

令和3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

枝肉に付着する異物による微生物汚染実態調査

分担研究者	森田幸雄	麻布大学獣医学部
研究協力者	塚本真由美、苅谷俊宏、山崎翔矢、小畑 麗、向島幸司、村瀬繁樹	岐阜県飛騨食肉衛生検査所
	岡谷友三	麻布大学獣医学部
	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：ゼロトレランス検証の有用性を確認するため、と畜検査員による枝肉検査・検証時に確認された獣毛5検体、糞便8検体、消化管内容物6検体、レールダスト5検体、フットカッターの汚れ5検体、その他、肉眼で判別できないもの2検体の異物が付着した枝肉表面を採取し、肉眼及び実体顕微鏡による色調及び質感を観察し、識別を行うと共に、一般細菌数、腸内細菌科菌群数、菌叢解析を実施した。一般細菌数は獣毛付着部位では  $3.28 \pm 1.23 \log \text{CFU}/\text{cm}^2$ 、糞便付着部位では  $4.37 \pm 1.83 \log \text{CFU}/\text{cm}^2$ 、消化管内容物付着部位では  $4.20 \pm 0.90 \log \text{CFU}/\text{cm}^2$ 、レールダスト付着部位では  $1.05 \pm 0.58 \log \text{CFU}/\text{cm}^2$ 、フットカッター汚れ付着部位では  $1.70 \pm 0.23 \log \text{CFU}/\text{cm}^2$  であった。腸内細菌科菌群数は、獣毛付着部位では  $1.40 \pm 0.73 \log \text{CFU}/\text{cm}^2$ 、糞便付着部位では  $2.22 \pm 0.93 \log \text{CFU}/\text{cm}^2$ 、消化管内容物付着部位では  $2.12 \pm 1.35 \log \text{CFU}/\text{cm}^2$  となり、レールダスト及びフットカッター汚れ付着部位は全検体で検出限界値 ( $0.49 \log \text{CFU}/\text{cm}^2$ ) 未満であった。一般細菌数、腸内細菌科菌群数ともに、獣毛、糞便及び消化管内容物の各付着部位間に有意差は認められなかったが、獣毛、糞便及び消化管内容物の各付着部位に比べ、レールダスト及びフットカッター汚れ付着部位は有意に低値を示した。糞便・消化管内容物付着部位では *Firmicute* 門が優勢となる検体が多かったが、*Proteteobacteria* 門は獣毛付着部位とフットカッター汚れ付着部位で優勢となる等、異物毎に含まれる細菌構成に差異が認められた。以上の結果は、対米輸出用枝肉に対して求められるゼロトレランス検証の科学的意義を国内のと畜場で示した初めての報告であるほか、米国では求められていない獣毛についても、枝肉表面に付着していた場合は、トリミングすることの重要性を示すことができた。

## A. 研究目的

「アメリカ合衆国向け輸出食肉の取扱要綱（令和2年4月1日財務大臣・厚生労働大臣・農林水産大臣決定別紙）」により、以前から対米牛肉輸出施設はゼロトレランス検証（目視できる糞便、消化管内容物、乳房内容物に汚染されていないこと

を検証すること）を実施している。さらに、「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 生食発0528第1号）」においても、ゼロトレランス検証が明記されており臨場すると畜検査の際に、と畜検査員は計画的にゼロトレランス検証を実施している。

枝肉に付着している異物は、糞便、消化管内容物、乳房内容物に加え、獣毛、レールダスト等様々である。そこで、危害分析の一助とするとともに、検証技術の向上を目的として、岐阜県飛騨食肉衛生検査所が所管する輸出食肉認定施設(以下、「GI-1」と略)でと畜・解体処理され、整形・トリミングから最終洗浄前の枝肉に付着する異物の肉眼像及び実体顕微鏡像を調査した。また、これら異物について微生物検査および菌叢解析を実施したので報告する。

## B. 研究方法

令和3年4月から8月まで、GI-1のトリミング工程、枝肉検査工程及び検査所の枝肉検証時に確認された異物(獣毛5検体、糞便8検体、消化管内容物6検体、レールダスト5検体、フットカッターの汚れ5検体、その他(肉眼で判別できないもの)2検体)が付着した肉表面を採取し、肉眼及び実体顕微鏡で、色調及び質感を観察し、写真撮影を実施した。

異物が付着した部位を2×2 cm<sup>2</sup>切り取り、PBSを25mL加え、60秒ホモジナイズしたものを試料原液とした。試料原液及び適宜段階希釈した希釈液1mLを、3MペトリフィルムACプレート及びEBプレート2枚ずつに接種した。ACプレートは35±1℃ 48±3時間、EBプレートは37±1℃ 24±2時間培養した。培養後、各プレート上の典型集落を測定し、試料1 cm<sup>2</sup>あたりの菌数を算出した。試料原液を接種した2枚のペトリフィルムの両方で集落が認められなかった検体の菌数は0.5 CFU/cm<sup>2</sup>として計算し、この値を検出限界とした。5検体以上採取できたものについては、対数平均値±標準偏差 Log CFU/cm<sup>2</sup>を求めた。

各異物の菌数の差については、表計算ソフトのExcel(Microsoft社)でF検定を実施後、t検定で有意差( $p<0.05$ )を求めた。

各異物については菌叢解析を実施した。

## C. 研究結果

枝肉に付着の認められた獣毛5検体、糞便8検体、消化管内容物6検体、レールダスト5検体、フットカッターの汚れ5検体、その他(肉眼で判別できないもの)2検体について、肉眼及び実体顕微鏡で、色調ならびに質感を観察した。

獣毛は、黒く、長さや本数は様々で、肉眼でも容易に判別できた。糞便及び消化管内容物は、どちらも黄又は褐色で、繊維質の異物を含むものからそうでないものまで様々であった。レールダストは、色調が灰色で、薄い乾質の異物で、長さ、幅共に2~3mm程度のものが多かった。フットカッター汚れは、後肢切断面に付着しており、色調が黒く、一見糞便のように見えた。その他の異物は、レールダストと潤滑油が混ざったもの(以下、「その他1」と推察されるものや背割り屑の中に繊維質の消化管内容物又は糞便と推察されるもの(以下、「その他2」)が認められた。

以上の異物付着の認められた枝肉表面部位を切除し、微生物試験に供した。結果として、一般細菌数は、獣毛付着部位(以下、「付着部位」を略)は $3.28 \pm 1.23 \log \text{CFU/cm}^2$ 、糞便は $4.37 \pm 1.83 \log \text{CFU/cm}^2$ 、消化管内容物は $4.20 \pm 0.90 \log \text{CFU/cm}^2$ 、レールダストは $1.05 \pm 0.58 \log \text{CFU/cm}^2$ 、フットカッター汚れは $1.70 \pm 0.23 \log \text{CFU/cm}^2$ であった(図1)。獣毛、糞便及び消化管内容物のそれぞれの間には差はなかった( $p<0.05$ )。また、獣毛、糞便及び消化管内容物に比べて、レールダスト及びフットカッター汚れは低値( $p<0.05$ )であった。レールダストとフットカッターの間には差はなかった( $p<0.05$ )。その他1は $2.26 \log \text{CFU/cm}^2$ 、その他2は $5.73 \log \text{CFU/cm}^2$ であった。

腸内細菌科菌群数は、獣毛は $1.40 \pm 0.73 \log \text{CFU/cm}^2$ 、糞便は $2.22 \pm 0.93 \log \text{CFU/cm}^2$ 、消化管内容物は $2.12 \pm 1.35 \log \text{CFU/cm}^2$ 、レールダスト及びフットカッター汚れは全検体において検出限界値( $0.49 \log \text{CFU/cm}^2$ )未満であった(図2)。獣毛、糞便及び消化管内容物のそれぞれの間には差は認められなかった( $p<0.05$ )。また、獣毛、糞便及

び消化管内容物に比べて、レールダスト及びフットカッター汚れは低値( $p < 0.05$ )であった。その他 1 は検出限界値以下、その他 2 は  $3.22 \log \text{CFU}/\text{cm}^2$  であった。

菌叢解析を通じ、糞便と消化管内容物は *Firmicutes* 門が優勢な検体が多く、*Proteobacteria* 門は獣毛付着部位とフットカッター汚れで多く認められる等、異物ごとに違いが認められた。なお、その他 1 は *Bacteroidetes* 門が多く独特の菌叢を示したほか、その他 2 は *Proteobacteria* 門が多く獣毛やフットカッターと類似性を示した。

#### D. 考察

飛騨食肉衛生検査所では、アメリカ合衆国向け輸出食肉の取扱要綱により、外部検証微生物検査（以下、「外部検証」と略）として、枝肉のふき取りによるサルモネラ属菌検査、トリム肉の腸管出血性大腸菌検査に加え、対 EU 輸出食肉の取扱要領に従い、令和 2 年 5 月から洗浄後（冷蔵庫搬入前）の牛枝肉から剥ぎ取り法により衛生指標菌（一般細菌数及び腸内細菌科菌群数）定量試験を実施している。これまでの結果において、サルモネラ属菌、腸管出血性大腸菌及び評価基準を上回る衛生指標菌の検出はされていない。しかし、GI-1 の枝肉検査工程では、獣毛、糞便及び消化管内容物はほぼ毎日のように確認され、獣毛についてはほぼ全頭付着している。

本調査において、一般細菌数及び腸内細菌科菌群数は、獣毛、糞便及び消化管内容物それぞれの間で差がなく、同等の汚染があることが細菌学的に示された。当所の外部検証として令和 3 年 4 月から 8 月に実施した衛生指標菌定量試験結果（一般細菌数の平均値 ( $1.69 \pm 0.49 \log \text{CFU}/\text{cm}^2$ )、腸内細菌科菌群数の平均値 ( $0.62 \pm 0.12 \log \text{CFU}/\text{cm}^2$ )）と比較すると、高値であった。このことは、各作業工程において異物が付着し、確実なトリミングが不十分であるものの、GI-1 の枝肉検査にて適切に除去されていることを示唆するものと思われる。

た。

レールダスト及びフットカッター汚れは、両者とも腸内細菌科菌群数は検出限界値以下であり、一般細菌数は差がなかった。これらについて、当所の外部検証の結果と比較すると、フットカッターの汚れは同等、レールダストは低値( $p < 0.05$ )であったことから、最終洗浄後の枝肉の微生物汚染状況にただちに影響をあたえるものではないと考えられる。しかし、フットカッター汚れの付着はフットカッターの洗浄不足を示唆するものであり、この状態では、消毒時の消毒効果も低下することが考えられ、枝肉への汚れの付着が細菌数の増加につながる可能性がある。また、フットカッター汚れは後肢切断面のトリミングしにくい部分に付着していることから、付着させないことが重要であると思われる。

肉眼で糞便及び消化管内容物と判別できない異物においても、実体顕微鏡像において、糞便または消化管内容物に似た繊維質の異物が認められ、腸内細菌科菌群も検出された。これは、糞便又は消化管内容物による汚染を示唆するものである。枝肉に付着する異物については明らかな糞便及び消化管内容物等でなくてもそれらの汚染の可能性があるのでから確実に除去すべきであると思われる。

GI-1 では、各工程において、枝肉をよく観察し、糞便、消化管内容物及び乳房内容物に加え、獣毛等の異物の付着が認められた場合もトリミングをすることとしている。これまで、作業手順等の微生物学的な検証は、最終洗浄後のふき取り検査又は剥ぎ取り検査で実施しているのみであった。本調査では、異物ごとの汚染状況について、画像とともに微生物学的データを解析し、ゼロトレランスが大変重要であることを示すことができた。

#### E. 結論

ゼロトレランス検証に示されている糞便、消化管内容物及びゼロトレランス検証でしめされていない獣毛からは一般細菌数、腸内細菌科菌群数

が検出されるが、各々の統計学的に有意差が無いこと。レールダストやフットカッターの汚れに比べて糞便、消化管内容物、獣毛の一般細菌数、腸内細菌科菌群数は統計学的に有意に高いことが判明した。よって、ゼロトレランス検証に加え、獣毛についても、体表に付着していた場合は、トリミングすることが必要であると思われた。

## **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) 塚本真由美、苅谷俊宏、山崎翔矢、小畑 麗、向島幸司、村瀬繁樹、令和3年度食肉及び食鳥肉衛生研究発表会、令和4年1月15日～31日、厚生労働省（東京都千代田区）、一般演題（Web）、「枝肉に付着する異物による微生物汚染実態調査」

## **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

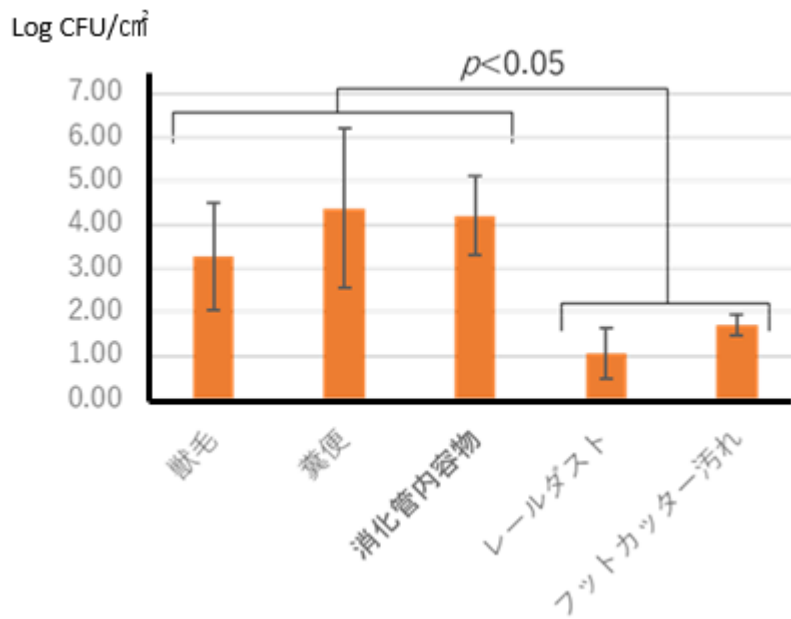


図1 各付着物の一般細菌数 (対数平均値±標準偏差 log CFU/cm<sup>2</sup>)

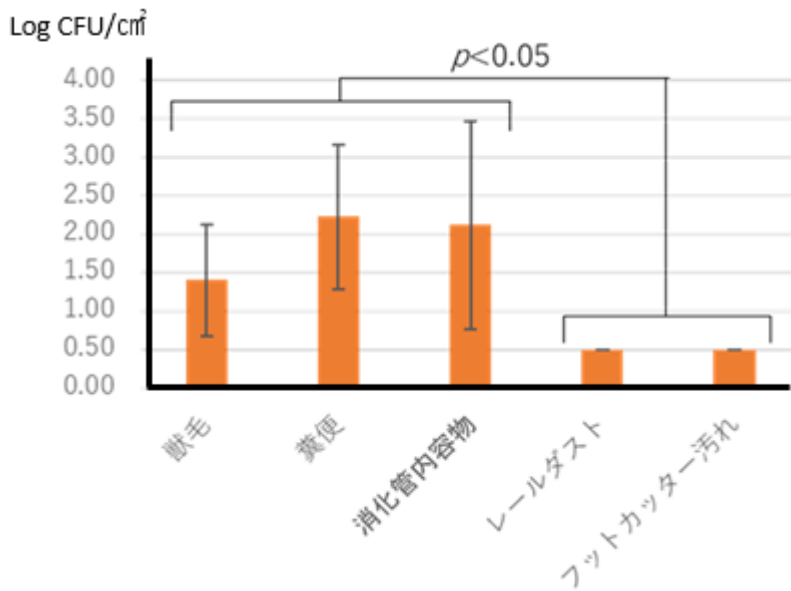


図2 各付着物の腸内細菌科菌群数 (対数平均値±標準偏差 log CFU/cm<sup>2</sup>)



令和3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

生産農家ごとの和牛体表の志賀毒素産生性大腸菌 O157・O26 汚染状況

分担研究者	森田幸雄	麻布大学獣医学部
研究協力者	山崎翔矢、池田晃、松岡和代、小畑麗、苅谷俊宏、向島幸司、 塚本真由美、村瀬繁樹	岐阜県飛騨食肉衛生検査所
	岡谷友三	麻布大学獣医学部

研究要旨：米国向け輸出食肉の取扱要綱に従い、食肉処理施設において製造される冷蔵トリミング肉を検体とした志賀毒素産生性大腸菌（STEC）検査のロットの設定を試みた。5月から10月に月ごとに1日を定め、JA 飛騨ミートに搬入された全ての黒毛和種牛について、生体の体表（肛門周囲）をスポンジで拭取り検査に供した。農場ごとに1検体とし、72農家のべ185検体341頭を実施した。リアルタイムPCR法をスクリーニング検査としたところ、VT遺伝子は185検体中184検体（99%）、O157遺伝子は122検体中77検体（63%）、O26遺伝子は35検体（29%）が陽性となった。細菌分離検査で陽性となったのはO157が185検体中15検体（8.1%）、O26は5検体（2.7%）であった。1検体からはO157及びO26の両集落が検出されたものは、スクリーニング検査でも陽性であった。72農家中17農家がSTEC陽性で、2回以上検体を採取した農家は52農家であり、2回陽性となった農家は2農家、陽性1回の農家は13農家であった。と畜日ごとに農家から搬入される牛のSTEC保有状況は異なっていることから、現時点でのSTEC検査のロット設定は「同一農家かつ同一と畜解体作業日の枝肉群を1ロットとする」ことが妥当であると思われる。

## A. 研究目的

飛騨ミート農業協同組合連合会（以下「JA 飛騨ミート」と略）では、2022(令和4)年1月1日現在、米国、EU等、計14か国・地域の牛肉の輸出認定を受け、各国・地域へ輸出を行っている。岐阜県飛騨食肉衛生検査所(以下「検査所」と略)は、それらの対象国・地域の輸出条件となる衛生管理等の検証を実施している。

2018(平成30)年7月10日、厚生労働省は、米国農務省食品安全局（以下「FSIS」と略）からの要請を受け、食肉処理施設において製造される冷蔵トリミング肉を検体とした志賀毒素産生性大腸菌（以下「STEC」と略）検査の実施をアメリカ合衆国向け輸出食肉の取扱要綱に定めた。これにより、食肉衛生検査所は2019(平成31)年1月か

ら、またJA 飛騨ミートは同年2月からSTEC検査を開始した。

FSISのガイドライン[1]により、と畜解体より前の段階に着目した製品のロットの設定が求められる。厚生労働省は、農家単位で製品のロットを設定する方法を一例を事務連絡[2]で示した。この設定は当面の間、論文等の既存データの活用が可能とされており、JA 飛騨ミートは、検査所と協議の上、農林水産省のデータ[3-5]を活用し、「同一農家かつ同一と畜解体作業日の枝肉群を1ロットと設定する」こととしてきた。

しかし、既存データの活用は当面の間ということもあり、農家ごとのSTEC保有状況の把握が求められる。現在、JA 飛騨ミートに牛を出荷する農家数は100を超えており、STEC O157、O26、O45、

O103、O111、O121 及び O145 の保有状況の全容を把握するには、相当の労力と経費が必要となる。

2021 年度までの調査研究において、農家及びと畜日ごとの STEC 保有状況を把握するには、検出されやすい STEC O157 に絞り、体表拭取りを農家ごとに 1 検体となるように行うことが非常に効率的であることを確認した[6-7]。

よって、2021(令和 3)年度は、採材すると畜日に係留された全ての牛について体表の拭取りを行い、農家ごとに 1 検体とし STEC・O157・O26 について、リアルタイム PCR 装置(Thermal Cycler Dice® Real Time System III:タカラバイオ社)を用いた検査および細菌検査を実施し、スクリーニング検査としてリアルタイム PCR の有用性と STEC・O157・O26 保菌状況を調査した。

## B. 研究方法

2021(令和 3)年 5 月 25 日、6 月 15 日、7 月 8 日、8 月 5 日、9 月 2 日、10 月 14 日に JA 飛騨ミートに搬入された全ての牛について、生体の体表(肛門周囲)をスポンジで拭取り、農場ごとに 1 検体とした。拭取り採取実施農家は 72 農家のべ 185 検体 341 頭である(表 1)。

検体をノボピオシン加 mEC 培地で  $41 \pm 1^\circ\text{C}$ 、18~24 時間増菌培養し、NucleoSpin® Tissue(マッハライ・ナーゲル)を用いて DNA 抽出を行った。それを CycleavePCR O-157 (VT gene) Screening Kit Ver. 2.0(タカラバイオ)を用いて、Thermal Cycler Dice® Real Time System III により、VT (*stx*) 遺伝子のスクリーニング検査を実施した。これに加え、7 月からは CycleavePCR™ EHEC (O157/O26) Typing Kit (タカラバイオ)を用いて、O157 及び O26 遺伝子のスクリーニング検査を実施した。

全検体の増菌培養液を CT-クロモアガー STEC 培地にて培養後、典型的コロニーを 3~5 個釣菌し、純培養を行った。その後、確認検査として生化学的性状試験と血清型別試験を実施し、両者とも陽性のものについて、DNA の熱抽出を実施し、病原因子遺伝子 (*stx*、*eae*) 検査を実施した。

## C. 研究結果

スクリーニング検査結果において VT 遺伝子は 185 検体中 184 検体 (99.5%)、O157 遺伝子は 122 検体中 77 検体 (63.1%)、O26 遺伝子は 35 検体 (29%) が陽性となった。また、確認検査で陽性となったのは O157 が 185 検体中 15 検体

(8.1%)、O26 は 5 検体 (2.7%) であった。1 検体からは O157 及び O26 の両集落が検出された。確認検査で陽性となったものは、スクリーニング検査でも陽性となっていた(表 2)。

STEC 陽性となった農家は、72 農家中 17 農家 (22.1%) であった。2 回以上検体を採取した農家は 52 農家であり、2 回陽性となった農家は 2 農家、陽性 1 回の農家は 13 農家であった。農家 B は 6 回連続陰性であったが、農家 BO は 2 回中 2 回陽性となった。1 回採取農家は 20 農家で、そのうち陽性となったのは 2 農家であった。牛の STEC 陽性率は複数頭で 1 検体のものもあるため差があるが、O157 は 341 頭中 15~23 頭陽性 (4.4~6.7%)、O26 は 5~7 頭陽性 (1.5~2.1%) となった(表 3)。

## D. 考察

JA 飛騨ミートの体表の拭取り検体の O157 の陽性率は 8.1% (15/185 検体)、O26 の陽性率は 2.7% (5/185 検体) であった。別途、本調査期間と同じ時期に実施した盲腸内容物から分離した STEC 検査では、STEC の分離率は 16.7% (15/90 検体)、STEC O157 の分離率は 15.6% (14/90 検体)、STEC O26 の分離率は 1.1% (1/90 検体) であった。黒毛和種牛の体表の STEC O157 の拭取り検査結果 (8.1%) と別途実施した盲腸内容物の検査結果 (15.6%) の有意差は認められなかった。体表の STEC O26 の拭取り検査結果 (2.7%) と盲腸内容物の検査結果 (1.1%) の有意差は認められなかった。糞便中に保菌していると体表にも同様に付着していることが判明した。

拭取り検体と保菌率では異なるが、農林水産省の STEC O157 調査 (94 頭/500 頭 陽性率 18.8%) [6]、宮城県 (26~28 頭/224 頭 陽性率 11.6~12.5%) [9] に対し有意に低く、農林水産省 (16 頭/250 頭 陽性率 6.4%) [5]、島根県 (9 頭/100 頭 陽性率 9.0%) [10]、京都市 (11 頭/176 頭 陽性率 6.3%) [11]、群馬県 (3 頭/125 頭 陽性率 2.4%) [12] とは有意差が認められなかった。体表の STEC O157 の拭取り検査結果 (8.1% : 15/185 検体) と盲腸内容物の検査結果 (15.6% : 14/90 検体) の有意差は認められなかった ( $P=0.05919$ )。

STEC O26 も農林水産省 (1 頭/250 頭又は 5 頭/500 頭 陽性率 0.4% 又は 1%) [4,5]、宮城県 (8 頭/261 頭 陽性率 3.1%) [13] と有意差はなく、どちらも他の行政機関との差を判断できるような結果は得られなかった。体表の STEC O26 の拭



取り検査結果(2.7% : 5/185 検体)と盲腸内容物の検査結果(1.1% : 1/90 検体)の有意差は認められなかった( $P=0.4655$ )。

農家ごとの保有率の違いは、6ヶ月連続で陰性の農家 B、4回のうち2回陽性の農家 A、2回中2回連続陽性になった農家 BO といった農家もあることから、保有状況は農家ごとに異なっていることが判明した。また、陽性となった農家も採取した月によっては陰性となること、農家 B と農家 G は以前の調査で STEC が検出された農家であるが、今年度は全て陰性であったことから、と畜日により搬入される牛の STEC 保有状況も異なっていると考えられた。

一方、7月の農家 W と農家 AY、9月の農家 A、農家 X、農家 BJ は同じ運搬車で搬入されることが多い農家であり、係留所でも隣に繋がれていたことから、運搬車又は係留所での交差汚染の可能性を疑った。しかし、5月に農家 A は陽性であり、同じ運搬車での搬入が多い農家 X、農家 Z は陰性であったこと、10月に陽性であった農家 BO と同じ運搬車で搬入されている農家 C は陰性であったことから、運搬車内での交差汚染は頻度としては高くないと推測される。また、係留所での交差汚染が原因であるならば、陽性農家数はさらに多くなりうるため、この可能性も低いと考えられた。

以上のことから、現時点での STEC 検査のロット設定は「同一農家かつ同一と畜解体作業日の枝肉群を1ロットとする」ことが妥当であると考えられる。しかし、農家により採取回数の違いがあることから、今後もデータを蓄積していく必要がある。

今回、培養法で陽性となったものは、スクリーニング検査でも陽性となったものであり、導入した PCR 装置でスクリーニング検査陽性のものを菌分離したときと培養法で実施した場合とで、検出率の違いは無かった。来年度も同様の方法で行う場合は、コストと時間の面からも VT 遺伝子の PCR 検査を行わず、最初から O 抗原遺伝子検査をし、陽性であった検体のみ分離培養に進むのが効率的であると思われた。

搬入牛の STEC 保有状況調査は、米国からの要求により開始したが、JA 飛騨ミートの HACCP 計画において、STEC は重要な危害要因に位置付けており、保有状況の状態を確認していくことは、と畜場の衛生管理を行ってこなくても、極めて重要なデータとなる。より正確に保有状況等を把握していくためにも、今後も搬入牛の STEC 保有状況を引き続き調査することが必要と思われた。

- [1]FSIS: Compliance guideline for minimizing the risk of shiga toxin-producing *E. coli* (STEC) in raw beef (including veal) processing operations (2017 compliance guideline).
- [2]厚生労働省:対米輸出食肉を取り扱くと畜場等における腸管出血性大腸菌 O26、O45、O103、O111、O121、O145 及び O157 の管理プログラムに関する Q & A. (平成 31 年 1 月 24 日付け事務連絡)
- [3]農林水産省:肉用牛農場のシガ毒素産生性大腸菌保有状況調査,平成 19 年度
- [4]農林水産省:肉用牛農場及び乳用牛農場のシガ毒素産生性大腸菌保有状況調査,平成 22、23 年度)
- [5]農林水産省:肉用牛農場のシガ毒素産生性大腸菌保有状況調査,平成 24 年度
- [6]山崎翔矢、苅谷俊宏、塚本真由美、安江智雄、寺地真弓、小池史晃、小野寺仁、古内功二、下出敏樹、小林光士:令和 2 年度生産農家ごとの牛の志賀毒素産生性 O157 保有状況調査(飛騨食肉衛生検査所,令和 2 年度)
- [7]塚本真由美、池田晃、松岡和代、宮木乃里子、苅谷俊宏、藤村友希、河合邦育、西村知也、安江智雄:生産農家ごとの牛の志賀毒素産生性大腸菌保有実態調査の進め方の検討
- [8]市川祐輝、後藤郁男、建入茂樹、加藤潤、工藤剛:牛糞便及び体表の腸管出血性大腸菌 O157 の保菌率と定量 - 汚染の排除に向けて -, 宮城県 平成 26 年度調査研究(平成 26 年度) .
- [9]中村祥人、川瀬遵、菅美穂、藤田葉子、村上佳子、川上優太、田原研司、平田克:鳥根県内のと畜場搬入牛における腸管出血性大腸菌保有状況と分離株の分子疫学解析,日獣会誌. 69:101-106 (2016).
- [10]病理部門:京都市と畜場搬入牛における腸管出血性大腸菌(O157, O26, O111)の保菌状況について,京都市衛生公害研究所年報(2009)
- [11]井上伸子、福田二三男、長井章、井上ますお、信沢敏夫:群馬県の食肉処理場搬入牛における腸管出血性大腸菌保菌状況と分離株の性状,獣医畜産新報. 60: 137-140 (2007).
- [12]桜庭秀人、佐藤東、吉田繁成、漆畑英雄、阿部幸一、竹内重正:と畜牛からの志賀毒素産生性大腸菌分離,日獣会誌. 52: 445-449 (1999).

[13]齋藤直 小川修平 小野寺瑞穂 御代田恭子：  
H19 年度牛の腸管出血性大腸菌 O157・O26 の  
保有状況調査，宮城県 平成 19 年度調査研究  
(平成 19 年度)

## E. 結論

黒毛和種牛の体表における STEC O157 の拭取り検査結果(8.1%：15/185 検体)と別途実施した盲腸内容物検査結果(15.6%：14/90 検体)に有意差は認められなかった。体表の STEC O26 の拭取り検査結果(2.7%：5/185 検体)と盲腸内容物の検査結果(1.1%：1/90 検体)の有意差は認められなかった。黒毛和種牛の STEC 保有状況は農家ごと、そして、と畜日により搬入される牛の STEC 保有状況も異なっていた。現時点での STEC 検査のロット設定は「同一農家かつ同一と畜解体作業日の枝肉群を 1 ロットとする」ことが妥当であると考えられた。運搬の車両内や係留所内での交差汚染の可能性も低いと考えられた。スクリーニング検査のリアルタイム PCR 検査は VT 遺伝子ではなく、O 抗原遺伝子検査を実施し、陽性であった検体のみ分離培養に進むのが効率的であることが判明した。

## 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) 山崎翔矢、池田 晃、松岡和代、小畑 麗、  
苅谷俊宏、向島幸司、塚本真由美、村瀬繁樹  
令和 3 年度 岐阜県食肉衛生検査技術研修  
会、令和 4 年 3 月新型コロナウイルスの流行  
により書面開催、35 名、岐阜県中央食肉衛生  
検査所、「令和 3 年度生産農家ごとの牛の志  
賀毒素産生性 O157 保有状況調査」

## 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 各月ごとの検体数と検体頭数

項目	5月	6月	7月	8月	9月	10月	合計
検体数	31	32	35	25	28	34	185
検査頭数	57	52	64	54	50	64	341

表2 PCRスクリーニングおよび確認検査結果

調査月	検体数	PCRスクリーニング陽性検体数			確認検査陽性数	
		VT陽性	O157陽性	O26陽性	O157陽性	O26陽性
5月	31	31	未実施	未実施	0	2
6月	32	32	未実施	未実施	1	0
7月	35	35	24	14	4*	2*
8月	25	25	9	11	0	0
9月	28	28	26	7	5	1
10月	34	33	18	3	5	0
合計	185	184	77	35	15	5

\*:1 検体から O157 と O26 の両集落が分離

表3 月ごとの陽性結果および農家陽性率

農家	5月	6月	7月	8月	9月	10月	農家陽性率	農家	5月	6月	7月	8月	9月	10月	農家陽性率	農家	5月	6月	7月	8月	9月	10月	農家陽性率
A	<u>1</u>		1	1	①		50%	Y	1		1	1	1		0%	AW		1					0%
B	3	3	6	3	3	3	0%	Z	2					②	50%	AX		3					0%
C	2	2				2	0%	AA	2	2	3	2	②	2	17%	AY			①				100%
D	3				3		0%	AB	2					2	0%	AZ			1	1	1		0%
E	1				1		0%	AC	2		1	1		1	0%	BA			1		1	1	0%
F	2		2	1		2	0%	AD	2	3	2	3	2		0%	BB			3			2	0%
G	5		5	5	4		0%	AE	1	1					0%	BC			2	1		2	0%
H	2					①	50%	AF		2	2	3			0%	BD			2	2		1	0%
I	<u>1</u>		1		2	1	25%	AG		1			1		0%	BE			<u>2</u>		1		50%
J	1						0%	AH		1				2	0%	BF			1		1		0%
K	2						0%	AI		2	1			1	0%	BG			4	6	4	5	0%
L	3	1					0%	AJ		2		2			0%	BH			2		1	2	0%
M	2	1	1		1		0%	AK		1				1	0%	BI			<u>1</u>				100%
N	2	2	1		1		0%	AL		3					0%	BJ			1	2	②		33%
O	2	2	2			③	25%	AM		1	①	1			33%	BK			1	1			0%
P	4				4		0%	AN		1			1	1	0%	BL			1				0%
Q	2	1			3	1	0%	AO		1		1		1	0%	BM				1			0%
R	1						0%	AP		1	1		1		0%	BN				5			0%
S	1						0%	AQ		2	④	3	2		25%	BO					<u>1</u>	①	100%
T	1	1		1		1	0%	AR		4		5	5		0%	BP						2	0%
U	1					①	50%	AS		1					0%	BQ						4	0%
V	1	①	3			2	25%	AT		2					0%	BR						1	0%
W	1	1	①	1	1	1	17%	AU		1	2		2		0%	BS						4	0%
X	1		1	1	②	1	20%	AV		1					0%	BT						1	0%

数字は1検体として拭き取り取りした頭数を示し、○で囲ったものはO157陽性、斜字（下線付き）はO26陽性、○で囲い斜字（下線付き）の数字はO157及びO26両方陽性を示す。農家陽性率は農家ごとの陽性率（陽性検体数÷検体数×100）を示す。

令和3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

と畜場における外部検証プロトコールの妥当性評価に関する研究

研究分担者	大屋 賢司	国立医薬品食品衛生研究所
研究協力者	平本 裕子、里麻 美喜子	富山県食肉検査所
	土屋 健次、楓 龍治	岐阜県中央食肉検査衛生所
	岩城 多佳子	三重県松阪食肉衛生検査所

#### 研究要旨

豚・牛とたいにおける HACCP 外部検証プロトコールの妥当性を評価するために、北陸～東海地方の3食肉衛生検査所の協力を得て、外部検証用の枝肉切除検体及び同一個体（もしくは同一農場）の外皮拭き取り検体における衛生指標菌数及び病原体（サルモネラ属及び腸管出血性大腸菌（以下、STEC））の検出状況の関連性を検討した。サルモネラ属菌は豚と体切除検体からは分離されなかったほか、STECは外皮拭き取り1検体からのみ分離された。3施設での外皮拭き取り検体における病原性大腸菌関連遺伝子（*stx*及び*eae*）の陽性率はそれぞれ20.0%、6.7%、10.0%であったが、枝肉切除検体は全て陰性を示し、生体洗浄から剥皮工程、そしてその後の枝肉洗浄工程の重要性が示唆された。また、豚外皮拭き取り検体では、一般細菌数及び腸内細菌科菌群数共に検体毎のばらつきが大きく、工程管理のほか、拭き取り法による成績のばらつきが生じるおそれが改めて確認された。なお、牛と体については、豚と同様に、枝肉切除検体からサルモネラ属菌及びSTECは分離されなかったが、外皮拭き取り検体からは88.0%、33.3%、53.3%の割合で病原性大腸菌関連遺伝子が検出された。一方で、枝肉切除検体では0%、3.3%、6.7%の検出率に留まり、豚とたいと同様、外皮から枝肉への交叉汚染防止に関する工程管理の重要性が示唆された。病原性大腸菌関連遺伝子陽性検体では一般細菌数が $5 \log \text{cfu}/\text{cm}^2$ 以上、及び腸内細菌科菌群数が $2 \log \text{cfu}/\text{cm}^2$ 以上であったことから、対象施設で処理される牛枝肉では、衛生指標菌数の減少と共に病原性大腸菌関連遺伝子が殆ど検出されなくなる傾向が認められた。

#### A. 研究目的

国産食肉・食鳥肉の輸出を行うと畜場・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な課題である。本研究では、国内全てのと畜場で令和3年6月より施行されている HACCP 外部検証のための微生物試験の妥当性に関する検討を行い、実効性を踏まえた改良等を進める際に必要となる知見の集積を図ることを目的として検討を行った。

本年度は、北陸～東海地方の3

食肉衛生検査所の協力を得て、外部検証用の枝肉切除検体及び同一個体（もしくは同一農場）の外皮拭き取り検体における、衛生指標菌数（一般細菌数及び腸内細菌科菌群数）及び病原体（サルモネラ属及び腸管出血性大腸菌）の検出状況の関連性について検討を行ったので報告する。

#### B. 研究方法

##### 1) 検体

北陸～東海地方の3食肉衛生検

査所の協力を得て、管轄すると畜場に搬入された豚及び牛の外部検証用検体の残余検体及び外部検証用検体と同一個体(もしくは同一農場)の外皮拭き取り検体について、令和3年9月～令和4年2月までの6ヶ月間に各月5検体ずつの提供を受けた。外部検証の残余検体は、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)(以下、通知法)で示される方法(切除法)で採材され、前調整された検体懸濁液の提供を受けた。更に外皮拭き取り検体は、以下のように採材された。

表1に示す採材部位を100 cm<sup>2</sup>の拭き取り検査棒(CRF-1010、アズワン)及び拭き取りスポンジ(ふき取り用ドライスポンジスティックSSL100、スリーエム)を用いて300 g/cm<sup>2</sup>以上の圧をかけながら、30秒間縦、横、斜め(左右)の順に各10回拭き取りを行った。外部検証残余検体の懸濁液及び拭き取り後のスポンジは、冷蔵便で国立医薬品食品衛生研究所へ送付し、採材後48時間以内に試験に供した。

## 2) 衛生指標菌の試験

外皮拭き取り検体における衛生指標菌数は以下のように計測した。滅菌PBSを用いて、送付検体の10倍階段希釈系列を作製し、検体中の一般細菌数及び腸内細菌科菌群数を計測した。通知法に記載の通り、一般細菌数及び腸内細菌科菌群数の定量試験性能が、ISO法と同等であると国際的な第三者認証機関において確認された代替法を用いた。一般細菌数の計測にはACプレート(スリーエム)及び腸内細菌科菌群数の計測にはEBプレート(スリーエム)を用いた。切除法により採材された枝肉切除検体での衛生指標菌の計測結果は各施設から提供を

受けた。

## 3) サルモネラ属菌の試験

サルモネラ属菌の分離培養試験は、ISO 6579-1に従った。送付検体を9倍量の緩衝ペプトン水(BPW)に加え、37°Cで18±2時間、前増菌培養を行った後、RVS培地(Merck)及びMKTTn培地(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°Cで24±3時間、MKTTn培地に接種した検体は37°Cで24±3時間培養した。選択増菌培養液はMLCB寒天培地(日水製薬)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°Cで24±3時間培養した。また、培養法と平行して前増菌培養液からアルカリ熱抽出法により調製したDNAを用いた、*invA*遺伝子を標的としたリアルタイムPCR(CycleavePCR™ *Salmonella* Detection Kit Ver.2.0, Takara)を補助的試験として行った。

## 4) 腸管出血性大腸菌の試験

腸管出血性大腸菌(STEC)の分離培養試験は、ISO/TS 13136に従った。送付検体に9倍量のBPWを加え、37°Cで18～24時間増菌培養を行った。増菌培養液より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O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(デンカ生研)を用いて増菌培養液中のSTECを濃縮し、TBX寒天培地(Merck)及びクロモアガーSTEC寒天培地(CHROMagar)へ塗抹し、選択分離培養を行った。選択分離培地上に発育した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、O 抗原に対する血清を用いた凝集試験及び TSI 培地(栄研化学)、LIM 培地(日水製薬)を用いた生化学性状試験により確認試験を行った。

### C. 研究結果及び考察

1) 豚外皮拭き取り検体及び枝肉における衛生指標菌及び病原細菌試験結果

3と畜場(施設 A、B 及び C)での豚の外皮拭き取り検体及び枝肉における衛生指標菌及び病原細菌試験結果を表 2 に示す。

施設 A では、2021 年 9 月～2022 年 2 月(11 月と 12 月は 1 度の採材)にかけて月あたり 5 と体(各枝肉及び外皮拭き取り検体)計 50 検体の提供を受けた。外皮拭き取り検体の一般細菌数及び腸内細菌科菌群数の平均±標準偏差は  $2.40 \pm 0.66 \log \text{ cfu/cm}^2$  及び  $0.18 \pm 0.47 \log \text{ cfu/cm}^2$ 、枝肉での一般細菌数及び腸内細菌科菌群数の平均±標準偏差は  $2.40 \pm 0.49 \log \text{ cfu/cm}^2$  または  $1.36 \pm 2.03 \log \text{ cfu/cm}^2$  であった。いずれの検体からもサルモネラ属菌及び STEC は分離されなかったが、外皮拭き取り 5 検体(20.0%)では STEC 遺伝子が陽性であった。

施設 B では、2021 年 9 月～2022 年 2 月にかけて月あたり 5 と体(各枝肉及び外皮拭き取り検体)計 60 検体の提供を受けて試験を行った。外皮拭き取り検体の一般細菌数及び腸内細菌科菌群数の平均±標準偏差は  $2.30 \pm 0.84 \log \text{ cfu/cm}^2$ 、 $4.20 \pm 6.87 \text{ cfu/cm}^2$ 、枝肉での一般細菌数及び腸内細菌科菌群数の平均±標準偏差は  $1.88 \pm 0.62 \log \text{ cfu/cm}^2$ 、 $0.74 \pm 0.63 \log \text{ cfu/cm}^2$  であった。いずれの検体からもサルモネラ属菌及び STEC は分離されな

かったが、外皮拭き取り 2 検体(6.7%)では STEC 遺伝子が陽性であった。

施設 C では、2021 年 9 月～2022 年 2 月にかけて月あたり 5 と体(各枝肉及び外皮拭き取り検体)計 60 検体の提供を受けて試験を行った。外皮拭き取り検体の一般細菌数及び腸内細菌科菌群数の平均±標準偏差は  $2.42 \pm 0.83 \log \text{ cfu/cm}^2$ 、 $2.07 \pm 4.34 \text{ cfu/cm}^2$ 、枝肉での一般細菌数及び腸内細菌科菌群数の平均±標準偏差は  $2.57 \pm 0.54 \log \text{ cfu/cm}^2$ 、 $0.84 \pm 1.03 \log \text{ cfu/cm}^2$  であった。いずれの検体からもサルモネラ属菌は分離されなかったが、外皮拭き取り検体 1 検体(3.3%)から STEC O103 が分離されたほか、同拭き取り 3 検体(10.0%)は STEC 遺伝子が陽性であった。

以上、豚枝肉切除検体からはサルモネラ属及び STEC は分離されなかったほか、両病原菌由来遺伝子も検出されず、当該施設での豚と体の衛生管理の適切性が確認された。一方、外皮拭き取り検体からは一定の確率で上述の病原菌由来遺伝子が検出されたことは、剥皮及びその後の枝肉洗浄工程が、これらの枝肉汚染を防除する上で重要であることを示唆すると考えられた。

次に、外皮拭き取り検体及び枝肉検体を、病原性大腸菌関連遺伝子検出の有無で 2 群に分け、衛生指標菌数との関係について検討した(図 1)。施設 A 及び B の病原性大腸菌関連遺伝子が検出された外皮拭き取り検体では、病原性大腸菌関連遺伝子陰性検体に比べて、一般細菌数及び腸内細菌科菌群数は共に多い傾向にあった。また、腸内細菌科菌群数は計測菌数が相対的に小さいが、検体間のばらつきが大きい傾向がみられた。

また、サルモネラ属及び同遺伝子の分離・検出は全ての検体で認められなかったが、外皮拭き取り方法については、実施者による作業の違いが結果に与える影響も多分に推察されることから、現行通知法で採用された切除法がより安定的な結果を創出できるものと考えられた。

## 2) 牛外皮拭き取り検体及び枝肉における衛生指標菌及び病原細菌試験結果

3と畜場（施設 A、B 及び C）での牛枝肉及び外皮拭き取り検体における衛生指標菌及び病原細菌試験結果を表 3 に示す。

施設 A では、2021 年 9 月～2022 年 2 月（11 月と 12 月は 1 度の採材であった）にかけて月あたり 5 と体（各枝肉及び外皮拭き取り検体）計 50 検体の提供を受けた。外皮拭き取り検体における一般細菌数及び腸内細菌科菌群数の平均±標準偏差は  $4.95 \pm 0.61 \log \text{ cfu/cm}^2$ 、 $2.28 \pm 0.58 \log \text{ cfu/cm}^2$ 、枝肉での一般細菌数及び腸内細菌科菌群数の平均±標準偏差は  $2.30 \pm 0.47 \log \text{ cfu/cm}^2$ 、 $0.46 \pm 0.55 \log \text{ cfu/cm}^2$  であった。いずれの検体からもサルモネラ属菌及び STEC は分離されなかったが、外皮拭き取り検体では 22 検体（88.0%）で STEC 遺伝子が陽性であった。

施設 B では、2021 年 9 月～2022 年 2 月にかけて月あたり 5 と体（各枝肉及び外皮拭き取り検体）計 60 検体の提供を受けた。外皮拭き取り検体における一般細菌数及び腸内細菌科菌群数の平均±標準偏差は  $4.25 \pm 1.57 \log \text{ cfu/cm}^2$ 、 $1.15 \pm 1.80 \log \text{ cfu/cm}^2$ 、枝肉での一般細菌数及び腸内細菌科菌群数の平均±標準偏差は  $4.03 \pm 0.66 \log \text{ cfu/cm}^2$ 、 $1.26 \pm 0.41 \log \text{ cfu/cm}^2$  であった。いずれの検体からもサルモ

ネラ属菌及び STEC は分離されなかったが、外皮拭き取り 10 検体（33.3%）、枝肉 1 検体（3.3%）は STEC 遺伝子陽性であった。

施設 C では、2021 年 9 月～2022 年 2 月にかけて月あたり 5 と体（各枝肉及び外皮拭き取り検体）計 60 検体の提供を受けた。外皮拭き取り検体における一般細菌数及び腸内細菌科菌群数の平均±標準偏差は  $4.84 \pm 1.02 \log \text{ cfu/cm}^2$ 、 $1.61 \pm 1.29 \log \text{ cfu/cm}^2$ 、枝肉での一般細菌数及び腸内細菌科菌群数の平均±標準偏差は  $3.03 \pm 0.87 \log \text{ cfu/cm}^2$ 、 $0.87 \pm 0.47 \log \text{ cfu/cm}^2$  であった。いずれの検体からもサルモネラ属菌及び STEC は分離されなかったが、外皮拭き取り 16 検体（53.3%）及び枝肉 2 検体（6.7%）では STEC 遺伝子が陽性であった。

豚と体と同様、牛枝肉検体からはサルモネラ属及び STEC は分離されず、対象施設における牛と体の衛生管理は概ね適切に行われていると思われた。一方、外皮拭き取り検体での STEC 関連遺伝子陽性率は豚に比べて相対的に高い値を示し、牛解体処理では外皮への当該菌汚染を想定して剥皮前洗浄、剥皮、その後の枝肉洗浄工程を適切に管理する重要性が示唆された。

衛生指標菌数分布については施設間で明確な差異は確認されなかった。施設 A では、外皮拭き取りがと体洗浄後に行われたが、と体洗浄前に採材した他の 2 施設の検体に比べて STEC 遺伝子陽性率は高値を示した。このことは、施設 A での外皮のついた状態でのとたい洗浄方法の見直し、当該菌汚染の可能性を低減する上での対策事項として抽出されたと言えよう。

牛とたいについても、外皮拭き取り検体及び枝肉検体を、STEC 遺伝子検出の有無で 2 群に分け、衛生指



標菌数との関連性を検討した(図2)ところ、外皮拭き取り検体では STEC 遺伝子陽性検体の一般細菌数は  $5 \log \text{cfu}/\text{cm}^2$  以上、腸内細菌科菌群数は  $2 \log \text{cfu}/\text{cm}^2$  以上を示したほか、枝肉検体では衛生指標菌数の減少と共に病原性大腸菌関連遺伝子が殆ど検出されなくなる傾向が認められた。

なし

#### D. 結論

本年度は、国内3と畜場で豚・牛の枝肉切除検体及び外皮拭き取り検体における衛生指標菌数と病原菌検出結果の関連性を検討し、以下の知見を得た。

- ・豚及び牛枝肉検体は全てサルモネラ属菌及び STEC 陰性が確認され、対象施設での豚・牛の解体処理工程における衛生管理は概ね適切に行われていると考えられた。

- ・外皮拭き取り検体からは、特に牛で相対的に高い STEC 遺伝子陽性率を認める等、剥皮前洗浄、剥皮、そしてその後の枝肉洗浄がこれらの汚染低減に重要な工程であることが確認された。

- ・STEC 遺伝子検出結果と衛生指標菌数分布の関連性探索を通じ、牛外皮拭き取り検体では、STEC 遺伝子陽性検体の一般細菌数は  $5 \log \text{cfu}/\text{cm}^2$  以上、腸内細菌科菌群数は  $2 \log \text{cfu}/\text{cm}^2$  以上を示し、外皮洗浄の重要性が更に強調された。

#### E. 健康危険情報

なし

#### F. 研究発表

(誌上発表)

なし

(学会等発表)

なし

#### G. 知的所有権の取得状況・登録状況

表1 外皮拭き取り検体の採材タイミング及び採材部位

と畜場	豚と体		牛と体	
	タイミング	部位	タイミング	部位
施設A	放血->と体洗浄後	腹部	放血->と体洗浄後	胸部
施設B	放血->と体洗浄後	腹部	放血->と体洗浄前	
			放血後剥皮まで 洗浄工程無し	頸部
施設C	放血->と体洗浄後	腹部	放血->と体洗浄前	
			係留時にシャワー 洗浄	腹部

表2 豚と豚検査結果の概要

施設	豚体の種類	検体数	一般細菌数		腸内細菌科菌群数		サルモネラ		STEC	
			平均	標準偏差	平均	標準偏差	平均	標準偏差	分離陽性豚体 (%)	分離陽性豚体 (%)
施設A	外皮拭き取り (洗浄後、腹部)	25	2.40	0.66	1.50	2.92	0	0	0	5
	枝肉	25	2.40	0.49	22.88	107.78	0	0	0	0
施設B	外皮拭き取り (洗浄後、腹部)	30	2.30	0.84	4.20	6.87	0	0	0	2
	枝肉	30	1.88	0.62	5.53	4.23	0	0	0	0
施設C	外皮拭き取り (洗浄後、腹部)	30	2.42	0.83	2.07	4.34	0	1	3	3
	枝肉	30	2.57	0.54	6.97	10.81	0	0	0	0

表3 牛と豚検査結果の概要

施設	豚体の種類	検体数	一般細菌数		腸内細菌科菌群数		サルモネラ		STEC	
			平均	標準偏差	平均	標準偏差	平均	標準偏差	分離陽性豚体 (%)	分離陽性豚体 (%)
施設A	外皮拭き取り (洗浄後、胸部)	25	4.95	0.61	2.28	0.58	0	0	0	22
	枝肉	25	2.30	0.47	0.46	0.55	0	0	0	0
施設B	外皮拭き取り (洗浄前、頸部)	30	4.25	1.57	1.15	1.80	0	0	0	10
	枝肉	30	4.03	0.66	1.26	0.41	0	0	0	1
施設C	外皮拭き取り (洗浄前、頸部)	30	4.84	1.02	1.61	1.29	0	0	0	16
	枝肉	30	3.03	0.87	0.87	0.47	0	0	0	2

表3 牛と体検査結果の概要

施設	検体の種類	検体数	一般細菌数		腸内細菌科菌群数		サルモネラ属		STEC	
			平均	標準偏差	平均	標準偏差	陽性検体 (%)	分離陽性検体 (%)	stxもしくはeae陽性検体 (%)	
			log cfu/cm <sup>2</sup>		log cfu/cm <sup>2</sup>					
施設A	外皮拭き取り (洗浄後、胸部)	25	4.95	0.61	2.28	0.58	0	0	0	22 (88.0)
	枝肉	25	2.30	0.47	0.46	0.55	0	0	0	0 (0)
施設B	外皮拭き取り (洗浄前、頸部)	30	4.25	1.57	1.15	1.80	0	0	0	10 (33.3)
	枝肉	30	4.03	0.66	1.26	0.41	0	0	0	1 (3.3)
施設C	外皮拭き取り (洗浄前、頸部)	30	4.84	1.02	1.61	1.29	0	0	1	16 (53.3)
	枝肉	30	3.03	0.87	0.87	0.47	0	0	0	2 (6.7)

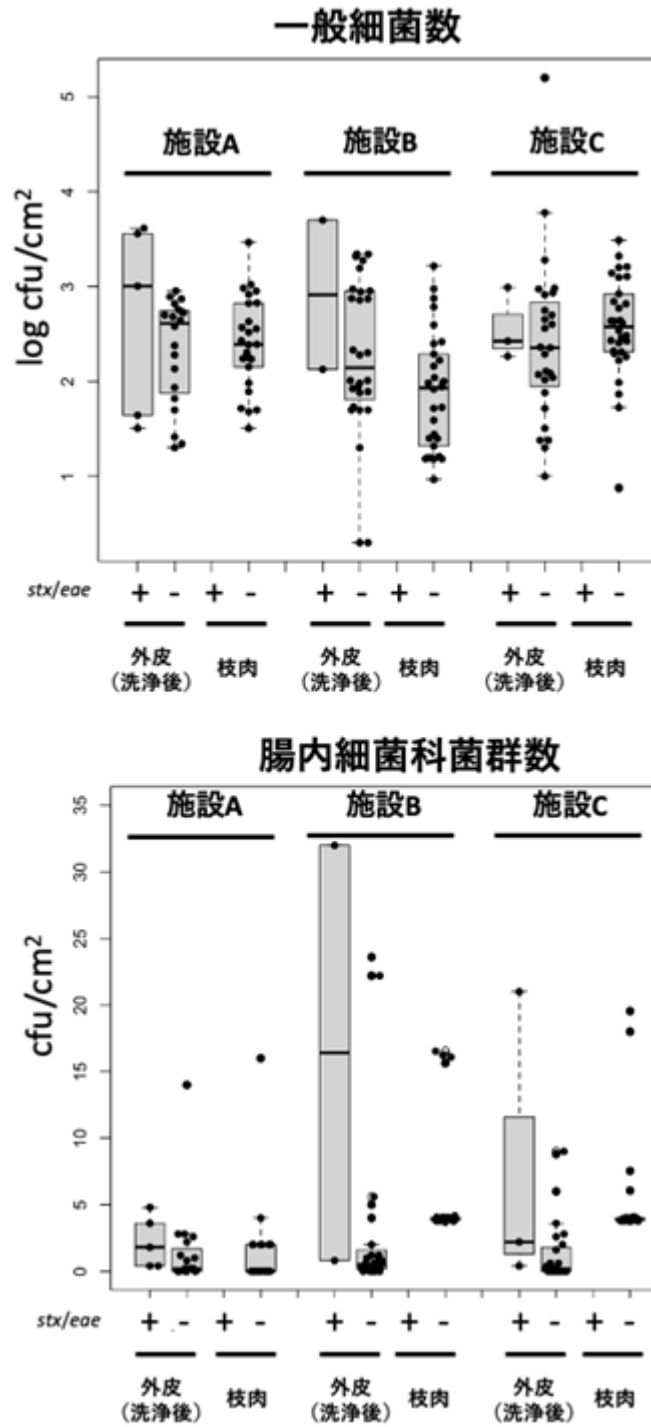


図 1 豚外皮拭き取り・枝肉検体における、衛生指標菌数分布と STEC 遺伝子検出成績との関連性

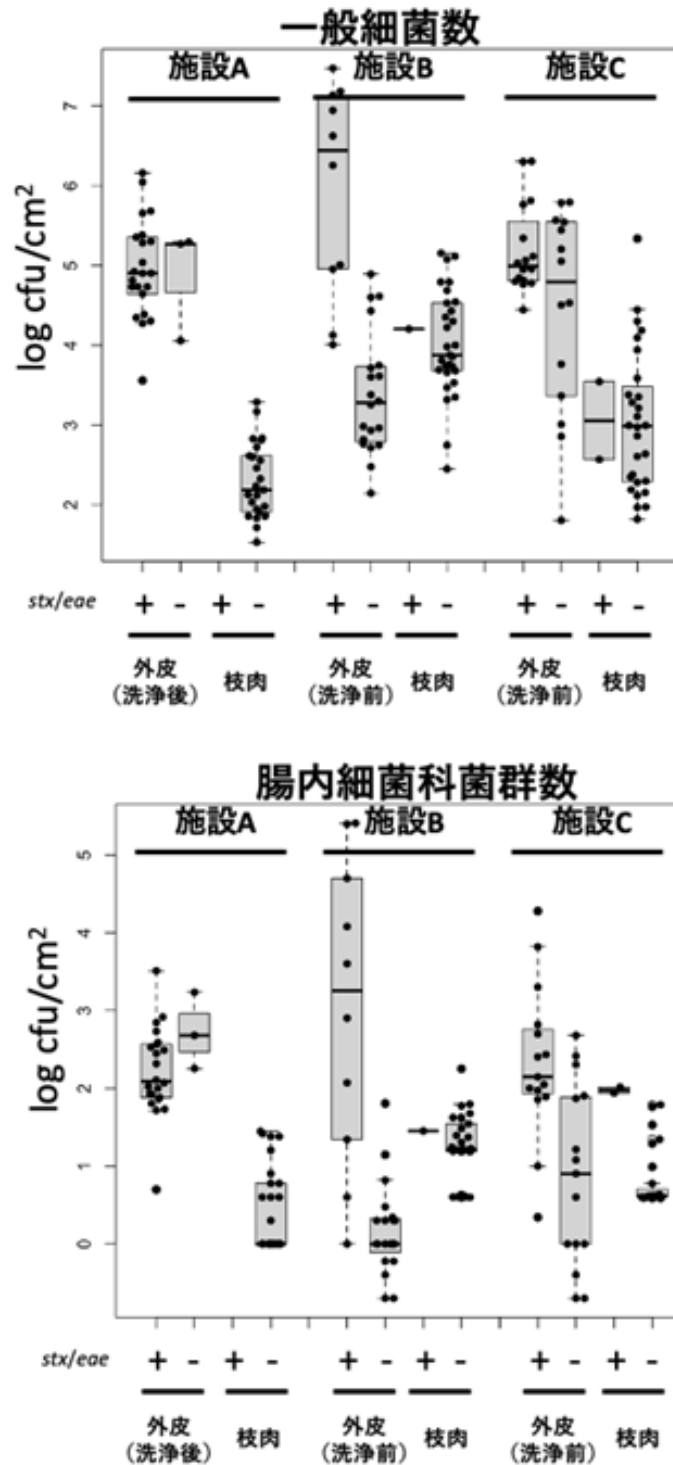


図 2 牛外皮拭き取り・枝肉検体における、衛生指標菌数分布と STEC 遺伝子検出成績との関連性

令和3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

馬とたいに対するHACCP外部検証微生物試験採材部位設定に向けた研究

研究分担者 朝倉 宏  
研究協力者 伊豆一郎  
坂上友康

国立医薬品食品衛生研究所食品衛生管理部  
熊本県食肉衛生検査所  
青森県十和田食肉衛生検査所

**研究要旨：**国内のと畜場では、令和3年6月より HACCP に基づく衛生管理が本格施行されている。厚生労働省による HACCP 外部検証に係る通知別添で示される微生物試験では牛及び豚とたいが対象として例示されているが、と畜場で処理される獣畜にはめん羊、山羊、馬も含まれる。前年度実施しためん羊・山羊とたいを対象とした検討に引き続き、本年度は馬とたいを対象とした微生物試験の実施にあたり、適切な採材箇所を選定に係る根拠を集積することを目的として検討を進めた。3施設で処理された計21頭の馬とたいを対象に枝肉3部位の衛生指標菌分布を解析したところ、胸部または腹部で「平均+2SD値」を超過した検体が確認され、馬とたいの解体処理工程における HACCP 外部検証を進める上で、これらの部位を採材箇所として微生物試験を行うことが妥当と判断される知見を得た。また、菌叢解析の結果より馬枝肉表面から検出された細菌として、腸内細菌科菌群の占有率は総じて低い一方、土壌由来細菌が多くを占めたことから、当該獣畜の解体処理にあたっては、特に体表からの交叉汚染を重点的に管理する必要性が示唆された。

#### A. 研究目的

平成30年に公布された「食品衛生法等の一部を改正する法律」を受け、国内のと畜場及び大規模食鳥処理場ではHACCPに基づく衛生管理が求められることとなった。その後、令和2年5月28日には、厚生労働省より、「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、生活衛生・食品安全審議官通知）が発出され、各自治体の食鳥検査員は大規模食鳥処理場における「HACCPに基づく衛生管理」の状況を検証することが技術的

助言として示された。同通知ではと畜検査員が実施する微生物試験法も示されているが、その対象としては牛及び豚とたいが例示されている状況であった。一方、周知のとおり、と畜場では、牛及び豚のほか、馬やめん羊、山羊等も解体処理されており、これらを取り扱う施設におけるHACCP外部検証微生物試験の在り方として、牛豚と同様でよいかを明示する根拠が見当たらない状況にあった。昨年度は、めん羊及び山羊とたいを対象とした検討を進めたことを

受け、本年度は、馬とたいを対象とした微生物試験を行う際に、採材対象とすべき箇所を選定に係る知見を収集することを目的として検討を行ったので報告する。

## B. 研究方法

### 1. と畜場における処理工程等の情報収集

研究協力を得た、馬を取り扱う、と畜場3施設における、解体処理に係る工程フローを調査し、確認を行った。

### 2. 微生物試験

冷却前の馬とたいについて、豪州の関連ガイドラインに示される S1（胸部）、S2（腹部）、及び S3（臀部）の3部位について、「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、生活衛生・食品安全審議官通知）で示される切除法により採材を行い、切除片 1 cm<sup>2</sup>あたりの一般生菌数及び腸内細菌科菌群数をそれぞれ求めた。

また、施設 A 及び B では馬とたい関連検体と同一個体の馬糞便検体を同時に採材し、冷凍状態で弊所に輸送し、後述の菌叢解析に供した。

### 3. 統計解析

採材部位・指標菌の別に、得られた菌数成績より、「平均+2SD 値」及び「80 パーセンタイル値」を求めた。

### 4. 菌叢解析

上項 2. で微生物試験を行った際の検体懸濁液を遠心分離し、得られた沈渣より total DNA を抽出した。これを鋳型として、PCR により 16S rRNA V5-V6 領域を増幅し、Ion CHEF/Ion Torrent PGM を用いた菌叢

解析に供した。取得配列から、不要配列を除去した後、RDP classifier pipeline を用いて階層分類を行った。部位別の菌叢多様性は PERMANOVA 解析により評価した。

## C. 研究結果

### 1. 馬とたいの解体処理工程フロー

3 施設（A-C）における馬とたいの解体処理工程フローを確認し、聴取された情報を基に工程フロー概略図を作成した（図1）。

施設 A 及び B で処理された馬とたいの多くは、生食用馬肉製品として加工される状況であった。一方、施設 C で処理された馬とたいは加熱用馬肉として加工されていた。

上述の背景との関連性は定かではないものの、枝肉が交叉汚染を受けた場合の措置として、施設 A 及び C ではトリミング、施設 B では火炎焼烙殺菌を行う体制にあった。

施設 B は馬のみを取り扱う施設であったのに対し、施設 A 及び C は牛も処理していた。但し、牛の解体処理とは時間帯で区分化を行う運用体制にあった。

各施設の管理基準を設定している工程を確認したところ、いずれの施設も冷却工程で用いる冷蔵庫内温度及び冷却保持時間を採用していた。このうち、施設 C では冷却工程で用いる冷蔵庫の庫内温度（10°C以下）及び冷却時間（10 時間以上）を管理基準とし、そのモニタリングは自記温度記録計を用いた 1 時間ごとの記録取得、作業前後に工程担当者による目視での表示温度確認、最後の枝肉を入庫した時間と次の稼働日の最初の枝肉出庫時間の確認及び記録等で運用を行っていた。



## 2. 馬とたいにおける衛生指標菌検出結果

施設 A では 6 頭・18 検体、施設 B では 9 頭・27 検体、施設 C では 6 頭・18 検体の馬枝肉を対象として、冷蔵庫入庫前段階で、3 部位の衛生指標菌検出状況を解析した。結果として、施設 A の馬枝肉における一般細菌数の平均±標準偏差値は S1 (胸部)、S2 (腹部)、S3 (臀部) でそれぞれ  $1.41 \pm 0.21 \log \text{CFU/cm}^2$ 、 $2.04 \pm 1.23 \log \text{CFU/cm}^2$ 、 $2.66 \pm 0.59 \log \text{CFU/cm}^2$ 、腸内細菌科菌群数の同値は S1 が  $0.81 \pm 0.31 \log \text{CFU/cm}^2$ 、S3 が  $0.71 \pm 0.24 \log \text{CFU/cm}^2$  であった (図 2A)。なお、S2 は全 6 検体で検出限界未満を示した。

施設 B の馬枝肉における一般細菌数の平均±標準偏差値は S1、S2、S3 でそれぞれ  $0.93 \pm 0.42 \log \text{CFU/cm}^2$ 、 $0.97 \pm 0.51 \log \text{CFU/cm}^2$ 、 $0.74 \pm 0.26 \log \text{CFU/cm}^2$  であった (図 2B)。なお、同施設由来検体における腸内細菌科菌群は全て検出限界未満であった。

施設 C の馬枝肉における一般細菌数の平均±標準偏差値は S1 (胸部)、S2 (腹部)、S3 (臀部) でそれぞれ  $3.16 \pm 0.77 \log \text{CFU/cm}^2$ 、 $2.41 \pm 0.72 \log \text{CFU/cm}^2$ 、 $3.07 \pm 1.37 \log \text{CFU/cm}^2$  であったほか、各部位の腸内細菌科菌群数は  $0.72 \pm 0.36 \log \text{CFU/cm}^2$ 、 $0.71 \pm 0.51 \log \text{CFU/cm}^2$ 、 $1.02 \pm 0.71 \log \text{CFU/cm}^2$  であった (図 2C)。

衛生指標菌検出結果の評価にあたり、厚生労働省及び米国 USDA FSIS が参考値として例示する「平均+2SD」、及び欧州で解析指標として例示する「80 パーセンタイル値」を施設別・指標菌の別に求めたところ、一般細菌数の両値は施設 A 由来検体で

は、S1 が  $1.81 \log \text{CFU/cm}^2$  及び  $1.61 \text{CFU/cm}^2$ 、S2 が  $4.29 \log \text{CFU/cm}^2$  及び  $2.71 \log \text{CFU/cm}^2$ 、S3 が  $3.78 \log \text{CFU/cm}^2$  及び  $3.13 \log \text{CFU/cm}^2$  であった (表 1)。これらのうち、「平均+2SD 値」を超過した検体は S2 で 1 検体のみが認められた一方、「80 パーセンタイル値」を超過した検体は S1、S2、S3 で各 1 検体認められた (図 2A、表 1)。同様に、腸内細菌科菌群数に関する両値は S1 が  $1.39 \log \text{CFU/cm}^2$  及び  $1.21 \text{CFU/cm}^2$ 、S2 が  $0.62 \log \text{CFU/cm}^2$  及び  $0.61 \log \text{CFU/cm}^2$ 、S3 が  $1.17 \log \text{CFU/cm}^2$  及び  $0.80 \log \text{CFU/cm}^2$  であった (表 1)。これらのうち、「平均+2SD 値」を超過した検体は S3 で 1 検体のみを認めたが、「80 パーセンタイル値」を超過した検体は S1 及び S3 で各 1 検体であった (図 2A、表 1)。

施設 B 由来検体における一般生菌数の「平均+2SD 値」及び「80 パーセンタイル値」はそれぞれ S1 が  $1.69 \log \text{CFU/cm}^2$  及び  $1.25 \text{CFU/cm}^2$ 、S2 が  $1.90 \log \text{CFU/cm}^2$  及び  $1.22 \log \text{CFU/cm}^2$ 、S3 が  $1.24 \log \text{CFU/cm}^2$  及び  $1.02 \log \text{CFU/cm}^2$  であった (表 1)。これらのうち、「平均+2SD 値」を超過した検体は S1 及び S2 で 1 検体認められたほか、「80 パーセンタイル値」を超過した検体は S1、S2、S3 で各 2 検体認められた (図 2B、表 1)。

施設 C 由来検体における一般生菌数の「平均+2SD 値」及び「80 パーセンタイル値」はそれぞれ S1 が  $4.70 \log \text{CFU/cm}^2$  及び  $3.96 \text{CFU/cm}^2$ 、S2 が  $3.85 \log \text{CFU/cm}^2$  及び  $2.85 \log \text{CFU/cm}^2$ 、S3 が  $5.81 \log \text{CFU/cm}^2$  及び  $4.23 \log \text{CFU/cm}^2$  であった (表 1)。これらのうち、「平均+2SD 値」

を超過した検体は認められなかったが、「80 パーセンタイル値」を超過した検体は S1、S2、S3 で各 1 検体認められた (図 2C、表 1)。同様に腸内細菌科菌群数に関する両値は S1 が 1.44 log CFU/cm<sup>2</sup> 及び 1.10 log CFU/cm<sup>2</sup>、S2 が 1.73 log CFU/cm<sup>2</sup> 及び 0.88 log CFU/cm<sup>2</sup>、S3 が 2.44 log CFU/cm<sup>2</sup> 及び 1.61 log CFU/cm<sup>2</sup> であった (表 1)。これらのうち、「平均+2SD 値」を超過した検体は S2 で 1 検体、「80 パーセンタイル値」を超過した検体は S1、S2、S3 で各 1 検体認められた (図 2C、表 1)。

なお、全体の「平均+2SD 値」及び「80 パーセンタイル値」は一般生菌数がそれぞれ 4.06 log CFU/cm<sup>2</sup> 及び 2.85 log CFU/cm<sup>2</sup> であり、「平均+2SD 値」を超過した検体は施設 A の 1 検体と施設 C の 3 検体であった。また、腸内細菌科菌群数については、それぞれの値が 1.33 log CFU/cm<sup>2</sup> 及び 0.62 log CFU/cm<sup>2</sup> であり、「平均+2SD 値」を超過した検体は施設 C の 2 検体であった (図 2)。

### 3. 馬枝肉切除検体の菌叢解析結果

馬枝肉切除検体では、牛に比べて相対的に低い腸内細菌科菌群数であったことから、当該検体の構成菌叢探知に向け、16S rRNA 菌叢解析を行った。

全体を通じ、最も優勢であった菌群は、*Oxalobacteriaceae* であり、最も高い占有率を示した検体では 90%を超過した (図 3)。同菌群の構成を確認したところ、*Telluria* 属及び *Naxibacter* 属等の土壌由来菌が占める割合が高い状況であった。

一方、腸内細菌科菌群の占有率は総じて

低く (図 3)、同菌群の構成菌属を確認したところ、*Enterobacter* 属及び *Yokonella* 属が最も高頻度に検出され、*Cedecea* 属がこれに続いた (表 2)。腸内細菌科菌群に属し、牛肉の危害要因の一つとされる *Salmonella* 属は認められなかった (表 2)。なお、部位別では S1 (胸部) の検体が最も菌叢多様性に富んでいた (データ未載)。

### 4. 馬糞便検体の菌叢解析結果

馬枝肉切除検体での腸内細菌科菌群の低い占有率が示されたことを踏まえ、次に馬糞便検体を対象とした菌叢解析を実施した。結果として、馬糞便検体では *Clostridiaceae*、*Ruminococcaceae* 等が占める割合が高く、*Oxalobacteriaceae* や *Enterobacteriaceae* の占有率は総じて低い値を示し、馬枝肉検体とは大きく異なる菌叢構成であることが確認された (図 3)。

### D. 考察

本研究ではと畜場で解体処理を受ける馬を対象とした際の HACCP 外部検証微生物試験の円滑な実施に向け、牛豚を対象とする既出試験法の適用可能性を、特に採材部位選定に係る知見の創出を図ることを主たる目的として検討を進めた。

計 3 施設の処理工程を踏まえた上で行った微生物試験成績を基に、「平均+2SD 値」を超過した検体の採材部位を確認した結果、S1 (胸部) または S2 (腹部) が該当したことから、これらの部位を採材箇所として設定することが、馬とたいの工程管理の適切性を判断するための微生物試験成績の集積を図る上で有用と考えられた。

また、本研究では、腸内細菌科菌群が施

設 B 由来検体ではいずれも不検出であったことから、菌叢解析を進め、結果として腸内細菌科菌群の占める割合が牛等に比べて極めて少ない状況にあることが確認された。次いで行った馬糞便検体における菌叢解析結果からも、腸内細菌科菌群の占有率は低い状況にあった。これらの知見は、腸内細菌科菌群に属するサルモネラ属菌や病原大腸菌を馬の解体処理工程における危害要因として想定する意義が低いようにも思われるが、欧米では馬肉を介したサルモネラ食中毒事例が報告されていること (Epidemiol. Infect. 2005. 133:373-376.等) を踏まえると、そのおそれを否定できる状況にはなく、従って馬とたいの HACCP 外部検証を行う上では牛豚と同様に、腸内細菌科菌群試験を含めることが妥当と考えられた。

また、菌叢解析結果からは土壌由来細菌が馬枝肉における構成菌叢となっている状況が確認された。このことは、腸管内容物の管理に加え、体表から枝肉への交叉汚染を管理するための対策を講じることで衛生管理上の更なる向上に繋がる可能性を示唆していると考えられる。今後、馬体表における菌叢解析や指標菌定量試験を行うことで、外皮の衛生的取り扱いが馬とたいの解体処理工程における衛生管理の向上に資する可能性を指し示すことが可能となるものと期待される。

## E. 結論

と畜場 3 施設で処理される馬とたいを対象とした衛生指標菌定量試験を実施し、「平均+2SD 値」の超過を指し示す検体の採材部位としては胸部または腹部であった

ことから、これらを採材部位として微生物試験に供することで馬の解体処理工程における衛生管理の検証を合理的に行えると考えられる知見を得た。また、馬枝肉における構成菌叢として腸内細菌科菌群が占める割合は牛等に比べて低く、対して土壌由来細菌が多くを占める結果が得られたことから、体表から枝肉への細菌汚染が対象施設での衛生確保に重要な意義を示すと推察された。引き続き、その検証を行っていきたい。

## F. 研究発表

### 論文発表

1. Asakura H, Yamamoto S, Sasaki Y, Okada Y, Katabami, Fujimori A, Munakata K, Shiraki Y, Nishibu H, Hisamoto C, Kawase J, Ojima Y, Kiyoshima A, Shiroma K: Bacterial distribution and community structure in beef cattle liver and bile at slaughter. Journal of Food Protection. 2022;85:424-34.

### 学会発表

1. 朝倉宏, 中山達哉, 山本詩織, 伊澤和輝, 川瀬遵, 鳥居恭司, 村上覚史: 長期飼育を通じた, 採卵鶏における *Campylobacter jejuni* の腸管定着の経時変動並びに腸内菌叢・脂質組成との関連性探索. 第 164 回日本獣医学会学術集会 (2021.9.7)
2. 中村寛海, 秋吉充子, 山本香織, 梅田薫, 平井佑治, 朝倉宏, 阿部仁一郎: mP-BIT 法による食中毒起因カンピロバクターの流行動態解析. 第 14 回日本カンピロバクター研究会総会

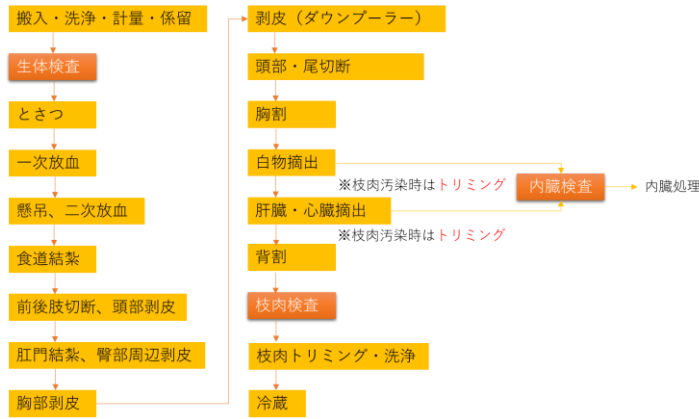
(2021.9.24)

3. 朝倉宏: 最近の食中毒の傾向と対策.  
文部科学省 学校給食の衛生管理等に  
関する指導者講習会 (2021.7.1)

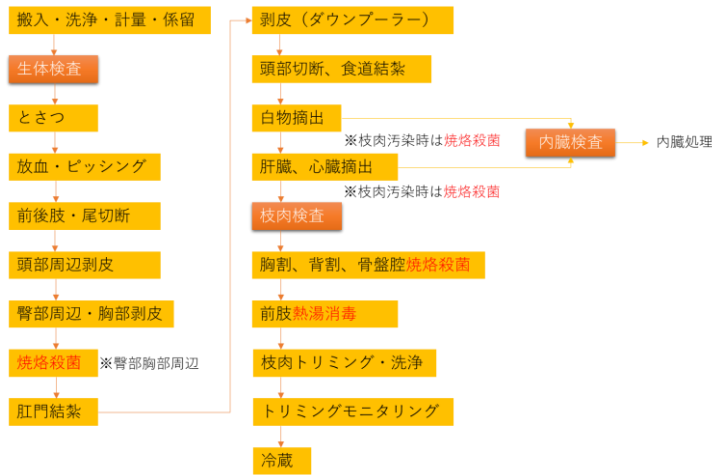
**G. 知的財産権の出願・登録状況**

該当なし

A



B



C

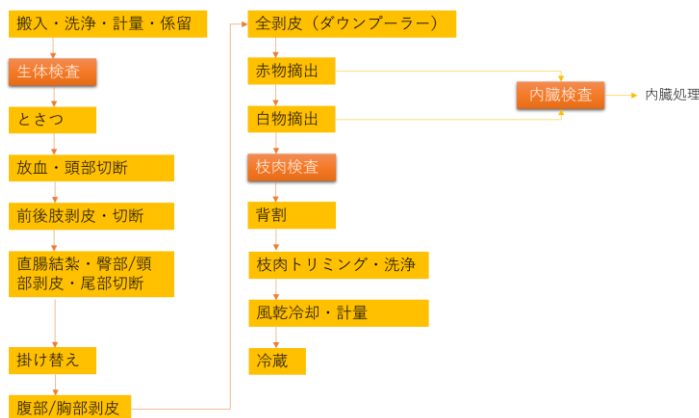


図 1. 協力施設における馬の解体処理工程フロー概要図.

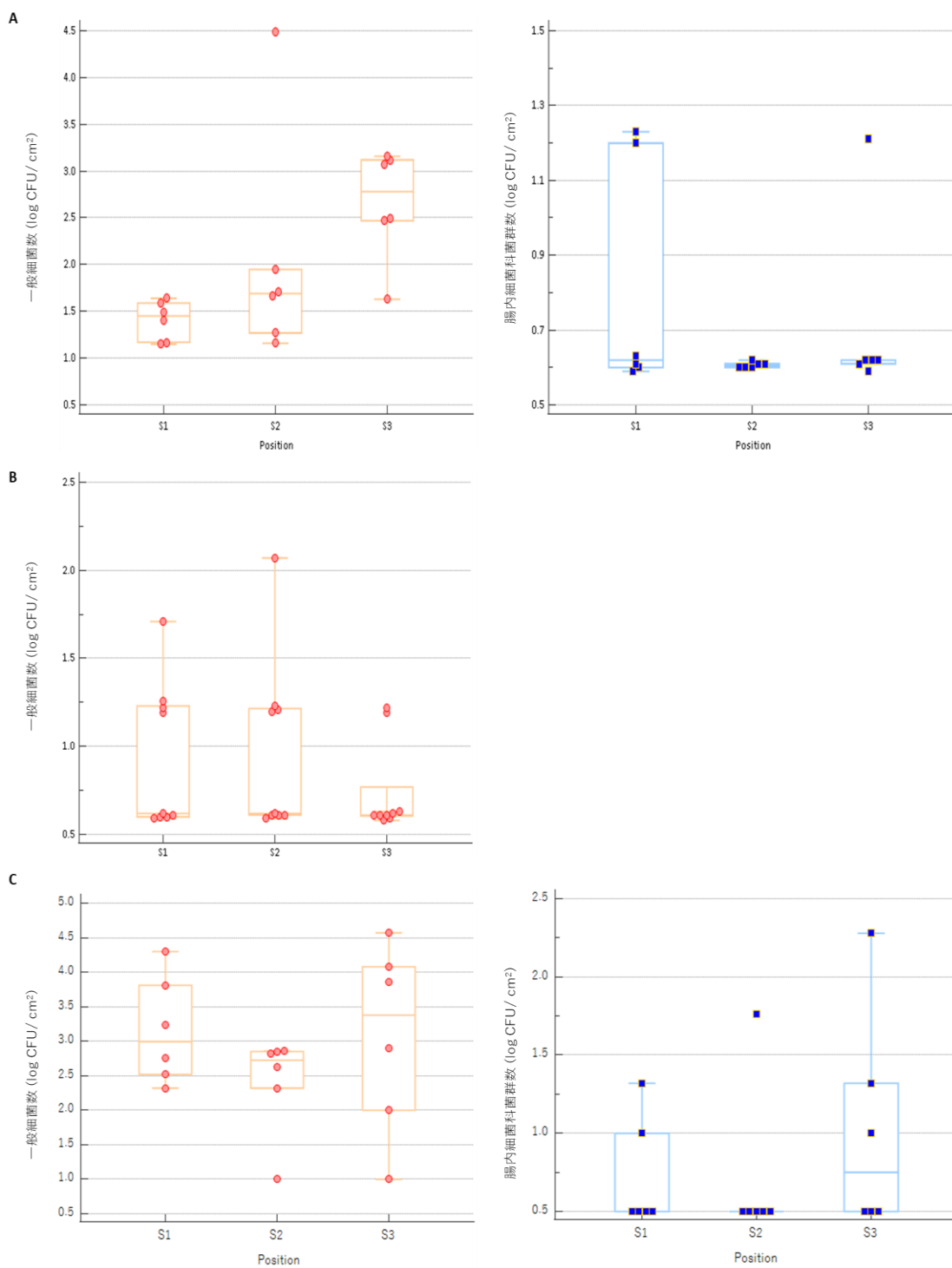


図 2. 馬枝肉検体における衛生指標菌検出成績.

3 部位 (S1、胸部 ; S2、腹部 ; S3、臀部) での一般生菌数及び腸内細菌科菌群数を示す。

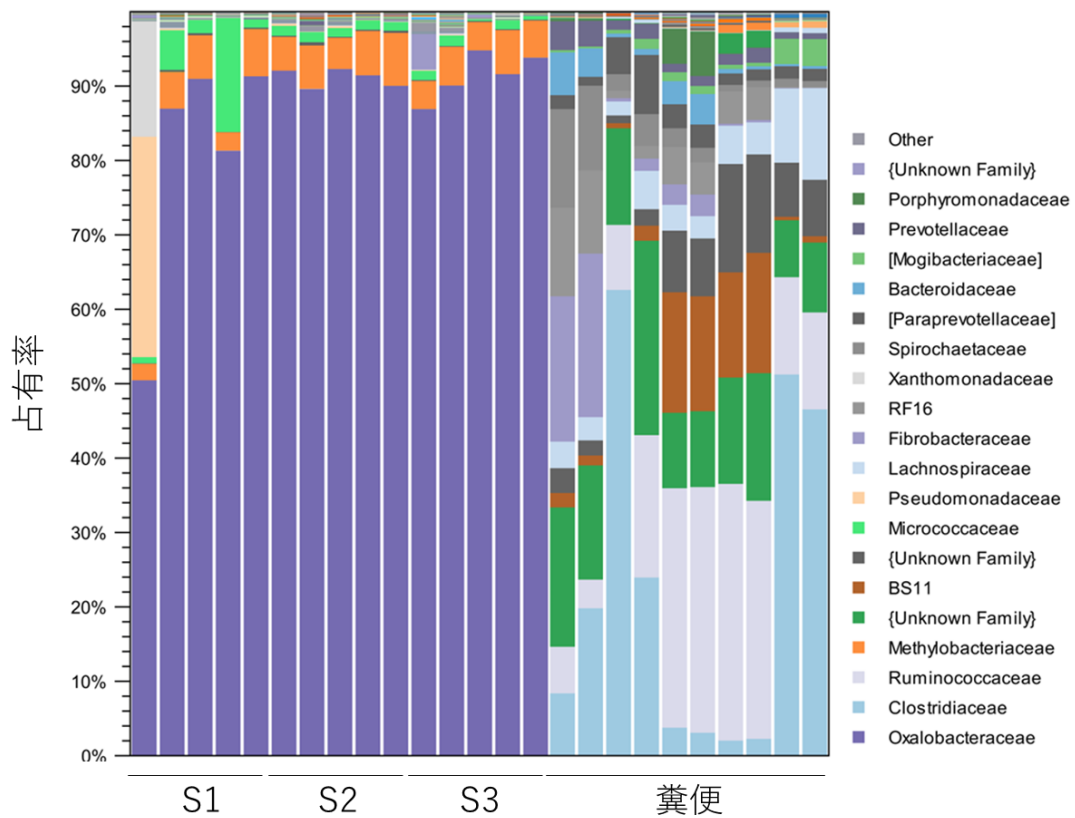


図3. 施設A/B由来の馬枝肉検体及び糞便検体を対象とした菌叢解析結果概要。  
上図は細菌科階層でのバーチャートを示す。

表 1. 馬枝肉 3 部位における衛生指標菌検出菌数分布成績概要.

	部位	(陽性/供試) 検体数	平均+2SD値	80パーセンタイル値	最大値	Variance
<b>施設A</b>						
一般生菌数	S1	6/6	1.81	1.61	1.64	0.04
	S2	6/6	4.29	2.71	4.49	1.52
	S3	6/6	3.78	3.13	3.16	0.35
腸内細菌科菌群数	S1	3/6	1.39	1.21	1.23	0.10
	S2	0/6	0.62	0.61	0.62	<0.01
	S3	1/6	1.17	0.80	1.21	0.06
<b>施設B</b>						
一般生菌数	S1	4/9	1.69	1.25	1.71	0.18
	S2	4/9	1.90	1.22	2.07	0.26
	S3	2/9	1.24	1.02	1.22	0.07
腸内細菌科菌群数	S1	0/9	-	-	-	-
	S2	0/9	-	-	-	-
	S3	0/9	-	-	-	-
<b>施設C</b>						
一般生菌数	S1	6/6	4.70	3.96	4.30	0.60
	S2	6/6	3.85	2.85	2.86	0.52
	S3	6/6	5.81	4.23	4.57	1.87
腸内細菌科菌群数	S1	2/6	1.44	1.10	1.32	0.13
	S2	1/6	1.73	0.88	1.76	0.26
	S3	3/6	2.44	1.61	2.28	0.50



表 2. 施設 A 及び B の馬枝肉検体より検出された腸内細菌科菌群に属する主な菌属

菌属	検出検体数			最大%	平均%
	施設 A (n=18)	施設 B (n=27)	計 (n=45)		
<i>Enterobacter</i>	8	7	15	1.28% (A)	0.03%
<i>Yokenella</i>	9	6	15	0.01% (A)	<0.01%
<i>Cedecea</i>	6	4	10	0.29% (A)	<0.01%
<i>Leclercia</i>	3	5	8	<0.01%	<0.01%
<i>Klebsiella</i>	5	2	7	0.05% (A)	<0.01%
<i>Raoultella</i>	0	7	7	0.04% (B)	<0.01%
<i>Escherichia/Shigella</i>	4	4	8	1.77% (A)	0.04%
<i>Trabulsiella</i>	3	2	5	0.14% (A)	<0.01%
<i>Mangrovibacter</i>	2	3	5	<0.01%	<0.01%
<i>Kluyvera</i>	1	3	4	<0.01%	<0.01%
<i>Citrobacter</i>	1	1	2	0.03% (B)	<0.01%
<i>Buttiauxella</i>	1	1	2	0.02% (B)	<0.01%
<i>Kosakonia</i>	2	0	2	<0.01%	<0.01%
<i>Gibbsiella</i>	0	1	1	<0.01%	<0.01%
<i>Franconibacter</i>	1	0	1	<0.01%	<0.01%



令和3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

食鳥処理場での冷却後の採材時間軸の妥当性に関する研究

研究分担者 朝倉 宏  
研究協力者 田辺美弥子  
佐々木治美  
坂上友康

国立医薬品食品衛生研究所食品衛生管理部  
青森県十和田食肉衛生検査所  
青森県十和田食肉衛生検査所  
青森県十和田食肉衛生検査所

**研究要旨：**国内の大規模食鳥処理場については、令和3年6月より HACCP に基づく衛生管理が本格施行され、各施設及び管轄自治体ではその対応が求められている。HACCP 外部検証のための微生物試験に際して、現行通知では処理半ばの食鳥とたいを冷却工程後に採材することとなっている。一方、採材時点の根拠となる知見は明確には示されていない状況であったことから、本分担研究では、大規模食鳥処理場において、異なる時系列で冷却工程を経た食鳥とたいを採材し、微生物試験に供し、定量的変動を解析した。結果として、衛生指標菌数（一般生菌数、腸内細菌科菌群数）及びカンピロバクター属菌数はそれぞれ処理開始直後に比べ、処理半ばでは増加傾向が見受けられ、処理の半ばを採材時点とする現行の HACCP 外部検証通知で示される採材時期の妥当性を裏付ける知見と考えられる。一方、冷却工程の汚染動態を直ちに評価できる状況にはないことから、次年度には、冷却水中の微生物動態に加え、物性の動態評価にあたりたい。

#### A. 研究目的

平成30年に公布された「食品衛生法等の一部を改正する法律」を受け、国内のと畜場及び大規模食鳥処理場では HACCP に基づく衛生管理が求められることとなった。その後、令和2年5月28日には、厚生労働省より、「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、生活衛生・食品安全審議官通知）が発出され、各自治体の食鳥検査員は大規模食鳥処理場における「HACCP に基づく衛生管理」の状況を検証することが技術的助言として示された。同通知では検査員が

実施する微生物試験法も示され、食鳥処理場では、最終冷却後の水切りを行った後の食鳥とたいを微生物試験検体とすることとされた。また、検体を採取する食鳥とたいの選定にあたっては、採材時刻の指定はないものの、食鳥処理の始めのロットは可能な限り避け、処理半ばの食鳥とたいを選定することとされた。この選定条件は施設毎に施設設備要件や処理羽数、処理速度も多様であることを踏まえた措置と思料されるが、「処理半ば」とする明確な科学的根拠は見当たらない状況にあると考えられた。

以上の背景より、本分担研究では国内の

大規模食鳥処理場の中で一般的な肉用若鳥を中抜き方式で処理する施設において、同施設を所管する食肉衛生検査所の協力を得つつ、異なる時系列の冷却後食鳥とたいより首皮試料を採材し、外部検証通知で示される微生物試験(一般生菌数、腸内細菌科菌群数、及びカンピロバクター菌数)を求め、処理の進捗に応じた食鳥とたいの微生物汚染状況変動を解析し、「処理の半ば」を採材時点とする現行通知の妥当性に関して考察を行ったので報告する。

## B. 研究方法

### 1. 食鳥処理場における処理実態調査

研究協力を得た、大規模食鳥処理場において、処理工程フロー、並びに年間処理羽数、年間稼働日を確認した。また、冷却工程に係る情報としては管理基準を確認すると共に、前工程にあたる中抜き工程において、食鳥検査員による5分間の目視確認を行い、同工程での総処理とたい数及び腸切れが生じたとたい数を記録した。

### 2. 微生物試験

冷却後食鳥とたい首皮試料の採材については外部検証通知に従って行った。また、その後の微生物試験については、AFNOR等でISO法との同等性が確認されている、自動定量検出装置TEMPO(ビオメリュー)を用いて、一般生菌数、腸内細菌科菌群数、カンピロバクター菌数をそれぞれ求めた。

### 3. 統計解析

各時系列間での菌数分布について、Mann-Whitney検定により比較解析を行い、 $p < 0.05$ を有意差ありと判定した。

## C. 研究結果

### 1. 対象施設における食鳥処理状況並びに微生物試験結果概要

まず、大規模食鳥処理場に対し、食鳥処理の状況を確認したところ、前年度実績としての年間処理羽数は5,609,695羽、年間稼働日数は280日であり、稼働日あたりの平均処理羽数は約2万羽と試算された。また、同施設では冷却水中の次亜塩素酸ナトリウム濃度を残留塩素濃度として50ppmを管理基準(CL)としており、また冷却水は槽内で循環させつつ、オーバーフロー式循環を行いつつ、点滴法で次亜塩素酸ナトリウム溶液を添加する、一般的な処理方式をとっていた。また、中抜き工程での腸切れ頻度について、1稼働日において、5分間の目視確認を行ったところ、195羽中30羽で腸切れの発生が確認された。

2 稼働日にわたり、冷却工程後の食鳥とたいを時系列を追って採材し、微生物試験に供したところ、処理直後(0時間後)の時点で採材した食鳥とたい首皮1gあたりの平均菌数は、一般生菌数が4.74 log CFU/g、腸内細菌科菌群数が2.99 log CFU/g、カンピロバクター菌数が1.09 log CFU/gであったが、処理半ばにおける各菌数はそれぞれ5.29 log CFU/g、3.23 log CFU/g、1.35 log CFU/gとなり、いずれも処理開始直後の検体に比べ、有意な増加を示した(図1)。

更に処理が進んだ処理終盤の食鳥とたい首皮における菌数は、一般細菌数が5.42 log CFU/g、腸内細菌科菌群数が3.15 log CFU/g、カンピロバクター菌数は1.80 log CFU/gとなり、一般生菌数及びカンピロバクター菌数はやや増加傾向を示したが、処

理半ばに比べ、有意な差異は認められなかった（図1）。

#### D. 考察

本研究では食鳥検査員が実施する外部検証微生物試験における採材時点を処理半ばとする妥当性を評価することを目的として、一般的な処理工程を有する大規模食鳥処理場における冷却後食鳥とたいを試料とした微生物試験を行い、それらの時系列挙動を解析した。本研究結果から、処理開始直後の食鳥とたいを採材することが望ましくなく、半ば以降での試料確保が望ましいことが確認された。

また、採材時点を検討するにあたり、当該施設では中抜き工程での腸切れ頻度を目視確認することで、腸切れの発生頻度に関する情報収集につとめた。冷却工程前における腸切れ発生は糞便等の交叉汚染に直接的な影響を及ぼす要因と考えられることから、HACCPに基づく衛生管理を更に向上させていく上では、処理工程を通じた実態把握とその情報に基づいた形での工程管理の改善措置の設定が有効な手立てとなるものと期待される。特にCCP工程とすることの多い冷却工程については、換水頻度や殺菌剤の有効持続時間をはじめとする不明な点が多い。次年度以降には、こうした点を踏まえ、冷却水中の微生物挙動に加え、濁度や殺菌剤の有効成分濃度等の物性についても動態を評価することで、処理場での衛生向上に向けた知見の創出を図りたい。

#### E. 結論

大規模食鳥処理場での冷却工程後の食鳥とたいにおける微生物汚染実態を処理の進

捗に応じて時系列比較し、処理半ば以降での検出菌数は処理開始直後に比べて有意な増加を認め、処理半ば以降での採材が対象施設での外部検証を行う上で必要かつ有用なタイミングであることを裏付ける知見が得られた。次年度には冷却水中の時系列変動等についても検討を進め、冷却水の望ましい換水頻度等に関する知見、更にはカンピロバクター等の交叉汚染媒体として冷却水が直接的に関与する可能性について探索を進めたい。

#### F. 研究発表

##### 論文発表

1. Ogawa A, Nagaoka H, Asakura H. Draft genome sequence of *Campylobacter jejuni* ST-508 strain Shizu21005, isolated from an asymptomatic food handler in Japan, 2021. *Microbiol Resour Announc*. 2022; e0031622.
2. 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. *Frontiers in Veterinary Science*. 2021;8:675570.

##### 学会発表

1. 朝倉宏、山本詩織、町田李香、中馬猛久. 南九州で製造加工される生食用食鳥肉製品における衛生指標菌汚染分布と工程管理との関連性に関する検

討. 第 42 回日本食品微生物学会学術  
総会. (2021.9.21~10.20)

2. 朝倉宏: 生食用食鳥肉の製造加工を  
通じたリスク管理について. 第 58 回  
獣疫学会学術集会シンポジウム  
(2021.8.28)
3. 朝倉宏: 食肉および食鳥肉の衛生管  
理における定量的微生物モニタリン  
グ. 第 42 回日本食品微生物学会学術  
総会 (2021.9.21)
4. 朝倉宏: 生食用食鳥肉製造加工の高  
度衛生管理に関する研究について.  
厚生労働省令和 3 年度食肉及び食鳥  
肉衛生技術研修並びに研究発表会  
(2022.1.25-27)
5. 朝倉宏: 外部検証の微生物試験の分  
析結果について. 厚生労働省令和 3  
年度食肉及び食鳥肉衛生技術研修並  
びに研究発表会 (2022.1.25-27)

**G. 知的財産権の出願・登録状況**

該当なし

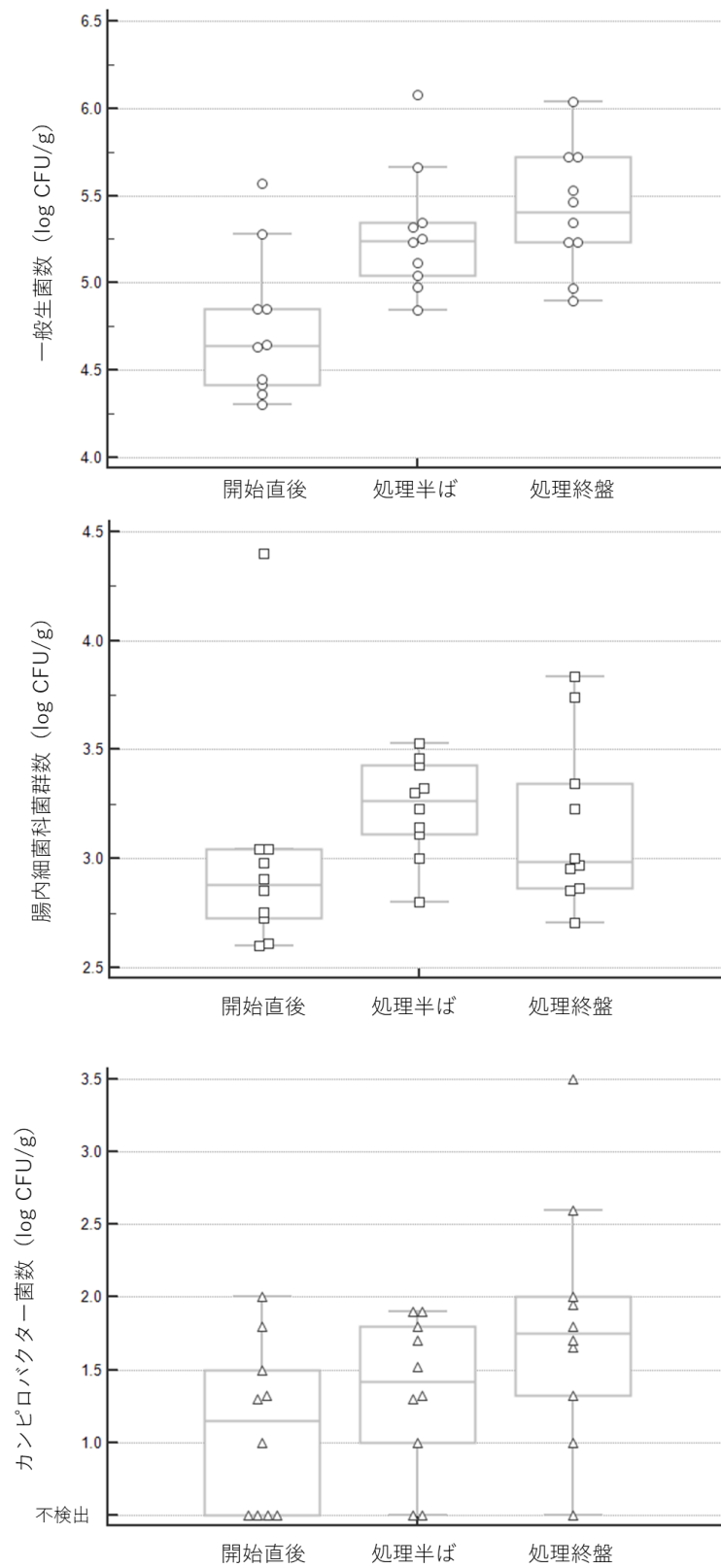


図1. 冷却工程後の食鳥とたい首皮における微生物の時系列動態.





令和3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生食用食鳥肉が製造加工されている。これまで大規模食鳥処理場・加工施設での衛生管理実態等については検討が進められ、望ましい衛生管理手法が提案されてきている一方、同食品を取扱う施設の多くは小規模である。本分担研究では、認定小規模食鳥処理場における処理工程の多様性に基づき、工程管理実態把握、問題点抽出、衛生管理の改善に取り組み、生食用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、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6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詳細が明らかになった。処理場により解体工程は一様でなくそれぞれに対し適切な管理を行う必要があると考えられた。生食用食鳥肉の生産過程におけると体表面焼烙は、その過程でのカンピロバクター汚染阻止に有効ではあるが、焼烙後の交差汚染及び食肉部分への汚染を防ぐ措置も必要と考えられた。

## A 研究目的

南九州地域では多くの生食用食鳥肉が製造加工され、管轄自治体はその衛生管理に関するガイドラインを作成している。これまで大規模食鳥処理場・加工施設での衛生管理実態等については検討が進められ望ましい衛生管理手法が提案されてきているが、同食品を取扱う施設の多くは小規模であることから、その実態に沿った衛生管理手法を提示する必要があるとされている。このような小規模処理施設における処理工程は小規模であるが故に、極めて多様な方法がとられていると想定されたことから、本分担研究では、それらの小規模施設の多様性について、特に衛生管理実態の把握と問題点の抽出を行うことで、生食用食鳥肉製品の更なる安全性確保に向けた製造加工工程の衛生管理向上に資することを目的

として検討を行ったので報告する。

## B 研究方法

### 1. 調査対象施設

鹿児島県内の生食用食鳥肉を取り扱う認定小規模食鳥処理場及び食肉加工施設のうち、処理工程が異なることが事前聴取により確認できた、6施設（A～F）を対象として調査を行った。それぞれの処理場の主な特徴を挙げ、処理工程の概略と調査回数を表1に示す。

### 2. 供試材料

処理場搬入鶏のクロアカスワブ、処理工程における鶏の皮または肉を材料として25g採取した。クロアカ（総排泄腔）スワブは滅

菌綿棒によって採取した。解体加工工程から、脱羽後、チラー後、焼烙後、解体後に皮または肉を、最終製品を含めてそれぞれ採取した。さらに、それぞれの鶏の盲腸を結紮して採取した。本研究では、A～F の 6 施設を対象とし、解体処理工程における食鳥と体のカンピロバクター汚染動態に加え、必要に応じて、まな板などのふき取りによる施設環境調査、や農場における保菌状況調査もあわせて実施した。

### 3. カンピロバクターの分離・同定及び定量

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 2 pmol/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°C 30 秒の 35 サイクルで実施した。反応後の

PCR 産物は、1.5%アガロースゲル

(AMRESCO、Ohio、US) で 100V、60 分電気泳動を行い、エチジウムブロマイド染色後に増幅断片の有無及び分子量を確認した。

採取した鶏肉については、最確数 (MPN) 3 本法を用いて、カンピロバクター菌数を推定した。鶏皮または肉 25 g とプレストン液体培地 (Oxoid、Hampshire、UK) 225ml を 1 分間ストマッキング処理し、検体懸濁液を調整した。その後、同懸濁液 10ml を 3 本作成したほか、同懸濁液 1ml、0.1ml をそれぞれ 3 本ずつプレストン液体培地 9ml、9.9ml に接種し、10ml の 10 倍、100 倍希釈液として培養した。その後、培養液より 1 白金耳をとり、バツラー寒天培地 (Oxoid) に画線塗布し培養に供した。同定はクロアカスワブの場合と同様に実施した。

盲腸内容物におけるカンピロバクター菌数算定には平板希釈法を用いた。盲腸内容物 0.5g を 4.5ml のチオ硫酸ナトリウム緩衝ペプトン水で 10 倍希釈後、5 段階の 10 倍階段希釈液を作成した。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

研究対象とした計 6 施設それぞれについて、処理工程の概要及び処理工程を通じたカンピロバクター検出成績を以下に記す。

A 処理場では、懸吊焼烙、外剥、解体の順で処理されていた。この処理場では鶏を自家

飼育しており、農場の事前調査で、鶏直腸スワブ12検体、落下糞便、飲水、いずれからもカンピロバクターが分離されることはなかったことから、飼育段階からカンピロバクター陰性と判断し、処理工程は調査しなかった。

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

施設Cでは、内臓中抜、網上焼烙後、トラックで焼烙後と体を運搬移動し、別棟で解体製品化し、販売を行う形をとっていた。1回目の調査では、焼烙後の皮と肉、及び製品にわずかながらカンピロバクターが検出された(表3-1)。焼烙直後にと体内腔から交差汚染しないよう取り扱いを衛生指導したところ、2回目の調査では、表面焼烙後の検体から菌が検出されることはなかった(表3-2)。

施設Dでは、内臓中抜後にチラー処理を行い、その後、個別に水道水で腹腔内を洗浄、網上焼烙、解体、製品化をいう手順をとっていた。調査の結果、チラー洗浄後の皮からわずかに菌が検出されたが、表面焼烙後ではいずれの検体からも菌は検出されなかった(表4)。中抜きによる処理法でも適切にと

体を取り扱えば表面焼烙により汚染を阻止できる可能性が推察された。

施設Eでは、チラー槽で冷却したと体をチェーンに掛けて移動させながら表面焼烙を行い、冷水シャワーによる再冷却した後、外剥ぎで解体製品化する工程であった。表面焼烙直後の皮は陰性であったが、シャワー冷却後に1検体微量ながら陽性が見られた(表5)。解体後の肉、製品は陰性であった。表面焼烙後の交差汚染を阻止することが課題となると思われる。

施設Fでは、搬入、放血、湯漬の工程からチェーンによる懸吊を行い、大規模処理場とほぼ同様の作業によって、脱羽、内臓中抜き、チラー処理を行っていた。その後、と体を再度チェーン懸吊して、風乾、表面焼烙、氷冷、解体、製品化へと続く工程をとっていた。本施設では、鶏個体の追跡調査を行うことはできなかったため、1回目に拭き取り調査を行った(表6-1)。その結果、焼烙後と体の腹腔内スワブ10検体中8検体がカンピロバクター陽性であった。また、解体室におけると体表面及びブロック肉の皮それぞれ10検体中2検体ずつ陽性例が見られた。まな板などの環境拭き取り検体は全て陰性であった。2回目調査における定量的検査において、焼烙直後の皮は全て陰性であったものの焼烙後氷冷中の皮や解体後の肉から微量ながらカンピロバクターが検出された(表6-2)。中抜き後のと体腹腔内面は焼烙されないため、交差汚染の原因になりかねないと考えられる。

本年度の研究調査では異なる形態の工程を取る6施設の認定小規模食鳥処理場/食肉処理施設を調査することができ、その衛生管理状況の詳細が明らかになってきた。処理場により解体工程は一様でなく、それぞれに対し適切な管理を行う必要がある。生食用食鳥肉

の生産過程でと体表面焼烙は、その過程でのカンピロバクター汚染阻止に有効ではあるが、焼烙後の交差汚染及び食肉部分への汚染を防ぐ措置も必要と考えられた。

#### **D. 研究発表**

##### 1. 論文発表

・ Duc VM, Kakiuchi R, Obi T, Asakura H, Chuma T. (2022) The incidence of *Campylobacter* contamination levels through chicken-sashimi processing steps in a small-scale poultry processing plant applying the external stripping method. J Vet Med Sci. 84 (3): 414-419.

##### 2. 学会発表

・ Vu Minh Duc、柿内梨那、小尾岳士、朝倉宏、中馬猛久. Decontamination of *Campylobacter* through chicken-sashimi processing steps in a small-scale poultry processing plant applying the outer stripping method. 第164回日本獣医学会学術集会. 2021年9月7日(火)から13日(月) 酪農学園大学(オンライン).

#### **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

表 1. 調査対象施設における処理工程の概要と調査件数

施設	処理工程の概要	調査回数
A	脱羽 → 冷却 → 懸吊焼烙 → 外剥 → 解体 → 製品	事前
B	脱羽 → 冷却 → 網上焼烙 → 外剥 → 解体 → 製品	3
C	脱羽 → 冷却 → 内臓中抜 → 網上焼烙 → 運搬移動 → 解体 → 製品	2
D	脱羽 → 内臓中抜 → 冷却 → 個別洗浄 → 網上焼烙 → 解体 → 製品	1
E	脱羽 → 冷却 → チェーン懸吊焼烙 → シャワ → 冷却 → 外剥 → 解体 → 製品	1
F	脱羽 → 内臓中抜 → 冷却 → 乾燥 → チェーン懸吊焼烙 → 氷冷 → 解体 → 製品	2

表 2-1. 処理場 B 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)	チラー後の皮 (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)	製品 (MPN/10g)
1	+	3.2x10 <sup>5</sup>	240	240	4	+	1.1x10 <sup>5</sup>	—	—	—
2	+	1.7x10 <sup>5</sup>	1100	240	5	+	1.5x10 <sup>5</sup>	—	—	—
3	+	6.8x10 <sup>5</sup>	23	150	6	+	6.4x10 <sup>4</sup>	—	—	—

表 2-2. 処理場 B の調査結果（2回目：MPN/10g）

解体工程むね	解体工程もも	解体工程ささみ	製品むね	製品もも
4	>1400	93	4	—
4	23	23	—	—
—	—	9	—	—

表 2-3. 処理場 B の調査結果（3回目：MPN/10g）

焼烙後皮	解体工程むね	解体保存むね	製品 1	製品 2
240	—	4	240	9
4	—	4	15	4
4	—	4	—	3

表 3-1. 処理場 C 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)	脱羽後皮 (MPN/10g)	チラー後の皮 (MPN/10g)	鶏番号	クロアカスワブ	盲腸内容物 (cfu/g)	焼烙後皮 (MPN/10g)	解体後の肉 (MPN/10g)	製品 (MPN/10g)
1	+	6.6x10 <sup>3</sup>	>1400	43	4	+	4.1x10 <sup>6</sup>	—	—	23
2	+	3.8x10 <sup>5</sup>	460	240	5	+	7.3x10 <sup>5</sup>	93	23	4
3	+	LA	>1400	460	6	+	7.7x10 <sup>5</sup>	—	—	—

表 3-2. 処理場 C の調査結果（2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)	チラー後の皮 (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)	解体後の肉 (MPN/10g)	製品 (MPN/10g)
1	+	8.0x10 <sup>2</sup>	>1400	43	4	+	3.8x10 <sup>3</sup>	—	—	—
2	+	4.8x10 <sup>5</sup>	460	240	5	+	7.9x10 <sup>3</sup>	—	—	—
3	+	3.5x10 <sup>5</sup>	>1400	460	6	+	2.9x10 <sup>5</sup>	—	—	—

表 4. 処理場 D の調査結果

鶏番号	クロアカスワブ	盲腸内容物 (cfu/g)	脱羽後の皮 (MPN/10g)	チラー後の皮 (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)	解体後の肉 (MPN/10g)	製品 (MPN/10g)
1	+	1.7x10 <sup>6</sup>	460	23	4	+	2.0x10 <sup>5</sup>	—	—	—
2	+	1.3x10 <sup>7</sup>	1100	23	5	+	2.2x10 <sup>4</sup>	—	—	—
3	+	4.4x10 <sup>5</sup>	93	9	6	+	5.2x10 <sup>4</sup>	—	—	—

表 5. 処理場 E の調査結果

鶏 番 号	クロ アカ スワブ	盲腸 内容物 (cfu/g)	脱羽後 の皮 (MPN/10g)	チラー 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)	解体後 の肉 (MPN/10g)	製品 (MPN/10g)
1	+	8.4x10 <sup>4</sup>	43	—	4	+	6.1x10 <sup>4</sup>	—	—	—
2	+	2.1x10 <sup>4</sup>	93	—	5	+	5.4x10 <sup>6</sup>	—	—	—
3	+	4.5x10 <sup>5</sup>	93	—	6	+	2.3x10 <sup>4</sup>	15	—	—

表 6-1. 処理場 F の調査結果（1回目）

検体	拭取 場所	検体 数	陽性 数	検体	拭取 場所	検体 数	陽性 数
チラー後風乾前と体	表面	10	1	氷冷後分割前と体	表面	10	2
チラー後風乾前と体	腹腔内	10	1	分割後ブロック肉	皮面	10	2
風乾後焼烙前と体	表面	10	0	冷蔵庫保管ブロック肉	皮面	5	0
風乾後焼烙前と体	腹腔内	10	0	冷蔵庫保管ブロック肉	皮面	5	0
焼烙後と体	腹腔内	10	8	環境	まな板など	10	0

表 6-2. 処理場 F の調査結果（2回目：MPN/10g）

チラー 前の皮	チラー 後の皮	焼烙 直後の皮	焼烙後 氷冷中の皮	解体後 の肉	製品
23	9	—	4	4	—
23	9	—	9	23	—
43	23	—	—	—	—
93	93	—	—	—	—





令和3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：**本分担研究では、国内のと畜場・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手法を、国際動向を踏まえて構築することを目的として、本年度は、全国から厚生労働省に報告された検査データを精査し、牛・豚・食鳥とたいにおける一般生菌数と腸内細菌科群数、ならびに食鳥とたいにおけるカンピロバクター数に関する国内の状況を解析した。また、それらの情報を衛生指導へ有効活用するための効率的な評価手法の構築を目指し、Moving windows 方式での評価手法案をエクセルファイルとして作成した。今後、これらの実効性を精査した上で、最終的なファイルの提示へとつなげたい。

## A. 研究目的

本分担研究では、と畜場及び大規模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し、最終的には、各事業者及び自治体等が自ら検証結果に基づき、衛生管理状況の確認をすべき時系列や工程、更には対策が行われた後の改善効果の評価等の実施に資する解析手法の提供を目的としている。

令和3年度は、全国のと畜場・食鳥処理場で取得された HACCP 外部検証微生物試験成績のデータ解析に協力すると共に、こうしたデータの取得後に各対象施設の衛生管理状況の評価に資する解析手法に関する原案の作成を進めたので報告する。

## B. 研究方法

1. 国内関連施設における検査成績の動向把握のための解析

各自治体から厚生労働省に報告がなされた日本国内のと畜場及び大規模食鳥処理場におけるとたいの微生物試験データについて、匿名化した上で、全体の傾向を分析し、各畜種ごとに検査成績の統計学的状況を解析した。

2. Moving windows 方式での試験結果解析フォーマット原案に関する検討

日本におけると畜場・食鳥処理場での微生物検査実態を考慮しつつ、HACCP に基づく衛生管理が先行的に実施されている欧州、米国、オーストラリア、ニュージーランド等で多くの施設で採用が進んでいる、“Moving windows 方

式”での微生物検査成績の評価に関する手法の円滑な導入を検討するため、Lee らの報告（Food Control. 58(12): 23-38. doi: 10.1016/j.foodcont.2014.07.012）等で示される様式を参照しつつ、原案の作成にあたった。

## C. 結果

### 1. 国内施設での現状の検査状況の把握

自治体から厚生労働省に報告された国内のと畜場及び食鳥処理場における微生物試験データについて、全体の傾向を分析し、特に年間を通じての変動性に着目した検討を進めた。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ったが、一部食鳥処理場からはカンピロバクターのデータも取得されていた。

令和元年度下半期と同様に、全体ではバラつきは見られたものの、牛、豚、及び食鳥の各とたいにおける一般生菌数及び腸内細菌科菌数とともに、一定の範囲内に概ね収束することが確認された（図1）。衛生状態の良否を判断する一つの目安として、「平均値+2標準偏差（SD）」を上限値として採用した場合、牛、豚および食鳥とたいにおける一般生菌数は、それぞれ  $4.21 \log \text{CFU}/\text{cm}^2$ 、 $3.93 \log \text{CFU}/\text{cm}^2$  および  $5.88 \log \text{CFU}/\text{g}$  であった。同様に牛、豚および食鳥とたいにおける腸内細菌科菌数はそれぞれ  $1.60 \log \text{CFU}/\text{cm}^2$ 、 $1.58 \log \text{CFU}/\text{cm}^2$  および  $4.91 \log \text{CFU}/\text{g}$  であった。これらの数値は絶対的な基準とは言い切れないが、我が国での食肉とたいにおける一般的な値として解釈され、同指標からの逸脱の有無をもって、対象施設における衛生状況の判断を行い得る数値としての活用が期待されると判断された。

食鳥処理場におけるカンピロバクター数の分布等については、十分な継続的なデータの蓄積がなされていないため、本年度での適合性を

判断するには至らなかった

### 2. Moving window 方式での評価の検討

と畜場・食鳥処理場における牛、豚、及び食鳥とたいにおける一般生菌数、腸内細菌科数、並びに食鳥とたいにおけるカンピロバクター菌数に係る試験結果は、HACCP に基づく衛生管理が適切に実行されているかを評価するための基礎データとしての活用が期待される。検査体制の実態を考慮すると、現状では月に一回程度の検査が現実的であることから、この検査間隔を基準にして、Moving windows 方式での評価を実施するためのエクセルのスプレッドシートを構築した（図2）。Moving windows 方式を採用する場合には、window 幅（間隔）の設定が問題になるが、現状の日本の検査体制を考慮すれば、月に一回の検査で3ヶ月ごと、あるいは6ヶ月を一つの評価 window として検討するのが妥当と考えられた。

上述のスプレッドシートへあると畜場で処理された牛枝肉の微生物試験成績データ（一般生菌数）を入力した場合には、図3に示したような経時的な菌数変動グラフが自動的に生成される形式とした。同グラフでは、上側に示された赤色点線（上限値=平均値+2SD）を2回連続で超えるような事態が発生した場合には、工程管理の異常を疑い、作業工程の点検を実施する、といった意思決定の支援ツールとして活用することが期待される。

## D. 考察

欧米諸国等の動向を考慮すると、サンプリングプランを考慮した基準設定が理想的ではあるが、国内のと畜場・食鳥処理場は欧米に比べて集約化が進んでおらず、管理体制や施設設備の多様性を鑑みた対策が必要と考えられる。この視点からは、頻回に微生物試験を実施できる状況にはない施設・自治体も多いと考えられる

ため、最低ラインとして月に一回程度の微生物検査実施が現時点では現実的なところと推察される。継続的なデータ蓄積は、施設の衛生管理実態に係る時系列変化を把握していくために有用であり、HACCPに基づく管理体制の良否を判断することにつながるであろう。

現状では食鳥処理場でのカンピロバクター数の評価基準策定にはデータが圧倒的に不足しており、日本国内の事情を反映した評価基準の策定は難しいところである。今後、急激にカンピロバクター数データが蓄積されるかは不透明であるが、仮に十分な基礎検査データが蓄積されなかった場合には、諸外国の基準を参照した形での Moving window 方式を採用した評価方法を構築していくことも一つの対応策としてありうると考えられる。

## **E. 結論**

本年度は、国内でのと畜場・食鳥処理場における牛、豚、食鳥とたいの微生物汚染成績を把握して、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できた。また、検査データの入力分析システムフォーマットを、今後の本格的な導入に向けて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

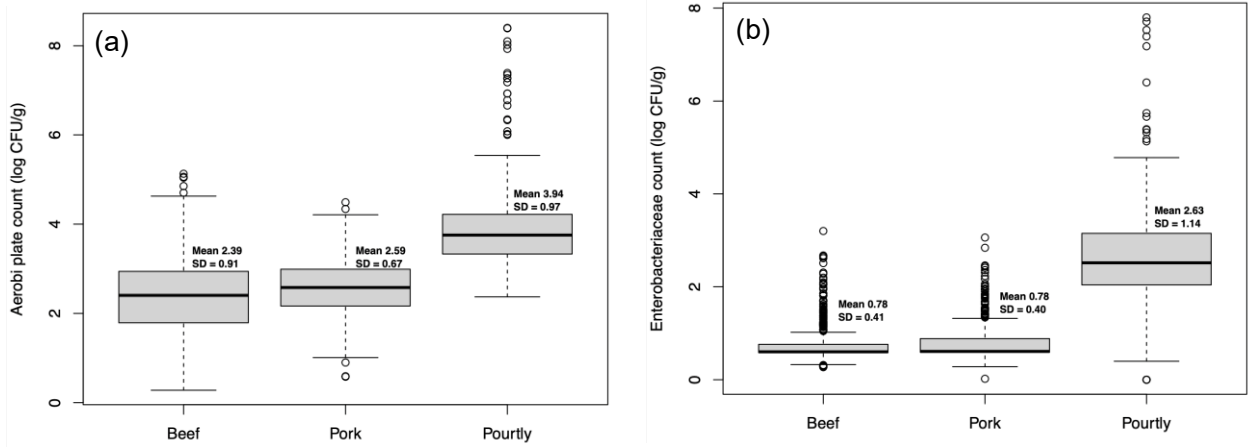


図 1 と畜場および食鳥処理場における牛肉、豚肉、鶏肉の一般生菌数 (a) および腸内細菌科数 (b) の分布

* 3ヶ月を一つのWindowとした場合の評価案 (月に一回の検査を想定)															
採材年月日	Moving Window (MW)	検査結果 (log CFU/g)					検査データ集計結果 (log CFU/g)		検査データ集計結果 (log CFU/g)		平均値±2SDを超えた 検体数 (MW単位)	MWは許容 できるか?	総合成績	改善指導 内容	
		試料 1	試料 2	試料 3	試料 4	試料 5	検査日平均	検査日SD	Window	MW mean					MWm + 2SD
2020/8/18	1	2.00	1.71	2.10	2.16	2.19	2.03	0.19		2.23	2.75				
2020/9/29	2	1.95	1.58	1.72	2.79	2.03	2.01	0.47		2.23	2.75				
2020/10/13	3	2.58	2.40	1.56	1.85	1.99	2.08	0.42	1	2.04	2.75				
2020/11/10	4	1.92	2.05	2.27	1.86	2.19	2.06	0.17	2	2.05	2.75				
2020/12/8	5	2.48	1.66	2.67	2.43	2.88	2.42	0.46	3	2.19	2.96				
2021/1/12	6	2.27	3.91	2.02	3.23	2.51	2.79	0.77	4	2.42	3.59	1	1		
2021/2/16	7	2.38	2.44	2.21	2.27	3.37	2.54	0.48	5	2.58	3.72	1	1		
2021/3/9	8	1.44	1.93	1.52	1.65	2.65	1.84	0.49	6	2.39	3.77	1	1		
2021/5/19	9	3.01	1.76	1.97	1.36	2.11	2.04	0.61	7	2.14	3.29	1	1		
2021/6/14	10	2.86	0.75	1.50	1.31	1.18	1.52	0.80	8	1.80	3.07	1	1		
2021/7/12	11	3.18	2.11	2.00	1.42	1.35	2.01	0.73	9	1.86	3.28	1	1		
2021/8/24	12	1.47	2.50	2.27	2.44	1.75	2.09	0.45	10	1.87	3.23	1	1		
2021/9/13	13	2.51	2.91	2.59	1.44	2.56	2.40	0.56	11	2.17	3.32	0	1		
2021/10/20	14	2.77	3.01	2.10	1.98	2.75	2.52	0.45	12	2.34	3.32	0	1		
2021/11/21	15						#DIV/0!	#DIV/0!	13	2.46	3.43	0	1		
2021/12/23	16						#DIV/0!	#DIV/0!	14	2.52	3.43	0	1		
2022/1/24	17						#DIV/0!	#DIV/0!	15	#DIV/0!	#DIV/0!	0	1		
2022/2/25	18						#DIV/0!	#DIV/0!	16	#DIV/0!	#DIV/0!	0	1		
2022/3/29	19						#DIV/0!	#DIV/0!	17	#DIV/0!	#DIV/0!	0	1		
2022/4/30	20						#DIV/0!	#DIV/0!	18	#DIV/0!	#DIV/0!	0	1		
2022/6/1	21						#DIV/0!	#DIV/0!	19	#DIV/0!	#DIV/0!	0	1		
2022/7/3							#DIV/0!	#DIV/0!	20	#DIV/0!	#DIV/0!	0	1		
2022/8/4							#DIV/0!	#DIV/0!	21	#DIV/0!	#DIV/0!	0	1		

図2 Moving windows 方式での微生物試験結果を評価するためのエクセルスプレッドシート例.

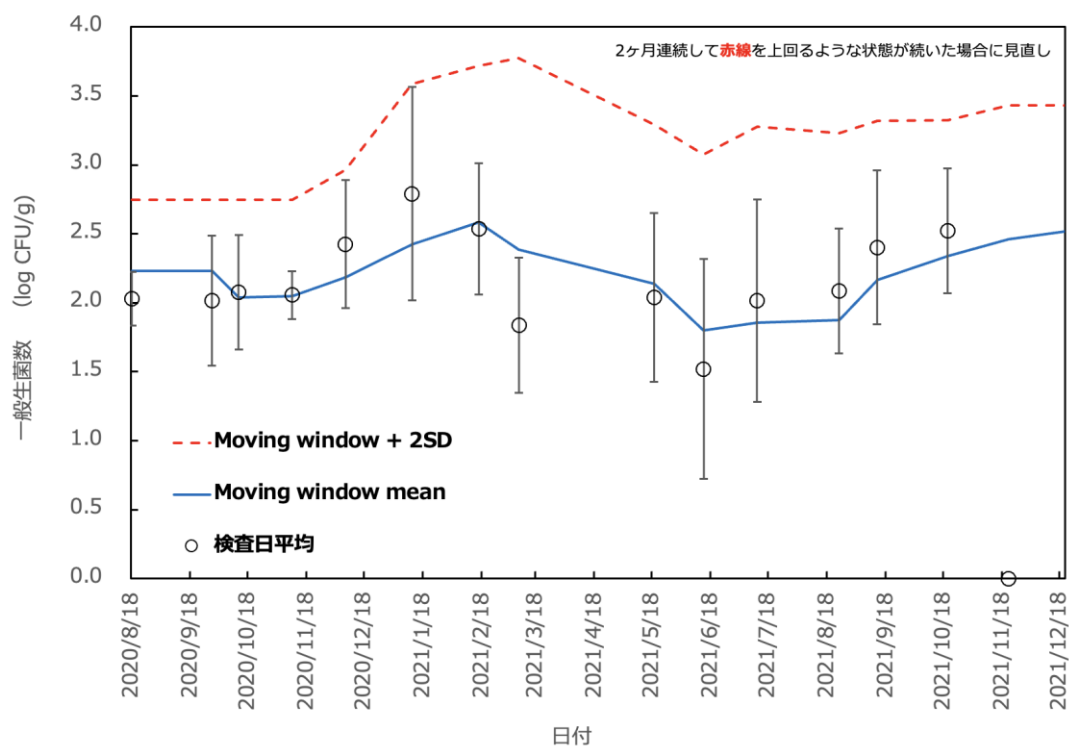


図3 あると畜場で処理された牛枝肉の持続的微生物試験成績（一般生菌数）のグラフ例.

令和3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

と畜場等で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：**と畜場法及び同施行規則、及び食鳥処理場の事業の規制及び食鳥検査に関する法律及び同施行規則の改正に伴い、と畜場及び食鳥処理場では自治体等が行う外部検証が要件とされた。外部検証を効果的に実施する上では事業者が自ら行う内部検証活動との連携が有効と考えられる。本分担研究では、と畜・食鳥検査員が実施する外部検証及び事業者が実施する内部検証の実態調査から、内部検証と外部検証の連携性を確認し、この問題を解決するために外部検証と連携性を持つ内部検証プログラム原案の作成を進めた。同案作成にあたっては、聞き取り調査から明らかになった内部検証の意義に関する事業者の理解不足、内部・外部検証活動間の整合性の低さ等の問題を解決するため、施行規則で示される検証の目的の理解促進、外部検証通知の引用等の作成方針を設定したほか、海外の HACCP 関連規格との整合性を考慮した。作成したプログラム案の活用により、事業者側には検証の目的の理解促進による内部検証活動の実効性の向上、及び外部検証を意識した内部検証の実施が期待され、一方でと畜・食鳥検査員側には内部検証との連携による外部検証活動の効率化と、記録確認の負担軽減に伴う妥当性確認への活動の重点化が期待される。今後、同プログラム案についてはステークホルダーからの意見聴取の後に必要な改訂を行った上で、検証活動の高度化を目指す施設が参照できる情報の提供へとつながることが期待される。

#### A. 研究目的

平成30年に公布された「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号及び第9条第1項第2号及び、食鳥処理場の事業の規制及び食鳥

検査に関する法律（以下、食鳥検査法）第11条第1項第2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年より本格的な運用が開始されることとなった。同要求に基づくと畜場及び大規

模食鳥処理場の衛生管理では、事業者が自ら実施する内部検証に加え、と畜検査員及び食鳥検査員による外部検証の実施が義務付けられ（と畜場法施行規則第3条第6項及び第7条第5項、食鳥処理の事業の規制及び食鳥検査に関する法律施行規則（以下、食鳥検査法施行規則）第4条第4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による外部検証の実施について」（以下、「外部検証通知」）が通知された。同通知ではと畜検査員及び食鳥検査員が実施する外部検証の手順及び評価方法が示されており、令和3年6月より本格的な施行が開始されたところである。

外部検証通知の中では外部検証で確認する事項として、微生物検査（同通知別添1及び2の第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及びHACCPプランに関する手順書の確認（同通知内別添1及び2の第4項の（1））、施設・設備管理に関する記録及び実施状況の確認及び教育訓練の確認（同通知内別添1及び2の第4項の（2））、生体・と体の取り扱いに関する記録及び実施状況の確認及び教育訓練の確認（同通知内別添1及び2の第4項の（3））について示されている。微生物検査以外の確認事項の具体については同通知内で別表1及び別表2として示されており、と畜検査員及び食鳥検査員はそれぞれ別表1及び別表2に示された個々の内容について現場確認及び記録確認を通じてと畜場及び食鳥処理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っている。

と畜場及び食鳥処理場での効果的な外部検証実施に向けては、検証活動の独立性を保ちながらも、事業者が自ら実施する内部検証の結果を有効活用することが望まれる。と畜場法施行規則及び食鳥検査法施行規則においても事業者に対し、と畜場・食鳥処理場の管理及びと畜・食鳥処理作業の衛生的な実施や各活動の効果等を検証するよう求めている。

と畜場及び食鳥処理場の衛生管理に関する前提条件プログラムは施行規則内で詳細な手順が示され、また、HACCPについては業界団体等が作成した手引書内で詳細な手順が示されている。しかしながら、現在公開されているHACCPの手順書では、CCPの管理方法、各種記録方法等

（HACCP原則1～5及び7）のSOP及び記録様式は詳細に例示されるが、それらの検証方法（原則6）については詳細な手順が示されたものは少ない。このため、事業者ごとに検証手順及び検証に係る記録様式等が異なり、このことは効率的な外部検証を実施する上での大きな障害となるおそれがあると考えられる。

そこで本年度は、事業者が参照可能な内部検証プログラム原案作成を目的として検討を進めた。検討にあたっては、自治体等が行う外部検証の効率的な実施が可能となるよう、外部検証通知との関連性を明確にした内容となるように構成し、加えて海外のHACCP関連規格等との整合性にも配慮して進めた。

## B. 研究方法及び結果

### 1. 検証活動に関する問題点の抽出

#### 4 自治体（食肉衛生検査所）への聞き取り



調査を実施し、外部検証の実施方法について確認すると共に、現状の問題点について抽出を行なった。各食肉衛生検査所では外部検証通知に従った外部検証活動が開始され、ウォークスルー方式での現場確認に加え、事業者が作成した記録の検査も実施されていることが確認された。外部検証通知においては別表 1 及び 2 の項目について、月一回以上の記録確認及び、原則毎日の現場確認を実施することとなっており、各食肉衛生検査所では基本的にこれらの頻度に従った検証活動が実施されていたが、別表 1 及び 2 に示された確認項目は膨大なものであり、原則毎日実施する現場確認と併せてその作業量が膨大なものとなっていることも明らかとなった。

一方で、と畜事業者（2社）、食鳥処理事業者（1社）への聞き取り調査を実施し、内部検証活動についての問題点の抽出を行なった。と畜場法施行規則第 3 条第 1 項及び第 7 条第 1 項では、と畜場の衛生管理及び衛生的なとさつ・解体に関する要求事項が、食鳥検査法施行規則別表第三では食鳥処理場の衛生管理及び食鳥、食鳥とたい、食鳥中抜とたい及び食鳥肉等の衛生的な取扱に関する要求事項が示されている。加えて、それらの衛生管理等に対する検証については、と畜場法施行規則では第 3 条第 1 項 2 6 号及び第 5 項 4 号に加え第 7 条第 1 項 2 0 号及び第 4 項 4 号において、食鳥検査法施行規則では別表第 3 第 4 号ハに加え第 4 条第 3 項 4 号において要求事項として示されている。事業者への聞き取り調査の結果、施設の衛生管理及びと体等の衛生的な処理作業（と畜場法施行規則第 3 条第 1 項及び第 7 条第 1 項関連及び、食鳥検査法施行規則別

表第三関連）に関する理解は非常に進んでおり、各工程の管理記録も十分に作成されていることが確認された。一方で、検証（と畜場法施行規則第 3 条第 1 項 2 6 号及び第 5 項 4 号、及び第 7 条第 1 項 2 0 号及び第 4 項 4 号関連、及び食鳥検査法施行規則別表第 3 第 4 号ハ及び第 4 条第 3 項 4 号関連）については、事業者により、その理解度は様々であり、このことが原因で内部検証に対する取り組み状況（方法及び頻度）の差異を生み出す要因となっている可能性が示唆された。また、内部検証と外部検証との間の連携も弱く、このことが原因でと畜・食鳥検査員による外部検証の負担が大きくなっていると考えられた。

## 2. 検証に関する海外規格についての調査

平成 30 年の「食品衛生法の一部を改正する法律」は、食品衛生管理の国際的動向との整合性も強く意識されたものとなっている。本研究では、検証活動における海外規格との整合性の確保を図る目的で the Code of Federal Regulation Title 21（以下、CFR Title 21）、ISO 22000:2018 食品安全マネジメントシステム、製造の SQF 食品安全コードで示される検証に関わる要求事項を整理した。CFR Title 21 では Chapter I Part 117.115 とその関連項目及び Part 120.11 において、ISO 22000:2018 では 8.8 節：PRPs 及びハザード管理プランに関する検証において、製造の SQF 食品安全コードではパート B:製造の SQF 食品安全コード、食品製造の SQF システム要素の 2.5 節:SQF システム検証において、それぞれ検証に関する要求事項が示されている。これらの中で、検証についての要求事項が最も詳細に述べられているのは CFR Title 21 であった。CFR

Title 21 Chapter I Part 117.115 とその関連項目では前提条件プログラムの検証に関する要求事項が、Part 120.11 においては HACCP プランの検証に関する要求事項が示される構成となっている。以下に Chapter I Part 117.115 の簡易的な和訳を示す。

#### § 117.155 検証

##### (a) 検証活動

検証活動は以下の活動を含まなくてはならない。

- (1) 妥当性確認を、§ 117.160. (妥当性確認) に従って実施する。
- (2) モニタリングの検証を、§ 117.140 (危害発生を防止するための活動に必要な要素) 及び § 117.145 (モニタリング) に従って実施する。
- (3) 是正措置の検証を、§ 117.140 (危害発生を防止するための活動に必要な要素) 及び § 117.150 (是正処置及び修正) に従って実施する。
- (4) 実施状況と有効性の検証を、§ 117.165 (実施状況と有効性の検証) に従って実施する。
- (5) 再解析を、§ 117.170 (安全計画の見直し) に従って実施する。

##### (b) 文書化

全ての検証活動は適切に記録されなくてはならない。

上記に示される様に、CFR Title 21 において検証活動は記録確認 (実施状況の検証) と妥当性確認 (有効性の検証) に大きく分類されており、検証活動の国際的整合性を確保するためには少なくともこれらの確認を検証活動に含めるべきであると考えられる。また Part 117.165 においては下記に示す簡易訳 (抜粋) の通り、記録の確認頻度として 7 営業日を要求していた。

#### § 117.165 実施状況と有効性の検証

(a) **検証活動** 危害発生の防止が適切に実行されており、その活動が効果的かつ危害を十分に最小化するものとなっているかを検証しなくてはならない。検証活動は、適応可能な場合、以下の項目を含めなくてはならない。

- (1) 製造工程のモニタリングに使用する機器の校正及び、精度の検証
- (2) 病原微生物 (あるいは衛生指標菌) もしくはその他の危害に関する製品検査
- (3) RTE 食品への環境微生物の混入が危害となり

うる場合には、環境微生物 (あるいは衛生指標菌) に関する環境モニタリング

- (4) 以下に示す記録についての、品質管理者 (あるいは各工程の責任者) による適切な頻度での確認。確認においては、各記録が適切に記録されているか、食品安全計画に沿って記録されているか、危害発生の防止活動が効果的なものであるか、是正処置が適切なものであったか、について確認しなくてはならない。
  - (i) 製造工程のモニタリングの記録と是正処置の記録は、その記録が作成されてから 7 営業日以内 (あるいは適切な頻度で) に確認されなくてはならない。
  - (ii) 校正と製品検査 (及び環境検査) の記録、供給者の検証の記録、及びその他の検証の記録については記録作成から適切な期間内に確認されなくてはならない。

一方で Part 120.11 では HACCP プランの検証に関する要求事項が以下 (簡易訳、抜粋) の様に示されている。

#### § 120.11 検証と妥当性確認

(a) **検証** HACCP プランで実施される全てのプロセスは検証されなくてはならない。

- (1) 検証は以下の活動を含まなくてはならない。
  - (i) 顧客から寄せられた苦情について、HACCP プランの有効性に関連するものかを解析し、HACCP プランにおいて認知されていなかった CCP の設定の必要性について検討しなくてはならない。
  - (ii) モニタリングに使用する機器の校正を行わなくてはならない。
  - (ii) 必要に応じて、最終製品 (あるいは製造過程の製品) について検査を実施しなくてはならない。
  - (iv) 以下の記録についてレビューしなくてはならない。
    - (A) CCP のモニタリング記録について、記録が作成されてから 1 週間以内にレビューする。このレビューの目的は、最低でも、記録が確実に実施されているかの確認及び、管理基準を逸脱していないかの確認とならなくてはならない。
    - (B) 改善処置の記録について、記録が作成されてから 1 週間以内にレビューする。このレビューの目的は、最低でも、記録が確実に実施されているかの確認及び、適切な改善措置を実施したかの確認とならなくてはならない。
    - (C) CCP のモニタリングに使用する機器及び、検証活動の一部として実施される製品 (あるいは製造過程の製品) の検査に使用する機器の校正の記録は、記録が作成されてから適切な期間内にレビューする。この

レビューの目的は、最低でも、記録が確実に実施されているかの確認及び、計画された校正頻度で実施されているかの確認となっていないてはならない。

(v) 検証実施後には改善措置の必要性について検討しなくてはならない。

(b) **HACCP プランの妥当性確認** HACCP プランは少なくとも年1回の頻度で、効果の妥当性について確認しなくてはならない。また、危害の発生に影響する製造工程の変更があった場合にも、HACCP プランの妥当性について確認しなくてはならない。危害の発生に影響する製造工程の変更は、原材料（原材料の供給者を含む）の変更、製品特性の変更、製造方法（製造に用いる機器及びソフトウェアを含む）の変更、包装の変更、製品の出荷方法の変更、製品が対象とする消費者の変更等を含む。妥当性確認は適切に教育され、能力を有した者によって実施されなければならない。妥当性確認の結果、HACCP プランの妥当性が十分ではないと判断された場合には、速やかに HACCP プランを変更しなくてはならない。

上記に示される様に、HACCP プランの検証においても前提条件プログラムの検証と同様に、記録確認と妥当性確認を検証活動として要求しており、また記録確認等の頻度についても前提条件プログラムと同等となっていた。

### 3. 内部検証のプログラム案の作成

検証活動に関する聞き取り調査の結果、事業者においては検証に関する理解が進んでいないこと、外部検証との連携がなされていないことが明らかとなり、事業者に対する内部検証実施のための支援と、外部検証通知と連携可能な内部検証プログラム提案の必要性が抽出された。そこで本研究では、事業者が参照可能な内部検証のプログラム案の作成を行った。内部検証のプログラム案の作成にあたっては、事業者及びと畜・食鳥検査員への聞き取り調査の結果を踏まえ、以下の作成方針を設定した。

- ・ 施行規則で示されている「検証」の目的について事業者の理解を促進する
- ・ 事業者の負担軽減のために、チェックシ

ート方式を基本とする

- ・ 検証の頻度等について海外の HACCP に係る規格との整合性を考慮する
- ・ 外部検証通知との整合性を図ることで、外部検証の効率化に資するものとする

上記の方針に従って作成したプログラム案の第1案を別添1及び2に示す。

プログラム案では最初に「1. 施行規則に示される「検証」の目的」として、施行規則の各項で要求されている検証の目的について解説した。前述の様に CFR Title 21 Chapter I Part 117.155 によると検証活動は記録確認（実施状況の検証）と妥当性確認（有効性の検証）に大きく分類することができる。プログラム案においても検証の目的が「実施状況の検証」と「衛生管理計画の効果と妥当性の検証」に分かれていることを説明し、それぞれ、と畜場法施行規則の第3条第1項26号及び第7条第1項20号で要求されるのが一般的衛生管理プログラムの実施状況の検証であり、第3条第5項4号及び第7条第4項4号において要求されているのが一般的衛生管理プログラムの衛生管理計画の効果と妥当性の検証であること、及び食鳥検査法施行規則別表第3第4号ハで要求されているのが一般的衛生管理プログラムの実施状況の検証であり、第4条3項4号で要求されているのが一般的衛生管理プログラムの衛生管理計画の効果と妥当性の検証であることを解説した。加えて、と畜場法施行規則の第3条第2項6号及び第7条第2項6号で要求されているのが重要管理点モニタリングの実施状況の検証及び管理計画の効果と妥当性の検証であること、及び、食鳥検査法施行規則の別表第4第6号で要求されているのが重要管理点モニタリ

ングの実施状況の検証及び管理計画の効果と妥当性の検証であることを解説した。事業者への聞き取り調査から、事業者においては施行規則との関連性を明確にすることで作業実施のモチベーションを維持できることが明らかとなっている。プログラム案では上述の様に施行規則との関連性を明らかにすることで事業者の検証活動に対するモチベーション上昇を促している。

プログラム案では続いて実施状況の検証の具体的な方法を示した。「2.実施状況の検証方法」では実施状況の検証が記録の振り返りによって実行可能であることを解説し、記録の振り返りの手順について示している。記録確認の手順においては、最初に各施設での記録の整備状況の確認のために、別紙1として「記録の整備状況の確認シート」を提示した。上記シートの作成にあたっては、内部検証活動と外部検証通知との整合性の確保を図る目的で、外部検証通知の別表1及び2で確認する項目に関する記録の整備状況を確認できる仕様とした。次に、別紙1で挙げた各事業者の記録を別紙2の「記録の検証シート」に転記し、記録の確認をチェックシート方式で実施することとした。チェックシートの記入に際しては、別紙3として「記録確認のフローチャート」を提示し、フローチャートに従うことで、モニタリング状況と是正処置の妥当性の確認が可能となるように構成している。また、記録確認の頻度についてもCFR Title 21との整合性を確保するために週1回程度に設定している。これらの手順の提示により、事業者の負担を大幅に増やすことなく、外部検証通知との整合性を確保した上で、CFR Title 21で要求されるモニタリング状況と是正処置の

検証を行いながら、記録の振り返りが可能となる構成となっている。

プログラム案内「3.衛生管理計画の効果と妥当性の検証方法」では衛生管理計画の効果の確認と衛生管理手法の妥当性の確認について解説した。衛生管理計画の効果と妥当性確認の方法については様々な手法が知られているが、プログラム案においては事業者が負担なく検証活動を実施できるように、昨年度及び今年度を実施した事業者への聞き取り調査から明らかになった事業者がこれまでも実施していた項目の中から微生物検査と顧客からの苦情分析を選択し、これらの結果の分析が衛生管理計画の効果を検証する方法となることを解説した。また、微生物検査の項目については多くの事業者で自主検査として採用されている一般生菌数、大腸菌数(昨年度の調査結果より)を採用した。加えて、検証においてはこれらの結果のトレンド解析が重要であることを解説し、これまで事業者が行ってきた微生物検査及び顧客からの苦情分析を有効な検証として実施できるように促している。一方で、衛生管理手法の妥当性の確認方法としては、過去に公表されている「と畜場におけるとさつ・解体処理の衛生管理計画作成のためのプログラム案(HACCPに基づく衛生管理)」(公益財団法人日本食肉生産技術開発センター編)、「食品製造におけるHACCP入門のための手引書[食鳥処理・食鳥肉処理編]」(厚生労働省編)等との整合性を図る目的で、温度計の校正方法についての解説を行った。と畜場法施行規則及び食鳥検査法施行規則においては温度に関する要求事項が複数示されている。事業所内で使用する温度計の校正方法について詳細に

解説することで、事業者による衛生管理手法の施行規則への妥当性が上昇するものと考えられる。

重要管理点モニタリングの検証については「4.重要管理モニタリングの実施状況及び、効果と妥当性の検証方法」の項にて解説した。重要管理点モニタリングの検証方法については基本的に一般的衛生管理の検証と同様に記録の確認(振り返り)と管理基準及びモニタリング手法の妥当性確認により実施可能である。このため、本項における記述は簡潔なものとし、一般的衛生管理の検証と重要管理点モニタリングの検証を同一の手法で一括して実施できるように構成している。

### C. 考察

本研究ではと畜・食鳥検査員が実施する外部検証及び事業者が実施する内部検証の実態調査から、効果的な外部検証の実施において外部検証と内部検証の連携構築の必要性を明らかにし、外部検証通知と整合性をもつ内部検証のプログラム案の原案を作成した。

と畜・食鳥検査員に対する聞き取り調査から、事業者ごとに衛生管理の記録様式が多様であり、外部検証の実施においては外部検証通知に記載の確認項目と事業者が作成した記録を照らし合わせる作業が必要となっていることが明らかとなった。外部検証の様な第三者による監査活動においては、監査者と被監査者の協力体制により効果的かつ効果的な監査が実現されることが知られている。令和3年度より本格始動したと畜場及び食鳥処理場の外部検証については、被監査者である事業者は施行規則に基づく

外部検証の実施について理解しているものの、外部検証に対応する形での記録整備及び内部検証の実施については強く意識していないのが現状であった。本研究では上記の問題に対し、内部検証と外部検証の連携を強化するための選択肢の一つとして外部検証通知と整合性のある内部検証のプログラム案の作成を試みた。作成したプログラム案においては確認項目として外部検証通知に示されたすべての項目を引用し、記載した手順に従うことで外部検証で確認されるべきすべての項目について内部検証としてモニタリング及び是正処置の検証(振り返り)が可能な仕様となっている。外部検証においては上記手順に従って事業者が作成した外部検証通知と整合性のある振り返り記録を確認することで、外部検証通知で要求される記録確認を効率的に実施可能となる。CFR Title 21にも示される様に、検証は記録確認と妥当性確認の2つの工程に大きく分けられる。内部検証のプログラム案ではこのうち記録確認に多くの解説を割き、妥当性確認については簡潔な説明のみを記載した。これは妥当性確認には科学的かつ専門的な知識が要求されるためであり、このため本プログラム案では妥当性確認については、と畜・食鳥検査員との連携を強く推奨した。上述の様に、内部検証のプログラム案に外部検証通知との整合性を持たせることで、記録確認に係る検証を簡略化することが可能となる。すなわち内部検証のプログラム案の活用により、外部検証における実施状況検証の負担軽減が期待され、その分、専門的知識を有すると畜・食鳥検査員による妥当性確認への活動の重点化が期待されるものと考えられる(図1)。

と畜・食鳥検査員及び事業者に対する聞き取り調査からは検証で得られた結果に対する評価方法についての問題点も抽出されている。すなわち、外部検証により抽出された不適合について個々に適切な是正処置が実施されていた一方で、その発生数・発生工程等の長期的なトレンド解析についてはほとんど行われていなかった。HACCP における微生物検査を含む検証の評価方法としてはトレンド解析による評価が主流となりつつある。外部検証通知においても微生物検査結果の評価は施設ごとに直近 1 年間の結果との比較により実施することとなっている。内部検証のプログラム案においても検証結果の評価は結果の絶対値の短期的な評価ではなくトレンド解析が重要であることを説明した。このような検証結果に対する評価方法の考え方は今後、国際的整合性を担保しつつ食品衛生管理の高度化を図る上で重要な提案であると考えている。

過去に様々な業界団体等より HACCP の手引書が公開されているところであるが多くの手引書では HACCP の 7 原則のうち原則 1：危害要因の分析から原則 5：改善措置の設定までは詳細な解説とモデルとなる記録様式等が示されてきた。一方で原則 6：検証については、その詳細が述べられているものは少ない。外部検証通知は国内で公開されているものの中で検証の手順について最も詳細に解説がなされた文書である。本研究で作成した内部検証のプログラム案は外部検証通知に対応する形で、これまでに業界団体等により作成された HACCP の手引書で詳細な解説が少なかった原則 6：検証の解説を補填する文書としてモデルになるものと考えている。内部検証のプログラ

ム案の作成にあたっては、国内で公表されている様々な HACCP 手引書で主流となっているチェックシート方式を採用することで、事業者にとって導入のハードルが低くなるように構成した。またプログラム案内では、施行規則で要求される検証の目的の理解促進を促すことで、事業者による内部検証活動の実効性の向上も期待できるものとなっている。本プログラム案は、内部検証を通じて HACCP システム運用の高度化を図りたい事業者にとって、HACCP の手引書を補完する参考書の一つとして参照可能なものとなることが望ましいと考えられる。内部検証のプログラム案の完成に向けて、次年度には、全国食肉衛生検査所協議会等を通じて、と畜・食鳥検査員からの意見出しを広く求め、改訂を行いたい。

#### D. 結論

1) と畜・食鳥検査員が実施する外部検証及び事業者が実施する内部検証の実態調査から、外部検証と内部検証との連携が必ずしも十分ではない場合が散見され、事業者による内部検証の円滑な実施に加え、外部検証との合理的な連携性を持つプログラム案の作成が必要との考えに至った。

2) 国際規格で示される検証要求事項を調査・整理し、それらとの整合性の確保を図るために、検証活動を記録確認(実施状況の検証)と妥当性確認(有効性の検証)に二分した。

3) 内部検証プログラム原案の作成にあたっては、事業者の関連事項を理解できるよう冒頭に説明を付記したほか、事業者の簡便な実施に向けチェックシートを採用すること、海外の HACCP 関連規格との整合性

を考慮しつつ、外部検証との整合性を踏まえた構成とすること等を条件として原案作成を進めた。今後、ステークホルダーの意見聴取を行った後に必要な改訂を行いたい。

#### E. 研究発表

##### 論文発表

1. Yamasaki E and Fukumoto S: Prevalence of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* in Yezo sika deer *Cervus nippon yezoensis* in the Tokachi sub-prefecture of Hokkaido, Japan. *J. Vet. Med. Sci.*, Online ahead of print. doi: 10.1292/jvms.21-0591.

#### F. 知的財産権の出願・登録状況

該当なし

#### G. 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）
- ・ the Code of Federal Regulation Title 21
- ・ ISO 22000:2018 食品安全マネジメントシステム
- ・ 製造のSQF 食品安全コード第8版
- ・「と畜場におけるとさつ・解体処理の衛生管理計画作成のための手引書（HACCPに基づく衛生管理）」（公益財団法人日本食肉生産技術開発センター編）
- ・「食品製造におけるHACCP入門のための手引書 [食鳥処理・食鳥肉処理編]」（厚生労働省編）

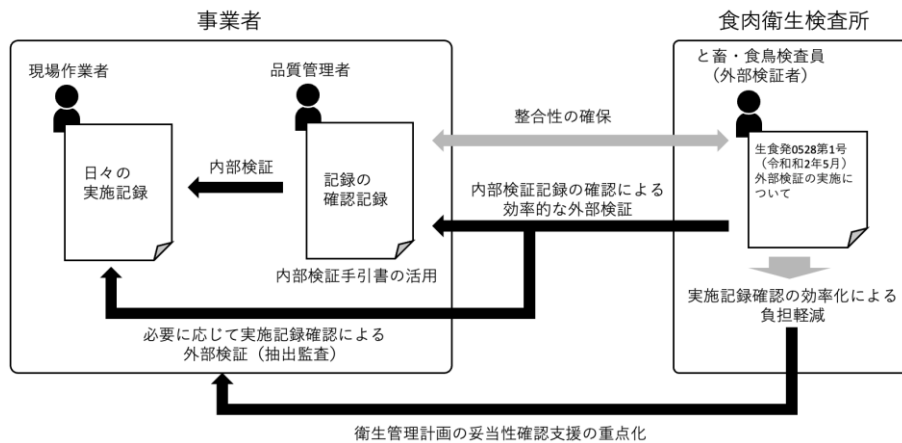


図1 内部検証プログラム案と外部検証の関連性のイメージ

内部検証と外部検証の整合性を確保し両者を連携させることで、記録確認によるモニタリング状況、是正処置、実施状況の外部検証の効率化が可能となり、これに伴って専門的な知識が要求される妥当性確認の重点化が期待される



と畜場法施行規則に基づく内部検証の実施方法について

(案)

Ver.1.0

はじめに  
と畜検査員による外部検証の実施については、令和 2 年 5 月 28 日付け生食発 0528 第  
号「と畜検査員及び食品検査員による外部検証の実施について」により手帳が示されていま  
す。また、と畜場の設置者及びと畜事業者（以下、事業者）による内部検証については、と  
畜場法施行規則に従い各事業者および業界団体が個々に作成した手順書にしたがって実施  
されています。

本手引書は、内部検証活動と外部検証活動を連携させることによる外部検証の円滑化を  
目的として作成致しました。本手引書では、事業者が内部検証の目的をご理解いただき、ま  
た、被検証者である事業者が外部検証を意識した形で内部検証記録を整備頂けるような  
記録様式を提案しています。

本手引書を必要に応じて事業者が提案して活用いただけることで、外部検証の円滑化に  
つながることを期待しています。

## 1. と畜場法施行規則に示される「検証」の目的

と畜場法施行規則（以下、施行規則）ではと畜場の衛生管理（第3条）およびと畜事業者等の講ずべき衛生措置（第7条）において、と畜場の管理および畜作業の衛生的な実施に加え、それぞれの活動の効果等について検証の実施を求めています。施行規則の各項目で求められる検証は以下の目的で実施されなくてはなりません。

### 1-1. 施行規則第3条第1項26号および、第7条第1項20号で求められる検証の目的

本号では「施設の衛生管理（第3条）」および「獣畜のと殺・解体の工程（第7条）」が衛生管理計画および手順書で決められた通りに実施されているか<sup>（注1）</sup>を検証することを求めています【実施状況の検証】

### 1-2. 施行規則第3条第5項4号および、第7条第4項4号で求められる検証の目的

本号では「施設の衛生管理（第3条）」および「獣畜のと殺・解体の工程（第7条）」が衛生管理計画および手順書で決められた通りに実施された場合に安全な製品が製造可能となっているかを検証することを求めています【衛生管理計画の効果と妥当性の検証】

### 1-3. 施行規則第3条第2項6号および、第7条第2項6号で求められる検証の目的

本号では「施設の衛生管理（第3条）」および「獣畜のと殺・解体の工程（第7条）」における重要管理点のモニタリングが計画および手順書で決められた通りに実施されているか、また、決められた通りに実施された場合に安全な製品が製造可能となっているかを検証することを求めています【重要管理点モニタリングの実施状況および効果と妥当性の検証】

注1) 施行規則第3条第1項26号および、第7条第1項20号で記述されている「教育訓練の効果」とは各工程の作業が衛生管理計画および手順書に示された作業を意図した目的に沿って適切に実施出来るかどうかを確認することを意味しています。

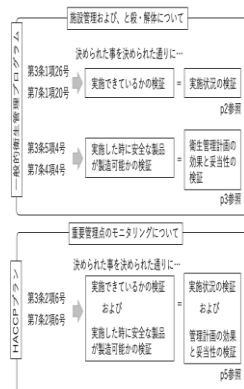


図1 と畜場法施行規則で求められる「検証」の目的

## 2. 実施状況の検証方法

実施状況の検証は、各事業者が作成した衛生管理の計画および手順書に従って施設管理およびと殺、解体の各工程が決められた通りに実施されていたかについて、各工程の記録を確認することにより実施されます。また、この確認作業は（可能であれば）記録作成者以外の品質管理者等によって実施されることが推奨されます。

### 【記録確認の手順】

#### 手順1. 記録の整備状況の確認

別紙1の各項目に対応する記録の書類名を「記録名」の欄に記入してください（一つの書類が複数の項目に対応する記録となっている場合には、同じ記録名を複数のカラムに共通して記入してください）。

該当する記録が無い項目が有る場合には、衛生管理計画が不十分な可能性が考えられます。衛生管理計画の見直しを推奨します。

#### 手順2. 記録の検証シートの準備

別紙1に記入した全ての記録を別紙2の記録名の欄に転記してください（別紙1で同一の記録名を複数のカラムに渡って共通して記入した場合は、別紙2ではまとめて1度だけ記入してください）。

#### 手順3. 記録の確認

各記録について、別紙3のフローチャートに従って衛生管理の実施状況および、是正処置の妥当性の確認を行ってください。「否」と判定されたものについては、記録の作成者（工程の責任者）に記録または是正の再実施を指示し、再実施完了後には斜線を付すことによって記録・是正の再実施を確認したことを記録してください。

記録の確認は1度/週の実施が推奨されます。当該週に更新が無かった記録については「該当無」欄にチェックを入れてください。

3. 衛生管理計画の効果と妥当性の検証方法  
 衛生管理計画の効果と妥当性の検証は、各事業者が作成した衛生管理の計画および手順書に従って施設管理および殺菌、解体の各工程が決められた通りに実施された場合に、安全な製品が製造可能であるかを検証する（衛生管理計画の効果の確認）ことにより実施されます。さらに、各工程の管理（モニタリング）に使用される機器の精度の確認（衛生管理手法の妥当性の確認）についても実施しなくてはなりません。

3-1. 衛生管理計画の効果の確認方法

方法 1. 微生物検査による確認

校肉の抜き取り検査は、衛生管理計画通りに製造が実施された場合に安全な製品が製造可能であったかを確認する方法の一つです。検査方法は「と畜場法施行規則の一部を改正する省令の施行等について」（平成 9 年 1 月 28 日衛乳第 25 号）に示される方法が推奨されます。同通知では大腸菌数検査を必須項目として示していますが、これに加えて少なくとも一般細菌数検査の実施を推奨します。

検査結果は別紙 4 に例示する様に傾向分析が可能となるように記録し（グラフ化することが望ましい）、定期的な振り返りが可能となるように管理してください。

方法 2. 顧客からの苦情の分析

顧客からの苦情の分析は、衛生管理計画が工場が意図する製品の製造に見合ったものであったかを確認する方法の一つです。顧客から寄せられた苦情について、衛生管理計画の有効性に関連するものかを解析し、衛生管理計画の見直しに必要な性について検討しなくてはなりません。

3.2. 衛生管理手法の妥当性の確認方法

例えば、校肉については、10℃以下で保管することが施行規則に定められています。このため、事業者は校肉保管庫の温度計が10℃を示している時に、保管庫内の真の温度が10℃になっているか（温度計が正しい値を示しているか）を保証しなくてはなりません。各工程の管理（モニタリング）に使用される温度計、照度計等の測定機器について校正等により精度を確認することで、管理手法の妥当性が確認できます。

温度計を例に、以下に一般的な測定機器の精度管理手順を示します。

手順 1. 施設内標準温度計の外部校正（3～5年に1度実施）

施設で標準として管理する温度計（標準温度計）を少なくとも1本準備し、外部校正機関による定期的な校正を実施します。校正を依頼する際には、施設内で使用する温度範囲全体（通常は4℃から100℃程度）をカバー出来る様に依頼してください。

手順 2. モニタリングに使用される温度計の精度確認（1～3ヶ月に1度実施）  
 モニタリングに使用される温度計（ナイフ消毒槽の温度計、校肉保管庫の温度計、等）の設置場所にて、各装置に設置されている温度計の示度と標準温度計の示度を比較し、両者のずれから下記の例に従って各温度計のモニタリング基準を設定してください。

例) 校肉保管庫の温度計のモニタリング基準の設定方法		
校肉保管庫の温度計の表示温度が	7℃	の時に
標準温度計の示度（=校肉保管庫内の真の温度）が	8℃	であった場合には
校肉保管庫の表示温度は比へて真の温度が	1℃高い	準を示している
よって		
校肉保管庫の管理基準が	10℃以下	である場合には
校肉保管庫の温度計の表示温度のモニタリング基準を	9℃以下*	に設定する

\*：校肉保管庫の温度計が9℃を示している時に、真の温度が10℃となるため

4. 重要管理点モニタリングの実施状況および、効果と妥当性の検証方法

重要管理点のモニタリングの実施状況の検証は、各事業者が決定した重要管理点を設定した管理基準を逸脱することなく管理していたかについての記録を確認することにより実施されます。また、この確認作業は（可能であれば）記録作成者以外の品質管理者等によって実施されることが推奨されます。

記録の確認は、「2. 実施状況の検証方法」に示された方法と同様に、重要管理点のモニタリング記録を別紙2の記録の検証シートに追加した後、別紙3のフローチャートに従って行ってください。

重要管理点のモニタリングの効果と妥当性の検証は、各事業者が決定した重要管理点に対して設定した管理基準を逸脱することなく管理していた場合に、安全な製品が製造可能であるかを表証する（管理基準の妥当性の確認）ことにより実施されます。さらに、重要管理点のモニタリングに使用される機器の精度の確認（モニタリング手法の妥当性の確認）についても実施しなくてはなりません。

重要管理点の管理基準およびモニタリング手法の妥当性の確認は、「3. 衛生管理計画の効果と妥当性の検証方法」と同様の方法で実施可能です（多くの場合、一括して実施されます）。

と現場の衛生管理に関する記録

記録の整備状況の確認シート

別紙1

項目	記録
1	衛生管理に関する記録
2	衛生管理に関する記録
3	衛生管理に関する記録
4	衛生管理に関する記録
5	衛生管理に関する記録
6	衛生管理に関する記録
7	衛生管理に関する記録
8	衛生管理に関する記録
9	衛生管理に関する記録
10	衛生管理に関する記録
11	衛生管理に関する記録
12	衛生管理に関する記録
13	衛生管理に関する記録
14	衛生管理に関する記録
15	衛生管理に関する記録
16	衛生管理に関する記録
17	衛生管理に関する記録
18	衛生管理に関する記録
19	衛生管理に関する記録
20	衛生管理に関する記録
21	衛生管理に関する記録
22	衛生管理に関する記録
23	衛生管理に関する記録
24	衛生管理に関する記録
25	衛生管理に関する記録
26	衛生管理に関する記録
27	衛生管理に関する記録
28	衛生管理に関する記録
29	衛生管理に関する記録
30	衛生管理に関する記録
31	衛生管理に関する記録
32	衛生管理に関する記録
33	衛生管理に関する記録
34	衛生管理に関する記録
35	衛生管理に関する記録
36	衛生管理に関する記録
37	衛生管理に関する記録
38	衛生管理に関する記録
39	衛生管理に関する記録
40	衛生管理に関する記録
41	衛生管理に関する記録
42	衛生管理に関する記録
43	衛生管理に関する記録
44	衛生管理に関する記録
45	衛生管理に関する記録
46	衛生管理に関する記録
47	衛生管理に関する記録
48	衛生管理に関する記録
49	衛生管理に関する記録
50	衛生管理に関する記録
51	衛生管理に関する記録
52	衛生管理に関する記録
53	衛生管理に関する記録
54	衛生管理に関する記録
55	衛生管理に関する記録
56	衛生管理に関する記録
57	衛生管理に関する記録
58	衛生管理に関する記録
59	衛生管理に関する記録
60	衛生管理に関する記録
61	衛生管理に関する記録
62	衛生管理に関する記録
63	衛生管理に関する記録
64	衛生管理に関する記録
65	衛生管理に関する記録
66	衛生管理に関する記録
67	衛生管理に関する記録
68	衛生管理に関する記録
69	衛生管理に関する記録
70	衛生管理に関する記録
71	衛生管理に関する記録
72	衛生管理に関する記録
73	衛生管理に関する記録
74	衛生管理に関する記録
75	衛生管理に関する記録
76	衛生管理に関する記録
77	衛生管理に関する記録
78	衛生管理に関する記録
79	衛生管理に関する記録
80	衛生管理に関する記録
81	衛生管理に関する記録
82	衛生管理に関する記録
83	衛生管理に関する記録
84	衛生管理に関する記録
85	衛生管理に関する記録
86	衛生管理に関する記録
87	衛生管理に関する記録
88	衛生管理に関する記録
89	衛生管理に関する記録
90	衛生管理に関する記録
91	衛生管理に関する記録
92	衛生管理に関する記録
93	衛生管理に関する記録
94	衛生管理に関する記録
95	衛生管理に関する記録
96	衛生管理に関する記録
97	衛生管理に関する記録
98	衛生管理に関する記録
99	衛生管理に関する記録
100	衛生管理に関する記録





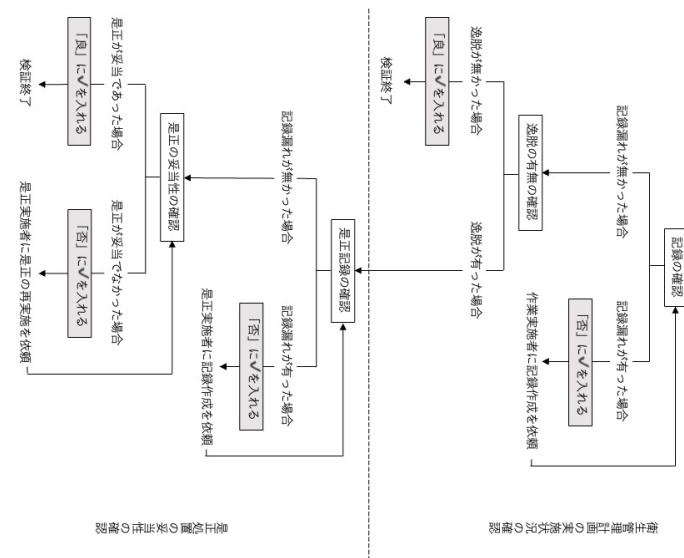
記録の検証シート

週	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
実施日													
記録名	実施者												
	良												
	否												
	該当無												
	良												
	否												
	該当無												
	良												
	否												
	該当無												
	良												
	否												
	該当無												
備考													

記録の検証シート（記入例）

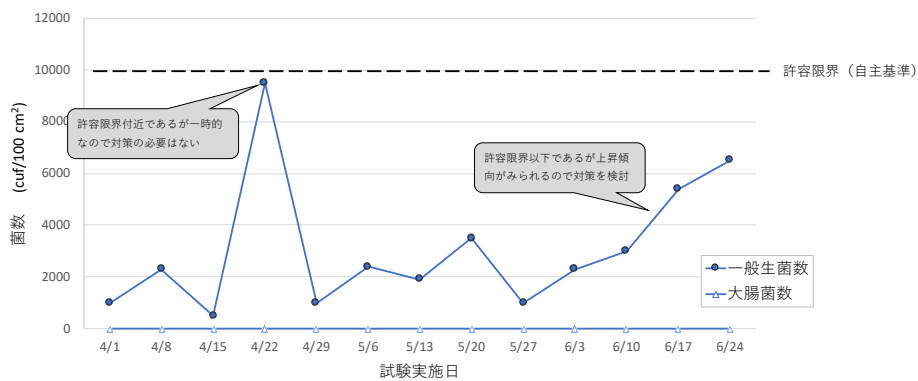
週	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
実施日	4/1	4/8	4/15	4/22	4/29	5/6	5/13	5/20	5/27	6/3	6/10	6/17	6/24
記録名	実施者	田中	田中	田中	田中	田中	田中	田中	田中	田中	田中	田中	田中
牛と畜ライン清掃表	良	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓
	否												
	該当無												
手洗い場点検表	良	✓		✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓
	否		✗										
	該当無												
機器管理表	良	✓	✓	✓	✓	✓	✓						✓
	否							✗					
	該当無												
廃棄物処理表	良	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓
	否												
	該当無												
防そ・防虫網点検表	良	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓
	否												
	該当無												
消毒剤管理表	良	✓								✓			
	否												
	該当無		✓	✓	✓	✓		✓	✓				✓
備考	<p>4/8 手洗い場点検表：記録が作成されていなかった一直ちに記録作成を指示し、4/8に記録の作成を確認</p> <p>5/20 機器管理表：剥皮用ナイフの管理方法について逸脱の記録が確認されたため、是正処置記録を確認したところ、逸脱に対して是正処置が適切なものではなかった→是正処置のやり直しを指示し、5/23に適切な是正が実施されたことを確認（詳細は是正処置記録20220523を参照）</p>												

### 記録確認のフローチャート



### 微生物検査の傾向分析の例

試験実施日	4/1	4/8	4/15	4/22	4/29	5/6	5/13	5/20	5/27	6/3	6/10	6/17	6/24
一般生菌数	1000	2300	500	9500	1000	2400	1900	3500	1000	2300	3000	5400	6500
大腸菌数	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0





食鳥処理の事業の規則及び食鳥検査に関する法律施行規則  
に基づく内部検証の実施方法について

(案)

Ver.1.0

はじめに

食鳥検査員による外部検証の実施については、令和 2 年 5 月 28 日付け生食第 0528 第号「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」により手廻が示されています。また、食鳥処理事業者（以下、事業者）による内部検証については、食鳥処理の事業の規則及び食鳥検査に関する法律施行規則に従い、各事業者および業界団体が個々に作成した手順書にしております。

本手引書は、内部検証活動と外部検証活動を連携させることによる外部検証の円滑化を目的として作成致しました。本手引書では、事業者が内部検証の目的をご理解いただき、また、被検証者である事業者が外部検証を認識した形での内部検証記録を整備頂けるような記録様式を提案しています。

本手引書を必要に応じて事業者が提案して活用いただけることで、外部検証の円滑化につながることを期待しています。

**1. 食鳥処理の事業の規制及び食鳥検査に関する法律施行規則に示される「検証」の目的**  
 食鳥処理の事業の規制及び食鳥検査に関する法律施行規則（以下、施行規則）では、食鳥処理場の管理および、食鳥処理作業の衛生的な実施に加え、それぞれの活動の効果等について検証の実施を求めています。施行規則の各項で求められる検証は以下の目的で実施されなくてはなりません。

**1-1. 施行規則別表第3第4号へ求められる検証の目的**

本号では「食鳥処理場の衛生管理（別表第3第1号）」および「食鳥、食鳥とたい、食鳥中坡とたい及び食鳥肉等の取扱い（別表第3第2号）」が衛生管理計画および手順書で決められた通りに実施されているか<sup>(注)</sup>を検証することを求めています【実施状況の検証】

**1-2. 施行規則第4条第3項4号で求められる検証の目的**

本号では「食鳥処理場の衛生管理（別表第3第1号）」および「食鳥、食鳥とたい、食鳥中坡とたい及び食鳥肉等の取扱い（別表第3第2号）」が衛生管理計画および手順書で決められた通りに実施された場合に安全な製品が製造可能となっているかを検証することを求めています【衛生管理計画の効果と妥当性の検証】

**1-3. 施行規則別表第4第6号で求められる検証の目的**

本号では「食鳥処理場の衛生管理（別表第3第1号）」および「食鳥、食鳥とたい、食鳥中坡とたい及び食鳥肉等の取扱い（別表第3第2号）」における重要管理点のモニタリングが計画および手順書で決められた通りに実施されているか、また、決められた通りに実施された場合に安全な製品が製造可能となっているかを検証することを求めています【重要管理点モニタリングの実施状況および効果と妥当性の検証】

注1) 施行規則別表第3第4号へ記述されている「衛生管理の効果」とは各工場の作業が衛生管理計画および手順書に示された作業を意図した目的に沿って適切に実施出来るかどうかを確認することを意味しています。

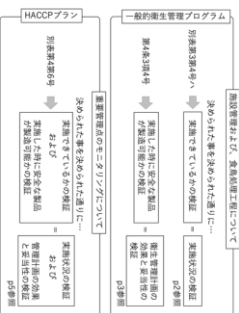


図1 食鳥処理の事業の規制及び食鳥検査に関する法律施行規則で求められる「検証」の目的

**2. 実施状況の検証方法**  
 実施状況の検証は、各事業者が作成した衛生管理の計画および手順書に従って施設管理および食鳥処理の各工程が決められた通りに実施されていたかについて、各工程の記録を確認することにより実施されます。また、この確認作業は（可能であれば）記録作成者以外の品質管理者等によって実施されることが推奨されます。

**【記録確認の手順】**

**手順1. 記録の整備状況の確認**

別紙1の各項目に対応する記録の書類名を「記録名」の欄に記入してください（一つの書類が複数の項目に対応する記録となっている場合には、同じ記録名を複数のカラムに共通して記入してください）。

該当する記録が無い項目が有る場合には、衛生管理計画が不十分な可能性が考えられます。衛生管理計画の見直しを推奨します。

**手順2. 記録の検証シートの準備**

別紙1に記入した全ての記録を別紙2の記録名の欄に転記してください（別紙1で同一の記録名を複数のカラムに渡って共通して記入した場合は、別紙2ではまとめて1度だけ記入してください）。

**手順3. 記録の確認**

各記録について、別紙3のフローチャートに従って衛生管理の実施状況および、是正処置の妥当性の確認を行ってください。「否」と判定されたものについては、記録の作成者（工程の責任者）に記録または是正の再実施を指示し、再実施完了後には記録を付すことによって記録・是正の再実施を確認したことを記録してください。

記録の確認は1度/週の実施が推奨されます。当該週に是正が無かった記録については「該当無」欄にチェックを入れてください。

3. 衛生管理計画の効果と妥当性の検証方法

衛生管理計画の効果と妥当性の検証は、各事業者が作成した衛生管理の計画および手順書に従って施設管理および食鳥処理の各工程が決められた通りに実施された場合に、安全な製品が製造可能であるかを検証する（衛生管理計画の効果の確認）ことにより実施されます。さらに、各工程の管理（モニタリング）に使用される機器の精度の確認（衛生管理手法の妥当性の確認）についても実施しなくてはなりません。

3-1. 衛生管理計画の効果の確認方法

方法 1. 微生物検査による確認

製品等の抜き取り検査は、衛生管理計画通りに製造が実施された場合に安全な製品が製造可能であったかを確認する方法の一つです。検査方法は「食鳥処理場における HACCP 方式による衛生管理指針について」（平成 4 年 3 月 30 日衛乳第 71 号）に示される方法が推奨されます。同通知では様々な微生物に関する検査法が示されていますが、少なくともとたいにに対する細菌数検査の実施を推奨します。検査結果は別紙 4 に例示する様に傾向分析が可能となるように記録し（グラフ化することが望ましい）、定期的な振り返りが可能となるように管理してください。

方法 2. 顧客からの苦情の分析

顧客からの苦情の分析は、衛生管理計画が工場が意図する製品の製造に見合ったものであったかを検証する方法の一つです。顧客から寄せられた苦情について、衛生管理計画の有効性に関連するものを解析し、衛生管理計画の見直しの必要性について検討しなくてはなりません。

3.2. 衛生管理手法の妥当性の確認方法

例えば、製品については冷蔵の場合 10°C以下で保管することが施行規則に定められています。このため、事業者は製品保管庫の温度計が 10°Cを示している時に、保管庫内の真の温度が 10°Cになっているか（温度計が正しい値を示しているか）を保証しなくてはなりません。各工程の管理（モニタリング）に使用される温度計、流量計等の測定機器について校正等により精度を確認することで、管理手法の妥当性が確認できます。

温度計を例に、以下に一般的な測定機器の精度管理手順を示します。

手順 1. 施設内標準温度計の外部校正（3～5年に1度実施）

施設で標準として管理する温度計（標準温度計）を少なくとも1本準備し、外部校正機関による定期的な校正を実施します。校正を依頼する際には、施設内で使用する温度範囲全体（通常は4°Cから100°C程度）をカバー出来る様に依頼してください。

手順 2. モニタリングに使用される温度計の精度確認（1～3ヶ月に1度実施）

モニタリングに使用される温度計（消毒槽の温度計、製品保管庫の温度計、等）の設置場所にて、各装置に設置されている温度計の示度と標準温度計の示度を比較し、両者のずれから下記のように各温度計のモニタリング基準を設定してください。

例) 製品保管庫の温度計のモニタリング基準の設定方法		
製品保管庫の温度計の表示温度が	7°C	の時に
標準温度計の示度（製品保管庫内の真の温度）が	8°C	であった場合には
製品保管庫の表示温度に比べて真の温度が	1°C高い	準を示している
よって、		
製品保管庫の管理基準が	10°C以下	である場合には
製品保管庫の温度計のモニタリング基準を	9°C以下*	に設定する

\*：製品保管庫の温度計が9°Cを示している時に、真の温度が10°Cとなるため

4. 重要管理点モニタリングの実施状況および、効果と妥当性の検証方法

重要管理点のモニタリングの実施状況の検証は、各事業者が決定した重要管理点を設定した管理基準を逸脱することなく管理していたかについての記録を確認することにより実施されます。また、この確認作業は（可能であれば）記録作成者以外の品質管理者等によって実施されることが推奨されます。

記録の確認は、「2. 実施状況の検証方法」に示された方法と同様に、重要管理点のモニタリング記録を別紙2の記録の検証シートに追加した後、別紙3のフローチャートに従って行ってください。

重要管理点のモニタリングの効果と妥当性の検証は、各事業者が決定した重要管理点に対して設定した管理基準を逸脱することなく管理していた場合に、安全な製品が製造可能であることを実証する（管理基準の妥当性の確認）ことにより実施されます。さらに、重要管理点のモニタリングに使用される機器の精度の確認（モニタリング手法の妥当性の確認）についても実施しなくてはなりません。

重要管理点の管理基準およびモニタリング手法の妥当性の確認は、「3. 衛生管理計画の効果と妥当性の検証方法」と同様の方法で実施可能です（多くの場合、一括して実施されま

記録の整備状況の確認シート

食品処理場の衛生管理に関する記録

記録名	記録の整備状況に関する記録
1	1 監視の頻度を適切に行い、衛生上支障ないよう記録していたこと（記録）（別紙第3第1号）
2	2 監視記録が行い、必要に応じて検査記録を適切に行っていたこと（記録）（別紙第3第1号）
3	3 監視記録、天尺、窓ガラス清掃等の記録は関係があるときに、誰がどの検査又は処理を行ったこと（記録）（別紙第3第1号）
4	4 付与又は印刷された検査結果に基づいて検査を行ったこと（記録）（別紙第3第1号）
5	5 検査又は印刷された検査結果に基づいて必要な作業を適切に行っていたこと（記録）（別紙第3第1号）
6	6 検査結果を、関係者の関係者（作業員、かつ、関係者が行けるよう）に提供していたこと（記録）（別紙第3第1号）
7	7 検査結果を、関係者に提供し、定期的に評価を行っていたこと（記録）（別紙第3第1号）
8	8 関係者に検査結果を提供する場合には、関係者に検査結果を利用していたこと（記録）（別紙第3第1号）
9	9 関係者に対して検査結果を提供する場合には、関係者に検査結果を利用していたこと（記録）（別紙第3第1号）
10	10 「監視の頻度」に、監視に必要な関係者（関係者）を、関係者として記載していたこと（記録）（別紙第3第1号）
11	11 「関係者」に、関係者の関係者（関係者）を、関係者として記載していたこと（記録）（別紙第3第1号）
12	12 その他、監視の頻度に関する記録（無の場合には付録に「該当なし」と記載）
1	1 関係者の関係者に関する記録
2	2 関係者について、その役割に付いたものを使用していたこと（記録）（別紙第3第1号）
3	3 関係者について、関係者とは関係があるときに、誰がどの検査又は処理を行ったこと（記録）（別紙第3第1号）
4	4 関係者について、関係者とは関係があるときに、誰がどの検査又は処理を行ったこと（記録）（別紙第3第1号）
5	5 関係者について、関係者とは関係があるときに、誰がどの検査又は処理を行ったこと（記録）（別紙第3第1号）
6	6 関係者について、関係者とは関係があるときに、誰がどの検査又は処理を行ったこと（記録）（別紙第3第1号）
7	7 関係者について、関係者とは関係があるときに、誰がどの検査又は処理を行ったこと（記録）（別紙第3第1号）
8	8 関係者について、関係者とは関係があるときに、誰がどの検査又は処理を行ったこと（記録）（別紙第3第1号）
9	9 関係者について、関係者とは関係があるときに、誰がどの検査又は処理を行ったこと（記録）（別紙第3第1号）
10	10 その他、関係者の関係に関する記録（無の場合には付録に「該当なし」と記載）
1	1 関係者の関係に関する記録
2	2 関係者について、その役割に付いたものを使用していたこと（記録）（別紙第3第1号）
3	3 関係者について、関係者とは関係があるときに、誰がどの検査又は処理を行ったこと（記録）（別紙第3第1号）
4	4 関係者について、関係者とは関係があるときに、誰がどの検査又は処理を行ったこと（記録）（別紙第3第1号）
5	5 関係者について、関係者とは関係があるときに、誰がどの検査又は処理を行ったこと（記録）（別紙第3第1号）
6	6 関係者について、関係者とは関係があるときに、誰がどの検査又は処理を行ったこと（記録）（別紙第3第1号）
7	7 関係者について、関係者とは関係があるときに、誰がどの検査又は処理を行ったこと（記録）（別紙第3第1号）
8	8 関係者について、関係者とは関係があるときに、誰がどの検査又は処理を行ったこと（記録）（別紙第3第1号）
9	9 関係者について、関係者とは関係があるときに、誰がどの検査又は処理を行ったこと（記録）（別紙第3第1号）
10	10 その他、関係者の関係に関する記録（無の場合には付録に「該当なし」と記載）
1	1 関係者の関係に関する記録
2	2 関係者について、その役割に付いたものを使用していたこと（記録）（別紙第3第1号）
3	3 関係者について、関係者とは関係があるときに、誰がどの検査又は処理を行ったこと（記録）（別紙第3第1号）
4	4 関係者について、関係者とは関係があるときに、誰がどの検査又は処理を行ったこと（記録）（別紙第3第1号）
5	5 関係者について、関係者とは関係があるときに、誰がどの検査又は処理を行ったこと（記録）（別紙第3第1号）
6	6 関係者について、関係者とは関係があるときに、誰がどの検査又は処理を行ったこと（記録）（別紙第3第1号）
7	7 関係者について、関係者とは関係があるときに、誰がどの検査又は処理を行ったこと（記録）（別紙第3第1号）
8	8 関係者について、関係者とは関係があるときに、誰がどの検査又は処理を行ったこと（記録）（別紙第3第1号）
9	9 関係者について、関係者とは関係があるときに、誰がどの検査又は処理を行ったこと（記録）（別紙第3第1号）
10	10 その他、関係者の関係に関する記録（無の場合には付録に「該当なし」と記載）
1	1 関係者の関係に関する記録
2	2 関係者について、その役割に付いたものを使用していたこと（記録）（別紙第3第1号）
3	3 関係者について、関係者とは関係があるときに、誰がどの検査又は処理を行ったこと（記録）（別紙第3第1号）
4	4 関係者について、関係者とは関係があるときに、誰がどの検査又は処理を行ったこと（記録）（別紙第3第1号）
5	5 関係者について、関係者とは関係があるときに、誰がどの検査又は処理を行ったこと（記録）（別紙第3第1号）
6	6 関係者について、関係者とは関係があるときに、誰がどの検査又は処理を行ったこと（記録）（別紙第3第1号）
7	7 関係者について、関係者とは関係があるときに、誰がどの検査又は処理を行ったこと（記録）（別紙第3第1号）
8	8 関係者について、関係者とは関係があるときに、誰がどの検査又は処理を行ったこと（記録）（別紙第3第1号）
9	9 関係者について、関係者とは関係があるときに、誰がどの検査又は処理を行ったこと（記録）（別紙第3第1号）
10	10 その他、関係者の関係に関する記録（無の場合には付録に「該当なし」と記載）

E 病原体及びその名の取扱いに関する記録	
1	不斉部分、食料処理の衛生管理に支障を生じないよう適切な不斉食料の用器類に収納、取出すとともに、当該不斉食料の用器類を、作業終了後、部において洗浄していただくこと。記録（原簿第3第1号フ（1））
2	食料及び用器類、不斉食料を貯蔵する容器、汚染等が検出しないよう適切な食料処理施設に搬出するとともに、作業終了後、部において洗浄していただくこと。記録（原簿第3第1号フ（2））
3	不斉部分の取除を確しおこなうための取除、食料としない、食料中核としない又は食料中核及び不斉部分は、衛生上支障がないよう適宜に処理していただくこと。記録（原簿第3第1号フ（3））
4	その他、病原体および病原体の取扱いに関する記録（無い場合は右欄に「該当なし」と記載）
F その他の食料処理場の衛生管理に関する記録	
1	その他、食料処理場の衛生管理に関する記録（無い場合は右欄に「該当なし」と記載）（原簿第3第1号〜（1））

注1）本質検査の結果は、少なくとも、検査の日から1年間保存しなくてはならない。（原簿第3第1号〜（1））

注2）食料、具の個体検査の結果は、少なくとも、検査を行った日から1年間保存しなくてはならない。（原簿第3第1号フ）

#### 食料、食料としない、食料中核としない及び食料中核衛生的安全性に関する記録

A 生産物の受入に関する記録	
1	食料の種類に応じて、食料などの供給元の状況がともに、生産物の確保の両方に留意して確認していただくこと。記録（原簿第3第2号フ（1））
2	生産物送付時または、消費名などの取扱い、使用器具の洗浄消毒などに関すること。記録（原簿第3第2号フ（2））
3	生産物に合格したものを食料としての取扱いに併せていただくこと。記録（原簿第3第2号フ（3））
4	生産物に合格しなかったものは、食料衛生上の取扱いが確保されるよう、速やかに処分する。記録（原簿第3第2号フ（4））
5	その他、生産物の取扱いに関する記録（無い場合は右欄に「該当なし」と記載）
B 加工工程に関する記録	
1	食料を十分に加熱すること。記録（原簿第3第2号フ（1））
2	加熱された食料による食料の再汚染を防ぐこと。記録（原簿第3第2号フ（2））
3	食料を回収する場合は、不斉食料の材料で作られた容器は回収し、適宜搬出していただくこと。記録（原簿第3第2号フ（3））
4	その他、衛生上の取扱いに関する記録（無い場合は右欄に「該当なし」と記載）
C 調理工程に関する記録	
1	放熱源を適切に点検すること。記録（原簿第3第2号フ（1））
2	調理機、十分な食料を用いて行うこと。記録（原簿第3第2号フ（2））
3	調理機に当たって、作業者が手袋をはかせること。記録（原簿第3第2号フ（3））
4	その他、衛生上の取扱いに関する記録（無い場合は右欄に「該当なし」と記載）
D 販売工程に関する記録	
1	販出に当たっては、食料が食料として適切に保たれるよう注意していただくこと。記録（原簿第3第2号フ（1））
2	消費名が適切に保たれるよう注意していただくこと。記録（原簿第3第2号フ（2））
3	原料は適切な食料として保たれるよう注意していただくこと。記録（原簿第3第2号フ（3））
4	不斉部分の発生、食料の品質を低下させないよう注意していただくこと。記録（原簿第3第2号フ（4））
5	その他、衛生上の取扱いに関する記録（無い場合は右欄に「該当なし」と記載）

記録紙

E 内部搬出に関する記録	
1	内部搬出検査又は不斉検査の結果に照して、食料中核としない及び食料中核としない食料が同一の食料に由来するものであることが確認可能な状態に保たれること。記録（原簿第3第2号フ（1））
2	内部搬出検査又は不斉検査の結果に照して、食料中核としない及び食料中核としない食料の搬出を、検査中核検査可能な状態に保たれること。記録（原簿第3第2号フ（2））
3	内部搬出検査又は不斉検査の結果に照して、食料、具類、調理機、器具等検査結果は記録のためには引き出しておくこと。記録（原簿第3第2号フ（3））
4	衛生上の取扱いの記録は、食料中核としない及び食料中核としない食料の搬出による、不斉部分の発生、不斉部分の発生、不斉部分の発生を防止するための取扱いの記録を、内部搬出検査において行うこと。記録（原簿第3第2号フ（4））
5	衛生上の取扱いの記録は、食料中核としない及び食料中核としない食料の搬出による、不斉部分の発生、不斉部分の発生、不斉部分の発生を防止するための取扱いの記録を、内部搬出検査において行うこと。記録（原簿第3第2号フ（5））
6	衛生上の取扱いの記録は、食料中核としない及び食料中核としない食料の搬出による、不斉部分の発生、不斉部分の発生、不斉部分の発生を防止するための取扱いの記録を、内部搬出検査において行うこと。記録（原簿第3第2号フ（6））
7	衛生上の取扱いの記録は、食料中核としない及び食料中核としない食料の搬出による、不斉部分の発生、不斉部分の発生、不斉部分の発生を防止するための取扱いの記録を、内部搬出検査において行うこと。記録（原簿第3第2号フ（7））
8	衛生上の取扱いの記録は、食料中核としない及び食料中核としない食料の搬出による、不斉部分の発生、不斉部分の発生、不斉部分の発生を防止するための取扱いの記録を、内部搬出検査において行うこと。記録（原簿第3第2号フ（8））
9	その他、衛生上の取扱いに関する記録（無い場合は右欄に「該当なし」と記載）
F 衛生工程に関する記録	
1	洗浄した食料としない、食料中核としない及び食料中核としない食料の10度以下に冷却していただくこと。記録（原簿第3第2号フ（1））
2	洗浄した食料を、作業終了後、部において洗浄していただくこと。記録（原簿第3第2号フ（2））
3	その他、衛生上の取扱いに関する記録（無い場合は右欄に「該当なし」と記載）
G その他の衛生工程に関する記録	
1	食料としない、食料中核としない及び食料中核としない食料の衛生管理に関する記録（無い場合は右欄に「該当なし」と記載）
2	その他、食料、食料としない、食料中核としない及び食料中核としない食料の衛生管理に関する記録（無い場合は右欄に「該当なし」と記載）



記録の検証シート（記入例）

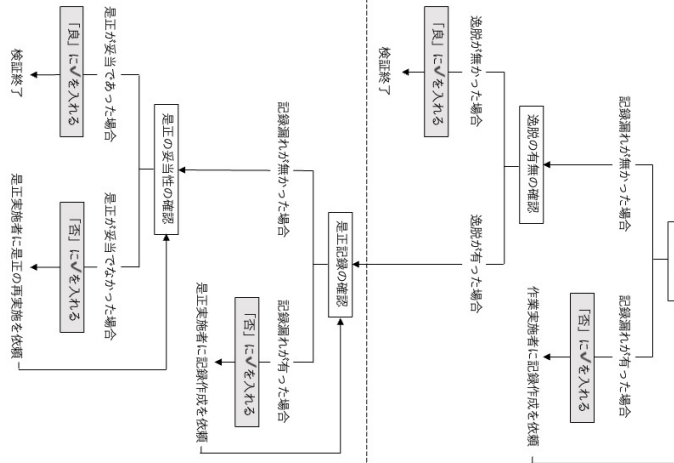
週	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
実施日	4/1	4/8	4/15	4/22	4/29	5/6	5/13	5/20	5/27	6/3	6/10	6/17	6/24
記録名	実施者	田中	田中	田中	田中	田中	田中	田中	田中	田中	田中	田中	田中
場内清掃洗浄保守点検表	良	✓		✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓
	否		✗										
	該当無												
機器管理表	良	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓
	否												
	該当無												
廃棄物処理表	良	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✗					✓
	否												
	該当無												
防そ・防虫網点検表	良	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓
	否												
	該当無												
消毒剤管理表	良	✓											
	否												
	該当無		✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓
製品保管庫温度モニタリング結果	良	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓
	否												
	該当無												
備考													
4/8 場内清掃洗浄保守点検表：記録が作成されていなかった→直ちに記録作成を指示し、4/8に記録の作成を確認													
5/20 廃棄物処理表：不可食部分の管理方法について逸脱の記録が確認されたため、是正処置記録を確認したところ、逸脱に対して是正処置が適切なものではなかった→是正処置のやり直しを指示し、5/23に適切な是正が実施されたことを確認（詳細は是正処置記録20220523を参照）													

記録・是正の再実施完了後に斜線を付す

記録の更新がなかった週は「該当無」に✓を付ける

「否」となった事例については是正の状況を記録する

記録確認のフローチャート

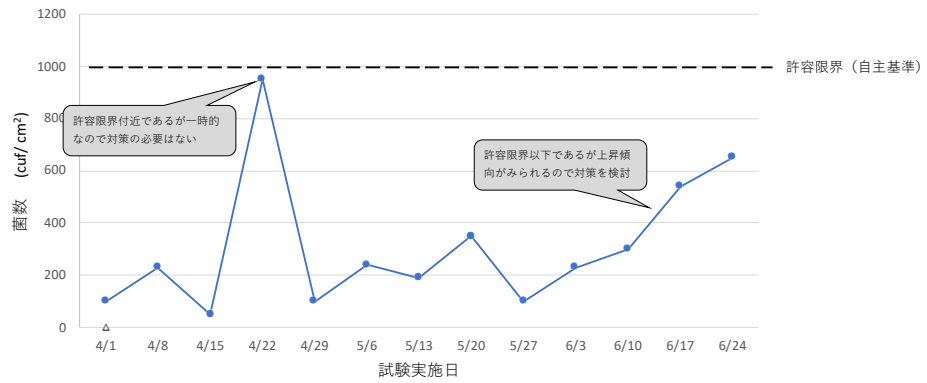


是正処置の状況の確認

作業実施者の記録の確認

微生物検査の傾向分析の例

試験実施日	4/1	4/8	4/15	4/22	4/29	5/6	5/13	5/20	5/27	6/3	6/10	6/17	6/24
細菌数	100	230	50	950	100	240	190	350	100	230	300	540	650





令和3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

国際動向を踏まえた情報の収集整理

分担研究者 廣井豊子

国立大学法人帯広畜産大学獣医学部門

研究要旨：アメリカ、カナダ、欧州における食鳥処理場での HACCP 検証に関する情報を各国・地域の政府機関が発行するガイドライン、告示並びに関連文献を収集し、日本を含めて、微生物試験の要点をまとめた。いずれの国、地域も、衛生管理及び病原体あるいは糞便汚染の低減化の確認・評価の目的で、複数項目の微生物試験を実施している状況を確認した。対象国では、冷却後の食鳥とたいから採取された検体を対象にカンピロバクター及びサルモネラ属菌を試験項目としている点等、共通点も見受けられたが、その他の試験項目、検体採取方法や検体採取頻度等には相違がみられた。日本における食鳥処理場での適切かつ円滑な HACCP 検証方法を国際的な動向を踏まえた形へ検討する上では、これらの管理体制のほか、国内の対象施設における規模や処理数、管理能力等、実態を踏まえることが合理的な運用には重要と考えられる。

## 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」の公布に伴い、国内のと畜場、食鳥処理場には「HACCPに基づく衛生管理」が制度化され、令和2年6月に施行された。本制度は、1年間の経過措置期間を経た令和3年6月より完全施行となっている。本制度では、事業者が行う内部検証に加え、自治体が外部検証を実施することで、衛生管理が適切に行なわれていることが担保される。と畜場及び大規模食鳥処理場における HACCP に基づく衛生管理に関する手引書は、事業団体が作成し、その普及啓発が進められているが、各施設で構築された衛生管理システム及びその運用の適切性を判断するための検証方法に関しては、令和2年5月に「と畜試験員及び食鳥試験員による外部検証の実施について（生食

発0528第1号）」で技術的助言がなされているが、その内容は今後の国際動向や新たな検証方法の開発評価等の結果を受けて、適宜見直しを図ることが妥当と考えられる。

そこで本分担研究では、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て、先行的にと畜場等で「HACCP に基づく衛生管理」を運用している海外主要国における、関連ガイドライン、検証法、法規や科学的知見等を収集・整理することで、現状における国際動向の情報を取りまとめたので報告する。

## B. 研究方法

令和3年度は、海外主要国における食鳥処理場での HACCP 検証に関する情報、特に微生物試験に関する内容（試験対象項目等）を

各国・地域の政府機関が発行するガイドライン、告示並びに関連文献を収集し、国内の状況との違いを踏まえ、要点を整理した。

## C. 研究結果及び考察

参照した海外公的機関から示されている衛生管理ガイドライン、通知等には、食鳥処理工程における微生物汚染低減対策に関して、事業者に向けた提案等（冷却温度など）の有益な情報の記載も多くみられた。本報では、日本、アメリカ合衆国、カナダ、欧州における食鳥処理場で実施されている微生物試験に関して要点をまとめた。

### < 日本 >

#### 1) 微生物試験の対象項目と目的

- (1) 対象：一般細菌数, 腸内細菌科菌群  
目的：一般衛生管理の達成状況の評価
- (2) 対象：カンピロバクター属菌  
目的：病原微生物汚染に対して適切な措置が実施されているかの確認

#### 2) 検体採取場所

最終冷却（チラー冷却）水切り後の食鳥とたい（又は食鳥中抜きとたい）

処理始めのロットを避け、処理半ばから選定する。

#### 3) 検体採取頻度

施設の操業状態を踏まえて、年間の試験検体数を設定。

月1回以上、年間を通じて実施するのが望ましい。

#### 4) 検体採取方法、採取部位、採取量

採取方法：切除法

採取部位：首皮（首皮がないものは胸部分の皮）

同一ロット5羽分の首皮計25gをまとめて1検体とする（首皮の重量は、なるべく各羽均等にする）。

5検体（=25羽分）を1検体として試験に用いる。

## 5) 試験方法

試験懸濁液の調製

細切した5羽分の首皮25gに225mLの滅菌希釈水を加えて1分間混和。必要に応じて10倍希釈懸濁液を作製し、試験に用いる。

一般細菌数：

下記の標準培養法又はISO法（ISO 4833）（或いは同等性が確認された方法）

定量試験 接種量1mL（1希釈2平板）

標準寒天培地（ISO 処方）

好気条件で $37 \pm 1^\circ \text{C}$ 、 $48 \pm 3$ 時間 混釈培養。

1平板あたり集落数が15-300の平板から集落数を加数え、CFU/g又はCFU/cm<sup>2</sup>を算出する。

腸内細菌科菌群：

下記の標準培養法又はISO法（ISO 21528-2）（或いは同等性が確認された方法）

定量試験 接種量1mL

バイレッドレッド胆汁ブドウ糖（VRBG）寒天培地。

好気条件で $37 \pm 1^\circ \text{C}$ 、 $24 \pm 2$ 時間混釈培養。

1平板あたり集落数が150以下の平板から集落数を数え、CFU/g又はCFU/cm<sup>2</sup>を算出する。

定型集落は釣菌し、非選択寒天培地（普通寒天培地等）に画線し継代する。非選択寒天培地で発育した集落を用いて、生化学性状試験（オキシダーゼ試験、ブドウ糖発酵試験）を

実施し、確認試験の陽性率及び検体希釈率を乗じて、検体 1 g あたりの菌数を算出する。

カンピロバクター属菌:

試料調製は上記の衛生指標菌試験と同様であるが、本菌試験を先行実施する。

下記の標準培養法又は ISO 法 (ISO 10272-2) (或いは同等性が確認された方法)。

微好気条件のため、衛生指標菌より先行して実施する。

検体 1mL を 200 uL ずつ 5 枚の mCCDA 培地に塗抹培養する。

微好気条件で  $42 \pm 1^\circ \text{C}$ .  $44 \pm 4$  時間。

1 平板あたり集落数が 150 以下の平板から集落数を数え、CFU/g 又は CFU/cm<sup>2</sup> を算出する。

定型あるいは疑わしい集落を釣菌し、非選択寒天培地 (血液寒天培地など) に画線塗抹し、微好気培養する。

確認試験として、非選択寒天培地で生育した 5 集落をグラム染色, カタラーゼ試験, オキシダーゼ試験などに供する (PCR による遺伝子検出法を代替としてもよい)。

確認試験の陽性率及び検体希釈率を乗じて、検体 1 g あたりの菌数を算出する。

## 6) 判定

直近 1 年間の試験結果の平均値及び標準偏差 (SD) から、施設の達成目標値として暫定的な上限値として設定している「平均 +2SD」を求め、管理図を作成し、年間を通じた検証を実施する。

## 7) 参考資料

生食発 0528 第 1 号 令和 2 年 5 月 28 日

## < 米国 >

ダチヨウ等の平胸類 (走鳥類) を除く食鳥処理場を事業規模に応じて以下の 4 つに区分している。

事業所の区分

(a) 極小規模施設 (Very Low Volume : VLV)

年間処理羽数が、鶏 44 万羽、七面鳥 6 万羽、アヒル 6 万羽、ガチヨウ 6 万羽、ホロホロ鳥 6 万羽、またはひな鳥 6 万羽以下の施設

(b) 超小規模施設 (Very Small)

従業員数が 10 名未満、或いは年間売上高が 250 万ドル未満の施設

(c) 小規模施設 (Small)

従業員数が 10 名~499 名の施設。但し、年間売上高が 250 万ドル未満である場合を除く。

(d) 大規模施設 (Large)

従業員数 500 人以上の施設。

## 1) 微生物試験の対象項目と目的

- ・対象項目：サルモネラ属菌及びカンピロバクター属菌
- ・目的：糞便等に含まれる食中毒菌の交叉汚染防止と汚染低減に向けた工程管理の適切性を判断すること。

\*極小規模施設及び超小規模施設では、大腸菌試験によりモニタリングしてもよいとしている。但し、大腸菌は糞便汚染に特化したモニタリングであることから、各事業者は食中毒菌を対象とした試験を追加実施してもよいとされる。

## 2) 検体採材工程

(a) 極小規模施設及び超小規模施設

冷却工程後

(b) 小規模施設及び大規模施設

冷却工程前後

冷却工程前：

懸吊から冷却工程直前迄の工程で検体を採材する。本工程での検体採材は、食鳥生体が保有する微生物の検出や処理工程前半における糞便等の交叉汚染状況をはかることを目的としている。

冷却工程後：

食鳥とたいが冷却槽から出た時点で採材を行う。水浸漬冷却方式施設での検体採材にあたっては、60秒以上冷却水をとたいから自然滴下させ、冷却水中に含まれる殺菌剤の試験結果への影響を排除・低減させる。冷却前後間に抗菌介入を実施している場合、冷蔵後の検体は、その抗菌介入の制御の有効性の判断に有用（多くの施設が1つ以上の抗菌介入を実施している）。

### 3) 検体採取頻度

(a) 処理数が非常に少ない施設 (Very Low Volume)

毎年6月1日から少なくとも操業各週につき1回採材を行う。連続13回の検体採取を行った後、効果的な工程管理を実証した場合、検体採取計画を変更することができる。

(b) 超小規模施設, (c) 小規模施設, (d) 大規模施設

鶏：とたい2.2万羽につき1回。ただし最低でも操業各週に1回。

七面鳥、アヒル、ガチョウ、ホロホロ鳥、ひな鳥：とたい3千羽につき1回。

ただし、最低でも操業各週に1回。

### 4) 検体採取方法

非破壊的手法

・鶏とたい：とたい1羽を滅菌袋に入れ、400 mLの希釈水を用いて洗い出し液を調整する（リンスパック法）。

・七面鳥とたい：とたいの背部及び大腿部の表面各40 cm<sup>2</sup>を拭き取る（ふき取り法）。

### 5) 試験方法

大腸菌：AOAC 17.2.01 最確数 (MPN) 法

サルモネラ属菌：MLG4.11、MLG4

Appendix 2.06

カンピロバクター属菌: MLG 41.05

採取した検体はできるだけ早く試験に供する必要がある、遅くとも採取日翌日には試験を行うことが求められている。また、検体を輸送する場合は、冷蔵温度帯で行うことが求められている。

### 6) 結果判定基準

<事業者>

事業者は自らの施設で得られた微生物試験結果について、時系列変動をグラフ化すると共に、統計解析を行い、工程管理の適切性を判断する。

上記解析にあたってはベースラインデータの取得が前提となる。こうしたベースラインデータも事業者自らが収集することが望ましいとされるが、その収集を行えない小規模事業者はFSISが公表する米国全国調査結果（指標菌中央値）を用いても構わないとしている。

<外部検証官>

以下に示した性能基準(\*)に基づき、施設を3つに区分(区分1-区分3)し、区分に応じた指導を実施

・サルモネラ菌

ブロイラーとたい

性能基準 5 / 51

最大許容陽性率 9.8 %

七面鳥とたい

性能基準 4 / 56  
最大許容陽性率 7.1 %

・カンピロバクター属菌  
ブロイラーとたい  
性能基準 8 / 51  
最大許容陽性率 5.7 %

七面鳥とたい  
性能基準 3 / 56  
最大許容陽性率 5.4 %

\* 性能基準: 計 52 週間に収集・解析された試験結果 (定性成績) の陽性率を指す。

各施設の評価にあたっては、52 週間の 1 試験につき、少なくとも以下の検体数を試験に供する必要がある。

ブロイラーとたい	11
七面鳥とたい	14

上述の試験結果及び判定基準を基に、各施設は以下の区分化が行われる。

・区分 1: 直近の 52 週間の試験期間において、最大許容陽性率の 50% 以下を達成した事業所。

・区分 2: 最大許容陽性率を満たしているが、直近の 52 週間の試験期間において最大許容陽性率の 50% 以上の結果を示した事業所。

・区分 3: 直近の 52 週間の試験期間の結果が最大許容陽性率を超えている事業所。

区分に応じた指導 (抜粋)

①事業所が区分 2 に指定された場合: 衛生管理の不安定性が示唆されるため、今後性能基準不合格となる可能性があることを説明す

る。また、製品が性能基準の 50% を超過した警告を送るなどの措置を実施。

②事業所が区分 3 に指定された場合: 性能基準の不履行であったことを伝える警告を送る。事業所が是正措置を講じていることを確認し、(必要であれば) HACCP システムの再評価を行うことを説明するなどの措置を取る

< 平胸類処理施設における工程管理のための微生物試験 >

ダチョウをはじめとする平胸類 (走胸類) を処理する施設では、その工程管理の適切性を判断するための試験項目として、大腸菌バイオタイプ I を用いた試験を実施することとなっている。同施設については、年間処理羽数が最も多い鳥獣種を 1 種選定し、同とたいを対象とした採材、試験を行う。同施設の平胸類の年間処理羽数が 6,000 羽以下の施設は、処理数が非常に少ない施設 (VLV) とし、検体採取は、毎年 6 月 1 日から翌年 6 月まで、または 13 回検体採取を行うまでのいずれか早い方まで、事業所の営業週に最低 1 回を継続する。

## 7) 参考資料

1. Poultry Products Inspection Regulations (9 CFR 381)
2. FSIS Compliance Guideline: Modernization of Poultry Slaughter Inspection - Microbiological Sampling of Raw Poultry (FSIS-GD-2015-0013)
3. A Generic HACCP Model for Poultry Slaughter (FSIS-GD-2020-0013)
4. A Generic HACCP Model for New Poultry Inspection System (NPIS) (FSIS-GD-2020-0012)
5. FSIS Guideline for Controlling Salmonella in Raw Poultry (FSIS-GD-2021-0005)

6. FSIS Guideline for Controlling *Campylobacter* in Raw Poultry (FSIS-GD-2021-0006)
7. Revised Compliance Guidelines for Controlling *Salmonella* and *Campylobacter* in Raw Poultry (FSIS-2014-0034-0019)
8. Sampling Instructions: *Salmonella* And *Campylobacter* Verification Program For Raw Poultry Products (FSIS Directive 10250.1)
9. Performance Standards: *Salmonella* Verification Program For Raw Poultryproducts (FSIS Directive 10250.2)
10. Guidelines for *Escherichia coli* Testing for Process Control Verification in Poultry Slaughter Establishments (FSIS-GD-1996-0002)
11. Isolation and Identification of *Salmonella* from Meat, Poultry, Pasteurized eggs. and Siluriform (Fish) Products and Carcass and Environmental Sponges (MLG 4.11)
12. Flow Chart Specific for FSIS Laboratory Isolation and Identification of *Salmonella* (MLG 4 Appendix 2.06}
13. Isolation and Identification of *Campylobacter jejuni/ coli/ lari* from Poultry Rinse, Sponge and Raw Product Samples (MLG 41.05)

#### < カナダ >

- 1) 微生物試験の対象  
サルモネラ属菌  
カンピロバクター属菌  
大腸菌 バイオタイプ 1

\* カナダ国内向けの微生物学的モニタリングの検体採取並びに評価基準に関しては、以下

の内部資料に記載されており、日本から入手閲覧することができなかった

- ・ Standard inspection procedure Inspector toolkit (RDIMS 11289973)
- ・ National Microbiological monitoring program sampling guidelines and assessment criteria for rad meat and poultry.

#### 2) 関連資料

1. Operational guideline: Product inspection and sampling of meat and poultry products.
2. Operational guideline: Domestic pathogen reduction Program in poultry.
3. Microbial controls for meat products and food animals.
4. Poultry offline and online reprocessing and reconditioning procedures.
5. Poultry pathogens reduction program.

#### < 欧州 >

##### 1) 微生物試験項目及び目的

試験項目：サルモネラ属菌（鶏、七面鳥）、カンピロバクター属菌（鶏）

目的：工程管理の妥当性確認

##### 2) 検体採取部位

冷却後の中抜きとたい

##### 3) 検体採材頻度

少なくとも週 1 回 5 検体を採材することとし、曜日に偏りが無いことを求めている。なお、以下の結果が得られた施設については、検体採材頻度を隔週へと変更してもよいこととなっている。

- ・サルモネラ属菌：連続した 30 週間の結果が全て適合レベルであった場合。

・カンピロバクター属菌：連続した52週間の結果が全て適合レベルであった場合。

#### 4) 検体採材部位、採材方法及び採材量

・採材部位：頸皮（重量が不足する場合は他部位の皮を含めても良い）。

・採材方法：切除法

試験所の区分により以下に大別される。

1) サルモネラ属菌とカンピロバクター属菌を同一試験所で試験する場合

1ロットあたり少なくとも3羽分の頸皮計26gをまとめ、1検体とし、計5検体(=>15羽分)を試験に用いる。

2) サルモネラ属菌とカンピロバクター属菌を異なる試験所で試験する場合

1ロットあたり少なくとも4羽分の頸部の皮計35gをまとめて1検体とし、計5検体(=>20羽分)を試験に用いる。

いずれの場合も、採取から試験開始までの間、検体は1-8℃の温度帯で輸送し、0℃以下になったものは試験に供しない。また、採取後、48時間以内に試験を開始する。

#### 5) 試験方法

・サルモネラ属菌：EN/ISO 06579-1（或いはこれと同等と認められた方法）

・サルモネラ属菌血清型の判定：White-Kauffmann-Le Minor schemeの方法

・カンピロバクター属菌：EN/ISO 10272-2（或いはこれと同等と認められた方法）

#### 6) 結果判定基準

<衛生管理指標として>

・サルモネラ属菌

連続10回の検体採取で得た50検体において、検出されないこと。ただし、サルモネラ属菌が検出されたものが50検体中5検体までであれば許容される。なお、鶏及び七面鳥

とたいからサルモネラ属菌が検出された場合は、血清型の判定を行う。

・カンピロバクター属菌

連続10回の検体採取で得た50検体において、1,000 cfu/g以下であることが望ましい。但し、1,000 cfu/gを超えて検出されたものが50検体中15検体(\*)までであれば許容される（\*:2022年3月現在のM値を示す。2025年1月1日以降は10検体となる見込）。

なお、欧州では食鳥肉製品について、サルモネラ属菌（血清型Typhimurium及びEnteritidis）をn=5で検査し、検出されないことを成分規格として設定している。

#### 7) 参考資料

1. Commission regulation (EC) No.

2073/2005 on Microbiological criteria for foodstuffs (Amended on 08/03/2020)

[https://eur-lex.europa.eu/legal-](https://eur-lex.europa.eu/legal-content/EN/ALL/?uri=CELEX:32005R2073)

[content/EN/ALL/?uri=CELEX:32005R2073](https://eur-lex.europa.eu/legal-content/EN/ALL/?uri=CELEX:32005R2073)

2. EN/ISO 06579-1

3. EN/ISO 10272-2

#### D. 結論

米国、カナダ、EUでは、サルモネラ属菌及びカンピロバクター属菌を食鳥処理場での工程管理の検証のための微生物試験項目として共通に設定・運用している実態が確認された。しかしながら、上述の食中毒菌以外の試験項目や頻度等、国・地域間で相違が見られた点に関しては、根拠や背景を踏まえた考察が必要と考えられる。次年度には、国内の調査結果等を踏まえつつ、国内でのHACCPに基づく衛生管理体制を円滑かつ国際調和のとれたものとしていくために必要な事項の整理を行っていきたい。

**E. 研究発表**

なし

**F. 知的財産の出願・登録状況**

なし