

の各1検体からサルモネラ属菌が分離され、事件No. 1と同様、最低限約100個に1個の割合の汚染が考えられた。in egg汚染の他、卵殻外汚染（on eggかは不明）の可能性もあった。

事件No. 3：138個の鶏卵を殻付きのまま均等化後、その1mLを培養し1個の汚染が判明した。汚染部位は不明であった。

事件No. 4：27個は卵内容物のみ、97個は殻付きのまま均等化後、各1mLを培養し、各1個の汚染が判明した。前者はin egg汚染であるが、後者は卵殻内側の汚染も考えられた。

事件No. 5：114個の鶏卵を殻付きのまま個別に均等化し、その1mLを増菌培養培地に接種し、残りは増菌培地を用いずそのまま培養した。その結果、サルモネラ属菌は増菌培地を用いない培養方法で3個から検出された。汚染鶏卵数は38個中1個と高率であり、その菌数は最低限50細胞（1鶏卵約50mL中1mL使用）と考えられた。

2. 採卵鶏のサルモネラ属菌保菌

1) 十和田食肉衛生検査所での成績

盲腸便229検体中、10羽分をプールした129検体（1,290羽）中43検体（33.3%）から、5羽分プール100検体（500

羽）中18検体（18.0%）から、未熟卵10個分をプールした47検体（470個）中2検体（4.3%）から、そして殻付卵10羽分をプールした557検体（5,570羽）中21検体（3.8%）からサルモネラ属菌が分離された（表2）。汚染は16農場中9農場（56.3%）に及んでいた。

分離菌の血清型は極めて多岐にわたり、SEはすべてPT4であった（表4）。

2) 田舎館食肉衛生検査所での成績

総排泄腔（綿棒で採取）795検体（3,975羽）中、10検体（5.2%）から、卵巣・未熟卵胞109検体（239羽）中11検体（10.1%）から、そして殻付卵177検体中（535個）中12検体（6.8%）からサルモネラ属菌が分離された（表3）。汚染は5農場中3農場に及んでいた。

分離された64菌株のサルモネラ属菌の血清型は未同定株を含め極めて多岐にわたっていた。SE2菌株のPTはすべてPT4であった（表5）。

D. 考察

鶏卵中におけるサルモネラ属菌による汚染一万個に1個の割合と言われている。しかし、今回示した5事例のサルモネラ属菌食中毒

関連鶏卵の汚染割合は、少なくとも27個（事件No. 4）から138個（事件No. 3）に1個、全体的に見て100個に1個の割合と極めて高い汚染状況であった。

全5事例の食中毒患者と鶏卵から分離された菌の血清型及びSEのPT型は一致し、明らかに鶏卵介在の食中毒であることが示された。採卵鶏（廃鶏）において多様な血清型が見られたが、わが国の食中毒で頻出するサルモネラ属菌血清型菌が多く⁴⁾、しかもSEのPTは全てPT4であり、鶏卵がサルモネラ属菌食中毒の重要な感染源になっていることを示している。

鶏卵への汚染菌数は、増菌培地への接種検体量から推測し、最小で60細胞（事件No. 5）あるいは100細胞（事件No. 3）のものが見受けられた。また菌の汚染部位として明らかにin eggと言えるもの（事件No. 1、2、4）が認められた。鶏卵におけるこのような高い汚染状況が調査時期によるものなのか、あるいは偶然に劣悪な鶏卵だけが対象になったかは不明である。しかしながら、採卵廃鶏の殻付卵では十和田食肉衛生検査所では0.37%（5,570個中最小21個）、田舎館食肉衛生検査所では2.24%（535個中最小12個）であり、食中毒関連鶏卵

と同様に高率であることから事件との関連性が示唆された。また、これらの鶏卵のサルモネラ属菌汚染は、採卵廃鶏の消化器系と生殖器系からのon egg及びin eggの両面の汚染が考えられた。このうちin egg汚染に関しては、いかに殻付卵の清浄を保ったとしても調理過程での不適切な管理で容易に発症菌量に達することが伺える。例として「伊勢エビの黄味焼」が原因食品となった事件No. 3では、多数の卵黄とサラダ油等を混合した「黄味」を長時間使用したことによってサルモネラ属菌が増殖し、その後過熱が不適切で菌が消滅せず、残置食品3検体から1g当たりそれぞれ 3.0×10^3 、 4.0×10^3 、 1.2×10^6 細胞のSEが検出された³⁾。

今回報告した5事例のサルモネラ属菌食中毒事件では、関連保健所により汚染鶏卵の生産養鶏場の遡り調査が行われたが、鶏卵の流通が複雑なため、いずれも生産養鶏場を特定することは出来なかった。しかしながら、食肉衛生検査所による県内養鶏場からの採卵廃鶏の広範なサルモネラ属菌検査が契機となり、その後の事件例で特定の養鶏業者の農場汚染が明らかになる⁶⁾等、養鶏場におけるサルモネラ属菌除去の機運が高まるとともに、食品営業者等の予防意識

の高揚が図られた。

E. 結論

青森県内における鶏卵関連食品によるサルモネラ属菌食中毒防止の観点から、事件発生時に検査した鶏卵、並びに採卵鶏（廃鶏）のサルモネラ属菌検査成績をまとめた結果、事件関連鶏卵の高頻度のサルモネラ属菌汚染が認められ、この汚染は採卵鶏（廃鶏）における消化器系及び生殖器系の汚染が反映しているものであった。

F. 参考文献

- 1) 大友良光、野呂キョウ、三上稔之、佐藤孝、竹内重正、原田邦弘：鶏卵調理食品による *Salmonella Enteritidis* 食中毒。病原微生物検出情報月報、17(7)、9-10、1996。
- 2) 野呂キョウ、大友良光：青森県におけるサルモネラ・エンテリティディスの疫学。青森県環境保健センター研究報告、8、41-42、1997。
- 3) 大友良光、野呂キョウ、三上稔之、佐藤孝、木村将人、三橋一史、磯嶋隆：鶏卵が汚染源とみられ *Salmonella Enteritidis* の大規模集団食中毒。病原微生物検出情報月報、17(5)、8-9、1996。

- 4) 小田切和枝、他：食鳥処理場における採卵廃鶏のサルモネラ汚染実態調査。鶏病研報、35(2)、89-96、1999。
- 5) 白戸明：廃鶏調査からみた採卵鶏のサルモネラ穂菌状況。養鶏の友、5、23-26、1998。
- 6) 竹内正子、原田邦弘、小田桐和枝、大西良雄、竹内重正、大友良光：鶏卵が関与したサルモネラ食中毒の発生概要と疫学。食品衛生研究、48(10)、59-67、1998。

表1 サルモネラ属菌食中毒関連の鶏卵検査

No.	発生年月	患者/摂食者	原因食品	血清型	PT	鶏卵数	検査部位	検査単位	接種量	一次培養 EEM培地	陽性 検体	血清 型	PT	汚染頻度
1	1992.4	11/198	オムレツ(推)	SE	1	100	殻	10個	10個	100mL	0			
							中身	10個	25mL	1	SE	1,7a	1-10/100	
2	1995.9	3/5	フレンチマヨネーズ(推)	SE	4	100	殻	10個	10個	100mL	1	SE	7a	1/130
							中身	10個	25mL	1	SE		1-10/100	
3	1996.2	280/762	鶏卵マヨネーズ	SE	4	138	全卵	1個	1mL	4mL	1	SE	4	1/138
							中身	1個	1mL	1	SI		1/27	
4	1996.3	9/39	鶏卵(推定)	SI		97	全卵	1個	1mL	4mL	1	SI		1/97
							全卵	1個	1mL	0				
5	1996.4	49/115	鶏卵調理食品	SE	4	114	全卵	1個	1mL	4mL	0			
							全卵	1個	全卵	3	SE	4	3/114	

SE : *Salmonella* Enteritidis

SI : *S.* Infantis、PT : 77-ジ型別

表2 採卵鶏卵（産鶏）の検体
十和田食肉衛生検査所検査

種類	検体数	内訳	サルモネラ属菌陽性 検体数
盲腸便	229	129は10羽フェール	43(33.3%)
		100は5羽フェール	23(18.0%)
未熟卵	47	すべて10羽フェール	2(4.3%)
殻付卵	557	すべて10羽フェール	50(9.0%)

表3 採卵鶏（産鶏）の検体
田舎館食肉衛生検査所検査

種類	検体数	内訳	サルモネラ属菌陽性 検体数
総排泄腔（綿棒採取）	795	3,975羽	41(5.2%)
卵巣・未熟卵胞	109	239羽	11(10.1%)
殻付卵	177	535個	12(6.8%)

表4 分離菌の血清型別
十和田食肉衛生検査所検査

血清型	菌株数			
	盲腸便	殻付卵	未熟卵	計
<i>S. Enteritidis</i> (PT4)	9	4	0	13
<i>S. Typhimurium</i>	4	1	2	7
<i>S. Stanley</i>	6	2	0	8
<i>S. Infantis</i>	3	1	0	4
<i>S. Heiderberg</i>	2	2	0	4
<i>S. Schwarzengrund</i>	3	1	0	4
<i>S. II</i>	2	4	0	6
<i>S. Agona</i>	4	0	0	4
<i>S. Blegdam</i>	2	1	0	3
<i>S. Dusseldorf</i> 又は <i>S. Albany</i>	1	2	0	3
<i>S. Braenderup</i>	1	1	0	2
<i>S. Corvallis</i>	8	0	0	8
<i>S. Galiema</i>	0	4	0	4
<i>S. Hadar</i>	6	0	0	6
<i>S. Chailey</i>	0	0	0	0
<i>S. Adelaide</i>	4	0	0	4
<i>S. Emek</i>	2	0	0	2
<i>S. Tanger</i>	0	0	0	0
<i>S. Derby</i>	1	0	0	1
<i>S. Mbandaka</i>	1	0	0	1
<i>S. Antarctica</i>	1	0	0	1
<i>S. Bredeney</i>	1	0	0	1
その他	17	27	0	44
合計	78	50	2	130

PT：フェージ型別

表5 分離菌の血清型別
食肉衛生検査所検査

血清型	菌株数
<i>S. Enteritidis</i> (PT4)	2
<i>S. Infantis</i>	6
<i>S. Typhimurium</i>	10
<i>S. Heiderberg</i>	4
<i>S. Hadar</i>	2
<i>S. spp.</i>	40
合計	64

PT：フェージ型別

II 分担研究報告書

II-4.

と畜場での生食用牛肝臓処理における食中毒菌（カンピロバクター）の評価とその処理方法の検討

- II-4-1. 牛肝臓生産におけるカンピロバクター衛生管理に関する研究（1）牛の肝臓等における *Campylobacter* 属菌汚染状況に関する研究
沓木力晴 （大阪市食肉衛生検査所）
- II-4-2. 牛肝臓生産におけるカンピロバクター衛生管理に関する研究（2）牛肝臓の衛生的処理方法に関する研究
沓木力晴 （大阪市食肉衛生検査所）

厚生科学研究費補助金（厚生科学研究事業）

分担研究報告書

分担研究者 沓木力晴 大阪市食肉衛生検査所長

牛肝臓生産におけるカンピロバクター衛生管理に関する研究

1) 牛の肝臓等における *Campylobacter* 属菌汚染状況に関する研究

研究要旨

牛の胆嚢内胆汁および肝臓内から *Campylobacter* 属菌が高率に検出されることは、よく知られているが、報告者により結果が様々である。今回、統一した検査方法を用いて、牛の肝臓および胆汁の本菌汚染実態を全国的に調査した。全国9個所の食肉衛生検査所のデータをまとめると、胆汁からの本菌検出率は236検体中60検体(25.4%)で、肝臓は同27検体(11.4%)であった。肝臓の部位別では、尾状葉<方形葉<左葉の順で検出率が高くなり、通常サブリングに用いる尾状葉では、擬陰性に判定してしまう可能性が示唆された。汚染菌量についても胆嚢内胆汁:4.43(Log cfu/10mL)、肝臓左葉:2.74(Log cfu/10g)、方形葉:2.34(Log cfu/10g)、尾状葉:2.01(Log cfu/10g)と高いものであった。肝管内胆汁様液においても4.79(Log cfu/10mL)と高濃度検出されたことから肝臓汚染は胆汁由来であることが強く示唆された。

A.研究目的

平成14年の食中毒統計によると、病因物質別の事件数は、*Campylobacter* 属菌によるものが、420件で *Salmonella* 属菌(425件)に次いで第二位であり、平成9年以降事件数では *Salmonella* 属菌、腸炎ビブリオと並び毎年多数の発生を認めている。そのほとんどが散発事例であることは本菌の特徴ともいえる。本菌による集団食中毒も年間30~40件の発生が認められている。人に対する病原性は、下痢症、胃腸炎にとどまらず、Guillain-Barre syndrome や Reiter-syndrome といった全身性感染症の原因菌にもなり得る。これらの集団や散発の *Campylobacter* 感染症の感染源としては、本菌が鶏等の家禽類や牛、羊などの家畜に高率に保菌されていることに密接な関係がある。特に牛の胆嚢内胆汁に高率かつ高濃度に本菌が存在することが国内外の様々な研究により実証されている。したがって、牛の肝臓を生食することにより *Campylobacter* に感

染する可能性は十分にあり得る。実際に、牛の生ハムや牛肉の摂食が原因であると考えられる食中毒事例も少なくない。また、「肝臓実質内にもともと *Campylobacter* 属菌が存在する」となれば、と畜処理、食肉加工処理以前の問題となり、これを生食することによって、菌数によっては、我々の健康を脅かすものとなり得る。

牛の肝臓における *Campylobacter* 属菌汚染調査は全国で数多くなされているが、報告者によりその検出率は様々である。その原因として、検査方法、サブリング部位の違いが考えられる。平成13年度の当研究班の成績から、胆汁に高濃度の本菌が存在していることが示唆され、胆嚢と胆管で直結している肝臓のどの部分をサブリングするかによって検出率が違ってくる可能性が挙げられた。また、牛では胆嚢に直結している肝管の分布が肝臓の部位(分葉)により違うことが解剖学的にも明らかである。そこで本研究では、1. 検査方法を統一し、報告者による検出率のバラツキ

のうち、検査方法によるものの可能性を消去した試験系を設定し、胆嚢内胆汁、肝管内胆汁様液、および肝臓各分葉における *Campylobacter* 属菌汚染を調査すること。2.参加機関および検体数を増やし、わが国における牛肝臓の本菌による汚染割合および汚染菌数を調査すること。以上の2点に重点を置いて調査した。

B.研究方法

1. 牛の肝臓における *Campylobacter* 属菌汚染調査

(a)健康な牛の肝臓および胆嚢内胆汁中の *Campylobacter* 属菌汚染調査

実施機関

群馬県中央食肉衛生検査所
東京都芝浦食肉衛生検査所
神奈川県食肉衛生検査所
新潟県食肉衛生検査センター
鳥取県食肉衛生検査所
宮崎県都城食肉衛生検査所
大阪市食肉衛生検査所

調査期間および調査対象

平成14年4月から7月に各と畜場とて殺解体された牛94頭の肝臓

実施方法

試験に供与する肝臓の胆嚢表面をアルコール綿で十分に払拭し、ティスポーザブルリソで胆嚢内胆汁を10mL以上無菌的に採材した。胆嚢を取除いた後、漿膜表面をアルコール綿で十分に払拭しパーナ等で火炎消毒した後、漿膜を無菌的にはがし、左葉・方形葉・尾状葉をそれぞれはさみで約50g(およそ4cm×4cm×3cm)採材した。10gを無菌的に秤量し、採取した胆汁10mLおよび肝臓10gをPreston培地(OXOID)100mLに接種し、30秒間スマッキングして試料原液を作製した。これをPreston培地により、10mL滅菌中試験管3本ずつ段階

希釈し、42℃微好気(ガスパック150嫌気システムBBL)により増菌培養(24hr.)し、0.1mLをCCDA培地(OXOID)に塗抹し、42℃微好気により分離培養(48hr.)し、疑わしい集落について形態学および生化学的検査をし、同定した(Figure 1参照)。MPN3本法で胆嚢内胆汁および肝臓中の *Campylobacter* 属菌の菌数を測定した。分離・同定した菌株はGOD培地(日水製薬)に接種し、-20℃で保存した。

(b) 牛の肝臓、胆嚢内胆汁および肝管内胆汁様液中の *Campylobacter* 属菌汚染調査実施機関

青森県十和田食肉衛生検査所
群馬県中央食肉衛生検査所
東京都芝浦食肉衛生検査所
埼玉県中央食肉衛生検査センター
神奈川県食肉衛生検査所
新潟県食肉衛生検査センター
鳥取県食肉衛生検査所
宮崎県都城食肉衛生検査所
大阪市食肉衛生検査所

調査期間および調査対象

平成14年9月から15年1月に各と畜場とて殺解体された牛142頭の肝臓

実施方法

試験に供与する肝臓(疾病の有無を問わない)の胆嚢より、前記1.(a)と同じ要領で胆嚢内胆汁を無菌的に採材した後、胆嚢を除去し、漿膜表面をアルコール綿で十分に払拭しパーナ等で火炎消毒した後、胆嚢-胆嚢管がつながる肝管内に滞留する胆汁様液(肝管内胆汁様液)をティスポーザブルリソで無菌的に採材した。採材した量を最大3mLとして3等分し、Preston培地で希釈系列を調整し、MPN3本法(検体量が僅かなため全量を希釈して使用し、およその近似値をMPN表より求めた)を実施し、汚染菌数を調べるとともに、原液および各希釈段階のPreston培地(培

養直前)から各 0.1mL を CCDA 培地に塗抹し、発育した集落を数えた(平板法)。採材後の肝臓は速やかに冷蔵保存した。1.(a)の試験方法に準じて、胆嚢内胆汁および肝管内胆汁様液の *Campylobacter* 属菌検査を実施した。CCDA 培地に発生した集落の形態学的検査で本菌の検出が疑われた場合、冷蔵保存中の肝臓について定性および定量検査を同様に実施した。

統計的解析

検査施設別の *Campylobacter* 属菌検出率の有意差検定には、Fisher の直接正確法を用いた。

肝臓の部位別、疾患の有無の別、牛の用途別および出荷地方別の *Campylobacter* 属菌検出率の有意差検定には Pearson のカイ二乗検定を用いた。

2. 牛胆嚢内胆汁中における *Campylobacter* 属菌増殖試験

実施機関

新潟県食肉衛生検査センター

実施方法

平成 14 年 8 月に上記処理場で処理された牛 4 頭の胆汁を試験に供試した。前述の要領で採取した胆汁を滅菌試験管に 10mL ずつ分注し、37°C 微好気で 1 日、2 日、3 日間培養した。採取直後および培養後の胆汁を滅菌生理食塩水で段階希釈してその 0.1mL を CCDA 培地に接種し、コラーグ棒で塗抹後、42°C 微好気で 2 日間培養し、疑わしい集落を数えて菌数(cfu/mL)を算出した。*Campylobacter* 属菌の集落であることを確認するために、発育した集落の中から 10 個を選び、形態を観察した。

C. 研究結果

1. (a) 健康な肝臓および胆汁中の

Campylobacter 属菌汚染調査

94 検体中、胆汁から *Campylobacter* 属菌を分離したものは 22 検体(23.4%)であった。肝臓から *Campylobacter* 属菌を分離したものは 9 検体(9.57%)で、全て胆汁からも同時に分離されていた(Table 1)。

(b) 牛肝臓、胆嚢内胆汁および肝管内胆汁様液中の *Campylobacter* 属菌汚染調査

142 検体中、胆汁から *Campylobacter* 属菌を分離したものは 38 検体(26.8%)。肝管内胆汁については、31 検体(21.8%)。肝臓から本菌を分離したものは 18 検体(12.7%)であった(Table 2)。

(a)の結果を合わせると、胆汁陽性が 236 検体中 60 検体(25.4%)、肝臓陽性率が 27 検体(11.4%)であった。汚染菌量は、高い方から肝管内胆汁様液>胆嚢内胆汁>肝臓左葉>肝臓方形葉>肝臓尾状葉の順であった。陽性肝臓で比較すると、尾状葉の検出率が 48.1%と半分に満たなかった(Table 3)。

また、同一検体での検出部位および汚染菌量を比較すると、汚染菌量に従い汚染部位の広がり認められた(Table 4)。肝臓疾患の有無と *Campylobacter* 属菌の検出率は健康な肝臓が疾患ありの肝臓(陽性数/検査数 胆管炎:4/21 鋸屑肝:2/13 富脈斑:1/11 肝膿瘍:1/6 肝出血:2/5 肝包膜炎:1/5 肝炎:1/4 退色肝:1/4 産褥肝:0/3 脂肪肝:1/1 肉づく肝:0/1 水腫 0/1)に比べて高い傾向にあるものの有意な差は認められなかった(Table 5)。

牛の用途別では、肥育牛>搾乳牛>繁殖牛の順に高い *Campylobacter* 属菌検出率(胆嚢内胆汁中)を示した(Table 6)。牛群間の影響を無視できるように、肥育牛について出荷地方(都道府県)と本菌検出率(胆嚢内胆汁中)の関係を調べたところ、顕著な地域性は認められなかった(Table 7)。肥育牛の長距離輸送(400km 以上)によるストレスと本菌検出率を比較したところ、有意な差は認められなかった(Table 8)。検出した本菌の菌種内訳は *C. jejuni* が 54 株、*C. coli* が 7 株、*C. fetus*

が1株であった(Table 9)。

2. 牛胆汁中における *Campylobacter* 属菌増殖試験

結果はFigure 2 のとおり。実施した4頭全ての胆汁において *Campylobacter* 属菌の経時的な増殖が確認された。

D. 考察

日本全国の食肉衛生検査所において、実施された牛肝臓内の *Campylobacter* 属菌汚染調査報告(過去10年間分)をまとめた結果(平成14年度当研究班報告)、胆嚢内胆汁検出率が12.4~63.6%(平均34.8%)、肝臓検出率0~57.1%(平均12.3%)であり、検出結果のバラツキが目立った。この原因の一つとして、検査方法等の違いが考えられた。今回、統一した検査方法により全国調査したにもかかわらず、検査施設間に有意な差も認められた。結果の統計を取ると、胆嚢内胆汁:25.4%、肝臓:11.4%で、これまでと同等な結果が得られた。また、肝臓の検出率を比べると、高い方から左葉>方形葉>尾状葉という順に検出したことから、従来、肝臓のサブリングに用いることの多い尾状葉では、陽性肝臓を「陰性」と誤って判定してしまう可能性が示唆された。一方、同一検査施設でも、検査時期により有意な差が認められる施設があり、牛の本菌保菌率に一部で地域性および季節性があることも示唆された。また、前年度指摘した、「輸送、絶食等のストレスの影響」は今回の結果から顕著に示唆するものは得られなかった。

各検査所に搬入される牛群には地域差があり、用途の違った牛が搬入されることにより、*Campylobacter* 属菌検出率の差が生じていることが示唆された。実際に肥育牛においては本菌検出率が最も高く、続いて搾乳牛、繁殖牛と続く。この原因には、二つ考えられ、一つは飼養形態つまり飼料である。肥育および搾乳牛にはそれぞれ肉用または乳用目的で濃厚飼料が多給さ

れている。一方、繁殖牛は粗飼料が中心である。この飼料の違いが何らかの原因となっている可能性が挙げられる。もう一つは、牛の月齢の差である。最も高率に本菌が検出された肥育牛の平均月齢は最も若く、27.2ヶ月である。一方、搾乳牛は81.7ヶ月で、繁殖牛は147ヶ月であった。他の報告では、幼弱な動物の方が成長した動物より本菌検出率が高いことが指摘されている。また、人においても子供の感染率が高いことも報告されている。これらのことより、本菌が免疫能が不十分なものに定着し易くなっていることも考えられる。今回、顕著な地域性は認められなかったが、検体数を増やし、農場単位で調査すると、鶏で報告されている地域差(農場差)が出ることも十分考えられる。農場での本菌のコントロールは、水系汚染が最も重要であることは、言うまでもないが、糞が保菌していること、鶏間の感染を餌が伝播したという最近の報告等を考慮すると、牛舎環境のそ属昆虫対策も考慮に入れた衛生管理の徹底が重要と考えられる。

Campylobacter 属菌の食中毒は少量(800個程度)で発症に至るといわれている。従って今回の成績から、汚染肝臓数十グラムの摂食で感染が成立することが示唆される。最も汚染の高いものだと10gでも感染可能な検体も見られた。胆汁では、高濃度の本菌が保持されている可能性があるため、陽性平均値から推測すると0.3mLで感染が成立する。一方、高度の汚染を認めた胆汁(10mL中10の8乗以上:平板法/5検体、7乗:平板法/11検体)では、1 μ Lという微量でも十分な感染菌量となる。今後、解体処理工程で胆嚢内胆汁に触れない肝臓処理を遂行していくよりも、処理後の肝臓をどのように洗浄・消毒すれば胆汁(*Campylobacter* 属菌)が除去できるのかを検討する必要がある。

今回の結果は、前年度指摘した「肝臓内の *Campylobacter* 属菌による汚染は胆汁内から逆行したことに起因する」という仮説をより強固に裏付けるものとなった。その理由として、1. 本菌の汚染菌量が胆汁>左葉>方形葉>尾状葉の

順で、肝臓内肝管の分布密度に比例して高かったこと。2.肝管内胆汁様液から胆嚢内胆汁と同等レベルの菌量の本菌が検出されたこと。3.胆嚢内胆汁の菌量の多さに比例して、肝臓への分布の広がりが見られたこと。4.1(a)の試験結果から肝臓より本菌を検出した場合(9 検体)、全てが胆嚢内胆汁からも検出したこと。5.肝臓から検出した本菌の菌種はすべて、胆汁からも同一菌種が検出されていたこと。以上の 5 つが挙げられる。

Campylobacter 属菌の牛生体内での動態は未だ明らかにされていない。今回の結果より、牛肝臓の汚染経路として、生体時に経口で進入した本菌が十二指腸から胆嚢に進入する。この際、胆嚢内胆汁中に含まれる炭水化物(L-Fucose)が化学誘因物質として働くという報告もある。この胆嚢内で増殖し、肝管を通過して肝臓内に進入し汚染していることが考えられた。故に肝臓の疾病の有無に関わらず、本菌が検出されると考えられる。このように、牛肝臓はもともと 1 割強の確率で汚染されている。さらに、と畜場における解体、流通過程で本菌を高濃度含有しているかも知れない胆嚢の管理を誤ると、さらに汚染を広げることにもなり得る。

今後、牛肝臓による *Campylobacter* 属菌食中毒を無くすためには、解体処理工程で胆汁による肝臓汚染を最小限に止めることも重要である。そして一定の確率(1 割強)で本菌汚染が認められる牛肝臓の生食を控えることは当然であるが、未成年、特にハイスクの子供に食べさせることは禁忌である。

E. 結論

全国 9 ヶ所の食肉衛生検査所において、統一した検査方法で牛肝臓における *Campylobacter* 属菌汚染実態を調査したところ、肝臓の部位により差が見られ、従来からワブリグ用に好んで使用されてきた尾状葉では、本来陽性であるはずの肝臓のおよそ半分を陰性に誤った判定をしてしまう危険性があることが分

かった。汚染菌量も平均で 2×10^4 /10g と高く、胆嚢内胆汁においては、 4×10^4 /10g であった。高いものは 9×10^4 /10g というものもあり、取り扱いには、特に注意を要すると考えられた。前年度指摘した、輸送、絶食等のストレスは、今回の成績からはこれを反映するものは見られなかった。肝臓の本菌による汚染源は、胆嚢内胆汁で、そこで増殖したものが肝管を逆行して汚染していることが示唆された。また、肝臓疾患と本菌検出率との関係は相関が見られなかった。牛の用途別集計で、肥育牛が他の牛群と比較して本菌検出率が高かった原因としては①濃厚飼料と②若齢が考えられた。地域差は顕著なものは認められなかったが、若干の傾向が見られ、例数を増やして農場単位で調べる必要があるようであった。

牛の肝臓は 1 割程度の *Campylobacter* 属菌汚染があり、解体処理工程で 2 割 5 分の汚染が認められた胆嚢内胆汁からの汚染のない肝臓への汚染をどうやって防ぐかが今後重要と考えられる。

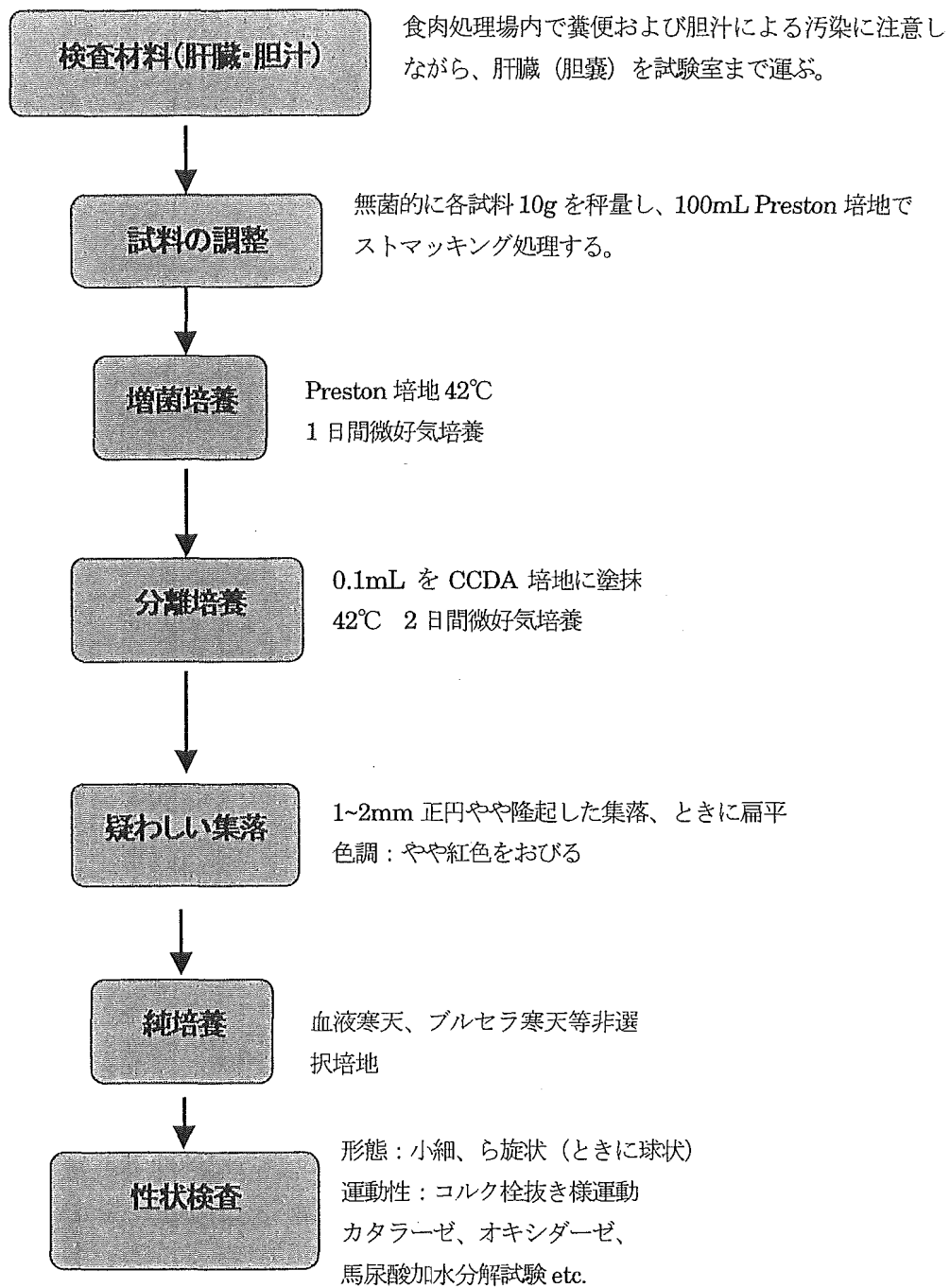


Figure1 *Campylobacter* 属菌の検査方法

Table 1 牛の *Campylobacter* 属菌検出状況調査(a):調査期間、頭数、胆嚢内胆汁および肝臓結果

検査施設	検査実施期間 (平成 15 年度)	検査頭数	胆嚢内胆汁検出数(%)	肝臓検出数(%)
A	6月17日~6月27日	7	2(28.6)	1(14.3)
B	7月10日~7月31日	3	0	0
C	5月31日~6月14日	3	0	0
D	4月10日~7月4日	30	10(33.3)	4(13.3)
E	7月2日~7月26日	17	2(11.8)	1(5.88)
F	5月14日~8月6日	4	2(50.0)	1(25.0)
G	4月1日~6月12日	30	6(20.0)	2(6.67)
合計		94	22(23.4)	9(9.57)

Table 2 牛の *Campylobacter* 属菌検出状況調査(b):調査期間、頭数、胆嚢または肝管内胆汁および肝臓結果

検査施設	検査実施期間 (平成 15 年度)	検査頭数	胆嚢内胆汁検出数 (%)	肝管内胆汁様液 検出数(%)	肝臓検出数 (%)
A	10月15日~10月25日	8	1(12.5)	1(12.5)	0
B	9月11日~12月11日	8	1(12.5)	NT	1(12.5)
C	10月24日~1月23日	18	4(22.2)	4(22.2)	2(11.1)
D	12月4日~1月15日	20	3(15.0)	2(10.0)	1(5.0)
E	11月5日~12月20日	24	12(50.0) ¹⁾	9(37.5) ³⁾	7(29.2) ⁵⁾
F	11月26日~12月17日	7	3(42.9)	2(28.6)	1(14.3)
G	11月30日~12月18日	39	7(17.9)	6(15.4)	3(42.9)
H	11月5日~1月7日	4	4(100) ²⁾	4(100) ⁴⁾	2(50.0)
I	11月5日~12月10日	14	3(21.4)	3(21.4)	1(7.14)
合計		142	38(26.8)	31(21.8)	18(12.7)

- 1) (a)の結果(E)およびD,Gに対して有意(p<0.05)
 2) A,B,C,D およびGに対して有意(p<0.01),Iに対して有意(p<0.05)
 3) D およびGに対して有意(p<0.05)
 4) A,C,D およびGに対して有意(p<0.01),E およびIに対して有意(p<0.05)
 5) Gに対して有意(p<0.05)

Table 3 胆汁および肝臓の部位別 *Campylobacter* 属菌検出率と平均菌数

肝臓部位	検査数	検出数(%)	陽性肝臓に対す る検出率	平均菌数 (Log cfu/10g)
胆嚢内胆汁	236	60(25.4)	—	4.43 ²⁾
肝管内胆汁	142	31(21.8)	—	4.79 ³⁾
肝臓	236 ¹⁾	27(11.4)	100	—
左葉	236 ¹⁾	21(8.90)	77.8	2.74 ⁴⁾
方形葉	236 ¹⁾	19(8.05)	70.4	2.34 ⁵⁾
尾状葉	236 ¹⁾	13(5.51)	48.1	2.01 ⁶⁾

- 1) 「胆汁非検出のものは肝臓非検出」を原則とした推測の母集団数
 2) 測定限界範囲内で値を求められた 43 検体の平均値
 3) 測定限界範囲内で値を求められた 21 検体の平均値
 4) 測定限界範囲内で値を求められた 13 検体の平均値
 5) 測定限界範囲内で値を求められた 17 検体の平均値
 6) 測定限界範囲内で値を求められた 8 検体の平均値

Table 4 *Campylobacter* 属菌検出臓器および部位と汚染菌数

	胆汁のみ	胆汁と肝臓1葉	胆汁と肝臓2葉	胆汁と肝臓3葉
検体数	33	9	10	8
平均菌数 ¹⁾	3.63	3.95	5.30	5.44

1) 胆嚢内胆汁の菌数, 単位は Log cfu/10g

Table 5 肝臓疾患の有無と *Campylobacter* 属菌検出率

肝臓疾患の有無	検査数	胆汁検出数(%)	肝臓検出数(%)
なし	161	46(28.6)	22(13.7)
あり	75	14(18.7)	5(6.67)

Table 6 牛の用途別の *Campylobacter* 属菌検出率

牛の用途	頭数	検出数(%)
繁殖牛 ¹⁾	59	10(16.9)
搾乳牛 ²⁾	68	17(25.0)
肥育牛 ³⁾	109	33(30.3)

1) 黒毛和種・雌60ヶ月以上

2) 乳用種・雌36ヶ月以上

3) 肥育牛(上記1),2)以外の牛

Table 7 肥育牛の出荷地別 *Campylobacter* 属菌検出率

出荷地	青森	岩手	宮城	福島	茨城	栃木	群馬	埼玉	新潟	福井	山梨	長野
検査数	4	3	2	2	4	5	16	6	3	4	1	2
検出数	4	0	1	0	0	1	5	0	0	1	0	2

静岡	愛知	和歌山	愛媛	鳥取	山口	福岡	佐賀	熊本	大分	宮崎	鹿児島	合計
1	4	1	1	12	6	1	3	5	5	6	12	109
1	1	1	0	5	0	0	0	3	3	2	3	33

Table 8 肥育牛の輸送ストレスと *Campylobacter* 属菌検出率の関係

輸送ストレスの有無 ¹⁾	検査数	胆汁検出数(%)	肝臓検出数(%)
あり	38	12(31.6%)	7(18.4%)
なし	71	21(29.6%)	10(14.1%)

1)400km 以上輸送されて搬入されたものを「ストレスあり」として、集計した。

Table 9 検出された *Campylobacter* 属菌種の内訳

菌種	株数	割合(%)
<i>C.jejuni</i>	54	87.1
<i>C.coli</i>	7	11.3
<i>C.fetus</i>	1	1.6

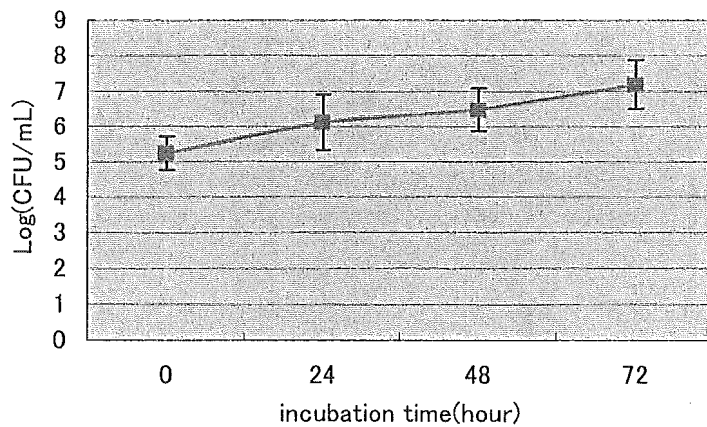


Figure2 胆汁中における *Campylobacter* 増殖試験(mean ± S.D. n=4)

厚生科学研究費補助金（生活安全総合研究事業）

分担研究報告書

分担研究者 沓木力晴 大阪市食肉衛生検査所長

牛肝臓生産におけるカンピロバクター衛生管理に関する研究

2) 牛肝臓の衛生的処理方法に関する研究

〔研究要旨〕

と畜場における牛肝臓の処理並びに衛生管理状況を知るため、全国の食肉衛生検査所を通じ実態調査を実施した。調査の結果、全国の各と畜場での衛生的処理、管理内容には様々な取り組みが見られ、なかには改善を要する点も見られた。牛肝臓の衛生的処理方法の確立に大変有用な検討資料になると共に、全国のと畜場の設備器具や処理方法の改善に役立つものと思われる。

A. 研究目的

牛肝臓等におけるカンピロバクターの危害発生防止対策を検討するうえで、現場（と畜場）での処理工程における危害分析を行う必要があるため、全国調査を行った。牛肝臓等の内臓は解体時の不手際や接触する設備、器具、手指により多くの汚染を受ける。特に肝臓については、生食することが一部に定着していることから、食中毒防止の点で衛生的な取り扱いが必要とされる。腸管出血性大腸菌 O157 やサルモネラ等からの汚染原因は、肝臓摘出の際の消化管破損によるものや処理工程中の2次汚染によるが、カンピロバクターについては肝臓実質内や胆嚢内に存在していることから、その侵入防止策は無く、対策については困難を極める。今回の調査によって現場の情報を収集、分析し、肝臓の衛生管理対策の検討資料とする。又、各と畜場における肝臓の衛生的処理方法の改善については困難な問題が多いが、この調査結果が現場における種々の改善に役立つことが期待できる。

B. 研究方法

平成15年3月、全国食肉衛生検査所協議会の了承を得て、牛肝臓の衛生的処理方法についての実態調査を全国118会員に協力依頼（アンケート形式、14質問）したところ、と畜場135ヶ所分の回答があり（回答率83%、全国の牛のと畜場数163カ所、平成15年2月末現在）、集計し分析した。

C. 研究結果

1. 牛の処理能力（制限頭数） 図1
全国のと畜場における格差が見られる
2. 肝臓摘出直後の保管場所 図2
「フックに吊るす」は28%（38件/135）。「滑り台で受けた後バット（専用容器）に入れる」は8%（11件）。「滑り台で受けた後、検査用コンベアに乗せる」は15%（20件）。「滑り台が無く、直接専用容器（バット等）に入れる」は26%（35件）。「滑り台が無く検査台、コンベアに乗せる」は23%（31件）。
3. 摘出から検査までの過程での洗浄消毒の

有無 図3

「洗浄消毒する」は15% (20件/135)。「洗浄しない」は85% (115件)。
具体的洗浄方法は、「水洗 (シャワー・ホース)」18件、「塩素剤添加井戸水 (浸漬)」1件、「電解水 (浸漬)」1件。

4. 肝臓検査時に胆のうを持って反転するか 図4

「持たずに反転する」は92% (125件/135)。「持って反転する」は4% (5件、内訳：検査員により異なる2件)。「その他」4% (5件、内訳：検査前に除去されている)。

5. 胆嚢の除去方法 図5

「どこで だれが」；「施設内で除去しない」は1% (2件/137)。「検査ライン上でと畜検査員が除去」は31% (43件)。「検査前に検査員又業者が除去」は4% (5件)。

「検査ラインとは別の処理施設内で業者が除去」は62% (84件)。「その他」は2% (3件、内訳：検査員が切開し、業者が除去2件、検査補助員が除去1件)。

【具体的除去方法】；「胆嚢を破らず、胆嚢丸ごと除去」は91% (129件/141)。「刀で切開し、その後胆のうを除去」は9% (12件)。「刀で切開し胆汁を出すのみ」は0%。

6. (1) 胆嚢除去後の肝臓の洗浄消毒 図6

「水洗のみ」54% (76件/143)。「水洗後消毒殺菌」は29% (42件)。「洗浄しない」は17% (25件)。

(2) 肝臓の洗浄消毒[水洗の内訳] 図7

「シャワー (自動、手動)」は21% (16件/76)。「ホース」は38% (29件)。「ため水 (オーバーフロ)」は29% (22件)。「その他 (記載なし)」は12% (9件)。

(3) 肝臓の洗浄消毒[消毒殺菌方法] 図8

「塩素消毒 (併用含む)」は76% (32件/42)。「塩素消毒のうち、「氷水を併用」が3件、「アルコール併用」が1件。「アルコール」は17% (7件)。「電解水」は5% (2件)。「オゾン」は2% (1件)。

【塩素剤の使用状況】；浸漬22件、噴霧シャワー7件、記載なし3件。殺菌濃度は30ppm 1件、50ppm 3件 (30秒)、80ppm 1件 (20分)、100ppm 6件 (2~5分間)、200ppm 2件、記載なし19件。

7. (1) 器具の洗浄消毒[胆嚢除去用刀の洗浄消毒] 図9

「洗浄のみ」は19% (26件/135)。「洗浄消毒する」は71% (95件)。「しない」は10% (14件)。

【洗浄水の内訳】；温水44% (27件/61)、水道水56% (34件)。

【消毒殺菌方法】；熱湯 (83℃以上) は91件 (96%)、アルコール2件、塩素2件。

(2) 器具の洗浄消毒[肝臓容器の洗浄消毒] 図10

「洗浄のみ」は26% (35件/135)。「洗浄消毒する」は40% (54件)。「しない」は34% (46件)。

【消毒方法】；熱湯36件 (67%)、塩素15件 (28%)、100~200ppm 浸漬又は噴霧蒸気2件、アルコール1件。

8. 現場検査合格後、搬出するまでの肝臓の保管形態 図11

「専用容器に入れる」は77% (107件/138)。内訳は個別90件 (84%)、複数単位17件 (16%)。具体例は、個別又は複数単位 (2~3頭分) にビニール袋に入れ、後に専用容器 (バット、かご、トレイ、コンテナ、氷入り水槽) に保管。「共用 (他の臓器と同じ容器に入れる)」は20%

(27件)。具体例は赤物(心臓、舌、横隔膜、尾、頬肉、肺)と共にコンテナへ保管
「その他」は3%(4件)。具体例はフックにかけて保管。

9. 保管中の温度管理(%合算値:各割合を量的に算出し合算したもの。以下同じ)

図12

「冷蔵庫」は82%。「冷蔵庫+氷冷」は5%。「氷冷」は12%「その他(冷却水)」が1%。「全て(100%)の肝臓が冷蔵庫で保管」が95%(114件/120)。「全て(100%)の肝臓が氷冷保管」が70%(14件/20)。

10. と畜場から搬出される際の容器包装形態(%合算値) 図13

「ビニール袋入り」は62%。「合成樹脂製コンテナ入り(トレイ、バケツ)」35%。

「その他(発泡スチロール、ビニールで包む、金属容器)」は3%。「全て(100%)の肝臓がビニール袋入り」が78%(77件/99)。

「全て(100%)の肝臓がコンテナ入り」が66%(37件/56)。

11. 搬出時の肝臓表面の湿潤状態(%合算値) 図14

「ウェット」は50%。「ドライ」は50%。「全て(100%)の肝臓がウェット」が85%。「ドライ」も同じ比率であった。

12. 搬出運搬時の温度管理(%合算値)

図15

「保冷車」は60%。「冷凍車」は13%。「氷詰め」は14%。「しない(常温)」は13%。「全て(100%)の肝臓が保冷車」が75%。「全て(100%)の肝臓が冷凍車」が65%。「全て(100%)の肝臓を保冷しない(常温)」が43%。

13. (1) 検査終了後から搬出までの保

管時間(%合算値)[搬出日]図16

「当日出荷」は22%。「翌日出荷」77%。

「翌々日出荷」は1%。「全て(100%)の肝臓が当日出荷」が35%。「全て(100%)の肝臓が翌日出荷」が70%(87/124)。「全て(100%)の肝臓が翌々日出荷」が25%。

(2) 保管時間[翌日出荷分の保管時間]

図17

「12~18時間未満」は17%(21件/122)。「18~24時間未満」は72%(87件)。「24~30時間未満」は7%(9件)。「30~36時間未満」は0%。「36~42時間未満」は2%(2件)。「42~48時間」は2%(3件)。出荷時間の平均は19時間。

[当日出荷分の保管時間];「4時間」は5件、「5時間」は10件、「6時間」は21件、「7時間」は2件、「8時間」は7件、「9時間」は1件。出荷時間の平均は6時間。[翌々日出荷分の保管時間];「40時間」は1件、「42時間」は1件、「45時間」は2件。出荷時間の平均は43時間

14. カンピロバクターの検査状況 図18

「定期的実施」は3%(4件/135)。「実施したことがある」は8%(11件)。「実施していない」は89%(120件)。

[定期的実施]の内訳は「4回/年」が2件。「2回/年」が1件。「1回/年」が1件。

D. 考察

1. 全国のと畜場の処理能力;小規模から大規模まで大幅な格差が見られる。

2. 肝臓摘出後の状況;摘出後の汚染を防ぐためには「フック」「滑り台が無く、直接専用容器に入れる(バット等)」が望ましい。多数処理する場合、滑り台を使用せざるを得

ないが、一頭毎の殺菌消毒は困難であり、より衛生的な検査を行うための設備改善が望ましい。

3. 摘出直後（検査前）の洗浄状況；実施は15%で少なかったが、検査時に検査員が洗浄するケースが多いのではないかと（質問内容が適切でなかった）。

4. 肝臓反転時の状況；検査員が胆のうを持って反転するケースは大変少なかった。持つことによって圧力で胆汁（カンピロバクター）が肝臓内に侵入する可能性が考えられ、避けるべきである。

5. 胆嚢の除去方法；業者が除去作業を行うケースが多く（66%）、監視指導が必要なのではないか。除去方法では、ほとんどが丸ごと除去されていたが、切開すると胆汁漏出により肝臓汚染が危惧されるので避けるべきである。

6. (1) 胆のう除去後の肝臓の洗浄消毒；「洗浄消毒をしない」が17%あり、除去後の汚染は充分考えられるので改善されるべきである。

(2) [水洗の内訳]；「ため水（オーバーフロー）」は不衛生となりがちであり、流水のシャワー等が望ましい。

(3) [消毒殺菌方法]；塩素剤の使用が多いが、濃度（30～200ppm、5%）や浸漬時間（30秒～20分）にバラツキがあり、電解水、オゾン使用の場合と共に殺菌効果については確認が必要と思われる。特に浸漬の場合、効力の低下した浸漬水が肝臓実質内に侵入することになり注意が必要である。

7. (1) 器具の洗浄消毒状況[胆嚢除去用刀]；一頭づつの刀の洗浄消毒を「実施しない」が10%あり、設備改善が必要と思われる。

(2) [肝臓容器の洗浄消毒]；「洗浄しない」

が34%あり、改善が必要ではないか。

8. 肝臓の保管形態；「共用」が20%あり、他の赤物からの汚染が危惧される。

9. 保管中の温度管理；「氷冷」の場合が12%あり、長時間保管や夏場における温度管理が危惧される。

10. 搬出時の包装形態；コンテナ、トレイ、バケツなど包装形態として不十分な状態が38%見られ、改善が望まれる。

11. 肝臓表面の湿潤状態；「ウェット」が50%であり、菌が増殖し難い「ドライ」状態が望ましい。

12. 搬出運搬時の温度管理；「保冷しない」が13%あり改善の必要がある。又、「氷詰め」が14%あり、長時間にわたる場合や夏場の温度管理が危惧される。

13. (1) 搬出までの保管時間[搬出日]；BSE検査の関係で、流通形態がよぎなく変更され、保管時間が延びている。「当日出荷」の割合は22%で、これまで「当日出荷」であったものの大半が「翌日出荷」（71%）と日が延び、「翌々日」は1%となっている。

(2) [翌日出荷分の時間]；「翌々日出荷分」を含め、24時間以上経過するケースが10%（18件）あり、その内40時間を超えるとところが7件あった。長時間の保管により品質面、衛生面で影響が出ないよう十分な保管管理体制が必要とされる。

14. カンピロバクターの検査状況；大半の検査所（89%）では実施していなかった。

E. 結論

牛レバー等の生食による食中毒の防止策としては肝臓摘出時の処理から搬出運搬時の包装、温度管理まで一貫した衛生管理が必要とされる。しかし、カンピロバクターにつ