

(2)豚におけるカンピロバクターおよびサルモネラ属菌の保有状況調査

○西條怜央、高橋千鶴、佐藤 優、佐々木秀樹

1. はじめに

近年、細菌性食中毒の発生件数の中でカンピロバクター属菌は最も多い食中毒起因菌となっている。カンピロバクター属菌で食中毒の原因となる主なリスク要因は、加熱不十分な食肉またはレバーの喫食とされている。鶏肉や鶏レバーが原因食品とされる場合が多いが、豚肉や豚レバーによる食中毒事例も複数あり、と畜場におけるリスク管理が求められている。しかしながら、当所では豚糞便中のカンピロバクター属菌の保有状況に関する調査実績がなく、肝臓の内部汚染の実態に関する調査は、平成 16 年度に実施して以降実績がなかったため、リスク要因把握のために今回調査を実施した。

また、同様に、サルモネラ属菌についても豚レバーを含む豚肉関連食品を原因とする食中毒の発生報告があり、適切な制御が求められている。当所では豚糞便中におけるサルモネラ属菌の保有状況調査を平成 16 年度、20 年度および令和 6 年度に実施しているが、肝臓内部の汚染実態調査は未実施であった。そこで、本調査では、豚糞便中のサルモネラ属菌保有率の継続調査に加えて、肝臓の内部汚染の実態調査も実施した。あわせて、近年サルモネラ属菌の薬剤耐性菌が問題となっていることから、薬剤耐性動向の継続調査も行った。上記 2 菌種を対象とした調査により一定の知見が得られたのでその概要を報告する。

2. 目的

と畜場の解体工程での枝肉の二次汚染並びに加熱不十分な豚レバーに起因するカンピロバクターおよびサルモネラ属菌による食中毒の危害要因の把握を目的とした。

3. 材料

(1)直腸便

令和 7 年 9 月から 12 月までに当所管轄と畜場に搬入された 10 農場、計 100 頭の肥育豚の直腸便を検体とした。直腸便は内臓検査終了後、滅菌薬匙を用いて肛門から採取した。

(2)胆嚢内胆汁

令和 7 年 12 月から令和 8 年 1 月までに当所管轄と畜場に搬入された 26 農場、計 100 頭の肥育豚の胆嚢内胆汁を検体とした。内臓検査終了後、胆嚢表面をアルコール綿で消毒後、注射器を用いて無菌的に採材した。

4. 方法

(1)分離培養

【カンピロバクター属菌】

直接分離培養;滅菌綿棒に付着させた検体約 0.1g または胆汁 30 μ l を mCCDA 培地にスタンプおよび画線塗抹し、42°C 微好気下で 48 時間分離培養した。

増菌分離培養;滅菌綿棒に付着させた検体約 0.1g または胆汁 1ml をボルトン選択増菌培地 10ml に接種し、42°C 微好気下で 48 時間培養した。その後、培養液 1 白金耳量を mCCDA 培地に画線塗抹し、42°C 微好気下で 48 時間分離培養した。

【サルモネラ属菌】

検体 1g または胆汁 1ml を PBS 9ml に接種し、検液 0.1ml をラパポート・バシリアディス培地 10ml に接種し、42 \pm 0.5°C、20 \pm 2 時間培養した。培養液 1 白金耳量をクロモアガーサルモネラ培地および DHL

培地に画線塗抹し、37°C、20±2 時間培養した。

(2) 性状検査

【カンピロバクター属菌】

分離培養後、疑わしいコロニーを釣菌し、グラム染色でらせん状のグラム陰性桿菌を認めたものについて Multiplex PCR 法により菌種を同定した。

【サルモネラ属菌】

培養後、疑わしいコロニーを釣菌し、TSI 及び LIM 培地に接種して生化学性状を確認した。典型的性状を示した株をサルモネラ属菌と同定し、市販のサルモネラ免疫血清(デンカ)を用いて O 抗原および H 抗原血清型別試験を実施した。H 抗原血清型別試験は 1 相目を決定した後、陽性となった H 型の相誘導用培地(デンカ)に菌を接種し 2 相目を発現させ、同様に免疫血清を用いて 2 相目の H 型別を行った。

(3) 薬剤感受性試験

分離されたサルモネラ属菌株について、Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) のディスク拡散法に基づく薬剤感受性試験を実施した。供試薬剤はアンピシリン (ABPC)、セフトキシム (CTX)、カナマイシン (KM)、ストレプトマイシン (SM)、テトラサイクリン (TC)、ナリジクス酸 (NA)、レボフロキサシン (LVFX)、スルファキサゾール・トリメプリーム合剤 (ST)、クロラムフェニコール (CP)、ホスホマイシン (FOM) の 10 種類とした。

(4) Multiplex PCR

カンピロバクター属菌を疑う菌株 1 白金耳量をボルトン選択増菌培地に接種し、42°C 微好気下で 24 時間培養した。培養液 100μL を遠心分離して得られた沈査に 50mM NaOH を添加し、100°C 10 分加熱後、中和してアルカリ熱抽出を行った。遠心後、得られた上清を用いて Multiplex PCR 法により遺伝子増幅を行った。試薬は Multiplex PCR Assay Kit (タカラバイオ) を使用し、Kamei ら [1] のプライマーセット及び PCR 反応条件を用いた。

5. 結果

【カンピロバクター属菌検出状況】

(1) 直腸便

10 農場 100 検体中、10 農場 85 検体からカンピロバクター属菌が分離された。すべての陽性豚から *Campylobacter coli* (以下 *C.coli*) が検出された(表 1)。

表1 糞便中のカンピロバクターおよびサルモネラ属菌検出率

農場	検出頭数(%)	
	カンピロバクター	サルモネラ
A	10/10 (100)	0/10 (0)
B	9/10 (90)	1/10 (10)
C	9/10 (90)	0/10 (0)
D	10/10 (100)	1/10 (1)
E	9/10 (90)	0/10 (0)
F	8/10 (80)	1/10 (10)
G	6/10 (60)	0/10 (0)
H	10/10 (100)	0/10 (0)
I	5/10 (50)	0/10 (0)
J	9/10 (90)	3/10 (30)
合計	85/100 (85)	6/100 (6)

(2)胆嚢内胆汁

26 農場 100 検体中、2 農場 5 検体からカンピロバクター属菌が分離された。すべての陽性豚から *Campylobacter jejuni* (以下 *C.jejuni*) が検出された(表 2)。

表2 胆汁中のカンピロバクター属菌検出率

検出農場	検出頭数(%)
①	3/7(43)
②	2/2(100)

【サルモネラ属菌検出状況】

(1)直腸便

10 農場 100 検体中、4 農場 6 検体からサルモネラ属菌が分離された(表 1)。血清型は *Salmonella* Typhimurium(以下、*S. Typhimurium*)が 2 株、*Salmonella* Infantis(以下、*S. Infantis*)が 1 株、*Salmonella* spp(血清型不明)が 3 株であった(表 3)。

(2)胆嚢内胆汁

26 農場 100 検体すべてにおいてサルモネラ属菌が検出されなかった。

表3 サルモネラ分離株の血清型

農場	O 抗原	H1 相	H2 相	血清型	分離株数
B	7	r	1,5	<i>S. Infantis</i>	1
F	4	i	-	<i>S. Typhimurium</i>	1
J	4	i	-	<i>S. Typhimurium</i>	1
J	13 群	L,w	-	不明	2
D	13 群	L,w	-	不明	1

【薬剤感受性試験】

分離したサルモネラ属菌 6 株について薬剤感受性試験を行ったところ、*S. Typhimurium* 2 株が ABPC および SM において耐性を示し、その他の薬剤はすべて感受性であった。他 4 株については SM において中間耐性を示したが、その他の薬剤はすべて感受性であった。

6. 考察

豚の直腸便または盲腸便からのカンピロバクター属菌検出率は、約 35%~50%という報告がある[2、3]。一方で、90%以上と非常に高い保菌率を報告している機関もあり[4]、調査によって幅がある傾向が認められる。本調査でも直腸便における検出率が 85%と高い検出率であった。一方、豚では胆汁中からのカンピロバクター属菌の検出報告は 3~4%と少なく[2、3]、全く検出されなかったという報告もある[4]が、本調査では 5%の豚の胆汁から検出された。本調査では、直腸便においてすべての農場からカンピロバクター属菌が検出された。亀山らや柳本ら[2、3]の報告においても、農場間の検出率にばらつきがあるが、採材したすべての農場から検出されており、本調査と同様の傾向が見られた。一方、胆汁においては、亀山ら[2]は特定の農場でのカンピロバクター属菌の浸潤を指摘しており、本調査でも検出された農場は 26 農場中 2 農場のみと限定されていたことから農場間に偏りがあることが示唆された。鶏、牛では *C.jejuni* の保菌率が高く[4]、豚では *C.coli* が高いことが報告されている[2-4]。本調査では直腸便から分離されたカンピロバクター属菌はすべて *C.coli* であったが、胆汁から分離されたカンピロバクター属菌はすべて *C.jejuni* であった。国内のカンピロバクター属菌による食中毒において、主流な原因菌は *C.jejuni* であるが、*C.coli* の報告もある[5]。また、原因食品別では鶏肉関連食品が最も多いとされているが、豚肉や豚レバーの生食による食中毒事例もある[6]。豚が糞便中に高率に *C.coli* を保菌していることから、と畜場の解体工程における可食部への二次汚染の防止が重要であると考えられる。併せて、人の食中毒の主流な原因菌である *C.jejuni* の胆汁を介した肝臓の内部汚染が示唆されたことから、豚レバーのリスクに関する注意喚起も引き続き求められる。

平成 16、20 年度および令和 6 年度に当所で実施した豚直腸便または盲腸便の保菌率調査ではサルモネラ属菌の検出率は 2.5~4.35%であった[7-9]。本調査での検出率は 6%であり、過去の調査よりも若干高い検出率となった。本調査で分離された血清型は 3 種であった。そのうち *S. Typhimurium*、*S. Infantis* は人の食中毒の原因菌として多く報告されている[10]。中でも *S. Typhimurium* は当所の過去の調査でも共通して分離されている血清型である。薬剤感受性試験では、平成 16、20 年度の調査で多剤耐性を示す *S. Typhimurium* 株が認められた。令和 6 年度の調査で分離した株においては耐性を認めなかったが、本調査では再び多剤耐性を示す *S. Typhimurium* 株が認められた。薬剤耐性を獲得したサルモネラ属菌が人の医療において危害を及ぼす可能性があることから今後も調査を継続し動向を注視する必要がある。また、本調査では柳本らや齊藤ら[3、4]の報告と同様に胆汁中からサルモネラ属菌は検出されなかったが、豚胆汁から検出された報告もあり[11]肝臓の内部汚染の可能性が否定できないことから、胆汁による二次汚染にも注意するとともに、さらなるデータの集積に努めたい。

参考文献

- [1] Kamei K et al : A Cytolethal Distending Toxin Gene-Based Multiplex PCR Assay for *Campylobacter jejuni*, *C. fetus*, *C. coli*, *C. upsaliensis*, *C. hyointestinalis*, and *C. lari*. Jpn J Infect Dis, 69, 256-258, 2016
- [2] 亀山芳彦: *Campylobacter* による豚の胆嚢内胆汁汚染の検討について, 平成 25 年度全国食肉衛生検査所協議会微生物部会
- [3] 柳本圭介, 鈴木信洋, 椛木奈緒子, 伊東富美子, 前田亨: 豚におけるカンピロバクターおよびサルモネラの保菌状況について, 平成 25 年度全国食肉衛生検査所協議会微生物部会
- [4] 齊藤志保子, 八柳潤, 今野貴之: 秋田県における食中毒起因菌の侵淫実態と分離株の性状に関する調査研究, 秋田県健康環境センター年報 第 2 号 49-56 2006
- [5] 国立感染症研究所 病原微生物検出情報 Vol.31 No.1 (2010.1)
- [6] 厚生労働省 食中毒統計資料

https://www.mhlw.go.jp/stf/seisakunitsuite/bunya/kenkou_iryuu/shokuhin/syokuchu/04.html

- [7] 熊谷光:と畜場搬入豚からのサルモネラ分離 平成 16 年度宮城県食肉衛生検査所調査研究
- [8] 小野聡美,吉岡幸信,小野寺瑞穂,齋藤直:と畜処理工程における豚のサルモネラ保菌状況
平成 20 年度宮城県食肉衛生検査所調査研究
- [9] 高橋千鶴,菊地利紀:豚糞便中の食中毒起因菌保有状況調査(第二報) 令和 6 年度宮城県食肉衛生検査所調査研究
- [10] 国立感染症研究所 病原微生物検出情報 速報集計表
<https://www.niid.go.jp/niid/ja/iasr-table/1525-iasrb.html>
- [11] 高田勇人,井上伸子,天田貴昌,信澤敏夫,中嶋隆,石岡大成,藤田雅弘,森田幸雄:豚におけるサルモネラの保菌状況と分離菌の血清型,薬剤感受性およびゲノム型,日獣会誌 61 65-69(2008)