

令和5年度食品健康影響評価技術研究成果発表会  
令和4年度終了 食品健康影響評価技術研究（JPCAFSC20202004）

# 乾燥・貧栄養ストレス下で生残する 食中毒細菌のフードチェーンにおける動態解明と 食中毒リスク予測手法の開発



北海道大学大学院農学研究院

こせき しげのぶ  
小関 成樹



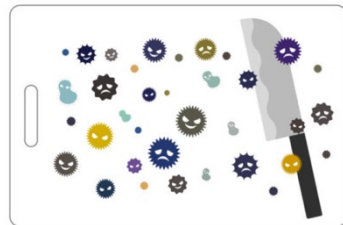
# 研究の背景と目的

**なぜ？乾燥・貧栄養ストレス下で生残する  
食中毒細菌が問題なのか？**

定量的微生物リスク評価には種々の定量実験データが不可欠



**過去の研究論文：  
現実的に起こり得る細菌汚染過程が考慮されていない**



**乾燥**



**貧栄養**



# 現実には起こり得る細菌汚染状況と実験との乖離

## 細菌の状態が極端に異なっているのでは？

### 実験室



温室育ちの王子／姫



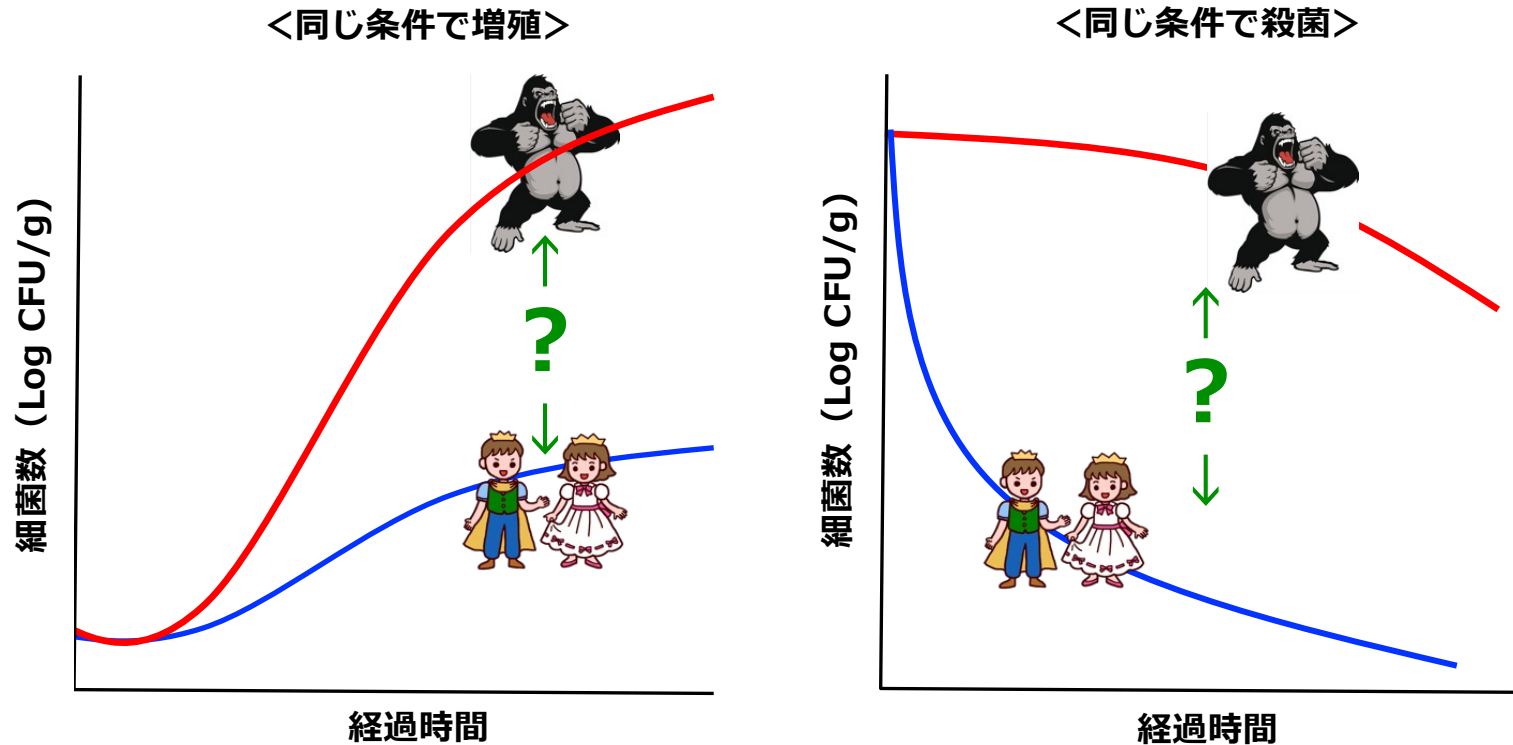
### 現実世界



厳しい環境で生き抜く 野獣



# 細菌の状態が増殖／死滅に影響しないのか？



ストレス環境下で生き延びた食中毒菌の  
食品への二次汚染と汚染後の増殖／死滅を解明

# 研究の背景と目的

## 二次汚染→ 交差汚染を定量的に評価

調理器具↔食材  
細菌の移行確率



調理環境→生野菜  
細菌の移行確率



# 本研究で取り組んだ研究内容

- 1) 交差汚染における付着移行特性の解明
- 2) 交差汚染した後の食中毒細菌の動態解明
- 3) 食中毒発症リスク評価：  
家庭内でのサラダ調理過程における交差汚染の影響

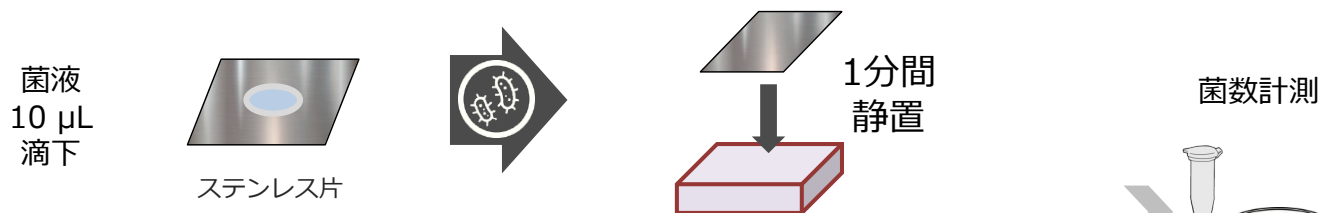
# 1) 交差汚染における付着移行特性の解明

## 交差汚染評価の共通的な指標策定へ

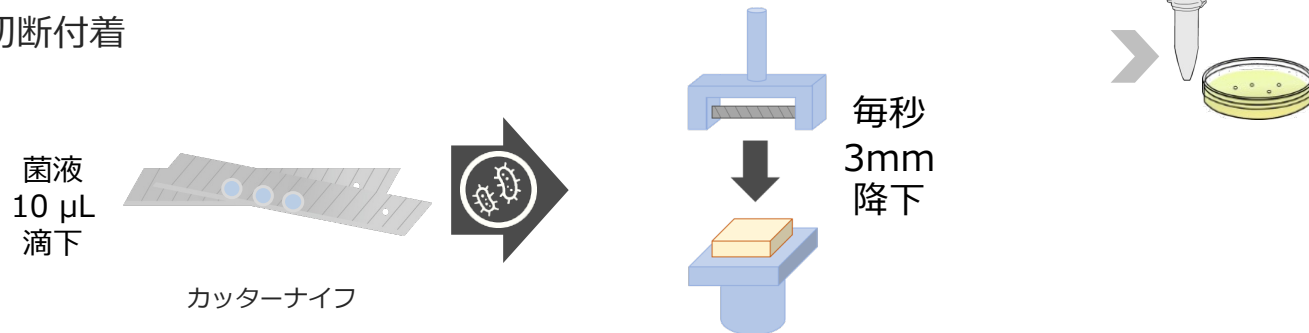
食品の水分が細菌細胞の移行に寄与  
(Miranda and Schaffner, 2016;  
Jensen et al., 2013)

食品の物性値として水分含量 (%)に着目  
細菌の付着移行を評価するパラメータ  
付着・切断時の付着移行を検討

静置付着



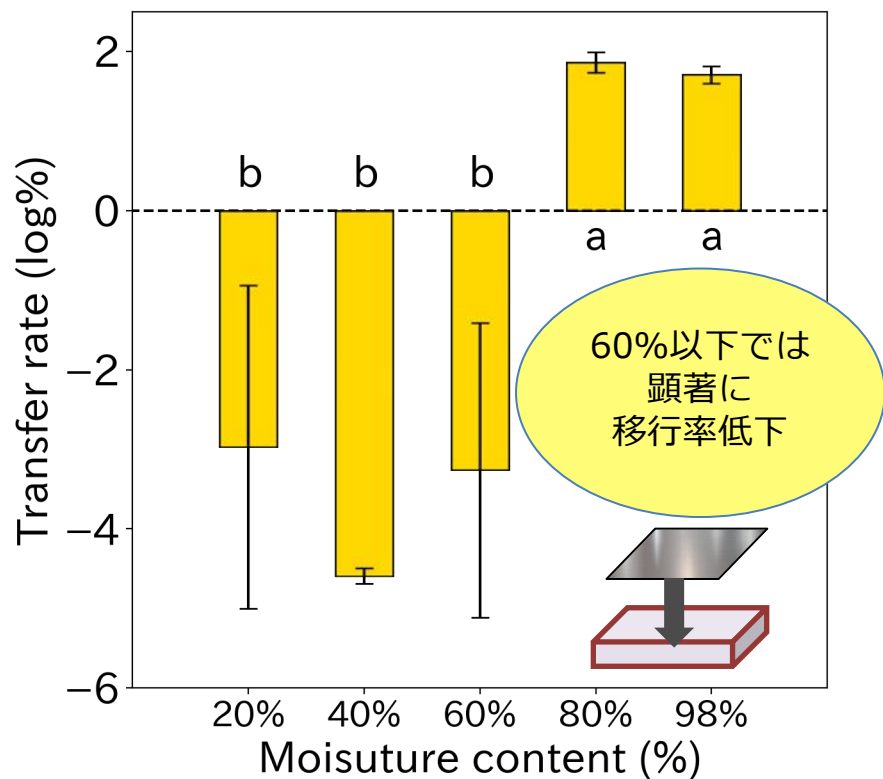
切断付着



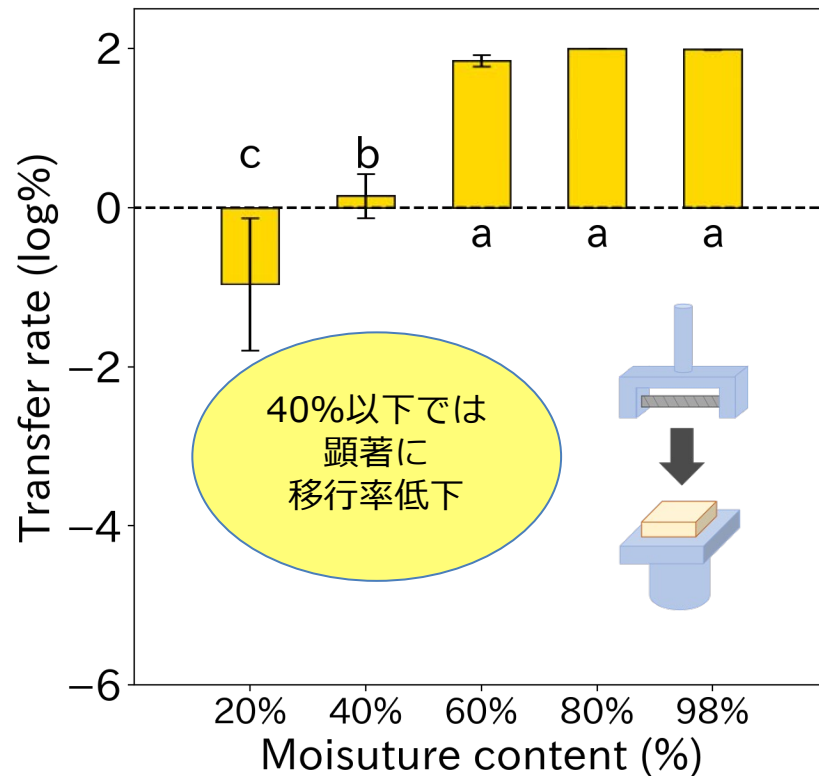
# 細菌の付着移行に対する水分含量の影響（寒天培地）

## 寒天の水分含量の低下に伴い付着移行率が減少

付着時 (ステンレス→寒天)



切断時 (カッター刃→寒天)

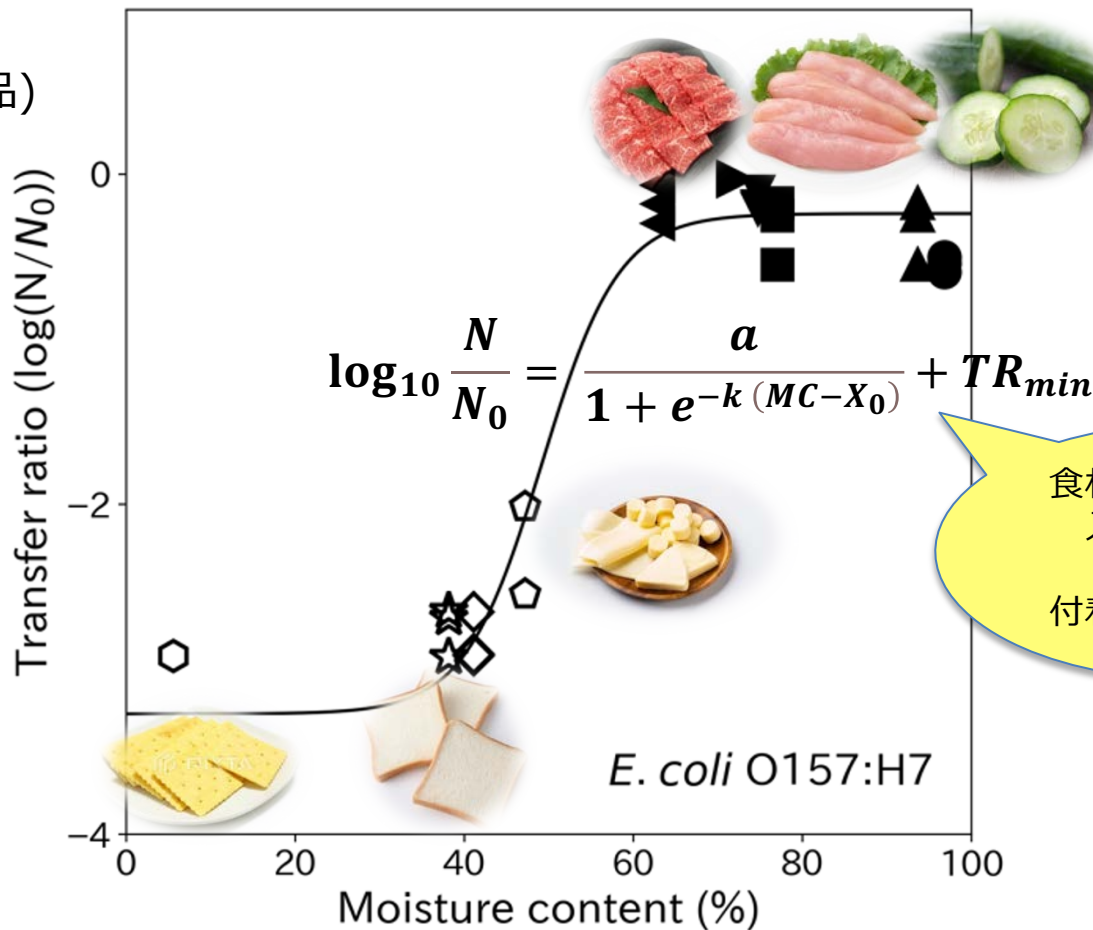
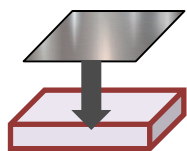




# 細菌の付着移行に対する水分含量の影響（各種食品）

## 食品の水分含量の低下に伴い付着移行率が減少

付着時  
(ステンレス→食品)

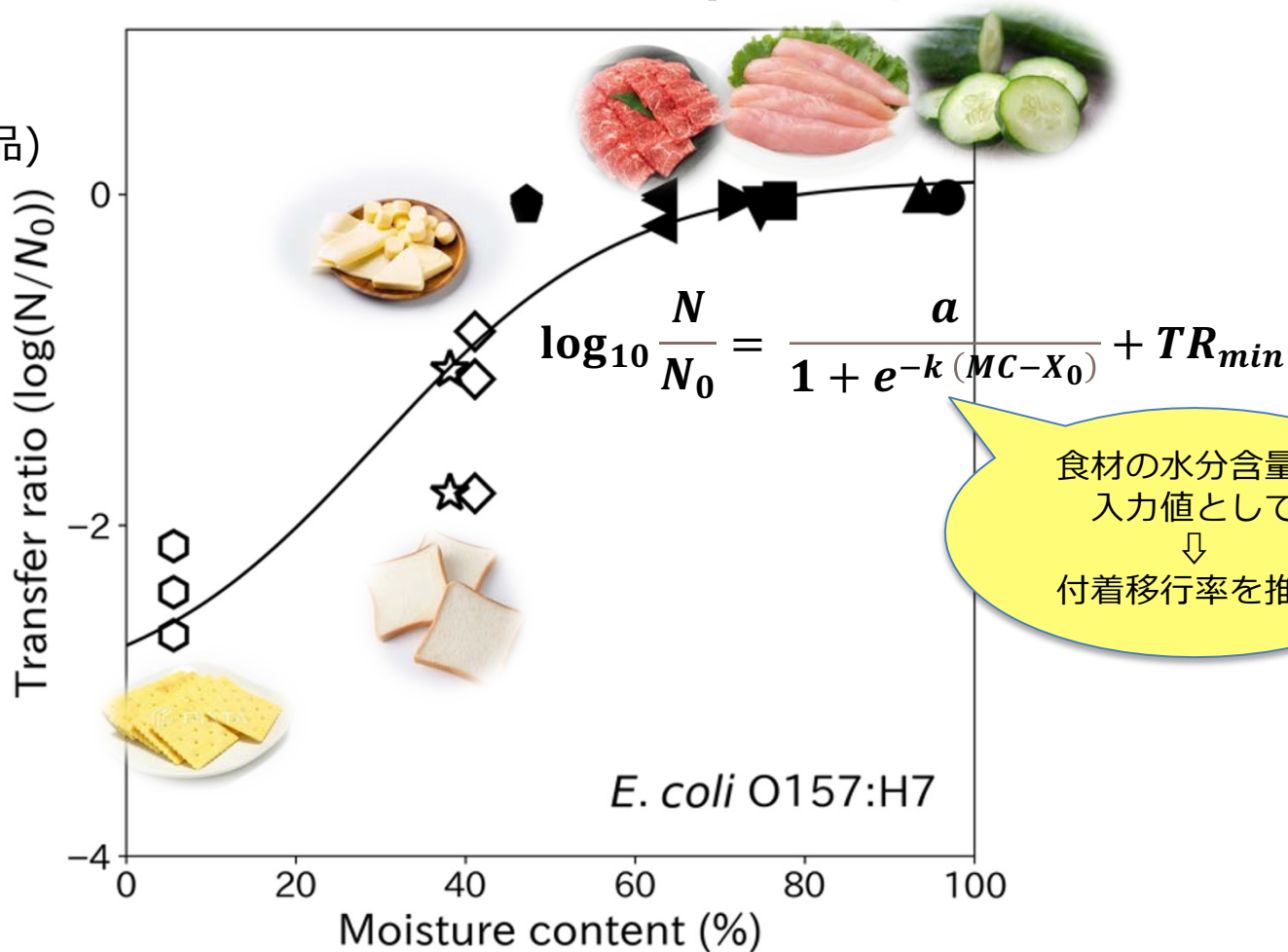
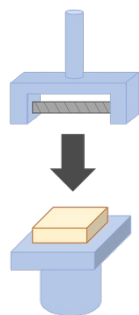


食材の水分含量を  
入力値として  
↓  
付着移行率を推定

# 細菌の付着移行に対する水分含量の影響（各種食品）

## 食品の水分含量の低下に伴い付着移行率が減少

切断時  
(カッター刃→食品)



# 付着特性を表す物理的な特性値 → 水分含量

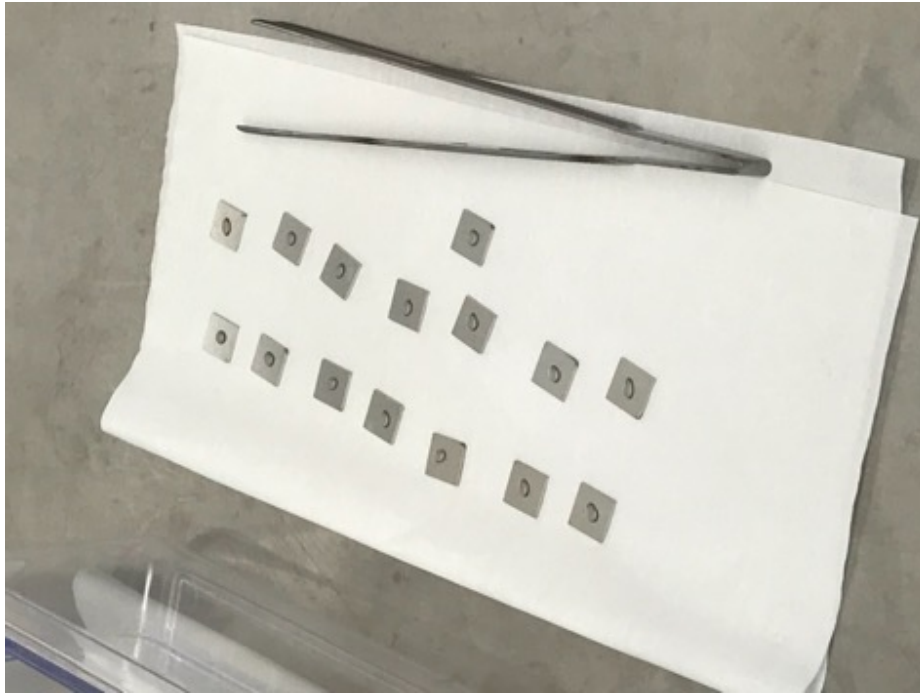
## 水分含量に着目して検討

- 1) 食品の水分含量の低下に伴い、  
食品の種類によらず細菌の付着移行率低下
- 2) 付着時には水分60%が付着移行の境界条件
- 3) 切断時には水分40%が付着移行の境界条件

交差汚染リスクを推定する際の**指標**として  
対象となる食品の水分含量が有効

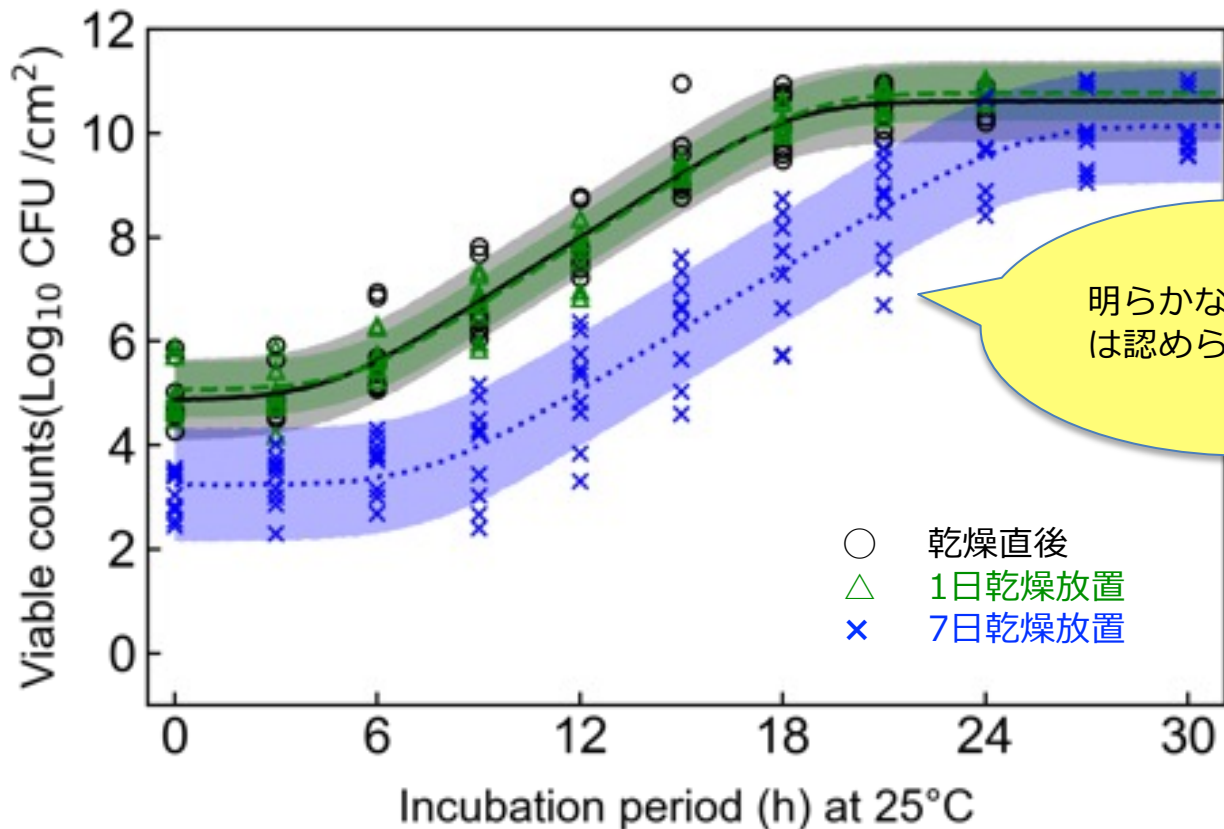
## 2) 交差汚染した後の食中毒細菌の動態解明 (増殖)

ステンレス表面上で乾燥ストレスを受けた  
*E. coli* O157:H7 の培地中での増殖比較



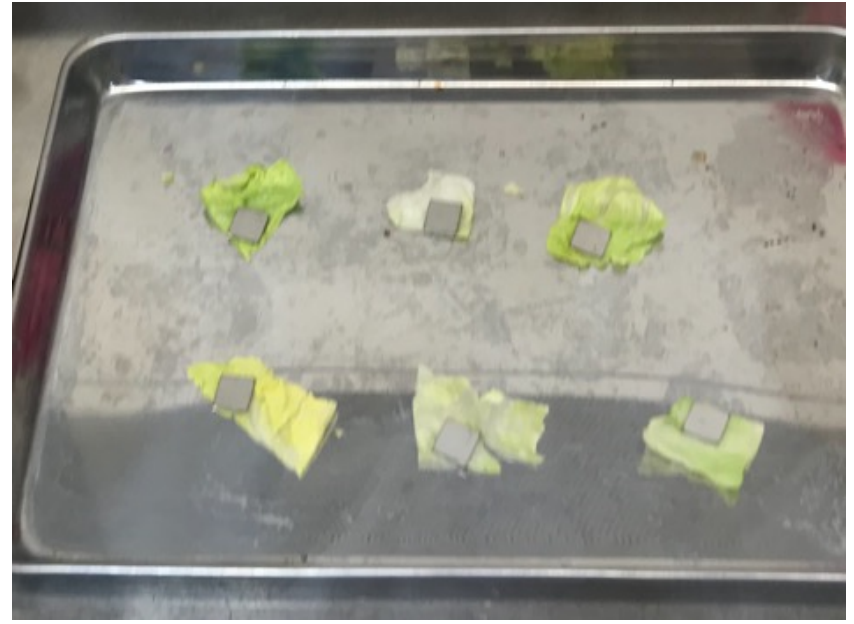
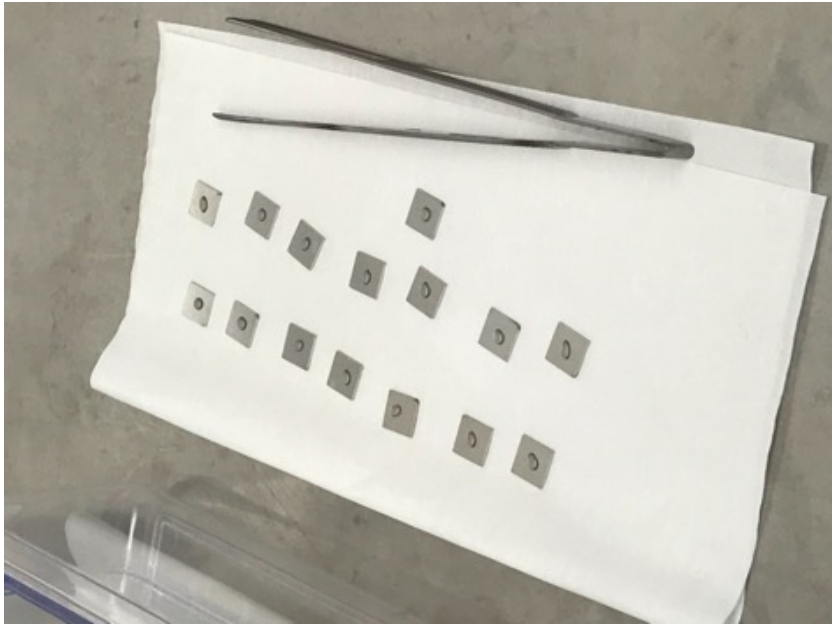
## 2) 交差汚染した後の食中毒細菌の動態解明 (増殖)

### ステンレス表面上で乾燥ストレスを受けた *E. coli* O157:H7 の培地中での増殖比較



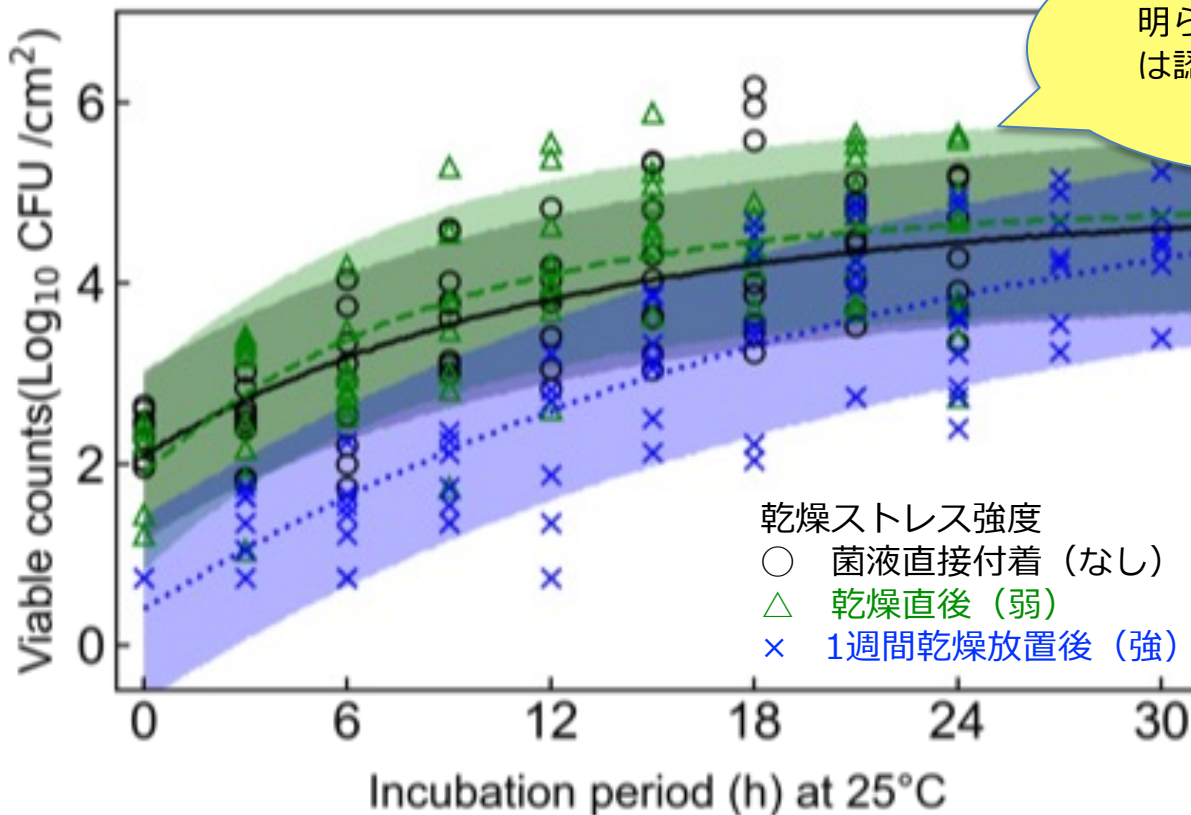
## 2) 交差汚染した後の食中毒細菌の動態解明 (増殖)

ステンレス表面上で乾燥ストレスを受けた  
*E. coli* O157:H7 のレタス上での増殖比較



## 2) 交差汚染した後の食中毒細菌の動態解明 (増殖)

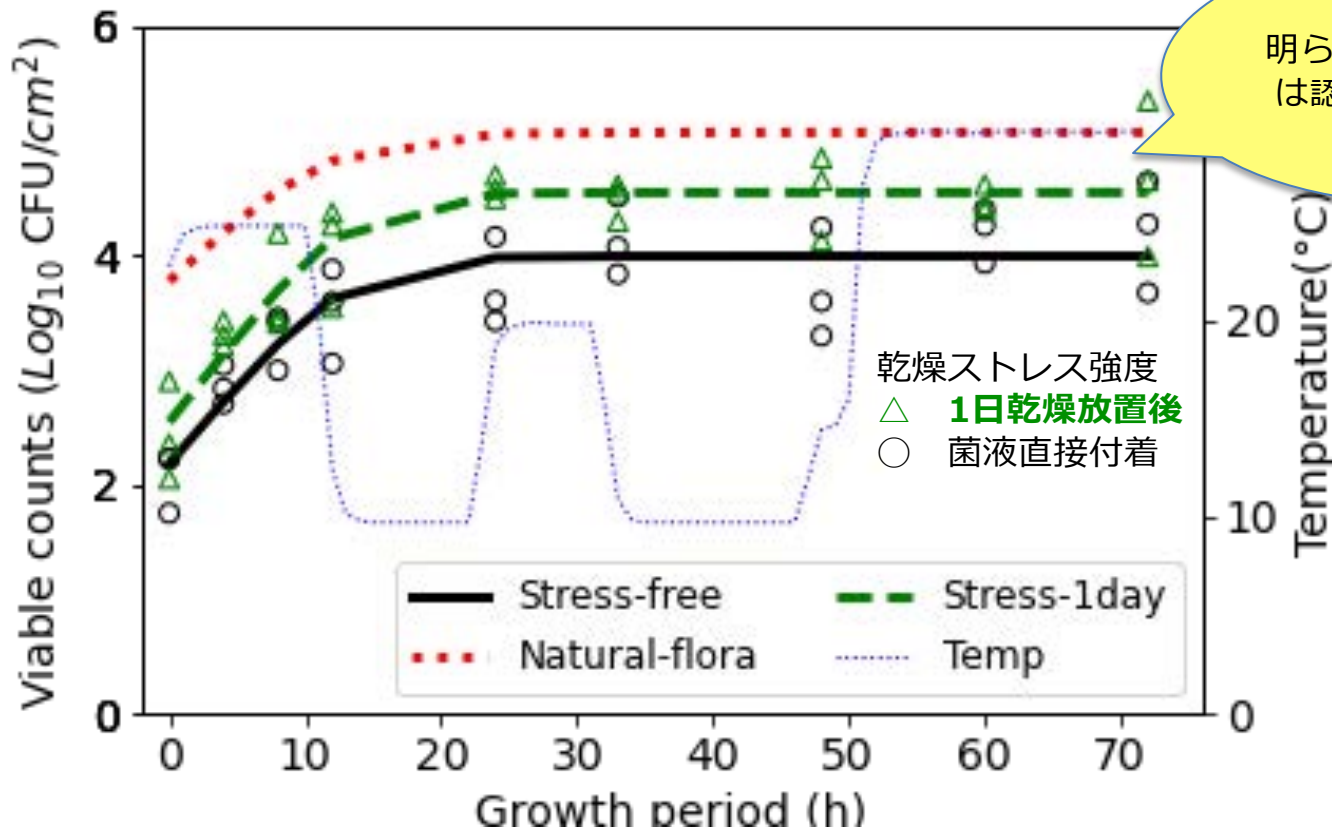
### ステンレス片表面からレタス表面へ交差汚染付着した *E. coli* O157:H7 の菌数変化



明らかな増殖の違いは認められていない

## 2) 交差汚染した後の食中毒細菌の動態解明 (増殖)

変動温度条件下におけるステンレス片表面からレタス表面へ  
交差汚染付着した *E. coli* O157:H7 の菌数変化

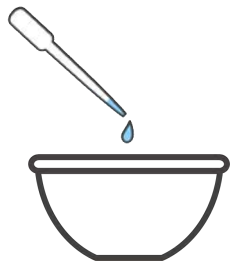


明らかな増殖の違いは認められていない



## 2) 交差汚染した後の食中毒細菌の動態解明 (死滅)

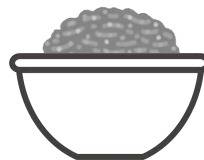
手法：交差汚染の再現



菌液の滴下



乾燥

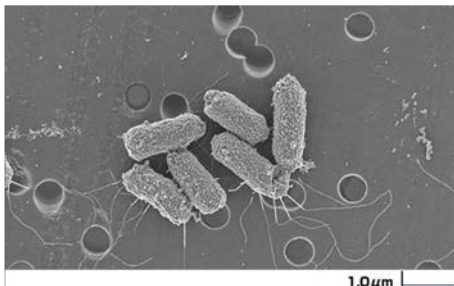


挽肉と混合



整形・包装

*Escherichia coli* O157:H7



RIMD 0509939  
RIMD 05091896  
RIMD 05091897  
HIPH 12361

4菌株  
混合

## 2) 交差汚染した後の食中毒細菌の動態解明 (死滅)

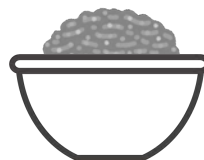
手法：交差汚染の再現



菌液の滴下



乾燥



挽肉と混合



整形・包装



3条件で作成

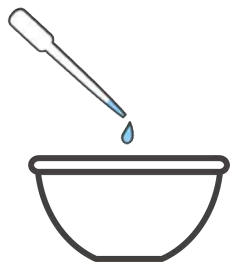
1. 乾燥,保存24時間
2. 乾燥,保存72時間
3. 乾燥,保存なし

交差汚染

直接汚染

## 2) 交差汚染した後の食中毒細菌の動態解明 (死滅)

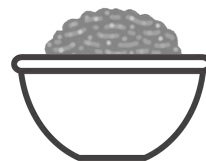
手法：交差汚染の再現



菌液の滴下



乾燥



挽肉と混合

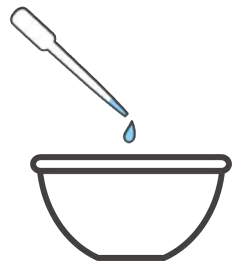


整形・包装



## 2) 交差汚染した後の食中毒細菌の動態解明 (死滅)

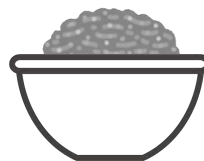
手法：交差汚染の再現



菌液の滴下



乾燥



挽肉と混合



整形・包装

### 開発用

5g ごとに薄く  
伸ばして整形

内部に温度差なし



厚さ 1.0 mm

### 精度検証用

100g ごとに  
円柱状に整形

内部に温度差あり



直径 8.5 cm  
高さ 1.5 cm

## 2) 交差汚染した後の食中毒細菌の動態解明 (死滅)

### 2次元平面上で伝熱過程を計算

非定常熱伝導方程式

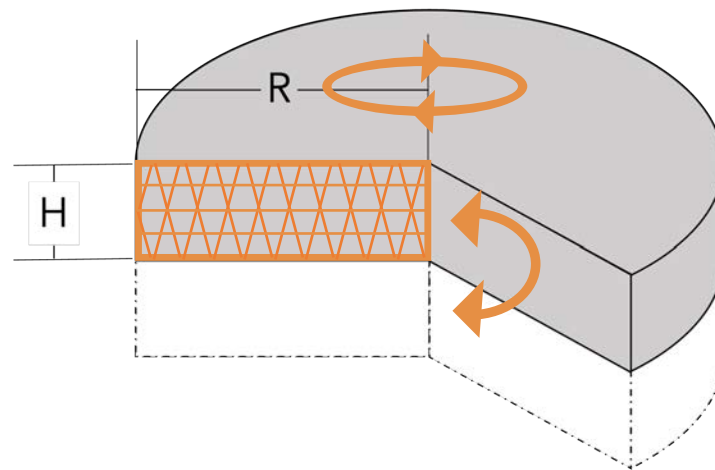
$$\rho C_p \frac{\partial T}{\partial t} = \frac{1}{r} \frac{\partial}{\partial r} \left( kr \frac{\partial T}{\partial r} \right) + \frac{\partial}{\partial z} \left( k \frac{\partial T}{\partial z} \right)$$

$\rho$  : 密度 (kg/m<sup>3</sup>)

$c_p$  : 定圧比熱 (J/kg K)

$k$  : 熱伝導率 (W/m K)

} 文献値から  
算出



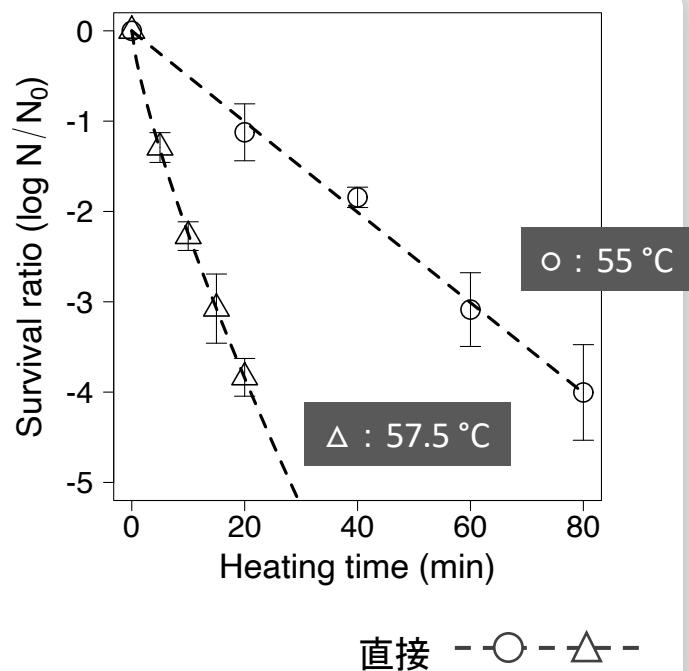
平面内を細かいメッシュに区切り  
物体全体の温度変化を算出

COMSOL  
MULTIPHYSICS®

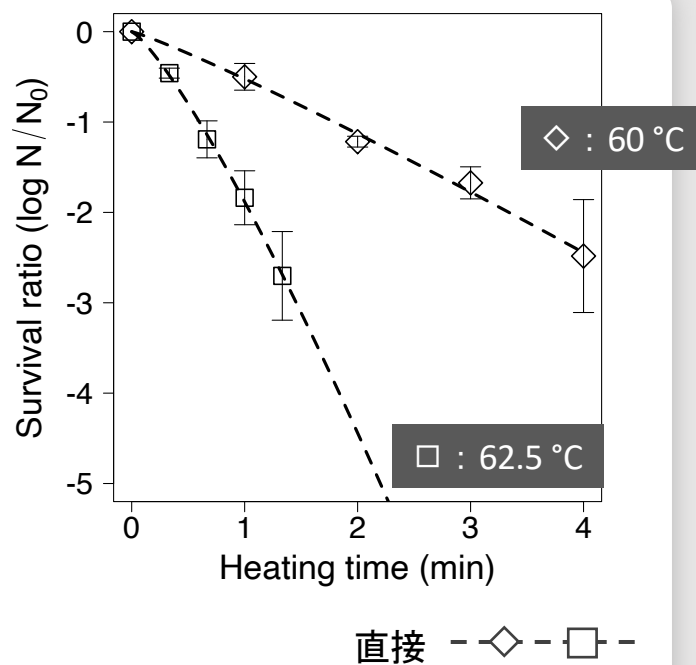


## 2) 交差汚染した後の食中毒細菌の動態解明 (死滅)

55, 57.5 °C

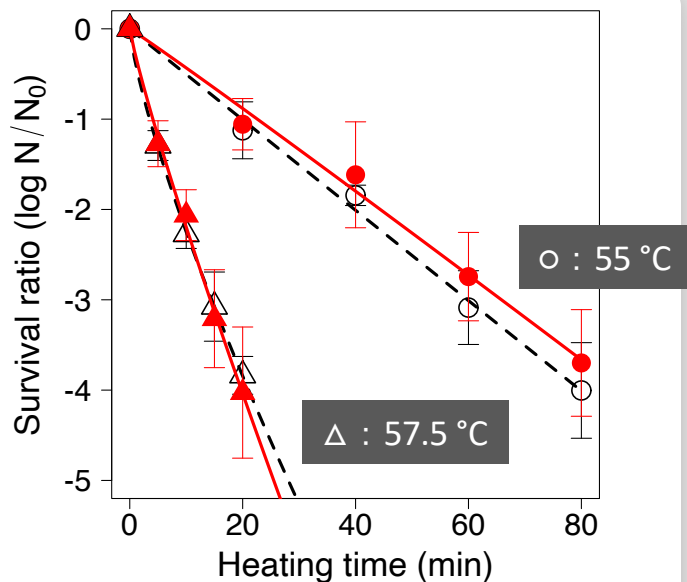


60, 62.5 °C



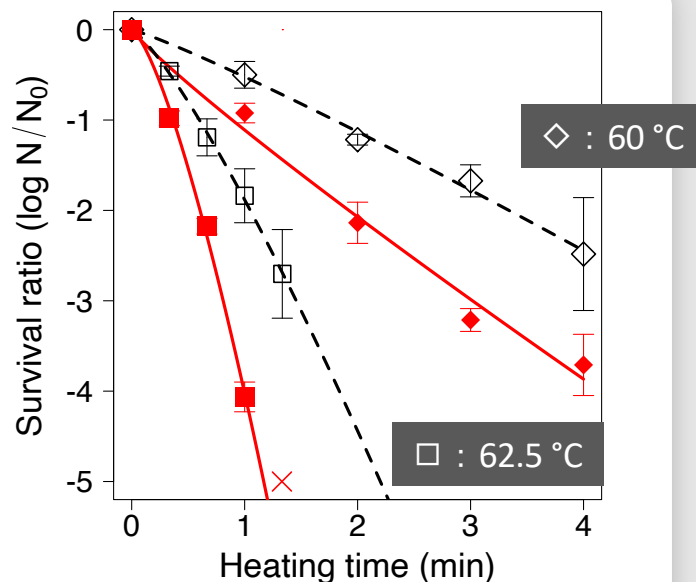
## 2) 交差汚染した後の食中毒細菌の動態解明 (死滅)

55, 57.5 °C



汚染経路によらず同程度の死滅

60, 62.5 °C

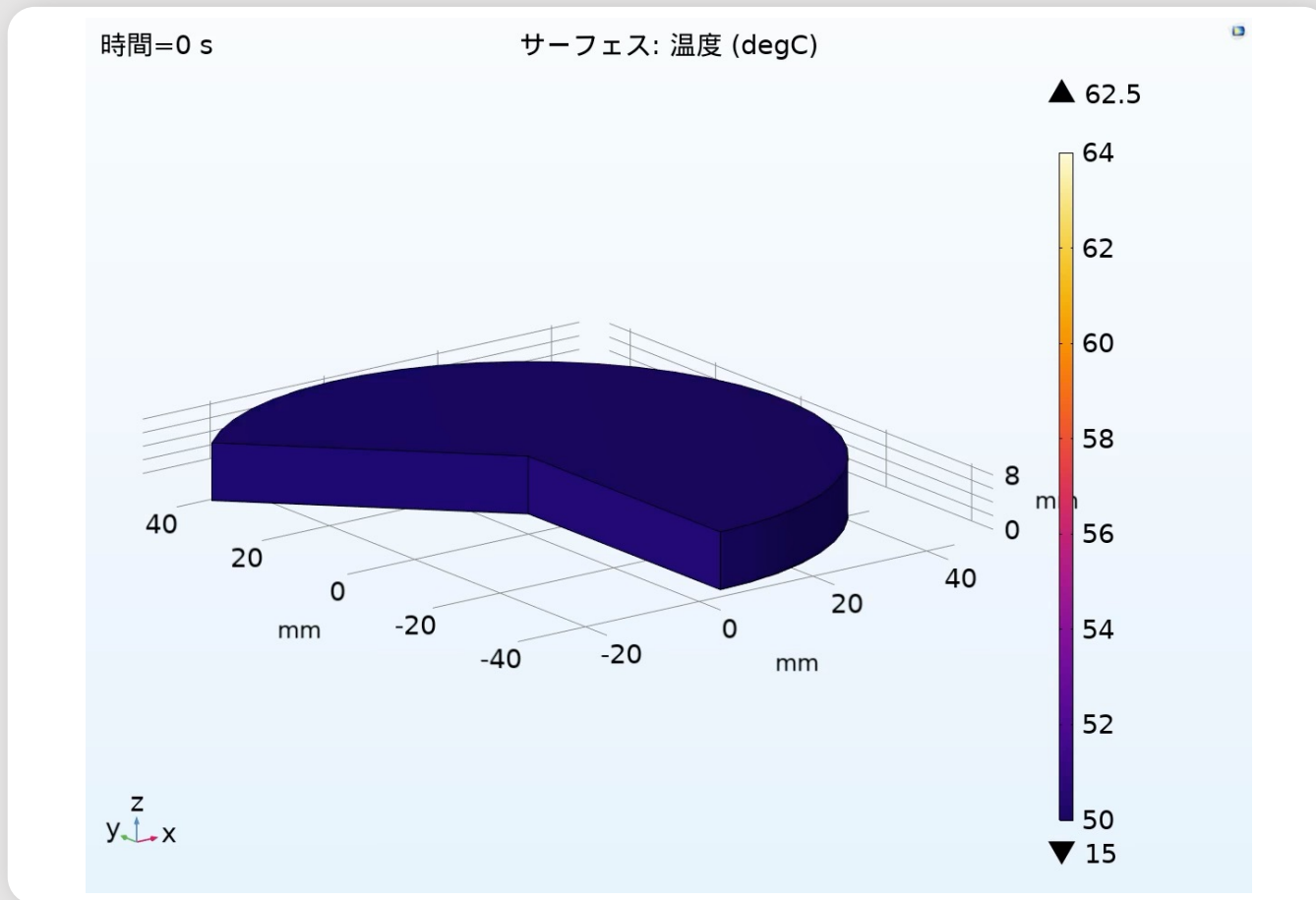


交差汚染後のほうが早く死滅

交差汚染によって耐熱性が高まることは確認されず

## 2) 交差汚染した後の食中毒細菌の動態解明 (死滅)

### 加熱過程における温度変化の可視化

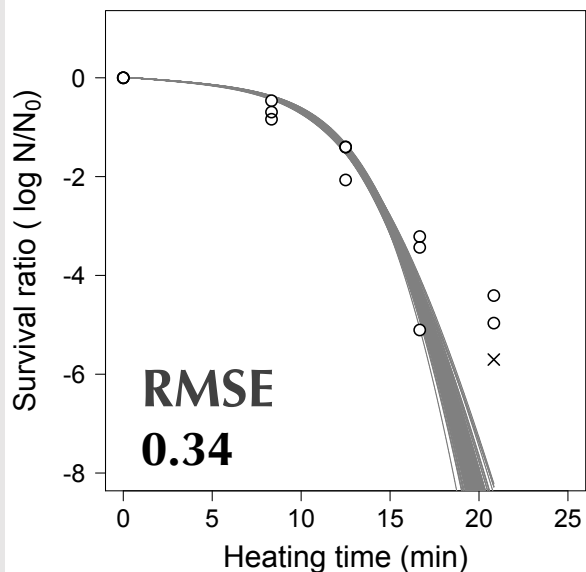




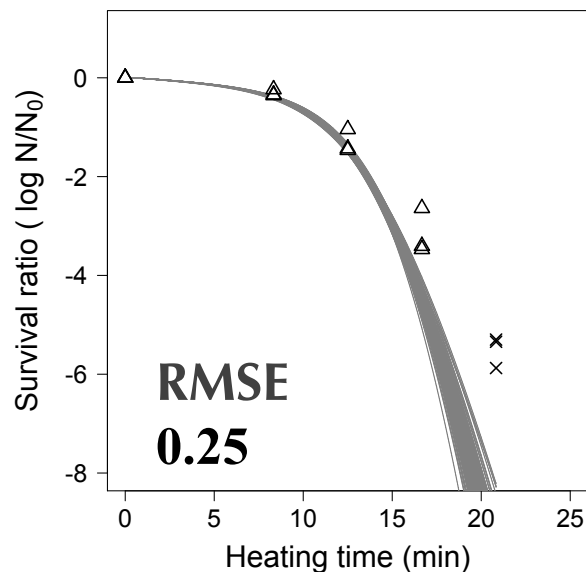
## 2) 交差汚染した後の食中毒細菌の動態解明 (死滅)

汚染経路によらず良好な精度で予測が可能

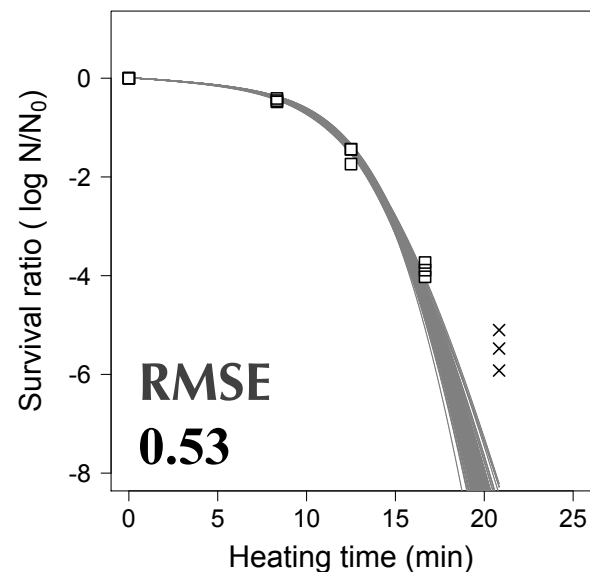
直接汚染



交差汚染-24時間

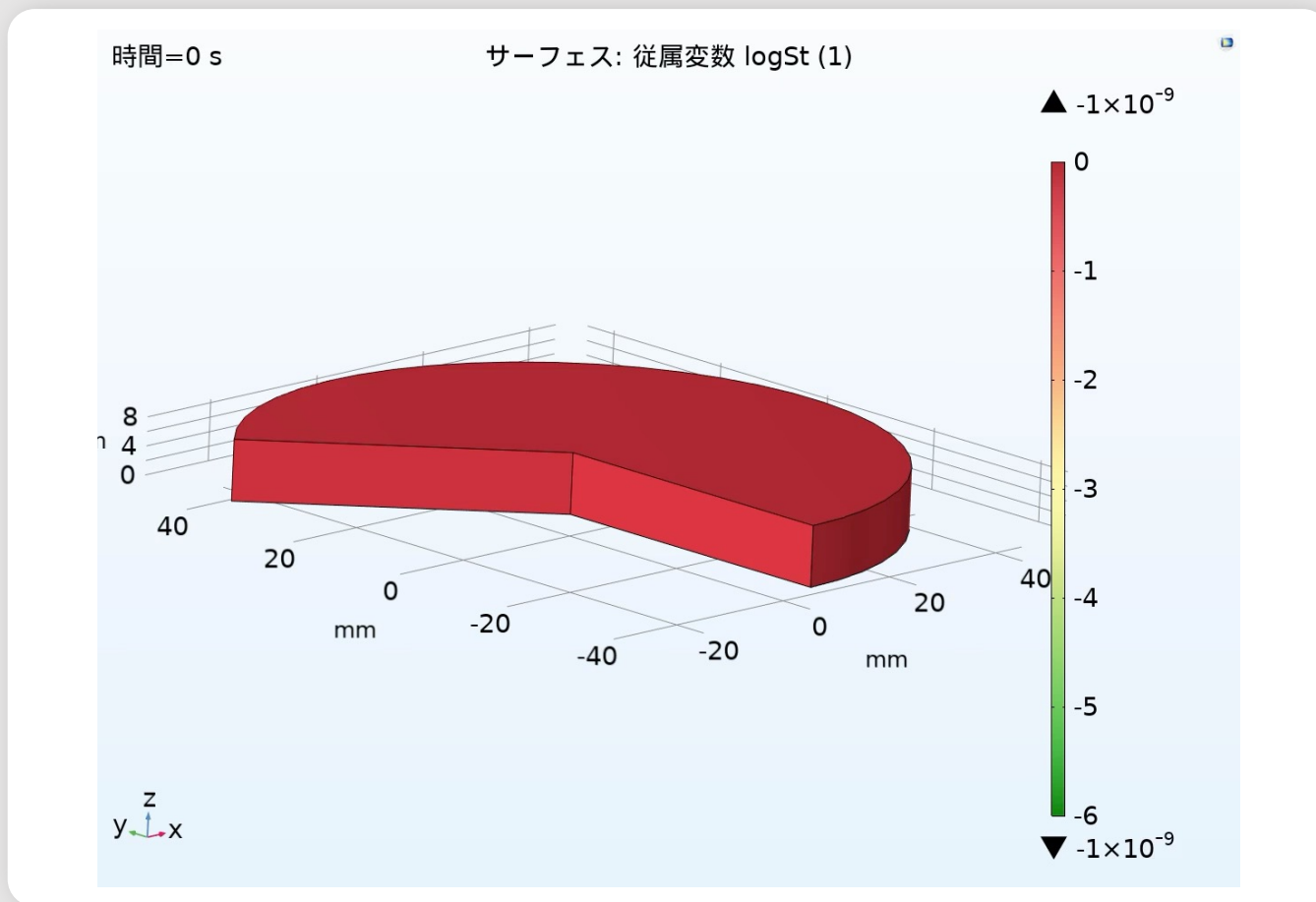


交差汚染-72時間



## 2) 交差汚染した後の食中毒細菌の動態解明 (死滅)

### 加熱過程における死滅挙動の可視化



## 2) 交差汚染した後の食中毒細菌の動態解明

なぜ、乾燥ストレスを経た細菌の増殖・死滅挙動が  
ストレスを受けていない細菌の挙動と差がないのか？

### 菌集団としての**増殖**挙動

- ・ 菌集団内で**増殖速度の速い**個体の挙動が**代表**
- ・ ストレスの有無によらず、  
集団内に**増殖の速い**個体が一定確率で存在
- ・ 結果として、ストレスの有無によらず、  
菌集団としての**増殖**挙動には差が認められない

### 菌集団としての**死滅**挙動

- ・ 菌集団内で**死滅速度の遅い**個体の挙動が**代表**
- ・ ストレスの有無によらず、  
集団内に**死滅の遅い**個体が一定確率で存在
- ・ 結果として、ストレスの有無によらず、  
菌集団としての**死滅**挙動には差が認められない

細菌挙動の**変動性**の範囲内と捉えられる

既往の研究データを活用が可能

## 家庭内でのサラダ調理過程における交差汚染の影響解明



## 4) 交差汚染の影響を考慮した食中毒発症リスク評価モデルの構築

### ■ 先行研究（海外）による報告



土壌中の細菌汚染



輸送中の細菌増殖



調理時の交差汚染

### ■ 日本の食中毒要因



土壌中の有害な  
細菌未検出



輸送中の徹底温度  
管理と短時間輸送



調理時の交差汚染

# 4) 交差汚染の影響を考慮した食中毒発症リスク評価モデルの構築

## 主要食中毒菌に由来する発症確率に及ぼす各因子の影響



土壌中の汚染濃度



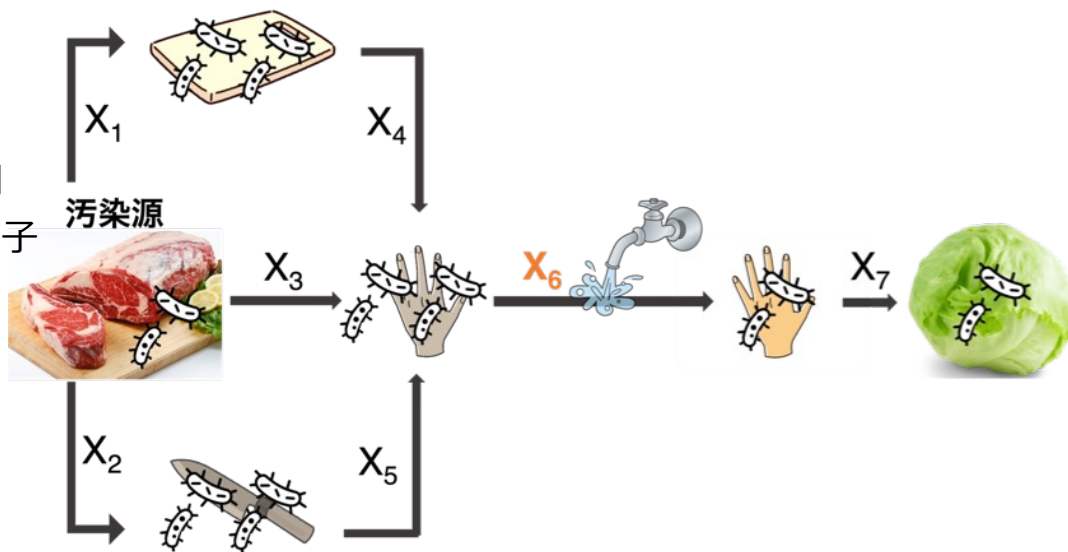
輸送時間  
輸送中の温度変化



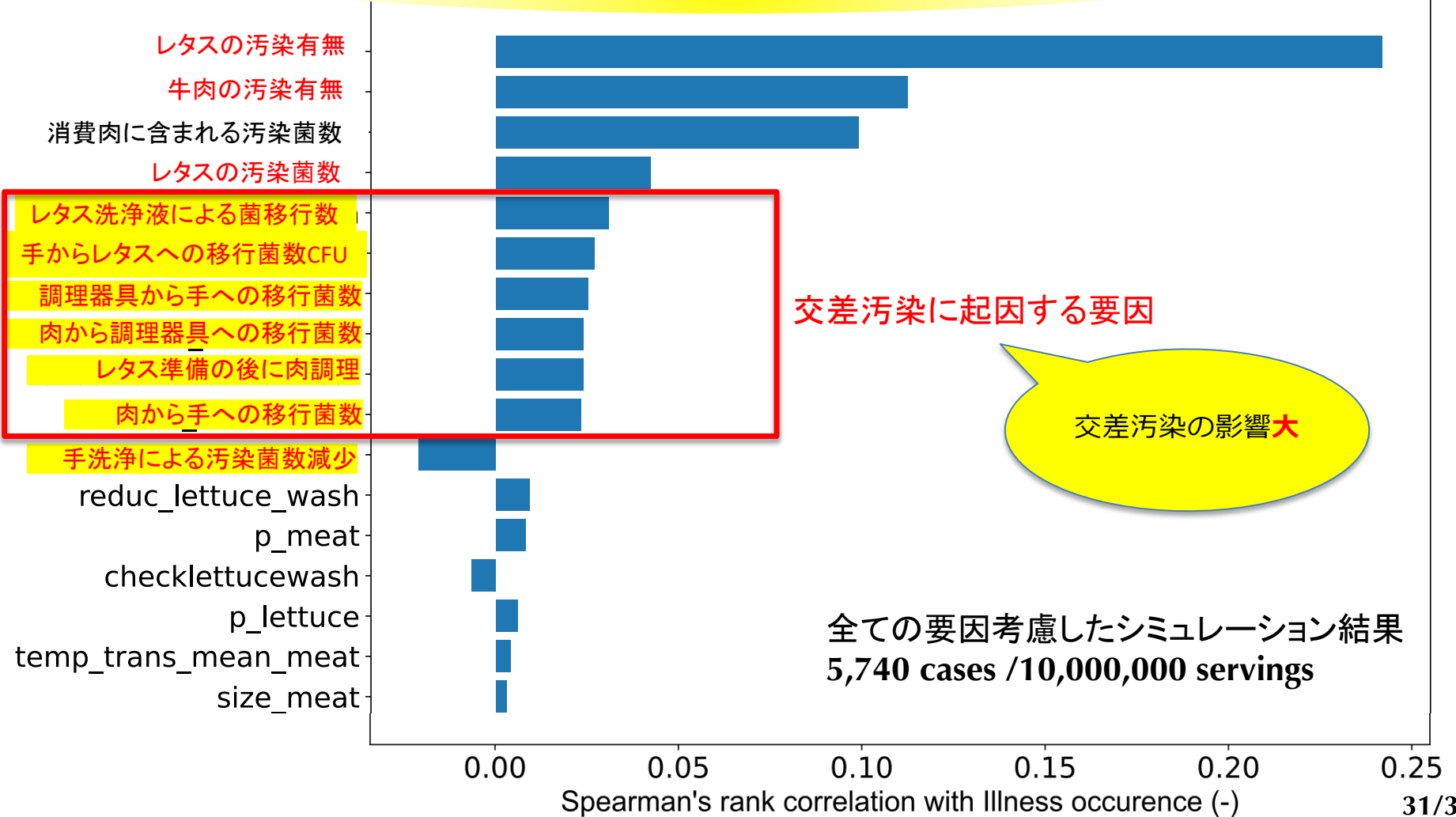
### 交差汚染後の汚染濃度

$X_1 \sim X_7$  : 異なる移行率の値を使用

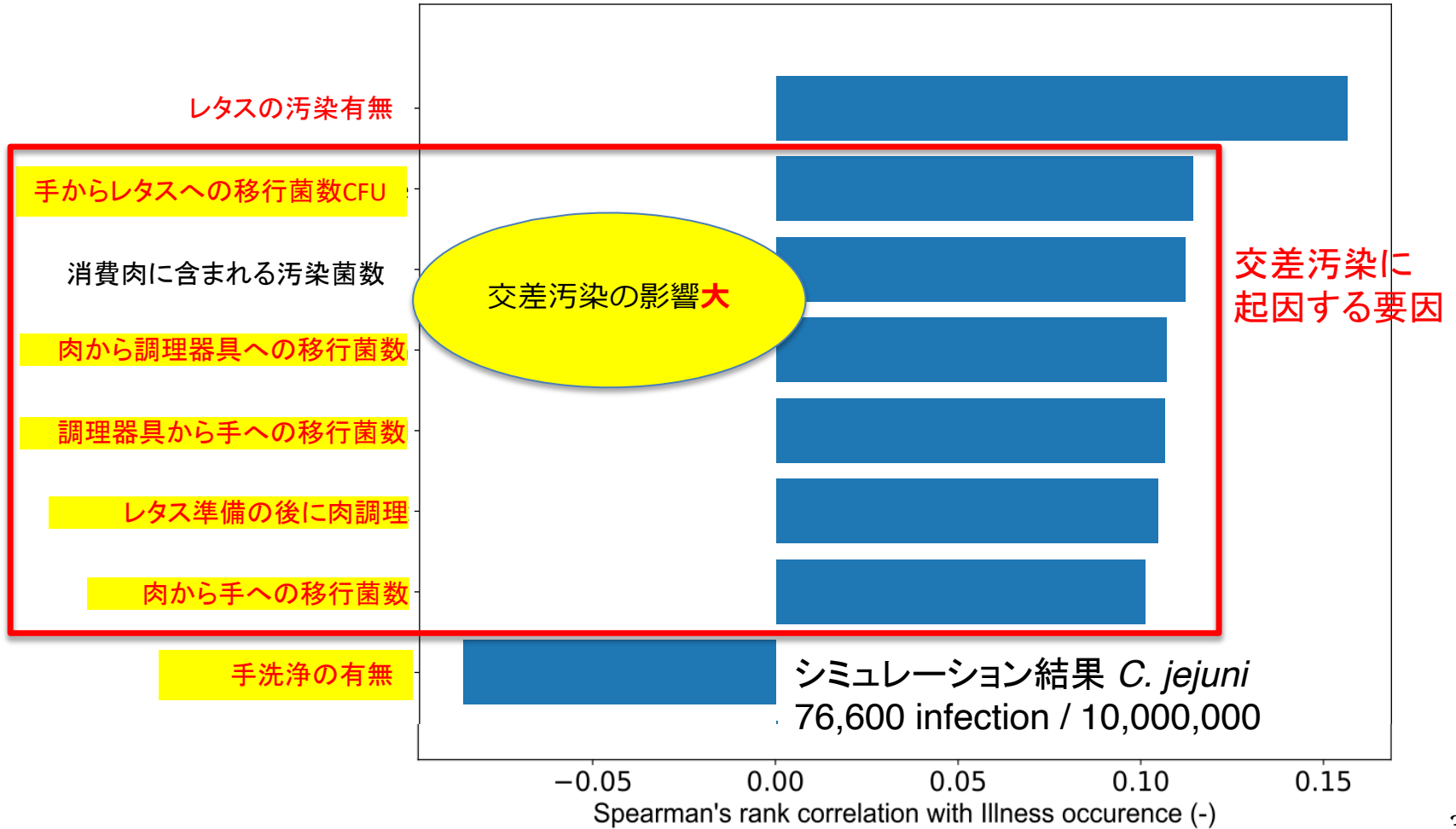
$X_6$  : 交差汚染のリスクを下げる因子



# E. coli O157:H7 発症リスクへの交差汚染の影響解析



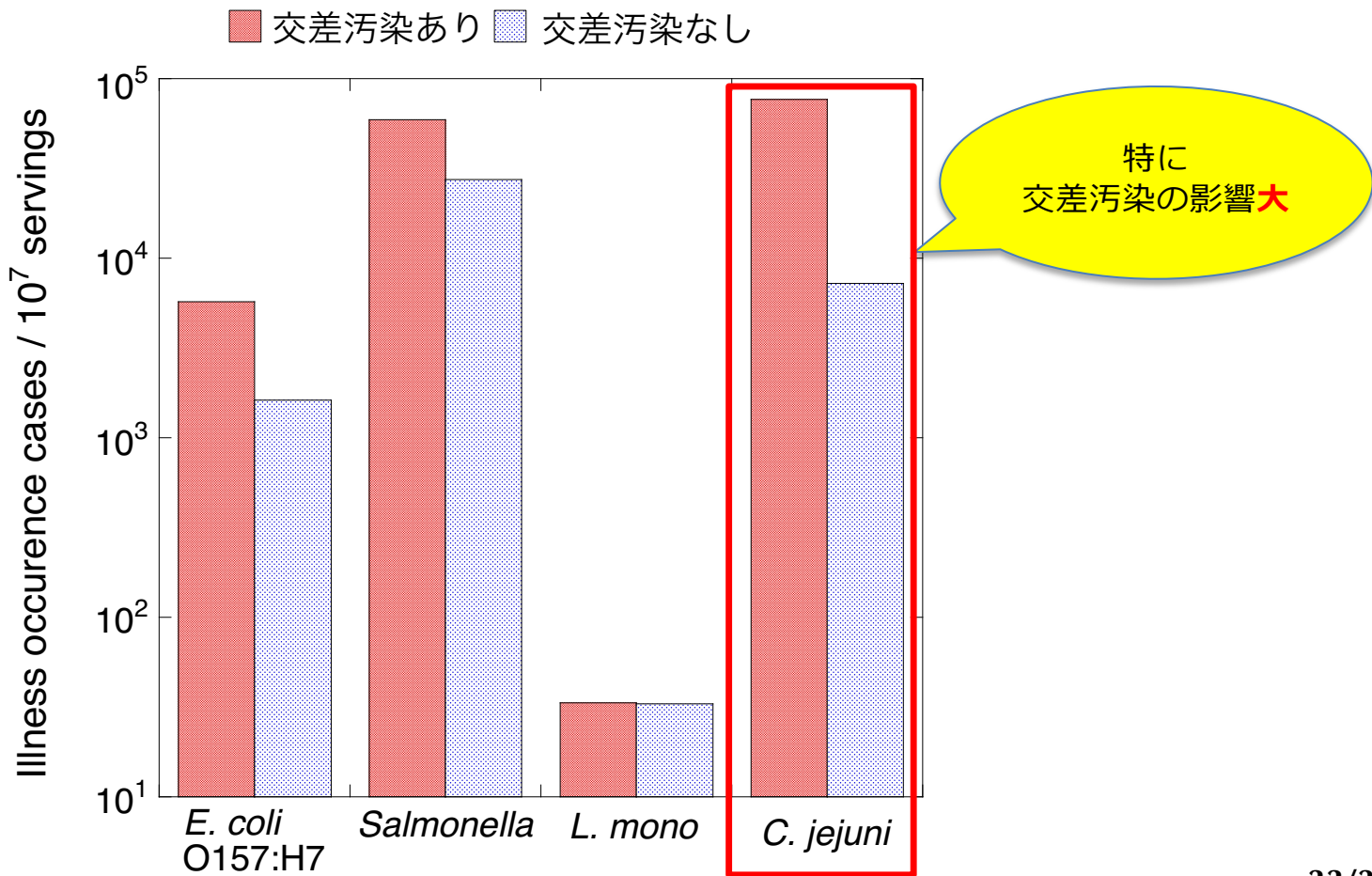
# C. jejuni 発症リスクへの交差汚染の影響





# 4) 交差汚染の影響を考慮した食中毒発症リスク評価モデルの構築

## 食中毒発症リスクへの交差汚染の影響解析



# 研究成果のまとめ

## 1) 交差汚染における付着移行特性の解明のための検討

⇒ 対象食品の水分含量を入力値として、移行汚染率を推定可能に


## 2) 交差汚染した後の食中毒細菌の動態解明


⇒ 乾燥ストレスを経た細菌の増殖・死滅挙動がストレスを受けていない細菌の挙動と差がないことを確認。→ 既往研究成果を活用可能


## 3) 交差汚染を考慮したリスク評価モデルの構築


⇒ 日本国内の事情を反映した、レタスサラダ喫食による食中毒リスク評価モデル構築で、交差汚染の影響を評価可能に

# R4年度終了時点での成果のPublications

 Hiura, S., Abe, H., Koyama, K. & Koseki, S. Bayesian Generalized Linear Model for Simulating Bacterial Inactivation/Growth Considering Variability and Uncertainty. *Front Microbiol* **12**, 674364 (2021).

 Fuchisawa, Y., Abe, H., Koyama, K. & Koseki, S. Competitive growth kinetics of *Campylobacter jejuni*, *Escherichia coli* O157:H7 and *Listeria monocytogenes* with enteric microflora in a small-intestine model. *J Appl Microbiol* (2021).

 Abe, H., Takeoka, K., Fuchisawa, Y., Koyama, K. & Koseki, S. A New Dose-Response Model for Estimating the Infection Probability of *Campylobacter jejuni* Based on the Key Events Dose-Response Framework. *Appl Environ Microb* **87**, e01299-21 (2021).

 Takahashi, Y., Abe, H., Koyama, K., Koseki, S. Modeling the invasion of human small intestinal epithelial-like cells by *Salmonella enterica* Typhimurium and *Listeria monocytogenes* using Bayesian inference. *Letters in Applied Microbiology*, 75, 388-395 (2022).

 **frontiers**  
in Microbiology (IF = 5.64)

 Journal of Applied Microbiology   
(IF = 3.77)

 AMERICAN SOCIETY FOR MICROBIOLOGY | Applied and Environmental Microbiology®  
(IF = 4.79)

 Letters in Applied Microbiology   
(IF = 2.40)

長時間お付き合い頂き、ありがとうございました。  
ご質問・ご意見以下まで頂ければ幸いです。



小関 成樹  
koseki@agr.hokudai.ac.jp

