

## 16章:肉用牛および乳用牛からの *E. coli* O157:H7 と

### *Listeria monocytogenes* の排泄

#### はじめに

米国の CDC(疾病管理予防センター)は、*Escherichia coli* (*E. coli*) O157:H7 と *Listeria monocytogenes* を主要な食品が媒介する病原細菌としている(CDC、2014)。牛挽肉は、ヒトにおける *E. coli* O157:H7 による食中毒と最も密接に関連しており、牛由来食品は発生の約 75% と関連がみられる(USDA-APHIS、1997; Vugia ら、2007)。牛の直腸粘膜上皮(Naylor ら、2003; Gyles、2007; Hussein、2007) および糞便(Callaway ら、2003; Berg ら、2004; Jacob ら、2008a、b)には *E. coli* O157:H7 が存在する。実際の研究報告によると、牛の 30% 以上が *E. coli* O157:H7 を保菌していることが明らかにされている(Callaway ら、2006; Reinstein ら、2007; Stanford ら、2005)。

反すう家畜からの病原細菌の排泄には、飼料、飲水、家畜の年齢、季節など多くの要因が影響している(Caro ら、1990; Bach ら、2002; Renter and Sargeant、2002; Ho ら、2007)。牛舎内の *E. coli* O157:H7 を含む堆肥は、飲水や灌漑用水を汚染し、他の牛に感染を拡げる可能性がある(Hill ら、2006; LeJeune ら、2001; Sargeant ら、2003; Thurston-Enriquez ら、2005)。飼料はこれらの病原細菌の糞便への排泄に関連している可能性がある重要な因子であると考えられているが、穀類、穀類副産物および粗飼料の相対的な影響は明確ではない。Diez-Gonzalez ら(1998)による初期の研究では、穀物から乾草主体の飼料に急激に変更すると、一般的に、*E. coli* 菌数が著しく減少することを報告している。しかし、その後の研究では、さまざまな結果が報告されている(Hancock ら、2000; Hovde ら、1999; Keen ら、1999)。

*Listeria monocytogenes* (*L. monocytogenes*) は牛の糞便中にも存在している(Pell、1997; Pauly ら、1999)。いくつかの *Listeria* 属の細菌(*L. innocua*、*L. monocytogenes* および *L. welshimeri*) は、健康な肉用牛の糞便の 9~35% に存在することが確認されている(Siragusa ら、1993)。Skovgaard and Morgen(1988)は、酪農場 7 か所から採取した糞便およびサイレージから *Listeria* spp. が

検出され、Ryster ら(1997)は、採取したサイレージ 129 試料および乾草サイレージ 35 試料の 2% から *L. monocytogenes* を分離している。これらの結果は、サイレージが牛への *L. monocytogenes* 感染における潜在的な危険因子となっている可能性を示している。ただし、今のところ、肉用牛と乳用牛における飼料組成の違いと病原細菌の排泄との直接的な関係を示す明らかな証拠はない。

*E. coli* O157:H7 と *L. monocytogenes* による牛肉と牛乳汚染の可能性への懸念と、飼料の組成が汚染リスクに潜在的な役割を担う可能性への懸念のために、DDGS を肉用牛および乳用牛に給与した際に、それがリスク要因となっているのか否かを判断するためには、給与試験結果の解析が重要である。

#### DDGS は *E. coli* O157:H7 の排泄を増加させるのか?

様々な種類の細菌が環境の至る所に存在しており、トウモロコシ併産物にもそれらは存在している。しかし、穀類と粗飼料の割合および牛用飼料中の CP(粗たん白質)含量は、より大きな要因となっている可能性がある(Biswas ら、2016)。

最初の報告では、スコットランドにおける子牛飼育現場において、DDGS の給与により *E. coli* O157:H7 の排泄量が増加したことが報告されている(Synges ら、2003)。この報告に続いて公表された Dewell ら(2005)の報告では、牛に対して発酵併産物(distiller's grains)を給与すると、*E. coli* O157 排泄の可能性が 6 倍以上高まることを明らかにしている。2007 年、米国内での牛挽肉における *E. coli* O157:H7 汚染の増加理由の究明に対する関心が急激に高まった。ちょうどこの時期に、エタノール発酵における発酵併産物の製造量と牛用飼料原料としての使用量が指数関数的に増加していたため、発酵併産物の給与が一因ではないかとの疑念が浮上した。これを契機として、牛に対する DDGS の給与と、牛肉における *E. coli* O157:

H7 汚染率の増加との間の関連性についての検討が始まった。カンザス州立大学の研究者らによる報告(Jacobら、2008a、b、c)では、フィードロット牛に対して DDGS を含む飼料を給与し、*E. coli* O157:H7 の感染率は低く、その排泄状況にも一貫性がなかったとの結果が得られていたにも関わらず、DDGS を給与したフィードロット牛では、糞便中の *E. coli* O157:H7 が増加すると結論付けていたため、一連の論争の的となった。

しかし、ネブラスカ大学の研究者らによる報告(Petersonら、2007)では、発酵併産物を乾物で 50%含む飼料を給与すると *E. coli* O157:H7 の排泄が見られたが、排泄量は DDGS を含まない飼料を給与した場合と差がなく、Jacobら(2008a、b、c)の報告とは一致していない。

さらに、Nagarajaら(2008)は、DDGS 無添加の対照飼料と DDGS を含む飼料を 150 日間給与した合計 700 頭の牛から採取した排泄物からの *E. coli* O157:H7 の分離割合は 5.1%と全体的に低く、DDGS の給与が *E. coli* O157:H7 排泄に影響しないことを示している。さらに、Jacobら(2009)は、以前の研究とは対照的に、乾燥圧ペントウモロコシまたは DDGS を給与した牛では *E. coli* O157:H7 と *Salmonella* spp. の排泄には差がなかったと報告している。

Callawayら(2010)は、DDGSを穀物サプリメントと25または50%置換した飼料をフィードロット牛に給与し、ルーメンと糞便中の細菌叢の変化を調査し、DDGS の給与により細菌叢に変化が生じることと、ルーメン pH が低下することを報告した。Biswasら(2016)は、乳用牛に対して粗飼料の割合が高い、高 CP 飼料を給与すると、*E. coli* O157:H7 の排泄量は最大となり、粗飼料の割合が低い高 CP 飼料を給与すると排泄量が最も少なくなることを報告した。これらの結果は、飼料の組成と CP 含量が乳牛における *E. coli* O157:H7 の排泄に影響を与える可能性があることを示しているが、飼料に DDGS を配合しても影響はなかった。

現在、行われている DDGS の給与レベルが牛挽肉の *E. coli* O157:H7 汚染の要因となっていることを示す科学的な証拠はない。さらに、発酵併産物の給与と *E. coli* 排泄との間に関連がある可能性があるとしても、そのメカニズムは解明されていない。ルーメン液と糞便を混合し

て培養した *In vivo* 試験においても、*E. coli* O157:H7 のコロニーに対する発酵併産物の影響は見られなかった(Callawayら、2008)。食肉供給の様々な場所で食肉への *E. coli* O157:H7 を含む細菌の汚染が発生する可能性があり、その原因は飼料や飼料原料のみに限定されていないことを認識することが重要である。

## DDGS は *L. monocytogenes* の排泄を増加させるのか?

*L. monocytogenes* の牛の糞便への排泄に対する飼料組成または DDGS 給与による影響についての研究は行われていない。Fenlonら(1996)は、サイレージを給与し始めた後に、1 牛群の約 30%の牛が *L. monocytogenes* を排泄したと報告している。Hoら(2007)は、調査したサイレージ試料の 38%で *L. monocytogenes* が検出され、そのサイレージを給与した牛の 94%が調査期間中に少なくとも一度、糞便中に *L. monocytogenes* を排泄したと報告している。Biswasら(2016)は、乳牛に *Listeria* で汚染されたアルファルファ乾草を多く含む飼料を給与すると、乳牛から *Listeria* が排泄されたことを明らかにしている。これらの研究者らは、粗飼料の割合が高い飼料または低 CP 飼料を給与すると、粗飼料の割合が低いまたは高 CP 飼料を給与した場合と比べて、*Listeria* が多く排泄されることを示している。しかし、この研究で使用された DDGS には、検出可能なレベルの *E. coli* または *Listeria* 属菌は含まれていなかった。

## 結論

食品に対する安全規制が取られているにも関わらず、食品を媒介する病原細菌は、世界の多くの国でヒトの健康に対する重大な脅威であり続けている。屠畜後の衛生管理により、肉および乳製品における *E. coli* O157:H7 と *Listeria* の汚染は減少したが、屠畜前の介入戦略を採用することで、肉および乳製品が食物連鎖に入る前に、食中毒の発生リスクをさらに減らすことが出来る。飼料の組成やいくつかの飼料原料は、*E. coli* O157:H7 の排泄レベルを変えるように見られるが、これらの影響は一貫しているわけではない。断食あるいは低品質の粗飼料の給与は、牛からの *E. coli* O157:H7 の排泄量が増加する

こと、牛を高穀物飼料から高品質の乾草主体の飼料に切替えると、*E. coli* O157:H7 が減少することが示されている。給与飼料が反すう家畜の腸内細菌叢に影響を及ぼすメカニズム(競争的排除、物理的排除、飼料の品質、タンニン、リグニン、その他のフェノール類などの含量など)を特定し、実用的な飼料給与戦略をとるためには、*E. coli*と *E. coli* O157:H7 の生態学な問題を含めてさらなる研究が必要である。また、乳牛および肉用牛における *Listeria*の排泄に対する飼料組成の影響および様々な飼料原料の使用についてはほとんど知られていない。

## 引用文献

- Bach, S.J., T.A. McAllister, D.M. Veira, V.P.J. Gannon, and R.A. Holley. 2002. Transmission and control of *Escherichia coli* O157:H7: a review. *Can J. Anim. Sci.* 82:475-490.
- Berg, J., T. McAllister, S. Bach, R. Stilborn, D. Hancock, and J. LeJeune. 2004. *Escherichia coli* O157:H7 excretion by commercial feedlot cattle fed either barley- or corn-based finishing diets. *J. Food Protection* 67:666-671.
- Biswas, S., M. Niu, J.A.D.R.N. Appuhamy, A.B. Leytem, R.S. Dungan, E. Kebreab, and P. Pandey. 2016. Impacts of dietary forage and crude protein levels on the shedding of *Escherichia coli* O157:H7 and *Listeria* in dairy cattle feces. *Livest. Sci.* 194:17-22.
- Callaway, T.R., S.E. Dowd, T.S. Erdington, R.C. Anderson, N. Krueger, N. Bauer, P.J. Kononoff, and D.J. Nisbet. 2010. Evaluation of bacterial diversity in the rumen and feces of cattle fed different levels of dried distillers grains plus solubles using bacterial tag-encoded FLX amplicon pyrosequencing. *J. Anim. Sci.* 88:3977-3983.
- Callaway, T.R., M.A. Carr, T.S. Erdington, R.C. Anderson, and D.J. Nisbet. 2008. Diet, *Escherichia coli* O157:H7, and cattle: A review after 10 years. *Curr. Issues Mol. Biol.* 11:67-80.
- Callaway, T.R., T.S. Erdington, A.D. Brabban, J.E. Keen, R.C. Anderson, M.L. Rossman, M.J. Engler, K.J. Genovese, B.L. Gwartney, J.O. Reagan, T.L. Poole, R.B. Harvey, E.M. Kutter, and D.J. Nisbet. 2006. Fecal prevalence of *Escherichia coli* O157, *Salmonella*, *Listeria*, and bacteriophage infecting *E. coli* O157:H7 in feedlot cattle in the southern plains region of the United States. *Foodborne Pathog. Dis.* 3:234-244.
- Callaway, T.R., R.O. Elder, J.E. Keen, R.C. Anderson, and D.J. Nisbet. 2003. Forage feeding to reduce preharvest *Escherichia coli* populations in cattle, a review. *J. Dairy Sci.* 86:852-860.
- Caro, M.R., E. Zamora, L. Leon, F. Cuello, J. Salinas, D. Megias, M.J. Cubero, and A. Contreras. 1990. Isolation and identification of *Listeria monocytogenes* in vegetable byproduct silages containing preservative additives and destined for animal feeding. *Anim. Feed Sci. Technol.* 31:285-291.
- CDC. 2014. Surveillance of Foodborne Disease Outbreaks, United States, 2012 (Annual Report). U.S. Department of Health and Human Services, Centers for Disease Control and Prevention, Atlanta, GA.
- Dewell, G.A., J.R. Ransom, R.D. Dewell, K. McCurdy, I.A. Gardner, A.E. Hill, J.N. Sofos, K.E. Belk, G.C. Smith and M.D. Salman. 2005. Prevalence of and risk factors for *Escherichia coli* O157 in market-ready beef cattle from 12 U.S. feedlots. *Foodborne Path. Dis.* 2:70-76.
- Diez-Gonzalez, F., T.R. Callaway, M.G. Kizoulis and J.B. Russell. 1998. Grain feeding and the dissemination of acid-resistant *Escherichia coli* from cattle. *Science* 281:1666-1668.
- Fenlon, D.R., J. Wilson, and W. Donachie. 1996. The incidence and level of *Listeria monocytogenes* contamination of food sources at primary production and initial processing. *J. Appl. Bacteriol.* 81:641-650.
- Gyles, C.L. 2007. Shiga toxin-producing *Escherichia coli*: an overview. *J. Anim. Sci.* 85(E-Suppl.):E45-E62.
- Hancock, D.D., T.E. Besser, C. Gill and C.H. Bohach. 2000. Cattle, hay, and *E. coli*. *Science* 284:49-50.
- Hill, D.D., W.E. Owens, and P.B. Tchounwou. 2006. Prevalence of *Escherichia coli* O157:H7 bacterial infections associated with the use of animal wastes in Louisiana for the period 1996-2004. *Int. J. Environ. Res. Pub. Health* 3:107-113.

- Ho, A.J., R. Ivanek, Y.T. Grohn, K.K. Nightingale, and M. Wiedry matterann. 2007. *Listeria monocytogenes* fecal shedding in dairy cattle shows high levels of day-to-day variation and includes outbreaks and sporadic cases of shedding of specic *L. monocytogenes* subtypes. *Prev. Vet. Med.* 80:287–305.
- Hovde, C.J., P.R. Austin, K.A. Cloud, C.J. Williams and C.W. Hunt. 1999. Effect of cattle diet on *Escherichia coli* O157:H7 acid resistance. *Appl. Environ. Microbiol.* 65:3233–3235.
- Hussein, H.S. 2007. Prevalence and pathogenicity of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* in beef cattle and their products. *J. Anim. Sci.* 85(E. Suppl.):E63–E72.
- Jacob ME, J.T. Fox, J.S. Drouillard, D.G. Renter, and T.G. Nagaraja. 2009. Evaluation of feeding dried distiller’s grains with solubles and dry-rolled corn on the fecal prevalence of *Escherichia coli* O157:H7 and *Salmonella* spp. in cattle. *Foodborne Pathog. Dis.* 6(2):145–53.
- Jacob, M.E., J.T. Fox, J.S. Drouillard, D.G. Renter, & T.G. Nagarajia. 2008a. Effects of feeding dried distillers’ grains on fecal prevalence and growth of *Escherichia coli* O157 in batch culture fermentations from cattle. *Appl. Environ. Microbiol.* 74:38–43.
- Jacob, M.E., J.T. Fox, S.K. Narayanan, J.S. Drouillard, D.G. Renter, and T.G. Nagaraja. 2008b. Effects of feeding wet corn distiller’s grains with soluble with or without monensin and tylosin on the prevalence and antimicrobial susceptibilities of fecal food-borne pathogenic and commercial bacteria in feedlot cattle. *J. Anim. Sci.* 86:1182–1190.
- Jacob, M.E., G.L. Parsons, M.K. Shelor, J.T. Fox, J.S. Drouillard, D.U. Thomson, D.G. Renter, and T.G. Nagaraja. 2008c. Feeding supplemental dried distiller’s grains increases fecal shedding *Escherichia coli* O157 in experimentally inoculated calves. *Zoonoses Publ. Hlth.* 55:125–132.
- Keen, J. E., G. A. Uhlich, and R. O. Elder. 1999. Effects of hay- and grain-based diets on fecal shedding in naturallyacquired enterohemorrhagic *E. coli* (EHEC) O157 in beef feedlot cattle. In 80th Conf. Res. Workers in Anim. Dis., Chicago, IL (Abstr.) CHAPTER 16 | *Escherichia coli* O157:H7 and *Listeria monocytogenes* Shedding in Beef and Dairy Cattle 144
- Keen, J.E., L.M. Durso and T.P. Meehan. 2007. Isolation of *Salmonella enterica* and shiga-toxigenic *Escherichia coli* O157 from feces of animals in public contact areas of United States zoological parks. *Appl. Environ. Microbiol.* 73:362–365.
- LeJeune, J.T., T.E. Besser, and D.D. Hancock. 2001. Reduction of fecal shedding of enterohemorrhagic *Escherichia coli* O157. *Appl. Environ. Microbiol.* 67:3053–3057.
- Nagaraja, T.G., J. Drouillard, D. Renter, & S. Narayanan. 2008. Distiller’s grains and food-borne pathogens in cattle: Interaction and intervention. *KLA News and Market Report* Vol. 33, No. 35.
- Naylor, S.W., J.C. Low, T.E. Besser, A. Mahajan, G.J. Gunn, M.C. Pearce, I.J. McKendrick, D.G.E. Smith, and D.L. Gally. 2003. Lymphoid follicledense mucosa at the terminal rectum is the principal site of colonization of enterohemorrhagic *Escherichia coli* O157:H7 in the bovine host. *Infect. Immun.* 71:1505:1512.
- Pauly, T.M., I.B. Hansson, and W.A. Tham. 1999. The effect of mechanical forage treatments on the growth of *Clostridium tyrobutyricum* and *Listeria monocytogenes* in grass silage. *Anim. Feed Sci. Technol.* 78:127–139.
- Pell, A.N. 1997. Manure and microbes: public and animal halth problem? *J. Dairy Sci.* 80:2673–2681.
- Peterson, R.E., T.J. Klopfenstein, R.A. Moxley, G.E. Erickson, S. Hinkley, G. Bretschneider, E.M. Berberov, D. Rogan, and D.R. Smith. 2007. Effect of a vaccine product containing type III secreted proteins on the probability of *E. coli* O157:H7 fecal shedding and mucosal colonization in feedlot cattle. *J. Food Protection* 70:2568–2577.
- Reinstein, S., J.T. Fox, X. Shi, and T.G. Nagaraja. 2007. Prevalence of *Escherichia coli* O157:H7 in gallbladders of beef cattle. *Appl. Env. Microbiol.* 73:1002–1004.
- Renter, D.G., and J.M. Sargeant. 2002. Enterohemorrhagic *Escherichia coli* O157: epidemiology and ecology in

- bovine production environments. *Anim. Health res. Rev.* 3:83–94.
- Ryster, E.T., S.M. Arimi, and C.W. Donnelly. 1997. Effects of pH on distribution of *Listeria Ribotypes* in corn, hay, and grass silage. *Appl. Environ. Microbiol.* 63:3695–3697.
- Sargeant, J.M., M.W. Sanderson, R.A. Smith, and D.D. Grifn. 2003. *Escherichia coli* O157 in feedlot cattle feces and water in four major feeder–cattle states in the USA. *Prev. Vet. Med.* 61:127–135.
- Siragusa, G.R., J.S. Dickson, and E.K. Daniels. 1993. Isolation of *Listeria* spp. from feces of feedlot cattle. *J. Food Protection* 56:102–105.
- Skovgaard, N., and C.Morgen. 1988. Detection of *Listeria* spp. in faeces from farm animals, in feeds, and in raw foods of animal origin. *Int. J. Food Microbiol.* 6:229–242.
- Stanford, K., D. Croy, S.J. Bach, G.L. Wallins, H. Zahiroddini, and T.A. McAllister. 2005. Ecology of *Escherichia coli* O157:H7 in commercial dairies in southern Alberta. *J. Dairy Sci.* 88:4441.
- Synge, B.A., M.E. Chase–Topping, G.F. Hopkins, I.J. McKendrick, F. Thomson–Carter, D. Gray, S.M. Rusbridge, F.I. Munro, G. Foster and G.J. Gunn. 2003. Factors influencing the shedding of verocytotoxin–producing *Escherichia coli* O157 by beef suckler cows. *Epidemiol. Infect.* 130:301–312.
- Thurston–Enriquez, J.A., J.E. Gilley, and B. Eghball. 2005. Microbial quality of runoff following land application of cattle manure and swine slurry. *J. Water Health* 3:157–171.
- USDA–APHIS. 1997. An update: *Escherichia coli* O157:H7 in humans and cattle.
- Vugia, D., A. Cronquist, J. Hadler, M. Tobin–D’ Angelo, D. Blythe, K. Smith, S. Lathrop, D. Morse, P. Cieslak, T. Jones, K.G. Holt, J.J. Guzewich, O.L. Henao, E. Scallan, F.J. Angulo, P.M. Grifn and R.V. Tauxe. 2007. Preliminary FoodNet data on the incidence of infection with pathogens transmitted commonly through food – 10 states, 2006. *Morbid. Mortal. Weekly Rep.* 56:336–339.