

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)
「畜産食品の生物学的ハザードとその低減手法に関する研究」
分担研究報告

牛肝臓の冷蔵保管中の温度変化と牛胆汁の細菌動態に関する研究

研究分担者	佐々木貴正	国立医薬品食品衛生研究所
研究分担者	朝倉 宏	国立医薬品食品衛生研究所
研究代表者	岡田由美子	国立医薬品食品衛生研究所

研究要旨

現在、牛肝臓については、生食用としての提供が禁止されている。しかし、生食（レバ刺し）の解禁に対する要望は依然として存在し、その可能性を検討するためには、摘出後の肝臓内部の細菌汚染実態及び保管・流通段階における細菌挙動を解明し、リスクに応じたリスク管理措置を行う必要がある。そこで、摘出直後の肝臓の表面及び内部に温度ロガーを取り付け、と畜場からの出荷（翌日）までの温度変化を計測した。また、肝臓内部の高濃度細菌汚染の実態は、肝臓内部に存在する胆管内の細菌の存在であると考えられており、カンピロバクターや志賀毒素産生大腸菌と同様に、肝臓内部を汚染する可能性が指摘されているサルモネラについて、胆汁中での増殖可能性を検討した。肝臓丸ごとでは、肝臓内部の温度低下はあまり見込めず、5℃まで低下するのに 20 時間を要した。一方、10 cm角にカットした場合には 5 時間で 5℃まで低下した。サルモネラは、ミュラー・ヒントン培地と同程度に胆汁中で増殖した。以上のことから、肝臓摘出後に肝臓丸ごとで保管・流通する場合には、例え、低温かつ低濃度の細菌汚染であっても、肝臓内部の細菌汚染は速やかに拡大すると考えられた。

A. 研究目的

現在、牛肝臓は生食用としての提供が禁止されている。しかし、生食に対する要望は依然として存在し、その可能性を検討するためには、肝臓内部の細菌汚染実態を解明するとともに、摘出後における肝臓内部の細菌挙動を把握し、適切な殺菌及び増殖防止策を行う必要がある。

一般的に、腹腔から摘出された肝臓は、

と畜検査員による検査終了後、内臓取扱業者に渡り、胆嚢を切除後、一定時間（半日～翌日）冷蔵庫で保管された後、と畜場から出荷される。この間、肝臓に病変等が見られないものについては、肝臓丸ごとのまま冷蔵保管されることが多い。摘出直後の肝臓の温度は約 40℃であるが、重量約 6kg、厚み約 10 cmもあるため、丸ごと冷蔵室に入れても、肝臓内部の温度

を急激に下げることが困難であり、細菌が増殖している可能性は高いと考えられるものの具体的なデータがないのが現状である。

そこで、今回、1内臓取扱業者の協力の下、摘出直後の肝臓の表面及び内部に温度ロガーを取り付け、と畜場からの出荷（翌日）までの温度変化を計測した。また、肝臓内部における細菌の高濃度汚染は、胆嚢内胆汁の細菌汚染と関連性が高いこと、さらに、志賀毒素産生大腸菌やカンピロバクターは胆汁で増殖できることが知られており、肝臓内部の高濃度細菌汚染の実態は、肝臓内部に存在する胆管内の細菌の存在であると考えられている。そこで、カンピロバクターや志賀毒素産生大腸菌と同様に、肝臓内部を汚染する可能性が指摘されているサルモネラについて、胆汁中での増殖可能性について検討した。

B. 研究方法

1. 材料（肝臓及び胆汁）

1と畜場でと殺・解体された黒毛和種又は交雑種の肝臓及び胆嚢内胆汁。当該と畜場では、肝臓摘出後、と畜検査員によると畜検査後に、フックに掛けられ、内臓取扱業者の加工室に運ばれる。そこで、洗浄されたステンレス製作業台に置かれ、胆嚢切除後に次亜塩素酸水で表面を洗浄後、ビニール袋に入れられ、氷水中に約10分間浸漬される。その後、プラスチック製のトレイに他の臓器（心臓、尾、舌などの赤物と呼ばれる臓器）ともに入れられ、冷蔵室（設定値4℃）で翌日まで保管される。その後、翌日午前に加

工販売業者に運ばれる。胆汁の採取については、肝臓から切除された胆嚢を作業員から受け取り、その場で、19G注射針を取り付けた50mLシリンジを用いて胆汁を約50mL採取した。なお、注射針を突刺する部位はアル綿で予め消毒した。採取した胆汁は保冷剤を入れたクーラーボックスに入れ、当研究所に持ち帰り、3時間以内に試験に供した。

2. 肝臓の表面及び内部の温度変化

上述のビニール袋に肝臓を入れる際に、左葉の中央の表面（漿膜下）及び深さ4cmの部分に温度ロガー（おんどとり）を取り付け、翌日の出荷までの間の温度を経時的に計測した（丸ごとの場合）。また、出荷時の肝臓を当研究所に持ち帰り、10cm角の大きさに切断し、ウォーターバスで39℃まで温めたのち、深さ4cmの部分に同様に温度ロガーを取り付けて温度変化を計測した。

3. 胆嚢内胆汁における腸内細菌科菌群濃度

胆汁を、PBSを用いて10倍段階希釈し、3M社製のペトリフィルム（EBプレート）を、各濃度2枚を用いて計測した。

4. 胆汁中におけるサルモネラ増殖

採取した各胆汁100μLについて、ミュラー・ヒントン寒天培地、GAM培地に塗抹し、37℃で好気培養及び嫌気培養、さらに、各100μLをmCCDAに塗抹し、30℃及び42℃で微好気培養を行い、すべての培地で菌の発育が認められなかった胆汁を使用した。

これら胆汁に、ミュラー・ヒント

ン寒天培地又はミューラー・ヒントン液体培地で1夜培養(37)したサルモネラ株(LT2株)を終濃度約2~3 log cfu/mLとなるように胆汁に懸濁し、20、30及び38で5時間まで培養した。なお、対照としてミューラー・ヒントン液体培地でも培養した(38のみ)。

(倫理面への配慮)

本研究では、特定の研究対象者は存在せず、倫理面への配慮は不要である。

C. 結果

1. 肝臓表面及び内部の温度変化

摘出直後の肝臓の温度は表面内部ともに39前後あるが、氷水中に10分間浸漬することで表面は20前後まで低下がみられた。しかし、氷水から取り出すと急速に約25まで上昇し、その後は、内部の温度変化と同様に徐々に低下していった。この変化は、3検体のすべてで同じ傾向であり、内部の温度が5となったのは、約20時間後であった。一方、10 cm角にした場合には、2時間で20以下、5時間で5にまで低下した。(図1)

2. 胆嚢内胆汁における腸内細菌科菌群濃度

胆汁41検体中5検体(12%)から腸内細菌科菌群が分離され、その濃度は、6.4~7.4 log cfu/mLと高濃度であった。供試された牛は、7都道府県に所在する農場から出荷されていたが、腸内細菌科菌群の有無と、牛

個体の出荷地域、性別、去勢の有無との間に関連性は見られなかった(表1)。

3. 胆汁中におけるサルモネラ増殖

ミューラー・ヒントン寒天培地で発育させたサルモネラを添加した場合でも、ミューラー・ヒントン培地で発育させたサルモネラを添加した場合でも、胆汁とミューラー・ヒントン培地における増殖曲線は同じであった(38)。一方、20で培養すると、5時間後も菌数増加は10倍未満であった(図2及び3)。

D. まとめ

現在、多くの内臓取扱業者では、摘出後の肝臓を丸ごと冷蔵室に保管しているが、丸ごとでは、内部温度を急激に下げることができず、肝臓内部に細菌汚染があった場合、20以下に下がるまでの間に汚染細菌が増殖してしまう可能性が高いことが判明した。また、当該施設では、氷水中に10分間浸漬しているが、それも表面温度を一時的に下げることしかできないことが判明した。

今回の調査でも、1割強では胆汁に高濃度(6.4 log cfu/mL以上)の腸内細菌科菌群の汚染が認められ、これら腸内細菌科菌群によって肝臓内部が汚染されていると考えられる。

以上のことから、生食用として牛肝臓を提供するためには、原料となる牛肝臓内部の細菌汚染状態を摘出直後から悪化させないようにする必要があり、摘出後は丸ごとではなく、なるべく早く、カットし、急冷する必要があると考えられた。

今後は、カットの大きさ及び適切な急冷方法について検討を行う必要がある。

E. 研究発表

1. 論文発表：なし
2. 学会発表：なし

F. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得：なし
2. 実用新案登録：なし
3. その他：なし

図 1：肝臓内部の温度変化

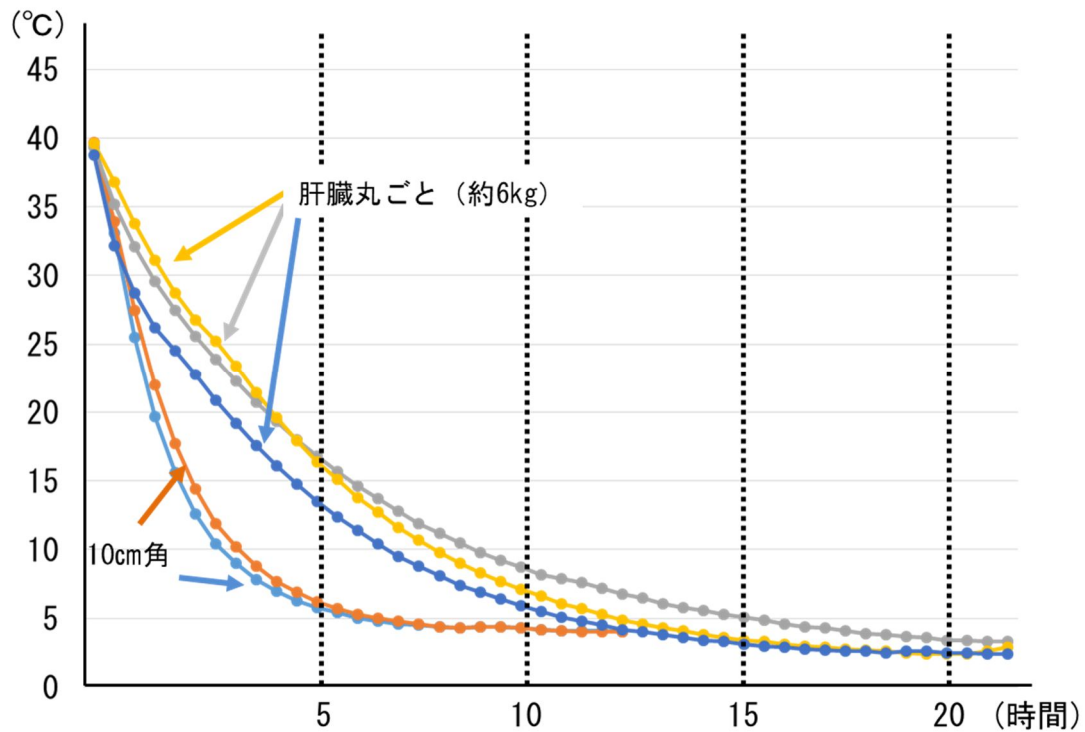


表 1：胆汁から腸内細菌科菌群が分離された個体情報

検体番号	出荷都道府県	品種	性別等	生年月日	腸内細菌科菌群 (cfu/mL)
8	北海道	黒毛和種	去勢	2015/6/11	2.5×10^6
11	群馬	黒毛和種	去勢	2015/5/23	7.9×10^6
17	北海道	交雑種	去勢	2015/2/4	1.4×10^7
19	岩手	黒毛和種	去勢	2015/7/30	2.6×10^7
29	北海道	黒毛和種	雌	2015/3/28	3.6×10^6

図 2：胆汁中におけるサルモネラ（*S.Typhimurium* LT2）の増殖能（ミュラー・ヒントンス寒天培地で前培養）

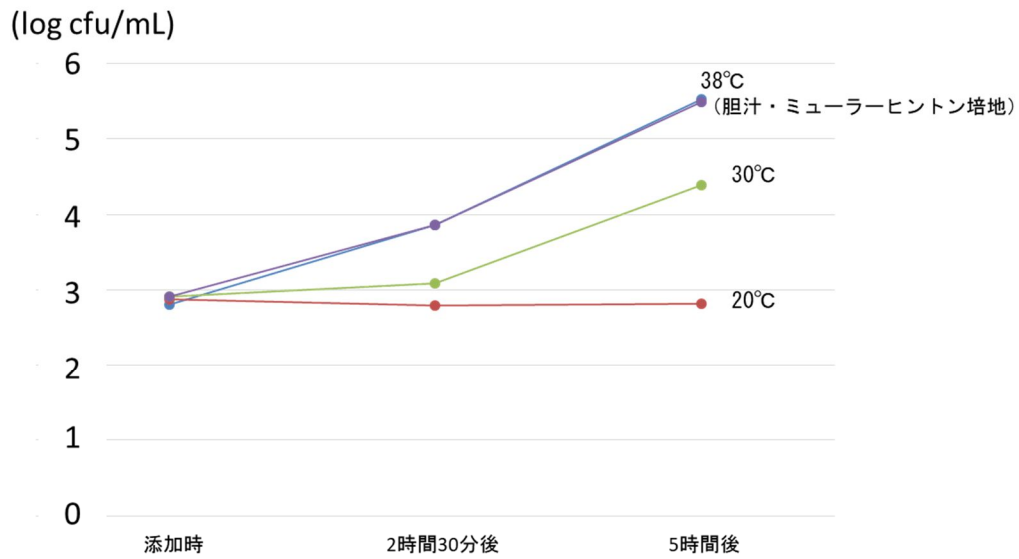


図 3：胆汁中におけるサルモネラの増殖能（ミュラー・ヒントン液体培地で前培養）

