

千葉県産の豚及びイノシシにおける病原性エルシニアの保有状況と食肉の汚染状況について

東総食肉衛生検査所

○倉橋浩一 太田茉里 宗像佳菜子 佐藤重紀

1. はじめに

Yersinia 属菌は、腸内細菌科に属するグラム陰性通性嫌気性桿菌で、4°C以下でも発育可能な低温細菌である。食中毒を引き起こす病原性エルシニアは、病原因子を保有した *Y. enterocolitica* (以下 *Y. e*) 及び *Y. pseudotuberculosis* (以下 *Y. p*) の 2 種であり、事例は全国的にも少ないが、過去に患者数 500 人を超える集団感染例¹⁾も報告されている。その推定原因食品は不明なことがほとんどだが、本菌に汚染された井戸水、加熱不十分の豚肉や二次的に汚染された食品等が考えられている。また、豚は病原性エルシニアの主要な保菌動物としてよく知られている。

豚肉等の食肉は食中毒菌を含む微生物を増殖させないため低温で保管・流通しているが、と畜場や食肉処理業者は、HACCP を用いた衛生管理の中で低温細菌等による危害要因を考慮していく必要がある。

そこで今回、管内の HACCP 導入と畜場に搬入された千葉県産の豚の糞便及び扁桃で、病原性エルシニアの保有状況を調査し危害要因の把握を行った。さらに、枝肉の拭き取り検査により汚染状況を確認し検証を行った。

また、県内の野生鳥獣肉処理施設 A に搬入されたイノシシの糞便においても、同様の検査を実施し、さらに同施設で解体された市販肉の汚染状況調査を行ったので報告する。

2. 材料及び方法

《材料》

(1) 豚の糞便及び扁桃

平成 29 年 10 月に、一般健康畜として搬入された千葉県北総地区 10 農場(A~J)の豚各 5 頭計 50 頭を無作為に抽出し、と畜検査に合格したと体の直腸便及び扁桃各 50 検体を採取した(計 100 検体)。直腸便は約 1 g、扁桃は約 1cm 角に切り取り沸騰水で表面を殺菌し、検体とした。

(2) 豚枝肉の拭き取り検査

平成 29 年 10 月~12 月の計 4 日間において、同と畜場で解体処理された豚枝肉 10 頭分の胸部及び臀部約 100cm²、また、別の豚枝肉 10 頭分の骨盤腔内約 25cm²をそれぞれ滅菌綿棒で拭き取り、検体とした(計 30 検体)。

(3) イノシシの糞便

平成 29 年 11 月~12 月に、県内の野生鳥獣肉処理施設 A に搬入されたイノシシ 6 頭の直腸便を採取し、約 1gを検体とした。

(4) イノシシの市販肉

平成 30 年 1 月に同施設 A で解体されたロットの異なる冷凍イノシシ市販肉(モモ 2、カタ 1)を購入し、それぞれ約 1cm 角に切り取り沸騰水で表面を殺菌し、検体とした。

《方法》

「食品衛生検査指針微生物編 2015」 p284-292 に従い、検査を行った。

各検体を滅菌リン酸緩衝液 9ml に接種し、ボルテックス後、4°C で 3~4 週間培養後、培養液 0.3ml を 0.75% 水酸化カリウム加 0.5% 塩化ナトリウム水溶液 0.3ml に加え、15 秒間アルカリ処理を行い、1 白金耳量を IN 培地に塗抹し、25°C で 48 時間培養した。

その後、*Y. e* 及び *Y. p* を疑うコロニーを 1 検体あたり最大 5 コロニー釣菌し、普通寒天培地に塗抹し、30°C で 24 時間純培養を行い、TSI 寒天培地、LIM 寒天培地、尿素培地、エスクリン寒天培地を用いて生化学性状試験を行い同定した。

また、病原性を調べるため自己凝集性試験を行い、凝集が認められたものを、病原性エルシニアとして陽性とした。

さらに、純培養した菌株から InstaGene Matrix (Bio-Rad 社) を用いて DNA を抽出し、*ail* 遺伝子及び *inv* 遺伝子を標的とするコンベンショナル PCR により *Y. e* 及び *Y. p* のそれぞれに特有の病原遺伝子の検出を試みた。得られた PCR 産物は、電気泳動し、増幅バンドを確認した。PCR の標的領域及びプライマーの塩基配列を表 1 に、反応条件を表 2 に示した。

病原性エルシニアと同定された株は、常法に従い血清型(エルシニア・エンテロコリチカO群別用免疫血清「生研」または偽結核菌群別用免疫血清「生研」)を確認した。

表 1. PCR の標的領域及びプライマーの塩基配列

標的領域	プライマー名	塩基配列(5' -3')
<i>ail</i>	<i>ail</i> -F	TAATGTGTACGCTGCGAG
	<i>ail</i> -R	GACGTCTTACTTGCACTG
<i>inv</i>	<i>inv</i> -F	CGGTACGGCTCAAGTTAATCTG
	<i>inv</i> -R	CCGTTCTCCAATGTACGTATCC

表 2. PCR の反応条件

反応		温度	時間	
熱変性		95°C	10 分	
増幅(25 サイクル)		熱変性	95°C	15 秒
		アニーリング	57°C or 61°C*	30 秒
		伸長	72°C	30 秒
最終反応		72°C	30 秒	

*アニーリング温度
ail 遺伝子領域：57°C
inv 遺伝子領域：61°C

3. 結果

各検体における病原性エルシニアの陽性数と病原遺伝子の保有数を表 3 に示した。Y. e 陽性の検体は全て *ail* 遺伝子を保有していた。

表 3. 各検体における病原性エルシニアの陽性数と病原遺伝子の保有数

		豚			イノシシ	
		糞便(n=50)	扁桃(n=50)	枝肉(n=30)	糞便(n=6)	市販肉(n=3)
Y. e	陽性	19	6	0	0	0
	<i>ail</i> 遺伝子	19	6	0	0	0
Y. p	陽性	0	0	0	0	0
	<i>inv</i> 遺伝子	0	0	0	0	0

血清型は、O3 群が 3 株(うち糞便 2 株、扁桃 1 株)であった。残りの 22 株は、市販の血清型において O 群血清型別不能であった。

農場別の豚糞便及び扁桃における Y. e の陽性数を図 1 に示した。

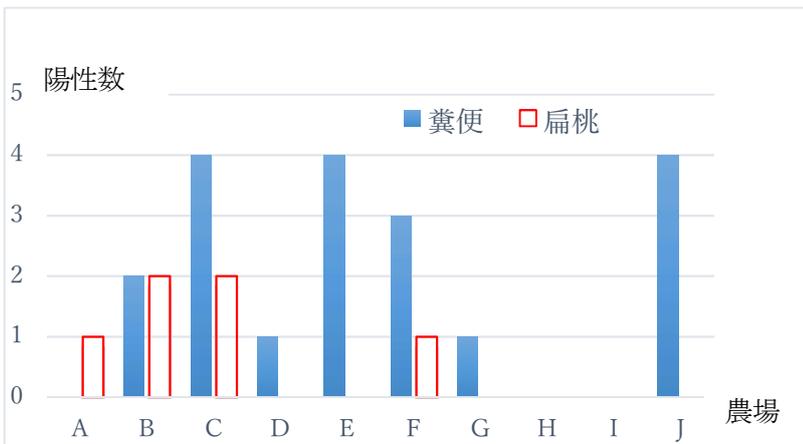


図 1. 農場別の糞便及び扁桃における Y. e の陽性数

4. 考察

今回の調査では、糞便の 38%、養豚場 10 農場中 8 農場から Y. e が分離されたことから、県北総地区の豚に Y. e が広く分布しており、と畜場において病原性エルシニアは危害要因となり得ると分かった。

また、豚の糞便及び扁桃から過去の集団食中毒事例と同じ O3 群が分離されたことから、エルシニア食中毒対策としても、枝肉汚染の除去・低減が重要であることを確認した。しかし、近年の集団食中毒事例の主要血清型である強病原性株の O8 群は、検出されなかった。

当該と畜場では糞便の枝肉汚染が認められた場合、タグを付け個別に汚染箇所のトリミングを行い、トリミング表に記録している。その記録によると、と畜頭数の約 1.2%にタグが付けられその中の約 8 割が肛門処理

の不備により内容物が漏出し骨盤腔内を汚染していたことから、当該と畜場では、骨盤腔が糞便に汚染されやすい箇所と判明した。

当該と畜場の作業従事者は 1 頭ごとに手指やナイフ・刃の洗浄・消毒を行い、糞便汚染を認めた枝肉を適切に区分けし汚染箇所のトリミングを行う一般衛生管理により、食中毒菌汚染の除去・低減を実施している。今回の調査で、トリミング処理した枝肉から病原性エルシニアが全く分離されなかったことから、一般衛生管理により病原性エルシニアの危害要因を除去・低減できることがわかった。

全国食肉衛生検査所協議会 行政問題検討委員会の平成 29 年度「HACCP 導入型基準導入状況調査」²⁾によると、HACCP 導入施設における CCP は、「豚枝肉の冷却・冷蔵保管」が 81 施設中 30 施設、「トリミング」は 4 施設であった。しかし、一年を通じて低温状態が保たれる懸肉室や冷蔵室等の施設は、病原性エルシニアが他の細菌に比べて優位に増殖しやすい環境である。そのため、冷蔵庫内の枝肉、カット肉や施設の低温細菌による汚染実態を明らかにする必要があると思われる。

近年、野生鳥獣による農作物被害防止のため、イノシシを含むジビエの食利用が盛んに行われている。県が、イノシシの捕獲・狩猟に関する規制を緩和したことから処理頭数の増加が見込まれるため、野生鳥獣肉処理施設においても、なおいっそう、衛生的な取り扱いをする必要がある。今回、イノシシの糞便及び冷凍市販肉から病原性エルシニアは分離されなかった。しかし、Hayashidani らの報告³⁾によると、日本の野生イノシシの糞便の 4% から *Y. p* が分離されている。これらのことから、今後、枝肉の拭き取り等を行い、さらに野生鳥獣肉処理施設における低温細菌による汚染実態を明らかにしていきたい。

今後も事業者に対し HACCP を用いた衛生管理の重要性を啓発していくとともに、衛生管理向上の一助となる調査研究を行いその結果を還元することで、より安全な食肉を消費者に提供していくことに寄与していきたい。

5. 参考文献

- 1) 東京都微生物検査情報 エルシニアによる集団食中毒事例と豚肉からのエルシニア検出状況 38 (5), 1-6 (2017)
- 2) 全国食肉衛生検査所協議会 行政問題検討委員会 : と畜場、食鳥処理場への HACCP 導入 (PDF) (平成 29 年度全国所長会議第 2 部資料)
http://www.mic-net.ne.jp/micnet/gyousei_data.html (平成 30 年 2 月 16 日現在)
- 3) Hayashidani H, *et al.* : Occurrence of yersiniosis and listeriosis in wild boars in Japan, *Journal of Wildlife Diseases* 38 (1), 202-205 (2002)