

## と畜場搬入牛の肝臓、胆汁及び小腸からのカンピロバクター分離状況

愛媛県食肉衛生検査センタ - 岡崎 直仁、望月 昌三

### 1 はじめに

カンピロバクターは近年、細菌性食中毒原因菌のトップにランクされるようになり、人獣共通感染症起因菌としても重要な細菌になってきている。

*Campylobacter jejuni* (以下 *C.jejuni*)、*Campylobacter coli* (以下 *C.coli*) は牛の腸管内の他に肝臓実質や胆汁中にも多数保菌されているという報告があり、肝臓実質内に保菌された牛レバーが生食用食肉として提供された場合、食中毒の原因となる危険性が予測ある。また、処理工程においては、腸管の破損及び胆汁の漏出による枝肉・内臓等の二次汚染が懸念される。

今回、と畜場に搬入された牛について肝臓実質、胆汁及び小腸からのカンピロバクターの分離及びMPN法による菌の定量的調査を実施したので報告する。

### 2 材料及び方法

#### (1) 検体

##### 調査期間

平成 17 年 6 月から 8 月

##### 検体

と畜場に健康畜として搬入された 16 農場の牛 40 頭 (和牛 20 頭、ホルスタイン 20 頭) の小腸、肝臓実質及び胆嚢内胆汁を材料とした。肝臓は方形葉をエタノールで消毒 (表面) 後、約 50 g を採取した。胆汁は胆嚢表面をエタノールで消毒し、滅菌注射器にて 10ml 採取した。小腸は十二指腸を約 20 cm 採取した。

#### (2) 試料の調製

##### 肝臓試料の調製

肝臓表面を 70% エタノール及び火炎により殺菌後、内部から 10 g 秤量し、滅菌リン酸緩衝液 (以下 PBS) 90ml とともに 30 秒間ストマッカー処理したものを試料原液とした。

##### 胆汁試料の調製

胆汁 10ml と滅菌 PBS90ml を 30 秒間ストマッカー処理したものを試料原液とした。

##### 小腸試料の調整

小腸漿膜面を 70% エタノールで消毒後切開し、粘膜面を滅菌綿棒を用いて搔扱したものを試料とした。

#### (3) 分離・同定

##### 増菌培養

試料をプレストン培地 10ml に接種し、42 24 時間、微好気培養した。

##### 分離培養

スキロー培地に増菌培養した培地 1 エーゼを塗抹し、42 48 時間微好気培養した。

### 確認試験

スキロー培地上で灰白色・露滴様の集落をグラム染色し、グラム陰性コマ状から螺旋状の桿菌であることを確認後、スキロー培地及びミューラーヒントン培地で純培養した。その後、オキシダーゼ試験、カタラーゼ試験、馬尿酸加水分解試験、酢酸インドキシル加水分解試験及びナリジクス酸（以下 NA）、セファロシン（以下 CET）の薬剤感受性試験を実施し同定した。

### （4）定量試験（MPN 法 3 本法）

肝臓試料原液・胆汁試料原液 10ml を 2 倍濃度のプレストン培地 3 本に、プレストン培地 9ml に各試料原液の 1ml 及び 10 倍希釈試料液を 1 ml 加え、42 24 時間微好気培養で増菌培養した。スキロー培地に 1 エーゼ塗抹、42 48 時間微好気培養し、特徴的な集落から菌株を確認して陽性検体数から MPN 値を算出した。最終の希釈が陽性となった場合は、さらに冷蔵庫で保存していた試料原液を希釈し MPN 値を算出した。

## 3 結果

各個体における分離状況を表 1 に示した。

### （1）分離・同定

カンピロバクターは小腸 18 検体（45.0%）、肝臓 13 検体（32.5%）、胆汁 15 検体（37.5%）から検出された。

肝臓においては *C.jejuni* が 9 検体（22.5%）から、*C.coli* が 2 検体（5.0%）から、*C.upsaliensis* が 1 検体（2.5%）から検出された。また、1 検体（2.5%）からは *C.jejuni*、*C.coli* の 2 種類の菌が検出された。

胆汁では *C.jejuni* が 10 検体（25.0%）から、*C.jejuni*NA 耐性株が 2 検体（5.0%）から、*C.coli* が 6 検体（15.0%）から検出された。なお、2 検体（5.0%）からは *C.jejuni*、*C.coli*、1 検体（2.5%）から *C.jejuni*、*C.jejuni*NA 耐性株、1 検体（2.5%）から *C.jejuni*、*C.coli* の 2 種が検出された。

小腸においては *C.jejuni* が 7 検体（17.5%）から、*C.coli* が 8 検体（20.0%）から検出された。2 検体（5.0%）からは *C.jejuni*、*C.coli* の 2 種の菌が検出された（表 2）。

小腸、肝臓及び胆汁の全てからカンピロバクターが検出されたものは 9 検体（22.5%）で和牛が 5 検体、ホルスタインが 4 検体であった。そのうち、全てに共通して *C.jejuni* が分離されたものは 3 検体、*C.coli* が分離されたものは 1 検体であった（図 1）。

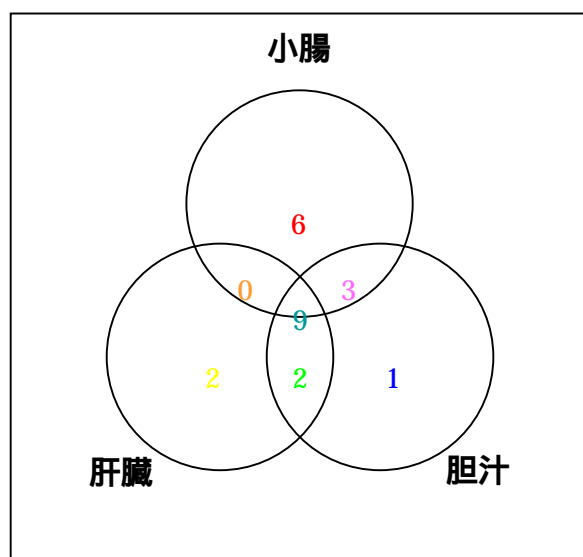


図 1 各部位におけるカンピロバクター分離状況

表1 カンピロバクター検出状況

No	農家	月齢	品種*	性別**	小腸からの分離	肝臓からの分離	MPN/100g	胆汁からの分離	MPN/100ml	肝疾患
1	A	31	B		+ J***	+	24000	+ J	24000	-
2	A	30	B		+	+ J	150	+ J, J-NA	24000	-
3	B	25	B		+ J	-	<30	-	<30	肝膿瘍
4	B	24	B		-	-	<30	-	<30	-
5	B	26	B		+ J, C	+ J	2400	+ J	24000	包膜炎
6	C	29	B		-	-	<30	-	<30	-
7	C	29	B		-	-	<30	-	<30	-
8	D	23	W		-	-	<30	-	<30	-
9	D	23	W		+ C	-	<30	-	<30	肝膿瘍、包膜炎
10	D	23	W		-	-	<30	-	<30	包膜炎
11	E	22	W		+ J	+ C	930	+ C	2400	-
12	E	22	W		+ C	+	2400	+ C	24000	-
13	E	22	W		-	-	<30	-	<30	-
14	E	22	W		+ J	+ J	24000	+ J	24000	-
15	E	23	W		+ C	-	<30	-	<30	-
16	F	30	B		+ C	-	<30	+ C, J-NA	30	肝炎
17	F	29	B		+ C	-	<30	-	<30	-
18	F	30	B		+ C	-	<30	+ C	70	-
19	G	22	W		+ C	-	<30	+ C	40	-
20	G	22	W		+ C	+ J, C	40	+ J, C	24000	-
21	H	24	W		-	-	<30	-	<30	-
22	H	23	W		-	+ J	930	+	4600	-
23	H	24	W		-	+ U	30	+	230	-
24	H	23	W		-	-	<30	-	<30	-
25	I	28	B		-	-	<30	-	<30	-
26	J	23	B		-	-	<30	-	<30	-
27	J	25	B		-	-	<30	-	<30	-
28	K	29	B		+ C	-	<30	-	<30	-
29	L	32	B		+	-	<30	-	<30	-
30	L	31	B		+	+ J	230	+ J, C	2400	-
31	M	23	W		-	+ J	930	-	<30	-
32	M	22	W		-	+ J	70	-	<30	肝炎
33	M	23	W		-	-	<30	-	<30	-
34	N	20	W		-	-	<30	-	<30	包膜炎
35	N	20	W		-	-	<30	-	<30	-
36	N	20	W		-	-	<30	-	<30	-
37	O	26	B		-	-	<30	+ J	2400	-
38	O	27	B		+ J	+ J	30	+ J	24000	肝炎
39	O	27	B		-	-	<30	-	<30	-
40	P	22	B		-	-	<30	-	<30	-

\* B:和牛, H:ホルスタイン \*\* :去勢, :メス \*\*\* J:C.jejuni, C:C.coli, U:C.upsaliensis, J-NA:C.jejuniNA 耐性株, 記載の無いものは菌株不明

表2 カンピロバクター検出状況

部位	和牛 (n = 20)			ホルスタイン (n = 20)			計 (n = 40)			
	小腸	肝臓	胆汁	小腸	肝臓	胆汁	小腸	肝臓	胆汁	
検出検体数	11 (55.0%)	5 (25.0%)	7 (35.0%)	7 (35.0%)	8 (40.0%)	8 (40.0%)	18 (45.0%)	13 (32.5%)	15 (37.5%)	
菌種	C.jejuni	5 (25.0%)	4 (20.0%)	5 (25.0%)	2 (10.0%)	5 (25.0%)	4 (20.0%)	7 (17.5%)	9 (22.5%)	9 (22.5%)
	C.jejuni NA 耐性株	0 (0%)	0 (0%)	2 (10.0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	2 (5.0%)
	C.coli	5 (25.0%)	0 (0%)	3 (15.0%)	4 (20.0%)	2 (10.0%)	4 (20.0%)	9 (22.5%)	2 (5.0%)	7 (17.5%)
	C.upsaliensis	0 (0%)	1 (5.0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	1 (2.5%)	0 (0%)

(2) 定量試験

肝臓中の菌数は  $3.0 \times 10^1$  個/100g から  $2.4 \times 10^4$  個/100g で、平均値は  $4.3 \times 10^3$  個/100g であった。  
胆汁中の菌数は  $3.0 \times 10^1$  個/100ml から  $2.4 \times 10^4$  個/100ml で、平均値は  $1.2 \times 10^4$  個/100ml であった。  
肝臓実質から検出される菌数は、胆汁中の菌数が高いほど多く検出される傾向が認められた (表3)。

表3 肝臓と胆汁の検出菌数の関係

部位	肝臓 (個/100g)					計
	<30	30 ~ <10 <sup>2</sup>	10 <sup>2</sup> ~ <10 <sup>3</sup>	10 <sup>3</sup> ~ <10 <sup>4</sup>	10 <sup>4</sup> ~ <10 <sup>5</sup>	
胆汁 (個/100ml)	<30	22		1		23
	30 ~ <10 <sup>2</sup>	4				4
	10 <sup>2</sup> ~ <10 <sup>3</sup>		1			1
	10 <sup>3</sup> ~ <10 <sup>4</sup>	1	1	3		5
	10 <sup>4</sup> ~ <10 <sup>5</sup>		2	1	2	2
計	27	4	5	2	2	40

(3) カンピロバクター陽性例の肝疾患との関係

肝疾患があり、カンピロバクターが検出された検体は 3 検体で平均MPN値は  $8.3 \times 10^3$  であった。  
いっぽう、肝疾患が無くカンピロバクターが検出されたのは 10 検体で平均MPN値は  $5.4 \times 10^4$  であり、  
肝疾患のない検体のほうが高い傾向にあった (表4)。

表4 肝疾患の有無による平均MPN値 (個/100g) の比較

有無	和牛	ホルスタイン	計
あり	2	1	3
	$1.2 \times 10^3$	$7.0 \times 10^1$	$8.3 \times 10^2$
なし	3	7	10
	$8.1 \times 10^3$	$4.2 \times 10^3$	$5.4 \times 10^3$

(4) カンピロバクター陽性例の品種別による平均MPN値  
 肝臓、胆汁ともに和牛で高い傾向が認められた(表5)

表5 カンピロバクター陽性例の品種による平均MPN値

		和牛	ホルスタイン
部位	肝臓 (個/100g)	$5.4 \times 10^3$	$3.7 \times 10^3$
	胆汁 (個/100ml)	$1.4 \times 10^4$	$9.9 \times 10^3$

5 考察

カンピロバクターは、牛の生体内に経口的に取り込まれ、十二指腸から血流を経て胆嚢内に蓄積、増殖して消化管内に排出されるいっぽう肝臓内にも移行するといわれている。また、品川らによると胆嚢内胆汁からの検出率は25.4%で平均菌数は2,700個/ml、肝臓では11.4%から検出され、方形葉では平均22個/gと報告されているが、今回調査した結果は、肝臓及び胆汁からの検出率はこれよりも高く、菌数においては、肝臓では同程度、胆汁ではかなり低い値となった。

肝臓及び胆汁、小腸の複数の部位からカンピロバクターが検出された個体のうち、部位により異なる菌種が分離された例があり、この要因については、今後検討を要するものと思われた。

平成8年のO157食中毒事件の発生を機に、平成10年に生食用食肉の衛生基準が示され、処理工程における枝肉、臓器等の処理工程での二次汚染の防止が図られている。しかしながら、近年カンピロバクターによる食中毒事故が増加しており、平成12年には生レバーが原因と思われるO157食中毒事故患者からO157とともにカンピロバクターが検出されたという報告もある。今回の調査の結果、肝臓及び胆汁、小腸において30%以上の個体からカンピロバクターが検出されたこと、胆汁中のカンピロバクターの菌数が肝臓よりも多い傾向にあったことから、解体処理時において消化管内容物はもとより、胆汁による枝肉、内臓等の二次汚染の防止も特に重要であることが示された。また、異常のない肝臓であってもカンピロバクターを保有しており、生レバーの摂食はカンピロバクター食中毒の原因となる危険性が高く、消費側における啓発等の対策を図ることが急務であると思われた。