

島根県における食肉のカンピロバクターとサルモネラの 汚染状況及びヒト由来株との関連性について

熱田純子・黒崎守人・高橋起男・川瀬 遵

1. はじめに

カンピロバクターとサルモネラは共に食中毒の主要な起因菌として知られている。カンピロバクターによる食中毒発生件数は近年増加しており¹⁾原因食品として最も重要視されているのが鶏肉である²⁾。

一方、サルモネラは長年にわたり我が国における主要な食中毒起因菌であり、卵及び卵製品を原因とするサルモネラ食中毒が依然として多いが、近年鶏肉を介した食中毒の発生も多く、鶏肉はサルモネラ食中毒の感染源としても重要視されている³⁾。

そこで、カンピロバクター及びサルモネラ感染症の予防対策に資することを目的に県内に流通する食肉の両菌による汚染状況と、医療機関等で分離された両菌の血清型等を調査するとともに、食肉由来株およびヒト由来株の関連性について検討したので報告する。

2. 材料及び方法

2.1 材 料

食肉中の汚染状況については、2008年5月～2009年9月に県内2か所の食肉処理施設で採取した鶏肉148、豚肉21、牛肉21検体の包装内浸出液（以下ドリップ）を材料として実施したところ他の報告^{2), 3), 4)}に比較し分離率が低かった。このため、2009年6月～2009年11月に県内2か所の食肉販売店舗で購入した国内産鶏肉25検体（モモ肉7、ムネ肉4、手羽肉3、レバー5、皮5、ささみ1）を追加し被検材料とした。

ヒト由来株は、カンピロバクターについては2008年4月～2010年3月に感染症発生動向調査の感染性胃腸炎患者の検体及び食中毒患者の検体から分離された菌株並びに2008年9月～2010年3月に県東部の医療機関及び検査機関から分与をうけた菌株28株を、サルモネラについては2008年9月～2010年3月に県東部の医療機関及び検査機関から分与をうけた菌株31株を検査に供した。

2.2 分離、同定方法

カンピロバクター：ドリップについては、ドリップをしみこませた綿棒をそのままプレストン培地に接種し微好気条件下で42℃24時間増菌培養後、1白金耳を

スキロー寒天培地及びCCDA寒天培地に塗抹し42℃48時間微好気培養した。培地上の定型的集落1～5個について、オキシダーゼテスト、グラム染色により鏡検を行い特有の形態を示すものを*Campylobacter.spp*とした。さらに馬尿酸加水分解試験を実施し陽性の株について*C.jejuni*と同定しPHA法による血清型別（デンカ生研）を行った。鶏肉については、検体25gにプレストン培地100mlを加えストマッカーで均一な5倍乳剤を作製し、以後ドリップと同様に分離同定及び血清型別を実施した。

サルモネラ：ドリップについては、ドリップをしみこませた綿棒をそのままBPW（Buffered Peptone Water）培地に接種し35℃18時間前増菌培養後、ハーナーのテトラチオン酸塩培地で42℃24時間増菌培養した。培養液1白金耳をMLCB寒天培地及びクロモアガーサルモネラ寒天培地に塗抹し35℃24時間培養した。培地上の定型的集落1～5個をTSI培地、LIM培地、及びSC培地に接種し、サルモネラの性状を示した株について血清型別を行った。鶏肉については、検体25gにBPW225mlを加えストマッカーで均一な10倍乳剤を作製し、以後ドリップと同様に分離同定及び血清型別を実施した。

ヒト由来株については食肉と同様、生化学性状を確認後血清型別を実施した。

2.3 汚染菌数の測定

鶏肉については、MPN3本法により菌数測定を実施した。カンピロバクターについては、前項で作製した5倍乳剤試料10mlを空試験管3本に分注し、さらに乳剤試料1mlをプレストン培地9ml入り試験管3本に接種後、順次10倍段階希釈し微好気条件下で42℃24時間増菌培養した。以下前項と同様に菌種の同定を行い各段階希釈のカンピロバクター陽性試験管本数を最確数表にあてはめ、100g当たりのMPN値を求めた。

サルモネラについては、前項で作製した10倍乳剤試料10mlを空試験管3本に分注しさらに乳剤試料1mlをBPW9ml入り試験管3本に接種後、順次10倍段階希釈し35℃18時間前増菌培養した。各培養液1mlをハーナーのテトラチオン酸塩培地9mlに接種し42℃

24時間増菌培養後、以下前項と同様に菌種の同定を行い各段階希釈のサルモネラ陽性試験管本数を最確数表にあてはめ、100 g 当たりのMPN値を求めた。

2.4 パルスフィールド・ゲル電気泳動による 遺伝子解析

遺伝子解析は、パルスフィールド・ゲル電気泳動(以下PFGE)法により行った。

*C.jejuni*については、最も多く分離されたD群18株(ヒト由来11株、鶏肉及び鶏肉ドリップ由来(以下鶏由来)7株)について制限酵素*Sma* I、*Kpn* Iで処理後、CHEF-DRIII (BIORAD)を用いて0.5×TBE buffer、1%アガロースゲルにより電圧6.0V/cm、パルスタイム6.8~38.4秒、バッファー温度14℃、泳動時間19時間の条件下で電気泳動を行った。

サルモネラについては、鶏由来の検体から最も多く分離された *S.Infantis*27株(ヒト由来4株、鶏由来23株)について、制限酵素*Bln* I、*Xba* Iで処理後、電圧6.0V/cm、パルスタイム2.2~54.2秒、バッファー温度14℃、泳動時間19時間の条件下で行った。

3. 結 果

3.1 カンピロバクター及び

サルモネラの食肉からの分離状況(表1~3)

カンピロバクターは、牛肉及び豚肉のドリップからは分離されなかった。鶏肉ドリップについては、148検体中14検体(9.5%)から14株、鶏肉については25検体中14検体(56.0%)から14株分離され全て*C.jejuni*であった。血清型についてはドリップからは分離された14株中D群(6株)が最も多く次いでUT(5株)、B、O、Z群(各1株)であった。鶏肉は14株のうちR群(5株)が最も多く次いでY、A群、UT(各2株)、D、G、Z群(各1株)であった。

サルモネラについても、牛肉及び豚肉のドリップからは分離されなかった。鶏肉ドリップについては、148検体中10検体(6.8%)から10株、鶏肉については25検体中18検体(72.0%)から18株分離された。血清型*S.Infantis*が最も多かった(ドリップ8株、鶏肉15株)。

表1. カンピロバクター及び
サルモネラの食肉からの分離状況()は%

肉 種	検 体 数	カンピロバクター	サルモネラ
牛肉ドリップ	21	0(0)	0(0)
豚肉ドリップ	21	0(0)	0(0)
鶏肉ドリップ	148	14(9.5)	10(6.8)
鶏 肉	25	14(56.0)	18(72.0)

表2. 鶏由来の*C.jejuni*の血清型()は%

血 清 型	ドリップ	鶏 肉
A 群	1(7.1)	2(14.3)
B 群	1(7.1)	0(0.0)
D 群	0(0.0)	1(7.1)
G 群	0(0.0)	1(7.1)
O 群	1(7.1)	0(0.0)
R 群	0(0.0)	5(35.7)
Y 群	0(0.0)	2(14.3)
Z 群	1(7.1)	1(7.1)
U T	5(35.7)	2(14.3)
合 計	14	14

表3. 鶏由来のサルモネラの血清型()は%

血 清 型	ドリップ	鶏 肉
<i>S.Infantis</i>	8(80.0)	15(83.3)
<i>S.spp</i>	2(20.0)	3(16.7)
合 計	10	18

3.2 ヒト由来のカンピロバクター及び サルモネラの血清型(表4~5)

*C.jejuni*28株(当所分離株12株、医療機関分与株16株)は、D群が最も多く、次いでB群(6株)であった。

*Salmonella*31株(医療機関分与株のみ)は、*S.Thompson*が最も多く(8株)次いで*S.Enteritidis*(5株)、*S.Infantis*、*S.Typhimurium*(各4株)、*S.spp*(3株)、*S.Orion*、*S.Yovokome/Manhattan*(各2株)、*S.Saintpaul*、*S.ParatyphiB*、*S.Montevideo*(各1株)であった。

表4. ヒト由来の*C.jejuni*の血清型()は%

血 清 型	当所分離株及び分与株
A 群	1(3.6)
B 群	6(21.4)
C 群	2(7.1)
D 群	11(39.3)
E 群	1(3.6)
G 群	2(7.1)
O 群	1(3.6)
R 群	1(3.6)
Y 群	1(3.6)
U T	2(7.1)
合 計	28

表5. ヒト由来のサルモネラの血清型 ()は%

血清型	分与株
<i>S. Thompson</i>	8 (25.8)
<i>S. Enteritidis</i>	5 (16.1)
<i>S. Infantis</i>	4 (12.9)
<i>S. Typhimurium</i>	4 (12.9)
<i>S. Orion</i>	2 (6.5)
<i>S. Yovokome/Manhattan</i>	2 (6.5)
<i>S. Saintpaul</i>	1 (3.2)
<i>S. Paratyphi B</i>	1 (3.2)
<i>S. Montevideo</i>	1 (3.2)
<i>S. spp</i>	3 (9.7)
合計	31

3.3 鶏肉の汚染菌数 (表6~7)

鶏肉25検体中のカンピロバクターの汚染菌数 (MPN/100g) を部位別でみるとレバー、手羽肉およびもも肉で多かった。

サルモネラの汚染菌数についてはレバー、もも肉および皮で多かった。

3.4 食肉由来株とヒト由来株の

PFGEパターンの比較(図1~2)

*C. jejuni*D群は、鶏由来7株は3パターン、ヒト由

表6. 鶏肉のカンピロバクター汚染菌数 (MPN/100g)

部位	検体数	<15	<15	46	115	115	465	465
もも肉	7	<15	<15	46	115	115	465	465
手羽肉	3	<15	18	1,200				
むね肉	4	<15	<15	<15	<15			
皮	5	<15	<15	<15	<15	15		
レバー	5	<15	<15	5,500<	5,500<	5,500<		
ささみ	1	<15						

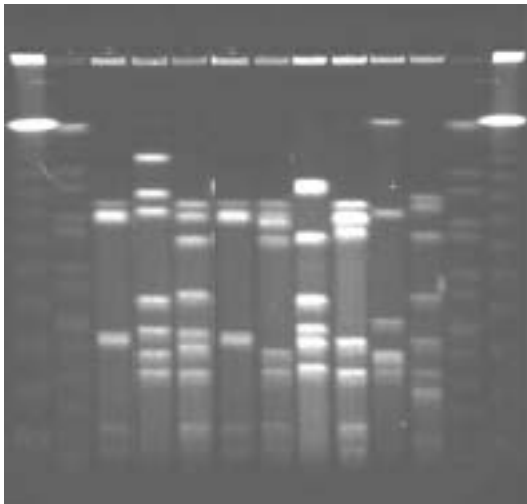
表7. 鶏肉のサルモネラ汚染菌数 (MPN/100g)

部位	検体数	<60	<60	<60	<60	72	72	460
もも肉	7	<60	<60	<60	<60	72	72	460
手羽肉	3	<60	<60	72				
むね肉	4	<60	<60	72	184			
皮	5	<60	<60	72	460	580		
レバー	5	<60	<60	<60	72	4,800		
ささみ	1	<60						

来11株は*Sma* Iで6パターンに*Kpn* Iで7パターンに分類され、そのうち鶏由来4株とヒト由来2株が同一パターンを示した。

*S. Infantis*は、鶏由来23株は*Bln* Iで6パターン、*Xba* Iで4パターンに、ヒト由来4株は*Bln* I及び*Xba* Iで2パターンに分離され、同一パターンを示した株はなかった。

M SB 1 2 3 4 5 6 7 8 9 SB M

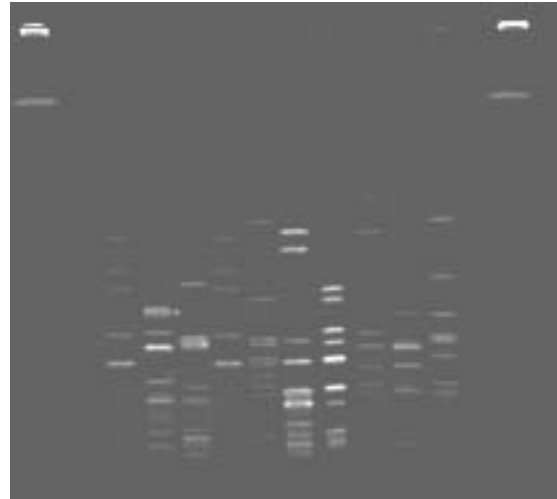


制限酵素: *Sma* I
M: ラムダラダー
SB: *S. Braenderup*
レーン1~3: 鶏由来株
レーン4~9: ヒト由来株

検体別PFGEパターンによる分類	(株数)								
レーンNo	1	2	3	4	5	6	7	8	9
鶏由来株	4	2	1						
ヒト由来株				2	5	1	1	1	1

レーン1とレーン4が同一パターン

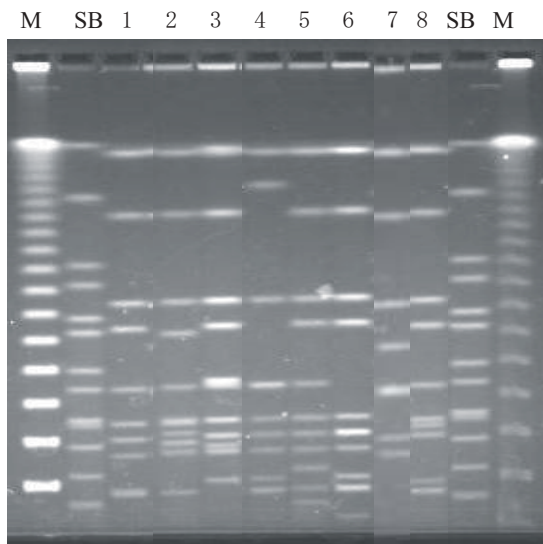
M SB 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 SB



制限酵素: *Kpn* I
M: ラムダラダー
SB: *S. Braenderup*
レーン1~3: 鶏由来株
レーン4~10: ヒト由来株

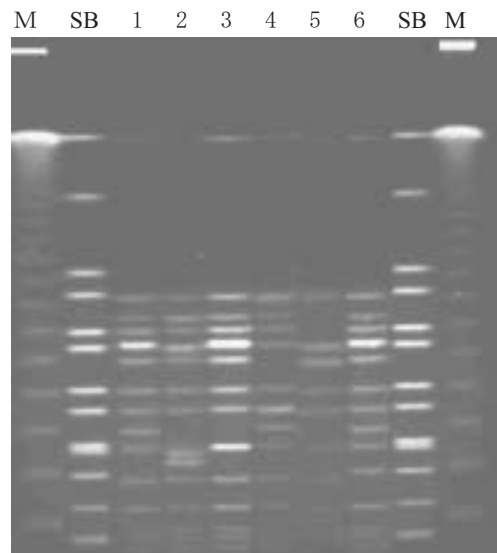
検体別PFGEパターンによる分類	(株数)									
レーンNo	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
鶏由来株	4	2	1							
ヒト由来株				2	4	1	1	1	1	1

図1. カンピロバクターの食肉由来株とヒト由来株のPFGEパターンの比較



制限酵素：Bln I
M:ラムダラダー
SB: *S. Braenderup*
レーン 1～6: 鶏由来株
レーン 7～8: ヒト由来株

検体別PFGEパターンによる分類	(株数)							
レーンNo	1	2	3	4	5	6	7	8
鶏由来株	18	1	1	1	1	1		
ヒト由来株							3	1



制限酵素：Xba I
M:ラムダラダー
SB: *S. Braenderup*
レーン 1～4: 鶏由来株
レーン 5～6: ヒト由来株

検体別PFGEパターンによる分類	(株数)					
レーンNo	1	2	3	4	5	6
鶏由来株	14	1	7	1		
ヒト由来株					3	1

図2. サルモネラの食肉由来株とヒト由来株のPFGEパターンの比較

4. 考 察

1984年4月から1985年3月におこなわれた福島⁴⁾の調査では市販鶏肉からの両菌の分離率はカンピロバクター50.0%、サルモネラ35.6%であったが、今回は鶏肉からカンピロバクター56.0%、サルモネラ72.0%と両菌とも高率に分離された。両菌による汚染状況は改善していないと思われる。当初、被検材料として牛肉、豚肉、鶏肉のドリップを用いたが、分離率が低かった。同一の個体についてドリップと鶏肉の比較をしていないため一概には言えないがドリップは汚染状況を調べるための検体としては適さないと思われた。

*C.jejuni*の血清型については、ドリップからはD群、鶏肉からはR群が最も多く分離され、その他A群、B群、G群、O群、Y群、Z群等多岐の血清型が分離された。ヒトからはD群が最も多く分離され、その他A群、B群、C群、E群、G群、O群、R群、Y群等多岐の血清型が分離されヒトと鶏とで同様の血清型のもので分布している。また最も多く分離された血清型であるD群（ヒト由来株11株、鶏由来株7株）についてPFGEを実施した結果、鶏由来株とヒト由来株でPFGEパターンが一致した事例があり鶏肉がヒトへの重要な感染源である可能性が推察される。

サルモネラについては、ヒト由来は、*S. Thompson*が最も多く他に*S. Enteritidis*、*S. Infantis*、*S. Typhimurium*、*S. Orion*、*S. Yovokome/Manhattan*等様々な血清型のもので分離された。一方鶏由来のサルモネラの大半は*S. Infantis*であり血清型の分布がヒトと鶏とで異なっている。またサルモネラにおけるヒト由来株と鶏由来株の関連性についてはPFGEにおいて一致した事例がなく明らかにするには至らなかった。

今回の調査で、鶏肉がカンピロバクターとサルモネラに高率に汚染されていたこと、カンピロバクターについてはPFGEにおいて鶏由来株とヒト由来株で同一パターンを示した株があったこと等から食肉を介した両菌による食中毒予防には、肉の処理過程における汚染防止につとめることはもとより消費者自身が食肉の適切な保存や食肉の取り扱い及び調理方法等に十分な注意を払う必要がある。汚染状況を食肉取扱業者及び消費者消費者に広く周知し喫食時の十分な加熱や衛生的取扱による食中毒予防を啓発する必要があると思われる。

文 献

- 1) 厚生労働省医薬食品局食品安全部監視安全課：平成18年食中毒発生状況．食品衛生研究，57，65-152（2007）
- 2) 坂崎利一：新訂 食水系感染症と細菌性食中毒，中央法規出版，336-356（2000）
- 3) 坂崎利一：新訂 食水系感染症と細菌性食中毒，中央法規出版，90-136（2000）
- 4) 福島博：市販食肉の*Salmonella* sp、*Campylobacter* sp、*Yersinia* spおよび*Clostridium perfringens*汚染の比較研究 島根県衛生公害研究所報，26:27-33（1984）