

資料

鶏肉のサルモネラ汚染調査（収去試験等のまとめ） H11-23年（1999-2010年）

村上光一・江藤良樹・野田多美枝*・長野英俊**・

小野塚大介†・世良暢之・藤本秀士†

この研究の目的は福岡県における鶏肉のサルモネラ汚染状況を明らかにすることである。調査は二段階に分かれる。第一段階は、収去試験等により 1999 年から 2010 年の間、281 の小売店から集めた鶏肉、あるいは鶏肉加工食品（以下、鶏肉製品とする）458 試料を対象とした。第二段階は、4つの小売店から集めた鶏肉製品 85 試料を調査対象とした。第一段階では、45.2% (198/438) の鶏肉製品からサルモネラが検出された。これらの結果の一部は、私共の既報 ”Noda *et al.*, PLoS ONE 10(2): e0116927. doi:10.1371/journal.pone.0116927, 2015” から引用した。第二段階では 54.1% の試料からサルモネラが検出された。血清型では *Infantis* が多くを占めた（第一段階分離株の 55.2% を、第二段階では分離株の 30.8% を占めた）。

[キーワード：サルモネラ、鶏肉]

1 はじめに

鶏肉の非チフス性サルモネラ汚染は重要な公衆衛生上の問題である^{1,2)}。鶏肉製品はサルモネラのヒトへの重要な感染源であるからである^{3,4)}。市販鶏肉製品のサルモネラ汚染率を知ることは、サルモネラ症を防止するうえでも重要である。諸外国では、市販食品のサルモネラ汚染に関して、多種の研究がおこなわれている⁵⁾、しかし、本邦での検討は少ない⁶⁾。そのため公衆衛生、これらの研究は必要である。

鶏肉製品を汚染するサルモネラ血清型は地域により多様である。例えば *Salmonella enterica* subsp. *enterica* serovar (S.) *Enteritidis* は韓国 (2011 年)⁷⁾、スペイン (1999 年)⁸⁾ あるいはアルバニア (1996-1998 年)⁹⁾ で優勢であった。S. *Anatum* は北部ベトナム (2007-2009 年)¹⁰⁾ で優勢な血清型である。いくつかの血清型は、特徴的な性状を示す。

例えば、S. *Enteritidis* は、日本では鶏卵に関係し¹⁾、S. *Newport* は、世界的にスプラウトを汚染することがある (Center for Disease Control and Prevention, <http://www.cdc.gov/salmonella/newport/>, 2013 年 12 月アクセス)。各国において鶏肉を汚染する主な血清型の特徴を理解することは、重要である。それゆえ、本研究の目的は福岡県における鶏肉製品のサルモネラ汚染状況を明らかにし、加えて、優勢な血清型の趨勢を明らかにすることである。

2 材料と方法

2・1 第一段階調査

第一段階では計 458 サンプル（鶏肉及びその加工品、以下鶏肉製品とする）を検査した（表 1）。これらのサンプルは福岡県で採取された。1999 年に 34、2000 年に 35、2001 年に 36、2002 年に 33、2003 年に 39、2004 年に 35、2005 年に 40、2006 年に 40、2007 年に 40、2008 年に 48、2009 年に 47、そして、2010 年に 31 試料を検査した。これらの試料は、福岡県内 15 地域の 281 の小売店（スーパーマーケットや精肉店）から福岡県の 13 保健所（当時）の食品衛生監視員により採取されたものである。これらの採材は、福岡県により定められた食品衛生監視指導計

福岡県保健環境研究所（〒818-0135 太宰府市大字向佐野 39）

*福岡県北筑後保健福祉環境事務所

（〒839-0861 福岡県久留米市合川町 1642-1）

**福岡県田川保健福祉事務所

（〒825-0002 福岡県田川市伊田 3292-2）

†九州大学医学研究院

（〒812-8582 福岡県福岡市東区馬出 3-1-1）

画に基づいてなされたものである (http://www.pref.fukuoka.lg.jp/uploaded/life/58/58308_misc1.pdf, in Japanese, accessed in May, 2013)。試料は小売店で採取されクーラーボックスに入れられ福岡県保健環境研究所に運搬され 6 時間以内に検査に供せられた。福岡県の人口は 4,967,686 人 (2000 年当時)、この採材地域 (15 地域) の人口は、2,540,923 人 (2000 年当時) であり、調査地域では 2,812 の肉類販店があった (2004 年当時)。

2・2 第二段階調査

第二段階調査として、市販第一段階調査で 4 軒の小売店を調査対象とし、鶏肉製品のサルモネラ汚染についてさらに調査した。第一段階の調査にて、小売店 Ya-03 は、4 試料中 3 試料からサルモネラが分離され、Ya-18 は、2 試料中 2 試料からサルモネラが分離され、比較的高いサルモネラ陽性率を示した。一方、小売店 Ch-40 は、3 試料検査したがサルモネラは分離されず、Ch-17B は、3 試料中 1 試料からサルモネラが分離され、やや低いサルモネラ陽性率を示した。小売店 Ya-03 及び Ch-40 は、独立店舗であり、他の 2 店はスーパーマーケットの精肉部門である。それゆえ、第二段階調査では、2009 年から 2010 年にかけて、20 または 25 の鶏肉製品をこれら 4 店舗から著者が各 4 回あるいは 5 回、採取し (買い取り) (計 85 試料) これら 4 店舗での鶏肉製品のサルモネラ汚染状況を調査した (表 3)。2011 年 3 月、小売店 Ch-17B 及び Ya-03 in May の 10 試料についてサルモネラの最確数を検査した。

2・3 第一段階調査での検査法

試料は培養法によりサルモネラを検査した。25 g を 225 ml の buffered peptone water (BPW, Oxoid Ltd., Basingstoke, UK) に入れ、ストマカー (Oxoid Ltd., Basingstoke, UK) で 1 分間処理した。その後、35°C にて 18 時間培養した。培養物 0.5 ml を 10 ml の Rappaport-Vassiliadis enrichment broth (Oxoid Ltd.) 及び 10 ml の tetrathionate broth (Oxoid Ltd.) に加え培養した (1999 年の研究開始時より 2006 年 9 月 24 日まで)。なおこの方法で検査した試料数は $n = 282$ である。2006 年 9 月 25 日より 2010 年の研究終了時まで、上記方法の中で、BPW 培養物を Rappaport-Vassiliadis enrichment broth には 0.1 ml、tetrathionate broth には 1 ml 加えた。なおこの方法で検査した試料数は $n = 176$ である。方法の変更は、Japanese standard method NIHSJ-01 (National Institute of Health Science, <http://www.nihs.go.jp/fhm/kennsahou-index.html>, accessed in August 2012) に準拠したものである。これらの選択培地は、42°C にて 18 h 培養した。その後、それぞれの培養物を

SMID agar (bioMérieux, Lyon, France) 及び XLT4 agar plate (BD Diagnostic Systems, Sparks, MD, USA) 各 1 枚に画線、培養した (35°C、18–48 時間) (1 試料あたり計 4 枚の寒天平板培地使用)。これらの寒天平板培地中、1 試料あたり 1–4 のサルモネラと考えられる集落を釣菌し生化学性状等を検査⁵⁾しサルモネラと同定した。但し、2009 年の 10 月から 12 月にかけては、分離寒天平板として CHROMagar *Salmonella* (Chromagar, Paris, France) 及び DHL 寒天培地 (栄研化学、東京) を使用した (この措置は、NIHSJ-01 の改正に準拠したものである)。分離株は、市販抗血清 (Denka Seiken Co., Tokyo, Japan) により血清型別した。

2・4 第二段階調査での検査法

検査は第一段階調査の方法のうち選択増菌培地が異なる。すなわち、1 試料あたり 10 ml の Rappaport-Vassiliadis 2 本を用い tetrathionate broth は用いなかった。

2・5 統計解析

統計解析は SAS Software, version 9.1.3 (SAS Institute Inc., Cary, NC, USA) を用いた two-sample tests for proportions によった。 $P < 0.05$ にて有意差ありとした。

3 結果

3・1 第一段階調査

鶏肉製品の一部 (198/438, 45.2%) およびその加工品の一部 (3/20, 15%) はサルモネラに汚染されていた (表 1、図 1)。加工品のタタキ (ブロイラーの親鳥から通常は作られ周囲が炙ってある) (図 1) は、15% のサルモネラ汚染率であった。鶏の刺身はブロイラーの親鳥を処理して作られるがこれはサルモネラの汚染が認められなかった (0/8)。3 サンプル以上を検査した小売店でのサルモネラ陽性サンプルの割合は多岐にわたった (0/4–3/4, 0%–75%)。表 2 に 4 サンプル以上を検査した 12 のスーパーマーケット・チェーンの成績を示す (支店の成績をチェーンとして纏めたものである)。スーパーマーケット・チェーン K 及び L は、A 及び B に比較して有意に低いサルモネラ汚染サンプル率を示した ($P < 0.05$)。

血清型で比べると、*S. Infantis* は、鶏肉製品中 最も優勢な血清型であった。それに続いて *S. Manhattan* 及び *S. Schwarzengrund* が優性であった (図 1)。*S. Infantis* は、サルモネラが分離されたすべてのスーパーマーケット・チェーンで分離株として記録されたが、*S. Manhattan* あるいは *S. Schwarzengrund* は、サルモネラ陽性のスーパーマーケット・チェーンのすべてで分離されたわけではなかった

(表2)。なおこれらの結果の一部には、すでに既報に発表している部分がある¹¹⁾。

3・2 第二段階調査

サルモネラは 54.1% (46/85) の試料から分離された。試料からのサルモネラ分離率を比較すると小売店 Ch-17B は小売店 Ya-03 より有意に検出率が低かった ($P < 0.05$) (表3)。最確数では、公衆衛生上問題となるとされる 1 CFU/g¹²⁾(Uyttendaele et al. 2009) を超えるものは 19 試料中 1 試料であった。血清型 *Infantis* は、優勢な血清型で (30.8%)、4店舗すべてから分離された。一方、血清型 *Schwarzengrund* は 1 店舗からは分離されなかった (表3)。

4 考察

この研究では 2 つの主発見があった。まず、鶏肉製品のサルモネラ汚染に関しては、特定のスーパーマーケット・チェーン (複数店舗を纏めてのチェーン) あるいは精肉店において、有意に汚染率が低いものがあった。第2に 45.2% の鶏肉製品がサルモネラに汚染されていたが、主な血清型は *S. Infantis* 及びそれに続く *S. Manhattan* あるいは *S. Schwarzengrund* であった。この汚染率 (45.2%) は、従来の報告の中でも比較的高いものであった。米国 4.2% (9/212) (1999年–2000年)¹³⁾、中国 15.8% (19/120) (2005年)¹⁴⁾、韓国 22.4% (47/210) (2011年)⁷⁾、日本 24.1% (69/286) (試料採取時期不記載)¹⁴⁾、私共の過去の調査 37.8% (34/90) (1995–1998年)⁵⁾、オーストラリア 38.8% (138/356) (2008年)¹⁶⁾、スペイン 40% (6/15) (chicken portions) (試料採取時期不記載)¹⁷⁾、ベトナム 42.9% (115/268) (2007–2009 年)¹⁰⁾ 及びポルトガル 60% (36/60) (1999年)¹⁸⁾。もちろん過去の研究と比較するときにはいくつかの要素を考慮に入れる必要がある。例えば、由来、採取年代・時期、鶏の年齢、採材の仕方等等である^{18,19)}。そのため、私共のデータを過去のデータと単純に比較することはできない。とはいえ、私共は今回の鶏肉製品のサルモネラ汚染率 (45.2%) が他の報告と比較して低いものであるとは考えられない。

S. Infantis は鶏肉のサルモネラ汚染の要石である。一般的に、養鶏場における主要血清型は経年的に変化するものである³⁾。しかし、*S. Infantis* は 1995 年から福岡県の鶏肉における主要血清型であり続けており⁵⁾、変化を示す他国の報告とは異なっていた^{7,8)}。日本では、*S. Infantis* は、鶏肉製品を介してヒトに感染することがあり⁴⁾、サルモネラ症患者の 6.3% (9/144) を占めていました²⁾。この血清型はサルモネラを保菌する食品取扱者の保菌血清の 48.1% (51/106) を占めていた²⁾、そして、西日本の養鶏場の汚染サルモネラの多くを占めていた⁵⁾。この血清型を養鶏場に

て減少させることが鶏肉のサルモネラ汚染を減少させることにつながると考えられる。

5 まとめ

鶏肉及びその加工品には、多くの種類があるにもかかわらず、*S. Infantis* は、福岡県にて販売される鶏肉及びその加工品を多く汚染していた。この血清型が非常に長い間鶏肉製品を汚染し続ける要因、あるいは特定の小売店でサルモネラ汚染率が有意に低い要因を明らかにすることが鶏肉のサルモネラ汚染を減少させるうえで重要である。

謝辞

この研究の一部は、文部科学省、日本学術振興会 科学研究費 Grant No. 24590846 及び大同生命厚生事業団 地域保健福祉研究助成により行った。福岡県の実食衛生監視員の皆様にお礼申しあげる。加えて福岡県保健環境研究所病理細菌課に在籍された皆様にお礼申しあげる。

文献

- 1) T Humphrey: Public health aspects of *Salmonella enterica* in food production. In: *Salmonella infections, clinical, immunological and molecular aspects*. Cambridge: Cambridge University Press. pp. 89-116, 2006.
- 2) K. Murakami et al.: *New Microbiologica* 30: 155-159, 2007.
- 3) FAO and WHO *Salmonella and Campylobacter in chicken meat. Microbiological risk assessment series*. Geneva: WHO Press. pp. 51, 2009.
- 4) T Noda et al.: *Foodborne Pathog. Dis.* 7: 727-735, 2010.
- 5) K. Murakami et al.: *Epidemiol Infect* 126: 159-171, 2001.
- 6) W. A. Harrison et al.: Incidence of *Campylobacter* and *Salmonella* isolated from retail chicken and associated packaging in South Wales. *Lett Appl Microbiol* 33: 450-454, 2001.
- 7) M. S. Kim MS et al.: *Poult Sci* 91: 2370-2375, 2012.
- 8) C. Domínguez et al.: *Int J Food Microbiol* 72: 165-168, 2002.
- 9) E. Beli E et al.: *Int J Food Microbiol* 71: 263-266, 2001.
- 10) T. H. Thai et al.: *Int J Food Microbiol* 156: 147-151, 2012.
- 11) T. Noda et al., *PLoS ONE* 10(2): e0116927. doi:10.1371/journal.pone.0116927, 2015.
- 12) M. Uyttendaele et al.: *J. Food Protect.* 72, 2093-2105, 2009.
- 13) C. Zhao et al.: *Appl Environ Microbiol* 67: 5431-5436, 2001.

- 14) H. Tan *et al.*: Int J Food Microbiol 143: 230-234, 2010.
 15) M. Tokumaru *et al.*: Int J Food Microbiol 13: 41-46, 1990.
 16) E. Fearnley *et al.*: Int J Food Microbiol 146: 219-227, 2011.
 17) R. Capita *et al.*: Int J Food Microbiol 81: 169-173, 2003.

- 18) P. Antunes *et al.*: Int J Food Microbiol 82: 97-103, 2003.
 19) F Bryan, M. Doyle: J Food Prot 58: 326-344, 1995.

表 1 市販鶏肉製品中のサルモネラ（第一段階調査）

種類	内訳	サンプル数	サルモネラ陽性 試料数	血清型による分離株数			他の血清型		複数の血清型が分離 された試料数
				Infantis	Manhattan	Schwarzengrund	分離株数	血清型名及び株数	
鶏肉	計	438	198 (45.2%)						
	モモ 及び ムネ	3	3 (100.0%)	1	1	0	1	不明 (n = 1)	0
	ムネ	72	37 (51.4%)	22	7	3	6	Montevideo (n = 1), Untypeable (n = 5)	1
	手羽	4	2 (50.0%)	1	0	1	0		0
	モモ	56	28 (50.0%)	15	7	2	7	Enteritidis (n = 3), Eppendorf (n = 2), Jamaica (n = 1), Virchow (n = 1)	2*
	ササミ	17	8 (47.1%)	5	1	1	1	Virchow (n = 1)	0
	モモ 及び 手羽	1	0 (0.0%)	0	0	0	0		0
	ミンチ	73	33 (45.2%)	19	4	7	4	Corvallis (n = 2), Typhimurium (n = 1), Untypeable (n = 1)	1
	刺身†	8	0 (0.0%)	0	0	0	0		0
鶏肉加工品	記録なし	204	87 (42.6%)	52	11	10	18	Cerro (n = 1), Covallis (n = 1), Dankwa (n = 1), Enteritidis (n = 2), Eppendorf (n = 1), Haifa (n = 4), Typhimurium (n = 1), Untypeable (n = 7)	4
	タタキ	20	3 (15.0%)	1	0	0	2	Emek (n = 1), Untypeable (n = 1)	0
計		458	201 (43.9%)	116	31	24	39		8

*, 1 試料から 2 血清型と一つの型別不能株が分離された。

†, ブロイラー鶏の親鳥から作られた生のスライスである。

表2 スーパーマーケット・チェーン（5 試料以上を検査したチェーン）別に見たサルモネラが分離された鶏肉製品試料（第一段階）

スーパーマーケット・チェーン	検査対象の支店数	試料数	サルモネラ検出試料数		分離血清型			
					Infantis	Manhattan	Schwarzengrund	他の血清型
A*	3	5	4 (80.0%)		2	0	1	1
B†	5	9	6 (66.7%)		4	1	0	1
C	9	13	7 (53.8%)		6	1	0	0
D	8	9	4 (44.4%)		3	1	0	0
E	4	7	3 (42.9%)		0	1	2	0
F	6	12	5 (41.7%)		2	2	1	0
G	3	5	2 (40.0%)		0	0	1	1
H	3	5	2 (40.0%)		2	0	0	0
I	4	6	2 (33.3%)		0	0	0	2
J	3	7	2 (28.6%)		2	0	0	0
K	8	14	3 (21.4%)		3	0	0	0
L	3	8	1 (12.5%)		1	0	0	0
計	59	100	41 (41.0%)		25	6	5	5

*サルモネラの分離率はスーパーマーケット・チェーン A においてk 及び L より有意に高かった (P<0.05)。

†サルモネラの分離率はスーパーマーケット・チェーン B においてk 及び L より有意に高かった (P<0.05)。

表3 小売店におけるサルモネラ分離試料と最確数 (2010-2011) (第二段階調査)

小売店	試験した試料数	サルモネラ陽性試料数	5 試料における Most probable numbers (/g)	No. of isolates by serovar				複数の血清型が分離された試料数
				S. Infantis	S. Manhattan	S. Schwarzengrund	他の血清型	
Ya-03*	20	15 (75.0%)	<0.3, <0.3, <0.3, <0.3, 2.3	4	2	9	3	Agona (n = 1), Virchow (n = 1), Untypeable (n = 1) 3
Ch-40	20	13 (65.0%)	検査せず	4	3	6	1	Virchow (n = 1) 1
Ya-18	25	11 (44.0%)	検査せず	3	8	1	0	1
Ch-17B*	20	7 (35.0%)	<0.3, <0.3, <0.3, 0.36, 0.36	5	3	0	0	1
計	85	46 (54.1%)		16	16	16	4	6

*サルモネラの分離率は小売店 Ya-03 において、Ch-17B より有意に高かった (P<0.05)。

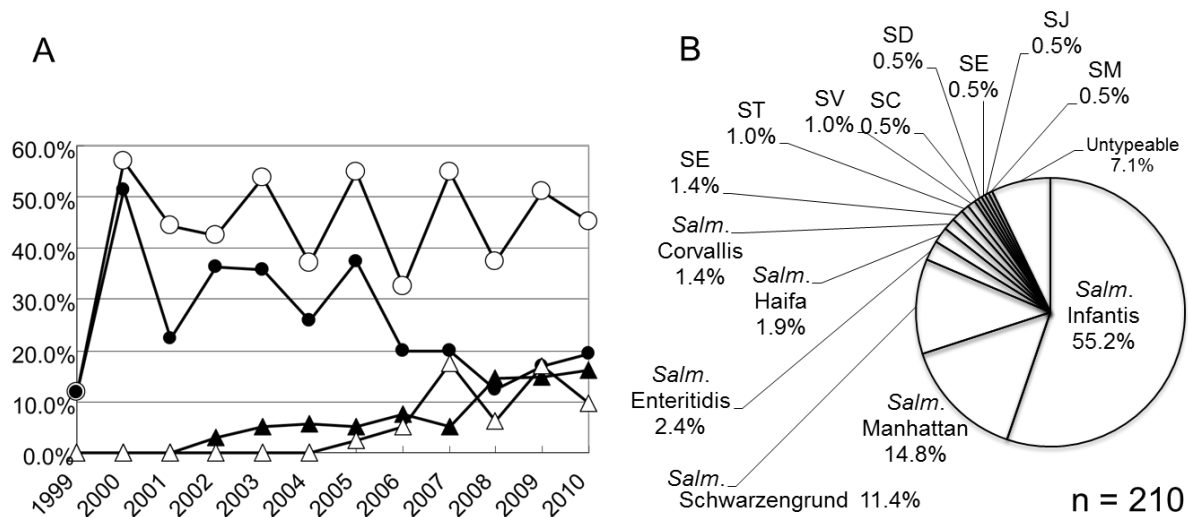


図1 (A) 鶏肉及びその加工品から分離されたサルモネラの血清型（年別）（第一段階調査）。白丸は試料のサルモネラ汚染率。黒丸はサルモネラ血清型 Infantis (*Salmonella enterica* subsp. *enterica* serovar Infantis) の汚染率。白三角は血清型 Schwarzengrund 黒三角は血清型 Manhattan のそれらである。(B) 鶏肉及びその加工品から分離された計 210 試料中のサルモネラ血清型の割合（第一段階調査）。SE, ST, SV, SC, SD, SE, SJ 及び SM は、血清型 Eppendorf、Typhimurium、Virchow、Cerro、Dankwa、Emek、Jamaica 及び Montevideoを表す。型別不能には、O 群型別不能 (n=7)、O4 群以下型別不能 O4 (n=1)、O7 群型別不能 (n=3)、O18:Z4,Z23:- 型別不能 (n=3) 及び O7:y:- 型別不能 (n=1) が含まれる。