

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リスクを低減するため研究

令和元年度 総括・分担研究報告書

研究代表者 佐々木 貴正

令和2年(2020)3月

目次

・総括研究報告

畜産食品の生物学的ハザードとそのリスクを低減するための研究

佐々木 貴正

----- 1

・分担研究報告

1. 鶏肉食品におけるカンピロバクター等の定量的汚染実態に関する研究

朝倉 宏 他

----- 14

2. 畜産食品における微生物迅速試験法に関する研究

佐々木 貴正 他

----- 21

3. 鶏肉加工製品におけるサルモネラ等の汚染実態に関する研究

工藤 由起子 他

----- 27

4. 高圧処理による鶏肉及び内臓肉中の細菌の不活化に関する検討

岡田 由美子 他

----- 41

・研究成果の刊行に関する一覧表

----- 51

令和元年度 研究分担者・研究協力者

研究代表者

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

工藤 由起子 国立医薬品食品衛生研究所

岡田 由美子 国立医薬品食品衛生研究所

研究協力者

池田 徹也 北海道立衛生研究所

小嶋 由香 川崎市健康安全研究所

阿部 光一郎 川崎市健康安全研究所

山田 和弘 愛知県衛生研究所

中村 寛海 大阪健康安全基盤研究所

野本 竜平 神戸市環境保健研究所

川瀬 遵 島根県環境保健衛生研究所

山本 詩織 国立医薬品食品衛生研究所

町田 李香 国立医薬品食品衛生研究所

米満 研三 国立医薬品食品衛生研究所

大屋 賢司 国立医薬品食品衛生研究所

鈴木 穂高 茨城大学

西海 理之 新潟大学

筒浦 さとみ 新潟大学

Maksimenko Anastasiia 新潟大学

北條 有紗 新潟大学

王 偉童 新潟大学

(敬称略、順不同)

令和元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リスクを低減するための研究」

研究代表者 佐々木 貴正 国立医薬品食品衛生研究所 食品衛生管理部

研究要旨：鶏肉製品におけるカンピロバクターやサルモネラ汚染率は依然として高く、これら菌が原因となった食中毒事件の発生との関連性も多くみられる。このような状況を踏まえ、更なる汚染防止策の構築・推進に向け、リスクアナリシスの考え方に基づいた微生物規格基準の設定等に資する知見を進展・集積させる必要がある。そこで、当該製品を対象とした微生物定量的汚染実態データの集積を図ることを目的として、鶏肉製品におけるカンピロバクター等の定量的汚染実態に関する研究、畜産食品における微生物迅速試験法に関する研究、鶏肉加工製品におけるサルモネラ等の汚染実態に関する研究、畜産食品の加工工程における殺菌技術とその殺菌効果に関する研究を行うこととした。

地方衛生研究所 6 機関の協力の下、鶏肉製品 254 検体について、ISO 10272-2:2017 に準じた定量試験に供した結果、94 検体（37.0%）からカンピロバクターが検出された。陽性検体の 74.5%（70 検体）は 2 log CFU/g 以下の検出菌数である一方、最大検出菌数は 3.62 log CFU/g という非正規分布を示した。地鶏（飼育期間：75 日以上）や成鶏（採卵を終えた鶏）に由来する製品 51 検体では 1 検体のみが陽性を示した一方、銘柄鶏を含む肉用若鶏（飼育期間：75 日未満）に由来する製品 203 検体では、45.8%（93 検体）の陽性率を示し、飼育日数がカンピロバクター検出菌数の影響要因の一つと推察された。次年度は、引き続き汚染実態調査を進め、詳細な定量的汚染実態の把握に努める。また、迅速かつ効率的な定量的データの収集に向け、国際的な第三者認証機関における妥当性評価を受けた自動生菌数測定装置（TEMPO）を迅速試験法の候補として選定し、肝臓と皮を調査検体として用い、上述の ISO 法に準じた 定量試験法との同等性を評価した。肝臓では両試験法間の相関関係数 (R^2) は 0.72 と高い相関性が認められた一方、皮では陽性検体であっても定量限界値以下又は定量限界値付近のものが多く、TEMPO 法の同等性を評価することができなかった。今後、皮等の低汚染検体における汚染菌数の定量化を含め、同法の同等性・有用性の評価を行う。サルモネラについては、加工度の高い製品（つみれ及びだんご）13 検体を調査し、61.5%からサルモネラを検出した。汚染菌数は最大で 23 MPN/25g であり、分離株の多くは 04 群であった。引き続き、これら加工製品の汚染実態調査を行うとともに分離株の性状解析を開始する。殺菌技術とその効果については、高圧処理（100-500MPa で 10 分間）により供試した 4 部位（モモ、ムネ、砂肝及びハツ）のすべてにおいて、圧力依存性に色調の明るさ及び黄色みが増す傾向が見られた。また、モモ肉及びムネ肉は圧力依存性に硬度が増す傾向が見られたが、砂肝及びハツの硬さは高圧処理によって変わらないことが示された。大きな肉質変化が認められなかった最大圧力である 300 MPa で処理した場合の殺菌効果については、一般細菌数：0.025～0.925 logCFU/g、大腸菌群：2.462～2.663 logCFU/g、腸内細菌科菌群：1.519～3.633 logCFU/g、の範囲であった。さらに、定量的データは得られなかったもののカンピロバクター及びサルモネラについても当該高圧処理条件下で殺菌効果があることが確認された。

研究分担者：	
朝倉 宏	国立医薬品食品衛生研究所
工藤由起子	国立医薬品食品衛生研究所
岡田由美子	国立医薬品食品衛生研究所
研究協力者：	
池田徹也	北海道立衛生研究所
小嶋由香	川崎市健康安全研究所
阿部光一朗	川崎市健康安全研究所
山田和弘	愛知県衛生研究所
中村寛海	大阪健康安全基盤研究所
野本竜平	神戸市環境保健研究所
川瀬 遵	島根県保健環境科学研究所
山本詩織	国立医薬品食品衛生研究所
町田李香	国立医薬品食品衛生研究所
米満研三	国立医薬品食品衛生研究所
大屋賢司	国立医薬品食品衛生研究所
鈴木穂高	茨城大学
西海理之	新潟大学
筒浦さとみ	新潟大学
Maksimenco Anastasiia	新潟大学
北條有紗	新潟大学
王 偉童	新潟大学

A. 研究目的

我が国では、畜産食品における食中毒菌の汚染防止を目指し、食肉加工施設等における衛生対策に積極的に取り組んでいるが、依然として畜産食品から食中毒菌がしばしば分離される。特に鶏肉製品におけるカンピロバクターやサルモネラ汚染率は、総じて高く、更なる汚染防止策の確立及びその推進が社会的に求められている。また、近年、国際的に食品安全領域においてリスクアナリシスの考え方が導入され、食品の微生物規格に基準値が設定されるようになってきた。このことは、定量的汚染実態デー

タの集積・分析が必要であることを示しているが、これまでの上記食中毒菌の汚染実態に関する研究の多くは定性試験の結果に限局される場合が極めて多く、定量的データの創出が国際整合を確保する上で必要不可欠である。

さらに、定量的データの集積にあたっては、国際的に妥当性が確認された定量試験法を用いて実施することが必要不可欠である。我が国では、「食品からの微生物標準試験法検討委員会」で様々な食中毒菌や衛生指標菌に関する定量試験法が検討・作成されている他、食鳥処理工程で使用されるカンピロバクターの定量試験法は厚労省・実証事業等において作成・評価が行われている状況にある。一方、畜産食品に対する当該食中毒菌の標準的な定量試験法は未だ十分に議論が行われておらず、速やかな定量的データ創出が求められている。

以上の背景から、本研究では、国内主要消費地に流通する市販鶏肉製品におけるカンピロバクター等の汚染実態を定量的に把握する特色ある計画を立案した。本年度については、複数自治体の協力を得て、鶏肉製品におけるカンピロバクター汚染実態を定量的に調査することとした。また、この調査と並行して、MPN法を応用した多検体処理が可能なカンピロバクターの迅速定量試験法の確立を目指し、その基礎となる定量的データの収集を行うこととした。サルモネラについては、鶏肉加工製品における汚染実態の解明を目指し、定量試験法の評価を行うとともに、つみれ等の加工製品を検体とした定量的汚染実態調査を行うこととした。さらに、鶏肉製品においてこれら食中毒菌汚染を低減できる非加熱的殺菌

技術に関する情報を収集するとともに、実際の殺菌効果について検証を行うこととした。

B. 研究方法

1. 鶏肉食品におけるカンピロバクター等の定量的汚染実態に関する研究

地方衛生研究所計 6 機関の微生物試験担当者に対し、各所在地に流通する鶏肉製品を対象としたカンピロバクター定量試験の実施についての研究協力を求め、承諾を得た。

1.1 カンピロバクター定量試験法

カンピロバクター定量試験法については、国内で未整備であることを踏まえ、国際標準試験法である ISO 10272-2 : 2017 を基本としたが、検体調製については NIHSJ-02 法に準じて検体懸濁液調整には 5 倍希釈を採用した。

1.2 鶏肉製品検体の設定

モモ肉及びムネ肉を対象として、各 25g を検査対象とすることを基本とした。また、採材部位については、本菌汚染が外部から受けることが想定される現状を踏まえ、筋肉部位ではなく、皮部位を対象とすることとした。更に、対象とする鶏肉製品検体については、販売施設を把握した上で、表示に則り或いは聞き取り等を通じて、製品に関わる情報（生鳥の種別、食鳥処理場、加工年月日等）を収集することについて研究協力者との間で申し合わせを行った。

1.3 結果の解釈及び統計解析

各検体・希釈列につき、2 枚の mCCDA 平板を用いて得られた平均値を結果として採

用した。データに係る一般的統計情報、散布図作成、並びに各製品情報と検出結果との間での多変量解析には JMP15 (SAS Institute) を用いた。

2. 畜産食品における微生物迅速試験法に関する研究

2.1 候補試験法の選定

多検体処理が可能であり、作業者の操作技術力の差による試験結果への影響を勘案し、作業工程の多くが自動化されている TEMPO 法を候補試験法として選定した。なお、TEMPO 法で使用する市販キットの対象検体は、研究開始時において食鳥洗い液及びスポンジ検体とされている。

2.2 試験法

国際標準試験法である ISO 10272-2:2017 に準じた定量試験法と上述の TEMPO 法と比較することとした。検体調製は、検体細切後に緩衝ペプトン水 (BPW) で 2 倍希釈し、1 分間のストマック処理後に、その希釈液から BPW を用いて 10 倍希釈液及び 100 倍希釈液を作製した。菌数測定に関しては、ISO 法に準じた定量試験法の場合、2 倍希釈液では 4 枚の mCCDA 平板に 0.25ml ずつ、他の 2 つの希釈液では各 2 枚の mCCDA 平板に 0.1ml ずつを塗抹し、培養後に得られた集落数を集計し、その平均値を検出菌数として採用した。TEMPO 法の場合、操作プロトコールに従い、検体を調製・培養後、TEMPO 機器により算出された値を採用した。なお、低菌数汚染の有無と低菌数汚染への適用性を確認するため、ISO 10272-2 : 2017 に準じた定性試験法も実施した (検体 1g 中)。

2.3 調査対象検体の選定

近年カンピロバクター食中毒事件で原因食品として推定されることが多く、汚染率及び汚染菌数が比較的高いと報告されている肝臓と、海外で汚染モニタリング時の調査対象として使用されている皮を調査対象検体として選定した。また、これら検体の採取については、酸素の存在、低温など、鶏肉の加工・流通環境下におけるカンピロバクターの生存性の低さを考慮し、食鳥処理後短時間で店頭販売される可能性が高い鶏肉専門店2店舗で採取（購入）することとした。

3. 鶏肉加工製品におけるサルモネラ等の汚染実態に関する研究

3.1 鶏肉加工製品におけるサルモネラ定量法の確立

鶏肉加工製品へのサルモネラ属菌の添加回収試験を行い、サルモネラ属菌標準試験法を基本としたサルモネラ属菌定量試験法の確立を行った。

3.1.1 接種菌液の調製及び鶏肉加工製品への接種

鶏肉加工製品への添加回収試験には、鶏肉由来 *Salmonella* serovar Schwarzengrund SEC1011 株を用いた。カジトン培地に保存した SEC1011 株を Trypticase Soy Broth (TSB) に接種し、37℃にて18時間培養した。この菌液をリン酸緩衝生理食塩水 (PBS) にて10倍階段希釈し、想定 10^3 もしくは 10^2 CFU/ml の希釈液 500 μ l を鶏肉加工製品（つみれ）に接種した。ストマッカー袋中の鶏肉加工製品（25 g）に調製した菌液を接種し、十分に手もみ処理をしてなじませた。実際の接種菌数は、

菌液の10倍階段希釈液を Trypticase soy agar (TSA) に塗抹し、37℃にて18時間培養して形成された集落数を集計し計算した。

3.1.2 最確数法によるサルモネラ属菌の定量

使用する定量試験法については、サルモネラ属菌標準試験法 (NIHSJ-01:2019) を基本とし、最確数 (MPN) 3本法による定量検査に応用することを検討した。菌液を接種した鶏肉加工製品（25 g）にペプトン加生理食塩水 225 ml を加え1分間ストマッカー処理し乳剤とした。調製した乳剤を、2倍濃度の緩衝ペプトン水 (BPW) 10 ml 入り試験管 3本へ10 ml ずつ接種した。また、10 ml のBPW入り試験管3本へ同乳剤を1 ml ずつ、さらに10 ml のBPW入り試験管3本へ0.1 ml ずつ接種した。計9本の試験管を37℃にて、 22 ± 2 時間前培養した。この前培養液を9本の試験管からそれぞれ、Rappaport-Vassiliadis (RV) 培地へ1 ml 及び Tetrathionate (TT) 培地へ0.1 ml 接種し、42℃にて 22 ± 2 時間選択増菌培養した。選択増菌培養液をよく攪拌し、1白金耳量を分離用培地へ画線塗末し、37℃にて 22 ± 2 時間培養した。分離用培地は、硫化水素の産生により判定する分離用寒天培地3種類及び、硫化水素産生、非産生によらずサルモネラと判定する分離用寒天培地4種類を用いた。各培地に形成されたサルモネラ属菌の定型集落を3個ずつ Triple sugar iron (TSI) 寒天培地及び Lysine Indole Motility (LIM) 培地に接種し、37℃にて 22 ± 2 時間培養した。培養後、定型的サルモネラ属菌の性状を示した菌株について、サルモネラ免疫血清を用いてO抗原の血清凝集試験を行い、サルモネラ属菌であ

ることの確定及び O 血清群の決定を行った。サルモネラ属菌陽性を示した試験管の本数から、米国農務省 食品安全検査局 微生物検査ガイドブック MLG Appendix 2.05 に従い MPN 値を求めた。

3.2 鶏肉加工製品におけるサルモネラ定量汚染調査

国内で流通する鶏肉加工製品について、サルモネラ属菌標準試験法によるサルモネラの定性試験を行い、陽性となった検体について今回確立したサルモネラの定量汚染調査を行った。

3.2.1 供試検体

国内で流通する鶏肉加工製品（つみれ及び肉団子）13 検体を購入し供試検体とした。

3.2.2 サルモネラの定性試験

サルモネラ属菌標準法に従って行った。検体 25 g に BPW 225 ml を加え、1 分間ストマッカー処理し、37 °C にて 22 ± 2 時間前培養した。この前培養液を RV 培地へ 1 ml 及び TT 培地へ 0.1 ml 接種し、42 °C にて 22 ± 2 時間選択増菌培養した。選択増菌培養液をよく攪拌し、1 白金耳量を MLCB 培地、XLD 培地及び CHS 培地へ画線塗末し、37 °C にて 22 ± 2 時間培養した。以降は、上述と同様に、サルモネラ属菌の同定及び O 群の決定を行った。

3.2.3 サルモネラの定量試験

サルモネラ属菌陽性となった検体について、上述と同様にサルモネラ属菌の同定及び定量を行った。但し、分離培地は MLCB 培地、XLD 培地及び CHS 培地を用いた。

4. 高圧処理による鶏肉及び内臓肉中の不活化に関する検討

4.1 検体

高圧処理の細菌低減実験に用いるモモ肉、ムネ肉、砂肝及びハツは、東京都内及び新潟市内の鶏肉専門店で購入し、冷蔵状態で運搬後、5 時間以内に実験に供した。高圧処理による肉質変化の検討に用いるモモ肉及びムネ肉は、筋線維の方向が同一になるように 3 × 3 × 1 cm の大きさに切断した。砂肝は筋膜を除去してから半割にし、ハツは半割にして血餅を除去した。菌数低減効果の検討に用いる検体は、滅菌済みの器具を用いて 10 g 片に切断した。切断後の検体は、高圧処理用袋に入れて密封したのち、水と共に外袋に密封して二重包装とした。

4.2 高圧処理

二重包装済みの検体を Dr. CHEF（神戸製鋼所）を用いて、100、200、300、400 及び 500 MPa で 10 分間の高圧処理を行った。処理温度は、設定圧力到達時の温度が約 25 °C となるように設定した。

4.3 菌数測定

検体 10 g に 90 ml の滅菌リン酸緩衝液（PBS）を加えてストマッカー処理を行い、10 倍乳剤を作成した。また、必要に応じて PBS を用いて 10 倍階段希釈液を作成した。一般細菌数の測定は、Plate Count Agar 平板を用いた塗抹培養と並行して、簡易培地としてペトリフィルム AC プレート(3M)を用い、35 °C で 24 時間培養を行った。腸内細菌科菌群の測定にはペトリフィルム EB プレート(3M)、大腸菌群の測定にはペトリフィルム CC プレート(3M)を用い、製品に規定された条件で培養した。サルモネラ属菌の定量試験は、10 倍乳剤 100 µl を XLD 寒

天培地及び CHROMagar サルモネラに塗布し、24 時間後の定型集落数を計測し、確認培養後に集落数を確定した。サルモネラ属菌の定性試験は、ISO 6579-1:2017 に基づき、10 倍乳剤を 37 で 18 時間培養後にその一部を Rappaport-Vasiliadis (RV)培地及び Muller-Kaufman Tetrathiocyanate (MkTTn) 培地に接種して、所定の温度及び時間の培養を行った。その後、XLD 寒天培地及び CHROMagar サルモネラに塗布し、24 時間後の定型集落の有無を確認し、定型集落の確認培養後に結果を判定した。カンピロバクターの定量試験は、10 倍乳剤 100 µl を CCDA 寒天 (SEL) 培地、CCDA 寒天 (OX) 培地及び mCCDA クリアーHT 寒天培地に塗布し、48 時間後の定型集落数を計測し、確認培養後に集落数を確定した。カンピロバクターの定性試験は、ISO 10272-1:2017 を一部改変し、10 倍乳剤 1.5 ml をボルトン培地 13.5 ml に接種し、37 で 4 時間培養後に 41.5 で 44 時間培養した。培養液 1 白金耳を上記の寒天培地に塗布し、微好気条件において 41.5 で 48 時間培養した。

4.4 色調及び硬度

未処理及び高圧処理を行った検体について、色差計を用いて色調を、レオメーター TP - 10 を用いて硬度を計測した。

C . 結果

1 . 鶏肉製品におけるカンピロバクター等の定量的汚染実態に関する研究

1.1 鶏肉製品におけるカンピロバクター定量試験成績の概要

地方衛生研究所 6 機関及び国立医薬品食

品衛生研究所の計 7 機関で 2019 年 6 月 ~ 12 月にかけて、計 254 検体の鶏肉製品を入手し、ISO 10272-2:2017 に準じたカンピロバクター定量検出試験を行った。

計 254 検体中、160 検体 (63.0%) はカンピロバクター不検出であった。また、陽性検体の検出菌数分布 (CFU/g) としては、1 ~ 10、11 ~ 20、21 ~ 30、31 ~ 40、41 ~ 50、51 ~ 100、101 ~ 200、201 ~ 300、301 ~ 500、501 ~ 1,000、> 1,000 の範囲でそれぞれ 28、18、5、4、3、12、13、3、4、3、1 検体が分布した。

機関別では、機関 A、B 及び F が最大値・算術平均・分散の各項目で少値を示した一方、機関 E の最大値・算術平均・分散・標準偏差は他機関に比べ高い値を示した。

1.2 部位別比較結果

モモ・ムネ部位間でのカンピロバクター定量検出試験成績を比較したところ、陽性率はそれぞれ 35% (35 検体)、38.3% (59 検体) であった。最大値・分散・標準偏差・歪度等はモモで相対的に高い傾向を示したが有意差は認められなかった。

1.3 生鳥に関わる要因の探索

日本農林規格 (JAS) では、地鶏肉の規格を飼育期間 75 日以上等と定義されている (https://www.maff.go.jp/j/jas/kaigi/pdf/jas_tyousa_kai_sryou2_150609.pdf)。このことに着目し、各検体情報の原料となる生鳥の飼育日数について、日本食鳥協会が作成した地鶏銘柄鶏ガイド (<https://www.j-chicken.jp/anshin/guide.html>) を参照することにより、いわゆる肉用若鶏 (ブロイラー) 以外の地鶏・銘柄

鶏の識別を行った。

その上で、飼育日数 75 日を閾値として各検体の成績を比較したところ、75 日未満の飼育日数を経て出荷された銘柄鶏肉及び肉用若鶏肉計 203 検体では 93 検体が陽性となった（陽性率 45.8%）一方、75 日以上の飼育日数を経て出荷された成鶏肉及び地鶏肉検体については、計 51 検体のうち 1 検体のみが本菌陽性を示し（2.0%）、同検体菌数は 5CFU/g であった。

2. 畜産食品における微生物迅速試験法に関する研究

2.1 肝臓及び皮におけるカンピロバクター検出状況

関東地方の鶏肉専門店 2 店舗（関東地域）で販売されていた肝臓 64 検体及び皮 27 検体を購入（2019 年 5 月～2020 年 1 月）し、ISO 法に準じた定量試験法及び定性試験法を実施した結果、肝臓検体（64 検体）では定性試験を含めカンピロバクターが検出された検体は 45 検体（70.3%）であり、そのうち 33 検体（51.6%）は菌数が 2.0 log CFU/g 以上であった。陽性検体のすべてから *Campylobacter jejuni* が検出され、1 検体では *C. coli* も検出された。

カンピロバクター検出率は、両店舗間で大きく異なり、店舗 A における検出率は 33.2%（7/21）であったのに対し、店舗 B における検出率は 88.4%（38/43）と 2 倍以上で、統計学的にも有意（フィッシャーの正確確率検定： $P < 0.01$ ）に高かった。さらに、汚染菌数についても店舗 B の検体の 62.8%（27/43）で 2.0 log CFU/g 以上であったのに対し、店舗 A の検体では 28.6%（6/21）が 2.0 log CFU/g 以上であった。

両店舗間による購入条件の主な違いは、購入時期（店舗 A：2019 年 5 月～11 月、店舗 B：2019 年 10 月～2020 年 1 月）と購入時間（店舗 A：午前 10 時頃、店舗 B：午後 1 時頃）であった。

皮検体（27 検体）では 14 検体（51.9%）でカンピロバクターが検出され、すべて *C. jejuni* であった。陽性 14 検体のうち 6 検体は定性試験法のみ陽性であり、菌数が 2.0 log CFU/g 以上であったのは 3 検体のみであった。

2.2 肝臓及び皮における ISO 法に準じた定量試験法と TEMPO 法との相関性

上述の肝臓 64 検体のうち 43 検体について同時に TEMPO 法を実施した。5 検体ではカンピロバクターは検出されず、1 検体では ISO 法の定性試験法のみカンピロバクターが検出され、残りの 37 検体では、ISO 法と TEMPO 法の両方からカンピロバクターが検出された。この 37 検体における両試験法間の相関係数（ R^2 ）は 0.72 であり高い相関性が認められた。

皮検体では上述の 27 検体のうち 13 検体について同時に TEMPO 法を実施した。両試験法においてカンピロバクターが検出されたのは、1 検体のみ（ISO 法に準じた定量試験法の結果は 3.46 log CFU/g、TEMPO 法の結果は 3.56 log CFU/g）であった。残りの 12 検体のうち、7 検体では ISO 法に準じた定性試験法を含めてカンピロバクターは検出されず、4 検体では ISO 法に準じた定量試験ではカンピロバクターが検出されたもののいずれも 1.18 log CFU/g と菌数が少なかった。残りの 1 検体は TEMPO 法のみ検出（1.02 log CFU/g）された。両試験法で定

量的データが得られた検体数が少なかったことから、相関性について評価することができなかつた。なお、TEMPO 法において、肝臓検体、皮検体ともに2倍希釈液を使用した場合、さらに5倍希釈液を作製・使用した場合には、試料の混濁が原因と考えられる試験結果の大きなバラツキが見られたため、TEMPO 法では10倍希釈液を採用した。

3. 鶏肉加工製品におけるサルモネラ等の汚染実態に関する研究

3.1. 鶏肉加工製品におけるサルモネラ定量法の確立

3.1.1 高濃度のサルモネラの添加回収試験

高濃度のサルモネラとして、想定 500 CFU/500 μ l に調製した菌液の実際の菌濃度は、480 CFU/500 μ l であった。MPN 3 本法において、7 種類の分離用培地におけるサルモネラ陽性管の判定結果はすべて同じであった。10 ml 及び 1 ml の乳剤を接種した試験管において3本とも陽性であった。0.1 ml の乳剤を接種した試験管においては、3本中2本の陽性であった。サルモネラ陽性を示した管数から算出した MPN 値は 1,150 MPN/25 g 検体であり、この試験で得られた MPN 値の 95%信頼区間は 225-5,000 であった。

3.1.2 低濃度のサルモネラの添加回収試験

低濃度のサルモネラとして、想定 50 CFU/500 μ l に調製した菌液を用いた添加回収試験を3回行った。実際に接種した菌濃度は、3回の試験でそれぞれ、93、53 及び 60 CFU/500 μ l であった。MPN 3 本法において、7 種類の分離用培地におけるサルモネ

ラ陽性管の判定結果はすべて同じであった。1 回目の試験では、サルモネラは、10 ml 及び 1 ml の乳剤を接種した試験管において3本とも陽性であった。0.1 ml の乳剤を接種した試験管においては、3本中3本とも陰性であった。サルモネラ陽性を示した管数から算出した MPN 値は 600 MPN/25 g 検体であり、この試験で得られた MPN 値の 95%信頼区間は 105-2,500 であった。2 回目及び 3 回目の試験結果は同じであり、いずれの試験においても、サルモネラは、10 ml の乳剤を接種した試験管において3本とも陽性であった。1 ml の乳剤を接種した試験管においては、3本中1本が陽性であり、0.1 ml の乳剤を接種した試験管においては、3本中3本とも陰性であった。2 回目及び 3 回目の試験において、サルモネラ陽性を示した管数から算出した MPN 値は 108 MPN/25 g 検体であり、この試験で得られた MPN 値の 95%信頼区間は 22.5-450 であった。

3.2 鶏肉加工製品におけるサルモネラ定量汚染調査

3.2.1 定性試験

供試した鶏肉加工製品（鶏肉つみれ及び鶏肉だんご）13 検体のうち、冷凍製品 2 検体はいずれも定性試験陰性であった。冷蔵製品 11 検体では 8 検体がサルモネラ陽性であり、陽性率は 72.7% であった。全 13 検体での陽性率は 61.5% であった。サルモネラ陽性を示した 8 検体から分離された菌株（検体あたり 2-6 菌株）の 0 血清群の内訳は、6 検体から 04 群、1 検体から 07 群及び 2 検体から 08 群であった。

3.2.2 定量試験

定性試験で陽性を示した検体におけるサ

ルモネラ菌量を MPN 3 本法で測定した。検体 25 g あたりの MPN 値は 23 MPN (0.9 MPN/g) が 2 検体、9 MPN (0.4 MPN/g) が 3 検体及び、定量試験陰性 [7.5 MPN (0.3 MPN/g) 未満] が 3 検体であった。

4. 高圧処理による鶏肉及び内臓肉中の細菌の不活化に関する検討

4.1 高圧処理が鶏肉及び内臓肉の肉質変化に及ぼす影響

100、200、300、400 及び 500 MPa の圧力で 10 分間処理したモモ肉、ムネ肉、砂肝及びハツについて、色調と硬度の変化を測定した。その結果、4 部位すべてにおいて色調の明るさの指標である L 値及び黄色みの指標である b 値が増す傾向が見られた。モモ肉及びムネ肉では、赤みの指標である a 値には高圧処理による大きな変化は見られなかったものの、砂肝及びハツでは、圧力依存性な a 値の上昇傾向が見られた。肉眼的観察では、いずれの部位も、300 MPa の処理により肉色に白濁がみられ、400 MPa 以上の処理で、その傾向がより顕著であった。

硬度の指標である最大破断点の荷重 (N 値) はムネ肉の未処理検体では 9.855 N であったが、500 MPa での処理後は 17.738 N となり、硬化傾向を示した。同様に、モモ肉の N 値は未処理での 10.959 N から 500 MPa での処理後は 17.585 N となり、モモ肉及びムネ肉は圧力依存性に硬度が増す傾向が見られた。一方、砂肝及びハツの硬さは高圧処理によって大きく変わらないことが示された。

4.2 高圧処理の鶏肉及び内臓肉に対する

一般細菌の低減効果

モモ肉、ムネ肉、砂肝及びハツを自然汚染している一般細菌に対する高圧処理の菌数低減効果を調べた。処理圧力には、肉質変化が許容範囲と考えられた最大圧力である 300 MPa を用いた。高圧処理の結果、ムネ肉中の一般細菌数は 0.025 log CFU/g、モモ肉では 0.915 log CFU/g、砂肝では 0.875 log CFU/g、ハツでは 0.925 log CFU/g 低減していた。簡易培地を用いた場合の一般細菌数を混釈培養の結果と比較したところ、いずれの部位でも結果の差は ± 0.5 log CFU/g 以内であり、ほぼ同等であると考えられた。

4.3 高圧処理の鶏肉及び内臓肉に対する衛生指標菌の低減効果

モモ肉、ムネ肉、砂肝及びハツを自然汚染している大腸菌と腸内細菌科菌群に対する、高圧処理の菌数低減効果を調べた。300 MPa で 10 分間の高圧処理の結果、ムネ肉中の大腸菌群菌数は 2.462 log CFU/g、モモ肉では 2.663 log CFU/g、砂肝では 2.663 log CFU/g、ハツでは 2.643 log CFU/g 低減していた。腸内細菌科菌群は、ムネ肉で 1.519 log CFU/g、モモ肉で 1.653 log CFU/g、砂肝で 3.633 log CFU/g、ハツで 3.230 log CFU/g 低減していた。大腸菌群は 4 部位すべてで高圧処理により検出限界未満となったが、腸内細菌科菌群はモモ肉及びムネ肉で高圧処理後も菌が検出された。

4.4 高圧処理の鶏肉及び内臓肉に対する食中毒菌の低減効果

モモ肉、ムネ肉、砂肝及びハツを自然汚染しているサルモネラ属菌とカンピロバク

ターに対する、高圧処理の菌数低減効果を調べた。高圧処理前のムネ肉、モモ肉及び砂肝からサルモネラ属菌及びカンピロバクターが分離されたが、300 MPa で 10 分間の高圧処理の結果、ムネ肉、モモ肉及び砂肝はサルモネラ属菌が陰性となった。カンピロバクターについては、ムネ肉及び砂肝で高圧処理後に陰性となったが、モモ肉では一部検体から増菌培養後に検出された。

D. 考察

鶏肉食品におけるカンピロバクターの定量的汚染実態について、供試検体の約 63% はカンピロバクター不検出であった。ただし、今回使用した定量試験法の検出限界値は理論値として 5 CFU/g であり、同値未満の汚染を受けた検体についてはすべて不検出と判定される。従って、汚染の少ない検体、とりわけ今回見出された 75 日以上飼育日数を経て出荷された生鳥由来の鶏肉製品については、汚染がないことを明確に示すと言及するには至らないと考えられ、今後検討を進めるべき課題である。また、部位間での成績比較を通じ、モモはムネに比べ、分散等の数値が大きく、検体間でのばらつきが生じやすい部位と推察された。モモはムネに比べ、脱骨工程等での作業に時間と労力を要するとされ、交差汚染が生じる可能性が大きいこともその要因と目される。こうした脱骨・成形工程については自動化機器の導入が大規模施設では進んでおり、バラツキの軽減に寄与する可能性も考えられる。

国内外を含め、これまで多くの生鳥におけるカンピロバクター保菌動態について報

告がなされているが、基本的に肉用若鶏を対象とした時間軸で検討されているため、飼育日数の経過に伴う生鳥腸管内でのカンピロバクター保菌に係る長期的動態については、今後の研究報告が期待される場所である。南九州地方で製造加工・流通販売される生食用食鳥肉製品の多くは地鶏肉または成鶏肉が原料とされており、これらが肉用若鶏肉・銘柄鶏肉等に比べて、原料段階で相対的に低い汚染状況を示すとすれば、リスク管理上、適切な原料の選択が図られた方法をとっているとも解釈される。こうした可能性を探索する上でも次年度以降も引き続き、複数地域での鶏肉汚染実態を調査することは意義が深いと考えられる。

さらに、定量試験の実施に先立ち、研究協力者との間で、培地選択の有用性について議論が交わされた。すなわち、現時点では複数のメーカーより特定酵素基質培地が製造販売されていることが背景にあった。本年度は、ISO 法に準じた試験を実施したが、次年度には、選択分離培地に関する検討もあわせて進め、その有効性についても評価を行いたい。

迅速試験法については、その候補とした TEMPO 法は検体調製以降の作業のほとんどが自動化されており、また、食鳥洗い液及びスポンジ検体を対象としたカンピロバクター用キットも販売されているため、TEMPO 機器の操作方法を修得すれば、作業者の操作技術力の違いにより生じるばらつきが少ない定量結果を得ることができる。今回、肝臓については ISO 法に準じた定量試験法と高い相関性を有する結果を得られることが確認された。一方、皮ではカンピロバクターが検出された検体であってもその汚染

菌数は定量限界以下又は定量限界値付近であるものがほとんどで、同等性の評価をすることができなかった。ISO 法に準じた定量試験法（mCCDA 寒天培地に階段希釈した液を塗抹する方法）であれば、検体の希釈率を低倍にしてmCCDA に塗布するという対応や塗抹液量を増やすといった対応によって少ない菌数でも定量結果を得ることが可能である。しかし、TEMPO 法では、2 倍希釈液（細切後に 1 分間のストマック処理）ではかなり検体が混濁しており、試験成績も安定しなかった。当該キットの対象検体が食鳥洗い液及びスポンジ検体となっていることや測定原理を考慮すると混濁した検体の定量試験法として適用することは困難であると考えられた。従って、TEMPO 法を用いて低菌数検体の定量的データを得るためには、1 検体当たりを使用するキット数を増やす、又は混濁の少ない検体調製法（濃縮など）を確立する必要がある。次年度は、皮検体を中心に、検査コストを考慮した検体調製法の改良を行う予定である。また、肝臓におけるカンピロバクター汚染率及び汚染菌数について、店舗間で大きな違いが認められた。両店舗ともに店舗内でと体から肝臓を取り出して店頭販売しており、考え得る購入条件の違いは、購入の時期と時間であった。肉用鶏群におけるカンピロバクター感染率は夏季に高く冬季に低くなることが知られており、購入時期で考えると店舗 B の方が低くなると考えられるが、実際には逆であった。一方、購入時間で考えた場合、カンピロバクターは環境抵抗性が低いため、と体からの摘出後の時間経過により菌数が減少する可能性があり、今回の試験結果と矛盾しない。

肝臓のカンピロバクター汚染状況が時間によって大きな影響を受けるのであれば、汚染実態調査において、店頭販売日と購入時間、また、検体採取から試験開始までの時間によって試験結果が影響を受けることになるため、次年度は、時間経過による菌数変化を含め、TEMPO 法による定量試験の可能性について詳細な評価を行う予定である。

サルモネラについては、今回、サルモネラ属菌標準試験法（NIHSJ-01:2019）を最確数（MPN）3 管法に応用した定量試験法を作成し、鶏肉加工製品中のサルモネラ属菌の定量試験に有用であることが示された。分離されたサルモネラ属菌の O 血清群は、04 群、07 群及び 08 群であった。近年、肉用鶏では Infantis（07 群）に加え Schwarzengrund（04 群）、Manhattan（08 群）などの血清型も増加傾向にあり、今回の調査結果と合致した。定量的汚染実態調査は次年度も継続するが、本年度の調査では、高濃度のサルモネラに汚染された検体はなかった。次年度は、定量的汚染実態調査の継続に加え、分離株の血清型別及び分子遺伝学的解析を開始する予定である。鶏肉加工製品中の汚染率及び汚染菌数並びに、分離株の血清型及び遺伝子型の関連を解析する事によって、汚染実態が明らかになることが期待される。

高圧処理については、モモ肉、ムネ肉、砂肝及びハツの 4 部位に圧力依存性に明るさの上昇傾向がみられ、肉眼的にも白濁していた。牛肝臓を対象とした先行研究では、大腸菌に対する菌数低減効果は 200 MPa で 10 分間の高圧処理では見られず、300 MPa 以上で観察されており、本年度の検討

は鶏肉の4部位にある程度の肉質変化を起こすものの、比較的变化が抑えられていた。菌数低減効果が期待される300 MPaで10分間の高圧条件下では、グラム陰性菌である腸内細菌科菌群及び大腸菌群については2 log CFU/g前後の大幅な菌数低減効果が認められた一方、バチルス属等のグラム陽性菌を多く含むと思われる一般細菌については1 log CFU/g前後の低減にとどまった。カンピロバクター及びサルモネラ属菌については、今回の処理条件でほとんどの検体において定性試験法の検出限界未達となったが、モモ肉のみ高圧処理後にも定性試験法でカンピロバクターが検出された。次年度も、肉質変化の少ない殺菌技術に関する情報収集及びその殺菌効果の検証を実施する予定である。

E. 結論

国内に流通する鶏肉製品254検体を対象として、計7機関でカンピロバクター定量検出試験を実施した。不検出検体は全体の63%を占めた一方、最大検出菌数は3.62 log CFU/gとなる等、リスク評価にあたり汎用される本菌の最少発症菌数(500~800 CFU)を大幅に上回る検体も確認された。原料鳥の飼育日数を指標とした分類により、肉用若鶏・銘柄鶏由来鶏肉製品は、地鶏・成鶏由来のそれに比べ、相対的に高い検出結果となった。今後、飼育日数の長期化がカンピロバクター保菌に与える影響についても検討すべき課題として抽出されたほか、低い菌数を示した後者については定性検出試験をあわせて行うことが、本菌汚染状況を明確化する上で必要と思われた。加えて、

本菌の定量試験法については、リスク評価に資する知見の更なる集積が求められることから、国内でも喫緊に検討・整備する必要がある。

TEMPO法によって得られた肝臓検体の定量値はISO法と高い相関性があることが判明した。一方、皮検体では、陽性検体であっても定量限界値以下又は定量限界値付近のものが多く、ISO法との同等性を評価することができなかった。従って、皮検体の場合には、検体濃縮などの検体調製法の改良を行い、その上で同等性について評価する必要があると考えられた。

鶏肉由来サルモネラ属菌株の添加回収試験によって、作成したサルモネラ定量試験法は概ね接種菌量を反映した値を得ることができた。また、これまでにサルモネラ陽性率61.5%(冷凍製品では0%及び冷蔵製品では72.7%)、汚染菌量は最大で23 MPN/25 g(0.9 MPN/g)検体であり、最も高頻度に分離されるのはO4群であるとの結果を得ることができた。

高圧処理については、モモ肉及びムネ肉では圧力依存性に肉色が白化及び黄化する傾向及び肉が硬化する傾向が見られた。一方、砂肝及びハツでは、高圧処理による色調及び硬度の変化が限定的であることが示された。肉質変化が比較的少ない300 MPaで10分間の高圧処理により、鶏肉及び内臓肉中の細菌数低減が可能であった。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

なし

2. 学会発表

2.1 朝倉宏．食鳥処理場の衛生管理の動向
と微生物モニタリングの検討状況について．
第 40 回日本食品微生物学会．2019 年 11
月 28 日．東京都．

H. 知的財産権の出願・登録状況

なし

令和元年度厚生労働科学研究（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リスクを低減するための研究」

分担研究報告書

「鶏肉食品におけるカンピロバクター等の定量的汚染実態に関する研究」

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	池田徹也	北海道立衛生研究所	
	小嶋由香、阿部光一郎	川崎市健康安全研究所	
	山田和弘	愛知県衛生研究所	
	中村寛海	大阪健康安全基盤研究所	
	野本竜平	神戸市環境保健研究所	
	川瀬 遵	島根県保健環境科学研究所	
	山本詩織	国立医薬品食品衛生研究所	食品衛生管理部
	町田李香	国立医薬品食品衛生研究所	食品衛生管理部

研究要旨：国内で製造加工される鶏肉製品は、近年その消費量が増加している。製造加工段階における当該食品の衛生管理については、食鳥処理場への HACCP 導入に関する検討が進み、令和 2 年度に制度化が施行される予定となっている。同食品における危害要因としてはカンピロバクター等の生物的要因が含まれるおそれが懸念されており、実際に国内で発生するカンピロバクター食中毒事例のうち、原因食品が特定または推定された中に占める鶏肉の割合は極めて高い。一方、流通段階における鶏肉等の病原微生物汚染に関する科学的知見の多くは定性的なものに限定されているため、国内で製造加工流通する鶏肉製品における当該微生物の定量的汚染データの集積が求められている。こうした背景から、本研究では、地方衛生研究所 6 機関の協力を得て、国内に流通する鶏肉製品におけるカンピロバクター汚染実態を定量的に調査した。計 7 機関で計 254 検体の鶏肉製品を ISO 10272-2:2017 に準じた定量試験に供した結果、非正規分布を取り 94 検体（37.0%）から対象菌が検出された。陽性検体の 74.5%（70 検体）は 2.0 log CFU/g 以下の検出菌数を示し、最大検出菌数は 3.62 log CFU/g であった。供試検体の原料である生鳥の鶏種等を確認したところ、75 日以上飼育を経て出荷される地鶏や成鶏由来製品計 51 検体では 1 検体のみが陽性を示した一方、75 日未満の飼育日数で出荷される肉用若鶏・銘柄鶏由来製品 203 検体では、45.8%（93 検体）の陽性率を示し、原料となる生鳥の飼育日数が鶏肉製品におけるカンピロバクター検出菌数の影響要因の一つと推察された。引き続き、製品汚染実態調査を進めると共に、不検出が多くを占めた成鶏・地鶏肉製品の定性試験成績を付与した上で上述の可能性を精査すべきと考えられる。また、国内で未整備の本菌定量試験法設定に資する基礎知見の創出にもあたりたい。

- A. 研究目的
- 我が国を含む世界先進諸国では、鶏肉製品に起因するカンピロバクター、サルモネラ等の病原微生物による健康危害が多数報

告されている。我が国においても、カンピロバクター食中毒として厚生労働省に報告される事件数は、近年の細菌性食中毒の中では最多であり、2019年の報告数は、事件数が286件（食中毒全体の27.0%）、患者数が1,937名（食中毒全体の14.9%）となっており、発生低減に向けた対策が社会的に求められている。

カンピロバクター食中毒の原因として特定または推定された食品としては、鶏肉等の食鳥肉が最多であり、その占有率は2011年から2012年にかけて実施された、行政施策（生食用食肉の規格基準、牛肝臓の生食提供禁止措置、豚肉・豚内臓肉の生食提供禁止措置）を経た2013年以降顕著に増加している。

国内で製造加工される食鳥肉の衛生管理については、平成30年に公布された「食品衛生法の一部を改正する法律」において、HACCPシステムの導入が求められるに至り、本年度までに「認定小規模食鳥処理場での衛生管理に関する手引書」が発行される等、制度化に向けた取り組みが推進されている状況にある。一方で、流通消費段階における鶏肉製品の汚染実態については、一部で地域限定的なデータ等が取得されているが、それらの殆どは定性的なデータにとどまっている。食品安全におけるリスク分析に関わる国際動向としては、定量的データの収集が必要不可欠とされている現状を踏まえ、国内に流通する鶏肉製品におけるカンピロバクター汚染実態を定量的に求めることが必要と考えられた。

そこで、本研究では複数の地方衛生研究所微生物担当者の協力を得て、国内の複数地域に流通する鶏肉製品を対象としたカン

ピロバクターの定量検出試験を実施し、その成績から、分布に関する考察を行ったので報告する。

B. 研究方法

1. 連携体制の構築

地方衛生研究所計6機関の微生物試験担当者に、各所在地に流通する鶏肉製品を対象としたカンピロバクター定量試験の実施について研究協力を求め、承諾を得た。

2. カンピロバクター定量試験法

カンピロバクター定量試験法については、国内で未整備であることを踏まえ、本研究では国際標準試験法であるISO 10272-2：2017を基本としNIHSJ-02法に準じて検体懸濁液調整には5倍希釈を採用した。

3. 鶏肉製品検体の設定

本研究では、モモ肉及びムネ肉を対象として、各25gを検査対象とすることを基本とした。また、採材部位については、本菌汚染が外部から受けることが想定される現状を踏まえ、筋肉部位ではなく、皮部位を対象とすることとした。更に、対象とする鶏肉製品検体については、販売施設を把握した上で、表示に則り或いは聞き取り等を通じて、製品に関わる情報（生鳥の種別、食鳥処理場、加工年月日等）を収集することについて研究協力者との間で申し合わせを行った。

4. 結果の解釈及び統計解析

各検体・希釈列につき、2枚のmCCDA平板を用いて得られた平均値を結果として採用

した。データに係る一般的統計情報、散布図作成、並びに各製品情報と検出結果との間での多変量解析にはJMP15 (SAS Institute) を用いた。

C. 研究結果

1. 鶏肉製品におけるカンピロバクター定量試験成績の概要

地方衛生研究所6機関及び国立医薬品食品衛生研究所の計7機関で2019年6月～12月にかけて、計254検体の鶏肉製品を入手し、ISO 10272-2:2017に準じたカンピロバクター定量検出試験を行った。試験結果の散布図を図1に、機関別の結果を表1にそれぞれ示す。

計254検体中、160検体(63.0%)はカンピロバクター不検出であった。また、陽性検体の検出菌数分布(CFU/g)としては、1～10、11～20、21～30、31～40、41～50、51～100、101～200、201～300、301～500、501～1,000、>1,000の範囲でそれぞれ28、18、5、4、3、12、13、3、4、3、1検体が分布した(図1)。

機関別では、機関A、B及びFが最大値・算術平均・分散の各項目で少値を示した一方、機関Eの最大値・算術平均・分散・標準偏差は他機関に比べ高い値を示した(表1)。

2. 部位別比較結果

モモ・ムネ部位間でのカンピロバクター定量検出試験成績を比較したところ、陽性率はそれぞれ35%(35検体)、38.3%(59検体)であった。最大値・分散・標準偏差・歪度等はモモで相対的に高い傾向を示したが有意差は認められなかった(表2)。

3. 生鳥に関わる要因の探索

日本農林規格(JAS)では、地鶏肉の規格を飼育期間75日以上等と定義されている(https://www.maff.go.jp/j/jas/kaigi/pdf/jas_tyousa_kai_sryou2_150609.pdf)。このことに着目し、各検体情報の原料となる生鳥の飼育日数について、日本食鳥協会が作成した地鶏銘柄鶏ガイド(<https://www.j-chicken.jp/anshin/guide.html>)を参照することにより、いわゆる肉用若鶏(ブロイラー)以外の地鶏・銘柄鶏の識別を行った。

その上で、飼育日数75日を閾値として各検体の成績を比較したところ、75日未満の飼育日数を経て出荷された銘柄鶏肉及び肉用若鶏肉計203検体では93検体が陽性となった(陽性率45.8%)一方、75日以上飼育日数を経て出荷された成鶏肉及び地鶏肉検体については、計51検体のうち1検体のみが本菌陽性を示し(2.0%)、同検出菌数は5CFU/gであった(図2、表3)。

D. 考察

本研究では、国内で製造加工・流通する鶏肉製品を対象にカンピロバクター定量検出試験を実施し、本菌汚染分布に関する知見の集積をはかるため、本年度より検討を開始した。

定量試験の実施に先立ち、研究協力者との間で、培地選択の有用性について議論が交わされた。すなわち、現時点では複数のメーカーより特定酵素基質培地が製造販売されていることが背景にあった。本年度はISO法に準じた試験を実施したが、次年度には、選択分離培地に関する検討もあわせて

進め、その有効性について評価を行いたい。検討結果として、供試対象検体の約63%はカンピロバクター不検出であった。但し、本研究で用いた定量試験法の検出限界は理論値として5 CFU/gであり、同値未満の汚染を受けた検体についてはすべて不検出と判定される。従って、汚染の少ない検体、取り分け本研究で見出された75日齢以上の飼育日数を経て出荷された生鳥由来の鶏肉製品については、汚染がないことを明確に示すと言及するには至らないと考えられ、今後検討を進めるべき課題と言えよう。

部位間での成績比較を通じ、モモはムネに比べ、分散等の数値が大きく、検体間でのばらつきが生じやすい部位と推察された。モモはムネに比べ、脱骨工程等での作業に時間と労力を要するとされ、交叉汚染が生じる可能性が大きいこともその要因と目される。また、こうした脱骨・成形工程については自動化機器の導入が大規模施設では進んでおり、バラツキの軽減に寄与する可能性も考えられよう。

国内外を含め、これまで多くの生鳥での保菌動態については報告がなされているが、基本的に肉用若鶏を対象とした時間軸で検討されているため、飼育日数の経過に伴う生鳥腸管内でのカンピロバクター保菌に係る長期的動態については、今後の研究報告が期待されることである。南九州地方で製造加工・流通販売される生食用食鳥肉製品の多くは地鶏肉または成鶏肉が原料とされており、これらが肉用若鶏肉・銘柄鶏肉等に比べて、原料段階で相対的に低い汚染状況を示すとすれば、リスク管理上、適切な原料の選択が図られた方法をとっているとも解釈される。こうした可能性を探索す

る上でも次年度以降も引き続き、複数地域での鶏肉汚染実態を調査することは意義が深いと考えられる。

E. 結論

国内に流通する鶏肉製品254検体を対象として、計7機関でカンピロバクター定量検出試験を実施した。不検出検体は全体の63%を占めた一方、最大検出菌数は3.62 log CFU/gとなる等、リスク評価にあたり汎用される本菌の最少発症菌数(500~800CFU)を大幅に上回る検体も確認された。原料鳥の飼育日数を指標とした分類により、肉用若鶏・銘柄鶏由来鶏肉製品は、地鶏・成鶏由来のそれに比べ、相対的に高い検出結果となった。今後、飼育日数の長期化がカンピロバクター保菌に与える影響についても検討すべき課題として抽出されたほか、低い菌数を示した後者については定性検出試験をあわせて行うことが、本菌汚染状況を明確化する上で必要と思われた。加えて、本菌の定量試験法については、リスク評価に資する知見の更なる集積が求められることから、国内でも喫緊に検討・整備する必要がある。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

(学会発表)

1. 朝倉宏・食鳥処理場の衛生管理の動向と微生物モニタリングの検討状況について・第40回日本食品微生物学会・2019年

11月28日 . 東京都 .
(論文発表)
なし

H. 知的財産権の出願・登録状況
なし

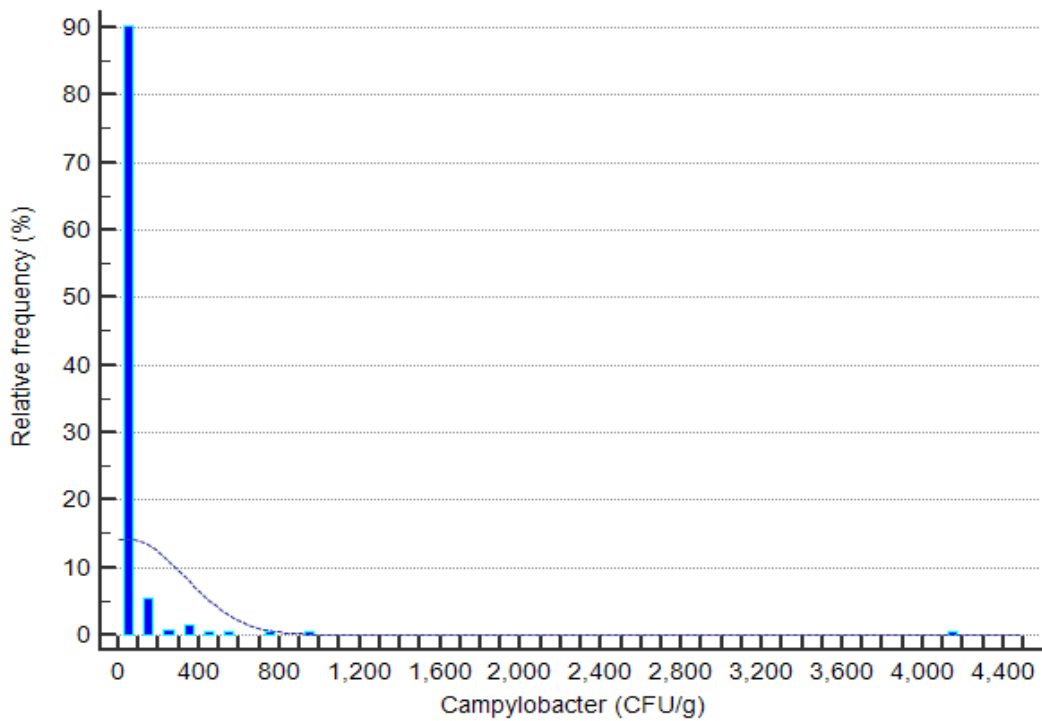


図1．鶏肉製品 254 検体におけるカンピロバクター定量検出試験結果散布図

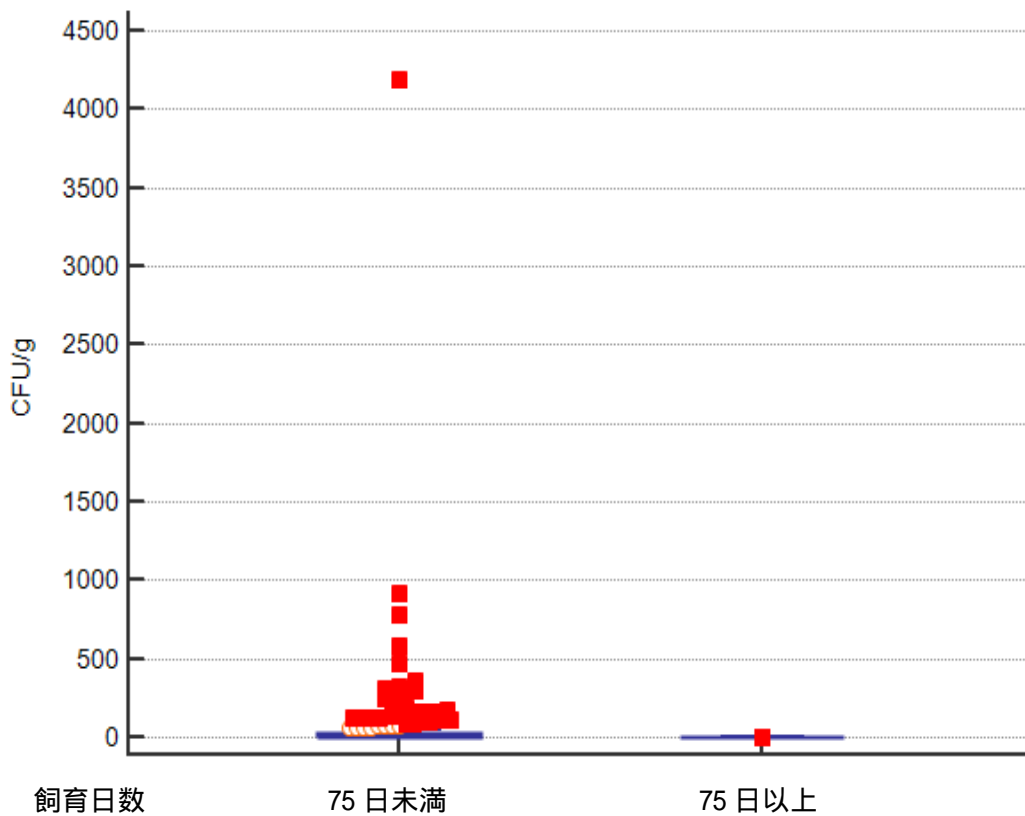


図2．検体の由来となる生鳥の飼育日数の別による、カンピロバクター検出結果の比較．

表 1. 鶏肉製品におけるカンピロバクター検出結果（実施機関別比較）

項目	北海道	関東		東海	関西		中国
	A	B	C	D	E	F	G
検体数	20	39	100	21	12	12	50
最大値	10	20	320	310	4192	11	920
算術平均	0.75	2.31	21.40	45.71	366.67	1.17	97.80
分散	5.99	24.80	2961.66	6433.21	1452190.07	10.33	39381.80
標準偏差	2.45	4.98	54.42	80.21	1205.07	3.21	198.45
歪度	3.44	2.30	3.70	2.21	3.46	3.09	2.83

表 2. 鶏肉製品におけるカンピロバクター検出結果（部位別比較）

項目	ムネ	モモ	計
供試検体数	100	154	254
陽性検体数	35	59	94
最大値	920	4192	4192
算術平均	43.35	53.08	49.25
算術平均の95%CI	14.78 to 71.92	-1.27 to 107.43	14.60 to 83.90
分散	20733.87	116561.41	78625.63
標準偏差	143.99	341.41	280.4
歪度	4.59	11.81	13.09

表 3. 鶏肉製品におけるカンピロバクター検出結果（飼育日数別比較）

項目	飼育日数75日未満 （肉用若鳥肉、銘柄鶏肉）	飼育日数75日以上 （地鶏肉、成鶏肉）
	供試検体数	203
陽性検体数	93	1
最大値	4192	5
算術平均	61.6	0.098
算術平均の95%CI	18.34 to 104.86	-0.095 to 0.295
分散	97713.4	0.098
標準偏差	312.59	0.7
歪度	11.74	7.14

令和元年度厚生労働科学研究（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リスクを低減するための研究」

分担研究報告書

「畜産食品における微生物迅速試験法に関する研究」

研究代表者 佐々木貴正 国立医薬品食品衛生研究所 食品衛生管理部
研究協力者 米満研三 国立医薬品食品衛生研究所 食品衛生管理部

研究要旨：カンピロバクター食中毒は細菌性食中毒の中で近年最も発生届出件数が多く、リスク管理の優先度が高い細菌性食中毒の一つである。鶏肉（肝臓を含む。）製品の喫食が原因と推定されることが多いことから、カンピロバクター食中毒の発生低減には、鶏肉製品におけるカンピロバクター汚染の低減化が有効であると考えられている。近年、食品安全領域にリスクアナリシスの考え方が導入され、そのリスク評価における定量的データの重要性が年々高まっている。こうした状況から、本研究課題では、定量的データを効率的に収集するために不可欠な多検体処理可能な迅速試験法の確立を目的とした。情報収集の分析の結果、最確数（MPN）法に基づく微生物定量試験法として開発され、国際的な第三者認証機関における妥当性評価を受けた自動生菌数測定装置（TEMPO）を迅速試験法の候補として選定した。また、文献等によりカンピロバクター汚染菌数が高く、食中毒事件の原因食品として推定されることが多い肝臓と海外において汚染モニタリングの調査対象検体となっている皮を調査検体として選定した。当該検体を鶏肉専門店で購入し ISO 10272-2:2017 に準じた定量試験法による菌数との比較を行った。なお、低菌数汚染の有無についても確認するため、ISO 10272-1:2017 に準じた定性試験法も実施した。ISO 法に準じた定量試験法及び TEMPO 法の両試験法からカンピロバクターが検出された肝臓 37 検体について、両試験法間の相関係数（ r^2 ）は 0.72 と高い相関性が認められた。一方、皮検体では、陽性検体であっても定量限界値以下又は定量限界値付近のものが多く、TEMPO 法の同等性を評価することができなかった。TEMPO 法の検査プロトコールにおける定量限界値は 10 CFU/g（検体を 10 希釈して使用）であるため、低菌数汚染検体について TEMPO 法で定量値を得るためには、検体を濃縮するなどの検体調整法の改良が必要であることが判明した。次年度は検体調整法の改良を含め、TEMPO 法の詳細な評価を行う予定である。

A. 研究目的

我が国を含めカンピロバクター食中毒は毎年発生件数が多く、国際的にリスク管理すべき食中毒の1つとされている。厚生労働省の食中毒統計によれば、細菌性食中毒の中では例年最も発生届出件数が多く、発生低減に向けた対策の推進が社会的に求めら

れている。

近年、食品安全領域にリスクアナリシスの考え方が導入され、そのリスク評価に対する定量的データの重要性が目立つようになった。このような状況の中、カンピロバクター食中毒の原因として推定された食品の多くは鶏肉料理であることから、

2009年には食品安全委員会がリスク評価（鶏肉中のカンピロバクター・ジェジュニ/コリ）を行ったが、その後の発生状況に大きな変化は認められていない。

その後も食品の国際規格を作成するcodex委員会で鶏肉のサルモネラ及びサルモネラのコントロールのためのガイドラインが作成されるなど定量的データの重要性はさらに高まっている。こうした状況から、本研究課題では、定量的データを効率的に収集するために不可欠な多検体処理が可能な迅速試験法の確立を目的とした。

B. 研究方法

1. 候補試験法の選定

多検体処理が可能であり、作業者の技量差による試験結果への影響を勘案し、作業工程の多くが自動化されているTEMPO法を候補試験法として選定した。なお、TEMPO法で使用する市販キットの対象検体は、研究開始時において食鳥洗い液及びスポンジ検体とされている。

2. 試験法

本研究では、国際標準試験法であるISO 10272-2:2017(定量試験法)と上述のTEMPO法と比較することとした。検体調製は、検体を細切後に緩衝ペプトン水(BPW)で2倍希釈し、1分間のストマック処理後に、その希釈液からBPWを用いて10倍希釈液及び100倍希釈液を作製した。菌数測定に関しは、ISO法に準じた定量試験法の場合、2倍希釈液では4枚のmCCDA平板に0.25mlずつ、他の2つの希釈液では各2枚のmCCDA平板に0.1mlずつを塗抹し、培養後に得られた集落数を

集計し、その平均値を検出菌数として採用した。TEMPO法の場合、操作プロトコールに従い、検体を調整し、培養後にTEMPO機器により算出された値を採用した。なお、低菌数汚染の有無と低菌数汚染への適用性を確認するため、ISO 10272-2:2017(定性試験法)についても実施した(ただし検体1g中)。

3. 調査対象検体の選定

本研究では、近年カンピロバクター食中毒事件で原因食品として推定されることが多く、汚染率及び汚染菌数が比較的高いと報告されている肝臓と、海外で汚染モニタリング時の調査対象として使用されている皮を調査対象検体として選定した。また、これら検体の採取については、酸素の存在、低温などの鶏肉の加工・流通環境下におけるカンピロバクターの生存性の低さを考慮し、食鳥処理後短時間で店頭販売される可能性が高い鶏肉専門店2店舗で採取(購入)することとした。

C. 結果

1. 肝臓及び皮おけるカンピロバクター検出状況

関東地方の鶏肉専門店2店舗(関東地域)で販売されていた肝臓64検体及び皮27検体を購入(2019年5月~2020年1月)し、ISO法に準じた定量試験法及び定性試験法を実施した結果、肝臓検体(64検体)では定性試験を含めカンピロバクターが検出された検体は45検体(70.3%)であり、そのうち33検体(51.6%)は菌数が2.0 log CFU/g以上であった(表1)。陽性検体のすべてから

*Campylobacter jejuni*が検出され、1検体では*C. coli*も検出された。

カンピロバクター検出率は、両店舗間で大きく異なり、店舗Aにおける検出率は33.2% (7/21)であったのに対し、店舗Bにおける検出率は88.4% (38/43)と2倍以上で、統計学的にも有意(フィッシャーの正確確率検定: $P < 0.01$)に高かった(表2)。さらに、汚染菌数についても店舗Bの検体の62.8% (27/43)で2.0 log CFU/g以上であったのに対し、店舗Aの検体では28.6% (6/21)が2.0 log CFU/g以上であった。両店舗間による購入条件の主な違いは、購入時期(店舗A: 2019年5月~11月、店舗B: 2019年10月~2020年1月)と購入時間(店舗A: 午前10時頃、店舗B: 午後1時頃)であった。

皮検体(27検体)では14検体(51.9%)でカンピロバクターが検出され、すべて*C. jejuni*であった。陽性14検体のうち6検体は定性試験法のみ陽性であり、菌数が2.0 log CFU/g以上であったのは3検体のみであった。

2. 肝臓及び皮におけるISO法に準じた定量試験法とTEMPO法との相関性

上述の肝臓64検体のうち43検体について同時にTEMPO法を実施した。5検体ではカンピロバクターは検出されず、1検体ではISO法の定性試験法のみカンピロバクターが検出され、残りの37検体では、ISO法とTEMPO法の両方からカンピロバクターが検出された。この37検体における両試験法間の相関係数(r^2)は0.72であり高い相関性が認められた(図1)。

皮検体では上述の27検体のうち13検体について同時にTEMPO法を実施した。両試験法においてカンピロバクターが検出されたの

は、1検体のみ(ISO法に準じた定量試験法の結果は3.46 log CFU/g, TEMPO法の結果は3.56 log CFU/g)であった。残りの12検体のうち、7検体ではISO法に準じた定性試験法を含めてカンピロバクターは検出されず、4検体ではISO法に準じた定量試験ではカンピロバクターが検出されたもののいずれも1.18 log CFU/gと菌数が少なかった。残りの1検体はTEMPO法のみ検出(1.02 log CFU/g)された。両試験法で定量的データが得られた検体数が少なかったことから、相関性について評価することができなかった。なお、TEMPO法において、肝臓検体、皮検体ともに2倍希釈液を使用した場合、さらに5倍希釈液を作製・使用した場合には、試料の混濁が原因と考えられる試験結果の大きなバラツキが見られたため、TEMPO法では10倍希釈液を採用した。

D. 考察

TEMPO法は検体調製以降の作業のほとんどが自動化されているため、TEMPO機器の操作方法を修得すれば、作業者の操作技術力の違いにより生じるバラツキが少ない定量結果を得ることができる。今回使用したキットは、研究開始時点で食鳥洗い液及びスポンジ検体を対象としていたが、本年度の研究成果により、肝臓についてはISO法に準じた定量試験法と高い相関性を有する結果を得られることが確認された。肝臓のカンピロバクター汚染については、既報及び今回の研究において、陽性検体のほとんどに定量可能な菌数が存在していることから、当該キットの試験プロトコールに従った作業を行うことでISO法と同様の結果が得ら

れると考えられた。

一方、皮検体では陽性検体の多くは定量限界以下又は定量限界値付近であり、現行の試験プロトコールでは定量値を得ることが困難であった。ISO法に準じた定量試験法（mCCDA寒天培地に階段希釈した液を塗抹する方法）であれば、検体の希釈率を低倍にしてmCCDAに塗布するという対応や塗抹液量を増やすといった対応によって少ない菌数でも定量結果を得ることが可能である。しかし、TEMPO法では、2倍希釈液（細切後に1分間のストマック処理）ではかなり検体が混濁しており、試験成績も安定しなかった。当該キットの対象検体が食鳥洗い液及びスポンジ検体となっていることや測定原理を考慮すると混濁した検体の定量試験法として適用することは困難であると考えられた。従って、TEMPO法を用いて低菌数検体の定量的データを得るためには、1検体当たりを使用するキット数を増やす、又は混濁の少ない検体調製法（濃縮など）を確立する必要がある。次年度は、皮検体を中心に、検査コストを考慮した検体調製法の改良を行う予定である。

さらに、肝臓におけるカンピロバクター汚染率及び汚染菌数について、店舗間で大きな違いが認められた。両店舗ともに店舗内でと体から肝臓を取り出して店頭販売しており、考え得る購入条件の違いは、購入の時期と時間であった。肉用鶏群におけるカンピロバクター感染率は夏季に高く冬季に低くなることが知られており、購入時期で考えると店舗Bの方が低くなると思われるが、実際には逆であった。一方、購入時間で考えた場合、カンピロバクターは環境抵抗性が低いいため、と体からの摘出後の

時間経過により菌数が減少する可能性があり、今回の試験結果と矛盾しない。

肝臓のカンピロバクター汚染状況が時間によって大きな影響を受けるのであれば、汚染実態調査において、店頭販売日と購入時間、また、検体採取から試験開始までの時間によって試験結果が影響を受けることになるため、次年度については、時間経過による菌数変化を含め、TEMPO法による定量試験の可能性について詳細な評価を行う予定である。

E. 結論

鶏肉専門店2店舗で購入した肝臓64検体及び皮27検体について、ISO法に準じたカンピロバクター定量試験を実施するとともに、肝臓43検体及び13検体についてはTEMPO法による定量試験を実施した。肝臓検体では、半数以上がISO法により $2.0 \log \text{CFU/g}$ 以上の汚染菌数があることが判明し、また、TEMPO法による試験結果はISO法に準じた定量試験法と高い相関性があることが確認された。以上の研究成果により、検体が肝臓である場合には、TEMPO法はISO法に準じた定量試験法と同等の結果を得られる可能性があることが確認された。一方、皮検体では、陽性検体であっても定量限界値以下又は定量限界値付近のものが多く、同等性を評価することができなかった。従って、皮検体の場合には、検体濃縮などの検体調製法の改良を行い、その上で同等性について評価する必要があると考えられた。

また、肝臓の汚染状況について、店舗間で大きく異なり、購入時間の違いが原因の1つとして挙げられた。このため、時間経

過による菌数変化を含め、TEMPO法による定量試験の可能性について詳細な評価を行う予定である。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

(学会発表)

なし

(論文発表)

なし

H. 知的財産権の出願・登録状況

なし

表1 肝臓及び皮におけるカンピロバクター検出状況

検体	検体数	陰性	菌数 (log CFU/g)			
			定性試験陽性	1.0≤ X<2.0	2.0≤ X<3.0	3.0≤ X
肝臓	64	19	2	10	28	5
皮	27	13	6	5	2	1

表2 購入店舗間による肝臓検体のカンピロバクター汚染状況の違い

検体	検体数	陰性	菌数 (log CFU/g)			
			定性試験陽性	1.0≤ X<2.0	2.0≤ X<3.0	3.0≤ X
店舗A	21	14	1	0	4	2
店舗B	43	5	1	10	24	3

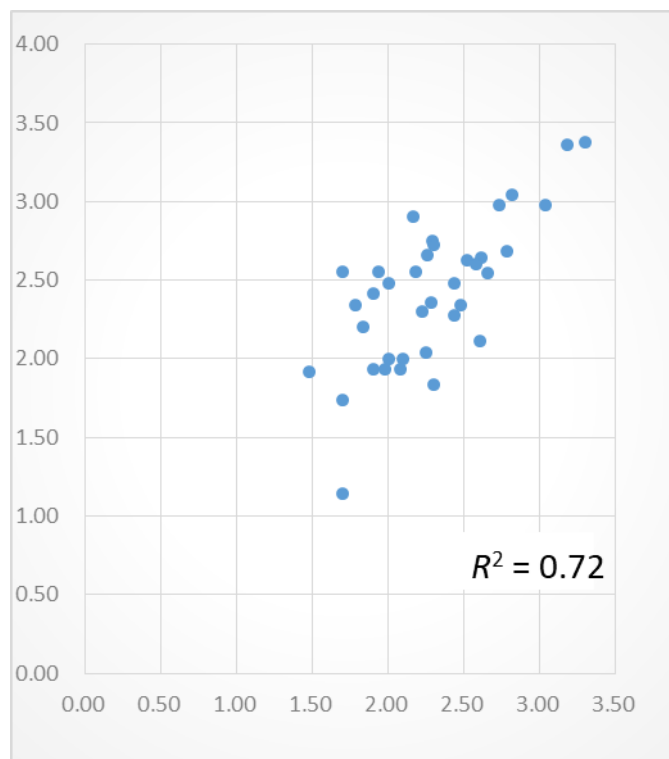


図1 肝臓における ISO 法に準じた定量試験法と TEMP 法との相関性

令和元年度 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リスクを低減するための研究」

分担研究報告書

「鶏肉加工製品におけるサルモネラ等の汚染実態に関する研究」

研究分担者 工藤由起子 国立医薬品食品衛生研究所
研究協力者 大屋賢司 国立医薬品食品衛生研究所

研究要旨：サルモネラ属菌の汚染率は、鶏肉及び鶏肉ミンチなどの鶏肉関連製品で高いことが知られている。しかしながら、リスク評価を行う際に重要となる汚染菌数に関する定量的データは少ないのが現状である。本研究では、鶏肉加工製品（加工度の高い未加熱製品を含む）におけるサルモネラ定量検査法を確立し、市販の製品におけるサルモネラ定量汚染実態調査を行う。本年度の成果は以下の通りである。サルモネラ属菌標準試験法（NIHSJ-01:2019）を最確数（MPN）3 本法による定量検査に応用し、鶏肉由来サルモネラ属菌株の添加回収試験によって、概ね接種菌量を反映した値を得ることができた。更に本検査に使用する分離培地の選定も行った。以上により、鶏肉加工製品におけるサルモネラ定量法を確立することができた。次に、確立したプロトコルを用いて、加工度の高い鶏肉加工製品として鶏肉つみれ及び鶏肉だんごを対象とし、本年度は 13 検体（冷凍製品 2 及び冷蔵品 11）を購入し調査を開始した。これまでにサルモネラ陽性率 61.5%（冷凍製品では 0%及び冷蔵製品では 72.7%）、汚染菌量は最大で 23 MPN/25 g 検体（0.9 MPN/g）であり、最も高頻度に分離されるのは 04 群であるとの結果を得ることができた。次年度は、汚染調査の継続に加え、分離株の血清型別及び分子遺伝学的解析を開始する。鶏肉加工製品のサルモネラ汚染率、汚染菌量、分離株の血清型及び遺伝子型の関連を解析することによって、汚染実態を明らかにすることを目指す。

A. 研究目的

サルモネラ属菌の汚染率は、鶏肉及び鶏肉関連製品で高い。例えば、厚生労働省が実施した食品の食中毒菌汚染実態調査では、1998年から2008年における鶏肉ミンチのサルモネラ属菌陽性率は33.5%であった（Hara-Kudo Y. et al., Food Addit Contam Part A, 30: 1450-1458, 2013.）。肉用鶏、鶏肉及び鶏肉加工製品（鶏肉ミンチなど）におけるサルモネラ属菌汚染実態の把握は食品衛生学的に重要であり、国内外で多くの調査結果が報告されている。しかし、リスク評価を行う際に重要となる汚染菌数に

関する定量的なデータは殆ど無いのが現状である。また、これまでの鶏肉関連製品の調査に関しては、鶏肉及び鶏肉ミンチによる報告が主であり、鶏肉つみれ及び鶏肉だんご等の加工度の高い鶏肉製品に関する調査は少ない。そこで、本研究では、鶏肉加工製品（加工度の高い未加熱製品を含む）におけるサルモネラ定量試験法を確立し、市販の製品におけるサルモネラ定量汚染実態調査を行う。サルモネラの汚染率、汚染菌数、分離菌株の血清型及び遺伝子型の関連を解析し、最終的に鶏肉製品の衛生的な取り扱いの重要点の解析及び改善方法など

の対策の提案を行うことを目標とした。
本年度は、サルモネラ属菌標準試験法
(NIHSJ-01:2019)を最確数(MPN)3本法による定量検査に応用し、確立したプロトコルを用いて、国内で流通する鶏肉加工製品のサルモネラ定量汚染データの作出を開始することを目的とした。

B. 研究方法

1. 鶏肉加工製品におけるサルモネラ定量法の確立

鶏肉加工製品へのサルモネラ属菌の添加回収試験を行い、サルモネラ属菌標準試験法を基としたサルモネラ属菌定量試験法の確立を行った。

1.1 接種菌液の調製及び鶏肉加工製品への接種

鶏肉加工製品への添加回収試験には、鶏肉由来 *Salmonella* serovar Schwarzengrund SEC1011株を用いた。カジトン培地に保存したSEC1011株をTrypticase Soy Broth(TSB、OXOID)に接種し、37℃にて18時間培養した。この菌液をリン酸緩衝生理食塩水(PBS)にて10倍階段希釈し、想定 10^3 もしくは 10^2 CFU/mlの希釈液500 µlを鶏肉加工製品(つみれ)に接種した。ストマッカー袋中の鶏肉加工製品(25 g)に調製した菌液を接種し、十分に手もみ処理をしてなじませた。実際の接種菌数は、菌液の10倍階段希釈液をTrypticase soy agar(TSA、OXOID)に塗抹し、37℃にて18時間培養して形成された集落数を集計し計算した。

1.2 最確数法によるサルモネラ属菌の定量

サルモネラ属菌標準試験法を、最確数

(MPN)3本法による定量検査に応用することを検討した。フロー図を図1に示す。

1.1にて菌液を接種した鶏肉加工製品(25 g)にペプトン加生理食塩水225 mlを加え1分間ストマッカー処理し乳剤とした。調製した乳剤を、2倍濃度の緩衝ペプトン水(BPW)10 ml入り試験管3本へ10 mlずつ接種した。また、10 mlのBPW入り試験管3本へ同乳剤を1 mlずつ、さらに10 mlのBPW入り試験管3本へ0.1 mlずつ接種した。計9本の試験管を37℃にて、 22 ± 2 時間前培養した。この前培養液を9本の試験管からそれぞれ、Rappaport-Vassiliadis(RV)培地(OXOID)へ1 ml及びTetrathionate(TT)培地(OXOID)へ0.1 ml接種し、42℃にて 22 ± 2 時間選択増菌培養した。

選択増菌培養液をよく攪拌し、1白金耳量を分離用培地へ画線塗末し、37℃にて 22 ± 2 時間培養した。分離用培地は、硫化水素の産生により判定する分離用寒天培地3種類及び、硫化水素産生、非産生によらずサルモネラと判定する分離用寒天培地4種類を用いた(表1)。

各培地に形成されたサルモネラ属菌の定型集落を3ヶずつTriple sugar iron(TSI)寒天培地(栄研化学)及びLysine Indole Motility(LIM)培地(日水製薬)に接種し、37℃にて 22 ± 2 時間培養した。培養後、表2に示す定型的サルモネラ属菌の性状を示した菌株について、サルモネラ免疫血清(サルモネラ免疫血清「生研」、デンカ生研)を用いてO抗原の血清凝集試験を行い、サルモネラ属菌であることの確定及びO血清群の決定を行った。サルモネラ属菌陽性を示した試験管の本数から、米国農務省 食品安全検査局 微生物検査ガイドブックMLG

Appendix 2.05に従いMPN値を求めた。

2. 鶏肉加工製品におけるサルモネラ定量汚染調査

国内で流通する鶏肉加工製品について、サルモネラ属菌標準試験法によるサルモネラの定性試験を行い、陽性となった検体について1. で確立したサルモネラの定量汚染調査を行った。

2.1 供試検体

国内で流通する鶏肉加工製品（つみれ及び肉団子）13検体（表3）を購入し供試検体とした。

2.2 サルモネラの定性試験

サルモネラ属菌標準法に従って行った。フロー図を図2に示す。検体25 gにBPW 225 mlを加え、1分間ストマッカー処理し、37℃にて22±2時間前培養した。この前培養液をRV培地へ1 ml及びTT培地へ0.1 ml接種し、42℃にて22±2時間選択増菌培養した。選択増菌培養液をよく攪拌し、1白金耳量をMLCB培地、XLD培地及びCHS培地へ画線塗末し、37℃にて22±2時間培養した。以降は、上述と同様に、サルモネラ属菌の同定及び0群の決定を行った。

3. サルモネラの定量試験

サルモネラ属菌陽性となった検体について、1.2の方法で検体中のサルモネラ属菌の同定及び定量を行った。但し、分離培地はMLCB培地、XLD培地及びCHS培地を用いた。

C. 研究結果

1. 鶏肉加工製品におけるサルモネラ定量法の確立

1.1 高濃度のサルモネラの添加回収試験

高濃度のサルモネラとして、想定500 CFU/500 µlに調製した菌液の実際の菌濃度は、480 CFU/500 µlであった（表4）。MPN 3本法において、7種類の分離用培地におけるサルモネラ陽性管の判定結果はすべて同じであった（表5）。10 ml及び1 mlの乳剤を接種した試験管において3本とも陽性であった。0.1 mlの乳剤を接種した試験管においては、3本中2本の陽性であった。サルモネラ陽性を示した管数から算出したMPN値は1,150 MPN/25 g検体であり、この試験で得られたMPN値の95%信頼区間は225-5,000であった（表4）。

1.2 低濃度のサルモネラの添加回収試験

低濃度のサルモネラとして、想定50 CFU/500 µlに調製した菌液を用いた添加回収試験を3回行った。実際に接種した菌濃度は、3回の試験でそれぞれ、93、53及び60 CFU/500 µlであった（表4）。MPN 3本法において、7種類の分離用培地におけるサルモネラ陽性管の判定結果はすべて同じであった（表6-8）。1回目の試験では、サルモネラは、10 ml及び1 mlの乳剤を接種した試験管において3本とも陽性であった。0.1 mlの乳剤を接種した試験管においては、3本中3本とも陰性であった（表6）。サルモネラ陽性を示した管数から算出したMPN値は600 MPN/25 g検体であり、この試験で得られたMPN値の95%信頼区間は105-2,500であった（表4）。2回目及び3回目の試験結果は同じであり、いずれの試験においても、サルモネラは、10 mlの乳剤を接種した試験管において3本とも陽性であった。1 mlの乳剤を接種した試験管においては、3本中1本が陽性であり、0.1 mlの乳剤を接種した試験管においては、

3本中3本とも陰性であった(表7及び8)。2回目及び3回目の試験において、サルモネラ陽性を示した管数から算出したMPN値は108 MPN/25 g検体であり、この試験で得られたMPN値の95%信頼区間は22.5-450であった(表4)。

2. 鶏肉加工製品におけるサルモネラ定量汚染調査

2.1 定性試験

供試した鶏肉加工製品(鶏肉つみれ及び鶏肉だんご)13検体のうち、冷凍製品2検体はいずれも定性試験陰性であった。冷蔵製品11検体では8検体がサルモネラ陽性であり、陽性率は72.7%であった。全13検体での陽性率は61.5%であった(表9)。サルモネラ陽性を示した8検体から分離された菌株(検体あたり2-6菌株)の0血清群の内訳は、6検体から04群、1検体から07群及び2検体から08群であった(表10)。

2.2 定量試験

定性試験で陽性を示した検体におけるサルモネラ菌量をMPN 3本法で測定した。検体25 gあたりのMPN値は23 MPN (0.9 MPN/g)が2検体、9 MPN (0.4 MPN/g)が3検体及び、定量試験陰性[7.5 MPN (0.3 MPN/g)未滿]が3検体であった(図3)。

D. 考察

1. 鶏肉加工製品におけるサルモネラ定量法の確立

高濃度(500 cfu)のサルモネラ属菌株を接種した鶏肉つみれ中の菌数を、サルモネラ属菌標準法を基としたMPN 3本法で測定したところ、得られたMPN値は1,150 MPN/25 g検体(95%信頼区間: 225-5,000 MPN)であ

り、接種菌数を反映したMPN値が得られた。さらに低濃度(50 CFU)のサルモネラ属菌を接種した試験を3回実施した。1回目の試験で得られたMPN値は600 MPN/25 g検体(95%信頼区間: 105-2,500)であり、接種菌数を反映した値が得られなかったが、2及び3回目の試験で得られたMPN値はどちらも108 MPN/25 g(95%信頼区間: 22.5-450)と接種菌数を反映した値が得られた(表4)。以上により、高濃度及び低濃度のサルモネラの添加回収試験において、概ね接種した菌数を反映したMPN値が得られたことから、本試験法が鶏肉加工製品中のサルモネラ属菌の定量試験に有用であることが示された。また、サルモネラ属菌標準試験法では、サルモネラの分離培地として、硫化水素産生を指標とする培地3種類及び、硫化水素産生を指標としない培地4種類からそれぞれ1種類ずつ培地を選択して分離に用いることが指示されている。本研究では、7種類の培地すべてを用いて、MPN 3本法による判定結果を比較した。いずれの分離培地も、サルモネラ陽性管の判定結果は同じであった(表5-8)。そこで、形成された集落の判定し易さ及び培地の作製し易さを考慮し、硫化水素産生を指標とする培地としてMLCB培地及び、硫化水素産生を指標としない培地としてCHS培地を選択することとした。さらに、分離株によっては、MLCB培地では生育しない株が存在することから、硫化水素産生を指標とする培地としてXLD培地も選択することとした。すなわち、以降の調査では、サルモネラ属菌の分離培地として、MLCB、XLD及びCHS培地を用いることとした。

2. 鶏肉加工製品におけるサルモネラ定量

汚染調査

確立した定量試験法を用いて、鶏肉加工製品におけるサルモネラ属菌の定量汚染調査を開始した。定性試験の結果、冷蔵製品11検体における陽性率は72.7%及び、冷凍製品2検体では0%であった(表9)。陽性検体から分離されたサルモネラ属菌の0血清群は、04群、07群及び08群であった(表10)。国内の肉用鶏及び鶏肉製品から分離されるサルモネラ属菌では、血清型Infantisが最も多く分離される血清型であり、前述の1998年から2008年の調査において、Infantisは鶏肉ミンチから分離されるサルモネラ属菌の72.2%を占めていた(Hara-Kudo Y. et al., Food Addit Contam Part A, 30: 1450-1458, 2013.)。しかし、近年、肉用鶏では、Infantis以外のSchwarzengrund及びManhattanなどの血清型も増加傾向にある(Sasaki Y. et al., Epidemiol Infect, 140: 2074-2081, 2012)。最も高頻度に分離された04群には、国内で飼育される肉鶏から優勢に分離される血清型Schwarzengrundが含まれている(表11)。一方、Infantisが含まれる07群(表11)は、1検体からしか分離されなかった(表10)。次に、陽性検体中のサルモネラ菌数をMPN 3本法により測定した。最も高値を示した2検体で23 MPN/25 g検体(0.9 MPN/g)であり、定量試験陰性の検体も3検体あった(図3)。定量汚染調査は次年度も継続するが、本年度の段階では、高濃度のサルモネラに汚染された検体はなかった。

次年度は、調査の継続に加えて、分離株の血清型別及び分子遺伝学的解析を開始する。鶏肉加工製品中の汚染率及び汚染菌数並びに、分離株の血清型及び遺伝子型の関連を解析する事によって、汚染実態が明らかになることが期待される。

E. 結論

本年度は、サルモネラ属菌標準法を基にしたMPN法による定量検査について検討を行った。鶏肉由来サルモネラ属菌株の添加回収試験によって、概ね接種菌量を反映した値を得ることができ、更に分離培地の選定も行った。以上より、鶏肉加工製品におけるサルモネラ定量法を確立することができた。確立したプロトコールを用いて、加工度の高い鶏肉加工製品として鶏肉つみれ及び鶏肉だんごを対象とし、本年度は13検体を購入し調査を開始した。これまでにサルモネラ陽性率61.5%(冷蔵製品では0%及び冷蔵製品では72.7%)、汚染菌量は最大で23 MPN/25 g(0.9 MPN/g)検体であり、最も高頻度に分離されるのは04群であるとの結果を得ることができている。次年度は、汚染調査の継続に加え、分離株の血清型別及び分子遺伝学的解析を開始する。鶏肉加工製品のサルモネラ汚染率、汚染菌量、分離株の血清型及び遺伝子型の関連を解析することによって、汚染実態を明らかにしたい。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

(誌上発表)

なし

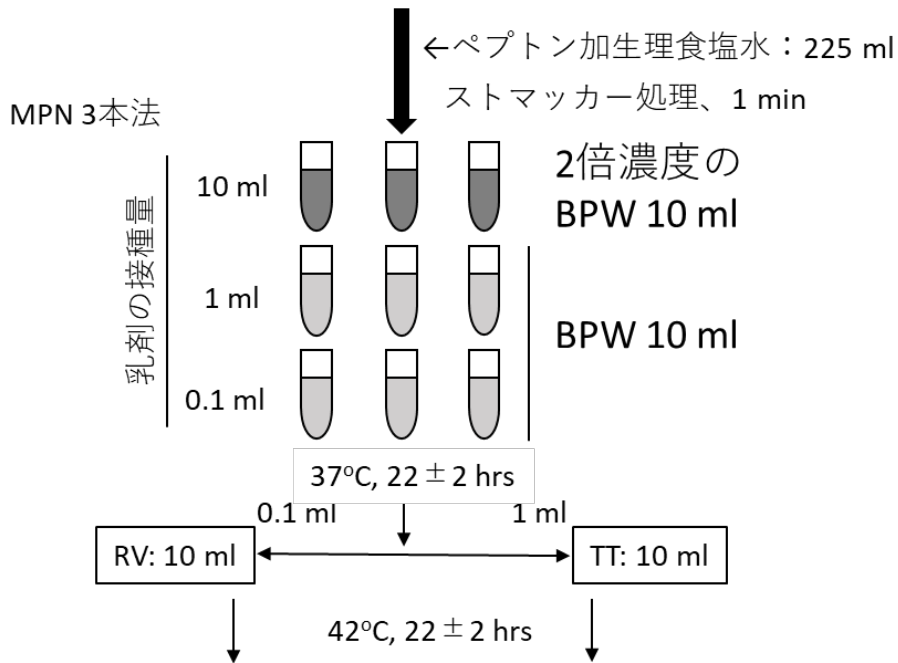
(学会等発表)

なし

H. 知的所有権の取得状況・登録状況

なし

鶏肉加工製品（加工度の高いつみれなど）：25 g
サルモネラ属菌（鶏肉由来株）：500 CFU, 50 CFU



分離用培地の選定

- ・ 硫化水素産生を指標とする培地 (DHL, MLCB, XLD)
- ・ 硫化水素産生を指標としない培地 (BGS, CHS, ESII, SM2)

37°C, 22 ± 2 hrs

- ・ 定型的な集落について性状試験
- ・ 血清凝集試験

MPN値を算出

接種菌量を反映した値が得られるか確認

図1：サルモネラ定量法確立のフロー図

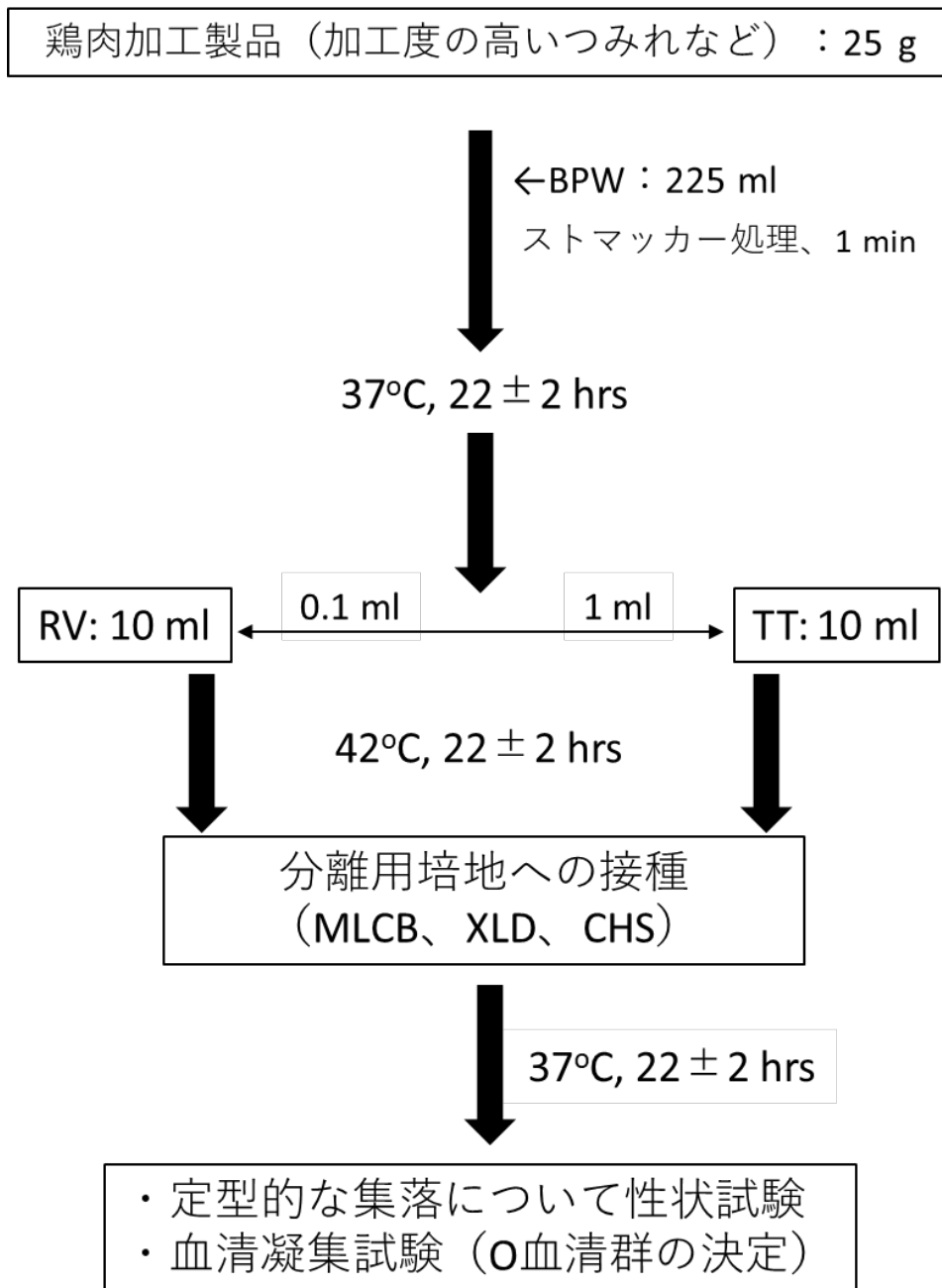


図2：サルモネラ定性試験のフロー図

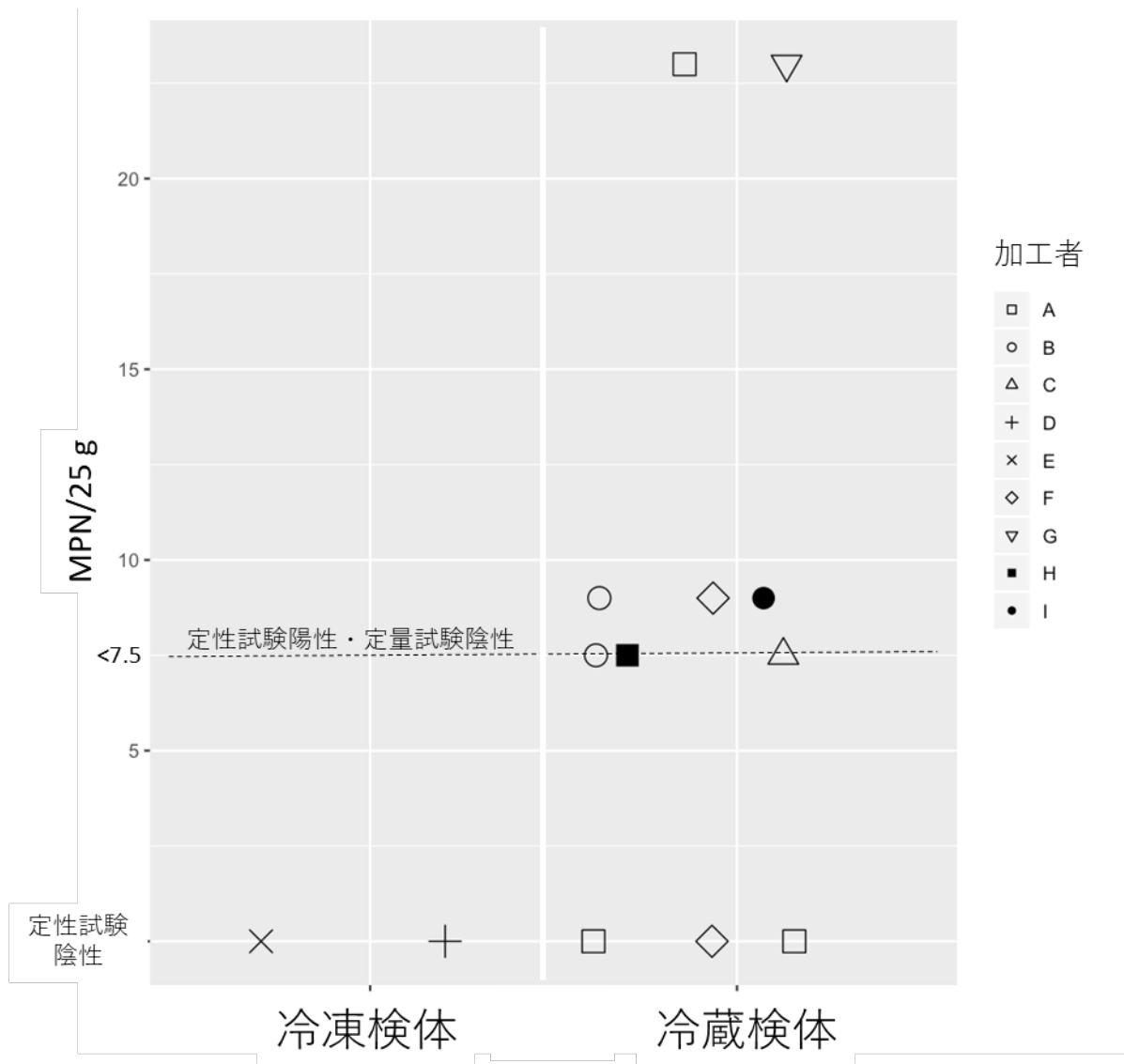


図3：鶏肉加工製品中のサルモネラ属菌数

表1：本研究で用いたサルモネラ属菌の分離用培地

培地の分類	培地名	製造者	備考
硫化水素の産生を 指標とする 分離培地	Deoxycholate-hydrogen sulfide -lactose (DHL) 寒天培地	日水製薬	黒色集落を形成
	Mannitol lysine crystal violet brilliant green (MLCB) 寒天培地	日水製薬	黒色集落を形成
	Xylose lysine deoxycholate (XLD) 寒天培地	OXOID	黒色集落を形成
硫化水素の産生を 指標にしない 分離培地	Brilliant Green containing Sulfadiazine (BGS) 寒天培地	OXOID	BG寒天培地にスルファピリジン 溶液を加えて作製する。 無色透明な集落を形成し培地は赤変
	CHROMagar Salmonella (CHS) 培地	CHROMagar	サルモネラ属菌は 藤色集落を形成する。
	ES サルモネラ寒天培地 II (ES11)	栄研化学	ピンク色集落を形成する。
	chromID Salmonella agar (SM2) 培地	バイオメリュウ	ピンク色集落を形成する。

表2：サルモネラ属菌の基本性状*

鑑別培地	判定項目	サルモネラ属菌の性状
TSI 寒天培地	斜面部	赤
	高層部	黄
	硫化水素	産生（黒）
	ガス	産生（黒）
LIM培地	リジン	陽性（紫）
	インドール	陰性
	運動性	陽性

*株によっては、硫化水素陰性、リジン陰性、
運動性陰性などの非定型的な性状を示す場合もある。

表3：供試した13検体の概要

	内訳*
保管形式	冷凍 (2) 冷蔵 (11)
製品名	鶏肉つみれ (10) 鶏肉だんご (3)
鶏産地	岩手県 (1) 宮崎県 (2) 鹿児島県 (2) 九州 (3) その他国産 (5)
加工者所在地	青森県 [加工者C] (1) 千葉県 [加工者H] (1) 埼玉県 [加工者F、G] (3) 東京都 [加工者I] (1) 神奈川県 [加工者A、B] (5) 佐賀県 [加工者D] (1) 鹿児島県 [加工者E] (1)

* ()内の数値は検体数

表4：添加回収試験における接種菌量及び回収された菌量

	想定接種菌量 (CFU/25 g検体)	接種菌量 (CFU/25g検体)	回収された菌量 (MPN/25 g検体)	回収された菌量の 95%信頼区間
高濃度				
	500	480	1,150	225-5,000
低濃度				
	50	93	600	105-2,500
	50	53	108	22.5-450
	50	60	108	22.5-450

表5：高濃度（想定500 CFU）のサルモネラ添加回収試験における各分離培地でのMPN 3本法の判定結果

乳剤の量 (ml)		硫化水素の産生を指標にする分離培地			硫化水素の産生を指標にしない分離培地			
		DHL	MLCB	XLD	BGS	CHS	ES11	SM2
10	管1	+	+	+	+	+	+	+
	管2	+	+	+	+	+	+	+
	管3	+	+	+	+	+	+	+
1	管1	+	+	+	+	+	+	+
	管2	+	+	+	+	+	+	+
	管3	+	+	+	+	+	+	+
0.1	管1	+	+	+	+	+	+	+
	管2	-	-	-	-	-	-	-
	管3	-	-	-	-	-	-	-

+: サルモネラが検出された管

-: サルモネラが検出されなかった管

表6：低濃度（想定50 CFU）のサルモネラ添加回収試験における各分離培地でのMPN 3本法の判定結果（1回目の試験）

乳剤の量 (ml)		硫化水素の産生を指標にする分離培地			硫化水素の産生を指標にしない分離培地			
		DHL	MLCB	XLD	BGS	CHS	ES11	SM2
10	管1	+	+	+	+	+	+	+
	管2	+	+	+	+	+	+	+
	管3	+	+	+	+	+	+	+
1	管1	+	+	+	+	+	+	+
	管2	+	+	+	+	+	+	+
	管3	+	+	+	+	+	+	+
0.1	管1	-	-	-	-	-	-	-
	管2	-	-	-	-	-	-	-
	管3	-	-	-	-	-	-	-

+: サルモネラが検出された管

-: サルモネラが検出されなかった管

表7：低濃度（想定50 CFU）のサルモネラ添加回収試験における各分離培地でのMPN 3本法の判定結果（2回目の試験）

乳剤の量 (ml)		硫化水素の産生を指標にする分離培地			硫化水素の産生を指標にしない分離培地			
		DHL	MLCB	XLD	BGS	CHS	ES11	SM2
10	管1	+	+	+	+	+	+	+
	管2	+	+	+	+	+	+	+
	管3	+	+	+	+	+	+	+
1	管1	+	+	+	+	+	+	+
	管2	-	-	-	-	-	-	-
	管3	-	-	-	-	-	-	-
0.1	管1	-	-	-	-	-	-	-
	管2	-	-	-	-	-	-	-
	管3	-	-	-	-	-	-	-

+: サルモネラが検出された管

-: サルモネラが検出されなかった管

表8：低濃度（想定50 CFU）のサルモネラ添加回収試験における各分離培地でのMPN 3本法の判定結果（3回目の試験）

乳剤の量 (ml)		硫化水素の産生を指標にする分離培地			硫化水素の産生を指標にしない分離培地			
		DHL	MLCB	XLD	BGS	CHS	ESI I	SM2
10	管1	+	+	+	+	+	+	+
	管2	+	+	+	+	+	+	+
	管3	+	+	+	+	+	+	+
1	管1	+	+	+	+	+	+	+
	管2	-	-	-	-	-	-	-
	管3	-	-	-	-	-	-	-
0.1	管1	-	-	-	-	-	-	-
	管2	-	-	-	-	-	-	-
	管3	-	-	-	-	-	-	-

+: サルモネラが検出された管

-: サルモネラが検出されなかった管

表9：鶏肉加工製品のサルモネラ定性試験の結果

検体の保管形式	検体数	陽性検体数	陽性率(%)
冷凍	2	0	0
冷蔵	11	8	72.7
合計	13	8	61.5

表10：分離されたサルモネラ属菌のO血清群

O血清群	検体数	加工者
04	6	A (神奈川県) B (神奈川県) F (埼玉県) G (埼玉県) H (千葉県) I (東京都)
07	1	C (青森県)
08	2	B (神奈川県)*
合計	9	

*購入時期の異なる2検体から分離

表11：鶏肉加工製品から分離されたO血清群の主な血清型

O血清群	分離検体数	主な血清型
04群	6	Legon, Stanley, Eppendorf, Schwarzengrund, Saintpaul, Agona, Typhimurium
07群	1	Livingstone, Braenderup, Montevideo, Oranienburg, Thompson, Infantis
08群	2	Yovokome, Manhattan, Newport

令和元年度 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リスクを低減するための研究」

分担研究報告書

「高圧処理による鶏肉及び内臓肉中の細菌の不活化に関する検討」

分担研究者 岡田由美子 国立医薬品食品衛生研究所 食品衛生管理部
研究協力者 鈴木穂高 茨城大学農学部
研究協力者 西海理之 新潟大学農学部
研究協力者 筒浦さとみ 新潟大学研究推進機構
研究協力者 Maksimenko Anastasiia 新潟大学農学部
研究協力者 北條有紗 新潟大学農学部
研究協力者 王 偉童 新潟大学農学部

研究要旨：近年我が国で最も事件数及び患者数の多い細菌性食中毒はカンピロバクターによるものであり、その原因食品として加熱不十分あるいは、生の鶏肉が挙げられている。また、鶏肉（内臓肉を含む）にはサルモネラ属菌による汚染も知られており、鶏肉による食中毒を防止するため、鶏肉を汚染する食中毒菌の低減手法を確立することが強く求められている。本研究では、非加熱殺菌法の1つである高圧殺菌法を用いて、鶏のモモ肉、ムネ肉、砂肝及びハツ（心臓）中の細菌の低減について検討した。高圧処理による肉質変化の検討のため、100 MPa から 500 MPa で 10 分間の高圧処理を行ったところ、4 部位すべてにおいて色調の明るさ（L 値）及び黄色み（b 値）が増す傾向が見られた。モモ肉及びムネ肉は圧力依存性に硬度が増す傾向が見られたが、砂肝及びハツの硬さは高圧処理によって変わらないことが示された。大きな肉質変化が認められなかった最大圧力である 300 MPa で処理した場合の一般細菌数は、0.025～0.925 logCFU/g、大腸菌群は 2.462～2.663 logCFU/g、腸内細菌科菌群は 1.519～3.633 logCFU/g、の範囲で低減を示した。また、一般細菌の測定は公定法（寒天培地の混釈培養）を用いた結果と簡易培地の結果に差は認められなかった。サルモネラ及びカンピロバクターは、高圧処理前のモモ肉、ムネ肉及び砂肝から分離されたが、高圧処理後にはモモ肉から、カンピロバクターが定性法でのみ検出された。以上の結果から、肉質変化が比較的少ない 300 MPa で 10 分間の高圧処理により、鶏肉中の菌数低減が可能であった。一方で、一部検体においてカンピロバクターの生残が見られたため、次年度ではサルモネラ及びカンピロバクターの低減効果の定量的データの収集を含め、更なる検証が必要と考えられた。

A. 研究目的

近年、我が国の細菌性食中毒の中では、カンピロバクターを原因菌とするものが最も多い事件数となっている。原因食品が判

明した事例では、原因食品として鶏肉が多く挙げられている。市販鶏肉におけるカンピロバクターの汚染率は平成26年の調査で、モモ肉が42%、ムネ肉が40%と高率であり、

カンピロバクター食中毒の発生を減らすには、鶏肉の汚染低減が重要である。しかしながら、カンピロバクターは鶏肉及び内臓肉の表面のみならず内部にも存在していることがあり、食鳥処理における衛生管理の向上のみでは、汚染率の低減は困難と思われる。本来カンピロバクターをはじめとする食中毒菌は、加熱により死滅するものであるが、加熱不十分な場合、菌が残存することがあり、実際、加熱不十分な鶏肉の喫食による食中毒事例がしばしば報告されている。更に、日本国民の生食嗜好により、鶏肉やその内臓肉を鳥刺し等による生食、あるいは鶏たたき、焼き鳥等表面のみの加熱で喫食することによる食中毒事例も多発している。鶏肉の喫食による食中毒発生を減少させるためには、これらの病原菌に対し加熱によらない殺菌を行い、感染リスクの低減を図る必要がある。

現在、非加熱殺菌法には消毒薬等による殺菌、ガンマ線等の放射線照射、高電圧パルス、パルス光、ガス置換等があるが、なかでも静水圧を利用した高圧処理は、食品の香り、色、風味が保持されるとして、近年注目を集めている。今年度は、モモ肉、ムネ肉、砂肝及びハツを用いて100 MPa から500 MPaの圧力による高圧処理を行い、その肉質変化を検討すると共に、肉質変化の少ない圧力条件による、これら4部位における一般細菌、衛生指標菌及び食中毒菌の菌数低減効果について検討した。

B. 研究方法

1. 検体

高圧処理の細菌低減実験に用いるモモ肉、

ムネ肉、砂肝及びハツは、東京都内及び新潟市内の鶏肉専門店で購入し、冷蔵状態で運搬後、5時間以内に実験に供した。高圧処理による肉質変化の検討に用いるモモ肉及びムネ肉は、筋線維の方向が同一になるように3×3×1 cmの大きさに切断した。砂肝は筋膜を除去してから半割にし、ハツは半割にして血餅を除去した。菌数低減効果の検討に用いる検体は、滅菌済みの器具を用いて10 g片に切断した。切断後の検体は、高圧処理用袋に入れて密封したのち、水と共に外袋に密封して二重包装とした。

2. 高圧処理

二重包装済みの検体をDr. CHEF（神戸製鋼所）を用いて、100、200、300、400及び500 MPaで10分間の高圧処理を行った。処理温度は、設定圧力到達時の温度が約25 となるように設定した。

3. 菌数測定

検体10 gに90 mlの滅菌リン酸緩衝液(PBS、メルク)を加えてストマッカー処理を行い、10倍乳剤を作成した。また、必要に応じてPBSを用いて10倍階段希釈液を作成した。一般細菌数の測定は、Plate Count Agar（ベクトンディッキンソン）平板を用いた塗抹培養と並行して、簡易培地としてペトリフィルムACプレート(3M)を用い、35 ℃で24時間培養を行った。腸内細菌科菌群の測定にはペトリフィルムEBプレート(3M)、大腸菌群の測定にはペトリフィルムCCプレート(3M)を用い、製品に規定された条件で培養した。サルモネラ属菌の定量試験は、10倍乳剤100 μlをXLD寒天培地（オキシイド）及びCHROMagarサルモネラ（CHROMagar）に

塗布し、24時間後の定型集落数を計測し、確認培養後に集落数を確定した。サルモネラ属菌の定性試験は、ISO 6579-1:2017に基づき、10倍乳剤を37℃で18時間培養後にその一部をRappaport-Vasiliadis (RV)培地(オキシド)及びMuller-Kaufman Tetrathionate (MkTTn)培地(メルク)に接種して、所定の温度及び時間の培養を行った。その後、XLD寒天培地及びCHROMagarサルモネラに塗布し、24時間後の定型集落の有無を確認し、定型集落の確認培養後に結果を判定した。カンピロバクターの定量試験は、10倍乳剤100 µlをCCDA寒天(SEL)培地(関東化学)CCDA寒天(OX)培地(オキシド)及びmCCDAクリアーHT寒天培地(ベクトンディッキンソン)に塗布し、48時間後の定型集落数を計測し、確認培養後に集落数を確定した。カンピロバクターの定性試験は、ISO 10272-1:2017を一部改変し、10倍乳剤1.5 mlをボルトン培地(オキシド)13.5 mlに接種し、37℃で4時間培養後に41.5℃で44時間培養した。培養液1白金耳を上記の寒天培地に塗布し、微好気条件において41.5℃で48時間培養した。

4. 色調及び硬度

未処理及び高圧処理を行った検体について、色差計(コニカミノルタ)を用いて色調を、レオメーターTP-10(ヤマデン)を用いて硬度を計測した。

C. 結果

1. 高圧処理が鶏肉及び内臓肉の肉質変化に及ぼす影響

100、200、300、400及び500 MPaの圧力で

10分間処理したモモ肉、ムネ肉、砂肝及びハツについて、色調と硬度の変化を測定した(図1、2、3及び4)。その結果、4部位すべてにおいて色調の明るさの指標であるL値及び黄色みの指標であるb値が増す傾向が見られた。モモ肉及びムネ肉では、赤みの指標であるa値には高圧処理による大きな変化は見られなかったものの、砂肝及びハツでは、圧力依存性なa値の上昇傾向が見られた。肉眼的観察では、いずれの部位も、300 MPaの処理により肉色に白濁がみられ、400 MPa以上の処理で、その傾向がより顕著であった(図1-3及び4)。

硬度の指標である最大破断点の荷重(N値)はムネ肉の未処理検体では9.855 Nであったが、500 MPaでの処理後は17.738 Nとなり、硬化傾向を示した。同様に、モモ肉のN値は未処理での10.959 Nから500 MPaでの処理後は17.585 Nとなり、モモ肉及びムネ肉は圧力依存性に硬度が増す傾向が見られた。一方、砂肝及びハツの硬さは高圧処理によって大きく変わらないことが示された(図1-1及び2)。

2. 高圧処理の鶏肉及び内臓肉に対する一般細菌の低減効果

モモ肉、ムネ肉、砂肝及びハツを自然汚染している一般細菌に対する、高圧処理の菌数低減効果を調べた(図5)。処理圧力には、肉質変化が許容範囲と考えられた最大圧力である300 MPaを用いた。高圧処理の結果、ムネ肉中の一般細菌数は0.025 log CFU/g、モモ肉では0.915 log CFU/g、砂肝では0.875 log CFU/g、ハツでは0.925 log CFU/g低減していた。簡易培地を用いた場合の一般細菌数を混釈培養の結果と比較した

ところ、いずれの部位でも結果の差は ± 0.5 log CFU/g以内であり、ほぼ同等であると考えられた。

3. 高圧処理の鶏肉及び内臓肉に対する衛生指標菌の低減効果

モモ肉、ムネ肉、砂肝及びハツを自然汚染している大腸菌と腸内細菌科菌群に対する、高圧処理の菌数低減効果を調べた(図6)。300 MPaで10分間の高圧処理の結果、ムネ肉中の大腸菌群菌数は2.462 log CFU/g、モモ肉では2.663 log CFU/g、砂肝では2.663 log CFU/g、ハツでは2.643 log CFU/g低減していた。腸内細菌科菌群は、ムネ肉で1.519 log CFU/g、モモ肉で1.653 log CFU/g、砂肝で3.633 log CFU/g、ハツで3.230 log CFU/g低減していた。大腸菌群は4部位すべてで高圧処理により検出限界未満となったが、腸内細菌科菌群はモモ肉及びムネ肉で高圧処理後も菌が検出された。

4. 高圧処理の鶏肉及び内臓肉に対する食中毒菌の低減効果

モモ肉、ムネ肉、砂肝及びハツを自然汚染しているサルモネラ属菌とカンピロバクターに対する、高圧処理の菌数低減効果を調べた(表1)。高圧処理前のムネ肉、モモ肉及び砂肝からサルモネラ属菌及びカンピロバクターが分離されたが、300 MPaで10分間の高圧処理の結果、ムネ肉、モモ肉及び砂肝はサルモネラ属菌が陰性となった。カンピロバクターについては、ムネ肉及び砂肝で高圧処理後に陰性となったが、モモ肉では一部検体から増菌培養後に検出された。

D. 考察

モモ肉、ムネ肉、砂肝及びハツの4部位に100から500 MPaで10分間の高圧処理を行ったところ、4部位すべてにおいて圧力依存性に明さを示すL値の上昇傾向がみられ、肉眼的にも白濁していた。牛肝臓を対象とした先行研究では、大腸菌に対する菌数低減効果は200 MPaで10分間の高圧処理では見られず、300 MPa以上で観察されており、今年度の検討は鶏肉の4部位にある程度の肉質変化を起こすものの、比較的变化が抑えられており、菌数低減効果が期待される300 MPaで10分間の高圧条件による一般細菌、衛生指標菌及び食中毒菌に対する低減効果について調べた。その結果、グラム陰性菌である腸内細菌科菌群及び大腸菌群については2 log CFU/g前後の大幅な菌数低減効果が認められた。一方、これらに加えバチルス属等のグラム陽性菌を多く含むと思われる一般細菌については、1 log CFU/g前後の低減にとどまった。食中毒菌であるカンピロバクター及びサルモネラ属菌については、今回の処理条件でほとんどの検体において定性法の検出限界未満となったが、モモ肉のみ高圧処理後にも定性法でカンピロバクターの分離がみられた。このことから、鶏肉及び内臓肉について肉質の変化を抑制しつつ、自然汚染の食中毒菌を検出限界未満まで低減させるためには、処理圧力を変えることなく、高圧処理時間の延長、高圧処理温度の変更等の組み合わせを検討する必要があると思われる。次年度は、これらの検討を実施する予定である。

E. 結論

高圧処理が、モモ肉、ムネ肉、砂肝及びハツの肉質変化に与える影響と、それら検体に存在する微生物の低減効果を検討したところ、モモ肉及びムネ肉では圧力依存性に肉色が白化及び黄化する傾向及び肉が硬化する傾向が見られた。一方、砂肝及びハツでは、高圧処理による色調及び硬度の変化が限定的であることが示された。肉質変化が比較的少ない300 MPaで10分間の高圧処理により、鶏肉及び内臓肉中の菌数低減が可能であった。また、一般細菌数の検討に、平板塗抹と同様に簡易培地を用いることが可能であった。高圧処理後の一部検体においてカンピロバクターの生残が見られたため、高圧処理時間の延長、高圧処理温度の変更等により、低減効果をより高める必要があると思われた。

F. 健康危機情報

なし

G. 研究発表

なし

H. 知的財産権の出願、登録状況

なし

図1-1. 100～500 MPa、10分間の高圧処理を行った鶏肉検体の肉質変化(1回目)

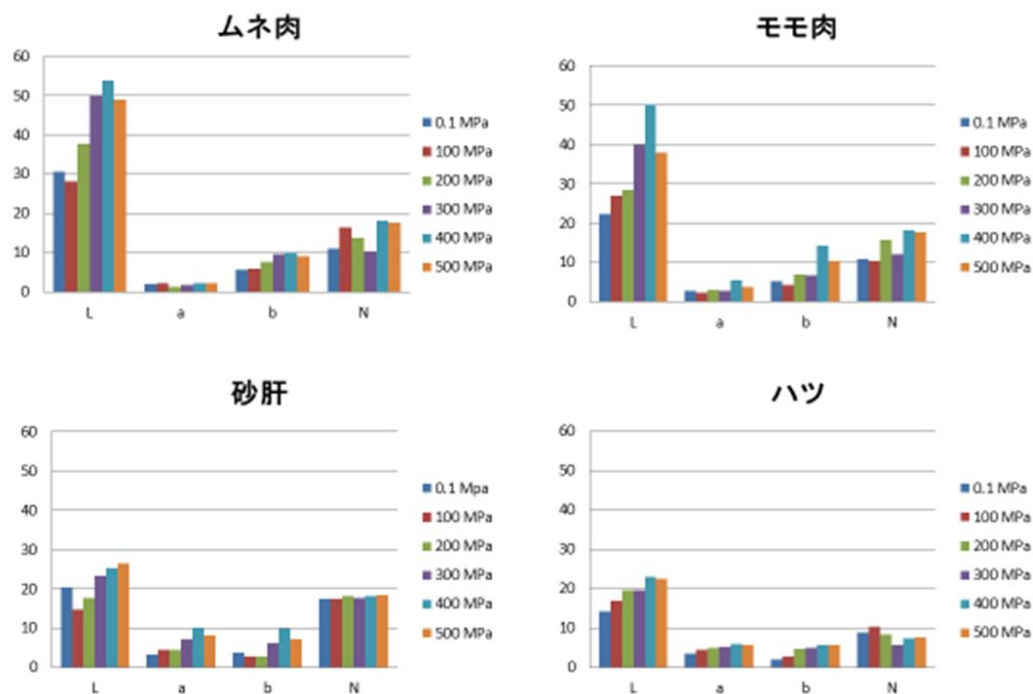


図1-2. 100～500 MPa、10分間の高圧処理を行った鶏肉検体の肉質変化(2回目)

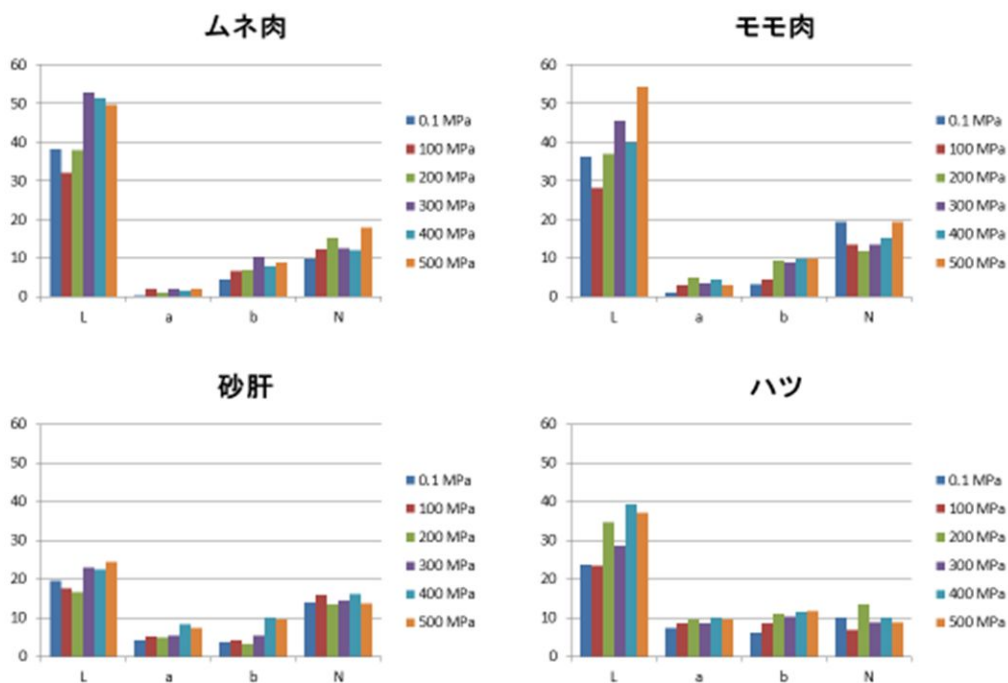


図1-3. 100～500 MPa、10分間の高圧処理を行った鶏肉検体の肉質変化(1回目)

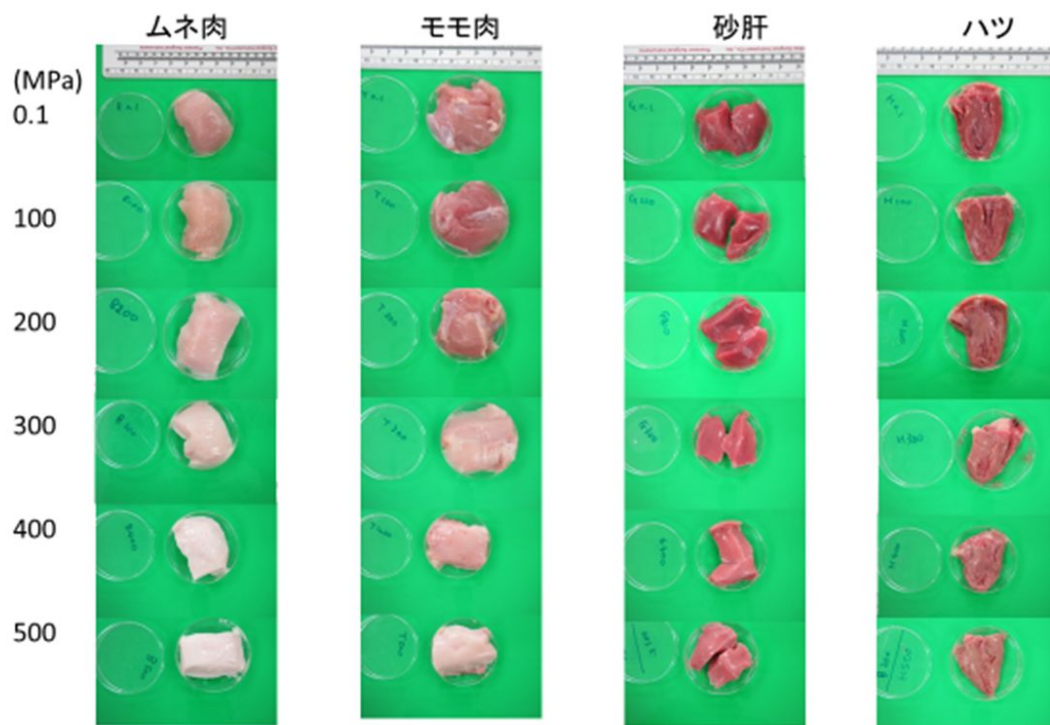


図1-4. 100～500 MPa、10分間の高圧処理を行った鶏肉検体の肉質変化(2回目)

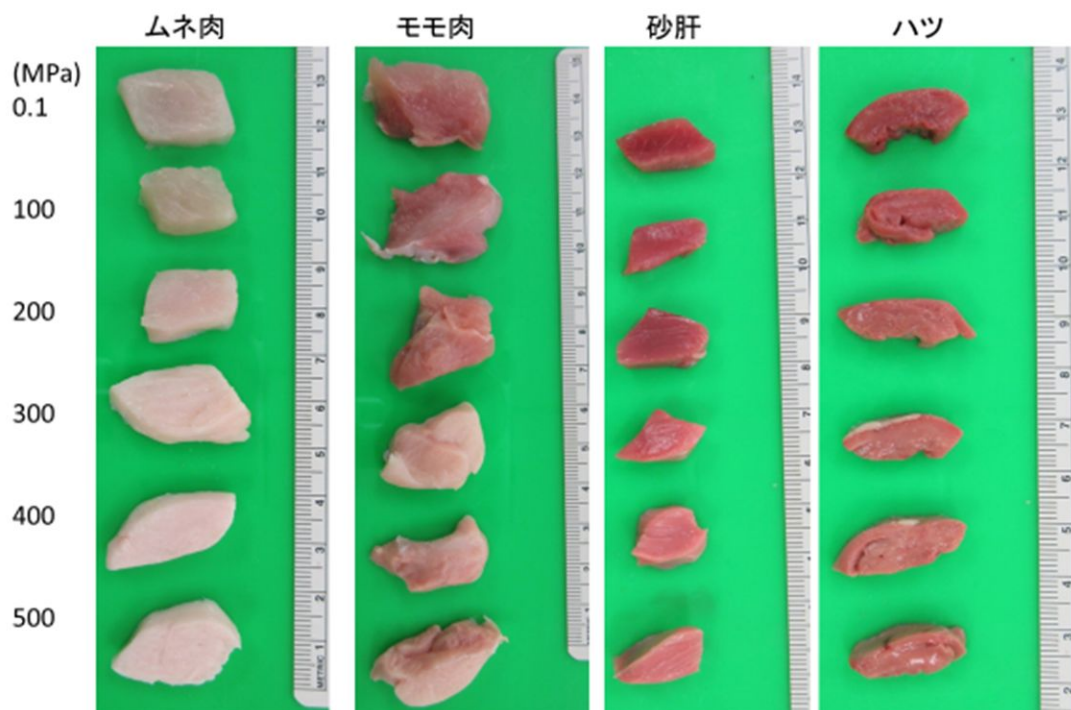


図2. 300 MPa、10分間の高圧処理を行った鶏肉検体における一般細菌数
 (平板塗抹と簡易培地)

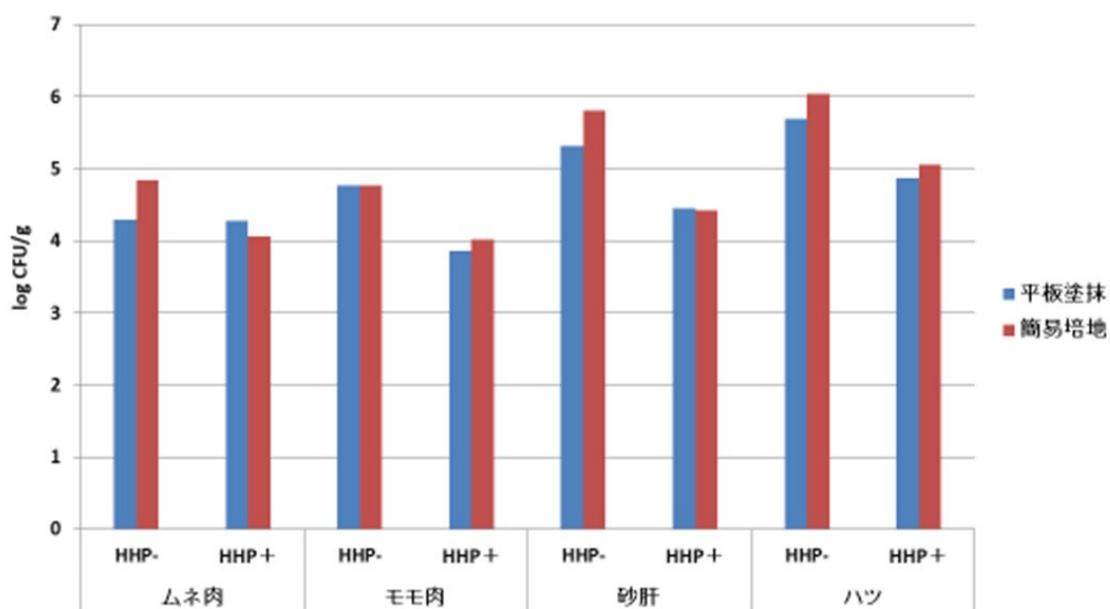


図3. 300 MPa、10分間の高圧処理を行った鶏肉検体における大腸菌群及び腸内細菌科菌群数(簡易培地)

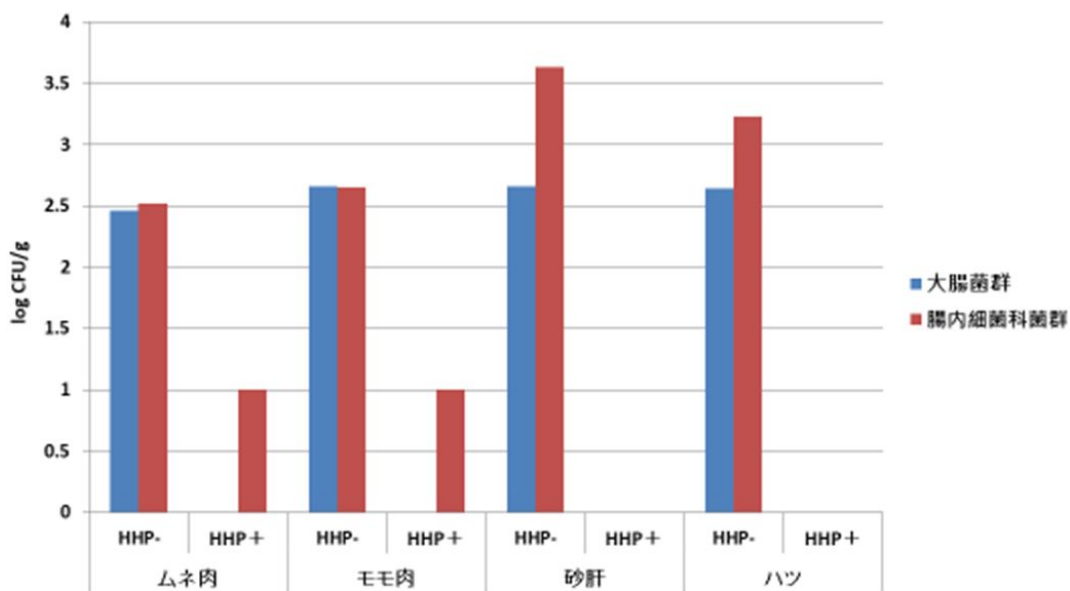


表1. 300 MPa、10分間の高圧処理を行った鶏肉検体における食中毒菌検出状況

		ムネ肉		モモ肉		砂肝		ハツ	
		HHP-	HHP+	HHP-	HHP+	HHP-	HHP+	HHP-	HHP+
サルモネラ	直接塗抹	-	-	+	-	-	-	-	-
	増菌培養 (RVS)	+	-	-	-	-	-	-	-
	増菌培養 (MkTTn)	+	-	+	-	+	-	-	-
カンピロバク ター	直接塗抹	+	-	+	-	+	-	-	-
	増菌培養	+	-	+	+	+	-	-	-

研究成果の刊行に関する一覧表

書籍

著者氏名	論文タイトル名	書籍全体の 編集者名	書 籍 名	出版社名	出版地	出版年	ページ
なし							

雑誌

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
なし					

令和2年3月27日

厚生労働大臣 殿

機関名 国立医薬品食品衛生研究所

所属研究機関長 職名 所長

氏名 奥田 晴宏



次の職員の令和元年度厚生労働科学研究費の調査研究における、倫理審査状況及び利益相反等の管理については以下のとおりです。

1. 研究事業名 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
2. 研究課題名 畜産食品の生物学的ハザードとそのリスクを低減するための研究 (19KA1005)
3. 研究者名 (所属部局・職名) 食品衛生管理部・第一室長
(氏名・フリガナ) 佐々木 貴正 ・ ササキ ヨシマサ

4. 倫理審査の状況

	該当性の有無		左記で該当がある場合のみ記入 (※1)		
	有	無	審査済み	審査した機関	未審査 (※2)
ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>
遺伝子治療等臨床研究に関する指針	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>
人を対象とする医学系研究に関する倫理指針 (※3)	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>
厚生労働省の所管する実施機関における動物実験等の実施に関する基本指針	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>
その他、該当する倫理指針があれば記入すること (指針の名称:)	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>

(※1) 当該研究者が当該研究を実施するに当たり遵守すべき倫理指針に関する倫理委員会の審査が済んでいる場合は、「審査済み」にチェックし一部若しくは全部の審査が完了していない場合は、「未審査」にチェックすること。

その他 (特記事項)

(※2) 未審査に場合は、その理由を記載すること。

(※3) 廃止前の「疫学研究に関する倫理指針」や「臨床研究に関する倫理指針」に準拠する場合は、当該項目に記入すること。

5. 厚生労働分野の研究活動における不正行為への対応について

研究倫理教育の受講状況	受講 <input checked="" type="checkbox"/> 未受講 <input type="checkbox"/>
-------------	---

6. 利益相反の管理

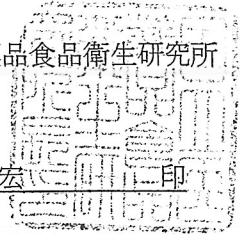
当研究機関におけるCOIの管理に関する規定の策定	有 <input checked="" type="checkbox"/> 無 <input type="checkbox"/> (無の場合はその理由:)
当研究機関におけるCOI委員会設置の有無	有 <input checked="" type="checkbox"/> 無 <input type="checkbox"/> (無の場合は委託先機関:)
当研究に係るCOIについての報告・審査の有無	有 <input checked="" type="checkbox"/> 無 <input type="checkbox"/> (無の場合はその理由:)
当研究に係るCOIについての指導・管理の有無	有 <input type="checkbox"/> 無 <input checked="" type="checkbox"/> (有の場合はその内容:)

(留意事項) ・該当する□にチェックを入れること。
・分担研究者の所属する機関の長も作成すること。

令和2年3月27日

厚生労働大臣 殿

機関名 国立医薬品食品衛生研究所
所属研究機関長 職名 所長
氏名 奥田 晴宏



次の職員の令和元年度厚生労働科学研究費の調査研究における、倫理審査状況及び利益相反等の管理については以下のとおりです。

1. 研究事業名 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
2. 研究課題名 畜産食品の生物学的ハザードとリスクを低減するための研究 (19KA1005)
3. 研究者名 (所属部局・職名) 食品衛生管理部・部長
(氏名・フリガナ) 朝倉 宏 ・ アサクラ ヒロシ

4. 倫理審査の状況

	該当性の有無		左記で該当がある場合のみ記入 (※1)		
	有	無	審査済み	審査した機関	未審査 (※2)
ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>
遺伝子治療等臨床研究に関する指針	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>
人を対象とする医学系研究に関する倫理指針 (※3)	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>
厚生労働省の所管する実施機関における動物実験等の実施に関する基本指針	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>
その他、該当する倫理指針があれば記入すること (指針の名称:)	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>

(※1) 当該研究者が当該研究を実施するに当たり遵守すべき倫理指針に関する倫理委員会の審査が済んでいる場合は、「審査済み」にチェックし一部若しくは全部の審査が完了していない場合は、「未審査」にチェックすること。

その他 (特記事項)

(※2) 未審査の場合は、その理由を記載すること。

(※3) 廃止前の「疫学研究に関する倫理指針」や「臨床研究に関する倫理指針」に準拠する場合は、当該項目に記入すること。

5. 厚生労働分野の研究活動における不正行為への対応について

研究倫理教育の受講状況	受講 <input checked="" type="checkbox"/> 未受講 <input type="checkbox"/>
-------------	---

6. 利益相反の管理

当研究機関におけるCOIの管理に関する規定の策定	有 <input checked="" type="checkbox"/> 無 <input type="checkbox"/> (無の場合はその理由:)
当研究機関におけるCOI委員会設置の有無	有 <input checked="" type="checkbox"/> 無 <input type="checkbox"/> (無の場合は委託先機関:)
当研究に係るCOIについての報告・審査の有無	有 <input checked="" type="checkbox"/> 無 <input type="checkbox"/> (無の場合はその理由:)
当研究に係るCOIについての指導・管理の有無	有 <input type="checkbox"/> 無 <input checked="" type="checkbox"/> (有の場合はその内容:)

(留意事項) ・該当する□にチェックを入れること。
・分担研究者の所属する機関の長も作成すること。

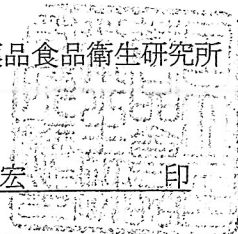
令和2年3月27日

厚生労働大臣 殿

機関名 国立医薬品食品衛生研究所

所属研究機関長 職名 所長

氏名 奥田 晴宏 印



次の職員の令和元年度厚生労働科学研究費の調査研究における、倫理審査状況及び利益相反等の管理については以下のとおりです。

- 研究事業名 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
- 研究課題名 畜産食品の生物学的ハザードとそのリスクを低減するための研究 (19KA1005)
- 研究者名 (所属部局・職名) 衛生微生物部・部長
(氏名・フリガナ) 工藤 由起子・クドウ ユキコ

4. 倫理審査の状況

	該当性の有無		左記で該当がある場合のみ記入 (※1)		
	有	無	審査済み	審査した機関	未審査 (※2)
ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>
遺伝子治療等臨床研究に関する指針	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>
人を対象とする医学系研究に関する倫理指針 (※3)	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>
厚生労働省の所管する実施機関における動物実験等の実施に関する基本指針	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>
その他、該当する倫理指針があれば記入すること (指針の名称:)	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>

(※1) 当該研究者が当該研究を実施するに当たり遵守すべき倫理指針に関する倫理委員会の審査が済んでいる場合は、「審査済み」にチェックし一部若しくは全部の審査が完了していない場合は、「未審査」にチェックすること。

その他 (特記事項)

(※2) 未審査に場合は、その理由を記載すること。

(※3) 廃止前の「疫学研究に関する倫理指針」や「臨床研究に関する倫理指針」に準拠する場合は、当該項目に記入すること。

5. 厚生労働分野の研究活動における不正行為への対応について

研究倫理教育の受講状況	受講 <input checked="" type="checkbox"/> 未受講 <input type="checkbox"/>
-------------	---

6. 利益相反の管理

当研究機関におけるCOIの管理に関する規定の策定	有 <input checked="" type="checkbox"/> 無 <input type="checkbox"/> (無の場合はその理由:)
当研究機関におけるCOI委員会設置の有無	有 <input checked="" type="checkbox"/> 無 <input type="checkbox"/> (無の場合は委託先機関:)
当研究に係るCOIについての報告・審査の有無	有 <input checked="" type="checkbox"/> 無 <input type="checkbox"/> (無の場合はその理由:)
当研究に係るCOIについての指導・管理の有無	有 <input type="checkbox"/> 無 <input checked="" type="checkbox"/> (有の場合はその内容:)

(留意事項) ・該当する□にチェックを入れること。
・分担研究者の所属する機関の長も作成すること。

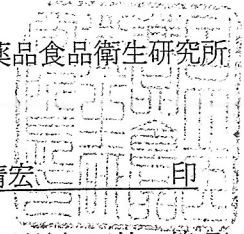
令和2年3月27日

厚生労働大臣 殿

機関名 国立医薬品食品衛生研究所

所属研究機関長 職名 所長

氏名 奥田 晴宏 印



次の職員の令和元年度厚生労働科学研究費の調査研究における、倫理審査状況及び利益相反等の管理については以下のとおりです。

- 研究事業名 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
- 研究課題名 畜産食品の生物学的ハザードとそのリスクを低減するための研究 (19KA1005)
- 研究者名 (所属部局・職名) 食品衛生管理部・第三室長
(氏名・フリガナ) 岡田 由美子・オカダ ユミコ

4. 倫理審査の状況

	該当性の有無		左記で該当がある場合のみ記入 (※1)		
	有	無	審査済み	審査した機関	未審査 (※2)
ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>
遺伝子治療等臨床研究に関する指針	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>
人を対象とする医学系研究に関する倫理指針 (※3)	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>
厚生労働省の所管する実施機関における動物実験等の実施に関する基本指針	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>
その他、該当する倫理指針があれば記入すること (指針の名称:)	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>

(※1) 当該研究者が当該研究を実施するに当たり遵守すべき倫理指針に関する倫理委員会の審査が済んでいる場合は、「審査済み」にチェックし一部若しくは全部の審査が完了していない場合は、「未審査」にチェックすること。

その他 (特記事項)

(※2) 未審査の場合は、その理由を記載すること。

(※3) 廃止前の「疫学研究に関する倫理指針」や「臨床研究に関する倫理指針」に準拠する場合は、当該項目に記入すること。

5. 厚生労働分野の研究活動における不正行為への対応について

研究倫理教育の受講状況	受講 <input checked="" type="checkbox"/> 未受講 <input type="checkbox"/>
-------------	---

6. 利益相反の管理

当研究機関におけるCOIの管理に関する規定の策定	有 <input checked="" type="checkbox"/> 無 <input type="checkbox"/> (無の場合はその理由:)
当研究機関におけるCOI委員会設置の有無	有 <input checked="" type="checkbox"/> 無 <input type="checkbox"/> (無の場合は委託先機関:)
当研究に係るCOIについての報告・審査の有無	有 <input checked="" type="checkbox"/> 無 <input type="checkbox"/> (無の場合はその理由:)
当研究に係るCOIについての指導・管理の有無	有 <input type="checkbox"/> 無 <input checked="" type="checkbox"/> (有の場合はその内容:)

(留意事項) ・該当する□にチェックを入れること。
・分担研究者の所属する機関の長も作成すること。