

アサマ NEWS パートナー

1996-7 NO. 53

食品衛生 講座

53. これからの食品工場の自主衛生管理と微生物検査

(その4) あまりよく理解されていない食品の 衛生指標細菌とその検査の意義

現在わが国の中規模以上の食品工場では日常製品の細菌検査を実施している。前回までに解説したように、一部の食品に対しては食品衛生法による規格基準が設けられていて、製品について細菌数や大腸菌群等の成分規格が設けられているし、都道府県の指導基準も設けられている。また大規模スーパーやコンビニエンスストア等の量販店では、弁当・惣菜類などに対する微生物規格を示してメーカーにこれを守るよう求めているケースが多い。ことに大規模量販店の要求を見るとかなり厳しいものが多く、例えば、「10℃以下の保存」が表示されていて、当然チルド流通・販売すべき惣菜に対し「30℃で48時間」の保存性を要求したり、カット野菜に対し、生野菜の常在菌である「大腸菌群が検出されないこと」など、どう見ても不合理な事例もかなり多く見聞きする。一方、工場サイドでも、細菌数、大腸菌群や大腸菌などいわゆる衛生指標細菌の意味を良く理解しないで、ただ検査をすればいい、あるいは何でも製品の菌数を減らすことが衛生管理の目標だと誤解している風潮がしばしば見られる。

本来、食品の微生物検査は、衛生的品質sanitary qualityが良好な状態にあるかどうかを確かめるために行うものである。そして、その食品には食中毒菌や経口伝染病菌など病原菌の汚染がないか、かりにあっては衛生上実害の起きないレベルにあるかどうかを確かめることを目標にしているといつてよい。しかし、実際問題として、食品工場レベルで生鮮食肉、魚介類や野菜など原料をはじめ最終製品について食中毒菌など病原菌の存否を確認することは技術的にいっても、また検査結果の出るのにかなりの日数や経費がかかることから見ても実施は不可能なことである。食品の安全確保のための微生物検査法については数十年前から各国でいろいろ議論され学会や行政レベルでの標準的な検査法がすでに刊行されている。そして、食品や原材料の日常検査のためには衛生的品質を示す適当な指標細菌indicator organismsを決めて、その検査をするのが一般的である。近年国際的にも、簡易で、

迅速な食品の微生物学的検査法について関心が集まり、次々と新しい手法や装置が開発され、一部はすでに実用化している。

食品の衛生指標細菌としては、大腸菌群coliform organismsや大腸菌E. coliが一般に使用され、ときには腸球菌enterococciが使われることがある。食品の品質とのかかわりで、細菌数(生菌数)や総菌数の測定が広く行われている。近年、食肉や鳥肉、鶏卵等によるサルモネラ、カンピロバクター、腸管出血性大腸菌EHEC;O 157:H 7、リステリア・モノシゲネスなどによる食中毒事故の増加について国際的な関心が寄せられ、これら病原菌の汚染源や分布調査、さらに汚染防止対策について多くの研究が行われている。またわが国の食品工場でも製品や原材料の種類によっては食中毒との関連性で黄色ブドウ球菌、サルモネラ菌、セレウス菌、ウェルシュ菌など病原菌の検査が行われることがある(しかし、食品工場レベルでは通常病原性の試験や血清型別までの検査は行わないし、またその必要もない)。

1. 微生物検査の実施の段階

食品工場における微生物検査というと、とかく最終製品、ときには原材料、あるいは流通段階での食品の検査と考えがちである。しかし、これが食品の微生物検査のすべてではない。すでに述べたように、ある食品の微生物学的安全確保のためには、その原材料の生産段階から始まり、と殺や水揚げなど一次処理を経て食品工場に搬入され、製造・加工、調理から最終製品の保存、出荷、流通段階を経て最終消費に至るまで一貫した微生物制御が必要で、このためには、その食品原材料や製品のミクロフローラを知り、それらの製造・加工工程から製品の保存、流通間における汚染・加熱死滅条件、増殖状況などについて知ることが基本的に大切なことである。そして必要に応じていろいろな段階で検査を実施することになる。次に、微生物検査の実施段階を考えてみよう。

(1) 食品工場が自主衛生・品質管理のために行う検査

食品工場が自主衛生管理のため日常計画的に実施するもので、原材料、使用水、製造・加工工程中の二次汚染や菌の増殖状況ならびに、容器・器具あるいは機器、製造環境の洗浄・消毒効果の確認、従業員の手指の汚染、最終製品の規格試験や保存性の確認等の目的のため微生物検査が行われる。もちろん、対象食品の種類、あるいは加熱処理の程度などによって検査の内容に違いがあるし、また、工場の規模、ことに試験室の整備状況や検査

技術者のレベルによって検査項目に違いが出てくる。一方、国際的に科学的・合理的な管理手法として注目されていて、最近わが国でも関心の高まっているHACCP方式においては、従来の方式と違って、最終製造の微生物検査は行わないが、危害分析（HA）の段階で、その製品品目に関連した微生物危害因子の決定、および危害防除（制御）の手段の効果の確認、あるいはCCPの基準設定のために微生物試験が重要な役割を果たすし、また、HACCP方式が有効に機能しているかどうかの検証のための確認試験として微生物検査は欠かせない（これについては別の機会に解説する）。

(2) 製品が法的または社内基準（含む業界の

自主規格）に合致しているかどうかの検査
すでに述べたように、食品の種類によっては食品衛生法により規格基準の設定されているものがあり、また、都道府県による指導基準の設けられているものがある。また、それぞれの工場で定める社内基準のほか、大規模量販店などが求める購買の基準などが増えているようである。これらについて中規模以上の食品工場では日常自主検査として実施しているところが多い。また食品の種類によってはJAS（日本農林規格）が設けられているものがあり、これらについては特定の第三者機関に依頼して検査を実施している。食品衛生上の規格試験に関連して、自主検査成績でなく第三者の検査成績が求められたとき、あるいは輸入原材料の安全確認の必要な際には、厚生大臣の指定検査機関に検査を依頼することが多い。

(3) 衛生当局の行う検査

全国の都道府県や指定都市では、毎年厚生省の指示で夏期や年末に一斉取り締まりを実施し、施設への立ち入り検査のほか収去した食品について検査を実施していて、その結果が公表されている。また、都道府県毎に特定の食品の定期的あるいは不定期の検査を実施している。このほか、食中毒などが発生したときには原因究明や汚染・感染経路の解明のため検査が行われている。輸入食品については、現在、全国の主要30海空港に209名の国の食品衛生監視員を配置し（平成8年5月から仙台空港および広島空港に窓口を新設）、販売、営業目的で輸入される食品、添加物、器具、容器・包装等の検査と指導を行っている。

2. 食品の衛生指標細菌としての大腸菌群

(1) 糞便汚染の指標細菌

大腸菌*Escherichia coli*を飲料水由来の汚染指標細菌にしようと最初に提唱したのはシャルジンガー-Schardinger（1892年）で、100年以上前のことである。この細菌がヒトおよび動物の消化管内容物から常に見い出されるためとされたが、1年後スミスTheobald Smith（1893年）はこの菌は広く腸管内に常在していて、消化管以外から見い出されるのは、ヒトや動物の排出した糞便による汚染によると見なす事ができると発表した。これが、飲料水の病原菌の指標細菌として大腸菌を使用したことの嚆矢（こうし）といわれている。この考え方は現在に至るまでほとんど変わっていない。このことから、普通大腸菌や大腸菌群は“糞便汚染の指標細菌” Indicator organisms

for fecal pollutionと言われるようになった。大腸菌群は、大腸菌のほかシトロバクター（*Citrobacter*）、クレブシエラ（*Klebsiella*）、エンテロバクター（*Enterobacter*）などからなっている。これらの細菌はグラム陰性の短桿菌で、乳糖を分解して酸とガスを生成する。*E.coli*は語源が大腸colonから由来したように、ヒトや動物の腸管内に常在する菌で、通常は病原性は示さない。ヒトの消化管内のマイクロフローラについて研究した結果、ヘーネルHaenel（1961年）は大腸菌群の占める割合は1%以下であるとした。彼の研究によると、成人の大便中では大腸菌群が $10^8 \sim 10^9$ /gが普通であるという。大腸菌群は“飲料水”の指標細菌とされてきたが、栄養源のほとんどない井戸水などから“大腸菌群”が検出されるのは、直接あるいは間接的にヒトをはじめ温血動物の新しい糞便汚染があった証拠と見なされ、赤痢や腸チフスなどの経口伝染病菌汚染との関連性から、このような水は飲用すべきでないと判断される。この考え方は現在でもわが国の水道法の水質基準の項目の1つとして取り入れられていて、また国際的に広く認められている。

(2) 食品の汚染指標細菌としての大腸菌群

1930年頃から、米国などでは飲料水の指標細菌に使われている大腸菌群を食品の衛生的品質の指標菌にしようとする考え方が出てきた。しかし、すでに述べたように大腸菌群の中のエロゲネス菌（*Enterobacter aerogenes*）は植物界や畑の土壤に広く分布していて、しばしば温血動物の消化管内容物からも見い出される。また空中浮遊菌、ほこり、手指、野菜などの表面から検出されることも稀でない。従って、食品から大腸菌群が検出されたとしてもいきなり動物の糞便汚染に結び付けるわけにはいかない。しかし、わが国では某県の指導基準の中に“生野菜を使った未加熱惣菜に大腸菌群陰性”というのがあるが、これはその県の衛生当局者のエロゲネス菌の自然界における分布の理解不十分から起こったことで、これは明らかに誤りである。一般に、新鮮な野菜から検出される大腸菌群は菌数は少ないが、エロゲネス菌は当然検出される。そこで、生野菜を使ったサラダや未加熱冷凍食品では、衛生的品質の立場から大腸菌群ではなく大腸菌（*E.coli*）を指標として用いるようになってきた。なお、同様なことが貝類のカキについても言える。カキは生食するだけにその衛生上の規制が厳しいのは洋の東西を問わず同じである。カキの養殖は通常河口に近い海域で行われるが、たとえ清浄な海域から採れたカキでも高率に大腸菌群が検出される。米国では1930年代に、生食するカキの衛生規格に大腸菌群を指標として取り入れ、MPNで16,000/100g以下という規格が設けられていた。しかし、戦後、食品衛生微生物の研究の進展につれ、カキの飼育・養殖される環境海水一河川水の混じり合う半鹹水（汽水）域一にはエロゲネス菌が常在していることが分かり、大腸菌群をカキの指標細菌とすることに疑問が出てきた。このような環境で飼育、生育するカキから大腸菌群が検出されても必ずしも動物の糞便汚染にかかわりがあると言えないのは当然で、米国FDAでは1960年代からカキの衛生指標細菌として海水には常在しない大腸菌（*E.coli*）を指標菌として使うようにし、カキ100g当たりの*E.coli*

の最確数(MPN)が230以下という規格を設け、また生食用カキは海水100ml当たり大腸菌群最確数が70以下の海域で採取したものでなければならないと規定した。戦後わが国から冷凍生食用カキが対米輸出されていた関係で、わが国の食品衛生法においては「生食用カキ」に対し米国に合わせ規格基準が設定された。わが国では、昭和48年に冷凍食品の規格基準が改正されたが、生野菜を使用する「加熱後摂取冷凍食品」の中で“凍結直前未加熱”のものに対しては細菌数が300万/g、E.coli陰性と規定されているが、これは生野菜にはエロゲネス菌などが常在しているので「大腸菌群」を指標細菌とするのは不合理なためである。これに対し、“生食用魚介類”や「加熱後摂取冷凍食品」の“凍結直前加熱済”に対しては細菌数10万以下、大腸菌群陰性と規定されている。このように、大腸菌や大腸菌群の指標としての性格や意義は昔とはかなり変わってきたことは事実で、食品の大腸菌群の検査は飲料水と違って経口伝染病菌汚染との関連性ではなく、衛生的な取り扱いが行われたかどうか、あるいはその食品の加熱処理が食中毒細菌などを十分に殺滅するために行われたかどうかを示す指標と考えられるようになってきたのである。そして、生野菜やカキのように初めからエロゲネス菌などの汚染が考えられる食品の指標菌としては、糞便汚染とかかわりの深い大腸菌E.coliを指標細菌として採用するようになってきたのである。

(以下次号)

(河端俊治：日本食品保全研究会会長・農学博士)

第12章 微生物は正確に子孫をつくるが

ときに間違ふこともある

生物の形や性質が親から子、子から子孫に伝えられるのは遺伝情報によるものであり、この情報の担い手は染色体上に一列に並んだ多数の遺伝子である。遺伝子の化学的な本体はデオキシリボ核酸（DNA）であって、これは五炭糖（デオキシリブス）とリン酸と塩基とが1つずつ結合した基本単位（ヌクレチド）から成り立っている。しかもこれが長い鎖状をなして、図1に示したように2本の鎖がらせん状にからみ合っていると考えられている。

1. 遺伝子の特性は

DNAの二重らせん構造のうち遺伝子情報の源となっている成分は塩基であって、その種類はアデニン(A)、グアニン(G)、シトシン(C)、チミン(T)の4種類であり、これらの塩基のらせん状での並び方の順序によってリペプチドのアミノ酸配列が規定される。DNAが2本の鎖より成り立っていることは遺伝子の複製や損傷の修復に際して塩基配列をもとのままに維持再現するのに役立っている。2本鎖の上での向かい合っている2つの塩基の間には規則的な関係（対合と呼ぶ）があって、AとT、GとCの間にそれぞれ特異的に水素結合が形成されている（相補性）。AとTとは2つの水素結合で、GとCとの間には3つの水素結合で結ばれている。

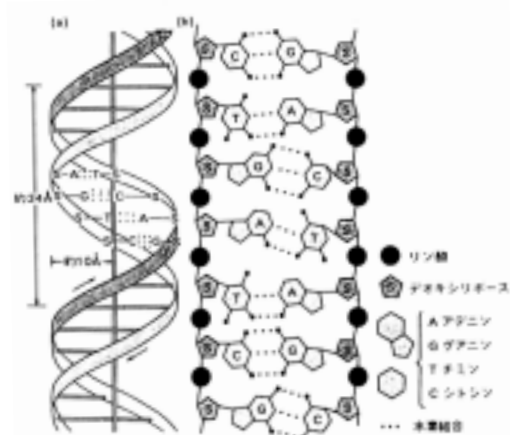


図1. デオキシリボ核酸

細菌などの原核生物では1つの核につき1本の染色体から成り立っており、遺伝子は1列に並んでいると考えられている。一方かびや酵母のような真核生物では、1つの核の中の染色体は何本かに分かれているとされている。

遺伝子は作用単位によって構造遺伝子と調節遺伝子とに分けられ、前者にはrRNAやtRNAなどの鋳型となるものがあるが、一連の生合成経路の場合、その反応に関与する酵素の構造遺伝子が隣接して並んでいることがあり（オペロン形式）、しかもこれには調節遺伝子のプロモーターやオペレーターがオペロンの先端にあって逐次反応に必要な酵素が合成されて一連の生合成反応が進行するようになっている。この場合、最終生産物が過剰になると調節遺伝子によって生産されるレプレッサータンパク質が働いて生合成が抑制される。

2. 遺伝情報の伝達

微生物の代謝に関与するのは酵素であり、その本体はタンパク質である。遺伝情報の発現の過程においては、情報に基づいて必要な酵素タンパク質を作り出さねばならない。そのためには情報の担い手であるDNAを鋳型としてmRNAが作られ（転写過程）、次いでmRNAに基づいて翻訳過程でポリペプチドが合成される（図2参照）。DNAからRNAへの転写においてはDNA依存性

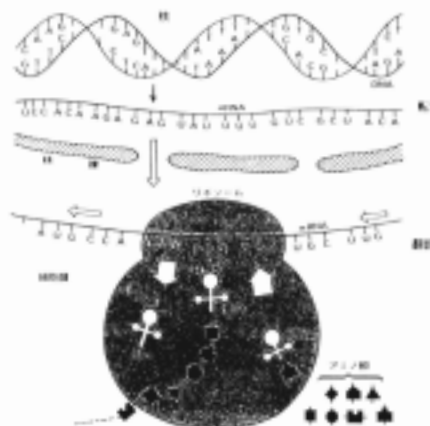


図2. 細胞内でのタンパク質の合成を示す模式図

ポリメラーゼが関与してmRNAが生成され、このものの塩基配列によってリボソーム（タンパク質40%とRNA60%よりなる）上でアミノ酸配列が翻訳される。この際個々のアミノ酸はアミノシルtRNAによってリボソームに運ばれ、mRNA上の3個の

塩基（コドンという）によって対応するアミノ酸配列が決まる。表1にはRNAのコドンとそれに対応するアミノ酸を示し、リボソーム上での翻訳の例が示されている（RNAではTがなくU<ウシル>が存在しUはAと対合する）。

アミノ酸	mRNAの コドン	アミノ酸	mRNAのコドン
アスパラギン	AAU AAC	アラニン	GCU GCC GCA GCG
アスパラギン酸	GAU GAC	アルギニン	CGU CGC CGA CGG AGA AGG
システイン	UGU UGC	グリシン	GGU GGC GGA GGG
グルタミン	CAA CAG	ロイシン	UUA UUG CUU CUC CUA CUG
グルタミン酸	GAA GAG	プロリン	CCU CCC CCA CCG
ヒスチジン	CAU CAC	セリン	UCU UCC UCA UCG AGU AGC
メチオニン	AUG	トレオニン	ACU ACC ACA ACG
フェニルアラニン	UUU UUC	バリン	GUU GUC GUA GUG
トリプトファン	UGG	イソロイシン	AUU AUC AUA
チロシン	UAU UAC	リジン	AAA AAG



表1 RNAのコドンとそれに対応するアミノ酸

微生物が増殖するためには染色体の複製が必要であるが、そのためには図3に示したようにDNAの2本鎖の二重らせんがほどけてAに対してT、Tに対してA、Gに対してC、Cに対してGが結合することによってもとのDNAと全く同じ2本鎖の二重らせんが形成される。

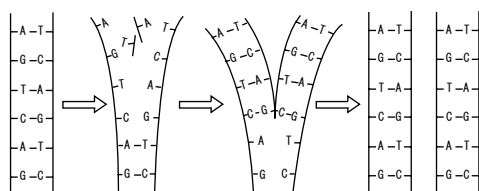


図3. DNAの複製

3. 突然変異

微生物はDNAの遺伝情報が正確に複製、転写、翻訳されて子孫に伝達されていくのであるが、ときに間違いが起こることがある。この原因が突然変異であって、これはDNAの塩基配列の変化による遺伝子上の変化であって、自然変異と誘発変異とに分けることができる。前者はDNAの複製のときの誤りが主たる原因であって変異率 $10^{-5} \sim 10^{-7}$ （10万に1個あるいは100万に1個の誤り）と自然に起こるものである。後者は物理的あるいは化学的な原因によって誘発される変異であってその率は $10^{-2} \sim 10^{-5}$ と前者に比べて著しく高い。この変異はDNAに生じた傷を修復する機構の損傷、複製の誤りを増加させる損傷、DNAの対合の誤りを増加させるなどの原因によって起こる。突然変異を誘発する物理的な変異原としてはX線、紫外線などがあり、化学的なものとしては、アクリン色素、アルキル化剤、ベンズピレン、ニトロソアミン類、アフラトキシン、農薬など多数見出されている。これら化合物によってDNAに付加体が形成されたり、DNA鎖の切断の修復過程での誤り、DNA複製時に異なった塩基対を作るなどによって変異が起こる。

4. 遺伝子の組み換えができるようになった

従来突然変異によって親株とは異なった特性をもつ微生物を選び出す方法が採用されて、抗生物質、アミノ酸、核

酸関連物質など有用な物質の微生物による大量生産が行われてきた。この場合主として変異率の高い誘発突然変異の手法が利用された（X線、紫外線照射、マスター処理など）。

これに対して遺伝情報の解析を行ってある目的とする遺伝子を人為的に取り出して利用する遺伝子組み換え技術が確立された。図4にはこの手順を示しているが、目

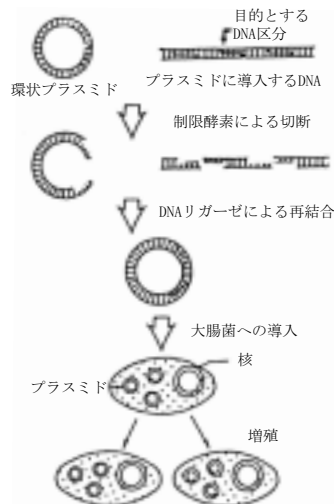


図4. 組換えDNAの手順

的とする遺伝情報をもつ遺伝子を制限酵素、ベクター（運び屋としてのDNA、プラスミド、バクテリオファージなどを利用する）、DNAリガーゼを用いて宿主細胞（ここでは大腸菌）に導入させる。異種の細胞を融合させて新しい遺伝情報を得るための手法（図5）も利用されている。

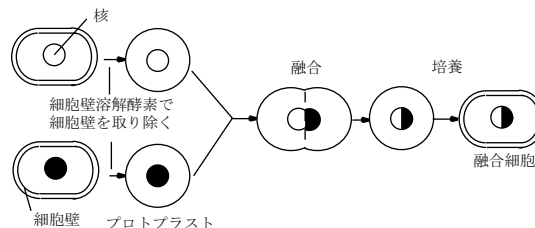


図5. 細胞核融合の手順

この方法では遺伝子レベルの解明は必ずしも必要ではないが、得られる融合細胞がどのような性質を発揮するか予測できない。

遺伝子組み換え（遺伝子工学）によって有用物質が従来にも増して幅広く獲得することができるようになった。この技術によって商品化された第1号はインシュリンである。これは人間のインシュリン遺伝子を大腸菌あるいは酵母に組み込ませて得られている。

「微生物に関する12章」の執筆を終えることになったが、各章の内容は必ずしも満足すべきものではなかった。この不足は今後トピックスとして説明できれば幸いである。

（芝崎 勲：大阪大学名誉教授）

アサマ化成株式会社

E-mail : asm@asama-chemical.co.jp
http://www.asama-chemical.co.jp

・本社	〒103-0001 東京都中央区日本橋小伝馬町20-3	TEL (03) 3661-6282 FAX (03) 3661-6285
・大阪営業所	〒532-0011 大阪市淀川区西中島5-6-13 御幸ビル	TEL (06) 6305-2854 FAX (06) 6305-2889
・東京アサマ化成	〒103-0001 東京都中央区日本橋小伝馬町16-5	TEL (03) 3666-5841 FAX (03) 3667-6854
・中部アサマ化成	〒453-0063 名古屋市中村区東宿町2-28-1	TEL (052) 413-4020 FAX (052) 419-2830
・九州アサマ化成	〒811-1311 福岡市南区横手2-32-11	TEL (092) 582-5295 FAX (092) 582-5304
・桜陽化成	〒006-1815 札幌市手稲区前田五条9-8-18	TEL (011) 683-5052 FAX (011) 694-3061