

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、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、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 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25cm²(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 1.46×10^9 CFU/g、投与群が平均 1.16×10^7 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 1.15×10^6 CFU/g、投与群は平均 8.40×10^3 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 ± 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 ± 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 ± 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 ± 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 ± 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 ± 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 ± 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 ± 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 ± 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 ± 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 ± 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 ± 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 ± 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 ± 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 ± 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 ± 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 ± 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 ± 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 ± 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值±標準偏差は 1.71±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、10~10²MPN/50gだったものは5検体、10²MPN/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、10~10²MPN/50gだったものは12検体、10²MPN/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、10²MPN/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/25cm²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/25cm²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2.1×10²cfu/25cm²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/25cm²を下回った。チラー後では1検体のみ41 cfu/25cm²となったが、これを除く17検体は5 cfu/25cm²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~4.1×10² cfu/gの *E. coli* 及び9.0×10¹ cfu/g~6.8×10² 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7.0×10¹ 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4.6×10² 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¹⁾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

