

4. 中課題4. 微生物制御物質（生菌剤等）の投与による肉用牛腸内の腸管出血性大腸菌及びカンピロバクターの影響評価【東京顕微鏡院】

(1) 成果の概要

工程表	進捗状況・成果
4. 微生物制御物質（生菌剤等）の投与による肉用牛腸内の腸管出血性大腸菌及びカンピロバクターの影響評価 (1) 微生物制御物質（3製品）の給与試験 3種類の混合飼料及び飼料添加物(以下、3製品)を繁殖農場の母牛に給与して、直腸便中の腸管出血性大腸菌及びカンピロバクターへの影響について調査を実施する。	対象とした農場は繁殖農場（T農場）の母牛（黒毛和種）とし、3頭ずつ4グループに分け、これら母牛を対象に3製品（a剤、b剤及びc剤）を1か月ごとに順番に給与するグループ(グループA、B及びC)及び非給与グループ（グループD）を用意し、2週間に一度、直腸便を採材した。1か月の給与期間の後、1か月の非給与期間をおき、各グループは異なる製品をさらに1か月間給与、また、非給与期間をおき、異なる製品を1か月間給与し、各グループに対し、3製品を順番に給与した。製品は、約30g/日/頭を飼料と共に毎日給与した。 各牛の直腸便を採取し、腸管出血性大腸菌O157（以下O157）、カンピロバクター、大腸菌及び腸内細菌科菌群の検査を実施した。O157及びカンピロバクターは定性試験を実施し、O157が陽性となった場合は定量検査を実施した。大腸菌及び腸内細菌科菌群は定量検査を実施した。（平成25年度） 最初の給与期間（6月）の前後の結果に着目すると、グループA及びグループCは、製品を給与する前と比べて、給与期間中のO157は未検出、あるいは低い菌量である傾向がみられた。また、グループBは、給与期間及びその直後にO157菌量が高く認め

(2) ラクトフェリン給与試験 ラクトフェリンを給与することによる、直腸便中の腸管出血性大腸菌 O157 及びカンピロバクターへの影響について調査を実施する。	られたが、その後未検出となっており、製品給与の影響である可能性も考えられた。 ※ 1 繁殖農場 (T 農場) で飼育されている 3 2 頭 (母牛) を対象に O157、カンピロバクター、大腸菌及び腸内細菌科菌群の検査を実施し、ラクトフェリン給与試験の対象牛を選定した。O157 陽性牛が各グループに含まれることを最優先とし、大腸菌及び腸内細菌科菌群の菌数が多い牛を選別し、5 頭ずつ 3 グループに分け、ラクトフェリン給与グループ (給与量は、5 g/日/頭 (A) 及び 2 g/日/頭 (B) の 2 パターン) と非給与グループ (C) を設定した。ラクトフェリンは増量材としてふすまに混ぜて、2 週間にわたり毎日給与した。 週 2 日 (月及び水曜日)、4 週間にわたって直腸便を採取した。O157 (月曜日)、カンピロバクター (月曜日)、大腸菌 (月及び水曜日) 及び腸内細菌科菌群 (月及び水曜日) の検査を実施した。O157 及びカンピロバクターは定性試験を実施し、O157 が陽性となった場合は定量検査を実施した。大腸菌及び腸内細菌科菌群は定量検査を実施した。(平成 26 年度) O157 は、ラクトフェリン給与前 (検体採取 1 回目及び 2 回目) では検出されていたが、それ以降はすべて陰性となっており、糞便中の O157 の低減に影響した可能性があると考えられた。一方、カンピロバクターはラクトフェリン給与後 (4 回目) でも検出された。また、ラクトフェリン給与グループ、非給与グループともにカンピロバクターが検出されており、ラクトフェリンの影響については分からなかった。 ※ 2
---	--

成果目標：微生物制御物質を肉用牛に給与することによる、糞便中の腸管出血性大腸菌及びカンピロバクターへの影響について評価を行う。	

<成果の概要の補足>

※1：微生物制御物質（3製品）の給与試験

本試験では、混合飼料である a 剤（原材料：精製木酢酸等）、飼料添加物である b 剤（原材料：酪酸菌等）、混合飼料である c 剤（原材料：乳酸菌、酪酸菌、糖化菌等）の 3 製品を用いた。これら 3 製品を、約 30 g の計量スプーンを用いて、飼料の稲わらに加えて給与した。給与期間は 1 回目が 5 月 28 日～6 月 24 日、2 回目は 7 月 23 日～8 月 19 日そして 3 回目は 9 月 17 日～10 月 14 日であった。

給与試験の結果、O157 は 5 月 20 日採取検体（1 回目）で 12 頭中 8 頭、67% が陽性となった。5 月 27 日（2 回目）以降の陽性頭数は、4 頭、5 頭、2 頭、5 頭、0 頭、4 頭、1 頭、1 頭であったが、9 月 16 日（10 回目）以降はすべて陰性となった。牛個体別にみると、1 回陽性となった牛が 2 頭、2 回が 6 頭、3 回が 2 頭及び 5 回が 2 頭であった。O157 が分離された 30 検体から得られた O157 菌数は、100 g あたり 30CFU 以下は 4 検体、36CFU 以上が 9 検体、230CFU 以上が 8 検体、2400CFU 以上が 4 検体、11,000CFU 以上が 5 検体であった（表 4-1）。

最初の給与期間（6 月）の前後の結果に着目すると、グループ A 及びグループ C は、製品を給与する前と比べて、給与期間中の O157 は未検出、あるいは低い菌量である傾向がみられた。また、グループ B は、給与期間及びその直後に O157 菌量が高く認められたが、その後未検出となっており、製品給与の影響である可能性も考えられた。3 製品による糞便中の O157 への影響について更に検討するために、給与量、給与期間などの条件の再設定を行うとともに、複数の農場を用いた調査も必要であると考えられる。

表 4－1． 3 製品給与試験 O157 結果 (CFU/100 g)

検体(牛)No.	5月20日	5月27日	6月10日	6月24日	7月8日	7月22日	8月5日	8月19日	9月2日	9月16日	9月30日	10月14日	10月28日
A-1	36	-	-	-	430	-	-	-	-	-	-	-	-
A-2	230	1500	-	-	-	-	230	930	36	-	-	-	-
A-3	-	-	-	-	-	-	36	-	-	-	-	-	-
B-1	110000	36	150	36	-	-	73	-	-	-	-	-	-
B-2	-	-	930	-	4600	-	-	-	-	-	-	-	-
B-3	-	-	-	2400000	2000000000	-	-	-	-	-	-	-	-
C-1	<30	-	30	-	2400	-	-	-	-	-	-	-	-
C-2	36	-	-	-	4600	-	-	-	-	-	-	-	-
C-3	24000	-	-	-	-	-	<30	-	-	-	-	-	-
D-1	24000	230	4600	-	-	-	-	-	-	-	NT	NT	NT
D-2	-	-	430	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
D-3	36	<30	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
D-4	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	-	-	-
陽性数	8	4	5	2	5	0	4	1	1	0	0	0	0
陽性率	66.70%	33.30%	41.70%	16.70%	41.70%	0%	33.30%	8.30%	8.30%	0%	0%	0%	0%

a 剤給与期間

b 剤給与期間

c 剤給与期間

－：検出せず

NT：試験せず

カンピロバクターが陽性となった検体は6月24日（4回目）が3頭、8月19日（8回目）が1頭、9月2日（9回目）が2頭、9月30日（1回目）が1頭、10月14日（12回目）が1頭、及び10月28日（13回目）が2頭であった。牛別にみると1回陽性が2頭、2回陽性が2頭。4回陽性が1頭であった（表4－2）。試験期間を通じてカンピロバクターの検出率が低かったため、3製品の給与による影響は分らなかった。

表 4－2． 3 製品給与試験 カンピロバクター結果 (CFU/g)

検体(牛)No.	5月20日	5月27日	6月10日	6月24日	7月8日	7月22日	8月5日	8月19日	9月2日	9月16日	9月30日	10月14日	10月28日
A-1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
A-2	-	-	-	1.4×10^3	-	-	-	+	-	-	-	-	-
A-3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
B-1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
B-2	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-
B-3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+
C-1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
C-2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
C-3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
D-1	-	-	-	7.0×10^2	-	-	-	-	+	-	-	-	-
D-2	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	NT	NT	NT
D-3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
D-4	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	-	-	-
陽性数	0	0	0	3	0	0	0	1	2	0	1	1	2
陽性率	0.00%	0.00%	0.00%	25.00%	0.00%	0.00%	0.00%	8.30%	16.60%	0.00%	8.30%	8.30%	16.60%

a 剤給与期間

b 剤給与期間

c 剤給与期間

＋：検出

－：検出せず

NT：試験せず

大腸菌及び腸内細菌科菌群はグループごとの菌数の推移を図4－1から4－4に示した。一部 10^9 CFU/g と高い菌数を示す時もあるが、おおむね 10^3 から 10^7 CFU/g の菌数での推移

が確認できた。3 製品の給与時期と比較をしても目立った変化は認められず、腸内細菌叢は安定化した。

また、O157 が陽性となった検体の大腸菌数を比較したところ、 10^5 CFU/g がほとんどではあったが、 10^2 及び 10^3 CFU/g といった大腸菌が低菌量の検体も含まれており、O157 陽性と大腸菌の菌数に関係性は認められなかった（表 4－3）。

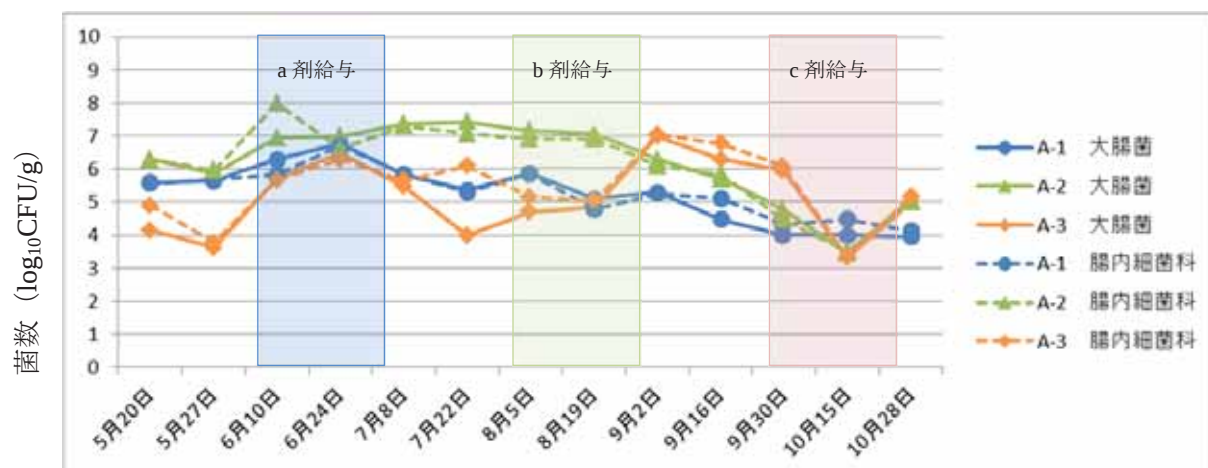


図 4－1． 3 製品給与試験 グループ A (a 剤→b 剤→c 剤の順に給与) の大腸菌及び腸内細菌科菌群の菌数推移

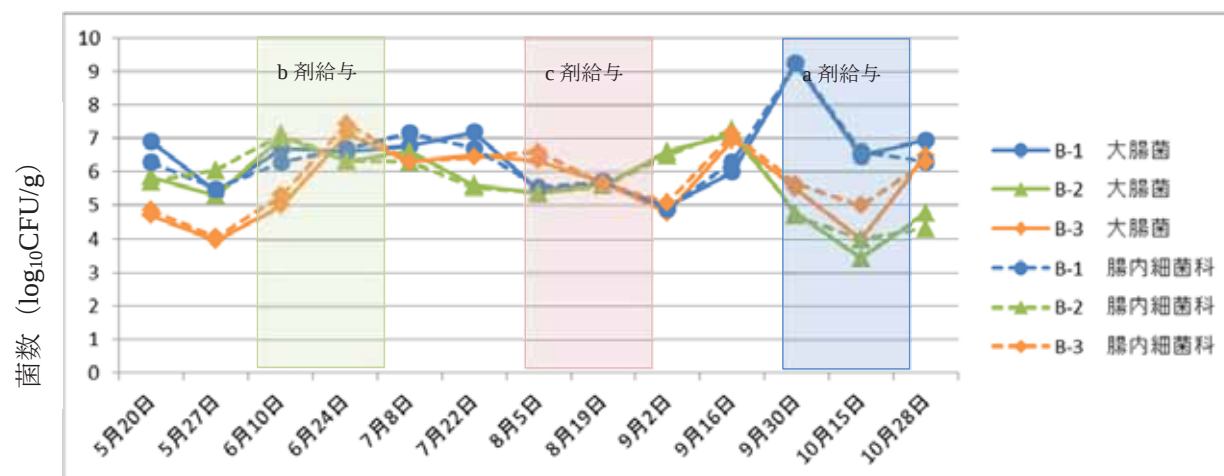


図 4－2． 3 製品給与試験 グループ B (b 剤→c 剤→a 剤の順に給与) の大腸菌及び腸内細菌科菌群の菌数推移

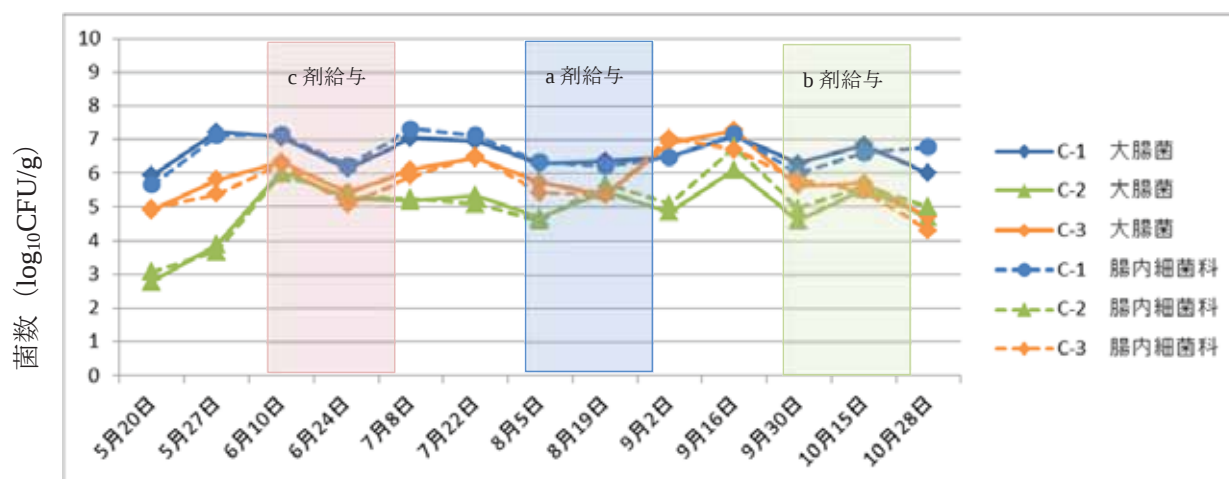


図4－3．3製品給与試験 グループ C (c 剤→a 剤→b 剤の順に給与) の大腸菌及び腸内細菌科菌群の菌数推移

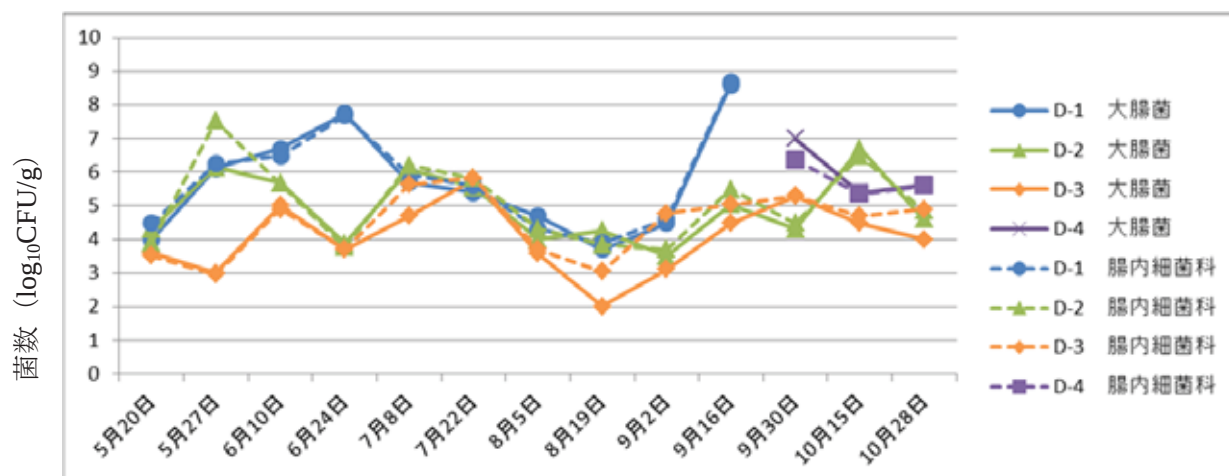


図4－4．3製品給与試験 グループ D (a～c 剤非給与) の大腸菌及び腸内細菌科菌群の菌数推移

表4－3．O157 陽性の直腸便検体における大腸菌菌数

		大腸菌(CFU/g)					
O157 (CFU/100g)		10 ²	10 ³	10 ⁴	10 ⁵	10 ⁶	10 ⁷
	<30		1		2		
	30～	1	1	1	3	1	2
	100～				2	3	3
	1000～				2	2	1
	10000～			2		2	1

※2：ラクトフェリン給与試験

本試験ではラクトフェリン原末を使用した。給与方法は、5 g 及び 2 g のラクトフェリンを増量材（ふすま）と混合し、通常の飼料として与えている稲わらと同時に給与した。給与期間は2週間とした。検査試料の直腸便は月曜日と水曜日の週2回採取し、ラクトフェリン給与1週間前、給与期間2週間及び給与終了後1週間の4週間にわたって検査を実施した。

対象農場の32頭について、試験対象牛を選定するために O157 の検査（10月28日）を実施したところ、3頭が陽性となった（表4-4）。その3頭を含めた15頭を対象にラクトフェリン給与試験を実施した。その結果、O157 は11月3日（1回目）に3頭陽性（グループ A2 頭、グループ C1 頭）であったがそれ以降はすべて陰性となった。これら陽性の牛は10月28日に O157 陽性となった牛とは異なる牛であった。また、O157 菌数は< 30CFU/100 g であった（表4-5）。

カンピロバクターは11月3日（1回目）1頭、11月10日（2回目）2頭、11月24日（4回目）2頭陽性となった。カンピロバクターが1回陽性となった牛がグループ C の2頭、3回陽性がグループ A の1頭であった（表4-6）。

O157 は、ラクトフェリン給与前（検体採取1回目及び2回目）では検出されていたが、それ以降はすべて陰性となっており、ラクトフェリンが糞便中の O157 の低減に影響した可能性があると考えられた。一方、カンピロバクターはラクトフェリン給与後（4回目）でも検出された。また、ラクトフェリン給与グループ、非給与グループともにカンピロバクターが検出されており、ラクトフェリンの影響については分からなかった。

ラクトフェリンの影響について更に検討するためには、本研究よりもさらに長い期間での調査や、複数の農場での調査を実施する必要がある。

表 4－4．試験対象牛選定のための O157 検査 (CFU/g)

番号	生年月日	O157	大腸菌	腸内細菌科	ラクトフェリン給与グループ
1	2012/09/09	－	5.4E+05	4.5E+05	
2	2012/02/22	－	7.3E+05	5.7E+05	
3	2010/10/21	－	1.0E+05	2.3E+05	
4	2009/07/21	－	3.0E+05	3.8E+05	
5	2009/05/31	－	3.5E+05	3.8E+05	
6	2008/07/12	－	2.5E+05	3.6E+05	
7	2008/04/28	－	3.2E+05	4.9E+05	
8	2008/04/28	－	2.7E+05	1.2E+05	
9	2008/02/08	－	2.9E+05	2.3E+05	
10	2007/12/08	－	1.8E+06	1.5E+06	C-4
11	2006/09/11	－	3.1E+07	2.0E+07	A-2
12	2005/10/07	+	9.0E+04	9.0E+04	A-1
13	2003/11/19	－	1.4E+07	1.3E+07	B-2
14	2003/11/23	+	1.0E+05	1.1E+05	B-1
15	2001/11/29	－	2.0E+05	2.3E+05	
16	2001/10/05	－	7.7E+05	8.6E+05	
17	2001/10/05	－	8.0E+06	1.1E+07	A-3
18	2001/10/13	－	1.7E+05	2.0E+05	
19	2001/10/22	－	3.7E+05	4.8E+05	
20	2001/07/27	－	9.0E+04	1.0E+05	
21	2001/07/21	－	2.5E+05	3.0E+06	B-5
22	2001/05/12	－	5.0E+06	2.0E+06	B-4
23	2001/05/21	－	4.1E+05	4.4E+05	
24	2001/04/03	－	3.0E+06	1.0E+07	B-3
25	2001/02/06	－	1.5E+07	1.5E+07	C-2
26	2001/01/22	－	3.0E+05	4.3E+05	
27	2000/12/23	－	2.0E+06	4.0E+06	C-5
28	2000/10/25	+	8.0E+04	1.4E+05	C-1
29	1999/03/08	－	2.1E+05	1.2E+05	
30	1997/07/18	－	7.0E+06	5.0E+06	C-3
31	1997/03/24	－	1.0E+06	1.0E+06	A-4
32	1997/03/27	－	1.0E+06	3.0E+06	A-5

＋：検出

－：検出せず

表 4－5．ラクトフェリン給与試験 O157 結果

	10月28日	11月3日	11月10日	11月17日	11月24日
A-1	+	-	-	-	-
A-2	-	+ <30	-	-	-
A-3	-	-	-	-	-
A-4	-	-	-	-	-
A-5	-	+ <30	-	-	-
B-1	+	-	-	-	-
B-2	-	-	-	-	-
B-3	-	-	-	-	-
B-4	-	-	-	-	-
B-5	-	-	-	-	-
C-1	+	-	-	-	-
C-2	-	-	-	-	-
C-3	-	+ <30	-	-	-
C-4	-	-	-	-	-
C-5	-	-	-	-	-

＋：検出

－：検出せず

表 4－6．ラクトフェリン給与試験 カンピロバクター結果

	11月3日	11月10日	11月17日	11月24日
A-1	+	+	-	+
A-2	-	-	-	-
A-3	-	-	-	-
A-4	-	-	-	-
A-5	-	-	-	-
B-1	-	-	-	-
B-2	-	-	-	-
B-3	-	-	-	-
B-4	-	-	-	-
B-5	-	-	-	-
C-1	-	-	-	-
C-2	-	-	-	-
C-3	-	+	-	-
C-4	-	-	-	+
C-5	-	-	-	-

＋：検出

－：検出せず

大腸菌及び腸内細菌科菌群はグループごとの菌数の推移を図4-5から4-10に示した。グループBの11月12日の大腸菌の菌数が他の採取日より有意に高い($p<0.05$)こと、同じくグループBの11月26日の大腸菌の菌数が、前回採取(11月24日)より有意($p<0.05$)に低下したことが確認された。グループA及びCでは各グループ内での有意差は認められなかった。

大腸菌及び腸内細菌科菌群の菌数は採取時期によって変動しているが、グループAにおいては試験期間中に有意な変動がなく、ラクトフェリンによって腸内細菌叢は安定化した。

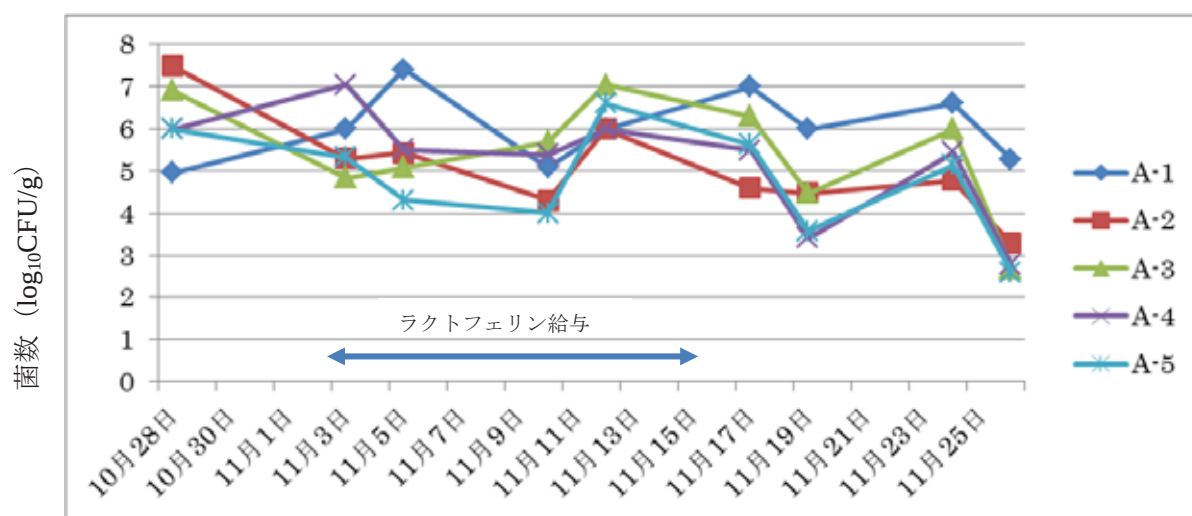


図4-5. ラクトフェリン給与試験 グループA (5 g/日/頭を給与) 大腸菌 菌数推移

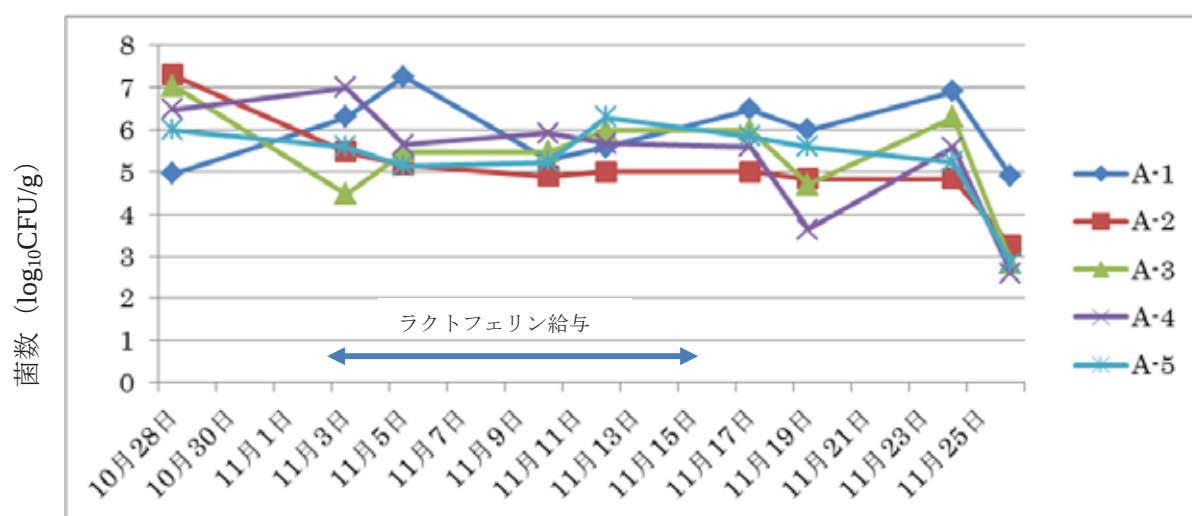


図4-6. ラクトフェリン給与試験 グループA (5 g/日/頭を給与) 腸内細菌科菌群 菌数推移

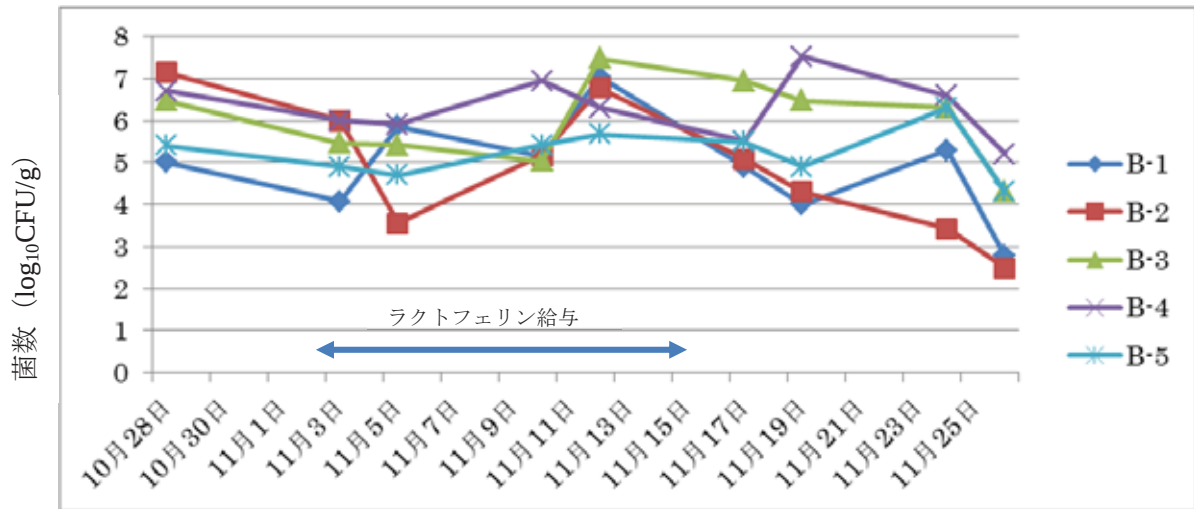


図4-7. ラクトフェリン給与試験 グループ B (2 g/日/頭を給与) 大腸菌 菌数推移

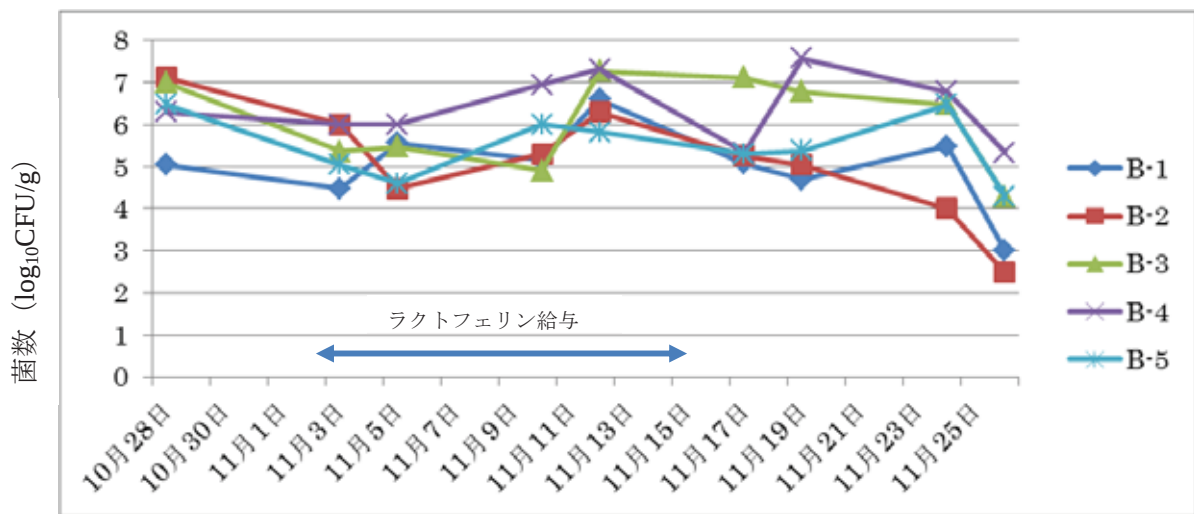


図4-8. ラクトフェリン給与試験 グループ B (2 g/日/頭を給与) 腸内細菌科菌群 菌数推移

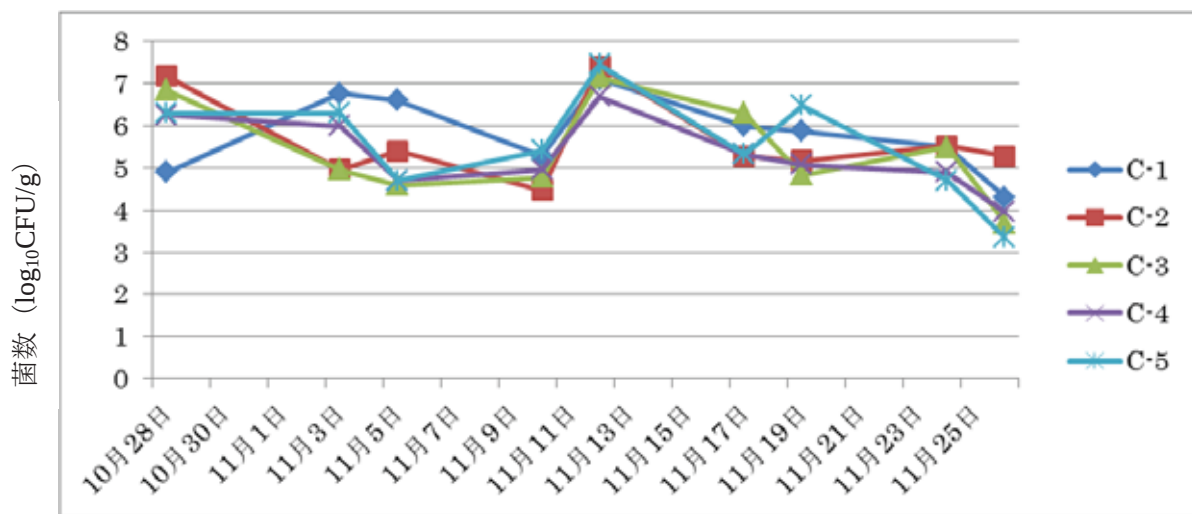


図4-9. ラクトフェリン給与試験 グループC（非給与） 大腸菌 菌数推移

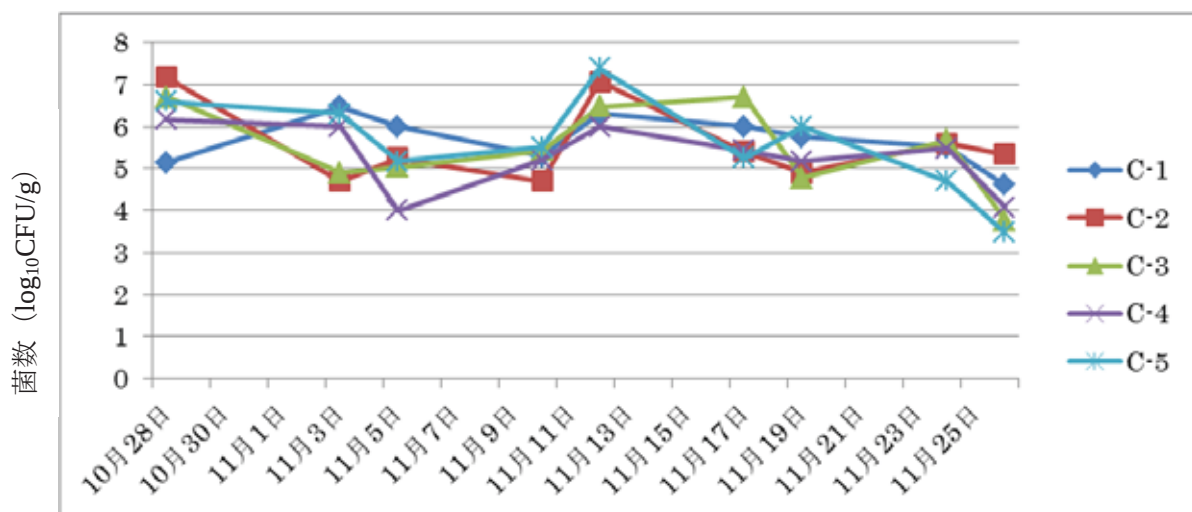


図4-10. ラクトフェリン給与試験 グループC（非給与） 腸内細菌科菌群 菌数推移

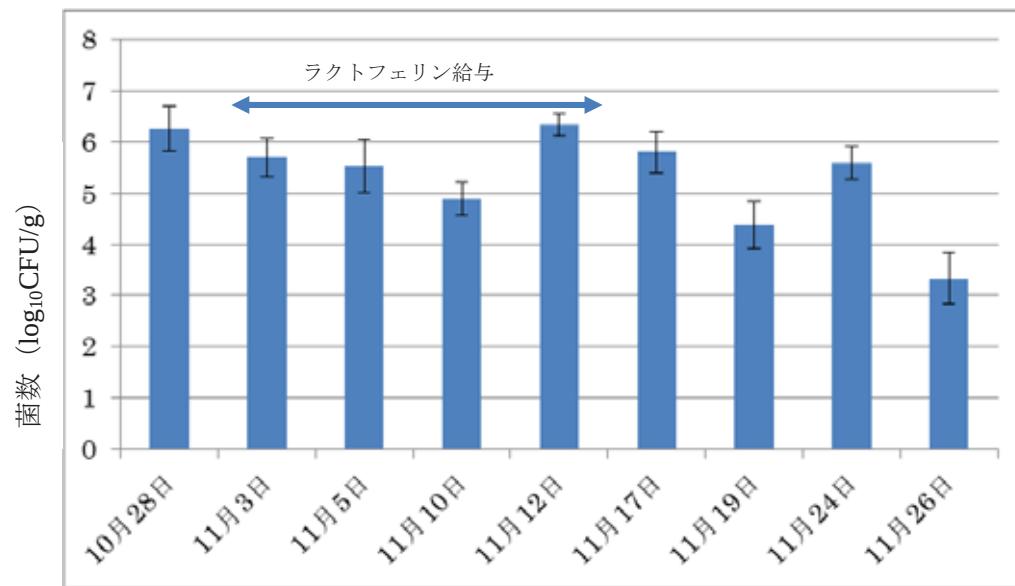


図4－1 1．グループ A (5 g/日/頭を給与) 大腸菌 有意差解析

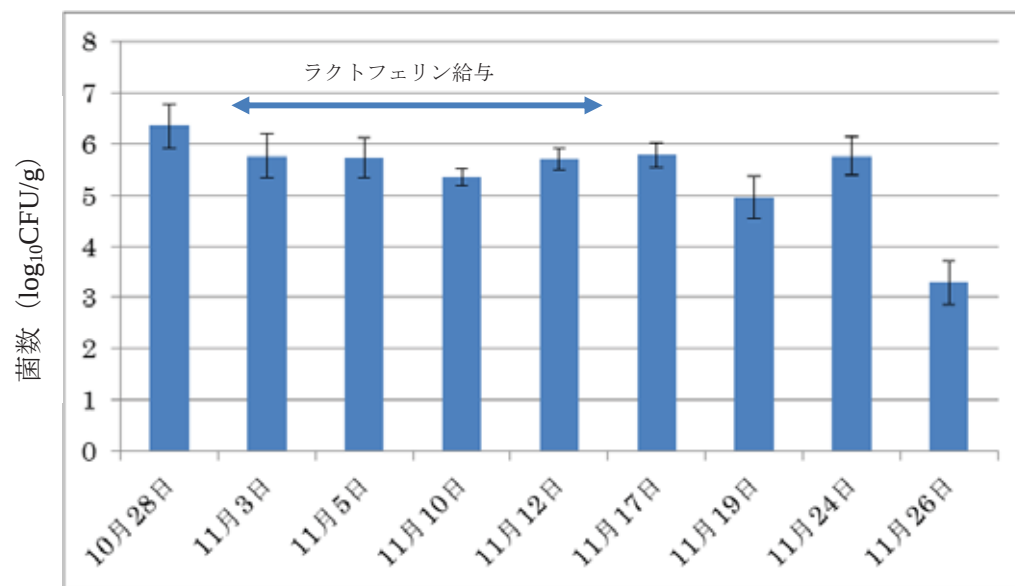


図4－1 2．グループ A (5 g/日/頭を給与) 腸内細菌科菌群 有意差解析

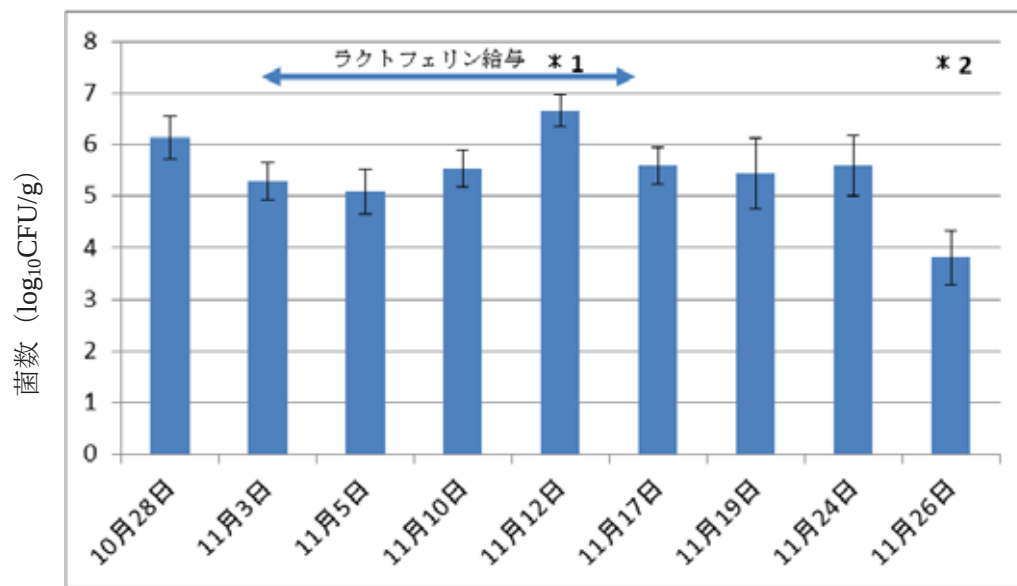


図4－1 3．グループ B（2 g/日/頭を給与） 大腸菌 有意差解析

*1：グループ B の 1 1 月 1 2 日の大腸菌の菌数が他の採取日より有意に高い ($p<0.05$)

*2：グループ B の 1 1 月 2 6 日の大腸菌の菌数が、前回採取（1 1 月 2 4 日）より有意に低下 ($p<0.05$)

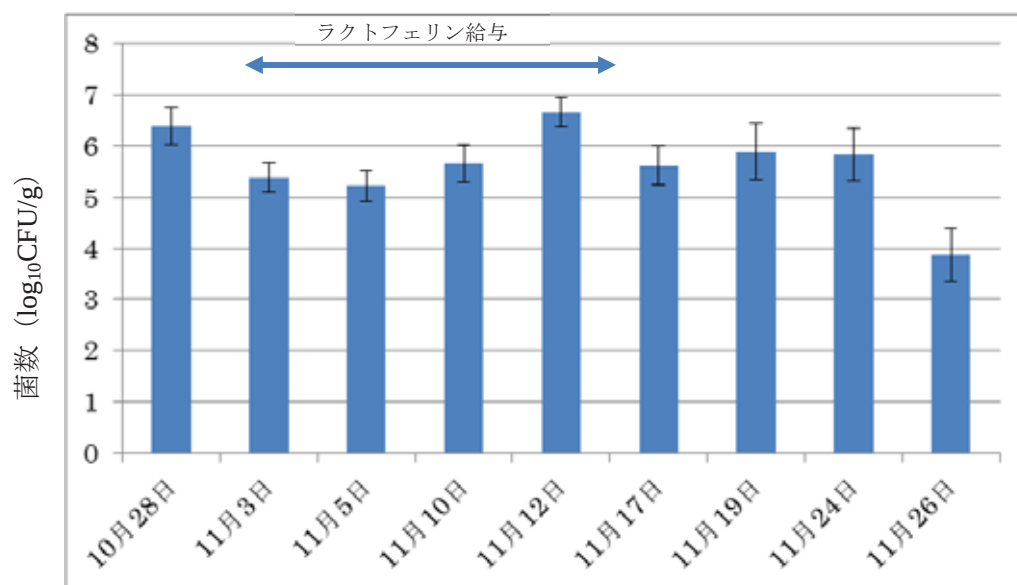


図4－1 4．グループ B（2 g/日/頭を給与） 腸内細菌科菌群 有意差解析

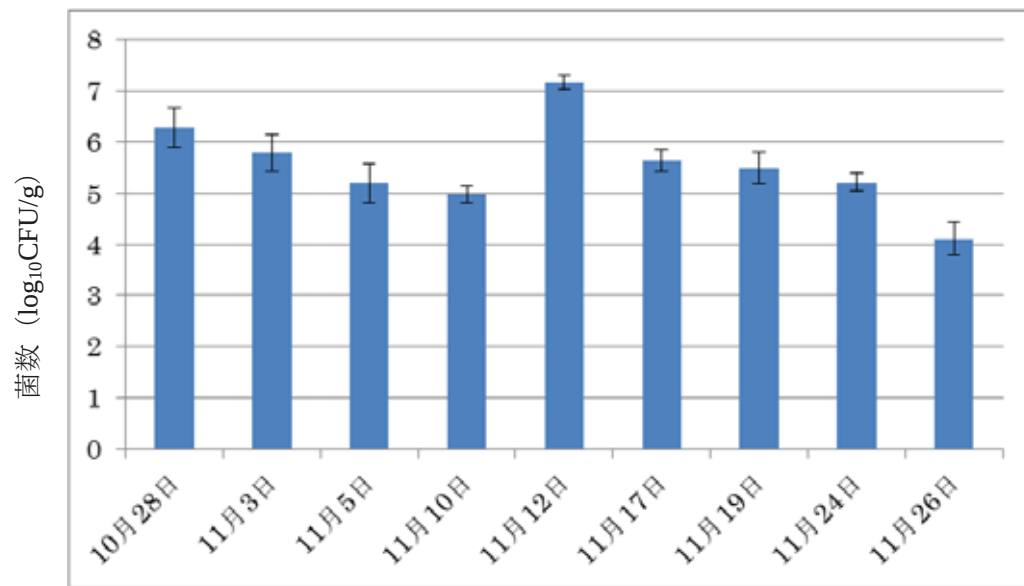


図4-15. グループC（非給与） 大腸菌 有意差解析

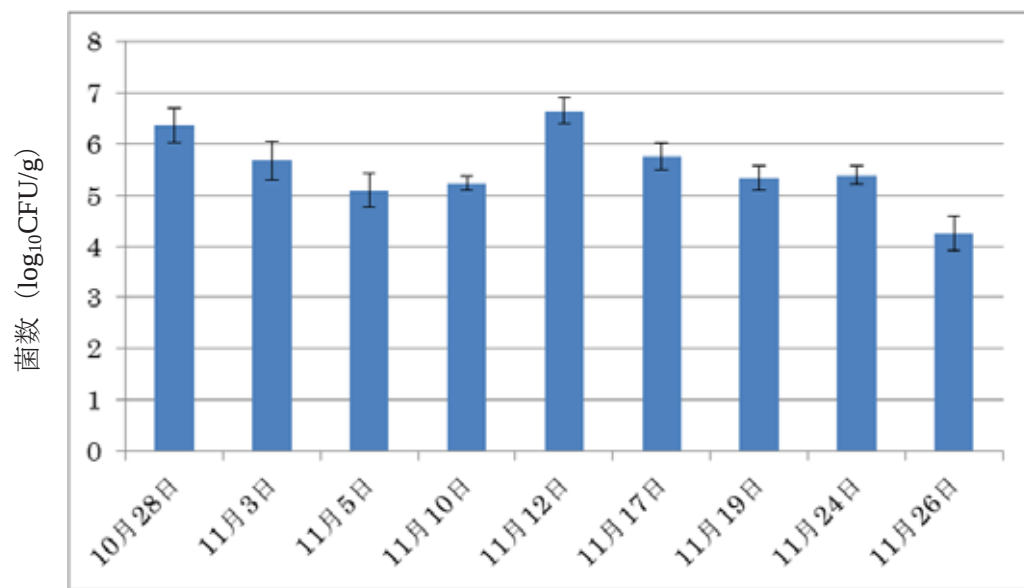


図4-16. グループC（非給与） 腸内細菌科菌群 有意差解析

表4－8．ラクトフェリン給与試験 大腸菌結果 (CFU/g)

	10月28日	11月3日	11月5日	11月10日	11月12日	11月17日	11月19日	11月24日	11月26日
A-1	9.0E+04	1.0E+06	2.6E+07	1.2E+05	1.0E+06	1.0E+07	1.0E+06	4.0E+06	1.9E+05
A-2	3.1E+07	2.0E+05	2.7E+05	2.0E+04	1.0E+06	4.0E+04	3.0E+04	6.0E+04	1.9E+03
A-3	8.0E+06	7.0E+04	1.2E+05	4.9E+05	1.1E+07	2.0E+06	3.0E+04	1.0E+06	5.0E+02
A-4	1.0E+06	1.1E+07	3.2E+05	2.4E+05	1.0E+06	3.1E+05	2.6E+03	2.8E+05	6.0E+02
A-5	1.0E+06	2.1E+05	2.0E+04	1.0E+04	4.0E+06	4.2E+05	3.7E+03	1.4E+05	4.0E+02
B-1	1.0E+05	1.2E+04	7.4E+05	1.4E+05	1.1E+07	8.0E+04	1.0E+04	2.0E+05	6.0E+02
B-2	1.4E+07	1.0E+06	3.6E+03	1.5E+05	6.0E+06	1.2E+05	2.0E+04	2.7E+03	3.0E+02
B-3	3.0E+06	2.9E+05	2.6E+05	1.1E+05	3.1E+07	9.0E+06	3.0E+06	2.0E+06	2.0E+04
B-4	5.0E+06	1.0E+06	8.0E+05	9.0E+06	2.0E+06	3.3E+05	3.4E+07	4.0E+06	1.6E+05
B-5	2.5E+05	8.0E+04	5.0E+04	2.6E+05	4.8E+05	3.1E+05	8.0E+04	2.0E+06	2.0E+04
C-1	8.0E+04	6.0E+06	4.0E+06	1.9E+05	1.3E+07	1.0E+06	7.6E+05	3.1E+05	2.0E+04
C-2	1.5E+07	9.0E+04	2.5E+05	3.0E+04	2.6E+07	1.9E+05	1.5E+05	3.3E+05	1.9E+05
C-3	7.0E+06	9.0E+04	4.0E+04	6.0E+04	1.4E+07	2.0E+06	7.0E+04	3.1E+05	4.9E+03
C-4	1.8E+06	1.0E+06	5.0E+04	9.0E+04	5.0E+06	2.1E+05	1.2E+05	8.0E+04	9.0E+03
C-5	2.0E+06	2.0E+06	5.0E+04	2.6E+05	2.9E+07	2.1E+05	3.0E+06	5.0E+04	2.2E+03

表4－9．ラクトフェリン給与試験 腸内細菌科菌群結果 (CFU/g)

	10月28日	11月3日	11月5日	11月10日	11月12日	11月17日	11月19日	11月24日	11月26日
A-1	9.0E+04	2.0E+06	1.8E+07	1.9E+05	3.9E+05	3.0E+06	1.0E+06	8.0E+06	8.0E+04
A-2	2.0E+07	3.0E+05	1.5E+05	8.0E+04	1.0E+05	1.0E+05	7.0E+04	7.0E+04	1.8E+03
A-3	1.1E+07	3.0E+04	3.0E+05	3.0E+05	1.0E+06	1.0E+06	5.0E+04	2.0E+06	7.0E+02
A-4	3.0E+06	1.0E+07	4.5E+05	8.3E+05	4.8E+05	4.0E+05	4.4E+03	3.8E+05	4.0E+02
A-5	1.0E+06	4.0E+05	1.4E+05	1.7E+05	2.0E+06	7.1E+05	4.0E+05	1.7E+05	7.0E+02
B-1	1.1E+05	3.0E+04	3.7E+05	1.4E+05	4.0E+06	1.2E+05	5.0E+04	3.1E+05	1.0E+03
B-2	1.3E+07	1.0E+06	3.0E+04	2.0E+05	2.0E+06	1.8E+05	1.1E+05	1.0E+04	3.0E+02
B-3	1.0E+07	2.3E+05	3.0E+05	8.0E+04	1.9E+07	1.3E+07	6.0E+06	3.0E+06	2.0E+04
B-4	2.0E+06	1.0E+06	1.0E+06	9.0E+06	2.1E+07	2.2E+05	3.8E+07	6.0E+06	2.2E+05
B-5	3.0E+06	1.1E+05	4.0E+04	1.0E+06	6.6E+05	2.0E+05	2.4E+05	3.0E+06	2.0E+04
C-1	1.4E+05	3.0E+06	1.0E+06	2.0E+05	2.0E+06	1.0E+06	5.8E+05	3.2E+05	4.0E+04
C-2	1.5E+07	5.0E+04	1.8E+05	5.0E+04	1.2E+07	2.5E+05	8.0E+04	4.0E+05	2.2E+05
C-3	5.0E+06	8.0E+04	1.1E+05	2.7E+05	3.0E+06	5.0E+06	6.0E+04	4.8E+05	5.9E+03
C-4	1.5E+06	1.0E+06	1.0E+04	1.6E+05	1.0E+06	2.7E+05	1.5E+05	3.0E+05	1.2E+04
C-5	4.0E+06	2.0E+06	1.5E+05	3.2E+05	2.5E+07	1.8E+05	1.0E+06	5.0E+04	3.0E+03

5. 中課題5：肉用牛と牛肉の腸管出血性大腸菌及びカンピロバクター保有の関連性に関する調査【三菱総合研究所】

(1) 成果の概要

工程表	進捗状況・成果
1) ロジックモデルの検討と必要データの整理（平成24年度） ↓	基本的なロジックモデルを検討し、各工程において必要となるデータの内容を整理した。（平成24年度）
2) 確率論的モデル構築に利用可能なデータの収集・整理（平成24～26年度） ↓	基本モデルに適用可能なデータとして、肉用牛個体の腸管出血性大腸菌 O157 及びカンピロバクターの保有実態データ等を収集し、特に参考となる文献を抽出、整理した。（平成24年度） 文献調査により必要データの更新及び新規収集を行った。また、業界団体・関連事業所へのヒアリング調査を実施し、牛肉・牛内臓肉の形態変化フローを作成した。合わせて未収集データの入手可能性及び代替データの利用可能性について検討し、利用可能データとして整理した。（平成25年度～平成26年度）
3) 確率論的モデルの構築（平成25～26年度） ↓	※1 必要データの収集状況及びヒアリング調査結果を踏まえ基本モデルの見直しを行った。（平成25年度） 基本モデルに基づき、確率論的リスク評価モデルを構築した。構築した確率論的リスク評価モデルについて、有識者によるレビューを実施し、モデルのブラッシュアップを行った。（平成26年度）
4) 生産衛生管理の有効性の分析（平成26年度）	※2 3) で構築した確率論的リスク評価モデルを用い、農場における衛生対策の効果についてシナリオを設定し、各シナリオに基づく感度分析を行った。（平成26年度） ※3

成果目標：肉用牛と牛肉の腸管出血性大腸菌 O157 及びカンピロバクター保有の関連性について確率論的モデルを構築し、これを用いて生産衛生管理の有効性を分析する。

<成果の概要の補足>

※ 1：ロジックモデルの検討とデータの収集・整理

① 確率論的リスク評価モデルの基本方針

本研究において構築する確率論的リスク評価モデルの基本方針は図表 1 の通りとした。

図表 1 確率論的リスク評価モデルの基本方針

- 目的
 - ・ 農場での衛生管理による食中毒リスク低減効果を定量的に評価する。
- 評価対象
 - ・ 中課題 3、4 で実施する衛生対策の効果検証を目的としていることから、本モデルでは国内で生産された肉用牛の食肉及び内臓肉における腸管出血性大腸菌 O157¹ 及びカンピロバクターの汚染を評価対象とする。
 - ・ 内臓肉については、当該食中毒原因微生物による汚染可能性が高い白物（消化管）及び赤物（肝臓）を評価対象とする²。
- モデルの基本構造
 - ・ 農場から流通・加工を経て喫食段階に至るまでの牛肉・牛内臓肉の形態変化に着目してモデル化を行う。
 - ・ 内臓肉については、と畜工程における摘出処理とそれ以降の衛生管理が異なることから、赤物（肝臓）と白物（消化管）を区別して取り扱う。
 - ・ 牛肉・牛内臓肉の形態変化に伴う汚染率及び汚染濃度の変化を推計する。汚染率及び汚染濃度を変化させる要因として、各工程における処理／保管／輸送温度及び処理／保管／輸送時間を考慮する。
 - ・ 農場における肉用牛個体の保菌率、及び食中毒原因微生物の糞便中濃度、体表中濃度を初期データとする。
 - ・ 農場からと畜場に至る過程の食中毒原因微生物の保菌／汚染率及び汚染濃度の変化については、東京顕微鏡院が行う同一肉用牛を対象とした調査も含め、既存調査

¹ 本研究では、我が国において分離される血清型としては O157 が最も多いこと、また農場における衛生対策はどの血清型にも一律に効果を発揮するものと考えられることから、O157 を評価対象微生物としている。なお、日本で 2008 年に分離された血清型は O157 が約 65%、O26 が約 24%、O111 が約 4%、残りはその他の血清型であった。（食品安全委員会、食品健康影響評価のためのリスクプロファイル～牛肉を主とする食肉中の腸管出血性大腸菌～（2010））

² 業界団体・関連事業者へのヒアリング結果を踏まえ、本研究では、赤物のうち腸管出血性大腸菌やカンピロバクターに汚染される可能性が高い肝臓を評価対象とすることとした。

から得られたデータを活用し、農場ーと畜場間の保菌／汚染率及び汚染濃度の関連性についてモデル化する。

○モデル化の範囲

- ・ 本モデルは農場での衛生対策の効果を評価することに主眼を置いていること、またデータ上の制約があることから、不確実性を増加させる要因となると畜場以降の交差汚染及び洗浄による汚染率・汚染濃度の低減効果については考慮しないこととする。

② 研究方法

確率論的リスク評価モデルを構築するため、はじめに基本的なロジックモデルを検討し、モデル構築にあたり必要となるデータの内容を整理した。また、整理した必要データを収集するとともに、農場から食卓に至るまでの牛肉及び牛内臓肉の形態変化のプロセスを把握するため、文献調査及び業界団体や事業者へのヒアリング調査を行った。

文献調査にあたっては、以下の条件に基づき、データベース PubMed 及び CiNii により検索、抽出を行った。

- ・ 牛を対象とした文献であること。
- ・ 海外の文献については、以下の条件を満たすこと。
 - － 日本と海外で共通していると考えられる事項（環境や飼料、抗菌剤の与える影響、増殖モデルなど）に関する文献であること
 - － 汚染実態データのための文献は除外する
 - － 菌の検出方法や同定方法に焦点をあてた文献は除外する

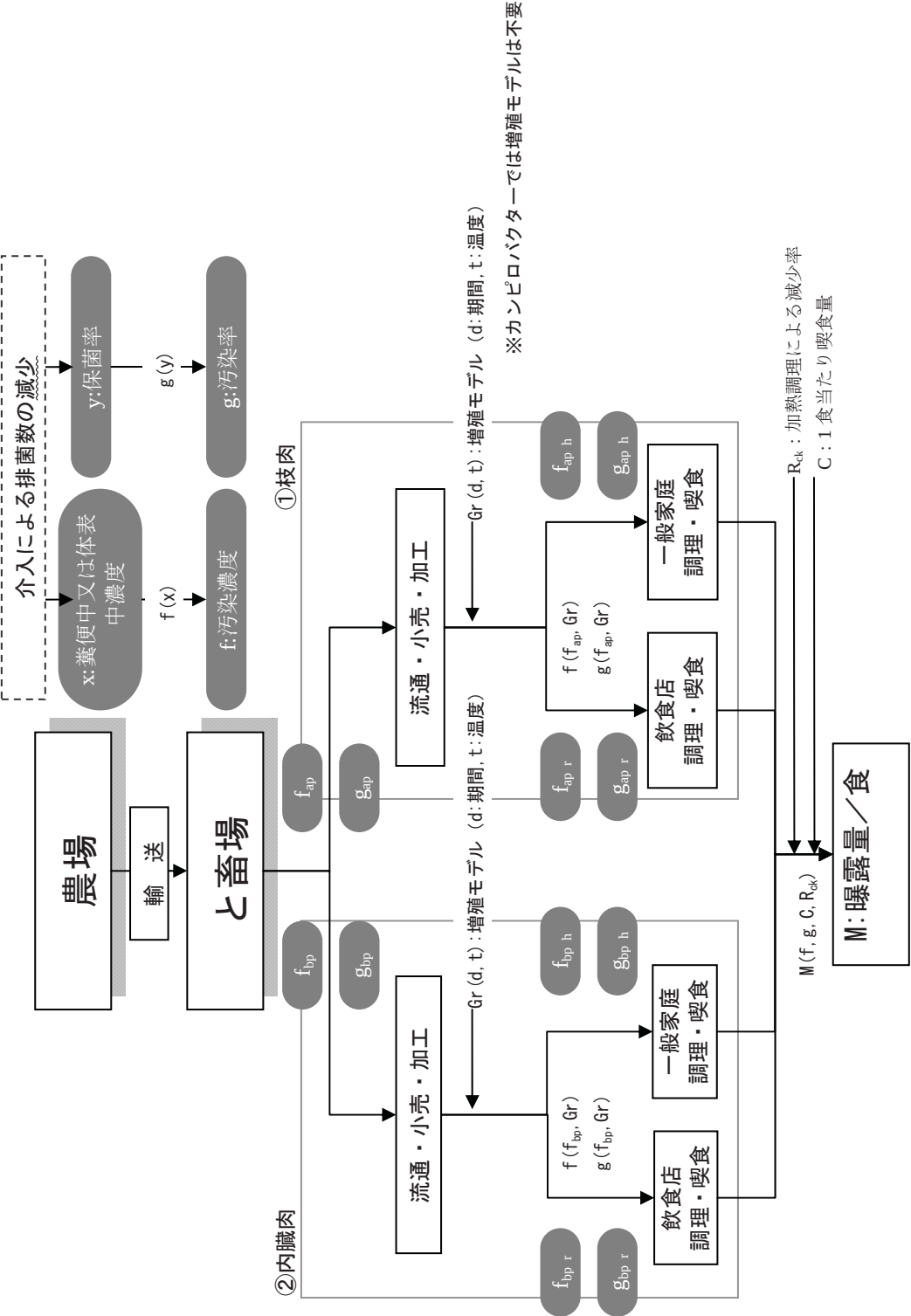
また、特に文献調査からは把握できない内臓肉の流通や衛生管理の実態に関して、業界団体（1 団体）及び食肉関連事業者（内臓卸業者：2 事業者（東日本・西日本 1 者ずつ）、内臓業者（卸・加工業者）：3 事業者）を対象としたヒアリング調査を実施した。

③ 研究成果

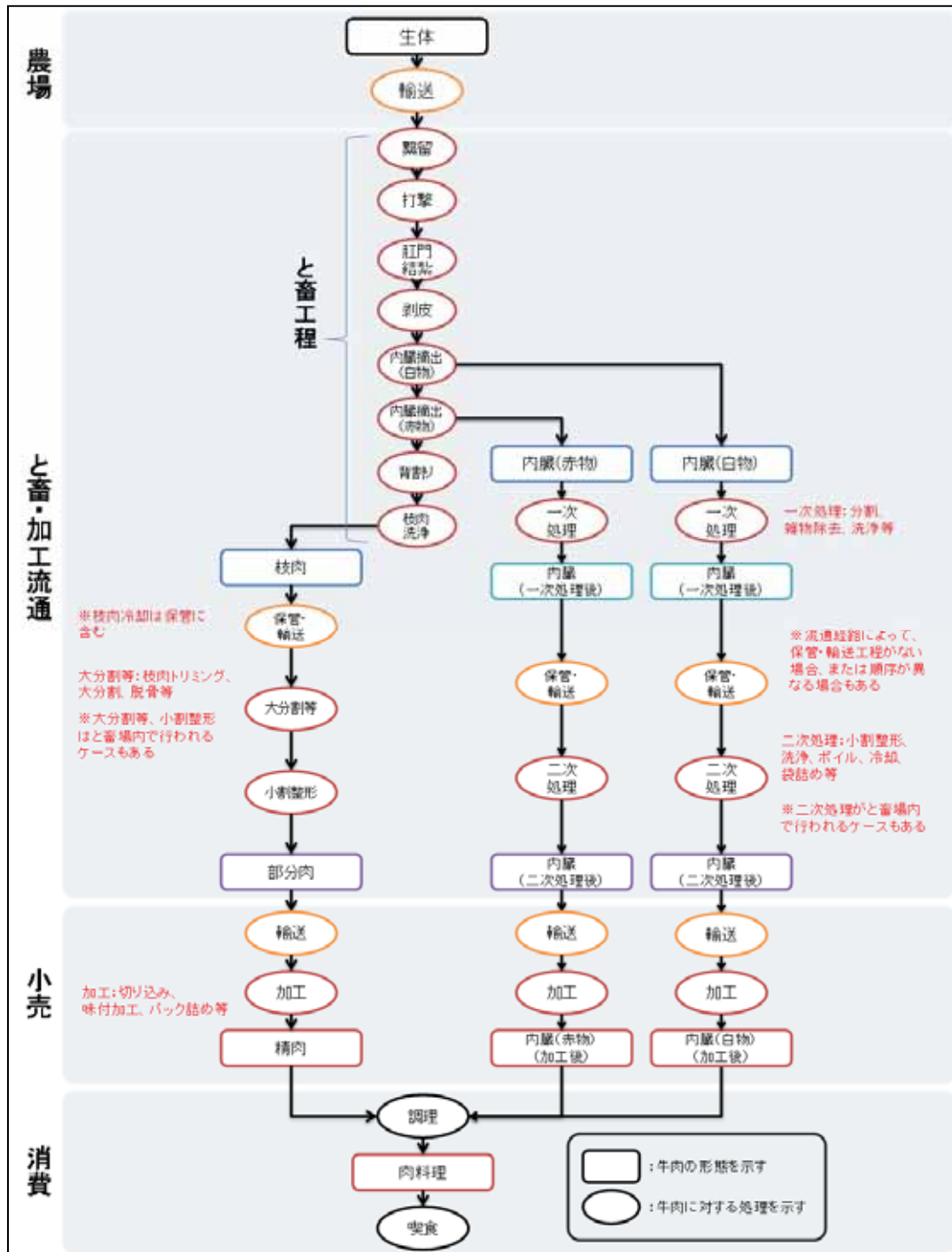
農場における肉用牛の感染が流通・加工段階を経て喫食段階の牛肉・牛内臓肉の汚染をもたらすプロセスを記述したロジックモデルを作成するとともに、各工程において必要となるデータの内容を整理した（図表 2）。さらに、文献調査及び業界団体・事業者へのヒアリング調査により得られた情報から、牛肉・牛内臓肉の形態変化プロセスを整理した（図表 3）。

また、文献調査及びヒアリング調査によりモデル構築にあたり必要なデータを収集した。このうち、本研究で構築したモデルに使用したデータ一覧を図表 4 に示す。

図表 1 基本的なロジックモデルと必要データ



図表 2 牛肉・牛内臓肉の形態変化フロー



図表 4 モデル構築時に参照した文献一覧

段階	データ	出典
農場	肉用牛の保菌率	・ 農林水産省、肉用牛農場の O157 汚染実態全国調査（平成 19 年度）（文献 1） ・ 農林水産省、肉用牛農場の大腸菌 O157 及びカンピロバクター汚染実態予備調査（平成 23 年度）（文献 2） ・ 農林水産省、肉用牛農場のカンピロバクター汚染実態予備調査（平成 22 年度）（文献 3）
	肉用牛の汚染濃度（直腸内容物）	・ （一財）東京顕微鏡院による実験結果（同一牛の追跡調査結果）
	肉用牛の汚染濃度（体表）	・ （一財）東京顕微鏡院による実験結果（同一牛の追跡調査結果）
と畜場	枝肉の汚染率	・ 食品安全委員会、食品健康影響評価のためのリスクプロファイル～牛肉を主とする食肉中の腸管出血性大腸菌～（文献 4） ・ 清水泰美、家畜（牛・豚）、家禽及び解体処理と体の食中毒菌の汚染実態調査（平成 10 年度厚生科学研究費補助金生活安全総合研究事業）（文献 4-1、文献 4 参照資料） ・ 高鳥浩介、生食用の食肉及び野菜・香辛料における腸管出血性大腸菌及びサルモネラ食中毒の予防に関する研究（平成 16 年度厚生労働科学研究費補助金 食品の安全性高度化推進事業）（文献 4-2、文献 4 参照資料） ・ 品川邦汎、食品製造の高度衛生管理に関する実験的研究（平成 16 年度厚生科学研究費補助金 食品の安全性高度化推進研究事業）（文献 4-3、文献 4 参照資料） ・ 品川邦汎、食品製造の高度衛生管理に関する実験的研究（平成 17 年度厚生科学研究費補助金 食品の安心・安全確保推進研究事業）（文献 4-4、文献 4 参照資料） ・ 中央法規出版、HACCP：衛生管理計画の作成と実践改訂データ編（文献 5）
	赤物（肝臓）の汚染率	・ 農林水産省、と畜場における大腸菌 O157 及びカンピロバクター汚染実態調査（平成 23 年度）（文献 6） ・ 岩手大学、牛レバー内部における腸管出血性大腸菌等の汚染実態調査（文献 7）
	白物（消化管）の汚染率	・ 農林水産省、牛消化管内容物中における大腸菌 O157 及びカンピロバクター汚染実態調査（平成 23 年度）（文献 8） ・ 農林水産省、微生物リスク管理基礎調査事業（平成 26 年度）（文献 9）
	枝肉の汚染濃度	・ （一財）東京顕微鏡院による実験結果（同一牛の追跡調査結果）
	赤物（肝臓）の汚染濃度	・ 品川邦汎、牛の内臓肉（肝臓）の汚染とその防止、獣医畜産新報, 60, 11, 895, 2007.（文献 10）
	白物（消化管）の汚染濃度	・ 健康安全研究センター、食肉処理業で取り扱う食肉（主に牛の内臓肉）の食中毒起因菌汚染実態調査、平成 23 年度健康安全研究センター先行調査発表会抄録（文献 11）

段階	データ	出典
流通	保管温度	・ 食肉事業者へのヒアリング結果
	保管時間	・ 食肉事業者へのヒアリング結果
	歩留率	・ 食肉事業者へのヒアリング結果
	生残率	・ Hanninen M.-L <i>et al.</i> 、Effect of various gas atmospheres on the growth and survival of <i>Campylobacter jejuni</i> on beef、Journal of Applied Bacteriology 57, 89, 1984（文献 1 2）
喫食	家庭で喫食する割合	・ （公財）日本食肉消費総合センター、食肉に関する意識調査（平成 2 5 年度）（文献 1 3）

※ 2：確率論的リスク評価モデルの構築

① 研究方法

基本ロジックモデル及び牛肉・牛内臓肉の形態変化フローに基づき、確率論的リスク評価モデルを構築した。モデル構築の具体的なプロセスについては「③研究成果」において示す。モデルの構築にあたっては、食品微生物のリスク評価を専門とする有識者 2 名によるレビューを実施し、モデルのブラッシュアップを図った。

なお、確率論的リスク評価モデルは Microsoft Excel とそのリスク解析用アドインソフト @RISK 日本語版によって構築した。

② 研究成果

基本ロジックモデル及び牛肉・牛内臓肉の形態変化フローに基づき、農場での生体牛の腸管出血性大腸菌又はカンピロバクターの保有率及び糞便・体表中汚染濃度と、最終的に家庭又は飲食店で喫食される牛肉・牛内臓肉の汚染率及び汚染濃度の関係性を定量的に記述し、確率論的リスク評価モデルを構築した。本研究において構築したモデルの概要を図表 5 に示す。

図表 3 モデルの概要

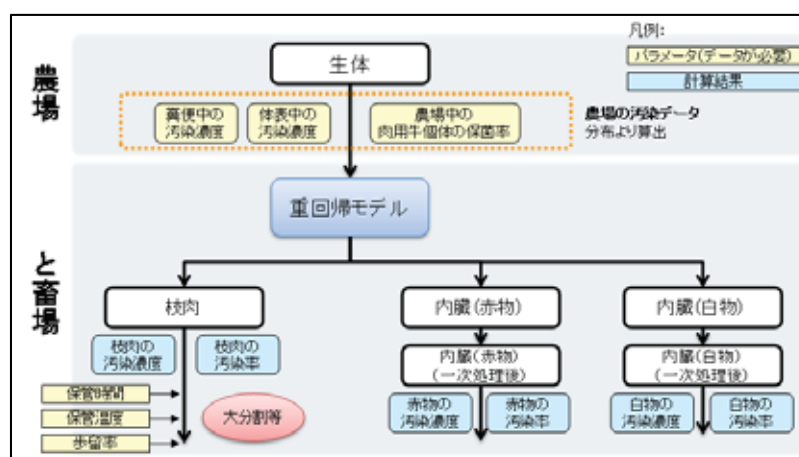
段階	モデルの概要
肉用牛	農場において、一定の個体保菌率に従って腸管出血性大腸菌 O157 又はカンピロバクターに感染した肉用牛が存在する。
枝肉・内臓肉	感染した肉用牛から、と畜処理によって、汚染された枝肉及び内臓肉が生産される。
流通	流通の過程において、加工処理や輸送・保管工程の影響により、汚染された枝肉及び内臓肉の汚染状況が変化する。
喫食	家庭あるいは飲食店に持ち込まれた汚染牛肉によって、消費者は「不十分に加熱調理された牛肉料理あるいは生牛肉・牛内臓肉（生食）」を喫食することで腸管出血性大腸菌 O157 又はカンピロバクターにばく露される。
発症段階	ばく露された消費者は菌量 - 反応曲線に従って発症する。

以下では、農場から食卓に至る過程を「農場～と畜場」「加工流通～小売」「喫食」の3段階に分け、それぞれの段階におけるモデルの構造について詳述する（A～C）。また、構築した確率論的リスク評価モデルを用いた、ベースラインモデル（現状）における相対的発症リスクの推定結果を記述する（D）。

A) 農場～と畜場

肉用牛のと畜工程については、モデルを構築する上で必要となるデータについて不明な点が多く、実態が把握されていないことから、詳細なモデル化は困難である。本研究では農場での衛生管理効果を定量的に評価することを目的としているため、と畜工程のモデル化に伴う不確実性の増大を避ける観点から、本研究では農場における肉用牛の保菌率及び糞便中・体表中汚染濃度と、と畜場において生産された枝肉及び内臓肉の汚染率及び汚染濃度を回帰モデルで記述することとした（図表6）。

図表 6 確率論的モデルの全体構造①（農場～と畜場）



(ア) 汚染率

農場における肉用牛の保菌率については、肉用牛は生産、肥育過程において複数農場間を移動し、また飼育環境における汚染牛から非汚染牛への水平感染も容易に起こることから、食中毒原因微生物に対するリスクの低減という観点からは農場単位ではなく、肉用牛個体を単位としたリスク管理手法が適切と考えられた。そこで、本モデルでは農場における肉用牛個体の保菌率を初期データとした。

農場における肉用牛の保菌率、と畜場における枝肉、内臓肉の汚染率については、既存調査からデータを収集した（図表7）。農場における保菌率は、乳用牛農場では肉用牛農場と比較して保菌率が低いことが知られていることから、肉用牛に関するデータを収集、利用することとした。ここで、既存調査から得られた平均保菌率が日本全

国における平均保菌率に近似すると仮定し、モデルの簡便化のため、と畜場において生産される枝肉及び内臓肉の汚染率は農場における肉用牛の保菌率に比例する線形回帰モデルを考えると、切片＝0の境界条件を満たす係数が決定できる。本研究では、農場における肉用牛の保菌率にこの係数を乗じることで、枝肉・内臓肉の汚染率を実装した。

図表 7 肉用牛～枝肉・内臓肉の保菌／汚染率に関するデータ(腸管出血性大腸菌 O157)

○農場の肉用牛の保菌率

	肉用牛 頭数	陽性頭数	陽性率
Data1: 文献1	2436	218	0.0895
Data2: 文献2	250	16	0.0640
合計	2686	234	0.0871

文献1) 農林水産省、肉用牛農場のO157汚染実態全国調査(平成19年度)

文献2) 農林水産省、肉用牛農場の大腸菌O157及びカンピロバクター汚染実態予備調査(平成23年度)

○と畜場の枝肉汚染率

	肉用牛 頭数	陽性頭数	陽性率
Data1: 文献4-1	47138	90	0.0019
Data2: 文献4-2	230	12	0.0522
Data3: 文献4-3	288	11	0.0382
Data4: 文献4-4	338	4	0.0118
合計	47994	117	0.0024

文献4) 食品安全委員会、食品健康影響評価のためのリスクプロファイル

文献4-1) 清水泰美、家畜(牛・豚)、家禽および解体処理と体の食中毒菌の汚染実態調査

文献4-2) 高島浩介、生食用の食肉および野菜・香辛料における腸管出血性大腸菌及びサルモネラ食中毒の予防に関する研究

文献4-3) 品川邦汎、食品製造の高度衛生管理に関する実験的研究(平成16年度)

文献4-4) 品川邦汎、食品製造の高度衛生管理に関する実験的研究(平成17年度)

○と畜場の肝臓汚染率

	肉用牛 頭数	陽性頭数	陽性率
Data1: 文献6	96	0	0.0000
Data2: 文献7	193	5	0.0259
Data3: 文献7	102	1	0.0098
Data4: 文献7	165	1	0.0061
合計	556	7	0.0126

文献6) 農林水産省、と畜場における大腸菌O157及びカンピロバクター汚染実態調査(平成24年度)

文献7) 品川(岩手大学)、牛レバー内部における腸管出血性大腸菌等の汚染実態調査

○と畜場の消化管汚染率

	肉用牛 頭数	陽性頭数	陽性率
Data1: 文献8	96	20	0.208
Data2: 文献9	130	7	0.054
合計	226	27	0.119

文献8) 農林水産省、牛消化管内容物中における大腸菌O157及びカンピロバクター汚染実態調査(平成23年度)

文献9) 農林水産省、微生物リスク管理基礎調査事業(平成26年度)

図表 8 肉用牛～枝肉・内臓肉の保菌／汚染率に関する確率論的モデル（腸管出血性大腸菌 O157）

項目	算出式
農場における肉用牛の保菌率	$Pb_B = Riskbeta(235, 2453)$
枝肉の汚染率	$P_C = Pb_B * a_c (a_c = 0.028)$
赤物（肝臓）の汚染率	$P_L = Pb_B * a_l (a_l = 0.15)$
白物（消化管）の汚染率	$P_G = Pb_B * a_g (a_g = 1.37)$

また、カンピロバクターを対象として、既存調査から収集したデータ（図表 9）に基づいて、腸管出血性大腸菌 O157 と同様の仮定の下、確率論的モデルを構築した（図表 10）。

図表 9 肉用牛～枝肉・内臓肉の保菌／汚染率に関するデータ（カンピロバクター）

○農場の肉用牛の保菌率

	肉用牛 頭数	陽性頭数	陽性率
Data 1: 文献2	250	42	0.168
Data 2: 文献3	250	98	0.392
合計	500	140	0.28

文献2) 農林水産省、肉用牛農場の大腸菌O157及びカンピロバクター汚染実態予備調査(平成23年度)

文献3) 農林水産省、肉用牛農場のカンピロバクター汚染実態予備調査(平成22年度)

○と畜場の枝肉汚染率

	肉用牛 頭数	陽性頭数	陽性率
Data 1: 文献5	214	8	0.0374
合計	214	8	0.0374

文献5) 中央法規出版、HACCP:衛生管理計画の作成と実践 改訂データ編

○と畜場の肝臓汚染率

	肉用牛 頭数	陽性頭数	陽性率
Data 1: 文献6	96	21	0.21875
合計	96	21	0.21875

文献6) 農林水産省、と畜場における大腸菌O157及びカンピロバクター汚染実態調査(平成24年度)

○と畜場の消化管汚染率

	肉用牛 頭数	陽性頭数	陽性率
Data 1: 文献8	96	83	0.8646
合計	96	83	0.8646

文献8) 農林水産省、牛消化管内容物中における大腸菌O157及びカンピロバクター汚染実態調査(平成23年度)

図表 1 0 肉用牛～枝肉・内臓肉の保菌／汚染率に関する確率論的モデル（カンピロバクター）

項目	算出式
農場における肉用牛の保菌率	$Pb_B = Riskbeta(141, 361)$
枝肉の汚染率	$P_C = Pb_B * a_c (a_c = 0.13)$
赤物（肝臓）の汚染率	$P_L = Pb_B * a_l (a_l = 0.78)$
白物（消化管）の汚染率	$P_G = Pb_B * a_g (a_g = 3.09)$

(イ) 汚染濃度

本モデルでは、農場段階での衛生管理対策の効果について評価することを目的とするため、農場における肉用牛の糞便中濃度及び体表中濃度を初期データとした。初期データである糞便中濃度及び体表中濃度と、と畜場における枝肉の汚染濃度は、（一財）東京顕微鏡院による同一牛の追跡調査結果のデータを活用した（図表 1 1）。枝肉の汚染濃度が農場における肉用牛の糞便中汚染濃度及び体表中汚染濃度に比例する線形重回帰モデルから、切片＝0 の境界条件を満たす係数を決定し、この係数を用いて肉用牛～枝肉の汚染濃度を実装した。

内臓肉については、肝臓は枝肉と同様に消化管の穿孔等によって汚染されることから、赤物（肝臓）の汚染濃度は枝肉の汚染濃度と等しいと仮定した。なお、赤物（肝臓）の汚染要因としては胆嚢や十二指腸からの逆流も示唆されているが、本モデルに活用可能な十分なデータが得られていないことから、モデル化では考慮しないこととした。また、既存調査³を参考に、白物（消化管）の汚染濃度は赤物（肝臓）の汚染濃度よりも 1 桁大きいものと仮定した。

³ 食肉処理業で取り扱う食肉（主に牛の内臓肉）の食中毒起因菌汚染実態調査（平成 2 3 年度健康安全研究センター先行調査発表会抄録）

図表 1 1 肉用牛～枝肉・内臓肉の汚染濃度に関するデータ（腸管出血性大腸菌 O157）⁴

2015年1月16日 直腸内容物検体(農場採取)

	種別	雄雌	肥養県	O157*		カンピロバクター**	腸内細菌科菌群*** (CFU)	大腸菌群 (CFU)	大腸菌 (CFU)
				定量	定性				
1	交雑種	雌	A県	-	-	+	1.6E+06	1.1E+06	1.1E+06
2	交雑種	雌	A県	-	-	-	2.5E+05	2.1E+05	2.1E+05

2015年1月16日 体表ふき取り検体(農場採取)

	種別	雄雌	肥養県	O157*		カンピロバクター**	腸内細菌科菌群*** (CFU)	大腸菌群 (CFU)	大腸菌 (CFU)
				定量	定性				
1	交雑種	雌	A県	-	-	-	<100	1.0E+02	1.0E+02
2	交雑種	雌	A県	-	-	-	<100	<100	<100

2015年1月20日 枝肉(塩素処理前)ふき取り検体(と畜場採取)

	種別	雄雌	肥養県	O157*		カンピロバクター**	腸内細菌科菌群*** (CFU)	大腸菌群 (CFU)	大腸菌 (CFU)
				定量	定性				
1	交雑種	雌	A県	-	-	-	<100	<100	<100
2	交雑種	雌	A県	-	-	-	<100	<100	<100

2015年1月20日 枝肉(塩素処理後)ふき取り検体(と畜場採取)

	種別	雄雌	肥養県	O157*		カンピロバクター**	腸内細菌科菌群*** (CFU)	大腸菌群 (CFU)	大腸菌 (CFU)
				定量	定性				
1	交雑種	雌	A県	-	-	-	<100	<100	<100
2	交雑種	雌	A県	-	-	-	<100	<100	<100

直腸内容物検体

*:O157 定性試験は、25g当り

** :カンピロバクター 定性試験は1g当り

***:腸内細菌科菌群、大腸菌群、大腸菌は1g当り

ふき取り検体

*:O157 定性試験は、ふき取り面積25cm²当り

** :カンピロバクター 定性試験はふき取り面積2.5cm²当り

***:腸内細菌科菌群、大腸菌群、大腸菌は2.5cm²当り

図表 1 2 肉用牛～枝肉・内臓肉の汚染濃度に関する確率論的モデル
(腸管出血性大腸菌 O157)

項目	算出式
枝肉の汚染濃度	$C_C = a \times Cf_B + b \times Cb_B$ ($a = 1.15 \times 10^{-5}$, $b = 1.03$) Cf_B:糞便中濃度、Cb_B:体表中濃度
赤物(肝臓)の汚染濃度	$C_L = C_C$
白物(消化管)の汚染濃度	$C_G = 10 \times C_C$

カンピロバクターでは、肉用牛から枝肉・内臓肉に関する定量的データとして、食肉処理場における肝臓の汚染濃度のみが得られており、汚染実態について定量的なデータが乏しく、モデル化が困難であると判断した。そこで、本研究では、カンピロバクターの農場における糞便中濃度及び体表中濃度と枝肉及び内臓肉の汚染濃度の関連性は腸管出血性大腸菌 O157 と同様であると仮定し、腸管出血性大腸菌 O157 と同一の重回帰モデルを用いた。また、農場における肉用牛の汚染濃度としては、既存調査から得られた肝臓中の平均汚染濃度と重回帰モデルから、糞便中と体表中の濃度比は一定であるという仮定に基づいて推定することとした。

⁴ (一財)東京顕微鏡院による実験結果

図表 1 3 肉用牛～枝肉・内臓肉の汚染濃度に関するデータ（カンピロバクター）

	試料	検体数	陰性検体数	陽性検体の平均菌数 (log CFU) /10ml,g
Data1:文献10	胆嚢内胆汁	236	176	4.7
Data2:文献10	肝管内胆汁	142	111	4.95
Data3:文献10	肝臓左葉	250	225	2.8
Data4:文献10	肝臓方形葉	250	228	2.3
Data5:文献10	肝臓尾状葉	250	237	2

文献10) 品川邦汎、牛の内臓肉(肝臓)の汚染とその防止、獣医畜産新報, 60, 11, 895, 2007.

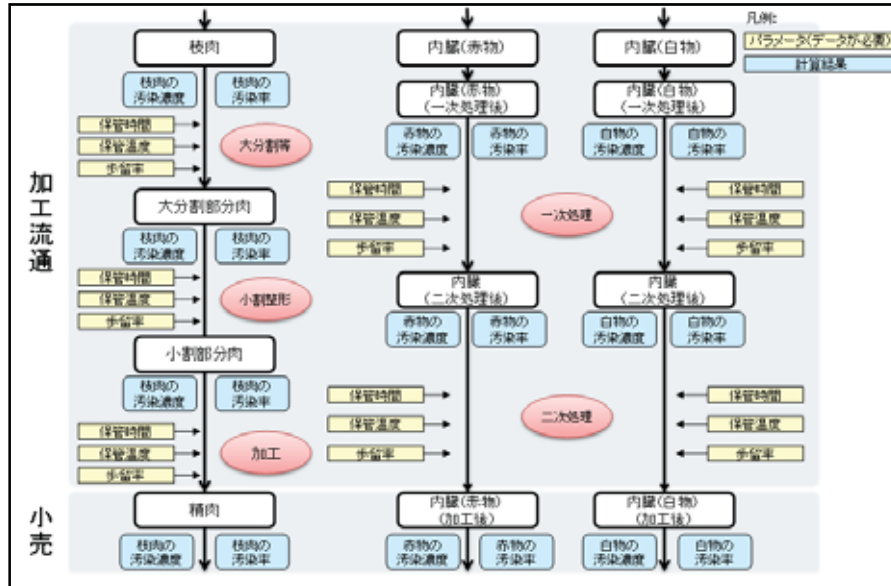
図表 1 4 肉用牛～枝肉・内臓肉の汚染濃度に関する確率論的モデル（カンピロバクター）

項目	算出式
枝肉の汚染濃度	$C_C = a \times C_f_B + b \times C_b_B$ ($a = 1.15 \times 10^{-5}$, $b = 1.03$) C_f_B :糞便中濃度、 C_b_B :体表中濃度
赤物（肝臓）の汚染濃度	$C_L = C_C$
白物（消化管）の汚染濃度	$C_G = 10 \times C_C$

B) 加工流通～小売

加工流通から小売に至る過程については、枝肉や内臓肉に対する加工処理や輸送・保管工程での枝肉及び内臓肉の汚染状況の変化についてモデル化を行った（図表 1 5）。加工流通時における枝肉及び内臓肉の保管温度、保管時間、歩留率の数値については、食肉事業者へのヒアリングの結果を基に設定した。なお、これらの工程では、清浄な牛肉が汚染された機械、手指、汚染牛肉に接触することで牛肉の交差汚染が生じうるが、交差汚染に関する定量的データが乏しいため、交差汚染のモデル化は行わないこととした。また、洗浄工程における汚染の低減効果についても、現時点でモデルに反映可能な定量的データが得られていないことから、モデル化は行わないこととした。

図表 1 5 確率論的モデルの全体構造②（加工流通～小売）



(ア) 輸送・保管

生産された枝肉及び内臓肉は各加工のステップごとに様々な条件下で保存される。腸管出血性大腸菌のリスク評価モデルに関しては、この保存期間における汚染濃度の増減について、時間と温度によって記述される増殖モデルによるモデル化を行った⁵。

具体的には、米国農務省食品安全検査局（USDA/FSIS）の「牛ひき肉中の大腸菌 O157:H7 が公衆衛生に及ぼす影響のリスクアセスメント⁶」において利用されている増殖モデルを活用することとした。当モデルでは以下の 3 点を仮定しており、本研究においても同様の仮定を設定した。

- ✓ 枝肉内部の温度は一樣である：実際には表面温度と内部温度の温度差が存在するが、対応する冷却曲線を作成する十分な裏付けが存在しない。
- ✓ 枝肉及び内臓肉において増殖特性は一樣である：温度以外の因子（pH や塩濃度等）も増殖に影響することが明らかとなっているが、仮定を簡便化するため、本研究では温度のみが増殖を予測する変数とする。
- ✓ 遅延期の長さは前段階の温度の影響を受ける：遅延期（細胞分裂以前の期間）の長さは、100%を初期値とし、各加工ステップにおいて様々な温度で保管される中で減少する累積的パーセンテージとしてモデル化する。

⁵ カンピロバクターについては食品中で増殖しないため、増殖に関するモデル化は行っていない。

⁶ USDA/FSIS Risk Assessment of the Public Health Impact of Escherichia coli O157:H7 in Ground Beef（2001）

増殖モデルは温度 τ (°C) により図表 1 3 のように記述される。時間 T の期間の増殖は、微生物増殖の遅延期 (LPD) $> T$ の場合、 $LPD - T$ が増殖可能時間となり、対数増殖率 G の変化が見られる。

図表 1 6 増殖モデルについての算出式 (腸管出血性大腸菌 O157)

項目	算出式
遅延期の長さ (LPD)	$\text{Ln}(\text{LPD})=9.98+[-2.69 * \text{Ln}(\tau)]$
世代時間 (GT)	$\text{Ln}(\text{GT})=7.03+\{-6.31*\text{Ln}[\text{Ln}(\tau)]\}$
対数増殖率 (G)	$G=\text{Log}10 [2*(\text{LPD}-T)/\text{GT}]$

一方、カンピロバクターについては、食品中では容易に増殖しないと考えられており、むしろ、凍結・解凍により、カンピロバクターの菌数は減少することが知られている。そこで、カンピロバクターについては、流通における牛肉中の生残性を考慮した確率論的モデルを構築した (図表 1 7)。

具体的には、既存文献⁷から得られた複数温度の牛肉中におけるカンピロバクターの菌数変化に関するデータを利用し、カンピロバクターの生残性を温度の関数としてモデル化した。

図表 1 7 生残性モデルについての算出式 (カンピロバクター)

項目	算出式
工程 n における菌数変化	$d_Tn=\text{RiskUnifrom}(a_max*time_Tn+b_max,$ $a_min*time_Tn+b_min)$ $(a_max, a_min)=(-0.014, -0,028),$ $(b_max, b_min)=(0.0375, 0.075)$
工程 n における減少菌数	$G_n=10^{(d_Tn*time_tn)}$

枝肉及び内臓肉の保管温度及び保管時間に関するデータは食肉関連事業者へのヒアリング調査から収集した。収集したデータに基づき、食肉処理場における不確実性を一様分布あるいは三角分布で表現し、さらに東日本と西日本の地域性に関する不確実性を離散分布により表現した (図表 1 8)。

⁷ Hanninen M.-L. *et al.* Journal of Applied Bacteriology 1984, 57, 89-94.

図表 1 8 流通における保管温度・保管時間に関する確率論的モデル

項目	算出式
工程 n における食肉の保管温度（西日本）	temp_Tn_o=RiskTriangle 又は RiskUniform
工程 n における食肉の保管温度（東日本）	temp_Tn_t=RiskTriangle 又は RiskUniform
工程 n における食肉の保管温度	temp_Tn=RiskDiscrete({0.5,0.5},{temp_Tn_o, temp_Tn_t})
工程 n における食肉の保管時間（西日本）	time_Tn_o=RiskTriangle 又は RiskUniform
工程 n における食肉の保管時間（東日本）	time_Tn_t=RiskTriangle 又は RiskUniform
工程 n における食肉の保管時間	Time_Tn=RiskDiscrete({0.5,0.5},{time_Tn_o, time_Tn_t})

(イ) 加工処理

枝肉及び内臓肉は流通過程の複数のステップにおいて分割される。分割を行うのは、枝肉については、大分割時、小割整形時及び小売店における精肉の製造時、内臓肉については、一次加工時、二次加工時及び小売店における加工・整形時である。いずれも、元の大きなユニットから小さなユニットが得られることから、汚染菌が食肉中にランダム分布し、かつ分割後の小ユニットが均一な大きさであると仮定すると、小ユニットの汚染菌数は二項分布により記述できる。本研究では、食肉事業者へのヒアリング調査から収集した枝肉及び内臓肉の歩留率に関するデータを利用してモデル化を行った（図表 1 9）。

図表 4 加工処理に関する確率論的モデル

項目	算出式
加工処理後の汚染菌数	C_post=RiskBinomial(RiskPoisson(C_pre),m) C_pre：加工処理前の汚染菌数、m：歩留率

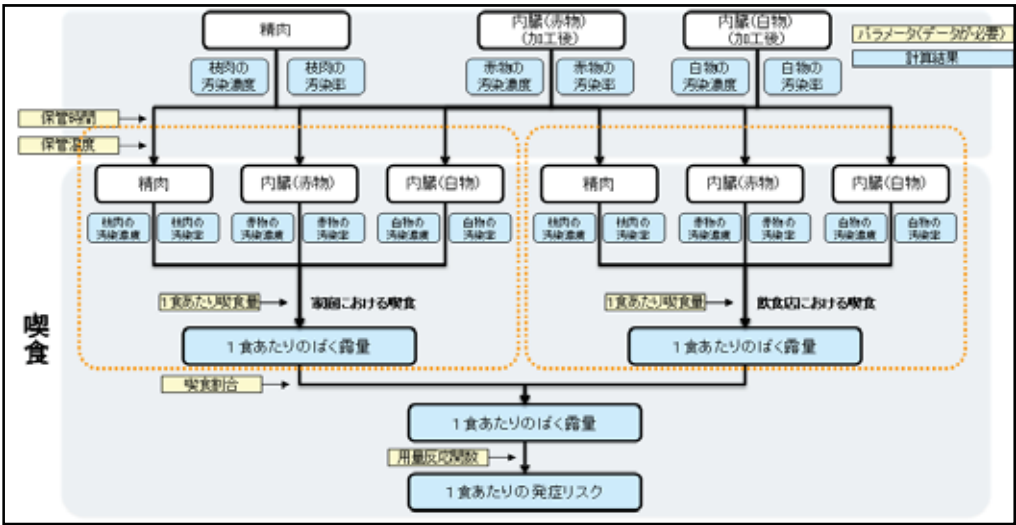
C) 精肉・加工肉～喫食

流通段階を経て、汚染牛肉・牛内臓肉が、家庭あるいは飲食店に持ち込まれ、消費者が不十分に加熱調理された牛肉料理あるいは生食により、汚染牛肉を喫食することで汚染菌にばく露される。この喫食ばく露に関するモデルは、食品安全委員会「定量的リスク評価の有効な実践と活用のための数理解析技術の開発に関する研究（平成 2

0年度～平成22年度)」において構築された牛肉料理の喫食に関する確率論的モデルを活用することとした。ただし、同モデルでは、内臓肉について赤物（肝臓）と白物（消化管）を区別していないことから、本研究では、以下の仮定を追加することにより、モデルの改変を行った（図表20）。

- ✓ 家庭において内臓肉を喫食する場合、赤物（肝臓）又は白物（消化管）のいずれかを喫食する
- ✓ 飲食店において内臓肉を喫食する場合、赤物（肝臓）及び白物（消化管）のいずれも喫食する

図表 20 確率論的モデルの構造③（喫食）



また、家庭及び飲食店での喫食割合において、牛肉料理を「家庭で喫食する割合」については、（公財）日本食肉消費総合センター「食肉に関する意識調査（平成25年度）」のデータを利用した。具体的には、喫食頻度について中央値をカテゴリの代表値として設定し、合計値の内食及び中食／外食比を算出した後、これを家庭で喫食する割合と仮定してモデルの更新を行った。

図表 21 牛肉料理を家庭で喫食する割合に関するデータ

○家庭と飲食店の割合

	全体	ほぼ毎日	週4～5日	週2～3日	週1日程度	月2～3日	月1日程度	それ以下	食べない
内食	1240	18	28	205	385	333	159	90	22
中食	1240	4	6	62	140	190	193	360	285
外食	1240	3	6	38	118	159	344	439	133

文献13）（公財）日本食肉消費総合センター、食肉に関する意識調査（平成25年度）

○発症リスク

腸管出血性大腸菌の摂取による発症リスクは1食あたり発症リスクとして、ばく露した際の摂取菌量と発症確率によりモデル化した。菌量-反応曲線としては、食品安全委員会「定量的リスク評価の有効な実践と活用のための数理解析技術の開発に関する研究（平成20年度～平成22年度）」において構築されたモデルを活用することとし、既存文献⁸において用いられているベータ二項モデルによって記述した（図表22）。

図表22 菌量-反応曲線についての算出式（腸管出血性大腸菌 O157）

項目	算出式
菌量-反応曲線	$P=1-(1+D/\beta)^{-\alpha}$ D=ばく露量, $\alpha=0.1619$, $\beta=8.1545$

カンピロバクターについては、菌量と発症の関係について定式化するためのデータが不足していることから、食品安全委員会「定量的リスク評価の有効な実践と活用のための数理解析技術の開発に関する研究（平成20年度～平成22年度）」と同様に、菌量と感染の関係について定式化し、感染率を推定することとした（図表23）。

図表23 菌量-感染曲線についての算出式（カンピロバクター）

項目	算出式
菌量-感染曲線	$P=1-(1+D/\beta)^{-\alpha}$ D=ばく露量, $\alpha=0.145$, $\beta=7.59$

D) ベースラインモデルにおける相対的発症リスクの推定

牛肉料理の1食あたりの腸管出血性大腸菌及びカンピロバクターによる食中毒発症リスクについて、@RISK 日本語版を利用し、モンテカルロ法による試行回数10万回のシミュレーションを実施した⁹。

(ア) 腸管出血性大腸菌 O157

ベースラインモデル（現状）の結果と喫食場所別の相対的発症リスクは図表24・25のとおりである。家庭における牛肉料理1食あたり発症リスクを100とした場

⁸ Strachan, J.C. et al. Dose response modelling of Escherichia coli O157 incorporating data from foodborne and environmental outbreaks, Journal of Food Microbiology 103 (2005), 35-47（春日、食品安全委員会食品健康影響評価技術研究「定量的リスク評価の有効な実践と活用のための数理解析技術の開発に関する研究」より参照）

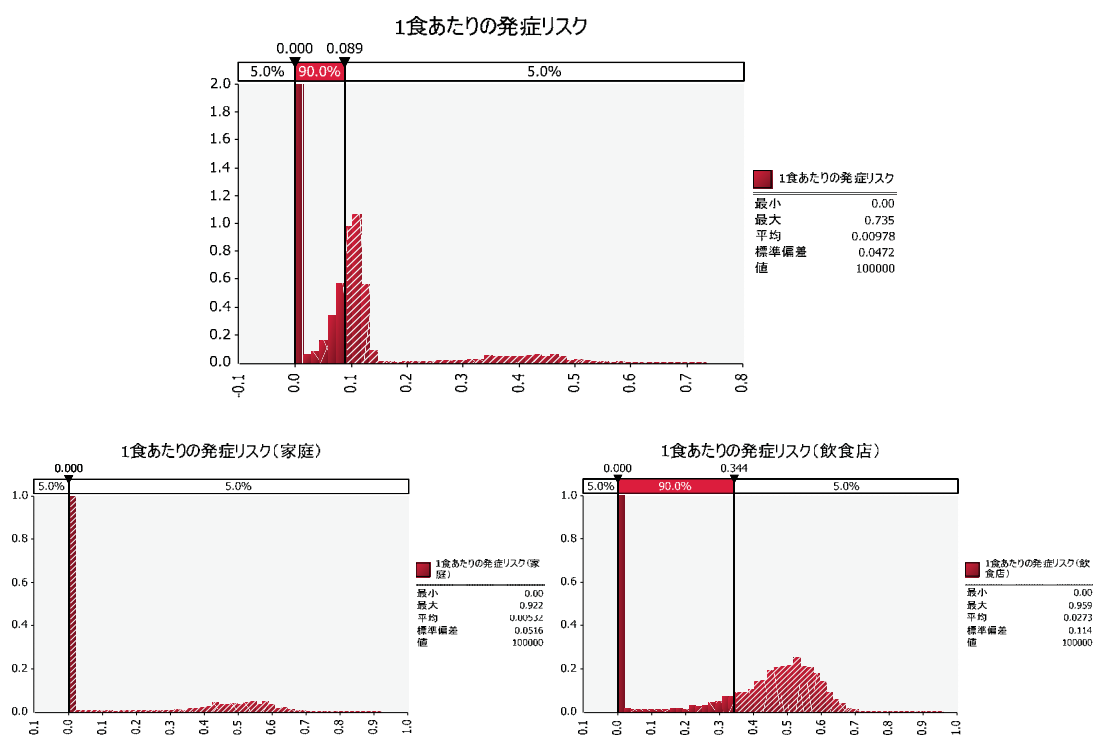
⁹ モンテカルロシミュレーション：定量分析におけるリスクを説明するためにコンピュータで実行する数学的手法。シミュレーションにより算出されたアウトプット値の分布には、起こりうる値の確率が反映されている。

合の各喫食場所における1食あたり発症リスクを示している。飲食店では家庭に比べ、1食あたり発症リスクが5倍高かった。

図表2-4 ベースラインモデルにおける1食あたり発症リスク（腸管出血性大腸菌 O157）

喫食場所	1食あたり発症リスク	
	平均値	相対的発症リスク
全体	0.0098%	185
家庭	0.0053%	100
飲食店	0.0273%	515

図表2-5 ベースラインモデルのシミュレーション結果（腸管出血性大腸菌 O157）



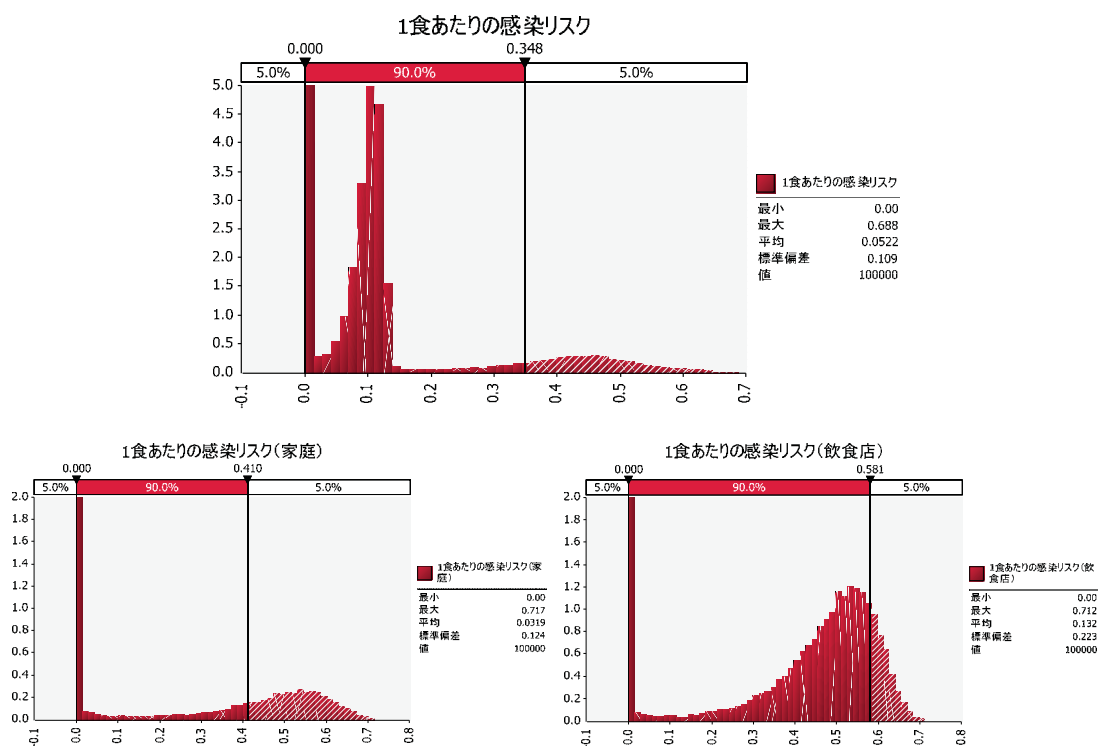
(イ) カンピロバクター

ベースラインモデル（現状）の結果と喫食場所別の相対的感染リスクは図表2-6・2-7のとおりである。家庭における牛肉料理1食あたり感染リスクを100とした場合の各喫食場所における1食あたり感染リスクを示している。飲食店では家庭に比べ、1食あたり感染リスクが4倍程度高かった。

図表 2 6 ベースラインモデルにおける 1 食あたり感染リスク（カンピロバクター）

喫食場所	1 食あたり感染リスク	
	平均値	相対的感染リスク
全体	0.0522%	164
家庭	0.0319%	100
飲食店	0.1320%	414

図表 2 7 ベースラインモデルのシミュレーション結果（カンピロバクター）



④ 今後の課題

本研究で構築した確率論的リスク評価モデルを用い、牛肉料理の 1 食あたりの腸管出血性大腸菌 O157 及びカンピロバクターによる食中毒発症又は感染リスクをシミュレーションしたところ、腸管出血性大腸菌 O157 による食中毒については家庭に比べ飲食店では 1 食あたり発症リスクが 5 倍高いという結果が得られた。一方、カンピロバクターによる食中毒については家庭に比べ飲食店では 1 食あたり感染リスクが 4 倍程度高いという結果が得られた。なお、これらの値はあくまで相対的なリスクを示すものであり、年

間発症者数・感染者数といった絶対的リスクを示すものではない¹⁰。

本研究で構築したモデルは、データの制約から一定の仮定を置いて構築しているため、結果の解釈の際には留意が必要である。今後、より実態を反映したリスク評価を行うためには、以下の課題をクリアしていくことが求められる。

✓ 農場とと畜場における汚染濃度変化モデルの精緻化

本研究では、農場とと畜場における汚染濃度、保菌／汚染率変化のモデルを構築するための関数の同定とパラメータ推定について、一定の仮定のもと、ごく限られたデータに基づいてモデル化を行っている。今後モデルをより精緻なものにするためには、特に農場中の肉用牛における汚染濃度の定量的なデータの充実と同一個体での農場とと畜場における部位別（枝肉、各臓器）の汚染濃度に関するデータセットを充実させる必要がある。

✓ 各処理工程における汚染率・汚染濃度変化モデルの精緻化

本研究では、現時点で得られているデータが不足していることから、交差汚染率及び洗浄工程における汚染の低減効果についてのモデル化は行わないこととした。しかし、実態として、消費者の汚染牛肉へのばく露に対して交差汚染率の影響は大きく、リスク低減のための衛生管理対策を実施するポイントとなりうること、また、洗浄工程において汚染が低減されることにより、本研究で構築したモデルにおける汚染菌へのばく露量は過大評価されている可能性がある。モデルをより適切なものにするために、今後はこれらのデータを充実させる必要がある。

✓ 流通・小売段階における衛生管理状況の把握

流通・小売段階における牛肉の衛生管理状況については、文献から得られるデータが限られているため、食肉関連事業者へのヒアリング調査から得られたデータを利用してモデル化を行った。今回ヒアリングを行った事業者の数や地域は限られ、また、いずれも適切な衛生管理を行っていた。今回利用したデータは必ずしも日本全国のデータを代表するものではないことから、リスクの推定が過小評価されている可能性がある。適切な衛生管理を逸脱するようなケースが全国でどの程度存在するのかを把握し、その実態をモデル上にどう反映できるかを検討することが求められる。

¹⁰ 1食あたり発症リスクに消費者1人あたりの年間喫食頻度を乗じれば、消費者1人あたりの年間発症回数が推定出来る。また、消費者1人あたりの年間発症回数に日本の人口を乗じることで、年間発症者数を求めることができる。ただし、この発症者数には、発症しても医療機関等で診断を受けずに顕在化しない発症者数が含まれるため、食中毒統計等と単純に比較することができず、得られた結果の検証が困難であることから、本研究においては相対的な1食あたり発症リスクを最終的なアウトプットとして用いた。

✓ 確率論的モデルに利用するデータの精緻化

今回ヒアリングを行った事業者の数や地域は限られ、また、いずれも適切な衛生管理を行っていた。今回利用したデータは必ずしも日本全国のデータを代表するものではないことから、リスクの推定が過小評価されている可能性がある。また、本モデルでは肉用牛を対象としているが、肉用牛に関するデータを利用しているのは農場の汚染状況のみである。その他のデータについては肉用牛と乳用牛とが区別されていないため、乳用牛は肉用牛と比較して保菌率が低いことを考慮すると、乳用牛に関するデータが含まれていることでリスクの推定結果が過小評価である可能性が考えられる。さらに、飲食店や家庭における喫食量や喫食頻度に関しては多くの仮定のもとデータを算出しており、また、不十分加熱調理に係るデータは平成21年度のものをを用いているため、必ずしも実態を反映できていない可能性がある。今後、腸管出血性大腸菌 O157 等による食中毒発症リスクをより精緻に評価するためには、モデルに組み込む各種データの精度の向上が求められる。

※3：生産衛生管理の有効性の分析

① 目的

構築した確率論的リスク評価モデルを用い、農場での衛生対策による食中毒リスク低減効果を評価することを目的とした感度分析を実施した。

② 方法

わが国を含め、現状では農場での衛生対策の効果に関する定量的なデータがないことから、モデルの各パラメータ（汚染濃度、保菌率）がどう変化した場合にどの程度の効果が得られるかという観点でシナリオを設定した（A）。続いて、シナリオで設定した各ケースについて10万回のモンテカルロシミュレーションを実施し、ベースライン（現状）に対する各シナリオの相対的食中毒発症・感染リスクを算出した（B）。

③ 結果

A) シナリオの設定

農場の衛生管理対策としては、清潔な敷料等による個体の保菌率の低減対策、剤の投与等による糞便中の排菌量（汚染濃度）の低減対策、体表の洗浄等による直接殺菌による体表の汚染濃度の低減対策があると考えられる。そこで本研究では、これらの衛生管理対策に対応したシナリオを設定してシミュレーションを実施し、効果的な衛生管理対策についての検討を行った。

具体的には、糞便中の汚染濃度、体表の汚染濃度、肉用牛個体の保菌率のそれぞれ各3ケース、及び組み合わせ（それぞれ11ケース）について、衛生管理対策による各パラメ

一タ低減が相対的発症・感染リスクに与える影響を検証した。

図表 2 8 シミュレーション実施ケース

糞便中の汚染濃度 3 ケース (20%低減, 50%低減, 90%低減)	×	体表の汚染濃度 3 ケース (50%低減, 80%低減, 90%低減)	×	肉用牛個体の保菌率 3 ケース (20%低減, 50%低減, 90%低減)
---	---	--	---	--

i. シナリオに基づく感度分析の実施

リスクに寄与する要因を把握し、効果的な衛生管理対策の検討を行うために、①で設定したシナリオで設定した各ケースについて、10万回のモンテカルロシミュレーションを実施した。

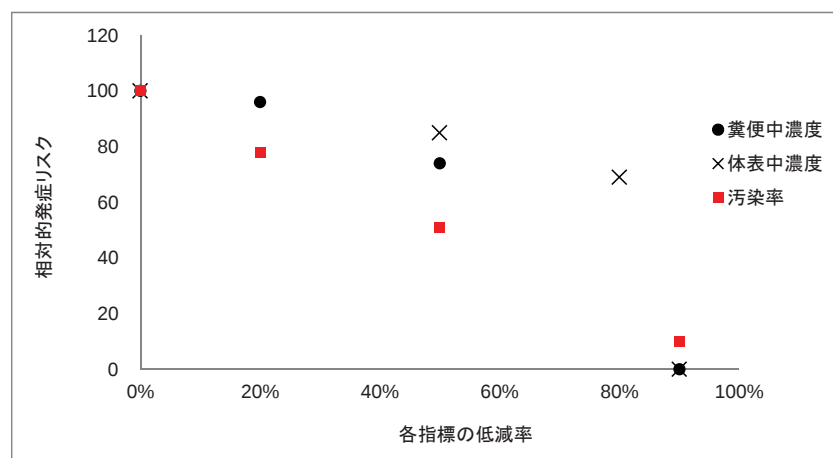
(ア) 腸管出血性大腸菌 O157

ベースライン（現状）に対する各シナリオの相対的発症リスクを図表 2 9・30に示す。いずれの衛生管理対策においてもリスク低減効果が認められた。各シナリオ別に比較すると、肉用牛個体の保菌率の低減によって大きいリスク低減効果が得られており、個体の保菌率のベースライン（現状）から 10%低減させると約 10%程度のリスク低減効果があった。一方、糞便中の汚染濃度及び体表の汚染濃度をベースラインから 10%低減させると、約 2~3%程度のリスク低減効果があった。

図表 2 9 シナリオ別 1 食あたり発症リスク（腸管出血性大腸菌）

シナリオ		1 食あたり発症リスク	
		平均値	相対的発症リスク
ベースライン（現状）		0.00978%	100
糞便中の汚染濃度	80%	0.00941%	96
	50%	0.00719%	74
	10%	0%	0
体表の汚染濃度	50%	0.00836%	85
	20%	0.00677%	69
	10%	0%	0
肉用牛個体の保菌率	80%	0.00763%	78
	50%	0.00495%	51
	10%	0.00101%	10

図表 3 0 各衛生管理対策のリスク低減効果（腸管出血性大腸菌）



また、衛生管理対策を組み合わせたシナリオについて、ベースライン（現状）に対する相対的発症リスクを図表 3 1・3 2 に示す。いずれのシナリオにおいても衛生管理対策を組み合わせることによって大きなリスク低減効果が得られている。

肉用牛個体の保菌率について衛生管理対策を実施していない場合（図表 2 9）、体表の汚染濃度をベースライン（現状）から 10%低減させる際のリスク低減効果は、約 5%（体表の汚染濃度を 50%から 20%に低下させた場合、相対的リスクは 85%から 69%に 16%低減）であるが、肉用牛個体の保菌率を 50%に低減させた場合（図表 3 1）、約 2.7%（体表の汚染濃度を 50%から 20%に低下させた場合、相対的リスクは 43%から 35%に 8%低減）、10%に低減させた場合（図表 3 1）、約 0.3%（体表の汚染濃度を 50%から 20%に低下させた場合、相対的リスクは 8%から 7%に 1%低減）である。それぞれ約 1/2、1/10 に小さくなっており、体表の汚染濃度に対する衛生管理対策単独のリスク低減効果に対して肉用牛個体の保菌率の低減率を乗じた値となっている。

さらに、3 種類の衛生管理対策を組み合わせた場合には（図表 3 2）、体表の汚染濃度をベースライン（現状）から 10%低減させると、得られるリスク低減効果は約 14%（体表の汚染濃度を 50%から 20%に低下させた場合、相対的リスクは 41%から 0%に 41%低減）である。肉用牛個体の保菌率について 50%に低減させた場合（図表 3 1）と比較して、約 1.4 倍（リスク低減効果が約 2.7%から約 14%に変化）となっており、さらに複数の衛生管理対策を組み合わせた効果が得られていると考えられる。

図表 3 1 組み合わせシナリオ(2種類)別 1食あたり発症リスク(腸管出血性大腸菌 O157)

シナリオ				1食あたり発症リスク	
				平均値	相対的発症リスク
ベースライン (現状)				0.00978%	100
肉用牛個体の保菌率	50%	糞便中の汚染濃度	50%	0.00472%	48
			50%	0.00423%	43
		体表の汚染濃度	20%	0.00339%	35
	10%	糞便中の汚染濃度	50%	0.00101%	10
			50%	0.00083%	8
		体表の汚染濃度	20%	0.00067%	7
体表の汚染濃度	50%	糞便中の汚染濃度	80%	0.00813%	83
			50%	0%	0

図表 3 2 組み合わせシナリオ(3種類)別 1食あたり発症リスク(腸管出血性大腸菌 O157)

シナリオ						1食あたり発症リスク	
						平均値	相対的発症リスク
ベースライン (現状)						0.00973%	100
糞便中の汚染濃度	50%	肉用牛個体の保菌率	50%	体表の汚染濃度	50%	0.00395%	41
					20%	0	0
			10%	体表の汚染濃度	50%	0.00084%	9

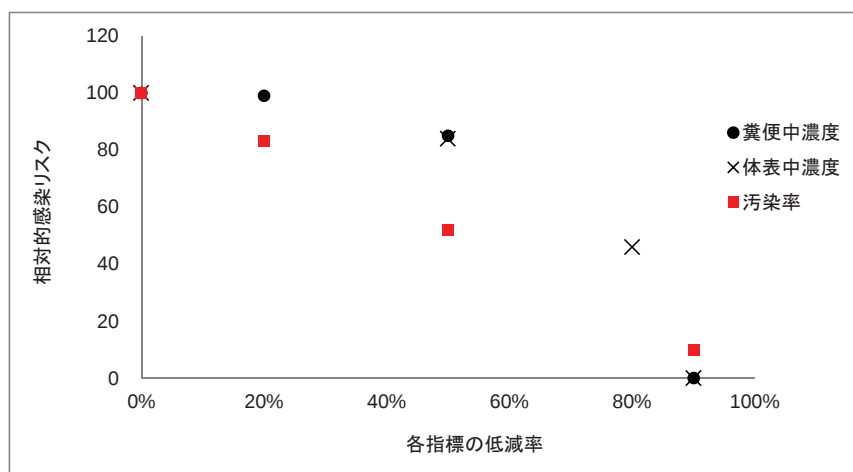
(イ) カンピロバクター

ベースライン (現状) に対する各シナリオの相対的感染リスクを以下に示す。カンピロバクターに対しても、衛生管理対策によるリスク低減効果が認められた。各シナリオ別に比較すると、腸管出血性大腸菌 O157 と同様に、肉用牛個体の保菌率の低減によって大きいリスク低減効果が得られており、個体の保菌率を 10%低減させた場合に、得られるリスク低減効果は約 10%であった。

図表 3 3 シナリオ別 1 食あたり感染リスク（カンピロバクター）

衛生対策の効果		1 食あたり感染リスク	
		平均値	相対的感染リスク
全体		0.0522%	100
糞便中の汚染濃度	80%	0.0515%	99
	50%	0.0445%	85
	10%	0%	0
体表の汚染濃度	50%	0.044%	84
	20%	0.0239%	46
	10%	0%	0
肉用牛個体の保菌率	80%	0.0432%	83
	50%	0.0274%	52
	10%	0.00541%	10

図表 3 4 各衛生管理対策のリスク低減効果（カンピロバクター）



また、カンピロバクターに対する衛生管理対策を組み合わせたシナリオについて、ベースライン（現状）に対する相対的発症リスクを以下に示す。腸管出血性大腸菌 O157 の場合と同様に、カンピロバクターに対しても大きなリスク低減効果が得られている。

肉用牛個体の保菌率について衛生管理対策を実施していない場合、体表の汚染濃度を 10%低減させた場合、得られるリスク低減効果は約 13%（体表の汚染濃度を 50%から 20%に低下させた場合、相対的リスクは 84%から 46%に 38%低減）であるが、肉用牛個体の保菌率を 50%に低減させた場合、約 6.7%（体表の汚染濃度を 50%から 20%に低下させた場合、相対的リスクは 43%から 23%に 20%低減）、10%に低減させた場合、約 1.7%（体表の汚染濃度を 50%から 20%に低下させた場合、相対的リスクは 9%から

4%に5%低減）である。それぞれ約1/2、1/10に小さくなっており、腸管出血性大腸菌O157の結果と同様に、体表の汚染濃度に対する衛生管理対策単独のリスク低減効果に対して肉用牛個体の保菌率の低減率を乗じた値となっている。

さらに、3種類の衛生管理対策を組み合わせた場合には、体表の汚染濃度を10%低減させることで得られるリスク低減効果は約13%（体表の汚染濃度を50%から20%に低下させた場合、相対的リスクは39%から0%に39%低減）であった。肉用牛個体の保菌率を50%に低減させた場合（図表3-5）と比較して、約1.9倍（リスク低減効果が約6.7%から約13%に変化）となっており、さらに糞便の汚染濃度に対する衛生管理対策を組み合わせた効果が得られていると考えられる。

図表3-5 組み合わせシナリオ（2種類）別1食あたり感染リスク（カンピロバクター）

衛生対策の効果				1食あたり感染リスク	
				平均値	相対的感染リスク
全体				0.0522%	100
肉用牛 個体の保菌率	50%	糞便中の汚染濃度	50%	0.0228%	44
			50%	0.0227%	43
		体表の汚染濃度	20%	0.0122%	23
	10%	糞便中の汚染濃度	50%	0.00473%	9
			50%	0.00463%	9
		体表の汚染濃度	20%	0.00233%	4
体表の 汚染濃度	50%	糞便中の汚染濃度	80%	0.0396%	76
			50%	0%	0

図表3-6 組み合わせシナリオ（3種類）別1食あたり感染リスク（カンピロバクター）

衛生対策の効果						1食あたり感染リスク	
						平均値	相対的感染リスク
全体						0.0522%	100
糞便中の 汚染濃度	80%	肉用牛 個体の保菌 率	50%	体表の汚染濃度	50%	0.0206%	39
					20%	0%	0
			10%	体表の汚染濃度	50%	0.00409%	8

④ 今後の課題

農場における衛生対策が、どの程度腸管出血性大腸菌及びカンピロバクターによる牛肉・牛内臓肉汚染とそれに伴う食中毒の発生を低減させる効果を持つのかを定量的に把握するため、本研究で構築した確率論的リスク評価モデルを用いた感度分析を実施した。その結果、糞便中や体表の汚染濃度を低減させるよりも、肉用牛個体の保菌率を低減させた方が、より食中毒発症リスクを低減させる効果があることが示唆された。さらに、いくつかの対策を組み合わせることで、食中毒発症リスクを低減させる効果がより高まることが示唆された。

現状では農場での個々の衛生対策の効果に関する定量的なデータがないことから、本研究では、仮に個体の保菌率や汚染濃度を低減させることができればどの程度の効果が得られるかという視点でシナリオ設定を行った。今後、本研究において実施した「新たな衛生対策の導入とその効果の検証」のようなフィールド研究をさらに推進し、衛生対策の効果に関するデータを蓄積していくことで、農場での衛生対策の食中毒リスク低減効果をより実態に即した形で検証することが可能となると考えられる。

Ⅲ. 主要な成果

1. 成果の内容

- 1) 肉用牛農場の腸管出血性大腸菌及びカンピロバクターの汚染実態（中課題 1 【（一財）東京顕微鏡院】）

牛の腸内で保菌している腸管出血性大腸菌 O157（以下 O157）やカンピロバクターは排菌と非排菌を繰り返している可能性が示唆された。また、排菌した O157 やカンピロバクターが敷料、土壌及びハエに伝播していることが確認され、これら環境が次の感染源となる可能性が示された。

- 2) 肉用牛農場における腸管出血性大腸菌の汚染の伝播の解析（中課題 2 【（一財）東京顕微鏡院】）

疫学解析の結果、O157 は大部分の農場で単一の遺伝子型を有する菌株のみが分離されていた。また、単一の肉用牛では、単一の遺伝子型を有する菌株に感染していることが認められた。一方、大腸菌は複数の株が入れ替わり、存在していることが確認され、O157 の感染状況と一般的な大腸菌の感染状況が異なることが確認できた。

- 3) 肉用牛農場におけるカンピロバクターの汚染の伝播の解析（中課題 2 【（一財）東京顕微鏡院】）

カンピロバクターは各農場内で複数の遺伝子型の菌株に汚染していることが認められた。また、この遺伝子型が複数の農場にまたがって汚染が確認されており、汚染・伝播が O157 の汚染と比べて非常に複雑であり、感染源の特定や汚染経路等を明らかにするのは非常に困難であると考えられた。

- 4) 消石灰散布による腸管出血性大腸菌及びカンピロバクターの低減効果の検証（中課題 3 【（一財）東京顕微鏡院】）

本調査において消石灰散布による敷料中の O157 及びカンピロバクターの汚染低減効果は明らかになってはいないが、本調査で使用した消石灰が粒状であったため、粉末の消石灰よりも敷料等への浸透能が低く、効果が出るのに時間が必要であった可能性もある。今回は調査期間も短かったため殺菌効果を示すに至らなかったことから、散布量、散布期間、散布頻度等を考慮して検討を進める必要があると考えられた。

- 5) 微生物制御物質（生菌剤等）の投与による肉用牛腸内の腸管出血性大腸菌及びカンピロバクターの影響評価 【（一財）東京顕微鏡院】

本調査において、3 種類の混合飼料及び飼料添加物及びラクトフェリンを肉用牛に給与して、O157、カンピロバクター、大腸菌及び腸内細菌科菌群への影響を調査

した。その結果、給与期間中の O157 は未検出、あるいは低い菌量である傾向がみられ、製品給与の影響である可能性も考えられた。一方、カンピロバクターは製品給与の影響については分からなかった。大腸菌及び腸内細菌科菌群の菌数は採取時期によって変動しているが、目立った変化は認められず、製品の給与によって腸内細菌叢は安定化した。

今後、これら製品等の O157 やカンピロバクターへの影響を更に検討するためには、給与量、給与期間などの条件の再設定を行うとともに、複数の農場を用いた調査も必要であると考えられた。

6) 確率論的リスク評価モデルの構築（中課題 5 【(株) 三菱総合研究所】）

農場における衛生対策が、どの程度腸管出血性大腸菌及びカンピロバクターによる牛肉・牛内臓肉汚染とそれに伴う食中毒の発生を低減させる効果を持つのかを定量的に把握するためのツールとして、確率論的リスク評価モデルを構築した。

IV. 論文、特許等の実績及び 推進会議の開催状況等

別紙のとおり

論文、特許等の実績等

学術論文

タイトル、著者名、学会誌名、巻、ページ、発行年月	機関名

口頭発表

タイトル、発表者名、学会等名、発表年月	機関名
肉用牛からの腸管出血性大腸菌O157の汚染実態調査及び分離菌株の分子疫学解析 ○横田春海、岸野かなえ、鄒碧珍、森哲也、和田真太郎、伊藤武 第17回腸管出血性大腸菌感染症研究会 2013年 7月	東京顕微鏡院
肉用牛からのカンピロバクター汚染実態調査および分離菌株遺伝子型別解析 ○和田真太郎、森哲也、岸野かなえ、横田春海、鄒碧珍、伊藤武 第6回日本カンピロバクター研究会 2013年7月	東京顕微鏡院
肉用牛の腸管出血性大腸菌およびカンピロバクターの汚染低減化のための基礎調査 ～汚染実態調査と分離菌株の分子疫学解析～ ○和田真太郎、森哲也、岸野かなえ、横田春海、鄒碧珍、伊藤武 第34回日本食品微生物学会 2013年10月	東京顕微鏡院
肉用牛農場における継続的な腸管出血性大腸菌O157の汚染調査及び遺伝子解析 ○和田真太郎、森哲也、岸野かなえ、横田春海、鄒碧珍、伊藤武 第35回日本食品微生物学会 2014年9月	東京顕微鏡院

出版図書

区分:①出版著書、②雑誌、③年報、④広報誌、⑤その他

区分	著書名、(タイトル)、著者名、出版社名、発行年月	機関名

(5) 国内特許権等

特許権等の名称	発明者	権利者 (出願人等)	特許権等の種類	番号	出願年月日	取得年月日	機関名

(6) 国際特許権等

特許権等の名称	発明者	権利者 (出願人等)	特許権等の種類	番号	出願年月日	取得年月日	機関名