

平成 25-27 年度 厚生労働科学研究費 食品の安全確保推進研究事業  
畜産食品の安全性確保に関する研究

分担研究報告書

分担研究課題名 牛肝臓内の大腸菌の分布とその殺菌法の検討

分担研究者：山崎 伸二 大阪府立大学大学院 生命環境科学研究科

研究協力者：日根野谷淳 大阪府立大学大学院 生命環境科学研究科

研究要旨：牛消化管内の大腸菌群の分布を調べたところ、牛の唾液から肛門に至る各部位で 100%検出され、肛門に近づくに従いその菌数は多くなった。牛胆汁および牛肝臓内の大腸菌群の分布は相関性のある場合とない場合があった。肝臓内で細菌が検出された場合、その多くは胆管であったが、一部類洞でも検出された。牛の肝臓内を 5 カ所に分け大腸菌群の分布を調べた結果、陽性率は部位 1 と 2 (生食用として提供されていた) と比べ、部位 3-5 (加熱用として提供されていた) の方が高く、冬場よりも夏場の方が高かった。種々の消毒薬を用いて牛肝臓内の大腸菌群あるいは腸内細菌科菌群に対する殺菌効果を調べたところ、消毒薬と凍結融解を組合せることにより、部位 1 と 2 から冬場：50-60%、夏場：40%で腸内細菌科菌群が検出されなかった結果が得られた。6 肝臓検体を増菌培養し PCR 法で *stx* 遺伝子を検出したところ、部位 3-5 と肝臓表面では *stx* 遺伝子が検出されたが、部位 1-2 からは *stx* 遺伝子は検出されなかった。

A. 研究目的

牛肝臓内から腸管出血性大腸菌 (志賀毒素産生性大腸菌: STEC) O157 が検出されたことから生レバーの喫食が禁止となった。しかし、生レバーの需要は大きく、生レバーの復活を求める人も少なくない。一方、現状の牛肝臓を生で食すると STEC 感染症に罹患し、特に小児や老人では、溶血性尿毒症症候群や脳症を併発する可能性も否定できない。

本研究では、牛肝臓内の大腸菌群の分布を明らかにし、その殺菌法を開発することを目的として以下の実験を行った。すなわち、牛肝臓内の STEC を含む大腸菌群 (乳

糖を分解して酸とガスを産生するグラム陰性好気性又は通性嫌気性桿菌で、マッコンキー寒天培地でコロニーを形成する菌) あるいは腸内細菌科菌群 (グラム陰性の通性嫌気性桿菌でブドウ糖を発酵し酸とガスを産生する菌で、VRBG 寒天培地でコロニーを形成する菌) の汚染は胆管を經由していると仮定し、塩素系消毒薬と凍結融解を組み合わせた殺菌法の開発を試みた。屠畜解体後の牛肝臓内の大腸菌群の分布、唾液、胆汁を含む牛消化管内での大腸菌群と STEC の分布を調べた。開発した殺菌法で屠畜解体後の牛肝臓内の腸内細菌科菌群の殺菌を試みた。

## B. 研究方法

### 1. 牛消化管、肝臓、唾液及び胆汁中の大腸菌群の菌数

牛肝臓から無菌的に約 50 g の組織を切り出しストマック袋に入れ、等量の滅菌 PBS を加えストマック処理を行った。その他表 1 に示した消化管組織と内容物は、それぞれ 10 g を取りだし、組織は等量の滅菌 PBS を加えストマック処理を、内容物は 90 ml の滅菌 PBS に懸濁した。唾液は 5 mL、胆汁は 10 mL 採取した。それぞれ処理後の液、唾液と胆汁を滅菌 PBS で 10 倍段階希釈し、SMAC 寒天培地に植菌し STEC の有無及び大腸菌群の菌数を調べた。

### 2. 牛肝臓から分離した細菌の菌種同定

牛肝臓内から分離した細菌からボイル法で鋳型 DNA を調製し、16S rRNA 遺伝子、約 500 bp を増幅できるプライマーを用いて PCR を行った。得られた PCR 産物を精製後、塩基配列を解析し菌種を同定した。

### 3. 組織化学的解析による牛肝臓内の細菌汚染部位の同定

牛肝臓約 10 g を切り出し、直ちに中性の 10% のホルマリン溶液に浸漬した。プロセッサを用いて組織を固定化し、パラフィンで包埋後、マイクロームカッターで厚さ約 3  $\mu$ m の切片を作製した。ヘマトキシリン・エオジン (HE) 染色後、顕微鏡にて細菌汚染を確認した。

### 4. 牛消化管、肝臓内、胆汁における *stx* 遺伝子の検出

屠畜解体直後に採取した舌、第一胃内容

物、十二指腸、十二指腸内容物、盲腸、盲腸内容物、肛門、肛門内容物をそれぞれ約 10 g、肝臓 (部位 1-5) を 50 g (又は 100 g) を同量の滅菌 PBS に加え、ストマッカー処理を 30 秒間行なった。処理が不十分な場合は、さらに 30 秒間処理を行なった。肝臓表面は滅菌スワブで約 400 cm<sup>2</sup> を拭き取り、スワブを 5 mL の PBS に懸濁し、ストマッカー処理検体を含めそれぞれから 1 mL を取り、1.25 倍の TSB 4 mL に加え、37°C、18 時間、浸透培養した。2015 年 10 月以降は、50 g の肝臓に TSB 50 mL を加えストマック処理し、その後、TBS で総量 250 mL となるようにメスアップし、37°C で一晩増菌培養した。唾液と胆汁についてもそれぞれ 1 mL を同様に培養した。増菌後、牛肝臓以外は培養液 100  $\mu$ L を 900  $\mu$ L の滅菌 TE buffer (pH 8.0) に加え、100°C、10 分間の加熱処理後、遠心分離を行い得られた上清を PCR 用の鋳型 DNA とした。牛肝臓検体は、増菌培養後 1 mL を遠心分離し、ペレットを回収した。ペレットに 1 mL の TE を加え 100°C、10 分間加熱処理し、遠心上清を鋳型 DNA として PCR に供した。

*stx* 遺伝子検出用の PCR 法は Pal らの方法に準じて行った (Indian J. Med. Res., 110: 83-85, 1999)。得られた PCR 産物は 3% アガロースゲル電気泳動後、エチジウムブロマイド染色し、UV 照射下で特異的な遺伝子の増幅を確認した。

### 5. 種々の塩素系消毒薬の殺菌効果の比較

#### 5-1. 肝臓を 5 つの部位に分けた場合

屠畜解体直後に牛肝臓と胆汁を採取し、各種塩素系・非塩素系消毒薬を、胆管を通じて肝臓内に注入し、洗浄、殺菌した。尚、

消毒薬 A は電解水、B、C、D は非塩素系消毒薬、E は塩素系消毒薬を用いた。その後、図 6 に示したように肝臓を 5 つの部位、すなわち、部位 1-5 からそれぞれ約 50 g (2014 年 10 月より 2015 年 3 月まで) あるいは 100 g (2015 年 4 月より 9 月まで) を採取し、同量の滅菌 PBS に加え、ストマッカー処理を 30 秒間行なった。処理が不十分な場合は、さらに 30 秒間処理を行なった。ストマッカー処理した肝臓検体と胆汁をそれぞれ滅菌 PBS で希釈後 100  $\mu$ L を MacConkey 寒天培地に植菌し、大腸菌群の菌数を測定した。部位 1 と 2 は、さらに 25 g の肝臓を採取し、 $-30^{\circ}\text{C}$  で凍結融解後同様の処理を行い、大腸菌群の菌数を測定した。ストマッカー処理した液を BPW 培地で増菌した培養液を VRBG 寒天培地に植菌し  $37^{\circ}\text{C}$  で一晩培養した。コロニーが得られなかった場合、さらに、EE 培地で増菌培養を行い VRBG 寒天培地に植菌し  $37^{\circ}\text{C}$  で一晩培養した。

#### 5-2 : 肝臓を左葉、右葉で分けた場合

2015 年 10 月より、肝臓を部位 1 と 2 に該当する左葉と部位 3-5 に該当する右葉に分け、それぞれ 10 カ所から 5 g、合計 50 g を採取して上記と同様に処置した。さらに、肝臓左葉に関しては 10 カ所から 2.5 g ずつ採取し合計 25 g を  $-30^{\circ}\text{C}$  で凍結後、チルド条件で融解し、上記と同様に処置した。

### C. 研究結果

#### 1 . 牛消化管、肝臓、唾液及び胆汁中の大腸菌群菌数

牛消化管内、肝臓、唾液及び胆汁の大腸菌群の菌数について 2012 年 11 月から 2014

年 8 月まで調べた結果を図 1 に示した。唾液、第一胃、十二指腸、盲腸、肛門内容物の菌数はそれぞれ  $10\sim 10^{10}$  CFU/g であった。一方、肝臓内を 5 つの部位に分けて調べた結果、部位 1 と 2 では、それぞれ 22%、33% で陽性となり、菌数も  $10\sim 10^6$  CFU/g であった。部位 3-5 では 60% 前後の陽性率で、菌数は  $10\sim 10^4$  CFU/g であった。胆汁の陽性率は 11% であったが、菌数は  $10^5\sim 10^8$  CFU/ml と高かった。胆汁中の菌数が多い検体は、肝臓内の菌数も多かった。しかしながら、胆汁からの細菌が検出限界以下 ( $10 > \text{CFU/mL}$ ) の検体でも、肝臓内から細菌が検出される場合もあった。

牛肝臓の各部位における夏場の大腸菌群陽性率は冬場よりも高かった (図 2、3)。例えば部位 3-5 は、冬場は 40-50% であったが、夏場の陽性率は 80% 前後であった。一方、部位 1 と 2 では、夏場の陽性率はそれぞれ 32%、46% であったが、冬場はそれぞれ 13%、25% であった。肝臓内で検出された大腸菌群の菌数は季節に関係なく胆汁で高濃度の菌が検出された場合を除けば、部位 1 と 2 では  $10^2$  CFU/g 以下、部位 3-5 では  $10^3$  CFU/g 以下であった。Sawdust Liver (鋸屑肝) についても同様に調べた結果、部位 1 と 2 の大腸菌群の陽性率は 50% と 60%、部位 3-5 の陽性率は 80-85% と共に高かった。菌数も  $3.3\sim 10^7$  CFU/g が検出され、Sawdust Liver では大腸菌群の陽性率のみならず菌数も多かった (図 4)。

#### 2 . 牛肝臓から分離された細菌の菌種同定

牛肝臓内から分離した菌の 16S rRNA 遺伝子約 500 bp の塩基配列を解析した結果、*Escherichia* sp, *Klebsiella* sp, *Serratia* sp,

*Citrobacter* sp 等腸内細菌科に属する細菌として同定された。

### 3. 牛肝臓内の細菌汚染部位の同定

69 検体の肝臓の細菌汚染部位を組織化学的に調べた結果、13 検体で胆管内又は門脈 / 類洞内に細菌が検出された。胆管内に検出された 1 例を図 5-1 に、類洞内に検出された 1 例を図 5-2 に示した。類洞内に細菌が検出された場合、図 6 に示した部位 3-5 の加熱用として提供されていた部位がほとんどであるが、まれに 1 と 2 の生食用として提供されていた部位からも検出された。しかしながら細菌が検出された周辺部位にマクロファージの集積や炎症が認められなかったことから屠畜解体後に何らかの理由で肝臓内が汚染された可能性も考えられる。

### 4. 牛消化管、肝臓内、唾液及び胆汁における *stx* 遺伝子の検出

牛消化管、肝臓から *stx* 遺伝子を PCR 法で検出した結果を表 1 にまとめた。胆汁では調べた 232 検体全てで検出されなかった。肝臓の内部 (253 検体) と表面 (181 検体) からは、それぞれ 1.2%、8.8% の割合で検出された。舌の陽性率は 6.5%、唾液は 22%、第一胃内容物は 8.7%、十二指腸は内容物で 15%、組織で 5.9%、盲腸は内容物・組織とも 26%、肛門は内容物で 45%、組織で 83% と第一胃から肛門に近づくに従い陽性率は上昇し、肛門においては内容物よりも組織での陽性率の方が高かった (表 1)。

一方、肝臓の部位別で見ると、0.5 g/1.0 g 相当の増菌培養液から肝臓内部の部位 1 (201 検体) と 2 (205 検体) すなわち生食用として提供されていた部位からは

*stx* 遺伝子は検出されなかったが、加熱用として提供されていた部位 3 (200 検体)、4 (191 検体)、5 (191 検体) からはそれぞれ 1、3、1 検体から *stx2* 遺伝子が検出された。肝臓表面では 133 検体中 9 検体から *stx2* 遺伝子が、1 検体から *stx1/2* 遺伝子が検出された。Sawdaust Liver では肝臓内部と胆汁それぞれ 20 検体について調べた結果、部位 3 と 5 のそれぞれ 1 検体で *stx2* 遺伝子が検出された (表 2)。さらに、50 g 相当の肝臓を増菌培養した検体では、調べた 48 検体全てで左葉 (生食用として提供されていた部位 1 と 2)、右葉 (加熱用として提供されていた部位 3-5)、胆汁では調べた 36 検体全てで *stx* 遺伝子は検出されなかった (表 3)。一方、肝臓表面からは 6 検体で *stx2* 遺伝子が検出された。肛門組織からは調べた 30 検体中、27 検体でいずれかの *stx* 遺伝子が検出された。

### 5. 塩素系消毒薬の牛肝臓内大腸菌群、腸内細菌科菌群に対する殺菌効果

#### 5-1. 肝臓を 5 つの部位に分けた場合の大腸菌群細菌数と塩素系消毒薬の殺菌効果

5 種類の消毒薬 (2 種類の塩素系 [消毒薬 A と E] と 3 種類の非塩素系 [消毒薬 B、C、D]) の殺菌効果を調べた結果を表 4 にまとめた。消毒薬 A を肝臓内に注入した場合、生食用として提供されていた部位 1 と 2 での大腸菌群陽性率は 26% と 23%、消毒薬 E の場合、それぞれ 0% で、消毒薬 B-D の場合、それぞれ 0% と比べて低かった。一方、加熱用として提供されていた部位 3-5 では、全体的に陽性率が高かった (70-100%) が、消毒薬 A では菌の陽性率は、50-60% と他の消毒薬と比較して低かった。

さらに、消毒薬と凍結融解を組み合わせた殺菌効果について調べた結果を表5に示した。凍結融解後2次増菌した場合、生食用として提供されていた部位1と2とで冬場では40-48%、夏場では60%で腸内細菌科菌群が検出された。言い換えれば、それぞれ50-60%、40%では腸内細菌科菌群が全く検出されなかった。一方、消毒薬B、C、Dでは凍結融解後の腸内細菌科菌群の陽性率が90-100%であった。

#### 5-2：肝臓を左葉、右葉で分けた場合

さらに、消毒薬AとEの効果をより詳細に調べることを目的に、肝臓を生食用として提供されていた左葉（部位1と2）と加熱用として提供されていた右葉（部位3-5）に分け、2.5gを10カ所から採取した結果を表6にまとめた。最も腸内細菌科菌群の陽性率の低かった消毒薬Aを2つの濃度、すなわち、2,000ppmと500ppmで評価した。その結果、500ppmの場合、右葉では凍結無しで100%大腸菌群が陽性であったのに対し、左葉では凍結無しで44%の陽性率であった。凍結することで左葉の陽性率は33%まで下がったが、2次増菌を行うと89%まで上がった。2,000ppmを用いた場合もほぼ同様の結果であった（表6）。しかしながら、消毒薬Eを用いた場合、凍結無しで左葉の陽性率は8%であったのに対し右葉では33%であった。左葉では凍結後、2次増菌を行うことで陽性率は50%となった。

#### D. 考察

牛の肝臓内から検出される大腸菌群の由来を調べる目的で、牛の消化管内、胆汁、

牛肝臓内の大腸菌群細菌の分布について調べた。その結果、唾液から肛門に至るまで調べた全ての部位から大腸菌群は検出された。大腸菌群の菌数は、第一胃から肛門に近づくに従い増加した。一方、胆汁の陽性率は11%で、肝臓内の陽性率は22%から63%と胆汁よりも高い陽性率を示した。このことは胆汁が必ずしも肝臓内の大腸菌群の汚染源となっていない可能性を示している。但し、高濃度の大腸菌群が胆汁で検出された場合、肝臓内でも比較的高濃度の大腸菌群が検出されたので胆汁も主要な汚染源の1つであることに間違いはない。一方、大腸菌群が検出された肝臓の切片を作製し、組織化学的に肝臓内での菌の汚染部位を調べたところ、一つは胆管、もう一つは門脈や類洞等の血管で検出された。すなわち、胆管以外にも血管が汚染源となっている可能性が示唆された。肝臓を牛個体から切り離した際、門脈の切断部位は肝臓表面に露出しており、部位3-5は損傷を受けている場合も多々あり、門脈を含め損傷を受けた部位を介して汚染する可能性は十分あると考えられる。したがって、屠畜解体後の肝臓の内部が汚染しないよう門脈部分の衛生的な取り扱いが重要である。

牛肝臓内の大腸菌群の陽性率及び菌数を季節別に解析した結果、生食用として提供されていた部位1と2、加熱用として提供されていた部位3-5とも夏場でそれぞれ32-46%、77-81%であるのに対し、冬場ではそれぞれ13-25%、42-50%であった。胆汁中に大腸菌群が高濃度で検出された場合を除けば、季節に関係なく肝臓内の大腸菌群の菌数は部位1と2（生食用として提供されていた）で $10^2$  CFU/g以下、部位3-

5 (加熱用として提供されていた)では  $10^3$  CFU/g 以下であった。一方 Sawdust Liver では、部位 1 と 2 の大腸菌群の陽性率は 50-60%、部位 3-5 で 80-85%と高い値となり、さらに、汚染菌数も胆汁からの汚染の影響を受けているとはいえ  $10^4$  から  $10^7$  CFU/g と高い値を示した (図 4)。牛肝臓内から分離した大腸菌群の 16S rRNA 遺伝子を解析し菌種を同定した結果、*Escherichia* 属、*Citrobacter* 属、*Klebsiella* 属、*Serratia* 属菌であった。このことは、肝臓内の細菌汚染は腸管内あるいは胆汁を介している可能性が強く示唆された。

最も重要な点は、牛肝臓内に STEC が存在するかどうかである。そこで、牛肝臓内に STEC が存在するかどうか、もし存在するとすればその汚染源はどこなのかを調べる目的で牛の各消化管部位における *stx* 遺伝子の分布について調べた。*stx* 遺伝子は唾液でも 22%で陽性となり第一胃内容物から肛門に近づくに従って陽性率は高くなった。肛門では内容物より組織の方でより高率に *stx* 遺伝子が検出された。しかしながら、胆汁では調べた 232 検体全て陰性であり、肝臓内部も生食用として提供されていた部位 1 と 2 では全て陰性、陽性となったのは加熱用として提供されていた部位 3-5 と外部からの汚染を受けやすい部位であった。実際、肝臓表面の汚染率は 8.8%と高く、部位 3-5 の汚染も門脈あるいは損傷を受けた部位から起こっていることも考えられる。すなわち、牛肝臓内の STEC 汚染は屠畜解体後の糞便汚染の影響を受けている可能性がある。一方、表 2 で示した結果は、0.5 g/1 g 当たりで検出されたかどうか、表 3 に示した結果では 50 g 当たり検出されたかどう

かという結果である。スパイク実験を行い、それぞれの検出下限を調べた結果、0.5 g/1 g では 62 CFU/50 g、50 g では 6.2 CFU/50 g であった。一方、2 次増菌後に腸内細菌科菌群が検出された検体を用いても PCR 法で *stx* 遺伝子が検出されなかったことから、肝臓内部 (部位 1 と 2) における STEC 汚染の可能性は低いと予想される。

肝臓内の大腸菌群、腸内細菌科菌群を種々の消毒薬と凍結融解法を組み合わせることで各種消毒薬の殺菌効果を評価したところ、消毒薬の種類によって差が有ることがわかった。現状での塩素系消毒薬と凍結融解を組み合わせただけでは完璧ではないが、一連の処理後、腸内細菌科菌群を検査することにより、陰性となったものだけを流通させることができれば生レバーを提供できる可能性もゼロではない。生レバーを提供できる可能性を見いだすためにも、牛肝臓内での腸内細菌科菌群の分布、STEC が存在する可能性についてさらに検体数を増やして、データを積み上げて慎重に議論する必要がある。

## E. 結論

牛肝臓内の腸内細菌科菌群汚染は胆管あるいは血管を介していると考えられる。汚染率には季節性があり、冬場に少なく夏場に多い傾向であった。塩素系消毒薬と凍結融解を組み合わせることである程度の殺菌効果は認められたが、現状では十分でなく更なる検討が必要である。

一方、胆汁や部位 1 と 2 からは *stx* 遺伝子は検出されず、肝臓表面や部位 3-5 から *stx* 遺伝子が検出されたことから、牛肝臓内の STEC 汚染は屠畜解体後の糞便汚染が関

係している可能性が考えられた。大腸菌群が高濃度に検出された検体があったことを踏まえつつ、今後、さらに検体数を増やして検討して行く必要がある。

臓内には大腸菌群の汚染率が高く、牛肝臓を生で食べることは免疫力の弱い小児やお年寄りでは大きなリスクとなる可能性がある。

F. 健康危機情報

牛の肝臓内から直接 STEC の存在は確認できなかったが、大腸菌群及び腸内細菌科菌群が検出され、また、塩素系消毒薬と凍結融解を組み合わせた方法で完全に殺菌することができなかった。現状では、牛の肝

G. 研究発表

無し

H. 知的財産権の出願，登録状況

無し

表 1 . 牛の各消化管部位における *stx* 遺伝子の分布

採取部位 [検体数]	<i>stx1</i> 陽性数	<i>stx2</i> 陽性数	<i>stx1/2</i> 陽性数	合計 (%)
舌 [46]	1	1	1	3 (6.5)
唾液 [41]	1	3	5	9 (22)
胆汁 [232]	0	0	0	0 (0)
肝臓内部 [253]	0	3	0	3 (1.2)
肝臓表面 [181]	0	15	1	16 (8.8)
第一胃内容物 [46]	2	1	1	4 (8.7)
十二指腸組織 [68]	1	2	1	4 (5.9)
十二指腸内容物 [68]	2	6	2	10 (15)
盲腸組織 [69]	4	12	2	18 (26)
盲腸内容物 [69]	4	12	2	18 (26)
肛門組織 [220]	10	116	56	182 (83)
肛門内容物 [65]	6	16	7	29 (45)

表 2 . 肝臓内部、表面、胆汁及び肛門組織における *stx* 遺伝子の分布 (0.5 g/1.0 g 相当)

	正常 (%)				Sawdust (%)
	<i>stx1</i>	<i>stx2</i>	<i>stx1/2</i>	合計	<i>stx2</i>
部位 1	0 <sup>§</sup> /201 <sup>#</sup> (0)	0/201 (0)	0/201 (0)	0/201 (0)	0/20 (0)
部位 2	0/205 (0)	0/205 (0)	0/205 (0)	0/205 (0)	0/20 (0)
部位 3	0/200 (0)	1 <sup>*</sup> /200 (0.5)	0/200 (0)	1/200 (0.5)	1/20 (5)
部位 4	0/191 (0)	3 <sup>*</sup> /191 (1.6)	0/191 (0)	3/191 (1.6)	0/20 (0)
部位 5	0/191 (0)	1 <sup>*</sup> /191 (0.5)	0/191 (0)	1/191 (0.5)	1/20 (5)
肝臓表面	0/133 (0)	9/133 (6.8)	1/133 (0.8)	10/133 (7.5)	ND
胆汁	0/196 (0)	0/196 (0)	0/196 (0)	0/196 (0)	0/20 (0)
肛門組織	7/190 (3.7)	104/190 (55)	155/190 (23)	155/190 (82)	ND

\*1 検体で、部位 3、4、5 全てで *stx2* 遺伝子が陽性となった。#総検体数、§陽性検体数

表 3 . 肝臓内部、表面、胆汁及び肛門組織における *stx* 遺伝子の分布 (50 g 相当)

遺伝子	肝臓左葉 (%)	肝臓右葉	肝臓表面	胆汁	肛門組織
<i>stx1</i>	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	3 (10)
<i>stx2</i>	0 (0)	0 (0)	6 (13)	0 (0)	12 (40)
<i>stx1/2</i>	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	12 (40)
合計	0 <sup>§</sup> /48 <sup>#</sup> (0)	0/48 (0)	6/48 (13)	0/36 (0)	27/30 (90)

#総検体数、§陽性検体数

表 4 . 各種消毒薬で殺菌消毒した場合の部位ごとの肝臓内大腸菌群陽性率

消毒薬	部位 1 (%)	部位 2	部位 3	部位 4	部位 5	胆汁
A* [61#]	16 <sup>§</sup> (26)	14 (23)	34 (56)	31 (51)	38 (62)	11 (18)
B** [16]	12 (75)	11 (69)	14 (88)	16 (100)	16 (100)	4/15 <sup>#</sup> (27)
C*** [7]	5 (71)	6 (86)	5 (71)	7 (100)	7 (100)	0/4 <sup>#</sup> (0)
D## [9]	5 (56)	6 (67)	7 (88)	9 (100)	9 (100)	0 (0)
E <sup>§§</sup> [14]	0 (0)	0 (0)	13 (93)	11 (79)	12 (86)	0 (0)

調査時期:\*H27/1-H27/9, \*\*H27/5-H27/8, \*\*\*H27/6-H27/8, ##H27/8-H27/9, §§H26/10-H26/12,

#総検体数, §陽性検体数



表5 . 部位1と2を各種消毒薬で消毒後、凍結無・有、凍結後2回増菌後の細菌陽性率

消毒薬	部位1 (%)			部位2		
	凍結無+	凍結有+	凍結2次増菌&	凍結無+	凍結有+	凍結2次増菌&
A## [25#]	ND	2 (8)	10 (40)	ND	1 (4)	12 (48)
A* [30]	13 (43)	11 (37)	18 (60)	12 (40)	8 (27)	18 (60)
B** [16]	12 (75)	9 (56)	15 (94)	11 (69)	9/15# (60)	15/15# (100)
C*** [7]	5 (71)	4 (57)	7 (100)	6 (86)	4 (57)	7 (100)
D## [9]	5 (56)	3 (33)	9 (100)	6 (67)	3 (33)	8 (89)
E <sup>SS</sup> [14]	0 (0)	NA	10 (71)&&	0 (0)	NA	13 (93)##

調査時期：##H27/1-H27/3, \*H27/4-H27/9, \*\*H27/5-H27/8, \*\*\*H27/6-H27/8, ##H27/8-H27/9, <sup>SS</sup>H26/10-H26/12, +大腸菌群, &腸内細菌科菌群, #総検体数、&&凍結後BPWによる1次増菌の結果

表6 . 各種消毒薬の部位ごとの肝臓内大腸菌群、腸内科細菌菌群の殺菌効果

消毒薬	左葉：部位1と2 (%)			右葉：部位3-5	胆汁
	凍結無+	凍結有+	凍結2次増菌&	凍結無+	凍結無+
A 500 ppm [18#] <sup>S</sup>	8 <sup>S</sup> (44)	6 (33)	16 (89)	18 (100)	6/14# (43)
A 2,000 ppm [22] <sup>S</sup>	10 (45)	5 (23)	19 (86)	21 (95)	2/15# (13)
E 400 ppm [12] <sup>SS</sup>	1 (8)	1 (8)	6 (50)	4 (33)	1/10 (10)

#総検体数、<sup>S</sup>陽性検体数、+大腸菌群、&腸内細菌科菌群、<sup>S</sup>H27/10-H27/12、<sup>SS</sup>H28/1

図1. 牛肝臓及び消化管各部位における大腸菌群細菌の検出率と細菌数(通年)

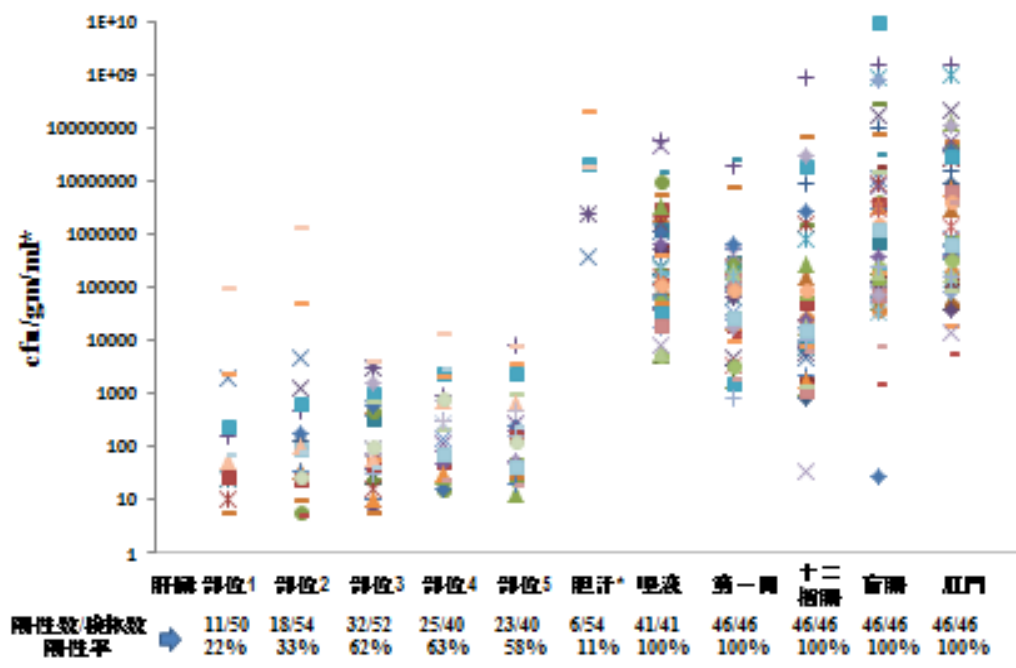
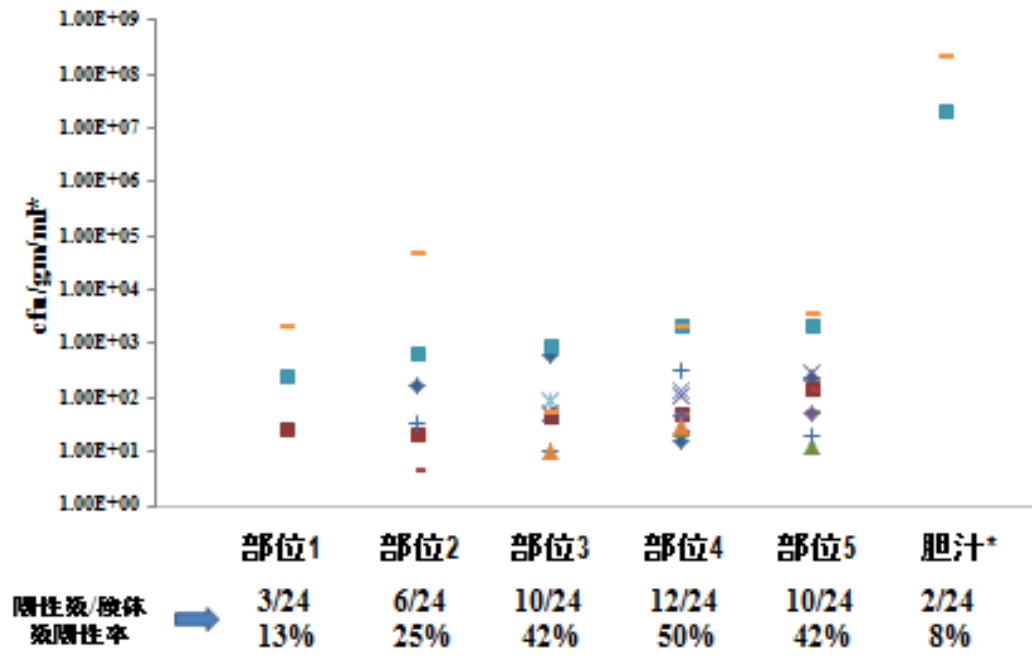


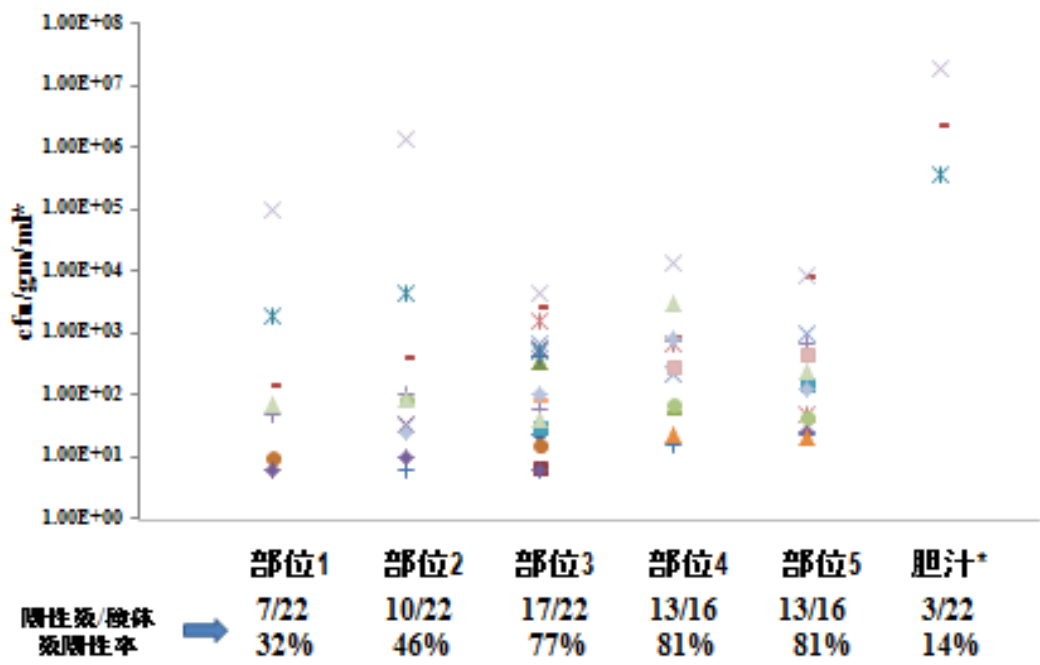
図2. 冬場の牛肝臓内における大腸菌群細菌の陽性率と細菌数  
(2013年10月-2014年3月)



64



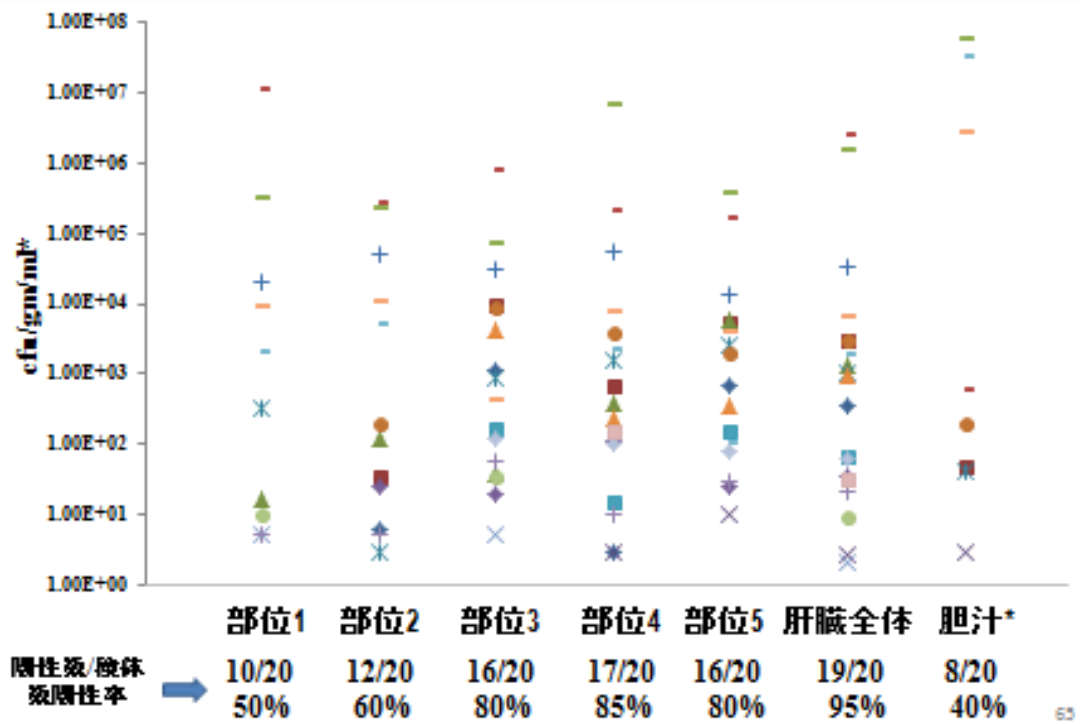
図3. 夏場の牛肝臓内における大腸菌群細菌の陽性率と細菌数  
(2013年5月-9月、2014年4月-8月)



63



図4. Sawdustの牛肝臓における大腸菌群細菌の陽性率と細菌数  
(2013年9月~2014年4月)



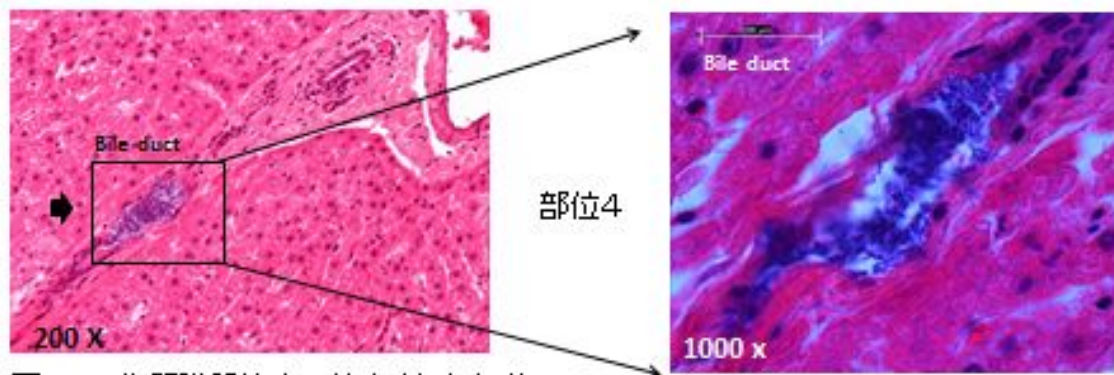


図5-1. 牛肝臓胆管内に検出された細菌

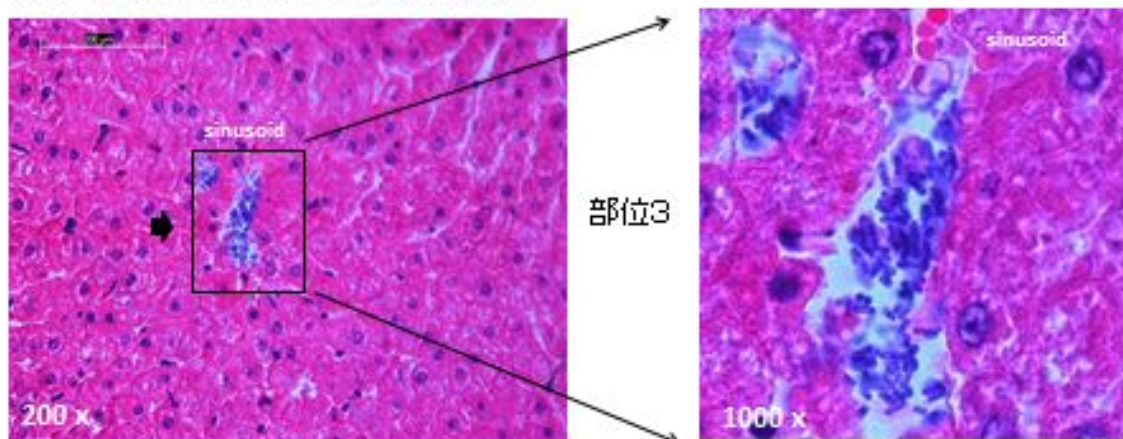


図5-2. 牛肝臓類洞内に検出された細菌

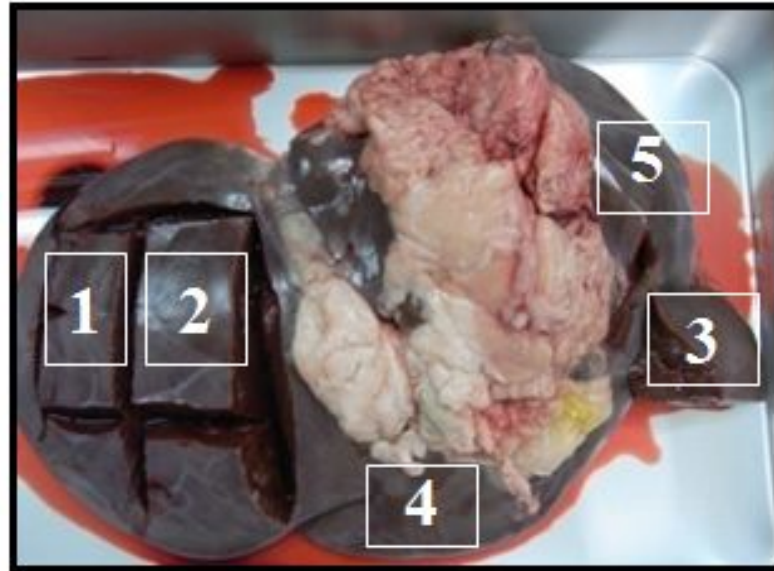


図6. 牛肝臓から採取した部位(1-5)を示す  
左葉(部位1と2)、右葉(部位3-5)