

鶏肉における *Campylobacter jejuni* の検出状況 (第2報)

Prevalence of *Campylobacter jejuni* in Chicken Meat (2)

内田 順子 有塚 真弓 関 和美* 宮本 孝子** 池本 龍一
Junko UCHIDA Mayumi ARIZUKA Kazumi SEKI Takako MIYAMOTO Ryuichi IKEMOTO

要 旨

2008年4月から2013年3月の5年間の鶏肉(キモ・ズリ・ササミ)における *Campylobacter jejuni* (以下 *C. jejuni*) の検出状況と Penner 血清型別および薬剤感受性を調査した。鶏肉 108 検体中 40 検体より *C. jejuni* 45 株を分離した。Penner 血清型は L 型が 8 株で、半数近くは型別不能であった。薬剤感受性はキノロン系薬剤耐性率が 53% と高く、これからも耐性菌の動向を監視することが必要と思われた。今回、パルスフィールド電気泳動法 (PFGE) による分子疫学解析を実施したが、鶏肉の PFGE 型は多様であった。

キーワード: 鶏肉 *Campylobacter jejuni* Penner 型別 薬剤感受性 PFGE

I はじめに

Campylobacter jejuni (以下 *C. jejuni*) は急性胃腸炎の原因菌であり、全国的には食中毒発生原因細菌の中で最も多い。当センターでは食中毒防止対策として、原因食品の1つである鶏肉の *Campylobacter* 等の汚染状況を調査し、食肉処理施設等の監視指導や消費者に対する食肉の生食のリスクの啓発を行っている。今回、2008年4月から2013年3月の5年間における鶏肉の *C. jejuni* の検出状況・血清型別・薬剤感受性を調査し報告するとともに、前報で報告した¹⁾2004年4月から2008年3月までの4年間と比較し推移をみる。また今回、パルスフィールド電気泳動法 (PFGE) も実施したので併せて報告する。

II 方法

1 調査期間及び材料

2008年4月から2013年3月の5年間。カンピロバクター等汚染実態調査事業の検体として2008年度は毎月搬入、2009年度からは隔月で搬入された鶏肉(キモ・ズリ・ササミ)108検体を用いた。

2 調査方法

(1) 分離および同定

鶏肉は、リン酸 Buffer 生理食塩水で希釈し、プレストン培地で 42°C 好気増菌培養後、スキロー培地・CCDA 培地で分離培養した。同定は、顕微鏡でグラム陰性らせん状桿菌を確認し、馬尿酸加水分解試験陽性で *C. jejuni* とした。

* 香川県立中央病院

** 香川県中讃保健福祉事務所

(2) 血清型別試験

C. jejuni と同定した菌株について、デンカ生研の感作血球調整試薬およびカンピロバクター免疫血清を用いて間接赤血球凝集反応による Penner 型別を行った。

(3) 薬剤感受性試験

薬剤感受性試験は、Sensi-Disc (BBL) を用いて一濃度ディスク法により実施した。使用した薬剤は、ノルフロキサシン (NFLX)、オフロキサシン (OFLX)、シプロフロキサシン (CPFX)、ナリジクス酸 (NA)、エリスロマイシン (EM)、テトラサイクリン (TC) の 6 剤を使用した。

(4) PFGE

八尋らの方法²⁾ に準じて、分離菌株を血液寒天培地で 37°C 24 時間好気培養後ブロックを作製した。制限酵素 *Sma* I と *Kpn* I を用いて処理し、CHEF DR III (Bio-Rad) を用いて、泳動条件 6.0V/cm、6.8 to 38.4 sec、14.0°C で 19 時間泳動した。解析は、FingerPrinting II (Bio-Rad) を使用した。

III 結果

1 *C. jejuni* の検出状況

鶏肉 108 検体中 40 検体 (37.0%) より検出された (表 1)。年度別に見ると、検出率は 27.8% から 50% であった。部位別に見ると、キモ 23 検体 (63.9%)、ズリ 15 検体 (41.7%)、ササミ 2 検体 (5.6%) から検出された (表 2)。検出された 40 検体のうち 3 検体 (キモ) から性状の異なる *C. jejuni* が複数分離され、菌株は 45 株となった。

2 血清型別

血清型は、L型が8株(17.8%)、K型が4株(8.9%)、C型・D型・O型・Y型が各2株(4.4%)、A型・E型・G型・

N型が各1株(2.2%)であった(表3)。およそ半数の21株(46.7%)は型別不能だった。

表1 鶏肉の*C. jejuni* 検出状況

検出状況 年度	鶏 肉	
	陽性数/検体数	%
2008	11/36	30.6
2009	8/18	44.4
2010	5/18	27.8
2011	9/18	50.0
2012	7/18	38.9
'08~'12	40/108	37.0

表2 鶏肉の部位別*C. jejuni* 検出状況

部位別 年度	キモ	ズリ	ササミ
	陽性数/検体数 (%)	陽性数/検体数 (%)	陽性数/検体数 (%)
2008	7/12 (58.3)	4/12 (33.3)	0/12 (0.0)
2009	5/6 (83.3)	3/6 (50.0)	0/6 (0.0)
2010	3/6 (50.0)	2/6 (33.3)	0/6 (0.0)
2011	5/6 (83.3)	3/6 (50.0)	1/6 (16.7)
2012	3/6 (50.0)	3/6 (50.0)	1/6 (16.7)
'08~'12	23/36 (63.9)	15/36 (41.7)	2/36 (5.6)

表3 鶏肉の*C. jejuni*の血清型 (penner)

年度 型	2008	2009	2010	2011	2012	'08-'12		内訳(菌株数)		
						(菌株数)	(%)	キモ	ズリ	ササミ
A		1				1	2.2		1	
C	1			1		2	4.4		2	
D	2					2	4.4	1	1	
E	1					1	2.2	1		
G	1					1	2.2	1		
K	4					4	8.9	2	2	
L			3	1	4	8	17.8	6	2	
N					1	1	2.2	1		
O		2				2	4.4	1	1	
Y		2				2	4.4	1	1	
UT	3	3	2	11	2	21	46.7	14	5	2
合計	12	8	5	13	7	45	100	28	15	2

表4 鶏肉の*C. jejuni*の薬剤耐性パターン

薬剤	年 度					合計
	2008	2009	2010	2011	2012	
NFLX・OFLX・CPFx・NA・TC	6(50.0)	2(25.0)	3(60.0)	6(46.2)	4(57.1)	21(46.7)
NFLX・OFLX・CPFx・NA				2(15.4)		2(4.4)
NFLX・OFLX・CPFx				1(7.7)		1(2.2)
TC	5(41.7)	6(75.0)	2(40.0)	4(30.8)		17(37.8)
6薬剤感受性	1(8.3)				3(42.9)	4(8.9)
合 計	12	8	5	13	7	45

3 薬剤感受性

6 薬剤すべてに感受性であったのは45株中4株(8.9%)、TCのみ耐性であったのは17株(37.8%)、ニューキノロン系薬剤またはニューキノロン系薬剤とTCに耐性であったのは24株(53.3%)であった(表4)。EMにはすべて感受性であり、6薬剤耐性菌はなかった。

4 PFGE

鶏肉40検体より検出された*C. jejuni*45株についてPFGEを実施し、解析を行った。*Sma*Iで処理した系統樹

を図1に、*Kpn*Iで処理した系統樹を図2に示した。表5には血清型別と、*Sma*I・*Kpn*I処理によるPFGEで同一型となった菌株をグループ化し、示した。*C. jejuni*45株について、*Sma*I処理を実施した結果、33株が13の型に識別された。残り12株は類似性がなく、合計25の型に識別された。また、*Kpn*I処理の結果、30株が15の型に識別された。残り15株は類似性がなく、合計30の型に識別された。

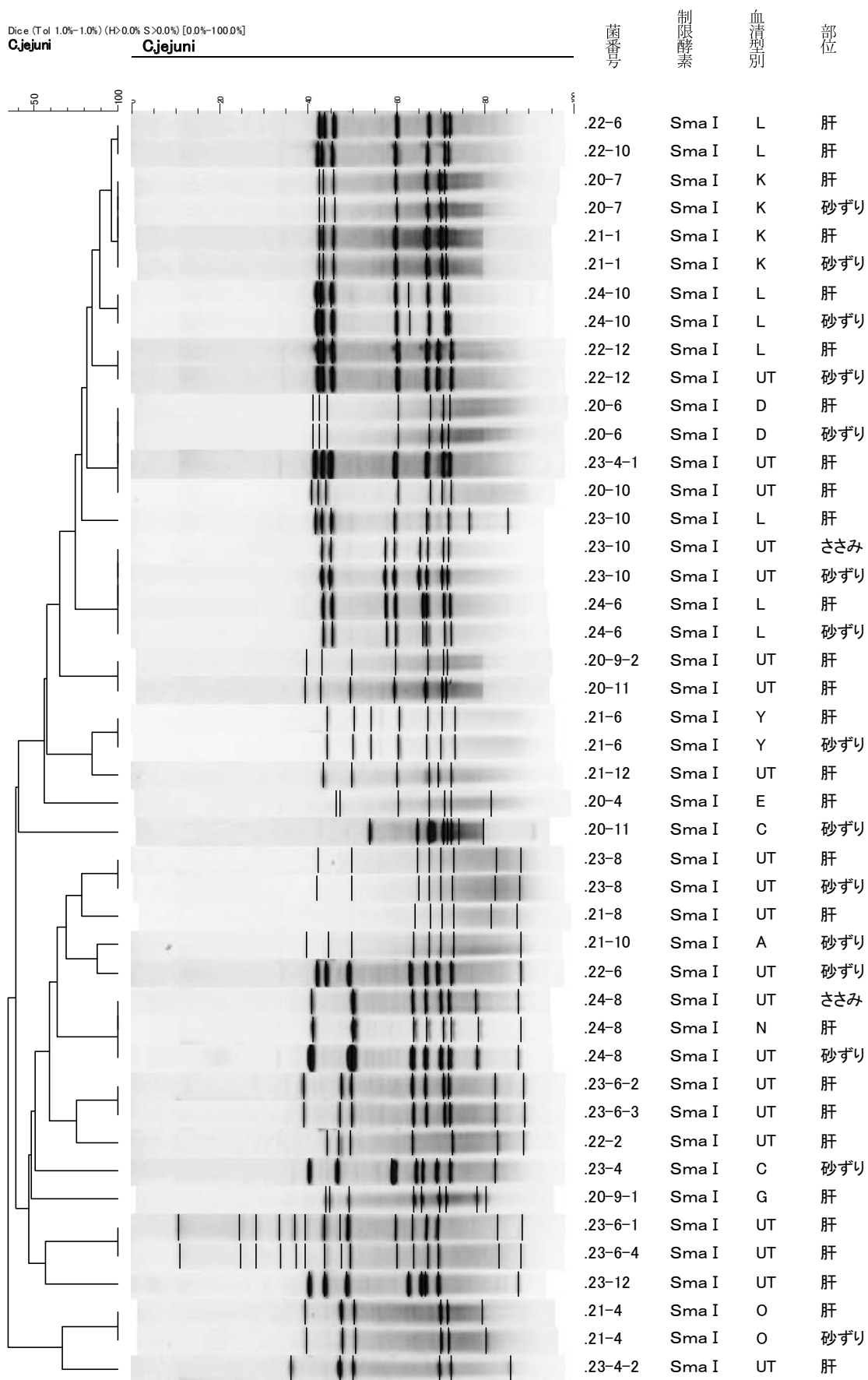


図1 鶏肉より分離検出した *C. jejuni* の系統樹 (Sma I 処理)

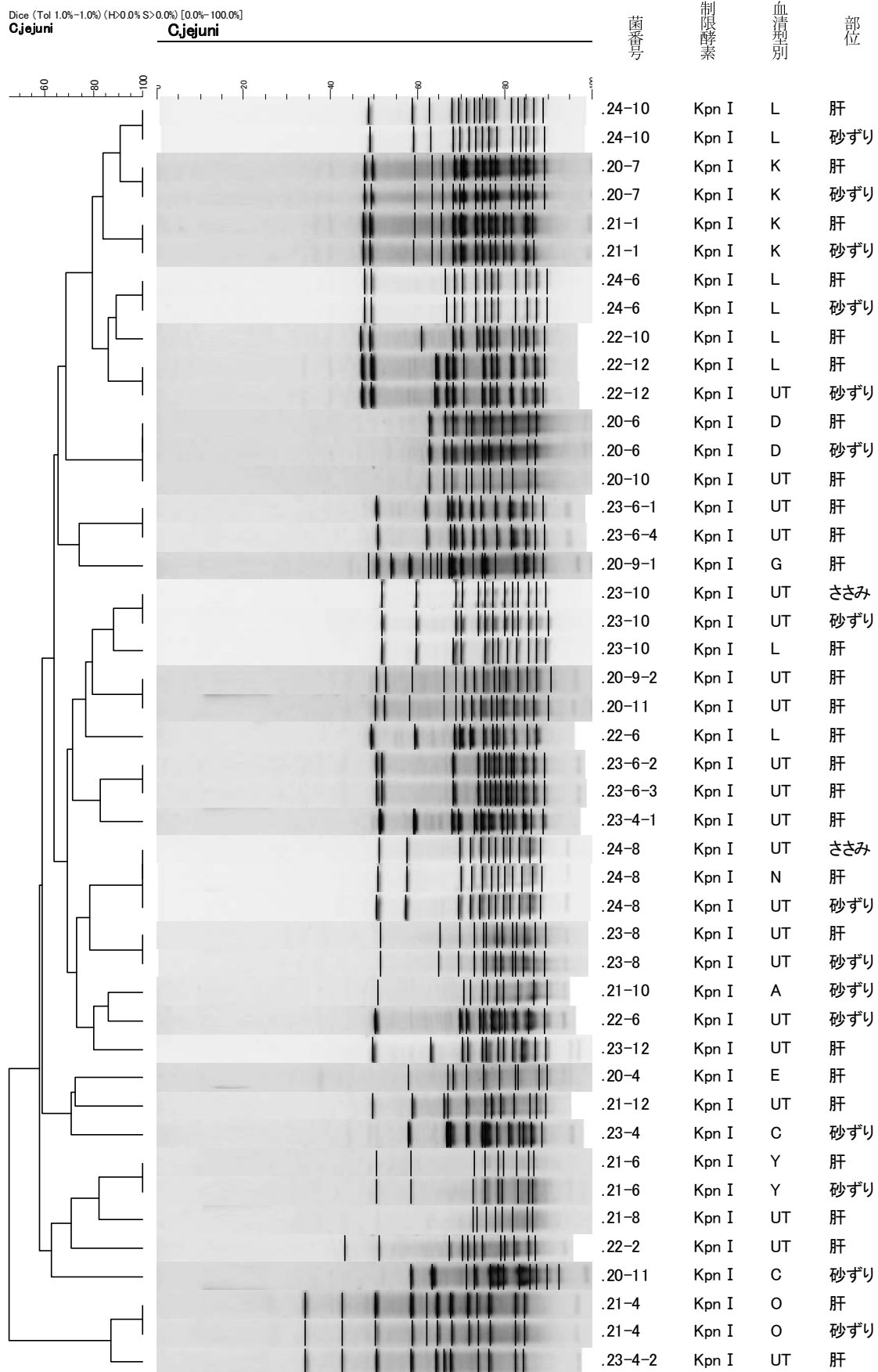


図2 鶏肉より分離検出した *C. jejuni* の系統樹 (*Kpn*I 処理)

IV 考察

今回 2008～2012 年度の検出状況は、前報で報告した¹⁾ 2004～2007 年度の検出率 50.7%に比べて 37.0%と低かった。部位別で、前回キモ 70.6%、ズリ 45.8%、ササミ 35.4%であった検出率が、今回ササミからの検出が 2 検体(5.6%)のみとなり、前回に比べ大幅に減少した。これは食肉処理・加工時の汚染が少なかったことが予想される。

表 5 菌株 *C. jejuni* の血清型と PFGE 型

搬入日	部位	菌株	血清型別	PFGE 型	
				<i>Sma</i> I	<i>Kpn</i> I
H20-4	肝		E	○	○
H20-6	肝		D	G1	g1
	砂ずり		D	G1	g1
H20-7	肝		K	G2	g2-1
	砂ずり		K	G2	g2-1
H20-9	肝-1		G	○	○
	肝-2		UT	G3	g3
H20-10	肝		UT	G1	g1
H20-11	肝		UT	G3	g3
	砂ずり		C	○	○
H21-1	肝		K	G2	g2-2
	砂ずり		K	G2	g2-2
H21-4	肝		O	G4	g4
	砂ずり		O	G4	g4
H21-6	肝		Y	G5	g5
	砂ずり		Y	G5	g5
H21-8	肝		UT	○	○
H21-10	砂ずり		A	○	○
H21-12	肝		UT	○	○
H22-2	肝		UT	○	○
H22-6	肝		L	G6	○
	砂ずり		UT	○	○
H22-10	肝		L	G6	○
H22-12	肝		L	G7	g7
	砂ずり		UT	G7	g7
H23-4	肝-1		UT	G1	○
	肝-2		UT	○	○
	砂ずり		C	○	○
H23-6	肝-1		UT	G8	g8
	肝-2		UT	G9	g9
	肝-3		UT	G9	g9
	肝-4		UT	G8	g8
H23-8	肝		UT	G10	g10
	砂ずり		UT	G10	g10
H23-10	ささみ		UT	G11	g11-1
	肝		L	○	○
	砂ずり		UT	G11	g11-1
H23-12	肝		UT	○	○
H24-6	肝		L	G11	g11-2
	砂ずり		L	G11	g11-2
H24-8	ささみ		UT	G12	g12
	肝		N	G12	g12
	砂ずり		UT	G12	g12
H24-10	肝		L	G13	g13
	砂ずり		L	G13	g13

* ○はそれぞれ異なる型である

血清型別は、前回 B 型 (25.6%)、C 型(13.4%)、A 型 (11.0%)となり、特に B 型が多く分離された。しかし今回は B 型は分離されず、L 型が 17.8%、他は多種であった。Penner 血清型別による分類は型別不能となる菌の頻度が高いことが欠点と言われており³⁾、半数近い 46.7% が型別不能だった。

薬剤感受性においては、前回 2004～2007 年度と前々回⁴⁾ 2002～2003 年度を合わせて比べてみると、今回 6 剤すべてに感受性があったのは 8.9%で前回 1.2%、前々回 13%であった。前回、前々回同様下痢症治療の第一選択薬の EM にはすべて感受性であった。ニューキノロン系薬剤耐性率は今回 53.3%で前回 68.3%、前々回 56%、TC 薬剤耐性率は今回 84.5%で前回 96.4%、前々回 79%であった。多少の変動はあるが、長期間において、複数の薬剤に耐性を示す株が多く推移している。TC 系薬剤は成長促進等のために鶏用飼料に添加が認められており、ニューキノロン系薬剤は *Campylobacter* 用薬剤として使用しているため、今後も耐性菌の動向を監視することが必要と思われる^{5) 6)}。

PFGE の解析では、*Sma* I 処理で 25 の型に *Kpn* I 処理で 30 の型に識別され、PFGE 型は多様であった。*Sma* I 処理で同一型、*Kpn* I 処理で異なる型になったものが 7 型あり、*Kpn* I 処理の方が高い精度であった。*Kpn* I 処理において同一型となったものは同日搬入されたものに多く、これは食鳥処理場での処理・加工工程での汚染が示唆される。また、Penner 血清型 L 型 8 株を見てみると搬入日が異なると PFGE 型も異なり血清型別は PFGE 型と関連性はなく疫学的同一性の判断には難しいと思われた。

V まとめ

2008 年 4 月から 2013 年 3 月の 5 年間における鶏肉 108 検体中 40 検体より *C. jejuni* 45 株を分離した。

Penner 血清型は L 型が 8 株で他は多様であった。

薬剤感受性はニューキノロン系薬剤耐性率が 53%と高く、10 年間推移している。これからも耐性菌の動向を監視することが必要である。

PFGE 解析は *C. jejuni* の PFGE 型別は多様であった。同一搬入日に同一型が多く、食鳥処理場の処理・加工工程での汚染が示唆された。

文献

- 1) 内田順子, 久保由美子, 砂原千寿子, 三木一男: 糞便, 鶏肉における *Campylobacter jejuni* の検出状況, 香川県環境保健研究センター所報, **7**, 126-129, (2008)
- 2) 八尋俊輔, 上野伸広, 山崎省吾, 堀川和美: 「*Campylobacter jejuni* 分子疫学解析の検討」, 厚生労働省科学研究補助金(新興・再興感染症研究事業) 分担研究報告書
- 3) 三澤尚明: カンピロバクター感染症, モダンメディア, **51**, 45-52, (2005)
- 4) 多田芽生, 砂原千寿子, 多田千鶴子, 山西重機: 鶏肉における *Campylobacter* 及び *Salmonella* の汚染状況, 香川県環境保健研究センター所報, **3**, 187-190, (2008)
- 5) 渡邊節, 菅原直子, 古林妙子, 山田わか, 斉藤紀行: 鶏肉からの効率的なカンピロバクターの分離の性状, 宮城県保健環境センター年報, **24**, 117-120, (2006)
- 6) 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, **37**, 24-27, (2007)