

## 食鳥肉におけるカンピロバクターとサルモネラの検出状況 と分離菌株の薬剤感受性

吉原 純子、野本 さとみ、篠田 亮子、佐々木 彩華、石橋恵美子、横井一、山本一重

(環境保健研究所 健康科学課)

**要 旨** 食鳥肉におけるカンピロバクター属菌及びサルモネラ属菌の検出状況と分離菌株の薬剤耐性について調査した。22 の農場から搬入された食鳥肉 72 検体のうち、カンピロバクター属菌が 23 検体 (32.0%)、サルモネラ属菌が 48 検体 (66.7%) から分離された。また、18 検体 (25.0%) からカンピロバクター属菌とサルモネラ属菌の両者が分離された。

カンピロバクター属菌の薬剤耐性については、*Campylobacter jejuni* 22 株のうち 9 株 (40.9%) がキノロン系薬剤であるナリジクス酸/ノルフロキサシン/オフロキサシンの 3 薬剤に耐性を示した。

サルモネラ属菌では、分離菌株の 94.0%が複数の薬剤に耐性を示した。中でもテトラサイクリン/ストレプトマイシン/カナマイシンの 3 薬剤に耐性を示す株が *Salmonella* *Infantis* で 25 株中 16 株 (64.0%)、*S. Schwarzengrund* で 17 株中 11 株 (64.7%) と高率に分離された。

また、サルモネラ属菌のうち、シプロフロキサシン又はホスホマイシンに対する誘導耐性がそれぞれ 48 株 (96.0%)、43 株 (86.0%) と高率に認められた。

**Key Words :** 食鳥肉, カンピロバクター属菌, サルモネラ属菌, 薬剤感受性

### 1. はじめに

食鳥処理場における鶏肉（食鳥肉）はカンピロバクター属菌とサルモネラ属菌の汚染率が高く、これら 2 菌種は細菌性食中毒の原因菌として原因食品等から分離されることが多い。近年、食中毒件数の上位であるカンピロバクター食中毒の主な原因食品として、飲食店で提供された鶏刺しや鶏たたき等の生又は加熱不十分な鶏肉が報告されている。また、多くの事例において、仕入れ品に加熱用の表示があるにも関わらず、加熱不十分な鶏肉等が提供されていたことが薬事・食品衛生審議会食品衛生分科会食中毒部会(2018年3月12日)で報告されている。

一方、サルモネラ食中毒は、カンピロバクターに比べ件数は少ないものの、鶏肉からの感染リスクは高く、小児や高齢者、基礎疾患のある成人において重症化しやすい。細菌性食中毒等の治療に抗菌薬が使用される

一方で、畜産物の安定供給を目的に食用動物への抗菌薬の使用も急速に拡大したことによって、薬剤耐性菌の増加が報告されるようになったが、食用動物由来耐性菌が治療困難な食中毒又は感染症などの発生につながるなどの認識は低かった。しかし、1969年の「畜産及び獣医療における抗生物質に関する共同委員会」による‘Swann Report’<sup>1)</sup>において、食用動物由来の薬剤耐性菌によるヒトへの健康に対する影響が指摘され、食用動物由来耐性菌はヒトの医療における重要な危害要因と認識されるようになった。

その後、厚生労働省から「薬剤耐性対策アクションプラン 2016-2020」<sup>2)</sup>が示され、ワンヘルス・アプローチの考え方を踏まえたヒト、動物、食品及び環境等から分離された薬剤耐性菌に関する統合的なワンヘルス動向調査、すなわち国内におけるヒト、動物、農業、食品及び環境の各分野における薬剤耐性菌及び抗菌薬

使用量の動向の把握<sup>3)</sup>が明記された。

そこで、本調査では食鳥肉におけるカンピロバクター属菌及びサルモネラ属菌の検出状況を明らかにし、さらに薬剤耐性菌の出現状況を把握するため、分離菌株に対する薬剤感受性試験を実施したので報告する。

## 2. 材料と方法

### 2.1 供試検体

2016年4月から2019年3月の3年間に、県内外の22農場(A~V)から市内食鳥処理場に出荷され、収去検査として搬入された国産食鳥肉(むね肉)72検体を検査対象とした。

### 2.2 カンピロバクター属菌の検査法

検体25gを無菌的に採取し、滅菌リン酸緩衝液225mlを添加後、ストマッカーで約30秒間処理して10%乳剤を作製した。次に10%乳剤1mlをプレストン増菌培地(OXOID)10mLに接種し、42.0±1.0°Cで24~48時間、微好気培養した。次いで、この増菌培養液1白金耳をスキロー培地(関東化学)に塗布し、42.0±1.0°Cで48±3時間、微好気培養した。疑わしい集落については、位相差顕微鏡による形態・運動性の観察、馬尿酸塩加水分解試験、酢酸インドキシル試験及びナリジクス酸(30µg)・セファロチン(30µg)に対する感受性試験を行い、菌種の同定を行った。

### 2.3 サルモネラ属菌の検査法

検体25gを無菌的に採取し、BPW培地(OXOID)225mlを添加後、ストマッカーで約30秒間処理し、35.0±1.0°Cで18±2時間、一次増菌培養した。この一次増菌培養液0.5mlをRV培地(MERCK)10mlに接種し、42.0±1.0°Cで20±2時間、二次増菌培養した。この二次増菌培養液1白金耳をDHL培地(栄研化学)に塗布し、35.0±1.0°Cで24±2時間培養した。疑わしい集落については、TSI培地(栄研化学)及びLIM培地(栄研化学)にそれぞれ接種し、35.0±1.0°Cで24±2時間培養後、生化学性状を確認した。サルモネラ属菌の生化学性状と一致した菌株については、サルモネラ免疫血清(デンカ生研)を用いてO抗原とH抗原(I相、II相)を確認し、血清型を決定した。

### 2.4 分離菌株の薬剤感受性試験法

分離されたカンピロバクター属菌及びサルモネラ属菌を対象に0.5McFarlandの菌液を調製した。米国臨床検査標準化協会(CLSI)の抗菌薬ディスク感受性試験法<sup>4),5)</sup>に基づき、カンピロバクター菌液を5%馬血液加ミューラー・ヒントン培地、サルモネラ菌液をミューラー・ヒントン培地(OXOID)に塗布した後、Sensi-Disk(日本ビクトン・ディッキンソン)を用い

たKirby-Bauer法<sup>6),7)</sup>による薬剤感受性試験を実施した。

供試薬剤として、カンピロバクター属菌では、ナリジクス酸(NA)、ノルフロキサシン(NFLX)、オフロキサシン(OFLX)、エリスロマイシン(EM)、セファゾリン(CEZ)及びセファロチン(CET)の計6種類を用いた。サルモネラ属菌では、NA、シプロフロキサシン(CPFX)、テトラサイクリン(TC)、ストレプトマイシン(SM)、カナマイシン(KM)、アンピシリン(ABPC)、クロラムフェニコール(CP)及びホスホマイシン(FOM)の計8種類を用いた。また、判定は、センシ・ディスク感受性判定表(表1)に基づき、阻止円の直径を耐性(resistant:R)、中間(intermediate:I)、感受性(susceptible:S)の3段階に分類し、Rと判定された株を耐性株とした。

表1 供試薬剤に対する感受性判定表

分類	薬剤名	略語	阻止円の直径(mm)		
			耐性(R)	中間(I)	感受性(S)
キノロン系	ナジクス酸	NA	13	14-18	19
	ノルフロキサシン	NFLX	12	13-16	17
	オフロキサシン	OFLX	12	13-15	16
	シプロフロキサシン	CPFX	15	16-20	21
マクロライド系	エリスロマイシン	EM	6	—	—
セフェム系	セファリン	CEZ	19	20-22	23
	セファロチン	CET	14	15-17	18
テトラサイクリン系	テトラサイクリン	TC	11	12-14	15
アミノグリコシド系	ストレプトマイシン	SM	11	12-14	15
	カナマイシン	KM	13	14-17	18
ペニシリン系	アンピシリン	ABPC	13	14-16	17
クロラムフェニコール系	クロラムフェニコール	CP	12	13-17	18
ホスホマイシン系	ホスホマイシン	FOM	10	11-15	16

## 3. 結果

### 3.1 カンピロバクター属菌及びサルモネラ属菌の検出状況

食鳥肉72検体におけるカンピロバクター属菌及びサルモネラ属菌の農場別分離状況(A~Vの22農場)を表2に示した。

カンピロバクター属菌は72検体中23検体(32.0%)から分離された。そのうち22検体(30.6%)が*Campylobacter jejuni*、1検体(1.4%)が*C. coli*であり、2菌種に複合汚染されていた検体はなかった。

サルモネラ属菌は、72検体中48検体(66.7%)から分離された。そのうち単一の血清型が分離された検体は46検体(63.9%)であり、内訳は*Salmonella* *Infantis*が24検体(33.3%)、*S. Schwarzengrund*が16検体(22.2%)、*S. Typhimurium*が3検体(4.2%)、*S. Edinburg*が2検体(2.8%)及び*S. Stanley*が1検体

表2 カンピロバクター属菌及びサルモネラ属菌の農場別分離状況

菌種または血清型	農場(供試検体数)																合計 (72)						
	A (3)	B (7)	C (3)	D (1)	E (1)	F (3)	G (8)	H (1)	I (1)	J (4)	K (3)	L (2)	M (4)	N (5)	O (1)	P (3)		Q (5)	R (5)	S (3)	T (3)	U (4)	V (2)
カンピロバクター属菌																							
<i>C. jejuni</i>	1	3			1	1		1		2	1		2	2			2	1		3	1	1	22/72 (30.6%)
<i>C. coli</i>							1																1/72 (1.4%)
<i>S. Infantis</i>	1	1	1				3						3	3		1	1	2	1	2	3	2	24/72 (33.3%)
<i>S. Schwarzengrund</i>	2	3		1			2			2	2	1					1		1		1		16/72 (22.2%)
<i>S. Typhimurium</i>							2							1									3/72 (4.2%)
サルモネラ属菌																							
<i>S. Edinburg</i>										1								1					2/72 (2.8%)
<i>S. Stanley</i>								1															1/72 (1.4%)
<i>S. Infantis/S. Schwarzengrund</i>		1																					1/72 (1.4%)
<i>S. Colindale/S. Stanley</i>		1																					1/72 (1.4%)

分離検体数/供試検体数(%)

(1.4%)であった。一方、複数の血清型が分離された検体は2検体(2.8%)であり、内訳は *S. Infantis* /*S. Schwarzengrund* が1検体(1.4%)及び *S. Colindale* /*S. Stanley* が1検体(1.4%)であった。なお、72検体中18検体(25.0%)からカンピロバクター属菌とサルモネラ属菌の両者が分離された。

農場別の分離状況を見ると、22農場のうち、カンピロバクター属菌とサルモネラ属菌の両者が分離された農場が13農場(59.1%)、カンピロバクター属菌のみが分離された農場が2農場(9.1%)、サルモネラ属菌のみが分離された農場が5農場(22.7%)であり、両者ともに分離されなかった農場は2農場(9.1%)であった。また、9農場(40.9%)から複数の血清型(サルモネラ属菌)が分離された。

### 3.2 カンピロバクター属菌の薬剤感受性

菌種別の薬剤耐性パターンを表3に示した。分離された *C. jejuni* と *C. coli* は全てセフェム系薬剤(CEZ及びCET)に自然耐性を示した。その一方で *C. jejuni* 22株中9株(40.9%)がキノロン系薬剤であるNA、NFLX、及びOFLXの3薬剤に耐性を示した。なお、EMに耐性を示す株は認められなかった。

表3 カンピロバクター属菌の薬剤耐性パターン

菌種(分離菌株数)	薬剤耐性パターン	菌株数(%)
<i>C. jejuni</i> (22)	CEZ/CET	13 (59.1)
	NA/NFLX/OFLX/CEZ/CET	9 (40.9)
<i>C. coli</i> (1)	CEZ/CET	1 (100)

供試薬剤: NA, NFLX, OFLX, EM, CEZ, CET

### 3.3 サルモネラ属菌の薬剤感受性

血清型別の薬剤耐性パターンを表4に示した。分離菌株の94.0%(47/50)が複数の薬剤に耐性を示した。*S. Infantis* では、TC/SM/KM耐性株が25株中16

株(64.0%)と最も多く、次いでTC/SM耐性株が5株(20.0%)、TC/KM耐性株が2株(8.0%)、NA/KMとTC/KM/ABPC耐性株が各1株(4.0%)の順であった。*S. Schwarzengrund* では、TC/SM/KM耐性株が17株中11株(64.7%)と最も多く、次いでTC/KM耐性株が5株(29.4%)、KM耐性株が1株(5.9%)の順であった。*S. Typhimurium* では、KM/ABPC耐性株が3株中2株(66.7%)、TC/KM/ABPC耐性株が1株(33.3%)認められた。*S. Edinburg* では、TC/SMとTC耐性株が各1株(50.0%)認められた。*S. Stanley* では、TC/SM/KMとTC/SM耐性株が各1株(50.0%)認められた。*S. Colindale* は、全ての薬剤に感受性を示した。なお、CPFX、CP、及びFOMの3薬剤に耐性を示す株は認められなかった。

表4 サルモネラ属菌の薬剤耐性パターン

血清型(分離菌株数)	薬剤耐性パターン	菌株数(%)
<i>S. Infantis</i> (25)	TC/SM/KM	16 (64.0)
	TC/SM	5 (20.0)
	TC/KM	2 (8.0)
	NA/KM	1 (4.0)
	TC/KM/ABPC	1 (4.0)
<i>S. Schwarzengrund</i> (17)	TC/SM/KM	11 (64.7)
	TC/KM	5 (29.4)
<i>S. Typhimurium</i> (3)	KM	1 (5.9)
	TC/KM/ABPC	1 (33.3)
<i>S. Edinburg</i> (2)	KM/ABPC	2 (66.7)
	TC/SM	1 (50.0)
<i>S. Stanley</i> (2)	TC	1 (50.0)
	TC/SM/KM	1 (50.0)
<i>S. Colindale</i> (1)	TC/SM	1 (50.0)
	—※	1 (100)

供試薬剤: NA, CPFX, TC, SM, KM, ABPC, CP, FOM

※: 供試した8種類の薬剤全てに感受性

表5 サルモネラ属菌の誘導耐性

血清型(分離菌株数)	誘導耐性菌株数(%)							
	NA	CPFX	TC	SM	KM	ABPC	CP	FOM
<i>S. Infantis</i> (25)	6 (24.0)	25 (100)	1 (40.0)	7 (28.0)		1 (4.0)		20 (80.0)
<i>S. Schwarzengrund</i> (17)	4 (23.5)	17 (100)				1 (5.9)	6 (35.3)	16 (94.1)
<i>S. Typhimurium</i> (3)		2 (66.6)	1 (33.3)			1 (33.3)	1 (33.3)	3 (100)
<i>S. Edinburg</i> (2)		2 (100)						1 (50.0)
<i>S. Stanley</i> (2)		2 (100)					1 (50.0)	2 (100)
<i>S. Colindale</i> (1)								1 (100)
供試菌株の合計 (50)	10 (20.0)	48 (96.0)	2 (4.0)	7 (14.0)		3 (6.0)	8 (16.0)	43 (86.0)

一方、サルモネラ属菌については、阻止円内にコロニーの発育が見られる誘導耐性株が認められた。血清型別の誘導耐性を表5に示した。CPFXに誘導耐性が認められた株が48株(96.0%)と最も多く、次いでFOMが43株(86.0%)、NAが10株(20.0%)、SMが7株(14.0%)、ABPCが8株(16.0%)、TCが2株(4.0%)の順であった。なお、KMに対する誘導耐性株は認められなかった。

#### 4. 考察

本調査では、国産食鳥肉72検体のうち23検体(32.0%)からカンピロバクター属菌、48検体(66.7%)からサルモネラ属菌が分離された。カンピロバクター属菌に比べてサルモネラ属菌の検出率が高くなった理由の一つとして、サルモネラ属菌は微好気性菌であるカンピロバクター属菌<sup>8)</sup>に比べ環境中における生存率が高いことが考えられた。

食鳥肉72検体のうち18検体(25.0%)がカンピロバクターとサルモネラ属菌の両者、2検体(2.8%)が複数の血清型(サルモネラ属菌)に汚染されていたことが明らかとなったことから、鶏が有する食糞の習性と農場内での過密的な飼育環境により、カンピロバクターとサルモネラ属菌の水平感染が起こっていること及び食鳥処理工程における食鳥肉の相互汚染などが推測された。

一方、農場別の分離状況を見ても、22農場のうち13農場(59.1%)でカンピロバクター及びサルモネラ属菌の両者が分離され、9農場(40.9%)で複数の血清型(サルモネラ属菌)が分離されたことから、前述の調査結果と併せて同一農場内におけるカンピロバクターとサルモネラ属菌の水平感染が強く示唆された。

市販の国産鶏肉から分離されるカンピロバクター属菌は*C. jejuni*が多く、サルモネラ属菌は*S. Infantis*

が多いことが報告されているが<sup>9)</sup>、今回の調査結果においても同様の傾向が認められた。

一方、市販の輸入鶏肉から分離されるカンピロバクター属菌は*C. jejuni*よりも*C. coli*が多く、サルモネラ属菌では*S. Infantis*よりも*S. Enteritidis*が多いことが報告されている<sup>9)</sup>。本調査では輸入鶏肉を対象とした菌分離を行っていないが、当該報告を支持する結果が得られた。すなわち、国産食鳥肉72検体のうち*C. coli*が分離されたのが1検体(1.4%)のみであり、*S. Enteritidis*が分離された検体もなかったことから、鶏の腸管内に生息するカンピロバクター属菌の菌種とのサルモネラ属菌の血清型は、国によって異なることが示唆された。

カンピロバクター属菌の薬剤耐性については、CEZとCETの2薬剤に対して、全ての分離菌株が耐性を示したことから、カンピロバクター属菌のセフェム系薬剤に対する自然耐性が確認された。また、近年、キノロン系薬剤に対する耐性菌の増加が世界的に問題となっているが、2012年から2015年の4年間で食鳥処理場の鶏から分離された*C. jejuni*のNAの耐性率は、約36%であったことが報告されている<sup>3)</sup>。本調査においても2016年4月から2019年3月の3年間で国産食鳥肉から分離された*C. jejuni*22株のうち9株(40.9%)がキノロン系薬剤(NA、NFLX、及びOFLXの3薬剤)に耐性を示したことから、2015年以降もキノロン系薬剤に対する*C. jejunii*の耐性化が進行していることが推測された。

一方、本調査において分離された*C. jejuni*と*C. coli*にEM耐性を示す株は認められなかったが、市販の輸入鶏肉から分離された*C. coli*の28.6%がEM耐性であったこと<sup>9)</sup>及び市販の国産豚肉類から分離された*C. coli*の25.0%がEM耐性であったこと<sup>10)</sup>が報告されている。キノロン系薬剤の耐性化が進んでいる現状において、EMなどのマクロライド系の薬剤は、カンピロ

バクテリア腸炎に対する第一選択薬<sup>11)</sup>とされていることから、今後もカンピロバクテリア属菌における EM 耐性株の動向を注視する必要がある。

サルモネラ属菌の薬剤耐性については、本調査における分離菌株の 94.0%が複数の薬剤に耐性を示し、中でも TC、SM 及び KM の 3 薬剤に耐性を示す *S. Infantis* と *S. Schwarzengrund* が高率に分離された。この TC、SM 及び KM に対する耐性は、市販国産鶏肉及び食鳥処理場鶏肉から分離された *S. Infantis* と *S. Schwarzengrund* に認められている<sup>12)</sup>。また、2015 年から 2017 年の 3 年間でヒト及び食品から分離された *S. Infantis* と *S. Schwarzengrund* にも TC、SM 及び KM に対する耐性が高率に認められている<sup>3)</sup>。

以上のことから、鶏肉を介して複数の薬剤に対する耐性を獲得したサルモネラ属菌がヒトに感染し、治療困難な食中毒等の健康被害につながるリスクが想定され、鶏肉の温度管理によるサルモネラ属菌の増殖防止と十分な加熱調理の徹底が重要であることを再認識した。

一方、NA に誘導耐性を示す株が分離菌株の 20.0%、CPFY に誘導耐性を示す株が 96.0%、FOM に誘導耐性を示す株が 86.0%に認められた。特にキノロン系薬剤である CPFY は臨床的にサルモネラ感染症に対する第一選択薬<sup>12)</sup>とされており、FOM も臨床的な有効性が認められている<sup>13)</sup>。これまで、細菌のキノロン系薬剤の耐性遺伝子は染色体上に存在し、耐性遺伝子が菌から菌へ伝播することはないものと考えられてきたが、Martinez らによってプラスミド上にコードされる伝達性のキノロン耐性因子の存在が明らかとなった<sup>14)</sup>。このことは、サルモネラ属菌間におけるキノロン耐性遺伝子の伝播によって、DNA の複製などに関与する DNA ジャイレースやトポイソメラーゼをコードする遺伝子変異よりも容易にキノロン耐性を獲得する可能性を示唆しており、今後 CPFY 等のキノロン系薬剤に対する耐性株の出現に注意する必要がある。

本調査によって、国産食鳥肉から分離された *C. jejuni*、*S. Infantis* 及び *S. Schwarzengrund* などに複数の薬剤に対する耐性が認められた。このことは、これらの薬剤耐性菌に汚染された鶏肉を生又は加熱不十分で喫食した場合、食中毒等の健康被害のみならず、薬剤耐性菌を体内に保菌し、新たな薬剤耐性菌が出現するリスクが高まることを示唆するものである。従って、今後も食用動物に由来する薬剤耐性菌の発生動向を監視するために、調査を継続し、その結果を検証することが重要であると考ええる。

## 文 献

- 1) Swann M M : Report of the joint committee on the use of antibiotics in animal husbandry and veterinary medicine, Her Majesty's Stationary Office, London, 1969
- 2) 国際的に脅威となる感染症対策閣僚関係会議：薬剤耐性（AMR）対策アクションプラン 2016-2020, 平成 28 年 4 月 5 日
- 3) 厚生労働省結核感染症課：薬剤耐性（AMR）ワンヘルス動向調査年次報告書 2018, 薬剤耐性ワンヘルス動向調査検討会, 平成 30 年 11 月 29 日
- 4) Clinical and Laboratory Standards Institute : Performance standards for antimicrobial disk susceptibility testes ; CLSI Approved Standard Eleventh edition, Clinical and Laboratory Standards Institute, America, 2012
- 5) Clinical and Laboratory Standards Institute : Performance standards for antimicrobial disk susceptibility testes ; CLSI Twenty-second Informational Supplement , Clinical and Laboratory Standards Institute, America, 2012
- 6) Bauer A W, Kirby W, Sherris M M and Tuck M : Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method, Am J Clin Pathol, 45, 493-496, 1966
- 7) World Health Organization : Technical Report Series 610 ; WHO Expert Committee on Biological Standardization Twenty-eight report, 98-178, Geneva, 1977
- 8) 伊藤 武：新訂食水系感染症と細菌性食中毒, 坂崎利一編, 336-362, 中央法規出版, 東京, 2000
- 9) 小野一晃：市販鶏肉のカンピロバクテリア及びサルモネラ汚染状況と分離株の薬剤感受性, 日獣会誌, 67, 442-448, 2014
- 10) 佐藤拓弥, 藤岡美幸：青森県内における市販食肉の *Campylobacter* 汚染状況および分離菌株の薬剤感受性, 日本食品微生物学会雑誌, 35, 36-40, 2018
- 11) 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

ドライン 2015－腸管感染症－，日本化学療法  
学会誌，64，34-36，2016

- 12) 内閣府食品安全委員会：畜水産食品における  
薬剤耐性菌の出現実態調査報告書，一般財団  
法人東京顕微鏡院，平成 28 年 3 月
- 13) 国立感染症研究所：サルモネラ感染症，IDWR，  
第 6 巻第 5 号，10-13，2004
- 14) Martinez-Martinez L, Pascual A, Jacoby G A :  
Quinolone resistance from a transferable plasmid,  
Lanct, 351, 797-799, 1998