

令和 2-4 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）

分担総合研究報告書

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

と畜場の HACCP 外部検証・内部検証に関する研究

分担研究者	森田幸雄	麻布大学
研究協力者	小林光士、古内功二、小野寺 仁、小池史晃、辻 芳裕、寺地真弓	
		JA 飛騨ミート
	塚本真由美、荻谷俊宏、山崎翔矢、池田 晃、松岡和代、小畑 麗、向島幸司	
	安江智雄、村瀬繁樹	岐阜県飛騨食肉衛生検査所
	藤平裕子、清水俊一、稻田和也	北海道早来食肉衛生検査所
	森越真梨恵	旭川市食肉衛生検査所
	大西広輔	旭川市保健所
	石沢由起子	青森県十和田食肉衛生検査所
	柳沼千春	郡山市保健所食肉衛生検査所
	小西世津香	金沢市保健所食肉衛生検査所
	八重森恵子、花田千晴、藤巻 勤	山梨県食肉衛生検査所
	尾島康世	高知市食肉衛生検査所
	藤田景清	北九州市保健福祉局保健衛生部食肉センター
	加藤峰史	沖縄県中央食肉衛生検査所
	成田静香、菊池貴子、原 理洋	スターゼン(株)
	三好 円、花田 博、奈須正知、黒木重孝、馬場俊行	スターゼンミートプロセッサー(株)
	下郷晶子	日水製菓(株)
	片桐 謙、黒田伸彦	山形県庄内食肉衛生検査所
	岡谷友三アレシヤンドレ、中込就子、佐藤妃恵、大石和樹、安達悠太、永田 栞、 田内春香、渡辺哲史、廣瀬絵美香、清水香南、石井弘祐、鈴木このみ	
		麻布大学
	朝倉 宏	国立医薬品食品衛生研究所

研究要旨

と畜場の HACCP 外部検証・内部検証に用いるめん羊、山羊、馬および黒毛和種牛に関する成績を収集した。めん羊、山羊、馬の枝肉の衛生状況を把握するため、全国食肉衛生検査所協議会微生物部会に依頼し、各食肉衛生検査所で実施した、めん羊、山羊、馬の糞便検査並びに枝肉拭き取り検査成績を収集した。8 所属のデータが得られた。めん羊はサルモネラや腸管出血性大腸菌(STEC)を約 3 割保菌しているが、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っていることが判明した。馬の病原体検査については、少数の検査が実施されているにすぎなかった。枝肉からの検体採取法はすべてスワブ法であり、切除法の成績は見当たらなかった。そこで、めん羊の枝肉を購入し、枝肉の表面 30 カ所を切除法によって採取し細菌汚染状況を調査した。大腸菌が検出された部位は 9 か所存在した。検体 27 (右肘部内側) が最も多く 3.60 log 個/cm²、次いで検体 25(頸部右側)が 2.40 log 個/cm²、検体 5(腕基部)が 2.18 log 個/cm²、検体 14 (胸部右側)が 1.95 log 個/cm²、検体 15(後大腿部右側)が 1.58 log 個/cm²であった。枝肉の検体からは STEC、カンピロバクター、サルモネラは未検出であった。解体時には、めん羊においても、ゼロトレラ

ンス検証とともに、必要に応じて枝肉の消毒を作業工程に加える必要であると思われた。と畜場が実施する簡易的な内部検証法を検討するため、2つのと畜場でと畜解体された各11頭の牛豚枝肉の左右の胸部について、切除法、スワブ法およびスタンプ法を実施し、それらの結果を比較した。スタンプ法は希釈をしないことから、高度に汚染している検体には不向きであったが、衛生的な牛枝肉(一般細菌数: 3.5 log 個/cm²未満、腸内細菌科菌群数: 1.5 log 個/cm²未満)や豚枝肉(一般細菌数: 4.0 log 個/cm²未満、腸内細菌科菌群数: 2.0 log 個/cm²未満)を生産していると畜場では、スタンプ法で一般細菌数や腸内細菌科菌群陰性を確認することで、牛枝肉・豚枝肉の細菌検査の内部検証が可能かもしれないことが判明した。米国向け輸出食肉の取扱要綱に従い、食肉処理施設において製造される冷蔵トリミング肉を検体とした STEC 検査のロットの設定を試みた。5月から10月に月ごとに1日を定め、JA 飛騨ミートに搬入された全ての黒毛和種牛について、生体の体表(肛門周囲)をスポンジで拭取り検査に供した。農場ごとに1検体とし、72農家のべ185検体341頭を実施した。リアルタイム PCR 法をスクリーニング検査としたところ、VT 遺伝子は185検体中184検体(99%)、O157 遺伝子は122検体中77検体(63%)、O26 遺伝子は35検体(29%)が陽性となった。細菌分離検査で陽性となったのは O157 が185検体中15検体(8.1%)、O26 は5検体(2.7%)であった。1検体からは O157 及び O26 の両集落が検出されたものは、スクリーニング検査でも陽性であった。72農家中17農家が STEC 陽性で、2回以上検体を採取した農家は52農家であり、2回陽性となった農家は2農家、陽性1回の農家は13農家であった。と畜日ごとに農家から搬入される牛の STEC 保有状況は異なっていることから、現時点での STEC 検査のロット設定は「同一農家かつ同一と畜解体作業日の枝肉群を1ロットとする」ことが妥当であると思われた。衛生的なと畜処理を実施するため、5頭の黒毛和種牛の糞便の食中毒菌保菌調査および1頭につき15か所の体表をフードスタンプを用いて採取し、食中毒菌検査と衛生指標菌(一般細菌数、腸内細菌科菌群数、大腸菌群数、大腸菌数)検査を実施し、体表の汚染を把握した。100%(5/5頭)の黒毛和種牛の糞便から *C. jejuni* が、20%(1/5頭)から STEC が検出された。供試した5頭の牛の体表からはカンピロバクターならびに STEC は分離できなかった。フードスタンプを用いた体表の検査においても、一般細菌は 4.18 log 個/cm²、腸内細菌科菌群は 1.62 log 個/cm²、大腸菌群は 0.90 log 個/cm²、大腸菌数は 0.79 log 個/cm²が検出された。また、一般細菌数では⑥胸部正中、⑦腹部正中、⑧踝外側左が多かった。大腸菌群数および大腸菌数も⑥胸部正中が最も高値を示した。正中はと畜処理では必ず刀を入れる部位である。と畜処理においては、体表は高度に汚染しているものと理解し、特に正中に刀を入れるときには、消毒したナイフの刃を手前に向け、皮を内側から外側に切開することが、食肉衛生学的に有効であると思われた。ゼロトレランス検証の有用性を確認するため、獣毛(5)、糞便(8)、消化管内容物(6)、レールドラスト(5)、フットカッター汚れ(5)が付着した黒毛和種牛枝肉を採材した。獣毛、糞便、消化管内容物間の一般細菌数と腸内細菌科菌群数に有意差がなかった。獣毛・糞便・消化管内容物検体の一般細菌数はレールドラスト・フットカッター汚れ検体のそれと比べ高値であった。消化管内容物は *Firmicutes* 門、獣毛・レールドラスト・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* 門が高い比率の菌叢であった。付着異物ごとに菌叢の違いが確認された。食肉衛生上、糞便及び消化管内容物だけでなく獣毛が付着したと畜表面はトリミングすることが必要であると思われた。

A. 研究目的

と畜場への HACCP 導入の制度化にともない、と畜検査員による外部検証が行われる。外部検証については、「と畜検査員及び食鳥検査員による外部検証の実施について」（生食発 0528 第 1 号、令和 2 年 5 月 28 日）により、その実施に関する手順、評価方法等に示されている。微生物試験を用いた外部検証法については、同通知によって、牛及び豚の検査法は示されている。しかし、と畜場法の対象となる獣畜のうち、めん羊、山羊、馬については示されていない。そこで、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。

2018(平成 30)年 7 月 10 日、厚生労働省は、米国農務省食品安全局（以下「FSIS」と略）からの要請を受け、食肉処理施設において製造される冷蔵トリミング肉を検体とした志賀毒素産生性大腸菌（以下「STEC」と略）検査の実施をアメリカ合衆国向け輸出食肉の取扱要綱に定めた。これにより、検査所および対米牛肉輸出処理施設は STEC 検査を開始した。FSIS のガイドラインにより、と畜解体より前の段階に着目した製品のロットの設定が求められる。厚生労働省は、農家単位で製品のロットを設定する方法を一例を事務連絡で示した。この設定は当面の間、論文等の既存データの活用が可能とされており、JA 飛騨ミート(GI-1 施設)は、「同一農家かつ同一と畜解体作業日の枝肉群を 1 ロットと設定する」こととした。GI-1 施設独自の成績を収集するため、体表拭取りを行い、農家ごとに 1 検体とし STEC・O157・O26 のリアルタイム PCR 検査および細菌検査を実施した。

また、「アメリカ合衆国向け輸出食肉の取扱要綱（令和 2 年 4 月 1 日財務大臣・厚生労働大臣・農林水産大臣決定別紙）」により、以前から対米牛肉輸出施設はゼロトレランス検証（目視できる糞便、消化管内容物、乳房内容物に汚染されていないことを検証すること）を実施している。さらに、「と畜検査員及び食鳥検査員による外部検証の実施について」においても、ゼロトレランス検証が明記されており臨場すると畜検査の際に、と畜検査員は計画的にゼロトレランス検証を実施している。枝肉に付着している異物は、糞便、消化管内容物、乳房内容物に加え、獣毛、レールダスト等様々である。そこで、危害分析の一助とするとともに、検証

技術の向上を目的として、GI-1 施設でと畜・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。

本分担研究では、上述の課題から、以下の 1～6 までの研究を実施した。

B. 研究方法

1. 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

令和 2 年 9 月、全国食肉衛生検査所協議会微生物部会、部会長あて、めん羊、山羊及び馬の公表可能な糞便検査結果や枝肉の衛生検査結果の提供依頼を実施した。

2. めん羊枝肉表面の切除法による細菌汚染状況調査

2022(令和 4)年 11 月、通常の解体処理を行い、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、5×5 cm²切り取り、一般細菌数、腸内細菌科菌群数、大腸菌群数、大腸菌数を求めた。また、サルモネラ、カンピロバクター、腸管出血性大腸菌（STEC）については定性検査を実施した。

3. スワブ法に代わると畜場内牛枝肉および豚枝肉の内部検証法の検討

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 25 cm²のについて 1) 切除法、2) ふき取り法、3) スタンプ法を実施した。なお、EU の規定では、牛の洗浄後冷却前の枝肉の切除法の一般細菌数の優良レベルは 3.5 log 個/cm²未満、許容レベルは 3.5～5.0 log 個/cm²、不適合レベルは 5.0 log 個/cm²以上である。また、腸内細菌科菌群数の優良レベルは 1.5 log 個/cm²未満、許容レベルは 1.5～2.5 log 個/cm²、不適合レベルは 2.5 log 個/cm²以上である。EU の規定での一般細菌数による評価では、A と畜場の牛枝肉は、最良レベル、B と畜場の牛枝肉は許容レベル、腸内細菌科菌群による評価では、A と畜場、B と畜場ともに、最良レベルであった。A と畜場は対米牛肉輸出処理認定施設、B と畜場の豚の処理は湯剥き方式である。

切除法は、外部検証通知に従い、滅菌メス・

ピンセット・ステンレス杓(5×5cm:25 cm³)を用いて切除した。2) ふき取り法は市販拭き取り検査キットであるフキトレール(関東化学㈱)を用いた。ふき取り法での拭き取り方は図3-1に示す方法で、約600g圧で実施した。3) スタンプ法は特別に作製した25 cm³のスタンプ生菌数用・標準寒天とスタンプ腸内細菌科菌群用・VRBG寒天(以上、日水製薬㈱)を600-700g圧で10秒間、枝肉の胸部に押し付ける方法で実施した。

4. 生産農家ごとの和牛の体表の STEC 0157・026 の汚染状況

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

検体をノボバイオシン加mEC培地で41±1℃、18~24時間増菌培養し、NucleoSpin® Tissue(マッハライ・ナーゲル)を用いてDNA抽出を行った。それをCycleavePCR 0-157(VT gene) Screening Kit Ver. 2.0(タカラバイオ)を用いて、Thermal Cycler Dice® Real Time System IIIにより、VT(*stx*)遺伝子のスクリーニング検査を実施した。これに加え、7月からはCycleavePCR™ EHEC(0157/026)Typing Kit(タカラバイオ)を用いて、0157及び026遺伝子のスクリーニング検査を実施した。

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

5. 黒毛和種牛の体表の汚染状況の把握

2020(令和2)年11月10日、GI-1施設の係留所内で、5頭の黒毛和種牛の糞便および体表を採取した。糞便は、1頭について25g以上の排泄便を採取した。体表検体は、体表15か所(頸部正中、肘外側左右、胸部正中、腹部正中、くるぶし外側左右、内もも左右、もも後左右、肛門左右、頸左右)をフードスタンプ生菌数用・標準寒天(日水製薬㈱)を600-700g圧で10秒

間体表に押し付けた。糞便ならびに体表検体は、4℃で冷蔵保存にて輸送し、11月13日より検査を実施した。

体表検体の検査方法:体表に押し付けたフードスタンプの寒天部分をストマッカー袋に入れ、計量後、90mLのPBSを加え、ストマッカー処理(30秒間)を実施したものを試料原液とし、試料原液および適宜希釈液を作製した。一般細菌数は、ACプレート、腸内細菌科菌群数はEBプレート、大腸菌群・大腸菌数はECプレート(以上、ペトリフィルム、3M㈱)を用いて測定した。サルモネラは試料原液5mLを45mLのBPWに加え、42℃、24時間、好気培養後、1mLを9mLのハーナテトラチオネート培地に加え42℃、24時間好気培養を実施した。その後、クロモアーガーサルモネラ培地に塗抹し、37℃、24時間好気培養を行った。カンピロバクターは試料原液5mLを45mLのプレストン培地に加え、42℃、24時間、微好気培養を実施後、クロモアーガーカンピロバクター培地に塗抹し、42℃、48時間、微好気培養を行った。STECは、試料原液5mLを45mLのノボバイオシン加mEC培地に加え、42℃、24時間、好気培養した。その後、クロモアーガーSTECに塗抹し、37℃、24時間培養を行った。

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℃、24時間、好気培養後、9mLのハーナテトラチオネート培地に1mL加え42℃、24時間、好気培養を実施した。その後、クロモアーガーサルモネラ培地に塗抹し、37℃、24時間好気培養を行った。カンピロバクターは糞便1gを9mLのプレストン培地に加え、42℃、24時間、微好気培養を実施後、クロモアーガーカンピロバクター培地に塗抹し、42℃、48時間、微好気培養を行った。STECは、糞便1gを9mLのノボバイオシン加mEC培地に加え、42℃、24時間、好気培養した。その後、CT加クロモアーガーSTECに塗抹し、37℃、24時間培養を行った。

6. 枝肉に付着する異物による微生物汚染実

態と菌叢解析

2021(令和3)年4月から8月まで、GI-1施設のトリミング工程、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(2×2cm²)を採取し、肉眼及び実体顕微鏡で、色調及び質感を観察し、写真撮影を実施した。また、採取した検体は、ペトリフィルムを用いて一般細菌数、腸内細菌科菌群数、大腸菌群数、大腸菌数を算出した。さらに、同検体については菌叢解析を実施した。

C. 研究結果

1.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

AからIの9つの食肉衛生検査所から情報提供を得た。

①めん羊、山羊、馬からの各種病原体検出状況(表1-1)

サルモネラ:めん羊はAとH検査所から情報提供があった。A検査所では、33.3%(20/60検体)の糞便から検出され、亜種群III b(*diarizonae*) 061:-:1,5,7が20検体、亜種群I(*enterica*) 04: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(0抗原が型別不能、H抗原が陰性)が14検体、OUT:HUT(0抗原が型別不能、H抗原が型別不能)が2検体、091:NMが2検体、0103:H2が2検体、0146: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・大腸菌群数・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。

一般生菌数:めん羊枝肉の結果は4施設から情報提供があり、264/268検体(98.5%)から分離された。各施設の陽性検体の対数一般細菌数は4.02-100.88個/cm²(最高値は1,450個/cm²)であった。山羊枝肉の結果は1施設から情報提供があり、124/128検体(96.9%)から分離された。本施設の陽性検体の対数一般細菌数は5.62-12.98個/cm²(最高値は1,335個/cm²)であった。馬枝肉の結果は4施設から情報提供があり、440/469検体(93.8%)から分離された。各施設の陽性検体の対数一般細菌数は0.52-191.00個/cm²(最高値は21,900個/cm²)であった。

大腸菌群数:めん羊枝肉の結果は3施設から情報提供があり、56/262検体(21.4%)から分離された。各施設の陽性検体の対数大腸菌群数は0.10-0.51個/cm²(最高値は19.50個/cm²)であった。山羊枝肉の結果は1施設から情報提供があり、23/128検体(18.0%)から分離された。本施設の陽性検体の対数大腸菌群数は0.21-0.25個/cm²(最高値は19.50個/cm²)であった。馬枝肉の結果は2施設から情報提供があり、77/424検体(18.2%)から分離された。各施設の陽性検体の対数大腸菌群数は4.95-11.00個/cm²(最高値は910個/cm²)であった。

大腸菌数:めん羊枝肉の結果は3施設から情報提供があり、33/262検体(12.6%)から分離された。各施設の陽性検体の対数大腸菌数は0.10-0.26個/cm²(最高値は3.00個/cm²)であった。山羊枝肉の結果は無く、馬枝肉の結果は1施設から情報提供があり、14/24検体(58.3%)から分離された。各施設の陽性検体の対数大腸菌数は11.03-31.59個/cm²(最高値は640個/cm²)であった。

2.めん羊枝肉表面の切除法による細菌汚染状況調査(図2-1、図2-2)

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. スワブ法に代わると畜場内牛枝肉および豚枝肉の内部検証法の検討

畜種別・と畜場別の切除法、ふき取り法、スタンプ法による対数平均菌数を表 3-1 に示す。

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

B と畜場牛枝肉：切除法の平均一般細菌数は 406.42 個/cm²(2.61 log 個/cm²)、ふき取り法のそれは 95.64 個/cm²(1.98 log 個/cm²)であった。X 軸を切除法の対数値、Y 軸をふき取り法の対数値とした時の、回帰直線は $Y=0.3027X+$

1.191 (決定係数=0.1202) であった。スタンプ法の平均一般細菌数は 1.99 個/cm²(0.30 log 個/cm²)であり、X 軸を切除法の対数値、Y 軸をスタンプ法の対数値とした時の、回帰直線は $Y=0.5327X-1.0869$ (決定係数=0.3743) であった。切除法の平均腸内細菌科菌群数は 2.14 個/cm²(0.33 log 個/cm²)、ふき取り法のそれは 0.45 個/cm²(-0.35 log 個/cm²)であった。X 軸を切除法の対数値、Y 軸をふき取り法の対数値とした時の、回帰直線は $Y=0.5675X-0.5325$ (決定係数=0.1285) であった。スタンプ法の平均腸内細菌科菌群数は 0.11 個/cm²(-0.96 log 個/cm²)であり、X 軸を切除法の対数値、Y 軸をふき取り法の対数値とした時の、回帰直線は $Y=0.121X-0.9893$ (決定係数=0.0115) であった。

A と畜場豚枝肉：切除法の平均一般細菌数は 247.73 個/cm²(2.39 log 個/cm²)、ふき取り法のそれは 35.57 個/cm²(1.55 log 個/cm²)であった。X 軸を切除法の対数値、Y 軸をふき取り法の対数値とした時の、回帰直線は $Y=0.3331X+0.7537$ (決定係数=0.0584) であった。スタンプ法の平均一般細菌数は 2.26 個/cm²(0.35 log 個/cm²)であり、X 軸を切除法の対数値、Y 軸をふき取り法の対数値とした時の、回帰直線は $Y=-0.2281X-0.2075$ (決定係数=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 軸を切除法の対数値、Y 軸をふき取り法の対数値とした時の、回帰直線は $Y=0.0221X-0.3526$ (決定係数=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 軸を切除法の対数値、Y 軸をふき取り法の対数値とした時の、回帰直線は $Y=-0.13X-0.8884$ (決定係数=0.0098) であった。

B と畜場豚枝肉：切除法の平均一般細菌数は 1,709.79 個/cm²(3.23 log 個/cm²)、ふき取り法のそれは 1,334 個/cm²(3.13 log 個/cm²)であった。X 軸を切除法の対数値、Y 軸をふき取り法の対数値とした時の、回帰直線は $Y=0.5403X+1.3784$ (決定係数=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 軸を切除法の対数値、Y 軸をふき取り法の対数値とした時の、回帰直線は Y

$=0.439X-0.9398$ (決定係数 $=0.3079$) であった。切除法の平均腸内細菌科菌群数は 1.20 個/ cm^2 ($0.08 \log$ 個/ cm^2)、ふき取り法のそれは 0.17 個/ cm^2 ($-0.77 \log$ 個/ cm^2) であった。X 軸を切除法の対数値、Y 軸をふき取り法の対数値とした時の、回帰直線は $Y=0.874X-0.8334$ (決定係数 $=0.1984$) であった。スタンプ法の平均腸内細菌科菌群数は 0.03 個/ cm^2 ($-1.52 \log$ 個/ cm^2) であり、X 軸を切除法の対数値、Y 軸をふき取り法の対数値とした時の、回帰直線は $Y=-0.272X-1.5545$ (決定係数 $=0.0563$) であった。

4. 生産農家ごとの和牛の体表の STEC 0157・026 の汚染状況

スクリーニング検査結果において VT 遺伝子は 185 検体中 184 検体 (99.5%)、0157 遺伝子は 122 検体中 77 検体 (63.1%)、026 遺伝子は 35 検体 (29%) が陽性となった。また、確認検査で陽性となったのは 0157 が 185 検体中 15 検体 (8.1%)、026 は 5 検体 (2.7%) であった。1 検体からは 0157 及び 026 の両集落が検出された。確認検査で陽性となったものは、スクリーニング検査でも陽性となっていた。

STEC 陽性となった農家は、72 農家中 17 農家 (22.1%) であった。2 回以上検体を採取した農家は 52 農家であり、2 回陽性となった農家は 2 農家、陽性 1 回の農家は 13 農家であった。農家 B は 6 回連続陰性であったが、農家 B0 は 2 回中 2 回陽性となった。1 回採取農家は 20 農家で、そのうち陽性となったのは 2 農家であった。牛の STEC 陽性率は複数頭で 1 検体のものもあるため差があるが、0157 は 341 頭中 15~23 頭陽性 (4.4~6.7%)、026 は 5~7 頭陽性 (1.5~2.1%) となった。

5. 黒毛和種牛の体表の汚染状況の把握

①サルモネラ、カンピロバクター、STEC 検出状況

黒毛和種牛 5 頭 (検体番号 1~5) の糞便検体から、カンピロバクターは全頭から分離され分離菌種は *C. jejuni* であった。STEC は 1 頭 (検体番号 2) から分離され、2 型毒素産生株であった。サルモネラは検出されなかった。5 頭の 15 か所の体表検体からは、供試した病原体は検出されなかった。

②黒毛和種牛体表の部位別一般細菌数

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/ cm^2 ($15,018$ 個/ cm^2) であった。部位別にみると⑥胸部正中が最も多く $5.06 \log$ 個/ cm^2 ($115,280$ 個/ cm^2)、次いで、⑦腹部正中 ($4.94 \log$ 個/ cm^2 : $87,848$ 個/ cm^2)、⑧踝外側左 ($4.94 \log$ 個/ cm^2 : $86,990$ 個/ cm^2) であった。

③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/ cm^2 (42 個/ cm^2) であった。部位別にみると⑫もも後側左が最も多く $1.91 \log$ 個/ cm^2 (81 個/ cm^2)、次いで、⑦腹部正中 ($1.90 \log$ 個/ cm^2 : 79 個/ cm^2)、⑭肛門左 ($1.89 \log$ 個/ cm^2 : 77 個/ cm^2) であった。

④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/ cm^2 (8.0 個/ cm^2) であった。部位別にみると⑥胸部正中が最も多く $1.45 \log$ 個/ cm^2 (28.0 個/ cm^2)、次いで、⑦腹部正中 ($1.26 \log$ 個/ cm^2 : 18.4 個/ cm^2)、⑭肛門左 ($1.24 \log$ 個/ cm^2 : 17.4 個/ cm^2) であった。

⑤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/ cm^2 (6.2 個/ cm^2) であった。部位別にみると⑥胸部正中が最も多く $1.14 \log$ 個/ cm^2 (13.8 個/ cm^2)、次いで、⑭肛門左 ($1.16 \log$ 個/ cm^2 : 14.4 個/ cm^2)、⑫もも後側左 ($1.11 \log$ 個/ cm^2 : 13.0 個/ cm^2) であった。

6. 枝肉に付着する異物による微生物汚染実態と菌叢解析

獣毛検体は、黒く、長さや本数は様々で、肉眼でも容易に判別できた。糞便検体及び消化管内容物検体は、どちらも黄又は褐色が肉眼で観察され、実態顕微鏡像では繊維質の異物を含むものからそうでないものまで様々であった。レールダスト検体は、灰色で、薄い乾質の異物で、長さ、幅共に 2~3mm 程度のものが多く肉眼で容易に判別できた。フットカッター汚れ検体は、後肢切断面に付着しており、色調が黒く、肉眼では一見糞便のように観察された。その他 A 検体、その他 B 検体ともに肉眼では由来が不明であったが、その他 A 検体は「レールダストと潤滑油が混ざったもの」、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」と実体顕微鏡での色調および質感から推察した。

一般細菌数結果: 獣毛, 糞便, 消化管内容物,

ルールダスト、フットカッター汚れ検体の一般細菌数は各々 $3.27 \pm 1.23 \log$ 個/ cm^2 、 $4.37 \pm 1.83 \log$ 個/ cm^2 、 $4.20 \pm 0.90 \log$ 個/ cm^2 、 $1.04 \pm 0.58 \log$ 個/ cm^2 、 $1.70 \pm 0.23 \log$ 個/ cm^2 であった。その他 A 検体は $2.26 \log$ 個/ cm^2 、その他 B 検体は $5.73 \log$ 個/ cm^2 であった。獣毛、糞便及び消化管内容物検体間の値については Tukey の多重比較検定、ルールダストとフットカッター汚れ検体間の値については t 検定を実施したところ、それぞれの間の統計学上の差はなかった ($p \geq 0.05$)。また、獣毛-糞便-消化管内容物検体の一般細菌数はルールダスト-フットカッター汚れ検体のそれと比べて高値 (t 検定: t 値=6.97, 自由度=27, $p < 0.05$) であった。

腸内細菌科菌群数結果: 獣毛、糞便、消化管内容物検体の腸内細菌科菌群数は各々 $1.40 \pm 0.73 \log$ 個/ cm^2 、 $2.22 \pm 0.93 \log$ 個/ cm^2 、 $2.12 \pm 1.35 \log$ 個/ cm^2 であった。ルールダスト、フットカッター汚れ検体は調査した全ての検体において腸内細菌科菌群数は検出限界値 ($-0.3 \log$ 個/ cm^2) 以下であった。その他 A 検体も検出限界値以下、その他 B 検体は $3.22 \log$ 個/ cm^2 であった。獣毛、糞便及び消化管内容物検体間の値について Tukey の多重比較検定を実施したところ、統計学上の差 ($p < 0.05$) はなかった。

菌叢解析: 構成割合で 1%以上を示すものは *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、ルールダスト、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。

D. 考察

1. 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

①めん羊、山羊、馬からの各種病原体検出状況

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

めん羊の糞便からはサルモネラ (33.3%)、STEC (31.7%) を高率に保菌していることが判明した。サルモネラも亜種群 I は 1 検体、亜種群 IIIb が 20 検体、STEC も O157 のように牛や患者から分離されるものとは異なる血清型が多かった。この成績は A 検査所のみのものであり、日本で飼育されているめん羊の保菌状況であるか、A 検査所が検査していると畜場に搬入されるめん羊に固有なものであるか、調査する必要があると思われた。

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

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

②めん羊、山羊、馬枝肉拭き取り検体の一般細菌数・大腸菌群数・大腸菌数

今回の成績は全てスワブ法であった。日本では切除法の成績は無いと思われる。

EU の規定では、めん羊、山羊、馬の洗浄後冷却前の枝肉の切除法であるが、一般生菌数の優良レベルは $3.5 \log$ 個/ cm^2 未満、許容レベルは $3.5 \sim 5.0 \log$ 個/ cm^2 、不適合レベルは $5.0 \log$ 個/ cm^2 を超える値である。今回は、スワブ法であり、単純に比較はできないが、今回のめん羊、山羊、馬のスワブ法の成績は EU の規定の許容レベル範囲内であった。それらの腸内細菌科菌群の優良レベルは $1.5 \log$ 個/ cm^2 未満、許容レベルは $1.5 \sim 2.5 \log$ 個/ cm^2 、不適合レベルは $2.5 \log$ 個/ cm^2 ($316 \log$ 個/ cm^2) を超える値である。スワブ法と切除法、大腸菌群と腸内細菌科菌群の違いはあるが、今回のめん羊と山羊のスワブ法の成績は EU の規定の許容レベルにあったが、馬は洗浄前の枝肉であるが不適合レベルに該当する値を示すものが認められた。統一的な検

査法や検体採取を実施する場所を設定する必要があるかもしれない。

大腸菌数はめん羊枝肉において 33/262 検体 (12.6%) から、馬枝肉は 4/24 検体 (58.3%) から分離されることから、さらに検査データを蓄積する必要があると思われる。

2. めん羊枝肉表面の切除法による細菌汚染状況調査

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部位については、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、枝肉の消毒工程を加える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 (レゼルボア) 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。

3. スワブ法に代わると畜場内牛枝肉および豚枝肉の内部検証法の検討

A と畜場牛枝肉：切除法とふき取り法との一般細菌数の平均値の差は約 2 倍あり、切除法が高値であった。回帰直線の決定係数は 0.3919

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

B と畜場牛枝肉：切除法とふき取り法との一般細菌数の平均値の差は約 4 倍あり、切除法が高値であった。回帰直線の決定係数は 0.1202 で関連性は少ないが、例数を重ねることと畜場の衛生管理を把握する内部検証としては、ふき取りでも良いかもしれない。切除法とスタンプ法との一般細菌数の平均値の差は約 200 倍あり、切除法が高値であった。回帰直線の決定係数は 0.3743 で関連性は少ないが、例数を重ねることと畜場の衛生管理を把握する内部検証としては、スタンプでも良いかもしれない。切除法とふき取り法との腸内細菌科菌群数の平均値の差は約 5 倍あり、切除法が高値であった。回帰直線の決定係数は 0.1285 で、関連性は少ないと思われる。切除法とスタンプ法との腸内細菌科菌群数の平均値の差は約 20 倍あり、切除法が高値であった。回帰直線の決定係数は 0.0115 で、関連性は少なかった。

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

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

ブ法との一般細菌数の平均値の差は約 565 倍あり、切除法が高値であった。回帰直線の決定係数は 0.3079 で関連性は少ないが、例数を重ねることと畜場の衛生管理を把握する内部検証としては、ふき取りでも良いかもしれない。切除法とふき取り法との腸内細菌科菌群数の平均値の差は約 7 倍あり、切除法が高値であった。回帰直線の決定係数は 0.1984 で、関連性は少なかった。切除法とスタンプ法との腸内細菌科菌群数の平均値の差は約 40 倍あり、切除法が高値であった。回帰直線の決定係数は 0.0563 で、関連性は少ないと思われた。

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

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

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

4. 生産農家ごとの和牛の体表の STEC 0157・026 の汚染状況

GI-1 施設の黒毛和種牛体表の拭取り検体の 0157 の陽性率は 8.1% (15/185 検体)、026 の陽性率は 2.7% (5/185 検体) であった。別途、本調査期間と同じ時期に実施した盲腸内容物から分離した STEC 検査では、STEC の分離率は 16.7% (15/90 検体)、STEC 0157 の分離率は 15.6% (14/90 検体)、STEC 026 の分離率は 1.1% (1/90 検体) であった。黒毛和種牛の体表の STEC 0157 の拭取り検査結果 (8.1%) と別途実施した盲腸内容物の検査結果 (15.6%) の有意差は認められなかった。体表の STEC 026 の拭取り検査結果 (2.7%) と盲腸内容物の検査結果 (1.1%) の有意差は認められなかった。糞便中に保菌していると体表にも同様に付着していることが判明した。

農家ごとの保有率の違いは、6 ヶ月連続で陰

性の農家 B、4 回のうち 2 回陽性の農家 A、2 回中 2 回連続陽性になった農家 B0 といった農家もあることから、保有状況は農家ごとに異なっていることが判明した。また、陽性となった農家も採取した月によっては陰性となること、農家 B と農家 G は以前の調査で STEC が検出された農家であるが、今年度は全て陰性であったことから、と畜日により搬入される牛の STEC 保有状況も異なっていると考えられた。一方、7 月の農家 W と農家 AY、9 月の農家 A、農家 X、農家 BJ は同じ運搬車で搬入されることが多い農家であり、係留所でも隣に繋がれていたことから、運搬車又は係留所での交差汚染の可能性を疑った。しかし、5 月に農家 A は陽性であり、同じ運搬車での搬入が多い農家 X、農家 Z は陰性であったこと、10 月に陽性であった農家 B0 と同じ運搬車で搬入されている農家 C は陰性であったことから、運搬車内での交差汚染は頻度としては高くないと推測される。また、係留所での交差汚染が原因であるならば、陽性農家数はさらに多くなりうるため、この可能性も低いと考えられた。

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

培養法で陽性となったものは、スクリーニング検査でも陽性となったものであり、導入した PCR 装置でスクリーニング検査陽性のものを菌分離したときと培養法で実施した場合とで、検出率の違いはなかった。コストと時間の面からも VT 遺伝子の PCR 検査を行わず、最初から 0 抗原遺伝子検査をし、陽性であった検体のみ分離培養に進むのが効率的であると思われた。

5. 黒毛和種牛の体表の汚染状況の把握

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

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

今回、黒毛和種牛体表を、フードスタンプ生菌数用・標準寒天を 600-700 g 圧で 10 秒間押

し当てる採取法（フードスタンプ法）を実施した。5頭の体表検体、計75検体からカンピロバクター、STEC、サルモネラを体表から分離できなかった。体表を採取する方法としては簡易な方法であったが、検出限界値に問題があるかもしれない。

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

6. 枝肉に付着する異物による微生物汚染実態と菌叢解析

本調査において、一般細菌数及び腸内細菌科菌群数は、獣毛、糞便及び消化管内容物それぞれの間で差がなく、同等の汚染があることが細菌学的に示された。

レールダスト及びフットカッター汚れは、両者とも腸内細菌科菌群数は検出限界値以下であり、一般細菌数は差がなかった。これらは最終洗浄後の枝肉の微生物汚染状況にただちに影響をあたえるものではないが異物であり付着させないことが重要であると思われた。

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、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。

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。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。

E. 結論

1. 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

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。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。現在、実施している検査法はスワブ法であった。

2. めん羊枝肉表面の切除法による細菌汚染状況調査

切除法による我が国のめん羊枝肉の成績が初めて示された。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た。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た。

3. スワブ法に代わると畜場内牛枝肉および豚枝肉の内部検証法の検討

切除法は、ふき取り法にくらべて、一般細菌数、腸内細菌科菌群数ともに、常に高値を示していた。EU 規定で最良レベルの衛生的な牛枝肉・豚枝肉を生産していると畜場では、スタンプの一般細菌数を用いること、または、スタンプやふき取りでの腸内細菌科菌群陰性を確認することで、牛枝肉・豚枝肉の細菌検査の内部検証が可能かもしれないことが判明した。

4. 生産農家ごとの和牛の体表の STEC O157・O26 の汚染状況

GI-1 施設に搬入された黒毛和種牛の体表の STEC O157 の拭取り検査結果(8.1% : 15/185 検体)と別途実施した盲腸内容物の検査結果

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

5. 黒毛和種牛の体表の汚染状況の把握

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

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

6. 枝肉に付着する異物による微生物汚染実態と菌叢解析

ゼロトレランス検証に示されている糞便、消化管内容物だけでなく、獣毛からも糞便や消化管内容物と同程度の一般細菌数や腸内細菌科菌群数が検出されることからゼロトレランス検証に加え、獣毛についても、体表に付着していた場合は、トリミングすることが必要であると思われる。また、菌叢解析の結果から、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。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。

F. 健康危険情報

特になし。

G. 研究発表

1. 論文発表

塚本真由美、荻谷俊宏、山崎翔矢、小畑 麗、向島幸司、村瀬繁樹、朝倉 宏、森田幸雄. 2023 年 3 月. 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.

2. 学会発表等

- 1) 山崎翔矢、池田 晃、松岡和代、小畑 麗、荻谷俊宏、向島幸司、塚本真由美、村瀬繁樹、令和 3 年度 岐阜県食肉衛生検査技術研修会、令和 4 年 3 月新型コロナウイルスの流行により書面開催、35 名、岐阜県中央食肉衛生検査所、「令和 3 年度生産農家ごとの牛の志賀毒素産生性 O157 保有状況調査」
- 2) 塚本真由美、荻谷俊宏、山崎翔矢、小畑 麗、向島幸司、村瀬繁樹、令和 3 年度食肉及び食鳥衛生研究発表会、令和 4 年 1 月 15 日～31 日、厚生労働省（東京都千代田区）、一般演題（Web）、「枝肉に付着する異物による微生物汚染実態調査」
- 3) 森田幸雄、岡谷友三アレシヤンドレ、中込就子、佐藤妃恵、小林光士、塚本真由美、朝倉宏、第 164 回日本獣医学会学術集会、令和 3 年 9 月 4 日～6 日、酪農学園大学、一般演題、「黒毛和種牛の体表の汚染状況」
- 4) 森田幸雄、岡谷友三アレシヤンドレ、成田静香、菊池貴子、原 理洋、三好 円、花田 博、黒木重孝、奈須正知、馬場俊行、下郷晶子、第 165 回日本獣医学会学術集会、令和 4 年 9 月 6 日～8 日、麻布大学、一般演題、「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」

H. 知的財産権の出願・登録状況

なし