

鳥肉の対照においては、MSRVの37/48 (77%) に比較して、MKTnとRVSの検出率はそれぞれ 31/48 (65%)、32/48 (67%)と低かった。「皮付き」七面鳥肉のドライ・プーリングにおいて、RVSの検出率は24/48 (50%)と特に低く、競合菌が多い検体には不向きな培地と考えられた。

以上のプーリングの実験は2012年春に終了し、秋までには統計解析を実施し、2013年に詳細をまとめて発表するとされている²⁰⁾。現時点ではまだ詳細な発表はなされていない。

【参考資料2】Priceら(1972)の論文²⁰⁾

食品のサルモネラ検査においては、ほとんどの検体が陰性で、陽性となる検体は稀である。検査精度を担保する観点からも検査の労力を少なくすることは重要なことである。この研究は、サルモネラの前増菌培養液をプールして検査することにより、検出感度を低下させることなく、多検体を一度に検査できる可能性を示した。実験は大きく2つから成り立っており、検査法は(当時の)BAM法を採用している。まず、前増菌培養液を陽性1検体(サルモネラ接種)に対して、陰性5検体、9検体、14検体、24検体とプールし、検出感度を調べた。結果はサルモネラの接種菌量(0.06 - 3000 個/g)にかかわらず、陽性1検体と、つまり個別に検査した結果と同等の結果であった。脱脂粉乳、ココア、乾燥卵白、

小麦、ココナッツ、綿実粉を検査対象にしたが、すべて同様の結果で、前増菌培養液をプールすることによる検出感度の低下は認められなかった。そこで、次に、検体の段階で混合して検査する方法(ドライ・プーリング)と前増菌培養液の段階で混合して検査する方法(ウェット・プーリング)を3回繰り返して実施した。ドライ・プーリングは陽性1検体(サルモネラ接種、25 g)に対して陰性9検体(225 g)、ウェット・プーリングは陽性1検体に対して陰性14検体を混合した。前増菌培養液には、競合菌として、*Pseudomonas* sp., *Citrobacter freundii*, Bethesda-Ballerupをそれぞれ500個ずつ添加して、サルモネラと同時に培養した。その結果、食品の種類や接種菌量(0.07 - 840 個/g)にかかわらず、ウェット・プーリングの方がドライ・プーリングより検出率が高かった(脱脂粉乳で17検体/18検体> 13検体/18検体, 乾燥卵白で13検体/18検体> 9検体/18検体)。特に、接種菌量が少ない(0.07 - 8 個/g)ほど検出率の差が大きくなった。ドライ・プーリングで陽性になった場合はどの検体が陽性なのか追求することが難しい。しかし、ウェット・プーリングで陽性になった場合は、前増菌培地を冷蔵保存しておくことにより、容易に戻って陽性検体を突き止めることができる利点があった。

E. 参考文献

1. http://www.maff.go.jp/j/zyukyu/zikyu_ritu/011.html
2. 温泉川肇彦. 輸入食品の安全確保と食品安全の国際的な流れ. 保健医療科学 2013. Vol. 62. No. 5. 502-513.
3. www.keiran-niku.co.jp/k25.pdf. 98年3月解説. 食品の微生物規格の設定及び適用の原則. 厚生省生活衛生局乳肉衛生課. 豊福 肇.
4. www.nyusankin.or.jp/scientific/pdf/Nyusankin_475_a.pdf. 微生物規格基準設定の国際動向. 国立保健医療科学員 豊福 肇.
5. A simplified guide to understanding and using food safety objectives and performance objectives. ICMSF. 2006.
6. Susanne Dahms et.al., Microbiological sampling plans -Statistical aspects. Mitt. Lebensm. Hyg. 95 (2004)
7. COMMISSION REGULATION (EC) No 2073/2005 of 15 November 2005 on microbiological criteria for foodstuffs.
8. SCIENTIFIC REPORT OF EFSA. Technical specifications for the monitoring and reporting of verotoxigenic *Escherichia coli* (VTEC) on animals and food (VTEC surveys on animals and food) EFSA Journal 2009; 7(11):1366.
9. SCIENTIFIC OPINION. Scientific Opinion on the risk posed by Shiga toxin-producing *Escherichia coli* (STEC) and other pathogenic bacteria in seeds and sprouted seeds. EFSA Panel on Biological Hazards (BIOHAZ). EFSA Journal 2011;9(11):2424. P52.
10. SCIENTIFIC REPORT OF EFSA. Analysis of the baseline survey on the prevalence of *Listeria monocytogenes* in certain ready-to-eat foods in the EU, 2010-2011 Part A: *Listeria monocytogenes* prevalence estimates. EFSA Journal 2013;11(6):3241.
11. Corrigendum to Commission Regulation (EC) No 2073/2005 of 15 November 2005 on microbiological criteria for foodstuffs. Official Journal of the European Union 10.10.2006.
12. COMMISSION REGULATION (EU) No 209/2013 of 11 March 2013. amending Regulation (EC) No 2073/2005 as regards microbiological criteria for sprouts and the sampling rules for poultry carcasses and fresh poultry meat. Official Journal of the European Union. 12.3.2013.
13. Bacteriological Analytical Manual Online January 2001.
14. BAM: Food Sampling/Preparation of Sample Homogenate. April 2003.

15. www.fda.gov/ICECI/Inspections/IOM/ucm127457.htm. Sample Schedule 1: *SALMONELLA* SAMPLING PLAN.
16. September 2012. FSIS *Salmonella* Compliance Guidelines for Small and Very Small Meat and Poultry Establishments that Produce Ready-to-Eat (RTE) Products.
17. FSIS Compliance Guideline: Controlling *Listeria monocytogenes* in Post-lethality Exposed Ready-to-Eat Meat and Poultry Products. January 2014.
18. Compliance Guideline for Establishments Sampling, Beef Trimmings for Shiga Toxin-Producing *Escherichia coli* (STEC) Organisms or Virulence Markers, May 2012
19. Detection and Isolation of non-0157 Shiga Toxin-Producing *Escherichia coli* (STEC) from Meat Products and Carcass and Environmental Sponges. 10/01/2013.
20. FSIS DIRECTIVE 10,010.1 Rev. 3 Verification Activities for *Escherichia coli* 0157:H7 in Raw Beef Products.
21. 微生物・ウイルス評価書 食品中のリステリア・モノサイトゲネス (案) 平成 25 年 1 月 17 日 第 38 回微生物・ウイルス専門調査会. 食品安全委員会.
22. The 17th EURL-Salmonella workshop. 14, 15, May 2102. Chalkida, Greece. Technical issues workshop 2011 110519. p.17-18. Pooling of samples.
23. Newsletter. European Union Reference Laboratory For *Salmonella* Vol. 18 No. 1 April, 2012
24. EURL-*Salmonella* work-programme 2013. 08-10-2012.
25. W. R Price, R. A. Olsen, and J. E. Hunter, *Salmonella* Testing of Pooled Pre-Enrichment Broth Cultures for Screening Multiple Food Samples, Applied Microbiology, 23, 679-682 (1972)
26. Kirsten Mooijman, ISO and CEN activities for *Salmonella*, Technical issues workshop 2011 110519

F. 研究発表

なし

表1 日本の微生物規格基準の例

標的病原菌	食品分類	サンプリングプラン		指標値		試験法
		n	c	m	M	
サルモネラ	食肉製品					
	・非加熱	1	0	0/25 g	平成5年3月17日 衛乳第54号	
	・特定加熱	1	0	0/25 g		
	・加熱殺菌後包装	1	0	0/25 g		
	食鳥卵					
・殺菌液卵	1	0	0/25 g	平成10年11月25日 日生衛発第1674号		
リステリア・モノサイトゲネス	規格基準はない→以下の食品でのみ検出されれば6条違反となる					
	(・ソフト及びセミソフトタイプのナチュラルチーズ)	1	0	0/25 g	平成5年8月2日衛乳第169号	
	(・生ハム等 RTE 食肉製品)	1	0	0/25 g		
STEC	規格基準はない→RTE 食品で検出されれば6条違反となる					
(Enterobacteriaceae)	(・生食用食肉の加工基準)	25	0	0/25 g	平成23年9月26日 食安発0926第1号	
	(・生食用食肉の成分規格)	1	0	0/25 g		

表2 EUの微生物規格基準の例

標的病原菌	食品分類	サンプリングプラン		指標値		適用段階	試験法
		n	c	m	M		
サルモネラ	RTE * 食鳥肉	5	0	0/25 g		店頭販売時(消費期限内)	EN/ISO 6579
	加熱用食鳥肉	5	0	0/25 g		店頭販売時(消費期限内)	EN/ISO 6579
	乳製品	5	0	0/25 g		店頭販売時(消費期限内)	EN/ISO 6579
	RTE 果物・野菜	5	0	0/25 g		店頭販売時(消費期限内)	EN/ISO 6579
	乳児用調整粉乳及び特別医療目的のベビーフード	30	0	0/25 g		店頭販売時(消費期限内)	EN/ISO 6579
リステリア・モノサイトゲネス	乳幼児及び特別医療目的の RTE 食品	10	0	0/25 g		店頭販売時(消費期限内)	EN/ISO 11290-1
	乳幼児及び特別医療目的以外の RTE 食品						
	・リステリアが増殖不可能な RTE 食品	5	0	100 cfu/g		店頭販売時(消費期限内)	EN/ISO 11290-2
	・リステリアが増殖可能な RTE 食品	5	0	100 cfu/g		店頭販売時(消費期限内)	EN/ISO 11290-2
		5	0	0/25 g		製造業者の管理から離れる時	EN/ISO 11290-1
STEC	スプラウト(RTE)	5	0	0/25 g		店頭販売時(消費期限内)	CEN/ISO TS 13136
	* ready-to-eat(RTE, 調理済み食品)						

表3 アメリカの微生物規格基準・ガイドラインの例

	食品分類	サンプリングプラン		指標値		試験法
		n	c	m	M	
サルモネラ(FDA 規格)	カテゴリ-I					BAM
	・サンプリングと消費の間に殺菌工程がなく、乳幼児や老人等リスクが高い人対象食品	60	0	0/25 g		
	カテゴリ-II					
	・サンプリングと消費の間に殺菌工程がない食品	30	0	0/25 g		
	カテゴリ-III					
	・サンプリングと消費の間に殺菌工程がある食品	15	0	0/25 g		
リステリア・モノサイトゲネス(FSIS*ガイドライン)	リスクがシリアスな人対象食品					Laboratory Guidebook for FSIS
	・pH や Aw により菌数が減少する食品	5	0	0/25 g		
	・pH や Aw により菌数が<1 log 以下しか増加しない食品	10	0	0/25 g		
	・冷蔵中も菌数が増加する食品	20	0	0/25 g		
	リスクがシビアな人対象食品(病院や介護施設、学校などの給食)					
	・pH や Aw により菌数が減少する食品	15	0	0/25 g		
	・pH や Aw により菌数が<1 log 以下しか増加しない食品	30	0	0/25 g		
	・冷蔵中も菌数が増加する食品	60	0	0/25 g		
STEC(FSIS ガイドライン)	ビーフ・トリム	60	0	0/6.25 g		

*United States Department of Agriculture, Food Safety and Inspection Service, Office of Public Health Science

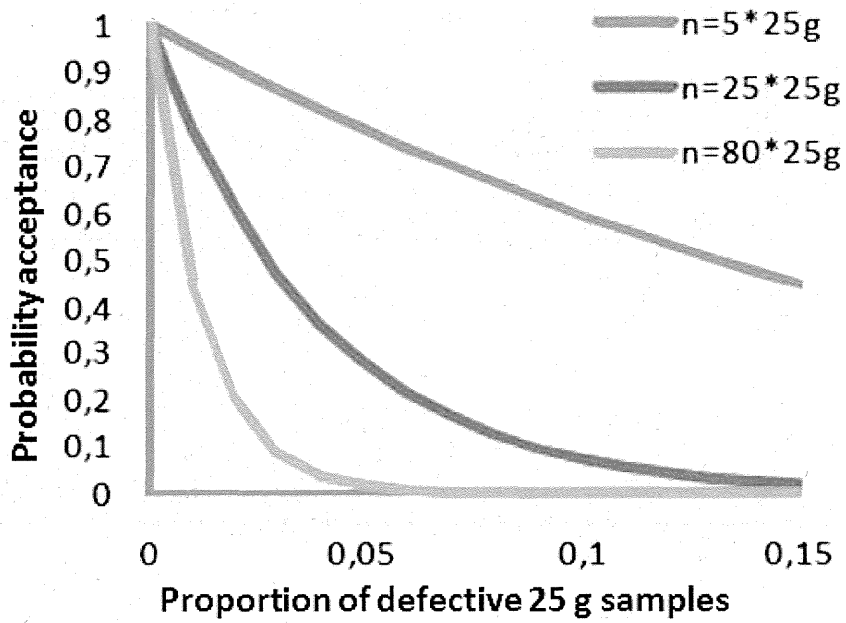


図1 病原菌汚染レベル (25g 中の比率で表示) と欠陥 (陽性) ロットの合格率の関係性 (サンプル数が 5, 25, 80 の時)

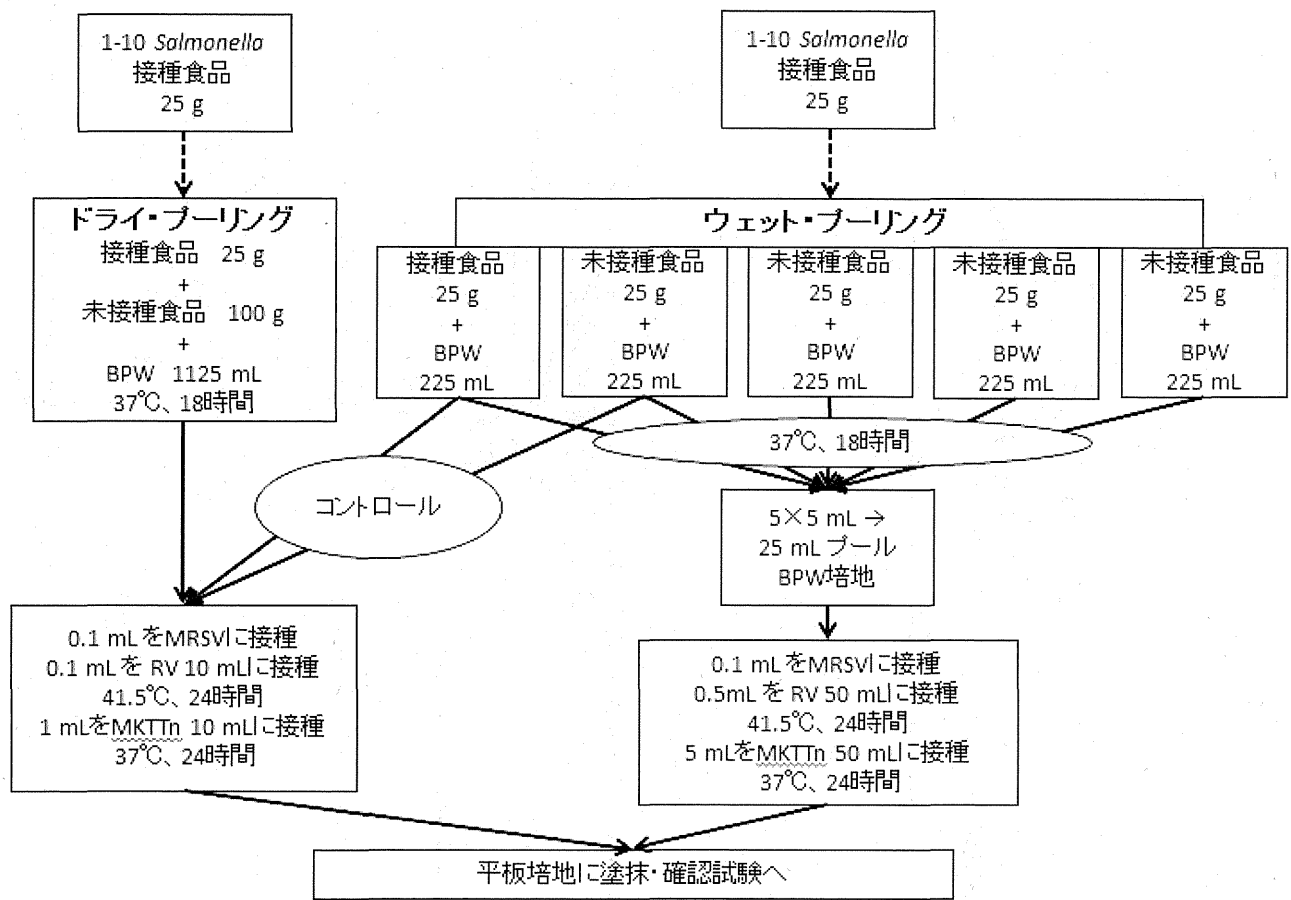


図2 2011年EURL-Salmonellaの実験フローチャート(サンプル・プーリング)

表4 バックグラウンド菌叢の菌数

	腸内細菌科菌群 (cfu/ml)	一般生菌数 (cfu/ml)
皮なし鶏肉	10 - 10 ⁵	10 ⁴ - 10 ⁷
皮付き鶏肉	10 - 10 ⁵	10 ⁵ - 10 ⁸
皮なし七面鳥肉	< 10 - 10 ⁵	10 ² - 10 ⁸
皮付き七面鳥肉	10 ² - 10 ⁸	10 ⁴ - 10 ⁹

表5 菌株に与えたストレスの最大値

	3-8週間 4°C	3日間-2週間 -20°C	15分間 50°C
Log NA - Log XLD			
SE ATCC13076	0.51	1.29	0.95
SE poultry	0.31	0.43	0.77
STM ATCC14028	0.11	0.77	0.81
STM poultry	0.23	0.88	0.52
STM like S18	0.17	1.23	1.06
STM like LIS	0.23	0.44	0.76

* duplicateで実施

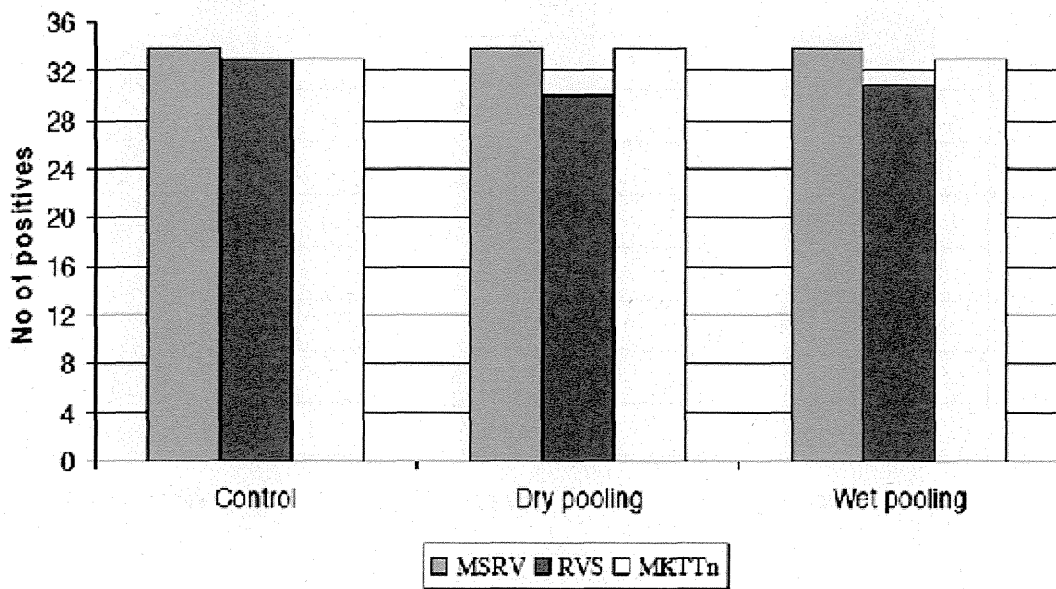


図3 皮なし鶏肉のプーリング結果(n=36)

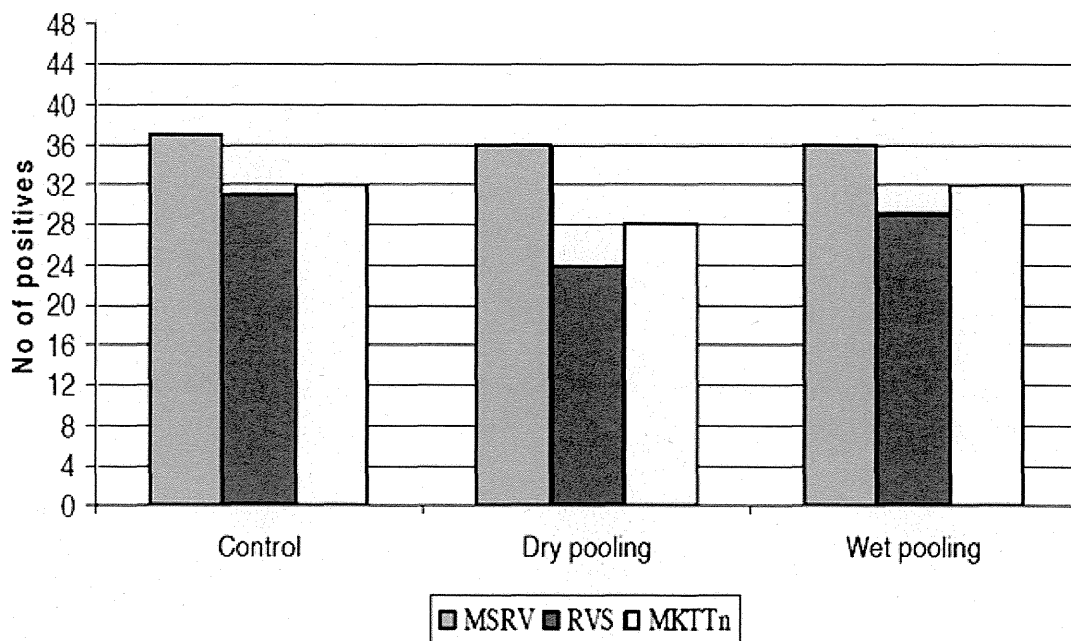


図4 皮付き七面鳥肉のプーリング結果(n=48)

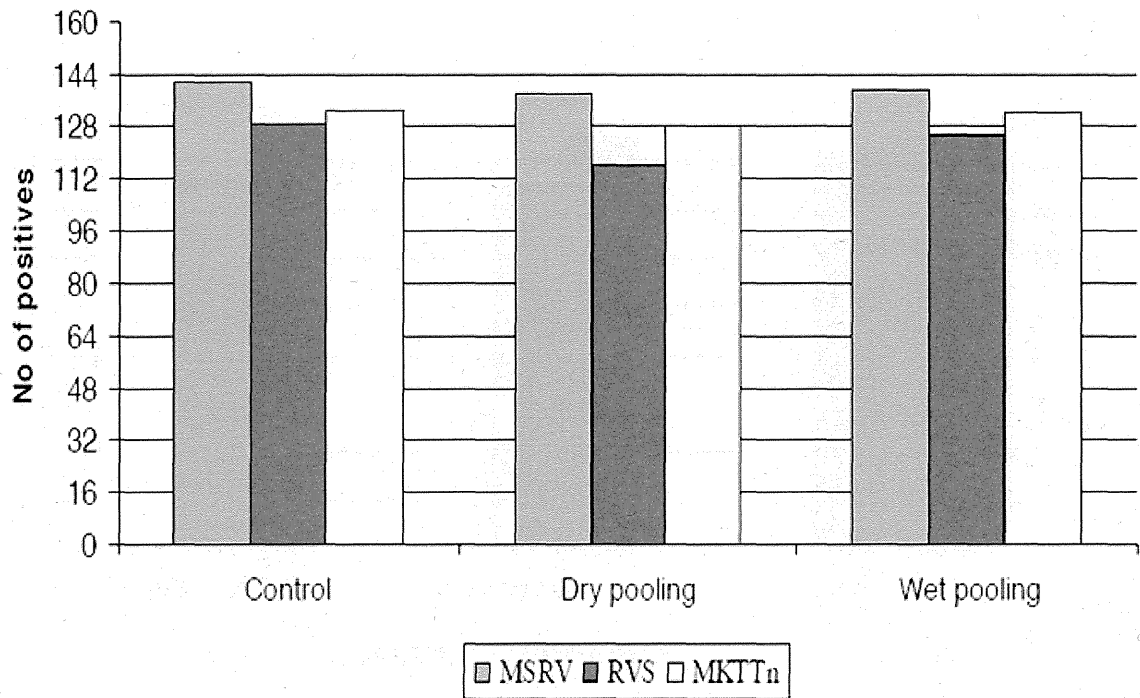


図5 4種類の食鳥肉合計のプーリング結果(n=156)

研究成果の刊行に関する一覧表

なし

