

38. 食鳥処理場及び市販鶏肉におけるカンピロバクターによる汚染状況の解析

○中岡加陽子，河島真由美，田中敬子（和歌山県環境衛生研究センター）

【はじめに】

カンピロバクターは食中毒原因菌の一つであり，厚生労働省の食中毒統計資料によると，近年国内でみられる細菌性食中毒では最も発生件数が多い。原因食品としては鶏肉またはその関連食品が多いことから，食鳥処理場における衛生管理の取り組みが進められているが，今なお完全に制御するのは困難な状況である¹⁾。食中毒事例の殆どは *C.jejuni* によるものであり，近年はニューキノロン系薬剤に対する耐性菌の増加が問題となっている。

今回，和歌山県内の食鳥処理場の拭き取り検体と，県内で流通する市販鶏肉からカンピロバクターを分離し，分離株の薬剤感受性試験を行うと共に，*C.jejuni* については血清型別試験，及びパルスフィールドゲル電気泳動（以下 PFGE）による解析を行った。

【材料と方法】

（1）調査対象

平成 26 年 6～11 月に採取された和歌山県内の食鳥処理場 10 ヶ所の拭き取り検体 118 検体（と体：24 検体，環境：72 検体，処理後食鳥肉：22 検体）及び平成 27 年 1 月に採取した県内で流通している鶏肉 20 検体を対象とした。

（2）培養分離同定

食鳥処理場の拭き取り検体については，「食鳥処理場における HACCP 方式による衛生管理指針」（平成 4 年 3 月 30 日付衛乳第 71 号厚生省生活衛生局乳肉衛生課長通知）に基づき分離を行った。流通鶏肉については，「食品衛生検査指針微生物編」（厚生労働省監修）に基づき分離を行った。分離菌株の同定は生化学的性状試験及び PCR 法により行った。

（3）血清型別試験

分離された *C.jejuni* 32 株について，市販のカンピロバクター免疫血清を用いた Penner 法により行った。

（4）薬剤感受性試験

アンピシリン (ABPC)，セファロチン (CET)，セフジトレン (CDTR)，イミペネム (IPM)，ゲンタマイシン (GM)，エリスロマイシン (EM)，テトラサイクリン (TC)，ナリジクス酸 (NA)，シプロフロキサシン (CPFX)，ノルフロキサシン (NFLX)，レボフロキサシン (LVFX)，オフロキサシン (OFLX)，ホスホマイシン (FOM) の 13 薬剤について，Kirby-Bauer 法により行った。

（5）PFGE

分離された *C.jejuni* のうち同じ血清型で類似した薬剤感受性パターンを示した分離株（C 群 4 株，R 群 6 株）について，地方衛生研究所・九州ブロックの「*Campylobacter* PFGE マニユ

アル」に準じて PFGE による解析を行った。

【結果】

(1) 食鳥処理場及び市販鶏肉におけるカンピロバクターの検出状況

表 1 に食鳥処理場及び市販鶏肉における検出状況を示した。食鳥処理場の拭き取り検体 21 検体 (17.8%) からカンピロバクターが検出された。内訳はと体が 6 検体 (25.0%)、環境が 4 検体 (5.6%)、処理後食鳥肉が 11 検体 (50.0%) であった。なお、環境拭き取りで検出されたのは、まな板と包丁で各 2 検体ずつであった。菌種別では、*C.jejuni* が 17 検体、*C.coli* が 1 検体、*Campylobacter spp.* が 3 検体から検出された。

市販鶏肉からは 19 検体 (95.0%) からカンピロバクターが検出された。菌種別では *C.jejuni* が 17 検体、*C.coli* が 1 検体、*Campylobacter spp.* が 1 検体から検出された。

(2) *C.jejuni* の血清型分布

各検体から分離された *C.jejuni* 32 株について試験を行ったところ、食鳥処理場では C, D, I の 3 種類の血清型が、市販鶏肉では R, Y の 2 種類の血清型が検出された。15 株については型別不能であった (表 2)。

(3) 薬剤感受性試験成績

各検体から分離されたカンピロバクター 38 株について、薬剤耐性パターンを表 3 に示した。すべての分離株が 2 種類以上の薬剤に耐性を示し、最も多いものでは 9 種類の薬剤に耐性が認められた。IPM と GM に対してはいずれも感受性であった。キノロン系薬剤 1 薬剤以上に耐性を示したものは 8 株あり、さらに 5 薬剤 (NA, CPF, NFLX, LVFX, OFLX) に耐性を示したのは 4 株であった。EM 耐性は 1 株、FOM 耐性は 1 株であった。

(4) PFGE による解析

分離された *C.jejuni* のうち同じ血清型かつ類似した薬剤耐性パターンを示したものとして、血清型 C 群の A 処理場の処理後食鳥肉からの分離株 (C1), B 処理場の処理後食鳥肉からの分離株 (C2, C3), B 処理場で使用した包丁からの分離株 (C4) の 4 株と、R 群の市販鶏肉からの分離株 (R1~R6) 6 株を解析対象とした。薬剤耐性パターンは、C1, C3 が CET-CDTR-TC-NA-CPF-NFLX-OFLX で LVFX の薬剤感受性が中間、C2, C4 が CET-CDTR-TC-NA-CPF-NFLX-LVFX-OFLX であった。R1~R6 はすべて CET-CDTR であった。これらの菌株について PFGE を行ったところ、C 群については 2 つの泳動パターンに分かれ、C1, C3, C4 が同一の泳動パターンを示した (図 1)。R 群については、すべて同一の泳動パターンを示した (図 2)。

【考察】

食鳥処理場からのカンピロバクター検出率はと体 25%、環境 5.6%、処理後食鳥肉 50.0% となった。環境からの検出率の低さは食鳥処理場における衛生対策の結果を反映しているものと思われたが、解体作業で使用する包丁とまな板から検出されており、またと体より食鳥肉からの検出率が高くなっていることから、と体から環境への汚染に続き、環境から食鳥肉への汚染が起こっている可能性が考えられた。市販鶏肉の検出率は 95.0% と高い結果となった。調査時

期が異なり単純に比較できるものではないが、食鳥処理場食鳥肉より市販鶏肉の検出率が高いことから、食鳥処理場から店頭で販売されるまでの過程においても汚染要因があると考えられた。

C.jejuni の血清型別について、食鳥処理場由来株では C 群が最も多いのに対して、市販鶏肉由来株では R 群が最も多く、傾向の違いがみられた。R 群が検出された鶏肉のうち 2 検体については、仕入れ元が今回調査対象となった 2 箇所の食鳥処理場であった。1 箇所は市販鶏肉調査の 6 ヶ月前と 2 ヶ月前に検査が行われており、6 ヶ月前には血清型 C 群 1 株、2 ヶ月前には型別不明 4 株の *C.jejuni* が検出されている。もう 1 箇所は 6 ヶ月前に血清型 C 群 3 株の *C.jejuni* が検出されている。同じ食鳥処理場で処理されたものであっても時期により汚染状況の傾向が変わることから、処理場搬入時における鶏のカンピロバクター保菌状況が反映されていると考えられた。

分離株を用いた薬剤感受性試験では、食鳥処理場由来 7 株と市販鶏肉由来の 1 株で少なくともいずれかのキノロン系薬剤に耐性が認められた。また、キノロン系薬剤 5 薬剤に耐性を示した 4 株はすべて食鳥処理場由来株であった。また、市販鶏肉由来株では CET, CDTR のみ耐性であるものが最も多く、薬剤耐性パターンにおいても食鳥処理場と市販鶏肉の傾向の違いがみられた。また、自然耐性として CET, CDTR のみ耐性を示した *C.jejuni* の 10 株中 7 株が血清型 R 群であり、血清型分布の傾向と関連性があると思われた。EM 及び FOM に耐性を示したのはそれぞれ 1 株であった。EM と FOM はカンピロバクター感染症の治療に用いられており、いずれも患者由来の *C.jejuni* から耐性株が分離された報告があることから^{2,3)}、今後もキノロン系薬剤と同様に耐性株の動向に注意が必要である。

PFGE を行った *C.jejuni* 分離株のうち、血清型 C 群では C1, C3, C4 が同一の泳動パターンを示し、この 3 株については起源が同じである可能性が高いことを示した。今回解析した分離株は同時期に採取された検体から分離されたもので、A 処理場、B 処理場ともに同じ生産者からと体を仕入れていた。これらのことから、仕入れ前の段階でと体が既に汚染されており、各処理場の環境や食鳥肉に汚染が広がったと考えられる。C2 は他の泳動パターンとの相違が 4 カ所あった。Tenover らの PFGE パターンを解釈するための基準⁴⁾によれば「Possibly related」のカテゴリーに分類され、今回解析を行った 4 株は同じ系統のものである可能性があると考えられる。また、R 群ではすべて同一の泳動パターンを示し、起源が同じである可能性が高いことを示したが、今回の調査では汚染ルートを推定することはできなかった。これらの結果から、血清型と薬剤耐性パターンは菌株間の関連性を推測する上で重要な情報となると考えられるが、汚染ルートの解明には検査結果だけでなく、聞き取り調査等による詳細な情報も不可欠であると思われた。

今後、今回の結果をもとに、食鳥処理場に対する衛生管理の指導やカンピロバクター食中毒予防の啓発等の食中毒対策に役立てていきたい。

【謝辞】

本研究を実施するにあたり、研究助成を頂きました公益財団法人大同生命厚生事業団に深謝致します。

【参考文献】

- 1) 一般財団法人 東京顕微鏡院：内閣府食品安全委員会 平成 25 年度食品安全確保総合調査 畜水産食品における薬剤耐性菌の出現実態調査報告書，2014
- 2) 衛生微生物技術協議会 カンピロバクターレファレンスセンター：衛生微生物技術協議会 第 36 回研究会（仙台）レファレンスセンター等報告，
http://www.nih.go.jp/niid/images/lab-manual/reference/H27_Campyrobacter.pdf，2015
- 3) 竹田義弘，桑山勝，大原祥子，妹尾正登：広島県内で分離された腸炎由来カンピロバクターの薬剤耐性，広島県立総合技術研究所保健環境センター研究報告，16，5-9，2008
- 4) Tenover FC, Arbeit RD, Goering RV, Mickelsen PA, Murray BE, Persing DH, Swaminathan B : Interpreting chromosomal DNA restriction patterns produced by pulsed-field gel electrophoresis: criteria for bacterial strain typing, J Clin Microbiol., 33,2333-2339,1995

表 1 カンピロバクター検出状況

	検体数	陽性数 (%)
食鳥処理場	118	21 (17.8)
丸と体	24	6 (25.0)
環境	72	4 (5.6)
食鳥肉	22	11 (50.0)
市販鶏肉	20	19 (95.0)
県内産	18	18 (100)
県外産	2	1 (50.0)
輸入	0	

表 2 *C.jejuni* の血清型分布

血清型	食鳥処理場	市販鶏肉
C	4	
D	2	
I	1	
R		9
Y		1
型別不能	10	5
計	17	15

表 3 カンピロバクター分離株の薬剤耐性パターン

	薬剤耐性パターン	<i>C.jejuni</i>	<i>C.coli</i>	<i>Campylobacter</i> spp.
食鳥処理場	ABPC-CET-CDTR-TC-NA-CPFX-NFLX-LVFX-OFLX	2		
	CET-CDTR-TC-NA-CPFX-NFLX-LVFX-OFLX	2		
	ABPC-CET-CDTR-TC-NA-CPFX-NFLX-OFLX	1		
	CET-CDTR-TC-NA-CPFX-NFLX-OFLX	2		
	ABPC-CET-CDTR-TC	1		1
	ABPC-CET-CDTR	4	1	
	CET-CDTR	5		1
	EM-TC			1
市販鶏肉	CET-CDTR-TC-NA-CPFX-NFLX-OFLX		1	
	ABPC-CET-CDTR	1		
	CET-CDTR-TC	3		
	CET-CDTR-FOM	1		
	CET-CDTR	10		1

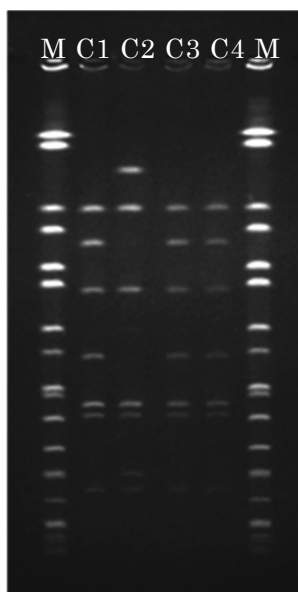


図 1 血清型 C 群の PFGE パターン

C1 : 食鳥処理場 A 食鳥肉
 C2 : 食鳥処理場 B 食鳥肉①
 C3 : 食鳥処理場 B 食鳥肉②
 C4 : 食鳥処理場 B 包丁
 M : *S. Braenderup* H9812

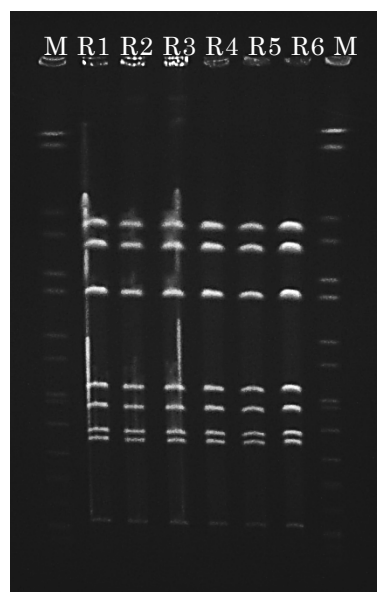


図 2 血清型 R 群の PFGE パターン

R1~R6 : 市販鶏肉
 M : *S. Braenderup* H9812

【経費使用明細】

カンピロバクター用培地（増菌用・分離用・継代用）	48,358 円
培地用サプリメント類	78,880 円
培養用ガスパック	15,220 円
感受性試験用ディスク	13,200 円
感作血球調製試薬	22,870 円
カンピロバクター免疫血清	75,600 円
制限酵素	3,250 円
菌株保存用バイアル	20,400 円
消費税	22,222 円
合計	300,000 円