

令和4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 検証手法の確立と
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：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以下の検討を進めた。(1)と畜場における HACCP 外部検証に関する研究では、①昨年度微生物学的評価を行った黒毛和種牛枝肉に付着する異物に含まれる菌叢解析を行ったところ、糞便・消化管内容物に加え、獣毛もゼロトレランスを求める必要性を裏付ける知見を得た。②めん羊枝肉の細菌汚染実態を部位別に評価したところ、部位間での菌数の差異が大きく、自治体検査員による評価を通じた採材部位の選定が有用と目された。③協力施設で解体処理される牛豚については剥皮後に一般細菌数及び腸内細菌科菌群数が大きく減少し、当該工程の管理の重要性が確認された。④国内と畜場の施設環境におけるリステリアの汚染状況を調査し、枝肉冷却室環境でリステリア属菌が検出された一方、処理室は一般に処理後に熱温水洗浄が行われており、同菌が処理工程環境に持続汚染を呈する可能性は低いと考えられた。(2)食鳥処理場における HACCP 外部検証に関する研究では、一般に CCP と位置付けられる冷却工程に着目し、冷却水中の物性・微生物的な時系列挙動を評価し、評価に有用と思われる試験項目及びそれらの達成目標例を確認した。(3)生食用食鳥肉の高度衛生管理に関する研究では、①南九州地方の小規模事業者の協力を得て、処理工程の詳細情報の収集及び同工程を通じたカンピロバクター汚染挙動を評価し、製品では概ね支障ないレベルに制御できている実態を確認した。②「とりさし協会」の協力を得て、南九州地方で「とりさし」を取り扱う小規模事業者における衛生管理実態に関するアンケート調査を行い、前年度迄の成績を含め、生食用食鳥肉の衛生管理に関するガイドライン原案を作成した。(4)と畜場・食鳥処理場の内部検証に関する研究では、事業者、複数自治体の検査員から意見を聴取し、より実行性を高めた手順書最終案を作成した。(5)国際動向を踏まえた情報の収集整理では、諸外国の関連法規やガイドライン等を収集し、特に微生物試験に関する内容の要点を纏め、検体採取方法、検体採取頻度等は国間で相違が認められる状況を把握した。(6)サンプリングプランに関する研究では、自治体より提出された外部検証データを整理・解析し、前年度迄との対比を行った上で、今後の課題と思われる事項を抽出した。以上の知見は、我が国のと畜場・食鳥処理場の衛生管理体制をより持続性を伴った効果的・効率的なものへと発展させるために活用されることが期待される。また、生食用食鳥肉に特化したガイドライン等の策定は加熱用食鳥肉を転用することにより多発しているカンピロバクター食中毒の発生低減へと資することが期待される。

研究分担者

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

研究協力者

有田 佳子	国立医薬品食品衛生研究所
大畑 克彦	静岡県食肉衛生検査所
岡谷 友三	麻布大学
小畑 麗	岐阜県飛騨食肉衛生検査所
片桐 謙	山形県庄内食肉衛生検査所
苅和 俊宏	岐阜県飛騨食肉衛生検査所
黒田 伸彦	山形県庄内食肉衛生検査所
品川 邦汎	岩手大学
塚本 真由美	岐阜県飛騨食肉衛生検査所
中江 優貴	静岡県食肉衛生検査所
濱崎 隼人	とりさし協会
久永 崇宏	静岡県食肉衛生検査所
南川 総子	神戸市食肉衛生検査所
向島 幸司	岐阜県飛騨食肉衛生検査所
村瀬 繁樹	岐阜県飛騨食肉衛生検査所
山崎 翔矢	岐阜県飛騨食肉衛生検査所
山本 詩織	国立医薬品食品衛生研究所

(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、令和2年6月に施行通知が出され、令和3年6月より本格施行するはこびとなった。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検討を行った。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法が導入・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、その普及啓発にあたっている一方、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て検討を進めた。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 外部検証に関する研究

- ① 黒毛和種牛枝肉に付着する異物の細菌叢解析

「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。更に、「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、レーダ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、令和3年度は、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の観察及びこれら異物について微生物検査を実施した。令和4年度は菌叢解析を実施し、総合的に考察することを目的としたので報告する。

② めん羊枝肉表面の切除法による細菌汚染状況

めん羊枝肉の危害分析の一助とするため、めん羊枝肉を購入し、枝肉の表面を切除法による検体を採取し細菌汚染状況を調査したので報告する。

③ 外部検証プロトコルの妥当性評価に関する研究
本研究では、と畜場において実施している HACCP 外部検証法を、科学的根拠を伴った形で検証することを目的とする。本年度は、昨年度に3食肉衛生検査所の協力を得て実施した、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）及び病原菌関連遺伝子の検出状況について改めて検討を行った。また、昨年度までに実施した検証結果を踏まえ、1施設の協力の元、剥皮前後の工程における衛生管理の重要性について、衛生指標菌と病原菌関連遺伝子検出状況を指標に評価した。

④ と畜場でのリステリア属菌の汚染実態と管理すべき工程に関する研究

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必要とされ、自治体のと畜検査員、食鳥検査員が行う検証（外部検証）として、現場検査、微生物検査及び記録の確認等が技術的助言として厚生労働省より発出されている。このうち、微生物試験については、最終洗浄後から冷蔵迄の間にある枝肉表面を切除し、衛生指標菌（生菌数及び腸内細菌科菌群数）の検出試験を行うこととなっている。

また、関連事業者団体が作成した、と畜場における HACCP に基づく衛生管理のための手引書では、枝肉の冷蔵庫内温度の管理が重要管理点（CCP）として例示されている。冷蔵庫内温度の管理不備は微生物の増殖を招くおそれがあるためであるが、特にリステリア・モノサイトゲネス（以下、LM）等の低温菌の増殖を招きうるリスクが、欧米では従前より懸念されており、と畜場での工程管理指標として施設環境での生残をモニタリングすることも多い状況にある。しかしながら、国内のと畜場施設環境における当該菌の汚染実態等に関する知見は乏しい状況であった。以上の背景を踏まえ、本分担研究では、あると畜場の協力を得て、牛と畜処理工程中での施設環境試料を拭き取り、LM 及びリステリア属菌の汚染実態並びに菌叢変動に関する検討を行ったので報告する。

(2) 食鳥処理場における HACCP 外部検証に関する研究

と畜場と同様、大規模食鳥処理場においては、HACCP に基づく衛生管理が必要とされ、関連事業者である日本成鶏処理流通協会により「親鶏製品製造事業者（大規模食鳥処理場）向け HACCP に基づく衛生管理のための手引書」が2021年5月に発行された。同手引書においては、冷却工程を代表的な重要管理点（CCP）として例示しており、残留塩素濃度及びモモ中心温度を主要な管理基準項目としている。上述の手引書の発行を受け、その後、厚生労働省では「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」(令和2年5月28日付、生食発0528第1号)を発出し、自治体の検査員による外部検証により、核施設の衛生管理状況を HACCP に基づいてモニタリングし、必要に応じて改善指導へとつなげることを主な命題とする技術的助言を行った。

上述の手引書において示された冷却工程の管理基準としては残留塩素濃度が30ppm、モモ中心温度が10℃以下となっている。このうち、残留塩素濃度については、2時間毎に測定し、30ppm以上を維持していることを記録することを推奨している。一方でその効果については明確に示されていない状況であった。加えて、処理羽数や冷却槽の容量等により、同管理に求められる条件は異なってくるものと考えられたこと等から、本分担研究では、これまでに食鳥肉に係る重要な危害要因であるカンピロバクターが最終製品からほぼ検出されない状況にあった事業所の協力を得て、同事業所における冷却槽内の冷却水に焦点を当て、衛生に係る試験項目の挙動を経時的に検討したので報告する。

(3) 生食用食鳥肉の高度衛生管理に関する研究

① 生食用食鳥肉の高度衛生管理に関する研究

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

② 生食用食鳥肉製品の製造工程管理に関する情報調査

南九州地方では、従前より「とりさし」と呼称される生食用食鳥肉製品が製造加工、販売・消費されている。これらは一般的に生食用に食鳥処理された食鳥とたい、または食鳥肉の皮部分をバーナー等で処理後速やかに焼烙し、短時間のうちに消費される

ものとされる。一方で、大都市圏の飲食店でしばしばカンピロバクター食中毒の原因食品とされる「とりさし」の多くは、加熱用食鳥肉を飲食段階で生食用に転用されたものであり、両者は製造段階から大きく異なるものであることから、南九州地方の生食用食鳥肉製品は食鳥処理段階から加工、販売に至る過程で生食用の手法を用いて総合的に衛生管理されている実態をこれまで調査してきた。先行研究では、当該地方の自治体の協力を得てアンケート調査を行い、当該製品の多くが小規模事業者により製造加工、販売等が行われている実態を確認してきた。更に本研究では、令和2年度より小規模事業者が製造加工、販売する「とりさし」製品における微生物学的品質を評価し、先行研究で得られた工程管理実態と紐づけることで特に留意すべき管理要件を抽出してきた。以上の背景を踏まえ、本分担研究では、生食用食鳥肉製品の衛生管理のために更に充実させるべき事項を整理することを目的として、「とりさし協会」の協力を得て、小規模事業者を対象としたアンケート調査を行ったので報告する。

(4) と畜場・食鳥処理場の内部検証に関する研究

と畜場及び食鳥処理場での外部検証では、微生物検査に加え、施設・設備管理や HACCP プラン、更には生体・と体の取り扱いに関する手順書の確認、施設・設備管理に関する記録と実施状況の確認、教育訓練の確認、生体・と体の取り扱いに関する記録及び実施状況の確認と教育訓練の確認等が求められている。と畜検査員および食鳥検査員は個々の内容について現場確認及び記録確認を通じ、と畜場・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・食鳥処理場において効果的な外部検証を実施するためには、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。と畜場法施行規則およ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る。

と畜場・食鳥処理場の衛生管理に関する前提条件プログラムについては施行規則に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で手順が例示されている。しかしながら、現在公開されている HACCP の手引書では、CCP の管理方法、記録方法等については SOP や記録様式が例示されている一方、それらの検証方法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およ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障害になっていると目される。そこで本研究では、事業者が参照可能な内部検証の手順書案の作成を目的とし、昨年度迄に作成した手順書原案をより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で再構成し、と畜・食鳥検査員及び事業者からの意見聴取を行った上で、必要と思われる改訂を行ったので報告する。

(5) 国際動向を踏まえた情報の収集整理

国内のと畜場・食鳥処理場では「HACCPに基づく衛生管理」が令和3年6月より完全施行となっている。しかし、多様な国内施設全体を対象にした実効性のある HACCP 外部検証法として確立させるには、更なる検討や調整が必要である。

そこで本研究では、日本国内のと畜場・食鳥処理場における「HACCPに基づく衛生管理」の実効的な外部検証法を構築するために有用となる情報を収集整理することを目的として、既にこれらの施設に「HACCPに基づく衛生管理」を実施している諸国の関連法規、ガイドラインや科学的知見等の情報を検索・収集し、と畜場・食鳥処理場の衛生管理における検証法の国際的な動向の把握を行ったので報告する。

(6) 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して検討を進めた。令和4年度においては、全国のと畜場・食鳥処

理場の通年での細菌検査データを収集精査して、と畜場・食鳥処理場の衛生管理状態を把握可能とするデータ評価の素案を作成することを目的とした。

B. 研究方法

(1) と畜場における HACCP 外部検証に関する研究

① 黒毛和種牛枝肉に付着する異物の細菌叢解析

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：検体Aと検体B)が付着した肉表面を2×2cm²採取し、25mlの滅菌PBSを加え、1分間ホモジナイズ処理したものを試料原液とした。試料原液残液は、遠心分離した後、Maxwell RSC Blood DNA kitを用いてtotal DNAを抽出し、16S rRNA V5-V6領域をPCR増幅させた。PCR増幅産物はAgencourt AMPure XPを用いて精製し、Ion Library Equalizerで各試料由来増幅産物を等量混合した後、Ion CHEF/Ion Torrent PGMを用いてシーケンス反応を行った。得られた配列データは低クオリティリードやキメラ配列を除去し、DADA2を用いて1試料あたりの配列数を60,000配列に平衡化した後、Blastn検索を通じてOTU

(Operational Taxonomic Unit)解析を行った。なお、取得配列データはDNAデータバンク(DDBJ)に登録を行った(DRX322191-DRX322221)。

② めん羊枝肉表面の切除法による細菌汚染状況

令和4年11月、通常解体処理を行い、と畜検査を合格し、冷蔵庫に入る前のめん羊枝肉を購入した。体表を30か所、5×5cm²切り取り、PBSを90mL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°C 48±3時間、EBプレートは37±1°C 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1cm²あたりの菌数を算出した。なお、検出

限界値は2個/cm²であり、検出限界値以下は0として対数平均値を求めた。

試料原液についてはサルモネラ、カンピロバクター、腸管出血性大腸菌（STEC）検査を実施した。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時間好気培養を実施した。その後、クロモアーガーサルモネラ培地に塗抹し、37°C、24時間好気培養を行った。カンピロバクターは試料原液5mLを45mLのプレストン培地に加え、42°C、24時間、微好気培養を実施後、クロモアーガーカンピロバクター培地に塗抹し、42°C、48時間、微好気培養を行った。腸管出血性大腸菌（STEC）は、試料原液5mLを45mLのノボビオシン加mEC培地に加え、42°C、24時間、好気培養した。その後、クロモアーガーSTECに塗抹し、37°C、24時間培養を行った。各選択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。

③ 外部検証プロトコルの妥当性評価に関する研究

1) データ及び検体

外部検証の妥当性再評価には、令和3年度に北陸～東海地方の3食肉衛生検査所の協力を得て実施した、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菌関連遺伝子検出状況のデータを用いた。豚及び牛と体解体工程における衛生管理の調査には、1食肉衛生検査所から、豚及び牛と体拭き取り検体の提供を受けて用いた。拭き取りには、100cm²の拭き取り検査棒及び拭き取りスポンジを用いて300g/cm²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。豚と体からは洗浄前、洗浄後（剥皮前）及び枝肉の3工程において腹部から採材した。牛と体からは図2に剥皮前及び枝肉の2工程において腹部から採材した。拭き取り後のスポンジは、採材後48時間以内に試験に供した。各工程3検体ずつ採材し、試験は2回実

施した。

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、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）に従い、以下のように計測した。滅菌PBSを用いて、送付された検体の10倍階段希釈系列を作製し、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プレート及び腸内細菌科菌群数の計測にはEBプレートを用い、製造事業者が定める方法に従って試験を実施した。結果は常用対数で表したが、負の値となった場合は「0」として集計した。

3) 病原菌由来遺伝子の検出

送付された検体を9倍量のBPWに加え37°C、18～24時間増菌培養を行った。増菌培養液からアルカリ熱抽出法によりDNAを調製し、*stx*及び*eae*遺伝子を標的としたリアルタイムPCRを行った。

④ と畜場でのリステリア属菌の汚染実態と管理すべき工程に関する研究

1) 検体

令和4年6月～9月の間、と畜場の牛処理工程中の外皮、施設等の環境20検体を月あたり20検体、同年10月～11月の間には、4検体（No.21～24）を追加し、月あたり24検体を採材した（計128検体）。採材にあたっては、スポンジスワブ（ネオジェン）を用いて拭き取り、試料とした（表1）。

2) リステリア定性試験

採材スポンジスワブ試料に100mLのhalf-fraser brothを加え、2分間のストマッキング処理を行った後、37±1°Cで24-30時間前培養した。リステリア・モノサイトゲネスの検出には、ISO法との妥当性確認がなされ、我が国でも検査所で活用されているMDS2 *Listeria monocytogenes*（ネオジェン）を用いた。また、上記培養液をクロモアー・リステ

リアに塗抹し、 $37\pm 1^{\circ}\text{C}$ にて培養後、発育した集落のうち、ハローの有無に関係なく青色を呈した代表集落を無作為に釣菌し、VITEK2（ビオメリュー）を用いて生化学性状に基づく菌種同定を行った。

3) リステリア定量試験

9～11月に採材した検体については、上項の定性試験で調製した懸濁液を10倍階段希釈後、クロモアガー・リステリアに直接塗抹し、 $37\pm 1^{\circ}\text{C}$ にて培養した。発育した集落のうち、色調が青色を呈した集落数を推定リステリア属菌数として求めると共に、ハローを伴う青色集落の有無を確認し、ハローを伴うものについてはVITEK2システム（ビオメリュー）を用いて、LMであるかを確認した。

4) 菌叢解析

令和4年9月に採材した検体より、DNAを抽出し、16SrRNA部分配列をPCRにより増幅させた後、次世代シーケンサー（Ion PGM）を用いて塩基配列データを取得し、RPD Classifierを用いて階層毎に構成菌叢を解析した

(2) 食鳥処理場における HACCP 外部検証に関する研究

1) 検体及び前処理

ある大規模食鳥処理場（以下、処理場 A）において、冷却槽中の冷却水を処理開始直後（0時間後）より、1時間後、2時間後、4時間後、5時間後及び6時間後にそれぞれ採水した。採水後、直ちに残留塩素濃度を測定し、次亜塩素酸ナトリウムの中和剤の一つであるチオ硫酸ナトリウムを添加した。また、平行してチオ硫酸ナトリウム非添加の検体も確保し、それぞれ冷蔵温度帯で保存・輸送した。

2) 理化学試験

冷却水の理化学試験項目としては、pH、残留塩素濃度、遊離塩素濃度、濁度、ATP 値、TDS 値及び水温を求めた。

3) 微生物学的試験

水検体は採水から24時間以内に一般細菌数、腸内細菌科菌群、大腸菌（ β -グルクロニダーゼ産生大腸菌）の定量試験のほか、カンピロバクターとサ

ルモネラ属菌の定性試験に供した。

4) 菌叢解析

検体残液を遠心分離し、得られた沈査より全DNAを抽出した。これを鋳型として、16s rRNA V5-V6 領域をPCR増幅し、Ion Torrent PGM システムを用いたシーケンス反応を行った。得られたデータをトリミング処理した後、Metagenome@KINを用いて、階層分類等を行った。

(3) 生食用食鳥肉の高度衛生管理に関する研究

① 生食用食鳥肉の高度衛生管理に関する研究

1) 調査施設

鹿児島県内の認定小規模食鳥処理場のうち処理工程の異なる6箇所の処理場（A～K）を対象として調査を行った。なお、処理場 J は購入したヒナを自家農場で飼育していることを考慮し農場における鶏の保菌状況の調査も実施した。また、処理場 B は、加熱用鶏肉を取り扱う施設であり、と体表面加熱は行っていなかった。

2) 供試材料

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

3) カンピロバクターの分離・同定および定量

採取したクロアカスワブについて、カンピロバクターの存在の有無を調べるため、プレストン液体培地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に画線塗布した。バツラ

一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/V516)、*C. coli*の特異的プライマー (CC18F/CC519R)を用いたPCR法により実施した。反応液組成は、計4種のプライマー保存溶液(各2pmol/μl)をそれぞれ2μlずつ、EmeraldAmp PCR Master Mix 10μl、滅菌蒸留水2μlと合わせ、20μl総量とし、これに1白金線量のコロニーを直接添加した後、反応を開始した。陽性コントロールには、*C. jejuni* ATCC 33560株、*C. coli* ATCC 33559株由来DNAを用いた。PCRは、94°C30秒、56°C30秒、72°C30秒の35サイクルで実施した。反応後のPCR産物は、1.5%アガロースゲルで100V、60分電気泳動を行い、エチジウムブロマイド染色後に増幅断片の有無及び分子量を確認した。

採取した鶏肉については、最確数(MPN)3本法を用いて、カンピロバクター菌数を推定した。鶏皮または肉25gとプレストン液体培地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。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。

② 生食用食鳥肉の製造工程管理に関する情報調査
食鳥処理段階では1)生鳥の湯漬け温度及び湯漬け時間、2)脱羽後と体の洗浄と冷却の有無及び状況、3)冷却水中の次亜塩素酸濃度の管理方法を主な調査対象項目とした。食鳥肉加工段階では、焼烙工程の条件を調査対象項目とした。販売段階では、生食用食鳥肉製品の1包装あたりの重量を調査項目とした。いずれも「とりさし協会」を通じ、アンケート調査により回答を求め、集計した。

(4) と畜場・食鳥処理場の内部検証に関する研究

昨年度までに作成した手順書の原案について、食肉衛生検査所(4所)及び事業者(3事業者)に対して、対面会議のほか、ウェブ会議、電話会議等を開催して意見聴取を行い、得られた意見や指摘等を踏まえ、手順書案の改訂を行った。

(5) 国際動向を踏まえた情報の収集整理

令和2年度は牛や豚など獣畜のと畜を実施していると畜場に、令和3年度は食鳥の解体を行う食鳥処理場に焦点を当て、処理施設における衛生管理や検証に関する情報を収集した。最終年度の令和4年度は、と畜場・食鳥処理場の衛生管理・検証に関する最新情報を継続して収集し、追加訂正を行う共に、国内の状況との違いを踏まえ、要点を整理した。

(6) HACCP検証の評価方法に関する研究

1) 国内施設での現状の検査状況の把握

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

C. 研究成果

(1) と畜場におけるHACCP外部検証に関する研究

① 黒毛和種牛枝肉に付着する異物の細菌叢解析

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検体を菌叢解析に供した。構成割合で1%以上を示したもの

は *Proteobacteria* 門, *Firmicutes* 門, *Actinobacteria* 門, *Bacteroidetes* 門, *Fusobacteria* 門, *Thermi* 門, *Spirochaetes* 門, *Euryarchaeota* 門, *Fibrobacteres* 門であった。消化管内容物は *Firmicutes* 門, 獣毛, レールダスト, フットカッター汚れは *Proteobacteria* 門の比率が高く、糞便は *Firmicutes* 門と *Proteobacteria* 門の双方合わせて高い比率を示す菌叢であった。その他 A 検体は *Bacteroidetes* 門と *Fusobacteria* 門の構成割合が高いという特徴を有していた。その他 B 検体は *Proteobacteria* 門が多く、次いで *Actinobacteria* 門, *Firmicutes* 門が検出され、菌叢の構成は糞便や獣毛と類似していた。

② めん羊枝肉表面の切除法による細菌汚染状況

一般生菌数は調査 30 カ所のうち全部から検出され対数平均は 3,063.5 個/cm² (3.49 log 個/cm²) であった。最高値は検体 27(右肘部内側)の 400,000 個/cm² (5.60 log 個/cm²)、最低値は検体 8(大腿部右側)の 19 個/cm² (1.28 log 個/cm²) であった。腸内細菌科菌群数は調査 30 カ所のうち 23 カ所から検出され対数平均は 68.3 個/cm² (1.83 log 個/cm²) であった。最高値は検体 27(右肘部内側)の 48,000 個/cm² (4.68 log 個/cm²)、7 カ所は検出限界値以下であった。大腸菌群数は調査 30 カ所のうち 22 カ所から検出され対数平均は 41.4 個/cm² (1.62 log 個/cm²) であった。最高値は検体 27(右肘部内側)の 4,600 個/cm² (3.66 log 個/cm²)、8 カ所は検出限界値以下であった。大腸菌数は調査 30 カ所のうち 9 カ所から検出され対数平均は 3.3 個/cm² (0.52 log 個/cm²) であった。最高値は検体 27(右肘部内側)の 4,000 個/cm² (3.60 log 個/cm²)、21 カ所は検出限界値以下であった。大腸菌が検出された部位で 9 か所存在した。検体 27 (右肘部内側) が最も多く 4,000 個/cm² (3.60 log 個/cm²)、次いで検体 25(頸部右側)が 250 個/cm² (2.40 log 個/cm²)、検体 5(腕基部)が 150 個/cm² (2.18 log 個/cm²)、検体 14 (胸部右側)が 90 個/cm² (1.95 log 個/cm²)、検体 15(後大腿部右側)が 38 個 (1.58 log 個/cm²) であった。検体 27 (右肘部内側) は調査した 30 カ所のなかで一般生菌数、腸内細菌科菌群、大腸菌群、大腸菌数

ともに最高値を示した。枝肉 30 カ所の検体からは STEC,カンピロバクター、サルモネラは未検出であった。

③ 外部検証プロトコルの妥当性評価に関する研究 (含考察)

1) 外部検証の妥当性再評価

昨年度に 3 食肉衛生検査所の協力を得て、豚及び牛と体の外部検証用検体と外皮拭き取り検体における衛生指標菌数及び病原体検出状況の関連を検討した。この時に得られたデータを元に、3 施設における外部検証の妥当性について改めて検討した。豚及び牛枝肉の外部検証 (微生物試験) では、先行研究から、検出感度に優れ、検査員によるばらつきが小さい切除法が採用されている。しかしながら、採取法に問題があり検体重量にばらつきがあると衛生指標菌を正確に測定できていない可能性がある。そのため、各施設から提供された検体重量について 95%信頼区間を算出し、逸脱した検体がどの程度存在したかを検証した。施設 A の豚と体では平均 9.97 g、標準偏差 (SD) が 2.04 g であり 95%信頼区間 9.19 から 10.75 g の範囲から逸脱した検体はなかった。牛と体では、平均 10.80 g、SD は 1.15 g であり、95%信頼区間 10.36 から 11.25 g の範囲から逸脱した検体はなかった。施設 B の豚と体では平均 7.99 g、SD は 2.75 g であり 95%信頼区間 9.01 から 10.98 g の範囲から逸脱した検体はなかった。牛と体では、平均 9.99 g、SD は 2.75 g であり、95%信頼区間 9.01 から 10.98 g の範囲から逸脱した検体はなかった。施設 C の豚と体では平均 7.77 g、SD は 2.83 g であり 95%信頼区間 6.76 から 8.78 g の範囲から逸脱した検体はなかった。牛と体では、平均 10.10 g、SD は 3.25 g であり、95%信頼区間 8.94 から 11.27 g の範囲から逸脱した検体はなかった。3 施設の検体とも概ね 10 g 前後の検体が採取されており、95%信頼区間から逸脱した検体はなかったことから、対象となった 3 施設においては、適切に採材されていたと考えられた。枝肉の微生物検査における工程管理目標値の設定では、平均値と SD から施設毎に設定することが求

められている。3施設の外皮拭き取り検体及び枝肉では、病原菌関連遺伝子が検出された検体では衛生指標菌数が多い傾向が認められた。そこで、衛生指標菌数について平均+2SDより高い値を示した検体の精査を行った。

豚と体の一般細菌数では、3施設の外皮拭き取り検体及び枝肉いずれも平均+2SDを超過した検体は0もしくは1検体（総数の4.0%）であり、病原菌関連遺伝子が検出された検体はなかった。腸内細菌科菌群数は、施設Bの外皮拭き取り検体及び枝肉いずれも4検体（総数の13.3%）が平均+2SDを超過し、施設Cの外皮拭き取り検体及び枝肉いずれも3検体（総数の10.0%）が超過した。平均+2SDが母集団の約2.2%に相当することを考慮すると、B施設及びC施設では腸内細菌科菌群数が高値に逸脱した検体が多い傾向が認められたが、これら検体と病原菌関連遺伝子陽性検体との明確な相関は認められなかった。

牛と体の外皮拭き取り検体では、一般細菌数で平均+2SDを超過した検体数はA施設では0、B施設では1（3.3%）及びC施設では0であった。腸内細菌科菌群数で平均+2SDを超過した検体数はA施設では1（4.0%）、B施設では3（10.0%）及びC施設では1（3.3%）であり、これら検体はいずれも病原体関連遺伝子陽性であった。

対象施設では、豚と体及び牛と体いずれも衛生指標菌数において母集団から逸脱した検体が顕著に多い傾向は認められず、適切に衛生管理が行われていることが改めて確認された。

2) 豚及び牛と体解体工程における衛生管理の調査

豚と体解体工程の中で、剥皮前工程としての、と体洗浄機前の「洗浄前」から洗浄機通過後の「洗浄後（剥皮前）」間の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は、1回目の試験では「洗浄後（剥皮前）」で減少傾向にあったが、一般細菌数では $p > 0.55$ 及び腸内細菌科菌群数では $p > 0.41$ でありどちらも有意水準5%での差は認められなかった。「洗浄後（剥皮前）」と剥皮後の「枝肉」工程間では、一般細菌数及び腸内細菌科菌群数い

れも減少傾向にあり、一般細菌数では $p < 0.02$ であり有意水準5%で差が認められた（腸内細菌科菌群数に関しては負の値を「0」として集計しているため有意差検定は行っていない）。病原菌関連遺伝子検出状況は、「洗浄前」では33.3%（1/3）、「洗浄後（剥皮前）」では33.3%（1/3）、「枝肉」では0%（0/3）であり衛生指標菌の減少と共に病原菌関連遺伝子陽性率は減少し枝肉では検出されなくなることが示された。2回目の試験においても同様の傾向が認められたが、「洗浄前」と「洗浄後（剥皮前）」の間で減少傾向にあった一般細菌数の差について、 $p < 0.03$ となり有意水準5%で差が認められた。

牛と体の解体工程では、2回の試験いずれにおいても、「剥皮前」と剥皮後の「枝肉」の間では、一般細菌数及び腸内細菌科菌群数共に減少傾向であり、有意水準5%で差が認められた。この間の病原菌関連遺伝子陽性率は衛生指標菌数と並行して100%（3/3）から0%（0/3）に減少した。

以上より、対象の施設での豚と体及び牛と体解体工程において、剥皮前後の工程における衛生管理の重要性が示された。

④ と畜場でのリステリア属菌の汚染実態と管理すべき工程に関する研究

1) リステリア属菌の定性及び定量試験

リステリア属菌は9月に採材した外皮(No.3)及び7～9月に採材した枝肉冷蔵最終室床(No.12)から検出されたが、すべてリステリア・モノサイトゲネス以外の菌種であった。また、クロモアガー上で多数の青色集落を認めた外皮、枝肉冷蔵室等からはリステリア属菌以外の菌種も検出された。これを裏付けるように、9～11月に行った同属菌の定量試験では、外皮、前後肢落とし工程の床、シンク、排水溝から多くの菌数が検出された。6月に採材した検体からリステリア属菌の検出は認められなかった。

2) 菌叢解析

細菌科 (family) 階層での占有率が20%を超えたものを確認した結果、外皮や解体処理周辺環境ではモラクセラ科が最も優勢であり、一部の外皮ではコリネバクテリウム科も優勢であった。枝肉洗浄下

にある排水溝からはキサントモナス科等、他検体と異なる構成が認められ、当検体からは腸内細菌科菌群も多く検出された。枝肉冷蔵室では壁、枝肉表面においてバシラス科が最も優勢な状況にあった。リステリア科は外皮及び冷蔵室床から、各1リードのみが検出された。

(2) 食鳥処理場における HACCP 外部検証に関する研究

1) 調査対象施設における冷却水の管理基準等に関する情報収集

処理場 A での冷却槽への次亜塩素酸ナトリウムの添加方法は蛇口から断続的に冷却槽へ注入する方法がとられていることを目視にて確認した。

2) 処理工程を通じた冷却水の理化学性状

(i) 塩素濃度

残留塩素濃度は処理 0 時間後の時点で 65 ppm であり、処理 2、4、6、7 時間後の同値はそれぞれ 55 ppm、49 ppm、56 ppm、51 ppm、60 ppm であった。一方、遊離塩素濃度は処理 0 時間後の時点で 5.10 ppm であったが、処理 1 時間後には 0.07 ppm へと著減し、処理 2、4、6 時間後の同値もそれぞれ 0.05、0.40、<0.01 ppm を示した。処理 7 時間後には再び 4.26 ppm へと上昇した。

(ii) pH

pH は処理 0 時間後の時点で 8.54 であった。処理 1 時間後には 8.66、処理 2 時間後には 8.74 を示し、処理 4、6、7 時間後の同値はそれぞれ 8.92、8.96、8.99 であった。

(iii) 濁度

濁度は処理 0 時間後には 1.38 であったが、処理 1 時間後には 9.68 へと上昇し、処理 2、4、6、7 時間後にはそれぞれ 13.76、39.63、35.70、43.60 となった。

(iv) ATP 値

ATP 値は処理 0 時間後には 3 であったが、処理 1 時間後には 29,126、処理 2 時間後には 38,248、処理 4 時間後には 74,062 を示した。処理 6 時間後には 65,192 とやや減少を呈したが、処理 7 時間後

は 87,888 と再び上昇を示した。

(v) TDS 値

TDS (総溶解固形物) 値は処理 0 時間後には 391 μ S であったが、処理 1 時間後には 617 μ S、2 時間後には 801 μ S、4 時間後には 1,176 μ S、6 時間後には 1,516 μ S、7 時間後には 2,020 μ S を示した。

(vi) 水温

水温は処理 0 時間後では 8.50°C であり、処理が進むにつれてわずかに上昇傾向を認めたが、最大値は 9.40°C であり、測定期間を通じて 10°C を上回ることはなかった。

3) 処理工程を通じた冷却水の微生物性状

(i) 一般細菌数

一般細菌数は処理 0 時間後で 2.1 cfu/mL、処理 1 時間後ではすべて不検出 (<1.0 cfu/mL) であり、処理 2 時間後においても 3 検体中 2 検体が不検出であった。処理 4 時間後には、26~33 cfu/mL と増加したが、処理 6 時間後には一時的に 7.1~13 cfu/mL へと減少した。ただし、処理 7 時間後には 23~48 cfu/mL へと再び増加傾向を示した。

(ii) 腸内細菌科菌群及び大腸菌

腸内細菌科菌群及び大腸菌は全ての検体で不検出であった。

(iii) カンピロバクター及びサルモネラ

カンピロバクター・ジェジュニ/コリ及びサルモネラ属菌は全ての検体より検出されなかった。

4) 処理工程を通じた冷却水中の菌叢変動

処理 0、1、2、4、6、7 時間後の各時点における冷却水中の細菌叢構成の変動について検討するため、菌叢解析を行った。処理 0 時間後には、環境水との関連性の高い *Phyllobacterium* 属が全体の約 84.5% を占めたが、同菌属の占有率は処理 1 時間後以降、0.01% 未満となった。これに対し、廃水との関連性が報告されている *Cloacibacterium* 属や、土壌や水との関連性が報告されている

Methylobacterium 属のほか、*Escherichia* 属及び *Salmonella* 属等の占有率は処理 0 時間後には総じて低値を示したが、処理の経過に伴い、一過性あるいは持続的な増加を認めた。：直接的な糞便汚染指

標である *Escherichia* 属については、処理 2 時間後には約 12.2%の一過性の高い占有率を示したほか、*Salmonella* 属菌は処理 6 時間後に約 9.9%と高い占有率を一過性に示した。

(3) 生食用食鳥肉の高度衛生管理に関する研究

① 生食用食鳥肉の高度衛生管理に関する研究(含考察)

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

5 回の調査結果では焼烙後とカット後の肉は全てカンピロバクター陰性であった。しかしながら、生食用製品の 1 検体からわずかなカンピロバクターが検出された。この処理場の工程では更なる衛生管理の徹底が必要であろうと思われた。

B、C 処理場では、それぞれ 6 羽 1 回ずつ調査し、結果は表 3、4 に示す。B 処理場は加熱用製品を出荷しており、脱羽、内臓摘出、解体室の区分け、バブル式チラー槽の導入などをはじめ衛生の行き届いた処理場であったが、調査の結果から表面焼烙を実施しないと製品からは菌が検出されることが確認された。

C 処理場は表面加熱工程を取り入れ、外剥ぎ式の解体を行い糞便汚染の阻止を意識しながら解体していることから、加熱後の皮、解体後の肉、生食用製品のいずれからもカンピロバクターが検出されることはなかった。

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

E 処理場は、網上焼烙、外剥、解体の手順をとっていた。1 回目の調査では、鶏個体を 6 羽識別して汚染状況を調べたところ、表面焼烙後の皮や肉からカンピロバクターが検出されることはなかった。しかしながら、2、3 回目の調査で、個体を識別することなく多数羽処理工程で無作為に皮または肉を得て調査したところ、焼烙後の皮、肉、及び製品から微量ながらカンピロバクターが検出された。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。

F 処理場は、内臓中抜、網上焼烙後、トラックでと体を運搬移動、別棟で解体製品化し販売を行う形

であった。1回目の調査では、焼烙後の皮と肉、及び製品にわずかながらカンピロバクターが検出された。焼烙直後にと体内腔から交差汚染しないよう取り扱いを指導したところ、2回目の調査では表面焼烙後の検体から菌が検出されることはなかった。

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

H 処理場は、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。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。

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

ンピロバクター汚染阻止に有効ではあるが、焼烙後の交差汚染及び食肉部分への汚染を防ぐ措置も必要と考えられた。

J 処理場は購入したヒナを自家農場で飼育していたことから、処理工程調査の前に農場における鶏の保菌状況の調査を実施した。その結果を表 10-1 に示す。3つの鶏舎 A、B、C で飼育される雌雄それぞれ4羽のスロアカスワブを培養した結果、すべての鶏舎の鶏からカンピロバクターが分離された。分離された菌種には偏りがみられ、A 鶏舎では *C. jejuni* が優勢、C 鶏舎では *C. coli* が優勢、B 鶏舎はその中間であった。これらの農場で使用される餌、水、排出される堆肥、敷料は調査した8検体すべて陰性であった。J 処理場は自家農場の敷地内に位置しており、鶏搬入後、放血・湯漬・脱羽を行っていたが、チラー槽による冷却を行わず、と体を水洗するのみであった。と体は、その後、網上で表面焼烙、外剥ぎによって解体、処理された肉は店舗へ運搬移動され一時保管された。そこで再度部分肉の表面焼烙が行われた後、スライスされて製品として販売されるという工程がとられていた。6羽の鶏を用いて処理工程におけるカンピロバクター菌数の動きを追跡したところ、6羽のうちクロアカスワブがカンピロバクター陽性だったのは1羽のみであった。盲腸内容物中のカンピロバクター数を算定したところ、最小で 2.0×10^2 CFU/g、最大で 1.2×10^5 CFU/g であった。脱羽後の皮3検体のカンピロバクター菌数は 460~1100 MPN/10g と比較的高い値であった。通常食鳥処理場ではチラー処理が行われ次亜塩素酸ナトリウム添加により一般的にはカンピロバクター菌数は低く抑えられるのであるが、この処理場では水道水のみで脱羽後のと体洗浄を行っているため菌数があまり下がっていないと思われる。焼烙後の皮の菌数は 93~1100 CFU/10g であり、表面焼烙の効果が得られていなかった。外剥ぎを行った後の皮、解体後の肉からも少数ながらカンピロバクターが検出された。しかしながら、店舗へ移動後スライスの前に再度焼烙を行っているため、最終製品から MPN 法でカンピロバクターが検出されること

はなかった。この処理場では、解体前の表面焼烙では十分な効果が得られていないが、スライス前の再焼烙でカンピロバクター汚染を阻止しているものと考えられる。

K 処理場は、一般的な内臓中抜き工程をとる処理場であった。異なる工程は解体後の肉をスライス販売するまで十分に冷却する点であった。まず、最終製品の汚染状況を調査したところ、10g 当たり 23 MPN 以下と概ね少数ではあったが菌汚染は認められ、特にモモ肉の汚染率が高いことがわかった。工程ごとのカンピロバクター汚染菌数として、クロアカスワブは 6 羽中 1 羽のみがカンピロバクター陽性であった。盲腸内容物中のカンピロバクター数は、最小で 1.6×10^4 CFU/g、最大で 2.6×10^7 CFU/g であった。脱羽後の皮 3 検体の菌数は 1 検体が 93 MPN/10g、2 検体が 2400 MPN/10g 以上であった。チラー処理後では 2 検体が 150 MPN/10g、1 検体が 9 MPN/10g と大幅に菌数が低下した。と体の表面焼烙後では 2 検体が陰性、1 検体が 4 MPN/10g であり、表面焼烙後でありながらカンピロバクター陽性例が認められた。焼烙後に一時と体を並べ置く棚での交差汚染が疑われたため、と体腹腔と棚のスワブを 3 検体ずつ追加調査した結果、それぞれ 1 検体がカンピロバクター陽性を示した。このことから、と体を並べる棚で交差汚染が起こっていることがわかった。焼烙されていない腹腔から漏れ出る液体にわずかに含まれる菌が他のと体表面を汚染していると考えられた。生食用食鳥肉のカンピロバクター汚染阻止に対して、と体表面焼烙は、それのみで完全に阻止できるものではなく、焼烙後の交差汚染及び食肉部分への汚染を防ぐ措置も必要であり、またそれ以外の工程でも可能な限りカンピロバクター菌数を低減させる必要があると考えられた。

② 生食用食鳥肉の製造工程管理に関する情報調査

1) 食鳥処理段階での衛生管理

1. 生鳥の湯漬け条件

生鳥の湯漬け条件に関する問いに対し、計 9 事業者から回答が得られた。湯漬け温度の最低値は 60°C であったが、当該事業者の処理時間は 60~120

秒と他事業者に比べ、相対的に長い傾向を認めた。また、温度の最高値は 75°C であった。回答があった 7 事業者の平均湯漬け処理時間は約 64 秒、最短時間は 25 秒であった。

2. 脱羽後と体の洗浄の有無

脱羽後と体については、9 事業者中 6 事業者で「洗浄している」との回答があり、1 事業者は「汚れている場合には洗浄している」との回答であった。残り 2 事業者については「洗浄していない」との回答であった。

3. 冷却水の種類、温度及び塩素濃度管理

本項目については 7 事業者から回答があり、脱羽後と体の冷却にあたり使用している冷却水の種類としては、4 事業者が「氷水」、2 事業者が「流水」、1 事業者が「チラー水」との回答が得られた。次に、「氷水」の温度管理状況を確認したところ、2 事業者は 3°C ~ 8°C 、 4°C ~ 10°C と 10°C 以下の回答であったが、残り 2 事業者では 10 ~ 15°C 、または氷がなくならないように管理（温度測定は実施していない）との回答であった。このうち、1 事業者は中抜き処理方式をとっており、中抜きと体を洗浄・消毒しているとのコメントが付されていた。なお、「流水」を用いた冷却を行うと回答のあった事業者の水温は 12°C ~ 18°C 、または 15 ~ 20°C であった。これに対し、「チラー水」を用いている事業者では 6°C ~ 9°C に水温を管理しているとの回答があった。

4. 焼烙条件

「とりさし協会」では、「脚：20 秒以上、体：40 秒以上、焦げ目がつき、水分がなくなるまで」を推奨すべき焼烙条件として例示している。小規模の食鳥処理事業者に対し、当該条件を満たしているかについて回答を求めたところ、すべての事業者より条件を満たしているとの回答があった。

2) 食鳥肉加工段階での衛生管理

上述の「とりさし協会」推奨ガイドラインで示される焼烙条件を満たしているかを、食鳥肉加工業者に照会したところ、計 6 事業者から回答が得られ、うち 5 事業者では「満たしている」と回答があった。1 事業者では「満たしていない」との回答であった

が、当該事業者は正肉を外部の処理事業者より受け入れ、塩素濃度 100ppm で 30 分間攪拌浸漬して殺菌し、流水タンク内で洗浄した後、上下ガスバーナーコンベアを 15 秒間通過させることで焼烙工程を管理しており、製品について数回のふき取り検査を実施し、一般細菌が陰性であることを確認しているとのコメントがあった。

3) とりさし製品の重量

とりさし製品を販売する小規模事業者に 1 包装あたりの最少重量について調査を行ったところ、いずれも 100 g 以下との回答が得られた。

(4) と畜場・食鳥処理場の内部検証に関する研究

1) 手順書原案に対する意見聴取

昨年度迄に作成した手順書原案について、食肉衛生検査所（4 所）及び事業者（3 事業者）に対して意見聴取を行ったところ、手順書の目的が不明瞭である点、作業の現場確認の指示項目が必要である点、検証の意義についての説明不足等、多くの意見が挙げられた。そこで、それらの意見に対応するため、以下の通り手順書案の改訂を行った。

① 目的の明確化

手順書の目的が不明瞭である点が指摘されたことから、改訂版では「背景および目的」の項を大幅に改訂し、「本手順書が外部検証において確認される記録の確実な取得の支援を主たる目的とする」との説明を加えた。

② 外部検証との連携

各記録自体の作成方法について、厚生労働省や関連団体から発表されている HACCP 構築のための手引書等を参照する様に記述し、内部検証の手順書が HACCP の手引書を補完するものであることを明示することで、これまでに公表されている HACCP 手引書との差別化を強調する形とした。

③ 手順書の利用主体の明確化

利用主体が事業者側なのか外部検証員なのか不明瞭である点が指摘されたことを受け、タイトルに「と畜事業者向け」および「食鳥処理事業者向け」と付し、本手順書が外部検証員向けの外部検証通知

の附属書ではなく、事業者が利用主体であることを強調した。加えて後述の通り、施行規則との関連性を明確にしつつ、作業の現場確認および記録の振り返り活動（別添 1 および 2,p4「2-2.衛生管理の実施状況の検証方法」）において、各作業の実施主体がと畜場においては衛生管理者および作業衛生責任者であり、食鳥処理場においては食鳥処理衛生管理責任者であることを明示し、事業者の責任において内部検証を実施しなくてはならないことを強調した。

④ 検証についての説明の追加

事業者の理解がより深まるよう、手順書案では、「1.検証とは」（別添 1 および 2,p2）の項に、検証活動の構造について説明を加えることとした。すなわち、検証が「衛生管理計画の妥当性確認」と「衛生管理の継続的検証」から構成される事を説明し、さらに「衛生管理の継続的検証」は「手法の妥当性検証」「実施状況の検証」及び「効果の検証」の 3 要素から成ることを示した。これらの分類については the Code of Federal Regulation Title 21（以下、CFR Title 21）に示される検証に関わる要求事項を参照し、HACCP に係る海外の規格との整合性を確保するよう努めた。「手法の妥当性検証」では測定機器（温度計等）の外部校正および精度確認により施行規則および衛生管理計画が求める値を真に達成しているかについて確認することとした。事業者においてはこれまでも温度測定において外部校正済みの施設内標準温度計が整備されている事を確認している。また、標準温度計と枝肉温度測定用温度計、ナイフ消毒槽温度計、冷却槽温度測定用温度計等との器差確認により各測定機器の精度確認がなされていることも確認しており、手順書で示す手法の妥当性検証について事業者においても無理なく実施可能と考えられた。「実施状況の検証」においては、作業の現地確認と記録の振り返りを要求した。記録の振り返りについては検証活動において最も重要な要素の一つであるが、その重要性に対する認識が必ずしも高いとは言い難い状況であったため、手順書案では記録の振り返りの重要性について

特に丁寧な説明を加えた。「効果の検証」においては、これまで事業者で実施されていた微生物検査が検証活動の一部であることを明確にし、更に試験結果の評価にトレンド解析を導入することで、より効果的な検証活動に繋がるように解説した。

⑤ 検証活動の実施主体の指名

前述の様に、衛生管理の実施状況の検証のうち、記録の振り返りについてはこれまで未実施の事業者が一定数いる状況が想定されたことから、手引書案にこの点を追記すると共に、「記録の整備状況の確認シート」及び「記録の検証シート」を作成した。また、「記録確認のフローチャート」を作成し、事業者が容易に記録の振り返り活動を実施できるよう配慮した。更に、各作業の実施主体を示すことで、記録確認の責任者を明確にした。

⑥ 作業の現場確認の要求

と畜検査員・食鳥検査員への意見聴取を通じ、衛生管理の実施状況の検証としては、記録確認に加え現場での作業確認についても重要視すべきとの意見が多かったことから、作業の現場確認を記録の整備と紐付け、作業の現場確認に伴って確実な記録の取得がなされるように促した。加えて、施行規則で記述される「教育訓練の効果」について「各工程の作業者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できるかどうかを確認すること」と解説し、作業の現場確認が施行規則により求められているものであることを明確化した。

⑦ 顧客からの苦情の分析に関する要求の削除

CFR Title 21 では顧客からの苦情の分析を衛生管理の妥当性検証の重要な要素と位置づけ、検証活動の中で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するものを解析し、HACCP プランにおいて認知されていなかった危害の抽出に利用するよう求めている。このため、手順書案では衛生管理計画の妥当性および効果の検証方法の一つとして顧客からの苦情の分析を要求していた。しかしながら、手順書に対する意見聴取では本要求事項の実施が困難との意見も出された。事業者では

顧客からの苦情に対しては個別に対応がなされているものの、衛生管理システムの見直しとの連携はなされていない場合も想定されたこと、また苦情分析については衛生管理に関する非常に高度な専門知識が要求されるため、現時点で苦情分析を検証活動における要求事項とすることは現実的ではないと判断された。このため、手引書案では苦情の分析に関する要求を削除し、今後の課題とすることとした。

⑧ 重要管理点モニタリングに関する個別要求の削除

手順書案では施行規則の構成に従い、前提条件プログラム（一般的衛生管理プログラム）と HACCP プランの検証活動を別々の章立てとし記述していた。意見聴取を通じ、上記の手順書の構成が複雑との意見を受けたことから、手引書案ではこれらの活動について衛生管理の実施状況の検証の中に一本化して再構成した。重要管理点に関しては、事業者からの聞き取り調査から、と畜場では枝肉温度もしくは枝肉保管庫の温度を、食鳥処理場では食鳥と体等の冷却槽の水温を重要管理点として設定している施設が多いことが明らかとなっている。これらの重要管理点の検証について、と畜場向けの手順書では「生体の取扱い及び衛生的なとさつ・解体に関する記録」に関する記録確認の要求事項の「J.枝肉の冷却・保管に関する記録」の1.で、食鳥処理場向け手順書では「食鳥、食鳥とたい、食鳥中抜とたい及び食鳥肉等衛生的な取扱いに関する記録」に関する記録確認の要求事項の「F.冷却工程に関する記録」の1.及び2.で要求し、施行規則及び外部検証通知で求められている重要管理点の検証活動に対応できる構成とした。

(5) 国際動向を踏まえた情報の収集整理

最終年度までに収集した各国の情報を取りまとめた。

<< 牛、豚等獣畜の食肉 >>

< 英国 UK >

欧州連合(EU)の規則に準拠し、さらに一部は国内

法で細部を規定している。

A: 検査対象菌と対象動物

・検査対象項目(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，緬羊，山羊，馬，豚

*サルモネラ属菌の存在に関する基準及び条件は、サルモネラ属菌の有病率に見られる変化に照らして改訂される。

B: 検体採取頻度

と畜場は、年間の処理動物数に応じて、①-⑤の5つに分類(*1)され、各区分で検体採取頻度及び検査対象菌株が異なる。

① 一般と畜場

1) 初期の検体採取頻度及び試験項目：

一般生菌数，腸内細菌科菌群，サルモネラ属菌：
動物種毎に1週毎1回5検体

*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。

2) 結果が優良で採取頻度を下げる場合：

・一般生菌数，腸内細菌科菌群を対象とし、5検体/週，6週間連続(30検体/種)して優良結果が得られた場合には、動物種毎に2週毎1回5検体としてもよい。

・サルモネラ属菌

5検体/週，30週間連続(150検体/種)して優良結果が得られた場合には動物種毎に2週毎1回5検体としてもよい。

② 小規模と畜場 A

1) 初期の検体採取頻度及び試験項目

・一般生菌数，腸内細菌科菌群：動物種毎に1週毎1回5検体

・サルモネラ属菌：動物種毎に4週毎1回5検体

2) 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：5検体/週，2週間連続(10検体/種)して優良結果が得られた場合に

は動物種毎に4週毎1回5検体としてもよい。

・サルモネラ属菌：頻度の削減無し。

③ 小規模と畜場 B

1) 初期の検体採取頻度：

・一般生菌数，腸内細菌科菌群：動物種毎に1週毎1回5検体

・サルモネラ属菌：不要。

2) 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：5検体/週，2週間連続(10検体/種)して優良結果が得られた場合には、動物種毎に12週毎に1回5検体としてもよい。

④ 小規模と畜場 C

1) 初期の検体採取頻度：

・一般生菌数，腸内細菌科菌群：動物種毎に連続5検体

・サルモネラ属菌：必要無し

2) 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：動物種毎に優良となった最後の検査から1年後に連続5検体としてもよい。

⑤ 小規模と畜場 D

・一般生菌数 腸内細菌科菌群，サルモネラ属菌：
必要無し

(*1) と畜場の分類

と畜場は、年間の処理動物数によって、以下の5つに分類する

① 一般と畜場

年間処理数：20,000頭超の牛もしくは馬、又は100,000頭超の豚，緬羊もしくは山羊

(1週間に400頭超の牛，馬、又は2,000頭超の豚，緬羊，山羊)

② 小規模と畜場 A

年間処理数：7500頭超 20,000頭未満の牛もしくは馬、又は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、又は750頭超2,000頭未満の豚、緬羊、山羊)

③ 小規模と畜場 B

年間処理数：1,500頭超7,500頭未満の牛もしくは馬、又は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、又は150頭超750頭未満の豚、緬羊、山羊)

④ 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、又は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、又は50頭超150頭未満の豚、緬羊、山羊)

⑤ 小規模と畜場 D

年間処理数：500頭未満の牛もしくは馬、又は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)

C1: 検体採取場所 ISO 17604 に準拠
冷却前の枝肉から採取する。

C2: 検体採取方法 ISO 17604 に準拠
汚染されている可能性が最も高い場所を選択。
(ISO 17604 で、牛 12箇所、豚 10箇所、緬羊 6箇所が示されている。図 1)

<一般生菌数、腸内細菌科菌群>

1回の検査: 1個体の枝肉から1検体、動物種毎に5個体、計5検体採取

採取方法: 切除法 (1検体から4箇所 総計20 cm²)
又はスワブもしくはスポンジ法 (1検体から4箇所、各100 cm²、小型反芻獣は各50 cm²)

判定: 5検体の平均 log をとる

<サルモネラ属菌>

1回の検査: 1個体の枝肉から1検体、動物種毎に5個体、計5検体採取
採取方法: スポンジ法 (最低でも1検体400 cm²

の面積),

判定: 連続した10回の検査の検体 (50検体) 中の陽性数

D: 試験方法

一般生菌数: ISO 4833 に準拠

腸内細菌科菌群: ISO 21528-2 に準拠

サルモネラ属菌: ISO 6579 に準拠

E: 判定基準

規則に示された限界値と比較して判定

・牛、緬羊、山羊、馬

一般生菌数 単位: log cfu/cm²

優良 3.5 (2.8) 以下

許容 3.5-5.0 (2.8-4.3)

不適合 5.0 (4.3) 超

スワブもしくはスポンジ法では()内の値

腸内細菌科菌群 単位: log cfu/cm²

優良 1.5 (0.8) 以下

許容 1.5-2.5 (0.8-1.8)

不適合 2.5 (1.8) 超

スワブまたはスポンジ法では()内の値

サルモネラ属菌 50検体中の陽性数

優良 陰性

許容 2未満

不適合 2超

・豚

一般生菌数 単位: log cfu/cm²

優良 4.0 (3.3) 以下

許容 4.0-5.0 (3.3-4.3)

不適合 5.0 (4.3) 超

スワブまたはスポンジ法では()内の値

腸内細菌科菌群 単位: log cfu/cm²

優良 2.0 (1.3) 以下

許容 2.0-3.0 (1.3-2.3)

不適合 3.0 (2.3) 超

スワブまたはスポンジ法では()内の値

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

*サルモネラ属菌の判定基準に関しては、EU 規定では以下の表記となっていた。

・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

F: その他

食肉の温度管理: 施設において、以下の温度を超えないように保管管理する。

- 牛肉(枝肉を含む) : 7 °C
- 内臓 : 3 °C

< アメリカ合衆国 USA >

I: 大腸菌 (Biotype 1) : 工程管理検証

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

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

(*1): 豚に関しては、事業者が複数の指標菌 (一般生菌数, 腸内細菌科菌群, 大腸菌群, 大腸菌 (Biotype 1) など) から 1 つ以上の指標菌を選ぶことを認めている。

B: 検体採取頻度

- ・牛, 緬羊, 山羊, 馬, ラバ, その他の馬科動物: 300 と体毎に 1 回。
- ・豚: 1,000 と体毎に 1 回 (*2)

上記ともに、と畜場の稼働期間中は、各週、最低 1 回を採取すること。但し、小規模と畜場 (*3) は、以下の通り。

- スポンジ法の場合: 毎年 6 月 1 日以降の 1 週間

完全稼働日以降、週に最低 1 回を採取し、翌年の 6 月 1 日まで継続する、もしくは 13 検体が採取されるまで継続する (いずれか早い方)。

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

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

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

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

(*3): 小規模と畜場

- ・牛, 緬羊, 山羊, 馬, ラバ, その他の馬科動物: 年間処理数が牛 6,000 頭、緬羊 6,000 頭、山羊 6,000 頭、馬、ラバ若しくはその他の馬科動物 6,000 頭を超えない、又は、牛 6,000 頭及び全家畜の合計が 20,000 頭を超えない。
- ・豚: 年間の豚処理数が 20,000 頭以下、もしくは、牛の処理数が 6,000 頭を超えずかつ全家畜の合計処理数が年間 20,000 頭を超えない。

以下のいずれかに該当する事業者は、豚の小規模と畜場としての上記の検体採取条件を適応しない。

- 豚の年間処理数が 20,000 頭を超える場合。
- 全家畜の年間合計処理数が 20,000 頭を超える場合。
- 全家畜の年間合計処理数が 20,000 頭を超えていない場合でも牛、緬羊もしくは山羊の処理数が 6,000 頭を超えている場合。

C: 検体採取方法

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

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

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

・スポンジ法を用いた場合は、統計的工程管理の手法を用いて検査結果を評価する。

<切除法>

以下のサイズを 1 枚片として切り取る、

- ・牛
ともばら : 長さ 8 インチ (20.3 cm)、幅 6 インチ (15.2 cm)、厚さ 1/2 インチ (1.3 cm)
胸部 : 長さ 8 インチ (20.3 cm)、幅 6 インチ (15.2 cm)、厚さ 4 インチ (10.2 cm)
臀部 : 長さ 8 インチ (20.3 cm)、幅 6 インチ (15.2 cm)、厚さ 4 インチ (10.2 cm)

- ・豚 (表皮を切り取る)
-もも : 長さ 10 インチ (25.4 cm)、幅 5 インチ (12.7 cm)、厚さ 1/2 インチ (1.3 cm)
- 腹部 : 長さ 10 インチ (25.4 cm)、幅 5 インチ (12.7 cm)、厚さ 1/2 インチ (1.3 cm)
- 頸部 : 両側からそれぞれ長さ 5 インチ (12.7 cm)、幅 5 インチ (12.7 cm)、厚さ 1/2 インチ (1.3 cm)

上記の検体から、試験室で直径 3.6 cm 表面積約 10cm² の円形の組織を 2 枚ずつ切り取り、検査に用いる。

<スポンジ法>

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

D: 試験方法

AOAC International の AOAC Official Method として承認されているもの、もしくは、最確数 (MPN) 法 (適切な MPN 指数の 95% 上下信頼区間を満たし、外部学術団体によって評価試験が実施され、承認、公表されているもの)。

E: 判定基準

- ・直近の検体数 (n) 13 検体中の結果で判定する。
- ・合格判定値 (m) 以下の場合、合格とする。
- ・合格判定値 (m) から条件付き合格判定値 (M) までの条件付き合格範囲 (m~M) を示す検体数 (c) が 3 検体の場合、合格とする。

・(m~M) の値を示す検体数 (c) が 4 検体の場合、不合格とする。

M 以上の値を示す検体が 1 検体以上ある場合、不合格。

- ・牛, 綿羊, 山羊, 馬, ラバ, その他馬科動物
合格判定値 (m) 陰性 (*4)
条件付き合格判定値 (M) 100 cfu/cm²
検体数 (n) 13
条件付き合格範囲の検体数 (C) 3

(*4) 陰性: 検出限界 5 cfu/cm² 以下

- ・豚 (*5)
合格判定値 (m) 10 cfu/cm²
条件付き合格判定値 (M) 10,000 cfu/cm²
検体数 (n) 13
条件付き合格範囲の検体数 (C) 3

(*5) 米国農務省食品安全検査局 (FSIS) は、豚における大腸菌の性能基準を規則から削除している。しかし、継続して大腸菌を測定している小規模事業者等が、この基準に満たすことで、米国農務省食品

安全検査局 (FSIS)の要求事項への適合証明に使用
することを選択することができる、と記載されてい
る情報もある。

II サルモネラ属菌：病原体低減性能評価

A: 対象動物種：牛

* 豚のサルモネラ属菌の検査は 2011 年に廃止

B: 検体採取頻度

上記 I 大腸菌と同じ、
検査員は、抜き打ちで検体採取を行う。

C: 検体採取方法

上記 I 大腸菌のスポンジ法と同じ

D: 試験方法

米国農務省食品安全検査局 (FSIS)監修の微生物試
験室ガイドブックで示された方法 (MLG 4.10)
もしくは、当該方法と同等以上の方法。

E: 結果判定基準

サルモネラ属菌の達成目標値

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

・ 去勢牛/未経産牛

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

・ 廃用牛/種雄牛

達成目標値 (サルモネラ陽性率)	2.7%
検体数 (n)	58
最大許容検体数 (c)	2

III: STEC (志賀毒素産生性大腸菌)：HACCP システ ム検証

(対象の血清型：O157:H7, O26, O45, O103, O111,
O121 並びに O145)

A: 対象動物種

牛 (仔牛も含む)

B: 検体採取頻度

1 週間あたりの牛肉生産量に応じて以下の頻度
で行う。

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

但し、4 月から 10 月は、採取頻度を 2 倍以上に
するべきである。

C: 検体採取方法

N60 法：不適切な衛生的な処理により牛肉表面が
汚染される可能性から、薄切り肉片を採取すること
が重要。牛肉外表面から 60 枚の薄切り検体を採取
する。各検体スライス片は、長さ約 3 インチ (7.6
cm)、幅約 1 インチ (2.5 cm)、厚さ約 1/8 インチ
(0.3 cm)。肉生産ロットが 60 個未満である場合を
除き、1 個体から 1 つの検体スライス片のみを採
取する。

3 枚の滅菌済袋 (Whirl-Pak バッグ)を使用し、2
枚の滅菌サンプリング袋にそれぞれ検体スライ
スを 30 枚ずつ入れる。3 枚目の滅菌サンプリング袋
には、予備として同じ生産ロットから検体を無菌的
に採取する。

D: 試験方法

米国農務省食品安全検査局 (FSIS) 監修の微生
物試験室ガイドブックで示された方法 (MLG
5C.01) あるいは当該方法と同等以上の方法。
MLG 5C.01 法の概略：液体培地での増菌培養後、
培養液を用いてスクリーニングとして *stx* 遺伝子
および *eae* 遺伝子の PCR での検出を行う。スクリ
ーニング PCR で陽性であった検体は、PCR での血
清型別および磁気ビースを用いて培養液の濃縮後、
分離培地を用いて菌の分離を行う。分離培地で単離

された集落を用い、O 抗原の存在を凝集試験で確認するとともに、PCR で *stx* 遺伝子および *eae* 遺伝子の存在を確認する。最終的に 5% の羊血を含むトリプティック大豆寒天培地に接種し、生育した単離集落を用いて、再度、O 抗原の存在、*stx* 遺伝子、*eae* 遺伝子、対象となる血清群のいずれかを有する大腸菌であることを確認し、STEC 陽性と確定する。

E: 結果判定

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

< オーストラリア AU >

A: 検査対象項目

- (1) 工程管理の検証: 一般生菌数 (好気性平板菌数 APC)、(一般)大腸菌
- (2) 病原体削減の検証: サルモネラ属菌

B: 検体採取頻度

- ・毎日、少なくとも 1 検体/日は採取する。
- ・検体採取を行う枝肉は無作為に選択する。
- ・検体採取の頻度は、食肉処理区分、作業ラインごと個別に決める。

1) 一般生菌数及び大腸菌

- ・去勢牛、未經産牛、廃用牛、種雄牛: 300 枝肉につき 1 検体
 - ・馬、ラバ、ロバ: 300 枝肉につき、1 検体
 - ・豚: 1,000 枝肉につき、1 検体
 - ・緬羊、仔羊、仔牛、山羊: 1,000 枝肉につき 1 検体
- ※大腸菌と一般生菌数の検査は、同一検体から行うことができる。

2) サルモネラ属菌

- ・去勢牛、未經産牛、廃用牛、種雄牛: 1,500 枝肉につき 1 検体
- ・馬、ラバ、ロバ: 1,500 枝肉につき 1 検体
- ・豚: 5,000 枝肉につき 1 検体
- ・緬羊、仔羊、仔牛、山羊: 5,000 枝肉につき 1 検体

C1: 検体採取する場所

- ・冷却後の枝肉
 - ・検体採取する枝肉の冷却時間
- 牛、豚、馬、ラバ、ロバ、ラクダ : 12 時間以上
-緬羊、山羊、その他の小型動物 : 4 時間以上
- * 冷凍設備の性能評価を検証することも微生物検査の重要な要素の一つであることから、検体を採取する枝肉はすべての冷凍設備から選択する (1 つの冷凍設備からのみ選択されるべきではない)

C2: 検体採取方法

スポンジ法 (希釈液の約 10mL を用いてスポンジを湿らせ、採取前には余分な液体を絞る。)
科学的に汚染が最も高いと確認されている部位 (以下に示す) から検体を採取する。

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

採取部位と面積

- ・牛、馬、ラバ、ロバ
- 部位: ともばら、胸部、尻肉の 3 箇所。ともばら、胸部、尻肉の順に採取する。

(スポンジの片面を使い ともばら、胸部を採取し、もう片面で尻肉を採取する。)

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

- ・緬羊、山羊、仔牛

部位: ともばら、胸部、腰中位の 3 箇所。ともばら、胸部、腰中位の順に採取する。(スポンジの片面を使い、ともばら、胸部を採取し、もう片面で腰中位を採取する。)

各部位の面積は、5 cm 四方 25 cm² (総面積 75cm²)

- ・豚

部位: 腹部、もも、頸部の 3 箇所。腹部、もも、頸部の順に採取する。(スポンジの片面を使い、腹部、ももを採取し、もう片面で頸部を採取する。)

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

検体調整

・一般生菌数及び大腸菌検査：3箇所検体採取後、希釈液（緩衝ペプトン水等）を約 15 mL 加え、最終的にスポンジに添加する希釈液総量は 25 mL とする。

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

・採取した検体は、0～7 °Cで輸送・保存し、凍結させてはいけない。なお、一般生菌数の試験を行う場合は、0～5 °Cの温度範囲とする。

D: 試験方法

試験は、監督省庁が承認した方法を使用しなければならない。以下に承認済の方法の一部を示す。

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

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

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

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

※一般大腸菌と大腸菌の結果は、枝肉表面の CFU/cm² として報告する。サルモネラ属菌の検査の結果は、「陰性」または「陽性」として報告する。

E: 判定基準

1) 一般生菌数及び大腸菌

・検体数 (n) 連続した 15 検体中の結果で判定する。

・許容値 (m) 以下の場合、合格とする。

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

・許容上限値 (M) より大きい場合、不合格。

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

※大腸菌検査で不合格の場合：10 営業日以内にと

体処理手順の見直しを開始し、考えられる要因の調査、再発を防止するための是正措置及び予防措置の実施を施設に要求する。

2) サルモネラ属菌

検査結果を性能基準に照らして評価する。検体数 (n) 中、サルモネラ属菌が検出された陽性検体数が最大許容検体数 (c) を超えた場合、基準を満たしていないと判断する。

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

<< 食鳥肉 >>

< 欧州連合 EU >

A: 検査対象項目と対象動物

(1) 衛生管理の指標

検査対象項目 (菌)：サルモネラ属菌 (肉用鶏、七面鳥), カンピロバクター属菌 (肉用鶏)

(2) 管理基準

検査対象項目：サルモネラ属菌 血清型

Typhimurium 及び Enteritidis) (肉用鶏)

*サルモネラ菌の存在に関する管理基準及び条件は、サルモネラ菌の有病率に見られる変化に照らして改訂されるもの

B: 検体採取頻度

少なくとも週 1 回 5 検体。曜日に偏りが無いこと。以下の結果の場合、検体採取を隔週に変更できる。

・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

C1: 検体採取場所

冷却後の食鳥中抜きとたい

C2: 検体採取方法、採取量

採取方法：切除法

採取部位：頸皮（頸皮のみで重量が不足する場合はその他の部位の皮及び表層筋肉を含めても良い）

a: サルモネラ属菌とカンピロバクター属菌を同一試験室で検査する場合

1回の検体採取で少なくとも15羽を選定。少なくとも3羽分の頸皮計26gをまとめて1検体とし、5検体（=15羽分）を試験に用いる。

b: サルモネラ属菌とカンピロバクター属菌を別の試験室で検査する場合

1回の検体採取で少なくとも20羽を選定。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、5検体（=20羽分）を試験に用いる。検体は分割し、25g（25g x 5検体）をサルモネラ属菌の検査に使用し、10g（10g x 5）をカンピロバクター属菌の検査に使用する。

いずれも、採取から検査開始迄の輸送時の検体温度は1-8℃とし、0℃以下になったものは用いない。採取後48時間以内に検査を開始する。

D: 試験方法

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

E: 判定

<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。但し、サルモネラ属菌が検出されたものが50検体中5検体以下であれば許容。肉用鶏、七面鳥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。ただし、1,000 cfu/gを超えて検出されたもの

が50検体中15検体（*）以下であれば許容。

（*：2025年1月1日以降は10検体に変更）

F: その他

食肉の温度管理：中抜きと体及び内臓が4℃を超えないように管理する。

<管理基準>

・サルモネラ属菌（血清型 Typhimurium 及び Enteritidis）：25g を1検体とした定性検査により、5検体から当該菌が不検出であること。

< 英国 >

EU規則に準拠し、一部は国内法で細部を規定。欧州連合EUにない部分のみ以下に記載。

B: 検体採取頻度

食鳥処理場は、年間の処理動物数に応じて、①-③の3つに分類（*1）され、各区分で検体採取頻度及び検査対象菌株が異なる。

① 一般食鳥処理場

1) 初期の検体採取頻度：

・サルモネラ属菌：動物種毎に1週毎1回5検体
・カンピロバクター属菌：1週毎1回5検体（肉用鶏のみ）

2) 結果が優良で採取頻度を下げる場合：

・サルモネラ属菌：5検体/週, 30週間連続（150検体/種）して優良結果の場合：動物種毎に2週毎1回5検体

・カンピロバクター属菌：5検体/週, 52週間連続

（260検体）して優良結果の場合：2週毎1回5検体

② 小規模食鳥処理場 A

1) 初期の検体採取頻度：

・サルモネラ属菌：動物種毎に4週毎1回5検体
カンピロバクター属菌：1週毎1回5検体（肉用鶏のみ）

2) 結果が優良で採取頻度を下げる場合：

・サルモネラ属菌：頻度の削減無し

・カンピロバクター属菌：5検体/週, 52週間連続（260検体）して優良結果の場合：2週毎1回5検体

② 小規模食鳥処理場 B

1) 初期の検体採取頻度：

サルモネラ属菌：必要無し

カンピロバクター属菌：1週毎1回5検体（肉用鶏のみ）

2) 結果が優良で採取頻度を下げる場合：

カンピロバクター属菌：5検体/週, 52週間連続（260検体）して優良結果の場合：2週毎1回5検体

(*1) 食鳥処理場の分類

食鳥処理場は、年間の処理羽数によって、以下の5つに分類する。

① 食鳥処理場

年間処理羽数：7,500,000羽超の肉用鶏，七面鳥（1週間に150,000羽超の肉用鶏，七面鳥）

② 小規模食鳥処理場 A

年間処理羽数：1,000,000羽超 7,500,000羽未満の肉用鶏，七面鳥（1週間に20,000羽超 150,000羽未満の肉用鶏，七面鳥）

③ 小規模食鳥処理場 B

年間処理数：1,000,000羽未満の肉用鶏，七面鳥（1週間に20,000羽未満の肉用鶏，七面鳥）

<米国>

ダチョウなど平胸類（走鳥類）の食鳥処理施設を除くすべての食鳥処理施設を、事業規模に応じて以下の①-④の4つに区分し、検査の項目等が異なる。

1) 事業所の区分

① 処理数が非常に少ない施設（VLV）

年間のと殺羽数が、鶏44万羽、七面鳥6万羽、アヒル6万羽、ガチョウ6万羽、ホロホロ鳥6万羽、またはひな鳥6万羽以下

② 超小規模施設（Very Small）

従業員10名未満、あるいは年間売上高が250万ドル未満

③ 小規模施設（Small）

従業員数が10名～499名。ただし年間売上高が250万ドル未満である場合を除く。

④ 大規模施設（Large）

従業員数500人以上

A: 微生物試験の対象項目と目的

対象：サルモネラ属菌，カンピロバクター属菌

目的：腸内病原体および糞便物質による汚染防止工程の管理を維持しているかを評価

*従来の検査で操業している超小規模施設（Very Small）及び処理数が非常に少ない事業者（VLV）では、従来の検査項目である一般大腸菌（大腸菌バイオタイプI）の検査を選択することが可能。一般大腸菌は糞便汚染に特化したモニタリングであるため、腸内病原体を監視するための追加検査を実施することも選択できる。

B: 検体採取頻度

① 処理数が非常に少ない施設（VLV）

毎年6月1日から少なくとも操業各週に1回。連続13回検体採取後、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。

② 超小規模施設，③ 小規模施設，④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。

C1: 検体採取場所

① 処理数が非常に少ない施設（VLV）：冷蔵後

② 超小規模施設（Very Small）：冷蔵後

③ 小規模施設（Small）：冷蔵前及び冷蔵後の2回

④ 大規模施設（Large）：冷蔵前及び冷蔵後の2回

※冷蔵前、冷蔵後について

・冷蔵前：吊り換えから食鳥とたいが冷蔵室に入る直前までの間の時点を目指す。冷蔵前検体は、生体が保有していた微生物及び処理工程でとたいを汚染した腸内病原体や糞便の汚染を反映していると判断される。

・冷蔵後：全ての処理工程が完了し、とたいが冷却装置から出た時点を目指す。水浸漬冷却の場合は、検

体を採取する前に適切な滴下時間（60 秒以上）を確保する。冷蔵前と冷蔵後の間に殺菌剤の介入がある場合、冷蔵後の検体は、介入による制御効果の判断に有用とされる。（多くの施設が 1 種以上の殺菌剤を用いた介入を実施している）

C2: 検体採取方法

非破壊的手法

- ・鶏肉：枝肉全体を滅菌済袋に入れ 400 mL の溶液を加えてリンス
- ・七面鳥：枝肉の背中と大腿部の 2 箇所 40 cm² (50 cm²) の区画を拭き取る

D: 試験方法

- ・大腸菌：AOAC 17.2.01 三管最確数 (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

採取後できるだけ早く分析する必要があり、遅くとも採取日の翌日には分析する必要がある。検体を輸送する場合は、冷蔵保存する。

E: 評価

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 羽/51 羽
最大許容陽性率	9.8 %

- 七面鳥とたい

性能基準	4 羽/56 羽
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 羽/51 羽
最大許容陽性率	5.7 %

- 七面鳥とたい

性能基準	3 羽/56 羽
最大許容陽性率	5.4 %

* 性能基準: 52 週間の期間で収集・分析された目標検体数に対する最大許容陽性数の割合。施設を評価し分類するために、1 回の 52 週間の期間で少なくとも以下の数の検体を分析する必要がある。

ブロイラーとたい	11 羽
七面鳥とたい	14 羽

- 1) 区分 1：直近の 52 週間の検査期間において、最大許容陽性率の 50% 以下を達成した事業所。
- 2) 区分 2：最大許容陽性率を満たしているが、直近の 52 週間の検査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。
- 3) 区分 3：直近の 52 週間の検査期間の結果が最大許容陽性率を超えている事業所。

区分に応じた指導例 (抜粋)

1) 事業所が区分 2 に指定された場合。

：病原体の制御が不安定であることを示しており、その事業所は性能基準に不合格となる可能性があることを説明。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

< 平胸類を食肉処理する施設の微生物検査 >

一般大腸菌 (大腸菌バイオタイプ I) を試験対象とする。平胸類および家畜をと殺する施設は、と殺する平胸類または家畜の種類が最も多いものを検査する。

平胸類の年間と殺羽数が 6 千羽以下の施設は、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。

< カナダ >

A: 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
- ・一般大腸菌バイオタイプ 1

< オーストラリア >

A: 検査対象項目

- ・サルモネラ属菌
- ・カンピロバクター属菌

C2: 検体採取方法

- ・リンス法

(6) HACCP 検証の評価方法に関する研究

1) 牛とたいにおける外部検証（微生物試験）の結果概要

厚生労働省に報告があった 121 施設の検査データの解析を行った。121 施設で 3306 検体が採材され、微生物試験に供された。採材部位の内訳は、ともばらが 22 施設 563 検体、胸部が 78 施設 2179 検体、頸部が 20 施設 534 検体であった。一般生菌数の全体の平均値は $2.34 \pm 0.97 \log \text{CFU/cm}^2$ であり、全体で、+3SD 超過は 8 検体 (0.2%)、+2SD 超過は 96 検体 (2.9%) で認められた。腸内細菌科群数の全体平均は $0.79 \pm 0.43 \log \text{CFU/cm}^2$ であり、全体で +3SD 超過は 104 検体 (3.2%)、+2SD 超過は 220 検体 (6.7%) で認められた。

採材部位の内訳は、「ともばら」が 22 施設 563 検体、「胸部」が 78 施設 2179 検体、「頸部」が 20 施設 534 検体であった。一般細菌数の分布は、「胸部」が「ともばら」及び「頸部」に比べ有意に高値を示した。腸内細菌科菌群数の分布は、「胸部」及び「頸部」が「ともばら」に比べ有意に高値を示した ($p < 0.05$)。

季節変動を検討したが、一般生菌数および腸内細菌科群数ともに変動は認められず、ほぼ一定の値を示した。

2) 豚とたいにおける外部検証（微生物試験）の結果概要

厚生労働省に報告があった 128 施設の検査デー

タの解析を行った。128 施設で 3448 検体が採材され、微生物試験に供された。採材部位の内訳は、胸部が 77 施設 2040 検体、頸部が 48 施設 1343 検体、肩部が 1 施設 5 検体であった。一般生菌数の全体平均値は $2.74 \pm 0.80 \log \text{CFU/cm}^2$ であり、+3SD 超過は 3 検体 (0.09%)、+2SD 超過は 62 検体 (1.8%) で認められた。腸内細菌科群数の全体平均値は $0.96 \pm 0.53 \log \text{CFU/cm}^2$ であり、+3SD 超過は 55 検体 (1.6%)、+2SD 超過は 181 検体 (5.3%) で認められた。

採材部位の内訳は、胸部が 77 施設 2040 検体、頸部が 48 施設 1343 検体と、施設数では全体の 97.7%、検体数では一般細菌数成績として 98.1% (3383/3448) を多くを占めたことから、両部位間での試験成績を比較した。一般生菌数分布は、「胸部」が「頸部」に比べて統計的には有意に高い傾向を示した ($p < 0.05$) が、その差は実際上は無視できる範囲であった。腸内細菌科菌群数分布についても「頸部」が「胸部」に比べて統計的には有意に高い傾向を示した ($p < 0.05$) が、こちらも実際上は無視できる範囲であった。

季節変動を検討したが、一般生菌数および腸内細菌科群数ともに変動は認められず、ほぼ一定の値を示した。

3) 食鳥とたいにおける外部検証（微生物試験）の結果概要

厚生労働省に報告があった 131 施設の検査データの解析を行った。31 施設で 2492 検体が採材され、微生物試験に供された。採材部位の内訳は、首皮が 71 施設 1443 検体、胸皮が 62 施設 1034 検体であった。全体の一般生菌数の平均値は $3.98 \pm 0.98 \log \text{CFU/cm}^2$ であり、+3SD 超過は 31 検体 (1.2%)、+2SD 超過は 93 検体 (3.7%) で認められた。腸内細菌科群数の全体平均値は $2.56 \pm 1.03 \log \text{CFU/cm}^2$ であり、+3SD 超過は 22 検体 (0.9%)、+2SD 超過は 75 検体 (3.0%) で認められた。

採材部位の内訳は、①首皮が 71 施設 1443 検体、②胸皮が 62 施設 1034 検体であり、③1 施設由来の検体を除き、両部位のいずれかに属した。③を除

く検体の微生物試験成績を部位間で比較したところ、以下の知見が得られた。

一般細菌数及び腸内細菌科菌群数の分布は、「首皮」が「胸皮」に比べて有意に高い傾向を示した (Mann-Whitney U test, $p < 0.05$)。

季節変動を検討したが、一般生菌数および腸内細菌科菌群数ともに変動は認められず、ほぼ一定の値を示した。

4) 食鳥とたいのカンピロバクター定量試験成績

厚生労働省に報告があった 18 自治体 53 施設の検査データの解析を行った。53 施設で 895 検体が採材され、カンピロバクター定量試験に供された。カンピロバクター定量試験対象施設の処理方式/鶏種の内訳は、中抜き/ブロイラーが 47 施設、中抜き/成鶏が 2 施設、外剥ぎ/ブロイラーが 2 施設、外剥ぎ/成鶏が 1 施設、中抜き/あひるが 1 施設であった。

カンピロバクターは 33.1% (296/895 検体) より検出され、全体の平均菌数 (+SD) は $0.94 \pm 0.74 \log$ CFU/g、最大菌数は $3.75 \log$ CFU/g であった。22 検体は欧州で達成目標値とされる $3.0 \log$ CFU/g を超過しており、うち 15 検体は特定の処理場由来であった。2 施設では欧州の達成目標値を超過した検体の割合が 10% を超過していた。年間を通じてのカンピロバクター数の変動は認められなかった。

D. 考察

(1) と畜場における HACCP 外部検証に関する研究

① 黒毛和種牛枝肉に付着する異物の細菌叢解析

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。

GI-1 施設の枝肉は EU の切除法による基準をクリアしており、衛生管理は良好に維持されていると考えられる。また、チルド製品検査においても良好な成績を示しており、 4°C 、真空包装条件において 160 日間保存した牛肉の官能試験及び微生物学的検査結果において可食と判断されている。肉眼で獣毛、糞便、消化管内容物検体、レールダストは容易に判定できるが、フットカッター汚れ検体は肉眼では糞便のように見えること、さらに肉眼では由来不明検体が散見されることが判明した。

反芻動物の糞便の構成菌叢は、給餌されている飼料、飼育環境、動物種、個体によって異なっている。我が国の黒毛和種牛の糞便の菌叢解析結果は見つけることができなかったが、乳牛の糞便を構成する菌は *Firmicutes* 門が最も多く、次いで分離不能の菌門、*Bacteroidetes* 門、*Proteobacteria* 門の順であった。また、黒毛和種牛の第一胃の液相と固相を構成する細菌叢解析が実施され、*Firmicutes* 門は液相、固相ともに構成比率が高いことが報告されている。今回の獣毛検体は *Proteobacteria* 門、消化管内容物は *Firmicutes* 門の構成比率が多く、糞便は両者の中間のような菌叢であった。消化管内容物は *Firmicutes* 門の構成比率が高いことは、第一胃内容を調査した報告と一致しており、我々の異物同定のうち糞便による汚染か消化管内容物による汚染かの判断は正しいものと思われた。レールダスト及びフットカッター汚れ検体は *Proteobacteria* 門が多い傾向があった。付着する異物の種類ごとに菌叢も異なることが判明した。

その他 A 検体は「レールダストと潤滑油が混ざったもの」と推定され、*Bacteroidetes* 門と *Fusobacteria* 門の構成割合が高いという独特な特徴を有していた。その他 B 検体は「背割り屑の中に繊維質の消化管内容物又は糞便が混じたもの」と推定され、*Proteobacteria* 門が多く、次いで *Actinobacteria* 門、*Firmicutes* 門が検出され菌叢の構成は糞便や獣毛と類似していた。これらの検体も調査数が増えると菌叢が明確になると思われた。

と畜におけるゼロトレランスは多くの国で取り入れられている手法である。しかし、その微生物学的効果を客観的に評価した論文は少ない。オランダ政府が実施したゼロトレランスでは極めて大きな効果があり、目に見える汚染を除去した牛・子牛の枝肉からはEHEC O157は分離されなくなったと報告している。

GI-1 施設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。本調査により、枝肉に付着した異物ごとの細菌学的な汚染状況が把握できた。そして、ゼロトレランスが食肉衛生上、大変重要であることが科学的に証明できたと思われる。

② めん羊枝肉表面の切除法による細菌汚染状況

1つのめん羊枝肉の細菌検査結果であったが、と畜検査終了し、冷蔵庫に入る前のめん羊枝肉の表面の細菌汚染状況について調査したところ、汚染が多い部位と少ない部位が存在した。検体 27（右肘部内側）は調査した 30 カ所のなかで一般生菌数、腸内細菌科菌群、大腸菌群、大腸菌数ともに最高値を示した、また、大腸菌が検出された 9 カ所は臀部[検体 2(臀部前)、検体 15(後大腿部右側)と胸部から頸部[検体 5(脇部前)、検体 14(胸部右側)、検体 22(後胸部右側)、検体 23(後肩部右側)、検体 26(前頸部右側)、検体 25(頸部右側)、検体 27(右肘部内側)であった。

本と畜場のめん羊の処理においては、大腸菌が検出された箇所については、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）をより慎重に実施するとともに、枝肉の消毒が必要であると思われる。今回は枝肉からは STEC、カンピロバクター、サルモネラは未検出であったが、これらの細菌の本来の住処（レゼルポア）は腸管内であることから、搬入されるめん羊の糞便を検査し、保菌率などを把握しておくことは重要であると思われる。

めん羊枝肉の流通は限定されていることが多く、ト

レーサビリティは容易にできていると思われる。また、処理頭数も豚や牛に比べて少ない。これらのことから、各自のと畜場で処理される枝肉の汚染状況を把握し、必要に応じて枝肉の消毒を実施することを作業工程に加える等、と畜場に助言することが必要と思われる。

④ と畜場でのリステリア属菌の汚染実態と管理すべき工程に関する研究

海外での先行研究では、と畜場でのリステリア属菌の主要な汚染源として牛外皮が指摘されている。今回の成績から、解体処理工程の環境試料からリステリア属菌は検出されず、枝肉洗浄までの工程で、体表に由来する生物的危害の多くを適切に管理できていると解された。9～11月に行った定量試験成績からも、処理工程が前肢落しから友バラ皮剥ぎ、そして背割りへと進むに従い、推定リステリア属菌数の減少が確認できた。当該と畜場では従前より作業後に施設設備環境を熱温水を用いて洗浄するよう、管轄する食肉衛生検査所のと畜検査員による指導がなされており、このことが解体処理工程の環境試料からリステリア属菌が検出されなかった背景と想定される。こうした熱温水を用いた作業後洗浄は、他のと畜場においても、食肉衛生検査所への電話インタビューを通じ、同様の対応がとられている場合が複数確認されたことから、国内のと畜場において実施されている牛解体処理施設環境で LM の常在化が生じる可能性は総じて低い状況にあると思われる。一方、水が常にたまった状態であるシンクや排水溝では推定リステリア属菌数が増加を示した場合も見受けられたほか、枝肉冷蔵室床は、枝肉搬出時に作業者が頻繁に往来する場所であり、長靴等を介した交叉汚染のおそれも排除できないため、今後、これらの内容に係る一般衛生管理状況を改めて再点検する必要性が考えられた。

菌叢解析を通じ、背割り機ではバシラス科が優位となっており、剥皮後の枝肉汚染につながっている可能性も示唆された。当該菌は広く自然環境中に存在していることから、背割り機への汚染経路の確認や洗浄方法も含め、管理の在り方を今後検討すべき

事項と考えられた。

牛枝肉におけるリステリア汚染要因としては、腸管破損による内容物の汚染、機材や人の手を介した2次汚染、洗浄水の跳ね上げによる汚染の可能性がこれまでに示唆されている。当該と畜場でも枝肉洗浄下の排水溝からは腸内細菌科菌群由来遺伝子が相対的に多く検出されており、枝肉の更なる衛生確保に向けた課題を見出すことができた。なお、当該と畜場を管轄する食肉衛生検査所では、枝肉の更なる細菌汚染低減に向けて、これまでも外部検証等を通じて、衛生管理指導に取り組んでいるが、と畜処理工程には加熱殺菌工程がないため、細菌汚染のゼロトランスを成立させることは現実的ではない。今回、ヒト・リステリア症の原因となるLMは全検体より検出されなかったが、本調査結果を基にHACCPシステムの更なる効果的・効率的な運用に向けて衛生指導や助言を進めていく事が食肉の更なる安全性確保に向けての重要な課題と思われる。

(2) 食鳥処理場における HACCP 外部検証に関する研究

本分担研究では、関連事業者団体が大規模食鳥処理場における衛生管理のために作成した手引書において、重要管理点として例示される冷却工程に焦点を当て、同工程の冷却水中の物性及び微生物学的挙動をモニタリングした。物性試験項目のうち、水温や pH、更には残留塩素濃度は測定期間を通じて著変することなく推移した。残留塩素濃度が比較的安定的に維持された背景には、対象施設では塩素注入が断続的に行われていたためと推測される。

一方、こうした状況にあっても、遊離塩素濃度は処理1時間後から明確な減少を示した。遊離塩素は殺菌効果の主体であるが、有機物との接触により速やかに分解されることが知られている。それにも関わらず、一般細菌数が大きく上昇しなかった主な理由としては、上述の断続的な塩素注入により遊離塩素濃度の完全な失活を防止できていることや、十分な攪拌並びに冷却槽内に一定数以上の食鳥とたいを貯留させていなかったこと等があると目された。

その他の物性試験項目のうち、濁度及び TDS 値は経時的な上昇を認めた。また、ATP 値も経時的な上昇を認めたが、処理6時間後には若干の減少を示した。採水を行った施設での処理時間軸として、処理4時間後では1ロット目の食鳥とたいの処理が終わったところであり、その後、処理6時間後の時点までの間には処理が行われない時間帯が設けられていた。この間の塩素の断続的な注入が ATP 値の一時的ながらも減少を導いた可能性が推察される。

微生物試験では、一般細菌数を除き、糞便汚染指標菌並びにカンピロバクター・ジェジュニ/コリ及びサルモネラ属菌は検出されなかった。本成績から、微生物試験により冷却水をモニタリングする際には一般細菌数を対象とすることが妥当と考えられた。一方で、菌叢解析結果からは、*Escherichia* 属及び *Salmonella* 属由来遺伝子が一過性ながら検出された。従って、これらの健康被害をもたらす可能性のある細菌をモニタリング対象とする際には、中抜き等の前処理工程の状況やロットの差異等を踏まえつつ、複数の時系列で評価を行う必要があると考えられる。

外部検証の試験対象部位である冷却後食鳥とたいの鶏皮試料で安定性を欠く、或いは高い数値が微生物試験により認められる場合に検討すべき事項の一つとして冷却工程の適切な管理を確認することは既に認知されつつあるが、本分担研究の成績がその確認手段を見定める一助となることを期待する。

(3) 生食用食鳥肉の高度衛生管理に関する研究

②生食用食鳥肉の製造工程管理に関する情報調査
これまで南九州地方で製造加工、販売される、生食用食鳥肉製品の衛生管理を特に実効性の観点から検討を進めてきた。本年度は当該食品の製造加工及び販売に数多くの小規模事業者であることを鑑み、特に食鳥処理、食肉加工並びに販売の各段階で重要と思われる衛生管理事項に関するアンケート調査を実施し、その回答を取りまとめた。

食鳥処理段階ではと体の洗浄・冷却工程に着目したアンケートを行い、施設間での多様性を確認した。今回の調査では、小規模事業者では外剥ぎ方式を採用している施設が多い状況にあることを踏まえ、脱羽後と体の洗浄・冷却条件に着目したが、少なくとも1事業者では中抜き方式をとっており、脱羽後と体については消毒を行わないものの、中抜き後と体について十分な洗浄・消毒の管理を行っていた。これらのことは、生食用食鳥肉の製造工程（食鳥処理工程）における衛生管理の在り方は中抜き方式と外剥ぎ方式に分けて示す必要性を提唱するものと考えられる。なお、方式の別を問わず、本調査の対象事業者はいずれも生食用食鳥肉用の食鳥処理を行っており、生鳥の湯漬け工程では原料鶏の日齢や季節等を考慮した管理条件（温度・時間）を設定・運用している状況にあったほか、これらの事業者が併設する食鳥肉加工施設ではいずれも「とりさし協会」が推奨するガイドラインの焼烙条件を採用している、または採用可能との回答が得られた。また、外部の処理場より処理済みの食鳥と体を受け入れ、南九州地方で呼称される「とりさし」を加工する、小規模な食鳥肉加工事業者においても、多くの事業者で採用可能との回答が得られたことは同条件を採用することの実効性を裏付けるものと解される。今後、協会等の関連団体により、これらの妥当性が更に検討されることが望まれよう。

また、カンピロバクター食中毒の最少発症菌数が500個と認知されている状況を踏まえると、今回得られた、とりさし製品の重量に関する調査結果から、1gあたり5個未満の汚染状況を担保することが、当該食中毒の発生防止に資すると目される。本年度、「食品からの微生物標準試験法検討委員会」において作成された、カンピロバクター定量試験法の検出下限値は1gあたり5個となっており、当該試験法、或いは同等以上の検出感度を有し、かつ国際的な第三者認証機関において妥当性確認がとられた方法等を取りさし製品へ活用することにより、その検証を行うことが可能となるものと期待される。

このほか、とりさし製品における他の危害要因と

されるサルモネラ属菌については、ISO法との同等性が確認済の通知法が既に発出されており、同法またはISO法との同等性が第三者認証機関で確認された試験法を用いることで、対応は可能と思われる。更に、成分規格目標として、管轄自治体のガイドラインでは糞便汚染指標菌として糞便系大腸菌群が示されているが、令和2年度調査結果によると、これに類似する腸内細菌科菌群は多くの事業者由来製品から検出されたものの、代表製品検体から単離された菌株の同定試験結果から、製品より分離された腸内細菌科菌群は原料由来ばかりではなく、施設環境由来と思われるものも一定の割合で検出されており、ヒトへの病原性がない、或いは不明な菌属種も複数検出される状況にあった。国際動向として、食品等の直接的な糞便汚染指標菌としては β -グルクロニダーゼ産生大腸菌が多く、多くの国で採用されている一方、糞便系大腸菌群は他国では殆ど採用されていない現況、更には微生物検査実施にあたっての効率性や細菌分類学上の整合性等を踏まえると、生食用として製造加工、販売される「とりさし製品」の成分規格目標としては β -グルクロニダーゼ産生大腸菌を採用し、陰性を担保できているかを検証することが合理性に富むと思料される。

更にサンプリングプランについて、「とりさし協会」では少なくとも年に2回以上検査の実施を推奨しており、これに沿って微生物試験を実施することで検証は一定の効果を奏するものと期待される。また、微生物試験にあたっての採材部位としてはこれまでの汚染状況に係る知見を踏まえると、皮部位を原則とすることが望ましいであろう。

以上、本年度並びにこれまでの検討状況を踏まえ、生食用食鳥肉の製造加工等における衛生管理ガイドライン案を作成した。その活用は、生食用食鳥肉は、食鳥処理場から販売・消費に至る過程で生食用の工程管理がなされたもののみが流通販売消費される状況が我が国全体に生まれ、加熱用鶏肉を生食へ転用されることで現在多発しているカンピロバクター食中毒の発生低減へと繋がることを期待される。

(4) と畜場・食鳥処理場の内部検証に関する研究

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は、外部検証と内部検証の連携構築が必要との考えに立脚し、外部検証と一定の整合性をもつ内部検証のための手順書案を作成するため、本年度は、と畜・食鳥検査員及び事業者双方から意見聴取を行い、得られた意見等を可能な限り反映させることで、事業者にとって無理なく導入できるよう、実行性を高めた手順書案の作成に努めた。

と畜場・食鳥処理場の外部検証については本格的実施の開始から約2年を迎え、と畜・食鳥検査員より外部検証通知に沿った形で詳細な検証活動が実施されている。一方、外部検証通知に示される作業は膨大なものとなっており、持続可能な外部検証実施体制の整備のためには、今後、外部検証作業の効率化に関する取り組みが求められるものと考えられる。本研究では外部検証の効率化に向けた取り組みの一つとして、外部検証と内部検証の連携強化を目的とした内部検証手順書案を起案した。事業者に対する聞き取り調査では、外部検証に対する協力姿勢は強いものの、外部検証通知の内容については事業者側では意識しておらず、このことが外部検証と内部検証の連携の大きな障害となっているものと思料された。本研究で作成した手順書では外部検証において確認される記録等について、事業者側での確実な取得を主たる目的の一つとして設定した。内部検証手順書案で示す「記録の取得・確認作業」では、外部検証通知別表で示される確認項目を引用し、外部検証で行う各検証作業の意図を事業者側も共有できるような形に努めた。同手順書案を事業者が参照することで、外部検証の意図の理解が深まり、これに沿った形で記録を取得・保管されることを期待する。こうした意識・意図の共有は外部検証の効率化に加え、内部検証の効率化も期待される。

事業者に対する聞き取り調査では、多くの施設が食品衛生法およびと畜場法、食鳥検査法の改正前か

ら HACCP システムに基づく衛生管理が導入・実施されており比較的高度な衛生管理手法が運用されていることが明らかとなった。しかしながら、HACCP の7原則の中で原則6：検証に関する活動は日々の製造及び衛生管理から独立した活動となるため、事業者にとっては負担も大きく、その実施内容についても、事業者の規模により多様になることが想定された。本研究で作成した手順書案は、これまでに厚生労働省や業界団体より公開されている HACCP の手引書において詳細な解説が少なかった原則6：検証の解説を補填するものとなるよう努めた。検証の目的・重要性に関する事業者側の理解不足を解消するため、検証活動の構造を簡潔に説明し、それぞれの活動の目的意識の向上を図った。さらに、それぞれの検証活動と施行規則で示される要求事項との関連性を明確にすることで、事業者に対して内部検証実施の必要性と重要性を示した。

外部検証通知では微生物試験の評価方法としてトレンド解析による評価が導入された。多数の事業者はこれ迄も最終製品の安全性評価の目的で自主検査（微生物検査）を実施してきたところではあるが、多くの事業者は試験結果の評価にあたり、個々の試験結果と自社基準等との絶対値比較のみを行っている状況にあると考えられ、トレンド解析を実施している事業者は少数に留まる状況と目される。本研究で作成した手順書案では、自主検査として実施する微生物試験の評価方法としてトレンド解析を実施することで、安全性の更なる確保に資するものと期待される。更に、手順書案では微生物検査に加えて、不適合業務のトレンド解析も可能となるような記録用紙を提案した。その活用は、衛生管理上の問題が生じ易い工程が容易に認知され、事前に察知可能なシステムの構築へと繋がることが期待される。

外部検証通知では、国際整合性を確保すべく、切除法による微生物検査が採用された。一方、事業者による自主検査では現在でも基本的に拭き取り法が利用されている。検査員及び事業者双方に対する聞き取り調査からは、微生物試験法の統一化に関す

る意見も多く出された。しかしながら、本研究で提案した手順書案では、事業者の負担軽減を意図して、微生物試験法としては、従前より事業者が参照している厚生労働省通知（「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）および「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））をまずは示すこととした。外部検証における微生物試験結果については全国的な解析が既に開始されており、今後、その結果が衛生管理状況の評価に利用される事となるものと予想される。一方、自主検査結果の全国的な解析は現実的には実現困難である。そのため、個々の事業者は、外部検証と内部検証の微生物試験結果を比較しつつ自ら検証を進めていくことが可能なシステムの構築が望まれる。手順書案で提起した自主検査におけるトレンド解析の導入は外部検証結果と自主検査結果の比較解析において有効なツールになると期待される。

(5) 国際動向を踏まえた情報の収集整理

と畜場での HACCP 方式での衛生管理の評価や検証として、牛、豚等の獣畜の枝肉に対して実施されている微生物試験について、英国（欧州連合）、米国、オーストラリア、日本の4カ国を比較した場合、対象微生物としては、代表的な衛生指標菌である一般細菌数、腸内細菌科菌群、大腸菌群、大腸菌のうち少なくとも1種類は必ず実施されている状況を確認できた。これに加え、英国（欧州連合）、米国、オーストラリアでは、サルモネラ属菌が検査対象となっていた。しかし、英国の小規模と畜場では、サルモネラ属菌の検査は要求されておらず、また、欧州連合は「サルモネラ菌の存在に関する基準及び条件は、サルモネラ菌の有病率に見られる変化に照らして改訂されるもの」としている。米国においても、豚とたいに対して、サルモネラ属菌検査は現在は廃止されている。日本では、現在サルモネラ属菌を検査項目に含めていない。サルモネラ属菌の検査の必要性の有無は、今後のさらに他国における

実施状況の動向に加え、国内の獣畜枝肉のサルモネラ属菌による汚染状況や衛生指標菌数とサルモネラ属菌数の関連性等の検討によって、判断するのが望ましいと考えられる。更に、検体採取の工程に関して、欧州連合と日本は冷却前の枝肉としている一方、米国、オーストラリアは一定時間冷却後の枝肉としている。米国、オーストラリアでは、冷却後の枝肉を用いることで、微生物検査の結果をと畜工程の衛生評価（枝肉の汚染度）に加え冷却設備の評価（増殖）も含めた総合的な評価としていると考えられる。

枝肉からの検体採取部位に関しては、英国（欧州連合）、米国、オーストラリアでは、1つの枝肉から複数箇所を選び検体を採取している。日本、米国も同じあるいは類似部位を採取部位をしており、枝肉における採取部位にはどの国も大きな差はないと考えて良いと思われた。検体採取方法は、日本を含めいずれの国も切除法、スポンジ法のどちらかあるいは両方を採用されている。試験の頻度は、日本以外は週に1回以上あるいは毎日としている。しかし英国の場合、「週1回以上」としつつも、一定期間検査結果が優良であった場合検査頻度を「2週間1回」あるいは「4週間1回」に減らすことを可能としており、衛生管理が優良な事業者に対するインセンティブととらえられる。日本では、通知（生食発0528第1号）において、月1回以上としつつ、管轄自治体が各と畜場の衛生管理状況に応じて、検査頻度を考慮することも今後、効率的・効果的な検証を進める上で有用かもしれない。

食鳥肉においては、腸管系病原体のうちサルモネラ属菌、カンピロバクター属菌の汚染頻度が高いことは世界共通で周知であり、食鳥肉の安全性確保には、これらの病原体を考慮した微生物の制御・モニタリングは欠かせない。英国（欧州連合）、米国、カナダ、オーストラリアのいずれの国でもサルモネラ属菌、カンピロバクター属菌を検査対象としていた。日本は、衛生指標菌である一般細菌と腸内細菌科菌群の定量試験を基本とし、カンピロバクター属菌については任意としている点が他国と異なって

いる。カンピロバクター属菌やサルモネラ属菌の検査の必要性の有無は、国内の食鳥とたいでのカンピロバクター属菌やサルモネラ属菌の検出頻度、検出菌数に加え、衛生指標菌の菌数とカンピロバクター属菌やサルモネラ属菌の菌数との相関性の検討などを実施した上で判断することが適切であると考ええる。鶏のとたいからの検体の採取方法に関しては、欧州と日本が首皮の切除法を採用し、米国とオーストラリアではリンス法を採用していた。

国内のと畜場において牛・豚枝肉を対象とした外部検証微生物試験の平均菌数は、一般細菌数、腸内細菌科菌群数ともに、海外諸国の基準に暫定的に当てはめた場合、優良に値するものであった。このことから、国内のと畜場で行われている HACCP に基づく衛生管理は多くの施設では適切に運用されていると予測される。但し、それらの結果の最小・最大菌数間には大きな幅があり、国内での最大菌数は海外諸国の基準で不適合に値するものもあった。このことから、国内においても適切な判定基準を設けると共に牛豚以外の獣畜を含めて実態を反映させた検査手法を構築していくことが、国際標準的な観点で、不適合に関わる衛生的課題を検知し、更なる改善指導に資するものと思われる。

食鳥とたいに関しては、検査項目が海外諸国と異なるため、日本における衛生指標菌での結果を諸外国の判定基準に当てはめることはできなかった。一部の国内食鳥とたいで実施されたカンピロバクター菌の検査結果では、欧州連合の基準値である 3 log cfu/g を超えた検体が 22 検体 (2.45%) 存在していた。国内では、カンピロバクター菌の検査は任意であることを踏まえ、このような衛生的に問題がある食鳥とたいを検知し適切に衛生管理状態を評価および指導するためには、現行の検査項目の適切性およびカンピロバクター菌の検査の必要性の有無についてさらなる検討を行い、より実効性のある検証手法の構築が必要と考えられた。

(6) HACCP 検証の評価方法に関する研究

牛とたいに関して、仮に平均値+2SD (一般生菌

数が 4.28 log CFU/cm²、腸内細菌科菌群数が 1.65 log CFU/cm²) を達成目標とした場合、一般生菌数では 97.3% (3218/3306)、腸内細菌科菌群数では 93.3% (3071/3291) が適合する状況にあった。また、平均値+2SD を全検体で満たした施設数は 52 (43.0%) であった。このほか、同値を超過した検体数が供試検体数の 20% 以内であった施設数は 56 (46.3%)、平均値+3SD (一般細菌数が 5.25 log CFU/cm²、腸内細菌科菌群数が 2.08 log CFU/cm²) を超過した検体を含み、かつ平均値+2SD 以上の検体が供試検体数の 20% 以上であった施設数は 13 (10.7%) であった。

豚とたいに関して、仮に平均値+2SD (一般生菌数が 4.34 log CFU/cm²、腸内細菌科菌群数が 2.02 log CFU/cm²) を達成目標とした場合、一般生菌数では 98.2% (3386/3448)、腸内細菌科菌群数では 94.7% (3252/3433) が適合する状況にあった。平均値+2SD を全検体で満たした施設数は 58 (45.3%) であった。このほか、同値を超過した検体数が供試検体数の 20% 以内であった施設数は 64 (50.0%)、平均値+3SD (一般細菌数が 5.14 log CFU/cm²、腸内細菌科菌群数が 2.55 log CFU/cm²) を超過した検体を含み、かつ平均値+2SD 以上の検体が供試検体数の 20% 以上であった施設数は 6 (4.5%) であった。

食鳥肉の直接的な危害要因であるカンピロバクターの定量的汚染状況は衛生指標菌定量試験成績によっては判断できないことが相関性解析を通じて示され、カンピロバクター定量試験を実施する必要性が提起されたと考えられる。欧州の食鳥処理場で工程管理の達成目標とされるカンピロバクターが鶏皮 1g あたり 3.0 log CFU/g を超過した検体が供試検体数の 20% 以上を占めた施設も認められた。こうした施設の衛生管理実態は微生物試験を実施して確認を継続的に行いつつ、改善指導を進める必要があると考えられる。微生物試験報告様式については、カンピロバクター試験成績報告様式に含まれる鶏種や処理方式、更に年間処理羽数の情報を含めていくことで、施設毎の試験検体数や試験頻度の設

定を検討することが可能になると思われる。

E. 結論

(1) と畜場における HACCP 外部検証に関する研究

① 黒毛和種牛枝肉に付着する異物の細菌叢解析

ゼロトレランス検証に示されている糞便は *Firmicutes* 門と *Proteobacteria* 門の双方合わせて高い比率を示す菌叢、消化管内容物は *Firmicutes* 門の比率が多い菌叢であった。ゼロトレランス検証で示されていない獣毛、レールダスト、フットカッター汚れは *Proteobacteria* 門の比率が高く、糞便は *Firmicutes* 門と *Proteobacteria* 門の双方合わせて高い比率を示す菌叢であった。肉眼で実施されているゼロトレランス検証においても、糞便、消化管内容物は的確に判断されていると思われる。また、ゼロトレランス検証を実施することは食肉衛生上、大変重要であることが確認された。

② めん羊

めん羊の枝肉表面の部位ごとに細菌汚染が異なることが判明した。と畜場ごとに枝肉表面汚染の程度は異なると思われることから、と畜場ごとに汚染箇所を把握し、その汚染箇所のゼロトレランス検証をより慎重に実施することが必要と思われる。また、必要に応じて枝肉の消毒を実施することを作業工程に加える等、と畜場に助言することが必要と思われる。

③ 外部検証プロトコルの妥当性評価に関する研究

昨年度に 3 食肉衛生検査所の協力を得て実施した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）及び病原菌関連遺伝子の検出状況を改めて検討した。また、1 施設の協力の元、剥皮前後工程における衛生指標菌と病原菌関連遺伝子検出状況を評価し、牛豚と体の一般細菌数及び腸内細菌科菌群数は剥皮後に大きく減少することが明らかとなり、対象施設の牛豚解体工程では、剥皮工程における適切な衛生管理が重要であることが改めて確認された。

④ と畜場でのリステリア属菌の汚染実態と管理すべき工程に関する研究

本分担研究では、牛と畜工程におけるリステリアの常在化のリスクを探知することを主な目的として、令和 4 年 6 月から 11 月の間、と畜場内の施設環境におけるリステリア属菌及び LM の汚染状況を調査研究した。結果として、LM は検出されず、リステリア属菌が牛外皮及び牛枝肉冷蔵室内で見いだされた。これらの結果より、外皮等を通じ施設への LM の持ち込みの可能性が示唆されるとともに、特に枝肉冷蔵工程では洗浄消毒の励行を行うことがリスク管理策として重要と考えられた。なお、牛解体処理を行う施設環境では作業終了後に熱湯水を用いた洗浄が毎回行われており、このことが同属菌の常在化の予防策となっているものと推察された。

(2) 食鳥処理場における HACCP 外部検証に関する研究

本分担研究では、衛生的な鶏肉製品を提供していた大規模食鳥処理場の協力を得て、重要管理点として手引書等で例示される冷却工程に焦点を当て、冷却水の物性及び微生物の動態を経時的に評価した。結果として、断続的な塩素注入や処理速度を安定的に設定・運用していることにより、塩素濃度や pH、水温、更には一般細菌数を安定的に制御されている状況を確認することができた。

(3) 生食用食鳥肉の高度衛生管理に関する研究

南九州地方で「とりさし」を取り扱う、小規模な食鳥処理業及び食鳥肉加工業を営む事業者を対象にカンピロバクター汚染動態調査並びに衛生管理に関わるアンケート調査を行った。カンピロバクターについて、最終製品では概ね支障ないレベルの汚染であったが、幾つかの改善すべき工程管理の在り方について、本研究を通じて改善指導するに至った。アンケート調査を通じ、特に焼烙条件については、「とりさし協会」が推奨するガイドラインに示される条件が実効性に富む状況にあることが確認され

た。成分規格目標を含め、本分担研究では生食用食鳥肉の衛生管理ガイドライン作成にあたって重要と思われる事項を整理し、原案を策定した。

(4) と畜場・食鳥処理場の内部検証に関する研究
昨年度迄の研究で作成した内部検証のための手順書原案について、と畜・食鳥検査員及び事業者からの意見聴取を行い、実行性を高めた形となるよう手順書の最終案を作成した。手順書の作成においては下記の作成方針に従って行った。

手順書案の主な作成方針

- ・ 検証の目的について事業者の理解促進
- ・ 内部検証と外部検証との連携を強化
- ・ 施行規則と内部検証の関連性の明確化
- ・ 国内通知との整合性を考慮した微生物自主検査項目の設定
- ・ HACCP に関わる海外規格との整合性の考慮

(5) 国際動向を踏まえた情報の収集整理
と畜場・食鳥処理場の衛生管理に先行的に HACCP 方式を取り入れている諸外国の情報を収集し整理した。幾つかの点で、国・地域での間で相違が見られた。国内の HACCP に基づく衛生管理制度を国際標準に対応し、かつ効果的・効率的な運用を図る上では更なる根拠や社会的背景を踏まえた検討が必要であろう。

(6) HACCP 検証の評価方法に関する研究
汚染実態調査結果を踏まえた、牛、豚、鳥における一般生菌数、腸内細菌科群数の工程管理目標値としては、各とたいでの基準値（通年平均+2SD）を提案しうると結論づけられた。また、食鳥とたいについては、カンピロバクター数の工程管理目標案として、通年平均+2SD (2.4 log) あるいは 欧州基準 3.0 log が妥当と考えられた。

F. 健康危機情報

該当なし

G. 研究発表

1. 書籍
 - 1) 森田幸雄. (2023) 牛肉. 生食のはなし (朝倉書店).
 - 2) 中馬猛久. (2023) 豚肉. 生食のはなし (朝倉書店).
 - 3) 朝倉宏. (2023) 鶏肉. 生食のはなし (朝倉書店).
 - 4) 朝倉宏. (2023) カンピロバクター. 生食のはなし (朝倉書店).
2. 論文
 - 1) Yamasaki E and Fukumoto S (2022) Prevalence of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* in Yezo sika deer *Cervus nippon yesoensis* in the Tokachi sub-prefecture of Hokkaido, Japan. *J. Vet. Med. Sci.* 84(6): 770-776.
 - 2) 塚本真由美、苅谷俊宏、山崎翔矢、小畑麗、向島幸司、村瀬繁樹、朝倉宏、森田幸雄. (2023) 黒毛和種牛枝肉表面に付着する異物の細菌学的汚染状況, 日本獣医師会雑誌. 76, e11-e17.
3. 学会発表
 - 1) Asakura H. (2022) Surface-burn process immediate after slaughter for the improvement of microbiological quality in poultry meat. 54th Korean Society for Food Science of Animal Resources (KoSFA) International Symposium and Annual Meeting.
 - 2) 山崎栄樹、福本晋也. (2022) 北海道十勝地方におけるエゾシカの腸管出血性大腸菌保有状況調査. 第 24 回腸管出血性大腸菌感染症研究会.
 - 3) 中江優貴、久永崇宏、筆谷麻未、國井菜那子、松橋平太、寺井克哉、大畑克彦、朝倉宏. (2023) 牛と畜処理工程別のリステリア属菌の汚染実態について. 令和 4 年度静岡県衛生発表会.
 - 4) 朝倉宏、山本詩織、吉富真理、中馬猛久、森田幸雄. (2022) 馬とたいに対する HACCP 外部検証微生物試験法の設定に向けた検討. 第 42 回日

本食品微生物学会学術総会.

H. 知的財産権取得状況

該当なし