

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）  
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

総合分担研究報告書  
外部検証プロトコルの妥当性評価に関する研究

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

(\*研究実施期間における所属)

#### 研究要旨

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し 3 つに大別される調査及び検証を行った。1) 牛と体外皮拭き取り検体における衛生指標菌数と病原細菌検出状況の調査では、STEC に高度に汚染された農場から搬入される検体を解析した。2) 豚及び牛と体の外皮拭き取り検体と枝肉切除検体における衛生指標菌数及び病原細菌検出状況の評価では、豚及び牛と体外皮拭き取り検体と外部検証用切除検体を対象として衛生指標菌と病原菌由来遺伝子検出状況との関連を探索し、牛外皮では一般細菌数が  $5 \log \text{cfu/cm}^2$  以上、腸内細菌科菌群数が  $2 \log \text{cfu/cm}^2$  以上を示した検体では腸管出血性大腸菌関連遺伝子が検出される状況が確認された。2) の結果を踏まえ実施した 3) 豚と体及び牛と体の解体工程における衛生指標菌と病原菌関連遺伝子検出状況の評価では、豚と体及び牛と体の解体工程における「剥皮前」と剥皮後の「枝肉」工程間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し病原菌関連遺伝子陽性率も「0」になることが明らかとなった。以上により、対象施設の豚と体及び牛と体解体工程では、剥皮前後の工程における衛生管理が重要であることが示された。

## A. 研究目的

国産食肉・食鳥肉の輸出が拡大され輸出を行うと畜場・食鳥処理場数が増加傾向にある中、我が国の食肉・食鳥肉の安全性を国際標準的に示すことは極めて重要である。本研究では、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した。

令和 2 年度には、特定の農場の牛と体拭き取り検体における衛生指標菌数と腸管出血性大腸菌(STEC)、サルモネラ属菌検出状況を検討した。

令和 3 年度から 4 年度には、複数のと畜上で豚及び牛と体の外皮拭き取り検体と枝肉切除検体における衛生指標菌数及び病原細菌(STEC 及びサルモネラ属菌)検出状況を指標として外部検証プロトコルの実効性を評価した。

令和 4 年度には、上述の成果を踏まえ、剥皮前後の工程における衛生管理の重要性について、「剥皮前」と剥皮後の「枝肉」工程間の衛生指標菌数の推移と病原細菌関連遺伝子検出状況を指標に評価した。

## B. 研究方法

(1) 牛と体外皮拭き取り検体における衛生指標菌数と病原細菌検出

状況の調査

### 1) 検体

東海地方の 5 農場から食肉衛生検査所に搬入された牛と体外皮拭き取り検体 12 検体を対象とした。採材後の検体は冷蔵便にて搬入され、通知(生食発 0528 第 1 号)「と畜検査員及び食鳥検査員による外部検証の実施について」に従い、採材後 48 時間以内に試験に供した。

### 2) 衛生指標菌の検査

滅菌 PBS を用いて、送付された検体の 10 倍階段希釈系列を作製し、通知(生食発 0528 第 1 号)「と畜検査員及び食鳥検査員による外部検証の実施について」に従い、検体中の生菌数及び腸内細菌科菌群数を混釈法にて計測した。一般生菌数は、検体希釈液を混釈した標準寒天培地を 37℃、48±3 時間培養し、生育したコロニー数を計測し算出した。腸内細菌科菌群数は、検体希釈液を混釈した Violet Red Bile Glucose 寒天培地 (VRBG、OXOID) を 37℃、24±2 時間培養し、生育したコロニー数を計測した。オキシダーゼ試験及び糖発酵試験にて腸内細菌科菌群の確認試験を行い、腸内細菌科菌群数を算出した。

### 3) サルモネラ属菌の検査

検体中のサルモネラ属菌は、

ISO6579-1 に従い分離培養を行った。送付された検体を9倍量の緩衝ペプトン水 (BPW)に加え、37℃、18±2 時間、前増菌培養を行った。さらに、Rappaport Vassiliadis 培地 (RVS) 及び Muller-Kauffmann tetrathionate-novobiocin 培地 (MKTn) を用いて選択増菌培養を行った。RVS 培地に接種した検体は42℃、24±3 時間、MKTn 培地に接種した検体は37℃、24±3 時間培養した。選択分離培養として、選択増菌培養液を Xylose Lysine Deoxycholate 寒天培地 (XLD、関東化学) 及びクロモアガーサルモネラ寒天培地に画線塗抹し37℃、24±3 時間培養した。

#### 4) 腸管出血性大腸菌の検査

検体中の腸管出血性大腸菌 (STEC) は、ISO/TS13136 に従いスクリーニング及び分離培養を行った。送付された検体を9倍量のノボビオシン加 mTSB 培地に加え37℃、18 から24 時間増菌培養を行った。増菌培養液からアルカリ熱抽出法によりDNAを調製し、*stx* 及び *eae* 遺伝子を標的としたリアルタイム PCR によるスクリーニングを行った。*stx* 及び *eae* どちらも陽性となった検体は、STEC 主要7血清群のO抗原遺伝子を標的としたリアルタイム PCR に供した。いずれかの血清群に

陽性を示した検体は、陽性となった血清群の免疫磁気ビーズを用いて増菌培養液中の STEC を濃縮し、選択分離培養を行った。7血清群の免疫磁気ビーズは、デンカ株式会社のものを用いた。選択分離培養には Tryptone Bile X-glucuronide 寒天 (TBX) 及びクロモアガーSTEC 寒天培地を用い、免疫磁気ビーズ濃縮液を塗抹し37℃、18 から24 時間培養した。選択分離培地上に生育した STEC が疑われるコロニーは、*stx* を標的としたリアルタイム PCR、O 抗原に対する血清を用いた凝集試験及び Triple Sugar Iron (TSI) 培地、Lysine Indole Motility (LIM) 培地を用いた生化学性状試験により確認試験を行った。

#### 5) 腸管出血性大腸菌の性状解析

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

#### 6) 衛生指標菌数と STEC 分離状況の関連性の解析

検体を STEC の分離陽性及び陰性

の2群に分類し、衛生指標菌数を比較した。2群間の差の検定は、Welch法により行った。統計解析及び、蜂群図・箱ひげ図によるデータの可視化は統計解析システム・環境 R (ver 4.0.4) を用いて行った。

(2) 豚及び牛と体の外皮拭き取り検体と枝肉切除検体における衛生指標菌数及び病原細菌検出状況の評価

#### 1) 検体

北陸～東海地方の3食肉衛生検査所の協力を得て、管轄すると畜場に搬入された豚及び牛の外部検証用検体の残余検体及び外部検証用検体と同一個体(もしくは同一農場)の外皮拭き取り検体について、令和3年9月～令和4年2月までの6ヶ月間に各月5検体ずつの提供を受けた。外部検証の残余検体は、通知法で示される方法(切除法)で採材され、前調整された検体懸濁液として提供を受けた。更に、外皮の拭き取り検体として、以下のように採材された検体の提供を受けた。採材部位を100 cm<sup>2</sup>の拭き取り検査枠(CRF-1010)及び拭き取りスポンジ(ふき取り用ドライスポンジステック SSL100)を用いて300 g/cm<sup>2</sup>以上の圧をかけながら、30秒間縦、横、斜め(左右)の順に各10回拭

き取りを行った。外部検証残余検体の懸濁液及び拭き取り後のスポンジは、冷蔵便で国立医薬品食品衛生研究所へ送付し、採材後48時間以内に試験に供した。

#### 2) 衛生指標菌の試験

検体中の一般細菌数及び腸内細菌科菌群数は、通知法に従い、B.(1)2)と同様に調製した10倍階段希釈系列を、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て測定した。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。切除法により採材された外部検証用検体(枝肉)における衛生指標菌の計測結果は、各施設から提供を受けた。

#### 3) サルモネラ属菌の試験

検体中のサルモネラ属菌は、B.(1)3)と同様の方法で試験した。また、培養法と平行して、前増菌培養液からアルカリ熱抽出法により調製したDNAを用いた、*invA*遺伝子を標的としたリアルタイムPCRを補助的試験として行った。

#### 4) 腸管出血性大腸菌の試験

B.(1)4)と同様の方法で行った。

(3) 豚と体及び牛と体の解体工程における衛生指標菌と病原菌関連遺伝子検出状況の評価

#### 1) 検体

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。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、剥皮前及び枝肉の2工程において腹部から採材した。拭き取りはB.(2)1)と同様に行った。拭き取り後のスポンジは、冷蔵便で国立医薬品食品衛生研究所へ送付し、採材後48時間以内に試験に供した。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

通知法に従い、B.(2)2)と同様に実施した。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

B.(2)3)と同様に調製した、増菌培養液から抽出したDNAを用いて、腸管出血性大腸菌のスクリーニングに使用される *stx* 及び *eae* 遺伝子を標的としたリアルタイムPCRを行った。

### C. 研究結果及び考察

(1) 牛と体外皮拭き取り検体にお

ける衛生指標菌数と病原細菌検出状況の調査

*stx* 及び *eae* 遺伝子を標的としたリアルタイムPCRの結果、3農場から搬入された5検体が *stx* 及び *eae* 陽性であった。これら5検体について、主要7血清群の0抗原遺伝子を標的としたリアルタイムPCRを実施し、陽性となった0抗原の免疫磁気ビーズを用いてSTECの分離培養を試みたところ、0157免疫磁気ビーズを用いた検体からSTECが疑われるコロニーを得、性状解析の結果いずれのSTEC 0157であることが確認された。H型別試験の結果、分離された菌株はいずれも0157:H7であった。特定の農場からは3検体から0157:H7が分離されたが、2検体からの菌株はMLVA法において、全17遺伝子座のリピート数が一致し、もう1検体からの菌株とは12遺伝子座のリピートが異なっていた。STEC汚染の進んだ農場は、由来の異なる複数の菌株に汚染されていることが示された。STECが分離された検体が飼育されていた農場とSTECが分離された検体が飼育されていなかった農場の間で、衛生指標菌数との関連を検討した。STEC分離陰性の農場で飼育されていた検体における一般細菌数の平均値は6.29 log cfu/cm<sup>2</sup>、STEC分

離陽性の農場で飼育されていた検体では  $7.27 \log \text{ cfu/cm}^2$  であった。2 群間の差を Welch 法で検定したところ、 $p$  値は 0.015 であり、有意な差が認められた。同様に腸内細菌科菌群数を比較したところ、STEC 分離陰性の農場で飼育されていた検体の平均値は  $4.19 \log \text{ cfu/cm}^2$  であり、STEC 分離陽性農場で飼育されていた検体の平均値は  $4.65 \log \text{ cfu/cm}^2$  であった。2 群間の差を Welch 法で検定したところ、 $p$  値は 0.187 であった。衛生指標菌数は、STEC を始めとする病原微生物汚染と高い関連性があることが示された。

サルモネラ属菌はいずれの検体からも分離されなかった。

(2) 豚及び牛と体の外皮拭き取り検体と枝肉切除検体における衛生指標菌数及び病原細菌検出状況の評価

1) 豚外皮拭き取り検体及び枝肉における衛生指標菌及び病原細菌試験結果

各施設から提供された切除検体重量について 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ところ、どの施設においても 95%信頼区間から逸脱した検体はなく、適切に採材されてい

たと考えられた。

施設 A では、2021 年 9 月～2022 年 2 月 (11 月と 12 月は 1 度の採材であった) にかけて月あたり 5 と体 (各枝肉及び外皮拭き取り検体) 計 50 検体の提供を受けて試験を行った。外皮拭き取り検体における一般細菌数の平均 ± 標準偏差は  $2.40 \pm 0.66 \log \text{ cfu/cm}^2$ 、腸内細菌科菌群数の平均 ± 標準偏差は  $1.50 \pm 2.92 \text{ cfu/cm}^2$  であった。枝肉における一般細菌数の平均 ± 標準偏差は  $2.40 \pm 0.49 \log \text{ cfu/cm}^2$ 、腸内細菌科菌群数の平均 ± 標準偏差は  $22.88 \pm 107.78 \text{ cfu/cm}^2$  であった。いずれの検体からもサルモネラ属菌及び STEC は分離されなかったが、外皮拭き取り検体では 5 検体 (20.0%) で病原性大腸菌関連遺伝子 (*stx* もしくは *eae*) が陽性であった。

施設 B では、2021 年 9 月～2022 年 2 月にかけて月あたり 5 と体 (各枝肉及び外皮拭き取り検体) 計 60 検体の提供を受けて試験を行った。外皮拭き取り検体における一般細菌数の平均 ± 標準偏差は  $2.30 \pm 0.84 \log \text{ cfu/cm}^2$ 、腸内細菌科菌群数の平均 ± 標準偏差は  $4.20 \pm 6.87 \text{ cfu/cm}^2$  であった。枝肉における一般細菌数の平均 ± 標準偏差は  $1.88 \pm 0.62 \log \text{ cfu/cm}^2$ 、腸

内細菌科菌群数の平均±標準偏差は  $5.53 \pm 4.23$  cfu/cm<sup>2</sup> であった。いずれの検体からもサルモネラ属菌及び STEC は分離されなかったが、外皮拭き取り検体では 2 検体 (6.7%) で病原性大腸菌関連遺伝子 (*stx* もしくは *eae*) が陽性であった。

施設 C では、2021 年 9 月～2022 年 2 月にかけて月あたり 5 と体 (各枝肉及び外皮拭き取り検体) 計 60 検体の提供を受けて試験を行った。外皮拭き取り検体における一般細菌数の平均±標準偏差は  $2.42 \pm 0.83$  log cfu/cm<sup>2</sup>、腸内細菌科菌群数の平均±標準偏差は  $2.07 \pm 4.34$  cfu/cm<sup>2</sup> であった。枝肉における一般細菌数の平均±標準偏差は  $2.57 \pm 0.54$  log cfu/cm<sup>2</sup>、腸内細菌科菌群数の平均±標準偏差は  $6.97 \pm 10.81$  cfu/cm<sup>2</sup> であった。いずれの検体からもサルモネラ属菌は分離されなかったが、外皮拭き取り検体 1 検体 (3.3%) から O103 STEC が分離され、3 検体 (10.0%) で病原性大腸菌関連遺伝子 (*stx* もしくは *eae*) が陽性であった。

3 施設いずれにおいても、外皮拭き取り検体の 1 例を除いて、サルモネラ属及び STEC が分離されなかったことから、豚と体の衛生管理は適切に行われていると思われた。いずれの施設においても、外皮拭き取り

検体及び枝肉間で一般細菌数に有意な差を認めなかったが、これは外皮拭き取りをと体洗浄後に行ったためであると考えられた。しかしながら、病原性大腸菌関連遺伝子は、枝肉からは検出されず、外皮拭き取り検体のみから検出された。このことは、外皮拭き取り検体採取後の枝肉洗浄の工程が、検体からの病原体の除去に一定の効果을及ぼしていることを示唆している。

次に、各施設の外皮拭き取り検体及び枝肉検体を、病原性大腸菌関連遺伝子検出の有無で 2 群に分け、衛生指標菌数との関係について検討した。施設 A 及び施設 B の病原性大腸菌関連遺伝子の検出された外皮拭き取り検体では、病原性大腸菌関連遺伝子陰性検体に比べて、一般細菌数及び腸内細菌科菌群数共に多い傾向にあった。また、豚と体の腸内細菌科菌群数は、検体毎のばらつきが大きく計測された菌数も小さいため、一般細菌数に比べて衛生状態を適切に評価できていないように見受けられた。

また、本研究では、いずれの検体からもサルモネラ属は分離されず、遺伝子も検出されなかった。後述する牛と体に比べ、一般細菌数及び腸内細菌科菌群数も低い値を示し、検体の衛生状態が的確に評価されて

いるか疑問が残った。外皮拭き取りの方法の検証及びサルモネラ属以外の病原細菌を衛生状態の指標として検討することの必要性も示唆された。

2) 牛外皮拭き取り検体及び枝肉における衛生指標菌及び病原細菌試験結果

各施設から提供された切除検体重量について 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ところ、どの施設においても 95%信頼区間から逸脱した検体はなく、適切に採材されていたと考えられた。

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

体では 22 検体（88.0%）で病原性大腸菌関連遺伝子（*stx* もしくは *eae*）が陽性であった。

施設 B では、2021 年 9 月～2022 年 2 月にかけて月あたり 5 と体（各枝肉及び外皮拭き取り検体）計 60 検体の提供を受けて試験を行った。外皮拭き取り検体における一般細菌数の平均±標準偏差は  $4.25 \pm 1.57 \log \text{cfu/cm}^2$ 、腸内細菌科菌群数の平均±標準偏差は  $1.15 \pm 1.80 \log \text{cfu/cm}^2$  であった。枝肉における一般細菌数の平均±標準偏差は  $4.03 \pm 0.66 \log \text{cfu/cm}^2$ 、腸内細菌科菌群数の平均±標準偏差は  $1.26 \pm 0.41 \log \text{cfu/cm}^2$  であった。いずれの検体からもサルモネラ属菌及び STEC は分離されなかったが、外皮拭き取り検体では 10 検体（33.3%）及び枝肉では 1 検体（3.3%）で病原性大腸菌関連遺伝子（*stx* もしくは *eae*）が陽性であった。

施設 C では、2021 年 9 月～2022 年 2 月にかけて月あたり 5 と体（各枝肉及び外皮拭き取り検体）計 60 検体の提供を受けて試験を行った。外皮拭き取り検体における一般細菌数の平均±標準偏差は  $4.84 \pm 1.02 \log \text{cfu/cm}^2$ 、腸内細菌科菌群数の平均±標準偏差は  $1.61 \pm 1.29 \log \text{cfu/cm}^2$  であった。



枝肉における一般細菌数の平均±標準偏差は  $3.03 \pm 0.87 \log \text{cfu/cm}^2$ 、腸内細菌科菌群数の平均±標準偏差は  $0.87 \pm 0.47 \log \text{cfu/cm}^2$  であった。いずれの検体からもサルモネラ属菌及び STEC は分離されなかったが、外皮拭き取り検体では 16 検体 (53.3%) 及び枝肉では 2 検体 (6.7%) で病原性大腸菌関連遺伝子 (*stx* もしくは *eae*) が陽性であった。

豚と体と同様に、3 施設いずれにおいても、サルモネラ属及び STEC が分離されず、外皮拭き取り検体に比べて枝肉では病原性大腸菌関連遺伝子の陽性率が減少していることから、牛と体の衛生管理は適切に行われていると思われた。牛と体では、施設毎に外皮拭き取り検体の採材タイミング及び採材部位が異なっていたが、一般細菌数及び腸内細菌科菌群数いずれも施設間の有意な差は認められなかった。施設 A では、外皮拭き取りをと体洗浄後に行ったにも関わらず、と体洗浄前に採材した他の 2 施設の検体に比べて病原性大腸菌関連遺伝子陽性率が高値を示した。このことから、当該施設においては、病原細菌は分離されなかったものの、洗浄等の工程の見直しが必要であることが示唆された。

次に、牛と体においても、各施設

の外皮拭き取り検体及び枝肉検体を、病原性大腸菌関連遺伝子検出の有無で 2 群に分け、衛生指標菌数との関係について検討した。3 施設とも同様の傾向が認められ、病原性大腸菌関連遺伝子が陽性となった検体では、一般細菌数が  $5 \log \text{cfu/cm}^2$  以上、及び腸内細菌科菌群数が  $2 \log \text{cfu/cm}^2$  以上であり、枝肉では衛生指標菌数の減少と共に病原性大腸菌関連遺伝子が殆ど検出されなくなることが示された。

(3) 豚と体及び牛と体の解体工程における衛生指標菌と病原菌関連遺伝子検出状況の評価

豚と体解体工程の中で、剥皮前の工程としての、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ず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。

以上により、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。

#### D. 結論

(1) 牛と体外皮拭き取り検体における衛生指標菌数と病原細菌検出状況の調査

特定のと畜場に搬入される牛と体外皮拭き取り検体の衛生指標菌数、病原細菌検出状況を調査した。特定の農場から搬入される検体が STEC に高度に汚染されている状況

が明らかとなった。

(2) 豚及び牛と体の外皮拭き取り検体と枝肉切除検体における衛生指標菌数及び病原細菌検出状況の評価

国内の 3 施設で豚と体及び牛と体の外部検証用枝肉切除検体及び外皮拭き取り検体における衛生指標菌数と病原体検査結果の関連について検討した。

豚と体では、全検体サルモネラ属陰性であり、STEC も一例を除いて分離陰性となり、これら施設では豚と体の衛生管理が適切に行われていることが確認された。病原細菌の分離が陰性であったため、病原性大腸菌関連遺伝子 (*stx* 及び *eae*) 検出状況と衛生指標菌数の関連を検討したところ、これら遺伝子の検出された外皮拭き取り検体では、一般細菌数及び腸内細菌科菌群数共に、病原性大腸菌関連遺伝子の検出されなかった検体に比べて多い傾向が認められた。しかしながら、豚と体の外皮拭き取り検体では、牛と体に比べ一般細菌数及び腸内細菌科菌群数共に低い値であり、更にサルモネラ属が全検体で陰性であったことから、衛生状態を適切に評価できているか疑問が残った。豚と体の拭き取り法の検証、更にサルモネラ属以外の病原細菌を衛生状態の

指標として検討することの必要性が示唆された。

牛と体では、サルモネラ属及びSTEC いずれも分離陰性であり、牛と体の衛生管理が適切に行われていることが確認された。病原体分離陰性であったものの、外皮拭き取り検体では病原性大腸菌関連遺伝子が高い割合で検出され、一方枝肉では殆ど検出されなかったことから、これら遺伝子の検出が衛生管理の検証に有用であることが示唆された。病原性大腸菌関連遺伝子陽性となった外皮拭き取り検体では、一般細菌数が  $5 \log \text{cfu/cm}^2$  以上及び腸内細菌科菌群数で  $2 \log \text{cfu/cm}^2$  以上であり、枝肉では衛生指標菌数の減少とともに病原性大腸菌関連遺伝子が殆ど検出されなくなることが示された。

(3) 豚と体及び牛と体の解体工程における衛生指標菌と病原菌関連遺伝子検出状況の評価

前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。豚と体及び牛と体の解体工程における「剥皮前」と剥皮後の「枝肉」工程間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し病原菌関連遺伝子陽性率も「0」になることが明らかとなった。以上により、対象施設の豚と体及び牛と体解体工程では、剥皮前後の工程における衛生管理が重要であることが示された。

#### E. 健康危険情報

なし

#### F. 研究発表

(誌上発表)

なし

(学会等発表)

なし

#### G. 知的所有権の取得状況・登録状況

なし