行った。
2. 統計家としての観点から ICMSF (2002) を精読し、サンプリングプランにおける統計学的側面を明らかにした。
3. 研究集会などに参加し、統計的品質管理法の

国際標準化に関して議論するとともに食品の安全性科学における研究手法を調査した。

- 第 33 回 ISO TC69 パリ総会
- AOAC インターナショナル日本セクション 第 13 回総会・2010 シンポジウム「食品分析における不確かさの統計学」
- 2010 年度 第 23 回 日本リスク研究学会 年次大会
- Society for Risk Analysis 2010 Annual Meeting

4. 具体的な食品のリスクモデルに関する研究打ち合わせに参加した。

- 牛内臓肉による腸管出血性大腸菌感染のリスク評価モデル
- 鶏肉のカンピロバクターリスクモデル

### C. 研究結果

#### 1. サンプリングプランに関するレビュー

サンプリングプランの本格的な数理的検討は Dodge (1943) に始まる。平均出検品質 (AOQ, Average Outgoing Quality) という概念が消費所が被る危険を回避する上で重要である。これは検査から出力される製品の平均的な不適合率の期待値である。

サンプリングプランのパフォーマンスは OC 曲線 (Operating Characteristic Curve) で議論される。これはロットの不良率によって抜取検査におけるロットの合格率がどのように変化するかをグラフにしたもの

である。抜取検査については ISO TC69 SC5 が現在も国際規格の制定に責任を負っている。

抜取検査では不良率が平均出検品質の製品を誤って不合格にする確率をある値以下に保証する方式が多い。これは合格品質基準(AQL, Acceptable Quality Level)が規定されている方式である。保証の程度を「きつい」、「なみ」、「ゆるい」と調整する方法を調整型抜取検査という。1950年に米軍規格 MIL-STD 105 (ISO 2859, JIS Z9015)として制定されて以来、広い活用実績がある。

一方、日本では標準型抜取検査という生産者と消費者の両者を保護するように組立てられた検査方式が主流であった。国際整合化の中で廃止されたが、見直されてもよい考え方の一つと思われる。

## 2. サンプルングプランの統計数理

2階級および3階級サンプルングプランが統計的仮説検定における尤度比検定として導出されることを示した(付属資料1参照)。統計的仮説検定とは、2つの仮説を立て、データを用いてどちらの仮説を採択するかを決定することである。2つの仮説は帰無仮説と対立仮説と呼ばれる。ロットの不良率について統計的仮説検定をするとき、例えば、帰無仮説「不良率0.1%」に対し、対立仮説「不良率0.5%」を設定する。

尤度比検定は統計的仮説検定の代表的なものであり、ある種の最適性を有することが知られている。許容できるロットを誤って不合格としてしまう確率を生産者リスクといい、許容できないロットを誤って合格としてしまう確率を消費者リスクという。2階級および3階級サンプルングプランは同一の生産者リスクをもつものの中で消費者リスクを最小にする検査方式になっている。これが最適性の意味である。統計学において有名な *Neyman-Pearson* の補題を用いて証明することができる。

## 3. 微生物濃度の統計数理

サンプル群における微生物濃度について対数正規分布が仮定される、すなわち、微生物濃度の対数が正規分布に従うと仮定されることが多い(ICMSF, 2002)。付属資料2では微生物濃度の対数をとる意味を、微生物数の時間発展を記述する微分方程式を用いて説明した。中心極限定理を適用すると、微生物濃度のサンプル群における幾何平均が近似的に対数正規分布に従うことが示される。

また、付属資料2では微生物濃度の確率分布に基づく2階級および3階級サンプルングプランの表現を求めた。ICMSF (2002)によれば、食品中の微生物濃

度について情報を十分な情報を持ち、適当な統計モデル(=未知パラメータを含む確率分布)を仮定できるならば、その統計モデルを用いたサンプルングプランを用いるべきである。このような方式はバリアブル・サンプルングプランと呼ばれる。統計家の役割は過去のデータから適切な統計モデルを選定することである。

## 4. 確率分布の仮定

食品の安全性科学の分野ではこれまでのデータの蓄積が多いとはいえない。微生物濃度の確率分布もその例である。他の例として「牛肉臓肉による腸管出血性大腸菌感染のリスク評価モデル」における牛肉の喫食量のモデル化を挙げることができる。このようなときの処方箋が椿(1988)に与えられている。指数型分布族と呼ばれる分布のクラス(正規分布、ガンマ分布、逆ガウス分布などが含まれる)から適当な分布を選出し、仮定すれば、最大危険を最小化するという意味で頑健な選択となる。指数型分布族はある条件の下で情報量を最小化しており、したがって、最もランダムネス(=でらため度)が大きくなっていることが背景にある。

## D. 考察

将来的には *Bayes* 統計学の枠組みで捉えるのがよいと考えている。*Bayes* 統計学と従来の統計学(頻度主義の統計学と言われる)の違いは、推定すべきパラメータも確率変数と考え、これに対して確率分布を仮定する点である。これは事前分布と呼ばれ、パラメータに関して我々が持っている事前情報を組み込むことができる。モデルが複雑になると *Bayes* 統計学が頻度主義の統計学を優越することが知られている。

2階級および3階級サンプルングプランは2項分布および3項分布に基づく統計的推測である。これらの場合では適当な事前分布を仮定すると比較的簡単な演算で推定を行うことができる。普通、*Bayes* 統計学では推定において数値シミュレーション的な技法が必要になってくるが、2項分布または3項分布の場合には適当な事前分布を仮定すると代数的な演算で推定可能である。したがって実装も比較的容易である。

## E. 結論

本研究課題は冷凍食品に対して初めて微生物基準を設定しようとするものである。事前の情報も必ずしも多いとはいえない。今回は頻度主義の統計学の枠組みで行うのが妥当であろうと考える。

## F. 健康危険情報

特になし。

## G. 研究発表

AOAC インターナショナル日本セクション 2010 シンポジウム「食品分析における不確かさの統計学」において椿が招待講演を行った。

1. 椿広計, 「試験結果を評価する統計学の今日的課題」

また, 2010 年度統計関連学会連合大会において椿・大西が企画セッション「食品安全性と統計科学との接点」をオーガナイズした。

1. 荒木恵美子 (東海大), 「HACCP システムの悩み: 妥当性確認と検証」
2. 春日文子 (国立医薬品食品衛生研究所), 「食品の微生物学的リスク管理とリスク評価のためのデータに関する定量的考察」
3. 鈴木知道 (東京理科大), 「質的データの測定精度の評価」
4. 柳本武美 (中央大)・柳本正勝 (食品総合研究所), 「計量と実証の視点から見た食品の安全性評価」

## H. 知的財産権の出願・登録状況

特になし。

## 参考文献

1. Dodge, H. F. (1943). A sampling inspection plan for continuous production. *Annals of Mathematical Statistics*, **14**, 264–279.
2. ICMSF (International Commission for the Microbiological Specifications of Foods) (2002). *Microorganisms in Foods 7: Microbiological Testing in Food Safety Management*, Springer.
3. 春日 文子 (2008). 「国際的な微生物規格基準設定の考え方」 日本食品微生物学会雑誌, **25**, 13–17.
4. 椿 広計 (1988). 「擬似尤度の一般化とその線形推測論への応用」 博士論文, 東京大学.

## 尤度比検定としてのサンプリングプラン

2階級および3階級サンプリングプランが統計的仮説検定における尤度比検定として導かれることを示す。Neyman-Pearsonの補題により、生産者リスクが同一のサンプリングプランの中で消費者リスクを最小化するという意味で最適な検定方式になっている。

### 1. 統計的仮説検定

統計的仮説検定とは、データ  $\mathbf{x} = (x_1, \dots, x_n)$  に基づき確率密度  $f(\mathbf{x}; \theta)$  に含まれる未知パラメータ  $\theta$  に関して次のような推測を行うことである。

- (1) 帰無仮説  $H_0: \theta = \theta_0$  および対立仮説  $H_1: \theta = \theta_1$  を立て、
- (2) 2つの仮説に応じて棄却域  $R$  を設定し、
- (3) データ  $\mathbf{x}$  が棄却域  $R$  に入れば  $H_0$  を棄却 ( $H_1$  を採択) し、棄却域  $R$  に入らなければ  $H_0$  を採択する。

詳細については薩摩 (1989) または竹村 (1991) を参照されたい。

帰無仮説と対立仮説の例を挙げておく。2階級サンプリングプランでは、例えば

$$H_0: p = 0.1\% \text{ vs } H_1: p = 0.5\%$$

と設定する。ここで、 $p$  は食品ロットにおける汚染割合 proportion defective in lot である。3階級サンプリングプランでは、例えば

$$H_0: (p, q) = (0\%, 0.1\%) \text{ vs } H_1: (p, q) = (0.2\%, 0.5\%)$$

と設定する。ここで、 $p$  および  $q$  はそれぞれ食品ロットにおける汚染割合 proportion defective in lot および proportion marginally acceptable in lot である。

#### 1.1. 有意水準と検出力

仮説  $H_i$  の下でデータが棄却域  $R$  に入る確率を  $\Pr(R|H_i)$  と書くことにする ( $i = 0, 1$ )。帰無仮説  $H_0$  が正しいにもかかわらず棄却してしまう誤りを第1種の過誤という。第1種の過誤を犯す確率は  $\Pr(R|H_0)$  であり、統計的仮説検定の有意水準と呼ばれる。対立仮説  $H_1$  が正しいのに帰無仮説  $H_0$  を棄却できない誤りを第2種の過誤という。第2種の過誤を犯す確率は  $1 - \Pr(R|H_1)$  である。 $\Pr(R|H_1)$  は検出力と呼ばれる。

統計的仮説検定では、同一の有意水準をもつ棄却域のうち、検出力を最大化するような棄却域を設定することを考える。第1種の過誤の確率が同じ棄却域のうち、第2種の過誤の確率を最小化させる棄却域を設定すると言い換えられる。

上の2階級サンプリングプランの例では、汚染割合が帰無仮説どおりに  $p = 0.1\%$  にもかかわらず帰無仮説を棄却してしまうのが第1種の過誤である。本来なら合格させるべきロットを不合格にしてしまうことになるから、第1種の過誤の確率は生産者リスクである。また、汚染割合が対立仮説どおりに  $p = 0.5\%$  にもかかわらず  $p = 0.1\%$  という帰無仮説を棄却できないのが第2種の過誤である。本来なら不合格にすべきロットに合格判定を与えてしまうので、第2種の過誤の確率は消費者リスクである。

#### 1.2. 尤度比検定

1.1のような棄却域設定の処方箋はNeyman-Pearsonの補題によって与えられることが知られている。実際、次のような棄却域を設定すればよい。

$$R = \left\{ \mathbf{x} \mid \frac{f(\mathbf{x}; \theta_1)}{f(\mathbf{x}; \theta_0)} \geq k \right\}$$

ここで右辺の記号は縦棒の右側にある不等式を満たすような  $x$  の集合という意味である。また、 $k$  は  $\Pr(R|H_0)$  が事前に定めた有意水準と等しくなるように決める。このような統計的仮説検定を尤度比検定という。確率密度  $f(x; \theta)$  において  $x$  にデータの値を代入し、 $f(x; \theta)$  を未知パラメータ  $\theta$  の関数とみたものを尤度 (関数) という。棄却域の設定が帰無仮説と対立仮説の下での尤度の比によって決められる点に注意されたい。これが尤度比検定という名前の由来である。

## 2. 2階級サンプリングプラン

食品ロットから  $n$  個のサンプルを抽出するとき defective と判定されるサンプルが  $x$  個とする。  $x \leq c$  のとき、その食品ロットを合格と判定する。ただし、 $c$  は所与の値とする。これが2階級のサンプリングプランである。食品ロットにおける汚染割合 (proportion defective in lot) を  $p$  とし、確率分布として2項分布を仮定する。2項分布の確率密度 (確率関数ともいう) は

$$f(x; p) = \frac{n!}{x!(n-x)!} p^x (1-p)^{n-x}$$

で与えられる。

### 2.1. 帰無仮説と対立仮説

未知パラメータである汚染割合  $p$  に関する統計的仮説検定を考える。帰無仮説および対立仮説は

$$H_0 : p = p_0 \quad \text{vs} \quad H_1 : p = p_1$$

である。ただし、 $p_0 < p_1$  とする。第1種の過誤は真の値が  $p_0$  であるにもかかわらず汚染割合が  $p_1 (> p_0)$  であると判断しロットを不合格とすることなので、このとき生産者が損害を被る。一方、第2種の過誤は真の値が  $p_1 (> p_0)$  であるにもかかわらず汚染割合が  $p_0$  であると判断しロットを合格にすることなので、このとき消費者が被害を被る。

### 2.2. 尤度比検定

Neyman-Pearson の補題を使って尤度比検定を構成する。尤度比が

$$\frac{f(x; p_1)}{f(x; p_0)} = \frac{\frac{n!}{x!(n-x)!} p_1^x (1-p_1)^{n-x}}{\frac{n!}{x!(n-x)!} p_0^x (1-p_0)^{n-x}} = \left( \frac{1-p_1}{1-p_0} \right)^n \exp(ax)$$

と書けることに注意する。ここで、

$$a = \log \left( \frac{p_1 (1-p_0)}{p_0 (1-p_1)} \right)$$

とおいた。また、 $p_0 < p_1$  であるから  $1-p_0 > 1-p_1$  であり、したがって  $a > 0$  である。以上から、

$$\frac{f(x; p_1)}{f(x; p_0)} \geq k$$

は

$$x \geq \frac{1}{a} \log \left\{ k \left( \frac{1-p_0}{1-p_1} \right)^n \right\}$$

と等価であることが分かる。 $x$  がある一定の値以上のときに  $H_0$  を棄却する、すなわち、ロットを不合格にすることになる。したがって、2階級サンプリングプランが尤度比検定として導かれた。

### 3. 3階級サンプリングプラン

食品ロットから  $n$  個のサンプルを抽出するとき、defective と判定されるサンプルが  $x$  個であり、marginally acceptable と判定されるものが  $y$  個であるとする。ロットを合格とするのは  $x = 0$  かつ  $y \leq c$  のときのみで

ある。ただし、 $c$  は所与の値とする。これが3階級サンプリングプランである。食品ロットにおける汚染割合 proportion defective in lot および proportion marginally acceptable in lot をそれぞれ  $p$  および  $q$  とし、確率分布として3項分布を仮定する。3項分布の確率密度は

$$f(x, y; p, q) = \frac{n!}{x!y!(n-x-y)!} p^x q^y (1-p-q)^{n-x-y}$$

で与えられる。

### 3.1. 帰無仮説と対立仮説

汚染割合  $(p, q)$  に関する統計的仮説検定を考える。帰無仮説および対立仮説は

$$H_0 : (p, q) = (p_0, q_0) \text{ vs } H_1 : (p, q) = (p_1, q_1)$$

である。ただし、 $p_0 < p_1$  かつ  $q_0 < q_1$  とする。第1種の過誤は真の値が  $p_0$  および  $q_0$  であるにもかかわらず汚染割合が  $p_1 (> p_0)$  および  $q_1 (> q_0)$  であるという結論を導きロットを不合格にすることであり、このとき生産者は被害を被る。一方、第2種の過誤は真の値が  $p_1 (> p_0)$  および  $q_1 (> q_0)$  であるにもかかわらず汚染割合が  $p_0$  および  $q_0$  であるという結論を導きロットを合格にすることであり、このとき消費者が被害を被る。

### 3.2. 尤度比検定

2階級サンプリングプランのときと同様に Neyman-Pearson の補題を使って尤度比検定を構成する。定数  $a$  および  $b$  を

$$a = \log \left( \frac{p_1 (1-p_0-q_0)}{p_0 (1-p_1-q_1)} \right), \quad b = \log \left( \frac{q_1 (1-p_0-q_0)}{q_0 (1-p_1-q_1)} \right)$$

のように定義すると、尤度比は

$$\frac{f(x, y; p_1, q_1)}{f(x, y; p_0, q_0)} = \frac{\frac{n!}{x!y!(n-x-y)!} p_1^x q_1^y (1-p_1-q_1)^{n-x-y}}{\frac{n!}{x!y!(n-x-y)!} p_0^x q_0^y (1-p_0-q_0)^{n-x-y}} = \left( \frac{1-p_1-q_1}{1-p_0-q_0} \right)^n \exp(ax + by)$$

となる。したがって、

$$\frac{f(x, y; p_1, q_1)}{f(x, y; p_0, q_0)} \geq k$$

は

$$ax + by \geq \log \left\{ k \left( \frac{1-p_0-q_0}{1-p_1-q_1} \right)^n \right\}$$

と等価となる。 $p_0 < p_1$  かつ  $q_0 < q_1$  であるから  $1-p_0-q_0 > 1-p_1-q_1$  であり、したがって  $a > 0$  かつ  $b > 0$  である。

ここで、特に  $p_0 \rightarrow +0$  の極限を考える。これは、データが棄却域に入らないとき proportion defective in lot がゼロという結論を導くことを意味する。このとき  $a \rightarrow \infty$  となるので、 $x=0$  でない限り帰無仮説は棄却される。帰無仮説が棄却されないのは、

$$x=0 \text{ かつ } y \leq \frac{1}{b} \log \left\{ k \left( \frac{1-p_0-q_0}{1-p_1-q_1} \right)^n \right\}$$

のときである。したがって、3階級サンプリングプランは帰無仮説が  $H_0 : (p, q) = (0, q_0)$  の場合に尤度比検定として導かれる。

### 4. 帰無仮説と対立仮説の入れ替え

帰無仮説と対立仮説の役割を換えても結論は同じになることを示す。ただし、第1種の過誤の確率が消費者リスクとなり、第2種の過誤の確率が生産者リスクとなることに注意されたい。したがって、2階級および3階級サンプリングプランは同一の消費者リスクをもつ方式の中で生産者リスクを最小化する統計的仮説検定でもある。

#### 4.1. 2階級サンプリングプラン

帰無仮説および対立仮説  $H_0: p = p_0$  vs  $H_1: p = p_1$  において不等号の向きを変えて,

$$p_0 > p_1$$

とする. 第1種の過誤は真の値が  $p_0 (> p_1)$  であるにもかかわらず  $p_1$  であると判断しロットを合格とすることなので, このとき消費者が損害を被る. 一方, 第2種の過誤は真の値が  $p_1$  であるにもかかわらず汚染割合が  $p_0 (> p_1)$  であると判断しロットを不合格にすることなので, このとき生産者が被害を被る.

尤度比は第2.2節と同じ式になる. しかし,  $p_0 > p_1$  であるから  $a$  の符号が逆になり,  $a < 0$  である. 尤度比検定の棄却域は

$$\frac{f(x; p_1)}{f(x; p_0)} \geq k \Leftrightarrow x \leq \frac{1}{a} \log \left\{ k \left( \frac{1-p_0}{1-p_1} \right)^n \right\}$$

となる. ここで記号  $\Leftrightarrow$  はこの記号の両側にある2つの不等式が等価であることを意味する.  $H_0$  を棄却することはロットを合格させることであるから, 2階級サンプリングプランが尤度比検定として導かれた.

#### 4.2. 3階級サンプリングプラン

帰無仮説および対立仮説  $H_0: (p, q) = (p_0, q_0)$  vs  $H_1: (p, q) = (p_1, q_1)$  において

$$p_0 > p_1 \text{ かつ } q_0 > q_1$$

とする. 第1種の過誤は真の値が  $p_0 (> p_1)$  および  $q_0 (> q_1)$  であるにもかかわらず汚染割合を  $p_1$  および  $q_1$  であるという結論を導きロットを合格させることであり, このとき消費者が被害を被る. 一方, 第2種の過誤は真の値が  $p_1$  および  $q_1$  であるにもかかわらず汚染割合が  $p_0 (> p_1)$  および  $q_0 (> q_1)$  であるという結論を導きロットを不合格にすることであり, このとき生産者が被害を被る.

尤度比は第3.2節と同じ式になる. したがって,

$$\frac{f(x, y; p_1, q_1)}{f(x, y; p_0, q_0)} \geq k \Leftrightarrow ax + by \geq \log \left\{ k \left( \frac{1-p_0-q_0}{1-p_1-q_1} \right)^n \right\}$$

が得られる. 第3.2節と異なる点は,  $p_0 > p_1$  かつ  $q_0 > q_1$  であるから  $a$  および  $b$  の符号が逆になり,  $a < 0$  かつ  $b < 0$  となることである.

ここで,  $p_1 \rightarrow +0$  の極限を考える. これは, データが棄却域に入るとき proportion defective in lot がゼロという結論を導くことを意味する. このとき  $a \rightarrow -\infty$  となるので,  $x = 0$  でない限り帰無仮説は棄却されない. 帰無仮説が棄却されるのは,

$$x = 0 \text{ かつ } y \leq \frac{1}{b} \log \left\{ k \left( \frac{1-p_0-q_0}{1-p_1-q_1} \right)^n \right\}$$

のときであり, このときロットは合格となる. したがって, 対立仮説が  $H_1: (p, q) = (0, q_1)$  の場合に3階級サンプリングプランが尤度比検定として導かれた.

#### 参考文献

1. 薩摩 順吉 (1989). 「確率・統計」 岩波書店.
2. 竹村 彰通 (1991). 「現代数理統計学」 創文社.

食品ロット中の微生物濃度に関する数理

食品ロットから抽出されたサンプルにおける微生物濃度の対数が、そのサンプルにおいて最初の 1 単位の微生物に汚染されてから検査が行われるまでの時間に比例することを示す。また、微生物濃度が従う確率分布を用いて 2 階級および 3 階級サンプリングプランを表現する。

1. 微生物濃度の確率分布

1.1. 微分方程式

時刻  $t = 0$  に 1 単位であった微生物が時刻  $t$  において  $N(t)$  単位に増殖したとする。この時間発展が微分方程式

$$\frac{d}{dt}N(t) = \lambda(t)\{N(t)\}^\alpha$$

によって記述されると仮定する。ただし、 $\alpha$  は定数である。このようなモデル化の意味は、時刻  $t$  における増殖がその時点における微生物濃度  $N(t)$  の  $\alpha$  乗に比例し、その比例係数  $\lambda(t)$  も時刻  $t$  に依存するというものである。

この微分方程式は変数分離形と呼ばれるものであり、簡単に解くことができる。 $\alpha = 1$  のとき、

$$N(t) = \exp\left\{\int_0^t \lambda(s) ds\right\}$$

であり、 $\alpha \neq 1$  のとき、

$$N(t) = \left\{1 + (1 - \alpha) \int_0^t \lambda(s) ds\right\}^{\frac{1}{1-\alpha}}$$

である。

$$\lim_{n \rightarrow \infty} \left(1 + \frac{x}{n}\right)^n = \exp(x)$$

であることに注意すると、 $\alpha \neq 1$  のときの式は  $\alpha \rightarrow 1$  の極限でも正しいことが分かる。

特に、 $\alpha = 1$  であり、増殖率が時刻に依らず一定値  $\lambda$  であると仮定すると

$$N(t) = \exp(\lambda t)$$

となる。ちなみに  $\alpha = 1$  であり、 $\lambda(t)$  が負であれば、時刻に依存した死滅率と解釈できる。ヒトの死亡率のモデルであるゴムパーツ・メーカムの法則は上記のモデルに含まれる。

1.2. 微生物濃度の対数

簡単のために  $\alpha = 1$  かつ  $\lambda(t) = \lambda$  のケースを考える。 $\log N(t) = \lambda t$  であることに注意する。 $n$  個のサンプルを検査した結果、微生物濃度がそれぞれ  $N_1, \dots, N_n$  だったとする。

$$\log N_i \quad (1 \leq i \leq n)$$

は最初の 1 単位の微生物に汚染されてから検査までの時間に比例することがわかる。確率変数  $\log N_1, \dots, \log N_n$  が独立に同一の確率分布に従うと仮定する。サンプルの抽出が無作為であれば、この仮定は正当化される。この確率分布の平均および分散をそれぞれ  $\mu$  および  $\sigma^2$  とする。

通常、正規分布が仮定されるようである (ICMSF, 2002)。これは最初の 1 単位の微生物に汚染されてから検査までの時間が独立に同一の正規分布に従うと仮定することを意味する。

### 1.3. 中心極限定理

中心極限定理とは大雑把に言うと、「背後になる確率分布が何であれ、標本数が大きくなると標本平均が近似的に正規分布に従う」という確率論における基本的な定理である。詳細については薩摩 (1989) または竹村 (1991) を参照されたい。この定理を適用すると、 $n$  が十分大きいとき、

$$\frac{1}{n} \sum_{i=1}^n \log N_i = \log \left\{ \left( \prod_{i=1}^n N_i \right)^{\frac{1}{n}} \right\}$$

が近似的に正規分布  $N(\mu, \sigma^2/n)$  に従うことが分かる。非常に多くのサンプルを抽出して対数スケールの微生物濃度の平均をとると近似的に正規分布に従うのである。

参考までに  $\lambda(t)$  が時刻によらず一定であるが、 $\alpha \neq 1$  の場合を考える。サンプルの抽出が無作為であれば、上記と同様に、最初の 1 単位の微生物に汚染されてから検査までの時間に比例する量

$$\frac{N_i^{1-\alpha} - 1}{1-\alpha} \quad (1 \leq i \leq n)$$

が独立に同一の確率分布に従うと仮定してよい。この確率分布の母平均および母分散をそれぞれ  $\mu$  および  $\sigma^2$  とすると、中心極限定理により  $n$  が十分大きいとき、

$$\frac{1}{n} \sum_{i=1}^n \frac{N_i^{1-\alpha} - 1}{1-\alpha} = \frac{1}{1-\alpha} \left( \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n N_i^{1-\alpha} - 1 \right)$$

はやはり近似的に正規分布  $N(\mu, \sigma^2/n)$  に従う。

## 2. サンプリングプラン

食品ロットから  $n$  個のサンプルを抽出し、微生物濃度を検査する。検査値がある閾値  $m$  を超えたら defective と判定する。不良サンプルの個数が  $c$  以下のとき、その食品ロットを合格と判定する。これが 2 階級のサンプリングプランである。

一方、3 階級のサンプリングプランでは、検査値が  $M (> m)$  を超えると defective と判定し、検査値が  $m$  から  $M$  のとき marginally acceptable と判定する。食品ロットを合格させるのは、defective なサンプルが 0 個、かつ、marginally acceptable なサンプルが  $c$  個以下であるときのみである。

### 2.1. サンプルの合格率

微生物の増殖モデルとして  $\alpha = 1$  および  $\lambda(t) = \lambda$  のケースを採用する。さらに対数スケールで測った微生物濃度  $\log N$  が従う確率分布を仮定する必要がある。ここでは平均  $\mu$  および分散  $\sigma^2$  をもつ確率分布に従うとし、確率密度および累積確率密度をそれぞれ  $f(x; \mu, \sigma^2)$  および  $F(x; \mu, \sigma^2)$  と書くことにする。

このとき、あるサンプルにおいて対数スケールで測った微生物濃度が  $m$  以下である確率は

$$F(m; \mu, \sigma^2) = \int_{-\infty}^m f(x; \mu, \sigma^2) dx$$

となる。

同様に、あるサンプルにおいて対数スケールで測った微生物濃度が限界値  $M$  以下である確率は  $F(M; \mu, \sigma^2)$  となる。 $m < M$  であるから  $F(m; \mu, \sigma^2) < F(M; \mu, \sigma^2)$  である。

### 2.2. 食品ロットの合格率

2 階級サンプリングプランにおける食品ロットの合格率は、2 項分布の確率を使って

$$P(n, c, m; \mu, \sigma^2) = \sum_{k=0}^c \frac{n!}{k!(n-k)!} \{1 - F(m; \mu, \sigma^2)\}^k \{F(m; \mu, \sigma^2)\}^{n-k}$$

と表現できる。

3 階級サンプリングプランにおける食品ロットの合格率は、3 項分布の確率を使って

$$\begin{aligned} & Q(n, c, m, M; \mu, \sigma^2) \\ &= \sum_{k=0}^c \sum_{l \leq c-k} \frac{n!}{k!l!(n-k-l)!} \{1 - F(M; \mu, \sigma^2)\}^k \{F(M; \mu, \sigma^2) - F(m; \mu, \sigma^2)\}^l \{F(m; \mu, \sigma^2)\}^{n-k-l} \\ &= \sum_{l=0}^c \frac{n!}{l!(n-l)!} \{F(M; \mu, \sigma^2) - F(m; \mu, \sigma^2)\}^l \{F(m; \mu, \sigma^2)\}^{n-l} \end{aligned}$$

と表現できる。

$$\lim_{M \rightarrow \infty} F(M; \mu, \sigma) = 1$$

であるから、

$$\lim_{M \rightarrow \infty} Q(n, c, m, M; \mu, \sigma^2) = P(n, c, m; \mu, \sigma^2)$$

である。数理的には 2 階級と 3 階級を区別する必要はなく、パラメータ  $M$  の違いとして理解できる。

#### 参考文献

1. ICMSF (International Commission for the Microbiological Specifications of Foods) (2002). *Microorganisms in Foods 7: Microbiological Testing in Food Safety Management*, Springer.
2. 薩摩 順吉 (1989). 「確率・統計」 岩波書店.
3. 竹村 彰通 (1991). 「現代数理統計学」 創文社.

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）  
冷凍食品の安全性確保のための微生物規格基準設定に関する研究  
平成 22 年度分担研究報告書

寄生虫による汚染に関する研究

研究分担者	杉山 広	国立感染症研究所寄生動物部
研究協力者	森嶋康之	国立感染症研究所寄生動物部
研究協力者	柴田勝優	国立感染症研究所寄生動物部
研究協力者	武藤麻紀	国立感染症研究所寄生動物部
研究協力者	川上 泰	麻布大学生命・環境科学部
研究協力者	梅原梓里	麻布大学生命・環境科学部
研究協力者	平 健介	麻布大学生命・獣医学部
研究協力者	鈴木 淳	東京都健康安全研究センター
研究協力者	長谷川専	株式会社 三菱総合研究所
研究協力者	柿沼美智留	株式会社 三菱総合研究所
研究協力者	木村真也	株式会社 日本医療データセンター

研究要旨：我が国では魚介類の生食が嗜好され、食文化としても定着している。更に獣肉類に関しても、これを十分な加熱なしで摂食するとの流行が、既に一部で広まりつつある。このような食習慣に起因して、特に多細胞の寄生虫である「蠕虫」に感染する症例が、我が国では相当数発生している。このような食品媒介寄生蠕虫症は、「飲食に起因する健康被害」の具体的な例であるから、その発生を防止するには、法的根拠としての「食品衛生法」が、重要な役割を果たすと期待される。しかしながら我が国の食品衛生法には、例えば寄生虫に係る規格基準は定めがない。本研究班の命題は「冷凍食品の安全性確保」であるが、例えば、微生物規格基準（保存基準）に認める「冷凍」と言う手段で、食品を介した寄生虫による健康被害が効果的に防止できるのであれば、その方策を検討・考察する事が急務となる。このような観点から、「冷凍」と言う手段を強く意識しつつ、先ず、寄生虫に係る食品の規格基準が海外で定められているのか、情報収集と解析を試みた。その結果、国際機関である Codex と EU、更に国としてはアメリカ合衆国で、寄生虫に係る食品の規格基準が定められており、しかも例えば水産品に関しては、何れも冷凍（例えば-20℃以下、24 時間以上）が寄生虫に対する処理基準とされている事を明らかにした。また、冷凍処理が寄生蠕虫の感染防止に有効である事を、在日外国人で発生が目立つ肺吸虫を材料にして実証した。更に、食品における寄生蠕虫の汚染実態を具体

的に知る為に、マサバとゴマサバを対象に検索し、いずれの魚種もアニサキスに相当汚染されている事を明らかにした。従って冷凍等を施さずに、これらの魚を摂食した場合には、感染の危険性が無視できないと考えられた。このように本年度の検討により、「冷凍」を含む手段で、食品媒介寄生蠕虫の感染が防止でき、しかもそれを行なう必要があるとの認識が得られた。従って今後も具体的な検証を重ねつつ、寄生虫に係る食品の規格基準を定める方向に向けて、一層の検討を進めて行く必要があると考えられた。

本報告書の構成を以下のとおりとする。

1. 海外における寄生虫に係る食品の規格基準に関する調査
2. 寄生蠕虫の冷凍耐性に関する研究
3. 食品における寄生蠕虫の汚染実態調査
  - 3-1. マサバおよびゴマサバに寄生するアニサキス亜科線虫の種同定
  - 3-2. ゴマサバにおけるアニサキス亜科線虫の寄生部位に関する検索

#### 1. 海外における寄生虫に係る食品の規格基準に関する調査

##### A. 研究目的

我が国では魚介類の生食が嗜好され、食文化としても定着してきた。更に獣肉類に関しても、これを十分な加熱なしで摂食するとの流行が、既に一部で広まりつつある。このような食習慣に起因して、特に多細胞の寄生虫である「蠕虫」に感染する症例が、我が国では相当数発生している。しかしながらその発生実態に関しては、十分に把握されているとは言えない。

このような状況を背景に、平成9年9月に厚生省（当時）において、食品衛生調査会食中毒部会食中毒サーベイランス分科会が開催され、食品媒介寄生虫疾患への対策等に関する検討が行なわれた。その際、イ）全国的に発生が多いもの、あるいは近年増加傾向にあるもの、ロ）海外では発生が多く日本でも増加が懸念されるもの、ハ）発生は多くなくとも重篤な被害が出る恐れのあるもの、と言う

3条件が考慮され、我が国において、特に対策が必要な寄生虫・原虫が指定された。寄生蠕虫は、この中に10種類が含まれる。その寄生蠕虫を、感染源となる食材別に列記すると、以下ようになる。

(1) 生鮮魚介類により感染するもの（6種類）  
アニサキス、旋尾線虫、裂頭条虫、大複殖門条虫、横川吸虫、顎口虫

(2) 獣生肉等、その他の食品により感染するもの（4種類）

肺吸虫、マンソン孤虫、有鉤囊虫、旋毛虫

これら寄生蠕虫の感染を予防する為に当面とるべき対策として、まず「国民及び関係者への安全な喫食方法等についての普及啓発」が挙げられた。実際には、感染研の寄生動物部なども加わり、例えば上記の旋尾線虫を取り上げ、その感染源となるホタルイカを如何に処理すれば安全に喫食できるか、検討が行なわれた。その結果、 $-30^{\circ}\text{C}$ 以下で4日間以上等と言う冷凍処理が、ホタルイカ体内の虫体を完全に死滅させ、従って感染予防に極めて有効な事が明らかにされた。この研究成果は、厚生省（生活衛生局食品保健課長および乳肉衛生課長、いずれも当時）から通知として各都道府県知事等に発出された（2000年6月）。この通知は、以後の本症発生を抑制する上で、大きく貢献した。しかしながら他の寄生蠕虫に関しては、感染予防に資する食品の冷凍等の条件について、余り積極的には検討されてこなかった。また諸外国における寄生蠕虫症の予防対策についても、十分には調査されてこなかった。

これに関連して考慮すべきは、「我が国の食品衛生法には、寄生虫に係る規格基準の定めがない」という事実である。本研究班の命題は「冷凍食品の安全性確保」であるが、例えば冷凍と言う手段を食品に施す事で、飲食を介した食品媒介寄生虫による健康被害が効果的に防止できるのであれば、そのような方策を検討・考察する事が急務となる。このような観点から本年度は、冷凍と言う手段を強く意識しつつ、先ずは海外における寄生虫に係る食品の規格基準に関して、情報収集と解析を試みた。

## B. 研究方法

### 1. 調査対象機関・国

調査対象の機関としてコーデックス（以下 Codex）および欧州連合（以下 EU）を、また調査対象の国としてアメリカ合衆国、オーストラリア、ニュージーランド（以下、NZ）、および韓国を選んだ。なおオーストラリアと NZ については、同一の規格基準が適用されるために、一体的に取り扱った。

### 2. 調査内容

上述の機関・国の公開資料を対象に、寄生虫に係る食品の規格基準の有無について調べた。規格基準がある場合には、対象食品、適用箇所、指標値、サンプリングプラン、検査法等の項目に関する情報を資料から抽出・収集し、整理・解析した。

## C. 研究結果

今回調査を行なった機関・国は総て、食品についての微生物規格基準を定めていた。しかしながら、寄生虫に係る規格基準を有する機関・国は、Codex および EU の 2 機関とアメリカ合衆国に限られた。オーストラリア・NZ は、寄生虫に係る規格基準を定めていなかったが、水産品の寄生虫に関して、リスクコントロールの基準をガイドラインで規定していた。韓国は寄生虫に係る規格基準を定めず、

しかも微生物規格基準の中で、寄生虫は異物の定義の中に含むと明記していた。

寄生虫に係る食品の規格基準を有する機関・国の中で、Codex は水産品（5 品目）、穀物・豆類（16 品目）および加工・冷凍果菜類（34 品目）について、寄生虫に係る規格基準を定めていた。中でも水産品については、対象となる寄生虫の具体的な種名は記載されていなかったが（恐らくアニサキス亜科の線虫とミクソゾア類クドア属の粘液胞子虫と思われる）、成分規格が定められていた。また不良品として処理される基準（寄生数・寄生状況）が明記されていた。穀物・豆類（16 品目）、および加工・冷凍果菜類（34 品目）については、寄生虫一般が対象とのみ記載され、対象となる寄生虫の具体的な虫種については、推定すらできなかった。なお勧告（衛生規範）の形ではあるが、水産品および飲料水について、処理基準が示されていた（水産品は冷凍、飲料水は寄生虫の除去）。

EU は水産品と肉製品について、寄生虫に係る食品の規格基準を定めていた。規格基準は何れも規則（regulation）に位置付けられ、国内法がなくとも直接施行できる拘束力の強い基準であった。なお処理基準に関して、水産品は冷凍、肉製品（寄生虫としては囊虫と旋毛虫が対象と具体的に規定）は冷凍あるいは廃棄と定めていた。

米国は連邦法で、肉製品と飲料水についての規格基準を定めていた。特に肉製品では、対象とする寄生虫を旋毛虫および囊虫に絞り、加熱あるいは冷凍を処理基準として定めていた。なお水産品に関しては、冷凍を寄生虫に係る処理基準として、ハザードコントロールに関するガイドラインと言う形で、FDA が公表していた。

（三菱総合研究所委託報告書・参照）

## D. E. 考察および結論

国際機関である Codex と EU は共に、寄生虫に係る食品の規格基準を定めていた。一方で

国別に見ると、寄生虫に係る規格基準を定めていたのは、アメリカ合衆国だけであった。オーストラリア・NZおよび韓国は、寄生虫に係る規格基準を定めていなかった。

Codex, EUおよびアメリカ合衆国の規格基準を見ると、水産品に関しては、何れも冷凍（例えば-20℃以下、24時間以上）を寄生虫に対する処理基準として定めていた。魚介類の生食が嗜好され、これを原因とした寄生蠕虫症が多発する我国では、このような処理基準を参考として、水産品の規格基準を定める事が、寄生虫による健康被害を防ぐ上で、有効ではないかと考えられた。

#### F. 健康危険情報

なし

#### G. 研究発表

論文発表および学会発表共になし。

#### H. 知的財産権の出願・登録状況

特許および実用新案登録共になし。

## 2. 寄生蠕虫の冷凍耐性に関する研究

### A. 研究目的

肺吸虫は、未だに我が国で症例発生が続く、重要な食品媒介寄生蠕虫である。先に述べた食品衛生調査会食中毒部会食中毒サーベイランス分科会でも、対策が必要な寄生蠕虫に指定されている。年間の患者数は40名以上と推定されるが、最近では、外国人（アジア系のタイ人・中国人等）の症例の発生が、目立つようになってきた。彼らは我が国での在住中に、淡水産・汽水産のカニを食材に用いて、出身地固有の料理を作り、加熱なしで賞味して肺吸虫に感染している。飲食を共にした日本人も感染しており、食習慣に起因する新たな肺吸虫症の発生として注意の必要が出てきた。

これらの事例の中には、市販の食用サワガニ *Geothelphusa dehaani* が感染源となったものを認めた。そこで食用として販売されていたサワガニを購入し、肺吸虫の寄生状況に関して検索を行った。その結果、検体の約20%が人体感染性肺吸虫（ウェステルマン肺吸虫・宮崎肺吸虫）に汚染されている事が明らかとなった（杉山ら, 2009）。

しかしながら現状では、食用サワガニの販売や出身地固有の料理の摂食を自粛させる事は、困難と思われる。このような状況下において、肺吸虫症の発生を効果的に防止するには、調理に用いるサワガニの前処理を徹底させる事が有効と思われた。この目的に資する基礎的資料を得る為に、ウェステルマン肺吸虫陽性のサワガニを出発材料に用いて、肺吸虫感染の防止に有効な冷凍条件を明らかにする為の検討を試みた。

### B. 研究方法

ウェステルマン肺吸虫陽性のサワガニは、三重県伊賀市の本虫流行地で採集した。カニを研究室に持ち帰り、活発に運動するカニ（20匹）を選んでポリエチレン製のネットに入れ、庫内の平均温度を-18℃に設定した冷凍庫（容量334L）で冷凍した。この際、サワガニを冷凍庫の内壁と直接的に接触するよう配置し、サワガニ同士が重ならないように注意した。処理後は、サワガニをネットに入れたまま流水（水道水）に1分間浸漬し、急速に解凍した。ネットから取り出したカニは、解剖用はさみで速やかに細切し、多量の水道水で洗浄した。洗浄水は静置し、実体顕微鏡下に沈渣を精査して、メタセルカリアを分離・回収した。得られたメタセルカリアは2群に分け、形態観察とマウス（ddY系, 雄, 各群5頭）への感染試験に用いた。試験マウスは感染後19-28日に剖検し、体腔・全身の骨格筋・横隔膜・肝・肺から虫体の回収を試みた。未処理サワガニからもメタセルカリアを分離して、同様の検討を行った。

## C. 研究結果

### 1. 形態所見

#### I. -18°C・150分間処理および-18°C・100分間処理のメタセルカリア

一部のメタセルカリアは既に脱囊していた。被囊したメタセルカリアでも、ほぼ総てで囊壁に欠損を認めた。この欠損部から虫体の一部分（あるいは大部分）を、囊外に脱出させたメタセルカリアも認めた。幼虫は被囊の状態にかかわらず、体肉が混濁し、腸管は特定できず、運動性も欠いていた。

#### II. -18°C・50分間処理のメタセルカリア

観察した過半数のメタセルカリアは、150分間処理・100分間処理の場合と同様に、虫体の一部分（あるいは大部分）を囊外に脱出させていた。幼虫も変性が著しく、運動性を欠いていた。一方で、幼虫が囊内に留まり、やや不明瞭ながらも腸管を特定し得たメタセルカリアも認めた。このようなメタセルカリアを顕微鏡下に長時間観察すると、囊内の幼虫がわずかに運動するのが確認された。

#### III. 未処理のメタセルカリア（陽性対照群）

メタセルカリアはほぼ球形を呈した。囊内の幼虫は体全体を回転させる、あるいは体肉の一部を常に波動させるなど、活発に運動した。幼虫は、体の中央部にI字状に伸びる排泄囊を有し、その中には排泄顆粒が充満していた。排泄囊の両側には、腸管が明瞭であった。

### 2. マウスへの感染試験

#### I. -18°C・150分間処理および-18°C・100分間処理のメタセルカリアを用いた検討

虫体は全く回収されなかった（表1）。

#### II. -18°C・50分間処理のメタセルカリアを用いた検討

試験マウス5匹のいずれから、虫体が回

収された（表1）。回収数は試験マウス1頭あたり平均4.2虫体（1頭あたり1-7虫体）であった。回収数を臓器・組織別に見ると、骨格筋が最も多く、試験マウス1頭あたり平均3.2虫体（1頭あたり1-5虫体）、次いで体腔から平均1.0虫体（マウス1頭あたり0-2虫体）が回収された。横隔膜・肝・肺は陰性であった。なお回収虫体は発育状況から、いずれも柴原（1986）の言う「幼若虫（メタセルカリア囊内の幼虫とほとんど同じ）」と判定した。

表1. 処理サワガニ由来メタセルカリアを用いたマウスへの感染試験

群	サワガニ処理		回収虫体数 (1頭平均)			回収率 (%)
	温度 (°C)	時間 (分)	体腔	筋	合計	
1	-18	150	0	0	0	0
2	-18	100	0	0	0	0
3	-18	50	1.0	3.2	4.2	42
4	NT	NT	1.0	4.8	5.8	58

NT: 未処理

#### III. 未処理メタセルカリアを用いた検討（陽性対照群）

試験マウス5匹のいずれから、虫体が回収された（表1）。回収数は試験マウス1頭あたり平均5.8虫体（1頭あたり5-8虫体）であった。回収数を臓器・組織別に見ると、骨格筋が最も多く、試験マウス1頭あたり平均4.8虫体（1頭あたり4-7虫体）、次いで体腔から平均1.0虫体（マウス1頭あたり0-2虫体）が回収された。横隔膜・肝・肺は陰性であった。なお回収虫体は発育状況から、いずれも柴原（1986）の言う「幼若虫」と判定した。

## D. 考察

肺吸虫の感染源となるサワガニを加熱すれば、その体内のメタセルカリアは感染能力を消失する事が、既に報告されている(安藤, 1915; 杉山ら, 2009)。しかしながら、サワガニを冷凍する事で、同様の効果を有するかは、報告がないと思われた。そこで今回、この点について検討した。冷凍処理の温度としては、 $-18^{\circ}\text{C}$ を選んだ。日本工業規格(JIS C 9607)では電気冷凍庫の定義として、 $-18^{\circ}\text{C}$ 以下の冷蔵庫で構成されている事と規定していた。またコーデックス規格(CAC/RCP 8-1976)では、冷蔵庫の冷蔵能力に関し、「製品の温度を $-18^{\circ}\text{C}$ 以下に維持できる」と定めていた。このような点を根拠として、本検討でも冷凍処理の温度を $-18^{\circ}\text{C}$ とした。処理時間に関しては、50分、100分、および150分として検討を加えた。

その結果、 $-18^{\circ}\text{C}$ 、100分および150分間のサワガニの冷凍処理で、メタセルカリア内の幼虫は運動性を完全に消失した。変性も著しく、既に死滅したと判定された。この条件で処理されたメタセルカリアを用いて、マウスへの感染試験を行なったところ、マウスからは虫体が全く回収されなかった。一方で、サワガニの冷凍処理時間が50分では、いずれの試験マウスでも感染が成立した。以上の結果から、サワガニに $-18^{\circ}\text{C}$ で100分間以上の冷凍処理を施せば、解凍後のサワガニを生食しても、ウエステルマン肺吸虫には感染しないと考えられた。なおマウスは、ウエステルマン肺吸虫(2倍体型)に対して待機宿主の役割を果たす。虫体は全身の筋肉に移行して、ほとんど発育せずに長期にわたって生存する。虫体が肺に達して成虫にまで発育する事は無い。

$-18^{\circ}\text{C}$ より低い温度、例えば $-40^{\circ}\text{C}$ などでは、処理時間を短縮しても、感染防止の効果が得られると予想された。この点について、今後検討したいと考えている。またウエステルマン肺吸虫以外に宮崎肺吸虫も、サワガニを中間宿主として人に感染する重要な種である。

従って、宮崎肺吸虫に関しても、サワガニ体内におけるメタセルカリアの温度感受性(抵抗性)を検討する必要があると考えられた。

## E. 結論

食用として販売されているサワガニは非常に危険で、人体感染の原因となる種類の肺吸虫に汚染されており、実際にサワガニを生食して肺吸虫に感染した患者の発生も報告されている。今回の検討により、サワガニを $-18^{\circ}\text{C}$ で100分間以上、冷凍した後に摂食すれば、ウエステルマン肺吸虫の感染は防止できる事が、形態観察とマウスへの感染試験で明らかとなった。

## F. 健康危険情報

情報発信の資料を作成中。

## G. 研究発表

### 1. 論文発表

1. 杉山 広. 食品媒介寄生虫による食中毒. 日本食品微生物学雑誌, 27: 1-7, 2010.
2. 杉山 広, 森嶋康之, 山崎 浩, 柴田勝優, 川上 泰. 肺吸虫の感染を予防するためのサワガニ加熱条件の検討. Clinical Parasitology (臨床寄生虫学会誌) 21: 43-45, 2010.

### 2. 学会発表

1. 杉山 広, 柴田勝優, 森嶋康之, 山崎 浩, 川上 泰. 肺吸虫の感染を予防するためのサワガニ加熱条件の検討. 第21回日本臨床寄生虫学会, 栃木, 2010年6月.

## H. 知的財産権の出願・登録状況

特許および実用新案登録共になし。

## 3. 食品における寄生蠕虫の汚染実態調査

### 3-1. マサバおよびゴマサバに寄生するアニサキス亜科線虫の種同定