

牛レバー内部における腸管出血性 大腸菌等の汚染実態調査(概要)

岩手大学 特任教授・名誉教授
品川邦汎

○内容

牛レバーの腸管出血性大腸菌の汚染実態状況について、全国16か所の食肉衛生検査所における調査及び文献調査を行った。

・ 調査項目:

1. 同一牛の糞便、胆嚢胆汁、肝臓表面(拭き取り)及び肝臓内部について、腸管出血性大腸菌の分離培養及び遺伝子検査(一部の機関で大腸菌、大腸菌群の検査も実施)
2. 胆汁中及び肝臓表面の大腸菌群の汚染実態調査(追加試験)
3. 牛胆汁における腸管出血性大腸菌の増殖性試験

・ 調査期間: 8～11月

○調査協力機関

秋田県、山形県、埼玉県、さいたま市、東京都、神奈川県、静岡県、岐阜県、大阪市、兵庫県、岡山県、鳥取県、徳島県、愛媛県、大分県及び宮崎県の食肉衛生検査所

汚染実態調査

○ サンプルング方法

- ・糞便: 肛門もしくは直腸より採取
- ・肝臓: 内臓摘出時に滅菌トレイで衛生的に採取した検体、通常の内臓検査前後、もしくは内臓業者から購入したものを使用
- ・肝臓表面は拭き取り、肝臓内部は左葉を中心に採取(アルコール綿で表面の清拭、火炎殺菌等実施し、交差汚染のないよう採取)
- ・胆汁は注射器により採取

○ 供試検体量

糞便(1g)、胆汁(5ml)、肝臓内部(25g)又は肝臓表面(100cm²以上)を増菌培養後、分離培養又は遺伝子検出を実施

○ 使用培地

- ・増菌用培地: ノボビオシン加mEC培地
- ・O157分離培養: O157(CT-SMAC、クロモアガー) 等

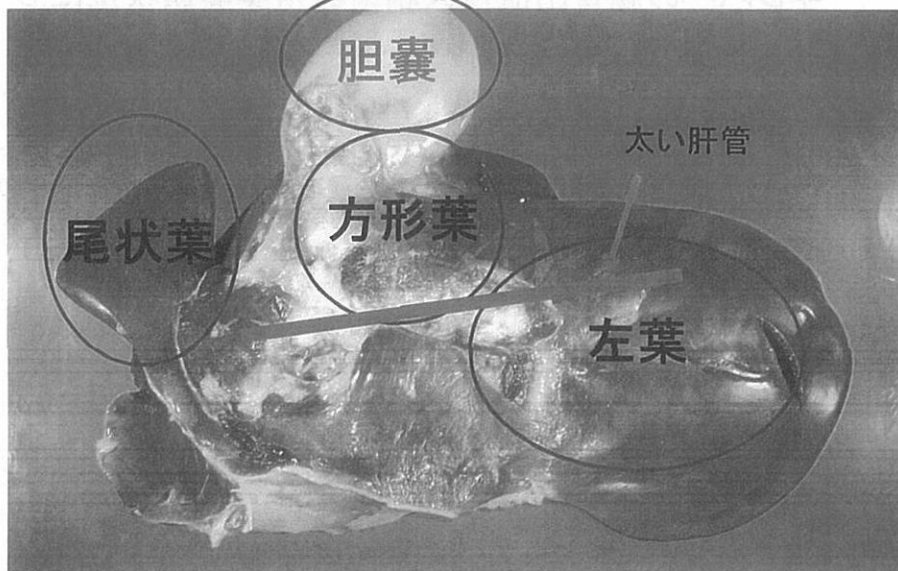
○ 遺伝子検出

- ・O157、VT-1、VT-2の混合プライマー

(O157&ペロ毒素遺伝子同時検出キット、O157 VT1/2 One Shot PCR Typing Kit Ver.2 (いずれもタカラバイオ社製) 等)

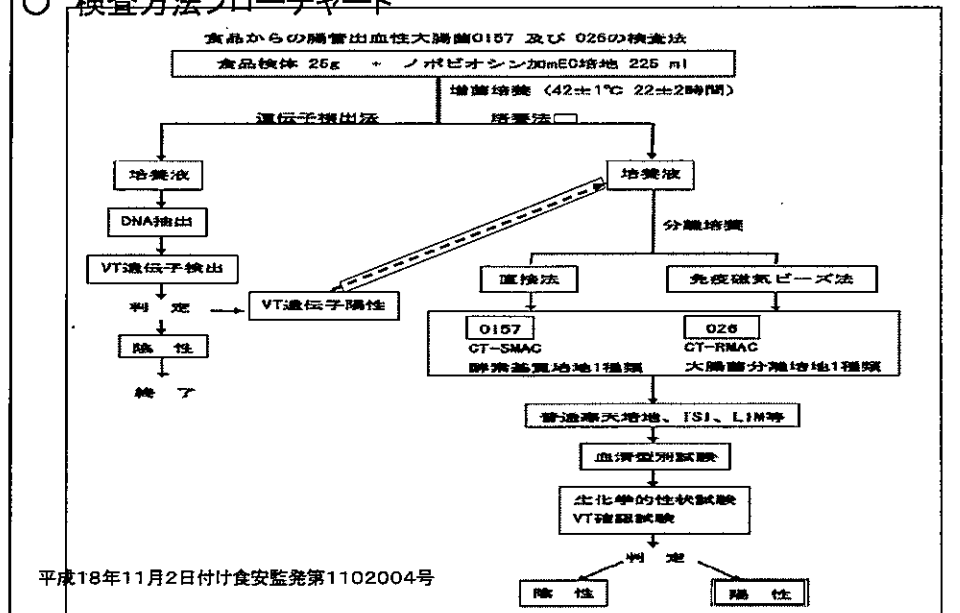
汚染実態調査

○ 牛肝臓の検体採取部位



汚染実態調査

○ 検査方法フローチャート



汚染実態調査

○ 結果(腸管出血性大腸菌EHEC) (速報値)

		糞便	胆汁	肝臓表面	肝臓内部
分離培養	検体数	173	186	193	173
	EHEC	20	0	13	3
	うちO157	11	0	5	2
遺伝子	検体数	155	168	178	157
	検出数	64	1	35	10
	うちVT1	5	1	5	0
	うちVT2	35	0	20	4
	うちVT1 or 2	13	0	9	1
	うちVT1 & 2	11	0	1	5

VT: ペロ毒素

汚染実態調査

○ 結果(大腸菌) (速報値)

実施機関	検体数	陽性数			
		糞便	胆汁	肝臓表面	肝臓内部
4	50	35	9	28	11

○ 追加試験結果(胆汁及び肝臓表面の大腸菌群数) (速報値)

	胆汁	肝臓表面
検体数	159	140
検出件数	16	93
菌数	$<10^2$ (/ml) : 7検体 $10^3 \sim 10^4$ (/ml) : 3検体 $10^5 <$ (/ml) : 6検体	$5 \times 10^{-2} - 8.4 \times 10^3$ (/cm ²)

注) 菌数は陽性検体における菌数の範囲

牛胆汁における腸管出血性大腸菌の増殖性①

○ 調査概要

供試検体: 牛胆汁

調査期間: 平成23年9月下旬

○ 調査概要

採取した10頭分の牛胆嚢胆汁のうち菌未発育の6頭分の胆汁を用いて、以下の①、②の腸管出血性大腸菌の増殖試験を実施。

① プール胆汁における腸管出血性大腸菌の増殖態度

6頭分の胆汁全てを混合したプール胆汁に3種類の菌液(A、B、C)を接種し、37℃で一晩培養。

② 胆汁の違いによる腸管出血性大腸菌の増殖態度

各胆汁(6頭分)に菌液Aを接種し、37℃で一晩培養。

<増殖試験に用いた菌液>

菌液A: O157VT1&2、菌液B: O157VT2、菌液C: O26VT1

牛胆汁における腸管出血性大腸菌の増殖性②

○ 結果

① プール胆汁における腸管出血性大腸菌の増殖態度

	スタート時菌量(/ml)	培養後菌量(/ml)
①プール胆汁10ml+菌液A 0.1ml	1.9×10^2	$> 10^6$
②プール胆汁10ml+菌液B 0.1ml	2.3×10^2	$> 10^6$
③プール胆汁10ml+菌液C 0.1ml	1.5×10^2	$> 10^6$
④プール胆汁10ml+生理食塩水0.1ml	0	0

② 胆汁の違いによる腸管出血性大腸菌の増殖態度

	スタート時菌量(/ml)	培養後菌量(/ml)
⑤胆汁No.2 10ml+菌液A 0.1ml	1.9×10^2	$> 10^6$
⑥胆汁No.4 10ml+菌液A 0.1ml	1.9×10^2	$> 10^6$
⑦胆汁No.5 10ml+菌液A 0.1ml	1.9×10^2	$> 10^6$
⑧胆汁No.7 10ml+菌液A 0.1ml	1.9×10^2	$> 10^6$
⑨胆汁No.8 10ml+菌液A 0.1ml	1.9×10^2	$> 10^6$
⑩胆汁No.9 10ml+菌液A 0.1ml	1.9×10^2	$> 10^6$
⑪生理食塩水10ml+菌液A 0.1ml	1.9×10^2	50

文献調査:国内文献①

食肉処理場での腸管出血性大腸菌汚染実態

検体	検体数	菌株 分離数	分離率 (%)	血清型	stx型	stx遺伝子 検出数	検出率 (%)	検体採取時期	備考
胆嚢胆汁	548	0	0.0	-	-	2	0.4	2001年9月-2005年3月	*1
胆嚢胆汁	119	0	0.0	-	-	1	0.8	2005年4月-2006年3月 (12月、2月を除く)	
肝臓中心部 (尾状葉)	102	4	3.9	OUT:H11 O157:H21 OUT:HUT OUT:H21	2 1,2 1,2 2	5	4.9	2005年5月-2006年1月 (12月除く)	*2
胆嚢胆汁	318	1	0.3	O91:HUT	1,2	-	-	2004年6月-2007年1月	
肝臓中心部 (尾状葉)	165	7	4.2	OUT:H11 O157:H21 OUT:HUT OUT:H21 O28:HUT O91:HUT OUT:HUT	2 1,2 1,2 2 2 1,2 1,2	-	-	2005年5月-2007年1月	胆汁及び肝臓の O91:HUTの菌株 は、同一牛個体か ら分離。 *3

*1~3: 参考資料6を参照

文献調査: 国内文献②

市販流通品の腸管出血性大腸菌汚染実態

検体	検体数	菌株 分離数	分離率 (%)	血清型	stx型	stx遺伝子 検出数	検出率 (%)	検体採取時期	備考
肝臓(生食用)	10	1	10.0	O127:H-	-	-	-	1994年 (6月、7月、9月)	*4
肝臓(生食用)	24	0	0.0	-	-	-	-	1998年8月-12月	*5
肝臓(生食用)	16	0	0.0	-	-	-	-	1998年度	*6
肝臓(生食用) (肝臓と挽肉合計)	50	0	0.0	-	-	1	-	1999年9月-2000年1月	菌株分離数、stx遺伝子検出数は肝臓のデータ *7
肝臓(生食用)	10	0	0.0	-	-	-	-	1999年度	*8
肝臓	24	2	8.3	O157	1,2	-	-	2000-2004年 (各年7-9月の間)	2分離菌株ともにO157、stx1,2産生 *9
肝臓	15	0	0.0	-	-	-	-	2007年9月-11月	*10
肝臓	15	0	0.0	-	-	-	-	2008年9月-2009年1月	*11
肝臓	36	0	0.0	-	-	5	13.9	2010年7月-11月	stx遺伝子を検出した5検体のうち1検体はO157遺伝子 *12

*4~12: 参考資料6を参照

文献調査: 海外文献①

肉牛の糞便、胆嚢からの腸管出血性大腸菌O157

	検体数	陽性検体数 (%)
直腸便	933	66 (7.1)
胆嚢粘膜スワブ	933	1 (0.1)
胆嚢粘膜組織	933	4 (0.4)

USA:2か所の食肉処理場での調査(2005年5~7月)

Reinstein, S., et al. Prevalence of Escherichia coli O157:H7 in Gallbladders of Beef Cattle. Applied and Environmental Microbiology Feb. 2007: 1002-1004.

文献調査:海外文献②

感染実験牛からの糞便、第一胃、胆嚢からの 腸管出血性大腸菌 O157

感染牛	1グループ	8頭 (雄仔牛: 投与菌数 10^6 cfu, 36日後)
	糞便 (結腸)	7 頭陽性 (菌数 $10^2 \sim 10^3$ cfu)
	第一胃	2 頭陽性
	胆汁	5 頭陽性
感染牛	2グループ	7頭 (雄仔牛: 投与菌数 10^6 cfu, 15日後)
	糞便 (結腸)	5 頭陽性 (菌数 $10^2 \sim 10^3$ cfu)
	第一胃	4 頭陽性
	胆汁	全て陰性 (-)
感染牛	3グループ	8頭 (雄仔牛: 投与菌数 10^6 cfu, 9日後)
	糞便 (結腸)	8 頭陽性 (菌数 $10^2 \sim 10^6$ cfu)
	第一胃	8 頭陽性
	胆汁	8 頭陽性

Jeong, K.C. et al. Isolation of Escherichia coli O157:H7 from the gall bladder of inoculated and naturally-infected cattle. Veterinary Microbiology 119(2007): 339-345.