

201033038A

厚生労働科学研究費補助金

食品の安心・安全確保推進研究事業

食鳥・食肉処理工程等における
リスク管理に関する研究

平成22年度 総括・分担研究報告書

研究代表者

川本 恵子

(帯広畜産大学)

平成23年3月

厚生労働科学研究費補助金

食品の安心・安全確保推進研究事業

食鳥・食肉処理工程等における
リスク管理に関する研究

平成 22 年度 総括・分担研究報告書

研究代表者

川本 恵子

(帯広畜産大学)

平成 23 年 3 月

平成 22 年度食品の安心・安全確保推進研究事業
食鳥・食肉処理工程等におけるリスク管理に関する研究班

研究代表者*¹

川本恵子 国立大学法人帯広畜産大学 動物・食品衛生研究センター

研究分担者*²

山崎栄樹 国立大学法人帯広畜産大学 畜産衛生学研究部門

重茂克彦 国立大学法人岩手大学 農学部

三澤尚明 国立大学法人宮崎大学 農学部

朝倉 宏 国立医薬品食品衛生研究所食品衛生管理部

藤村達也 日本ハム株式会社 中央研究所

研究協力者

倉園久生 国立大学法人帯広畜産大学 畜産衛生学研究部門

奥村香世 国立大学法人帯広畜産大学 畜産衛生学研究部門

武士甲一 国立大学法人帯広畜産大学 畜産衛生学研究部門

牧野壮一 国立大学法人帯広畜産大学 動物・食品衛生研究センター

五十君静信 国立医薬品食品衛生研究所食品衛生管理部

江川智哉 国立医薬品食品衛生研究所食品衛生管理部

大内 敏 北海道早来食肉衛生検査所

梶田弘子 岩手県食肉衛生検査所

西村 肇 宮城県食肉衛生検査所

石岡大成 群馬県食肉衛生検査所

神田政宏 静岡県西部食肉衛生検査所

坂江 博 兵庫県食肉衛生検査センター

木山真大 鳥取県食肉衛生検査所

大浜尚子 沖縄県中央食肉衛生検査所

品川邦汎 岩手大学農学部

*¹ 一身上の都合により平成 23 年 1 月 31 日付けで牧野壮一から研究分担者の川本恵子へと研究代表者が変更となった。

*² 一身上の都合により平成 23 年 1 月 31 日付けで武士甲一から研究協力者の山崎栄樹へと研究分担者が変更となった。

目 次

I. 総括研究報告書	
食鳥・食肉処理工程等におけるリスク管理に関する研究	
研究代表者：川本恵子	
(帯広畜産大学・動物・食品衛生研究センター)	1
II. 分担研究報告書	
1. 食鳥処理工程に関わる衛生管理に関する研究	
研究分担者：川本恵子	
(帯広畜産大学・動物・食品衛生研究センター)	7
2. 結着肉製造における衛生管理	
研究分担者：川本恵子	
(帯広畜産大学・動物・食品衛生研究センター)	22
3. ウシ内臓肉処理工程の実態調査	
研究分担者：重茂克彦	
(岩手大学・農学部)	49
4. 消毒薬の効果に関する研究、食鳥処理施設の衛生管理に関する研究	
研究分担者：三澤尚明	
(宮崎大学・農学部)	60
5. わが国で分離されたヒト臨床由来カンピロバクター・ジェジュニの遺伝学的多様性と病原性に関する研究	
研究分担者：朝倉 宏	
(国立医薬品食品衛生研究所・食品衛生管理部)	67
6. 食鳥処理場の改善策	
研究分担者：藤村達也	
(日本ハム(株)中央研究所・札幌サテライト)	80
III. 研究成果の刊行に関する一覧表	86

I . 総括研究報告書

総括研究報告書

食鳥・食肉処理工程等におけるリスク管理に関する研究

研究代表者 川本 恵子* 国立大学法人帯広畜産大学 動物・食品衛生研究センター

研究要旨 我国では農場から消費に至る過程で一般衛生管理の徹底や HACCP の導入が通達等で実施され、食鳥肉の衛生面における向上が図られてきた。しかし、食鳥を介した食中毒、特にカンピロバクター食中毒は増加傾向にある。このことは、危害の低減が不十分であり、日本の現状に即したリスク分析手法を早急に導入する必要がある。2009年の食品安全委員会によるカンピロバクターのリスク評価が行われ、生食割合の低減、食鳥処理段階の対策、農場の汚染率低減がヒトの健康被害の軽減に有効で、農場と食卓を直結させた総合的な対策が必要であると提言された。そこで、本課題では食鳥処理施設を中心に問題となる衛生管理工程を分析し、現行の衛生管理の検証を行うとともに、効果的なリスク低減措置を提案し、我が国の食鳥処理のリスク管理に資するモデルプランを作成して衛生行政に貢献することを目的とする。加えて、まだ十分な対策が講じられていない食肉に関わる諸問題について衛生管理の面から研究を遂行する。具体的には、① 食鳥処理工程に関わる衛生管理、② 内臓肉の処理における衛生管理、③ 結着肉製造における衛生管理、④ 食鳥処理工程に関わる消毒薬の効果について、⑤ 分離菌株の病原性の比較、⑥ と畜場の疾病診断マニュアル作成、を実施する。本研究では、SQF2000 認可と認可を受けていない大規模食鳥処理施設において、原材料の搬入から流通に至る工程を詳細に実態調査し、SQF 非認可施設の衛生管理の改善策を策定し、処理工程のモデルプランとして提案する。同時に、SQF 認可施設の衛生管理の検証も行い改善点を提示する。加えて、上記評価書でも言及している消毒薬に関する改善策についても研究を行う。内臓肉と結着肉では腸管出血性大腸菌 O157 食中毒の危険性が危惧されていることから、処理工程を中心に現行の管理体制を検証し、衛生管理の改善策を提示する。以上の研究で分離された病原菌株について、出来るだけ性状を調べ、遺伝子型別も行うことにより、ヒトに対するリスクの推定や衛生行政全般に資する情報提供をする。さらに、追加されたと畜検査対象疾病の検査マニュアルの作成を目的とした調査研究の推進も行う。

*平成 23 年 1 月 31 日付けで牧野壮一から川本恵子へ研究代表者を変更した。

研究分担者（計 5 名）

川本 恵子（帯広畜産大学・動物・食品衛生研究センター・准教授）

朝倉 宏（国立医薬品食品衛生研究所・食品衛生管理部・主任研究官）

重茂 克彦（岩手大学・農学部・教授）

藤村 達也（日本ハム株式会社・中央研究所・研究員）

三澤 尚明（宮崎大学・農学部・教授）

山崎 栄樹（帯広畜産大学・畜産学部・助教）

A. 研究目的

食品安全委員会により食品健康影響評価のためのリスクプロファイルが公開され、鶏肉のカンピロバクターとサルモネラによる健康被害が問題であると報告され、これを受け 2009 年にカンピロバクターの微生物学的リスク評価書が示された。この中で、生食割合の低減、食鳥処理段階の対策、農場の汚染率低減がヒトの健康被害の軽減に有効であり、農場から食卓まで一貫した対策が必要であると提言された。生食は消費

者への啓蒙が必要で、農場は立入りが極めて困難な現状を考えると、食鳥処理施設のリスク管理対策が最も現実的に対応可能と考えられる。そこで、本課題では、SQF 認可及び非認可大規模食鳥処理施設において、導入されている衛生管理システムの検証と改善を行い、我が国の食鳥処理のリスク管理に資するモデルプランを構築し、衛生行政に貢献することを目的とする。また、結着肉や内臓肉などによる食中毒の発生が起きている事実を踏まえ、当該食肉についても現実的な衛生管理の提案が必要となっている。そこで、本申請では、

- ① 食鳥処理工程に関わる衛生管理
- ② 内臓肉の処理における衛生管理
- ③ 結着肉製造における衛生管理
- ④ 食鳥処理工程に関わる消毒薬の効果について
- ⑤ 分離菌株の病原性の比較
- ⑥ と畜場の疾病診断マニュアル作成について研究を推進する。

具体的には、農場から食鳥処理施設における一連の過程で、カンピロバクター汚染を中心に実地調査を行い、その結果に基づいて食鳥処理のリスク管理に資するモデルプランを構築し、これを衛生行政に貢献することを目的とする。同時に、食鳥処理場内でと体の洗浄・消毒に用いる新たな消毒薬の応用を加味し、科学的な知見を得て汚染低減のためのモデルプランを提案する。また、内臓肉及び結着肉の衛生的な処理・加工についても知見を得て衛生行政に貢献する。分離菌株については、各種性状を臨床株と比較し、ヒトに対するリスクを推定するとともに、薬剤耐性などを調査して衛生行政に資する提案をする。さらに、と畜検査及び食鳥処理検査において、全部及び部分廃棄対象疾病が追加されたことを鑑み、その迅速かつ適切な診断に資すると畜検査マニュアルの作成を目的とした調査研究の推進が急務となっている。

B. 研究方法

(倫理面への配慮)

実験動物を扱う場合には、所属機関の実

験動物委員会の審査と承認を得て、動物愛護・動物福祉の精神に則る。組換えDNA実験では、遺伝子組換え実験等安全管理委員会の承認を得て実施する。また、病原体等の塵扱いは感染症法に従う。

1) 食鳥処理工程に関わる衛生管理に関する研究

食鳥処理のどの工程でカンピロバクターの汚染が起きているのかを調べるため、大規模食鳥処理場（ブロイラー）および小規模食鳥処理場（地鶏）において放血後、脱羽後、中抜き後のと体をそれぞれ供試した。種々の薬剤の殺菌効果を比較する試験には、大規模食鳥処理場のチラー処理後のブロイラー中抜きと体、及び小規模食鳥処理場で次亜塩素酸処理を行わずに処理された地鶏中抜きと体を用いた。また、大規模食鳥処理施設で、HACCP 認定等の認可を受けていない処理施設 A における衛生管理および施設全体の処理工程について視察を行った。続いて、食鳥処理工程における汚染実態調査として、内臓摘出の際に腸管を採取し、盲腸便 10 g を試料とした。同時に、腸管を採取した同じ個体の最終加工品であるもも肉も検体とした。公定法に従い、サルモネラ、腸管出血性大腸菌 O157、リステリア、カンピロバクターの検査を行った。また、肉の検体については糞便系大腸菌の検査も行った。また、道内の SQF2000 認可大規模食鳥処理工場を対象として、食鳥処理検査を行った。検査は 10~1 月の間で 3 回、それぞれ異なる農場由来の鶏を対象として汚染実態調査を実施した。

2) 結着肉製造における衛生管理

市販の結着肉（一部ミンチ肉なども含む）に関して、O157 を主とした食中毒原因菌の汚染状況を把握するとともに、代表的な結着肉製造施設 2 か所を視察し、結着肉製造工程を把握し、衛生管理上の問題点について調査した。さらに、全国の食肉加工を行っている施設に書面によるアンケートを実施し、衛生管理に対する考え方や O157 汚染についての方策等について調査した。

3) ウシ内臓肉処理工程の実態調査

全国 8 カ所（北海道早来、岩手県、宮城県、群馬県、静岡県西部、兵庫県、鳥取県、沖縄県）の食肉衛生検査所の協力のもとに、管轄する食肉処理場で処理したウシの肝臓、大腸、糞便を検体として腸管出血性大腸菌 O157 の分離を行った。また、内臓肉処理工程に関するアンケート調査を行うと共に、内臓処理室の立入調査を依頼し、内臓処理工程のフロー図を管轄の食肉処理場ごとに作成した。フロー図を解析し、内臓処理工程がどのくらい多様性があるかを調査し、さらに各処理場に普遍性を有する、一般化した工程フローの抽出を行った。

4) 消毒薬の効果に関する研究、食鳥処理施設の衛生管理に関する研究

と体表面に付着したカンピロバクターの殺菌効果を高めるため、と体への薬剤浸透効果を高める真空処理の導入、さらにはと体全体に超音波を照射できる共振超音波発生装置を用いるなどの組み合わせる処理法を検討した。さらに、次亜塩素酸以外の殺菌剤を用い、と体表面に付着したカンピロバクターに対する殺菌効果を比較した。

5) わが国で分離されたヒト臨床由来カンピロバクター・ジェジュニの遺伝学的多様性と病原性に関する研究

2005-2006 年の間に東京都及び大阪府において国内ヒト臨床患者より分離された *Campylobacter jejuni*、計 100 株を供試菌株とし、Multi-Locus Sequence Typing (MLST) 遺伝子型別を行い、PubMLST データベースを通じて国際比較を行った。加えて、感染により生じる腸管上皮細胞の IL-8 産生量および運動性能を評価した。

C. 研究結果

1) 食鳥処理工程に関わる衛生管理に関する研究

SQF2000 認定および通常の大規模食鳥処理場の処理工程の視察と糞便及び最終製品における細菌汚染状況調査を実施した。認定処理場では、食鳥糞便からカンピロバクター、O157、リステリアは検出されず、サルモネラ

が 67% 検出された。最終鶏肉では、サルモネラ (67%) とリステリア (93%) が検出された。一方、非認定処理場では、糞便からサルモネラ属菌は 95%、リステリアは 0%、カンピロバクターは 70% 陽性で、最終製品からは大腸菌は 85%、サルモネラ属菌は 100%、リステリアは 0%、カンピロバクターは 30% 陽性であった。

2) 結着肉製造における衛生管理

3) ウシ内臓肉処理工程の実態調査

食肉処理場に搬入された牛 259 頭を対象とし、糞便、大腸および肝臓の腸管出血性 O157 汚染実態を調査したところ、O157 分離陽性は糞便で 259 検体中 7 検体 (2.7%)、大腸で 258 検体中 20 検体 (7.8%) であり、市場に出荷されている大腸製品が一定頻度で腸管出血性大腸菌 O157 に汚染されていることが明らかになった。一方、肝臓では 245 検体中 1 検体 (0.4%) が陽性となり、低頻度ながら肝臓表面が O157 により汚染される可能性があることが明らかになった。

4) 消毒薬の効果に関する研究、食鳥処理施設の衛生管理に関する研究

消毒薬の殺菌効果を比較した結果、プロイラーと地鶏の殺菌効果には差が認められ、同一の殺菌処理において地鶏の方がプロイラーに比べ高い殺菌効果が得られることが分かった。最も高い殺菌効果が得られた処理法は、塩化セチルピリジニウム (CPC) を用い、吸引処理と超音波照射処理の組合せを行った方法で、カンピロバクター菌数を処理前の 10~100 分の 1 程度に減少させることができた。

5) わが国で分離されたヒト臨床由来カンピロバクター・ジェジュニの遺伝学的多様性と病原性に関する研究

MLST 解析により、諸外国と同様、国内分離株中には ST-21, ST-45 型が多く認められたが、ST-4526 型は日本でのみ認められた。MLST データベース上の分離履歴情報に基づき、原因となる食品（動物）について試算したところ、全体の約 73% が推定可能であった。このうち、ニワトリに由来するものは全体の約 47%、ウシに由来するものは約 10%、その他は約 17% であり、依然として不明であった

ものの割合は約 27%であった。このうち 63% はニワトリ、14%はウシ、23%はその他（ブタ、綿山羊等）によると推定され、国内カンピロバクター食中毒の原因食品として鶏肉が最も重要であるという現在の認識を遺伝学的に裏付けることができた。感染により生じる腸管上皮細胞の IL-8 産生量を評価したところ、3 株で感染初期に低値を認めたが、これらは運動性の減弱に因るものであり、ヒト臨床分離株の病原性には大きな差異がないと考えられた。

D. 考察

食鳥処理場における食鳥と体のカンピロバクター汚染は、年間を通して認められた。食鳥処理場では、と体表面のカンピロバクターの汚染は、脱羽処理後に起こっていることが分かった。これは、脱羽処理の工程で、内蔵を含んだと体が、脱羽機のフィンガーによる物理的な圧迫力により、腸内容物の漏出が起こり、カンピロバクター保菌鶏では容易にと体表面への汚染が起こるものと考えられた。

食鳥糞便におけるカンピロバクターやサルモネラの深刻な汚染が確認され、農場における汚染がそのまま移行する危険性が考えられた。実際、最終製品での汚染も確認でき、内臓摘出から枝肉処理工程において更なる衛生管理の徹底が必要であることが強く示唆された。また、食鳥糞便中のカンピロバクターが陰性であった認定処理工場では、最終製品も陰性であった。農場段階での汚染率の軽減は現状では困難であることから、食鳥処理施設での衛生管理が重要である。詳細な汚染調査をもとに、個々の工程を変えていく必要があると思われる。また、認定農場では最終製品から 93%のリストeria が分離されており、工場環境中の深刻な汚染が考えられた。両処理工場の処理工程や衛生管理の違いをもとに、衛生管理点を明らかにすることで、設備や処理場外も含めた環境改善策を提案できる。

また、結着肉の製造工程について、ISO9001 及び北海道 HACCP 認定工場の視察を行い、製造工程の聞き取り調査を行った。両工場とも衛生管理には相当の気を使い、対策も十分

であると考えられた。ISO 認定施設では、原材料はすべてオーストラリアからの冷凍輸入肉（ブロック肉）を使用しており、解凍する際に生じるドリップの衛生検査を行うことで使用原材料の衛生を担保している。実際には、O157 を一番の危害として検査を行っており、イムノクロマトによる簡易キットで検査し、偽陽性率が 0.03%ですべてが精密検査で陰性である、とのことであった。更に結着材との混合などの段階も同様の検査を行い、衛生管理を徹底している。その他、従業員の衛生教育も徹底していた。一方、北海道 HACCP 認定施設では、原材料はオーストラリアで検査済の食肉の塊（整形肉）をミンチもしくはスライスした際に常に検査を行っており、危害因子を O157 中心にサルモネラやリストeria も検査を行い、一般生菌数で制御している。製品は冷凍帆斬され、細菌結果が陰性であった場合に販売ルートに乗せるようになっており、病原菌が検出された場合は該当食材を廃棄するが、現在まで操業開始以来、事故は起こっていないとのことであった。

また、今回の結着肉の汚染実態調査では、一般生菌数で最大 g 当たり 30 万個以下であり、糞便系大腸菌や O157 については陰性であったが、半数の検体でリストeria が陽性であり、工場環境でのリストeria 汚染対策が重要と思われる。

また、市場に出荷されている大腸製品が一定頻度で腸管出血性大腸菌 O157 に汚染されていることが明らかになった。また、肝臓では 245 検体中 1 検体 (0.4%) が陽性となり、低頻度ながら肝臓表面が O157 により汚染される可能性があることが明らかになった。さらに、内臓肉処理工程に関するアンケート調査により内臓処理工程の多様性を把握し、これを解析して一般化した工程フローの抽出を行った。特に消化管を主体とする白物のうち、生で出荷する製品の処理工程は腸管出血性大腸菌などの病原体を死滅させるステップは存在しないことから、汚染除去に有効な工程とその方法論を絞りこむ必要がある。いずれにせよ、これらの汚染された食肉を加熱不十分で喫食することにより、食中毒菌に感染する

可能性があるのみならず、飲食店や家庭において、これらの汚染食肉から他の食材への交差汚染の可能性もあり、処理工場及び製造工場における衛生管理と共に、食産業従事者や一般市民に対する食肉取り扱いに関する啓蒙が必要と考えられる。

屠畜場に搬入される前の鶏の体表からはほとんどカンピロバクターは検出されないが、中抜き工程以降での汚染が起きやすく、背中での汚染率が特に高くなっている。しかし、現在の消毒工程では菌数の減少は十分ではなく、消毒方法や新たな消毒薬の提案が不可欠である。と体の殺菌処理効果を高める方法として、吸引による薬剤の浸透促進と、共振型超音波処理による付着細菌の遊離促進は効果が認められた。今回用いた殺菌剤の中で最も殺菌効果の高かった CPC は無味無臭の界面活性作用を有する殺菌剤で、毒性が低いことから、日本国内では医薬部外品として認可され、歯磨き、マウスウォッシュ、のど飴等に使用されている。一方、米国では、CPC が大腸菌、サルモネラ、リステリア・モノサイトゲネス、カンピロバクター、ブドウ球菌に殺菌効果を示すことから、食鳥処理での使用が認められている。しかしながら CPC の食品添加物としての使用は国内では認められておらず、食鳥処理場で使用できるようにするためには食品添加物としての承認が必要となる。

細菌性食中毒が発生した場合、患者及び原因推定食品より原因菌を捕捉することが、原因食品を特定する為の前提条件となる。しかしながら、カンピロバクターは大気中で生存できない、乾燥に弱い等の性質を有するため、一般的な食品では保存中に生存性を喪失しやすい。本食中毒患者の病態は比較的長い潜伏期間を経て顕されるため、原因と疑われる食品から本菌を分離培養しようとする時点で、既に相当の保存期間を経ているため、原因食品が特定されることは非常に少ない。ヒト臨床分離株の MLST 解析により、これまで原因食品（原因動物）の同定に至らなかった供試菌株（東京都分離株では 64%、大阪府分離株では 80% が原因不明株）、MLST データベースとの照合を通じ、東京都分離株ではニワトリ由

来が 50.2%、ウシ由来は 6.4%、その他は 9.3%、大阪府分離株はニワトリ由来が 50.4%、ウシ由来が 15.2%、その他は 13.7% が原因と推定された。以上のように、患者分離株を用いた MLST 法は、原因推定に一定の有効性を示すと期待される。しかしながら、わが国における *C. jejuni* の遺伝子型は海外分離株とは同一ではなく、食肉・食鳥肉由来株の遺伝子型に関する知見を更に集積・統合することで、その有効性を検証し、より高い精度での原因推定をはかることが可能になると思われる。

E. 結論

食鳥・食肉処理工程等におけるリスク管理に関する研究として、大規模食鳥処理工場における主な食中毒菌の汚染実態調査を行ったところ、食鳥におけるカンピロバクターとサルモネラによる高汚染率が深刻であった。農場からの汚染鳥の持ち込みがない場合には、最終製品からは検出されず、農場段階での汚染率の高さが、交差汚染などを経て、食鳥処理場での加工処理段階での汚染につながっているものと考えられた。食鳥処理施設での実態調査結果をもとに、各処理場の HACCP 型管理の導入（洗浄・殺菌の強化、重要管理点の特定とモニタリング、他）を進める必要がある。また、MLST 解析は原因食品が不明である場合に、その由来を明らかにすることができ、汚染防止情報のひとつとして有用であると考えられた。感染源の撲滅が根本的な食中毒予防に繋がることはいうまでもないが、本研究で最も重要な原因食品と推定された鶏に関しては、養鶏段階での効果的な本菌の制御法が確立されていない。また、CPC が食鳥処理工程での殺菌剤として有用と考えられたが、食品添加物としての使用は国内では認められておらず、食鳥処理場で使用できるようにするためには食品添加物としての承認が必要であり、施策面での対応が望まれる。

F. 健康危険情報

特になし

G. 研究発表

1. 論文発表（発表誌名巻号・頁・発行年等も記入）

国際誌計2報、国内誌計2報を発表した。

1) Asakura H, Kawamoto K, Makino S. Response of foodborne microorganisms to osmotic stress. In a book of "Stress response of foodborne microorganisms". Wong HC ed. Nova Science Publishers. 印刷中.

2) Maklon K, Minami A, Akiko Kusumotoa, Takeshi K, Thuy NTB, Makino S and Kawamoto K. Isolation and characterization of *Listeria monocytogenes* from commercial asazuke (Japanese light pickles). Int J Food Microbiol. 139(3):134-9, 2010.

3) 門田修子、楠本晃子、牧野壮一、川本恵子
食品における赤痢菌検出法の感度の向上、日本獣
医公衆衛生学雑誌日獣会誌 63, 297-300, 2010

4) 三澤尚明、副島潤一郎 超音波を使用したカ
ンピロバクター撃退技術 超音波TECHNO, 22:

6-9, 2010

2. 学会発表

各研究分担者の報告書参照。

H. 知的財産権の出願・登録状況（予定を含む。）

1) 特許取得

「真空および共振型超音波処理による食品材
料における微生物の制御法及び制御装置」(特
願 2010-065744)

※2011年に国際特許を出願予定。

2. 実用新案登録

登録なし

3. その他

なし

Ⅱ. 分担研究報告書

食鳥処理工程に関わる衛生管理に関する研究

研究分担者	川本 恵子	帯広畜産大学
	山崎 栄樹	帯広畜産大学
研究協力者	倉園 久生	帯広畜産大学
	牧野 壮一	帯広畜産大学
	武士 甲一	帯広畜産大学

研究要旨 我国では農場から消費に至る過程で一般衛生管理の徹底やHACCPの導入が通達等で実施され、食鳥肉の衛生面における向上が図られてきた。しかし、食鳥を介した食中毒、特にカンピロバクター食中毒は増加傾向にある。このことは、危害の低減が不十分であり、日本の現状に即したリスク分析手法を早急に導入する必要がある。2009年の食品安全委員会によるカンピロバクターのリスク評価が行われ、生食割合の低減、食鳥処理段階の対策、農場の汚染率低減がヒトの健康被害の軽減に有効で、農場と食卓を直結させた総合的な対策が必要であると提言された。そこで、本課題では食鳥処理施設を中心に問題となる衛生管理工程を分析し、現行の衛生管理の検証を行うとともに、効果的なリスク低減措置を提案し、我が国の食鳥処理のリスク管理に資するモデルプランを作成して衛生行政に貢献することを目的とする。加えて、まだ充分な対策が講じられていない食肉に関わる諸問題について衛生管理の面から研究を遂行する。本分担課題では、SQF2000などの衛生管理に関する認可を受けていない大規模食鳥処理施設の実態調査および処理工程における食中毒原因細菌を中心とした汚染調査を行い、危害分析を行った。その結果、恒常的にカンピロバクター、サルモネラの汚染が検出され、特に糞便中での汚染が高いことが判明した。また、食鳥処理後の枝肉からも糞便ほど高頻度ではないが同様の菌種が検出された。

A. 研究目的

食品安全委員会により食品健康影響評価のためのリスクプロファイルが公開され、鶏肉のカンピロバクターとサルモネラによる健康被害が問題であると報告され、これを受け2009年にカンピロバクターの微生物学的リスク評価書が示された。この中で、生食割合の低減、食鳥処理段階の対策、農場の汚染率低減がヒトの健康被害の軽減に有効であり、農場から食卓まで一貫した対策が必要であると提言された。生食は消費者への啓蒙が必要で、農場は立入りが極めて困難な現状を考えると、食鳥処理施設の

リスク管理対策が最も現実的に対応可能と考えられる。そこで、本課題では、SQF認可及び非認可大規模食鳥処理施設において、導入されている衛生管理システムの検証と改善を行い、我が国の食鳥処理のリスク管理に資するモデルプランを構築し、衛生行政に貢献することを目的とする。また、結着肉や内臓肉などによる食中毒の発生が起こっている事実を踏まえ、当該食肉についても現実的な衛生管理の提案が必要となっている。そこで、本課題では、食鳥処理工程に関わる衛生管理について、カンピロバクター汚染を中心に実地調査を行い、その

結果に基づいて食鳥処理のリスク管理に資するモデルプランを構築し、これを衛生行政に貢献することを目的とした。

B. 研究方法

1. 調査期間および調査施設

本調査は平成 22 年 7 月から平成 22 年 10 月にかけて 4 回実施した。調査場所は北海道十勝管内にある食鳥処理施設とした。

2. 調査試料

(1) ブロイラーの腸管内容物

腸管内の内容物を無菌的に採取し試料とした。1 回の検査につき 5 検体を試料とした。

(2) ブロイラーの食肉 (もも肉)

食鳥処理工程後、最終的に製品となる食肉 (もも肉) を試料とした。1 回の検査につき 5 検体を試料とした。

3. 検査方法

腸管内容物および食肉 (もも肉) について、ハサミを用いて細かく切断し、続いてマッシャーで粉砕した後、これを試料とした。腸管内容物については、サルモネラ、リステリア、カンピロバクター、腸管出血性 O157 について、また食肉 (もも肉) については、*E.coli*、サルモネラ、リステリア、カンピロバクター、腸管出血性大腸菌 O157 について公定法に従い、実施した。検査方法の詳細は図 1、図 2 として示した。

(1) *E.coli*

EC 培地発酵管各 3 本に試料の 100 倍乳剤を 1ml ずつ加え 44.5°C、24±2 時間培養した。ガス発生試験管の培養液をクロモアガー *E.coli* 寒天培地に塗抹し、44.5°C にて 4±2 時間培養した。青色の定型的集落が出た場合、確認試験を行った。

(2) サルモネラ属菌

食肉 (もも肉) 試料 25 g に緩衝ペプトン水 225 ml を加え 35°C±1.0°C、18±2 時間培養した。腸管内容物については、試料の 10 倍乳剤 10 ml に緩衝ペプトン水 90 ml を加え、同条件で培養した。次に培養液 0.1 ml を RV 培地

10ml に接種し 42.0°C±1.0°C、18 時間培養した。これを DHL 寒天培地に塗抹し、35.0°C±1.0°C、24±2 時間培養した。疑わしい集落が出た場合、確認試験を行い、サルモネラと同定された株について血清型別テストを行った。

(3) リステリア

食肉 (もも肉) 試料 25 g にハーフプレーザー一培地 225 ml を加え 30°C、24 時間培養した。腸管内容物については、試料の 10 倍乳剤 10 ml にハーフプレーザー培地 90 ml を加え、同条件で培養した。次に培養液 0.1 ml をプレーザー培地 10 ml に接種し 35°C 18 時間培養した。これをクロモアガーリステリア寒天培地に塗抹し、37°C、24~48 時間培養した。疑わしい集落が出た場合、イムノクロマト法にて確認試験を行った。

(4) カンピロバクター

食肉 (もも肉) 試料 25 g に Preston 培地 100 ml を加え 42°C、24 時間微好気培養した。腸管内容物については、試料の 10 倍乳剤 10 ml に Preston 培地 90 ml を加え、同条件で培養した。これを mCCDA 寒天培地に塗抹し、42°C 48 時間微好気培養した。疑わしい集落が出た場合、イムノクロマト法にて確認試験を行った。

(5) 腸管出血性大腸菌 O157

食肉 (もも肉) 試料 25 g にノボビオシン加 mEC 培地 225 ml を加え 42°C、18 時間培養した。腸管内容物については、試料の 10 倍乳剤 10 ml にノボビオシン加 mEC 培地 90 ml を加え、同条件で培養した。次に培養液について、PCR によるベロ毒素遺伝子検出の検査を行い、陰性となったものはそこで検査を終了した。陽性となったものについては、免疫磁気ビーズ (O157) を用いて濃縮を行い、分離培養を行った。疑わしい集落が出た場合、確認試験を行った。

(倫理面への配慮)

特に配慮はしていないが、処理場の名前は匿名とした。

C. 研究結果

1. 食鳥処理施設視察

処理施設の概要と視察の様子に関して別紙に詳細を示した。

2. 汚染調査結果

表1～4に検査結果を示した。平成22年7月22日実施の検査(表1)でそれぞれの陽性率は、食肉(もも肉)について5検体中、*E.coli*が2検体、サルモネラが5検体、リステリアが0検体、カンピロバクターが0検体であった。腸管内容物について5検体中、サルモネラが5検体、リステリアが0検体、カンピロバクターが5検体であった。同様に、平成22年8月24日実施の検査でその陽性率は、食肉(もも肉)について、*E.coli*が5検体、サルモネラが5検体、リステリアが0検体、カンピロバクターが2検体、腸管内容物について、サルモネラが5検体、リステリアが0検体、カンピロバクターが5検体であった。平成22年9月21日実施の検査では、食肉(もも肉)について、*E.coli*が5検体、サルモネラが5検体、リステリアが0検体、カンピロバクターが4検体、腸管内容物について、サルモネラが5検体、リステリアが0検体、カンピロバクターが3検体であった。平成22年10月19日実施の検査では、食肉(もも肉)について *E.coli* が5検体、サルモネラが5検体、リステリアが0検体、カンピロバクターが0検体、腸管内容物について、サルモネラが4検体、リステリアが0検体、カンピロバクターが1検体であった。また、サルモネラについては、ヒトへの病原性の影響を見るため、O血清による凝集反応も行った。分離されたサルモネラ陽性165株のうち、59株でO多価血清による凝集が確認された。O1多価による凝集はいずれも確認されなかった。1) O157およびリステリアに関しては、肉検体および糞便検体それぞれ20検体、すべて陰性であった。

カンピロバクター検査結果のうち、糞便検査では陰性であるにも関わらず、最終製品では陽性となった例が検出され、その割合は33%であった。

D. 考察

1. 食鳥処理施設視察：20年ほど前に施設がたてられ、その後、衛生管理を徹底するた

めに手洗い、消毒装置など整備され、衛生管理には相当気を使い、従業員教育や衛生管理の重要性を施設庁などは十分理解していた。

2. 処理場内の危害分析：今年度は、現在、食鳥処理施設で課題となっているカンピロバクターをはじめとする幾つかの食中毒菌について、汚染実態を調査することを目的とした。糞便におけるカンピロバクターやサルモネラ汚染の高い汚染率が確認され、農場における汚染がそのまま処理場へと移行していると考えられた。カンピロバクター検査結果のうち、糞便検査では陰性であるにも関わらず、最終製品では陽性となった例が検出され、その割合は33%であったことから、処理過程における交差汚染が生じていることが明らかとなった。内臓摘出から枝肉処理工程において更なる衛生管理の徹底が必要であることが強く示唆された。詳細な汚染調査をもとに、個々の工程を変えていく必要があると思われる。

特にカンピロバクターは全国の食中毒統計でも明らかのように、近年著しく増加傾向にあることから、早急な対策が必要と思われる。本菌は流通過程では増殖しないと考えられており、農場および食鳥処理場での汚染を如何に防ぐかということが鍵となる。まず農場における汚染率を低減できれば最善だが、現時点では有効な制御法がなく、感染源の清浄化には時間がかかると思われる。こうした施策を国全体で模索していく一方で、まず、各食鳥処理場の衛生管理の向上によって、処理場以降の汚染を防御する手段を同時に行っていくかなければならないと考える。そのためには、本年度行った実態調査結果をもとに、各処理場のHACCP型管理の導入(洗浄・殺菌の強化、重要管理点の特定とモニタリング、他)を進める必要がある。

E. 結論

1. 衛生管理の認定を受けていない大規模食鳥処理施設を視察したが、衛生管理に対する対応は十分なされている施設であった。

2. しかし、カンピロバクターとサルモネラの汚染率は高く、今後詳細な危害分析と個々の工程の見直しなどは必須であると考えられた。

F. 健康危険情報

(総括報告書にまとめて記載)

特になし

G. 研究発表

1. 論文発表 (発表誌名巻号・頁・発行年等も記入)

1) Asakura H, Kawamoto K, Makino S. Response of foodborne microorganisms to osmotic stress. In a book of "Stress response of foodborne microorganisms". Wong HC ed. Nova Science Publishers. 印刷中.

2) Maklon K, Minami A, Akiko Kusumotoa, Takeshi K, Thuy NTB, Makino S and Kawamoto K. Isolation and characterization of *Listeria monocytogenes* from commercial asazuke (Japanese light pickles). Int J Food Microbiol. 139(3):134-9, 2010.

3) 門田修子、楠本晃子、牧野壮一、川本恵子
食品における赤痢菌検出法の感度の向上、日本
獣医公衆衛生学雑誌日獣会誌 63, 297-300, 2010

2. 学会発表

1) 楠本晃子、原田俊彦、牧野壮一、川本恵子、
ストレス応答関連シグマ因子RpoSはサルモネ
ラのVBNC状態への移行を遅らせる、第150回日

本獣医学会学術集会・2010年 (帯広)

2) Chaisowwong Warangkhanana、Maklon Khuanwalai、南敦嘉、楠本晃子、原田俊彦、牧野壮一、川本恵子、Viable but Nonculturable State of *Campylobacter jejuni* under the Low Temperature Environment、第150回日本獣医学会学術集会・2010年 (帯広)

3) Khuanwalai Maklon1, Akiko Kusumoto, Atsuka Minami, Nguyen Thi Bich Thuy, Warangkhanana Chaisowwong, Koichi Takeshi, Sou-ichi Makino, Keiko Kawamoto, Isolation and characterization of *Listeria monocytogenes* from Japanese light pickle and its factory in Obihiro and rapid identification and typing of the isolates by MALDI-TOF MS.ISOPOL XVII 2010年 (Porto, Portugal)

H. 知的財産権の出願・登録状況

(予定を含む。)

1. 特許取得

特になし

2. 実用新案登録

特になし

3. その他

特になし

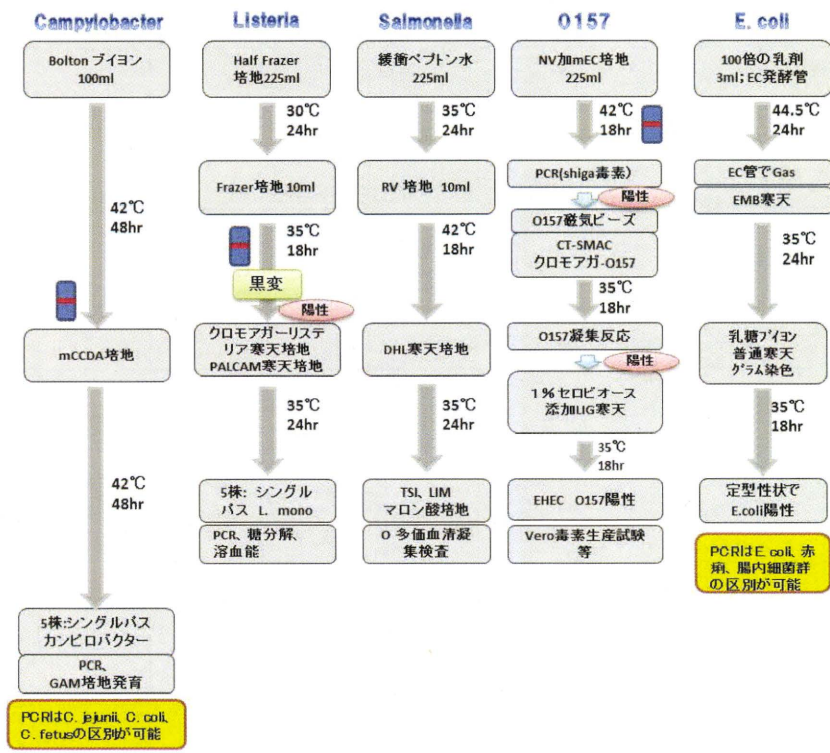


図 1. 食材の検査法

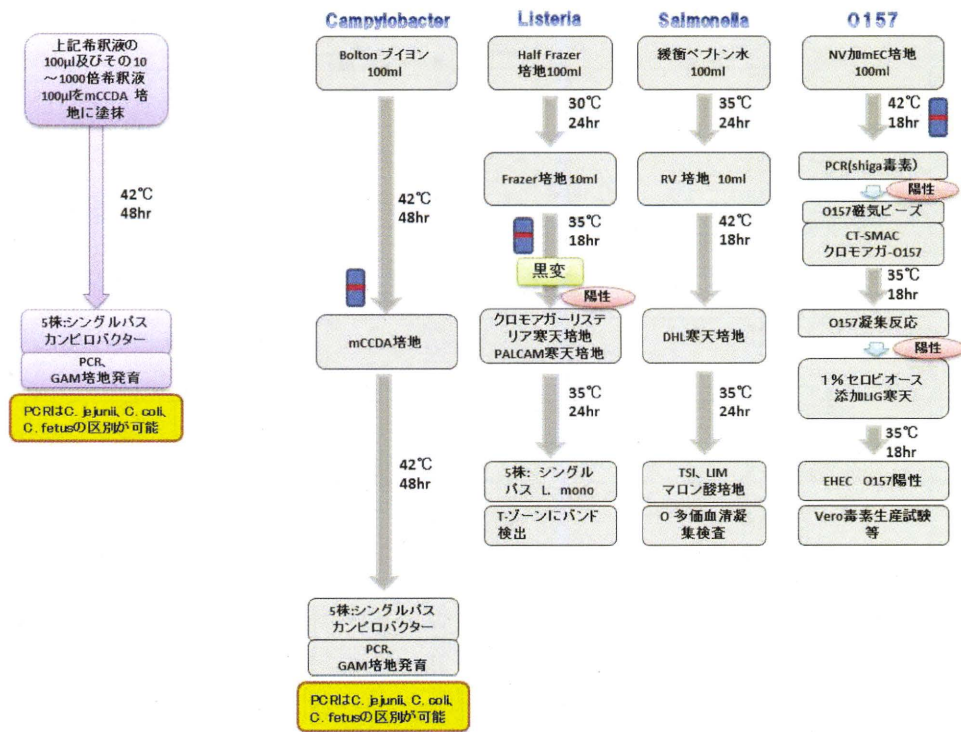


図 2. 腸内容物の検査法

表1 食鳥検査結果(H22.7.27実施分)

検体/項目	E.coli	E.coli					Salmonella	Salmonella		Listeria	NH4M / LIS	Campylo	NH4M / Camp	シングルハスキャンロ	
		確認供試株	異常所見	LBガス発生	LB酸産生	グラム染色		確認供試株	O多価					O1多価	確認供試株
食肉 No. 1	(-)						(+) / (-)	No.1-1	+	-	(-)	(-)	(-)	(-)	
						No.1-2		+	-						
						No.1-3		+	-						
						No.1-4		+	-						
						No.1-5		+	-						
食肉 No. 2	(-)	No.2-1	全菌光沢	-	+	(+) / (-)	No.2-1	+	-	(-)	(-)	(-)	(-)		
		No.2-2	全菌光沢	-	+		No.2-2	±	-						
		No.2-3	全菌光沢	-	+		No.2-3	±	-						
		No.2-4	全菌光沢	-	+		No.2-4	-	-						
		No.2-5	全菌光沢	-	+		No.2-5	-	-						
食肉 No. 3	(+) / (-)	No.3-1	全菌光沢	+	+	(+) / (-)	No.3-1	+	-	(-)	(-)	(-)	(-)		
		No.3-2	全菌光沢	+	+		No.3-2	+	-						
		No.3-3	全菌光沢	+	+		No.3-3	±	-						
		No.3-4	全菌光沢	+	+		No.3-4	-	-						
		No.3-5	全菌光沢	+	+		No.3-5	+	-						
食肉 No. 4	(+) / (-)	No.4-1	全菌光沢	+	+	(+) / (-)	No.4-1	+	-	(-)	(-)	(-)	(-)		
		No.4-2	全菌光沢	+	+		No.4-2	+	-						
		No.4-3	全菌光沢	+	+		No.4-3	-	-						
		No.4-4	全菌光沢	+	+		No.4-4	++	-						
		No.4-5	全菌光沢	+	+		No.4-5	+	-						
食肉 No. 5	(-)					(+) / (-)	No.5-1	-	-	(-)	(-)	(-)	(-)		
							No.5-2	-	-						
							No.5-3	+	-						
							No.5-4	-	-						
							No.5-5	+	-						
腸内容物 #6					(+) / (-)	#6-1	-	-	(-)	(-)	(+) / (+)	(+) / (+)	#6-1	+	
				#6-2	++	-	#6-2	+							
				#6-3	+	-	#6-3	+							
				#6-4	++	-	#6-4	+							
				#6-5	-	-	#6-5	+							
腸内容物 #7					(+) / (-)	#7-1	++	-	(-)	(-)	(+) / (+)	(+) / (+)	#7-1	-	
				#7-2	+	-	#7-2	+							
				#7-3	-	-	#7-3	+							
				#7-4	-	-	#7-4	+							
				#7-5	++	-	#7-5	+							
腸内容物 #8					(+) / (-)	#8-1	+	-	(-)	(-)	(+) / (+)	(+) / (+)	#8-1	+	
				#8-2	-	-	#8-2	+							
				#8-3	+	-	#8-3	+							
				#8-4	++	-	#8-4	+							
				#8-5	++	-	#8-5	+							
腸内容物 #9					(+) / (-)	#9-1	-	-	(-)	(-)	(+) / (+)	(+) / (+)	#9-1	+	
				#9-2	-	-	#9-2	+							
				#9-3	-	-	#9-3	+							
				#9-4	-	-	#9-4	+							
				#9-5	-	-	#9-5	+							
腸内容物 #10					(+) / (-)	#10-1	++	-	(-)	(-)	(+) / (+)	(+) / (+)	#10-1	+	
				#10-2	-	-	#10-2	-							
				#10-3	+	-	#10-3	+							
				#10-4	-	-	#10-4	+							
				#10-5	++	-	#10-5	+							

表2 食鳥検査結果(H22.8.24実施分)

検体/項目	E.coli	E.coli					Salmonella	Salmonella		Listeria	NH4M / LIS	Campylo	NH4M / Camp	シングルハスキャンロ		
		確認供試株	異常所見	LBガス発生	LB酸産生	グラム染色		確認供試株	O多価					O1多価	確認供試株	スキャンロ
食肉 No. 1	(+) / (-)	No.1-1	暗紫赤色	+	+	(-) / (-)	(+) / (-)	No.1-1	++	-	(-)	(-)	(+) / (-)	(-)	No.1-1	-
		No.1-2	全菌光沢	+	+			No.1-2	+	-					No.1-2	+
		No.1-3	全菌光沢	+	+			No.1-3	++	-					No.1-3	-
		No.1-4	全菌光沢	+	+			No.1-4	±	-					No.1-4	-
		No.1-5	暗紫赤色	+	+			No.1-5	-	-					No.1-5	-
食肉 No. 2	(+) / (-)	No.2-1	暗紫赤色	+	+	(-) / (-)	(+) / (-)	No.2-1	-	-	(-)	(-)	(-)	(-)	No.2-1	-
		No.2-2	暗紫赤色	+	+			No.2-2	-	-					No.2-2	-
		No.2-3	全菌光沢	+	+			No.2-3	-	-					No.2-3	-
		No.2-4	全菌光沢	+	+			No.2-4	-	-					No.2-4	-
		No.2-5	全菌光沢	+	+			No.2-5	-	-					No.2-5	-
食肉 No. 3	(+) / (-)	No.3-1	暗紫赤色	+	+	(-) / (-)	(+) / (-)	No.3-1	+	-	(-)	(-)	(-)	(-)		
		No.3-2	暗紫赤色	+	+			No.3-2	±	-						
		No.3-3	全菌光沢	+	+			No.3-3	-	-						
		No.3-4	全菌光沢	+	+			No.3-4	++	-						
		No.3-5	全菌光沢	+	+			No.3-5	++	-						
食肉 No. 4	(+) / (-)	No.4-1	暗紫赤色	+	+	(-) / (-)	(+) / (-)	No.4-1	-	-	(-)	(-)	(+) / (-)	(-)	No.4-1	-
		No.4-2	暗紫赤色	+	+			No.4-2	-	-					No.4-2	+
		No.4-3	暗紫赤色	+	+			No.4-3	+	-					No.4-3	+
		No.4-4	全菌光沢	+	+			No.4-4	-	-					No.4-4	±
		No.4-5	暗紫赤色	+	+			No.4-5	-	-					No.4-5	±
食肉 No. 5	(+) / (-)	No.5-1	全菌光沢	+	+	(-) / (-)	(+) / (-)	No.5-1	-	-	(-)	(-)	(-)	(-)		
		No.5-2	暗紫赤色	+	+			No.5-2	-	-						
		No.5-3	暗紫赤色	+	+			No.5-3	+	-						
		No.5-4	全菌光沢	+	+			No.5-4	-	-						
		No.5-5	暗紫赤色	+	+			No.5-5	-	-						
腸内容物 #6					(+) / (-)	#6-1	-	-	(-)	(-)	(+) / (+)	(+) / (+)	#6-1	+		
				#6-2	-	-	#6-2	+								
				#6-3	-	-	#6-3	+								
				#6-4	-	-	#6-4	+								
				#6-5	-	-	#6-5	+								
腸内容物 #7					(+) / (-)	#7-1	-	-	(-)	(-)	(+) / (+)	(+) / (+)	#7-1	+		
				#7-2	-	-	#7-2	+								
				#7-3	-	-	#7-3	+								
				#7-4	++	-	#7-4	+								
				#7-5	±	-	#7-5	+								
腸内容物 #8					(+) / (-)	#8-1	+	-	(-)	(-)	(+) / (+)	(+) / (+)	#8-1	+		
				#8-2	-	-	#8-2	+								
				#8-3	-	-	#8-3	+								
				#8-4	++	-	#8-4	+								
				#8-5	+	-	#8-5	+								
腸内容物 #9					(+) / (-)	#9-1	-	-	(-)	(-)	(+) / (+)	(+) / (+)	#9-1	+		
				#9-2	++	-	#9-2	+								
				#9-3	+	-	#9-3	+								
				#9-4	-	-	#9-4	+								
				#9-5	-	-	#9-5	+								
腸内容物 #10					(+) / (-)	#10-1	-	-	(-)	(-)	(+) / (+)	(+) / (+)	#10-1	+		
				#10-2	-	-	#10-2	-								
				#10-3	-	-	#10-3	+								
				#10-4	++	-	#10-4	+								
				#10-5	+	-	#10-5	+								

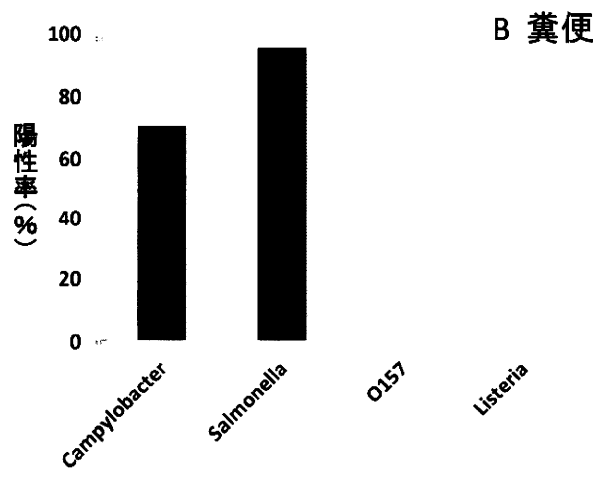
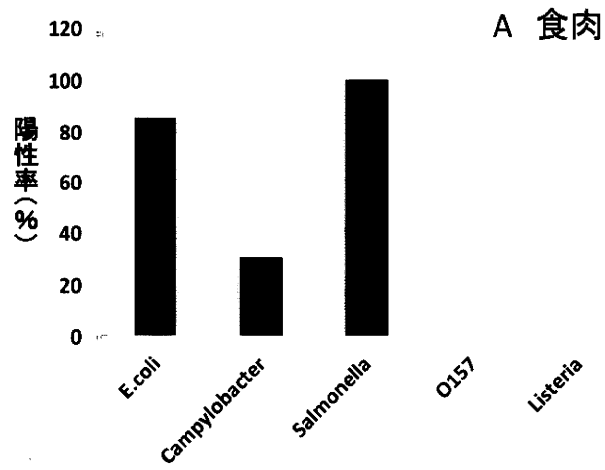


図 3. 汚染実態調査結果のまとめ