

## 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 3 2 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  $5 \times 5 \times 1\text{cm}$ )、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、直腸内容物のみでの検査では 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。