

表 12 主要菌型(盲腸便由来株及びふき取り由来株)12 薬剤に対する感受性

O 群	血清型	株数	感受性株数 (%)	耐性株数 (%)	耐性薬剤(株数)	備考
4	Typhimurium	102	16 (15.7)	86 (84.3)	ABPC/CET/CFX/KM/TC(1)、 ABPC/CET/TC(2)、 ABPC/TC/GM(1)、 ABPC/TC(9)、 ABPC/TC/DT104(37)、 KM/TC(2)、ABPC/CET(1)、 CET/TC(1)、CET(1)、ABPC(7)、 TC(24)	
4	Derby	85	65 (76.5)	20 (23.5)	ABPC/KM/TC(1)、 ABPC/TC(3)、ABPC(1)、 CET(2)、TC(13)	
7	Infantis	44	32 (72.7)	12 (27.3)	ABPC/CAZ/CET/CFX/CTX/ TC(1)、 ABPC/CAZ/CET/CFX/TC(7)、 ABPC/CAZ/CFX/CTX/TC(2)、 ABPC/CET/TC(1)、 ABPC/FOM/TC(1)	CFX 耐性株は <i>bla_{CMY-2}</i> (+)
4	Agona	35	29 (82.9)	6 (17.1)	CET/TC(1)、KM/TC(1)、FOM 誘 導耐性(3)、TC(1)	
7	Choleraesuis (Kunzendorf 生 物型含む)	20	1 (5.0)	19 (95.0)	ABPC/KM/TC(1)、 ABPC/TC/FOM 誘導耐性(1)、 FOM/TC(1)、FOM 誘導耐性(4)、 ABPC/TC(3)、ABPC(1)、TC(8)	

表 13 *S.Typhimurium* の特異的 PCR による DT104 の確認

分離機関	菌株数(盲腸便及びふき取り由来株)		
	DT104	nonDT104	合計
岩手	3	0	3
宮城	7	1	8
静岡	8	10	18
三重	0	2	2
兵庫	44	7	51
鳥取	5	1	6
愛媛	2	26	28
鹿児島	3	29	32

沖縄	0	10	10
合計	72	86	158
(%)	(45.6)	(54.4)	(100)

表 14 S.Typhimurium の DT104 確認用薬剤感受性試験結果

耐性薬剤	菌株数(盲腸便及びふき取り由来株)		
	DT104	non-DT104	合計
SM/CP/TC/G/ABPC	72	5	77
SM/TC/G/ABPC	0	9	9
SM/C/TC/G	0	1	1
SM/TC/G	0	41	41
SM/G/ABPC	0	4	4
G/ABPC	0	4	4
TC/G	0	1	1
G	0	2	2
感受性	0	19	19
合計	72	86	158

平成20年度厚生労働科学研究費補助金事業協力研究報告書

と畜場における高度衛生管理の確立のための病原体汚染実態調査
(と畜場に搬入された豚のサルモネラ保菌等調査)

北海道早来食肉衛生検査所

管内と畜場に搬入された豚盲腸便のサルモネラ属菌保有等実態調査を行った結果、保有率は個体別で3.0%、農場別で12.3%であった。また、盲腸便と体表の比較では体表から高率に分離され、同一生産者の出荷豚では同一の血清型のサルモネラ属菌が分離された。分離菌株の血清型は、盲腸便由来が、S.Derby (13 頭)、S.Brandenburg (1頭)、S.Caen(1頭)の3種類 (15頭)、体表由来がS.Derby(2頭)、S.Havana(7頭)、S.Anatum(1頭)の3種類 (10頭)であった。薬剤感受性は盲腸便由来、体表由来全ての株で薬剤に感受性を示し耐性は認められなかった。

A 研究目的

食中毒起因菌のうちサルモネラ属菌については、と畜場における制御が重要である。今回、我々は豚のと畜処理の衛生管理向上を図るための基礎資料を得るため、と畜場に搬入される豚のサルモネラ属菌保有等の実態調査をおこなった。

B 材料および方法

1 平成19年11月～平成20年10月に管内Aと畜場に搬入された豚、499頭について以下のとおり調査をおこなった。調査対象は、約6ヶ月令の健康畜とした。

(1) 調査内容盲腸便のサルモネラ属菌保有実態調査

① 1農場3～16頭、延べ93農場、499頭

2 サルモネラ属菌の分離方法

盲腸便1gをラパポート・バシリアディス培地(日水)100mlに摂取し、42℃で18～24時間増菌培養後、1白金耳をMLCB寒天培地(日水)、クロモアガーサルモネラ(CHOROMagar)に塗布し、37℃で18～24時間分離培養をおこなった。拭取り材料はWhirl-pac BO1245WA(Nasco)にBPW培地を10mlを加え、湿らせたプースで対象箇所100cm²を拭取りWhirl-pacに戻し、BPW培地を90ml

加えてストマッカー処理し、37°Cで22~24時間培養を行った。前培養液(BPW) 0.1mlをラパポート・バシリアデイス培地に摂取し、以下盲腸便と同様に選択培地に塗布した。

サルモネラ属菌を疑うコロニーについて、TSI,LIMで生化学性状を確認し、サルモネラ免疫血清(デンカ生研)を用いたスライド凝集反応によりO群を決定した。分離菌株は、秋田県健康環境センターにおいて血清型別、薬剤感受性試験をおこなった。

C 調査結果

1 盲腸便のサルモネラ属菌保有実態調査では、499頭中15頭(3.0%)でサルモネラ属菌が分離され、その血清型はS.Derbyが13頭(86.6%)と高い結果であった。農場別では、116農場中9農場(12.3%)でサルモネラ属菌が分離され保有率は6.3%から50.0%で平均15.2%であった。(表一1)

また、年間を通し調査した結果、盲腸便のサルモネラ属菌分離生産者の保有率は春期(3~5月)に24件中10件(41.7%)と高い値を示した。(表一1)

2 外皮(体表)のサルモネラ属菌汚染実態調査では、48件の農場の出荷豚について調査した結果10頭(20.8%)からサルモネラ属菌が分離され、その血清型はS.Havanaが7頭(70%)と高い結果であった。また、個体毎の汚染率は盲腸便より外皮(体表)の汚染率が高い結果であった。(表一3)

3 盲腸便および外皮よりサルモネラ属菌が分離された農場から複数の血清型は分離されなかった。(表一4)

4 今回分離された5種類血清型の代表的な分離菌株について、薬剤感受性試験をおこなった結果、供試薬剤全てに感受性を示し耐性は認められなかった。(表一5)

D まとめ

今回の調査により、農場でのサルモネラ属菌汚染浸潤実態及び高度汚染農場の存在が明らかとなった。保有率が盲腸便より体表の汚染が高率に認められたことは、と畜処理の衛生管理において生体洗浄、と体洗浄などにより外皮由来の汚染を軽減することが腸管破損等による腸内容の汚染を防止する以上に重要な工程であると考えられた。

表一 盲腸便のサルモネラ属菌分離生産者内訳

季節／月 農場名	春			夏			秋			冬			保有率(%)	
	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	1	2		
A			0/3		0/3		0/3	1/3					1/12	8.30%
B			2/3		0/3		0/3	1/3		0/20			3/32	9.30%
C								1/3					1/3	33.30%
D							0/3			1/3	0/10		1/16	6.30%
E										1/3			1/3	33.30%
F			1/9				0/3	0/3					1/15	6.70%
G			3/3				0/3			0/3			3/9	33.30%
H			3/3							0/3			3/6	50%
I			1/3										1/3	33.30%
陽生数／検体数	10／24			0／6			3／27			2／42			15／99	
(陽生率)	41.70%			0			11.10%			4.70%			15.20%	

上記を除く64農場400頭については、全て陰性

表二 外皮拭取り結果

検体数	サルモネラ属菌陽性検体数	陽性率(%)
48	10	20.8

表-3 サルモネラ属菌分離株の血清型

血清型	分離頭数 (%)		人由来主要型
	盲腸便由来	外皮(体表)由来	
S. Derby(04)	13 86.60%	2 20%	
S. Brandenburg(04)	1 6.70%		
S. Caen(016)	1 6.70%		
S. Havana(013)		7 70%	
S. Anatum		1 10%	
5血清型	15	10	

表-4 農場別サルモネラ血清型

農場名	
A	S.Brandenburug(1)
B	S.Derby(3)
C	S.Caen(1)
D	S.Derby(1)
E	S.Derby(1)
F	S.Derby(1)
G	S.Derby(3)
H	S.Derby(3)
I	S.Derby(1)
陽生数/検体数 (陽生率)	9農場15頭(3血清型)

平成 20 年度厚生労働科学研究費補助金事業協力研究報告書

と畜場における高度衛生管理の確立のための病原体汚染実態調査 (と畜場に搬入された豚のサルモネラ保菌等調査)

岩手県食肉衛生検査所

研究要旨

管内のと畜場に搬入された豚のサルモネラ属菌保有等実態調査を行った結果、盲腸便保有率は個体別で 14.3%、農場別で 31.8%であった。また、サルモネラ属菌陽性農場の豚の体表から高率に同菌が分離された。分離菌株の血清型は、盲腸便由来が *S. Derby*(5 頭)、*S. Agona*(4 頭)、*S. Typhimurium*(2 頭)、*S. Livingstone*(2 頭)、*S. Infantis*(1 頭)など 7 種類(26 頭)、体表由来が *S. Derby* の 1 種類(10 頭)であった。薬剤感受性は盲腸便由来の *S. Infantis* 2 株で 6 薬剤に耐性を示し、*S. Typhimurium* 3 株について DT104 特異的 PCR を行った結果すべて陽性であった。

A. 研究目的

近年、消費者の食肉に対する安全性を求める声が高まっている。食肉(豚肉)が起因となる食中毒の中で、依然発生件数の多いサルモネラ属菌については、食肉を汚染する機会が最も多いとされると畜場における制御が重要である。今回、我々は豚のと畜処理の衛生管理向上を図るための基礎資料を得るため、と畜場に搬入される豚のサルモネラ属菌保有等の実態調査を行った。

B. 検査方法

平成 19 年 11 月～平成 20 年 10 月に管内

A と畜場に搬入された豚、148 頭について以下のとおり調査を行った。調査対象は、約 6 ヶ月齢の県内産肥育豚で、と畜検査において腸に異常を認めない個体とした。

1 調査内容

- (1) 盲腸便のサルモネラ属菌保有実態調査
1 農場あたり 3 頭、延べ 36 農場(実農場数 22) 108 頭の盲腸便を対象とし、個体別、農場別、季節別保有率について調査した。
- (2) 外皮(体表)のサルモネラ属菌汚染実態調査

サルモネラ属菌陽性農場出荷の 10 頭を対象とし、と殺放血後のと体 10 検体(胸部

5 検体、肛門周囲部 5 検体) の拭き取り材料により汚染状況を調査した。

(3) 枝肉のサルモネラ属菌汚染実態調査

サルモネラ陽性農場を優先的に 1 農場あたり 2 頭、延べ 15 農場 30 頭を対象とし、背割り工程後の枝肉 60 検体 (胸部剖面 30 検体、骨盤腔 30 検体) の拭き取り材料により汚染状況を調査した。

2 サルモネラ属菌の分離方法

盲腸便 1g をラパポート・バシリアディス培地 (日水) 100ml に接種し、42℃で 18~24 時間増菌培養後、1 白金耳を MLCB 寒天培地 (日水)、クロモアガーサルモネラ (CHOROMagar) に塗布し、37℃で 18~24 時間分離培養を行った。拭き取り材料は Whirl-Pac B01245WA (Nasco) に BPW 培地 10ml を加え、湿らせたスポンジで対象箇所 100 cm² を拭き取り Whirl-Pac に戻し、BPW 培地 90ml を加えてストマッカー処理し、37℃で 22~24 時間培養を行った。前培養液 (BPW) 0.1ml をラパポート・バシリアディス培地に接種し、以下盲腸便と同様に選択培地に塗布した。

サルモネラ属菌を疑うコロニーについて、TSI、LIM で生化学性状を確認し、サルモネラ免疫血清 (デンカ生研) を用いスライド凝集反応により 0 群を決定した。分離菌株は、秋田県健康環境センターにおいて血清型別、薬剤感受性試験を行い、*S. Typhimurium* については DT104 特異的 PCR を行った。

C. 結果および考察

1. (1) 盲腸便のサルモネラ属菌保有実態調査では、108 頭中 16 頭 (14.8%) でサルモネラ属菌が分離された。農場別では 22 農場中 7 農場 (31.8%)、延べ農場数では 36 農場中 9 農場 (25.0%) で陽性となった。保有率は農場により異なったが、サルモネラ属菌は県内の農場に広く浸潤していると考えられた。また、年間を通し調査した結果、保有率は季節により変動しなかったが、3 度 (計 9 頭) の調査全て (計 7 頭) 陽性となるような高度に汚染された農場の存在が明らかとなった (表 1)。(2) 外皮 (体表) のサルモネラ属菌汚染実態調査では、この高度汚染農場が出荷した豚について調査した結果、10 頭全てからサルモネラ属菌が分離され、その血清型は盲腸便から分離されたものと同一であった (表 2)。また、個体ごとの盲腸便保有率より外皮 (体表) の汚染率が高いことから、農場および繋留所等で群全体に汚染が拡大しているものと推察された。(3) 枝肉のサルモネラ属菌汚染実態調査では、サルモネラ属菌汚染農場出荷豚を優先的に 30 頭を抽出し、かつ腸内容物に汚染を受けやすいと思われる部位を選定し調査した結果、サルモネラ属菌は分離されなかった。このことから、今回の調査では、と畜処理工程における汚染は認められず概ね衛生的な処理が出来ていると評価された。

2. 7 農場が出荷した 16 頭の盲腸便から分離された血清型は、*S. Derby* (5 頭)、*S. Agona* (4 頭)、*S. Typhimurium* (2 頭)、*S. Livingstone* (2 頭)、*S. Infantis* (1 頭)、

S. Havana (1 頭)、0:4 H:i - (1 頭)であった。1 頭から複数の血清型は分離されなかった。農場別では S. Agona は 3 農場、S. Typhimurium は 2 農場から、S. Derby、S. Infantis、S. Livingstone、S. Havana、0:4 H:i - はそれぞれ 1 農場から分離された。7 農場中 5 農場は同一血清型のみの分離であったが、2 農場は同一ロットの別々の個体から複数の血清型が分離された (表 1 および 2)。

代表的な分離菌株について薬剤感受性試験を行った結果、外皮 (体表) 由来の S. Derby 10 株は供試薬剤の全てに感受性であったが、盲腸便由来の S. Infantis 2 株に 6 薬剤に対する耐性が認められた (表 3)。また、S. Typhimurium 3 株について DT104 特異的 PCR を行った結果、全て陽性であった (表 4)。一般的に DT104 は家畜の治療、発育促進を目的に使用されている抗菌剤投与によるものと考えられ、人の食中毒等疾病治療への影響等、公衆衛生上大きな問題とされている。

D. まとめ

今回の調査により、農場でのサルモネラ属菌汚染浸潤実態および高度汚染農場の存在が明らかとなった。枝肉では概ね衛生的な処理が確認されたが、盲腸便保有率より体表の汚染が高率に認められたことから、と畜処理の衛生管理において、体表汚染は腸管破損等による腸内容の汚染と同様重要視する必要があると考えられた。また、分離菌の中にはヒト由来主要型とされる S. Derby、S. Typhimurium、S. Infantis、

0:4 H:i - の血清型が認められたこと、さらに多剤耐性菌の存在が明らかになったことから、改めてと畜処理におけるサルモネラ属菌の確実な制御が重要と考えられた。今後はこの調査結果を基に、処理工程毎の危害分析を行うなど HACCP の考えに基づくより一層高度な衛生管理の実現にむけ取り組んでいきたい。

表1 盲腸便のサルモネラ属菌分離成績

月 農場	春			夏			秋			冬		保有率(%)	血清型(分離頭数)
	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	1		
A									0/3			0/3	-
B									0/3			0/3	-
C					0/3				0/3			0/6	-
D										1/3		1/3	33.3% S.Infantis(1)
E								2/3		0/3		2/6	33.3% S.Agona(2)
F			0/3							3/3		3/6	50.0% S.Livingstone(2), O:4 H:i -(1)
G										0/3		0/3	-
H						1/3				0/3		1/6	16.7% S.Havana(1)
I								1/3		0/3		1/6	16.7% S.Agona(1)
J			0/3							0/3		0/6	-
K										0/3		0/3	-
L					0/3					0/3		0/6	-
M	0/3							0/3				0/6	-
N	0/3							0/3				0/6	-
O	0/3											0/3	-
P		0/3						0/3				0/6	-
Q		3/3			2/3			2/3				7/9	77.8% S.Derby(5), S.Typhimurium(1), S.Agona(1)
R		0/3					1/3					1/6	16.7% S.Typhimurium(1)
S			0/3				0/3					0/6	-
T						0/3						0/3	-
U						0/3						0/3	-
V						0/3						0/3	-
陽性数 / 検体数 (陽性率)	3/27 (11.1%)			4/27 (14.8%)			5/27 (18.5%)			4/27 (14.8%)		16/108 (14.8%)	7農場16頭 (7血清型)

表2 サルモネラ属菌分離株の血清型

血清型(群)	分離頭数(%)		ヒト由来主要型
	盲腸便由来	外皮(体表)由来	
S.Derby (O4)	5 31.3%	10 100.0%	○
S.Agona (O4)	4 25.0%		-
S.Typhimurium (O4)	2 12.5%		○
S.Livingstone (O7)	2 12.5%		-
S.Infantis (O7)	1 6.3%		○
S.Havana (O13)	1 6.3%		-
O:4 H:i -	1 6.3%		○
7血清型	16頭	10頭	

表3 サルモネラ属菌分離株の薬剤感受性

血清型	AM	CAZ	CF	FEP	FOX	CTX	FF	IPM	K	NOR	TE	GM
S.Infantis	R	R	R	S	R	R	S	S	S	S	R	S
S.Infantis	R	R	R	S	R	R	S	S	S	S	R	S
S.Derby	S	S	S	S	S	S	S	S	I	S	I	S
S.Derby	S	S	S	S	S	S	S	S	I	S	I	S
S.Derby	S	S	S	S	S	S	S	S	I	S	S	S
S.Typhimurium	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S
S.Typhimurium	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S
S.Typhimurium	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S

表4 S.Typhimurium DT104 確認検査結果

株No	AM	TE	S	C	G	DT104 特異的PCR
Q4-1	R	R	R	R	R	(+)
Q4-2	R	R	R	R	R	(+)
R1-1	R	R	R	R	R	(+)

R:耐性 (AM:アンピシリン, TE:テトラサイクリン, S:ストレプトマイシン, C:クロラムフェニコール G:スルフィンキサゾール)

平成20年度厚生労働科学研究費補助金事業協力研究報告書

と畜場に搬入された豚のサルモネラ保菌および汚染実態調査について

秋田県食肉衛生検査所

A. 研究目的

盲腸便のサルモネラ保菌実態調査を本事業の初年度(平成19年度)に実施したところ、各農場の保菌実態が明らかとなった。平成20年度は高い保菌率を示した農場の豚を中心に、盲腸便のサルモネラ保菌調査を継続するとともに、と体の体表および枝肉の汚染状況を把握するためふき取り調査を行った。

B. 検査方法

(1) 検査材料

盲腸便は平成19年11月～平成20年10月に北鹿食肉流通センター(秋田県鹿角市)に搬入された11農場、103頭、体表のふき取りは4農場、19頭、枝肉のふき取りは8農場、54頭を調査した。なお、同センターを利用する農場数は平成19年11月現在で13農場である。

盲腸便は内臓(胃・小腸・大腸)摘出直後、盲腸先端部表面をアルコール綿で拭き、同部をガスバーナーで焼いた後、無菌的に切開して盲腸便を滅菌スポイトで1ml(g)吸引した。

体表のふき取りは、放血直後(懸垂前)、腹部と肛門周囲を、枝肉のふき取りは剥皮直後、骨盤腔(恥骨と腰椎の間隙の筋肉面)と胸部(胸部割面の筋肉面)の各100cm²を拭き取った。

(2) サルモネラの分離

1) 盲腸便

検査で異常の認められなかった内臓(胃・小腸・大腸)を1頭分毎ビニール袋に入れ検査ラインから持ち出し、処理場内で盲腸先端部表面をアルコール綿で拭き、同部をガスバーナーで焼いた後、無菌的に切開して滅菌スポイトで吸引した1mlをラパポート・バシリアディス培地(RV)100ml(300ml三角フラスコ使用)に接種し42℃で18～24時間培養後、その1白金耳をXLD寒天平板(OXOID)、クロモアガーサルモネラ平板(CHROMagar)に塗布し37℃で18～24時間培養した。選択培地は選択特異性の高いクロモアガー

サルモネラ平板から優先的に3～5コロニー釣菌し、XLD寒天平板は補完的に使用した。分離コロニーはTSI、LIMに接種し鑑別試験を行い、サルモネラの生化学性状を確認後、サルモネラO多価およびO1多価血清(デンカ生研)による凝集試験を実施した。

2) 体表のふき取り

ふきふきチェック(栄研)の緩衝液を除去してから、ふき取りを行い、これにBPW培地10mlを加え、ボルテックス(振り出し)し、37℃で22～24時間培養(前培養)し、この0.1mlをRV100mlに接種し、以下、盲腸便と同様に選択培地に塗布した。

3) 枝肉のふき取り

滅菌スポンジWhirl-Pac BO1245WA(Nasco)にBPW培地10mlを加え、湿らせた状態でふき取り、Whirl-Pacに戻し、BPW培地90mlを加えてストマッカー処理し、37℃で22～24時間培養(前培養)した。その後は盲腸便と同様である。

4) 分離菌株の血清型別、薬剤感受性試験

サルモネラO多価血清に凝集した菌株を秋田県健康環境センターに送付し血清型別試験および薬剤感受性試験を実施した。

薬剤はアンピシリン、セフトラジジム、セファロチン、セフェピム、セフォキシチン、セフォタキシム、ホスホマイシン、イムペネム、カナマイシン、ノルフロキサシン、テトラサイクリン、ゲンタマイシンの12薬剤である。

C. 結果

1. 盲腸便サルモネラ保菌成績

表1に各農場の分離成績を示した。事業初年度の平成19年は、11月に9農場の豚を10～20頭調査したところ、3農場が比較的高い保菌率であることがわかった。その後、これらの農場を中心に平成20年の10月まで調査した。その結果、12農場中4農場で保菌が確認され、調査期間中の各農

場の保菌率は、農場 A が 56.8%、B が 17.6%、C が 53.8%、G が 7.7%であった。

分離血清型（表 1）は、農場 A、B では 3 種類の血清型が確認され、両農場で 1 頭から 2 種類の血清型が分離されたものが各 1 頭認められた。

2. 体表のふき取り検査成績

盲腸便で高い保菌率であった農場の豚を中心に調査した結果、表 2 に示したとおり、農場 A は検査した 8 頭すべての腹部と肛門周囲から、農場 B、C では各 1 頭、肛門周囲から分離された。また、L 農場は平成 20 年 10 月に初めて、3 頭の同一個体について盲腸便、体表および枝肉を調べた結果、盲腸便からは分離されなかったが（表 1）、体表の腹部は 3 頭すべて、肛門周囲は 1 頭で分離された。

3. 枝肉のふき取り検査成績

8 農場の豚枝肉について調査した結果、盲腸便の保菌率が最も高かった農場 A のみ 18 頭中 6 頭から分離された。分離部位は胸部のみが 1 頭、骨盤腔のみが 5 頭であり、同一個体で両部位から分離された個体はなかった。

4. 分離菌株の薬剤感受性

盲腸便より分離した農場 A 由来 Livingstone 7 株、Derby10 株、農場 B 由来 Livingstone3 株、Anatum1 株、Agona 1 株、農場 C 由来 Agona 6 株、計 28 株のディスク法による薬剤感受性試験結果は、12 薬剤すべてに感受性であった。

D. 考 察

盲腸便で最も高い保菌率であった農場 A の月別の分離率は、一部で分離されない月もあったが、通年でみると 50~80%の高い分離成績であった。次に高い分離率であった農場 C は 2 回の調査で 30~60%の分離率であった。これに次ぐ分離率の高い農場 B は、農場 A と同一敷地内にあり飼養環境も共通する点が多いため、分離血清型が一部共通していたものと考えられた。この点については、共通血清型についてパルスフィールド電気泳動による DNA パターンの比較を実施することにより、汚染源の推定に役立てたいと考えている。

体表の汚染状況は、盲腸便で最も高い保菌率であった農場 A で分離率が 100%であったことから、盲腸便で高い保菌率の農場の場合、ほぼ全ての豚の体表が汚染されていると考えられた。次に高い保菌率を示した農場 B、C は肛門周囲のみに 20~30%の汚染が認められ、平成 20 年 10 月に初めて調査した農場 L の 3 頭の盲腸便からサルモネラは分離されなかったものの、体表の腹部で 3 頭すべ

てから分離されていることから、盲腸便の保菌率が低い場合であっても、当処理場では全頭が前日搬入されることから、係留所内において一部の保菌豚の糞便や体表の接触により汚染されることが考えられた。

枝肉のふき取り調査では農場 A のみで汚染が確認された。平成 20 年度調査では、大部分同一個体の盲腸便、体表、枝肉で実施しており、7、8 月の成績（表 1~3）は、盲腸便、体表の分離率がほぼ 100%であったが、この時、消化管破損は無かったことから、一部の処理工程中に体表（外皮）から枝肉を汚染したと考えられた。

E. まとめ

各農場のサルモネラ保菌状況（盲腸便）を把握することは重要だが、今回の調査方法は採材等かなりの労力を要するため、今後は、肛門から滅菌綿棒を挿入し、その直腸内容物を検査材料にするなどして、糞便の保菌調査を通年で実施することも必要でないかと考えられた。枝肉の汚染防止としては消化管破損による内容物の汚染防止がまず第一に上げられるが、それとともに今回の調査により、外皮からの汚染防止が通常の処理工程においては重要な管理点と考えられた。

このことから、今後の課題としては、係留所で生体洗浄、と殺・放血直後のと体洗浄による外皮の清浄化対策が重要であり、特にと体洗浄（自動洗浄機）の効果を検証すること、さらに、外皮汚染の原因について各処理工程ごとに再度、調査・分析する必要がある。

表1 盲腸便のサルモネラ分離成績

農場	平成19年		平成20年						陽性/検査頭数: 保有率(%)	血清型(分離頭数)
	11	12	5	6	7	8	9	10		
A	16/20	0/5	3/6		7/9	3/5		0/6	29/51(56.8)	Livingstone(10) Agona(6) Derby(12) Livingstone・Derby(1)
B	4/20	0/5	0/3		2/3			0/3	6/34(17.6)	Livingstone(2)、 Agona(3) Livingstone・Anatum (1)
C	6/10						1/3		7/13(53.8)	Agona(7)
D	0/10								0/10(0)	
E	0/10								0/10(0)	
F	0/10								0/10(0)	
G	0/10						1/3		1/13(7.7)	型別不能(1)
H	0/10								0/10(0)	
I			0/3	0/3					0/6(0)	
J			0/3						0/3(0)	
K	0/3								0/3(0)	
L								0/3	0/3(0)	
計	26/103	0/10	3/15	0/3	9/12	5/11		0/12	43/166(25.9)	

表2 体表のサルモネラ分離成績

農場	平成20年								陽性/検査頭数 ():汚染率(%)		血清型(分離頭数)
	7		8		9		10		腹部	肛門周囲	
	腹部	肛門周囲	腹部	肛門周囲	腹部	肛門周囲	腹部	肛門周囲			
A	3/3	3/3	5/5	5/5					8/8 (100)	8/8 (100)	Agona(8)
B	0/3	1/3							0/3 (0)	1/3 (33.3)	Agona(1)
C			0/5	1/5					0/5 (0)	1/5 (20)	Agona(1)
L							3/3	1/3	3/3 (100)	1/3 (33.3)	Agona(3)
計	3/6	4/6	5/10	6/10			3/3	1/3	11/19 (57.9)	11/19 (57.9)	

表3 枝肉のサルモネラ分離成績

農場	平成20年												陽性頭数/検査頭数:汚染率(%)		血清型 (分離頭数)
	5		6		7		8		9		10		胸部	骨盤腔	
	胸部	骨盤腔	胸部	骨盤腔	胸部	骨盤腔	胸部	骨盤腔	胸部	骨盤腔	胸部	骨盤腔			
A	0/6	0/6			0/3	3/3	1/3	2/3			0/6	0/6	1/18 (5.6)	5/18 (27.8)	Agona(5)
B	0/6	0/6			0/3	0/3							0/9(0)	0/9(0)	
C	0/3	0/3					0/6	0/6					0/9(0)	0/9(0)	
G	0/3	0/3											0/3(0)	0/3(0)	
H	0/3	0/3											0/3(0)	0/3(0)	
I	0/3	0/3	0/3	0/3									0/6(0)	0/6(0)	
K	0/3	0/3					0/3	0/3					0/3(0)	0/3(0)	
L											0/3	0/3	0/3(0)	0/3(0)	
計	0/27	0/27	0/3	0/3	0/6	3/6	1/12	2/12			0/9	0/9	1/54(1.8)	5/54(9.3)	

農場	5		6		7		8		9		10		陽性頭数/検査頭数:汚染率(%)	血清型
	胸部	骨盤腔	胸部	骨盤腔	胸部	骨盤腔	胸部	骨盤腔	胸部	骨盤腔	胸部	骨盤腔		
(農場A)	0/6	0/6			0/3	3/3	1/3	2/3			0/6	0/6	1/18 (5.6)	5/18 (27.8)
(農場B)	0/6	0/6			0/3	0/3							0/9(0)	0/9(0)
(農場C)	0/3	0/3					0/6	0/6					0/9(0)	0/9(0)
(農場G)	0/3	0/3											0/3(0)	0/3(0)
(農場H)	0/3	0/3											0/3(0)	0/3(0)
(農場I)	0/3	0/3	0/3	0/3									0/6(0)	0/6(0)
(農場K)	0/3	0/3					0/3	0/3					0/3(0)	0/3(0)
(農場L)											0/3	0/3	0/3(0)	0/3(0)
計	0/27	0/27	0/3	0/3	0/6	3/6	1/12	2/12			0/9	0/9	1/54(1.8)	5/54(9.3)

平成 20 年度厚生労働科学研究費補助金事業協力研究報告書

と畜場における高度衛生管理の確立のための病原体汚染実態調査 (と畜場に搬入された豚のサルモネラ保菌等調査)

宮城県食肉衛生検査所

研究要旨

管内のと畜場に搬入された豚のサルモネラ属菌保有等実態調査を行った結果、盲腸便保有率は個体別で 2.5%、農場別で 5.9%であった。また、サルモネラ属菌陽性農場の豚の体表（外皮）及び枝肉からも同菌が分離された。分離菌株の血清型は、盲腸便由来が *S. Typhimurium*(2 頭)、*S. Saintpaul*(1 頭)、*S. Derby*(1 頭)、体表由来が *S. Typhimurium* (4 頭)、*S. London*(1 頭)、枝肉由来が *S. Typhimurium*(1 頭)であった。薬剤感受性は盲腸便由来の *S. Typhimurium*2 株、体表（外皮）由来 *S. Typhimurium*3 株及び枝肉由来の *S. Typhimurium*1 株が 5 剤(ABPC、TC、SM、CP、スルフィソキサゾール)に耐性を示し、DT104 特異的 PCR 陽性であった。

A. 目的

近年、消費者の食肉に対する安全性を求める声が高まっている。サルモネラ属菌は食肉に起因する食中毒の原因菌として重要視され、食肉を汚染する機会が最も多いとされるとと畜場における制御が重要と考えられる。今回、豚の食肉処理工程の高度衛生管理の確立に向けての基礎資料とするため、豚の保有する危害因子としてサルモネラ属菌を選び、と畜場に搬入される豚について保菌状況等の実態調査を行った。

B. 検査方法

平成 20 年 3 月～平成 20 年 11 月までに管内M食肉センターに搬入された豚について以下のとおり調査を行った。調査対象は、約 6 ヶ月齢の肥育豚で、と畜検査において腸に異常を認めない個体とした。

1. 調査内容

(1)盲腸便のサルモネラ属菌保有実態調査

1 農場あたり約 3 頭、51 農場 157 頭の盲腸便を対象とし、保有率について調査した。

(2)外皮（体表）のサルモネラ属菌汚染実態調査

サルモネラ属菌陽性農場出荷の豚を対象とし、1 農場あたり 10～15 頭について、と殺放血後のと体の外皮（胸腹部、肛門周囲部）を拭き取り、汚染状況を調査した。

(3) 枝肉のサルモネラ属菌汚染実態調査

サルモネラ属菌陽性農場出荷の豚を対象とし、1農場あたり6~12頭について、枝肉の胸部剖面及び骨盤腔を拭き取り、汚染状況を調査した。

2. サルモネラ属菌の分離方法

盲腸便1gをラパポート・バシリアディス培地(日水)100mlに接種し、42°Cで20~24時間増菌培養後、1白金耳をXLD寒天培地(OXOID)、クロモアガーサルモネラ(CHOROMagar)に塗布し、37°Cで18~24時間分離培養を行った。拭き取り材料はWhirl-Pac B01245WA(Nasco)にBPW培地10mlを加え、湿らせたスポンジで対象箇所100cm²を拭き取りWhirl-Pacに戻し、BPW培地90mlを加えてストマッカー処理し、37°Cで20~24時間培養を行った。前培養液(BPW)0.1mlをラパポート・バシリアディス培地に接種し、以下盲腸便と同様に選択培地に塗布した。

サルモネラ属菌を疑うコロニーについて、TSI、LIMで生化学性状を確認し、サルモネラ免疫血清(デンカ生研)を用いスライド凝集反応により0群を決定した。分離菌株は、秋田県健康環境センターにおいて血清型別、薬剤感受性試験を行い、*S. Typhimurium*についてはDT104特異的PCRを行った。

C. 検査結果

1. サルモネラ属菌の保有実態について

(1) 盲腸便のサルモネラ属菌保有実態

157頭中4頭(2.5%)でサルモネラ属菌が分離された。農場別では51農場中3農場(5.9%)で陽性となった。保有率は低いが、M食肉センターに搬入される豚においてサルモネラ属菌陽性農場の存在が明らかとなった。(表1)

(2) 外皮(体表)のサルモネラ属菌汚染実態

サルモネラ属菌の保有が確認されたA、B、Cの3農場が出荷した豚について調査した結果、A農場10頭のうち5頭の外皮からサルモネラ属菌が分離され、血清型は盲腸便から分離されたものと同じのものが分離された(表2)。

(3) 枝肉のサルモネラ属菌汚染実態

サルモネラ属菌の保有が確認された3農場の豚の枝肉について、腸内容物に汚染を受けやすいと思われる部位を選定し調査した結果、A農場の1頭の枝肉胸部剖面からサルモネラ属菌が分離された。血清型は盲腸便から分離されたものと同じのものが分離された。

2. 分離されたサルモネラ属菌の血清型及び薬剤感受性について

A、B、Cの3農場が出荷した4頭の盲腸便から分離された血清型は、A農場から*S. Typhimurium*(2頭)、B農場から*S. Saintpaul*(1頭)、C農場から*S. Derby*(1頭)であった。

また、A農場の外皮(体表)から*S. Typhimurium*(4頭)、*S. London*(1頭)、同

じく A 農場の枝肉から *S. Typhimurium* (1 頭) が分離された。

分離された菌株について薬剤感受性試験を行った結果、盲腸便由来の *S. Saintpaul* 1 株は供試の 12 薬剤全てに感受性であったが、盲腸便由来の *S. Derby* 1 株は TC に対する耐性が認められた。また、*S. Typhimurium* 7 株のうち盲腸便由来の 2 株、外皮由来の 3 株及び枝肉由来の 1 株については 5 剤 (ABPC、TC、SM、CP、スルフィソキサゾール) に耐性を示し、DT104 特異的 PCR を実施した結果、6 株とも全て陽性であった。

D. 考 察

今回の調査により、農場でのサルモネラ属菌汚染浸潤実態および高度汚染農場の存在が明らかとなった。分離されたサルモネラは人の食中毒の原因菌として報告されている *S. Typhimurium*, *S. Saintpaul* 及び *S. Derby* であり、薬剤感受性試験では多剤耐性を示す *S. Typhimurium* DT104 が確認された。DT104 は欧米諸国で流行し、我が国においても蔓延が警戒されており、その検出は、畜産生産サイドにおいて、また公衆衛生上でも重要な問題である。

今回調査した 1 農場由来の豚では盲腸便、外皮、枝肉のいずれからも同じ血清型の *S. Typhimurium* が分離された。このことから、解体処理工程で、腸内容物や外皮に起因するサルモネラにより枝肉が汚染された可能性が示唆された。と畜処理の衛生管理において、外皮からの汚染と腸管破損等による腸内容物からの汚染は微生物制御の上で極めて重要視する必要があると考えられた。

また、多剤耐性菌の存在が明らかになったことから、改めてと畜処理におけるサルモネラ属菌の確実な制御が重要と考えられた。

今後は、この調査結果を基に、食肉処理工程のリスク評価の一つとして活かしながら食肉処理工程の危害分析を行い、衛生的な食肉供給をするために、より一層高度な衛生管理の実現に向けて取り組んでいきたい。

表1 盲腸便におけるサルモネラ属菌保有状況

検査農場数	検査頭数	陽性農場	分離血清型	検出頭数
51	157	A	S.Typhimurium	2
		B	S.Saintpaul	1
		C	S.Derby	1
計(検出率)		3(5.9%)		4(2.5%)

表2 外皮及び枝肉拭き取り検査状況

検査農場	外皮			枝肉		
	検査頭数	分離頭数	分離血清型(株数)	検査頭数	分離頭数	分離血清型(株数)
A	10	5	S.Typhimurium (4)	12	1	S.Typhimurium (1)
			S.London (1)			
B	10	0		6	0	
C	15	0		12	0	