

カキ衛生と微生物制御

小 川 博 美

Sanitation and Microbiological Control of Oyster

HIROMI OGAWA

(Received Oct. 30, 1998)

Keywords; Oyster, microbiological pollution, indicator of fecal pollution, microbiological control

はじめに

カキは古くからヨーロッパ, アメリカ, 日本などで広く養殖されてきた。日本では広島湾で最も古く約400年前の天文年間に干潟漁業として始まり, 石蒔養殖法から竿建養殖法, 杭打ち垂下養殖法, さらに現在の筏垂下養殖法へと発展した[1]。

1994年の生産量は広島県で全国生産量の69%(2万4,500t)を占めている。次いで宮城県12.5%(4,430t), 岡山県6.7%(2,386t), 岩手県3.1%(1,117t), 三重県2.2%(785t), その他6.6%(2,332t)の総計3万5,555tとなっている[2]。カキの輸入量は1997年で韓国産を中心に6,535tにのぼる。カキ養殖海域は河川からの淡水流入, 水温変化, 塩分濃度など, 植物性プランクトンの発生が良好でカキの生育環境に適した内湾が多い。そのため養殖海域が河川・下水からの汚染を受けやすく, カキの衛生対策が重要となる[3-5]。

豊かな海の幸“マガキ”(Crassostrea gigas)は冬季に採取されるが, 内臓を含めて生食されることから, 生産から流通, 消費の過程で微生物制御を誤ると, 食品衛生的に危害度の高い食品となる。事実, ヨーロッパ, アメリカ及び日本などで, 生カキ摂食による食中毒や消化器系疾病の発生例が多く報告されてきた[6, 7]。また, カキを推定原因食としたNorwalk, Rota, SRSV, Echoなどウイルス性下痢症や肝炎の発生報告も多い[8-13]。

カキ衛生における微生物制御の基本対策は, 養殖環境の保全として ①下水道の整備などの環境保全対

策, ②養殖海域の衛生実態把握と衛生的カキの採取, ③人工浄化による細菌の除去, ④加工・流通過程の衛生管理, ⑤調理・摂食過程での微生物制御, ⑥その他(貝毒)プランクトン対策等である。

1. 環境の微生物汚染とカキ衛生

1) 養殖環境への病原微生物の出現

カキ養殖海域は河川水からの継続的汚染と海水の殺菌作用や希釈, 拡散などの自浄作用が繰り返されている。このような条件下での食中毒起因菌の分布は, 汚染指標微生物と類似している[14, 15]。

(1) サルモネラ (Salmonella)

サルモネラは汚染の進行に敏感に関連し, 広島湾では汚染が最も進んだ1970~1980年代は, 海水(500ml), カキ(10g)中のサルモネラ分布は, 海水で5.7%(13/228), カキで8.3%(14/169)と高率に分離された。しかし, 1981年以降海水からは分離されていない。チェサピーク湾の海水でも3%(4/131)の分離にとどまっている[16, 17]。

(2) 病原性大腸菌 (EPEC)

広島湾での1969~1979年の調査では海水(55ml)で14.0%(33/236), カキ(5.5g)で14.4%(27/188)の報告がある[18]。また, 市販生カキから分離した大腸菌の2.9%(4/138)がエンテロトキシン(LT, ST)産生株である[19]。このように病原性大腸菌は, サルモネラに比較して多く分布している。

(3) 腸炎ビブリオなど病原ビブリオ (Vibrio)

海洋由来の腸炎ビブリオは海水, カキ, 海底泥に広く分布しているが, 水温が15C以下の1~4月には

カキおよび海水からは分離されない。15Cを超える5月から急速に菌量が増加し海水、カキから高率に分離され、6~8月には海水で $10^3/100\text{ml}$ に達する[20]。また、病原ビブリオはビブリオ属の14種が分布し、その菌種はNon-O1 *Vibrio cholerae*(20.2%), *V. parahaemolyticus*(18.1%), *V. fluvialis*(8%), *V. mimicus*及び*V. vulnificus*などである[21]。アパラチコラ湾のカキからNon-O1 *Vibrio cholerae*が分離されているが、その時の海水FC(Fecal Coliform)は $\leq 230/100\text{ml}$ 、カキFCは $210/100\text{g}$ となっている[22]。また、カキからNon-O1 *Vibrio cholerae*を31.0%(18/58)、菌量 $1.1\sim 3,000/\text{g}$ 、海水では41.3%(26/63)、菌量 $43\sim 7\times 10^5/100\text{ml}$ となっている[23]。また、ガルフ湾の海水(71.3%)、貝類(24.9%)及び汚泥(21.1%)から*Vibrio cholerae*が分離されたが、いずれの株もトキシン非産生株であった[24]。*V. vulnificus*については、海水、カキ、汚泥で5.9%(31/529)と低い分布率を示している[25]。以上のように病原ビブリオはカキ収穫期である水温15C以下の冬季では分離されない。

(4) エロモナス (*Aeromonas*)

広島湾では、海水で36.7%(11/30)、菌量 $3.6\sim 360/100\text{ml}$ 、カキで50%(15/30)、菌量 $<30\sim 93,000/100\text{g}$ で分布し、季節的には7月が最も多く、1~3月が最も少ない。その菌種は53株中75.5%が*A. hydrophila*で24.5%が*A. sobria*となっている[26]。また、海水(17%)、カキ(38%)で分離し、その菌量は $3\sim 4,600/100\text{ml}$ 、gとの報告もある[27]。国内市販カキで34%分離され、その菌量は $<10^2\sim 10^4/\text{g}$ となっている[28]。ルイジアナ州のカキを原因とした7集団食中毒事例では、カキから $9.3/100\text{g}$ の*A. hydrophila*が回収されている[29]。

以上のようにエロモナスは河口海水、及びカキに広く分布している。

(5) クロストリジウム (*Clostridium*)

広島湾内のウエルシュ菌 (*Cl. perfringens*) の分布は、海水(2 l)では全て陰性であったが、生カキ(1g)からは58.3%(35/60)分離され、その94.3%(33/35)がHobbs型別されている[30]。市販生カキではその22.4%(50/223株)がHobbs型別されたが、エンテロトキシン産生株はわずか4.0%(9/223株)との報告がある[31]。

ボツリヌス菌 (*Cl. botulinum*) の分布調査では瀬戸内海の海水から12%(3/26)、広島湾でC、D型ボツリヌス菌を22%(2/9)分離されている[32]。また、海水から12%(4/33)分離し、その毒素型はB、C、E型との報告もある[33]。チェサペーク湾でも海水か

ら12.2%(4/33)分離されている[17]。このように芽胞細菌は長期間・広範囲に生存している。

(6) リステリア (*Listeria*)

モビール湾の海水、カキ、小エビから5%(11/227)分離されている[34]。また、アルカタ湾の海水68%(25/37)、カキ2.9%(1/35)から分離されているが、その菌種は非病原性の*L. innocua*である[35]。

(7) エンテロウイルス

河口海水からロタウイルスを29.2%(21/72)分離し、そのウイルス量は $119\sim 1,000\text{PFU}/378\text{l}$ との報告がある[36, 37]。さらに、エンテロウイルスは全体の26%(27/103)を占め、可溶性浮遊物では72%(13/18)と高く、海水で14%(5/35)、海底泥で6%(2/35)となっている。

また、禁止海域でのエンテロウイルスは海水で63.3%(19/30)、カキで40%(12/30)、許可海域では海水で50%(7/14)、カキで20%(2/10)となっている[38]。テキサス産カキからエコーウイルス 4型及びポリオウイルス 1型(2/17)、ルイジアナ産カキからポリオウイルス 3型(1/24)、日本産冷凍カキからポリオウイルス 1型を分離し、ウイルス分離と汚染指標菌量とは関連性が少ないとの報告もある[39]。また、海水中に $21\sim 59\text{PFU}/400\text{l}$ 、汚泥で $78\sim 112\text{PFU}/\text{g}$ のエンテロウイルスの分離例もある[40]。ガルフ湾海水でのエンテロウイルスは、 $2\sim 16\text{PFU}/20\text{l}$ 、浮遊物で $180\sim 332\text{PFU}/400\text{ml}$ となっている[41]。1~2月の海水(水温 $12\sim 16\text{C}$)でのエンテロウイルス調査で15%(6/40)検出されている[42]。肝炎ウイルス分布については、ELISA法で海水からA型肝炎ウイルスを15%(3/20)検出している[43]。また、ガルベストーン湾の海水(50gal)からDNAプローブ法でA型肝炎ウイルスが検出されている[44]。

これらの分布報告とあわせて、カキを推定原因食としたノルウォーク、ロタ、SRSV、エコーなどによるウイルス性下痢症や肝炎の発生報告も国内外に多くみられる[8-13]。

以上のように冬季に生食されるカキで特に重要視される病原微生物は、分布状況からみて、病原大腸菌とエロモナス、ウエルシュ菌、及び腸管系ウイルスと考えられている。

2) 養殖環境への汚染指標菌の出現

カキの清潔度や安全度は、養殖される海水の清浄度に大きく影響を受ける。そのため養殖海域の細菌学的モニタリングや、採取されたカキの安全性確認の検査が重要となる。食品衛生での汚染指標微生物としては大腸菌群(TC)、糞便性大腸菌群(FC)、大腸菌(*E. coli*)及び腸球菌群(FS)などがある。これ

らの指標微生物以外にも *Bacteroides*, *Cl. perfringens*, *Bifidobacterium*, 大腸菌ファージ等もその特性から応用されている [45-52].

これらの中から糞便汚染や病原性細菌及びウイルスの存在との関連性の強さ, 試験法の精度, 検出感度, 簡便性, 迅速性を考慮して公定検査法が定められている [53-59]. 生食されるカキでは病原微生物との関連が重視され, 簡便, 迅速な試験法としてFCが, 養殖海水では検出感度を考慮したTCが採用され, 各国でその基準が定められている [60-62].

公定試験法 (APHA法) は最確数法 (MPN; Most Probable Number) を用いて, LB培地 (Lactose broth) もしくは LST培地 (Lauryl sulphate tryptose broth) で, 48時間の前培養を行う方法で時間を要するが, 損傷した菌の回収性や検出感度 (100ml/g) も高く国際的に広く採用されている [63, 64]. 国内でのカキ成分規格検査には迅速性を考慮して24時間で判定可能なEC試験法が採用されている [65, 66].

3) 海水, カキ中の汚染指標菌の分布と相関

カキ養殖環境中の大腸菌群 (TC) と糞便性大腸菌 (FC) の分布相関, 汚染構成比及びカキへの濃縮は, 河口海水では平均でTC MPN Log 2.11±1.00/100 ml, FC MPN Log 1.11±0.88/100ml レベルで分布している. これらの試料のTCとFCの汚染相関は $r=0.81\sim 0.88$ と高く, FC/TC汚染比率は海水で10.0% (7.7~11.5%), カキで4.3% (3.5~6.7%) を示している [67].

さらに, 同時に同一場所で採取した海水とカキのペアデータ (n=856) の海水TC (X) とカキFC (Y) の相関は, $r=0.78$, $\text{Log}(Y)=0.75\text{Log}(X)+1.05$ と高く, 養殖海水の清浄度が, カキの細菌学的品質を決定している. また, 腸球菌 (FS) との関係をTC:FC:FS比でみると, 海水で10:1:0.03, カキで21.8:1:0.3である. FSは河川水でFCと同一菌量を示すが, 海水及びカキでは最も分布菌量が少ない. 汚染指標菌の相関は, 海水, カキともTCとFCが最も高い相関で分布している. また, 海水のFCと *E. coli* の相関は $r=0.99$ と高い [68, 69]. 図1に1962~90年, 広島湾の同一場所から同時に採取した海水, カキのペアデータ (n=856) による海水TC (X) とカキFC (Y) の相関を示した.

海水中での大腸菌ファージと汚染指標菌TC, FCとの分布相関も高く, TCと $r=0.819$, FCとは $r=0.993$ である. またFC:ファージ比は1.5~203:1とファージは河口海水中に広く分布している [70, 71]. テイラモーク湾でのFC汚染レベル (X) と河川水のFC量 (Y) の関係は $\text{Log}(Y)=3.76+0.56\text{Log}(X)$,

$R^2=0.97$ で示される [72]. チェサピーク湾でもTC, FC, FSの指標菌間の相関は季節を通じて $r=0.82\sim 0.99$ と高い [73].

以上のように海水のTC, FC, FS, ファージは, その海域の汚染度により異なるが, 一定の相関と比率で分布している.

4) 指標菌, 病原微生物の海水中での消長

(1) 汚染指標菌の消長

汚染指標菌は海水の殺菌作用とあわせて海水の温度, 塩分濃度, 有機物濃度等の理化学的要素や微生物間の拮抗作用などの影響を大きく受ける. さらに,

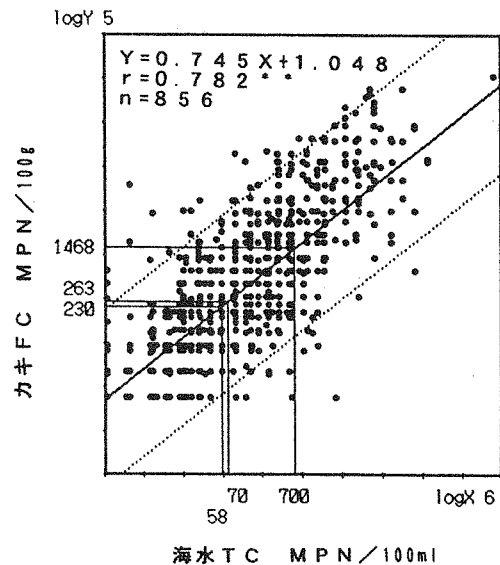


図1. 海水TCとカキのFCの相関
小川ら 文献 [67] より引用

潮流や上下循環による希釈, 拡散, 浮遊物質への吸着沈殿など複合的な自然浄化作用の中で分布している. 海水の殺菌作用や汚染指標菌の消長 (T (10⁻¹); 1/10減少に必要な時間) について多くの報告がある [74-89].

表1に示したように条件により異なるが, 指標菌の海水中のT (10⁻²) は3~9日と考えられる.

また, 海水中t温度におけるTCの死滅係数K (Mortality rate) は, $Kt=[0.8+0.006(\text{塩分濃度}\%)] \times 1.07^{(t-20)}$ で示される [90]. 大腸菌のT (10⁻³) は50時間で, 無処理海水中の減少比 (10⁻³h⁻¹) はサルモネラ 160, 大腸菌 128, 腸球菌43となっている [91]. ウィルス (ファージ) は指標細菌に比較してT (10⁻²) は20~30日と長時間である. いずれの指標微生物とも水温が低いほど長時間生存し, 中でもファージはTC, FCに比較しより長く生存している.

実際の養殖海域では, 降雨時 (30mm/日) 河口4~5 km海域の海水及びカキ中のTC, FC汚染は,

表1 汚染指標菌の海水中での消長

指標微生物	T	死滅時間	条 件	文献
Total Coliform	T(10 ⁻³)	9日	自然海水中	[81]
Total Coliform	T(10 ⁻²)	3日	自然海水中	[82]
Fecal Coliform	T(10 ⁻³)	6日	自然海水中	[ϕ]
<i>E. coli</i>	T(10 ⁻²)	3~4日	5C海水チャンパー中	[83]
<i>E. coli</i>	T(10 ⁻²)	9日	ろ過海水中	[84]
<i>E. coli</i>	T(10 ⁻²)	3日	13C塩分15ppt海水	[85]
<i>E. coli</i>	T(10 ⁻⁴)	7日	22Cろ過海水	[86]
ファージ 4 ϕ	T(10 ⁻²)	30日	18Cろ過海水	[87]
ファージ T2	T(10 ⁻²)	17~30日	20C海水中	[88]
ファージ T7	T(10 ⁻²)	30日	3C,塩分濃度5ppt海水	[89]
ファージ	T(10 ⁻²)	20日	18~21C海水	[90]
ファージ	T(10 ⁻²)	30日	4~15C海水	[ϕ]

T; 菌量1/10減少に必要な時間(日)

平常時レベル回復に7~10日を要する[92]。また、降雨によるカキのTC, FC汚染は、河口に近い指定外海域では、1インチ/日で影響を受けるが、指定海域では2インチ以上/日の時影響がみられる[93]。次に河口からの距離でみると河口→指定外4km→指定外8km→指定海域に移行にともない、FCで3.2→1.5→0.8→0.0, TCで4.2→2.7→1.9→0.9と減少する[94]。さらに、河川のTCレベル(X₁)と河口からの距離(X₂)でみた海域のTC汚染レベル(Y)の関係はr=0.73, Log(Y)=4.66Log(X₁)-0.40(X₂)で示され、河川からの汚染量とその距離が大きく影響している[95]。

水深による汚染指標菌の分布は、河口4~6km海域の上層(1m), 下層(10m)の測定値を比較すると上層部が有意的に汚染度が高い。しかし、12km以遠の海域では海水、カキとも水深による差は認め

られていない[96]。

以上、河川水とともに流入した各種汚染指標菌は、海水の殺菌作用やフローラの相互拮抗作用、海水による希釈・拡散・沈澱などの影響を受けながら汚染と浄化を繰り返し一定の水準で分布している。

(2) 病原微生物の消長

海水中の病原微生物の消長を表2に示した[84-102]。腸管系病原細菌のT(10⁻²)が2~8日と比較的短時間であるのに対し、腸管系ウイルスの場合T(10⁻⁴)8~88日と長期間生残する。

以上のように海水中での病原微生物の消長は、海水の水温、塩分濃度、浮遊物量など条件により異なるが、一般的には非芽包の腸管病原細菌は比較的早く死滅するが、芽胞菌である*Clostridium*属、*Bacillus*属及び各種ウイルスは長期間生残している。

表2 各種病原微生物の海水中での消長

病原微生物	T	死滅時間	条 件	文献
S.Typhi	T(10 ⁻²)	2~10日	無処理海水	[97]
S.Typhi	T(10 ⁻³)	10日	22Cろ過海水	[85]
サルモネラ	T(10 ⁻¹)	4日	15C海水チャンパー	[98]
サルモネラ	T(10 ⁻²)	8~10日	2月自然海水中	[84]
赤痢菌(A群)	T(10 ⁻⁶)	6日	22~24Cろ過海水中	[85]
ポリオウイルス 1型	T(10 ⁻⁷)	53日	2~19C, 塩分8ppt海水	[99]
エコーウイルス 6型	T(10 ⁻⁴)	88日	ϕ	[ϕ]
コクサッキー B5型	T(10 ⁻⁶)	116日	ϕ	[ϕ]
エコーウイルス 1型	T(10 ⁻⁴)	8~18日	塩分濃度24-29ppt海水	[100]
コクサッキー B3型	T(10 ⁻⁴)	7~20日	ϕ	[ϕ]
ポリオウイルス 1型	T(10 ⁻³)	5日	20Cろ過海水	[101]
ポリオウイルス 1型	T(10 ^{-1.5})	4日	無処理海水	[102]
ウイルス A	T(10 ^{-2.5})	4日	無処理海水	[ϕ]

T; 菌量1/10減少に必要な時間(日)

5) 病原細菌と汚染指標菌の相関性

病原細菌の出現と汚染指標菌量には一定の相関性が認められている。TC MPN>70/100mlの海域で採取したカキではサルモネラは7.5% (15/199)分離されたが、TC MPN≤70/100mlでは2.4% (6/255)の報告がある[85]。

海中のファージ K2(X) とサルモネラ(Y)との分布相関は $r=0.91$, $Y=0.52+0.80(X)$ と高く、ファージ量≤200 PFU/100mlの海水で1.4~3.7%の分離率に対し>200 PFU/100mlでは10.6~14.8%と高くなっている[103]。海中のサルモネラ(1:)に対するFC, ファージの各分布比は、それぞれ $172\sim 49\times 10^5$, $118\sim 11\times 10^4$ である。エンテロウイルス(1:)に対し、それぞれ $5\sim 17\times 10^6$, $1\sim 12\times 10^5$ となっている[70]。また、河口海水55ml中の病原大腸菌は、FC MPN≤18/100mlで7.4% (14/188), >18/100mlでは23.9% (45/188)と高い[18]。河口海水20l中のエンテロウイルス量はFC MPN>4,600/100mlでは30~528 PFU/100mlであり、FC MPN≤90/100mlでは0~7 PFU/100mlと減少し、エンテロウイルス量(Y)とFC/100g(X)量は $Y=11.93+0.008(X)$ の関係にある[104]。19C海水のエンテロウイルス(Y)とTC(X)は $r=0.77$, $\text{Log}(Y)=0.21\text{Log}(X)-2.94$ の相関を示している[105]。

以上のように、汚染指標微生物であるTC, FC, *E. coli*, ファージの分布量と海水、カキへの病原微生物出現との相関を認めた報告が多い。このことからカキ収穫期に養殖海域の清浄度を定期的にモニタリングする意義は大きい。

6) 海水及びカキの細菌叢 (フローラ)

河口海水やカキのフローラは、河川水に由来する陸棲細菌と海洋細菌で構成されている。しかし、生食されるカキの品質保持は、構成するフローラが大きく影響し、鮮度保持や賞味期間に影響する。海水添加プレート培地では、海水で $10^2\sim 10^4$ /ml, カキで $10^3\sim 10^6$ /gと海水無添加に比較して菌量は5~10倍多く、その菌種も異なる[106]。すなわち、海水添加の場合は、*Micrococcus*(26.5%), *Bacillus*(15.9%), *Vibrio*(13.3%), *Chromobacterium*(9.3%), *Moraxella*(8.5%), *Pseudomonas*(7.1%), *Flavobacterium*(6.4%), *Coliform*(2.8%)などが主要な菌種である。しかし、海水無添加の場合は*Micrococcus*(24.7%), *Bacillus*(19.5%), *Alcaligenes*(10.9%), *Flavobacterium*(9.3%), *Chromobacterium*(8.8%), *Streptococcus*(8.8%), *Pseudomonas*(7.6%), *Coliform*(7.1%)とやや異なる。また、河口海水には*Candida*, *Rhodotorula*, *Torulopsis*, *Hanseniaspora*, *Debaryomyces*, *Trichosporon*属

の酵母が平均 10^3 /100ml分布している[107]。

市販生カキの主要フローラは、*Lactobacillus*, *Streptobacterium*($10^4\sim 10^8$ /g)で、ついで*A. hydrophila*($<10^2\sim 10^6$ /g), その他*Bacillus*, *Moraxella*, *Pseudomonas*, *Enterobacter*, *Klebsiella*($<10^2\sim 10^4$ /g)の報告がある[108, 109]。

以上のようにカキのフローラは、養殖海水からの影響を受けて多菌種で構成され、カキ保存中の品質変化や保存期間 (shelf life) に影響する。

2. カキによる食中毒発生事例

1924~1925年の冬、ニューヨーク市を中心に下水で汚染したカキによる腸チフスの流行で1,500名が罹患した[6, 110]。日本でも1925年熊本県でカキを原因とした腸チフス患者1,411名が発生し265名の死亡例もある[7]。

日本では1966年12月中~下旬にかけて、関東以西11都府県でカキが原因と推定された食中毒が多発し、患者数は1,596名に及んだが原因微生物は不明である[111]。その後は成分規格などの衛生対策の強化などにより、病原性大腸菌、SRSVを原因物質とした数例の小規模な散発的発生に留まっている[112]。ルイジアナ州では1983年、カキを原因とした7事例の集団食中毒事例で、カキから9.3/100gの*A. hydrophila*が回収された事例もある[29]。

カキを推定原因食としたNorwalk, Rota, SRSV, Echoなどのウイルス性下痢症や肝炎の発生報告も国内外に多い[8-13, 113, 114]。

3. カキ養殖海水の国際的衛生管理基準

アメリカでは1924~1925年カキによる腸チフスの大流行が起こり、これを契機に近代的カキ衛生プログラムが始まった[20]。公衆衛生局は貝類衛生協同計画SSCP (Shellfish Sanitation Cooperative Program)を作成し、衛生対策を進めた。その後、NSSP (National Shellfish Sanitation Program)として現在に至っている[115-124]。

カキ養殖海域の衛生評価の指標菌には TC, FCが採用され、その細菌学的基準は海域の15回以上の調査データから次の4海域に区分されている。(1)許可海域:TC中央値が70以下/100ml, かつ230以上/100mlが10%以下。(2)条件付許可海域(下水処理などの汚染条件によって許可される)。(3)制限海域:TC中央値が70/100mlを超え700以下/100ml, かつ2,300以上/100mlが10%以下。(4)禁止海域:TC中央値が700/100mlを超えているか、または2,300以上/100mlが10%以上を占める海域とされている。この基準をFCで代用する場合はTC70はFC14, TC230はFC49に

表3 各国のカキ養殖海域の区分とその細菌学的基準

	スペイン FC/100mℓ	フランス E.coli/100mℓ	イタリア FC/100mℓ	アメリカ FC/100mℓ	日本 TC/100mℓ	WHO FC/100mℓ
許可海域		満足海域 検出限界以下	許可海域 90%値が2以下	指定海域 中央値が14以下 かつ 43以上が10%以下	指定海域 70以下	指定海域 80%値10以下 かつ 100%値100以下
養殖	FC50%値15 FC90%値50	適合海域 0~60	条件海域 90%値が34以下 100%値が49以下	制限海域 中央値が14~140 かつ 430以上が10%以下	(条件海域) 70を超える 浄化処理可能	
禁止海域		条件海域 60~120	条件海域 90%値が34以下 100%値が49以下	禁止海域 中央値が140を超える または 430以上が10%を超える	指定外海域 70を超える	禁止海域
海水		不適海域 120を超える	禁止海域			
カキ	EC委員会指導基準 生食用 FC 200/100g以下 調理用 FC 500/100g以下			生食用 FC 230/100g 以下	生食用 FC 230/100g 以下	生食用 FC 200/100g 以下

E.Martinez-Manzanares ら文献[124]より引用

換算して、衛生評価されている[61, 62].

日本のカキ衛生プログラムは1967年以来、国内向け生食用生カキを対象に「生食用かきの成分規格、加工基準及び保存基準」が定められ、その基準は「一般細菌数50,000以下/g、大腸菌230以下/100g」となっている。同時に加工基準として、「原料用カキは大腸菌群70以下/100mlの海域で採取されたもの、もしくは同等の海水で浄化処理されたもの」と定められた。さらに、市販生カキの表示は「生食用」であるか否かの用途別及び採取海域の表示が義務付けられカキ衛生の基本が確立してきた。海水の衛生評価にはTCを採用し、生食用カキの採取にはTC MPNが70以下/100mlを指定海域、70/100mlを超える海域を指定外海域に区分している[125]。表3に各国の衛生基準を示した。

4. カキ浄化による微生物制御

成長したカキは広範囲な温度域、塩分濃度域に適応する。カキのエラを通過する水量(F; ℓ/日)と水温(t)の関係は $F=0.107(t)+1.90$ で示され、7~10月23.5~80 ℓ/日/個体、11~4月93.5~216 ℓ/日/個体を示す。また、個体当りの排泄量は乾燥重量で約300~400mg/日である[126]。また、カキの採餌から消化・排出は15~18時間でその偽糞からはTC, FC, 大腸菌、一般細菌などが再放出される[127]。

そこで、清浄カキの確保は、清浄海域での養殖・採取が基本となる。しかし、清浄海域での生産には限界があり、指定外海域(TC MPN70以上/100ml)で採取されたカキについては、カキの旺盛な生理活性を生かした有効な浄化処理を行うと、清浄な生食用カキとして供給可能となる。

1) 移植 (Relaying) による自然浄化

生食用カキの成分規格を超えるカキを清浄な海域へ移植 (Relaying) し、一定期間再養殖し浄化する方法で、地蒔き養殖法のアメリカでは多く用いられている。その指導基準では、 $FC > 14/100ml$ の条件海域で養殖されたカキは $FC \leq 14/100ml$ の許可海域で深さは7.6cm (3インチ)以下の格納コンテナで14日間再養殖される[128]。自然環境での浄化であり大量降雨の場合は再汚染が起こりうる。この浄化法の効果は10日間でFC 23,000/100gのカキが $< 50/100g$ に浄化される[129]。エンテロウイルスは30日間で冬で99.99%、夏で80%浄化される[130]。

一般的にはFCの $10^3/100g$ 減少には5日、サルモネラの $10^{2-4}/g$ 減少に11日、ポリオウイルス1型 (11-71PFU/100g)の除去には15日程度である[131]。

2) カキの人工浄化

清浄海域の確保は限られるため、古から日本、イギリス、アメリカなどで人工浄化が進められた。人工浄化は短時間で大量のカキやハマグリ等の浄化が可能であるが大規模な施設を必要とする。施設の形式により次の2スタイルがある[132-138]。図2~図10

(1) プール浄化

古くは大型の水泳プール型のプール浄化であったが、現在のシステムは、アメリカのユニット型の「500 Bushel system」があり、これらに準じたプールが各国で応用されている。プール容量は $0.23m^3$ (8 cu feet)/カキ 35kg (1 Bushel)を基準に、このシステムは容積 $12.4m^3$ (内径 $22.9m \times 0.9m \times 0.6m$)のタンク10基及びUV殺菌装置から構成され、48時間で約17t (500 bushel)のカキ浄化が可能である。

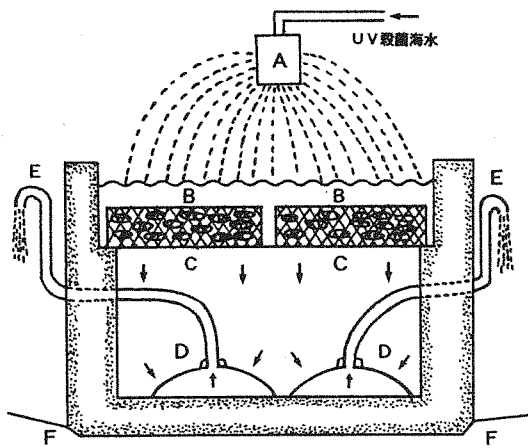


図2 プール型浄化装置 (的矢)
佐藤 文献 [133] より引用

サイズ: 10×0.9×0.7m カキ: 海水比 0.4~0.5ℓ/カキ 灌水量 4.5t/h
A: 注水口 (スプリングクラー) B: カゴ (カキ50個/50cm²)
C: カキ D: 集水器 E: 排水口 F: 排水溝

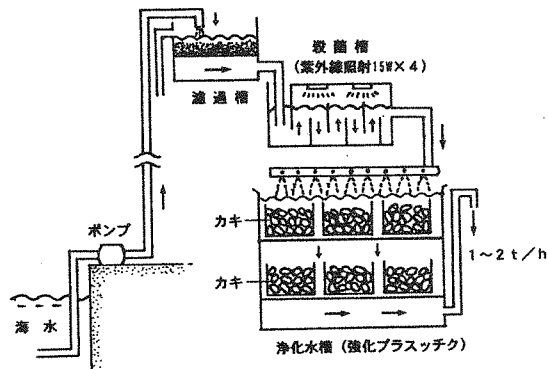


図3 プール型浄化装置 (岩手)
橋本ら 文献 [134] より引用

サイズ: 1.8×1.2×1m カキ: 海水比 0.4~0.5ℓ/カキ個 灌水量 2t/h

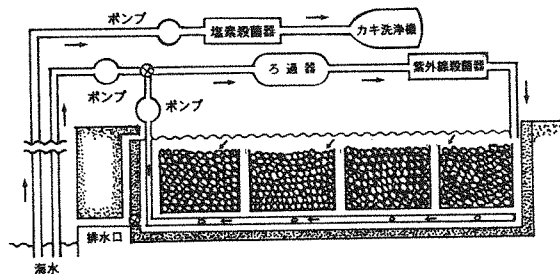


図4 プール型浄化装置 (広島汎用型)
岸本ら 文献 [135] より引用

サイズ: 3.7×2.8×0.8m カキ: 海水比 1:9 灌水量 36t/h

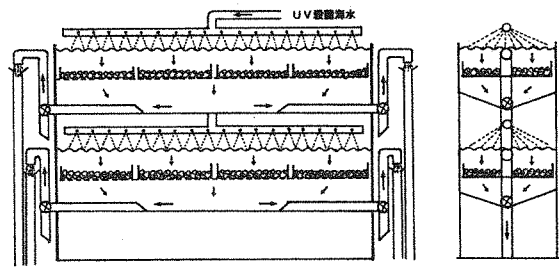


図5 タンク型特別浄化装置 (広島)
岸本ら 文献 [135] より引用

タンク: (330×66×25cm) ×2段 カキ: 海水比 250個/0.47m² 灌水量 4,000ℓ/h

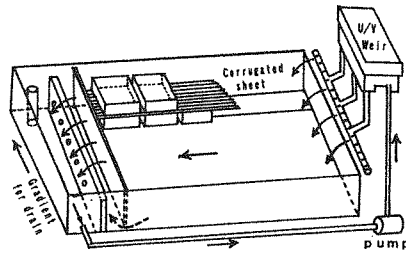


図6 プール型浄化装置 (オーストラリア)
Ayres, P. A. ら 文献 [132] より引用

縦横比: 2:1 カキ量 20~300bag (1 bag; 1,000個) 灌水量 2Δ/h

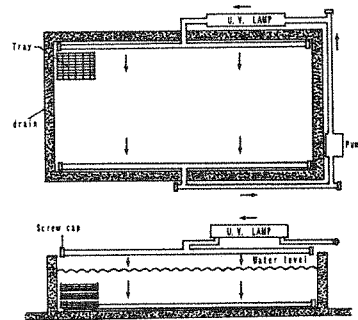
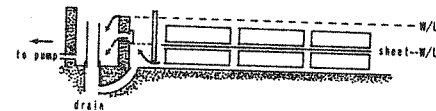


図7 プール型浄化装置 (イギリス)
West, P. A. ら 文献 [136] より引用

縦横比: 3:1 (2~5t) カキ: 海水比 3個/ℓ 灌水量 1Δ/h

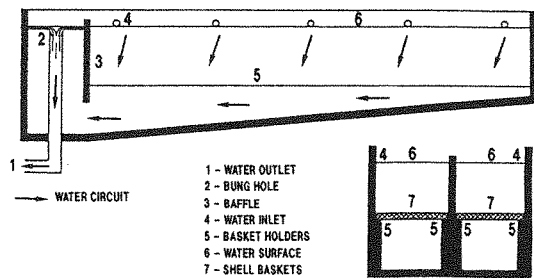


図8 プール型浄化装置 (フランス)
Pauloue, J. L. ら 文献 [132] より引用

サイズ: 10×2×1m 灌水量 80t/h

国内では特別の構造基準は定められていないが、浄化用カゴの深さは30cm以下で10cm程度の足を設けて、灌水率、循環率の良好な構造であることが指導されている [133].

(2) トレー浄化

図9に示すように3m×1m×0.12mのグラスファイバー製のトレー6×2段とUV殺菌装置および揚水ポンプを組み合わせたユニットである。海水は下層の受け皿トレーから汲み上げ、UV殺菌され自然落下で各トレーに供給される。このユニットで1,500個/trayの殻付カキが浄化可能である。トレーを深形(45ℓ:実容量20ℓ)×5段×3重にしたボックス型ユニットもある。

3) 浄化用海水の殺菌処理

浄化用海水は循環方式と流下方式があるが、多くの国で紫外線殺菌した海水の循環方式が多い。還流量はNSSP指導基準の0.11ℓ (1gal)/min/35kg)や2サイクルΔ/h (タンク容量の2倍/h)で行われる。その細菌学的基準は、十分ろ過処理しプランクトンや污泥などの濁度を除去後、紫外線殺菌装置で16mWs/cm²の照射処理で100ℓ/分処理 (一回の処理通過でFC<88/100mlの海水が99.9%殺菌処理される殺菌能力)したFC<2/100mlの海水が使用される。国内の指導基準では還水量は最低12ℓ/分/カキ1,000個で、浄化用海水の細菌学的基準は TC1.8以下/100mlとなっている。

海水の理化学的品質として、水温は10~25C (採取海域との温度差±3C)、溶存酸素量は飽和量の50%以上、塩分濃度は採取された海域濃度の±20%以内、pH7~8.4と定められている。

国内では、溶存酸素量は飽和量の60%以上、塩分濃度2.0%以上、化学的酸素要求量2ppm以下、油分0.1ppm以下、重金属を検出しないことになっている [120, 139].

表4 カキ(貝類)浄化処理の細菌学的基準

国 別	指 標 菌	SPC/Salmonella
日 本	FC ≤ 230/100g	5×10 ⁴ /g
シンガポール	E. Coli ≤ 20/g	5×10 ⁵ /g
E E C	FC ≤ 230/100g	-/25g
スペイン	FC ≤ 230/100g	-/25g
アメリカ	FC ≤ 20/100g	.
	かつ>70が10%以下	
ニュージーランド	FC ≤ 230/100g	.
	かつ≤50が80%以上	
カナダ	FC ≤ 50/100g	.
	かつ>130が10%以下	

Otwell, W.S.ら文献[132]より引用

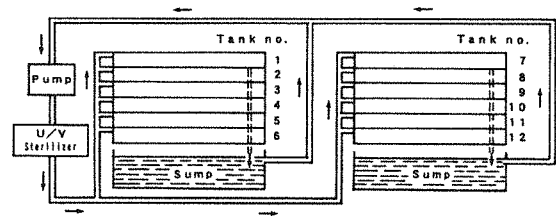


図9 トレー型浄化装置 (オーストラリア)
Souness, R.ら 文献 [137] より引用

トレー: (292×104×12cm) ×12 カキ: 海水比 4個/ℓ 灌水量 3 Δ/h

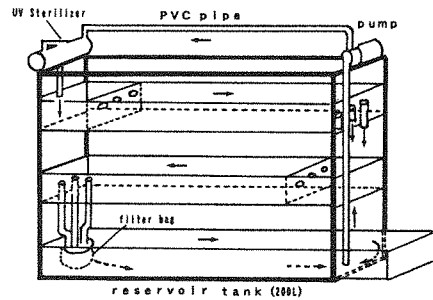


図10 トレーユニット型浄化装置 (タイ)
sangrungrung, K.ら 文献 [138] より引用

トレー: (160×40×16cm) ×2層 カキ量500以下/m² 灌水量 30 ℓ/h

このように各国で一定の浄化基準を設定しプラントの建設と使用許可、浄化処理の指導が行われている。その浄化基準を表4に示した。さらに国内では「特別処理かき」が定められ、指定海域で採取された原料カキを特別に浄化処理(20時間)し、細菌数1万/g以下、FC100/100g以下の基準がある [139].

4) 人工浄化による浄化効果

多くの報告では初期汚染菌量FC 10³/100gのカキの場合、16~20C、24時間で≤230/100g、48時間で≤50/100gに浄化される。しかし、水温10C以下の場合、及び初期汚染菌量がFC>10⁴/100gの場合では上記の浄化効果を期待されず72時間浄化でも≤230/100gには浄化されない [130]. そのため禁止海域で採取されたカキの浄化効果は期待できない。E. coliやS. Charityは48時間で10³/100gから7/100gに減少する。ファージは48時間で2×10⁶/gから80/gとFCとほぼ同様に減少する [140].

次にウイルスの浄化効果をみるとポリオウイルスでは120時間で10⁴から10³/gと浄化効率は細菌に比較し低い。また、クリケットウイルス(CrPV)でも96時間で10⁴から10³/g程度の浄化に留まる [141]. 放射性同位元素を用いたCrPVウイルスの実験では、9日間浄化で10⁵→10⁴/ml程度の減少であり、短時間での有効な浄化効果は期待できない。これは消化管に粘着し

たウイルス粒子が中腸腺から上皮細胞の基底膜を通過して結合組織や血流へと侵入することが明かにされている[142]。一方、UV殺菌(94mWs/cm²)循環装置でのカキ中ロタウイルスの浄化は30PFU/gを超える場合72時間で82%、30PFU/g以下の場合には100%浄化されている[143]。

病原微生物の人への感染モデル解析では表5に示すように菌種により異なるが、細菌に比較してウイルスが少ない量で感染が成立する。例えばロタウイルスでは10,000人の暴露時に1%の感染が成立する確率時のウイルス量は0.03PFUでありカキ1個または汚染量の多い場合は1gの摂取で感染が成立することが証明されている。これらの防御にはLog3~5の浄化除去が必要とされている[144, 145]。

また、ウイルス性腸炎の感染防止を視野に入れた基準も検討され、WHOのガイドラインでは、養殖海域の海水基準をFC80/100ml 10%以下でFC100/100ml以上が20%以下であること。カキではFC 0~2/g販売可、FC 3~10/g 一時的販売禁止、FC 10/gを超えるものは販売禁止の基準が示されている[146]。

5. 加工・流通過程における微生物制御

採取され浄化・剥き身加工されたカキもその後の洗浄、保存温度管理いかんで、その細菌学的品質や賞味期限、鮮度保持時間に大きく影響する。剥身カキの洗浄効果は、浄化によるほどの除菌効果は得られないが、剥身処理中の汚染やエラ、体表に付着した細菌や大腸菌の除菌効果(1/2~1/10)が期待でき、殺菌海水での十分な洗浄が指導されている[139]。剥身カキを淡水に浸漬すると浸透圧の差で36時間後には容量が140%、重量が135%に増加する。しかし、カキの細胞活性はなくなり、細菌学的品質は急激に低下する。保存温度9C条件では、水道水で処理したカキの細胞は

2日目で活性を失うが、海水(塩分濃度1.5~1.7%)で処理したカキでは3日まで活性を保持する。一般細菌数も細胞活性の低下とともに急速に増加することが知られている[146]。

海水中剥身カキの保存温度別変化は、5C保存では5日、10C保存では3日、20C保存で1日と保存温度で細胞活性の持続時間は異なる。一般細菌数の変化は5Cでは殆ど変化しないが、10Cでは4日目で10³→10⁵/gに増加し、20Cでは2日目に10³→10⁷/gに増大し、FCも10²→10⁴/100gに増殖する[147]。

6. 貝毒対策

貝毒には麻痺性貝毒(PSP; Paralytic shellfish poison)と下痢性貝毒(DSP; Diarrhetic shellfish poison)による食中毒が知られている[148-151]。いずれもアサリ、カキが有毒プランクトンを捕食、中腸腺に蓄積することにより毒化する。貝の毒化は海域の温度条件や原因プランクトンの種類などにより毒化の時期や強さが異なる。日本でのPSP発生は、1975年三重県尾鷲湾において初めて*Alexandrium catenella*の赤潮で発生した。広島湾では1992年4月初めて*A. tamarense*によりカキ、アサリが毒化し、カキ養殖業に大きな被害を出した[152]。その後広島湾では毎年発生をみているが、毒化の時期は冬季の海水温が上昇し始める時期(海水温10~11C)に*A. tamarense*が出現し、海水中プランクトン数0.3-0.6cells/mlを超えるころからカキの毒化が始まる。さらに、水温13-14C、プランクトン密度40-600/mlになると毒化はピークに達する。いったん毒化したカキの毒力は、ホタテ貝と異なり有毒プランクトンの消失とともに約1週間後には消失する[153]。PSPはサキシトキシン(STX)を基本骨格とするGTX(gonyautoxins)など18成分から構成されている[149-161]。これらの毒素は通常の加熱調理法では、解毒されず、また有毒プランクトンの発生を人為的に制御できない[154]。これらのことからその予防には、経時的な海水温の変化と有毒プランクトン数をモニタリングすることによりカキの毒化を予測し、同時にカキの毒量を測定しながら採取調整する以外にない。毒化した貝類の水揚げ、出荷、流通を未然に防ぐため、広島県では「貝毒対策実施要領」により、①カキ中毒毒量が2MU/g(下痢性貝毒0.05MU/g)の時点で注意体制をとり、モニタリングを強化しながら、②4MU/gを超える時点で自主出荷規制と水揚げしたカキの廃棄処分が行われている[155]。

7. 調理における微生物制御

冬の味覚カキは、酢カキ、カキフライ、土手鍋、殻

表5 感染推計モデル式による病原微生物の感染確率

病原微生物	病原微生物1個に暴露された時の感染確率	10,000人に1%感染成立必要量CFU/PFU
サルモネラ	2.3×10 ⁻³	4.3
赤痢	2.3×10 ⁻³	10
コレラ	1.5×10 ⁻⁵	667
キャンピロバクター	7.0×10 ⁻³	1.4
ポリオウイルス 1	1.49×10 ⁻²	0.67
ポリオウイルス 3	3.1×10 ⁻²	0.32
エコーウイルス 12	1.7×10 ⁻²	0.59
ロタウイルス	3.1×10 ⁻¹	0.03
ジアルジア	1.98×10 ⁻²	0.5

J.B.Roseら文献[144]より引用

付焼き, カキ飯などの調理法で食される。加熱調理の場合でも不完全な調理では危険性が残る。非加熱摂取される生食用カキは, 日本で酢カキ, アメリカ, ヨーロッパでは殻付にスパイスをかけた生食が主流で, 生カキによる食品事故が多い。日本の場合, 加熱調理用カキが流通過程で明確な分けが不完全なため, 誤って加熱調理用カキを生食した事例での食品事故が大半を占めている。

1) 調理前の洗浄

衛生的に生産されたカキも流通期間(1~2日)中に保存条件によっては細菌の増加がみられ調理前の洗浄は重要である。生食用カキを原料として酢カキを調理する場合は3%塩水, 水道水, 大根おろしでの洗浄効果の比較があるが3%塩水と大根おろしの混合液(4:5)が良好との成績もある[156]。

2) 加熱調理

カキ食中毒の原因食は酢カキなどの生カキであるが, まれにはフライやグラタンも原因食となっている。加熱調理で最も良く利用されるカキフライの場合, 油温180C, 加熱時間2分で中心温度は油揚げ直後75C, その後最高90Cに到達し, 5分後には75Cに低下する。この加熱効果は一般細菌数で加熱前 $12 \times 10^3/g$ から加熱後 $3,800/g$ に減少し, FCでは加熱前 $1,800/100g$ から加熱後 $70/100g$ に減少する。ウエルシュ菌では加熱前 $10^{-1}/g$ から加熱後変化はみられず, これを室温保存すると $10^3 \sim 10^5/g$ に急増する[157]。加熱調理カキでも速やかな摂食がポイントとなる。

まとめ

生食されるカキの衛生確保には, 下水道の整備などの汚染源対策の推進は基より, 近年各種食品製造に導入されてきたHACCP的考え方を基本としたカキ出荷期の海域衛生把握, 大量降雨後の採取規制, さらには市販生食カキの成分規格の厳守, 生食用・加熱用の明確な用途区分による適正な流通と消費者の啓発などの基本的施策の徹底が重要と考えられる。またカキのより効率的な人工浄化法の確立も今後重要な課題と考えられる。

文 献

[1] 岡垣 茂(1977):広島かき. 1-157. 広島かき出荷振興協議会, 広島。
 [2] 中国四国農政局(1994):広島農林水産統計年報(水産編)1983-1994. 306-307, 広島農林統計協会, 広島。
 [3] 木村知博(1975):水産増殖, **22**, 110-119。
 [4] 西條八束(1984):内湾の環境科学(上巻). 1-162,

培風館, 東京。

[5] 日本水産学会編(1977):浅海養殖と自家汚染.水産学シリーズ21, 109-117, 恒星社厚生閣, 東京。
 [6] Ramsey,G.H.,McGinnis,G.F.and Neal,P.R.(1928):Pub.Health Rep., **43**, 2395。
 [7] 遠山祐三(1925):日本伝染病学会雑誌, **1**, 54-62。
 [8] Bryan,F.L.(1980):J.Food Prot., **43**, 859-876。
 [9] Murphy,S.J.,Grohmann,P.J.,Christoper,P.J.(1979):Med.J.Aust., **2**, 329-333。
 [10] Gunn,R.A.,Janowski,H.T.,Lieb,E. et al.(1982):J.Epidemiol., **115**, 348-351。
 [11] Eyles,M.J.,Davey,G.R. and Huntley,E.J.(1981):J.Food Prot., **44**, 294-296。
 [12] Richards, G.P.(1985):J.Food Prot.,**48**,815-823。
 [13] Ohara,H.,Naruto,H.,Watanabe,W. et al.(1983):J.Hyg.Camb., **91**, 163-165。
 [14] 橋本秀夫(1991):J.Fac.Appl.Sic.,Hiroshima Univ., **30**, 85-102。
 [15] Gerba,C.G. and Goyal,S.(1978):J.Food Prot., **41**, 743-754。
 [16] 福田伸治, 岸本敬之, 得能弘志ほか(1981):広島県衛研所報, **28**, 19-25。
 [17] Sayler, G.S., Nelson, J.D., Justice, A. et al.(1976):Appl.Environ.Microbiol., **31**, 723-730。
 [18] 小川博美, 得能弘志, 佐々木実己子ほか(1980):食衛誌, **21**, 5-12。
 [19] 小久保弥太郎, 松下 秀, 甲斐明美ほか(1978):食衛誌, **19**, 117-121。
 [20] 小川博美, 得能弘志, 岸本敬之ほか(1989):広島県獣医学会誌, **4**, 47-57。
 [21] Venkateswaran,K.,Kiiyukia,C.,Takaki,M. et al.(1989):Appl.Environ.Microbiol., **55**, 2613-2618。
 [22] Hood,M.A.,Ness,G.E. and Rodrick,G.E.(1981):Appl.Environ.Microbiol., **41**, 559-560。
 [23] Tamplin,M.L.,Rodrick,G.E.,Blake,N.J. et al.(1982):Appl.Environ.Microbiol., **44**, 1466-1470。
 [24] DePaola,A.,Presnell,M.W.,Motes,M.L. et al(1983):J.Food Prot., **46**, 802-806。
 [25] Kaysner,C.K.,Abeyta,C.,Wekell,M.M. et al(1987):Appl.Environ.Microbiol., **53**, 1349-1351。
 [26] 得能弘志, 小川博美, 佐々木実己子(1987):広島県衛研年報, **22**, 44-45。
 [27] Abeyta,C., Weagant,S.D., Kaysner, C.A. et al.(1989):J.Food Prot., **52**, 7-12。
 [28] 石原裕二, 大谷洋一, 柏原広弘ほか(1983):食品衛生研究, **33**, 75-80。
 [29] Abeyta,C.,Kaysner,C.A.,Wekell,M.M. et

- al.(1986):J.Food Prot., **49**, 643-646.
- [30] 岸本敬之, 得能弘志, 大杉豊照ほか(1967):広島県衛研所報, **17**, 23-28.
- [31] Saito,M.(1990):J.Food Prot., **53**, 115-118.
- [32] Venkateswaran,K.,Nakano,H.,Okabe,T. et al(1989):Appl.Environ.Microbiol., **55**, 559-567.
- [33] Carney,J.F.,Carty,C.E.and Colwell,R.R.(1975):Appl.Microbiol., **30**, 771-780.
- [34] Motes,M.L.(1991):J.Food Prot., **54**, 170-173.
- [35] Colburn,K.G.,Kaysner,C.A.,Abeta,C. et al.(1990):Appl.Environ.Microbiol., **56**, 2007-2011.
- [36] Chalapatirao,V.,Seidel,K.M.,Goyal,S.M. et al.(1984):Appl.Environ.Microbiol., **48**, 404-409.
- [37] Chalapatirao,V.,Metcalf,T.G. and Melnick,J.L.(1986):Appl.Environ.Microbiol., **52**, 484-488.
- [38] Goyal,S.M.,Gerba,C.P. and Mernick,J.L.(1979):Appl.Environ.Microbiol., **37**, 572-581.
- [39] Fugate,K.J.,Gliver,D.O. and Hatch,M.T.(1975):J.Milk Food Technol., **38**, 100-104.
- [40] Schaiber,G.E.,Edmond,T.D. and Gerba,C.P.(1982):Wat.Res., **16**, 1425-1428.
- [41] Gerba,C.P.,Smith,E.M. and Melnick,J.L.(1977):Appl.Environ.Microbiol., **34**, 158-163.
- [42] Cole,M.T.,Kilgen,M.B.,Reily,L.A. et al.(1986):J.Food Prot., **49**, 596-601.
- [43] Nasser,A.M. and Metcalf,T.G.(1987):Appl.Environ.Microbiol., **53**, 1192-1195.
- [44] Jiang,X.,Estes,M.K.,Metcalf,T.G. et al.(1986):Appl.Environ.Microbiol., **52**, 711-717.
- [45] Allsop,K. and Stickler,D.J.(1985):J.Appl.Bacteriol., **58**, 95-99.
- [46] Bisson,L.W. and Cabelli,V.J.(1980):J.WPCF., **52**, 241-248.
- [47] Esterbrook,T.J. and West,P.A.(1987):J.Appl.Bacteriol., **62**, 413-419.
- [48] Crrillo,M.,Estrada,E. and Hazen,T.C.(1985):Appl.Environ.Microbiol., **50**, 468-476.
- [49] Seeley,N.D. and Primrose,S.B.(1982):J.Appl.Bacteriol., **53**, 1-17.
- [50] IAWPRC Study Group:(1991):Wat.Res., **25**, 529-545.
- [51] Stetler,R.E.(1984):Appl.Environ.Microbiol., **48**, 668-670.
- [52] Wentzel,R.S.,O' Neill,P.E. and Kitchens,J.F.(1982):Appl.Environ.Microbiol., **43**, 430-434.
- [53] Presnell,M.W. and Miescier,J.J.(1971):J.WPCF., **43**, 407-416.
- [54] Sobsey,M.S.,Hackney,C.R.,Carrick,R.J. et al(1980):J.Food.Prot., **43**, 111-113.
- [55] Hunt,D.A. and Springer,J.(1978):J.AOAC., **61**, 1317-1323.
- [56] Bordner,R.H.(1978):J.Food Prot., **41**, 314-319.
- [57] Morrison,S.M.(1978):J.Food Prot., **41**, 304-308.
- [58] Gresson,P.E.(1978):J.Food Prot., **41**, 309-313.
- [59] Yoshpe-purer,Y.(1989):Appl.Environ.Microbiol., **55**, 2041-2045.
- [60] 鈴木 昭(1970):モダンメディア, **16**, 268-277.
- [61] U.S Public Health Service.(1986):National shellfish sanitation program manual of operations.Part I.Sanitation of Shellfish growing areas.U.S.Publ. Health Service, Washington,DC.
- [62] Meynard,C.,Reys,J.P.,Phan-Tan-Luu,R. et al.(1989):Wat.Res., **23**, 663-666.
- [63] American Public Health Association(1985):Standard methods for the examination of water and wastewater,16th ed., American Public Health Association,DC.
- [64] Austin,B.,Hussong,D.,Weiner,R.M. et al.(1981):J.Appl.Bacteriol., **51**, 101-112.
- [65] West,P.A. and Coleman,M.R.(1986):J.Appl.Bacteriol., **61**, 505-516.
- [66] Rippey,S.R.,Adams,W.N. and Watkins,W.D.(1987):J.WPCF., **59**, 795-798.
- [67] 小川博美, 岸本敬之, 得能弘志ほか(1986):食品と微生物, **3**, 87-94.
- [68] 小川博美, 福田伸治, 佐々木実己子ほか(1997):広島県保健環境センター研究報告, **5**, 1-10.
- [69] 小川博美(1992):広島県衛生研究所研究報告, **39**, 11-22.
- [70] Dutka,B.J.,Shaarawi,A.E.,Martins,M.T. et al.(1987):Wat.Res., **21**, 1127-1134.
- [71] O' Keefe,B. and Green,J.(1989):Wat.Res., **23**, 1027-1030.
- [72] Kelch,W.J. and Lee,J.S.(1978):J.WPCF., **50**, 862-868.
- [73] Sayler,G.S.,Nelson,J.D.,Justice,A. et al(1975):Appl.Microbiol., **30**, 625-638.
- [74] Faust,M.A., Aotaky,A.E. and Hargadon,M.T.(1975):Appl.Microbiol., **30**, 800-806.
- [75] Borrego,J.J.,Arrabal,F.,Vicente,L.F. et al(1983):J.WPCF., **55**, 297-302.
- [76] Dawe,L.L. and Penrose,W.R.(1978):Appl.Environ.Microbiol., **35**, 829-833.
- [77] Mancini,J.L. and Ridgewood,N.J.(1978):J.WPCF., **50**, 2477-2484.

- [78] Harremoës, P. (1970): *Wat. Res.*, **4**, 737-749.
- [79] McCambridge, J. X. and McMeekin, T. A. (1980): *Appl. Environ. Microbiol.*, **40**, 907-911.
- [80] Savage, H. P. and Hanes, N. B. (1978): *J. WPCF*, **43**, 854-861.
- [81] Gerba, C. P. and Mcleod, J. S. (1976): *Appl. Environ. Microbiol.*, **32**, 114-120.
- [82] McFeters, G. A. and Stuart, D. G. (1972): *Appl. Microbiol.*, **24**, 805-811.
- [83] Rhodes, M. W. and Kator, H. (1988): *Appl. Environ. Microbiol.*, **54**, 2902-2907.
- [84] Anderson, I. C., Rhodes, M. W. and Kator, H. L. (1983): *Appl. Environ. Microbiol.*, **45**, 1877-1883.
- [85] Munro, R. M., Rumond, F. L. and Gauthier, M. J. (1987): *Appl. Microbiol.*, **4**, 121-124.
- [86] Berrego, J. J. and Romero, P. (1985): *Wat. Res.*, **19**, 557-562.
- [87] Gerba, C. P. and Schaubberger, G. E. (1975): *J. WPCF.*, **47**, 93-103.
- [88] Niemi, M. (1976): *Wat. Res.*, **10**, 751-755.
- [89] Vaughn, J. M. and Metcalf, T. (1975): *Wat. Res.*, **9**, 613-616.
- [90] Mancini, J. L. and Ridgewood, N. J. (1978): *J. WPCF*, **50**, 2477-2484.
- [91] Garcia-Lara, J., Menon, P., Servais, P. et al. (1991): *Appl. Environ. Microbiol.*, **57**, 855-888.
- [92] 小川博美, 得能弘志, 佐々木実己子ほか (1976): *広島県衛研所報*, **23**, 9-17.
- [93] Sobsey, M. D., Hackney, C. R., Carrick, R. J. et al. (1980): *J. Food Prot.*, **43**, 111-113.
- [94] 小川博美, 岸本敬之, 得能弘志ほか (1987): *広島県獣医学会誌*, **2**, 13-21.
- [95] 得能弘志, 小川博美, 佐々木実己子ほか (1977): *昭和52年度広島県衛研年報*, 57-63.
- [96] 岸本敬之, 得能弘志, 高田千賀子 (1968): *昭和42年度広島県衛研年報*, 278-290.
- [97] Nubbut, N. H. and Kurayiyah, F. (1972): *J. Hyg. Camb.*, **70**, 223-228.
- [98] Vasconcelos, G. J. and Swartz, R. G. (1976): *Appl. Environ. Microbiol.*, **31**, 913-920.
- [99] Lo, S., Gilbert, J. and Hetrick, F. (1976): *Appl. Environ. Microbiol.*, **32**, 245-249.
- [100] Smith, E. M., Geroba, C. P. and Melick, J. L. (1978): *Appl. Environ. Microbiol.*, **35**, 685-689.
- [101] Akin, E. W., Hill, F. H., Cline, G. B. et al. (1976): *Wat. Res.*, **10**, 59-63.
- [102] Patti, A. M., Santi, S. R., Gabrieli, R. et al. (1986): *Wat. Res.*, **20**, 1335-1338.
- [103] Borrego, J. J., Moringo, M. A., Vicente, A. et al. (1987): *Wat. Res.*, **12**, 1473-1480.
- [104] Labelle, R. L., Gerba, C. P., Goyal, S. M. et al. (1980): *Appl. Environ. Microbiol.*, **39**, 588-596.
- [105] Fattal, B. T., Vasl, R. J., Katzenelson, E. et al. (1983): *Wat. Res.*, **17**, 397-402.
- [106] 小川博美, 得能弘志, 佐々木実己子 (1974): *昭和49年度広島県衛研年報*, 119-127.
- [107] Hagler, A. H. and M-Hagler, L. C. (1981): *Appl. Environ. Microbiol.*, **41**, 173-178.
- [108] 小沼博隆, 鈴木 昭, 河西 勉ほか (1975): *食衛誌*, **16**, 422-423.
- [109] 鈴木 明 (1977): *モダンメディア*, **23**, 244-266.
- [110] Bundesen, H. N. (1922): *JAMA*, **84**, 641-650.
- [111] 持永泰輔 (1969): *モダンメディア*, **15**, 89-92.
- [112] 甲斐明美, 伊藤 武, 斉藤香彦ほか (1983): *東京都衛研年報*, **34**, 121-125.
- [113] 岡田正次郎 (1987): *食品と微生物*, **4**, 93-102.
- [114] 花木孝祐, 村上 司, 蓑城昇次ほか (1987): *感染症情報*, 6月号, 112-113.
- [115] 神林三男, 鈴木 昭, 古沢陽一 (1961): *食品衛生研究*, **11**, 43-51.
- [116] 古沢陽一 (1961): *食品衛生研究*, **11**, 37-48.
- [117] U.S. Food and Drug Administration (1970): *Shellfish growing area survey procedures*. U.S. Publ. Health Service, Washington, DC.
- [118] U.S. Public Service (1986): *National shellfish sanitation program manual of operation .part I. Sanitation of shellfish growing areas*. U.S. Publ. Health Service, Washington, DC.
- [119] U.S. Food and Drug Administration (1987): *National Shellfish sanitation program manual of operation. Part II. Sanitation of the harvesting, processing and distribution of shellfish*. U.S. Publ. Service, Washington, DC.
- [120] National Shellfish Sanitation Program (NSSP). 1990, *Manual of operations, part 1: Sanitation of shellfish growing areas*. Public Health service, U.S. Food and Drug Administration, Washington, DC.
- [121] National Shellfish Sanitation Program (NSSP). 1990, *Manual of operations, part 2: Sanitation of shellfish growing areas*. Public Health service, U.S. Food and Drug Administration, Washington, DC.
- [122] Hunt, D. A. (1974): *Preliminary report on a comparison of total coliform and fecal coliform values in shellfish growing area*

- waters and a proposal for a fecal coliform growing area standard. Proceeding 8th national shellfish sanitation workshop, New Orleans, Louisiana.
- [123] Recommendations by the National Advisory Committee on Microbiological Criteria for Foods (1992): *J. Food. Prot.*, **55**, 463-480.
- [124] Martinez-Manzanares, E., Morinigo, M. A., Castro, D. et al. (1992): *J. Food. Prot.*, **55**, 609-614.
- [125] 厚生省 (1967): 「食品, 添加物等の規格基準の一部改正」. 厚生省告示第349号, 昭和42年8月2日付.
- [126] 広島水産研究会 (1978): 広島市の水産振興に関する調査分析報告書, 130-150.
- [127] Rowse, A. J. and Fleet, G. H. (1982): *Appl. Environ. Microbiol.*, **44**, 544-548.
- [128] Richards, G. P. (1988): *J. Food. Prot.*, **51**, 218-251.
- [129] Supan, J. E. and Cake, E. W. (1982): *J. Shellfish Res.*, **2**, 141-151.
- [130] Sobsey, M. D., Carrick, R., Hackney, C. (1980): *Abstr. Annu. Meeting Am. Soc. Microbiol.*, p.178.
- [131] Cook, D. W. and Ellender, R. D. (1986): *J. Food Prot.*, **49**, 196-202.
- [132] Otwell, W. S., Rodrick, G. E. and Martin, R. E. (1991): *Molluscan shellfish depuration*. CRC Press, Boston.
- [133] Sato, T. (1960): *Rep. Fac. Fish. Mie Pref. Univ.*, **3**, 627-632.
- [134] 橋本勢津, 川股行三, 中島瑞彦ほか (1985): *食品衛生研究*, **35**, 57-63.
- [135] 岸本敬之, 得能弘志, 佐々木実己子ほか (1979): 昭和54年度広島県衛生研究所業務年報, 101-143.
- [136] West, P. A. (1986): *J. Royal Society of Health*, **106**, 133-140.
- [137] Souness, R., Bowrey, R. G. and Fleet, G. H. (1979): *Food Technology (in Australia)*, **31**, 531-537.
- [138] Sangrungruang, K., Sahavacharin, S. and Ramanudom, J. (1989): *Asean Food J.*, **4**, 101-106.
- [139] 広島県環境衛生課 (1993): *かき衛生関係法令集*, 1-88.
- [140] Buisson, D. H., Fletcher, G. C. and Begg, C. W. (1981): *NZ. J. Sci.*, **24**, 253-262.
- [141] Scotti, P. D., Fletcher, G. C. and Buisson, D. H. et al. (1983): *NZ. J. Sci.*, **26**, 9-13.
- [142] Hay, B. and Scotti, P. (1986): *Freshwater Res.*, **20**, 655-659.
- [143] Boher, S. and Schwartzbrod, L. (1993): *Wat. Sci. Tech.*, **27**, 55-60.
- [144] Rose, J. B. and Gerba, C. P. (1991): *Wat. Sci. Tech.*, **24**, 29-34.
- [145] Qureshi, A. A., Mahasneh, A., Al-sayed, H. et al. (1993): *Wat. Sci. Tech.*, **27**, 35-39.
- [146] Helmer, R., Hespanhol, I. and Saliba, L. J. (1991): *Wat. Sci. Tech.*, **24**, 35-42.
- [147] 岸本敬之, 得能弘志, 小川博美ほか (1968): 昭和43年度広島県衛生研究所業務年報, 280-284.
- [148] 岸本敬之, 得能弘志, 高田千賀子ほか (1966): 昭和41年度広島県衛生研究所業務年報, 179-189.
- [149] 山中英明 (1986): *食衛誌*, **27**, 343-353.
- [150] 野口玉雄 (1995): *食品衛生研究*, **45**, 75-92.
- [151] 野口玉雄 (1993): *食品と微生物*, **10**, 61-70.
- [152] 水田満里, 高田久美代, 門田達尚ほか (1993): 広島県保健環境センター研究報告, **1**, 37-41.
- [153] 水田満里, 山田圭一, 高田久美代ほか (1999): *食衛誌*, **40**, 19-46.
- [154] 高田久美代, 水田満里, 門田達尚 (1994): *食衛誌*, **35**, 624-630.
- [155] 広島県 (1996): *貝毒対策実施要領* (平成8年4月1日)
- [156] 豊後孝江 (1982): *広島文教女子大学紀要*, **17**, 117-121.
- [157] 岸本敬之, 得能弘志, 小川博美ほか (1973): 昭和48年度広島県衛生研究所業務年報, 75-79.

