

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3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3年9月1～21日
全国食肉衛生検査所協議会 微生物部会研修会	〃	令和3年10月
全国食肉衛生検査所協議会 病理部会研修会	〃	令和3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4年1月26～28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3年 7月30日	岡山県獣医 公衆衛生学会	管内と畜場におけるゴキブリの 食中毒菌保有実態調査	松本佳奈子
		牛腸管に対する過酢酸製剤の 殺菌効果について	片田理志
令和3年 10月17日	獣医学術 中国地区学会 (動画開催)	管内と畜場におけるゴキブリの 食中毒菌保有実態調査	松本佳奈子
		牛腸管に対する過酢酸製剤の 殺菌効果について	片田理志

管内と畜場におけるゴキブリの食中毒菌保有実態調査

松本佳奈子

はじめに

ねずみやゴキブリ等のそ族昆虫は食中毒菌を運搬する可能性があり、と畜場の衛生管理のために防除しなければならない(と畜場法施行規則第3条第1項第19号)とされている。中でもゴキブリは食品取扱施設での出現頻度が高く、繁殖能力の高さから完全に駆除することが難しい。ゴキブリは下痢原性大腸菌(EHEC, ETEC, EPEC, EIEC, EAEC)及びサルモネラ属菌等の食中毒菌を保有するとの報告があるが、実際の保有率に関する報告は少なく、特にと畜場での報告はない。今回、管内と畜場で採取したゴキブリについて、下痢原性大腸菌及びサルモネラ属菌の保有実態を調査したので、その概要を報告する。

材料および方法

1. 検査材料

令和元年11月から令和2年10月の期間で、管内と畜場にて粘着トラップにより83匹のゴキブリを採取した。採取したゴキブリをすり潰した後、滅菌生理食塩水(9 mL)を加えてストマッキング処理を行い、作成した試料懸濁液を検体とした。

2. 検査方法

(1) 下痢原性大腸菌の検出

検体1 mLをNmEC培地(極東製薬)9 mLに加え、42°C、22±2時間で選択増菌培養を行った後、CT-SMAC培地(関東化学)とDHL培地(日水製薬)で36°C、18±2時間、分離培養を行った。各培地で大腸菌に典型的特徴を示すコロニーについて、生化学的試験を行った。

得られた大腸菌が下痢原性大腸菌であるかを調べるため、病原大腸菌免疫血清(デンカ生研)にてO血清型を確認した。凝集が見られた菌株については、さらにPCR Typing Kit(Takara)を使用して病原遺伝子の検査を行った。

(2) サルモネラ属菌の検出

検体5 mLを2倍濃度EEM培地(日水製薬)5 mLに加え、37°C、18±2時間で前培養を行い、RV培地(日水製薬)で42°C、18±2時間、選択増菌培養を行った。さらにDHL培地とMLCB培地(日水製薬)で36°C、18±2時間、分離培養を行った。

各培地でサルモネラ属菌に典型的な特徴を示すコロニーについて、生化学的試験を行い、サルモネラ免疫血清(デンカ生研)を使用してO群血清型を調べた。

成績

1. 採取したゴキブリについて

一般畜と室からは47匹、病畜と室からは33匹、その他の事務所や屋外からは3匹、

計 83 匹のゴキブリを採取した（表 1）。

表 1. 採取したゴキブリの採取場所

一般畜と室	病畜と室	その他*	計
47	33	3	83

※事務所、屋外

2. 下痢原性大腸菌の検出結果

大腸菌は 22 匹と、全体の 26.5%から検出された。採取場所別では、一般畜と室が 12 匹で 25.5%、病畜と室が 10 匹で 30.0%、その他の事務所や屋外のゴキブリからは検出されなかった（表 2）。

表 2. 採取場所別の大腸菌の検出率

一般畜と室	病畜と室	その他*	計
12/47 (25.5%)	10/33 (30.0%)	0/3 (0%)	22/83 (26.5%)

※事務所、屋外

下痢原性大腸菌はどのゴキブリからも検出されなかった。

3. サルモネラ属菌の検出結果

サルモネラ属菌はどのゴキブリからも検出されなかった。

考察

今回の結果では、と畜場で衛生管理上重要となる下痢原性大腸菌およびサルモネラ属菌については検出されず、ゴキブリによる食用肉への汚染のリスクは低いと思われた。しかし、大腸菌は 83 匹中 22 匹の 26.5%から検出され、ゴキブリが下痢原性大腸菌を保有する可能性は否定できない。

また、この大腸菌保有率は海外の報告と比較して非常に高く（表 3）、と畜場が他の施設よりも牛の糞便や消化管内容物により大腸菌で汚染されやすい場であることが示唆される。

採取場所別で見ると、検体数は少ないものの、と室を除くその他のゴキブリからは大腸菌が検出されず、と室のゴキブリで大腸菌保有率が高い傾向が見られた（表

表 3. 海外の大腸菌保有率との比較

国	採取場所	大腸菌保有率
イラン ^[1]	病院	8.3%
パキスタン ^[2]	家・病院	10.31%
エチオピア ^[3]	レストラン	16.7%
今回	管内と畜場	26.5%

2)。と室は牛の糞便や消化管内容物で汚染されやすく、と畜解体作業後の洗浄・消毒が不十分であると、そこをゴキブリが這い、残っていた大腸菌によりゴキブリが汚染されると考えられる。

管内と畜場では、過去の調査で牛表皮から下痢原性大腸菌が検出されたこともあり^[4]、作業後の施設の洗浄・消毒がより重要になる。

以上から、ゴキブリにより食中毒菌の汚染が広がる可能性は排除できない。そ族昆虫対策の徹底はもちろんのこと、食中毒菌をゴキブリに付着させないための作業後の施設の洗浄・消毒についても指導を徹底していきたい。

参考文献

- [1] Salehzadeh, A., Tavacol, P., and Mahjub, H.: Bacterial, fungal and parasitic contamination of cockroaches in public hospitals of Hamadan, Iran. *J Vect Borne Dis*, 44, 105–110.(2007)
- [2] Memona, H., Manzoor, F., and Anjum, A. A.: Cockroaches (Blattodea: Blattidae): A Reservoir of Pathogenic Microbes in Human-Dwelling Localities in Lahore. *J Med Entomol*, 54, 435-440. (2017)
- [3] Solomon, F. et al: Vector Potential of *Blattella germanica* (L.) (Dictyoptera: Blattidae) for Medically Important Bacteria at Food Handling Establishments in Jimma Town, Southwest Ethiopia. *Biomed Res Int*, (2016)
- [4] 松本佳奈子, 難波泰治: 管内と畜場における牛表皮及び枝肉の腸管出血性大腸菌汚染状況, 岡山県食肉衛生検査所令和元年度業務概要, 30-32(2020)

牛腸管に対する過酢酸製剤の殺菌効果について

溝上まりえ ○片田理志

はじめに

過酢酸製剤は従来非食品に用いられてきた殺菌剤であるが、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。有機物と接触しても失活しにくく、使用後は速やかに酢酸と水に分解されるという特徴 [1] 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。一方で強力な酸化作用をもつため、極端に高濃度かつ長時間の使用では対象物が脱色し、商品価値を損なうリスクも存在する [2]。過酢酸製剤の有効性とリスクについて、国内と畜場での使用報告は少なく、特に腸管に対する使用例は報告されていない。そこで、管内と畜場での運用を想定し、過酢酸製剤を牛腸管の殺菌に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。

材料および方法

1. 検体採取

令和 3 年 4 月から 6 月に管内と畜場に搬入された牛 8 頭から結腸の一部を採取し、通常の洗浄処理後約 10g ずつに分割したものを検体として用いた。

2. 過酢酸処理

管内と畜場では牛腸管を洗浄後、一定時間氷水に浸漬してから冷蔵している。氷水中に過酢酸を添加して使用する場合を想定し、パーサン MP2-J (エンビロテック・ジャパン) を過酢酸濃度 80ppm に調整した氷水に検体を 1 時間浸漬し、その後 24 時間冷蔵したものを処理群とした。処理群と同じ個体から採取した検体を、過酢酸を含まない氷水に 1 時間浸漬し、その後 24 時間冷蔵したものを対照群とした。処理群、対照群とも 1 個体につき 3 検体の細菌数を測定した。

3. 生菌数測定

指標として、一般細菌数 (以下 AC) および腸内細菌科菌群数 (以下 EB) を測定した。

冷蔵後の検体に滅菌生理食塩水 40mL を加えて 60 秒のストマッキング処理を行い、懸濁液を 1000 倍まで 10 倍段階希釈した。ペトリフィルム AC プレート (3M) に原液～1000 倍希釈液、ペトリフィルム EB プレート (3M) に原液～100 倍希釈液を各 1mL 接種し、37℃で AC は 48 時間、EB は 24 時間培養した。培養後にコロニー数を測定し、検体 1g あたりの菌数を算出した。

成績

1. 過酢酸処理の有無による生菌数の変化

生菌数の測定結果を図1に示した。ACについては、対照群の平均 2.3×10^4 CFU/g に対し、処理群の平均は 1.6×10^4 CFU/g であった。同様に、EBについては 5.7×10 CFU/g に対し 4.2×10 CFU/g であった。処理群の平均菌数は対照群の平均菌数のそれぞれ 69.2%、74.1%となったが、AC、EB共に処理群と対照群の間に有意差は認められなかった。

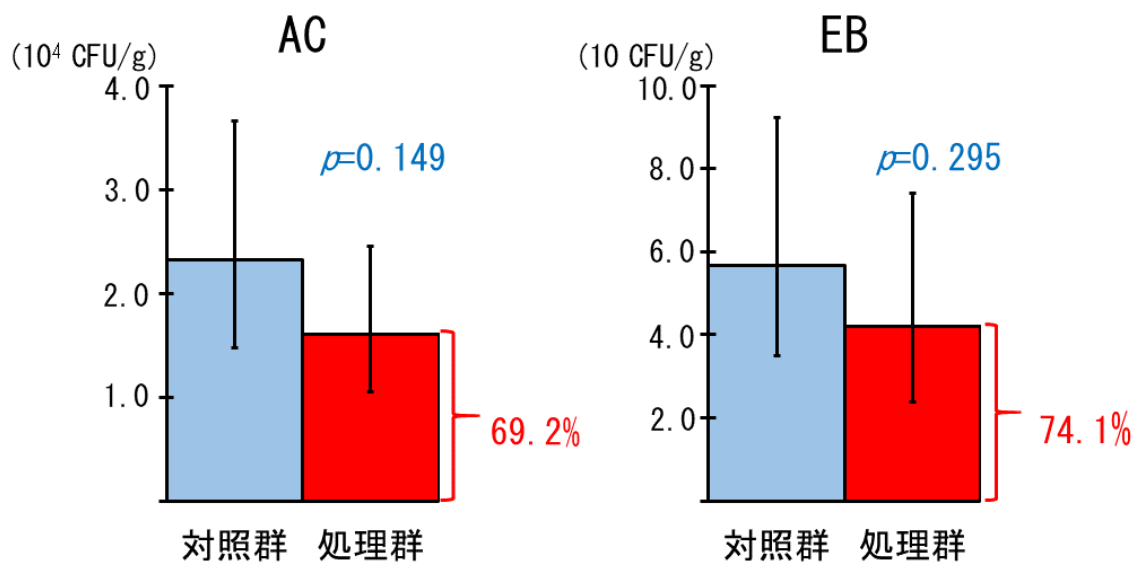


図1.過酢酸処理による生菌数の変化

2. 過酢酸処理による色調への影響

24時間の冷蔵後、処理群と対照群の色調を肉眼で比較した(図2)が、脱色等の影響は認められなかった。

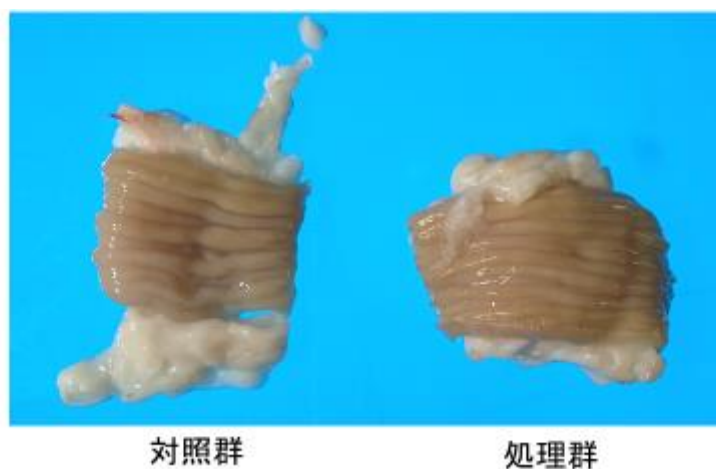


図2.過酢酸処理による色調の変化

考察

今回の調査では牛結腸の過酢酸処理による殺菌効果に有意な差は認められなかったものの、平均菌数は AC 及び EB で共に減少した。今回の結果から、80ppm, 1 時間の過酢酸浸漬は牛腸管の殺菌に十分に有効であるとは言えなかった。しかし、過酢酸製剤による殺菌効果は濃度、処理時間、水温、使用方法等に影響されることが知られている [3]。管内と畜場での運用を想定すると水温と使用方法を変更することは難しいが、濃度と処理時間は比較的変更が容易であり、これらの条件を調節することでより高い殺菌効果が期待できる。

過酢酸製剤の使用基準は内臓を含む食肉で 1800ppm 以下と高く設定されている(表 1)。今回は使用方法が浸漬であることを考慮し、生野菜等の浸漬処理で用いられている 80ppm で調査を行ったが、より高濃度での使用も可能である。今後は過酢酸製剤の最適な濃度及び処理時間について検討を加え、食肉処理工程における簡便かつ有効な殺菌方法の確立を目指したい。

表 1. 過酢酸製剤の使用基準 (昭和 34 年厚生省告示第 370 号より)

品目	使用濃度 (上限)	使用方法
野菜・果実	80ppm	
鶏肉	2000ppm	噴霧または浸漬
牛・豚肉	1800ppm	
魚	使用不可	

参考文献

- [1] 食品安全委員会: 過酢酸製剤及び同製剤に含有される物質 (過酢酸、1-ヒドロキシエチリデン-1, 1-ジホスホン酸、オクタン酸、氷酢酸、過酸化水素), 2017
- [2] 葛谷光隆: 食鳥肉における微生物汚染低減策の有効性検証事業 (厚生労働省委託), 岡山県食肉衛生検査所平成 29 年度業務概要, 31(2017)
- [3] Sagripanti JL, Bonifacino A. Comparative sporicidal effects of liquid chemical agents. *Appl Environ Microbiol.* 62(2),545-51(1996).