

厚生労働科学研究費補助金

食品の安全確保推進研究事業

**食鳥肉におけるカンピロバクター汚染の  
リスク管理に関する研究**

平成 27 ~ 29 年度 総合研究報告書

**研究代表者 朝倉 宏**

平成 30 ( 2018 ) 3 月



**食鳥肉におけるカンピロバクター汚染の  
リスク管理に関する研究**

**研究代表者 朝倉 宏**

平成30(2018)年 3月





## 目次

### ・総合研究報告

食鳥肉におけるカンピロバクター汚染のリスク管理に関する研究

朝倉 宏

----- 3

### ・分担研究報告

1. 農場段階におけるカンピロバクターのリスク管理に関する研究

朝倉 宏 他

----- 23

2. 食鳥処理段階におけるカンピロバクターのリスク管理に関する研究

森田 幸雄 他

----- 31

3. 流通段階におけるカンピロバクター制御に関する研究

朝倉 宏 他

----- 43

4. 消費段階におけるカンピロバクターのリスク管理に関する研究

中馬 猛久 他

----- 51

5. 食品媒介感染症被害実態の推定

窪田 邦宏 他

----- 71

### ・研究成果の刊行に関する一覧表

----- 97

平成 27-29 年度 研究分担者・研究協力者

研究代表者

朝倉 宏 国立医薬品食品衛生研究所

研究分担者

山本 茂貴 東海大学（平成 28 年 12 月まで）

森田 幸雄 東京家政大学

中馬 猛久 鹿児島大学

研究協力者

天沼 宏	国立医薬品食品衛生研究所	島原 道範	大山どり
五十君 静信	東京農業大学	霜島 正浩	ビー・エム・エル
猪子 理絵	北海道帯広食肉衛生検査所	杉本 治義	群馬県食肉衛生検査所
宇都 菜央	大山どり	鈴木 智之	滋賀県衛生科学センター
尾崎 正秀	大山どり	滝 将太	ミロクメディカルラボラトリー
春日 文子	国立環境研究所	橘 理人	岡山大学
川瀬 遵	島根県保健環境科学研究所	玉井 清子	ミロクメディカルラボラトリー
川本 恵子	帯広畜産大学	田村 克	国立医薬品食品衛生研究所
窪田 邦宏	国立医薬品食品衛生研究所	茶園 明	日本食品安全検証機構
熊谷 優子	国立感染症研究所	盆下 誌保	東京家政大学
倉園 久生	帯広畜産大学	中村 寛海	大阪健康安全基盤研究所
小西 良子	麻布大学	中村 広文	群馬県食肉衛生検査所
小松真由美	宮城県医師会健康センター	藤田 雅弘	群馬県衛生環境研究所
古茂田恵美子	東京家政大学	村上 覚史	東京農業大学
齊藤 剛仁	国立感染症研究所	山本 詩織	国立医薬品食品衛生研究所
坂野 智恵子	群馬県食肉衛生検査所	横田 陽子	群馬県食肉衛生検査所
桜井 芳明	宮城県医師会健康センター	吉村 昌徳	日本食品検査
坂田 淳子	大阪府健康安全基盤研究所	渡辺 邦雄	日本食品安全検証機構
坂上 武文	ミロクメディカルラボラトリー		
品川 邦汎	岩手大学		
渋谷 俊介	LSI メディエンス		

（敬称略、五十音順）

平成27-29年度厚生労働科学研究費補助金  
食品の安全確保推進研究事業  
総合研究報告書

食鳥肉におけるカンピロバクター汚染のリスク管理に関する研究

研究代表者 朝倉 宏 国立医薬品食品衛生研究所 食品衛生管理部

研究要旨：本研究では、食鳥肉の生産・処理・流通の各段階において、カンピロバクター汚染低減に資する衛生管理手法に関する科学的知見の集積を図り、より衛生的な食鳥肉の生産～消費に至るフードチェーンの在り方に関する提言を行うことで、本食中毒低減に資するガイドライン策定等の厚生労働行政に寄与することを目的として研究を行なった。

(1) 生産段階では、鶏盲腸菌叢に占める *Bacteroides* 属菌の構成比と農場別カンピロバクター保菌率との間に関連性を見出した。カンピロバクター陰性農場の鶏より *Bacteroides fragilis* を分離し、共培養試験を通じ、*C.jejuni* の生存増殖に抑制作用を示すことを明らかにした。当該菌由来不活化抽出物の経口投与試験を通じ、当該菌体由来抽出物が出荷時齢鶏腸管内でのカンピロバクター菌数の低減に資することを明らかにした。

(2) 食鳥処理段階では、食中毒患者数を過去に半減させたニュージーランドの最大手食鳥処理施設を視察し、チラー槽の段階的管理、殺菌剤を含む洗浄水を用いた複数のシャワー励行が汚染低減に寄与したとの知見を得た。また、中抜き後と鳥の試験法であるリンスパック法に係る情報を得た。国内外剥ぎ式の解体処理施設で製造加工された鶏肉は一般的な中抜き式の鶏肉に比べ、汚染率では明確な差異はなかったが、汚染菌数は低い傾向にあった。大規模食鳥処理場での中抜き機の管理運用とは鳥表面の糞便汚染実態と関連しており、危害箇所として検討する意義が示された。

(3) 加工流通段階では、冷凍処理による鶏肉中のカンピロバクター菌数の低減効果を定量的に求め、急速・緩慢冷凍の別によらず、1～2対数個/gの汚染低減効果を示すことを明らかにした。急速冷凍処理は、チルド処理と同等の物性影響であったが、緩慢冷凍処理はドリップ率を上げ、品質を低下させた。市販鶏肉の表面加熱は一定の汚染低減効果を示したが、内部浸潤性は特にモモ肉で高く、1時間放置後には芯部に到達しており、中心部までの十分な加熱が通常処理された市販鶏肉の調理法として適切であることを裏付ける知見を得た。

(4) 消費段階では、生食用鶏肉の汚染実態を加熱用鶏肉と比較し、前者は後者に比べ低い汚染菌数であることが明らかとなった。インターネット上で販売される鳥刺し製品（表面焼烙加工が施され、冷凍流通）は何れもカンピロバクター陰性であり、複合的な応用対策の効果によると考えられた。生食用食鳥肉の解体加工施設で工程別汚染挙動を検討し、解体処理直後の表面加熱（焼烙・湯引き等）は汚染低減に有効に機能していることが示された。

(5) 上記に加え、被害実態推定並びに海外情報及び厚労省実証事業の成績を含めた形で事例集を作成した。

食鳥肉によるカンピロバクター食中毒制御策を講じる上で、農場から消費に至るフードチェーン全体での対策を複合的に取り入れることが現実的な対策として有効に機能すると考えられる成績を得た。鶏肉の生食或いは加熱不十分な調理品は未成年、高齢者、免疫不全者等へ提供すべきものとは考え難い。鳥刺し等の調理提供にあたり、加熱用鶏肉を用いることは本食中毒のリスクが極めて高いといえ、南九州で実践される生食用鶏肉の解体処理・加工手法を施した鶏肉の導入をはじめとした現実的な対策設定を行うことが必要と考えられた。そのためには、リスク評価に向けた定量的データの一元的収集とこれに基づくリスク管理のためのガイドラインや規格基準等について検討することが望まれよう。

分担者		盆下 誌保	東京家政大学
山本 茂貴	東海大学(平成28年12月迄)	中村 寛海	大阪健康安全基盤研究所
森田 幸雄	東京家政大学	中村 広文	群馬県食肉衛生検査所
中馬 猛久	鹿児島大学	藤田 雅弘	群馬県衛生環境研究所
研究協力者		村上 覚史	東京農業大学
天沼 宏	国立医薬品食品衛生研究所	山本 詩織	国立医薬品食品衛生研究所
五十君 静信	東京農業大学	横田 陽子	群馬県食肉衛生検査所
猪子 理絵	北海道帯広食肉衛生検査所	吉村 昌徳	日本食品検査
宇都 菜央	大山どり	渡辺 邦雄	日本食品安全検証機構
尾崎 正秀	大山どり		(敬称略、五十音順)
春日 文子	国立環境研究所		
川瀬 遵	島根県保健環境科学研究所		
川本 恵子	帯広畜産大学		
窪田 邦宏	国立医薬品食品衛生研究所		
熊谷 優子	国立感染症研究所		
倉園 久生	帯広畜産大学		
小西 良子	麻布大学		
小松真由美	宮城県医師会健康センター		
古茂田恵美子	東京家政大学		
齊藤 剛仁	国立感染症研究所		
坂野 智恵子	群馬県食肉衛生検査所		
桜井 芳明	宮城県医師会健康センター		
坂田 淳子	大阪府健康安全基盤研究所		
坂上 武文	ミロクメディカルラボラトリー		
品川 邦汎	岩手大学		
渋谷 俊介	LSI メディエンス		
島原 道範	大山どり		
霜島 正浩	ビー・エム・エル		
杉本 治義	群馬県食肉衛生検査所		
鈴木 智之	滋賀県衛生科学センター		
滝 将太	ミロクメディカルラボラトリー		
橘 理人	岡山大学		
玉井 清子	ミロクメディカルラボラトリー		
田村 克	国立医薬品食品衛生研究所		
茶園 明	日本食品安全検証機構		

## A. 研究目的

食鳥肉の喫食に因るカンピロバクター食中毒は2011年及び2012年に食肉に係る行政措置が行われた時点では一時的に減少傾向も認められたが、その後再び増加を示し、現在に至るまで多発している。特に、食鳥肉によるカンピロバクター食中毒の割合は近年増加傾向にあることから、当該食品中における汚染制御は大きな社会的課題となっている。コーデックス委員会では、2011年にフードチェーンを通じた食鳥肉の衛生対策ガイドラインが発行されており(CAC/GL 78-2011)、わが国では2009年に食品安全委員会により、鶏肉におけるカンピロバクター汚染に関するリスク評価書が取り纏められた上で、来年度初頭の発出に向け、改正作業が行われているところである。前回の研究班(と畜・食鳥検査における疾病診断の標準化とカンピロバクター等の制御に関する研究)においては、特に食鳥肉における本菌汚染状況の改善に向けて、今後検討されるべきとして、食品安全委員会のリスク評価書において提案された検討課題の有効性を、農場・食鳥処理・流通の各段階で検証し、農場における汚染制御は未だに困難であるが、食鳥処理場へ搬入される時点での汚染・非汚染鶏群の識別と区分処理が可能であれば、交叉汚染を制御する上で有効に機能する点、そして流通段階で活用が想定される冷凍処理が一定の汚染低減に資するであろうとの見解を得た。

同研究班では、畜産食品に関連する複数の課題が含まれ、その衛生管理という全容の改善を目的としていた。これに対し、本研究班では、これまでに蓄積された研究成果を、食鳥肉におけるカンピロバクターのリスク管理という点に集約させることで、生食或いは加熱不十分な食鳥肉の喫食に基づくカンピロバクター食中毒の制御を命題として、生産から流通工程に至るフードチェーンの中において、実行性を伴った衛生管理の在り方を提言すると共に、その実施により想定される汚染低減効果を予測し、有効性を明らかにしようとするところに特色がある。より具体的には、食鳥肉の生産・解体処理・加工・流通・消費等の各プロセスにおける情勢を把握すると共に、汚染低減に資するハード・ソフト両面での対策の在り方について例示を行う等、応用的汚染低減手法の具体的提案等を網羅し、厚生労働行政として対応が求められる、衛生的な食鳥肉処理に関するガイドラインの策定等に寄与するための科学的知見の集積を図る。また、生食としての鶏肉の消費実態を鑑み、本研究では、生食用鶏肉として市販流通する製品の汚染実態を把握すると共に、当該製品の解体～加工にあたって実施される衛生管理手法に関する情報収集も含めた検討を行うこととしている。

以下に、各段階に応じた研究目的等を記す。

#### (1) 農場段階

鶏の生産段階におけるカンピロバクター汚染率は総じて高く、特に休薬期間を経た出荷時に急激な菌数の増加が生じるとされる。農場への導入時(幼雛期)には本菌が陰性であるが、2-3週齢の間に本菌の定着を生じ、以後少なくとも9週間は定着し続けるとの報告もある。国内に流通する鶏肉の多くは50日齢程度のブロイラー鶏由来であり、本菌による汚染を一旦受けた農場で飼育された鶏群由来の鶏肉の多くは高率に本菌汚染を受けている。また、本菌による鶏肉汚染は、食鳥処理工程での交叉汚染が主な要因と目されるが、そもそも生産段階における本菌制御が確立すれば、カンピロバクター食中毒の低減をはかるにあたって、より根源的な対策を立てることが可能となるため、農場段階における本菌

制御策の構築は必要不可欠な課題の一つといえる。

鶏生体における本菌の汚染(定着)への対策としては、これまでも乳酸菌やバチルス属菌等、いわゆる生菌剤(プロバイオティックス)の投与により、一定の抑制効果を果たすことが報告されている。より近年では、こうしたプロバイオティックス効果を裏付ける要因として、乳酸菌の菌体表層タンパク分子あるいは有機酸代謝能といった分子や代謝機構が、カンピロバクターの鶏腸管定着抑制を支える分子基盤として明らかにされつつあるが、それらの多くは依然として不明である。養鶏場での本菌制御策は、現在も解決されていない世界的課題であるが、一般に知られる上述のプロバイオティックス細菌以外にも、近年ではカンピロバクターの鶏腸管定着に抑制作用を示す、種々の腸内菌叢の存在も見出されつつあり、生産段階での制御策の構築にあたって期待がもたれる研究分野の一つとなっている。

本研究では、国内のブロイラー鶏生産農場を対象としてカンピロバクター汚染に係る知見を集積すると共に、盲腸構成菌叢による当該菌の保菌動態への影響を評価した上で、これを利用した生産段階での制御策に関する知見を集積することを目的とした。

#### (2) 食鳥処理段階

カンピロバクター食中毒の制御のためには農場での衛生対策ポイントの検討、食鳥処理場での衛生対策、流通段階における対策が必要である。

食鳥処理場は腸内容に大腸菌、サルモネラ、カンピロバクターを保菌した鶏が食肉になる工程であり、このと鳥処理工程によってと体への衛生度が異なると思われる。そこで、平成27年度調査では鶏の内臓摘出処理機器メーカーへの聞き取りおよび我が国で数少ないエアークラッチを設置している食鳥処理場への聞き取り調査を、平成28年度では外剥方式の食鳥処理場製品およびスーパーマーケット等で市販されている製品について細菌学的な比較を、平成29年度は鶏の内臓摘出処理時のと体へ汚染の実態および汚染とと体表面の細菌数について調査を実施し、食鳥処理段階における衛生管理の在り方を

検討するための基礎知見を集積することを目的とした。

また、平成28年10月に過酢酸製剤や亜塩素酸ナトリウム等を食鳥肉へ食品添加物として使用することが認められた。これを受け、本研究では中抜きと鳥を用いてカンピロバクター・ジェジュニの添加回収試験を行い、過酢酸製剤ならびに亜塩素酸ナトリウム溶液を食鳥処理工程の冷却水に適用した場合の本菌殺菌効果に関する定量的知見を得ることを目的として検討を行ったので併せて報告する。

### (3) 加工・流通段階

コーデックス委員会が定めた食鳥肉の衛生対策ガイドライン(CAC/GL 78-2011)では、冷凍処理が加工流通段階における食鳥肉中のカンピロバクター汚染低減効果を有する一手法として挙げられており、実際にアイスランド、ニュージーランド、デンマークでは、法的拘束力を有する手法としても採用されている。本研究ではこれまでに冷凍処理が我が国で生産される鶏肉中のカンピロバクター汚染低減に有効であることを定量的に示してきた。実際に、我が国が輸入する鶏肉は概して冷凍処理が施されており、国産の冷蔵流通される鶏肉に比べて本菌汚染率が低いとする報告もある。

しかしながら、輸入冷凍鶏肉の多くはドリップ率が高い等の声もあり、品質面で課題があるとの指摘もある。こうしたことから、本研究では、まず急速冷凍及び緩慢冷凍処理を行った際の本菌生存挙動を定量的に把握すると共に、物性試験により、処理後の品質影響を評価することとした。また、市販流通するブロイラー鶏肉を用いた添加回収試験により、温浴加熱による汚染低減挙動を把握すると共に、内部浸潤性についても検討を行うことで、流通段階等での制御策として、一般流通する加熱用鶏肉を用いた場合の表面加熱による制御効果を考察した。

### (4) 流通・消費段階

鹿児島県や宮崎県といった南九州地方では、昔から鶏肉を生で食す鶏刺しが郷土料理として存在し

ており、一般に食される文化がある。同地方では鶏刺しは小売店や飲食店に広く流通し、東京や大阪といった都市部でも提供を行う居酒屋が多く存在する。鶏刺しは鶏のもも肉、むね肉、ささみといった部位を用い、表面を湯引きや火で炙る等して加熱してあることが多い。これによって、鶏肉の表面に汚染したカンピロバクターを殺菌し、食中毒のリスクを下げていると考えられる。カンピロバクター感染の主な原因食品として鶏刺しは注目されるが、南九州地方で鶏刺しが原因であると特定される事件は多くない。同地域で加工される鶏刺しは主に廃用となった種鶏(ブロイラーの生産に用いられた繁殖目的の肉用種)であり、飼育日数がおよそ450日前後を原料としており、日本各地から加工施設へ集められる。このような形で一般流通する、いわゆる「鶏刺し」のカンピロバクター汚染率やその菌数といった基礎的データを調査した報告はほとんどなく、その解明は食品衛生上重要な課題である。そこで本研究課題では、まず鹿児島県内小売店に流通する生食用鶏肉のカンピロバクター汚染状況を半定量的に推定し、加熱用鶏肉についても同様の手法で汚染状況を調査して生食用との汚染状況の比較を行った。続いて、認定小規模食鳥処理場(年間処理羽数30万羽以下)で解体・加工された食鳥から工程(脱羽後、チラー後、焼烙後)ごとに得たと体表面ふき取り材料を検査した。さらに、大規模食鳥処理場(年間処理羽数30万羽超)で解体され加工場へ搬入された生食用鶏肉を材料とし、同様にカンピロバクター汚染を調査した。

## B. 研究方法

### 1. 農場におけるカンピロバクターのリスク管理に関する研究

#### 1) 検体

北海道・東北、関東及び九州地方にある養鶏場計7農場より、出荷時齢鶏盲腸便の採材に関する協力を得た。このうち、B農場では有薬飼料を給餌した鶏群と、無薬飼料給餌群の双方が同一農場内で飼育さ

れていたことから、双方を採材対象とした。また、A農場は、特定の鶏舎を対象として、後期飼料切替2日後である18日齢、仕上飼料（抗生物質不含）切替3日後である28日齢、仕上飼料切替7日後である32日齢、出荷4日前である46日齢、出荷時（50日齢）を対象に各10検体の盲腸便を採材し、試験に供した。新鮮盲腸便をシードスワブを用いて採材し、速やかに冷蔵温度帯で輸送した。その後、速やかに1mLの滅菌リン酸緩衝液（PBS, pH7.4）に懸濁した。

## 2) 分離培養

上記シードスワブ懸濁液0.5mLを10mLのプレストン培地に加え、42℃にて48時間、微好気培養を行った。その後、同培養液を1白金耳分、mCCDA寒天培地に塗布し、42℃で48時間微好気培養を行った。培養後、各検体につき、代表的発育集落を5つ釣菌し、継代培養を行った後、生化学性状試験及びPCR法による菌種同定を行うことで、陽性・陰性の判定を行った。

## 3) DNA抽出

1.で調整した懸濁溶液残液より、Cica Genius Total DNA prep kitを用いて、DNA抽出を行った。また、分離株についても、同様にDNA抽出を行い、MLST解析に供した。

## 4) MLST解析

Campylobacter MLST databaseの記載方法に従い、計7遺伝子の部分配列を増幅した。ExoSAP-ITを用いた酵素処理後、各増幅産物にシーケンス用プライマーセットならびにBigDye Terminatorを加え、ABI3730xを用いたサイクルシーケンス法により、対象増幅産物の塩基配列を決定した。得られた配列情報は、CLC MLST moduleを搭載したMain Workbenchにて、アセンブル・アノテーションを行い、上記データベース上の登録情報との参照を通じて、各菌株の遺伝子型を決定した。

## 5) 菌叢解析

盲腸便スワブ懸濁溶液より抽出したDNAを鋳型として、16S rRNA 799f-1179rオリゴヌクレオチドプライマーを用いたPCR反応を行い、E-gel Size

Select 2% (Thermo Fisher) およびAMpure XP (Beckman) を用いて、増幅産物を精製した。同精製物は、定量後、30検体を上限として等量から成る混合ライブラリーを作成し、Ion Chef / Ion PGMシステムを用いたbarcoded pyrosequencing解析に供した。取得配列データについては、CLC Genomic Workbenchを用いて不要配列を除去後、RDP Classifier pipelineを介し、リード配列の階層化及びクラスター解析を行った。

## 6) *Bacteroides* 属菌の分離及びゲノム解析

C農場由来盲腸便検体より、Duerdenの方法に従って *Bacteroides* 属菌の分離を行った。得られた分離株については、16S rRNA 部分配列解析データをもとに、NCBI Blastn 検索を通じて、菌種同定を行った。ゲノム解析には PacBio RSII を用いた。

## 7) 共培養試験

約  $10^4$ CFU の *C. jejuni* NCTC 11168 株を 10mL の MH または BHIS broth に懸濁後、同菌数の *B. fragilis* 株を添加し、微好気または嫌気条件下にて培養した。24 時間毎に各培養液を採取し、MH 寒天培地および BHIS 寒天培地に接種後、それぞれの発育集落数を求めた。次に約  $10^4$ CFU の *C. jejuni* NCTC 11168 株を 10mL の MH または BHIS 培地に懸濁後、異なるタンパク濃度の *B. fragilis* 破砕抽出物を添加し、微好気及び嫌気培養に供し培養後の濁度を 600nm 波長で測定し、*C. jejuni* の生存増殖性を求めた。また、上述の *B. fragilis* 破砕抽出物に対し、Proteinase K あるいは Benzonase を用いて前処理後、*C. jejuni* NCTC 11168 株とともに培地中に加え、生存増殖性を上記と同様に求めた。

## 8) *B. fragilis* 破砕抽出物投与効果の評価

A・B農場で搬入飼養される肉用鶏盲腸便を時系列を追って採材し、カンピロバクター定量検出試験に供した。なお、投与群及び非投与群は同一農場敷地内に設置される異なる鶏舎で別個に、但し同時期に導入・飼育されるものとした。

*B. fragilis* 破砕抽出物を凍結乾燥品として上記農場に送付し、飼料切替時期にそれぞれ飲水に添加した。同時に搬入・飼育される鶏群については陰性

対照として設定した。なお、同抽出物は培養しうる微生物が陰性であることを確認後、試験に供した。

## 2. 食鳥処理段階におけるカンピロバクターのリスク管理に関する研究

### 1) 鶏の内臓摘出処理機器メーカーへの聞き取り調査等

プライフーズ株式会社ゴードックスカンパニー(メイン社を主力に輸入・販売)ならびにマレルジャパン株式会社(ストーク社を主力に輸入・販売)を訪問し、今日普及している食鳥処理機器の性能について聞き取りを行った。また、我が国では輸入代理店の無いBAYLE社製についてフィリピンの食鳥処理場を訪問し、見学するとともに輸入代理店の技術者と面会し、情報を得た。

### 2) エアーチラー設置食鳥処理場の訪問・聞き取り(株)大山どりを訪問し、聞き取り調査を実施した。

### 3) 外剥方式の食鳥処理場製品と一般市販されている製品の比較

外剥方式処理場を訪問し、ムネ、モモ、ササミ2検体ずつ計6検体を購入した。スーパーマーケット10店舗からムネ、モモ、ササミを10検体ずつ購入し、一般生菌数、大腸菌群数、大腸菌数、カンピロバクター菌数、サルモネラ菌数を求めた。

### 4) 原料は外剥方式の食鳥処理場製で一般市販されている製品の細菌検査

外剥方式の食鳥処理場製であるがスーパーマーケットで小分け市販されている製品(モモ)を10検体購入し、カンピロバクター検査を実施した。

### 5) 食鳥処理場に搬入される鶏の盲腸中のカンピロバクター・サルモネラの検出状況

大規模食鳥処理場の6つの搬入口ットの盲腸内容を1ロットあたり5検体ずつ採取し、カンピロバクターとサルモネラの検査を実施した。

### 6) 処理ロットにおける各処理工程ごとの腸内容物汚染や腸の破損の発生率と細菌検出状況

大規模食鳥処理場の6つの搬入口ットについて処理工程の「肛門抜き」「肛門前腹部の切開」「内臓摘出後」の400体以上のと体について、腸内容物

の汚染や腸の破損の有無を観察した。

### 7) 酸化剤系殺菌剤の添加による中抜きと鳥のカンピロバクター汚染低減効果に関する研究

比較対照及びブランクには次亜塩素酸ナトリウム溶液及び水道水を用いた。*C. jejuni*株を約3kg重量の中抜きと鳥表面に接種した後、各殺菌剤を含む浸漬液中で30分間処理した。PBSと共に、手揉みにより表面洗浄液を得た。遠心分離により得られた沈渣を2.5mLのPBSで再懸濁した。被験菌株及び衛生指標菌の算定にはmCCDA寒天培地及び標準寒天培地、VRBG寒天培地を用いた。

## 3. 加工・流通段階におけるカンピロバクターのリスク管理に関する研究

### 1) カンピロバクター定量検出試験

*C. jejuni*5株混合菌液を鶏モモ肉検体25gに約7対数個/gとなるよう添加した。脱気密閉後、-35の急速液体冷凍機に浸漬、或いは-20の空冷式冷凍庫内に入庫した。一定時間保存後、流水で5分間融解させ、検体乳剤を調整し、直接塗抹法により生存菌数を求めた。

2) 自然汚染丸鶏のカンピロバクター菌数の測定市販の中抜き丸鶏を滅菌袋に入れ、速やかに急速液体冷凍機で3時間冷凍処理した。対照群は同時間、4下で保存を行ったものとした。10分間流水で融解後、MPN法を用いた定量試験に供した。

### 3) クラストフリージング処理による食鳥部分肉におけるカンピロバクター低減効果の検証

国内の食鳥処理加工施設にて、食鳥処理後にクラストフリージング処理あるいはチルド処理を行った同一ロットの鶏部分肉からのカンピロバクター菌数をMPN法により求めた。

### 4) 鶏肉内部浸潤性試験

*C. jejuni*を400g重量の鶏モモ肉及びムネ肉表面に均一となるよう塗布し、4で1時間保存した。その後、検体表面をスワブで穏やかにふき取り表面汚染試料とした。次に、深部から順に、表面下15-20mm、10-15mm、5-10mm、0-5mmの切片として切り出し、BPWに懸濁した。菌数測定にはMPN法を用いた。

#### 5) 温浴加熱による汚染低減効果の検証

鶏モモ肉及びムネ肉検体表面に *C. jejuni* を塗布し、4 で1時間保存、脱気密封後、85 の温浴槽内で一定時間加熱した。加熱後は速やかに氷水中にて急速冷却させ、滅菌鋏を用いて細切後、検体懸濁液を調整した。同液及び10倍階段希釈液をmCCDA寒天培地に接種し、培養後の発育集落数を求めた。

#### 6) 温浴加熱を通じた鶏肉内部でのカンピロバクター生存性に関する検証試験

上項と同様に鶏肉検体を温浴加熱に供し、冷却後の鶏肉検体について、別項2.と同様に、表面および表面下5mm幅での内部検体を調整した。それぞれの回収検体を10mLのプレストン培地に接種し、42 で48時間微好気培養後、同培養液をPCR法に供し、カンピロバクターの定性検出試験を行った。

#### 7) 鶏刺し製品のカンピロバクター定性試験

大手インターネットサイトを通じて、購入可能であった冷凍出荷の鶏刺し製品計24製品(各3検体、計72検体)を4にて解冻後、25gを採材し、225mLのプレストン培地に接種し、42にて48時間微好気培養した。同培養液1白金耳をmCCDA寒天培地に接種し、更に42にて48時間微好気培養した。定型集落が認められたものについては、PCR法を用いた確定試験に供した。

#### 8) 物性試験

チルド鶏ムネ肉を急速冷凍処理群、緩慢冷凍処理群、チルド(4保存)処理群に分け(各群N=3)、各群3時間の処理後、冷凍処理2群は-20で、冷蔵処理群は4で20時間保存後、物性試験(ドリップ率、遠心遊離水分率及び破断応力)に供した。同試験は日本家畜改良センターが作成した「食肉の理化学分析及び官能評価マニュアル」に準じた。

### 4. 消費段階におけるカンピロバクターのリスク管理に関する研究

#### 1) 市販鶏肉の調査

鹿児島県内小売店8店舗で生食用鶏肉61検体、加熱用鶏肉46検体の計107検体を供試検体とした。MPN3本法を用いカンピロバクターの汚染菌数を推定定量した。

#### 2) 認定小規模処理場における調査

鹿児島県内の生食用食鳥肉を解体加工する認定小規模食鳥処理場1施設の協力を得て、5回の採材により計30羽の検体を得た。検体構成は、生鳥の直腸スワブ、並びに脱羽後、チラー後、焼烙後のと体表面25cm<sup>2</sup>(5cm×5cm)の拭取り検体であった。直腸スワブは、カンピロバクター定性試験に供した。また、と体表面ふき取り検体はMPN3本法によるカンピロバクター定量試験に供した。種の同定にはPCR法を用いた。また、一般細菌数、*E. coli*数および大腸菌群数を迅速簡便試験法により求めた。

#### 3) 大規模食鳥処理場で解体後に加工された鶏肉の調査

鹿児島県内の生食用食鳥肉を解体加工する大規模食鳥処理場1施設にて、解体後速やかに加工場へ搬入され、生食用として加工された食鳥肉(もも肉、むね肉)からのカンピロバクター定量試験を行った。

## C. 研究成果

### 1. 農場におけるカンピロバクターのリスク管理に関する研究

#### 1) 陽性・陰性農場の識別

計7農場由来の出荷時齢鶏盲腸便計60検体をカンピロバクター定性試験に供した結果、C・F・G農場由来検体は全て陰性であったが、A・B・D・E農場由来検体は、それぞれ11検体(55%;有薬群、3検体(陽性率30%);無薬群、8検体(80%))、10検体(100%)、6検体(60%)、8検体(80%)が陽性を示した。また、分離株には何れも *C. jejuni* であった。供試検体全体の陽性率は、58.3%(陽性検体35/60検体)であり、陽性・陰性農場(鶏舎)は4農場及び3農場であった。

#### 2) 農場内分布株の同一性に関する検討

A・B農場由来株の遺伝子型別を行った結果、A農場では複数の遺伝子型株が分布していたが(ST-5255, ST-2274)、B農場では同一遺伝子型(ST-2274)株のみが認められた。

### 3) 農場別出荷時齢鶏盲腸便の構成菌叢比較解析

出荷時の鶏盲腸便検体の構成菌叢に関する知見を得るため、C・F 農場由来検体より、各 3 検体を無作為に抽出し、16S rRNA pyrosequencing 解析に供した。カンピロバクター分離陰性となった C・F 農場由来検体と、同陽性を示した D・E 農場間にて構成比率に有意差を認める菌属を探索したところ、*Bacteroides* 属が両群間で有意差を示し、カンピロバクター分離培養成績と一定の相関性を示すことが明らかとなった。

### 4) カンピロバクター陰性農場 (C 農場) における鶏盲腸便構成菌叢の経時挙動

カンピロバクター陰性の C 農場の特定鶏舎で飼養された鶏について、18 日齢、28 日齢、32 日齢および 46 日齢時に盲腸便を採材し、分離培養及び菌叢解析を行った。最も優勢な菌叢の一つには *Bacteroides* 属が挙げられた他、*Sporobacter* 属は日齢に応じて構成比率を増加させた。対して、*Flavonifractor* 属、*Oscillibacter* 属、*Escherichia* 属等の構成比率は経時的に減少した。以上より、カンピロバクター陰性を示した C 農場の鶏群盲腸には、*Bacteroides* 属が優勢菌叢として存在することが明らかとなった。

### 5) カンピロバクターに対する鶏盲腸便由来 *B. fragilis* 株の静菌効果

カンピロバクター陰性の C 農場由来鶏盲腸便検体より、*B. fragilis* 株を分離し、BHIS プロスで嫌気培養後、*C. jejuni* NCTC 11168 株と共培養を行った。結果として、菌株及び大気条件に因らず、*B. fragilis* は何れも試験管内で *C. jejuni* の生存・増殖を経時的に減少させた。

異なるタンパク濃度の *B. fragilis* 破砕抽出物を *C. jejuni* NCTC11168 培養液中に添加し、生存増殖性を経時的に観察した。結果として、本抽出物は濃度依存的に *C. jejuni* の生存増殖を低減させた。Proteinase K 処理により本抽出物の上記作用は低減した。

### 6) *B. fragilis* 不活化抽出物投与の *C. jejuni* の生体内挙動に及ぼす影響

A・B 農場で、*B. fragilis* 不活化抽出物投与群及び非投与群を設定し、盲腸内容物 1g 中のカンピロバクター菌数を求めたところ、出荷時齢の同菌数は A 農場では非投与群が平均  $1.46 \times 10^9$  CFU/g、投与群が平均  $1.16 \times 10^7$  CFU/g となり、約 2 対数個以上の減少が認められた。また、B 農場では非投与群が平均  $1.15 \times 10^6$  CFU/g、投与群は平均  $8.40 \times 10^3$  CFU/g と A 農場と同様に 2 対数個/g 以上の菌数低減を示した。

## 2. 食鳥処理場におけるカンピロバクターのリスク管理に関する研究

1) 内臓摘出処理機器メーカーへの聞き取り調査等食鳥検査開始から 25 年以上すぎた今日、多くの処理機器が更新している。以前は、1 社単独の処理機器メーカー製であったものに異なるメーカーの機器が処理工程ごとに設置されることが多くなった。今日の処理技術の向上はめざましく、作業の効率化と衛生対策が施されていた。内臓摘出機においては内臓摘出時の腸の破損によると体への腸内容物の汚染も極めて少なくなるような技術が導入されていた。処理される鶏の大きさが均一であれば、内臓摘出時の腸の破損が無い処理も可能であった。

フィリピンは国際獣疫事務局 (OIE) より高病原性鳥インフルエンザや口蹄疫の発生の無い国として認められているため、鶏肉や豚肉は輸出することができる。訪問したフィリピン・ルソン島の食鳥処理場は日本では導入の無い BAYLE 社 (フランス) 製 1 社単独の処理機器であった。海外輸出が可能な食鳥処理場でありフィリピンの食肉検査センターの食鳥検査および HACCP が導入されていた。

2) エアーチラー設置食鳥処理場の訪問・聞き取り平成 4 年の食鳥検査導入にあわせて建て替え時にエアーチラーを設置した施設の衛生状況を確認した。中抜きと体を手作業で 60ppm 以上の塩素消毒水槽に一度浸し、それを懸垂フックに懸垂し約 0 の冷蔵庫内で約 90 分間維持していた。特徴は一羽一羽を個々に空気で冷却することにより、鶏肉が水を吸収しないため、ドリップが少ないことである。

同施設では内臓摘出による腸管損傷防止 ,エアーチラー投入前の塩素水による消毒 ,エアーチラー等によるカンピロバクター汚染の少ない鶏肉の生産を試みている .カンピロバクター汚染軽減にも努力しているが ,加熱用鶏肉の製造加工を行っているとの認識であった .

### 3 )外剥方式の食鳥処理場製品と一般市販されている製品の比較

#### 一般生菌数

ムネ:外剥方式の食鳥処理場製品からは2検体中2検体検出され,1gあたりの平均の対数値±標準偏差は $4.19 \pm 0.15$ であった.スーパーマーケット等で市販されている(以下「市販」)製品からは10検体中10検体検出され,1gあたりの平均の対数値±標準偏差は $4.73 \pm 0.49$ であった.t検定の結果,危険率2%未満で有意差があった.

モモ:処理場製品からは2検体中2検体検出され,1gあたりの平均の対数値±標準偏差は $4.37 \pm 0.25$ であった.市販製品からは10検体中10検体検出され,1gあたりの平均の対数値±標準偏差は $4.83 \pm 0.52$ であった.

ササミ:処理場製品からは2検体中2検体検出され,1gあたりの平均の対数値±標準偏差は $3.01 \pm 0.09$ であった.市販製品からは10検体中10検体検出され,1gあたりの平均の対数値±標準偏差は $4.97 \pm 0.88$ であった.t検定の結果,危険率1%未満で有意差があった.

#### 大腸菌群数

ムネ:外剥方式の処理場製品からは2検体中2検体検出され,1gあたりの平均の対数値±標準偏差は $3.58 \pm 0.22$ であった.市販製品からは10検体中10検体検出され,1gあたりの平均の対数値±標準偏差は $3.24 \pm 0.69$ であった.

モモ:処理場製品からは2検体中2検体検出され,1gあたりの平均の対数値±標準偏差は $4.00 \pm 0.54$ であった.市販製品からは10検体中10検体検出され,1gあたりの平均の対数値±標準偏差は $3.35 \pm 0.85$ であった.

ササミ:処理場製品からは2検体ともに未検出で

あった.市販製品からは10検体中10検体検出され,1gあたりの平均の対数値±標準偏差は $4.08 \pm 1.24$ であった.

#### 大腸菌数

ムネ:外剥方式の処理場製品からは2検体中1検体検出され,1gあたりの対数値は2.30であった.ムネの市販製品からは10検体中5検体検出され,1gあたりの平均の対数値±標準偏差は $2.56 \pm 0.75$ であった.

モモ:処理場製品からは2検体中1検体検出され,1gあたりの対数値は2.77であった.モモの市販製品からは10検体中4検体検出され,1gあたりの平均の対数値±標準偏差は $3.03 \pm 0.76$ であった.ササミ:処理場製品からは2検体ともに未検出であった.ササミの市販製品からは10検体中5検体検出され,1gあたりの平均の対数値±標準偏差は $2.43 \pm 0.56$ であった.

#### カンピロバクター

ムネ:外剥方式の処理場製品からは2検体ともに未検出であった.市販製品からは10検体中5検体検出され,100gあたりの平均の対数値±標準偏差は $2.78 \pm 1.16$ であった.

モモ:処理場製品からは2検体中2検体検出され,100gあたりの平均の対数値±標準偏差は $2.50 \pm 0.19$ であった.モモの市販製品からは10検体中7検体検出され,100gあたりの平均の対数値±標準偏差は $3.40 \pm 0.52$ であった.t検定の結果,危険率3%未満で有意差があった.

ササミ:処理場製品からは2検体ともに未検出であった.ササミの市販製品からは10検体中5検体検出され,100gあたりの平均の対数値±標準偏差は $2.02 \pm 0.39$ であった.

#### サルモネラ

ムネ:外剥方式の処理場製品は2検体とも陰性であった.市販製品からは10検体中4検体検出され,100gあたりの平均の対数値±標準偏差は $1.89 \pm 0.66$ であった.

モモ:処理場製品からは2検体ともに未検出であった.モモの市販製品からは10検体中2検体検出

され、100g あたりの平均の対数値±標準偏差は  $1.71 \pm 0.22$  であった。

ササミ：処理場製品（2 検体）、市販製品（10 検体）ともに未検出であった。

#### 4) 食鳥処理場に搬入される鶏の盲腸中のカンピロバクター・サルモネラの検出状況

6つの搬入口ット(A~F)の盲腸内容の30 検体を検査したところ検査した全てのロットからカンピロバクターが検出された。ロットA, C, Fは5 検体中5 検体から、ロットBとEは5 検体中4 検体から、ロットDは5 検体中1 検体からカンピロバクターが検出された。いっぽう、サルモネラは全ロットから検出することは無かった。

#### 5) 処理ロットにおける各処理工程ごとの腸内容物汚染や腸の破損の発生率と細菌検出状況

処理ロットによって腸内容物の汚染や腸の破損の発生率は大きく異なっていた。「肛門抜き」の工程では最大 17%から最少 1%の腸内容物の汚染、「肛門前腹部の切開」における腸の破損は最大 30%から最少 1%の腸内容物の汚染、「内臓摘出後」と体への腸内容物の汚染では最大 44%から最少 0.5%の腸内容物の汚染が認められた。また、これらの汚染や破損はすべて同じ傾向があり、ロットAが一番多く、ロットFが一番少なかった。

チラー前の中抜きと体のモモ部からはロットBは5 検体中4 検体から、ロットCは5 検体中3 検体から、ロットAとEは5 検体中1 検体からカンピロバクターが検出された。ロットDとFからはカンピロバクターは検出できなかった。サルモネラは全てのロットから検出しなかった。

内臓摘出後のと体の腸内容物汚染の割合別(10%を超えるロットと10%以下のロット)にみたふき取りによる大腸菌、大腸菌群、一般生菌数については、10%を超えるロットの平均大腸菌数、大腸菌群数、一般生菌数は 7.6 個/ml, 8.1 個/ml, 392.2 個/ml, 10%以下のロットの平均大腸菌数、大腸菌群数、一般生菌数は 1.6 個/ml, 1.9 個/ml, 118.3 個/ml であった。t 検定により有意差( $p < 0.05$ )は認められないものの 10%を超えるロット

に比べて、10%以下のロットの大腸菌、大腸菌群、一般生菌数は低値を示した。

#### 6) 酸化剤系殺菌剤の添加による中抜きと鳥のカンピロバクター汚染低減効果

添加回収試験を通じた中抜きと鳥におけるカンピロバクター汚染に対する各種殺菌剤の低減効果は、100ppm の次亜塩素酸ナトリウム浸漬で、2.08 logCFU/羽の減少、水道水処理では 1.03 logCFU/羽の減少であったのに対し、50ppm 及び 100ppm の過酢酸製剤はそれぞれ 2.69 logCFU/羽及び 3.29 logCFU/羽の減少を示した。50ppm 過酢酸製剤処理による中抜きと鳥検体の外観変化は認められなかった。過酢酸製剤処理液の pH 範囲は、25ppm で pH4.6、50ppm で pH4.3、100ppm で pH4.0、200ppm で pH3.8 であった。

一方、亜塩素酸ナトリウム溶液(pH2.5; 10, 50, 150ppm)を用いた30 分間の浸漬により、全ての濃度で被験菌株は回収されず、4.75logCFU/羽以上の低減効果があることが示された。濃度非依存性の汚染低減効果から、次に酸性化によるものと想定し、複数段階の pH から成る PBS 溶液中での本菌生存性を評価したところ、pH4.0 以下の条件で有意な減少を示すことが明らかとなった。

### 3. 加工・流通段階におけるカンピロバクターのリスク管理に関する研究

#### 1) 急速液体冷凍処理及び緩慢冷凍処理に伴う鶏モモ肉中カンピロバクターの生存挙動

急速液体冷凍処理および緩慢冷凍処理を通じた、鶏モモ肉中におけるカンピロバクター・ジェジュニ計5 株の生存挙動を添加回収試験により検討した。7.25 7.54 対数個/g の各菌株を接種した、急速液体冷凍処理群(-35 )における経時的成績として、3, 6, 24, 48 時間処理後の生存菌数平均値は、それぞれ 5.05-6.43 対数個/g、5.05-6.43 対数個/g、3.74-6.09 対数個/g、3.73-6.06 対数個/g となり、それぞれの時間軸における検体 1g あたりの菌数低減値は、1.10-2.19 対数個、1.46-2.70 対数個、1.01-3.51 対数個、1.47-3.52 対数個であ

った。7.30-7.70 対数個/g の各菌株を接種した、緩慢冷凍処理群 ( - 20 ) での挙動を同様に観察したところ、3, 6, 24, 48 時間処理後の生存菌数平均値は、それぞれ 6.27-7.16 対数個/g、4.87-6.80 対数個/g、3.93-6.49 対数個/g、4.08-5.99 対数個/g となり、各時間軸における検体 1 g あたりの菌数低減値は、0.41-1.20 対数個、0.88-2.60 対数個、1.08-3.54 対数個、1.69-3.38 対数個となった。3 時間処理後の両群間での生存菌数の比較により、急速液体冷凍処理群は緩慢冷凍処理群に比べて、H0101 株を除き、何れも速やかなカンピロバクター菌数の減少を示した ( $p = 0.0008-0.020$ )。2) 急速液体冷凍処理による自然汚染丸鶏でのカンピロバクター汚染菌数の低減効果

急速液体冷凍処理による効果については迅速な汚染低減効果が部分肉を用いて検証されたが、丸鶏における汚染低減への適用性について検討する目的で、1 羽あたり平均 2,094 MPN 値の本菌自然汚染を顕す丸鶏を用いて、3 時間の急速液体冷凍処理を行った場合の汚染低減効果を評価した。結果として、同処理を行った丸鶏検体での平均汚染菌数は 404 MPN 値へと減少を示した ( $p = 0.13$ )。

3) クラストフリージング処理による、食鳥部分肉中のカンピロバクター自然汚染低減効果の検証

食鳥解体加工直後に、クラストフリージング処理により、表面のみを急速冷凍、またはチルド処理された (チルド処理群) 同一ロットの食鳥部分肉について、カンピロバクター及び衛生指標菌の定量試験を行った。カンピロバクター検出菌数は、チルド処理群で、ムネ及びササミ検体ではそれぞれ 0.68 MPN 値及び 0.27 MPN 値、他部位 (モモ, レバー, 砂肝) は 11.00 MPN 値であった。急速冷凍処理群の同菌数は、ムネ・砂肝・ササミでそれぞれ 0.11MPN 値、0.16 MPN 値、0.19MPN 値であり、モモ及びレバーの菌数は 11MPN 値、3.10 MPN 値であった。一般生菌数は、チルド処理群が 3.66-4.78 対数個/g (平均値 4.21 対数個/g) であったのに対し、急速冷凍処理群では 2.76-4.89 対数個/g (平均値 3.55 対数個/g) であった。大腸菌

群数は、チルド処理群が 2.80-4.51 対数個/g (平均値 3.79 対数個/g)、クラストフリージング処理群では 1.92-4.43 対数個/g (平均値 3.14 対数個/g)、腸内細菌科菌群数は、チルド処理群が 2.34-4.36 対数個/g (平均値 3.59 対数個/g)、クラストフリージング処理群が 2.08-4.30 対数個/g (平均値 3.01 対数個/g) であった。指標菌の別では、腸内細菌科菌群数は他の糞便汚染指標菌に比べ、冷凍処理による低減効果が低い傾向にあった。

4) 冷凍処理を通じた鶏肉の品質への影響

平均 400 g 重量の鶏ムネ肉検体について急速冷凍処理群のドリップ率は 0.96% となり、冷蔵処理群と同等の数値を示した (0.93%)。一方で、緩慢冷凍処理群のドリップ率は 2.97% と他二群に比べて有意に高値を示した。破断応力及び遠心遊離水分率については、各群間で統計学的に有意差は認められなかった。

5) カンピロバクターの鶏肉内部浸潤性

鶏モモ肉及びムネ肉検体表面にカンピロバクターを接種し、4 にて 1 時間保存後、検体内部の接種菌局在を定量的に検討した。鶏ムネ肉検体では、表面より 10mm 下部まで接種菌が概ね検出され、当該部分 1 g における平均検出菌数は、2.90 対数 CFU であった。一方、鶏モモ肉内部では全てで表面より 15mm 下部まで認められ、表面下 10-15mm 地点における平均検出菌数は、2.29 対数 CFU/g となり、ムネ肉検体に比べ、相対的に内部からの検出が高い傾向にあった。

6) 温浴加熱を通じた、鶏肉中カンピロバクターの汚染低減効果

カンピロバクターを平均 400 g 重量の鶏ムネ肉およびモモ肉検体表面に実験的に接種後、4 で 1 時間保存を行い、85 温浴中で加熱処理を行なった。結果として、ムネ肉検体 1 g あたりの検出菌数は、加熱 0 分後で 4.19 対数 CFU、加熱 5 分後には 3.60 対数 CFU、10 分後には 2.68 対数 CFU へと約 1.51 対数 CFU の減少を示した。一方、鶏モモ肉検体では加熱 10 分後においても 3.42 対数 CFU と約 0.74 対数 CFU の低減に留まった。

7) 温浴加熱を通じた、加熱用鶏肉におけるカンピロバクターの内部生残性

上項の方法で加熱した場合の加熱用鶏肉検体内における検出状況として、鶏ムネ肉では、加熱処理を経ずに行った内部浸潤性試験とほぼ同様、表面より10mm下部地点まで接種菌が検出された。一方、鶏モモ肉検体では、表面下20mm地点からも検出され、加熱の有無に因らず、供試両部位の検体では内部浸潤性に差異を認めた。

8) 市販冷凍鶏刺し製品におけるカンピロバクターの検出状況

供試した鶏刺し製品計72検体は全てカンピロバクターが不検出であった。

#### 4. 流通・消費段階におけるカンピロバクターのリスク管理に関する研究

1) 生食用鶏肉におけるカンピロバクター汚染状況  
鹿児島県内小売店で購入した生食用鶏肉61検体のうち、菌数が0~10MPN/50gだったものは53検体、10~10<sup>2</sup>MPN/50gだったものは5検体、10<sup>2</sup>MPN/50gを上回ったものは3検体であった。加熱用鶏肉46検体のうち、菌数が0~10MPN/50gだったものは20検体、10~10<sup>2</sup>MPN/50gだったものは12検体、10<sup>2</sup>MPN/50gを上回ったものは14検体であった。以上より、加熱用鶏肉に比べ生食用鶏肉のカンピロバクター汚染度は著しく低いことが明らかとなった。加工事業者別に比較した結果、10<sup>2</sup>MPN/50gを上回る汚染のあった3検体は製造量の少ない小規模施設で製造されたものであった。

2) 小規模処理場の工程別汚染実態

脱羽後と体からは最大100 cfu/25cm<sup>2</sup>の *E. coli* が検出された。しかしながら、そのと体を含むすべての検体でチラー後には7 cfu/25cm<sup>2</sup>以下まで減少し、加熱(焼烙)後には全く検出されなかった。大腸菌群も同様の挙動を示した。一般生菌数は、脱羽後に最大で2.1×10<sup>2</sup>cfu/25cm<sup>2</sup>が検出されたが、チラー後迄の間に、菌数上昇は認められなかった。うち、6検体は加熱(焼烙)後に一般生菌は検出限

界以下となった。

直腸スワブ検体を用いた評価により、カンピロバクターは2鶏群12羽全てで陽性となった。と体ふき取り検体のうち、脱羽後12検体中5検体は陽性となったが、チラー後及び焼烙後には全てが検出限界以下であった。

上記とは別に、次亜塩素酸ナトリウムを終濃度100ppmとしてチラー水を調整した直後に処理を行った18検体のうち、13検体は脱羽後に *E. coli* 数が10 cfu/25cm<sup>2</sup>を下回った。チラー後では1検体のみ41 cfu/25cm<sup>2</sup>となったが、これを除く17検体は5 cfu/25cm<sup>2</sup>以下に抑えられており、焼烙後には全検体で *E. coli* は検出限界以下であった。

3. 大規模食鳥処理場を通じて加工される生食用鶏肉におけるカンピロバクター汚染菌数の評価

大腸菌群数、一般生菌数、カンピロバクター数の各工程で推移を検討した。もも肉原料からは0 cfu/g~4.1×10<sup>2</sup> cfu/gの *E. coli* 及び9.0×10<sup>1</sup> cfu/g~6.8×10<sup>2</sup> cfu/gの大腸菌群数が検出された。加熱後には1検体で *E. coli* 及び大腸菌群が検出されたが、他の検体は全て陰性であった。スライス後の検体及び製品は何れも *E. coli* が検出限界以下であった。大腸菌群については、スライス後2検体から検出されたが、他の4検体からは検出されなかった。製品では最大7.0×10<sup>1</sup> cfu/gの大腸菌群が検出されたが、製品の半数は検出限界以下であった。

カンピロバクターについては、もも肉原料の1検体で4.6×10<sup>2</sup> MPN/10gが検出されたが、概ね低値であった。加熱後以降の検体からはカンピロバクターは検出されなかった。

#### D. 考察

1. 農場におけるカンピロバクターのリスク管理に関する研究

カンピロバクターが顕す鶏腸管定着は、概ね3-4週齢以降に生じるとされる。同時期は、いわゆる換羽期に相当するため、免疫機構の大幅な変動が予

想される他、菌叢にも多大な影響が生じると目される。本研究では、*Bacteroides* 属由来生理活性物質がカンピロバクター定着に示し得る生物学的役割を検討した。対象農場において、投与群は非投与群に比べて有意な菌数低減を示し、今後の応用性が期待された。一方、その投与方法の至適化は実用化を検討する上では必要不可欠な課題と考えられる。

## 2. 食鳥処理場におけるカンピロバクターのリスク管理に関する研究

### 1) 内臓摘出処理機器メーカーへの聞き取り調査

我が国の多くの食鳥処理場に導入されている機器は世界的に展開している大規模な処理機器メーカー製であること、一つの食鳥処理場に複数のメーカーの機器が導入されていることもあること、機器の技術はめざましく、食鳥検査制度を導入した平成4年当時より衛生的に良くなっていることが判明した。食鳥処理の内臓摘出を調整するオペレーターの技量によって、処理されると体の衛生度が変わると思われた。

鶏肉を輸出することができるフィリピンでは輸出認定処理場には HACCP システムが導入されており、国際基準の管理が実施され清潔な施設であった。

### 2) エアーチラー設置食鳥処理場の聞き取り調査

多くの国で食鳥処理場でのカンピロバクター汚染の軽減対策を模索し評価を行っている。いずれも条件が異なり比較することが容易ではない。Demirok ら<sup>1)</sup>は塩素濃度が 5ppm に維持された 0.5 1.1 の冷凍チラー水で処理した場合、と体のカンピロバクター数は約 1/1000 に減少、0 のエアーチラー室内に 120 分保持した場合、と体のカンピロバクター数は約 1/10 に減少すると報告している。今回訪問したエアーチラーシステムは、60ppm 以上(80-100ppm)の塩素水槽に一度浸した後約 0 のエアーチラー室内で 60 分以上、中抜きと体をインラインで保持するものであることから、カンピロバクター汚染の軽減に寄与するものと思われた。

引用文献

### 3) 外剥方式の食鳥処理場製品と一般市販されている製品の比較

外剥方式は一般生菌数ではムネとササミが市販鶏肉に比べて少ない傾向があること、外剥方式のモモ肉でも、市販のモモ肉でも約 7 割という高率のカンピロバクターが検出されていること、カンピロバクター数では外剥方式のモモの方が、市販のモモよりも少ない傾向があることが判明した。製品へのカンピロバクター汚染は保菌鶏農場のロットの処理の有無によって左右されるが、外剥処理場製品、市販製品ともに高率にカンピロバクターが分離されているが、カンピロバクター菌数は外剥処理場の製品のほうが、市販製品よりも少ない状況であった。

### 4) 食鳥処理場に搬入される鶏の盲腸中のカンピロバクター・サルモネラの検出状況

対象ロットはカンピロバクター陽性、サルモネラ陰性であった。養鶏場でカンピロバクターは高度に汚染、サルモネラの汚染は減少しているものと推測された。1 ロットにつき 5 検体を検査した本調査においても、5 検体全てから検出されるわけではなく、ロット内で陽性・陰性個体が混在していることが再確認された。

### 5) 処理ロットにおける各処理工程ごとの腸内容物汚染や腸の破損の発生率と細菌検出状況

内臓摘出装置の調整や定期的なメンテナンスによって食鳥の処理工程の腸内容物の汚染や腸の破損の発生率は大きく変化することが判明した。また、「肛門抜き」の工程で腸内容物の汚染が多いものは、その後の「肛門前腹部の切開」における腸の破損、「内臓摘出後」と体への腸内容物の汚染においても発生率は高いことが判明した。

ロット D と F のモモ肉のふき取りからはカンピロバクターは検出できなかった。ロット D は内臓摘出後のと体の腸内容物汚染 10%、盲腸内容物は 5 検体 1 検体からカンピロバクターが検出、ロット F は内臓摘出後のと体の腸内容物汚染 0.5%、盲腸内容物は 5 検体 5 検体からカンピロバクターが検出されている。これらのことから、腸内容物汚染率または盲腸内容物の検出率が低ければ、モモ肉のカンピ

ロバクターの検出は減少する可能性があると思われた。

内臓摘出後のと体の腸内容物汚染率が 10%を超えるロットに比べて 10%以下のロットの大腸菌、大腸菌群、一般生菌数は、t 検定により有意差( $p < 0.05$ )は認められないものの低値を示した。と体の腸内容物汚染率を減少させることは、と体表面の大腸菌、大腸菌群、一般生菌数を減少させる可能性が高いことが示唆された。

日々の内臓摘出装置の調整し、定期的なメンテナンスにより、内臓摘出工程における腸内容物の汚染を減少させ 0%に近づけることは、と体表面へのカンピロバクターの付着の減少、大腸菌、大腸菌群、一般生菌数を減少させ、衛生的な鶏肉を生産できる可能性があると思われた。

#### 6) 酸化剤系殺菌剤添加による中抜きと鳥のカンピロバクター汚染低減効果に関する研究

過酢酸製剤及び亜塩素酸ナトリウム溶液による浸漬は、中抜きと鳥におけるカンピロバクター汚染菌数の低減に有効であることを示す成績が得られた。その低減効果の大きさは次亜塩素酸ナトリウム溶液等に比べて大きかったことから、中抜き後のチラー槽へ添加する殺菌剤については各施設の状況に応じて検討する余地があると思われる。

また、両薬剤は共に酸化剤としての性質を有しており、本研究の成績は、pH を酸性側 (pH4.0 未満) に傾けることのみによってもカンピロバクター汚染菌数を一定の割合で低減させる効果が得られることを示唆していると思われる。過酢酸製剤には酢酸等が含まれているほか、亜塩素酸ナトリウム溶液の調整にはクエン酸等が用いられていることから、こうした有機酸の応用はより実用性に富むものとなるかもしれない。

一方、本研究で用いた両薬剤は共に複合的な殺菌効果を示し得る構成となっている。後者は混合時に有毒ガスを生じる可能性が指摘されており、食鳥処理施設等での使用を考える上では、自動混合注入装置の導入が最適と思われるが、ペットボトル等を用いた手動の混合法も有効と思われる。

### 3. 加工・流通段階におけるカンピロバクターのリスク管理に関する研究

本研究では、急速冷凍・緩慢冷凍処理に伴う鶏むね肉の物性変化に関する比較を行った。急速冷凍処理によるカンピロバクターの汚染低減効果は緩慢冷凍と同様であったものの、物性変化として急速冷凍は緩慢冷凍に比べ、冷蔵処理と同等のドリップ発生を抑える利点が示されたことから、今後の利活用が期待される。カンピロバクターは大腸菌やサルモネラ属菌等に比べると、冷凍処理に極めて弱く、汚染低減効果は明確に表れる。一方、菌株間では抵抗性に差異も認められているため、今後はこうした形質の差異を裏付ける分子基盤の特定を行い、その基盤の破綻を助長する手法の開発等へつなげることができれば、より大きな低減効果を有する手法の策定へとつながることも期待されよう。また、加熱によらず、鶏部分肉では内部へのカンピロバクター浸潤が認められたことは、加熱用鶏肉に対する調理段階での表面加熱は制御手法として成立し難いことを示唆しており、中心部までの十分な加熱が必要であることを示す根拠となるものと考えられる。

### 4. 流通・消費段階におけるカンピロバクターのリスク管理に関する研究

生食用及び加熱用鶏肉製品のカンピロバクター汚染状況を調査した結果、生食用鳥肉は、その多くがカンピロバクター陰性であった。高度汚染サンプルを除く生食用鶏肉製品中のカンピロバクター汚染菌数は 29MPN / 50g 未満であった。これは、生食用鶏肉が加熱用とは異なるラインで処理されているためと思われる。しかしながら、生食用鶏肉のうち、240 MPN / 50g を超えるカンピロバクター汚染を示す 3 検体については、感染危害も想定される。比較的高度に汚染されたこれらは 2 つの小規模製造業者で処理されたものであり、カンピロバクター汚染リスクは製造者の加工方法に依存する可能性があると考えられる。

認定小規模食鳥処理場における調査の結果、加熱

後のすべての検体でカンピロバクター陰性であったほか、糞便汚染指標とされる *E. coli* が、30羽全てで加熱後に検出されなかったことから、本研究で調査を行った加工業者で施される表面焼烙工程が糞便汚染除去に効果的に機能した結果と推察された。

大規模食鳥処理場を通じて加工される生食用鶏肉での調査においても、もも肉、むね肉ともに加熱後の検体からカンピロバクターは検出されなかった。本研究では肉の加熱工程を通じた温度挙動については検討していないが、もも肉焼烙の工程で加工場が定める目標値は表面 70 以上となっていた。

## E. 結論

### 1. 農場におけるカンピロバクターのリスク管理に関する研究

*Bacteroides* 不活化抽出物投与は、鶏腸管内におけるカンピロバクター菌数の有意な低減効果が期待される結果となった。今後、適用条件の最適化に加え、低減効果を示し得る物質の特定とその分子基盤の解明は実用化を考慮した場合には必要な課題と考えられる。

### 2. 食鳥処理場におけるカンピロバクターの制御に関する研究

食鳥処理場にはカンピロバクターを保菌しているロットが高頻度に搬入される。本研究の成績は、内臓摘出装置の適切な調整管理が腸内容物汚染低減を通じ、可食部への本菌汚染の低減につながることを示唆している。また、過酢酸製剤及び亜塩素酸ナトリウムの適用は、現在汎用される薬剤に比べより高い汚染低減効果が得られる可能性が示唆された。また、チラー槽の pH 調整も重要な影響因子であることが示された。その適用箇所については、個々の施設形態に応じて考慮する必要があり、その検証成績の集積が求められよう。

### 3. 加工・流通段階におけるカンピロバクターの制御に関する研究

急速・緩慢の別を問わず、冷凍処理は鶏肉中のカンピロバクター汚染を少なくとも 1 対数個程度低

減する効果があることが示された。また、急速冷凍処理は冷蔵処理と同等のドリップ率を示し、その応用は鶏肉中でのカンピロバクター汚染低減に資する一手法と考えられた。また、市販加熱用鶏肉表面から内部へのカンピロバクター浸潤は容易に起こりうることから、加熱用鶏肉の表面加熱調理のみで提供することは感染リスクを回避し得ないと考えられる。

### 4. 流通・消費段階におけるカンピロバクターのリスク管理に関する研究

解体処理直後のと鳥表面の加熱工程の適用はカンピロバクター汚染及び糞便汚染指標菌の低減に寄与することが示された。また、市販流通品の汚染実態としても生食用鶏肉製品は加熱用製品に比べ、低い汚染菌数分布を示したこと、食鳥処理施設における工程別菌数挙動に関する知見はこれを支持するものと考えられる。解体処理から加工流通を含む一体的かつ高度な衛生管理の確保が生食用鶏肉の安全な提供に求められよう。

## F. 健康危機情報

該当なし

## G. 研究発表

### 1. 著書

- 1) 朝倉 宏.(2017)カンピロバクター食中毒. 公衆衛生 (医学書院). 81(6): 470-475.
- 2) 朝倉 宏.(2016)食鳥肉におけるカンピロバクター汚染のリスク管理に関する研究. 食と健康. 8月号. pp.18-24.朝倉 宏. カンピロバクター食中毒. 公衆衛生.

### 2. 論文

- 1) 朝倉宏、山本詩織、橘理人、吉村昌徳、山本茂貴、五十君静信.(2015) 冷凍処理による鶏肉中でのカンピロバクター汚染低減効果に関する検討. 日本食品微生物学会雑誌. 32(3): 159-166.
- 2) Asakura H, Kawamoto K, Murakami S,

- Tachibana M, Kurazono H, Makino S, Yamamoto S, Igimi S. (2016) Ex vivo proteomics of *Campylobacter jejuni* 81-176 reveal that FabG affects fatty acid composition to alter bacterial growth fitness in the chicken gut. *Res Microbiol.* 167: 63-71.
- 3) 森田幸雄、小林光土。(2016) わが国の食肉・食鳥肉の衛生状況。日本獣医師会雑誌。69: 695-701.
- 4) 藤田雅弘、遠藤健太郎、塩野雅孝、森田幸雄、朝倉宏、山本茂貴。(2016) 食鳥処理場におけるカンピロバクター交差汚染状況。日本食品微生物学会雑誌。33(4): 182-186.
- 5) Ishihara K, Chuma T, Andoh M, Yamashita M, Asakura H, Yamamoto S. (2017) Effect of climatic elements on *Campylobacter* colonization in broiler flocks reared in southern Japan from 2008 to 2012. *Poultry Sci.* epub. pew354.
- 6) Asakura H, Takahashi N, Yamamoto S, Maruyama H. Draft genome sequence of *Campylobacter jejuni* CAM970 and *C. coli* CAM962, associated with a large outbreak of foodborne illness in Fukuoka, Japan, in 2016. *Genome Announc.* 5(24): e00508-17.
- 7) Asakura H, Yamamoto S, Momose Y, Kato H, Iwaki M, Shibayama K. Genome Sequence of *Clostridium botulinum* strain Adk2012 associated with a foodborne botulinum case in Tottori, Japan, in 2012. *Genome Announc.* 5(34): e00872-17.
- 8) 朝倉宏。(2017)ゲノムデータに基づく、カンピロバクターの蔓延要因と宿主・環境適応機構の探知。日本食品微生物学会雑誌。34(2): 103-105.
3. 学会発表
- 1) 朝倉宏、山本詩織、中山達哉、森田幸雄、中馬猛久。冷凍条件下における *Campylobacter jejuni* の遺伝子発現挙動。第91回日本細菌学会学術総会(福岡、2018年3月)
- 2) 中村寛海、朝倉宏、山本香織、梅田薫、小笠原準。飲食店の調理環境におけるカンピロバクター汚染状況。第91回日本細菌学会学術総会(福岡、2018年3月)
- 3) 豊島裕樹、渡邊真弘、山本詩織、朝倉宏。過酢酸製剤及び亜塩素酸ナトリウムによる、中抜きと鳥でのカンピロバクター汚染低減効果に関する検討。第44回日本防菌防黴学会年次大会(大阪、2017年9月)
- 4) 朝倉宏。食鳥処理場におけるカンピロバクター汚染低減対策について。平成29年度食肉衛生技術研修会。(東京、2018年1月)
- 5) 森田幸雄。一般社団法人岩手県獣医師会主催、第4回食鳥肉安全性確保研修会 大規模食鳥処理場における微生物制御(岩手、2017年9月)
- 6) 森田幸雄。日本成鶏処理流通協議会セミナー「カンピロバクター対策について」。(長野、2017年10月)
- 7) 中馬猛久ら。認定小規模食鳥処理場で加工される生食用鶏肉の処理工程におけるカンピロバクター汚染菌数の評価。第160回日本獣医学会(鹿児島、2017年9月)
- 8) 中馬猛久ら。認定小規模食鳥処理場の生食用鶏肉加工における焼烙のカンピロバクター汚染低減効果。第38回日本食品微生物学会(徳島、2017年10月)
- 9) 中馬猛久ら。大規模食鳥処理場を通じて加工される生食用鶏肉のカンピロバクター汚染菌数の評価。第66回九州地区日本獣医公衆衛生学会。(沖縄、2017年10月)
- 10) 中馬猛久ら。食鳥肉における微生物汚染低減策の有効性実証事業の方向性。平成29年度鹿児島県獣医公衆衛生講習会(鹿児島、2017年10月)

- 11) 中馬猛久ら．生食用食鳥肉加工工程における細菌汚染実態調査．第10回日本カンピロバクター研究会総会．(宮崎、2017年11月)
- 12) 朝倉宏、坂田淳子、田口眞澄、中村寛海、中山達哉、佐々木貴正、山本詩織、村上覚史．ヒト及び動物由来*Campylobacter coli*株の遺伝特性ならびに薬剤耐性．第10回日本カンピロバクター研究会総会．(宮崎、2017年11月)
- 13) 朝倉宏．ゲノムデータに基づく、カンピロバクターの蔓延要因と宿主・環境適応機構の探知．第37回日本食品微生物学会学術総会(東京、2017年9月)．
- 14) 中馬猛久．人・動物・環境の調和と共存：人獣共通感染症および食品由来感染症制御からのアプローチ．平成28年度空気調和・衛生工学会大会．(鹿児島市、2016年9月)
- 15) 中馬猛久．鹿児島県内で市販される生食用鶏肉のカンピロバクター汚染状況．第65回日本獣医公衆衛生学会(九州)．(北九州市、2016年9月)
- 16) 中馬猛久．生食用と加熱用鶏肉におけるカンピロバクター汚染菌数の評価．第9回日本カンピロバクター研究会総会．(東京、2016年11月)
- 17) 朝倉宏、山本詩織、小西良子、山本茂貴、五十君静信．*Campylobacter jejuni*が顕す、冷凍抵抗性関連因子の探索．第37回日本食品微生物学会学術総会(東京、2016年9月)
- 18) 森田幸雄．全国食肉衛生検査所協議会特別講演 食鳥肉の衛生管理．(東京、2017年1月)
- 19) 朝倉宏．カンピロバクター・ジェジュニが顕す生存・生息のための環境応答．細菌学領域における基礎と臨床のクロストークセッション．第90回日本細菌学会学術総会シンポジウム(仙台市、2017年3月)
- 20) 朝倉宏、野田大樹、吉村昌徳、小西良子、山本茂貴、五十君静信．冷凍処理による鶏肉中でのカンピロバクター汚染低減効果に関する検討．第36回日本食品微生物学会学術総会(川崎市、2015年11月)．
- 21) 木村浩紀、蓮沼愛弓、山谷郁子、朝倉宏、村上覚史．鶏盲腸内での時系列的*Campylobacter jejuni*の定着動態と盲腸菌叢変動要因の探索に関する検討．第8回日本カンピロバクター研究会．(京都、2015年12月)
- 22) 中馬猛久．生食用と加熱用鶏肉におけるカンピロバクター汚染状況の比較．第8回日本カンピロバクター研究会(京都、2015年12月)

#### H. 知的財産権取得状況

該当なし



「食鳥肉におけるカンピロバクター汚染のリスク管理に関する研究」

総合分担研究報告書

農場段階におけるカンピロバクターのリスク管理に関する研究

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
研究分担者	山本茂貴	東海大学海洋学部食品科学専攻
研究協力者	茶園 明	NPO 法人日本食品安全検証機構
研究協力者	渡辺邦雄	NPO 法人日本食品安全検証機構
研究協力者	川本恵子	帯広畜産大学
研究協力者	倉園久生	帯広畜産大学
研究協力者	猪子理絵	北海道帯広食肉衛生検査所
研究協力者	村上覚史	東京農業大学
研究協力者	橋 理人	国立医薬品食品衛生研究所食品衛生管理部
研究協力者	五十君静信	国立医薬品食品衛生研究所食品衛生管理部
研究協力者	山本詩織	国立医薬品食品衛生研究所食品衛生管理部

研究要旨：農場段階におけるカンピロバクターのリスク管理に関する研究として、国内 7 養鶏農場より出荷されるブロイラー鶏盲腸便を対象に、カンピロバクター検出試験を行い、本菌陽性・陰性農場の識別を行った。その上で検体構成菌叢を農場別に比較したところ、*Bacteroides* 属菌の構成比率と、カンピロバクター保菌との間に関連性を見出した。更に、本菌陰性農場 1 農場で飼養時期別に盲腸便を採材し、鶏の発育に伴う盲腸内菌叢変動を追跡し、*Bacteroides* 属菌の優勢性を確認した。2 農場で *Bacteroides* 不活化抽出物投与群及び非投与群を経口投与した後の出荷時齢鶏生体盲腸内容物 1g 中のカンピロバクター菌数は、A 農場では  $1.16 \times 10^7$  CFU となり、非投与群 ( $1.46 \times 10^9$  CFU) に比べ、約 2 対数個以上の減少が認められた。同様の傾向は B 農場でも認められた。当該菌は温血動物の腸内環境の健全性を図る指標としても用いられていることから、本属菌の利用は、鶏腸内環境の健全性評価とカンピロバクターの低減を図る一手法として今後の応用性と低減効果を裏付ける分子基盤の解明が期待される。

A. 研究目的

鶏の生産段階におけるカンピロバクター汚染率は総じて高く、特に休薬期間を経た出荷時に急激な菌数の増加が生じるとされる。農場への導入時（幼雛期）には本菌が

陰性であるが、2-3週齢の間に本菌の定着を生じ、以後少なくとも9週間は定着し続けるとの報告もある。国内に流通する鶏肉の多くは50日齢程度のブロイラー鶏由来であり、本菌による汚染を一旦受けた農場で飼育された鶏群由来の鶏肉の多くは高率に本

菌汚染を受けている。また、本菌による鶏肉汚染は、食鳥処理工程での交叉汚染が主な要因と目されるが、そもそも生産段階における本菌制御が確立すれば、カンピロバクター食中毒の低減をはかるにあたって、より根源的な対策を立てることが可能となるため、農場段階における本菌制御策の構築は必要不可欠な課題の一つといえる。

鶏生体における本菌の汚染（定着）への対策としては、これまでも乳酸菌やバシラス属菌等、いわゆる生菌剤（プロバイオティックス）の投与により、一定の抑制効果を果たすことが報告されている。より近年では、こうしたプロバイオティックス効果を裏付ける要因として、乳酸菌の菌体表層タンパク分子あるいは有機酸代謝能といった分子や代謝機構が、カンピロバクターの鶏腸管定着抑制を支える分子基盤として明らかにされつつあるが、それらの多くは依然として不明である。養鶏場での本菌制御策は、現在も解決されていない世界的課題であるが、一般に知られる上述のプロバイオティックス細菌以外にも、近年ではカンピロバクターの鶏腸管定着に抑制作用を示す、種々の腸内菌叢の存在も見出されつつあり、生産段階での制御策の構築にあたって期待がもたれる研究分野の一つとなっている。

本分担研究では、出荷時齢のプロイラー鶏を対象として検討を行い、平成27年度から28年度にかけてはカンピロバクター保菌と関連性を示す盲腸構成菌叢を探索した上で、その効果を試験管内で評価した。平成29年度には、鶏盲腸便由来 *Bacteroides* 属不活化抽出物の投与によるカンピロバクター保菌数への影響を評価したので報告す

る。

## B. 研究方法

### 1) 検体

北海道・東北、関東及び九州地方にある養鶏場計7農場より、出荷時齢鶏盲腸便の採材に関する協力を得た。このうち、B農場では有薬飼料を給餌した鶏群と、無薬飼料給餌群の双方が同一農場内で飼育されていたことから、双方を採材対象とした。また、A農場は、特定の鶏舎を対象として、後期飼料切替2日後である18日齢、仕上飼料(抗生物質不含)切替3日後である28日齢、仕上飼料切替7日後である32日齢、出荷4日前である46日齢、出荷時(50日齢)を対象に各10検体の盲腸便を採材し、試験に供した。新鮮盲腸便をシードスワブを用いて採材し、速やかに冷蔵温度帯で輸送した。その後、速やかに1mLの滅菌リン酸緩衝液(PBS, pH7.4)に懸濁した。

### 2) 分離培養

上記シードスワブ懸濁液0.5mLを10mLのプレストン培地に加え、42℃にて48時間、微好気培養を行った。その後、同培養液を1白金耳分、mCCDA寒天培地に塗布し、42℃で48時間微好気培養を行った。培養後、各検体につき、代表的発育集落を5つ釣菌し、継代培養を行った後、生化学性状試験及びPCR法による菌種同定を行うことで、陽性・陰性の判定を行った。

### 3) DNA抽出

1.で調整した懸濁溶液残液より、Cica Genious Total DNA prep kitを用いて、DNA抽出を行った。また、分離株についても、同様にDNA抽出を行い、MLST解析に供した。

#### 4) MLST 解析

Campylobacter MLST database の記載方法に従い、計 7 遺伝子の部分配列を増幅した。ExoSAP-IT を用いた酵素処理後、各増幅産物にシーケンス用プライマーセットならびに BigDye Terminator を加え、ABI3730x を用いたサイクルシーケンス法により、対象増幅産物の塩基配列を決定した。得られた配列情報は、CLC MLST module を搭載した Main Workbench にて、アセンブル・アノテーションを行い、上記データベース上の登録情報との参照を通じて、各菌株の遺伝子型を決定した。

#### 5) 菌叢解析

盲腸便スワブ懸濁溶液より抽出した DNA を鋳型として、16SrRNA799f-1179r オリゴヌクレオチドプライマーを用いた PCR 反応を行い、E-gel Size Select 2 % (Thermo Fisher) および AMPure XP (Beckman) を用いて、増幅産物を精製した。同精製物は、定量後、30 検体を上限として等量から成る混合ライブラリーを作成し、Ion Chef / Ion PGM システムを用いた barcoded pyrosequencing 解析に供した。取得配列データについては、CLC Genomic Workbench を用いて不要配列を除去後、RDP Classifier pipeline を介し、リード配列の階層化及びクラスター解析を行った。

#### 6) Bacteroides 属菌の分離

C 農場由来盲腸便検体より、Duerden の方法に従って *Bacteroides* 属菌の分離を行った。得られた分離株については、16S rRNA 部分配列解析データをもとに、NCBI Blastn 検索を通じて、菌種同定を行った。ゲノム解析には PacBio RSII を用いた。

#### 7) 共培養試験

約 104CFU の *C. jejuni* NCTC 11168 株を 10mL の MH または BHIS broth に懸濁後、同菌数の *B. fragilis* 株を添加し、微好気または嫌気条件下にて培養した。24 時間毎に各培養液を採取し、MH 寒天培地および BHIS 寒天培地に接種後、それぞれの発育集落数を求めた。次に約 104CFU の *C. jejuni* NCTC 11168 株を 10mL の MH または BHIS 培地に懸濁後、異なるタンパク濃度の *B. fragilis* 破碎抽出物を添加し、微好気及び嫌気培養に供し培養後の濁度を 600nm 波長で測定し、*C. jejuni* の生存増殖性を求めた。また、上述の *B. fragilis* 破碎抽出物に対し、Proteinase K あるいは Bensonase を用いて前処理後、*C. jejuni* NCTC 11168 株とともに培地中に加え、生存増殖性を上記と同様に求めた。

#### 8) *B. fragilis* 破碎抽出物投与効果の評価

A・B 農場で搬入飼養される肉用鶏盲腸便を時系列を追って採材し、カンピロバクター定量検出試験に供した。なお、投与群及び非投与群は同一農場敷地内に設置される異なる鶏舎で別個に、但し同時期に導入・飼育されるものとした。

*B. fragilis* 破碎抽出物を凍結乾燥品として上記農場に送付し、飼料切替時期にそれぞれ飲水に添加した。同時に搬入・飼育される鶏群については陰性対照として設定した。なお、同抽出物は培養しうる微生物が陰性であることを確認後、試験に供した。

## C. 結果

### 1) 陽性・陰性農場の識別

計 7 農場由来の出荷時齢鶏盲腸便計 60 検体をカンピロバクター定性試験に供した

結果、C・F・G農場由来検体は全て陰性であったが、A・B・D・E農場由来検体は、それぞれ11検体(55%;有薬群、3検体(陽性率30%);無薬群、8検体(80%))、10検体(100%)、6検体(60%)、8検体(80%)が陽性を示した。また、分離株には何れも*C. jejuni*であった。供試検体全体の陽性率は、58.3%(陽性検体35/60検体)であり、陽性・陰性農場(鶏舎)は4農場及び3農場であった。

#### 2) 農場内分布株の同一性に関する検討

A・B農場由来株の遺伝子型別を行った結果、A農場では複数の遺伝子型株が分布していたが(ST-5255, ST-2274)、B農場では同一遺伝子型(ST-2274)株のみが認められた。

#### 3) 農場別出荷時齢鶏盲腸便の構成菌叢比較解析

出荷時の鶏盲腸便検体の構成菌叢に関する知見を得るため、C-F農場由来検体より、各3検体を無作為に抽出し、16S rRNA pyrosequencing 解析に供した。カンピロバクター分離陰性となったC・F農場由来検体と、同陽性を示したD・E農場間にて構成比率に有意差を認める菌属を探索したところ、*Bacteroides*属が両群間で有意差を示し、カンピロバクター分離培養成績と一定の相関性を示すことが明らかとなった。

#### 4) カンピロバクター陰性農場(C農場)における鶏盲腸便構成菌叢の経時挙動

カンピロバクター陰性のC農場の特定鶏舎で飼養された鶏について、18日齢、28日齢、32日齢および46日齢時に盲腸便を採材し、分離培養及び菌叢解析を行った。最も優勢な菌叢の一つには*Bacteroides*属が挙げられた他、*Sporobacter*属は日齢に

応じて構成比率を増加させた。対して、*Flavonifractor*属、*Oscillibacter*属、*Escherichia*属等の構成比率は経時的に減少した。以上より、カンピロバクター陰性を示したC農場の鶏群盲腸には、*Bacteroides*属が優勢菌叢として存在することが明らかとなった。

#### 5) カンピロバクターに対する鶏盲腸便由来*B. fragilis*株の静菌効果

カンピロバクター陰性のC農場由来鶏盲腸便検体より、*B. fragilis*株を分離し、BHISプロスで嫌気培養後、*C. jejuni* NCTC 11168株と共培養を行った。結果として、菌株及び大気条件に因らず、*B. fragilis*は何れも試験管内で*C. jejuni*の生存・増殖を経時的に減少させた。

異なるタンパク濃度の*B. fragilis*破砕抽出物を*C. jejuni* NCTC11168培養液中に添加し、生存増殖性を経時的に観察した。結果として、本抽出物は濃度依存的に*C. jejuni*の生存増殖を低減させた。Proteinase K処理により本抽出物の上記作用は低減した。

#### 6) *B. fragilis*不活化抽出物投与の*C. jejuni*の生体内挙動に及ぼす影響

A・B農場で、*B. fragilis*不活化抽出物投与群及び非投与群を設定し、盲腸内容物1g中のカンピロバクター菌数を求めたところ、出荷時齢の同菌数はA農場では非投与群が平均 $1.46 \times 10^9$ CFU/g、投与群が平均 $1.16 \times 10^7$ CFU/gとなり、約2対数個以上の減少が認められた。また、B農場では非投与群が平均 $1.15 \times 10^6$ CFU/g、投与群は平均 $8.40 \times 10^3$ CFU/gとA農場と同様に2対数個/g以上の菌数低減を示した。

## D. 考察

カンピロバクターが顕す鶏腸管定着は、概ね3 - 4週齢以降に生じるとされる。同時期は、いわゆる換羽期に相当するため、免疫機構の大幅な変動が予想される他、菌叢にも多大な影響が生じると目される。本研究では、*Bacteroides* 属由来生理活性物質がカンピロバクター定着に示し得る生物学的役割を検討した。対象農場において、投与群は非投与群に比べて有意な菌数低減を示し、今後の応用性が期待された。一方、その投与方法の至適化は実用化を検討する上では必要不可欠な課題と考えられる。

## E. 結論

*Bacteroides* 不活化抽出物投与は、鶏腸管内におけるカンピロバクター菌数の有意な低減効果が期待される結果となった。今後、適用条件の最適化に加え、低減効果を示し得る物質の特定とその分子基盤の解明は実用化を考慮した場合には更なる検討が必要な課題と考えられる。

## F. 研究発表

### 1. 論文発表

- 1) Asakura H, Kawamoto K, Murakami S, Tachibana M, Kurazono H, Makino S, Yamamoto S, Igimi S. (2016) *Ex vivo* proteomics of *Campylobacter jejuni* 81-176 reveal that FabG affects fatty acid composition to alter bacterial growth fitness in the chicken gut. *Res Microbiol.* 167: 63-71.
- 2) Asakura H, Takahashi N, Yamamoto S, Maruyama H. Draft genome sequence of *Campylobacter jejuni*

CAM970 and *C. coli* CAM962, associated with a large outbreak of foodborne illness in Fukuoka, Japan, in 2016. *Genome Announc.* 5(24): e00508-17.

- 3) Asakura H, Yamamoto S, Momose Y, Kato H, Iwaki M, Shibayama K. Genome Sequence of *Clostridium botulinum* strain Adk2012 associated with a foodborne botulinum case in Tottori, Japan, in 2012. *Genome Announc.* 5(34): e00872-17.

### 2. 学会発表

- 1) 朝倉宏、坂田淳子、田口眞澄、中村寛海、中山達哉、佐々木貴正、山本詩織、村上覚史. ヒト及び動物由来 *Campylobacter coli* 株の遺伝特性ならびに薬剤耐性. 第10回日本カンピロバクター研究会総会.(宮崎、2017年11月)
- 2) 朝倉宏. ゲノムデータに基づく、カンピロバクターの蔓延要因と宿主・環境適応機構の探知. 第37回日本食品微生物学会学術総会(東京、2017年9月).
- 3) 朝倉宏. カンピロバクター・ジェジュニが顕す生存・生息のための環境応答. 細菌学領域における基礎と臨床のクロストークセッション. 第90回日本細菌学会学術総会シンポジウム(仙台市、2017年3月)
- 4) 木村浩紀、蓮沼愛弓、山谷郁子、朝倉宏、村上覚史. 鶏盲腸内での時系列的 *Campylobacter jejuni* の定着動態と盲腸菌叢変動要因の探索に関する検討. 第8回日本カンピロバクター研究会. (京都、2015年12月)

## G. 知的財産権の出願・登録状況

なし

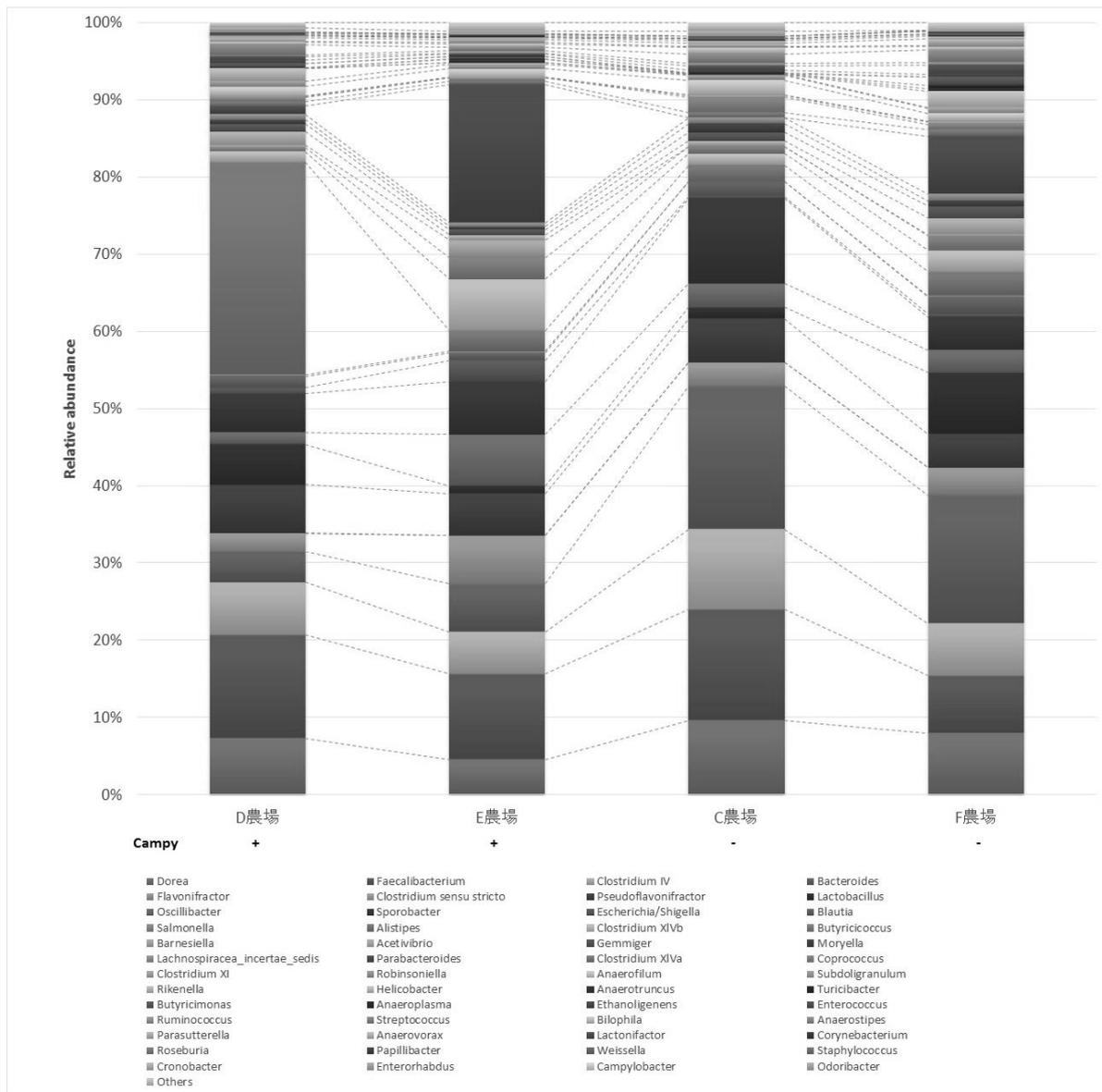


図 1. 出荷時肉用鶏の盲腸菌叢の農場別比較

D 農場・E 農場由来検体は、カンピロバクター陽性検体を、C・F 農場由来検体についてはカンピロバクター陰性検体を対象として、菌叢解析に供した。上図は、各農場につき 3 検体を無作為に抽出して得られた平均値を示す。矢印で示す枠は、*Bacteroides* 属を示す。

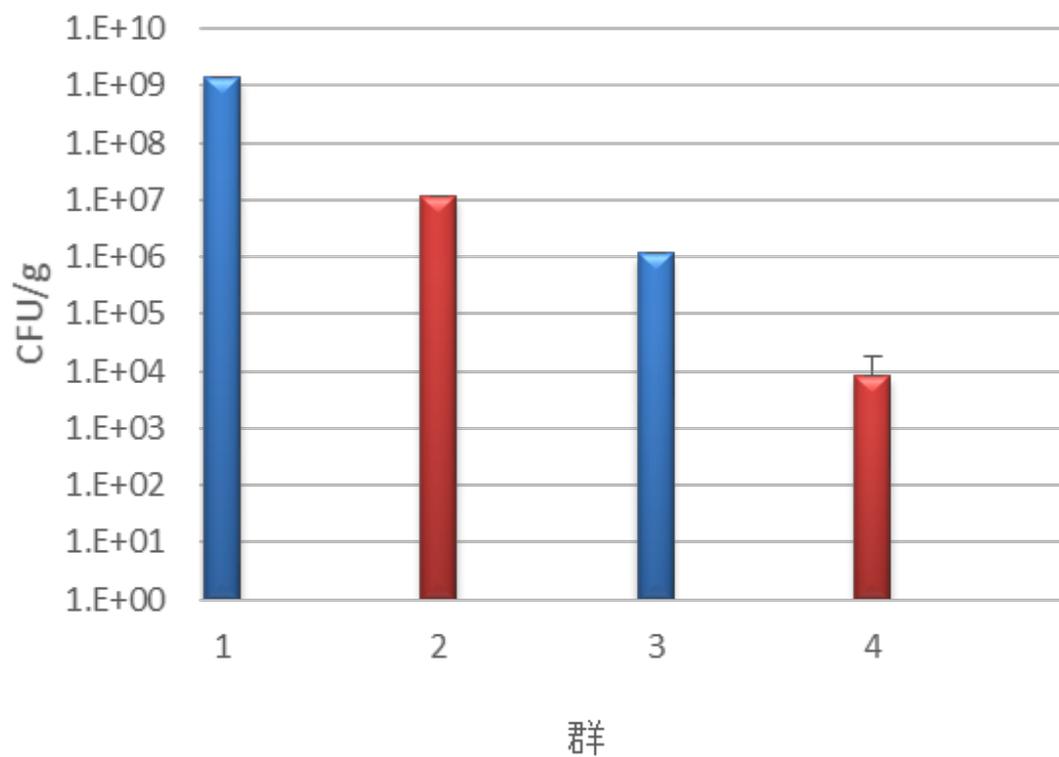


図 2 . *Bacteroides* 属菌由来不活化抽出物投与による、出荷時齢鶏盲腸便におけるカンピロバクター菌数への影響 .

1 : A 農場・非投与群 (対照群) 2 : A 農場・投与群、 3 : B 農場・非投与群 (対照群) 4 : B 農場・投与群 .



食鳥肉におけるカンピロバクターのリスク管理に関する研究  
分担研究項目:食鳥処理場の工程におけると体の細菌学的検討

研究協力者	坂野智恵子 杉本治義 横田陽子 中村広文	群馬県食肉衛生検査所
	藤田雅弘	群馬県衛生環境研究所
	鈴木智之	滋賀県衛生科学センター
	盆下誌保 古茂田恵美子	東京家政大学
	宇都菜央, 尾崎正秀, 島原道範	株式会社大山どり
	木村博一	国立感染症研究所
	石岡大成	高崎市保健所
分担研究者	森田幸雄	東京家政大学

## 研究要旨

我が国の多くの食鳥処理場に導入されている機器は世界的に展開している大規模な処理機器メーカー製が多いこと、一つの食鳥処理場に複数のメーカーの機器が導入されていることもあること、機器の技術はめざましく、食鳥検査制度を導入した平成4年当時と比べ格段に性能は向上していることが判明した。中抜きと体の冷却はチラー水による処理場が多いが、エアータッチによる処理場も存在した。食鳥処理の方法は中抜き方式が圧倒的に多いが、外剥方式もあること。外剥ぎ方式は一般生菌数ではムネとササミが市販鶏肉に比べて少ない傾向があること、外剥方式のモモ肉でも、市販のモモ肉でも約7割という高率のカンピロバクターが検出されていること、カンピロバクター数では外剥方式のモモの方が、市販のモモよりも少ない傾向があることが判明した。食鳥処理場の内臓摘出処理時のと体への汚染実態、および汚染と体表面の細菌数は、適切に調整した内臓摘出装置で処理した場合はと体への腸内容物の汚染を0%に近づけることができた。内臓摘出装置で「肛門抜き」の工程で腸内容物の汚染が多い時は、その後の処理工程においても汚染が多いことが判明した。内臓摘出装置を適切に調整、メンテナンスすることで、と体表面へのカンピロバクターの付着の減少、大腸菌、大腸菌群、一般生菌数を減少させ、衛生的な鶏肉を生産できる可能性があると思われた。衛生的な食鳥の生産における食鳥処理場の役割は中抜き方式においては内臓摘出装置を適切に調整し、腸内容物の汚染を少なくすることが重要であると思われた。

### A. 研究目的

2016年の我が国の食中毒発生件数は1,139件、食中毒患者数は20,252人である。主な病因物質別にみた細菌・ウイルス性食中毒事件数、患者数はともに第1位はノロウイルス(354件, 11,397人)、第2位はカンピロバクター(339件, 3,272人)

であり、カンピロバクター及びノロウイルスによる食中毒は食品衛生上重要である。

カンピロバクター感染症や食中毒の主な原因は鶏肉や汚染された食品の喫食である。カンピロバクター食中毒の制御のためには農場での衛生対策ポイントの検討、食鳥処理場での衛生対策、

流通段階における対策が必要である。

食鳥処理場は腸内容に大腸菌，サルモネラ，カンピロバクターを保菌した鶏が食肉になる工程であり，このと鳥処理工程によってと体への衛生度が異なると思われる。

そこで，平成27年度調査では鶏の内臓摘出処理機器メーカーへの聞き取りおよび我が国で数少ないエアーチラーを設置している食鳥処理場への聞き取り調査を，平成28年度では外剥方式の食鳥処理場製品およびスーパーマーケット等で市販されている製品について細菌学的な比較を，平成29年度は鶏の内臓摘出処理時のと体へ汚染の実態および汚染とと体表面の細菌数について調査を実施した。

## B. 研究方法

### 1. 鶏の内臓摘出処理機器メーカーへの聞き取り調査等

プライフーズ株式会社ゴーデックスカンパニー（メイン社を主力に輸入・販売）ならびにマレルジヤパン株式会社（ストーク社を主力に輸入・販売）を訪問し，今日普及している食鳥処理機器の性能について聞き取りを行った。また，我が国では輸入代理店の無いBAYLE社製についてフィリピンの食鳥処理場を訪問し，見学するとともに輸入代理店の技術者と面会し，情報を得た。

### 2. エアーチラー設置食鳥処理場の訪問・聞き取り

（株）大山どり（鳥取県米子市淀江町）を訪問し，聞き取り調査および見学を実施した。

### 3. 外剥方式の食鳥処理場製品と一般市販されている製品の比較

外剥方式処理場を訪問し，ムネ，モモ，ササミ 2 検体ずつ計 6 検体を購入した。スーパーマーケット 10 店舗からムネ，モモ，ササミを 10 検体ずつ購入した。検査項目は一般生菌数，大腸菌群数，大腸菌数，カンピロバクター菌数，

サルモネラ菌数とした。

### 4. 原料は外剥方式の食鳥処理場製で一般市販されている製品の細菌検査

外剥方式の食鳥処理場製であるがスーパーマーケットで小分け市販されている製品（モモ）を 10 検体購入し，カンピロバクター検査を実施した。

### 5. 食鳥処理場に搬入される鶏の盲腸中のカンピロバクター・サルモネラの検出状況

大規模食鳥処理場の 6 つの搬入ロット（午前中 1 ロット，午後 1 ロット，計 3 日間）の盲腸内容を 1 ロットあたり 5 検体ずつ採取し，カンピロバクターとサルモネラの検査を実施した。

### 6. 処理ロットにおける各処理工程ごとの腸内容物汚染や腸の破損の発生率と細菌検出状況

大規模食鳥処理場の 6 つの搬入ロット（午前中 1 ロット，午後 1 ロット，計 3 日間）について処理工程の「肛門抜き」「肛門前腹部の切開」「内臓摘出後」の 400 体以上のと体をについて，腸内容物の汚染や腸の破損の有無を観察した。

## C. 研究結果

### 1. 鶏の内臓摘出処理機器メーカーへの聞き取り調査等

我が国の食鳥検査制度は平成 4 年から始まっており，その検査制度に合わせて今の食鳥処理機器が普及した。食鳥検査から 25 年以上すぎた今日，多くの処理機器が更新をすませている。以前は，1 社単独の処理機器メーカー製であったものに異なるメーカーの機器が処理工程ごとに設置されることが多くなった。

今日の処理技術の向上はめざましく，作業の効率化と衛生対策が施されていた。内臓摘出機においては内臓摘出時の腸の破損によると体への腸内容物の汚染も極めて少なくなるような技術が導入されていた。処理される鶏の大きさが均一であれば，内臓摘出時の腸の破損が無い処理も可能であった（写真 1）。

フィリピンは国際獣疫事務局(OIE)より高病原性鳥インフルエンザや口蹄疫の発生の無い国として認められているため、鶏肉や豚肉は輸出することができる。訪問したフィリピン・ルソン島の食鳥処理場は日本では導入の無い BAYLE 社(フランス)製 1 社単独の処理機器であった。海外輸出が可能な食鳥処理場でありフィリピンの食肉検査センター(National Meat Inspection Center: NMIS)の食鳥検査および HACCP が導入されていた。内臓摘出装置およびその他の処理機器・施設を写真 2-1~7 に示した。

## 2. エアーチラー設置食鳥処理場の訪問・聞き取り

平成 4 年の食鳥検査導入にあわせて建て替えをした時にエアーチラーを設置した。中抜きと体を手作業で 60ppm 以上(80-100ppm)の塩素消毒水槽に一度浸し、それを懸垂フックに懸垂し約 0 の冷蔵庫内で約 90 分間維持していた。特徴は一羽一羽を個々に空気で冷却することによって、鶏肉が水を吸収しないため、ドリップがでないことである。よって、中抜きと体の歩留りは若干減少するとのことであった。

内臓摘出時による腸管の損傷の防止、エアーチラー投入前の塩素水による消毒、エアーチラー等によるカンピロバクター汚染の少ない鶏肉の生産を試みている。カンピロバクター汚染を軽減できるよう努力しているが、生食ができる鶏肉を生産しているのではないので、加熱をして喫食してほしい、とのことであった。

## 3. 外剥方式の食鳥処理場製品と一般市販されている製品の比較(表 1)

### 1) 一般生菌数

ムネ:外剥方式の食鳥処理場(以下「処理場」)製品からは 2 検体中 2 検体検出され、1g あたりの平均の対数値±標準偏差は  $4.19 \pm 0.15$  であった。スーパーマーケット等で市販されている(以下「市販」)製品からは 10 検体中 10 検体検出され、1g あたりの平均の対数値±標

準偏差は  $4.73 \pm 0.49$  であった。t 検定の結果、危険率 2%未満で有意差があった。

モモ:処理場製品からは 2 検体中 2 検体検出され、1g あたりの平均の対数値±標準偏差は  $4.37 \pm 0.25$  であった。市販製品からは 10 検体中 10 検体検出され、1g あたりの平均の対数値±標準偏差は  $4.83 \pm 0.52$  であった。

ササミ:処理場製品からは 2 検体中 2 検体検出され、1g あたりの平均の対数値±標準偏差は  $3.01 \pm 0.09$  であった。市販製品からは 10 検体中 10 検体検出され、1g あたりの平均の対数値±標準偏差は  $4.97 \pm 0.88$  であった。t 検定の結果、危険率 1%未満で有意差があった。

### 2) 大腸菌群数

ムネ:外剥方式の処理場製品からは 2 検体中 2 検体検出され、1g あたりの平均の対数値±標準偏差は  $3.58 \pm 0.22$  であった。市販製品からは 10 検体中 10 検体検出され、1g あたりの平均の対数値±標準偏差は  $3.24 \pm 0.69$  であった。

モモ:処理場製品からは 2 検体中 2 検体検出され、1g あたりの平均の対数値±標準偏差は  $4.00 \pm 0.54$  であった。市販製品からは 10 検体中 10 検体検出され、1g あたりの平均の対数値±標準偏差は  $3.35 \pm 0.85$  であった。

ササミ:処理場製品からは 2 検体ともに未検出であった。市販製品からは 10 検体中 10 検体検出され、1g あたりの平均の対数値±標準偏差は  $4.08 \pm 1.24$  であった。

### 3) 大腸菌数

ムネ:外剥方式の処理場製品からは 2 検体中 1 検体検出され、1g あたりの対数値は 2.30 であった。ムネの市販製品からは 10 検体中 5 検体検出され、1g あたりの平均の対数値±標準偏差は  $2.56 \pm 0.75$  であった。

モモ:処理場製品からは 2 検体中 1 検体検出され、1g あたりの対数値は 2.77 であった。モモの市販製品からは 10 検体中 4 検体検出さ

れ、1g あたりの平均の対数値 ± 標準偏差は  $3.03 \pm 0.76$  であった。

ササミ：処理場製品からは 2 検体ともに未検出であった。ササミの市販製品からは 10 検体中 5 検体検出され、1g あたりの平均の対数値 ± 標準偏差は  $2.43 \pm 0.56$  であった。

#### 4) カンピロバクター

ムネ：外剥方式の処理場製品からは 2 検体ともに未検出であった。市販製品からは 10 検体中 5 検体検出され、100g あたりの平均の対数値 ± 標準偏差は  $2.78 \pm 1.16$  であった。

モモ：処理場製品からは 2 検体中 2 検体検出され、100g あたりの平均の対数値 ± 標準偏差は  $2.50 \pm 0.19$  であった。モモの市販製品からは 10 検体中 7 検体検出され、100g あたりの平均の対数値 ± 標準偏差は  $3.40 \pm 0.52$  であった。t 検定の結果、危険率 3% 未満で有意差があった。

ササミ：処理場製品からは 2 検体ともに未検出であった。ササミの市販製品からは 10 検体中 5 検体検出され、100g あたりの平均の対数値 ± 標準偏差は  $2.02 \pm 0.39$  であった。

#### 5) サルモネラ

ムネ：外剥方式の処理場製品からは 2 検体ともに未検出であった。ムネの市販製品からは 10 検体中 4 検体検出され、100g あたりの平均の対数値 ± 標準偏差は  $1.89 \pm 0.66$  であった。

モモ：処理場製品からは 2 検体ともに未検出であった。モモの市販製品からは 10 検体中 2 検体検出され、100g あたりの平均の対数値 ± 標準偏差は  $1.71 \pm 0.22$  であった。

ササミ：処理場製品(2 検体)、市販製品(10 検体)ともに未検出であった。

### 4. 原料は外剥方式の食鳥処理場製で一般市販されている製品の細菌検査

外剥方式の食鳥処理場製であるがスーパーマーケットで小分け市販されている製品(モモ)を 10 検体購入し、カンピロバクター検

査を実施したところ 7 検体からカンピロバクターが検出された。

### 5. 食鳥処理場に搬入される鶏の盲腸中のカンピロバクター・サルモネラの検出状況

6 つの搬入ロット(A~F)の盲腸内容の 30 検体を検査したところ検査した全てのロットからカンピロバクターが検出された。ロット A, C, F は 5 検体中 5 検体から、ロット B と E は 5 検体中 4 検体から、ロット D は 5 検体中 1 検体からカンピロバクターが検出された。いっぽう、サルモネラは全ロットから検出することは無かった。

### 6. 処理ロットにおける各処理工程ごとの腸内容物汚染や腸の破損の発生率と細菌検出状況

処理ロットによって腸内容物の汚染や腸の破損の発生率は大きく異なっていた(図1)。「肛門抜き」の工程では最大 17% から最少 1% の腸内容物の汚染、「肛門前腹部の切開」における腸の破損は最大 30% から最少 1% の腸内容物の汚染、「内臓摘出後」と体への腸内容物の汚染では最大 44% から最少 0.5% の腸内容物の汚染が認められた。また、これらの汚染や破損はすべて同じ傾向があり、ロット A が一番多く、ロット F が一番少なかった。

チラー前の中抜きと体のモモ部からはロット B は 5 検体中 4 検体から、ロット C は 5 検体中 3 検体から、ロット A と E は 5 検体中 1 検体からカンピロバクターが検出された。ロット D と F からはカンピロバクターは検出できなかった。サルモネラは全てのロットから検出しなかった。

内臓摘出後のと体の腸内容物汚染の割合別(10%を超えるロットと 10%以下のロット)にみたとき取りによる大腸菌、大腸菌群、一般生菌数について表2に示す。10%を超えるロットの平均大腸菌数、大腸菌群数、一般生菌数は 7.6 個/ml, 8.1 個/ml, 392.2 個/ml, 10%以下のロットの平均大腸菌数、大腸菌群数、一般生菌数は 1.6 個/ml, 1.9 個/ml, 118.3 個/ml であった。t 検定により有意差 ( $p < 0.05$ ) は認められないものの 10%を超えるロッ

トに比べて、10%以下のロットの大腸菌、大腸菌群、一般生菌数は低値を示した。

#### D. 考察

##### 1. 鶏の内臓摘出処理機器メーカーへの聞き取り調査

我が国の多くの食鳥処理場に導入されている機器は世界的に展開している大規模な処理機器メーカー製であること、一つの食鳥処理場に複数のメーカーの機器が導入されていることもあること、機器の技術はめざましく、食鳥検査制度を導入した平成4年当時より衛生的に良くなっていることが判明した。食鳥処理の内臓摘出を調整するオペレーターの技量によって、処理されると体の衛生度が変わると思われた。

鶏肉を輸出することができるフィリピンでは輸出認定処理場には HACCP システムが導入されており、国際基準の管理が実施され清潔な施設であった。

##### 2. エアーチラー設置食鳥処理場の聞き取り調査

多くの国で食鳥処理場でのカンピロバクター汚染の軽減対策を模索し評価を行っている。いずれも条件が異なり比較することが容易ではない。Demirok ら<sup>1)</sup>は塩素濃度が 5ppm に維持された 0.5~1.1 の冷凍チラー水で処理した場合、と体のカンピロバクター数は約 1/1000 に減少、0 のエアーチラー室内に 120 分保持した場合、と体のカンピロバクター数は約 1/10 に減少すると報告している。今回訪問したエアーチラーシステムは、60ppm 以上(80-100ppm)の塩素水槽に一度浸した後約 0 のエアーチラー室内で 60 分以上、中抜きと体をインラインで保持するものであることから、カンピロバクター汚染の軽減に寄与するものと思われた。

#### 引用文献

1) Demirok E, Veluz G, Stuyvenberg WV, Castañeda MP, Byrd A, Alvarado CZ. Quality

and safety of broiler meat in various chilling systems. Poultry Sci. 2013 Apr;92(4):1117-1126

##### 3. 外剥方式の食鳥処理場製品と一般市販されている製品の比較(表1)

外剥方式は一般生菌数ではムネとササミが市販鶏肉に比べて少ない傾向があること、外剥方式のモモ肉でも市販のモモ肉でも約7割という高率のカンピロバクターが検出されていること、カンピロバクター数では外剥方式のモモの方が、市販のモモよりも少ない傾向があることが判明した。製品へのカンピロバクター汚染は保菌鶏農場のロットの処理の有無によって左右されるが、外剥処理場製品、市販製品ともに高率にカンピロバクターが分離されているが、カンピロバクター菌数は外剥処理場の製品のほうが、市販製品よりも少ないかもしれない。

##### 4. 原料は外剥方式の食鳥処理場製で一般市販されている製品の細菌検査

外剥方式の食鳥処理場製品であるがスーパーマーケットで小分け市販されている製品(モモ)は高率(7/10 検体)にカンピロバクターに汚染していた。市販肉はスーパーマーケットのバックヤード等で小分等の処理をしていることもあるので、処理場の汚染を完全に反映をしているとは言えないが、外剥方式のモモは、市販モモと同様に高率にカンピロバクター汚染が存在していたので、取り扱いには注意が必要であると思われる。

##### 5. 食鳥処理場に搬入される鶏の盲腸中のカンピロバクター・サルモネラの検出状況

6つ大規模食鳥処理場に搬入のロットはカンピロバクターを保菌し、サルモネラは保菌していなかった。養鶏場においてカンピロバクターは高度に汚染、サルモネラの汚染は減少しているものと推測された。1ロットについて5検体を検査した本調査においても、5検体全てから検出されるのではなく、ロットの中にもカンピロバクターを保菌

している個体，保菌していない個体があることが再確認された。

## 7. 処理ロットにおける各処理工程ごとの腸内容物汚染や腸の破損の発生率と細菌検出状況

内臓摘出装置の調整や定期的なメンテナンスによって食鳥の処理工程の腸内容物の汚染や腸の破損の発生率は大きく変化することが判明した。また，「肛門抜き」の工程で腸内容物の汚染が多いものは，その後の，「肛門前腹部の切開」における腸の破損，「内臓摘出後」と体への腸内容物の汚染においても発生率は高いことが判明した。

ロット D と F のモモ肉のふき取りからはカンピロバクターは検出できなかった。ロット D は内臓摘出後のと体の腸内容物汚染 10%，盲腸内容物は 5 検体 1 検体からカンピロバクターが検出，ロット F は内臓摘出後のと体の腸内容物汚染 0.5%，盲腸内容物は 5 検体 5 検体からカンピロバクターが検出されている。これらのことから，腸内容物汚染率または盲腸内容物の検出率が低ければ，モモ肉のカンピロバクターの検出は減少する可能性があると思われた。

内臓摘出後のと体の腸内容物汚染率が 10%を超えるロットに比べて 10%以下のロットの大腸菌，大腸菌群，一般生菌数は，t 検定により有意差( $p < 0.05$ )は認められないものの低値を示した。と体の腸内容物汚染率を減少させることは，と体表面の大腸菌，大腸菌群，一般生菌数を減少させる可能性が高いことが示唆された。

日々の内臓摘出装置の調整し，定期的なメンテナンスにより，内臓摘出工程における腸内容物の汚染を減少させ 0%に近づけることは，と体表面へのカンピロバクターの付着の減少，大腸菌，大腸菌群，一般生菌数を減少させ，衛生的な鶏肉を生産できる可能性があると思われた。

## F. 研究発表

### 1. 論文発表等

藤田雅弘，遠藤健太郎，塩野雅孝，森田幸雄，朝倉 宏，山本茂貴，食鳥処理場におけるカンピロバクター交差汚染状況，日本食品微生物学雑誌，33(4)，182-186(2016)

森田幸雄，古茂田恵美子，お肉の衛生の今昔，月刊フードケミカル，32(2)，12-15(2016)

森田幸雄，食肉，食鳥肉の衛生と獣医師の役割，獣医畜産新報，68(8)，569-573(2015)

## 2. 学会等発表

盆下誌保，森田幸雄，日本食品微生物学会，市販鶏肉のカンピロバクター及びサルモネラの汚染状況，あわぎんホール，徳島市，平成 29 年 10 月 6 日

森田幸雄，全国食肉衛生検査所協議会主催特別講演「食鳥肉の衛生管理」，星陵会館，平成 29 年 1 月 26 日

森田幸雄，一般社団法人岩手県獣医師会主催，第 4 回食鳥肉安全性確保研修会 大規模食鳥処理場における微生物制御，八幡平ハイツ，岩手県平成 29 年 9 月 7-8 日

森田幸雄，日本成鶏処理流通協議会主催，全国協議会セミナー「カンピロバクター対策について」，ホテルマロウド軽井沢，長野県北佐久郡，平成 29 年 10 月 20 日

## G. 知的財産権の出願・登録状況

### 1. 特許取得

なし

### 2. 実用新案登録

なし





写真1 良好な内臓摘出状況



写真2-1 我が国には導入されていないBAYLE社製内臓摘出装置



写真2-2 管理室に設置されている監視カメラのディスプレイ



写真2-3 処理室・入室の前の手洗い装置



写真2-4 チラー槽およびと体解体室



写真2-5 グローブが汚れた時に浸す消毒槽(塩素濃度50-100ppm)



写真2-6 と鳥の汚れが目視された時に、と鳥を浸す消毒槽(塩素濃度50-100ppm)

表 1 外剥方式処理場生産肉と一般市販肉の各菌の検出状況

検体名・条件	調査 検体数	一般生菌数		大腸菌群数		大腸菌数		カンピロバクター		サルモネラ	
		陽性 検体数	平均菌数*	陽性 検体数	平均菌数*	陽性 検体数	平均菌数*	陽性 検体数	平均菌数**	陽性 検体数	平均菌数**
ムネ・処理場	2	2	4.19±0.15	2	3.83±0.22	1	2.3	0	-	0	-
ムネ・市販	10	10	4.73±0.49	10	3.24±0.69	5	2.56±0.75	5	2.78±1.16	4	1.89±0.66
モモ・処理場	2	2	4.37±0.25	2	4.00±0.54	1	2.77	2	2.50±0.19	0	-
モモ・市販	10	10	4.83±0.52	10	3.35±0.85	4	3.03±0.76	7	3.40±0.52	2	1.71±0.22
ササミ・処理場	2	2	3.01±0.09	0	-	0	-	0	-	0	-
ササミ・市販	10	10	4.97±0.88	10	4.08±1.24	5	2.43±0.56	5	2.02±0.39	0	-

\*:陽性検体の対数値の平均値±標準偏差/g

\*\*\*:MPN法の陽性検体の対数値の平均値±標準偏差/100g

表2 内臓摘出後のと体の腸内容物汚染の割合別にみたとふき取りによる大腸菌、大腸菌群、一般生菌数

調査菌	内臓摘出後の腸内容物汚染の割合	処 理 ロット	モモ部のふき取り (個/ml)	
大腸菌	> 10%	A	6.4	
		B	4.3	
		C	16.0	
			対数平均	7.6
	10% ≧	D	1.9	} P=0.17
		E	1.2	
		F	1.8	
		対数平均	1.6	
			対数平均	3.5
	大腸菌群	> 10%	A	8.1
B			4.3	
C			15.2	
			対数平均	8.1
10% ≧		D	1.9	} P=0.15
		E	1.9	
		F	2.0	
		対数平均	1.9	
			対数平均	4.0
一般生菌		> 10%	A	842.4
	B		237.0	
	C		302.2	
			対数平均	392.2
	10% ≧	D	150.8	} P=0.19
		E	95.0	
		F	115.6	
		対数平均	118.3	
			対数平均	215.4

\* :t検定におてい有意差(P<0.05)は無い

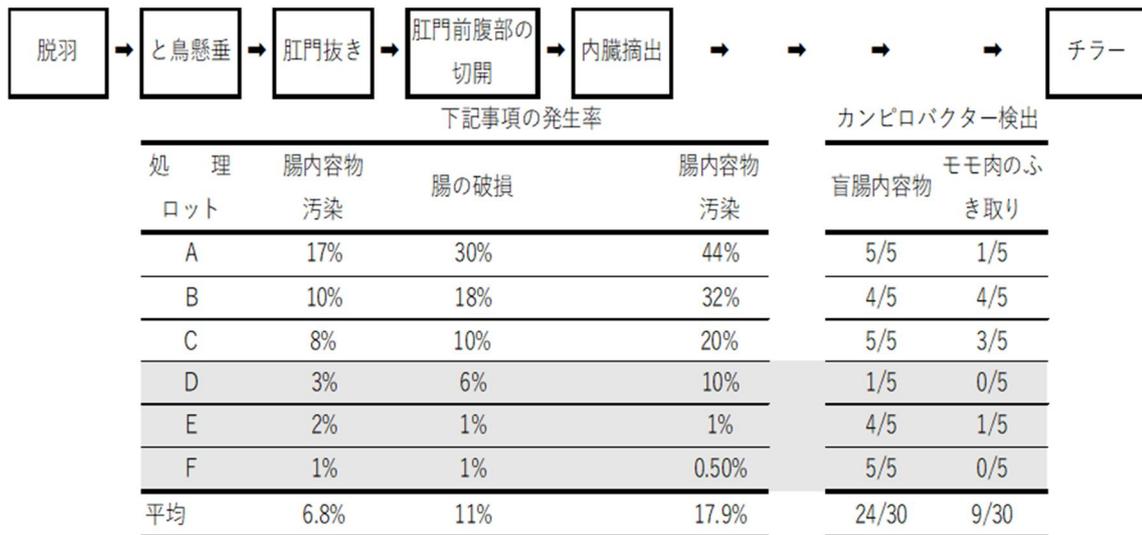


図1 処理ロットにおける各処理工程ごとの腸内容物や腸の破損の発生率とカンピロバクター検出状況



総合研究報告書

「食鳥肉におけるカンピロバクター汚染のリスク管理に関する研究」

流通段階におけるカンピロバクター制御に関する研究

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
研究協力者	山本詩織	国立医薬品食品衛生研究所食品衛生管理部
研究協力者	牧野有希	国立医薬品食品衛生研究所食品衛生管理部
研究協力者	小西良子	麻布大学 生命・環境科学部
研究協力者	品川邦汎	岩手大学
研究協力者	五十君静信	国立医薬品食品衛生研究所食品衛生管理部

研究要旨：

本研究では、食鳥肉の流通加工段階におけるカンピロバクター汚染に関するリスク管理に関する知見を集積することを目的として、検討にあたった。初年度には、冷凍処理による鶏肉中のカンピロバクター菌数の低減効果を定量的に求め、急速・緩慢冷凍の別によらず、1～2対数個/gの汚染低減効果を示すことを明らかにした。最終年度の検討により、急速冷凍処理は、チルド処理と同等の物性影響であったが、緩慢冷凍処理はドリップ率を上げ、品質を低下させることを示した。第二年度には、市販鶏肉を対象とする表面加熱による汚染低減効果を定量的に検討し、一定の汚染低減効果を示すものの、鶏肉内部へのカンピロバクター浸潤性は特にモモ肉で顕著であり、1時間放置後には芯部に到達するため、加熱用鶏肉については、中心部までの十分な加熱調理を行うことが適切な調理法であることを裏付ける知見を得た。

A. 研究目的

コーデックス委員会が定めた食鳥肉の衛生対策ガイドライン（CAC/GL 78-2011）では、冷凍処理が加工流通段階における食鳥肉中のカンピロバクター汚染低減効果を有する一手法として挙げられており、実際にアイスランド、ニュージーランド、デンマークでは、法的拘束力を有する手法としても採用されている。本研究ではこれまでに冷凍処理が我が国で生産される鶏肉中のカンピロバクター汚染低減に有効であることを定量的に示してきた。実際に、我が国

が輸入する鶏肉は概して冷凍処理が施されており、国産の冷蔵流通される鶏肉に比べて本菌汚染率が低いとする報告もある。

しかしながら、輸入冷凍鶏肉の多くはドリップ率が高い等の声もあり、品質面で課題があるとの指摘もある。こうしたことから、本研究では、まず急速冷凍及び緩慢冷凍処理を行った際の本菌生存挙動を定量的に把握すると共に、物性試験により、処理後の品質影響を評価することとした。また、市販流通するブロイラー鶏肉を用いた添加

回収試験により、温浴加熱による汚染低減挙動を把握すると共に、内部浸潤性に関しても検討を行うことで、流通段階等での制御策として、一般流通する加熱用鶏肉を用いた場合の表面加熱による制御効果を考察した。

## B. 研究方法

### 1) カンピロバクター定量検出試験

*C. jejuni* 5株混合菌液を鶏モモ肉検体 25g に約 7 対数個/g となるよう添加した。脱気密閉後、-35℃の急速液体冷凍機に浸漬、或いは -20℃の空冷式冷凍庫内に入庫した。一定時間保存後、流水で 5 分間融解させ、検体乳剤を調整し、直接塗抹法により生存菌数を求めた。

### 2) 自然汚染丸鶏のカンピロバクター菌数の測定

市販の中抜き丸鶏を滅菌袋に入れ、速やかに急速液体冷凍機で 3 時間冷凍処理した。対照群は同時間、4℃下で保存を行ったものとした。10 分間流水で融解後、MPN 法を用いた定量試験に供した。

### 3) クラストフリージング処理による食鳥部分肉におけるカンピロバクター低減効果の検証

国内の食鳥処理加工施設にて、食鳥処理後にクラストフリージング処理あるいはチルド処理を行った同一ロットの鶏部分肉からのカンピロバクター菌数を MPN 法により求めた。

### 4) 鶏肉内部浸潤性試験

*C. jejuni* を 400g 重量の鶏モモ肉及びムネ肉表面に均一となるよう塗布し、4℃で 1 時間保存した。その後、検体表面をスワブで穏やかにふき取り表面汚染試料とした。

次に、深部から順に、表面下 15-20mm, 10-15mm, 5-10mm, 0-5mm の切片として切り出し、BPW に懸濁した。菌数測定には MPN 法を用いた。

5) 温浴加熱による汚染低減効果の検証  
鶏モモ肉及びムネ肉検体表面に *C. jejuni* を塗布し、4℃で 1 時間保存、脱気密封後、85℃の温浴槽内で一定時間加熱した。加熱後は速やかに氷水中にて急速冷却させ、滅菌鉗を用いて細切後、検体懸濁液を調整した。同液及び 10 倍階段希釈液を mCCDA 寒天培地に接種し、培養後の発育集落数を求めた。

### 6) 温浴加熱を通じた鶏肉内部でのカンピロバクター生存性に関する検証試験

上項と同様に鶏肉検体を温浴加熱に供し、冷却後の鶏肉検体について、別項 2. と同様に、表面および表面下 5mm 幅での内部検体を調整した。それぞれの回収検体を 10mL のプレストン培地に接種し、42℃で 48 時間微好気培養後、同培養液を PCR 法に供し、カンピロバクターの定性検出試験を行った。

### 7) 鶏刺し製品のカンピロバクター定性試験

大手インターネットサイトを通じて、購入可能であった冷凍出荷の鶏刺し製品計 24 製品（各 3 検体、計 72 検体）を 4℃にて解凍後、25g を採材し、225mL のプレストン培地に接種し、42℃にて 48 時間微好気培養した。同培養液 1 白金耳を mCCDA 寒天培地に接種し、更に 42℃にて 48 時間微好気培養した。定型集落が認められたものについては、PCR 法を用いた確定試験に供した。

### 8) 物性試験

チルド鶏ムネ肉を急速冷凍処理群、緩慢冷凍処理群、チルド(4 保存)処理群に分け(各群 N=3) 各群 3 時間の処理後、冷凍処理 2 群は-20 で、冷蔵処理群は 4 で 20 時間保存後、物性試験(ドリップ率、遠心遊離水分率及び破断応力)に供した。同試験は日本家畜改良センターが作成した「食肉の理化学分析及び官能評価マニュアル」に準じた。

### C . 結果

1) 急速液体冷凍処理及び緩慢冷凍処理に伴う鶏モモ肉中カンピロバクターの生存挙動

急速液体冷凍処理および緩慢冷凍処理を通じた、鶏モモ肉中におけるカンピロバクター・ジェジュニ計 5 株の生存挙動を添加回収試験により検討した。7.25 7.54 対数個/g の各菌株を接種した、急速液体冷凍処理群(-35 )における経時的成績として、3, 6, 24, 48 時間処理後の生存菌数平均値は、それぞれ 5.05-6.43 対数個/g、5.05-6.43 対数個/g、3.74-6.09 対数個/g、3.73-6.06 対数個/g となり、それぞれの時間軸における検体 1g あたりの菌数低減値は、1.10-2.19 対数個、1.46-2.70 対数個、1.01-3.51 対数個、1.47-3.52 対数個であった。7.30-7.70 対数個/g の各菌株を接種した、緩慢冷凍処理群(-20 )での挙動を同様に観察したところ、3, 6, 24, 48 時間処理後の生存菌数平均値は、それぞれ 6.27-7.16 対数個/g、4.87-6.80 対数個/g、3.93-6.49 対数個/g、4.08-5.99 対数個/g となり、各時間軸における検体 1g あたりの菌数低減値は、0.41-1.20 対数個、0.88-2.60 対数個、1.08-3.54 対数個、

1.69-3.38 対数個となった。3 時間処理後の両群間での生存菌数の比較により、急速液体冷凍処理群は緩慢冷凍処理群に比べて、H0101 株を除き、何れも速やかなカンピロバクター菌数の減少を示した( $p = 0.0008-0.020$ )。

2) 急速液体冷凍処理による自然汚染丸鶏でのカンピロバクター汚染菌数の低減効果

急速液体冷凍処理による効果については迅速な汚染低減効果が部分肉を用いて検証されたが、丸鶏における汚染低減への適用性について検討する目的で、1羽あたり平均 2,094 MPN 値の本菌自然汚染を顕す丸鶏を用いて、3 時間の急速液体冷凍処理を行った場合の汚染低減効果を評価した。結果として、同処理を行った丸鶏検体での平均汚染菌数は 404 MPN 値へと減少を示した( $p = 0.13$ )。

3) クラストフリージング処理による、食鳥部分肉中のカンピロバクター自然汚染低減効果の検証

食鳥解体加工直後に、クラストフリージング処理により、表面のみを急速冷凍、またはチルド処理された(チルド処理群)同一ロットの食鳥部分肉について、カンピロバクター及び衛生指標菌の定量試験を行った。カンピロバクター検出菌数は、チルド処理群で、ムネ及びササミ検体ではそれぞれ 0.68 MPN 値及び 0.27 MPN 値、他部位(モモ、レバー、砂肝)は 11.00 MPN 値であった。急速冷凍処理群の同菌数は、ムネ・砂肝・ササミでそれぞれ 0.11MPN 値、0.16 MPN 値、0.19MPN 値であり、モモ及びレバーの菌数は 11MPN 値、3.10 MPN 値であった。一般生菌数は、チルド処理群が 3.66-4.78 対数個/g(平均値 4.21 対数

個/g)であったのに対し、急速冷凍処理群では2.76-4.89 対数個/g (平均値 3.55 対数個/g)であった。大腸菌群数は、チルド処理群が2.80-4.51 対数個/g (平均値 3.79 対数個/g)、クラストフリージング処理群では1.92-4.43 対数個/g (平均値 3.14 対数個/g)、腸内細菌科菌群数は、チルド処理群が2.34-4.36 対数個/g (平均値 3.59 対数個/g)、クラストフリージング処理群が2.08-4.30 対数個/g (平均値 3.01 対数個/g)であった。指標菌の別では、腸内細菌科菌群数は他の糞便汚染指標菌に比べ、冷凍処理による低減効果が低い傾向にあった。

4) 冷凍処理を通じた鶏肉の品質への影響  
平均400g重量の鶏ムネ肉検体について急速冷凍処理群のドリップ率は0.96%となり、冷蔵処理群と同等の数値を示した(0.93%)。一方で、緩慢冷凍処理群のドリップ率は2.97%と他二群に比べて有意に高値を示した。破断応力及び遠心遊離水分率については、各群間で統計学的に有意差は認められなかった。

#### 5) カンピロバクターの鶏肉内部浸潤性

鶏モモ肉及びムネ肉検体表面にカンピロバクターを接種し、4にて1時間保存後、検体内部の接種菌局在を定量的に検討した。鶏ムネ肉検体では、表面より10mm下部まで接種菌が概ね検出され、当該部分1gにおける平均検出菌数は、2.90 対数 CFUであった。一方、鶏モモ肉内部では全てで表面より15mm下部まで認められ、表面下10-15mm地点における平均検出菌数は、2.29 対数 CFU/gとなり、ムネ肉検体に比べ、相対的に内部からの検出が高い傾向にあった。

#### 6) 温浴加熱を通じた、鶏肉中カンピロバ

#### クターの汚染低減効果

カンピロバクターを平均400g重量の鶏ムネ肉およびモモ肉検体表面に実験的に接種後、4にて1時間保存を行い、85温浴中で加熱処理を行なった。結果として、ムネ肉検体1gあたりの検出菌数は、加熱0分後で4.19 対数 CFU、加熱5分後には3.60 対数 CFU、10分後には2.68 対数 CFUへと約1.51 対数 CFUの減少を示した。一方、鶏モモ肉検体では加熱10分後においても3.42 対数 CFUと約0.74 対数 CFUの低減に留まった。

#### 7) 温浴加熱を通じた、加熱用鶏肉におけるカンピロバクターの内部生残性

上項の方法で加熱した場合の加熱用鶏肉検体内部における検出状況として、鶏ムネ肉では、加熱処理を経ずに行った内部浸潤性試験とほぼ同様、表面より10mm下部地点まで接種菌が検出された。一方、鶏モモ肉検体では、表面下20mm地点からも検出され、加熱の有無に因らず、供試両部位の検体では内部浸潤性に差異を認めた。

#### 8) 市販冷凍鶏刺し製品におけるカンピロバクターの検出状況

供試した鶏刺し製品計72検体は全てカンピロバクターが不検出であった。

### D. 考察

本研究では、急速冷凍・緩慢冷凍処理に伴う鶏むね肉の物性変化に関する比較を行った。急速冷凍処理によるカンピロバクターの汚染低減効果は緩慢冷凍と同様であったものの、物性変化として急速冷凍は緩慢冷凍に比べ、冷蔵処理と同等のドリップ発生を抑える利点が見られたことから、今後の利活用が期待される。カンピロバクター

は大腸菌やサルモネラ属菌等に比べると、冷凍処理に極めて弱く、汚染低減効果は明確に表れる。一方、菌株間では抵抗性に差異も認められているため、今後はこうした形質の差異を裏付ける分子基盤の特定を行い、その基盤の破綻を助長する手法の開発等へつなげることができれば、より大きな低減効果を有する手法の策定へとつながることも期待されよう。また、加熱によらず、鶏部分肉では内部へのカンピロバクター浸潤が認められたことは、加熱用鶏肉に対する調理段階での表面加熱は制御手法として成立し難いことを示唆しており、中心部までの十分な加熱が必要であることを示す根拠となるものと考えられる。

## E. 結論

急速・緩慢の別を問わず、冷凍処理は鶏肉中のカンピロバクター汚染を少なくとも1対数個程度低減する効果があることが示された。また、急速冷凍処理は冷蔵処理と同等のドリップ率を示し、その応用は鶏肉中でのカンピロバクター汚染低減に資する一手法と考えられた。また、市販加熱用鶏肉表面から内部へのカンピロバクター浸潤は容易に起こりうることから、加熱用鶏肉の表面加熱調理のみで提供することは感染リスクを回避し得ないと考えられる。

## F. 研究発表

### 1. 論文発表

- 1) 朝倉宏、山本詩織、橘理人、吉村昌徳、山本茂貴、五十君静信．冷凍処理による鶏肉中でのカンピロバクター汚染低減効果に関する検討．日本食品微生物学会雑誌．32(3): 159-166．

### 2. 学会発表

- 1) 朝倉宏、山本詩織、中山達哉、森田幸雄、中馬猛久．冷凍条件下における *Campylobacter jejuni* の遺伝子発現挙動．第91回日本細菌学会学術総会（福岡、2018年3月）
- 2) 中村寛海、朝倉宏、山本香織、梅田薫、小笠原準．飲食店の調理環境におけるカンピロバクター汚染状況．第91回日本細菌学会学術総会（福岡、2018年3月）
- 3) 豊島裕樹、渡邊真弘、山本詩織、朝倉宏．過酢酸製剤及び亜塩素酸ナトリウムによる、中抜きと鳥でのカンピロバクター汚染低減効果に関する検討．第44回日本防菌防黴学会年次大会（大阪、2017年9月）
- 4) 朝倉宏．食鳥処理場におけるカンピロバクター汚染低減対策について．平成29年度食肉衛生技術研修会．（東京、2018年1月）
- 5) 朝倉宏、山本詩織、小西良子、山本茂貴、五十君静信．*Campylobacter jejuni* が顕す、冷凍抵抗性関連因子の探索．第37回日本食品微生物学会学術総会（東京、2016年9月）
- 6) 朝倉宏、野田大樹、吉村昌徳、小西良子、山本茂貴、五十君静信．冷凍処理による鶏肉中でのカンピロバクター汚染低減効果に関する検討．第36回日本食品微生物学会学術総会（川崎市、2015年11月）．

## G. 知的財産権の出願・登録状況

なし

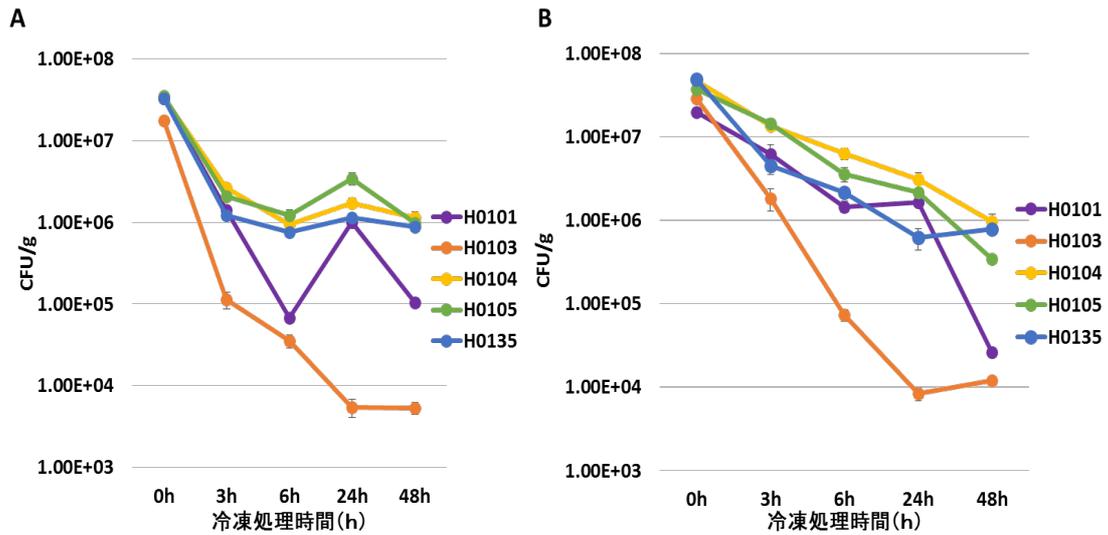


図1 . 急速液体冷凍処理 (A) あるいは緩慢冷凍処理 (B) に伴う、鶏モモ肉検体 25 g 中のカンピロバクター・ジェジュニ 5 株の生存挙動 .

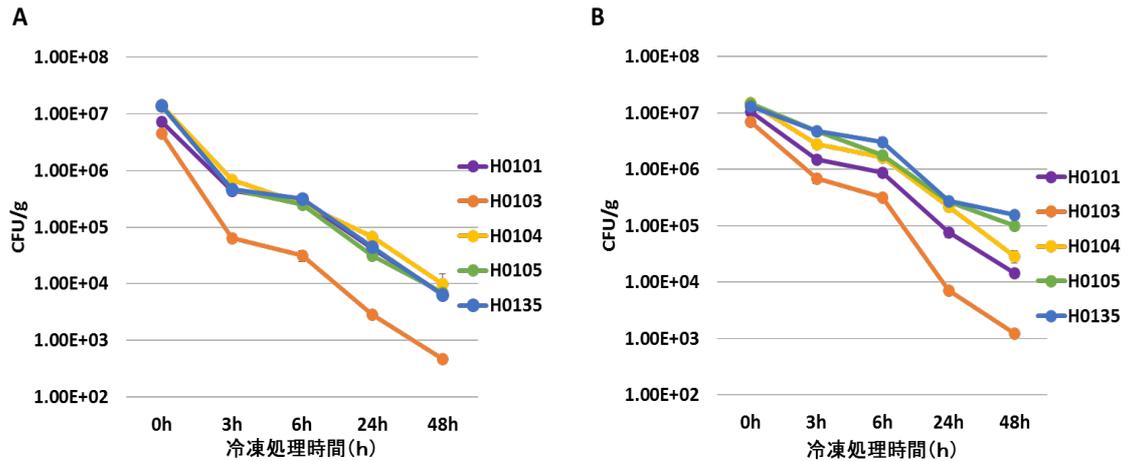
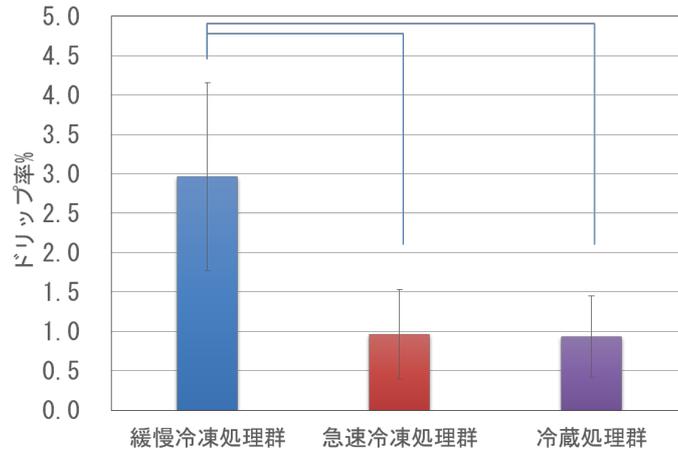
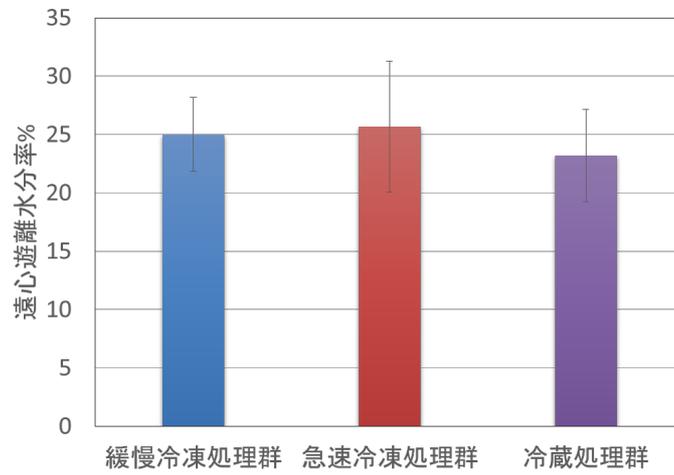


図2 . 急速液体冷凍処理に伴う、PBS (A) あるいは 10% ドリップ加 PBS (B) 中でのカンピロバクター・ジェジュニ 5 株の生存挙動 .

A



B



C

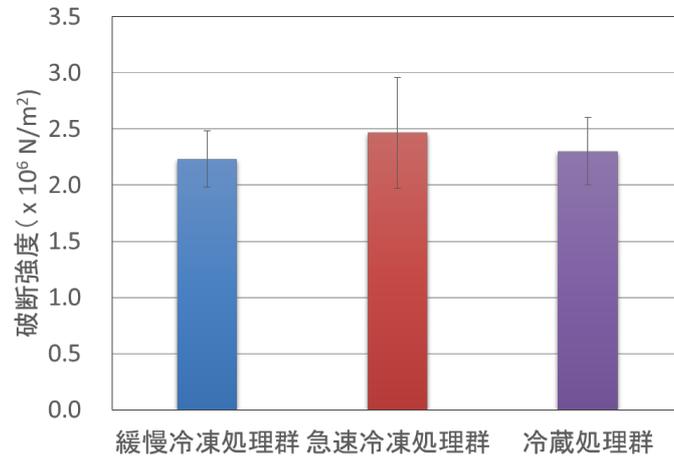


図3. 冷凍・冷蔵処理を通じた鶏ムネ検体の物性変化.

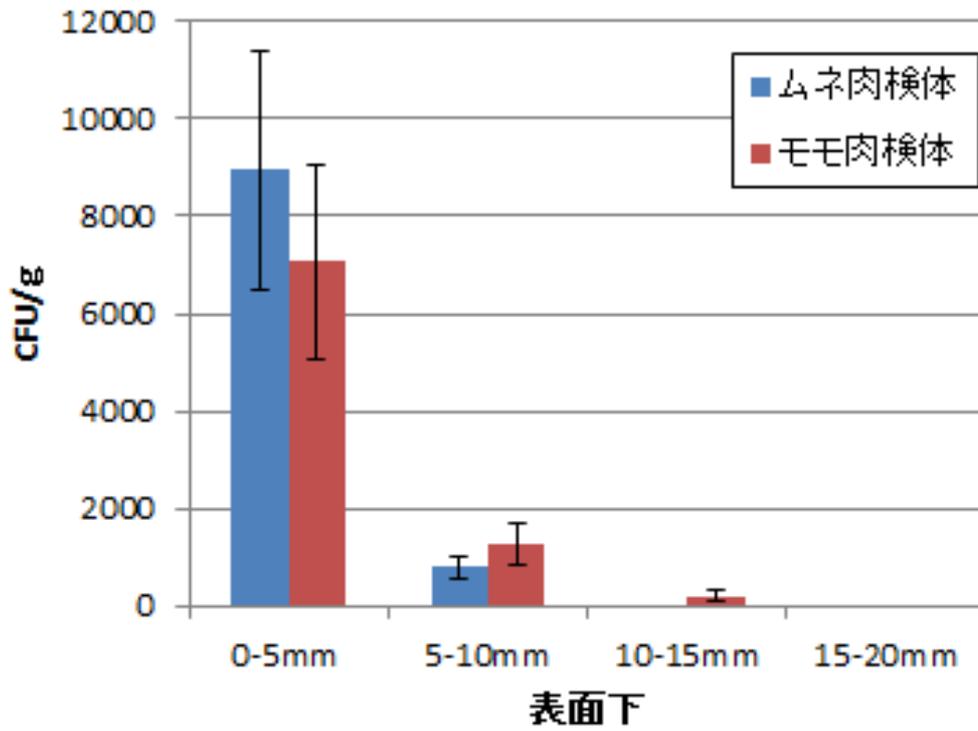


図 4 . 鶏肉内部への *C. jejuni* の浸潤性 .

鶏モモ肉及びムネ肉について、表面に約  $10^6$ CFU の *C. jejuni* を接種し、4 にて 1 時間保存後、表面下 0-5mm、5-10mm、10-15mm、15-20mm の計 4 地点から検出を行った。

食鳥肉のカンピロバクター汚染のリスク管理に関する研究  
分担研究項目:消費段階におけるカンピロバクターのリスク管理に関する研究  
生食用として流通する食鳥肉の汚染実態調査

研究分担者 中馬猛久  
研究協力者 山田耕一

所属 鹿児島大学共同獣医学部  
所属 鹿児島県知覧食肉衛生検査所

### 研究要旨

鹿児島県や宮崎県では鶏肉の表面をタタキにしたいわゆる「鶏刺し」を食する文化が根付いており、日常的に食されているにもかかわらず、鹿児島県での鶏刺しによる食中毒の報告は流通量の多さに対して極めて少ない。このような生食用の鶏肉は南九州地方において一般的な小売店でも市販されているが、それらのカンピロバクター汚染率や食中毒発生状況などを明らかにした基礎的データはない。

そこで、本研究課題では、鹿児島県内で市販されている鶏刺しを含む生食用、加熱用それぞれの鶏肉を汚染しているカンピロバクター菌数をMPN3本法によって半定量的に汚染度を推測した。また、認定小規模食鳥処理場で解体・加工された食鳥から工程(脱羽後、チラー後、焼烙後)ごとに得たと体表面ふき取り材料を検査した。さらに、大規模食鳥処理場で解体され加工場へ搬入された生食用鶏肉を材料とし、同様に検査した。その結果、鹿児島県内小売店にて購入した生食用鶏肉 61 検体のうち、菌数が 0~10MPN/50g だったものは 53 検体、10~10<sup>2</sup>MPN/50g だったものは 5 検体、10<sup>2</sup>MPN/50g を上回ったものは 3 検体であった。加熱用鶏肉 46 検体のうち、菌数が 0~10MPN/50g だったものは 20 検体、10~10<sup>2</sup>MPN/50g だったものは 12 検体、10<sup>2</sup>MPN/50g を上回ったものは 14 検体であった。

小規模食鳥処理場における調査で、と体表面のカンピロバクターは一部の脱羽後検体から少量検出されたが、チラー後以降の検体からは全く検出されなかった。*E. coli* (大腸菌数) や TC(大腸菌群数) は焼烙後に全て陰性となり、TVC(一般生菌数)も全ての検体で焼烙後に 6 cfu/g 以下となったことから、焼烙が糞便汚染の除去に大きく寄与していることが示唆された。

大規模食鳥処理場で解体されたのち加工された鶏肉の調査では、もも肉の原料から 6 検体平均 8.1 × 10 MPN/10g のカンピロバクターが検出されたものの、加熱後以降は陰性であった。また、むね肉の加熱後以降ではカンピロバクター、*E. coli* ともにすべて陰性であった。これらの結果から、表面加熱が十分に効果を示していることが示唆された。

以上より、加熱用鶏肉に比べて市販生食用鶏肉のカンピロバクター汚染度は著しく低いことがわかった。さらに、カンピロバクターの汚染制御の手段として表面加熱が効果的であり、一連の加工工程の中で適切な取り扱いを徹底することにより生食用鶏肉を安全に提供することが可能であると考えられた。

#### A. 研究目的

近年、牛肉や豚肉の生食に関する問題が話

題となっている。平成 24 年 7 月からは牛レバーの生食用としての提供、販売が禁止され、平成

27年6月からはレバーを含めた豚肉の生食用としての販売、提供が禁止されている。これらの法改正は、牛については腸管出血性大腸菌、豚肉についてはE型肝炎ウイルスといった公衆衛生上のリスクの高い危害要因の存在が理由として挙げられている。こういった流れから、カンピロバクター感染のリスクの高い鶏肉の生食への関心も高まっていると考えられる。

鹿児島県や宮崎県といった南部九州地方では、昔から鶏肉を生で食す鶏刺しが郷土料理として存在しており、一般に食される文化がある。南部九州地方では鶏刺しは小売店や居酒屋で普通に見られ、東京や大阪といった都市部でも提供を行う居酒屋が多く存在する。鶏刺しは鶏のもも肉、むね肉、ささみといった部位を用い、表面を湯引きや火で炙るなどして加熱してあることが多い。これによって、鶏肉の表面に汚染したカンピロバクターを殺菌し、食中毒のリスクを下げていられると考えられる。カンピロバクター感染の主な原因食品として鶏刺しは注目されるが、実際に鶏刺しが原因であると特定される事件は多くない。同地域で加工される鶏刺しは主に廃用となった種鶏(ブロイラーの生産に用いられた繁殖目的の肉用種であり、飼育日数がおよそ450日前後)を原料としており、日本各地から加工場へ集められている。このような形で一般に流通しているいわゆる「鶏刺し」のカンピロバクター汚染率やその菌数といった基礎的データを調査した報告はほとんどなく、これらを明らかにすることは食品衛生上重要な課題である。そこで本研究課題では、まず鹿児島県内小売店に流通する生食用鶏肉のカンピロバクター汚染状況を半定量的に推定し、加熱用鶏肉についても同様の手法で汚染状況を調査して生食用との汚染状況の比較を行った。続いて、認定小規模食鳥処理場(年間処理羽数30万羽以下)で解体・加工された食鳥から工程(脱羽後、チラー後、焼烙後)ごとに得たと体表面ふき取り材料を検査した。さら

に、大規模食鳥処理場(年間処理羽数30万羽超)で解体され加工場へ搬入された生食用鶏肉を材料とし、同様にカンピロバクター汚染を調査した。

## B. 研究方法

### 1. 市販鶏肉の調査

材料は鹿児島県内小売店8店舗にて購入した生食用鶏肉61検体、加熱用鶏肉46検体の計107検体である。購入した鶏肉については日付、品名、販売店、加工会社の記録をし、実験は購入したその日のうちに行った。加工会社の規模はさまざまであり10社から検体を得ることができた。

MPN3本法を用いカンピロバクターの汚染菌数を推定定量した(図1)。まず鶏肉50gをプレストン液体培地50mlの入った袋にいれ、ストマック

にて十分に混和した。混和後のプレストン液体培地を10mlずつ3本の試験管に分注し、さらに1ml、0.1mlをそれぞれ10mlプレストン液体培地入り試験管に接種し、これらを42の微好気条件下にて48時間培養を行った。培養後、1白金耳をとってmCCDA培地に分画し、再び42の微好気条件下にて48時間培養を行った。mCCDA培地にてカンピロバクター様のコロニーが認められたものについては、位相差顕微鏡を用いた菌体の観察、および*C. jejuni*、*C. coli*同定のためのPCRを行った。よって、1検体あたり計9本の培養を行っており、このうち、何本がカンピロバクター陽性であったかを判定することにより、MPN表を参考に、細菌数の推定を行った。

### 2. 認定小規模処理場における調査

鹿児島県内の認定小規模食鳥処理場1か所にて生食用として解体および加工された食鳥について、1度に6羽を対象として5度の採材を実施し、計30羽より材料を得た。採材時期は、2016年8月(1回目、2回目)、9月(3回目)、11月(4回目)、2017年2月(5回目)である。採材

を行った処理場の工程表を図2に示した。搬入前の生体から、滅菌綿棒を用いて総排泄腔よりスワブ(直腸スワブ)を採取した。さらに、脱羽後、チラー後、焼烙後のと体表面 25 cm<sup>2</sup>(5 cm×5 cm)をワイプチェック(SATO KASEI KOGYOSHO, Co., L td.)により拭き取った。

5度の採材の中で、前半2度と後半3度はそれぞれ異なる食鳥処理の条件下で行った。1度目、2度目の採材の際はチラー水を取り替えたばかりの真新しい状態で処理を行い、3度目~5度目の採材は70羽~80羽ほど既に処理した後のチラー水を使用した処理中に実施した。いずれもチラー水調製時の次亜塩素酸ナトリウム濃度は100 ppmであった。

採取した直腸スワブについて、カンピロバクターの存在の有無を調べるため、プレストン液体培地 10 ml に接種し培養後、バター培地(Oxoid, L td.)に画線塗布した。

と体表面ふき取り材料については、MPN 3 本法によりカンピロバクター数の推定を行った。ワイプチェック原液から、滅菌生理食塩水を溶媒として10倍、100倍希釈液を調製した。この3段階の溶液を1検体当たり各濃度3本ずつ、計9本のプレストン液体培地 10 ml に接種した。培養後、バター寒天培地に画線塗布した。

直腸スワブ、ふき取り材料のいずれも、バター寒天培地上のカンピロバクター様コロニーについて、位相差顕微鏡を用いてらせん状桿菌の存在を確認した上で Mueller-Hinton(MH)寒天培地(Oxoid, L td.)に画線塗布し、純培養した。この一連の菌分離にあたって、培養はすべて好気条件下、42、48時間で実施した。種の同定にはダイレクトコロニーPCRを用いた。

*C. jejuni* の特異的プライマーとして VS15、VS16を用い、*C. coli* の特異的プライマーとして CC18F、CC519Rを用いた。これら4種のプライマー(いずれも2 pmol/μl)をそれぞれ2 μl ずつ、EmeraldAmp PCR Master Mix(TAKARA BIO,

INC.)10 μl、滅菌蒸留水2 μl、合わせて20 μlを1検体あたりの反応液とし、これに1白金線量のコロニーを加えた。陽性コントロールとして、過去に同定済みの *C. jejuni* 株、*C. coli* 株からそれぞれ抽出したDNAを用いた。PCRは、94 1分、94 20秒(\*)、56 30秒(\*)、72 30秒(\*)、72 1分の反応条件(\*を30サイクル)で実施した。PCR反応後、1.5%アガロースゲル(Agarose gel, amresco)で100 V、60分電気泳動を行い、増幅サイズを肉眼で確認した。

*E. coli* 数および大腸菌群数算定にペトリフィルム ECプレート(3M)、一般生菌数算定にペトリフィルム ACプレート(3M)を用いた。各プレートにワイプチェック原液、10倍希釈液、100倍希釈液それぞれ1 mlを接種した。好気条件において37℃で24時間培養後、指示書に基づきコロニーの数を算定した。指示書の適正測定範囲に従い、菌数を導いた。

### 3. 大規模食鳥処理場で解体後に加工された鶏肉の調査

鹿児島県内の大規模食鳥処理場1か所において解体されたのち、加工場へ搬入され、生食用として加工された食鳥肉(もも肉、むね肉)について調査を行った。2017年6月と8月に1度ずつ、計2回採材を実施した。採材を行った加工場の工程表を図3(もも肉)、図4(むね肉)に示した。搬入後(原料)、加熱後(もも肉は焼烙後、むね肉はボイル後)、スライス後、包装後(製品)からそれぞれ、もも肉3検体、むね肉3検体ずつ(いずれも同一農場)採取し、2度の採材で2農場・合計48検体(もも肉、むね肉とも各6検体×4工程)の材料を得た。

検体25 gをプレストン液体培地225 mlに入れてストマッキングし、ここから10 mlを3本分注するとともに、9 ml、9.9 mlプレストン液体培地にストマッキング液をそれぞれ1 ml、0.1 ml加えて希釈液を3本ずつ調製した。これらを培養後、1白金耳量をバター培地に画線塗布した。以降のカン

ピロバクター分離・同定法および培養条件、PCR によるカンピロバクターの同定法は小規模処理場での調査に準ずる。

*E. coli* 数および大腸菌群数算定にペトリフィルムECプレート(3M)、一般生菌数算定にはペトリフィルムACプレート(3M)を用いた。各鶏肉検体10 gを滅菌生理食塩水90 mlに加えてストマッキングし、滅菌生理食塩水を溶媒として10倍、100倍希釈液を調製した。ペトリフィルムECプレートにストマッキング液1 mlを接種し、ペトリフィルムACプレートに3段階の溶液をそれぞれ1 ml接種した。37 好気条件下で24時間培養後、指示書に基づきコロニー数を算定した。指示書の適正測定範囲に従い、菌数を導いた。

### C. 研究結果

#### 1. 市販される生食用鶏肉のカンピロバクター汚染状況

鹿児島県内小売店にて購入した生食用鶏肉 61 検体のうち、菌数が 0~10MPN/50g だったものは 53 検体、10~10<sup>2</sup>MPN/50g だったものは 5 検体、10<sup>2</sup>MPN/50g を上回ったものは 3 検体であった(表1)。加熱用鶏肉 46 検体のうち、菌数が 0~10MPN/50g だったものは 20 検体、10~10<sup>2</sup>MPN/50g だったものは 12 検体、10<sup>2</sup>MPN/50g を上回ったものは 14 検体であった(表1)。以上の結果から、加熱用鶏肉に比べて生食用鶏肉のカンピロバクター汚染度は著しく低いことがわかった(図5)。生食用鶏肉の加工業者ごとに比較検討をしたところ、10<sup>2</sup>MPN/50g を上回る汚染のあった 3 検体は検体数の少ない業者に限定されていた(表2)。検体数が多い業者 A および B は汚染レベルが低かった。

#### 2. 小規模処理場の各工程から検出された *E. coli* 数、大腸菌群数、一般生菌数、カンピロバクター数の推移

検体 No. 1~12 の解体の際には、次亜塩素酸

ナトリウム 100 ppm に調製された直後のチラー水が用いられた。検体 No. 13~30 の解体の際には、すでに 70 羽程度の食鳥を処理した後のチラー水が用いられた。食鳥処理の各工程において、これら 30 羽から検出された *E. coli* 数、大腸菌群数、一般生菌数、カンピロバクター数をそれぞれ図 6-A、B、C、D に示した。

脱羽後のと体から最大で 100 cfu/25cm<sup>2</sup> の *E. coli* が検出された。しかしながら、そのと体を含むすべての検体でチラー後には 7 cfu/25cm<sup>2</sup> 以下まで減少し、加熱(焼烙)後には全く検出されなかった。

大腸菌群も同様に、脱羽後と比較してチラー後にはすべての検体で菌数の減少が認められ、平均として 46.3 cfu/25cm<sup>2</sup> から 6.5 cfu/25cm<sup>2</sup> へ菌数を減らした。また、*E. coli* と同じく加熱(焼烙)後には全く検出されなかった。

一般生菌数は、脱羽後に最も大きな値を示したと体で 2.1 × 10<sup>2</sup> cfu/25cm<sup>2</sup> 検出された。脱羽後からチラー後までの間に、菌数の上昇が認められた検体は存在しなかった。一方、脱羽後に最大値を示したと体を含む 6 検体で加熱(焼烙)後に一般生菌は検出されず、平均 1.0 cfu/25cm<sup>2</sup> まで抑えられた。

No. 1~6 および No. 7~12 の 2 鶏群 12 羽すべての直腸スワブからカンピロバクターが検出された(*C. jejuni* 10 検体、*C. coli* 2 検体)。と体ふき取り材料からは、脱羽後の 12 検体中 5 検体でカンピロバクターが分離された(すべて *C. jejuni*) 一方、チラー後および焼烙後の検体ではすべてカンピロバクター陰性であった。

検体 No. 13~30 の 18 検体のうち 13 検体で、脱羽後の *E. coli* 数は 10 cfu/25cm<sup>2</sup> を下回った。チラー後において、1 検体のみ 41 cfu/25cm<sup>2</sup> を示したものがみられたが、これを除く 17 検体は 5 cfu/25cm<sup>2</sup> 以下に抑えられていた。その上、焼烙後にはすべての検体で *E. coli* は検出されなかった。

検体 No. 15 から検出された、脱羽後の  $1.4 \times 10^3$  cfu/25cm<sup>2</sup>、チラー後の  $96$  cfu/25cm<sup>2</sup> がともに 18 羽中最大の大腸菌群数であった。しかし、No. 15 を含むすべての検体で焼烙後には大腸菌群は検出されなかった。

一般生菌数は検体により様々な値を示し、脱羽後に  $8.3 \times 10^1 \sim 4.1 \times 10^2$  cfu/25cm<sup>2</sup> の範囲で検出された。チラー後には 18 検体中 12 検体で  $1.0 \times 10^2$  cfu/25cm<sup>2</sup> 未満であるなど、低い値に抑えられているものが多かった一方、18 検体中最大となる  $1.8 \times 10^2$  cfu/25cm<sup>2</sup> を示したものを含む 4 検体で  $10^3$  cfu/25cm<sup>2</sup> を超える一般生菌数が検出された。しかし、このような高い値を示した検体があったものの、焼烙後にはいずれの検体も  $6$  cfu/25cm<sup>2</sup> 以下であり、このうち 14 検体からは検出されなかった。

検体 No. 13 ~ 30 の 18 羽のうち、直腸スワブからカンピロバクターが検出されたのは 7 羽であった。鶏群ごとにみると、9 月採材の No. 13 ~ 18 の 6 羽中 5 羽(陽性率 83 %)、11 月採材の No. 19 ~ 24 の 6 羽中 2 羽(陽性率 33 %)であり、2 月採材の No. 25 ~ 30 の 6 羽はすべて陰性(陽性率 0 %)であった。分離されたカンピロバクターはいずれも *C. jejuni* であった。と体ふき取りの材料からは、工程に関わらずカンピロバクターは検出されなかった。

### 3. 大規模食鳥処理場を通じて加工される生食用鶏肉におけるカンピロバクター汚染菌数の評価

大腸菌群数、一般生菌数、カンピロバクター数の各工程 6 検体の平均値の推移を図 7-A、B、C、D にそれぞれ示した。もも肉原料からは  $0$  cfu/g ~  $4.1 \times 10^2$  cfu/g の *E. coli* が検出された。加熱後に唯一  $2.8 \times 10^3$  cfu/g を示した検体が認められたが、その他の 5 検体はすべて *E. coli* 陰性であった。スライス後の検体および製品からは全く検出されなかった。もも肉原料から検出された大腸菌群数は、 $9.0 \times 10^1$  cfu/g ~  $6.8 \times 10^2$  cfu/g

の範囲であった。加熱後の 4 検体からは大腸菌群を検出しなかった一方、 $4.0 \times 10^3$  cfu/g を数えた検体が 1 つ認められた。スライス後の 2 検体から  $1.0 \times 10^1$  cfu/g の大腸菌群が検出され、その他の 4 検体からは検出されなかった。製品からは最大  $7.0 \times 10^1$  cfu/g の大腸菌群を検出したが、製品の半数は大腸菌群陰性であった。もも肉原料 6 検体のうち 4 検体で  $10^4$  cfu/g を上回る一般生菌が検出された。加熱後には 1 検体で  $3.8 \times 10^4$  cfu/g を検出したものの、その他はおおむね低値であり、一般生菌が検出されなかったものも 2 検体みられた。スライス後の検体および製品からはそれぞれ、最大で  $7.4 \times 10^2$  cfu/g、 $1.5 \times 10^3$  cfu/g の一般生菌が検出された。

もも肉原料の 1 検体で  $4.6 \times 10^2$  MPN/10g のカンピロバクターを検出したものの、これに次ぐ 2 番目に高い値は  $1.5 \times 10^1$  MPN/10g であり、おおむね低い値に抑えられていた。また加熱後以降の検体からカンピロバクターは検出されなかった。むね肉原料の検体から検出された *E. coli* 数は、最大で  $4.0 \times 10^1$  cfu/g であった。原料の 6 検体のうち 4 検体からは *E. coli* は検出されなかった。また、加熱後、スライス後、製品の検体からは一切検出されなかった。大腸菌群は、むね肉原料の検体から  $2.0 \times 10^1$  cfu/g ~  $3.7 \times 10^2$  cfu/g の範囲で検出された。加熱後の検体からは大腸菌群は検出されなかった。スライス後、製品の検体ではそれぞれ 5 検体、4 検体で大腸菌群陰性であったほか、最大でも  $1.0 \times 10^1$  cfu/g に抑えられていた。むね肉原料から検出された一般生菌数は、 $1.6 \times 10^4$  cfu/g を記録した 1 検体を除いて  $5.0 \times 10^3$  cfu/g 以下であった。加熱後には、検出されなかった 2 検体を含め、すべての検体で  $10^2$  cfu/g 未満であった。カンピロバクターは、原料から製品までのすべての検体で陰性であった。

#### D. 考察

MPN3本法を用いて鶏肉のカンピロバクター汚染レベルを調査した結果、生食用鳥肉は、そのほとんどがカンピロバクター陰性であった。高度汚染サンプルを除いたカンピロバクター陽性サンプルのMPN / 50g値は29未満であった。これは、生食用として販売されている鶏肉が加熱用とは異なるラインで処理されていることを意味するものと思われる。しかしながら、生食用鶏肉のうち3サンプルは240 MPN / 50gを超えるカンピロバクターで汚染されていた。カンピロバクターのヒトへの感染は数百個の菌で成立することが知られており、これらの3つのサンプルは感染の危険性があるかもしれない。比較的高度に汚染されたこれら3サンプルは2つの小規模製造業者(F、G)のみで処理されたものであり、したがって、カンピロバクターによる汚染リスクは製造者の加工方法に依存する可能性があることから、厳しい管理によってカンピロバクターによる汚染を抑制できると思われた。鹿児島県で市販されているいわゆる「鳥刺し」は表面が加熱焼烙された鶏肉であり、カンピロバクターによる汚染レベルを低く抑えることができている可能性が考えられた。

認定小規模食鳥処理場における調査の結果、加熱後のすべての検体でカンピロバクター陰性であったほか、一般に糞便汚染の指標菌とされている *E. coli* が、調査を行った30羽すべてにおいて加熱後に検出されなかったことから、本研究で調査を行った加工業者で施される焼烙の工程は糞便汚染を除去するのに十分な効果を示していると考えられた。また、チラーの条件に関わらず焼烙後に大腸菌群が検出されず、一般生菌数も6 cfu/25cm<sup>2</sup>以下に抑えられていたことは、焼烙の効果を際立たせる結果となった。

鶏肉に付着するカンピロバクターは主に食鳥の腸管内に由来すると考えられる。また、中抜き前のと体において、素囊からカンピロバクターが

分離されたとの報告がある。同一食鳥処理場において、腸管内カンピロバクター陽性鶏群の処理後に陰性鶏群が解体された場合、陽性鶏群から陰性鶏群への交差汚染が起こることが報告されている。本研究では、直腸スワブのカンピロバクター陰性鶏群であった検体 No. 24 ~ 30 において、食鳥処理のいずれの工程からもカンピロバクターは検出されなかった。これら6羽の前に処理された鶏群のカンピロバクター保有は明らかでないものの、今回交差汚染が起こったことを示唆する結果は少なくとも認められなかった。交差汚染の要因として、中抜き方式による解体の場合、中抜き機が腸管を破損することが挙げられる。また素囊からの汚染も考えられる。本研究で調査を行った食鳥処理場は外剥ぎ方式による解体を採用しており、腸管破損による腸内容物の漏出といった汚染の要因が発生しにくいことが奏功しているものと推測される。

本研究において、直腸スワブのカンピロバクター陽性率は、8月、9月、11月、2月採材の鶏群でそれぞれ100%(12/12)、83%(5/6)、33%(2/6)、0%(0/6)であった。イギリスで実施された調査で、盲腸内容物からカンピロバクターの検出を試みた結果、7月、8月、9月における鶏群陽性率がその他の月と比較して有意に高値であったと報告されている。また、アメリカでの調査で、小売り段階のと体におけるカンピロバクター陽性率が5月~10月で特に高く(87%~97%)、12月(6.7%)、1月(33%)で特に低かったとする研究もある。このように、初夏から秋季にかけてカンピロバクター保有率が高いことを指摘する報告に概ね一致する結果が本研究からも得られた。

大規模食鳥処理場を通じて加工される生食用鶏肉での調査の結果、もも肉、むね肉ともに加熱後の検体からカンピロバクターは検出されなかった。鶏レバーにおいては、カンピロバクターを完全に殺菌するには中心温度70℃以上を2

分～3分間持続することが必要であるとする報告がある。一方、鶏ミンチのパティ(厚さ1.2 cm)について行われた研究では、人工的にカンピロバクターを接種した検体と接種しない検体をそれぞれフライパンで加熱した際、中心温度がそれぞれ57.5、52.1に達したときにカンピロバクターが検出限界以下( $< 10$  cfu/g)となったことが報告されている。本研究では肉の温度について計測していないものの、もも肉焼烙の工程で加工場が定める目標値は表面70以上となっている。レバーは胆管等を通して表面だけでなく内部までカンピロバクターに汚染されていることがあるため、中心まで加熱することが求められる。一方、もも肉やむね肉は表面の汚染を制御することが重要であり、本研究の結果も踏まえると、湯通しまたは焼烙により表面が70以上に加熱されることで十分であると考えられる。

原料のもも肉から検出された *E. coli* 数は最大でも  $4.1 \times 10^2$  cfu/g であったにも関わらず、加熱後のもも肉1検体から  $2.8 \times 10^3$  cfu/g と著しく高い値が検出されたことは、表面焼烙の工程を終えるまでの間に何らかの衛生管理が不十分であった可能性を示唆している。一方、スライス後および製品の検体からは *E. coli* は検出されなかった。加えて、著しく高い *E. coli* 数を示した検体を含め、加熱後以降のすべての検体でカンピロバクター陰性であった。このことから、*E. coli* による高度汚染は必ずしもカンピロバクター汚染を伴っていることを意味しないと考えられる。これは、福岡市が行った生食用鶏肉に関する調査で、 $10^4$  MPN/100g 以上と高い値の推定大腸菌が検出された検体の半数以上がカンピロバクター陰性であったことから裏付けられる。ただし、*E. coli* による汚染は食品衛生上好ましいものではなく、加熱ムラや加熱後の汚染などがないよう、衛生管理においてより一層の配慮が必要である。原料の検体において、もも肉の一般生菌数がむね肉より有意に高かったことから、も

も肉は環境からの微生物汚染が高いことが示唆された。本研究で調査を行った加工場では、加熱の工程においてむね肉は湯通し90秒(湯:92)がなされるのに対して、もも肉には30秒の湯通し(湯:92)の後に焼烙が行われており、湯通しと焼烙が併用されている。もも肉の製品ではすべての検体で  $1.5 \times 10^3$  cfu/g 以下、むね肉の製品では  $1.0 \times 10^2$  cfu/g 以下となっており、加熱することによってもも肉、むね肉とも十分に汚染を抑えられていると考えられる。加えて、製品の一般生菌数においてむね肉がもも肉より有意に低かったことから、むね肉はとりわけ汚染が軽度であることが示唆された。

## E. 結論

生食用鶏肉として販売されている鳥刺しのカンピロバクター汚染レベルは加熱用の鳥肉よりはるかに低いことが明らかになった。汚染レベルは各製造過程における処理方法に依存する可能性が考えられた。

認定小規模食鳥処理場で解体・加工された食鳥と体表面のカンピロバクターは、チラー後以降の検体からは全く検出されなかった。*E. coli* (大腸菌数)やTC(大腸菌群数)は焼烙後に全て陰性となり、TVC(一般生菌数)も全ての検体で焼烙後に6 cfu/g以下となったことから、焼烙が糞便汚染の除去に大きく寄与していることが示唆された。

大規模食鳥処理場で解体され加工場へ搬入された生食用鶏肉(もも・むね肉)の加熱工程以降ではカンピロバクターはすべて陰性であった。これらの結果から、表面加熱が十分にカンピロバクター低減効果を示していることが示唆された。

以上より、表面の焼烙を十分にに行い、かつ一連の加工工程の中で適切な取り扱いを徹底することによって、生食用鶏肉を安全に提供することが可能であると考えられた。

## F. 健康危険情報

なし

## G. 研究発表

1. 論文発表等(発表誌名巻号・頁・発行年等も記入)

I shihara K., Chuma T., Andoh M., Yamashita M., Asakura H., Yamamoto S. Effect of climate element on *Campylobacter* colonization in broiler flock reared in southern Japan from 2008 to 2012.. *Poultry Sci.* (96) 931-937. 2017.

### 2.学会等発表

「鹿児島県内で市販される生食用鶏肉のカンピロバクター汚染状況」第64回日本獣医公衆衛生学会(九州)

平成27年10月16日(熊本)

「生食用と加熱用鶏肉におけるカンピロバクター汚染状況の比較」第8回日本カンピロバクター研究会

平成27年12月3日(京都市)

「人・動物・環境の調和と共存:人獣共通感染症および食品由来感染症制御からのアプローチ」平成28年度空気調和・衛生工学会大会 平成28年9月14日(鹿児島市)

「鹿児島県内で市販される生食用鶏肉のカンピロバクター汚染状況」第65回日本獣医公衆衛生学会(九州)

平成28年10月16日(北九州市)

「生食用と加熱用鶏肉におけるカンピロバクター汚染菌数の評価」第9回日本カンピロバクター研究会

平成28年11月26日(三鷹市)

「認定小規模食鳥処理場で加工される生食用鶏肉の処理工程におけるカンピロバクター汚染菌数の評価」第160回日本獣医学会(鹿児島市)平成29年9月13日

「認定小規模食鳥処理場の生食用鶏肉加工における焼烙のカンピロバクター汚染低減効果」第38回日本食品微生物学会(徳島市)平成29年10月5日

「大規模食鳥処理場を通じて加工される生食用鶏肉のカンピロバクター汚染菌数の評価」第66回九州地区日本獣医公衆衛生学会(宜野湾市)平成29年10月15日

「食鳥肉における微生物汚染低減策の有効性実証事業の方向性」平成29年度鹿児島県獣医公衆衛生講習会(鹿児島市)平成29年10月20日

「生食用食鳥肉加工工程における細菌汚染実態調査」第10回日本カンピロバクター研究会総会(宮崎市)平成29年11月30日

## H. 知的財産権の出願・登録状況(予定を含む)

1.特許取得

なし

2.実用新案登録

なし



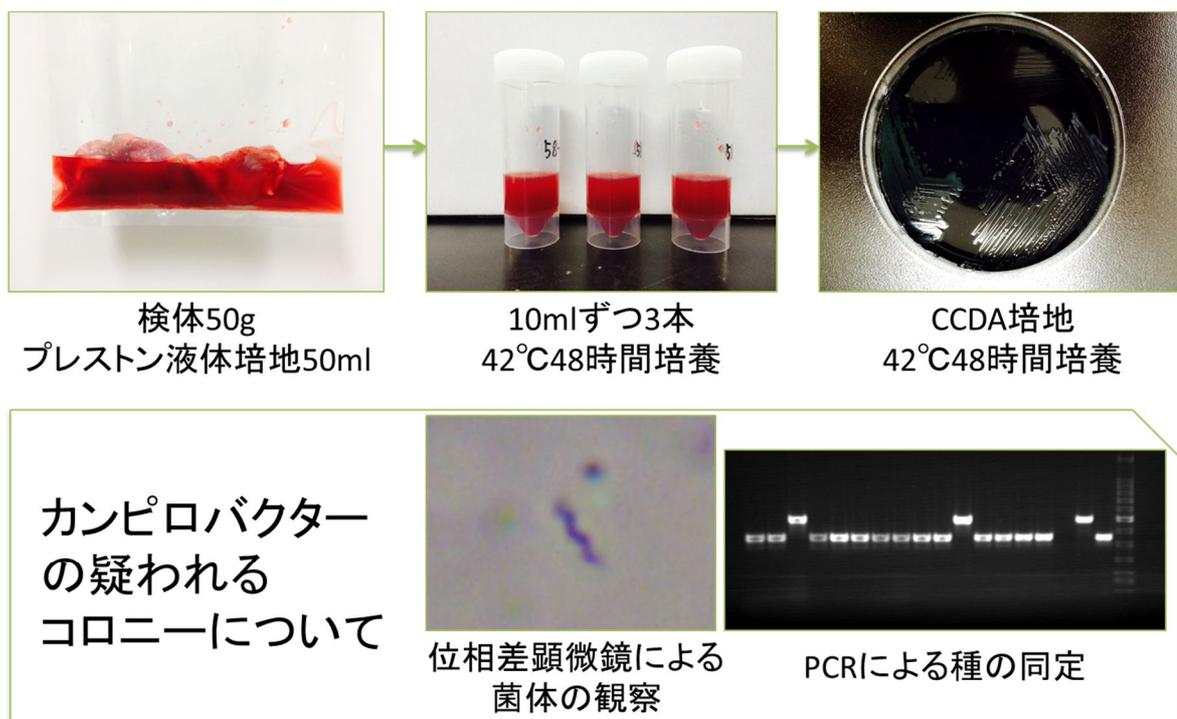


図1： MPN3本法を用いたカンピロバクター菌数の推定定量法



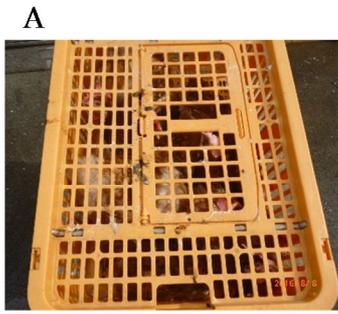
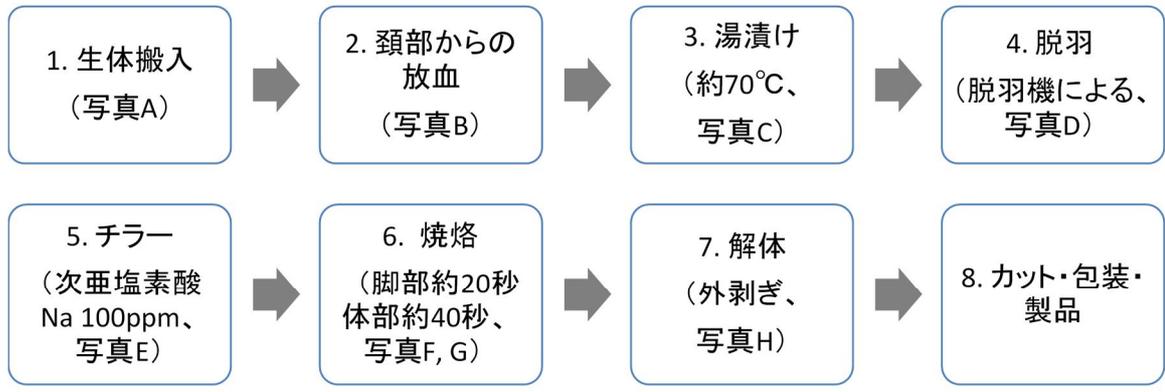


写真 A 搬入



写真 B 放血



写真 C 湯漬け



写真 D 脱羽



写真 E チラー

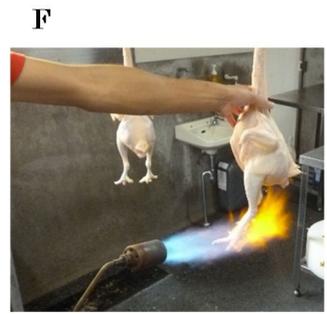


写真 F 焼烙 (脚部)



写真 G 焼烙 (体部)



写真 H 解体

図2 採材した認定小規模食鳥処理場の処理工程



図3 もも肉加工工程 (写真 a : ポイル槽、 b : 焼烙機、 c : スライス後、 d : 盛り付け)

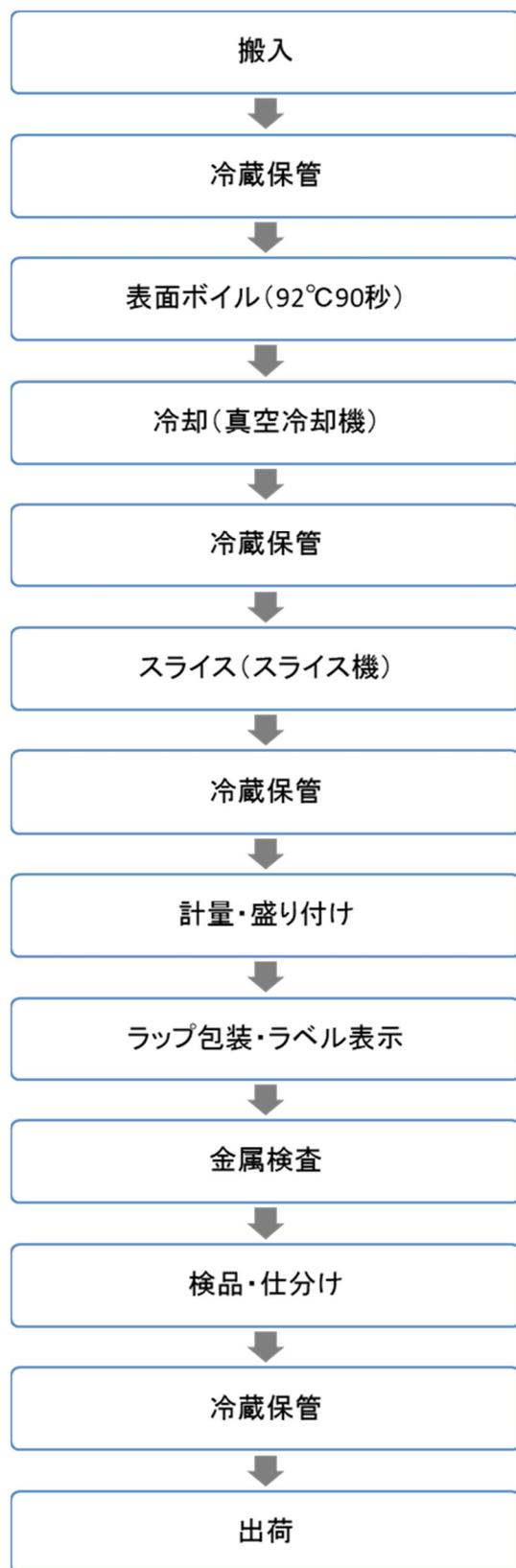


図4 むね肉加工工程

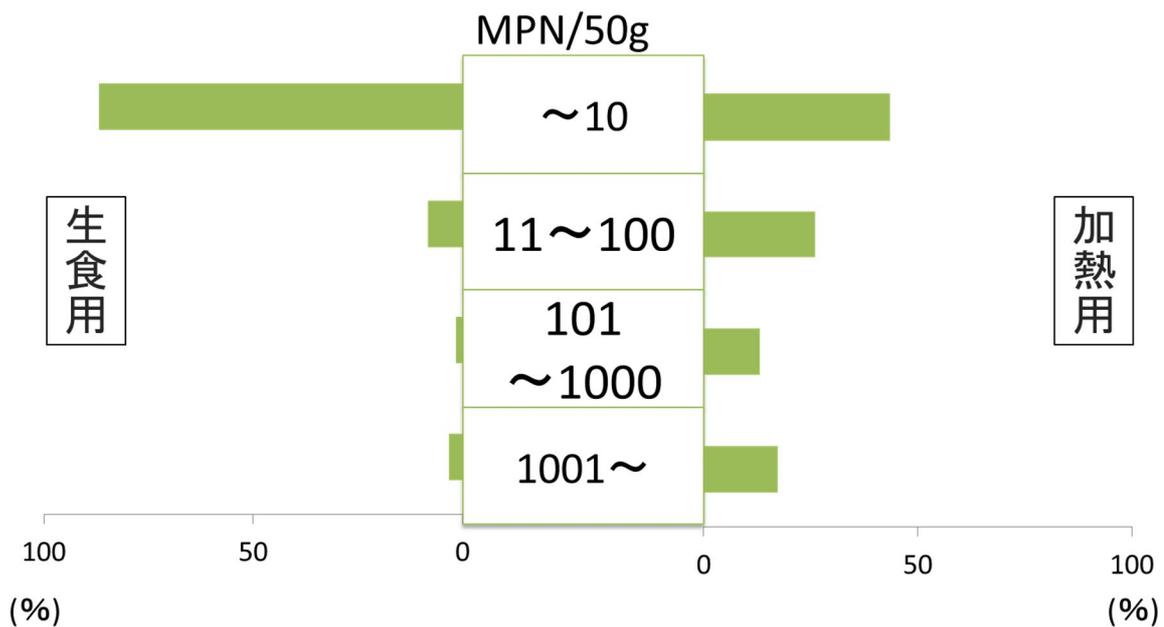


図5. カンピロバクター汚染菌数による検体数の分布



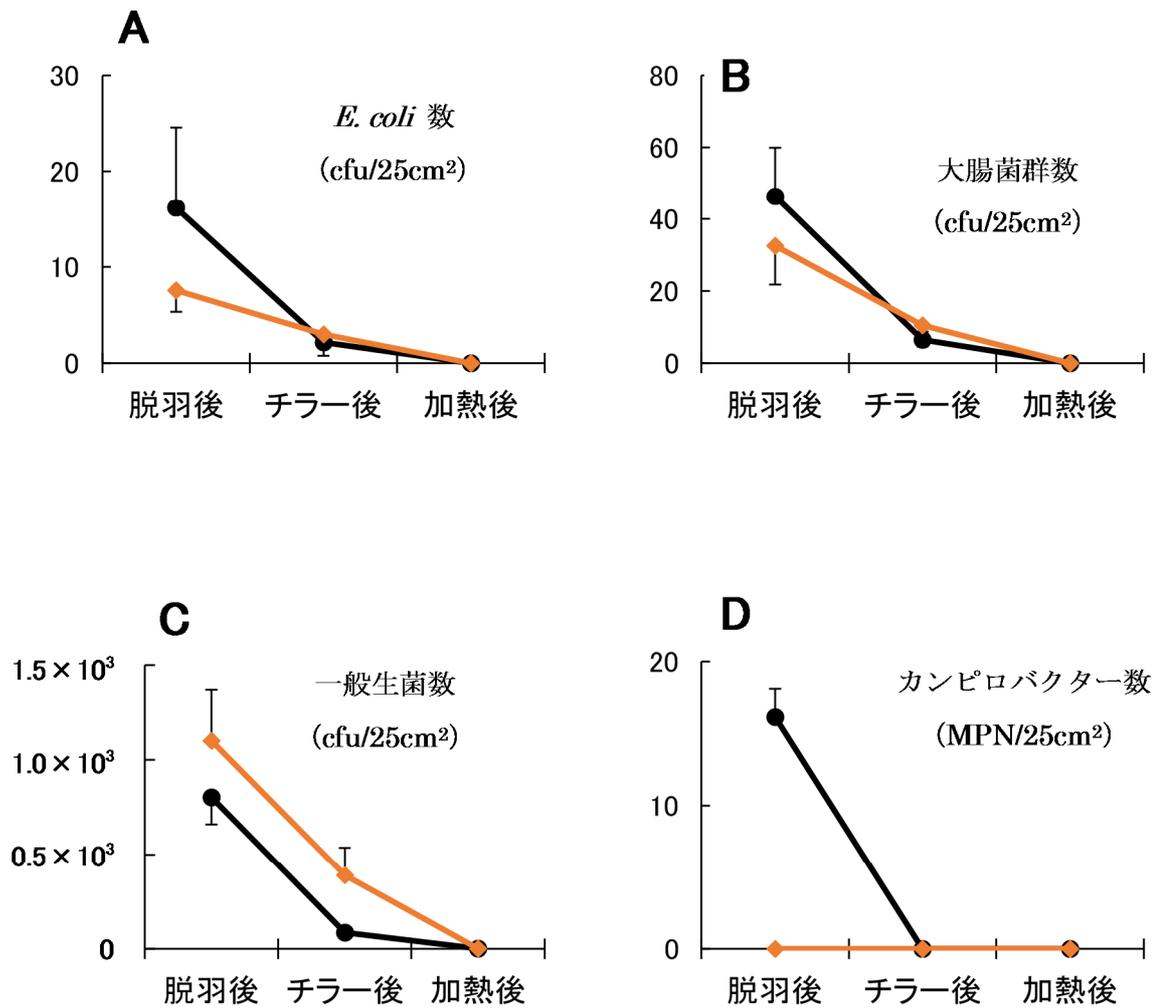


図6 各菌数の平均値の推移

(A) *E. coli* 数、(B)大腸菌群数、(C) 一般生菌数、(D)カンピロバクター数

● : No. 1~12 の平均値、◆ : No. 13~30 の平均値

エラーバーは標準誤差を表す。

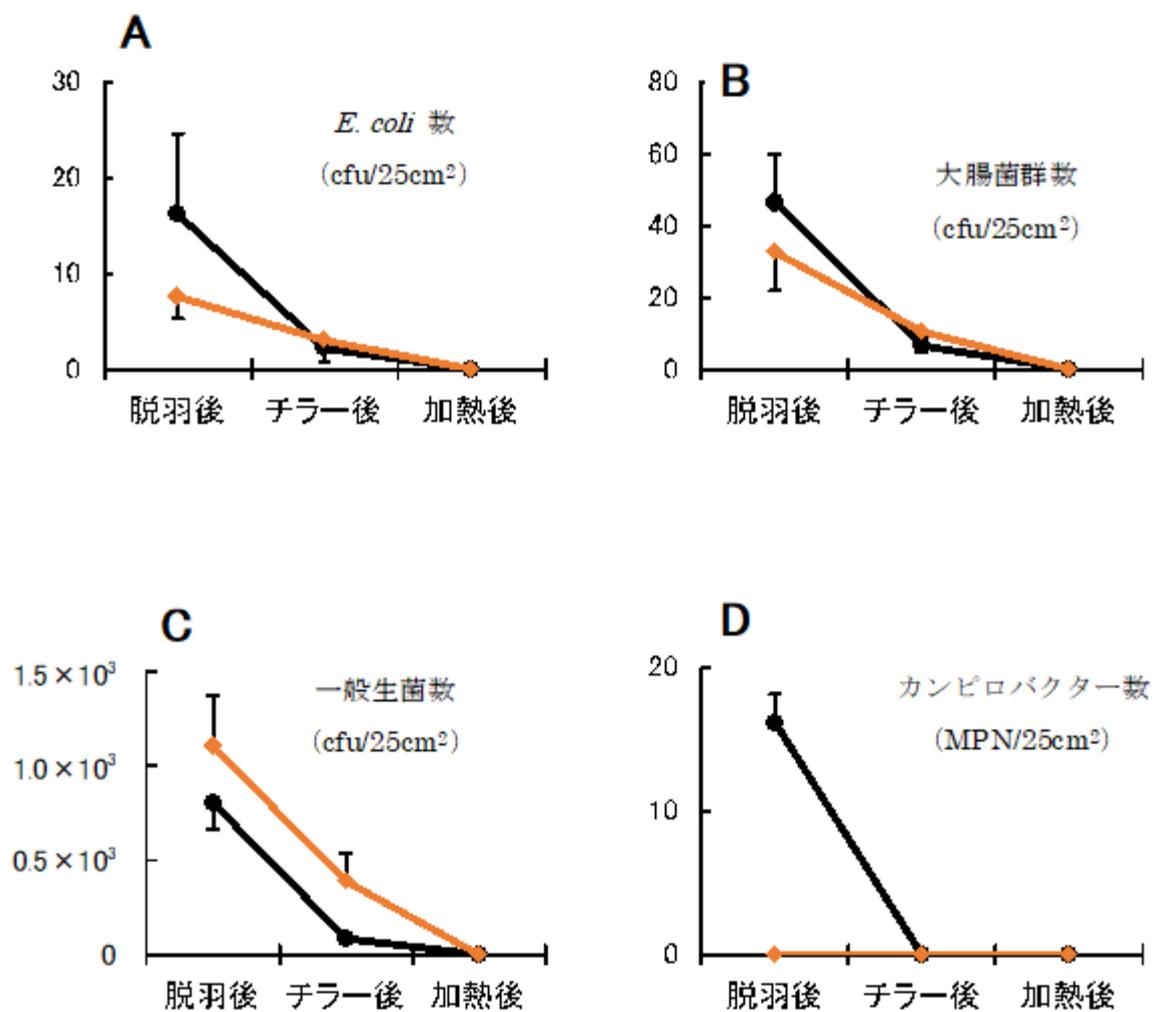


図6 各菌数の平均値の推移

(A)*E. coli* 数、(B)大腸菌群数、(C)一般生菌数、(D)カンピロバクター数

● : No. 1~12 の平均値、◆ : No. 13~30 の平均値

エラーバーは標準誤差を表す。

表1. 各鶏肉のカンピロバクター汚染菌数

汚染菌数 (MPN/50g)	検体数	
	生食用	加熱用
<3	47	14
3	1	1
4	1	1
6	1	1
7	0	1
9	3	2
11	0	1
23	4	4
29	1	1
38	0	1
43	0	4
93	0	1
240	1	3
460	0	3
1100	0	2
>1400	2	6
合計	61	46

表2. 生食用鶏肉加工業者による  
カンピロバクター汚染度の比較

加工業社	検体数	カンピロバクター汚染度(MPN/50g)			
		0~10	11~100	101~1000	1001~
A社	17	17			
B社	25	22	3		
C社	4	4			
D社	4	4			
E社	3	2	1		
F社	3	1	1		1
G社	2			1	1
H社	1	1			
I社	1	1			
J社	1	1			



平成27-29年度 厚生労働科学研究費補助金（食品の安全確保推進研究事業）

「食鳥肉におけるカンピロバクター汚染のリスク管理に関する研究」

総合分担研究報告書

宮城県および全国における積極的食品由来感染症病原体

サーベイランスならびに下痢症疾患の実態把握

（カンピロバクター症をはじめとする食品媒介感染症被害実態の推定）

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長
研究協力者	窪田邦宏	国立医薬品食品衛生研究所安全情報部第二室長
	桜井芳明	宮城県医師会健康センター所長
	小松真由美	宮城県医師会健康センター検査部検査科二科長
	玉井清子	株式会社ミロクメディカルラボラトリー
	坂上武文	株式会社ミロクメディカルラボラトリー
	滝 将太	株式会社ミロクメディカルラボラトリー
	霜島正浩	株式会社ビー・エム・エル
	渋谷俊介	株式会社 LSI メディエンス
	熊谷優子	国立感染症研究所国際協力室長
	齊藤剛仁	国立感染症研究所感染症疫学センター
	春日文子	国立環境研究所特任フェロー
	天沼 宏	国立医薬品食品衛生研究所安全情報部第二室
	田村 克	国立医薬品食品衛生研究所安全情報部第二室

研究要旨： 食中毒として報告されない散発発症患者を含めた胃腸炎疾患の患者数を推定するため、宮城県の臨床検査機関の協力により、医療機関から検査依頼された下痢症検便検体からの病原菌検出数に関するアクティブ（積極的）サーベイランスを 2005 年から継続して行っている。本年度はまず宮城県における 2005～2016 年の病原菌検出状況の詳細解析および被害実態の推定を行った。臨床検査機関を対象としたアクティブサーベイランスのデータを用い、検査機関の住民カバー率、および宮城県で以前に行った夏期および冬期の 2 回の電話住民調査の結果から求めた検便実施率および医療機関受診率等の因子を推定モデルに導入することで、*Campylobacter*、*Salmonella*、*Vibrio parahaemolyticus* の 3 菌について、モンテカルロシミュレーション法により宮城県における当該菌による食品由来下痢症患者数の推定を行なった。これらの推定値から、全国での当該菌による食品由来下痢症患者の発生率が宮城県での発生率と同じであると仮定した時の全国の

当該菌による食品由来下痢症患者の数を推定した。2011年からはさらに全国を対象とした民間検査機関3社から全国についての病原菌検出数データを収集している。本年度は2016年のデータを収集し、2006～2016年の11年間のアクティブサーベイランスデータから全国における食品由来下痢症患者数の推定を行い、宮城県データからの全国推定値と比較した。

## A. 研究目的

我が国では食品由来感染症の患者数は食品衛生法および感染症法にもとづいて報告されている。散発事例は食中毒事例として報告されない場合が多く、そのため食中毒統計等だけでは食品由来感染症・下痢症の患者数が正確に把握されていないことが示唆される。特に最近では広域散発事例による被害も報告されており、食品衛生行政における対策等の検討のためには、それらの事例も含めた被害実態の全容を把握することが重要と考えられる。

米国では1995年以降、FoodNet（フードネット）というアクティブ（積極的）サーベイランスシステムが導入され、食品衛生の各種対策及びその効果を検討するために食品由来感染症の実患者数の把握を継続して行なっている。FoodNetは全米10州の定点検査機関から病原体検出データを集約して分析している。さらに電話住民調査や検査機関調査等を継続して行い、各推定段階に必要なデータを得ることで全体推定を行なっている。このシステムで得られた推定結果は患者数の多年度にわたる変動の把握や各種行政施策の効果を検討する等、食品衛生行政に活用されている。

日本においても患者数の全容把握のために同様のシステムが必要と考えられるが、これまでに日本にはこうしたシステムが設置されてこなかった。下痢症の発生動向や

実態把握のための基礎データを蓄積することは、食中毒行政における食中毒対策立案、その効果の評価および各種リスク評価等にきわめて重要と考えられる。こうしたことをふまえ、本研究等において2005年より継続して宮城県においてアクティブサーベイランスを行い、これにより実患者数推定を行い、その有効性を実証し、日本におけるFoodNet様システム構築の基礎とすると同時に、そのようなシステムを日本に導入する際に検討すべき特徴の把握を行ってきた。

本年度は、(1)2005年から継続している宮城県におけるアクティブサーベイランス、およびそれによる宮城県の被害実態の推定を引き続き行った。また、(2)2011年からは民間検査機関3社の協力で全国についての病原菌検出データを収集し、それらをもとに全国における被害実態の推定を行っているが、本年度もこれを継続し、これらの結果を上記の宮城県データからの全国推定結果と比較することで本研究における推定手法の妥当性の検討を継続して行うこととした。

## B. 研究方法

### 1. データ収集

下痢症患者の原因病原体のアクティブサーベイランスを行うために、宮城県内で医療機関の医師が便検査を依頼している検査

機関に協力を依頼し、その機関からのデータ収集を継続して行っている。また 2011 年からは民間検査機関 3 社より全国の菌検出数データを収集している。

宮城県の有症者（定義は 1-3 参照）の医療機関受診率および受診者の検便実施率は、同県において以前に行った電話住民調査の結果より推定された値を用いた。季節変動を考慮して冬期（2006 年）だけでなく夏期（2007 年）にも電話住民調査を行い、冬期の結果と比較検討の上、統合したデータから検便実施率および医療機関受診率を確率分布に当てはめて推定した。

### 1 - 1 . 宮城県の臨床検査機関からの同県のデータの収集

協力検査機関

- ・ 宮城県医師会健康センター
- ・ 宮城県塩釜医師会臨床検査センター

これら 2 機関での検便結果を集計した。

### 1 - 2 . 民間検査機関からの全国のデータの収集

協力検査機関

- ・ 株式会社ミロクメディカルラボラトリー
- ・ 株式会社ビー・エム・エル
- ・ 株式会社 LSI メディエンス

これら 3 社での全国を対象とした検便の結果を集計した。

### 1 - 3 . 全国および宮城県を対象とした急性下痢症に関する電話住民調査

宮城県を対象とした急性下痢症に関する冬期電話住民調査（2006 年 11 月 22 日～12 月 4 日、約 1 万人）および夏期電話住民調査（2007 年 7 月 14 日～7 月 27 日、約 1

万 2 千人）全国を対象とした急性下痢症に関する冬期電話住民調査（2009 年 12 月 5 日～12 月 24 日、全国約 1 万 2000 人）および 2 回の夏期電話住民調査（2014 年 7 月 11 日～8 月 3 日、全国約 1 万 3 千人を対象、2016 年 7 月 22 日～8 月 23 日、全国約 2 万 3 千人を対象）が行われ（表 2）、その結果は適宜報告されているが、ここでは以下に概略を示しておく。

電話調査は全て共通の質問票および手順にて行った。全国および宮城県内の一般家庭をランダムに選択し、バイアスを減少させるため家庭内で次に誕生日が来る予定の人に対して調査を行った。調査時点から過去 1 カ月以内に血便、24 時間以内に 3 回以上の下痢、もしくは嘔吐があったという有症者条件を満たし、かつ慢性胃腸疾患、飲酒、投薬、妊娠等の除外条件がなかった人を有症者とした。

### 2 . データ集計・解析

検査機関からの病原菌検出データおよび電話調査からのデータは Microsoft Excel を利用してコンピューターファイルに入力した。検査機関データの個人情報提供された時点で既に切り離されており、提供データから個人を特定することはできない。電話調査データは人数だけのデータであり個人情報は含まれていない。電話調査データは全国または地域の年齢人口分布にもとづき補正し、集計後に確率分布として推定モデルに導入した。モデルは@RISK ソフトウェア（Palaside 社）上にて作成し、1 万回の試行を行った。

### 3 . 宮城県における食品由来下痢症患者数

の推定

宮城県における菌種ごとの食品由来下痢症疾患被害推定のために、上記検査機関のデータから *Campylobacter*、*Salmonella*、*Vibrio parahaemolyticus* の 3 菌の検出数を抽出した。協力検査機関ではこれら 3 菌に関しては、全ての検体で検査を行なっている。検出数に対し、検査機関の住民カバー率による補正を行い、その結果を医療機関における受診者の検便実施率、および下痢症患者の医療機関受診率の推定値とともに推定モデルに導入することで宮城県での各菌による推定患者数を算出した。検査機関の住民カバー率は検査機関からの情報により 2 機関あわせて 52%と推定した。

検査機関菌検出データは 2016 年 1～12 月の新規データと 2005 年 1 月～2015 年 12 月までの 11 年分の既集計データを用いた。

検査機関における陽性検体からの菌検出率は 100%と仮定した。さらに米国における研究 (P. Mead et al., 1999) で、食品由来感染の割合を *Campylobacter* は 80%、*Salmonella* は 95%、*Vibrio parahaemolyticus* は 65%であるとそれぞれ推定していることから、これらの値を用いて宮城県における各菌の食品由来下痢症患者数を推定した。

#### 4 . 宮城県についての推定結果から全国における食品由来下痢症患者数の推定

宮城県についての推定値より、全国での当該菌による食品由来下痢症患者の発生率が宮城県での発生率と同じであると仮定した時の全国の当該菌による食品由来下痢症患者数を推定した。このために総務省統計

局の Web ページに掲載されている人口統計データ (2010 年) を用いた。

#### 5 . 全国についての検出数データから全国での食品由来下痢症患者数の推定

全国での菌種ごとの食品由来下痢症疾患被害推定のために、全国を対象としている民間検査機関 3 社の検査データから、*Campylobacter*、*Salmonella*、*Vibrio parahaemolyticus* の 3 菌の検出数を抽出し、菌ごとに年間の検出数を求めた。これに対し、検査機関の住民カバー率による補正を行い、その結果を医療機関における受診者の検便実施率および下痢症患者の医療機関受診率の推定値とともに推定モデルに導入することで各菌による推定患者数を算出した。

2010～2016 年については 3 社 (ミロクメディカルラボラトリー、ビー・エム・エル、LSI メディエンス)、2009 年については 2 社 (ビー・エム・エル、LSI メディエンス)、2006～2008 年については 1 社 (ビー・エム・エル) の検出数データを使用した。

各検査機関の住民カバー率は、各検査機関の腸管出血性大腸菌 (EHEC) (2009 年および 2010 年の LSI メディエンス) もしくは EHEC O157 (ミロクメディカルラボラトリー、ビー・エム・エル、2011 年以降の LSI メディエンス) の検出数を厚生労働省への全国届出数と比較することによりそれぞれの年度ごとに推定した (表 5)。

検便実施率および医療機関受診率としては、全国を対象として夏期に 2 回実施された電話住民調査 (2014 年 7～8 月、2016 年 7～8 月) および冬期に実施された電話

住民調査（2009年12月）のデータを統合し、その解析により得られた各推定値（図1、2）を用いた。

各検査機関における陽性検体からの菌検出率は100%と仮定した。さらに宮城県の場合と同様、Meadらの推定値を用いて全国における各菌の食品由来下痢症患者数を推定した。

## C. 研究結果

### 1. 宮城県における2016年の病原細菌の検出状況

#### 1-1. 概要

2016年に宮城県医師会健康センターおよび宮城県塩釜医師会臨床検査センターで実施した便検査件数は4,920件であった（表1）。

O血清型大腸菌（以下 *Escherichia coli* と記す）を含め何らかの病原性がある細菌（病原細菌）の検出は2,440件で、下痢症の原因となる細菌（下痢原性細菌）は、2,335件であった。

菌種別では、*Escherichia coli* が1,952件と下痢原性細菌の83.6%を占めた。以下、*Campylobacter* が282件（12.1%）、*Salmonella* が42件（1.8%）、*Aeromonas* が15件（0.6%）、*Yersinia* が13件（0.6%）、*Edwardsiella tarda* が6件（0.3%）、*Vibrio parahaemolyticus* が2件（0.1%）検出された。菌種別の順位について、1位 *Escherichia coli*、2位 *Campylobacter* と上位は過去3年間と同じ菌種で、この2菌種で下痢原性細菌の95%以上を占めた。ベロ毒素陽性検体数は21件で、7、9月（各

6件）と8月（5件）に多く検出されていた。

#### 1-2. *Campylobacter*、*Salmonella*、*Vibrio parahaemolyticus* 検出数

宮城県における食品由来下痢症の被害推定の対象菌種として選定されている *Campylobacter*、*Salmonella*、*Vibrio parahaemolyticus* の検出状況についてまとめた（表1）。

*Campylobacter* の年間の検出数は282件で、月ごとの検出数は7月が36件と最も多く、次いで9月の33件、6、8月の各32件、10月の30件、11月の29件の順であった。

*Salmonella* の年間の検出数は42件で、9月の10件、4、7、8月の各5件、5、6、10月の各4件の順に多く検出された。

*Vibrio parahaemolyticus* の年間の検出数は2件で8月と10月の各1件であった。

### 2. 食品由来下痢症疾患実患者数推定の試み

#### 2-1. 宮城県でのアクティブサーベイランスデータからの食品由来下痢症疾患実患者数の推定

*Campylobacter*、*Salmonella*、*Vibrio parahaemolyticus* の3菌に関して、食品由来下痢症疾患の実患者数推定の試みを図3の考え方に沿って実施した。

##### 2-1-1. 宮城県における年間検出数の推定

宮城県における食品由来下痢症の実患者数の把握に向けて、宮城県医師会健康セン

ターおよび宮城県塩釜医師会臨床検査センターでの菌検出データをもとに推定を行った。2005年に陽性であった検便検体数は両センターを合わせて、*Campylobacter* が562件、*Salmonella* が78件、*Vibrio parahaemolyticus* が36件であった。2006年は*Campylobacter*が550件、*Salmonella*が46件、*Vibrio parahaemolyticus*が27件、2007年は*Campylobacter*が538件、*Salmonella*が46件、*Vibrio parahaemolyticus*が24件、2008年は*Campylobacter*が468件、*Salmonella*が56件、*Vibrio parahaemolyticus*が8件、2009年は*Campylobacter*が339件、*Salmonella*が33件、*Vibrio parahaemolyticus*が6件、2010年は*Campylobacter*が354件、*Salmonella*が51件、*Vibrio parahaemolyticus*が15件、2011年は*Campylobacter*が324件、*Salmonella*が23件、*Vibrio parahaemolyticus*が7件、2012年は*Campylobacter*が262件、*Salmonella*が30件、*Vibrio parahaemolyticus*が3件、2013年は*Campylobacter*が226件、*Salmonella*が33件、*Vibrio parahaemolyticus*が5件、2014年は*Campylobacter*が252件、*Salmonella*が43件、*Vibrio parahaemolyticus*が4件、2015年は*Campylobacter*が271件、*Salmonella*が41件、*Vibrio parahaemolyticus*が4件、2016年は*Campylobacter*が282件、*Salmonella*が42件、*Vibrio parahaemolyticus*が2件であった(表3)。協力検査機関はあわせて宮城県の人口の約52%をカバーしているとの検査機関からの情報により、宮城県全体

での各菌の検出数を、2005年は*Campylobacter*が1,081件、*Salmonella*が150件、*Vibrio parahaemolyticus*が69件、2006年はそれぞれ1,058件、88件、52件、2007年はそれぞれ1,035件、88件、46件、2008年はそれぞれ900件、108件、15件、2009年はそれぞれ652件、63件、12件、2010年はそれぞれ681件、98件、29件、2011年はそれぞれ623件、44件、13件、2012年はそれぞれ504件、58件、6件、2013年はそれぞれ435件、63件、10件、2014年はそれぞれ485件、83件、8件、2015年はそれぞれ521件、79件、8件、2016年はそれぞれ542件、81件、4件であると推定した。

#### 2-1-2. 宮城県での有症者の医療機関受診率の推定

今回用いた推定値は、2006年と2007年の2回の電話住民調査の結果にもとづいて既に得られているものである。以下に当該電話住民調査の結果について説明する。

宮城県における電話住民調査では2006年冬期2,126件、2007年夏期2,121件の有効回答が得られた(有効回答率はそれぞれ21.2%、17.7%)。下痢症疾患の有病率は冬期が3.3%(70/2,126人)、夏期が3.5%(74/2,121人)であった(表2)。

冬期調査では有症者数は70人、医療機関受診者数は27人であり、夏期調査では有症者数は74人、医療機関受診者数は23人であった(表2)。これらのデータを宮城県の人口年齢分布で補正した後に統合し、ベータ分布を仮定してモデルに導入した結果、医療機関受診率の平均値は32.0%であった。

### 2-1-3. 宮城県での医療機関受診者の検便実施率の推定

今回用いた推定値は、2006、2007年の2回の電話住民調査の結果にもとづいて既に得られているものである。

上記電話住民調査において、冬期調査では下痢症による医療機関受診者数は27人、検便実施者数は4人、夏期調査では医療機関受診者数は23人、検便実施者数は2人であった(表2)。これらのデータを人口年齢分布で補正した後に統合し、ベータ分布を仮定してモデルに導入したところ、検便実施率の平均値は10.9%であった。

### 2-1-4. 宮城県における下痢症疾患による実患者数の推定

上記で検討した種々の係数を用いて推定した宮城県における下痢症疾患による実患者数の平均値は、*Campylobacter*が年別に37,019(2005)、36,238(2006)、35,437(2007)、30,786(2008)、26,272(2009)、23,291(2010)、21,331(2011)、17,256(2012)、14,878(2013)、16,600(2014)、17,835(2015)、18,548(2016)人であった。*Salmonella*は5,134(2005)、3,028(2006)、3,028(2007)、3,690(2008)、2,169(2009)、3,358(2010)、1,515(2011)、1,973(2012)、2,174(2013)、2,831(2014)、2,698(2015)、2,765(2016)人であった。*Vibrio parahaemolyticus*は2,369(2005)、1,778(2006)、1,582(2007)、527(2008)、395(2009)、988(2010)、460(2011)、197(2012)、329(2013)、263(2014)、263(2015)、132(2016)人と推定された(表3)。宮城県(人口236万人)の人口

10万人あたりの下痢症疾患実患者数として表すと、*Campylobacter*は1,569(2005)、1,536(2006)、1,502(2007)、1,305(2008)、1,113(2009)、987(2010)、904(2011)、731(2012)、630(2013)、703(2014)、755(2015)、786(2016)人と推定された。*Salmonella*は10万人あたり218(2005)、128(2006)、128(2007)、156(2008)、92(2009)、142(2010)、64(2011)、84(2012)、92(2013)、120(2014)、114(2015)、117(2016)人、*Vibrio parahaemolyticus*は10万人あたり100(2005)、75(2006)、67(2007)、22(2008)、17(2009)、42(2010)、20(2011)、8(2012)、14(2013)、11(2014)、11(2015)、6(2016)人とそれぞれ推定された(表3)。

### 2-1-5. 宮城県における食品由来下痢症実患者数の推定とその食中毒患者報告数との比較

上記で推定された下痢症患者数にはヒト-ヒト感染、動物との接触感染等、食品由来でないものを原因とする被害が多く含まれており、食品由来感染の患者数の把握には更なる推定が必要である。米国のMeadらの研究では菌種ごとに食品由来感染の割合を*Campylobacter*は80%、*Salmonella*は95%、*Vibrio parahaemolyticus*は65%と推定しており、ここではこれらの値を用いて食品由来下痢症患者数の推定を行った。その結果、食品由来下痢症患者数は年別に、*Campylobacter*が29,615(2005)、28,990(2006)、28,350(2007)、24,629(2008)、21,018(2009)、18,633(2010)、17,065(2011)、13,805(2012)、11,902(2013)、13,280(2014)、14,268(2015)、14,838

(2016)人、*Salmonella*が4,877(2005)、2,877(2006)、2,877(2007)、3,506(2008)、2,061(2009)、3,190(2010)、1,439(2011)、1,874(2012)、2,065(2013)、2,689(2014)、2,563(2015)、2,627(2016)人、*Vibrio parahaemolyticus*が1,540(2005)、1,156(2006)、1,028(2007)、343(2008)、257(2009)、642(2010)、299(2011)、128(2012)、214(2013)、171(2014)、171(2015)、86(2016)人と推定された(表3)

宮城県における食中毒患者報告数は年別に、*Campylobacter*が143(2005)、109(2006)、32(2007)、33(2008)、9(2009)、25(2010)、9(2011)、52(2012)、8(2013)、32(2014)、5(2015)、7(2016)人、*Salmonella*が12(2005)、11(2006)、25(2007)、0(2008)、23(2009)、13(2010)、0(2011)、12(2012)、0(2013)、0(2014)、0(2015)、0(2016)人、*Vibrio parahaemolyticus*が32(2005)、0(2006)、627(下記参照)(2007)、37(2008)、19(2009)、16(2010)、0(2011)、1(2012)、0(2013)、0(2014)、0(2015)、0(2016)人であった(表3)。2007年の*Vibrio parahaemolyticus*食中毒患者報告数627人のうち620人は1件のアウトブレイクの患者であり、宮城県を含む東日本1都7県の患者を、原因食品の製造事業所の所在地であった宮城県がとりまとめて報告したものである。2007年に宮城県内で発生した*Vibrio parahaemolyticus*患者の報告数は、当該アウトブレイク患者のうち宮城県外の610名を除外した10人とそれ以外の7人の合計17人であった。

2-1-6. 全国を対象とした2016年夏、2014年夏および2009年冬の電話住民調査の結果の概要

2016年夏、2014年夏および2009年冬に全国を対象に行われた電話住民調査の結果について以下に記載する(表2)。

2016年7月22日~8月23日、2014年7月11日~8月3日、2009年12月5日~12月24日のそれぞれ約3週間に全国約2万3千人、約1万3千人、約1万2千人を対象として下痢症に関する電話住民調査が行われた。有効回答率は2016年調査が13.3%(3,020件)、2014年調査が15.2%(2,039件)、2009年調査が16.9%(2,077件)であった。

下痢症有症者数はそれぞれ96人(2016)、90人(2014)、77人(2009)で、従って下痢症有病率はそれぞれ3.2%、4.4%、3.7%であった。

2-1-7. 宮城県についての推定値を用いた全国の商品由来下痢症患者数の推定およびその全国の食中毒患者報告数との比較

上述するように、宮城県における2006、2007年の電話住民調査と、2009、2014、2016年の全国における電話住民調査とで下痢症有病率が全国の方が宮城県より概ね高い結果が得られた(表2)ことから、宮城県の推定値から人口比で全国の推定値を算出しても過大推定にはならないと考えられた。そこで、宮城県における推定食品由来患者数(表3)に、宮城県と全国の人口比を乗ずることで全国推定を行った(表4)。

全国における下痢症の推定食品由来患者数は年別に、*Campylobacter*が1,603,178(2005)、1,569,344(2006)、1,534,698

( 2007 )、1,333,266 ( 2008 ) 1,137,788 ( 2009 )、1,008,678 ( 2010 )、923,796 ( 2011 ) 747,320( 2012 ) 644,303( 2013 ) 718,899( 2014 ) 772,384( 2015 ) 803,240 ( 2016 )人、*Salmonella*が264,011( 2005 ) 155,743( 2006 ) 155,743( 2007 ) 189,794 ( 2008 ) 111,570( 2009 ) 172,687( 2010 ) 77,899( 2011 ) 101,447( 2012 ) 111,787 ( 2013 ) 145,566( 2014 ) 138,745( 2015 ) 142,210 ( 2016 ) 人、*Vibrio parahaemolyticus* が 83,366 ( 2005 )、62,579 ( 2006 ) 55,650 ( 2007 ) 18,568 ( 2008 ) 13,912( 2009 ) 34,754( 2010 ) 16,186 ( 2011 )、6,929 ( 2012 )、11,585 ( 2013 ) 9,257 ( 2014 ) 9,257 ( 2015 ) 4,656( 2016 )人とそれぞれ推定された( 表 4 )

全国の食中毒患者報告数は年別に、*Campylobacter* が 3,439 ( 2005 ) 2,297 ( 2006 ) 2,396 ( 2007 ) 3,071 ( 2008 ) 2,206( 2009 ) 2,092( 2010 ) 2,341( 2011 ) 1,834( 2012 ) 1,551( 2013 ) 1,893( 2014 ) 2,089( 2015 ) 3,272( 2016 )人、*Salmonella* が 3,700 ( 2005 ) 2,053 ( 2006 ) 3,603 ( 2007 ) 2,551 ( 2008 ) 1,518 ( 2009 ) 2,476( 2010 ) 3,068( 2011 ) 670( 2012 ) 861( 2013 ) 440( 2014 ) 1,918( 2015 ) 704 ( 2016 ) 人、*Vibrio parahaemolyticus* が 2,301 ( 2005 ) 1,236 ( 2006 ) 1,278 ( 2007 ) 168 ( 2008 ) 280 ( 2009 ) 579 ( 2010 ) 87 ( 2011 ) 124 ( 2012 ) 164 ( 2013 ) 47 ( 2014 ) 224 ( 2015 ) 240 ( 2016 ) 人であった( 表 4 )

2-2 全国についてのアクティブサーベイランスデータからの全国の食品由来下痢症

疾患実患者数の推定

2-2-1. 各検査機関の住民カバー率の推定

全国の食品由来下痢症の実患者数把握に向けて、民間検査機関 3 社の菌検出データをもとに推定を行った。

住民カバー率は、可能な限り EHEC O157 検出数を使用して推定した。LSI メディエンスの2009年および2010年のデータについては、EHEC O157 の検出数データが得られなかったためこれらの年のカバー率は EHEC の検出数に依った。

得られたカバー率をまとめると、2016 年はミロクメディカルラボラトリーが 1.2%、ビー・エム・エルが 14.0%、LSI メディエンスが 4.0%、2015 年はミロクメディカルラボラトリーが 1.2%、ビー・エム・エルが 14.8%、LSI メディエンスが 3.7%、2014 年はミロクメディカルラボラトリーが 1.5%、ビー・エム・エルが 15.4%、LSI メディエンスが 4.0%、2013 年はミロクメディカルラボラトリーが 1.4%、ビー・エム・エルが 16.7%、LSI メディエンスが 2.9%、2012 年はミロクメディカルラボラトリーが 1.8%、ビー・エム・エルが 15.7%、LSI メディエンスが 2.9%、2011 年はミロクメディカルラボラトリーが 1.2%、ビー・エム・エルが 11.4%、LSI メディエンスが 3.1%、2010 年はミロクメディカルラボラトリーが 1.5%、ビー・エム・エルが 12.1%、LSI メディエンスが 2.2%、2009 年はビー・エム・エルが 11.7%、LSI メディエンスが 2.7%であった。そこで 2016~2010 年は 3 社合計のカバー率とし、2016 年は 19.1%、2015 年は 19.7%、2014 年は 20.9%、

2013年は21.0%、2012年は20.4%、2011年は15.7%、2010年は15.8%が得られた(表5)。2009年はビー・エム・エルとLSIメディエンスの2社合計で14.4%であった。2006~2008年についてはビー・エム・エル1社の各年のカバー率(2006年は8.5%、2007年は7.1%、2008年は10.0%)を使用した。

#### 2-2-2. 全国における年間菌検出数の推定

民間検査機関における2006年(1社)の菌検出数は、*Campylobacter*が10,144件、*Salmonella*が1,888件、*Vibrio parahaemolyticus*が523件、2007年(1社)は*Campylobacter*が10,962件、*Salmonella*が1,886件、*Vibrio parahaemolyticus*が421件、2008年(1社)は*Campylobacter*が12,934件、*Salmonella*が1,894件、*Vibrio parahaemolyticus*が216件、2009年(2社)は*Campylobacter*が14,057件、*Salmonella*が2,059件、*Vibrio parahaemolyticus*が227件、2010年(3社)は*Campylobacter*が15,401件、*Salmonella*が2,434件、*Vibrio parahaemolyticus*が563件、2011年(3社)は*Campylobacter*が14,950件、*Salmonella*が2,705件、*Vibrio parahaemolyticus*が351件、2012年(3社)は*Campylobacter*が12,794件、*Salmonella*が2,258件、*Vibrio parahaemolyticus*が312件、2013年(3社)は*Campylobacter*が13,947件、*Salmonella*が2,324件、*Vibrio parahaemolyticus*が287件、2014年(3

社)は*Campylobacter*が16,762件、*Salmonella*が2,726件、*Vibrio parahaemolyticus*が209件、2015年(3社)は*Campylobacter*が18,164件、*Salmonella*が2,728件、*Vibrio parahaemolyticus*が138件、2016年(3社)は*Campylobacter*が18,547件、*Salmonella*が2,689件、*Vibrio parahaemolyticus*が232件であった(表6)。これらの検出数と各社の推定カバー率の合計を用いて、全国における年間菌検出数を推定した。その結果、全国での各菌の検出数は、2006年は*Campylobacter*が119,341件、*Salmonella*が22,212件、*Vibrio parahaemolyticus*が6,153件、2007年はそれぞれ154,423件、26,563件、5,930件、2008年はそれぞれ129,340件、18,940件、2,160件、2009年はそれぞれ97,618件、14,299件、1,576件、2010年はそれぞれ97,475件、15,405件、3,563件、2011年はそれぞれ95,223件、17,229件、2,236件、2012年はそれぞれ62,716件、11,069件、1,529件、2013年はそれぞれ66,414件、11,067件、1,367件、2014年はそれぞれ80,201件、13,043件、1,000件、2015年はそれぞれ92,203件、13,848件、701件、2016年はそれぞれ96,876件、14,045件、1,212件であると推定された。

#### 2-2-3. 全国における食品由来下痢症疾患の実患者数の推定

全国を対象とした下痢症に関する電話住民調査は2009年冬、2014年夏、および2016年夏の計3回行われている(表2)。そこでこれらのデータを全国の人口年齢分布で補正後、統合し、ベータ分布を仮定し

てモデルに導入し、全国の医療機関受診率および検便実施率を推定した。その結果、全国の医療機関受診率は25.5%、全国の検便実施率は4.8%とそれぞれ推定された(図1、2)。これらを用いて、全国における下痢症疾患の実患者数を推定した(表6)。

推定された実患者数の平均値は、*Campylobacter* では年別に 13,084,001 (2006) 16,939,998 (2007) 14,198,429 (2008) 10,707,971 (2009) 10,687,320 (2010) 10,443,399 (2011) 6,880,816 (2012) 7,286,661 (2013) 8,796,321 (2014) 10,108,930 (2015) 10,641,732 (2016) 人であった。*Salmonella* では 2,435,193 (2006) 2,914,508 (2007) 2,079,158 (2008) 1,568,451 (2009) 1,689,042 (2010) 1,889,592 (2011) 1,212,503 (2012) 1,213,198 (2013) 1,430,543 (2014) 1,518,232 (2015) 1,542,870 (2016) 人であった。*Vibrio parahaemolyticus* では 674,579 (2006) 650,587 (2007) 237,116 (2008) 172,918 (2009) 390,686 (2010) 245,193 (2011) 167,799 (2012) 149,944 (2013) 109,678 (2014) 76,802 (2015) 133,115 (2016) 人と推定された。

日本全国(人口1億2777万人)の人口10万人あたりの下痢症疾患実患者数は、*Campylobacter* が 10,262 (2006) 13,286 (2007) 11,136 (2008) 8,398 (2009) 8,382 (2010) 8,191 (2011) 5,397 (2012) 5,715 (2013) 6,899 (2014) 7,929 (2015) 8,347 (2016) 人、*Salmonella* が 1,910 (2006) 2,286 (2007) 1,631 (2008) 1,230 (2009) 1,325 (2010) 1,482 (2011) 951 (2012) 952 (2013) 1,122 (2014)

1,191 (2015) 1,210 (2016) 人、*Vibrio parahaemolyticus* が 529 (2006) 510 (2007) 186 (2008) 136 (2009) 306 (2010) 192 (2011) 132 (2012) 118 (2013) 86 (2014) 60 (2015) 104 (2016) 人とそれぞれ推定された。

宮城県についての推定の場合(2-1-5参照)と同様にMeadらの結果を適用することにより、全国における下痢症の食品由来実患者数が年別に、*Campylobacter* が 10,467,201 (2006) 13,551,998 (2007) 11,358,743 (2008) 8,566,377 (2009) 8,549,856 (2010) 8,354,719 (2011) 5,504,652 (2012) 5,829,329 (2013) 7,037,057 (2014) 8,087,144 (2015) 8,513,386 (2016) 人、*Salmonella* が 2,313,433 (2006) 2,768,783 (2007) 1,975,200 (2008) 1,490,028 (2009) 1,604,590 (2010) 1,795,112 (2011) 1,151,878 (2012) 1,152,538 (2013) 1,359,046 (2014) 1,442,320 (2015) 1,465,727 (2016) 人、*Vibrio parahaemolyticus* が 438,477 (2006) 422,882 (2007) 154,126 (2008) 112,397 (2009) 253,946 (2010) 159,375 (2011) 109,069 (2012) 97,464 (2013) 71,291 (2014) 49,921 (2015) 86,525 (2016) 人とそれぞれ推定された(表6)。

日本全国における人口10万人あたりの下痢症の食品由来実患者数は、*Campylobacter* が 8,210 (2006) 10,629 (2007) 8,909 (2008) 6,719 (2009) 6,706 (2010) 6,553 (2011) 4,317 (2012) 4,572 (2013) 5,519 (2014) 6,343 (2015) 6,677 (2016) 人、*Salmonella* が 1,815 (2006) 2,172 (2007) 1,549 (2008)

1,169(2009) 1,259(2010) 1,408(2011) 903(2012) 904(2013) 1,066(2014) 1,131(2015) 1,150(2016)人、*Vibrio parahaemolyticus* が 344(2006) 332(2007) 121(2008) 88(2009) 199(2010) 125(2011) 86(2012) 76(2013) 56(2014) 39(2015) 68(2016)人とそれぞれ推定された(表6)。

なお表6には2006～2016年の*Campylobacter*、*Salmonella*、*Vibrio parahaemolyticus*の全国食中毒患者報告数も示してある。

#### D. 考察

宮城県の臨床検査機関のデータからの食品由来下痢症疾患実患者数の推定では、2005～2016年の12年間を通じて、推定食品由来下痢症患者数は食中毒統計や病原微生物検出情報での報告数より大幅に多いことが確認された。また推定食品由来下痢症患者数と食中毒患者報告数の経年変化が*Vibrio parahaemolyticus*の場合を除いて互いに連動しているとは言えないことから、現行の食中毒および病原微生物に関する報告システムによって食品由来下痢症の実患者数を正確に把握し、経年変動等を評価することは困難であることが示唆された。より正確な患者数を把握するための補完システムとしてアクティブサーベイランスシステムの構築およびその活用が必要であり、そのアクティブサーベイランスシステムにおいて最も重要なことは継続性であると考えられた。

2011年からは全国を対象としている民間検査機関3社(年によって社数は異なる)

から2006年以降の全国の菌検出データを収集し、これをもとに全国の食品由来下痢症疾患実患者数の推定も行っている。宮城県の場合と同様、2006～2016年の調査期間を通じて推定食品由来下痢症患者数は食中毒統計や病原微生物検出情報での報告数より大幅に多いことが確認された。また11年間の推定結果を検討した結果、宮城県の場合と同様、推定食品由来下痢症患者数と食中毒患者報告数の経年変化は互いに連動しているとは言えないことが確認された。

全国データからの全国の食品由来下痢症推定患者数は、宮城県データからの人口比による全国推定結果と比較して、*Campylobacter*では6.7～10.6倍、*Salmonella*では9.3～23.0倍、*Vibrio parahaemolyticus*では5.4～18.6倍の違いがあった(表7)。宮城県と全国とで下痢症疾患有病率に大きな差は認められない(表2)ことから、この違いはそれぞれの推定に用いた検査機関住民カバー率、医療機関受診率、検便実施率などにより生じたと考えられる。住民カバー率の推定の方法は、宮城県の検査機関と全国を対象とする民間検査機関とで異なっている(前者は専門家の意見、後者はEHEC O157やEHECの検出数)。また受診率、検便率の推定は、宮城県の場合、2006年と2007年に行われた電話住民調査の結果にもとづいており、これに対し全国の場合は2009年、2014年、2016年に行われた調査にもとづいている。2006～7年と2009～2014年さらには2016年との間に有症者の医療機関受診行動や医師の検便実施行動に変化が起きている可能性も考えられる。以上のような種々の推定値の全国と宮城県における違いが、推定結

果の違いをもたらしている可能性がある。

今回の食品由来下痢症患者数推定において、宮城県の検査機関については専門家からの情報で住民カバー率を推定した。しかし専門家の情報には不確定な要素が含まれている可能性がある。宮城県の検査機関の住民カバー率の推定に EHEC 検出数による手法を試みたが検出数が少ないためにカバー率の年ごとのばらつきが大きくなり、推定に用いるのは現実的ではないと考えられた。全国を対象とした検査機関の場合は EHEC O157 (または EHEC) の検出数が宮城県の場合より大幅に多いため、推定結果のばらつきは宮城県の場合より小さいと考えられる。しかし特定地域において EHEC O157 (または EHEC) による大規模アウトブレイクが発生した場合はカバー率の推定に影響が出ることが予想されることに注意が必要である。複数年にわたるアクティブサーベイランスによりカバー率を把握することでその影響を少なくすることが可能であると考えられ、今後も継続したアクティブサーベイランスが必要であると考えられる。

本研究では食品由来下痢症の患者数は米国における研究成果を適用し、各菌の食品由来感染の割合を 65%~95%と仮定して推定したが、米国と日本の食習慣の違い等から、今回適用した値が妥当であるかは今後の検討課題である。日本においては米国と比較して生食が多いことから、日本における上記 3 菌の食品由来感染の割合は米国よりも高い可能性がある。

食中毒に対する各種対策等の検討およびその効果の評価を行なうためには継続した

定量的な実患者数の把握が必要であり、本研究での推定値は不確実性が大きい要素等が含まれた推定値ではあるものの、実患者数の幅を科学的に推定することができ、その推定結果から、実患者数が報告数より大幅に多い可能性が定量的、かつ多年度について示すことができた点が重要であると考ええる。

## E. 結論

宮城県および全国におけるアクティブサーベイランスを複数年について行うことで、下痢症患者の菌検出データを継続して収集し、下痢症発生実態の概略およびその動向の把握が可能となった。

宮城県の臨床検査機関での *Campylobacter*、*Salmonella*、*Vibrio parahaemolyticus* の年間検出数、検査機関の住民カバー率、医療機関における検便実施率、医療機関受診率等の各種データを組み合わせることで、宮城県内での上記 3 菌に起因する食品由来下痢症患者数の推定を行い、さらにこれより全国の食品由来下痢症の患者数を全国と宮城県の人口比を用いて推定し、それらの結果を宮城県および全国の食中毒患者報告数とそれぞれ比較した(表 3、4)。その結果、食中毒患者報告数よりも大幅に多くの患者が存在している可能性が示唆された。全国レベルで、*Campylobacter* では約 250~680 倍、*Salmonella* では約 25~330 倍、*Vibrio parahaemolyticus* では約 20~200 倍の患者が存在している可能性が考えられた。

2016 年は 2015 年に比べ *Salmonella* の全国食中毒患者報告数が急減しているにも

かわらず、推定食品由来患者数（および菌検出数）は宮城県からの推定および全国からの推定のどちらも大きく変化していなかった（表7）。これは2015年の *Salmonella* の報告事例の急増はアウトブレイク等の地域的な偏りがあるものに由来することを示唆し、全体の変動を検討する上で、そのような事例から大きな影響を受けることの少ない本研究のような全国的な長期的アクティブサーベイランスの重要性が示されたと考えられる。また、11年間の各菌の推定患者数と報告患者数の経年変化は互いに連動しているとは言えず、食中毒統計の報告数だけで実患者数の変動を把握することは難しいことが示唆された。

11年間（2006～2016年）の全国レベルのアクティブサーベイランスデータから同様に上記3菌に起因する全国の食品由来下痢症実患者数を推定し全国の食中毒患者報告数と比較したところ、*Campylobacter* では約2,600～5,600倍、*Salmonella* では約580～3,000倍、*Vibrio parahaemolyticus* では約220～1,800倍の患者が存在している可能性が示された。宮城県データからの全国推定と比較した場合は5.4～23倍程度の違いであった（表7）。宮城県データからの推定の場合と同様、2016年は全国データから推定した *Salmonella* の推定食品由来患者数は2015年に比べて大きく変化しておらず、全国の食中毒患者報告数の動向と連動していなかった。

今後も異なる規模や地域のデータからの推定結果を比較することで、年ごとの推定値の検証等に活用することが可能であると考えられる。さらに宮城県以外の地域でもアクティブサーベイランスを行い、宮城県

推定や全国推定と比較することによって地域性等の検討がより詳細に可能になると考えられる。また全国データについての住民カバー率のより詳細な推定、全国でのより大規模な電話住民調査による医療機関受診率および検便実施率の推定等により精度を向上させることも考えられる。

これらの結果から平常時から散発事例等を含めたデータ収集を継続して行うアクティブサーベイランスシステムの有効性およびその必要性が強調された。このようなサーベイランスシステムでは、菌の検出のみならず、下痢症発生率（有病率）、医療機関受診率および検便実施率等の情報も継続して調査を行なうことでアウトブレイク等の特殊事例の影響を最小限にすることができ、より現実に即した実態把握が可能となることが示唆される。また継続調査により各項目の動向把握が可能となり、緊急事例の早期発見につながる可能性がある。菌検出件数を把握する検査機関データは、報告率等の不確定要素が少なく、推定を行う上でより直接的なデータであると考えられる。全国の食品由来下痢症実患者数のより正確な把握と地域性等の把握のために、より拡大したアクティブサーベイランスを行なうこと、および各不確定要素の推定の精度向上を図っていくことが今後の検討課題である。

引用文献：

Mead, P. S., L. Slutsker, V. Dietz, L. F. McCaig, J. S. Bresee, C. Shapiro, P. M. Griffin, and R. V. Tauxe.  
Food-related illness and death in the United States.

Emerging Infectious Diseases, 5:607–625.  
1999.

F. 研究発表

1. 論文発表

2. 学会発表

窪田邦宏、天沼 宏、桜井芳明、小松真由美、玉井清子、坂上武文、滝 将太、霜島正浩、山下知成、熊谷優子、春日文子  
全国を対象として新たに実施した下痢症に関する電話住民調査と、その結果を利用したカンピロバクター、サルモネラ、腸炎ビブリオに起因する食中毒被害実態の推定  
(2006～2015年)

第38回日本食品微生物学会(2017年10月) 徳島市

窪田邦宏、田村 克、天沼 宏、今川正紀、中地佐知江、溝口嘉範、熊谷優子  
全国における食品への異物混入被害実態の把握

第113回日本食品衛生学会学術講演会  
(2017年11月) 東京都

G. 知的財産権の出願・登録状況

特になし

表 1 . 宮城県における病原細菌の検出状況 ( 2016 年 )

検査件数		1月	2月	3月	4月	5月	6月	7月	8月	9月	10月	11月	12月	合計
下痢症原因細菌	<i>Escherichia coli</i>	104	142	176	118	142	159	192	206	209	147	159	198	1,952
	<i>Campylobacter sp</i>	12	14	17	11	23	32	36	32	33	30	29	13	282
	<i>Staphylococcus aureus</i>	1	1	4		2	2	2	2	2	3	4		23
	<i>Yersinia sp</i>		1			5	1	1	3	1	1			13
	<i>Salmonella sp</i>	1		2	5	4	4	5	5	10	4	1	1	42
	<i>Aeromonas sp</i>				1	2	1	1	2	5	3			15
	<i>Vibrio parahaemolyticus</i>								1		1			2
	<i>Vibrio fluvialis</i>													0
	<i>Vibrio cholerae</i>													0
	<i>Vibrio mimicus</i>													0
	<i>Plesiomonas shigelloides</i>													0
	<i>Shigella sonnei</i>													0
	<i>Shigella flexneri</i>													0
	<i>Shigella boydii</i>													0
	<i>Edwardsiella tarda</i>	1	1			1	1			1	1			6
	小計	119	159	199	135	179	200	237	251	261	190	193	212	2,335
	その他	<i>Clostridium difficile</i>		2		1	1	1		2	3		1	3
<i>Candida sp</i>										1				1
その他	<i>Klebsiella oxytoca</i>	1	7	6	4	7	10	11	10	7	9	7	4	83
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>		1			1			2	1			1	6
	<i>Streptococcus group A</i>												1	1
合計		120	169	205	140	188	211	248	265	273	199	201	221	2,440
vero toxin陽性検体数				1	1			6	5	6	2			21

表 2 . 全国における電話住民調査の結果（2009 年冬、2014 年夏、2016 年夏）  
 と宮城県における電話住民調査の結果（2006 年冬および 2007 年夏）  
 （全て人口年齢分布補正前のデータ）

	2009年冬(全国)	2014年夏(全国)	2016年夏(全国)
合計コール数	12,265件	13,396件	22,682件
有効コール数 (有効回答率)	2,077件(16.9%)	2,039件(15.2%)	3,020件(13.3%)
有症者数(有病率)	77人(3.7%)	90人(4.4%)	96人(3.2%)
医療機関受診者数 (受診率)	23人(29.9%)	17人(18.9%)	17人(17.7%)
検便実施者数 (検便実施率)	2人(8.7%)	0人(-)	2人(11.8%)

	2006年冬(宮城県)	2007年夏(宮城県)
合計コール数	10,021件	11,965件
有効コール数 (有効回答率)	2,126件(21.2%)	2,121件(17.7%)
有症者数(有病率)	70人(3.3%)	74人(3.5%)
医療機関受診者数 (受診率)	27人(38.6%)	23人(31.1%)
検便実施者数 (検便実施率)	4人(14.8%)	2人(8.0%)

表3 . 宮城県における食品由来下痢症疾患の患者数推定結果とその食中毒患者報告数との比較 (2005～2016年、シミュレーション試行回数：1万回、宮城県人口:236万人)

検出菌	年	<sup>1</sup> 検出数	推定患者数(宮城県) [平均値]	推定患者数(宮城県) [10万人あたり]	<sup>2</sup> 推定食品由来 患者数(宮城県)	<sup>3</sup> 食中毒患者 報告数(宮城県)
カンピロバクター	2005	562	37,019	1,569	29,615	143
	2006	550	36,238	1,536	28,990	109
	2007	538	35,437	1,502	28,350	32
	2008	468	30,786	1,305	24,629	33
	2009	339	26,272	1,113	21,018	9
	2010	354	23,291	987	18,633	25
	2011	324	21,331	904	17,065	9
	2012	262	17,256	731	13,805	52
	2013	226	14,878	630	11,902	8
	2014	252	16,600	703	13,280	32
	2015	271	17,835	755	14,268	5
	2016	282	18,548	786	14,838	7
サルモネラ	2005	78	5,134	218	4,877	12
	2006	46	3,028	128	2,877	11
	2007	46	3,028	128	2,877	25
	2008	56	3,690	156	3,506	0
	2009	33	2,169	92	2,061	23
	2010	51	3,358	142	3,190	13
	2011	23	1,515	64	1,439	0
	2012	30	1,973	84	1,874	12
	2013	33	2,174	92	2,065	0
	2014	43	2,831	120	2,689	0
	2015	41	2,698	114	2,563	0
	2016	42	2,765	117	2,627	0
腸炎ピブリオ	2005	36	2,369	100	1,540	32
	2006	27	1,778	75	1,156	0
	2007	24	1,582	67	1,028	<sup>4</sup> 627(17)
	2008	8	527	22	343	37
	2009	6	395	17	257	19
	2010	15	988	42	642	16
	2011	7	460	20	299	0
	2012	3	197	8	128	1
	2013	5	329	14	214	0
	2014	4	263	11	171	0
	2015	4	263	11	171	0
	2016	2	132	6	86	0

<sup>1</sup> 宮城県医師会健康センターおよび塩釜医師会臨床検査センターにおける検出数

<sup>2</sup> 米国での胃腸炎疾患における食品由来感染の割合(カンピロバクター80%、サルモネラ95%、腸炎ピブリオ65%)を用いて算出(Mead et al. 1999)

<sup>3</sup> 食中毒患者報告数(宮城県)(厚生労働省食中毒統計、平成17～28年食中毒発生状況)

<sup>4</sup> 620人は1件のアウトブレイクにおける東日本1都7県での患者を宮城県がとりまとめて報告したもので、2007年の宮城県の実際の腸炎ピブリオ患者報告数は17人である。

表4．宮城県データからの全国の食品由来下痢症患者数の推定とその食中毒患者報告数との比較（2005～2016年、日本全国人口1億2777万人）

検出菌	年	推定食品由来患者数（全国）	食中毒患者報告数（全国）
カンピロバクター	2005	1,603,178	3,439
	2006	1,569,344	2,297
	2007	1,534,698	2,396
	2008	1,333,266	3,071
	2009	1,137,788	2,206
	2010	1,008,678	2,092
	2011	923,796	2,341
	2012	747,320	1,834
	2013	644,303	1,551
	2014	718,899	1,893
	2015	772,384	2,089
	2016	803,240	3,272
サルモネラ	2005	264,011	3,700
	2006	155,743	2,053
	2007	155,743	3,603
	2008	189,794	2,551
	2009	111,570	1,518
	2010	172,687	2,476
	2011	77,899	3,068
	2012	101,447	670
	2013	111,787	861
	2014	145,566	440
	2015	138,745	1,918
	2016	142,210	704
腸炎ピブリオ	2005	83,366	2,301
	2006	62,579	1,236
	2007	55,650	1,278
	2008	18,568	168
	2009	13,912	280
	2010	34,754	579
	2011	16,186	87
	2012	6,929	124
	2013	11,585	164
	2014	9,257	47
	2015	9,257	224
	2016	4,656	240

（宮城県データ：宮城県医師会健康センターおよび塩釜医師会臨床検査センターにおける検出数）

食中毒患者報告数（全国）

（厚生労働省食中毒統計資料、平成17～28年食中毒発生状況）

表5 . 全国を対象とした民間検査機関の住民カバー率の推定 ( 2006 ~ 2016 年 )

年	検査機関住民カバー率(合計)
2006	8.5%(1社)
2007	7.1%(1社)
2008	10.0%(1社)
2009	14.4%(2社)
2010	15.8%(3社)
2011	15.7%(3社)
2012	20.4%(3社)
2013	21.0%(3社)
2014	20.9%(3社)
2015	19.7%(3社)
2016	19.1%(3社)

2010年以降は3社

表6．全国についてのアクティブサーベイランスデータからの全国の実患者数推定とその食中毒患者報告数との比較（2006～2016年、シミュレーション試行回数：1万回、日本全国人口1億2777万人）

検出菌	年	<sup>1</sup> 検出数	推定患者数(全国) [平均値]	推定患者数 (10万人あたり)	<sup>2</sup> 推定食品由来患者数(全国)	推定食品由来患者 数(10万人あたり)	<sup>3</sup> 食中毒患者 報告数(全国)
カンピロバクター	2006	10,144	13,084,001	10,262	10,467,201	8,210	2,297
	2007	10,962	16,939,998	13,286	13,551,998	10,629	2,396
	2008	12,934	14,198,429	11,136	11,358,743	8,909	3,071
	2009	14,057	10,707,971	8,398	8,566,377	6,719	2,206
	2010	15,401	10,687,320	8,382	8,549,856	6,706	2,092
	2011	14,950	10,443,399	8,191	8,354,719	6,553	2,341
	2012	12,794	6,880,816	5,397	5,504,652	4,317	1,834
	2013	13,947	7,286,661	5,715	5,829,329	4,572	1,551
	2014	16,762	8,796,321	6,899	7,037,057	5,519	1,893
	2015	18,164	10,108,930	7,929	8,087,144	6,343	2,089
2016	18,547	10,641,732	8,347	8,513,386	6,677	3,272	
サルモネラ	2006	1,888	2,435,193	1,910	2,313,433	1,815	2,053
	2007	1,886	2,914,508	2,286	2,768,783	2,172	3,603
	2008	1,894	2,079,158	1,631	1,975,200	1,549	2,551
	2009	2,059	1,568,451	1,230	1,490,028	1,169	1,518
	2010	2,434	1,689,042	1,325	1,604,590	1,259	2,476
	2011	2,705	1,889,592	1,482	1,795,112	1,408	3,068
	2012	2,258	1,212,503	951	1,151,878	903	670
	2013	2,324	1,213,198	952	1,152,538	904	861
	2014	2,726	1,430,543	1,122	1,359,046	1,066	440
	2015	2,728	1,518,232	1,191	1,442,320	1,131	1,918
2016	2,689	1,542,870	1,210	1,465,727	1,150	704	
腸炎ピブリオ	2006	523	674,579	529	438,477	344	1,236
	2007	421	650,587	510	422,882	332	1,278
	2008	216	237,116	186	154,126	121	168
	2009	227	172,918	136	112,397	88	280
	2010	563	390,686	306	253,946	199	579
	2011	351	245,193	192	159,375	125	87
	2012	312	167,799	132	109,069	86	124
	2013	287	149,944	118	97,464	76	164
	2014	209	109,678	86	71,291	56	47
	2015	138	76,802	60	49,921	39	224
2016	232	133,115	104	86,525	68	240	

<sup>1</sup> 菌検出数：下記の民間検査機関の検出データを合計した。

2010～2016年：3社（株式会社ミロクメディカルラボラトリー、株式会社ビー・エム・エル、株式会社LSIメディエンス）

2009年：2社（株式会社ビー・エム・エル、株式会社LSIメディエンス）

2006～2008年：1社（株式会社ビー・エム・エル）

<sup>2</sup> 米国の胃腸炎疾患における食品由来感染の割合（カンピロバクター80%、サルモネラ95%、腸炎ピブリオ65%）を用いて算出（Mead et al. 1999）

<sup>3</sup> 食中毒患者報告数（全国）（厚生労働省食中毒統計、平成18～28年食中毒発生状況）

表7．宮城県および全国についてのアクティブサーベイランスデータからの全国の食品由来下痢症患者数の推定の相互比較（2006～2016年、シミュレーション試行回数：1万回）

検出菌	年	宮城県データからの推定 【平均値】	全国データからの推定 【平均値】	食中毒患者報告数 (全国)
カンピロバクター	2006	1,569,344	10,467,201	2,297
	2007	1,534,698	13,551,998	2,396
	2008	1,333,266	11,358,743	3,071
	2009	1,137,788	8,566,377	2,206
	2010	1,008,678	8,549,856	2,092
	2011	923,796	8,354,719	2,341
	2012	787,320	5,504,652	1,834
	2013	644,303	5,829,329	1,551
	2014	718,899	7,037,057	1,893
	2015	772,384	8,087,144	2,089
	2016	803,240	8,513,386	3,272
サルモネラ	2006	155,743	2,313,433	2,053
	2007	155,743	2,768,783	3,603
	2008	189,794	1,975,200	2,551
	2009	111,570	1,490,028	1,518
	2010	172,687	1,604,590	2,476
	2011	77,899	1,795,112	3,068
	2012	101,447	1,151,878	670
	2013	111,787	1,152,538	861
	2014	145,566	1,359,046	440
	2015	138,745	1,442,320	1,918
	2016	142,210	1,465,727	704
腸炎ピブリオ	2006	62,579	438,477	1,236
	2007	55,650	422,882	1,278
	2008	18,568	154,126	168
	2009	13,912	112,397	280
	2010	34,754	253,946	579
	2011	16,186	159,375	87
	2012	6,929	109,069	124
	2013	11,585	97,464	164
	2014	9,257	71,291	47
	2015	9,257	49,921	224
	2016	4,656	86,525	240

・宮城県データ（2006～2016年）：

宮城県医師会健康センターおよび塩釜医師会臨床検査センターにおける検出数

・全国データ：

2010～2016年：3社（株式会社ミロクメディカルラボラトリー、株式会社ビー・エム・エル、株式会社LSIメディエンス）

2009年：2社（株式会社ビー・エム・エル、株式会社LSIメディエンス）

2006～2008年：1社（株式会社ビー・エム・エル）

食中毒患者報告数（全国）（厚生労働省食中毒統計、平成18～28年食中毒発生状況）

図 1 : 2009 年冬期、2014 年夏期、2016 年夏期の電話調査結果の統合データから推定した医療機関受診率（試行 1 万回）

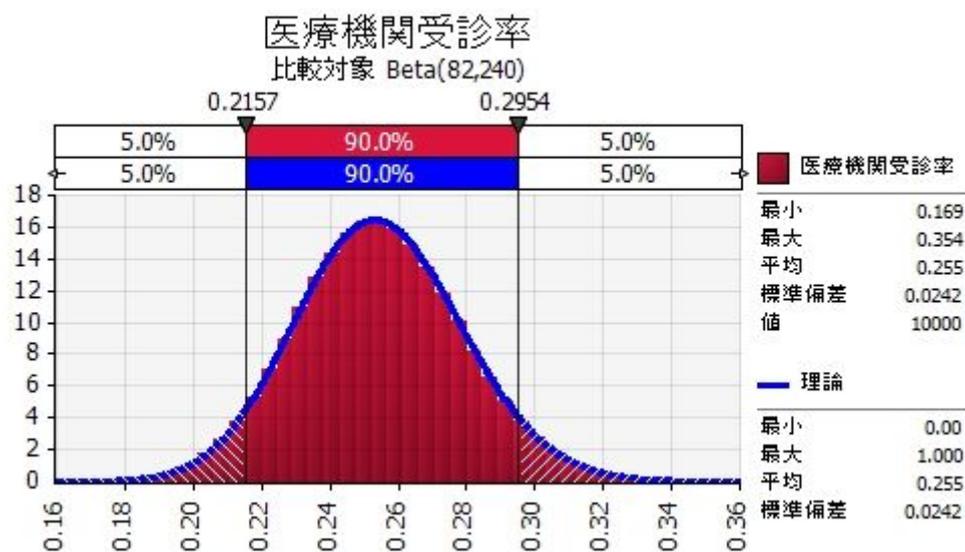


図 2 : 2009 年冬期、2014 年夏期、2016 年夏期の電話調査結果の統合データから推定した検便検査実施率（試行 1 万回）

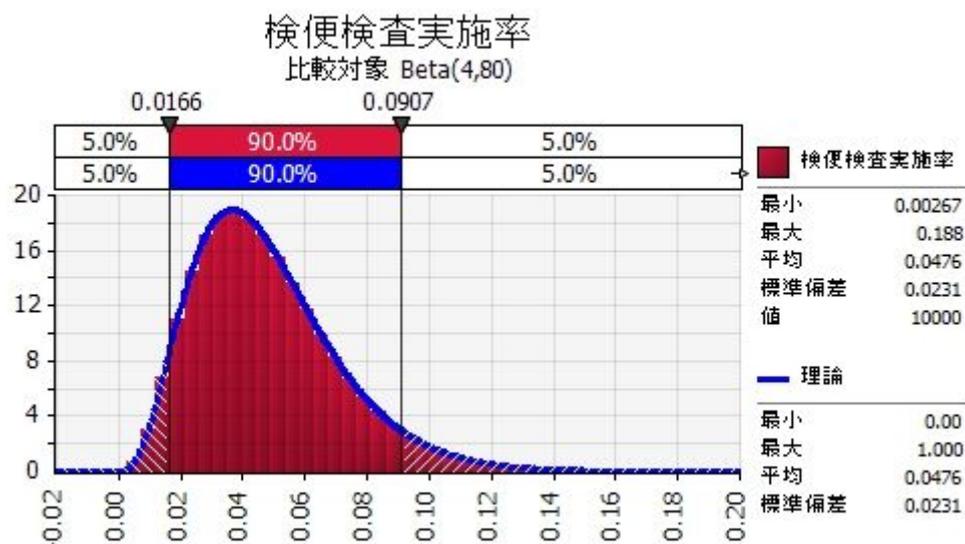
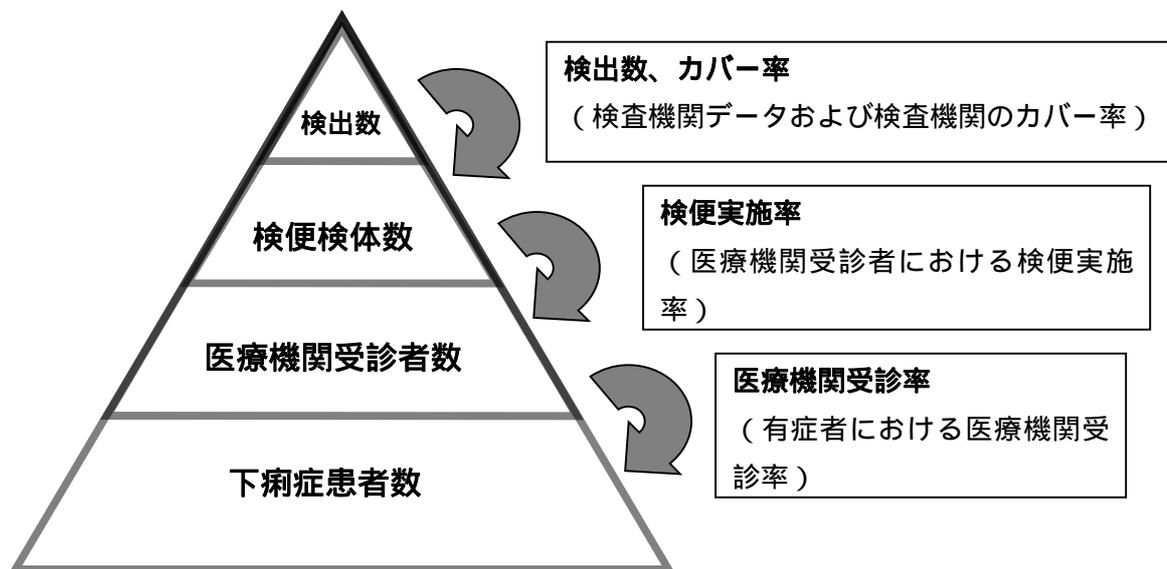


図3 . 下痢症疾患の実患者数の把握

(各段階における不確定要素を検討、積算することで検出数から実被害推定を行う)



研究成果の刊行に関する一覧表

著書

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻	ページ	出版年
朝倉宏	カンピロバクター食中毒	公衆衛生	81	470-475	2017
朝倉宏	食鳥肉におけるカンピロバクター汚染のリスク管理に関する研究	食と健康			2016

雑誌

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻	ページ	出版年
Ishihara K, Chuma T, Andoh M, Yamashita M, Asakura H, Yamamoto S.	Effect of climatic elements on <i>Campylobacter</i> colonization in broiler flocks reared in southern Japan from 2008 to 2012.	Poultry Sci.	96	931-937.	2017
Asakura H, Takahashi N, Yamamoto S, Maruyama H.	Draft genome sequence of <i>Campylobacter jejuni</i> CAM970 and <i>C. coli</i> CAM962, associated with a large outbreak of foodborne illness in Fukuoka, Japan, in 2016.	Genome Announc.	5	e00508-17	2017
Asakura H, Yamamoto S, Momose Y, Kato H, Iwaki M, Shibayama K.	Genome Sequence of <i>Clostridium botulinum</i> strain Adk2012 associated with a foodborne botulinum case in Tottori, Japan, in 2012.	Genome Announc.	5	e00872-17	2017
藤田雅弘、遠藤健太郎、塩野雅孝、森田幸雄、朝倉宏、山本茂貴	食鳥処理場におけるカンピロバクター交差汚染状況。	日本食品微生物学会雑誌	33	182-186	2016
森田幸雄、小林光士	わが国の食肉・食鳥肉の衛生状況	日本獣医師会雑誌	69	695-701	2016
Asakura H, Kawamoto K, Murakami S, Tachibana M, Kurazono H, Makino S, Yamamoto S, Igimi S.	Ex vivo proteomics of <i>Campylobacter jejuni</i> 81-176 reveal that FabG affects fatty acid composition to alter bacterial growth fitness in the chicken gut.	Res Microbiol.	167	63-71	2016
朝倉宏	ゲノムデータに基づく、カンピロバクターの蔓延要因と宿主・環境適応機構の探知	日本食品微生物学会雑誌	34	103-105	2017
朝倉宏、山本詩織、橘理人、吉村昌徳、山本茂貴、五十君静信	冷凍処理による鶏肉中でのカンピロバクター汚染低減効果に関する検討。	日本食品微生物学会雑誌	32	159-166	2016

