

1 農場あたり 3~5 頭、延べ 105 農場（実農場数 27）337 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。

また、サルモネラ保菌率の高かった 6 農場 77 頭の盲腸便を対象として、サルモネラの定量を行った。

(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について 1 農場あたり 5 頭、延べ 5 農場 25 頭を対象とし、と殺放血後のと体 50 検体（腹部 25 検体、肛門周囲部 25 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 1~5 頭、延べ 22 農場 58 頭を対象とし、内臓摘出工程後の枝肉 116 検体（胸部剖面 58 検体、骨盤腔 58 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 1 g をラパポート・バシリアディスプイヨン（OXOID）100ml に接種し、42°Cで 18~24 時間増菌培養後、1 白金耳を XLD 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。拭き取り材料は滅菌生理食塩水で湿らせたガーゼタ

ンポンで対象箇所 25 cm²を拭き取り、ストマック袋にラパポート・バシリアディスプイヨン 100ml を加えてストマッカー処理し、37°Cで 18~24 時間培養を行った。以下盲腸便と同様に選択培地に塗布した。

サルモネラの定量は、盲腸便 1 g をラパポート・バシリアディス培地 100ml でストマック処理したものを原液とし、段階希釈して MPN3 管法により、以下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 培地（栄研）、LIM 培地（栄研）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 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、337 頭中 77 頭 (22.8%) でサルモネラ属菌が分離された。農場別では 27 農場中 11 農場 (40.7%)、延べ農場数では 105 農場中 39 農場 (37.1%) で陽性となった（表 1）。保有率は農場により異なり、また地域格差が認められた。年間を通じ調査した結果、

保有率は季節により変動しなかつたが、継続調査で常に陽性となるような高度に汚染された農場も認められた（表2）。

また、サルモネラ保菌率の高かった6農場77頭の盲腸便を対象として、サルモネラの定量を行った結果、48頭は陰性であったが、29頭からサルモネラを分離、最も多いものでは1gあたり 10^6 cfu以上の保菌も認めた（表3）。

(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、25頭中4頭からサルモネラ属菌が分離され、その内3検体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6）。しかし、保菌が認められなかつた1頭の腹部からサルモネラが分離されており、農場および繫留所等で二次汚染したものと推察された。

(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調査した結果、58頭中4頭からサルモネラ属菌が分離され、その内3検体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6）。しかし、保菌が認められなかつた1頭の胸骨割面からサルモネラが分離されており、解体処理工程で二次汚染したものと推察

された。

2. 39農場が出荷した77頭の盲腸便から分離された血清型は、*S.Typhimurium*(54頭)、*S.Agona*(11頭)、*S.Derby*(5頭)、*S.Infantis*(2頭)、*S.Muenchen*(2頭)*S.London*(1頭)、*S.Schwarzengrund*(1頭)、*S.Meleagridis*(1頭)であった。1頭から複数の血清型は分離されなかつた。農場別では*S.Typhimurium*は23農場、*S.Agona*は6農場、*S.Derby*は5農場、*S.Infantis*は2農場から、*S.Muenchen*、*S.London*、*S.Schwarzengrund*、*S.Meleagridis*はそれぞれ1農場から分離された。39農場中38農場は同一血清型のみの分離であったが、1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2および4）。

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、*S.Typhimurium*は3薬剤以上に対する耐性が認められ、DT104特異的PCRを行った結果陽性であった48株は5薬剤に耐性であった（表5）。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。それ

以外での *S. Infantis* 1 株でも
5 薬剤に耐性が認められた。

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。また、体表もしくは枝肉の汚染が認められたこと、および保菌の認められないと体の体表および枝肉からサルモネラが分離されたことから、豚の解体処理工程における不適切な処理による二次汚染が懸念された。

と畜処理の衛生管理において、サルモネラ汚染は、体表汚染および腸管破損等による腸内容の汚染と、さらには各処理工程における衛生作業の不備による二次汚染が原因であると考えられる。また、分離菌の中にはヒト由来主要型とされる *S. Typhimurium* 、 *S. Derby* 、 *S. Infantis* 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く予定である

表 1 サルモネラ分離成績

		検査数	陽性数	陽性率 (%)
検 体		337	77	22.8
農 場	延	105	39	37.1
	実	27	11	40.7

表 2 農場別、季節別サルモネラ分離成績

月 農 場	春			夏			秋			冬			保有率 (%)	血清型(分離頭數)
	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	1	2		
埼玉 A	0/1						0/3	0/3	0/6		0/13			
千葉 A										1/6		1/6		Derby(1)
愛知 A											0/3			
三重 A				0/3							0/3			
大阪 A	0/3						0/3	0/3			0/9			
兵庫 A							0/3				0/3			
兵庫 B							0/3				0/3			
兵庫 C							0/3				0/3			
兵庫 D	1/5	1/5					2/9				4/19 (21.1)			DT104(2), Meleagridis(1), Infantis(1)
兵	0/3	0/3					0/6	0/3			0/15			

E 兵 庫				0/3	0/3		0/6		
F 兵 庫					3/3	3/3	(100)	Agona (3)	
G 鳥 取	0/5			2/3	2/6	1/3	5/17	(29. 4)	Agona (5)
A 鳥 取				1/3			1/3	(33. 4)	DT104 (1)
B 鳥 取	3/5	3/5	4/10	12/12	2/3	1/3	6/6	4/6	2/3
C 鳥 取							37/53	(69. 8)	DT104 (37)
D 鳥 取	0/3		0/3	0/3	3/9	0/6	0/3	3/27	(11. 1)
E 鳥 取	1/1		0/5	2/5	2/3	2/9		0/3	1/3
F 鳥 取						0/3	8/29	(27. 6)	Derby (3), Agona (3), Infantis (1), London (1)
G 鳥 取	0/3					0/3	0/6		\$
H 鳥 取						0/3	0/3		
I 鳥 取	0/3				0/3	0/3	0/3		
J 鳥 取							0/1		

島 根 A			0/3	0/3		0/6	
島 根 B	0/3		0/3	0/3	0/3	0/12	
広 島 A	0/1	0/5		0/6	0/6	1/3	2/6
広 島 B	1/5	1/5	1/5		2/6	3/9	2/3
広 島 C	0/1	0/3		0/3	0/6	0/3	0/16
合 計	5/20 (25.0)	25/88 (28.4)		25/102 (24.5)	22/120 (18.3)	77/337 (22.8)	

表3 豚盲腸便のサルモネラ定量成績 (cfu/g)

<3	<10	<100	<1,000	<10,000	<100,000	100,000<	検体数
48	5	5	6	10	2	1	77

表4 サルモネラ血清型

	血清型	分離農場数	% (農場)	分離頭数	% (頭数)
1	Typhimurium (DT104)	18	45.0	48	62.3
2	Typhimurium	5	12.5	6	7.8
3	Agona	6	15.0	11	14.3
4	Derby	5	12.5	5	6.5
5	London	1	2.5	1	1.3
6	Infantis	2	5.0	2	2.6
7	Schwarzengrund	1	2.5	1	1.3
8	Meleagridis	1	2.5	1	1.3
9	Muenchen	1	2.5	2	2.6
計		* 40		77	

* 1 農場で 2 血清型分離したため、計 40 農場となっている

表5 薬剤感受性試験

血清型	菌株数	使用薬剤名							
		ABPC	CAZ	CET	KM	TC	SM	CP	SX
Typhimurium (DT104)	48	R				R	R	R	R
Typhimurium	5					R	R		R
Typhimurium	1				R	R	R		R
Agona	11						—	—	—
Derby	5						—	—	—
Infantis	1	R	R	R	R			R	
Infantis	1						—	—	—
London	1					R	—	—	—
Schwarzengrund	1					R	—	—	—
Meleagridis	1					R	—	—	—
Muenchen	2						—	—	—

R は耐性、—は未実施、空欄および非表示の薬剤は感受性を示す

表6 体表、枝肉からのサルモネラ分離

No.	便の菌数 (CFU/g)	体表		枝肉	
		肛門周囲	腹部	胸骨割面	骨盤腔
1	≥2400	+	+		
2	≥2400		+		
3	≥2400				+
4	2400	+			+
5	1100			+	+
6	<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)

愛媛県食肉衛生検査センター

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 38.1%、農場別で 78.9% であった。また、消化管破損を起こし、枝肉が汚染された個体 12.0% からサルモネラ属菌が分離された他、同菌陽性農場の豚の体表 42.9% 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*(20 頭)、*S. Derby*(7 頭)、*S. Infantis*(5 頭) 及び *S. Panama*(2 頭) 等、計 5 種類(40 頭)、枝肉由来が *S. Typhimurium*(4 頭) 等、計 3 種類(6 頭)、及び体表由来が *S. Infantis*(4 頭) 等、計 2 種類(6 頭) であった。薬剤感受性については、分離された多くの *S. Typhimurium* が多剤耐性を示したが、DT104 特異的 PCR を行った結果はすべて陰性であった。

A. 研究目的

近年、消費者の食肉に対する安全・安心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、サルモネラ属菌は依然発生件数が多い状況にある。豚は消化管中にサルモネラ属菌を保菌していることが知られており、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となる。そこで今回、我々は豚のと畜処理の衛生管理向上のための基礎資料とすることを目的として、と

畜場に搬入される豚のサルモネラ属菌保有状況及び枝肉の汚染状況等の実態調査を行った。

B. 検査方法

平成 20 年 4 月～平成 20 年 11 月に管内 A と畜場に搬入された豚、延べ 169 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 35 農場（実農場数 19）105 頭の盲腸便を対象とし、個体別、農場別保有率について調査した。

(2) 盲腸便中のサルモネラ属菌定量調査

サルモネラ属菌の陽性率の高い農場 8 農場、30 検体について、盲腸便中のサルモネラ属菌の定量調査を行った。

(3) 外皮（体表）のサルモネラ属菌汚染実態調査

盲腸便においてサルモネラ属菌が陽性であった農場の内、3 農場から出荷された 14 頭を対象とし、と殺放血・と体洗浄後のと体 28 検体（腹部 14 検体、肛門周囲部 14 検体）の拭き取り材料により、汚染状況を調査した。

(4) 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、且つ肛門抜きの際や内臓摘出の際に消化管破損を起こした豚枝肉を主に、13 農場 50 頭を対象とし、背割り工程後の枝肉 100 検体（胸部割面 50 検体、骨盤腔 50 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 1 白金耳を MLCB 寒天培地（OXOID）、及びクロモアガーサルモネラ（CHOROMagar）に直接塗布し、37 °Cで 18~24 時間分離培養を行った他、並行して

盲腸便 1 g をラパポート・バシリアディス（RV）培地（OXOID）100 ml に接種し、42 °Cで 18~24 時間増菌培養後に、直接培養と同様の分離培養を行った。盲腸便中のサルモネラ属菌定量調査は、希釀・増菌には RV 培地を、分離にはクロモアガーサルモネラを用いた MPN3 管法で行った。拭き取り材料は Whirl-Pac B01245WA (Nasco) に BPW 培地（日本）10 ml 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 90 ml を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）0.1 ml を RV 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 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) 盲腸便のサルモネラ属菌保有実態調査では、105 頭中 40 頭（38.1 %）でサルモネラ属菌が分離された。農場別では 19 農場中 15 農場（78.9 %）で陽性であった。

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、初回の調査で陽性となつた農場については、複数回調査したところ、4回（計12頭）の調査全てで（計10頭）陽性の、高度に汚染された農場の存在が明らかとなつた。（表1）

(2)盲腸便中のサルモネラ属菌定量調査では、MPN値は3～46,000/gの範囲であり、糞便中に高濃度にサルモネラ属菌を保菌している個体の存在が明らかとなつた。（表2）

(3)外皮（体表）のサルモネラ属菌汚染実態調査において、14頭中1頭は肛門周囲部から、5頭は腹部からサルモネラ属菌が分離された。肛門周囲部及び腹部両方から菌が分離された個体は無かった。（表3）

(4)枝肉のサルモネラ属菌汚染実態調査では、内臓摘出時に消化管破損を起こし、胸部剖面が汚染された豚枝肉6検体及び肛門抜き時に直腸を破損し、骨盤腔内が汚染された豚枝肉1検体からサルモネラ属菌が分離された。なお、サルモネラ陽性農場で、消化管破損を起こさず、肉眼的には汚染が認められない枝肉についても調査を行つたが、サルモネラ属菌は分離されなかつた。このことから今回の調査では、と畜処理工程において消化管破損等の作業ミスが生じた

場合には、豚枝肉がサルモネラ属菌に汚染される可能性があることが確認できた。（表4）

15農場が出荷した40頭の盲腸便から分離された血清型は、*S.Typhimurium*(20頭)、*S.Derby*(7頭)、*S.Infantis*(5頭)及び*S.panama*(2頭)、*S.Newport*(1頭)及び未同定(5頭)であった。1頭から複数の血清型は分離されなかつた。農場別では*S.Typhimurium*は10農場から、*S.Derby*、*S.Infantis*はそれぞれ3農場から、*S.Panama*、*S.Newport*はそれぞれ1農場から分離された。15農場中9農場は同一血清型のみの分離であったが、3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他、1農場は採取時期により異なつた血清型が分離された。

枝肉から分離された血清型は、*S.Typhimurium*(4頭)、*S.Derby*(1頭)、*S.Infantis*(1頭)であり、それぞれ別の農場の枝肉から分離された。体表から分離された血清型は、*S.Infantis*(4頭、1農場)、*S.Typhimurium*(2頭、1農場)であったが、同農場の盲腸便から分離された血清型と異なつた型が分離された個体が2頭あつたことから、繫留所等で他個体に汚染が拡大している可能性が示唆された。（表3、5）

代表的な分離菌株について薬剤感受性試験を行つた結果、

S. Typhimurium の多くの株が 3 ~5 剤の多剤耐性であった。また、DT104 特異的 PCR を行った結果は全て陰性であった(表 6)。なお、他の血清型は *S. Derby1* 株のみアンピシリン 1 剤耐性であったが、他はすべて感受性であった。

D. まとめ

今回の調査により、多くの農場がサルモネラ属菌に汚染され、しかも一部の農場では高度に汚染されている実態が明らかとなつた。また、豚体表のサルモネラ属菌による汚染が確認されたこと及び消化管破損を起こした枝肉からサルモネラ属菌が分離されたことから、と畜処理の衛生管理においては、体表汚染及び腸管破損等による枝肉の汚染を防止することが重要であると考えられた。また、分離菌の中にはヒト由来主要型とされる *S. Typhimurium*、*S. Derby* 及び *S. Infantis* の血清型が認められしたこと、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、衛生管理には重要と考えられた。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

農場	月	4	5	6	7	8	9	10	11	計、保有率	血清型(分離頭数)
A		1/3				1/3				2/6 33.3%	<i>S. Typhimurium</i> (2)
B		3/3			0/3					3/6 50.0%	<i>S. Typhimurium</i> (2), <i>S. Infantis</i> (1)
C		1/3				0/3		0/3		1/9 11.1%	<i>S. Typhimurium</i> (1)
D		3/3								3/3 100%	<i>S. Typhimurium</i> (3)
E		0/3					1/3			1/6 16.7%	<i>S. Newport</i> (1)
F								3/3		3/3 100%	<i>S. Typhimurium</i> (3)
G		2/3			2/3		6/6			10/12 83.3%	<i>S. Derby</i> (4), <i>S. Infantis</i> (3), 未同定(3)
H			0/3					0/3	0/6	-	
I			0/3						0/3	-	
J			1/3	0/3		1/3	1/3		3/12 25.0%	<i>S. Typhimurium</i> (3)	
K			2/3		2/3				4/6 66.7%	<i>S. Typhimurium</i> (3), <i>S. Derby</i> (1)	
L			0/3						0/3	-	
M			1/3						1/3 33.3%	<i>S. Typhimurium</i> (1)	
N				0/3					0/3	-	
O					2/6		1/3	3/9	33.3%	<i>S. Typhimurium</i> (1), <i>S. Infantis</i> (1), 未同定(1)	
P						1/3		1/3	33.3%	<i>S. Typhimurium</i> (1)	
Q					2/3		0/3	2/6	33.3%	<i>S. Derby</i> (2)	
R							2/3	2/3	66.7%	<i>S. Panama</i> (2)	
S								1/3 1/3	33.3%	未同定(1)	
計		10/18	0/6	4/12	2/12	5/12	10/18	7/18	2/9	40/105	15 農場 40 頭(5 血清型、未同定 5 頭)
陽性率(%)		55.5	-	33.3	16.6	41.6	55.6	38.9	22.2	38.1	

表 2 盲腸便中のサルモネラ属菌定量検査結果 (MPN3 管法)

農場	希釈倍数					MPN 値(/g)
	原液	10 ⁻¹	10 ⁻²	10 ⁻³	10 ⁻⁴	
A	0	1	0	0	NT	3
	3	3	3	1	NT	4,600
	0	3	3	3	NT	≥24,000
	0	3	2	0	0	930
	0	3	3	1	0	4,300
	3	3	3	1	1	7,500
	0	1	0	0	0	3
	3	3	3	1	0	4,300
G	3	3	3	3	1	46,000
	0	1	1	2	NT	150
	0	3	0	0	NT	9.4
Q	0	1	1	0	NT	6.1

表 3 豚外皮(体表)のサルモネラ属菌分離成績

農場	肛門周囲	腹部	血清型(分離頭数)	備考
B	1/5	3/5	<i>S. Infantis</i> (4)	同農場の盲腸便からの分離血清型 は <i>S. Typhimurium</i> , <i>S. Infantis</i>
G	0/6	2/6	<i>S. Typhimurium</i> (2)	同農場の盲腸便からの分離血清型 は <i>S. Derby</i> , <i>S. Infantis</i>
N	0/3	0/3		
計	1/14	5/14		

表 4 豚枝肉のサルモネラ属菌分離成績

農場	骨盤腔	胸骨	血清型(分離頭数)	備考
A	0/3	0/3	—	
C	0/5	1/5	<i>S. Typhimurium</i> (1)	同農場の盲腸便からの分離血清型は <i>S. Typhimurium</i> 陰性 4 頭中 3 頭は枝肉汚染なし
E	0/1	0/1	—	
F	0/1	0/1	—	
G	0/9	1/9	<i>S. Derby</i> (1)	同農場の盲腸便からの分離血清型は <i>S. Derby</i> , <i>S. Infantis</i> 陰性 8 頭中 6 頭は枝肉汚染なし
J	0/11	0/11	—	
K	1/2※	1/2※	<i>S. Typhimurium</i> (1)	同農場の盲腸便からの分離血清型は <i>S. Typhimurium</i> , <i>S. Derby</i> ※陽性検体は同一個体
L	0/1	1/1	<i>S. Infantis</i> (1)	同農場の盲腸便は陰性
N	0/8	1/8	<i>S. Typhimurium</i> (1)	同農場の盲腸便は陰性
O	0/2	1/2	<i>S. Typhimurium</i> (1)	同農場の盲腸便からの分離血清型は <i>S. Typhimurium</i> , <i>S. Infantis</i>
Q	0/2	0/2	—	
T	0/3	0/3	—	
U	0/2	0/2	—	
計	1/50	6/50		

表 5 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	枝肉由来			
<i>S. Typhimurium</i> (04)	20	50.0	2	40.0	4	66.7 ○
<i>S. Derby</i> (04)	7	17.5			1	16.7 ○
<i>S. Infantis</i> (07)	5	12.5	3	60.0	1	16.7 ○
<i>S. panama</i> (09)	2	5.0				
<i>S. Newport</i> (06, 8)	1	2.5				
未同定	5	12.5				
	40		5		6	

表 6 *S. Typhimurium* 薬剤感受性及び DT104 確認検査結果

感受性 パターン	AM	CAZ	CF	FEP	FOX	CTX	FF	IPM	K	NOR	TE	GM	S	C	G	DT104 特異的 PCR	該当 株数
1	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S	R	S	R	-	15
2	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S	R	R	R	-	4
3	R	S	I	S	S	S	S	S	S	S	R	S	R	S	R	-	3
4	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	-	6

AM: アンピシリン、CAZ: セフタジジム、CF: セファロチエン、FEP: セフェビム、FOX: セフォキシチン、
 CTX: セフォタキシム、FF: ホスホマイシン、IPM: イミペネム、K: カナマイシン、NOR: ノルフロキサシン、
 TE: テトラサイクリン、GM: ゲンタマイシン、S: ストレプトマイシン、C: クロラムフェニコール、
 G: スルフィソキサゾール

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)

鳥取県食肉衛生検査所

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高度衛生管理の確立を図るために基礎資料とするため、と畜場に搬入される豚のサルモネラ属菌の保有状況等について実態調査を行った。

B 検査方法

平成 19 年 10 月～平成 20 年 10 月に管内のと畜場に搬入された豚（約 6 ヶ月齢の県内産肥育豚）191 頭について以下のとおり調査を行った。

1 調査内容

（1）盲腸便のサルモネラ属菌保有実態調査

26 農場 191 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が出荷した豚 4 農場 20 頭を対象とし、と殺放血後のと体について胸部および肛門周囲部の外皮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

サルモネラ属菌陽性農場が出荷した豚 17 農場 86 頭を対象とし、背割り工程後の枝肉について胸部剖面および骨盤腔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 1 g をラバポート・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°C で 22~24 時間培養を行った。前培養液 (BPW) 0.1ml をラバポート・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) 盲腸便のサルモネラ属菌保有実態調査では、191 頭中 71 頭 (37.2%) でサルモネラ属菌が分離された。農場別では 26 農場中 19 農場 (73.1%) で陽性となつた。保有率は農場により異なつたが、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、中には陽性率が 100% や 90% を示すような高度に汚染された農場も確認された。また、年間を通して調査した結果、季節ごとに陽性率を比較すると春季

【3~5月】が 31.0% (42 頭中 13 頭)、夏季【6~8月】が 52.3% (44 頭中 23 頭)、秋季【9~11月】が 39.6% (48 頭中 19 頭)、冬季【12月~2月】が 26.3% (57 頭中 15 頭) となり、夏季における陽性率が高くみられるが、同じ季節であっても月ごとに陽性率が大幅に異なるなど、明確な季節性は確認できなかつた。その一方で、農場の陽性率を地域別に比較すると、東部が 100% (2 農場中 2 農場)、中部が 81.3% (16 農場中 13 農場)、西部が 50.0% (8 農場中 4 農場) となり、もともとの農場数の少ない東部は評価が難しいが、中部は西部に比べ明らかに陽性率が高かつた (表 1 および表 2)。

(2) 外皮 (体表) 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について調査した結果、20 頭中 11 頭 (55.0%) からサルモネラ属菌が分離され、外皮が枝肉の汚染源となる可能性が推測された。

(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について調査した結果、86 頭中 18 頭 (20.9%) が陽性を示した。これによりと畜処理工程における枝肉汚染が認められ、サルモネラ属菌は、枝肉汚染の指標になりうることが確認された。

便から分離された血清型は、*S. Derby*(38頭)、*S. Infantis*(19頭)、*S. Lockleaze*(8頭)、*S. Typhimurium*(6頭)、*S. Livingstone*(1頭)、04:d:- (1頭)であった。*S. Infantis*と*S. Typhimurium*、*S. Infantis*と*S. Derby*という複数の血清型が、それぞれ1個体から分離される事例も確認された。農場別では*S. Derby*は13農場、*S. Infantis*は6農場、*S. Lockleaze*は5農場、*S. Typhimurium*は3農場、*S. Livingstone*、04:d:-はそれぞれ1農場から分離された。19農場中12農場は同一血清型のみの分離であったが、3農場では2種類、2農場では3種類の血清型が分離されており、一部農場では、血清型の異なるサルモネラ属菌が混在して浸潤していることが認められた(表1および表3)。

また、分離菌株の血清型について、盲腸便、外皮、枝肉における一致状況をみると、盲腸便と枝肉(11.1%)に比べ、盲腸便と外皮(54.5%)、外皮と枝肉(37.5%)の組み合わせが明らかに高い一致率を示した。このことから、便によって汚染された体表が、枝肉の重要な汚染要因となっていると考えられる(表4)。

さらに、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)および枝肉

由来の29株は供試薬剤の全てに感受性であったが、盲腸便由來の*S. Infantis*2株に6薬剤に対する耐性が認められた(表5)。また、*S. Typhimurium*6株についてDT104特異的PCRを行った結果、6株中5株が陽性であった(表6)。このことから、家畜の治療および人の食中毒等疾病治療において、抗菌剤の使用に注意が必要である。

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。その上、外皮の汚染のみならず枝肉での汚染も認められ、外皮汚染と枝肉汚染の関連も示唆されたことから、と畜処理の衛生管理において、外皮汚染は腸管破損等による腸内容の汚染と同様に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*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向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

農場	地域	季節・月										保有率 (%)	血清型 (頭数)
		春 3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	1	2
A	西部	3/3			5/5		3/3			3/3	14/14	100%	S. Derby(6), S. Infantis(5), S. Lockleaze(3)
B	西部	0/3					0/3				0/6	-	
C	東部	0/3			3/5		3/3				6/11	54.5%	S. Derby(4), S. Infantis(3), S. Typhimurium(1)
D	中部	1/3	3/3	0/3		3/3					7/12	58.3%	S. Infantis(6), S. Lockleaze(1)
E	中部				1/3	1/3		0/3			2/9	22.2%	S. Derby(2)
F	中部	0/3			0/4	1/3					1/10	10.0%	S. Derby(1)
G	中部	2/3		0/3			1/3				3/9	33.3%	S. Lockleaze(2), S. Typhimurium(1)
H	西部						0/3		0/3		-	-	
I	西部	0/3					0/3			0/6	-	-	
J	中部	1/3		5/5			1/3				7/11	63.6%	S. Typhimurium(4), S. Infantis(2), S. Lockleaze(1)
K	中部						1/3				1/3	33.3%	S. Infantis(1)
L	中部		0/3				2/3				2/6	33.3%	S. Derby(2)
M	中部	1/3		2/3			3/3				6/9	66.7%	S. Derby(5), S. Infantis(1)
N	中部		0/3		2/3			1/3			3/9	33.3%	S. Derby(1), S. Livingstone(1), 04:d:-(1)
O	中部				0/3			2/3			2/6	33.3%	S. Derby(2)
P	中部			1/3				0/3			1/6	16.7%	S. Derby(1)
Q	中部	0/6			0/3			0/3		0/12	-	-	
R	西部	1/3					0/3				1/6	16.7%	S. Infantis(1)
S	中部		0/3				0/3				0/6	-	
T	西部				2/3		0/3				2/6	33.3%	S. Derby(2)
U	東部				1/3		0/3				1/6	16.7%	S. Derby(1)
V	中部	1/3					0/3				1/6	16.7%	S. Lockleaze(1)
W	西部						0/3				0/3	-	
X	西部	3/3		5/5			2/3				10/11	90.9%	S. Derby(10)
Y	中部					1/3					1/3	33.3%	S. Derby(1)
Z	中部					0/2					0/2	-	
合計			13/42 (31.0%)	24/44 (54.6%)		19/48 (39.6%)		15/57 (26.3%)		71/191 (37.2%)			

表 2 地域別サルモネラ属菌陽性農場率

地域	陽性率
東部	2/2 100.0%
中部	13/15 86.7%
西部	4/8 50.0%

表 3 サルモネラ属菌分離株の血清型

血清型	分離頭数 (%)		
	盲腸便由来	外皮由来	枝肉由来
S. Derby	38 52.1%	11 64.7%	9 50.0%
S. Infantis	19 26.0%	6 35.3%	4 22.2%
S. Lockleaze	8 11.0%		1 5.6%
S. Typhimurium	6 8.2%		
S. Livingstone	1 1.4%		
04:d:-	1 1.4%		
S. Agona		4 22.2%	

表4 サルモネラ属菌分離株血清型の検出状況

血清型の検出状況	一致率
枝肉陽性検体で盲腸便と一致	2/18 (11.1%)
枝肉陽性検体で外皮と一致	3/8 (37.5%)
外皮陽性検体で盲腸便と一致	6/11 (54.5%)

表5 サルモネラ属菌分離株の薬剤感受性

サルモネラ属菌分離株の薬剤感受性

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

R : 耐性 S : 感受性

AM : アンピシリン、CA Z : セフタジジム、C E T : セファロチノン、F EP : セフェピム
 FOX : セフォキシチン、C TX : セフォタキシム、FF : ホスホマイシン、I PM : イミペネム
 K : カナマイシン、N O R : ノロフロキサシン、T E : テトラサイクリン、G M : ゲンタマイシン

表6 S. Typhimurium DT104 確認検査結果

No	AM	TE	S	C	G	DT104 特異的PCR
52	R	R	R	R	R	(+)
594	R	R	R	R	R	(+)
600	R	R	R	R	R	(+)
606	R	R	R	R	R	(+)
618	R	R	R	R	R	(+)

R 耐性

AM : アンピシリン、T E : 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 : スルフィソキサゾール