

財団法人伊藤記念財団 保存版

# 食肉および食肉製品の微生物学的安全管理 システムの確立に関する総合的研究

研究代表者  
岩手大学農学部 松坂尚典

昭和 63 年 3 月

財団法人 伊 藤 記 念 財 団

## 研究協力者

- |        |                      |
|--------|----------------------|
| ○品川邦汎  | (岩手大学)               |
| ○小沼博隆  | (国立衛生試験所)            |
| ○徳丸雅一  | (埼玉県衛生研究所)           |
| ○桑原祥浩  | (女子栄養大学)             |
| 藤野訓男   | (岩手県衛生研究所)           |
| 今野純夫   | (仙台市衛生試験所)           |
| 神谷隆久   | (茨城県衛生研究所)           |
| 小久保彌太郎 | (東京都       〃       ) |
| 三瓶憲一   | (千葉県       〃       ) |
| 村上博正   | (静岡県       〃       ) |
| 和田正道   | (長野県衛生公害研究所)         |
| 安形則雄   | (名古屋市衛生試験所)          |
| 梅迫誠一   | (奈良県衛生研究所)           |
| 上田成子   | (女子栄養大学)             |
| 武政二郎   | (日本油料検定協会)           |
| 沼田正憲   | (伊藤ハム中央研究所)          |

○印       事務局



## 目次

序論 .....	1
第Ⅰ章 食肉および食肉製品による食中毒の発生状況とその解析 .....	3
1. わが国の食中毒発生状況と食肉および食肉加工 （食肉調理）品による食中毒の発生とその原因菌 .....	3
2. 食肉の項目別による発生数（摂食の形態別） .....	3
(1)生食肉（刺身）による事例 .....	3
(2)焼肉類による事例 .....	3
(3)食肉加工（調理）品による事例 .....	4
3. 各事例から分離されたサルモネラの血清 .....	4
第Ⅱ章 食肉中のサルモネラおよびカンピロバクターの汚染 ――検体採取量とその検出率について―― .....	9
1. サルモネラ汚染 .....	10
(1)検体採取量別による検出率 .....	10
(2)最確数（MPN）による汚染菌数 .....	10
2. カンピロバクター汚染 .....	10
(1)検体採取量別による検出率 .....	10
(2)最確数（MPN）による汚染菌数 .....	11
第Ⅲ章 食鳥処理場および食鳥肉の微生物汚染 .....	15
1. 処理工程における微生物検査のための試料採取法 .....	15
(1)屠体の微生物検査における試料採取法 .....	15
(2)器具、機材の微生物検査における試料採取法 .....	17

2. 食鳥処理工程中の微生物汚染 .....	18
(1)汚染指標菌による汚染 .....	19
(2)食中毒菌による汚染 .....	19
3. 食鳥肉の微生物汚染 .....	20
(1)処理場から採取した食鳥肉の汚染 .....	21
(2)市販の食鳥肉の汚染 .....	21
第Ⅳ章 食肉（食肉製品）の安全性および品質に及ぼす 微生物の要因 .....	36
1. 食肉製品（ハムおよびソーセージ）中における黄色ブドウ球菌 およびセレウス菌の増殖と毒素産生性 .....	36
2. 黄色ブドウ球菌の増殖と毒素産生に及ぼす食肉製品副原材料 （香辛料）の影響 .....	38
3. 食肉（鶏肉）の保存における微生物の増殖と物理化学的性状 の変化 .....	41
第Ⅴ章 食肉の細菌検査における簡易、迅速試験法の開発 .....	52
1. 蛍光酵素反応による大腸菌群の迅速測定法 .....	52
2. セレウス菌エンテロトキシン検出のための逆受身ラテックス 凝集反応の開発 .....	54
総括 .....	64
文献 .....	66

## 序論

食品の安全性を確保し、品質の優れた食物を消費者に供給することは食品衛生の基本である。これらを阻む主な要因は微生物汚染であり、特に食中毒や腐敗・変敗等を起こす微生物の管理は重要である。

食品の微生物コントロールの基本的な考え方としては、食品中の微生物の危害度(食中毒原性、腐敗性)を把握し、食品の特性(pH、水分活性、栄養分等)および食品の原材料から製造・加工、流通(小売)、消費までの流通過程を考慮した、きめ細かい対策を立てて行なうことである<sup>1)</sup>。

現在、わが国では食肉および食肉加工品について規格基準、製造・保存基準などが設定され、安全性および品質の確保に努力されている。しかし、微生物の危害を全て排除するまでには至っていない。現状では、食肉および食肉製品の事故(食中毒、腐敗)発生に対する不安が常に存在しているといえよう。これらの事故を防止するためには、食肉の解体・処理加工から小売店における微生物学的安全性(または品質)の評価を的確に行い、微生物学的安全管理システム(微生物の汚染、増殖防止対策)を確立する必要がある。また、これらの安全性評価は、検査データなどの科学的根拠に基づいて行われなければならない。そのためには、適正な試料採取(サンプリング)により、迅速・簡易で正確な検査法の確立が必要である。また、食品(食肉)・食肉加工品の特性、流通(保存)の過程で影響を及ぼす微生物についても把握しておくことが重要である。

今回の委託事業では、次の5項目について検討した。

- (1) 食肉および食肉製品による食中毒の発生状況を整理・解析し、微生物コントロールを行う上の対象食品、対象微生物の決定
- (2) 食肉の微生物コントロール上重要である、サルモネラ(Salmonella)およびカンピロバクター(Campylobacter)汚染についてー各種食肉の採取量と検出率の関係ー
- (3) 食鳥処理場の微生物汚染について、1)調査のための試料採取法の確立、2)処理工程中の微生物汚染、3)処理場および小売店の食鳥肉の微生物汚染
- (4) 食肉(食肉製品)の安全性および品質に及ぼす微生物の要因、 1)食肉

製品中の黄色ブドウ球菌およびセレウス菌の増殖と毒素産生、2)黄色ブドウ球菌の増殖、毒素産生に及ぼす食肉製品副原材料(香辛料)の影響、3)食肉の保存における微生物の増殖と物理化学的性状の変化

(5) 食肉の細菌検査における、簡易・迅速検査法の開発 1)蛍光酵素反応による大腸菌群の測定法、2)セレウス菌エンテロトキシン検査用逆受身ラテックス凝集反応の開発

## 第I章 食肉および食肉製品による食中毒の発生状況とその解析

### 1. わが国の食中毒発生状況と食肉および食肉加工（食肉調理）品による食中毒の発生とその原因菌

1982年から1986年の5年間における食中毒発生状況<sup>2)</sup>——特に細菌性食中毒の発生事例および患者数——を表1にまとめた。年間の発生数900-1200件（患者数28,000-37,000名）で、そのうち細菌性のものは640-880件（69-75%）である。原因菌としては、腸炎ピブリオ、サルモネラおよび黄色ブドウ球菌が主体で、細菌性食中毒の85-87%を占めている。その他の細菌によるものが約7-8%見られ、これらの多くは近年問題になっているカンピロバクターである。17-20%のものは原因不明であるが、これらの多くは細菌性によるものと推定されている。

食肉および食肉加工品による食中毒（細菌性）についてまとめたものを表2に示す[1977-1983年：現在出版されている食中毒事件録（厚生省監修）は1983年までである]。これらの食品による食中毒は227事例で、患者は8,786名（死者1名）であった。これらのうち、サルモネラ（92事例）、黄色ブドウ球菌（80事例）、ウェルシュ菌（15事例）によるものが多く、カンピロバクターはこの時代にはまだ十分に検査されておらず、わずかに4事例であった。

### 2. 食肉の項目別による発生数（摂食の形態別）

#### （1）生食肉（刺身）による事例

生食肉（刺身）による食中毒は40事例見られた。そのうち、レバー刺によるものが27事例（67.5%）で、動物種別としては豚（11事例）、馬（5事例）および牛（5事例）によるものが多かった。さらに、鳥刺（ササミ、部位不明の鶏肉）によるものが7事例（17.5%）、馬刺5事例（12.5%）があり、これらについても食中毒原因食品として注意を払う必要がある。これらの食中毒の原因菌は殆どがサルモネラ（32事例、80%）であった。また鳥刺ではカンピロバクターによるものが2事例見られた。

#### （2）焼肉類による事例

焼肉による食中毒では、バーベキュータイプ（焼肉、焼鳥など）と調理・加工品タイプ（ローストチキン、焼豚など）に大きく分けられ、前者によるもの



が31事例(49.2%)、後者によるもの32事例(50.8%)であった。原因菌としては、バーベキュータイプでは、生食肉からの一次汚染によると考えられるサルモネラが殆ど(20事例)であり、調理加工品タイプでは、食肉の調理・加工後の二次汚染によると思われる黄色ブドウ球菌(19事例)およびサルモネラ(10事例)が多く認められた。また、これらのいずれのタイプとも食鳥肉による食中毒(27事例)が多かった。

### (3) 食肉加工(調理)品による事例

食肉を主体とした食肉加工品による食中毒では、ハンバーグ類(11事例)、チキンカツ・ミンチカツなどのカツ類(13事例)が多く、その原因菌としては黄色ブドウ球菌(11事例)とサルモネラ(4事例)が多かった。また、食肉を使用した調理品では、鳥めし類が44事例と多く、原因菌の殆ど(33事例)は黄色ブドウ球菌であった。この他、肉の煮物(14事例)ではウエルシュ菌(8事例)、その他の食品(ギョーザ、肉ダンゴ等)21事例では、黄色ブドウ球菌(8事例)とサルモネラ(5事例)によるものが多かった。しかし、食肉加工(調理)品全体では、原因菌の不明のものが17事例(13.7%)認められた。

## 3. 各事例から分離されたサルモネラの血清型

食肉、食肉加工(調理)品および生卵による食中毒から分離されたサルモネラの血清型を、表4に示す。B群によるものが最も多く(56事例、60.8%)、このうちS. typhimuriumと同定されたものが43事例(46.7%)、その他S. heidelberg, S. derbyおよびS. java等によるものが4事例で、菌種まで同定されず血清型B群と報告されているものが9事例あった。これらの多くはS. typhimuriumと推定される。次いでD群のS. enteritidisによるものが4事例、C群のS. thompson4事例が見られた。また、一つの事例で数種(2-4種)の血清型菌が分離された食中毒も3事例見られた。

表 1. わが国における細菌性食中毒の発生状況(1982-1986)

原因菌	1982		1983		1984		1985		1986	
	事例	患者(死者)	事例	患者(死者)	事例	患者(死者)	事例	患者(死者)	事例	患者(死者)
食中毒総数	923	35,536(12)	1,095	37,023(21)	1,047	33,084(21)	1,177	44,102(12)	899	35,556(7)
細菌性	638	28,787(1)	769	31,125(13)	786	28,345(13)	877	36,566(3)	670	28,618
腸炎ビブリオ	213	6,650	305	11,235	384	8,222(1)	519	14,006(1)	343	12,138
サルモネラ	109	2,936(1)	109	3,612(1)	93	2,107(1)	82	2,412(1)	75	2,363
黄色ブドウ球菌	218	4,804	254	4,493(2)	205	4,813	163	4,968	155	3,885
病原大腸菌	27	9,359	30	3,355	27	6,151	34	3,899	28	2,141
ボツリヌス菌	2	3	1	1	4	44(11)	1	1(1)	0	0
セレウス菌	13	88	18	250	15	330	17	328	10	327
その他	56	4,947	52	8,179	58	6,678	61	10,952	59	7,764
原因不明	183	6,318	202	5,139	177	4,358	195	7,128	170	6,705

表 2. 食肉及び食肉加工（又は調理）品による食中毒原因菌と患者数

原 因 菌	事件数	摂食者数	患者数	死者数	発症率	1 事例当りの患者数
黄色ブドウ球菌	80(35.2)	17,250	1,627	0	9.4	20
サルモネラ	92(40.6)	5,234	2,156	1	41.2	23
ウェルシュ菌*	15( 6.6)	9,315	2,617	0	28.1	174
腸炎ビブリオ**	3( 1.3)	109	33	0	30.4	11
セレウス菌	3( 1.3)	94	72	0	76.2	24
カンピロバクタ	4( 1.8)	2,195	1,296	0	59.0	324
病原性大腸菌	4( 1.8)	888	361	0	40.7	90
不明	26(11.4)	1994	624		31.3	24
計	227( 100)	37,079	8,786	1	23.7	

\* 1 件は C. perfringens と S. aureus の混合感染

\*\* 2 件は V. parahaemolyticus と S. aureus の混合感染

(昭和52～58年)

表 3-1. 生食肉（刺身）による食中毒事例

原因食品（刺身）	事例数	原因菌			
		サルモネラ	カンピロ	病大菌	不明
レバー	11	10	—	—	1
豚	5	4	—	—	1
馬	5	4	—	1	—
牛	1	1	—	—	—
鳥	5	5	—	—	—
鳥刺	3	1	2	—	—
ササミ	4	2	—	—	2
鶏肉					
馬刺	5	4	—	—	1
牛肉たたき	1	1	—	—	—
計	40	32	2	1	5

カンピロ：カンピロバクター， 病大菌：病原性大腸菌（昭和52～58年）

表 3-2. 焼肉類による食中毒事例

原因食品	事例数	原因菌					
		サルモネラ	カンピロ	黄ブ菌	ウ菌	病大菌	不明
焼鳥（串焼）	10	4	1	4	1	—	—
ローストチキン	17	6	—	11	—	—	—
焼肉	8	5	1	—	—	1	1
豚	6	6	—	—	—	—	—
牛	7	5	—	—	—	1	1
その他							
焼豚（蒸豚含）	15	4	—	8	1	—	2
計	63	30	2	23	2	2	4

カンピロ：カンピロバクター，黄ブ菌：黄色ブドウ球菌，ウ菌：ウェルシュ菌  
病大菌：病原性大腸菌（昭和52～58年）

表 3-3. 食肉加工、食肉調理品および生卵による食中毒事例

原因食品	事例数	原因菌					
		サルモネラ	黄ブ菌	ウ菌	セ菌	その他	不明
ハンバーグ類	11	1	8	—	—	—	2
カツ類	13	3	3	2	—	—	5
肉の煮物	14	3	3	8	—	—	—
鳥めし	23 5 16	—	21	—	—	—	2
かしわにぎりめし		—	2	—	2	—	1
チキンライス		3	10	1*	—	1	1
鳥めし弁当		—	—	—	—	—	—
鶏唐揚	6	—	2	—	1	2	1
その他の食品	21	5	8	2	—	1	5
生卵（ソバ・月見芋）	15	15	—	—	—	—	—
計	124	30	57	13	3	4	17

黄ブ菌：黄色ブドウ球菌，ウ菌：ウェルシュ菌，セ菌：セレウス菌（昭和52～58年）  
\*：ウェルシュ菌と黄色ブドウ球菌の混合感染

表4. 食肉および食肉加工品（生卵を含む）による  
サルモネラ食中毒とその主な血清型

血清群※	事例(%)
Salmonella B群	56(60.8)
C <sub>1</sub> 群	7( 7.6)
C <sub>2</sub> 群	5( 5.4)
D群	7( 7.6)
E <sub>1</sub> 群	3( 3.3)
混合	3( 3.3)
不明	11(12.0)
計	92(100)

※ B群：S.typhimurium, S.heiderberg, S.derby, S.java  
C<sub>1</sub>群：S.infantis, S.braenderup, S.thompson  
C<sub>2</sub>群：S.newport, S.litchfield, S.blockely  
D群：S.enteritidis  
E<sub>1</sub>群：S.london

## 第Ⅱ章 食肉中のサルモネラおよびカンピロバクターの汚染

### ——検体採取量とその検出率について——

食品中の微生物(食中毒菌)汚染の実態(汚染率と汚染菌量)を把握することは、食中毒防止対策を講ずる上からも重要である。加えて、食品の微生物学的評価ならびに微生物規格・基準等の設定を検討する際の基礎データとして必須である。

各種食肉中の食中毒菌汚染調査については、すでに数多くの報告<sup>3-8)</sup>が見られる。しかし、その検査方法(採取検体量、試験法など)は統一されていないため、各研究者のデータを相互に比較することも難しい。また報告によっては、汚染の実態を正確に把握しているとは言い難いものも見られる。

今回、食肉および食肉製品による食中毒の中で、特に多く見られるサルモネラおよびカンピロバクターを対象として、統一した検査法を用いることによって汚染率、汚染菌量を調査した。さらに、食肉中のサルモネラおよびカンピロバクターを検査する際のサンプリング方法(採取量)についても検討した。

#### 材料および方法

1985年9月から1987年10月にかけて全国7都県市(岩手、茨城、埼玉、千葉県東京都および仙台市)の屠畜場、食鳥処理場および食肉販売店から採取した食肉、鶏肉を調査材料とした。サルモネラの調査には、鶏肉278検体、豚肉94検体および牛肉46検体、合計418検体を用い、カンピロバクターの調査には、鶏肉128検体、豚肉94検体および牛肉46検体、合計268検体を用いた。サルモネラおよびカンピロバクターは、増菌培養法を用いて検査した(図1、図2)。即ち、サルモネラは検体 25g, 10g, 1g(10倍乳剤の10ml)を、それぞれEEM培地(試料の10倍量)に接種し、前増菌培養(35℃、18時間)後、その1mlをセレナイト培地(15ml)に接種、43℃、18時間選択増菌培養を行った。分離はMCLB培地またはDHL培地を用いて行い、形成された集落を釣菌後、常法<sup>9)</sup>にしたがって同定した。最確数(MPN)は3本法により実施した。各検体を試料の10倍量のEEM培地に接種後、前増菌培養し、以後は前述と同様に行った。カンピロバクターは検体 10g, 1g, 0.1g(1g および 0.1gは10倍乳剤を 10mlおよび1ml)をそれぞれプレストン培地(試料10mlを接種する場合、2倍濃度のものを用いた)に接種し、微好気条件下で42℃、24時間選択増菌後、スキロー培地に塗抹、分離(42℃、48時間、微好気培養)した。疑わしい集落については常法<sup>10)</sup>にしたがって同

定を行った。MPNは3本法により、検体10g, 10倍乳剤10ml および 1mlをそれぞれ3本ずつのプレストン培地(試料10mlには2倍濃度のもの)に投入し、42℃、24時間微好気培養後、前述と同様に分離・同定を行った。

## 結果および考察

### 1. サルモネラ汚染

#### (1) 検体採取量別による検出率

鶏肉、豚肉、および牛肉418検体中、70検体(16.8%)がサルモネラ陽性を示した。食肉の種類別では、鶏肉の汚染が最も高く67検体(24.1%)、次いで豚肉3検体(3.2%)であったが、牛肉からは検出されなかった。検体採取量別では、採取量25gでは57検体(13.6%)、10gでは46検体(11.0%)、1gでは35検体(8.4%)が陽性を示し、このうち汚染の最も高い鶏肉について見ると、採取量25gでは19.8%、10gで15.8%、1gで12.6%が陽性で、採取量を増すことにより検出率も高くなる傾向が見られた(表5)。

#### (2) 最確数(MPN)による汚染菌数

サルモネラ汚染の最も高い鶏肉を対象に、MPN法により汚染菌数を調べた(表7)。本方法により31/149検体(20.8%)が陽性を示し、その汚染菌数はいずれも $10^4$ 個/100g以下で、殆ど(19.5%)が $30-10^3$ 個/100gであった。

以上の結果から、鶏肉中のサルモネラ汚染菌数は0.1-10個/gであることが明らかになった。汚染調査に用いる検体採取量としては、10gが妥当であると推察される。しかし、他の食肉(豚、牛)は、汚染率・汚染菌数も少なく、安全性を評価するためには、検体採取量25gを用いて検査することが望ましいと考える。

### 2. カンピロバクター汚染

#### (1) 検体採取量別による検出率

各種食肉268検体中、82検体(30.6%)がカンピロバクター陽性を示した。種類別では、鶏肉62.5%、豚肉2.1%であったが、牛肉からは全く検出されなかった。採取量別では、採取量10gのものでは63検体(23.5%)、1gでは44検体(16.4%)、0.1gでは33検体(12.5%)が陽性を示した。このうち汚染の高い鶏肉につ

いてみると、採取量10gでは47.7%、1gでは34.4%、0.1gでは25.8%が陽性で採取量を増すことにより汚染率も上昇した(表6)。

## (2) 最確数(MPN)による汚染菌数

カンピロバクター汚染の高い鶏肉について、その汚染菌数をMPN法により調べた(表7)。本方法により112/149検体(75.1%)が陽性を示し、その汚染菌数は $30-10^6/100g$ で、 $10^2-10^3/100g$ のものが最も多く48検体(32.2%)であった。次いで $10^3-10^4/100g$  23検体(15.4%)、 $30-10^2/100g$  15検(10.1%)であった。

以上の結果から、鶏肉のカンピロバクター汚染は高率であり、汚染菌数も $0.1-10^3/g$ で、多くは $1-10^2/g$ 範囲であった。この汚染菌数はサルモネラ比ベ1桁以上高いことが明かになった。それゆえ、現段階では鶏肉のカンピロバクター汚染調査には、採取量を1g(検体の10倍乳剤を10ml)を用いて行なう方法が適当であると考えられる。



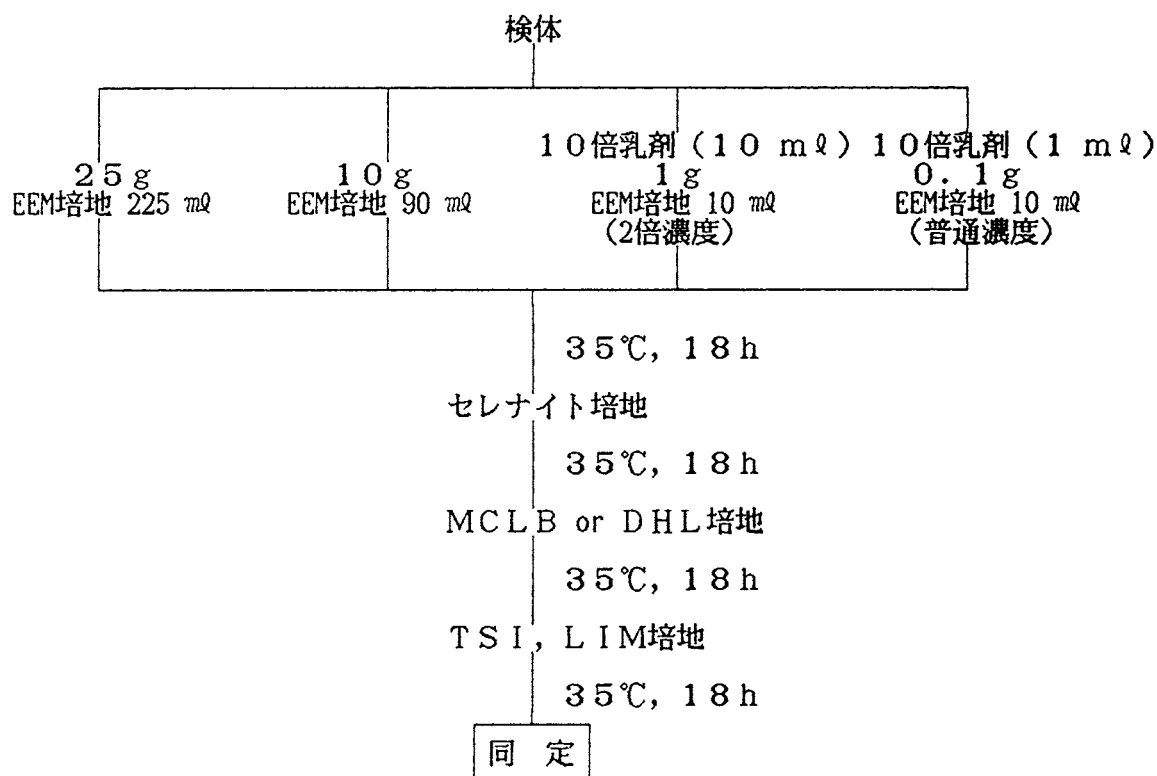


図1 サルモネラの検査法

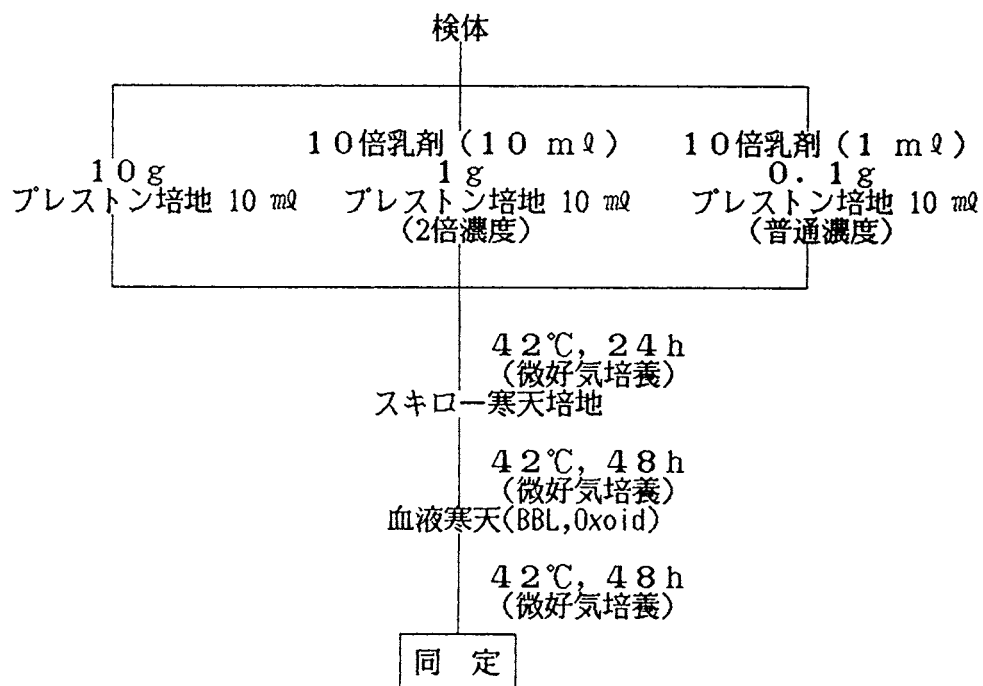


図2. カンピロバクターの検査法

表 5. 検体採取量別によるサルモネラ検出率

検体名	検体数	陽性検体数 (%)	検体採取量		
			25 g	10 g	1 g
鶏肉	278	67(24.1)	55(19.8)	44(15.8)	35(12.6)
豚肉	94	3(3.2)	2(2.5)	2(2.5)	0
牛肉	46	0	0	0	0
合計	418	70(16.8)	57(13.6)	46(11.0)	35(8.4)

表 6. 検体採取量別によるカンピロバクター検出率

検体名	検体数	陽性検体数 (%)	検体採取量		
			10 g	1 g	0.1 g
鶏肉	128	80(62.5)	61(47.7)	44(34.4)	33(25.8)
豚肉	94	2(2.1)	2(2.1)	0	0
牛肉	46	0	0	0	0
合計	268	82(30.6)	63(23.5)	44(16.4)	33(12.5)

表 7. 鶏肉におけるサルモネラおよびカンピロバクターの汚染菌数

菌 種	検体数	MPN値/100 g					
		(-)	30-10 <sup>2</sup>	10 <sup>2</sup> -10 <sup>3</sup>	10 <sup>3</sup> -10 <sup>4</sup>	10 <sup>4</sup> -10 <sup>5</sup>	>10 <sup>5</sup>
サルモネラ	149 (%)	118 (79.2)	15 (10.1)	14 (9.4)	2 (1.3)	0	0
カンピロバクター	149 (%)	37 (24.9)	15 (10.1)	48 (32.2)	23 (15.4)	23 (15.4)	3 (2.0)

### 第Ⅲ章 食鳥処理場および食鳥肉の微生物汚染

食肉中の微生物コントロールを行う場合、食肉処理、製造工程での汚染を防ぐことが基本である。家畜(牛、豚、馬、緬羊等)の屠殺・解体および処理工程においては、獣医師によって監視・指導されているが、食鳥処理については十分な衛生監視体制が確立されていない(厚生省は昭和65年度から食鳥検査制度の導入を試み、衛生的な食肉の生産を目的としている)。

第Ⅰ章および第Ⅱ章で明らかにされたように、食肉および食肉加工(調理)品で食中毒の原因食品となるものは、食鳥肉が最も多く、また食肉(牛、豚、食鳥肉など)の中で、食中毒菌(サルモネラ、カンピロバクター、黄色ブドウ球菌)の汚染の最も高いものは食鳥肉である。それゆえ、本研究では食鳥処理場における微生物汚染状況を工程別に把握し、汚染(または監視)のポイントを明らかにすることを目的とした。また、処理場および市販の食肉店より採取した食鳥肉の微生物汚染実態についても調査し、食鳥肉の微生物学的安全性評価の基礎資料の作成を試みた。

#### 1. 処理工程における微生物検査のための試料採取法

食鳥処理場または食肉処理場の微生物汚染(工程別の汚染および汚染源・汚染経路など)を把握するためには、まず適切な試料採取(サンプリング)法を確立するとともに、一定の試験法(培地、培養条件など)を用いて調査することが基本となる<sup>11-13)</sup>。

本項では、処理工程中の微生物汚染を調べる場合、その基本となるサンプリング法について、屠体(食鳥皮膚表面)の採取部位、採取方法について検討した。さらに処理場で使用されている器具・機材の微生物汚染検査のための試料採取法についても検討した。

##### (1) 屠体の微生物検査における試料採取法

##### 材料および方法

- ① 試料採取部位：処理工程の脱毛後の屠体胸部および大腿部の皮膚を対照とした。

## ② 採取方法

- a. 皮膚を直接採取し、滅菌生理食塩水（生食水）100mlを用いて、ストマッカーで1分間処理する（皮膚採取法）。
- b. ガーゼタンポン(5×5cm)で皮膚表面を拭きとり、生食水20mlに入れてストマッカーで処理する（ガーゼ法）。
- c. 生食水20mlで皮膚表面を洗いながら、ガーゼを巻き付けたガラス棒で拭きとる（ふきとり棒法）。

なお、各試料はいずれも皮膚表面10×10cm<sup>2</sup>を採取し、これを5羽分まとめて1検体とした。

## ③ 細菌検査

細菌検査としては汚染指標菌（細菌数および大腸菌群）と食中毒菌（黄色ブドウ球菌）を対象とした。各検査は常法<sup>24)</sup>に従って行った。

## 結果および考察

各採取法による処理工程中（脱毛直後、冷却後、解体前）の微生物検出状況（屠体皮膚表面1cm<sup>2</sup>当り）は、以下のとおりである。

### ① 細菌数

各採取法（a, b, c）による細菌数の検出状況を図3に示した。細菌数の平均値( $\bar{X}$ )は、皮膚採取法では $\bar{X}=4.21$ 、ガーゼ法 $\bar{X}=3.14$ およびふきとり棒法 $\bar{X}=3.33$ で、皮膚採取法はガーゼ法およびふきとり棒法に比べて有意に高い（ $P<0.05$ ）菌数を示した。特に、冷却後の屠体（胸部）では皮膚の収縮が大きく、皮膚採取法に比べ、ふきとり法（ガーゼ法、ふきとり棒法）による微生物の回収は困難で、検出菌数に大きな差が見られた。また部位別（胸部と大腿部）については、両者に有意な差が認められなかった。なお、ガーゼ法とふきとり棒法では、細菌数においては有意な差は見られなかった（図3）。

### ② 大腸菌群

大腸菌群の検出状況を図4に示した。大腸菌群についてはガーゼ法（ $\bar{X}=1.14$ ）による検出菌数は、皮膚採取法（ $\bar{X}=2.14$ ）およびふきとり棒法（ $\bar{X}=2.02$ ）に比べ、有意に低い（ $P<0.05$ ）ことが認められた。また細菌数と同様に、大腿部の方が胸部に比べ、汚染菌数のバラツキは少なくなる傾向が見られた。

### ③ 黄色ブドウ球菌

細菌数、大腸菌群数に比べて、黄色ブドウ球菌の汚染は少ないため、皮膚表面100cm<sup>2</sup>当たりの菌数を示した（図5）。黄色ブドウ球菌汚染のバラツキは大きく、全く検出されない検体から、10<sup>3</sup>/100 cm<sup>2</sup>のオーダーまで達するものがあ

った。検出菌数は、ふきとり法（ガーゼ法、ふきとり棒法）よりも皮膚採取法の方が多くなる傾向が認められた。

以上の結果から、食鳥処理工程中の微生物汚染等を調べる場合、屠体胸部に比べて汚染のバラツキが少ない大腿部を対象とすることが望ましい。その採取法は、皮膚を直接採取する方法が最も確実に汚染菌数を把握できると考えられる。しかし皮膚採取法は、ふきとり法に比べて屠体を傷つける欠点があり、処理工程中の微生物汚染の推移を見るには、ふきとり棒による採取法でも十分効果があると思われる。なお、今回皮膚の採取面積 $10 \times 10 \text{ cm}^2$ を対象にしたが、通常の検査を行なう場合、 $5 \times 5 \text{ cm}^2$  採取でもよいと考察される。

## （２）器具、機材の微生物検査における試料採取法

各処理場で、食鳥肉の解体に使用される器具、機材の微生物汚染を調べる場合の試料採取法について検討した。

### 採取方法

器具（秤量器、まな板）、機材（コンベアーベルト）の表面（ $10 \times 10 \text{ cm}^2$ ）を対象とした。小さな器具（ナイフ、網カゴなど）は1個全体をふきとりした。

### 結果および考察

#### ① 細菌数

ガーゼ法およびふきとり棒法のいずれの採取法でも、細菌数には殆ど差が見られず、 $10^2$ - $10^4/\text{cm}^2$ が検出された。菌数のバラツキはふきとり棒法に比べ、ガーゼ法の方が大きい傾向が見られた（図6）。

#### ② 大腸菌群

大腸菌群は殆ど $10^2/\text{cm}^2$ 以下の汚染で、細菌数と同様に、採取法による違いは見られなかった（図7）。

#### ③ 黄色ブドウ球菌

黄色ブドウ球菌についても両者には殆ど差が見られず、検出菌数は40-600/ $100 \text{ cm}^2$ であった（図8）。

以上の結果から、器具、機材の微生物汚染を調べる際の試料採取法としてはガーゼ法およびふきとり棒法でも目的が達せられ、検出菌数にも殆ど差が見られないことがわかった。それゆえ汚染検査を行う場合、これらの方法のいずれ

かを用いて、一定の面積を一定の方法（ふきとりの回数、力の配分等）で採取することが重要であると考えられる。

## 2. 食鳥処理工程中の微生物汚染

近年、食生活の向上とともに食肉の消費量が増加し、特に食鳥肉の消費は飛躍的な伸びがみられ、食肉の3割以上を占めるに至っている。

食肉のうち、牛、馬、豚肉等は「屠畜場法」によって、その安全性がチェックされているが、食鳥肉は昭和53年に厚生省から「食鳥処理指導要領」として通達が出され、これに基づいて営業者が自主的に衛生管理を行っているのが現状である。

一方、食中毒菌のうちカンピロバクター、サルモネラは食鳥の腸管内に高率に保菌されており、食鳥処理・解体時に食肉の汚染が知られている<sup>6, 14, 15)</sup>。また、これらの菌によって汚染された食鳥肉の摂食によるヒトの下痢症も多数報告されている<sup>16, 17)</sup>。

今回、食鳥の解体処理方式が異なる処理場を対象に、生鶏から食鳥の解体に至るまでの工程について、微生物による汚染状況を調査した。

### 材料および方法

#### （1）調査対象処理施設

食鳥処理方式には、現在、中抜き解体法（以下、中抜き法）と従来から行われている屠体解体法（以下、外むき法）の2つがある（図9）。

今回対象とした処理場は、岩手県内で1日に約13,000羽を処理している外むき方式のT処理場、千葉県内で約12,000羽/日処理を行っている外むき方式のR-1処理場（本施設は1986年に、外むき法から中抜き法に改築された；R-2処理場）、および埼玉県内で約12,000羽/日処理をしている中抜き方式のI処理場である。

#### （2）検査材料

検査に供した検体は、屠体表面、ベルトコンベアーのふきとり材料（ガーゼ法によるふきとり法）、使用水として湯漬水、予備冷却水および冷却水、製品の部分肉としては、もも肉、手羽肉およびササミである。これらの材料の処理方法をまとめて表8に示す。

### (3) 試験項目

採取した検体については細菌数、大腸菌群、低温細菌数、サルモネラ、黄色ブドウ球菌、カンピロバクター、ウェルシュ菌、エルシニアを検査した。これらの各試験方法を表9に示す。

### 結果および考察

#### (1) 汚染指標菌による汚染

##### ① 細菌数

各処理場別の汚染状況を表10～12-2に示す。IおよびT処理場の冷却水では細菌数が $10^1/\text{ml}$ であったが、外むき法のR-1処理場では $10^4/\text{ml}$ と高い値を示した。この他の箇所では、処理方法による差はあまり見られなかった。製品の部分肉の汚染は、もも肉 $10^4\text{--}10^5/\text{g}$ 、手羽肉 $10^4\text{--}10^5/\text{g}$ 、ササミ $10^3\text{--}10^4/\text{g}$ で、中ぬき法と外むき法の違いは殆ど見られなかった。

##### ② 大腸菌群および低温細菌数

大腸菌群および低温細菌汚染についても、冷却水の菌数は、中抜き施設に比べて外むき施設(R-1処理場)で高い傾向が見られた。しかし解体後の、もも肉、手羽肉およびササミでは、処理法による差は見られなかった。

以上のように、処理方法による指標細菌の検出には、あまり差が認められなかった。しかし、外むき施設の予備冷却水の汚染は高く、次の工程の冷却水を汚染していると考えられ、本工程で屠体の汚染は拡大されると推察される。

IおよびT処理場では、冷却水に塩素剤30-40ppmが添加されており、冷却水には菌数も少なく( $10^1/\text{ml}$ )、塩素による殺菌効果が認められた。

#### (2) 食中毒菌による汚染

##### ① サルモネラ

T処理場では冷却水および冷却後の屠体から、R-1およびR-2処理場では脱羽後の屠体、処理工程中の屠体からもサルモネラが検出された。また、製品ではI処理場のもも肉から検出された。

##### ② カンピロバクター

カンピロバクター汚染は処理方法の違いによる差は見られず、いずれの処理場においても、脱羽後から冷却後まで、全ての工程から高率(55.6-77.8%)に検出された。さらに、製品の部分肉でも、11.1-66.7%の汚染が見られた。



### ③ 黄色ブドウ球菌

黄色ブドウ球菌の汚染は、処理方法による差があまり見られず、各処理場の全ての工程から検出された。特に、食鳥解体(部分肉採)のベルトコンベアーから高率に検出され、本箇所において、製品への汚染は拡大されていると推察される(製品の汚染は22.2-83.3%)。さらに、屠体の解体に使用される作業員の手袋や器具からも、本菌は高率に検出され、この工程で汚染が拡大されることは明らかである。

### ④ その他の食中毒菌

エルシニアは処理工程の冷却後の屠体、および食肉解体のベルトコンベアーから検出された。しかし、Y. enterocoliticaと同定されたものは少なく、ヒトの病原性にかかわり合いのある血清型は認められなかった。セレウス菌汚染は他の食中毒菌に比べて少なかった。ウエルシュ菌による汚染は高く、部分肉からも高率に検出された(31-60%)。

## 3. 食鳥肉の微生物汚染

食肉の微生物コントロールを行う場合、食肉処理場の汚染防止と同時に、流通過程における微生物汚染状況を把握することも重要である<sup>6, 18, 19)</sup>。その場合、危害性の高い食中毒菌を優先的に取りあげるべきである。

今回、食肉の中で微生物汚染の最も高い食鳥肉を対象に、処理場で解体(部分肉とされた)されたもの、および市販の食肉販売店から採取されたものについて、食中毒菌を対象に汚染調査を行った。

### 材料および方法

#### (1) 検査材料

検査に供した食鳥肉(部分肉)は、前項(2)の「食鳥処理工程中の微生物汚染」のところで調査した4施設と、埼玉県内のT処理場(2,500羽/日の処理を有する施設:外むき法)および1985年9月から1987年4月に埼玉県内の35施設(外むきおよび中抜き処理場)から採取したものである。

他方、市販食鳥肉は、1985年9月から1987年4月にかけて埼玉、奈良、岩手、千葉の各県、および仙台市の食肉販売店から採取したものをを用いた。

## (2) 試験項目

対象微生物としては、サルモネラ、カンピロバクター、黄色ブドウ球菌、セレウス菌、ウェルシュ菌、エルシニアで、これらの試験方法は前項(表9)に示したとおりである。

## 結果

### (1) 処理場から採取した食鳥肉の汚染

サルモネラ汚染は20/228検体(8.8%)で、全く検出されない施設(I,T処理場)から11.1%が検出された施設(R-2処理場)まで見られた。カンピロバクターは64検体(28.1%)から検出され、検出率0%(I,T処理場)から55.6%(R-1処理場)の施設まで見られた。黄色ブドウ球菌は27.2%が陽性を示し、I処理場を除き、11.1%(R-2処理場)から38.9%(T処理場)まで検出された。セレウス菌の陽性率は低く9.1%で、T処理場から採取したものでは33.3%と高率であったが、他は0から6.7%の汚染率であった。エルシニアは16.7%汚染で、全く検出されない施設から、16.7%が検出された処理場までであった。ウェルシュ菌の汚染は18.0%で、1施設からは検出されなかったが、他の施設では11.1%から60.0%の汚染が見られた(表13)。

### (2) 市販の食鳥肉の汚染

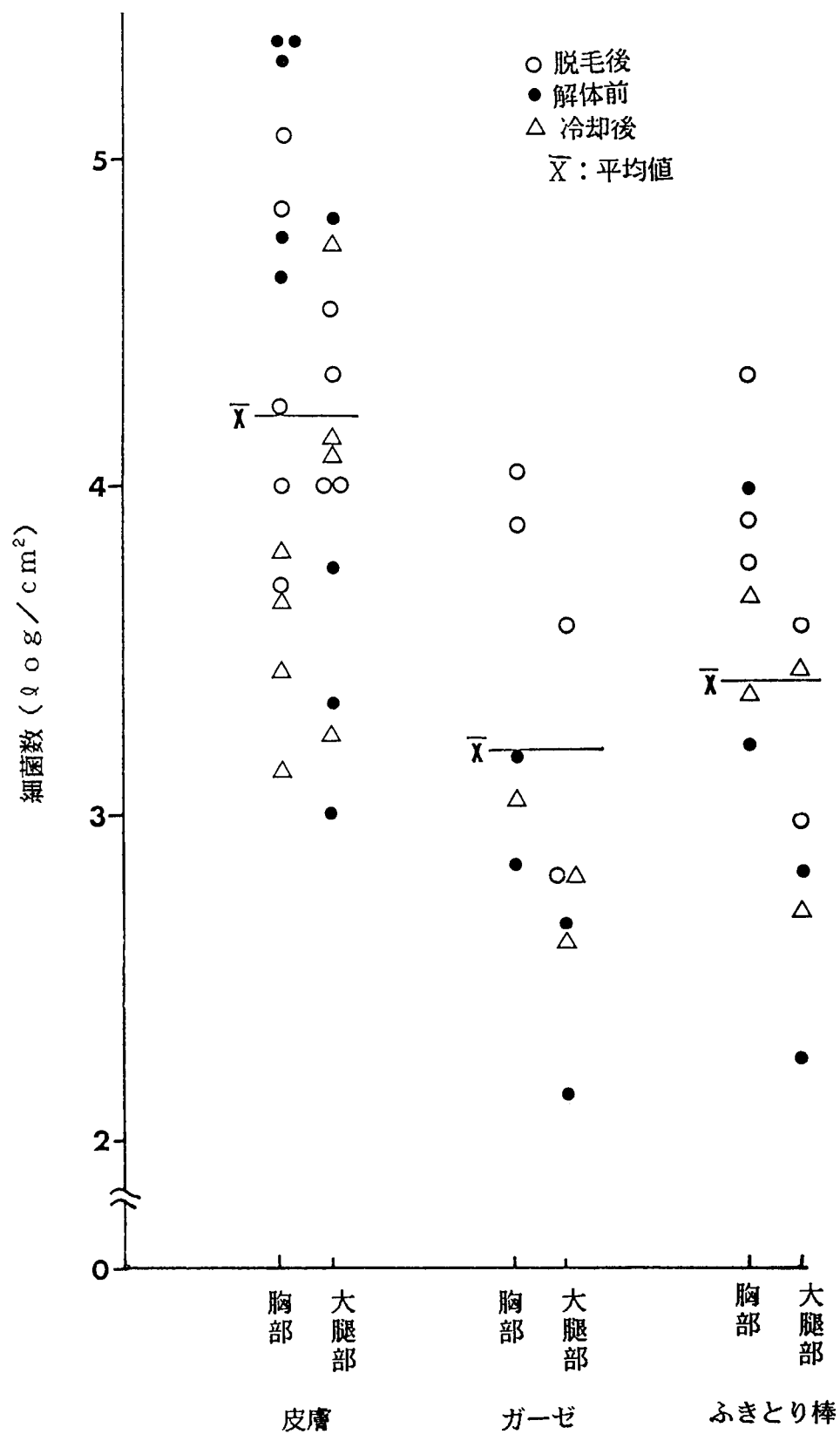
サルモネラ汚染は39/115検体(33.9%)で、岩手から採取したものでは100%の陽性を示し、他県からのものでは15.0%から28.0%の汚染であった。カンピロバクターは35.0%から80%の汚染を示し、いずれの地域のものも高率に汚染されていた。黄色ブドウ球菌は検出されないものも見られたが、大部分は10%から20%の汚染であった。エルシニアについては2地域のものしか検査しなかったが、いずれも高率(44-60%)に検出された(表14)。

## 考察

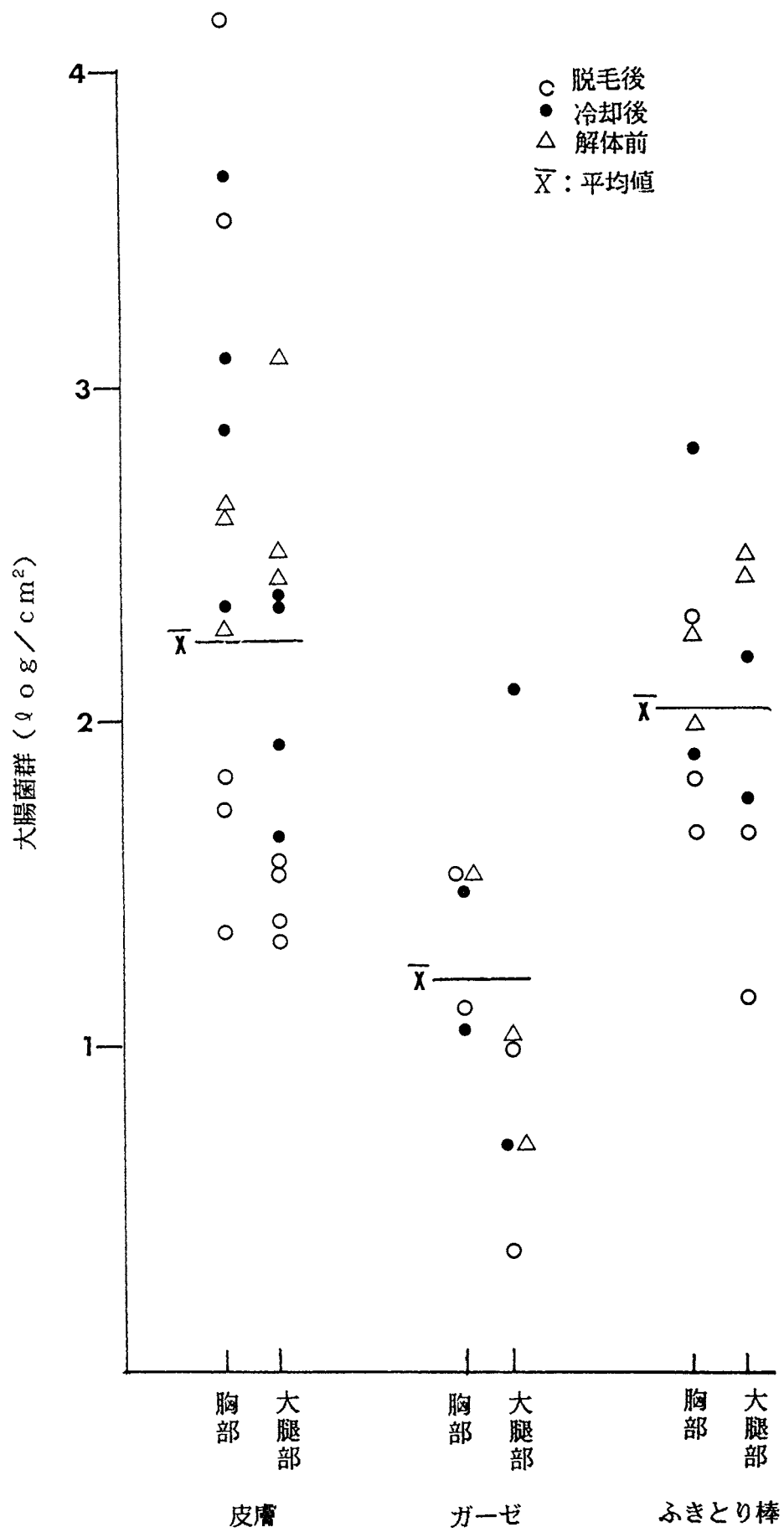
処理場から採取された食鳥肉のサルモネラ汚染は8.8%であるのに対し、市販品は33.9%と高率で、この成績はこれまでの報告<sup>7,17)</sup>と同様であった。カンピロバクターは、全く検出されない処理場も見られることから、全ての鶏が保菌しているのではなく、食鳥の飼育状況、飼育地域によって汚染は異なると考えられる。これに対し、市販品では全ての地域から高率に検出され、処理・加工から販売店への流通過程において、交叉汚染を受けていると推察される。食

鳥肉から分離されたエルシニアの多くは、環境に広く分布する Y. intermedia で<sup>20)</sup>、Y. enterocoliticaと同定されるものは少なく、さらにヒトの病原性に関係が見られる血清型も少なかった。

以上のように、食鳥肉の微生物汚染は処理場採取のものに比べ市販品では高率であった。今後、食鳥肉の安全管理システムを確立するためには、処理場のみならず、流通過程および食肉販売店においても、衛生管理を十分行う必要がある。さらに販売店において、食鳥肉から他の食肉（牛、豚など）への交叉微生物汚染も十分考えられ、その取り扱いは十分注意する必要がある。



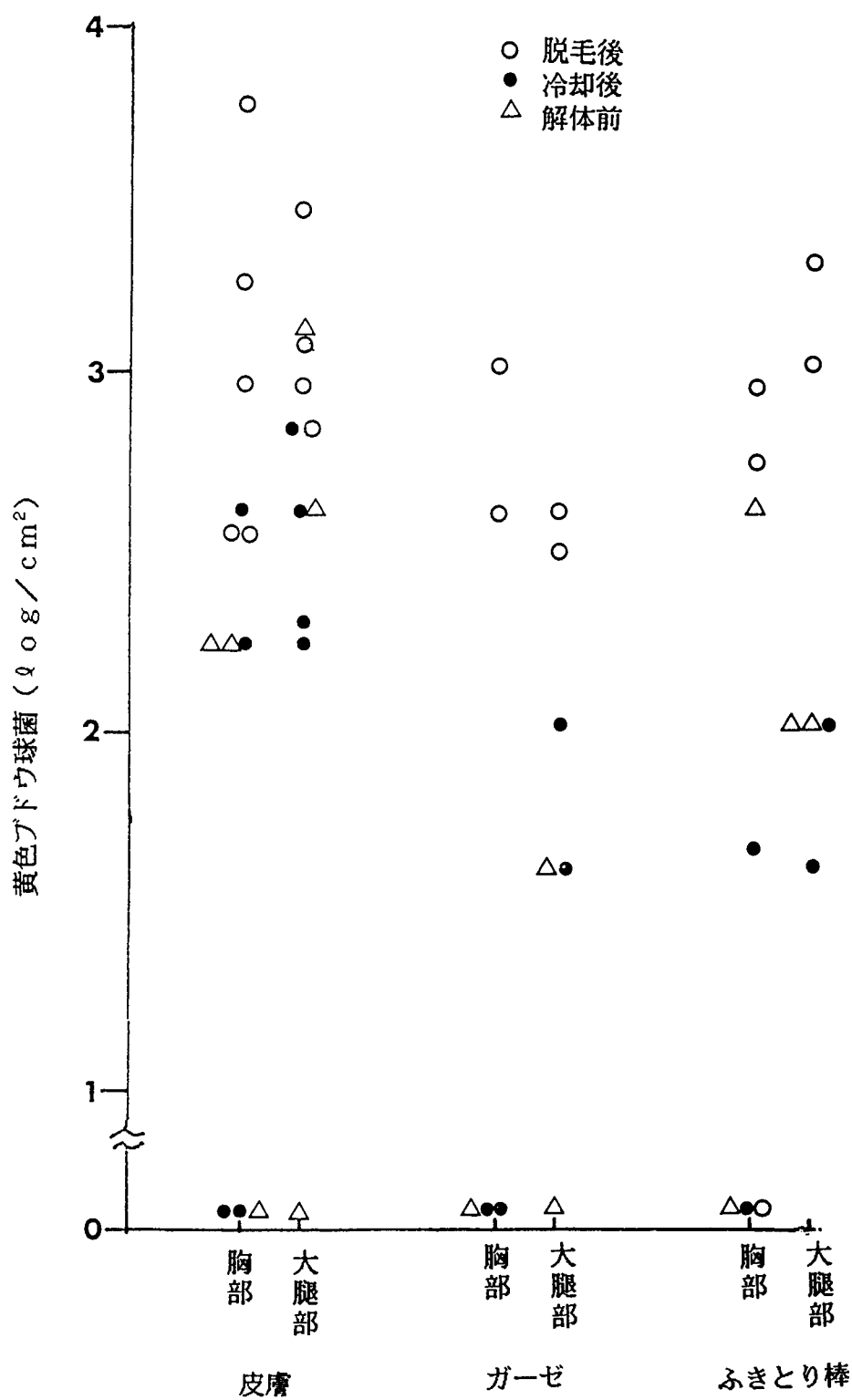
—細菌数—  
図 3. 採取法と細菌数



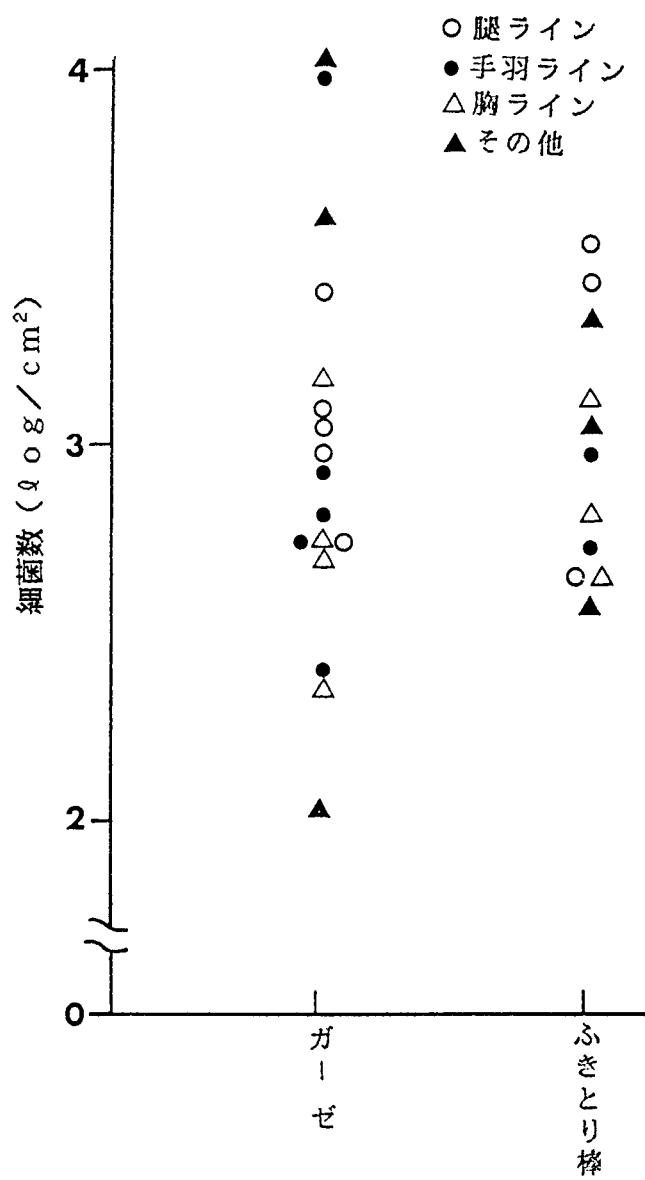
—大腸菌群—

図 4. 採取法と細菌数

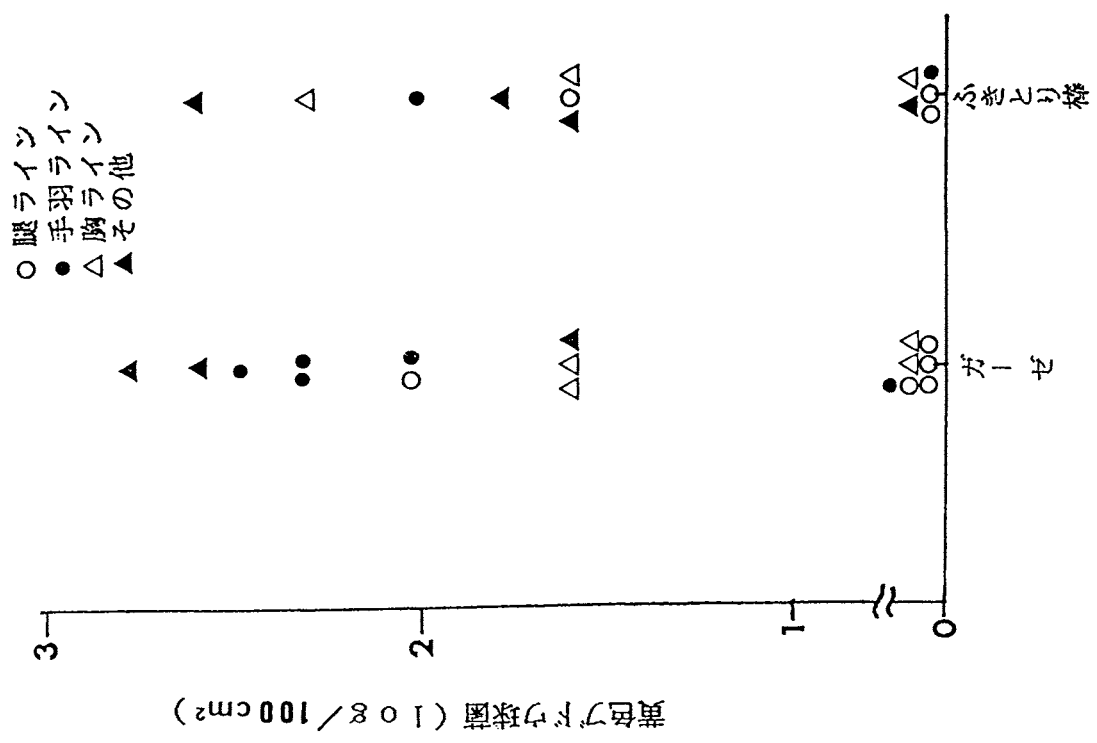
(24)



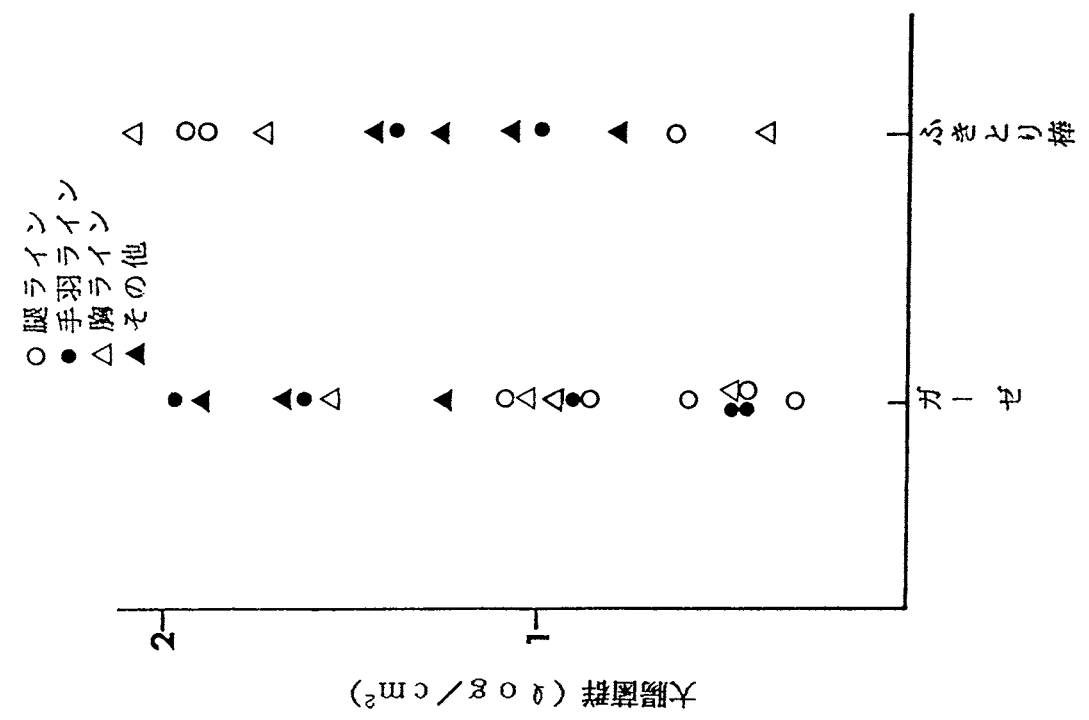
—黄色ブドウ球菌—  
図 5. 採取法と細菌数



—細菌数—  
図 6. 器具・機材のふきとり試験



—黄色ブドウ球菌—  
図 8. 器具・機材のふきとり試験



—大腸菌群—  
図 7. 器具・機材のふきとり試験



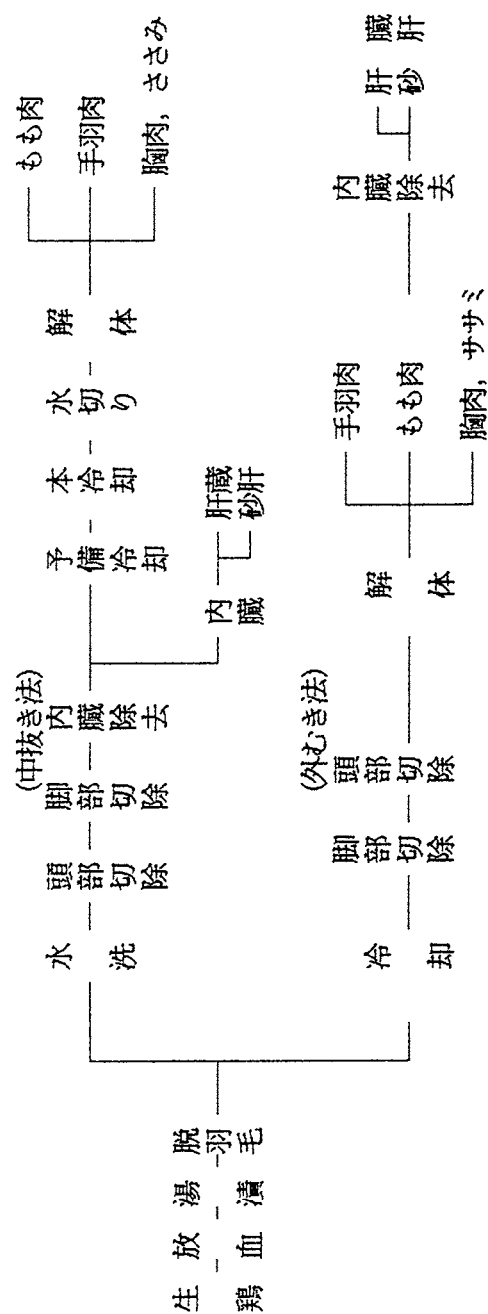


図 9. 食鳥処理場における処理工程

表 8. 検査材料の処理方法

検査材料		処理方法
と 体	ふきとり（ガーゼタンポン）	・ 直接増菌培地（10ml）に投入，または生理食塩水（10ml）に振り出す。
器具・機材		
食鳥肉	10g	・ 直接増菌培地に投入，または生理食塩水で乳剤を作成。
腸管内容物	盲腸内容物 直腸内容物	・ ガラス棒にて採取し培地に塗抹，または増菌培地に投入。
羽 毛	5 ～6 羽分をプール	・ 直接増菌培地に投入。
冷 却 水	チオ硫酸Naを加えた 滅菌ポリタンクに採取	・ 塩化第二鉄で処理し，遠心分離（8,000rpm，10分）沈査を増菌培地に投入。

表 9. 対象菌種の試験法

検査項目	使 用 培 地
<u>C.jejuni/col</u>	Preston 培地 —— Skirrow 寒天培地 EEM 培地 — ラバポート培地 -SS寒天培地
<u>Salmonella spp.</u>	ラバポート培地 — SS寒天培地 SBG 培地 ——SS寒天培地
<u>S.aureus</u>	卵黄加マンニット食塩寒天培地 7.5%食塩加普通ブイヨン培地 — 卵黄加マンニット食塩寒天培地
<u>Yersinia spp.</u>	M/15リン酸緩衝液 — YCC 培地 ———— 0.5% KOH処理 — CIN 寒天培地
<u>B.cereus</u>	NGKG寒天培地
<u>C.perfringens</u>	KM加CW寒天培地
一般細菌数	標準寒天培地 （35 ℃，48時間培養）
低温細菌数	標準寒天培地 （4 ℃，2 週間培養）
大腸菌群	デスオキシコレート寒天培地 （35 ℃，20 時間培養）

表 10. 食鳥処理場(岩手T) の処理工程における細菌汚染(外むき法)

処理工程	生放湯脱		予冷		断頭解		部		分		肉	
	鶏血漬	羽毛	備	却	却	去	除	ベルトコンベアー	も	手	さ	み
検体	湯漬	と	予冷	却	冷	と	も	う	手	むさう	も	さ
( /g, ml, 100cm <sup>2</sup> )	水	体	備水	却	水	体	肉	肉	肉	・み	肉	み
細菌数*	1.2 X10 <sup>5</sup>	1.0 X10 <sup>6</sup>	4.2 X10 <sup>5</sup>	5.2 X10 <sup>1</sup>	1.3 X10 <sup>6</sup>	1.9 X10 <sup>5</sup>	8.9 X10 <sup>4</sup>	7.9 X10 <sup>4</sup>	5.1 X10 <sup>4</sup>	5.1 X10 <sup>4</sup>	1.6 X10 <sup>4</sup>	1.6 X10 <sup>4</sup>
大腸菌群*	0	9.9 X10 <sup>3</sup>	6.7 X10 <sup>2</sup>	4.4 X10 <sup>1</sup>	4.9 X10 <sup>4</sup>	7.0 X10 <sup>2</sup>	1.6 X10 <sup>3</sup>	2.6 X10 <sup>4</sup>	1.2 X10 <sup>3</sup>	1.6 X10 <sup>3</sup>	3.2 X10 <sup>2</sup>	3.2 X10 <sup>2</sup>
低温細菌数*	0	1.2 X10 <sup>4</sup>	7.1 X10 <sup>4</sup>	3.8 X10 <sup>4</sup>	2.5 X10 <sup>4</sup>	6.1 X10 <sup>5</sup>	2.1 X10 <sup>4</sup>	1.7 X10 <sup>4</sup>	3.8 X10 <sup>4</sup>	7.3 X10 <sup>3</sup>	4.6 X10 <sup>3</sup>	4.6 X10 <sup>3</sup>
サルモネラ	0/2**	0/6	2/3	1/8	1/9	N T***	N T	N T	0/6	0/6	0/6	0/6
カンピロバクター	0/2	0/6	0/3	0/8	0/9	N T	N T	N T	0/6	0/6	0/6	0/6
黄色ブドウ球菌	1/2	2/12	2/3	2/8	9/10	N T	N T	N T	4/6	3/6	0/6	0/6
セレウス菌	1/3	0/6	0/3	0/4	0/9	N T	N T	N T	0/6	0/6	0/6	0/6
エルシニア菌	0/2	0/6	0/3	1/4	1/9	N T	N T	N T	1/6	1/6	0/6	0/6
ウェルシュ菌	2/2	3/4	1/3	4/4	6/6	N T	N T	N T	1/6	2/6	0/6	0/6

\*: 細菌数, 大腸菌群, 低温細菌数は平均値

\*\* : 陽性数/検体数を示す。

\*\*\*: 未検査

表 11. 食鳥処理場(埼玉 I) の処理工程における細菌汚染(中抜き法)

処理工程	解 凍 中 冷 却 体										部 分 肉		
	生 放 湯 脱 断 頭 解	鶏 血 漬 羽 脚 部 ぬ	毛 除 切 却 体	湯 と	と	冷	と	も	手	さ	も	手	さ
検 体	検 体	検 体	検 体	検 体	検 体	検 体	検 体	検 体	検 体	検 体	検 体	検 体	検 体
( /g, ml, 100cm <sup>2</sup> )	( /g, ml, 100cm <sup>2</sup> )	( /g, ml, 100cm <sup>2</sup> )	( /g, ml, 100cm <sup>2</sup> )	( /g, ml, 100cm <sup>2</sup> )	( /g, ml, 100cm <sup>2</sup> )	( /g, ml, 100cm <sup>2</sup> )	( /g, ml, 100cm <sup>2</sup> )	( /g, ml, 100cm <sup>2</sup> )	( /g, ml, 100cm <sup>2</sup> )	( /g, ml, 100cm <sup>2</sup> )	( /g, ml, 100cm <sup>2</sup> )	( /g, ml, 100cm <sup>2</sup> )	( /g, ml, 100cm <sup>2</sup> )
細菌数*	3.6 X10 <sup>5</sup>	1.3 X10 <sup>5</sup>	7.5 X10 <sup>5</sup>	2.8 X10 <sup>1</sup>	1.5 X10 <sup>5</sup>	1.3 X10 <sup>5</sup>	2.1 X10 <sup>5</sup>	3.8 X10 <sup>5</sup>	3.7 X10 <sup>5</sup>	2.4 X10 <sup>5</sup>	3.2 X10 <sup>3</sup>	3.2 X10 <sup>3</sup>	3.2 X10 <sup>3</sup>
大腸菌群*	3.6 X10 <sup>1</sup>	1.5 X10 <sup>4</sup>	1.2 X10 <sup>5</sup>	1.9 X10 <sup>1</sup>	5.4 X10 <sup>3</sup>	2.9 X10 <sup>3</sup>	1.8 X10 <sup>3</sup>	3.5 X10 <sup>3</sup>	7.2 X10 <sup>3</sup>	2.2 X10 <sup>3</sup>	6.5 X10 <sup>1</sup>	6.5 X10 <sup>1</sup>	6.5 X10 <sup>1</sup>
低温細菌数*	2.2 X10 <sup>1</sup>	7.4 X10 <sup>4</sup>	4.8 X10 <sup>5</sup>	1.1 X10 <sup>2</sup>	1.7 X10 <sup>5</sup>	1.7 X10 <sup>5</sup>	1.9 X10 <sup>5</sup>	3.4 X10 <sup>5</sup>	3.8 X10 <sup>5</sup>	6.0 X10 <sup>4</sup>	1.2 X10 <sup>3</sup>	1.2 X10 <sup>3</sup>	1.2 X10 <sup>3</sup>
サルモネラ	0/3**	0/9	0/9	0/3	0/9	0/3	0/3	0/3	1/9	0/9	0/9	0/9	0/9
カンピロバクター	1/3	8/9	1/3	1/3	7/9	0/2	0/2	1/2	3/9	3/9	6/9	6/9	6/9
黄色ブドウ球菌	0/3	9/9	7/9	0/3	4/9	2/3	1/3	1/3	4/9	3/9	2/9	2/9	2/9
セレウス菌	3/3	0/9	3/9	0/3	0/9	0/3	1/3	0/3	0/9	0/9	0/9	0/9	0/9
エルシニア菌	0/3	0/9	1/9	1/3	0/9	1/3	0/3	1/3	1/9	3/9	0/9	0/9	0/9
ウェルシュ菌	3/3	2/9	3/9	0/3	1/9	0/3	0/3	0/3	0/9	3/9	0/9	3/9	0/9

\*: 細菌数, 大腸菌群, 低温細菌数は平均値

\*\* : 陽性数/検体数

表 12-1. 食鳥処理場 (千葉RI)の処理工程における細菌汚染(外むき法)

処理工程	生 放 湯 脱		予 冷		断 頭 解		部 分 肉		
	鶏 血 漬	羽 毛	備 冷	却	脚 部	除 切 体	ベルトコンベアー	も	手 さ
検 体	湯 と	と	予冷	冷	と	も	も	も	さ
( /g,ml,100cm <sup>2</sup> )	漬 水	体	却 備水	却 水	体	肉	肉	肉	み
細菌数*	5.2 X10 <sup>5</sup>	2.3 X10 <sup>4</sup>	2.2 X10 <sup>6</sup>	5.3 X10 <sup>4</sup>	N T***	9.5 X10 <sup>5</sup>	2.8 X10 <sup>5</sup>	2.3 X10 <sup>5</sup>	7.4 X10 <sup>3</sup>
大腸菌群*	5	1.0 X10 <sup>3</sup>	7.1 X10 <sup>4</sup>	3.5 X10 <sup>3</sup>	N T	9.5 X10 <sup>3</sup>	6.6 X10 <sup>3</sup>	3.5 X10 <sup>3</sup>	10
低温細菌数*	0	1.3 X10 <sup>2</sup>	7.6 X10 <sup>4</sup>	2.1 X10 <sup>3</sup>	N T	1.6 X10 <sup>4</sup>	3.1 X10 <sup>4</sup>	8.5 X10 <sup>4</sup>	2.8 X10 <sup>4</sup>
サルモネラ	0/2**	1/4	0/2	0/2	N T	0/4	0/6	0/5	0/4
カンピロバクター	0/2	2/4	1/2	1/2	N T	3/4	0/6	0/5	0/4
黄色ブドウ球菌	1/2	1/4	1/2	0/2	N T	2/4	0/6	0/5	0/4
セレウス菌	0/2	1/4	1/2	0/2	N T	0/4	0/6	1/5	0/4
エルシニア菌	0/2	0/4	0/2	0/2	N T	0/4	0/6	0/5	0/4
ウェルシュ菌	0/2	0/4	0/2	0/2	N T	0/4	5/6	3/5	1/4

\*: 細菌数, 大腸菌群, 低温細菌数は平均値

\*\* : 陽性数/検体数

\*\*\*: 未検査

表 12-2. 食鳥処理場 (千葉R2) の処理工程における細菌汚染 (中抜き法)

処理工程	解									
	解					解				
	生	放	湯	脱	断	頭	中	予	冷	解
検 体	鶏	血	漬	羽	脚	部	ぬ	備		
	毛	除	切	き	冷	却	却	却	却	却
	部	除	去	除	却	却	却	却	却	却
ベルトコンベアー										
部 分 肉										
検 体	解									
	解					解				
	湯	と	と	予	冷	と	予	冷	と	解
(/g, ml, 100cm <sup>2</sup> )	漬	水	体	体	水	体	備	水	体	体
	水	体	体	水	水	体	水	水	体	体
	肉	肉	肉	肉	肉	肉	肉	肉	肉	肉
細菌数*	細菌数									
	細菌数					細菌数				
	8.3 X10 <sup>4</sup>	1.5 X10 <sup>5</sup>	1.2 X10 <sup>6</sup>	5.6 X10 <sup>5</sup>	30以下	6.1 X10 <sup>5</sup>	8.9 X10 <sup>4</sup>	6.6 X10 <sup>6</sup>	4.7 X10 <sup>6</sup>	5.4 X10 <sup>4</sup>
大腸菌群*	大腸菌群									
	大腸菌群					大腸菌群				
	0	8.3 X10 <sup>3</sup>	8.7 X10 <sup>4</sup>	1.0 X10 <sup>4</sup>	0	2.0 X10 <sup>4</sup>	1.3 X10 <sup>3</sup>	3.0 X10 <sup>4</sup>	5.4 X10 <sup>3</sup>	4.4 X10 <sup>2</sup>
低温細菌数*	低温細菌数									
	低温細菌数					低温細菌数				
	6.7 X10 <sup>2</sup>	1.5 X10 <sup>4</sup>	1.6 X10 <sup>5</sup>	1.1 X10 <sup>5</sup>	3.9 X10 <sup>1</sup>	7.4 X10 <sup>4</sup>	3.3 X10 <sup>4</sup>	2.1 X10 <sup>6</sup>	2.3 X10 <sup>6</sup>	4.2 X10 <sup>4</sup>
サルモネラ	サルモネラ									
	サルモネラ					サルモネラ				
	0/3**	3/9	3/9	1/3	0/3	3/9	3/9	2/9	3/9	1/9
カンピロバクター	カンピロバクター									
	カンピロバクター					カンピロバクター				
	0/3	0/9	0/3	0/3	0/3	0/9	0/9	7/9	3/9	0/9
黄色ブドウ球菌	黄色ブドウ球菌									
	黄色ブドウ球菌					黄色ブドウ球菌				
	0/3	4/9	4/9	3/3	0/3	4/9	2/9	8/9	2/9	0/9
セレウス菌	セレウス菌									
	セレウス菌					セレウス菌				
	2/3	1/9	0/9	0/3	1/3	2/9	1/9	1/9	1/9	0/9
エルシニア菌	エルシニア菌									
	エルシニア菌					エルシニア菌				
	0/3	0/9	0/9	0/3	0/3	0/9	0/9	0/9	0/9	0/9
ウェルシュ菌	ウェルシュ菌									
	ウェルシュ菌					ウェルシュ菌				
	0/3	0/9	0/9	0/3	0/3	0/9	0/9	0/9	0/9	0/9

\*: 細菌数, 大腸菌群, 低温細菌数は平均値

\*\* : 陽性数/検体数

表 13. 食鳥処理場から採取した食鳥肉の食中毒菌汚染

処理場	処理方法	検体数	サルモネラ	カンピロバクター	黄色ブドウ球菌	セレウス菌	エルシニア菌	ウェルシュ菌
T (岩手)	外むき法	27	1(3.7)	12(44.4)	9(33.3)	0(33.3)	4(14.8)	3(11.1)
I (埼玉)	中抜き法	15	0(0.0)	0(0.0)	0(0.0)	1(6.7)	0(0.0)	9(60.0)
T (埼玉)	外むき法	18	0(0.0)	0(0.0)	7(38.9)	0(0.0)	3(16.7)	3(16.7)
R1 (千葉)	外むき法	45	4(8.9)	25(55.6)	13(28.9)	2(4.4)	5(11.1)	N T
R2 (千葉)	中抜き法	27	3(11.1)	0(0.0)	3(11.1)	0(0.0)	0(0.0)	0(0.0)
その他(埼玉)*		96	12(12.5)	37(38.5)	30(31.3)	N T	26(27.1)	18(18.8)
合 計 ( % )		228	20(8.8)	64(28.1)	62(27.2)	3/132(2.3)**	38(16.7)	33/183(18.0)

\*: 埼玉県内の外むきおよび中抜き処理場35の施設から採取。

\*\*： 陽性数/ 検体数

表 14. 市販食鳥肉の食中毒菌汚染

検体 (調査地)	検体数	サルモネラ	カンピロバクター	黄色ブドウ球菌	エルシニア菌	ウェルシュ菌
鶏肉 (埼玉)	25	7 (28.0)*	17 (68.0)	9 (36.0)	11 (44.0)	6 (24.0)
(奈良)	20	3 (15.0)	13 (65.0)	4 (20.0)	N T	1 ( 5.0)
(岩手)	20	20 (100)	16 (80.0)	0 ( 0.0)	N T	0 ( 0.0)
(仙台)	30	5 (16.5)	13 (43.3)	5 (16.7)	18 (60.0)	8 (26.7)
(千葉)	20	4 (20.0)	7 (35.0)	2 (10.0)	N T	0 ( 0.0)
合 計 ( % )	115	39 (33.9)	66 (57.4)	20 (17.4)	29/55 (52.7)	15 (13.0)

\* : 陽性数/ 検体数 ( % )



## 第Ⅳ章 食肉（食肉製品）の安全性および品質に及ぼす微生物の要因

### 1. 食肉製品（ハムおよびソーセージ）中における黄色ブドウ球菌 およびセレウス菌の増殖と毒素産生

食肉製品（ハム、ソーセージ）中の食中毒菌汚染は、黄色ブドウ球菌とセレウス菌が多く<sup>8)</sup>、また、これらの菌による食中毒もいくつか見られる<sup>21-23)</sup>。特に、ハム、ソーセージなどのスライスものを使用したサンドイッチ、弁当などによる黄色ブドウ球菌食中毒<sup>21)</sup>、または、これらを用いて調理した焼きめし（ピラフ）などによるセレウス菌食中毒<sup>23)</sup>は多く、これらの食肉製品については、衛生管理上重要である。

今回、食肉製品（ハムおよびソーセージ）中における黄色ブドウ球菌（*S. aureus*）の増殖およびエンテロトキシン産生について、保存温度（10℃、25℃、35℃）および保存条件（好気的および嫌氣的）の影響を検討した。またセレウス菌（*B. cereus*）の芽胞と栄養細胞を各々汚染させ、各保存温度（10℃、20℃、32℃）による増殖態度を調べた。

#### 材料および方法

##### （1）材料

市販のスライス真空包装プレスハム（デンプン無添加、水分75%）およびポロニアソーセージ（デンプン添加、水分60%）を用い、菌株として*S. aureus* FRI-361株（エンテロトキシンC<sub>2</sub>産生）、*S. aureus* FRI-722株（エンテロトキシンA産生）および*B. cereus* FM-1株（嘔吐型食中毒由来株）を使用した。なお本実験に用いたハム、ソーセージは、無菌であることを確認されたものである。

##### （2）試料調整

各検体（スライスハム、スライスソーセージ各1枚）に下記の要領で各菌を接種した。*S. aureus* FRI-361および*S. aureus* FRI-722は、BHI培地（BBL製）に培養（37℃、12-16時間）後、遠心分離して、沈渣（菌体）を一定量に懸濁（10<sup>7</sup>個/ml）し、これを希釈して各検体（1枚）に接種（10<sup>3</sup>個/g）した。

*B. cereus*の栄養細胞は、ハートインフュージョン（HI）培養（32℃、12時間）後、遠心して一定の菌液を調整・希釈し、スライスハムに接種（10<sup>1</sup>/g）した。また*B. cereus*芽胞は普通寒天培地で32℃、10日間培養後、芽胞の形成を確認し、芽胞懸濁液を作製・希釈してスライスハムに接種（10<sup>2</sup>/g）した。*S. aureus*の接

種した検体は、好気、嫌気(嫌気ジャーにてガスパックによる嫌気)条件で、それぞれ10℃、25℃、35℃に保存した。また B. cereus は好气的条件で、10℃、20℃、32℃に保存した。

### (3) 細菌検査

食品の細菌検査法<sup>24)</sup>に従って、各検体の10倍乳剤(検体10g+滅菌緩衝液90ml)を作製後、これを適宜希釈し、S. aureus はマンニット食塩卵黄寒天培地、B. cereus はポリミキシン卵黄寒天培地で菌数を測定した。

### (4) ブドウ球菌エンテロトキシンおよび耐熱性DNaseの測定

検体5gにリン酸緩衝液10ml添加し、ストマッカーで処理後、その遠心上清を試料とした。エンテロトキシンはブドウ球菌エンテロトキシン検出用逆受身ラテックス凝集反応(RP LA)キット(デンカ生研)を用いて行った。DNaseはLachice ら<sup>25)</sup>の方法に従って測定した。

## 結果

### (1) ハムおよびソーセージ中の黄色ブドウ球菌の増殖

ハム中のエンテロトキシンC産生菌株(ET-C株)の増殖態度を図10に示す。35℃および25℃の好気および嫌气的条件で保存した場合、菌数は24-72時間後には、いずれも $10^9$ /gのオーダーに達した。しかし、増殖速度は35℃好気が最も早く、次いで25℃好気と35℃嫌気が同程度で、25℃嫌気条件では増殖の遅延が見られた。10℃の保存では、7日後でも殆ど増殖は見られなかった。しかし、それ以後徐々に増殖を示し、21日後には $10^4$ /gに達した。

エンテロトキシンA産生株もET-C産生株と同様の成績で、増殖速度は35℃、25℃の好気、35℃、25℃の嫌気条件の順であった。しかし、嫌気条件では48-72時間の保存後でも、菌数は $10^6$ - $10^7$ /gのオーダーであった。10℃保存では好気・嫌気条件のいずれも、21日間の間増殖は殆ど見られなかった。

### (2) エンテロトキシンおよび耐熱性DNaseの産生

ハムおよびソーセージ中(好气的条件下)のエンテロトキシンAおよびDNaseの産生状況を表15に示す。ハムでは35℃好気条件で、保存12時間後に、菌数は $10^8$ /gに達し、エンテロトキシンは400ng/g以上、DNaseは4μg/g以上を産生した。これに対して、ソーセージでは24時間後に、菌数は $10^8$ /gに達したが、エンテロトキシンおよびDNaseの産生は見られなかった。しかし48時間後には、これらのいずれも検出された。25℃好気条件では、ハムおよびソーセージのいずれも48時間後にエンテロトキシン(40ng/g以上)、DNase(50ng/g)が検出された。25℃嫌気保存では菌数の増殖が見られるが、毒素の産生は全く見られなかった。

### (3) ハム中のセレウス菌増殖

ハムに *B. cereus* 栄養細胞 ( $1 \times 10^1$ /g) と芽胞 ( $1 \times 10^2$ /g) を各々汚染させた場合、10℃保存では栄養細胞および芽胞とも全く増殖しなかった。25℃保存では32℃保存に比べて、増殖は遅延するが、5-6日間後には  $10^7$ - $10^8$ /g オーダに達した。また芽胞接種では栄養細胞に比べて、増殖は遅れ、菌数もやや低い傾向を示した(図11)。

### 考察

ハムおよびソーセージ中で、*S. aureus* および *B. cereus* は 20-25℃ の好気および嫌気条件において十分な増殖を示すが、10℃の好氣的保存では、増殖は遅延するか増殖を示さない。それゆえ衛生管理上、食肉製品の保存は10℃以下の条件を厳守することが重要である。またソーセージに比べてハムは、ブドウ球菌エンテロトキシンの産生が良好であり、食中毒の原因となり易い。これらの食品の取扱い、調理・加工には、十分な注意が必要である。他方、*B. cereus* 汚染はハムに比べて、ソーセージが高いことが知られている<sup>8)</sup>。この汚染の原因として、ソーセージは食肉以外の副原材料が多く使用され、さらにこれらの副原材料(特に香辛料など)は、高率にセレウス菌の汚染を受けている。

### 2. 黄色ブドウ球菌の増殖と毒素産生に及ぼす食肉製品副原材料(香辛料)の影響

香辛料のいくつかは、抗微生物作用を有することが知られている。特に、シナモン、クローブ、マスタード等は抗菌スペクトルが広く、グラム陽性菌に対する抗菌力も強いことが報告されている<sup>26)</sup>。またガーリック、オニオン、オールスパイス、オレガノ、ナツメグ、セージ、ローズマリーなども *S. aureus*, *E. coli*, *V. parahaemolyticus* 等の食中毒菌およびその他の食品細菌の発育を阻害<sup>26,27)</sup>、食品の保存に効果があることが知られている<sup>27,28)</sup>。

本項では、香辛料のうち抗菌力が強く、種々の食肉製品に使用されているクローブと、その主要精油成分であるオイゲノールについて *S. aureus* の増殖、およびエンテロトキシン産生に対する影響を検討した。

## 材料および方法

### (1) 使用菌株

エンテロトキシンA型(ET-A)産生株として *S. aureus* FRI-722株、B型(ET-B)毒素産生株として *S. aureus* 243株、C型(ET-C)毒素産生株として *S. aureus* FRI-361株を用いた。

### (2) 供試材料

クローブ (*Eugenia caryophyllate*)の乾燥原材料(朝岡香辛料)をハンド・ミールで粉末にし、これに10倍量のエチルアルコールを添加、24時間浸漬後、濾過したのち、このろ液を濃縮し、抽出スパイスとして保存した。実験には抽出スパイスをエチルアルコールで適当な濃度に溶解して用いた。また、オイゲノール標品(和光純薬)はエチルアルコールに溶解後、希釈して使用した。

### (3) 実験方法

L字試験管にBrain Heart Infusion(BHI:BBL製)培地10mlを入れ、これに各菌株を接種( $10^4$ - $10^5$ /ml)し、一定の温度で振盪培養した。経時的に培養液を採取し、ブドウ球菌菌数およびエンテロトキシン(以下ET)産生量を測定した。なお、BHI培地にはクローブ抽出物をクローブ原末に概算して0.05% および0.1%濃度に添加した。同様に、オイゲノールは0.01%および0.1%添加して実験を行った。この際、エチルアルコールは1%濃度以下になるように調整した。1%濃度以下のエチルアルコールは、菌の発育およびET産生に影響を与えなかった。

① 菌数の測定： 経時的に採取した培養液(10倍希釈液)をトリプトソイ寒天(Difco製)培地に、スパイラル法により画線塗抹し、37℃で16-18時間培養後、発生した集落数を測定し、培養液1ml当たりの菌数を算出した。

② エンテロトキシンの定量： 培養液を遠心分離(4,000rpm,10分)後、上清液をメブランフィルター(ポアサイズ:0.45μm)で濾過したものを、被検液とした。ET-A, ET-BおよびET-Cは、ブドウ球菌エンテロトキシン検出用RPLAキット(デンカ生研)を用いて定量した。なお、本キットによるET検出感度は2ng/mlである。

## 結果および考察

肉料理および食肉製品には、種々の香辛料(10種類以上)が使用されている。オールスパイス、キャラウェイ、セロリ、クローブ、メース、マージョラム、ナツメグ、セージおよびシナモンなどは、食品細菌に対して強い抗菌力を示すことが知られている<sup>26)</sup>。これらのうちで、特にクローブの抗菌力は強く、ウ

インナーソーセージ等の保存効果に優れていると報告されている<sup>27)</sup>。

ET-A株はクローブ0.05%および0.1%の添加により、増殖およびET産生も抑制された。0.5%の添加では、培養2時間まで菌数の低下が見られ、殺菌作用を有することが認められた。さらに培養24時間後には増殖したが、ET産生は見られなかった。ET-C株も同様に、クローブに対する感受性がみられ、ET産生は0.05%添加では培養4時間、0.1%添加では8時間まで認められなかった。しかし、24時間後には対照（クローブ無添加）と同程度であった。これに対し、ET-B株は0.05-0.5%濃度まで、増殖およびET産生も全く影響をうけなかった。クローブを1%濃度にするにより、増殖は抑制され、ETも8時間まで産生しなかった（図12）。

クローブの主要精油成分であるオイゲノールのS. aureusに対する最小発育阻止濃度（MIC）は0.1%で<sup>26)</sup>、0.05%以下でグラム陽性芽胞形成桿菌の発育は遅延することが報告されている<sup>30)</sup>。本実験でもオイゲノールの濃度 0.01% および 0.1%について、各ET産生株に対する発育とET産生を検討した。ET-A株はオイゲノール0.01%の添加により、8時間までET産生は抑制されたが、24時間後にはわずかに産生した。これに対して、ET-Bおよび ET-C株は、0.01%濃度では発育、ET産生も抑制されなかった。0.1%濃度では8時間まで、発育およびET産生は抑制された。しかし、ET-B株は24時間後には発育、ET産生もわずかに見られた（図13）。次に抽出スパイス（クローブ）を添加し、25℃および37℃保存した時、S. aureus の発育とET産生を検討した。ET-A株はクローブ抽出物を 0.05%添加した時、培養8時間には、25℃および37℃のいずれにおいても発育は同程度で、しかも対照（クローブ無添加）と同じであった。ETはクローブ添加によっても産生したが、その産生量は37℃に比べ25℃保存で減少した（図14）。またET-B株はオイゲノール添加（0.01%）により、25℃保存では全く発育を示さず、ETも産生しなかった。しかし、37℃保存では十分な発育を示し、ETも産生した（図15）。本実験より香辛料（クローブ）は S. aureusの発育および毒素産生を抑制することが明らかである。特に、その抑制は保存温度と香辛料の濃度によって影響を受ける。しかし、今回使用したクローブ濃度は、食肉加工品に使用される濃度に比べて高いものであった。これらの濃度は保存温度を低下することによって、さらに減少させることができると考えられる。McLeanら<sup>31)</sup>は、食肉の S. aureus 増殖およびET産生について、NaClと NaNO<sub>2</sub>を混合して使用した場合、保存温度を低下させることによって、ET産生は抑制されることを報告している。温度管理を十分考慮することにより、食肉製品の微生物を効率的にコントロールすることができ、品質を延長させると考えられる。

### 3. 食肉（鶏肉）の保存における微生物の増殖と物理化学的性状の変化

食品衛生法では、食肉を10℃以下で保存するように規定し、その流通も殆ど5-10℃の範囲で行われているのが現状である。食肉の低温流通を行う場合、食中毒などの衛生面より、腐敗・変敗などの品質面において多くの問題を生ずる。それゆえ、食肉の低温保存（流通）における細菌の増殖と物理化学的性状の変化（品質の劣化）を把握しておくことは、品質管理または衛生指導を行なう場合、有用なデータとなる。

今回、鶏肉を10℃、5℃、および2℃に保存したときの微生物の増殖、および製品の物理化学的性状の変化について検討した。

#### 材料および方法

##### （1）材料

実験には市販および処理場から採取した鶏肉（鶏1羽を1検体）を用いた。

##### （2）方法

微生物学的検査： 細菌数、大腸菌群、低温性細菌〔5-7℃、10日間培養で測定（SPC）、およびCVT培地で測定したもの（CVT）〕、推定サルモネラ（MLCB培地で黒色集落を形成し、サルモネラO血清に反応したもの）を対象に検査した。

物理化学的検査： 水分活性（Aw；電気抵抗式水分活性測定法）、pH（ガラス電極法）、揮発性塩基窒素（VBN；微量拡散法）、K値および臭いについて調べた。

#### 結果および考察

鶏肉（4検体）を10℃で一定期間（0-96時間）保存後、胸肉を採取し、微生物および物理化学的検査を行った（表16-1、16-2）。初発菌数は、細菌数 $2.1 \times 10^5 - 1.0 \times 10^6$ /g、低温細菌（SPC） $1.6 - 2.6 \times 10^6$ /g、同（CVT） $2.6 - 4.0 \times 10^5$ /g、大腸菌群 $5.2 - 5.9 \times 10^3$ /g、推定サルモネラ $1.0 - 3.0 \times 10^2$ /gであった。10℃、48-72時間保存後には、悪臭が認められ腐敗を示した。この時の細菌数は $10^6 - 10^7$ /g、低温細菌（SPC, CVT）も $10^6 - 10^7$ /gに達した。また、10℃の保存では大腸菌群、サルモネラも良好な増殖を示した。

物理化学的性状として、VBNは96時間保存後に19～21mg/100gとなり、初期腐敗の値を示した。しかし、VBNと細菌の増殖および悪臭とは平行しなかった。

Aw, pHは殆ど変化しなかった（表17-1、17-2）。次に2℃、5℃および10℃に保存した時の、細菌数および物理化学的变化について調べた（図16）。2℃保存では7日以後、5℃では5日目から細菌の増殖が見られた。BVNの変化は著明に見られなかったが、K値は保存経過日数に伴って上昇した。

以上の結果から、腐敗の測定に用いられる物理化学的検査としては、K値が有効であると考えられる。しかし、細菌の増殖が見られない時でも、K値は増加した。また臭いの検査は、高感度ではあるが個人差が大きく、客観的な測定方法とは言いがたい。今後、さらに食肉の腐敗検査に有効な高感度検出法が開発されることにより、食肉の品質管理は容易になると推察される。

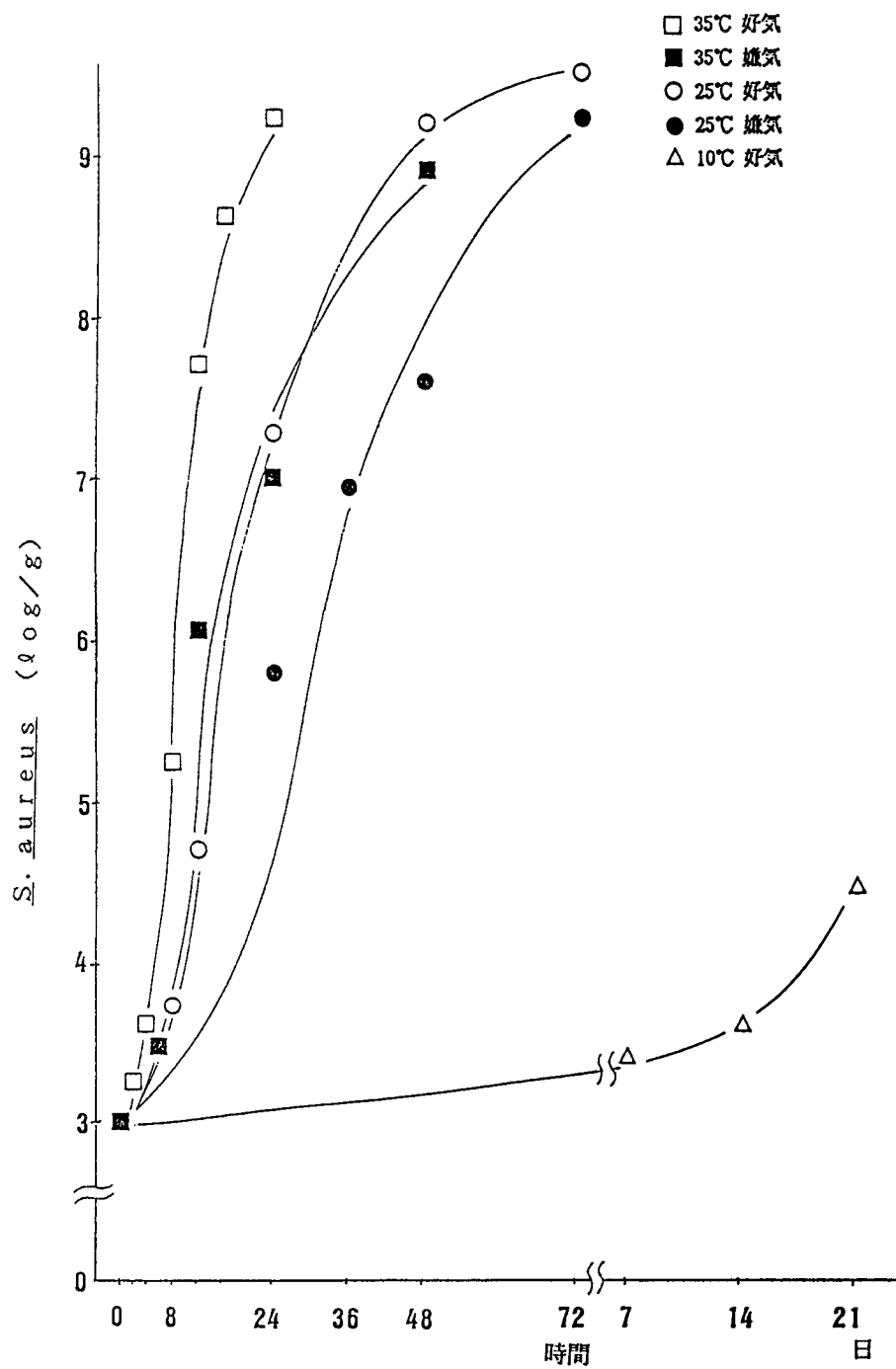


図 10. 食肉製品（ハム）中のエンテロトキシン産生黄色ブドウ球菌の増殖



表 15. ハムおよびソーセージ中の黄色ブドウ球菌エンテロトキシンA  
および耐熱性DNaseの産生

保存 温度	保存 時間	ブレスハム		ソーセージ			
		菌 数 (log/g)	エンテロキシン (ng/g)	耐熱性DNase ( $\mu$ g/g)	菌 数 (log/g)	エンテロキシン (ng/g)	耐熱性DNase ( $\mu$ g/g)
35℃	(初 発)	3.99	(-)*	(-)	3.92	(-)	(-)
		8.15	>400	4.0	5.38	(-)	(-)
		8.98	>400	40.0	8.32	(-)	(-)
		9.32	>400	40.0	9.28	>40	0.04
		9.08	>400	60.0	9.53	>40	3.20
25℃	12時	5.11	(-)	(-)	4.74	(-)	(-)
	24時	6.72	(-)	(-)	6.08	(-)	(-)
	48時	8.52	>40	2.0	9.04	>40	0.50
	72時	8.90	>400	60.0	8.95	>40	0.52
10℃	8日	3.86	(-)	(-)	3.72	(-)	(-)
	0日	4.86	(-)	(-)	3.52	(-)	(-)

\* エンテロトキシン(-): 4ng/g以下    耐熱性DNase(-): 0.01  $\mu$ g/g以下

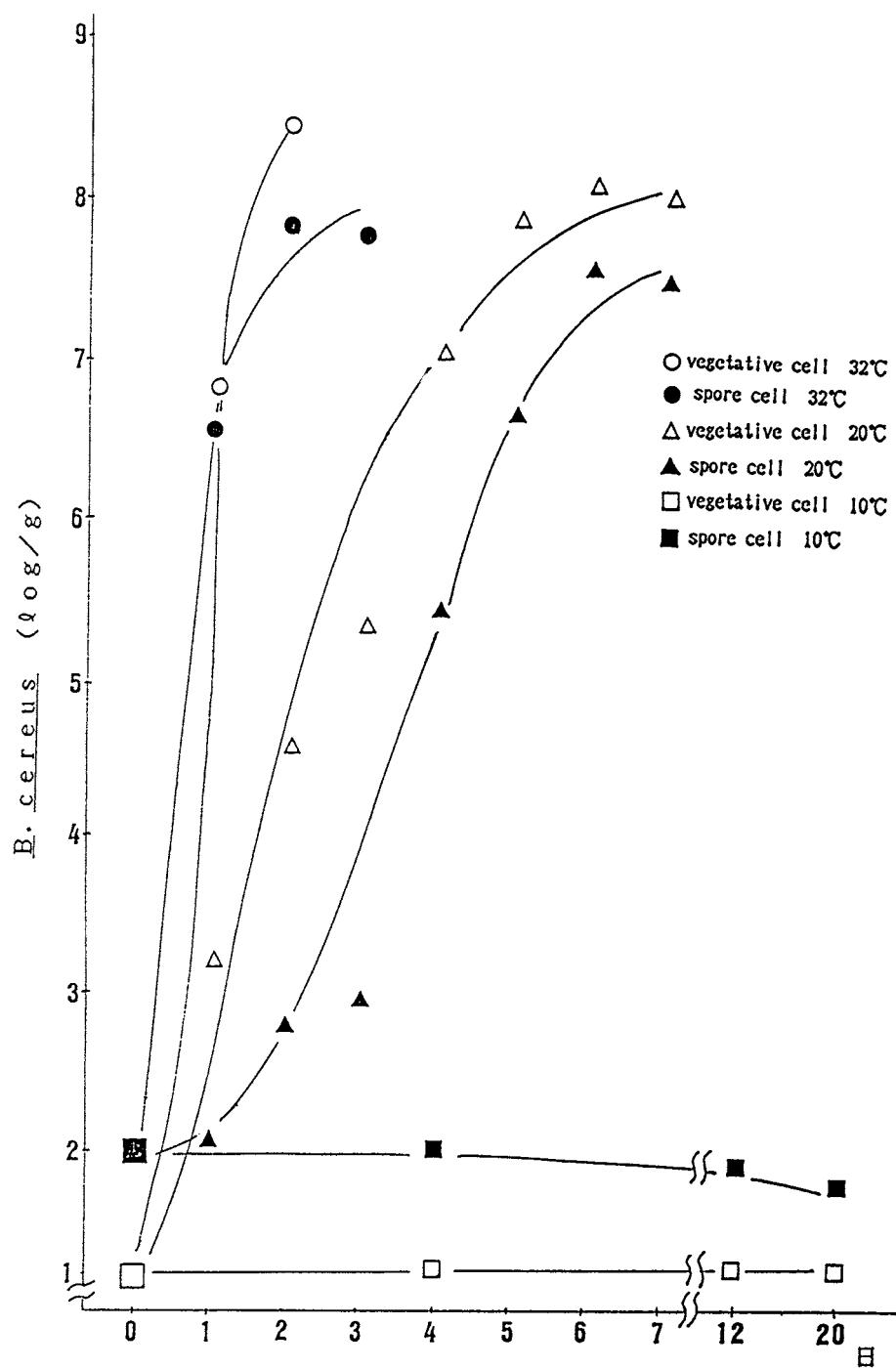


図 11. 食肉製品（ハム）中のセレウス菌（栄養細胞，芽胞）の増殖

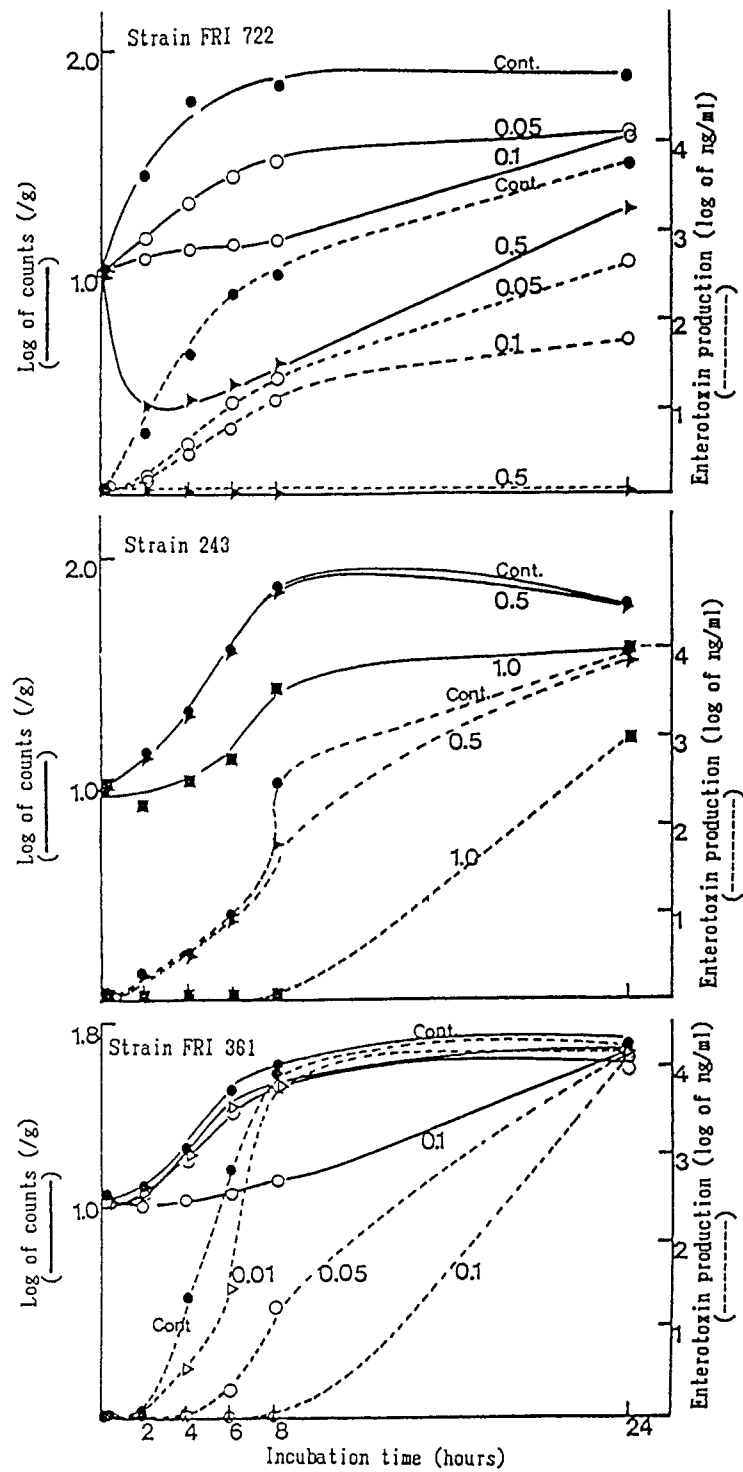


図12. クローブ添加による各型エンテロトキシン産生  
黄色ブドウ球菌の増殖と毒素産生

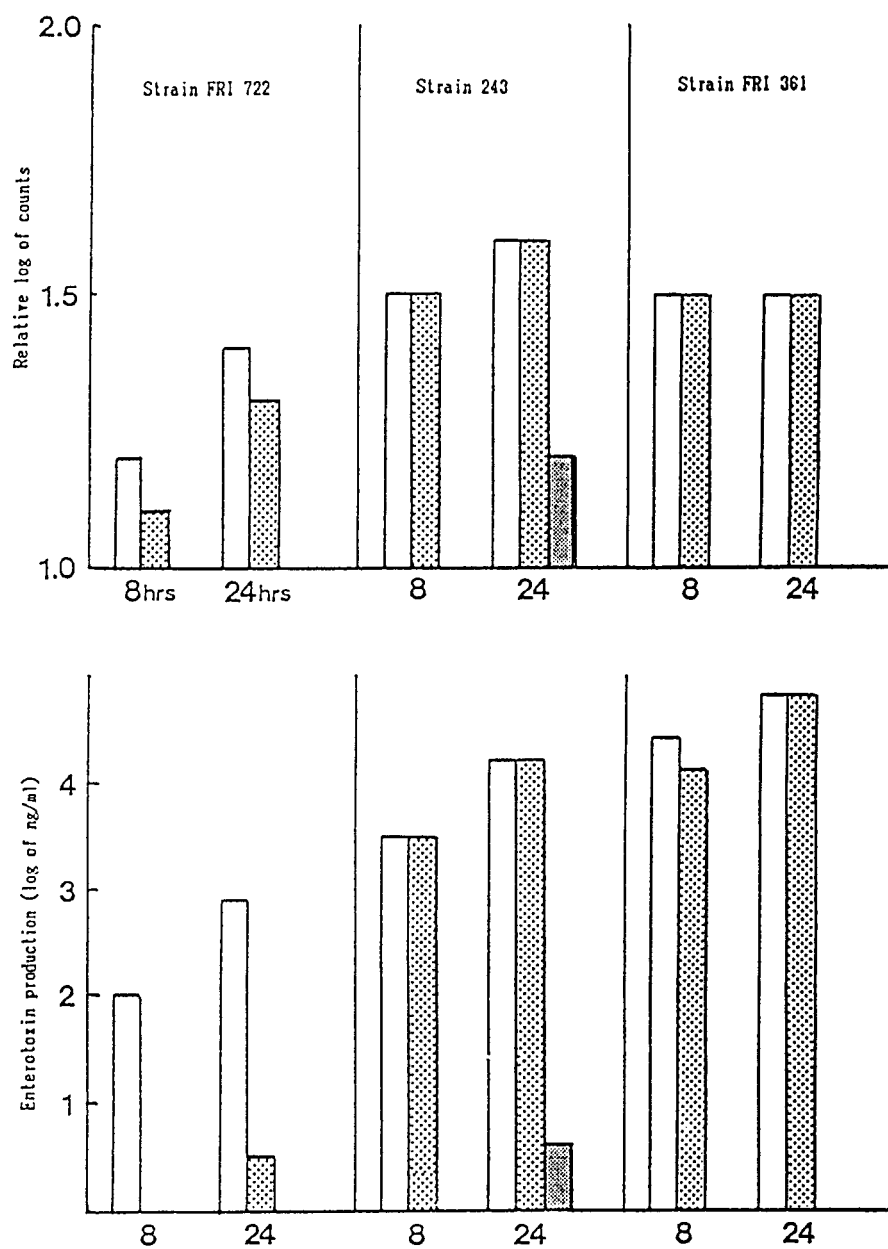


図 13. オイゲノール添加による各型エンテロトキシン産生  
黄色ブドウ球菌増殖と毒素産生  
—37℃, 8時間および24時間培養—

□ cont.    ▨ 0.01%    ▩ 0.1%

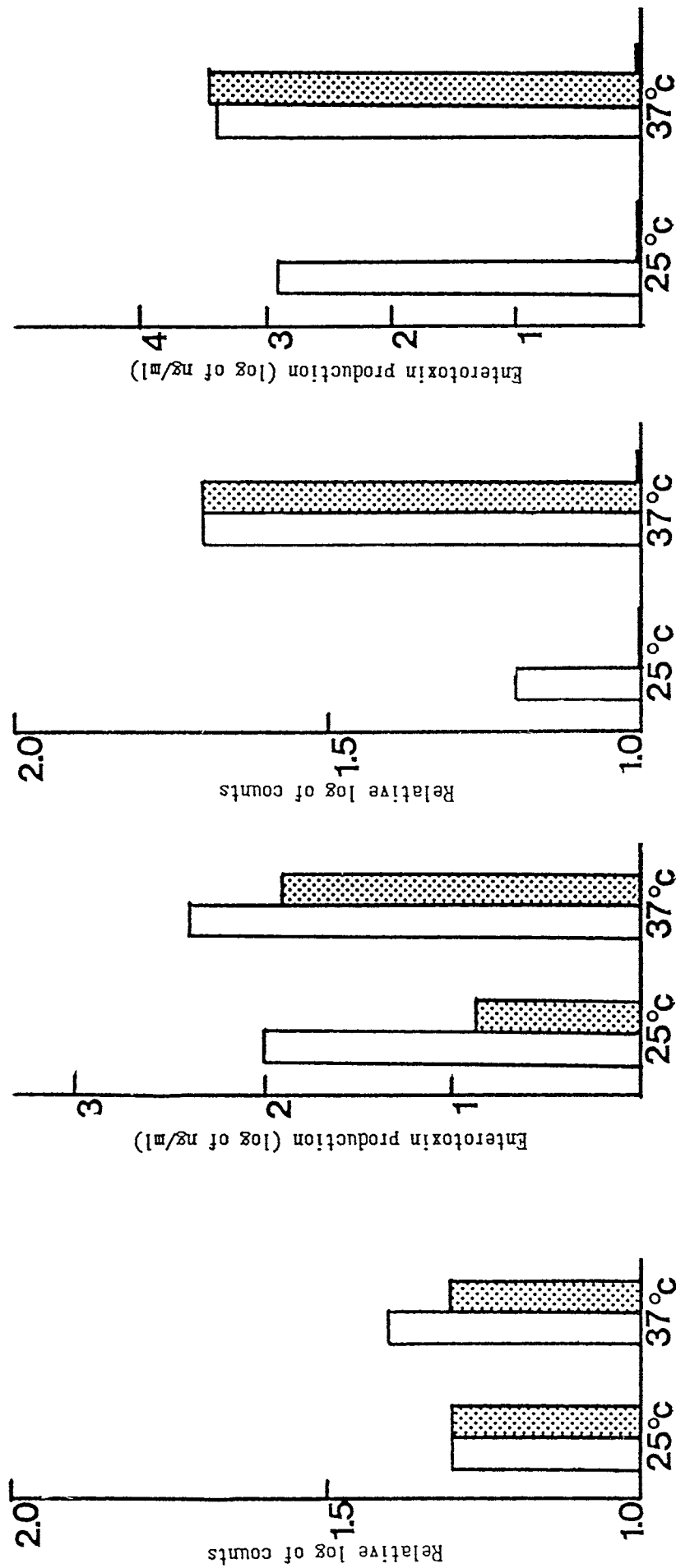


図 14. クローブ添加による黄色ブドウ球菌の増殖と  
エンテロトキシンA産生  
— 25°Cおよび37°C, 8時間—  
□ Cont. [.] Clove

図 15. オイゲノール添加による黄色ブドウ球菌の増殖と  
エンテロトキシンB産生  
□ Cont. [.] 0.01%

表 16-1. 食鳥肉の10℃保存における微生物の増殖と物理化学的性状の変化

A	保 存 時 間				
	0 h r	24 h r	48 h r	72 h r	96 h r
細菌数	5.6	5.8	6.7	7.2	8.5
低温細菌(SPC)	6.2	6.4	7.1	7.7	8.2
低温細菌(CVT)	5.5	5.6	6.6	7.7	8.2
大腸菌群	3.7	4.6	5.8	7.1	7.8
<i>Salmonella</i>	2.3	2.9	4.1	4.9	5.8
VBN <sup>*1</sup>	9.020	12.920	14.050	14.150	21.230
Aw <sup>*2</sup>	0.962	0.971	0.970	0.969	0.972
pH	5.870	5.950	5.960	5.950	5.870
臭い	—	—	—	±	+

B	保 存 時 間				
	0 h r	24 h r	48 h r	72 h r	96 h r
細菌数	5.8	5.7	6.5	7.1	8.3
低温細菌(SPC)	6.0	6.3	7.0	7.0	8.1
低温細菌(CVT)	5.4	5.5	6.7	7.9	8.1
大腸菌群	3.7	4.3	6.0	6.9	7.8
<i>Salmonella</i>	2.5	2.7	3.9	5.0	5.3
VBN <sup>*1</sup>	12.920	12.720	13.540	14.150	19.080
Aw <sup>*2</sup>	0.965	0.970	0.968	0.965	0.963
pH	5.910	5.930	5.960	6.000	5.790
臭い	—	—	—	±	+

\*1 VBN:揮発性塩基窒素, \*2 Aw:水分活性

表16-2. 食鳥肉の10℃保存における微生物の増殖と物理科学的性状の変化

C	保 存 時 間				
	0 h r	24 h r	48 h r	72 h r	96 h r
細菌数	5.3	5.4	6.6	6.9	8.3
低温細菌(SPC)	5.7	6.2	7.0	7.4	8.0
低温細菌(CVT)	5.4	5.4	6.5	7.4	8.0
大腸菌群	3.7	4.0	6.0	6.9	7.7
<i>Salmonella</i>	—	2.3	4.0	5.0	5.1
VBN <sup>*1</sup>	9.380	12.610	12.410	13.640	21.230
Aw <sup>*2</sup>	0.966	0.968	0.977	0.961	0.964
pH	6.000	5.900	5.940	5.860	5.970
臭い	—	±	+	+	+

D	保 存 時 間				
	0 h r	24 h r	48 h r	72 h r	96 h r
細菌数	6.0	6.1	6.7	7.2	8.3
低温細菌(SPC)	6.4	6.4	7.0	7.5	8.1
低温細菌(CVT)	5.6	5.7	6.9	7.5	8.1
大腸菌群	3.8	4.5	6.0	6.6	8.0
<i>Salmonella</i>	2.0	3.2	4.0	4.6	4.9
VBN <sup>*1</sup>	12.000	12.460	12.410	14.770	20.770
Aw <sup>*2</sup>	0.966	0.970	0.977	0.972	0.965
pH	5.920	5.890	5.870	5.850	5.820
臭い	—	—	±	+	+

\*1 VBN:揮発性塩基窒素, \*2 Aw:水分活性

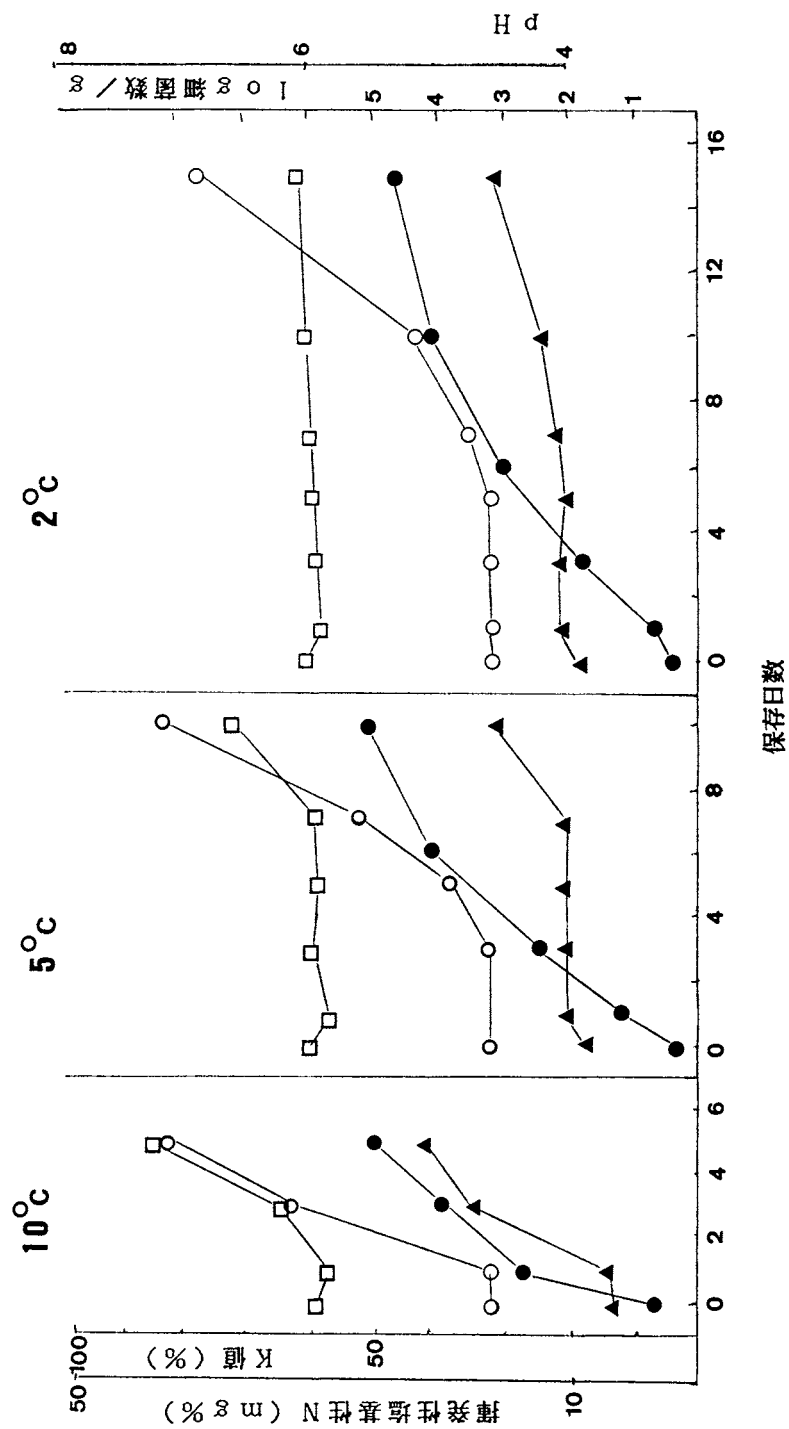


図 16. 2°C, 5°C, および 10°C 保存における鶏肉中の細菌数, pH, 揮発性塩基性窒素, および K 値の変化

O:細菌数 ▲:揮発性塩基性 N □:pH ●:K 値



## 第V章 食品の細菌検査における簡易、迅速試験法の開発

### 1. 蛍光酵素反応による大腸菌群の迅速測定法

食品の微生物学規格には、主に一般細菌数と大腸菌群が指定されており、食品製造・加工場では製品の品質管理のために、これら細菌検査が実施されている。しかし、これらの検査の判定には、少なくとも1-7日間を要す。それゆえ検査結果が判明したときは、日配形式の食品等ではすでに消費されており、検査の迅速性が要求されてきている。食肉製品についても食品衛生法では大腸菌群陰性と規定されており、その検査には推定・確定・完全試験まで行なうと6-7日間を要する<sup>24)</sup>。食肉加工メーカーでは衛生・品質管理の立場から、迅速な大腸菌群検出法の開発が望まれている。

本研究では、蛍光酵素反応を利用する大腸菌群の迅速検査方法(蛍光酵素法)を確立し、さらに蛍光酵素法とこれまで用いられている公定法<sup>24)</sup>について、検出率を比較検討した。

#### 材料および方法

##### (1)実験材料

本実験には市販の各種加工食品を使用した。各検体の10倍乳剤(滅菌生理食塩水で希釈)を作製し、これを試験に供した。

##### (2)蛍光酵素法による大腸菌群の測定

###### ① 測定原理

大腸菌が産生する酵素( $\beta$ -ガラクトシダーゼ)を蛍光基質(4-メチルーウンベリフェリール・D-ガラクトース; 4-MUG)に反応させた後、4-メチルーウンベリフェロン(4-MU)の蛍光を測定することにより、大腸菌群の有無を測定する。

###### ② 測定方法

大腸菌群検査用キット・BIORAPID-E(味の素製)を用いて実験を行った。食品乳剤(1ml)を0.05%デソキシコール酸添加ハートインフュージョン(HI)培地(4ml)に接種し、次いで酵素誘導剤のイソプロピールチオガラクトシド(IPTG)溶液(0.25ml)を添加、37℃で振盪培養(110ppm, 振幅7cm)を行った後、遠心分離(3,000rpm, 10min)により集菌、これに基質の4-MUGを加え(3ml)、さらにトル

エンを 1-2滴滴下して、恒温水槽中で40℃、1時間反応させた。次いでアルカリ緩衝液で反応を停止させた後、遠心分離により上清を得た。この上清中の蛍光強度を蛍光分光光度計あるいは蛍光分析計により、励起波長360 nm, 蛍光波長450nmで測定した（図17）。

### ③ 平板培養法による大腸菌群の測定

デソキシコレート寒天培地を用い常法<sup>24)</sup>に従い実施した。形成された定型のなコロニーを計測し、1gあたりの大腸菌群を算出した（以下デソ平板法）。

## 結果および考察

食品から分離された *E. coli*, *K. oxytoca* および *E. cloacae* の3菌株を用いて、本キットの有用性を検討した。各菌株をデソキシコール酸添加HIに接種（7-8×10<sup>3</sup>/ml）した時、培養1時間後に相対蛍光強度は顕著に高くなった。特に、デソ平板法では大腸菌群として見落とし易い *E. cloacae* を明瞭に検知することができた（表17）。次に、ハムの乳剤に各菌液を接種（1-10<sup>3</sup>/ml）し、蛍光度の変化を調べた。初発菌量が多くなるにつれて蛍光強度も高くなった。また、接種菌が少ない（1個/ml）場合でも、4時間の培養で、相対蛍光強度は陽性判定基準の1.2以上となった（表18）。

以上の結果より、本法は大腸菌群検査に十分有効であることが明らかになった。そこで、デソ平板法で大腸菌群陽性を示した市販食品について、各培養時間ごとの蛍光強度を調べた（表19）。蛍光強度と菌数との間には相関関係は認められなかったが、7時間の振盪培養により、大腸菌群の存在は十分確認できた。そこで惣菜、弁当などの調理食品、冷凍食品、食肉製品などの加工食品、菓子および生肉・魚介類などの各種食品計110検体について、デソ平板法と蛍光酵素法とによる大腸菌群の検出率の比較を行なった（表20）。食品の種類によって、多少の相違が見られたが、両方法は約92%の一致率を示した。

蛍光酵素法による大腸菌群の検出は有効であり、食品の品質管理等に十分応用できると考えられる。しかし、本法は操作が繁雑で、蛍光分析計などの機器を必要とし、また、その判定には10時間前後要する。そこで蛍光物質である4-MUを紫外線灯下あるいは自然光下で目視的に検知できるかどうかについて、蛍光分析計と目視法とについて比較検討した（表21）。蛍光分析計による測定値に比して、目視法の感度は標準物質（4-MU）濃度にして1オーダー低下したが、紫外線灯下での目視法により十分測定できることがわかった。次いで種々の食品126検体について、デソ平板法と蛍光酵素法による蛍光分析法および紫外線灯下あるいは自然光下での目視法による、大腸菌群の検出率を比較した。目視法

は蛍光分析法と同様に、デソ平板法と相関性が高いことが明らかになった(表 22)。しかし、デソ平板法で陰性のものでも蛍光酵素法では陽性を示すものが見られ、この点については今後さらに検討する必要がある。

大腸菌群検出用キット (BIORAPID-E)を用いる蛍光酵素法による食品からの大腸菌群の検出は、自然光下あるいは紫外線灯下でも十分に用いることができる。しかし、食品の品質管理に活用するためには、短時間で検出できるように操作手順等をさらに改良する必要がある。また本方法より検出感度の優れた簡易検査法の開発も必要であろう。

## 2. セレウス菌エンテロトキシン検出のための逆受身ラテックス凝集反応の開発

セレウス菌(*B. cereus*)は土壌、汚水、大気自然界に広く分布し、種々の食品を汚染して食中毒や腐敗を起こすことが知られている。本食中毒には「下痢型」と「嘔吐型」の二つの異なった型があり、これらはいずれも *B. cereus*の産生する菌体外毒素——下痢原性毒素(エンテロトキシン)と嘔吐毒——によって起こると考えられている<sup>32)</sup>。

エンテロトキシンの検出は、一般にウサギ(またはマウス)結紮腸管ループ試験、ウサギ(またはモルモット)皮内血管透過性亢進試験等の生物学的試験が行われている<sup>33)</sup>。しかし、これらの試験は、操作が繁雑で容易に行うことができない。

本研究は、簡易で高感度の毒素検出法である逆受身ラテックス凝集反応(RPLA)を開発し、さらに、本方法の有用性について各種由来 *B. cereus* のエンテロトキシン産生性を調べた。

### 材料および方法

#### (1) 感作ラテックスの作製

精製エンテロトキシンを CNBr-Sepharose 4B にカップリングしたカラムを用いて、精製毒素を注射して作製したウサギ抗毒素血清から、特異抗毒素IgGを精製した。本抗毒素 IgG をラテックス粒子(0.75 $\mu$ m)に吸着させ、感作ラテックスを作製した(図18)。本感作ラテックスを 0.16% (0.5%BSA 加 0.075 M PBS, pH7.2)濃度に浮遊させ、4℃に保存して使用した。なお、対照ラテックスとして、感作ラテックスと同様な方法により正常ウサギ IgGをラテックスに

吸着させた。

#### (2) 逆受身ラテックス凝集反応

V型マイクロプレート(96穴)を使用し、検体(25 $\mu$ l)を2倍階段希釈した後、感作ラテックス(25 $\mu$ l)を滴下し、室温で18-20時間静置した。判定は対照ラテックスに比べ明かに凝集が認められたもの(+以上)を陽性とした。本試験法の検出感度は、精製エンテロトキシン(1 $\mu$ l/ml)を2倍階段希釈し、凝集(+)を示した最終希釈倍数から算出した。

#### (3) 逆受身ラテックス凝集反応の特異性

黄色ブドウ球菌、ウェルシュ菌、毒素原性大腸菌、コレラ菌、腸炎ピブリオの各精製毒素および培養液(粗毒素)について、逆受身ラテックス凝集反応を実施した。また、セレウス菌と同属の菌種(*B. lichenformis*, *B. megaterium*, *B. pumilus*など)のBHI培地の培養遠心上清についても検討した。

#### (4) 各種由来*B. cereus*のエンテロトキシン産生

*B. cereus*「下痢型」(32株)および「嘔吐型」(103株)食中毒由来菌、計135株、各種食品由来のデンプン分解陽性株(50株)および陰性株(50株)、計100株、および土壌由来のデンプン分解陽性株(25株)および陰性株(25株)、計50株について、1%ブドウ糖加BHI培地で培養(32 $^{\circ}$ C, 6時間)後、遠心上清(毒素液)を作製し、逆受身ラテックス凝集反応とマイクロゲル内沈降反応試験により毒素産生性を調べた。

### 結果および考察

#### (1) 逆受身ラテックス凝集反応によるエンテロトキシン検出

逆受身ラテックス凝集反応による最少の毒素検出量は2-4ng/mlであった。さらに、逆受身ラテックス凝集反応法では黄色ブドウ球菌、ウェルシュ菌、毒素原性大腸菌の各エンテロトキシンおよび腸炎ピブリオ耐熱性溶血毒などの精製毒素(1-100 $\mu$ g/ml)に対して、また、これらの各菌の培養上清(粗毒素)に対しても、全く反応を示さなかった(表23)。さらにセレウス菌の類属菌種についても全く反応せず、本方法は高い特異性を有することが認められた。しかし、セレウス菌に極めて類似する *B. thuringensis* は、エンテロトキシンの産生が認められた。

#### (2) 逆受身ラテックス凝集反応による各種由来セレウス菌のエンテロトキシン産生

食中毒由来菌株のうち、「下痢型」由来株(全てデンプン分解陽性)では21

株(65.6%)、「嘔吐型」由来株(全てデンプン分解陰性)ではわずかに2株(1.9%)がエンテロトキシンを産生した。また、逆受身ラテックス凝集反応で3200倍(エンテロトキシン6.4-12.8 $\mu$ g/ml)以上の高い毒素産生性を示すものが9株見られた。食品由来のうち、デンプン分解陽性株では28株(56%)、陰性株では1株(2%)がエンテロトキシンを産生した。自然界(土壌)由来のデンプン分解陽性菌株では12株(48%)、陰性菌株では5株(20%)が毒素産生を示した(図19)。

*B. thuringensis* (全てデンプン分解陽性)では18/23株(78.3%)がエンテロトキシンを産生した。

逆受身ラテックス凝集反応で800倍(1.6-3.2 $\mu$ g/ml)以上の陽性を示したものは、ゲル内沈降反応でも1倍(2.5 $\mu$ g/ml)以上の希釈で陽性を示し、両者には相関関係が認められた(図19)。

以上の結果より、逆受身ラテックス凝集反応によるエンテロトキシン検出法は、感度も高く、特異性も高いことが認められた。本方法は食中毒の診断または食品中のセレウス菌の食中毒原性を調べるのに、有効な手段となり得ると考えられる。食肉加工品(ハム・ソーゼージなど)中には、多数のセレウス菌の汚染がみられる<sup>8)</sup>。今後、これらの菌株についても毒素産生性を調べ、食肉加工品の安全性を評価する必要がある。

## 謝辞

大腸菌群の迅速測定法の確立に関しては、味の素k.k. 内尾良輔、三輪治文の両氏の協力により、また、セレウス菌エンテロトキシン検出法の逆受身ラテックス凝集反応の開発に関しては、デンカ生研 杉山純一氏の協力を得て行われた。記して深謝致します。

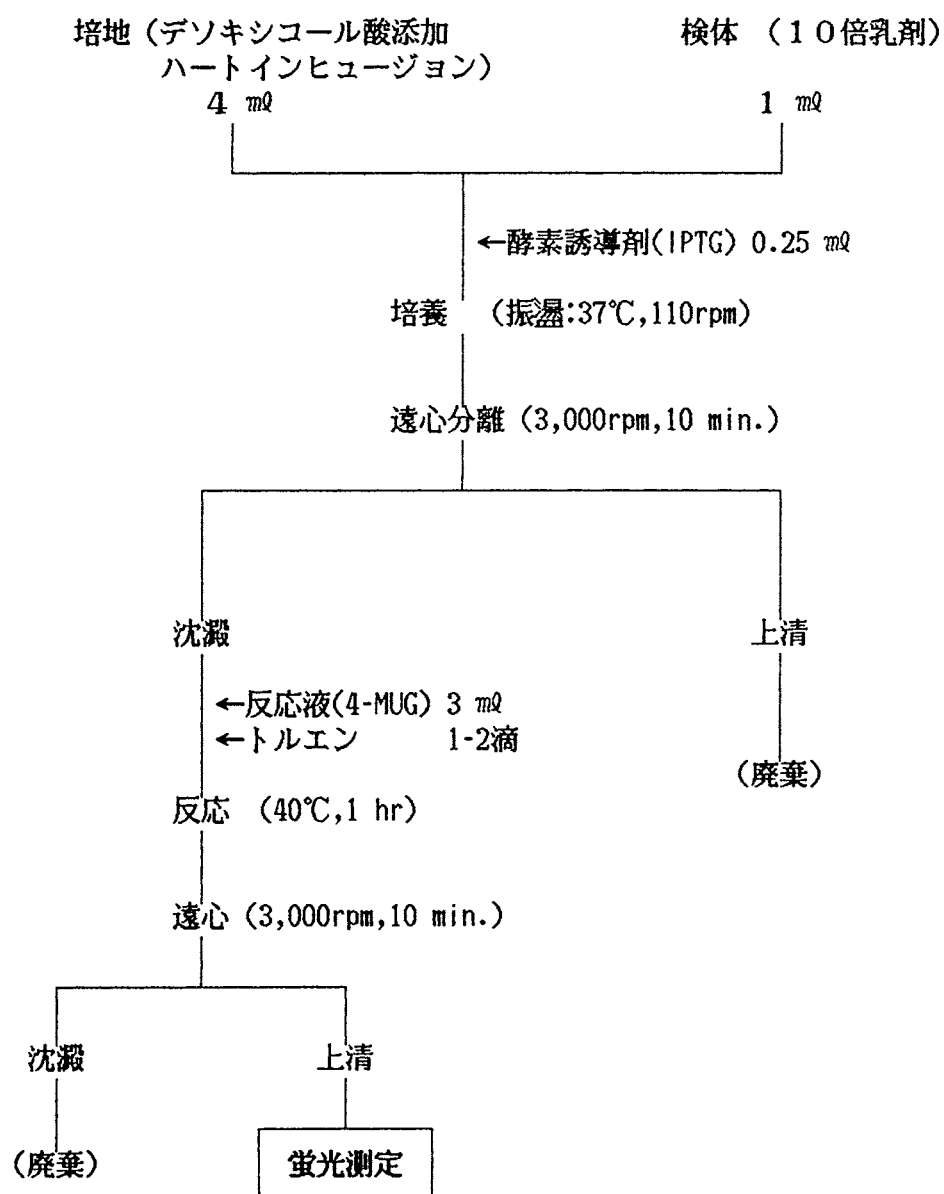


図 17. 酵素蛍光法による大腸菌群の検査法

表 17. 食品より分離した大腸菌群の蛍光強度

菌株 (初発菌量)	培養時間 (hrs)		
	2	4	7
<i>E.coli</i> (80/ml)	1.1 <sup>*1</sup> (-) <sup>*2</sup>	13.7 (+)	251.4 (+)
<i>K.oxytoca</i> (70/ml)	1.1 (-)	10.6 (+)	219.7 (+)
<i>E.cloacae</i> (80/ml)	1.1 (-)	5.3 (+)	41.5 (+)

\*1 : 相対蛍光強度 = 試験群強度 / 対照群強度

\*2( ) : 紫外線灯 (3,660 Å) 下での蛍光の有無

表 18. ハム中の大腸菌群の蛍光強度

菌 株	接種菌量 <sup>*1</sup>	培養時間 (hrs)		
		2	4	7
<i>E.coli</i>	1/ml	NT <sup>*2</sup>	1.3(+)	2.4(+)
	10	NT	1.3(+)	2.7(+)
	100	NT	1.8(+)	53.7(+)
	1000	4.4(+) <sup>*3</sup>	10.5(+)	342.0(+)
<i>K.oxytoca</i>	1/ml	NT	1.3(+)	1.8(+)
	10	NT	1.4(+)	10.0(+)
	100	NT	1.4(+)	134.0(+)
	1000	1.3(+)	2.7(+)	2339.0(+)
<i>E.cloacae</i>	1/ml	NT	1.3(+)	1.6(+)
	10	NT	1.4(+)	4.4(+)
	100	NT	1.4(+)	88.4(+)
	1000	1.4(+)	2.0(+)	286.7(+)

\*1 : ハムの10倍乳剤に一定数の各菌を接種

\*2 : 検査せず

\*3(+): 紫外線灯 (3,660 Å) 下での蛍光の有

表 19. 市販食品の大腸菌群数と蛍光強度

食 品	デソ平板法による 大腸菌群数	蛍光酵素法による蛍光強度		
		培養時間(hrs)		
		2	4	7
冷凍食品	—	1.1	1.0	0.8
サラダ	—	1.1	1.0	1.0
野菜サラダ	—	1.0	1.1	0.9
弁当（ノリ）	—	1.0	1.0	1.1
弁当（照焼き）	500/g	1.0	1.1	1.2
いなりずし	> 30,000/g		5.6	10.7
鶏肉 1	110/g	1.0	1.1	24.2
鶏肉 2	320/g	1.0	1.3	16.9
鶏肉 3	950/g	1.5	1.8	10.8

表 20. デソ平板法と蛍光酵素法による大腸菌群の検出率

食品群	検体数	大腸菌群の検出				一致率 (%)
		デソ平板法		蛍光酵素法		
		+	-	+	-	
調理食品 (惣菜、弁当)	69	41	28	45	24	94.7
加工食品 (冷食、畜肉)	18	3	15	5	13	88.9
菓子類	16	12	4	15	1	81.3
生肉・魚介	7	7	0	7	0	100
計	110	63	47	72	38	92.1



表 2 1. 各濃度4-MUの蛍光強度と目視的判定結果

4-MU濃度 (Mol)	蛍光強度* <sup>1</sup>	目視による蛍光の判定	
		紫外線灯下* <sup>2</sup>	自然光下
10 <sup>-7</sup>	50	±	-
10 <sup>-6</sup>	490	+	-
10 <sup>-5</sup>	5,040	+	-
10 <sup>-4</sup>	51,100	+	-

\*1 蛍光分析計（励起波長：360nm、蛍光波長：450nm）で測定

\*2 紫外線(3660 Å)照射下で判定

表 2 2. 蛍光酵素目視法による大腸菌群判定結果

デソ平板法		蛍光酵素			
		蛍光計法		紫外線灯下	
判定	検体数	判定	検体数	判定	検体数
+	92	+	92	+	92
		-	0	-	0
-	34	+	4	+	3
		-	30	-	31
デソ平板法 との一致率(%)		97		98	

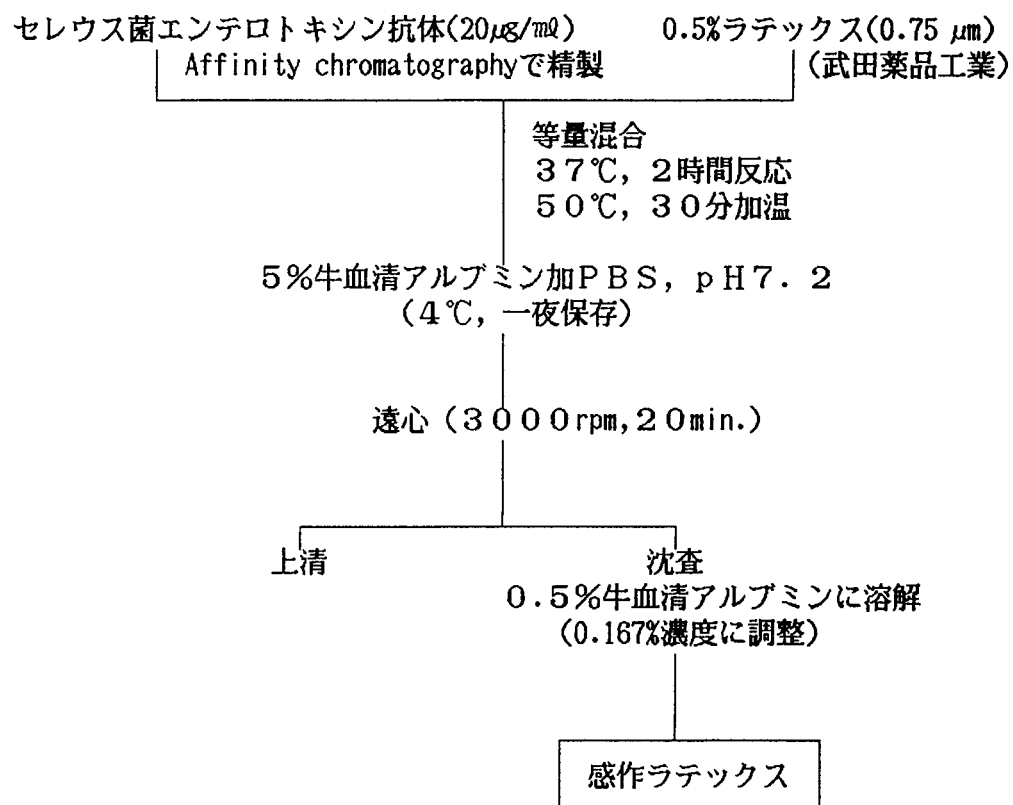


図 18. 抗セレウス菌エンテロトキシン感作ラテックスの作製法

表 23. ラテックス凝集反応の検出感度と特異性

毒素の種類	毒素濃度 ( $\mu\text{g}/\text{mL}$ )	RPLA力価		ラテックス凝集 反応判定
		感作ラテックス	未感作ラテックス	
セレウス菌 エンテロトキシン	0.01	1:4	<1:2	+
	0.002	1:2	<1:2	+
	0.0001	<1:2	<1:2	—
大腸菌 エンテロトキシン LT ST	1.0	<1:2	<1:2	—
	1.0	<1:2	<1:2	—
ウエルシュ菌 エンテロトキシン	6.0	<1:2	<1:2	—
ブドウ球菌 エンテロトキシン A B C D	128	<1:2	<1:2	—
	25	<1:2	<1:2	—
	6.4	<1:2	<1:2	—
	3.2	<1:2	<1:2	—
コレラ エンテロトキシン	128	<1:2	<1:2	—
腸炎ビブリオ 溶血毒	1.0	<1:2	<1:2	—

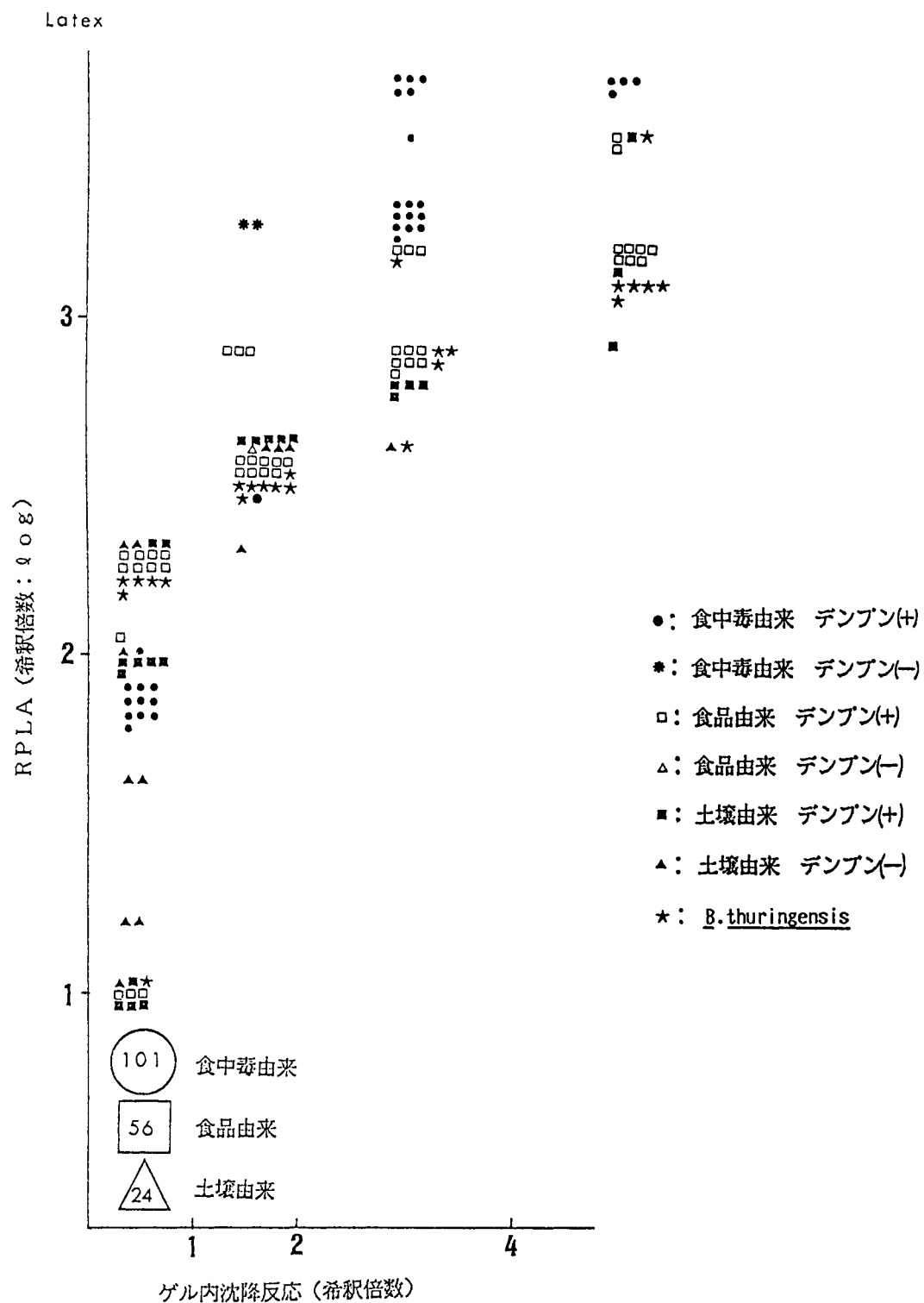


図 19. セレウス菌エンテロトキシンの産生  
 —RPLA法とゲル内沈降反応の相関性—

## 総括

食肉および食肉製品による、食品衛生上の事故(食中毒、腐敗など)を未然に防ぐためには、的確な微生物管理システムを作成し、これらの食品の安全性および品質を確保することが重要である。食品の微生物コントロールに用いる対象微生物は、食中毒や腐敗などの発生データおよび食品の微生物汚染状況等に基づいて、設定されるべきであり、さらに危害度の高いものを優先的に取り上げる必要がある。

わが国における食中毒発生データからみると、食肉および食肉製品の対象微生物は、サルモネラ、カンピロバクターおよび黄色ブドウ球菌であり、次いでウェルシュ菌、エルシニアおよびセレウス菌である。特に、サルモネラおよびカンピロバクターは危害性も高く、国際食品微生物規格委員会 ( I C M S F ) では、危害度 4 と設定している<sup>1)</sup>。

食肉の微生物学的安全性を評価する場合、統一した試験法(サンプリング法を含む)により、その汚染率、汚染菌量を調べ、さらに、食品の特性、流通および消費形態などを考慮して総合的に判定すべきである。本研究では、食肉(鶏肉)中のカンピロバクターおよびサルモネラについて、検体採取量と汚染率(菌数)を検討した結果、カンピロバクターはサルモネラに比べ汚染率も高く、汚染菌数も 1 オーダー以上高いことが明らかになった。それゆえ、食肉の微生物管理には、サルモネラは検体 10g、カンピロバクターは検体 1g を用いる検査法が妥当であると推察された。しかし、検体採取量を増すことにより、これらの汚染率は上昇を示すことから、食肉の微生物学的安全性を的確に評価するには、より多くの検体量を用いて検査することが望ましい。

各種食肉の中で、食鳥肉は最も食中毒菌汚染が高い。食鳥肉の微生物コントロールには、食鳥処理場での衛生管理を十分行うことが重要であり、このためには処理工程中の汚染状況を把握し、監視ポイントを明かにすることである。また、その検査は、一定の試料採取法および試験を用いて行う必要がある。食鳥屠体の微生物検査には、皮膚(5×5cm<sup>2</sup>)を直接採取し、ストマッカーで処理して検査する方法が妥当であろう。しかし、本方法は屠体を傷つける欠点があり、屠体表面を一定量の滅菌生理食塩水で洗いながらふきとる方法(ふきとり法)も、各処理場で行う日常の検査には有効である。現在、食鳥処理には外むき法と中抜き法が用いられており、食鳥肉の微生物汚染防止の立場から、厚生省では中抜き法処理を指導している。しかし、いずれの処理方法においても、重要なことは、微生物コントロールに必要な監視ポイントを明かにすること

である。今回の調査結果から、外むき法では冷却後の屠体排泄口の糞便汚染（冷却不十分の場合、汚染が大）、中抜き法では内臓除去時の腸管破損による腸管内容物の汚染などの有無が、重要な監視ポイントであると思われる。さらに今後、今回得られたデータを基にして、食鳥処理場における、具体的な微生物コントロール方法についても検討する必要がある。また、本研究の進め方（微生物検査法の確立、処理工程別の汚染状況の把握等）は、他の食肉（牛、豚肉）処理場における微生物管理システムを確立する場合にも、十分応用できると思われる。

食肉製品において、危害性の高い微生物はサルモネラ、黄色ブドウ球菌およびウェルシュ菌である。食肉製品（ハム類）中では黄色ブドウ球菌の増殖およびエンテロトキシン産生は良好であり、食中毒発生の危険性が十分証明された。しかし、ソーセージ類には副原材料（香辛料、調味料など）が多く使用され、この中の香辛料によって、ブドウ球菌の増殖および毒素産生は抑制された。一方、副原材料にはセレウス菌を含む有芽胞菌の汚染が多く、衛生管理面からも大きな問題となっている<sup>8)</sup>。食肉製品は、コールドチェーン（5℃以下）システムが確立されることにより、汚染の高い黄色ブドウ球菌やセレウス菌などは全く増殖を示さない。これに対し、食肉（特に食鳥肉）では5-10℃保存でも、微生物は十分に増殖を示し、品質劣化を起こす。それゆえ、その保存は2℃以下で行うことが重要な管理ポイントである。

食肉製品の微生物規格として、大腸菌群の陰性・陽性は重要な問題であり、品質管理にはこれらの検査データを迅速に得ることが必要である。今回、開発された酵素反応による大腸菌群検出法は、食品の微生物コントロールに有効な手段となり得るであろう。同様に、セレウス菌の病原性（下痢原性）を判定するための逆受身ラテックス凝集反応（RPLA）試験は、食肉製品に多く見られるセレウス菌の安全性を評価する方法として有用であると考えられる。

以上、本研究で得られたいくつかの知見は、食肉および食肉製品の微生物コントロールを行う上に有効であると考えられる。しかし、食品の微生物管理システムを確立するためには、食品の特性を考慮した保存性、微生物の危害性（特に、食品の劣化に及ぼす因子）などについても検討する必要がある。さらに今後、微生物コントロールに必要なデータをいかに蓄積し、活用するか（データバンクシステムの確立）についても検討する必要がある、これらのシステムが組合されることにより、食品の総合的微生物管理方法は確立されると思われる。

## 文献

1. 倉田 浩 ら：食品衛生における微生物制御の基本的考え方，日本食品衛生協会（1984）
2. 厚生省生活衛生局食品保健課編：全国食中毒事件録(昭和52-56年)，日本食品衛生協会（1979-1987）
3. Turnbull, P. C. B., and Phyllis, R. : Campylobacter jejuni and Salmonella in raw red meats, J. Hyg. Camb., 88, 29 (1982)
4. Sterr, N. J. et al. : Recovery of Campylobacter jejuni from fresh and frozen meat and poultry collected at slaughter, J. Food Protect., 47, 372 (1984)
5. 黒崎嘉子 ら：食鳥処理場で処理された食鳥の衛生学的研究，日獣会誌, 38, 432 (1985)
6. 保科 健 ら：食肉販売店での食肉の Salmonella 汚染経路の解明，食品と微生物, 3, 129 (1986)
7. Cunningham, F. E. : Microbiological aspects of poultry and poultry products -An update, J. Food Protect., 45, 1149 (1982)
8. 小沼博隆，品川邦汎：食肉および食肉製品中の黄色ブドウ球菌とセレウス菌の汚染状況，肉の科学, 26, 103 (1986)
9. 田村和満： Salmonella の同定方法，食中毒(坂崎利一編)，中央法規出版, pp.656 (1981)
10. 吉崎悦郎： Campylobacter jejuni および Campylobacter coli -検査食中毒Ⅱ(坂崎利一編)，中央法規出版, pp.248 (1983)
11. Nortje, G. L. et al. : Evalution of three carcass microbial sampling techiques, J. Food Protect., 45, 1016 (1982)
12. D'Aoust, J. Y. et al. : Sampling methods for detection of Salmonella in raw chicken carcasses, J. Food Sci., 47, 1643 (1982)
13. Blankenship, L. C. et al. : Sampling methods and frozen storage of samples for detection of Campylobacter jejuni on freshly processed broiler carcasses, J. Food Protect., 45, 510 (1983)
14. 伊藤 武 ら：ニワトリにおけるカンピロバクターの保菌状況ならびに本菌の排菌推移および養鶏場の環境における本菌汚染状況について，感染症学雑誌, 59, 86 (1985)

15. 秋山真人 ら : 食鳥におけるカンピロバクターの分布, 獣医畜産新報, No.790, 292 (1987)
16. 坂井千三, 伊藤武 : Campylobacter 感染症, 日細菌誌, 40, 563(1985)
17. 村瀬 稔 ら : サルモネラの疫学, モダンメデイア, 27, 270 (1981)
18. Wempe, J. M. et al. : Prevalence of Campylobacter jejuni in two California chicken processing plants, Appl. Environ. Microbiol., 45, 355 (1983)
19. 渡辺昭宣 : 食鳥処理場における細菌汚染とその防止対策, 食品衛生研究, 28, 407 (1978)
20. 浅川 豊 : Yersinia enterocolitica -疫学-, 食中毒Ⅱ(坂崎利一編) 中央法規出版, pp.187 (1983)
21. 寺山 武 : ブドウ球菌食中毒-生態および疫学-, 食中毒(坂崎利一編) 中央法規出版, pp.321 (1981)
22. 品川邦汎 : セレウス菌食中毒, 生活と衛生微生物(春田三佐夫, 宇田川俊一編), 南山堂, pp.295 (1985)
23. Gilbert, R. J. : Bacillus cereus gastroenteritis, Food-borne Infections and Intoxication, 2nd ed. (Rieman, H. & Bryan, F. L. eds.), Academic Press, New York, pp.495 (1979)
24. 厚生省環境衛生局 : 食品衛生検査指針 I、日本食品衛生協会(1973)
25. Lachica, R. V. F. et al. : Convenient assay for staphylococcal nuclease by the metachromatic well-agar-diffusion technique, Appl. Microbiol., 24, 920 (1972) 2
26. 上田成子 ら : 香辛料および香料の抗微生物作用, 日食工誌, 29, 111, (1982)
27. 森 一雄 ら : ウインナーソーセージのネット防止に対する香料および香辛料の精油成分ならびに抽出エキスの効果, 日食工誌, 29, 285 (1978)
28. 宮尾茂男 : メースのエタノール抽出液およびオイゲノールのウインナーソーセージ由来微生物に対する制菌効果, 食衛誌, 16, 412 (1975)
29. Farbood, M. I. et al. : Effect of Rosemary spice extractive on growth microorganisms in meats, J. Milk Food Technol., 39, 675 (1976)
30. Ueda S. et al. : Inhibition of Clostridium botulinum and Bacillus spp. by spices and flavouring compound, Nippon Shokuhin Kogyo Gakkaishi, 29, 389 (1982)



- 3 1. McLean, R. A. et al.: Effect of meatcuring salts and temperature on production of staphylococcal enterotoxin B, J. Bacteriol., 95 1207 (1968)
- 3 2. Turnbull, P. C. B. : Bacillus cereus toxins, Pharmac. Ther., 13, 453 (1981)
- 3 3. 品川邦汎 : セレウス菌食中毒とその検査法, メデヤサークル, 31, 173 (1986)