

令和2年度厚生労働科学研究費補助金
食品の安全確保推進研究事業
総括研究報告書

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

研究代表者 朝倉 宏 国立医薬品食品衛生研究所 食品衛生管理部

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

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

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

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

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

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

(敬称略、五十音順)

A. 研究目的

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

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

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

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

更に、南九州地方では生食用食鳥肉が製造加工されており、管轄自治体は衛生管理に関するガイドラインを発出している。これ迄に大規模食鳥処理場・加工施設での衛生管理実態等については検討が進められ望ましい衛生管理手法が提案されている。一方、同食品を取扱う施設の多くは小規模であることに着目し、本研究では認定小規模食鳥処理場・加工施設での衛生管理高度化に資する改善点の抽出、対策の提示と検証から成る独創的な研究項目を設定した。

以下に、分担研究毎に研究目的等を記す。

（１）と畜場におけるHACCP外部検証のための研究

①牛体表の汚染状況把握

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

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

②ふき取りに代わると畜場内枝肉、市販牛肉・豚肉の内部検証法の検討

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

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

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

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

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

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

③と畜場由来病原細菌の性状解析

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

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

と畜場への HACCP 導入の制度化にともない、と

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

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

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

⑤めん羊、山羊の外部検証採材部位の設定のための研究

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

(2) 食鳥処理場での HACCP 外部検証に関する研究

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

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

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

（3）生食用食鳥肉の高度衛生管理に関する研究

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

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

一つと認知されている。

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

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

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

以上の点を踏まえ、本研究では南九州地域に所在

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

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

②生食用食鳥肉の高度衛生管理に関する研究

本分担研究では、様々な認定小規模食鳥処理場での多様な処理工程における衛生管理実態を把握しその問題点を抽出することによって、国産食鳥肉の更なる安全性確保に資することを目的とした。

(4) HACCP検証の評価方法に関する研究

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

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

(5) と畜場の内部検証に関する研究

平成30年に交付された「食品衛生法等の一部を改正

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

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

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

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

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

(6) 国際動向を踏まえた情報の収集整理

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

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

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

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

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

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

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

B. 研究方法

(1) と畜場におけるHACCP外部検証のための研究

①牛体表の汚染状況把握

JA 飛騨ミートの係留所内で、5頭の黒毛和種牛

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

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

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

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

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

②ふき取りに代わると畜場内枝肉、市販牛肉・豚肉の内部検証法の検討

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

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

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

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

2) 市販牛肉・豚肉を用いた試験法間での検査結果の比較

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

③と畜場由来病原細菌の性状解析

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

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

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

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

⑤めん羊、山羊の外部検証採材部位の設定のための研究

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

(2) 食鳥処理場での HACCP 外部検証に関する研究

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

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

(3) 生食用食鳥肉の高度衛生管理に関する研究

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

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

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

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

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

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

②生食用食鳥肉の高度衛生管理に関する研究

鹿児島県内の認定小規模食鳥処理場で搬入鶏のクロアカスワブ、処理工程における鶏の皮または肉を材料として採取した。クロアカスワブは滅菌綿棒を用いて採取した。解体加工工程から、脱羽後、チラー後、焼烙後、解体後にそれぞれ皮または肉を、また最終製品も採取した。本調査ではA、B、Cの3箇所の処理場を対象とした。

採取したクロアカスワブは、プレストン液体培地10mlに接種し、増菌培養後、バツラー寒天培地に画線塗布した。バツラー寒天培地上に発育したカンピロバクター様コロニーについて、位相差顕微鏡を用いてらせん状桿菌の性状を確認した上で、Mueller-Hinton（MH）寒天培地に1検体につき1コロニーを画線塗布し、純培養した。一連の菌分離に

あたって、培養はすべて微好気条件下、42°C、48時間で実施した。菌種同定はPCR法により実施した。鶏肉検体については、最確数（MPN）3本法を用いて、カンピロバクター菌数を推定した。鶏皮または肉25gとプレストン液体培地225mlを1分間ストマッキング処理し、検体懸濁液を調整した。その後、同懸濁液10mlを3本作成したほか、同懸濁液1ml、0.1mlをそれぞれ3本ずつプレストン液体培地9ml、9.9mlに接種し、10mlの10倍、100倍希釈液として培養した。その後、培養液より1白金耳をとり、バツラー寒天培地に画線塗布し培養に供した。同定はクロアカスワブの場合と同様に実施した。

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

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

(4) HACCP検証の評価方法に関する研究

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

(5) と畜場の内部検証に関する研究

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

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

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

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

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

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

（6）国際動向を踏まえた情報の収集整理

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

（7）積極的食品由来感染症病原体サーベイランスならびに下痢症疾患の実態把握

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

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

C. 研究成果及び考察

（1）と畜場でのHACCP外部検証に関する研究

1) 牛体表の汚染状況把握

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

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

・黒毛和種牛体表の部位別腸内細菌科菌群数

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

・黒毛和種牛体表の部位別大腸菌群数

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

・黒毛和種牛体表の部位別大腸菌数

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

②ふき取りに代わると畜場内枝肉、市販牛肉・豚肉の内部検証法の検討

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

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

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

と畜場、Bと畜場ともに、最良レベルであった。

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

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

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

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

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

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

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

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

切除法、スタンプ法の順であった。

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

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

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

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

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

B と畜場牛枝肉において、切除法とふき取り法との

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

③と畜場由来病原細菌の性状解析

1)牛と体外皮拭き取り検体における衛生指標菌及び病原細菌の検出結果

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

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

1)めん羊、山羊、馬からの各種病原体検出状況

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

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

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

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

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

2)めん羊、山羊、馬枝肉拭き取り検体の一般細菌数

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

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

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

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

3) めん羊、山羊、馬枝肉拭き取り検体の大腸菌数

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

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

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

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

4) めん羊、山羊、馬枝肉拭き取り検体の大腸菌数

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

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

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

⑤めん羊、山羊の外部検証採材部位の設定のための研究

1) 採材部位設定に資する検討対象部位の選定

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

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

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

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

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

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

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

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

2) 山羊とたいにおける採材部位間の菌数分布並びに工程情報の確認

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

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

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

3) めん羊とたいにおける採材部位間の菌数分布

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

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

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

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

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

(2) 食鳥処理場での HACCP 外部検証に関する研究

1) 成鶏とたいにおける衛生指標菌検出状況

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

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

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

- ・B 施設では上述の衛生指標菌試験と並行して、カ

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

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

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

2) 食鳥とたい検体を対象とした微生物試験法の同等性について

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

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

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

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

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

(3) 生食用食鳥肉の高度衛生管理に関する研究

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

1) 生食用食鳥肉製品における微生物検出状況

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

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

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

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

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

2) 微生物試験成績と各施設での工程管理実態等との関連性の探索

・焼烙面

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

・焼烙時間及び距離

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

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

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

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

・内臓摘出手順

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

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

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

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

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

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

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

ったが、サルモネラ属菌については、保存7日後の1検体より検出された。

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

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

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

②生食用食鳥肉の高度衛生管理に関する研究

A処理場では、1回につき6羽、5回の調査を実施した。第1回、第2回の調査ではカット後の肉および生食用製品からカンピロバクターが分離されることはなかった。しかしながら、第1、2回ともに焼烙後の皮の1検体からわずかな量の菌が検出された。盲腸内容物のカンピロバクター菌数は102~106程度と幅広い数値を示したが、クロアカスワブは第1回で6羽中2羽、第2回で6羽中3羽のみが陽性であり、全体的に糞便によるとたいの汚染が低レベルであった可能性がある。第3、4回でも盲腸内容物の菌数は幅広い数値を示し、クロアカスワブは6羽全てが陽性であり、脱羽後の皮、中抜き後の皮で第1、2回に比較して高い菌数による汚染が認められた。解体当初よりとたいの糞便汚染が高かったものと思われる。また、第3回調査の焼烙後の皮からは3検体全てから $75 \sim 240 \text{MPN/10g}$ のカンピロバクターが検出され、カット後および生食用製品からも3羽分6検体全てで $4 \sim 240 \text{MPN/10g}$ のレベルで菌が検出された。第4回でも焼烙後の皮から

菌が検出され生食用製品からも3検体中1検体からわずかながら菌が検出された。第3回以降では、それぞれの工程でそれまでとは別の担当者が処理を行っていたことから、内臓摘出や解体加工の手技およびとたいの取り扱いなどの細かい指導が必要であろうと思われた。これらの結果を機に解体工程の環境改善ととたいの取り扱いに対する注意喚起を行なった。内臓摘出時に糞便汚染を阻止するよう流しを配置し、とたい移動時には排泄腔を下部におき首を上にしてできるだけ立てるよう指導を行った。内臓の摘出法も熟練者と保健所担当獣医師の両者から改善に向けた指導を行った。指導後に行なった第5回の調査結果では焼烙後とカット後の肉は全てカンピロバクター陰性であった。しかしながら、生食用製品の1検体からわずかなカンピロバクターが検出された。この施設の工程管理については更なる衛生管理の高度化が課題と思われた。

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

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

(4) HACCP検証の評価方法に関する研究

1) 国際動向の調査

欧州での食鳥処理におけるカンピロバクターを対

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

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

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

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

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

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

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

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

2) 国内施設での現状の検査状況の把握

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

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

3) 一般細菌数および腸内細菌科菌群数の測定方法の違いによる測定精度の検証

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

(5) と畜場の内部検証に関する研究

1) 調査対象施設の概要

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

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

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

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

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

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

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

3) 内部検証（微生物試験）の実施状況

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

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

4) 衛生指標菌の検出状況と病原微生物汚染の比較検証

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

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

（6）国際動向を踏まえた情報の収集整理

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

<英国> -- 基本的に EU 規則に準拠

A: 検査対象菌と対象動物

検査対象菌：一般生菌数、腸内細菌科菌群、サルモネラ属菌

対象動物種：牛、綿羊、山羊、馬、豚

B: 検体採取頻度

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

されていた(*1)。

(i) 一般と畜場

初期の検体採取頻度：

- ・一般生菌数, 腸内細菌科菌群

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

- ・サルモネラ属菌

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

- ・結果が優良で採取頻度を下げる場合：

一般生菌数, 腸内細菌科菌群

種ごとに 2 週毎 1 回 5 検体

サルモネラ属菌

種ごとに 2 週毎 1 回 5 検体

また、情報収集整理を通じ、以下の運用に関する規定が示されていた。

・1 週間の各曜日が網羅するように、検体採取の曜日は毎週変更する。

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

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

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

(ii) 小規模と畜場 A

初期の検体採取頻度：

- ・一般生菌数 腸内細菌科菌群

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

- ・サルモネラ属菌

種ごとに 4 週毎 1 回 5 検体

- ・結果が優良で採取頻度を下げる場合：

一般生菌数 腸内細菌科菌群

種ごとに 4 週毎 1 回 5 検体

サルモネラ属菌

頻度の削減無し

(iii) 小規模と畜場 B

初期の検体採取頻度：

- ・一般生菌数 腸内細菌科菌群

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

- ・サルモネラ属菌

不要

- ・結果が優良で採取頻度を下げる場合：

一般生菌数 腸内細菌科菌群

種ごとに 12 週毎に 1 日 1 回 5 検体

(iv) 小規模と畜場 C

初期の検体採取頻度：

- ・一般生菌数 腸内細菌科菌群

種ごとに連続 5 検体

- ・サルモネラ属菌

不要

- ・結果が優良で採取頻度を下げる場合：

一般生菌数 腸内細菌科菌群

種ごとに、最後に優良となった検査から 1 年後に連続 5 検体

(v) 小規模と畜場 D

- ・一般生菌数 腸内細菌科菌群, サルモネラ属菌

いずれも不要。

(*1) と畜場は、年間の処理動物数によって、以下の 5 つに区分する

(i) 一般と畜場

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

牛、馬、または2,000頭超の豚、緬羊、山羊)を処理すると畜場。

(ii) 小規模と畜場 A

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

(iii) 小規模と畜場 B

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

(iv) 小規模と畜場 C

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

(v) 小規模と畜場 D

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

C: 検体採取方法 ISO 17604 に準拠

<一般生菌数、腸内細菌科菌群>

冷却前の枝肉から採取する。

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

判定:5検体の平均logをとる

<サルモネラ属菌>

冷却前の枝肉から採取する。

1回の検査で、1個体から1検体種ごとに異なる5個体から検体計5検体採取。

採取方法:スポンジ法(最低でも400cm²の面積)

判定:連続した10回分の検体(つまり50検体)中の陽性数。

D: 試験方法

一般生菌数: ISO 4833 に準拠

腸内細菌科菌群: ISO 21528-2 に準拠

サルモネラ属菌: ISO 6579 に準拠

E: 判定基準

規則に示された限界値と比較して判定。

・牛、緬羊、山羊、馬

一般生菌数	優良	3.5 (2.8)
	許容	3.5-5.0 (2.8-4.3)
	不適合	5.0 (4.3)

腸内細菌科菌群	優良	1.5 (0.8)
	許容	1.5-2.5 (0.8-1.8)
	不適合	2.5 (1.8)

サルモネラ属菌	50 検体中の陽性数	
	優良	陰性
	許容	2 未満
	不適合	2 超

単位: log cfu/cm² スワブまたはスポンジ法は()内の値

・豚

一般生菌数	優良	4.0 (3.3)
	許容	4.0-5.0 (3.3-4.3)
	不適合	5.0 (4.3)

腸内細菌科菌群	優良	2.0 (1.3)
	許容	2.0-3.0 (1.3-2.3)
	不適合	3.0 (2.3)

サルモネラ属菌	50 検体中の陽性数	
	優良	陰性
	許容	3 未満
	不適合	3 超

単位：log cfu/cm² スワブまたはスポンジ法は()内の値

*サルモネラ属菌の判定基準について、EU 規定では以下の通りとなっていた。

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

単位：log cfu/cm²

< 参照 >

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

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

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

D. 結論

(1) と畜場での HACCP 外部検証に関する研究

①牛体表の汚染状況把握

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

②ふき取りに代わると畜場内枝肉、市販牛肉・豚肉の内部検証法の検討

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

③と畜場由来病原細菌の性状解析

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

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

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

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

⑤めん羊、山羊の外部検証採材部位の設定のための研究

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

(2) 食鳥処理場での HACCP 外部検証に関する研究

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

(3) 生食用食鳥肉の高度衛生管理に関する研究

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

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

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

②生食用食鳥肉の高度衛生管理に関する研究

本年度の研究では、3形態の認定小規模食鳥処理場を調査し、各施設での工程を通じたカンピロバクター汚染動態に関する知見が集積された。特に1施設では内臓摘出工程が作業者への教育訓練及び手順等の変更により改善された。処理場により解体工程は様でなく衛生管理状況も異なるため、更なる情報収集と衛生管理手法の確立が生食用食鳥肉の高度衛生管理の達成には必要と思われる。

(4) HACCP 検証の評価方法に関する研究

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

(5) と畜場の内部検証に関する研究

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

(6) 国際動向を踏まえた情報の収集整理

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

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

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

E.健康危機情報

該当なし

F.研究発表

1.論文発表

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

2.学会発表

- 1) 森田幸雄. 食肉（ジビエ）処理加工施設の衛生管理について. 令和2年度国産ジビエ認証制度の事業者説明会（岩見沢コミュニティプラザ）2020年11月16日.
- 2) 森田幸雄. 食肉（ジビエ）処理加工施設の衛生管理について. 令和2年度国産ジビエ認証制度の事業者説明会（全水道会館：東京都文京区）2020年11月27日.
- 3) 森田幸雄. 食肉（ジビエ）処理加工施設の衛生管理について. 国産ジビエ認証審査員候補者研修会（全水道会館：東京都文京区）2020年11月27日.
- 4) 森田幸雄. 施設における衛生管理. 令和2年度食品衛生管理者登録講習会（(公社)全国食肉学校：群馬県佐波郡）2021年2月5日.
- 5) 森田幸雄. 食肉及びジビエの衛生管理. ジビエ基礎セミナー（(公社)全国食肉学校：群馬県佐波郡）2021年2月10日.
- 6) 津留優、宗安祥佳、Vu Minh Duc、城間萌子、栗脇良太、山元三保子、中馬猛久. 鶏から分離されたカンピロバクターの型別とギラン・バレー症候群関連遺伝子. 日本カンピロバクター第13回総会. オンライン. 2020年10月1日.
- 7) 山田和弘、續木洋一、佐藤克彦、朝倉宏. 市販鶏肉から分離される *Campylobacter jejuni* の血清遺伝子型分布調査. 日本カンピロバクター第13回総会. オンライン. 2020年10月1日.
- 8) 中村寛海、秋吉充子、後藤薫、柴川紗恵子、朝倉宏、小笠原準. 輸入食肉からのカンピロバクター、サルモネラおよび腸管出血性大腸菌の検出とこれらを評価するための衛生指標菌について. 日本カンピロバクター第13回総会. オンライン. 2020年10月1日.
- 9) 熊谷優子、窪田邦宏、朝倉宏. カンピロバクター食中毒の食品寄与率に関する研究. 日本カンピロバクター第13回総会. オンライン. 2020年10月1日.

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

G.知的財産権取得状況

該当なし