

平成 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  
総括研究報告書

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。研究班では、食鳥肉に関わるフードチェーンを、(1)養鶏農場での生産段階、(2)食鳥処理場における解体段階、(3)加工・流通段階、(4)消費段階の4つに区分した上で、各工程における汚染低減手法に関する情報・データ収集を行うこととしている。

本年度は、以下の研究成果を得た。(1)生産段階では国内2養鶏農場の協力を得て、前年度までにカンピロバクターの生存・増殖抑制作用があるとされた鶏盲腸便由来 Bacteroides 株菌体抽出物を鶏生体に飼料切替期(前期から後期飼料、後期から休薬飼料の2期)に投与したところ、出荷齢プロイラー鶏盲腸便中のカンピロバクター菌数は平均対数個/g 減少を示し、投与による低減効果が認められた。(2)食鳥処理段階では、中抜き機の適切な管理と運用によりと鳥表面への腸内要物の汚染が低減へとつながることを示した。また、食品添加物として平成28年10月より食鳥肉表面の殺菌に使用可能となった、過酢酸製剤及び亜塩素酸ナトリウム溶液を用いた中抜きと鳥の浸漬処理は次亜塩素酸ナトリウム溶液を用いた場合よりも有意にカンピロバクター汚染菌数を低減させることを定量的に示した。(3)加工流通段階では、鶏肉の冷凍処理に伴う肉質への影響を物性試験により評価し、空冷式の緩慢冷凍処理ではドリップ率が高まる傾向にあったものの、急速冷凍処理は冷蔵と同等のドリップ液漏出を示し、その活用は本菌汚染低減と品質保持の両面から利点として挙げられた。(4)流通・消費段階では、南九州地方の郷土料理として根付く、鶏刺しが生食用として市販流通している実態を鑑み、同地域の認定小規模食鳥処理場並びに生食用食鳥肉加工施設での工程別汚染動態を調査し、解体処理工程直後に湯引きや焼烙等の加熱工程を設定することが食鳥肉の本菌汚染低減に資することを明らかにした。

この他、平成29年度厚生労働省による『食鳥肉における微生物汚染低減策の有効性実証事業』を支援すると共に、海外情勢等を含めて、食鳥肉におけるカンピロバクター汚染低減に向けた事例集の作成にあたった。

分担者

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

五十君 静信 東京農業大学

宇都 菜央 株式会社大山どり

尾崎 正秀 株式会社大山どり

春日 文子

川瀬 遵

窪田 邦宏

熊谷 優子

倉園 久生

小西 良子

小松真由美

齊藤 剛仁

桜井 芳明

国立環境研究所

島根県食肉衛生検査所

国立医薬品食品衛生研究所

国立感染症研究所

帯広畜産大学

麻布大学

宮城県医師会健康センター

国立感染症研究所

宮城県医師会健康センター

坂田 淳子	大阪府立公衆衛生研究所
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
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
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
盆下 誌保	東京家政大学
中村 寛海	大阪市立環境科学研究所
藤田 雅弘	群馬県衛生環境研究所
山本 詩織	国立医薬品食品衛生研究所
渡辺 邦雄	日本食品安全検証機構

(敬称略、五十音順)

#### 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依然として減少傾向を示すことなく多発しており、その対策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

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ルス属菌等、いわゆる生菌剤(プロバイオティクス)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、出荷時齢のブロイラー鶏を対象として、昨年度までに見出されたカンピロバクターの生存増殖性に抑制効果を示した、鶏盲腸便由来 *Bacteroides* 属菌株の不活化菌体抽出物を2生産農場で投与し、腸管内容における本菌の定量的動態を比較解析したので報告する。

## (2) 食鳥処理段階

1) 中抜き機による内臓破損がと体表面の衛生に及ぼす影響

カンピロバクター食中毒の主な原因はカンピロバクター汚染した鶏肉の喫食である。カンピロバクターは鶏の腸管内に生息していることから、食鳥処理工程で腸管内容物からのと体への汚染や冷却工程によるチラー水の汚染により多くのと体への汚染が考えられる。

本年は鶏の内臓摘出処理時におけると体の微生物汚染実態、および汚染と体表面の細菌数について調査を行ったので報告する。

2) 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

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、本分担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分担研究では、冷凍処理として急速冷凍処理及び空冷式の冷凍庫を用いた緩慢冷凍処理を対象に物性試験を行い、処理後の物性変化について冷蔵鶏肉との比較を行ったので報告する。

## (4) 流通・消費段階

鹿児島県や宮崎県では、鶏肉(主にもも肉やむね肉)を湯通しするか、あるいは表面を炙るなどして、タタキにして食する文化が根付いている。これがいわゆる「鶏刺し」や「鶏たたき」などといった名称で両県のスーパー等の小売店に日常的に並び、広く親しまれている。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。現在、日本の様々な地域において

飲食店などで鶏刺しが提供されており、鶏刺しを食する機会は南九州地域に限らず日本各地に広がっている。

鹿児島県や宮崎県では、それぞれ「生食用食鳥肉の衛生基準」、「生食用食鳥肉の衛生対策」が独自に策定され、関連業者に周知されている。両県では流通量の多さに対して鶏刺しによる食中毒の報告は極めて少なく、衛生管理の行き届いている業者が多いものと考えられる。

我々は平成28年度までの研究で、鹿児島県で市販されている生食用鶏肉(鶏刺し)と加熱用鶏肉のカンピロバクター汚染菌数について調査を行った。その結果、生食用鶏肉では加熱用鶏肉と比較して汚染が著しく低い傾向がみられ、鹿児島県で加工される鶏刺しは概ねカンピロバクターによる汚染が制御されていることが示唆された。しかしながら、鶏刺しの加工工程においてカンピロバクターの汚染低減につながる施策についてのデータは未だない。

そこで本年度は、鶏刺し加工において施される表面の加熱(湯通し、焼烙)がカンピロバクター汚染低減に与える効果について検討することを目的とした。認定小規模食鳥処理場(年間処理羽数30万羽以下)で食鳥を解体及び加工する業者と大規模食鳥処理場(年間処理羽数30万羽超)で解体された食鳥を加工する業者の2つの加工形態について検討した。前者は調査1、後者は調査2として述べる。

## 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

平成29年9月~11月の期間、九州地方にあるA/B農場の協力を得て、同農場で搬入後、飼養される肉用鶏の盲腸便を時系列を追って採材した。採材検体は速やかに冷蔵温度帯で研究室に輸送し、カンピロバクター定量検出試験(次項)に供した。

#### 2) *B. fragilis* 不活化抽出物の投与

BHIS broth で培養した *B. fragilis* an-51 株由来菌体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(前期から後期飼料への切り替え、約24日齢;後期から休薬飼料への切替時期、約33日齢)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。

#### 3) 定量検出試験

盲腸便検体1gを速やかに9mLの滅菌リン酸緩衝液(PBS, pH7.4)に懸濁し、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・陰性の判定を行い、陽性集落数から検体1gあたりの菌数を求めた。また、これと並行して、盲腸便検体懸濁液1mlを9mLのプレストン培地(ニッセイバイオ)に加え、42℃にて48時間、微好気培養を行った後、PCR法によるスクリーニング試験に供し、カンピロバクターの陽性・陰性判定を実施した。

## 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) 中抜き機による内臓破損がと体表面の衛生に及ぼす影響

### 1) 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

大規模食鳥処理場を訪問し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。

カンピロバクターの定性検査方法:盲腸内容10gを100mLのプレストン培地に接種し、42℃で48時間、微好気培養を実施した。その後、培養液1白金耳量をCCDA寒天培地(SEL X Oxoid)に接種し、42℃で48時間、微好気培養した。発育集落のうち、典型集落を3つ釣菌し、カンピロバクターの確認試験に供した。

サルモネラの定性検査方法:盲腸内容10gを100mLのRV培地(Oxoid)に接種し、42℃で24時間、好気培養を実施した。その後、培養液

1 白金耳量を DHL 寒天培地（日水）とブリリアンスサルモネラ（サーモフィッシャー）に接種し、37 で 24 時間、好気培養した。発育集落のうち、典型集落を 3 つ釣菌し、サルモネラの確認試験に供した。

## 2) 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

大規模食鳥処理場を訪問し 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 体以上のと体について、腸内容物の汚染や腸の破損の有無を観察した。

各ロットのチラー前の中抜きと体のモモ部（5cm×5cm）をふき取り綿棒（関東化学）でふき取った。そのふき取り検体を持ちてカンピロバクターおよびサルモネラの定性検査を試みた。カンピロバクターおよびサルモネラの定性検査は前述のとおりである。大腸菌数、大腸菌群数、一般生菌数の測定についてはペトリフィルム（3M）を用いた。菌数の平均は対数平均を実施し、有意差の検定は t 検定を実施し、5%未満の危険率の場合を有意差ありとした。

## (2) 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

1) 殺菌剤の調整：過酢酸製剤及び亜塩素酸ナトリウムの調整は使用 10 分前に行った。特に亜塩素酸ナトリウムについては殺菌性を高める為、1.428g/4mL の原液に、10mL の 1M クエン酸を添加後、10L 容の水道水に加え、十分に攪拌させ、温度及び pH 値を確認しつつ調整した。比較対照及びブランクとしては、次亜塩素酸ナトリウム溶液及び水道水を用いた。

2) 中抜きと鳥を用いた添加回収試験：カナマイシン耐性を示す *C. jejuni* 株を約 3 kg 重量の中抜きと鳥表面に接種し 4 で 20 分間静置した。各殺菌剤を含む浸漬液中で 30 分間処理した後、検体を大気中で 5 分間静置し、残留殺菌剤の蒸散を促した。その後、PBS200 mL と共に、ストマッ

カー袋に加え、1 分間十分に手揉みして表面洗浄液を得た。同液に終濃度 0.1% のチオ硫酸 Na 溶液を加え、遠心分離（2,160 x g、20 分間）を行った。その後、得られた沈渣を 2.5 mL の PBS で再懸濁し、mCCDA 寒天培地および標準寒天培地、VRBG 寒天培地に塗布し、各条件にあわせて培養を行うことで、被験株及び衛生指標菌（生菌数、腸内細菌科菌群数）の生存性を評価した。

## 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) 鶏肉検体及び冷凍処理

朝挽きの国産鶏ムネ肉（約 400g 重量/検体、大きさの平均は 14.2cm x 13.2 cm x 2.8 cm）を入手し、1 時間以内に冷蔵温度帯で当所へ搬入し、速やかに冷凍・冷蔵処理に供した。冷凍処理については、一昨年度の報告に示した急速冷凍処理（-30 のエタノールをベースとする溶液に浸漬させる方法）、緩慢冷凍処理（-20 を設定温度とする空冷式の家庭用冷凍庫を用いた）並びにチルド（4 保存）の 3 群に分けた（各群につき N=3）。各群とも 3 時間の処理を行い、冷凍処理 2 群については -20 で、冷蔵処理群については 4 のまま、それぞれ約 20 時間更に保存後、物性試験に供した。

### 2) 物性試験

鶏肉の物性試験項目として、ドリップ率、遠心遊離水分率及び破断応力を用いて、日本家畜改良事業団の作成した mmm に準じた方法により検討した。

## 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

### 調査 1：認定小規模食鳥処理場の処理工程におけるカンピロバクター汚染菌数の評価

#### 1) 材料の採取

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・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。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., Ltd.) により拭き取った。

5 度の採材のうち、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 度目の採材は約 70 羽～80 羽を既処理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。

2) カンピロバクターの分離・同定及び MPN 法によるカンピロバクター数の推定

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、バツラー培地 (Oxoid, Ltd.) に画線塗布した。と体表面ふき取り材料は、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、バツラ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、バツラ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 MH 寒天培地 (Oxoid) 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。

3) PCR によるカンピロバクターの種同定

*C. jejuni* 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) 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 反応後、アガロースゲル中で電気泳動を行い、増幅サイズを確認した。

4) *E. coli* 数、大腸菌群数、一般生菌数の算定

*E. coli* 数および大腸菌群数算定にはペトリフィルム 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) を指示書に従い、各菌数を求めた。

## 調査 2 : 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

1) 材料の採取

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。

2) MPN 法によるカンピロバクター数の推定

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 本分注すると共に、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 白金耳量をバツラ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は調査 1 に準ずる。

3) PCR によるカンピロバクターの種同定

調査 1 に準ずる。

4) *E. coli* 数、大腸菌群数、一般生菌数の算定

調査 1 に準ずる。

## 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

2 農場 (A・B) で *B. fragilis* 菌体由来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、出荷時齢における同菌数は A 農場では非投与群が  $1.46 \times 10^9$  CFU/g (平均)、投与群が  $1.16 \times 10^7$  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  $1.15 \times 10^6$  CFU/g と A 農場に比べて少数の自然汚染を顕していたが、投与群では  $8.40 \times 10^3$  CFU/g と A 農場での成績と同様に 2 対数個/g 以上の低減を示した。

## 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) 中抜き機による内臓破損がと体表面の衛生に及ぼす影響

1) 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、全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。一方、サルモネラは全ロットで陰性であった。

2) 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

処理ロットにより、腸内容物汚染や腸破損の発生率は大きく異なっていた。「肛門抜き」工程では最大 17% から最少 1% の腸内容物汚染がみられた。「肛門前腹部の切開」工程での腸破損は最大 30% から最少 1% の腸内容物汚染、「内臓摘出後」の、と体への腸内容物汚染は最大 44% から最少 0.5% であった。また、これらの汚染や破損は同様の傾向を示し、ロット A が一番高く、ロット F が一番少なかった。チラー前の中抜きと体モモ部からは、ロット B では 5 検体中 4 検体、ロット C では 5 検体中 3 検体、ロット A と E では 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されなかった。サルモネラは全てのロットで陰性であった。

内臓摘出後におけると体上での腸内容物汚染を 10% 以上または以下のロットに分けた際の大腸菌、大腸菌群、一般生菌の各菌数は、10% 以上のロットにおける大腸菌、大腸菌群、一般生菌の平均値はそれぞれ 7.6 個/ml、8.1 個/ml、392.2 個/ml であった。一方、10% 以下腸内要物汚染を呈したロットではそれぞれ 1.6 個/ml、1.9 個/ml、118.3 個/ml となり、前者に比べて低値を示した。

(2) 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

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 (いずれも 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、4.75 logCFU/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

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。

#### 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) 調査1：認定小規模食鳥処理場の処理工程におけるカンピロバクター汚染菌数の評価

あるロットにおける成績として、脱羽後のと体からは最大で100 cfu/25cm<sup>2</sup>の *E. coli* が検出された。しかしながら、同と体を含む全ての検体でチラー処理後には7 cfu/25cm<sup>2</sup>以下まで減少し、焼烙後には全く検出されなかった。大腸菌群も同様に、脱羽後に比べ、チラー処理後には全検体で菌数減少が認められた(平均46.3 cfu/25cm<sup>2</sup>から6.5 cfu/25cm<sup>2</sup>へ)。また、*E. coli*も同様に焼烙後には全く検出されなかった。

脱羽後に最も大きな値を示したと体からは2.1×10<sup>2</sup> cfu/25cm<sup>2</sup>の一般生菌が検出されたが、焼烙後には平均1.0 cfu/25cm<sup>2</sup>にまで抑えられた。

カンピロバクターは直腸スワブ検体は全て陽性を示し、脱羽後と鳥では12検体中5検体が陽性であった。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。

他ロット18検体のうち13検体では、脱羽後に *E. coli* 数は10cfu/25cm<sup>2</sup>を下回った。チラー後に1検体のみ41cfu/25cm<sup>2</sup>を示したのもみられたが、これを除く17検体では5cfu/25cm<sup>2</sup>以下であった。焼烙後には全検体で *E. coli* 陰性を示した。

一般生菌数は検体により様々な値を示し、脱羽後に8.3×10<sup>1</sup>~4.1×10<sup>2</sup> cfu/25cm<sup>2</sup>の範囲で検出された。チラー後では18検体中12検体が1.0×10<sup>2</sup> cfu/25cm<sup>2</sup>未満と低値が多かったが、4検体では10<sup>3</sup>cfu/25cm<sup>2</sup>を超えていた。しかしながら、焼烙後には全検体で6 cfu/25cm<sup>2</sup>以下を示した。

上記ロットの直腸スワブからカンピロバクター

は7羽のみ陽性となった。鶏群別では9月採材の6羽では5羽(陽性率83%)、11月採材の6羽では2羽(陽性率33%)、2月採材の6羽では全て陰性となり、季節性の関与が改めて示された。なお、と体ふき取り検体は、工程に関わらずいずれもカンピロバクター陰性であった。

(2) 調査2：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

1) もも・むね肉における各菌数の推移

もも肉

もも肉原料からは0 cfu/g~4.1×10<sup>2</sup> cfu/gの *E. coli* が検出された。焼烙後に2.8×10<sup>3</sup> cfu/gを示した検体も1検体のみ認められたが、他の5検体は全て陰性であった。スライス加工後検体及び包装後製品からは全く検出されなかった。

同上原料から大腸菌群は、9.0×10<sup>1</sup> cfu/g~6.8×10<sup>2</sup> cfu/gの範囲で検出された。焼烙後の4検体からは大腸菌群を検出しなかったが、1検体のみ4.0×10<sup>3</sup> cfu/gの検出を認めた。スライス加工後の2検体からは1.0×10<sup>1</sup> cfu/gの大腸菌群が検出されたが、他の4検体は何れも陰性であった。包装後製品からは最大7.0×10<sup>1</sup> cfu/gの大腸菌群を検出したが、3検体は陰性であった。

同上原料6検体のうち4検体で10<sup>4</sup> cfu/gを上回る一般生菌が検出された。焼烙後には1検体で3.8×10<sup>4</sup> cfu/gを検出したものの、他は概ね低値であり2検体は不検出であった。スライス加工後及び包装後製品検体からはそれぞれ最大で7.4×10<sup>2</sup> cfu/g、1.5×10<sup>3</sup> cfu/gの検出が認められた。

もも肉原料の1検体で4.6×10<sup>2</sup> MPN/10gのカンピロバクターを検出した。これに次ぐ高値は1.5×10<sup>1</sup> MPN/10gであり、概ね低値であった。また、焼烙後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

むね肉原料の検体から検出された *E. coli* 数は、最大で4.0×10<sup>1</sup> cfu/gであった。原料の6検体の



うち4検体から *E. coli* は検出されなかった。また、加熱後、スライス後、製品からは何れも検出されなかった。

大腸菌群は、むね肉原料の検体から  $2.0 \times 10$  cfu/g  $\sim 3.7 \times 10^2$  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  $1.0 \times 10$  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。

## 2) もも肉とむね肉の間における汚染度の比較

各工程におけるもも肉とむね肉の2群間の汚染度を比較するため、各菌数平均値の差を解析した。解析に対数値を用いるため、算定値に0が含まれなかった原料の大腸菌群数、原料の一般生菌数および製品の一般生菌数について検討を行った。算定値の常用対数をとると、原料の大腸菌群数はもも肉で平均  $2.4 \log$  cfu/g、むね肉で平均  $2.0 \log$  cfu/g であった。また原料の一般生菌数はもも肉で平均  $4.1 \log$  cfu/g であったのに対してむね肉では平均  $3.5 \log$  cfu/g であった。製品の一般生菌数はもも肉で平均  $2.6 \log$  cfu/g、むね肉で平均  $1.7 \log$  cfu/g であった。対数値を用いてF検定を行ったところ、3者とも2群間で分散に有意差が認められなかったため ( $p > 0.05$ )、スチューデントのt検定を行った。その結果、原料の一般生菌数および製品の一般生菌数において、もも肉とむね肉の群間に平均値の有意差が認められた ( $p < 0.05$ )。

## 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、昨年度の成果を受け、*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2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たことは、その普遍性と今後の応用性が期待されると考えられる。一方で、その投与方法として今回実施した内容が最適であるかどうかは定かではなく、今後適用方法を含めた改良評価が実用化には必要不可欠な課題と考える。

### 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) 中抜き機による内臓破損がと体表面の衛生に及ぼす影響

大規模食鳥処理場に搬入された6ロットはカンピロバクターを保菌しており、養鶏場から出荷される段階での高度汚染が想定された。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。

内臓摘出装置の調整や定期的なメンテナンスにより、食鳥処理工程での腸内容物汚染や腸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」工程で腸内容物汚染が多いものは、その後の「肛門前腹部の切開」での腸破損や、「内臓摘出後」のと体への腸内容物汚染も同様に発生率が高かったことは、こうした内臓摘出に関わる機器の調整ならびに使用方法の適正化を持続的に実施することが食鳥肉における微生物汚染低減に寄与すると目される。具体的には、日々の内臓摘出装置の調整、定期的なメンテナンスなどが挙げられよう。

(2) 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

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。

一方で、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。

### 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

本研究において、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1.2cm)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(<10cfu/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汚染の制御が重要であり、本研究の結果から、湯通し・焼烙により表面を70℃以上に加熱することが一つの目安になるとと思われる。

原料のもも肉から検出された*E. coli*数は最大で $4.1 \times 10^2$ 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とより高値が検出されたことは、加熱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、スライス後及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て、加熱後以降の全検体でカンピロバクターは不検出であった。このことから、*E. coli*の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。但し*E. coli*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。

原料のもも肉における一般生菌数がむね肉より有意に高かったことは、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(湯温92℃)がなされるのに対し、もも肉には30秒の湯通し(同湯温)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。もも肉製品では全検体で $1.5 \times 10^3$ cfu/g以下、むね肉製品では $1.0 \times 10^2$ cfu/g以下となり、加熱により、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、一般生菌数がむね肉製品でももも肉製品より有意に低い値であったことは、むね肉はとりわけ細菌汚染が軽度であることを示唆していると考えられる。

## 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* 属由来不活化菌体抽出物の投与は、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あることが示された。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が必要な課題と考えられた。

### 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。

過酢酸製剤及び亜塩素酸ナトリウムをチラー工程に用いることは、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。

### 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であると考えられた。

## 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

解体処理直後の加熱(湯通し、焼烙)工程の適用は鶏肉への糞便汚染除去に大きく寄与することが数的に示された。一方、通常処理を受けた鶏肉を原料として調理段階で表面を加熱することは流通保存を通じて当該菌の内部浸潤を招くため、十分な殺菌効果を有するとは言い難く、解体処理から加工工程までの一元的な衛生管理の推進が生食用鶏肉の安全な提供に資すると思われる。

## F. 健康危機情報

該当なし

## G. 研究発表

### 1. 著書

朝倉 宏. カンピロバクター食中毒. 公衆衛生.

### 2. 論文

- 1) 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.* 96(4): 931-937.
- 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.

### 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）

### H. 知的財産権取得状況

該当なし