

第 4 章

研 修 及 び 調 査 研 究

1 技術研修

研修会等の名称	場所	派遣人数	期 間
全国食肉衛生検査所協議会 病理部会	神奈川県	1 名	平成 24 年 5 月 17-18 日
国立保健医療科学院 食肉衛生検査研修	埼玉県	1 名	平成 24 年 6 月 13 日-7 月 6 日
全国食肉衛生検査所所長会議	鹿児島県	1 名	平成 24 年 7 月 18-19 日
岡山県獣医公衆衛生学会	岡山市	3 名	平成 24 年 8 月 3 日
全国公衆衛生獣医師協議会 平成 24 年度全国大会「研修及び 調査研究発表会」	東京都	1 名	平成 24 年 9 月 7 日
日本獣医公衆衛生学会（中国）	山口県	3 名	平成 24 年 9 月 29 - 30 日
全国食肉衛生検査所協議会 理化部会	栃木県	1 名	平成 24 年 10 月 5 日
岡山県獣医師会公衆衛生講習会	岡山市	8 名	平成 24 年 10 月 12 日
全国食肉衛生検査所協議会 中国・四国ブロック会議 及び技術研修会	広島県	3 名	平成 24 年 10 月 25 - 26 日
BSE 対策の再評価に関する食品 健康影響評価に関する説明会	東京都	1 名	平成 24 年 10 月 30 日
全国食肉衛生検査所協議会 病理部会	神奈川県	1 名	平成 24 年 11 月 7 - 8 日
岡山県養鶏研究会研修会	岡山市	2 名	平成 24 年 11 月 15 日
全国食肉衛生検査所協議会 第 31 回微生物部会総会・研修会	埼玉県	1 名	平成 24 年 11 月 22 日
全国食肉衛生技術研修会 衛生発表会	東京都	1 名	平成 25 年 2 月 21-22 日
食鳥肉衛生技術研修会 衛生発表会	東京都	1 名	平成 25 年 2 月 23-24 日
食品に関するリスクコミュニケ ーション（牛海綿状脳症対策の 見直しに関する説明会）	大阪市	1 名	平成 25 年 1 月 24 日

岡山県・岡山市・倉敷市 食品衛生監視員研修会	岡山市	2名	平成25年2月1日
---------------------------	-----	----	-----------

2 講演及び研究発表

年 月 日	学会等の名称	題 名	発 表 者
平成24年 9月29 - 30日	中国地区 日本獣医 公衆衛生学会	と畜場搬入子牛の志賀毒素産生性大腸菌保菌状況	近藤真
		と畜場における牛枝肉の汚染防止の取組とその効果の検証	間狩明美
平成24年 11月7 - 8日	全国食肉衛生検査所協議会 病理部会	牛の肝臓の結節性病変	難波泰治

と畜場搬入子牛の志賀毒素産生性大腸菌保菌状況

近藤 真

1. はじめに：志賀毒素産生性大腸菌(以下、「STEC」とする)のうち O157 等ヒトに危害を及ぼす腸管出血性大腸菌による食肉や内臓肉の汚染が問題とされており、STEC は牛の消化管内に高率で保菌され、また成牛肝臓内部から O157 が検出されたとの調査結果も示されている。一方、生後 1 カ月未満の子牛を対象とした調査報告は少ないため、当検査所管内の T と畜場で解体処理される子牛の STEC 保菌状況を調査したので概要を報告する。

2. 材料および方法：調査期間・対象は、平成 24 年 1 月～5 月、18 生産者が搬入した子牛 49 頭、検体は全頭の肝左葉実質(以下、「肝」とする)、及び 36 頭の盲腸粘膜ふき取り(以下、「盲腸」とする)とした。検査方法は、N - mEC 液体培地で 42℃一晩増菌培養後、増菌液の PCR 法による Stx 遺伝子スクリーニング[®]を行い、陽性増菌液を DHL 寒天平板等に塗抹培養した。各培地から大腸菌様コロニーを釣菌し、ボイノ培地に塗抹し、溶血性を示した菌株を、再度 PCR 法により Stx 遺伝子を確認した。陽性菌株は、VTEC-RPLA「生研」による逆受身ラテックス凝集反応、病原大腸菌免疫血清「生研」による O、H 抗原の同定と、PCR 法による *eaeA* 遺伝子、*hlyA* 遺伝子の検出を行った。

3. 成績：Stx 遺伝子スクリーニング[®]で肝、盲腸いずれかでも陽性となった生産者は 12 戸(67%)で、肝では 15 頭(31%)が陽性、うち 6 頭(12%)から 7 株の STEC が分離され、O 抗原及び Stx 型は O 型別不能(以下、「OUT」とする)が 3 株(Stx1 2 株、Stx2 1 株)、O111 が 2 株(Stx1 2 株)、O8(Stx2)、O103(Stx1)がそれぞれ 1 株だった。同様に盲腸では 9 頭(25%)が陽性、うち 4 頭(11%)から 5 株の STEC が分離され、OUT が 3 株(Stx1 2 株、Stx2 1 株)、O8(Stx2)、O111(Stx1)がそれぞれ 1 株だった。*eaeA* 遺伝子は、肝では 4 株で陽性、OUT の 2 株及び O8 の 1 株で陰性、盲腸では 2 株が陽性、OUT の 2 株及び O8 の 1 株が陰性だった。*hlyA* 遺伝子は全菌株で陽性だった。

4. 考察：今回肝の Stx 遺伝子スクリーニング[®]陽性率は、H23 年厚労省調査結果の 6.4%よりも高率であった。*eaeA*・*hlyA* 遺伝子を持ち、Stx 産生性である STEC が分離されており、これらは人への病原性をもっている可能性が十分にあると考えられる。O157 や O26 等の食中毒等の原因となる主要な血清型ではないが、病原性のある STEC が、生後 1 カ月未満の子牛により高率に保菌されていると考えられる。

と畜場搬入子牛の志賀毒素産生性大腸菌保菌状況

岡山県食肉衛生検査所
近藤 真

1 はじめに

志賀毒素産生性大腸菌(STEC)のうち、腸管出血性大腸菌による食肉や内臓肉の汚染が問題

H23: 焼き肉・ユッケによる食中毒
(富山県・福井県)

H21: 角切りステーキによる食中毒
(埼玉県等6都府県)

1 はじめに

- STECは牛の消化管内に高率で保菌
- 成牛のSTEC保菌率について多数報告
- 成牛肝臓内部からO157が検出
(牛肝臓生食禁止の科学的根拠)

子牛を対象としたSTEC保菌報告は少ない

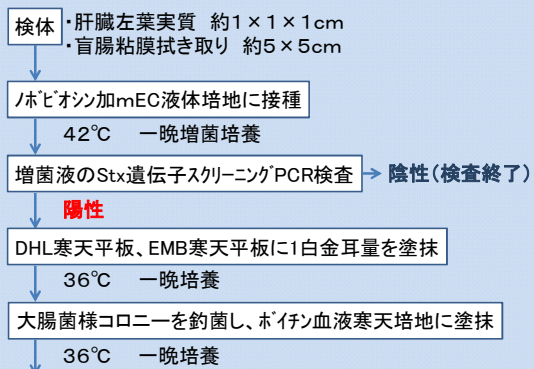


生後一カ月未満の子牛の保菌状況を調査

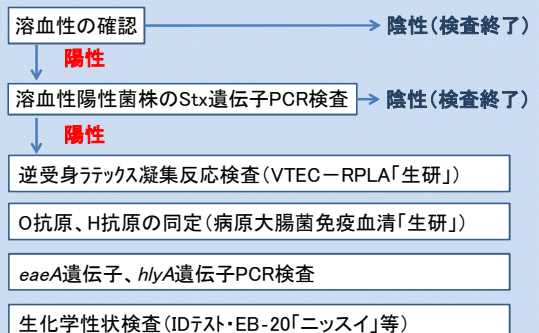
2 材料及び方法

- 調査期間 平成24年1月から5月まで
- 調査対象 Tと畜場に18生産者から搬入された子牛49頭
- 検 体 49頭の肝臓左葉実質
36頭の盲腸粘膜拭き取り

2 材料及び方法(検査方法)



2 材料及び方法(検査方法)



3 成績

- 肝臓左葉実質

Stx遺伝子スクリーニングPCR陽性→15/49頭(31%)

STEC分離→6/49頭(12%)

血清型	分離株数	Stx(+)		eaeA(+)	hlyA(+)
		1	2		
O8H19	1		1		1
O103H11	1	1		1	1
O111HUT	2	2		2	2
OUTHUT	3	2	1	1	3
合計	7	5	2	4	7

3 成績

- 盲腸粘膜拭き取り

Stx遺伝子スクリーニングPCR陽性→9/36頭(25%)

STEC分離→4/36頭(11%)

血清型	分離株数	Stx(+)		eaeA(+)	hlyA(+)
		1	2		
O8HUT	1		1		1
O111HUT	1	1		1	1
OUTHUT	3	2	1	1	3
合計	5	3	2	2	5

3 成績

- 増菌液のStx遺伝子スクリーニングPCR検査

肝臓左葉実質 陽性
 or, and
 盲腸粘膜拭き取り 陽性

 →12/18生産者
 (67%)

	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	L
肝臓	1/2	1/2	0/2	2/2	1/2	1/2	2/3	1/3	1/3	2/4	0/5	3/10
盲腸	1/1	0/0	1/2	0/1	1/2	0/1	0/1	1/3	1/2	1/3	1/5	2/7

(陽性頭数/検査頭数)

4 考察

- 今回調査

	Stx遺伝子検出率	STEC分離率
肝臓左葉	31%(15/49)	12%(6/49)
盲腸粘膜	25%(9/36)	11%(4/36)

- H23厚生労働省調査(品川ら)

	Stx遺伝子検出率	EHEC分離率
肝臓内部	6.4%(10/157)	1.7%(3/173)
糞便	41.3%(64/155)	11.6%(20/173)

4 考察

- eaeA遺伝子、hlyA遺伝子の両方を有するものが最もヒトへの病原性が強い(小林ら)

	eaeA & hlyA(+)	hlyA(+のみ)
牛由来STEC	18%(20/111)	32%(36/111)

- 今回調査

	eaeA & hlyA(+)	hlyA(+のみ)
肝臓左葉実質	57%(4/7)	43%(3/7)
盲腸粘膜拭き取り	40%(2/5)	60%(3/5)
合計	50%(6/12)	50%(6/12)

まとめ

- STEC保菌率
 - 消化管内 一カ月未満の子牛≒成牛
 - 肝臓内部 **一カ月未満の子牛>成牛**
 - 子牛の方が肝臓内部へ移行しやすい可能性

- 子牛から分離されたSTECは高率にeaeA, hlyA遺伝子両方を持つ



ヒトへの病原性のあるSTECが子牛肝臓内部に高率に存在する可能性

と畜場における牛枝肉の汚染防止の取組とその効果の検証 間狩明美

1. はじめに：昨年4月死者5名を出した腸管出血性大腸菌食中毒事件以来、当所では、腸管内容物による牛枝肉の汚染防止を最重要課題と位置づけ、解体作業による内臓破損、結紮不適、枝肉の汚染の目視確認(以下「目視調査」)及び色紙による汚染部位の除去指示の取組を実施している。今回、本取組の効果を検証する目的で再度実施した衛生指導(以下「指導」)前後の牛枝肉の汚染実態調査結果について、概要を報告する。

2. 材料および方法：目視調査結果は2011年6月から2012年6月まで、指導前3415頭、指導後302頭について集計した。細菌検査は、①指導前:2012年5月にTと畜場において処理された牛枝肉30頭分、②指導後:2012年6月に処理された40頭分について拭取検査を行い、一般細菌数(以下「SPC」)、大腸菌群数(以下「CF」)、カンピロバクター属菌(以下「C.属菌」)について調査した。SPC、CFはペトリフィルム、C.属菌はバイダスアッセイキットカンピロバクターにより判定し、陽性となったものについては、性状試験を行った。

3. 成績：目視調査:食道結紮及び肛門結紮の不適率並びに直腸の破損率は指導後に各々28%→18%、5.7%→2.7%、10%→4.3%に低下したが、十二指腸の破損率は改善されなかった。枝肉の汚染については、指導後に胸部、前肢及び頸部の汚染率が各々31%→13%、63%→36%、13%→3.6%に低下した。細菌検査:SPC及びCFともに胸部、肛門周囲部において指導後に減少傾向にあり、特に胸部のSPCでは 2.3×10^2 cfu/cm²から 8.8×10 cfu/cm²へ減少した。C.属菌は指導前後ともに肛門周囲部から、1件検出された。

4. 考察：細菌検査成績で、取組開始後、汚染指標菌であるSPC、CFが継続的に減少傾向にあることから、本取組は牛枝肉の汚染防止対策として有効に機能しているものと考えられる。また、指導後、細菌検査の成績や枝肉の汚染状況が改善されていることから、本取組の有効性を高めるためには、衛生指導の反復実施が重要であると考えられる。なお、C.属菌が指導後にも肛門周囲部で検出されたのは、これまでの指導が主に前駆部を対象にしたものであったためと考えられるので、今後は後駆部についても指導を徹底し、牛枝肉の衛生確保を図っていきたい。

と畜場における牛枝肉の 汚染防止の取組とその効果の検証

岡山県食肉衛生検査所
間狩明美

目的

2011年4月 肉の生食による腸管出血性大腸菌
食中毒事件 — 死者5名

腸管内容物による牛枝肉の汚染防止の取組強化

1年近く経過したため、再度衛生指導を実施し、
指導前後の牛枝肉汚染状況を比較

取組の効果を検証

牛枝肉の汚染防止の取組 ①

目視調査

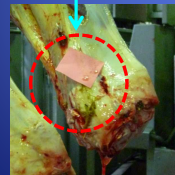
- 内臓摘出時に腸管等が破損していないか
- 食道結紮・肛門結紮ができていないか
- 枝肉が汚染されていないか
胸部、前肢、頸部



牛枝肉の汚染防止の取組 ②

汚染部位の除去指示

汚染部位に色紙貼付を
して除去指示



再度指導した内容

- ◆ 腸管等の破損防止
- ◆ 食道結紮・肛門結紮の確実性
- ◆ 汚染部位の広範囲なトリミング
- ◆ 器具・手指の洗浄・消毒

材料及び方法

◆ 目視調査：2011年6月～2012年6月
指導前 3415頭 指導後 302頭

◆ 指導実施日：2012年5月28日

◆ 細菌検査： 指導前 2012年5月 30頭
指導後 2012年6月 40頭

検査項目：一般細菌数、大腸菌群数、
カンピロバクター属菌

一般細菌数・大腸菌群数の検査方法

ペトリフィルム

◆一般細菌数 (SPC)

ACプレート(36°C 48±3時間)

希釈倍率: 原液、10倍、100倍

◆大腸菌群数 (CF)

CCプレート(36°C 24±2時間)

希釈倍率: 原液、10倍

カンピロバクター属菌の検査方法

プレストン培地

↓ 42°C、24時間、微好気培養

バイダスアッセイキット カンピロバクター

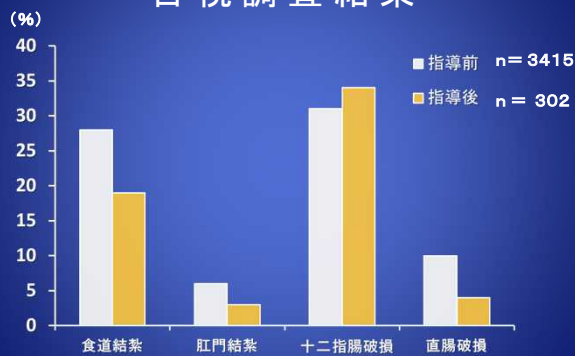
↓ 陽性

CCDA培地

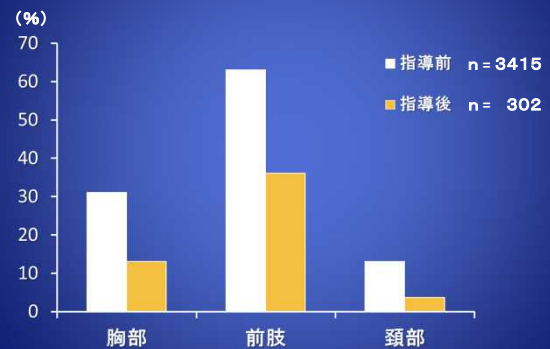
↓ 42°C、48時間、微好気培養

性状試験(運動性試験、グラム染色、オキシダーゼ試験)

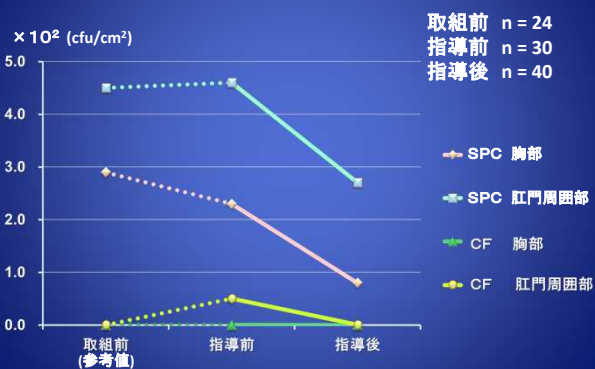
目視調査結果



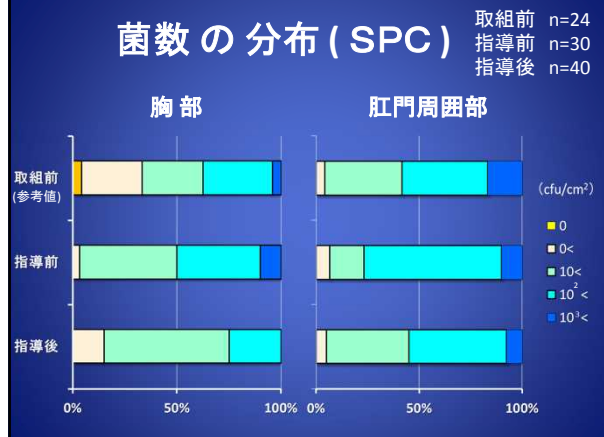
枝肉汚染率

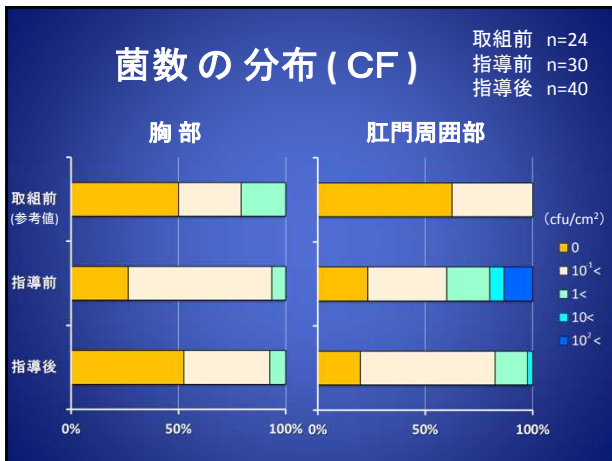


平均菌数の推移 (SPC & CF)



菌数の分布 (SPC)





カンピロバクター属菌検出

拭取部位	検出数	検出率
胸部	指導前 0/30頭	0.0%
	指導後 0/40頭	0.0%
肛門周囲部	指導前 1/30頭	3.3%
	指導後 1/40頭	2.5%

考察 (1)

- 腸管等の破損の防止、食道結紮・肛門結紮の確実性、汚染部位の広範囲なトリミング
↓
取組前と比較して、一般細菌数、大腸菌群数が減少
目視調査及び色紙による汚染部位の除去指示の取組は有効
- 再指導後、細菌検査結果がさらに改善
目視調査結果及び枝肉汚染率が改善
より効果的に機能するためには、指導の反復実施が重要

考察 (2)

- カンピロバクター属菌は、指導前後とも、胸部では検出されなかったが、肛門周囲部より各1件検出
これまでの指導が、主として、より汚染度の高い前駆部を対象にしたものであったため
↓
前駆部で馴致した汚染部位除去指示を、後駆部においても徹底、トリミング強化を指導する。
牛枝肉の衛生確保

牛の肝臓の結節性病変 難波 泰治

動物名：牛 品種：ホルスタイン 性別：雌 年齢：5歳

病歴：急性乳房炎。搬入の約1週間前より乳房炎の治療を行っていた。

生体所見：病畜として搬入。栄養状態は、普通。起立状態で搬入。左乳房に硬結あり。

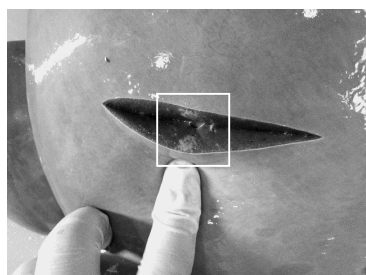
肉眼所見：肝臓横隔膜面に米粒大の黄白色斑を数個肉眼で確認できた。そのうちのいくつかは、やや陥没していた。触診により大豆大～小豆大のやや硬結感のある結節が十数個あることを確認した。また、臓側面には、同様の結節を2つ触知できた。これらの結節は肝臓表面付近に散見され、深部には結節は見られなかった。これらの結節の断面は、黄白色で周囲が不整な微小結節巣が集まったもので一部は花弁状を呈していた。一部の結節の中心部では出血が確認できた。

肝リンパ節はやや腫脹し、断面では、一部出血が見られた。その他の所見としては、左前乳房の乳房炎と肺の右前葉に肺炎が見られた。

組織所見：肝臓の結節は、正常組織との境界は不明瞭で、その中心は壊死巣が見られ、出血を伴っていた。壊死巣の周囲はリンパ球が浸潤し、その外側を類上皮細胞やマクロファージが囲うように観察された。壊死部には、ヘマトキシリンに淡染する真菌の菌糸と思われる管状構造物がみられた。この管状構造物は、PAS染色で陽性を示した。正常部位の小葉間結合組織にも、炎症の細胞浸潤が見られた。

肝リンパ節では、びまん性に好酸球が浸潤していた。PAS染色において真菌様構造物は観察できなかった。

固定：10%中性緩衝ホルマリン
切り出し部位：肝臓（横隔膜面 右葉）



行政処分：一部廃棄
組織診断名：真菌性肉芽腫
疾病診断名：真菌性肉芽腫性肝炎

牛の肝臓の結節性病変

岡山県食肉衛生検査所
難波 泰治

動物：牛
品種：ホルスタイン
性別：雌
月齢：66ヶ月齢
病歴：

4月30日 左前乳房炎発症

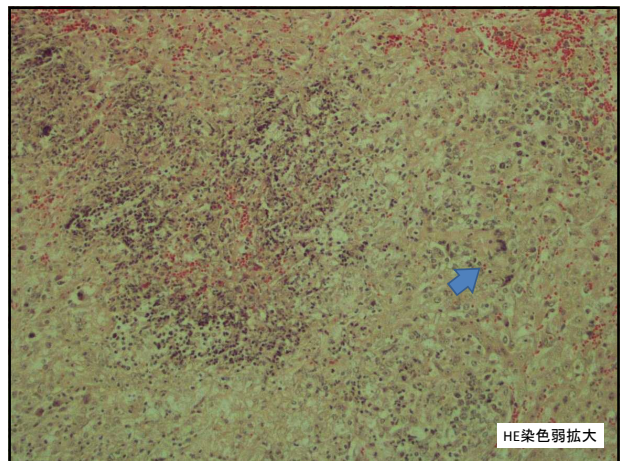
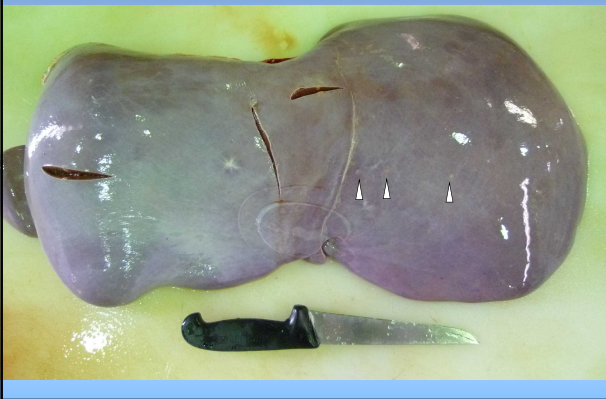
5月1日 起立不能、黒色下痢、体温低下

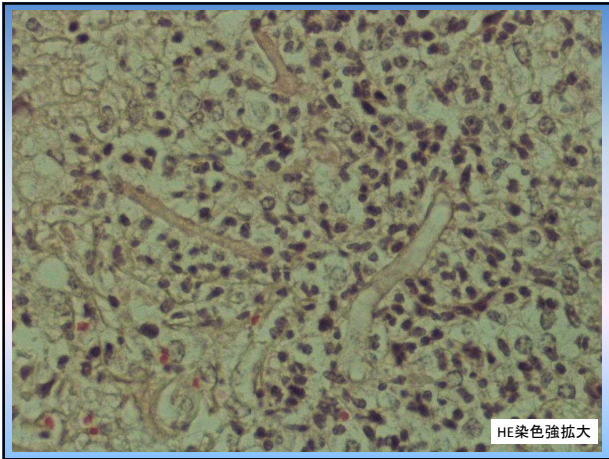
5月4日 セファゾリンナトリウム投与（静注）

5月8日 病畜として搬入

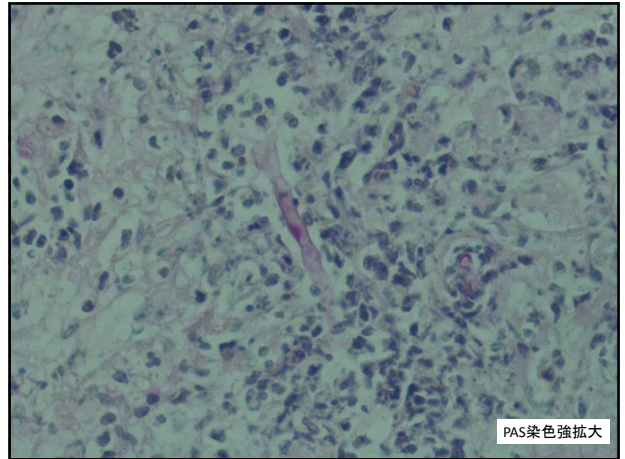
生体検査時：栄養状態は普通。起立状態で搬入。

肝臓横隔膜面

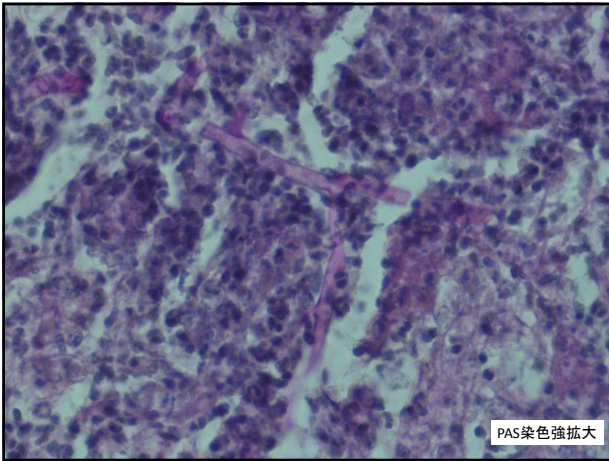




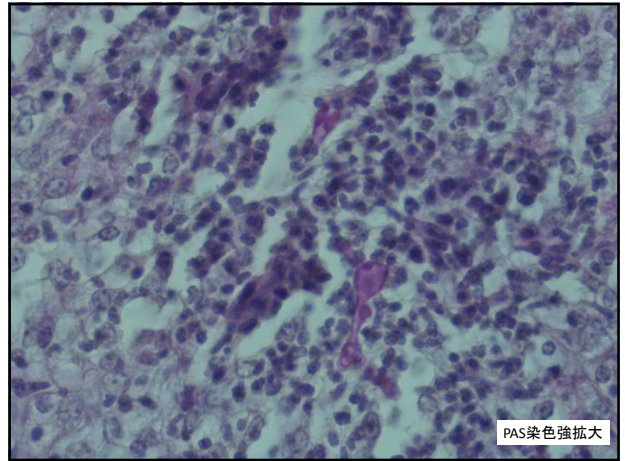
HE染色強拡大



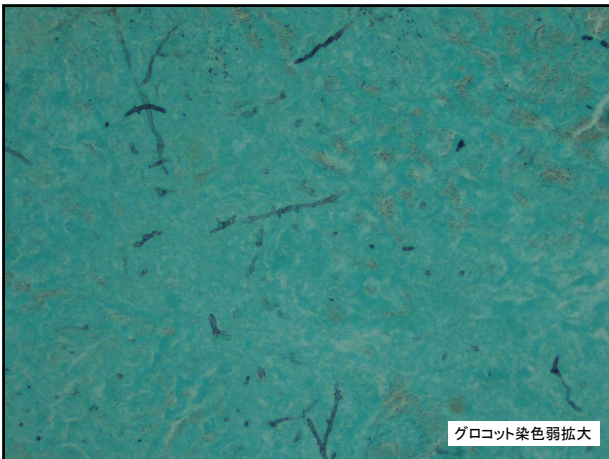
PAS染色強拡大



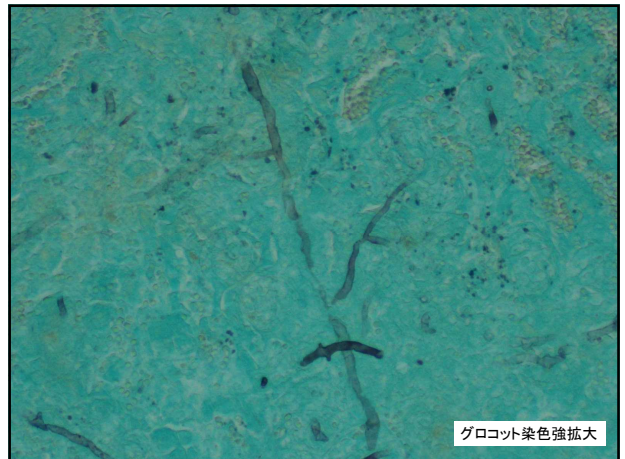
PAS染色強拡大



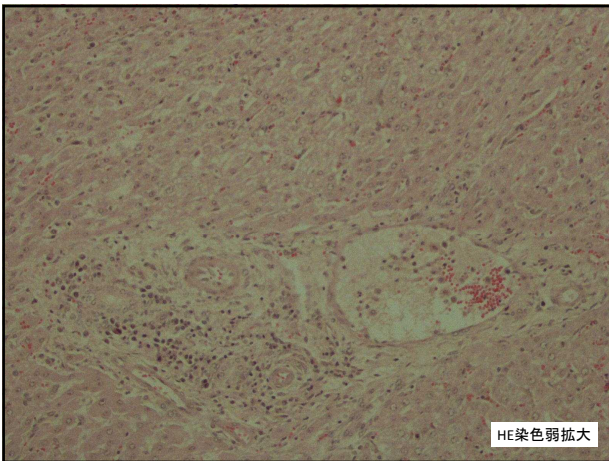
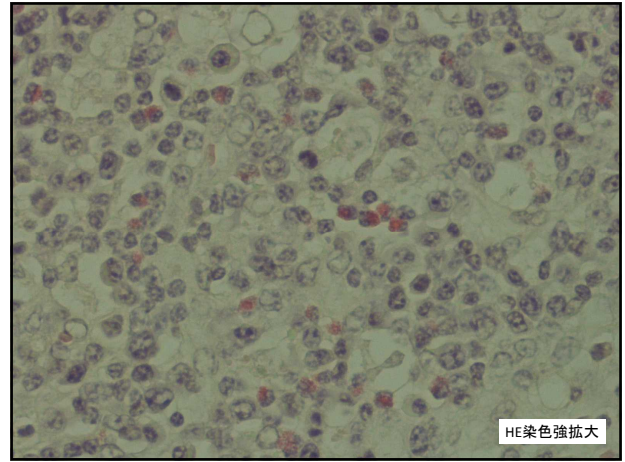
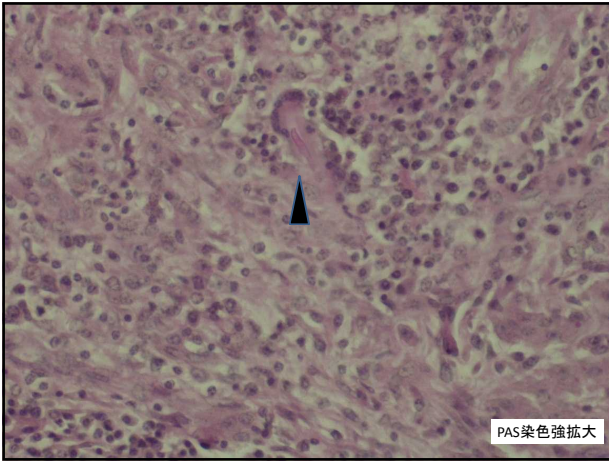
PAS染色強拡大



グロコット染色弱拡大



グロコット染色強拡大



組織診断名：真菌性肉芽腫

疾病診断名：真菌性肉芽腫性肝炎