道内産めん羊における志賀毒素産生性大腸菌及びサルモネラ属菌の保有状況

〇稲田和也 1)　清水俊一 1)　清水俊一 1)　本郷健雄 2)　大野祐太 3)
1)早来食肉衛生検査所　2)東藻琴食肉衛生検査
3) 北海道立衛生研究所

【はじめに】国内では、食生活における健康志向の高まりから羊肉の需要が増加しており、さらにニュージーランド政府と北海道庁及び羊牧場が提携した道産羊肉の生産拡大計画が報道される等、今後、道産羊肉は流通及び消費の拡大が見込まれている。海外では羊肉に起因する食中毒事例の報告が散見され、羊が腸管出血性大腸菌 O157 を代表とする志賀毒素産生性大腸菌（Shiga toxin-producing *Escherichia coli*; STEC）や サルモネラ属菌を保有することが知られている。国内では、STEC による食中毒は、その強い病原性により重篤化することが多く、サルモネラ属菌による食中毒事例は減少傾向にあるものの患者数が多く、これらの食中毒菌の家畜における保有状況を調査することは公衆衛生上重要な意義をもつ。

今般、と畜場法改正により、と畜場での HACCP に基づく衛生管理が義務化され、羊処理も危害分析を行う必要があるが、国内の羊については、食中毒菌の保有状況調査はほとんど行われておらず、危害分析のためのデータがない状況にある。そこで今回、危害分析のための基礎となるデータ収集を目的として所管と畜場に搬入される羊の STEC 及びサルモネラ属菌の保有状況を把握するため、実態調査を行ったので報告する。

【材料及び方法】令和元年 5 月～令和 2 年 5 月に所管と畜場で処理された 11 市町村の羊 60 頭から採取した直腸便を検体とした。各検体にリン酸緩衝液を加え攪拌し、20%糞便乳剤とした。STEC は、糞便乳剤をノボビオシン加 mEC に接種し 42℃18～24 時間培養後、クロモアガーSTEC、クロモアガーO157 及び DHL で 37℃18～24 時間培養し、STEC 様コロニーを CycleavePCR O-157（VT gene）Screening Kit Ver.2.0 を用いて qPCR を行い陽性となったものを STEC とした。分離した STEC は Ecmulti [1] を用いた qPCR による志賀毒素遺伝子（*stx1*、*stx2*）、接着因子遺伝子（*eae*）の調査及び血清型別を行った。サルモネラ属菌は、糞便乳剤をラパポート・バシリアディス培地及びハーナテトラチオン培地で 42℃18～24 時間培養後、クロモアガーサルモネラ及び DHL で 37℃18～24 時間培養し、サルモネラ属菌様コロニーを CycleavePCR Salmonella Detection Kit Ver.2.0 を用いて qPCR を行うとともに TSI 寒天培地、LIM 培地、シモンズクエン酸ナトリウム培地、VP 半流動培地、マロン酸塩培地を用いた生化学性状試験の結果によりサルモネラ属菌と同定し、更に血清型別を行った。

【成績】STEC の保有状況は、8 市町村から搬入された羊 16 頭から分離され、保有率は 26.7%（16/60 検体）で、22 株が分離された。分離された STEC は *stx1* 及び *eae* を保有する O103:H2 株が 2 株、*stx1* 及び *stx2* を保有する株 7 株（O91:NM 株が 2 株、OUT:NM が 5 株）、*stx1* のみを保有する株が 10 株（O146:NM が 1 株、OUT:HUT が 3 株、OUT:NM が 6 株）だった。また、サルモネラ属菌の保有状況は、6 市町村から搬入された羊 20 頭から分離され、保有率は 33.3%（20/60 検体）で、21 株が分離された。生化学性状試験及び血清型別の結果では、分離されたサルモネラ属菌の亜種及び血清型は *Salmonella enterica* subsp. *diarizonae*（亜種Ⅲb）61:-:1,5,(7)（以下、SASd）が 20 株、*Salmonella enterica* subsp. *enterica*（亜種 I）4,5,12:i:-（以下、O4:i:-）が 1 株だった。

【考察】今回調べた羊の STEC 保有率は 26.7%であったが、国内における牛の保有率は 11.9%［2］との報告があり、牛よりも高率に STEC を保有していると考えられる。また、STEC O103:H2 は溶血性尿毒症症候群やアウトブレイクの発生報告［3］が世界各地で散見され、国内でも食中毒患者から分離される事例がある［4］。今回分離されたこの血清型の

株は *stx1* 及び *eae* を保有するため、人への強い病原性を有する可能性が高いと考えられる。その他の株は *eae* を保有しなかったが、近年 *eae* に代わる接着因子遺伝子 *saa* を保有する STEC の人への病原性が懸念［5］され、食中毒菌としても注目されている。今後、と畜場において分離した STEC の *saa* の保有状況を調査することは、安全な食肉供給に係る危害分析上の重要なファクターとなると考えられた。

また、羊のサルモネラ属菌の保有率は 33.3%であったが、国内における牛の保有率は 5.7%［6］と報告があり、サルモネラ属菌に関しても牛よりも高率に保有していると考えられる。今回分離されたものはほとんどが SASd だったが、羊における SASd は世界的に広がっており、羊を宿主として適応していると考えられている［7］。また、SASd の属する亜種Ⅲb に関しては、食中毒菌として重視されてきていなかったが、近年、人への病原遺伝子を保有する亜種Ⅲb が報告［8］されており、今回分離された SASd に関しても人への病原性を今後検討していく。また、今回分離された O4:i:-は近年血清型 Typhimurium 変異体として注目され、食中毒菌として重視されている病原体である。しかし、羊からの分離報告例はないことから、食中毒菌としての評価に寄与するため今後羊由来株の人への病原性についての調査を進める。

今回、と畜場での羊の処理における枝肉及び施設を汚染する危害要因には、STEC 及びサルモネラ属菌が含まれていることが明らかとなった。また、と畜処理では体毛に付着する糞便が枝肉及びと畜場への重要な危害として考えられている。羊の体毛は長く、生体洗浄だけでは体表汚染の制御が困難であり、他の家畜よりも生体の汚染を持込まない衛生管理が重要と考えられた。今回の結果からと畜場への羊処理に関する衛生指導がより効果的に行えるものと考えられた。

【まとめ】今回分離された STEC とサルモネラ属菌の中には、人への病原性が多数報告される STEC O103:H2 や O4:i:-の分離も見られた。国内では、羊の処理を行うと畜場は多くないため、と畜場の衛生管理に資する羊に関する調査報告は少ない。一方で、羊の処理が多い諸外国では、羊の保有する菌はと畜場の汚染原因として注目されており、牛や豚と同様に公衆衛生上重要視されている。羊肉の需要が増加しつつある国内においても、羊に関する実態調査は公衆衛生上の重要性が増すと考えられ、今後、食肉衛生検査所等がと畜場に対し HACCP に基づく衛生管理を指導していく中で、今回の結果は羊処理に係る危害を分析する上で有用な指標となるものと考える。