

資料

鶏肉のカンピロバクター検出法の検討

大石 明・前田詠里子・江藤良樹・濱崎光宏・村上光一・堀川和美

鶏肉からの簡便かつ効率的なカンピロバクターの検出を行うため、食品衛生検査指針法(指針法)、カンピロバクター・ジェジュニ/コリ標準試験法(標準試験法)及び市販のカンピロープレストン/225(カンピロ 225 法)の増菌培養法 3 法について、比較検討した。各増菌培養法のカンピロバクター検出率は、カンピロ 225 法が 75%、標準試験法が 65%、指針法が 50%であった。また、増菌培養時間については、指針法は 24 時間、48 時間でそれぞれ 40%、50%、カンピロ 225 法はそれぞれ 60%、65%であった。しかし、標準試験法の 24 時間培養は 65%、48 時間培養は 55%で 48 時間培養の方が検出率は低かった。

[キーワード :カンピロバクター、食品検査、増菌培養時間、鶏肉]

1 はじめに

カンピロバクター・ジェジュニ/コリ(以下、カンピロバクター)による食中毒は、近年、わが国で発生している食中毒事例の中で、発生件数が最も多い(厚生労働省ホームページ、平成 24 年食中毒発生状況 <http://www.mhlw.go.jp>)。家禽、特にニワトリはカンピロバクターの主要な保有宿主となっており、鶏肉はカンピロバクター食中毒の原因食品の一つである¹⁾。食品衛生検査指針微生物編 2004²⁾の損傷菌を対象とした検査法は、食品 25g に増菌培地 100mL を加えスタマック後、その 10mL を中試験管に採り、馬脱繊維血液を 0.5mL 添加する(以下、指針法)。しかし、食品からの微生物標準試験検討委員会 (<http://www.nihs.go.jp/fhm/kensa/CampyloNIHSJ-02-ST3.pdf>) で示された標準試験法(以下、標準試験法)では、食品 25g に増菌培地 100mL を加えて培養する別の方法が提案されている。また、ISO(International Organization for Standardization) や FDA(U.S. Food and Drug Administration) ではさらに別の方法が採用されている。

今回、県内で市販されている鶏肉を用いて、指針法及び標準試験法に準じた増菌培養法、また、市販されている“カンピロープレストン/225(以下、カンピロ 225 法)”について比較検討を行った。

2 方法

2・1 検体

平成 24 年 7 月 22 日に、福岡県内のスーパー等で購入した国産鶏肉(もも肉、むね肉及びささみ) 20 件を

対象とした。

2・2 検査方法

【増菌法】

① 指針法: ストマッカー袋に検体を 25 g 入れ無血プレストン培地(NUTRIENT BROTH No. 2 にサプリメント(SR117 及び SR84) を添加) を 100 mL 加え、30 から 60 秒ストマッカー後、混和液を滅菌中試験管に 10 mL 移し、馬血液を 0.5 mL 添加した。培養は、微好気培養下で 30℃ の 2 時間、37℃ の 3 時間、42℃ で 19 時間または 43 時間行った。② カンピロ 225 法: 検体 25 g を“カンピロープレストン/225(日研生物医学研究所社製)”に採取し、滅菌精製水 210 mL を分注し空気を追い出すようにしながら、スライドチェックを閉じた。サプリメント及び馬浴血液の小袋を摘んで潰した後、手指にて 30 秒間程度のみ洗いした。その後、好気培養下で 42℃、24 時間または 48 時間培養を行った。③ 標準試験法: ① 及び ② と同様に検体を採取し、プレストン培地 100mL 加え、1 分間スタマックした。培養は、好気条件で 42±1℃、24 時間または 48 時間行った。

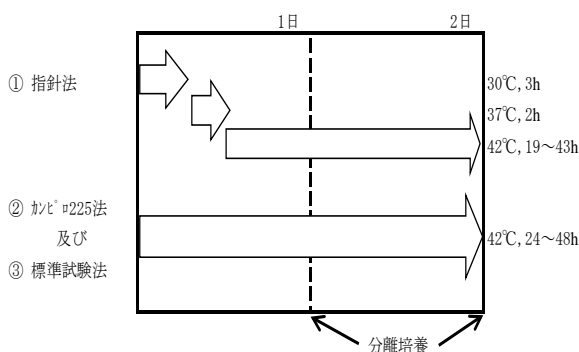


図 3法における増菌培養時間

【分離培養法】

指針法及びカンピロ 225 法の分離培地には、mCCDA 培地 (Oxoid 社製) とスキロー培地 (栄研化学社製) を使用し、標準試験法の分離培地は、mCCDA 培地とバツラー培地 (Oxoid 社製) を使用した。培養は、微好気条件で $42 \pm 1^\circ\text{C}$ 、48 時間行った。

【同定】

いずれかの培地でカンピロバクターを疑う集落があった場合には、その集落を馬血液寒天培地 (日水製薬社製) に純培養し、生化学性状⁴⁾、菌形態⁴⁾及びWangら⁵⁾のプライマーを用いたPCR法によりカンピロバクターの同定を行った。

3 結果及び考察

各増菌培養法における増菌時間のカンピロバクター検出結果を表 1 に示した。分離培地別のカンピロバクター検出率は、指針法及びカンピロ 225 法のスキロー培地及び mCCDA 培地がカンピロ 225 法で 24 時間のみ mCCDA 培地が 50.0%、スキロー培地が 25.0%と検出率の違いが見られた。一方、標準試験法に用いたバツラー培地と mCCDA 培地の検出率は大差なかった。

増菌培養時間では、指針法及びカンピロ 225 法では 24 時間より 48 時間の方が検出率は同じもしくは高かったが、標準試験法では検出率は低かった。このことは、24 時間培養と 48 時間培養の両方で分離塗抹を行わなければカンピロバクターを見落としてしまう危険性が示唆された。今後、カンピロバクターの増菌時間について、更なる検討が必要であると考えられた。

次に、3 法におけるカンピロバクターの検出結果を表 2 に示した。指針法では、20 検体中 10 検体 (50.0%) 検出され、*Campylobacter. jejuni* 8 件、*C. coli* 2 件であった。カンピロ 225 法は、20 検体中 15 検体 (75.0%) 検出され、*C. jejuni* 14 件、*C. coli* 1 件であった。標準試験法は、20 検体中 14 検体 (70.0%) 検出され、*C. jejuni* 12

件、*C. coli* 1 件、*C. lari* 1 件であった⁶⁾。20 検体中 18 検体 (90.0%) がいずれかの方法によりカンピロバクターが検出された。指針法がカンピロ 225 法及び標準試験法より検出率が低かった理由としては、カンピロ 225 法及び標準試験法は増菌培養が終了するまで検体が増菌培養液にそのまま浸漬されているため、カンピロバクターを効率的に増菌できたと推測された。

今回検討した 3 つの検査方法について、カンピロバクターの検出率を検討したが日常検査に導入するためには、操作性及びコスト面も考慮し検討する必要があると考えられた。

なお、本研究の一部は平成 24 年度厚生労働科学研究費補助金 (食品の安全確保推進研究事業) H22-食品一般-012 により実施した。

4 文献

- 1) O. Sahin, T Y. Morishita and Q. Zhang. *et al.*: *Animal Health Research Reviews*, 3, 95-105, 2002.
- 2) 伊藤 武: 食品衛生検査指針微生物編, 第 4 版, p116, 2004, (社団法人日本食品衛生協会, 東京).
- 3) 食品からの微生物標準試験法検討委員会, カンピロバクター・ジェジュニ/コリ標準試験法 (ステージ 3: コラボ案) <http://www.nihs.go.jp/fhm/kensa/CampyloNIHSJ-02-ST3.pdf>.
- 4) 石井宮次: 防菌防黴, 29, 667-673, 2001.
- 5) G. Wang, C G. Clark and T M. Taylor, *et al.*: *J. Clinical Microbiol.*, 40, 4744-4747, 2002.
- 6) 黒木俊郎: 厚生労働科学研究費補助金 食品の安全確保推進研究事業 食品中の有害衛生微生物を対象としたライブラリーシステム等の構築, 平成 24 年度 総括・分担研究報告書, 109-116, 2012.

表 1 各増菌培養法における増菌時間別のカンピロバクター検出結果

検体 番号	材料	指針法				カンピ [®] 225法				標準試験法 ⁶⁾					
		24h		48h		24h		48h		24h		48h			
		スロー	mCCDA	スロー	mCCDA	スロー	mCCDA	スロー	mCCDA	パツラー	mCCDA	パツラー	mCCDA		
1	モモ	- ¹⁾	-	+ ²⁾	-	-	-	+	-	-	-	-	-		
2	切身	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-		
3	もも・むね	-	-	-	-	-	+	-	+	+	+	+	-		
4	ムネ肉	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+		
5	ささみ	-	-	-	-	-	-	+	-	-	+	-	+		
6	ササミ	-	+	+	+	+	-	+	-	+	-	+	-		
7	もも肉	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-		
8	ムネ肉	-	+	+	+	-	+	-	+	+	+	+	+		
9	もも肉	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+		
10	モモ肉	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-		
11	もも肉	+	+	+	+	-	+	-	+	+	+	-	+		
12	もも肉	-	-	-	-	-	+	-	+	-	-	-	-		
13	ささみ	-	-	-	-	-	+	-	-	+	+	+	+		
14	もも肉	-	-	+	+	+	-	-	-	+	+	-	-		
15	ムネ身	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-		
16	ムネ肉	+	-	+	+	-	-	-	-	-	+	-	-		
17	モモ	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+		
18	ムネ身	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+		
19	切身	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+		
20	もも切身	+	-	+	+	-	-	-	+	-	+	- ³⁾	+	+	+
時間・培地別検出数		5	6	10	9	5	10	8	10	11	13	8	9		
時間別総合検出数		8		10		12		13		13		11			

- 1) 不検出
 2) 検出
 3) *Campylobacter lari*

表 2 各検査法における検出結果

検体 番号	材料	指針法		カンピ [®] 225法		標準試験法 ⁶⁾	
		24h	48h	24h	48h	24h	48h
1	モモ	陰性	<i>C. coli</i>	陰性	<i>C. jejuni</i>	陰性	陰性
2	切身	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性
3	もも・むね	陰性	陰性	<i>C. jejuni</i>	<i>C. jejuni</i>	<i>C. jejuni</i>	<i>C. jejuni</i>
4	ムネ肉	<i>C. jejuni</i>	<i>C. jejuni</i>	<i>C. jejuni</i>	<i>C. jejuni</i>	<i>C. jejuni</i>	<i>C. jejuni</i>
5	ささみ	陰性	陰性	陰性	<i>C. jejuni</i>	<i>C. jejuni</i>	<i>C. jejuni</i>
6	ササミ	<i>C. jejuni</i>	<i>C. jejuni</i>	<i>C. jejuni</i>	<i>C. jejuni</i>	<i>C. jejuni</i>	<i>C. jejuni</i>
7	もも肉	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性
8	ムネ肉	<i>C. jejuni</i>	<i>C. jejuni</i>	<i>C. jejuni</i>	<i>C. jejuni</i>	<i>C. jejuni</i>	<i>C. jejuni</i>
9	もも肉	陰性	陰性	<i>C. jejuni</i>	<i>C. jejuni</i>	<i>C. jejuni</i>	<i>C. jejuni</i>
10	モモ肉	陰性	陰性	<i>C. coli</i>	陰性	陰性	陰性
11	もも肉	<i>C. jejuni</i>	<i>C. jejuni</i>	<i>C. jejuni</i>	<i>C. jejuni</i>	<i>C. jejuni</i>	<i>C. jejuni</i>
12	もも肉	陰性	陰性	<i>C. jejuni</i>	<i>C. jejuni</i>	陰性	陰性
13	ささみ	陰性	陰性	<i>C. jejuni</i>	陰性	<i>C. jejuni</i>	<i>C. jejuni</i>
14	もも肉	陰性	<i>C. jejuni</i>	<i>C. jejuni</i>	陰性	<i>C. jejuni</i>	陰性
15	ムネ身	陰性	陰性	陰性	<i>C. jejuni</i>	陰性	陰性
16	ムネ肉	<i>C. jejuni</i>	<i>C. jejuni</i>	陰性	陰性	<i>C. jejuni</i>	陰性
17	モモ	<i>C. jejuni</i>	<i>C. jejuni</i>	<i>C. jejuni</i>	<i>C. jejuni</i>	<i>C. jejuni</i>	<i>C. jejuni</i>
18	ムネ身	<i>C. coli</i>	<i>C. coli</i>	<i>C. jejuni</i>	<i>C. jejuni</i>	<i>C. coli</i>	<i>C. coli</i>
19	切身	陰性	陰性	陰性	陰性	<i>C. jejuni</i>	<i>C. jejuni</i>
20	もも切身	<i>C. jejuni</i>	<i>C. jejuni</i>	陰性	<i>C. jejuni</i>	(<i>C. lari</i>)	(<i>C. lari</i>)
時間・培地別検出数		8	10	12	13	13	11
時間別総合検出数		10		16		13	