

ATP を用いたサンプリングプランによる豚枝肉ロットの合否検証

豊橋市食肉衛生検査所 ○森本 賢治、 安岡 知未、 高木 慎介
岡田 麻美子、 葛岡 功弥子、 山内 俊平

はじめに

当と畜場では、腸管出血性大腸菌及びサルモネラ属菌を危害微生物とし、資料を参考引用して腸管出血性大腸菌及びサルモネラ属菌の摂取時安全目標値 (FSO) を 0.014CFU/g ($-1.85 \log\text{CFU/g}$) とした [1]。加熱により腸管出血性大腸菌が 4.7 対数分減との報告があるため [2]、と畜場での豚枝肉の達成目標値 (PO) を $2.85 \log\text{CFU/g}$ とした。指標菌を現行の枝肉拭取り検査で用いる一般生菌数とし、一般生菌数に占める腸管出血性大腸菌の比率については安全域を見込み最大 1%、細菌については表層に限局すると仮定し、PO (一般生菌数) を $4.85 \log\text{CFU/cm}^2$ とした。これら危害分析に基づき平成 28 年度、豚枝肉冷却工程を CCP とする HACCP 方式による微生物危害制御システムを構築した [3]。

一方、枝肉の PO (一般生菌数) 適合性確認を現行の 48 時間培養法とした場合、結果判明時には大半がと畜場外に搬出されている。よって、何らかの措置を伴う個体評価及びロット検証とするには、新たな迅速検査法の導入が不可欠となる。

今回、一般生菌数とアデノシン三リン酸 (ATP) 発光量との相関を調査し、短時間での検査が可能な ATP による豚枝肉ロットの合否を判断するためのサンプリングプランを決定したので報告する (図 1)。

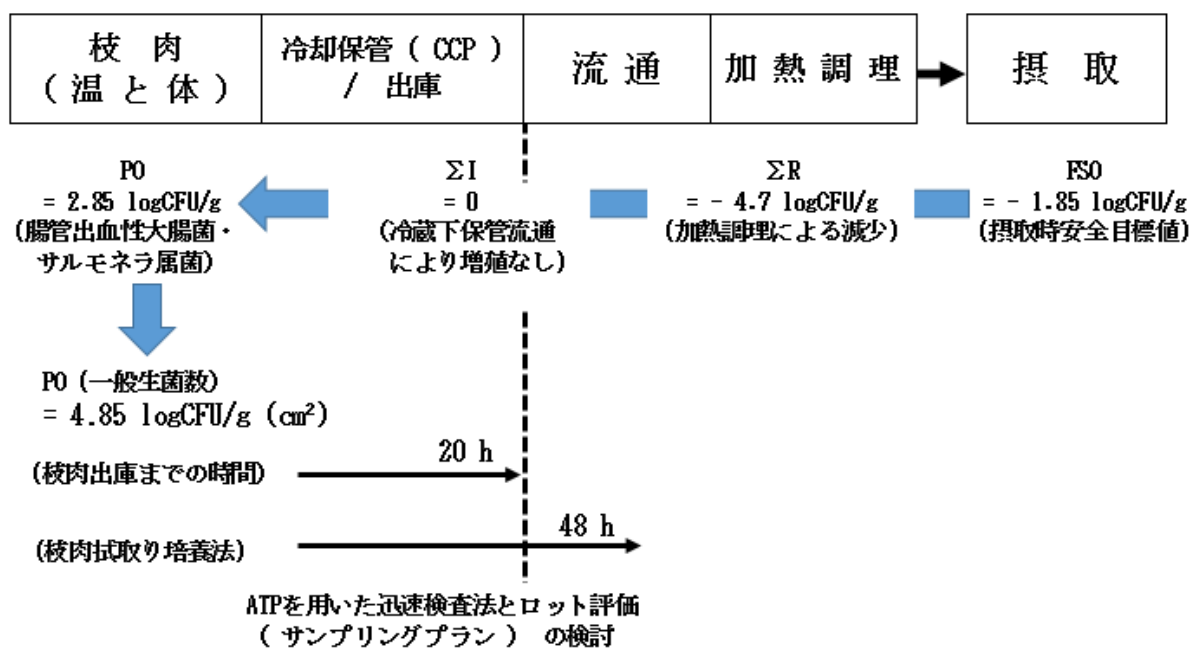


図 1 豚枝肉の PO (一般生菌数) の決定と ATP を用いた迅速検査法の導入

材料及び方法

1 豚枝肉ロットの合否検証

1日あたりの豚と畜数 ($N=500\sim 1,200$) を枝肉ロット、同ロットを正規分布、バラツキの大きいものとして標準偏差 $1.2 \log\text{CFU}/\text{cm}^2$ とし [4]、最も汚染されているロットでもその 97.7% (平均 $+2\sigma$) が PO を超えない平均 $2.45 \log\text{CFU}/\text{cm}^2$ のロットを汚染限界ロットとした。当と畜場の微生物規格 (MC; 一般生菌数) を過去 3 年の拭き取り検査結果を考慮し $3.27 \log\text{CFU}/\text{cm}^2$ に置いた。条件付で許容できる数 (C; MC~PO の区分) を 1 とした場合、当該ロットを 95% の確率で不合格とすることができるサンプル数 (n) を二項分布関数の累積分布を用い計算し決定した (図 2)。

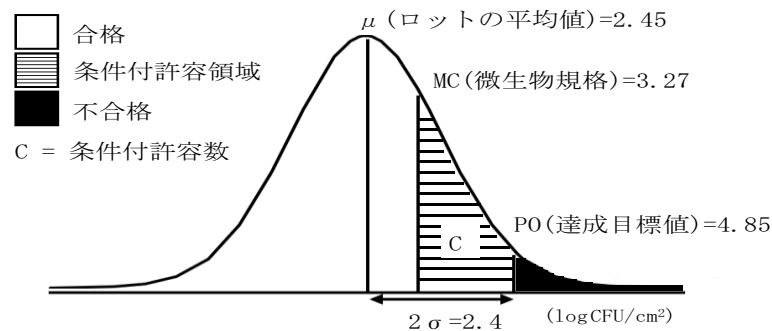


図 2 サンプルングプランによる検証すべきロット

2 一般生菌数と ATP 発光量の測定及び相関

豚枝肉の拭取り 76 検体 (敗血症 30 検体、残り 46 検体は無作為抽出) をルシフェール Meat 及びルシフェール HS セット (キッコーマン) を用い、取扱説明書に従い段階希釈・試料調整し、発光試薬を加えた後、直ちにルミテスター C-100 (キッコーマン) で ATP 発光量を測定した。希釈各段階 1ml をペトリフィルム培地生菌数測定用 AC プレート (3M) に 2 枚ずつ接種し、 35°C 48 時間後のコロニーを計数後に平均し、横軸を一般生菌数 ($\log\text{CFU}/\text{cm}^2$)、縦軸を ATP 発光量 ($\log\text{RLU}/\text{cm}^2$) とする回帰直線式、相関係数 (r) を算出した。得られた回帰直線式から ATP 測定値を一般生菌数に換算したものをロットの合否評価に用いた。

成績

1 一般生菌数と ATP 発光量の測定及び相関

回帰直線式 $Y=0.52X+1.28$ 、相関係数 $r=0.84$ で表せる良好な正の相関が得られた。直線式から、PO (一般生菌数) $4.85 \log\text{CFU}/\text{cm}^2$ に相当する ATP 発光量は $3.80 \log\text{RLU}/\text{cm}^2$ 、MC (一般生菌数) $3.27 \log\text{CFU}/\text{cm}^2$ の ATP 発光量は $2.98 \log\text{RLU}/\text{cm}^2$ であった (図 3)。

2 豚枝肉ロットの合否検証

PO (一般生菌数) $4.85 \log\text{CFU}/\text{cm}^2$ 、MC (一般生菌数) $3.27 \log\text{CFU}/\text{cm}^2$ 、平均 (μ) $2.45 \log\text{CFU}/\text{cm}^2$ の限界汚染ロットにおいて、C を 1 とした場合に必要な n 数は 17 であった。

考察

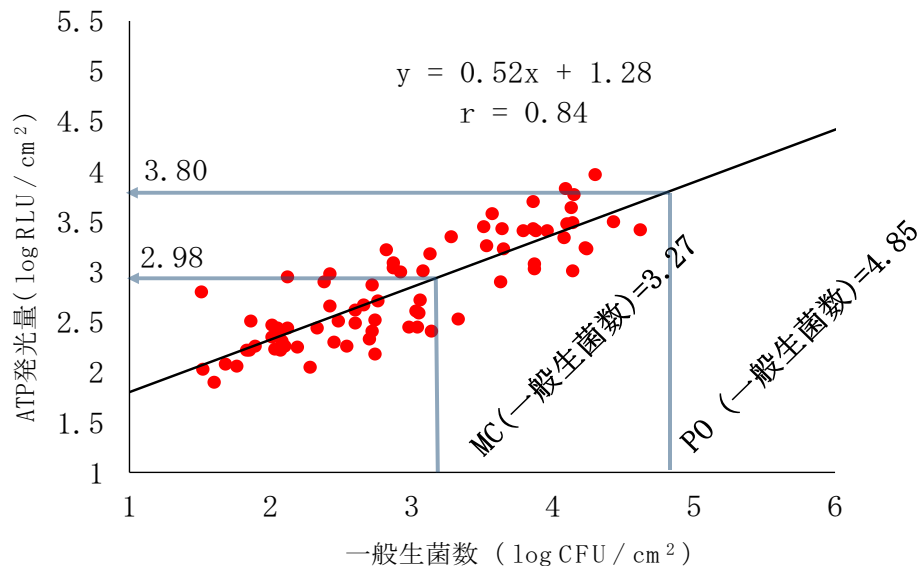


図3 一般生菌数とATP発光量の測定及び相関

一般生菌数とATP発光量に良好な正の相関 ($r=0.84$) が得られたことからATPは枝肉汚染指標として有効と考えられた。ATP活用により従来の48時間から1時間30分へと検査時間が短縮され、サンプリングプランによる枝肉ロット検証がほぼリアルタイムで可能となった。

一方で、と畜後すぐの豚枝肉を表層汚染に限定し、深部への浸潤はほぼ無いと判断し、サンプリング方法を従来法(枝肉表面の綿球拭取り)としたが、表面を削り取る方法の菌量と比較し、拭取りでは10%程度の回収率に留まるとの報告もある[5]。枝肉表面の凹凸と拭取り方法や圧力が回収性に影響すると思われるが、今後、格付けに影響しない範疇での拭取りについても検討を加えていきたい。

生産者不利益が比較的小さい場合におけるサンプリングプランにおいては、消費者リスク(率)を限りなくゼロに見積もることが理想であるが、ロット証明に膨大なサンプル数を要する。今回、実行可能性も踏まえ危険率を5%とするサンプリングプランとした。

枝肉の購買者・消費者目線で見ると、危害の数量化(見える化)がより重要となる。今後、HACCP工程の頑健性とあわせ、危害の数量検証システムの充実を図っていきたい。

引用文献

- (1) 山本茂貴：獣医疫学雑誌, 15(2), 110-113(2011)
- (2) Aarieke E. I. de Jong : IJMicrobiol, Article ID 196841, 10(2012)
- (3) 葛岡功弥子：平成28年度食肉衛生技術研修会, 152-154(2016)
- (4) 春日文子：日本食品微生物学会雑誌, 26(3), 159-162(2009)
- (5) 大西理恵：愛媛県食肉衛生検査センターホームページ, 平成16年調査研究(2004)