平成 30 年度厚生労働行政推進調査事業費(食品の安全確保推進研究事業) 「小規模事業者における HACCP 導入支援に関する研究」 分担研究報告書

大規模食鳥処理場及び食鳥肉加工施設における生食用食鳥肉の 製造加工を通じたカンピロバクター汚染挙動に関する研究

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 中馬猛久 鹿児島大学共同獣医学部

研究協力者 山田耕一 鹿児島県知覧食肉衛生検査所

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 関 享子 国立医薬品食品衛生研究所食品衛生管理部

研究要旨:南九州地方の大規模食鳥処理場並びに併設される食鳥肉加工施設におけ る生食用食鳥肉の製造加工に係る工程管理実態を調査し、工程管理情報の収集及び 各工程管理の微生物学的評価を行った。冷却後食鳥とたい首皮におけるカンピロバ クター属菌数は平均 9.7x10¹CFU/10g (4~240CFU/10g)、腸内細菌科菌群数は 平均 $2.8 \times 10^3 \text{CFU}/10 \text{g}$ ($3.6 \times 10^2 \sim 6.8 \times 10^3 \text{CFU}/10 \text{g}$) と低値であった。また、 異なる保存時間を経た食鳥部分肉を用いて、同検体表面から内部へのカンピロバク ター浸潤性を評価したところ、当該施設の管理要件である 16 時間以内であれば、 カンピロバクターの表面汚染が 10^3 CFU 未満であった場合の内部浸潤は表面下 5 mm迄に留まることが示された。食鳥肉加工工程では対象部分肉の別に応じた表面加 熱処理が行われている実態を把握した。温度挙動測定を通じ、焼烙では皮付きモモ 部分肉の表面下 10mm 地点まで 75℃以上の温度上昇が確認されたほか、92℃温 浴を通じたボイルでは皮剥ぎムネ部分肉の表面下 5 mm地点まで 60℃以上を 32 秒 間以上保持された。本菌の D60 が 0.2~0.3 分であることから、少なくとも同条件 のボイルにより1オーダー以上のカンピロバクター低減が図られると試算された。 一方、市販のブロイラー食鳥部分肉を対象として、同様の条件でボイル加熱を行っ ても、カンピロバクターの完全な殺菌には至らず、処理工程を含めた総合的衛生管 理が必要であることが示された。以上より、食鳥処理工程では冷却後とたい首皮 10 g 中にカンピロバクターが 100CFU/ g 未満となるよう微生物汚染低減に資する 衛生管理を行うこと、食鳥肉加工工程ではカット後 16 時間以内の食鳥部分肉を受 け入れ、皮付きの食鳥部分肉では、表面下 5 mm地点を 60℃・30 秒以上加熱殺菌す ること等が対象施設での管理基準として機能していることが示された。

A. 研究目的

南九州地方で製造加工される鳥刺し等の

生食用食鳥肉については、食鳥処理或いは 食鳥肉加工工程で表面を加熱殺菌すること が管轄自治体よりガイドラインとして発出されている。一方、大都市圏で消費され、カンピロバクター食中毒の主たる原因食品と目される鳥刺し等は、通常の加熱用食鳥肉を調理段階で生食に転用する例が多い。過去の厚生労働科学研究では、南九州地方の認定小規模食鳥処理場における微生物動態に関する知見を収集したが、同地方にある大規模食鳥処理場でも異なる工程で生食用食鳥肉の製造加工を実施する実態を把握した。

本研究では、当該大規模食鳥処理場及び 併設される食鳥肉加工施設での処理工程を 通じたカンピロバクターの汚染動態を把握 すると共に、微生物汚染低減手法の有効性 について評価を行ったので報告する。

B. 研究方法

1. 製造工程フローの確認並びに採材工程 箇所の選定

南九州地方に所在する大規模食鳥処理場及び同食鳥肉加工施設における製造工程フローの提供を受け、当該施設の製造工程を視察した。その上で、平成30年度厚生労働省実証事業において採材すべき工程を抽出し、提案することとした。

2. 冷却後食鳥とたい首皮を対象としたカンピロバクター及び腸内細菌科菌群の定量 検出試験及び食鳥とたいの電子顕微鏡観察

冷却後とたい 5 羽より首皮 10 g を採材 し、ISO 10272-2:2017 及び ISO 21528 -2:2017 に従い、カンピロバクター及び腸 内細菌科菌群の定量検出試験を行った。

また、脱羽後及び内外洗浄後の食鳥とたい代表例から首皮部分を採材し、グルタル

アルデヒド固定後、走査型電子顕微鏡により検体表面像を撮影し、微生物の付着状況 を比較した。

3. 表面加熱工程を通じた食鳥部分肉における温度挙動測定

当該食鳥処理施設では食鳥部分肉に対して表面焼烙を行う装置を用いていた。本工程を通じた部分肉表面並びに内部の温度挙動を測定するため、耐熱性温度ロガーHiTemp140-TSK(MadgeTech, US)を食鳥部分肉検体の測定部位に穿刺し、工程を通じた温度挙動を測定した。また、食鳥ムネ肉を92℃温浴(湯煎)する際の検体表面及び内部(表面下5mm,10mm,15mm,20mm)における温度挙動についても、上記温度ロガーを用いて測定した。

4. 鶏モモ肉におけるカンピロバクター内 部浸潤性に関する検討

計 5 濃度の C. jejuni 懸濁液をメンブランフィルター上にトラップし、これを鶏モモ肉中央表面に付着させ、脱気包装後、1,3,16 時間冷蔵保存した。その後、フィルター部分を含む 5cm x 5cm 片に切り出し、滅菌メスを用いて表面下 2 cm地点迄を 5 mm間隔で切り出した。各細片について、ISO10272-1:2017 に従ってカンピロバクターの定性検出試験を行った。

5. 市販ブロイラー食鳥部分肉を用いたボイルによる微生物低減効果の評価

関東地域の食鳥肉加工・販売店で朝引き と銘打ってカット・販売される、ブロイラ ー食鳥部分肉 (モモ肉及びムネ肉、約 400g 重量/ブロック)を入手し、各検体の細菌数、 腸内細菌科菌群数、カンピロバクター属菌数を ISO 法により求めた。その後、92℃・90 秒のボイル加熱に供し、同様の細菌試験を行った。各検体の内訳は、ムネ肉が皮付きと皮剥ぎの両状態、モモ肉は皮付きの状態とし、各群4検体を試験に供した。

C. 研究結果

1. 食鳥処理工程の管理実態把握

生食用食鳥を処理する大規模食鳥処理場 A における工程フローを図1に示した。同 施設では、中抜き方式の処理工程を採用し ていたが、①年間約 780 万羽を処理し、う ち生食用は約 220 万羽を処理しているこ と、②生食用食鳥解体処理対象は成鶏であ ること、③生食用食鳥処理は加熱用とは区 別して先行実施していること、④脱羽直後、 内臓摘出後、内外洗浄後の3地点において 殺菌剤を噴霧し、微生物汚染低減対策を講 じていること、等が特徴として抽出された。 このほか、冷却工程では次亜塩素酸ナトリ ウムの点滴により 100ppm 以上の有効塩 素濃度と 5℃以下の管理目標を設定・運用 していた。また、冷却後とたいのカットは 概ね2時間以内に終了し、生食用は加熱用 と区別できるよう、専用のカゴに入れて、 5℃以下・16時間以内に食鳥肉加工に供す ることとしていた。

EU では 2018 年 1 月より、冷却後食鳥とたいの首皮を対象として、カンピロバクターの定量検出試験を行うことが製造基準として設定されている状況を踏まえ、国際整合の観点から、国際標準試験法として多くの諸国で採用されている ISO 10272-2:2017 及び ISO 21528-2:2017を用いて、冷却後食鳥とたい 5 羽より首皮

10g を採材し、カンピロバクター及び腸内細菌科菌群の定量検出試験を実施した。結果として、カンピロバクターは全検体より検出されたが、その菌数は平均9.7 \times 10¹CFU/10g(最少4~最大240CFU/10g)に留まっていた。また、腸内細菌科菌群数は平均2.8 \times 10³CFU/10g(最少3.6 \times 10²~最大6.8 \times 10³CFU/10g)であった(図3)。

2. 食鳥肉加工施設における工程管理概要項1.で処理された食鳥部分肉を原料として、併設される食鳥肉加工施設Bでは生食用食鳥肉の製造加工を行っていた。その工程フローの概要は、受け入れ⇒表面加熱(部位・形状等により異なるが、ボイルまたはバーナー焼烙)⇒真空冷却⇒検品⇒カット・包装⇒保管・出荷となっていた。

生食用食鳥肉の加工工程では、表面加熱を行うことが必須となっていることが特徴として挙げられた。また、加熱前の部分肉の形態はモモ肉では皮付きの状態、ムネ肉では皮付き、皮剥ぎの双方が主体であった。ボイルの適用対象は主として皮剥ぎムネ肉・モモ肉であり、92℃以上の熱湯を攪拌しながら、部位により異なる処理時間を設定して表面加熱殺菌処理を行っていた(図4)。

バーナー焼烙では、約1,300℃(火炎温度)の専用バーナーをベルトコンベアの上下から焼烙し、処理時間の管理を行うことで、確認を行っていた(図5)。同処理の主な対象は、皮付きムネ肉・モモ肉であり、皮付きモモ肉についてはボイルと焼烙を併用していた。

加熱後の真空冷却は、40 分以内に 5℃以

下に冷却することを管理基準目標としていた。カット工程では2時間に1回以上、包丁・俎板等を消毒していたほか、出荷前保管は冷蔵温度帯では4℃以下、冷凍温度帯では9時間以上-30℃以下となるよう温度管理を行っていた。

3. 食鳥部分肉(原料)の保存時間がカンピロバクター内部浸潤に与える影響に関する検討

対象食鳥処理場では、部分肉としてカットした後、最大 16 時間 5℃以下の温度帯で冷蔵保存を行い、その後、併設する食鳥肉加工施設へ原料として搬出していた。同保存条件が、微生物の内部浸潤に与える影響を評価するため、異なる保存時間(カット後の保存時間)の食鳥部分肉(モモ肉)にカンピロバクターを実験的に接種し、3時間冷蔵保存後の同検体内部における被験菌検出状況を求めた(図 6)。表 1 に示すように、保存時間の延長に伴い、被験菌は内部浸潤性の亢進を示したが、接種菌数が10²オーダー以下であった場合には16時間保存後の検体においても、表面から5 mm迄の検体表層領域に被験菌は滞留していた。

以上の結果より、表面加熱工程に供する原料部分肉については10²オーダー以下の菌数の確保が、カンピロバクターの内部浸潤を制御する上で重要な要点となること、更には、表面加熱殺菌による効果を評価する上では表面から5mm内部地点の温度を検証する必要性が示された。

4. 表面加熱殺菌工程を通じた食鳥部分肉における温度挙動

ボイル及びバーナー焼烙それぞれの表面

加熱殺菌工程を通じた、食鳥部分肉におけ る温度挙動について、耐熱性温度ロガーを 用いて測定したところ、焼烙では皮付きモ モ肉の表面下 10mm 地点まで 75℃以上の 温度上昇が確認されたが、ボイルでは皮剥 ぎムネ肉表面 20 mm地点は室温程度までの 上昇に留まった(図 7A)。なお、協力施設 のボイル槽内では処理工程に攪拌を行うた め、検体内部に設置した温度ロガーの固定 化が困難であったため、自動攪拌機能を有 する実験用温浴槽中で同様の皮剥ぎムネ肉 を 92℃・90 秒湯煎加熱後、自然放冷させ た場合の検体内外の温度挙動を測定した。 その結果、表面から 5 mm地点までは 60℃ 以上を少なくとも 32 秒間保持することが 確認された (図 7B)。

以上の結果より、条件を定めた表面焼烙は表面から5mm以上内部を安定的に加熱殺菌する効果を有すること、また92℃・90秒間のボイルは表面から5mm内部の地点をカンピロバクターのD60値である12~18秒を上回る殺菌条件であることが示された。

5. 92℃温浴槽内でのボイル処理を通じた、一般的なブロイラー食鳥部分肉における自然汚染カンピロバクター及び指標菌の汚染低減効果の評価

同施設でカットされた部分肉における自然汚染微生物のボイル等による低減効果については、本年度の厚生労働省実証事業により検討されているため、本研究では評価対象外とした。代替として、広く国内に流通し、時として鳥刺し等に転用されるブロイラー食鳥ムネ肉(皮付き・皮剥ぎ、各400g/検体)及びモモ肉(皮付き、同重量)を対象とした場合に、92℃で 90 秒間ボイ

ルすることにより、カンピロバクターの制御が果たし得るかを検討した。

加熱前の皮付きムネ肉では、1 検体あたり細菌数が $4.5 \times 10^4 \pm 7.2 \times 10^3 \text{CFU}$ 、腸内細菌科菌群数が $5.1 \times 10^2 \pm 1.3 \times 10^2 \text{CFU}$ 、カンピロバクター菌数は $1.6 \times 10^2 \pm 4.5 \times 10^1 \text{CFU}$ であった(図 8)。皮剥ぎ後の各菌数はそれぞれ $2.9 \times 10^4 \pm 6.1 \times 10^3 \text{CFU}$ 、 $4.5 \times 10^2 \pm 1.5 \times 10^2 \text{CFU}$ 、 $6.9 \times 10^1 \pm 2.8 \times 10^1 \text{CFU}$ であった。ボイル加熱後には細菌数が $3.2 \times 10^2 \pm 1.6 \times 10^2 \text{CFU}$ と大きく低減したが、腸内細菌科菌群及びカンピロバクターは4検体中1検体で共に $1.0 \times 10^0 \text{CFU}$ の検出を認めた(図 8)。

食鳥モモ肉では皮付きの状態のみを対象としてボイル加熱を通じた微生物動態を検討した。加熱前検体の細菌数、腸内細菌科菌群数、カンピロバクター菌数はそれぞれ $7.0\times10^4\pm1.7\times10^4$ CFU、 $6.0\times10^2\pm1.3\times10^2$ CFU、 $8.5\times10^1\pm2.9\times10^1$ CFU(何れも検体あたりの菌数)であったが、ボイル加熱後には細菌数は $1.0\times10^3\pm5.2\times10^2$ CFUとなり、腸内細菌科菌群及びカンピロバクターは 4 検体中 1 検体で陽性を示した(5×10^0 CFU または 1.0×10^1 CFU)(図8)。

以上の成績から、一般的なブロイラー食 鳥部分肉を対象とした場合、92℃・90 秒 間でのボイルのみでカンピロバクター等を 完全に制御するには至らないこと、特にモ モ肉では微生物汚染低減効果がムネ肉に比 べて低いこと等が示された。

D. 考察

本研究では南九州地方の大規模食鳥処理 場並びに併設される食鳥肉加工施設の協力 を得て、同施設で製造加工される生食用食 鳥肉の工程を通じたカンピロバクター汚染動態に関する知見、並びに管理基準等について微生物学的観点から評価を行った。

食鳥処理工程では殺菌剤噴霧について特 徴的な形が見受けられた。すなわち、脱羽 工程直後をはじめとする工程箇所への殺菌 剤の適用はわが国では実績はない。一方、 冷却工程後のとたい首皮からのカンピロバ クター及び腸内細菌科菌群の検出状況は概 して低い値であった。こうした微生物汚染 制御を果たしうる、その他の要因としては、 原料とする食鳥の種別が成鶏であることも 影響を及ぼしている可能性も挙げられる。 諸外国を含めて、ブロイラーの育成日数(約 50日)に合わせたカンピロバクターの腸管 内定着動態については数多くの報告がある が、より長期育成を行う成鶏等の腸管内に おいて本菌がどのような定着動態を顕すか については、明確な知見が得られておらず、 その実態把握は今後検討すべき事項の一つ と思料される。

食鳥肉加工工程では、部分肉表面を加熱 殺菌する工程が特徴的であった。本工程で は、焼烙またはボイルのいずれかが採用さ れていたが、前者は比較的深部まで熱が伝 導されるのに対し、後者は表面からわずか な熱伝導にとどまっていた。部位別では、 モモ肉がムネ肉に比べて相対的に微生物汚 染が生じやすいこと、また、モモ肉は通常 皮付きの状態で製品化される一方、ムネ肉 については皮を剥いだ形でも製品化されて いる状況等を踏まえ、表面加熱殺菌手法を 選定している状況を伺うことができた。

E. 結論

南九州地方で生食用食鳥肉の製造加工に 関わる大規模食鳥処理場及び併設される食 鳥肉加工施設において、製造加工工程の情 報収集並びに工程を通じたカンピロバクタ ーの挙動に関する検討を行った。

食鳥処理工程では冷却後とたい首皮 10 g中にカンピロバクターが 1000CFU 未満となるよう微生物汚染低減に資する衛生管理を行うこと、食鳥肉加工工程ではカット後 16 時間以内の食鳥部分肉を受け入れ、皮付き部分肉では、表面下 5 mm地点を60℃・30 秒以上加熱殺菌することが重要な管理要点として機能している実態が把握・検証された。

F. 研究発表

1. 論文発表 なし

2. 学会発表

- 1) 朝倉宏、森田幸雄、中馬猛久、中村 寛海. 食鳥肉におけるカンピロバクタ ー汚染制御と汚染探知への次世代シ ーケンサーの活用. 第161回日本獣医 学会学術集会. 2018年9月13日. 茨 城.
- 2) 朝倉宏、岡村雅史、中馬猛久、中山 達哉、佐々木貴正、村上覚史. 野鳥由 来Campylobacter jejuniは鶏腸管環 境に適応するか?第11回日本カンピ ロバクター研究会総会. 2018年12月 1日. 徳島.
- 3) 中村寛海、山元誠司、朝倉宏、梅田 薫、山本香織、小笠原準. 調理環境から採取したふきとり材料からのカン ピロバクター遺伝子の検出. 第11回

日本カンピロバクター研究会総会. 2018年12月1日. 徳島.

G. 知的財産権の出願・登録状況 なし

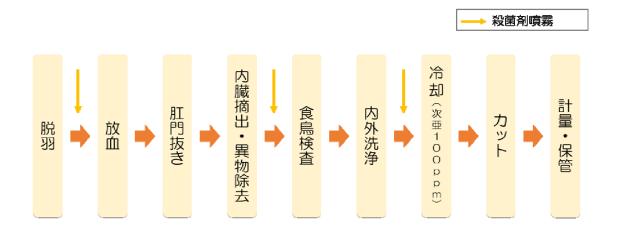


図1. 大規模食鳥処理場における工程フロー概要

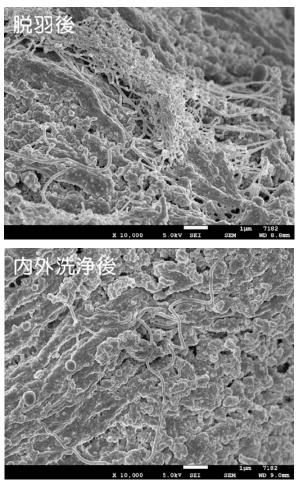


図 2. 脱羽後及び内外洗浄後の食鳥とたい表面の電子顕微鏡像

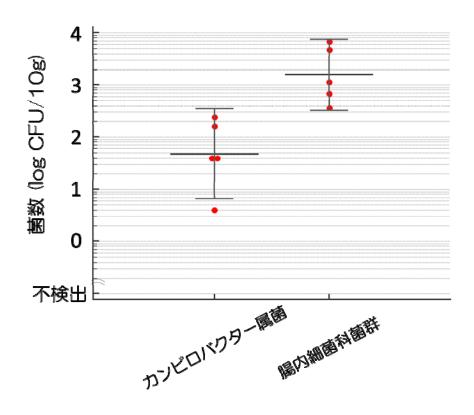


図3. 冷却後食鳥とたい首皮検体 10g における カンピロバクター属菌及び腸内細菌科菌群の定量検出成績

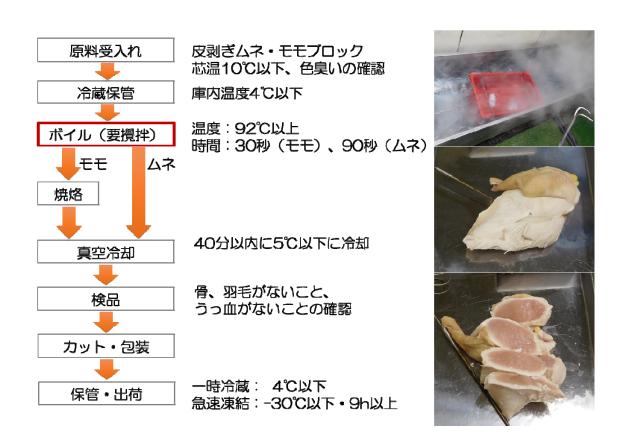


図4. ボイルによる食鳥部分肉(皮剥ぎムネ肉)の処理工程及び加熱処理後の検体像



図5. 焼烙による食鳥部分肉(皮付きモモ肉)の処理工程概要及び加熱処理後の検体像.

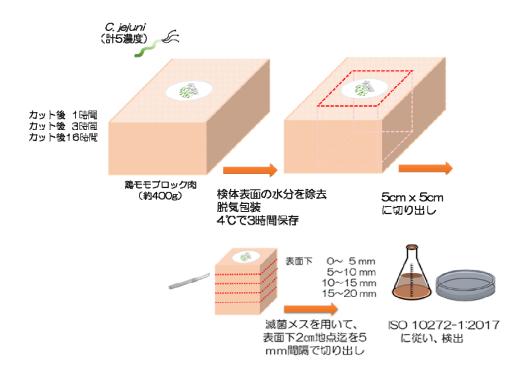
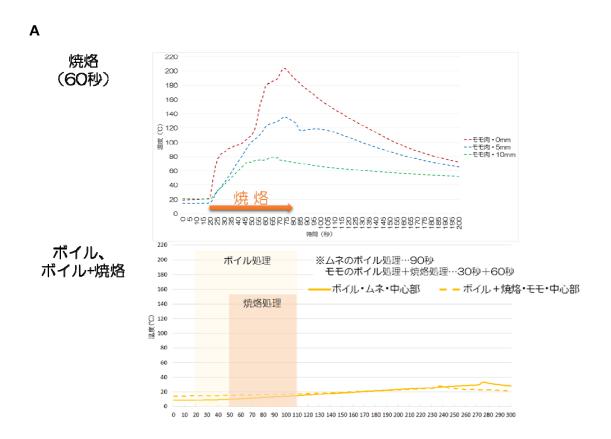


図6. 食鳥部分肉におけるカンピロバクターの内部浸潤性に関する検討フロー.



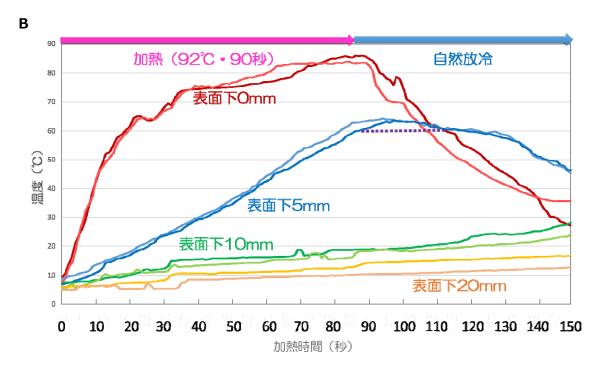
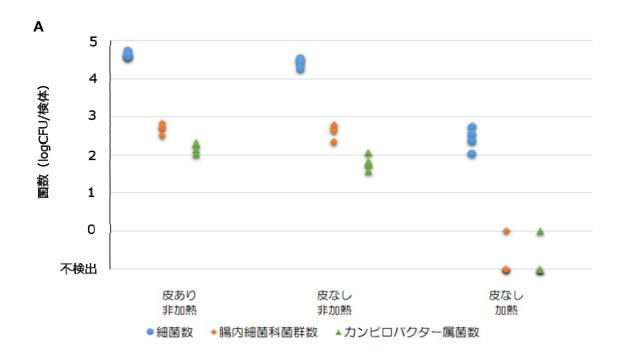


図7. 焼烙またはボイルによる表面加熱殺菌処理を通じた食鳥部分肉の温度挙動. A は施設 B の装置を用いた実検体の成績、B は 92℃の実験温浴槽を用いたボイル処理の成績を示す。





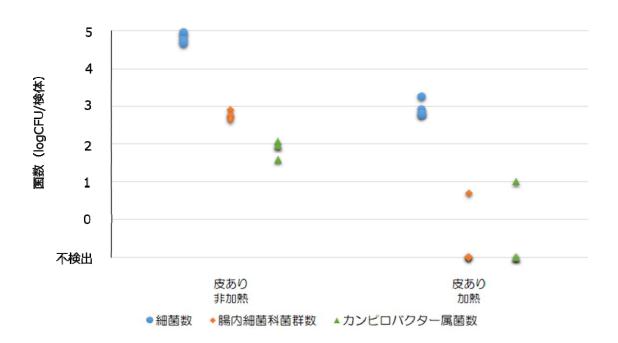


図8. 92℃で 90 秒間ボイルを通じた、市販ブロイラー食鳥部分肉における自然汚染カンピロバクター及び衛生指標菌の検出状況. セクション A はムネ部分肉、セクション B はモモ部分肉における自然汚染菌数を示す。

表 1. 保存時間の別による食鳥モモ部分肉でのカンピロバクター内部浸潤性.

カット後保存時間	採材地点	非接種群	10 ¹ 群	10 ² 群	10 ³ 群	10 ⁴ 群	10 ⁵ 群
1 時間	0- 5 mm	-	4/5	4/5	5/5	5/5	5/5
	5-10 mm	-	-	-	-	1/5	4/5
	10-15 mm	-	-	-	-	-	3/5
	15-20 mm	-	-	-	-	-	1/5
3 時間	0- 5 mm	-	4/5	5/5	5/5	5/5	5/5
	5-10 mm	-	-	-	1/5	2/5	5/5
	10-15 mm	-	-	-	-	2/5	5/5
	15-20 mm	-	-	-	-	1/5	5/5
16 時間	0- 5 mm	-	4/5	5/5	5/5	5/5	5/5
	5-10 mm	-	-	-	2/5	4/5	5/5
	10-15 mm	-	-	-	-	4/5	5/5
	15-20 mm	-	-	-	-	3/5	5/5

カンピロバクターの定性検出成績を陽性検体数/供試検体数で示す。"-"は陰性を意味する。