



食肉処理場における ATP ふき取り検査の効果的活用 ～ ATP 検査で得られた数値の現場活用に向けて～

滋賀県食肉衛生検査所 井上英耶氏、澤英之氏

本稿は、キッコーマンバイオケミファ(株)が7月13日、東京・千代田区の日比谷図書文化館・日比谷コンベンションホールにおいて開催した第105回「ルミテスターセミナー」において、滋賀県食肉衛生検査所の井上英耶氏が行った講演要旨を基に、新しい取り組みなどを加筆したものである(ルミテスターは、キッコーマンバイオケミファ社が取り扱うATPふき取り検査装置の名称)。

井上氏は、2015年より現職。獣医師として、と畜検査、衛生指導などに携わっている。

1 滋賀食肉センターの概要

滋賀県食肉衛生検査所(以下「当所」)(写真)は、神戸ビーフ、松阪牛と並ぶ「日本三大和牛」の一つとして知られる「近江牛」のふるさとである滋賀県の近江八幡市にあります。管轄している滋賀食肉センターでは、HACCPの考え方に基づく衛生管理を導入しており、シンガポールなど海外6カ国に近江牛を輸出しています。

ちなみに、我々「と畜検査員」の業務について簡潔に紹介すると、大きく「と畜検査」と「衛生指導」という2つの業務に携わっています。前者については全頭の生体検査や、と体の頭部検査、内臓検査、枝肉検査を実施しており、必要に応じて、微生物検査、病理検査および理化学検査などの精密検査を行っています。また、後者については、と畜場法の衛生措置基準に基づく衛生指導およびHACCPの外部検証を実施しており、その一環として枝肉のふき取り検査や手洗い指導などを行っています。

当所では、この「衛生指導」においてATPふき取り検査(以下「ATP検査」、別項参照)を活用しています。本稿では、食肉処理場における活用事例を紹介していきます。

2 食肉処理場における ATP 検査の活用に向けた検討

牛や豚の食肉処理現場では、枝肉から別の枝肉へと汚染を移してしまうことがないように、1頭ごとにしっかりと手洗いをしなければなりません。そこで、手洗い後の清浄度評価にATP検査の利用を検討しています。以下に、これまでの調査結果の概要の一部を紹介します。

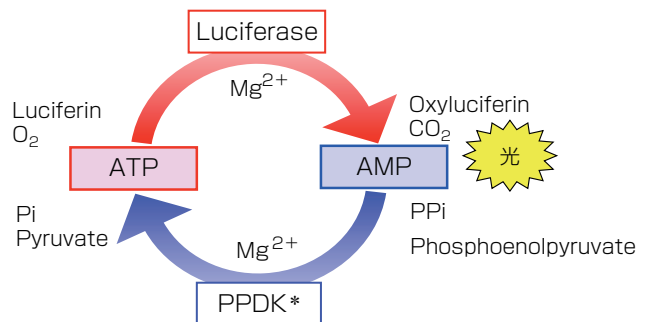


写真 滋賀県食肉衛生検査所の外観



ATP検査で用いるハンディタイプの測定装置「PD-30」および試薬「ルシバック Pen」(キッコーマンバイオケミファ(株)製)

ATP(アデノシン3リン酸)を指標としたふき取り検査法。検査結果が10秒程度で数値化されることから、食品取扱い施設では製造・加工環境や調理環境の清浄度(汚染度)のチェックの用途で普及している。最近では病院などにおける環境由来の感染症対策など、さまざまな用途で活用されるようになってきている。
キッコーマンバイオケミファ(株)製のATPふき取り検査の測定装置および試薬では、AMPからATPを再合成する酵素(PPDK, pyruvate orthophosphate dikinase / 特許取得済み)を用いることで、ATP量だけでなくAMP量も測定できる(図1参照)。



* PPDK: pyruvate orthophosphate dikinase EC 2.7.9.1 (特許取得済み)

図1 ATP + AMP ふき取り検査の測定原理

ATP 検査の結果に基づいた
手洗い時間や泡立て手洗いの指導

	平成 26 年度平均値	平成 25 年度平均値
ダーティーゾーン	😊 2,353	6,899
クリーンゾーン	😊 592	4,577

	平成 26 年度合格率	平成 25 年度合格率
ダーティーゾーン	🔴 63.6%	36.4%
クリーンゾーン	🔴 75.0%	50.0%

表 1 牛と畜時の手の ATP ふき取り検査の結果

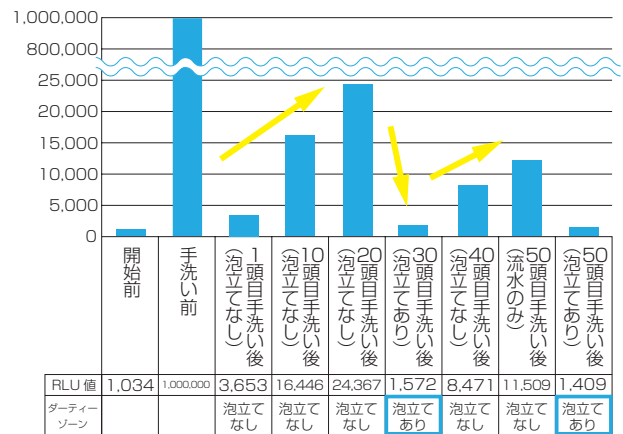


図 2 豚内臓検査時の手の ATP ふき取り検査の結果

(1) 牛の解体ラインにおける利用

平成 25 年および 26 年の 2 回、牛の解体ラインの作業者の手指を対象に、ATP 検査を実施しました（目安値は、独自に実施した予備調査の結果を基に 1,000RLU と設定）。

滋賀食肉センターの解体ラインでは、「ダーティーゾーン」（とさつしてから胸割りまでの工程）と、「クリーンゾーン」（内臓摘出から枝肉洗浄および冷蔵保管までの工程）と区分しており、各工程にはそれぞれ専任の作業者がいます。これらの工程の作業従事者の手洗い後に ATP 検査を実施したところ、平成 25 年の調査結果は、ダーティーゾーンの平均値は 6,899RLU、クリーンゾーンの平均値は 4,577RLU でした。また、前述のとおり「1,000RLU 以下で合格」とした場合の合格率は、ダーティーゾーンで 36.4%、クリーンゾーンで 50%でした（表 1 参照）。

この結果を基に、手洗い方法（しっかりと石けんを泡立てて手洗いするなど）を指導したところ、翌 26 年の調査結果は表 1 のとおり、ダーティーゾーンの平均値は 2,353RLU、クリーンゾーンの平均値は 592RLU と低下し、合格率はダーティーゾーンで 63.6%、クリーンゾーンで 75%と改善しました。なお、指導された作業者からは「口頭で指導されるよりも、数値で示してもらの方が理解しやすい」「しっかりと手洗いすると、しっかりと RLU 値が下がることがわかった」「もっと RLU 値が下げられるように努めたいと思った」「どれくらいの手洗いをすれば、目安値を下回るかわかった」といった感想が寄せられました。

以上の結果から、「ダーティーゾーンの作業者は、クリーンゾーンの作業者より、しっかりと手洗いをする必要がある」「ATP 検査は手洗い指導に効果がある」ことが示唆されました。

(2) 豚の解体ラインにおける利用

豚は、牛と比べて 1 工程に費やす時間が短いの、「手洗いに牛と同様の時間をかけにくい」という現状があります。また、「牛ラインで手指に付着する汚れ」と「豚ラインで手指に

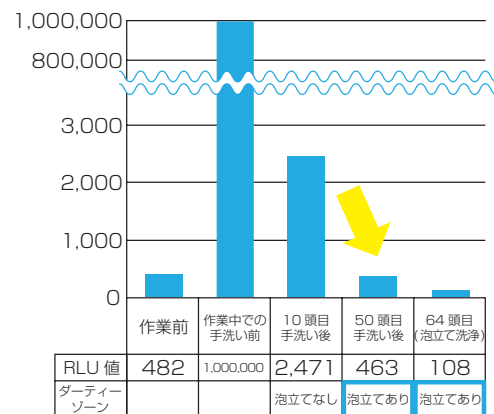


図 3 豚頭部検査時の手の ATP ふき取り検査の結果

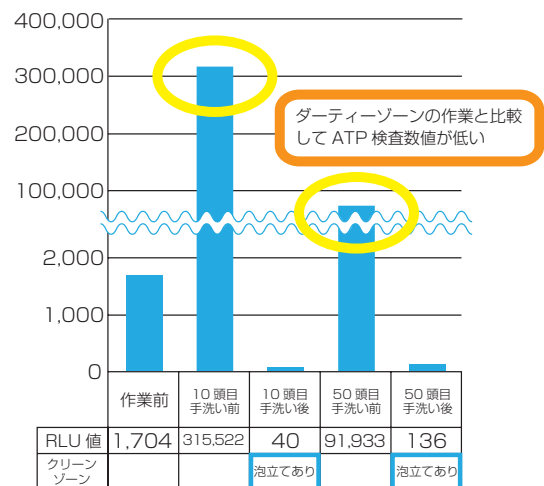


図 4 豚枝肉検査時の手の ATP ふき取り検査の結果

付着する汚れ」の違いを検討する必要があります。

そこで、本年 6 月、と畜検査員に対して、刀を持たない方の手指を対象に ATP 検査を行いました。手洗い手順については、「石けんをつけてこすり洗いを手洗い（以下、泡立てなし手洗い）」と「石けんをきちんと泡立てた、入念な手洗い

(以下、泡立てあり手洗い)」で比較しました。

内臓検査(ダーティーゾーン(とさつから剥皮工程まで))時のATP検査を行ったところ、作業直後(手洗い前)はすべての検体で図2のとおり100万RLUを超えました。その後、内臓検査を行い、泡立てなし手洗いをしてからATP検査を実施したところ、1頭目の検査後は3,653RLU、10頭目の検査後は16,466RLU、20頭目の検査後では24,367RLUとなり、検査した頭数が増えるにつれて、RLU値も高くなることがわかりました。しかしながら、30頭目を検査したところで、泡立てあり手洗いをしたところ、1,572RLUまで下がりました。その後、再び泡立てなし手洗いをすると、再びRLU値は高くなっていきました。

頭部検査(ダーティーゾーン)時の場合も、作業直後はすべての検体で図3のとおり100万RLUを超えました。泡立てなしの手洗いをしたところ、10頭目で2,471RLUでした。一方、泡立てあり手洗いをしたところ、50頭目、60頭目でも463RLUや108RLUといったように、しっかりRLU値が下がることがわかりました。

枝肉検査(クリーンゾーン(背割りから枝肉洗浄までの工程))時の場合は、図4のとおり作業直後(手洗い前)のATP検査の結果は、10頭目でも315,522RLU、50頭目でも91,933RLUといったように、内臓検査や頭部検査などダーティーゾーンでの作業後と比べて数値が低いことがわかりました。また、「泡立てなしの手洗い後のRLU値」と「泡立てありの手洗い後のRLU値」に、それほど大きな違いがないという傾向も見られました。この違いについては、「ATP検査

は外皮や血液由来の物質に強く反応しているのではないかと「外皮や血液由来の汚れは落ちにくいのではないかと」推察しています。

以上の結果から、「ダーティーゾーンの作業者は(クリーンゾーンの作業者と比べて)、より念入りの手洗いをする必要があります」「ダーティーゾーンでもクリーンゾーンでも、目に見える汚れを落とすだけの、泡立てなし手洗いでは不十分である。泡立ちの良い石けんを用いて、しっかりと泡を立てて手洗いをすることが重要である(特に外皮や血液由来の汚れは落とすにくい)」といったことが示唆されました。

この調査結果を踏まえて、豚の解体ラインにおけるATP検査の目安値としては、ダーティーゾーンでは10,000RLU、クリーンゾーンでは1,000RLUと考えています。今後、この目安値が妥当であるか、実際に解体ライン作業員に対してATP検査を用いた指導をしながら検証していきたいと考えています。

3 内臓処理室での活用事例

～サンテナの洗浄指導に活用～

牛の内臓業者は、「サンテナ」と呼ばれるプラスチック製の内臓用容器を内臓保管時に使用しています(「コンテナ」と呼ぶこともあります)。滋賀食肉センターでは、サンテナは内臓業者ごとに管理することとなっていますが、細かな傷がついていたり、カビが見られたり、水分が残っていたりなど、管理状態が悪い業者が見受けられています。このような業者には口頭での指導を行っていますが、なかなか改善が図られて

洗浄評価	各スコア(点)	ATP検査の結果(RLU/100cm ²)	細菌検査の結果(検出菌数/100cm ²)
良好	5	1,000未満	大腸菌不検出、大腸菌群1,000未満、一般細菌10,000未満
やや良好	4	1,000以上10,000未満	大腸菌不検出、大腸菌群1,000未満、一般細菌10,000以上
やや不十分	3	10,000以上100,000未満	大腸菌不検出、大腸菌群1,000以上、一般細菌10,000未満
不十分	2	100,000以上500,000未満	大腸菌不検出、大腸菌群1,000以上、一般細菌10,000以上
不良	1	500,000以上	大腸菌検出

表2 洗浄評価基準

ランク	合計スコア(点)	洗浄評価	評価
A	10	良好	十分洗浄できていますので、これからもこの状態を維持してください。
B	8～9	やや良好	十分洗浄できていますが、より衛生的にするため洗浄工程の見直しをお勧めします。
C	7～8	やや不十分	洗浄のやり直しや洗浄工程の見直しをお勧めします。
D	4～6	不十分	洗浄のやり直し、洗浄工程の見直しが必要です。
E	2～3	不良	洗浄のやり直し、洗浄工程の見直しが必要で早急が必要です。

表3 総合評価基準

予備洗浄	温湯で残さを洗い流す
本洗浄	洗剤を使い、スポンジで隅々まで洗う
すすぎ	温湯で十分すすぐ
消毒	次亜塩素酸ナトリウムに浸漬後、よく水洗する
乾燥	風通しを良くし乾燥、もしくは衛生的なもので水分を拭き取る
保管	衛生的な場所で保管

表4 サンテナの洗浄・消毒の指導内容

いません。そこで「サンテナ洗浄の衛生指導にATP検査と細菌検査が活用できないか」と考え、当所では平成25年から指導をしています。

今回は、昨年度の取り組みについて紹介します。平成27年7月と9月に使用直前のサンテナ（7月：22検体、9月：20検体）を対象とし、ATP検査と細菌検査（生菌数、大腸菌群数および大腸菌数）を行いました。

その結果、7月調査では約半数のサンテナから大腸菌が検出されるとともに、一般細菌も多く検出されました。また、過去の調査結果を基に、表2のようにATP検査のRLU値を基に「1（不良）」～「5（良好）」、細菌検査の結果を基に「1（不良）」～「5（良好）」のスコアをつけました。さらに、「ATP検査のスコア（5点満点）」と「細菌検査のスコア（5点満点）」を合計して、表3のように10点満点のスコアもつけました。業者には「表2のスコアで4～5点、表3のスコアで8～10点（AランクまたはBランク）を目標にしてください」と伝えました。

7月の調査結果を基に、業者に対して、表4の手順に沿った洗浄を指導しました。そして、9月に改めてATP検査と細菌検査を実施したところ、大腸菌が検出された業者は約3割まで減少しました。また、RLU値、一般細菌数、大腸菌群数ともに低下が認められました。9月調査では（7月調査時と比較して）表5のとおり、A～Bランクの業者数が約2割増、D～Eランクの業者が約3割減という変化が見られました。衛生指導を受けた業者からは「口頭で指導されるよりも、数値で説明された方がわかりやすく、納得して改善が進められた」「きちんと洗浄すれば、それだけ数値が目で見下がるので、どれくらい洗えば十分かわかった」といった声が聞かれています。

以上のように、ATP検査と細菌検査を基に衛生指導を行った結果、サンテナの衛生状態に改善が認められました。今後も、この取り組みは継続していきたいと考えています。

ランク	7月	9月	
A	1 (4.5%)	0 (0%)	↑ 約2割増
B	5 (22.7%)	10 (50%)	
C	2 (9.1%)	3 (15%)	↓ 約3割減
D	9 (40.9%)	6 (30%)	
E	5 (22.7%)	1 (5%)	
計	22	20	

表5 各ランクの業者数とその割合

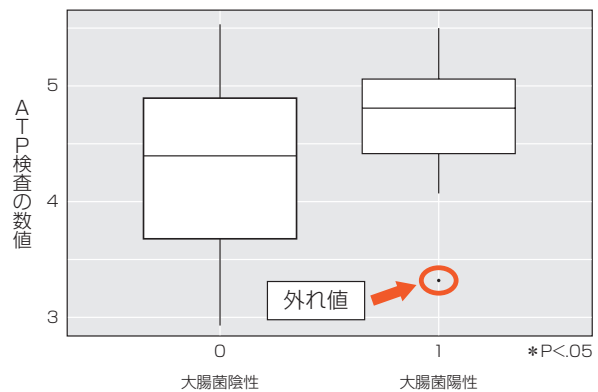


図5 大腸菌の有無によるATP検査結果の比較

4 ATP検査の目安値設定の考え方

～統計学に基づく目安値を検討～

ATP検査は、迅速（ふき取ってから10秒程度）かつ簡便に、結果が数字で得られるというメリットがある反面、「結果（数値）の解釈が難しい」という側面もあるように思います。

また、目安値の設定方法にも考慮が必要です。測定機器のメーカーによる推奨値もありますが、できれば現場ごとの汚染状況などを確認した上で、独自の目安値を設定するのが望ましいです。例えば、先ほどの牛内臓のサンテナの事例でいえば、業者ごとにサンテナを複数回（例えば10～20回といったように）ふき取り、業者ごとの目安値を決める方法が推奨されます。しかし、この進め方は行政指導としては使いにくいのが現状です。

そこで、「RLU値を基に目安値を設ける」という従来からのアプローチではなく、「食品衛生上、最重要視する『大腸菌の検出（大腸菌の有無）』と『RLU値』の関係性を基に目安値を設ける」というアプローチを考えました。方法としては、前出のサンテナ洗浄の衛生指導で用いた42検体（7月調査：22検体、9月調査：20検体）のデータを基に、ロジスティック回帰分析によるモデル化を行いました（統計処理ソフト「R」（Version3.2.4）を使用）。

$$\text{logit}(p_i) = \ln\left(\frac{p_i}{1-p_i}\right) = \alpha + \beta_1 x_{1i} + \text{誤差}$$

↑ 大腸菌が検出される確率
 ↑ ATP 検査の測定値

図6 ロジスティック回帰分析

ATP 検査の数値	大腸菌がいる確率
1	0.1%
10	0.3%
100	1.4%
1,000	5.8%
10,000	20.9%
100,000	53.1%
1000,000	82.9%

表6 大腸菌の有無と RLU 値

		大腸菌検査	
		陽性	陰性
ATP 検査	1 万以上	15	15
	1 万未満	0	11
		感度	特異度
		1	0.42

表7 感度と特異度



まず、図5の箱ひげ図(ボックスプロット)を作成しました。図5の左側は大腸菌陰性の検体の RLU 値の分布、右側は大腸菌陽性の検体の RLU 値の分布です(1検体の結果は外れ値として除外しました)。大腸菌が陰性の検体は RLU 値は低いところで分布し、陽性の場合 RLU 値が高いところで分布することがわかります。

さて、ここでは「RLU 値によって、大腸菌の陽性・陰性の確率がどの程度変わるか」ということを考えます。その確率を求めるために図6のロジスティック回帰分析を行ったところ、表6に示すように「RLU 値によって、大腸菌が存在する確率が有意に変化する」ということがわかりました。

表6のように検出確率が算出されたので、次に「目安値」をどこに設定すればよいか検討するために、「感度と特異度」を用いて目安値を決めました。ここでいうところの「感度」とは「大腸菌が陽性であるサンテナを、ATP 検査の結果から『陽性』と判断できる割合」、「特異度」とは「大腸菌が陰性であるサンテナを、ATP 検査の結果から『陰性』と判断できる割合」と表現できます。具体的には ROC 曲線から、最適な感度と特異度を求めたところ表7のようになり、「感度が高いので、除外診断として ATP 検査の結果が使える(RLU 値が 10,000 未満の場合は、大腸菌が検出されにくい)」ということがわかりました。

この結果から、内臓用容器として使用するプラスチック製サンテナの ATP 検査の目安値(「大腸菌陰性」と判定するための目安値)は「10,000RLU」ということができます。今後は、この目安値を用いて、その場で洗浄方法の良・不良を判断し、不良であった場合は、その場で再度の洗浄を指導していくことで、牛内臓の衛生を確保していくことを考えています。