

令和2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：国産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、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昨年度から開始した。

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では、卸売段階にある鶏肉製品を中心に計 228 検体のカンピロバクター汚染菌数を調査し、137 検体 (60.1%) から検出され、最大値は 4.32 log₁₀ CFU/g であった。菌数分布では、陽性検体の 67.2% (92 検体) は 2.0 log₁₀ CFU/g 以上の菌数を示し、昨年度の一般流通段階にある鶏肉製品検体の 25.5% に比べ、卸売段階にある鶏肉製品ではより高い汚染菌数を示す状況にあると推察された。原料である生鳥の出荷日齢及び処理場が確認できた計 155 検体を比較したところ、75 日齢前後で有意差を認められた。特に高汚染菌数を示した鶏肉製品検体は、特定の大規模食鳥処理場に由来しており当該検体を除外したところ、日齢間での菌数有意差は拡大し、同施設での衛生管理不備が製品におけるカンピロバクター汚染状況に影響を及ぼしたと想定された。一般細菌数、腸内細菌科菌群数の分布とカンピロバクター菌数の間に相関性は認められなかった。衛生指標菌検出状況は食鳥処理場の衛生管理実態を評価する上で有効とは思料されるが、カンピロバクター汚染指標とはなり得ないと想定された。

畜産食品における微生物迅速試験法に関する研究では、昨年度と同様に自動生菌数測定装置を用いた迅速定量試験法 (TEMPO 法) を ISO 法に準じた定量試験法の比較対象試験法として、鶏肝臓 189 検体及び鶏皮 (ムネ肉又はモモ肉) 122 検体について両試験法を実施した。TEMPO 法と ISO 法に準じた定量試験法との間に鶏肝臓、鶏皮ともに高い相関性 (鶏肝臓: R²=0.91、R²=0.97) が認められ、TEMPO 法の有用性が確認された。また、鶏皮の汚染率、汚染菌数は食鳥処理場間で異なる可能性があることが示唆された。

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では、鶏肉加工品 (つみれ、肉団子) 95 検体のサルモネラ汚染菌数を調査し、30 検体 (31.6%) から検出され、菌数範囲は <7.5~107.5 CFU/25 g で、定量限界値以下の低汚染検体 (<7.5 CFU/25 g) が最も多かった (63.3%)。陽性検体はすべて冷蔵品で冷凍品からは検出されなかった。血清型は、*S. Schwarzengrund* が最も多く、次いで *S. Infantis*、*S. Agona*、*S. Manhattan* の順であった。

畜産食品の加工工程におけるリスク低減手法とその効果に関する研究では、殺菌技術の 1 つである高圧処理の利用可能性について焼き鳥用モモ串を用いて評価した。加熱不十分と考えられる 200℃、5 分の加熱調理単独では、約 3 log₁₀ CFU/g の生菌数が認められたが、加熱調理前に高圧処理 (300MPa、10 分) を追加した場合には、生菌数は検出限界値以下となった。また、当該高圧処理を追加した場合でも、加熱調理単独と比べて品質 (色調及び硬度) に大きな変化は認められなかった。

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	神戸市健康科学研究所
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
野田 衛	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
百瀬愛佳	国立医薬品食品衛生研究所
林谷秀樹	東京農工大学

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。

以上の背景から、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の汚染実態及び鶏肉加工製品におけるサルモネラの汚染実態を定量的に把握する特色ある研究（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、②畜産食品における微生物迅速試験法に関する研究、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、④畜産食品の加工工程におけるリスク低減手法とその効果に関する研究）を昨年度から開始した。

今年度は、昨年の研究成果を踏まえ、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では卸売段階にある鶏肉製品のカンピロバクター定量的汚染状況を、②畜産食品における微生物迅速試験法に関する研究では鶏皮検体の試料調整の変更を行った上で迅速定量試験法の候補である自動生菌数測定装置を用いた迅速定量試験法（TEMPO法）の有用性を、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では確立した定量試験を用いて鶏肉加工製品のサルモネラ定量的汚染汚染状況を、④畜産食品の加工工程におけるリスク低減手法とその効果に関する研究では高圧処理と加熱調理の組合せによる殺菌効果及び品質変化を調査した。

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

1.1. 鶏肉製品検体

本研究では卸売時の包装形態として一般的である2kg包装の鶏モモ肉製品を対象として選定し、食鳥処理場及び鶏種（銘柄）の情報とあわせて入手した。

1.2. 微生物定量試験法

カンピロバクター定量試験法は、国際標準試験法であるISO 10272-2：2017に準じた。また、一般細菌数及び腸内細菌科菌群数の定量には、それぞれISO 4833-2：2013、ISO 21528-2：2017を用いた。菌種同定はリアルタイムPCR法で行った。

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. TEMPO 法の包含性及び排他性

TEMPO キットの輸入元であるバイオメリュー・ジャパンから、包含性及び排他性に関する最新報告（2020年版）を入手した。

2.2. 検体入手

食鳥処理場以降の交差汚染の影響を避けるため、今年度の鶏肉製品は、食鳥処理場での直接採取又は食鳥処理場包装品を小売店又はネット通販で購入した。また、鶏群のカンピロバクター感染状況と鶏肉製品の汚染状況に関連性があるのか検討するため、鶏肉製品の由来となった鶏群の一部について、各群5羽の盲腸内容物及び胆嚢内胆汁（注射器を使用）の採取も行い、同様にカンピロバクター試験を実施した（ISO法に準じた定量試験法のみ）。

3.3. 試験法

鶏肝臓では、検体（肝臓1個を1検体）を緩衝ペプトン水（BPW）で2倍希釈し、1分間のストマック処理後に、BPWを加えて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2枚のmCCDAに0.2mLずつ、他の2つの希釈液では各2枚のmCCDA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。ISO法に準じた定量試験法の定量限界値は $1.0 \log_{10}$ CFU/g、TEMPO法の定量限界値は $0.5 \log_{10}$ CFU/gであった。

鶏皮では、食鳥処理場包装品から1検体あたり、ムネ肉ブロック又はモモ肉ブロックを3~6個抜き取り、これらブロックからはぎ取った皮（計80g以上）を緩衝ペプトン水（BPW）で2倍希釈し、1分間のストマック処理後に、BPWを加えて10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5枚のmCCDAに0.2mLずつ、他の2つの希釈液では各2枚のmCCDA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。定量限界値は両方ともに $0 \log_{10}$ CFU/mL（1 CFU/mL）。鶏皮は、ストマック処理後でも乳剤とはならないため、単位はCFU/gではなくCFU/mL（2倍希釈時のBPW 1mLあたりの菌数）とした。

盲腸内容物及び胆嚢内胆汁では、緩衝ペプトン水（BPW）で10倍段階希釈し、各希釈段階の希釈液を2枚のmCCDAに0.1mLずつ塗抹し、培養後に得られた集落

数を集計し、その値を検出菌数として採用した。定量限界値は両試験法ともに $0.7 \log_{10}$ CFU/g であった。

菌種同定は PCR 法で行った。

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. 供試材料

2020 年 10 月～2021 年 3 月に東京都及び神奈川県のスーパーマーケットや小売店計 39 軒で購入した国産鶏肉を原材料とした鶏肉加工品 95 検体を供試検体とした。供試験体は購入後、冷蔵条件下で研究室に運搬し、ただちに実験に供した。

3.2. *Salmonella* の分離培養

3.2.1. 定性培養

供試検体 25g を緩衝ペプトン水 (BPW)225mL に接種し、37°C で 22 時間増菌培養を行った後、その 1mL をテトラチオネート液体培地 (TT) に、0.1mL をラパポート・バシリアディス液体培地 (RV) に接種し、42°C で 22 時間培養した。そして、それぞれの液体培地から MLCB、XLD 及び CHROM agar *Salmonella* に接種し、37°C で 22 時間培養した。選択培地に発育してきたコロニーから *Salmonella* が疑われるコロニーを各選択培地からそれぞれ 3 コロニーを釣菌し、純培養後、生化学試験を実施し、*Salmonella* を同定した。

3.2.2. 定量培養

定性培養で *Salmonella* 陽性になった供試検体について、最確数法 (Most probable number method: MPN 法) (3 本法) を用いて定量を行った。定性培養時低温下で保存しておいた供試検体 25g をペプトン加生理食塩水 225mL に加え、ストマッカーで良

く混和後、その 10mL を 2 倍量の BPW10mL に、1mL を BPW10mL に、0.1mL を BPW10mL に、それぞれ 3 本ずつに加え、37°C で 22 時間培養した。その後、同様に分離・同定を行い、*Salmonella* を分離した。

3.2.3. 血清型別

分離された *Salmonella* 菌株は、市販抗血清を用いて、O 抗原と H 抗原を決定し、血清型を同定した。

4. 畜産食品の加工工程におけるリスク低減手法とその効果に関する研究

4.1. 検体

高圧処理の細菌低減実験に用いる焼き鳥用モモ串は、神奈川県内の鶏肉専門店で購入し、冷蔵状態で運搬し、実験に供した。検体は個別に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。検体数は、高圧処理、加熱調理共に行わない条件で 2 検体、その他の条件では 5 検体を用いた。

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、300 MPa、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. 加熱調理

加熱調理には、Cook Evario (ホシザキ) を用いた。余熱を行い、200°C に達したところで検体をオープンに入れ、10 分、7 分及び 5 分の加熱調理終了後にただちにオープンから出して、室温まで放冷後、検体を菌数測定及び肉質変化の測定に用いた。

4.4. 菌数測定

検体 10 g に 90 mL の滅菌緩衝ペプトン水 (BPW) 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、必要に応じてリン酸緩衝液を用いて 10 倍階段希釈液を作成した。一般細菌数の測定は、TEMPO®AC を用い、35 °C で 24 時間培養後に菌数測定を行った。腸内細菌科菌群の測定には TEMPO®EB を用い、35 °C で 20 時間培養後に菌数測定を行った。カンピロバクターの定量試験は、TEMPO®CAM を用い、42 °C で 48 時間微好気培養後に菌数測定を行った。サルモネラ属菌の定性試験は、10 倍乳剤を 37°C で 20 時間培養後、3M™ 病原菌自動検出システム MDS100JPS (MDS) を用いて行った。カンピロバクターの定性試験は、検体 10g を CE250 培地に懸濁し、42°C 24 時間微好気培養後に MDS を用いて行った。

4.5. 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

地方衛生研究所及び国立医薬品食品衛生研究所において、2020年6月～11月に計228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。

カンピロバクターは、228検体中137検体 (60.1%) より検出され、全体の平均菌数

は、 $1.53 \log_{10}$ CFU/g、最大菌数は $4.32 \log_{10}$ CFU/gとなり、昨年度の一般流通鶏肉製品と比べ、相対的に高い菌数分布を示した。また、 $<0.5 \log_{10}$ CFU/g, $0.5-1.0 \log_{10}$ CFU/g, $1.0-1.5 \log_{10}$ CFU/g, $1.5-2.0 \log_{10}$ CFU/g, $2.0-2.5 \log_{10}$ CFU/g, $2.5-3.0 \log_{10}$ CFU/g, $3.0-3.5 \log_{10}$ CFU/g, $3.5-4.0 \log_{10}$ CFU/g, $4.0-4.5 \log_{10}$ CFU/gに区分した際、各区分には91検体 (39.9%)、5検体 (2.2%)、26検体 (11.4%)、14検体 (6.1%)、25検体 (11.0%)、24検体 (10.5%)、16検体 (7.0%)、15検体 (6.6%)、12検体 (5.3%) が分布した。

1.2. 日齢別比較

昨年度の一般流通鶏肉製品を対象とする検討の結果として、飼育日数が75日以上の子生鳥由来製品検体では本菌の検出成績が有意に低い状況であったことを踏まえ、今年度収集した卸売形態で流通した鶏肉検体におけるカンピロバクター検出菌数についても同様に日齢別の比較解析を行った。その結果、飼育日数75日未満の肉用若鳥肉製品 (含銘柄鶏肉) 91検体の平均菌数は $2.19 \log_{10}$ CFU/g、飼育日数75日以上を経て出荷された成鶏、地鶏肉製品64検体の平均菌数は $1.60 \log_{10}$ CFU/gとなり、有意差は認められたものの、共に群内でのバラツキは大きい状況であった。各検体情報を確認する中で、特定の食鳥処理場由来の食鳥肉計40検体では相対的に高い菌数を示すことが見出されたため、これらを除外して再度比較検討を行ったところ、75日齢未満の肉用若鳥肉製品71検体、75日齢以上の成鶏・地鶏肉製品44検体の平均菌数はそれぞれ $2.01 \log_{10}$ CFU/g、 $0.77 \log_{10}$ CFU/gとなり、両群のカンピロバクター陰性検体数 (群内比

率)はそれぞれ16検体(22.5%)、24検体(54.5%)となった。

1.3. 衛生指標菌検出状況

供試検体のうち、140検体については衛生指標菌(一般細菌数、腸内細菌科菌群)の定量検出試験を平行実施した。計140検体における一般細菌数平均値は $5.40 \log_{10}$ CFU/g、腸内細菌科菌群数の平均値は $3.84 \log_{10}$ CFU/gであり、それぞれの最大検出菌数は $7.70 \log_{10}$ CFU/g、 $6.30 \log_{10}$ CFU/gであった。

日齢別比較を行ったところ、それぞれの衛生指標菌数に有意差は認められなかった。また、ある施設由来検体を除外した場合にも同様に日齢間での有意差は認められなかった。なお、1施設由来の成鶏肉検体については一般細菌数、腸内細菌科菌群数ともに最も高い値を示した。但し、当該検体は何れもカンピロバクター不検出であった。

1.4. カンピロバクター・衛生指標菌間での定量検出結果に関する相関性

上項で検討対象とした計140検体におけるカンピロバクター及び2種の衛生指標菌の定量検出結果に係る相関性を評価したところ、一般細菌数とカンピロバクターの定量検出成績間での相関係数は0.23に留まったほか、腸内細菌科菌群とカンピロバクターの定量検出成績間での相関係数も0.34となるなど、カンピロバクターと衛生指標菌の定量検出結果に明確な相関性は認められなかった。

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. TEMPO法の包含性及び排他性

ビオメリュー・ジャパンの報告資料では、

供試したカンピロバクター・コリ 21株(鶏、豚及び環境材料由来)、カンピロバクター・ジェジュニ 25株(鶏、カラス、七面鳥、ホロホロチョウ、牛由来)、カンピロバクター・ラリ 4株(鶏、カモメ由来、不明)の全株に反応(41.5°C培養)することが記載されている一方で、カンピロバクター・フェタス 2株(鶏由来)、カンピロバクター・アップサリエンティス 2株(糞由来)反応(41.5°C培養)しないこと、また、アシネトバクター 3株(鶏、卵由来)、アルコバクター 6株(羽毛、鶏肉、糞由来、不明)、エロモナス 1株(不明)、サイトロバクター 1株(鶏由来)、エンテロバクター 1株(環境由来)、その他、大腸菌など、多くの菌に対して反応しないことが記載されていた。ただし、一部のラルストニア属株には反応(41.5°C培養)することが記載されていた。なお、当該属菌の鶏や鶏肉製品における汚染状況に関する文献情報はなかった。なお、当所で保存しているカンピロバクター・フェタス 1株を 37°Cで 48 時間培養した場合には、TEMPO法で明瞭な反応が認められた。

2.2. 鶏肝臓

昨年度と今年度に供試した計 189 検体について、ISO法に準じた定量試験法及びTEMPO法を実施した結果、31 検体では両試験法でカンピロバクターが検出されず、5 検体ではどちらかの試験法のみで検出され、153 検体では両試験法で検出されたが、3 検体は両試験法で定量限界値以上(ISO法： >4.8 、TEMPO法： >4.7)であった。

1 試験法のみ検出された検体の内訳は、3 検体では TEMPO 法のみ検出され、残りの 2 検体では ISO 法のみ検出されたが、いず

れも定量限界値又は定量限界値付近の低汚染検体であった。両試験法で定量値が得られた 150 検体については、高い相関性 ($R^2=0.91$) が認められた。カンピロバクターが検出された検体におけるカンピロバクター数の分布 (ISO 法の数値を使用: 156 検体) については、 $2.0-2.5 \log_{10}$ CFU/g であったものが最も多かったが (54 検体)、 $3.0 \log_{10}$ CFU/g 以上であった検体は、16.0% (25/156) であった。検出されたカンピロバクターは、ジェジュニ又はコリであった。

胆嚢内胆汁におけるカンピロバクター菌数と鶏肝臓との関連性を検討するために、2 か所の食鳥処理場において、7 鶏群の各 5 羽から盲腸内容物、肝臓及び胆嚢内胆汁を採取した。胆嚢内胆汁からカンピロバクターが検出された鶏個体の肝臓からカンピロバクターが検出され、また、肝臓からカンピロバクターが検出された鶏個体の盲腸内容物からカンピロバクターが分離されたが、菌数との関連性は認められなかった。

また、同一鶏群であっても、個体によって肝臓のカンピロバクター汚染濃度が異なり、100 倍以上の差が認められる鶏群が存在した。検出されたカンピロバクターは、ジェジュニ又はコリであった。

2.3. 鶏皮

今年度に供試した計 122 検体について、ISO 法に準じた定量試験法及び TEMPO 法を実施した結果、43 検体では両試験法でカンピロバクターが検出されず、12 検体ではどちらかの試験法のみで検出され、67 検体では両試験法で検出された。1 試験法のみ検出された検体の内訳は、5 検体では TEMPO 法のみ検出され、残りの 7 検体で

は ISO 法のみ検出されたが、いずれも定量限界値又は定量限界値付近の低汚染検体であった。両試験法で定量値が得られた 67 検体については、高い相関性 ($R^2=0.97$) が認められた。カンピロバクターが検出された検体におけるカンピロバクター菌濃度の分布 (ISO 法の数値を使用: 74 検体) については、 $1.0-1.5 \log_{10}$ CFU/mL であったものが最も多かったが (18 検体)、 $3.0 \log_{10}$ CFU/mL 以上であった検体は、4.1% (3/74) と 3 桁以上の汚染は 5%以下であった。カンピロバクターが検出された鶏皮における菌数分布を成鶏 (採卵を終えた採卵鶏: 36 検体) と肉用鶏 (38 検体) に分けると、両者の菌数分布は大きく異なり、成鶏由来鶏皮の平均汚染菌数は $1.77 \log_{10}$ CFU/mL で $1.0-2.0 \log_{10}$ CFU/mL の範囲に 56% (20/36) の検体が入ったが、肉用鶏由来鶏皮の平均汚染菌数は $1.07 \log_{10}$ CFU/mL で 63% (24/38) の汚染菌数は、 $1.0 \log_{10}$ CFU/mL 未満であった。なお、1 mL あたり 3 桁以上の汚染が認められた鶏皮はすべて成鶏であった。成鶏由来鶏皮のカンピロバクター菌数は、肉用鶏由来鶏皮に比べ有意に多かった (ウェルチの t 検定: $P<0.01$)。検出されたカンピロバクターは、ジェジュニ又はコリであった。

最も多く供試したムネ肉製品について、食鳥処理場毎に分析を行った。肉用鶏由来のムネ肉製品は 8 か所の食鳥処理場 (A~H) (すべて脱羽フィンガーを用いた脱羽と内臓は中抜き方式) で包装・出荷されていたが、カンピロバクター検出状況は、各食鳥処理場で異なり、B 処理場では、肉用鶏群のカンピロバクター感染率が高いと考えられている 8-10 月に検体を採取している

にも関わらず、6 検体すべてカンピロバクターが検出されなかった。一方、H処理場では、肉用鶏群のカンピロバクター感染率が低いと考えられる 11-3 月に検体を採取したにも関わらず、6 検体中 4 検体からカンピロバクターが検出された。

また、D 食鳥処理場と F 処理場では、ムネ肉製品を採取した際に、製品の由来となった鶏群の盲腸内容物（各 5 羽）も採取しており、鶏皮からカンピロバクターが検出された鶏群では全 5 羽の盲腸内容物からカンピロバクターが分離された。また、D 処理場の製品は、盲腸内容物からカンピロバクターが検出された鶏群から製造されたものであってもカンピロバクターが検出されないことがあるなど、F 処理場の製品より汚染菌数が低い傾向が認められた。

成鶏由来の胸肉製品は 4 か所の食鳥処理場（I~L）（すべて脱羽フィンガーによる脱羽と外剥ぎ方式）で包装・出荷されていた。肉用鶏由来製品と異なり、8-3 月の間を通じて汚染率が高かった。I 処理場を除く食鳥処理場では、製品の由来となった鶏群の盲腸内容物（各 5 羽）も採取（計 26 鶏群）しており、1 鶏群を除きカンピロバクターが検出された。

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. 鶏肉加工品からの *Salmonella* 検出状況

Salmonella は、供試検体 95 検体中 30 検体 (31.6%) から分離された。また、*Salmonella* は、冷蔵品から分離されたが、冷凍品からは分離されなかった。冷蔵のつみれからの分離率が高かった。

3.2. 汚染 *Salmonella* 菌量の定量

鶏肉加工品を汚染する *Salmonella* の菌量を MPN 法(3 本法)で測定した結果、*Salmonella* の汚染菌量は、 $<7.5 \sim 107.5$ CFU/25 g であった。MPN 法では検出されない菌量 (<7.5 CFU / 25g) のもの (63.3%) が最も多かった。

3.3. 分離された *Salmonella* の血清型

Salmonella 陽性検体 30 検体から 33 菌株が分離された。分離されたサルモネラ 33 菌株は、4 血清型に型別され、*S. Schwarzengrund* (60.6%) が最も多く、次いで *S. Infantis* (24.2%)、*S. Agona* (12.1%) ならび、*S. Manhattan* (3.0%) の順であった。

4. 畜産食品の加工工程におけるリスク低減手法とその効果に関する研究

4.1. 高圧処理後の加熱調理が焼き鳥の肉質変化に及ぼす影響

300 MPa の圧力で 10 分間処理した焼き鳥モモ串について、色調と硬度の変化を測定した。その結果、色調の明るさの指標である L 値は、高圧処理後に 10 分間の加熱調理をした場合 21~49.7、高圧処理を行わずに 10 分間の加熱調理をした場合 23.9~44.8 であり、差は見られなかった。赤みの指標である a 値は、高圧処理後に 10 分間の加熱調理をした場合 0.7~2、高圧処理を行わずに 10 分間の加熱調理をした場合 0.9~3.3 であり、高圧処理を行う方がやや低くなる傾向が見られた。黄色みの指標である b 値は、高圧処理後に 10 分間の加熱調理をした場合 2.4~9.7、高圧処理を行わずに 10 分間の加熱調理をした場合 5.9~12.9

であり、高圧処理を行う方がやや低くなる傾向が見られた。一方、高圧処理後に7分間の加熱調理をした場合L値は34.4~46.4、a値は2~5.2、b値は7.8~14.6となり、高圧処理を行わずに7分間の加熱調理をした場合のL値22.4~40.6、a値1~3.9及びb値6.4~10.5と比較していずれもやや増加する傾向が見られた。また、高圧処理後に5分間の加熱調理をした場合L値は26.1~47.2となり、高圧処理を行わずに5分間の加熱調理をした場合のL値13.1~57.5よりもやや低くなる傾向が見られた。高圧処理後に5分間の加熱調理をした場合のa値は1.7~4.9となり、高圧処理を行わずに5分間の加熱調理をした場合のa値0.7~4.6と差は見られなかった。高圧処理後に5分間の加熱調理をした場合のb値は6.4~15.2となり、高圧処理を行わずに5分間の加熱調理をした場合のb値2.7~12.5と比較してやや増加する傾向が見られた。一方、いずれの検体も肉眼的には高圧処理の有無による加熱調理後の色調変化は強く感じられず、高圧処理による色調変化の影響は大きくなかった。

硬度の指標である最大破断点(N値)は10分間の加熱調理によって、高圧処理を行った検体では12.941~19.534で、高圧処理を行わなかった検体の8.22~19.46と同程度であった。7分の加熱調理では、高圧処理を行った検体は11.528~18.373であり、高圧処理を行わなかった検体の9.268~19.604と同程度の硬度を示した。5分間の加熱処理では、高圧処理を行った検体は6.72~19.306であり、高圧処理を行わなかった検体の9.50~18.921と比較して差は見られなかった。

4.2 高圧処理の焼き鳥に対する細菌の低減効果

焼き鳥モモ串を自然汚染している細菌に対する、高圧処理の菌数低減効果を調べた。加熱調理時間が10分及び7分の場合、高圧処理の有無にかかわらず全検体の生菌数及び腸内細菌科菌群数が検出限界未満となった。加熱調理時間が5分の場合、高圧処理を行わなかった検体では未加熱検体の生菌数6.51 log CFU/gから加熱調理後に2.82 log CFU/gに低減した。一方、高圧処理を行った検体では全て検出限界未満となった。腸内細菌科菌群については、5分の加熱調理により高圧処理の有無にかかわらず検出限界未満となった。今回用いた検体は、全てサルモネラ属菌及びカンピロバクターが陰性であり、高圧処理後の加熱調理の効果は判定できなかった

D. 考察

卸売流通過程の製品の約40%はカンピロバクター不検出であり、昨年度の一般流通製品(63%)と比べ、相対的に低値であった。結果の単純比較は困難ではあるが、卸売流通段階から一般流通段階の間では多くの場合、再包装がなされるなど、その後の加工処理がカンピロバクター検出比率に影響を及ぼす一つの要因となった可能性があるかと推察された。また、飼育日齢の別による比較解析では、昨年度の成績とは異なる面も含まれたものの、カンピロバクター検出菌数は75日齢以上の鶏肉製品で総じて低い傾向が認められた。ただし、特定の食鳥処理場由来検体の汚染菌数は飼育日齢によらず相対的に高い状況であり、これらを除

外することで日齢別の有意差は増加を示し、本菌の汚染菌数は食鳥処理場での衛生管理状況により大きく影響を受けることを示唆しており、上述の施設における衛生管理実態については今後精査する必要があると考えられる。さらに、一部検体を対象とした衛生指標菌検出結果は、カンピロバクター検出菌数との間で相関性を認めなかった。このことは、衛生指標菌によってカンピロバクター汚染状況を把握することは困難であり、リスクを評価し、適切に管理するためには、少なくとも製品に対するカンピロバクター試験を実施することが望ましいと考えられる。

TEMPO 法による迅速定量試験法については、当該キットの輸入元から入手した情カンピロバクター属菌株及びその他多種の菌株との反応性に関する資料から、当該キットの包含性及び排他性は高いと考えられた。ISO 法に準じた定量試験法との比較試験によって、鶏肝臓及び鶏皮を検体とした場合の有用性が確認された。ただし、今年度はムネ肉とモモ肉の皮を使用した。モモの皮は、ムネと比べて厚い部分と薄い部分が存在すること、また、脂肪が多く付着していることから、試料調整時の作業者によって最終試料の状態に大きなバラツキが生じる可能性があるため、ムネ肉の皮の方が検体として適当であると思われた。

鶏皮の汚染状況について、肉用鶏由来の場合は、これまでの研究報告と同様に検出率、汚染濃度が低い検体が多い一方で、成鶏由来では、肉用鶏と異なり、検出率が高く、また、汚染濃度が $1.0 - 2.0 \log_{10}$ CFU/mL の範囲であるものが多くを占めた。今回、4 か所の成鶏の食鳥処理を専門

とする食鳥処理場でムネ肉を採取したが、食鳥処理場間で汚染濃度に違いは認められなかった。成鶏肉の調査は、食鳥処理場との交渉もあり、8 月から開始したが、年度末の3月までカンピロバクター検出率は高値を維持し、盲腸内容物の検査結果から、鶏群の感染率も高値を維持していると考えられた。成鶏のカンピロバクターの感染状況に関する知見は極限られているが、感染率は1年を通じて高率であると考えられ、その結果として成鶏肉のカンピロバクター検出率も1年を通じて高率を維持していると考えられる。

近年、成鶏肉も「おやどり」と称され、鶏肉専門店でも販売され、また、ネット通販でも入手することが可能となっている。また、国産鶏肉に占める成鶏肉の割合は1割弱である。このため、鶏肉のカンピロバクター汚染実態調査では、肉用鶏に由来する鶏肉だけでなく、成鶏肉も加える必要があると考えられた。

つみれや肉団子といった鶏肉加工品は、高度に *Salmonella* に汚染されているものの、多くはMPN法で検出できない菌量であった。ただし、高汚染 (107.5 CFU/25g) の製品もあったことから、つみれや肉団子といった鶏肉加工品の取り扱いには注意が必要である。血清型は、*S. Schwarzengrund* (60.6%)が最も多く、次いで *S. Infantis* (24.2%)、*S. Agona* (12.1%) ならびに *S. Manhattan* (3.0%)の順であった。これらの血清型の比率は、国産鶏肉由来 *Salmonella* と近似であるため、鶏肉加工品を汚染する *Salmonella* は原材料の鶏肉由来である可能性の高いと考えられた。焼き鳥用モモ串を調査対象とした場合、加

熱不十分と考えられる 200℃、5 分の加熱調理単独では、約 3 log₁₀ CFU/g の生菌数が認められたが、加熱調理前に高圧処理（300MPa、10 分）を追加した場合には、生菌数は検出限界値以下となった。また、当該高圧処理を追加した場合でも、加熱調理単独と比べて品質（色調及び硬度）に大きな変化は認められなかった。以上の結果から、焼き鳥の加熱調理前の高圧処理が加熱不十分な焼き鳥による食中毒発生を減らしうる可能性が示された。

E. 結論

卸売時の包装形態である鶏肉製品の約 40%はカンピロバクターが未検出であったものの、陽性検体における最大菌数が 4.32 logCFU/g であったなど、リスク評価に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。但し、一部施設由来製品検体では日齢の別に因らず、高い汚染菌数を示す等、当該食鳥処理場における衛生管理の不備が示唆される結果も得られた。また、供試検体における衛生指標菌検出菌数分布はカンピロバクター検出菌数と明確な相関を示さず、衛生指標菌検査による本菌汚染状況の把握は困難であり、本菌の定量試験法を喫緊に整備する必要があると考えられた。迅速定量試験法については、今年度の成果により、鶏肝臓と鶏皮を検体とした場合、TEMPO 法は ISO 法に準じた定量試験

法と同等な試験結果が得られることが確認され、TEMPO 法を用いることで、効率的にカンピロバクターの定量的実態調査を実施できると考えられた。鶏肉加工製品（つみれ、肉団子）におけるサルモネラ汚染については、多くは低汚染であるが、高汚染(107.5 CFU/25g)のものがあつたことから、取り扱いには注意が必要である。高圧処理の利用可能性については、焼き鳥の加熱調理前の高圧処理が加熱不十分な焼き鳥による食中毒発生を減らしうる可能性が示された。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

1.1. 佐々木貴正、上間匡、百瀬愛佳、米満研三、浅井鉄夫、朝倉宏. 2 食鳥処理場におけるブロイラー群及び胸肉のカンピロバクター及びサルモネラ汚染状況と薬剤耐性. 鶏病研究会報. 第 56 巻 : 153-158.

2. 学会発表

2.1. 山本詩織、朝倉宏. 異なる調理機器を用いた低温加熱調理による微生物汚染低減効果の比較. 日本食品衛生学会第 116 回学術講演会(2020 年 11-12 月)(WEB 開催).

2.2. 米満研三、佐々木貴正、上間匡、朝倉宏. 市販鶏レバーにおけるカンピロバクター汚染の定量調査. 第 13 回日本カンピロバクター研究会総会(2020 年 10 月)(WEB 開催).

2.3. 佐々木貴正、米満研三、上間匡、朝倉

宏. 廃鶏におけるカンピロバクター汚染と
薬剤耐性. 第 13 回日本カンピロバクター
研究会総会(2020年10月) (WEB開催).

H. 知的財産権の出願・登録状況
なし