

鶏及び豚内臓肉の生食による食中毒のリスクを認識してもらうために

愛媛県食肉衛生検査センター ○河本亮一、藤江香予、池澤紅輔、木村俊也、山本真司

1. はじめに

平成24年7月、牛レバーを生食用として販売・提供することが禁止されて以降、鶏や豚レバーの生食用としての需要が高まり、全国的に鶏内臓肉（レバー、ハツ、砂肝）の生食を原因とするカンピロバクター食中毒事件が多発している^[1]。このような中、国においては、薬事・食品衛生審議会食品衛生分科会乳肉水産食品部会において、食肉等の種別ごとの公衆衛生上のリスクの大きさを考慮しつつ、加熱義務や加工基準等の策定を検討しているところである。本県においては、保健所等において食肉の取去検査や食肉等の生食は食中毒の危険性が高いことから食肉等を生食用として提供しないよう食品関係事業者には指導を行うとともに、消費者に注意喚起を呼びかけているところであるが、食品衛生法に基づく規格基準がないものについては、監視指導等には限界があり、昨年、鶏内臓肉の生食が原因と推定される食中毒が発生した。

そこで、保健所等における監視指導等の一助となるよう、当センター所管の食鳥処理場に搬入された鶏の盲腸便と胆汁のカンピロバクター保有率及び鶏内臓肉のカンピロバクター汚染実態並びにと畜場に搬入された豚のE型肝炎ウイルス（以下「HEV」という。）に対するIgG抗体の保有率及びHEV遺伝子保有率の調査を実施したのでその概要を報告する。

2. 材料及び方法

(1) 鶏の盲腸便及び胆汁のカンピロバクター保有率調査

① 材料

平成26年6月と7月に当センター所管の食鳥処理場（中抜き方式、約55万羽／年）に搬入された食鳥処理場系列5農場のプロイラー、計50羽（10羽／農場）の盲腸便及び胆汁を採材し、1農場10羽分をまとめて1検体とした（各1検体／農場）。

② 方法

10羽分をまとめた盲腸便1g及び胆汁1mlをそれぞれPBS10mlに懸濁し混和した後、懸濁液1mlをそれぞれプレストン培地10mlに接種し、42℃24時間微好気培養した。培養後、培養液1白金耳をmCCDA培地に塗抹し、42℃48時間微好気培養した。次に、疑わしいコロニーを5%馬血液加ミューラーヒントン培地に塗抹し、37℃48時間微好気培養後、グラム染色、カタラーゼ試験、オキシダーゼ試験、ラテックス凝集試験（Oxoid）にて同定し、馬尿酸塩加水分解試験、インドキシル酢酸塩加水分解試験、PCR法^[2]により菌種鑑別した。

(2) 鶏内臓肉のカンピロバクター汚染実態調査

① 材料

ア. 内臓肉表面

(1)の5農場のプロイラー、計90羽（18羽／農場）の出荷直前のレバー、ハツ、砂肝を採材し、それぞれ3羽分をまとめて1検体とした（各6検体／農場）。

イ. 内臓肉実質

(1)の5農場のプロイラー、計75羽（15羽／農場）の出荷直前のレバー、ハツ、砂肝を検体とした（各15検体／農場）。

② 方法

ア. 内臓肉表面

3羽分をまとめたレバー、ハツ、砂肝をそれぞれPBS30mlに懸濁し60秒間振とうした後、PBS懸濁

液10mlをそれぞれ2倍濃度プレストン培地10mlに接種し、(1)と同様に培養及び同定した。

イ. 内臓肉実質

レバー、ハツ、砂肝の実質各2.5gを、それぞれプレストン培地10mlに懸濁し60秒間ストマッカー処理した後、プレストン培地10mlを(1)と同様に培養及び同定した。

(3) 豚の抗HEV IgG抗体保有率調査

① 材料

平成25年1月から4月に当センター所管のと畜場に搬入された11農場の肥育豚、計209頭(19頭/農場)の血清を検体とした。

② 方法

血清中の抗HEV IgG抗体の検出は、ヒト用ELISAキットIgG/IgM anti-HEV EIA(特殊免疫研究所)を用いた。キットの陰性コントロール及び陽性コントロールをブタ用に、並びに二次抗体をペルオキシダーゼ標識抗ブタIgGヤギ抗体(Jackson ImmunoResearch)に置換して吸光度を測定し、カットオフ値以上のものを陽性と判定した。カットオフ値はプロトコールに従った。さらに、抗体インデックス値((サンプルの吸光度/陽性コントロールの吸光度)×100)を算出した。

(4) 豚のHEV遺伝子保有率調査

① 材料

平成26年5月と6月に当センター所管のと畜場に搬入された8農場の発育不良豚、計82頭(3~17頭/農場)の血清を検体とした。

② 方法

市販のRNA抽出キットHigh Pure Viral RNA Kit (Roche)を用い、血清からRNAを抽出した。その後、E型肝炎検査マニュアル^[3]に準じて、SuperScript One-Step RT-PCR with Platinum Taq(inbitrogen)を用いて1st RT-PCRを行い、次にPremix Taq (TaKaRa)を用いてnested-PCRを実施して、ウイルスRNAの構造タンパクをコードしているORF2の一部の領域を検出した。PCRによって得られた増幅産物をアガロースゲルで電気泳動後、エチジウムブロマイドで染色し、584bpまたは378bpのバンドを認めたものをHEV遺伝子陽性と判定した。

3. 結果

(1) 鶏の盲腸便及び胆汁のカンピロバクター保有率調査

盲腸便及び胆汁ともそれぞれ5農場中4農場(80%)でカンピロバクター陽性であり、分離されたカンピロバクターの血清型はすべて*C. jejuni*であった(表1)。

	農場				
	A	B	C	D	E
盲腸便 n=1(10/検体)	+	+	-	+	+
胆汁 n=1(10/検体)	+	+	-	+	+

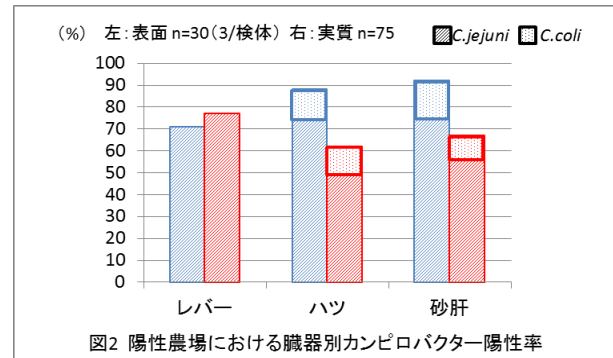
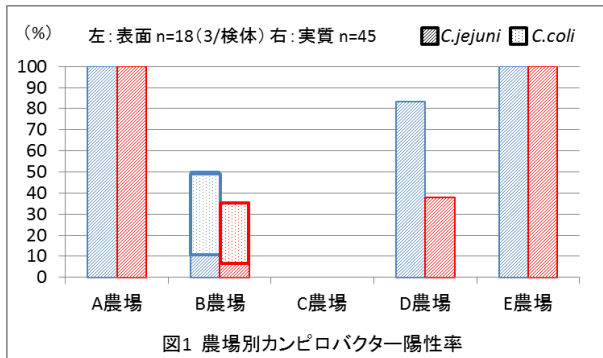
(2) 鶏内臓肉のカンピロバクター汚染実態調査

盲腸便及び胆汁がカンピロバクター陰性であった1農場(C)において、内臓肉表面及び実質とも陰性であった。

一方、盲腸便及び胆汁がカンピロバクター陽性であった4農場(A・B・D・E)において、A・E農場では内臓肉表面で18検体中18検体(100%)、実質で45検体中45検体(100%)、B農場では内臓肉表面で18検体中9検体(50%)、実質で45検体中16検体(36%)、D農場では内臓肉表面で18検体中15検体(83%)、実質で45検体中17検体(38%)でカンピロバクターが検出された。分離されたカンピロバクターの血清型は、すべての農場で*C. jejuni*が検出され、B農場では*C. coli*も検出された(図1)。

陽性農場における臓器陽性率は、レバーでは表面で24検体中17検体(71%)、実質で60検体中46検体

(77%)、ハツでは表面で24検体中21検体(88%)、実質で60検体中37検体(62%)、砂肝では表面で24



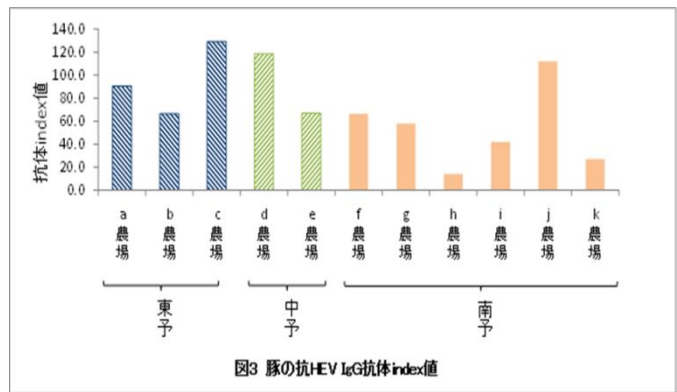
検体中22検体(92%)、実質で60検体中40検体(67%)であった(図2)。

(3) 豚の抗HEV IgG抗体保有率調査

209頭中185頭(88.5%)で抗体陽性を示した(表2)。また、調査した11農場全て(100%)で抗体陽性の個体が確認された(表2)。

農場毎の平均抗体index値を調べてみると、c・d・j農場のように抗体index値が100を超える高値を示す農場とh農場のように抗体index値が低値を示す農場が存在した(図3)。なお、c・d農場には19頭中陰性個体が1頭存在した。また、h農場は陰性12頭、陽性7頭であった。

	陽性/検体数	陽性率
頭数	185頭/209頭	88.5%
農場数	11農場/11農場	100%



(4) 豚のHEV遺伝子保有率調査

HEV遺伝子は、8農場中5農場(62.5%)、82頭中9頭(11.0%)から検出された(表3)。なお、HEV遺伝子陽性個体に肉眼的肝臓病変はみられなかった。

	陽性/検体数	陽性率
頭数	9頭/82頭	11.0%
農場数	5農場/8農場	63%

4. 考察

(1) 鶏の盲腸便及び胆汁のカンピロバクター保有率及び鶏内臓肉のカンピロバクター汚染実態調査

調査を実施した5農場中4農場(80%)でカンピロバクターが検出され、主な血清型は既報^[4]と一致して*C. jejuni*であった。

また、盲腸便及び胆汁で陽性であった4農場において、内臓肉表面50~100%でカンピロバクターが検出されたことから、飲食店等における内臓肉表面から他の食品への二次汚染のリスクを低減するため、食鳥処理場における更なる衛生対策を指導したい。しかしながら、それら陽性農場において、実質36~100%でもカンピロバクターが検出されたことから、生食及び加熱不十分な状態での喫食の危険性について普及啓発していく必要がある。

一方、盲腸便及び胆汁で陰性であった1農場では、内臓肉表面及び実質すべて陰性であり、カンピロバクターの分離率が高いとされる夏期^[5]の本調査において、陰性農場が存在することが確認された。内臓肉からカンピロバクターが検出された4農場すべてにおいて盲腸便からも検出されていることから、農場段階において盲腸便によりモニタリングしながら陰性鶏群を飼養管理、供給する体制

が整えば、リスクの低い内臓肉やと体としての差別化及び食中毒のリスク低減に繋がる可能性もあると考えられた。

(2) 豚の抗HEV IgG抗体保有率及びHEV遺伝子保有率調査

肥育豚の抗HEV IgG抗体陽性率は6か月齢で約90%以上と報告されており^[6]、本県でも88.5%でほぼ同程度の高い値を示した。また、平成23年に実施した本県の調査では、発育不良豚からのHEV遺伝子検出率は1.3%であった^[7]が、今回の調査では11.0%と、8.5倍の検出率となり、汚染が広がっている可能性が示唆された。また、今回はHEV遺伝子の調査を発育不良豚のみで実施したが、正常肥育豚においても、抗HEV IgG抗体index値が高い農場にも抗体陰性の個体が存在し、抗体陰性の個体の多い農場でも陽性個体が存在したため、HEVに未感染の豚が出荷直前に感染し、ウイルス保有状態で出荷される危険性が考えられる。しかし、HEV遺伝子陽性個体に肉眼的肝臓病変がみられなかったことから、一般的な視診による内臓検査でHEV保有個体を排除することは困難であり、豚レバーの生食の危険性をさらに周知徹底していく必要があると推察された。

5. まとめ

食肉等の生食による食中毒の発生防止のためには、飲食店等の食品関係事業者及び一般消費者がそのリスクについて十分理解することが重要であることから、本調査結果を踏まえ、保健所等と連携し、鶏内臓肉や豚レバーの汚染実態と生食及び加熱不十分な状態での喫食の危険性について記載した、食品関係事業者だけでなく一般消費者にも分かりやすいリーフレットを作成するとともに、幅広くリスクコミュニケーションを推進し、食中毒の防止に向けて普及啓発していきたい。

6. 引用文献

[1] 厚生労働省：食中毒統計

[2] Wang G, Clark CG, Taylor TM, Pucknell C, Barton C, Price L, Woodward DL, Rodgers FG : Colony Multiplex PCR Assay for Identification and Differentiation of *Campylobacter jejuni*, *C. coli*, *C. lari*, *C. upsaliensis* and *C. fetus* subsp. *fetus*. *J. Clin. Microbiol.* 40, 4744-4747 (2002)

[3] 武田 直和, 李 天成ら：E型肝炎検査マニュアル(2006)

[4] 社団法人畜産技術協会：平成 21 年度食品安全確保総合調査，食品により媒介される感染症等に関する文献調査報告書

[5] 食品安全委員会微生物・ウイルス合同専門調査会：食品健康影響評価のためのリスクプロファイル～鶏肉を主とする畜産物中のカンピロバクター・ジェジュニ/コリ～ (2006)

[6] Takahashi M, Nishizawa T, Miyajima H, Gotanda Y, Iita T, Tsuda F, Okamoto H : Swine hepatitis E virus strains in Japan form four phylogenetic clusters comparable with those of Japanese isolates of human hepatitis E virus. *J Gen Virol*, 84, 851-862(2003)

[7] 森松 清美, 岩崎 靖：と畜場に搬入された豚におけるE型肝炎ウイルス遺伝子保有状況について. 第62回四国地区獣医師大会. 56(2011)