

# 第 5 章

研 修

及 び

調 査 研 究 等

## 1 技術研修等

研修会等の名称	場所	期間
全国食肉衛生検査所協議会 理化学部会研修会	書面開催	令和4年10月
全国食肉衛生検査所協議会中四国 ブロック会議及び技術研修会	〃	令和4年10月1～28日
全国食肉衛生検査所協議会 微生物部会研修会	〃	令和4年10月
全国食肉衛生検査所協議会 病理部会研修会	〃	令和4年10、11月
食肉及び食鳥肉衛生技術研修会 並びに研究発表会	バーチャル フォーラム 形式	令和5年1月23日 ～2月28日

## 2 講演及び研究発表

年月日	学会等の名称	題名	発表者
令和4年 7月1日	岡山県獣医 公衆衛生学会	冷蔵保管した牛枝肉の温度推移と 重量の関係について	秋山愛理彩
		と畜場における外部検証の成果	片田理志
令和4年 9月3日・4日	獣医学術 中国地区学会	冷蔵保管した牛枝肉の温度推移と 重量の関係について	秋山愛理彩
		と畜場における外部検証の成果	片田理志
令和4年 9月8日～ 10月5日	全国公衆衛生獣 医師協議会 調査研究発表会 (動画形式)	牛腸管に対する過酢酸製剤の 有効性評価について	村上泰之

## 3 調査協力

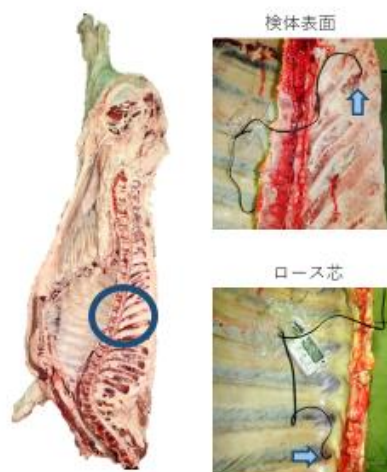
区分	事業名	期間
令和4年度厚生労働省試験検査事業 (国立医薬品食品衛生研究所)	鶏肉製品におけるカンピロバクタ ーの定量的汚染実態に関する調査	令和4年7月 ～12月

### はじめに

令和3年6月から、と畜場においても HACCP に基づく衛生管理が本格的に始まった。管内と畜場の HACCP 計画では、枝肉の冷蔵保管工程を重要管理点（CCP）に設定している。管理基準（CL）は、冷蔵庫内温度を 8℃以下で維持し、一晚保管することと設定しているが、科学的根拠に基づく判断及び指導に苦慮している。今回、冷蔵庫内で保管中の枝肉重量と温度推移の関係について調査し、若干の知見を得たので報告する。

### 材料及び方法

令和3年10月～令和4年5月に廃棄となった牛枝肉のうち、第6-7肋間を切っておらず、他枝肉等へ汚染の影響がない牛枝肉13検体（枝肉重量91.8～260.3kg）を使用した。検体表面温度と第6胸椎付近の胸最長筋中心部（以下、ロース芯）温度について冷蔵庫（設定温度-0.5℃、庫内温度-2～0.5℃）入庫時から翌朝まで、自記温度計を用いて計測した。検体表面温度、ロース芯温度が10℃に到達するまでの所要時間をそれぞれ検体表面冷却時間、ロース芯冷却時間とし、①入庫時検体表面温度と検体表面冷却時間、②入庫時ロース芯温度とロース芯冷却時間、③検体表面冷却時間と枝肉重量、④ロース芯冷却時間と枝肉重量、の各相関性について調査した。



検体表面及びロース芯の測定箇所

### 成績

上記①～④の相関係数はそれぞれ、①0.30 (P=0.388) (表1)、②0.40 (P=0.217) (表2)、③0.31 (P=0.432) (表3)、④0.93 (P<0.01) (表4) となり、④のみ有意な正の相関が認められた。

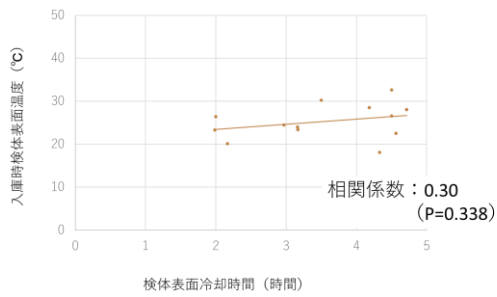


表 1

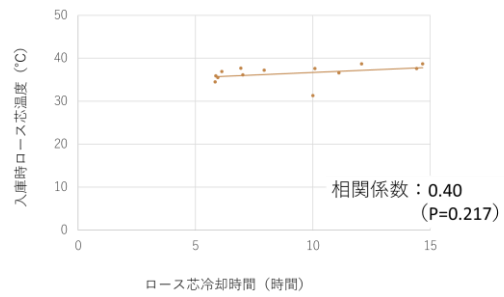


表 2

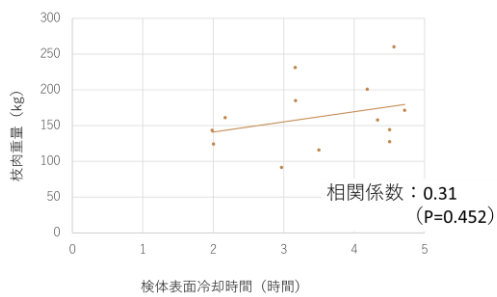


表 3

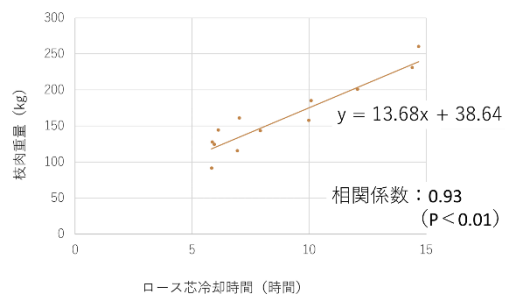


表 4

### 考 察

今回の結果から、④ロース芯冷却時間と枝肉重量には非常に強い正の相関があることが分かり、ロース芯冷却時間 (x) と枝肉重量 (y) について得られた  $y=13.68x+38.64$  という関係式により、枝肉重量からロース芯冷却時間を推定できると示唆された。この式により、現在、管内畜場における枝肉の最短保管時間は約 18 時間であることから、約 285kg までは冷却可能と推定できた。また、285kg を超える枝肉はこの関係式から導かれる十分な保管時間を確保するよう、助言を行った。今後も、冷蔵庫内温度などの他の条件についても調査を行い、その結果を衛生指導の根拠として活用していきたい。

## と畜場における外部検証の成果

○片田理志 白石順也 村上泰之 谷川純子  
藤澤幸平 小川飛鳥 秋山愛理彩

### はじめに

平成 30 年 6 月に、HACCP の導入義務化等を含む食品衛生法等の改正が行われ、その一環として、と畜場の衛生管理や衛生的なと殺・解体作業が行われているかについて「と畜検査員による検査及び試験」（以下、外部検証）を受けるよう、と畜場法施行規則に規定された。本県においても令和 3 年 6 月より管内と畜場の外部検証を実施し、衛生状態が改善される等一定の成果を得たので報告する。

### 実施方法

外部検証は次の 4 項目について実施した。

#### ① 書類検査

と畜場法施行規則第 3 条第 1 項・第 7 条第 1 項に、と畜場の衛生管理や衛生的なと殺・解体方法の基準が定められている。と畜場が定めるマニュアル等（衛生管理マニュアル、作業マニュアル、HACCP 関係書類）の内容が、これらの基準に基づいて適切に作成されているかを確認した。

#### ② 記録検査

と畜場の記録から、衛生管理や現場の作業が適切に行われているか、記録方法が適切か（責任者確認の有無、記入漏れの有無、誤記の有無、訂正が適切であるか等）を確認した。

#### ③ 現場検査

設備や機械器具の管理が適切であるか、と殺・解体作業がマニュアルに基づき適切に行われているか、と畜検査員が現場で直接確認し、不適切な箇所については写真を撮影するなどしてと畜場管理者と情報共有を行った。

施行規則とマニュアルに準拠したチェックシートを作成し、防水加工して現場に持ち込むことで作業状況の確認に役立てた。

#### ④ 微生物試験

衛生状態の客観的な評価のため、最終製品となる枝肉の一部を切除して検体とし、ペプトン水を加えてストマッキングしたのちにペトリフィルムを用いて培養し、一般細菌数（AC）、腸内細菌科菌群数（EB）を測定した。

上記 4 項目について、月に 1 度、1 週間をかけて実施した。なお、現場検査の一部（衛生的なと殺・解体）については原則毎日実施した。

終了後、不適合であった点を指摘文書としてと畜場管理者に交付し、改善措置報告書の提出を求めた。

## 結果

### ① 書類検査

外部検証開始時点では、マニュアル等が定められているものの、施行規則の基準からみて十分な記述がない箇所、実際の作業内容や記録と一致しない箇所があった。

R3年6月からR4年1月にかけて継続的に指導を行い、マニュアルの改訂を促した結果、基準に基づいた衛生管理が可能になるよう整備できた。

### ② 記録検査

外部検証開始時点では、責任者による確認の不足や不適切な記録の取り方、マニュアルと記録名の不一致等の問題があったが、継続的に指導を行い、R4年3月以降不適事項のない状態を維持できるようになった。

### ③ 現場検査

外部検証開始時点と比較し、場内の不要物の撤去（図1）や故障した設備の修理・交換が進み、より衛生的な作業環境となった。



図1：場内の不要物撤去

また、作業がマニュアルに従い衛生的に行われているかを確認する作業中点検においても、月ごとのばらつきはあるものの、不適事項の割合は減少傾向を示した（図2）。

一方で、一部の不要物や作業終了後の清掃不足等、繰り返し指摘しても改善の進まない項目も存在した。これらの改善のため、作業終了後にと畜場管理者と合同で場内を確認し、その場で指摘を行う取組みを新たに行うこととした。

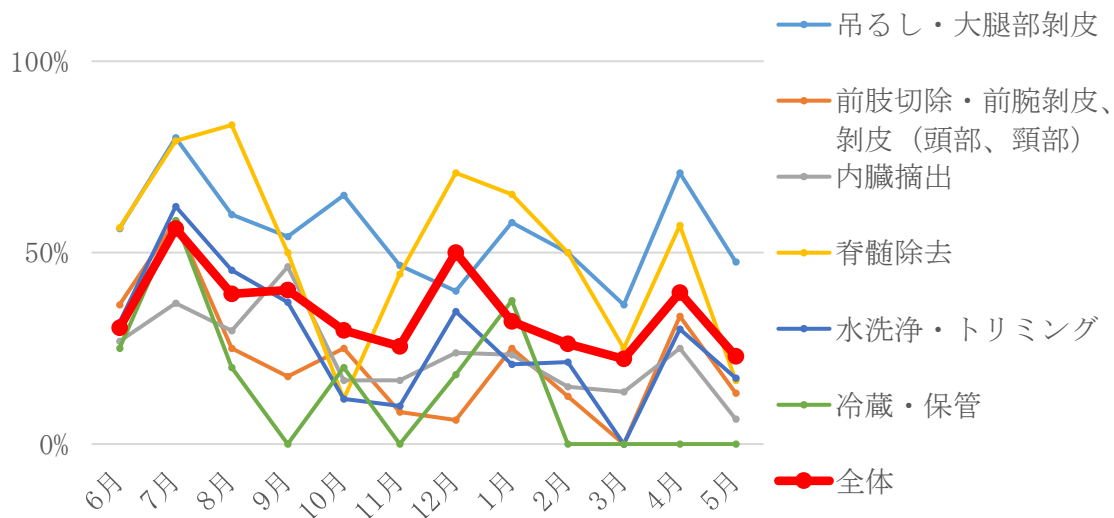


図2：作業中点検における工程別不適事項割合

④ 微生物試験

牛枝肉においては、AC・EBともに月毎、検体毎のばらつきが大きく、外部検証開始時と比べて明確な改善は見られなかった(図3)。

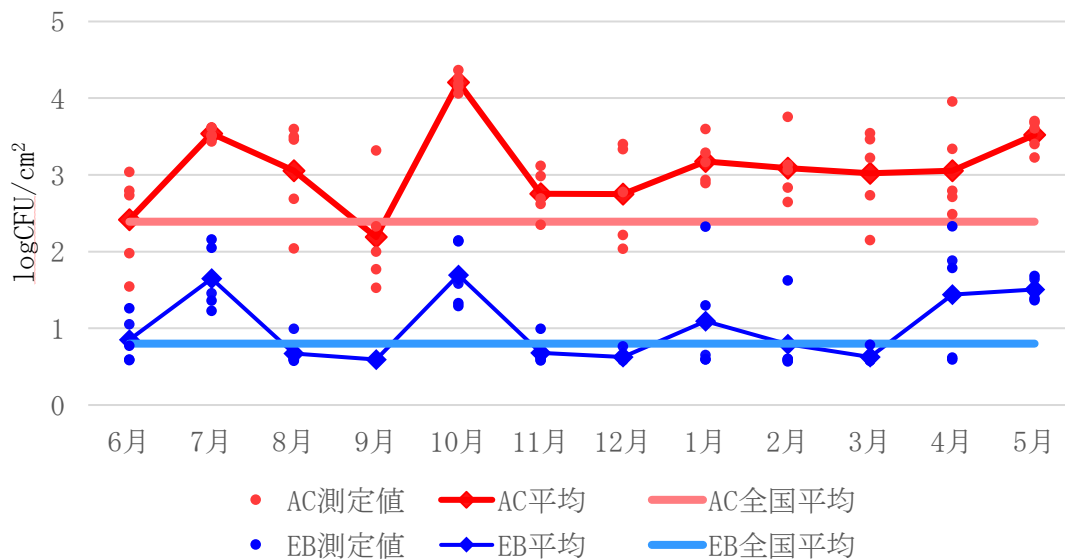


図3：牛枝肉の微生物試験結果

豚枝肉においては、R4年2月以前、ACの成績が全国平均と比較して高い状態が続いていた(図4)。このため、以前から牛枝肉に対しては行っていた次亜塩素酸水による洗浄工程を導入するよう助言し、R4年3月の導入以降ACは有意に減少した(図5)。EBは検出限界付近のため有意な減少は認められなかったものの、良好な成績を維持した。

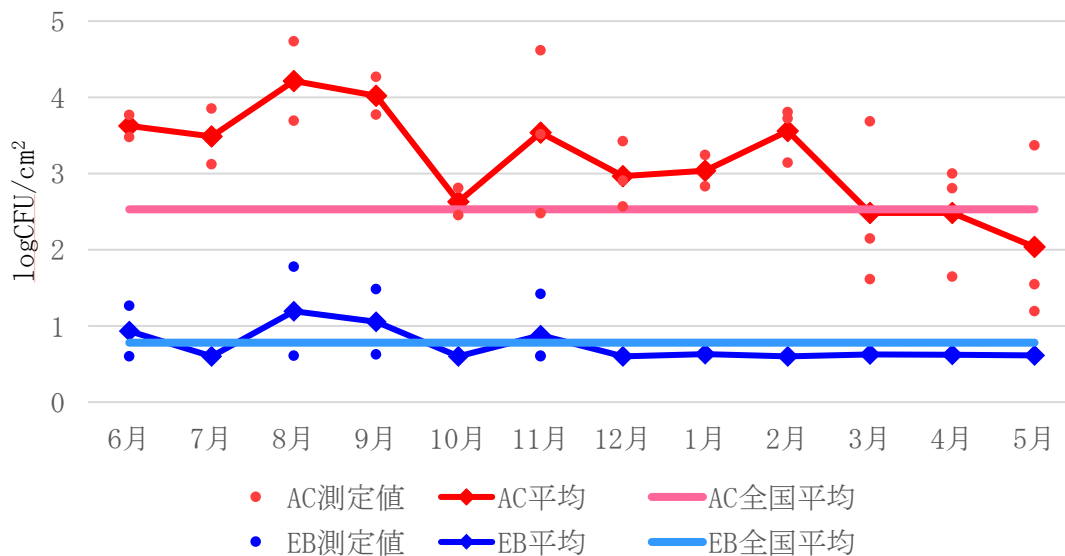


図 4：豚枝肉の微生物試験結果

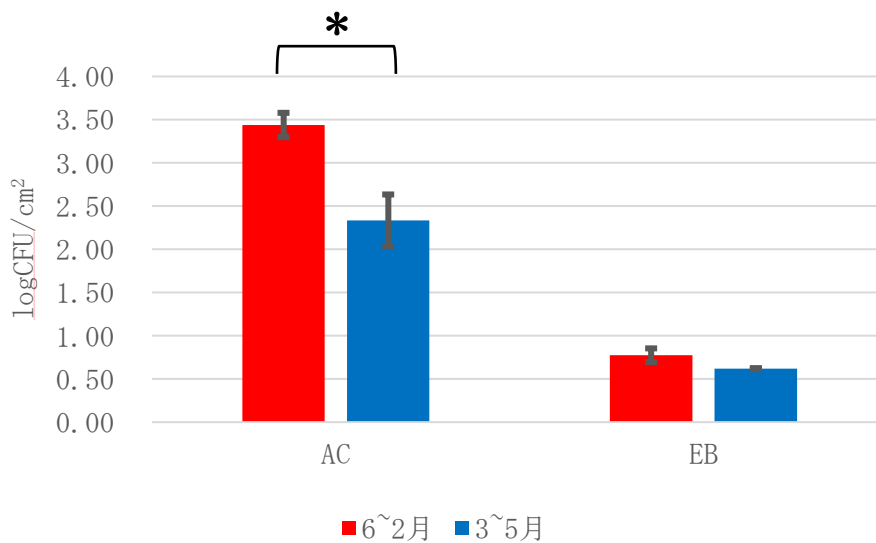


図 5：次亜塩素酸水導入による豚枝肉微生物試験結果の変化

#### まとめ

外部検証の実施により、マニュアルの改定・整備、記録の適正化、衛生管理及び作業の改善等、書類・記録・現場の各検査で多くの成果を得ることができた。これらの結果は微生物試験成績の改善には直接結びつかなかったが、試験成績に基づく助言によって豚枝肉の試験成績には改善が見られた。今後は、依然不適の状態にある事項の改善に向けて指導を継続するとともに、微生物試験結果の改善に結びつくよう、衛生的な作業手順の確立等に取り組み、食肉の衛生水準のさらなる向上に努めたい。



## 牛腸管に対する過酢酸製剤の有効性評価について

岡山県食肉衛生検査所 ○村上泰之、片田理志、秋山愛理彩

### 1 はじめに

過酢酸製剤は、平成 28 年 10 月から食品添加物として食肉等の表面の殺菌目的で用いることが認可されている。残留性がなく有機物により失活しにくいことから、腸管等の内臓肉の細菌制御においても有効性が期待されるが、国内と畜場における牛腸管への利用例は報告されておらず、その効果は明らかではない。



当所所管のと畜場における腸管の処理は、腸管洗浄機で切開しながら洗浄したものを氷水に 1 時間浸漬し、よく水を切ったのちに冷蔵庫（実測値 0~4°C）で一晩保管する（第 1 図）。この 1 時間浸漬に過酢酸製剤を用いた場合の有効性について調査したのでその概要を報告する。

第 1 図 牛内臓の処理フロー

### 2 材料及び方法

#### ① 細菌数検査

令和 3 年 4 月～令和 4 年 7 月に採材した牛結腸を検体とした。牛結腸を水道水で洗浄し、約 2cm×5cm の冊状に細切したものを、4°C、30~1800ppm の過酢酸製剤（パーサン MP2-J、エンビロテックジャパン(株)）に 1 時間浸漬し、水切り後に冷蔵庫で 4°C、24 時間保存した。冷蔵保存後に滅菌ペプトン水 20ml でストマッキング処理を行い、ペトリフィルム（3M）を用いて処理液中の一般細菌数（AC）及び腸内細菌科菌群数（EB）を定法に従い培養、測定後、検体 1g 当たりの平均菌数を算出した。対照群として、過酢酸を含まない 4°C の冷水に 1 時間浸漬したものをを用いた。

#### ② 色調変化調査

上記①で用意した冊状の結腸の半分を 4°C、30~1500ppm の過酢酸製剤に 30 秒~1 時間浸漬し、浸漬しなかった部分との色差を求めた。撮影にはデジタルカメラ、病理撮影台を用い、焦点距離、絞り、速度、感度、光源位置、ホワイトバランスがなるべく同一となるよう調整し、ImageJ(NIH)を用いて L(明度)a(赤紫~青緑)b(黄~青)値を出し、色差(Lab 座標間の距離)を算出した。

### 3 成績

#### ① 細菌数検査（第 1,2 表、第 2 図）

結腸の微生物汚染状況（対照群の平均菌数）を第 1 表に示す。

過酢酸製剤処理について、一般細菌数では、浸漬処理 30、160ppm において、未処理に比べて一

一般細菌数の有意な減少はみられなかったが、濃度を増加させると、有意な減少傾向が認められた。

また、腸内細菌科菌群では、浸漬処理 30~300ppm において、未処理に比べて有意な減少はみられなかったが、濃度を増加させると、有意な減少傾向が認められた。

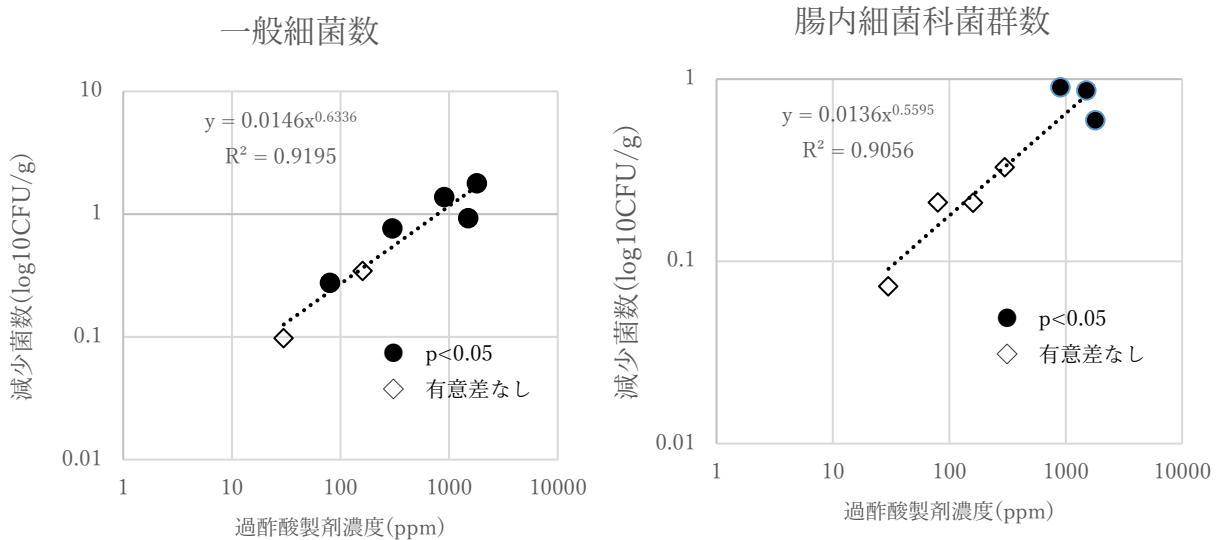
一般細菌、腸内細菌科菌群とも濃度に比例して指数関数的な減少を示しており、回帰式はそれぞれ  $y = 0.0146x^{0.6336}$  ( $R^2 = 0.92$ ,  $p < 0.01$ )、 $y = 0.0136x^{0.5595}$  ( $R^2 = 0.91$ ,  $p < 0.01$ ) と推定された。

一般細菌数		腸内細菌科菌群数	
平均菌数 (log10CFU/g)	標準偏差	平均菌数 (log10CFU/g)	標準偏差
4.59	0.74	1.91	0.99

第 1 表 結腸の微生物汚染状況

濃度 (ppm)	一般細菌数平均(log10CFU/g) (標準偏差)				腸内細菌科菌群数平均(log10CFU/g) (標準偏差)			
	処理前	処理後	菌数差	有意差 ( $p < 0.05$ )	処理前	処理後	菌数差	有意差 ( $p < 0.05$ )
30	4.00 (0.53)	3.90 (0.59)	0.10		1.12 (0.62)	1.05 (0.66)	0.07	
80	4.71 (0.52)	4.44 (0.67)	0.27	○	1.72 (0.69)	1.51 (0.92)	0.21	
160	5.19 (0.73)	4.85 (0.84)	0.34		2.26 (0.59)	2.05 (0.61)	0.21	
300	3.85 (0.55)	3.08 (0.75)	0.77	○	1.71 (0.87)	1.38 (0.96)	0.33	
900	4.55 (0.4)	3.17 (0.94)	1.38	○	1.64 (0.73)	0.73 (0.40)	0.91	○
1500	3.93 (0.74)	3.00 (0.63)	0.93	○	3.33 (0.83)	2.46 (0.55)	0.87	○
1800	4.79 (0.67)	3.01 (1.42)	1.78	○	1.03 (0.86)	0.44 (0.56)	0.59	○

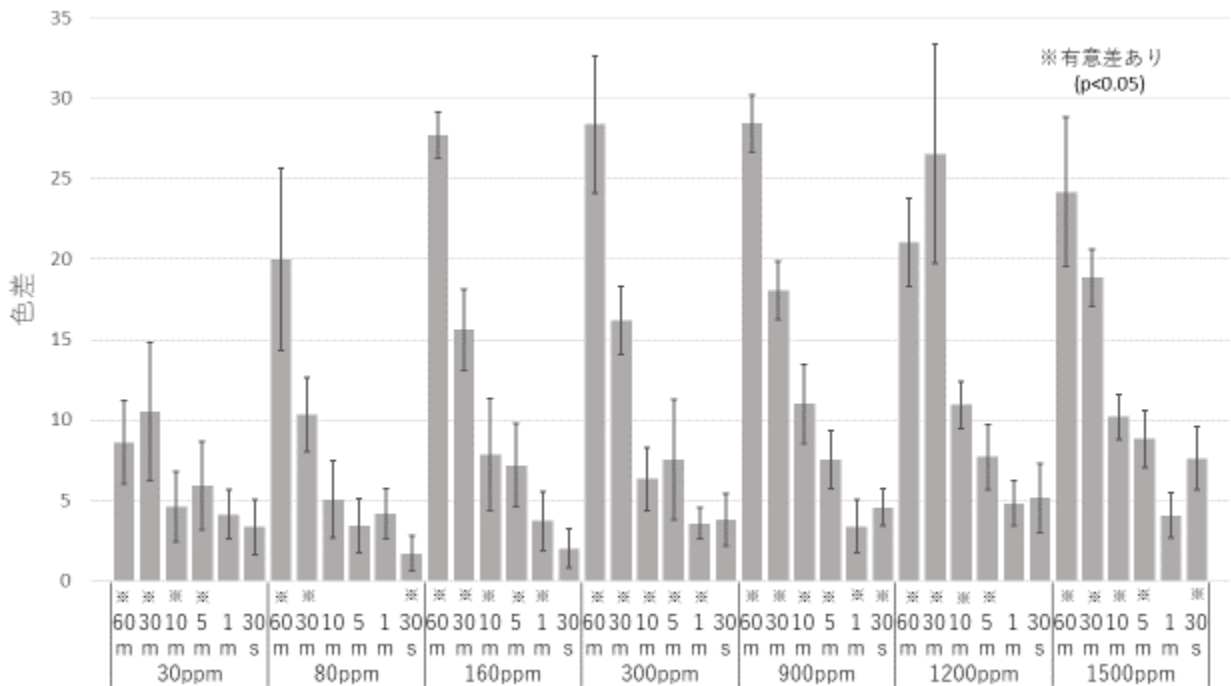
第 2 表 過酢酸製剤濃度と減少菌数



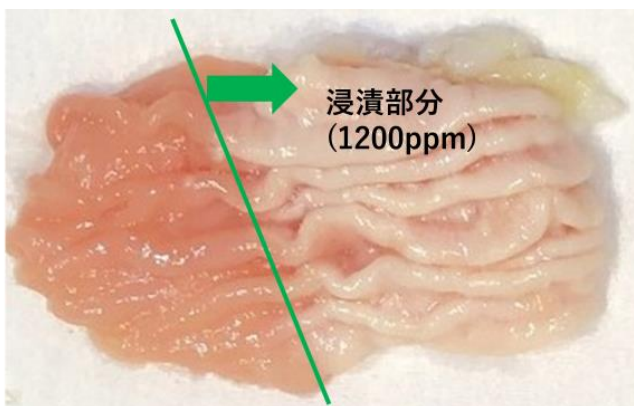
第2図 過酢酸製剤濃度と減少菌数の関係図

② 色調変化調査 (第3図)

過酢酸製剤処理によって著しい色調変化を生じることがわかった。色差は、濃度や時間に依存して大きくなっていった。多くの場合で、未処理部分との有意差がなくなるのは浸漬時間が1分以下の場合であり、1時間の浸漬では、色調の違いがはっきりと分かることが認められた。



第3図 過酢酸製剤処理の色差平均



また、高濃度過酢酸製剤に浸漬後の検体を撮影する際、結腸内膜の襞内に、過酢酸が反応していない部位が高頻度に認められた(第4図)。これは、襞の間に存在する粘稠性の高い腸液によるものと考えられた。

第4図 1200ppm30分浸漬例  
襞の間の色調に変化がない

③ エアレーションによる改善効果の確認 (第3表)

腸管表面の腸液、結合織、脂肪組織などの影響で、局所の過酢酸濃度が低下するものと思われたので、エアレーションで改善できるか検討を行った。エアレーションは観賞魚用のポンプ(GEX 1000SB、空気吐出毎分0.6L)を用い、条件は①と同様に過酢酸製剤濃度30、80、160ppm、1時間

浸漬、24 時間冷蔵とした。エアレーションをしなかった場合に比べ、一般細菌、腸内細菌科菌群とも減少させることができたが、80ppm 以外では有意差はなかった。

濃度 (ppm)	一般細菌数平均(log10CFU/g) (標準偏差)				腸内細菌科菌群数平均(log10CFU/g) (標準偏差)			
	処理前	処理後	菌数差	有意差 (p<0.05)	処理前	処理後	菌数差	有意差 (p<0.05)
30	4.00 (0.53)	3.90 (0.59)	0.10		1.12 (0.62)	1.05 (0.66)	0.07	
+ エアレーション	4.00 (0.53)	3.69 (0.53)	0.31		1.12 (0.62)	0.93 (0.45)	0.19	
80	4.71 (0.52)	4.44 (0.67)	0.27	○	1.72 (0.69)	1.51 (0.92)	0.21	
+ エアレーション	3.95 (0.55)	3.13 (0.49)	0.82	○	1.22 (0.24)	0.67 (0.26)	0.55	○
160	5.19 (0.73)	4.85 (0.84)	0.34		2.26 (0.59)	2.05 (0.61)	0.21	
+ エアレーション	4.97 (0.50)	4.14 (0.22)	0.83		2.91 (0.35)	2.71 (0.18)	0.2	

第3表 エアレーションによる微生物低減効果

#### 4 考察

当所では、過酢酸製剤が有機物存在下でも失活しにくい特徴に着目し、腸管の微生物汚染を低減できるか検討を行ってきた。

昨年度、今回と同じ条件下で、80ppm での効果を検証したところ、一般細菌数は  $0.15\log_{10}\text{CFU/g}$  (有意差なし)、腸内細菌科菌群数では  $0.13\log_{10}\text{CFU/g}$  (有意差なし) の低減が認められた[1]。

さらなる効果を求め、今回様々な濃度条件下で検証した。まず結腸の水洗、24 時間冷蔵保管後の一般細菌数は  $4.59\log_{10}\text{CFU/g}$  (SD:0.74)、腸内細菌科菌群数は  $1.91\log_{10}\text{CFU/g}$  (SD:0.99) だった。過酢酸製剤に 1 時間浸漬という、比較的強い殺菌処理条件でも低減効果は薄く、使用基準上限濃度の 1800ppm で、一般細菌数は  $1.78\log_{10}\text{CFU/g}$  ( $p<0.05$ ) の低減にとどまった。

試験中に、高濃度過酢酸浸漬後も腸管内面にほとんど色調に変化のない部位が存在することが分かった。腸粘膜の襞と、粘稠性の高い腸液に囲まれており、こうした状態が殺菌効果を阻害し、成績にばらつきをもたらす要因と考えられた。

過酢酸製剤が有機物で失活しにくいとはいえ、水の動きがない場合は局所的に過酢酸濃度が低下しているのではと考え、エアレーションを行ってみたところ、若干の改善を見ることができた。

今回の試験結果から、エアレーションなどで処理液に動きを与えることで、殺菌効果を高める可能性が唆されたものの、過酢酸による腸管の殺菌効果は極めて限定的で、色調変化の面からも有効な手段とは考えにくいことが分かった。

(参考文献)

- [1]牛腸管に対する過酢酸製剤の殺菌効果について、岡山県食肉衛生検査所、令和3年度岡山県獣医三学会 抄録集 p.23

## 鶏肉製品におけるカンピロバクターの定量的汚染実態に関する調査

食鳥処理中の食鳥肉の汚染実態調査は実施されていたが、市場に流通する直前の鶏肉製品における汚染実態調査は実施されていなかった。そこで、厚生労働省の試験検査事業である「鶏肉製品におけるカンピロバクターの定量的汚染実態に関する調査」に協力し、県内1か所の検査対象食鳥処理施設（ブロイラー）で製造された出荷前段階にある鶏肉包装製品を使用して調査した結果についてまとめた。

### 1. 検査期間及び検体

- ・検査期間は令和4年6月から令和4年12月までの7か月間  
(12月分は鳥インフルエンザの影響で実施できなかったため、1月に実施)
- ・毎月1回、鶏肉包装製品（皮付きモモ肉2kg・冷蔵）を5検体、全部で35検体を調査

### 2. 検査方法

検査については、通知により指定された方法に従って実施した。

- ①包装製品の皮部分を偏りなく25g採材し、細切後に100mLの緩衝ペプトン水（BPW）を加えてストマッカーで均質化し、得られた試料懸濁液1mLを5枚の選択分離寒天培地（CHROMagar Campylobacter 培地）へ200mLずつ分注・塗抹し、48時間微好気培養を行う。
- ②微好気培養後、定型集落（上述の培地上では赤色を呈する集落）を計数すると共に、定型集落を最大で5集落（1検体あたり）を釣菌し、24時間微好気で増菌培養を行う。
- ③増菌培養後、表1のプライマーを用い、表2の反応条件に従って確認試験（PCR）を実施し、カンピロバクターの陽性率や菌種を確認する。
- ④選択分離培地上に発育した定型集落数や確認試験陽性率（確認試験陽性集落数/供試集落数）から検体1gあたりのカンピロバクター・ジェジュニ/コリの菌数を算出する。

【表1】

対象菌種 (対象遺伝子)	プライマー	配列 (5' — 3')	増幅サイズ (bp)
<i>C. jejuni</i> ( <i>hipO</i> )	CJF	ACT TCT TTA TTG CTT GCT GC	323
	CJR	GCC ACA ACA AGT AAA GAA GC	
<i>C. coli</i> ( <i>glyA</i> )	CCF	GTA AAA CCA AAG CTT ATC GTG	126
	CCR	TCC AGC AAT GTG TGC AAT G	
<i>Campylobacter</i> spp. (23S rRNA)	23SF	TAT ACC GGT AAG GAG TGC TGG AG	650
	23SR	ATC AAT TAA CCT TCG AGC ACC G	

【表 2】

反応工程	サイクル数	反応条件（温度・時間）
①	1	95 °C 6分
②	30	95 °C 30秒、60 °C 30秒、72 °C 30秒
③	1	72 °C 7分
④	1	4 °Cまで急冷

## 3. 結果

	6月	7月	8月	9月	10月	11月	1月	計
陽性率	5/5	0/5	5/5	0/5	0/5	0/5	5/5	15/35
検出菌種	<i>C.jejuni</i>		<i>C.jejuni</i> <i>C.coli</i>				<i>C.jejuni</i>	
菌数 (CFU/g)	40~95		10~320				15~50	

- ・ 35 検体中 15 検体がカンピロバクター陽性（43%）
- ・ 確認試験を実施した 71 集落中 67 集落がカンピロバクター陽性  
67 集落の菌種
 

[	60 集落：カンピロバクター・ジェジュニ（90%）
]	7 集落：カンピロバクター・コリ（10%）
- ・ カンピロバクター陽性となった検体における菌数は、10~320 CFU/g
- ・ 不検出月の処理日の鶏群に特定農場の鶏群が含まれていたが、検出月の処理日には含まれていなかった。

## 4. まとめ

今回調査した包装製品については、カンピロバクターの汚染状況は 43%であり、そのほとんどがカンピロバクター・ジェジュニによる汚染であった。菌数については最大で 320 CFU/g であった。