

により、生産者自身の農場の疾病発生率について認識を深めることとなり疾病対策に意欲的に取り組む体制づくりに有効な方策と考える。

E. 結論

個体管理である牛については、生産者の要望を把握することが重要であり、今回の事例では生産者が独自に飼料配合、販売を行っていることから、飼料効率等に関する情報収集といった生産者の明確な目的意識、そしてそれに基づく対象疾病の絞込みにより、疾病減少に關し的確に機能した。

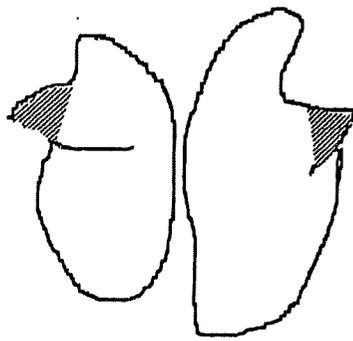
また豚におけるMPS等の疾病に対しては完全な対策を講じることが困難であるが、病変の程度を数値化するなどにより地域及び各農家ごとの疾病罹患レベルを把握することが可能となり、生産者に対して有用なデータとして評価されるものと考えられる。

MPSの病変程度による分類及び評価について

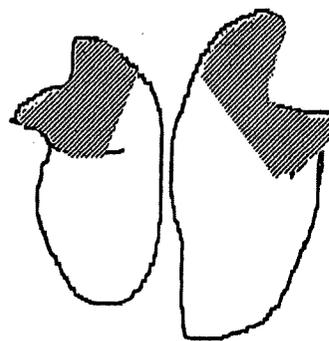
点数	病変の程度
0	病変無し
1	軽 度(片側または両側性1葉に病変確認)
2	中程度(片側または両側性2葉に病変確認)
3	重 度(片側または両側性3葉に病変確認)

$$\text{指数} = \frac{0\text{点} \times \bigcirc + 1\text{点} \times \bigcirc + 2\text{点} \times \bigcirc + 3\text{点} \times \bigcirc}{\text{検査個体数}}$$

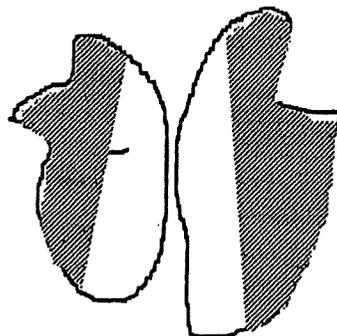
(参考)



1点

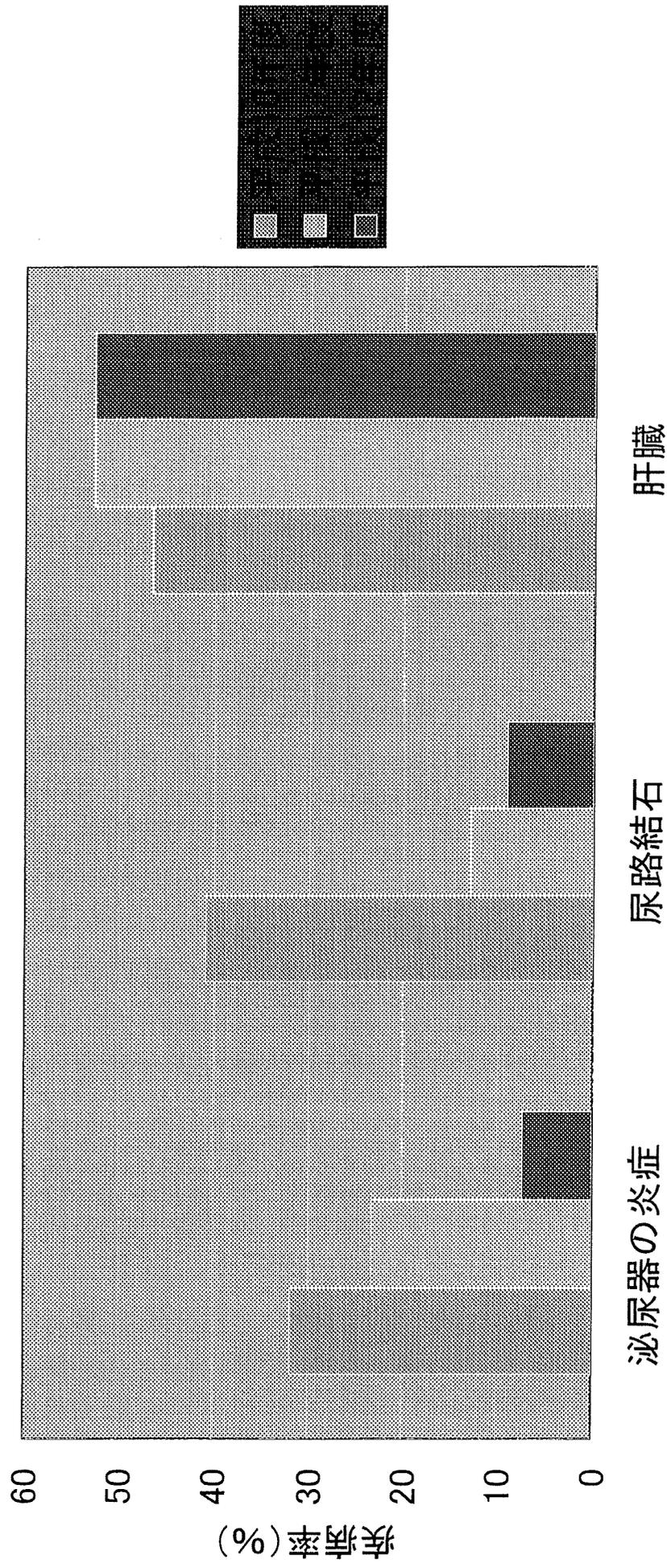


2点

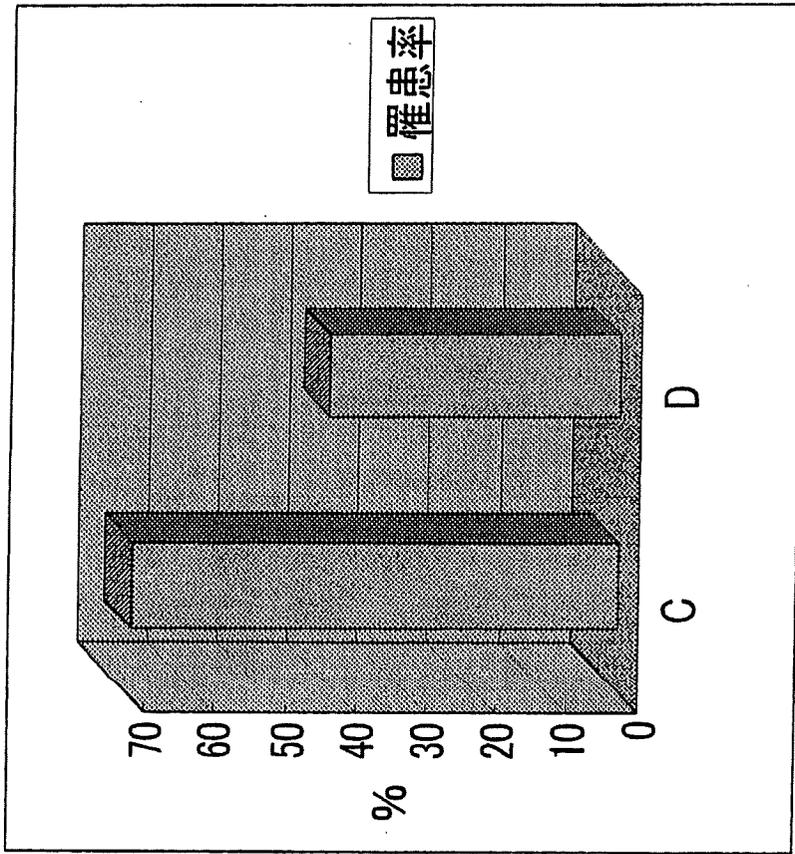


3点

牛の対象疾病率推移



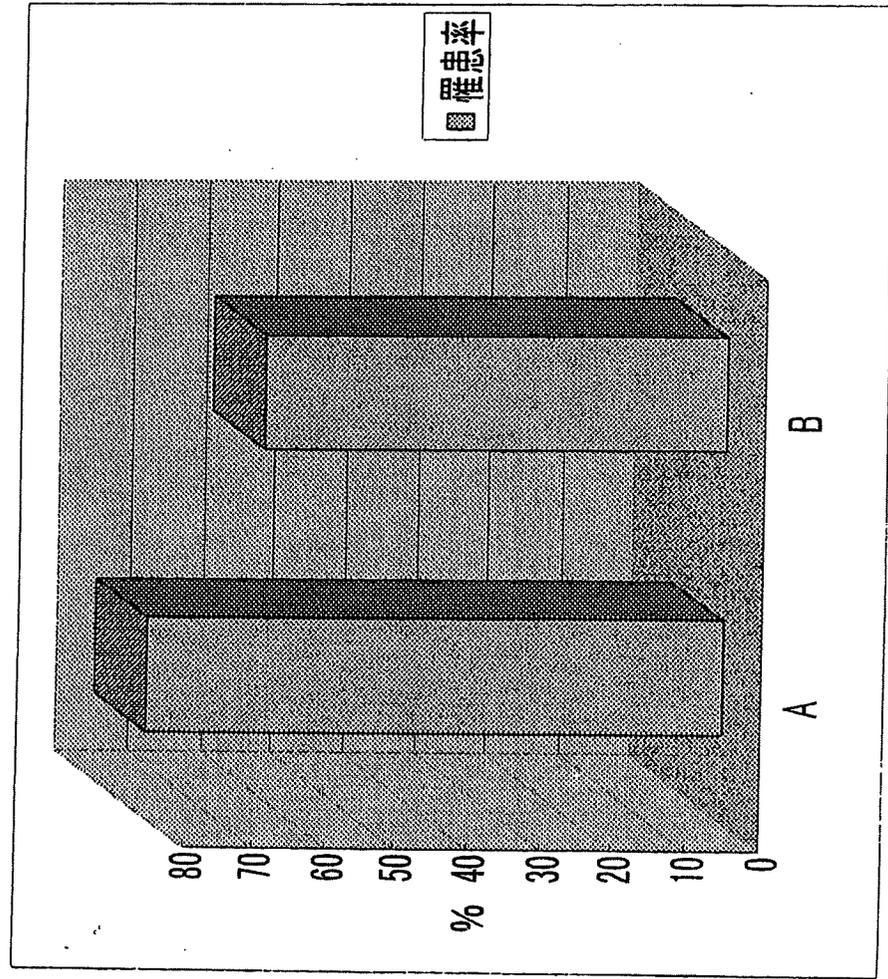
胸膜性肺炎の罹患率



- C:豚アクチノバシラス感
染症不活化ワクチン
..... 1回(2cc)接種
- D:豚アクチノバシラス感
染症不活化ワクチン.....
2回(2cc、2cc)接種

MPS罹患率

- A: 豚マイコプラズマ性肺炎不活化ワクチン.....
1回(2CC)接種
- B: 豚マイコプラズマ性肺炎不活化ワクチン.....
3回(1CC、2CC、2CC)接種



分担研究報告書

食肉(枝肉)の流通過程における衛生管理

分担研究者 木村豊彦
(東京都芝浦食肉衛生検査所)

厚生科学研究費補助金（生活安全総合研究事業）
分担研究報告書

食肉・食鳥肉処理における微生物コントロールに関する研究
－食肉（枝肉）の流過程における衛生管理－

分担研究者 木村豊彦 芝浦食肉衛生検査所 所長

研究要旨 とちく場から食肉カット施設までの食肉（枝肉）の流過程において、主に枝肉に接触する施設等の細菌検査及び取扱いの調査等を行い、衛生管理の問題点について検討した。その結果、枝肉搬送経路での内壁・床と枝肉との接触による枝肉の汚染防止、枝肉搬送用コンベアの洗浄消毒の徹底、作業員の軍手等による枝肉の汚染防止、搬送車の荷室内壁・床の洗浄消毒の徹底、搬送車への枝肉の衛生的な積み込み等が重要であることが明らかとなった。各とちく場においても、とちく後の枝肉等の流通についてその実態を調査し、必要に応じて施設の改修、清掃・消毒の徹底、作業手順の改善等が必要であることが示唆された。

研究協力者

高橋俊之（北海道帯広食肉衛生検査所）
清水俊一
菅原邦人
竹内重正（青森県十和田食肉衛生検査所）
桜庭恵
藤田紀弥（岩手県紫波食肉衛生検査所）
白岩利恵子
佐藤敦
西家亨（群馬県中央食肉衛生検査所）
稲葉正浩
佐々木裕之（埼玉県食肉衛生検査センター）
大塚孝康
田中成幸
後藤公吉（新潟県食肉衛生検査センター）
鰐沢照夫（東京都芝浦食肉衛生検査所）
金谷和明
三好康子
吉原雅子

1 目的

食肉の微生物学的な危害を低減させるためには、生産から食卓までのあらゆる工程における衛生管理が欠かせない。このうち、と畜場についてはと畜場法により、また食肉処理業・食肉販売業については食品衛生法により施設及び取扱い等の基準が定められ、一定の衛生水準が保たれている。特に平成8年のと畜場法規則等の改正により、と畜場で生産される枝肉の衛生レベルは向上しているものと考えられる。

しかし、これらの施設間での食肉の流通時においては、食肉の保存基準等が定められているものの、その間の微生物学的な危害については十分に明らかになっていない。特に枝肉は、梱包されたブロック肉等に比較して形状が大きく形が複雑であるため、流通時の衛生的な取り扱いが困難であることが予想される。

そこで、本研究では平成10年度から3年にわたり、と畜場で生産された枝肉がカット施設に至るまでの流通経路について、実態調査を行った。平成12年度は平成11年度の結果を踏まえ、枝肉が搬送車に積込まれるまでの経路において、主に枝肉と施設が接触する箇所の拭取り検査を行い、枝肉を汚染する微生物学的な危害及びその防止法について検討した。

表1 調査施設数

	牛枝肉	豚枝肉
部分肉のみ搬出している施設数	1	1
枝肉を搬出している施設数	4	6
計	5	7

2 材料及び方法

(1) 調査期間、調査対象

平成12年6月から平成12年9月までに、各とちく場ごとに枝肉の搬出時の取扱い状況等を調査し、主に枝肉と施設が接触する箇所の拭き取り検査を行い、細菌数等を測定した。

(2) 拭取り検査方法

10cm×10cmの滅菌拭取り枠を用いてWhirl-Pakで対象物を100cm²拭取り、滅菌生理食塩水を加え振とうした液を検体とした。検体を適宜段階希釈し、ACプレート（3Mベトリフィルム、生菌数用）、ECプレート（3Mベトリフィルム、大腸菌数及び大腸菌群数用）及びRSAプレート（3Mベトリフィルム、黄色ブドウ球菌数用）に接種し、使用書に従い培養した後、発育したコロニー数を計測し、1cm²当り

の菌数を算出した。

3 結果および考察

牛枝肉は5施設、豚枝肉は7施設について調査した（表1）。とちく場にカット施設を併設し、すべての枝肉を部分肉に加工した後、梱包して搬出している施設は1施設のみであった。ある施設では、併設する食肉市場で枝肉をせりにかけた後、一部の枝肉を市場内のカット施設で部分肉に加工し、他の枝肉については搬送車で搬出していた。また、ある施設では、すべての枝肉をとちく場近辺のカット施設に搬出していた。

ほとんどの施設が牛枝肉および豚枝肉の搬送経路はそれぞれ専用のものを使用していたが、2施設では牛枝肉と豚枝肉で共通の搬送経路を使用していた。

施設ごとに、枝肉が接触して汚染が広がる可能性の高い箇所を選択し、拭取り検査を行った結果を表2～4に示した。併せて枝肉の取扱い状況等を調査したところ、次のような問題が明らかとなった。

(1) 枝肉搬送経路における枝肉接触部

枝肉保管冷蔵庫、通路、懸肉室、せり場等の枝肉搬送経路において、枝肉が施設の内壁、床等に接触するのが認められた。

接触部の材質や洗浄の状況によっては汚染状態に差がみられた。例えば、枝肉と接触している箇所の材質がモルタル等で表面が粗雑な場合は、肉眼的にも汚染が著しく、生菌数が10⁵CFU/cm²（以下、細菌数の単位はいずれもCFU/cm²である。）以上、大腸菌群が10.0%検出されることもあった。

一方、接触部の材質がステンレスで、かつ頻繁に清掃されている場合 10^0 程度のこともあった。

従って、冷蔵庫、搬送経路の枝肉懸垂レールは、枝肉が床や内壁に接触しないように、床からの高さ及び内壁との距離を十分にとり、ドア枠等も枝肉が接触しないように十分な大きさとすることが望ましい。また、床、内壁、ドア枠等は不浸透性の材質にする。どうしても枝肉と接触する部位については、定期的な洗浄消毒が必要である。

(2) プラットホーム（枝肉搬出場）

プラットホームの形態は施設によって異なっていた。枝肉搬送車の荷室とプラットホームの搬出口が密着するドックシェルターを有しているのは、牛枝肉用が1施設、豚枝肉用が1施設のみであった。他の施設は、屋根はあるものの壁はなく、屋外に近い環境で枝肉の搬出を行っていた。プラットホーム内壁に枝肉が接触する箇所では、生菌数が $10^0 \sim 10^1$ 程度であった。

枝肉を施設外に搬出する際、牛枝肉は布製のミートラッパーで梱包されてから搬送車に積み込まれる場合が多いが、豚枝肉はほとんどが剥き出しの状態です搬送車に積み込まれていた。

プラットホームから枝肉を搬送車荷室に積み込む際、荷室内専用長靴を使用している例もあったが、作業従事者が長靴のままプラットホームと搬送車荷室を行き来していることがあった。プラットホーム床からは生菌数が $10^2 \sim 10^5$ 以上、大腸菌群が70%以

上検出され、作業従事者の長靴裏からも生菌数が $10^2 \sim 10^5$ 以上、大腸菌群が80%以上検出された。作業従事者が長靴のままプラットホームと搬送車荷室内を行き来すると、長靴を介して荷室内の床を汚染したり、長靴が枝肉に接触して汚染したりするものと推察された。

従って、プラットホームにおいては、枝肉が床や内壁に接触しないような構造とし、不浸透性の材質にするのが望ましい。どうしても枝肉と接触する部位については、定期的な洗浄消毒が必要と考えられる。また、枝肉が直接外気に曝される状況では、枝肉に塵埃や昆虫、鳥の糞等が付着する恐れがある。そのようなことがないようにドックシェルター等を設置することが望ましい。それができない場合は、枝肉の積み込みに要する時間を極力短縮するような作業手順とすることが必要である。また、作業従事者が長靴のまま搬送車に出入することによる汚染を防ぐためには、荷室内専用の長靴に履き替えたり、必要に応じて荷室内外の作業を区分することが必要である。

(3) ベルトコンベア

搬送車荷室へ枝肉を積み込む作業には、搬送レールから直接積み込む設備を有する施設もあるが、ベルトコンベアを使用している施設もあった。ベルトコンベアの清掃・消毒や保管状況が不適切な場合、ベルト表面には脂や肉片がこびりつき、特に搬出作業の後では生菌数が 10^5 以上、大腸菌群が30%以上検出されることがあった。

従って、ベルトコンベア等の搬出用機械・器具については、作業前に衛生状態を確認してから作業を開始することとし、作業中の衛生状態の確認及び必要に応じた洗浄消毒、作業終了後の洗浄消毒、衛生的な保管等を行うことが必要である。

(4) 枝肉搬送車

枝肉搬送車には、枝肉を荷室内のレールに吊り下げる「懸垂型」と荷室内に積み重ねる「横積み型」があった。牛枝肉用の懸垂型搬送車は1施設（2台）で、豚枝肉用の懸垂型搬送車は3施設（8台）で使用されていたが、他の施設では横積み型搬送車（牛枝肉用8台、豚枝肉用16台）を使用していた。

生菌数については、牛枝肉用では懸垂型の壁で $10^0 \sim 10^2$ 、床で $10^0 \sim 10^4$ 、横積み型の壁で $10^0 \sim 10^5$ 以上、床で $10^0 \sim 10^5$ 以上であった。豚枝肉用では懸垂型の壁で $10^0 \sim 10^2$ 、床で $10^1 \sim 10^5$ 以上で、横積み型の壁で $10^0 \sim 10^4$ 、床で $10^0 \sim 10^5$ 以上であった。荷室の壁よりも床のほうが高い傾向が見られた。また、懸垂型は横積み型に比べ細菌数が少ない傾向が見られた。

横積み型では、枝肉を荷室の床に直接置くことがあり、また作業従事者の長靴が枝肉に接触することもあった。一方、荷室内専用の長靴に履き替えて汚れを荷室内に持込まないようにしたり、荷室の床の上にスノコ等を置き、その上に枝肉を乗せるなどして床からの汚染を防いでいる場合もあった。

従って、枝肉搬送車については、枝

肉積み前に荷室床・内壁の衛生状態を確認し、汚れ等があった場合は適切に洗浄消毒してから作業を開始する手順とする。また特に横積み型搬送車の場合は、荷室床面に直接枝肉を置くことによる汚染及び長靴が直接接触することによる汚染を避けるような作業手順が必要である。

(5) 作業従事者

作業従事者が枝肉を運搬する際、衣服が枝肉に接触することがあった。特に豚枝肉においては、作業従事者が豚枝肉を担いで搬送車に積み込む作業形態の場合、衣服と枝肉が頻繁に接触していた。枝肉に接触する衣服部分では、生菌数が 10^5 以上、大腸菌群が40%、黄色ブドウ球菌が20%検出されるものがあった。

従って、作業従事者の服装を常に衛生的に保つためには、作業前に清潔であるかを確認し、また作業中に著しく汚れた場合は交換すること等が必要である。

手袋については、軍手では豚枝肉用で生菌数 $10^0 \sim 10^5$ 以上、大腸菌群が68.4%、黄色ブドウ球菌が10.5%検出されたのに対し、ゴム手袋では生菌数が $10^0 \sim 10^3$ 、大腸菌群が20.0%、黄色ブドウ球菌が0%と低い傾向が見られた。牛枝肉用、牛豚共用でもほぼ同様であった。ただし、軍手でも清潔なものに交換した直後では 10^0 程度の場合もあるが、ゴム手袋でも洗浄していないと 10^3 程度になる場合があった。

従って、ゴム手袋を使用する場合は定期的な洗浄、軍手を使用する場合は

定期的な交換が必要である。

(6) その他

冷蔵庫内、搬送経路等でのレールのポイント切り替えにレールひもが使用されているが、多くの箇所では枝肉とレールひもが接触しているのが確認された。生菌数で 10^5 以上、大腸菌群が100%検出されることもあった。

従って、レールのポイント切り替えは、ひもが枝肉に接触しない構造とするのが望ましいが、やむを得ず、ひも状のものを使用する場合は、繊維状のものではなく、表面が円滑で不浸透性の材質にし、定期的に交換するか消毒する必要がある。

4 まとめ

今回の調査では、流通時における枝肉の衛生状態を向上させるためには、次のような点を改善していく必要があることが確認された。

(1) 設備等の改善

枝肉保管冷蔵庫からプラットホームまでの枝肉の搬送経路においては、枝肉が壁、床、ドア枠、レールひも等に接触しないような構造とするのが望ましい。またプラットホームにドックシェルターを設置する等、枝肉が直接外気に曝されないような構造とするのが望ましい。これらについては、枝肉が接触しないように懸垂レールの高さを十分にとり、内壁との距離が保たれ、また、レールひもに接触しないような構造とするのが望ましい。

このような改修ができない場合は、内壁等に接触させないような搬送、接触箇所の洗浄消毒、積み込み時間を極力短くする等の作業面での工夫が必要である。

また、手洗い、器具等の洗浄消毒設備、踏み込み消毒槽、運搬器具等の保管設備の整備が必要である。

(2) 設備等の衛生管理・保守管理

施設全体については、頻度を定めて定期的に清掃・消毒等を行い、衛生的に維持する。

ベルトコンベア等枝肉に直接接触する器具等については、作業前に衛生状況を確認してから作業開始するとともに、作業中も接触面を確認し、必要に応じて洗浄消毒を行うことが重要である。

枝肉搬送車については、枝肉の積み込み作業を行う前に、荷室の衛生状況を確認し、汚れ等があった場合は再度洗浄消毒することが必要である。積み込み作業中には、作業従事者が長靴のまま荷室内に出入しないような作業手順とする必要がある。特に横積み型搬送車の場合は、枝肉を直接床に置くので、床面を清潔に保たなければならない。また、枝肉が荷室内の壁・床に接触して汚染することを防止するために、枝肉をミートラッパー等で確実に梱包する。

(3) 作業従事者

作業従事者の手指・衣服等を常に清潔に保つために、作業前に確認してから作業を開始するとともに、作業中にも適宜確認し、手指・手袋の洗浄、必要に応じて衣服等を交換することが重要である。

上記のほかにも、適切な作業マニュアル作成、実施状況の点検、作業従事者の衛生教育、検証及び記録等が必要である。

これらを確実に実施した上で、改めて拭取り検査等を行い、効果を判定し、さらに衛生管理プランの改善等を行う。これを繰

り返すことにより、流通時における枝肉の衛生レベルが向上していくものと思われる。

表2 牛枝肉施設等拭取り検査結果(平成12年度)

検査場所	施設数	検査部位	検体数	生菌数(CFU/cm ²)							大腸菌群 検出率	大腸菌 検出率	黄色ブドウ球菌 検出率
				10 ⁰	10 ¹	10 ²	10 ³	10 ⁴	10 ⁵ ≧				
枝肉保管冷蔵庫	4	枝肉接触部	34	20	8	4	2				8.8%	2.9%	0.0%
枝肉保管冷蔵庫	4	枝肉	63	2	22	21	12	6			30.2%	27.0%	9.5%
通路	2	枝肉接触部	12			1	1	4	6		8.3%	0.0%	8.3%
プラットホーム	2	枝肉接触部	10	8	2						10.0%	0.0%	0.0%
プラットホーム	3	床	34			1	9	12	12		79.4%	47.1%	11.8%
プラットホーム	1	ヘルコンヘア(作業前)	10	2		2	2		4		0.0%	0.0%	0.0%
プラットホーム	2	ヘルコンヘア(作業後)	9			2			7		33.3%	22.2%	0.0%
横積み搬送車(9台)	4	壁	20	6	8	3	1	1	1		10.0%	0.0%	0.0%
横積み搬送車(9台)	4	床	25	2	1	11	4	4	3		20.0%	0.0%	0.0%
懸垂搬送車(2台)	1	壁	4	2	1	1					25.0%	25.0%	0.0%
懸垂搬送車(1台)	1	床(作業前)	2	1			1				0.0%	0.0%	0.0%
懸垂搬送車(1台)	1	床(作業中)	2		1			1			100.0%	100.0%	0.0%
作業従事者	3	長靴の裏	18				6	11	1		72.2%	55.6%	16.7%
作業従事者	3	ゴム手袋	21	6	8	7					19.0%	0.0%	4.8%
作業従事者	1	軍手	3	1	1		1				33.3%	0.0%	0.0%
その他	2	レールひも(冷蔵庫内)	5			3	2				40.0%	0.0%	0.0%
その他	1	レールひも(冷蔵庫外)	22		4	6	3	6	3		68.2%	0.0%	0.0%

表3 豚枝肉施設等拭取り検査結果(平成12年度)

検査場所	施設数	検査部位	検体数	生菌数(CFU/cm ²)						大腸菌群 検出率	大腸菌 検出率	黄色ブドウ球菌 検出率	
				10 ⁰	10 ¹	10 ²	10 ³	10 ⁴	10 ⁵ ≧				
懸肉室(温とたい)	2	枝肉	18		2	11	4	1			72.2%	33.3%	0.0%
懸肉室(温とたい)	2	枝肉接触部	8	5						3	25.0%	0.0%	0.0%
通路(温とたい)	2	枝肉接触部	7		1	3				3	14.3%	0.0%	0.0%
プラットホーム(温とたい)	1	枝肉接触部	5	5							0.0%	0.0%	0.0%
枝肉保管冷蔵庫	6	枝肉	34	1	14	16	2	1			32.4%	8.8%	20.6%
枝肉保管冷蔵庫	5	枝肉接触部	24	15	7	2					0.0%	0.0%	4.2%
プラットホーム	2	枝肉接触部	4	2	2						0.0%	0.0%	25.0%
プラットホーム	4	床	14				2	8	4		71.4%	21.4%	14.3%
懸垂搬送車(8台)	3	壁	13	6	5	2					7.7%	0.0%	0.0%
懸垂搬送車(8台)	3	床	15		1	3	6	3	2		40.0%	0.0%	0.0%
横積み搬送車(13台)	4	壁	30	11	9	4	3	3			13.3%	3.8%	0.0%
横積み搬送車(14台)	4	床	30	1	4	6	6	10	3		56.7%	0.0%	0.0%
作業従事者	5	長靴の裏	24			1	6	9	8		83.3%	41.7%	8.3%
作業従事者	4	軍手	19	2		2	2	12	1		68.4%	26.3%	10.5%
作業従事者	2	ゴム手袋	10		3	5	2				20.0%	10.0%	0.0%
作業従事者	1	作業着	5			2	2		1		40.0%	40.0%	20.0%
その他	1	レールひも(冷蔵庫外)	3						3		100.0%	0.0%	0.0%

表4 牛・豚枝肉共通施設等拭取り検査結果(平成12年度)

検査場所	施設数	検査部位	検体数	生菌数(CFU/cm ²)						大腸菌群 検出率	大腸菌 検出率	黄色ブドウ球菌 検出率
				10 ⁰	10 ¹	10 ²	10 ³	10 ⁴	10 ⁵ ≧			
せり場	1	枝肉接触部	4				2	1	1	0.0%	0.0%	0.0%
通路	2	枝肉接触部	43	12	6	5	9	9	2	7.0%	2.3%	2.3%
プラットホーム	1	ヘルメット(作業中)	15		2	3	4	2	4	46.7%	20.0%	0.0%
プラットホーム	1	床	4				1	2	1	75.0%	0.0%	0.0%
作業従事者	1	長靴の裏	8			1	3	2	2	87.5%	50.0%	0.0%
作業従事者	2	ゴム手袋	12			8	4			58.3%	33.3%	0.0%
作業従事者	1	軍手	2				1	1		100.0%	50.0%	0.0%
作業従事者	1	作業着(腹部)	4	1	2	1				0.0%	0.0%	0.0%
その他	2	レールひも(冷蔵庫内)	2							50.0%	50.0%	0.0%
その他	2	レールひも(冷蔵庫外)	12	1	1	2	3	2	3	50.0%	8.3%	0.0%

分担研究報告書

と畜場における牛の腸管由来大腸菌
026, 0111の保菌状況

主任研究者 品川邦汎
(岩手大学農学部)

厚生科学研究費補助金（生活安全研究事業）

（分担）研究報告書

食肉、食鳥肉処理における微生物コントロールに関する研究

－と畜場における牛の腸管出血性大腸菌026, 111の保菌状況－

主任研究者 品川邦汎 岩手大学農学部

研究要旨

と畜場に搬入された牛の糞便中から、免疫磁気ビーズとラムノース、ソルボースを添加した選択培地を用いて、腸管出血性大腸菌（EHEC）026, 111の分離を試みた。EHEC 026は、牛508頭中3頭（0.59%）から、EHEC 0111は1頭（0.2%）から分離された。分離されたEHEC 026は、H-が2株、H11が1株でいずれも志賀毒素は1型を産生していた。EHEC 0111は、H-で志賀毒素は1型であった。EHECが分離された牛はすべて黒毛和種または交雑種の肥育牛で生産地に偏りはみられなかった。

研究協力者

後藤公吉	新潟県食肉衛生検査センター
久保雅敏	群馬県中央食肉衛生検査所
前原智史	大阪市食肉衛生検査所
久島昌平	神奈川県食肉衛生検査所
倉岡美奈子	青森県十和田食肉衛生検査所
樋口まゆみ	宮崎県都農食肉衛生検査所
重茂克彦	岩手大学農学部獣医学科応用獣学講座獣医微生物学教室

A. 研究目的

腸管出血性大腸菌（EHEC）による人の感染例は、一部の集団発生のほか散発例も相変わらず数多くみられており、その感染経路も明かでないものが多い。牛はEHEC 0157の保有率が高いことから汚染、感染源の一つであるといわれており、わが国の牛の保菌率もいくつかの調査により次第に明らかになってきている。

一方、人から分離されるEHECの血清型は0157の他に026や0111が増加していることが報告されている。これらの血清型に属するEHECは食品等からの分離

方法が確立されておらず、動物の保菌実態も十分明らかになっていない。近年、026や0111に対する免疫磁気ビーズが開発、市販されるようになり、026, 0111の糖分解性状の特異性からいくつかの選択培地の開発も試みられている。そこで、わが国の牛におけるこれらの血清型の保菌状況を把握するために各地のと畜場に搬入された牛の糞便からEHEC 026と0111の分離を試みた。

B. 研究方法

(1) 調査施設、期間および調査牛種、頭数

全国6箇所の食肉衛生検査所（新潟県食肉衛生検査センター、群馬県中央食肉衛生検査所、大阪市食肉衛生検査所、青森県十和田食肉衛生検査所、宮崎県都農食肉衛生検査所、神奈川県食肉衛生検査所）において、と畜場に搬入された牛508頭を対象として、平成12年9月から11月までの期間に調査を実施した。

調査対象牛種としては、肥育牛ホステイン種が142頭と最も多く、次いで肥育牛F1種が130頭、肥育牛黒毛和種103頭および搾乳牛ホステイン種45頭、その他（ジャージー種など）30頭であった（表1）。

(2) 検査方法

ア EHEC 026

各施設に搬入された牛糞便を滅菌綿棒で各0.1-0.2gづつ採取し、10mlのNovoviocin加m-EC培地で42°C、18±1時間培養を行った。増菌培養液1mlを0.26免疫磁気ビーズで処理し、2枚のCT-RMAC寒天培地[15]に50μlづつビーズ懸濁液を塗抹し、37°Cで18時間±1時間培養した。CT-RMAC寒天培地上の026が疑われるラムノース非分解株を1検体あたり最大10株釣菌し、適当な非選択培地で純培養した。

純培養した菌株について次の試験を行い、EHEC 026であることを確認した。

①加熱抗原を用いた026免疫血清によるのせがらす凝集試験⁹⁾

②TSI培地、LIM培地による基本的性状の確認

③クレイグ管を入れた0.3%寒天加HIBrothによる運動性試験

④運動性が+の株はH11免疫血清による試験管凝集試験

⑤OF試験、キタゲルゼ試験、市販同定キット (EB-20、ニッスイ)による大腸菌の同定

⑥RPLAによるStx産生性及び型別試験

⑦PCRによるstx遺伝子型別試験

イ EHEC 0111

各施設に搬入された牛糞便を滅菌綿棒で各0.1-0.2gづつ採取し、10mlのNovoviocin加m-EC培地で42°C、18±1時間培養を行った。増菌培養液1mlを0.111免疫磁気ビーズで処理し、2枚のCT-SBMAC寒天培地[15]に50μlづつビーズ懸濁液を塗抹し、37°Cで18時間±1時間培養した。CT-SBMAC寒天培地上の0111が疑われるラムノース非分解株を1検体あたり最大10株釣菌し、適当な非選択培地で純培養した。

純培養した菌株について次の試験を行い、EHEC 0111であることを確認した。

①加熱抗原を用いた0111免疫血清によるのせがらす凝集試験⁹⁾

②TSI培地、LIM培地による基本的性状の確認

③クレイグ管を入れた0.3%寒天加HIBrothによる運

動性試験

④OF試験、キタゲルゼ試験、市販同定キット (EB-20、ニッスイ)による大腸菌の同定

⑤RPLAによるStx産生性及び型別試験

⑥PCRによるstx遺伝子型別試験

C. 研究結果

EHEC 026は、牛508頭中3頭(0.59%)から分離され、EHEC 0111は1頭(0.2%)から分離された。分離されたEHEC 026は、H-が2株、H11が1株でいずれも志賀毒素は1型であった。EHEC 0111は、H-で志賀毒素は1型であった。EHECが分離された牛はすべて黒毛和種または交雑種の肥育牛で生産地に偏りはみられなかった。(表2,3)

D. 考察

厚生省の統計(病原微生物検出情報,1999年)によると人から分離されるEHECの血清型は0157が約55%を占めているが、ついで026(17.7%)、0111(4.2%)の順に多い。これらの血清型026、0111については、分離方法が十分確立されておらず、動物の保菌実態も明らかになっていない。最近、これらの血清型に対する免疫磁気ビーズが開発され、選択培地[15]も報告されるようになってきた。そこで、今回牛の026,111の保菌の実態調査を行ったところ、その分離頻度は0.59%及び0.20%であった。昨年我々が実施した全国規模での調査では、牛の0157の保菌率は6.5%で、これまでに報告されている他の0157の保菌率の報告と比べても今回の026、0111の成績は明らかに低い。現在のところ、わが国の牛における026,111の保菌率が0157よりも高いとは言えず、むしろ、EHEC 0157,26,111の牛からの分離頻度は人からの分離頻度と一致していると解釈したほうがよいであろう。人における026、0111感染症は散発例が多く感染経路が明らかになっていない事例が多いが、人の下痢症及び健康な牛からのEHEC 0157,26,111の分離頻度が同様の傾向を示すことは、両者の関係を考える上で興味深い事実である。また、牛から分離されるEHEC 0157はそのほとんどが、より病原性が強いといわれている志賀

毒素2型を産生するのに対して、今回分離されたEHEC 026,111は株数は少ないものの、志賀毒素1型のみを産生していた。これも人からの分離株と同様の傾向である。さらにH血清型も人由来株と同じであることから、牛の保菌が人の感染に対して何らかの関連を持つ可能性は高いと考えられる。

牛のEHECの保菌率には、季節、ストレス、飼料、菌数、検査方法、サブリングの対象など複数の要因が関与しており[3,4,5,7,8,9,10,11,14,17]、また同一牛でも間欠的に排菌すると報告されている[1,2]。今回の調査では、明らかに肥育牛で検出率が高い傾向が認められたが、本傾向については、我々が昨年実施した全国規模のEHEC 0157の保菌調査でも同様の成績が得られている。EHEC 0157のように特定の生産者において高い陽性率が得られる例は未だ認められていないが、EHEC 0157の牛における保菌率が上昇していることを示す成績[12,13,16]が得られつつあり、0157以外のEHEC、特に人の感染例が多い026,111の保菌について、今後も監視していく必要がある。健康牛におけるEHECの保菌には、濃厚飼料の多給に伴う前胃の異常が関与している[6]と指摘されている。また、肥育牛農場も多頭化がすすみ、飼養形態の変化により菌の伝搬が容易な状況にあると考えられる。したがって、食肉の腸管出血性大腸菌汚染を制御するためには、特に多頭飼育を行っている肥育牛生産農家に対する検査と防除対策が今後重要になるとと思われる。

E. 文献

- [1]秋庭正人, 鮫島俊哉, 中澤宗生: 感染症誌, 72, 167-168(1998)
- [2]秋庭正人, 鮫島俊哉, 宮沢博, 品川邦汎, 中澤宗生: 感染症誌, 73, 1082-1083(1999)
- [3]Bonardi S, Maggi E, Bottarelli A, Pacciarini ML, Ansuini A, Vellini G, Morabito S, Caprioni A: Vet Microbiol, 67, 203-211(1999)
- [4]Chapman PA, Siddons CA, Gerdan Maro AT,

- Harkin MA: Epidemiol Infec, 119, 245-250 (1997)
- [5]Cray WC: Appl Environ Microbiol, 64, 1975-1979(1998)
- [6]Diez-Gonzalez F: Science, 281, 1666-1668 (1998)
- [7]Hancock DD, Besser TE, Kinsel ML, Tarr PI, Rice DH, Paros MG: Epidemiol Infec, 113, 199-207(1994)
- [8]Hancock DD, Besser TE, Rice DH, Harriott DE, Tarr PI: Epidemiol Infec, 118, 193-195(1997)
- [9]Heuvelink AE, van den Bibbelaar FL, Zwartkruis-Nahuis J, Herbes RG, Huyben R, Nagelkerke N, Melchers WJ, Monnens LA, de Boer E: J Clin Microbiol, 36, 3480-3487 (1998)
- [10]Hovde CJ, Austin PR, Cloud KA, Williams C J, Hunt CW: Appl Environ Microbiol, 65, 3233-3235(1999)
- [11]神田隆, 佐々祐一郎, 木村仁己, 仁科徳啓: 日獣会誌, 50, 663-666(1997)
- [12]久島昌平, 高橋壮一郎, 松阪龍雄, 福永英三, 野沢雄一郎, 池谷修, 平山功: 日獣会誌, 52, 198-202 (1999)
- [13]前原智史, 中本成彦, 森河内巖, 井川久史: 日食微誌, 16, 181-185(1999)
- [14]Mechie SC, Chapman PA, Siddons CA: Epidemiol Infec, 118, 17-25(1997)
- [15]森良一, 八柳潤, 内村真佐子, 斉藤眞, 小林一寛, 田中博, 堀川和美: 平成9年度厚生科学研究補助金保健医療福祉地域総合調査研究事業「0157以外の腸管出血性大腸菌のスクリーニング方法に関する研究」(1998)
- [16]桜庭秀人, 佐藤東, 吉田繁成, 漆畑英雄, 阿部幸一, 竹内重正: 日獣会誌, 52, 445-449 (1999)
- [17]Van Donkersgoed J, Graham T, Gannon V: Can Vet J, 40, 332-338(1999)

表1 施設別検査頭数と対象牛種

検査施設	検査頭数	肥育牛		肥育牛	搾乳牛	その他
		黒毛和種	F 1	ホルスタイン	ホルスタイン	
青森県十和田食肉衛生検査所	100	6	23	63	5	3
群馬県中央食肉衛生検査所	90		90			
神奈川県食肉衛生検査所	97	4	45	3	43	2
新潟県食肉衛生検査センター	61	7	43	11		
大阪市食肉衛生検査所	80	32	39	9		
宮崎県都農食肉衛生検査所	80	55				25
合計	508	104	240	86	48	30

表2 施設別EHEC026,111分離結果

検査施設	検査頭数	026分離頭数	0111分離頭数
青森県十和田食肉衛生検査所	100	1	0
群馬県中央食肉衛生検査所	90	0	0
神奈川県食肉衛生検査所	97	0	0
新潟県食肉衛生検査センター	61	1	0
大阪市食肉衛生検査所	80	1	1
宮崎県都農食肉衛生検査所	80	0	0
合計	508	3(0.59%)	1(0.20%)

表3 分離株の由来と性状

血清型	Stx(RPLA)	stx(PCR)	由来
026:H-	Stx1	stx1	青森県産黒毛和種
026:H-	Stx1	stx1	新潟県産黒毛和種
026:H11	Stx1	stx1	鳥取県産F 1種
0111:H-	Stx1	stx1	福井県産F 1種