

厚生労働科学研究費補助金

食品安全確保研究事業

# 食品製造の高度衛生管理に関する研究

平成 15 年度総括研究報告書

主任研究者 品川邦汎

平成 16 年 7 月

# 目 次

## I. 総括研究報告書

食品製造の高度衛生管理に関する研究  
品川邦汎（岩手大学農学部）

## II. 分担研究報告書

### II-1.

#### 食鳥肉のカンピロバクターの定量的危害評価と処理工程でのコントロール方法

##### II-1-1 鶏におけるカンピロバクター汚染

品川邦汎（岩手大学農学部）

##### II-1-2 食鳥処理場カット室内におけるカンピロバクター汚染状況と保菌ロットとの関係についての研究

品川邦汎（岩手大学農学部）

##### II-1-3 大規模食鳥処理場併設食肉処理施設におけるカット鶏肉のカンピロバクター汚染状況

品川邦汎（岩手大学農学部）

##### II-1-4 食鳥処理場におけるカンピロバクターの定量的汚染調査

品川邦汎（岩手大学農学部）

##### II-1-5 一食鳥処理場の処理・加工工程における *Campylobacter jejuni* 汚染実態と制御法に関する調査研究

品川邦汎（岩手大学農学部）

##### II-1-6 *Campylobacter jejuni* の凍結・解凍処理に対する生残性

品川邦汎（岩手大学農学部）

##### II-1-7 迅速検査キット「シングルパスカンピロバクター」を用いた鶏糞便からのカンピロバクター直接検出の試み

品川邦汎（岩手大学農学部）

##### II-1-8 食鳥処理場におけるカンピロバクターの定量的汚染調査

品川邦汎（岩手大学農学部）

##### II-1-9 *Campylobacter jejuni* ヒト及び市販鶏肉由来株の鶏腸管内における増殖性

品川邦汎（岩手大学農学部）

- II-1-10 *Campylobacter jejuni* のバイオフィーム形成能と市販鶏肉皮膚への付着性との関連性について  
品川邦汎（岩手大学農学部）
- II-1-11 カンピロバクターによる食中毒事件発生時の検査法に関する研究  
品川邦汎（岩手大学農学部）
- II-1-12 パルスフィールド・ゲル電気泳動（PFGE）法による Penner D 群及び 0 群 *Campylobacter jejuni* の遺伝子型別に関する研究  
品川邦汎（岩手大学農学部）

## II-2.

### **脱脂粉乳製造における食中毒菌（黄色ブドウ球菌等）およびブドウ球菌エンテロトキシン、セレウス菌嘔吐毒の危害評価とその製造管理法の確立**

- II-2-1 脱脂粉乳製造の高度衛生管理に関する研究  
高谷 幸 （(社) 日本乳業協会）
- II-2-2 脱脂乳および濃縮脱脂乳中での黄色ブドウ球菌の増殖特性およびエンテロトキシン産生  
高谷 幸 （(社) 日本乳業協会）

## II-3.

### **液卵（未殺菌液卵）製造におけるサルモネラ（特に *S. Enteritidis*）の危害評価と製造管理方法**

- II-3-1 中小規模液卵工場の衛生管理に関する研究－液卵工場内でのモニタリングによる製造工程の問題点の明瞭かとその改善について  
高鳥浩介（国立医薬品食品衛生研究所）
- II-3-2 液卵・鶏卵に関連する食中毒発生や流通液卵の現状について（1）液卵による最近 5 年間（平成 10－14 年度）の食中毒事例におけるサルモネラ汚染について  
高鳥浩介（国立医薬品食品衛生研究所）
- II-3-3 液卵・鶏卵に関連する食中毒発生や流通液卵の現状について（2）流通液卵の細菌学的解析  
高鳥浩介（国立医薬品食品衛生研究所）

- II-3-4 サルモネラに関する研究 (1) 製造環境汚染を想定した液卵中の *Salmonella* Enteritidis の生残性  
高鳥浩介 (国立医薬品食品衛生研究所)
- II-3-5 サルモネラに関する研究 (2) Looped-mediated isothermal amplification 法を用いた液卵のサルモネラ検査法の検討および分離菌株の細菌学的解析  
高鳥浩介 (国立医薬品食品衛生研究所)
- II-3-6 サルモネラに関する研究 (3) 養鶏場の施設および鶏、卵の *Salmonella* sp の汚染状況と浄化対策  
高鳥浩介 (国立医薬品食品衛生研究所)
- II-3-7 サルモネラに関する研究 (4) 未殺菌液卵製造におけるサルモネラコントロールに関する研究  
高鳥浩介 (国立医薬品食品衛生研究所)

#### 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 牛の肝臓等における *Campylobacter* 属菌汚染状況に関する研究  
杓木力晴 (大阪市食肉衛生検査所)

平成 15 年度厚生労働省科学研究費補助金（食品安全確保研究事業）

総括研究報告書

主任研究者 品川邦汎 岩手大学

食品製造の高度衛生管理に関する研究

本研究は、近年食中毒事件の発生頻度が増加している食品、あるいは危害の発生した場合、社会的影響が極めて高い食品を対象に、それぞれの食品に対する危害分析を行い、さらに各製造工程における危害コントロールを行うための高度衛生管理の構築のためのデータ収集整理、および重要管理手法を確立することを目的とし、以下の成果を得た。

1) 食鳥肉のカンピロバクターの定量的危害分析と食鳥処理工程での本菌コントロール方法について検討し、市販および処理場での食鳥肉の定量的危害分析に基づき、各処理工程別のコントロール方法およびリスク管理方策を構築した。

2) 脱脂粉乳製造における黄色ブドウ球菌およびブドウ球菌エンテロトキシンの危害分析と製造での衛生管理法の確立するため、種々の温度での脱脂乳および濃縮乳中でのエンテロトキシン(SE)A 産生ブドウ球菌の経時的な動態と毒素産生量を実験的に調査し、食中毒を起こし得る量の SEA が産生される条件（温度、時間等）を明らかにした。

3) 液卵（未殺菌液卵）製造におけるサルモネラ（特に *S. Enteritidis*）の危害分析と製造での衛生管理方法を確立するために、中小規模の液卵工場におけるモニタリングによる製造工程での問題点の明瞭化とその改善に関する検討を行った。また、液卵の製造・流通の現状と細菌学的データの収集と解析、*S. Enteritidis* の生残性に及ぼす相対湿度の影響および液卵検体からの本菌検出方法と分離菌株の解析を行った。

4) と畜場での生食用牛肝臓処理における（カンピロバクター）の危害評価と衛生的処理方法の確立を目的とし、牛生肝臓のカンピロバクターの汚染（一次汚染）実態調査を行い、さらに牛肝臓の本菌汚染防止方策を検討した。また、カンピロバクター汚染の低減化を目的とした牛肝臓処理方法の改善を試みた。

分担研究者名

高鳥浩介 国立医薬品食品衛生研究所

高谷 幸 社団法人 日本乳業協会

杓木力晴 大阪市食肉衛生検査所

品における危害(食中毒菌)分析を行い、さらに製造工程での危害発生コントロール法を確立することが重要である。食品製造での危害としては、生物学的、化学的および物理的危険が知られているか、その中で生物学的（微生物学的）危険が最も重要であるが、そのコントロール手法を確立することは困難である。

本研究は、近年食中毒事件の発生頻度が増加している食品、あるいは危害の発生し

A 研究目的

近年、各種食品製造施設において、HACCP方式を基本とする衛生管理システムの構築が進められている。その場合、対象食

た場合、社会的影響が極めて高い食品を対象に、それぞれの食品に対する危害分析を行い、さらに各製造工程における危害コントロール手法を確立することを目的とする。

その対象食品と主な対象病原微生物（食中毒菌）は以下の通りである。

- 1) 食鳥肉のカンピロバクターの定量的危害分析と食鳥処理工程での本菌コントロール方法
- 2) 脱脂粉乳製造における黄色ブドウ球菌およびブドウ球菌エンテロトキシンの危害分析と製造での衛生管理法の確立
- 3) 液卵（未殺菌液卵）製造におけるサルモネラ（特に *S. Enteritidis*）の危害分析と製造での衛生管理方法
- 4) と畜場での生食用牛肝臓処理における（カンピロバクター）の危害評価と衛生的処理方法

以上の調査・研究は、各食品の規格基準（製造・保存基準、成分規格等）設定等を行う場合の科学的根拠となるデータを提供するものであり、さらに食品製造における高度衛生管理を行う上に有効であると考えられる。平成 13、14 年度の本研究事業で、これらの食品とその対象病原微生物について、食品製造における農場から販売までの HACCP 構築に有用なデータをデータベース化して CD-ROM にまとめた。さらに、文献学的調査で明らかになった問題点について、食品製造工程における危害の定量的分析を行い、それに対応するコントロール

手法を検討してきた。最終年度である平成 15 年度は、文献学的な調査と前年度までに得られたデータを基にして、食品製造における危害管理を行うために、これまで重要であるが十分に検討されていない衛生管理ポイントについて重点的に調査・研究を行った。また、データベース CD-ROM についても、より有効に利用できるように推敲を行った。これらの研究成果を元に、食品製造の高度安全管理を実現するための、より実用的な手法を提案する。

## B 研究方法

- 1) 食鳥肉のカンピロバクターの定量的危害分析と食鳥処理工程での本菌コントロール方法

平成 13 年度、14 年度に行った、食鳥の生産から加工、さらに店頭までの各ポイントにおけるカンピロバクター汚染の定量的調査データに基づき、各工程別でのコントロール方法およびリスク管理方策を構築することを目的として増殖性および生残性（死滅条件等）について検討した。さらに、食鳥処理工程での汚染低減のための洗浄方法の検討と、カット工場における二次汚染状況の調査を行った。

- 2) 脱脂粉乳製造における黄色ブドウ球菌およびブドウ球菌エンテロトキシンの危害分析と製造での衛生管理法の確立

エンテロトキシン、セレウス菌嘔吐毒の

## 危害分析とその製造管理法の確立

脱脂粉乳製造工程（生乳→濃縮乳→脱脂乳）における黄色ブドウ球菌の汚染様式（毒素産生菌を中心に）、エンテロトキシン産生の経時的解析を行った。また、セレウス菌およびセレウス菌嘔吐毒についても脱脂粉乳製造工程におけるセレウス菌の動態と毒素産生を検討した。

### 3) 液卵（未殺菌液卵）製造におけるサルモネラ（特に *S. Enteritidis*）の危害分析と製造での衛生管理方法

中小規模の液卵工場におけるモニタリングによる製造工程の問題点の明瞭化とその改善に関する検討を行った。また、液卵・鶏卵に関連する食中毒発生や液卵の生産の現状について、液卵・鶏卵に関連するサルモネラ食中毒事例における摂取菌数に関する研究および液卵の製造・流通の現状と細菌学的データの収集と解析、および *S. Enteritidis* の生残性に及ぼす相対湿度の影響、*S. Enteritidis* の液卵検体からの検出方法と菌株の解析を行った。

### 4) と畜場での生食用牛肝臓処理における（カンピロバクター）の危害評価と衛生的処理方法

牛生肝臓のカンピロバクターの汚染（一次汚染）実態調査成績に基づき、牛肝臓の本菌汚染防止方策を検討した。また、鶏肉カンピロバクター研究班と協力し、牛および鶏のカンピロバクターの病原性特徴を解析し、ヒトの疾病との関連を解析した。さらに、カンピロバクター汚染の低減化を目

的とした牛肝臓処理方法の改善を試みた。

## C 結果と考察

### 1) 食鳥肉のカンピロバクターの定量的危害分析と食鳥処理工程での本菌コントロール方法

カンピロバクターの増殖性および生残性（死滅条件等）の解析、食鳥処理工程における制御方法の検討の結果、本菌の増殖・生残性は他の食中毒菌（サルモネラ等）に比して悪いか、処理場での次亜塩素酸による殺菌処理でも残存することを明らかにした。カット工場における二次汚染状況調査の結果、カンピロバクターを保菌する食鳥を処理する場合、カット工場において高率に二次汚染が発生することが明らかになった。

### 2) 脱脂粉乳製造における黄色ブドウ球菌およびブドウ球菌エンテロトキシンの危害分析と製造での衛生管理法の確立

黄色ブドウ球菌エンテロトキシン産生の経時的解析により、脱脂粉乳製造工程におけるエンテロトキシン産生動態と産生に影響を与える温度と時間の関連を明らかにした。これは、脱脂粉乳製造工程におけるリスク制御に極めて有用である。

### 3) 液卵（未殺菌液卵）製造におけるサルモネラ（特に *S. Enteritidis*）の危害分析と製造での衛生管理方法

中小規模の液卵工場におけるサルモネラ制御のための基礎的データを収集するため、年間を通して行った検体採取（7回）につ

いて、一般生菌数、大腸菌群数、グラム陰性菌数、グラム陽性菌数およびサルモネラ数を測定した。作業前の段階で既に割卵台や沈殿槽の菌数が高いことが判明した。液卵用容器は容器内側全面にしては菌数が高くないといえるものが多かったが、内袋の使用がないため容器の面が直接に液卵が接触し菌が液卵を汚染してしまうことから、温度管理の不備があった場合に液卵が非常に多くの細菌数になる可能性が考えられた。7回の採取に1回のサルモネラ陽性例があることからサルモネラ汚染卵の混入は高頻度であると考えられる。O9血清に凝集するサルモネラが分離され、これらについてPFGEによる解析を行ったところほぼ単一のサルモネラに汚染されていると推測された。また、液卵・鶏卵に関連する食中毒データの収集と解析により、発症菌量についての知見も蓄積した。さらに、S Enteritidisの生残性に影響を与える因子として、相対湿度33%でもっとも生残性が高いことを明らかにした。また、高感度なサルモネラ遺伝子検出法を検討し、液卵製造工程の衛生制御に応用できることを明らかにした。これらの知見は、液卵製造工程におけるS Enteritidisの微生物学的リスク制御を行うために有用であると考えられる。

4) と畜場での生食用牛肝臓処理における(カンピロバクター)の危害評価と衛生的処理方法

胆汁と消化管からの Campylobacter 属菌

分離状況結果より、牛生体内 Campylobacter 属菌の起源は消化管であり、これに胆汁での増殖作用が加わっているものと推察してきた。肝臓表面の二次汚染防止策として、解体ラインをフックラインにする方法がハット・コンヘアラインに比べて効果的であることが分かった。さらに、肝臓加工処理の前に電解水等で浸漬することによって優れた除菌効果が得られることが分かった。

実質汚染対策は不可抗力であるか、簡易同定キットを応用(胆汁検査)することにより、従来最低4日を要した本菌同定日数を約1時間で胆汁中・ $10^4$ cfu/mL~の感度で判定可能であることから、日常の衛生管理に有効と考えられた。



## II. 分担研究報告書

### II-1.

#### 食鳥肉のカンピロバクターの定量的危害評価と処理工程でのコントロール方法

- II-1-1 鶏におけるカンピロバクター汚染  
品川邦汎（岩手大学農学部）
- II-1-2 食鳥処理場カット室内におけるカンピロバクター汚染状況と保菌ロットとの関係についての研究  
品川邦汎（岩手大学農学部）
- II-1-3 大規模食鳥処理場併設食肉処理施設におけるカット鶏肉のカンピロバクター汚染状況  
品川邦汎（岩手大学農学部）
- II-1-4 食鳥処理場におけるカンピロバクターの定量的汚染調査  
品川邦汎（岩手大学農学部）
- II-1-5 一食鳥処理場の処理・加工工程における *Campylobacter jejuni* 汚染実態と制御法に関する調査研究  
品川邦汎（岩手大学農学部）
- II-1-6 *Campylobacter jejuni* の凍結・解凍処理に対する生残性  
品川邦汎（岩手大学農学部）
- II-1-7 迅速検査キット「シングルパスカンピロバクター」を用いた鶏糞便からのカンピロバクター直接検出の試み  
品川邦汎（岩手大学農学部）
- II-1-8 食鳥処理場におけるカンピロバクターの定量的汚染調査  
品川邦汎（岩手大学農学部）
- II-1-9 *Campylobacter jejuni* ヒト及び市販鶏肉由来株の鶏腸管内における増殖性  
品川邦汎（岩手大学農学部）
- II-1-10 *Campylobacter jejuni* のバイオフィルム形成能と市販鶏肉皮膚への付着性との関連性について  
品川邦汎（岩手大学農学部）
- II-1-11 カンピロバクターによる食中毒事件発生時の検査法に関する研究  
品川邦汎（岩手大学農学部）
- II-1-12 パルスフィールド ゲル電気泳動 (PFGE) 法による Penner D 群及び 0 群 *Campylobacter jejuni* の遺伝子型別に関する研究  
品川邦汎（岩手大学農学部）

厚生労働科学研究費補助金

(食品安全確保研究事業)

分担研究報告書

主任研究者 品川邦凡 岩手大学

鶏におけるカンピロバクター汚染

カンピロバクター食中毒に対処するための生産現場における実態の把握は、制御対策の第一歩目として重要な課題である。しかし、日本における養鶏場での本菌汚染実態の情報は少ないことから、日本のみならず諸外国の汚染実態を調査し、その現状を紹介する解説書を作成し、養鶏業界での啓蒙を目的として平成14年度秋季鶏病技術講習会で発表を行った。

高木昌美 農林水産省  
動物医薬品検査所

#### A 研究目的

カンピロバクターは、元来家畜の流産の起原因菌であり、ヒトに対する病原性はほとんど知られていなかったが、1972年、Butzlerらにより、*Campylobacter jejuni*がヒトの下痢症の原因菌であることを明確にして以来、*C. jejuni*や*C. coli*を原因菌とするカンピロバクター感染症や食中毒に対する関心は高まり、発生例や汚染実態が明らかにされる中で、家畜や家禽における保菌状況の把握から、人畜共通感染症(zoonosis)として認識されるに至っている。近年、日本のみならず

世界各国において、カンピロバクターは、**O-157**大腸菌やサルモネラと並んで、最も注目される食中毒原因菌の一つになってきており、その発生は増加の傾向にある。食中毒事例の原因としては、汚染された牛乳や食肉などの食品が挙げられるが、その中でも菌分離率の高さから、「鶏」、特に鶏肉や鶏肉調理・加工品が原因食あるいは二次汚染源として重要視されてきている。しかし、食中毒の原因となった食品からのカンピロバクターの分離率は、他の食中毒原因菌と比べて低く、少量の菌量で発症することも知られている。こうしたカンピロバクター食中毒に対処するためには、生産、処理加工、流通及び消費の各段階、まさ

に「農場から食卓まで」の過程におけるカンピロバクターの制御対策を明確にすることが必要となっており、生産現場における実態の把握は、制御対策の第一歩目として重要な課題である。

こうした中、日本における養鶏場でのカンピロバクター汚染実態の情報は少なく、食鳥処理場における実態調査が主体という現状にある。特別研究事業の一環として行った「生産現場における汚染実態の文献学的な検索」<sup>39</sup>をもとに、鶏病技術講習会において、平成11～12年度日本における家畜由来細菌の抗菌剤感受性調査で実施した汚染実態や抗菌剤感受性等を紹介しながら、生産現場におけるカンピロバクター汚染の現状と対応を紹介した。

## 2. ヒトの食中毒との関連性

ヒトの食中毒原因菌としては、*C. jejuni* と *C. coli* の2つが指定されている。実際、ヒトの下痢症患者からの *C. jejuni* の分離頻度は、他のカンピロバクター分離頻度と比べて高い傾向にある。散发下痢症患者からの本菌の検出率は、ヘルギーで**5.1%**、イギリスで**7.1%**、スコットランド、カナダ、米国、フランス、オーストラリア、南アフリカ、インドネシア、ハンクラデシュ、タイなどにおいても、**4～31%**で、日本における検出成績も、諸外国の報告に類似している<sup>20</sup>。また、図1に示したように、**1997年～1998年**にかけては、患者数の少ない散发発生例が増加している<sup>9</sup>。

**1993～1998年**のカンピロバクター食中毒集団発生例は**169件**報告されているが、この中で従来ほとんど報告のなかった *C. coli* を起原因菌とする事例が**5件**報告されていた。食

品中の *C. jejuni* の生存性は、*C. coli* に比べて長い。そのため、汚染源としての感染の機会は多くなると推察される<sup>39</sup>。食中毒の原因の大部分は、ナマ物や加熱不十分な飲食物の摂取だか、食中毒の原因食品からの *C. jejuni* の分離は、他の細菌による食中毒事例と比べて少ない。また、わが国においては、**1996年**に検査食材の保存期間が2週間に延長されたにも関わらず、原因食品の判明率は相変わらず低い状態にある。しかし、食品の *C. jejuni* の汚染状況を調べた場合、生牛乳や飲料水の汚染率もさることながら、鶏肉や食鳥処理場の拭き取り材料からの検出率は非常に高く、カンピロバクター食中毒の原因は、汚染された鶏肉、もしくはその二次感染に起因するのではないかと注目されてきている<sup>9</sup>。

図1

## 3. 養鶏場における汚染

カンピロバクターは、多くの健康なウシ、ブタ、ヒツシ、山羊などの家畜、及び七面鳥、鶏、ウズラ等の家きん、野生動物の腸管内に広く分布していることが報告されている<sup>29, 34</sup>。鶏の汚染実態の報告を表1にまとめたところ、鶏の分離率は様々な割合を示しており、スウェーデンでは**20%**から**100%**に至る報告もある一方、英国のように**0.1～2.6%**といった例もあった。

表1

平成**11～12年度**国内における家畜由来細菌の抗菌剤感受性試験調査で実施した菌分離成績を表2に示した。鶏では、農場ごとの分離結果で、肉用鶏養鶏場では**27%**前後の陽性率を示しており、採卵鶏養鶏場でも**30%**の農場から菌が分離された<sup>16, 24</sup>。また、分離された菌株の同定を行ったところ、

*C jejuni*が90%以上を占めていた。Ono & Yamamoto<sup>26</sup>が、5-9週齢の鶏1068羽を対象に分離を行ったところ、約73%から分離された報告もある。

表 2

こうした菌の分離率は、養鶏場の衛生状態のみならず、検査日齢、採材時期、分離方法・技術等の様々な要因によって左右される。検査実施時期（季節）における分離率の変動を図2に示した。検査材料は、盲腸内容、皮膚スワブ、鶏肉と異なるが、いずれの材料からも、1年間を通して6-8月の季節が最も分離率が高いことが示されている<sup>34</sup>。また、検査材料の鶏肉について、1996～1998の3年間で比較した場合でも、やはり7-8月が最も高い分離率を示しており、季節の影響が極めて大きいと考えられる。

図 2

また、初生ヒナではほとんど検出されないが、週齢が加わることにより高くなり、産卵後は低くなるなど、鶏の年齢も分離率に大きく影響を及ぼす<sup>11, 20</sup>。農場導入時には0%だった鶏群が、飼育2-3週間目から菌が検出され始め、その後急速に汚染が広がり、加齢に伴い陽性率が高くなり、約9週齢で100%を示したことも報告されている<sup>29</sup>。養鶏場内での汚染の広がりを検討したところ、初生ヒナに*C. jejuni*を投与後24時間で陽性率は50%、48時間では70%を示し、排菌のピークは13-19日で、3週目以降は減少傾向にあるものの、平均25日間排菌されており、一旦感染すると急速に拡がることが明らかにされた<sup>9</sup>。

表 3

鶏以外の養鶏場飼育環境からの菌分離をみると、ハエ・タニなどの衛生害虫や飼育

者、飼育者の履物、ドリンカーなどの器具<sup>4, 12</sup>、飲料水、周辺の川・井戸水<sup>27</sup>、土壌<sup>33</sup>から本菌が検出されている。Gregoryら<sup>12</sup>の報告では、飼料や敷料からも検出されており、鶏からの二次汚染と推定している。このように、養鶏場内には、飼料、飲料水、敷料、飼育者との接触などの環境由来の潜在的汚染源が存在しており、これらを通して鶏舎内の鶏へ急速に水平感染すると考えられる。

#### 4. 種鶏場におけるカンピロバクターの垂直感染と水平感染

Jacobs-Reistma<sup>18</sup>は、種鶏場において、6、20、40週齢の鶏群を調査したところ、43群中29群、460/870羽（52.8%）が陽性を示し、6週齢以上の週齢鶏群では分離率に差は認められず、さらに本菌の垂直感染の可能性を示唆していた。しかし、Shankerら<sup>30</sup>は、①種鶏場の240羽中178羽（74%）から*C. jejuni*が分離されたにもかかわらず、陽性種鶏の卵187個中185個は陰性で、陽性を示した卵2個は、床に産み落とされ、二次感染による汚染卵であった。②種卵表面に付着させた*C. jejuni*は卵内に侵入しなかった。③本菌陽性の種鶏からの種卵を孵化させたヒナ840羽は6週齢に達するまで、*C. jejuni*の排菌は認められなかった。④強制的に卵白に*C. jejuni*を接種した種卵167個から孵化した12羽のうち2羽のみが陽性だったことから、*C. jejuni*の垂直感染の可能性を否定している。また、Lindblomら<sup>29</sup>も、垂直感染よりは、水平感染を強く主張している。Chumaら<sup>8</sup>は、約8週齢のプロイラー、4種鶏場およびそれら種鶏群から生産されたヒナ（4-8週齢）を育成しているプロイラー農場から分離を行

ったところ、ブロイラー鶏からは、*C.jejuni* が17/85羽(20%)、*C.coli* が4/85羽(4.7%)、種鶏からは100%検出され、これら種鶏由来のひな群からは、*C.jejuni* 4/15羽(26.7%)が分離された。しかし、これらの分離株はRFLPによる型別では全て異なるパターンを示し、汚染種鶏からの垂直感染については否定的な結論が報告された。

カンピロバクターの鶏への感染機構としては、垂直感染の可能性は低く、水平感染であるという見解が一般的である。

## 5. 食鳥処理場における菌分離と処理鶏への汚染

Lindblomら<sup>20</sup>は、農場へのヒナの導入時には陰性だった鶏群が、飼育中に外部から感染を受け、汚染が拡大すること、そしてスウェーデンではブロイラーの出荷日齢は5週齢であるため、出荷段階でのカンピロバクターの制御は十分可能であると報告している。しかし、スウェーデンの他の報告者は<sup>4</sup>、ヒナ導入後2-3週齢で本菌は陽性となり、5週齢で100%の陽性を示す農場もみられることを発表しており、出荷段階でのカンピロバクターの制御は困難と考えている。鶏の保菌率は20-100%であることを考えると、食鳥処理場に搬入される大半の鶏の腸管には、本菌を保有していると言っても過言ではないであろう。加えて、農場から処理場への輸送のストレス等で、盲腸内の菌数も上昇することが確認されている<sup>32</sup>ことから、保菌鶏の対応はなかなか困難な様相を示している。

ブロイラーの盲腸便中の菌量(平均約10<sup>5.44</sup> CFU/g<sup>32</sup>または10<sup>7.3</sup> CFU/g<sup>9</sup>)や、鶏の各臓器や体表の汚染菌数(胸部羽毛10<sup>5.4</sup>、皮

膚10<sup>3.8</sup>、そ嚢10<sup>4.7</sup>、盲腸10<sup>7.3</sup>、結腸10<sup>7.2</sup> CFU/g)の検査結果から、消化管に存在する菌数はかなり高いことから、このような保菌鶏が、食鳥処理工程中、と体を汚染し、解体処理中に二次汚染を引き起こし、製品としての鶏肉の汚染率を上昇させると考えられている<sup>2,4,26,27</sup>。また、保菌鶏による食鳥処理場の機械・器具、従事者の手指の汚染は高度である<sup>35,27</sup>。Berndtsonら<sup>4</sup>によると、処理と体の60%、処理場で使用される器具の100%が汚染していた。さらに、処理場内空気からも高率に本菌が検出され、処理場全体にわたって汚染されていることが明らかにされている。

現在のような大規模食鳥処理場では、ほとんどが「中抜き解体法」を実施しており、処理工程中、①脱羽、②中抜き、及び③内臓除去の3つの工程で汚染が起こりやすいと考えられる。

Ono and Yamamoto<sup>29</sup>は、と殺時にカンピロバクターの100%陽性を示したと体か、解体処理工程で、浸漬後では陽性率は低下するものの、脱羽工程後では汚染された羽毛や付着した糞便が、作業者の手指や器具を汚染し、再度と体を汚染し、陽性率が増加する傾向を認めたと報告している。このように浸漬によりと体の汚染率の低下が起こるという報告もあるが、Wempeら<sup>37</sup>は0-55.6%、Pearsonら<sup>27</sup>は96%と高率な浸漬水の汚染率を報告しており、浸漬水が処理工程中の汚染を引き起こす要因の一つと指摘している。

こうした処理場における汚染は、市販鶏肉への汚染を左右するものであり、処理工程中の汚染防止対策は、工程作業の改善(鶏体相互間の汚染、浸漬、脱羽、内臓除去時

の汚染への留意)や従事者の衛生管理が重要なポイントになるであろう。

## 6. 市販肉類からの菌分離

鶏のみならず、牛や豚の糞便から多くのカンピロバクターは存在することが知られており、と畜場においても、牛(47%、83%)、豚(46%、95%)から分離された現状からも<sup>23</sup><sup>26</sup>、市販牛・豚肉への汚染の可能性は高い。しかし、Frickerらは<sup>10</sup>、市販の牛・豚肉で18-23%の汚染を報告したものの、他の報告<sup>21,26</sup>では検出されない場合もある。

表 4

市販の鶏肉を検査したところ、と畜場では、デンマーク<sup>23</sup>36%、ドイツ<sup>3</sup>27.9%、ベルギー<sup>30</sup>25.6%が陽性であった。また、鶏肉製品では、日本の1980年代の調査によると73.2%<sup>17</sup>、1998年の調査<sup>29</sup>では、国産肉が45.8%、輸入肉では3.7%が陽性を示している。また、1995年から1998年における鶏肉の汚染調査でも、約40%が陽性であった。この他にも、台湾で68-75%<sup>19,31</sup>、オランダ61%、ベルギーでは、1996年の調査で57.5%、1997-1998年の調査で40%から検出され<sup>34</sup>、Atabay and Corry<sup>3</sup>が英国で行った調査では、100%から菌が検出され、分離株の大半は*C. jejuni*だった。また、Maddenら<sup>20</sup>が行った北アイルランドでの調査では、検体の市販鶏肉の38%が陽性で、*C. jejuni* 18株、*C. coli* 14株が分離され、各国により、汚染率に若干の差があるものの市販鶏肉の汚染がかなり高いことが明らかにされた。

ベルギーでは、チルド状態で世界各国から輸入された鶏肉検体の28.5%が陽性で<sup>36</sup>、輸出国別に分離結果を比較したところ、英国54.5%、フランス30.2%、ベルギー21.9%、

イタリア15.4%、オランダ0%という結果となり、輸出元における汚染度に差があることを報告している。

カンピロバクターに汚染された市販肉での生存性は、保存温度や条件により大きく左右される。本菌は微好気性であることから、酸素に暴露されると短時間で死滅し、また、サルモネラや大腸菌が生存する乾燥条件でも死滅しやすい。こうした発育条件の厳しさにより、処理してから熟成期間を必要とし、酸素の暴露を受けやすい牛・豚肉では、検出率を低くしているのかもしれない。Leeら<sup>19</sup>は、保存温度、充填剤を変えた保存条件の違い、凍結・融解等か、本菌の市販品における生存性にどのような影響を及ぼすかを検討している。保存条件(二酸化炭素、窒素、吸引真空、微好気性)の違いは、菌の生存性に大きく影響を及ぼさなかったが、どの保存状態でも菌の生存性は高かった。また、家庭での保存条件(-20℃もしくは1-6℃は、市販品中の菌は長期間生存していることを明らかにしている。加えて、家庭内で起こりうる凍結・融解の繰り返しに対しても、本菌の生存性は高く、3回の凍結融解後でも感染レベルの菌量を保持しており、回数が増すにつれて菌量は減少するものの、8回の繰り返し後においても生存が確認されている。また、冷凍保存後、解凍して室温に放置した場合の菌の増殖性を検討したところ、保存温度や保存期間により若干の違いはあるものの、菌はほぼ同等の増殖性を示している。

市販品からの菌の検出は、チルド状態や冷凍保存の材料から実施しているものも多く、いったん汚染された製品は、低温保存状態の中で長期間汚染されたままであると

いえる。現在のような低温管理や真空包装等の品質保持における技術の進歩は、カンピロバクターの生存性に好都合の条件を付与しているのかもしれない。

## 7. カンピロバクターを取り巻く問題

現在公衆衛生上極めて関心の高い問題は、耐性菌問題であろう。この中でも特に、キノロン系薬剤に対して耐性を持つ *C.jejuni* が増加していることが欧米諸国で問題となっている。特に2000年10月、米国FDAは、畜産分野で発現してきたフルオロキノロン耐性カンピロバクターによるヒトの腸炎において、抗菌剤による治療効果が期待されない可能性が危惧されることから、家禽用経口投与型フルオロキノロン剤（エンロフロキサシン及びヒサフロキサシン）の承認取り消しを通知し、規制当局、製薬業界、臨床現場を巻き込んだ国際的議論が発展している。

日本において、1996～1998年に集積された食中毒散发事例由来株の薬剤感受性を検討した結果、すべての薬剤に感受性の株は全体の66%を占め、第一次治療薬として広く用いられているにもかかわらずEM耐性株は3.3%と低かった。しかし、約33%の株にキノロン耐性が認められており、1993～1994年の耐性頻度15%に比較して耐性菌の増加が顕著になっている。また、キノロン剤単剤よりもむしろ多剤耐性を示す傾向にあることが報告されている<sup>7)</sup> (表5)。

表5

日本の畜産領域においても、1991年以降、経口投与型のフルオロキノロン剤の消費量が増加してきており、その6割が鶏に用いられている現状にある。また

一方、オールドキノロン剤をはじめとする他の抗菌剤の使用も、耐性菌問題に大きく影響すると考えられる。

平成11年～12年度に行った健康家畜由来カンピロバクターのフルオロキノロン剤耐性株は、分離菌株211株中20株(約10%)認められた<sup>16, 24)</sup> (表6)。欧米における調査結果でも、ほぼ同等な割合での耐性株の出現が確認されている。

表6

## 8. 予防対策

鶏のカンピロバクター汚染実態調査により、その汚染は種鶏場や養鶏場における感染から、食鳥処理場における二次汚染、製品間の二次汚染などがあり、生産から消費に至る全ての過程でカンピロバクター制御が必要である。

### 1) 養鶏場

養鶏場での汚染拡大を防ぐためには、まず飼育環境の改善が挙げられる。また、細菌性疾病の対策として抗菌剤の使用も考えられるが、本菌の場合、鶏自体に病害を与えないことが多いことや、食品としての薬剤残留問題から、薬剤の使用は困難な場合が多い。そのため、腸内細菌叢を正常に保つことと病原菌を排除することが期待されるオリゴ糖や生菌剤の飼料添加効果が実験的に検討されている。また、諸外国においてはワクチンの応用が検討されている<sup>22)</sup>。しかし、ワクチンの効能は、サルモネラと同様に、あくまでも汚染拡大を防ぐために遂行されるものであり、飼育環境の改善、抗菌剤の投与、生菌剤の使用等の総合的な防疫対策の一環であり、それのみで防御しうるものではないことを充分理解しておく必要がある。

## 2) 養鶏場から食鳥処理場への搬入時における防止対策

Sternら<sup>32)</sup>は、輸送のストレスは、排菌の増加だけでなく、排便回数も増加させ、食鳥汚染を増大させる事になるため、食鳥汚染を防止するためには、養鶏場からの輸送方法にも注意が必要である。輸送中の糞便からの汚染を少なくするためには、出荷前の絶食処置(8~10時間)を行い、腸の内容物を最小限に減らすことや、輸送を短時間で済ませる等の工夫が必要であろう。また、輸送容器は、食鳥の糞便で汚染されているため、使用後の完全な洗浄・消毒を十分に行っておく必要がある。

## 3) 食鳥処理場における汚染防止対策

食鳥処理場では、器具・器材<sup>19)</sup>、食鳥の体表や腸管内容物<sup>26)</sup>を汚染源として、と体への二次汚染が起きていることは明らかである。処理工程中、汚染の起こりやすい①脱羽、②浸漬、③中抜き工程中の内蔵からの直接汚染もしくは器具・器材を通しての汚染等に留意して、石井ら<sup>14)</sup>は、解体工程中の改善事項を設け、解体を実施したところ、その工程中*C jejuni*の検出率が減少したことを報告している。こうした食鳥処理場における防止対策における留意点については、食鳥処理衛生管理テキスト(厚生省生活衛生局乳肉衛生課監修、1991)に詳細に記載されているので参考にされたい。

米国では<sup>25)</sup>、加熱処理工程を含む一般の食品工場とは異なり、食肉処理工程では、**HACCP**を完璧に実施しても細菌数をゼロにすることは困難であり、抗菌処理は必須であると考えられている。そのため、食肉の抗菌処理での消毒剤として、1992年にリン酸三ナトリウム(TSP)か、1995年に二酸化塩素

の使用が許可されている。

カナダでは<sup>25)</sup>、食鳥処理場において数種の酸塩化物から発生させる二酸化塩素による超塩素処理(**Hyperchlorination**)が、赤身肉以外の食鳥肉の処理に許可されている。

一方、ヨーロッパでは<sup>25)</sup>、食鳥肉の解体処理工程はドライシステムを採用しており、米国やわが国のような水洗工程がないため、汚染の拡大が少なく**HACCP**の徹底により、細菌汚染の制御が可能であり、化学物質処理による危害を防ぐ方が重要との認識があり、超塩素処理・TSP・有機酸などによる抗菌処理を、赤身肉、食鳥肉あるいは内臓肉に使用することは許可されておらず、水または蒸気のみが許可されている。

わが国では、まだ承認されていないが、米国食品薬品局(FDA)は、1999年、食鳥肉および肉製品の放射線照射による抗菌処理を許可している<sup>9)</sup>。これは、コバルト60やセシウム137等から放射される放射線で処理する方法で、温度の上昇もなく食品や食肉の深部にまで浸透し、殺菌効果があり、人体への影響もないとしている。放射線照射は、食中毒の起因菌であるサルモネラ、大腸菌0157、ブドウ球菌、カンピロバクターなどの細菌の他、トキソプラズマ等の病原微生物に対して、顕著な減少を示し、殺菌効果が認められたと報告している。

## 9. まとめ

カンピロバクターは、鶏においては常在菌であることから、家畜衛生上の認識は低く、生産現場における汚染実態の調査は始まったばかりであり、十分な現状把握は出来ていないのが現状である。しかし、鶏肉及びその加工品は、処理から供給までの期間が短いことから、一旦汚染された場合は、



食中毒の原因になる可能性を孕んでいるといえよう。今般のカンピロバクター食中毒が増加傾向にある現状や、食肉・食品からの分離率の高さ、耐性菌の出現等からみて、カンピロバクター汚染は、公衆衛生上のみならず、家畜衛生上からも監視の必要な細菌である。今後「食」の安全性を担保し、供給していく上では、生産現場における実状把握は重要なポイントであり、実態を把握した上で、生産現場から、食鳥処理場、加工場、流通、販売、消費に至る一連の過程における制御体制を構築していくことが期待される。

#### 文献

- 1) Achen, M *et al* Shedding and colonization of *Campylobacter jejuni* in broilers from day-of-hatch to slaughter age *Avian Dis* 42, 732-737(1998)
- 2) Atabay, H I and Corry, J E L The prevalence of campylobacters and arcobacters in broiler chickens *J Apply Microbiol* 83, 619-626(1997)
- 3) Atanassova, V *et al* The detection of Salmonella and *C jejuni/coli* in fresh poultry *Freischwirtschaft* 76, 726-728(1998)
- 4) Berndtson, E Campylobacter incidence on a chicken farm and the spread of Campylobacter during the slaughter process *Int J Food Microbiol* 32, 35-47 (1996)
- 5) Berrang, M E *et al* Campylobacter recovery from external and organs of commercial broiler carcass prior to scalding *Poultry Sci* 79, 286-290(2000)
- 6) 病原微生物情報センター カンピロバクター腸炎 1995～1998, 病原微生物検出情報月報 20 (1999)
- 7) 病原微生物情報センター 我が国における腸炎由来 *Campylobacter jejuni* 血清型の検出動向及び散発下痢症由来 *C jejuni* のキノロン耐性の出現—カンピロバクター・レファレンスセンター, 病原微生物検出情報月報 20 (1999)
- 8) Chuma, T *et al* Analysis of distribution of *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* in broilers by using restriction fragment length polymorphism of flagellin gene *J Vet Med Sci* 59,1011-1015(1997)
- 9) FDA Irradiation of meat and meat products 9 CFR Parts 317,318, and 381(1999)
- 10) Friker, C R and Park, R W A A two-year study of the distribution of thermophilic campylobacters in human, environmental and food samples from the reading area with particular reference to toxin production and heat-stable serotype *J Appl Microbiol* 66, 47-49 (1989)
- 11) Genigeorgis, C *et al* *Campylobacter jejuni* infection on poultry farms and its effect on poultry meat contamination during slaughtering *P J Food Prot* 49,895-903 (1986)
- 12) Gregpry, E *et al* Epidemiological study of *Campylobacter* spp in broilers source, time of colonization, and prevalence *Avian Dis* 41,890-897(1997)
- 13) Humphrey T J Cross contamination with Salmonella spp And *C jejuni/coli jejuni* in raw poultry products *Voedingsmiddelentechnologie* 23, 11-13(1990)

- 14) 石井 啓次ら 鶏肉の *Campylobacter jejuni* 汚染と食鳥処理工程の改善 食品と微生物 6, 69-79(1989)
- 15) 石井 啓次 *Campylobacter* 感染症と鶏病研報 27,134-141(1991)
- 16) 石原加奈子ら 平成 12 年度国内における家畜由来細菌の抗菌剤感受性調査—カンピロバクター, 第 133 回日本獣医学会講演要旨集, p 89 (2002)
- 17) 板屋民子 食鳥、食鳥処理場及び市販食鳥肉の食中毒細菌の汚染状況調査 日獣会誌 40,191-196(1987)
- 18) Jacobs-Reistma, W J *Campylobacter* bacteria in breeder flocks *Avian Dis* 39,355-359(1995)
- 19) Lee, A *et al* Survival and growth of *Campylobacter jejuni* after artificial inoculation onto chicken skin as a function of temperature and packaging condition *J Food Protection* 61, 1609-1614(1998)
- 20) Lindblom, G B *et al* Natural *Campylobacter* colonization in chickens raised under different environmental conditions *J Hyg Camb* 96, 385-391 (1986)
- 21) Madden, R H *et al* Frequency of occurrence of *Campylobacter spp* in red meats and poultry in Northern Ireland and their subsequent subtyping using PCR-RFLP and the random amplified polymorphic DNA method *J Appl Microbiol* 84, 703-708 (1998)
- 22) Mulder R W Safe poultry meat production in the next century *Acta Vet Hung* 45, 307-315(1997)
- 23) Nielsen, E M *et al* Distribution of serotypes of *C jejuni* and *C coli* from Danish patients, poultry, cattle and swine *FEMS Immunol Med Microbiol* 19, 47-56(1997)
- 24) 大園智子ら 平成 11 年度国内における家畜由来細菌の抗菌剤感受性調査—カンピロバクター, 第 131 回日本獣医学会講演要旨集, p 72 (2001)
- 25) 岡本嘉六 米国で許可された食肉及び食鳥肉の解体処理工程における抗菌処理鶏卵肉情報 80-86(1997)
- 26) Ono, K and K Yamamoto Contamination of meat with *Campylobacter jejuni* in Saitama, Japan *Int J Food Microbiol* 47, 211-219 (1999)
- 27) Pearson, A D Colonization of broiler chickens by waterborne *Campylobacter jejuni* *Appl Environmental Microbiol* 59, 987-996(1993)
- 28) Rasmussen, H N *et al* Detection of *Campylobacter jejuni* and *C coli* in chicken faecal sample by PCR, *Lett Appl Microbiol* 23, 363-366(1996)
- 29) 坂井千三、伊藤 武 *Campylobacter* 感染症 日細菌誌 40, 563-580(1985)
- 30) Shanker, S *et al* *Campylobacter jejuni* in broilers the vertical transmission *J Hyg Camb* 96, 153-159(1986)
- 31) Yang-Chin Shih, D Isolation and identification of enteropathogenic *Campylobacter spp* From chicken samples in Taipei *J Food Protection* 63, 304-308(2000)
- 32) Stern, N J *et al* *Campylobacter spp* In broilers on the farm and after transport *Poultry Sci* 74, 937-941(1995)
- 33) Studer, E *et al* Study of the presence of *Campylobacter jejuni* and *C coli* in sand samples *Res Microbiol* 150, 213-219 (1999)

- 34)高木昌美ら 生産現場におけるカンピロ  
ハクター汚染実態とその対策, 鶏病研報, 37,  
195-216 (2001)
- 35) 植村 興、伊藤 武 カンピロハクター  
食中毒の感染源と鶏 鶏病研報 23, 1-  
7(1987)
- 36) Uytterndaele, M *et al* Incidence of  
*Salmonella*, *Campylobacter jejuni*, *C coli*  
*J Food Protection* 62, 735-740(1999)
- 37) Wempe, J M *et al* Prevalence of  
*Cmpylobacter jejuni* in two Clifornia chicken  
processing plants *Apll Environ Microbiol*  
45,355-359 (1983)

図1 カンピロバクター食中毒患者数および発生件数

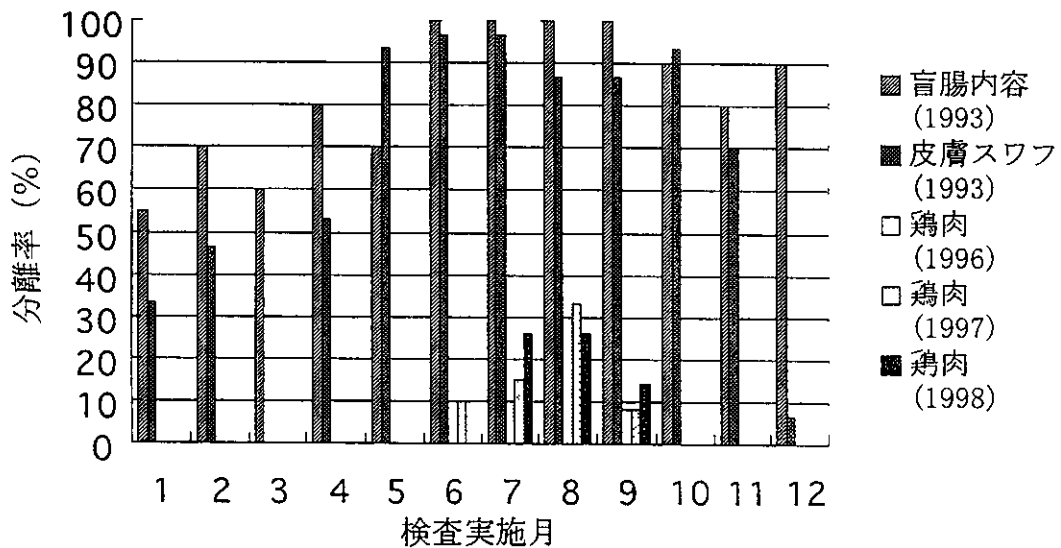
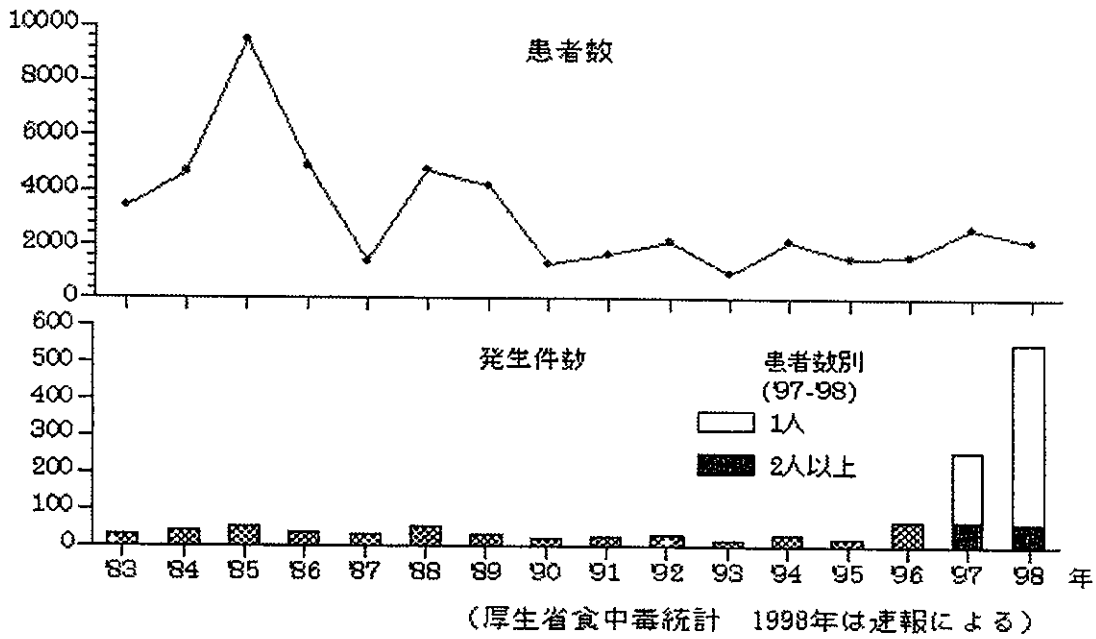


図2 鶏からのカンピロバクター分離率における季節変動<sup>34)</sup>