

# と畜場に搬入された豚における病原性 *Yersinia enterocolitica* の保有状況について

○加藤 千尋、天野 隆之、結城 瑞希

## 1 はじめに

エルシニア属菌は、4℃以下でも発育可能な低温発育性の腸内細菌科に属するグラム陰性通性嫌気性桿菌である。特に、*Y. enterocolitica*(以下「Y.e」)は食中毒原因菌として知られており、国内における発生事例は少ないものの2000年以降も集団感染事例が散見されている<sup>1,2)</sup>。

また、エルシニア属菌による感染症は、家畜や野生動物などの保菌動物から排出された菌が感染源となるが、中でも豚は主要な保菌動物として知られている。過去の調査報告では、と畜場に搬入された豚の糞便や枝肉、流通する豚肉等から病原性 Y.e が検出されている<sup>3,4,5)</sup>。

そこで今回、管内のと畜場に搬入された豚の糞便から病原性 Y.e の分離を試み、保有状況を調査したので報告する。

## 2 材料

管内と畜場に健康畜として搬入された豚 100 頭(3 県 17 農場)について、と畜解体後に肛門から滅菌綿棒を用いて直腸便を採取したものを検体とし、5mL の滅菌PBSに懸濁して試料原液とした。陽性対照には、宮城県保健環境センターから分与された豚由来株を用いた。

## 3 方法

「食品衛生検査指針微生物編 改訂第2版 2018」に準拠し、分離同定を実施した<sup>6)</sup>。

### (1)分離培養

試料原液のうち0.5mLを等量の0.75%KOH加0.5%NaCl水溶液に混和して20秒間アルカリ処理後、1白金耳量をクロモアガーエルシニアエンテロコリチカ培地に塗抹し、30℃で36～48時間培養した。残りの試料原液は4℃で約3週間増菌培養をしたのち、上記と同様の方法により分離培養した。培地上に発育した病原性 Y.e を疑う藤色のコロニーを釣菌し、普通寒天培地で純培養を行い、グラム染色でグラム陰性短桿菌であった分離株を以降の検査に供した。

### (2)生化学性状試験

分離株を、1検体につき3株ずつTSI培地、LIM培地、エスクリン寒天培地、尿素培地を用いて生化学性状試験を行い、定型的な病原性 Y.e の性状を示したものについて、以降の同定検査を実施した。また、TSI培地で斜面の黄変がみられない株(以下「白糖非分解株」)については、1検体につき1株選択しApi20E(シスメックス・ビオメリュー株式会社)による簡易同定を行うとともに、以降の同定検査を実施した。直接培養、増菌培養いずれも病原性 Y.e を疑う分離株が得られた検体については、増菌培養由来株を用いることとした。

### (3)同定

生化学性状試験により病原性 Y.e が疑われた株について、ポイル法によりDNA抽出し、Y.e の菌種特異的塩基配列である16S rRNA 遺伝子領域及び病原性 Y.e が保有する *ail* 遺伝子領域を標的とするPCR<sup>7)</sup>を実施した。得られたPCR産物を電気泳動し、330bp及び425bpにバンドが確認された株を病原性 Y.e と同定した。同定した株について、エルシニア・エンテロコリチカ O 群別用免疫血清(デンカ「生研」)を用いて、血清型を判定した。

## 4 結果

### (1) 分離培養

病原性 Y.e を疑う株は、直接培養において 100 検体中 9 検体、増菌培養においては 100 検体中 25 検体から分離された。直接培養で病原性 Y.e を疑う株が分離された 9 検体は、増菌培養においても病原性 Y.e を疑う株が分離された。

### (2) 生化学性状試験

直接培養 8 検体、増菌培養 22 検体は病原性 Y.e の定型的な生化学性状を示し、直接培養 1 検体、増菌培養 3 検体が白糖非分解株であった。この直接培養 1 検体は、増菌培養の 3 検体のうちの 1 つと同一検体であった。白糖非分解株は 1 検体につき 1 株選択し(計 4 株)、簡易同定を行った結果、いずれも *Yersinia kristensenii* (以下「Y.k」)と判定された。

### (3) 同定

病原性 Y.e の定型的な生化学性状を示した 22 検体及び Y.k と簡易同定された 3 検体のすべての分離株は、PCR で標的とした 2 領域のバンドが確認されたため、病原性 Y.e と同定した。

病原性 Y.e と同定した株は、3 県 17 農場中 3 県 10 農場(58.8%)、100 検体中 25 検体(25%)から分離された。この 25 検体から得られた 75 株の血清型は、O3 群が 21 検体 63 株、型別不能が 4 検体 12 株であった。なお、病原性 Y.e が分離された農場ごとの検体の詳細は表のとおりであった。

表. 病原性 Y.e が分離された農場ごとの検体の詳細

農場	所在地	検体数	検出数※1 (直接培養)	生化学性状	簡易同定	PCR		血清型※2 (検体数)
						ail	16S rRNA	
A	宮城	10	6 (4)	定型	NT	+	+	O3 (4) OUT (2)
B	宮城	5	5 (2)	定型	NT	+	+	O3
C	宮城	5	3 (1)	定型	NT	+	+	O3 (2) OUT(1)
D	宮城	5	2 (1)	定型	NT	+	+	O3
E	宮城	10	1 (0)	定型	NT	+	+	OUT
F	宮城	5	3 (0)	定型	NT	+	+	O3
G	青森	5	2 (0)	定型	NT	+	+	O3
H	宮城	5	1 (0)	白糖 非分解株	<i>Y.kristensenii</i>	+	+	O3
I	岩手	5	1 (1)	白糖 非分解株	<i>Y.kristensenii</i>	+	+	O3
J	岩手	5	1 (0)	白糖 非分解株	<i>Y.kristensenii</i>	+	+	O3

※1 ( )内は直接培養検出数を再掲

※2 OUT (0 serogroup untypeable) : 型別不能

## 5 考察

病原性 Y.e は、過去の他自治体の調査において、と畜場に搬入された豚の糞便から 14~38%、枝肉から 8%、流通品の豚肉等から 0.3~58.3%の保有率が確認されている。今回の調査で農場の 58.8%、検体の 25%から病原性 Y.e が検出されたことから、管内と畜場を利用する県内外の農場にも広く浸潤し

ているものと考えられた。

病原性 *Y.e* の血清型 O3 群の中には、VP 陰性・白糖非分解変異型が存在し、簡易同定キットで同様の性状を有する *Y.k* と誤判定されることが指摘されている<sup>8)</sup>。今回の調査においても、白糖非分解を示し簡易同定キットで *Y.k* と誤判定された株が存在したことから、豚由来の病原性 *Y.e* を調査する際は、生化学性状で白糖非分解を示す株に対しては PCR の実施が有用と考えられる。

今回、病原性 *Y.e* の血清型においてヒトに強い病原性を示す O8 群は検出されなかったものの、分離株の多くが O3 群であった。O3 群は、国内の *Y.e* 食中毒事例において主に検出された血清型であり、このことは、と畜場における *Y.e* 汚染対策の重要性を示唆する。なぜならと畜場では処理の性質上、加熱殺菌工程がないために最終工程である「冷却保管」を CCP に設定していることが多いが、低温発育性であるエルシニア属菌により枝肉等が汚染された場合、冷却保管では十分な危害低減を期待できない。病原性 *Y.e* による枝肉の汚染実態の解明や、と畜場の衛生的な取扱いを調査し、病原性 *Y.e* の危害分析を実施することは、食中毒予防の観点から非常に有用と考えられる。

今後、直接培養由来株についても同定と血清型別の検査を進め、管内と畜場に搬入される豚が保有する病原性 *Y.e* について調査していきたい。

本調査研究にあたり、分与株の提供に協力いただいた宮城県保健環境センターに深謝致します。

## 6. 参考文献

### 1) 厚生労働省 HP 食中毒統計資料

[https://www.mhlw.go.jp/stf/seisakunitsuite/bunya/kenkou\\_iryuu/shokuhin/syokuchu/04.html](https://www.mhlw.go.jp/stf/seisakunitsuite/bunya/kenkou_iryuu/shokuhin/syokuchu/04.html)

### 2) 林谷 秀樹 : *Y. enterocolitica* 感染症, THE CAMICAL TIMES, 3, 2-5 (2014)

### 3) 高梨資子ら : 群馬県内の豚における病原性 *Yersinia enterocolitica* の保有状況及び枝肉からの検出状況 令和4年度全国食肉衛生検査所協議会微生物部会

### 4) 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), 1-3 (2017)

### 5) 富野由通ら : 管内と畜場における豚の *Yersinia* 属菌保有状況 令和5年度食肉及び食鳥肉技術研修研究発表会

### 6) 食品衛生検査指針微生物編 改訂第2版 2018 : 第2章 細菌, 5 エルシニア, 286-291

### 7) Wannet *et al.* : Detection of Pathogenic *Y. enterocolitica* by a Rapid and Sensitive Duplex PCR Assay, JOURNAL OF CLINICAL MICROBIOLOGY, 39, p.4483-4486 (2011)

### 8) 福島 博 : 病原性エルシニアの疫学と検査法. 日本食品微生物学会雑誌 28(2) 104-113 (2011)