

鶏肉における *Campylobacter jejuni* の検出状況(第3報)Prevalence of *Campylobacter jejuni* in Chicken Meat (3)

岩下 陽子 関 和美 福田 千恵美 内田 順子
Yoko IWASHITA Kazumi SEKI Chiemi FUKUDA Junko UCHIDA

要 旨

2013年4月から2018年3月の5年間の鶏肉における *Campylobacter jejuni* (*C. jejuni*) の検出率、Penner法による血清型別、薬剤感受性試験を行った。鶏肉89検体中32検体から *C. jejuni* 33株を分離した。血清型別ではL型が4株、C型が3株、E型1株、N型1株、B型1株であり全体の69.7%を占める23株が型別不能株であった。薬剤感受性試験では33株中キノロン耐性株13株(39.4%)、テトラサイクリン耐性株13株(39.4%)であった。エリスロマイシンにおいては耐性の株はなかった。また、パルスフィールドゲル電気泳動法(PFGE法)による分子疫学解析を行ったところ、型は多様であり、同一の汚染源ではなく、別由来の株によって広く汚染されていることが示唆された。

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

I はじめに

カンピロバクター属菌は急性胃腸炎の原因菌であり、主症状は下痢、腹痛、発熱である。また、厚生労働省は1982年に *Campylobacter jejuni* (*C. jejuni*)、*Campylobacter coli* (*C. coli*) を食中毒菌として指定し、我が国における発生状況の集計が行われるようになった¹⁾。2017年の国内での病因物質別食中毒発生件数は2015年、2016年第一位であったノロウイルスを上回り病因物質別では第一位となった²⁾。

当センターでは原因食品の一つである鶏肉のカンピロバクター等の汚染状況を調査している。今回は、前報³⁾ ⁴⁾ ⁵⁾ に引き続き、2013年度～2017年度の5年間における鶏肉の *C. jejuni* の検出状況、Penner法による血清型別、薬剤感受性の調査と、パルスフィールドゲル電気泳動法(PFGE法)による疫学解析を行ったので報告する。

II 方法

1 調査期間

2013年4月から2018年3月までの5年間

2 調査材料

調査期間中にカンピロバクター等汚染実態調査事業の検体として、8カ所の食鳥処理施設(施設A、B、C、D、E、F、G、H)から採取された89検体から *C. jejuni* の分離を行った(表1)。ササミ、肝臓及び心臓、砂肝の3種類をそれぞれ1試料ずつ隔月偶数月の年6回、年間18検

体採取した。ただし、2017年12月はササミの採取がなく2017年度は17検体であった(表1)。

3 調査方法

(1) *C. jejuni* の分離及び同定

鶏肉25gをプレストン培地100mlで42℃微好気増菌培養後、スキロー培地、CCDA培地で分離培養した。各培地上のカンピロバクター属菌を疑う集落を釣菌し、グラム陰性らせん状桿菌であったものについて馬尿酸加水分解試験を行い、陽性であったものを、*C. jejuni* と同定した。

(2) 血清型別試験

C. jejuni と同定した菌株について、感作血球調整試薬(デンカ生研) およびカンピロバクター免疫血清(デンカ生研)を用いてPHA(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

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、キノロン系薬剤として、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)の4剤を、テトラサイクリン系としてテトラサイクリン(TC)を、マクロライド系としてエリスロマイシン(EM)を使用した。

(4) PFGE法(パルスフィールドゲル電気泳動法)による分子疫学解析

八尋らの方法⁶⁾に準じて、分離菌株を血液寒天培地で

42°C24時間微好気培養後ブロックを作成した。制限酵素 Sma I と Kpn I を用いて処理し、CHEF DRIII (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

調査期間中に採取された鶏肉 89 検体のうち、32 検体 (36.0%) から C. jejuni が分離された。採取施設 A~H の 8 施設のうち C. jejuni が分離されたのは A~F の 6 施設であった(表1)。年度別では、2013 年度 4 検体(22.2%)、2014 年度 8 検体 (44.4%)、2015 年度 9 検体 (50.0%)、2016 年度 5 検体 (27.8%)、2017 年度 6 検体 (35.3%) であった。また、2013 年 10 月に採取した砂肝から Penner 型 E 群と型別不能であった 2 種類の菌株が分離されており、分離株数は 33 株であった。部位別ではササミ 29 検体中 11 検体 (37.9%)、肝臓及び心臓 30 検体中 7 検体 (23.3%)、砂肝 30 検体中から 14 検体 (46.7%) で砂肝が最も多く、砂肝の約半数が汚染されていた(表2)。

2 血清型別

血清型は、L 型が 4 株 (12.1%)、C 型が 3 株 (9.1%)、E 型 1 株 (3.0%)、N 型 1 株 (3.0%)、B 型 1 株 (3.0%) であった。また、23 株 (69.7%) が型別不能株であった(表3)(図1)。

3 薬剤感受性試験

(1) キノロン系

4 剤すべて感受性であった株は 20 株 (60.6%) であった。キノロン系薬剤に耐性があった株のうち、4 剤すべて耐性であった株が 8 株 (24.2%)、NFLX、OFLX、NA の 3 剤耐性であった株が 2 株 (6.1%)、OFLX のみに耐性であった株が 2 株 (6.1%)、NA のみに耐性であった株が 1 株 (3.0%) であった(表4)。

(2) テトラサイクリン系

検査した 33 株のうち 13 株 (39.4%) が TC に耐性であった(表5)。

(3) マクロライド系

検査した 33 株すべてが EM に感受性であった。(表6) また、6 剤すべてに感受性があったものは 13 株 (39.4%) であった(図2)。

表1 C. jejuni が検出された検体数 (施設別)

施設	合計			2013年度			2014年度			2015年度			2016年度			2017年度		
	検出数		検体数	検出数		検体数	検出数		検体数	検出数		検体数	検出数		検体数	検出数		検体数
	検体	菌株		検体	菌株		検体	菌株		検体	菌株		検体	菌株		検体	菌株	
A	17	18	54	4	(※) 5	18	3	3	9	9	9	12	1	1	9			6
B	2	2	8				1	1	3			3				1	1	2
C	2	2	3				2	2	3									
D	2	2	3				2	2	3									
E	6	6	12									3	4	4	6	2	2	3
F	3	3	3													3	3	3
G			3												3			
H			3															3
合計	32	33	89	4	5	18	8	8	18	9	9	18	5	5	18	6	6	17

(※)2013.10砂肝から2種類の血清型の株を分離

表2 C. jejuni が検出された検体数 (部位別)

部位 年度	計		ササミ		肝臓、心臓		砂肝	
	検出	非検出	検出	非検出	検出	非検出	検出	非検出
2013	4	14	1	5	1	5	(※) 2	4
2014	8	10	3	3	1	5	4	2
2015	9	9	3	3	3	3	3	3
2016	5	13	2	4	1	5	2	4
2017	6	11	2	3	1	5	3	3
計	32	57	11	18	7	23	14	16
	89		29		30		30	

※2013.10砂肝から2種類の血清型の株を分離

表3 血清型 (Penner 法)

年度	血清型 型別 不能	L	C	E	N	B	計
2013	1	3		1			5
2014	7				1		8
2015	5	1	3				9
2016	5						5
2017	5					1	6
計	23	4	3	1	1	1	33

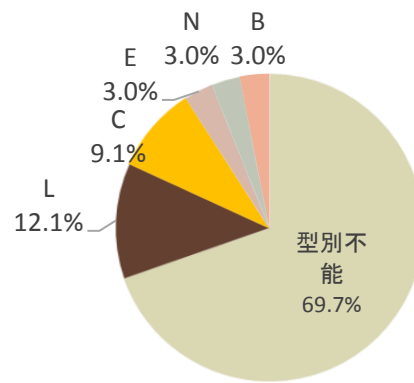


図1 血清型 (Penner 法)

表4 薬剤耐性率 (キノロン系)

年度	薬剤	2013~2017	2013	2014	2015	2016	2017
		耐性株数 (%)	耐性株数 (%)	耐性株数 (%)	耐性株数 (%)	耐性株数 (%)	耐性株数 (%)
	NFLX、OFLX、 CPFV、NA	8 (24.2%)	0 (0.0%)	4 (50.0%)	3 (33.3%)	0 (0.0%)	1 (16.7%)
	NFLX、OFLX、 NA	2 (6.1%)	0 (0.0%)	0 (0.0%)	2 (22.2%)	0 (0.0%)	0 (0.0%)
	OFLX	2 (6.1%)	0 (0.0%)	0 (0.0%)	0 (0.0%)	0 (0.0%)	2 (33.3%)
	NA	1 (3.0%)	0 (0.0%)	0 (0.0%)	1 (11.1%)	0 (0.0%)	0 (0.0%)
	感受性	20 (60.6%)	5 (100.0%)	4 (50.0%)	3 (33.3%)	5 (100.0%)	3 (50.0%)
	合計	33	5	8	9	5	6

表5 薬剤耐性率 (テトラサイクリン)

年度	薬剤	2013~2017	2013	2014	2015	2016	2017
		耐性株数 (%)	耐性株数 (%)	耐性株数 (%)	耐性株数 (%)	耐性株数 (%)	耐性株数 (%)
	TC	13 39.4%	3 60.0%	4 50.0%	4 44.4%	2 40.0%	0 0.0%
	感受性	20 (60.6%)	2 (40.0%)	4 (50.0%)	5 (55.6%)	3 (60.0%)	6 (100.0%)
	合計	33	5	8	9	5	6

表6 薬剤耐性率 (エリスロマイシン)

年度	薬剤	2013~2017	2013	2014	2015	2016	2017
		耐性株数 (%)	耐性株数 (%)	耐性株数 (%)	耐性株数 (%)	耐性株数 (%)	耐性株数 (%)
	EM	0 0.0%	0 0.0%	0 0.0%	0 0.0%	0 0.0%	0 0.0%
	感受性	33 (100.0%)	5 (100.0%)	8 (100.0%)	9 (100.0%)	5 (100.0%)	6 (100.0%)
	合計	33	5	8	9	5	6

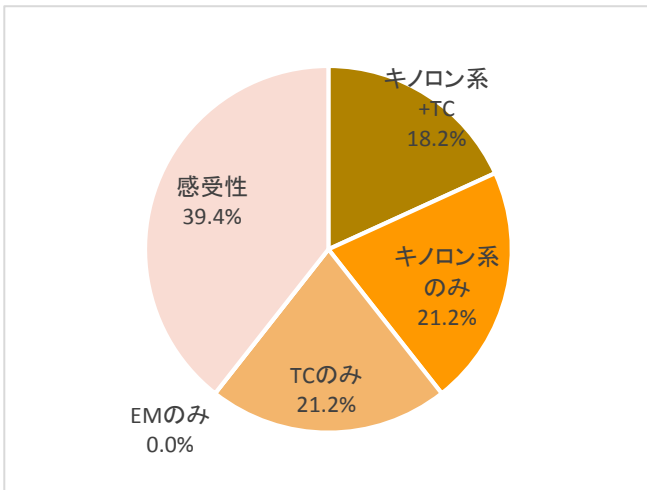


図2 薬剤耐性率 (キノロン系、テトラサイクリン、エリスロマイシン)

(4) PFGE 法による分子疫学解析

鶏肉 32 検体から検出された *C. jejuni* 33 株のうち保存されていた 28 株について PFGE 法による分子疫学解析を実施した。制限酵素 Sma I、Kpn I で処理しデンドログラムを作成し、近似値 90%以上の株をグループ化したところ、Sma I 処理では 7 つのグループに、Kpn I 処理では 5 つのグループに分けられ、2 種類の制限酵素のグループがどちらも一致したものは 4 つのグループであった。半数以上は関連が認められなかった (図3) (図4) (表7)。

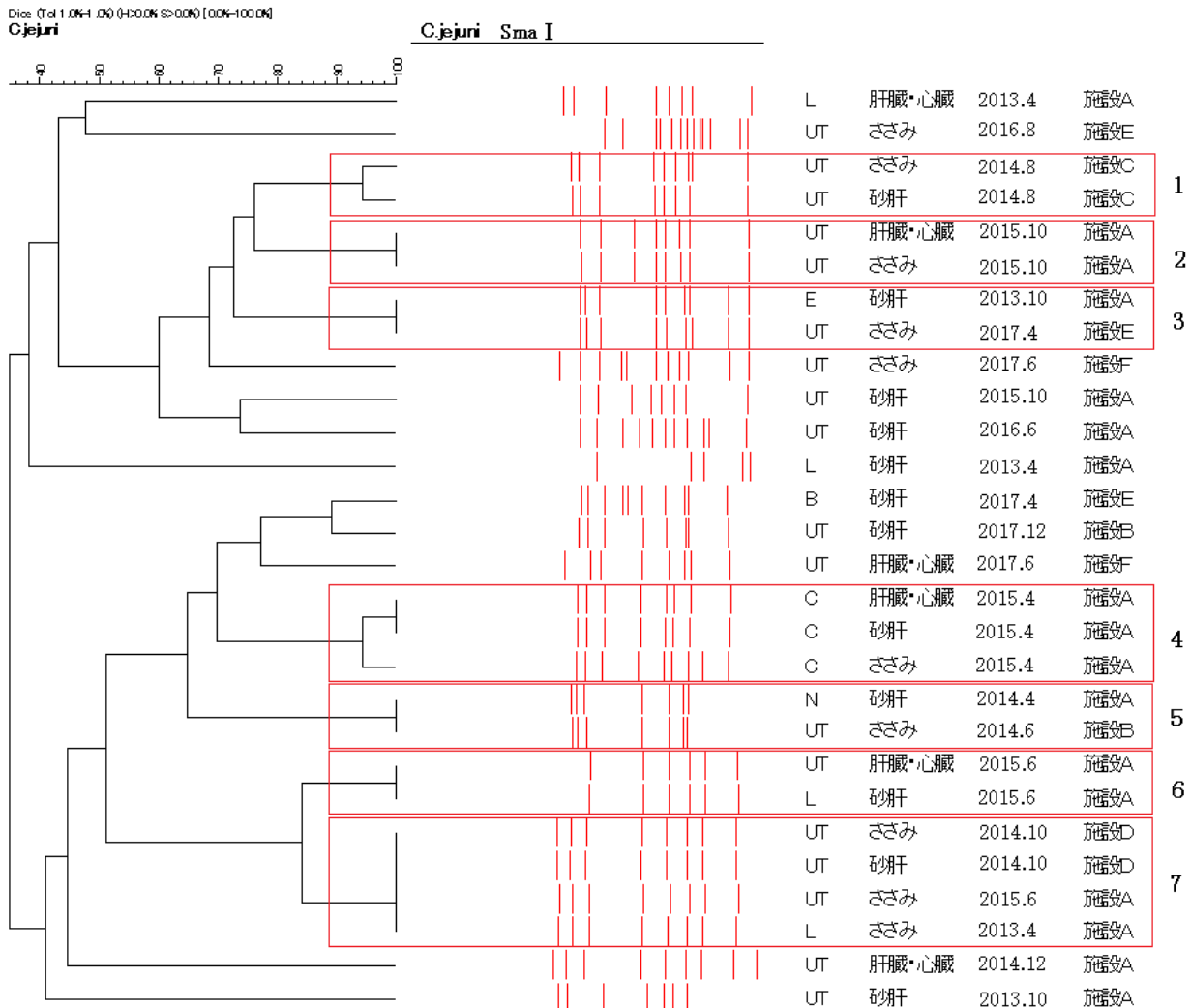


図3 デンドログラム (制限酵素 Sma I 処理)

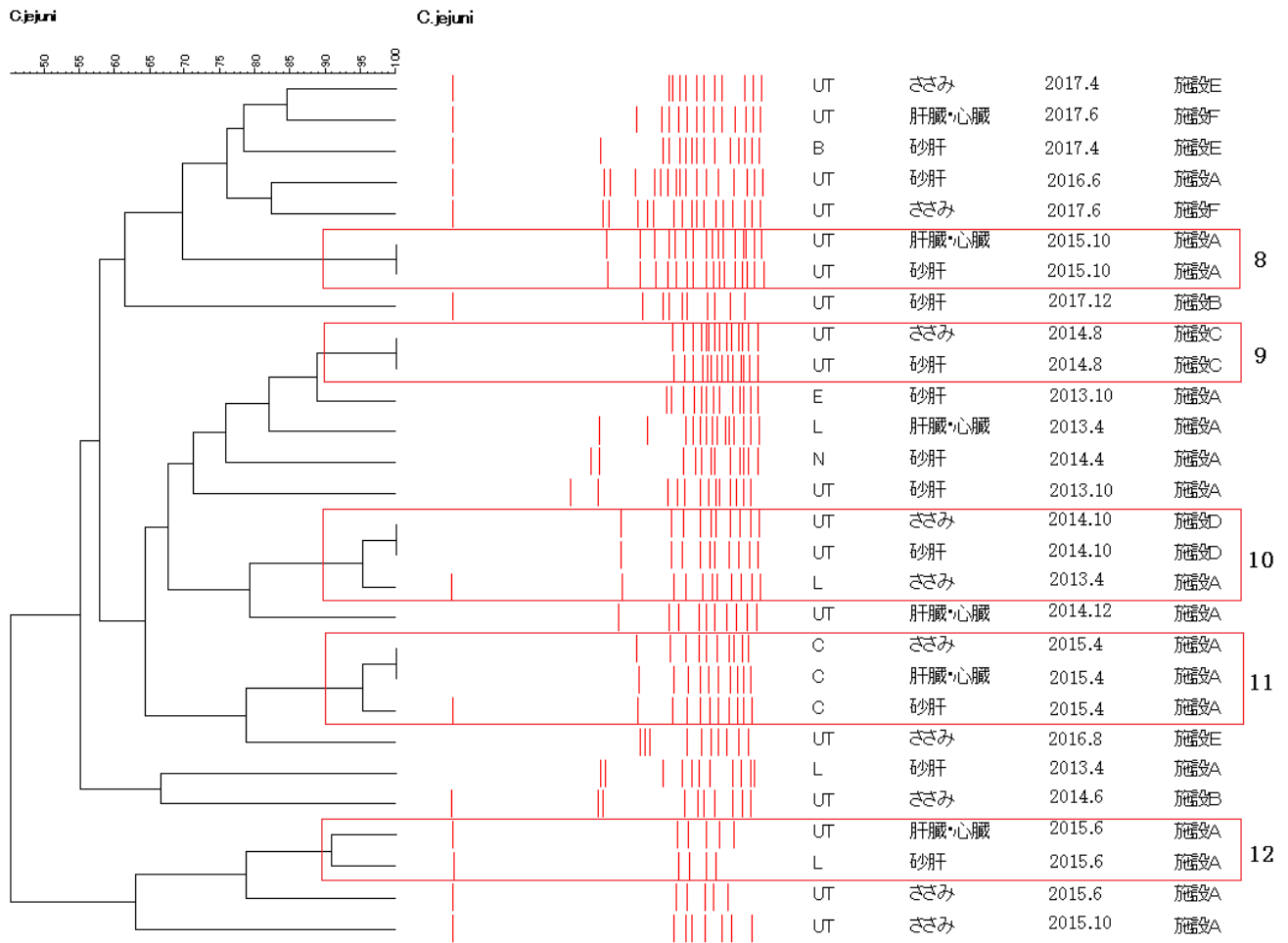


図4 デンドログラム (制限酵素 Kpn I 処理)

表7 PFGE 法による分子疫学解析結果

年月	採取施設	部位	Penner型	Sma I	Kpn I	グループ
2014.08	C	ササミ	型別不能	1	9	I
2014.08	C	砂肝	型別不能	1	9	
2015.04	A	ササミ	C	4	11	II
2015.04	A	肝臓・心臓	C	4	11	
2015.04	A	砂肝	C	4	11	
2015.06	A	肝臓・心臓	型別不能	6	12	III
2015.06	A	砂肝	L	6	12	
2013.04	A	ササミ	L	7	10	IV
2014.10	D	ササミ	型別不能	7	10	
2014.10	D	砂肝	型別不能	7	10	
2013.04	A	肝臓・心臓	L			
2013.04	A	砂肝	L			
2013.10	A	砂肝	E	3		
2013.10	A	砂肝	型別不能			
2014.04	A	砂肝	N	5		
2014.06	B	ササミ	UT	5		
2014.12	A	肝臓・心臓	型別不能			
2015.06	A	ササミ	型別不能	7		
2015.10	A	ササミ	型別不能	2		
2015.10	A	肝臓・心臓	型別不能	2	8	
2015.10	A	砂肝	型別不能		8	
2016.06	A	砂肝	型別不能			
2016.08	E	ササミ	型別不能			
2017.04	E	ササミ	型別不能	3		
2017.04	E	砂肝	B			
2017.06	F	ササミ	型別不能			
2017.06	F	肝臓・心臓	型別不能			
2017.12	B	砂肝	型別不能			

IV 考察

今回採取した 89 検体の 36.0%にあたる 32 検体から *C. jejuni* 33 株が検出された。2008～2012 年度の検出率は 37.0%⁵⁾ で 2002～2003 年度の 52.8%³⁾、2004～2007 年度の 50.7%⁴⁾ より減少していたが、今回調査した 2013～2017 年度も 2008～2012 年度とほぼ同程度であった。

Penner 型別では全体の 69.7%が市販血清では型別できない型別不能であった。前報^{3) 4) 5)} で 2002 年度～2003 年度では型別不能株が 52.5%、2004 年度～2008 年度までの 4 年間では 39.0%、2008 年度～2012 年度では 46.7%であったことを報告したが、今回の調査では型別不能株の割合が大きく増加していた。血清型別は疫学解析に用いられる他、ギランバレー症候群との関連⁷⁾ や薬剤耐性との関連⁸⁾ も示唆され、型別法の見直しを含む型別率の向上が望まれる。

薬剤感受性試験においては、キノロン系薬剤 1 剤以上耐性であった株は全体の 39.4%であった。2002～2003 年度は 57.5%³⁾、2004～2007 年度は 68.3%⁴⁾、2008～2012 年度は 53.3%⁵⁾ であり今回の調査では減少していた。

テトラサイクリン系薬剤 TC に耐性があった株は 39.4%であった。TC の耐性率は 2002～2003 年度では 77.5%³⁾、2004～2007 年度では 96.3%⁴⁾、2008～2012 年度では 84.4%⁵⁾ であり、今回の調査では大きく減少していた。

マクロライド系薬剤 EM は現在カンピロバクター腸炎

の第一選択薬であるが⁹⁾、近年耐性の菌が出現してきていることが問題になっている¹⁰⁾。今回の調査ではすべて感受性であり、2002 以降耐性株は認められていない^{3) 4) 5)}。

PFGE 法による分子疫学解析では、Sma I、Kpn I 処理で同一となったものは 4 グループであった。グループ I、II は同日搬入された検体であり、相互汚染と考えられた。グループ III も同日に採取された検体であり、グループ I、II と同様に相互汚染と考えられたが、異なる血清型であり、偶然別由来の株の型が一致したものであると考えられる。グループ IV の 3 株のうち、2 株は 2014 年 10 月に施設 D で採取され、残りの 1 株は 2013 年 4 月に施設 A から採取された検体であった。1 株のみ採取年度、採取施設ともに別であったが、この株は他の株と血清型別が異なり別由来であると考えられる。前報⁵⁾ での報告同様、同一由来と推測される株は同日に搬入された検体由来であり、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、多様な型に分類され、共通の汚染源から広がったのではなく、別由来の株によって広く汚染されていることが示唆された。

V まとめ

2013 年 4 月～2018 年 3 月までの 5 年間における鶏肉 89 検体中 32 検体から *C. jejuni* 33 株を分離した。Penner 法による血清型別は L 型が 4 株、C 型が 3 株、E 型 1 株、N 型 1 株、B 型 1 株であったが、全体の 69.7%は市販血清では型別不能であり、今後型別法の見直しを含む型別率の向上が望まれる。

薬剤感受性はキノロン系、テトラサイクリン系ともに前報と比較して減少していた。

PFGE 法による分子疫学解析では多様な型に分類され、共通の汚染源から広がったのではなく、別由来の株が広く汚染されていることが推測された。

文献

- 1) 厚生省環境衛生局食品衛生課長：環食第 59 号，ナグビブリオ、カンピロバクター等の食品衛生上の取り扱いについて，昭和 57 年 3 月 11 日
- 2) 厚生労働省 食中毒統計資料
(<http://www.mhlw.go.jp/stf/seisakunitsuite/>)

- bunya/kenkou_iryuu/shokuhin/sy-
okuchu/04.html)
- 3) 多田芽生 他：鶏肉における *Campylobacter* および *Salmonella* の汚染状況, 香川県環境保健センター所報, 3, 187-190 (2004)
 - 4) 内田順子 他：糞便、鶏肉における *Campylobacter jejuni* の検出状況および血清型別と薬剤耐性, 香川県環境保健センター所報, 7, 126-129 (2008)
 - 5) 内田順子 他：鶏肉における *Campylobacter jejuni* の検出状況(第2報), 香川県環境保健センター所報, 12, 106-111, (2013)
 - 6) 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
 - 7) 仲西寿男 ほか：食品由来感染症と食品微生物, 351-353 (2009)
 - 8) Kazuki Harada et al. : Prevalence of antimicrobial resistance among serotypes of *Campylobacter jejuni* isolates from cattle and poultry in Japan, *Microbiol Immunol*, 53, 107-111 (2009)
 - 9) 一般社団法人日本感染症学会, 公益社団法人日本化学療法学会 JAID/JSC 感染症治療ガイド・ガイドライン作成委員会 腸管感染症ワーキンググループ：JAID/JSC 感染症治療ガイドライン 2015「腸管感染症」, *日本化学療法学会雑誌*, 64, 31-65 (2016)
 - 10) Amera Gibreel, Diane E. Taylor : Macrolide resistance in *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli*, *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 58, 243-255 (2006)