

演題 I

我が社において発生したバチルス属検出事例

宝製菓株式会社 井上 晃希

<発端>

弊社製品(クッキー)の微生物検査において、基準値を超える生菌数が測定された。またその培養されたコロニーを観察したところ、同製品にはこれまで見られなかった性状の菌種であろうと思われた。突如として起きたこの汚染事例に対して、原因菌の特定及び汚染源の特定に奮闘することになった。

<考察ステップ>

ステップ1 コロニー性状による原因菌の推察

ステップ2 原因菌の菌種特定(同定外部検査)

ステップ3 汚染源の特定へ

工場環境調査：拭き取り検査／落下菌検査

原料調査：微生物検査

ステップ4 再発防止策の検討

ジャンプ 弊社検査業務における今後の課題

○原因菌の特徴

Bacillus licheniformis (バチルス リケニフォルミス)

以下は、*Bacillus* sp. (バチルス属) としての特徴である

グラム陽性桿菌で、土壌や枯草など自然界に広く分布しており、穀類や豆類、野菜、香辛料の汚染事例が見られる。環境条件により、芽胞の形成が見られることがある。この芽胞は、熱や乾燥に強く 100℃以上の加熱を要するため、芽胞形成をさせないよう必要である。増殖を抑える方法としては、水分活性 0.90 以下・5℃以下の温度管理・pH4 以下・静菌剤の添加等が挙げられる。

演題 II

残留タンパク検出法を用いた衛生モニタリングのご紹介

株式会社日研生物医学研究所 金子俊平

従来は食品製造工場などの大規模施設だけの衛生管理手法とされていたHACCPでしたが、間もなく一般飲食事業者にも対象が広がろうとしています。これらの施設や事業所では、衛生管理に取り組むための決まり事を策定して、その決まり事を実行した結果の検証と記録を行うことが求められています。

HACCPの対象施設であるか否かに関わらず「清潔」は衛生管理のうえで大きな要素であり、衛生的で安全な食品を製造するためには「清潔な製造環境」を維持する必要があります。清潔な製造環境を維持するために常に実施されているのが「洗浄」ですが、設備や器具を洗浄することでヒトの眼には「美しくなった」と感じる状態になったとしても、ヒトの眼では判別できない微細なレベルで評価すると安全・安心とは言えないことがあります。それは洗浄によって設備や器具の表面から食材やその痕跡が洗い落とせたことで美しく見えているだけです。微細なレベルで見直すと数多くの微生物が残存しているうえに、微生物の栄養源となる食品残渣(タンパク質など)が洗い残しとして表面に付着していることが多々あります。栄養源が無ければ爆発的に増殖することが少ない残存微生物ですが、洗浄直後においては特に問題となる程の微生物レベルでなかったとしても、設備や器具の表面に付着した食品残渣をエサにして増殖した微生物によって非常に危険なレベルにまで汚染が広がります。微生物で汚染された設備や器具を用いて加工や調理をすることにより、衛生的な処理を施されて安全であったはずの食品の衛生レベルが極端に低下して食中毒を引き起こす可能性が高まります。

そこで弊社では、残留タンパクを微細なレベルで検出することで洗浄衛生度を「安価」・「簡単」・「迅速」に把握して製造環境の衛生レベルを向上させるための製品として「プロチェックE-W」と「バイチェックプロ/M」を販売しております。両製品ともに測定対象物の表面を綿棒で拭き取るだけの簡単な操作で直ちに肉眼にて色調変化で結果を知ることができます。

また本製品による検査工程には細菌の培養操作が含まれていないため、試薬中で増殖した微生物による設備や器具などの製造環境および従事者に対する二次汚染の危険は非常に低い検査方法なので、反応結果をある程度の時系列で保管することで改善結果の評価に役立ちます。例えば、短時間ならそのままで保管、長期間の保管ならば写真記録やコピー・スキャンなどすると保管スペースの節約になります。

《安価》

製品の価格が安いうえに計測するための機器が要らないので、イニシャルコストやランニングコストが抑えられ、測定頻度や測定対象物を増やしても衛生管理費が負担にならない。

《簡単》

プロチェックE-Wは、包装から取り出した試薬付き綿棒で対象物を拭き取って綿球部分の色調変化を見るだけ。バイチェックプロ/Mは、包装から綿棒を抜き出して対象物を拭き取ったあと元の包装に戻し、包装の先端にある試薬溜まりまで綿球部を突き刺して試薬の色と綿球部の色調を観察する。なお両製品ともタンパクが陽性の場合「緑色～青緑色」の色調が生じるので判定に熟練していない者でも検査ができる。

《迅速》

タンパクと試薬の反応時間は直後もしくは数秒で完結するため、万が一にも「陽性」の結果が出たとしても直ちにその場で再洗浄の指示や措置が行えるため衛生レベルの回復が迅速である。

演題 III

微生物汚染リスクモニタリングシステム ELESTA™（エレスタ）の導入事例

株式会社 AFI テクノロジー

技術業務部 糸井隆行

【背景】

近年、HACCP による衛生管理の制度化に向けた動きが加速している。我が国においても食品衛生法改正案が発表され、2020 年に義務化される見通しである。食品業界の微生物検査を取り巻く環境が大きく変わっていくこととなり、公定法による出荷前検査に加え、食品製造工程における危害要因の発生を未然に防止する工程管理システムを作ることが重要となる。

代表的な微生物検査として公定法である培養法が挙げられ、これまでの運用実績、費用、菌種の選択性などの面から重要性は変わらないであろう。しかし、培養法による微生物検査には、コロニー形成までの培養時間という制約がある。判定時間は微生物の増殖活性に依存することとなり、微生物の状態または菌種によっては数日を要する場合もある。そのため、製造工程中の危害要因発生を防止するための管理項目としては、リアルタイムに確認できる温度や洗浄効果等が代表とされている。このような管理項目に加え、直接的に微生物汚染リスクを製造工程中に非培養で評価できる手法があれば、微生物由来の危害要因の発生をより低減させることができ、安心安全な食品の製造に貢献できる。

【事例紹介】

AFI テクノロジーでは、微生物汚染リスクモニタリングシステム ELESTA™（エレスタ）の開発と販売を行っている。原理としては、独自の電気計測フィルタ技術である「FES™ (Fluid, Electric filtering and Sorting technology)」を用いている。具体的には、専用のマイクロチップに試料液を送液し、マイクロチップ内の電極上を試料液が通過する際に、電極間に特異的に微生物を捕捉する仕組みになっている。その電極部を本体に搭載されたデジタル顕微鏡で PC モニターに映し、画像処理ソフトにて捕捉した菌数を自動計測することで、サンプル中の総菌数を非培養で算出することができる。1 検体当たりの検査時間は、前処理を含めて 10 分～1 時間である。エレスタ™の大きな特徴・優位性として挙げられる点は、微生物と検体中に含まれる食品由来成分との分離性能である。食品由来成分と微生物の電気的特性の差を利用することによって特異的な検出を可能としている。非培養の微生物迅速検査法において、一般的に食品由来成分によって測定精度が低下すると言われる検体に対しても、当該技術であれば対応可能となる。

今回の発表では、エレスタ™による微生物検査の導入事例として、 10^1 CFU/mL の飲料水から 1 時間以内での微生物検出、培地成分を含む原料試料液から 10 分での乳酸菌数計測、乳酸菌飲料から 25 時間での酵母の検出（24 時間の前培養時間を含む）について報告する。尚、培養法では一般的に細菌の検出に 48 時間、酵母の検出に 72 時間を要する。また、乳製品中の酵母は、乳成分が阻害物質となり一般的な非培養の迅速検査法では検出が難しいと言われている。

エレスタ™は、基本的に非培養で試料液中の総菌数計測が可能であり、今回の発表におけるエレスタ™の計測結果は、培地や食品成分が多く混在する検体に対しても当該手法の有用性を示唆するものである。

演題 IV

演題名：志賀毒素 2 型サブタイプ f を産生する *E. albertii* は、腸管出血性大腸菌同様マウスを致死させるか？

西嶋 駿弥¹⁾、下村 義雄²⁾、Sharda Prasad Awasthi²⁾、畑中 律敏²⁾、日根野谷 淳^{1, 2)}、山崎 伸二^{1, 2)}

大阪府立大学 生命環境科学域¹⁾、大阪府立大学大学院 生命環境科学研究科獣医学専攻²⁾

背景・目的：*Escherichia albertii* は、2003 年に命名された新種の *Escherichia* 属菌であり、新興人獣共通感染症起因菌として注目されている。本菌は腸管病原性大腸菌（EPEC）の類縁菌であるが、一部の菌株が腸管出血性大腸菌（EHEC）の主要な病原因子である志賀毒素 2 型（*stx2a*, *stx2f*）遺伝子を保有することが報告されたことを受け、平成 26 年 11 月に厚生労働省は全国の関係機関に情報提供を呼びかけた。実際に、*stx2f* 遺伝子陽性の *E. albertii* が EHEC 感染症における重篤な合併症の一つである溶血性尿毒症症候群（HUS）を発症した 1 歳の女兒から *stx2f* 遺伝子陽性の *E. albertii* が分離され、*E. albertii* も HUS 起因菌となる可能性が示された。しかし、*E. albertii* の病原性については、未だ立証されていない。そこで、本研究では *Stx2f* 産生性 *E. albertii* の病原性を評価すべく、本菌のマウス感染モデルの構築及び評価を行った。

方 法：抗菌薬の飲水投与により腸内細菌を攪乱させた ICR マウス（オス、4 週齢）に *Stx2f* 産生 *E. albertii* 野生株、同菌株において *stx2f* を欠損させた Δ *stx2f* 株、およびネガティブコントロールとしてマウス由来の非病原性大腸菌をそれぞれ経胃感染（ 10^2 CFU）させた。*Stx2* 産生を増強させる目的でマイトマイシン C（0.5 μ g/g 体重、感染 18、21、24 時間後に計 3 回）を腹腔内投与した。感染後およそ 2 週間、マウスの体重、臨床症状および致死数を観察した。体重が最も重いときから 20%以上減少し、明らかな運動性の低下が見られたときを人道的エンドポイントとして、安楽殺を行った。また、採取した腎臓を病理学的に観察した。

結果・考察：野生株を感染させたマウスは、体重減少とともに運動性の低下、被毛粗剛、背弯姿勢等の症状を呈した後、感染 10 日後には全ての個体が死亡した（5/5:致死率 100%）。即ち、*Stx2f* 産生 *E. albertii* が EHEC と同様にマウスを致死させることができることを見出した。一方、 Δ *stx2f* 株を感染させたマウスは、野生株と同様に投与菌の糞便中への排菌を続けるものの、全く症状は示さず、観察期間を通して順調に体重増加を続けた。また、野生株感染マウスでは、*Stx2* の標的臓器である腎臓に傷害（尿細管上皮の萎縮、脱落）が認められたものの、 Δ *stx2f* 株感染マウスでは、病理学的変化は認められなかった。よって、今回見出されたマウスの致死は、本菌が産生する *Stx2f* によって引き起こされていることが判明した。現在安楽殺したマウスから回収した臓器、血液や尿を解析することで、マウスの感染に伴う具体的な症状や死因を明らかにすることを目的として研究を進めている。

演題 V

加工組織の持続的発展に向けた但馬地域での取り組み

朝来農業改良普及センター 蓬萊 早織

1. 目的

但馬地域は、農林水産物の生産が盛んに行われており、それらを活かした加工の製造・販売を通じて所得拡大や地域の活性化につなげようとする農業者や組織が増加傾向にある。食品衛生管理の国際標準化への流れが進みつつある中、流通拡大に向けて小規模事業者にも品質管理の高度化が求められている。

そこで、但馬地域で農林水産物加工・販売する農業者や組織を対象として、衛生管理のレベルアップを図ることを目的に、食品加工や流通拡大の基礎知識を学ぶ場を設け、事業の継続や発展に向けて「モデル事例」を育成する普及活動を行った。

2. 具体的な取り組み内容と成果

但馬地域では、3つの農業改良普及センター*（豊岡、新温泉、朝来）が連携し、全4回のセミナーを企画した。はじめに、農水産物加工・販売する農業者や組織を対象に、一般衛生管理の基礎について集合研修を開催した。集合研修に続き、セミナー受講の5組織に対して各3回、兵庫県食品産業協会にアドバイザーによる個別指導を受けた。並行して、普及指導員が現場確認・指導を行い「品質管理のモデル事例育成」を行った。朝来農業改良普及センターの指導対象であるH組合の支援経過を表1に示す。

事前に加工施設の衛生管理の現状把握を行い、アドバイザーから改善の改善指摘のあった項目（場所や改善が必要な理由・対策）が一目で分かるように資料作成し、個別指導第1回目で組織内で共有できるようにした。

ところが、指導当初は、組織内から「なぜこんな面倒なことをやらないといけないのか」との声

もあり、組織として改善が進まず、リーダーの負担が大きかった。

表1 H組合に対する指導経過

	指導内容
集合研修	講演 「食品加工場の衛生管理・品質管理について」
事前確認	加工施設の衛生管理に関する課題把握
現場確認	・改善状況の把握 ・組織内で話し合う場の提供
個別指導 (第1回)	改善を指摘された事項の確認と改善策の検討
現場確認	改善状況の把握
個別指導 (第2回)	・佃煮の製造工程における危害要因の分析 ・作業フロー図の作成
現場確認	記録用紙の作成と提案
個別指導 (第3回)	危害要因分析に基づき、 ・記録用紙の提案 ・既存の記録用紙の修正

そこで、組織内で話し合う「場」を設けたことで、衛生管理に対する理解が深まり、組織全体で改善に取り組むようになった（写真1）。



写真1 組合内で衛生管理の意識共有を行う様子

また、しっかり改善できた項目は、改善前と後が明確に分かるように写真で見える化を行い、チェックシートで改善状況を把握できるようにした。加えて、アドバイザーに改善出来た部分を見てもらい、評価してもらうことで、意欲の向上にも繋がっている。

個別指導第2回目では、組合の主力商品である山椒の佃煮を例として、現場の作業内容を確認しながら原料入荷から商品出荷までの作業工程フロー図を作成し、組織全体で工程の把握・共有を図った。

個別指導第3回目では、作成したフロー図を基に、各作業工程における危害分析を進め、記録用紙の作成を行い、優先順位が高い項目や取り組み易いものから記帳を開始した。同時に、清掃の手順や頻度、原料の保管条件など、各工程における手順書となる衛生管理マニュアルの作成も進めつつある。

取り組み当初、42項目あった加工施設の改善指摘項目が、現場指導を通して徐々に改善され、12項目にまで減少した（表2）。また、アドバイザーからは、HACCPのB基準に達する管理が出来ていると評価を得た。

表2 H組合における現場指導による
指導事項の改善効果と記録項目の導入

	事前確認	個別指導		
		1回	2回	3回
指摘項目	42	30	23	12
新たに記録を開始した項目数	0	0	0	3

3. 今後の展望

H組合では、5S（整理、整頓、清掃、清潔、しつけ）活動が進むことで、生産性の向上やコスト削減にもつながっていくと考えられる。更に、品質管理体制の高度化に繋げていくことで、販路拡大・経営の発展にも結びつけていきたい。

危害分析ができたのは1品目にすぎず、衛生管理マニュアルの作成も引き続き取り組んでいく必

要がある。

今後、H組合をモデル事例として、地域に取り組みを広げ、但馬地域の農業者・加工組織の発展と地域活性化に寄与するべく、普及活動を展開していきたい。

*農業改良普及センター

地域農業の生産性の向上や農林水産物の品質向上を図り、効率的で安定的な農業経営を実現することを目的に、農業技術や経営指導の助言・指導を行う県の組織である。

農業改良普及センターには、普及指導員を配置しており、市町村やJAと連携を持ち、地域の担い手育成、農産物のブランド化や環境創造型農業の推進、女性起業活動の推進など農業者への指導を行っている。