

総合研究報告書

「食鳥肉におけるカンピロバクター汚染のリスク管理に関する研究」

流通段階におけるカンピロバクター制御に関する研究

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

研究要旨：

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

A. 研究目的

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

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

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

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

B. 研究方法

1) カンピロバクター定量検出試験

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

2) 自然汚染丸鶏のカンピロバクター菌数の測定

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

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

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

4) 鶏肉内部浸潤性試験

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

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

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

6) 温浴加熱を通じた鶏肉内部でのカンピロバクター生存性に関する検証試験

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

7) 鶏刺し製品のカンピロバクター定性試験

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

8) 物性試験

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

C . 結果

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

急速液体冷凍処理および緩慢冷凍処理を通じた、鶏モモ肉中におけるカンピロバクター・ジェジュニ計 5 株の生存挙動を添加回収試験により検討した。7.25 7.54 対数個/g の各菌株を接種した、急速液体冷凍処理群(-35)における経時的成績として、3, 6, 24, 48 時間処理後の生存菌数平均値は、それぞれ 5.05-6.43 対数個/g、5.05-6.43 対数個/g、3.74-6.09 対数個/g、3.73-6.06 対数個/g となり、それぞれの時間軸における検体 1 g 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400g重量の鶏ムネ肉検体について急速冷凍処理群のドリップ率は0.96%となり、冷蔵処理群と同等の数値を示した(0.93%)。一方で、緩慢冷凍処理群のドリップ率は2.97%と他二群に比べて有意に高値を示した。破断応力及び遠心遊離水分率については、各群間で統計学的に有意差は認められなかった。

5) カンピロバクターの鶏肉内部浸潤性

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

6) 温浴加熱を通じた、鶏肉中カンピロバ

クターの汚染低減効果

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

7) 温浴加熱を通じた、加熱用鶏肉におけるカンピロバクターの内部生残性

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

8) 市販冷凍鶏刺し製品におけるカンピロバクターの検出状況

供試した鶏刺し製品計72検体は全てカンピロバクターが不検出であった。

D. 考察

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

E. 結論

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

F. 研究発表

1. 論文発表

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

2. 学会発表

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

G. 知的財産権の出願・登録状況

なし

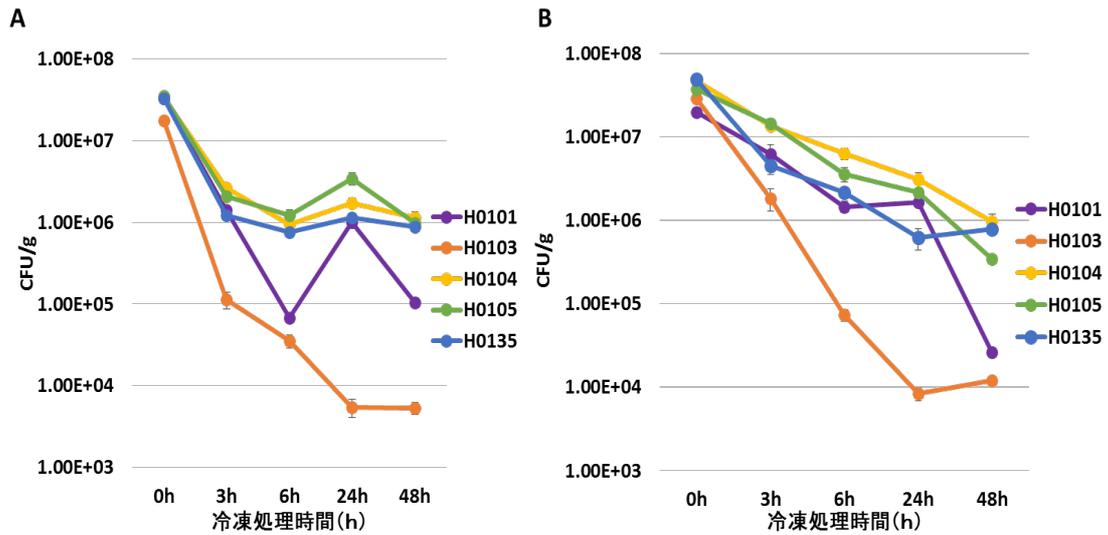


図 1 . 急速液体冷凍処理 (A) あるいは緩慢冷凍処理 (B) に伴う、鶏モモ肉検体 25 g 中のカンピロバクター・ジェジュニ 5 株の生存挙動 .

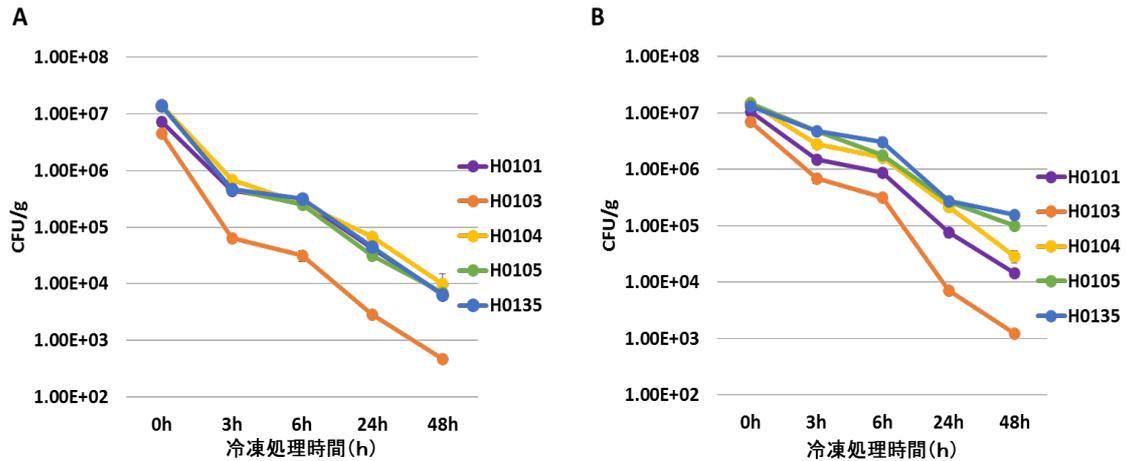
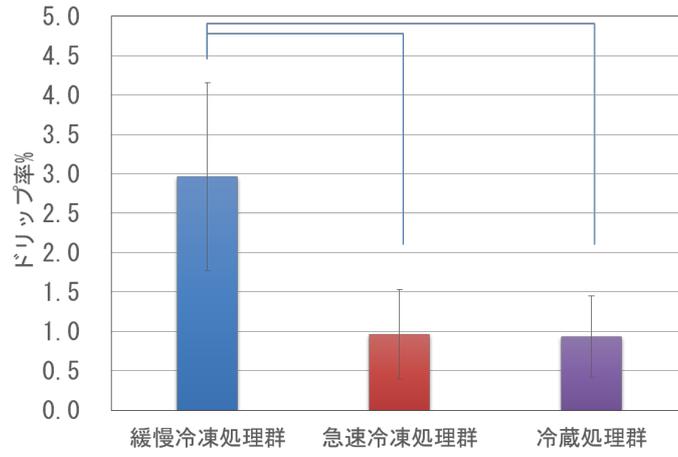
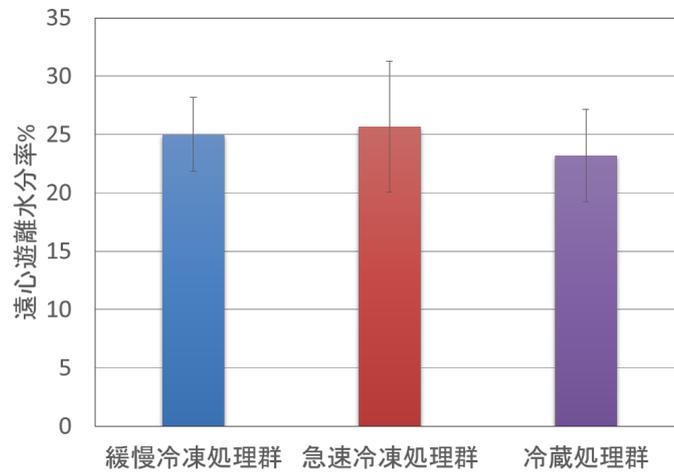


図 2 . 急速液体冷凍処理に伴う、PBS (A) あるいは 10% ドリップ加 PBS (B) 中でのカンピロバクター・ジェジュニ 5 株の生存挙動 .

A



B



C

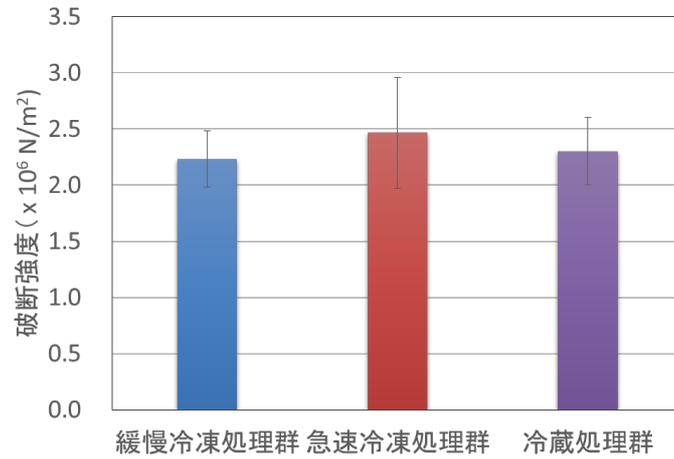


図3. 冷凍・冷蔵処理を通じた鶏ムネ検体の物性変化.

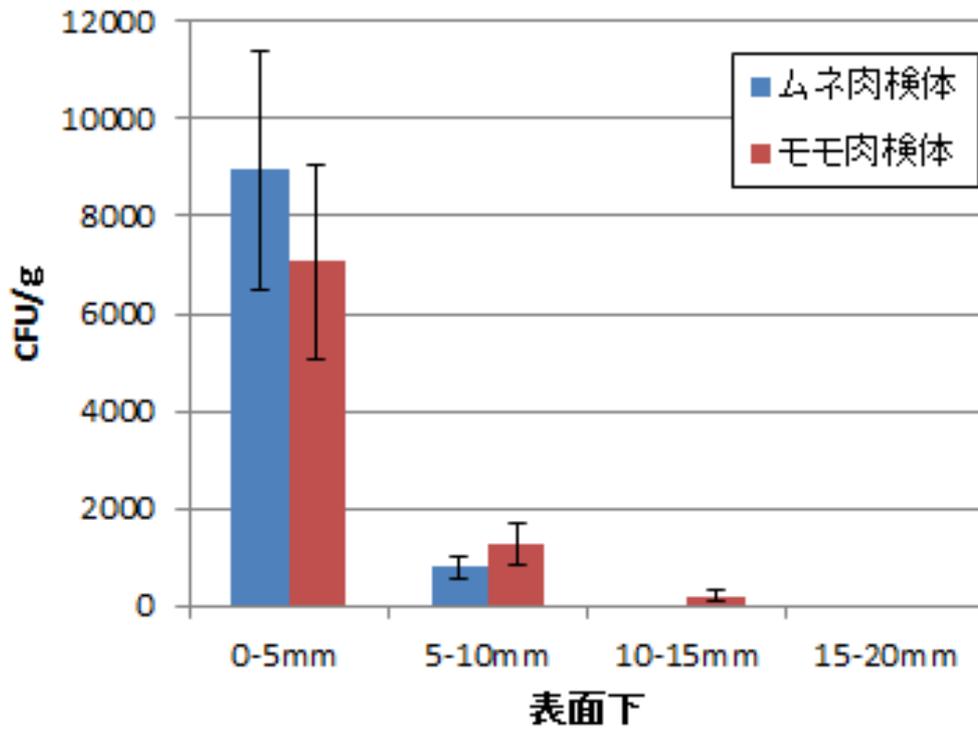


図 4 . 鶏肉内部への *C. jejuni* の浸潤性 .

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