

と畜検査結果等から見た家畜衛生に関する考察—ある寄生虫性肝炎多発農場の場合

1 はじめに

A農場ではオガクズ交換・豚舎の消毒は豚房が空いたとき（1年で約3.5回）に行っており、交換量は全体のごく一部である。オガクズは豚回虫の生育環境に適しており、感染が成立しやすいとされている。

今回、農場管理獣医師と協議のもと、駆虫薬であるが作用機序の異なるイベルメクチン及び塩酸レバミゾールを、それぞれ期間を分けて投与した。駆虫薬の変更前後の肝臓の白斑数及び糞便中虫卵数の変化、平均出荷日数等増体率と肺廃棄率の季節性変化について検証し、検証結果を今後の家畜衛生及び飼養管理の向上に生かす。

2 材料および方法

イベルメクチン投与群：肝臓のみ 248 検体、肝臓と糞便 105 検体

レバミゾール投与群 : 肝臓のみ 511 検体、肝臓と糞便 80 検体

A 農場で寄生虫性肝炎により廃棄された肝臓および同一個体の腸管を採材し、肝臓の白斑数のカウント及びシヨ糖浮遊法による糞便の虫卵検査を実施し、駆虫薬と肝臓の白斑数、虫卵の有無ならびに増体率、肺廃棄率について検証した。

3 結果および考察

イベルメクチン投与群とレバミゾール投与群の白斑をそれぞれ計測し比較したところ、双方とも中央値が 100 となり、有意差はなかった。駆虫薬別の虫卵検出率は、レバミゾール投与群はイベルメクチン投与群の約 2 倍であった。これは、飼養形態から、駆虫後も常に虫卵を摂取し再感染を繰り返しているため、駆虫薬の効果が現れにくかったためと考えられる。

肝白斑数と糞便中虫卵の関係は、虫卵があっても白斑数が少なく、虫卵がないと白斑数が多い傾向があるが有意差はなかった。これは、肝臓の白斑は回虫の幼虫移行後約 60 日で自然治癒し、回虫は感染後約 60 日で成虫になるため、虫卵排出時には肝臓が治癒の段階に差し掛かっているためと考えられる。

回虫感染下における増体率については、季節で比較すると春～夏に比べ秋～冬の出荷日齢が有意に長かった。肺廃棄率については、秋～冬に比べ春～夏が有意に高かった。回虫の発育至適温度は22～30℃のため、回虫寄生増加により肺損傷が増加した可能性が考えられるが、出荷日齢については回虫との関連は不明であった。このことから、増体に影響する呼吸器疾患以外の未知の要因が存在し、秋～冬の出荷日齢を延長させている可能性が示唆された。

以上より、豚回虫の排除には駆虫薬の投与のみでは不十分であり、豚舎の消毒やオールインオールアウトなど回虫自体を排除する飼養管理が必要であることがわかった。

ウェブブラウザで利用できる食肉検査データ簡易統計解析法

北海道八雲食肉衛生検査所 足立泰基

【要約】

衛生的な食肉生産のために、食肉検査データを疫学的に解析し、家畜衛生の向上や衛生的な食肉生産に生かす試みが広く行われている。北海道の食肉衛生検査所では、食肉検査における廃棄数の経時変化が有意なものであるか否かを生産者が判断できるよう、疫学的な解析方法の一つである時系列分析法による分析結果を還元する試みを行ってきた。しかし、食肉衛生検査所ではセキュリティ上の理由から情報機器の利用に制約があり、新たなソフトウェアの導入や自主的な開発は容易ではない。そこで、統計計算を実行可能なインターネットサーバー(クラウド IDE)で動作する食肉検査データの時系列分析用プログラムを作成し、同プログラムを用いてウェブブラウザから食肉検査データの時系列分析の検討を行った。その結果、一定のインターネット接続環境があれば、どこでも使用可能であること、並びに、適切な数値を設定することにより、得られた時系列モデルの 95%以上が残差の自己相関性の点においてモデルとして妥当性を有することが明らかとなった。

食肉処理場冷蔵庫内における枝肉表面温度変化の非線形回帰分析法

北海道八雲食肉衛生検査所 足立泰基

【要約】

食肉処理場における HACCP プランの科学的根拠を得るために、冷蔵中の枝肉表面温度変化の統計モデル作成が行われているが、区間推定まで行った研究は少ない。本論文の目的は、冷蔵された牛枝肉表面温度の経時的温度測定データをもとに統計学的モデルを作成し、複数の方法による区間推定の結果を比較することである。53頭の牛枝肉の冷蔵庫内における表面温度変化のデータから最小二乗法によってパラメータを推定した。次に、テイラー展開の一次近似式を用いる方法、フィッシャー情報量の逆行列を用いる方法、パラメトリックブートストラップ法及びジャックナイフ法の4種類の方法によってパラメータの信頼区間、枝肉表面温度の信頼区間及び予測区間を計算した。各区間の値には、顕著な差異は認められず、いずれも枝肉表面温度の区間推定に使用可能であると考えられた。

食肉処理場における冷蔵豚枝肉表面の大腸菌数予測方法に関する検討

北海道八雲食肉衛生検査所 足立 泰基

【はじめに】

食品における微生物の増殖等を数理モデルとして記述し、食品における微生物学的な安全性を定量的に評価する研究分野を予測微生物学といい、国際的には HACCP のツールやリスクアセスメントの要素として広く活用されている[1]。欧州食品安全機関 (EFSA) は、食肉処理場等における枝肉冷蔵条件の安全性を予測微生物学的手法で検討し、2014 年に報告している (以下 EFSA の報告と記載)[2]。

EFSA の報告では、枝肉の細菌性病原体の大半は表面で増殖するため、枝肉の表面温度が肉の安全性に深く関係すると述べられており、さらに、指数関数モデルを用いて枝肉表面温度の経時的な値を計算し、その値をもとに二段階モデルで大腸菌等の 4 菌種の増殖曲線を計算により求めている。大腸菌数予測の二段階モデルでは、Ross らの方法[3]で計算した増殖率を、Baranyi らのモデル[4]に導入することにより増殖曲線を得るものであり、統計ソフトの R[5]を用いたことが EFSA の報告には記載されているが、この情報のみでは、実際に大腸菌数を計算するのに不十分である。そこで、R を用いて EFSA の報告に開示された温度データから大腸菌数を計算させる詳細な手順を検討し、EFSA の報告における結果と同一のものが得られるかを、まず大腸菌の例で確認した。

また本方法を応用し、実際とは異なる温度に冷蔵庫を設定した場合に、菌数がどのように推移するかを予測できると考えられるため、冷蔵庫の温度を変化させた場合の大腸菌数増殖曲線についても計算を試みた。

【材料と方法】

一般的な食肉処理場の平均的な冷蔵庫内豚枝肉表面温度の式として EFSA の報告に記載されている下の (1) 式を用いた。

$$T(t) = T_a - (T_0 - T_a)e^{-kt} \quad (1)$$

ここで、 $T(t)$ は、 t 時点における枝肉表面温度、 T_a は、平衡状態にある枝肉表面温度、 T_0 は、入庫時の枝肉表面温度、 k は、係数であり、計算には EFSA の報告に掲載されている値を用いた。平衡状態にあるとは、冷媒と冷却対象の温度が一致した状態であるから、冷蔵庫の設定温度とみることができる。

大腸菌の増殖曲線を EFSA の報告に記載の方法によって求めた。具体的には、冷却開始時点に枝肉表面に $10\text{CFU}/\text{cm}^2$ の大腸菌が存在した場合に 10 分ごとの最大増殖率の変化を計算し、それを積算することによって予測増殖曲線を得た。具体的には 10 分ごと最大増殖率 $\mu_{\max}$ を Ross らの方法[3]に従い、(2) 式によって計算した。

$$\sqrt{\mu_{\max}} = c \cdot (T(t) - T_{\min}) \cdot (1 - e^{(d \cdot (T(t) - T_{\max}))})$$

$$\cdot \sqrt{(a_w - a_{wmin})} \sqrt{(1 - 10^{(pH_{min} - pH)})} \cdot \sqrt{(1 - 10^{(pH - pH_{max})})} \\ \cdot \sqrt{(1 - [LAC]) / (U_{min} \cdot (1 + 10^{(pH - pKa)}))} \cdot \sqrt{(1 - [LAC]) / (D_{min} \cdot (1 + 10^{(pKa - pH)}))} \\ (2)$$

ここで、 a_w は、水分活性、 a_{wmin} は、増殖が可能なその最小値、 T_{min} と T_{max} は、増殖が可能な最低温度と最高温度、 pH は、水素イオン濃度 pH_{min} と pH_{max} は、細菌が増殖可能な pH の最小値と最大値、 $[LAC]$ は、乳酸の濃度、 U_{min} は、増殖を阻害する非解離型乳酸の最低濃度、 D_{min} は、増殖を阻害する解離型乳酸の最低濃度、 pKa は、非解離型および解離型乳酸の濃度が等しくなるときの pH であり、それぞれ、EFSAの報告に掲載されている値を用いた。

EFSAの報告では、 $Y_0=0 \log CFU/cm^2$ および $Y_{max}=8 \log CFU/cm^2$ の条件で Baranyi らのモデル[4]に(2)式で計算した増殖率を導入するとしているが Baranyi らは、lag なし条件の式を明記していない。そこで、論文に記載された(3)式に、論文中的説明をもとに lag なしとなるような値をパラメータとして設定して用いた。比較のため、米国農務省の細菌増殖モデル計算用プログラムである IPMP[6]の lag なしモデル((4)式)を用いた場合についても計算した。一連の処理プロセスを R 言語のスク립ト(プログラム)としてコードし、R. Ver. 3.5.1 で、処理を行った。

$$Y(t) = Y_{max} - \frac{1}{m} \ln(1 + \frac{e^{(Y_{max}-Y_0)-1}}{e^{m\mu_{max}A(t)}}) \quad (3)$$

$$Y(t) = Y_0 + Y_{max} - \ln(e^{Y_0} + (e^{Y_{max}} - e^{Y_0})) \cdot e^{-\mu_{max}t} \quad (4)$$

ここで、 $Y(t)$ 、 Y_0 および Y_{max} は、菌数の自然対数であり、それぞれ t 時点、開始時点および増殖可能な最大菌数を示している。 m は、曲率パラメータ、 $A(t)$ は、培養条件によって影響を受ける関数 $\alpha(t)$ を時間 t で積分して得られる関数である。

【成績】

Baranyi らのモデル(lag なし条件)と IPMP モデルで計算した豚枝肉表面の大腸菌数の経時変化を図1に示す。また、Baranyi らのモデル(lag なし条件)で T_a の値を $4^\circ C$ から $12, 20$ および $30^\circ C$ に変化させたときの大腸菌の増殖曲線の変化を図2に示す。

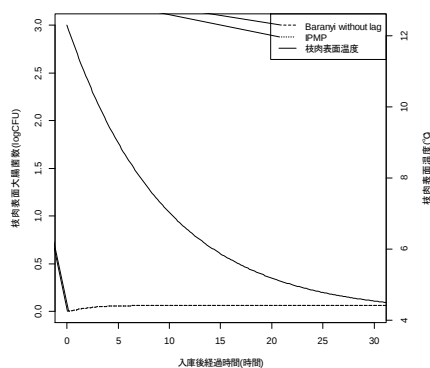


図1 Baranyi らのモデル(lag なし条件)と IPMP のモデル計算した豚枝肉表面の大腸菌数の経時変化。
Baranyi と IPMP の曲線は重なっている。

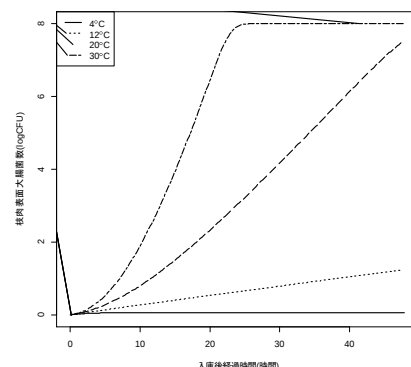


図2 Baranyi のモデル(lag なし条件)で T_a の値を $4^\circ C$ から $12, 20$ および $30^\circ C$ に変化させたときの大腸菌の増殖曲線の変化。

【考察】

Baranyi らの報告には、一般的な対数増殖 (generic growth) では、 $m=1$ となると説明しており、同報告の Fig2 に、lag なし条件として $A(t)=t$ の場合について示されていることから、lag なし条件とは、(3) 式において $m=1$ かつ $A(t)=t$ と解するのが妥当である。

(4) 式が掲載されている IPMP の使用説明書では、引用文献を Fang ら [7, 8] の報告としており、Baranyi らの報告を引用していないが、図 1 に示したとおり、両者とも同一の計算結果が得られる。

EFSA の報告では、大腸菌の T_{min} として 4.14°C [3] と 7.63°C (Table2) の 2 つの値を示している。それぞれ計算したところ、7.63°C を用いることにより、EFSA の報告 Fig. 6 に豚枝肉表面の大腸菌予測数として示されたものと同じものが得られる。

(1) 式における T_a として、実際の設定温度とは異なる冷蔵庫温度を入力することにより、冷蔵庫温度が変化した場合の大腸菌数のシミュレーションを行うことができ、その例を図 2 に示した。たとえば HACCP プランの CCP を枝肉冷蔵庫とした場合に、冷蔵庫の温度が CL 近傍となるとどのように大腸菌数が推移するかを予測することができ、CL の妥当性判断での参考にすることが考えられる。本検討では枝肉表面の温度として (1) 式を用いたが、一定時間ごとに測定した実測値を (2) 式に導入して、実測温度に基づいた増殖曲線を推定することも可能である。

処理に用いた R のプログラムコードは長いものではないが、紙面スペースの都合上掲載できない。R の使用に不慣れな検査員でも本方法を活用できるよう、次のサイトに掲載した (URL <http://dx.doi.org/10.13140/RG.2.2.24284.00646>)。

【まとめ】

EFSA が報告した食肉処理場の食肉に関する予測微生物学的な解析を、R の利用により食肉衛生検査所で実施することができる。

- [1] Koseki S: *Jpn J Food Microbiol*, 26(1), 1-6, 2009
- [2] EFSA Panel on Biological Hazards (BIOHAZ): *EFSA Journal* 12(3):3601, 2014
- [3] Ross T, Ratkowsky DA, et al.: *Int J Food Microbiol*, 82, 33-43, 2003
- [4] Baranyi J and Roberts TA: *Int J Food Microbiol*, 23, 277-294, 1994
- [5] Ihaka R and Gentleman RR: *J Comp Graph Stat*, 5, 299-314, 1996
- [6] USDA: (online) <https://www.ars.usda.gov/northeast-area/wyndmoor-pa/eastern-regional-research-center/docs/ipmp-global-fit/>
- [7] Fang T, Gurtler JB, et al.: *J Food Science*, 77, E247-E255, 2012
- [8] Fang T, Liu Y, et al.: *Food Microbiology*, 34, 174-181, 2013