

内閣府 食品安全委員会

平成 17 年度食品安全確保総合調査報告書

畜水産食品における薬剤耐性菌の出現
実態調査(プロトコル作成)報告書

平成 18 年 3 月

財団法人 東京顕微鏡院

目 次

I. 事業概要.....	1
1.調査目的	1
2.調査内容	1
3.調査方法	1
4.調査体制	1
II. 薬剤耐性菌の試験方法及び関連する情報の収集.....	3
1.薬剤耐性菌の試験方法に関する文献の収集.....	3
1)調査対象	3
2)文献の収集	3
3)文献の収集結果	4
2.薬剤耐性菌の試験方法に関する文献の調査結果.....	4
3.対象食品の流通経路、流通形態等に関連する情報の収集.....	5
1)収集文献・資料および実地調査による情報.....	5
①牛および豚肉	5
①-1 牛および豚肉の流通経路、流通形態.....	5
①-2 牛および豚肉の流通過程において想定される細菌汚染.....	7
②食鳥.....	7
②-1 食鳥の流通経路、流通形態	7
②-2 食鳥の流通過程において想定される細菌汚染.....	9
③養殖魚	10
③-1 養殖魚の流通経路、流通形態.....	10
(1)活魚として飲食店に流通する場合.....	11
(2)〆活魚として鮮魚小売商に流通する場合	12
(3)生産現場で〆られて流通する場合.....	13
③-2 養殖魚の流通過程において想定される細菌汚染	14
④鶏卵の流通経路、流通形態	14
⑤大手スーパーにおける食肉および養殖魚の販売形態.....	16
4.国内の食肉(牛肉、豚肉、鶏肉)、鶏卵、養殖魚、牛乳の Food Chain における微生物の規制 とその効果.....	17
1)牛、豚、ブロイラーの飼育農場を対象にした微生物に関する規制.....	17
2)と畜場を対象にした微生物に関する規制.....	17
3)食鳥処理場を対象にした微生物に関する規制	18
4)食肉製造業、レストラン、集団給食施設、販売店を対象にした微生物に関する規制	18
5)鶏卵の Food Chain における微生物による規制.....	19

6) 牛乳の Food Chain における微生物に関する規制.....	19
7) 魚市場(養殖魚)を対象にした微生物に関する規制	20
8) 家庭における衛生管理	20
5. 微生物の規制による効果の実際.....	20
1) 微生物による食中毒発生状況からの評価.....	20
2) 微生物検査からの評価	21
III. 試験調査プロトコル.....	23
1. サンプルング方法	23
1) 施設の要件と施設数.....	23
2) 対象食品の種類	23
3) 採材方法	23
4) 試料の輸送方法及び保管方法	23
5) 試料数.....	23
① 対象細菌の検出率と試料総数.....	24
② 対象食品別の試料数	24
6) 大手スーパー以外からのサンプルング	29
2. 試料からの細菌の分離及び同定方法	30
1) 対象菌種	30
2) 分離方法及び同定方法	30
① 検査試料の調整	30
② 細菌の検出法と同定方法.....	31
a 大腸菌.....	31
b 腸球菌およびバンコマイシン耐性腸球菌.....	33
c サルモネラ属菌.....	35
d 腸管出血性大腸菌 O157:H7/-	38
e カンピロバクター属菌 (<i>C. jejuni</i> , <i>C. coli</i>)	40
3) 分離菌株数(MIC 分布を作成するために必要な菌株数).....	42
4) 菌株の保存方法	42
3. 薬剤感受性試験方法.....	42
1) 測定方法	42
2) 対象薬剤	43
3) 抗菌性物質の調整方法	45
① 標準品の保存方法.....	45
② 薬剤の溶解と濃度の調整.....	45
4) 薬剤含有寒天培地の調整.....	47
5) 接種用菌液の調整と接種法および培養	47

6) 薬剤感受性判定方法とブレイクポイント.....	48
7) 成績の記載	49
8) 精度管理	50
4. 薬剤耐性菌株の保存.....	51
5. 施設に関する情報の管理方法	51
IV. 検討会において出された主な意見.....	54
1. 検討会の議事録	54
2. サンプルングについて.....	54
3. プロトコルについて	54
4. 薬剤感受性試験について.....	55

I. 事業概要

1. 調査目的

本調査は、国内の畜水産分野において飼料添加物及び動物用医薬品として抗菌性物質を使用することにより選択される薬剤耐性菌に関する食品健康影響の評価にあたって、国内の食品分野(小売店等で販売される食品)における薬剤耐性菌の出現状況を定量的に把握するための試験調査の Protokol 作成を目的としている。

本調査結果については、食品安全委員会が畜水産食品における薬剤耐性菌の出現状況等を把握し、科学的な薬剤耐性菌の食品健康影響の評価を行うための基礎資料として用いられる。

2. 調査内容

国内外の細菌汚染及び薬剤耐性菌検出のモニタリング又はサーベイランスに関する情報等を収集して、サンプリング方法、試験方法及びデータの解析方法等を取りまとめる。これらを参考に、国内の小売店等で販売される畜水産食品を対象とした薬剤耐性菌による汚染状況の試験調査のサンプリング方法及び試験の Protokol 等を作成する。

3. 調査方法

スーパーマーケット及び小売店等で販売される国産の畜水産食品(牛肉、豚肉、鶏肉、養殖魚肉、鶏卵及び牛乳)を対象にして、薬剤耐性菌による汚染状況を試験するための適切なサンプリング方法、各試料からの細菌(大腸菌、腸球菌、サルモネラ、カンピロバクターを含む4菌種以上)の分離及び同定方法、薬剤感受性試験方法、薬剤耐性菌の保存及び輸送方法等の Protokol を細菌別に作成する。

4. 調査体制

本調査を行うにあたり精度の高い解析及び考察等を行うために、下記の有識者からなる検討会を設置した。また財団法人東京顕微鏡院内に6名の研究員からなるプロジェクトチームを作った。

(1) 委員

池 康嘉	群馬大学大学院医学系研究科教授
甲斐明美	東京都健康安全研究センター微生物部科長
金子精一	神奈川県立保健福祉大学保健福祉学部教授
菊池孝治	全国農業協同組合連合会室長
山口恵三	東邦大学医学部教授

(2)オブザーバー

鮫島俊哉 農林水産省動物医薬品検査所室長

(3)プロジェクトチーム

伊藤武	所長
平井誠	室長
難波豊彦	主任研究員
森哲也	研究員
大山祐佳	研究補助員
星野梓	研究補助員

検討会は、2005年12月27日、2006年1月30日、2006年3月2日、2006年3月23日の合計4回開催した。

II. 薬剤耐性菌の試験方法及び関連する情報の収集

1. 薬剤耐性菌の試験方法に関する文献の収集

1) 調査対象

国内外の細菌汚染及び薬剤耐性菌検出のモニタリング又はサーベイランスに関する文献を収集するにあたり、調査対象を以下のように設定した。

- ①スーパーマーケット及び小売店等で販売される国産の畜水産食品(牛肉、豚肉、鶏肉、養殖魚肉、鶏卵及び牛乳)を対象とする。
- ②薬剤耐性菌による汚染状況を試験するための適切なサンプリング方法
- ③対象食品からの細菌(大腸菌、腸球菌、サルモネラ、カンピロバクター)の分離及び同定方法
- ④薬剤感受性試験方法
- ⑤薬剤耐性菌の保存

2) 文献の収集

文献の収集方法および収集の範囲を次の①～⑤に示す。

- ①検索に用いるデータベースとして、独立行政法人科学技術振興機構のJSTPlusを使用した。検索方法としては、以下に示すキーワードに合致する論文を検索した。

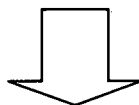
[本調査の対象食品に関する論文]
畜産食品 or 水産食品 or 牛肉 or 豚肉 or 養殖魚 or 鶏卵 or 牛乳

and

[本調査の対象とする細菌に関する論文]
大腸菌 or 腸球菌 or サルモネラ or カンピロバクター

and

[本調査の対象とする試験法に関する論文]
分離 or 同定 or 薬剤感受性 or 保存 or サンプリング



本調査の趣旨に合致する論文

②薬剤耐性関係の文献が数多く掲載されている「International Journal of Food Microbiology」、「日本獣医師会雑誌」、「動物用抗菌剤研究会報」、「鶏病研究会報」等を対象雑誌とし、表題から文献を選択した。

③検討会委員、検討委員会事務局、当施設等所有の文献も対象とした。

④原則として原著論文(短報を含む)及び総説を収集、学会発表の抄録は必要に応じ採用した。

⑤国、団体等の公表資料を含めた。

3) 文献の収集結果

JSTPlus で検索した結果、最新 10 年間で 1,097 件がヒットし、文献の表題及び抄録から文献を選択した。収集した文献は対象とする細菌毎に分類し、複数の細菌を対象としている文献は「総合」として分類した。

JSTPlus により収集した文献情報及び所蔵資料の表題等から収集した文献数は、大腸菌関係 81 件、腸球菌関係 56 件、サルモネラ関係 126 件、カンピロバクター関係 49 件、総合 45 件の計 357 件であった。357 件の文献一覧を参照文献として報告書末尾に記載した。

2. 薬剤耐性菌の試験方法に関する文献の調査結果

1.3)において収集した 357 件の文献の中で、試験方法に関する文献は 134 件であった。

なお、これらの論文の内、次の 10 種の文献については、プロトコルの作成にあたり特に十分な検討を要すると判断されたことから、日本語訳を示した(添付資料 1)。

以下、文献名を列記する。

①Occurrence and spread of antibiotic resistances in *Enterococcus faecium*,

International Journal of Food Microbiology,88:269-290(2003)

②Methods used for the isolation, enumeration, characterisation and identification of *Enterococcus* spp. 1. Media for isolation and enumeration,

International Journal of Food Microbiology,88:147-164(2003)

③Methods used for the isolation, enumeration, characterisation and identification of *Enterococcus* spp. 2. Pheno- and genotypic criteria,

International Journal of Food Microbiology,88:165-188(2003)

④EU assessment of enterococci as feed additives,

International Journal of Food Microbiology,88:247-254(2003)

⑤Taxonomy, ecology and antibiotic resistance of enterococci from food and the gastro-intestinal tract,

International Journal of Food Microbiology,88:123-131(2003)

⑥Comparison of sampling method for the detection of *Salmonella* on whole broiler carcasses purchased from retail outlets,

Journal of Food Protection,66:1768-1770(2003)

⑦Canadian Integrated Program for Antimicrobial Resistance Surveillance (CIPARS) 2002

⑧ The Danish Integrated Antimicrobial Resistance Monitoring and Research Programme (DANMAP) 2003

⑨Swedish Veterinary Antimicrobial Resistance Monitoring (SVARM) 2004

⑩National Antimicrobial Resistance Monitoring System (NARMS) 2003

3.対象食品の流通経路、流通形態等に関連する情報の収集

1)収集文献・資料および実地調査による情報

①牛および豚肉

牛および豚肉について、全国農業協同組合連合会(JA 全農)中央畜産センターを訪れ、牛および豚肉の流通経路、流通形態、加工工程に関する情報を収集した。

①-1 牛および豚肉の流通経路、流通形態

牛、豚の大動物の生体は、各地域の農家(産地)からと畜場に運ばれ、以下の工程により枝肉に解体される。

- 1.けい留場で休ませ、体を洗淨する。
- 2.頭を取り、皮、内臓を除去する。
- 3.内臓検査、BSE 検査を行なう。
- 4.背割り作業により、枝肉にする。
- 5.枝肉について解体後検査を実施し、異常のないものについて冷蔵庫に保存する。

枝肉は、食肉市場に輸送され、格付けされた後、卸売業者が中卸業者および売買参加者に枝肉を販売。

さらに、枝肉は食肉加工場または大手スーパーへ輸送され、枝肉の種類ごとに精肉、部分肉に加工された後、消費者に販売される。

以上の工程の概略および主要な工程における細菌汚染(想定)について図 1 に示す。

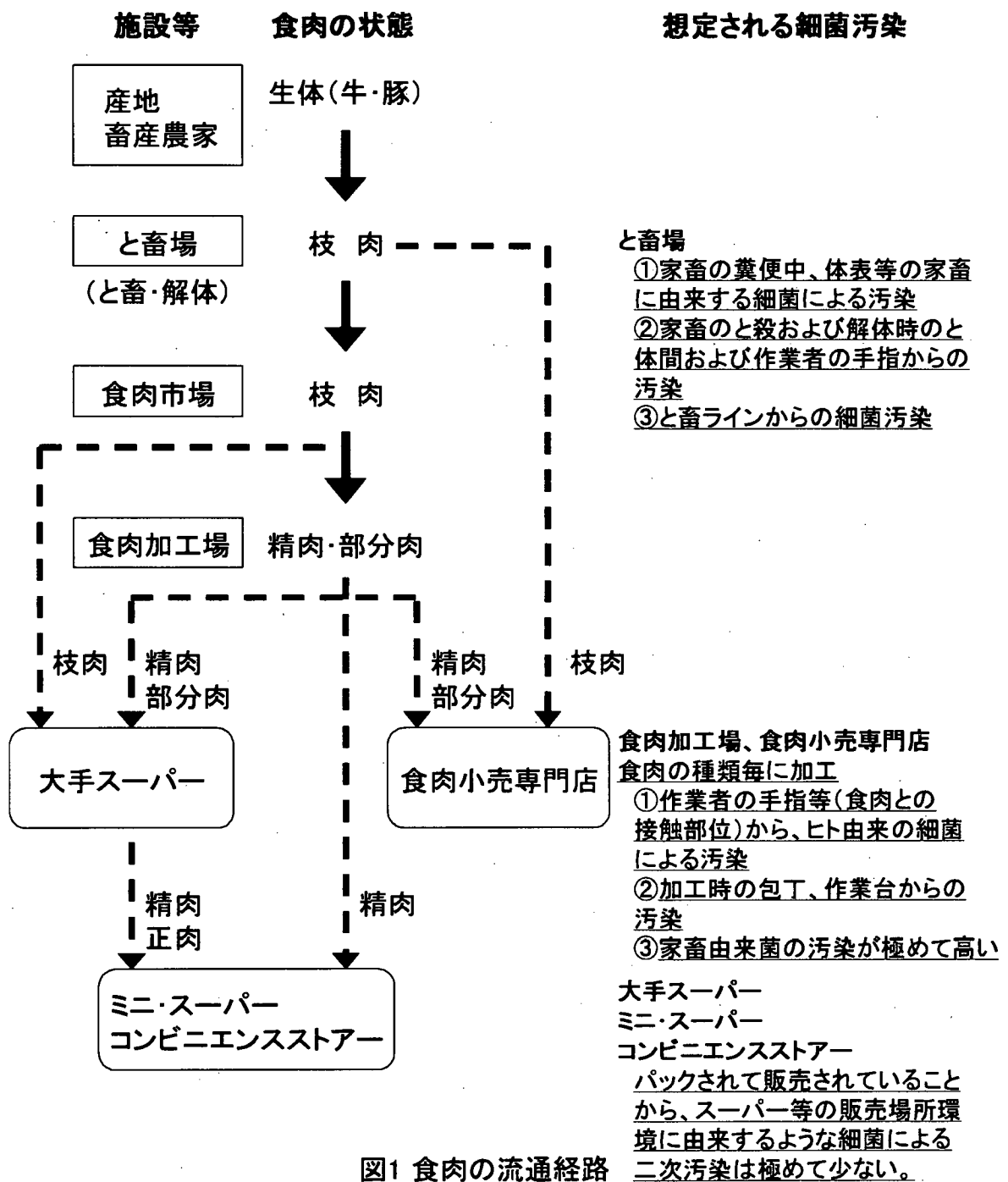


図1 食肉の流通経路

①-2 牛および豚肉の流通過程において想定される細菌汚染

と畜の体表には 1cm^2 当たり 10^4 から 10^{12} の細菌が存在し、その主体は種々の好気性細菌であり、これがと畜の最も重要な汚染源となる。また消化管、特に腸管には多種かつ多数の細菌が存在しており、糞便中には 15 から 30% (w/w) の生菌が検出される。注意してと殺解体すれば、枝肉を汚染することはないが、腸管を破ったりすると枝肉は極端に汚染される。解体処理中の汚染の原因はナイフ、作業者の手や服、ノギリ、骨抜き台やコンベアなどの処理道具および枝肉、手、道具などを洗浄するために使用した水などであると言われる(成 26)。

食肉の流通過程において想定される細菌汚染には、以下の工程が考えられる。但し、家畜由来細菌の汚染が極めて高い。

○と畜場:

家畜の糞便中、体表等の家畜に由来する細菌による汚染。

家畜のと殺および解体時のと体間および作業者の手指からの汚染。

と畜ラインからの細菌汚染。

○食肉加工場、食肉小売専門店:

作業者の手指等(食肉との接触部位)から、ヒト由来の細菌による汚染。

加工時の包丁、作業台からの汚染。

○大手スーパー、ミニ・スーパー、コンビニエンスストア:

パックされて販売されていることから、スーパー等の販売場所環境に由来するような細菌による二次汚染は極めて少ない。

②食鳥

食鳥について、文献、資料より流通経路、流通形態、加工工程に関する情報を収集した。

②-1 食鳥の流通経路、流通形態

食鳥の流通経路の概略および主要な工程における細菌汚染(想定)について図 2 に示す。食鳥(鶏)の生体は、各地域の産地から食鳥処理場に運ばれ、以下の工程により解体される。

1. 鶏をシャックルに架ける(懸吊)。
2. 肉に血液が入り込むことを防ぐ為に血液を除去(放血)。
3. お湯の中に漬け、脱羽しやすくする(湯漬)。
4. 脱羽機によって羽毛を取り除く(脱羽)。
5. 頭部と脚部を取り除く。
6. 機械によって内臓を取り除く(内臓摘出)。
7. シャワーによって体に付着した血液等を除去する(洗浄)。
8. 冷却水に漬ける(チラー)。

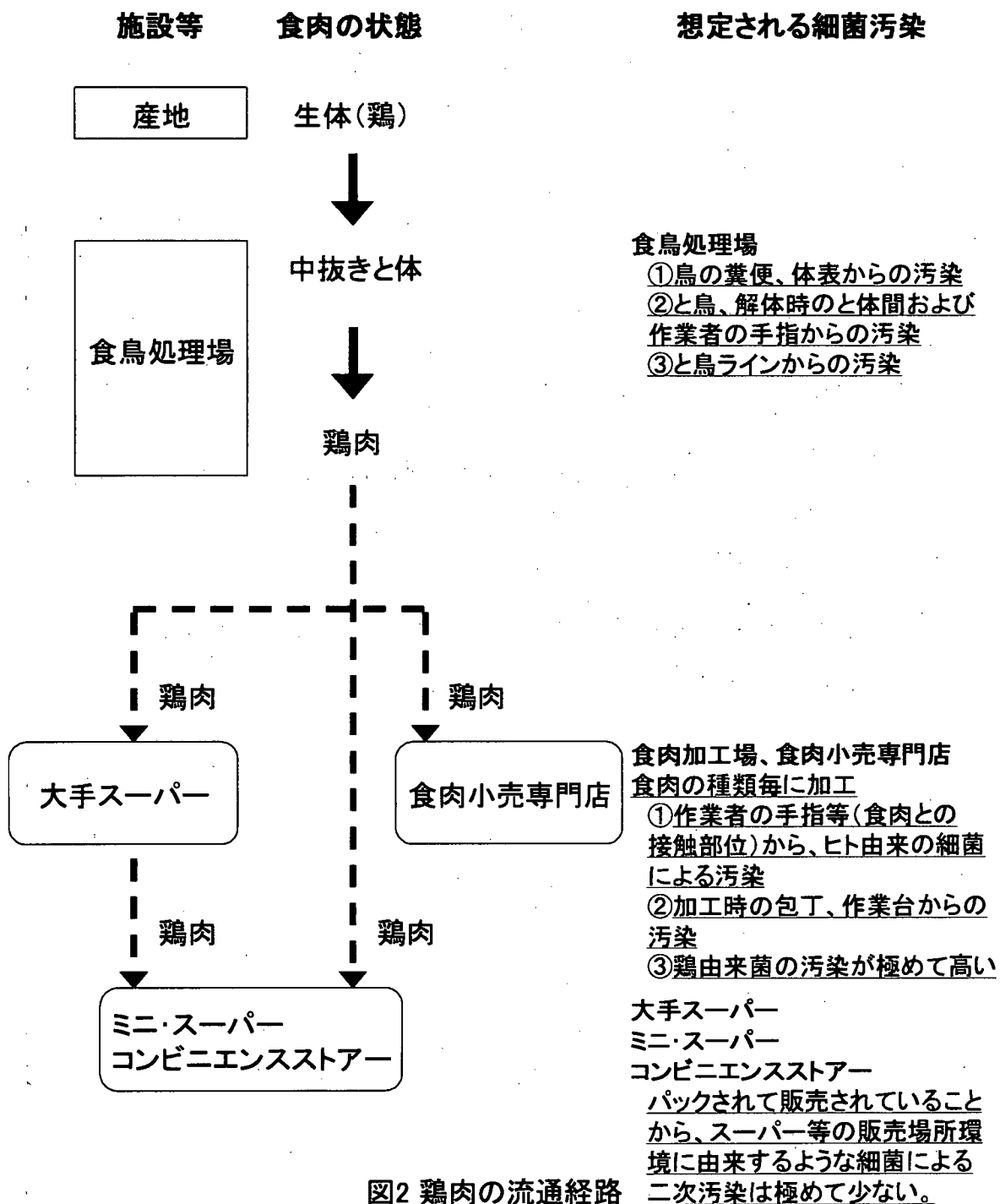


図2 鶏肉の流通経路

②-2 食鳥の流通過程において想定される細菌汚染

生鶏の皮膚には 1cm^2 当たり 10^2 から 10^4 の細菌が付着し、処理中抜き後には、鶏肉表面には 1cm^2 当たり 10^4 から 10^5 の細菌が付着しているとも言われる。また牛、豚肉と同様に、処理道具による汚染もある(成 26)。

食肉の流通過程において想定される細菌汚染には、以下の工程が考えられる。但し、鶏由来細菌の汚染が極めて高い。

○食鳥処理場:

鳥の糞便中、体表等の食鳥に由来する細菌による汚染。

と鳥、解体時のと体間および作業者の手指からの汚染。

と鳥ラインからの汚染。

○食肉加工場、食肉小売専門店:

作業者の手指等(食肉との接触部位)から、ヒト由来の細菌による汚染。

加工時の包丁、作業台からの汚染。

○大手スーパー、ミニ・スーパー、コンビニエンスストア:

パックされて販売されていることから、スーパー等の販売場所環境に由来するような細菌による二次汚染は極めて少ない。

③養殖魚

養殖魚の流通について、東京都中央卸売市場築地市場および東京都市場衛生検査所を訪れ、養殖魚の流通経路、流通形態、加工工程に関する情報を収集した。

③-1 養殖魚の流通経路、流通形態

海面および内水面で養殖されている養殖魚の流通経路は、大きく3つの経路が考えられる。一つ目は生産現場(又は養殖現場)から活魚として飲食店まで流通する経路、二つ目は卸売市場で扱われ鮮魚小売商へと流通する経路、三つ目は生産現場で扱われ、大手スーパー、鮮魚小売商へと流通する経路である。

