

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

食品微生物試験法の国際調和のための研究

令和2年度 総括・分担研究報告書

研究代表者 朝倉 宏

令和3年（2021）3月

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

研究代表者 朝倉 宏

令和 3 (2021) 年 3 月

目次

I. 総括研究報告

- 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
朝倉 宏

----- 3

II. 分担研究報告

1. と畜場での HACCP 外部検証システムに関する研究

- 牛体表の汚染状況把握
森田幸雄 他

----- 35

- ふき取りに代わると畜場内枝肉、市販牛肉・豚肉の内部検証法の検討
森田幸雄 他

----- 43

- と畜場由来病原細菌の性状解析
大屋賢司 他

----- 59

- わが国の食肉衛生検査所で実施されためん羊、山羊、馬の糞便、枝肉拭き取り検査
集計結果
森田幸雄 他

----- 79

- めん羊、山羊の外部検証採材部位の設定のための研究
朝倉 宏 他

----- 85

2. 食鳥処理場での HACCP 外部検証システムに関する研究

- 成鶏を中心とした食鳥処理場での工程管理検証のための研究
朝倉 宏 他

----- 93

3. 生食用食鳥肉の高度衛生管理に関する研究

- 生食用食鳥肉製品の微生物汚染実態と工程管理との関連性に関する研究
朝倉 宏 他

----- 101

- 生食用食鳥肉の高度衛生管理に関する研究
中馬 猛久 他

----- 113

4. HACCP 検証の評価手法に関する研究

- 小関 成樹 他

----- 121

5. と畜場での内部検証に関する研究

- 山崎 栄樹 他

----- 125

6. 国際情報の情報・整理に関する研究

- 廣井 豊子

----- 143

7. 食品由来感染症病原体サーベイランスならびに下痢症疾患の実態把握

- 朝倉 宏 他

----- 155

III. 研究成果の刊行に関する一覧表

----- 177

令和2年度 研究分担者・研究協力者

研究代表者

朝倉 宏 国立医薬品食品衛生研究所

研究分担者

森田幸雄 麻布大学
中馬猛久 鹿児島大学
小関成樹 北海道大学
山崎栄樹 帯広畜産大学
廣井豊子 帯広畜産大学
大屋賢司 国立医薬品食品衛生研究所

研究協力者

赤間 慎也 宮城県塩釜医師会臨床検査センター
安達 悠太 麻布大学
天沼 宏 国立医薬品食品衛生研究所
池田 徹也 北海道立衛生研究所
石井 弘祐 麻布大学
石沢 由起子 青森県十和田食肉衛生検査所
稲田 和也 北海道早来食肉衛生検査所
内田 唯 宮城県塩釜医師会臨床検査センター
遠藤啓輔 宮城県塩釜医師会臨床検査センター
大石 和樹 麻布大学
大城 哲也 沖縄県中央食肉衛生検査所
大西 広輔 旭川市保健所
大野 祐太 北海道立衛生研究所
岡谷 友三 麻布大学
奥村 香世 帯広畜産大学
尾島 康世 高知市食肉衛生検査所
小野寺 仁 JA 飛騨ミート
笠井 潔 茨城県県西食肉衛生検査所
春日 文子 国立環境研究所
加藤 峰史 沖縄県中央食肉衛生検査所
河合 浩二 豊橋市食肉衛生検査所
菊池 貴子 スターゼン
葛岡 功弥子 豊橋市食肉衛生検査所
熊谷 優子 和洋女子大学
窪田 邦宏 国立医薬品食品衛生研究所
倉園 久生 徳島大学
黒木 重孝 スターゼンミートプロセッサー
小池 史晃 JA 飛騨ミート
小田嶋 こずえ 宮城県塩釜医師会臨床検査センター
児玉 加奈子 ビー・エム・エル
小西 世津香 金沢市保健所食肉衛生検査所
小林 光土 JA 飛騨ミート
小松 真由美 宮城県医師会健康センター
坂上 武文 ミロクメディカルラボトリー
佐藤 和宏 宮城県医師会健康センター
佐藤 妃恵 麻布大学
佐藤 要介 茨城県県西食肉衛生検査所
清水 香南 麻布大学
清水 俊一 北海道早来食肉衛生検査所
渋谷 俊介 LSI メディエンス
下郷 晶子 日水製薬
霜島 正浩 ビー・エム・エル
鈴木 このみ 麻布大学
田内 春香 麻布大学
滝 将太 ミロクメディカルラボトリー
玉井 清子 ミロクメディカルラボトリー
田村 克 国立医薬品食品衛生研究所

辻 芳裕	JA 飛騨ミート
塚本 真由美	岐阜県飛騨食肉衛生検査所
寺地 真弓	JA 飛騨ミート
富永 正哉	沖縄県中央食肉衛生検査所
中込 就子	麻布大学
永田 葉	麻布大学
奈須 正知	スターゼンミートプロセッサー
成田 静香	スターゼン
花田 千晴	山梨県食肉衛生検査所
花田 博	スターゼンミートプロセッサー
馬場 俊行	スターゼンミートプロセッサー
原 理洋	スターゼン
廣瀬 絵美香	麻布大学
藤田 景清	北九州市保健福祉局保健衛生部食肉センター
藤平 裕子	北海道早来食肉衛生検査所
藤巻 勤	山梨県食肉衛生検査所
古内 功二	JA 飛騨ミート
柳沼 千春	郡山市保健所食肉衛生検査所
町田 李香	国立医薬品食品衛生研究所
三好 円	スターゼンミートプロセッサー
森越 真梨恵	旭川市食肉衛生検査所
八重森 恵子	山梨県食肉衛生検査所
安江 智雄	岐阜県飛騨食肉衛生検査所
山崎 翔矢	岐阜県飛騨食肉衛生検査所
山本 詩織	国立医薬品食品衛生研究所
渡辺 哲史	麻布大学

(敬称略、五十音順)

I. 総括研究報告

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
総括研究報告書

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

研究代表者 朝倉 宏 国立医薬品食品衛生研究所 食品衛生管理部

研究要旨：平成30年の「食品衛生法の一部を改正する法律」の公布に伴い、と畜場・食鳥処理場については「HACCPに基づく衛生管理」が求められることとなり、1年間の猶予期間を含みつつ令和2年度に施行予定となっている。同体制は事業者が行う内部検証に加え、自治体等が行う外部検証も要件とされる。本研究では、国内全てのと畜場・食鳥処理場において衛生管理システムが適切に構築されていることを検証する手法を構築し、国産食肉・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て本年度より検討を開始した。本研究では、(1)と畜場の HACCP 外部検証に関する研究、(2)食鳥処理場の HACCP 外部検証に関する研究、(3)生食用食鳥肉製造加工における高度衛生管理に関する研究、(4) HACCP 検証解析手法に関する研究、(5)国際動向を踏まえた情報の情報整理に関する研究、(6)と畜場・食鳥処理場の内部検証に関する研究、を分担研究項目として立て、協調しつつ検討にあたることとした。

(1)では、先行班で設定された外部検証用微生物試験に係る実効性を複数のと畜場で牛と豚を対象として検討した。また、一部のと畜場では腸管出血性大腸菌 0157 等の病原微生物検出状況に関する検討を開始した。加えて、めん羊及び山羊と豚を対象とした外部検証用微生物試験にあたっては、牛・豚と同様に胸部が採材部位として適切であることを示す知見を収集できた。(2)では、先行班で設定された外部検証用微生物試験に係る実効性を複数の食鳥処理場で特に成鶏とたいを対象に検討し、特にこれ迄に十分には蓄積されていない成鶏と豚のデータ集積を図った。また、成鶏と豚を取り扱う2施設でカンピロバクター定量試験を並行実施し、対象とした成鶏(採卵鶏)とたいにおけるカンピロバクター汚染分布は概ね低い状況にあることが確認された。(3)では、南九州地方で製造加工される生食用食鳥肉製品230検体を対象に衛生指標菌検出試験を実施し、多くの施設では衛生的な製造加工が行われている実態を把握すると共に、一部で糞便汚染指標菌を認めた施設で今後検討が必要と思われる工程管理事項の抽出と考察を行った。更に、一部施設での実地評価を行い、内臓摘出手順の改善指導を自治体と共同で行った。(4)では、検査データの傾向を分析する movingwindow 方式により年間を通じたサンプリングプランの設定を行い、検証することが妥当であると考えられた。また、ターゲットとする危害要因の年間を通じたベースラインデータの創出が必要であると結論付けた。

(5)では、HACCP方式での衛生管理を実施している国が少なくとも15か国ある状況を把握すると共に、主要国の微生物試験、特に採材方法に着目し、各国の情報収集・整理を行った。

(6)では、大手食肉事業者の協力を得て、特に牛とたいを対象とした内部検証実施状況に関する情報を収集・整理し、自治体等による外部検証活動を通じ、内部検証で求められる記録様式の作成支援を行うべき箇所を抽出した。

令和3年6月より本格施行される HACCP に沿った衛生管理の中、特にと畜場や大規模食鳥処理場では HACCP の考え方に基づく衛生管理が求められている。本研究で得られた成果は、その円滑な導入・運用に向け活用されることが期待される。

研究代表者		佐藤妃恵	麻布大学
朝倉宏	国立医薬品食品衛生研究所	佐藤要介	茨城県西食肉衛生検査所
研究分担者		清水香南	麻布大学
森田幸雄	麻布大学	清水俊一	北海道早来食肉衛生検査所
中馬猛久	鹿児島大学	渋谷俊介	LSIメディエンス
小関成樹	北海道大学	下郷晶子	日水製薬
山崎栄樹	帯広畜産大学	霜島正浩	ビー・エム・エル
廣井豊子	帯広畜産大学	鈴木このみ	麻布大学
大屋賢司	国立医薬品食品衛生研究所	田内春香	麻布大学
研究協力者		滝将太	ミロクメディカルラボラトリー
赤間慎也	宮城県塩釜医師会臨床検査センター	玉井清子	ミロクメディカルラボラトリー
安達悠太	麻布大学	田村克	国立医薬品食品衛生研究所
天沼宏	国立医薬品食品衛生研究所	辻芳裕	JA 飛騨ミート
池田徹也	北海道立衛生研究所	塚本真由美	岐阜県飛騨食肉衛生検査所
石井弘祐	麻布大学	寺地真弓	JA 飛騨ミート
石沢由起子	青森県十和田食肉衛生検査所	富永正哉	沖縄県中央食肉衛生検査所
稲田和也	北海道早来食肉衛生検査所	中込就子	麻布大学
内田唯	宮城県塩釜医師会臨床検査センター	永田栞	麻布大学
遠藤啓輔	宮城県塩釜医師会臨床検査センター	奈須正知	スターゼンミートプロセッサー
大石和樹	麻布大学	成田静香	スターゼン
大城哲也	沖縄県中央食肉衛生検査所	花田千晴	山梨県食肉衛生検査所
大西広輔	旭川市保健所	花田博	スターゼンミートプロセッサー
大野祐太	北海道立衛生研究所	馬場俊行	スターゼンミートプロセッサー
岡谷友三	麻布大学	原理洋	スターゼン
奥村香世	帯広畜産大学	廣瀬絵美香	麻布大学
尾島康世	高知市食肉衛生検査所	藤田景清	北九州市食肉センター
小野寺仁	JA 飛騨ミート	藤平裕子	北海道早来食肉衛生検査所
笠井潔	茨城県西食肉衛生検査所	藤巻勤	山梨県食肉衛生検査所
春日文子	国立環境研究所	古内功二	JA 飛騨ミート
加藤峰史	沖縄県中央食肉衛生検査所	柳沼千春	郡山市保健所食肉衛生検査所
河合浩二	豊橋市食肉衛生検査所	町田李香	国立医薬品食品衛生研究所
菊池貴子	スターゼン	三好円	スターゼンミートプロセッサー
葛岡功弥子	豊橋市食肉衛生検査所	森越真梨恵	旭川市食肉衛生検査所
熊谷優子	和洋女子大学	八重森恵子	山梨県食肉衛生検査所
窪田邦宏	国立医薬品食品衛生研究所	安江智雄	岐阜県飛騨食肉衛生検査所
倉園久生	徳島大学	山崎翔矢	岐阜県飛騨食肉衛生検査所
黒木重孝	スターゼンミートプロセッサー	山本詩織	国立医薬品食品衛生研究所
小池史晃	JA 飛騨ミート	渡辺哲史	麻布大学
小田嶋こずえ	宮城県塩釜医師会臨床検査センター		
児玉加奈子	ビー・エム・エル		
小西世津香	金沢市保健所食肉衛生検査所		
小林光士	JA 飛騨ミート		
小松真由美	宮城県医師会健康センター		
坂上武文	ミロクメディカルラボラトリー		
佐藤和宏	宮城県医師会健康センター		

(敬称略、五十音順)

A. 研究目的

平成30年の「食品衛生法の一部を改正する法律」の公布に伴い、と畜場・食鳥処理場については「HACCPに基づく衛生管理」が求められることとなり、1年間の猶予期間を含みつつ令和2年度に施行予定となつて

いる。同体制は事業者が行う内部検証に加え、自治体等が行う外部検証も要件とされる。本研究では、国内全てのと畜場・食鳥処理場において衛生管理システムが適切に構築されていることを検証する手法を構築し、国産食肉・食鳥肉の更なる安全性確保の向上を図ることを目的とする。

欧米のと畜場・食鳥処理場では従前よりHACCPシステムの科学的評価手が導入・運用されているが、国内では大規模施設の一部、並びに食肉・食鳥肉を輸出する施設に限定的であった。一方、昨年には食鳥肉の対EU輸出も認められる等、輸出を行うと畜場・食鳥処理場数は増加傾向にあり、国産当該食品の輸出拡大を推進する上でわが国の食肉・食鳥肉の安全性を国際標準的に示すことは極めて重要な課題である。

上記の課題解決にあたり、現在事業者団体等が衛生管理に関する手引書を作成し、その普及啓発にあっている一方、その導入・運用の適切性を判断するための検証法は未だ確立していない。検証法の構築には、採材条件（部位、頻度、工程等）や微生物試験法等を定めた上で、実効性評価や、内部・外部検証との関連性解析、工程管理目標値の設定等が求められる。これらのうち採材条件や試験方法は先行研究班で検討が進められ、牛・豚・鶏それぞれについて一定条件が設定された。一方、施設の構造・工程は多様であるため、その実効性を速やかかつ可能な限り網羅的に評価することが必要不可欠である。本研究では全国の自治体（食肉衛生検査所等）や大手事業者の協力を広く求め、多様な施設を対象に検証データを集積し、国内施設全体を対象とした実効的なHACCP外部検証法を構築提示しようとするところに特色がある。

更に、南九州地方では生食用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。これ迄に大規模食鳥処理場・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いる。一方、同食品を取扱う施設の多くは小規模であることに着目し、本研究では認定小規模食鳥処理場・加工施設での衛生管理高度化に資する改善点の抽出、対策の提示と検証から成る独創的な研究項目を設定した。

以下に、分担研究毎に研究目的等を記す。

（１）と畜場におけるHACCP外部検証のための研究

①牛体表の汚染状況把握

枝肉への汚染は、と畜作業中の体表からの汚染と消化管内容物からの汚染である。牛は消化管内や腸管出血性大腸菌(STEC)を約 20%、保菌している（H24年度農林水産省調査：<https://www.maff.go.jp/j/syouan/seisaku/kekka/gyuniku/stec/05.html>）。消化管内容物からの汚染は、食道結紮と肛門結紮を実施すること、および、と畜作業時に、消化管内容物の漏出がないように丁寧に内臓を摘出することによって行われている。また、体表からの汚染を少なくするために、と畜場法施行規則第七条のと畜業者等の講ずべき衛生措置のとたいの剥皮については、「獣毛等による汚染を防ぐため、必要な最小限度の切開をした後、ナイフを消毒し、ナイフの刃を手前に向け、皮を内側から外側に切開すること。」「剥皮された部分は、外皮による汚染を防ぐこと。」と記述されている。

そこで、黒毛和種牛の外皮の汚染状況を、衛生指標菌（一般細菌数、腸内細菌科菌群数、大腸菌群数、大腸菌数）を用いて調査した。

②ふき取りに代わると畜場内枝肉、市販牛肉・豚肉の内部検証法の検討

令和2年6月から、と畜場へのHACCP導入の制度化が実施され、一年間の移行期間があることから、令和3年6月から完全に実施される。HACCPは自主管理システムであり、検証方法（計画された検証[verification]と妥当性確認試験[Validation]）を設定しなければならない。これはHACCPを導入したと畜場が行うことから、内部検証とよばれる。一方、と畜処理は、食品衛生学的にハイリスクな作業であることから、各地方自治体に所属する公務員の獣医師によると畜検査が実施されている。と畜場へのHACCP制度化にともない、と畜検査員は、と畜場に導入されたHACCPに対する外部検証を実施しなければならない。外部検証については、「と畜検査員及び食鳥検査員による外部検証の実施につい

て」(生食発 0528 第 1 号、令和 2 年 5 月 28 日)(以下、「外部検証通知」と略)により、その実施に関する手順、評価方法等に示されている。

同通知での微生物試験を用いた外部検証法は、トリミング後、冷蔵前の枝肉を切除法によってサンプリングし、一般細菌数と腸内細菌科菌群数によって評価することが示されている。

切除法は、採取者による操作上の差は無くなるが、枝肉表面を約 10 g 切除するので、少量であるが枝肉を傷つけることになる。一方、従来、我が国で実施されていたふき取り法は採取者による操作で差がつきやすく各々の食肉検査所で得られた成績を比較しにくい。しかし、枝肉を傷つけることはない。米国、EU は切除法の成績を基本として、微生物検査を用いた内部検証または外部検証の基準を示している。

内部検証は、と畜場が行うもので、切除法でなくても、切除法と同様な成績が得られ、しかも、簡易な方法であることが望まれる。枝肉表面をスタンプして、37°C で培養し、出現した集落で衛生度が判明するスタンプ等を用いることができれば、小さなと畜場においても、実施可能である。

そこで、と畜場内において、処理された枝肉や市販されている肉を用いて、現在多用されているふき取り法に代わる内部検証法について検討した。

③と畜場由来病原細菌の性状解析

国産食肉・食鳥肉の輸出が拡大され輸出を行うと畜場・食鳥処理場数が増加傾向にある中、我が国の食肉・食鳥肉の安全性を国際標準的に示すことは極めて重要である。本研究では、国内全てのと畜場・食鳥処理場において実効可能な HACCP 外部検証法の妥当性を科学的に評価することを目的として、本年度は牛の外部検証を行う際に、と畜場に搬入され処理過程にある、牛とたいの外皮(剥皮前)、剥皮後及び洗浄後とたいにおける衛生指標菌数と病原微生物検出状況の関連性を検討することとした。

④わが国の食肉衛生検査所で実施されためん羊、山羊、馬の糞便、枝肉拭き取り検査集計調査

と畜場への HACCP 導入の制度化にともない、と

畜検査員による外部検証が行われる。外部検証については、「と畜検査員及び食鳥検査員による外部検証の実施について」(生食発 0528 第 1 号、令和 2 年 5 月 28 日)により、その実施に関する手順、評価方法等に示されている。

微生物試験を用いた外部検証法については、同通知によって、牛及び豚の検査法は示されている。しかし、と畜場法の対象となる獣畜のうち、めん羊、山羊、馬については示されていない。

そこで、全国食肉衛生検査所協議会微生物部会に依頼し、過去に全国の食肉衛生検査所で実施されためん羊、山羊、馬の糞便や枝肉の細菌検査結果等の入手を試みた。

⑤めん羊、山羊の外部検証採材部位の設定のための研究

令和 2 年 5 月 28 日に発出された「と畜検査員及び食鳥検査員による外部検証の実施について」(生食発 0528 第 1 号)では、と畜場及び食鳥処理場における HACCP の考え方に基づく衛生管理の実施を外部検証するために行うべき微生物試験が別添として示されている。但し、同試験の対象は牛、豚、食鳥とたいであり、と畜場で処理されるめん羊や山羊とたいの採材部位は不明であった。HACCP に沿った衛生管理は、令和 3 年 6 月より本格施行される予定となっており、めん羊や山羊を解体処理すると畜場における HACCP 外部検証のための微生物試験の実施を科学的に支援することが必要と考えられた。そこで、本研究では、めん羊、山羊を取り扱うと畜場の監視指導を行う食肉衛生検査所等の協力を得て、めん羊、山羊とたいを対象とした HACCP 外部検証の微生物試験を行う上で採材すべき部位の選定に係る検討を行ったので報告する。

(2) 食鳥処理場での HACCP 外部検証に関する研究

令和 2 年 5 月 28 日付の厚生労働省通知「と畜検査員及び食鳥検査員による外部検証の実施について」(生食発 0528 第 1 号)では、と畜場及び大規模食鳥処理場における HACCP の考え方に基づく

衛生管理を実施する上で、と畜検査員や食鳥検査員による外部検証を行うことが技術的助言として示された。本通知別添には、食鳥とたいの首皮または胸皮を採材し、一般細菌数及び腸内細菌科菌群数を対象として、年間を通じて定量検出するための試験法が示されている。当該通知で示される試験法としては、ISO法のほか、参照法との同等性が国際的な第三者認証機関によって確認された試験法を用いることとなっている。現在、国内では、一般細菌数、腸内細菌科菌群数を求めるための簡易迅速法として市販されるキット類は複数流通しており、それらの適切性は使用者の実情にあわせて選択することが妥当と考えられる。一方で、これまで食鳥処理場で行われてきた微生物試験の多くは拭取り検体を対象とするものであり、上述の第三者認証を得たキット類についての同等性を鶏皮で評価された事例は乏しい状況にある。

また、国内で通知法発出以降に検討されている食鳥とたいの多くは中抜き方式により処理された肉用若鳥とたいであり、成鶏とたいに関する微生物試験成績は更に集積すべき状況にあると考えられた。以上の背景を踏まえ、本研究では、成鶏を処理する大規模食鳥処理場4施設及びこれを管轄する自治体（食肉衛生検査所）の協力を得て、経時的な微生物試験成績の集積を図ることとした。また、そのうちの一部の施設由来検体については、カンピロバクターを含め、複数の試験法を同時に平行実施し、国内で多く流通する第三者認証を取得している製品間での成績比較を行ったので報告する。

（3）生食用食鳥肉の高度衛生管理に関する研究

①生食用食鳥肉における微生物汚染実態と工程管理実態との関連性探知に向けた研究

国内で発生する食中毒のうち、カンピロバクターによる食中毒は、細菌性食中毒の中で最多の発生数を示す。2020年に発生した食中毒の事件数及び患者数はそれぞれ887件、14,613名であったが、カンピロバクターによるものはこのうちの20.5%（182件）、6.2%（901名）を占め、その低減は社会的な課題の

一つと認知されている。

カンピロバクターによる食中毒の発生要因の多くは不明ではあるが、原因が特定または推定された事例においては、生食あるいは加熱不十分な食鳥肉料理が占める割合が極めて高い状況が近年続いている。

一般的に、国内に流通する食鳥肉は加熱用として食鳥処理場で解体処理され、その後、食肉処理施設で加工される場合が殆どではあるが、南九州地域では従前より生食用食鳥肉（いわゆる鳥刺し）が同地域の食習慣の中に根付き、流通消費されている。一方、近年の食中毒原因食品として取り上げられている、生食形態で提供される食鳥肉料理の多くは、他地域で同様に鳥刺し等として飲食店等で提供されているものの、これらの多くは加熱用食鳥肉として製造加工されたものを飲食店等が転用する形で受け入れ、表面を湯引きや炙りの調理を経て提供される場合が多いことがこれまでの調査により明らかとなっている。

南九州地域では、上述の加熱用として製造加工される食鳥肉に加え、生食用として製造加工される食鳥肉も存在する。後者の製造加工にあたっては、生食用を前提とした高度な衛生管理が前提となるため、管轄自治体等の監視指導の下でガイドラインが作成・運用されており、加熱用食鳥肉とは異なる工程を経ている。同地域での生食用食鳥肉の製造加工に関する知見の集積並びに整理は、国内で嗜好性の高い生食用としての食鳥肉料理の安全性確保を支える上で重要な課題と考えられたことから、先行研究では、計60施設の小規模施設での工程管理実態調査を行い、とたい表面焼烙条件、器具の洗浄消毒頻度、加工所要時間、保存温度条件等、中抜き方式の施設ではこれらに加え、内臓摘出手順、と体内腔焼烙等が施設間で大きく異なる管理要件として抽出されている。同調査結果から、今後衛生管理の更なる向上を図る上で注視すべき工程や管理手法が見出されたが、微生物汚染制御との関わりを明確に示す根拠は十分とは言い難い状況であった。

以上の点を踏まえ、本研究では南九州地域に所在

する計21の小規模施設で製造加工された生食用食鳥肉製品210検体を入手し、それらを微生物試験に供した上で、各施設における工程管理実態との関連性を探索することで、微生物制御の観点から特に注視すべき工程や管理手法を提言することを目的として検討を進めた。

また、生食用として、大規模食鳥処理場で処理される中抜き食鳥とたいは、生食用食鳥肉を加工する小規模施設への出荷量が近年増加傾向にある。こうした食鳥とたいを生食用食鳥肉製品に加工する上では、食鳥とたいの温度管理条件の精査が必要と考えられたことから、大規模食鳥処理場の協力を得て、現行の食鳥とたい保存条件を確認すると共に、同一ロットの食鳥とたいを異なる時間冷蔵保存し、それぞれを微生物試験に供することで、その検証を行った。

②生食用食鳥肉の高度衛生管理に関する研究

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した。

(4) HACCP検証の評価方法に関する研究

本分担研究課題では、と畜場・食鳥処理場における「HACCPに基づく衛生管理」の実施状況の妥当性を検証するための評価検証方法を、国際的な動向を踏まえて構築することを目的とする。最終的には、各事業者あるいは自治体等が自ら検証を簡易に実施可能とする評価システムを提供することを目的としている。

初年度においては、まず先行してHACCPに基づく衛生管理が実施されている、諸外国の状況を把握して、日本国内での実施方法の方向性を明確にする。さらに、逐次報告されてくる国内での検査結果データをもとにして、現状の管理状況を把握することを目的とした。

(5) と畜場の内部検証に関する研究

平成30年に交付された「食品衛生法等の一部を改正

する法律」では、改正の柱の一つとしてHACCPに沿った衛生管理の制度化が示された。同法に基づき、と畜場法第6条第1項第2号および第9条第1項第3号においてHACCPに基づく衛生管理（食品衛生上の危害の発生を防止するために特に重要な工程を管理するための取組）に関する要求が明文化され、令和2年度に施行が通知され、令和3年度より本格的な運用が求められることとなった。同要求に基づくと畜場の衛生管理にあたっては、事業者が自ら実施する内部検証に加え、と畜検査員等による外部検証の実施が義務付けられており（と畜場法施行規則第3条第6項および第7条第5項）、これを受けて令和2年5月28日付け生食発0528第1号「と畜検査員及び食鳥検査員等による外部検証の実施について」（以下、「外部検証に関する通知」）が通知された。同通知では、と畜検査員等が実施する外部検証の項目、手順および評価方法等が示されており、令和3年6月以降は、同通知に従った外部検証の本格的な実施が求められている。

上記通知の中では外部検証で確認すべき事項として、微生物検査（同通知内別添1、第9項）に加え、施設・設備管理に関する手順書の確認、生体・と体の取り扱いに関する手順書の確認およびHACCPプランに関する手順書の確認（同通知内別添1、第4項の（1））、施設・設備管理に関する記録および実施状況の確認および教育訓練の確認（同通知内別添1、第4項の（2））、生体・と体の取り扱いに関する記録および実施状況の確認および教育訓練の確認（同通知内別添1、第4項の（3））等が示されている。微生物検査以外の確認事項については同通知内で別表1として示されており、今後、と畜検査員は別表1に示された個々の内容について現場確認および記録確認を通じてと畜場の衛生管理が適切に行われていることを評価することとなる。また、微生物試験については、一般生菌数（生菌数）および腸内細菌科菌群の定量試験法が示されているが、同試験法では採材方法として切除法が示される等、これまで「と畜場法施行規則の一部を改正する省令等の施行について」（平成9年1月28日衛乳第

25号)に基づいて国内のと畜場で主流となっていた衛生試験法とは異なった方法での評価手法が新たに示された。

国内のと畜場では施設設備や作業手順等多様であるため、と畜場における効果的な外部検証の実施にあたっては、独立性を保ちつつ、と畜事業者が自ら実施する内部検証記録を有効活用することが望まれる。

本研究では、今後本格的な導入が開始される外部検証導入の円滑化に資するため、施設構造および管理体制が異なる複数のと畜事業者を対象として、各事業者が行っている内部検証活動に関する実態調査を行った。また、対象施設での微生物試験成績の達成目標値設定に向けた科学的知見を得るため、牛枝肉における病原細菌汚染状況と衛生指標菌検出菌数の相関解析を行ったので報告する。

(6) 国際動向を踏まえた情報の収集整理

本分担研究では、日本国内の「と畜場での HACCP に基づく衛生管理」における実効的な外部検証法の構築に有用な情報を提供することを目的とし、と畜場の衛生管理検証法の国際的な動向の調査として、海外諸国のと畜場の衛生管理関連ガイドライン、内部並びに外部検証法に関連する法規、通知や科学的知見等の収集を行うこととした。

(7) 積極的食品由来感染症病原体サーベイランスならびに下痢症疾患の実態把握

我が国では食品由来感染症の患者数は食品衛生法および感染症法にもとづいて報告されている。散発事例は食中毒事例として報告されない場合が多く、そのため食中毒統計等だけでは食品由来感染症・下痢症の患者数が正確に把握されていないことが示唆される。特に最近では広域散発事例による被害も報告されており、食品衛生行政における対策等の検討のためには、それらの事例も含めた被害実態の全容を把握することが重要と考えられる。

米国では1995年以降、FoodNet（フードネット）というアクティブ（積極的）サーベイランスシステ

ムが導入され、食品衛生の各種対策及びその効果を検討するために食品由来感染症の実患者数の把握を継続して行なっている。FoodNet は全米10州の定点検査機関から病原体検出データを集約して分析している。さらに電話住民調査や検査機関調査等を継続して行い、各推定段階に必要なデータを得ることで全体推定を行なっている。このシステムで得られた推定結果は患者数の多年度にわたる変動の把握や各種行政施策の効果を検討する等、食品衛生行政に活用されている。

日本においても患者数の全容把握のために同様のシステムが必要と考えられるが、これまでに日本にはこうしたシステムが設置されてこなかった。下痢症の発生動向や実態把握のための基礎データを蓄積することは、食中毒行政における食中毒対策立案、その効果の評価および各種リスク評価等にきわめて重要と考えられる。こうしたことをふまえ、本研究等において2005年より継続して宮城県においてアクティブサーベイランスを行い、これにより実患者数推定を行い、その有効性を実証し、日本におけるFoodNet 様システム構築の基礎とすると同時に、そのようなシステムを日本に導入する際に検討すべき特徴の把握を行ってきた。

本年度は、(1) 2005年から継続している宮城県におけるアクティブサーベイランス、およびそれによる宮城県の被害実態の推定を引き続き行った。また、(2) 2011年からは民間検査機関3社の協力で全国についての病原菌検出データを収集し、それらをもとに全国における被害実態の推定を行っているが、本年度もこれを継続し、これらの結果を上記の宮城県データからの全国推定結果と比較することで本研究における推定手法の妥当性の検討を継続して行ったので報告する。

B. 研究方法

(1) と畜場におけるHACCP外部検証のための研究

①牛体表の汚染状況把握

JA 飛騨ミートの係留所内で、5頭の黒毛和種牛

の糞便および体表を採取した。糞便は、1頭について25g以上の排泄便を採取した。体表検体は、体表15か所(頸部正中、肘外側左右、胸部正中、腹部正中、くるぶし外側左右、内もも左右、もも後左右、肛門左右、頸左右)をフードスタンプ生菌数用・標準寒天を600-700g圧で10秒間体表に押し付けた。なお、フードスタンプは10cm²である。糞便ならびに体表検体は4°Cで冷蔵保存にて輸送し、検査を実施した。

体表検体の検査方法:体表に押し付けたフードスタンプの寒天部分をストマッカー袋に入れ、計量後、90mLのPBSを加え、ストマッカー処理(30秒間)を実施したものを試料原液とし、試料原液及び適宜希釈液を作製した。一般細菌数は、ACプレート、腸内細菌科菌群数はEBプレート、大腸菌群・大腸菌数はECプレートを用いて測定した。サルモネラは試料原液5mLを45mLのBPWに加え、42°C、24時間、好気培養後、1mLを9mLのハーナテトラチオネート培地に加え42°C、24時間好気培養を行った。その後クロモアガーサルモネラに塗抹し、37°C24時間好気培養を行った。カンピロバクターは試料原液5mLを45mLのプレストン培地に加え、42°C24時間微好気培養を行い、クロモアガーカンピロバクターに塗抹し、42°C48時間微好気培養した。腸管出血性大腸菌(STEC)は、試料原液5mLを45mLのノボピオシン加mEC培地に加え、42°C24時間好気培養した。その後、クロモアガーSTECに塗抹し、37°C24時間培養した。各選択培地上に発育した定型集落は、食品衛生検査指針微生物編に従って同定した。

ペトリフィルムを用いた菌数測定法等:一般細菌数の検出限界値は500個/cm²、腸内細菌科菌群数は50個/cm²、大腸菌群・大腸菌数は5個/cm²であることから、陰性の場合には各々の菌の検出限界値の1/2である、250個/cm²、25個/cm²、2.5個/cm²とした。

糞便検体の病原体検査方法:サルモネラは糞便1gを10mLのBPWに加え、42°C、24時間、好気培養後、9mLのハーナテトラチオネート培地に1mL加え42°C、24時間、好気培養を実施した。そ

の後、クロモアガーサルモネラに塗抹し、37°C、24時間好気培養を行った。カンピロバクターは糞便1gを9mLのプレストン培地に加え、42°C、24時間、微好気培養を実施後、クロモアガーカンピロバクターに塗抹し、42°C、48時間、微好気培養を行った。腸管出血性大腸菌(STEC)は、糞便1gを9mLのノボピオシン加mEC培地に加え、42°C、24時間、好気培養した。その後、CT加クロモアガーSTECに塗抹し、37°C、24時間培養を行った。各選択酵素基質培地上に発育した特異的な集落は食品衛生検査指針微生物編に従い、同定を実施した。

②ふき取りに代わると畜場内枝肉、市販牛肉・豚肉の内部検証法の検討

1)と畜場内牛・豚枝肉を用いた切除法、ふき取り法、スタンプ法による細菌検査結果の比較

令和2年10月~11月、A・Bの2つのと畜場でと畜解体され、冷却前の各11頭の牛・豚枝肉の左右の胸部(各22検体ずつ)を検体とした。検査は胸部の25cm²について、切除法、ふき取り法、スタンプ法を実施した。なお、Aと畜場は対米牛肉輸出処理認定施設、Bと畜場の豚の処理は湯剥き方式であった。切除法には、外部検証通知に従い、滅菌メス・ピンセット・ステンレス杵(5×5cm:25cm²)を用いた。ふき取り法は市販拭き取り検査キットを用い、約600g圧で実施した。スタンプ法は特別に作製した25cm²のスタンプ用標準寒天とスタンプ用VRBG寒天を約600-700g圧で10秒間、枝肉の胸部に押し付ける方法とした。採材後検体は4°C以下で一時保管し、採取から3時間以内に検査に供した。切除検体は、ストマッカー袋に入れた後に計量し、90mLのリン酸緩衝液(以下、「PBS」と略)を加え、ストマッカー処理(30秒間)を実施した。これを試料原液とし、試料原液および適宜希釈したPBSを作製した。ふき取り法は得られた10mL希釈液を試料原液とし、試料原液および適宜希釈したPBSを作製した。一般細菌数はACプレート、腸内細菌科菌群数はEBプレート、大腸菌群・大腸菌数はECプレートを用いて測定した。枝肉胸部表面に

押し付けたスタンプは、そのまま 37°Cのインキュベーターに入れ、スタンプ生菌数用・標準寒天は 48 時間、好気培養、スタンプ腸内細菌科菌群用・VRBG 寒天は 24 時間、好気培養を実施した。

切除法およびふき取り法の一般細菌数の検出限界値は 0.2 個/cm²であり、陰性の場合には 0.1 個/cm²、スタンプ法の検出限界値は 0.04 個/cm²であり、陰性の場合には 0.02 個/cm²として計算した。

2) 市販牛肉・豚肉を用いた試験法間での検査結果の比較

令和 2 年 12 月に、市販牛肉（牛ロース）と市販豚肉（豚ロース）を購入し、消費期限前に本検査に供した。肉塊表面について、切除法、スポンジ法、ふき取り法、スタンプ法を採取場所が重ならないように実施して検体を採材した。

③と畜場由来病原細菌の性状解析

東海地方の食肉衛生検査所に搬入された牛と体外皮拭き取り検体 12 検体を対象とした。衛生指標菌検査は PBS を用いた 10 倍階段希釈系列を作製し、通知（生食発 0528 第 1 号）に従い、検体中の生菌数及び腸内細菌科菌群数を求めた。サルモネラ属菌試験は ISO6579-1 に従った。腸管出血性大腸菌の検査は ISO/TS13136 に従って行った。また、stx 遺伝子陽性検体については、増菌液より免疫磁気ビーズを用いて標的菌を濃縮後、TBX 寒天培地及びクロモアガーSTEC 寒天培地へ塗布し、培養を行った。その後、色調等から疑わしい集落を釣菌し、リアルタイム PCR、血清凝集試験及び生化学性状試験を通じ、確認を行った。得られた腸管出血性大腸菌株については、血清型別試験に供すると共に、反復配列多型解析法（MLVA）に供した。腸管出血性大腸菌定性検出成績に基づき、検体を 2 分し、衛生指標菌数の差異を Welch 法により解析した。

④わが国の食肉衛生検査所で実施されためん羊、山羊、馬の糞便、枝肉拭き取り検査集計調査

全国食肉衛生検査所協議会微生物部会に、めん羊、山羊及び馬の公表してもよい糞便検査結果や枝肉の衛生検査結果の提供依頼を行った。得られた成績は検査所、畜種、試験法・試験項目等の情報に基づ

き分類化を行った上で、衛生指標菌については菌数分布・平均値を求めた。また、病原細菌については定性結果のほか、血清型等の情報を抽出した。

⑤めん羊、山羊の外部検証採材部位の設定のための研究

国際標準化機構(ISO)の文書並びにその他国の関連文書を検索すると共に、PubMed 検索を通じ、めん羊、山羊とたいの採材部位に関する情報を収集・整理し、採材部位の選定を行った。微生物試験は令和 2 年 5 月 28 日に発出された「と畜検査員及び食鳥検査員による外部検証の実施について」（生食発 0528 第 1 号）別添で示される微生物試験法に基づいて行った。試料はスポンジスワブ（スリーエム）を用いて収集した。

(2) 食鳥処理場での HACCP 外部検証に関する研究

衛生指標菌定量検出試験は、令和2年5月28日付の厚生労働省通知「と畜検査員及び食鳥検査員による外部検証の実施について」（生食発0528第1号）別添に示される一般細菌数及び腸内細菌科菌群数を求めるための定量検出試験法を参照法として実施した。また、一部施設では、一般細菌数及び腸内細菌科菌群数測定用として妥当性確認が行われ、国内で販売されるフィルム培地製品、並びに最確数法を基礎とした製品を並行的に用いて検討した。いずれも使用方法は製造者の使用説明書によった。

また、2自治体では、カンピロバクター定量試験をあわせて行った。同試験の実施にあたり、1自治体では、上記通知別添で示される試験法を用い、もう一つの自治体では最確数法に基づく簡易迅速キット（テンポ・カンピロバクター）を用いて定量検出試験を実施した。

(3) 生食用食鳥肉の高度衛生管理に関する研究

①生食用食鳥肉における微生物汚染実態と工程管理実態との関連性探知に向けた研究

南九州地方で生食用食鳥肉を加工販売する小規模施設のうち、昨年度工程管理実態調査対象となっ

た19施設及び大規模2施設より、生食用食鳥モモ肉製品を購入し、冷凍状態で当所に搬入した。同検体の皮部分25gを採材・細切し、緩衝ペプトン水225mlに加え、1分間ストマッキング処理を行った。同懸濁液（検体懸濁原液）及び同10倍階段希釈液各1mlをペトリフィルムAC、EB、ECプレート（スリーエム）に接種し、使用説明書に従い、定量検出試験を行った。

並行して上記検体はMDSカンピロバクター及びMDSサルモネラ（スリーエム）に供し、カンピロバクター・ジェジュニ/コリ及びサルモネラ属菌の定性検出試験を行った。

大規模食鳥処理場にて処理された同一ロットの中抜き食鳥丸とたい計30検体を、異なる時間軸で当該施設の保管温度条件（5°C以下）で保存し、その後個別包装を行い、温度ロガーを同封して冷蔵状態で当所に輸送した。到着後は速やかに1とたいあたり25gの首皮を採材し、上述の微生物試験に供した。

このほか、小規模加工施設における食鳥丸とたい受入れ後の温度管理実態に関する調査を行うため、鶏の生食加工業者協議会（以下、生食協議会）の協力を得て、丸とたいを受入れ、生食用食鳥肉を加工する小規模施設での受入れ後の温度管理に関する実態をアンケート調査した。

②生食用食鳥肉の高度衛生管理に関する研究

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。クロアカスワブは滅菌綿棒を用いて採取した。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。本調査ではA、B、Cの3箇所の処理場を対象とした。

採取したクロアカスワブは、プレストン液体培地10mlに接種し、増菌培養後、バツラー寒天培地に画線塗布した。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。菌種同定はPCR法により実施した。鶏肉検体については、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。

(4) HACCP検証の評価方法に関する研究

と畜場・食鳥処理場においてHACCPに基づく衛生管理が先行実施されている、欧州、米国、オーストラリア、ニュージーランドでの取り組みについて文献調査した。加えて、国内施設での現状の検査状況の把握に向けた活動として、自治体を中心に検討が進められている国内のと畜場・食鳥処理場における微生物検査データの傾向を分析し、適切な衛生管理の実施状況を推定した。

(5) と畜場の内部検証に関する研究

衛生管理に関する外部認証等の状況が異なる2つの事業者について調査を実施した。事業者1は国内流通製品工場、対米輸出向け製品対応工場、対EU輸出向け製品対応工場を有しており、事業者2についてはSQF認証施設（国内流通製品工場）を運営し

ている。事業者1については、国内流通製品工場ではと畜場法施行規則に則った検証に関する実施状況について、対米輸出向け製品対応工場では「アメリカ合衆国向け輸出食肉の取扱要綱」に則った検証に関する実施状況について、対EU輸出向け製品対応工場では「英国、欧州連合、スイス、リヒテンシュタイン及びノルウェー向け輸出食肉の取扱要綱」に則った検証に関する実施状況について、それぞれ調査を実施した。また、SQF認証工場ではSQF要求事項に則った検証に関する実施状況について、同様の調査を実施した。

微生物検査以外の項目については、「外部検証に関する通知」の別表1に示された項目について実施状況および頻度について各施設に書面アンケートを送付し回答を得た。加えて電話等によるインタビューを実施し、「外部検証に関する通知」に記載の外部検証実施項目への対応状況について意見聴取を実施した。微生物検査については、製造ラインごと自主検査として実施する項目について実施頻度、採材方法、試験方法および管理基準を調査した。

事業者1の国内流通製品施設において2～3週間隔で計7回（採取日毎に、牛・豚それぞれ1と体ずつ）のサンプリングを実施した。各サンプリングにおいて同一と体に由来する生体外皮拭き取り試料、枝肉拭き取り試料、枝肉切除試料の3検体を1セットとして採取し、下記の要領で試験を実施した。生体外皮拭き取り試料については、生体洗浄後（スタンニング直前）の生体の肛門部周辺（拭き取り面積：10 cm × 10 cm × 2箇所）に対して、ふきふきチェックII（各箇所に対して1本ずつを使用）を使用した拭き取りを行った。枝肉拭き取り試料については、枝肉保管庫に搬入直後の枝肉の胸部および肛門周辺に対して、ふきふきチェックIIを使用した拭き取りを行った。枝肉切除試料については、枝肉保管庫に搬入直後の枝肉の胸部より5 cm × 5 cmを「外部検証に関する通知」内別添3の方法に従って採取した。

採取した試料については生理食塩水を用いて適宜段階希釈した後、生菌数、腸内細菌科菌群数、大腸菌数、大腸菌群数の定量検出試験に供すると共に、

サルモネラ属菌、黄色ブドウ球菌数、及び腸管出血性大腸菌の定性検出試験に供した。

（6）国際動向を踏まえた情報の収集整理

令和2年度は、食肉に着目し、すでにと畜場の運営および獣畜のと畜解体処理において「HACCP方式での衛生管理」を実施している海外諸国における、と畜場の衛生管理ガイドライン、検証法に関連する法規、通知、科学的知見等を収集し整理を行った。資料および情報は最新のものを収集する必要から、改正や変更が適切に反映されうると考えられる電子ファイルと主とし、インターネットを介して検索、入手を試みた。

（7）積極的食品由来感染症病原体サーベイランスならびに下痢症疾患の実態把握

下痢症患者の原因病原体のアクティブサーベイランスを行うために、宮城県内で医療機関の医師が便検査を依頼している検査機関に協力を依頼し、その機関からのデータ収集を継続して行っている。また2011年からは民間検査機関3社より全国の菌検出数データを収集している。

宮城県の有症者の医療機関受診率および受診者の検便実施率は、同県において以前に行った電話住民調査の結果より推定された値を用いた。季節変動も考慮し、統合データから検便実施率および医療機関受診率を確率分布に当てはめて推定した。

C. 研究成果及び考察

（1）と畜場でのHACCP外部検証に関する研究

1) 牛体表の汚染状況把握

- ・サルモネラ、カンピロバクター、STEC検出状況
黒毛和種牛5頭の糞便検体から、カンピロバクターは全頭から分離され分離菌種は *C. jejuni* であった。STECは1頭から分離され、2型毒素産生株であった。サルモネラは検出されなかった。5頭の15か所の体表検体からは、対象病原細菌は検出されなかった。
- ・黒毛和種牛体表の部位別一般細菌数

供試した5頭の体表の全ての部位の平均菌数は4.18 Log 個/cm²(15,018個/cm²)であった。部位別にみると胸部正中が最も多く5.06 Log 個/cm²(115,280個/cm²)、次いで、腹部正中(4.94 Log 個/cm²:87,848個/cm²)、踝外側左(4.94 Log 個/cm²:86,990個/cm²)であった。

・黒毛和種牛体表の部位別腸内細菌科菌群数

供試した5頭の体表の全ての部位の平均菌数は1.62 Log 個/cm²(42個/cm²)であった。部位別にみるともも後側左が最も多く1.91 Log 個/cm²(81個/cm²)、次いで、腹部正中(1.90 Log 個/cm²:79個/cm²)、肛門左(1.89 Log 個/cm²:77個/cm²)であった。

・黒毛和種牛体表の部位別大腸菌群数

供試した5頭の体表の全ての部位の平均菌数は0.90 Log 個/cm²(8.0個/cm²)であった。部位別にみると胸部正中が最も多く1.45 Log 個/cm²(28.0個/cm²)、次いで、腹部正中(1.26 Log 個/cm²:18.4個/cm²)、肛門左(1.24 Log 個/cm²:17.4個/cm²)であった。

・黒毛和種牛体表の部位別大腸菌数

供試した5頭の体表の全ての部位の平均菌数は0.79 Log 個/cm²(6.2個/cm²)であった。部位別にみると胸部正中が最も多く1.14 Log 個/cm²(13.8個/cm²)、次いで、肛門左(1.16 Log 個/cm²:14.4個/cm²)、もも後側左(1.11 Log 個/cm²:13.0個/cm²)であった。

②ふき取りに代わると畜場内枝肉、市販牛肉・豚肉の内部検証法の検討

1) と畜場内牛・豚枝肉を用いた切除法、ふき取り法、スタンプ法による細菌検査結果の比較

EUの規定では、牛の洗浄後冷却前の枝肉の切除法の一般細菌数の優良レベルは3.5 log 個/cm²未満、許容レベルは3.5~5.0 log 個/cm²、不適合レベルは5.0 log 個/cm²以上とされる。また、腸内細菌科菌群数の優良レベルは1.5 log 個/cm²未満、許容レベルは1.5~2.5 log 個/cm²、不適合レベルは2.5 log 個/cm²以上となっている。

EU規定に基づく一般細菌数による評価では、Aと畜場の牛枝肉は、最良レベル、Bと畜場の牛枝肉は許容レベル、腸内細菌科菌群による評価では、A

と畜場、Bと畜場ともに、最良レベルであった。

Aと畜場牛枝肉：切除法の平均一般細菌数は87.90個/cm²(1.94 log 個/cm²)、ふき取り法のそれは45.13個/cm²(1.65 log 個/cm²)であった。X軸を切除法の実数値、Y軸をふき取り法の実数値とした時の、回帰直線は $Y=0.4926X+0.6968$ ($R^2=0.3919$)であった。スタンプ法の平均一般細菌数は4.26個/cm²(0.63 log 個/cm²)であり、X軸を切除法の実数値、Y軸をスタンプ法の実数値とした時の、回帰直線は $Y=0.6206X-0.5773$ ($R^2=0.297$)であった。腸内細菌科菌群は切除法、ふき取り法、スタンプ法ともに検出限界値以下であった。

Bと畜場牛枝肉：切除法の平均一般細菌数は406.42個/cm²(2.61 log 個/cm²)、ふき取り法のそれは95.64個/cm²(1.98 log 個/cm²)であった。X軸を切除法の実数値、Y軸をふき取り法の実数値とした時の、回帰直線は $Y=0.3027X+1.191$ ($R^2=0.1202$)であった。スタンプ法の平均一般細菌数は1.99個/cm²(0.30 log 個/cm²)であり、X軸を切除法の実数値、Y軸をスタンプ法の実数値とした時の、回帰直線は $Y=0.5327X-1.0869$ ($R^2=0.3743$)であった。切除法の平均腸内細菌科菌群数は2.14個/cm²(0.33 log 個/cm²)、ふき取り法のそれは0.45個/cm²(-0.35 log 個/cm²)であった。X軸を切除法の実数値、Y軸をふき取り法の実数値とした時の、回帰直線は $Y=0.5675X-0.5325$ ($R^2=0.1285$)であった。スタンプ法の平均腸内細菌科菌群数は0.11個/cm²(-0.96 log 個/cm²)であり、X軸を切除法の実数値、Y軸をふき取り法の実数値とした時の、回帰直線は $Y=0.121X-0.9893$ ($R^2=0.0115$)であった。

Aと畜場豚枝肉：切除法の平均一般細菌数は247.73個/cm²(2.39 log 個/cm²)、ふき取り法のそれは35.57個/cm²(1.55 log 個/cm²)であった。X軸を切除法の実数値、Y軸をふき取り法の実数値とした時の、回帰直線は $Y=0.3331X+0.7537$ ($R^2=0.0584$)であった。スタンプ法の平均一般細菌数は2.26個/cm²(0.35 log 個/cm²)であり、X軸を切除法の実数値、Y軸をふき取り法の実数値とした時の、回帰直線は $Y=-0.2281X-0.2075$ ($R^2=0.1159$)であった。切

除法の平均腸内細菌科菌群数は 2.66 個/cm²(0.42 log 個/cm²)、ふき取り法のそれは 0.43 個/cm²(-0.37 log 個/cm²)であった。X 軸を切除法の数値、Y 軸をふき取り法の数値とした時の、回帰直線は $Y = 0.0221X - 0.3526$ ($R^2 = 0.0004$) であった。スタンプ法の平均腸内細菌科菌群数は 0.11 個/cm²(-0.96 log 個/cm²)であり、X 軸を切除法の数値、Y 軸をふき取り法の数値とした時の、回帰直線は $Y = -0.13X - 0.8884$ ($R^2 = 0.0098$) であった。

B と畜場豚枝肉：切除法の数値は 1,709.79 個/cm²(3.23 log 個/cm²)、ふき取り法のそれは 1,334 個/cm²(3.13 log 個/cm²)であった。X 軸を切除法の数値、Y 軸をふき取り法の数値とした時の、回帰直線は $Y = 0.5403X + 1.3784$ ($R^2 = 0.283$) であった。スタンプ法の平均一般細菌数は 3.02 個/cm²(0.48 log 個/cm²)であり、X 軸を切除法の数値、Y 軸をふき取り法の数値とした時の、回帰直線は $Y = 0.439X - 0.9398$ ($R^2 = 0.3079$) であった。切除法の平均腸内細菌科菌群数は 1.20 個/cm²(0.08 log 個/cm²)、ふき取り法のそれは 0.17 個/cm²(-0.77 log 個/cm²)であった。X 軸を切除法の数値、Y 軸をふき取り法の数値とした時の、回帰直線は $Y = 0.874X - 0.8334$ ($R^2 = 0.1984$) であった。スタンプ法の平均腸内細菌科菌群数は 0.03 個/cm²(-1.52 log 個/cm²)であり、X 軸を切除法の数値、Y 軸をふき取り法の数値とした時の回帰直線は $Y = -0.272X - 1.5545$ ($R^2 = 0.0563$) であった。

2) 市販牛肉・豚肉を用いた切除法、スポンジ法、ふき取り法、スタンプ法による細菌検査結果の比較

供試した市販牛肉と豚肉からはサルモネラ、カンピロバクター、STEC は分離されなかった。

各検体の採取方法による一般細菌数の検出状況を比較したところ、牛肉検体では切除法が平均 1,412.97 個/cm²(90.44~14,144 個/cm²)、スポンジ法では平均 3,909 個/cm²(1,140.00~34,050.00 個/cm²)、ふき取り法は平均 4,524.38 個/cm²(338.00~57,200 個/cm²)、スタンプは L.A (Laboratory accident) を除くと平均 37.74 個/cm²(12.00~72.00 個/cm²)となり、ふき取り法が最も高値を示し、次いで、スポンジ法、

切除法、スタンプ法の順であった。

豚肉検体では、切除法は平均 1,470.24 個/cm²(187.56~5,956.44 個/cm²)、スポンジ法は平均 2,373.21 個/cm²(935.00~15,950.00 個/cm²)、ふき取り法は平均 351.04 個/cm²(37.80~7,920.00 個/cm²)、スタンプは平均 7.29 個/cm²(3.60~17.60 個/cm²)となり、スポンジ法が最も高値を示し、次いで、切除法、ふき取り法、スタンプ法の順であった。

続いて、腸内細菌科菌群数の検出状況を比較したところ、牛肉検体では、切除法は平均 9.02 個/cm²(4.07~212.36 個/cm²)、スポンジ法は平均 3.67 個/cm²(0.25~93.00 個/cm²)、ふき取り法は平均 2.74 個/cm²(0.40~33.60 個/cm²)、スタンプは平均 0.08 個/cm²(0.02~3.40 個/cm²)となり、切除法が最も高値を示し、次いでスポンジ法、ふき取り、スタンプ法の順であった。

豚肉検体では、切除法は平均 7.64 個/cm²(6.23~98.63 個/cm²)、スポンジ法は平均 6.60 個/cm²(0.50~82.50 個/cm²)、ふき取り法は平均 0.91 個/cm²(0.10~4.40 個/cm²)、スタンプは平均 0.57 個/cm²(0.02~32.00 個/cm²)となり、切除法が最も高値を示し、次いで、スポンジ法、ふき取り、スタンプ法の順であった。

A と畜場の牛枝肉は、対米牛肉輸出認定施設で、一般細菌数及び腸内細菌科菌群数も、最良レベルの枝肉が生産されていることが確認された。

A と畜場牛枝肉において、切除法とふき取り法との一般細菌数の平均値の差は約 2 倍あり、切除法が高値であった。回帰直線の決定係数は 0.3919 で関連性は少ないが、例数を重ねることと畜場の衛生管理を把握する内部検証としては、ふき取りでも良いかもしれない。切除法とスタンプ法との一般細菌数の平均値の差は約 20 倍あり、切除法が高値であったことは、外部検証において採用される切除法の妥当性を示す根拠と言える。回帰直線の決定係数は 0.297 で関連性は少ないが、例数を重ねることと畜場の衛生管理を把握する内部検証としては、スタンプでも良いかもしれない。

B と畜場牛枝肉において、切除法とふき取り法との

一般細菌数の平均値の差は約 4 倍あり、切除法が高値であった。回帰直線の決定係数は 0.1202 で関連性は少ないが、例数を重ねることと畜場の衛生管理を把握する内部検証としては、ふき取りでも良いかもしれない。切除法とスタンプ法との一般細菌数の平均値の差は約 200 倍あり、切除法が高値であった。回帰直線の決定係数は 0.3743 で関連性は少ないが、例数を重ねることと畜場の衛生管理を把握する内部検証としては、スタンプでも良いかもしれないと思われた。

切除法とふき取り法との腸内細菌科菌群数の平均値の差は約 5 倍あり、切除法が高値であった。外部検証試験法で示される切除法の優位性が確認されたといえる。回帰直線の決定係数は 0.1285 で、関連性は少ないと思われた。切除法とスタンプ法との腸内細菌科菌群数の平均値の差は約 20 倍あり、切除法が高値であった。回帰直線の決定係数は 0.0115 で、関連性は少なかった。

A と畜場豚枝肉については、切除法とふき取り法との一般細菌数の平均値の差は約 7 倍あり、切除法が高値であった。回帰直線の決定係数は 0.0584 で、関連性は少ない。切除法とスタンプ法との一般細菌数の平均値の差は約 110 倍あり、切除法が高値であった。回帰直線の決定係数は 0.1159 で、関連性は少なかった。切除法とふき取り法との腸内細菌科菌群数の平均値の差は約 6 倍あり、切除法が高値であった。回帰直線の決定係数は 0.0004 で、関連性は少なかった。切除法とスタンプ法との腸内細菌科菌群数の平均値の差は約 24 倍あり、切除法が高値であった。回帰直線の決定係数は 0.0098 で関連性は少なかった。

B と畜場豚枝肉については、切除法とふき取り法との一般細菌数の平均値の差は約 1.3 倍あり、切除法が高値であった。回帰直線の決定係数は 0.283 で関連性は少ないが、例数を重ねることと畜場の衛生管理を把握する内部検証としては、ふき取りでも良いかもしれない。切除法とスタンプ法との一般細菌数の平均値の差は約 565 倍あり、切除法が高値であった。回帰直線の決定係数は 0.3079 で関連性

は少ないが、例数を重ねることと畜場の衛生管理を把握する内部検証としては、ふき取りでも良いかもしれない。

切除法とふき取り法との腸内細菌科菌群数の平均値の差は約 7 倍あり、切除法が高値であった。回帰直線の決定係数は 0.1984 で、関連性は少なかった。切除法とスタンプ法との腸内細菌科菌群数の平均値の差は約 40 倍あり、切除法が高値であった。回帰直線の決定係数は 0.0563 で、関連性は少ないと思われた。

切除法とふき取り法、切除法とスタンプ法の一般細菌数、腸内細菌科菌群数で平均値の差がと畜場毎に異なっていた。これはと畜方法や検体採取場所の枝肉の状況（水分量）等によって変わるものと思われた。特にスタンプ法では、水分量が多い枝肉を対象とした場合には、真菌酵母の増殖のおそれがあるほか、集落形成にも支障が出るおそれがある。また、培地面積も小さく、希釈工程を経ないため、高菌数汚染を示す検体を対象とした場合には、計数不能となるおそれもある。

一方、スタンプ法には簡便迅速性を担保するため、より多検体の試験実施を促す利点も想定される。EU 規定で最良レベルを示すような、衛生的な枝肉を製造すると畜場では、スタンプ法での一般細菌数測定や、スタンプ法またはふき取り法での腸内細菌科菌群数測定を内部検証として行うことは可能かもしれない。

2) 市販牛肉・豚肉を用いた切除法、スポンジ法、ふき取り法、スタンプ法による細菌検査結果の比較

同じ製造ロットの肉塊の包装製品でも、検査部位が異なると、その部位を汚染している菌数は異なると思われた。牛肉 5 部位、豚肉 5 部位の各種検体採取法の違いによる一般細菌数の平均値は、必ずしも切除法が最も多いわけではなく、牛肉ではふき取り法、豚肉ではスポンジ法が多かった。牛肉 5 部位、豚肉 5 部位の各種検体採取法の違いによる腸内細菌科菌群数の平均値は、切除法が最も多い値を示した。市販牛肉・豚肉のビニール包装をはがした脂表面は湿気があり水分が多い。このような条件では、

切除法のみならず、スポンジ法は一般細菌数、腸内細菌科菌群数の試験では測定可能であると思われた。スタンプ法は希釈をしないことから、高度に汚染している検体には不向きであり、かつ、検出できる菌数は少ないことが判明した。

③と畜場由来病原細菌の性状解析

1) 牛と体外皮拭き取り検体における衛生指標菌及び病原細菌の検出結果

牛と体外皮拭き取り検体における生菌数及び腸内細菌科菌群数の平均値はそれぞれ $6.78 \log \text{cfu}/\text{cm}^2$ (最小値 $5.43 \log \text{cfu}/\text{cm}^2$ 、最大値 $7.77 \log \text{cfu}/\text{cm}^2$)、 $4.42 \log \text{cfu}/\text{cm}^2$ (最小値 $3.32 \log \text{cfu}/\text{cm}^2$ 、最大値 $5.50 \log \text{cfu}/\text{cm}^2$) であった。また、病原菌試験項目として設定した、サルモネラ属菌及び STEC のうち、サルモネラ属菌は、いずれの検体からも分離されなかったが、STEC の主要病原遺伝子である *stx* 及び *eae* は 5 検体の外皮拭き取り検体より検出され、最終的に 4 検体より O157 (*stx1+stx2*, または *stx2*) が分離された。MLVA 型別により、同一農場由来とたい外皮より分離された 2 株は全 17 遺伝子座の同一性が確認された。STEC 陰性検体における生菌数の平均値は $6.53 \log \text{CFU}/\text{cm}^2$ であり、STEC 陽性検体では $7.28 \log \text{CFU}/\text{cm}^2$ であった。2 群間の差を Welch 法で検定したところ、*p* 値は 0.062 であり、有意な差は認められなかったが、STEC 分離陽性検体では分離陰性検体と比較して生菌数が多い傾向が認められた。同様に腸内細菌科菌群数を比較したところ、STEC 分離陰性検体の平均値は $4.26 \log \text{CFU}/\text{cm}^2$ であり、STEC 分離陽性検体の平均値は $4.73 \log \text{CFU}/\text{cm}^2$ であった。2 群間の差を Welch 法で検定したところ、*p* 値は 0.216 であった。

④わが国の食肉衛生検査所で実施されためん羊、山羊、馬の糞便、枝肉拭き取り検査集計調査

1) めん羊、山羊、馬からの各種病原体検出状況

・サルモネラ：めん羊は A と H 検査所から情報提供があった。A 検査所では、33.33% (20/60 検体)

の糞便から検出され、亜種群 III b O61:-:1,5,7 が 20 検体、亜種群 I O4:i:- が 1 検体であった。H 検査所では、胆汁と糞便各 1 検体を実施したが、未検出であった。山羊は I 検査所から情報提供があり、直腸スワブ 100 検体、直腸スワブ 100 検体の検査結果は陰性であった。

馬は D 検査所から情報提供があり、枝肉のスワブ 41 検体の検査結果は陰性であった。

・STEC：めん羊は A、D、H 検査所から情報提供があった。A 検査所では、31.67% (19/60 検体) の糞便から検出され、OUT:NM (O 抗原が型別不能、H 抗原が陰性) が 14 検体、OUT:HUT (O 抗原が型別不能、H 抗原が型別不能) が 2 検体、O91:NM が 2 検体、O103:H2 が 2 検体、O146:NM が 1 検体であった。D 検査所では、枝肉スワブ 8 検体を実施したが、未検出であった。H 検査所では、胆汁と糞便各 1 検体を実施したが、未検出であった。馬は G 検査所から情報提供があり、枝肉胸部及び肛門周囲のスワブ各 2 検体を実施したが、未検出であった。

・カンピロバクター：めん羊は H 検査所から情報提供があった。胆汁と糞便各 1 検体を実施したが、未検出であった。

2) めん羊、山羊、馬枝肉拭き取り検体の一般細菌数

枝肉からの検体採取法は、すべてスワブ法であった。めん羊は、A、B、D、F の 4 つの検査所から情報提供があった。A 検査所では、全頭 (17/17 検体) の洗浄後の胸部から検出され陽性検体の対数平均値は $100.88 \text{ 個}/\text{cm}^2$ (最高値: $1,450.00 \text{ 個}/\text{cm}^2$)、全頭 (17/17 検体) の洗浄後の臀部から検出され陽性検体の平均値は $17.14 \text{ 個}/\text{cm}^2$ (最高値: $460.00 \text{ 個}/\text{cm}^2$) であった。B 検査所では、全頭 (100/100 検体) の洗浄後の胸部から検出され、平均値は $24.19 \text{ 個}/\text{cm}^2$ (最高値: $850.00 \text{ 個}/\text{cm}^2$)、全頭 (100/100 検体) の洗浄後の肛門周囲から検出され、平均値は $27.74 \text{ 個}/\text{cm}^2$ (最高値: $820.00 \text{ 個}/\text{cm}^2$) であった。D 検査所では、66.67% (4/6 検体) の洗浄後の全国食肉衛生検査所協議会で指定した部位から検出され、陽性検体の平均値は $4.02 \text{ 個}/\text{cm}^2$ (最高値: $115.00 \text{ 個}/\text{cm}^2$) であった。F 検査所では、全頭 (14/14 検体) の洗浄後の

胸部から検出され、平均値は 33.50 個/cm²(最高値：264.00 個/cm²)、85.70% (12/14 検体) の洗浄後の臀部から検出され、陽性検体の平均値は 11.38 個/cm²(最高値：82.00 個/cm²)であった。

山羊は、I 検査所から情報提供があった。98.44% (63/64 検体) の洗浄後の胸部から検出され、陽性検体の平均値は 12.98 個/cm²(最高値：945.00 個/cm²)、95.31% (61/64 検体) の洗浄後の肛門周囲から検出され、陽性検体の平均値は 5.62 個/cm²(最高値：1,335.00 個/cm²)であった。

馬は、C、D、E、G の 4 つの検査所から情報提供があった。C 検査所では、92.59% (25/27 検体) の洗浄後の胸部から検出され、平均値は 116.14 個/cm²(最高値：5,250.00 個/cm²)、96.30% (26/27 検体) の洗浄後の臀部から検出され、平均値は 125.29 個/cm²(最高値：3,300.00 個/cm²)であった。全頭 (24/24 検体) の洗浄後の頸部から検出され、平均値は 119.41 個/cm²(最高値：1,625.00 個/cm²)であった。なお、C 検査所の検査結果は検出限界値(6.25 個/cm²)以下は陰性として計算した。D 検査所では、70.73% (29/41 検体) の洗浄後の全国食肉衛生検査所協議会で指定した部位から検出され、陽性検体の平均値は 0.52 個/cm²(最高値：15.30 個/cm²)であった。E 検査所では、97.74% (173/177 検体) の洗浄前の胸部から検出され、陽性検体の平均値は 60.99 個/cm²(最高値：27,500.00 個/cm²)、94.08% (159/169 検体) の洗浄前の臀部から検出され、陽性検体の平均値は 191.10 個/cm²(最高値：21,900.00 個/cm²)であった。G 検査所では、全頭 (2/2 検体) の洗浄後の胸部から検出され、平均値は 85.15 個/cm²(最高値：250.00 個/cm²)、全頭 (2/2 検体) の洗浄後の肛門周囲から検出され、平均値は 30.72 個/cm²(最高値：59.00 個/cm²)であった。

3) めん羊、山羊、馬枝肉拭き取り検体の大腸菌数

枝肉からの検体採取法は、すべてスワブ法であった。めん羊は、A、B、F の 3 つの検査所から情報提供があった。A 検査所では、41.18% (7/17 検体) の洗浄後の胸部から検出され、陽性検体の平均値は

0.61 個/cm²(最高値：19.30 個/cm²)、29.41% (5/17 検体) の洗浄後の臀部から検出され、陽性検体の平均値は 29.41 個/cm² (最高値：0.10 個/cm²) であった。B 検査所では、19.00% (19/100 検体) の洗浄後の胸部から検出され、陽性検体の平均値は 0.16 個/cm²(最高値：0.80 個/cm²)、25.00% (25/100 検体) の洗浄後の肛門周囲から検出され、陽性検体の平均値は 0.23 個/cm²(最高値：1.60 個/cm²)であった。F 検査所では、14 頭の洗浄後の胸部、臀部から大腸菌群は検出されなかった。

山羊は、I 検査所から情報提供があった。23.44% (15/64 検体) の洗浄後の胸部から検出され、陽性検体の平均値は 0.25 個/cm²(最高値：19.50 個/cm²)、12.50% (8/64 検体) の洗浄後の肛門周囲から検出され、陽性検体の平均値は 0.21 個/cm²(最高値：13.50 個/cm²)であった。

馬は、C、E の 2 つの検査所から情報提供があった。C 検査所では、調査した 27 頭の洗浄後の胸部から検出されなかった。14.81% (4/27 検体) の洗浄後の臀部から検出され、陽性検体の平均値は 5.38 個/cm²(最高値：7.00 個/cm²)であった。4.17% (1/24 検体) の洗浄後の頸部から検出され、陽性検体は 11.00 個/cm²であった。なお、C 検査所の検査結果は、検出限界値(3.75 個/cm²)以下は陰性として計算した。E 検査所では、16.38% (29/177 検体) の洗浄前の胸部から検出され、陽性検体の平均値は 4.95 個/cm²(最高値：910.00 個/cm²)、25.44% (43/169 検体) の洗浄前の臀部から検出され、陽性検体の平均値は 6.99 個/cm²(最高値：700.00 個/cm²)であった。

4) めん羊、山羊、馬枝肉拭き取り検体の大腸菌数

検査方法はすべてスワブ法であった。めん羊は、A、B、F の 3 つの検査所から情報提供があった。A 検査所では、11.76% (2/17 検体) の洗浄後の胸部から検出され、陽性検体の平均値は 0.20 個/cm²(最高値：0.40 個/cm²)、5.88% (1/17 検体) の洗浄後の臀部から検出され、陽性検体は 0.10 個/cm²であった。B 検査所では、12.00% (12/100 検体) の洗浄後の胸部から検出され、陽性検体の平均値は 0.18 個/cm²(最高値：0.80 個/cm²)、18.00% (18/100 検体)

の洗浄後の肛門周囲から検出され、陽性検体の平均値は 0.26 個/cm²(最高値：3.00 個/cm²)であった。F 検査所では、14 頭の洗浄後の胸部、臀部から検出されなかった。

馬は、E 検査所から情報提供があった。E 検査所では、45.45% (5/11 検体) の洗浄前の胸部から検出され、陽性検体の平均値は 31.59 個/cm²(最高値：235.00 個/cm²)、69.23% (9/13 検体) の洗浄前の臀部から検出され、陽性検体の平均値は 11.03 個/cm²(最高値：640.00 個/cm²)であった。

⑤めん羊、山羊の外部検証採材部位の設定のための研究

1) 採材部位設定に資する検討対象部位の選定

ISO 17604 では、山羊やめん羊等の小型獣畜とたいの衛生実態を把握するための採材部位として、10 箇所より科学的データに基づいて 3 か所を選択し、各 25cm² をスポンジスワブあるいは切除により採材し、微生物試験に供することが示されていた。また、オーストラリア政府が 2018 年に発行した「Microbiological manual for sampling and testing of export meat and meat products」では、小型獣畜とたいの 3 か所 (S1, 胸部; S2, 腹部; S3, 腰背部) 各 25cm² をスポンジスワブあるいは切除により採材する手順が示されていた。オーストラリアではめん羊、山羊について、衛生指標菌検査のための採材頻度は 1,000 とたいにつき 1 検体とされていた。

文献検索を通じ、山羊とたいの衛生モニタリングに関する文献を調査したところ、以下の文献が抽出された。

・UAE で計 40 の山羊とたいのふき取り検体を採材し、一般細菌数を求めたところ、洗浄後のとたいでは胸部及び肩部で相対的に高い菌数が検出されたことが報告されていた。(Int. J. Curr. Microbiol. App. Sci. 2019. 8(3): 242-250.)

・オーストラリアで 2015 年に実施されたモニタリング調査では山羊とたい表面 (胸部、腹部、肋骨部) における全体の一般細菌数平均値は 1.94 log CFU/

cm² であり、大腸菌陽性率は平均 27%であったこと、剥皮前とたいに比べ、剥皮後とたいでは一般細菌数が増加したこと等が報告されていた (Food Cont. 2011. 22(6): 959-963.)。

めん羊とたいを対象とする衛生モニタリングに関する文献としては以下のものが抽出された。

・洗浄後めん羊とたいの 10 部位を 3 施設で採材し、微生物試験に供したところ、一般細菌数及び腸内細菌科菌群数は施設によらず、胸部が最も高値を示したこと、更に *stx* 遺伝子陽性率を部位別に比較したところ、胸部、脇腹、後肢で高い一般細菌数を示したとたいからの検出率と一定の相関を示したことが報告されていた。(J. Food Prot. 2003. 66(6): 946-952.)

国内の豚とたいでは胸部又は頸部のいずれか 1 か所を採材部位としている状況を鑑み、本研究ではオーストラリアのマニュアルで示される 3 か所を対象部位として以下の検討を進めた。

2) 山羊とたいにおける採材部位間の菌数分布並びに工程情報の確認

2020 年 10 月から 2021 年 1 月にかけて、5 回にわたり、山羊を解体処理する A と畜場において、15 頭の冷却後山羊とたいを対象に各 3 か所の採材を行い、計 45 検体を得た。これらを微生物試験に供したところ、腸内細菌科菌群は全ての検体で不検出となった。一般細菌数については、ほぼ全ての検体から検出され、平均±SD 値は S1 (胸部) では 1.53±0.69 log CFU/cm²、S2 (腹部) では 1.44±0.61 log CFU/cm²、S3 (腰背部) では 1.28±0.72 log CFU/cm²を示し、部位間での有意差は認められなかった。

腸内細菌科菌群不検出の要因を探索するため、当該施設における山羊とたいの解体処理工程を確認したところ、山羊とたいはとさつ・放血後、全周をバーナーで毛焼きされ、その後内臓摘出、背割り、洗浄、冷却の手順で処理が行われていた。毛焼き工程は、生体外表面の微生物を加熱殺菌する効果があると解される。上述の UAE において行われた調査報告では、処理前後で菌数に有意差が見られた部位

については、特に作業による交叉汚染による可能性が示唆されている。本研究で調査対象としたとたいについては、処理工程を通じた十分な検査及び衛生監視が行われており、作業に逸脱はなかったものと解される。HACCP 外部検証活動が進められる中で、部位の比較検討を継続的に実施することは必要と思われるが、現段階で得られた成績からは、山羊とたいの採材部位としては、牛豚とたいとの互換性や海外との調和を踏まえると、胸部を採材部位とすることが妥当と考えられた。

3) めん羊とたいにおける採材部位間の菌数分布

B と畜場では 22 とたい計 66 検体、C と畜場では 25 とたい計 75 検体を採材し、微生物試験に供した。結果として、B と畜場で採材された全 66 検体における一般細菌数の平均±SD 値は $1.62 \pm 0.81 \log \text{CFU}/\text{cm}^2$ となり、部位別平均値は、S1 (胸部) が $1.57 \log \text{CFU}/\text{cm}^2$ 、S2 (腹部) が $1.50 \log \text{CFU}/\text{cm}^2$ 、S3 (腰背部) が $1.81 \log \text{CFU}/\text{cm}^2$ であった。これらの部位別の分散値はそれぞれ 0.76、0.51、0.69 であった。これらの検体における腸内細菌科菌群検出状況として、 $1.0 \log \text{CFU}/\text{cm}^2$ 以上の数値は S1 及び S2 では各 2 とたいで確認された一方、S3 で検出された最大菌数は $0.48 \log \text{CFU}/\text{cm}^2$ であった。

また、C と畜場で処理されためん羊とたい 25 とたい 75 検体における両指標菌の平均±SD 値は一般細菌数が $2.09 \pm 0.88 \log \text{CFU}/\text{cm}^2$ となり、部位別平均値は S1 が $2.29 \log \text{CFU}/\text{cm}^2$ 、S2 が $2.32 \log \text{CFU}/\text{cm}^2$ 、S3 が $1.62 \log \text{CFU}/\text{cm}^2$ であった。有意差は S1 と S3 及び S2 と S3 間で認められた。これらの部位別の分散値はそれぞれ 0.53、0.58、0.98 であった。これらの検体における腸内細菌科菌群検出状況として、 $1.0 \log \text{CFU}/\text{cm}^2$ 以上の数値は S2 では 1 とたい、S3 では 2 とたいで確認された。

2 施設で得られた全成績を基に、一般細菌数と腸内細菌科菌群数の関連性を解析したところ、相関係数 r は 0.47 となった。

今回対象とした 2 施設での工程管理の違いは明確ではなく、引き続き当該獣畜とたいの微生物試験

を継続しつつ、工程管理の詳細を比較することが同 2 施設で共通した微生物試験の実施には欠かせないものと思われる。特に腸内細菌科菌群数の分散の大きさが一部の部位で認められたことが、工程管理の逸脱によるものであるか、或いは恒常的に起こりうるものかを見極める上でも必要であろう。一方、現時点までに得られた成績及び文献情報に基づくと、B 及び C と畜場において処理された羊とたいを対象とした HACCP 外部検証微生物試験に供する採材部位としては、胸部または腹部 (トモバラ) が妥当と考えられた。

(2) 食鳥処理場での HACCP 外部検証に関する研究

1) 成鶏とたいにおける衛生指標菌検出状況

中抜き方式で成鶏 (採卵鶏) を処理する大規模食鳥処理場 2 施設 (A 施設、B 施設) での衛生指標菌検出状況について、時系列を追って検討したところ、以下の知見を得た。

・A 施設では、2020 年 9 月～2021 年 1 月にかけて、月あたり 5 検体 (25 とたい分の胸皮) 計 25 検体を採材し、微生物試験に供した結果、一般細菌数の平均は $3.97 \log \text{CFU}/\text{g}$ 、平均+2SD は $4.75 \log \text{CFU}/\text{g}$ 、平均+3SD は $5.14 \log \text{CFU}/\text{g}$ となり、最大値 $5.08 \log \text{CFU}/\text{g}$ を示した 1 検体を除く全ての検体は平均+2SD の範囲に収束した。また、腸内細菌科菌群数については、平均が $2.16 \log \text{CFU}/\text{g}$ 、平均+2SD が $3.06 \log \text{CFU}/\text{g}$ 、平均+3SD が $3.51 \log \text{CFU}/\text{g}$ となり、全 25 検体で平均+2SD 以内に収束した。

・B 施設では、2020 年 7 月～2020 年 11 月にかけて、6 回の採材で計 30 検体を採材し、微生物試験に供した結果、一般細菌数の平均は $3.52 \log \text{CFU}/\text{g}$ 、平均+2SD は $4.25 \log \text{CFU}/\text{g}$ 、平均+3SD は $4.61 \log \text{CFU}/\text{g}$ となり、全ての検体は平均+3SD の範囲に収束した。また、腸内細菌科菌群数については、平均が $2.32 \log \text{CFU}/\text{g}$ 、平均+2SD が $3.63 \log \text{CFU}/\text{g}$ 、平均+3SD が $4.29 \log \text{CFU}/\text{g}$ となり、全 25 検体で平均+2SD 以内に収束した。

・B 施設では上述の衛生指標菌試験と並行して、カ

ンピロバクター定量検出試験も実施した。計30検体のうち、25検体ではカンピロバクター不検出（1.0 log CFU/ g未満）であった。一方、残り5検体からはカンピロバクターが検出されたが、培地上に発育した集落数が多く正確な菌数把握が困難であった。

なお、これらの施設で検討対象とした食鳥とたいはいずれも丸とたいで冷蔵或いは冷凍保管することなく、受け入れ後、同日中に処理されたものであった。

以上の成績より、中抜き方式であっても、成鶏（採卵鶏）由来とたいは対象施設では大きな逸脱を見ることなく、処理されており、検出菌数についても、一般的な大規模食鳥処理場で処理される肉用若鳥に比べて同等もしくはそれ以下であることが確認された。

2) 食鳥とたい検体を対象とした微生物試験法の同等性について

微生物試験法として、通知法で示される試験法に比べ、近年では複数の簡易迅速法に該当する製品が開発され、一部製品ではその妥当性も第三者認証機関によって評価され、国内に普及している。

外剥ぎ方式で成鶏を処理するC施設及びD施設で採材された食鳥とたい（首皮）計39検体を対象に、ISO法及び迅速簡易試験法（キットAまたはB）を並行的に使用し、衛生指標菌数を求めたところ、試験法間のR2値は一般細菌数で0.92、腸内細菌科菌群数では0.90となり、各2キットを用いた試験成績は通知法で得られた試験成績との間で高い同等性を認めた。なお、当該2施設での衛生指標菌検出成績は、A施設及びB施設での成績に比べ、有意に高い状況であった。工程管理情報の一つとして、当該施設ではオゾン殺菌が行われていることが確認されたが、その詳細な管理条件は得ることができなかった。こうした微生物汚染低減に資すると目される工程の詳細な情報把握は、当該施設での衛生指標菌数低減に向けた活動として、今後必要と思われる。

なお、C施設及びD施設で採材された39検体については同時にカンピロバクター定量検出試験も行われた。カンピロバクター不検出となった検体数は

11検体認められ、残り28検体は陽性を示した。但し、同菌数の最大値は3.54 log CFU/gであり、うち20検体は2.0 log CFU/g未満の菌数を示した。

以上の成績より、国際的な第三者認証機関による妥当性確認を受けた迅速簡易試験法の食鳥とたい検体への適用は可能と思われた。また、対象施設における定量検出成績より、多くの成鶏とたいにおけるカンピロバクター汚染菌数は低い状況にある可能性が示唆された。

(3) 生食用食鳥肉の高度衛生管理に関する研究

①生食用食鳥肉における微生物汚染実態と工程管理実態との関連性探知に向けた研究

1) 生食用食鳥肉製品における微生物検出状況

生食用食鳥肉を製造加工する計21の小規模施設及び大規模2施設より、生食用食鳥肉製品計230検体を入手し、微生物試験に供した。何れも病原菌であるサルモネラ属菌、カンピロバクター・ジェジュニ/コリについては不検出であった。衛生指標菌数試験を通じ、全体の平均菌数は一般細菌数が 3.52 ± 1.16 logCFU/gであったほか、腸内細菌科菌群数は 1.52 ± 1.26 logCFU/g、大腸菌数は 0.48 ± 0.71 logCFU/gであった。一般細菌数を含め、何れの指標菌も菌数分布に対数正規性は認められなかった。大腸菌については、不検出が全体の75.2%（173/230）を占めた。大腸菌が検出された57検体（24.8%）のうち、40検体（70.2%）は1.0-2.0 logCFU/gの菌数分布を示し、2.0 logCFU/g以上は5施設で製造加工された11検体（4.8%、うち3施設では各1検体）に留まっていた。

腸内細菌科菌群数については、不検出が全体の31.7%（73/230）であった。腸内細菌科菌群が検出された157検体（68.3%）のうち、109検体（69.4%）は1.0-3.0 logCFU/ gの菌数分布を示し、3.0 logCFU/ g以上は7施設で製造加工された34検体（21.7%）であった。3.0 logCFU/ g以上の腸内細菌科菌群数を示した検体より代表集落を釣菌し、菌種同定のための生化学性状試験に供したところ、*Pantoea*等の環境由来と思われる細菌でも複数認

められたが、施設 # 19や28等由来の検体では *E. coli* が寡占していた。

また、一般細菌数と腸内細菌科菌群数の間で関連性を解析したところ、相関係数は0.67となり、正の相関が確認された。一方、一般細菌数と大腸菌数間での相関係数は0.44であった。

以上の成績より、計23施設由来の生食用食鳥肉製品検体における衛生指標菌分布は総じて加熱用食鳥肉製品に比べ低い状況にあることが確保された。但し、一部の施設由来検体では糞便汚染指標菌が高頻度に検出され、各施設の工程管理実態との関連性をより詳細に検討すべきと考えられた。

2) 微生物試験成績と各施設での工程管理実態等との関連性の探索

・焼烙面

本研究で検討対象とした生食用食鳥肉製品検体はいずれも加工工程で焼烙が施されていた。まず、各製品検体の焼烙面を目視確認したところ、表裏両面が焼烙されていた製品は、5製品（うち1製品は大規模施設由来）に留まり、残り18製品は表面のみが焼烙されていた。焼烙面の差異と微生物検出結果との関連性を探索したところ、何れの指標菌についても、両面焼烙検体は片面焼烙検体に比べ、有意に低い菌数分布を示し ($p < 0.001$)、特に大腸菌については、両面焼烙検体では3検体のみが陽性を示し、その最大値は1.0 log CFU/gであった。これらの成績より、両面焼烙処理は微生物制御に有用であることが数的に示された。

・焼烙時間及び距離

各小規模施設における焼烙処理はバーナーを用いて行われていた。一方、バーナー口径や焼烙時間、焼烙距離等については多様であることが先行研究により明らかになっている。これらの要素と微生物検出成績との関連性を解析した結果、大規模2施設を除く計21の小規模施設全体で用いられているバーナー口径が35mmから60mmの範囲にある施設は全体の約76.2% (16/21施設) を占めた。このうち11施設由来59検体（うち6施設で51検体を占有）からは大腸菌が検出されたが、口径がより小さな

(15-30mm) 或いは、より大きなバーナー (90mm) を用いていた5施設由来の50検体中49検体、並びにバーナー口径が35-60mmの5施設由来の50検体全てでは大腸菌不検出であった。

焼烙に関わるその他の要素として、焼烙時間及び焼烙距離（火炎長、バーナー口からとたい表面までの平均距離）を含め、三次元散布図を作成したところ、対象とした21施設の焼烙条件は散布した。大腸菌不検出または1検体のみ陽性となった施設（大腸菌低汚染群）と、大腸菌が2検体以上陽性となった施設（大腸菌汚染群）の間で、ロジスティック回帰分析を行ったところ、各要素のうち、加熱時間が最も群間で有意差を示す要素として抽出された ($p = 0.0013$)。すなわち、大腸菌低汚染群の平均が3.27分であったのに対し、大腸菌汚染群の平均は1.83分であった。なお、バーナー口径は大腸菌低汚染施設では平均43.97mm、大腸菌汚染施設では平均40.83mmであり、同要素は単独では大きな影響因子としては考え難い状況であった。焼烙距離は、大腸菌低汚染施設では平均21.96cm、大腸菌汚染施設では平均23.08cmであった。三次元散布図の確認を通じ、例えば小口径のバーナーを使用する場合であっても、相対的に長い焼烙時間を取ることで、大腸菌陰性となっている施設が確認されたほか、大口径のバーナーを使用する場合には焼烙距離を短くすることにより、単位時間あたりの焼烙面積を抑え、とたい全周を焼烙するために十分な焼烙時間をとることで大腸菌陰性となっている施設も存在した。

以上より、焼烙処理にあたって焼烙距離は上述の指標を目安に可能な限り短くとり、焼烙時間を少なくとも2分以上に延長することは焼烙による微生物汚染低減に有効な対策の一つと考えられた。

・内臓摘出手順

先行研究で行ったアンケート調査により、内臓摘出手順については、頸部を切開後、総排泄口を切開するとした施設と総排泄口を切開後、頸部を切開するとした施設に大別されていた。また、前者については、頸部切開後、同切開部よりそ嚢及び食道を摘出する場合と、頸部を切開した場合も、剥離のみを

行い、食道より下部の消化管等を総排泄口から摘出する場合がみられていた。本研究の対象とした検体を処理していた施設では、いずれも頸部を先に切開する取り扱いではあったが、摘出方法を含めて大腸菌検出結果を比較したところ、食道以降を総排泄口から摘出した群の平均±SD値が $1.26 \pm 0.95 \log \text{CFU/g}$ であったのに対し、そ嚢及び食道を頸切開部より摘出後、筋胃以降を総排泄口から摘出した群の同値は $0.95 \pm 0.34 \log \text{CFU/g}$ となり、両群間で有意な差異が認められた ($P < 0.001$)。

以上の成績より、内臓摘出手順としては、頸部を切開後、そ嚢及び食道を同切開部より摘出した後、総排泄口切開部より、筋胃以降の消化管等を摘出する手順を取ることが、大腸菌汚染低減に有効と考えられた。

3) 大規模食鳥処理場において処理された生食用食鳥中抜き丸とたい保管条件の評価

近年、食鳥処理場の集約化に伴い、中抜き丸とたいを受入れ、生食用食鳥肉製品へと加工する小規模施設が増加傾向にある。これらの小規模施設が受け入れる中抜き丸とたいは概して大規模食鳥処理場で処理されたものであることを踏まえ、生食用の食鳥とたいを処理する大規模食鳥処理場の協力を得て、当該施設で処理された中抜き丸とたいを異なる時間、当該施設の保管条件である 5°C 以下で保管した後の微生物挙動を評価した。

食鳥丸とたい首皮における一般細菌数は、保存2日後には中央値が $4.20 \log \text{CFU/g}$ であったが、時間経過に伴い、保存5日後では中央値が $5.70 \log \text{CFU/g}$ 、保存7日後の中央値は $7.50 \log \text{CFU/g}$ へと有意な増加を示した。これに対し、腸内細菌科菌群数及び大腸菌数は時間経過に伴う増加を認めず、同糞便汚染指標菌数の中央値は保存2日後でそれぞれ $2.90 \log \text{CFU/g}$ 、 $2.90 \log \text{CFU/g}$ 、保存7日後ではそれぞれ $2.50 \log \text{CFU/g}$ 、 $2.25 \log \text{CFU/g}$ であった。

食鳥肉の主要な危害要因であるカンピロバクター・ジェジュニ/コリ及びサルモネラ属菌について定性試験により検出を試みたところ、カンピロバクター・ジェジュニ/コリは全ての検体で不検出とな

ったが、サルモネラ属菌については、保存7日後の1検体より検出された。

以上の成績より、生食用に処理された食鳥中抜き丸とたいを、生食用食鳥肉として加工に供する際の冷蔵保管期間としては、 5°C 以下では5日以内が適切と考えられた。

4) 小規模施設において食鳥中抜き丸とたいを受け入れた後の保管条件に関する調査

鶏の生食加工業者協議会の協力を得て、会員のうち、認定小規模食鳥処理場を営む24事業者に対し、原料（食鳥と体）、製品、販売ショーケースにおける冷蔵温度管理実態に関するアンケート調査を依頼し、うち9事業者から回答が得られた。回答事業者の冷蔵庫内温度は保存対象の別を問わず、いずれも 10°C 以下を満たし、特に4事業者では、各冷蔵庫の実測温度は全て 4°C 以下であった。一方、3事業者からは、原料冷蔵庫の情報のみを得られ、製品冷蔵庫、販売ショーケースの情報については回答がなかった。

②生食用食鳥肉の高度衛生管理に関する研究

A処理場では、1回につき6羽、5回の調査を実施した。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102~106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 $75 \sim 240 \text{MPN/10g}$ 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 $4 \sim 240 \text{MPN/10g}$ 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指導を行った。内臓の摘出法も熟練者と保健所担当獣医師の両者から改善に向けた指導を行った。指導後に行なった第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。この施設の工程管理については更なる衛生管理の高度化が課題と思われた。

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をはじめ、衛生管理確保に向けた設備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。

(4) HACCP検証の評価方法に関する研究

1) 国際動向の調査

欧州での食鳥処理におけるカンピロバクターを対

象としたサンプリングプランとしては、以下の達成目標を設定し、運用されている。

$$n = 50, c = 15, m = 1,000 \text{ CFU/g}$$

ここで、 n はサンプル数、 c は基準を超えてしまうサンプル数の上限、 m は達成目標値(菌数)である。ただし、ここで想定している n は「連続した」もの、すなわち、週に1回ずつで50週を想定して、その中での変動を「moving window」と呼ばれる、一定期間毎での変動をずらしつつ検証していく方法を採用している。これによって、衛生管理の実施体制が妥当であるかを、検査実施時点だけでなく、長期的、日常的な視点から検証することを目指している。現行の基準では $c = 15$ となっているが、2025年1月からはさらに基準を高めて、 $c = 10$ へと移行することが決定している。

米国でも欧州と同様の管理検証体制がとられており、moving window方式での52週間の連続したサンプル分析の実施が行われている。ただし、サンプリングプランの基準設定は施設の規模毎に異なり、一律の基準は設定されていない。しかし、moving window方式でのデータ推移を検証して、中長期的な視点での評価を行うことを目指している点は欧州と同様である。

オーストラリア、ニュージーランドでの食品安全規格を所管するFood Standards Australia New Zealand (FSANZ)ではより細かな評価手法が検討されている。方向性としては欧州、米国と同様であるが、サンプリングプランがより細かく規定されている。すなわち、

$$n = 45, c = 6, m = 3.78 \log \text{CFU/とたい}$$

が規定されている。基準だけを見ても、 $c = 6$ であるとともに、 m がgあたりではなく、1と体あたりの菌数であることから、欧州基準よりも厳格である。また、moving window方式もより細かく規定されていて、期間の最初の15サンプル分の変動を初期

windowとして、その後5サンプルずつずらした各windowでの許容サンプル数を検証していく方法を用いている。

2) 国内施設での現状の検査状況の把握

国内のと畜場・食鳥処理場における細菌数検査結果を集計し、その変動を検討した。現時点では、検査結果データとして一般生菌数、腸内細菌科数が大部分であり、一部食鳥処理施設からのカンピロバクター数データも取得した。

変動幅はあるものの、一般生菌数、腸内細菌科数ともに、調査期間中、平均±2標準偏差内にデータがほぼ収まっていた。

3) 一般細菌数および腸内細菌科菌群数の測定方法の違いによる測定精度の検証

一般細菌数および腸内細菌科菌群数を異なる測定方法で計測した際の精度を検証した。その結果、一般生菌数においては対象とした寒天平板によるISO法、ペトリフィルム、TEMPOのいずれにおいても測定方法間での測定菌数に有意差は認められなかった。一方、腸内細菌科菌群数については、ペトリフィルム法がやや高値を示していた。

(5) と畜場の内部検証に関する研究

1) 調査対象施設の概要

事業者1では枝肉保管庫内での枝肉表面温度を、事業者2では枝肉洗浄水の次亜塩素酸濃度および枝肉保管庫の庫内温度をCCPとして設定し、高度なHACCP管理を実施していた。

2) 調査対象施設における内部検証（微生物試験以外）の実施状況及び外部検証への対応状況

「外部検証に関する通知」では同通知内別表1の項目について、月一回以上の記録確認および原則毎日の現場検査を実施する事となっている。その確認項目数は膨大であり、これらの外部検証の導入を効率的に開始するためにはと畜事業者が自ら行う内部検証活動の結果を有効活用することが不可欠である。そこで、本研究においてはと畜事業者が現在実施している内部検証の状況を調査し、「外部検証に関する通知」との整合性についての検証を行った。

各事業者に対し、「外部検証に関する通知」別表1の各項目について内部検証での実施状況および頻度について書面アンケート形式での調査を実施し、回答を得た。「外部検証に関する通知」別表1に示された各項目についてはと畜場法施行規則第3条第1項および第7条第1項とよく一致しており、同施行規則に則った適切な事業所運営を行う事で別表1に示された全ての要求事項への対応が可能な仕組みとなっている。今回の調査においても、要求事項ごとに頻度は様々であるものの、全ての要求事項についてと畜事業者が行う自主衛生管理として監視が実施されていることが確認され、この結果から「外部検証に関する通知」第4項に示される施設・設備管理および生体・と畜管理に関する手順書の確認（第4項（1））、および現場確認（第4項（2）の②および（3）の②）については大きな問題なく外部検証の導入が可能であることが確認された。

一方で、インタビュー形式で実施した外部検証実施項目への対応状況についての意見聴取においては以下の問題点も抽出された。

- ・別表1には目視等での常時監視による確認事項が多いため、施設運営上、問題未発生時には特に、記録作成が不十分である。

- ・教育訓練については大半がon-the-job training (OJT)により実施しているため、その実施記録はあるものの、効果確認の記録については不十分である。この結果から「外部検証に関する通知」第4項に示される施設・設備管理および生体・と畜管理に関する記録の確認（第4項（2）の①および（3）の①）については、外部検証活動を通じた記録作成支援（問題未発生時の記録作成等）の必要性が抽出された。また、教育訓練記録等の確認（第4項（2）の③および（3）の③）については、現場確認による外部検証を通じて教育訓練の効果の確認を重点的に行う必要がある事が明らかとなった。

3) 内部検証（微生物試験）の実施状況

各事業者および製造ライン毎に、事業者が自主検査として実施している微生物試験項目並びに各施設での実施頻度、採材方法、試験方法、管理基準を調

査した。微生物試験については「外部検証に関する通知」にて、一般生菌数および腸内細菌科菌群数について牛の場合とはもばら、頸部又は胸部、豚の場合は胸部または頸部を切除し、月1回以上の頻度で実施することとされている。各事業者における自主検査実施状況を調査したところ、一般生菌数に関しては同項目に対する自主検査が必須となっている対EU向け製品のみならず、国内向け製品等についても広く実施されている事が確認された。他方で、腸内細菌科菌群検査については事業者による自主検査実施項目として一般的ではない実態が明らかとなった。また、大腸菌数については「と畜場法施行規則の一部を改正する省令等の施行について」（平成9年1月28日衛乳第25号）において必須項目として指定されているため、国内向け製品工場では広く実施されており、加えて大腸菌群数についても国内での衛生指標菌としての認知度が高いことから、比較的広く実施されている事が確認された。病原微生物検査においては業態により様々であったが、輸出向け製品工場の併設等、特段の理由がない限りはその実施実績は低い傾向が見られた。

4) 衛生指標菌の検出状況と病原微生物汚染の比較検証

「外部検証に関する通知」で微生物検査の対象とされる枝肉における微生物汚染状況と衛生指標菌の検出状況の相関についての解析を行った。内部検証モデルとして枝肉拭き取りサンプルを、外部検証モデルとして枝肉切除サンプルを同一と体から採取した。また、比較対照として生体洗浄後（スタンニング直前）の外皮より拭き取ったサンプルを採取した。各サンプルに対して、衛生指標菌として一般生菌数、腸内細菌科菌群数、大腸菌数、大腸菌群数を、病原微生物汚染の指標としてSTEC（牛のみ）、サルモネラ属菌、黄色ブドウ球菌について検査を実施した。と畜前後の汚染状況について比較したところ、と畜前には病原微生物汚染の指標としたSTEC（牛のみ）および黄色ブドウ球菌（牛および豚）が検出された一方で、と畜後の枝肉においては拭き取り試験および切除試験のいずれにおいてもこれらの病

原微生物汚染の指標菌は検出されなかった。この時、一般生菌数についてはと畜前に牛で $\log\text{CFU}/\text{cm}^2 = 5$ 程度、豚で $\log\text{CFU}/\text{cm}^2 = 4$ 程度であったものが、と畜解体後には牛豚ともに拭き取り試験で $\log\text{CFU}/\text{cm}^2 < 2$ 程度、切除試験で $\log\text{CFU}/\text{cm}^2 < 3$ 程度まで低減されていた。腸内細菌科菌群および大腸菌群については、と畜前に牛で $\log\text{CFU}/\text{cm}^2 = 2.5$ 程度、豚で $\log\text{CFU}/\text{cm}^2 = 1.0$ 程度であったものが、と畜解体後には拭き取り試験および切除試験のいずれにおいても多くは検出限界未満に低減されていた。大腸菌についてもと畜前に牛で $\log\text{CFU}/\text{cm}^2 = 1.5$ 程度、豚で $\log\text{CFU}/\text{cm}^2 = 0.5$ 程度であったものが、と畜解体後には拭き取り試験および切除試験のいずれにおいても多くのもので検出限界未満まで低減されていた。

（6）国際動向を踏まえた情報の収集整理

「HACCP方式での衛生管理」を実施している国：日本からの牛肉の輸出に際して、事業所の認定要件としてHACCP方式による衛生管理を必要としている国を「と畜場の運営、食肉処理にHACCP方式の衛生管理を取り入れている国」と判断し、情報収集の対象国とした。令和2年末時点で該当国は、米国、カナダ、英国、欧州連合EU、オーストラリア、ニュージーランド、マレーシア、ウルグアイ、サウジアラビア、シンガポール、フィリピン、インドネシア、台湾、ブラジル、アラブ首長国連邦、アルゼンチンの15の国・地域であった。以下に英国における情報を示す（その他の国については分担研究報告書を参照されたい）。

<英国> -- 基本的にEU規則に準拠

A: 検査対象菌と対象動物

検査対象菌：一般生菌数、腸内細菌科菌群、サルモネラ属菌

対象動物種：牛、綿羊、山羊、馬、豚

B: 検体採取頻度

と畜場を、年間の処理動物数に応じて、(i) 一般と畜場、(ii) 小規模と畜場A、(iii) 小規模と畜場B、(iv) 小規模と畜場C、(v) 小規模と畜場Dの5つに分類

されていた(*1)。

(i) 一般と畜場

初期の検体採取頻度：

- ・一般生菌数, 腸内細菌科菌群

種ごとに週 1 回 5 検体, 連続 6 週間 (種ごと: 6 週 5 検体計 30 検体)

- ・サルモネラ属菌

種ごとに週 1 回 5 検体, 連続 30 週間 (種ごと: 30 週 5 検体計 150 検体)

- ・結果が優良で採取頻度を下げる場合：

一般生菌数, 腸内細菌科菌群

種ごとに 2 週毎 1 回 5 検体

サルモネラ属菌

種ごとに 2 週毎 1 回 5 検体

また、情報収集整理を通じ、以下の運用に関する規定が示されていた。

・1 週間の各曜日が網羅するように、検体採取の曜日は毎週変更する。

・腸内細菌科及び一般生菌数のための検体採取は、6 週間連続して優良結果が得られた場合、その頻度を 2 週間に 1 回の検査に減らすことができる。

・サルモネラ属菌のための検体採取は、30 週間連続して優良結果が得られた場合、その頻度を 2 週間に 1 回の検査に減らすことができる。

・国または地域のサルモネラ属菌対策プログラムが実施されており、そのプログラムに上記の検体採取に代わる検査が含まれている場合 (実際の具体例について令和 3 年度に調査予定) には、サルモネラ属菌の検体採取頻度を減らすことができる。また、国または地域のサルモネラ属菌対策プログラムにより、食肉処理場に搬入される動物のサルモネラ属菌有病率が低いことが証明されている場合は、検体採取の頻度をさらに減らすことができる。

(ii) 小規模と畜場 A

初期の検体採取頻度：

- ・一般生菌数 腸内細菌科菌群

種ごとに週 1 回 5 検体, 連続 2 週間 (種ごと: 2 週 5 検体計 10 検体)

- ・サルモネラ属菌

種ごとに 4 週毎 1 回 5 検体

- ・結果が優良で採取頻度を下げる場合：

一般生菌数 腸内細菌科菌群

種ごとに 4 週毎 1 回 5 検体

サルモネラ属菌

頻度の削減無し

(iii) 小規模と畜場 B

初期の検体採取頻度：

- ・一般生菌数 腸内細菌科菌群

種ごとに週 1 回 5 検体, 連続 2 週間 (種ごとに、2 週 5 検体計 10 検体)

- ・サルモネラ属菌

不要

- ・結果が優良で採取頻度を下げる場合：

一般生菌数 腸内細菌科菌群

種ごとに 12 週毎に 1 日 1 回 5 検体

(iv) 小規模と畜場 C

初期の検体採取頻度：

- ・一般生菌数 腸内細菌科菌群

種ごとに連続 5 検体

- ・サルモネラ属菌

不要

- ・結果が優良で採取頻度を下げる場合：

一般生菌数 腸内細菌科菌群

種ごとに、最後に優良となった検査から 1 年後に連続 5 検体

(v) 小規模と畜場 D

- ・一般生菌数 腸内細菌科菌群, サルモネラ属菌

いずれも不要。

(*1) と畜場は、年間の処理動物数によって、以下の 5 つに区分する

(i) 一般と畜場

年間で 20,000 頭超の牛もしくは馬、または 100,000 頭超の豚、綿羊もしくは山羊 (1 週間に 400 頭超の

牛、馬、または2,000頭超の豚、緬羊、山羊)を処理すると畜場。

(ii) 小規模と畜場 A

年間で7,500頭超20,000頭未満の牛もしくは馬、または37,500頭超100,000頭未満の豚、緬羊もしくは山羊(1週間に150頭超400頭未満の牛、馬、または750頭超2,000頭未満の豚、緬羊、山羊)を処理すると畜場。

(iii) 小規模と畜場 B

年間で1,500頭超7,500頭未満の牛もしくは馬、または7,500頭超37,500頭未満の豚、緬羊もしくは山羊(1週間に30頭超150頭未満の牛、馬、または150頭超750頭未満の豚、緬羊、山羊)を処理すると畜場。

(iv) 小規模と畜場 C

年間処理数:500頭超1,500頭未満の牛もしくは馬、または2,500頭超7,500頭未満の豚、緬羊もしくは山羊(1週間に10頭超30頭未満の牛、馬、または50頭超150頭未満の豚、緬羊、山羊)を処理すると畜場。

(v) 小規模と畜場 D

年間処理数:500頭未満の牛もしくは馬、または2,500頭未満の豚、緬羊もしくは山羊(1週間に10頭未満の牛、馬、または50頭未満の豚、緬羊、山羊)を処理すると畜場。

C: 検体採取方法 ISO 17604 に準拠

<一般生菌数、腸内細菌科菌群>

冷却前の枝肉から採取する。

1回の検査で、1個体から1検体、種ごとに異なる5個体から検体計5検体採取。採取方法:切除法(個体20cm²を4箇所)、あるいはスワブもしくはスポンジ法(個体100cm²を4箇所、小型反芻獣は50cm²)

判定:5検体の平均logをとる

<サルモネラ属菌>

冷却前の枝肉から採取する。

1回の検査で、1個体から1検体種ごとに異なる5個体から検体計5検体採取。

採取方法:スポンジ法(最低でも400cm²の面積)

判定:連続した10回分の検体(つまり50検体)中の陽性数。

D: 試験方法

一般生菌数: ISO 4833 に準拠

腸内細菌科菌群: ISO 21528-2 に準拠

サルモネラ属菌: ISO 6579 に準拠

E: 判定基準

規則に示された限界値と比較して判定。

・牛、緬羊、山羊、馬

一般生菌数

優良	3.5 (2.8)
許容	3.5-5.0 (2.8-4.3)
不適合	5.0 (4.3)

腸内細菌科菌群

優良	1.5 (0.8)
許容	1.5-2.5 (0.8-1.8)
不適合	2.5 (1.8)

サルモネラ属菌 50 検体中の陽性数

優良	陰性
許容	2 未満
不適合	2 超

単位: log cfu/cm² スワブまたはスポンジ法は()内の値

・豚

一般生菌数

優良	4.0 (3.3)
許容	4.0-5.0 (3.3-4.3)
不適合	5.0 (4.3)

腸内細菌科菌群

優良	2.0 (1.3)
許容	2.0-3.0 (1.3-2.3)
不適合	3.0 (2.3)

サルモネラ属菌 50 検体中の陽性数

優良	陰性
許容	3 未満
不適合	3 超

単位： log cfu/cm² スワブまたはスポンジ法は()内の値

*サルモネラ属菌の判定基準について、EU 規定では以下の通りとなっていた。

・牛, 緬羊, 山羊, 馬	
優良	2 以下
不適合	2 超
・豚	
優良	3 以下
不適合	3 超

単位： log cfu/cm²

< 参照 >

- ・規則 EC 852/2004
- ・規則 EC 853/2004
- ・規則 EC 854/2004
- ・規則 EC 882/2004
- ・規則 EC 2073/2005
- ・Manual for official controls:
<https://www.food.gov.uk/business-guidance/manual-for-official-controls>
- ・Meat Industry Guide:
<https://www.food.gov.uk/business-guidance/meat-industry-guide>
- ・ISO 4833
- ・ISO 6579
- ・ISO 17604
- ・ISO 21528-2

(7) 積極的食品由来感染症病原体サーベイランスならびに下痢症疾患の実態把握

大手臨床検査機関の下痢症患者検査成績をベースとした解析を行ったところ、2019 年時点における国内人口 10 万人あたりの食品由来患者数は、*Campylobacter* が 5,370 人、*Salmonella* が 1,132 人とそれぞれ推定された。継続的なサーベイランスデータの取得は、施策の効果を評価する上で有用と考えられる。

D. 結論

(1) と畜場での HACCP 外部検証に関する研究

①牛体表の汚染状況把握

黒毛和種牛の糞便からは高率に *C. jejuni* が、20% から STEC が検出され、糞便が枝肉に付着しないようにと畜処理し、付着した場合は、その箇所をトリミングする等して汚染除去することが食肉衛生的に重要である。と畜処理では、体表は高度に汚染しているものと理解し、獣毛等による汚染を防ぐため、必要な最小限度の切開をした後、ナイフを消毒し、ナイフの刃を手前に向け、皮を内側から外側に切開する操作が衛生的に重要であり、特に正中に刃を入れるときは、消毒したナイフの刃を手前に向け、皮を内側から外側に切開することが、食肉衛生的に有効であると思われた。

②ふき取りに代わると畜場内枝肉、市販牛肉・豚肉の内部検証法の検討

切除法はふき取り法に比べ、一般細菌数、腸内細菌科菌群数ともに常に高値を示し、外部検証試験を行う際の試料採材法として優れていることが示された。衛生的な牛枝肉を製造すると畜場では、内部検証法としてスタンプを用いる利便性が示唆された。但し、高い含水量を示す検体や、衛生的に課題が残る施設の検体についてはスタンプ法は不向きと考えられた。

③と畜場由来病原細菌の性状解析

牛外皮検体を対象とした検討を通じ、衛生指標菌及び腸管出血性大腸菌の間で一定の関連性が確認され、外部検証で用いる衛生指標菌試験の意義が示された。全国的な外部検証成績を評価することが、国内におけると畜場の衛生管理向上を果たす上で必要と考えられる。

④わが国の食肉衛生検査所で実施されためん羊、山羊、馬の糞便、枝肉拭き取り検査集計調査

めん羊、山羊、馬は牛や豚のと畜頭数に比べて少なく、細菌検査成績を得ている検査所は少ないと思われた。めん羊はサルモネラや STEC を約 3 割保菌していることが判明した。しかし、保有しているサルモネラや STEC は患者から分離される血清型

とは異なることが判明した。これらの試験に用いられた採材法は全てスワブ法であった。

⑤めん羊、山羊の外部検証採材部位の設定のための研究

めん羊、山羊とたいを対象とした HACCP 外部検証のための微生物試験を行うにあたって、山羊では胸部を、めん羊では胸部または腹部（トモバラ）を採材部位とすることが妥当と思われる知見を得た。今後、馬とたいについても同様の検討を速やかに行う必要がある。

(2) 食鳥処理場での HACCP 外部検証に関する研究

食鳥とたいを対象とした HACCP 外部検証のための微生物試験成績の俯瞰を目指し、本年度は特に成鶏（採卵鶏）について検討した。結果として中抜き方式の2施設では衛生指標菌検出成績は一般的な施設と同等もしくはそれ以下であり、一定の衛生確保が行われている状況が確認された。また、カンピロバクターについては30検体中25検体が不検出となる等、成鶏とたいにおけるカンピロバクター汚染頻度は低い可能性が示唆された。一方、陽性検体の多くは突発的に高菌数を示した可能性も考えられるため、工程管理の中でカンピロバクター制御に有効となる対策を講じる必要性が示された。また、こうした微生物試験を行うにあたり、国際的第三者認証機関により妥当性が確認された迅速簡易試験法について同等性が確認された。これらの活用は持続的な HACCP 検証の円滑な実施並びにカンピロバクター一定量試験成績の集積に向けて有用と考えられる。

(3) 生食用食鳥肉の高度衛生管理に関する研究

①生食用食鳥肉における微生物汚染実態と工程管理実態との関連性探知に向けた研究

南九州地方で製造加工、販売される生食用食鳥肉製品230検体の微生物試験成績と各施設での工程管理実態を踏まえ、当該食品を取り扱う小規模施設において、大腸菌陰性を確保するために必要となる焼烙条件を算出できた。また、中抜き方式の施設では、

内臓摘出（中抜き）工程における摘出手順・方式を統一することの必要性が示された。次年度には、これらの検証を行うことで、その妥当性を評価したい。

②生食用食鳥肉の高度衛生管理に関する研究

本年度の研究では、3形態の認定小規模食鳥処理場を調査し、各施設で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が集積された。特に1施設では内臓摘出工程が作業者への教育訓練及び手順等の変更により改善された。処理場により解体工程は様でなく衛生管理状況も異なるため、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の達成には必要と思われる。

(4) HACCP 検証の評価方法に関する研究

本年度は、諸外国での状況を把握して、今後の国内での検証方法の確立に向けた基礎知見を集積することができた。また、今後検討していく検査データの入力分析システムの簡易版を開発する等、今後の本格的な導入に向けた準備を進めることができた。

(5) と畜場の内部検証に関する研究

と畜場の外部検証通知で示される確認事項の全てが対象施設での内部検証活動においても実施されている状況を確認できた。但し、常時監視が必要な項目については内部検証活動による記録の整備が難しく、外部検証による記録整備支援が有用であることが示唆された。また、教育訓練の多くはOJTで実施されており、実施記録は整備されているがその効果を外部検証活動で確認する必要があると思われる。病原微生物検査については、輸出向け工場併設等の特段の理由がない限りは事業者で実施されてはならず、自主検査としての実施は現時点では困難と思われた。一方、衛生指標菌汚染と病原微生物汚染の相関解析のパイロットスタディ結果から、内部検証（枝肉拭き取り検査）成績が一般生菌数2 logCFU/cm²未満かつ大腸菌陰性程度まで低減されていれば病原微生物汚染の可能性は低いと見込まれ、外部検証にて自主検査（内部検証）結果を評価する際には、これらの値を参考とすることも有用と考えられた。

(6) 国際動向を踏まえた情報の収集整理

欧州、豪州、米国等のと畜場における HACCP 検証に関わる情報を収集整理した。特に、採材頻度の設定については、次年度には優先的に検討すべきと思われる。

(7) 積極的食品由来感染症病原体サーベイランスならびに下痢症疾患の実態把握

宮城県および全国におけるアクティブサーベイランスを継続的に行い、下痢症発生実態の概略およびその動向が把握された。

E. 健康危機情報

該当なし

F. 研究発表

1. 論文発表

- 1) 朝倉宏. 食肉・食鳥肉製品のハザードとその管理. 保健医療科学. 2021.70:100-106.
- 2) Kumagai Y, Pires SM, Kubota K, Asakura H. Attributing human foodborne diseases to food sources and water in Japan using analysis of outbreak surveillance data. J. Food Prot. 2020. 83: 2087-2094.
- 3) Yamamoto S, Kitagawa W, Nakano M, Asakura H, Iwabuchi E, Sone T, Asano K. Plasmid sequences of four large plasmids carrying antimicrobial resistance genes in *Escherichia coli* strains isolated from beef cattle in Japan. Microbiol Resour Announc. 2020. 9: e00219-20.
- 4) Asakura H, Nakayama T, Yamamoto S, Izawa K, Kawase J, Torii Y, Murakami S. Long-term grow-out affects *Campylobacter jejuni* colonization fitness in coincidence with altered microbiota and lipid composition in the cecum of laying hens. Front. Vet. Sci. In press.

2. 学会発表

- 1) 森田幸雄. 食肉（ジビエ）処理加工施設の衛生管理について. 令和2年度国産ジビエ認証制度の事業者説明会（岩見沢コミュニティプラザ）2020年11月16日.
- 2) 森田幸雄. 食肉（ジビエ）処理加工施設の衛生管理について. 令和2年度国産ジビエ認証制度の事業者説明会（全水道会館：東京都文京区）2020年11月27日.
- 3) 森田幸雄. 食肉（ジビエ）処理加工施設の衛生管理について. 国産ジビエ認証審査員候補者研修会（全水道会館：東京都文京区）2020年11月27日.
- 4) 森田幸雄. 施設における衛生管理. 令和2年度食品衛生管理者登録講習会（(公社)全国食肉学校：群馬県佐波郡）2021年2月5日.
- 5) 森田幸雄. 食肉及びジビエの衛生管理. ジビエ基礎セミナー（(公社)全国食肉学校：群馬県佐波郡）2021年2月10日.
- 6) 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. 日本カンピロバクター第13回総会. オンライン. 2020年10月1日.
- 7) 山田和弘、續木洋一、佐藤克彦、朝倉宏. 市販鶏肉から分離される *Campylobacter jejuni* の血清遺伝子型分布調査. 日本カンピロバクター第13回総会. オンライン. 2020年10月1日.
- 8) 中村寛海、秋吉充子、後藤薫、柴川紗恵子、朝倉宏、小笠原準. 輸入食肉からのカンピロバクター、サルモネラおよび腸管出血性大腸菌の検出とこれらを評価するための衛生指標菌について. 日本カンピロバクター第13回総会. オンライン. 2020年10月1日.
- 9) 熊谷優子、窪田邦宏、朝倉宏. カンピロバクター食中毒の食品寄与率に関する研究. 日本カンピロバクター第13回総会. オンライン. 2020年10月1日.

- 10) 渡部百合、関口幸恵、内田和之、朝倉宏.
Campylobacter 定量試験における自動生菌数
測定装置 TEMPO と mCCDA 培地との比較. 日
本カンピロバクター第 13 回総会. オンライン.
2020 年 10 月 1 日.

G.知的財産権取得状況

該当なし

II. 分担研究報告

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）

「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」

分担研究報告書

牛体表の汚染状況把握

分担研究者 森田 幸雄 麻布大学・獣医学部 教授
研究協力者 小林 光士、古内 功二、小野寺 仁、小池 史晃、辻 芳裕、
寺地 真弓（JA 飛騨ミート）
塚本 真由美、山崎 翔矢、安江 智雄（岐阜県飛騨食肉衛生検査所）
岡谷 友三、中込 就子、佐藤 妃恵、大石 和樹、安達 悠太、
永田 栞、田内 春香、渡辺 哲史、廣瀬 絵美香、清水 香南、
石井 弘祐、鈴木 このみ（麻布大学）

研究要旨

衛生的なと畜処理を実施するため、5頭の黒毛和種牛の糞便の食中毒菌保菌調査および1頭につき15か所の体表をフードスタンプを用いて採取し、食中毒菌検査と衛生指標菌（一般細菌数、腸内細菌科菌群数、大腸菌群数、大腸菌数）検査を実施し、体表の衛生状況を調査した。100%(5/5頭)の黒毛和種牛の糞便から *C.jejuni* が、20%(1/5頭)から腸管出血性大腸菌(STEC)が検出された。一方、供試した5頭の牛体表からはカンピロバクターならびに STEC は分離できなかった。フードスタンプを用いた体表の検査においても、一般細菌は 4.18 log 個/cm²、腸内細菌科菌群は 1.62 log 個/cm²、大腸菌群は 0.90 log 個/cm²、大腸菌数は 0.79 log 個/cm²が検出された。また、一般細菌数では⑥胸部正中、⑦腹部正中、⑧踝外側左が多かった。大腸菌群数および大腸菌数も⑥胸部正中が最も高値を示した。正中はと畜処理では必ず刀を入れる部位である。と畜処理においては、体表は高度に汚染しているものと理解し、特に正中に刀を入れるときには、消毒したナイフの刃を手前に向け、皮を内側から外側に切開することが、食肉衛生学的に有効であると思われた。

A. 研究目的

枝肉への汚染は、と畜作業中の体表からの汚染と消化管内容物からの汚染である。牛は消化管内や腸管出血性大腸菌(STEC)を約20%、保菌している（H24年度農林水産省調査：<https://www.maff.go.jp/j/syouan/seisaku/kekka/gyuniku/stec/05.html>）。消化管内容物からの汚染は、食道結紮と肛門結紮を実施すること、および、と畜作業時に、消化管内容物の漏出がないように丁寧に内臓を摘出することによって行われている。また、体表からの汚染を少なくするために、と畜場法施

行規則第七条のと畜業者等の講ずべき衛生措置のたいの剥皮については、「獣毛等による汚染を防ぐため、必要な最小限度の切開をした後、ナイフを消毒し、ナイフの刃を手前に向け、皮を内側から外側に切開すること。」「剥皮された部分は、外皮による汚染を防ぐこと。」と記述されている。

そこで、黒毛和種牛の外皮の汚染状況を、衛生指標菌（一般細菌数、腸内細菌科菌群数、大腸菌群数、大腸菌数）を用いて調査した。

B. 研究方法

令和2年11月10日、JA飛騨ミートの係留所内で、5頭の黒毛和種牛の糞便および体表を採取した。糞便は、1頭について25g以上の排泄便を採取した。体表検体は、体表15か所(頸部正中、肘外側左右、胸部正中、腹部正中、くるぶし外側左右、内もも左右、もも後左右、肛門左右、頸左右)をフードスタンプ生菌数用・標準寒天(日水製菓株)を600-700g圧で10秒間体表に押し付けた(図1)。なお、フードスタンプは10cm²である。糞便ならびに体表検体は、4℃で冷蔵保存にて輸送し、11月13日より検査を実施した。

体表検体の検査方法：体表に押し付けたフードスタンプの寒天部分をストマッカー袋に入れ、計量後、90mLのPBSを加え、ストマッカー処理(30秒間)を実施したものを試料原液とし、試料原液および適宜希釈液を作製した。一般細菌数は、ACプレート、腸内細菌科菌群数はEBプレート、大腸菌群・大腸菌数はECプレート(以上、ペトリフィルム、3M株)を用いて測定した。サルモネラは試料原液5mLを45mLのBPWに加え、42℃、24時間、好気培養後、1mLを9mLのハーナテトラチオネート培地に加え42℃、24時間好気培養を実施した。その後、クロモアガーサルモネラ培地(クロモアガー社製)に塗抹し、37℃、24時間好気培養を行った。カンピロバクターは試料原液5mLを45mLのプレストン培地に加え、42℃、24時間、微好気培養を実施後、クロモアガーカンピロバクター培地に塗抹し、42℃、48時間、微好気培養を行った。腸管出血性大腸菌(STEC)は、試料原液5mLを45mLのノボビオシン加mEC培地に加え、42℃、24時間、好気培養した。その後、クロモアガーSTECに塗抹し、37℃、24時間培養を行った。各選択培地上に発育した特異的な集落は、食品衛生検査指針、微生物編、(2015、(公)日本食品衛生協会)に従い、同定を実施した。

ペトリフィルムを用いた菌数測定法等：各ペトリフィルムの適正測定範囲はACプレートの~300集落、EBプレートのそれは~100集落、ECプレートのそれは~150集落で、1集落から有効であり、一般細菌数の検出限界値は500個/cm²、腸内細菌科菌群数は50個/cm²、大腸菌群・大腸菌数は5個/cm²であることから、陰性の場合には各々の菌の検出限界値の1/2である、250個/cm²、25個/cm²、2.5個/cm²とした。

糞便検体の病原体検査方法：サルモネラは糞便1gを10mLのBPWに加え、42℃、24時間、好気培養後、9mLのハーナテトラチオネート培地に1mL加え42℃、24時間、好気培養を実施した。その後、クロモアガーサルモネラ培地に塗抹し、37℃、24時間好気培養を行った。カンピロバクターは糞便1gを9mLのプレストン培地に加え、42℃、24時間、微好気培養を実施後、クロモアガーカンピロバクター培地に塗抹し、42℃、48時間、微好気培養を行った。腸管出血性大腸菌(STEC)は、糞便1gを9mLのノボビオシン加mEC培地に加え、42℃、24時間、好気培養した。その後、CT加クロモアガーSTECに塗抹し、37℃、24時間培養を行った。各選択酵素基質培地上に発育した特異的な集落は、食品衛生検査指針、微生物編、(2015、(公)日本食品衛生協会)に従い、同定を実施した。

C. 研究結果

①サルモネラ、カンピロバクター、STEC検出状況
黒毛和種牛5頭(検体番号1~5)の糞便検体から、カンピロバクターは全頭から分離され分離菌種は*C. jejuni*であった。STECは1頭(検体番号2)から分離され、2型毒素産生株であった。サルモネラは検出されなかった。

5頭の15か所の体表検体からは、供試した病原体は検出されなかった。

②黒毛和種牛体表の部位別一般細菌数(図3、表1)

供試した5頭の体表の全ての部位の平均菌数は4.18 Log 個/cm²(15,018 個/cm²)であった。部位別にみると⑥胸部正中が最も多く5.06 Log 個/cm²(115,280 個/cm²)、次いで、⑦腹部正中(4.94 Log 個/cm²:87,848 個/cm²)、⑧踝外側左(4.94 Log 個/cm²:86,990 個/cm²)であった。

③黒毛和種牛体表の部位別腸内細菌科菌群数(図2、表2)

供試した5頭の体表の全ての部位の平均菌数は1.62 Log 個/cm²(42 個/cm²)であった。部位別にみると⑫もも後側左が最も多く1.91 Log 個/cm²(81 個/cm²)、次いで、⑦腹部正中(1.90 Log 個/cm²:79 個/cm²)、⑭肛門左(1.89 Log 個/cm²:77 個/cm²)であった。

④黒毛和種牛体表の部位別大腸菌群数（図2、表4）

供試した5頭の体表の全ての部位の平均菌数は0.90 Log 個/cm² (8.0 個/cm²)であった。部位別にみると⑥胸部正中が最も多く1.45 Log 個/cm² (28.0 個/cm²)、次いで、⑦腹部正中(1.26 Log 個/cm²:18.4 個/cm²)、⑭肛門左(1.24 Log 個/cm²:17.4 個/cm²)であった。

⑤黒毛和種牛体表の部位別大腸菌数（図2、表5）

供試した5頭の体表の全ての部位の平均菌数は0.79 Log 個/cm² (6.2 個/cm²)であった。部位別にみると⑥胸部正中が最も多く1.14 Log 個/cm² (13.8 個/cm²)、次いで、⑭肛門左(1.16 Log 個/cm²:14.4 個/cm²)、⑫もも後側左(1.11 Log 個/cm²:13.0 個/cm²)であった。

D. 考察

衛生的な枝肉を生産するための一助として、黒毛和種牛の体表の汚染状況検査を実施した。

黒毛和種牛は高率に *C. jejuni* を、20% (1/5 頭) は STEC を保菌していた。よって、糞便が枝肉表面に付着することは、これらの病原菌に汚染される可能性があるため、ゼロトレランス（目に見える糞便、腸内容物をトリミングすること）が有効であることが再確認された。

今回、黒毛和種牛体表を、フードスタンプ生菌数用・標準寒天を600-700g圧で10秒間押し当てる採取法（フードスタンプ法）を実施した。5頭の体表検体、計75検体からカンピロバクター、STEC、サルモネラを体表から分離できなかった。体表を採取する方法としては簡易な方法であったが、検出限界値に問題があるかもしれない。

フードスタンプ法を用いた体表の検査においても、一般細菌は4.18 Log 個/cm²、腸内細菌科菌群は1.62 Log 個/cm²、大腸菌群は0.90 Log 個/cm²、大腸菌数は0.79 Log 個/cm²が検出された。また、今回の調査では、一般細菌数では⑥胸部正中、⑦腹部正中、⑧踝外側左が多かった。大腸菌群数および大腸菌数も⑥胸部正中が最も高値を示した。正中はと畜処理では必ず刀を入れる部位である。よって、と畜処理においては、体表は高度に汚染しているものと理解し、特に正中に刀を入れるときには、消毒したナイフの刃を手前に向け、

皮を内側から外側に切開することが、食品衛生学的に有効であると思われた。

E. 結論

黒毛和種牛は、糞便から高率に *C. jejuni* が、20% から STEC を保菌していることから、糞便が枝肉に付着しないようにと畜処理し、付着した場合は、その個所をトリミングすることにより汚染を除去することが食肉衛生学的に重要である。

と畜処理においては、体表は高度に汚染しているものと理解し、獣毛等による汚染を防ぐため、必要な最小限度の切開をした後、ナイフを消毒し、ナイフの刃を手前に向け、皮を内側から外側に切開する操作が衛生的に重要であり、特に正中に刀を入れるときは、消毒したナイフの刃を手前に向け、皮を内側から外側に切開することが、食肉衛生学的に有効であると思われた。

F. 健康危険情報

特になし。

G. 研究発表

1. 論文発表
なし
2. 学会発表等
 - 1) 森田幸雄. 食肉（ジビエ）処理加工施設の衛生管理について. 令和2年度国産ジビエ認証制度の事業者説明会（岩見沢コミュニティプラザ）2020年11月16日
 - 2) 森田幸雄. 食肉（ジビエ）処理加工施設の衛生管理について. 令和2年度国産ジビエ認証制度の事業者説明会（全水道会館：東京都文京区）2020年11月27日
 - 3) 森田幸雄. 食肉（ジビエ）処理加工施設の衛生管理について. 国産ジビエ認証審査員候補者研修会（全水道会館：東京都文京区）2020年11月27日.
 - 4) 森田幸雄. 施設における衛生管理. 令和2年度食品衛生管理者登録講習会（(公社)全国食肉学校：群馬県佐波郡）2021年2月5日
 - 5) 森田幸雄. 食肉及びジビエの衛生管理. ジビエ基礎セミナー（(公社)全国食肉学校：群馬県佐波郡）2021年2月10日

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得
なし

2. 実用新案登録
なし

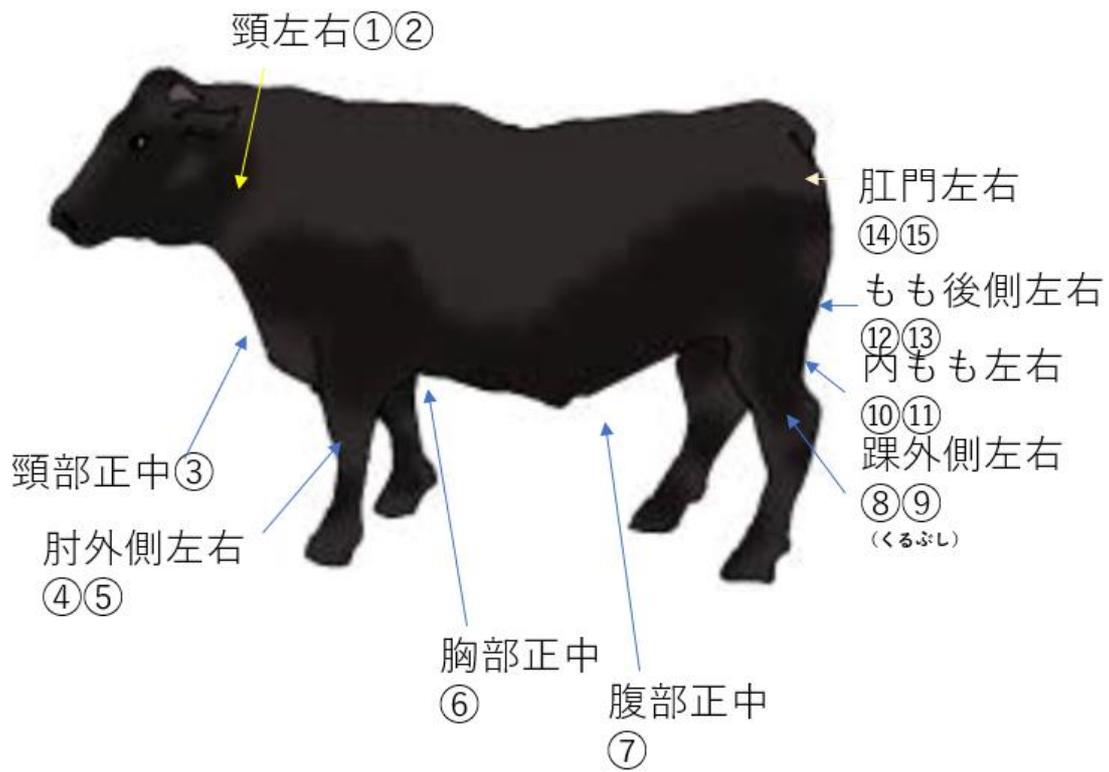


図 1. 牛体表検体の採取場所

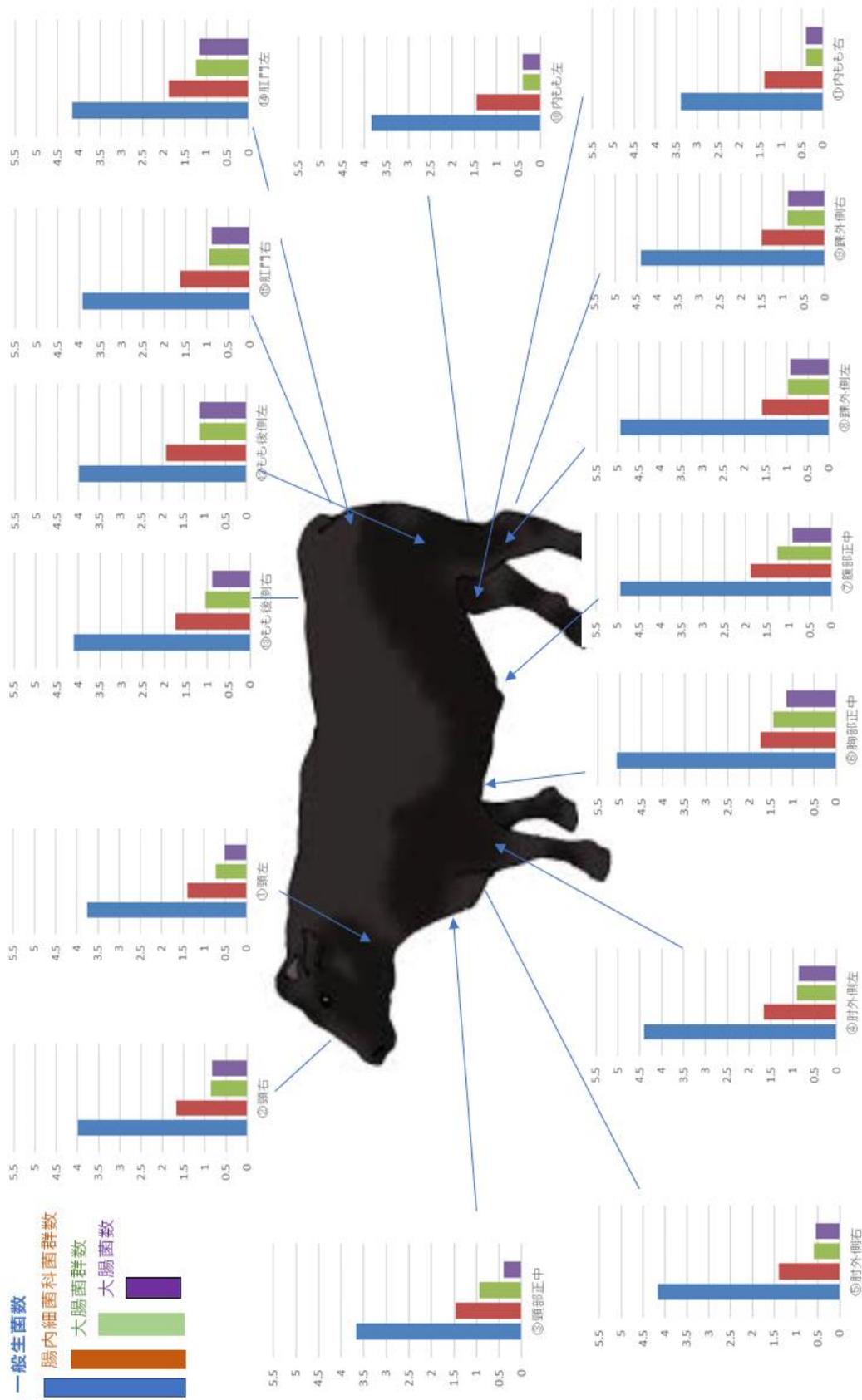


図 2. 黒毛和種牛体表の部位別細菌汚染状況

表 1. 黒毛和種牛体表の部位別一般細菌数

部位	1		2		3		4		5		対数平均		平均	
	個/cm ²	Log 個/cm ²												
① 頸左	6,594	3.82	1,413	3.15	11,304	4.05	2,826	3.45	19,782	4.30	5,675	3.75		
② 頸右	13,188	4.12	24,021	4.38	19,311	4.29	1,413	3.15	10,833	4.03	9,869	3.99		
③ 頸部正中	3,297	3.52	6,123	3.79	2,355	3.37	8,007	3.90	6,123	3.79	4,715	3.67		
④ 肘外側左	26,376	4.42	29,202	4.47	23,079	4.36	6,594	3.82	84,309	4.93	25,059	4.40		
⑤ 肘外側右	61,230	4.79	7,065	3.85	10,362	4.02	9,891	4.00	16,014	4.20	14,800	4.17		
⑥ 胸部正中	169,560	5.23	38,151	4.58	150,720	5.18	209,124	5.32	99,852	5.00	115,280	5.06		
⑦ 腹部正中	161,082	5.21	12,717	4.10	44,274	4.65	927,870	5.97	62,172	4.79	87,848	4.94		
⑧ 踝外側左	155,430	5.19	20,724	4.32	262,347	5.42	42,861	4.63	137,532	5.14	86,990	4.94		
⑨ 踝外側右	38,622	4.59	24,021	4.38	65,469	4.82	4,710	3.67	30,144	4.48	24,386	4.39		
⑩ 内もも左	1,884	3.28	11,304	4.05	41,919	4.62	2,826	3.45	6,594	3.82	6,986	3.84		
⑪ 内もも右	1,884	3.28	4,710	3.67	21,195	4.33	250	2.40	1,884	3.28	2,041	3.39		
⑫ もも後側左	4,710	3.67	942	2.97	87,135	4.94	9,891	4.00	21,195	4.33	9,588	3.98		
⑬ もも後側右	7,536	3.88	6,123	3.79	125,757	5.10	16,956	4.23	3,768	3.58	12,996	4.11		
⑭ 肛門左	5,181	3.71	8,949	3.95	16,014	4.20	6,594	3.82	124,815	5.10	14,362	4.16		
⑮ 肛門右	10,833	4.03	6,123	3.79	23,550	4.37	1,413	3.15	17,898	4.25	8,305	3.92		
平均	15,205	4.18	8,900	3.95	32,678	4.51	8,518	3.93	21,559	4.33	15,018	4.18		

表 2. 黒毛和種牛体表の部位別腸内細菌科菌群数

部位	1		2		3		4		5		対数平均		平均	
	個/cm ²	Log 個/cm ²												
① 頸左	25	1.40	25	1.40	25	1.40	25	1.40	25	1.40	25	1.40	25	1.40
② 頸右	25	1.40	25	1.40	25	1.40	25	1.40	565	2.75	47	1.67		
③ 頸部正中	25	1.40	25	1.40	25	1.40	25	1.40	57	1.75	29	1.47		
④ 肘外側左	25	1.40	25	1.40	25	1.40	25	1.40	518	2.71	46	1.66		
⑤ 肘外側右	25	1.40	25	1.40	25	1.40	25	1.40	25	1.40	25	1.40		
⑥ 胸部正中	25	1.40	25	1.40	25	1.40	236	2.37	141	2.15	55	1.74		
⑦ 腹部正中	141	2.15	25	1.40	25	1.40	1366	3.14	25	1.40	79	1.90		
⑧ 踝外側左	25	1.40	25	1.40	52	1.71	25	1.40	99	2.00	38	1.58		
⑨ 踝外側右	25	1.40	25	1.40	94	1.97	25	1.40	25	1.40	27	1.51		
⑩ 内もも左	25	1.40	25	1.40	25	1.40	47	1.67	25	1.40	28	1.45		
⑪ 内もも右	25	1.40	25	1.40	25	1.40	25	1.40	25	1.40	25	1.40		
⑫ もも後側左	25	1.40	25	1.40	25	1.40	25	1.40	9326	3.97	81	1.91		
⑬ もも後側右	25	1.40	25	1.40	25	1.40	47	1.67	777	2.89	56	1.75		
⑭ 肛門左	25	1.40	25	1.40	141	2.15	25	1.40	1225	3.09	77	1.89		
⑮ 肛門右	25	1.40	25	1.40	25	1.40	25	1.40	386	2.59	43	1.64		
平均	28	1.45	25	1.40	32	1.51	41	1.62	142	2.15	42	1.62		

表 3. 黒毛和種牛体表の部位別大腸菌群数

部位	1		2		3		4		5		対数平均		平均	
	個/cm ²	Log 個/cm ²												
① 頸左	2.5	0.40	14.1	1.15	2.5	0.40	2.5	0.40	18.8	1.28	5.3	0.72		
② 頸右	2.5	0.40	2.5	0.40	2.5	0.40	2.5	0.40	522.8	2.72	7.3	0.86		
③ 頸部正中	2.5	0.40	14.1	1.15	2.5	0.40	9.4	0.97	56.5	1.75	8.6	0.93		
④ 肘外側左	9.4	0.97	2.5	0.40	2.5	0.40	2.5	0.40	226.1	2.35	8.0	0.90		
⑤ 肘外側右	2.5	0.40	2.5	0.40	2.5	0.40	2.5	0.40	23.6	1.37	3.9	0.59		
⑥ 胸部正中	18.8	1.28	2.5	0.40	23.6	1.37	235.5	2.37	65.9	1.82	28.0	1.45		
⑦ 腹部正中	65.9	1.82	2.5	0.40	2.5	0.40	1078.6	3.03	4.7	0.67	18.4	1.26		
⑧ 踝外側左	2.5	0.40	2.5	0.40	51.8	1.71	2.5	0.40	98.9	2.00	9.6	0.98		
⑨ 踝外側右	2.5	0.40	2.5	0.40	113.0	2.05	4.7	0.67	9.4	0.97	7.9	0.90		
⑩ 内もも左	2.5	0.40	2.5	0.40	2.5	0.40	2.5	0.40	2.5	0.40	2.5	0.40		
⑪ 内もも右	2.5	0.40	2.5	0.40	2.5	0.40	2.5	0.40	2.5	0.40	2.5	0.40		
⑫ もも後側左	2.5	0.40	2.5	0.40	2.5	0.40	2.5	0.40	1045.6	3.02	8.4	0.92		
⑬ もも後側右	2.5	0.40	2.5	0.40	2.5	0.40	14.1	1.15	777.2	2.89	11.1	1.05		
⑭ 肛門左	2.5	0.40	2.5	0.40	117.8	2.07	2.5	0.40	876.1	2.94	17.4	1.24		
⑮ 肛門右	2.5	0.40	2.5	0.40	9.4	0.97	2.5	0.40	386.2	2.59	8.9	0.95		
平均	3.9	0.59	3.1	0.50	6.5	0.81	6.5	0.81	64.7	1.81	8.0	0.90		

表 4. 黒毛和種牛体表の部位別大腸菌数

部位	1		2		3		4		5		対数平均		平均	
	個/cm ²	Log 個/cm ²												
① 頸左	2.5	0.40	2.5	0.40	2.5	0.40	2.5	0.40	9.4	0.97	3.3	0.51		
② 頸右	2.5	0.40	2.5	0.40	2.5	0.40	2.5	0.40	376.8	2.58	6.8	0.83		
③ 頸部正中	2.5	0.40	2.5	0.40	2.5	0.40	2.5	0.40	2.5	0.40	2.5	0.40		
④ 肘外側左	2.5	0.40	2.5	0.40	2.5	0.40	9.4	0.97	136.6	2.14	7.3	0.86		
⑤ 肘外側右	2.5	0.40	2.5	0.40	2.5	0.40	2.5	0.40	14.1	1.15	3.5	0.55		
⑥ 胸部正中	2.5	0.40	2.5	0.40	18.8	1.28	113.0	2.05	37.7	1.58	13.8	1.14		
⑦ 腹部正中	2.5	0.40	2.5	0.40	2.5	0.40	527.5	2.72	4.7	0.67	8.3	0.92		
⑧ 踝外側左	2.5	0.40	2.5	0.40	33.0	1.52	2.5	0.40	70.7	1.85	8.2	0.91		
⑨ 踝外側右	2.5	0.40	2.5	0.40	84.8	1.93	4.7	0.67	9.4	0.97	7.5	0.87		
⑩ 内もも左	2.5	0.40	2.5	0.40	2.5	0.40	2.5	0.40	2.5	0.40	2.5	0.40		
⑪ 内もも右	2.5	0.40	2.5	0.40	2.5	0.40	2.5	0.40	2.5	0.40	2.5	0.40		
⑫ もも後側左	2.5	0.40	2.5	0.40	2.5	0.40	2.5	0.40	9325.8	3.97	13.0	1.11		
⑬ もも後側右	2.5	0.40	2.5	0.40	2.5	0.40	2.5	0.40	711.2	2.85	7.7	0.89		
⑭ 肛門左	2.5	0.40	2.5	0.40	51.8	1.71	2.5	0.40	758.3	2.88	14.4	1.16		
⑮ 肛門右	2.5	0.40	2.5	0.40	4.7	0.67	2.5	0.40	362.7	2.56	7.7	0.89		
平均	2.5	0.40	2.5	0.40	5.5	0.74	5.2	0.72	49.1	1.69	6.2	0.79		

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）

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

分担研究報告書

ふき取りに代わると畜場内枝肉、市販牛肉・豚肉の内部検証法の検討

分担研究者 森田 幸雄 麻布大学・獣医学部 教授

研究協力者 成田 静香、菊池 貴子、原 理洋（スターゼン株）
三好 円、花田 博、黒木 重孝、奈須 正知、
馬場 俊行（スターゼンミートプロセッサー（株））
下郷 晶子（日水製薬株）
岡谷 友三、中込 就子、佐藤 妃恵、大石 和樹、安達 悠太、
永田 栞、田内 春香、渡辺 哲史、廣瀬 絵美香、清水 香南、
石井 弘祐、鈴木 このみ（麻布大学）

研究要旨

と畜場は、HACCP 導入後は、HACCP が規定通り運用されているか、内部検証と外部検査用が実施される。食肉衛生検査所が実施する外部検証法は厚生労働省より通知され、切除法が用いられている。そこで、切除法、ふき取り法、スタンプ法について検討した。また、市販肉についてはスポンジ法についても比較検討した。2 つのと畜場でと畜解体された各 11 頭の牛豚枝肉の左右の胸部を調査した。EU 規定で最良レベルを示している、衛生的な牛枝肉（一般細菌数：3.5 log 個/cm²未満、腸内細菌科菌群数：1.5 log 個/cm²未満）を生産していると畜場では、スタンプの一般細菌数を用いること、スタンプやふき取りでの腸内細菌科菌群陰性を確認することで、牛枝肉の細菌検査の内部検証が可能かもしれない。EU 規定では最良レベルの衛生的な豚枝肉（一般細菌数：4.0 log 個/cm²未満、腸内細菌科菌群数：2.0 log 個/cm²未満）を生産していると畜場では、ふき取り法およびスタンプの一般細菌数を用いることで豚枝肉の細菌検査の内部検証が可能かもしれない。市販牛肉および市販豚肉の一般細菌数の平均値は、必ずしも切除法が最も多いわけではなかった。腸内細菌科菌群数の平均値は、切除法が最も多い値を示した。市販牛肉・豚肉のビニール包装をはがした脂肪面は湿気があり、水分が多く、このような条件では、切除法のみならず、スポンジ法は一般細菌数、腸内細菌科菌群数の試験では測定可能であると思われた。スタンプ法は希釈をしないことから、高度に汚染している検体には不向きであった。スタンプ法は、衛生度が高い牛・豚枝肉を生産していると畜場の内部検証としては有効かもしれない。

A. 研究目的

令和2年6月から、と畜場への HACCP 導入の制度化が実施され、一年間の移行期間があることから、令和3年6月から完全に実施される。HACCP は自主管理システムであり、検証方法（計画された検証[verification]と妥当性確認試験[Validation]）を設定しなければならない。これは HACCP を導入したと畜場が行うことから、内部検証とよばれる。

一方、と畜処理は、食品衛生的にハイリスクな作業であることから、各地方自治体に所属する公務員の獣医師によると畜検査が実施されている。と畜場への HACCP 制度化にともない、と畜検査員は、と畜場に導入された HACCP に対する外部検証を実施しなければならない。外部検証については、「と畜検査員及び食鳥検査員による外部検証の実施について」（生食発 0528 第1号、令和2

年5月28日) (以下、「外部検証通知」と略)により、その実施に関する手順、評価方法等に示されている。

同通知での微生物試験を用いた外部検証法は、トリミング後、冷蔵前の枝肉を切除法によってサンプリングし、一般細菌数と腸内細菌科菌群数によって評価することが示されている。

切除法は、採取者による操作上の差は無くなるが、枝肉表面を約10g切除するので、少量であるが枝肉を傷つけることになる。一方、従来、我が国で実施されていたふき取り法は採取者による操作で差がつきやすく各々の食肉検査所で得られた成績を比較しにくい。しかし、枝肉を傷つけることはない。米国、EUは切除法の成績を基本として、微生物検査を用いた内部検証または外部検証の基準を示している。

内部検証は、と畜場が行うもので、切除法でなくとも、切除法と同様な成績が得られ、しかも、簡易な方法であることが望まれる。枝肉表面をスタンプして、37℃で培養し、出現した集落で衛生度が判明するスタンプ等を用いることができれば、小さなと畜場においても、実施可能である。

そこで、と畜場内において、処理された枝肉や市販されている肉を用いて、現在、多用されているふき取り法に代わる内部検証法について検討した。

B. 研究方法

1. と畜場内牛・豚枝肉を用いた切除法、ふき取り法、スタンプ法による細菌検査結果の比較

令和2年10月～11月、A・Bの2つのと畜場でと畜解体され、冷却前の各11頭の牛・豚枝肉の左右の胸部(各22検体ずつ)を検体とした。検査は胸部の25cm²について1)切除法、2)ふき取り法、3)スタンプ法を実施。なお、Aと畜場は対米牛肉輸出処理認定施設、Bと畜場の豚の処理は湯剥き方式である。

切除法は、外部検証通知に従い、滅菌メス・ピンセット・ステンレス杓(5×5cm:25cm²)を用いて切除した。2)ふき取り法は市販拭き取り検査キットであるフキトレール(関東化学株)を用いた。ふき取り法での拭き取り方は図1に示す方法で、約600g圧で実施した。3)スタンプ法は特別に作製した25cm²のスタンプ生菌数用・標準寒天とスタンプ腸内細菌科菌群用・VRBG寒天(以上、日水

製薬株)を600-700g圧で10秒間、枝肉の胸部に押し付ける方法である。切除法およびふき取り法で採取した検体ならびにスタンプは4℃で冷蔵保存にて輸送し、検体は採取後3時間以内に検査に供した。

切除法による検体は、ストマッカー袋に入れた後に計量し、90mLのリン酸緩衝液(以下、「PBS」と略)を加え、ストマッカー処理(30秒間)を実施した。これを試料原液とし、試料原液および適宜希釈したPBSを作製した。ふき取り法は得られた10mL希釈液を試料原液とし、試料原液および適宜希釈したPBSを作製した。一般細菌数はACプレート、腸内細菌科菌群数はEBプレート、大腸菌群・大腸菌数はECプレート(以上、ペトリフィルム、3M株)を用いて測定した。枝肉胸部表面に押し付けたスタンプは、そのまま37℃のインキュベーターに入れ、スタンプ生菌数用・標準寒天は48時間、好気培養、スタンプ腸内細菌科菌群用・VRBG寒天は24時間、好気培養を実施した。

切除法およびふき取り法の一般細菌数の検出限界値は0.2個/cm²であり、陰性の場合には0.1個/cm²、スタンプ法の検出限界値は0.04個/cm²であり、陰性の場合には0.02個/cm²として計算した。

2. 市販牛肉・豚肉を用いた切除法、スポンジ法、ふき取り法、スタンプ法による細菌検査結果の比較

令和2年12月に、市販牛肉(豪州産牛ロース:消費期限2020.12.27)と市販豚肉(米国産豚ロース:消費期限2021.01.11)を購入した。なお、牛肉は消費期限23日前、市販豚肉は消費期限38日前に本細菌検査を実施した。肉塊表面について、切除法、スポンジ法、ふき取り法、スタンプ法を図2のとおり、採取場所が重ならないように採取した。

切除法、スポンジ法、ふき取り法、スタンプ法については、前述した1.の方法で実施した。スポンジ法のスポンジはWhire-PAK(Nasco)を用いた。スポンジ法は米国農務省食品安全検査局:Pathogen Reduction;Hazard Analysis and Critical Control Point(HACCP)Systems;Final Rule(July 25,1996)に記載されている方法を基本とした。まず、Whire-PAKの袋の上部の透明なミシン目の入った切片を切り取り、10mLの滅菌Bufferd Peptone Water(Oxoid)(以下、「BPW」と

略)をスポンジ袋に注ぎ、スポンジ全体を湿らせる。手術用手袋を装着し、汚染しないようにスポンジをとり 5×5cm(25 cm²)の滅菌ステンレス枠板の中を拭き取る。25 cm²のふき取り方法は図3に示す方法で、約 600 g 圧で実施した。拭き取ったスポンジはスポンジ袋に戻し、さらに追加の滅菌 BPW を加え、合計量を 25mL にし、試料原液とした。試料原液および適宜希釈液を作製し、切除法やふき取り法と同様に、一般細菌数、腸内細菌科菌群数、大腸菌群数、大腸菌数を測定した。

切除検体の試料原液については、サルモネラ、カンピロバクター、腸管出血性大腸菌(以下、「STEC」と略)の定性検査を実施した。サルモネラは試料原液 1mL を 9mL のハーナ テトラチオネート培地に加え 42°C、24 時間、好気培養を実施した。その後、クロモアーガー サルモネラ培地に塗抹し、37°C、24 時間、好気培養を行った。カンピロバクターは試料原液 1mL を 9mL のプレストン培地に加え、42°C、24 時間、微好気培養を実施後、クロモアーガー カンピロバクター培地に塗抹し、42°C、48 時間、微好気培養を行った。STEC は、試料原液 1mL を 9mL のノボビオシン加 mEC 培地に加え、42°C、24 時間、好気培養した。その後、CT 加クロモアーガー STEC に塗抹し、37°C、24 時間培養を行った。各選択酵素基質培地上に発育した特異的な集落は、食品衛生検査指針、微生物編、(2015、(公)日本食品衛生協会)に従い、同定を実施した。

C. 研究結果

1. と畜場内牛・豚枝肉を用いた切除法、ふき取り法、スタンプ法による細菌検査結果の比較

畜種別・と畜場別の切除法、ふき取り法、スタンプ法による対数平均菌数を表2に示す。

EU の規定では、牛の洗浄後冷却前の枝肉の切除法の一般細菌数の優良レベルは 3.5 log 個/cm²未満、許容レベルは 3.5~5.0 log 個/cm²、不適合レベルは 5.0 log 個/cm²以上である。また、腸内細菌科菌群数の優良レベルは 1.5 log 個/cm²未満、許容レベルは 1.5~2.5 log 個/cm²、不適合レベルは 2.5 log 個/cm²以上である。

EU の規定での一般細菌数による評価では、A と畜場の牛枝肉は、最良レベル、B と畜場の牛枝肉は許容レベル、腸内細菌科菌群による評価では、A と畜場、B と畜場ともに、最良レベルであった。

A と畜場牛枝肉(表1) : 切除法の平均一般細菌数は 87.90 個/cm²(1.94 log 個/cm²)、ふき取り法のそれは 45.13 個/cm²(1.65 log 個/cm²)であった。X 軸を切除法の対数値、Y 軸をふき取り法の対数値とした時の、回帰直線は $Y=0.4926X+0.6968$ ($R^2=0.3919$) であった(図4)。スタンプ法の平均一般細菌数は 4.26 個/cm²(0.63 log 個/cm²)であり、X 軸を切除法の対数値、Y 軸をスタンプ法の対数値とした時の、回帰直線は $Y=0.6206X-0.5773$ ($R^2=0.297$) であった(図5)。腸内細菌科菌群は切除法、ふき取り法、スタンプ法ともに検出限界値以下であった。

B と畜場牛枝肉(表1) : 切除法の平均一般細菌数は 406.42 個/cm²(2.61 log 個/cm²)、ふき取り法のそれは 95.64 個/cm²(1.98 log 個/cm²)であった。X 軸を切除法の対数値、Y 軸をふき取り法の対数値とした時の、回帰直線は $Y=0.3027X+1.191$ ($R^2=0.1202$) であった(図6)。スタンプ法の平均一般細菌数は 1.99 個/cm²(0.30 log 個/cm²)であり、X 軸を切除法の対数値、Y 軸をスタンプ法の対数値とした時の、回帰直線は $Y=0.5327X-1.0869$ ($R^2=0.3743$) であった(図7)。切除法の平均腸内細菌科菌群数は 2.14 個/cm²(0.33 log 個/cm²)、ふき取り法のそれは 0.45 個/cm²(-0.35 log 個/cm²)であった。X 軸を切除法の対数値、Y 軸をふき取り法の対数値とした時の、回帰直線は $Y=0.5675X-0.5325$ ($R^2=0.1285$) であった(図8)。スタンプ法の平均腸内細菌科菌群数は 0.11 個/cm²(-0.96 log 個/cm²)であり、X 軸を切除法の対数値、Y 軸をふき取り法の対数値とした時の、回帰直線は $Y=0.121X-0.9893$ ($R^2=0.0115$) であった(図9)。

A と畜場豚枝肉(表1) : 切除法の平均一般細菌数は 247.73 個/cm²(2.39 log 個/cm²)、ふき取り法のそれは 35.57 個/cm²(1.55 log 個/cm²)であった。X 軸を切除法の対数値、Y 軸をふき取り法の対数値とした時の、回帰直線は $Y=0.3331X+0.7537$ ($R^2=0.0584$) であった(図10)。スタンプ法の平均一般細菌数は 2.26 個/cm²(0.35 log 個/cm²)であり、X 軸を切除法の対数値、Y 軸をふき取り法の対数値とした時の、回帰直線は $Y=-0.2281X-0.2075$ ($R^2=0.1159$) であった(図11)。切除法の平均腸内細菌科菌群数は 2.66 個/cm²(0.42 log 個/cm²)、ふき取り法のそれは 0.43 個/cm²(-0.37 log 個/cm²)であった。X 軸を切除法の対

数値、Y軸をふき取り法の対数値とした時の、回帰直線は $Y=0.0221X-0.3526$ ($R^2=0.0004$)であった(図12)。スタンプ法の平均腸内細菌科菌群数は0.11個/cm²(-0.96 log 個/cm²)であり、X軸を切除法の対数値、Y軸をふき取り法の対数値とした時の、回帰直線は $Y=-0.13X-0.8884$ ($R^2=0.0098$)であった(図13)。

Bと畜場豚枝肉(表1)：切除法の平均一般細菌数は1,709.79個/cm²(3.23 log 個/cm²)、ふき取り法のそれは1,334個/cm²(3.13 log 個/cm²)であった。X軸を切除法の対数値、Y軸をふき取り法の対数値とした時の、回帰直線は $Y=0.5403X+1.3784$ ($R^2=0.283$)であった(図14)。スタンプ法の平均一般細菌数は3.02個/cm²(0.48 log 個/cm²)であり、X軸を切除法の対数値、Y軸をふき取り法の対数値とした時の、回帰直線は $Y=0.439X-0.9398$ ($R^2=0.3079$)であった(図15)。切除法の平均腸内細菌科菌群数は1.20個/cm²(0.08 log 個/cm²)、ふき取り法のそれは0.17個/cm²(-0.77 log 個/cm²)であった。X軸を切除法の対数値、Y軸をふき取り法の対数値とした時の、回帰直線は $Y=0.874X-0.8334$ ($R^2=0.1984$)であった(図16)。スタンプ法の平均腸内細菌科菌群数は0.03個/cm²(-1.52 log 個/cm²)であり、X軸を切除法の対数値、Y軸をふき取り法の対数値とした時の、回帰直線は $Y=-0.272X-1.5545$ ($R^2=0.0563$)であった(図17)。

2. 市販牛肉・豚肉を用いた切除法、スポンジ法、ふき取り法、スタンプ法による細菌検査結果の比較

供試した市販牛肉と豚肉からはサルモネラ、カンピロバクター、STECは分離されなかった。

各検体の採取方法による一般細菌数の検出状況を表2、図18に示す。牛肉の切除法は平均1,412.97個/cm²(90.44~14,144個/cm²)、スポンジ法は平均3,909個/cm²(1,140.00~34,050.00個/cm²)、ふき取り法は平均4,524.38個/cm²(338.00~57,200個/cm²)、スタンプはL.A(Laboratory accident)を除くと平均37.74個/cm²(12.00~72.00個/cm²)であった。牛肉ではふき取り法が最も高値を示し、次いで、スポンジ法、切除法、スタンプ法の順であった。豚肉の切除法は平均1,470.24個/cm²(187.56~5,956.44個/cm²)、スポンジ法は平均2,373.21個/cm²(935.00~15,950.00

個/cm²)、ふき取り法は平均351.04個/cm²(37.80~7,920.00個/cm²)、スタンプは平均7.29個/cm²(3.60~17.60個/cm²)であった。豚肉ではスポンジ法が最も高値を示し、次いで、切除法、ふき取り法、スタンプ法の順であった。

各検体の採取方法による腸内細菌科菌群数の検出状況を表3、図19に示す。牛肉の切除法は平均9.02個/cm²(4.07~212.36個/cm²)、スポンジ法は平均3.67個/cm²(0.25~93.00個/cm²)、ふき取り法は平均2.74個/cm²(0.40~33.60個/cm²)、スタンプは平均0.08個/cm²(0.02~3.40個/cm²)であった。牛肉では切除法が最も高値を示し、次いで、スポンジ法、ふき取り、スタンプ法の順であった。豚肉の切除法は平均7.64個/cm²(6.23~98.63個/cm²)、スポンジ法は平均6.60個/cm²(0.50~82.50個/cm²)、ふき取り法は平均0.91個/cm²(0.10~4.40個/cm²)、スタンプは平均0.57個/cm²(0.02~32.00個/cm²)であった。豚肉では切除法が最も高値を示し、次いで、スポンジ法、ふき取り、スタンプ法の順であった。

D. 考察

1. と畜場内牛・豚枝肉を用いた切除法、ふき取り法、スタンプ法による細菌検査結果の比較

Aと畜場の牛枝肉は、対米牛肉輸出認定施設で、一般細菌数および腸内細菌科菌群数においても、最良レベルの枝肉が生産されていることが確認された。

Aと畜場牛枝肉：切除法とふき取り法との一般細菌数の平均値の差は約2倍あり、切除法が高値であった。回帰直線の決定係数は0.3919で関連性は少ないが、例数を重ねることと畜場の衛生管理を把握する内部検証としては、ふき取りでも良いかもしれない。切除法とスタンプ法との一般細菌数の平均値の差は約20倍あり、切除法が高値であった。回帰直線の決定係数は0.297で関連性は少ないが、例数を重ねることと畜場の衛生管理を把握する内部検証としては、スタンプでも良いかもしれない。

Bと畜場牛枝肉：切除法とふき取り法との一般細菌数の平均値の差は約4倍あり、切除法が高値であった。回帰直線の決定係数は0.1202で関連性は少ないが、例数を重ねることと畜場の衛生管理を把握する内部検証としては、ふき取りでも良いかもしれない。切除法とスタンプ

法との一般細菌数の平均値の差は約 200 倍あり、切除法が高値であった。回帰直線の決定係数は 0.3743 で関連性は少ないが、例数を重ねることと畜場の衛生管理を把握する内部検証としては、スタンプでも良いかもしれない。

切除法とふき取り法との腸内細菌科菌群数の平均値の差は約 5 倍あり、切除法が高値であった。回帰直線の決定係数は 0.1285 で、関連性は少ないと思われた。切除法とスタンプ法との腸内細菌科菌群数の平均値の差は約 20 倍あり、切除法が高値であった。回帰直線の決定係数は 0.0115 で、関連性は少なかった。

A と畜場豚枝肉：切除法とふき取り法との一般細菌数の平均値の差は約 7 倍あり、切除法が高値であった。回帰直線の決定係数は 0.0584 で、関連性は少ない。切除法とスタンプ法との一般細菌数の平均値の差は約 110 倍あり、切除法が高値であった。回帰直線の決定係数は 0.1159 で、関連性は少なかった。切除法とふき取り法との腸内細菌科菌群数の平均値の差は約 6 倍あり、切除法が高値であった。回帰直線の決定係数は 0.0004 で、関連性は少なかった。切除法とスタンプ法との腸内細菌科菌群数の平均値の差は約 24 倍あり、切除法が高値であった。回帰直線の決定係数は 0.0098 で関連性は少なかった。

B と畜場豚枝肉：切除法とふき取り法との一般細菌数の平均値の差は約 1.3 倍あり、切除法が高値であった。回帰直線の決定係数は 0.283 で関連性は少ないが、例数を重ねることと畜場の衛生管理を把握する内部検証としては、ふき取りでも良いかもしれない。切除法とスタンプ法との一般細菌数の平均値の差は約 565 倍あり、切除法が高値であった。回帰直線の決定係数は 0.3079 で関連性は少ないが、例数を重ねることと畜場の衛生管理を把握する内部検証としては、ふき取りでも良いかもしれない。

切除法とふき取り法との腸内細菌科菌群数の平均値の差は約 7 倍あり、切除法が高値であった。回帰直線の決定係数は 0.1984 で、関連性は少なかった。切除法とスタンプ法との腸内細菌科菌群数の平均値の差は約 40 倍あり、切除法が高値であった。回帰直線の決定係数は 0.0563 で、関連性は少ないと思われた。

切除法とふき取り法、切除法とスタンプ法の一般細菌数、腸内細菌科菌群数で平均値の差が、と畜場ごとに異なっていた。これはと畜方法や検体採取場所の枝肉の状況（水分量）等によって変わるものと思われた。

EU 規定で最良レベルを示している、衛生的な牛枝肉を生産していると畜場では、スタンプの一般細菌数を用いること、スタンプやふき取りでの腸内細菌科菌群陰性を確認することで、牛枝肉の細菌検査の内部検証が可能かもしれない。

B と畜場は湯剥ぎ方式の処理であり、EU 規定では最良レベルの衛生的な豚枝肉を生産している。ふき取り法およびスタンプの一般細菌数を用いることで豚枝肉の細菌検査の内部検証が可能かもしれない。

2. 市販牛肉・豚肉を用いた切除法、スポンジ法、ふき取り法、スタンプ法による細菌検査結果の比較

同じ製造ロットの肉塊の包装製品でも、検査部位が異なると、その部位を汚染している菌数は異なると思われた。

牛肉 5 部位、豚肉 5 部位の各種検体採取法の違いによる一般細菌数の平均値は、必ずしも切除法が最も多いわけではなく、牛肉ではふき取り法、豚肉ではスポンジ法が多かった。牛肉 5 部位、豚肉 5 部位の各種検体採取法の違いによる腸内細菌科菌群数の平均値は、切除法が最も多い値を示した。市販牛肉・豚肉のビニール包装をはがした脂肪面は湿気があり水分が多い。このような条件では、切除法のみならず、スポンジ法は一般細菌数、腸内細菌科菌群数の試験では測定可能であると思われた。スタンプ法は希釈をしないことから、高度に汚染している検体には不向きであり、かつ、検出できる菌数は少ないことが判明した。

E. 結論

1. と畜場内牛・豚枝肉を用いた切除法、ふき取り法、スタンプ法による細菌検査結果の比較

切除法は、ふき取り法にくらべて、一般細菌数、腸内細菌科菌群数ともに、常に高値を示していた。切除法の成績を、EU 規定にあわせ、枝肉の衛生度を把握することが可能である。

EU 規定で最良レベルの衛生的な牛枝肉を生産

していると畜場では、スタンプの一般細菌数を用いること、または、スタンプやふき取りでの腸内細菌科菌群陰性を確認することで、牛枝肉の細菌検査の内部検証が可能かもしれない。EU 規定で最良レベルの衛生的な豚枝肉を生産していると畜場では、ふき取り法およびスタンプの一般細菌数を用いることで豚枝肉の細菌検査の内部検証が可能かもしれない。

2. 市販牛肉・豚肉を用いた切除法、スポンジ法、ふき取り法、スタンプ法による細菌検査結果の比較

同じ製造ロットの肉塊の包装製品でも、検査部位が異なると、その部位を汚染している菌数は異なると思われる。各種検体採取法の違いによる一般細菌数の平均値は、必ずしも切除法が最も多いわけではなかった。腸内細菌科菌群数の平均値は、切除法が最も多い値を示した。市販牛肉・豚肉のビニール包装をはがした脂肪面は湿気があり、水分が多い。このような条件では、切除法のみならず、スポンジ法は一般細菌数、腸内細菌科菌群数の試験では測定可能であると思われる。スタンプ法は希釈をしないことから、高度に汚染している検体には不向きであった。

F. 健康危険情報

特になし。

G. 研究発表

1. 論文発表

なし

2. 学会発表等

なし

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

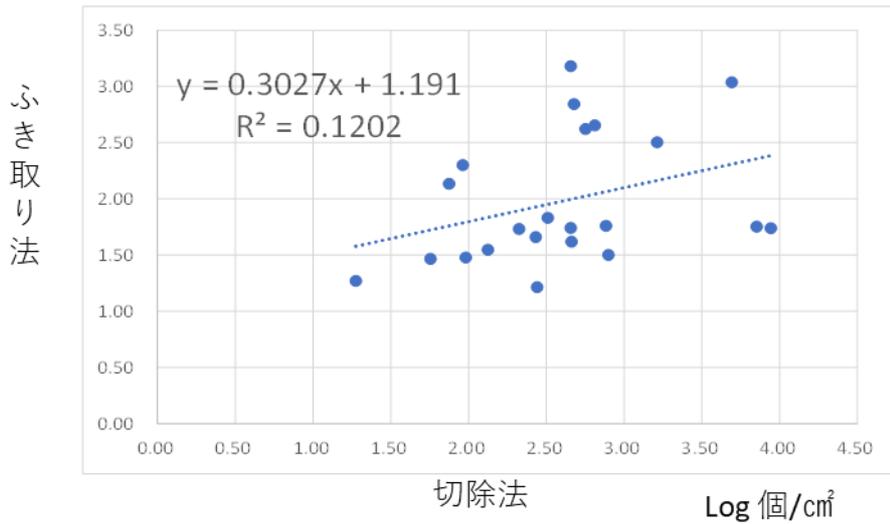


図6 Bと畜場牛枝肉の切除法とふき取り法の一般生菌数の対数値の相関関係

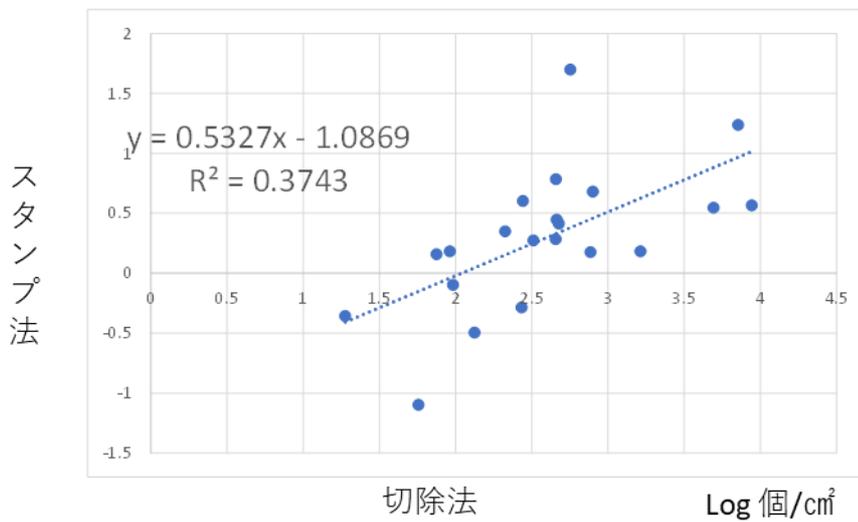


図7 Bと畜場牛枝肉の切除法とスタンプ法の一般生菌数の対数値の相関関係

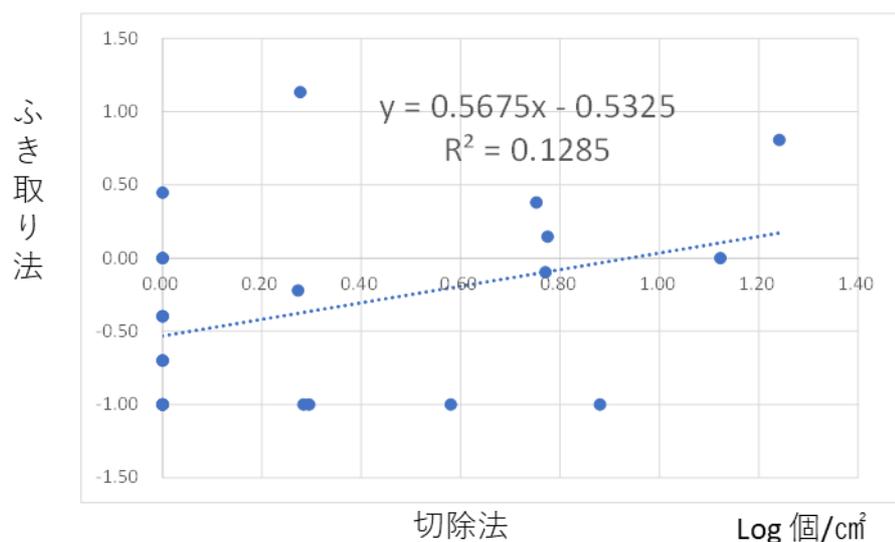


図8 Bと畜場牛枝肉の切除法とふき取り法の腸内細菌科菌群数の対数値の相関関係

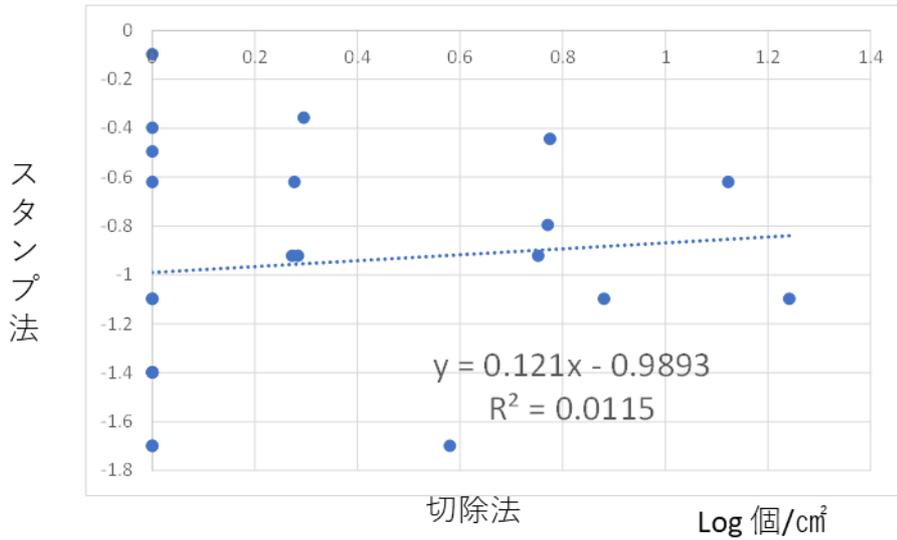


図9 Bと畜場牛枝肉の切除法とスタンプ法の腸内細菌科菌群数の対数値の相関関係

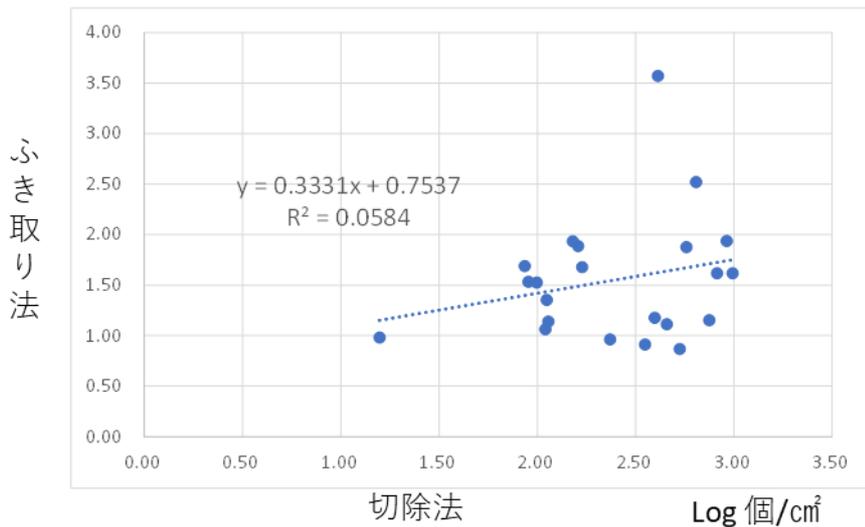


図10 Aと畜場豚枝肉の切除法とふき取り法の一般細菌数の対数値の相関関係

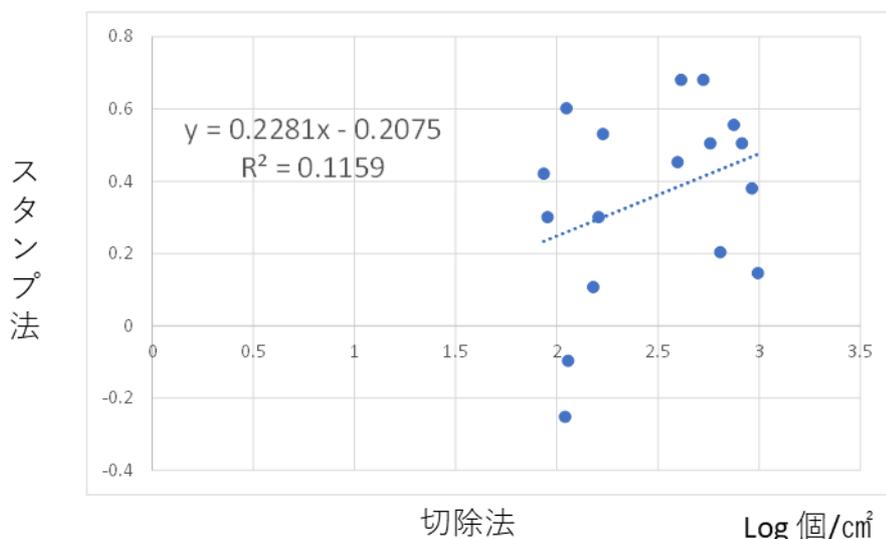


図11 Aと畜場豚枝肉の切除法とスタンプ法の一般細菌数の対数値の相関関係

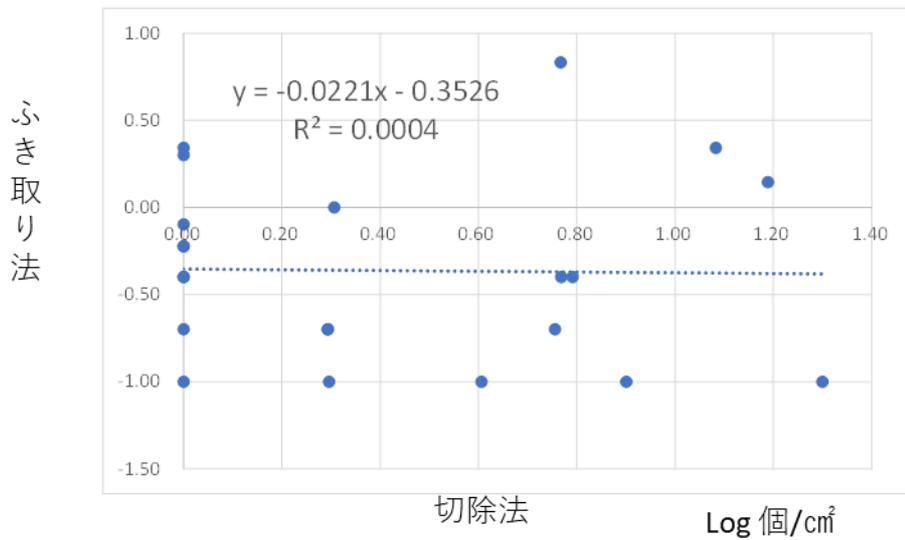


図 1 2 Aと畜場牛枝肉の切除法とふき取り法の腸内細菌科菌群数の対数値の相関関係

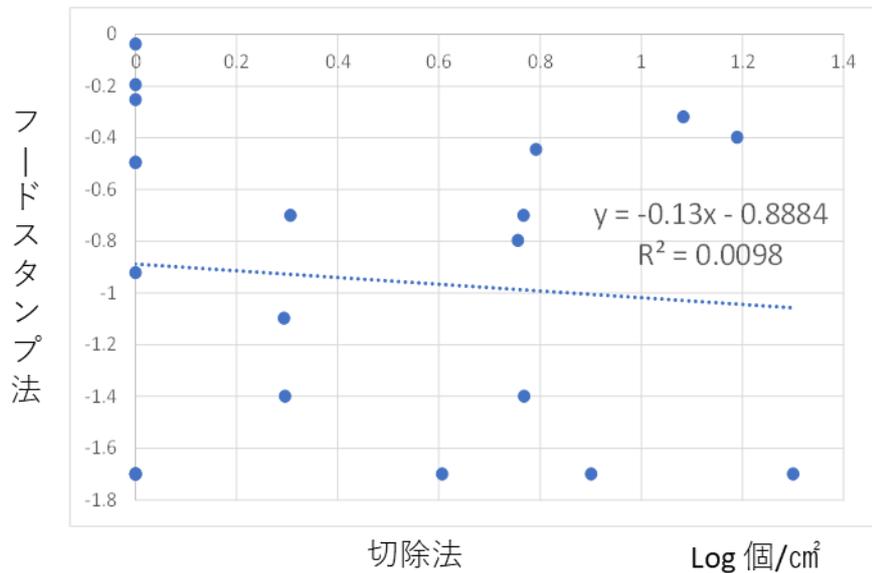


図 1 3 Aと畜場豚枝肉の切除法とフードスタンプ法の腸内細菌科菌群数の対数値の相関関係

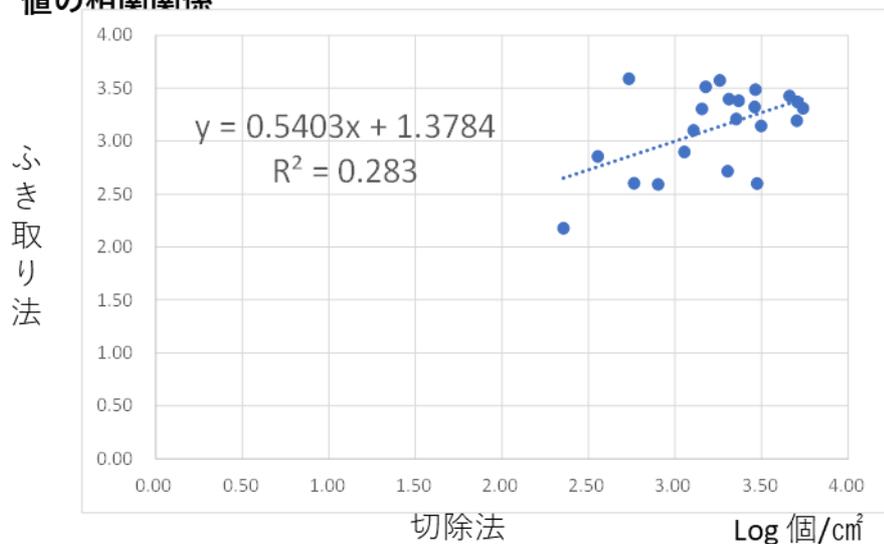


図 1 4 Bと畜場豚枝肉の切除法とふき取り法の一般細菌数の対数値の相関関係

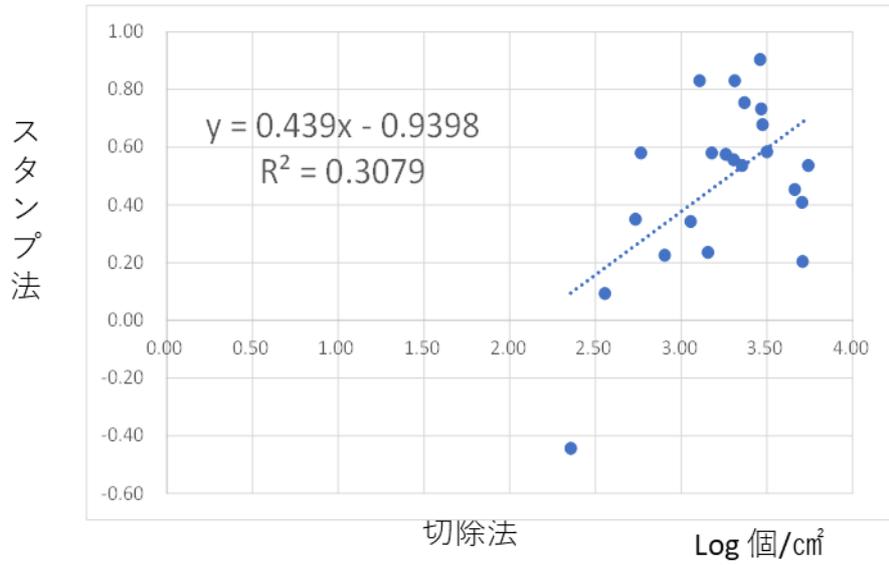


図 1 5 B と畜場牛枝肉の切除法とスタンプ法の一般細菌数の対数値の相関関係

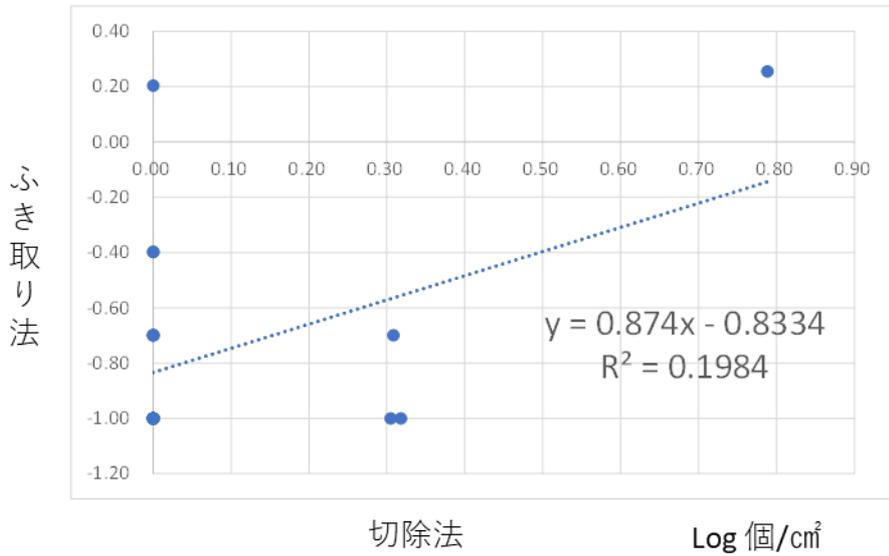


図 1 6 B と畜場豚枝肉の切除法とふき取り法の腸内細菌科菌群数の対数値の相関関係

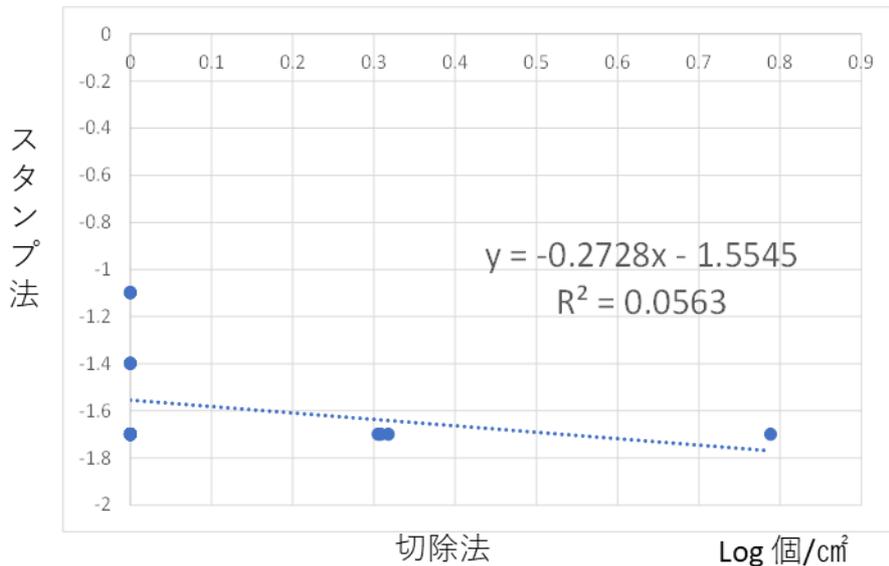


図 1 7 B と畜場豚枝肉の切除法とスタンプ法の腸内細菌科菌群数の対数値の相関関係

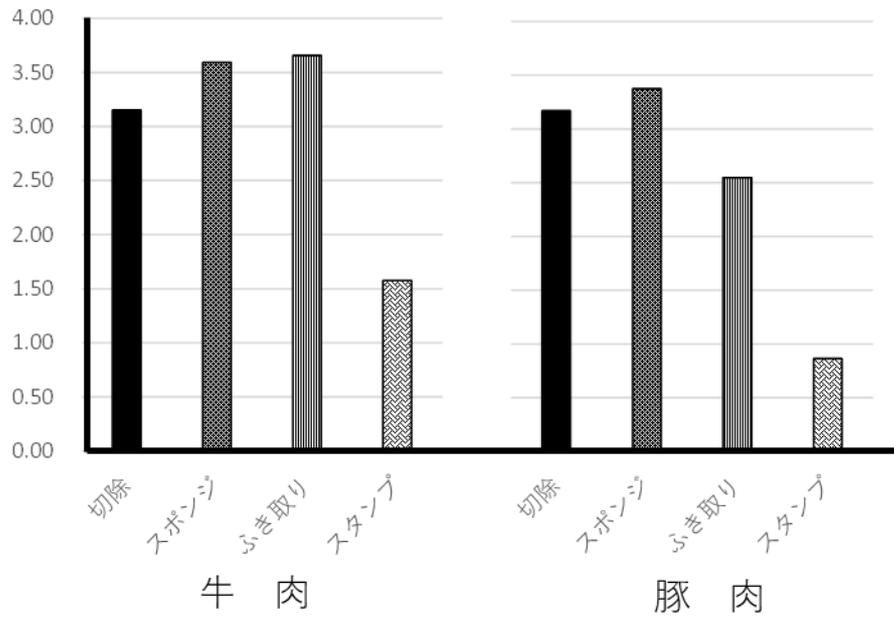


図 1 8 各種検体採取方法による一般細菌数の検出状況

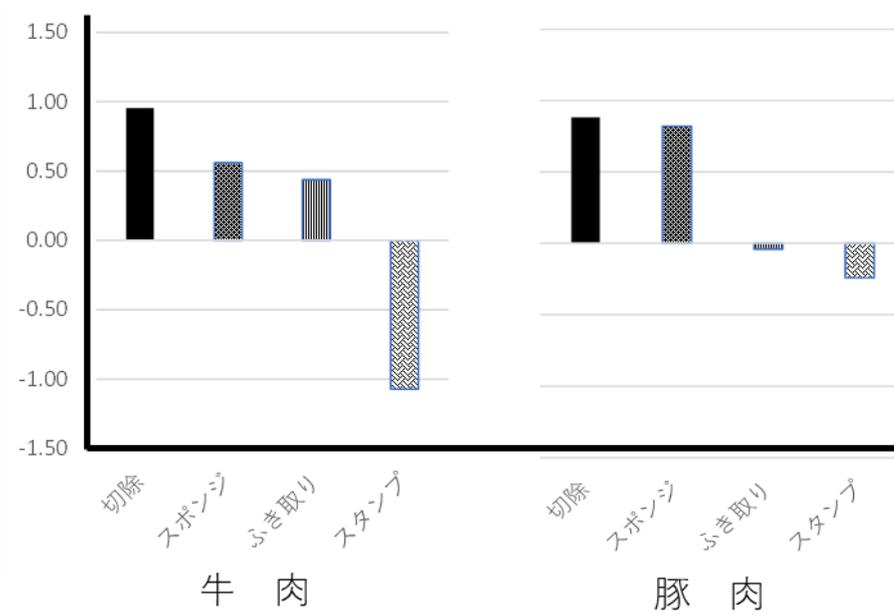


図 1 9 各種検体採取方法による腸内細菌科菌群の検出状況

表 1 畜種別・と畜場別の切除法、ふき取り法、フードスタンプ法による対数平均菌数 (個/cm²)

		一般細菌数						腸内細菌科菌群						
畜種等	と畜場	切除法		ふき取り法		フードスタンプ法		切除法		ふき取り法		フードスタンプ法		
		平均値	最大値	平均値	最大値	平均値	最大値	平均値	最大値	平均値	最大値	平均値	最大値	
牛枝肉		A	87.90	2,136.20	45.13	1,120.00	4.26	80.00	0.10	0.10	0.10	0.10	0.02	0.02
		B	406.42	8,797.98	95.64	1,514.00	1.99	50.00	2.14	17.44	0.45	13.60	0.11	0.80
豚枝肉		A	247.73	986.00	35.57	3,740.00	2.26	4.80	2.66	19.94	0.43	6.80	0.11	0.92
		B	1,709.79	5,511.00	1,334.28	3,880.00	3.02	8.00	1.20	6.14	0.17	1.80	0.03	0.08

表2 各検体採取方法による一般細菌数の検出状況

肉種	検体 番号	切除法 (個/cm ²)	スポンジ法 (個/cm ²)	ふき取り法 (個/cm ²)	フードスタンプ (個/cm ²)	フードスタンプ (個/25cm ²)
牛肉	A	193.42	4050.00	338.00	72.00	1800
	B	518.67	1140.00	1520.00	12.00	300
	C	90.44	2500.00	12600.00	36.00	900
	D	18180.40	2325.00	57200.00	65.20	1630
	E	34144.80	34050.00	5120.00	LA	LA
対数平均		1412.97	3909.92	4524.38	37.74	943.42
豚肉	F	4052.10	6150.00	7920.00	17.60	440
	G	2983.50	935.00	692.00	6.04	151
	H	187.56	760.00	85.20	5.60	140
	I	508.64	1080.00	302.00	9.60	240
	J	5956.44	15950.00	37.80	3.60	90
対数平均		1470.24	2373.21	351.04	7.29	182.22

表3 各検体採取方法による腸内細菌科菌群数の検出状況

肉種	検体 番号	切除法 (個/cm ²)	スポンジ法 (個/cm ²)	ふき取り法 (個/cm ²)	フードスタンプ (個/cm ²)
牛肉	A	4.07	1.50	0.40	0.02
	B	2.04	0.25	0.40	0.02
	C	1.00	0.25	4.80	0.02
	D	33.82	93.00	33.60	0.16
	E	212.36	72.50	6.00	3.40
対数平均		9.02	3.63	2.74	0.08
豚肉	F	6.23	6.50	4.40	0.12
	G	1.00	0.50	0.40	0.20
	H	2.08	5.50	0.10	0.02
	I	98.63	82.50	0.80	4.08
	J	20.26	8.50	4.40	32.00
対数平均		7.64	6.60	0.91	0.57

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）

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

研究代表者 朝倉 宏 国立医薬品食品衛生研究所

分担研究報告書

と畜場由来病原細菌の性状解析

研究分担者 大屋 賢司 国立医薬品食品衛生研究所

研究要旨

国産食肉・食鳥肉の輸出が拡大され輸出を行うと畜場・食鳥処理場数が増加傾向にある中、我が国の食肉・食鳥肉の安全性を国際標準的に示すことは極めて重要である。本研究は、国内全てのと畜場・食鳥処理場において実効可能な HACCP 外部検証法を、科学的根拠を伴った形で提示することを目的とする。今年度は、牛の外部検証プロトコールの実効性評価の基礎的情報とするために、特定のと畜場に搬入される牛と体外皮拭き取り検体における衛生指標菌数と病原微生物検出状況の関連性を検討した。衛生指標菌の測定は通知（生食発 0528 第 1 号）「と畜検査員及び食鳥検査員による外部検証の実施について」、サルモネラ属菌の分離培養は ISO6579-1、腸管出血性大腸菌（STEC）のスクリーニング及び分離培養は ISO/TS13136 にそれぞれ従って行った。サルモネラ属菌はいずれの検体からも分離されなかったものの、特定の農場から搬入される検体が STEC 0157 に高度に汚染されている状況が明らかとなった。STEC 分離陽性の検体及び STEC 分離陽性検体が飼育されていた農場では、衛生指標菌数が STEC 分離陰性の場合に比べて多い傾向にあった。しかし、検体毎の衛生指標菌数のばらつきが大きく、より実効性の高い外部検証法を設定するためには、経時的な採材を行い、と畜場毎の傾向を分析すること等が重要であることが考えられた。

A. 研究目的

国産食肉・食鳥肉の輸出が拡大され輸出を行うと畜場・食鳥処理場数が増加傾向にある中、我が国の食肉・食鳥肉の安全性を国際標準的に示すことは極めて重要である。本研究では、国内全てのと畜場・食鳥処理場において実効可能な HACCP 外部検証法を、科学的根拠を伴った形で提示することを目的とする。今年度は、牛の外部検証プロトコールの実効性評価の基礎的情報とするために、特定のと畜場に搬入される牛と体における衛生指標菌数と病原微生物検出状況の関連性を検討した。

B. 研究方法

(1) 検体

東海地方の食肉衛生検査所に搬入された牛と体外皮拭き取り検体 12 検体を対象とした。採材後の検体は冷蔵便にて搬入され、通知（生食発 0528 第 1 号）「と畜検査員及び食鳥検査員による外部検証の実施について」に従い、採材後 48 時間以内に試験に供した。

(2) 検体の検査

1) 衛生指標菌の検査

滅菌 PBS を用いて、送付された検体の 10 倍階段希釈系列を作製

し、通知（生食発 0528 第 1 号）

「と畜検査員及び食鳥検査員による外部検証の実施について」に従い、検体中の生菌数及び腸内細菌科菌群数を混釈法にて計測した。フロー図を図 1 に示す。一般生菌数は、検体希釈液を混釈した標準寒天培地を 37℃、48±3 時間培養し、生育したコロニー数を計測し算出した。腸内細菌科菌群数は、検体希釈液を混釈した Violet Red Bile Glucose 寒天培地（VRBG、OXOID）を 37℃、24±2 時間培養し、生育したコロニー数を計測した。オキシダーゼ試験及び糖発酵試験にて腸内細菌科菌群の確認試験を行い、腸内細菌科菌群数を算出した。

2) サルモネラ属菌の検査

検体中のサルモネラ属菌は、IS06579-1 に従い分離培養を行った。フロー図を図 2 に示す。送付された検体を 9 倍量の緩衝ペプトン水（BPW）に加え、37℃、18±2 時間、前増菌培養を行った。さらに、Rappaport Vassiliadis 培地（RVS、Merck）及び Muller-Kauffmann tetrathionate-novobiocin 培地（MKTTn、Merck）を用いて選択増菌培養を行った。RVS 培地に接種した検体は 42℃、

24±3 時間、MKTTn 培地に接種した検体は 37℃、24±3 時間培養した。選択分離培養として、選択増菌培養液を Xylose Lysine Deoxycholate 寒天培地 (XLD、関東化学) 及びクロモアガーサルモネラ寒天培地 (CHROMagar) に画線塗抹し 37℃、24±3 時間培養した。

3) 腸管出血性大腸菌の検査

検体中の腸管出血性大腸菌 (STEC) は、ISO/TS13136 に従いスクリーニング及び分離培養を行った。フロー図を図 3 に示す。送付された検体を 9 倍量のノボビオシン加 mTSB 培地に加え 37℃、18 から 24 時間増菌培養を行った。増菌培養液からアルカリ熱抽出法により DNA を調製し、*stx* 及び *eae* 遺伝子を標的としたリアルタイム PCR によるスクリーニングを行った。*stx* 及び *eae* どちらも陽性となった検体は、STEC 主要 7 血清群の 0 抗原遺伝子を標的としたリアルタイム PCR に供した。いずれかの血清群に陽性を示した検体は、陽性となった血清群の免疫磁気ビーズを用いて増菌培養液中の STEC を濃縮し、選択分離培養を行った。7 血清群の免疫磁気ビーズは、デンカ株式会社のものを用いた。選択分離培養

には Tryptone Bile X - glucuronide 寒天 (TBX、Merck) 及びクロモアガー STEC 寒天培地 (CHROMagar) を用い、免疫磁気ビーズ濃縮液を塗抹し 37℃、18 から 24 時間培養した。選択分離培地上に生育した STEC が疑われるコロニーは、*stx* を標的としたリアルタイム PCR、0 抗原に対する血清を用いた凝集試験及び Triple Sugar Iron (TSI、栄研化学) 培地、Lysine Indole Motility (LIM、日水製薬) 培地を用いた生化学性状試験により確認試験を行った。

(3) 腸管出血性大腸菌の性状解析

STEC と同定された菌株は、病原大腸菌免疫血清「生研」(デンカ株式会社) の H 血清を用いた試験管凝集法により H 型を決定した。分離された STEC 菌株の関連性は、腸管出血性大腸菌 MLVA ハンドブック (2018 年 11 月編、地研協議会 保健情報疫学部会 マニュアル作成ワーキンググループ編) に従い、反復配列多型解析法 (MLVA) を行い解析した。

(4) 衛生指標菌数と STEC 分離状況の関連性の解析

検体を STEC の分離陽性及び陰性の 2 群に分類し、衛生指標菌数を比較した。2 群間の差の検定は、

Welch 法により行った。統計解析及び、蜂群図・箱ひげ図によるデータの可視化は統計解析システム・環境 R (version 4.0.4) を用いて行った。

C. 研究結果

(1) 牛と体外皮拭き取り検体における衛生指標菌検査結果

牛と体外皮拭き取り検体の生菌数 ($\log \text{cfu/cm}^2$) 及び腸内細菌科菌群数 ($\log \text{cfu/cm}^2$) を表 1 に示す。生菌数については、全検体の平均値は $6.78 \log \text{cfu/cm}^2$ であり、最小値は農場 SU から搬入された検体 1 の $5.43 \log \text{cfu/cm}^2$ 、最大値は農場 KA から搬入された検体 11 の $7.77 \log \text{cfu/cm}^2$ であった。農場毎に比較すると、農場 SU、HI 及び T0 で飼育されていた検体では、全体の平均値と同等かそれ以下の値を示したのに対し、農場 HE 及び KE では全体の平均よりも高い数値を示した。腸内細菌科菌群数については、全検体の平均は $4.42 \log \text{cfu/cm}^2$ であり、最小値は農場 SU から搬入された検体 1 の $3.32 \log \text{cfu/cm}^2$ 、最大値は農場 KA から搬入された検体 12 の $5.50 \log \text{cfu/cm}^2$ であった。生菌数が最大値を示した検体 11 の腸内細菌科菌群数は $4.87 \log$

cfu/cm^2 であり、最大値を示した検体 12 に次ぐ高値であった。各検体の数値は、生菌数と同様の傾向を示した。

(2) 牛と体外皮拭き取り検体における病原細菌検査結果

牛と体外皮拭き取り検体におけるサルモネラ属菌及び STEC 検査結果を表 2 に示す。

1) サルモネラ属菌の検査結果

サルモネラ属菌は、いずれの検体からも分離されなかった。

2) STEC の検査結果

各検体の増菌培養液から抽出した DNA を用いた *stx* 及び *eae* 遺伝子を標的としたリアルタイム PCR の結果、農場 HI、HE 及び KA から搬入された 5 検体が *stx* 及び *eae* 陽性であった。これら 5 検体について、主要 7 血清群の O 抗原遺伝子を標的としたリアルタイム PCR を実施したところ、検体 4、9 及び 12 が O45 陽性、検体 12 が O121 陽性、検体 4、7、8、9 及び 12 が O157 陽性であった。農場 HI 及び KA から搬入された 4 検体は、複数の O 抗原遺伝子が陽性であった。増菌培養液から、陽性となった O 抗原の免疫磁気ビーズを用いて STEC の分離培養を試みたところ、O157 免疫磁気ビーズを用いた検体 7、

8、9 及び 12 から STEC が疑われるコロニーを得た。得られたコロニーの生化学性状試験、抗 0157 血清を用いた凝集試験、*stx* 及び 0157 抗原遺伝子を標的としたリアルタイム PCR により、分離された菌株はいずれも STEC 0157 であることが確認された。

(表 3-4)。

3) 分離された 0157 菌株の詳細解析

H 型別試験の結果、分離された菌株はいずれも 0157:H7 であった。*stx* 遺伝子型は、検体 7、8 及び 9 から分離された菌株では *stx1&stx2* であり、検体 12 から分離された菌株では *stx2* であった(表 4)。MLVA 法による解析では、農場 KA から搬入された検体 8 及び 9 から分離された菌株において、全 17 遺伝子座のリポート数が一致した(表 5)。検体 8 及び 9 から分離された菌株と同様に KA 農場から搬入された検体 12 から分離された菌株は、他の 2 菌株と 12 遺伝子座のリポート数が異なっていた(表 5)。検体 12 から分離された菌株は、生化学性状、*stx* 遺伝子型も他の菌株と異なっていた(表 3-4)。

(3) 牛と体外皮拭き取り検体における衛生指標菌数と STEC 分離

状況の関連性の検討

検体を STEC 分離陽性及び分離陰性に区分し、衛生指標菌数との関連を検討した(図 4 及び表 6)。STEC 陰性検体における生菌数の平均値は $6.53 \log \text{cfu/cm}^2$ であり、STEC 陽性検体では $7.28 \log \text{cfu/cm}^2$ であった。2 群間の差を Welch 法で検定したところ、 p 値は 0.062 であり、有意な差は認められなかったが、STEC 分離陽性検体では分離陰性検体と比較して生菌数が多い傾向が認められた。同様に腸内細菌科菌群数を比較したところ、STEC 分離陰性検体の平均値は $4.26 \log \text{cfu/cm}^2$ であり、STEC 分離陽性検体の平均値は $4.73 \log \text{cfu/cm}^2$ であった。2 群間の差を Welch 法で検定したところ、 p 値は 0.216 であった。

次に、STEC が分離された検体が飼育されていた農場と STEC が分離された検体が飼育されていなかった農場の間で、衛生指標菌数との関連を検討した(図 5 及び表 7)。STEC 分離陰性の農場で飼育されていた検体における生菌数の平均値は $6.29 \log \text{cfu/cm}^2$ 、STEC 分離陽性の農場で飼育されていた検体では $7.27 \log \text{cfu/cm}^2$ であった。2 群間の差を Welch 法で検定したところ、 p 値は 0.015 であり、有

意な差が認められた。同様に腸内細菌科菌群数を比較したところ、STEC 分離陰性の農場で飼育されていた検体の平均値は $4.19 \log \text{cfu/cm}^2$ であり、STEC 分離陽性農場で飼育されていた検体の平均値は $4.65 \log \text{cfu/cm}^2$ であった。2 群間の差を Welch 法で検定したところ、 p 値は 0.187 であった。

D. 考察

(1) 牛と体外皮拭き取り検体における衛生指標菌検査結果

各検体及び飼育されていた農場毎の衛生指標菌数は、生菌数及び腸内細菌科菌群数で同様の傾向を示した。農場 HE 及び KA で飼育されていた検体では、他の 3 農場で飼育されていた検体に比べて生菌数、腸内細菌科菌群数ともに高値を示した(表 1)。

(2) 牛と体外皮拭き取り検体における病原細菌検査結果

今回の調査結果では、サルモネラ属菌は全ての検体で陰性だったものの、STEC 0157 が農場 HE 及び KA で飼育されていた検体から分離された(表 2)。特に農場 KA で飼育されていた検体からは、5 検体中 3 検体から STEC 0157 が分離された。分離された STEC 0157 菌株を MLVA 法で解析すると、農場 KA で飼育され

ていた検体 8 及び 9 から分離された菌株の 17 遺伝子座のリポート数が完全に一致し 2 菌株は由来を共通とすることが強く示唆された(表 5)。しかし、同じ KA 農場で飼育されていた検体 12 から分離された菌株とは、MLVA 法による解析結果は大きく異なり、生化学性状及び *stx* 遺伝子型いずれも上記 2 菌株と異なっていた(表 3-5)。以上により、STEC 汚染の進んだ農場は、由来の異なる複数の菌株に汚染されていることが示された。

(3) 牛と体外皮拭き取り検体における衛生指標菌数と STEC 分離状況の関連性の検討

STEC が分離された検体では、STEC 陰性の検体と比較して、衛生指標菌数が多い傾向が認められた(図 4-5 及び表 6-7)。特に検体を STEC 分離陽性農場と分離陰性農場にわけて比較した場合、2 群間の生菌数は、統計学的に有意な差となり、衛生指標菌数は、STEC を始めとする病原微生物汚染と高い関連性があることが示された(図 5 及び表 7)。今回の検討では、検体間のばらつきが大きく、特に腸内細菌科菌群数ではばらつきが顕著であり、病原微生物汚染の指標としては生菌数の方がすぐれていることを示唆する結果となった。このばらつきの原

因として、外皮拭き取り検体では、と体の洗浄度に差が生じる可能性が高いことも考えられる。今年度は、検体採取が一度しか行えなかったが、経時的に複数回検体採取を行い、と畜場毎の傾向を分析することが必要であると考えられた。外皮拭き取り検体と枝肉の比較も有用であると考えられる。以上の点を踏まえて次年度は、より実効性の高い外部検証法を提示するための検討を行う予定である。

(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

E. 結論

今年度は、特定のと畜場に搬入される牛と体外皮拭き取り検体の衛生指標菌数、病原細菌検出状況を調査した。特定の農場から搬入される検体が STEC に高度に汚染されている状況が明らかとなった。衛生指標菌数と STEC 検出状況に関連性のあることが示された一方、検体間のばらつきが大きく、実効性の高い外部検証法を設定するためには、経時的な検体採取を行い、と畜場毎の傾向を分析すること等が重要であることが考えられた。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

と畜検査員及び食鳥検査員による外部検証の実施について
(生食発0528第1号)
別添3 外部検証のための微生物試験検体採取手順等
に従い実施。

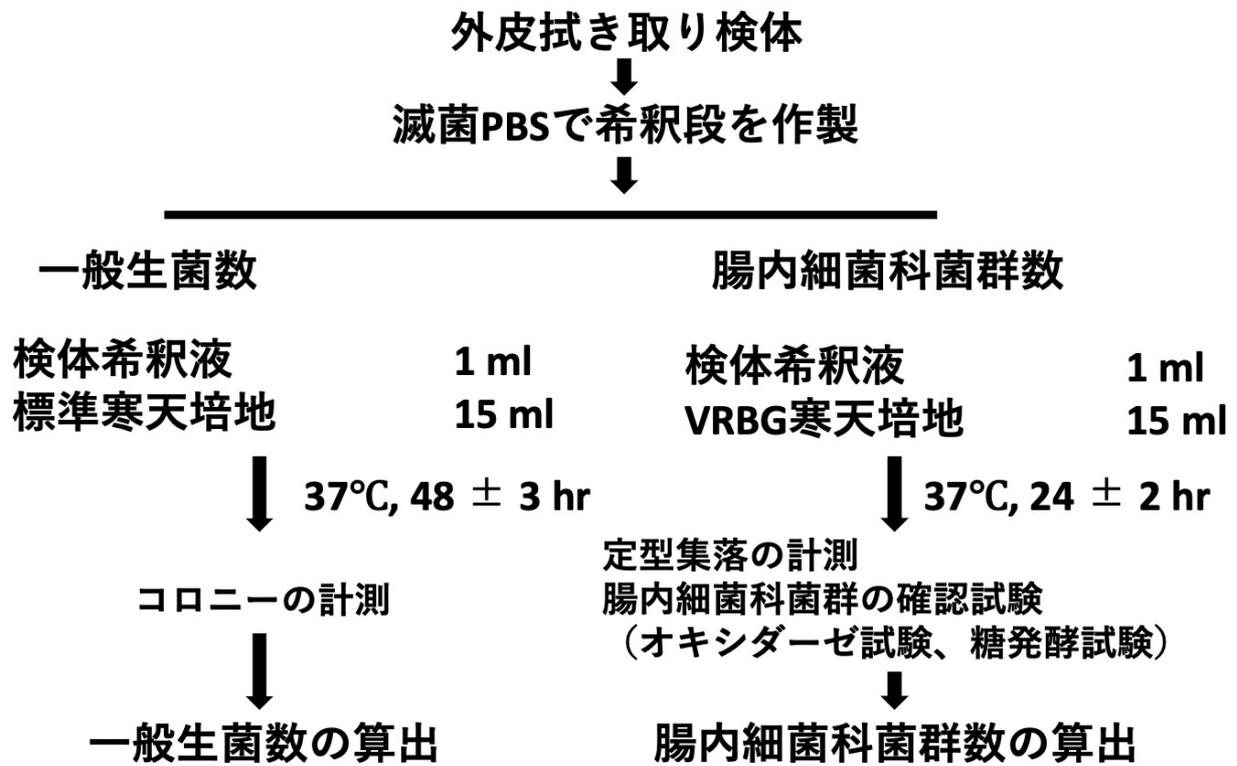


図1 一般生菌数および腸内細菌科菌群数の測定フロー

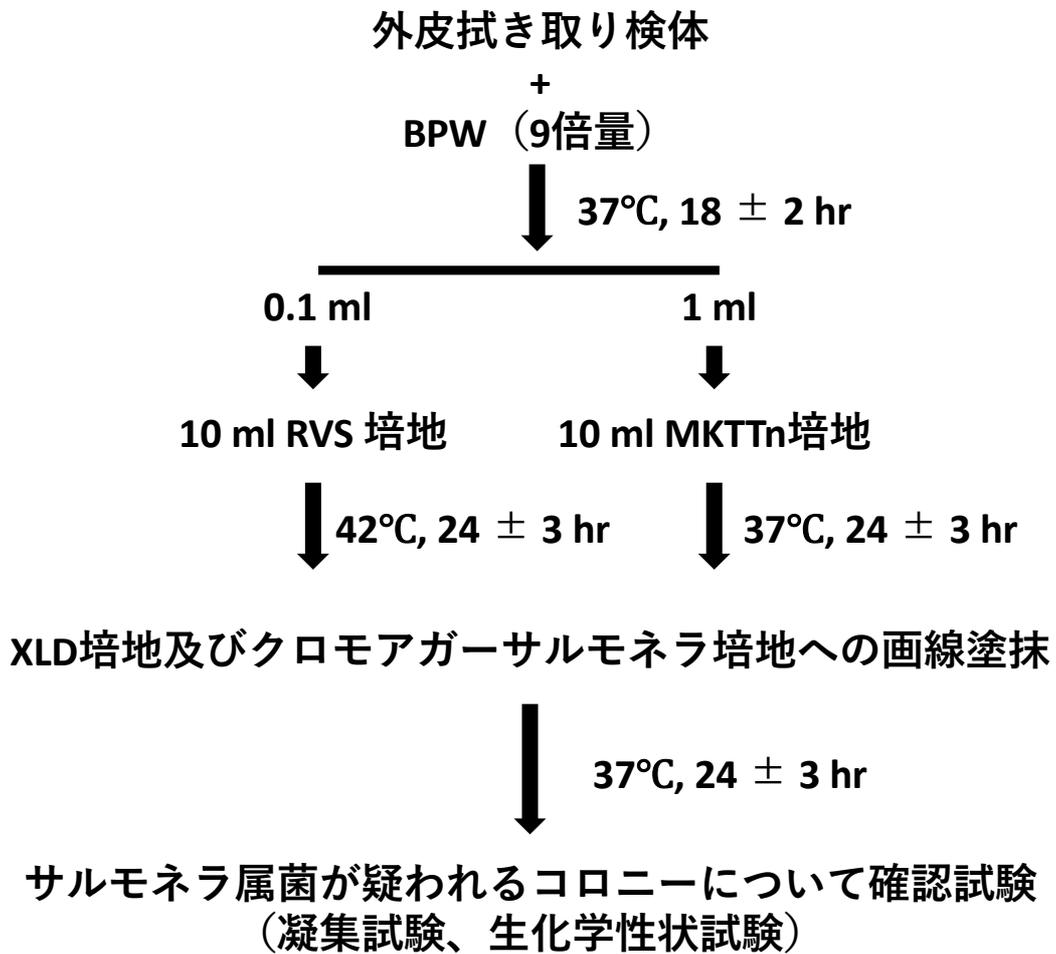


図2 サルモネラ属菌の検査フロー

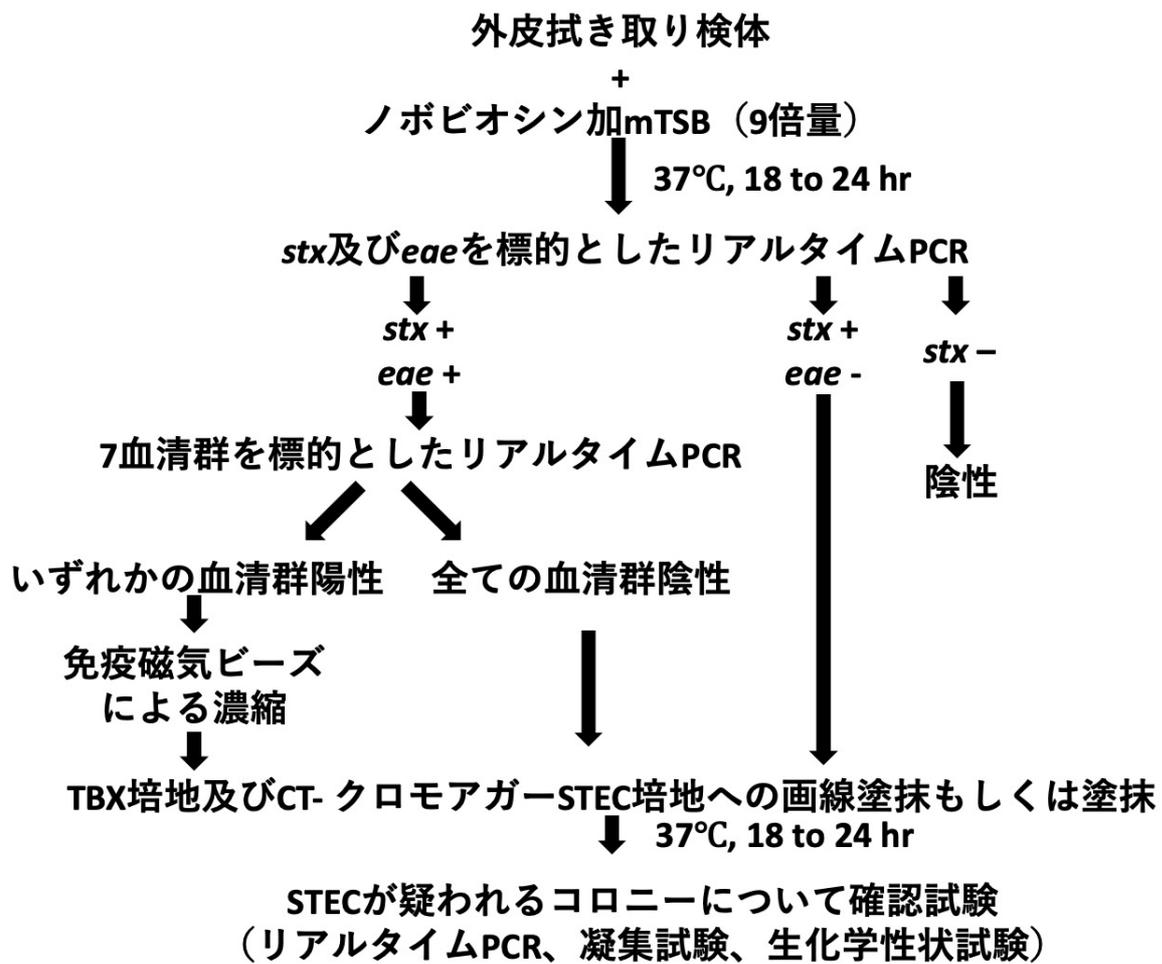


図3 腸管出血性大腸菌の検査フロー

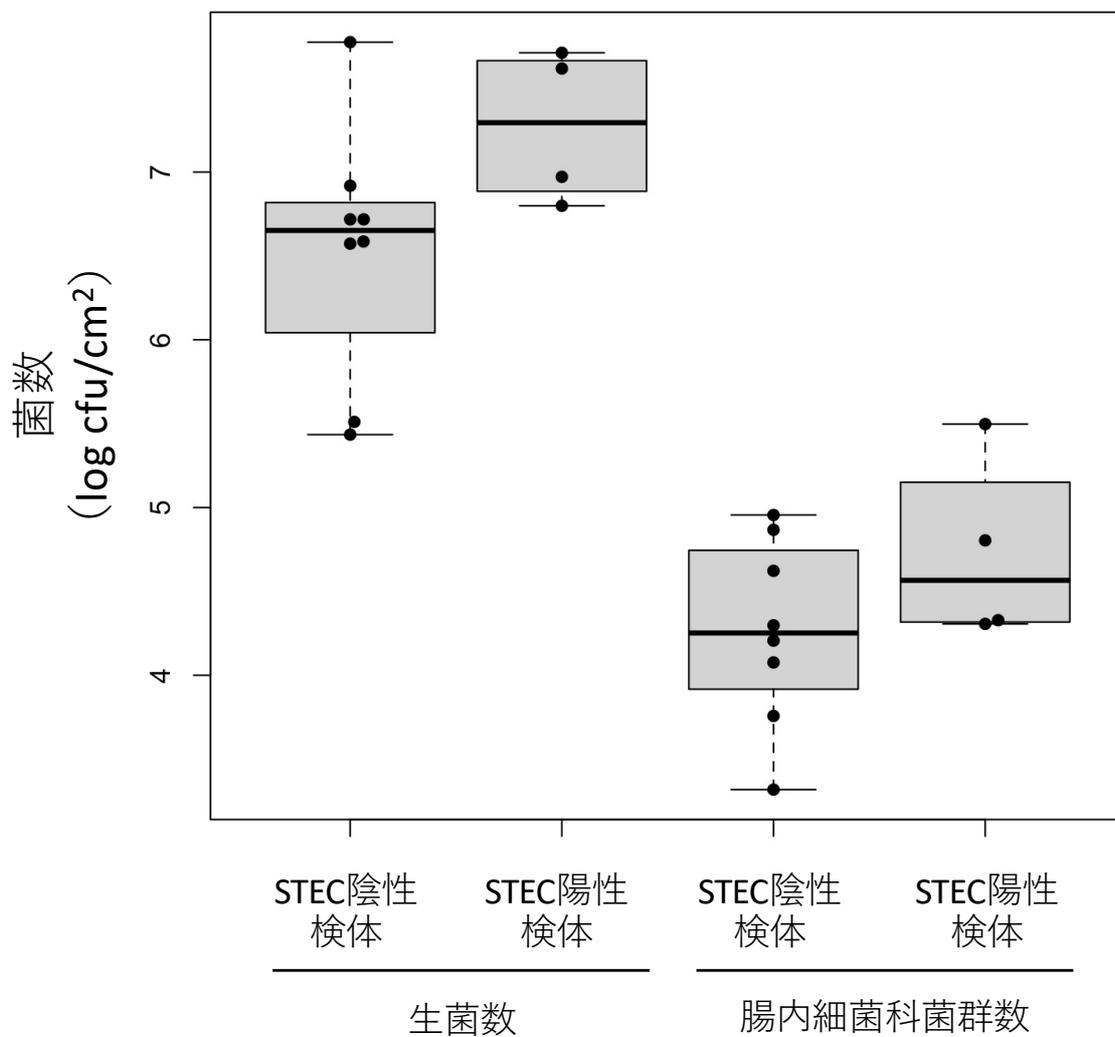


図4 STEC陽性検体と陰性検体における衛生指標菌数

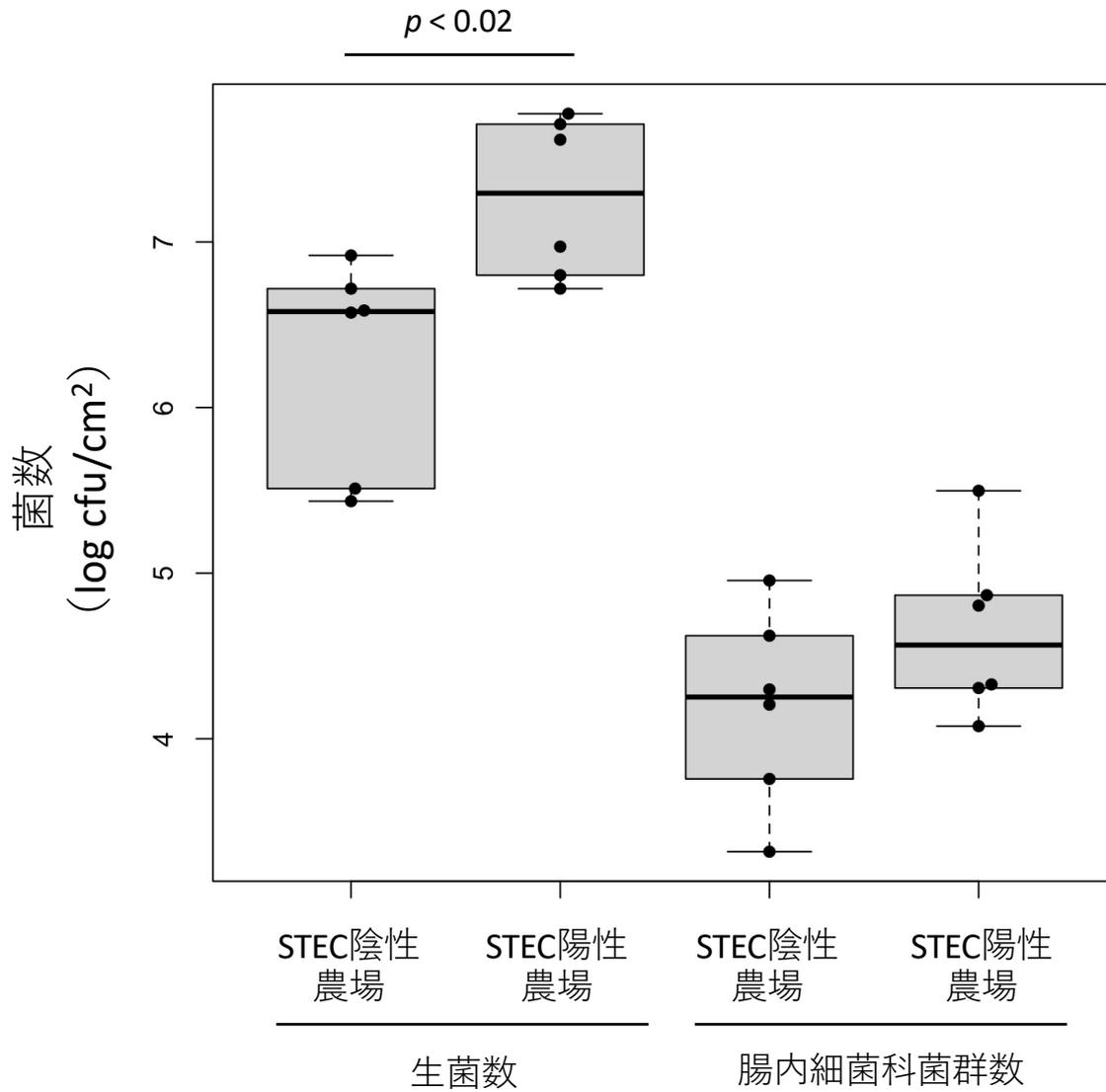


図5 STEC陽性農場と陰性農場の検体における衛生指標菌数

表1 牛と体外皮拭き取り検体の衛生指標菌検査

農場	検体 番号	生菌数 (log cfu/cm ²)	腸内細菌科菌群数 (log cfu/cm ²)
SU	1	5.43	3.32
	2	5.51	3.76
	平均	5.47	3.54
HI	3	6.72	4.96
	4	6.57	4.30
	平均	6.65	4.63
TO	5	6.59	4.21
	6	6.92	4.62
	平均	6.75	4.41
HE	7	7.71	4.80
KA	8	6.80	4.31
	9	6.97	4.33
	10	6.72	4.08
	11	7.77	4.87
	12	7.62	5.50
	平均	7.18	4.61
	標準偏差	0.49	0.57
全検体	平均	6.78	4.42
	標準偏差	0.75	0.58

表2 牛と体外部拭き取り検体の病原細菌検査結果

農場	検体番号	サルモネラ属菌の 分離	STEC関連遺伝子のスクリーニング									STECの分離	
			<i>stx</i>	<i>eae</i>	O26	O45	O103	O111	O121	O145	O157		
SU	1	陰性	-	-	*NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
	2	陰性	-	-	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
HI	3	陰性	+	-	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
	4	陰性	+	+	-	+	-	-	-	-	-	+	陰性
TO	5	陰性	-	-	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
	6	陰性	-	-	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
HE	7	陰性	+	+	-	-	-	-	-	-	-	+	O157を分離
	8	陰性	+	+	-	-	-	-	-	-	-	+	O157を分離
	9	陰性	+	+	-	+	-	-	-	-	-	+	O157を分離
KA	10	陰性	-	-	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
	11	陰性	-	-	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
	12	陰性	+	+	-	+	-	-	-	+	-	+	O157を分離

*NA: Not applicable

表3 O157が疑われた菌株の生化学性状

菌株の由来		TSI培地			LIM培地		
農場	検体番号	斜面/高層	ガス	H ₂ S	リジン	インドール	運動性
HE	7	黄/黄	+	-	+	+	-
	8	黄/黄	+	-	+	+	-
KA	9	黄/黄	+	-	+	+	-
	12	薄い赤/黄	+	-	-	+	-

表4 分離されたO157菌株の型別

菌株の由来		リアルタイムPCR			血清型
農場	検体番号	<i>stx1</i>	<i>stx2</i>	O157	
HE	7	+	+	+	O157:H7
	8	+	+	+	O157:H7
KA	9	+	+	+	O157:H7
	12	-	+	+	O157:H7

表5 分離されたO157菌株のMLVA法による解析結果*

由来農場	検体番号	遺伝子座																
		EH111-11	EH111-14	EH26-7	EHC-6	O157-17	O157-19	O157-36	O157-37	EH111-8	EH157-12	EHC-1	EHC-2	EHC-5	O157-25	O157-3	O157-34	O157-9
HE	7	-2	-2	-2	-2	8	-2	3	6	-2	-2	5	-2	-2	7	8	-2	-2
	8	2	-2	-2	-2	8	6	3	6	-2	4	5	4	11	7	8	12	13
KA	9	2	-2	-2	-2	8	6	3	6	-2	4	5	4	11	7	8	12	13
	12	-2	-2	-2	-2	2	5	9	7	-2	1	7	6	-2	4	9	9	14

*各遺伝子座でリピート数の一致する検体は同じ色で示す。

表6 STEC分離陽性検体と分離陰性検体における衛生指標菌数の比較

検体区分	検体数	生菌数 (log cfu/cm ²)			腸内細菌科菌群数 (log cfu/cm ²)		
		平均値	標準偏差	中央値	平均値	標準偏差	中央値
STEC分離陰性検体	8	6.53	0.76	6.65	4.26	0.56	4.25
STEC分離陽性検体	4	7.28	0.46	7.30	4.73	0.56	4.57

表7 STEC分離陽性農場の検体と分離陰性農場の検体における衛生指標菌数の比較

農場区分	検体数	生菌数 (log cfu/cm ²)			腸内細菌科菌群数 (log cfu/cm ²)		
		平均値	標準偏差	中央値	平均値	標準偏差	中央値
STEC分離陰性農場	6	6.29	0.65	6.58	4.19	0.59	4.25
STEC分離陽性農場	6	7.27	0.49	7.29	4.65	0.52	4.57

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）

「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」

分担研究報告書

わが国の食肉衛生検査所で実施されためん羊、山羊、馬の
糞便、枝肉拭き取り検査集計結果

分担研究者 森田 幸雄（麻布大学・獣医学部 教授）
研究協力者 藤平 裕子、清水 俊一、稻田 和也（北海道早来食肉衛生検査所）
森越 真梨恵（旭川市食肉衛生検査所）
大西 広輔（旭川市保健所）
石沢 由起子（青森県十和田食肉衛生検査所）
柳沼 千春（郡山市保健所食肉衛生検査所）
小西 世津香（金沢市保健所食肉衛生検査所）
八重森 恵子、花田 千晴、藤巻 勤（山梨県食肉衛生検査所）
尾島 康世（高知市食肉衛生検査所）
藤田 景清（北九州市保健福祉局保健衛生部食肉センター）
加藤 峰史（沖縄県中央食肉衛生検査所）

研究要旨

食肉衛生検査所が実施する微生物試験を用いる外部検証は、牛及び豚の枝肉の検査方法・評価方法しか提示されていない。そこで、めん羊、山羊、馬の枝肉の衛生状況を把握するため、全国食肉衛生検査所協議会微生物部会に依頼し、最終的に食肉衛生検査所8機関で実施された、めん羊、山羊、馬の糞便検査並びに枝肉拭き取り検査成績が収集された。めん羊ではサルモネラ属菌や腸管出血性大腸菌（STEC）を約3割保菌していたが、分離株の血清型はヒト臨床分離株とは異なる性状であることが確認された。馬の病原体検査については、少数の検査が実施されているにすぎなかった。枝肉からの検体採取法はすべてスワブ法であった。一般細菌数は、めん羊は4、山羊は1、馬は4検査所で実施されていた。めん羊、山羊、馬枝肉の拭き取り法による陽性検体の機関別平均値は、各々4.02～100.88 個/cm²（最高値：1,450.00 個/cm²）、5.62～12.98 個/cm²（最高値：1,335.00 個/cm²）、0.52～191.10 個/cm²（最高値：27,500.00 個/cm²）であった。大腸菌群数は、めん羊は3、山羊は1、馬は2機関で実施されていた。めん羊、山羊、馬枝肉の拭き取りの陽性検体の平均値は、各々0.10～0.61 個/cm²（最高値：19.30 個/cm²）、0.21～0.25 個/cm²（最高値：19.50 個/cm²）、4.95～11.00 個/cm²（最高値：910.00 個/cm²）であった。以上が国内で確認可能な情報として把握された。

A. 研究目的

と畜場への HACCP 導入の制度化にともない、と畜検査員による外部検証が行われる。外部検証については、「と畜検査員及び食鳥検査員による外部検証の実施について」（生食発 0528 第 1 号、

令和2年5月28日）により、その実施に関する手順、評価方法等に示されている。

微生物試験を用いた外部検証法については、同通知によって、牛及び豚の検査法は示されている。しかし、と畜場法の対象となる獣畜のうち、めん羊、

山羊、馬については示されていない。

そこで、全国食肉衛生検査所協議会微生物部会に依頼し、過去に全国の食肉衛生検査所で実施されためん羊、山羊、馬の糞便や枝肉の細菌検査結果等の入手を試みた。

B. 研究方法

令和2年9月、全国食肉衛生検査所協議会微生物部会会長宛に、めん羊、山羊及び馬の公表してもよい糞便検査結果や枝肉の衛生検査結果の提供について依頼を行った。得られた成績については検査所、畜種、試験法・試験項目等の情報に基づき分類化を行った上で、衛生指標菌については菌数分布・平均値を求めた。また、病原細菌については定性結果のほか、血清型等の情報を抽出した。

C. 研究結果

A から I の 9 つの食肉衛生検査所から情報提供を得た。

①めん羊、山羊、馬からの各種病原体検出状況 (表 1)

・サルモネラ：めん羊は A と H 検査所から情報提供があった。A 検査所では、33.33% (20/60 検体) の糞便から検出され、亜種群 IIIb (*diarizonae*) O61:-:1,5,7 が 20 検体、亜種群 I (*enterica*) O4:i:- が 1 検体であった。H 検査所では、胆汁と糞便各 1 検体を実施したが、未検出であった。山羊は I 検査所から情報提供があり、直腸スワブ 100 検体、直腸スワブ 100 検体の検査結果は陰性であった。馬は D 検査所から情報提供があり、枝肉のスワブ 41 検体の検査結果は陰性であった。

・志賀毒素産生性大腸菌 (STEC)：めん羊は A、D、H 検査所から情報提供があった。A 検査所では、31.67% (19/60 検体) の糞便から検出され、OUT:NM (O 抗原が型別不能、H 抗原が陰性) が 14 検体、OUT:HUT (O 抗原が型別不能、H 抗原が型別不能) が 2 検体、O91:NM が 2 検体、O103:H2 が 2 検体、O146:NM が 1 検体であった。D 検査所では、枝肉スワブ 8 検体を実施したが、未検出であった。H 検査所では、胆汁と糞便各 1 検体を実施したが、未検出であった。馬は G 検査所から情報提供があり、枝肉胸部及び肛門周囲のスワブ各 2 検体を実施したが、未検出であった。

・カンピロバクター：めん羊は H 検査所から情報

提供があった。胆汁と糞便各 1 検体を実施したが、未検出であった。

②めん羊、山羊、馬枝肉拭き取り検体の一般細菌数 (表 2)

枝肉からの検体採取法は、すべてスワブ法であった。

めん羊は、A、B、D、F の 4 つの検査所から情報提供があった。A 検査所では、全頭 (17/17 検体) の洗浄後の胸部から検出され陽性検体の対数平均値は 100.88 個/cm²(最高値:1,450.00 個/cm²)、全頭 (17/17 検体) の洗浄後の臀部から検出され陽性検体の対数平均値は 17.14 個/cm² (最高値:460.00 個/cm²) であった。B 検査所では、全頭 (100/100 検体) の洗浄後の胸部から検出され、対数平均値は 24.19 個/cm²(最高値:850.00 個/cm²)、全頭 (100/100 検体) の洗浄後の肛門周囲から検出され、対数平均値は 27.74 個/cm²(最高値:820.00 個/cm²) であった。D 検査所では、66.67% (4/6 検体) の洗浄後の全国食肉衛生検査所協議会で指定した部位から検出され、陽性検体の対数平均値は 4.02 個/cm²(最高値:115.00 個/cm²) であった。F 検査所では、全頭 (14/14 検体) の洗浄後の胸部から検出され、対数平均値は 33.50 個/cm²(最高値:264.00 個/cm²)、85.70% (12/14 検体) の洗浄後の臀部から検出され、陽性検体の対数平均値は 11.38 個/cm²(最高値:82.00 個/cm²) であった。

山羊は、I 検査所から情報提供があった。98.44% (63/64 検体) の洗浄後の胸部から検出され、陽性検体の対数平均値は 12.98 個/cm²(最高値:945.00 個/cm²)、95.31% (61/64 検体) の洗浄後の肛門周囲から検出され、陽性検体の対数平均値は 5.62 個/cm² (最高値:1,335.00 個/cm²) であった。

馬は、C、D、E、G の 4 つの検査所から情報提供があった。C 検査所では、92.59% (25/27 検体) の洗浄後の胸部から検出され、対数平均値は 116.14 個/cm²(最高値:5,250.00 個/cm²)、96.30% (26/27 検体) の洗浄後の臀部から検出され、対数平均値は 125.29 個/cm²(最高値:3,300.00 個/cm²) であった。全頭 (24/24 検体) の洗浄後の頸部から検出され、対数平均値は 119.41 個/cm²(最高値:1,625.00 個/cm²) であった。なお、C 検査所の検査結果は検出限界値(6.25 個/cm²)以下は陰性として計算した。D 検査所では、70.73% (29/41 検体) の洗浄後の全国食肉衛生検査所協議会で指定した部位から検出さ

れ、陽性検体の対数平均値は 0.52 個/cm²(最高値：15.30 個/cm²)であった。E 検査所では、97.74% (173/177 検体) の洗浄前の胸部から検出され、陽性検体の対数平均値は 60.99 個/cm²(最高値：27,500.00 個/cm²)、94.08% (159/169 検体) の洗浄前の臀部から検出され、陽性検体の対数平均値は 191.10 個/cm²(最高値：21,900.00 個/cm²)であった。G 検査所では、全頭 (2/2 検体) の洗浄後の胸部から検出され、対数平均値は 85.15 個/cm²(最高値：250.00 個/cm²)、全頭 (2/2 検体) の洗浄後の肛門周囲から検出され、対数平均値は 30.72 個/cm²(最高値：59.00 個/cm²)であった。

③めん羊、山羊、馬枝肉拭き取り検体の大腸菌群数 (表 3)

枝肉からの検体採取法は、すべてスワブ法であった。

めん羊は、A、B、F の 3 つの検査所から情報提供があった。A 検査所では、41.18% (7/17 検体) の洗浄後の胸部から検出され、陽性検体の対数平均値は 0.61 個/cm²(最高値：19.30 個/cm²)、29.41% (5/17 検体) の洗浄後の臀部から検出され、陽性検体の対数平均値は 29.41 個/cm²(最高値：0.10 個/cm²)であった。B 検査所では、19.00% (19/100 検体) の洗浄後の胸部から検出され、陽性検体の対数平均値は 0.16 個/cm²(最高値：0.80 個/cm²)、25.00% (25/100 検体) の洗浄後の肛門周囲から検出され、陽性検体の対数平均値は 0.23 個/cm²(最高値：1.60 個/cm²)であった。F 検査所では、14 頭の洗浄後の胸部、臀部から大腸菌群は検出されなかった。

山羊は、I 検査所から情報提供があった。23.44% (15/64 検体) の洗浄後の胸部から検出され、陽性検体の対数平均値は 0.25 個/cm²(最高値：19.50 個/cm²)、12.50% (8/64 検体) の洗浄後の肛門周囲から検出され、陽性検体の対数平均値は 0.21 個/cm²(最高値：13.50 個/cm²)であった。

馬は、C、E の 2 つの検査所から情報提供があった。C 検査所では、調査した 27 頭の洗浄後の胸部から検出されなかった。14.81% (4/27 検体) の洗浄後の臀部から検出され、陽性検体の対数平均値は 5.38 個/cm²(最高値：7.00 個/cm²)であった。4.17% (1/24 検体) の洗浄後の頸部から検出され、陽性検体は 11.00 個/cm²であった。なお、C 検査所の検査結果は、検出限界値(3.75 個/cm²)以下は陰性として計算した。E 検査所では、16.38% (29/177 検体)

の洗浄前の胸部から検出され、陽性検体の対数平均値は 4.95 個/cm²(最高値：910.00 個/cm²)、25.44% (43/169 検体) の洗浄前の臀部から検出され、陽性検体の対数平均値は 6.99 個/cm²(最高値：700.00 個/cm²)であった。

④めん羊、山羊、馬枝肉拭き取り検体の大腸菌数 (表 4)

検査方法はすべてスワブ法であった。

めん羊は、A、B、F の 3 つの検査所から情報提供があった。A 検査所では、11.76% (2/17 検体) の洗浄後の胸部から検出され、陽性検体の対数平均値は 0.20 個/cm²(最高値：0.40 個/cm²)、5.88% (1/17 検体) の洗浄後の臀部から検出され、陽性検体は 0.10 個/cm²であった。B 検査所では、12.00% (12/100 検体) の洗浄後の胸部から検出され、陽性検体の対数平均値は 0.18 個/cm²(最高値：0.80 個/cm²)、18.00% (18/100 検体) の洗浄後の肛門周囲から検出され、陽性検体の対数平均値は 0.26 個/cm²(最高値：3.00 個/cm²)であった。F 検査所では、14 頭の洗浄後の胸部、臀部から検出されなかった。

馬は、E 検査所から情報提供があった。E 検査所では、45.45% (5/11 検体) の洗浄前の胸部から検出され、陽性検体の対数平均値は 31.59 個/cm²(最高値：235.00 個/cm²)、69.23% (9/13 検体) の洗浄前の臀部から検出され、陽性検体の対数平均値は 11.03 個/cm²(最高値：640.00 個/cm²)であった。

D. 考察

平成 30 年度食肉検査等情報還元調査のと畜場内でのと畜頭数によると、めん羊は 5,233 頭、山羊は 3,677 頭、馬は 9,763 頭で、豚 (16,411,331 頭)、牛 (1,056,661 頭) と比較し、きわめて少ない。また、細菌検査成績を保有している検査所も限られていると思われた。

めん羊の糞便からはサルモネラ (33.33%)、STEC(31.67%)を高率に保菌していることが判明した。サルモネラも亜種群 I は 1 検体、亜種群 III b が 20 検体、STEC も O157 のように牛や患者から分離されるものとは異なる血清型が多かった。この成績は A 検査所のみのものであり、日本で飼育されているめん羊の保菌状況をであるか、A 検査所が検査していると畜場に搬入されるめん羊に固有なものであるか、調査する必要があると思われる。

山羊については、I 検査所によって 100 検体の直腸と盲腸スワブでのサルモネラ検査をしたが、陰性であった、STEC やカンピロバクターの成績は得られなかった。

馬についての糞便の成績は得られなかった。STEC については、海外において保菌している報告はあるが、国内における検出事例は認められなかった。その他、国内のサルモネラやカンピロバクターの検査結果も見つけることができなかった。

②めん羊、山羊、馬枝肉拭き取り検体の一般細菌数

すべてスワブ法での結果であった。めん羊は 4 つの検査所 (A、B、D、F 検査所)、山羊は 1 つの検査所 (I 検査所)、馬は 4 つの検査所 (C、D、E、G 検査所) で実施されていた。山羊の成績は 1 の検査所で実施されているにすぎなかった。めん羊、山羊、馬枝肉の拭き取りの陽性検体の対数平均値は、各々 4.02~100.88 個/cm² (最高値 : 1,450.00 個/cm²)、5.62~12.98 個/cm² (最高値 : 1,335.00 個/cm²)、0.52~191.10 個/cm² (最高値 : 27,500.00 個/cm²) であった。

EU の規定では、めん羊、山羊、馬の洗浄後冷却前の枝肉の切除法であるが、一般生菌数の優良レベルは 3.5 log 個/cm² 未満、許容レベルは 3.5~5.0 log 個/cm²、不適合レベルは 5.0 log 個/cm² を超える値である。スワブ法と切除法の違いがあるが、今回のめん羊、山羊、馬のスワブ法の成績は EU の規定の許容レベル範囲内であった。

③めん羊、山羊、馬枝肉拭き取り検体の大腸菌群数

すべてスワブ法での結果であった。めん羊は 3 つの検査所 (A、B、F 検査所)、山羊は 1 つの検査所 (I 検査所)、馬は 2 つの検査所 (C、E 検査所) で実施されていた。山羊の成績は 1 つ検査所で実施されているにすぎなかった。めん羊、山羊、馬枝肉の拭き取りの陽性検体の対数平均値は、各々 0.10~0.61 個/cm² (最高値 : 19.30 個/cm²)、0.21~0.25 個/cm² (最高値 : 19.50 個/cm²)、4.95~11.00 個/cm² (最高値 : 910.00 個/cm²) であった。

EU の規定では、めん羊、山羊、馬の洗浄後冷却前の枝肉の切除法であるが、腸内細菌科菌群の優良レベルは 1.5 log 個/cm² 未満、許容レベルは 1.5~

2.5 log 個/cm²、不適合レベルは 2.5 log 個/cm² (316 個/cm²) を超える値である。スワブ法と切除法、大腸菌群と腸内細菌科菌群、洗浄前と洗浄後の違いはあるが、今回のめん羊と山羊のスワブ法の成績は EU の規定の許容レベルにあったが、馬は洗浄前の枝肉において不適合レベルに該当する値を示すものが認められた。統一的な検査法や検体採取を実施する場所を設定する必要があるかもしれない。

④めん羊、山羊、馬枝肉拭き取り検体の大腸菌数
すべてスワブ法での結果であった。めん羊は 3 つの検査所 (A、B、F 検査所)、馬は 1 つの検査所 (E 検査所) で実施されていた。山羊の成績は無かった。めん羊、馬枝肉の拭き取りの陽性検体の対数平均値は、各々 0.10~0.26 個/cm² (最高値 : 3.00 個/cm²)、11.03~31.59 個/cm² (最高値 : 640.00 個/cm²) であった。

E. 結論

めん羊、山羊、馬は牛や豚のと畜頭数に比べて少なく、細菌検査成績を得ている検査所は少ないと思われた。

めん羊はサルモネラや STEC を約 3 割保菌していることが判明した。しかし、保有しているサルモネラや STEC は患者から分離される血清型とは異なることが判明した。これらの試験に用いられた採材法は全てスワブ法であった。

F. 健康危険情報

特になし。

G. 研究発表

1. 論文発表
なし
2. 学会発表等
なし

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得
なし
2. 実用新案登録
なし

表 1. めん羊、山羊、馬からの各種病原体検出状況

菌種	畜種	食肉衛生 検査所	調査期間	検体	調査 検体数	陽性 検体数	%	血清型等 (検体数)
サルモネラ	めん羊	A	2019.5-2020.5	糞便	60	20	33.33	垂種群IIIb O61:-:1,5,7(20)、垂種群I O4:i:-(1)
		H	2020.5	胆汁	1	0	0.00	
		H	2020.5	糞便	1	0	0.00	
	山羊	I	2002.8-10	直腸スワブ	100	0	0.00	
		I	2002.8-10	盲腸スワブ	100	0	0.00	
	馬	D	2018.7-2020.3	枝肉スワブ	41	0	0.00	
STEC	めん羊	A	2019.5-2020.5	糞便	60	19	31.67	OUT:NM (14)、OUT:HUT(2)、O91:NM(2)、O103:H2 (2)、O146:NM (1)
		D	2018.4-2019.8	枝肉スワブ	8	0	0.00	
		H	2020.5	胆汁	1	0	0.00	
		H	2020.5	糞便	1	0	0.00	
	馬	G	2015.6	胸部	2	0	0.00	
		G	2015.6	肛門周囲	2	0	0.00	
カンピロバクター	めん羊	H	2020.5	胆汁	1	0	0.00	
		H	2020.5	糞便	1	0	0.00	

OUT：O抗原が型別不能
HUT：H抗原が型別不能
NM：H抗原が陰性（運動性なし）

表 2. めん羊、山羊、馬枝肉ふき取り検体の一般細菌数

畜種	食肉衛生 検査所	調査期間	調査部位	採取場所	調査 検体数	陽性 検体数	%	陽性検体の 対数平均値 (個/cmf)	最高値 (個/cmf)	方法等
めん羊	A	2019.4-2020.10	胸部	洗浄後	17	17	100.00	100.88	1,450.00	スワブ法
	A	2019.4-2020.10	臀部	洗浄後	17	17	100.00	17.14	460.00	スワブ法
	B	2017.2-2017.6	胸部	洗浄後	100	100	100.00	24.19	850.00	スワブ法
	B	2017.2-2017.6	肛門周囲	洗浄後	100	100	100.00	27.74	820.00	スワブ法
	D	2018.4-2018.6	全食協	洗浄後	6	4	66.67	4.02	115.00	スワブ法 全食協
	F	2018.4-2019.10	胸部	洗浄後	14	14	100.00	33.50	264.00	スワブ法
	F	2018.4-2019.10	臀部	洗浄後	14	12	85.71	11.38	82.00	スワブ法
山羊	I	2012.9-2019.9	胸部	洗浄後	64	63	98.44	12.98	945.00	スワブ法
	I	2012.9-2019.9	肛門周囲	洗浄後	64	61	95.31	5.62	1,335.00	スワブ法
馬	C	2019.4-2020.7	胸部	洗浄後	27	25	92.59	116.14	5,250.00	スワブ法 検出限界値(6.25個/
	C	2019.4-2020.7	臀部	洗浄後	27	26	96.30	125.29	3,300.00	スワブ法 cmf)以下は陰性として
	C	2019.4-2020.7	頸部	洗浄後	24	24	100.00	119.41	1,625.00	スワブ法 計算
	D	2018.7-2020.3	全食協	洗浄後	41	29	70.73	0.52	15.30	スワブ法 全食協
	E	2012.2-2019.12	胸部	洗浄前	177	173	97.74	60.99	27,500.00	スワブ法
	E	2012.7-2019.12	臀部	洗浄前	169	159	94.08	191.10	21,900.00	スワブ法
	G	2015.6	胸部	洗浄後	2	2	100.00	85.15	250.00	スワブ法
	G	2015.6	肛門周囲	洗浄後	2	2	100.00	30.72	59.00	スワブ法

表3. めん羊、山羊、馬枝肉ふき取り検体の大腸菌群数

畜種	食肉衛生 検査所	調査期間	調査部位	採取場所	調査 検体数	陽性 検体数	%	陽性検体の 対数平均値 (個/cm ²)	最高値 (個/cm ²)	方法等
めん羊	A	2019.4-2020.10	胸部	洗浄後	17	7	41.18	0.61	19.30	スワブ法
	A	2019.4-2020.10	臀部	洗浄後	17	5	29.41	0.10	0.10	スワブ法
	B	2017.2-2017.6	胸部	洗浄後	100	19	19.00	0.16	0.80	スワブ法
	B	2017.2-2017.6	肛門周囲	洗浄後	100	25	25.00	0.23	1.60	スワブ法
	F	2018.4-2019.10	胸部	洗浄後	14	0	0.00			スワブ法
	F	2018.4-2019.10	臀部	洗浄後	14	0	0.00			スワブ法
山羊	I	2012.9-2019.9	胸部	洗浄後	64	15	23.44	0.25	19.50	スワブ法
	I	2012.9-2019.9	肛門周囲	洗浄後	64	8	12.50	0.21	13.50	スワブ法
馬	C	2019.4-2020.7	胸部	洗浄後	27	0	0.00			スワブ法
	C	2019.4-2020.7	臀部	洗浄後	27	4	14.81	5.38	7.00	スワブ法
	C	2019.4-2020.7	頸部	洗浄後	24	1	4.17	11.00	11.00	スワブ法
	E	2012.2-2019.12	胸部	洗浄前	177	29	16.38	4.95	910.00	スワブ法
	E	2012.7-2019.12	臀部	洗浄前	169	43	25.44	6.99	700.00	スワブ法

検出限界値(3.75個/cm²)以下は陰性として計算

表4. めん羊、山羊、馬枝肉ふき取り検体の大腸菌数

畜種	食肉衛生 検査所	調査期間	調査部位	採取場所	調査 検体数	陽性 検体数	%	陽性検体の 対数平均値 (個/cm ²)	最高値 (個/cm ²)	方法等
めん羊	A	2019.4-2020.10	胸部	洗浄後	17	2	11.76	0.20	0.40	スワブ法
	A	2019.4-2020.10	臀部	洗浄後	17	1	5.88	0.10	0.10	スワブ法
	B	2017.2-2017.6	胸部	洗浄後	100	12	12.00	0.18	0.80	スワブ法
	B	2017.2-2017.6	肛門周囲	洗浄後	100	18	18.00	0.26	3.00	スワブ法
	F	2018.4-2019.10	胸部	洗浄後	14	0	0.00			スワブ法
	F	2018.4-2019.10	臀部	洗浄後	14	0	0.00			スワブ法
馬	E	2012.8-2012.10	胸部	洗浄前	11	5	45.45	31.59	235.00	スワブ法
	E	2012.8-2012.10	臀部	洗浄前	13	9	69.23	11.03	640.00	スワブ法

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）

「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」

分担研究報告書

めん羊、山羊の外部検証採材部位の設定のための研究

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	大城哲也、富永正哉	沖縄県中央食肉衛生検査所	
	大野祐太、池田徹也	北海道立衛生研究所	

研究要旨：令和2年5月28日に発出された「と畜検査員及び食鳥検査員による外部検証の実施について」では、と畜場及び食鳥処理場における HACCP の考え方に基づく衛生管理の実施を外部検証するために微生物試験が示されている。但し、同試験の対象は牛、豚、食鳥とたいであり、と畜場で処理されるめん羊や山羊とたいの採材部位は不明であった。本研究では、めん羊、山羊を取り扱うと畜場において、外部検証のための微生物試験を行う上で望ましい採材部位を設定するため、1とたいあたり3か所を採材し、一般細菌数及び腸内細菌科菌群数を求めた。山羊15とたい（45検体）からは腸内細菌科菌群は認められなかった。一般細菌数は胸部が 1.53 ± 0.69 log CFU/g であり、他部位（腹部、臀部）との統計学的有意差は認められなかった。牛豚と大きく異なる工程手順として、供試対象の山羊とたいは全周をバーナーで毛焼きされた後、内臓摘出が行われ、背割り・洗浄されており、毛焼きによるとたい外表面の糞便汚染指標菌汚染を十分に制御されたことが腸内細菌科菌群不検出の背景にあると推察された。また、2と畜場で処理された計47頭のめん羊とたいの3部位を採材し、微生物試験に供したところ、1施設では胸部における菌数分布が最も高い平均菌数を示した。めん羊については、上述の山羊とは異なり、牛豚と同様に剥皮、洗浄、内臓摘出、背割り、洗浄が行われた上で冷却されていたが、施設間での工程管理の違いを詳細に確認するには至っていない。以上の成績及び文献情報等を踏まえ、現時点では山羊とたいを対象とした外部検証のための微生物試験を実施する上では牛豚と同様に胸部を、めん羊については胸部または腹部を採材部位とすることが適切と思われる知見を得た。

A. 研究目的

令和2年5月28日に発出された「と畜検査員及び食鳥検査員による外部検証の実施について」（生食発0528第1号）では、と畜場及び食鳥処理場における HACCP の考え方に基づく衛生管理の実施を外部検証するために行うべ

き微生物試験が別添として示されている。但し、同試験の対象は牛、豚、食鳥とたいであり、と畜場で処理されるめん羊や山羊とたいの採材部位は不明であった。HACCP に沿った衛生管理は、令和3年6月より本格施行される予定となっており、めん羊や山羊を解体処理すると畜場における HACCP 外部検証のための微生物試

験の実施を科学的に支援することが必要と考えられた。

そこで、本研究では、めん羊、山羊とたいを取り扱うと畜場の監視指導を行う食肉衛生検査所等の協力を得て、めん羊、山羊とたいを対象とした HACCP 外部検証の微生物試験を行う上で採材すべき部位の選定に係る検討を行ったので報告する。

B. 研究方法

1) 採材部位候補の選定

国際標準の微生物試験等を取り扱う、国際標準化機構(ISO)の文書並びにその他の国の関連文書を検索すると共に、PubMed 検索を通じ、めん羊、山羊とたいの採材部位に関する情報を収集・整理した。

2) 微生物試験

令和 2 年 5 月 28 日に発出された「と畜検査員及び食鳥検査員による外部検証の実施について」(生食発 0528 第 1 号) 別添で示される微生物試験項目である、一般細菌数及び腸内細菌科菌群を対照とした微生物試験を行った。採材部位選定のための試料はスポンジスワブ(スリーエム)を用いて収集した。

C. 研究結果及び考察

1) 採材部位設定に資する検討対象部位の選定

ISO 17604 では、山羊やめん羊等の小型獣畜とたいの衛生実態を把握するための採材部位として、10 箇所より科学的データに基づいて 3 か所を選択し、各 25cm² をスポンジスワブあるいは切除により採材し、微生物試験に供することが示されていた。また、オート

スラリア政府が 2018 年に発行した「Microbiological manual for sampling and testing of export meat and meat products」では、小型獣畜とたいの 3 か所(S1, 胸部; S2, 腹部; S3, 腰背部) 各 25cm² をスポンジスワブあるいは切除により採材する手順が示されていた。オーストラリアではめん羊、山羊について、衛生指標菌検査のための採材頻度は 1,000 とたいにつき、1 検体とされていた (<https://www.agriculture.gov.au/sites/default/files/sitecollectiondocuments/aqis/exporting/meat/elmer3/index/methods-microbiological-test-meat/manual-microbiological-programs.pdf>)。

PubMed 検索を通じて、山羊とたいの衛生モニタリングに関する文献を調査したところ、以下の文献が抽出された。

・UAE で計 40 の山羊とたいのふき取り検体を採材し、一般細菌数を求めたところ、洗浄後のとたいでは胸部及び肩部で相対的に高い菌数が検出されたことが報告されていた。(Int. J. Curr. Microbiol. App. Sci. 2019. 8(3): 242-250.)

・オーストラリアで 2015 年に実施されたモニタリング調査では山羊とたい表面(胸部、腹部、肋骨部)における全体の一般細菌数平均値は 1.94 log CFU/cm² であり、大腸菌陽性率は平均 27%であったこと、剥皮前とたいに比べ、剥皮後とたいでは一般細菌数が増加したこと等が報告されていた (Food Cont. 2011. 22(6): 959-963.)。

めん羊とたいを対象とする衛生モニタリングに関する文献としては以下のものが抽出された。

・洗淨後めん羊とたいの 10 部位を 3 施設で採材し、微生物試験に供したところ、一般細菌数及び腸内細菌科菌群数は施設によらず、胸部が最も高値を示したこと、更に *stx* 遺伝子陽性率を部位別に比較したところ、胸部、脇腹、後肢で高い一般細菌数を示したとたいからの検出率と一定の相関を示したことが報告されていた。(J. Food Prot. 2003. 66(6): 946-952.)

国内の豚とたいでは胸部又は頸部のいずれか 1 か所を採材部位としている状況を鑑み、本研究ではオーストラリアのマニュアルで示される 3 か所を対象部位として以下の検討を進めた。

2) 山羊とたいにおける採材部位間の菌数分布並びに工程情報の確認

2020 年 10 月から 2021 年 1 月にかけて、5 回にわたり、山羊を解体処理する A と畜場において、15 頭の冷却後山羊とたいを対象に各 3 か所の採材を行い、計 45 検体を得た。これらを微生物試験に供したところ、腸内細菌科菌群は全ての検体で不検出となった。一般細菌数については、ほぼ全ての検体から検出され、平均±SD 値は S1 (胸部) では $1.53 \pm 0.69 \log \text{CFU}/\text{cm}^2$ 、S2 (腹部) では $1.44 \pm 0.61 \log \text{CFU}/\text{cm}^2$ 、S3 (腰背部) では $1.28 \pm 0.72 \log \text{CFU}/\text{cm}^2$ を示し、部位間での有意差は認められなかった (図 1)。

腸内細菌科菌群不検出の要因を探索するため、当該施設における山羊とたいの解体処理工程を確認したところ、山羊とたいはとさつ・放血後、全周をバーナーで毛焼きされ、その後内臓摘出、背割り、洗淨、冷却の手順で処理が行われていた (図 2)。毛焼き工程は、

生体外表面の微生物を加熱殺菌する効果があると解される。上述の UAE において行われた調査報告では、処理前後で菌数に有意差が見られた部位については、特に作業による交叉汚染による可能性が示唆されている。本研究で調査対象としたとたいについては、処理工程を通じた十分な検査及び衛生監視が行われており、作業に逸脱はなかったものと解される。HACCP 外部検証活動が進められる中で、部位の比較検討を継続的に実施することは必要と思われるが、現段階で得られた成績からは、山羊とたいの採材部位としては、牛豚とたいとの互換性や海外との調和を踏まえると、胸部を採材部位とすることが妥当と考えられた。

3) めん羊とたいにおける採材部位間の菌数分布

B と畜場では 22 とたい計 66 検体、C と畜場では 25 とたい計 75 検体を採材し、微生物試験に供した。結果として、B と畜場で採材された全 66 検体における一般細菌数の平均±SD 値は $1.62 \pm 0.81 \log \text{CFU}/\text{cm}^2$ となり、部位別平均値は、S1 (胸部) が $1.57 \log \text{CFU}/\text{cm}^2$ 、S2 (腹部) が $1.50 \log \text{CFU}/\text{cm}^2$ 、S3 (腰背部) が $1.81 \log \text{CFU}/\text{cm}^2$ であった (図 3)。これらの部位別の分散値はそれぞれ 0.76、0.51、0.69 であった。これらの検体における腸内細菌科菌群検出状況として、 $1.0 \log \text{CFU}/\text{cm}^2$ 以上の数値は S1 及び S2 では各 2 とたいで確認された一方、S3 で検出された最大菌数は、 $0.48 \log \text{CFU}/\text{cm}^2$ であった (図 3)。

また、C と畜場で処理された 25 のめん羊とたい計 75 検体における両指標菌の平均

±SD 値は一般細菌数が $2.09 \pm 0.88 \log \text{CFU}/\text{cm}^2$ となり、部位別平均値は S1 が $2.29 \log \text{CFU}/\text{cm}^2$ 、S2 が $2.32 \log \text{CFU}/\text{cm}^2$ 、S3 が $1.62 \log \text{CFU}/\text{cm}^2$ であった (図 3)。有意差は S1 と S3 及び S2 と S3 間で認められた。これらの部位別の分散値はそれぞれ 0.53、0.58、0.98 であった。これらの検体における腸内細菌科菌群検出状況として、 $1.0 \log \text{CFU}/\text{cm}^2$ 以上の数値は S2 では 1 とたい、S3 では 2 とたいで確認された。

2 施設で得られた全成績を基に、一般細菌数と腸内細菌科菌群数の関連性を解析したところ、相関係数 r は 0.47 となった (図 4A)。

今回対象とした 2 施設での工程管理の違いは明確ではなく、引き続き当該獣畜とたいの微生物試験を継続しつつ、工程管理の詳細を比較することが同 2 施設で共通した微生物試験の実施には欠かせないものと思われる。特に腸内細菌科菌群数の分散の大きさが一部の部位で認められたことが、工程管理の逸脱によるものであるか、或いは恒常的に起こりうるものかを見極める上でも必要であろう。一方、現時点までに得られた成績及び文献情報に基づくと、B 及び C と畜場において処理された羊とたいを対象とした HACCP 外部検証微生物試験に供する採材部位としては、胸部または腹部 (トモバラ) が妥当と考えられた。

D. 結論

めん羊、山羊とたいを対象とした HACCP 外部検証のための微生物試験を行うにあたって、山羊では胸部を、めん羊では胸部または腹部 (トモバラ) を採材部位とすることが妥当と思われる知見を得た。今後、馬とたいに

ついても同様の検討を速やかに行う必要があると思われる。

E. 健康危険情報

特になし

F. 研究発表

1. 論文

なし

2. 学会発表

なし

G. 知的財産権の出願・登録状況

なし

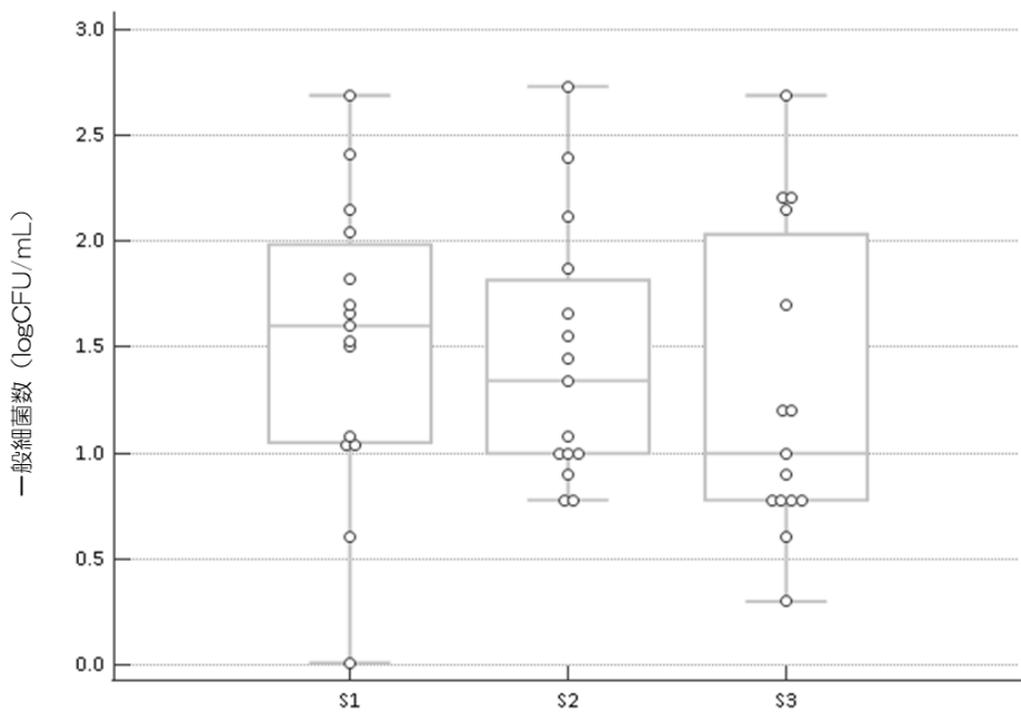


図 1. 山羊とたいにおける部位別の一般細菌数検出状況.

<解体処理工程の概要>



と殺後、バーナーで毛焼き



体表が黒焦げになるまでバーナーで毛焼きを行う



金たわし等を使用し洗浄しながら焦げを落とす



焦げを落とした後、懸吊



内臓摘出



背割り



背割り後、洗浄

<採材の様子>



胸部 (S1)



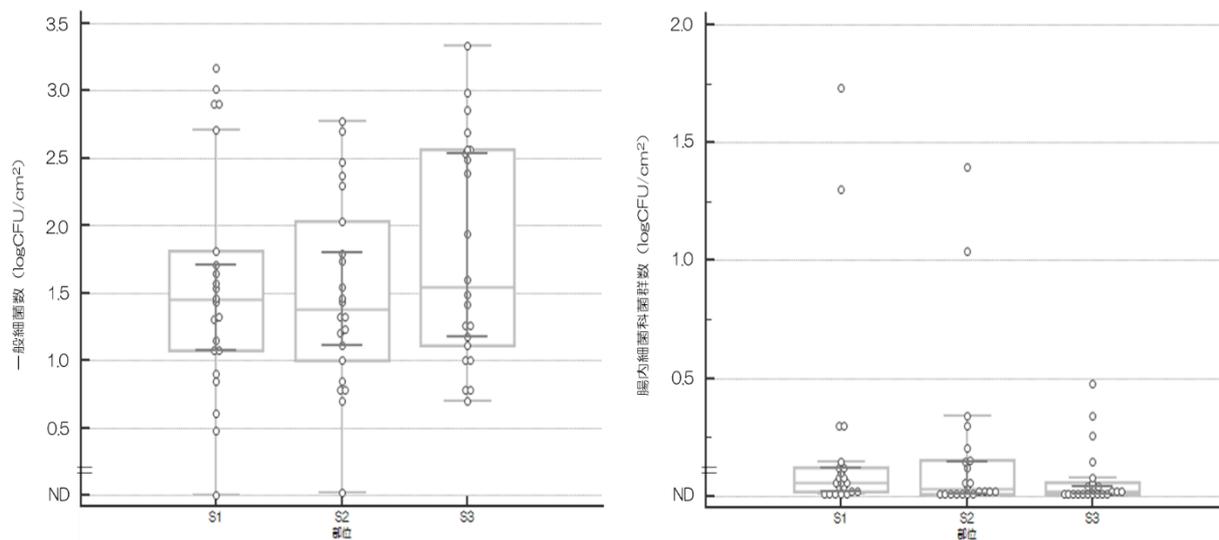
腹部 (S2)



臀部 (S3)

図 2. 山羊とたいの解体処理工程概要及び採材の様子.

B と畜場



C と畜場

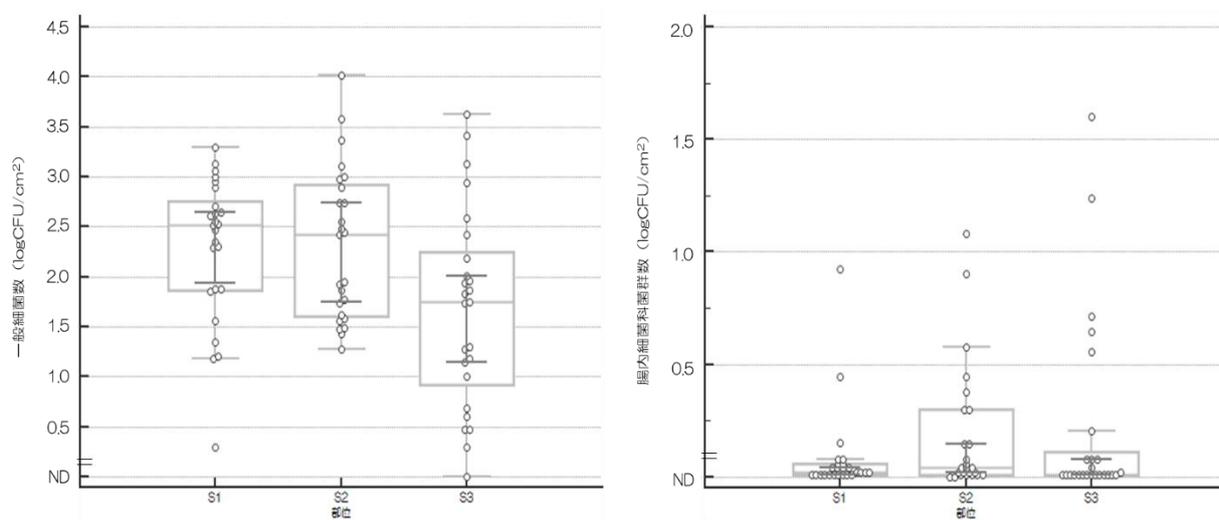


図 3. めん羊とたいにおける部位別の衛生指標菌検出状況.

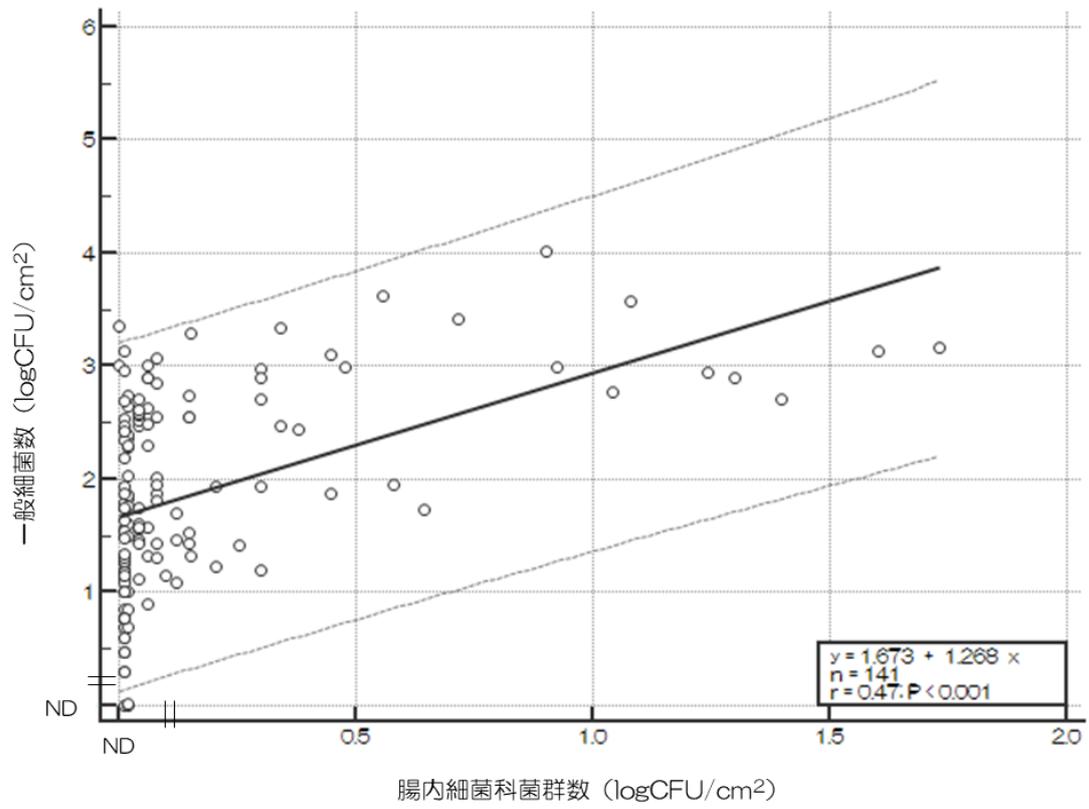


図 4. めん羊とたいより検出された一般細菌数と腸内細菌科菌群数の関連性.

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）
「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」

分担研究報告書

食鳥処理場における HACCP 外部検証システムに関する研究

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	大城哲也、富永正哉	沖縄県中央食肉衛生検査所	
	佐藤要介、笠井 潔	茨城県県西食肉衛生検査所	
	葛岡功弥子、河合浩二	豊橋市食肉衛生検査所	
	山本詩織、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：成鶏（採卵鶏）を取り扱う食鳥処理場4施設を管轄する自治体の協力を得て、令和2年5月28日付で通知された HACCP 外部検証のための微生物試験法について時系列をおった検討を行った。このうち2施設は中抜き方式の大規模食鳥処理場であり、年間を通じて相対的に安定的な微生物検出成績が得られた。特に1施設ではカンピロバクター定量試験を衛生指標菌試験と並行して進めたところ、多くは検出限界未満の成績であったが、突発的に高菌数の検出を認める等、工程管理の安定性確保が当該施設における今後の課題であることが明らかとなった。カンピロバクター検出成績と衛生指標菌検出成績との間には明確な相関性は認められず、食鳥肉の主要な危害要因であるカンピロバクター試験を衛生指標菌試験とあわせて実施することが、一般衛生管理の検証と、健康被害低減に向けた対策の構築に有効と考えられた。このほか、外剥ぎ方式の2施設では、複数の培地やキットを用いて、衛生指標菌試験成績の比較を行い、いずれも有意な差異は認められなかったことから、これらを実態に合わせて選択して差し支えない状況にあることが確認された。但し、同施設での衛生指標菌数及びカンピロバクター菌数は他施設に比べて極めて高い状況にあり、工程管理実態の精査並びに設定の妥当性を改めて検証すること等が必要と考えられた。

A. 研究目的

令和2年5月28日付の厚生労働省通知「と畜検査員及び食鳥検査員による外部検証の実施について」（生食発0528第1号）では、と畜場及び大規模食鳥処理場における HACCP の考え方に基づく衛生管理を実施する上で、と畜検査員や食鳥検査員による外部検証を行うことが技術的助言として示された。本通知別添には、食鳥とたいの首皮または胸皮を採材し、一般細菌数及び腸内細菌科菌群数を対象として、年間を通じて定量検出するための試験法が示されている。当該通知で示される試験法としては、

ISO法のほか、参照法との同等性が国際的な第三者認証機関によって確認された試験法を用いることとなっている。現在、国内では、一般細菌数、腸内細菌科菌群数を求めるための簡易迅速法として市販されるキット類は複数流通しており、それらの適切性は使用者の実情にあわせて選択することが妥当と考えられる。一方で、これまで食鳥処理場で行われてきた微生物試験の多くは拭取り検体を対象とするものであり、上述の第三者認証を得たキット類についての同等性を鶏皮で評価された事例は乏しい状況にある。

また、国内で通知法発出以降に検討されている食鳥とたいの多くは中抜き方式により処理された肉用若鳥とたいであり、成鶏とたいに関する微生物試験成績は更に集積すべき状況にあると考えられた。

以上の背景を踏まえ、本研究では、成鶏を処理する大規模食鳥処理場4施設及びこれを管轄する自治体（食肉衛生検査所）の協力を得て、経時的な微生物試験成績の集積を図ることとした。また、そのうちの一部の施設由来検体については、カンピロバクターを含め、複数の試験法を同時に平行実施し、国内で多く流通する第三者認証を取得している製品間での成績比較を行ったので報告する。

B. 研究方法

1) 衛生指標菌定量検出試験

令和2年5月28日付の厚生労働省通知「と畜検査員及び食鳥検査員による外部検証の実施について」（生食発0528第1号）別添に示される一般細菌数及び腸内細菌科菌群数を求めるための定量検出試験法を参照法として、全ての対象施設で用いた。また、一部施設では、一般細菌数及び腸内細菌科菌群数測定用として販売されるフィルム培地製品（ペトリフィルム（スリーエム）、コンパクトドライ（日水製薬）、MCメディアパッド（JNC））及び最確数法を基礎としたテンポ（ビオメリュー）を並行的に用いて検討した。いずれも使用法は製造者の使用説明書によった。

2) カンピロバクター定量試験法

2自治体では、上述の衛生指標菌試験に加え、カンピロバクター定量検出試験を行った。同試験の実施にあたり、1自治体では、上記通知別添で示される試験法を行った。また、残り1自

治体では同様の方法に加え、最確数法に基づく簡易迅速キット（テンポ・カンピロバクター）を用いて試験を実施した。

C. 研究結果及び考察

1) 成鶏とたいにおける衛生指標菌検出状況

中抜き方式で成鶏（採卵鶏）を処理する大規模食鳥処理場2施設（A施設、B施設）での衛生指標菌検出状況について、時系列を追って検討したところ、以下の知見を得た。

① A施設では、2020年9月～2021年1月にかけて、月あたり5検体（25とたい分の胸皮）計25検体を採材し、微生物試験に供した結果、一般細菌数の平均は3.97 log CFU/g、平均+2SDは4.75 log CFU/g、平均+3SDは5.14 log CFU/gとなり、最大値5.08 log CFU/gを示した1検体を除く全ての検体は平均+2SDの範囲に収束した（図1A）。また、腸内細菌科菌群数については、平均が2.16 log CFU/g、平均+2SDが3.06 log CFU/g、平均+3SDが3.51 log CFU/gとなり、全25検体で平均+2SD以内に収束した（図1B）。

② B施設では、2020年7月～2020年11月にかけて、6回の採材で計30検体を採材し、微生物試験に供した結果、一般細菌数の平均は3.52 log CFU/g、平均+2SDは4.25 log CFU/g、平均+3SDは4.61 log CFU/gとなり、全ての検体は平均+3SDの範囲に収束した（図2A）。また、腸内細菌科菌群数については、平均が2.32 log CFU/g、平均+2SDが3.63 log CFU/g、平均+3SDが4.29 log CFU/gとなり、全25検体で平均+2SD以内に収束した（図2B）。

③ B施設では上述の衛生指標菌試験と並行して、カンピロバクター定量検出試験も実施した。計30検体のうち、25検体ではカンピロバクター不検出（1.0 log CFU/g未満）であった。一

方、残り 5 検体からはカンピロバクターが検出されたが、培地上に発育した集落数が多く正確な菌数把握が困難であった。

なお、これらの施設で検討対象とした食鳥とたいはいずれも丸とたいで冷蔵或いは冷凍保管することなく、受け入れ後、同日中に処理されたものであった。

以上の成績より、中抜き方式であっても、成鶏（採卵鶏）由来とたいは対象施設では大きな逸脱を見ることなく、処理されており、検出菌数についても、一般的な大規模食鳥処理場で処理される肉用若鳥に比べて同等もしくはそれ以下であることが確認された。

2) 食鳥とたい検体を対象とした微生物試験法の同等性について

微生物試験法として、通知法で示される試験法に比べ、近年では複数の簡易迅速法に該当する製品が開発され、一部製品ではその妥当性も第三者認証機関によって評価され、国内に普及している。

外剥ぎ方式で成鶏を処理する C 施設及び D 施設で採材された食鳥とたい（首皮）計 39 検体を対象に、ISO 法及び迅速簡易試験法（キット A または B）を並行的に使用し、衛生指標菌数を求めたところ、試験法間の R^2 値は一般細菌数で 0.92、腸内細菌科菌群数では 0.90 となり、各 2 キットを用いた試験成績は通知法で得られた試験成績との間で高い同等性を認めた（図 3）。なお、当該 2 施設での衛生指標菌検出成績は、A 施設及び B 施設での成績に比べ、有意に高い状況であった。工程管理情報の一つとして、当該施設ではオゾン殺菌が行われていることが確認されたが、その詳細な管理条件は得ることができなかった。こうした微生物汚染低減に資すると目される工程の詳細な情報把握

は、当該施設での衛生指標菌数低減に向けた活動として、今後必要と思われる。

なお、C 施設及び D 施設で採材された 39 検体については同時にカンピロバクター定量検出試験も行われた。カンピロバクター不検出となった検体数は 11 検体認められ、残り 28 検体は陽性を示した。但し、同菌数の最大値は 3.54 log CFU/g であり、うち 20 検体は 2.0 log CFU/g 未満の菌数を示した。

以上の成績より、国際的な第三者認証機関による妥当性確認を受けた迅速簡易試験法の食鳥とたい検体への適用は可能と思われた。また、対象施設における定量検出成績より、多くの成鶏とたいにおけるカンピロバクター汚染菌数は低い状況にある可能性が示唆された。

D. 結論

食鳥とたいを対象とした HACCP 外部検証のための微生物試験成績の集積を特に成鶏（採卵鶏）について検討した。結果として中抜き方式の 2 施設では衛生指標菌検出成績は一般的な施設と同等もしくはそれ以下であり、一定の衛生確保が行われている状況が確認された。また、カンピロバクターについては 30 検体中 25 検体が不検出となる等、成鶏とたいにおけるカンピロバクター汚染頻度は低い可能性が示唆された。一方、陽性検体の多くは突発的に高菌数を示した可能性も考えられるため、工程管理の中でカンピロバクター制御に有効となる対策を講じる必要性が示された。また、こうした微生物試験を行うにあたり、国際的第三者認証機関により妥当性が確認された迅速簡易試験法について、同等性が確認された。これらの活用は持続的な HACCP 検証を行うにあたって有用と考えられる。

F. 健康危険情報

特になし

G. 研究発表

1. 論文

- 1) Asakura H, Nakayama T, Yamamoto S, Izawa K, Kawase J, Torii Y, Murakami S. Long-term grow-out affects *Campylobacter jejuni* colonization fitness in coincidence with altered microbiota and lipid composition in the cecum of laying hens. *Front. Vet. Sci.* 2021. In press.
- 2) 朝倉宏. 食肉・食鳥肉製品のハザードとその管理. *保健医療科学*. 2021. 70(2): 100-106.
- 3) Yamamoto S, Kitagawa W, Nakano M, Asakura H, Iwabuchi E, Sone T, Asano K. Plasmid sequences of four large plasmids carrying antimicrobial resistance genes in *Escherichia coli* strains isolated from beef cattle in Japan. *Microbiol Resour Announc.* 2020. 9(20):e00219-20.

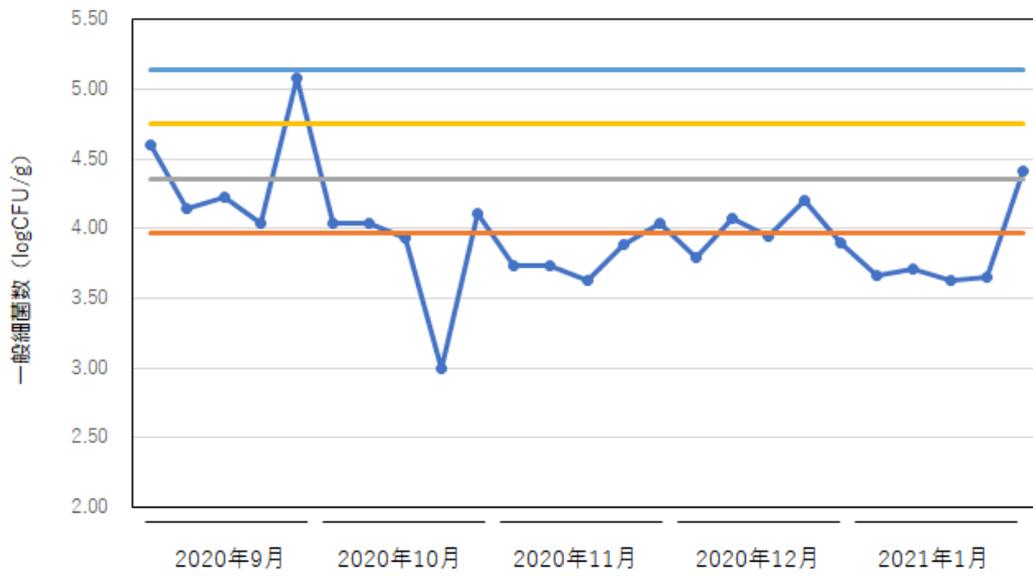
2. 学会発表

なし

H. 知的財産権の出願・登録状況

なし

A



B

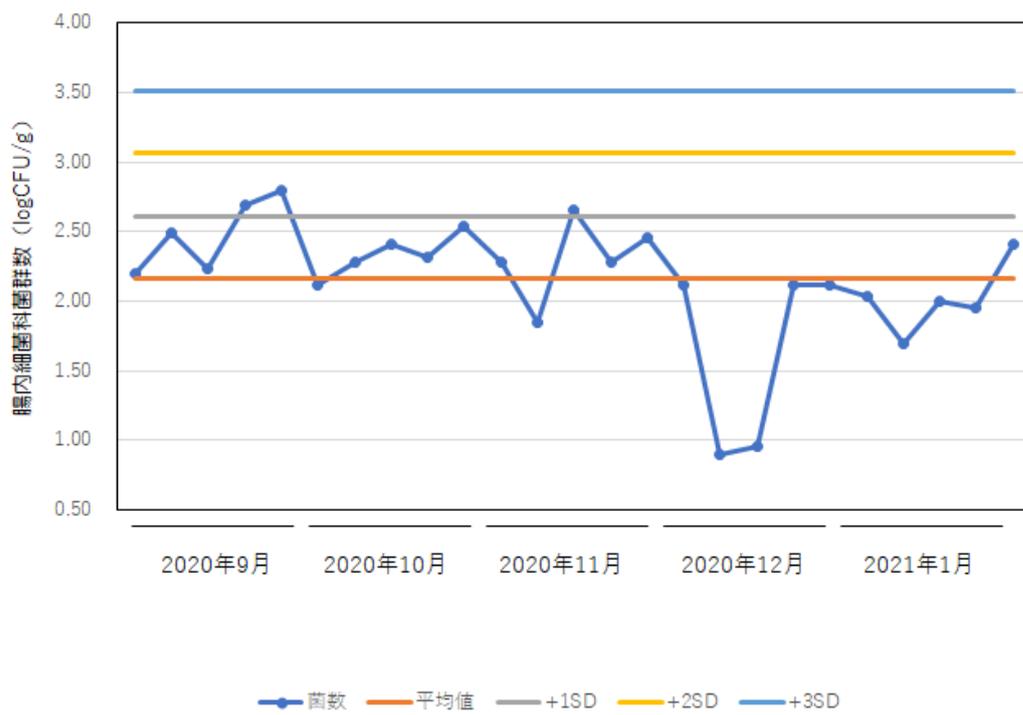
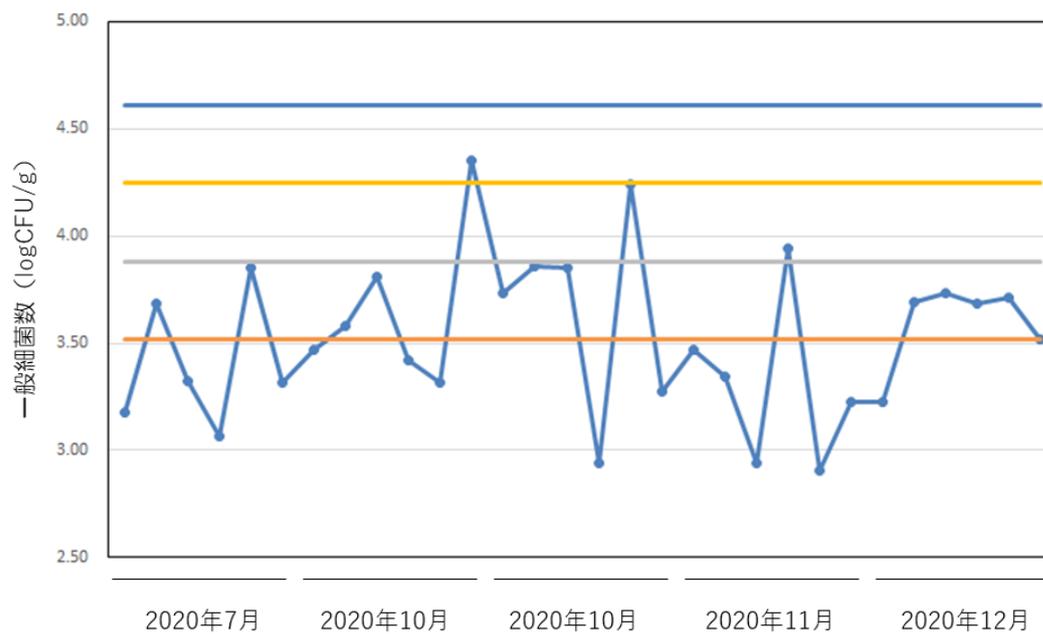


図1. A施設で採材された食鳥とたい検体における衛生指標菌検出動態.

A



B

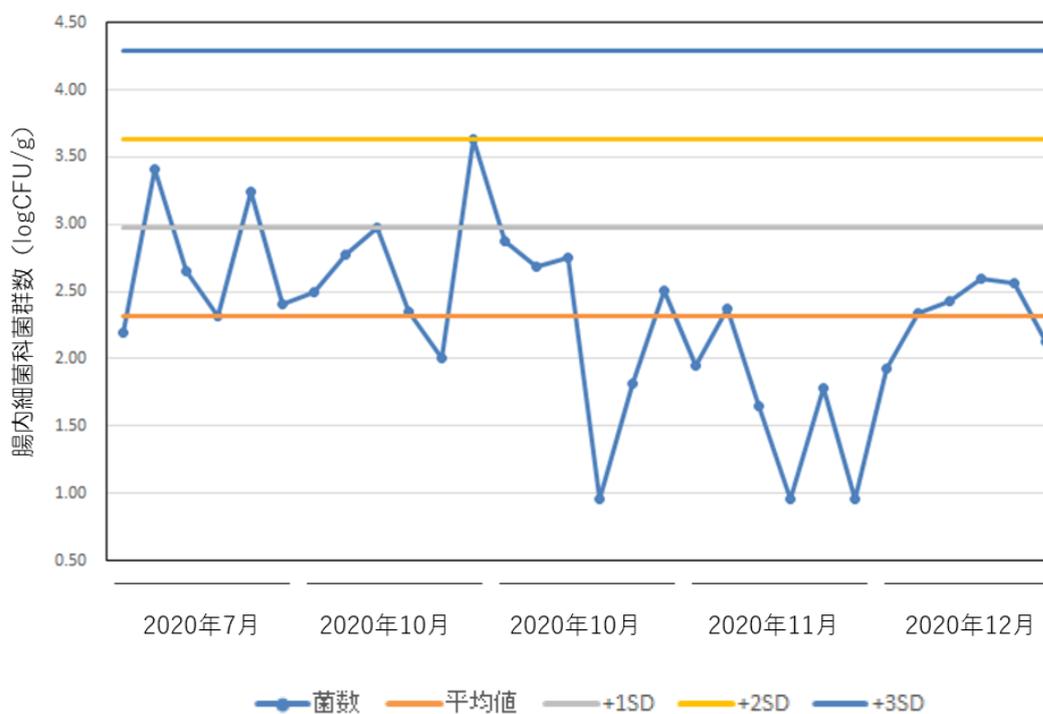


図 2. B 施設で採材された食鳥とたい検体における衛生指標菌検出動態.

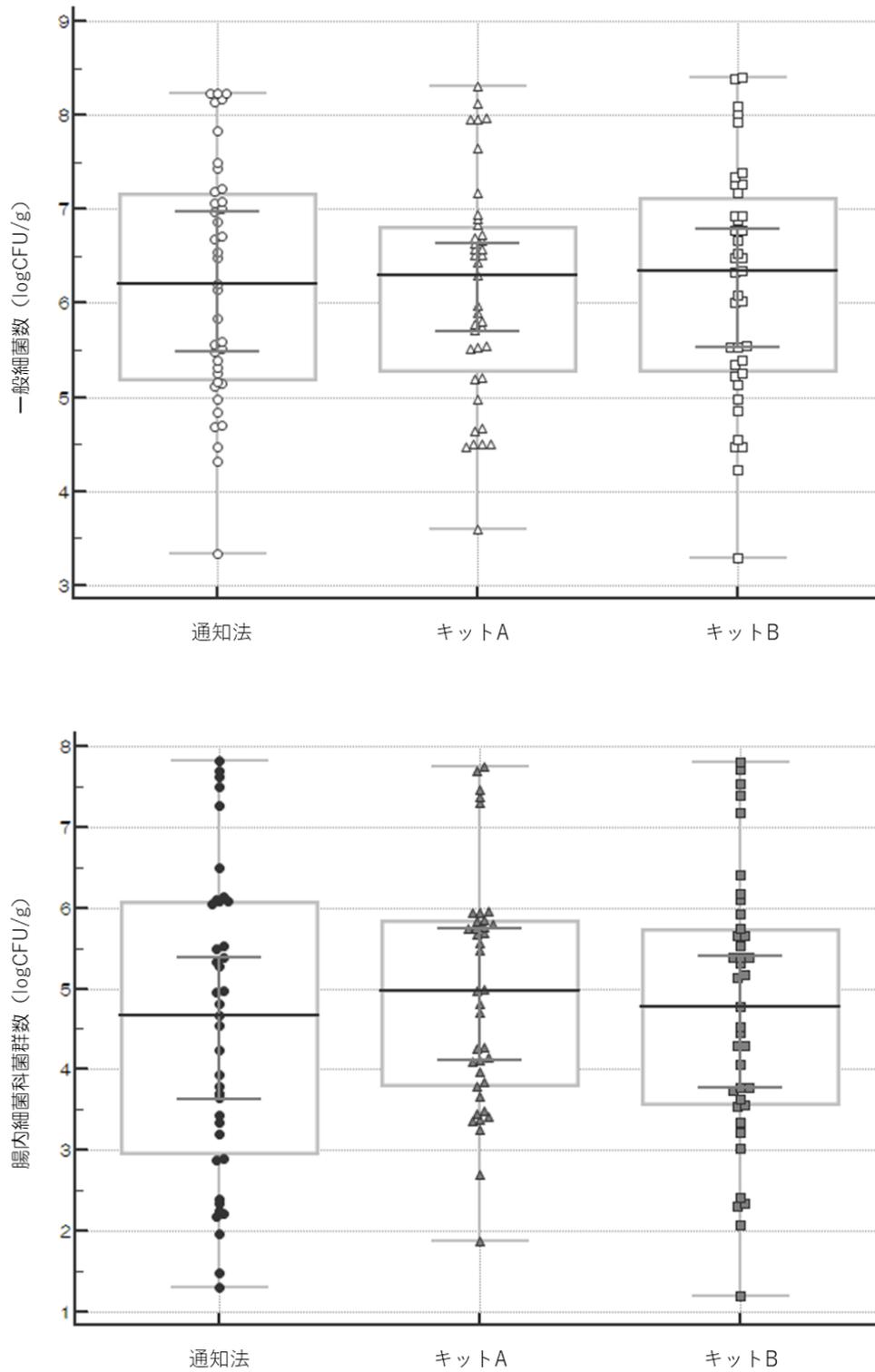


図3. C、D施設で採材された食鳥とたい検体における衛生指標菌検出結果の試験法間比較概要

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）
「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」
分担研究報告書

生食用食鳥肉における微生物汚染実態と工程管理実態との関連性探知に向けた研究

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	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	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：南九州地方の自治体では独自に生食用食鳥肉の製造加工、流通消費に至る工程での衛生管理ガイドラインを作成し、その安全確保に努めている。先行研究では、同地域で生食用食鳥肉を製造加工する大規模及び認定小規模食鳥処理場における工程管理実態を調査し、特に認定小規模食鳥処理場での安全性確保に資するための要件を整理した。本年度は21の小規模施設（中抜き方式14施設、外剥ぎ方式7施設）で製造加工・販売された210検体の生食用食鳥肉製品を冷凍下で入手し、大規模2施設で製造加工された20検体とともに衛生指標菌定量試験を行い、これらの施設での工程管理情報と紐づけすることで一般衛生管理の多様性を評価し、特に小規模施設で留意すべき工程管理条件を整理した。また、大規模食鳥処理場で中抜き処理された丸とたいが近年生食用に加工する小規模施設への出荷量が増加傾向にあるとの実態を鑑み、同施設で処理された中抜き丸とたいの冷蔵保存条件に関する調査を行った。生食用食鳥肉製品検体における衛生指標菌検出状況として、大腸菌は23施設で製造加工された製品のうち、13施設由来57検体（24.8%）より検出され、全体の平均菌数は0.48 log CFU/gであった。これら陽性検体の由来となった施設の処理方式は中抜き方式施設が11施設、外剥ぎ方式施設は2施設であった。ロジスティック回帰分析を通じ、焼烙条件のうち、焼烙時間は外剥ぎ・中抜き方式間の比較解析を通じ、外剥ぎ方式施設は中抜き方式施設に比べ、有意に衛生指標菌数分布が低い状況にあった。中抜き方式施設のうち、大腸菌が全検体陰性または低頻度の検出状況を示した施設では中抜き工程で、頸部を切開しそ嚢及び食道（そ嚢と筋胃間）を摘出した後に総排泄口周辺を切開し、腸管等を摘出する手順が取られていた。一方、高い大腸菌数を示した検体の処理施設では、先に総排泄口周辺部を切開する、あるいは頸部切開は同様に先に行うものの、食道を含めた全ての内臓を総排泄口付近の切開部位から摘出する等の手順が見受けられた。中抜き方式施設での工程のうち、表面焼烙条件と微生物検出状況を照合することにより、焼烙時間の延長や火炎長（バーナーと対象とたいの距離）の短縮は糞便汚染指標菌数の低減に資すると示唆され、30 cm未満の火炎長で2分以上の焼烙を行うことは糞便汚染指標菌不検出に向けた目安となるものと考えられた。大規模食鳥処理場で処理された食鳥中抜きとたいの保管時間を検証したところ、冷蔵2日後に平均4.20 log CFU/gであった一般細菌数は5日後には5.70 log CFU/g、7日後には7.50 log CFU/gへと経時的な増殖を示した。糞便汚染指標菌数の経時的増殖は認められなかったが、冷蔵7日後の1検体からはサルモネラ属菌が検出され、当該施設での保管期間は概ね5日以内が妥当な範囲と考えられた。また、これを受け入れる小規模施設での温度管理に関して、9施設から回答が得られ、何れも10°C以下の管理を行っていることが確認された。但し、一部の施設では食鳥とたいの冷蔵保管庫が製品等と共用されている可能性が示唆され、これらの調査を行う必要があると思われた。

A. 研究目的

国内で発生する食中毒のうち、カンピロバクターによる食中毒は、細菌性食中毒の中で最多

の発生数を示す。2020年に発生した食中毒の事件数及び患者数はそれぞれ887件、14,613名であったが、カンピロバクターによるものは

このうちの 20.5% (182 件)、6.2% (901 名) を占めており、その発生低減は社会的な課題の一つと認知されている。

カンピロバクターによる食中毒の発生要因の多くは不明ではあるが、原因が特定または推定された事例においては、生食あるいは加熱不十分な食鳥肉料理が占める割合が極めて高い状況が近年続いている。

一般的に、国内に流通する食鳥肉は加熱用として食鳥処理場で解体処理され、その後、食肉処理施設で加工される場合が殆どではあるが、南九州地域では従前より生食用食鳥肉（いわゆる鳥刺し）が同地域の食習慣の中に根付き、流通消費されている。一方、近年の食中毒原因食品として取り上げられている、生食形態で提供される食鳥肉料理の多くは、他地域で同様に鳥刺し等として飲食店等で提供されているものの、これらの多くは加熱用食鳥肉として製造加工されたものを飲食店等が転用する形で受け入れ、表面を湯引きや炙りの調理を経て提供される場合が多いことがこれまでの調査により明らかとなっている。

南九州地域では、上述の加熱用として製造加工される食鳥肉に加え、生食用として製造加工される食鳥肉も存在する。後者の製造加工にあたっては、生食用を前提とした高度な衛生管理が前提となるため、管轄自治体等の監視指導の下でガイドラインが作成・運用されており、加熱用食鳥肉とは異なる工程を経ている。同地域での生食用食鳥肉の製造加工に関する知見の集積並びに整理は、国内で嗜好性の高い生食用としての食鳥肉料理の安全性確保を支える上で重要な課題と考えられたことから、先行研究では、計 60 施設の小規模施設での工程管理実態を調査し、とたい表面焼烙条件、器具の洗浄消毒頻度、加工所要時間、保存温度条件等、中抜き方式の施設ではこれらに加え、内臓摘出手順、と体内腔焼烙等が施設間で大きく異なる管理要件として抽出されている。同調査結果から、

今後衛生管理の更なる向上を図る上で注視すべき工程や管理手法が見出されたが、微生物汚染制御との関わりを明確に示す根拠は十分とはいえない状況であった。

以上の点を踏まえ、本研究では南九州地域に所在する小規模施設で製造加工された生食用食鳥肉製品検体入手し、それらを微生物試験に供した上で、各施設における工程管理実態との関連性を探索することで、微生物制御の観点から特に注視すべき工程や管理手法を提言することを目的として検討を進めた。また、生食用として、大規模食鳥処理場で処理される中抜き食鳥とたいは、生食用食鳥肉を加工する小規模施設への出荷量が近年増加傾向にある。こうした食鳥とたいを生食用食鳥肉製品に加工する上では、食鳥とたいの温度管理条件の精査が必要と考えられたことから、大規模食鳥処理場の協力を得て、現行の食鳥とたい保存条件を確認すると共に、同一ロットの食鳥とたいを異なる時間冷蔵保存し、それぞれを微生物試験に供することで、その検証を行った。

B. 研究方法

1. 生食用食鳥肉製品

南九州地方で生食用食鳥肉を加工販売する小規模施設のうち、昨年度工程管理実態調査対象となった 19 施設及び大規模 2 施設より、生食用食鳥モモ肉製品を購入し、冷凍状態で当所に搬入した。

2. 生食用食鳥肉製品に対する微生物試験

1) 衛生指標菌定量検出試験

各検体の皮部分 25g を採材し細切後、緩衝ペプトン水 (BPW) 225ml に加え、1 分間ストマッキング処理を行った。同懸濁液 (検体懸濁原液) 及び同 10 倍階段希釈液各 1ml をペトリフィルム AC プレート、EB プレート、EC プレート及び STX プレート (スリーエム) に接種し、

使用説明書に従い、定量検出試験を行った。

2) 主要病原菌の定性検出試験

上項と同一検体を対象として、MDS (Molecular Detection Assay) カンピロバクター及び MDS サルモネラ (スリーエム) に供することで、カンピロバクター・ジェジュニ/コリ、及びサルモネラ属菌の定性検出試験を行った。

3. 食鳥とたいの保存過程を通じた微生物動態試験

大規模食鳥処理場において処理された同一ロットの中抜き食鳥丸とたい計 30 検体を、異なる時間軸で当該施設の保管温度条件 (5°C以下) で保存し、その後個別包装を行い、温度ロガーを同封して冷蔵状態で当所に輸送した。到着後は速やかに 1 とたいあたり 25g の首皮を採材し、上項 2. に示す微生物試験に供した。

4. 小規模加工施設における食鳥丸とたい受入れ後の温度管理実態に関する調査

鶏の生食加工業者協議会 (以下、生食協議会) (<http://namashoku.skr.jp/>) の協力を得て、丸とたいを受入れ、生食用食鳥肉を加工する小規模施設での受入れ後の温度管理に関する実態をアンケート調査した。

5. 統計解析

微生物検出成績と工程管理実態情報との関連性をノンパラメトリック検定法である、Kruskal-Wallis 検定を用いて解析した。

C. 研究結果及び考察

1. 生食用食鳥肉製品における微生物検出状況

生食用食鳥肉を製造加工する計 21 の小規模施設及び大規模 2 施設より、生食用食鳥肉製品計 230 検体入手し、微生物試験に供した。何れも病原菌であるサルモネラ属菌、カンピロバクター・ジェジュニ/コリについては不検出であった。衛生指標菌数試験を通じ、全体の平均菌数は一般細菌数が $3.52 \pm 1.16 \log\text{CFU/g}$ であったほか、腸内細菌科菌群数は $1.52 \pm 1.26 \log\text{CFU/g}$ 、大腸菌数は $0.48 \pm 0.71 \log\text{CFU/g}$ であった (表 1)。一般細菌数を含め、何れの指標菌も菌数分布に対数正規性は認められなかった (図 1)。

大腸菌については、不検出 (5CFU/g 未満) が全体の 75.2% (173/230) を占めた。大腸菌が検出された 57 検体 (24.8%) のうち、40 検体 (70.2%) は $1.0\text{-}2.0 \log\text{CFU/g}$ の菌数分布を示し、 $2.0 \log\text{CFU/g}$ 以上は 5 施設で製造加工された 11 検体 (4.8%、うち 3 施設では各 1 検体) に留まっていた (図 1)。

腸内細菌科菌群数については、不検出 (5CFU/g 未満) が全体の 31.7% (73/230) であった。腸内細菌科菌群が検出された 157 検体 (68.3%) のうち、109 検体 (69.4%) は $1.0\text{-}3.0 \log\text{CFU/g}$ の菌数分布を示し、 $3.0 \log\text{CFU/g}$ 以上は 7 施設で製造加工された 34 検体 (21.7%) であった (図 1)。 $3.0 \log\text{CFU/g}$ 以上の腸内細菌科菌群数を示した検体より代表集落を釣菌し、菌種同定のための生化学性状試験に供したところ、4 施設由来製品検体では *Pantoea* 等の環境由来と思われる細菌であることが確認されたが、施設 # 19 や 28 由来検体では *E. coli* が寡占している状況であった。

また、一般細菌数と腸内細菌科菌群数との間での関連性を解析したところ、相関係数は 0.67 となり、正の相関が確認された (図 4)。一方、一般細菌数と大腸菌数の間での相関係数は 0.44

であった（図4）。

以上の成績より、計23施設由来の生食用食鳥肉製品検体における衛生指標菌分布は総じて加熱用食鳥肉製品に比べ低い状況にあることが確保された。但し、一部の施設由来検体では糞便汚染指標菌が高頻度に検出され、各施設の工程管理実態との関連性をより詳細に検討すべきと考えられた。

2. 微生物試験成績と各施設での工程管理実態等との関連性の探索

(1) 焼烙面

本研究で検討対象とした生食用食鳥肉製品検体はいずれも加工工程で焼烙が施されていた。まず、各製品検体の焼烙面を目視確認したところ、表裏両面が焼烙されていた製品は、5製品（うち1製品は大規模施設由来）に留まり、残り18製品は表面のみが焼烙されていた。焼烙面の差異と微生物検出結果との関連性を探索したところ、何れの指標菌についても、両面焼烙検体は片面焼烙検体に比べ、有意に低い菌数分布を示し（ $P < 0.001$ ）、特に大腸菌については、両面焼烙検体では3検体のみが陽性を示し、その最大値は1.0 log CFU/gであった（図5）。これらの成績より、両面焼烙処理は微生物制御に有用であることが数的に示された。

(2) 焼烙時間及び距離

各小規模施設における焼烙処理はバーナーを用いて行われていた。一方、バーナー口径や焼烙時間、焼烙距離等については多様であることが先行研究により明らかになっている。これらの要素と微生物検出成績との関連性を解析した結果、大規模2施設を除く計21の小規模施設全体で用いられているバーナー口径が35mmから60mmの範囲にある施設は全体の約76.2%（16/21施設）を占めた。このうち11施設由来59検体（うち6施設で

51検体を占有）からは大腸菌が検出されたが、口径がより小さな（15-30mm）或いは、より大きなバーナー（90mm）を用いていた5施設（施設#1, 18, 20, 25, 30）由来の50検体中49検体、並びにバーナー口径が35-60mmの5施設（施設#4, 27, 31, 39, 43）由来の50検体全てでは大腸菌不検出であった。

焼烙に関わるその他の要素として、焼烙時間及び焼烙距離（火炎長、バーナー口からとたい表面までの平均距離）を含め、三次元散布図を作成したところ、対象とした21施設の焼烙条件は図6の通り散布した。大腸菌不検出または1検体のみ陽性となった施設（大腸菌低汚染群）と、大腸菌が2検体以上陽性となった施設（大腸菌汚染群）の間で、ロジスティック回帰分析を行ったところ、各要素のうち、加熱時間が最も群間で有意差を持つ要素として抽出され（ $P=0.0013$ ）、大腸菌低汚染群の平均が3.27分であったのに対し、大腸菌高汚染群の平均は1.83分であった。なお、バーナー口径は大腸菌低汚染群では平均43.97mm、大腸菌高汚染群では平均40.83mmであった。焼烙距離は、大腸菌低汚染群の製造加工施設では平均21.96cm、大腸菌高汚染群の製造加工施設では平均23.08cmであった。これらのうち、例えば小口径のバーナーを使用する場合であっても、相対的に長い焼烙時間を取ることで、大腸菌陰性となっている施設が確認されたほか、大口径のバーナーを使用する場合には焼烙距離を短くとることにより、単位時間あたりの焼烙面積を抑え、とたい全周を焼烙するために十分な焼烙時間をとることで大腸菌陰性となっている施設も存在した。以上より、焼烙処理にあたって焼烙距離は上述の指標を目安に可能な限り短くとり、焼烙時間を少なくとも2分以上に延長させることが焼烙による微生物汚染低減に有効な対策と考えられた。

(3) 内臓摘出手順

先行研究で行ったアンケート調査により、内臓摘出手順については、頸部を切開後、総排泄口を切開するとした施設と総排泄口を切開後、頸部を切開するとした施設に大別されていた。また、前者については、頸部切開後、同切開部よりそ嚢及び食道を摘出する場合と、頸部を切開した場合も、剥離のみを行い、食道より下部の消化管等を総排泄口から摘出する場合がみられていた。本研究の対象とした検体を処理していた施設では、いずれも頸部を先に切開する取り扱いではあったが、摘出方法を含めて大腸菌検出結果を比較したところ、食道以降を総排泄口から摘出した群の平均±SD値が $1.26 \pm 0.95 \log \text{CFU/g}$ であったのに対し、そ嚢及び食道を頸切開部より摘出後、筋胃以降を総排泄口から摘出した群の同値は $0.95 \pm 0.34 \log \text{CFU/g}$ となり、両群間で有意な差異が認められた ($P < 0.001$) (図7)。

以上の成績より、内臓摘出手順としては、頸部を切開後、そ嚢及び食道を同切開部より摘出した後、総排泄口切開部より、筋胃以降の消化管等を摘出する手順を取ることが、大腸菌汚染低減に有効と考えられた。

3. 大規模食鳥処理場において処理された生食用食鳥中抜き丸とたい保管条件の評価

近年、食鳥処理場の集約化に伴い、中抜き丸とたいを受入れ、生食用食鳥肉製品を加工する小規模施設が増加傾向にある。これらの小規模施設が受け入れる中抜き丸とたいは概して大規模食鳥処理場で処理されたものであることを踏まえ、生食用の食鳥とたいを処理する大規模食鳥処理場の協力を得て、当該施設で処理された中抜き丸とたいを異なる時間、当該施設の保管条件である 5°C 以下で保管した後の微生物挙動を評価した。

食鳥丸とたい首皮における一般細菌数は、保存2日後には中央値が $4.20 \log \text{CFU/g}$ であったが、時間経過に伴い、保存5日後では中央値が $5.70 \log \text{CFU/g}$ 、保存7日後の中央値は $7.50 \log \text{CFU/g}$ へと有意な増加を示した(図8A)。これに対し、腸内細菌科菌群数及び大腸菌数は時間経過に伴う増加を認めず、同糞便汚染指標菌数の中央値は保存2日後でそれぞれ $2.90 \log \text{CFU/g}$ 、 $2.90 \log \text{CFU/g}$ 、保存7日後ではそれぞれ $2.50 \log \text{CFU/g}$ 、 $2.25 \log \text{CFU/g}$ であった(図8BC)。

食鳥肉の主要な危害要因であるカンピロバクター・ジェジュニ/コリ及びサルモネラ属菌について定性試験により検出を試みたところ、カンピロバクター・ジェジュニ/コリは全ての検体で不検出となったが、サルモネラ属菌については、保存7日後の1検体より検出された。

以上の成績より、生食用に処理された食鳥中抜き丸とたいを生食用食鳥肉として加工に供する際の冷蔵保管期間としては、 5°C 以下では5日以内が適切であると考えられた。

4. 小規模施設において食鳥中抜き丸とたいを受け入れた後の保管条件に関する調査

鶏の生食加工業者協議会 (<http://namashoku.skr.jp/>) の協力を得て、会員のうち、認定小規模食鳥処理場を営む24事業者に対し、原料(食鳥と体)、製品、販売ショーケースにおける冷蔵温度管理実態に関するアンケート調査を依頼し、うち9事業者から回答が得られた。回答事業者における冷蔵庫内実測温度は保存対象の別を問わず、いずれも 10°C 以下を満たし、特に4事業者(A社、C社、E社、H社)では、各冷蔵庫の実測温度は全て 4°C 以下であった(表2)。一方、3事業者(B社、D社、F社)からは、原料冷蔵庫の情報のみが得られ、製品冷蔵庫、

販売ショーケースの情報については回答がなかった（表2）。

D. 結論

南九州地方で製造加工、販売される生食用食鳥肉製品検体の微生物試験成績と各施設での工程管理実態を踏まえ、当該食品を取り扱う小規模施設において、大腸菌陰性を確保するために必要となる焼烙条件を算出できた。また、中抜き方式の施設では、内臓摘出（中抜き）工程における摘出手順・方式を統一的に運用する必要性を示唆する知見が得られた。次年度以降には、これらの検証並びに更なる改善に向けた研究を進めたい。

また、処理後の中抜き丸とたいの冷蔵保管期間設定のための検証を行い、概ね処理後5日間以内であれば5°C以下で保存して差し支えないことを示す知見を得た。これらを受入れ、加工する施設での保管について、温度管理は概ね適切であったが、原料や製品の別に保管形態が確保されているか、確認する必要があることが示された。

E. 健康危険情報

なし

F. 研究発表

1. 論文

1) 朝倉宏. 食肉・食鳥肉製品のハザードとその管理. 保健医療科学. 2021. 70 : 100-106.

2. 学会発表

なし

H. 知的財産権の出願・登録状況

なし

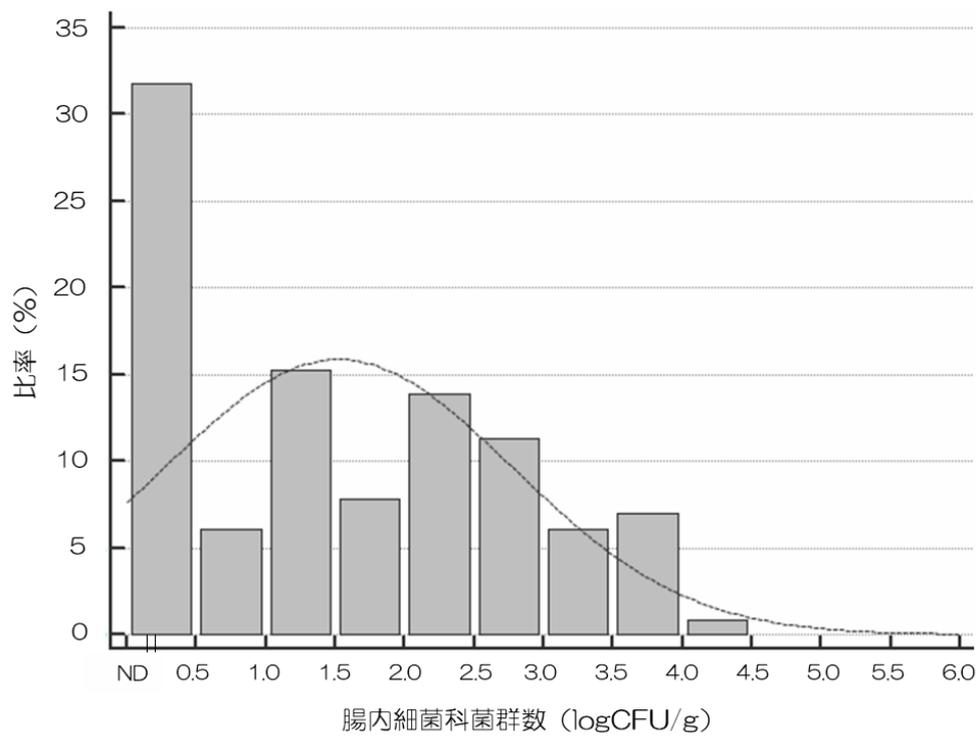
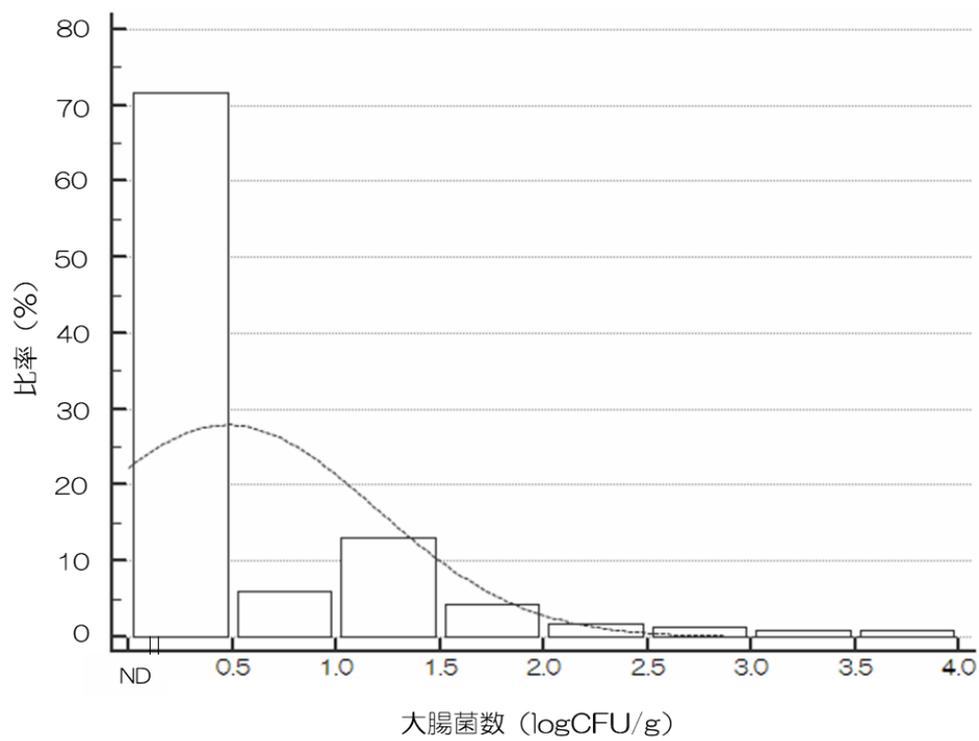
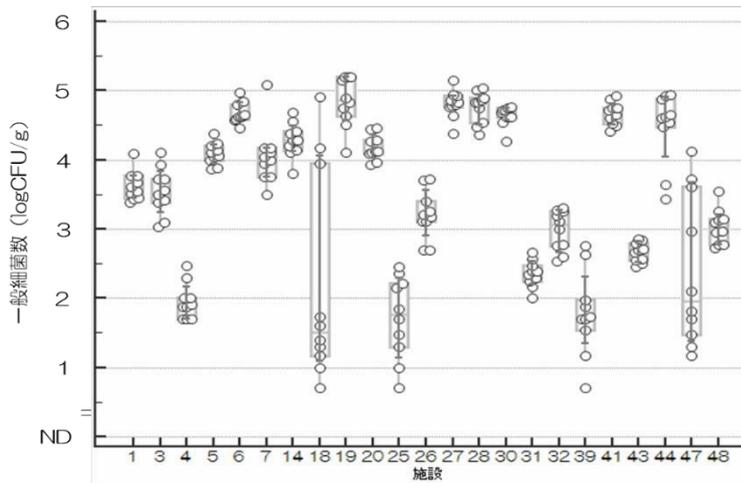
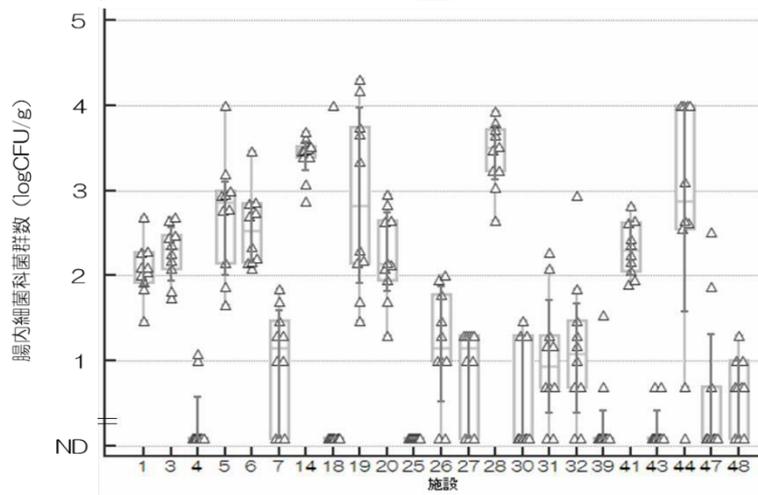


図 1. 生食用食鳥肉製品検体における大腸菌及び腸内細菌科菌群の菌数分布

A



B



C

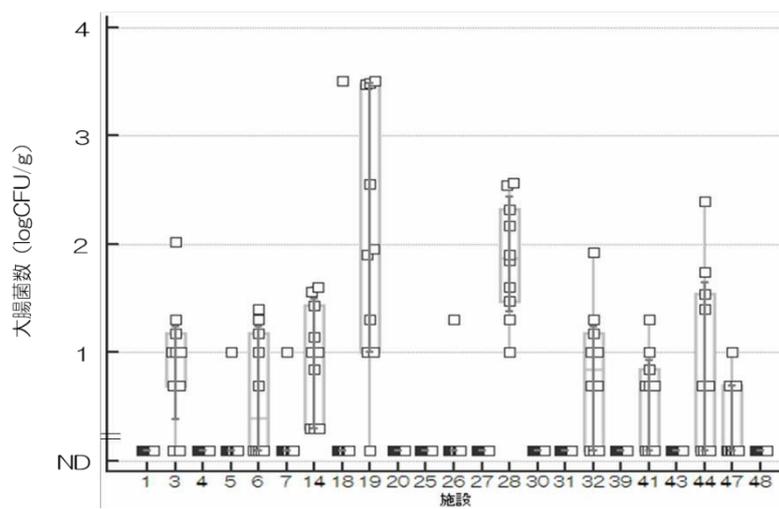


図2. 生食用食鳥肉製品検体における衛生指標菌検出状況（施設別）

各検体の衛生指標菌（A, 一般細菌数; B, 腸内細菌科菌群数; C, 大腸菌数）検出状況を施設別に示す。施設# 4, 5, 18, 27, 32, 41, 43 は外剥ぎ方式施設、その他は中抜き方式施設を指す（うち、大規模施設は#47, 48）。ND は不検出を意味する。

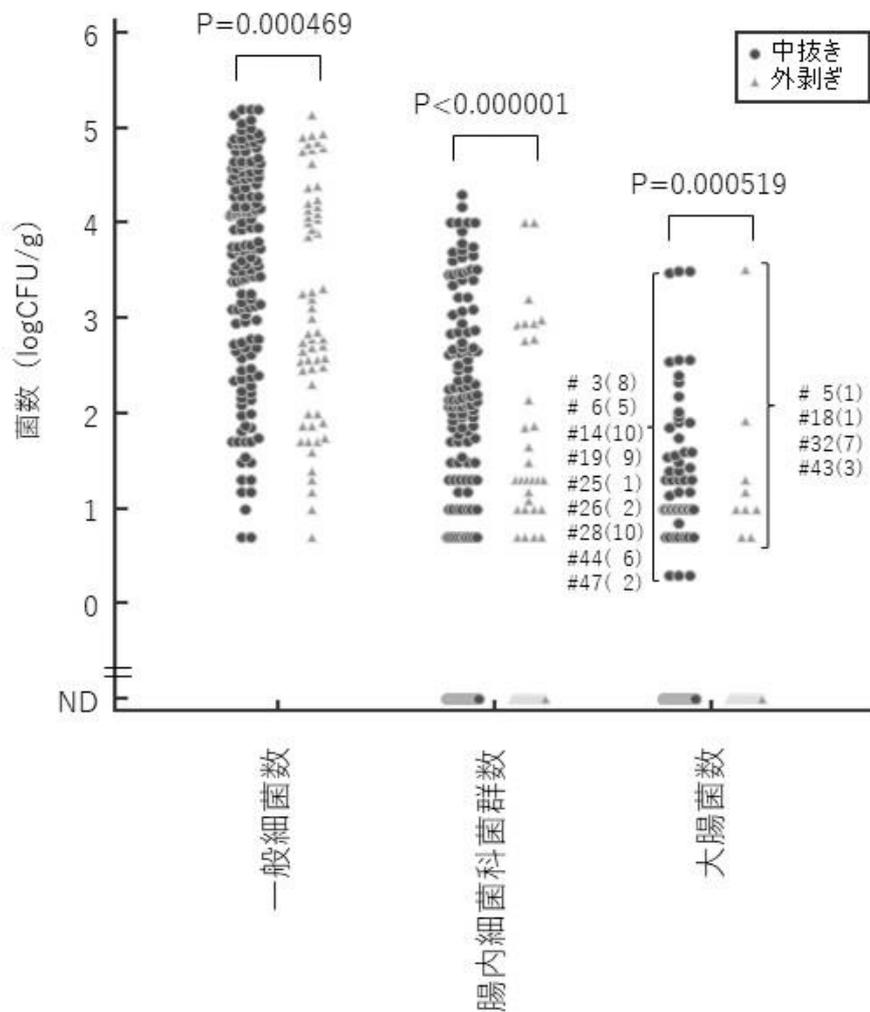


図 3. 生食用食鳥肉製品検体における衛生指標菌検出状況（処理方式別）

生食用食鳥肉製品検体における衛生指標菌検出状況を処理方式別に比較した図を示す。大腸菌が検出された検体については処理施設を#番号で示し、括弧内には陽性検体数（分母10）を示す。

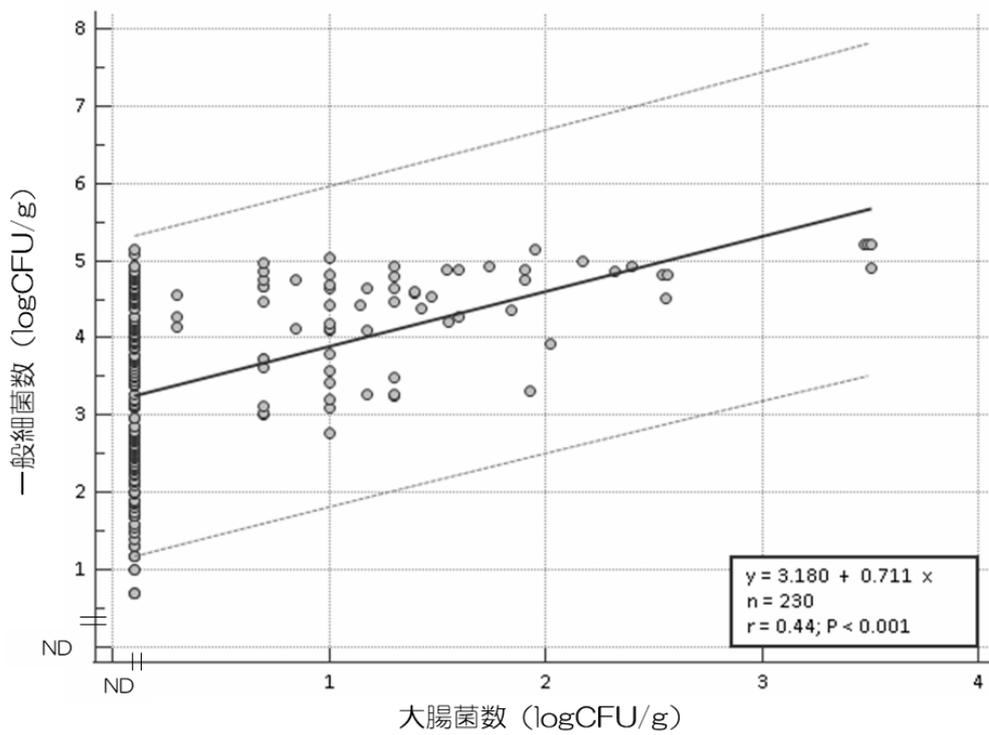
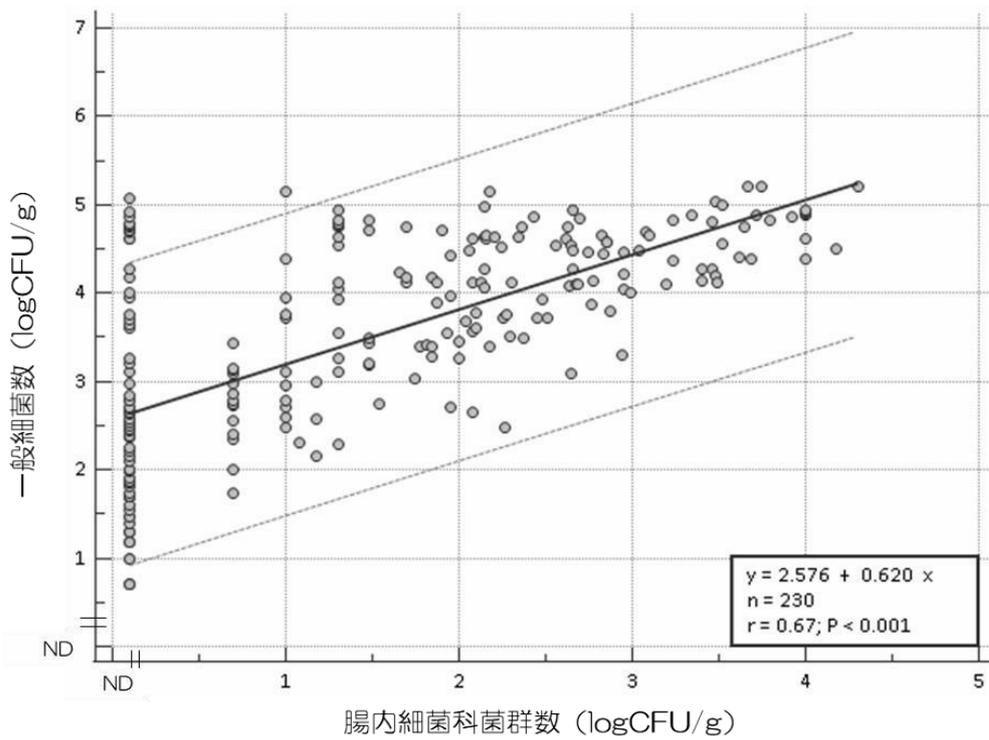


図 4. 生食用食鳥肉製品検体における衛生指標菌数分布の相関性.

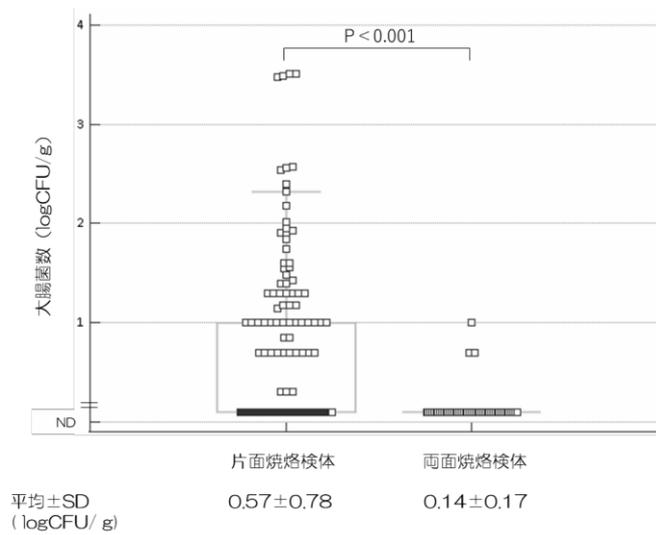
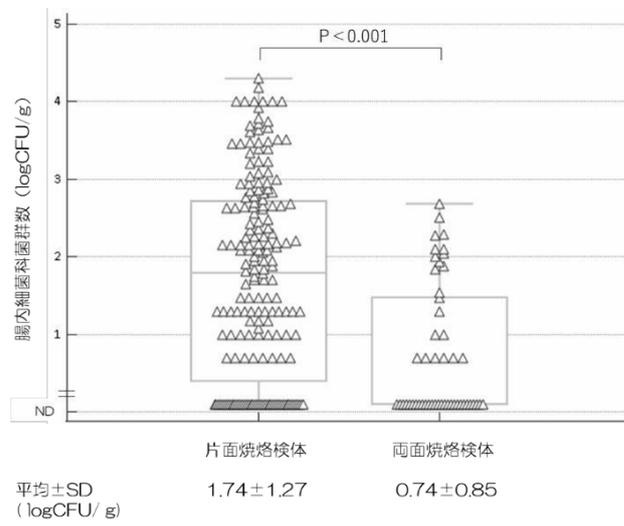
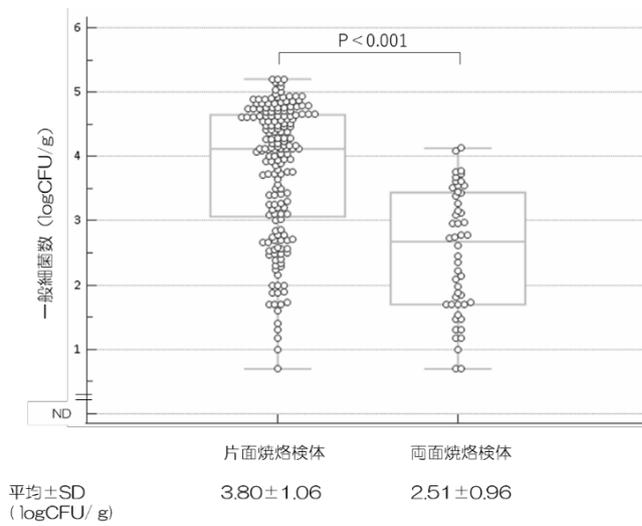


図 5. 焼烙面の別による、衛生指標菌検出状況の比較.

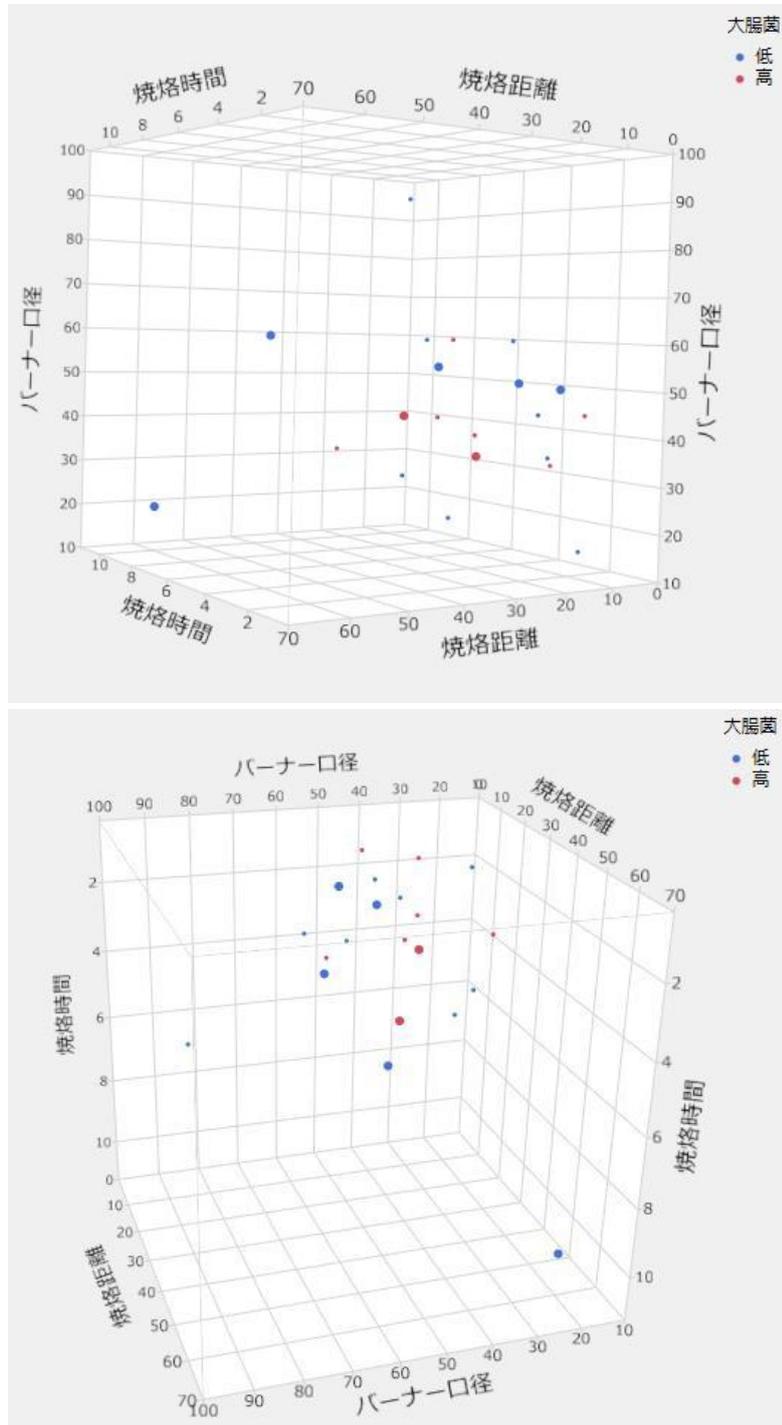
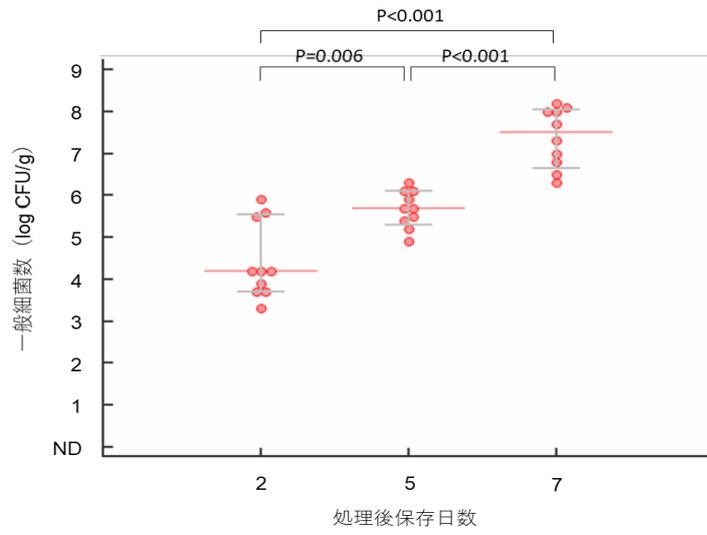
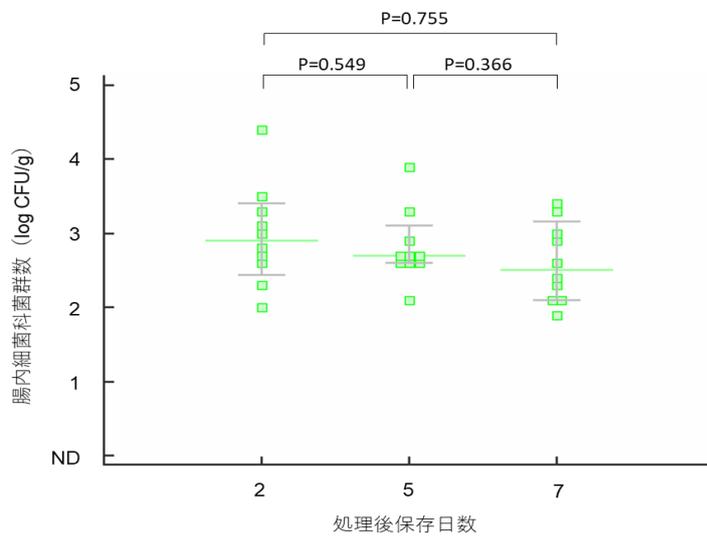


図 6. 小規模施設における焼烙工程 3 要素に係る三次元散布図.

A



B



C

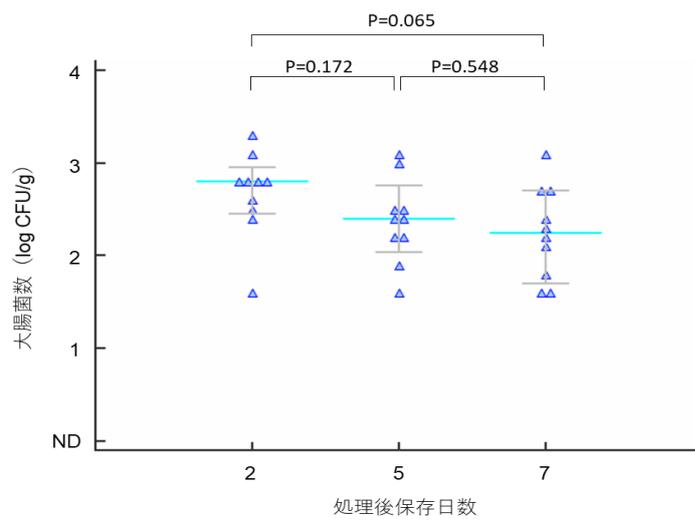


図 8. 大規模食鳥処理場で処理された中抜き丸とたいの冷蔵保管を通じた微生物挙動.

表 1. 生食用食鳥肉製品検体における衛生指標菌検出成績概要.

項目	一般細菌数			腸内細菌科菌群数			大腸菌数		
	全体	中抜き	外剥ぎ	全体	中抜き	外剥ぎ	全体	中抜き	外剥ぎ
施設数	23	16	7	23	16	7	23	16	7
検体数	230	160	70	230	160	70	230	160	70
最大値	5.20	5.20	5.15	4.30	4.30	4.00	3.51	3.51	3.51
平均±SD値	3.52±1.16	3.60±1.12	3.34±1.24	1.52±1.26	1.68±1.27	1.15±1.14	0.48±0.71	0.54±0.77	0.33±0.55
中央値	3.76	3.77	3.27	1.30	1.76	1.00	<0.10	<0.10	<0.10
分散値	1.35	1.26	1.54	1.58	1.62	1.30	0.51	0.59	0.30
80パーセンタイル値	4.64	4.63	4.69	2.69	2.85	2.30	1.00	1.00	0.70
95パーセントイル値	4.93	4.95	4.92	3.72	3.77	2.99	1.95	2.25	1.30

表 2. 小規模事業者における食鳥丸とたい受入れ後の温度管理実態に関する調査.

小規模 加工施設	原料冷蔵庫		製品冷蔵庫		販売ショーケース	
	設定温度	実測温度	設定温度	実測温度	設定温度	実測温度
A社	0	0	0	0	0	1
B社	10	8	-	-	5	4
C社	1	1	2	2	3	3
D社	5	5	-	-	-	-
E社	4	4	4	4	4	4
F社	2	3	-	-	2	3
G社	3	6	3	6	5	8
H社	0	-1	0	-1	-2	1
I社	4	3	4	3	5	6

(単位：℃)

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	—	—	—

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）
「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」

分担研究報告書
HACCP 検証の評価手法に関する研究

研究分担者 小関成樹

北海道大学大学院農学研究院

研究要旨：と畜場・食鳥処理場における HACCP に基づく衛生管理状況の妥当性を検証するための評価方法を、国際的な動向を踏まえて構築することを目的として、最終的には、各事業者あるいは自治体等が自ら検証を簡易に実施可能とする評価システムを提供することを目的としている。初年度においては、まず先行して HACCP に基づく衛生管理が実施されている、諸外国の状況を把握して、日本国内での実施方法の方向性を明確にした。諸外国の動向を考慮すると、年間を通じての検査データの傾向を分析する moving window 方式で、サンプリングプランを設定した上で検証していくことが妥当であることを確認した。現時点では日本国内での HACCP に基づく衛生管理体制でのターゲットとする危害要因（病原体）の年間を通じてのベースラインデータが存在しないことから、基準設定には、今年度分の未集計データと次年度以降に取得されるデータを考慮しての策定とならざるを得ない。日本国内での実態を考慮しつつ、国際的な基準との整合性も加味した基準設定が求められる。

A. 研究目的

本分担研究課題では、と畜場・食鳥処理場における「HACCP に基づく衛生管理」の実施状況の妥当性を検証するための評価検証方法を、国際的な動向を踏まえて構築することを目的とする。最終的には、各事業者あるいは自治体等が自ら検証を簡易に実施可能とする評価システムを提供することを目的としている。

初年度においては、まず先行して HACCP に基づく衛生管理が実施されている、諸外国の状況を把握して、日本国内での実施方法の方向性を明確にする。さらに、逐次報告されてくる国内での検査結果データをもとにして、現状の管理状況を把握することを目的とした。

B. 研究方法

1. 国際動向の調査

と畜場・食鳥処理場において HACCP に基づく衛生管理が先行実施されている、欧州、米国、オーストラリア、ニュージーランドでの取り組みについて文献調査した。

2. 国内施設での現状の検査状況の把握

各自治体から報告がなされる日本国内のと畜場・食鳥処理場における微生物検査データの傾向を分析し、適切な衛生管理の実施状況を推定した。

C. 結果

1. 国際動向の調査

欧州での食鳥処理におけるカンピロバクターを対象としたはサンプリングプランとして、以下の基準での運用を行なっている。

$n = 50, c = 15, m = 1000 \text{ CFU/g}$

ここで、 n はサンプル数、 c は基準を超えてしまうサンプル数の上限、 m は基準菌数である。ただし、想定している n は「連続した」もの、すなわち、週に1回ずつで50週を想定して、その中での変動を「moving window」と呼ばれる、一定期間毎での変動をずらしつつ検証していく方法を採用している。これによって、衛生管理の実施体制が妥当であるかを、検査実施時点だけでなく、長期的、日常的な視点から検証することを目指している。現行の基準では $c = 15$ となっているが、2025年1月からはさらに基準を上げて、 $c = 10$ へと移行することが決定している（EU, 2017）。

米国でも欧州と同様の管理検証体制がとられており、moving window方式での52週間の連続したサンプル分析の実施が行われている。ただし、サンプリングプランの基準設定は施設の規模毎に異なり、一律の基準は設定されていない。しかし、moving window方式でのデータ推移を検証して、中長期的な視点での評価を行うことを目指している点は欧州と同様である（USDA-FSIS, 2018）。

オーストラリア、ニュージーランドでの食品安全規格を所管する Food Standards Australia New Zealand (FSANZ)ではより細かな評価手法が検討されている。方向性としては欧州、米国と同様であるが、サンプリングプランがより細かく規定されている。すなわち、 $n = 45, c = 6, m = 3.78 \text{ CFU/carcass}$ が規定されている。基準だけを見ても、 $c = 6$ であるとともに、 m がgあたりではなく、1と体あたりの菌数であることから、欧州基準よりも厳格である。また、moving window方式

もより細かく規定されていて、期間の最初の15サンプル分の変動を初期 window として、その後5サンプルずつずらした各 window での許容サンプル数を検証していく方法を用いている（Lee et al., 2016）。

2. 国内施設での現状の検査状況の把握

国内のと畜場・食鳥処理場における細菌数検査結果を集計し、その変動を検討した。現時点では、検査結果データとして一般生菌数、腸内細菌科数が大部分であり、一部食鳥処理施設からのカンピロバクター数データも取得した。

変動幅はあるものの、一般生菌数、腸内細菌科数ともに、調査期間中平均 ± 2 標準偏差内にデータがほぼ収まっていた（図1）。

3. 一般生菌数および腸内細菌科数の測定方法の違いによる測定精度の検証

一般生菌数および腸内細菌科数を異なる測定方法で計測した際の精度を検証した。その結果、一般生菌数においては対象とした寒天平板によるISO法、ペトリフィルム法、TEMPO法のいずれにおいても測定方法間での測定菌数に有意差は認められなかった。一方、腸内細菌科数では、ペトリフィルム法がやや高い値を示すことが明らかとなった（図2）。

D. 考察

諸外国の動向を考慮すれば、年間を通じての検査データの傾向を分析する moving window方式で、サンプリングを設定した上で検証していくことが妥当であることを確認した。その場合に考慮しなければならない点としては、サンプリングプランにおける基準設定が非常に重要であるが、現時点では日本国内でのHACCPに基づく衛生管理体制でのターゲットとする危害要因（病原体）の年間を通じてのベースラインデータが存在しないことから、基準

設定には、今年度分の未集計データと次年度以降に取得されるデータを考慮しての策定とならざるを得ない。日本国内での実態を考慮しつつ、国際的な基準との整合性も加味した基準設定が求められる。

現状では検査データ数としては一般生菌数と腸内細菌科数が圧倒的に多いが、これら自体は HACCP での危害要因ではないことから、これらを直接的に HACCP 運用検証の対象として評価することは適切ではない。しかし、一般衛生管理状態の把握といった観点からは、一定程度の意義が認められることから、こちらの変化データについても、今年度の未取得データと次年度以降のデータとを合わせた年間を通じた変化を解析して評価に用いることが可能であると考える。

一般生菌数および腸内細菌科数の検査方法による違いはほぼ認められず、これらの検査においてはいずれの方法を採用しても、検査結果に影響は生じないものと考えられ、現場において検査が容易に実施できるものを採用することで、検査業務の負担を軽減できるものとする。

E. 結論

本年度は、諸外国での状況を把握して、今後の国内での検証方法の確立に向けた基礎知見を集積することができた。また、今後検討していく検査データの入力分析システムの簡易版を開発したことで、今後の本格的な導入に向けた準備を進めることができた。

F. 研究発表

1. 論文発表
なし
2. 学会発表
なし

G. 知的財産権の出願・登録状況

なし

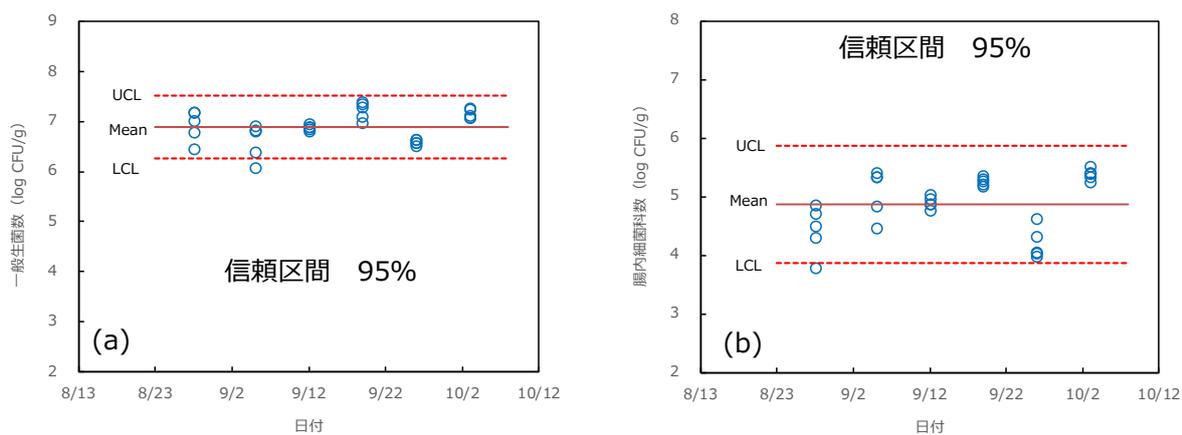


図 1 食鳥処理場における一般生菌数 (a) および腸内細菌科数 (b) の工程管理データの推移例

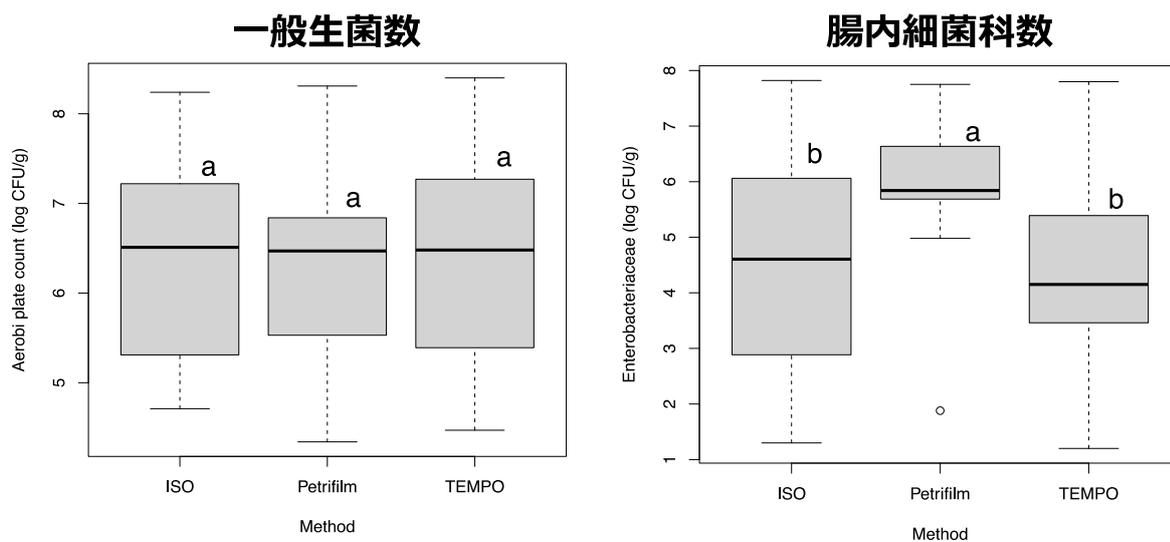


図 2 検査結果の違いが測定結果に与える影響 (34 例)

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）

「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」

分担研究報告書

と畜場の内部検証に関する研究

研究分担者 山崎栄樹 国立大学法人帯広畜産大学 動物・食品検査診断センター
研究協力者 倉園久生 国立大学法人徳島大学 研究支援・産官学連携センター
奥村香世 国立大学法人帯広畜産大学 獣医学研究部門

研究要旨：と畜場法及びと畜場法施行規則の改正に伴い、と畜場においては自治体等が行う外部検証が要件とされた。外部検証の導入を効率的に開始するためにはと畜事業者が自ら行う内部検証活動の結果を有効活用することが不可欠との観点から、本研究では外部検証の円滑な導入手法を検討する目的で、と畜事業者が行っている内部検証活動の実態調査を行うと共に、病原微生物汚染実態と衛生指標菌検出状況の比較検証を行った。内部検証活動の実態調査にあたり、対象施設では外部検証で求められる全ての確認事項について、内部検証においても確認が実施されており、円滑な外部検証の実施が可能と考えられた。しかしながら、内部検証の記録整備には困難な項目も複数抽出され、外部検証を通じた記録様式の作成支援が必要であることも見出された。牛枝肉における衛生指標菌汚染と病原微生物汚染の相関解析を通じ、自主検査成績として一般生菌数が $2 \log_{10}$ CFU/cm² 未満かつ大腸菌陰性程度迄、外部検証の微生物検査成績として一般生菌数が $3 \log_{10}$ CFU/cm² 未満かつ腸内細菌科菌群陰性程度迄衛生状態が確保されていれば、対象施設における牛枝肉の病原微生物汚染の安全性は確保され得ると見込まれる知見を得た。本研究により得られた結果は外部検証の効果的な導入に資するものと期待される。今後、国内の多様な施設を対象に実施される外部検証の実例を集積し、より効果的な外部検証の運用方法を提示したい。

A. 研究目的

平成30年に交付された「食品衛生法等の一部を改正する法律」では、改正の柱の一つとしてHACCPに沿った衛生管理の制度化が示された。同法に基づき、と畜場法第6条第1項第2号および第9条第1項第3号においてHACCPに基づく衛生管理（食品衛生上の危害の発生を防止するために特に重

要な工程を管理するための取組）に関する要求が明文化され、令和2年度に施行が通知され、令和3年度より本格的な運用が求められることとなった。同要求に基づくと畜場の衛生管理にあたっては、事業者が自ら実施する内部検証に加え、と畜検査員等による外部検証の実施が義務付けられており（と畜場法施行規則第3条第6項および

第7条第5項)、これを受けて令和2年5月28日付け生食発0528第1号「と畜検査員及び食鳥検査員等による外部検証の実施について」(以下、「外部検証に関する通知」)が通知された。同通知では、と畜検査員等が実施する外部検証の項目、手順および評価方法等が示されており、令和3年6月以降は、同通知に従った外部検証の本格的な実施が求められている。

上記通知の中では外部検証で確認すべき事項として、微生物検査(同通知内別添1、第9項)に加え、施設・設備管理に関する手順書の確認、生体・と体の取り扱いに関する手順書の確認およびHACCPプランに関する手順書の確認(同通知内別添1、第4項の(1))、施設・設備管理に関する記録および実施状況の確認および教育訓練の確認(同通知内別添1、第4項の

(2))、生体・と体の取り扱いに関する記録および実施状況の確認および教育訓練の確認(同通知内別添1、第4項の(3))等が示されている。微生物検査以外の確認事項については同通知内で別表1として示されており、今後、と畜検査員は別表1に示された個々の内容について現場確認および記録確認を通じてと畜場の衛生管理が適切に行われていることを評価することとなる。また、微生物試験については、一般生菌数(生菌数)および腸内細菌科菌群の定量試験法が示されているが、同試験法では採材方法として切除法が示される等、これまで「と畜場法施行規則の一部を改正する省令等の施行について」(平成9年1月28日衛乳第25号)に基づいて国内のと畜場で主流となっていた衛生試験法とは異なった方法での評価手法が新たに示された。

国内のと畜場では施設設備や作業手順等も多様であるため、と畜場における効果的な外部検証の実施にあたっては、独立性を保ちつつ、と畜事業者が自ら実施する内部検証記録を有効活用することが望まれる。

本研究では、今後本格的な導入が開始される外部検証導入の円滑化に資するため、施設構造および管理体制が異なる複数のと畜事業者を対象として、各事業者が行っている内部検証活動に関する実態調査を行った。また、対象施設での微生物試験成績の達成目標値設定に向けた科学的知見を得るため、牛枝肉における病原細菌汚染状況と衛生指標菌検出菌数の相関解析を行ったので報告する。

B. 研究方法

1. 調査対象施設

衛生管理に関する外部認証等の状況が異なる2つの事業者について調査を実施した(表1)。事業者1は国内流通製品工場、対米輸出向け製品対応工場、対EU輸出向け製品対応工場を有しており、事業者2についてはSQF認証施設(国内流通製品工場)を運営している。事業者1については、国内流通製品工場ではと畜場法施行規則に則った検証に関する実施状況について、対米輸出向け製品対応工場では「アメリカ合衆国向け輸出食肉の取扱要綱」に則った検証に関する実施状況について、対EU輸出向け製品対応工場では「英国、欧州連合、スイス、リヒテンシュタイン及びノルウェー向け輸出食肉の取扱要綱」に則った検証に関する実施状況について、それぞれ調査を実施した。また、SQF認証工場ではSQF要求事項に則った検証に関する実施状況について、同様

の調査を実施した。

2. 内部検証の実施状況についての調査

微生物検査以外の項目については、「外部検証に関する通知」の別表 1 に示された項目について実施状況および頻度について各施設に書面アンケートを送付し回答を得た。加えて電話等によるインタビューを実施し、「外部検証に関する通知」に記載の外部検証実施項目への対応状況について意見聴取を実施した。

微生物検査については、製造ラインごとに自主検査として実施する項目について実施頻度、採材方法、試験方法および管理基準を調査した。

3. 衛生指標菌の検出状況と病原微生物汚染の比較検証

事業者 1 の国内流通製品工場において 2020 年 10 月～2021 年 2 月の期間に 2～3 週間隔で計 7 回（各採取日において、牛・豚それぞれ 1 と体ずつ）のサンプリングを実施した。各サンプリングにおいて同一と体に由来する生体外皮拭き取り試料、枝肉拭き取り試料、枝肉切除試料の 3 検体を 1 セットとして採取し、下記の要領で試験を実施した。生体外皮拭き取り試料については、生体洗浄後（スタンニング直前）の生体の肛門部周辺（拭き取り面積：10 cm × 10 cm × 2 箇所）に対して、ふきふきチェック II（各箇所に対して 1 本ずつを使用）を使用した拭き取りを行った。枝肉拭き取り試料については、枝肉保管庫に搬入直後の枝肉の胸部および肛門周辺（拭き取り面積：各 10 cm × 10 cm）に対して、ふきふきチェック II（各箇所に対して 1 本ずつを使用）を使用した拭き取りを行った。枝肉切除試料については、枝肉保管庫に搬入直後の枝

肉の胸部より 5 cm × 5 cm を「外部検証に関する通知」内別添 3 の方法に従って採取した。

採取した試料については生理食塩水を用いて適宜段階希釈した後、生菌数（3MTM ペトリフィルムTM 生菌数測定用プレート（AC プレート）にて 30℃, 48 時間培養）、腸内細菌科菌群数（3MTM ペトリフィルムTM 腸内細菌科菌群数測定用プレート（EB プレート）にて 37℃, 24 時間培養）、大腸菌数（3MTM ペトリフィルムTM E. coli および大腸菌群数測定用プレート（EC プレート）にて 35℃, 24 時間培養）、大腸菌群数（3MTM ペトリフィルムTM 大腸菌群数測定用プレート（CC プレート）にて 37℃, 24 時間培養）、サルモネラ属菌（3MTM ペトリフィルムTM サルモネラ属菌測定用システム（SALX システム）により添付の説明書に従って低夾雑用、高夾雑用プロトコールの両方を実施）、黄色ブドウ球菌数（3MTM ペトリフィルムTM 黄色ブドウ球菌測定用システム（STX システム）により添付の説明書（37℃, 24 時間培養）に従って実施）について検査を実施した。加えて、試料を冷蔵にて一般財団法人日本食品分析センターに送付し「アメリカ合衆国向け輸出食肉認定施設における牛肉からの腸管出血性大腸菌 026、045、0103、0111、0121、0145 及び 0157 の検査法について」（最終改正日：令和 2 年 4 月 1 日の方法）に従い、クリオボックスTM システム Q7 を用いた腸管出血性大腸菌（STEC）の検査を実施した。一般生菌数、腸内細菌科菌群数、大腸菌数、大腸菌群数検査については単位面積あたりの CFU を算出した（検出下限：拭き取り法においては $\log_{10}\text{CFU}/\text{cm}^2 = -1.0$ 、切除法においては $\log_{10}\text{CFU}/\text{cm}^2 = 0.6$ ）。黄色ブドウ球菌検査

については拭き取り法の場合は単位面積あたりの菌数が $\log_{10}\text{CFU}/\text{cm}^2 < -1.0$ の場合に陰性、切除法においては単位面積あたりの菌数が $\log_{10}\text{CFU}/\text{cm}^2 < 0.6$ の場合に陰性とした。サルモネラ属菌および STEC 検査においては定性試験であるため、結果を陽性もしくは陰性で記述した。

C. 結果

1. 調査対象施設の概要

調査対象とした施設の一覧を表 1 に示す。事業者 1 では枝肉保管庫内での枝肉表面温度を、事業者 2 では枝肉洗浄水の次亜塩素酸濃度および枝肉保管庫の庫内温度を CCP として高度な HACCP 管理を実施していた。

2. 調査対象施設における内部検証(微生物試験以外)の実施状況及び外部検証への対応状況

「外部検証に関する通知」においては同通知内別表 1 の項目について、月一回以上の記録確認および、原則毎日の現場検査を実施する事となっている。別表 1 に示された確認項目は膨大なものであり、これらの外部検証の導入を効率的に開始するためにはと畜事業者が自ら行う内部検証活動の結果を有効活用することが不可欠である。そこで、本研究においてはと畜事業者が現在実施している内部検証の状況を調査し、「外部検証に関する通知」との整合性についての検証を行った。各事業者に対して「外部検証に関する通知」別表 1 の各項目について内部検証での実施状況および頻度について書面アンケート形式での調査を実施し、表 2 および 3 に示す回答を得た。「外部検証に関する通知」別表 1 に示された各項目につい

てはと畜場法施行規則第 3 条第 1 項および第 7 条第 1 項とよく一致しており、同施行規則に則った適切な事業所運営を行う事で別表 1 に示された全ての要求事項への対応が可能な仕組みとなっている。今回の調査においても、要求事項ごとに頻度は様々であるものの、全ての要求事項についてと畜事業者が行う自主衛生管理として監視が実施されていることが確認され、この結果から「外部検証に関する通知」第 4 項に示される施設・設備管理および生体・と体管理に関する手順書の確認(第 4 項(1))、および現場確認(第 4 項(2)の②および(3)の②)については大きな問題なく外部検証の導入が可能であることが確認された。

一方で、インタビュー形式で実施した外部検証実施項目への対応状況についての意見聴取においては以下の問題点も抽出された。

- ・別表 1 には目視等での常時監視による確認事項が多いため、施設運営上、問題未発生時には特に、記録作成が不十分である。
- ・教育訓練については大半が on-the-job training (OJT) により実施しているため、その実施記録はあるものの、効果確認の記録については不十分である。

この結果から「外部検証に関する通知」第 4 項に示される施設・設備管理および生体・と体管理に関する記録の確認(第 4 項(2)の①および(3)の①)については、外部検証活動を通じた記録作成支援(問題未発生の記録作成等)の必要性が抽出された。また、教育訓練記録等の確認(第 4 項(2)の③および(3)の③)については、現場確認による外部検証を通じて教育訓練の効果の確認を重点的に行う必要がある事が明らかとなった。

3. 内部検証（微生物試験）の実施状況

各事業者および製造ライン毎に、事業者が自主検査として実施している微生物試験の項目の一覧を表4および5に示した。また、各試験項目の各施設における実施頻度、採材方法、試験方法、管理基準を表6～19に示した。微生物試験については「外部検証に関する通知」において一般生菌数および腸内細菌科菌群数について牛の場合とはもばら、頸部又は胸部のいずれか一箇所から、豚の場合は胸部または頸部のいずれか一箇所から5 cm × 5 cmを切除法により採取し、月1回以上の頻度で実施することとされている。一方で、各事業者における自主検査実施状況については表4および5に示すように、一般生菌数に関しては同項目に対する自主検査が必須となっている対EU向け製品のみならず、国内向け製品等についても広く実施されている事が確認された。他方で、腸内細菌科菌群検査については事業者による自主検査実施項目として一般的ではない実態が明らかとなった。また、大腸菌数については「と畜場法施行規則の一部を改正する省令等の施行について」（平成9年1月28日衛乳第25号）において必須項目として指定されているため、国内向け製品工場では広く実施されており、加えて大腸菌群数についても国内での衛生指標菌としての認知度が高いことから、比較的広く実施されている事が確認された。

病原微生物検査においては営業形態により様々であるものの、輸出向け製品工場の併設等、特段の理由がない限りはその実施実績は低い傾向が見られた。

4. 衛生指標菌の検出状況と病原微生物汚染の比較検証

「外部検証に関する通知」で微生物検査の対象とされる枝肉における微生物汚染状況と衛生指標菌の検出状況の相関についての解析を行った。内部検証モデルとして枝肉拭き取りサンプルを、外部検証モデルとして枝肉切除サンプルを同一と体から採取した。また、比較対照として生体洗浄後（スタンニング直前）の外皮より拭き取ったサンプルを採取した。各サンプルに対して、衛生指標菌として一般生菌数、腸内細菌科菌群数、大腸菌数、大腸菌群数を、病原微生物汚染の指標としてSTEC（牛のみ）、サルモネラ属菌、黄色ブドウ球菌について検査を実施した結果を図1～6に示した。7回の独立した採取日のそれぞれにおいてと畜前後の汚染状況について比較したところ、と畜前には病原微生物汚染の指標としたSTEC（牛のみ）および黄色ブドウ球菌（牛および豚）が検出された一方で、と畜後の枝肉においては拭き取り試験および切除試験のいずれにおいてもこれらの病原微生物汚染の指標菌は検出されなかった。この時、一般生菌数についてはと畜前に牛で $\log_{10}\text{CFU}/\text{cm}^2 = 5$ 程度、豚で $\log_{10}\text{CFU}/\text{cm}^2 = 4$ 程度であったものが、と畜解体後には牛豚ともに拭き取り試験で $\log_{10}\text{CFU}/\text{cm}^2 < 2$ 程度、切除試験で $\log_{10}\text{CFU}/\text{cm}^2 < 3$ 程度まで低減されていた。腸内細菌科菌群および大腸菌群については、と畜前に牛で $\log_{10}\text{CFU}/\text{cm}^2 = 2.5$ 程度、豚で $\log_{10}\text{CFU}/\text{cm}^2 = 1.0$ 程度であったものが、と畜解体後には拭き取り試験および切除試験のいずれにおいても多くのもので検出限界以下まで低減されていた。大腸菌についても、と畜前に牛で $\log_{10}\text{CFU}/\text{cm}^2 =$

1.5 程度、豚で $\log_{10}\text{CFU}/\text{cm}^2 = 0.5$ 程度であったものが、と畜解体後には拭き取り試験および切除試験のいずれにおいても多くのもので検出限界以下まで低減されていた。

D. 考察

本研究では事業者が自ら行う内部検証に関する実態調査を行う事で、「外部検証に関する通知」で示された外部検証法の実効性および円滑な導入手法について検討することを目的とした。加えて、病原微生物汚染実態と衛生指標菌検出状況の比較検証により、外部検証における微生物試験評価の妥当性について検討する事を目的とした。

事業者が実施している内部検証に関する調査では、「外部検証に関する通知」の中で「外部検証で確認する事項」として示された全ての事項について事業者自らもと畜場法施行規則に従う形で日常的に業務監視を実施していることが確認され、直ちに外部検証のスムーズな導入が可能であると考えられた。しかしながら、目視で常時監視を行っている項目等については内部検証活動による記録の整備が難しいため、外部検証活動による記録整備の支援が重要であることが示唆された。また、教育訓練については多くのものが OJT で実施されており、実施記録が整備されているのみであった。このため、教育訓練の効果について外部検証活動を通じて確認する必要があると考えられた。

事業者が自主検査として実施する微生物検査については、一般生菌数および大腸菌数検査が一般的な実施項目であり、輸出向け工場併設等の特段の理由がない限りは病原微生物についての検査は実施されていない事が明らかとなった。製品の安全性確

保の観点からは病原微生物汚染のモニタリングは非常に有効である。しかしながら上述の様に、自主検査結果の監視により病原微生物汚染をモニタリングすることは困難である。今後、より高度な衛生管理の実現に向けて、外部検証で実施する微生物検査において衛生指標菌検査に加えて病原微生物検査についても実施し、衛生指標菌数と病原微生物汚染の相関解析から妥当性のある衛生指標菌数の基準値を決定していく事が望まれる。衛生指標菌数と病原微生物汚染の相関解析のパイロットスタディとして本研究で行った比較検証実験の結果からは、内部検証（枝肉拭き取り検査）成績が一般生菌数 $\log_{10}\text{CFU}/\text{cm}^2 < 2$ 程度かつ大腸菌陰性程度まで低減されていれば病原微生物汚染の可能性は低いと見込まれ、外部検証にて自主検査結果を評価する際にはこれらの値が一定の目安となるものと考えられる。加えて、外部検証（枝肉切除法）成績においては一般生菌数 $\log_{10}\text{CFU}/\text{cm}^2 < 3$ かつ腸内細菌科菌群陰性程度まで低減されていれば病原微生物汚染の可能性は低いと見込まれ、これらの値が外部検証で実施する微生物検査を評価する際の目安になるものと考えられた。これらの値は Commission Regulation (EC) No 2073/2005 に示される微生物基準とも合致しており、国際整合性を考慮する上でも妥当な目安であると考えられる。今後、各施設にてと畜検査員により実施される微生物試験においても同様の相関解析を行い、それらの結果からより信頼性の高い基準値が提示されることを期待する。

E. 結論

1) 令和2年5月28日付け生食発0528第1号「と畜検査員及び食鳥検査員による外部検証の実施について」で示される「外部検証で確認する事項」の全てについて、内部検証においても実施されていることが確認され外部検証のスムーズな導入が可能なことが確認されたものの、常時監視が必要な項目等については内部検証活動による記録の整備が難しいため、外部検証による記録整備支援が重要であることが示唆された。

2) 教育訓練については多くのものがOJTで実施されているため、実施記録が整備されているのみである。このため、教育訓練の効果について外部検証活動を通じて確認する必要があると考えられた。

3) 病原微生物検査については、輸出向け工場併設等の特段の理由がない限りは事業者にて実施されてはいないため、自主検査結果の外部検証により病原微生物汚染度をモニタリングすることは困難である事が明らかとなった。

4) 衛生指標菌汚染と病原微生物汚染の相関解析のパイロットスタディの結果から、内部検証(枝肉拭き取り検査)成績が一般生菌数 $2 \log_{10}\text{CFU}/\text{cm}^2$ 未満かつ大腸菌陰性程度まで低減されていれば病原微生物汚染の可能性は低いと見込まれ、外部検証にて自主検査(内部検証)結果を評価する際には、これらの値が一定の目安となるものと考えられた。

5) 衛生指標菌汚染と病原微生物汚染の相関解析のパイロットスタディの結果から、外部検証(枝肉切除法)成績において、一般生菌数が $3 \log_{10}\text{CFU}/\text{cm}^2$ 未満かつ腸内細菌科菌群陰性程度まで低減されていれば病原

微生物汚染の可能性は低いと見込まれ、外部検証にて実施する微生物試験結果を評価する際には、これらの値が一定の目安となるものと考えられた。

F. 研究発表

論文発表

1. Yamasaki E, Matsuzawa S, Takeuchi K, Morimoto Y, Ikeda T, Okumura K, Kurazono H: Rapid Serotyping of *Salmonella* Isolates Based on Single Nucleotide Polymorphism-Like Sequence Profiles of a *Salmonella*-Specific Gene. *Foodborne Pathog. Dis.*, 18(1): 31-40, 2020
2. Okumura K, Kaido M, Yamasaki E, Akai Y, Kurazono H, Yamamoto S: Genomic Sequences of Uropathogenic *Escherichia coli* Strains with Various Fluoroquinolone Resistance Profiles. *Microbiol. Resour. Announc.* 9(38): e00199-20, 2020

G. 知的財産権の出願・登録状況

該当なし

H. 引用文献

- ・「と畜検査員及び食鳥検査員による外部検証の実施について」(令和2年5月28日付け生食発0528第1号)
- ・「と畜場法施行規則の一部を改正する省令等の施行について」(平成9年1月28日衛乳第25号)
- ・「アメリカ合衆国向け輸出食肉の取扱要綱」(令和2年5月11日更新)
- ・「英国、欧州連合、スイス、リヒテンシュ

タイン及びノルウェー向け輸出食肉の取扱い要綱」(令和2年12月21日更新)

- ・ COMMISSION REGULATION (EC)
No 2073/2005 of 15 November 2005 on
microbiological criteria for foodstuffs
- ・ 製造の SQF 食品安全コード第8版

表1 調査対象施設の概要

事業者ID	事業者1		事業者2
	工場種別	国内向け製品工場	対米・EU向け製品工場
認定等	HACCP実施	対米・対EU向け輸出食肉取扱い認定	国内向け製品工場 SQF認証
CCP	枝肉保管庫内での枝肉表面温度		枝肉洗浄水の次亜塩素酸濃度 枝肉保管庫の庫内温度

表2 各事業者における内部検証の実施状況（と畜場の衛生管理に関する確認事項）

		事業者1 (全製造ライン共通)	事業者2
A 施設の衛生管理			
1	清掃を適切に行い、衛生上支障のないように管理しているか。（第3条第1項第1号）	1回/日・1回/月・1回/年	1回/日
2	整理整頓を行い、不必要な物品等を置いていないか。（第3条第1項第2号）	1回/日・1回/月・1回/年	随時
3	床、内壁、天井、窓又は扉等に破損又は故障等があるときは、速やかに補修又は修理を行っているか。（第6条第1項第3号）	都度	都度
4	汚臭及び過度の湿気を除くよう十分に換気しているか。（第3条第1項第4号）	随時	随時
5	採光又は照明装置により必要な照度を確保しているか。（第3条第1項第5号）	随時（2回/年で照度検証）	随時（2回/年で照度検証）
6	換気設備を設置している場合は、当該設備の維持管理を適切に行っているか。（第3条第1項第6号）	随時	随時
7	係留所及び生体検査所では、適宜、獣畜のふん便等を適切に処理し、洗浄しているか。（第3条第1項第12号イ）	適宜	適宜
8	外皮取扱室は、清潔を保持しているか。（第3条第1項第13号）	随時	随時
9	排水溝は、固形物の流出を防ぎ、かつ、排水がよく行われるように清掃し、破損した場合は速やかに補修しているか。（第3条第1項第15号）	都度	都度
10	と畜場内の洗浄消毒では、血液又は脂肪等が付着している部分の洗浄は、温湯を使用し、作業終了後の洗浄は、洗浄剤を使用しているか。それ以外の洗浄では、十分な量の水、温湯又は洗浄剤を使用しているか。（第3条第1項第16号イロハ）	1回/日	1回/日
11	と畜場内の洗浄消毒では、消毒は、摂氏83度以上の温湯又は消毒剤を使用しているか。（第3条第1項第16号ニ）	随時	随時
12	手洗い設備には、手洗いに必要な洗浄消毒液を備え、常時使用できるようにしているか。（第3条第1項第20号）	随時	随時
13	便所は、清潔に保ち、定期的に消毒を行っているか。（第3条第1項第21号）	1回/日	1回/日
14	清掃用器材は、所定の場所に保管しているか。（第3条第1項第22号）	随時	随時
B 設備等の衛生管理			
1	冷蔵設備を設置している場合は、枝肉又は食用に供する内臓が摂氏十度以下となるよう当該設備の維持管理を適切に行っているか。冷蔵設備内の温度の測定は、作業開始前に1回、及び作業時間内に1回以上行い、測定した日時、温度、測定者その他必要な記録を測定の日から1年間保存しているか。（第3条第1項第8号）	2回/日	3回/日
2	機械器具は、作業終了後洗浄し、又は消毒しているか。（第3条第1項第17号イ）	1回/日	1回/日
3	獣畜のとさつ又は解体に使用するナイフ、動力付はく皮ナイフ、のこぎり、結さつ器その他のとたい又は枝肉に直接接触する機械器具の消毒は、摂氏83度以上の温湯を使用しているか。（第3条第1項第17号ロ）	都度	1頭毎
4	機械器具及び分解したこれらの部品は、それぞれ所定の場所に衛生的に保管しているか。（第3条第1項第17号ハ）	1回/日	1回/日
5	機械器具は、定期的に点検し、故障又は破損等があるときは、速やかに修理又は補修を行い、常時適正に使用できるよう整備しているか。（第3条第1項第17号ニ）	適宜	適宜
6	温度計、圧力計及び流量計等の計器類は定期的にその精度を点検し、故障又は異常等があるときは、速やかに修理等を行っているか。（第3条第1項第17号ヒ）	1回/日	温度計は1回/月
7	清掃用器材は、所定の場所に保管しているか。（第3条第1項第22号）	1回/日	1回/日
8	洗浄剤及び消毒剤並びに殺菌剤及び殺虫剤その他の薬剤は、処理室及び枝肉等を保管する場所以外の所定の場所に保管しているか。（第3条第1項第23号イ）	都度	都度
9	洗浄剤及び消毒剤並びに殺菌剤及び殺虫剤その他の薬剤は、目的に応じた薬剤を適正な方法により使用しているか。（第3条第1項第23号ロ）	随時	随時
10	薬剤によるとたい並びに枝肉及び食用に供する内臓の汚染を防止しているか。（第3条第1項第23号ハ）	随時	随時
11	洗浄剤及び消毒剤等の容器を新たに開封した場合にあっては、開封した日、開封した薬剤の名称、開封した者その他必要な記録を開封の日から1年間保存しているか。（第3条第1項第23号ニ）	都度	都度
C 使用水等の管理			
1	水道法に規定する水道事業、専用水道及び簡易専用水道以外の水を使用する場合は、1年に1回以上水質検査を行い、その結果を証する書類を検査の日から1年間保存しているか。（第3条第1項第7号イ）	2回/年	1回/年
2	消毒装置又は浄水装置を設置している場合は、当該装置が正常に作動していることを毎日確認しているか。確認した日、確認の結果、確認した者その他必要な記録を確認の日から1年間保存しているか。（第3条第1項第7号ロ）	1回/日	1回/日

表2 (つづき)

3	貯水槽を使用する場合は、定期的に点検及び清掃を行っているか。(第3条第1項第7号ハ)	1回/年	1回/年
D ねずみ及び昆虫対策			
1	防そ・防虫設備のない窓及び出入口を開放状態で放置していないか。(第3条第1項第19号イ)	随時	随時
2	防そ・防虫網その他の防そ・防虫設備の機能を点検し、必要に応じ、補修等を行っているか。(第3条第1項第19号ロ)	適宜	適宜
3	処理室内に搬入される容器等による昆虫等の侵入を防ぐよう荷受け時に点検し、不用となった容器等は速やかに処理室外に搬出し、及び焼却炉で焼却すること等により衛生上支障のないように処理しているか。(第3条第1項第19号ハ)	都度	都度
4	定期的に駆除作業を行っているか。駆除を行った日、駆除の方法、駆除を行った者その他必要な記録を、駆除を行った日から1年間保存しているか。(第3条第1項第19号ニ)	1回/週・1回/月	2年間記録保管
E 廃棄物及び排水の取扱い			
1	汚物だめ並びに血液及び汚水の処理設備を設置している場合は、当該設備の維持管理を適切に行っているか。(第3条第1項第14号)	随時	随時
2	施設から生じる汚泥等は、衛生上支障のないように処理しているか。処理を行った日、処理方法、処理を行った者その他必要な記録を処理の日から1年間保存すること。(第3条第1項第14号)	1回/日	随時
3	検査不合格部位、特定危険部位、不可食その他の廃棄物は、その種別を表示した専用容器に収納し、処理室外に搬出し、及び焼却炉で焼却すること等により衛生上支障のないように処理しているか。特定部位、不合格部位については、処理を行った日、処理の方法、処理を行った者その他必要な記録を処理の日から1年間保存しているか。(第3条第1項第18号イ)	都度	都度
4	各廃棄物を収納した容器は、作業終了後所定の場所において洗浄消毒しているか。(第3条第1項第18号ロ)	随時	随時
F その他のと畜場内の衛生管理			
1	検査で保留された枝肉は、その他の枝肉と区別して衛生的に管理しているか。(第3条第1項第9号)	都度	都度
2	伝達性海綿状脳症に係る検査が終了するまでの間、その他の牛と工程、表示等により区分して衛生的に管理しているか。(第3条第1項第10号)	都度	都度(食肉衛生検査所の指導毎)
3	食用に供する30月以下の牛の頭部(舌、頬肉及び皮を除く。)及び脊髓は、とさつ、解体及び保管の各段階で、その他の牛の頭部等と工程、表示等により区分して衛生的に管理しているか。(第3条第1項第11号)	都度	都度(食肉衛生検査所の指導毎)

表3 各事業者における内部検証の実施状況(生体の取扱い及び衛生的なとさつ・解体に関する確認事項)

		事業者1 (全製造ライン共通)	事業者2
A 生体の取扱い			
1	係留所及び生体検査所では、適宜、獣畜のふん便等を適切に処理し、洗浄しているか。(第3条第1項第12号イ)	随時	随時
2	体表に多量のふん便等が付着している獣畜は、洗浄しているか。(第3条第1項第12号ロ)	適宜	適宜
B 一般的事項			
1	獣畜の血液及び消化管の内容物等を適切に処理し、当該処理室を洗浄しているか。この場合、洗浄水の飛散によるとい並びに枝肉及び食用に供する内臓の汚染を防いでいるか。(第7条第1号)	随時	随時
2	獣畜のとさつ又は解体に当たり手袋を使用する場合は、獣畜に直接接触する部分が繊維製品その他洗浄消毒することが困難な製品でないものを使用しているか。(第7条第2号)	随時	随時
C 放血			
1	放血された血液による生体及び他のとたいの汚染を防いでいるか。(第7条第4号イ)	全頭	全頭
2	牛、めん羊及び山羊にあつては、放血後において消化管の内容物が漏出しないよう食道を第一胃の近くで結さつし、又は閉塞しているか。(第7条第4号ロ)	全頭	全頭
3	手指が放血された血液等により汚染された場合は、その都度洗浄剤を用いて洗浄しているか。(第7条第4号ハ)	随時	随時
4	とたいに直接接触するナイフ、結さつ器その他の機械器具については、1頭を処理すること、外皮に接触すること等により汚染された場合は、その都度、摂氏83度以上の温湯を用いて洗浄消毒しているか。(第7条第4号ニ)	随時	随時
5	その他、衛生管理計画及び手順書で定められた通りに、衛生的なスタンニング、放血、食道の取扱いを実施しているか。	全頭	全頭
D 頭部の処理			
1	角は、切断部の付近に外皮が残ることによる汚染を防ぐため、外皮と共に除去しているか。(第7条第5号イ)	随時	随時
2	剥皮された頭部は、外皮並びに床及び内壁等に接触することによる汚染を防いでいるか。(第7条第5号ロ)	全頭	全頭

表3 (つづき)

3	剥皮された頭部の洗浄に当たっては、洗浄水の飛散による他のとたいの汚染を防いでいるか。(第7条第5号ハ)	全頭	全頭
4	手指が外皮等により汚染された場合は、その都度洗浄剤を用いて洗浄しているか。(第7条第5号ニ)	都度	都度
5	とたいに直接接触するナイフ、のこぎりその他の機械器具については、1頭を処理すること、外皮に接触すること等に汚染された場合は、その都度、摂氏83度以上の温湯を用いて洗浄消毒しているか。(第7条第5号ホ)	随時	随時
6	食用に供する30月以下の牛の頭部は、その他の牛の頭部による汚染を防ぐよう区分して処理しているか。(第7条第5号ヘ)	随時	随時
E とたいの剥皮			
1	獣毛等による汚染を防ぐため、必要な最少限度の切開をした後、ナイフを消毒し、ナイフの刃を手前に向け、皮を内側から外側に切開しているか。(第7条第6号イ)	随時	随時
2	剥皮された部分の外皮による汚染を防いでいるか。(第7条第6号ロ)	随時	随時
3	剥皮された部分が外皮により汚染された場合は、汚染された部位を完全に切り取っているか。(第7条第6号ハ)	随時	随時
4	牛、めん羊及び山羊の肛門周囲の処理に当たっては、消化管の内容物が漏出しないよう直腸を肛門の近くで結さつするとともに、肛門部によるとたいの汚染を防いでいるか。(第7条第6号ニ)	全頭	全頭
5	剥皮された部分が消化管の内容物により汚染された場合は、迅速に他の部位への汚染を防ぐとともに、汚染された部位を完全に切り取っているか。(第7条第6号ホ)	随時	随時
6	手指が外皮等により汚染された場合は、その都度洗浄剤を用いて洗浄すること。(第7条第6号ヘ)	都度	都度
7	とたいに直接接触するナイフ、動力付剥皮ナイフ、結さつ器その他の機械器具については、1頭を処理すること、外皮に接触すること等に汚染された場合は、その都度、摂氏83度以上の温湯を用いて洗浄消毒しているか。(第7条第6号ト)	都度	都度
F 乳房の切除			
1	乳房の内容物が漏出しないように行っているか。(第7条第7号イ)	全頭	全頭
2	剥皮された部分が乳房の内容物により汚染された場合においては、迅速に他の部位への汚染を防ぐとともに、汚染された部位を完全に切り取っているか。(第7条第7号ロ)	随時	随時
3	手指が乳房の内容物等により汚染された場合は、その都度洗浄剤を用いて洗浄しているか。(第7条第7号ハ)	都度	都度
4	とたいに直接接触するナイフその他の機械器具については、一頭を処理すること、乳房の内容物等に汚染された場合は、その都度、摂氏83度以上の温湯を用いて洗浄消毒しているか。(第7条第7号ニ)	都度	都度
G 内臓の摘出			
1	とたいが消化管の内容物により汚染されないよう適切に行っているか。(第7条第8号イ)	全頭	全頭
2	内臓が床及び内壁並びに長靴等に接触することによる汚染を防いでいるか。(第7条第8号ロ)	全頭	全頭
3	剥皮された部分が消化管の内容物により汚染された場合は、迅速に他の部位への汚染を防ぐとともに、汚染された部位を完全に切り取っているか。(第7条第8号ハ)	都度	都度
4	手指が消化管の内容物等により汚染された場合は、その都度洗浄剤を用いて洗浄しているか。(第7条第8号ニ)	都度	都度
5	とたいに直接接触するナイフ、のこぎりその他の機械器具については、一頭を処理すること、消化管の内容物等に汚染された場合は、その都度、摂氏83度以上の温湯を用いて洗浄消毒しているか。(第7条第8号ホ)	都度	都度
H 背割り			
1	枝肉が床若しくは内壁、長靴又は昇降台等に接触することによる汚染を防いでいるか。(第7条第9号イ)	随時	随時
2	使用するのこぎりについては、1頭を処理するごとに摂氏83度以上の温湯を用いて洗浄消毒しているか。(第7条第9号ロ)	全頭	全頭
I 枝肉の洗浄			
1	洗浄の前に獣毛又は消化管の内容物等による汚染の有無を確認し、これらによる汚染があった場合は、汚染された部位を完全に切り取っているか。(第7条第10号イ)	都度	都度
2	十分な水量を用いて枝肉の洗浄を行っているか。(第7条第10号ロ)	随時	随時
3	洗浄水の飛散による枝肉の汚染を防いでいるか。(第7条第10号ハ)	随時	随時
4	枝肉の洗浄後は、洗浄水の水切りを十分に行うこと。(第7条第10号ニ)	全頭	半頭毎

表 3 (つづき)

J 枝肉の冷却・保管			
1	枝肉は、摂氏 10 度以下となるよう冷却しているか。(第 7 条第 13 号)	随時	随時
2	枝肉は、床及び内壁等に接触しないよう取り扱っているか。(第 7 条第 11 号)	随時	随時
K 内臓の処理			
1	消化管は、消化管の内容物によるその他の臓器の汚染を防ぐよう区分して処理しているか。(第 7 条第 12 号イ)	随時	随時
2	食用に供する内臓が床及び内壁等に接触することによる汚染を防いでいるか。(第 7 条第 12 号ロ)	随時	随時
3	消化管の処理に当たっては、消化管の内容物による汚染を防ぐよう消化管の内容物を除去するとともに、当該消化管を十分に洗浄しているか。(第 7 条第 12 号ハ)	随時	随時
4	内臓処理台等が消化管の内容物により汚染された場合は、その都度洗浄消毒しているか。(第 7 条第 12 号ニ)	都度	都度
5	食用に供する内臓は、摂氏 10 度以下となるよう冷却しているか。(第 7 条第 13 号)	随時	随時
6	食用に供する内臓は、床及び内壁等に接触しないよう取り扱っているか。(第 7 条第 11 号)	随時	随時
その他の衛生的措置			
1	牛、めん羊及び山羊について、ビッシングを行わずにとさつしているか。(第 7 条第 3 号)	全頭	全頭
2	と畜検査で保留された枝肉は、他の枝肉と区別して保管しているか。(第 7 条第 14 号)	都度	都度
3	食用に供する 30 月以下の牛の頭部等については、とさつ、解体及び保管の各段階で、その他の牛の頭部等と工程、表示等により区分して保管しているか。(第 7 条第 15 号)	都度	都度
4	特定危険部位による枝肉及び食用に供する内臓の汚染を防ぐよう処理しているか。(第 7 条第 17 号)	随時	随時
5	外皮は、枝肉又は食用に供する内臓に接触しないよう保管すること。(第 7 条第 16 号)	随時	随時

表4 「外部検証に関する通知」の要求項目および各施設における自主検査実施状況一覧（牛）

外部検証に関する通知	事業者1			事業者2
	国内向け製品工場	対米向け製品工場	対EU向け製品工場	SQF 対応工場（国内向け製品）
一般生菌数	○（必須）	○	○（必須）	○
腸内細菌科菌群	○（必須）	○*	○（必須）	-
大腸菌数	-	○（必須）	-	○（必須）
大腸菌群数	-	○	-	○
STEC	-	-	○（必須）	○
サルモネラ属菌	-	○	○（必須）	-
黄色ブドウ球菌	-	○	-	-

*）一部製造ラインでのみ実施

表5 「外部検証に関する通知」の要求項目および各施設における自主検査実施状況一覧（豚）

外部検証に関する通知	事業者1	事業者2
	国内向け製品工場	SQF 対応工場（国内向け製品）
一般生菌数	○（必須）	○
腸内細菌科菌群	○（必須）	-
大腸菌数	-	○（必須）
大腸菌群数	-	○
STEC	-	-
サルモネラ属菌	-	-
黄色ブドウ球菌	-	-

表6 「外部検証に関する通知」の要求項目および各施設における自主検査実施状況詳細（牛、一般生菌数）

外部検証に関する通知	事業者1			事業者2
	国内向け製品工場	対米向け製品工場	対EU向け製品工場	SQF 対応工場（国内向け製品）
頻度	月一回以上（一回の試験では異なる5本の枝肉から採取）	1頭/300頭	1頭/週	1頭/週
採材方法	切除法（5mm x 5mm x 2mm）	拭取り法（100mm ² ）	拭取り法（100mm ² ）	拭取り法（100mm ² ）
試験方法	混積培養法、もしくはISO4833-2と同等の簡易法	混積培養法	フィルム培地法	フィルム培地法
管理基準	基準なし（傾向分析を行う）	1.0 x 10 ⁵ /cm ² 未満	1.0 x 10 ⁵ /cm ² 未満	1.0 x 10 ⁵ /cm ² 未満

備考）対EU向け製品工場については、必須項目（「英国、欧州連合、スイス、リヒテンシュタイン及びノルウェー向け輸出食肉の取扱い要綱」（管理基準はCommission Regulation (EC) No 2073/2005を参照している））

表7 「外部検証に関する通知」の要求項目および各施設における自主検査実施状況詳細（牛、腸内細菌科菌群数）

外部検証に関する通知	事業者1			事業者2
	国内向け製品工場	対米向け製品工場	対EU向け製品工場	SQF 対応工場（国内向け製品）
頻度	月一回以上（一回の試験では異なる5本の枝肉から採取）	1頭/300頭	-	1頭/週
採材方法	切除法（5mm x 5mm x 2mm）	拭取り法（100mm ² ）	-	拭取り法（100mm ² ）
試験方法	混積培養法、もしくはISO21528-2と同等の簡易法	フィルム培地法	-	フィルム培地法
管理基準	陰性	1.0 x 10 ^{2.5} /cm ² 未満	-	1.0 x 10 ^{2.5} /cm ² 未満

備考1）国内向け製品工場については一部製造ラインのみで実施

備考2）対EU向け製品工場については、必須項目（「英国、欧州連合、スイス、リヒテンシュタイン及びノルウェー向け輸出食肉の取扱い要綱」（管理基準はCommission Regulation (EC) No 2073/2005を参照している））

表8 「外部検証に関する通知」の要求項目および各施設における自主検査実施状況詳細（牛、大腸菌数）

外部検証に関する通知	事業者1			事業者2
	国内向け製品工場	対米向け製品工場	対EU向け製品工場	SQF 対応工場（国内向け製品）
頻度	-	1頭/300頭	1頭/300頭	-
採材方法	-	拭取り法（100mm ² ）	拭取り法（100mm ² ）	-
試験方法	-	混積培養法	フィルム培地法	-
管理基準	-	陰性	陰性	-

備考1）国内向け製品工場、対米向け製品工場については、陽性時には0157検査（イムノクロマト法）を実施

備考2）国内向け製品では必須項目（「と畜場法施行規則の一部を改正する省令等の施行について」（平成9年1月28日衛乳第25号））

備考3）対米向け製品では必須項目（「アメリカ合衆国向け輸出食肉の取扱要綱」）

表9 「外部検証に関する通知」の要求項目および各施設における自主検査実施状況詳細（牛、大腸菌群数）

外部検証に関する通知	事業者1			事業者2	
	国内向け製品工場	対米向け製品工場	対EU向け製品工場	SQF 対応工場(国内向け製品)	
頻度	-	1頭/300頭	-	-	1頭/週
採材方法	-	拭取り法(100 mm ²)	-	-	拭取り法(100 mm ²)
試験方法	-	混釈培養法	-	-	フィルム培地法
管理基準	-	1.0 x 10 ³ /cm ² 未満	-	-	300 /cm ² 以下

表10 「外部検証に関する通知」の要求項目および各施設における自主検査実施状況詳細（牛、STEC）

外部検証に関する通知	事業者1			事業者2	
	国内向け製品工場	対米向け製品工場	対EU向け製品工場	SQF 対応工場(国内向け製品)	
頻度	-	-	1頭/週	-	1回/月
採材方法	-	-	切除法(N60 法)	-	切取り法(ネック周辺より 250g)
試験方法	-	-	リアルタイム PCR 法	-	イムノクロマト法
管理基準	-	-	陰性	-	陰性

備考) 対米向け製品では必須項目（「アメリカ合衆国向け輸出食品の取扱要綱」）

表11 「外部検証に関する通知」の要求項目および各施設における自主検査実施状況詳細（牛、サルモネラ属菌）

外部検証に関する通知	事業者1			事業者2	
	国内向け製品工場	対米向け製品工場	対EU向け製品工場	SQF 対応工場(国内向け製品)	
頻度	-	1頭/300頭	-	1回/週	-
採材方法	-	拭取り法(100 mm ²)	-	拭取り法(100 mm ²)	-
試験方法	-	国内公定法	-	フィルム培地法	-
管理基準	-	陰性	-	陰性	-

備考) 対EU向け製品工場については、必須項目（「英国、欧州連合、スイス、リヒテンシュタイン及びノルウェー向け輸出食肉の取扱要綱」（管理基準は Commission Regulation (EC) No 2073/2005 を参照している））

表12 「外部検証に関する通知」の要求項目および各施設における自主検査実施状況詳細（牛、黄色ブドウ球菌）

外部検証に関する通知	事業者1			事業者2	
	国内向け製品工場	対米向け製品工場	対EU向け製品工場	SQF 対応工場(国内向け製品)	
頻度	-	1頭/300頭	-	-	-
採材方法	-	拭取り法(100 mm ²)	-	-	-
試験方法	-	平板塗抹法	-	-	-
管理基準	-	陰性	-	-	-

表13 「外部検証に関する通知」の要求項目および各施設における自主検査実施状況詳細（豚、一般生菌数）

外部検証に関する通知	事業者1	事業者2	
	国内向け製品工場	SQF 対応工場(国内向け製品)	
頻度	月一回以上(一回の試験では異なる5本の枝肉から採取)	1頭/1000頭	1頭/週
採材方法	切除法(5 mm x 5 mm x 2 mm)	拭取り法(100 mm ²)	拭取り法(100 mm ²)
試験方法	混釈培養法、もしくは ISO4833-2 と同等の簡易法	混釈培養法	フィルム培地法
管理基準	基準なし(傾向分析を行う)	1.0 x 10 ⁵ /cm ² 未満	1.0 x 10 ² /cm ² 以下

備考) 国内向け製品工場の管理基準については Commission Regulation (EC) No 2073/2005 を参照している

表 14 「外部検証に関する通知」の要求項目および各施設における自主検査実施状況詳細（豚、腸内細菌科菌群数）

外部検証に関する通知	事業者 1	事業者 2
	国内向け製品工場	SQF 対応工場(国内向け製品)
頻度	月一回以上(一回の試験では異なる 5 本の枝肉から採取)	-
採材方法	切除法(5 mm x 5 mm x 2 mm)	-
試験方法	混釈培養法、もしくは ISO21528-2と同等の簡易法	-
管理基準	陰性	-

表 15 「外部検証に関する通知」の要求項目および各施設における自主検査実施状況詳細（豚、大腸菌数）

外部検証に関する通知	事業者 1	事業者 2
	国内向け製品工場	SQF 対応工場(国内向け製品)
頻度	1 頭/1000 頭	1頭/週
採材方法	拭取り法(100 mm ²)	拭取り法(100 mm ²)
試験方法	混釈培養法	フィルム培地法
管理基準	陰性	陰性

備考 1) 国内向け製品工場、対米向け製品工場については、陽性時には 0157 検査（イムノクロマト法）を実施

備考 2) 国内向け製品では必須項目（「と畜場法施行規則の一部を改正する省令等の施行について」（平成 9 年 1 月 28 日衛乳第 25 号））

表 16 「外部検証に関する通知」の要求項目および各施設における自主検査実施状況詳細（豚、大腸菌群数）

外部検証に関する通知	事業者 1	事業者 2
	国内向け製品工場	SQF 対応工場(国内向け製品)
頻度	1 頭/1000 頭	1頭/週
採材方法	拭取り法(100 mm ²)	拭取り法(100 mm ²)
試験方法	混釈培養法	フィルム培地法
管理基準	1.0 x 10 ³ /cm ² 未満	300 /cm ² 以下

表 17 「外部検証に関する通知」の要求項目および各施設における自主検査実施状況詳細（豚、STEC）

外部検証に関する通知	事業者 1	事業者 2
	国内向け製品工場	SQF 対応工場(国内向け製品)
頻度	-	-
採材方法	-	-
試験方法	-	-
管理基準	-	-

表 18 「外部検証に関する通知」の要求項目および各施設における自主検査実施状況詳細（豚、サルモネラ属菌）

外部検証に関する通知	事業者 1	事業者 2
	国内向け製品工場	SQF 対応工場(国内向け製品)
頻度	1 頭/1000 頭	-
採材方法	拭取り法(100 mm ²)	-
試験方法	国内公定法	-
管理基準	陰性	-

備考) 国内向け製品工場の管理基準については Commission Regulation (EC) No 2073/2005 を参照している

表 19 「外部検証に関する通知」の要求項目および各施設における自主検査実施状況詳細（豚、黄色ブドウ球菌）

外部検証に関する通知	事業者 1		事業者 2	
	国内向け製品工場		SQF 対応工場(国内向け製品)	
頻度	-	1 頭/1000 頭	-	-
採材方法	-	拭取り法(100 mm ²)	-	-
試験方法	-	平板塗抹法	-	-
管理基準	-	陰性	-	-

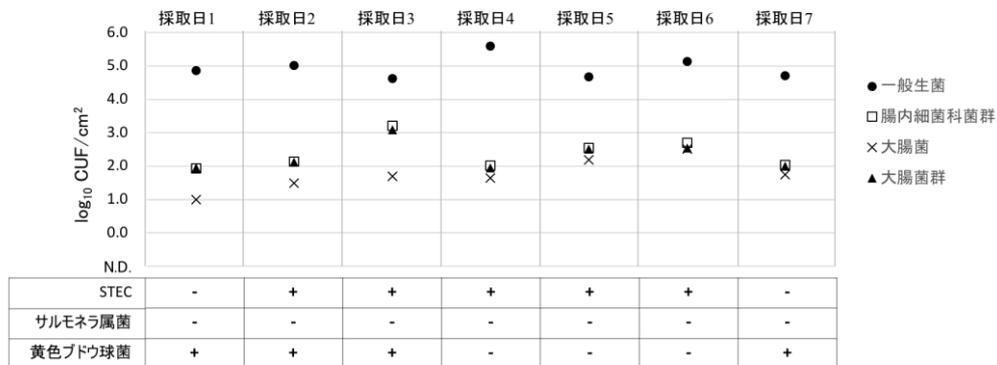


図1 衛生指標菌の検出状況と病原微生物汚染の比較検証（牛、外皮、拭き取り試験）

各サンプリング日において牛の生体外皮拭き取り試料について衛生指標菌検査（上段）および病原微生物検査（下段）を実施した。上段において N.D. は検出限界以下を示す。下段においては陽性的場合には“+”、陰性あるいは検出限界以下の場合には“-”とした。

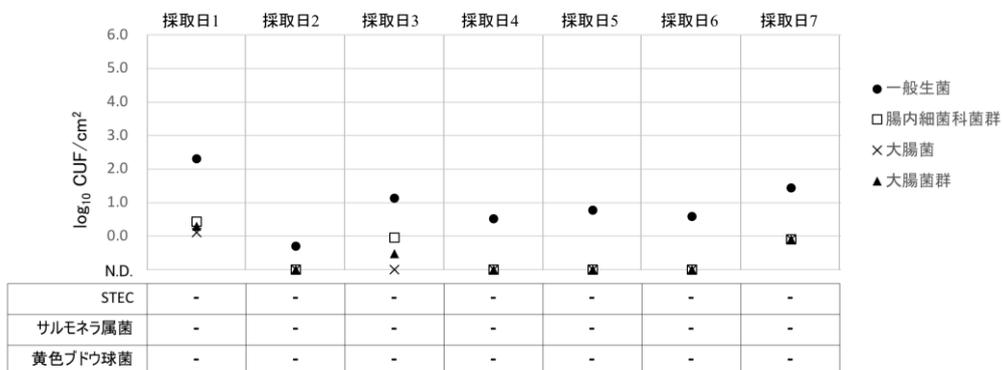


図2 衛生指標菌の検出状況と病原微生物汚染の比較検証（牛、枝肉、拭き取り試験）

各サンプリング日において牛の枝肉拭き取り試料について衛生指標菌検査（上段）および病原微生物検査（下段）を実施した。上段において N.D. は検出限界以下を示す。下段においては陽性的場合には“+”、陰性あるいは検出限界以下の場合には“-”とした。

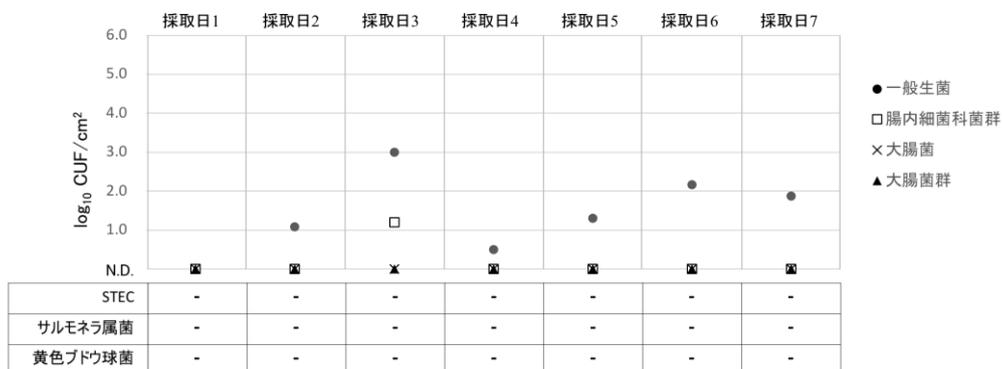


図3 衛生指標菌の検出状況と病原微生物汚染の比較検証（牛、枝肉、切除試験）

各サンプリング日において牛の枝肉切除試料について衛生指標菌検査（上段）および病原微生物検査（下段）を実施した。上段において N.D. は検出限界以下を示す。下段においては陽性的場合には“+”、陰性あるいは検出限界以下の場合には“-”とした。

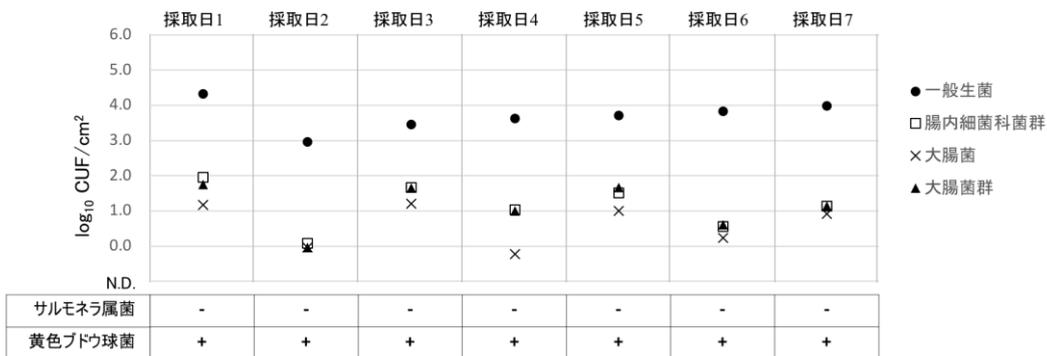


図4 衛生指標菌の検出状況と病原微生物汚染の比較検証（豚、外皮、拭き取り試験）

各サンプリング日において豚の生体外皮拭き取り試料について衛生指標菌検査（上段）および病原微生物検査（下段）を実施した。上段において N.D. は検出限界以下を示す。下段においては陽性の場合には“+”、陰性あるいは検出限界以下の場合には“-”とした。

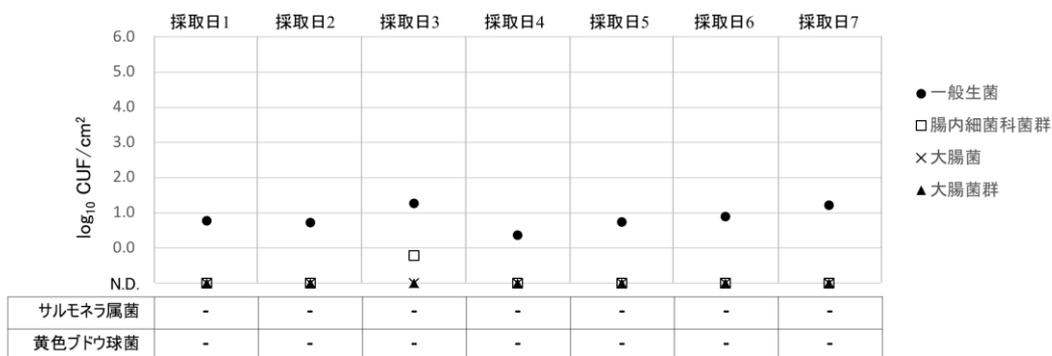


図5 衛生指標菌の検出状況と病原微生物汚染の比較検証（豚、枝肉、拭き取り試験）

各サンプリング日において豚の枝肉拭き取り試料について衛生指標菌検査（上段）および病原微生物検査（下段）を実施した。上段において N.D. は検出限界以下を示す。下段においては陽性の場合には“+”、陰性あるいは検出限界以下の場合には“-”とした。

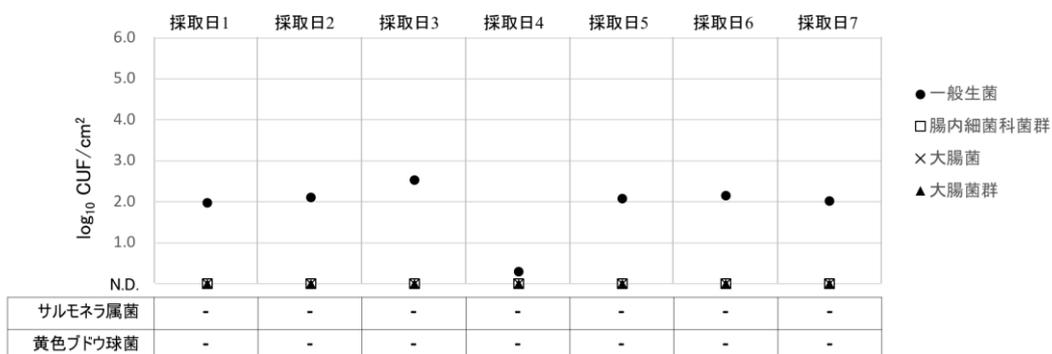


図6 衛生指標菌の検出状況と病原微生物汚染の比較検証（豚、枝肉、切除試験）

各サンプリング日において豚の枝肉切除試料について衛生指標菌検査（上段）および病原微生物検査（下段）を実施した。上段において N.D. は検出限界以下を示す。下段においては陽性の場合には“+”、陰性あるいは検出限界以下の場合には“-”とした。

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）

「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」

分担研究報告書

国際情報の収集整理に関する研究

研究分担者 廣井豊子 国立大学法人帯広畜産大学 獣医学研究部門

研究要旨：と畜場の運営および獣畜のと畜解体処理において「HACCP 方式での衛生管理」を実施している海外諸国における、と畜場の衛生管理ガイドライン、検証法に関連する法規、通知、科学的知見等を収集し整理を行った。英国、米国、オーストラリアの3国では対象微生物は類似傾向にあったが、検体の採材頻度や重量または面積、性能基準等には国間で差異をみとめた。我が国においてもこれらの項目設定に向けた検討は喫緊の課題と思われる。

A. 研究目的

平成30年の「食品衛生法の一部を改正する法律」の交付に伴い、国内のと畜場、食鳥処理場には、「HACCPに基づく衛生管理」が求められることとなった。同制度では、事業者が行う内部検証に加え、自治体等が外部検証を行うことで、施設及び食肉食鳥肉の衛生管理が適切に行なわれていることが担保される。事業所（と畜場、食鳥処理場）における衛生管理に関する手引書は、各事業団体等が作成しその普及啓発が進められている。一方、HACCPに基づく衛生管理システムの導入、運用の適切性を判断する検証法に関しては、令和2年5月に「と畜検査員および食鳥検査員による外部検証の実施について（生食発0528第1号）」において、外部検証について技術的助言がなされた。しかし、多様な国内施設全体を対象にした実効的なHACCP外部検証法として確立

させるには、更なる検討や調整が必要である。そこで本研究では、日本国内の「と畜場でのHACCPに基づく衛生管理」における実効的な外部検証法の構築に有用な情報を提供することを目的とし、と畜場の衛生管理検証法の国際的な動向の調査として、海外諸国のと畜場の衛生管理関連ガイドライン、内部並びに外部検証法に関連する法規、通知や科学的知見等の収集を行うこととした。

B. 研究方法

令和2年度は、食肉に着目し、すでにと畜場の運営および獣畜のと畜解体処理において「HACCP方式での衛生管理」を実施している海外諸国における、と畜場の衛生管理ガイドライン、検証法に関連する法規、通知、科学的知見等を収集し整理を行った。資料および情報は最新のものを収集する必要から、改正や変更が適切に

反映されうると考えられる電子ファイルと主とし、インターネットを介して検索、入手を試みた。

C. 結果及び考察

「HACCP方式での衛生管理」を実施している国：日本からの牛肉の輸出に際して、事業所の認定要件としてHACCP方式による衛生管理を必要としている国を「と畜場の運営、食肉処理にHACCP方式の衛生管理を取り入れている国」と判断し、情報収集の対象国とした。令和2年末時点で該当国は、米国、カナダ、英国、欧州連合EU、オーストラリア、ニュージーランド、マレーシア、ウルグアイ、サウジアラビア、シンガポール、フィリピン、インドネシア、台湾、ブラジル、アラブ首長国連邦、アルゼンチンの15の国・地域であった。

情報収集：上記の国・地域について、インターネット等で英語あるいは日本語で「HACCP方式での衛生管理」関連情報が公開されているものを検索した。

農林水産省食料産業局HPに記載されている輸出用食肉の取扱要綱の情報に加え、各国の食肉衛生管轄政府機関および関連公的機関等のHPを情報入手先とし、それぞれの国・地域でのと畜場の衛生管理関連法規、ガイドライン、調査研究論文等を検索・集取した。対象とした15の国・地域のうち、概略だけで検証法の詳細な情報が入手できていない国もあるが、欧州連合EU、英国、米国、カナダ、オーストラリアなどに関しては、複数の情報が英語等で閲覧が可能であった。

対象国選定に用いた輸出用食肉の取扱

要綱の情報では、米国の手法に準じていると考えられる国が複数見られた。欧州諸国では、欧州連合EUとして統一した手法を基本として各国が国内法で国内の状況に合わせて規定していると考えられる。これらを踏まえ、米国、欧州連合EUの代表として英国に加え、オーストラリアにおけると畜場での衛生管理、特に微生物を用いたHACCP検証の手法について情報を収取し、整理した。

<英国> 一 基本的にEU規則に準拠

A: 検査対象菌と対象動物

検査対象菌：一般生菌数、腸内細菌科菌群、サルモネラ属菌
対象動物種：牛、綿羊、山羊、馬、豚

B: 検体採取頻度

と畜場を、年間の処理動物数に応じて、(i) 一般と畜場、(ii) 小規模と畜場A、(iii) 小規模と畜場B、(iv) 小規模と畜場C、(v) 小規模と畜場Dの5つに分類(*1)。

(i)-(V)それぞれ、検体採取頻度及び検査対象菌株が異なる。

(i) 一般と畜場

初期の検体採取頻度：

一般生菌数、腸内細菌科菌群
種ごとに週1回5検体、連続6週間（種ごと：6週5検体計30検体）

サルモネラ属菌
種ごとに週1回5検体、連続30週間（種ごと：30週5検体計150検体）

結果が優良で採取頻度を下げる場合：

一般生菌数、腸内細菌科菌群
種ごとに2週毎1回5検体

サルモネラ属菌
種ごとに2週毎1回5検体

追記

- ・1週間の各曜日が網羅するように、検体採取の曜日は毎週変更する。
- ・腸内細菌科及び一般生菌数のための検体採取は、6週間連続して優良結果が得

られた場合、その頻度を2週間に1回の検査に減らすことができる。

・サルモネラ属菌のための検体採取は、30週間連続して優良結果が得られた場合、その頻度を2週間に1回の検査に減らすことができる。

・国または地域のサルモネラ属菌対策プログラムが実施されており、そのプログラムに上記の検体採取に代わる検査が含まれている場合（実際の具体例について令和3年度に調査予定）には、サルモネラ属菌の検体採取頻度を減らすことができる。また、国または地域のサルモネラ属菌対策プログラムにより、食肉処理場に搬入される動物のサルモネラ属菌有病率が低いことが証明されている場合は、検体採取の頻度をさらに減らすことができる。

(ii) 小規模と畜場 A

初期の検体採取頻度：

一般生菌数 腸内細菌科菌群

種ごとに週1回5検体、連続2週間（種ごと：2週5検体計10検体）

サルモネラ属菌

種ごとに4週毎1回5検体

結果が優良で採取頻度を下げの場合：

一般生菌数 腸内細菌科菌群

種ごとに4週毎1回5検体

サルモネラ属菌

頻度の削減無し

(iii) 小規模と畜場 B

初期の検体採取頻度：

一般生菌数 腸内細菌科菌群

種ごとに週1回5検体、連続2週間（種ごとに、2週5検体計10検体）

サルモネラ属菌

必要無し

結果が優良で採取頻度を下げの場合：

一般生菌数 腸内細菌科菌群

種ごとに12週毎に1日1回5

検体

サルモネラ属菌

必要無し

(iv) 小規模と畜場 C

初期の検体採取頻度：

一般生菌数 腸内細菌科菌群

種ごとに連続5検体

サルモネラ属菌

必要無し

結果が優良で採取頻度を下げの場合：

一般生菌数 腸内細菌科菌群

種ごとに、最後に優良となった

検査から1年後に連続5検体

(v) 小規模と畜場 D

一般生菌数 腸内細菌科菌群，サルモネラ属菌

必要無し

(*1) と畜場は、年間の処理動物数によって、以下の5つに区分する

(i) 一般と畜場

年間処理数：20,000頭超の牛もしくは馬、または100,000頭超の豚、緬羊もしくは山羊（1週間に400頭超の牛、馬、または2,000頭超の豚、緬羊、山羊）

(ii) 小規模と畜場 A

年間処理数：7500頭超 20,000頭未満の牛もしくは馬、または37,500頭超 100,000頭未満の豚、緬羊もしくは山羊（1週間に150頭超 400頭未満の牛、馬、または750頭超 2,000頭未満の豚、緬羊、山羊）

(iii) 小規模と畜場 B

年間処理数：1,500頭超 7,500頭未満の牛もしくは馬、または7,500頭超 37,500頭未満の豚、緬羊もしくは山羊（1週間に30頭超 150頭未満の牛、馬、または150頭超 750頭未満の豚、緬羊、山羊）

(iv) 小規模と畜場 C

年間処理数：500頭超 1,500頭未満の牛もしくは馬、または2,500頭超 7,500頭未満の豚、緬羊もしくは山羊（1週間に10頭超 30頭未満の牛、馬、または50頭超 150頭未満の豚、緬羊、山羊）

(v) 小規模と畜場 D

年間処理数：500頭未満の牛もしくは馬、または2,500頭未満の豚、緬羊もしくは山羊（1週間に10頭未満の牛、馬、または50頭未満の豚、緬羊、山羊）

C: 検体採取方法 ISO 17604 に準拠

<一般生菌数、腸内細菌科菌群>

冷却前の枝肉から採取する。

1回の検査で、1個体から1検体、種ごとに異なる5個体から検体計5検体採

取。採取方法：切除法（個体 20 cm²を 4 箇所），あるいは スwabもしくは スポンジ法（個体 100 cm²を 4 箇所，小型反芻獣は 50cm²）

判定：5 検体の平均 log をとる

<サルモネラ属菌>

冷却前の枝肉から採取する。

1 回の検査で、1 個体から 1 検体 種ごとに異なる 5 個体から検体計 5 検体採取。

採取方法：スポンジ法（最低でも 400cm²の面積）

判定：連続した 10 回分の検体（つまり 50 検体）中の陽性数

D: 試験方法

一般生菌数：ISO 4833 に準拠

腸内細菌科菌群：ISO 21528-2 に準拠

サルモネラ属菌：ISO 6579 に準拠

E: 判定基準

規則に示された限界値と比較して判定

・牛，緬羊，山羊，馬

一般生菌数 単位：log cfu/cm² ス

ワブまたはスポンジ法は()内の値

優良 3.5 (2.8)

許容 3.5-5.0

(2.8-4.3)

不適合 5.0 (4.3)

腸内細菌科菌群 単位：log cfu/cm²

スワブまたはスポンジ法は()内の値

優良 1.5 (0.8)

許容 1.5-2.5

(0.8-1.8)

不適合 2.5 (1.8)

サルモネラ属菌 50 検体中の陽性数

優良 陰性

許容 2 未満

不適合 2 超

・豚

一般生菌数 単位：log cfu/cm²

スワブまたはスポンジ法は()内の値

優良 4.0 (3.3)

許容 4.0-5.0

(3.3-4.3)

不適合 5.0 (4.3)

腸内細菌科菌群 単位：log cfu/cm²

スワブまたはスポンジ法は()内の値

優良 2.0 (1.3)

許容 2.0-3.0

(1.3-2.3)

不適合 3.0 (2.3)

サルモネラ属菌 50 検体中の陽性数

優良 陰性

許容 3 未満

不適合 3 超

*サルモネラ属菌の判定基準に関しては、EU 規定では以下の表記。

・牛，緬羊，山羊，馬

優良 2 以下

不適合 2 超

・豚

優良 3 以下

不適合 3 超

<参照>

・規則 EC 852/2004

・規則 EC 853/2004

・規則 EC 854/2004

・規則 EC 882/2004

・規則 EC 2073/2005

・Manual for official controls:

<https://www.food.gov.uk/business-guidance/manual-for-official-controls>

・Meat Industry Guide:

<https://www.food.gov.uk/business-guidance/meat-industry-guide>

・ISO 4833

・ISO 6579

・ISO 17604

・ISO 21528-2

<アメリカ合衆国>

I: 大腸菌 (Biotype 1) : 工程管理検証

A: 対象動物種：牛，緬羊，山羊，馬，ラバもしくはその他の馬科動物，豚 (*1)

2 種類以上の対象動物をと殺する施設は、最も多くと殺する対象動物を検査しなければならない。

(*1)：豚に関しては、事業者が複数の指標菌（一般生菌数，腸内細菌科菌群，大腸菌群，大腸菌 (Biotype 1) など）から 1

つ以上の指標菌を選ぶことを認めている。

B: 検体採取頻度

・牛、緬羊、山羊、馬、ロバ、その他の馬科動物：300 と体毎に1回

・豚：1,000 と体毎に1回 (*2)

上記ともに、と畜場の稼働期間中は、各週、最低1回を採取すること。

ただし、小規模と畜場 (*3)は、以下の通り

スポンジ法の場合：毎年6月1日以降の1週間完全稼働日以降、週に最低1回を採取し、翌年の6月1日まで継続する、もしくは、13検体が採取されるまで継続する (いずれか早い方)

切除法の場合：毎年6月1日以降の1週間完全稼働日以降、週に最低1回は採取し、一連の13回の検査で基準を満たすまで継続する。

(*2)：豚のと畜場では、1回の採取で内蔵摘出前と冷却後の工程それぞれで1検体ずつを採取する。(1,000頭ごとに2検体)。冷却は最低12時間行い、冷却の最大時間の制限はない。

冷却前に脱骨を行う施設では、内蔵摘出前に1検体、脱骨前の最終洗浄後に1検体を採取する。枝肉の冷却を行う施設では、内蔵摘出前に1検体、冷却後に1検体を採取する。これらの2検体は、同じ枝肉から採取する必要はない。

豚の小規模と畜場(*3)では、冷却後の工程で1検体を採取する。13回連続して検体を検査した後、効果的に工程管理を維持していることを証明できる場合、その事業所は検体採取の頻度を減らすように変更するか、検体採取を中止することができる。

(*3)：小規模と畜場

・牛、緬羊、山羊、馬、ロバ、その他の馬科動物：

年間処理数が、牛6,000頭、緬羊6,000頭、山羊6,000頭、馬、ラバあるいはその他の馬科動物6,000頭を超えない、もしくは、牛6,000頭及び全家畜の合計が20,000頭を超えない。

・豚：

年間の豚処理数が20,000頭以下、もしくは、牛の処理数が6,000頭を超えずかつ全家畜の合計処理数が年間20,000頭を超えない。

以下の事業者は、豚の小規模と畜場としての上記の検体採取条件を適応しない。豚の年間処理数が20,000頭を超える場合、全家畜の年間合計処理数が20,000頭を超える場合、または、全家畜の年間合計処理数が20,000頭を超えていない場合でも牛、緬羊もしくは山羊の処理数が6,000頭を超えている場合。

C: 検体採取方法

・牛の枝肉：事業者は、ともばら flank、胸部 brisket、臀部 rump の3箇所から、切除法あるいはスポンジ法で採取する。剥皮をしていない仔牛の場合、事業者は、ともばら flank の内側、胸部 brisket の内側、臀部 rump 内側の3箇所からスポンジ法で採取する。

・緬羊、山羊、馬、ロバ、またはその他の馬科動物の枝肉：事業者は、ともばら flank、胸部 brisket、臀部 rump の3箇所からスポンジ法で採取する。剥皮をしていない場合、事業者は、ともばら flank の内側、胸部 brisket の内側、臀部 rump 内側の3箇所からスポンジ法で採取する。

・豚の枝肉：施設は、もも ham、腹部 belly、頸部 jowl の3箇所から切除法あるいはスポンジ法で採取する。

・スポンジ法を用いた場合は、統計的工程管理の手法を用いて検査結果を評価する

<切除法>

以下のサイズを1枚片として切り取る、

・牛

ともばら flank：長さ8インチ (20.3 cm)、幅6インチ (15.2 cm)、厚さ1/2インチ (1.3 cm)

胸部 brisket：長さ8インチ (20.3 cm)、幅6インチ (15.2 cm)、厚さ4インチ (10.2 cm)

臀部 rump：長さ8インチ (20.3 cm)、幅6インチ (15.2 cm)、厚さ4インチ

(10.2 cm)

・豚（表皮を切り取る）
もも ham: 長さ 10 インチ (25.4 cm)、幅 5 インチ (12.7 cm)、厚さ 1/2 インチ (1.3 cm)
腹部 belly: 長さ 10 インチ (25.4 cm)、幅 5 インチ (12.7 cm)、厚さ 1/2 インチ (1.3 cm)
頸部 jowl: 両側からそれぞれ長さ 5 インチ (12.7 cm)、幅 5 インチ (12.7 cm)、厚さ 1/2 インチ (1.3 cm)
上記の検体から、試験室で直径 3.6 cm 表面積約 10cm² の円形の組織を 2 枚ずつ切り取り、検査に用いる。

< スポンジ法 >

牛, 馬, 豚: 1 箇所 の面積は 100 cm²
綿羊, 山羊: 1 箇所 の面積は 50 cm²

D: 試験方法

国際公認分析化学者協会 AOAC International の AOAC Official Method として承認されているもの、もしくは、最確数 (MPN) 法 (適切な MPN 指数の 95% 上下信頼区間を満たし、外部学術団体によって評価試験が実施され、承認、公表されているもの)。詳細は、令和 3 年度の食鳥肉に対する検証方法の検索結果報告時に合わせて記載する

E: 判定基準

・直近の検体数 (n) 13 検体中の結果で判定する。
・合格判定値 (m) 以下の場合、合格とする。
・合格判定値 (m) から条件付き合格判定値 (M) までの条件付き合格範囲 (m~M) を示す検体数 (c) が 3 検体の場合、合格とする。
・(m~M) の値を示す検体数 (c) が 4 検体の場合、不合格とする。
M 以上の値を示す検体が 1 検体以上ある場合、不合格。

・牛, 綿羊, 山羊, 馬, ラバ, その他馬科動物
合格判定値 (m) 陰性 (*4)

条件付き合格判定値 (M) 100cfu/cm²
検体数 (n) 13
条件付き合格範囲の検体数 (C) 3

(*4) 陰性: 検出限界 5 cfu/cm² 以下

・豚 (*4)
合格判定値 (m) 10 cfu/cm²
条件付き合格判定値 10,000 cfu/cm²
検体数 (n) 13
条件付き合格範囲の検体数 (C) 3

(*4) 米国農務省食品安全検査局 (FSIS) は、豚における大腸菌の性能基準を規則から削除している。しかし、継続して大腸菌を測定している小規模事業者等が、この基準を満たすことで、米国農務省食品安全検査局 (FSIS) の要求事項への適合証明に使用することを選択することができる、と記載されている情報もある。

II サルモネラ属菌: 病原体低減性能評価

A: 対象動物種: 牛

*豚のサルモネラ属菌の検査は 2011 年に廃止

B: 検体採取頻度

上記 I 大腸菌と同じ、検査員は、抜き打ちで検体採取を行う。

C: 検体採取方法

上記 I 大腸菌のスポンジ法と同じ

D: 試験方法

米国農務省食品安全検査局 (FSIS) 監修の微生物試験室ガイドブックで示された方法 (MLG 4.10) もしくは、当該方法と同等以上の方法。方法の詳細は、令和 3 年度の食鳥肉に対する検証方法の検索結果報告時に合わせて記載する。

E: 結果判定基準

サルモネラ属菌の達成規格値
検体数 (n) 中、最大許容検体数 (c) 以上の検体数が、達成規格値 (サルモネラ陽性率) を超えてはならない。

・去勢牛/未経産牛

達成目標値（サルモネラ陽性率） 1.0%
検体数 (n) 82
最大許容検体数 (c) 1

・廃用牛/種雄牛

達成規格値（サルモネラ陽性率） 2.7%
検体数 (n) 58
最大許容検体数 (c) 2

[サルモネラ陽性率の根拠となっている資料タイトルが法令文章に記載されているが検索しても該当書類なし。継続して調査予定。]

III: STEC (志賀毒素産生性大腸菌) : HACCP システム検証

(対象の血清型: *E. coli* 0157:H7, 026, 045, 0103, 0111, 0121, 並びに 0145)

A: 対象動物種: 牛 (仔牛も含む)

B: 検体採取頻度

1 週間あたりの牛肉生産量に応じて以下の頻度で行う

113,400 kg 以上	少なくとも月 1 回 (年 12 回)
2,268~113,400kg	少なくとも 2 ヶ月に 1 回 (年 6 回)
2,268 kg 未満	少なくとも 3 ヶ月に 1 回 (年 4 回)

ただし、4 月から 10 月は、採取頻度を 2 倍以上にするべきである。

C: 検体採取方法

N60 法

不適切な衛生的な処理により牛肉表面が汚染される可能性から、薄切り肉片を採取することが重要である。牛肉外表面から 60 枚の薄切り検体を採取する。各検体スライス片は、長さ約 3 インチ (7.6 cm)、幅約 1 インチ (2.5 cm)、厚さ約 1/8 インチ (0.3 cm)。肉生産ロットが 60 個未満である場合を除き、1 個体から 1 つ検体スライス片のみを採取する。3 枚の Whirl-Pak バッグを使用し、2 枚の Whirl-Pak バッグにそれぞれ検体

スライスを 30 枚ずつ入れる。3 枚目の Whirl-Pak 袋には、予備として同じ生産ロットから検体を無菌的に採取する。

D: 試験方法

米国農務省食品安全検査局 (FSIS) 監修の微生物試験室ガイドブックで示された方法 (MLG 5C.01) あるいは当該方法と同等以上の方法。

MLG 5C.01 法の概略: 液体培地での増菌培養後、培養液を用いてスクリーニングとして *stx* 遺伝子 および *eae* 遺伝子の PCR での検出を行う。スクリーニング PCR で陽性であった検体は、PCR での血清型別および磁気ビースを用いて培養液の濃縮後、分離培地を用いて菌の分離を行う。分離培地で単離された集落を用い、O 抗原の存在を凝集試験で確認するとともに、PCR で *stx* 遺伝子 および *eae* 遺伝子の存在を確認する。最終的に、5%の羊血を含むトリプティック大豆寒天培地に接種し、生育した単離集落を用いて、再度、O 抗原の存在、*stx* 遺伝子、*eae* 遺伝子、対象となる血清群のいずれかを有する大腸菌であることを確認し、STEC 陽性と確定する。詳細は、令和 3 年度の食鳥肉に対する検証方法の検索結果報告時に合わせて記載する。

結果判定

陽性の場合、製品が STEC に汚染されていると判定し、適正に管理し記録するとともに適正に処分を行う。陽性の製品は、加熱調理用とするか廃棄する。

参照

- ・ 9 Vol 2 C.F.R. § 310.18
- ・ 9 Vol 2 C.F.R. § 310.25
- ・ 9 Vol 2 C.F.R. § 417
- ・ 84 FR 52300
- ・ FSIS Directive 6410.4
- ・ FSIS Directive 10,010.1
- ・ FSIS Directive 10,010.2
- ・ FSIS-GD-2017-0013
- ・ FSIS-GD-1996-0001
- ・ Annex T-1: Compliance Guideline - Requirements for Microbiological Monitoring of Process Controls in

Livestock and Ratites Abattoirs
・Annex U: USDA Performance Standards for *Salmonella*
・Scientific criteria and performance standards to control hazards in meat and poultry products: Scientific criteria to ensure safe food, National Academies Press (US) 2003, p133-178
・Summary of FSIS Government Microbiological Sampling Programs Frequencies
・USDA Microbiology Laboratory Guidebook MLG-5C. 01
・USDA Microbiology Laboratory Guidebook MLG-4

<オーストラリア>

A: 検査対象菌と対象動物

検査対象菌：一般生菌数（好気性平板菌数 APC）、（一般）大腸菌 -- 工程管理の検証

サルモネラ属菌 -- 病原体削減の検証

B: 検体採取頻度

- ・毎日、少なくとも1検体/日は採取する。
- ・検体採取を行う枝肉は無作為に選択する。
- ・検体採取の頻度は、食肉処理区分、作業ラインごとに個別に決める。また、冷凍設備の性能評価を検証するも微生物検査の重要な要素の一つであることから、検体を採取する枝肉はすべての冷凍設備から選択する（1つの冷凍設備からのみ選択されるべきではない）。

検体採取する枝肉の冷却時間

牛、豚、馬、ラバ、ロバ、ラクダ：12時間以上

緬羊、山羊、その他の小型動物：4時間以上

一般生菌数、大腸菌

去勢牛、未経産牛、廃用牛、種雄牛
300 枝肉に1検体

馬、ラバ、ロバ

300 枝肉に1検体

豚

1,000 枝肉に1検体

緬羊、仔羊、仔牛、山羊

1,000 枝肉に1検体

・大腸菌と一般生菌数の検査は、同じ検体から行うことができる。

サルモネラ属菌

去勢牛、未経産牛、廃用牛、種雄牛

1,500 枝肉に1検体

馬、ラバ、ロバ

1,500 枝肉に1検体

豚

5,000 枝肉に1検体

緬羊、仔羊、仔牛、山羊

5,000 枝肉に1検体

C: 検体採取方法

スポンジ法（希釈液の約10mLを用いてスポンジを湿らせ、採取前には余分な液体を絞る。）

科学的に汚染が最も高いと確認されている部位（以下に示す）から検体を採取する。

以下に示す部位が個々の施設で汚染される可能性の高い部位ではないという証拠がある場合には、施設が代替部位を指名することができる。

採取部位と面積

・牛、馬、ラバ、ロバ

部位：ともばら flank、胸部 brisket、尻肉 butt の3箇所。ともばら、胸部、尻肉の順に採取する。

（スポンジの片面を使いともばら、胸部を採取し、もう片面で尻肉を採取する。）各部位の面積は、10 cm 四方 100 cm²（総面積 300 cm²）

・緬羊、山羊、仔牛

部位：ともばら flank、胸部 brisket、腰中位 mid-loin の3箇所。ともばら、胸部、腰中位の順に採取する。（スポンジの片面を使いともばら、胸部を採取し、もう片

面で腰中位を採取する。)各部位の面積は、5 cm 四方 25 cm² (総面積 75cm²)

・豚

部位：腹部 belly、もも ham、頸部 jowl の3箇所。腹部、もも、頸部の順に採取する。

(スポンジの片面を使い腹部、ももを採取し、もう片面で頸部を採取する。)

各部位の面積は、10 cm 四方 100 cm² (総面積 300 cm²)

一般生菌数および大腸菌検査：3箇所の検体採取後、希釈液（緩衝ペプトン水など）を約 15 mL 加え、最終的にスポンジに添加する希釈液の総量は 25 mL とする。

サルモネラ属菌検査：増菌培養中スポンジが確実に希釈液で覆われるように、最終的な希釈液（緩衝ペプトン水）の量は、60～100 mL とする。

採取した検体は、0～7℃の温度範囲で輸送、保存する。凍結させてはいけいない。一般生菌数の試験を行う場合は、0～5℃の温度範囲とする。

D：試験方法

検体の試験は、省庁が承認した方法を使用しなければならない。以下に承認されている方法の一部を示す。

一般大腸菌： AS 5013.5-2016, AOAC 990.12, AOAC 2008.10, AOAC010404, AOAC 091702

大腸菌 AS 5013.15-2006 (ISO 7251:2005), AOAC 991.14 および AOAC 998.08, AOAC 110402, AOAC 070901

サルモネラ属菌 AS 5013.10-2009 (modified ISO 6579:2002), MLG4, AOAC 2003.09

採取後 24 時間以内に検査を開始する。
(遅くとも採取日から 2 日目までに開始する)

一般大腸菌と大腸菌の結果は、枝肉表面の CFU/cm² として報告する

サルモネラ属菌の検査の結果は、「陰性」または「陽性」として報告する。

E：判定基準

一般生菌数および大腸菌

・検体数 (n) 連続した 15 検体中の結果で判定する。

・許容値 (m) 以下の場合、合格とする。

・許容値 (m) 超から許容上限値 (M) 以下までの値を示す検体が、条件付き合格範囲の検体数 (c) 以下の場合 合格とする。

・許容上限値 (M) より大きい場合、不合格。

・許容上限値 (M) より大きい値を示す検体が 1 検体以上ある場合、不合格。

各動物別枝肉の一般生菌数および大腸菌の性能基準を表 1 に示す。

表1: 動物種別枝肉の一般生菌数、大腸菌の性能基準値

	検体数 n	条件付き合格範囲の 検体数 (c)		許容値 (m) (cfu/cm ²)		許容上限値 (M) (cfu/cm ²)	
		大腸菌	一般生菌数	大腸菌	一般生菌数	大腸菌	一般生菌数
去勢牛・未経産牛	15	3	3	不検出	1,000	20	31,625
廃用牛・種雄牛	15	3	3	不検出	1,000	20	31,625
仔牛	15	7	3	5	1,000	100	31,625
山羊 (剥皮済み)	15	3	3	1	1,000	100	31,625
山羊 (未剥皮)	15	3	3	1	1,000	100	31,625
馬・ラバ	15	5	3	不検出	1,000	100	31,625
ロバ	15	5	3	不検出	1,000	100	31,625
種羊	15	7	5	5	1,000	100	31,625
仔羊	15	7	5	5	1,000	100	31,625
豚 (剥皮済み)	15	5	5	1	3,162	100	31,625
豚 (未剥皮)	15	5	5	1	3,162	100	31,625

大腸菌検査で不合格の場合、10 営業日以内にと体処理手順の見直しを開始し、考えられる要因の調査、再発を防止するための是正措置および予防措置の実施を施設に要求する。

サルモネラ属菌

検査結果を性能基準に照らして評価する。

検体数 (n) 中、サルモネラ属菌が検出された陽性検体数が最大許容検体数 (c) を超えた場合、基準を満たしていないと判断する。

各動物別枝肉のサルモネラ属菌の性能基準を表2に示す。

表2: 動物種別枝肉のサルモネラ属菌の性能基準値

	検体数 (n)	最大許容検体数 (c)
去勢牛・未經産牛	82	1
廃用牛・種雄牛	58	2
馬・ラバ・ロバ	58	2
豚	55	6
緬羊・仔羊・仔牛	55	6
山羊	51	12

サルモネラ属菌の性能基準を満たさない場合、施設は 10 営業日以内に考えられる原因を調査し、不衛生または衛生的な服装の証拠が得られた場合は、是正措置および予防措置を取らなければならない。サルモネラ属菌検査で陽性となった検体は、サルモネラ菌参照検査機関で血清型別を行わなければならない。

<参照>

- ・Microbiological manual for sampling and testing of export meat and meat products (Australian government, Department of Agriculture, water and the environment)
- ・AS 5013.5:2016: Microbiology of the food chain - Horizontal method for the enumeration of microorganisms - Colony count at 30° C by the pour plate technique
- ・AS 5013.15-2006: General guidance for enumeration of presumptive *Escherichia coli*: Most probable number technique
- ・AS 5013.10-2009 Microbiology of food and animal feeding stuffs: Horizontal method for the detection of *Salmonella* spp.

英国、米国、オーストラリアの3国では対象微生物は類似傾向にあるが、検体採取頻度、検体サイズ、性能基準等には国による違いもみられた。令和3年度も、食鳥肉に加え食肉に関する情報収集を継続し、広く国際的な動向把握を行う必要があると考える。

E. 結論

と畜場での牛豚を対象としたHACCP検証に関する情報収集整理を行った。英国、米国、オーストラリアの3国では対象微生物は類似傾向にあるが、検体採取頻度、検体サイズ、性能基準等には国によ

る違いもみられた。我が国においても採頻度は喫緊の課題と思われる。令和3年度も、食鳥肉に加え食肉に関する情報収集を継続し、広く国際的な動向把握を行う必要があると考える。

F. 研究発表

なし

G. 知的財産権の出願・登録状況

なし

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）

「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」

令和2年度分担研究報告書

食品由来感染症病原体サーベイランスならびに下痢症疾患の実態把握

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	窪田邦宏	国立医薬品食品衛生研究所安全情報部
	佐藤和宏	宮城県医師会健康センター
	小松真由美	宮城県医師会健康センター
	小田嶋こずえ	宮城県塩釜医師会臨床検査センター
	内田 唯	宮城県塩釜医師会臨床検査センター
	赤間慎也	宮城県塩釜医師会臨床検査センター
	遠藤啓輔	宮城県塩釜医師会臨床検査センター
	玉井清子	株式会社ミロクメディカルラボトリー
	坂上武文	株式会社ミロクメディカルラボトリー
	滝 将太	株式会社ミロクメディカルラボトリー
	霜島正浩	株式会社ビー・エム・エル
	児玉加奈子	株式会社ビー・エム・エル
	渋谷俊介	株式会社 LSI メディエンス
	熊谷優子	和洋女子大学
	春日文字子	国立環境研究所
	天沼 宏	国立医薬品食品衛生研究所安全情報部
	田村 克	国立医薬品食品衛生研究所安全情報部

研究要旨： 食中毒として報告されない散発発症患者を含めた食品由来胃腸炎疾患の患者数を推定するため、宮城県の臨床検査機関の協力により、医療機関から検査依頼された下痢症検便検体からの病原菌検出数に関するアクティブ（積極的）サーベイランスを 2005 年から継続して行っている。本年度はまず宮城県における 2019 年の病原菌検出状況の詳細解析および被害実態の推定を行った。臨床検査機関を対象としたアクティブサーベイランスのデータを用い、検査機関の住民カバー率、および宮城県で以前に行った夏期および冬期の 2 回の電話住民調査の結果から求めた検便実施率および医療機関受診率等の係数を推定モデルに導入することで、*Campylobacter*、*Salmonella* の 2 菌について、モンテカルロシミュレーション

ョン法により宮城県における当該菌による食品由来下痢症実患者数の推定を行なった。これらの推定値から、全国での当該菌による食品由来下痢症患者の発生率が宮城県での発生率と同じであると仮定した時の全国の当該菌による食品由来下痢症患者の数を推定した。2011年からはさらに全国を対象とした民間検査機関3社から全国についての2006年以降の病原菌検出数データを収集している。本年度は2019年のデータを収集し、全国における食品由来下痢症実患者数の推定を行い、宮城県データからの全国推定値と比較した。

A. 研究目的

我が国では食品由来感染症の患者数は食品衛生法および感染症法にもとづいて報告されている。散発事例は食中毒事例として報告されない場合が多く、そのため食中毒統計等だけでは食品由来感染症・下痢症の患者数が正確に把握されていないことが示唆される。特に最近では広域散発事例による被害も報告されており、食品衛生行政における対策等の検討のためには、それらの事例も含めた被害実態の全容を把握することが重要と考えられる。

米国では1995年以降、FoodNet（フードネット）というアクティブ（積極的）サーベイランスシステムが導入され、食品衛生の各種対策及びその効果を検討するために食品由来感染症の実患者数の把握を継続して行なっている。FoodNetは全米10州の定点検査機関から病原体検出データを集約して分析している。さらに電話住民調査や検査機関調査等を継続して行い、各推定段階に必要なデータを得ることで全体推定を行なっている。このシステムで得られた推定結果は患者数の多年度にわたる変動の把握や各種行政施策の効果を検討する等、食品衛生行政に活用されている。

日本においても患者数の全容把握のために同様のシステムが必要と考えられるが、

これまでに日本にはこうしたシステムが設置されてこなかった。下痢症の発生動向や実態把握のための基礎データを蓄積することは、食中毒行政における食中毒対策立案、その効果の評価および各種リスク評価等にきわめて重要と考えられる。こうしたことをふまえ、本研究等において2005年より継続して宮城県においてアクティブサーベイランスを行い、これにより実患者数推定を行い、その有効性を実証し、日本におけるFoodNet様システム構築の基礎とすると同時に、そのようなシステムを日本に導入する際に検討すべき特徴の把握を行ってきた。

本年度は、(1)2005年から継続している宮城県におけるアクティブサーベイランス、およびそれによる宮城県の被害実態の推定を引き続き行った。また、(2)2011年からは民間検査機関3社の協力で全国についての病原菌検出データを収集し、それらをもとに全国における被害実態の推定を行っているが、本年度もこれを継続し、これらの結果を上記の宮城県データからの全国推定結果と比較することで本研究における推定手法の妥当性の検討を継続して行うこととした。

B. 研究方法

1. データ収集

下痢症患者の原因病原体のアクティブサーベイランスを行うために、宮城県内で医療機関の医師が便検査を依頼している検査機関に協力を依頼し、その機関からのデータ収集を継続して行っている。また 2011 年からは民間検査機関 3 社より全国の菌検出数データを収集している。

宮城県の有症者（定義は 1-3 参照）の医療機関受診率および受診者の検便実施率は、同県において以前に行った電話住民調査の結果より推定された値を用いた。季節変動を考慮して冬期（2006 年）だけでなく夏期（2007 年）にも電話住民調査を行い、冬期の結果と比較検討の上、統合したデータから検便実施率および医療機関受診率を確率分布に当てはめて推定した。

1-1. 宮城県の臨床検査機関からの同県のデータの収集

○協力検査機関

- ・宮城県医師会健康センター
- ・宮城県塩釜医師会臨床検査センター

これら 2 機関での検便結果を集計した。

1-2. 民間検査機関からの全国のデータの収集

○協力検査機関

- ・株式会社ミロクメディカルラボラトリー
- ・株式会社ビー・エム・エル
- ・株式会社 LSI メディエンス

これら 3 社での全国を対象とした検便の結果を集計した。

1-3. 全国および宮城県を対象とした急性下痢症に関する電話住民調査

宮城県を対象とした急性下痢症に関する

冬期電話住民調査（2006 年 11 月 22 日～12 月 4 日、約 1 万人）および夏期電話住民調査（2007 年 7 月 14 日～7 月 27 日、約 1 万 2 千人）、全国を対象とした急性下痢症に関する冬期電話住民調査（2009 年 12 月 5 日～12 月 24 日、全国約 1 万 2000 人）および 2 回の夏期電話住民調査（2014 年 7 月 11 日～8 月 3 日、全国約 1 万 3 千人、2016 年 7 月 22 日～8 月 23 日、全国約 2 万 3 千人）が行われ（表 1）、その結果は適宜報告されているが、ここでは以下に概略を示しておく。

電話調査は全て共通の質問票および手順にて行った。全国および宮城県内の一般家庭をランダムに選択し、バイアスを減少させるため家庭内で次に誕生日が来る予定の人に対して調査を行った。調査時点から過去 1 カ月以内に血便、24 時間以内に 3 回以上の下痢、もしくは嘔吐があったという有症者条件を満たし、かつ慢性胃腸疾患、飲酒、投薬、妊娠等の除外条件がなかった人を有症者とした。

2. データ集計・解析

検査機関からの病原菌検出データおよび電話調査からのデータは Microsoft Excel を利用してコンピューターファイルに入力した。検査機関データの個人情報提供された時点で既に切り離されており、提供データから個人を特定することはできない。電話調査データは人数だけのデータであり個人情報は含まれていない。電話調査データは全国または地域の年齢人口分布にもとづき補正し、集計後に確率分布として推定モデルに導入した。推定モデルは @RISK ソフトウェア (Palaside 社) 上にて作成し、

1万回の試行を行った。

3. 宮城県における食品由来下痢症患者数の推定

宮城県における菌種ごとの食品由来下痢症疾患被害推定のために、上記検査機関のデータから *Campylobacter*、*Salmonella* の2菌の検出数を抽出した。協力検査機関ではこれら2菌に関しては、全ての検体で検査を行なっている。検出数に対し、検査機関の住民カバー率による補正を行い、その結果を医療機関における受診者の検便実施率、および下痢症患者の医療機関受診率の推定値とともに推定モデルに導入することで宮城県での各菌による推定患者数を算出した。検査機関の住民カバー率は検査機関からの情報により2機関あわせて52%と推定した。

検査機関菌検出データは2019年1～12月の新規データと2005年1月～2018年12月までの14年分の既報告データを用いた。

検査機関における陽性検体からの菌検出率は100%と仮定した。さらに米国における研究(P. Mead et al., 1999)で、食品由来感染の割合を *Campylobacter* は80%、*Salmonella* は95%であるとそれぞれ推定していることから、これらの値を用いて宮城県における各菌の食品由来下痢症患者数を推定した。

4. 宮城県についての推定結果から全国における食品由来下痢症患者数の推定

宮城県についての推定値より、全国での当該菌による食品由来下痢症患者の発生率が宮城県での発生率と同じであると仮定し

た時の全国の当該菌による食品由来下痢症患者数を推定した。このために総務省統計局のWebページに掲載されている人口統計データ(2010年)を用いた。

5. 全国についての検出数データから全国での食品由来下痢症患者数の推定

全国での菌種ごとの食品由来下痢症疾患被害推定のために、全国を対象としている民間検査機関3社の検査データから、*Campylobacter*、*Salmonella* の2菌の検出数を抽出し、菌ごとに年間の検出数を求めた。これに対し、検査機関の住民カバー率による補正を行い、その結果を下痢症患者の医療機関受診率および医療機関における受診者の検便実施率の推定値とともに推定モデルに導入することで各菌による推定患者数を算出した。

2010～2019年については3社(ミロクメディカルラボラトリー、ビー・エム・エル、LSIメディエンス)、2009年については2社(ビー・エム・エル、LSIメディエンス)、2006～2008年については1社(ビー・エム・エル)の検出数データを使用した。

各検査機関の住民カバー率は、各検査機関の腸管出血性大腸菌(EHEC)(2009年および2010年のLSIメディエンス)もしくはEHEC O157(ミロクメディカルラボラトリー、ビー・エム・エル、2011年以降のLSIメディエンス)の検出数を厚生労働省への全国届出数と比較することによりそれぞれの年度ごとに推定した(表4)。

医療機関受診率および検便実施率としては、全国を対象として夏期に2回実施された電話住民調査(2014年7～8月、2016

年 7～8 月) および冬期に実施された電話住民調査(2009 年 12 月)のデータを統合し、その解析により得られた各推定値(図 1、2)を用いた。

各検査機関における陽性検体からの菌検出率は 100%と仮定した。さらに宮城県の場合と同様、Mead らの推定値を用いて全国における各菌の食品由来下痢症患者数を推定した。

C. 研究結果

1. 宮城県における 2019 年の *Campylobacter*、*Salmonella* 検出数

食品由来下痢症の被害実態推定の対象菌種として選定されている *Campylobacter*、*Salmonella* について宮城県の 2 検査機関における検出状況を表 2 にまとめた。

Campylobacter の 2019 年の検出数は 310 件で、月ごとの検出数は 7 月が 44 件と最も多く、次いで 10 月の 36 件、8 月の 33 件、3 月の 31 件、9 月の 29 件、12 月の 27 件の順であった。

Salmonella の 2019 年の検出数は 48 件で、8 月の 12 件、3 月の 8 件、7 月の 6 件、4 月の 5 件の順に多く検出された。

2. 食品由来下痢症疾患実患者数の推定

2-1. 宮城県でのアクティブサーベイランスデータからの食品由来下痢症疾患実患者数の推定

Campylobacter、*Salmonella* の 2 菌に関して、食品由来下痢症疾患の実患者数の推定を図 3 の考え方に沿って実施した。

2-1-1. 宮城県における年間菌検出数の推定

宮城県における食品由来下痢症の実患者数の把握に向けて、宮城県医師会健康センターおよび宮城県塩釜医師会臨床検査センターでの菌検出データを使用して推定を行った。

2005 年の菌検出数は両センターを合わせて、*Campylobacter* が 562 件、*Salmonella* が 78 件であった。2006 年は *Campylobacter* が 550 件、*Salmonella* が 46 件、2007 年は *Campylobacter* が 538 件、*Salmonella* が 46 件、2008 年は *Campylobacter* が 468 件、*Salmonella* が 56 件、2009 年は *Campylobacter* が 339 件、*Salmonella* が 33 件、2010 年は *Campylobacter* が 354 件、*Salmonella* が 51 件、2011 年は *Campylobacter* が 324 件、*Salmonella* が 23 件、2012 年は *Campylobacter* が 262 件、*Salmonella* が 30 件、2013 年は *Campylobacter* が 226 件、*Salmonella* が 33 件、2014 年は *Campylobacter* が 252 件、*Salmonella* が 43 件、2015 年は *Campylobacter* が 271 件、*Salmonella* が 41 件、2016 年は *Campylobacter* が 282 件、*Salmonella* が 42 件、2017 年は *Campylobacter* が 336 件、*Salmonella* が 40 件、2018 年は *Campylobacter* が 315 件、*Salmonella* が 64 件、2019 年は *Campylobacter* が 310 件、*Salmonella* が 48 件であった(表 2、2005～2018 年については報告済み)。

協力検査機関はあわせて宮城県の人口の約 52%をカバーしているとの検査機関からの情報により、宮城県全体での各菌の検出数を、2005 年は *Campylobacter* が 1,081

件、*Salmonella* が 150 件、2006 年はそれぞれ 1,058 件、88 件、2007 年はそれぞれ 1,035 件、88 件、2008 年はそれぞれ 900 件、108 件、2009 年はそれぞれ 652 件、63 件、2010 年はそれぞれ 681 件、98 件、2011 年はそれぞれ 623 件、44 件、2012 年はそれぞれ 504 件、58 件、2013 年はそれぞれ 435 件、63 件、2014 年はそれぞれ 485 件、83 件、8 件、2015 年はそれぞれ 521 件、79 件、2016 年はそれぞれ 542 件、81 件、2017 年はそれぞれ 646 件、77 件、2018 年はそれぞれ 606 件、123 件、2019 年はそれぞれ 596 件、92 件であると推定した。

2-1-2. 宮城県での有症者の医療機関受診率の推定

今回用いた推定値は、2006 年と 2007 年の 2 回の電話住民調査の結果にもとづいて既に得られているものである。以下に当該電話住民調査の結果について説明する。

宮城県における電話住民調査では 2006 年冬期 2,126 件、2007 年夏期 2,121 件の有効回答が得られた（有効回答率はそれぞれ 21.2%、17.7%）。下痢症疾患の有病率は冬期が 3.3%（70/2,126 人）、夏期が 3.5%（74/2,121 人）であった（表 1）。

冬期調査では有症者数 70 人のうち医療機関受診者数は 27 人であり、夏期調査では有症者数 74 人のうち医療機関受診者数は 23 人であった（表 1）。これらのデータを宮城県の人口年齢分布で補正した後に統合し、ベータ分布を仮定してモデルに導入した結果、医療機関受診率の平均値は 32.0%であった。

2-1-3. 宮城県での医療機関受診者の検便実施率の推定

今回用いた推定値は、2006、2007 年の 2 回の電話住民調査の結果にもとづいて既に得られているものである。

上記電話住民調査において、2006 年冬期調査では下痢症による医療機関受診者数は 27 人、うち検便実施者数は 4 人、2007 年夏期調査では医療機関受診者数は 23 人、うち検便実施者数は 2 人であった（表 1）。これらのデータを人口年齢分布で補正した後に統合し、ベータ分布を仮定してモデルに導入したところ、検便実施率の平均値は 10.9%であった。

2-1-4. 宮城県における下痢症疾患による実患者数の推定

上述の係数を用いて推定した宮城県における下痢症疾患による実患者数の平均値は、*Campylobacter* が年別に 37,019（2005）、36,238（2006）、35,437（2007）、30,786（2008）、26,272（2009）、23,291（2010）、21,331（2011）、17,256（2012）、14,878（2013）、16,600（2014）、17,835（2015）、18,548（2016）、22,130（2017）、20,738（2018）、20,412（2019）人であった。*Salmonella* は 5,134（2005）、3,028（2006）、3,028（2007）、3,690（2008）、2,169（2009）、3,358（2010）、1,515（2011）、1,973（2012）、2,174（2013）、2,831（2014）、2,698（2015）、2,765（2016）、2,634（2017）、4,213（2018）、3,161（2019）人と推定された（表 2）。

宮城県（人口 236 万人）の人口 10 万人あたりの下痢症疾患実患者数として表すと、*Campylobacter* は 1,569（2005）、1,536（2006）、1,502（2007）、1,305（2008）、

1,113 (2009)、987 (2010)、904 (2011)、731 (2012)、630 (2013)、703 (2014)、755 (2015)、786 (2016)、938 (2017)、879 (2018)、865 (2019) 人、*Salmonella* は人口 10 万人あたり 218 (2005)、128 (2006)、128 (2007)、156 (2008)、92 (2009)、142 (2010)、64 (2011)、84 (2012)、92 (2013)、120 (2014)、114 (2015)、117 (2016)、112 (2017)、179 (2018)、134 (2019) 人とそれぞれ推定された (表 2)。

2-1-5. 宮城県における食品由来下痢症実患者数の推定とその食中毒患者報告数との比較

上記で推定された下痢症実患者数にはヒト-ヒト感染、動物との接触感染等、食品由来ではないものを原因とする被害が多く含まれており、食品由来感染の患者数の把握には更なる推定が必要である。米国の Mead らの研究では菌種ごとに食品由来感染の割合を *Campylobacter* は 80%、*Salmonella* は 95%と推定しており、ここではこれらの値を用いて食品由来下痢症実患者数の推定を行った。その結果、食品由来下痢症実患者数は年別に、*Campylobacter* が 29,615 (2005)、28,990 (2006)、28,350 (2007)、24,629 (2008)、21,018 (2009)、18,633 (2010)、17,065 (2011)、13,805 (2012)、11,902 (2013)、13,280 (2014)、14,268 (2015)、14,838 (2016)、17,704 (2017)、16,591 (2018)、16,329 (2019) 人、*Salmonella* が 4,877 (2005)、2,877 (2006)、2,877 (2007)、3,506 (2008)、2,061 (2009)、3,190 (2010)、1,439 (2011)、1,874 (2012)、2,065 (2013)、

2,689 (2014)、2,563 (2015)、2,627 (2016)、2,503 (2017)、4,003 (2018)、3,003 (2019) 人と推定された (表 2)。

宮城県における食中毒患者報告数は年別に、*Campylobacter* が 143 (2005)、109 (2006)、32 (2007)、33 (2008)、9 (2009)、25 (2010)、9 (2011)、52 (2012)、8 (2013)、32 (2014)、5 (2015)、7 (2016)、19 (2017)、5 (2018)、3 (2019) 人、*Salmonella* が 12 (2005)、11 (2006)、25 (2007)、0 (2008)、23 (2009)、13 (2010)、0 (2011)、12 (2012)、0 (2013)、0 (2014)、0 (2015)、0 (2016)、0 (2017)、7 (2018)、10 (2019) 人であった (表 2)。

2-1-6. 全国を対象とした 2016 年夏、2014 年夏および 2009 年冬の電話住民調査の結果の概要

2016 年夏、2014 年夏および 2009 年冬に全国を対象に行われた電話住民調査の結果は既に報告されているが、ここでは再度、以下に概要を記載する (表 1)。

2016 年 7 月 22 日～8 月 23 日、2014 年 7 月 11 日～8 月 3 日、2009 年 12 月 5 日～12 月 24 日のそれぞれ約 3 週間に全国約 2 万 3 千人、約 1 万 3 千人、約 1 万 2 千人を対象として下痢症に関する電話住民調査が行われた。有効回答率は 2016 年調査が 13.3% (3,020 件)、2014 年調査が 15.2% (2,039 件)、2009 年調査が 16.9% (2,077 件) であった。

下痢症有症者数はそれぞれ 96 人 (2016)、90 人 (2014)、77 人 (2009) で、従って下痢症有病率はそれぞれ 3.2%、4.4%、3.7% であった。

2-1-7. 宮城県についての推定値を用いた全国の食品由来下痢症実患者数の推定およびその全国の食中毒患者報告数との比較
上述するように、宮城県における2006、2007年の電話住民調査と、2009、2014、2016年の全国における電話住民調査とで下痢症有病率が全国の方が宮城県より概ね高い結果が得られた(表1)ことから、宮城県の推定値から人口比で全国の推定値を算出しても過大推定にはならないと考えられた。そこで、宮城県における推定食品由来患者数(表2)に、宮城県と全国の人口比を乗ずることで全国推定を行った(表3)。

全国における下痢症の推定食品由来患者数は年別に、*Campylobacter*が1,603,178(2005)、1,569,344(2006)、1,534,698(2007)、1,333,266(2008)、1,137,788(2009)、1,008,678(2010)、923,796(2011)、747,320(2012)、644,303(2013)、718,899(2014)、772,384(2015)、803,240(2016)、958,388(2017)、898,137(2018)、883,954(2019)人、*Salmonella*が264,011(2005)、155,743(2006)、155,743(2007)、189,794(2008)、111,570(2009)、172,687(2010)、77,899(2011)、101,447(2012)、111,787(2013)、145,566(2014)、138,745(2015)、142,210(2016)、135,497(2017)、216,698(2018)、162,564(2019)人とそれぞれ推定された(表3)。

全国の食中毒患者報告数は年別に、*Campylobacter*が3,439(2005)、2,297(2006)、2,396(2007)、3,071(2008)、2,206(2009)、2,092(2010)、2,341(2011)、1,834(2012)、1,551(2013)、1,893(2014)、2,089(2015)、3,272(2016)、2,315(2017)、1,995(2018)、1,937(2019)人、*Salmonella*

が3,700(2005)、2,053(2006)、3,603(2007)、2,551(2008)、1,518(2009)、2,476(2010)、3,068(2011)、670(2012)、861(2013)、440(2014)、1,918(2015)、704(2016)、1,183(2017)、640(2018)、476(2019)人であった(表3)。

2-2. 全国についてのアクティブサーベイランスデータからの全国の食品由来下痢症疾患実患者数の推定

2-2-1. 各民間検査機関の住民カバー率の推定

全国の食品由来下痢症の実患者数把握に向けて、民間検査機関3社の菌検出データをもとに推定を行った。

住民カバー率は、可能な限りEHEC O157検出数を使用して推定した。LSIメディアエンスの2009年および2010年のデータについては、EHEC O157の検出数データが得られなかったためこれらの年のカバー率はEHECの検出数に依った。

2019~2010年は3社合計のカバー率とし、2019年は22.3%、2018年は23.8%、2017年は25.9%、2016年は19.1%、2015年は19.7%、2014年は20.9%、2013年は21.0%、2012年は20.4%、2011年は15.7%、2010年は15.8%が得られた。2009年はビー・エム・エルとLSIメディアエンスの2社合計で14.4%であった。2006~2008年についてはビー・エム・エル1社の各年のカバー率(2006年は8.5%、2007年は7.1%、2008年は10.0%)を使用した(表4、2006~2018年については報告済み)。

2-2-2. 全国における年間菌検出数の推

定

民間検査機関における 2006 年（1 社）の菌検出数は、*Campylobacter* が 10,144 件、*Salmonella* が 1,888 件、2007 年（1 社）は *Campylobacter* が 10,962 件、*Salmonella* が 1,886 件、2008 年（1 社）は *Campylobacter* が 12,934 件、*Salmonella* が 1,894 件、2009 年（2 社）は *Campylobacter* が 14,057 件、*Salmonella* が 2,059 件、2010 年（3 社）は *Campylobacter* が 15,401 件、*Salmonella* が 2,434 件、2011 年（3 社）は *Campylobacter* が 14,950 件、*Salmonella* が 2,705 件、2012 年（3 社）は *Campylobacter* が 12,794 件、*Salmonella* が 2,258 件、2013 年（3 社）は *Campylobacter* が 13,947 件、*Salmonella* が 2,324 件、2014 年（3 社）は *Campylobacter* が 16,762 件、*Salmonella* が 2,726 件、2015 年（3 社）は *Campylobacter* が 18,164 件、*Salmonella* が 2,728 件、2016 年（3 社）は *Campylobacter* が 18,547 件、*Salmonella* が 2,689 件、2017 年（3 社）は *Campylobacter* が 19,844 件、*Salmonella* が 3,090 件、2018 年（3 社）は *Campylobacter* が 19,565 件、*Salmonella* が 3,103 件、2019 年（3 社）は *Campylobacter* が 17,404 件、*Salmonella* が 3,089 件であった（表 5、2006～2018 年については報告済み）。

これらの検出数と各社の各年の推定カバー率を用いて、全国における年間菌検出数を推定した。その結果、全国での各菌の検出数は、2006 年は *Campylobacter* が 119,341 件、*Salmonella* が 22,212 件、2007

年はそれぞれ 154,423 件、26,563 件、2008 年はそれぞれ 129,340 件、18,940 件、2009 年はそれぞれ 97,618 件、14,299 件、2010 年はそれぞれ 97,475 件、15,405 件、2011 年はそれぞれ 95,223 件、17,229 件、2012 年はそれぞれ 62,716 件、11,069 件、2013 年はそれぞれ 66,414 件、11,067 件、2014 年はそれぞれ 80,201 件、13,043 件、2015 年はそれぞれ 92,203 件、13,848 件、2016 年はそれぞれ 97,105 件、14,079 件、2017 年はそれぞれ 76,618 件、11,931 件、2018 年はそれぞれ 82,206 件、13,038 件、2019 年はそれぞれ 78,045 件、13,852 件、と推定された。

2-2-3. 全国における食品由来下痢症疾患実患者数の推定

全国を対象とした下痢症に関する電話住民調査は 2009 年冬、2014 年夏、および 2016 年夏の計 3 回行われている（表 1）。これらのデータを全国の人口年齢分布で補正後、統合し、ベータ分布を仮定してモデルに導入し、全国の有症者の医療機関受診率および受診者の検便実施率を推定した。その結果、医療機関受診率は 25.5%、検便実施率は 4.8%と推定されている（図 1、2）。これらを用いて、全国における下痢症疾患の実患者数を推定した。

推定された実患者数の平均値は、*Campylobacter* では年別に 13,084,001（2006）、16,939,998（2007）、14,198,429（2008）、10,707,971（2009）、10,687,320（2010）、10,443,399（2011）、6,880,816（2012）、7,286,661（2013）、8,796,321（2014）、10,108,930（2015）、10,641,732（2016）、8,399,758（2017）、9,015,508

(2018)、8,558,803 (2019) 人であった。*Salmonella* では 2,435,193 (2006)、2,914,508 (2007)、2,079,158 (2008)、1,568,451 (2009)、1,689,042 (2010)、1,889,592 (2011)、1,212,503 (2012)、1,213,198 (2013)、1,430,543 (2014)、1,518,232 (2015)、1,542,870 (2016)、1,307,965 (2017)、1,429,855 (2018)、1,519,084 (2019) 人であった。

宮城県についての推定の場合 (2-1-5 参照) と同様に Mead らの結果を適用することにより、全国における下痢症の食品由来実患者数は年別に、*Campylobacter* では 10,463,071 (2006)、13,543,466 (2007)、11,339,146 (2008)、8,559,932 (2009)、8,549,830 (2010)、8,342,000 (2011)、5,498,827 (2012)、5,828,531 (2013)、7,039,646 (2014)、8,080,859 (2015)、8,512,871 (2016)、6,721,577 (2017)、7,212,407 (2018)、6,847,043 (2019) 人であった。*Salmonella* では 2,312,520 (2006)、2,767,039 (2007)、1,971,792 (2008)、1,488,907 (2009)、1,604,585 (2010)、1,792,379 (2011)、1,152,448 (2012)、1,153,315 (2013)、1,359,516 (2014)、1,441,199 (2015)、1,465,638 (2016)、1,242,894 (2017)、1,358,363 (2018)、1,443,130 (2019) 人であった (表 5)。

日本全国 (人口 1 億 2777 万人) の人口 10 万人あたりの食品由来患者数は、*Campylobacter* が 8,206 (2006)、10,622 (2007)、8,893 (2008)、6,714 (2009)、6,706 (2010)、6,543 (2011)、4,313 (2012)、4,571 (2013)、5,521 (2014)、6,338 (2015)、6,677 (2016)、5,272 (2017)、5,657 (2018)、

5,370 (2019) 人、*Salmonella* が 1,814 (2006)、2,170 (2007)、1,547 (2008)、1,168 (2009)、1,259 (2010)、1,406 (2011)、904 (2012)、905 (2013)、1,066 (2014)、1,130 (2015)、1,150 (2016)、975 (2017)、1,065 (2018)、1,132 (2019) 人とそれぞれ推定された (表 5)。

なお表 5 には 2006～2019 年の *Campylobacter*、*Salmonella* の全国食中毒患者報告数も示してある。

D. 考察

宮城県の臨床検査機関のデータからの食品由来下痢症疾患実患者数の推定では、2005～2019 年の 15 年間を通じて、推定食品由来下痢症患者数は食中毒統計や病原微生物検出情報での報告数より大幅に多いことが確認された。また推定食品由来下痢症患者数と食中毒患者報告数の経年変化が互いに連動しているとは必ずしも言えないことから、現行の食中毒および病原微生物に関する報告システムによって食品由来下痢症の実患者数を正確に把握し、経年変動等を評価することは困難であることが示唆された。より正確な患者数を把握するための補完システムとしてアクティブサーベイランスシステムの構築およびその活用が必要であり、そのアクティブサーベイランスシステムにおいて最も重要なことは継続性であると考えられた。

2011 年からは全国を対象としている民間検査機関 3 社 (年によって社数は異なる) から 2006 年以降の全国の菌検出データを収集し、これをもとに全国の食品由来下痢症疾患実患者数の推定も行っている。宮城

県の場合と同様、2006～2019年の調査期間を通じて推定食品由来下痢症患者数は食中毒統計や病原微生物検出情報での報告数より大幅に多いことが確認された。また14年間の推定結果を検討した結果、宮城県の場合と同様、推定食品由来下痢症患者数と食中毒患者報告数の経年変化は互いに連動しているとは言えないことが確認された。

全国データからの全国食品由来下痢症推定患者数は、宮城県データからの人口比による全国推定結果と比較して、*Campylobacter*では6.7～10.6倍、*Salmonella*では9.2～23.0倍の違いがあった(表6)。宮城県と全国とで下痢症疾患有病率に大きな差は認められない(表1)ことから、この違いはそれぞれの推定に用いた検査機関住民カバー率、医療機関受診率、検便実施率などにより生じたと考えられる。住民カバー率の推定方法は、宮城県の検査機関と全国を対象とする民間検査機関とで異なっている(前者は専門家の意見、後者はEHEC O157やEHECの検出数)。また受診率、検便率の推定は、宮城県の場合、2006年と2007年に行われた電話住民調査の結果にもとづいており、これに対し全国の場合は2009年、2014年、2016年に行われた調査にもとづいている。2006～7年と2009～2014年さらには2019年との間に有症者の医療機関受診行動や医師の検便実施行動に変化が起きている可能性も考えられる。以上のような種々の係数の全国と宮城県における違いが、推定結果の違いをもたらしている可能性がある。

今回の食品由来下痢症患者数推定において、宮城県の検査機関については専門家からの情報で住民カバー率を推定した。しか

し専門家の情報には不確定な要素が含まれている可能性がある。宮城県の検査機関の住民カバー率の推定にEHEC検出数による手法を試みたが検出数が少ないためにカバー率の年ごとのばらつきが大きくなり、推定に用いるのは現実的ではないと考えられた。全国を対象とした民間検査機関の場合はEHEC O157(またはEHEC)の検出数が宮城県の場合より大幅に多いため、推定結果の年ごとのばらつきは宮城県の場合より小さいと考えられる。しかし特定地域においてEHEC O157(またはEHEC)による大規模アウトブレイクが発生した場合はカバー率の推定に影響が出るということが予想されることに注意が必要である。複数年にわたるアクティブサーベイランスによりカバー率を把握することでその影響を少なくすることが可能であると考えられ、今後も継続したアクティブサーベイランスが必要である。

本研究では食品由来下痢症の患者数は米国における研究成果を適用し、各菌の食品由来感染の割合をカンピロバクターは80%、サルモネラは95%と仮定して推定したが、米国と日本の食習慣の違い等から、今回適用した値が妥当であるかは今後の検討課題である。日本においては米国と比較して生食が多いことから、日本における上記2菌の食品由来感染の割合は米国よりも高い可能性がある。

食中毒に対する各種対策等の検討およびその効果の評価を行なうためには継続した定量的な実患者数の把握が必要であり、本研究での推定値は不確実性が大きい要素等が含まれた推定値ではあるものの、実患者数の幅を科学的に推定することができ、そ

の推定結果から、実患者数が報告数より大幅に多い可能性が定量的、かつ多年度について示すことができた点が重要であると考ええる。

E. 結論

宮城県および全国におけるアクティブサーベイランスを複数年について行うことで、下痢症患者の菌検出データを継続して収集し、下痢症発生実態の概略およびその動向の把握が可能となった。

宮城県の臨床検査機関での *Campylobacter*, *Salmonella* の年間検出数、検査機関の住民カバー率、医療機関における検便実施率、医療機関受診率等の各種データを組み合わせることで、宮城県内での上記2菌に起因する食品由来下痢症患者数の推定を行い、さらにこれより全国の食品由来下痢症の患者数を全国と宮城県の人口比を用いて推定し、それらの結果を宮城県および全国の食中毒患者報告数とそれぞれ比較した(表2、3)。その結果、食中毒患者報告数よりも大幅に多くの患者が存在している可能性が示唆された。全国レベルで、*Campylobacter* では約250~680倍、*Salmonella* では約25~330倍の患者が存在している可能性が考えられた。

2016年は2015年に比べ *Salmonella* の全国食中毒患者報告数が急減しているにもかかわらず、推定食品由来患者数は宮城県からの推定および全国からの推定のどちらも大きく変化していなかった(表6)。これは2015年の *Salmonella* の報告事例の急増はアウトブレイク等の地域的な偏りがあるものに由来することを示唆し、全体の変動を検討する上で、そのような事例から大き

な影響を受けることの少ない本研究のような全国的な長期的アクティブサーベイランスの重要性が示されたと考えられる。また、15年間の各菌の推定患者数と報告患者数の経年変化は互いに連動しているとは言えず、食中毒統計の報告数だけで実患者数の変動を把握することは難しいことが示唆された。

14年間(2006~2019年)の全国レベルのアクティブサーベイランスデータから同様に上記2菌に起因する全国の食品由来下痢症実患者数を推定し全国の食中毒患者報告数と比較したところ、*Campylobacter* では約2,600~5,600倍、*Salmonella* では約580~3,000倍の患者が存在している可能性が示された。宮城県データからの全国推定と比較した場合は5.4~23倍程度の違いであった(表6)。2019年は2018年と比較して、全国データから推定した *Campylobacter* の推定食品由来患者数は若干減少していたのに対し、食中毒報告患者数の変動はほとんどなく、連動していなかった。また全国データから推定した *Salmonella* の食品由来患者数は2018年に比べ2019年は増加しており、全国の食中毒患者報告数の減少動向と連動していなかった。

今後も異なる規模や地域のデータからの推定結果を比較することで、年ごとの推定値の検証等に活用することが可能であると考えられる。さらに宮城県以外の地域でもアクティブサーベイランスを行い、宮城県推定や全国推定と比較することによって地域性等の検討がより詳細に可能になると考えられる。また全国データについての住民カバー率のより詳細な推定、全国でのより

大規模な電話住民調査による医療機関受診率および検便実施率の推定等により精度を向上させることも考えられる。

これらの結果から平常時から散発事例等を含めたデータ収集を継続して行うアクティブサーベイランスシステムの有効性およびその必要性が強調された。このようなサーベイランスシステムでは、菌の検出のみならず、下痢症発生率（有病率）、医療機関受診率および検便実施率等の情報も継続して調査を行なうことでアウトブレイク等の特殊事例の影響を最小限にすることができ、より現実に即した実態把握が可能となることが示唆される。また継続調査により各項目の動向把握が可能となり、緊急事例の早期発見につながる可能性がある。菌検出件数を把握する検査機関データは、報告率等の不確定要素が少なく、推定を行う上でより直接的なデータであると考えられる。全国の商品由来下痢症実患者数のより正確な把握と地域性等の把握のために、より拡大したアクティブサーベイランスを行なうこと、および各不確定要素の推定の精度向上を図っていくことが今後の検討課題である。

引用文献：

Mead, P. S., L. Slutsker, V. Dietz, L. F. McCaig, J. S. Bresee, C. Shapiro, P. M. Griffin, and R. V. Tauxe.
Food-related illness and death in the United States.
Emerging Infectious Diseases, 5:607–625.
1999.

F. 研究発表

1. 論文発表

2. 学会発表

G. 知的財産権の出願・登録状況
特になし

表 1. 全国における電話住民調査（2009年冬、2014年夏、2016年夏）
と宮城県における電話住民調査（2006年冬および2007年夏）の結果
（全て人口年齢分布補正前のデータ）

	2009年冬(全国)	2014年夏(全国)	2016年夏(全国)
合計コール数	12,265件	13,396件	22,682件
有効コール数 (有効回答率)	2,077件(16.9%)	2,039件(15.2%)	3,020件(13.3%)
有症者数(有病率)	77人(3.7%)	90人(4.4%)	96人(3.2%)
医療機関受診者数 (受診率)	23人(29.9%)	17人(18.9%)	17人(17.7%)
検便実施者数 (検便実施率)	2人(8.7%)	0人(-)	2人(11.8%)

	2006年冬(宮城県)	2007年夏(宮城県)
合計コール数	10,021件	11,965件
有効コール数 (有効回答率)	2,126件(21.2%)	2,121件(17.7%)
有症者数(有病率)	70人(3.3%)	74人(3.5%)
医療機関受診者数 (受診率)	27人(38.6%)	23人(31.1%)
検便実施者数 (検便実施率)	4人(14.8%)	2人(8.0%)

表2. 宮城県における食品由来下痢症疾患の患者数推定結果とその食中毒患者報告数との比較（2005～2019年、シミュレーション試行回数：1万回、宮城県人口:236万人）

検出菌	年	※ ¹ 検出数	推定患者数(宮城県) 【平均値】	推定患者数(宮城県) 【10万人あたり】	※ ² 推定食品由来患者数 (宮城県)	※ ³ 食中毒患者報告数 (宮城県)
カンピロバクタ	2005	562	37,019	1,569	29,615	143
	2006	550	36,238	1,536	28,990	109
	2007	538	35,437	1,502	28,350	32
	2008	468	30,786	1,305	24,629	33
	2009	339	26,272	1,113	21,018	9
	2010	354	23,291	987	18,633	25
	2011	324	21,331	904	17,065	9
	2012	262	17,256	731	13,805	52
	2013	226	14,878	630	11,902	8
	2014	252	16,600	703	13,280	32
	2015	271	17,835	755	14,268	5
	2016	282	18,548	786	14,838	7
	2017	336	22,130	938	17,704	19
	2018	315	20,738	879	16,591	5
2019	310	20,412	865	16,329	3	
サルモネラ	2005	78	5,134	218	4,877	12
	2006	46	3,028	128	2,877	11
	2007	46	3,028	128	2,877	25
	2008	56	3,690	156	3,506	0
	2009	33	2,169	92	2,061	23
	2010	51	3,358	142	3,190	13
	2011	23	1,515	64	1,439	0
	2012	30	1,973	84	1,874	12
	2013	33	2,174	92	2,065	0
	2014	43	2,831	120	2,689	0
	2015	41	2,698	114	2,563	0
	2016	42	2,765	117	2,627	0
	2017	40	2,634	112	2,503	0
	2018	64	4,213	179	4,003	7
2018	48	3,161	134	3,003	10	

※¹ 宮城県医師会健康センターおよび塩釜医師会臨床検査センターにおける検出数

※² 米国での胃腸炎疾患における食品由来感染の割合（カンピロバクター80%、サルモネラ95%）を用いて算出（Mead et al. 1999）

※³ 食中毒患者報告数（宮城県）（厚生労働省食中毒統計、平成17～令和元年食中毒発生状況）

表3. 宮城県データからの全国の食品由来下痢症実患者数の推定とその食中毒患者報告数との比較 (2005～2019年、日本全国人口：1億2777万人)

検出菌	年	推定食品由来患者数 (全国)	※食中毒患者報告数 (全国)
カンピロバクター	2005	1,603,178	3,439
	2006	1,569,344	2,297
	2007	1,534,698	2,396
	2008	1,333,266	3,071
	2009	1,137,788	2,206
	2010	1,008,678	2,092
	2011	923,796	2,341
	2012	747,320	1,834
	2013	644,303	1,551
	2014	718,899	1,893
	2015	772,384	2,089
	2016	803,240	3,272
	2017	958,388	2,315
	2018	898,137	1,995
	2019	883,954	1,937
サルモネラ	2005	264,011	3,700
	2006	155,743	2,053
	2007	155,743	3,603
	2008	189,794	2,551
	2009	111,570	1,518
	2010	172,687	2,476
	2011	77,899	3,068
	2012	101,447	670
	2013	111,787	861
	2014	145,566	440
	2015	138,745	1,918
	2016	142,210	704
	2017	135,497	1,183
	2018	216,698	640
	2019	162,564	476

(宮城県データ：宮城県医師会健康センターおよび塩釜医師会臨床検査センターにおける菌検出数)

※ 食中毒患者報告数 (全国)

(厚生労働省食中毒統計資料、平成17～令和元年食中毒発生状況)

表 4. 全国を対象とした民間検査機関の住民カバー率の推定 (2006～2019 年)



表5. 全国についてのアクティブサーベイランスデータからの全国の商品由来下痢症疾患の実患者数推定とその食中毒患者報告数との比較（2006～2019年、シミュレーション試行回数：1万回、日本全国人口：1億2777万人）

検出菌	年	※ ¹ 検出数	※ ² 推定食品由来患者数(全国)【平均値】	※ ³ 食中毒患者報告数(全国)	推定食品由来患者数(10万人あたり)【平均値】
カンピロバクター	2006	10,144	10,463,071	2,297	8,206
	2007	10,962	13,543,466	2,396	10,622
	2008	12,934	11,339,146	3,071	8,893
	2009	14,057	8,559,932	2,206	6,714
	2010	15,401	8,549,830	2,092	6,706
	2011	14,950	8,342,000	2,341	6,543
	2012	12,794	5,498,827	1,834	4,313
	2013	13,947	5,828,531	1,551	4,571
	2014	16,762	7,039,646	1,893	5,521
	2015	18,164	8,080,859	2,089	6,338
	2016	18,547	8,512,871	3,272	6,677
	2017	19,844	6,721,577	2,315	5,272
	2018	19,565	7,212,407	1,995	5,657
	2019	17,404	6,847,043	1,937	5,370
サルモネラ	2006	1,888	2,312,520	2,053	1,814
	2007	1,886	2,767,039	3,603	2,170
	2008	1,894	1,971,792	2,551	1,547
	2009	2,059	1,488,907	1,518	1,168
	2010	2,434	1,604,585	2,476	1,259
	2011	2,705	1,792,379	3,068	1,406
	2012	2,258	1,152,448	670	904
	2013	2,324	1,153,315	861	905
	2014	2,726	1,359,516	440	1,066
	2015	2,728	1,441,199	1,918	1,130
	2016	2,689	1,465,638	704	1,150
	2017	3,090	1,242,894	1,183	975
	2018	3,103	1,358,363	640	1,065
	2019	3,089	1,443,130	476	1,132

※¹ 菌検出数：下記の民間検査機関の検出データを合計した。2010～2019年：3社（株式会社ミロクメディカルラボラトリー、株式会社ビー・エム・エル、株式会社LSIメディエンス）、2009年：2社（株式会社ビー・エム・エル、株式会社LSIメディエンス）、2006～2008年：1社（株式会社ビー・エム・エル）

※² 米国の胃腸炎疾患における食品由来感染の割合（カンピロバクター80%、サルモネラ95%）を用いて算出（Mead et al. 1999）

※³ 食中毒患者報告数（全国）（厚生労働省食中毒統計、平成18～令和元年食中毒発生状況）

表6. 宮城県および全国についてのアクティブサーベイランスデータからの全国の食品由来下痢症実患者数の推定（2006～2019年、シミュレーション試行回数：1万回）

検出菌	年	宮城県データからの推定 【平均値】	全国データからの推定 【平均値】	※食中毒患者報告数 (全国)
カンピロバクター	2006	1,569,344	10,463,071	2,297
	2007	1,534,698	13,543,466	2,396
	2008	1,333,266	11,339,146	3,071
	2009	1,137,788	8,559,932	2,206
	2010	1,008,678	8,549,830	2,092
	2011	923,796	8,342,000	2,341
	2012	787,320	5,498,827	1,834
	2013	644,303	5,828,531	1,551
	2014	718,899	7,039,646	1,893
	2015	772,384	8,080,859	2,089
	2016	803,240	8,512,871	3,272
	2017	958,388	6,721,577	2,315
	2018	898,137	7,212,407	1,995
2019	883,954	6,847,043	1,937	
サルモネラ	2006	155,743	2,312,520	2,053
	2007	155,743	2,767,039	3,603
	2008	189,794	1,971,792	2,551
	2009	111,570	1,488,907	1,518
	2010	172,687	1,604,585	2,476
	2011	77,899	1,792,379	3,068
	2012	101,447	1,152,448	670
	2013	111,787	1,153,315	861
	2014	145,566	1,359,516	440
	2015	138,745	1,441,199	1,918
	2016	142,210	1,465,638	704
	2017	135,497	1,242,894	1,183
	2018	216,698	1,358,363	640
2019	162,564	1,443,130	476	

・宮城県データ（2006～2019年）：

宮城県医師会健康センターおよび塩釜医師会臨床検査センターにおける検出数

・全国データ：

2010～2019年：3社（株式会社ミロクメディカルラボラトリー、株式会社ビー・エム・エル、株式会社LSIメディエンス）

2009年：2社（株式会社ビー・エム・エル、株式会社LSIメディエンス）

2006～2008年：1社（株式会社ビー・エム・エル）

※食中毒患者報告数（全国）（厚生労働省食中毒統計、平成18～令和元年食中毒発生状況）

図1：2009年冬期、2014年夏期、2016年夏期の電話調査結果の統合データから推定した医療機関受診率（試行1万回）

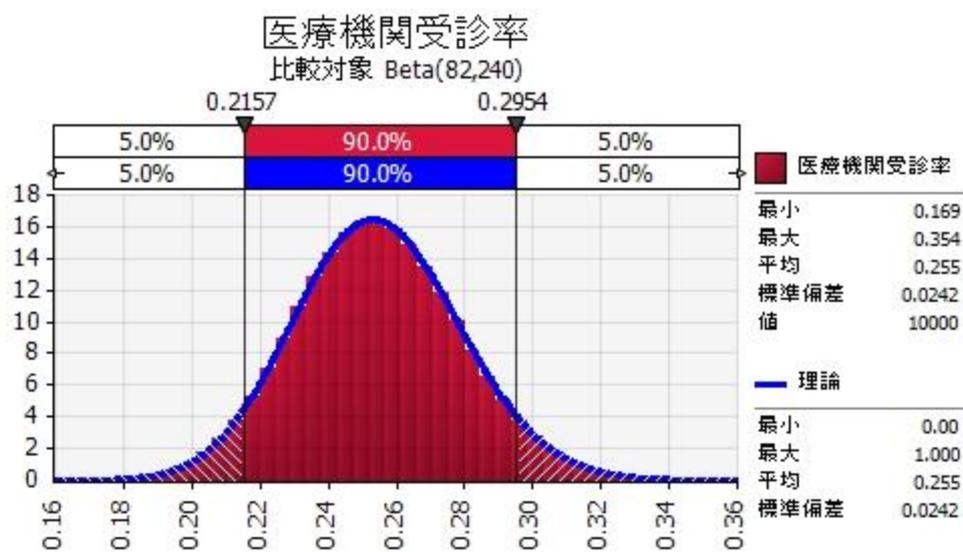


図2：2009年冬期、2014年夏期、2016年夏期の電話調査結果の統合データから推定した検便検査実施率（試行1万回）

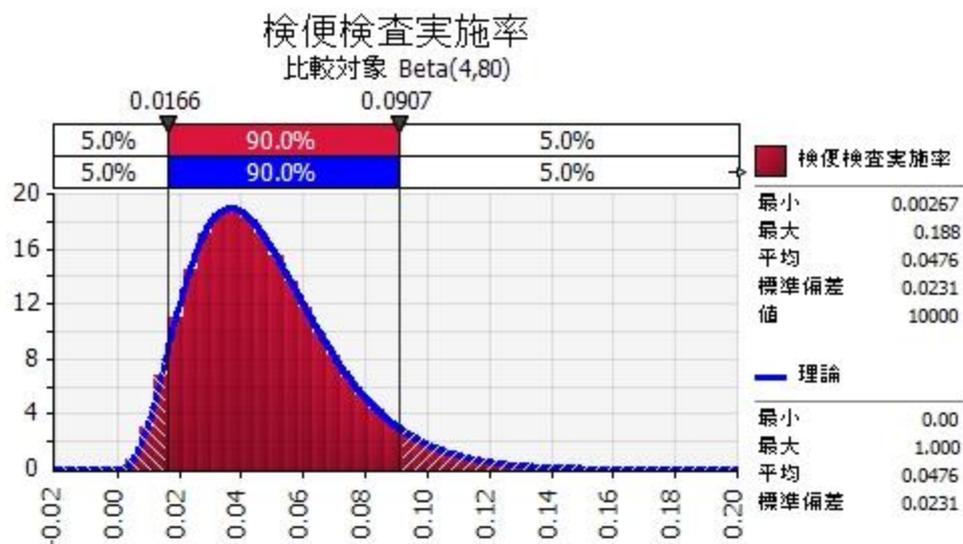
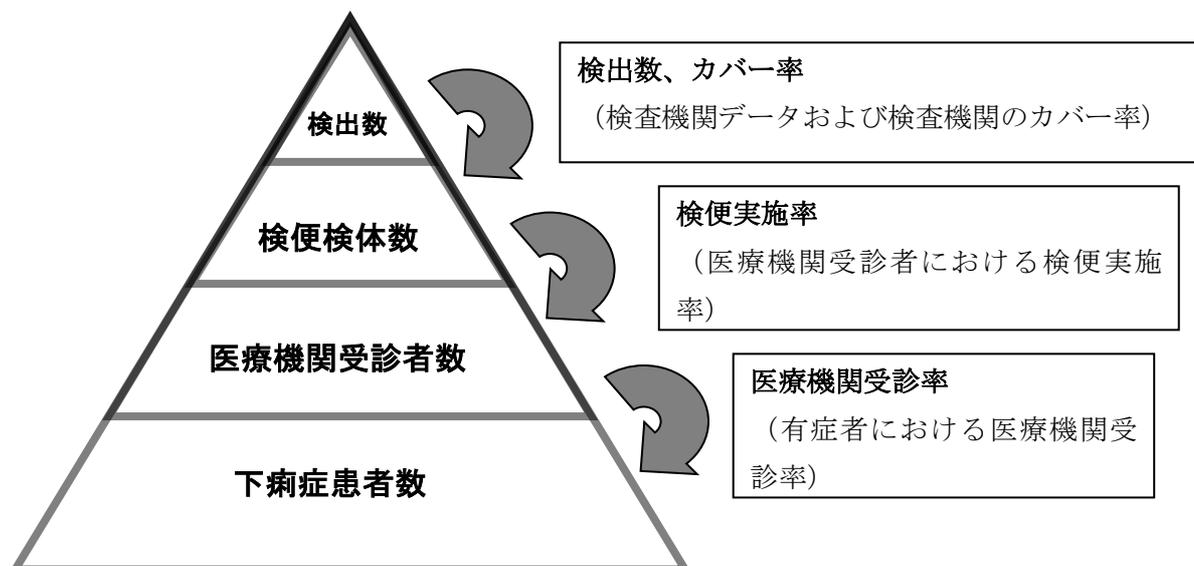


図3. 下痢症疾患の実患者数の把握

(各段階における不確定要素を検討、積算することで検出数から実被害推定を行う)



III. 研究成果の刊行に関する一覧表

研究成果の刊行に関する一覧表

雑誌

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻	ページ	出版年
朝倉 宏	食肉・食鳥肉製品のハザードとその管理	保健医療科学	70	100-106.	2021
Kumagai Y, Pires SM, Kubota K, <u>Asakura H.</u>	Attributing human foodborne diseases to food sources and water in Japan using analysis of outbreak surveillance data.	J. Food Prot.	83	2087-94.	2020
Yamamoto S, Kitagawa W, Nakano M, <u>Asakura H.</u> , Iwabuchi E, Sone T, Asano K.	Plasmid sequences of four large plasmids carrying antimicrobial resistance genes in <i>Escherichia coli</i> strains isolated from beef cattle in Japan.	Microbiol Resour Announc.	9	e00219-20.	2020
<u>Asakura H.</u> , Nakayama T, Yamamoto S, Izawa K, Kawase J, Torii Y, Murakami S.	Long-term grow-out affects <i>Campylobacter jejuni</i> colonization fitness in coincidence with altered microbiota and lipid composition in the cecum of laying hens.	Front. Vet. Sci.	-	In press	2021

令和3年 3 月 29 日

厚生労働大臣
—(国立医薬品食品衛生研究所長)— 殿
—(国立保健医療科学院長)—

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 合田 幸広 印



次の職員の令和2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 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 (20KA1002)
- 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3年 3 月 29 日

厚生労働大臣
—(国立医薬品食品衛生研究所長)— 殿
—(国立保健医療科学院長)—

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 合田 幸広 印



次の職員の令和2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 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 (20KA1002)
- 3. 研究者名 (所属部局・職名) 衛生微生物部・第二室室長
(氏名・フリガナ) 大屋 賢司 (オオヤ ケンジ)

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。

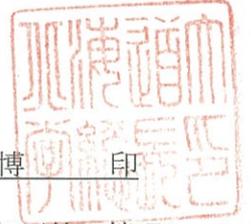
令和3年2月12日

厚生労働大臣
(国立医薬品食品衛生研究所長) 殿
(国立保健医療科学院長)

機関名 北海道大学

所属研究機関長 職名 総長

氏名 寶金清博 印



次の職員の令和2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 食品の安全確保推進研究事業
- 研究課題名 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
- 研究者名 (所属部局・職名) 大学院農学研究院・教授
(氏名・フリガナ) 小関 成樹・コセキ シゲノブ

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3年4月13日

厚生労働大臣
~~(国立医薬品食品衛生研究所長)~~ 殿
~~(国立保健医療科学院長)~~

機関名 国立大学法人鹿児島大学

所属研究機関長 職名 学長

氏名 佐野 輝 印



次の職員の令和2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 食品の安全確保推進研究事業
- 研究課題名 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
- 研究者名 (所属部局・職名) 農水産獣医学域獣医学系・教授
(氏名・フリガナ) 中馬猛久・チュウマ タケヒサ

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3年4月12日

厚生労働大臣
~~(国立医薬品食品衛生研究所長)~~ 殿
~~(国立保健医療科学院長)~~

機関名 麻布大学

所属研究機関長 職名 学長

氏名 浅利 昌男 印



次の職員の令和2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 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 (20KA1002)

3. 研究者名 (所属部局・職名) 麻布大学 獣医学部 教授

(氏名・フリガナ) モリタ ユキオ 森田 幸雄

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。

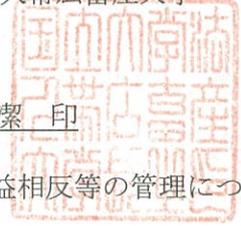
令和3年3月29日

厚生労働大臣
~~(国立医薬品食品衛生研究所長)~~ 殿
~~(国立保健医療科学院長)~~

機関名 国立大学法人帯広畜産大学

所属研究機関長 職名 学長

氏名 奥田 潔 印



次の職員の令和2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 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 (20KA1002)
- 研究者名 (所属部局・職名) 獣医学研究部門・准教授
(氏名・フリガナ) 廣井 豊子 (ヒロイ トヨコ)

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。

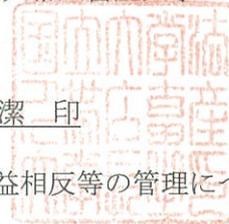
令和3年3月29日

厚生労働大臣
~~(国立医薬品食品衛生研究所長)~~ 殿
~~(国立保健医療科学院長)~~

機関名 国立大学法人帯広畜産大学

所属研究機関長 職名 学長

氏名 奥田 潔 印



次の職員の令和2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 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 (20KA1002)
- 研究者名 (所属部局・職名) 動物・食品検査診断センター・准教授
(氏名・フリガナ) 山崎 栄樹 (ヤマサキ エイキ)

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。