

別添 1：と畜場法施行規則第 3 条第 6 項又は第 7 条第 5 項に基づくと畜検査員による検査又は試験について

1 用語の定義

この通知において、用語の定義は次に定めるところによる。

(1) 外部検証

と畜場法施行規則第 3 条第 6 項又は第 7 条第 5 項に基づきと畜検査員が実施する、衛生管理計画及び手順書の確認並びに施設の衛生管理の実施状況の確認

(2) 衛生管理計画

と畜場法施行規則第 3 条第 5 項又は第 7 条第 4 項に基づき、食品衛生上の危害の発生の防止のためにと畜場の設置者、管理者若しくはと畜業者等（以下「と畜場の設置者等」という。）が作成する、施設の衛生管理又は獣畜のとさつ若しくは解体の工程に関する衛生管理計画

(3) 手順書

と畜場法施行規則第 3 条第 5 項又は第 7 条第 4 項に基づき、食品衛生上の危害の発生の防止のためにと畜場の設置者等が作成する、と畜場の施設設備、機械器具の構造及び材質並びに獣畜の肉、骨、臓器、血液等を取り扱う工程の衛生管理その他公衆衛生上必要な措置を適切に行うための手順書

(4) 記録検査

と畜検査員が外部検証として実施する、と畜場の設置者等が衛生管理計画及び手順書に従い作成した衛生管理の実施記録の内容の確認

(5) 現場検査

と畜検査員が外部検証として実施する、と畜場の従事者等が衛生管理計画及び手順書に従い行くと畜場の衛生管理及び衛生的なとさつ・解体の実施状況の作業現場における直接確認

(6) 改善措置

と畜場法施行規則第 3 条第 2 項又は第 7 条第 2 項に基づきと畜場の設置者等が設定する、個々の重要管理点において、モニタリングの結果、管理基準を逸脱したことが判明した場合の措置。改善措置には製品に対する措置と工程や衛生管理に対する措置が含まれる。

(7) 内部検証

と畜場法施行規則第 3 条第 2 項又は第 7 条第 2 項に基づきと畜場の設置者等が実施する、重要管理点又はその他の工程における管理措置、管理基準、モニタリング及び改善措置が食品衛生上の危害の発生の防止に効果的であることの定期的な確認

(8) 指摘文書

と畜検査員による記録検査及び現場検査の結果、不適合となる項目がある場合に衛生管理責任者又は作業衛生責任者（以下、「衛生管理責任者等」という。）を通じて、と畜場の設置者等に対し、その項目を通知するための文書

2 と畜検査員の役割

と畜場の設置者又は管理者は、と畜場法施行規則第3条第6項に基づき、同条第5項に基づき作成する同条第1項第24号の衛生管理計画及び手順書が食品衛生上の危害の発生を防止する目的において科学的に妥当であり、施設の衛生管理が衛生管理計画及び手順書に基づき適切に行われていることについて外部検証を受けることが求められている。

また、と畜業者等は、と畜場法施行規則第7条第5項に基づき、同条第4項に基づき作成する同条第1項第18号の衛生管理計画及び手順書が食品衛生上の危害の発生を防止する目的において科学的に妥当であり、施設の衛生管理が衛生管理計画及び手順書に基づき適切に行われていることについて、外部検証を受けることが求められている。

と畜場を管轄する都道府県等においては、食品衛生法第24条に基づき作成及び実施する都道府県等食品衛生監視指導計画で、厚生労働大臣が示す食品衛生に関する監視指導の実施に関する指針に従い、と畜場法第6条に基づくと畜場の衛生管理の基準及び同法第9条に基づくと畜業者等の講ずべき衛生措置の基準への適合を確認することとされている。

都道府県等は、上記の規定を適切に運用するため、本通知に示される方法を参考に、管轄すると畜場の衛生管理の実態に応じた外部検証を実施するための、と畜場ごとの外部検証実施計画を策定する。

と畜検査員は、外部検証実施計画に基づき、以下の項目を検査又は試験することにより、と畜場の設置者等が作成する衛生管理計画及び手順書の効果について外部検証を実施する。

- (1) と畜場の設置者等が作成する衛生管理計画及び手順書の確認
- (2) と畜場の設置者等による衛生管理の実施記録の確認及び現場での実施状況の確認
- (3) 衛生指標菌を用いた微生物試験の実施

3 外部検証の対象

と畜場法第6条に基づくと畜場の衛生管理の基準、同法第9条に基づくと畜業者等の講ずべき衛生措置の基準の遵守状況その他と畜場法に基づくと畜場に

における衛生管理の実施状況を確認するため、以下の事項を対象に外部検証を実施する。

- (1) と畜場の構造設備、機械器具、使用水、排水、不可食部分を含む廃棄物、薬品・洗浄剤、ねずみ・昆虫対策等
- (2) 生体、とさつ・解体中のとたい、枝肉、内臓等の最終製品
- (3) とさつ・解体工程及び衛生管理に携わると畜場の従事者
- (4) 衛生管理計画、手順書、衛生管理の実施記録、従業員の衛生教育実施記録その他関連文書

4 外部検証で確認する事項（微生物試験を除く。）

(1) 衛生管理計画及び手順書

- ① と畜検査員は、と畜場の設置者又は管理者が作成する衛生管理計画及び手順書が、と畜場施行規則第3条に規定する施設の衛生管理、設備等の衛生管理、使用水等の管理、薬品・洗浄剤等の管理、ねずみ・昆虫対策、廃棄物及び排水の取扱いその他の衛生管理の基準、並びにと畜場の従事者の衛生管理その他のと畜場の衛生管理の基準に基づき、当該と畜場の実際の構造設備やとさつ・解体工程を考慮して作成され、かつ最新の状況を踏まえて適切に維持・更新されているか確認する。
- ② と畜検査員は、と畜場の設置者等が作成する衛生管理計画及び手順書が、と畜場法施行規則第3条に規定する生体の取扱いの基準及び同規則第7条に規定する放血、頭部の処理、とたいの剥皮、乳房の切除、内臓の摘出、背割り、枝肉の洗浄、内臓の処理又は冷却その他のと畜業者等が講ずべき衛生措置の基準に基づき、当該と畜場の実際の構造設備やとさつ・解体工程を考慮して作成され、かつ最新の状況を踏まえて適切に維持・更新されているか確認する。
- ③ と畜検査員は、と畜場の設置者等が作成する衛生管理計画及び手順書について、以下の事項に留意して確認する。
 - ア 生体の搬入、とさつ・解体の各工程において、発生するおそれがある危害要因、当該危害要因の発生を防止するための管理措置及び重要管理点を含む危害要因分析表が適切に作成されていることを確認する。また、危害要因分析表には、各危害要因、管理措置及び重要管理点を設定した科学的理由・根拠が参考文書として添付されていることを確認する。
 - イ 重要管理点における管理基準、モニタリングの内容及びその頻度、管理基準に適合していない場合に講じられる製品及び工程等の改善措置、重要管理点が適切に管理されていることの検証の内容及びその頻

度、重要管理点の記録様式が適切に作成されていることを確認する。
これらには、設定の科学的理由・根拠が参考文書として添付されていることを確認する。

ウ 危害要因分析や重要管理点の設定に際しては、衛生管理計画及び手順書の実施により、特に、とさつ・解体工程において、腸管出血性大腸菌0157（牛）、サルモネラ属菌（豚）等の病原微生物汚染の原因となる糞便、腸管内容物、乳汁、外皮等によるとたい、枝肉等への直接の汚染及び洗浄消毒されていない従事者の手指、エプロン、靴、構造設備等からの交差汚染の適切な防止が確保されることを確認する。

(2) と畜場の衛生管理の実施状況（と畜場法第6条関連）

- ① と畜検査員は、と畜場の設置者又は管理者が衛生管理計画及び手順書に従い、適切な衛生管理を毎回漏れなく実施していることを確認するため、別表1を参考に、と畜場の設置者又は管理者による（1）①に関連する一般衛生管理の点検結果、同②に関連する生体の取扱いの点検結果及び同③に関連する重要管理点のモニタリング結果等の記録の内容を確認する。
- ② と畜検査員は、別表1を参考に、（1）①から③までに関連する一般衛生管理の実施状況、生体の取扱い及びと畜場の構造設備や機械器具等の状態について、管理や作業の現場に出向いて、それらの状況を直接観察して確認する。
- ③ と畜検査員は、と畜場の設置者及び管理者が、衛生管理計画及び手順書に基づいた衛生管理を行われるよう、と畜場の衛生管理に従事するものに対して衛生管理に必要な教育訓練を実施していること及びその効果について定期的に検証を行い、必要に応じて教育内容の見直しを行っていることを記録等により確認する。

(3) と畜業者等が講ずべき衛生措置（と畜場法第9条関連）

- ① と畜検査員は、と畜業者等が衛生管理計画及び手順書に従い、適切な衛生管理を毎回漏れなく実施していることを確認するため、別表1を参考に、と畜業者等による（1）②に関連する一般衛生管理の点検結果及び同③に関連する重要管理点のモニタリング結果等の記録の内容を確認する。
- ② と畜検査員は、別表1を参考に、（1）②及び③に関連するとさつ・解体の各作業の実施状況及びとたいや枝肉の状態について、管理や作業の現場に出向いて、それらの状況を直接観察して確認する。
- ③ と畜検査員は、と畜業者等が、衛生管理計画及び手順書に基づいた衛生管理が行われるよう、その従業員に対して衛生管理に必要な教育訓練を実施していること及びその教育訓練の効果について定期的に検証を行い、必

要に応じて教育内容の見直しを行っていることを記録等により確認する。

(4) 内部検証の実施状況

と畜検査員は、上記(1)から(3)について、内部検証が適切に実施されていることを記録等により確認する。

5 外部検証の実施頻度（微生物試験を除く。）

(1) 外部検証の頻度は、記録検査については月1回以上、現場検査については、下表を参考に、原則毎日実施するものとする。施設の規模や操業状況等の理由により、1日の現場検査で全ての事項の検証を行えない場合は、1日の現場検査で確認する事項や確認する場所を分割して行うなど、適切な検証の実施を確保する。下表中、「衛生的なとさつ・解体」については、頻度を上げて重点的に実施する。

現場検査の事項	実施時期	
	作業開始前	作業中
施設の衛生管理	○	○
設備等の衛生管理	○	○
薬品・洗浄剤等の管理	○（どちらかで最低1回実施）	
使用水等の管理	○（どちらかで最低1回実施）	
ねずみ・昆虫対策	○（どちらかで最低1回実施）	
廃棄物及び排水の取扱い	○（どちらかで最低1回実施）	
その他（従事者の衛生管理等）	○（どちらかで最低1回実施）	
生体の取扱い	○（どちらかで最低1回実施）	
衛生的なとさつ・解体	-	○
枝肉の冷蔵保管状況	-	○
頭部・内臓の取扱い	-	○

(2) 以下の場合、と畜検査員はその都度、外部検証を実施する。

- ① とさつ・解体工程の変更、施設の構造設備の変更等に伴い衛生管理計画及び手順書の内容に大きな変更があった場合
- ② 食中毒の発生、病原微生物による枝肉等の深刻な汚染又はそれらを疑う事案の発生、過去の外部検証の結果等から、と畜場の衛生管理に問題があるとと畜検査員が判断して、衛生管理の実施状況を重点的に確認する必要がある場合

6 外部検証における留意点（微生物試験を除く。）

- (1) と畜検査員は、4 (1) ①及び②に基づく衛生管理計画及び手順書の確認をした際、これらの文書が、実際の設備構造及び工程並びに最新の状況を反映していない場合は、速やかにその内容を更新するよう、衛生管理責任者等を通じ、と畜場の設置者等に対し、文書により指導する。
- (2) と畜検査員は、当該施設の衛生管理計画及び手順書を熟知した上で、記録検査及び現場検査を行い、と畜場の衛生管理及びと畜業者等が講ずべき衛生措置がこれらの文書に従い適切に実施及び記録されていることを確認する。
- (3) と畜検査員による4 (2) ①及び同(3) ①に基づく記録検査については、衛生管理計画及び手順書に規定されていると畜場法施行規則に基づく基準、重要管理点の管理基準等が遵守されていることを確認し、基準からの逸脱があった場合には、その改善措置が適切なものであったことを確認する。
- (4) 4 (2) ②及び同(3) ②に基づく現場検査については、原則とさつ・解体中に、と畜検査を実施すると畜検査員とは別のと畜検査員が実施する。
- (5) (4) の現場検査においては、目視による従事者や構造設備の確認のほか、温度計等の機器を用いた温度、濃度、照度等のパラメータの測定を行う。
- (6) (4) の現場検査においては、最終洗浄直前の枝肉の中から、と畜状況に応じて複数頭数の左右の枝肉を無作為に選択し、糞便、腸管内容物、乳汁等の付着がないか確認し、衛生的なとさつ・解体工程が確保されていることを検証する。糞便等の付着が確認された場合は、作業衛生責任者又は従事者に対して、速やかにトリミングするよう指導する。
- (7) と畜検査員は、上記の衛生管理計画等の確認、記録検査及び現場検査による外部検証を実施する際に、当該施設の衛生管理責任者等に対して、実施時間及びその内容について事前に通告するとともに、外部検証の結果を直接共有するため、実施の際は可能な限り衛生管理責任者等又は代替の者を同行又は同席させる。
- (8) (7) の事前通告による外部検証のほかに、必要に応じて事前通告を行わず現場検査を行うなど、効果的な外部検証を行う。
- (9) と畜場が内臓処理室又は食肉処理室を併設している場合は、当該と畜場から出荷される内臓、食肉等の食品の取扱いの監視指導を効果的に行うため、と畜検査員は、食品衛生法施行規則第66条の2第3項に基づく食肉(内臓)処理における衛生管理計画及び手順書の作成並びにその実施に関する確認を行うように努める。
- (10) 対米輸出食肉等厚生労働省による輸出の認定を受けていると畜場について

ては、別途規定されている方法に基づき指名検査員が実施する検証の結果を、本通知に基づく外部検証に活用する。

7 外部検証結果の記録及び保存（微生物試験を除く。）

と畜検査員は、衛生管理計画等の確認、記録検査及び現場検査の結果を記録し、保存する。

8 外部検証の結果に基づく措置

（1）検証実施中の措置

と畜検査員は、現場検査の実施中にと畜場法第6条に規定すると畜場の衛生管理の基準若しくは同法第9条に規定すると畜業者等の講ずべき衛生措置の基準への不適合又は重要管理点の管理基準からの逸脱を確認した際には、衛生管理責任者、作業衛生責任者又はと畜場の従事者に対し、衛生管理計画及び手順書に規定されている改善措置を速やかに実施するよう指導する。改善措置の実施にもかかわらず、と畜場法第6条又は同法第9条の規定に基づく基準、若しくは重要管理点の管理基準が引き続き遵守されていないことを確認した場合には、必要に応じて、とさつ・解体ラインの処理速度の減速又は処理の一時停止を指導する。

これらの指導の内容については、（2）の文書に記載し、衛生管理責任者等を通じて、と畜場の設置者等に通知する。

（2）検証実施後の措置

① と畜検査員は、記録検査及び現場検査の結果、不適合となる項目がある場合は、衛生管理責任者等を通じて、と畜場の設置者等に対し、以下の事項を記載した指摘文書により通知する。

ア 検証実施日及び通知年月日

イ 検証実施者

ウ 通知を受ける者（と畜場の設置者等）

エ 検証の結果（と畜場法施行規則や衛生管理計画等の不適合の詳細）

オ 検証の結果に基づきと畜検査員が行った指導の内容

② 通知を受けた者は、以下の事項を記載した文書をと畜検査員に提出し、と畜検査員にその内容の確認を受ける。

ア 通知を受けた者の通知確認日

イ 短期的（概ね1週間以内）改善措置の内容

ウ 長期的改善措置の内容

（3）改善措置の実施状況の確認

① と畜検査員は、（2）により作成された指摘文書について、当該と畜場

を所管するその他のと畜検査員に共有する。

- ② と畜検査員は、衛生管理責任者等が回答した改善措置が、と畜場法施行規則の規定に基づく基準に適合するか書面上で確認するとともに、それらの改善措置が計画的に実施されているかについて、現場検査により継続的に確認する。
- ③ と畜検査員は、②に基づく継続的な改善措置の確認において、計画的に改善措置が実施されず、引き続き、と畜場法施行規則が遵守されない状況が続く場合には、と畜場法第18条に基づき、と畜場の設置者等に対し、期間を定めて、当該と畜場の施設の使用の制限等やとさつ・解体等の業務の停止等を命じる。

9 微生物試験

(1) 目的等

と畜場法第6条又は同法第9条に基づくと畜場における衛生管理の実施状況の効果を客観的に評価するため、と畜検査員は、衛生指標菌（一般細菌数（生菌数）及び腸内細菌科菌群数）を対象にして、切除法（枝肉の表面（筋肉、脂肪等の組織）を無菌的に切り取ることにより検体を採取する方法）を用いた微生物試験を外部検証として実施する。

(2) 検体の採取

① と畜検査員は、検体採取手順を記載した文書を作成する。

② 検体採取場所

牛、豚ともに、枝肉の最終洗浄の後、枝肉が冷蔵庫に搬入される前又は搬入後速やかに検体を採取する。検体を採取する枝肉の選定に当たっては、特定の時間や農場の検体に偏ることがないように、無作為に選定する。

③ 採取頻度

都道府県等は、施設の操業状況や衛生管理の状況を踏まえて、年間の試験検体数を設定する。効果的に外部検証を行うためには、月1回以上の試験を、年間を通じて実施することが望ましい。

1回の試験は、牛、豚ともに、原則同日に処理された異なる個体から計5本の枝肉を選定する。また、検体を採取する曜日は偏りがないように選定する。

④ 採取部位

ア 牛：選定した枝肉について枝肉ごとに、ともばら、頸部又は胸部のいずれか1か所から、5 cm x 5 cm (25cm²)を切除法により採取し、1検体とする。採取手順は別添3のとおりとする。

イ 豚：選定した枝肉について枝肉ごとに、胸部又は頸部のいずれか1か所から、5 cm x 5 cm (25cm²)を切除法により採取し、1検体とする。
採取手順は別添3のとおりとする。

⑤ 検体の採取に当たっては、枝肉の格付を実施する機関の職員が検体を採取した枝肉を特定できるよう、関係者と情報共有を行う。

(3) 試験項目

検体は、以下に示す2種の衛生指標菌について、定量試験法を用いて試験する。

- ① 一般細菌数（生菌数）
- ② 腸内細菌科菌群数

(4) 試験方法

別添3のとおりとする。

(5) 試験結果の記録及び評価

① 試験結果は、別添3に示す結果の計数・記録方法により、動物種及び検査時期ごとに記録する。

② 試験結果は、以下の手法を用いて評価する。

ア 各施設における直近1年間の検査結果の平均値及び標準偏差（S.D.）から、各施設の基準値（平均値+2 S.D.又は平均値+3 S.D.）を設定する。

イ 5検体の試験結果について、アで設定した基準値に対して、以下の傾向が認められる場合は、当該施設の衛生管理は適切でないことが考えられる。

- ・平均値が低減しない又は増加している。
- ・基準値を超える検体数が増加している。
- ・腸内細菌科菌群陽性の検体が1検体以上ある。

ウ イの分析を実施するためには、管理図（コントロールチャート）を作成し、年間を通じた検証を実施することが望ましい。

③ ②の評価に基づき、と畜検査員は、衛生管理責任者等に対し、当該施設の衛生管理計画及び手順書の実施状況の点検を指示する。

④ 都道府県等は、別途厚生労働省が示す報告様式により、施設ごとの毎年の試験結果及び評価結果を厚生労働省に報告する。

⑤ 厚生労働省は、④の報告を踏まえ、今後、国内の各施設におけるHACCPに基づく衛生管理の実施の参考とするための基準値を示し、また、定期的

に当該基準値を更新する。

10 と畜検査員に対する研修の実施

都道府県等は、と畜検査員に対し、外部検証の実施に必要な知見を習得させるための研修を定期的実施する。研修の内容については、厚生労働省や保健医療科学院が毎年実施すると畜検査員向けの各種研修の内容を活用するとともに、隣接する都道府県等と合同の研修を開催するなどして、と畜検査員の外部検証の能力の平準化に努める。

別添 2：食鳥処理の事業の規制及び食鳥検査に関する法律施行規則（以下「食鳥処理法施行規則」という）第 4 条第 4 項に基づく食鳥検査員による検査又は試験について

1 用語の定義

この通知において、用語の定義は次に定めるところによる。

(1) 外部検証

食鳥処理法施行規則第 4 条第 4 項に基づき食鳥検査員が実施する、衛生管理計画及び手順書の確認、施設の衛生管理の実施状況の確認

(2) 衛生管理計画

食鳥処理法施行規則第 4 条第 3 項に基づき、食品衛生上の危害の発生の防止のため、食鳥処理業者（認定小規模食鳥処理業者を除く。以下同じ。）により、施設の衛生管理及び食鳥処理に関して作成される衛生管理計画

(3) 手順書

食鳥処理法施行規則第 4 条第 3 項に基づき、食品衛生上の危害の発生の防止のために食鳥処理業者が作成する、食鳥処理場の施設設備、機械器具の構造及び材質並びに食鳥処理の工程の衛生管理その他公衆衛生上必要な措置を適切に行うための手順書

(4) 記録検査

食鳥検査員が外部検証として実施する、食鳥処理業者が衛生管理計画及び手順書に従い作成した衛生管理の実施記録の内容の確認

(5) 現場検査

食鳥検査員が外部検証として実施する、食鳥処理場の従事者等が衛生管理計画及び手順書に従い行う食鳥処理場の衛生管理及び衛生的な食鳥処理の実施状況の作業現場における直接確認

(6) 改善措置

食鳥処理法施行規則別表第 4 第 5 号に基づき食鳥処理業者が設定する、個々の重要管理点において、モニタリングの結果、管理基準を逸脱したことが判明した場合の措置。改善措置には製品に対する措置と工程や衛生管理に対する措置が含まれる

(7) 内部検証

食鳥処理場施行規則別表第 4 第 6 号に基づき食鳥処理業者が実施する、重要管理点又はその他の工程における管理措置、管理基準、モニタリング及び改善措置が食品衛生上の危害の発生の防止に効果的であることの定期的な確認

(8) 指摘文書

食鳥検査員による記録検査及び現場検査の結果、不適合となる項目がある場

合に食鳥処理衛生管理者を通じて、食鳥処理業者等に対し、その項目を通知するための文書

2 食鳥検査員の役割

食鳥処理法施行規則第4条第4項に基づき、食鳥処理業者は、同条第3項に基づき作成する衛生管理計画及び手順書が食品衛生上の危害の発生を防止する目的において科学的に妥当であり、施設の衛生管理が衛生管理計画及び手順書に基づき適切に行われていることについて、外部検証を受けることが求められている。

また、食鳥処理場（認定小規模食鳥処理場を除く。以下同じ。）を管轄する都道府県等においては、食品衛生法第24条に基づき作成及び実施する都道府県等食品衛生監視指導計画で、厚生労働大臣が示す食品衛生に関する監視指導の実施に関する指針に従い、食鳥処理業者が実施する衛生管理について、食鳥処理の事業の規制及び食鳥検査に関する法律（以下、食鳥処理法という。）第11条に基づく衛生管理等の基準への適合を確認することとされている。

都道府県等は、上記の規定を適切に運用するため、本通知に示される方法を参考に、管轄する食鳥処理場の衛生管理の実態に応じた外部検証を実施するための、食鳥処理場ごとの外部検証実施計画を策定する。

食鳥検査員は、外部検証実施計画に基づき、以下の項目を検査又は試験することにより、食鳥処理業者が作成する衛生管理計画及び手順書の効果について外部検証を実施する。

- (1) 食鳥処理業者が作成する衛生管理計画及び手順書の確認
- (2) 食鳥処理業者による衛生管理の実施記録の確認及び現場での実施状況の確認
- (3) 衛生指標菌等を用いた微生物試験の実施

3 外部検証の対象

食鳥処理法第11条に基づく食鳥処理場の衛生管理並びに食鳥、食鳥とたい、食鳥中抜とたい及び食鳥肉等の衛生的な取扱いの基準の遵守状況その他食鳥処理法に基づく食鳥処理場における衛生管理の実施状況を確認するため、以下の事項を対象に外部検証を実施する。

- (1) 食鳥処理場の構造設備、機械器具、使用水、排水、不可食部分等の廃棄物、薬品・洗浄剤、ねずみ・昆虫対策等
- (2) 生体、食鳥処理中の食鳥とたい、食鳥中抜とたい、食鳥肉等の最終製品
- (3) 食鳥処理工程及び衛生管理に携わる食鳥処理場の従事者
- (4) 衛生管理計画、手順書、衛生管理の実施記録、従事者の衛生教育記録そ

の他関連文書

4 外部検証で確認する事項（微生物試験を除く。）

(1) 衛生管理計画及び手順書

- ① 食鳥検査員は、食鳥処理業者が作成する衛生管理計画及び手順書が、食鳥処理法施行規則別表第3第1号に規定する施設の衛生管理、設備等の衛生管理、薬品・洗浄剤等の管理、使用水等の管理、ねずみ・昆虫対策廃棄物及び排水の取扱い、従事者の衛生管理の基準及びその他の食鳥処理場の衛生管理の基準に基づき、当該食鳥処理場の実際の構造設備や食鳥処理の工程を考慮して作成され、かつ最新の状況を踏まえて適切に維持・更新されているか確認する。
- ② 食鳥検査員は、食鳥処理業者が作成する衛生管理計画及び手順書が、食鳥処理法施行規則別表第3第2号に規定する生体の受入れ、放血、湯漬、脱羽、内臓摘出、冷却に関する食鳥、食鳥とたい、食鳥中抜とたい及び食鳥肉等の衛生的な取扱いに関する基準に基づき、当該食鳥処理場の実際の構造設備や食鳥処理の工程を考慮して作成され、かつ最新の状況を踏まえて適切に維持・更新されているか確認する。
- ③ 食鳥検査員は、食鳥処理業者が作成する衛生管理計画及び手順書について、以下の事項に留意して確認する。
 - ア 生体の搬入、食鳥処理の各工程において、発生するおそれがある危害要因、当該危害要因の発生を防止するための管理措置及び重要管理点を含む危害要因分析表が適切に作成されていることを確認する。また、危害要因分析表には、各危害要因、管理措置及び重要管理点を設定した科学的理由・根拠が参考文書として添付されていることを確認する。
 - イ 重要管理点における管理基準、モニタリングの内容及びその頻度、管理基準に適合していない場合に講じられる製品及び工程等の改善措置、重要管理点が適切に管理されていることの検証の内容及びその頻度、重要管理点の記録様式が適切に作成されていることを確認する。これらには、設定した科学的理由・根拠が参考文書として添付されていることを確認する。
 - ウ 危害要因分析表や重要管理点の検討に際しては、衛生管理計画及び手順書の実施により、特に、食鳥処理の工程において、サルモネラ属菌、カンピロバクター属菌等の病原微生物汚染の原因となる糞便、腸管内容物等による食鳥とたい、食鳥中抜とたい、食鳥肉等への直接の汚染及び洗浄消毒されていない従事者の手指、エプロン、靴、構造設備等からの交差汚染の適切な防止が確保されることを確認する。

(2) 食鳥処理場の衛生管理の実施状況（食鳥処理法別表第3第1号関連）

① 食鳥検査員は、食鳥処理業者が衛生管理計画及び手順書に従い、適切な衛生管理を毎回漏れなく実施していることを確認するため、別表2を参考に、食鳥処理業者による（1）①に関連する一般衛生管理の点検結果及び同③に関連する重要管理点のモニタリング結果等の記録の内容を確認する。

② 食鳥検査員は、別表2を参考に、（1）①及び③に関連する一般衛生管理の実施状況及び食鳥処理場の構造設備や機械器具等の状態について、管理や作業の現場に出向いて、それらの状況を直接観察して確認する。

(3) 食鳥、食鳥とたい、食鳥中抜とたい及び食鳥肉等の衛生的な取扱い（食鳥処理法別表第3第2号関連）

① 食鳥検査員は、食鳥処理業者が衛生管理計画及び手順書に従い、適切な衛生管理を毎回漏れなく実施していることを確認するため、別表2を参考に、食鳥処理業者による（1）②に関連する一般衛生管理の点検結果及び③に関連する重要管理点のモニタリング結果等の記録の内容を確認する。

② 食鳥検査員は、別表2を参考に、（1）②及び③に関連する食鳥処理の各作業の実施状況及び食鳥とたいや食鳥肉等の状態について、管理や作業の現場に出向いて、それらの状況を直接観察して確認する。

③ 食鳥検査員は、食鳥処理業者が、衛生管理計画及び手順書に基づいた食鳥処理が行われるよう、食鳥処理に従事する者その他の関係者に対して、衛生教育に必要な教育を実施していること及びその教育訓練の効果について定期的に検証を行い、必要に応じて教育内容の見直しを行っていることを記録等により確認する。

(4) 内部検証の実施状況

食鳥検査員は、上記（1）から（3）について、内部検証が適切に実施されていることを記録等により確認する。

5 外部検証の実施頻度（微生物試験を除く。）

(1) 外部検証の頻度は、記録検査については月1回以上、現場検査については、下表を参考に、毎日実施することを基本とする。施設の規模や操業状況等の理由により、1日の現場検査で全ての事項の検証を行えない場合は、1日の現場検査で確認する事項や確認する場所を分割して行うなど、適切な検証の実施を確保する。下表中、「衛生的な食鳥処理」については、頻度を上げて重点的に実施する。

現場検査の事項	実施時期	
	作業開始前	作業中
施設の衛生管理	○	○
設備等の衛生管理	○	○
薬品・洗剤等の管理	○（どちらかで最低1回実施）	
使用水等の管理	○（どちらかで最低1回実施）	
ねずみ・昆虫対策	○（どちらかで最低1回実施）	
廃棄物及び排水の取扱い	○（どちらかで最低1回実施）	
その他（従事者の衛生管理等）	○（どちらかで最低1回実施）	
生体の取扱い	○（どちらかで最低1回実施）	
衛生的な食鳥処理	-	○
食鳥肉の冷蔵保管状況	-	○
内臓の取扱い	-	○

(2) 以下の場合、食鳥検査員はその都度、外部検証を実施する。

- ① 食鳥処理工程の変更、施設の構造設備の変更等に伴う衛生管理計画及び手順書の内容に大きな変更があった場合
- ② 食中毒の発生、病原微生物による食鳥肉等の深刻な汚染、又はそれらを疑う事案の発生、過去の外部検証の結果等から、食鳥処理場の衛生管理に問題がある食鳥検査員が判断して、衛生管理の実施状況を重点的に確認する必要がある場合

6 外部検証における留意点（微生物試験を除く。）

- (1) 食鳥検査員は、4（1）①及び同②に基づく衛生管理計画及び手順書の確認をした際、これらの文書が、実際の設備構造及び工程並びに最新の状況を反映していない場合は、速やかにその内容を更新するよう、食鳥処理衛生管理者を通じ、食鳥処理業者に対し、文書により指導する。
- (2) 食鳥検査員は、当該施設の衛生管理計画及び手順書を熟知した上で、記録検査及び現場検査を行い、食鳥処理場の衛生管理及び食鳥、食鳥とたい、食鳥中抜とたい及び食鳥肉等の衛生的な取扱いがこれらの文書に従い適切に実施・記録されていることを確認する。
- (3) 食鳥検査員による4（2）①及び同（3）①に基づく記録検査については、衛生管理計画及び手順書に規定されている食鳥処理法施行規則に基づく基準、重要管理点の管理基準等が遵守されていることを確認し、基準からの逸脱があった場合には、その改善措置が適切なものであったことを確認する。

- (4) 4 (2) ②及び同 (3) ②に基づく現場検査については、原則食鳥処理中に、食鳥検査を実施する食鳥検査員とは別の食鳥検査員が実施する。
- (5) (4) の現場検査においては、目視による従事者や構造設備の確認のほか、温度計等の機器を用いた温度、濃度、照度等のパラメータの測定を行う。
- (6) (4) の現場検査においては、最終冷却直前の中抜とたいについて、食鳥処理の状況に応じて無作為に選択し、とたいの内側及び外側に糞便、腸管内容物の付着がないか確認し、衛生的な食鳥処理工程が確保されていることを検証する。
- (7) 食鳥検査員は、上記の衛生管理計画等の確認、記録検査及び現場検査による外部検証を実施する際に、当該施設の食鳥処理衛生管理者に対して、実施時間及びその内容について事前に通告するとともに、外部検証の結果を直接共有するため、実施の際は可能な限り食鳥処理衛生管理者又は代替りの者を同行同席させる。
- (8) (7) の事前通告による外部検証のほかに、必要に応じて事前通告を行わず現場検査を行うなど、効果的な外部検証を行う。
- (9) 食鳥処理場が食肉処理室を併設している場合は、当該食鳥処理場から出荷される食鳥肉等の食品の取扱いの監視指導を効果的に行うため、食鳥検査員は、食品衛生法施行規則第66条の2第3項に基づく食鳥処理における衛生管理計画及び手順書の作成並びにその実施に関する確認を行うように努める。
- (10) 指定検査機関に食鳥検査を行わせており、都道府県等の食鳥検査員が常駐していない食鳥処理場についても、都道府県等は、定期的に食鳥検査員が現場検査を実施できる体制を整備する。

7 外部検証結果の記録及び保存（微生物試験を除く。）

食鳥検査員は、衛生管理計画等の確認、記録検査及び現場検査の結果を記録し、保存する。

8 外部検証の結果に基づく措置

(1) 検証実施中の措置

食鳥検査員は、現場検査の実施中に食鳥処理法第11条に規定する食鳥処理場の衛生管理の基準及び食鳥、食鳥とたい、食鳥中抜とたい及び食鳥肉等の衛生的な取扱いに関する基準への不適合若しくは重要管理点の管理基準からの逸脱を確認した際には、食鳥処理衛生管理者又は従事者に対し、衛生管理計画及び手順書に規定されている改善措置を速やかに実施するよう指導する。

これらの指導の内容については、(2)の文書に記載し、食鳥処理衛生管理者を通じて、食鳥処理業者に通知する。

(2) 検証実施後の措置

① 食鳥検査員は、記録検査及び現場検査の結果、不適合となる項目がある場合は、食鳥処理衛生管理者を通じて、食鳥処理業者に対し、以下の項目を記載した指摘文書により通知する。

ア 検証実施日及び通知年月日

イ 検証実施者

ウ 通知を受ける者（食鳥処理業者）

エ 検証の結果（食鳥処理法施行規則や衛生管理計画等の不適合の詳細）

オ 検証の結果に基づき食鳥検査員が行った指導の内容

② 通知を受けた者は、以下の事項を記載した文書を食鳥検査員に提出し、食鳥検査員にその内容の確認を受ける。

ア 通知を受けた者の通知確認日

イ 短期的（概ね1週間以内）改善措置の内容

ウ 長期的改善措置の内容

(3) 改善措置の実施状況の確認

① 食鳥検査員は、(2)により作成された指摘文書について、当該食鳥処理場を所管するその他の食鳥検査員に共有する。

② 食鳥検査員は、食鳥処理衛生管理者が回答した改善措置が、食鳥処理法施行規則の規定に基づく基準に適合するか書面上で確認するとともに、これらの改善措置が計画的に実施されているかについて、現場検査により継続的に確認する。

9 微生物試験

(1) 目的等

食鳥処理法第11条に基づく食鳥処理場における衛生管理の実施状況を客観的に評価するため、食鳥検査員は、衛生指標菌（一般細菌数（生菌数）及び腸内細菌科菌群数）を対象にして、切除法（食鳥とたい（又は食鳥中抜きとたい、以下同じ。）の表面を無菌的に切り取ることにより検体を採取する方法）を用いた微生物試験を外部検証として実施する。

(2) 検体の採取

① 食鳥検査員は、検体採取手順を記載した文書を作成する。

② 検体採取場所

最終冷却（チラー冷却）水切りを行った後の食鳥とたいから検体を速や

かに採取する。検体を採取する食鳥とたいの選定に当たっては、採材時刻の指定はないが、食鳥処理の始めのロット（同一農場又は同一鶏舎の群）は可能な限り避け、処理半ばの食鳥とたいを選定する。

③ 採取頻度

都道府県等は、施設の操業状況や衛生管理の状況を踏まえて、年間の試験検体数を設定する。効果的に外部検証を行うためには、月1回以上の試験を、年間を通じて実施することが望ましい。

1回の試験は、同日に処理された最終冷却水切り後の食鳥とたいについて、同一ロットより5羽を選定し、これをプールして1検体とする。このプール検体を5検体（計25羽）準備して、後述の試験を実施する（1ロットから複数検体を準備することも可）。検体採取に当たっては、各回の検体を採取するロットが固定することがないようにする。

④ 採取部位

ア 原則として、食鳥とたいの首皮を採取部位とする。ただし、本冷却工程前に首皮を既に切除している施設においては、本冷却後からカット工程の間で採取した胸部部分の皮としてもよい。いずれの場合も、計5羽の食鳥とたいの首皮（又は胸皮）を集め、1検体（計25g）とする。

イ 採取手順は、別添3のとおりとする。

（3）試験項目

検体は、以下に示す2種の衛生指標菌について、定量試験法を用いて試験する。

- ① 一般生菌数
- ② 腸内細菌科菌群数

（4）試験方法

別添3のとおりとする。

（5）試験結果の記録及び評価

- ① 試験結果は、別添3に示す結果の計数・記録方法により動物種及び検査時期毎に記録する。
- ② 試験結果は、以下の手法を用いて、施設の衛生管理について評価する。
 - ア 各施設における直近1年間の検査結果の平均値及び標準偏差（S.D.）から、各施設の基準値（平均値+2 S.D.又は平均値+3 S.D.）を設定する。
 - イ 5検体の試験結果について、アで設定した基準値に対して、以下の傾

向が認められる場合は、当該施設の衛生管理は適切でないことが考えられる。

- ・ 平均値が低減しない又は増加している。
- ・ 基準値を超える検体数が増加している。

ウ イの分析を実施するためには、管理図（コントロールチャート）を作成し、年間を通じた検証を実施することが望ましい。

- ③ ②の評価に基づき、食鳥検査員は、食鳥処理衛生管理者に対し、当該施設の衛生管理計画及び手順書の実施状況の点検を指示する。
- ④ 都道府県等は、別途厚生労働省が示す報告様式により、施設ごとの毎年の試験結果及び評価結果を報告する。
- ⑤ 厚生労働省は、④の報告を踏まえ、今後、国内の各施設におけるHACCPに基づく衛生管理の実施の参考とするための基準値を示し、また、定期的に当該基準値を更新する。

（6）カンピロバクター属菌の定量試験法

衛生指標菌の定量試験に用いた検体を利用してカンピロバクター属菌の定量試験を実施する場合は、別添4に示す試験法による。

10 食鳥検査員に対する研修の実施

都道府県等は、食鳥検査員に対し、外部検証の実施に必要な知見を習得させるための研修を定期的に行う。研修の内容については、厚生労働省や保健医療科学院が毎年実施する食鳥検査員向けの各種研修の内容を活用するとともに、隣接する都道府県等と合同の研修を開催するなどして、食鳥検査員の外部検証の能力の平準化に努める。

別添3 外部検証のための微生物試験検体採取手順等

1 検体採取及び検体の前調整（牛及び豚）

（1）準備すべき器具・試薬等

① 検体採取用

- ・滅菌済ステンレス製杵板（5 cm x 5 cm）
- ・滅菌済メス
- ・滅菌済ピンセット
- ・滅菌済ストマッカー袋

② 検体の前調整用

- ・ストマッカー
- ・ボルテックス
- ・ピペット及び滅菌済ピペットチップ
- ・電動ピペッター
- ・アルコール綿、アルコール系消毒剤
- ・滅菌済希釈容器
- ・滅菌済希釈液（緩衝ペプトン水、リン酸緩衝生理食塩水等）
- ・50ml遠沈管

（2）検体採取手順

- ① 石けん等を用いて手指を洗淨後、アルコール等で消毒する。
- ② 使い捨て手袋を手指に装着し、その上から再度アルコール等を噴霧し、消毒する。
- ③ 片方の手で滅菌済ステンレス製杵板を持ち、杵板を枝肉の検体採取部位に置いて固定する。
- ④ 反対側の手で滅菌済メスを持ち、杵板の内径に沿って深さ2 mmほどの切り込みを入れる。
- ⑤ 杵板から滅菌済ピンセットに持ち替えて、ピンセットとメスを用いて、切れ込みに沿って、5 cm x 5 cm x 2 mmの表面組織を切除する。
- ⑥ 切除した組織を滅菌済ストマッカー袋に入れる。
- ⑦ 滅菌済ストマッカー袋は、交差汚染が生じないように、パラフィルムやテープ等で密封した後、2～4℃の冷蔵庫、又は氷上に一時保管する（冷凍はしない。）。採材から最長48時間以内に冷蔵状態で検査室に搬送し、試験に供する。

（3）検体の前調整手順

- ① 組織を入れた滅菌済ストマッカー袋を計量し、組織の重量を記録する。
- ② 組織を入れた滅菌済ストマッカー袋に滅菌済希釈液90mlを加え、1分間ストマッキング処理を行う。
- ③ 1検体につき、滅菌済希釈液9mlを含む滅菌済希釈容器を3本準備する。
- ④ ストマッキング処理後の検体懸濁原液(②)を、ストマッカー袋付属のフィルターを通じて、50ml遠沈管に回収する。
- ⑤ 上記懸濁液1mlを、③で準備した滅菌済希釈液9mlに加え、10-20秒間ボルテックスにより攪拌を行い、10倍、100倍、1,000倍階段希釈液を順に作製する。なお、試験の進行に伴い、結果に基づいて、③及び⑤の希釈段階を調整し、作業効率を上げることができる。
- ⑥ 以上の操作は、1検体につき30分以内に終え、次の操作へと進める必要がある。

2 検体採取及び検体の前調整(食鳥)

(1) 準備すべき器具・試薬等

- ① 検体採取用
 - ・滅菌済メス又は鉗
 - ・滅菌済ピンセット
 - ・滅菌済シャーレ(85-100mm径)
- ② 検体の前調整用
 - ・滅菌済ストマッカー袋
 - ・ストマッカー
 - ・ボルテックス
 - ・ピペット及びピペットチップ
 - ・電動ピペッター
 - ・アルコール綿、アルコール系消毒剤
 - ・滅菌済希釈容器
 - ・滅菌済希釈液(緩衝ペプトン水、リン酸緩衝生理食塩水等)

(2) 検体採取手順

- ① 石けん等を用いて手指を洗淨後、アルコール等で消毒する。
- ② 使い捨て手袋を手指に装着し、その上から再度アルコール等を噴霧し、消毒する。
- ③ 平らな作業台等の上にアルミ箔等を敷き、その上に食鳥とたいを静置する(5羽同時でも1羽ずつでも良い。)
- ④ 滅菌済ピンセット及び滅菌済メス又は鉗を用いて、食鳥とたいより検体

を可能な限り無菌的に切除し、滅菌済プラスチックシャーレに入れる（5羽分の首皮を1つのシャーレに入れる。この際、5羽の重量がなるべく均等となるようにする。）。

- ⑤ 首皮を入れた滅菌済プラスチックシャーレは、交差汚染等が生じないように、パラフィルムやテープ等で密封した後、2～4℃の冷蔵庫、又は氷上に一時保管する（冷凍はしない。）。採材から最長48時間以内に冷蔵状態で検査室に搬送し、試験に供する。

（3）検体の前調整手順

- ① 滅菌シャーレの中の検体を滅菌済ピンセット及び滅菌済メスまたは鋏を用いて細切した後、25gを計量する。
- ② ①の計量済検体を、あらかじめ225mlの滅菌済希釈液を入れた滅菌済ストマッカー袋に入れて、1分間ストマッキング処理を行う。
- ③ 1検体につき、滅菌済希釈液9mlを含む滅菌済希釈容器を3本準備する。
- ④ ストマッキング処理後の検体懸濁原液（②）を、ストマッカー袋付属のフィルターを通じて、希釈液を含まない滅菌済希釈容器に回収する。
- ⑤ 上記懸濁液1mlを、③で準備した滅菌済希釈液9mlに加え、10-20秒間ボルテックスミキサーを用いて攪拌を行い、10倍、100倍、1,000倍階段希釈液を順に作製する。なお、試験の進行に伴い、結果に基づいて、③及び⑤の希釈段階を調整し、作業効率を上げることができる。
- ⑥ 以上の操作は、1検体につき30分以内に終え、次の操作へと進める必要がある。

3 微生物試験（牛、豚、食鳥共通）

（1）標準培養法

ア 準備すべき機器・器具・試薬等

- ・オートクレーブ（121℃、15分の高圧蒸気滅菌が可能なもの）
- ・ふらん器（37±1℃）
- ・寒天平板用乾燥器あるいはふらん器（25～50℃）
- ・pHメーター
- ・天秤
- ・ボルテックスミキサー
- ・滅菌袋または滅菌缶
- ・ピペット及び滅菌済ピペットチップ
- ・標準寒天培地（ISO処方）（一般細菌数（生菌数）の計数用）
- ・バイオレットレッド胆汁ブドウ糖寒天培地（VRBG寒天培地）（ISO処方）

(腸内細菌科菌数の計数用)

- ・非選択寒天培地 (普通寒天培地等) (腸内細菌科菌の継代培養用)
- ・ブドウ糖発酵性試験用培地 (高層培地) (ISO処方) (腸内細菌科菌の生化学性状試験用)
- ・オキシダーゼ試験用ろ紙
- ・滅菌済コンラージ棒 (スプレッター)
- ・滅菌済白金耳

イ 手順

- ① 標準寒天培地及びVRBG寒天培地をそれぞれ製造事業者の使用説明書に従って加温調整し、47～50℃で保持しておく。
- ② ペトリディッシュに検体懸濁原液及び同10倍、100倍、1,000倍階段希釈液1 mlを加えた後、①で加温した各培地をそれぞれ15～20ml注ぐ。
- ③ 蓋を閉じ、穏やかに攪拌させた後、室温にて静置し固化させる。なお、各検体・希釈列ごとにそれぞれ2枚の寒天平板を調整すること。
- ④ 固化した各寒天平板をふらん器に入れ、一般細菌数 (生菌数) については37±1℃で48±3時間、腸内細菌科菌群数については24±2時間、それぞれ好気培養する。
- ⑤ 培養後、以下の手順により、それぞれ計数を行う。
 - ・一般細菌数 (生菌数)

標準寒天平板上の発育集落数を求める。計数にあたっては、原則として1平板あたり15～300個の集落数を示す平板の希釈列を記録対象とする。なお、拡散集落は1集落として計数することを基本とするが、平板の1/4以上が拡散集落により覆われている場合、同平板は計数対象から外す。
 - ・腸内細菌科菌群数

VRBG寒天平板上の定型又は疑わしい集落数を求める (一般には淡赤～赤色を呈する)。計数にあたっては、原則として1平板あたり150個以下の集落数を示す平板の希釈列を記録対象とする。なお、拡散集落は1集落として計数することを基本とするが、平板の1/4以上が拡散集落により覆われている場合、同平板は計数対象から外す。最終的に、本指標菌数は、VRBG寒天平板上の対象集落数に確認試験 (⑥の生化学性状試験) の陽性率 (陽性集落数/供試集落数、後者は通常5) を乗じることで求められる。

また、定型集落を1平板あたり無作為に5集落釣菌し、非選択寒天平板 (普通寒天培地等) に画線塗抹し、37±1℃で24±2時間継代培養を行う。
- ⑥ ⑤の継代培養により発育した集落を、以下の生化学性状試験に供する。本試験による腸内細菌科菌群の陽性集落数は、⑤の計数に用いる。

・オキシダーゼ試験

白金耳、白金線又はガラス棒を用いて単離集落の一部を取り、オキシダーゼ試薬を含ませたろ紙又は市販のオキシダーゼ試験用ろ紙の上に塗抹する。なお、ニクロム線を用いて塗抹してはならない。10秒以内にろ紙が暗青色化した場合、オキシダーゼ反応陽性と判定する。また、市販オキシダーゼ試験用ろ紙を用いる場合には、製造事業者の使用説明書に従って判定を行う。腸内細菌科菌群は本試験陰性である。

・発酵試験

オキシダーゼ試験陰性となった集落を、白金耳または白金線を用いてブドウ糖発酵性試験用培地に接種し、ミネラルオイル 1 ml を重層する。37±1℃で24±2時間好気培養を行い、培地が黄色を呈した場合には陽性と判定する。腸内細菌科菌群は本試験陽性である。

(2) その他の代替法

その他代替法として、食肉、食鳥肉を対象とした一般細菌数、腸内細菌科菌群数の定量試験性能が、上記の標準培養法またはISO法（ISO 4833-2、ISO 21528-2）と同等であることが、国際的な第三者認証機関（例えばAOAC、AFNOR、MicroVal、NordVal）において確認された方法を用いても良い。この場合の手順並びに結果の解釈は、製造事業者が定める使用説明書に従うこと。

4 結果の記録

検体ごとに1 cm²または1 g当たりの菌数を「CFU/cm²」、または「CFU/g」として記録することを基本とする。各検体が示す集落の発育状況に合わせ、以下のいずれかの方法により結果を記録する。

- ① 同一希釈列の2枚の平板上に発育する集落数が3（2）⑤に示す範囲であれば、算術平均を算出した上で、希釈率を乗じて検体1 cm²または1 g当たりの菌数を求め、記録する。
- ② 同一希釈列で適正範囲内の集落数を示す平板が2枚は得られないが、1枚は得られる場合、連続する2段階の希釈試料液で加重平均として検体中の菌数(N)を以下の計算式を用いて求め、記録する。

$$N = \Sigma C / (\text{希釈率} \times 1.1)$$

ΣC：各平板の集落数の合計（例：10倍希釈液 1 ml を接種した平板で148個、10倍希釈液 1 ml を接種した平板で17個であれば、148+17=165）

希釈率：適正範囲内の集落数を認める平板の最大希釈率を指数で用いる（上記例の場合、10⁻²）

- ③ 平板あたりの集落数が4個以上10個未満の場合、その結果は②と同様に求めた上で、 1 cm^2 または1g当たりの推定菌数として表記する。
- ④ 平板あたりの最大集落数が1～3個の場合、結果の精度は極めて低く、次のように表記する。

『検出はあるが、 1 cm^2 または1g当たり ($4/d$) 未満』

- ⑤ 全ての平板で集落が認められない場合、次のように表記する。

『 1 cm^2 又は1gあたりの菌数は、($1/d$) 未満』

ここでいう d は検体懸濁原液又は同階段希釈液の希釈率を示す（例：検体原液を接種した場合の d は、 10^{-1} ）。

別添4 カンピロバクター定量試験法

1 検体採取及び検体の前調整（食鳥）

（1）準備すべき器具・試薬等

別添3「外部検証のための微生物試験検体採取手順等」に準ずる。

（2）検体採取手順

別添3「外部検証のための微生物試験検体採取手順等」に準ずる。

（3）検体の前調整手順

別添3「外部検証のための微生物試験検体採取手順等」に準ずる。本試験を行う場合に作製する階段希釈液は10倍、100倍を基本とする。また、本試験を実施する場合、カンピロバクターが微好気性菌である特性を踏まえ、一般細菌数及び腸内細菌科菌群の定量試験に先行して進めることが必要である。なお、試験の進行に伴い、結果に基づいて、希釈段階を調整し、作業効率を上げることができる。

2 微生物試験

（1）標準培養法

① 準備すべき器具・試薬等

- ・mCCDA寒天培地
- ・微好気ガスパック
- ・滅菌済遠心管
- ・滅菌済コンラージ棒（スプレッター）
- ・滅菌済白金耳
- ・非選択寒天培地（血液寒天培地等）
- ・メスシリンダー

（確認試験用）

（ア）確認試験①を採用する場合

- ・オキシダーゼ試験用ろ紙

（イ）確認試験②を採用する場合

- ・PCR反応液
- ・オリゴヌクレオチドプライマー
- ・PCRチューブまたはプレート

② 準備すべき機器等

- ・ふらん器又は微好気培養のできるふらん器（ $37 \pm 1 \text{ } ^\circ\text{C}$ 、 $42 \pm 1 \text{ } ^\circ\text{C}$ ）

- ・微好気ジャーシステム（微好気培養のできるふらん器がない場合）
- ・寒天平板用乾燥器又はふらん器（25～50℃）
- ・オートクレーブ（121℃，15分以上の高圧蒸気殺菌が可能なもの）
- ・pH メーター
- ・天秤
- ・顕微鏡

ウ 手順

- ① 「(3) 検体の前調整手順」で調整した検体懸濁液（10倍及び100倍階段希釈液）1 mlを滅菌ピペット及びピペットチップを用いてあらかじめ十分に乾燥させた5枚のmCCDA寒天培地に接種する（培地1枚あたりの懸濁液量は200 μ l）。接種後は培地表面上に懸濁液が残らないよう塗抹を行い、以下のいずれかの方法により微好気培養を行う。培養温度は42 \pm 1℃、培養時間は44 \pm 4時間とする。
 - (ア) 微好気条件を自動制御できるふらん器を用いる。微好気条件とは、酸素5 \pm 2%、二酸化炭素10 \pm 3%、残りはチッ素を基本とする。水を添加する場合には、酸素5 \pm 2%、二酸化炭素10 \pm 3%、水素10%以下、残りはチッ素とする。
 - (イ) 市販の微好気ジャーシステム（ガスキットシステムなど）を利用する。
- ② 培養後、培地上に発育した定型又は疑わしい集落数を求める。計数に当たっては1枚当たりの発育集落数が150未満の寒天培地を対象とし、2階段以上の希釈列を接種した場合には、本過程でいずれか適切な階段希釈列を選択し、以後の確定試験に供する。
- ③ 確認試験：上項②で選択した1希釈列より、計5つの定型又は疑わしい集落を無作為に釣菌し、以下のいずれかの方法によりカンピロバクター・ジェジュニ/コリであることを確認する。
 - (ア) 確認試験①（生化学性状等による確認試験）

釣菌した集落をそれぞれ血液寒天培地等の非選択寒天培地に継代し、純培養を行う。37 \pm 1℃で22 \pm 2時間微好気培養を行った後、以下の性状試験に供する。

 - (A) グラム染色

グラム染色等による菌形の確認を行う。一般的にはらせん状のグラム陰性桿菌として観察されるが、球状の場合もある。
 - (B) カタラーゼ試験

純培養した1集落より1白金耳量をスライドガラス上に取り、3%過

酸化水素水1滴を滴下する。30秒以内に気泡の発生を認めた場合には、カタラーゼ反応陽性と判定する（カンピロバクター・ジェジュニ/コリは陽性である）。

(C) オキシダーゼ試験

白金耳、白金線又はガラス棒を用いて単離集落の一部を取り、オキシダーゼ試薬を含ませたろ紙又は市販のオキシダーゼ試験用ろ紙の上に塗抹する。なお、ニクロム線を用いて塗抹してはならない。10秒以内にろ紙が暗色化した場合、オキシダーゼ反応陽性と判定する。また、市販オキシダーゼ試験用ろ紙を用いる場合には、製造事業者の使用説明書に従って判定を行う。カンピロバクター・ジェジュニ/コリは本試験陽性である。

(D) その他

判定に迷う場合には、必要に応じて、市販ラテックス凝集試験用キット等を追加で活用しても良い。また、追加で馬尿酸塩加水分解試験、インドキシル酢酸塩加水分解試験等を利用することで菌種を決定することもできる。

(イ) 確認試験② (PCR法による確定試験)

遺伝子検出法による確認試験：ここでは、国際的に汎用されるPCR法を紹介する。このほか、市販の（リアルタイム）PCRキット製品やLAMPキット製品、あるいは自主的に開発したものであっても、ISO 16140に準じた形で妥当性を確認したプロトコールであれば使用することは差し支えない。

(A) 以下のオリゴヌクレオチドプライマーを準備する。

対象菌種 (対象遺伝子)	名称	配列 (5' - 3')	増幅サイズ (bp)
<i>C. jejuni</i> (<i>hip0</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	

注記： *Campylobacter* spp. 検出用プライマーは、内部標準用としても用いることができる。その場合には、内部標準鋳型DNAを人工合成する等して調整すること。

(B) PCRチューブを用意し、PCR反応液に、釣菌集落、上記プライマー溶液（終濃度50nmol）及び滅菌精製水を加え、以下の条件で反応を行う。なお、陽性対照には、*C. jejuni* 及び*C. coli* 鋳型DNA混合溶液 1 µLを釣菌集落の代替として加えたものを独立して準備する。

反応工程	サイクル数	反応条件（温度・時間）
①	1	95℃, 6分
②	30	95℃, 30秒; 59℃, 30秒; 72℃, 30秒
③	1	72℃, 7分
④	1	20℃以下（通常4℃）まで急冷

(C) アガロースゲル電気泳動により増幅産物の有無を確認する。この際使用するアガロース濃度は2.0%とする。323bp又は/及び126bp付近に増幅産物を認めた場合、同集落は陽性と判定し、1検体・1希釈率当りの陽性数を求め、別添様式に記録する。なお、650bp付近に増幅産物を認めるが、上述の増幅産物を認めない場合は陰性と判定する。また、陽性・陰性対照が適切な結果を示すことも記録しておくこと。

(2) その他の代替法

上記の標準培養法又はISO法（ここではISO 10272-2）との間で、食鳥とたいまたは食鳥肉を対象としたカンピロバクター試験性能の同等性が、国際的な第三者認証機関（例えばAOAC、AFNOR、MicroVal、NordVal）等で確認された方法を用いても良い。この場合の手順は製造事業者が定める使用説明書に従うこと。

3 結果の記録

結果は次の手順により判定し、記録を行う。

- (1) mCCDA寒天培地上に発育した定型又は疑わしい集落数を、同一検体・同一階段希釈列毎に合計し、記録する。
- (2) 確認試験の結果（陽性集落数/供試集落数、通常後者は5）を（1）で求めた集落数に乗じる。
- (3) 希釈倍率を（2）に乘じ、検体1 gあたりの菌数として記録する。