

23. 衛生行政に資する神戸市内に流通する鶏肉の食中毒菌汚染実態調査

○濱 夏樹、野本竜平、米澤武志、北井和志、中西典子、田中 忍（神戸市環境保健研究所）

【研究目的】

神戸市内に流通する鶏肉について、カンピロバクター属菌、リステリア属菌、サルモネラ属菌および *Escherichia albertii* の4菌種の食中毒菌による汚染状況を調査し科学的にリスクを評価する。さらには得られた知見を衛生行政部局に還元することで衛生行政の質の向上をめざし市民の健康増進につなげることを目的とする。

【研究の必要性】

近年、食生活の健康志向化に伴い、食肉の需要が豚・牛から鶏肉へと移る傾向があり、鶏肉の生産量と消費量がともに増加している。その結果、鶏肉を原因とする食中毒事件数が増えてきており、神戸市においても同様の傾向が認められている。食の安全・安心の確保は市民の健康増進を図る上で最重要課題の一つであり、この鶏肉を原因とする食中毒の増加は、食品衛生行政が抱える問題の一つとなっている。そこで本研究では、神戸市内で流通する鶏肉についての食中毒菌による汚染実態を調査し、営業者や市民への啓発のための資料とすることを目的としている。

【研究計画】

検査対象とする鶏肉は、神戸市内の食鳥処理業、食肉販売業を営んでいる営業者から得られる国産鶏肉と神戸市内で販売されている輸入鶏肉を合わせて合計100検体とする。これらの鶏肉は食品衛生法上の収去および買い取りにより収集する。

鶏肉による食中毒の代表的な原因菌種には、カンピロバクター属菌やサルモネラ属菌が挙げられるが、これらに加えてリステリア属菌や、2003年に新しい食中毒菌として発見され脚光を浴びている *Escherichia albertii* による鶏肉の汚染も報告されている。そこで本研究ではこれら4菌種をターゲットにして下記のとおり検査を実施する。

1. カンピロバクター属菌検査

カンピロバクター属菌 (*Campylobacter jejuni* および *C. coli*) は我が国で発生する食中毒事件数においてノロウイルスと毎年トップの座を争っており、食中毒対策においてはノロウイルスとともに重要なターゲットとなっている。本調査では本菌による鶏肉の汚染状況を調査し、検出株のシーケンスタイプをMLST (Multi-locus Sequence Typing)法を用いて調べ流行株を把握する。また、食中毒事件において最も高い頻度で検出される *C.*

jejuni は、近年世界的にはフルオロキノロン系薬剤に対する耐性株が増加してきており、日本も同様な傾向が示されてきている。また日本ではブロイラーから分離される *C. jejuni* 株の約半数がナリジクス酸に耐性があったとする報告がある¹⁾。以上のことからキノロン系の抗生物質を中心に感受性試験を実施し、耐性株の侵溢度を調査する。

2. サルモネラ属菌検査

サルモネラ属菌は多くの食中毒菌の中でもポピュラーな食中毒菌である。衛生意識の高まりから、近年その食中毒事件の発生件数はかなり減少してきているが、重篤な場合は死者も出る食中毒菌であり、その発生動向には注意を要する。本菌については、当研究所における過去の調査（平成 19-23 年）において、鶏肉から分離される血清型が明らかにされている（Infantis>Schwarzengrund>Typhimurium>他）。本調査ではこのデータとの比較を行う。またサルモネラ属菌の耐性菌に関しては 1984 年に英国で 5 剤耐性の *S. Typhimurium* が検出²⁾されて以降、多剤耐性株が広がっており、近年、サルモネラ症の治療薬の切り札であるフルオロキノロン系の抗生物質に対する耐性株の出現も見られ、2016 年に EU においてはヒトからフルオロキノロン系のシプロフロキサシン高度耐性 ESBL 産生の *S. Kentucky* が検出されている³⁾。当研究所がおこなった過去の調査（平成 19-23 年）においては、鶏肉から分離されたサルモネラ属菌の 96%が何らかの薬剤に対して耐性を有し、そのうちの 9 割が多剤耐性株であり、さらにシプロフロキサシンに耐性の株が 12%含まれていた。よって本調査においてはフルオロキノロン系の抗生物質を中心に感受性試験を実施し、耐性株の侵溢度を調査する。

3. リステリア属菌検査

リステリア属菌の *Listeria monocytogenes* は欧米で乳製品が原因の食中毒の原因菌として有名であるが、日本では食中毒統計上においては大規模食中毒の発生はない。しかし散発事例は 1958 年に初めての国内発症例がある⁴⁾が、その後、年間数例の事例が確認されるようになり、1980 年代の欧米諸国での食中毒事例の増加以降は、日本国内での発症事例が漸増してきている。また日本国内に流通する乳製品、食肉加工品や魚介類加工品などから、菌数は少ないながらも検出されている。本調査では神戸市内で流通する鶏肉について *L. monocytogenes* を含めたリステリア属菌による汚染実態を把握し、同菌が得られた場合についてはその血清型別ならびに薬剤感受性試験を実施する。

4. *E. albertii* 検査

E. albertii は 2003 年に新しい種として報告された⁵⁾が、その実態はいまだに不明な点が多い菌である。日本国内では新菌種として記載されて以降 9 件の食中毒事件が発生している。本菌はその生態に不明な点が多く、食中毒の発生に至る食品汚染のルートなども不明な点が多い。本調査では、鶏肉の本菌による汚染実態を調査し、得られた菌株を用いてその生化学的および遺伝子学的なプロファイルを構築する。また、本菌は長い間 *E. coli*（特に Enteropathogenic *E. coli* : EPEC）との誤同定がなされてきた菌であるため、

当研究所に保管されている大腸菌株について再調査を実施しプロファイルとの比較をおこなうことで本菌の伝搬性や病原性の発現様式などを探索する。

【実施内容・結果】

今回の調査ではこの1年間で51件（研究当所の予定数の51%）の鶏肉を検査した。対象とした販売施設は42施設となった。

1. カンピロバクター属菌検査

検査した51件中カンピロバクター属菌が検出された検体は27件で、検出率は52.9%であった。検出された菌種は *C. jejuni* (24件) と *C. coli* (7件) で、*C. jejuni* と *C. coli* の混合汚染が5検体に認められた。他のカンピロバクター属の菌種 (*C. upsaliensis*, *C. lari*) は検出されなかった。

2. サルモネラ属菌検査

検査した51件中サルモネラ属菌が検出された検体は27件で、検出率は52.9%であった。検出された血清型は、Infantis (13件)、Schwarzengrund (7件)、Hadar (6件)、Yovokome (2件)、血清型不明 (2件)、Manhattan (1件) の計31件であった。検出された血清型は過去に当研究所で実施した検査結果 (Infantis>Schwarzengrund >Typhimurium>他) と類似している傾向があるように思われた。2種の血清型のサルモネラによる混合汚染されていた検体が4件あった。

3. リステリア属菌検査

検査した51件中リステリア属菌が検出された検体は32件で検出率は62.7%であったが、*L. monocytogenes* が検出されたのは20件で検出率は39.2%であった。*L. monocytogenes* 以外に検出された菌種は、*L. innocua* (18件) と *L. welshimeri* (5件) であった。複数種のリステリア属菌の汚染を受けている検体が9件あった。

4. *Escherichia albertii* 検査

検査した51件については *E. albertii* は全く検出されなかった。また、当研究所に保管されている大腸菌株においてその性状（乳白糖非分解で運動性を有しない）が *E. albertii* に類似した株を再検査したところ、平成23年1月に発生した食中毒事件において検出された *E. coli* 0153 であると同定された10菌株が *E. albertii* 特異的遺伝子検査によって *E. albertii* であると同定された。なおこの *E. albertii* 10株中3株においてNGSによるゲノム解析を実施した結果、薬剤耐性遺伝子 *bla*CMY-2 を有していることが判明した。

【考察と今後の課題】

これまでに実施された国内に流通する市販鶏肉におけるカンピロバクター汚染率については11.8%⁶⁾、22.0%⁷⁾、48.6%⁸⁾、52.8%⁹⁾、61.0%¹⁰⁾と幅がある。本研究における汚染率は52.9%でこれらの研究と照らし合わせると比較的汚染率が高い傾向にあるように思えた。サルモネラに関しては、過去の報告では、7.3%⁶⁾、9.5%¹¹⁾、12%⁷⁾、47.4%¹⁰⁾、58.3%⁹⁾

と、こちらも汚染率に幅があり、本研究においては52.9%とやはり過去の調査と比較して汚染率が高い傾向にあると考えられた。また *Listeria monocytogenes* については、過去の調査において、30.9%⁶⁾、32.1%¹²⁾、38.1%¹¹⁾、47.4%¹²⁾、と調査ごとの汚染率に幅が少なく、本研究のデータ(39.2%)もこれらの調査結果と同様な傾向にあるものと考えられた。

E. albertii に関しては市販流通している鶏肉についての汚染状況を調査した報告は未だない。しかし生食用鶏肉から *E. albertii* が検出されたことが報告されている¹³⁾。一方、*E. albertii* における薬剤耐性遺伝子の保有に関してはその報告が少なく、blaCMY-2 遺伝子を保有する株の報告は見当たらない。よって本調査において検出された blaCMY-2 を保有する *E. albertii* に関しては、その詳細なゲノム情報の解析を進める予定である。

本研究においては現時点では当初目的とした検査数(100検体)に至っていないため、これ以降も検査検体を増やし、カンピロバクター属菌、サルモネラ属菌およびリステリア属菌については各々の菌種における汚染菌株の薬剤耐性状況をはじめ遺伝子学的プロファイルを調査し、*E. albertii* についてはその実態解明のための菌株の獲得に努めることとする。また

【参考文献】

- 1) 石井良和 食の安全・安心にかかわる最近の話題4 食肉に混入する薬剤耐性菌の現状 モダンメディア 61 巻 8 号. 2015.
- 2) Threlfall, E. J. et al. : Epidemic cattle and humans of *Salmonella* Typhimurium DT 104 with chromosomally integrated multiple drug resistance. Vet. Rec. 134, 577. 1994.
- 3) European Food Safety Authority. European Center for Disease Prevention and Control. The European Union summary report on antimicrobial resistance in zoonotic and indicator bacteria from humans, animals and food in 2014. J. efsa. 2016. 4380.
- 4) 秋葉亨、富沢功、山寺泰彦、永井龍夫、植竹久雄. *Listeria monocytogenes* による髄膜炎. 日本伝染病学雑誌第 36 巻第 11 号. 1963.
- 5) Katie E. Hyma, David W. Lacher, Adam M. Nelson, Alyssa C. Bumbaugh, J. Michael Janda, Nancy A. Strockbine, Vincent B. Young, and Thomas S. Whittam. Evolutionary Genetics of a New Pathogenic *Escherichia* species: *Escherichia albertii* and Related *Shigella boydii* Strains. J. Bacteriol. 2005. 619-628.
- 6) 重村久美子、松田正法、麻生嶋七美、徳島智子、吉田英弘、本田己喜子、樋脇弘. 市販生食用鶏肉のカンピロバクター、サルモネラ、リステリア・モノサイトゲネスおよびアルコバクター汚染と推定大腸菌数の検討. 日本食品微生物学会雑誌. 2014.
- 7) 古茂田恵美子、森田幸雄、田村真理、山本茂貴、野田雅博、小野邦壽、木村博一. 市販鶏ひき肉中の *Arcobacter*、*Campylobacter*、*Salmonella* 汚染状況. 日本家政学雑誌. Vol. 62 No. 11 721-725. 2001.

- 8) 古川一郎、伊達佳美、相川勝弘、浅井良夫、尾上洋一. 市販鶏肉におけるカンピロバクター・ジェジュニの汚染状況および分離菌株の解析. 神奈川県衛生研究所研究報告 No. 37 2007.
- 9) 古田宗宜、小田隆弘、樋脇 弘、財津修一、村上光一、馬場 愛、江渕寿美、金子孝昌、木原温子. 市販鶏肉類における *Campylobacter jejuni/coli*、*Salmonella* ならびに糞便系大腸菌群の汚染状況の関係. 日本食品微生物学会雑誌 第27巻 第4号. 2010.
- 10) 小野一晃. 市販鶏肉のカンピロバクター及びサルモネラ汚染状況と分離株の薬剤感受性. 日本獣医師会雑誌. 67. 442-448. 2014.
- 11) 土井りえ、小野一晃、斎藤章暢、大塚佳代子、柴田穰、正木宏之. 市販食肉におけるサルモネラとリステリアの汚染状況. 日本獣医学会誌. 56. 167-170. 2003.
- 12) 小野一男、島田邦夫、柳田潤一郎、細田康彦、仲西寿男、貫名正文、飯田孝. 流通過程における食肉のリステリア汚染状況. 食品と微生物. 1993年10巻3号. 139-146.
- 13) 松田正法、麻生嶋七美、重村久美子、徳島 智子、本田己喜子、吉田英弘、樋脇弘. 集団下痢症患者および生食用鶏肉から分離された *Escherichia albertii* の性状解析. 第34回日本食品微生物学会学術総会講演要旨集. P34. 2013.

【経費使途明細】

使途	金額
薬剤感受性試験試薬	12,852
リステリア属菌培養用培地	47,628
細菌同定キット	12,960
E.albertii検出用培地	46,008
E.albertii遺伝子検出用ポリメラーゼ	10,778
リステリア属菌遺伝子検出用ポリメラーゼ	21,276
カンピロバクター属菌遺伝子検出用ポリメラーゼ	66,078
その他細菌遺伝子検出用ポリメラーゼ	81,648
振込手数料	2,592
合計	301,820
大同生命厚生事業団助成金	300,820