

## 牛レバー内部における腸管出血性 大腸菌等の汚染実態調査(概要)

岩手大学 特任教授・名誉教授  
品川邦汎

### ○内容

牛レバーの腸管出血性大腸菌の汚染実態状況について、全国16か所の食肉衛生検査所における調査及び文献調査を行った。

・ 調査項目:

1. 同一牛の糞便、胆嚢胆汁、肝臓表面(拭き取り)及び肝臓内部について、腸管出血性大腸菌の分離培養及び遺伝子検査(一部の機関で大腸菌、大腸菌群の検査も実施)
2. 胆汁中及び肝臓表面の大腸菌群の汚染実態調査(追加試験)
3. 牛胆汁における腸管出血性大腸菌の増殖性試験

・ 調査期間: 8~11月

### ○調査協力機関

秋田県、山形県、埼玉県、さいたま市、東京都、神奈川県、静岡県、岐阜県、大阪市、兵庫県、岡山県、鳥取県、徳島県、愛媛県、大分県及び宮崎県の食肉衛生検査所

## 汚染実態調査

### ○ サンプルング方法

- ・糞便: 肛門もしくは直腸より採取
- ・肝臓: 内臓摘出時に滅菌トレイで衛生的に採取した検体、通常の内臓検査前後、もしくは内臓業者から購入したものを使用
- ・肝臓表面は拭き取り、肝臓内部は左葉を中心に採取(アルコール綿で表面の清拭、火炎殺菌等実施し、交差汚染のないよう採取)
- ・胆汁は注射器により採取

### ○ 供試検体量

糞便(1g)、胆汁(5ml)、肝臓内部(25g)又は肝臓表面(100cm<sup>2</sup>以上)を増菌培養後、分離培養又は遺伝子検出を実施

### ○ 使用培地

- ・増菌用培地: ノボビオシン加mEC培地
- ・O157分離培養: O157(CT-SMAC、クロモアガー) 等

### ○ 遺伝子検出

- ・O157、VT-1、VT-2の混合プライマー

(O157&ペロ毒素遺伝子同時検出キット、O157 VT1/2 One Shot PCR Typing Kit Ver.2 (いずれもタカラバイオ社製) 等)

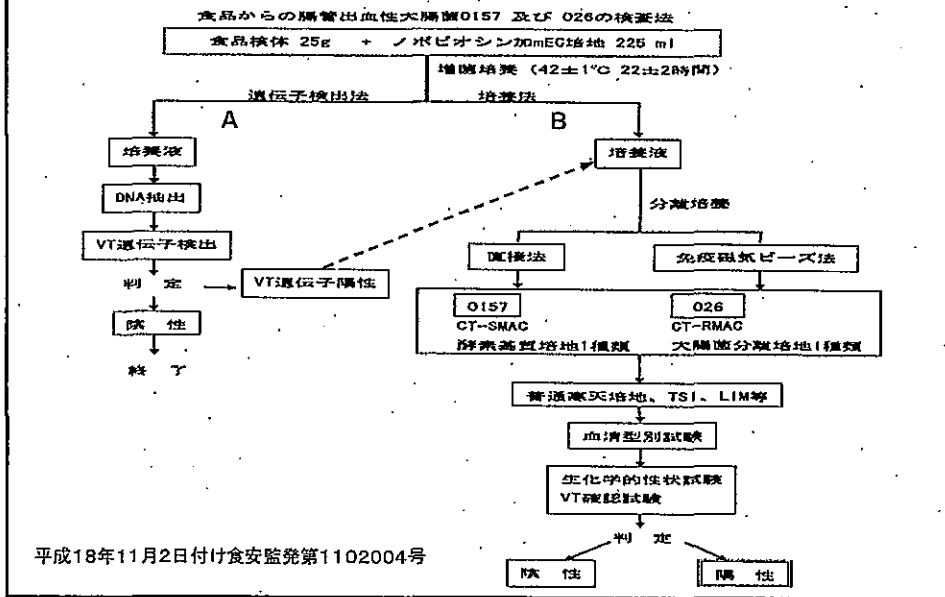
## 汚染実態調査

### ○ 牛肝臓の検体採取部位



# 汚染実態調査

## ○ 検査方法フローチャート



# 汚染実態調査

## ○ 結果(腸管出血性大腸菌EHEC)

		糞便	胆汁	肝臓表面	肝臓内部
B 分離培養	検体数	173	186	193	173
	EHEC	20	0	13	3
	うちO157	11	0	5	2
A 遺伝子	検体数	127	154	168	146
	検出数(検出率)	58 (45.7%)	1 (0.6%)	37 (22.0%)	13 (8.9%)
	うちVT1	5	1	1	0
	うちVT2	30	0	12	5
	うちVT1 or 2	13	0	23	4
	うちVT1 & 2	10	0	1	4

VT: ペロ毒素

## 汚染実態調査

### ○ 結果(大腸菌)

実施機関	検体数	陽性数			
		糞便	胆汁	肝臓表面	肝臓内部
4	50	45	9	28	13

### ○ 追加試験結果(胆汁及び肝臓表面の大腸菌群数)

胆汁	検体数	検出件数	陽性数(/ml)				
			10以下	10 <sup>2</sup>	10 <sup>3</sup>	10 <sup>4</sup>	10 <sup>5</sup> 以上
大腸菌群数	159	29	16	4	3	1	5
大腸菌数	41	4	1	0	0	0	3

肝臓表面	検体数	検出件数	陽性数(/cm <sup>2</sup> )			
			10以下	10 <sup>2</sup>	10 <sup>3</sup>	10 <sup>4</sup>
大腸菌群数	140	110	87	9	7	7
大腸菌数	43	36	27	3	4	2

## 牛胆汁における腸管出血性大腸菌の増殖性①

### ○ 調査概要

供試検体:牛胆汁

調査期間:平成23年9月下旬

### ○ 調査概要

採取した10頭分の牛胆嚢胆汁のうち菌未発育の6頭分の胆汁を用いて、以下の①、②の腸管出血性大腸菌の増殖試験を実施。

#### ① プール胆汁における腸管出血性大腸菌の増殖態度

6頭分の胆汁全てを混合したプール胆汁に3種類の菌液(A、B、C)を接種し、37℃で一晩培養。

#### ② 胆汁の違いによる腸管出血性大腸菌の増殖態度

各胆汁(6頭分)に菌液Aを接種し、37℃で一晩培養。

<増殖試験に用いた菌液>

菌液A:O157VT1&2、菌液B:O157VT2、菌液C:O26VT1

## 牛胆汁における腸管出血性大腸菌の増殖性②

### ○ 結果

#### ① プール胆汁における腸管出血性大腸菌の増殖態度

	スタート時菌量(/ml)	培養後菌量(/ml)
①プール胆汁10ml+菌液A 0.1ml	$1.9 \times 10^2$	$> 10^6$
②プール胆汁10ml+菌液B 0.1ml	$2.3 \times 10^2$	$> 10^6$
③プール胆汁10ml+菌液C 0.1ml	$1.5 \times 10^2$	$> 10^6$
④プール胆汁10ml+生理食塩水0.1ml	0	0

#### ② 胆汁の違いによる腸管出血性大腸菌の増殖態度

	スタート時菌量(/ml)	培養後菌量(/ml)
⑤胆汁No.2 10ml+菌液A 0.1ml	$1.9 \times 10^2$	$> 10^6$
⑥胆汁No.4 10ml+菌液A 0.1ml	$1.9 \times 10^2$	$> 10^6$
⑦胆汁No.5 10ml+菌液A 0.1ml	$1.9 \times 10^2$	$> 10^6$
⑧胆汁No.7 10ml+菌液A 0.1ml	$1.9 \times 10^2$	$> 10^6$
⑨胆汁No.8 10ml+菌液A 0.1ml	$1.9 \times 10^2$	$> 10^6$
⑩胆汁No.9 10ml+菌液A 0.1ml	$1.9 \times 10^2$	$> 10^6$
⑪生理食塩水10ml+菌液A 0.1ml	$1.9 \times 10^2$	50

## 文献調査:国内文献①

### 食肉処理場での腸管出血性大腸菌汚染実態

検体	検体数	菌株 分離数	分離率 (%)	血清型	stx型	stx遺伝子 検出数	検出率 (%)	検体採取時期	備考
胆嚢胆汁	548	0	0.0	-	-	2	0.4	2001年9月-2005年3月	*1
胆嚢胆汁	119	0	0.0	-	-	1	0.8	2005年4月-2006年3月 (12月、2月を除く)	
肝臓中心部 (尾状葉)	102	4	3.9	OUT:H11 O157:H21 OUT:HUT OUT:H21	2 1,2 1,2 2	5	4.9	2005年5月-2006年1月 (12月除く)	*2
胆嚢胆汁	318	1	0.3	O91:HUT	1,2	-	-	2004年6月-2007年1月	
肝臓中心部 (尾状葉)	165	7	4.2	OUT:H11 O157:H21 OUT:HUT OUT:H21 O28:HUT O91:HUT OUT:HUT	2 1,2 1,2 2 2 1,2 1,2	-	-	2005年5月-2007年1月	胆汁及び肝臓の O91:HUTの菌株 は、同一牛個体か ら分離。 *3

\*1~3: 参考資料8を参照

## 文献調査:国内文献②

### 市販流通品の腸管出血性大腸菌汚染実態

検体	検体数	菌株 分離数	分離率 (%)	血清型	stx型	stx遺伝子 検出数	検出率 (%)	検体採取時期	備考
肝臓(生食用)	10	1	10.0	O127a:H-	-	-	7	1994年 (6月、7月、9月)	*4
肝臓(生食用)	24	0	0.0	-	-	-	-	1998年8月-12月	*5
肝臓(生食用)	16	0	0.0	-	-	-	-	1998年度	*6
肝臓(生食用) (50 肝臓と挽 肉合計)	0	0	0.0	-	-	1	-	1999年9月-2000年1月	菌株分離数、stx遺 伝子検出数は肝臓 のデータ *7
肝臓(生食用)	10	0	0.0	-	-	-	-	1999年度	*8
肝臓	24	2	8.3	O157	1,2	-	-	2000-2004年 (各年7-9月の間)	2分離菌株ともに O157、stx1,2産生 *9
肝臓	15	0	0.0	-	-	-	-	2007年9月-11月	*10
肝臓	15	0	0.0	-	-	-	-	2008年9月-2009年1月	*11
肝臓	36	0	0.0	-	-	5	13.9	2010年7月-11月	stx遺伝子を検出し た5検体のうち1検 体はO157遺伝子 *12

\*4~\*12: 参考資料8を参照

## 文献調査:海外文献①

### 肉牛の糞便、胆嚢からの腸管出血性大腸菌O157

	検体数	陽性検体数 (%)
直腸便	933	66 (7.1)
胆嚢粘膜スワブ	933	1 (0.1)
胆嚢粘膜組織	933	4 (0.4)

USA:2か所の食肉処理場での調査(2005年5~7月)

参考資料9-1 Reinstein, S. et al. (2007) Prevalence of Escherichia coli O157:H7 in Gallbladders of Beef Cattle. Applied and Environmental Microbiology 73(3): 1002-1004.

## 文献調査:海外文献②

感染実験牛からの糞便、第一胃、胆嚢からの腸管出血性大腸菌 O157

感染牛	1グループ	8頭 (雄仔牛:投与菌数 $10^6$ cfu, 36日後)
	糞便(結腸)	7頭陽性(菌数 $10^2 \sim 10^3$ cfu)
	第一胃	2頭陽性
	胆汁	5頭陽性
感染牛	2グループ	7頭 (雄仔牛:投与菌数 $10^6$ cfu, 15日後)
	糞便(結腸)	5頭陽性(菌数 $10^2 \sim 10^3$ cfu)
	第一胃	4頭陽性
	胆汁	全て陰性(-)
感染牛	3グループ	8頭 (雄仔牛:投与菌数 $10^6$ cfu, 9日後)
	糞便(結腸)	8頭陽性(菌数 $10^2 \sim 10^6$ cfu)
	第一胃	8頭陽性
	胆汁	8頭陽性

参考資料9-2 Jeong, K.C. et al. (2007) Isolation of Escherichia coli O157:H7 from the gall bladder of inoculated and naturally-infected cattle. *Veterinary Microbiology* 119: 339-345.

## 文献調査:海外文献③

正常及び富脈斑の牛肝臓における細菌叢

方法:

- ・正常及び富脈斑の牛肝臓(各50検体)をと畜場で採取
- ・右葉及び左葉の表面をプロバントーチで焼いた後、内部を無菌的に採取

結果:

	正常な肝臓			富脈斑		
	右葉	左葉	両方	右葉	左葉	両方
O157:H7 以外のE.coli	4	0	5	1	5	1
O157:H7	0	0	1	0	2	4

※富脈斑:円形あるいは不整形の直径1~10mm大の暗赤色斑が認められ、表面は陥凹。毛細血管拡張症。(食肉衛生検査病理学カラーアトラス 全国食肉衛生検査所協議会より)

参考資料10 Stotland, E.I. et al. (2001) Bacterial microflora of normal and telangiectatic livers in cattle. *JAVMA*(219)1:36-39.







県	検体番号	品種及び農場番号 (注:農場については、番号は同じでも各県ごとに異なる)	対象微生物: O157 又は 大腸菌	糞便		胆汁		肝臓表面		肝臓内部		肝臓			<備考> 1)農場の選択方法 ・ランダムもしくはその他理由 2)採取コロニー数 3)VT確認方法:PCR法(遺伝子検出キット名、括弧内に検出遺伝子を記載)、RPLA法、ELISA法等 4)肝臓採取部位(左葉以外の葉を採取した場合のみ)		
				B(培養法)		B(培養法)		B(培養法)		B(培養法)		サンプリング a)できるだけ衛生的に採取 b)通常処理工程中に採取	所見	廃棄状況			
				A(遺伝子検出法(PCR法))	分離培養 VT確認(遺伝子)	A(遺伝子検出法(PCR法))	分離培養 VT確認(遺伝子)	A(遺伝子検出法(PCR法))	分離培養 VT確認(遺伝子)	A(遺伝子検出法(PCR法))	分離培養 VT確認(遺伝子)						
⑥	1	交雑 1	大腸菌 O157	大腸菌 -	大腸菌 -	大腸菌 -	大腸菌 VT2	-	大腸菌 -	大腸菌 O157, VT1,2	-	(a) 摘出時 トレイ採取	異常なし	合格	1)ランダム 2)3コロニー/培地 3)PCR法(O157&ペロ毒素遺伝子同時検出キット(O157, VT1, VT2)) 4)左葉、右葉  <その他> ・大腸菌の試験方法: DHL寒天培地で培養→鈎菌→生化学的性状確認		
	2	交雑 2	大腸菌 O157	大腸菌 -	大腸菌 -	大腸菌 -	大腸菌 -	大腸菌 -	大腸菌 -	大腸菌 -	-		異常なし	合格			
	3	交雑 2	大腸菌 O157	大腸菌 -	大腸菌 -	大腸菌 -	大腸菌 -	大腸菌 -	大腸菌 -	大腸菌 -	大腸菌 -		-	異常なし		合格	
	4	交雑 2	大腸菌 O157	大腸菌 -	大腸菌 -	大腸菌 -	大腸菌 -	大腸菌 -	大腸菌 -	大腸菌 -	大腸菌 -		-	異常なし		合格	
	5	交雑 1	大腸菌 O157	大腸菌 -	大腸菌 -	大腸菌 -	大腸菌 -	大腸菌 -	大腸菌 -	大腸菌 -	大腸菌 -		-	異常なし		合格	
	6	交雑 3	大腸菌 O157	大腸菌 -	大腸菌 -	大腸菌 -	大腸菌 -	大腸菌 -	大腸菌 -	大腸菌 -	大腸菌 -		-	異常なし		合格	
	7	交雑 3	大腸菌 O157	大腸菌 -	大腸菌 -	大腸菌 -	大腸菌 -	大腸菌 -	大腸菌 -	大腸菌 -	大腸菌 -		-	異常なし		合格	
	8	交雑 1	大腸菌 O157	大腸菌 -	大腸菌 -	大腸菌 -	大腸菌 -	大腸菌 -	大腸菌 -	大腸菌 -	大腸菌 -		-	異常なし		合格	
	9	交雑 1	大腸菌 O157	大腸菌 -	大腸菌 -	大腸菌 -	大腸菌 -	大腸菌 -	大腸菌 -	大腸菌 -	大腸菌 -		-	異常なし		合格	
	10	交雑 2	大腸菌 O157	大腸菌 -	大腸菌 -	大腸菌 -	大腸菌 -	大腸菌 -	大腸菌 -	大腸菌 -	大腸菌 -		-	異常なし		合格	
⑦	1	和牛 1	O157	-	-	-	-	-	-	-	-	(a) 摘出時袋採取 (通常時、白物はコンベアで、赤物はプラスチック製かごに入って移動(*))	異常なし	合格	1)ランダム 2)陰性のための実施せず 3)PCR法(O157&ペロ毒素遺伝子同時検出キット(O157, VT1, VT2))		
	2	和牛 2	O157	-	-	-	-	-	-	-	-		異常なし	合格			
	3	和牛 3	O157	-	-	-	-	-	-	-	-		異常なし	合格			
	4	交雑 4	O157	-	-	-	-	-	-	-	-		異常なし	合格			
	5	和牛 5	O157	-	-	-	-	-	-	-	-		異常なし	合格			
	6	和牛 6	O157	-	-	-	-	-	-	-	-		異常なし	合格			
	7	交雑 7	O157	-	-	-	-	-	-	-	-		(b) 懸吊されているものを途中で袋に採取 (通常時、白物はコンベアで、赤物は懸吊で移動)	異常なし		合格	
	8	和牛 8	O157	-	-	-	-	-	-	-	-		(*)	異常なし		合格	
	9	和牛 9	O157	-	-	-	-	-	-	-	-		-	異常なし		合格	
	10	交雑 10	O157	VT2	-	-	-	-	-	-	-		-	異常なし		合格	
⑧	1	和牛 1	O157	-	-	-	-	-	-	-	-	a) 摘出時トレイ採取	異常なし	合格	1)ランダム 2)最高5コロニー/培地 3)PCR法(O157&ペロ毒素遺伝子同時検出キット(O157, VT1, VT2))		
	2	和牛 1	O157	-	-	-	-	-	-	-	-		異常なし	合格			
	3	和牛 2	O157	-	-	-	-	-	-	-	-		異常なし	合格			
	4	和牛 2	O157	-	-	-	-	-	-	-	-		異常なし	合格			
	5	和牛 3	O157	-	-	-	-	-	-	-	-		異常なし	合格			
	6	和牛 1	O157	-	-	-	-	-	O157	O157	-		-	異常なし		合格	
	7	和牛 1	O157	-	-	-	-	-	-	-	-		-	異常なし		合格	
	8	和牛 1	O157	VT2	-	-	-	-	-	-	-		-	b)コンベアで運ばれてきたものを内臓検査後採取(懸吊された牛枝から白物、赤物の順にコンベア上に落とす。このコンベア上で内臓検査を行う)		異常なし	合格
	9	和牛 4	O157	VT1,2	-	-	-	-	-	-	-		-	異常なし		合格	
	10	和牛 3	O157	-	-	-	-	-	-	-	-		-	異常なし		合格	
	11	和牛 4	O157	-	-	-	-	-	-	-	-		-	異常なし		合格	
	12	和牛 4	O157	-	-	-	-	-	-	-	-		-	異常なし		合格	
	13	和牛 4	O157	-	-	-	-	-	-	-	-		-	異常なし		合格	

県	検体番号	品種及び農場番号 (注:農場については、番号は同じでも各県ごとに異なる)	対象微生物: O157 又は 大腸菌	糞便			肝臓表面			肝臓内部			肝臓			<備考> 1)農場の選択方法 ・ランダムもしくはその他理由 2)採取コロニー数 3)VT確認方法:PCR法(遺伝子検出キット名、括弧内に検出遺伝子を記載)、RPLA法、ELISA法等 4)肝臓採取部位(左葉以外の葉を採取した場合のみ)	
				A(遺伝子検出法(PCR法))	B(培養法)		A(遺伝子検出法(PCR法))	B(培養法)		A(遺伝子検出法(PCR法))	B(培養法)		サンプリング a)できるだけ衛生的に採取 b)通常処理工程中に採取	所見	廃棄状況		
⑨	1	ホルスタイン 1	大腸菌	-	大腸菌	-	-	-	大腸菌	-	-	-	-	-	異常なし	合格	1)過去の調査でO157が確認された農場または黒毛和種の肥育農場 2)最高5コロニー/培地 3)PCR法(O157&ベロ毒素遺伝子同時検出キット(O157, VT1, VT2))  <その他> ・大腸菌の試験方法: ペトリフィルム使用
			O157	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	異常なし	合格	
	2	ホルスタイン 2	大腸菌	-	大腸菌	-	-	-	大腸菌	-	-	大腸菌	大腸菌	大腸菌	異常なし	合格	
			O157	-	-	-	-	-	-	-	-	O157	O157	O157	異常なし	合格	
	3	ホルスタイン 3	大腸菌	-	大腸菌	-	-	-	大腸菌	-	-	大腸菌	大腸菌	大腸菌	鑑屑肝	廃棄	
			O157	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	異常なし	合格	
	4	ホルスタイン 3	大腸菌	-	大腸菌	-	-	-	大腸菌	-	-	-	-	-	鑑屑肝	廃棄	
			O157	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	異常なし	合格	
	5	和牛 4	大腸菌	-	大腸菌	-	-	-	大腸菌	-	-	-	-	-	鑑屑肝	廃棄	
			O157	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	異常なし	合格	
6	ホルスタイン 5	大腸菌	-	大腸菌	-	-	-	VT1	大腸菌	-	-	-	-	異常なし	合格		
		O157	VT1	O157:VT1	O157:VT1	-	-	-	-	-	-	-	-	異常なし	合格		
7	ホルスタイン 5	大腸菌	-	大腸菌	-	-	-	大腸菌	-	-	-	-	-	異常なし	合格		
		O157	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	胆汁漏出	合格		
8	交雑 6	大腸菌	-	大腸菌	-	-	大腸菌	-	大腸菌	-	-	-	-	胆汁漏出	合格		
		O157	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	鑑屑肝	廃棄		
9	和牛 6	大腸菌	-	大腸菌	-	-	大腸菌	-	大腸菌	-	-	-	-	鑑屑肝	廃棄		
		O157	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	鑑屑肝	廃棄		
10	和牛 7	大腸菌	-	大腸菌	-	-	-	-	大腸菌	-	-	-	大腸菌	鑑屑肝	廃棄		
		O157	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	異常なし	合格		
⑩	1	和牛 1	O157	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	異常なし	合格	1)黒毛和種または交雑種を対象。 2)5コロニー前後/培地 3)PCR法(O-157(ベロ毒素1型・2型遺伝子)One Shot PCR Typing Kit Ver.2、(VT1, VT2)) 4)左葉、方形葉、尾状葉を混和して1検体とした。
	2	交雑 2	O157	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	異常なし	合格	
	3	交雑 3	O157	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	異常なし	合格	
	4	交雑 3	O157	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	異常なし	合格	
	5	交雑 4	O157	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	異常なし	合格	
	6	交雑 4	O157	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	異常なし	合格	
	7	交雑 5	O157	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	異常なし	合格	
	8	交雑 6	O157	VT2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	異常なし	合格	
	9	交雑 6	O157	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	異常なし	合格	
	10	交雑 6	O157	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	異常なし	合格	
	11	交雑 6	O157	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	異常なし	合格	
	12	交雑 6	O157	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	異常なし	合格	
	13	交雑 6	O157	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	異常なし	合格	
	14	交雑 6	O157	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	おがくず肝	一部廃棄	
	15	交雑 7	O157	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	異常なし	合格	

県	検体番号	品種及び農場番号 (注:農場については、番号は同じでも各県ごとに異なる)	対象微生物: O157 又は 大腸菌	糞便		胆汁		肝臓表面		肝臓内部		肝臓			<備考> 1)農場の選択方法 ・ランダムもしくはその他理由 2)採取コロニー数 3)VT確認方法:PCR法(遺伝子検出キット名、拮弧内に検出遺伝子を記載)、RPLA法、ELISA法等 4)肝臓採取部位(左葉以外の葉を採取した場合のみ)
				B(培養法)		B(培養法)		B(培養法)		B(培養法)		サンプリング a)できるだけ衛生的に採取 b)通常処理工程中に採取	所見	廃棄状況	
				A(遺伝子検出法(PCR法))	分離培養 VT確認(遺伝子)	A(遺伝子検出法(PCR法))	分離培養 VT確認(遺伝子)	A(遺伝子検出法(PCR法))	分離培養 VT確認(遺伝子)	A(遺伝子検出法(PCR法))	分離培養 VT確認(遺伝子)				
①	1	ホルスタイン 1	大腸菌 O157	大腸菌	-	-	-	-	大腸菌	-	-	-	異常なし	合格	1)ランダム 2)最大10コロニー/培地 3)PCR法(PCR Typing Set タカラバイオ (VT1, VT2)) 4)左葉、右葉、尾状葉  <その他> ・大腸菌の試験方法: DHL寒天培地で培養→鈎菌→生化学的性状確認
	2	和牛 2	大腸菌 O157	大腸菌	-	-	-	-	大腸菌	-	-	-	異常なし	合格	
	3	和牛 2	大腸菌 O157	大腸菌	VT1,2	-	-	-	大腸菌	-	-	-	異常なし	合格	
	4	ホルスタイン 3	大腸菌 O157	大腸菌	-	-	-	-	大腸菌	-	-	-	異常なし	合格	
	5	ホルスタイン 2	大腸菌 O157	大腸菌	VT1,2	-	-	-	大腸菌	-	-	-	異常なし	合格	
	6	ホルスタイン 3	大腸菌 O157	大腸菌	VT1,2	-	-	-	大腸菌	VT1	-	-	異常なし	合格	
	7	ジャージー 4	大腸菌 O157	大腸菌	-	-	-	-	大腸菌	-	-	-	異常なし	合格	
	8	ジャージー 4	大腸菌 O157	大腸菌	-	-	-	-	大腸菌	-	-	-	異常なし	合格	
	9	ホルスタイン 3	大腸菌 O157	大腸菌	-	-	-	-	大腸菌	-	-	-	異常なし	合格	
	10	交雑 4	大腸菌 O157	大腸菌	VT2	-	-	-	大腸菌	-	-	-	異常なし	合格	
②	1	和牛 1	O157	VT1or2	-	-	-	-	VT1or2	-	-	-	異常なし	合格	1)ランダム 2)10コロニー/培地 3)PCR法(ペロ毒素遺伝子(VT1+2) タカラバイオEVC-1,2 (VT1, VT2))
	2	和牛 2	O157	VT1or2	-	-	-	-	VT1or2	-	-	-	異常なし	合格	
	3	ホルスタイン 3	O157	VT1or2	-	-	-	-	VT1or2	-	-	-	異常なし	合格	
	4	ホルスタイン 4	O157	-	-	-	-	-	-	-	-	-	異常なし	合格	
	5	和牛 5	O157	VT1or2	-	-	-	-	VT1or2	-	-	-	異常なし	合格	
	6	和牛 6	O157	VT1or2	-	-	-	-	VT1or2	O157	VT1or2	VT1or2	異常なし	合格	
	7	交雑 3	O157	VT1or2	-	-	-	-	-	-	-	-	異常なし	合格	
	8	ホルスタイン 4	O157	-	-	-	-	-	-	-	-	-	異常なし	合格	
	9	和牛 7	O157	VT1or2	-	-	-	-	VT1or2	-	-	-	異常なし	合格	
	10	和牛 8	O157	VT1or2	-	-	-	-	VT1or2	-	-	-	異常なし	合格	
③	1	和牛 1	O157	-	-	-	-	-	-	-	-	-	異常なし	合格	1)ランダム 2)最高5コロニー/培地 3)PCR法(O157&ペロ毒素遺伝子同時検出キット(O157, VT1, VT2))
	2	和牛 1	O157	VT2	-	-	-	-	VT2	-	-	-	異常なし	合格	
	3	和牛 2	O157	-	-	-	-	-	-	-	VT2	-	異常なし	合格	
	4	和牛 2	O157	-	-	-	-	-	-	-	VT2	-	異常なし	合格	
	5	交雑 3	O157	VT2	-	-	VT1	-	VT2	-	-	VT1,2	異常なし	合格	
	6	交雑 3	O157	-	-	-	-	-	VT2	-	-	-	異常なし	合格	
	7	交雑 3	O157	-	-	-	-	-	VT2	-	-	-	異常なし	合格	
	8	交雑 3	O157	-	-	-	-	-	VT2	-	-	-	異常なし	合格	
	9	交雑 4	O157	-	-	-	+O157	-	-	-	-	-	異常なし	合格	
	10	交雑 4	O157	-	-	-	+O157	-	-	-	-	-	異常なし	合格	
	11	交雑 4	O157	-	-	-	-	-	+O157	-	-	-	異常なし	合格	
④	1	和牛 1	O157	O157, VT1,2	O157	O157, VT1,2	8個	-	-	-	-	-	異常なし	合格	1)ランダム 2)1~8個/培地(左表「VT確認」欄に赤字で記載) 3)PCR法(O157&ペロ毒素遺伝子同時検出キット(O157, VT1, VT2)) <その他>所見 検体1, 6, 9については膀胱結石が、検体6については眼周囲皮膚病が認められた。(枝肉は全て異常なく出荷)
	2	和牛 1	O157	O157, VT1,2	O157	O157, VT1,2	4個	-	-	-	-	-	異常なし	合格	
	3	和牛 1	O157	-	-	-	-	-	-	-	VT2	-	異常なし	合格	
	4	和牛 2	O157	O157, VT1,2	O157	O157, VT2	2個	-	-	-	-	-	異常なし	合格	
	5	和牛 2	O157	-	-	-	-	-	-	-	VT1,2	-	鏡脗肝(軽度かつ一部)	合格	
	6	和牛 3	O157	-	-	-	-	-	O157, VT2	-	VT2	O157, VT1,2	異常なし	合格	
	7	和牛 3	O157	-	-	-	-	-	-	-	O157, VT1,2	O157, VT1,2	異常なし	合格	
	8	和牛 4	O157	-	-	-	-	-	-	-	-	-	異常なし	合格	
	9	和牛 4	O157	-	-	-	-	-	-	-	-	-	異常なし	合格	
	10	和牛 4	O157	-	-	-	-	-	-	-	-	-	異常なし	合格	

県	検体番号	品種及び農場番号 (注:農場については、番号は同じでも各県ごとに異なる)	対象微生物: O157 又は 大腸菌	糞便						肝臓表面						肝臓内部						肝臓			<備考> 1)農場の選択方法 ・ランダムもしくはその他 理由 2)採取コロニー数 3)VT確認方法:PCR法(遺伝子検出キット名、括弧内に検出遺伝子を記載)、RPLA法、ELISA法等 4)肝臓採取部位(左葉以外の葉を採取した場合のみ)
				B(培養法)			B(培養法)			B(培養法)			B(培養法)			サンプリング a)できるだけ衛生的に採取 b)通常処理工程中に採取	所見	廃棄状況							
				A(遺伝子検出法(PCR法))	分離培養	VT確認(遺伝子)	A(遺伝子検出法(PCR法))	分離培養	VT確認(遺伝子)	A(遺伝子検出法(PCR法))	分離培養	VT確認(遺伝子)	A(遺伝子検出法(PCR法))	分離培養	VT確認(遺伝子)										
⑮	1-1	和牛	VT陽性大腸菌	/	/	/	/	/	/	/	VT1or2	OUT	VT1, eaeA	/	/	(b)と体から胃腸を切り離してトレイに落した後、と体から肝臓を切り離してフックに懸吊。検査員が検査する前に検体採取した。	異常なし	合格	1)ランダム、1農場当たり1~2頭を検査対象。 2)1検体あたり6-80個 3)PCR法( VT(Yamasakiら [VT1もしくは2(判別不可)] )、VT1、VT2 (Kobayasi [VT1、VT2])、eaeA (Yatsuyanagiら [eaeA]) )						
	1-2	和牛	VT陽性大腸菌	/	/	/	/	/	/	/	VT1or2	OUT	VT1, eaeA	/	/		異常なし	合格							
	1-3	和牛	VT陽性大腸菌	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/		異常なし	合格							
	1-4	和牛	VT陽性大腸菌	/	/	/	/	/	/	/	VT1or2	O115	VT1, eaeA	/	/		異常なし	合格							
	1-5	和牛	VT陽性大腸菌	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/		異常なし	合格							
	1-6	和牛	VT陽性大腸菌	/	/	/	/	/	/	/	VT1or2	/	/	/	/		異常なし	合格							
	1-7	和牛	VT陽性大腸菌	/	/	/	/	/	/	/	VT1or2	/	/	/	/		異常なし	合格							
	1-8	和牛	VT陽性大腸菌	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/		異常なし	合格							
	1-9	和牛	VT陽性大腸菌	/	/	/	/	/	/	/	VT1or2	OUT	VT2	/	/		異常なし	合格							
	1-10	和牛	VT陽性大腸菌	/	/	/	/	/	/	/	VT1or2	O174	VT2	/	/		異常なし	合格							
	2-1	和牛	VT陽性大腸菌	/	/	/	/	/	/	/	VT1or2	/	/	/	/		異常なし	合格							
	2-2	和牛	VT陽性大腸菌	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/		異常なし	合格							
	2-3	和牛	VT陽性大腸菌	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/		異常なし	合格							
	2-4	和牛	VT陽性大腸菌	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/		異常なし	合格							
	2-5	和牛	VT陽性大腸菌	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/		肝変性	廃棄	・Yamasaki S, et al. Microbiol Immunol 40:345-352,1996						
	2-6	和牛	VT陽性大腸菌	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/		異常なし	合格	・小林一寛 臨床と微生物 Vol.18, No.4, 507-513, 1991						
	2-7	和牛	VT陽性大腸菌	/	/	/	/	/	/	/	VT1or2	O74	VT2	/	/		異常なし	合格	・Jun Yatsuyanagi, et al. J.Clin.Microbiol. 40:294-297, 2002						
	2-8	ジャージー	VT陽性大腸菌	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/		異常なし	合格							
	2-9	和牛	VT陽性大腸菌	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/		異常なし	合格							
	2-10	交雑	VT陽性大腸菌	/	/	/	/	/	/	/	VT1or2	/	/	/	/		異常なし	合格							
⑯	1	和牛 1	O157	O157	VT2	/	/	/	/	VT1or 2	O157	VT2	VT1or 2	/	(b)コンペアに白物→肝臓(横隔面が下)→心・肺の順に落とされる。落とされた肝臓から胆汁採取後、肝実質を採取。反転させ横隔面をふきとり。内臓検査後の直腸を切開し、糞便を採取。	血管炎	一部廃棄	1)ランダム 2)3コロニー/培地 3)PCR法: VT(Linら [VT1もしくは2(判別不可)] )、VT1、VT2 (Pollardら [VT1,VT2])							
	2	和牛 1	O157	/	/	/	/	/	/	VT1or 2	/	/	/	/		血管炎・好酸球の集り	一部廃棄								
	3	和牛 2	O157	/	/	/	/	/	/	VT1or 2	O157	VT2	VT1or 2	/		異常なし	合格								
	4	和牛 2	O157	/	/	/	/	/	/	VT1or 2	/	/	VT1or 2	/		異常なし	合格								
	5	和牛 3	O157	O157	VT2	/	/	/	/	/	O157	VT2	/	/		ソーダスト	廃棄								
	6	和牛 3	O157	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/		巣状壊死	一部廃棄								
	7	和牛 3	O157	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/		異常なし	合格								
	8	和牛 3	O157	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/		肝包膜炎	一部廃棄								
	9	和牛 3	O157	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/		肝の出血	一部廃棄								
	10	和牛 3	O157	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/		異常なし	合格								
	11	和牛 3	O157	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/		異常なし	合格								
	12	和牛 3	O157	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/		鏡肝 出血、癒痕	廃棄								

牛肝臓の大腸菌 O157 及びカンピロバクター汚染に関する調査成績

農林水産省消費・安全局消費・安全政策課

1 肉用牛農場における大腸菌 O157 及びカンピロバクター汚染実態調査

(1) 肉用牛農場の O157 汚染実態全国調査 (平成 19 年度)

45 都道府県に所在する 406 農場について、2007 年 11 月～2008 年 3 月に調査を実施した。1 農場当たり 6 頭から直腸便を採取して、調査を行ったところ、大腸菌 O157 は 27.8 % (113/406) の肉用牛農場から検出され、個体別では 9.3 % (226/2436) から検出された。検出された大腸菌 O157 について、シガ毒素遺伝子の有無を調査したところ、110 農場 (27.1 %) の 218 頭 (8.9 %) の肉用牛からシガ毒素遺伝子を有した大腸菌 O157 (以下 STECO157 とする。) が検出された (表 1)。218 頭から検出された STECO157 計 243 株のうち、234 株 (96.3 %) はシガ毒素の蛋白産生が確認された。

(表 1) 検査結果

	数	大腸菌 O157 陽性数 (%)	STECO157 陽性数 (%)	大腸菌 O26 陽性数 (%)	STECO26 陽性数 (%)
肉用牛農場	406	113 (27.8 %)	110 (27.1 %)	19 (4.7 %)	7 (1.7 %)
肉用牛	2436	226 (9.3 %)	218 (8.9 %)	24 (1.0 %)	10 (0.4 %)

(Veterinary Microbiology (2011 年) 150:140-145 に掲載：抜粋)

(2) 肉用牛農場のカンピロバクター汚染実態予備調査 (平成 22 年度)

5 都道府県に所在する 25 農場について、2010 年 12 月～2011 年 2 月に調査を実施した。1 農場当たり 10 頭から直腸便を採取して、調査を行ったところ、カンピロバクターは、92 % (23/25) の農場から検出され、個体別では 39.2 % (98/250) から検出された。

(3) 肉用牛農場の大腸菌 O157 及びカンピロバクター汚染実態予備調査 (平成 23 年度)

5 都道府県に所在する 25 農場について、2011 年 7 月～9 月に調査を実施した (表 2)。1 農場当たり 10 頭から直腸便を採取して、調査を行ったところ、大腸菌 O157 は、32 % (8/25) の農場から検出され、個体別では 7.6 % (19/250) から検出された。カンピロバクターは、60 % (15/25) の農場から検出され、個体別では 16.8 % (42/250) から検出された。

検出された大腸菌 O157 について、シガ毒素遺伝子を調査したところ、7 農場の 16 頭の肉用牛から STECO157 が検出された (表 3)。また、73.7 % (14/19) の STECO157 で、シガ毒素蛋白の産生が確認された。

(表2) 検査結果

	農場数	大腸菌 O157 陽性数(%)	<i>Campylobacter</i> 陽性数(%)
肉用牛農場	25	8 (32%)	15 (60%)
肉用牛	250	19 (7.6%)	42 (16.8%)

(表3) 検出された大腸菌 O157 の性状

農場	シガ毒素型		H 抗原
	遺伝子	蛋白産生性	
A	<i>stx2c</i>	Stx2	7
	<i>stx2c</i>	Stx2	7
B	<i>stx2c</i>	Stx2	7
C	<i>stx2c</i>	Stx2	7
	<i>stx2c</i>	陰性	7
	<i>stx2c</i>	Stx2	7
	<i>stx2c</i>	陰性	7
	<i>stx2c</i>	Stx2	7
	<i>stx2c</i>	Stx2	7
D	<i>stx1, stx2c</i>	Stx1	7
	<i>stx1, stx2c</i>	Stx1	7
	<i>stx1, stx2c</i>	Stx1	7
	<i>stx1, stx2c</i>	Stx1	7
E	<i>stx1, stx2</i>	Stx1, Stx2	7
F	<i>stx1, stx2</i>	Stx1	7
G	<i>stx1</i>	Stx1	7
H	陰性	陰性	7
	陰性	陰性	7
	陰性	陰性	7

これまでの調査から、肉用牛農場の STECO157 汚染の割合は、農場で3割、個体別で1割程度であると考えられる。一方、肉用牛農場のカンピロバクター汚染は、農場で6割以上、個体では1割以上と考えられる。

## 2 と畜場における大腸菌 O157 及びカンピロバクター汚染実態調査 (平成 23 年度)

### (1) 牛肝臓の大腸菌 O157 及びカンピロバクター汚染実態調査

3と畜場 (A、B及びC) において、2011年9月～12月に調査を実施した (表4)。各と畜場から32個の肝臓を表面を含む内部 (深さ1cm × 6cm × 6cm) で採

取し（合計 96 個）、大腸菌 O157、カンピロバクター及び大腸菌（O157 に関わらず）の検査を実施したところ、大腸菌 O157 は検出されず、カンピロバクターは 21 % (21/96)、大腸菌は 45 % (43/96) から検出された。大腸菌とカンピロバクターの検出には関連性がなく ( $P=0.77$ ) (表 5)、大腸菌検査により、カンピロバクター汚染を推定できる可能性は低いと考えられた。

(表 4) 牛肝臓の検査結果

と畜場	検体数	大腸菌 O157 陽性数 (%)	<i>Campylobacter</i> 陽性数 (%)	大腸菌 陽性数 (%)
A	32	0(0%)	8(25%)	28(88%)
B	32	0(0%)	6(19%)	4(13%)
C	32	0(0%)	7(22%)	11(34%)
計	96	0(0%)	21(22%)	43(45%)

(表 5) カンピロバクター検出と大腸菌検出との関連性

		<i>Campylobacter</i>	
		+	-
大腸菌	+	10	33
	-	11	42

$P = 0.77$

(2) 肝臓及び胆汁中における大腸菌 O157 汚染実態調査

(1) の B と畜場においては、2011 年 9 月～12 月にと殺された肉用牛 32 頭の肝臓に加え、胆汁（胆のう内）について大腸菌 O157 の調査を実施した。大腸菌 O157 は、1 個体の胆汁から検出されたものの、肝臓からは検出されなかった。なお、胆汁から大腸菌 O157 が検出された個体については、十二指腸及び直腸からも大腸菌 O157 が検出された。

検出された大腸菌 O157 は、いずれもシガ毒素蛋白 (Stx1 及び Stx2) を産生していた。

(3) 肝臓のカンピロバクター汚染と消化管内容物のカンピロバクター汚染との関連性調査

(1) の B と畜場においては、2011 年 9 月～12 月にと殺された肉用牛 32 頭の肝臓に加え、消化管内容物（胆汁、第一胃、第四胃、十二指腸及び直腸）についてもカンピロバクターの調査を実施した (表 6)。肝臓については、6 頭 (19%) からカンピロバクターが検出された、胆汁については、10 頭 (31%) から検出された。肝臓からカンピロバクターが検出された個体については、胆汁からもカンピロバクターが検出された。なお、この調査では、29 頭中 23 頭の直腸内容からカンピロバクターが検出されており、これまでに実施した農場調査の汚染率よりもかなり高い (79



%) 結果であった。

(表6) カンピロバクター検査結果

個体	肝臓	胆汁	第一胃	第四胃	十二指腸	直腸
1	—	—	—	—	—	+
2	—	—	—	—	—	—
3	—	—	—	—	—	+
4	—	—	—	—	+	+
5	—	—	—	—	—	—
6	—	—	—	—	—	+
7	+	+	—	—	+	+
8	+	+	—	—	—	+
9	+	+	—	—	+	+
10	—	+	—	—	—	+
11	—	+	—	+	+	+
12	—	—	+	—	+	+
13	—	—	—	—	+	+
14	—	+	—	—	—	+
15	—	—	—	—	—	—
16	—	—	—	—	—	—
17	+	+	—	+	+	+
18	—	—	+	—	+	+
19	—	—	+	—	+	+
20	—	—	+	—	+	+
21	—	+	—	+	+	—
22	—	—	—	—	—	+
23	—	—	未検査	未検査	未検査	未検査
24	+	+	未検査	未検査	未検査	未検査
25	—	—	—	—	—	+
26	—	—	—	—	—	+
27	—	—	+	—	+	—
28	—	—	+	—	+	+
29	+	+	—	—	+	+
30	—	—	未検査	未検査	未検査	未検査
31	—	—	—	+	+	+
32	—	—	—	—	+	+
陽性検体数	6	10	6	4	16	23

(4) 牛消化管内容物中における大腸菌 O157 及びカンピロバクター汚染実態調査 (平成 23 年度)

① (1) の B と畜場でと畜処理された 96 頭について、消化管内容物 (第一胃、第四胃、十二指腸及び直腸) の大腸菌 O157 検査を実施したところ、20 頭 (21 %) の肉用牛から大腸菌 O157 が検出された (表 7)。大腸菌 O157 の検出率は、直腸内容物 (14/96 : 15 %)、十二指腸内容物 (7/96 : 7 %)、第一胃内容物 (4/96 : 4 %) 及び第四胃内容物 (1/96 : 1 %) であった。20 頭の大腸菌 O157 陽性牛のうち、直腸内容物から大腸菌 O157 が検出された個体は、70 % (14/20) であり、直腸内容物のみで検査を実施した場合には、3 割の大腸菌 O157 陽性牛を見逃す可能性がある。

なお、検出された大腸菌 O157 は、すべてシガ毒素遺伝子を有し、1 個体 (直腸のみ陽性) から検出された 1 株以外は、シガ毒素蛋白を産生していた。

(表 7) 大腸菌 O157 の検査結果

消化管内容物		頭数 (%)
陰性		76 (79%)
陽性		20 (21%)
(内訳)	第一胃内容物のみ	2
	十二指腸内容物のみ	4
	直腸内容物のみ	11
	十二指腸及び直腸内容物	1
	第一胃、十二指腸及び直腸内容物	1
	全部	1
計		96

② (1) の B と畜場でと畜処理された 96 頭について、消化管内容物 (第一胃、第四胃、十二指腸及び直腸) のカンピロバクター検査を実施したところ、13 頭を除く 83 頭 (87 %) の肉用牛からカンピロバクターが検出された (表 8)。カンピロバクターの検出率は、直腸内容物 (76/96 : 79 %)、十二指腸内容物 (64/96 : 67 %)、第一胃内容物 (25/96 : 26 %) 及び第四胃内容物 (18/96 : 19 %) であった。カンピロバクターが検出された 83 頭のうち、直腸内容物からカンピロバクターが検出されたなかったものは、7 % (6/83) であり、直腸内容物の検査により、9 割以上のカンピロバクター陽性牛を発見できる可能性があることが示唆された。

(表8) カンピロバクターの検査結果

消化管内容物		頭数
陰性		13 (14%)
陽性		83 (86%)
(内訳)	十二指腸内容物のみ	2
	直腸内容物のみ	17
	第一胃及び十二指腸内容物	3
	第一胃及び直腸内容物	1
	第四胃及び十二指腸内容物	2
	第四胃及び直腸内容物	1
	十二指腸及び直腸内容物	27
	第一胃、十二指腸及び直腸内容物	15
	第四胃、十二指腸及び直腸内容物	9
	全部	6
計		96

なお、と畜場で採取した直腸便中の STECO157 の検出率は 15 % (14/96)、カンピロバクターは 79 % (76/96) であった。肉用牛農場での検出率と比較すると、STECO157 は有意差はないものの ( $P=0.06$ ) 高く、カンピロバクターの検出率は有意に高かった。と畜場までの輸送やと畜場における係留等によるストレスを含め、今後も肉用牛の両菌の保有状況調査を行う予定である。

### 3 牛肝臓の次亜塩素酸液による STECO157 洗浄効果試験 (平成 23 年度)

と畜場で採材した牛肝臓を用いて、第一胃、十二指腸及び直腸内容物による肝臓汚染を想定して、それぞれの内容物に抗菌剤耐性 STECO157 を添加したものを肝臓に塗布した後、次亜塩素酸液 (残留塩素濃度 20ppm) で約 10 秒洗浄した (各 5 回ずつ実施)。洗浄後の肝臓を切り出し (表面を含む  $5 \times 5 \times 1$ cm)、乳剤にして、抗菌剤を添加した培地に塗布し、培地上のコロニーをカウントした。なお、1 個以上 10 個未満の場合は + とした。

(ア) STECO157 汚染第一胃内容物 (STECO157 :  $3.3 \times 10^7$  個/g)

第 1 回	第 2 回	第 3 回	第 4 回	第 5 回
+	未検出	+	+	+

塗布した第一胃内容物を物理的に除去した場合 :  $3.9 \times 10^4$  個/g

(イ) STECO157 汚染十二指腸内容物 (STECO157 :  $4.8 \times 10^7$  個/g)

第1回	第2回	第3回	第4回	第5回
未検出	$2.1 \times 10^3$	未検出	未検出	$1.0 \times 10^3$

塗布した十二指腸内容物を物理的に除去した場合 :  $1.1 \times 10^4$  個/g

(ウ) STECO157 汚染直腸内容物 (STECO157 :  $4.8 \times 10^7$  個/g)

第1回	第2回	第3回	第4回	第5回
+	未検出	+	$2.2 \times 10^3$	$1.2 \times 10^3$

塗布した直腸内容物を物理的に除去した場合 :  $3.2 \times 10^4$  個/g

いずれの汚染の場合でも、物理的除去と比較して10倍以上の洗浄効果が認められたものの、一旦肝臓表面に STECO157 が付着すると 20ppm の次亜塩素酸液では STECO157 が除去できないことが判明した。

#### 4 まとめ

##### (1) 大腸菌 O157

肉用牛農場での調査では、1割弱の個体が STECO157 陽性 (直腸内容) であり、と畜場での調査では、2割弱 (14/96 頭) の個体が STECO157 陽性 (直腸内容) であった。しかし、と畜場において直腸以外の消化管内容物からのみ STECO157 が検出される個体が存在 (6/96 頭) することから、直腸内容物のみの検査では STECO157 を保有する個体を見逃す可能性があることが判明した。

肝臓汚染に関しては、今回の調査では、96頭の肉用牛の肝臓自体から大腸菌 O157 は検出されなかった。しかしながら、1検体の胆のう内の胆汁から STECO157 が検出されたことから、検体数を増やすことで肝臓からも検出されるかどうか、大腸菌等を指標菌とした調査を含め、今後追加調査 (平成 24 年 4 月～6 月末までに 200 検体以上) を行う予定である。

肝臓表面の汚染については、と畜場毎に使用する次亜塩素酸液の濃度が異なることから、今回実施した 20ppm の次亜塩素酸液による洗浄効果だけでなく、数段階 (蒸留水、50、150 及び 250ppm) の濃度を用いて調査する必要があることから、現在継続して洗浄効果を調査している (今年度中に終了予定)。

##### (1) カンピロバクター

肝臓におけるカンピロバクター検出率は約 2 割、胆のう内の胆汁におけるカンピロバ

クター検出率は約3割であった。肝臓表面における大腸菌汚染及びカンピロバクター汚染の間には相関性がなく、また、カンピロバクターが検出された検体で、検査終了後にまだ廃棄されていなかった肝臓9検体について内部汚染を調査したところ、5検体からカンピロバクターが検出されており、内部汚染があると考えられる。

肝臓からカンピロバクターが検出された個体については、胆汁からもカンピロバクターが検出されており、肝臓のカンピロバクターは、胆管経由で肝臓に侵入する可能性が高く、消化管の結紮等の消化管内容物による汚染防止策では対応できない可能性がある。

前回部会資料（牛肝臓の大腸菌及びカンピロバクター汚染に関する調査成績）  
に関する追加情報について

農林水産省消費・安全局消費・安全政策課

1. 前回（平成24年2月24日開催）の部会での中村委員からの御質問（O157の定量試験）  
に対する回答

本調査では、定性試験（増菌培養後、磁気ビーズで濃縮し、CT-SMAC 寒天培地及びクロモアガー O157 寒天培地で培養し、疑わしい集落が形成）で陽性判定となった検体について、冷蔵保存してある残品を用いて定量試験（MPN 法）を実施しています（別添1）。なお、O157 陽性であった十二指腸内容物 7 検体のうち、4 検体については定量試験を行うことができませんでした。

分離されたすべての菌株について PCR 法によりシガ毒素遺伝子の種類を特定しましたので、追加記載しました。また、分離されたすべての菌株は、他の病原遺伝子（*eaeA*、EHEC-*hlyA* 及び *rfbE<sub>O157</sub>*）も持っていることを PCR 法により確認しました。なお、前回の提出資料に記載してありますが、分離されたすべての菌株はシガ毒素を産生することをラテックス凝集反応により確認しています。

2. 肝臓内部及び胆汁中のO157、カンピロバクター、大腸菌及び腸内細菌科菌群に関する追加調査

来年度に実施予定の調査の試験方法等を確認するため、肉用牛 30 頭から胆汁を採取、また、その中の 10 頭については肝臓も採取し、O157、カンピロバクター、大腸菌及び腸内細菌科菌群の有無について予備的な調査を実施しました。前回報告した調査では、表面を含む肝臓を検体としてましたが、今回は、内部汚染の有無を調査するため、各肝臓表面をアルコールで消毒後、さらに火炎滅菌し、肝臓内部のみ採取しています。

前回調査した 96 頭の肝臓から O157 は検出されませんでした。今回の調査でも、10 頭の肝臓から O157 は検出されませんでした（別添2）。一方、カンピロバクターは、今回 10 頭中 2 頭の肝臓内部で検出され、カンピロバクターはと殺後の肝臓内部に存在する場合がありますと考えられます。なお、肝臓内部からカンピロバクターが検出された個体は、胆汁からもカンピロバクターが検出されたことから、カンピロバクターは胆

管を通じて肝臓内部に侵入する可能性が高いと考えられます。

さらに、今回は大腸菌及び腸内細菌科菌群についても調査し、ともに1頭の肝臓内部、7頭の胆汁から検出されました。カンピロバクターと同様に、肝臓内部から大腸菌及び腸内細菌科菌群が検出された1頭については、胆汁からも大腸菌及び腸内細菌科菌群が検出されました。

今後、調査頭数を増やし(200頭以上)、胆汁汚染と肝臓内部汚染の関連性について詳細に調査します。

### 3. 肝臓表面の次亜塩素酸ソーダによる肝臓表面のO157に対する洗浄効果試験に関する追加調査

胆汁及び消化管内容物にO157を添加したものを肝臓表面に塗布し、5分間室温で静置後に次亜塩素酸ソーダ液で20秒間洗浄した後、肝臓表面に残存したO157数を定量培養法により計測しました(繰り返し4回、物理的除去は1回)。また、大腸菌についても同様に試験しました。

次亜塩素酸ソーダの濃度が0~150ppmの範囲内(通常使用されている濃度範囲内)では洗浄効果に違いは見られず、また、胆汁を除き、高濃度(250ppm)であっても、O157を完全に除去することはできませんでした(別添3)。

別添1 肝臓、胆汁及び消化管内容物から分離されたO157のシガ毒素型及びその菌量(CFU/100g)

個体 番号	肝臓(表面を含む)		胆汁		第一胃内容物		第四胃内容物		十二指腸内容物		直腸内容物	
	結果	菌量	結果	菌量	結果	菌量	結果	菌量	結果	菌量	結果	菌量
1	未検査		未検査		stx2c	<30	-		-		-	
2	未検査		未検査		-		-		-		stx2c	<30
3	-		-		stx2c	<30	stx2c	<30	stx1+stx2	<30	stx2c	9.3X10
4	-		-		-		-		-		stx1+stx2	3.0X10
5	-		stx1+stx2	7.4X10	-		-		stx1+stx2	>1.1X10 <sup>4</sup>	stx1+stx2	9.3X10 <sup>2</sup>
6	未検査		未検査		-		-		-		stx1+stx2	<30
7	未検査		未検査		-		-		stx1+stx2	1.1X10 <sup>2</sup>	-	
8	未検査		未検査		-		-		-		-	
9	未検査		未検査		-		-		-		-	
10	未検査		未検査		-		-		-		-	
11	-		-		-		-		-		-	
12	未検査		未検査		-		-		-		-	
13	-		-		-		-		-		-	
14	未検査		未検査		-		-		-		-	
15	未検査		未検査		-		-		-		-	
16	未検査		未検査		-		-		-		-	
17	未検査		未検査		-		-		-		-	
18	未検査		未検査		-		-		-		-	
19	-		-		-		-		-		-	
20	未検査		未検査		-		-		-		-	
21	未検査		未検査		stx2c	3.8X10 <sup>2</sup>	-		stx2c	未検査	stx2c	<30
22	-		-		-		-		stx2c	未検査	-	
23	-		-		-		-		-		-	
24	未検査		未検査		-		-		-		-	
25	未検査		未検査		-		-		-		-	
26	未検査		未検査		-		-		-		stx1+stx2	2.4X10 <sup>5</sup>
27	-		-		-		-		-		-	
28	未検査		未検査		stx1+stx2	<30	-		-		-	
29	-		-		-		-		-		-	
30	-		-		-		-		-		-	
31	-		-		-		-		-		-	
32	未検査		未検査		-		-		-		-	
33	未検査		未検査		-		-		-		-	
34	未検査		未検査		-		-		-		stx1+stx2	9.3X10 <sup>2</sup>
35	未検査		未検査		-		-		-		-	
36	未検査		未検査		-		-		-		-	
37	-		-		-		-		-		-	
38	-		-		-		-		-		-	
39	-		-		-		-		-		-	
40	未検査		未検査		-		-		-		-	
41	-		-		-		-		-		-	
42	未検査		未検査		-		-		-		-	
43	未検査		未検査		-		-		-		-	
44	未検査		未検査		-		-		-		stx1+stx2c	<30
45	未検査		未検査		-		-		-		-	
46	未検査		未検査		-		-		-		-	
47	未検査		未検査		-		-		-		-	
48	未検査		未検査		-		-		-		-	
49	-		-		-		-		stx1+stx2	未検査	-	
50	-		-		-		-		stx1+stx2	未検査	-	
51	-		-		-		-		-		-	
52	-		-		-		-		-		-	
53	未検査		未検査		-		-		-		stx2c	2.4X10 <sup>8</sup>
54	未検査		未検査		-		-		-		stx2c	<30
55	未検査		未検査		-		-		-		-	
56	未検査		未検査		-		-		-		-	
57	未検査		未検査		-		-		-		-	
58	未検査		未検査		-		-		-		-	
59	未検査		未検査		-		-		-		-	
60	未検査		未検査		-		-		-		-	
61	未検査		未検査		-		-		-		-	



62	未検査	未検査	-	-	-	-	-
63	未検査	未検査	-	-	-	-	-
64	-	-	-	-	-	-	-
65	未検査	未検査	-	-	-	-	-
66	未検査	未検査	-	-	-	-	-
67	未検査	未検査	-	-	-	-	-
68	未検査	未検査	-	-	-	-	-
69	未検査	未検査	-	-	-	-	-
70	未検査	未検査	-	-	-	-	-
71	未検査	未検査	-	-	-	-	-
72	-	-	-	-	-	-	-
73	-	-	未検査	未検査	未検査	未検査	未検査
74	-	-	未検査	未検査	未検査	未検査	未検査
75	未検査	未検査	-	-	-	stx2c	1.5X10 <sup>2</sup>
76	未検査	未検査	-	-	-	-	-
77	未検査	未検査	-	-	-	-	-
78	-	-	-	-	-	-	-
79	-	-	-	-	-	-	-
80	-	-	-	-	-	-	-
81	-	-	-	-	-	-	-
82	未検査	未検査	-	-	-	-	-
83	未検査	未検査	-	-	-	stx1+stx2c	2.4X10 <sup>4</sup>
84	未検査	未検査	-	-	-	-	-
85	未検査	未検査	-	-	-	-	-
86	未検査	未検査	-	-	-	-	-
87	-	-	-	-	-	-	-
88	未検査	未検査	-	-	-	-	-
89	未検査	未検査	-	-	-	-	-
90	未検査	未検査	-	-	-	-	-
91	-	-	未検査	未検査	未検査	未検査	未検査
92	未検査	未検査	-	-	-	-	-
93	未検査	未検査	-	-	-	-	-
94	-	-	-	-	-	-	-
95	未検査	未検査	-	-	-	-	-
96	-	-	-	-	-	-	-
97	未検査	未検査	-	-	-	-	-
98	未検査	未検査	-	-	-	-	-
99	未検査	未検査	-	-	-	stx2c	4.3X10 <sup>8</sup>
検出数	0	1	4	1	7	14	

別添2 肝臓内部及び胆汁中のO157,カンピロバクター、大腸菌及び腸内細菌科菌群の検出結果及び菌量

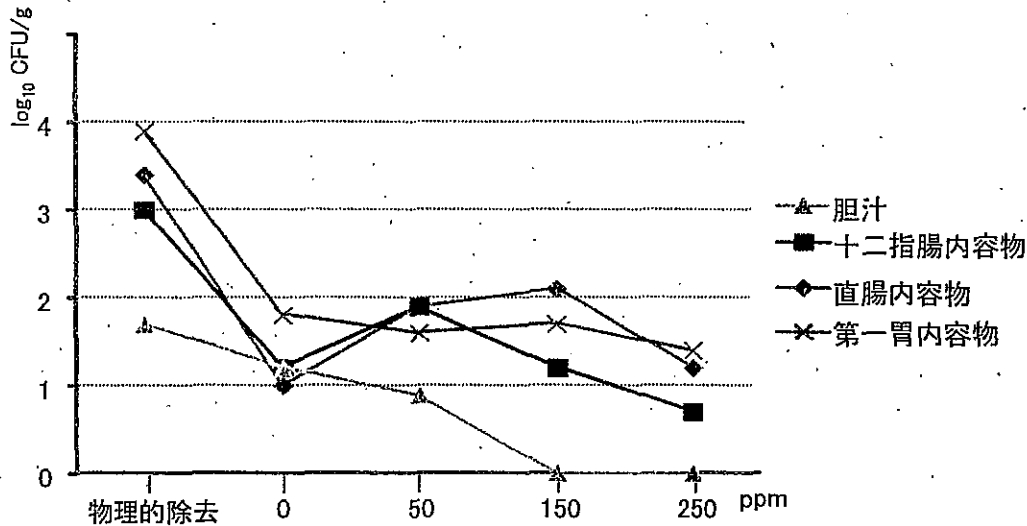
個体 番号	肝臓内部				胆汁				
	O157	カンピロバクター	大腸菌 (CFU/g)	腸内細菌科菌群 (CFU/g)	O157	カンピロバクター	大腸菌 (CFU/g)	腸内細菌科菌群 (CFU/g)	PH
1	-	-	-	-	-	+	-	-	7.29
2	-	-	-	-	-	-	-	-	7.18
3	-	-	-	-	-	-	-	-	7.38
4	-	-	-	-	-	+	-	-	7.14
5	未検査	未検査	未検査	未検査	-	+	-	-	7.31
6	未検査	未検査	未検査	未検査	-	+	$2.4 \times 10^7$	$1.5 \times 10^8$	7.07
7	-	-	-	-	-	-	-	-	7.05
8	-	+	-	-	-	+	-	-	7.09
9	-	+	-	-	-	+	-	-	7.01
10	-	-	2.3	$1.9 \times 10^2$	-	-	$1.5 \times 10^4$	$3.3 \times 10^7$	6.94
11	未検査	未検査	未検査	未検査	-	-	-	-	7.25
12	未検査	未検査	未検査	未検査	-	-	-	-	7.1
13	-	-	-	-	-	-	-	-	7.45
14	-	-	-	-	-	+	-	-	7.37
15	未検査	未検査	未検査	未検査	-	-	-	-	7.45
16	未検査	未検査	未検査	未検査	-	+	$9.3 \times 10^6$	$1.3 \times 10^8$	7.29
17	未検査	未検査	未検査	未検査	-	+	-	-	7.23
18	未検査	未検査	未検査	未検査	-	+	-	-	7.35
19	未検査	未検査	未検査	未検査	-	+	$4.6 \times 10^7$	$1.4 \times 10^8$	7.09
20	未検査	未検査	未検査	未検査	-	-	-	-	7.19
21	未検査	未検査	未検査	未検査	-	-	-	-	7.4
22	未検査	未検査	未検査	未検査	-	-	-	-	7.12
23	未検査	未検査	未検査	未検査	-	-	-	-	7.12
24	未検査	未検査	未検査	未検査	-	-	-	-	7.27
25	未検査	未検査	未検査	未検査	-	-	1.5	$1.1 \times 10$	7.28
26	未検査	未検査	未検査	未検査	-	+	-	-	7.27
27	未検査	未検査	未検査	未検査	-	+	-	-	7.32
28	未検査	未検査	未検査	未検査	-	+	-	-	7.29
29	未検査	未検査	未検査	未検査	-	-	$9.3 \times 10^6$	$4.0 \times 10^7$	7.36
30	未検査	未検査	未検査	未検査	-	-	$2.4 \times 10^6$	$2.5 \times 10^6$	7.38
検出数	0	2	1	1	0	14	7	7	

## 別添3 肝臓表面の次亜塩素酸ソーダの洗浄効果試験の結果

### 1 O157に対する洗浄効果 ( $\log_{10}$ CFU/g $\pm$ SD)

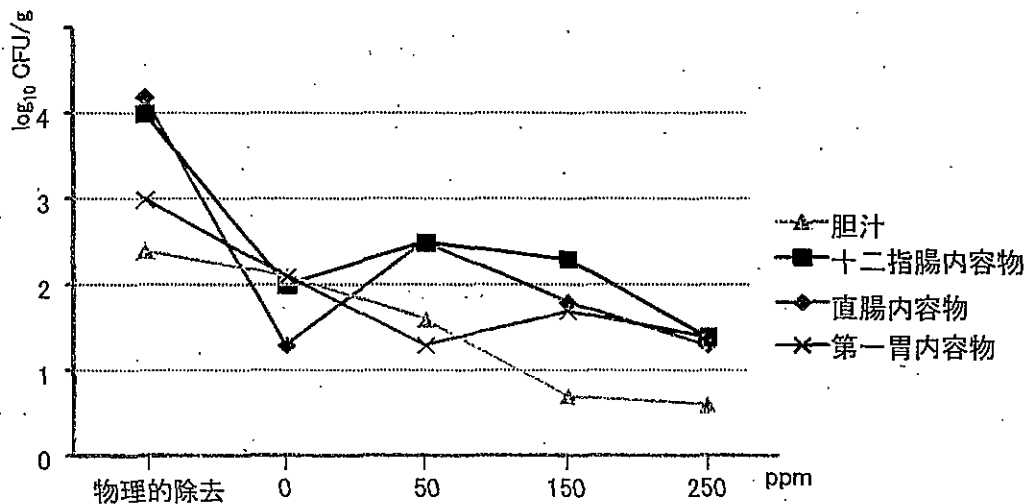
次亜塩素酸ソーダ濃度	胆汁を塗布		十二指腸内容物を塗布		直腸内容物を塗布		第一胃内容物を塗布	
	$\log_{10}$ CFU/g	陽性検体数	$\log_{10}$ CFU/g	陽性検体数	$\log_{10}$ CFU/g	陽性検体数	$\log_{10}$ CFU/g	陽性検体数
(物理的除去)	1.7	1	3.0	1	3.4	1	3.9	1
0 ppm	$1.2\pm 0.5$	3	1.2	1	$1.0\pm 0.5$	3	$1.8\pm 0.5$	4
50 ppm	$0.9\pm 0.4$	3	$1.9\pm 0.4$	4	$1.9\pm 0.5$	4	$1.6\pm 0.1$	4
150 ppm		0	$1.2\pm 0.5$	3	$2.1\pm 1.0$	3	$1.7\pm 0.7$	4
250 ppm		0	0.7	1	1.2	1	$1.4\pm 0.4$	4

\* 物理的除去1回のみ試験、他は4回繰り返し



### 2 大腸菌に対する洗浄効果 ( $\log_{10}$ CFU/g $\pm$ SD)

次亜塩素酸ソーダ濃度	胆汁を塗布		十二指腸内容物を塗布		直腸内容物を塗布		第一胃内容物を塗布	
	$\log_{10}$ CFU/g	陽性検体数	$\log_{10}$ CFU/g	陽性検体数	$\log_{10}$ CFU/g	陽性検体数	$\log_{10}$ cfu/g	陽性検体数
(物理的除去)	2.4	1	4.0	1	4.2	1	3.0	1
0 ppm	$2.1\pm 0.7$	4	$2.0\pm 0.3$	4	$1.3\pm 0.2$	4	$2.1\pm 0.6$	4
50 ppm	$1.6\pm 0.3$	4	$2.5\pm 0.2$	4	$2.5\pm 0.4$	4	$1.3\pm 0.3$	4
150 ppm	$0.7\pm 0.4$	2	$2.3\pm 1.0$	4	$1.8\pm 1.0$	4	$1.7\pm 0.6$	4
250 ppm	0.6	1	$1.4\pm 0.9$	4	$1.3\pm 0.6$	4	$1.4\pm 0.6$	4



肝臓における腸管出血性大腸菌の胆嚢および胆管からの  
逆行性汚染に関する試験

(試験の背景および目的)

肝臓における腸管出血性大腸菌の汚染ルートとして、表面汚染からの浸潤と胆管経由での逆行性ルートが可能性として考えられる。

と殺後の肝臓では、胆汁本来の流動とは異なり、胆嚢内や胆管内に貯留する胆汁が胆管を経由して肝臓実質方向に逆行性に押し出される可能性があり、仮に胆汁内に大腸菌が存在する場合にはそれらが肝臓内の検査によって検出される可能性があることは否定できない。

本試験では、それらの疑問に答えるための実証実験を主体にした試験を行うとともに、腸管出血性大腸菌の汚染防御対策に資するデータを提供する目的で行われる。

胆嚢および胆管からの逆行性汚染に関する試験

試験 1

2012.1

胆嚢および胆管の  
大腸菌接種試験  
(胆管ルートによる  
菌拡散試験)

大腸菌接種



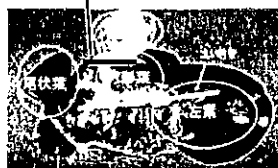
27ヶ所より採材、PCR分析  
(3, 5, 7日目) 15検体

試験 2

2012.2~2012.3

胆管の結紮処置の効果に  
関する試験

結紮の有無



トリミング後25ヶ所より採材  
(3, 5日目)、培地培養判定  
4検体

試験結  
果の中  
間報告  
2/24

2012.3末

試験結  
果の最  
終報告

# 試験 1

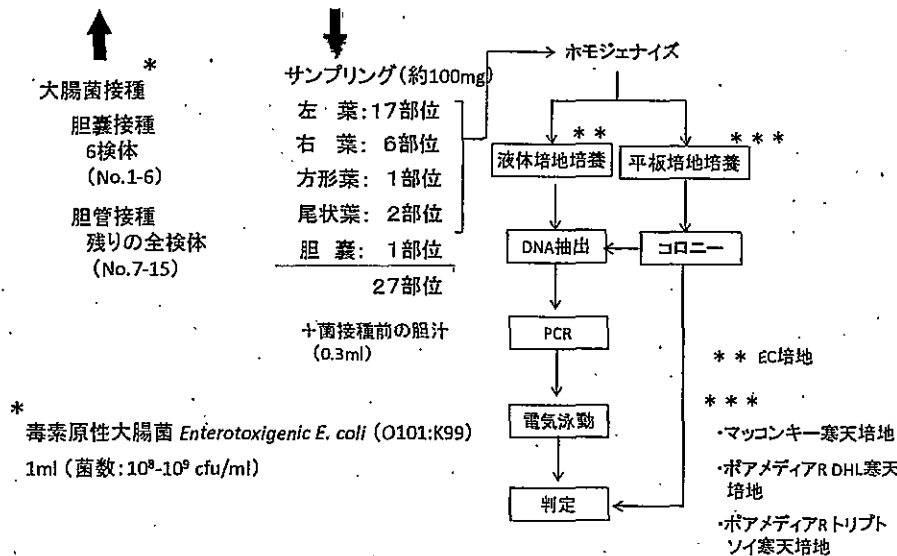
## レバー搬入、菌接種、採材の実施日程

	1月 18 水	19 木	20 金	21 土	22 日	23 月	24 火	25 水	26 木	27 金	28 土	29 日	30 月
レバー搬入								○(No.10,11,12) ○(No.13,14,15)					
菌接種	○(No.1,2,3)	○(No.4,5,6)	○(No.7,8,9)					○(No.13,14,15)	○(No.10,11,12)				
サンプリング						○(No.1,2,3)(5日目)	○(No.4,5,6)(5日目)				○(No.7,8,9)7日目 ○(No.13,14,15)3日目	○(No.10,11,12)(3日目)	

# 試験 1

## 試験方法

3、5、7日間



## 今回用いたPCR法の概要

接種菌:

毒素原性大腸菌 *Enterotoxigenic E. coli* (O101:K99)

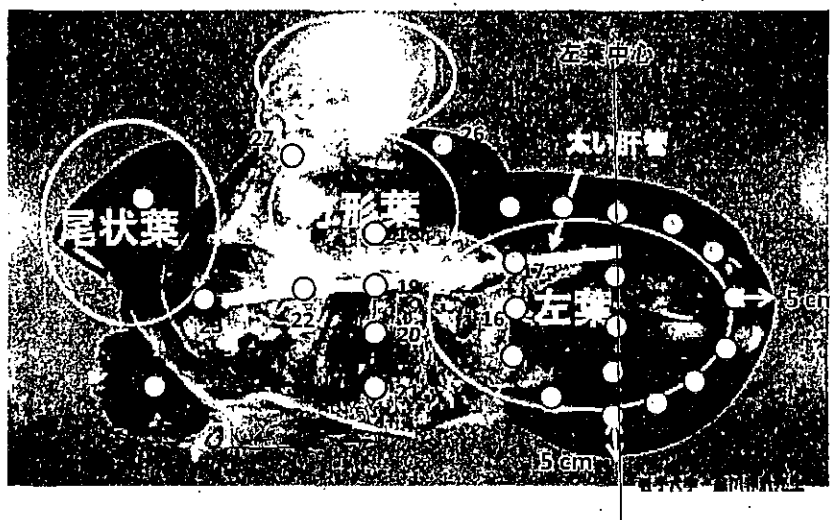
標的遺伝子・特異性:

ETECのプラスミドST1a遺伝子(ST1bと区別できる)

感度:

数10~100個程度の菌数で検出(今回は培養しているのでさらに少ない菌数で検出可能)

## 試験 1 サンプリング部位



## 試験 1 PCR検査結果

### 【菌接種後7日目】

胆管内接種を実施した3検体(採材数:81)からは検出されなかった。  
ただし、接種部位の胆管(胆汁)1部位から検出された。

### 【菌接種後5日目】

胆嚢内接種を実施した6検体(採材数:162)中、1検体の尾状葉でのみ  
検出された(1/162)。ただし、接種部位の胆嚢からは全検体で検出さ  
れた。胆管(胆汁)からは検出されなかった。

### 【菌接種後3日目】

胆管内接種を実施した6検体(採材数:162)のすべての検体で検出さ  
れた(77/162)。接種部位の胆管(胆汁)からはすべての検体で検出  
された。

## 試験 1

### 全検体の結果一覧

検査結果一覧表

検体番号	接種日	接種部位	採材日	接種後日数	腸管毒素原性大腸菌陽性が出たサンプリング部位*
1	2012/1/18	胆嚢	2012/1/23	5	27(胆嚢)
2	2012/1/18	胆嚢	2012/1/23	5	27(胆嚢)
3	2012/1/18	胆嚢	2012/1/23	5	27(胆嚢)
4	2012/1/19	胆嚢	2012/1/24	5	25,27(尾状葉、胆嚢)
5	2012/1/19	胆嚢	2012/1/24	5	27(胆嚢)
6	2012/1/19	胆嚢	2012/1/24	5	27(胆嚢)
7	2012/1/21	胆管	2012/1/28	7	-
8	2012/1/21	胆管	2012/1/28	7	22(胆管)
9	2012/1/21	胆管	2012/1/28	7	-
10	2012/1/27	胆管	2012/1/30	3	2,3,4,8,13,19,22,25,26
11	2012/1/27	胆管	2012/1/30	3	4,5,8,20,21,26
12	2012/1/27	胆管	2012/1/30	3	3,7,12,15,16,17,19,20,21,23,24,25
13	2012/1/25	胆管	2012/1/28	3	2,9,10,11,13,15,16,17,18,19,21,22,24,25
14	2012/1/25	胆管	2012/1/28	3	1,2,3,4,5,6,8,11,12,14,15,16,19,20,22,24,26
15	2012/1/25	胆管	2012/1/28	3	1,2,3,4,5,6,7,8,9,10,11,15,16,17,19,20,22,24,25

\* 培養液またはコロニーから抽出DNAのいずれかで、STを標的としたPCRが陽性であった部位

サンプル番号	1
大腸菌接種日	2012/1/18
採材日	2012/1/23
接種部位	腸管
培養日数	5

検査結果例  
(検体番号1)

サンプリング部位	培養液	PCR 結果*			寒天平板での結果*		
		LB agar	MacConkey	DHL	LB agar	MacConkey	DHL
1	-	NT	NT	NT	-	-	-
2	-	NT	NT	NT	-	-	-
3	-	NT	NT	NT	-	-	-
4	-	NT	NT	NT	-	-	-
5	-	NT	NT	NT	-	-	-
6	-	NT	NT	NT	-	-	-
7	-	NT	NT	NT	-	-	-
8	-	NT	NT	NT	-	-	-
9	-	NT	NT	NT	-	-	-
10	-	-	NT	NT	+	w	w
11	-	NT	NT	NT	-	-	-
12	-	NT	NT	NT	-	-	-
13	-	NT	NT	NT	-	-	-
14	-	NT	NT	NT	-	-	-
15	-	-	NT	NT	+	w	w
16	-	NT	NT	NT	-	-	-
17	-	NT	NT	NT	-	-	-
18	-	NT	NT	NT	-	-	-
19	-	-	NT	NT	+	w	w
20	-	-	NT	NT	+	w	w
21	-	NT	NT	NT	-	-	-
22	-	-	NT	NT	+	w	w
23	-	-	NT	NT	+	w	w
24	-	NT	NT	NT	-	-	-
25	-	NT	NT	NT	-	-	-
26	-	NT	NT	NT	-	-	-
27	-	NT	+	NT	+	r	r

\*、特異的なサイズのバンド検出: +、特異的なサイズのバンド非検出: NT、コロニーの発育がなし(LB)または特徴的なコロニーがなかった (MacConkey、DHL) ため、PCRを行わなかった。  
\*、コロニーの発育あり: w、白色コロニーの発育あり; r、赤色コロニーの発育あり (大腸菌はMacConkeyおよびDHL上では、赤色のコロニー)。

サンプル番号	12
大腸菌接種日	2012/1/27
採材日	2012/1/30
接種部位	腸管
培養日数	3

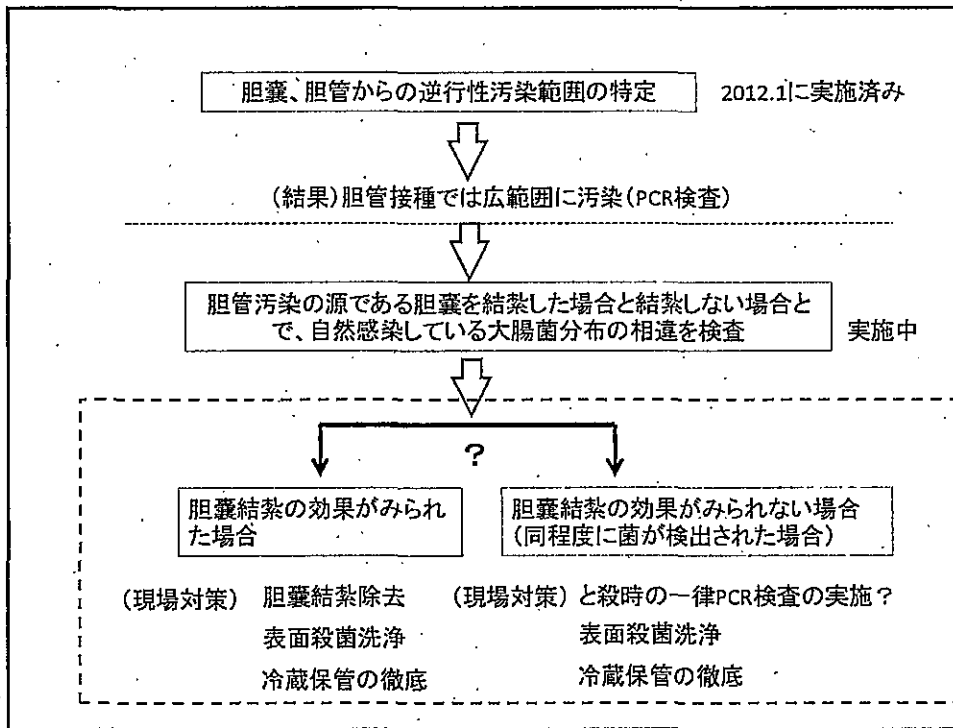
検査結果例  
(検体番号12)

サンプリング部位	培養液	PCR 結果*			寒天平板での結果*		
		LB agar	MacConkey	DHL	LB agar	MacConkey	DHL
1	-	NT	NT	NT	-	-	-
2	-	NT	NT	NT	-	-	-
3	+	NT	NT	NT	-	-	-
4	-	NT	NT	NT	-	-	-
5	-	NT	NT	NT	-	-	-
6	-	NT	NT	NT	-	-	-
7	+	NT	NT	NT	-	-	-
8	-	NT	NT	NT	-	-	-
9	-	NT	NT	NT	-	-	-
10	-	NT	NT	NT	-	-	-
11	-	NT	NT	NT	-	-	-
12	+	NT	NT	NT	-	-	-
13	-	NT	NT	NT	-	-	-
14	-	NT	NT	NT	-	-	-
15	+	NT	NT	NT	-	-	-
16	+	NT	-	NT	-	r	-
17	+	NT	NT	NT	-	-	-
18	-	NT	NT	NT	-	-	-
19	+	+	NT	NT	+	-	-
20	+	+	NT	NT	+	-	-
21	+	+	+	+	+	r	r
22	-	NT	NT	NT	-	-	-
23	+	NT	NT	NT	-	-	-
24	+	NT	NT	NT	-	-	-
25	+	NT	NT	NT	-	-	-
26	-	NT	+	+	-	r	r
27	-	NT	-	NT	-	-	-

\*、特異的なサイズのバンド検出: +、特異的なサイズのバンド非検出: NT、コロニーの発育がなし(LB)または特徴的なコロニーがなかった (MacConkey、DHL) ため、PCRを行わなかった。  
\*、コロニーの発育あり: w、白色コロニーの発育あり; r、赤色コロニーの発育あり (大腸菌はMacConkeyおよびDHL上では、赤色のコロニー)。







関係業界団体提出資料

—— と殺後の牛肝臓内保菌試験(胆嚢管結紮の効果) ——

目的: 肝臓内部の腸内細菌類の保有状態と胆嚢管を結紮することによる効果を観察する

- 検体No. 1 と殺後5日目の採材(胆嚢管結紮あり)
- 検体No. 2 と殺後3日目の採材(胆嚢管結紮あり)
- 検体No. 3 と殺後3日目の採材(胆嚢管結紮なし)
- 検体No. 4 と殺後5日目の採材(胆嚢管結紮なし)

1

と殺・開腹(25~30分)→内蔵検査(5分)→直ちに胆嚢と肝臓(総肝管)との間で胆嚢管を結紮(結紮ありの場合)。すべての検体で肝臓と十二指腸側との間の連絡(総胆管、肝門脈)を結紮したが、肝動脈と肝静脈は結紮されていない。



表面を洗浄・消毒・冷却、6時間後に運送会社が引取り



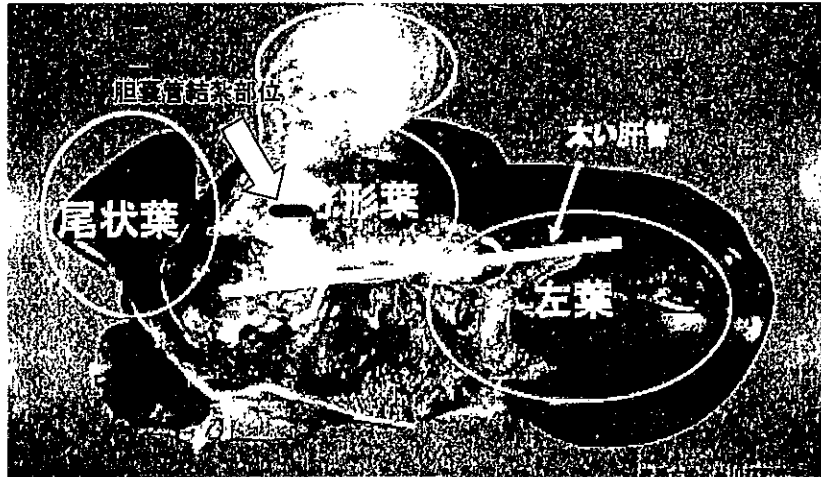
検体輸送(冷蔵保管)



細菌検査まで冷蔵保管(東大) 5~6°C

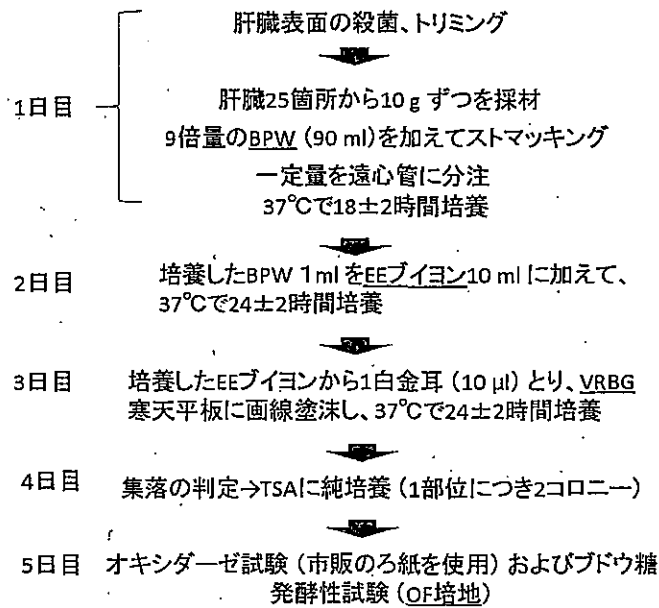
2

肝臓の外観と胆管の結紮部位



3

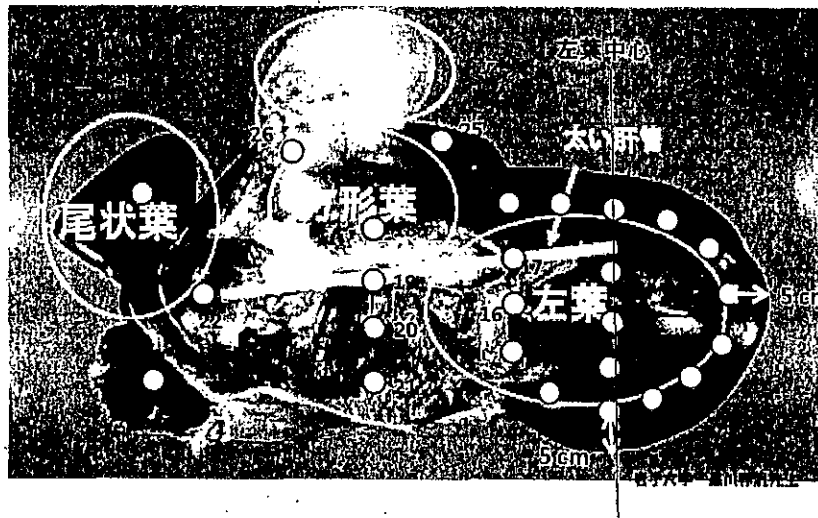
細菌培養・検査のフロー



(検体No. 2  
とNo.4につ  
いてはDHL  
培地による  
試験を実  
施)

4

### サンプリング部位



5

### 採材の流れ



アルコール綿でレバー表面を消毒した後、バーナーで熱したヘラをレバーに押し付ける(表面からの生菌混入防止)



熱せられた表面



メスで加熱表面を剥ぐ(トリミング)



肝実質から10gを採材



25か所から採材  
胆嚢(胆汁)からも採取



採材時の外観

6

結果

肝臓の部位別の腸内細菌検出状況				
採材部位	腸内細菌の発育			
	*3日 No.2 結核あり	3日 No.3 結核なし	5日 No.1 結核あり	5日 No.4 結核なし
1	+	+	-	+
2	+	+	+	+
3	+	+	+	+
4	-	+	+	+
5	+	+	+	+
6	+	+	+	+
7	-	+	+	+
8	-	+	+	+
9	+	+	+	+
10	-	+	+	+
11	-	-	+	+
12	-	+	-	+
13	-	+	-	+
14	+	+	+	+
15	-	+	+	+
16	-	+	+	+
17	+	+	+	+
18	+	+	+	+
19	+	+	+	+
20	+	+	+	+
21	+	+	+	+
22	-	+	+	+
23	+	+	+	+
24	-	+	+	+
25	-	+	+	+
26	-	+	NT	-

\*と殺後日数および胆嚢管結核の有無 NT: Not tested 26:胆嚢内の胆汁

7

検体番号	と殺日	採材日	と殺後日数	胆嚢管結核
2	2012/2/24	2012/2/27	3日	あり
3	2012/3/2	2012/3/5	3日	なし
4	2012/2/17	2012/2/22	5日	あり
4	2012/3/7	2012/3/12	5日目	なし

採材部位	腸内細菌	コロニー/DHL増地
1	+	赤
2	+	赤
3	+	赤
4	-	なし
5	+	赤
6	+	赤
7	-	なし
8	-	なし
9	+	赤
10	-	赤
11	-	なし
12	-	なし
13	-	なし
14	+	赤
15	-	なし
16	-	なし
17	+	赤
18	+	赤
19	+	赤
20	+	赤
21	+	赤
22	-	なし
23	+	赤
24	-	なし
25	-	なし
26	-	なし

採材部位	腸内細菌
1	+
2	+
3	+
4	+
5	+
6	+
7	+
8	+
9	+
10	+
11	-
12	+
13	+
14	+
15	+
16	+
17	+
18	+
19	+
20	+
21	+
22	+
23	+
24	+
25	+
26	+

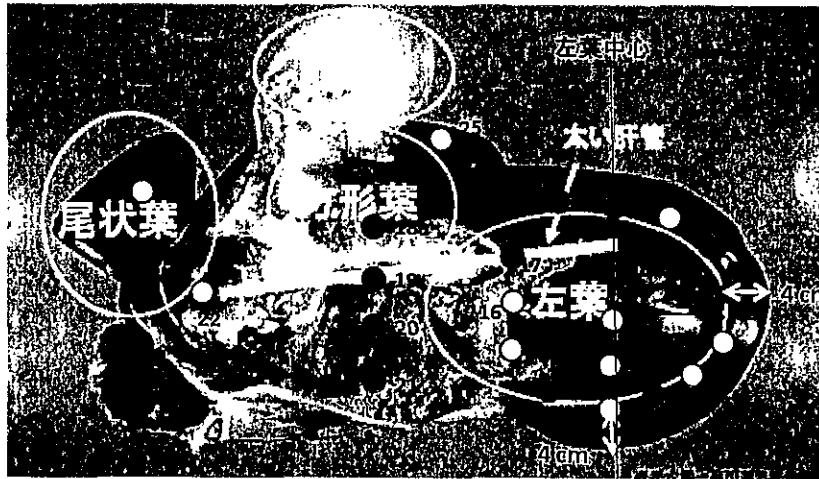
  

採材部位	腸内細菌	コロニー/DHL増地
1	-	
2	+	赤
3	+	赤
4	+	赤
5	+	赤
6	+	赤
7	+	赤
8	+	薄黄色
9	+	赤
10	+	赤
11	+	赤
12	+	赤
13	+	赤
14	+	赤
15	+	赤
16	+	赤
17	+	赤
18	+	赤
19	+	赤
20	+	赤
21	+	赤
22	+	赤
23	+	赤
24	+	赤
25	+	赤
26	-	なし

26:胆嚢内の胆汁

8

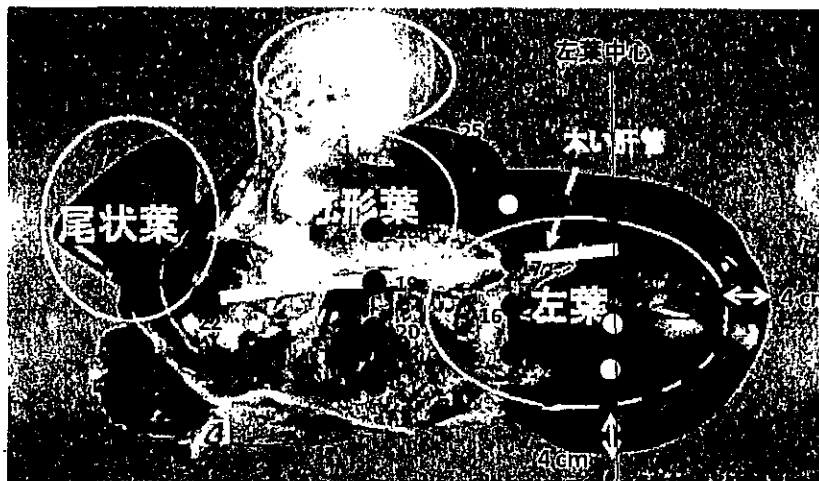
胆管結紮と腸内細菌検出の関連性 (と殺後3日目)



- : 結紮あり・なしに関わらず腸内細菌検出
- : 結紮あり・なしに関わらず腸内細菌非検出
- : 結紮なしの場合のみ腸内細菌検出

9

胆管結紮と腸内細菌検出の関連性 (と殺後5日目)



- : 結紮あり・なしに関わらず腸内細菌検出
- : 結紮あり・なしに関わらず腸内細菌非検出
- : 結紮なしの場合のみ腸内細菌検出

10

試験成績表

検体 No. 2

サンプル番号: 2																				
検体日: 2012.2.27																				
検体部位	BPWでの 発育(+/~)	EEでの発 育(+/~)	VRBGでの 発育(+/~)	コロニ 番号	OF試験		オキシ ダーゼ 試験													メモ
					好気 (上部)	嫌気 (下部)														
1	+	+	+	1	+	+	+													
2	+	+	+	2	+	+	+													
3	+	+	+	1	+	+	+													
4	+	+	-	1	+	+	+													
5	+	+	+	1	+	+	+													
6	+	+	+	2	+	+	+													
7	+	+	-	1	+	+	+													
8	+	+	-	2	+	+	+													
9	+	+	+	1	+	+	+													
10	+	+	+	2	+	+	+													
11	+	+	-	1	+	+	+													
12	+	+	-	2	+	+	+													
13	+	+	-	1	+	+	+													
14	+	+	+	2	+	+	+													
15	+	+	-	1	+	+	+													
16	+	+	-	2	+	+	+													
17	+	+	+	1	+	+	+													
18	+	+	+	2	+	+	+													
19	+	+	+	1	+	+	+													
20	+	+	+	2	+	+	+													
21	+	+	+	1	+	+	+													
22	+	+	-	2	+	+	+													
23	+	+	+	1	+	+	+													
24	+	-	-	2	+	+	+													
25	+	+	-	1	+	+	+													
26	-	-	-	2	+	+	+													

12

試験成績表

検体 No. 1

サンプル番号: 1																						
検体日: 2012.2.22																						
検体部位	BPWでの 発育(+/~)	EEでの発 育(+/~)	VRBGでの 発育(+/~)	コロニ 番号	OF試験		オキシ ダーゼ 試験														メモ	
					好気 (上部)	嫌気 (下部)																
1	+	-	-	1	+	+	+														EE:沈殿物	
2	+	+	+	2	+	+	+															
3	+	+	+	1	+	+	+															
4	+	+	+	2	+	+	+															
5	+	+	+	1	+	+	+															普通死天:コロニー小
6	+	+	+	2	+	+	+															普通死天:コロニー小
7	+	+	+	1	+	+	+															
8	+	+	+	2	+	+	+															普通死天:コロニー小
9	+	+	+	1	+	+	+															
10	+	+	+	2	+	+	+															
11	+	+	+	1	+	+	+															
12	+	+	+	2	+	+	+															VRBG:全て白色コロニー-普通
13	+	-	-	1	+	+	+															普通死天:コロニー小
14	+	+	+	2	+	+	+															EE:沈殿物
15	+	+	+	1	+	+	+															
16	+	+	+	2	+	+	+															
17	+	+	+	1	+	+	+															普通死天:コロニー小
18	+	+	+	2	+	+	+															普通死天:コロニー小
19	+	+	+	1	+	+	+															
20	+	+	+	2	+	+	+															
21	+	+	+	1	+	+	+															
22	+	+	+	2	+	+	+															
23	+	+	+	1	+	+	+															
24	+	+	+	2	+	+	+															
25	+	+	+	1	+	+	+															普通死天:コロニー小
26	+	+	+	2	+	+	+															普通死天:コロニー小

11



試験成績表

検体 No. 4

サンプル番号: 4									
採材日: 2012.03.12									
採材部位	BPWCでの 発育(+/-)	EECでの発 育(+/-)	VRBCでの 発育(+/-)	コロニ 番号	OF試験		オキシ ダーゼ 試験	メモ	
					好気 (上層)	嫌気 (下層)			
1	+	+	+	1	+	+	-		
				2	+	+	-		
2	+	+	+	1	+	+	-		
				2	+	+	-		
3	+	+	+	1	+	+	-		
				2	+	+	-		
4	+	+	+	1	+	+	-		
				2	+	+	-		
5	+	+	+	1	+	+	-		
				2	+	+	-		
6	+	+	+	1	+	+	-		
				2	+	+	-		
7	+	+	+	1	+	+	-		
				2	+	+	-		
8	+	+	+	1	+	+	-		
				2	+	+	-		
9	+	+	+	1	+	+	-		
				2	+	+	-		
10	+	+	+	1	+	+	-		0日目のコロニー数: 100 CFU/g
				2	+	+	-		
11	+	+	+	1	+	+	-		
				2	+	+	-		
12	+	+	+	1	+	+	-		
				2	+	+	-		
13	+	+	+	1	+	+	-		
				2	+	+	-		
14	+	+	+	1	+	+	-		
				2	+	+	-		
15	+	+	+	1	+	+	-		
				2	+	+	-		
16	+	+	+	1	+	+	-		0日目のコロニー数: < 100 CFU/g
				2	+	+	-		
17	+	+	+	1	+	+	-		
				2	+	+	-		
18	+	+	+	1	+	+	-		
				2	+	+	-		
19	+	+	+	1	+	+	-		
				2	+	+	-		
20	+	+	+	1	+	+	-		0日目のコロニー数: 200 CFU/g
				2	+	+	-		
21	+	+	+	1	+	+	-		
				2	+	+	-		
22	+	+	+	1	+	+	-		
				2	+	+	-		
23	+	+	+	1	+	+	-		
				2	+	+	-		
24	+	+	+	1	+	+	-		
				2	+	+	-		
25	+	+	+	1	+	+	-		
				2	+	+	-		
26	-	-	-	1	+	+	-		0日目のコロニー数: < 100 CFU/g
				2	+	+	-		

14

試験成績表

検体 No. 3

サンプル番号: 3									
採材日: 2012.3.5									
採材部位	BPWCでの 発育(+/-)	EECでの発 育(+/-)	VRBCでの 発育(+/-)	コロニ 番号	OF試験		オキシ ダーゼ 試験	メモ	
					好気 (上層)	嫌気 (下層)			
1	+	+	+	1	+	+	-		
				2	+	+	-		
2	+	+	+	1	+	+	-		
				2	+	+	-		
3	+	+	+	1	+	+	-		
				2	+	+	-		
4	+	+	+	1	+	+	-		
				2	+	+	-		
5	+	+	+	1	+	+	-		
				2	+	+	-		
6	+	+	+	1	+	+	-		
				2	+	+	-		
7	+	+	+	1	+	+	-		
				2	+	+	-		
8	+	+	+	1	+	+	-		
				2	+	+	-		
9	+	+	+	1	+	+	-		
				2	+	+	-		
10	+	+	+	1	+	+	-		
				2	+	+	-		
11	+	-	-	1	+	+	-		
				2	+	+	-		
12	+	+	+	1	+	+	-		
				2	+	+	-		
13	+	+	+	1	+	+	-		
				2	+	+	-		
14	+	+	+	1	+	+	-		
				2	+	+	-		
15	+	+	+	1	+	+	-		
				2	+	+	-		
16	+	+	+	1	+	+	-		
				2	+	+	-		
17	+	+	+	1	+	+	-		
				2	+	+	-		
18	+	+	+	1	+	+	-		
				2	+	+	-		
19	+	+	+	1	+	+	-		
				2	+	+	-		
20	+	+	+	1	+	+	-		
				2	+	+	-		
21	+	+	+	1	+	+	-		
				2	+	+	-		
22	+	+	+	1	+	+	-		
				2	+	+	-		
23	+	+	+	1	+	+	-		
				2	+	+	-		
24	+	+	+	1	+	+	-		
				2	+	+	-		
25	+	+	+	1	+	+	-		
				2	+	+	-		
26	-	-	+	1	+	+	-		VRBCコロニー増殖は認めず
				2	+	+	-		

13

## 成績のまとめ

と殺後3日目および5日目の肝臓内部から採取された検査標本(肝細胞、胆管、血管を含む組織)から腸内細菌類が検出された。

と殺後3日目の検体においては、胆嚢管結紮を行った肝臓では、結紮を行わなかった検体に比べて菌の検出率が低かった<陽性率:結紮なし96%(24/25)、結紮あり48%(12/25)>。

と殺後5日目の検体では胆嚢管結紮の検体で検出率がごくわずかに低下した<陽性率:結紮なし100%(25/25)、結紮あり88%(22/25)>。

## 牛肝臓表面汚染対策検討

平成 24 年 3 月 30 日

目的 表面汚染対策：一定の腸管出血性大腸菌とカンピロバクターをレバー表面に人為的に汚染させ、塩素系消毒薬の殺菌効果を検討する。

## 方法

1. 対数増殖期の腸管出血性大腸菌とカンピロバクターをそれぞれ約  $1 \times 10^4$  cfu/mL となるように PBS に懸濁、調整した（調整後菌数を SMAC 及び BBA 確認）。
2. 牛レバーの表面を 70%エタノールで拭き取り消毒後、約 10 cm 四方になるように煮沸およびアルコールにて滅菌した包丁、もしくは外科用メスにてブロック状に切り取った（図 1）。
3. 上記のように調整した菌の混液 1 mL をレバーの表面に滴下し（図 2）、滅菌コンラージ棒で塗り付けた（図 3）。
4. 30 分間静置後、水洗浄群は約 10 mL の水又は消毒群は塩素系消毒薬（400 ppm 又は 800 ppm）を霧吹きで振りかけ（20 回）、30 分間静置した。
5. それぞれのブロックの表面をふきふきチェックツール 2（栄研化学）を用いて一定圧力で 2 往復、 $100 \text{ cm}^2$  を拭き取り、拭き取ったプース等を滅菌 PBS に懸濁した。懸濁液を原液、10 倍希釈液、100 倍希釈液からそれぞれ 100  $\mu\text{L}$  ずつ取り各 3 枚の SMAC と mCCDA 上に広げ培養した。

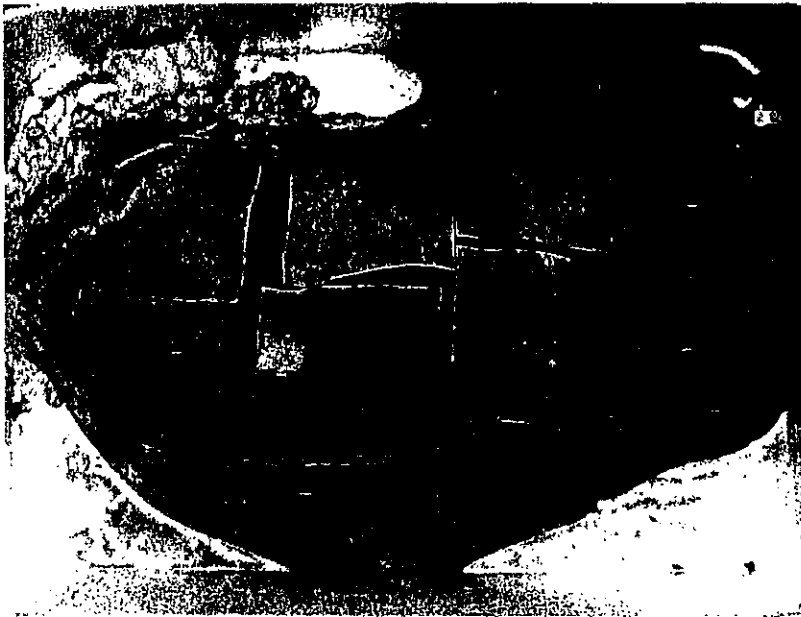


図 1：レバー 10 cm 四方への切除

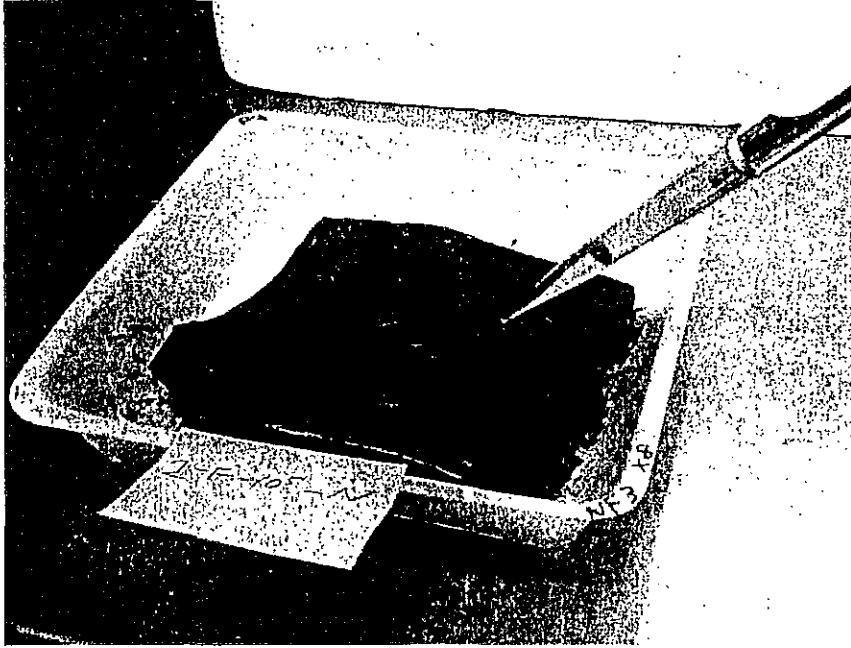


図 2. レバー表面への菌液の滴下

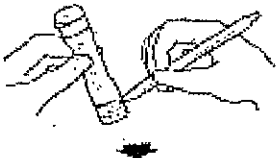


図 3. レバー表面へ菌をコンラージ棒での塗り広げ

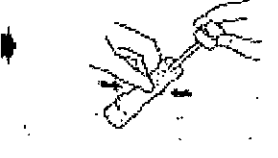
拭き取り試験法

**ふきふきチェックⅡの用法**


1 器具の準備。拭きふき紙を準備する。




2 拭きふき紙の先端を鋭利な針状にする。




3 拭きふき紙の先端を鋭利な針状にする。



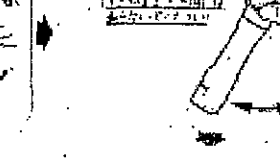
4 拭きふき紙の先端を鋭利な針状にする。



5 拭きふき紙の先端を鋭利な針状にする。



6 拭きふき紙の先端を鋭利な針状にする。



ふきふきチェックⅡの用法

ふきふきチェックⅡの用法

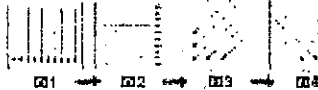
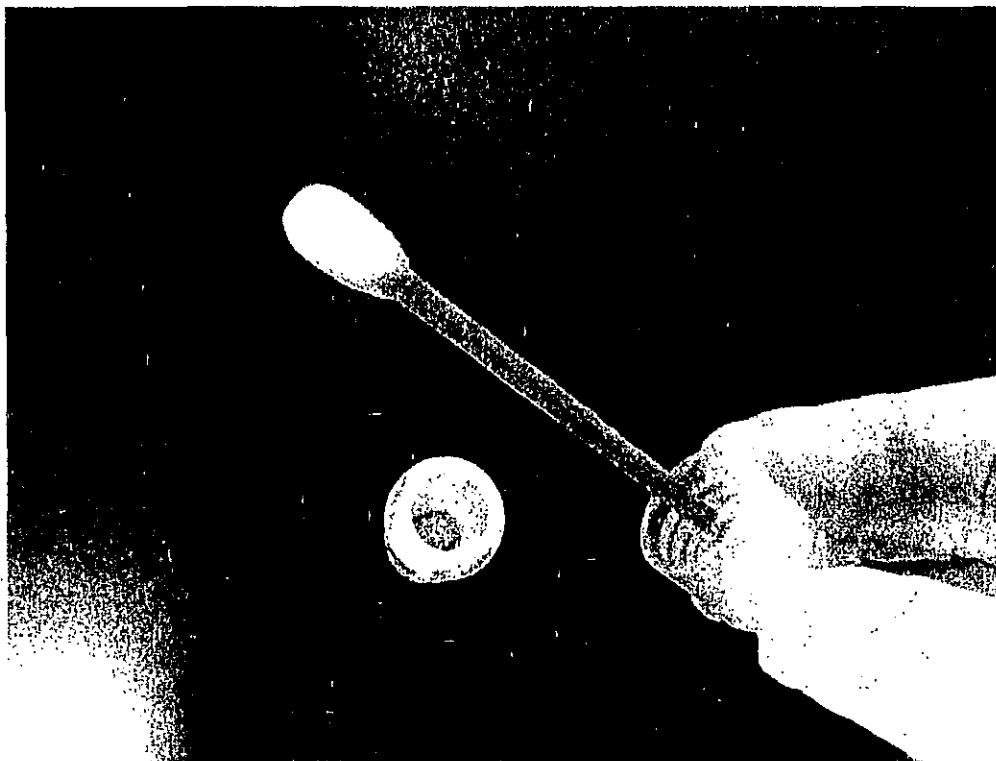
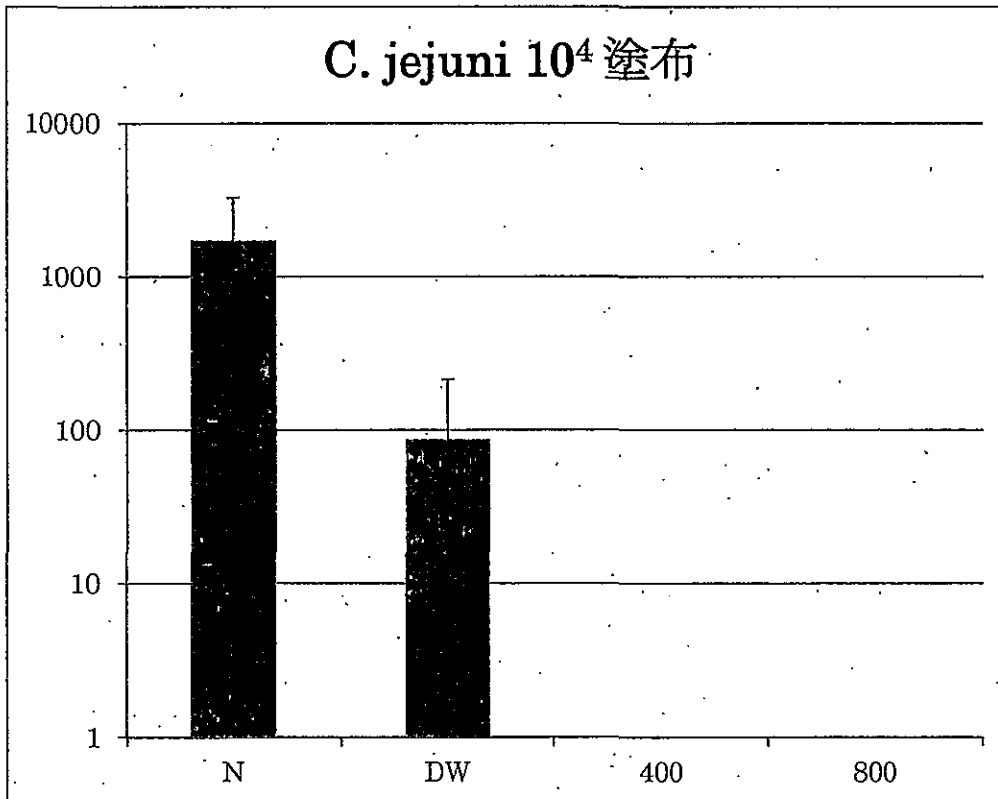
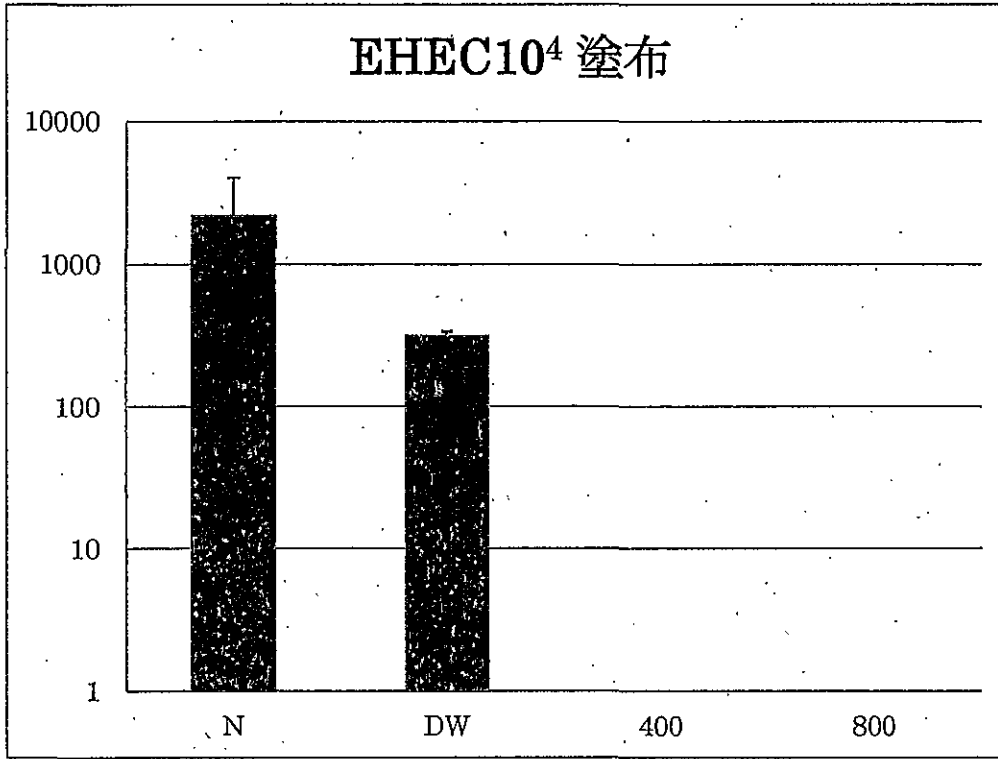



図4. ふきふきチェック

結果



## 牛肝臓の取扱いについて

平成 24 年 3 月 30 日

薬事・食品衛生審議会食品衛生分科会  
乳肉水産食品部会1. これまでに得られた知見

生食用牛肝臓の取扱いについて、昨年 7 月 6 日の食中毒・乳肉水産食品合同部会、同年 12 月 20 日、本年 2 月 24 日及び 3 月 30 日の本部会で議論した結果、現時点までに得られている知見は以下のとおり。

- ① 腸管出血性大腸菌は牛の腸管内に存在し、2～9 個の菌の摂取で食中毒が発生した事例が報告されている。
- ② 生食用牛肝臓の提供の自粛を要請した昨年 7 月以降でも、4 件（患者数 13 人）の食中毒事例が報告されている。
- ③ 厚生労働省が実施した牛肝臓の汚染実態調査で、牛肝臓内部から腸管出血性大腸菌及び大腸菌が検出されている。また、国内外の文献において、牛肝臓内部及び胆汁から腸管出血性大腸菌の検出事例が報告されている。
- ④ 牛肝臓を安全に生食するための有効な予防対策は見い出せていない。

2. 対応

上記を踏まえ、国民の健康保護の観点から、食中毒の危険性が高まる夏までの間に、牛肝臓の生食を禁止する方向で手続きを進めることが必要である。

このため、以下の内容を掲げた食品衛生法第 11 条第 1 項に基づく規格基準を設定する。

- ① 牛肝臓を生食用として販売してはならない旨
- ② 牛肝臓を使用して食品を製造、加工又は調理する場合には、中心部を 63℃で 30 分間加熱又は同等以上の殺菌効果のある加熱殺菌※が必要である旨

※ 加熱食肉製品等の規格基準の加熱殺菌条件として規定されている条件と同一であり、既存の腸管出血性大腸菌 0157:H7 の D 値（62.8℃で 25.02 秒）からも、当該条件で十分に安全性を確保できると考えられる。

また、消費者等への注意喚起の観点から、消費者庁に表示基準の設定を含めた安全確保策の周知等について検討を依頼することが必要である。

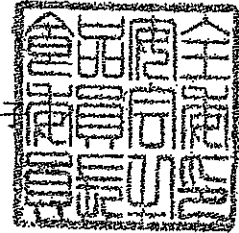
なお、関係団体が、引き続き牛肝臓内部の汚染除去試験等を実施していることから、今後、安全性を確保できる新たな知見が得られた場合には、手続きの途中であっても、本部会で改めて審議を行うこととする。



府食第363号  
平成24年4月12日

厚生労働大臣  
小宮山 洋子 殿

食品安全委員会  
委員長 小泉 直子



食品健康影響評価について (回答)

平成24年4月9日付け厚生労働省発食安0409第1号により貴省から当委員会に対し意見を求められた事項について、下記のとおり回答します。

記

平成23年8月25日付け府食第691号で通知した「微生物・ウイルス評価書 生食用食肉(牛肉)における腸管出血性大腸菌及びサルモネラ属菌」において、腸管出血性大腸菌の60℃加熱におけるD値の最長は150±12秒とし、「腸管出血性大腸菌の摂食時安全目標値(FSO)は、我が国の既知の食中毒の最少発症菌数から推測すると0.04 cfu/gよりも小さな値であることが必要であり、かつ、FSOの設定においてはヒトの感受性の個体差や菌の特性にも留意する必要があると考えられた」と評価している。

平成24年4月9日付け厚生労働省発食安0409第1号の記(1)の趣旨の規格基準が遵守されれば生食用の牛肝臓が流通することは想定されないこと、また、同通知の記(2)の趣旨の規格基準が遵守されれば、腸管出血性大腸菌は死滅することから、これらの趣旨の規格基準を設定することについては、食品安全基本法(平成15年法律第48号)第11条第1項第2号の人の健康に及ぼす悪影響の内容及び程度が明らかであるときに該当すると認められる。