

牛レバー等における汚染実態調査（農林水産省、速報版）

平成23年12月

1 目的

農林水産省では、食品媒介有害微生物について、フードチェーン全体をカバーしたリスク管理を推進する観点から、フードチェーンの各段階において食品媒介有害微生物の保有状況を把握するために調査を平成19年度から行っており、今年度は牛レバー等のカンピロバクター及び腸管出血性大腸菌O157等の保有状況に係る調査を実施している。これまでに得られた調査結果は以下のとおり。

2 調査内容

(1) 腸管出血性大腸菌O157及びカンピロバクターの検査

以下の試料について、腸管出血性大腸菌O157及びカンピロバクターの有無を定性試験により検査し、腸管出血性大腸菌O157陽性試料については、定量試験（最確数法（3本法）：MPN法）を実施する。

- ア 3か所のと畜場（A、B及びC）で解体処理された肉用牛96頭の肝臓
- イ Cと畜場で解体処理された肉用牛32頭の胆汁
- ウ Cと畜場で解体処理された肉用牛96頭の第一胃、第四胃、十二指腸及び直腸内容物

(2) 大腸菌の検査

3カ所から入手した肝臓96個について、大腸菌の定量試験（MPN法）を実施する。

3 調査方法

(1) 腸管出血性大腸菌O157及びカンピロバクターの検査

ア 前処理

① 肝臓

入手した肝臓について、36g（深さ約1cmで6cm×6cm）を切り取り、ストマッカーを用いて十分混合する。

② 第一胃、第四胃、十二指腸及び直腸内容物

それぞれ40gをストマッカーを用いて十分混合する。

イ 腸管出血性大腸菌O157

① 増菌培養法

前処理後の肝臓、第一胃内容物、十二指腸内容物及び直腸内容物各

25gを、225mlのノボビオシン加mEC培地とよく混和し、24時間増菌培養（42℃）を行う。この増菌培養液1mlを免疫磁気ビーズを用いて濃縮する。その後、Cefixime potassium Tellurite - Sorbitol MacConkey (CT-SMAC) 寒天培地及びクロモアガー0157寒天培地に画線後、18時間培養（37℃）し、各分離培地から得られた定型的集落を5集落釣菌し、Cellobiose Lactose Indole β -D- Glucuronidase (CLIG) 寒天培地に接種後、18時間培養（37℃）し、生化学的性状から0157が疑われる株について、O抗原の血清凝集試験を行う。

② 分離検査

凝集が確認された菌株について、Triple Sugar Iron (TSI) 寒天培地、Lysine Indole Motility (LIM) 培地、Voges-Proskauer (VP) 半流動寒天培地及びSimmons Citrate (SC) 培地、Sulfide Indole Motility (SIM) 培地の各確認培地に接種し、18時間培養（37℃）し、生化学的性状により、大腸菌であることを確認する。

O157と確認された菌株（同一試料2株）は、H抗原の血清凝集試験、PCR法によるペロ毒素遺伝子試験及び逆受身凝集反応によるペロ毒素蛋白試験（希釈倍率2～128で実施）を行う。なお、分離された菌株は保存する。

③ 定量試験

T-SMAC寒天培地及びクロモアガーO157寒天培地に定型的集落が見られた場合には、直ちに冷蔵庫で保存されている前処理後の試料10gを90mlのノボビオシン加mEC培地とよく混和する。この溶液中のO157菌数を免疫磁気ビーズを用いたMPN法（3本法）により算出する。

ウ カンピロバクター検査

① 直接培養

前処理の肝臓、第一胃、第四胃、十二指腸及び直腸内容物0.1gをModified Cefaperazone Charcol Desoxycholate Agar (mCCDA) に塗抹し、微好気条件下で2日間培養（42℃）する。

② 増菌培養法

前処理後の肝臓、第一胃、第四胃、十二指腸及び直腸内容物1gをプレストン増菌液体培地9mL と十分に混合し、微好気条件下で1日間培養（42℃）する。

その後、培養液0.1mLをmCCDAに塗抹し、微好気条件下で2日間培養（42℃）する。

③ 分離検査

発育した定型的又は疑わしい3集落について、運動性試験、グラム

染色及びオキシダーゼ試験を行い、カンピロバクターと推定されたものを血液寒天培地に継代し、2日間培養（25℃及び42℃で微好気培養）する。その後、生化学的試験及びPCR法により、菌種の同定を行う。分離されたカンピロバクター菌株は、1個体につき1株（同一試料から異なる菌種が分離された場合は、1菌種につき1株）保存する。

（2）大腸菌の検査

前処理後の肝臓試料について、EC培地を用いたMPN法（3本法）により、大腸菌数を算出する（ガス発生している試験管について、EMB培地で定型的集落を確認し、さらにIMVIC試験により大腸菌の有無を判断）。

4 調査結果

（1）と畜場A

検体 番号	O157	<i>Campylobacter</i>		<i>Escherichia coli</i> (MPN: cfu/100g)
		直接(mCCDA)	増菌(プレストン+mCCDA)	
A-1	—	—	—	930
A-2	—	—	—	150
A-3	—	—	—	430
A-4	—	—	—	430
A-5	—	—	+(<i>C. jejuni</i>)	930
A-6	—	—	—	1100
A-7	—	—	—	4600
A-8	—	—	—	4600
A-9	—	—	—	92
A-10	—	—	—	92
A-11	—	—	—	430
A-12	—	+(<i>C. jejuni</i>)	+(<i>C. jejuni</i>)	230
A-13	—	+(<i>C. jejuni</i>)	+(<i>C. jejuni</i>)	430
A-14	—	—	—	230
A-15	—	—	—	4600
A-16	—	+(<i>C. jejuni</i>)	+(<i>C. jejuni</i>)	930000
A-17	—	—	—	36
A-18	—	+(<i>C. coli</i>)	+(<i>C. coli</i>)	36
A-19	—	—	—	210
A-20	—	—	—	—

(2) と畜場B

検体 番号	O157	<i>Campylobacter</i>		<i>Escherichia coli</i> (MPN: cfu/100g)
		直接(mCCDA)	増菌(プレストン+mCCDA)	
B-1	—	—	—	—
B-2	—	—	—	—
B-3	—	—	—	92
B-4	—	+(<i>C. jejuni</i>)	—	—
B-5	—	—	+(<i>C. coli</i>)	1500
B-6	—	+(<i>C. jejuni</i>)	+(<i>C. jejuni</i>)	—
B-7	—	—	—	30
B-8	—	—	—	36
B-9	—	+(<i>C. coli</i>)	+(<i>C. coli</i>)	—
B-10	—	—	—	—
B-11	—	—	—	—
B-12	—	+(<i>C. coli</i>)	+(<i>C. coli</i>)	—
B-13	—	—	—	36
B-14	—	—	—	—
B-15	—	—	—	230
B-16	—	—	—	—
B-17	—	+(<i>C. jejuni</i>)	+(<i>C. jejuni</i>)	380000
B-18	—	—	—	36
B-19	—	—	—	—
B-20	—	—	—	—
B-21	—	—	—	—
B-22	—	—	—	—
B-23	—	—	—	4600
B-24	—	—	—	—

(3) と畜場C

検体 番号	O157	<i>Campylobacter</i>		<i>Escherichia coli</i> (MPN: cfu/100g)
		直接 (mCCDA)	増菌(プレストン+mCCDA)	
C-1	—	—	—	—
C-2	—	—	—	—

C-3	—	—	—	430
C-4	—	—	—	—
C-5	—	—	—	—
C-6	—	+(<i>C. jejuni</i>)	+(<i>C. jejuni</i>)	—
C-7	—	—	—	—
C-8	—	+(<i>C. jejuni</i>)	+(<i>C. jejuni</i>)	—
C-9	—	+(<i>C. jejuni</i>)	+(<i>C. jejuni</i>)	—
C-10	—	—	—	—
C-11	—	—	—	290000
C-12	—	—	—	240000
C-13	—	—	—	—
C-14	—	—	—	—
C-15	—	—	—	—
C-16	—	—	—	—

(4) と畜場C (肝臓、胆汁、第一胃、第四胃、十二指腸、直腸)

検体 番号	肝臓		胆汁		第一胃		第四胃		十二指腸		直腸	
	O157	Campy	O157	Campy	O157	Campy	O157	Campy	O157	Campy	O157	Campy
C-1	—	—	—	—	+	—	+	—	+	—	+	+
C-2	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	+	—
C-3	—	—	+	—	—	—	—	—	+	—	+	+
C-4	—	—	—	—	—	—	—	—	—	+	—	+
C-5	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
C-6	—	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	+
C-7	—	—	—	+	—	—	—	—	+	+	—	+
C-8	—	+	—	+	—	—	—	—	—	—	—	+
C-9	—	+	—	+	—	—	—	—	—	+	—	+
C-10	—	—	—	+	—	—	—	—	—	—	—	+
C-11	—	—	—	+	—	—	—	+	—	+	—	+
C-12	—	—	—	—	—	+	—	—	—	+	—	+
C-13	—	—	—	—	—	+	—	—	—	+	—	+
C-14	—	—	—	+	—	—	—	—	—	—	—	+
C-15	—	—	—	—	—	+	—	—	—	—	—	—
C-16	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

