

# 1.と畜場搬入牛における農場別腸管出血性大腸菌保菌状況

○森本賢治 本多弥生 菅麻美子 森洋子  
山口貴宏 山内俊平 細井美博

豊橋市食肉衛生検査所

はじめに

平成 23 年 4 月、牛肉の生食を原因とした腸管出血性大腸菌（EHEC）による集団食中毒事件が発生した。富山、福井、神奈川の 3 県で死者 5 名、重症者 30 名以上という深刻な被害をもたらした本事件は、改めて生食の危険性と、と畜場における衛生管理の重要性を再認識させられることとなった。

と畜場の衛生管理等に資することを目的とした EHEC 関連調査、特に、と畜牛の保菌状況に関する報告は多く、近年の全国調査では、概ね 10%前後の高い保菌率<sup>1)</sup>が記されている。このことは、と畜場での衛生管理強化への強い意識付けとはなるが、汚染源としてのと畜牛群そのもののリスク評価には結びつきにくい。と畜予定牛群の EHEC 保菌の可能性を推定し、高リスク牛群についてはと畜処理の差別化を図る等と畜段階でのリスク軽減が必要であり、農場や時季別の EHEC 保菌状況を把握することは、高リスク牛群を判断する上で重要な要素となり得る。

今回、と畜処理頭数上位 10 農場の牛における農場別、時季別の EHEC 保菌状況を調査するとともに、分離株の一部についてパルスフィールドゲル電気泳動（PFGE）法による遺伝子解析を行ったので報告する。

## 材料および方法

材料：平成 23 年 4 月から平成 24 年 2 月の間に、管内と畜場に搬入された肥育牛 550 頭の直腸内容物を材料とした。平成 22 年度と畜処理頭数実績の上位 10 農場を対象とし、毎月各農場 5 頭ずつ採材した。

方法：直腸内容物 1 g をノボビオシン加 mEC 培地で 42°C24 時間増菌培養後、分離培地に画線塗抹し、37°C24 時間培養した。分離培地として、O157 は CT-SMAC、CHROMagar O157、O26 は CT-RMAC、CT-ViRXO26、O111 は CT-SBMAC、CHROMagar STEC を用いた。

EHEC が疑われるコロニーについて病原大腸菌免疫血清を用いて血清型を確認し、TSI 培地、LIM 培地、CLIG 培地に接種し、37°C24 時間培養後生化学性状を確認した。検出した O157、O26、O111 について、大腸菌ベロトキシン（VT）検出キットにより VT 型別を確認した。

遺伝子解析：分離された EHEC について、パルスフィールドゲル電気泳動（PFGE）法により DNA を制限酵素（Xba I）で切断し、電気泳動後 SYBR-Green で染色、紫外線撮影を行い、遺伝子解析ソフト（FP Quest）を用いてバンドパターンを比較した。

## 結果

10農場550頭のうち7農場16頭(2.9%)からEHEC16株が分離された。分離株のVT型はVT2が8株、VT1及びVT2が8株で、血清型別は、16株全てがO157で、O26、O111は分離されなかった。

月別の分離状況は、8月が4株、9、10月が各3株、4月が2株、5月、6月、11月及び1月が各1株、農場別では7農場のうち4株分離された農場が1農場、3株が1農場、2株が4農場、1株が1農場であった(表)。

16株中15株で実施したPFGEパターンは、3株が分離されたB農場の3株中2株(8及び10月の分離株)とF農場の2株でそれぞれ一致したが、その他複数株が分離された4農場(A、C、D及びE農場)では、それぞれの株間でのPFGEパターンの一致は認められなかった。

表 農場及び月別のEHEC(O157)分離状況

農場	4月	5月	6月	7月	8月	9月	10月	11月	12月	1月	2月	計
A					1	1	1	1				4
B					1	1	1					3
C	1					1						2
D			1				1					2
E	1	1										2
F					2							2
G										1		1
H												0
I												0
J												0
計	2	1	1	0	4	3	3	1	0	1	0	16

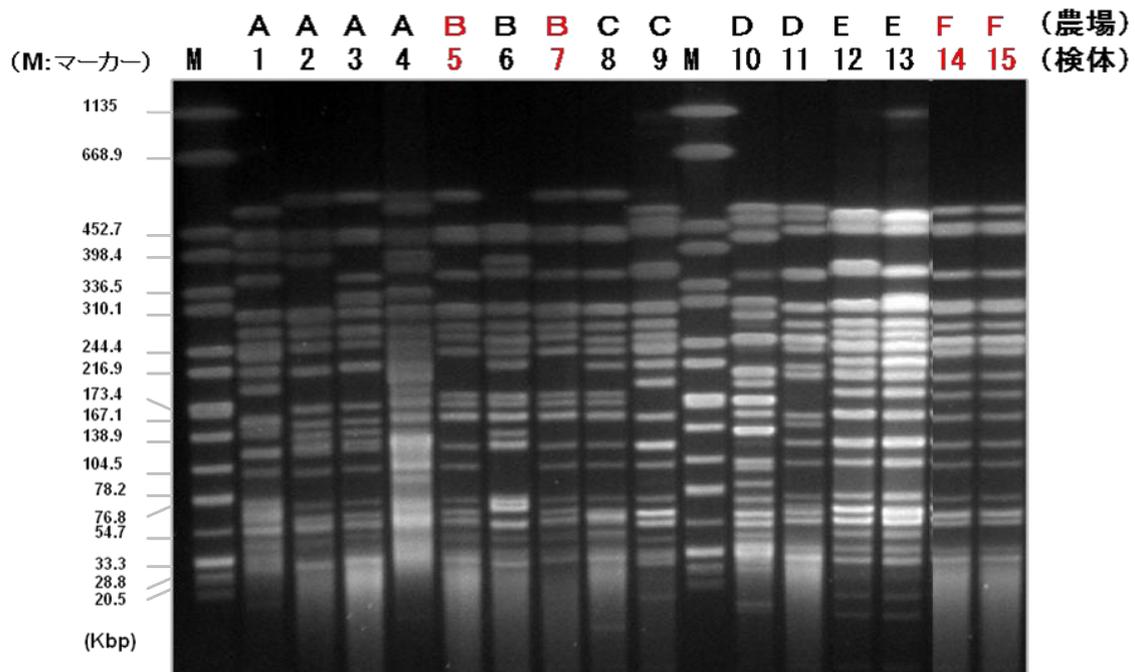


図 分離菌株のPFGEパターン

## 考察

調査牛のEHEC保菌率は2.9%であったが、月別では、8～10月に多く分離され、7～10月に限ると5.0%であり、重茂らの報告<sup>2)</sup>にあるように夏季に多く分離される傾向にあった。改めて夏季における衛生管理の重要性が確認されるとともに、今後、農場のEHEC保菌状況を継続調査する上で、保菌率の高い夏季に限定して、集約調査することが有効と考えられた。

今回、分離されたEHEC O157 16株すべてがVT2産生株であった。VT2はVT1に比べヒトに対して強毒であると言われており<sup>3)</sup>、公衆衛生上より留意すべきものと考えられた。

農場別では10農場中3農場(30%)ではEHEC保菌牛が確認されなかった。一方、保菌牛が確認された7農場(70%)での分離株数は1～4株で、農場間での差が認められた。農場牛群での保菌の有無又は程度には差がある可能性が示唆され、今後サンプル数を増やして有意差を検証していきたい。

PFG Eパターンからは、複数株が検出された2農場(B、F農場)の2株でパターンの相同性が認められたが、B農場の2株は分離月が異なることから、飼養環境が継続的に汚染されている可能性が示唆された。

昨年4月の大規模食中毒事件を受け、国は、従前の衛生規範に代わり生食用牛肉の規格・基準を法定化した。地方自治体においても、これまで以上に食品取扱事業者や消費者に対する啓発活動に力を注ぐ必要がある。一方、と畜場においては、EHECの保菌を前提とした衛生管理全般を見直し強化する一方、と畜牛そのものの保菌リスクに着目し、低リスクから高リスク牛群へと段階と畜する、あるいは、高リスク牛群を特定日で集約処理するといった汚染源を区別化する視点が求められる。区別化に伴う経済面への影響や、リスク評価に伴う風評被害への配慮等ハードルは高いが、低年齢者を中心に5名の死者を出した事実は重い。今後、農場数を拡大して継続調査していく中で前向きに検討していきたいと考えている。

また、今回の調査結果及び今後の継続調査において農場間での保菌状況をより詳細に把握し、随時、家畜保健衛生所等畜産部局に情報還元することで、農場における家畜の衛生管理、特に、飼養環境改善への一助になればと考えている。

最後に、調査にあたりご指導いただいた愛知県豊川保健所蒲郡保健分室の筒井氏に深謝いたします。

## 参考資料

- 1) 食品安全委員会：食品健康影響評価のためのリスクプロファイル 18-21(2010)
- 2) 重茂克彦、品川邦汎：日本国内における牛の腸管出血性大腸菌保菌状況と分離菌株の薬剤感受性、JVM獣医畜産新報,62,807-811(2009)
- 3) 藤井潤：ベロ毒素に関する新たな知見、化学療法の領域,25,39-48(2009)