

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

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。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、さらに、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。本年度の研究調査では3形態の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わかってきた。処理場により解体工程は一律でなく衛生管理状況も異なることから食鳥処理工程の形態に関する更なる情報収集が必要と考えられ、適切な衛生管理手法の確立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年に「食品衛生法」の一部が改正され、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。現在、事業者団体等が衛生管理に関する手引書の作成にあたっているが、適切性な検証方法は未だ確立しておらず、その構築が課題となっている。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、供試材料

鹿児島県内の認定小規模食鳥処理場で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。本調査では A、B、C の3箇所の処理場を対象とした。それぞれの概要は以下の通りである。調査した A 処理場は、生食用の鶏肉を出荷、内臓は中抜き処理、とたいの表面加熱は網上でやっている(図1-1)。B 処理場は、加熱用鶏肉を出荷、内臓は中抜き処理、とたい表面加熱は行っていない(図2)。C 処理場は生食用鶏肉を出荷、内臓は外剥ぎで処理、とたい表面は網上で加熱している(図3)。それぞれの処理場において解体処理工程におけるとたいのカンピロバクター汚染調査に加え、まな板などのふき取りによる調査も実施した。

2、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

ローズゲル(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 分間スタマッキング処理し、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 1 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75～240MPN/10g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4～240MPN/10g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たい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たいの取り扱いに対する注意喚起を行なった。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2、3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。

本年度の研究調査では3形態の認定小規模食鳥処理場を調査することができ、その衛生管理状況の一端が明らかになりカンピロバクターによる汚染実態がわかってきた。処理場により解体工程は一様でなく衛生管理状況も異なることから更なる情報収集と衛生管理手法の確立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。

D. 研究発表

1. 論文発表

なし

2. 学会発表

第13回日本カンピロバクター研究会 川崎市
2020年10月1～2日 国立医薬品食品衛生研究所(Zoom)

○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」

E. 知的財産権の出願・登録状況(予定を含む)

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

搬入



放血



湯漬け



脱羽



手動脱羽



中抜き



チラー



乾燥



焼烙



焼烙後



解体室



解体



解体



カット



製品



図 1-1、A処理場の解体処理工程



図 1-2、A処理場における衛生指導箇所



図 2、B処理場の解体処理工程

搬入



放血



湯漬



脱羽



チラー



焼烙



焼烙



外剥ぎ解体



解体



内蔵



カット



製品



図3、C処理場の解体処理工程

表1 生食用食鳥肉を生産する認定小規模処理場 A の調査結果

1回目

鶏番号	クロアカスワブ	盲腸内容物 (cfu/g)	脱羽後の皮 (MPN/10g)	中抜き後の皮 (MPN/10g)	鶏番号	クロアカスワブ	盲腸内容物 (cfu/g)	焼烙後の皮 (MPN/10g)	カット後の肉 (MPN/10g)
1	—	6.3x10 ²	15	23	4	—	5.5x10 ³	4	—
2	+	2.2x10 ⁶	—	23	5	—	3.3x10 ³	—	—
3	—	7.0x10 ⁴	—	9	6	+	3.1x10 ⁴	—	—

2回目

鶏番号	クロアカスワブ	盲腸内容物 (cfu)	脱羽後の皮 (MPN)	中抜き後の皮 (MPN)	鶏番号	クロアカスワブ	盲腸内容物 (cfu)	焼烙後の皮 (MPN)	カット後の肉 (MPN)	生食用製品 (MPN)
1	—	1.0x10 ⁵	15	23	4	+	2.5x10 ³	4	—	—
2	+	3.3x10 ⁶	—	23	5	—	1.4x10 ⁴	—	—	—
3	—	4.3x10 ⁴	—	9	6	+	1.0x10 ³	—	—	—

3回目

鶏番号	クロアカスワブ	盲腸内容物 (cfu)	脱羽後の皮 (MPN)	中抜き後の皮 (MPN)	鶏番号	クロアカスワブ	盲腸内容物 (cfu)	焼烙後の皮 (MPN)	カット後の肉 (MPN)	生食用製品 (MPN)
1	+	1.2x10 ⁴	460	23	4	+	6.4x10 ⁵	75	4	240
2	+	4.7x10 ²	1100	23	5	+	2.8x10 ⁵	240	43	23
3	+	1.9x10 ³	>1400	9	6	+	1.0x10 ¹	240	4	23

4回目

鶏番号	クロアカスワブ	盲腸内容物 (cfu)	脱羽後の皮 (MPN)	中抜き後の皮 (MPN)	鶏番号	クロアカスワブ	盲腸内容物 (cfu)	焼烙後の皮 (MPN)	カット後の肉 (MPN)	生食用製品 (MPN)
1	+	1.2x10 ⁵	93	93	4	+	6.4x10 ⁵	—	4	—
2	+	2.2x10 ⁵	240	93	5	+	2.8x10 ⁵	240	—	4
3	+	1.5x10 ⁷	240	460	6	+	1.0x10 ¹	4	—	—

5回目

鶏番号	クロアカスワブ	盲腸内容物 (cfu)	脱羽後の皮 (MPN)	中抜き後の皮 (MPN)	鶏番号	クロアカスワブ	盲腸内容物 (cfu)	焼烙後の皮 (MPN)	カット後の肉 (MPN)	生食用製品 (MPN)
1	+	4.2x10 ⁶	93	—	4	+	2.8x10 ⁵	—	—	—
2	+	2.4x10 ⁶	4	4	5	+	1.3x10 ⁷	—	—	—
3	+	8.8x10 ³	4	—	6	+	1.3x10 ⁴	—	—	4

表 2 加熱用食鳥肉を生産する認定小規模処理場 B の調査結果

鶏 番 号	クロ アカ スワブ	盲腸 内容物 (cfu)	脱羽後 の皮 (MPN)	中抜き 後の皮 (MPN)	鶏 番 号	クロ アカ スワブ	盲腸 内容物 (cfu)	チラー 後の皮 (MPN)	解体 後の肉 (MPN)	加熱用 製品 (MPN)
1	+	1.1x10 ⁵	>1400	>1400	4	+	8.9x10 ³	23	240	23
2	+	5.5x10 ³	1100	460	5	+	1.9x10 ³	—	23	4
3	—	2.5x10 ³	—	460	6	—	0.5x10 ³	4	4	9

表 3 生食用食鳥肉を生産する認定小規模処理場 C の調査結果

鶏 番 号	クロ アカ スワブ	盲腸 内容物 (cfu)	脱羽後 の皮 (MPN)	チラー 後の皮 (MPN)	鶏 番 号	クロ アカ スワブ	盲腸 内容物 (cfu)	加熱後 の皮 (MPN)	解体後 の肉 (MPN)	生食用 製品 (MPN)
1	+	3.2x10 ⁵	240	240	4	+	1.1x10 ⁵	—	—	—
2	+	1.7x10 ⁵	1100	240	5	+	1.5x10 ⁵	—	—	—
3	+	6.8x10 ⁵	23	150	6	+	6.4x10 ⁴	—	—	—