

## 論文

# 新型コロナウイルス感染症の流行による長期休業後の管理栄養士養成施設の給食管理実習室における細菌の分布状況

木藤 伸夫・成瀬 祐子・裕野 佐也香・水野 尚子

Bacterial Distribution in Food Service Management Practice Rooms at a Dietitian Training Facility, After an Extended Absence Due To an Outbreak of Covid-19

KIDO Nobuo, NARUSE Yuko, HAZANO Sayaka and MIZUNO Naoko

## 要 旨

新型コロナウイルス感染症の流行により、2020年度の対面での講義・実習の開始は大幅に遅れた。本研究では給食経営管理実習の再開にあたり、長期閉鎖後の実習室を使用する際に、食中毒や食品汚染を防ぐためにはどのような細菌に注意したらよいか調べた。細菌はスタンプ培養法を用いて採取し、増殖した細菌数の計測や16Sリボソーム遺伝子の塩基配列を用いた菌種の同定を行った。実習前後では芽胞形成菌が主に分離され、実習中は人や食材に由来する菌の分離頻度が増加した。食中毒の原因菌であるセレウス菌も分離されたが、嘔吐毒素合成遺伝子は有していなかった。長期閉鎖後の実習開始時には、芽胞形成菌による食品汚染に注意する必要がある。

## キーワード

管理栄養士養成施設    給食経営管理実習    長期閉鎖    細菌分布    食中毒

## 目 次

I. 緒言

II. 材料と方法

III. 結果

IV. 考察

文献

## I. 緒言

新型コロナウイルス感染症の流行により対面授業の実施が困難となるなか、2020年度前期授業において松本大学ではインターネットを利用した遠隔授業による対応がなされた。この困難な時期に教員がどのような工夫を凝らして対応し、教育内容のレベルを保つためどのような授業を行ったかについては、本学教育総合研究第4号の別冊として「新型コロナウイルス感染症流行下におけるオンライン遠隔教育実践報告」として特集した<sup>1)</sup>。松本大学人間健康学部健康栄養学科は管理栄養士の養成施設であり、管理栄養士教育には実技・実習を欠かすことはできない。2020年5月7日から遠隔授業が開始され、講義以外の実技・実習についても当初の授業は遠隔で行われた。その後、2020年5月25日の緊急事態宣言解除を受け、本学コロナ感染症対策本部に学生の入構許可を申請し、万全な感染対策のもと、2020年度前期後半にはいくつかの実習が対面で行われるようになった<sup>2,3)</sup>。

日本の管理栄養士養成施設では、給食管理実習や給食経営管理実習は必修科目となっていて、給食の運営に関する各管理業務を体験し、給食を運営管理できる能力や経営管理する能力の修得を目的としている。具体的には、給与栄養目標量および喫食者の嗜好をふまえた献立を立案し、実際にその献立を100～130食程度提供する過程を通して、衛生管理、生産(調理)管理、サービス管理の実習を行う。また、食事の品質を高めるための調査・実測等も行い、「計画、実施、供食、評価」といった一連の給食業務を実習する。さらに、給食経営管理実習では、各施設を想定した給食を提供することを通して、各施設に応じた食事の提供や生産管理の方法を実習し、組織・人事・労務管理、施設・設備管理、会計・原価管理についても学ぶ。なかでも衛生管理は、給食を食べる人の健康を食品の腐敗や食中毒から守るために重要である。大量調理の実施に当たっては、厚生労働省による「大規模調理施設衛生管理マニュアル」、文部科学省による「調理場における衛生管理&調理技術マニュアル」、「調理場における洗浄・消毒マニュアルPart I、Part II」、「学校給食調理場における手洗いマニュアル」などで食中毒の予防に関する注意すべきポイントが詳細にまとめられている<sup>4,8)</sup>。「大

規模調理施設衛生管理マニュアル」は、HACCPに基づく食品調理時に監視すべき重要管理点に基づいて、大規模な食品サービス施設における食中毒の予防を目的として作成されたものであり、1回同一メニューを300食以上、または1日750食以上を提供する調理施設に適用されるものであるが、管理栄養士を目指す学生が食品を提供するまでに必ず身につけておかなくてはならない事項、原材料の受け入れや前処理の管理、加熱工程による食中毒菌やウイルスを不活性化する調理、調理食品と生食用食品の交差汚染に対する総合的な注意、食材や調理食品の温度管理による付着菌の増殖防止などについて詳細に記載されているため、十分に参考にしなくてはならない。本学科の学生は卒業後、管理栄養士として病院や学校・保育園の給食施設、介護施設などで働くケースが多いが、これらの施設で提供される病人や子ども、高齢者などの弱者のための食事は、他の健康な人に対する食事よりも、さらに厳重な注意が必要となる。食中毒を予防するためには、食品取扱者や原材料によって病原体を厨房内に持ち込まないことが必要であり、二次汚染を防ぐために、厨房の表面や設備はきれいに洗浄・消毒する必要がある。そのため、食品製造工場以外のこれらの給食施設、学校、病院などでも、食品、調理器具、調理台などの安全性、清潔性を確保するための作業が求められる<sup>4,8)</sup>。

国外では、家庭用厨房や外食施設における細菌の分布とその多様性が調べられて公表されている<sup>9,12)</sup>。近年では、16S rRNA 遺伝子(16S rDNA)のハイスループットシーケンスにより細菌分布が調べられるようになり、調査結果も報告されている<sup>13,14)</sup>。Floresら<sup>13)</sup>は、厨房内の機器や器具の表面には多様な細菌群集が広く分布していることを明らかにし、細菌が人や食品からこれらの厨房内設備表面に移動しやすく、その群集の構成は予測可能であることを示した。Limら<sup>14)</sup>は、外食施設における微生物組成を生物地理学的に明らかにし、遺伝的多様性とベイズ統計的アプローチにより、各表面間の交差汚染経路や相関関係を算出した。彼らの結論は、細菌は食品原材料、加工食品、作業者の手などを介して厨房に侵入し、他の食品、従業員、設備に移動するというもので、洗浄、調理、消毒・除菌により、調理場や作業から細菌が除去されることを示している。一方、本邦では食肉等の食品の付着細菌汚染状況に

関する調査報告は数多くあり、企業や検査会社等から発信される施設設備、調理器具等の汚染対策に関する情報に比べ、実際の細菌汚染状況に関する報告は多くない<sup>15)</sup>。

大学のような教育機関では学期間の長期休業の間実習室は使用されず、比較的長期にわたり実習室が未使用の状況となるが、2020年には新型コロナウイルス感染症の流行により、半年以上実習ができない状況が続いた。本研究では給食経営管理実習を再開するにあたり、長期間使用されていなかった実習室の細菌汚染状況を調査し、長期間中断した実習を再開する際に注意すべき非病原性細菌、あるいは病原性細菌の実習室内分布について検討した。本研究は、教育施設の授業再開時のみならず、しばらく使用されていなかった外食施設やハウス・レストランの厨房を再開する際に考慮すべき滅菌・消毒のプロセスについて新たな知見を提供すると考えられる。

今回の研究では、実習室内の細菌分布を把握するにあたり、食品中で増殖する可能性に重点を置き、従来の培養法を用いた。培養可能な菌の存在は、それらが調理された食事に混入したり、付着したりすることで増殖し、食品の腐敗や食中毒を引き起こす可能性があることを示唆する。実習室が長期間不使用となった場合、実習再開前に分離された菌はすべて土中、水中に生息し、空気中に飛散する芽胞形成菌である *Bacillus* 属の細菌であった。実習再開後は人や食材に由来すると考えられる細菌が分離され、実習終了後には再度芽胞形成菌が実習室に残存するという予想された結果となった。分離された細菌のほとんどは食中毒の原因菌ではなかったが、実習期間を通じて食中毒の原因菌として知られる *Bacillus cereus* (セレウス菌) が分離された。セレウス菌の嘔吐毒素遺伝子であるセレウリド合成酵素 (CRP) 遺伝子の存在をPCR解析により調べたので併せて報告する。

## II. 材料と方法

### 1. 菌の採取と培養

図1に示す給食管理実習室内の異なる衛生レベルの場所から、いわゆるスタンプ培養法により試料を採取し、37℃、48時間の培養を行った。25cm<sup>2</sup>の面積

の菌を集めるスタンプ培地「ぺたんチェック<sup>®</sup>25」(栄研化学)の3種類の培地を用いて菌を培養した。使用した培地は、生菌数測定用に標準寒天培地 (PCA)、大腸菌・大腸菌群用にES コリマーク寒天培地 (ESCM)、ブドウ球菌用に卵黄加マンニット食塩培地 (MSEY) を使用した。ペタンチェック培地で増殖した細菌は、普通寒天培地またはマンニット食塩寒天培地 (いずれも 日本製薬株式会社) を用いて純粋培養を行い、菌株の同定に用いた。

試料の採取は、対面による給食経営管理実習の開始2週間前、実習開始1週間後と3週間後、実習終了後1か月の計4回行った。実習開始後の採取は、実習室での学生の作業中に行った。培養方法から、本研究では好気性菌、通性嫌気性菌のみ扱うこととなり、嫌気性菌は分離されない。

### 2. 細菌の同定

分離した細菌の同定は、16S rDNA の塩基配列を用いて行った。純粋培養した細菌の独立したコロニーを滅菌蒸留水100  $\mu$ l に懸濁し、95℃で15分間加熱した。10,000  $\times$  g、2分間の遠心上清をPCR反応の鋳型DNAとして用いた。PCR反応には EmeraldAmp<sup>®</sup> PCR Master Mix (タカラバイオ株式会社) を使用し、添付マニュアルに従って反応を行った。PCR条件は、95℃5分でDNAを変性後、95℃30秒、55℃30秒、72℃60秒の反応を30サイクル行った。使用したプライマーの塩基配列を表1に示した。16S rDNA断片の増幅を0.9%アガロースゲル電気泳動で確認後、Nucleospin Gel and PCR Clean-up (タカラバイオ株式会社) で精製した。精製したPCR断片のDNA塩基配列の決定は、ユーロフィングェノミクス株式会社に依頼した。

### 3. 分離したセレウス菌株の嘔吐毒素セレウリド合成 (CRS) 遺伝子の同定

*Bacillus cereus* (CRS gene) PCR Detection Kit (タカラバイオ株式会社) を用いて、単離した3株のセレウス菌およびセレウリドを産生しない1株の *B. thuringiensis* について、CRS 遺伝子を有しているかPCR法を用いて調べた。手順は添付説明書に記載されている方法に従って行った。

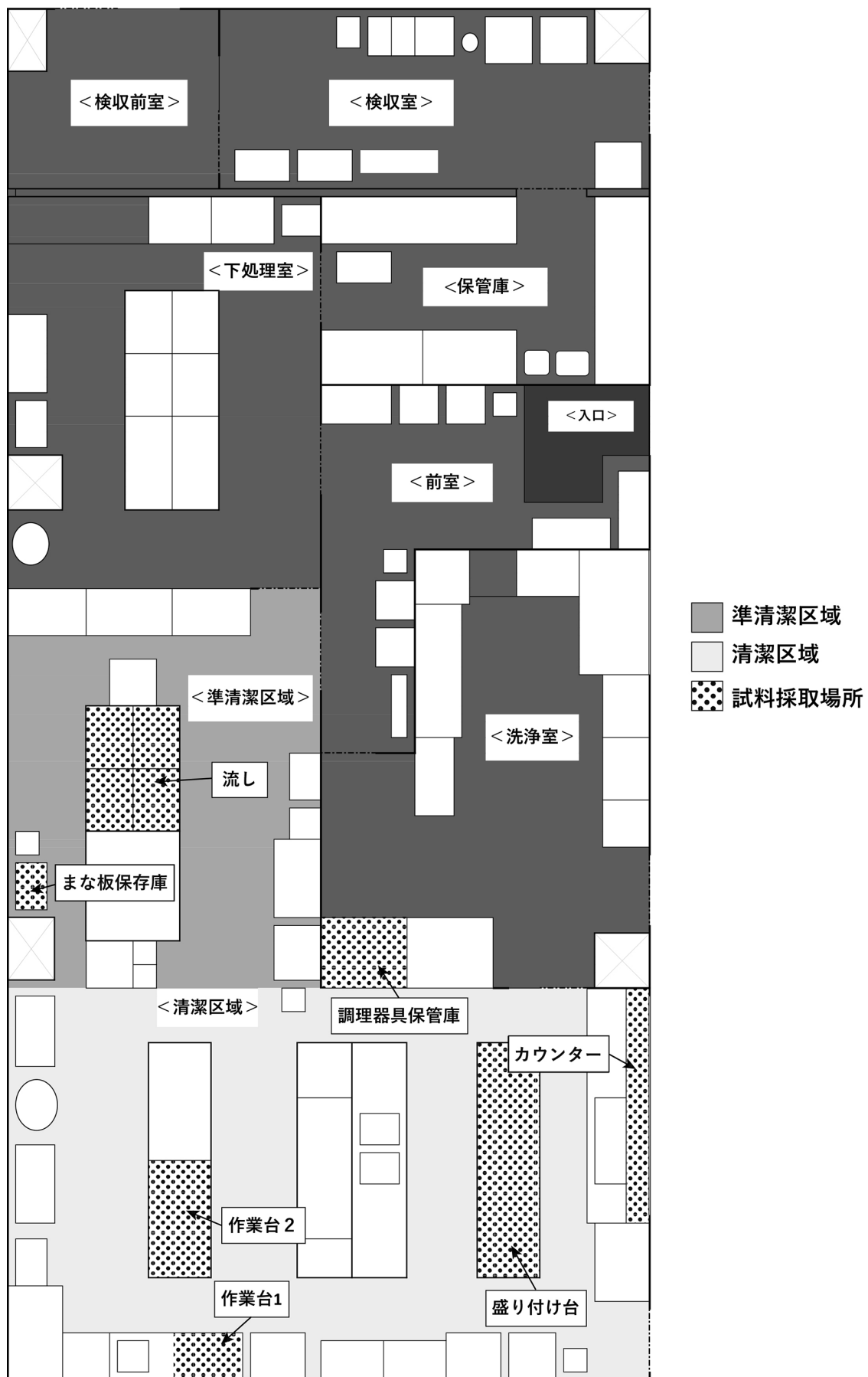


図1. 給食管理実習室の模式図と試料採取場所

4. 分離されたセレウス菌の由来について

セレウス菌は土壌に生息する細菌で、土壌、水、ほこりなどの自然環境に広く分布し、米、麦などの農産物が汚染されることが知られている。また、日本では炒飯やピラフ、麺類などが食中毒の原因となる例が多い。今回給食管理実習室で分離されたセレウス菌の汚染源の一つとして実習で使用した生米が考えられたので、生米の汚染状況を調べた。生米10gを90mlの滅菌リン酸緩衝生理食塩水(PBS)に懸濁し、ストマッカー(Stomacher 400 Circulator, Seward Ltd., UK)で100rpm、30秒間の処理を2回行った。得られた懸濁液の10<sup>2</sup>希釈系列をPBSで調製し、NGKG基礎寒天培地(日水製薬株式会社)に卵黄を加えて作製したセレウス菌分離用培地に、各希釈試料0.1mlを塗布し、30℃で24時間培養した。

Ⅲ. 結果

1. 実習室内の細菌分布状況

実習前、実習中、実習後の4回、図1に示した箇所ですべて菌の採取を行い、PCA、ESCM、MSEY培地で培養した。1cm<sup>2</sup>あたりのコロニー数を表2に示した。今回用いたスタンプ培養法による一般生菌数を用いた汚染状況の評価法としてTen Cateの評価法が用いられるが<sup>7, 15)</sup>、今回の調査ではほとんどの場所で、まったく菌が分離されない清潔、あるいは検出されたコロニー数が1 colony forming unit (CFU)/cm<sup>2</sup>未満のごく軽度の汚染という判定結果であった。表2で軽度の汚染に相当する結果を網掛けで示したが、実習室内が概ね清浄な状態で維持されていると

考えられる結果となった。個別の培地の結果を見ると、一般細菌を分離するPCA培地では、流しの汚染が実習前からある程度みられ(軽度の汚染)、実習中ではその数が増し最大14CFU/cm<sup>2</sup>(やや激しい汚染)に達した。またブドウ球菌を分離するためのMSEY培地では、実習開始後第3週に行った検査(実習中2)で、軽度の汚染に相当する2.4CFU/cm<sup>2</sup>の*S. epidermidis*が分離された。

まな板保管庫や調理器具保管庫においても、実習第3週の検査で中程度、あるいは軽度の汚染に相当する3.3、2.8CFU/cm<sup>2</sup>の菌数がPCA培地で確認された(表2)。まな板保管庫には殺菌用の紫外線ランプが設置されているが、紫外線による殺菌は紫外線が殺菌対象面に直接照射されることが必要で、収納した多数のまな板により紫外線が一部遮られたことが不十分な殺菌の理由かもしれない。MSEY培地には、*Staphylococcus*属だけでなく、耐塩性*Bacillus*属の菌株も生育し、本研究期間を通してコロニーがいくつか確認された。大腸菌・大腸菌群の検出に用いたESCM培地では、実習期間を通じてごく軽度の汚染に相当する菌数しか観察されなかったが(表2)、菌の増殖が見られた培地でもコロニーの色調から、増殖した菌は大腸菌や大腸菌群の菌ではないと判定された。

2. 分離した菌株の同定

分離した菌は16S rDNAの塩基配列を決定して、菌種を同定した(表3)。実習前に流し、作業台、盛り付け台などから分離された菌はすべて芽胞を形成する*Bacillus*属の菌で、菌種は8種類であった(表3)。

実習期間中の第1週目と3週目の2回菌を採取した。1週目には流し、まな板保管庫、調理器具保管庫か

表1 細菌の16S rRNA 合成遺伝子配列のPCR増幅、塩基配列の決定に使用したプライマーの塩基配列

Name	Sequence	Tm
16S-27f-b	AGAGTTTGTATCCTGGCTCAG	55.4
16S-1510r	GGTTACCTTGTTACGACTT	50.9
16S-516f	TGCCAGCAGCCGCGGTA	59.4
16S-1066r	CTGACGACARCCATGCA	53.4

Tm, melting temperature

ら、病原性が低く人の表皮に由来するブドウ球菌類、いわゆるコアグラゼ陰性ブドウ球菌や、人や動物の口腔、上気道、性器の粘膜常在菌として知られる *Moraxella* 菌などの分離頻度が上がり、*Bacillus* 属の分離頻度が顕著に低下した。さらに、水分の多い環境から分離されるブドウ糖非発酵グラム陰性桿菌と総称される *Acinetobacter* 属、*Pseudomonas* 属、*Chryseobacterium* 属、*Cupriavidus* 属の菌種も流しから分離された。これら分離された菌株のいくつかは、病原性は弱いのが免疫力が低下している易感染宿主に日和見感染を引き起こす菌種であるので、病院、介護施設、あるいは乳幼児などに給食を提供する施設では、菌の拡散を防ぐ対応が必要となる。

3週目には流し、作業台、盛り付け台、調理器具保管庫など多数の場所から、1週目に分離された人に由来するブドウ球菌類や *Moraxella* 属の菌が分離された。また、ブドウ糖非発酵グラム陰性桿菌も、流しをはじめとして複数の場所から分離された。3週目に新たに分離された菌種として、*Roseomonas* 属、*Micrococcus* 属があるが、分離された *R. mucosa* は日和見感染症の原因菌として知られ、空調施設や淡水湖の沈殿物からも分離されている。*M. luteus* は環境中や哺乳類の皮膚の常在菌として知られている。また、3週目には複数の場所で *M. osloensis* と *R. mucosa* が確認されていることから、教員や生徒、あるいは調理器具等にこれらの菌が付着して、流し、作業台、盛り付け台、調理器具保管

庫などに菌が移動した可能性が考えられた。なお、実習開始後3週目も *Bacillus* 属の菌はあまり分離されなかった。

実習終了1月後にも同様の場所で菌の採取を行った。この間実習室への学生の立ち入りはなく、教員の入室も限られた回数であった。*Bacillus* 属の菌が多く分離されたが、実習前には分離されなかった菌種も分離された。また、環境中の土壌や水に生息する *Roseomonas*、*Sphingomonas*、*Streptomyces*、*Pseudomonas* 属菌も分離されたが、これらの菌は芽胞を形成しないためその後短期間で消滅すると予想された。実習終了1月後に、それまで一度も菌が分離されなかった給食提供用のカウンターから *Bacillus* 属の菌が分離されたが、その理由は不明である。

### 3. セレウス菌の毒素産生遺伝子の有無について

セレウス菌は、実習前、実習期間中、実習終了後に異なる4箇所から分離された。本邦で発生したセレウス菌が原因となる食中毒のほとんどが嘔吐型であることから、これらの菌株が嘔吐型毒素セレウリドの合成遺伝子を有しているか検討した。異なる箇所から分離された4株のうち、保存してあった3株のセレウス菌(図3、レーン3-5)について、毒素非産生菌でセレウス菌の近縁である *B. thuringiensis* の1株

表2 PCA、ESCM、MSEY 培地の菌数(CFU/cmf)

採取場所 採取時期	PCA				ESCM				MSEY			
	前	実習中1	実習中2	後	前	実習中1	実習中2	後	前	実習中1	実習中2	後
流し	1.3	4.8	14	1.7	0	<1.0	<1.0	0	<1.0	<1.0	2.4	<1.0
作業台 1	<1.0	0	<1.0	<1.0	0	0	<1.0	0	<1.0	<1.0	0	<1.0
作業台2	0	0	0	0	0	0	<1.0	0	<1.0	0	0	<1.0
盛り付け台	<1.0	0	<1.0	<1.0	0	0	0	0	<1.0	0	0	<1.0
まな板保管庫	0	0	3.3	<1.0	0	0	<1.0	0	<1.0	<1.0	<1.0	0
調理器具保管庫	0	<1.0	2.8	0	0	<1.0	0	0	0	0	0	0
カウンター	-	0	<1.0	<1.0	-	0	0	0	-	0	0	<1.0

-: not determined

表3 分離、同定された菌株

採取時期 場所	実習前	実習中1	実習中2	実習後
流し	<i>B. megaterium</i> <i>B. aryabhattai</i> <i>B. velezensis</i> <i>B. subtilis</i> <i>B. amyloliquefaciens</i>	<i>Cupriavidus pauculus</i> <i>S. pasteurii</i> <i>S. epidermidis</i>	<i>Pseudomonas</i> spp. <i>P. fulva</i> / <i>parafulva</i> <i>Roseomonas mucosa</i> <i>S. epidermidis</i>	<i>R. mucosa</i> <i>B. cereus</i> <i>B. tequilensis</i> / <i>B. subtilis</i> <i>Sphingomonas zeae</i> <i>B. horikoshii</i> <i>B. subtilis</i> <i>B. aryabhattai</i> <i>B. megaterium</i>
作業台1	<i>B. cereus</i> <i>B. aryabhattai</i> <i>B. subtilis</i>	no colony	<i>Moraxella osloensis</i>	<i>B. thuringiensis</i> <i>B. nealsonii</i> / <i>B. circulans</i> <i>Streptomyces</i> spp. <i>B. circulans</i> <i>P. psychrotolerans</i>
作業台2	<i>B. safensis</i> <i>B. aryabhattai</i> <i>B. altitudinis</i>	no colony	<i>S. saprophyticus</i> no colony	no colony
盛り付け台	<i>B. aryabhattai</i> <i>B. velezensis</i>	no colony	<i>R. mucosa</i> <i>Dermacoccus nishinomiyaensis</i> <i>M. osloensis</i> <i>P. luteola</i> <i>B. megaterium</i>	<i>B. cereus</i> <i>B. aryabhattai</i> / <i>B. megaterium</i> <i>B. altitudinis</i>
まな板保管庫	no colony	<i>B. acquimaris</i> <i>S. warneri</i> <i>S. epidermidis</i> <i>Pantoea ananatis</i> <i>S. capitis</i>	no colony	<i>B. megaterium</i>
調理器具保管庫	no colony	<i>P. luteola</i> <i>Chryseobacterium</i> spp. <i>Acinetobacter radioresistens</i> <i>B. cereus</i> <i>S. epidermidis</i> <i>M. osloensis</i>	<i>R. mucosa</i> <i>M. osloensis</i> <i>P. oryzae</i> <i>A. radioresistens</i> <i>S. warneri</i>	no colony
カウンター	no colony	no colony	no colony	<i>B. aryabhattai</i> <i>B. subtilis</i> / <i>B. tequilensis</i> <i>B. subtilis</i> / <i>B. pumilus</i> <i>B. koreensis</i> <i>B. licheniformis</i>

を比較対象として(図3、レーン6)調べた。4株ともレシチナーゼ遺伝子と内部コントロール遺伝子は増幅されたが、すべての株でCRS遺伝子の増幅はみられなかった。以上の結果から、これらセレウス菌株は嘔吐毒素セレウリドを合成せず、嘔吐型食中毒は引き起こさないと考えられた。

次に、実習で使用した米がセレウス菌に汚染されているかどうかを調査しが、実習で使用した米の懸濁液からはセレウス菌が分離されなかったことから、分離された菌株は米以外の食材や土壌、水、塵埃などの環境由来の菌株であることが示唆された。

## IV. 考察

### 1. 分離された菌株について

予想通り、長時間の授業中断後、実習室には芽胞形成菌のみが生存しており、実習が開始されると食材や学生、教員に由来すると思われる非芽胞形成菌が高頻度で分離された。芽胞は、乾燥や熱、酸や塩基に強く、過酷な環境下でも生き延びることが知られている。実習室の長期にわたる閉鎖期間中、今回は冬から初夏にかけて、季節の移り変わりにより温度が大きく変化したと思われる。6月は湿度が高くなるが、本研究で分離された*Bacillus*属菌はこのような条件下でも生存していることは明らかである。幸いなことに、今回の調査では高い病原性を示す菌株は分離されなかったが、病原性をもたない、ある

いは低い病原性の菌でも、ひとたび汚染が起きれば食品の品質が低下し、食の安全が脅かされることになるので注意が必要である。

実習期間中は、教員や多くの学生が実習室内を移動したり、収納庫の扉を開けたりすることで、空气中に浮遊している埃等が盛り付け台、まな板保管庫、調理器具保管庫等に拡散、蓄積し、これらの場所から多数の菌が分離されたと考えられた。実習開始前は保管庫等からは細菌は分離されなかったが、これらの設備を長期間使用しておらず、保管庫が扉で閉じられていたためと思われる。実習開始後第3週目に、複数の場所で*M. osloensis*と*R. mucosa*が確認され、教員や学生、あるいは食材等に付着した菌の移動が推察されたが、これらの菌が同一菌株であることを示すには、菌株同定に用いた16SrDNA塩基配列の情報だけではなく、さらに複数の遺伝子の塩基配列を決定して比較する必要があるが、本研究ではそこまで追求しなかった。また、調査期間中、流しからは最も多くの菌が分離されたが、病原性を有する株は分離されなかった。

本調査では、実習期間中に同一場所から繰り返し同じ細菌株が分離されることがなかったことから、分離された細菌は特定の場所に常在している菌ではなく、適切な処置を施せば除菌、殺菌できる可能性が高いことがわかった。人の皮膚や粘膜の常在菌で、時に病原性を示すコアグラセ陰性ブドウ球菌として知られている*S. epidermidis*、*S. saprophyticus*、*S. capitis*、*S. warneri*、や人、動物、食品から分離された*S. pasteurii*などが実習期間中の実習室から分離された。また、*Moraxella*属菌や非グルコース発酵グラム陰性桿菌である*Acinetobacter*属菌も人の皮膚由来菌株であることから、これらの菌は実習に参加した教員や学生により実習室内に持ち込まれたものと推察された。

同定された菌のうち、セレウス菌には注意を払う必要がある。セレウス菌はそれぞれ嘔吐あるいは下痢を主症状とする、嘔吐型あるいは下痢型の2種類の食中毒を引き起こすことが知られている。セレウス菌は複数の毒素を産生することが知られているが、嘔吐症状を引き起こす嘔吐毒素セレウリドは、名古屋市衛生研究所の安形らによって単離・精製され、構造決定が行われた<sup>16)</sup>。国内で分離されるセレウス菌は、ほとんどが嘔吐型食中毒事例から分離さ

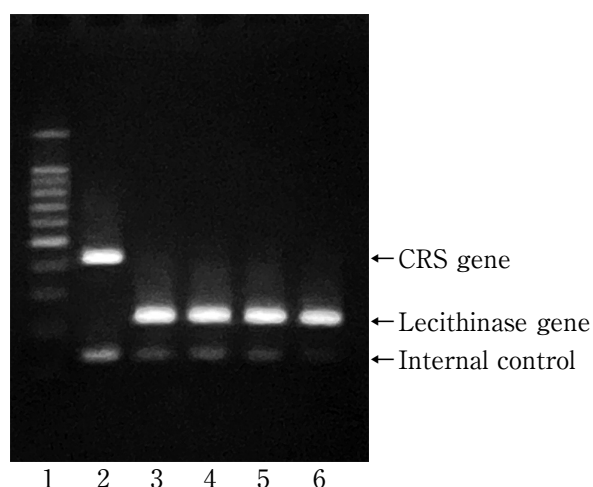


図2. PCR法によるセレウス菌嘔吐毒素(CRS)遺伝子の探索



れることから、本研究で分離されたセレウス菌がセレウリドを産生するかどうかをPCR反応により調べた。セレウス菌の中には、毒素合成酵素の一部欠損によりセレウリドを産生しない株があるが、PCRプライマーはこの変異株を区別するように設計されており、本邦の嘔吐型食中毒事件で分離・同定された100株のセレウス菌はすべて陽性であったことが示されている<sup>17)</sup>。PCR反応の結果、本研究で実習室から分離されセレウス菌と同定された3株は、全てセレウリド合成酵素遺伝子に変異があり、セレウリドを産生しないことが明らかになった。

セレウス菌をはじめとする芽胞形成菌の消毒・殺菌は困難で、芽胞に有効とされる消毒薬、グルタルアルデヒドや過酢酸などは、主に内視鏡などの医療用器具の消毒薬として使用されている。グルタルアルデヒドは人体に対する刺激が強く、蒸気による眼や呼吸器粘膜への刺激に対する対策や、過敏症の者に対する配慮が必要となることから、実習室の消毒・殺菌には不適切である。一方、過酢酸からは酸素ラジカル(活性酸素)が生じ、その強力な酸化作用により芽胞を含む細菌を殺菌する。2016年には食品添加物として認可され、残留性がない、有機物の混入により活性を失わない、ステンレスを腐食しないなど数々の利点があるため、今後実習室の入り口での靴底の除菌から、噴霧による実習室内全般の消毒、調理器具の消毒など、幅広く活用できる可能性がある。

今回の研究では、準備スペースと調理スペースの、主に平坦な部分から菌を採取した。清掃・消毒が容易な場所であっても、調査時期によっては無視できない数の細菌コロニーが分離された。今後、グリップやノブ、扇風機、調理器具など、より複雑な形状の場所を調査することで、他の菌株が見つかる可能性がある。また、近年国外では、16S rDNAのハイスループットシーケンスにより食事や食品を提供する施設での細菌分布が調べられ、厨房設備の表面に多様な細菌群集が存在すること、さらに細菌が人や食品から厨房の機器、器具等の表面に移動することなどが示されているが<sup>13, 14)</sup>、同様の方法を用いることで本学実習室における人や食品等の動線と、微生物移動による設備や備品の汚染との相関が明らかにできる可能性がある。しかし、この方法による調査には多額の費用がかかるため、実習室の微生物による汚染状況と安全管理を考える上で、費用対効果

の面から検討する必要がある。

## 文献

- 1) 木藤伸夫他, 「特集: 新型コロナウイルス感染症流行下におけるオンライン遠隔教育実践報告」『教育総合研究』第4号別冊 (2020年).
- 2) 石原三妃・大森恵美, 「調理学実習の対面授業における新型コロナウイルス感染症対策」『教育総合研究』第4号別冊, pp.165-171 (2020年).
- 3) 成瀬祐子・裕野佐也香・水野尚子, 「松本大学における給食経営管理実習の新型コロナウイルス感染症予防対策」『教育総合研究』第4号別冊, pp.213-217 (2020年).
- 4) 厚生労働省, 大量調理施設衛生管理マニュアル, (最終改正: 平成28年10月6日付け生食発1006第1号)  
<https://www.mhlw.go.jp/file/06-Seisakujouhou-11130500-Shokuhinanzenshu/0000139151.pdf>  
(閲覧日2022.4.7).
- 5) 文部科学省, 学校給食調理場における手洗いマニュアル, 文部科学省スポーツ・青少年局学校健康教育課(2008年).
- 6) 文部科学省, 調理場における洗浄・消毒マニュアル Part I, 文部科学省スポーツ・青少年局学校健康教育課(2009年).
- 7) 文部科学省, 調理場における洗浄・消毒マニュアル Part II, 文部科学省スポーツ・青少年局学校健康教育課(2010年).
- 8) 文部科学省, 調理場における衛生管理&調理技術マニュアル, 文部科学省スポーツ・青少年局学校健康教育課(2011年).
- 9) Legnani, P., Leoni, E., Berveglieri, M., Mirolo, G., and Alvano, N. Hygienic control of mass catering establishments, microbiological monitoring of food and equipment. *Food. Cont.*, 15: 205-211, 2004
- 10) Oliveira, A. B. A., Cunha, D. T., Stedefeldt, E., Capalonga, R., Tondo, E. C., and Cardoso, M. R. I. Hygiene and good practices in school meal services: organic matter on surfaces, microorganisms and health risks. *Food Control* 40: 120-126, 2014
- 11) Stellato, G., Storia, A. L., Cirillo, T., and Ercolini, D. Bacterial biogeographic patterns in a cooking center for hospital foodservice. *Int. J. Food Microbiol.* 193: 99-108, 2015
- 12) Møretrø, T., and Langsrud, S. Residential bacteria on surface in the food industry and their implications for food safety and quality. *Compr. Rev. Food Sci. Food Saf.* 16: 1022-1041, 2017
- 13) Flores, G. E., Bates, S. T., Caporaso, J. G., Lauber, C. L., Leff, J. W., Knight, R., and Fier, N. Diversity, distribution and sources of bacteria in residential kitchens. *Env. Microbiol.*, 15: 588-596, 2013
- 14) Lim, E. S., Kim, J. J., Sul, W. J., Kim, J.-S., Kim, B., Kim, H., and Koo, O. K. Metagenomic analysis of microbial composition revealed cross-contamination pathway of bacterial at a foodservice facility. *Front. Microbiol.*, 12:636329, 2021
- 15) 森井沙衣子・坂本薫, 「給食施設における HACCP に基づいた衛生管理—重要管理点設定のための基礎研究—」『兵庫県立大学環境人間学部 研究報告』第17号, pp.39-49 (2015年).
- 16) 安形則雄・太田美智雄, 「*Bacillus cereus* の食中毒毒素」『日本細菌学雑誌』51巻, pp.993-1002 (1996).
- 17) タカラバイオ株式会社, *Bacillus cereus* (CRS gene) PCR detection Kit, RR132A 取扱説明書, [https://catalog.takara-bio.co.jp/com/manual\\_info.php?unitid=U100004355](https://catalog.takara-bio.co.jp/com/manual_info.php?unitid=U100004355) (閲覧日 2022.5.23).