

鶏肉におけるサルモネラ属菌の汚染状況(2004-2015)

Prevalence of *Salmonella* in Chicken Meat (2004-2015)

岩下 陽子 安藤 友美 有塚 真弓
 Yoko IWASHITA Tomomi ANDO Mayumi ARIZUKA
 福田 千恵美 内田 順子
 Chiemi FUKUDA Junko UCHIDA

要 旨

2004年4月から2016年3月までに、搬入された鶏肉306検体を対象としてサルモネラ属菌の調査を行ったところ、28検体(9.2%)から検出された。その中で最も多く検出されたのは *Salmonella* Schwarzengrund であり、サルモネラ属菌が検出された28検体のうち11検体(39.3%)から検出された。また *Salmonella* Infantis はそれに次ぐ8検体(28.6%)であった。国内産鶏肉から検出される血清型は *Salmonella* Infantis が多いことが報告されている。しかし、今回の調査ではそれとは異なる結果となった。

キーワード：鶏肉 *Salmonella* Infantis Schwarzengrund PFGE法

I はじめに

サルモネラ属菌はヒトや家畜、ペットを含む哺乳類、鳥類、爬虫類などから分離され、それらの排泄物を介して自然界のあらゆる場所に生息している。また、ヒトの食中毒の原因菌であり、肉類およびその加工品、鶏卵などが主な原因食材となっている。経口感染し、6~72時間の潜伏期間を経て下痢、腹痛、発熱などを引き起こす(発病のピーク12~24時間)。

国内において2006年から2015年までの間に501人を超える患者を出した食中毒事件数は31件あり、そのうち、4件(13%)がサルモネラ属菌を原因とする食中毒である¹⁾。また、香川県では2006年から2015年の10年間の食中毒128件のうち5件(3.9%)がサルモネラ属菌を原因とする食中毒であったが、そのうちの2件は患者数が101名以上であり²⁾大規模な食中毒に発展する頻度が比較的高い。

香川県では、鶏肉のカンピロバクターやサルモネラ属菌の汚染状況を調査し食中毒予防に資する目的で、カンピロバクター等汚染実態調査事業として食鳥処理施設から採取した鶏肉におけるカンピロバクター、サルモネラ属菌、生菌数の検査を行っている。今回2004年4月から2016年3月までのサルモネラ属菌の汚染状況について取りまとめたので報告する。

II 方法

1 検体

カンピロバクター等汚染実態調査事業の検体として、2004年4月から2016年3月までに中讃地域の食鳥処理施設1~6の6カ所から搬入された鶏肉(ササミ、肝臓及び心臓(以下肝臓)、砂肝 各102検体)306検体を対象とした(表1)。

2004年4月~2009年3月までは毎月1回、2009年4月から2016年3月は2か月に1回偶数月にササミ、砂肝、肝臓 各約100g、計3検体が搬入された。

これらの検体は保健所の食品衛生監視員によって採取された後、香川県環境保健研究センターに保冷材の入ったクーラーボックスで運搬された。また、搬入後は検査まで冷蔵で保管し、採取から4時間以内に検査を行った。

2 分離および同定法

2015年7月の公定法改正³⁾のため、2015年11月に標準作業書の改正を行ったことに伴い、次の(1)(2)の方法で行った。

(1) 2004年4月~2015年10月の間に搬入された検体細切した検体25gに225mlのEEM培地(栄研化学)を加え、1分間ストマッカー処理を行い、35.0±1.0°Cで18±2時間培養後、その1mlを9mlのセレナイトシスチン培地(日水製薬)に接種し、35.0±1.0°Cで20±2時間培養する。培養液1白金耳をMLCB培地(日水製薬)、クロ

モアガーサルモネラ培地(関東化学)に塗抹後、 $35.0 \pm 1.0^\circ\text{C}$ で 24 ± 2 時間培養し独立した集落を形成させる。形成した集落からサルモネラ属菌を疑うコロニーを釣菌し、生化学的性状により同定した。サルモネラ属菌と同定された菌株については、サルモネラ免疫血清「生研」(デンカ生研)を用いて添付文書の方法に従いO型、H型の型別を行い、その組み合わせからKauffmann-Whiteの抗原表により血清型分類を行った。

(2) 2015年11月～2016年3月に搬入された検体

細切した試料 25g に 37°C に温めたBPW(Buffered Peptone Water, Oxoid) 225ml を加え、1分間ストマッカー処理を行い、 $37.0 \pm 1.0^\circ\text{C}$ で 22 ± 2 時間前増菌培養する。

BPWで前増菌培養した培養液0.1ml を 42°C に温めたRV培地(ラバポートバシリアティス培地, 日水製薬)10ml に、培養液1ml を 42°C に温めたTT培地(テトラチオネート培地, 日水)10ml に接種し、 $42 \pm 0.5^\circ\text{C}$ で 22 ± 2 時間培養する。培養後のRV及びTT培地をよく攪拌した後、1白金耳量をMLCB及びクロモアガーサルモネラの2種類の分離寒天培地に画線塗抹し、接種した培地を $37.0 \pm 1.0^\circ\text{C}$ で 22 ± 2 時間培養し独立集落を形成させる。形成した集落からサルモネラ属菌を疑うコロニーを釣菌し、生化学的性状により同定した。サルモネラ属菌と同定された菌株について、II.2.(1)と同様に血清型を決定した。

3 PFGE法による遺伝子解析

被検菌をトリプチケースソイブロスで培養し、1%Sea-kem Gold Agarose (Lonza) にてゲルブロックに包埋後 1mg/ml ProteinaseK (Roche)、1%N-lauroylsarcosin(SIGMA) in 0.5M EDTA (pH8.0)で溶菌処理をし、制限酵素 *Xba*I (Roche)、*Bln*I (Roche)の2種類を用いて、 37°C で一夜反応させた。電気泳動はCHEF-DRIII System(BIO-RAD)を使用し、泳動条件は6V/cm、スイッチングタイム2.2-63.8秒、泳動時間17.8時間、 $0.5 \times \text{TBE}$ 、 14°C の条件で実施した⁴⁾。画像は画像解析ソフトFingerprinting II (BIO-RAD)を用いて解析し、類似係数Dice、デンドログラム型UPGMA、トレランス設定は最適化0%、トレランス1.0%でデンドログラムを作成した。

表1 検体数

採取施設	部位	検体数	
1	ササミ	72	216
	砂肝	72	
	肝臓	72	
2	ササミ	25	75
	砂肝	25	
	肝臓	25	
3	ササミ	1	3
	砂肝	1	
	肝臓	1	
4	ササミ	2	6
	砂肝	2	
	肝臓	2	
5	ササミ	1	3
	砂肝	1	
	肝臓	1	
6	ササミ	1	3
	砂肝	1	
	肝臓	1	
総計		306	

III 結果

1 検体数と血清型

306検体のうち、28検体(9.2%)からサルモネラ属菌が検出された。

Salmonella Schwarzengrund (*S. Schwarzengrund*) 11検体、*Salmonella* Infantis (*S. Infantis*) 8検体、*Salmonella* Braenderup (*S. Braenderup*) 4検体、*Salmonella* Enteritidis (*S. Enteritidis*) 2検体、*Salmonella* Typhimurium (*S. Typhimurium*) 1検体、*Salmonella* Altona (*S. Altona*) 1検体、型別不能(OUT:r:1,5)が1検体検出された(表2)。*S. Infantis*は2012年度以降は検出されていない。*S. Schwarzengrund*は2006年度以降分離されるようになり、2006年度は36検体中4検体(11.1%)、2007年度に36検体中1件(2.8%)、2013年度は18検体中3検体(16.7%)、2014年度は18検体中2検体(11.1%)、2015年度は18検体中1検体(5.6%)であった(図1)。また、部位別では、ササミと砂肝からはそれぞれ7検体(6.9%)、肝臓から14検体(13.7%)からサルモネラ属菌が検出された(図2,3)。

2 PFGE法による遺伝子解析

検出率の高かった、*S. Schwarzengrund*、*S. Infantis*のうち、当センターに保存されていた菌株(*S. Schwarzengrund* 11株、*S. Infantis* 7株)についてPFGE法による遺伝子解析を行った(図4,5,6,7)。

S. Schwarzengrund、*S. Infantis*ともに施設1、2か

ら検出され、異なる施設から同一のパターンを示すものが認められた。

表2 分離されたサルモネラ属菌の血清型別検出数

採取施設	1	2	3	4	5	6	総計
<i>S. Schwarzengrund</i>	7	4					11
<i>S. Infantis</i>	6	2					8
<i>S. Braenderup</i>					2	2	4
<i>S. Enteritidis</i>				2			2
<i>S. Typhimurium</i>			1				1
<i>S. Altona</i>				1			1
OUT:r:1,5	1						1
小計	14	6	1	3	2	2	28
陰性	202	69	2	3	1	1	278
総計	216	75	3	6	3	3	306

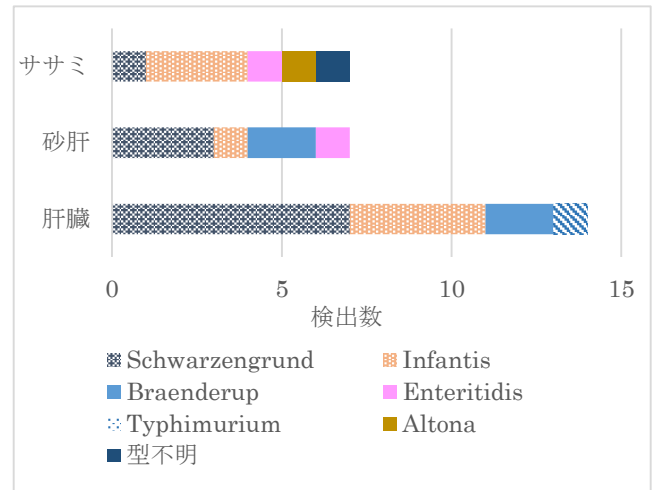


図3 検出されたサルモネラ属菌の血清型

IV 考察

国内産鶏肉から検出されるサルモネラ属菌の血清型は *S. Infantis* が52.9~67.6% 検出されたとの報告⁵⁾ や、87.5%検出された報告があり⁶⁾ 当該血清型が高頻度に検出されることが知られているが、今回の調査では、*S. Schwarzengrund* が多く検出された。また、PFGE法による解析で、異なる施設から同一のパターンを示すものが認められ、食鳥処理施設以前の流通段階での汚染及び、調査対象地域に拡散している可能性が考えられる。2002~2003年度は *S. Infantis* が72検体中5検体から検出されているが、*S. Schwarzengrund* は検出されていない⁷⁾。このことも含め、*S. Infantis* は2002年以前から汚染されていた可能性が高いが、*S. Schwarzengrund* は2006年以降検出されており、近年汚染が広がったと推測される。しかし、今回の調査では採取した施設に偏りがあるため、採取する施設を増やしての調査が今後の課題である。

香川県下で過去10年間に発生したサルモネラ属菌を原因とする食中毒は、すべて *S. Enteritidis* が原因であり²⁾、今回調査した鶏肉との関連は認められなかった。

しかし、全国的には *S. Infantis* を原因とする食中毒が多数発生しており⁵⁾、今後も注意が必要であると考えられる。

V まとめ

2004年4月から2016年3月までに搬入された鶏肉306検体のサルモネラ属菌調査を行ったところ、9.2%の28検体からサルモネラ属菌が検出された。部位別では薩サミ7検体(6.9%)、砂肝7検体(6.9%)、肝臓14検体(13.7%)から検出され、肝臓の汚染率が高かった。

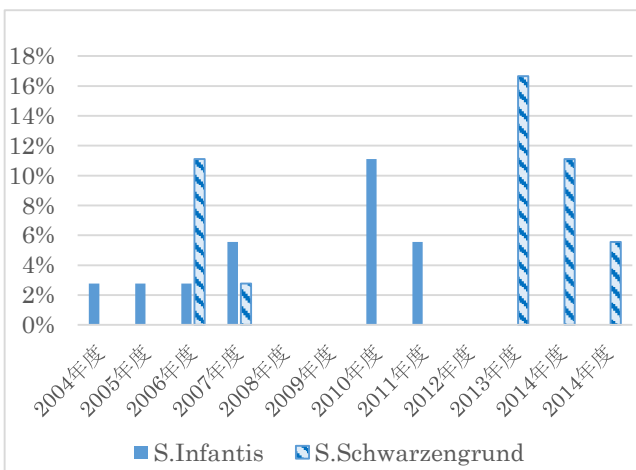


図1 *S. Schwarzengrund*、*S. Infantis* 検出率

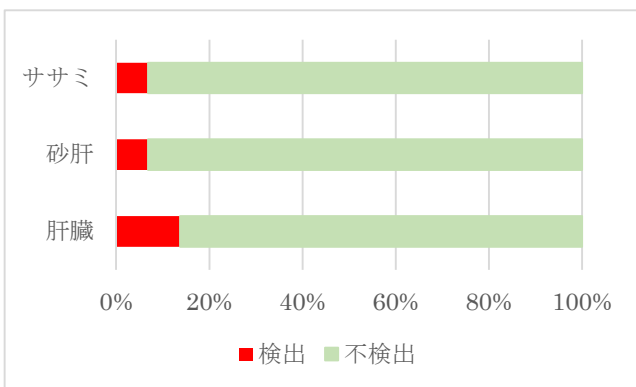


図2 サルモネラ属菌検出率

サルモネラ属菌が検出された 28 検体のうち最も多く検出されたのは *S. Schwarzengrund* の 11 検体(39.3%)、次いで *S. Infantis* が 8 検体(28.6%)であった。

国内産鶏肉からは *S. Infantis* が高頻度に検出されていることが報告されているが、今回の調査では *S. Schwarzengrund* が多く検出された。

S. Schwarzengrund は、調査対象近隣に地域的に存在している可能性が考えられるものの、今回の調査では採取施設に偏りがあり、他施設からの採取数を増やしての調査が今後の課題である。

香川県でのサルモネラ属菌による食中毒はすべて *S. Enteritidis* が原因菌であるが、今回とりまとめた結果では、当該血清型は 2 検体のみであり、食中毒原因菌としての疫学的解明には至らなかった。しかし、全国的には *S. Infantis* を原因とする食中毒が多数発生していることから、今後も注意が必要であると考えます。

文献

1) 厚生労働省 食中毒統計資料 (http://www.mhlw.go.jp/stf/seisakunitsuite/bunya/kenkou_iryuu/s

hokuhin/syokuchu/04.html)
 2) 香川県: 目で見える食中毒発生状況(平成 18 年～平成 27 年), 3 (<http://www.pref.kagawa.lg.jp/eisei/syokuanzen/eye27.pdf>)
 3) 食品、添加物等の規格基準に定めるサルモネラ属菌及び黄色ブドウ球菌の試験法の改正について, 平成 27 年 7 月 29 日付け食安発 0729 第 4 号
 4) 榮井毅 他: 平成 20 年度分担研究報告書 サルモネラ・エンテリティディスによる食中毒事例(奈良県), 広域における食品由来感染症を迅速に探知するために必要な情報に関する研究 106-108(2009.4)
 5) 食品安全委員会: 食品健康影響評価のためのリスクプロファイル～鶏肉におけるサルモネラ属菌～(改訂版), 16-21(2012.1).
 6) 安藤陽子 他: 市販鶏肉のサルモネラ汚染調査と *Salmonella Infantis* の PFGE 法による解析, 日本食微生物学会雑誌 20(3) 123-127(2003)
 7) 多田芽生 他: 鶏肉における *Campylobacter* および *Salmonella* の汚染状況, 香川県環境保健研究センター所報 第 3 号, 187-190(2004)

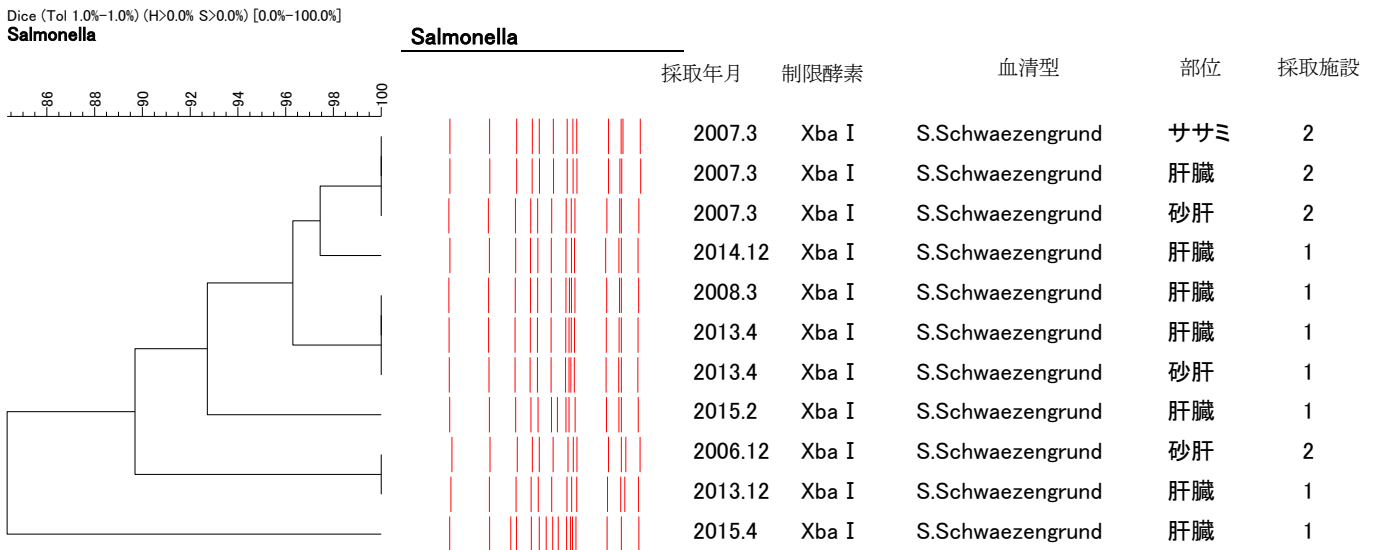


図 4 制限酵素 X b a I による P F G E 法の dendrogram (*S. Schwarzengrund*)

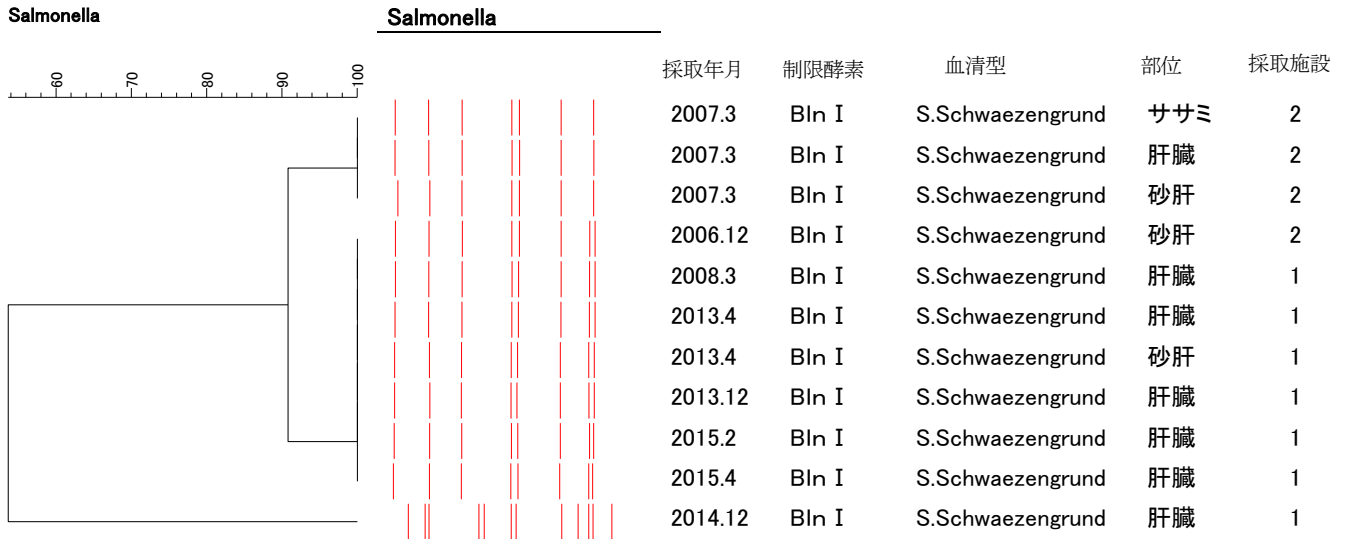


図5 制限酵素Bln IによるPFGE法のデンドログラム (S. Schwarzengrund)

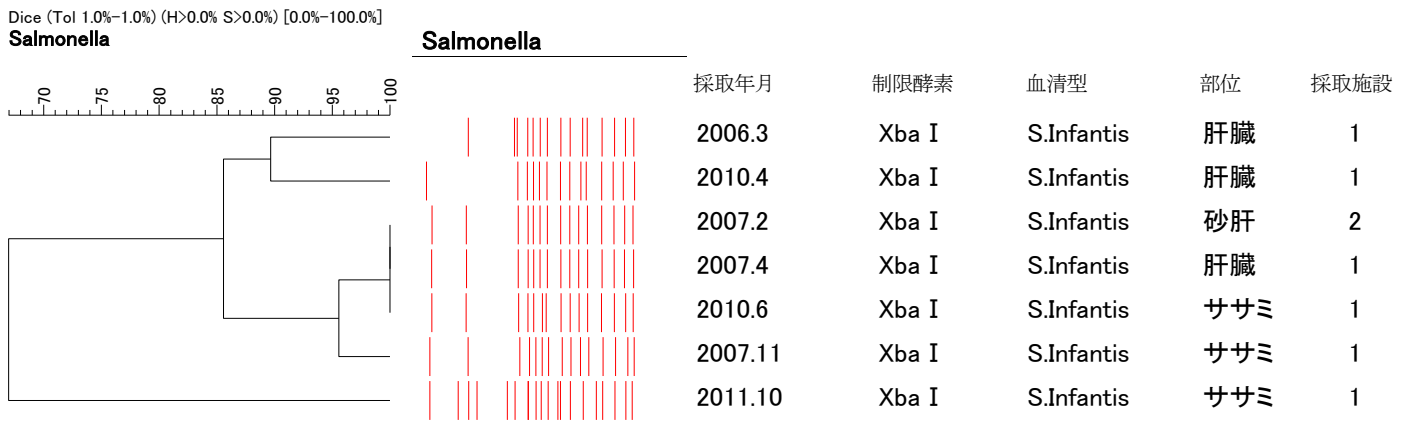


図6 制限酵素Xba IによるPFGE法のデンドログラム (S. Infantis)

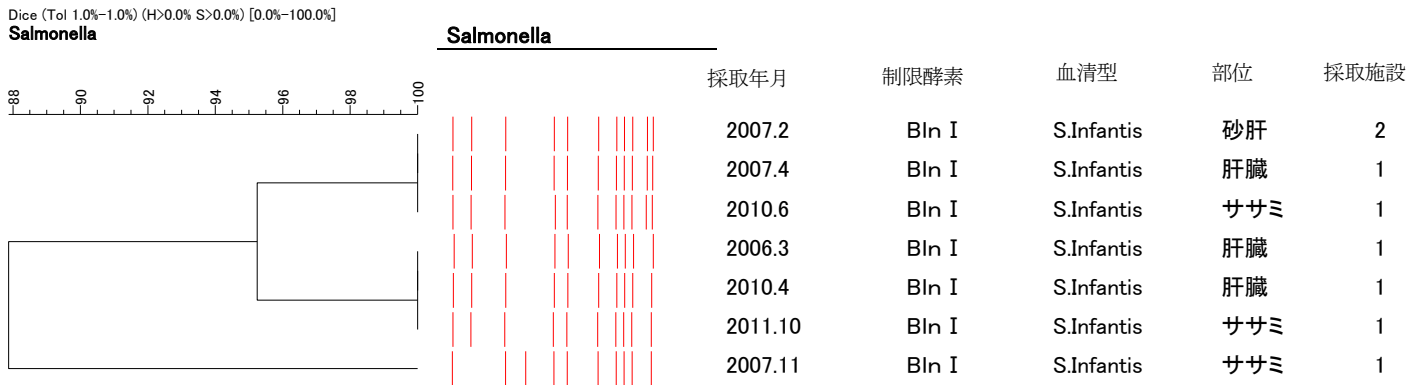


図7 制限酵素Bln IによるPFGE法のデンドログラム (S. Infantis)