

11-2-4：フラン生成の可能性の確認

今回採用した分析条件において、繰り返し測定標準偏差に基づいて求めた、フランの定量下限値 (LOQ) および検出限界値 (LOD) はそれぞれ 2 ng/g FW および 0.5ng/g であった。牛肝臓を分析した結果、照射(6 kGy 0°C、10 kGy -80°C) および未照射試料のいずれにおいても、定量下限を超える濃度のフランは検出されなかった。

11-3：ガンマ線照射による臭気成分

牛肝臓試料から減圧蒸留により抽出した臭気成分をにおい嗅ぎ GC (GC-O) で分析した結果と GC-MS による分析の結果を統合し、照射試料(含気包装 0°C 3 kGy、および-80°C 6 kGy) において、照射により増加する臭気成分としてベンジルメルカプタンが示唆された。なお、GC-MS 分析において、これらの化合物の該当ピークは非照射のコントロール試料においても検出された。(H25 分担研究報告書 図 3、4)

(1 2) 高圧処理による牛肝臓及び鶏ササミ中の食中毒菌の不活化に関する検討及び高圧処理による肉質の変化に関する研究

平成 25 年度の検討では、リン酸緩衝液に懸濁した *E. coli* の高圧処理前の未処理での菌数は対数値で 9 log CFU/ml であり、200MPa、10 分処理では未処理とほぼ同様の菌数となり、高圧処理による菌数の減少は認められなかった。処理時間を延長した 20 分処理で菌数が減少し始め、30 分処理で 1 log の減少が認められた。

300MPa では、200MPa に比べて急激な菌数の減少が観察され、10 分処理で 4.4 log CFU/ml、20 分処理で 3.3 log CFU/ml、30 分処理で 2.9 log CFU/ml に減少した。400MPa では 10 分処理で 3.0 log CFU/ml、20 分処理で 2.6 log CFU/ml、30 分処理で 2.9 log CFU/ml に減少した。最も圧力の高い 500MPa では、10 分処理で 1.9 log CFU/ml、20 分処理と 30 分処理では検出限界以下であった。

以上の結果、高圧処理により 5 log CFU/ml の有効な殺菌効果が認められた圧力は 400MPa と 500MPa であった。さらに高圧処理時間を延長するにつれて、緩やかではあるものの殺菌効果が高まる傾向が認められた。

高圧処理による肝臓中の *E. coli* の不活化効果とその外観に及ぼす影響の検討では、牛肝臓に接種した *E. coli* の高圧処理による不活化効果を非選択培地の PCA 培地を用いて生残菌数を測定した。予備実験により高圧処理が *E. coli* に対して有効な死滅効果が認められたことから、牛の肝臓に *E. coli* を接種して高圧処理条件を 200MPa、300MPa、400MPa、500MPa そして処理時間 10 分で行った。その結果、肝臓中の未処理菌数は 7.1 log CFU/g を示した。200MPa 処理ではほとんど菌数の減少が観察されなかった。300MPa から菌数の減少が観察され 1.5 log CFU/g の減少が認められた。さらに 400MPa では 3.0 log CFU/g の減少、最も高い圧力の 500MPa では 5 log CFU/g の菌数減少が認められた。実際に有効な 5D 程度の殺菌効果が認められた圧力は 500MPa のみであった。

次に、同様に処理した試料を大腸菌の選択培地である XMG 培地を用いて検出測定した結果、検出培地である非選択培地の PCA 培地を用いた場合と顕著な差は観察されなかった。

高圧処理による肝臓色の変化を測定した。肝臓の外観は圧力が高まるにつれて肝臓の色彩は、赤みが減少し肌色に変化する傾向が認められた。色彩色差計では、未処理の肝臓数値は L 値が 36.7 ± 1.3 、a 値が 6.5 ± 0.6 、b 値が 2.2 ± 0.3 を示した。圧力が高くなるにつれて、L 値は 200MPa より数値が増加し、300MPa で 44.3 ± 1.1 、500MPa で 50.4 ± 0.4 に増加した。a 値では 300MPa に 10.1 ± 1.0 に数値の増加が認められたものの 400MPa と 500MPa では顕著な変化は認められなかった。さらに b 値では 300MPa まで大きな数値の変動は見られなかったものの、500MPa では 8.0 ± 0.6 にまで増加した。高圧処理における肝臓の色と硬さの変化を観察したところ、肉色は処理前では鮮明な赤褐色を示したものの、200MPa では赤みが少なくなるものの肝臓色を維持していたが、300MPa 以降、400MPa と 500MPa と圧力が高くなるにつれて、赤みが退色し、白っぽくなり加熱したような色合いとなった。

硬さについては、300MPa 以上で、当初の肝臓の柔らかさではなく、明らかに硬さが認められ、400MPa と 500MPa では弾力も感じられるようになった。特に未処理の肝臓とは肉質がかなり異なっていた。

以上の結果から、*E.coli* に対する効果は 500MPa・10min 処理で、5D の殺菌効

果が得られ、有効な不活化効果が認められた。しかし、肝臓の状態は生の状態の色彩とテクスチャーは失われ、別物の感触となった。

高圧処理による牛肝臓の形態学的変化を検討したところ、牛肝臓検体の体積は外見的にはほとんど変化がなかった。肝臓の色は高い圧で処理した検体ほど、暗赤褐色から淡褐色へと退色が顕著であった。牛肝臓の断面を作る際にナイフで切った際の感触では、より高圧で処理した検体ほど弾力が強く、硬くなっている傾向が認められた。また、0MPa では暗赤褐色で一様な断面を示しているが、200MPa ではやや色合いが薄くなり、300、400、500MPa では断面が淡赤褐色～淡褐色の斑状を呈していた。

光学顕微鏡による観察では、形態学的には高圧処理をした肝臓においても、肝細胞の索状配列や小葉構造などに形態的な変化はほとんど認められなかった。しかし、強拡大像では、肝細胞の細胞質内に好酸性の小顆粒が認められるようになる一方、肝細胞細胞質の染色性は全体的に低下しており、また、血管内に好酸性の顆粒状構造物が認められるなどの変化が観察された。

また、電子顕微鏡を用いた微細形態の観察を行ったところ、細胞質のミトコンドリア内部に球状の無構造な凝集物が蓄積しており、その大きさは圧力の増加に伴い、増大していく様子が見られた。また、核の周囲に存在する粗面小胞体については、処理圧が高くなるほど不明瞭となっていた。高圧処理後の牛肝臓の電子顕微鏡観察において認められたミトコン

ドリア内部の凝集物はミトコンドリア基質タンパクの変性によるものと考えられた。また、このようなミトコンドリアの変化は、光学顕微鏡観察において認められた細胞質内の好酸性小顆粒に対応しているものと考えられた。

平成 26 年度の検討では、高圧処理前の *E.coli* 菌数は 9 log CFU/mL であった。これらの菌液を 150MPa の高圧処理を行ったところ、60 分、120 分、180 分と処理時間が長くなるにつれて菌数が減少する傾向が見られるものの、有効な死滅効果は認められなかった。200MPa では 60 分処理で 7 log CFU/mL、120 分処理で 6 log CFU/mL、180 分処理で 5 log CFU/mL と直線的に菌数が減少する傾向が認められた。250MPa では 60 分処理では、9 log CFU/mL から 6 log CFU/mL と約 3 D の死滅効果が得られ、120 分処理では 5 log CFU/mL、180 分処理では 3 log CFU/mL となり、約 5 D の有効な殺菌効果が認められた。*S. Typhimurium* では、未処理の菌数が 9 log CFU/mL のものが、150MPa では 180 分処理で 7 log CFU/mL に減少した。200MPa では 60 分処理で 8 log CFU/mL に、180 分処理では 6 log CFU/mL に減少し、3 D の死滅が認められた。250MPa では 150 や 200MPa に比べて菌数の減少効果は高く、60 分処理では 6 log CFU/mL に、120 分処理では 4 log CFU/mL、180 分処理では 3 log CFU/mL にまで減少した。*E. coli* と *S. Typhimurium* はいずれも約 5 D の有効な殺菌効果が認められ、低圧の 250MPa でも高圧処理の時間を数十分の単位から時間の単位に延長することによ

り、高圧の 400MPa と同等の殺菌効果が得られることが確認された。さらに、処理時間の延長は緩やかな殺菌効果であるものの、有効な殺菌効果を得ることが可能であると推察された。

食品媒介病原細菌の死滅効果の検討では、未処理での菌数は約 8~9 log CFU/mL であった。250MPa で 180 分処理を行った結果、生残菌数は *S. Typhimurium*、*P. aeruginosa* と *E.coli* では 3 log CFU/mL となり、5 D の殺菌効果が認められた。さらに *C. sakazakii* では 2 log CFU/mL、*Y. enterocolitica*、*P. alcalifaciens*、*S. Enteritidis* の 3 菌種では 2 log CFU/mL 以下の数値で検出され、高圧に対する感受性が高い結果であった。

以上の結果、食品媒介病原細菌 6 菌種について 250MPa で 60 分処理を検討したところ、5 D の有効な殺菌効果が認められ、*E.coli* のみではなく他のグラム陰性の病原菌にも有効であることが明らかとなった。

牛肝臓に接種した *E.coli* の高圧による死滅効果の検討では、高圧未処理の肝臓からは生菌数及び *E. coli* 数は 7 log CFU/g を示した。これらを 250MPa で 60 分、120 分、180 分の処理を行ったところ、60 分処理では生菌数及び *E. coli* 数は 1D の減少、さらに 120 分処理では 2 D の減少が認められた。さらに 180 分では生菌数で 3 D、*E. coli* で 2 D の死滅が認められた。

肝臓の色調と硬さに及ぼす高圧処理と処理時間の影響では、未処理の肝臓の肉色は L 値が 34.14 ± 0.93 、a 値が 9.50 ± 0.23 、b 値が 4.43 ± 0.50 であった。250MPa の

圧力処理を行うと 60 分処理で L 値が 41.74 ± 0.48 、a 値が 16.17 ± 0.51 、b 値が 7.04 ± 0.79 となり、高圧処理では L 値である明度が明るくなる傾向が認められ、さらに a 値の赤みはより赤くなる傾向が観察された。120 分処理では L 値が 43.33 ± 1.17 、a 値が 15.71 ± 0.93 、b 値が 7.18 ± 1.26 となった。さらに 180 分処理では L 値が 45.68 ± 0.95 、a 値が 14.29 ± 0.38 、b 値が 7.21 ± 0.62 となり、圧力処理時間の延長とともに肝臓の色彩は、明るい色を示し、高圧処理を行うと赤みが増加するが、処理時間が長くなるにつれて僅かであるが減少する傾向が認められた。高圧処理における肝臓の硬さの変化は、レオメーターを用いて検討を行った。肝臓の硬さは、硬度の数値で示した。未処理の状態では $0.0152 \pm 0.0068 \text{ kgf/mm}^2$ を示し、250MPa では 60 分処理を行うと $0.0246 \pm 0.0046 \text{ kgf/mm}^2$ 、120 分処理では $0.0249 \pm 0.0048 \text{ kgf/mm}^2$ 、180 分処理では $0.0343 \pm 0.0088 \text{ kgf/mm}^2$ の数値が得られた。肉の硬度は 250MPa の圧力では時間の経過とともに数値は高区なる傾向を示した。しかし、触感では明らかに硬いと思われる感触ではなかった。高圧処理による肝臓の目視及び触感では、未処理と高圧処理との間には明らかな相違が観察されたものの、高圧後は肝臓の肉色は未処理のものより赤みがかかった色彩を示した。しかし、処理時間に関しては感覚的に色合いや硬さについては処理を行うことによって顕著な差は感じられなかった。

平成 27 年の検討では、鶏ササミ中に接種したサルモネラとカンピロバクターへ

の菌数低減効果について、300MPa、5 分 6 回反復の高圧処理を 3 回実施し、処理前後の鶏ササミ中の菌数の平均及び標準偏差を求めた。

高圧処理前の鶏ササミにおけるサルモネラ及びカンピロバクターの菌数は、約 $1.04 \times 10^8 \text{ CFU/g}$ 及び約 $7.2 \times 10^7 \text{ CFU/g}$ であった。高圧処理後のサルモネラ菌数は、非選択培地である BHI 培地上に形成された集落数で、1 回目が $8.5 \times 10^2 \text{ CFU/g}$ 、2 回目が $1.05 \times 10^6 \text{ CFU/g}$ 、3 回目が $9 \times 10^2 \text{ CFU/g}$ であった。3 回の試験のいずれにおいても、BHI 培地上の集落数は、選択分離培地である CHROMagarSalmonella 上よりも多く、高圧処理により損傷菌が発生している事が示された。高圧処理後のカンピロバクター菌数は 3 回とも菌が検出されず、検出限界以下となった。但し、いずれにおいても増菌培地を用いた定性試験においては、高圧処理後の検体からカンピロバクターが検出された。

300MPa、5 分の高圧処理による鶏ササミの肉色及び硬さの変化を測定した。鶏ササミの肉色は、明るさを示す L 値が 300MPa の高圧処理の反復を行うことで大きくなり、色調の明るさが増す結果となった。一方 a 値は高圧処理により、未処理のものよりも小さい値となり、高圧処理により赤みが失われることが示された。b 値は高圧処理により数値が上昇していた。いずれの値も、処理回数に比例しての増加ではないものの、1 回の処理で色調の変化を起こすことが示され、肉眼的な観察と相関する数値となった。硬さについては、最大破断点の加重により評価

したところ、高圧処理の反復により加重値が上昇し、硬さが増すことが示された。

今回、過去の論文において有効とされた5分間の高圧処理を6回反復させる条件での検討を実施し、カンピロバクターに対しては7 log 削減という高い菌数低減効果が可能となった。また、試験間の結果のばらつきも見られず、安定した効果が得られた。増菌培養により菌が検出されたため、完全な菌の除去には至らなかったものの、今回の条件が鶏肉中のカンピロバクター低減に効果的であることが示された。一方、サルモネラに対しては、平均して3 log の削減にとどまり、試験間のばらつきも大きかった。また、サルモネラについては損傷菌の発生が見られたことから、処理後の保存条件によっては生残菌数が増加する可能性があると思われた。これらの結果から、サルモネラがカンピロバクターよりも高圧処理に対する抵抗性が高いこと、今回の高圧条件はサルモネラに対しては効果が限定的であることが明らかとなった。一方、肉質の変化については、高圧処理により肉色に変化しており、硬さも増加して、6回の処理を行ったものについては、加熱処理したものと類似した肉質となっていた。以上の結果から、鶏ササミにおいて十分な殺菌効果を確保しつつ肉質変化を最低限に抑えた実用的な高圧処理条件を見いだすには、圧力条件と処理回数との組み合わせを変えた検討、高圧処理後の保管温度による生残性等の検討を追加する必要があり、生食用としての提供には、更なる検討が必要であるが、最終的な包装形態で殺菌処理を行うため、処理以後

の工程で微生物汚染を受けることなく流通が可能な高圧殺菌は、畜産食品における衛生保持や品質保持期限の延長に有用であると思われる。

D. 考察

諸外国における畜産食品の生食実態と、衛生管理手法：平成25年度の調査により、海外において牛肉を中心として生食料理が存在することが示されたが、その大半はレストラン又は家庭において調理、喫食されるものであった。容器包装され、一般に流通される形で販売される生食製品としては、ドイツのメットのみが挙げられた。また、その品質保持期限は2週間以上と長いものであった。また、近年においてもフランスで生牛挽肉及び生の馬肉等、ドイツで生豚挽き肉及び生ソーセージの喫食によるサルモネラ症及び旋毛虫症等の発生が見られていることから、それらの国で現在行われている衛生管理手法の元であっても、健康被害発生を完全に防ぐのは困難であると考えられた。平成26年度には、日本国内での畜産食品の衛生管理等に参考とする目的で、メットの衛生管理及び規格基準についての情報を収集した。ドイツにおいてメット独自の公的な微生物成分規格はなく、ひき肉製品の製造加工要件が定められており、その遵守については連邦ではなく州レベルでの監視・モニタリングが行われていることが明らかとなった。また、製造販売業者は衛生管理に関して外部認証を取得しており、出荷前の自主検査と共に外部監査機関での検査も実施していることが明らかとなった。一方で、近年におい

でもドイツでメットの喫食によるサルモネラ症及び旋毛虫症等の発生が見られていることから、現在行われている衛生管理手法の元であっても、健康被害発生を完全に防ぐのは困難であると考えられた。

畜産食品における寄生虫：畜産食品の寄生虫に関連する危害性の分析を行った。

食中毒統計が改正される平成23年までは、寄生虫性食中毒は「その他」に分類されていた。個票を検索してその他を分析したところ、97%が寄生虫を原因としていて、そのほとんどがアニサキスだった。統計の項目の改正後は、アニサキスが原因の食中毒が増加していたとともに、クドアが原因である事例も多く発生していた。アニサキス食中毒は、単に発生が増加しているとは考えにくい。寄生虫性食中毒に関心が集まり、医師、保健所および衛生検査所の担当員による、検査体制の整備と精度が向上し、アニサキス食中毒事件数の実態が把握できている可能性がある。事件数においては、寄生虫性食中毒は、ウイルス性、細菌性に次いで多く発生している食中毒となっている。

現行の住肉胞子虫遺伝子検査法に基づき0.3gの馬肉を採取し、DNAを抽出、定量PCRに用いる場合、遺伝子コピー数のばらつきは非常に大きいことがわかった。馬肉10gを均質化後、DNAを抽出し、定量PCRに用いる方法で、よりばらつきの少ない結果が得られた。

コンピュータソフト上で、20、30、あるいは40gと、検体の重量を増やし、同様な解析を行ったところ、ばらつきは減少した。検体量の増加は、可食部を少な

くすることに直結し、また、作業上の困難さを増やすので、適正な判断が要求される。

北海道に生息するエゾシカについて、住肉胞子虫の汚染状況を調査した。その結果、96%のエゾシカ肉中から住肉胞子虫遺伝子が検出され、同胞子虫の汚染が蔓延している危険性が推察された。エゾシカ肉が食用に転用される実績がすでにあり、今後、大きく発展する可能性がある。実際、加熱が不十分のエゾシカ肉を喫食して、有症苦情事例が発生し、患者喫食エゾシカ肉中には住肉胞子虫が検出されていることを踏まえて、エゾシカ肉中における住肉胞子虫の危害性を評価する必要がある。

現行の馬肉を対象とした住肉胞子虫検査法を、牛肉に適応し、その妥当性を検討した。

牛の咬筋を観察したところ、明瞭なブラディゾイトの集団とそれらを取り囲むシストを確認した。シスト壁の構造から、検出した住肉胞子虫は *S. cruzi* と判定された。牛の咬筋あるいは、可食部の筋肉の全てから、住肉胞子虫のシストが顕微鏡下で確認された。そのシスト数には多少があり、検出されない部位もあった。しかしながら、検査を行った6頭すべてにおいて、共通してシストが検出されなかった部位はなく、住肉胞子虫の危害について牛体の中で例外部位はないと考えるべきと推察する。

牛肉中の住肉胞子虫についての遺伝子検査法を検討した。馬肉を対象とした現行法を応用した場合、同じDNAサイズのバンドが、牛由来DNAでも明瞭に観察

された。副次的なバンドも多少あるものの、検査結果の評価に支障はなく、馬肉における住肉胞子虫遺伝子検査法が、牛肉にも適応可能なことが確認された。

牛肉中の住肉胞子虫について、薄切切片でシストを確認する方法と、適応可能なことが明らかになった遺伝子検査法との相関を検討した。薄切切片でシスト陽性が確認された検体のおよそ半分しか遺伝子検査陽性とならず、薄切切片でシスト陰性となった検体の半分は、遺伝子検査陽性となり、遺伝子検査結果と顕微鏡検査の結果が大きくかい離した。以上から、牛肉における住肉胞子虫の危害性を評価するには、DNAを抽出する検体の量を増加させ、定量性のある遺伝子検査法の必要性が示唆された。

平成26年度の馬肉中の住肉胞子虫遺伝子検査法に関する検討で、定量PCRの有用性を示した。また、大量の検体を均質化することの有効性を示した。牛肉についても、*S. cruzi*の18S rRNA遺伝子をクローニング後、その標準DNAと検量線を用いての定量PCR法を構築することが推奨される。*S. cruzi*の病原性に関する知見の集積も、今後必要である。

牛肝臓等における微生物汚染実態と、牛肝臓の消毒薬による殺菌：牛の肝臓内から検出される大腸菌群の由来を調べる目的で、牛の消化管内、胆汁、牛肝臓内の大腸菌群細菌の分布について調べた。その結果、唾液から肛門に至るまで調べた全ての部位から大腸菌群は検出された。大腸菌群の菌数は、第一胃から肛門に近づくに従い増加した。一方、胆汁の

陽性率は11%で、肝臓内の陽性率は22%から63%と胆汁よりも高い陽性率を示した。このことは胆汁が必ずしも肝臓内の大腸菌群の汚染源となっていない可能性を示している。但し、高濃度の大腸菌群が胆汁で検出された場合、肝臓内でも比較的高濃度の大腸菌群が検出されたので胆汁も主要な汚染源の1つであることに間違いはない。一方、大腸菌群が検出された肝臓の切片を作製し、組織化学的に肝臓内での菌の汚染部位を調べたところ、一つは胆管、もう一つは門脈や類洞等の血管で検出された。すなわち、胆管以外にも血管が汚染源となっている可能性が示唆された。肝臓を牛個体から切り離した際、門脈の切断部位は肝臓表面に露出しており、部位3-5は損傷を受けている場合も多々あり、門脈を含め損傷を受けた部位を介して汚染する可能性は十分あると考えられる。したがって、屠畜解体後の肝臓の内部が汚染しないよう門脈部分の衛生的な取り扱いが重要である。

牛肝臓内の大腸菌群の陽性率及び菌数を季節別に解析した結果、生食用として提供されていた部位1と2、加熱用として提供されていた部位3-5とも夏場でそれぞれ32-46%、77-81%であるのに対し、冬場ではそれぞれ13-25%、42-50%であった。胆汁中に大腸菌群が高濃度で検出された場合を除けば、季節に関係なく肝臓内の大腸菌群の菌数は部位1と2（生食用として提供されていた）で 10^2 CFU/g以下、部位3-5（加熱用として提供されていた）では 10^3 CFU/g以下であった。一方 Sawdust

Liver では、部位 1 と 2 の大腸菌群の陽性率は 50-60%、部位 3-5 で 80-85% と高い値となり、さらに、汚染菌数も胆汁からの汚染の影響を受けているとはいえ 10 から 10⁷ CFU/g と高い値を示した。牛肝臓内から分離した大腸菌群の 16S rRNA 遺伝子を解析し菌種を同定した結果、*Escherichia* 属、*Citrobacter* 属、*Klebsiella* 属、*Serratia* 属菌であった。このことは、肝臓内の細菌汚染は腸管内あるいは胆汁を介している可能性が強く示唆された。

最も重要な点は、牛肝臓内に STEC が存在するかどうかである。そこで、牛肝臓内に STEC が存在するかどうか、もし存在するとすればその汚染源はどこなのかを調べる目的で牛の各消化管部位における *stx* 遺伝子の分布について調べた。*stx* 遺伝子は唾液でも 22% で陽性となり第一胃内容物から肛門に近づくに従って陽性率は高くなった。肛門では内容物より組織の方でより高率に *stx* 遺伝子が検出された。しかしながら、胆汁では調べた 232 検体全て陰性であり、肝臓内部も生食用として提供されていた部位 1 と 2 では全て陰性、陽性となったのは加熱用として提供されていた部位 3-5 と外部からの汚染を受けやすい部位であった。実際、肝臓表面の汚染率は 8.8% と高く、部位 3-5 の汚染も門脈あるいは損傷を受けた部位から起きていることも考えられる。すなわち、牛肝臓内の STEC 汚染は屠畜解体後の糞便汚染の影響を受けている可能性がある。一方、2 次増菌後に腸内細菌科菌群が検出された検体を用いても PCR 法

で *stx* 遺伝子が検出されなかったことから、肝臓内部（部位 1 と 2）における STEC 汚染の可能性は低いと予想される。

肝臓内の大腸菌群、腸内細菌科菌群を種々の消毒薬と凍結融解法を組み合わせることで各種消毒薬の殺菌効果を評価したところ、消毒薬の種類によって差が有ることがわかった。現状での塩素系消毒薬と凍結融解を組み合わせただけでは完璧ではないが、一連の処理後、腸内細菌科菌群を検査することにより、陰性となったものだけを流通させることができれば生レバーを提供できる可能性もゼロではない。生レバーを提供できる可能性を見いだすためにも、牛肝臓内での腸内細菌科菌群の分布、STEC が存在する可能性についてさらに検体数を増やして、データを積み上げて慎重に議論する必要がある。

放射線照射：先行研究（厚生労働科学研究 平成 24 年度 特別研究「食品に対する放射線照射による殺菌手法及び効果判定手法の開発並びに安全性に関する研究」）の結果から、当研究所が保有する *E. coli* O157 の中で、DT66 株が最もガンマ線照射に対する抵抗性が高いという結果が得られていた。また、これまでに報告されている牛挽肉の既存殺菌データと比較して抵抗性が異なる結果を得たため、これを被検菌として、ガンマ線による殺菌効果について、より詳細なデータ取得を試みた。

本研究で被験菌株に対して得た牛肝臓中でのガンマ線照射による D₁₀ 値は、牛

挽肉におけるD₁₀値に比較して高い値となった。本研究での牛挽肉の値は、既報の牛挽肉におけるD₁₀の範囲にあることから、実験は妥当に行なわれていると考えられ、牛挽肉中に比べて高いD₁₀値は、牛肝臓中というマトリクス環境によると考えられた。一般に細菌の放射線抵抗性は、ラジカルスカベンジャーの共存により上昇すると考えられている。牛肝臓中には、牛挽肉に比較してきわめて高い濃度のビタミンCやビタミンAが含まれており、他にもOHラジカル等に対するラジカル補足活性を有する化合物が豊富に存在している可能性がある。本研究の結果から牛肝臓における、放射線抵抗性の増加に寄与する因子を具体的に特定することは出来ないが、過去の放射線生物学的な文献情報を考慮すると、牛肝臓中の成分に細菌に対する放射線殺菌の効果を低減する作用を持つものがあることが推察された。

牛肝臓を汚染する可能性がある、食中毒起因菌として、*E. coli* O157の他には、*Campylobacter*属菌や*Salmonella*属菌の存在が懸念される。そこで、これらの菌についても、牛肝臓中におけるガンマ線殺菌効果を検討した。

*C. jejuni*のD₁₀値は大腸菌株よりも低い結果を得た。この菌種による違いは、過去の研究事例報告からも示唆された通りであった。なお、本研究で得られた牛挽肉中における*C. jejuni*のD₁₀値は、先行研究における値に比較して若干高めに観察されたが、この要因としては、これは本研究で用いた供試菌の抵抗性が高いというよりも、現在の*Campylobacter*検

出培地の高性能化および微好気培養条件の発達により検出率が改善したためと推察された。なお、本研究において、-80℃で冷凍保存した検体では、凍結および解凍の時点で本菌の菌数が1ケタ低下したことから、冷凍保存された牛肝臓試料中の*Campylobacter*属の殺菌には、ガンマ線に加えて凍結融解ストレスによる死滅の効果も加えて考慮することが出来ると考えた。以上のことから、牛肝臓においてはガンマ線抵抗性の試験指標菌として*C. jejuni*の挙動を詳細に検討する必要はないと考えた。

*Salmonella*属菌は、本研究課題で検討した3つの菌種のうち、最も放射線抵抗性が強く、このことは、これまでに菌種による放射線抵抗性の違いについて緩衝液中や他の食品において報告されている結果と一致していた。本研究において、凍結下の*S. Enteritidis* IFO3313株の牛肝臓中でのD₁₀値は含気条件で1.43 kGy、脱気条件で1.58 kGyと求められたことから、同条件下で*Salmonella*菌数を1/10⁵とするには含気条件で7.2、脱気条件で7.9 kGyが必要と推察された。ただし、これは同菌株の生残曲線を指数関数型として仮定した場合の線量であり、シグモイド型による殺菌効果として考えた場合には上記殺菌線量は過大となる可能性も考えられた。実際の規定線量による*Salmonella*の殺菌効果確認試験を試みたところ、凍結含気包装下においては7 kGyで、凍結脱気包装下においては8 kGyで、5検体中全てから*Salmonella*は非検出となった。本試験にて接種した菌数は3.0 × 10⁵ CFU/gと求められており、これを

不検出のレベルとするためには、5.5 log CFU/g の菌数を低減することが理論上必要となる。本研究において得られた、*S. Enteritidis* IFO3313 株の生残曲線をシグモイド型であるとして、菌数の対数と線量の関係を二次曲線で回帰し、その回帰式に沿って計算した際の必要線量は、含気、脱気それぞれ 7.08 kGy および 7.12 kGy と算出された。従って、 10^5 CFU/g オーダーの *Salmonella* 接種による死滅効果確認試験の結果は、より多くの菌を接種して得た殺菌試験（生残曲線）の結果と照らし合わせて妥当なものと推察された。

本実験で検討した腸管出血性大腸菌、カンピロバクター、サルモネラいずれの菌種においても、牛肝臓中及び牛挽肉中での D_{10} 値は、凍結状態 (-80°C) での照射の方が氷冷状態 (0°C) より大きく、また、脱気状態の方が含気状態より大きい結果となった。これは、放射線による微生物の死滅に、酸素が関与する水の放射線分解反応により生成する活性酸素種を介した間接的な反応が大きく寄与しているという、放射線の“間接効果”による解釈と矛盾しない結果である。間接効果に寄与する、活性酸素種の生成を妨げる低酸素状態や、生成した活性種の運動が制限される凍結状態では、殺菌効果が小さく（放射線が効きにくく）なることは、実用面において、目的とする殺菌効果を達成する上で、照射温度や包装条件に注意を要することを示唆している。

2. 照射による副生成物

放射線照射による食品成分の分解反応生成物は、加熱など他の食品加工処理の際に生成するものと共通しており、照射した食品の動物投与試験の結果も考慮し、「意図した技術上の目的を達成するために適正な線量を照射した食品は、いかなる線量でも適正な栄養を有し安全に摂取できる。」というのが、現在の国際機関の見解である。(WHO 1999)。一方で、近年、フランやアクリルアミドのように加熱調理や他の食品加工において非意図的に生成する化合物のリスクについての知見の集積も進んでいる。そこで本研究では、2011 年の EFSA の照射食品全般にかかる評価や、近年の FDA や FSANZ の個別の照射食品の評価で取り上げられている、脂質成分の変化（過酸化反応、トランス異性化、2-アルキルシクロブタノン類生成）、フランを着目すべき副生成物として、牛肝臓の照射における生成量を検討した。その際、最高線量は、氷冷 (0°C) 6 kGy、凍結 (-80°C) 10 kGy と、十分な殺菌効果の見込める条件を設定した。脂質の過酸化の指標である TBA 値については、氷冷含気包装の照射で増加したが、脱気包装や凍結下の照射では、著しい増加は認められなかった。

本研究における牛肝臓では脂質含量が約 5% であり、肝臓 100 g あたりに含まれるトランス脂肪酸の総量は、0.110 g / 100 g 生重量であった。これを凍結 (-80°C) 状態で 10 kGy 照射すると、0.122 g / 100 g 生重量となり、肝臓 100g を摂取する場合、10 kGy 照射によって増加するトランス脂肪酸量は、元の含量の 10%、0.012g 程度と推察された。一方、

国際機関の推奨するトランス脂肪酸摂取量は総摂取エネルギーの1%未満とされており(WHO 2003)、1800 kcal 摂取する人のトランス脂肪酸摂取推奨量は2 g 未満となる。牛は反芻動物であり、肝臓も含めた牛肉中の脂肪には、一定量のトランス脂肪酸が含まれており、牛肉 100 g 中のトランス脂肪酸含量は、0.005 ~ 1.5 g / 100 g 生重量 の範囲にあると報告されている。(農林水産省 リスクプロファイル トランス脂肪酸

<http://www.maff.go.jp/j/syouan/seisaku/risk>

[analysis/priority/pdf/140214_tfa.pdf](#))

したがって、殺菌レベルの線量の照射による牛肝臓のトランス脂肪酸量の僅かな増加は、上記の国際機関の推奨値との比較において、一日のトランス脂肪酸摂取量に大きな影響を与えるものではないと考えられる。

不飽和脂肪酸の含量については、常温(20°C)で、6.74 kGy 以上を照射した牛肉でアラキドン酸(20:4)等の多価不飽和脂肪酸の含量の有意な低下も報告されているが(Li, 2012) しているが、本研究の照射条件の範囲内では、統計学的に有意な飽和脂肪酸の割合の増加や、多価不飽和脂肪酸の減少は認められなかった。

2-アルキルシクロブタノン類(2-ACBs)は照射より特異的に生成する脂質の放射線分解物であるとして、照射食品の検知の指標物質として利用されている。この化合物の照射食品中での安全性に関しては多くの議論もあるが、その含量が微量であること、エームス試験等の変異原性試験が陰性であること等を理由に、ヨー

ロッパ食品安全機関(EFSA)では、照射食品摂取の際の健康影響は無視できると結論している(EFSA 2011)。また、最近の論文では、2-dDCB および 2-tDCB の遺伝毒性を否定され(Yamakage 2014)、2-tDCB の発がんプロモーション活性も検出出来なかった(Sato 2015)とされている。ただし、わが国では、照射食品の安全性に関する評価が定まっていないことから、照射により生成する可能性のある 2-ACBs を定量的に把握する必要があると考えた。

本研究の結果から、凍結状態の牛肝臓の照射では、10 kGy の照射において、牛肝臓 100g あたり 10 μg 程度の 2-ACBs が生成すると推察される。これまでの研究においては、6-8°C で照射した牛肉の、2-dDCB, 2-tDCB, 2-tDeCB の生成効率は、1.33, 1.59, 1.67 nmol /mmole / kGy と報告されている(Marchioni 2009) 今回の肝臓の分析結果は、生成効率はやや低めであった。この理由としては、照射温度の違いが大きく影響していることが予測される。いずれにせよ、今回の実験で用いた条件下の牛肝臓の 1 kGy の照射で、多くの畜肉類で報告されている前駆脂肪酸 1mmole あたり 1 ~ 2 nmole という生成効率を大きく超えるようなことは無いと判断された。以上より、牛肝臓の脂質含量が牛挽肉等の畜肉に比べて低いことを考慮すると、殺菌に必要な線量が牛挽肉に比べて大きくなったとしても、すでに米国等で許可されている牛挽肉に比べて著しく多量の 2-ACBs が照射牛肝臓中に生成することは無いものと予測された。

フランについては、糖液や果汁の照射において生成が報告されている例があるが、今回の研究における牛肝臓試料の照射では、不検出（定量下限未満）であった。

高圧処理：500MPa の高圧処理による肝臓中の *E. coli* に対する不活化効果は認められるものの、肉質はかなり変性することが観察された。さらに最終的には腸管出血性大腸菌を用いた殺菌効果の検討も必要であると思われ、加圧処理を導入される場合は不活化データの構築も必要と考えられた。利用には効果的な加圧装置の改良と一貫した処理後の衛生管理の検討が必要であると考えられた。高圧条件を 150~250MPa の比較的低い圧力での *E. coli* の不活化の検討を行った結果、150MPa では有効な殺菌効果は見られなかったが、200MPa から殺菌効果が認められ、特に今回検討した 250MPa は処理時間の経過とともに殺菌効果が高まる傾向が認められた。250MPa で 180min では 食品媒介病原細菌の低減化に有効な結果が得られ、*P. aeruginosa*、*E. coli*、*S. Typhimurium* では 5D の死滅効果がみられ、さらに *S. Enteritidis*、*P. alcalifaciens*、*C. sakazakii*、*Y. enterocolitica* では 6D 以上の殺菌効果が得られた。このような結果から、実際の肝臓に *E. coli* を接種して高圧処理（250MPa で 180min）を行った結果では、2D 程度の死滅効果しか得られなかった。緩衝液に懸濁した殺菌効果と肝臓に接種した実験結果ではかなり異なる結果となり、さらに処理条件で

ある圧力と処理時間の検討が必要であると思われた。一方、肝臓の物理的な肉質に関連して 150~250MPa で 60 分、120 分、180 分処理を肝臓に施したところ、肉色については 150MPa から 200MPa、200MPa から 250MPa と高い圧力になるほど明るい色調を示した。500MPa の高い圧力に比べて色調の変化は少なく、良い肝臓の色調を維持し、やや赤みがかかった色合いであった。肝臓の硬さについては、250MPa 処理を行うと硬さの数値は高くなる傾向が見られるものの、未処理のものに比較してやや硬くなる傾向が認められているが、生肝臓と比較しない限り明瞭な違いは見られなかった。

高圧処理は肝臓中の *E. coli* (腸管出血性大腸菌) のリスク低減には有効と考えられるが、これらの高圧条件に更なる有効な殺菌方法を組み合わせた処理法の検討が必要であると考えられた。一方、肝臓（生レバー）としての食味と食感は異なることとなり、生レバーとしての価値が見いだせるものか不明瞭で検討の必要があると考えられる。肝臓の物理的な変化は従来の 400MPa~500MPa の圧力と異なり、比較的穏和な処理のため肝臓の色合いや柔らかさは残存し有効であると考えられた。最終的には専門的な官能検査も必要となると考えられた。以上のことから、250MPa で 180 分処理の高圧処理は、肝臓のそのものは顕著な肉色や肉質の変化は認められなかったものの、やや *E. coli* に対する不活化効果は十分ではない結果となった。今後は加圧処理時間の延長やさらなる不活

化データの構築も必要と考えられた。最終的には実際に腸管出血性大腸菌を用いた殺菌効果の検討や製造工程においても一貫した衛生管理システムの導入が必要であると考えられた。

鶏ササミ中のサルモネラ及びカンピロバクターの、高圧処理による不活化は、過去の論文を参考に、300MPa、5分間の処理を6回反復させる条件での検討を実施した。この条件は、30分間1回の処理よりも殺菌効果が高いとされている。その結果、カンピロバクターに対しては7 log 削減という高い菌数低減効果を示した。また、3回の試験におけるばらつきも見られなかった。増菌培養により菌が検出されたため、完全な除菌には至らなかったものの、今回の条件が鶏肉中のカンピロバクター削減に効果的であることが示された。一方サルモネラに対しては、平均して3logの削減にとどまり、試験間のばらつきも大きかった。また、サルモネラについては損傷菌の発生が見られたことから、処理後の保存条件によってはより多くの菌が蘇生する可能性があると思われた。これらの結果から、本菌がカンピロバクターよりも高圧処理に対する抵抗性が高く、今回の高圧条件はサルモネラに対しては効果が限定的であることが明らかとなった。一方、肉質の変化については、高圧処理により肉色が変わっており、硬さも増加して、6回の処理を行ったものについては、加熱処理したものと類似した肉質となっていた。以上の結果から、鶏ササミにおいて十分な殺菌効果を確保しつつ肉質変化を最低限に抑えた実用的な高圧処理条件を見いだすには、

圧力条件と処理回数の組み合わせを変えた検討、高圧処理後の保管温度による生残性等の検討を追加する必要がある、生食用としての提供には、更なる検討が必要であるが、最終的な包装形態で殺菌処理を行うため、処理以後の工程で微生物汚染を受けることなく流通が可能な高圧殺菌は、畜産食品における衛生保持や品質保持期限の延長に有用であると思われる。

本研究で明らかになった結果から、今後牛肝臓を生食用として安全に提供するためには、肝臓における細菌汚染レベルを国内複数箇所における季節ごとの調査で明らかにし、その汚染レベルの低減に有効な非加熱殺菌法について放射線照射及び高圧処理を中心に検討し、そのレベルの処理における安全性や品質変化の評価を行う必要があると思われる。

E. 結論

諸外国における畜産物生食実態の調査を行った結果、3地域9か国において、12種類の生食料理があることが示された。そのうちドイツのメットについては、容器に包装されスーパー等で市販されていることが明らかとなった。ドイツにおけるメットの衛生管理及び規格基準についての情報を収集したところ、メットを対象とした微生物規格基準は存在しておらず、連邦政府による挽肉の加工要件が規定されており、その遵守を州が監視、モニタリングすることが定められていることが明らかとなった。一方で、サルモネラ、カンピロバクター及び寄生虫等を原因物質とする健康被害の報告がフランス、

ドイツ等で見られ、現行の衛生管理対策でも完全に健康被害の発生を防ぐのが困難であることが示唆された。

畜産食品を汚染する危害の一つである *Sarcocystis* 属住肉胞子虫について、馬肉からの PCR 法による検出とエゾシカ肉の住肉胞子虫汚染調査を行った。住肉胞子虫の存在が確認された馬肉から 10 g、あるいは現行検査法で指定している 0.3 g を採取して、18S rRNA 遺伝子コピー数について検討したところ、均質化した馬肉量が 0.3 g の場合には陰性だったサンプルでも、10 g の均質化液の DNA を用いると標的遺伝子の増幅反応が検出された。均質化する馬肉量を増量し、DNA を抽出することにより、住肉胞子虫遺伝子検査法を改良できると考えられた。また、シカ肉 50 検体について、住肉胞子虫の汚染率を調査したところ、48 検体に住肉胞子虫遺伝子を検出したため、今後食中毒危害性を評価する必要があると思われた。また、牛 6 頭の内臓及び筋肉における住肉胞子虫汚染率を調査したところ、100% から住肉胞子虫シストが検出された。こちらについても、今後病原性等の評価を行う必要があると思われた。

牛肝臓内の腸内細菌科菌群汚染は胆管あるいは血管を介していると考えられる。汚染率には季節性があり、冬場に少なく夏場に多い傾向であった。塩素系消毒薬と凍結融解を組み合わせることである程度の殺菌効果は認められたが、現状では十分でなく更なる検討が必要である。

一方、胆汁や部位 1 と 2 からは *stx* 遺伝子は検出されず、肝臓表面や部位 3-5 から *stx* 遺伝子が検出されたことから、牛

肝臓内の STEC 汚染は屠畜解体後の糞便汚染が関係している可能性が考えられた。大腸菌群が高濃度に検出された検体があったことを踏まえつつ、今後、さらに検体数を増やして検討して行く必要がある。

牛肝臓中での腸管出血性大腸菌、カンピロバクター、サルモネラのガンマ線照射による殺菌効果について検討したところ、3 種の細菌の中では、サルモネラが最も放射線抵抗性が強く、次いで腸管出血性大腸菌、カンピロバクターとなった。サルモネラの中でも、放射線抵抗性が強い *S. Enteritidis* IFO3313 株を殺菌効果の指標として、凍結 (-80°C、ドライアイス下) 条件下で、牛肝臓に接種した 10⁵ CFU/g の菌数低減が可能なガンマ線の線量を確認したところ、含気包装条件では 7 kGy、脱気包装条件では、8 kGy の照射で、供試した 5 検体のすべてが陰性となった。

氷冷 6kGy、凍結 10 kGy までの牛肝臓のガンマ線照射で、不飽和脂肪酸の有意な減少は無かったが、照射によるトランス異性化が認められ、トランス脂肪酸含量は僅かな増加、脂質の放射線分解物である 2-アルキルシクロブタノン類として、2-dDCB、2-tDCB、2-tDeCB の線量依存的な生成を確認した。1 kGy の照射により前駆脂肪酸 1 nmole から生成する 2-アルキルシクロブタノン類はこれまで照射された畜肉中で報告されている値より小さいものであった。氷冷(0°C)、凍結 (-80°C) の含気条件下で、十分な殺菌効果を得られる 6kGy、10 kGy でガンマ照射をしても、定量下限を超える濃度のフランは検出されなかった。

牛肝臓内部に接種した大腸菌に対する
高圧処理の殺菌効果は、500MPa、10分
では5logの低減効果が見られたものの、
肝臓の白化、硬化がみられた。

250MPa、180分の高圧処理は、培地中の
食品媒介病原細菌の菌数低減には有効で
あった。牛肝臓に対する大腸菌効果は、
2log程度であり、色や硬さの面でやや赤
みや硬さの変化が認められるものの、品
質変化は軽微であった。

鶏ササミ中のサルモネラ及びカンピロバ
クターに対する高圧処理の低減効果では、
300MPa、5分を6回反復する処理におい
て、肉色の白化、硬化が認められたもの
の、カンピロバクターについては7log以
上の低減効果が認められた。サルモネラ
については、平均して3log程度の低減効
果であり、ばらつきが認められた。

F. 健康危機情報

牛の肝臓内部の生食用として提供されて
いた部位から直接 STEC の存在は確認で
きななかったが、大腸菌群及び腸内細菌科
菌群が検出され、また、塩素系消毒薬と
凍結融解を組み合わせた方法で完全に殺
菌することができなかった。現状では、
牛の肝臓内には大腸菌群の汚染率が高く、
牛肝臓を生で食べることは免疫力の弱い
小児やお年寄りでは大きなリスクとなる
可能性がある。

G. 研究発表

論文発表

1. 等々力節子, 川崎晋, 放射線殺菌, 食
品衛生学雑誌, 55(6)J215-218(2014)

2. 鎌田洋一他, 2014. 厚生労働省食中
毒統計にみる寄生虫性食中毒. 食品衛生
研究 投稿中。

学会発表

なし

講演・研修会等

1. 川崎 晋, 持田 麻里, 等々力 節子,
五十君 静信, 牛肝臓中における腸管出血性
大腸菌のガンマ線照射による殺菌効果,
日本食品衛生学会第106回学術講演会

2. 等々力 節子, 都築 和香子, 亀谷 宏美,
齋藤 希巳江, 川崎 晋, 五十君 静信, 牛
肝臓のガンマ線照射による品質変化, 日本
食品衛生学会第106回学術講演会

3. 等々力節子, 放射線殺菌, 第107回日
本食品衛生学会学術講演会シンポジウム
H26. 5.16

4. 川崎晋, 持田麻里, 等々力節子, 五十
君静信. ガンマ線照射による牛肝臓・挽肉
中での腸管出血性大腸菌の殺菌効果, 第19
回 腸管出血性大腸菌研究会(東京),
H27/7/9-10.

H. 知的財産権の出願, 登録状況

特になし

厚生労働科学研究費 食品の安全確保推進研究事業
畜産食品の安全性確保に関する研究

総合分担研究報告書

諸外国における食肉の生食実態及び衛生管理実態に関する研究

分担研究者 岡田由美子 国立医薬品食品衛生研究所
研究協力者 五十君静信 国立医薬品食品衛生研究所

研究要旨：諸外国における食肉及び内臓肉の生食実態と、生食による健康被害の実態を把握する目的で、文献調査、インターネット及び大使館への聞き取り調査を実施した。その結果、アジア地域で4件、ヨーロッパで5件、アフリカにおいて3件の生食料理が存在することが明らかになった。その多くは牛肉が原料であったが、豚、馬及び羊肉を原料とするものも1件ずつ見られた。容器に包装後、スーパー等で販売されている生食用食肉製品としてはドイツのメットがあった。メット製造時の衛生管理の実態、販売時の微生物成分規格の有無等についての実態調査を行ったところ、メットに対する特別な規格基準等は存在しておらず、食中毒リスクが高いと判断される食品については行政当局による監視指導の頻度を上げる手法により管理している他、製造者による自主規制を行っていることが示された。一方で、諸外国では生肉を原因食品とするサルモネラ、腸管出血性大腸菌、エルシニア、旋毛虫などの食中毒が発生していることも明らかとなった。

A. 研究目的

近年、日本国内では牛、馬、鶏などの生食が徐々に広がりを見せるようになり、それに伴ってこれらの生食による健康被害発生も知られるようになってきた。本研究では、国内における畜産食品の衛生管理、加工基準、微生物規格等について検討するための参考として、諸外国における食肉及び内臓肉の生食実態と、生食による健康被害の実態及び生食用食肉製造時の衛生管理実態を把握するための調査を行った。

B. 研究方法

(1) 調査

株式会社三菱総合研究所への委託事業として、文献調査、インターネットを通じた調査及び在日大使館への聞き取り調査を通じて、諸外国における牛、豚、馬等の畜産物の生食実態及び健康被害について情報を収集し、その結果について検討した。ドイツにおける豚肉の生食製品であるメットの製造工程における衛生管理実態及び健康被害については、文献調査、インターネットを通じた調査及び在

日大使館への聞き取り調査を通じて、情報を収集した。

C. 結果

(1) 諸外国における畜産物生食実態

委託報告書を平成 25 年度報告書に示した。アジア地域で 4 件、ヨーロッパで 5 件、アフリカにおいて 3 件の生食料理が存在することが明らかになった。アジアでは、タイ、韓国及びトルコで牛の生食料理が、レバノンで羊の生食料理が存在していた。アフリカでは、エチオピアにおいて 3 種類の牛を原料とする生食料理が見られた。ヨーロッパにおいては、フランスで牛又は馬を用いる生食料理が存在し、チェコにおいても同様の牛の生食料理が見られた。イタリアでは 2 種類の牛の生食料理が存在していた。ドイツでは豚の生食製品（メット）が容器に包装され、販売されていることが明らかとなった。メットについては、ミュンヘンの 1 スーパーマーケット及びライプチヒの 3 スーパーマーケットにおける販売実態を調べたところ、ミュンヘンの 1 か所及びライプチヒの 2 か所において、それぞれ 3 種類以上のメットが冷蔵状態で販売されており、品質保持期限は販売時より 1～2 週間程度に設定されていた。

(2) 生食料理或いは加熱不十分な肉料理の喫食による健康被害の実態

フランス及びドイツにおいて、畜産食品の生食による健康被害の報告が見られた。その原因物質は、毒素産生性大腸菌、サルモネラ、エルシニア、カンピロバクター、ボツリヌス菌、寄生虫（旋毛虫及

びサルコシスティス）、ノロウイルスであった。韓国においても、焼肉店における食中毒事例が見られたが、原因食品は特定されていない。

(3) ドイツにおける畜産物製造上の衛生管理実態

委託報告書を平成 26 年度報告書に示した。EU 加盟国であるドイツは、EU 食品安全法に適合する形で食品安全対策を実施しており、連邦レベルで食品・飼料安全を包括的に所管する機関として連邦食糧・農業省（BMEL）があり、その下部組織に連邦消費者保護・食品安全庁（BVL）、連邦リスク評価研究所（BfR）、連邦農業・食品局（BLE）、その他研究機関（FLI、JKI、MRI）が設置されている。その他、一部領域については、連邦環境自然保護原子力安全省（BMUB）、連邦財務省（BMF）および連邦司法消費者保護省（BMJV）がそれぞれ管轄している。動物由来食品に関する連邦レベルの法令である動物由来食品衛生規則において、ひき肉の製造及び取扱いに関する要件が定められており、製造加工施設、原材料肉（認可された解体施設からの新鮮な骨格筋のみを使用し、くず肉を使用してはならない）、製造前後の衛生管理（家禽肉は 4℃、内臓肉は 3℃、その他の肉は 7℃以下で加工する。製造後には挽肉は 2℃、肉製品は 4℃以下で冷蔵するか -18℃以下で冷凍する）が定められていた。また、法令遵守に対する公的な監視や食品モニタリングプログラムは各州の責任において実施されており、実際に監視を行うのは州の下にある地方自治体である郡あるいは郡独立市の獣医局等であった。食品企業

や飲食店等の監視項目としては、設備、作業方法、衛生要件の遵守、トレーサビリティ、企業の自己検査、表示・宣伝等があった。その他、農場段階での監視としては、動物衛生・福祉や飼料に関する法令の遵守状況についてチェックを行っていた。企業や事業所に対する監視活動については、連邦レベルで統一的な枠組みが規定されており、企業や事業所への立入検査の頻度を決定する算定方法が示されていた。「Ⅰ企業の種類（製品の取り扱い・製品のリスク）」「Ⅱ企業の様子（法令遵守・トレーサビリティ・従業員訓練）」「Ⅲ自己検査システムの信頼性（HACCP、製品の検査、温度（冷却）の遵守）」「Ⅳ衛生管理（建築上の基準・洗浄と消毒・従業員の衛生・生産衛生・害虫駆除）」の4つの基準に基づいて算出したスコアに従って9つのリスククラスに分類され、監視頻度が決定される。各州はこの算定方法の結果に基づき、企業や事業所への立入検査を実施していた。また、メット製造業者は衛生管理に関して外部認証を取得しており、出荷前の自主検査と共に外部監査機関での検査も実施していることが明らかとなった。

（4）ドイツにおけるメットの喫食による健康被害の実態

2007年から2012年にかけて、メットの生食による健康被害の報告が14件見られた。また、塩漬け及び燻製豚肉製品による事例は4例、カモ肉の生食による事例が1例見られた。その原因物質は、メットの生食によるものではサルモネラ、カンピロバクター、寄生虫（サルコシスティス）、ノロウイルスであった（平成26年度報告

書中委託報告書）。塩漬け及び燻製豚肉製品による事例では、ボツリヌス、サルモネラ、寄生虫（旋毛虫）であり、鴨肉の生食ではカンピロバクターを原因としていた。また、メットによる食中毒14件中5件では、原料に生卵を用いており、原因菌が生卵から検出された例も1例見られた。

D. 考察

今回の調査により、海外において牛肉を中心として生食料理が存在することが示されたが、その大半はレストラン又は家庭において調理、喫食されるものであった。容器包装され、一般に流通される形で販売される生食製品としては、ドイツのメットのみが挙げられた。また、その品質保持期限は2週間以上と長いものであった。ドイツ国内におけるメットの製造基準、衛生管理手法及び微生物規格等の有無、それらの内容について情報収集を行うことで、国内の畜産食品の衛生管理及び規格基準設定の参考となり得ると思われたことから、平成26年度にはその調査を実施した。その結果、メットの衛生管理及び規格基準についての情報を収集した。ドイツにおいてメット独自の公的な微生物成分規格はなく、ひき肉製品の製造加工要件が定められており、その遵守については連邦ではなく州レベルでの監視・モニタリングが行われていることが明らかとなった。また、製造販売業者は衛生管理に関して外部認証を取得しており、出荷前の自主検査と共に外部監査機関での検査も実施していることが明らかとなった。

一方で、近年においてもフランスで生牛挽肉及び生の馬肉等、ドイツで生豚挽き肉及び生ソーセージの喫食によるサルモネラ症及び旋毛虫症等の発生が見られていることから、それらの国で現在行われている衛生管理手法の元であっても、健康被害発生を完全に防ぐのは困難であると考えられた。

E. 結論

諸外国における畜産物生食実態の調査を行った結果、3地域9か国において、12種類の生食料理があることが示された。そのうちドイツのメットについては、容器に包装されスーパー等で市販されていることが明らかとなった。メットの衛生管理及び規格基準についての情報を収集したところ、メットを対象とした微生物規格基準は存在しておらず、連邦政府による挽肉の加工要件が規定されており、

その遵守を州が監視、モニタリングすることが定められていることが明らかとなった。また、製造者における自主管理も行われていた。

一方で、サルモネラ、大腸菌及び寄生虫等を主な原因物質とする健康被害の報告がフランス及びドイツ等で見られ、現行の衛生管理対策でも完全に健康被害の発生を防ぐのは困難であることが示唆された。

F. 健康危機情報

特になし

G. 研究発表

なし

H. 知的財産権の出願、登録状況

なし

畜産食品の安全性確保に関する研究

総合分担研究報告書

畜産食品における寄生虫性危害に関する研究

分担研究者 鎌田 洋一 （岩手大学農学部 共同獣医学科）
協力研究者 白藤由紀子 （岩手大学農学部 共同獣医学科）
佐藤 弘隆 （岩手大学農学部 共同獣医学科）
三井 太平 （岩手県食肉衛生検査所）

本分担研究は、畜産食品の安全性確保を大きな目的とし、平成 25 年から 27 年にて、以下の項目を検討した。1) 原因食品として畜産食品を含め、我が国における寄生虫性食中毒の、統計的実態を明らかにした。寄生虫性食中毒が項目化されていなかった平成 23 年までは、寄生虫性食中毒は「その他」の食中毒に分類されていた。そのほとんどはアニサキスだった。平成 24 年の統計項目改正以降は、クドアとアニサキスが主な原因になっている。寄生虫性食中毒は、我が国において第 3 の食中毒として位置づけられた。2) 食中毒として診断することを目的としている、馬肉を検査対象とした住肉胞子虫の検査法を、食中毒危害性を評価できる方法として使用可能か検証した。遺伝子検査法として定性 PCR が策定されているが、DNA を抽出する検体量が 0.3 g と少なく、ばらつきが多かった。定量 PCR 法を検討したが、やはり 0.3 g の検体量では遺伝子コピー数はばらつき、少なくとも 10 g 以上の馬肉から DNA を抽出すべきであることが明らかになった。3) 家畜だけでなく野生動物も畜産食品として流通する。その流通は、駆除とリンクし、今後増加する可能性がある。野生シカ肉について、住肉胞子虫寄生状況を調査した。市場流通しているエゾジカ肉 50 検体について、住肉胞子虫遺伝子検査を実施したところ、48 検体が陽性となり、広く住肉胞子虫のシカへの寄生が確認され、その危害性を評価する必要性が認められた。4) 住肉胞子虫は牛の多くの部位の筋肉中に存在した。現在まで、日本において住肉胞子虫が寄生する牛肉での食中毒の発生は報告されていないが、牛肉における胞子虫の寄生状況を把握し、その食中毒危害性を評価する必要がある。

A. 研究目的

畜産食品の安全性を担保するのに大きく貢献している組織に食肉衛生検査所お

よび食鳥検査所がある。同検査所は、法的には牛、豚、馬、羊、山羊の家畜、ならびに鶏、アヒル、鴨を、一頭一羽ず