

肥育豚の盲腸内容物と回結腸リンパ節からの サルモネラの分離

佐藤 博[†] 齊藤こずえ 原 智之 阿部久司

新潟県長岡食肉衛生検査センター (〒940-2464 長岡市新開町 2956-11)

(2020年2月3日受付・2020年8月13日受理)

要 約

われわれは、肥育豚の盲腸内容物と回結腸リンパ節からサルモネラを分離し、豚のサルモネラ保菌検査における回結腸リンパ節の有用性及び回結腸リンパ節の増菌培養時間について検討した。25農場中3農場(12%)、250頭中13頭(5.2%)がサルモネラ陽性であった。その後の陽性2農場の継続調査を含め、340頭中52頭(15%)からサルモネラが分離された。盲腸内容物のサルモネラ陽性率は10%(34/340)、回結腸リンパ節のそれは11%(38/340)であり、統計的に有意差はなかった。しかし、盲腸内容物のみでは供試豚のサルモネラ保菌率は10%となるが、回結腸リンパ節の結果を合わせると保菌率は15%に上昇した。したがって、盲腸内容物のみでなく回結腸リンパ節も材料として用いることにより、豚のサルモネラ保菌状況をより正確に把握できると考えられる。また、回結腸リンパ節の増菌培養時間に関しては、48時間培養の陽性率は11%で、24時間培養の7.9%よりも有意に高かった。

——キーワード：盲腸内容物，回結腸リンパ節，サルモネラ。

-----日獣会誌 74, 255～258 (2021)

サルモネラ食中毒は世界的に重要な細菌性食中毒の一つであり、主要な原因食品は鶏卵をはじめとした畜産物とされている [1]。畜産物のサルモネラ汚染は家畜がサルモネラを保菌することに起因している。家畜の腸管等に保菌されるサルモネラや体表に付着したサルモネラは、と畜場や食鳥処理場での解体工程においてと畜を汚染することがあり、これが食肉のサルモネラ汚染につながっている [2]。また、家禽に関しては、卵形成・産卵過程における卵のサルモネラ汚染が知られている [3]。

サルモネラ食中毒との関係から、国内外で家畜のサルモネラ保菌状況が調査されており、豚に関しても多数の報告がある。豚の保菌調査の材料として、国内では一般に糞便や盲腸内容物が用いられている [4-6]。一方、海外では腸管関連リンパ節、すなわち空腸リンパ節(腸間膜リンパ節と同義)や回結腸リンパ節も用いられている [7-10]。Katsubeら [11] は、腸内容物の中では盲腸内容物が、腸管関連リンパ節の中では回腸のリンパ節がサルモネラの陽性率が高いと報告している。そこで、豚のサルモネラ保菌調査における腸管関連リンパ節の有

用性を検討するために、盲腸内容物と回結腸リンパ節からサルモネラを分離し、結果を比較した。また、リンパ節からのサルモネラ分離に関し、増菌培養時間についても検討した。

材料及び方法

2018年10月～2019年9月に、所管と畜場に搬入された新潟県内25農場の34ロット、340頭の外見上健康な肥育豚から次の2調査区分でサルモネラを分離した。

農場調査：サルモネラ汚染のある農場を把握するために、25農場の各10頭、合計250頭から盲腸内容物と回結腸リンパ節を採取した。盲腸内容物は消毒したメスで盲腸を切開後、滅菌綿棒で0.1～0.5gを採取し、回結腸リンパ節は消毒した検査刀で切り取り採取した。いずれの材料も検査用ターンテーブル上で、他の個体からの汚染を避けて採取した。盲腸内容物を綿棒ごと10mlのラポポート・バシリアディス培地(日水製薬(株), 東京)に入れ、42℃で24時間、増菌培養を行った。その後、MLCB培地(日水製薬(株), 東京)と1mg/mlのスルファ

[†] 連絡責任者：佐藤 博 (新潟県長岡食肉衛生検査センター)

〒940-2464 長岡市新開町 2956-11 ☎ 0258-27-6508 FAX 0258-27-9313

E-mail : sato.hiroshi5@pref.niigata.lg.jp

肥育豚の盲腸内容物と回結腸リンパ節からのサルモネラの分離

表1 調査区分別のサルモネラ分離状況

区 分	農場・ロット	検査頭数	陽性頭数	検査年/月
農場調査	A農場	10	1	2018/11
	B農場	10	4	2019/1
	C農場	10	8	2018/11
	その他22農場*	220		
継続調査	A農場・1	10	6	2019/4
	A農場・2	10		2019/4
	A農場・3	10	7	2019/5
	A農場・4	10		2019/7
	A農場・5	10	7	2019/9
	B農場・1	10	7	2019/3
	B農場・2	10	2	2019/6
	B農場・3	10	4	2019/6
B農場・4	10	6	2019/7	
計		340	52	

*サルモネラ陰性農場を一括。

検査期間は2018年10月～2019年3月。

ピリジン（富士フィルム和光純薬(株)，東京）を添加したブリリアントグリーン培地（栄研化学(株)，東京）に10 μ lのループで塗抹し，37℃で24時間，分離培養を行った。両培地に発育したサルモネラを疑うコロニーをそれぞれ3個まで釣菌し，TSI培地（栄研化学(株)，東京）とLIM培地（日本製薬(株)，東京）でスクリーニング後，市販免疫血清（サルモネラ免疫血清「生研」，デンカ生研(株)，新潟）で型別した。回結腸リンパ節については，消毒したハサミで周囲の脂肪組織を除去し，表面をガスバーナーの炎で焼烙後，滅菌ハサミで細切し，2gをサンプリングバックに入れた。これに20mlの細菌培養液（Nutrient Broth No.2, OXOID, U.K.）を加えて1分間ストマック後，37℃で24時間，48時間，増菌培養し，それぞれの時点で盲腸内容物と同様に分離，同定を行った。なお，盲腸内容物の増菌培養では，田口ら [12] の方法を参考に試料を直接ラポポート・バジリアディス培地に接種した。また，回結腸リンパ節の増菌培養では，試料中に競合菌は存在しない，または少ないと考え，非選択性増菌培地でもサルモネラの増殖は妨害されないと推定し，上記培養液を用いた。

継続調査：保菌調査でサルモネラ汚染が確認されたA農場とB農場について，農場調査と同様にサルモネラの分離を継続した。搬入日の異なる豚群を1ロットとし，A農場については5ロット50頭，B農場については4ロット40頭の合計90頭を検査した。

統計処理法：盲腸内容物と回結腸リンパ節のサルモネラ陽性率の差，また回結腸リンパ節の24時間増菌培養と48時間増菌培養での陽性率の差については，マクネマー検定を実施した。

表2 材料別のサルモネラ分離頭数

		回結腸リンパ節		計
		+	-	
盲腸内容物	+	20	14	34
	-	18	288	306
計		38	302	340

表3 増菌培養時間別の回結腸リンパ節からのサルモネラ分離頭数

		48時間		計
		+	-	
24時間	+	27		27
	-	11	302	313
計		38	302	340

成 績

農場調査：25農場中3農場（12%），250頭中13頭（5.2%）がサルモネラ陽性であった。農場により1～8頭の保菌豚が検出された（表1）。陽性農場のA農場とB農場については継続調査を実施した。

継続調査：A農場では5ロット中の3ロット（60%）がサルモネラ陽性で，50頭中の20頭（40%）からサルモネラが分離された。また，B農場では4ロット中の4ロット（100%）がサルモネラ陽性で，40頭中の19頭（48%）からサルモネラが分離された（表1）。なお，A農場については初回調査の2018年11月から最終調査の2019年9月まで，11カ月にわたり断続的にサルモネラが分離された。また，B農場については初回調査の2019年1月から最終調査の2019年7月まで，7カ月にわたり連続してサルモネラが分離された（表1）。

材料別の分離状況：調査全体を通して，盲腸内容物では340頭中の34頭（10%）から，回結腸リンパ節では340頭中の38頭（11%）からサルモネラが分離された（表2）。盲腸内容物と回結腸リンパ節の両方ともサルモネラ陽性が20頭（5.9%），盲腸内容物のみ陽性が14頭（4.1%），回結腸リンパ節のみ陽性が18頭（5.3%）あり，合計で52頭（15%）の保菌豚が検出された（表2）。なお，盲腸内容物と回結腸リンパ節のサルモネラ陽性率には，マクネマー検定で有意差はなかった（ $P>0.05$ ）。これに関して，農場により傾向が異なる可能性があるため，供試豚の多いA及びB農場について個別に検定したが，いずれにおいても有意差はなかった。

増菌培養時間別の分離状況：回結腸リンパ節340検体中，24時間増菌培養では27検体（7.9%）から，48時間増菌培養では38検体（11%）からサルモネラが分

表4 農場別のサルモネラ血清型

血清型	A農場	B農場	C農場	計
S. Rissen	10	16		26
S. (4:i:-)	9	7		16
S. Braenderup	5		6	11
S. Altona			2	2
計	24	23	8	55

離された (表3). 24時間増菌培養と48時間増菌培養の両方ともサルモネラ陽性が27検体 (7.9%), 48時間増菌培養のみ陽性が11検体 (3.2%) あり, 合計で38検体 (11%) からサルモネラが分離された (表3). 24時間増菌培養と48時間増菌培養のサルモネラ陽性率には, マクネマー検定で有意差があった ($P < 0.01$).

血清型: 調査全体で, 3農場の52頭から55株, 4種のサルモネラ血清型が分離され, A農場では *Salmonella* Rissen (S. Rissen) と S. (4:i:-) が主で, B農場では S. Rissen が, C農場では S. Braenderup が優勢であった (表4). なお, 盲腸内容物と回結腸リンパ節で異なる血清型が分離された例があり, A農場の1ロットの3頭において, それぞれ S. Rissen と S. Braenderup が分離された.

考 察

農場調査において, 養豚場の12%, 肥育豚の5.2%からサルモネラが分離された. 国内の豚のサルモネラ保菌率について, 吉田ら [4] は1970年代後半の23.1%, 1980年代後半の5.7%を報告し, 保菌率の低下を指摘している. Futagawa-Saitoら [5] は1998~1999年の2.2%, 2004~2005年の3.3%を, 木嶋ら [6] は2003~2005年の3.1%を報告している. また, 農林水産省の「食品安全に関する有害微生物の実態調査の結果集」では, 2010~2013年の保菌率を年により0~4%と公表している (<https://www.maff.go.jp/j/syouan/seisaku/kekka/chikusan.html>). これらの報告及び本調査結果から, 豚のサルモネラ保菌率は1980年代後半から低下したことがうかがえるが, 現在でも豚の数%が保菌していると推定される. したがって, サルモネラは依然として豚肉の危害要因であることに変わりはない. また, A農場では11カ月, B農場では7カ月にわたりサルモネラが分離されたことから, サルモネラが農場にいったん侵入すると, 長期間生残すると考えられる.

保菌豚の中には, 盲腸内容物のみサルモネラ陽性の個体と回結腸リンパ節のみ陽性の個体があったことから, いずれか一方の検査では保菌率が過小評価される可能性がある. 具体的には, 盲腸内容物のみ結果では供試豚のサルモネラ保菌率は10%であるが, 回結腸リンパ節の結果を合わせると保菌率は15%に上昇した. したがっ

て, 盲腸内容物と回結腸リンパ節の両方を検査することにより, 保菌状況をより正確に把握できると考えられる. 本調査では, 盲腸内容物と回結腸リンパ節のサルモネラ陽性率に有意差はなかった. Bahnsonら [7], Mainar-Jaimeら [8] は盲腸内容物の方が陽性率が高いと報告しているが, Tayら [9], Dorrら [10] は逆に腸間膜リンパ節の方が陽性率が高いと報告しており, 傾向は一定しない. これは, 盲腸内容物や糞便からのサルモネラ分離が試料の接種量や使用培地等の検査方法のほか, 競合菌, 間欠的な排菌や菌数など, さまざまな影響を受けやすいためと推定される. 一方, 腸管関連リンパ節について, 欧州食品安全機関では糞便に比べリンパ節は競合菌のレベルが低く, サルモネラ菌数が小さくても容易に分離されると評価している (<https://efsa.onlinelibrary.wiley.com/doi/epdf/10.2903/j.efsa.2006.341>). 本調査では, 回結腸リンパ節からのサルモネラ分離に非選択性増菌培地を用いたが, その陽性率は盲腸内容物と同等であった. これは, 欧州食品安全機関の評価を支持する結果と思われる. リンパ節はサルモネラ保菌調査の材料として有用と考えられる.

回結腸リンパ節からのサルモネラ分離では, 陽性率は48時間増菌培養の方が24時間増菌培養よりも有意に高かった. これは増菌培養時間を48時間に延長したことにより, サルモネラ菌数の低い検体でも十分に増菌させることができ, 検出可能になったためと推定された. また, 回結腸リンパ節と盲腸内容物で異なる血清型が分離された例があったが, この理由として血清型による組織侵入性の違いや感染時期のずれなどが, 可能性として考えられた.

今回分離されたサルモネラは, S. Rissen, S. (4:i:-), S. Braenderup がほとんどを占めた. S. Braenderup は前述の報告 [4] にあるが, S. Rissen 及び S. (4:i:-) はみられない [4-6]. 動物医薬品検査所の「薬剤耐性菌のモニタリング」 (https://www.maff.go.jp/nval/yakuzai/yaku-zai_p3.html) では, 2000年からの成績が公表されているが, 両血清型は豚由来株として2012年の調査から登場する. よって, S. Rissen 及び S. (4:i:-) は比較的新しく流行した血清型と思われる. 新潟県内においてもこれらの血清型の流行がうかがえる. 一方, 人由来のサルモネラ血清型については, 国立感染症研究所の「病原微生物検出情報」の2016年統計 (<https://www.niid.go.jp/niid/images/iasr/archive/2016/bac/salm16.pdf>) によると, S. Saintpaul, S. Thompson, S. Eiteritidis などが上位を占めるが, ほかに多様な血清型が分離されている. その中で S. (4:i:-) は上位10に入っており, S. Braenderup, S. Rissen も少ないが分離例があり, これらの血清型は豚と人で共通している.

サルモネラは依然として豚肉の危害要因であること,

豚に流行する血清型は変わることから、定期的な保菌調査が必要である。その材料として、盲腸内容物及び腸管関連リンパ節を用いること、そしてリンパ節については48時間増菌培養を行うことが推奨される。

引用文献

- [1] 田口真澄, 泉谷秀昌: サルモネラ, 食品衛生検査指針 微生物編 2015, 269-283, 日本食品衛生協会, 東京 (2015)
- [2] 仲西寿男: サルモネラ症の疫学, 食衛誌, 35, 585-592 (1994)
- [3] Gantois I, Ducatelle R, Pasmans F, Haesebrouck F, Gast R, Humphrey TJ, Van Immerseel F: Mechanisms of egg contamination by *Salmonella* Enteritidis, FEMS Microbiol Rev, 33, 718-738 (2009)
- [4] 吉田孝治, 高橋 勇, 澤田拓士: 1975~1989年に食肉衛生検査所へ搬入された健康豚のサルモネラ保菌状況とその血清型, 日本細菌学雑誌, 50, 537-545 (1995)
- [5] Futagawa-Saito K, Hiratsuka S, Kamibeppu M, Hirosawa T, Oyabu K, Fukuyasu T: *Salmonella* in healthy pigs: prevalence, serotype diversity and antimicrobial resistance observed during 1998-1999 and 2004-2005 in Japan, Epidemiol Infect, 136, 1118-1123 (2008)
- [6] 木嶋真人, 山本孝史: 養豚場におけるサルモネラ汚染状況, 豚病会報, 51, 1-4 (2007)
- [7] Bahnson PB, Fedorka-Cray PJ, Ladely SR, Mateus-Pinilla NE: Herd-level risk factors for *Salmonella enterica* subsp. *enterica* in U.S. market pigs, Prev Vet Med, 76, 249-262 (2006), (online), (<https://doi.org/10.1016/j.prevetmed.2006.05.009>), (accessed 2020-1-15)
- [8] Mainar-Jaime RC, Atashparvar N, Chirino-Trejo M, Rahn K: Survey on *Salmonella* prevalence in slaughter pigs from Saskatchewan, Can Vet J, 49, 793-796 (2008)
- [9] Tay SCK, Robinson RA, Pullen MM: *Salmonella* in the mesenteric lymph nodes and cecal contents of slaughtered sows, J Food Protect, 52, 202-203 (1989)
- [10] Dorr PM, Tadesse DA, Zewde BM, Fry P, Thakur S, Gebreyes WA: Longitudinal study of *Salmonella* dispersion and the role of environmental contamination in commercial swine production systems, Appl Environ Microb, 75, 1478-1486 (2009)
- [11] Katsube Y, Tanaka Y, Imaizumi K, Masuda K: *Salmonella* carriers in swine, Jpn J Vet Sci, 35, 25-31 (1973)
- [12] 田口真澄, 泉谷秀昌: *Salmonella*, 食品由来感染症と食品微生物, 154-191, 中央法規出版, 東京 (2009)

Isolation of *Salmonella* from Cecal Content and Ileocolic Lymph Nodes of Finishing Pigs

Hiroshi SATO[†], Kozue SAITO, Tomoyuki HARA and Hisashi ABE

*Niigata Prefectural Nagaoka Meat Inspection Center, 2956-11 Shinkaimachi, Nagaoka, 940-2464, Japan

SUMMARY

We isolated *Salmonella* from cecal content and ileocolic lymph nodes of finishing pigs, and examined the usefulness of ileocolic lymph nodes. We also examined the enrichment culture time of the ileocolic lymph nodes. Three of 25 farms (12%), and 13 of 250 (5.2%) pigs harbored *Salmonella*. Then, we examined *Salmonella* isolation in pig carried by positive 2 farms. In total, we found 52 of 340 (15%) pigs possessed *Salmonella*. The *Salmonella*-positive rate of the cecal content was 10%, which was not statistically different from 11% of ileocolic lymph nodes. However, the results of only the cecal content showed that the *Salmonella* carriage rate of the test pigs was 10%, but the carriage rate increased to 15% when the results of the ileocolic lymph nodes were combined. Therefore, it is considered that the use of ileocolic lymph nodes as well as cecal content as materials can provide a more accurate picture of *Salmonella* carriage in pigs. As for the enrichment culture time of the ileocolic lymph nodes, the positive rate of the 48-hour culture was 11%, significantly higher than 7.9% of 24-hour culture. — Key words : cecal content, ileocolic lymph nodes, *Salmonella*.

[†] Correspondence to : Hiroshi SATO (Niigata Prefectural Nagaoka Meat Inspection Center)

2956-11 Shinkaimachi, Nagaoka, 940-2464, Japan

TEL 0258-27-6508 FAX 0258-27-9313 E-mail : sato.hiroshi5@pref.niigata.lg.jp

J. Jpn. Vet. Med. Assoc., 74, 255 ~ 258 (2021)