

# 第3章 調査研究

# 令和3年度 調査研究

- 1 管内と畜場で分離された牛肺炎由来菌の薬剤感受性  
知覧食肉衛生検査所 飯尾 岳史
- 2 管内と畜場に搬入された豚における *Escherichia albertii* 保菌状況調査  
鹿屋食肉衛生検査所 中村 昂紀
- 3 鶏の肝臓における食中毒菌等の汚染状況調査  
阿久根食肉衛生検査所 大坪 由紀子
- 4 牛肉表面のSTEC汚染に対する薬剤による消毒効果の検討  
志布志食肉衛生検査所 福留 祐香
- 5 豚カット処理施設における低温細菌の分離と発育温度の検討  
串木野食肉衛生検査所 小牟田 綾
- 6 と畜検査でみられたパスツレラ科細菌による全身性感染症  
大口食肉衛生検査所 日高 遼太郎
- 7 牛の横隔膜胸腔面にみられたB細胞性リンパ腫の1症例  
志布志食肉衛生検査所 三好 文暁
- 8 高速液体クロマトグラフィー(HPLC)を用いた豚肉中のβアゴニスト系薬剤定量法の検討  
末吉食肉衛生検査所 栗脇 裕弥

# 管内と畜場で分離された牛肺炎由来菌の薬剤感受性

○飯尾岳史 堀豊<sup>1)</sup> 松野下満仁 宇都浩二

知覧食肉衛生検査所 <sup>1)</sup>名瀬保健所

## はじめに

管内のと畜場Aには日常的に牛の緊急搬入があり、令和元年度は423頭の牛が緊急と畜されている。そのうち肺炎等の呼吸器系疾患により搬入された牛は137頭で、緊急搬入の主要な原因となっている(図1)。肺炎による搬入牛は、その治療過程において複数の抗生物質による治療を受けている場合が多いものの、期待される臨床効果が得られず、最終的に予後不良として持ち込まれている。そこで薬剤耐性菌の出現を疑い、肺炎と診断された緊急搬入牛の肺病変部から細菌を分離し薬剤感受性試験を実施したのでその概要を報告する。

## 材料と方法

平成31年4月から令和2年3月まで管内と畜場Aに緊急搬入された肺炎診断牛から無作為に抽出した43頭の肺病変部から細菌分離を試みた。細菌分離は、肺病変部を血液寒天培地に直接スタンプ及びマイコプラズマ液体培地に細切して培養し、簡易キット(Api)とPCRにより同定試験を実施した。分離された菌を用いて微量液体希釈法によりペニシリン系のアンピシリン(ABPC)、クロキサシリン(MCIPC)、セフェム系のセファゾリン(CEZ)、セフキノム(CQN)、セフチオフル(CTF)、マクロライド系のチルミコシン(TMS)、タイロシン(TS)、フルオロキノロン系のオルビフロキサシン(OBFX)、エンロフロキサシン(ERFX)、マルボフロキサシン(MBFX)、クロラムフェニコール系のチアンフェニコール(TP)、フロルフエニコール(FFC)、アミノグリコシド系のカナマイシン(KM)、テトラサイクリン系のオキシテトラサイクリン(OTC)、ホスホマイシン系のホスホマイシン(FOM)の8系統15薬剤で最小発育阻止濃度(MIC)を測定した。

## 結果

### (1) 細菌分離

肺病変部から様々な菌が分離されたため、今回は肺炎の主な原因菌とされている *Mannheimia haemolytica* (Mh), *Trueperella pyogenes* (Tp) *Pasteurella multocida* (Pm), *Mycoplasma bovis* (Mb) に絞

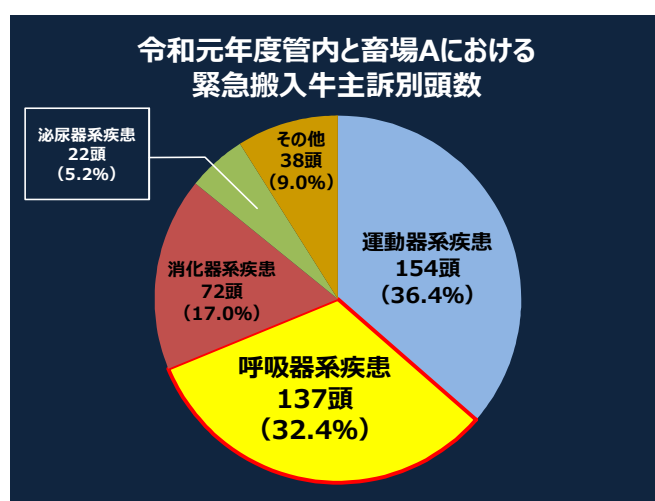


図1

って調査を進めた。その結果、Mhが1株、Tpが9株、Pmが9株、Mbが13株分離された。

### (2) 薬剤感受性試験

各薬剤に対するMhの薬剤感受性試験の結果を図2に示す。図の数値は上記のMICを示した菌株の数を示している。MhはABPC、CQN、CTF、OBFX、ERFX、MBFXに対して低いMICを示した。一方、MCIPC、TSに対して高いMICを示した。

TpはABPC、TMS、TSに対して低いMICを示す菌が多く認められた。一方、KM、OTC、FOMに対して高いMICを示す菌が多く認められた(図3)。

Pmは、ABPC、CQN、CTFに対して低いMICを示す菌が多く認められた。一方、TS、TP、KM、OTC、FOMに対して高いMICを示す菌が多く認められた(図4)。

Mannheimia haemolytica													
	MIC(最小発育阻止濃度) µg/ml												
抗生剤	>128	128	64	32	16	8	4	2	1	0.5	0.25	0.125	0.125>
ABPC													1
MCIPC				1									
CEZ								1					
CQN													1
CTF													1
TMS						1							
TS		1											
OBFX													1
ERFX													1
MBFX													1
TP					1								
FFC						1							
KM							1						
OTC										1			
FOM											1		

図 2

Mycoplasma bovis													
	MIC(最小発育阻止濃度) µg/ml												
抗生剤	>128	128	64	32	16	8	4	2	1	0.5	0.25	0.125	0.125>
ABPC	13												
MCIPC	13												
CEZ	13												
CQN	13												
CTF	13												
TMS	2	1	1	4	3	1		1					
TS	1	2	4	1	3		1	1					
OBFX			3	1	2	1	1	3		1	1		
ERFX				1	2		1	2	3	3	1		
MBFX			3	2	4	1	1	2					
TP				3	3	5	1	1					
FFC				1	3	4	3	2					
KM	2	1	1	5	2	1	1						
OTC			1	8	1	2	1						
FOM	13												

図 5

Trueperella pyogenes													
	MIC(最小発育阻止濃度) µg/ml												
抗生剤	>128	128	64	32	16	8	4	2	1	0.5	0.25	0.125	0.125>
ABPC													9
MCIPC					1	1	4	3					
CEZ								3	5				1
CQN								6	3				
CTF							4	3	2				
TMS													9
TS													9
OBFX								5	4				
ERFX								3	4	2			
MBFX							1	8					
TP								3	6				
FFC						1	1	6	1				
KM				1	1	1	6						
OTC					2	1	1	1	3				1
FOM		2	5	2									

図 3

Pasteurella multocida													
	MIC(最小発育阻止濃度) µg/ml												
抗生剤	>128	128	64	32	16	8	4	2	1	0.5	0.25	0.125	0.125>
ABPC										1	1		7
MCIPC								1	6	2			
CEZ									2	6	1		
CQN													9
CTF													9
TMS					1	3	3	2					
TS		1	2	6									
OBFX						1		3	4				1
ERFX								6	1	1			1
MBFX							1	1	5				2
TP		1	1					5		2			
FFC									1	6	2		
KM		1			3	5							
OTC		1	1		3			2	2				
FOM		3	2	1	2		1						

図 4

*Mycoplasma*は細胞壁を所有していないため細胞壁に作用するペニシリン系、セフェム系、ホスホマイシン系の感受性は認められなかった。Mbは、ほとんどの薬剤でMICが高濃度に分布していたが、OBFX、ERFXで比較的低いMICを示す菌が認められた(図5)。

投薬と菌の分離状況：

43頭の対象牛について、高い感受性を示した薬剤の投与と菌の分離状況の調査を行った。Mhが分離された牛は投薬が認められなかったためMhは調査から除外した。Tpに高い感受性を示したABPCは8頭に投与があり、そのうち3頭でTpの分離が認められた。TMSは3頭に投与があり、そのうち1頭でTpの分離が認められた。TSは4頭に投与があり、そのうち1頭でTpの分離が認められた。Pmに高い感受性を示したABPCは8頭に投与があり、そのうち3頭でPmの分離が認められた。CQNは3頭に投与があり、Pmの分離は認められなかった。Pmに高い感受性を示したCTFは投与が認められなかった。Mbに高い感受性を示したOBFXは23頭に投与があり、そのうち10頭でMbの分離が認められた。ERFXは12頭に投与があり、そのうち9頭でMbの分離が認められた。

### 考察

Mhはペニシリン系、マクロライド系で、Tpはアミノグリコシド系、テトラサイクリン系、ホスホマイシン系で、Pmはマクロライド系、クロラムフェニコール系、アミノグリコシド系、テトラサイクリン系、ホスホマイシン系の薬剤で低い感受性を示し、これらの薬剤に対する耐性が示唆された。一方、高い感受性を示した薬剤は臨床での効果が期待されたが、投与された一部の牛で菌が分離されたことから効果が十分に発揮されていないように思われた。要因と

しては、投与の段階で薬剤が効かないほど肺炎が重症化していたことが考えられ、今後の調査で肺炎の程度、薬剤投与履歴の聞き取りなどさらなる調査が必要であると思われた。臨床での効果が期待できる薬剤を適切に使用することにより、薬剤の過剰投与が回避され、薬剤耐性菌の発現の抑制につながることを望まれる。また、抗生物質の適切な使用は残留リスクの軽減につながるため食肉衛生の観点からも重要である。今後も定期的に薬剤感受性試験を行い、得られた情報を生産者へフィードバックすることで薬剤選択の一助となり、安心な食肉の供給につながればと考える。

### 参考文献

- 1) 浅井鉄夫, 石原加奈子, 片岡康, 小林秀樹, 原田和記: 動物由来細菌に対する薬剤感受性試験法 (動物用抗菌剤研究会2013年改定標準法) (2014)
- 2) 森木啓: *Mycoplasma bovis*の薬剤感受性試験についての検討 (2010)
- 3) Zoetis: 牛呼吸器症候群 (BRDC) (2019)
- 4) 加藤敏英: 牛臨床における耐性菌の実態と対策 (2016)
- 5) 武野侍那子, 葛城肅仁: 県内家畜より分離した *Trueperella pyogenes*の性状調査 (2017)

# 管内と畜場に搬入された*Escherichia albertii* 保菌状況調査

中村昂紀 藤元英樹 大岡唯祐<sup>1)</sup>

鹿屋食肉衛生検査所 <sup>1)</sup> 鹿児島大学大学院医歯学総合研究科

## はじめに

*Escherichia albertii* (以下 *E.a*) はグラム陰性の通性嫌気性桿菌で、2003年に*Escherichia*属の新種として報告されたヒトの新興下痢症原因菌である〔1,2〕。近年、国内では本菌が原因とされる食中毒事例が増え、2021年現在9件の集団感染事例が報告されており、その中には患者数が100人を超える大規模事例もある〔2-5〕。これらの食中毒事例から分離された*E.a*は病原遺伝子のインチミン(*eae*)を保有しており、加えて、散発事例の中には志賀毒素(*stx*)保有株の分離も報告されている〔2〕。

これらの動向を受けて、平成28年11月に厚生労働省より、各都道府県の衛生主管部局へ*E.a*についての情報提供を依頼する通知が出されている〔6〕。*E.a*に関するより詳細な情報が求められる中、分離報告の多くが食中毒事例からであり、その他からの分離報告はほとんどない。そのため、保菌宿主や環境等の汚染実態については不明である。中でも豚における保菌状況調査は進んでおらず、鹿児島県においては家畜での調査報告はない〔7〕。今回、鹿児島県の豚における*E.a*保菌状況ならびに分離された株の特徴を明らかにするため、管内と畜場に搬入された健康豚を対象とした調査を実施したのでその概要を報告する。

## 材料及び方法

### (1) 供試材料

鹿児島県内と畜場に搬入された豚を対象に1農場あたり5頭からそれぞれ盲腸便を約3g採取し検体とした。対象農場は15農場で、全75頭分の検体を用いた。

### (2) 方法

#### (i) 菌株分離

盲腸便からアルカリ熱抽出法にてDNAを抽出し、*E.a*特異的領域をターゲットとしたnested-PCRによるスクリーニングを行った(表1)〔8〕。スクリーニング陽性となった検体については糞便調整液をDHL寒天培地に塗布し37℃、一晚培養した。培養後、平板上の乳糖・白糖非分解の白色コロニー(図1)について1検体あたり最大16コロニー鈎菌し、*E.a*特異的遺伝子(*clpX*, *lysP*, *mdh*)をターゲットとしたMultiplex PCRを行った(表1)〔9〕。3つの遺伝子すべてを検出した菌株を*E.a*と同定した。

#### (ii) 生化学的性状試験

*E.a*と同定された菌株について、TSI培地、LIM培地及び細菌同定キット(ラピッドID32Eアピ)

等を用いて生化学性状試験を実施した。糖分解能については、乳糖、白糖、ブドウ糖、ラムノース、ラフィノース、キシロースについて確認した。

#### (iii) 病原遺伝子の検出

分離菌の病原遺伝子保有状況について、インチミン遺伝子(*eae*)及び志賀毒素遺伝子(*stx*)を対象にPCRにて確認した(表1)〔7〕。

表1 *Escherichia albertii* 検出用及び病原遺伝子検出用プライマー

標的遺伝子	塩基配列(5'-3')	アニーリング温度	サイズ
スクリーニング <i>E.a</i> 種特異的領域	1st GGTCCATAATGAATCTGACTGA CCATATGACAGGCGTAATTGAT	54℃	846bp
	2nd CAGTCGATGGTTTCACCTGA ACACCGTGGCGAAATGGCA	60℃	731bp
同定	<i>clpX</i> TGGCGTCGAGTTGGGCA TCCTGCTGCGGATGTTTACG	60℃	383bp
	<i>lysP</i> GGCGCTGCTTTCATATATTCTT TCCAGATCCAACCGGAGTATCAGGA	60℃	252bp
	<i>mdh</i> CTGGAAGGCGCAGATGTGGTACTGATT CTTGCTGAACCAGATTCTTCAATACCG	60℃	115bp
病原遺伝子	<i>eae</i> GCTTAGTGCTGGTTTAGGAT CTCTGCAGATTAACCTCTGC	55℃	591bp
	<i>stx</i> GAACGAAATAATTTATATGT TTGATTGTTACAGTCAT	50℃	906bp



図1 乳糖・白糖非分解の白色コロニー

## 結果

### (1) 菌株分離

スクリーニング検査では75頭中17頭(22.7%)、農場別では、15農場中6農場(40.0%)が陽性であった。スクリーニング陽性となった農場の中には検査した5頭すべてが陽性となった農場もあった。スクリーニング陽性となった検体からDHL寒天培地で得られた白色コロニーについて検査したところ、1頭から*E.a*が分離された(表2)。

表2 *E.a* 分離状況

	検体別 (%)	農場別 (%)
スクリーニング陽性	17/75 (22.7%)	6/15 (40.0%)
菌分離	1/75 (1.3%)	1/15 (6.7%)

### (2) 生化学的性状試験

*E.a* と同定された菌株について生化学的性状試験の結果は表3のとおりであった。本調査で分離した菌株については、これまでに報告のある国内豚分離株と同様の性状と呈していた〔9〕。また、細菌同定キットでは*Escherichia coli* と同定された。

### (3) 病原遺伝子の検出

分離株の病原遺伝子についてPCRの結果、*eae* の保

有が確認された。*stx* については検出されなかった(表3)。

表3 分離株の生化学的性状及び病原遺伝子の保有状況

	分離株	<i>Escherichia coli</i> (参考)
乳糖・白糖分解	—	+
ブドウ糖分解	+	+
硫化水素産生	—	—
運動性 (37°C)	—	+
インドール	+	+
ガス産生	+	+
リジン脱炭酸	+	+
ラムノース分解	—	+/-
ラフィノース分解	—	+/-
キシロース分解	—	+
<i>eae</i>	+	+/-
<i>stx</i>	—	+/-

## 考察

本調査により、鹿児島県の豚が*E.a*を保有していることが初めて明らかとなった。分離株が病原遺伝子*eae*を保有していたことから、豚由来の*E.a*が豚肉等を介してヒトの感染源となる可能性が示唆された。菌分離は現在のところ1頭であるものの、スクリーニング陽性となった農場が複数あることから、管内と畜場に搬入される豚が潜在的に本菌を保有している可能性がある。と畜場では消化管破損等により、本菌が食肉や環境を汚染するリスクが考えられる。解体時は衛生的な作業を徹底し、特に腸管内容物の取り扱いに注意することが食中毒発生防止には重要である。

現在、*E.a*の標準的な分離培養方法は未確立である。そのため、本調査ではスクリーニング陽性率と菌分離率に大きな差が出てしまった。そのため、今後、高精度な分離培養方法の確立が必要である。加えて、現時点で細菌同定キットのデータベースには*E.a*についての情報が含まれていないため、本菌の正確な保菌情報把握は困難である。そのため、早急に本菌の情報が追加されること等が望まれる。最後に*E.a*は厚生労働省通知により情報収集が行われているが、疫学情報が乏しく、保菌宿主や病原機

構など解明されていない点が多い。さらに、現状では、本菌は他の腸内細菌と一般生化学的性状だけでは鑑別が難しく同定には PCR が必要であるため食中毒原因菌として見過ごされている可能性がある。今回、鹿児島県の豚で *E.a* の保有が確認され、ヒトの食中毒事例から分離された *E.a* と同様に病原遺伝子 *eae* を保有していた。このことから、本菌が食肉由来の食中毒の原因となる可能性があるため今後、本県で初めて分離した株の解析を進めるとともに、県内での他の家畜を含めた疫学調査を拡充し、細菌学的特徴や感染経路、保有宿主等の情報を明らかにしていきたい。

### 参考文献

- [1] Huys G, Cnockaert M, Janda JM, Swings J : *Escherichia albertii* sp. nov., a diarrhoeagenic species isolated from stool specimens of Bangladeshi children Int J Syst Evol Micr, 53, 807-810 (2003)
- [2] Ooka T : Emerging Enteropathogen, *Escherichia albertii*, Jpn J Food Microbiol, 34, 151-157(2017)
- [3] 平成 29 年度愛媛衛環研年報 20, 1-5(2017)
- [4] Tokoi Y, Kataoka S, Wakatsuki A, Tanizawa A, Nakada Y, Seki A, Ishioka M, Arai K, Okago Y, Kaneko J, Hase M, Kihara H : Case Report of *Escherichia albertii* Food Poisoning in Utsunomiya City, Jpn J Food Microbiol, 35(3), 159 - 162(2018)
- [5] 村上光一, 平井晋一郎, 黒田誠, 長岡宏美, 藤本秀士 : *Escherichia albertii*, モダンメディア, 66, 1- 10(2020)
- [6] 厚生労働省健康局結核感染症課長 : *Escherichia albertii* に係る報告について. 平成 28 年 11 月 9 日, 健感発 1109 第 2 号 (2016)
- [7] 佐藤空見子, 永井章子, 小原準, 遠藤千春, 林哲也, 大岡唯祐, 瀬戸順次, 村上光一 : 山形県内と畜場搬入豚の *Escherichia albertii* 保菌状況及びその疫学的特徴, 日本獣医師会雑誌, 73 ( 5 ) , 265 - 273 (2020)
- [8] Ooka T, Ogura Y, Katsura K, Seto K, Kobayashi H, Kawano K, Tokuoka E, Furukawa M, Harada S, Yoshino S, Seto J, Ikeda T, Yamaguchi K, Murase K, Gotoh Y, Imuta N, Nishi J, Tânia A. Gomes, Lothar Beutin, Hayashi T : Defining the Genome Features of *Escherichia albertii*, an Emerging Enteropathogen Closely Related to *Escherichia coli*, Genome Biol Evol, 7(12) , 3170-3179(2015)
- [9] Hyma KE, Lacher DW, Nelson AM, Bumbaugh AC, Janda JM, Strockbine NA, Young VB, Whittam TS : Evolutionary Genetics of a New Pathogenic *Escherichia* Species : *Escherichia albertii* and Related *Shigella boydii* Strains, J Bacteriol, 187, 619-628 (2005)



# 鶏の肝臓における食中毒菌等の汚染状況調査

大坪由紀子 坂口善二郎 山田耕一 湯之原義弘

阿久根食肉衛生検査所

## はじめに

本県では例年「鹿児島県食品衛生監視指導計画」を策定し、県内における食中毒の発生防止を図っており、特に鶏肉の生食については、重点的な監視指導として「生食用食鳥肉の衛生基準目標」に基づき指導を実施している。しかし、カンピロバクター(CA)による食中毒は発生件数・患者数ともに上位であり、発生施設は飲食店が最も多くなっている。その原因として、生または加熱不十分の鶏肉や内臓の喫食、調理過程での二次汚染があげられる。今回、鶏の肝臓における食中毒リスクの啓発に役立てるため、管内大規模食鳥処理場にてブロイラーを中心とした肝臓における食中毒菌等保有状況を調査した。

## 材料及び方法

(1) 供試検体：令和3年4月から6月にかけて、管内食鳥処理場3カ所（処理場A及びC：ブロイラー、処理場B：採卵鶏）より、ブロイラー11農場、採卵鶏2農場の計13農場から、1農場あたり5羽の肝臓及び盲腸を採材した（表1）。

肝臓はエタノールに浸漬後、表面を十分に焼烙殺菌し、無菌的に5g採材したものを滅菌PBS25mlへ入れストマックしたものを検体とした。盲腸からは無菌的に盲腸便スワブを採取し、滅菌PBS10mlに懸濁したものを検体とした。

表1 農場概要

	処理場A	処理場B	処理場C
農場数	4	2	7
品種	ブロイラー	採卵鶏	ブロイラー (地鶏含む)
出荷日齢	46-49日	510-690日	63-90日
飼養形態	開放平飼い ウインドレス/ セミウインド レス	ウインドレス ケージ飼い	開放平飼い
空舎期間	18～21日	40日	20～30日

(2) CA検査：肝臓についてはCAの定性試験及び定量試験を実施し、盲腸便は定性試験のみ実施した。

定性試験ではプレストン培地で増菌培養後、mCCDA培地で分離培養した。定量試験では検体を直接mCCDA培地で分離培養した。発育したコロニーは、血液寒天培地で純培養後、PCR法にてC. jejuni (CJ) 及びC. coli (CC) の同定を行った。

また、肝臓から分離され、CAと同定されたうちの26菌株において、センシディスクを用いてアンピシリン(ABPC)、ストレプトマイシン(SM)、エリスロマイシン(EM)、ナリジクス酸(NA)、クロラムフェニコール(CP)、テトラサイクリン(TC)、シプロフロキサシン(CPFX)の7薬剤を対象に薬剤感受性試験を実施した。

(3) サルモネラ(SA)検査：肝臓及び盲腸便検体をRVS培地で増菌培養後、BGS培地を用いて分離培養した。発育したコロニーをTSI培地及びLIM培地で性状確認し、TSA培地で純培養後、サルモネラ免疫血清を用いて血清型別試験を実施した。

(4) 腸内細菌科菌群数(EB)及び大腸菌数(EC)の測定：肝臓検体について、ペトリフィルムを用いてEB及びECを測定した。

## 結果

(1) CA保有状況及び薬剤感受性試験の結果：ブロ

イラーにおけるCA保有率は肝臓で49.1%, 盲腸便で81.8%, 採卵鶏においては肝臓で10.0%, 盲腸便で50.0%であり, 保有率はブロイラーで高かった。

処理場別にみた場合の定性試験の保有率は, 処理場Aの盲腸便で50%, 肝臓は20%だった。処理場Cは盲腸便で100%, 肝臓が65.7%となり, 処理場Cは特に高い保有率を示した(図1)。

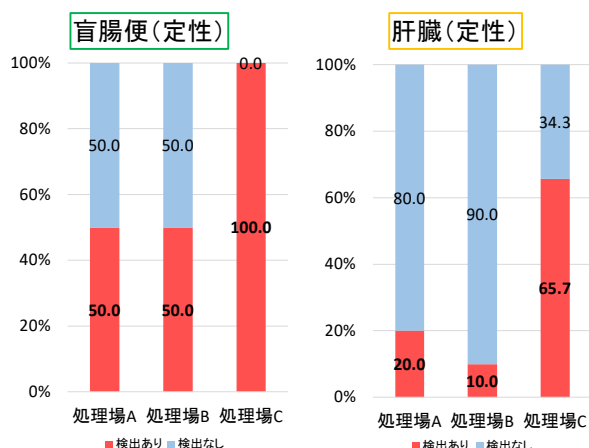


図1 定性試験によるCA保有状況

定量試験での保有率は処理場Aが15.0%, 処理場Cが34.3%と, 定性試験より低い数値となった。菌数は処理場Cで最大値960CFU/gと, 高い値を示す検体も認められた。なお, 採卵鶏では菌数が全て検出限界値未満の4CFU/gだった(図2)。

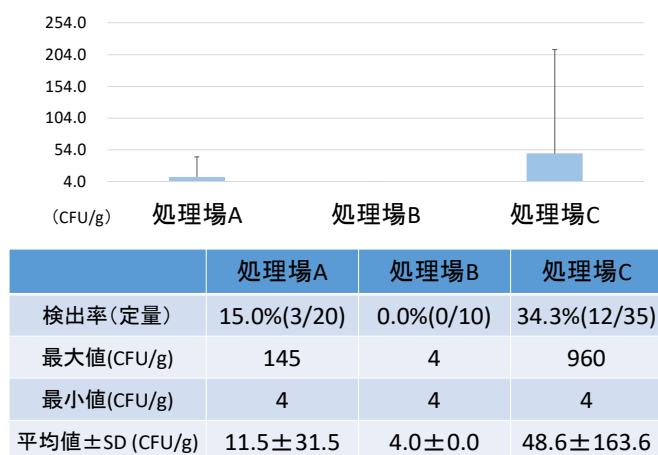


図2 定量試験によるCA保有状況

CAの薬剤感受性試験の結果は表2に示すとおりで, 肝臓から分離された26菌株のうち, 19.2%が4薬剤(ABPC, NA, TC, CPMX)に耐性を示し, 76.9%が3薬剤(ABPC, NA, CPMX)に耐性を示した。この結果は過去の調査報告と傾向が類似した。

表2 肝臓由来CAの薬剤感受性試験結果

農場	品種	ABPC	SM	EM	NA	CP	TC	CPMX
b	ブロイラー	100% (3/3)	0% (0/3)	0% (0/3)	100% (3/3)	0% (0/3)	33.3% (1/3)	100% (3/3)
c	ブロイラー	100% (4/4)	0% (0/4)	0% (0/4)	100% (4/4)	0% (0/4)	50% (2/4)	100% (4/4)
d	ブロイラー	100% (2/2)	0% (0/2)	0% (0/2)	100% (2/2)	0% (0/2)	50% (1/2)	100% (2/2)
e	地鶏	100% (5/5)	0% (0/5)	0% (0/5)	100% (5/5)	0% (0/5)	0% (0/5)	100% (5/5)
f	採卵鶏	100% (1/1)	0% (0/1)	0% (0/1)	100% (1/1)	0% (0/1)	0% (0/1)	100% (1/1)
g	ブロイラー	100% (3/3)	0% (0/3)	0% (0/3)	100% (3/3)	0% (0/3)	25% (1/4)	100% (3/3)
h	ブロイラー	100% (2/2)	0% (0/2)	0% (0/2)	100% (2/2)	0% (0/2)	0% (0/2)	100% (2/2)
i	ブロイラー	83.3% (5/6)	0% (0/6)	0% (0/6)	100% (6/6)	0% (0/6)	0% (0/6)	100% (6/6)

(2) SA保有状況: ブロイラーにおける肝臓での保有率は10.9%, 盲腸便での保有率は38.2%だった。採卵鶏においては, 肝臓及び盲腸便ともにSAは検出されなかった。

処理場Aにおける肝臓での保有率は25.0%で, 盲腸便は65.0%だった。処理場Cの肝臓での保有率は2.9%, 盲腸便は22.9%だった(図3)。

なお, 今回分離されたSAは全て *S. schwarzengrund* だった。

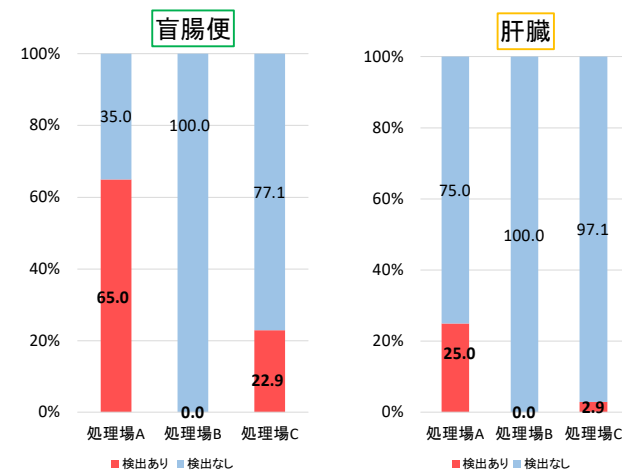


図3 SA保有状況

(3) 肝臓のEB及びECの測定結果：腸内細菌科菌群の保有率及び菌数は図4のとおりで、処理場Aは80.0%、処理場Bは60.0%、処理場Cは85.7%と全ての処理場で高い値を示した。なお、EBにおける菌数の最大値は処理場Aで4.71 logCFU/gと非常に高い値を示す検体が認められた。

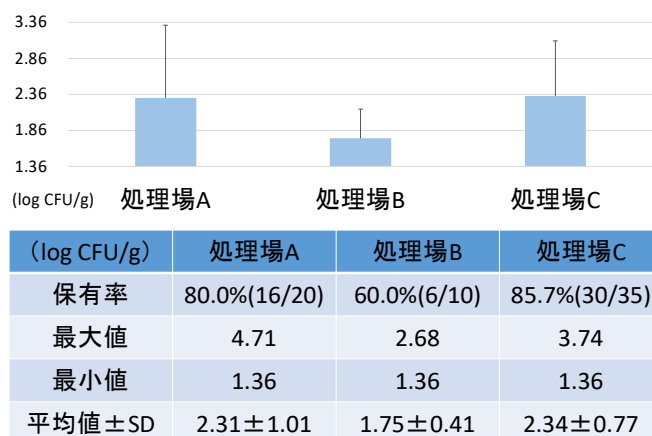


図4 EBの測定結果

ECの結果は図5のとおりで、保有率は処理場Aが40.0%、処理場Cが48.0%だった。菌数の最大値は処理場Aで4.18logCFU/gと高値を示した。処理場Bの肝臓からはECは検出されなかった。なお、最初に採材した検体はECの測定が未実施であったため、ECの検体数は他の検査より少なくなっている。

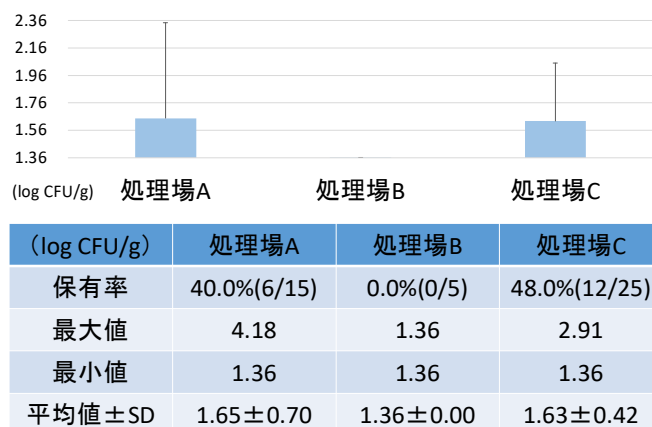


図5 ECの測定結果

## 考察

今回の調査により、盲腸便だけでなく、特にプロイラーの肝臓が様々な食中毒菌を保有していることが確認された。複数の食中毒菌が同時に検出された検体も認められ、加熱不十分な肝臓を喫食する危険性について再認識した。

今回の調査結果を啓発し、食鳥処理工程から飲食店までの関係者が、鶏肉と内臓の食中毒リスクを十分理解したうえで衛生的に取り扱うことは、食中毒低減対策として重要だと考えられる。また、今回分離されたCAにおいて3~4薬剤の耐性菌が認められたが、近年、薬剤耐性菌が世界的に増加する一方、新たな抗菌薬の開発は減少傾向にあり、国際社会でも大きな課題となっていることから、食中毒発生頻度の高いCAの薬剤耐性は今後も注視していく必要があると考えられた。

# 牛肉表面のSTEC汚染に対する薬剤による消毒効果の検討

福留祐香 西屋秀樹 三好文暁 抜迫卓也 姫木学

志布志食肉衛生検査所

## はじめに

米国向け輸出食肉認定施設は、牛肉のSTEC検査(腸管出血性大腸菌O26, O45, O103, O111, O121, O145及びO157)が義務づけられており、陽性の場合、当該ロットに由来する製品は米国輸出が不可となり、国内流通であっても原則としてSTECが確実に死滅する条件で加熱加工される製品の原料向けとしなければならない。ただし、加熱加工以外でも殺菌剤等によりSTECリスクの低減措置をとれば、通常出荷肉として国内流通は可能とされている。そこで今回、STEC(*E. coli* O157)に対する過酢酸、次亜塩素酸Na及びアルコール製剤の消毒効果について検討したので概要を報告する。

## 材料及び方法

試験菌は当所保有の*E. coli* O157(野外株)を使用し、STEC検査(公定法)で増菌培養に用いるカザミノ酸加変法トリプトソイブロス(mTSB)にて一晚培養したものを試験菌液とした。

【試験①】寒天平板試験：試験菌液を滅菌リン酸緩衝液(PBS)で10倍階段希釈し、 $10^3 \sim 10^5$ CFU/mlの希釈列からそれぞれ1エーゼ(10 $\mu$ l)をトリプトソイ寒天培地(TSA)に塗布し、平板あたりの菌量が $10^1 \sim 10^3$ CFUとなるように接種した。その後、平板は室温で30分静置し菌を定着後、表1に示す濃度に調整した薬剤を2~3回スプレー容器にて噴霧し、42 $^{\circ}$ Cで24時間培養後、コロニー発育の有無を確認した。

表1 使用薬剤と濃度

	試験①②	試験③
過酢酸製剤 (パーサンMP2-J ・ENVIROTECH)	1000ppm	500ppm 1000ppm 1800ppm
次亜塩素酸Na (旭化成工業)	100ppm	50ppm 100ppm 200ppm
アルコール製剤 (ハイネトレス9号 ・高杉製薬)	67.9%	67.9%

※陰性対照として滅菌蒸留水(DW)を使用

【試験②】試験管内試験：試験菌液をPBSとmTSBで

それぞれ10倍階段希釈し、 $10^1 \sim 10^3$ CFU/mlの各希釈列から1mlを別の試験管にとり、試験管あたりの菌量が $10^1 \sim 10^3$ CFUとなるようにした。その後、表1に示す薬剤1mlを試験管に入れて混合し、室温で30分静置後ECプレート又はEMB培地に接種して、35 $^{\circ}$ Cで24時間培養後菌数を測定した。

【試験③】牛肉塗布試験：牛カット室でトリミング肉を採取し検査所試験室へ搬入し試験に供した。5 $\times$ 5cm(約10g)に切り出した肉片に、試験①と同様に調整した菌液を1エーゼ塗布し、肉片あたりの菌量が $10^1 \sim 10^3$ CFUとなるように接種した。室温で30分静置後、表1に示す薬剤をスプレー噴霧し、更に室温で30分静置したものを検体とした。その後、公定法に準じ、検体とmTSB30mlをWhirl-Pakバッグに入れ、30秒間手もみ処理を行い、42 $\pm$ 1 $^{\circ}$ Cで15~24時間培養後、BAXシステム(Hygiene社)にてリアルタイムPCRを実施した。また、同様に処理した別検体とPBS10mlをWhirl-Pakバッグに入れ、30秒間手もみ処理を行い、ECプレートに接種し培養後、菌数を測定した。加えて、牛肉表面の菌の付着状況を確認するために、肉片にグラム陽性菌(*Micrococcus luteus*)を塗布し、室温で30分静置後ホルマリン固定し、組織切片を作成した。

## 成績

【試験①】寒天平板試験：TSAに菌液を塗布後、過酢酸又はアルコールをスプレー噴霧した培地では、

菌の発育を全く認めなかった。一方、次亜塩素酸Naを噴霧した培地では、滅菌DWを噴霧した場合と同程度の菌の発育を認めた。(図1)










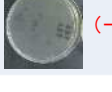
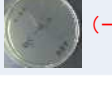

接種菌量 (CFU)	10 <sup>1</sup>	10 <sup>2</sup>	10 <sup>3</sup>
陰性対照 (滅菌DW)	 (+)	 (+)	 (+)
過酢酸 1000ppm	 (-)	 (-)	 (-)
次亜塩素酸Na 100ppm	 (+)	 (+)	 (+)
アルコール 67.9%	 (-)	 (-)	 (-)

図1 TSA平板での0157に対する消毒効果

【試験②】試験管内試験：菌液をPBSで希釈後、薬剤と混合したものでは、過酢酸、次亜塩素酸Na、アルコール全てで菌は検出されなかった。一方、mTSBで希釈したものは、過酢酸及びアルコールでは菌は検出されなかったが、次亜塩素酸Naでは滅菌DWを混合した場合と同程度の菌数を認めた。(図2, 3)

【試験③】牛肉塗布試験：PCRの結果では、5回中5回とも陰性となる薬剤・濃度はなかった。最も消毒効果が高かった過酢酸1800ppmにおいても、10<sup>1</sup>CFU塗布の場合で5回中2回陽性、10<sup>3</sup>塗布では5回中4回陽性となった。次亜塩素酸Na 200ppm及びアルコールにおいては、10<sup>1</sup>CFU塗布の場合で5回中4回陽性、10<sup>3</sup>塗布では5回中5回とも陽性となり、薬剤の消毒効果がPCRではほとんど見られない結果となった。一方、ECプレートによる菌数測定の結果では、10<sup>1</sup>CFU塗布の場合、過酢酸(1000ppm, 1800ppm)、次亜塩素酸Na(200ppm)、アルコールで菌が検出されなかった。10<sup>2</sup>、10<sup>3</sup>CFU塗布では、陰性対照と比較して過酢酸で最大10<sup>2</sup>、次亜塩素酸Na及びアルコールで最大10<sup>1</sup>オーダー菌数が低減していた。(表2) また、牛肉の組織像では、筋肉表面の結合組織や筋膜中に細菌が見られた。(図4)

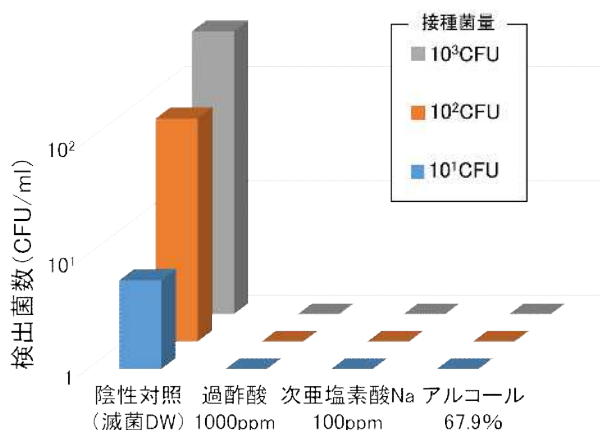


図2 試験管内での0157に対する消毒効果 (PBSで菌液を希釈した場合)

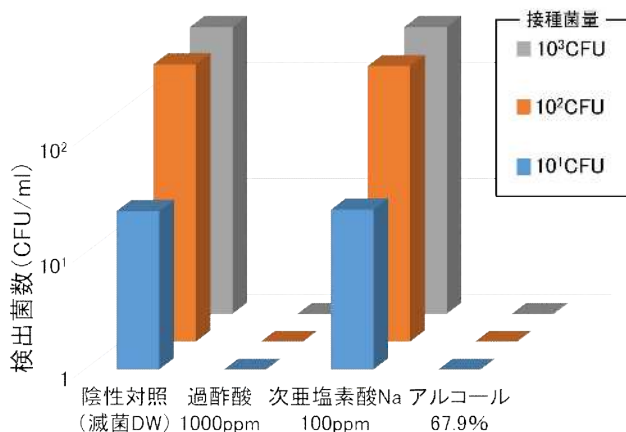


図3 試験管内での0157に対する消毒効果 (mTSBで菌液を希釈した場合)

表2 牛肉表面での0157に対する消毒効果

接種菌量 (CFU)	滅菌DW	PCR (陽性数/検体数)			検出菌数 (CFU/cm <sup>2</sup> )		
		10 <sup>1</sup>	10 <sup>2</sup>	10 <sup>3</sup>	10 <sup>1</sup>	10 <sup>2</sup>	10 <sup>3</sup>
陰性対照	滅菌DW	5/5	5/5	5/5	7.2	17.6	288
過酢酸	500ppm	2/5	4/5	5/5	1.6	0	44.8
	1000ppm	2/5	3/5	5/5	0	1.6	6.4
	1800ppm	2/5	4/5	4/5	0	0	4.8
次亜塩素酸Na	50ppm	5/5	5/5	5/5	0.8	22.4	264
	100ppm	5/5	5/5	5/5	0.8	16.8	68.8
	200ppm	4/5	5/5	5/5	0	0	24.8
アルコール	67.9%	4/5	5/5	5/5	0	4.8	30.4



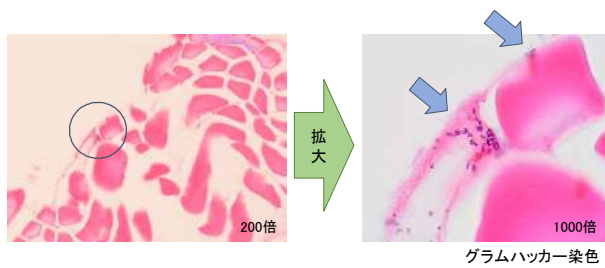


図4 牛肉表面の菌の付着状況  
(菌の判断がしやすいようにグラム陽性菌を使用)

### 考 察

過酢酸製剤は、食品添加物としては平成28年に新たに認可された殺菌剤であり、有機物の存在下でも芽胞菌を含む幅広い菌に対して効果を発揮するとされ、食肉に対しては最大1800ppmまで使用が認められている。管内食肉処理施設では、従来から場内の殺菌剤としては次亜塩素酸Na及びアルコール製剤を使用しているが、食肉に対する効果については未検討であったため、今回、この3薬剤について効果を検討した。

まず、次亜塩素酸Naについては、寒天平板試験で消毒効果が認められず、有機物の影響が考えられたため、次の試験管内試験で菌液をPBSで希釈した場合とmTSBで希釈した場合を比較した。結果は想定どおりで、mTSBで希釈した場合は消毒効果が認められず、次亜塩素酸Naは有機物の存在により効果が低下することが確認された。過酢酸とアルコールについては、寒天平板試験及び試験管内試験の結果より、

有機物の存在下でも消毒効果を発揮することが分かった。

牛肉塗布試験では、ECプレートにおいて菌が検出されないにもかかわらず、PCRでは陽性となった。この点について、死菌によりPCR陽性となった可能性が考えられたため、PCRの感度試験を行った。BAXシステムによるPCRでは、菌量が $10^4$ CFU/ml以上の場合に陽性となることが確認され、これは機器の取扱説明書とも一致した。つまり、今回の接種菌量のみではPCR陽性となりにくく、別の原因が考えられた。そこで、追加試験として牛肉表面に細菌を塗布し、組織像を観察したところ、筋肉表面の結合組織や筋膜中に細菌が入り込んでいた。このことから、牛肉への噴霧消毒では、これらに侵入した細菌まで薬剤が到達せず、ECプレートへの培養法では検出できない位のわずかな量の菌が残存した結果、増菌培養によりそれらが増殖し、PCR陽性となった可能性が考えられた。

### ま と め

牛肉表面にSTEC汚染があった場合、薬剤の噴霧は一定の消毒効果はあるが、有機物の存在や肉表面の凹凸の影響により付着した菌数を完全にゼロにするのは難しいと思われた。STEC陽性時の当該ロット肉に対する措置は、牛肉表面の加熱やトリミング等、別の方法を検討する必要があると考える。

# 豚カット処理施設における低温細菌の分離と発育温度の検討

小牟田 綾, 田澤 陸, 宇宿 徹郎, 鏡園 仁

串木野食肉衛生検査所

## はじめに

当所では衛生指導の一環として、管内と畜場に併設する豚カット処理施設の細菌検査を実施しており、従来の検査は35℃前後の中温域で発育する一般生菌及び大腸菌群を汚染指標菌としている。しかし10℃前後の低温で維持されているカット処理施設内において低温で発育可能であり、食肉の腐敗・変色の原因とされる低温細菌の汚染状況についてはこれまで検討していない。そこで今回、指標菌として一般生菌に加え低温細菌についても調査し、さらに汚染菌の特性を調べるため分離した一般生菌及び低温細菌を分類し、培養温度別の発育について検討したので概要を報告する。

## 材料及び方法

### 1. 材 料

カット処理施設内の作業前、作業中及び消毒後のラインコンベア、ナイフ及びまな板、包装直前の豚カット肉製品、解体直後及びカット直前の豚枝肉について、各検体の表面100cm<sup>2</sup>をPBS20ml を加えたスポンジで拭きとり材料とした。

### 2. 方 法

(1) 一般生菌数はペトリフィルム法により35℃48時間培養、低温細菌数は標準寒天培地に検体を混釈し5～7℃10日間培養した。35℃培養で発育した菌(以下、一般生菌)及び5～7℃培養で発育した菌(以下、低温細菌)について、各々培地上の発育集落数を計測し1cm<sup>2</sup>あたりの菌数を算出した。

(2) 豚カット肉製品及びラインコンベアの拭きとり材料を培養した各培地の一般生菌及び低温細菌について、発育集落を無作為に釣菌・純培養した。

菌株の分類は、グラム染色及び芽胞染色、形状、オキシダーゼ及びカタラーゼ試験により行った。

シュードモナス属菌の同定は、純培養したグラム陰性桿菌菌株をセトリミド寒天培地に塗抹し25℃または30℃で72時間培養後、発育した菌株のうちオキシダーゼ及びカタラーゼ試験陽性の菌株をシュードモナス属菌と推定し、API20NEにより同定を実施した。

(3) 豚カット肉製品から分離した一般生菌155株、低温細菌208株を標準寒天培地に一白金耳塗抹し、

0～3℃(チルド製品保管温度)14日間、5～7℃(低温細菌培養温度)10日間、10℃(カット処理施設内温度)10日間、35℃(一般生菌培養温度)5日間好気培養し、各培養温度における培地上の菌の発育の有無及び増殖の程度を肉眼で観察した。培地上に発育が認められなかった菌株を－、1～10個未満の発育集落数の菌株を＋、発育集落数10個以上で良好に発育した菌株を++と判定した。

## 成 績

(1) 細菌数結果については、作業前、作業中のラインコンベア及び各器具の一般生菌数は10<sup>1</sup>～10<sup>2</sup> cfu/cm<sup>2</sup>台であり、低温細菌数は各検体とも一般生菌数の1.2～2倍の菌数が検出された。また、作業中ラインコンベア及び器具のアルコール消毒実施後は、一般生菌数、低温細菌数ともに有意な菌数の減少を認めた(表1)。カット肉製品における一般生菌数は10<sup>1</sup>～10<sup>2</sup> cfu/cm<sup>2</sup>台で、低温細菌数も一般生菌数とほぼ同程度の菌数であった。また、解体直後及びカット直前枝肉の一般生菌数は10<sup>0</sup>～10<sup>2</sup> cfu/cm<sup>2</sup>が検出された一方、低温細菌数は全ての検体で10未満と少数であった(表2)。

(2) 豚カット肉製品の分離菌は、一般生菌はグラム陽性桿菌及び球菌が70%、低温細菌はグラム陰性桿菌が68%を占め(表3)、作業中ラインコンベアの一般生菌はグラム陽性桿菌及び球菌が82%、低温細菌はグラム陰性桿菌が97%を占めていた(表

4)。シュードモナス属菌はカット肉製品の低温細菌から52株、ラインコンベアの低温細菌から4株分離され、一般生菌からは分離されなかった（表3、4）。API20NEによる同定では、*Pseudomonas putida*が39株、*Pseudomonas fluorescens*が13株、*Pseudomonas aeruginosa*が1株、同定不能が3株であった。

(3) 豚カット肉製品分離菌の培養温度別発育試験において、一般生菌は培養温度が低いほど発育する菌株の割合が低くなり、10℃培養で約70%、5～7℃培養で約28%、0～3℃培養で約23%の菌株が発育した（表5）。低温細菌は、10℃以下の低温培養で大多数の菌が良好に発育し、35℃培養でも74%の菌が発育した（表6）。

### 考 察

今回、豚カット処理施設における低温細菌の汚染状況を調査することで、カット肉製品の汚染源等が推定され、さらに食肉を汚染する一般生菌及び低温細菌の細菌叢と発育温度について若干の知見を得ることができた。つまり、解体直後及びカット直前の豚枝肉表面の低温細菌数は非常に少数であり、また作業前及び作業中のコンベア等から低温細菌が多く分離されたことから、製品における低温細菌の主な汚染源はカット室内環境であると推察された。

さらに既報〔1〕と同様、カット肉製品から分離された低温細菌はグラム陰性菌が主要細菌叢であり、食肉の腐敗・変色の原因菌とされるシュードモナス属菌〔2〕が低温条件で多く分離された。また温度別発育試験において分離低温細菌の多くは広い発育温度域を有しており、製品保管温度の0～3℃でも良好に発育した。近年食肉の品質保持を目的とした包装形態として、真空包装やガス置換包装が主流となっているが、これらの包装形態においても優勢となる微生物叢や増殖の程度に差はあるものの、冷蔵温度域で種々の低温細菌が発育するとの報告がある〔3〕。

以上の結果から、製品が低温細菌に高度に汚染された場合、低温貯蔵・流通時の菌の増殖による食肉の腐敗・劣化が懸念される。通常のカット処理工程

表1 カット処理施設器具等の細菌数

(各2検体の平均値)

検 体		一般生菌数	減少率	低温細菌数	減少率	低温/一般
		(cfu/cm <sup>2</sup> )		(cfu/cm <sup>2</sup> )		(※)
作業前	ラインコンベア	218.5	—	270.5	—	1.24
	ラインコンベア	117.0	—	230.0	—	1.97
作業中	ナイフ	12.5	—	15.6	—	1.25
	まな板	55.3	—	66.0	—	1.19
アルコール消毒後	ラインコンベア	0.3	99%	0.2	99%	—
	ナイフ	0.5	96%	0.8	95%	—
	まな板	2.4	96%	4.0	94%	—

(※)一般生菌数に対する低温細菌数の比率

表2 豚カット肉製品及び枝肉の細菌数

(製品各4検体、枝肉各5検体の平均値)

検 体		一般生菌数	低温細菌数	低温/一般
		(cfu/cm <sup>2</sup> )	(cfu/cm <sup>2</sup> )	(※)
製 品	ウデ	61.2	50.5	0.83
	肩ロース	63.6	74.9	1.18
	ロース	42.4	36.5	0.86
	バラ	162.8	77.0	0.47
	モモ	36.3	52.4	1.44
解体直後枝肉	胸部	38.2	1.5	0.04
	腹部	102.4	3.3	0.03
	臀部	12.5	0.2	0.01
カット直前枝肉	胸部	121.0	8.0	0.07
	腹部	81.3	0.7	0.01
	臀部	8.9	0.5	0.06

(※)一般生菌数に対する低温細菌数の比率

表3 豚カット肉製品の分離菌の分類

菌 種	一般生菌(35℃)		低温細菌(5～7℃)	
	菌株数	%	菌株数	%
シュードモナス属菌	—	—	52	25
その他グラム陰性桿菌	46	30	89	43
バシラス	45	29	—	—
グラム陽性桿菌	26	17	59	28
ブドウ球菌	9	12	—	—
ミクロコッカス	13	8	—	—
レンサ球菌	6	4	2	1
酵 母	—	—	6	3
合 計	155	100	208	100



では製品に付着した汚染を除去する工程がないため、処理工程中の細菌汚染自体を低減することが重要となる。今回の調査で、作業中の設備器具のアルコール消毒は低温細菌に対して一般生菌と同程度の消毒効果を認めたことから、一般生菌と同様の衛生対策を徹底することで、カット施設内を汚染する低温細菌の制御は可能であると考えられる。

今後もカット処理施設内の効果的な衛生対策について施設側と検討を重ね、食肉製品の汚染低減を図っていきたい。

### 参考文献

- [1] 小久保弥太郎 他：食品衛生学雑誌 Vol. 12, No. 3, 164-169 (1971)
- [2] 内野昌孝 他：日本食品保蔵学会誌 Vol. 31, No. 3, 117-120 (2005)
- [3] 荻原博和：日本食品保蔵学会誌 Vol. 36, No. 1, 29-37 (2010)

表4 ラインコンベア(作業中)の分離菌の分類

菌種	一般生菌(35℃)		低温細菌(5~7℃)	
	菌株数	%	菌株数	%
シュードモナス属菌	—	—	4	4
その他グラム陰性桿菌	22	18	102	93
バシラス	37	31	—	—
グラム陽性桿菌	2	2	3	3
ブドウ球菌	54	46	—	—
ミクロコッカス	2	2	—	—
レンサ球菌	1	1	—	—
合計	118	100	109	100

表5 豚カット肉製品分離一般生菌の培養温度別発育試験

培養温度		0~3℃			5~7℃			10℃			35℃		
発育の程度		-	+	++	-	+	++	-	+	++	-	+	++
グラム陰性桿菌	46株	30	3	13	27	3	16	7	15	24	0	0	46
バシラス	45株	45	0	0	43	2	0	24	5	16	0	0	45
グラム陽性桿菌	26株	7	5	14	6	3	17	0	4	22	0	1	25
ブドウ球菌	19株	19	0	0	19	0	0	12	3	4	0	1	18
ミクロコッカス	13株	12	1	0	12	1	0	4	8	1	0	0	13
レンサ球菌	6株	6	0	0	5	1	0	0	6	0	0	0	6
合計	155株	119	9	27	112	10	33	47	41	67	0	2	153
割合(%)		76.8	5.8	17.4	72.2	6.5	21.3	30.3	26.5	43.2	0	1.3	98.7
+及び++の割合(%)		23.2			27.8			69.7			100.0		

表6 豚カット肉製品分離低温細菌の培養温度別発育試験

培養温度		0~3℃			5~7℃			10℃			35℃		
発育の程度		-	+	++	-	+	++	-	+	++	-	+	++
シュードモナス属菌	52株	1	1	50	0	0	52	0	0	52	22	7	23
その他 グラム陰性桿菌	89株	3	3	83	1	0	88	1	0	88	25	6	58
グラム陽性桿菌	59株	0	0	59	0	0	59	0	0	59	5	7	47
レンサ球菌	2株	2	0	0	0	0	2	0	0	2	0	0	2
酵母	6株	1	0	5	0	1	5	0	1	5	2	2	2
合計	208株	7	4	197	1	1	206	1	1	206	54	22	132
割合(%)		3.4	1.9	94.7	0.5	0.5	99.0	0.5	0.5	99.0	26.0	10.6	63.4
+及び++の割合(%)		96.6			99.5			99.5			74.0		

# と畜検査でみられたパスツレラ科細菌による全身性感染症

日高遼太郎 城間萌子 西園幹雄 宇都誠二

大口食肉衛生検査所

## はじめに

パスツレラ科の細菌は動物の扁桃や上部気道等に常在し、主に肺炎起因菌として知られているが、その他にも敗血症等のさまざまな病態を引き起こす[1]。一方、と畜検査で摘発される敗血症等の全身性感染症の原因菌としては、レンサ球菌や豚丹毒菌等が大部分を占めており、パスツレラ科の細菌が分離されることは稀である。今回、パスツレラ科細菌4菌種による牛及び豚の全身性感染症に遭遇したので概要を報告する。

## 材料と方法

### (1) 材料

2019年から2021年に管内と畜場において、敗血症等を疑い保留した牛及び豚のうち、パスツレラ科細菌4菌種による感染症例(症例①: *Actinobacillus pleuropneumoniae*(App), 症例②: *A. suis*(As), 症例③: *Pasteurella multocida*(Pm), 症例④: *Histophilus somni*(Hs))について調査し、主要臓器及び病変部を採材し以下の試験に供した。

### (2) 細菌学的検査

材料を5%羊血液加寒天培地及びチョコレート寒天培地に直接スタンプ培養し、発育した菌についてグラム染色、カタラーゼ及びオキシダーゼ試験を実施した。同定は市販の同定キット(IDテスト・HNラピッド「ニッスイ」)及び16SrRNAの遺伝子解析[2]により行い、その他必要に応じ血清型別等のPCRを実施した。

### (3) 病理組織学的検査

常法に従いホルマリン固定パラフィン切片を作製し、HE染色及びグラム染色等の特殊染色を実施した。

## 結果

### (1) 症例①

通常畜として搬入された交雑種肥育豚で、解体検査で心筋及び腎臓に白色結節が認められた(図1)。細菌学的検査では実施した全臓器からAppが分離(チョコレート寒天培地のみ発育)され、血清型別PCR[3]及び毒

素遺伝子PCR[4]の結果、国内で主に流行している2型(*apxII*及びⅢ保有)であった。組織学的には、白色結節でグラム陰性の菌塊と燕麦様細胞が認められ、肝臓では巣状壊死が認められた。



図1 心筋に認められた白色結節

### (2) 症例②

通常畜として搬入された交雑種廃用母豚で、解体検査では重度の漿膜炎により胸腔及び腹腔臓器の癒着が認められた。細菌学的検査では心臓及び肝臓から菌が分離され、同定キット及び16SrRNA遺伝子配列の解析結果に加え、 $\beta$ 溶血性があり*apxI*及びⅡ遺伝子を保有[5]していることからAsと同定した。組織学的には肝臓にグラム陰性の菌塊や肝細胞の壊死、線維化が認められ(図2)、肺では線維素性化膿性胸膜炎が認められた。

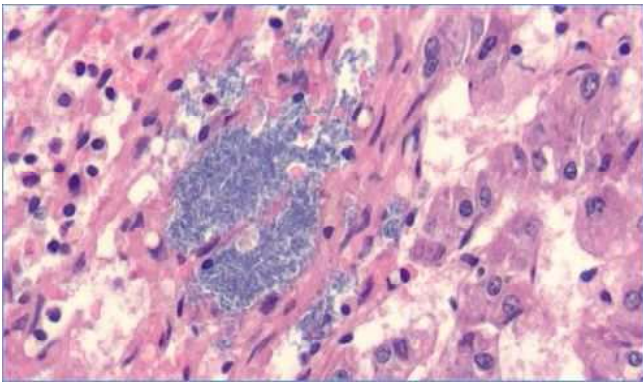


図2 肝臓における菌塊 (HE染色)

### (3) 症例③

緊急畜として搬入された黒毛和種肥育牛で、起立不能、呼吸困難を呈し、解体検査では三尖弁における疣贅性心内膜炎と全身性の黄疸が認められた。細菌学的検査では実施した全ての臓器からPmが分離(図3)され、莢膜抗原型別PCR[6]及び菌体抗原型別PCR[7]の結果、血清型D:3又は4に分類された。組織学的には、肝細胞のフィブリノゲン封入体様物の形成、脾臓のヘモジデリン沈着が認められた。



図3 分離された*P. multocida*(血清型D:3又は4)

### (4) 症例④

緊急畜として搬入された黒毛和種肥育牛で起立不能を呈し、解体検査では腎臓の点状出血、胸椎及び腰椎に膿瘍が認められた(図4)。細菌学的検査では腎臓及び腰椎膿瘍部からHsが分離された。組織学的には腎臓の糸球体及び尿細管の壊死が限局して認められた。



図4 腰椎に形成された膿瘍

## 考 察

### (1) 症例①

と畜検査における豚のAppによる肺炎以外の感染症例の報告は複数みられ[8,9,10]、当所でも調査期間中に敗血症例が計3例発生したことから、比較的発生頻度の高い疾病と考えられた。Appは多くがV因子要求性のため、豚で敗血症を疑う場合は必要に応じチョコレート寒天培地を併用することが重要である。

### (2) 症例②

Asによる敗血症例は、国内では幼豚での発生[5]しか報告されておらず、本症例は国内初の成豚での発生例と考えられた。海外ではAsのアウトブレイクが報告されており、豚丹毒蕁麻疹型に類似した皮膚病変が認められている[11]ことから、今後と畜検査においても注意が必要である。

### (3) 症例③

牛の敗血症例からA型のPmが分離された報告[12]はあるが、D型が分離された報告は認められず貴重な症例と考えられた。肉眼的には肺炎病変は認められず、侵入経路は不明であったが、組織学的に炎症反応がほとんど認められなかったことから、宿主の免疫状態も発症の原因の一つと考えられた。

### (4) 症例④

牛のHs感染症は、敗血症・髄膜脳脊髄炎型、肺炎型、生殖器疾患・流産型に分類される[13]が、本症例ではどの型にもあてはまらず、非典型的な病態と考えられた。と畜検査でのHs感染症の発生例は少ないが、

家畜衛生分野ではよく発生する疾病であるため、注意が必要である。

#### (5)まとめ

と畜検査におけるパスツレラ科細菌による全身性感染症は、発生頻度は低いながらも全部廃棄の対象となりうるため、確実に摘発し排除することが必要である。また、食肉衛生検査所ではパスツレラ科細菌を取り扱う機会が少ないため、正しく同定できていない症例もあることが考えられる。今後、発生状況の把握や病態解明のため、培地の選択、オキシダーゼ試験等の性状試験及び同定を適切に実施し症例数を蓄積していくことが重要である。

### 参 考 文 献

- [1]見上 彪:パスツレラ科と感染症, 獣医微生物学, 68-72(2003)
- [2]佐々木羊介:豚の全身性 *Actinobacillus suis* 感染症, 日獣会誌, 64,381-384(2011)
- [3]伊藤博哉: 莢膜合成遺伝子を標的にしたマルチプレックス PCR による豚胸膜肺炎菌血清型 1, 2 及び 5 の型別, 日獣会誌, 64,184-186(2011)
- [4]Nabin Rayamajhi et al.: Development and use of a multiplex polymerase chain reaction assay based on Apx toxin genes for genotyping of *Actinobacillus*, J Vet Diagn Invest, 17:359-363(2005)
- [5]伊藤博哉:動物由来のパスツレラ科に属する細菌の PCR による同定・検出及び血清型の同定法ならびに RTX 毒素について, 家畜衛生学雑誌, 145,1-38(2019)
- [6]Townsend KM et al.: Genetic Organization of *Pasteurella multocida* cap Loci and Development of a Multiplex Capsular PCR Typing System, J Clin Microbiol.,39(3):924-929(2001)
- [7]Harper M, et al.: Development of a rapid multiplex PCR assay to genotype *Pasteurella multocida* strains by use of the lipopolysaccharide outer core biosynthesis locus, J Clin Microbiol.,53(2):477-85(2015)
- [8]稲葉夏深ら:と畜検査豚における *Actinobacillus pleuropneumoniae* 血清型 2 感染に関連した全身性皮下脂肪組織炎の 1 例, 日獣会誌, 71,660-663(2018)
- [9]大場剛実ら: Multifocal granulomatous hepatitis caused by *Actinobacillus pleuropneumoniae* serotype 2 in slaughter pigs, J. Comp. Pathol, 139:61-66(2008)
- [10]Buttenschön J, et al.: Microbiology and pathology of fibrinous pericarditis in Danish slaughter pigs, Zentralbl Veterinarmed A, 44(5):271-80(1997)
- [11]O Paul Miniats et al.: *Actinobacillus suis* septicemia in mature swine: Two outbreaks resembling erysipelas, Can Vet J, 30:943-947(1989)
- [12]河村美登里ら: *Pasteurella multocida*A:1 による疣贅性心内膜炎を伴う子牛の敗血症, 日獣会誌, 63,866-869(2010)
- [13]全国家畜衛生職員会:ヒストフィルス・ソムニ感染症, 病性鑑定マニュアル第 4 版, 188-190



# 牛の横隔膜胸腔面にみられたB細胞性リンパ腫の1症例

三好 文暁, 一二三 達郎<sup>1)</sup>, 平井 卓哉<sup>2)</sup>, 姫木 学

志布志食肉衛生検査所, 1) 鹿児島大学共同獣医学部, 2) 宮崎大学農学部獣医学科

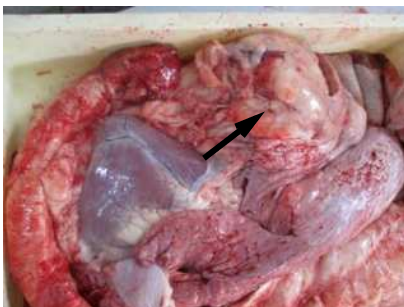
## はじめに

牛のB細胞性リンパ腫は地方病性牛白血病(EBL)においてみられる腫瘍で, 吸血昆虫が媒介する牛白血病ウイルス(BLV)を原因とし, 感染牛の数%が発症するとされ, 肉眼所見では各リンパ節の腫大および主要臓器の腫大, 肥厚ならびに白色結節形成等を主体とする変化がみられる<sup>1)</sup>。今回, と畜検査時に横隔膜胸腔面に限局した腫瘍がみられ, 病理学的検索およびPCR検査の結果B細胞性リンパ腫(EBL)と診断した症例の概要について報告する。

## 材料と方法

材料は, 管内と畜場に脊髄損傷および腰痠と診断され緊急搬入された牛(黒毛和種, 経産牛, 64ヶ月齢)で, 生体検査で犬座姿勢であった以外異常はみられなかった。解体検査において, 横隔膜胸腔面に限局した桃白色でソフトボール大の腫瘍がみられた。癒着もなく, 全身の各リンパ節および臓器等に異常はみられなかった。腫瘍の断面も桃白色で充実性であり, 柔軟な部位とやや硬い部位が境界なく混在していた。

腫瘍を 10%中性緩衝ホルマリン液で固定後, 常法によりパラフィン切片を作製し, ヘマトキシリン・エオジン(H.E)およびマッソン・トリクローム染色を施した。さらに, CD3(Dako), CD20(Sino Biological Inc), CD79 $\alpha$ (Dako), PAX5(Dako), Iba1(Wako)を一次抗体として用いた免疫組織化学的検索を行った。また, パラフィン包埋切片から約 30分で簡易に DNA を抽出出来るキット, Takara DEXPAT Easy を用いて 10  $\mu$ m に薄切したパラフィン包埋切片 3 枚から鋳型 DNA を抽出した後, BLV プロウイルスを検出する為の PCR 検査を実施した。



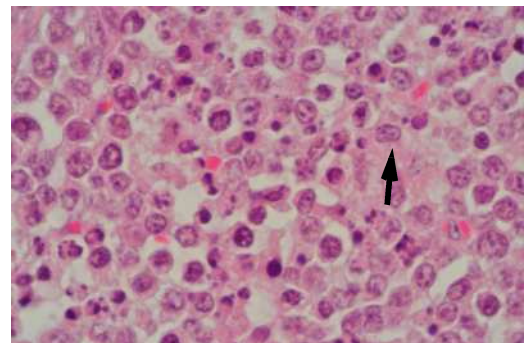
横隔膜胸腔面の腫瘍(矢印)



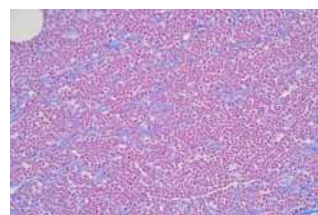
ソフトボール大で表面, 断面共に桃白色充実性

## 結果

病理組織学的検索において腫瘍細胞は大小不同の著しい核を有し, 陥凹等の核膜不整があり, 好塩基性の顆粒状物や壊死して核濃縮しているものがみられた。細胞質は乏しく泡沫状で, 微細な結合組織を伴うシート状構造であった。スターリースカイ像や一部では赤血球貪食像もみられた。



核の大小不同, 陥凹等の核膜不整(矢印), 核濃縮(HE)

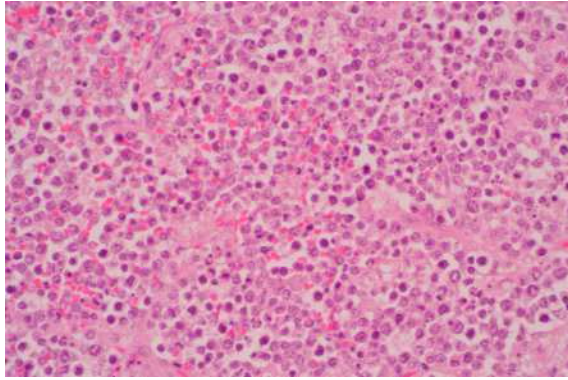


微細な結合組織を伴うシート状構造



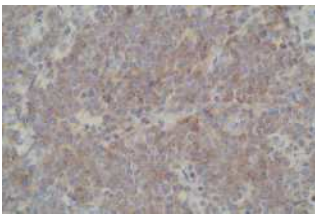
スターリースカイ像(HE)

(マッソントリクローム染色)

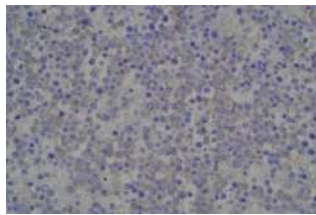


赤血球貪食像(HE)

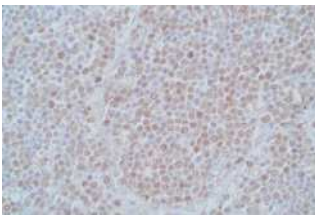
免疫組織化学的検索では CD79  $\alpha$ , CD20, PAX5 陽性, CD3, Iba1 陰性であった。



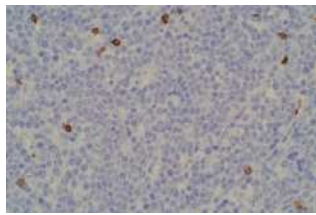
CD79  $\alpha$  (+)



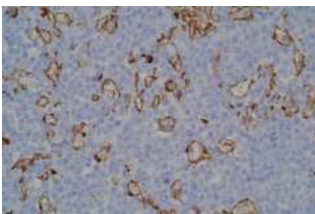
CD20(+)



PAX5(+)

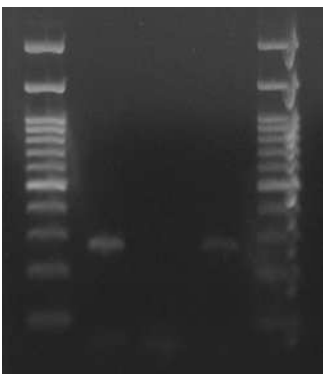


CD3(-)



Iba1(-)

また, PCR 検査では陽性対照同様に 272bp に BLV プロウイルス (Pol 領域) 存在のバンドが検出された。



左から,マーカー,Positive control, Negative control, Sample, マーカー

## 考察

病理組織学ならびに免疫組織化学的検索および PCR 検査結果より, 本症例を B 細胞性リンパ腫 (EBL) と診断した。通常遭遇する B 細胞性リンパ腫 (EBL) では全身の各リンパ節の腫大および主要臓器の腫脹ならびに白色結節形成等を主体とする変化がみられる<sup>2,3,4)</sup>が, 横隔膜胸腔面に桃白色の腫瘤として限局するものは経験が無く, 貴重な症例と思われた。

最後に, 本研究に際しご協力頂いた, 鹿児島大学共同獣医学部 一二三先生, 宮崎大学農学部獣医学科 平井先生に心より深謝致します。

## 参考文献

- 1)見上 彪, 丸山 務ら. 獣医感染症カラーアトラス(第1版). 1999:130-132.
- 2)S. Murayama, K. Sato et al. Cytologic and immunophenotypic investigation of lymphohematopoietic neoplasms in cattle. Jpn. Agric. Res. Quart. 2011;45(2):225-231.
- 3)T. Anjiki, Y. Kagawa et al. Immunohistochemical study on cutaneous B cell lymphoma in two cows. Jpn. Agric. Res. Quart. 2009;43(1):33-36.
- 4)Y. Abe, H. Shoji et al. Immunohistochemical study of lymphomas of abdominal cavity origin in two cows with bovine leukemia virus. Jpn. Agric. Res. Quart. 2007;41(2):153-156.

# 高速液体クロマトグラフィー(HPLC)を用いた豚肉中の βアゴニスト系薬剤定量法の検討

栗脇裕弥 西園幹雄<sup>1)</sup> 窪園薫 福里吉文  
末吉食肉衛生検査所, 1) 大口食肉衛生検査所

## はじめに

βアゴニスト系薬剤には数種類あるが、そのうち塩酸クレンプテロール(CL)は家畜動物の難産や呼吸器疾患の治療薬として使用されている。また、塩酸ラクトパミン(RP)は海外では成長促進剤の目的で飼料添加物として用いられているが、国内では薬規法により使用が禁止されている。輸出食肉においては、タイ向け輸出豚肉の取扱要綱にて、「βアゴニスト及びその代謝物が食肉に含まれないこと」が輸出要件として示されている。日本の畜産物の輸出量は、年々伸びており、輸出先国における規制への対応は検査所の大きな業務の一つとなっている。当該物質の食肉中における残留試験法は、公定法として、液体クロマトグラフ質量分析計(LC/MS/MS)を対象機器としているため、今回、当県検査所に設置されている高速液体クロマトグラフィー(HPLC)を用いて、RP及びCLの分析が可能であるかどうか試験法を検討したので、概要を報告する。

## 材料及び方法

### 【試薬及び試料】

RP 及び CL の標準品は和光純薬工業(株)製を使用し、標準溶液の調製は、RP はメタノール、CL は 0.1 %リン酸溶液(pH2.1)で逡減希釈した。試料には豚筋肉を用いた。

### 【装置】

島津製作所製の Prominence システムを使用した。RP は発蛍光物質であることから最適波長を求め、蛍光検出器(FL)で測定し、CL は蛍光を発しないため、多波長検出器(PDA)にて測定した。

### 【HPLC 測定条件及び前処理法の検討】

#### I 塩酸ラクトパミン(RP)

カラムは TSKgelODS-80Ts, 注入量 10 μL, 移動相はアセトニトリル:0.05 %トリフルオロ酢酸(TFA)=20:80, 流速 1.0 mL/分, 励起波長 278 nm, 蛍光波長 305 nm とした。試験溶液は、公定法[1]に準じて調製した。

#### II 塩酸クレンプテロール(CL)

CL の検出感度を上げるため、前処理法及び測定

条件を検討し最終的に以下の条件で測定を実施した。カラム TSKgelODS-80Ts, 注入量 100 μL, 移動相はアセトニトリル:0.1 %リン酸溶液=20:80, 流速 1.0 mL/分とした。試験溶液は、公定法[1]と公定法の操作性の改善を目的に前処理法を検討した林らの報告[2]を参考に調製した。また、抽出液の精製には Inert sep PSA (GL Sciences) を用いた。

### 【試験法の妥当性評価試験】

基準値以下を検出できた RP 試験法について、国から通知された試験法の妥当性評価ガイドライン[3]に基づき、添加回収試験を行い、選択性、真度、併行及び室内精度を求めた。

## 成績

### 【HPLC 測定条件及び前処理法の検討結果】

#### I 塩酸ラクトパミン(RP)

励起波長 278 nm, 蛍光波長 305 nm において最も強い蛍光強度が得られたため、最適波長とした(図1)。添加回収試験では、豚の残留基準値(10.0 ppb)に対し、約 1/20 量(定量限界値 0.55 ppb)の検出

感度が得られた。平均回収率は 105.9 % (n=5)であった。

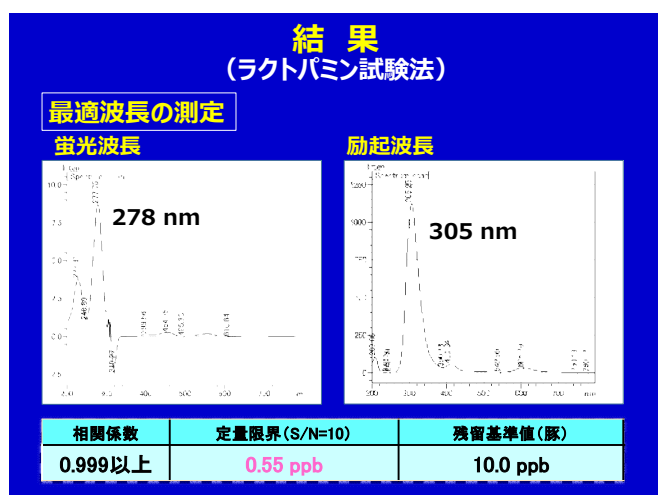


図1 最適波長の測定

## II 塩酸クレンブテロール (CL)

低濃度標準液の検出ができなかったため、注入量を 100  $\mu$ L に増やし、検出感度を向上させた(図2)。

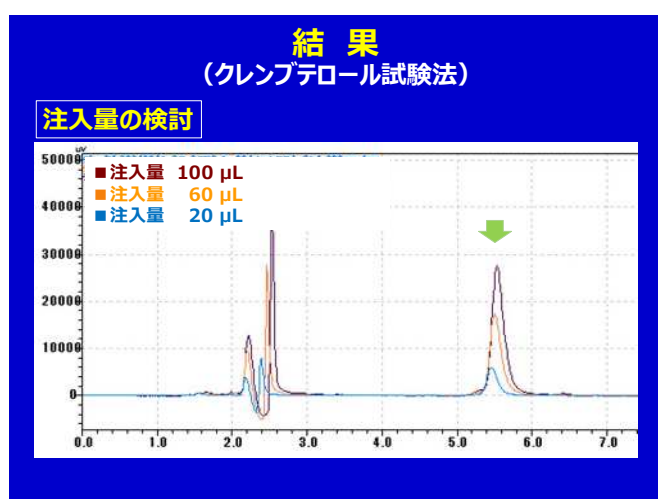


図2 注入量の検討

移動相は、50mM リン酸緩衝液から 0.1 %リン酸溶液に変更した。さらに、最適 pH を検討した結果、pH2.1 の時が最も感度が良かった (図3)

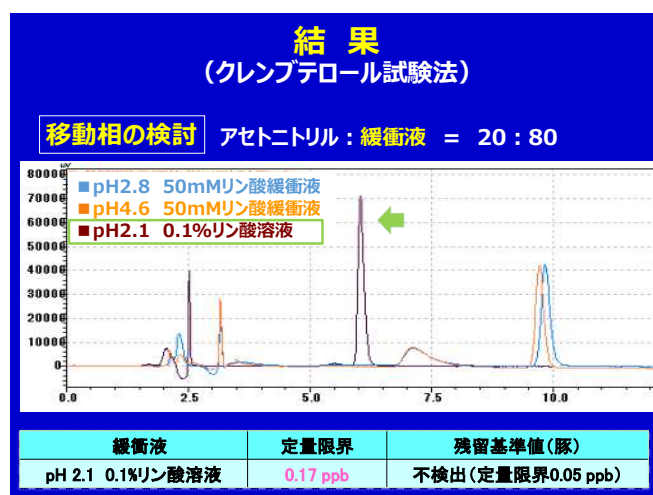


図3 移動相の検討

その他に、最終定容溶媒において、メタノールで溶解した試験溶液では回収率が 17.4 %であったため、0.1 %リン酸溶液 (pH2.1) に変更して測定した結果、95.0 % (n=8) の平均回収率が得られた (図4)。今回の CL 試験法における定量限界値は 0.17 ppb であった。

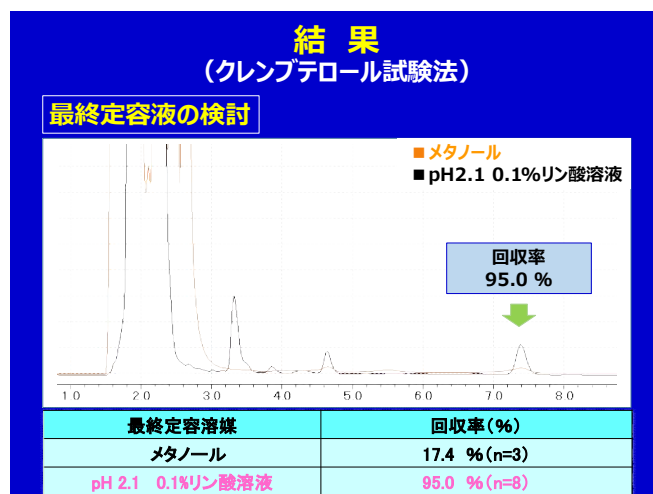


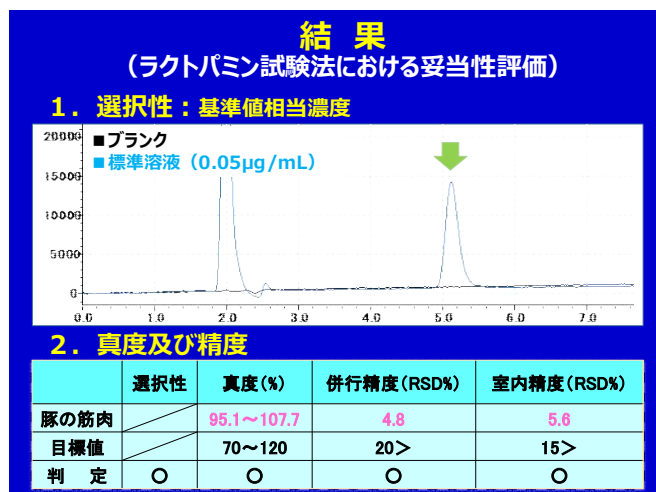
図4 最終定溶液の検討

### 【試験法の妥当性評価試験の結果】

RP 試験法について、ガイドラインに基づき妥当性評価を行ったところ、選択性は、ブランク試料において定量を妨害するピークは認められなかった。真度, 併行及び室内精度の全項目で目標値を満たし, 妥当性が確認できた(表1)。



表1 ラクトパミン試験法における妥当性評価



### 考 察

RP は、検出器に FL を使うことで検出感度が高く、試験法の妥当性評価でも良好な結果を得ることができ、HPLC を用いた定量試験法として有用であると考えられた。

CL は、公定法や林らの報告において、移動相緩衝液としてギ酸が用いられているが、ギ酸は短波長側領域に UV 吸収を持つため、HPLC 分析には適さないと考えられた。CL は、水への溶解性が高いことを考慮し、緩衝液を選択した。最終的には緩衝液を 0.1 %リン酸溶液 (pH2.1) にしたところ、最も高感度の定量限界値 0.17 ppb を検出することができたが、CL においては豚筋肉の残留基準値は不検出基準(定量限界 0.05 ppb)が設定されており、今回は検出することができなかった。今後、CL 試験法について、前処理法やカラムの変更等により、さらなる検出感度の向上について検討を行い、最終的に試験法の妥当性についても評価していきたい。

### まとめ

今回、当県検査所に設置されている HPLC を用いて、βアゴニスト系薬剤の分析方法を検討したところ、RP 試験法については公定法と同等性を確保できたと考える。当県において、LC/MS/MS は

一部の機関にしか設置されていないため、確認試験を行う際は設置機関に依頼せざるを得ない。HPLC を用いた定量試験法を確立できたことは非常に有意義であった。

βアゴニスト系薬剤は、国内では薬機法により使用が禁止されており、食肉中に含まれないことが前提である。タイの輸出要件においても検査は義務づけられていないが、海外では本薬剤の不正使用が報告されており、検査所としても残留を疑う場合に備え試験法を確立しておく必要があると考える。今後、CL を含め、他のβアゴニスト系薬剤についても基礎データを積み上げ、試験法を確立していきたい。

### 引用文献

- [1]厚労省医薬食品局食品安全部長通知 食安発第 0124001 号, 平成 17 年 1 月 24 日
- [2]林孝子, 小菅教仁, 福光徹, 脇ますみ: LC-MS/MS による豚肉および豚肉加工食品中のクレンプテロール残留分析法, 日本食品化学学会誌, 20-26 (2016)
- [3]厚労省医薬食品局食品安全部長通知 食安発第 1224 第 1 号, 平成 22 年 12 月 2 日

## 過去の業績発表及び調査研究（平成10年度以降）

年度	検査所名	発表内容及び研究内容
平成10	知覧食肉衛生検査所  串木野食肉衛生検査所 阿久根食肉衛生検査所 大口食肉衛生検査所 末吉食肉衛生検査所  志布志食肉衛生検査所	<ul style="list-style-type: none"> <li>・豚赤痢様病変及び大腸炎を呈した豚の結腸粘膜から分離された <i>Serpulina</i> 属菌の性状について</li> <li>・と畜場で認めれた牛の悪性水腫について</li> <li>・豚肺炎からの <i>Actinobacillus pleuropneumoniae</i> の分離</li> <li>・豚の敗血症（第1報）</li> <li>・PCRにおけるペロ毒素産生性大腸菌検出感度の向上</li> <li>・豚におけると畜検査データの解析とフィードバックシステムへの応用</li> <li>・養豚農家へのフィードバック事業</li> </ul>
平成11	知覧食肉衛生検査所  大口食肉衛生検査所 末吉食肉衛生検査所 志布志食肉衛生検査所  鹿屋食肉衛生検査所	<ul style="list-style-type: none"> <li>・精度管理の立場からみた <i>Bacillus subtilis</i>, <i>Bacillus mycoides</i>, <i>Micrococcus luteus</i> の各種抗生物質の感受性について</li> <li>・牛の病畜検査状況と健康畜で検査した枝肉及び肝臓の疾病状況（誌上発表）</li> <li>・豚の敗血症（第2報）－フィードバック事業の1つの成果－</li> <li>・牛の肝臓及び胆汁からの <i>Campylobacter</i> 属菌の検出</li> <li>・豚盲腸内容物におけるサルモネラ保菌調査</li> <li>・と畜場で認められた牛の嚢胞腺癌の1症例</li> <li>・豚血清中のインフルエンザウイルス抗体の継続的観察</li> </ul>
平成12	知覧食肉衛生検査所  阿久根食肉衛生検査所 大口食肉衛生検査所 末吉食肉衛生検査所  志布志食肉衛生検査所 鹿屋食肉衛生検査所	<ul style="list-style-type: none"> <li>・鶏白血病について</li> <li>・肝蛭による病変</li> <li>・筋間水腫における一考察</li> <li>・と畜場における牛のヨーネ病診断事例</li> <li>・豚の敗血症（第3報）－フィードバック事業の一例－</li> <li>・と畜場で認められた牛の顆粒膜細胞腫の1症例</li> <li>・HPLCによる合成抗菌剤及び寄生虫用剤の同時分析法の検討</li> <li>・末吉食肉衛生検査所における口蹄疫発生時の対応経過</li> <li>・フィードバック農家の意向調査</li> <li>・ブロイラー養鶏農場におけるサルモネラ衛生対策 ～その1～</li> </ul>
平成13	阿久根食肉衛生検査所 大口食肉衛生検査所 末吉食肉衛生検査所  志布志食肉衛生検査所  鹿屋食肉衛生検査所	<ul style="list-style-type: none"> <li>・気腫疽と悪性水腫の鑑別と迅速診断</li> <li>・県下の大規模食鳥処理場における細菌汚染調査について</li> <li>・豚繁殖・呼吸障害症候群ウイルス（PRRSV）の抗体保有率及び分離状況について</li> <li>・豚頭肉の汚染状況</li> <li>・と畜場搬入牛・豚におけるQ熱リケッチア抗体保有ならびに <i>Coxiella burnetii</i> 遺伝子の検出状況</li> <li>・ブロイラーにおけるサルモネラおよびカンピロバクター保菌調査</li> </ul>

年度	検査所名	発表内容及び研究内容
平成14	知覧食肉衛生検査所 阿久根食肉衛生検査所 末吉食肉衛生検査所 鹿屋食肉衛生検査所	<ul style="list-style-type: none"> <li>・敗血症(心内膜炎型)の培養法に関する検討</li> <li>・豚のリンパ類上皮細胞性(Lennert)リンパ腫の一例</li> <li>・DFD様筋肉変性鶏(ブロイラー)に対する伝染性気管支炎ウイルス(IBV)および腎疾患の関与について</li> <li>・湯はぎ式解体ラインにおける枝肉細菌数の推移</li> <li>・と畜段階及び生産段階における発育不良豚の実態と処理方法に関する一考察</li> </ul>
平成15	知覧食肉衛生検査所 串木野食肉衛生検査所 阿久根食肉衛生検査所 末吉食肉衛生検査所 鹿屋食肉衛生検査所	<ul style="list-style-type: none"> <li>・関節炎型豚丹毒の凝集反応法による診断法の検討</li> <li>・発育不良の黒毛和種牛における腎尿細管異形成の一症例</li> <li>・正常肥育豚の血液検査及び発育不良豚との比較</li> <li>・慢性貧血が疑われた高齢牛の一症例</li> <li>・豚丹毒迅速診断の比較検討</li> <li>・と畜豚の肺疾患及び豚繁殖・呼吸器障害症候群ウイルス(PRRSV), 豚サーコウイルス2型(PVC2)および豚オーエスキー病ウイルス(ADV)との関係について</li> <li>・ブロイラーにおける胆管肝炎の病理</li> <li>・湯はぎ式解体ラインにおける衛生管理への取り組み</li> </ul>
平成16	知覧食肉衛生検査所 串木野食肉衛生検査所 阿久根食肉衛生検査所 大口食肉衛生検査所 末吉食肉衛生検査所 鹿屋食肉衛生検査所	<ul style="list-style-type: none"> <li>・黒毛和種牛におけるクローデイン16欠損症とその類似疾患</li> <li>・豚カット室における細菌数の変動と衛生対策の効果</li> <li>・豚のアレルギー性皮膚炎について</li> <li>・食鳥検査でみられたブロイラーの<i>Aspergillus flavus</i>感染症</li> <li>・牛, 豚の体表におけるリステリア属菌付着状況調査</li> <li>・と畜場で発見される豚抗酸菌症への一考察(ホルマリン固定材料からの抗酸菌検索)</li> <li>・豚解体処理工程別の枝肉細菌数の推移と衛生管理の改善への試み</li> <li>・PCRによる<i>Clostridium chauvoei</i>と<i>Clostridium septicum</i>の迅速鑑別診断の検討</li> <li>・DFD様筋肉変性鶏の過酸化脂質及び深胸筋と肝臓のプロテオーム解析</li> <li>・管内一と畜場におけるサルモネラ浸潤状況</li> </ul>
平成17	知覧食肉衛生検査所 串木野食肉衛生検査所 阿久根食肉衛生検査所 大口食肉衛生検査所 末吉食肉衛生検査所 志布志食肉衛生検査所 鹿屋食肉衛生検査所	<ul style="list-style-type: none"> <li>・発育不良豚血漿のプロテオーム解析</li> <li>・成鶏に見られた骨外性骨肉腫の一例</li> <li>・と畜検査時にみられた牛のアクチノバチルス症</li> <li>・<i>Clostridium septicum</i>分離同定法の一考察</li> <li>・クマリン系殺鼠剤中毒を疑った豚のHPLC分析</li> <li>・豚丹毒迅速診断の比較検討(第2報)</li> <li>・牛の胆汁中における<i>Campylobacter</i>汚染調査及び分離菌株の遺伝子型比較</li> <li>・大規模食鳥処理場におけるカンピロバクター汚染状況調査</li> <li>・豚赤痢のPCR法導入による迅速診断と病理組織学的診断の比較検討</li> <li>・PCR法による抗酸菌検出法の検討</li> <li>・間質性肝炎を呈する豚肝臓の細菌汚染調査(第1報)</li> <li>・寄生虫用剤イベルメクチンの牛への残留状況について</li> <li>・残留抗生物質簡易検査における<i>Bacillus mycoides</i>芽胞原液作成法の検討</li> </ul>

年度	検査所名	発表内容及び研究内容
平成18	阿久根食肉衛生検査所 大口食肉衛生検査所 末吉食肉衛生検査所 志布志食肉衛生検査所 鹿屋食肉衛生検査所	<ul style="list-style-type: none"> <li>・異常な臭い及び黒色を呈する牛の大腸に関する調査</li> <li>・<i>Streptococcus gallolyticus</i>が分離されたブロイラーの心内膜炎</li> <li>・食鳥検査データからみたと体廃棄の原因疾病</li> <li>・牛枝肉の脳・脊髄組織汚染状況調査及び汚染除去方針の検討</li> <li>・豚敗血症（心内膜炎型）からの<i>Streptococcus suis</i>分離状況調査</li> <li>・ブロイラーの育成から出荷過程におけるカンピロバクター汚染状況調査</li> <li>・牛血漿のSDS-PAGE解析</li> <li>・食鳥処理場におけるカンピロバクター汚染状況調査（第1報）</li> <li>・緊急搬入牛から検出されたイベルメクチンについて（症例報告）</li> <li>・豚腸管由来の多剤耐性<i>Salmonella Typhimurium</i>(ST)分離状況と分離株の特徴</li> </ul>
平成19	串木野食肉衛生検査所 阿久根食肉衛生検査所 大口食肉衛生検査所 末吉食肉衛生検査所 志布志食肉衛生検査所 鹿屋食肉衛生検査所	<ul style="list-style-type: none"> <li>・と畜場搬入豚由来<i>Salmonella Choleraesuis</i>の薬剤感受性とプラスミドプロファイル</li> <li>・バイオアッセイによる抗菌性物質の感受性試験</li> <li>・牛の好酸球性筋炎の1症例</li> <li>・管内と畜場でみられた豚サルモネラ症の発生状況</li> <li>・食肉衛生検査所における牛の腫瘍</li> <li>・県下で分離された腸管出血性大腸菌0157の疫学的検討</li> <li>・牛，豚糞便からの0157分離状況調査</li> <li>・残留抗生物質簡易検査用<i>Bacillus mycoides</i>芽胞菌液作成及び保存法の検討</li> <li>・一部廃棄としたブロイラーの肝炎に関する調査</li> </ul>
平成20	知覧食肉衛生検査所 阿久根食肉衛生検査所 大口食肉衛生検査所 末吉食肉衛生検査所 志布志食肉衛生検査所 鹿屋食肉衛生検査所	<ul style="list-style-type: none"> <li>・病畜牛における血漿中ビタミンA，Eと副腎皮質ホルモン（コルチゾール）の測定</li> <li>・ML培地における豚肝臓の抗菌作用</li> <li>・県内のと畜場でみられた牛白血病の基礎的調査</li> <li>・と畜場に搬入された豚におけるサルモネラの保菌状況及び疫学的検討（第1報）</li> <li>・豚尿毒症の調査結果について</li> <li>・と畜場でみられた牛の腫瘍と牛白血病抗体保有状況</li> <li>・食肉衛生検査微生物分野におけるカラーアトラスの作成 （平成19年度微生物部会調査研究）</li> <li>・家畜由来カンピロバクターの薬剤感受性成績</li> </ul>
平成21	阿久根食肉衛生検査所 大口食肉衛生検査所 末吉食肉衛生検査所 志布志食肉衛生検査所 鹿屋食肉衛生検査所	<ul style="list-style-type: none"> <li>・食肉衛生検査所における牛白血病の鑑別</li> <li>・と畜場に搬入される牛のレプトスピラ浸潤状況調査</li> <li>・と畜場搬入豚の肝臓及び盲腸便から分離された<i>Salmonella Choleraesuis</i>の疫学的検討</li> <li>・MGIT法及びPCR法を併用した抗酸菌検出法の検討 （平成20年度微生物部会調査研究）</li> <li>・管内と畜場における牛腫瘍の発生状況</li> <li>・サルモネラ相誘導試験における簡易法の検討</li> </ul>

年度	検査所名	発表内容及び研究内容
平成22	知覧食肉衛生検査所 串木野食肉衛生検査所 阿久根食肉衛生検査所 末吉食肉衛生検査所 志布志食肉衛生検査所 鹿屋食肉衛生検査所	<ul style="list-style-type: none"> <li>管内と畜場で見られた緊急搬入牛における肺炎調査</li> <li>食肉衛生検査所の施設検証の取り組みについて</li> <li>食肉衛生検査所のフィードバックの取り組みについて</li> <li>黒毛和種にみられた転移を伴う腎臓腫瘍</li> <li>大規模食鳥処理場における衛生実態調査</li> <li>住肉胞子虫の寄生が認められた牛の好酸球性筋炎の一症例</li> <li>豚疣状心内膜炎由来 <math>\beta</math> 溶血性 <i>Streptococcus dysgalactiae subsp. equisimilis</i> の薬剤感受性と遺伝学的特徴</li> <li><i>Actinobacillus pleuropneumoniae</i> による豚の疣状性心内膜炎の発生実態</li> <li>豚の疣状性心内膜炎から分離された <i>Actinobacillus equuli subsp. equuli</i></li> </ul>
平成23	阿久根食肉衛生検査所 大口食肉衛生検査所 末吉食肉衛生検査所 志布志食肉衛生検査所 鹿屋食肉衛生検査所	<ul style="list-style-type: none"> <li>食肉・食鳥検査等カラーアトラスデータの簡易データベース化</li> <li>対米輸出食肉を取り扱うと畜場等に係る認定までの衛生指導について</li> <li>食鳥処理場におけるカンピロバクター汚染低減への取り組み</li> <li>管内と畜場で分離された <i>Salmonella Choleraesuis</i> の性状</li> <li>管内と畜場における豚丹毒の疫学的検討</li> <li>管内と畜場で牛白血病が疑われた症例の検討</li> <li>牛のリンパ腫におけるスタンブ標本を用いた免疫組織化学的検査の有用性</li> <li>全身性腫瘍が疑われた牛2例の病理組織学的検討</li> <li>食鳥処理場におけるESBL産生 <i>Escherichia Coli</i> の浸潤調査</li> </ul>
平成24	知覧食肉衛生検査所 阿久根食肉衛生検査所 大口食肉衛生検査所 末吉食肉衛生検査所 志布志食肉衛生検査所 鹿屋食肉衛生検査所	<ul style="list-style-type: none"> <li>管内と畜場でみられた敗血症型豚丹毒2症例</li> <li>牛胆汁及び直腸便の <i>Campylobacter jejuni/coli</i> 分離状況及び分離方法の検討</li> <li>大規模食鳥処理場における施設衛生指導について</li> <li>管内と畜場における豚丹毒の発生状況</li> <li>豚丹毒が多発した農場の分離株における遺伝子型別と薬剤感受性</li> <li>MALDI-TOF MS活用による豚丹毒菌迅速同定法の検討（第一報）</li> <li>LAMP法を用いた <i>Streptococcus. suis</i> の検出法の検討</li> <li>T細胞性リンパ腫の病理組織学的検討</li> <li>リンパ腫と中皮腫の併発が疑われた牛の病理組織学的検討</li> <li>と畜場搬入豚由来 <i>Actinobacillus pleuropneumoniae</i> の薬剤感受性</li> <li>PCR-RFLP法により未知の遺伝子型が確認された牛白血病の一症例</li> </ul>

年度	検査所名	発表内容及び研究内容
平成25	知覧食肉衛生検査所 串木野食肉衛生検査所 阿久根食肉衛生検査所 末吉食肉衛生検査所 志布志食肉衛生検査所 鹿屋食肉衛生検査所	<ul style="list-style-type: none"> <li>・成鶏における <i>Campylobacter jejuni/coli</i> の保菌調査及び検出法の検討</li> <li>・病畜と室における牛のと畜検査概要</li> <li>・と畜検査における腸病変(牛・豚)の病理アトラス作成</li> <li>・ブロイラーのカンピロバクター保菌調査及び食鳥処理場の汚染状況(第1報)</li> <li>・対米等牛肉輸出認定施設におけると畜解体工程の衛生管理に係る検証</li> <li>・と畜場で認められた牛の悪性水腫の検査と対応(事例報告)</li> <li>・Propidium monoazide(PMA)を用いた豚丹毒早期診断法の検討</li> <li>・ブロイラーにおけるカンピロバクターの保菌及び製品汚染調査</li> <li>・<i>Streptococcus. suis</i> におけるST1complexの分布状況調査及び簡易識別法の検討</li> <li>・対シンガポール輸出食肉を取り扱うと畜場等の認定までの経緯と対応</li> </ul>
平成26	知覧食肉衛生検査所 串木野食肉衛生検査所 阿久根食肉衛生検査所 大口食肉衛生検査所 末吉食肉衛生検査所 志布志食肉衛生検査所 鹿屋食肉衛生検査所	<ul style="list-style-type: none"> <li>・牛の真性多血症の一例について</li> <li>・牛の肝臓・胆嚢及び糞便における腸管出血性大腸菌及びカンピロバクターの保菌状況調査</li> <li>・カンピロバクター保菌調査及び食鳥処理場における汚染状況調査</li> <li>・と畜検査でみられた牛の脳幹部硬膜下膿瘍</li> <li>・大規模食鳥処理場の各処理工程におけるカンピロバクター汚染実態調査</li> <li>・ワーキンググループを活用したと畜場等への衛生講習会</li> <li>・食鳥検査でみられた鶏マラリア</li> <li>・県内と畜場における豚丹毒の発生状況</li> <li>・と畜場で発生したヨーネ病の検査事例</li> <li>・腸内細菌科群数を用いた牛豚枝肉の胃腸内容物汚染の検討</li> <li>・対米等及び対EU輸出牛肉認定施設におけるサルモネラ属菌の分離試験に関する一考察</li> <li>・プレミックス試薬を用いたダイレクトコロニーPCR法の検討</li> </ul>
平成27	知覧食肉衛生検査所 阿久根食肉衛生検査所 大口食肉衛生検査所 末吉食肉衛生検査所 志布志食肉衛生検査所 鹿屋食肉衛生検査所	<ul style="list-style-type: none"> <li>・マルボフロキサシン残留が認められた牛の一例</li> <li>・牛のマイコプラズマ関連疾病肝臓</li> <li>・と畜検査でみられた皮膚型牛白血病および非定型型牛白血病</li> <li>・ブロイラーの多発性黒色腫</li> <li>・豚にみられた腎芽腫の1例</li> <li>・豚と畜検査データフィードバックにおけるSEPグレード分けの取り組み</li> <li>・<i>Clostridium</i> 属菌が分離された4症例と検査方法の検討</li> <li>・食鳥におけるサルモネラの保菌状況調査</li> <li>・枝肉検査時に認められる牛胸部石灰化病変の検討</li> <li>・豚と畜場及び食肉処理場における衛生指導の一考察</li> <li>・と畜検査において、豚骨髓性白血病を疑った事例</li> <li>・保存菌株台帳のデータベース化とその活用の検討</li> </ul>

年度	検査所名	発表内容及び研究内容
平成28	知覧食肉衛生検査所 串木野食肉衛生検査所 阿久根食肉衛生検査所 大口食肉衛生検査所 末吉食肉衛生検査所 志布志食肉衛生検査所 鹿屋食肉衛生検査所	<ul style="list-style-type: none"> <li>・と畜場における牛枝肉の衛生対策</li> <li>・過去10年間のと畜検査データのまとめ及び検査所におけるフィードバック事業の取り組み</li> <li>・<i>Mycoplasma bovis</i>が関与した牛の心内膜炎</li> <li>・と畜場における口蹄疫実務実践型防疫演習の概要と検証</li> <li>・鹿児島県内の大規模食鳥処理場で分離された <i>Salmonella Infantis</i>, <i>S. Schwarzengrund</i>及び <i>S. Manhattan</i>の保有プラスミドと薬剤耐性</li> <li>・BLV陰性牛でみられたB細胞性リンパ腫</li> <li>・FSIS（米国食品安全検査局）指摘事項の変遷</li> <li>・豚枝肉における微生物汚染調査（平成27年度微生物部会調査研究報告）</li> <li>・牛にみられた腹腔内播種性腫瘍の1例</li> <li>・食鳥処理場で分離された大腸菌の薬剤感受性</li> </ul>
平成29	知覧食肉衛生検査所 串木野食肉衛生検査所 阿久根食肉衛生検査所 大口食肉衛生検査所 末吉食肉衛生検査所 志布志食肉衛生検査所 鹿屋食肉衛生検査所	<ul style="list-style-type: none"> <li>・生食用食鳥肉加工工程における細菌汚染実態調査</li> <li>・大規模食鳥処理場におけるカンピロバクター等の微生物汚染の調査とその対策～厚生労働省「亜塩素酸水処理による微生物低減策の有効性実証事業」～</li> <li>・豚赤痢の分離培地及び検査法の検討</li> <li>・黒毛和種における <i>Mycoplasma bovis</i>の浸潤状況</li> <li>・ヨーネ病対応マニュアルの作成</li> <li>・スタンプ標本を用いた免疫組織化学的染色による牛白血病の簡易診断法</li> <li>・尿毒症に係る検査方法の調査</li> <li>・食鳥検査結果と農場生産成績の関連性</li> <li>・牛及び豚敗血症由来 <i>Trueperella pyogenes</i>の薬剤感受性と遺伝学的特徴</li> <li>・鶏大腸菌症由来 <i>Escherichia coli</i>の薬剤耐性および遺伝学的特徴</li> <li>・<i>Clostridium</i>属菌の混合感染症における菌種同定PCR法の検討</li> <li>・牛の原発不明腺癌の1例</li> </ul>
平成30	知覧食肉衛生検査所 串木野食肉衛生検査所 阿久根食肉衛生検査所 大口食肉衛生検査所 末吉食肉衛生検査所 志布志食肉衛生検査所 鹿屋食肉衛生検査所	<ul style="list-style-type: none"> <li>・鶏肝臓におけるカンピロバクター汚染状況調査</li> <li>・牛の腹腔内腫瘍にみられた内分泌系腫瘍の1例</li> <li>・大規模食鳥処理場における衛生指導及び細菌汚染低減への取り組み</li> <li>・豚の心臓腫瘍の1例と疣贅性心内膜炎の比較</li> <li>・豚の疣贅性心内膜炎由来 <i>Streptococcus suis</i>の疾病リスクと薬剤耐性状況調査</li> <li>・酸性電解水及び過酢酸製剤処理による微生物汚染低減効果の検証 ～平成29年度厚生労働省「食鳥肉における微生物汚染低減策の有効性実証事業」実績報告～</li> <li>・管轄食鳥処理場等への外国政府調査の概要</li> <li>・農場へい死鶏及び食鳥検査廃棄鶏における鶏病原性大腸菌の遺伝子学的比較</li> <li>・輸出認定施設におけるATP拭き取り検査を活用した衛生指導</li> <li>・<i>Lawsonia intracellularis</i>によると考えられる豚の小腸炎に関する調査</li> <li>・と畜検査データの双方向性フィードバックの一例</li> </ul>

年度	検査所名	発表内容及び研究内容
令和元	知覧食肉衛生検査所 串木野食肉衛生検査所 阿久根食肉衛生検査所 大口食肉衛生検査所 末吉食肉衛生検査所 志布志食肉衛生検査所 鹿屋食肉衛生検査所	<ul style="list-style-type: none"> <li>・食肉加工施設における食鳥肉の表面加熱の効果の検証</li> <li>・と畜データを活用した地方病性牛白血病(EBL)の発生状況の調査</li> <li>・鶏病原性大腸菌の鶏の増体への関連因子</li> <li>・黒毛和種肥育牛における血液性状と枝肉成績との関連</li> <li>・<i>Mycoplasma</i>の関与した心内膜炎および腹大動脈塞栓を認めた牛の症例</li> <li>・食鳥処理場のカンピロバクター汚染度把握と低減への取り組み</li> <li>・食鳥処理場で検出された<i>Campylobacter jejuni</i>におけるギランバレー症候群(GBS)関連遺伝子の保有調査</li> <li>・鶏病原性大腸菌の鶏の増体への関連因子</li> <li>・地方病性牛白血病の迅速診断の試み</li> <li>・フィードバック対象農場における肺炎由来菌の薬剤感受性試験</li> </ul>
令和2	知覧食肉衛生検査所 串木野食肉衛生検査所 阿久根食肉衛生検査所 大口食肉衛生検査所 末吉食肉衛生検査所 志布志食肉衛生検査所 鹿屋食肉衛生検査所	<ul style="list-style-type: none"> <li>・試行した切除法による細菌検査の結果と課題</li> <li>・ブロイラーの浅胸筋変性症の病態調査</li> <li>・管内と畜場で分離された豚のサルモネラ属菌の実態調査</li> <li>・マトリックス支援レーザー脱離イオン化飛行時間型質量分析装置(MALDI-TOF MS)を用いた敗血症分離菌の同定</li> <li>・黄疸の指標としての肝臓中パルミチン酸レチノール</li> <li>・枝肉重量と内臓病変及び枝肉重量遺伝子CW-2との関連性</li> <li>・<i>Streptococcus</i>属菌のMultiplexPCRによる菌種同定の検討</li> <li>・<i>Streptococcus suis</i>が高率に発生した農場における薬剤耐性状況</li> <li>・令和元年度の保留豚における抗菌性物質残留陽性事例の調査</li> </ul>
令和3	知覧食肉衛生検査所 串木野食肉衛生検査所 阿久根食肉衛生検査所 大口食肉衛生検査所 末吉食肉衛生検査所 志布志食肉衛生検査所 鹿屋食肉衛生検査所	<ul style="list-style-type: none"> <li>・管内と畜場で分離された牛肺炎由来菌の薬剤感受性</li> <li>・豚カット処理施設における低温細菌の分離と発育温度の検討</li> <li>・鶏の肝臓における食中毒菌等の汚染状況調査</li> <li>・と畜検査でみられたパスツレラ科細菌による全身性感染症</li> <li>・高速液体クロマトグラフィー(HPLC)を用いた豚肉中のβアゴニスト系薬剤定量法の検討</li> <li>・牛肉表面のSTEC汚染に対する薬剤による消毒効果の検討</li> <li>・牛の横隔膜胸腔面にみられたB細胞性リンパ腫の1症例</li> <li>・管内と畜場に搬入された<i>Escherichia albertii</i>保菌状況調査</li> </ul>