

と畜・食鳥処理場における HACCP 検証方法の確立と食鳥処理工程の
高度衛生管理に関する研究

分担研究項目:生食用食鳥肉の高度衛生管理に関する研究

分担研究者 中馬猛久

鹿児島大学共同獣医学部

研究要旨

南九州地方では生食用の食鳥肉が製造加工されており、管轄自治体は衛生管理に関するガイドラインを発出している。これまで大規模食鳥処理場・加工施設での衛生管理実態等については検討が進められ、望ましい衛生管理手法が提案されてきているが、同食品を取扱う施設の多くは認定小規模食鳥処理場であり、その処理工程には高度な衛生管理が望まれている。本分担研究では、認定小規模食鳥処理場における工程管理実態を把握しその問題点を抽出することによって、国産食鳥肉の更なる安全性確保の向上を図ることを目的とした。処理場搬入鶏のクロアカスワブ、脱羽後、チラー後、焼烙後、解体後の皮または肉、および最終製品、更に鶏盲腸内容物中のカンピロバクターを定量的に調査した。また必要に応じ、搬入鶏のカンピロバクター保菌状況調査、処理工程における環境、器具機材の汚染状況調査も実施した。本研究期間の調査では認定小規模食鳥処理場を調査することができ、それぞれの衛生管理状況が明らかになり、カンピロバクターによる汚染実態が明らかになった。小規模食鳥処理場における解体工程は一様でなく衛生管理状況もそれぞれ異なることがわかった。生食用食鳥肉生産処理過程でのカンピロバクター汚染阻止のためにはと体表面焼烙が有効であることが判明し、その上で焼烙後の交差汚染及び食肉部分への汚染を防ぐ措置も重要となることがわかった。それぞれの処理形態に則した適切な衛生管理手法の適用が生食用食鳥肉の高度衛生管理につながっていくものと思われる。

A 研究目的

平成 30 年の「食品衛生法」一部改正時に、と畜場・食鳥処理場における「HACCP に基づく衛生管理」が求められ、令和 2 年に施行されることになった。事業者団体等が衛生管理に関する手引書の作成にあたりが、その管理手法の構築が進んでいる。これまで、牛・豚・鶏それぞれについて、採材条件や試験方法については一定条件が設定されてきたが、検証を速やかかつ網羅的に評価するには多様な構造や工程を有する多くの施設を対象にしたデータの集積が不可欠

である。南九州地域では多くの認定小規模食鳥処理場で生食用の食鳥肉が加工生産されており高度な衛生管理が望まれているが、その処理工程は小規模であるがゆえに極めて多様な方法がとられており、適切な処理方法が確立していない。そこで、本分担研究では、様々な認定小規模食鳥処理場での多様な処理工程における衛生管理実態を把握しその問題点を抽出することによって、国産食鳥肉の更なる安全性確保に資することを目的とする。

B 研究方法

1. 調査した処理施設

鹿児島県内の認定小規模食鳥処理場のうち処理工程の異なる6箇所の処理場(A~K)を対象として調査を行った。それぞれの処理場の主な特徴を挙げ、処理工程の概略と調査回数を表1に示す。また、それぞれの処理工程の詳細は図1~11にも示す。なお、処理場Jは購入したヒナを自家農場で飼育していることを考慮し農場における鶏の保菌状況の調査も実施した。また、処理場Bは、加熱用鶏肉を取り扱う施設であり、と体表面加熱は行っていない。

2. 供試材料

処理場搬入鶏のクロアカスワブ、処理工程における鶏の皮または肉を材料として25g採取した。クロアカ(総排泄腔)スワブは滅菌綿棒によって採取した。解体加工工程から、脱羽後、チラー後、焼烙後、解体後にそれぞれ皮または肉を、また最終製品も採取した。さらに、それぞれの鶏の盲腸を結紮して採取した。解体処理工程におけると体のカンピロバクター汚染調査に加え、必要に応じてまな板などのふき取りによる環境調査や農場における保菌状況調査も実施した。J処理場に付属した飼育鶏舎(図10-2)における調査では、A、B、Cの3鶏舎から雌雄のクロアカスワブ4検体ずつ計24検体、環境検体として、供給される餌と水および飼育後の堆肥と敷料からそれぞれ2検体ずつ計8検体を得た。

3. カンピロバクターの分離・同定および定量

採取したクロアカスワブについて、カンピロバクターの存在の有無を調べるため、プレストン液体培地(Oxoid, Ltd.)10mlに接種し、増菌培養後、1検体につき1白金耳量をバツラー寒天培地(Oxoid, Ltd.)に画線塗布した。バツラー寒天培地上に発育したカンピロバクター様コロニーについて、位相差顕微鏡を用いてらせん状桿菌の性状を確認した上で、Mueller-Hinton(MH)寒天

培地(Oxoid)に1検体につき1コロニーを画線塗布し、純培養した。一連の菌分離にあたって、培養はすべて微好気条件下、42°C、48時間で実施した。菌種の同定には、*C. jejuni*の特異的プライマー(VS15/Vs16)、*C. coli*の特異的プライマー(CC18F/CC519R)を用いたPCR法により実施した。反応液組成は、計4種のプライマー保存溶液(各2pmol/μl)をそれぞれ2μlずつ、EmeraldAmp PCR Master Mix(TAKARA BIO, Shiga, Japan)10μl、滅菌蒸留水2μlと合わせ、20μl総量とし、これに1白金線量のコロニーを直接添加した後、反応を開始した。陽性コントロールには、*C. jejuni* ATCC 33560株、*C. coli* ATCC 33559株由来DNAを用いた。PCRは、94°C30秒、56°C30秒、72°C30秒の35サイクルで実施した。反応後のPCR産物は、1.5%アガロースゲル(AMRESCO, Ohio, US)で100V、60分電気泳動を行い、エチジウムブロマイド染色後に増幅断片の有無及び分子量を確認した。採取した鶏肉については、最確数(MPN)3本法を用いて、カンピロバクター菌数を推定した。鶏皮または肉25gとプレストン液体培地(Oxoid, Hampshire, UK)225mlを1分間ストマッキング処理し、検体懸濁液を調整した。その後、同懸濁液10mlを3本作成したほか、同懸濁液1ml、0.1mlをそれぞれ3本ずつプレストン液体培地9ml、9.9mlに接種し、10mlの10倍、100倍希釈液として培養した。その後、培養液より1白金耳をとり、バツラー寒天培地(Oxoid)に画線塗布し培養に供した。同定はクロアカスワブの場合と同様に実施した。

盲腸内容物におけるカンピロバクター菌数算定には平板希釈法を用いた。盲腸内容物0.5gを4.5mlのチオ硫酸ナトリウム緩衝ペプトン水で10倍希釈後、5段階の希釈液を作成した。各希釈液は各2枚ずつのmCCDA培地に平板培養した。微好気条件下で、42°C48時間で培養後、培地上の菌数を算定した。分離・同定はMPN3

本法と同様に実施した。

環境材料のスワブサンプルはクロアカスワブと同様にプレストンブロスにて増菌培養、バツラー寒天培地によって分離、PCR で同定を行った。

C. 研究結果及び考察

A 処理場では、1回につき6羽、5回の調査を実施した。結果は表 2 に示す。第1回、第2回の調査ではカット後の肉および生食用製品からカンピロバクターが分離されることはなかった。しかしながら、第1、2回ともに焼烙後の皮の1検体からわずかな量の菌が検出された。盲腸内容物のカンピロバクター菌数は $10^2 \sim 10^6$ 程度と幅広い数値を示したが、クロアカスワブは第1回で6羽中2羽、第2回で6羽中3羽のみが陽性であり、全体的に糞便によるとたいの汚染が低レベルであった可能性がある。第3、4回でも盲腸内容物の菌数は幅広い数値を示し、クロアカスワブは6羽全てが陽性であり、脱羽後の皮、中抜き後の皮で第1、2回に比較して高い菌数による汚染が認められた。解体当初よりとたいの糞便汚染が高かったものと思われる。また、第3回調査の焼烙後の皮からは3検体全てから $75 \sim 240\text{MPN}/10\text{g}$ のカンピロバクターが検出され、カット後および生食用製品からも3羽分6検体全てで $4 \sim 240\text{MPN}/10\text{g}$ のレベルで菌が検出された。第4回でも焼烙後の皮から菌が検出され生食用製品からも3検体中1検体からわずかながら菌が検出された。第3回以降では、それぞれの工程でそれまでとは別の担当者が処理を行っていたことから、内臓摘出や解体加工の手技およびと体の取り扱いなどの細かい指導が必要であろうと思われた。これらの結果を機に解体工程の環境改善とと体の取り扱いに対する注意喚起と衛生指導を行なった。内臓摘出時に糞便汚染を阻止するよう流しを配置し、とたい移動時には排泄腔を下部におき首を上にしてできるだけ立てるよう心がけた(図1-2)。内臓の摘出

法も熟練者と保健所担当獣医師の両者から丁寧に指導を行った。指導後に行った第5回の調査結果では焼烙後とカット後の肉は全てカンピロバクター陰性であった。しかしながら、生食用製品の1検体からわずかなカンピロバクターが検出された。この処理場の工程では更なる衛生管理の徹底が必要であろうと思われた。

B、C 処理場では、それぞれ6羽1回ずつ調査し、結果は表 3、4 に示す。B 処理場は加熱用製品を出荷しており、脱羽、内臓摘出、解体室の区分け、バブル式チラー槽の導入(図2)などをはじめ衛生の行き届いた処理場であったが、調査の結果から表面焼烙を実施しないと製品からは菌が検出されることが確認された。C 処理場は図3に示すように表面加熱工程を取り入れ、外剥ぎ式の解体を行い糞便汚染の阻止を意識しながら解体していることから、加熱後の皮、解体後の肉、生食用製品のいずれからもカンピロバクターが検出されることはなかった。

D 処理場では、懸吊焼烙、外剥、解体の順で処理されていた。この処理場では鶏を自家飼育しており、農場の事前調査で、鶏直腸スワブ12検体、落下糞便、飲水、いずれからもカンピロバクターが分離されることはなかったことから、飼育段階からカンピロバクター陰性と判断し、処理工程は調査しなかった。

E 処理場は、網上焼烙、外剥、解体の手順をとっていた。1回目の調査では、鶏個体を6羽識別して汚染状況を調べたところ、表 5-1 に示すように表面焼烙後の皮や肉からカンピロバクターが検出されることはなかった。しかしながら、2、3回目の調査では、個体を識別することなく多数羽処理工程で無作為に皮または肉を得て調査したところ、焼烙後の皮、肉、及び製品から微量ながらカンピロバクターが検出された(表 5-2、-3)。このことから、処理工程中の人為的交差汚染の可能性が示唆された。すなわち、多くの鶏を一度に多数処理する場合、放血脱羽処理室と

食肉解体室との間での人や物の不適切な移動が問題となるものと思われる。

処理場 F は、内臓中抜、網上焼烙後、トラックでと体を運搬移動、別棟で解体製品化し販売を行う形であった。1回目の調査では、焼烙後の皮と肉、及び製品にわずかながらカンピロバクターが検出された(表 6-1)。焼烙直後にと体内腔から交差汚染しないよう取り扱いを指導したところ、2回目の調査では、表面焼烙後の検体から菌が検出されることはなかった(表 6-2)。

処理場 G では、内臓中抜後にチラー処理し、その後、個別に水道水で腹腔内を洗浄、網上焼烙、解体、製品化をいう手順をとっていた。調査の結果、チラー洗浄後の皮からわずかに菌が検出されたが、表面焼烙後ではいずれの検体からも菌は検出されなかった(表 7)。中抜きによる処理法でも適切にと体を取り扱えば表面焼烙により汚染を阻止できるかもしれない。

処理場 H は、チラー槽で冷却したと体をチェーンに掛けて移動させながら表面焼烙を行い、冷水シャワーによる再冷却した後、外剥ぎで解体製品化する工程であった。表面焼烙直後の皮は陰性であったが、シャワー冷却後に1検体微量ながら陽性が見られた(表 8)。解体後の肉、製品は陰性であった。表面焼烙後の交差汚染を阻止することが課題となると思われる。

処理場 I は、搬入、放血、湯漬の工程からチェーンによる懸吊を行い大規模処理場とほぼ同じ方法によって、脱羽、内臓中抜き、チラー処理を行っていた。その後、と体を再度チェーン懸吊して風乾、表面焼烙、氷冷、解体、製品化していた。この処理場では、鶏個体の追跡調査を行うことはできなかったため、1回目に拭き取り調査を行った(表 9-1)。その結果、焼烙後のと体の腹腔内スワブ10検体中8検体がカンピロバクター陽性であった。また、解体室におけると体表面及びブロック肉の皮それぞれ10検体中2検体ずつ陽性例が見られた。まな板などの環境拭

き取り検体は全て陰性であった。2回目調査における定量的検査においては、焼烙直後の皮は全て陰性であったものの焼烙後氷冷中の皮や解体後の肉から微量ながらカンピロバクターが検出された(表 9-2)。中抜き後のと体腹腔内面は焼烙されないため、交差汚染の原因になりかねないと考えられる。生食用食鳥肉の生産過程でと体表面焼烙は、その過程でのカンピロバクター汚染阻止に有効ではあるが、焼烙後の交差汚染及び食肉部分への汚染を防ぐ措置も必要と考えられた。

J 処理場は購入したヒナを自家農場で飼育していたことから、処理工程調査の前に農場における鶏の保菌状況の調査を実施した。その結果を表 10-1 に示す。3つの鶏舎 A、B、C で飼育される雌雄それぞれ4羽のスロアカスワブを培養した結果、すべての鶏舎の鶏からカンピロバクターが分離された。分離された菌種には偏りがみられ、A 鶏舎では *C. jejuni* が優勢、C 鶏舎では *C. coli* が優勢、B 鶏舎はその中間であった。これらの農場で使用される餌、水、排出される堆肥、敷料は調査した8検体すべて陰性であった。J 処理場は自家農場の敷地内に位置しており、鶏搬入後、放血・湯漬・脱羽を行っていたが、チラー槽による冷却を行わず、と体を水洗するのみであった。と体は、その後、網上で表面焼烙、外剥ぎによって解体、処理された肉は店舗へ運搬移動され一時保管された。そこで再度部分肉の表面焼烙が行われた後、スライスされて製品として販売されるという工程がとられていた。6羽の鶏を用いて処理工程におけるカンピロバクター菌数の動きを追跡した結果を表 10-2 に示す。6羽のうちクロアカスワブがカンピロバクター陽性だったのは1例のみであった。盲腸内容物中のカンピロバクター数を算定したところ、最小で 2.0×10^2 CFU/g、最大で 1.2×10^5 CFU/g であった。脱羽後の皮3検体のカンピロバクター菌数は 460~1100 MPN/10g と比較的高い値であ

った。通常食鳥処理場ではチラー処理が行われ次亜塩素酸ナトリウム添加により一般的にはカンピロバクター菌数は低く抑えられるのであるが、この処理場では水道水のみで脱羽後のと体洗浄を行っているため菌数があまり下がっていないと思われる。焼烙後の皮の菌数は93～1100 CFU/10gであり、表面焼烙の効果が得られていなかった。外剥ぎを行った後の皮、解体後の肉からも少数ながらカンピロバクターが検出された。しかしながら、店舗へ移動後スライス前に再度焼烙を行っているため、最終製品からMPN法でカンピロバクターが検出されることはなかった。この処理場では、解体前の表面焼烙では十分な効果が得られていないが、スライス前の再焼烙でカンピロバクター汚染を阻止しているものと考えられる。

K処理場は、表1に示すように一般的な内臓中抜き工程をとる処理場であった。異なる工程は解体後の肉をスライス販売するまで十分に冷却する点であった。まず、最終製品の汚染状況を調査したところ、表11-1に示すように10g当たり23 MPN以下と概ね少数ではあったが菌汚染は認められ、特にモモ肉の汚染率が高いことがわかった。表11-2には処理場Kの工程ごとのカンピロバクター汚染菌数を示す。クロアカスワブは6羽中1羽のみがカンピロバクター陽性であった。盲腸内容物中のカンピロバクター数は、最小で 1.6×10^4 CFU/g、最大で 2.6×10^7 CFU/gであった。脱羽後の皮3検体の菌数は1検体が93 MPN/10g、2検体が2400 MPN/10g以上であった。チラー処理後では2検体が150 MPN/10g、1検体が9 MPN/10gと大幅に菌数が低下した。と体の表面焼烙後では2検体が陰性、1検体が4 MPN/10gであり、表面焼烙後でありながらカンピロバクター陽性例が認められた。焼烙後に一時と体を並べ置く棚での交差汚染が疑われたため、と体腹腔と棚のスワブを3検体ずつ追加調査した結果、それぞれ1検体がカンピロバク

ター陽性を示した。このことから、と体を並べる棚で交差汚染が起こっていることがわかった。焼烙されていない腹腔から漏れ出る液体にわずかに含まれる菌が他のと体表面を汚染していると考えられた。

D. 結論

南九州地方の認定小規模食鳥処理場の協力を得て、処理工程を通じたカンピロバクターの汚染挙動を調査し、必要に応じ、管轄自治体の検査員等と共に施設の衛生管理に係る改善指導へとつなげた。生食用食鳥肉のカンピロバクター汚染阻止に対して、と体表面焼烙は、そのみで完全に阻止できるものではなく、焼烙後の交差汚染及び食肉部分への汚染を防ぐ措置も必要であり、またそれ以外の工程でも可能な限りカンピロバクター菌数を低減させる必要があると考えられた。

E. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Vu Minh Duc, Rina Kakiuchi, Takeshi Obi, Hiroshi Asakura, and Takehisa Chuma. The incidence of *Campylobacter* contamination levels through chicken-sashimi processing steps in a small-scale poultry processing plant applying the external stripping method. *Journal of Veterinary Medical Science*. 84 (3): 414-419. (2022)

2. 学会発表

- 1) 津留優、宗安祥佳、Vu Minh Duc、城間萌子、栗脇良太、山元三保子、中馬猛久. 鶏から分離されたカンピロバクターの型別とギラン・バレー症候群関連遺伝子. 第13回日本カンピロバクター研究会総会. 神奈川県. (2020.10.1-2)
- 2) Vu Minh Duc、柿内梨那、小尾岳士、朝倉

宏、中馬猛久. Decontamination of *Campylobacter* through chicken-sashimi processing steps in a small-scale poultry processing plant applying the outer stripping method. 第 164 回日本獣医学会 学術集会. On Line (2021. 9.7-13)

- 3) 坂田淳子、梅川奈央、中馬猛久、川津健太郎. ギラン・バレー症候群誘発リスクの高い *Campylobacter jejuni* 検出法の開発. 第 15 回日本カンピロバクター研究会総会. (2022.10.29)

F. 知的財産権の出願・登録状況(予定を含む)

なし