

Ⅲ 調 査 ・ 研 究

平成9年度, 福岡市における食中毒等及び市販鶏肉等からの *Campylobacter* 検出状況と血清型別について

椿本 亮¹・財津修一¹・池田嘉子¹・石北隆一¹

Isolation and Serotyping of *Campylobacter jejuni* from Diarrheic Patient and Chicken Meat in Fukuoka City 1997

Makoto TSUBAKIMOTO, Syuichi ZAITSU, Yoshiko IKEDA
and Ryuichi ISHIKITA

要 旨

福岡市内で発生した *Campylobacter* 食中毒等の患者由来株及び市内を流通する市販鶏肉等から検出された *Campylobacter* について Penner 法による血清型別を行い, 疫学マーカーとしての有用性を検討した. 3件の食中毒事例等から検出された77株の *C. jejuni* のうち61株が6血清群に型別され, 型別率は79.2%であった. 市販鶏肉等132検体については, 直接分離法での検出率は内臓, 肉, 皮が平均15.6%, 腸内容物が100%であったが, 増菌分離法での検出率は内臓, 肉, 皮が平均81.2%, 腸内容物が100%と高率であった. 検出された菌種は直接分離, 増菌分離共に全て *C. jejuni* だった. 市販鶏肉等から検出された計198株の *C. jejuni* のうち129株が20血清型に型別され, 型別率は65.2%であった. 20検体(21.7%)からは複数の血清型が検出された. 鶏肉等からの検出頻度が高かった血清型と食中毒事例等から検出された血清型との間に明らかな相関は認められなかった. 以上のことから市販の鶏肉等は *C. jejuni* によって高率に, かつ多種の血清型によって汚染されていることが明らかとなった. また, 血清型別を疫学マーカーとして利用する際には複数の血清型による食中毒の可能性を念頭に置いた詳細な菌株の検索が必要であると考えられた.

Key Words: 福岡市 Fukuoka City, カンピロバクター *Campylobacter*,
血清型別 Serotyping, 食中毒 Food Poisoning, 鶏肉 Chicken,

1 はじめに

Campylobacter はヒトの散発下痢症の主要な原因菌の一つであり, 本菌による食中毒事件についても多数の報告がなされている. 福岡市においても平成4年度に5件の食中毒が発生して以来年間平均2件程度の発生が続いている. また, *Campylobacter* はニワトリが高率に保菌していることが知られており, 市販の鶏肉からも検出され食中毒の発生に鶏肉が関与している報告もなされている¹⁾. このような状況で *Campylobacter* による食中毒が

発生し, 食材として持ち込まれた鶏肉やふきとり等から同菌が検出された場合, これらの検体から検出された菌と患者便から検出された菌が同一汚染源由来のものであるか否かの判断が困難になっている. *Campylobacter* による腸炎については, 疫学的解析のための血清型別法が Lior²⁾, Penner³⁾ によって早くより試みられ, 現在 Penner 法に基づく血清型別用試薬が「デンカ生研」から市販されている. そこで我々は福岡市内で発生した *Campylobacter* 食中毒等の患者由来株について Penner 法による血清型別を行うと共に, 市内を流通する市販鶏肉等についても *Campylobacter* 汚染実態を調査した. 鶏肉等から検出された *Campylobacter* についても血清型の分

1. 福岡市保健環境研究所 微生物課

布状況把握のため血清型別を行い、Penner 法による *Campylobacter* の血清型別の疫学マーカーとしての有用性を検討したのでその結果を報告する。

II 材料および方法

1. 調査期間

平成9年4月～平成10年3月

2. 市販鶏肉等

福岡市内の食肉販売店及び認定小規模食鳥処理場から取去した胸肉、もも肉、ささみ等の鶏肉75件、肝臓、筋胃、心臓等の鶏内臓32件、鶏皮15件、鶏腸内容物10件の合計132検体を調査対象とした。

3. カンピロバクター食中毒由来株

福岡市内で発生した患者数2名以上の *Campylobacter* 食中毒（有症苦情を含む）で患者便及び参考品から検出された *Campylobacter* を調査対象とした。

4. *Campylobacter* の分離方法

ヒトの糞便については改良キャリーブリア培地で採便を実施した。検体は Butzler 寒天平板培地 (Oxoid) に塗抹し42℃、48時間微好気培養すると共に、Preston 培地 (Oxoid) に接種し42℃、24時間微好気での増菌培養後、Butzler 寒天平板培地に塗抹して42℃、48時間微好気培養を行った。

鶏肉等からの直接分離は検体約25gを滅菌生理食塩水で10倍希釈し、ホモジナイズ後0.1mlを Butzler 寒天平板培地にコンラージ棒で塗抹し42℃、48時間

微好気培養した。この方法での検出限界は100 CFU/gであった。増菌分離は検体約25gを10倍量の Preston 培地に接種し42℃、24時間微好気での増菌培養後、Butzler 寒天平板培地に塗抹して42℃、48時間微好気培養を行った。

5. *Campylobacter* の同定

Butzler 寒天上の疑わしいコロニーを1～3コロニー釣菌して純培養すると共に、42℃での好気培養と微好気培養を行った。好気培養に発育せず微好気培養のみに発育した株についてラテックス凝集反応（カンピロバクター-LA「生研」）を実施し、凝集反応陽性の株についてカタラーゼ試験、オキシダーゼ試験、ナリジクス酸とセファロチンの感受性試験、馬尿酸の加水分解試験を行って菌種を同定した。

6. *Campylobacter* の血清型別

血清型別は Penner が開発した耐熱性抗原を用いる方法を改良した受身赤血球凝集反応 (PHA) により実施した。試薬類はデンカ生研から発売されているカンピロバクター免疫血清及び感作血球調整試薬を使用した。

III 結果

1. 食中毒等からの *Campylobacter* 検出状況

平成9年度に福岡市内で発生した *Campylobacter* を原因とする食中毒等の概要を表1に示した。患者数2名以上の事例が3件発生し、*Campylobacter* が検出された45名の患者検便及び参考品の鶏肉1検体から計77株が分離された。菌種は全て *C. jejuni* であった。

表1. *C. jejuni* が原因となった食中毒事例の概要

No.	原因施設	発症者数 喫食者数	菌陽性者数 被検者数	分離株数	菌陽性者から検出された血清型 (人数) (Penner)
1	飲食店 (鳥料理)	5 24	4 5	10	N群 (4) 参考品の鶏肉からもN群を検出
2	宴会場 (ホテル)	56 146	30 41	61	O群 (17), L群 (1), Z6群 (1) O群とL群 (2), O群と型別不能株 (1) L群と型別不能株 (2), 型別不能株 (6)
3	不明	2 ?	2 2	6	R群 (1), D群 (1)

表2. 市販鶏肉等からの *Campylobacter* 検出状況

検査部位	陽性検体数/検査検体数 (検出率%)	
	直接分離	増菌分離
内臓	6/27 (22.2)	19/23 (82.6)
鶏肉	4/54 (7.4)	51/63 (81.0)
皮	4/9 (44.4)	12/15 (80.0)
小計	14/90 (15.6)	82/101 (81.2)
腸内容物	3/3 (100)	10/10 (100)
合計	17/93 (18.3)	92/111 (82.9)

No. 1は飲食店で提供された鶏肉の刺身が原因食品と推定された事例で *C. jejuni* が検出された4名の患者検便の他、参考品の鶏肉からも *C. jejuni* が検出された。No. 2はホテルの宴会で提供された中華コース料理が原因食品と考えられた事例で、患者数は50名を超え、検査した41名中30名の検便から *C. jejuni* が検出された。しかし、検査や参考品等から *C. jejuni* を検出することはできず、具体的なメニューを特定することはできなかった。No. 3は患者数2名の事例で、両患者検便から *C. jejuni* が検出されたが、患者2名が夫婦であったこともあり共通食が多く、聞き取り調査の結果からも原因食品等を推定することはできなかった。

2. 市販鶏肉等からの *Campylobacter* 検出状況

市販鶏肉等132検体についての直接分離法あるいは増菌分離法からの検出状況を表2に示した。直接分離法での検出率は鶏内臓が22.2% (6/27)、鶏肉が7.4% (4/54)、鶏皮が44.4% (4/9)、腸内容物が100% (3/3)であり、腸内容物を除いた平均検出率は15.6% (14/90)であった。増菌分離法での検出率は鶏内臓が82.6% (19/23)、

表3. 鶏肉等から検出された血清型 (Penner)

血清型: 菌株数	
B群: 6	V群: 2
C群: 5	Y群: 5
D群: 5	Z ₆ 群: 1
E群: 4	Z ₈ 群: 1
F群: 3	C群, D群: 1
G群: 1	D群, K群: 1
K群: 1	D群, N群: 1
L群: 1	E群, U群: 1
N群: 2	U群, Z群: 2
P群: 7	型別不能: 6
U群: 2	
合計	198

鶏肉が81.0% (51/63)、鶏皮が80.0% (12/15)、腸内容物が100% (10/10)であり、腸内容物を除いた平均検出率は81.2% (82/101)であった。検出された菌種は直接分離、増菌分離共に全て *C. jejuni* であった。また、直接分離で *C. jejuni* が検出された17検体の1g中の菌数は、10²台だったものが13検体と半数以上であったが、鶏内臓のうち2検体が10³台、腸内容物のうち2検体が10⁴台以上であった。(表4)

3. 検出された *Campylobacter* の血清型別

食中毒由来株及び鶏肉等由来株の血清型別状況を表1、表3に示した。表1に示すように3件の食中毒から検出された計77株の *C. jejuni* のうち血清型別可能だったのは61株で、型別率は79.2%であった。No. 1の事例では血清型のN群が4名の患者検便及び参考品の鶏肉から共通して検出された。しかし、No. 2, No. 3の事例では検出された株に血清型の共通性は認められなかった。事例 No. 2では30名の患者検便から優勢に検出された血清型はO群であったが、加えてL群, Z₆群, 型別不能株の少なくとも計4種の血清型が検出され、少なくとも5名の患者検便からは複数の血清型が検出された。事例 No. 3では2名の患者検便からD群, R群の2種の血清型がそれぞれに検出された。

また、表3に示すように132検体の市販鶏肉等から検出された計198株の *C. jejuni* のうち129株が20血清型に型別され、型別率は65.2%であった。

表4. 鶏肉等から直接分離法で検出された *C. jejuni* の菌数分布

検査部位	100 ~ 500 未満	500 ~ 1000 未満	1000 ~ 10000 未満	10000 以上 (CFU/g)
内臓	4		2	
鶏肉	2	2		
皮	2	2		
腸内容物		1		2

20検体(21.7%)からは複数の血清型が検出された。検出頻度の高かった血清型はD群(52株), U群(22株), K群(12株), P群(7株), B群(6株), C群(5株), Y群(5株)の順であった。また, 複数の血清型に型別されたものが5株あった。

IV 考 察

今回の調査で市販の鶏肉等からの *Campylobacter* 検出率は増菌分離法で平均81.2%であった。この結果は1988年の伊藤らの報告⁴⁾ 77.2%とほぼ同様の結果であり市販鶏肉への *Campylobacter* 汚染が約10年以前と同レベルで続いていることが示唆された。特に直接分離法で *C. jejuni* が検出された鶏肉等は1g中の菌量が100 CFUを越えるものであり, *Campylobacter* 食中毒の汚染原となる危険性が高い食品と考えられる。他の食品への二次汚染の可能性を考えるとこのような高度の汚染は避けられるべきであり, 食鳥処理段階でのさらなる衛生的な取り扱いが望まれる。と同時に, 調理場においても他の食品への二次汚染防止に十分留意することが必要である。鶏腸内容物については全ての検体から *C. jejuni* が検出されたが, 秋山らの報告⁵⁾ によると食鳥の *Campylobacter* 汚染率は養鶏場によって大きく異なっていたとの結果が示されており, 流通する鶏肉等の汚染実態調査にあたっては, 可能な限り流通経路をさかのぼった調査が必要であると考えられた。

市販鶏肉等から検出された *C. jejuni* は少なくとも20血清型に型別され, 高率な汚染と共に多種類の血清型による汚染が明らかとなった。食中毒事例についても3事例からそれぞれ異なる血清型が検出され, *C. jejuni* による食中毒には様々な血清型が関与していると推察された。市販鶏肉等から検出された株の血清型別率は65.2%, 食中毒由来株の血清型別率は79.2%と今まで

の報告^{4, 6)} とほぼ同様の値であり, 特に市販鶏肉等の汚染実態調査では十分な型別率とは考えられなかった。原田らは Penner 法, Lior 法を組み合わせることで型別率を向上させ得ることを報告しているが⁶⁾, 現時点では Lior 法の抗血清が市販されていないため実用的ではないであろう。また, 市販の Penner 法による血清セットには一部省かれている血清型があるのでこれら血清型の追加を望みたい。

検出された血清型については, 市販鶏肉等から検出頻度が高かったD群, U群, K群等の血清型が食中毒の主たる原因血清型になっているといった傾向は認められなかった。ただ, 食中毒事例 No.2 で患者検便から優勢に検出された血清型O群は胃腸症状などの前駆症状の後に筋力低下が急速に発症・進行する末梢神経障害の Guillain-Barre' 症候群との強い関連性が指摘されている血清型⁷⁾ であった事が留意された。

また, 3件の食中毒事例中2事例から複数の血清型が検出されたことは, 食中毒発生時に他の食中毒菌では一般的になっている血清型の一致による原因食品や原因施設等の特定が容易ではないことを意味している。Lindらの報告⁸⁾ の中には患者らから5種の血清型が検出された集団発生例がある。また, 伊藤らは39事例の *Campylobacter* 食中毒のうち28事例から複数の血清型を検出している⁹⁾。このような複数の血清型による食中毒が発生する原因としては, 今回の調査からも明らかのように鶏肉が大変高率に *Campylobacter* に汚染されていること, しかも複数の血清型による汚染も高率であること, 少量菌で感染することなどが考えられる。一方, No.2の事例では複数検出された血清型の中ではO群が半数以上の患者から検出されており, 同様の結果が Lindらの報告にもあることから, 1事例中に複数検出される血清型の中にも常に優勢な血清型が存在する傾向があるのかもしれない。

以上のような理由から *Campylobacter* による食中毒に

については常に複数の血清型が関与している可能性を念頭に置く必要がある。さらに、血清型別を食中毒発生時の疫学マーカーとして用いるためには可能な限り多くの検体を集め、1検体から多数の株を分離してその事例内における血清型の分布状況を把握することが必要であり、詳細な菌株の検索を実施することにより疫学上有用な情報を得ることができるものと考えられた。

文 献

- 1) 仁科 徳啓, 他: 鶏ささ身を原因食品と推定した *Campylobacter jejuni* による集団食中毒, 静岡県衛生環境センター報告, 28, 63 ~ 67, 1985
- 2) Lior, H. et al.: Serotyping of *Campylobacter jejuni* by slide agglutination based on heatlabile antigenic factors, *J. Clin. Microbiol.*, 15, 761 ~ 768, 1982
- 3) Penner, J. L. and Hennessy, J. N.: Passive hemagglutination technique for serotyping *Campylobacter fetus* subsp. *jejuni* on the basis of soluble heat-stable antigens, *J. Clin. Microbiol.*, 12, 732 ~ 737, 1980
- 4) 伊藤 武, 他: 市販食肉及び食肉店舗や食鳥処理場の環境における *Campylobacter* の汚染状況ならびに分離菌株の血清型別に関する研究, 感染症誌, 62, 17 ~ 24, 1988
- 5) 秋山 真人, 他: 県下における食鶏の *Campylobacter jejuni* 汚染実態調査, 静岡県衛生環境センター報告, 28, 1 ~ 6, 1985
- 6) 原田 誠也, 他: 下痢症由来 *Campylobacter* の血清型別に関する研究 (第2報), 熊本県衛生公害研究所報, 23, 21 ~ 24, 1994
- 7) 結城 伸泰: *Campylobacter jejuni* と Guillan-Barre 症候群, メディヤサークル, 38, 193 ~ 199, 1993
- 8) Lind, L. et al.: DNA fingerprinting and Serotyping of *Campylobacter jejuni* Isolates from Epidemic Outbreaks, *J. Clin. Microbiol.*, 34, 892 ~ 896, 1996
- 9) 伊藤 武, 他: カンピロバクターの血清型別試験, 臨床と微生物, 15, 88 ~ 96, 1988