鶏肉からの *Campylobacter jejuni* の分離における ストマッカー処理の効果

小野一晃 瀬川由加里 大塚佳代子 斎藤章暢 正木宏幸

埼玉県衛生研究所 (〒338-0824 浦和市上大久保639-1)

(1998年5月8日受付・1999年1月14日受理)

要 約

4℃・3日間保存した鶏肉および鶏皮から *Campylobacter jejuni* の分離を行ったところ、ストマッカー処理検体では非処理検体と比べて菌分離率が有意に高かったが、増菌培養時間の延長により分離率は低下した。

——キーワード：*Campylobacter jejuni*、鶏肉、増菌培養、ストマッカー処理。

----- 日獣会誌 52, 326～328 (1999)

Campylobacter jejuni は人の下痢症の原因菌とされ、わが国でも本菌による下痢の集団発生例が多数報告されているが [1, 11, 14]、これまでに発生した食中毒事例から原因食品として特に鶏肉が重要視されている [2, 6, 8]。

鶏肉の *C. jejuni* 汚染は、主として食鳥処理場におけると解体工程での腸内容物の付着によって起こることが知られているが [9, 13]、その際、肉の表面だけではなく、毛穴の中にまで菌が入り込んでしまうことが報告されている [3]。

そこで、鶏肉検体からの *C. jejuni* の分離率を高めるためにストマッカー処理を試み、10倍量の増菌培地を添加した検体と、これをさらにストマッカー処理した検体とを同時に培養し、菌の分離率を比較した。また、増菌培養の時間を24時間、48時間、72時間と変化させ、培養時間の違いによる菌の分離率を比較し、鶏肉検体からの菌の分離に最適な増菌時間について検討した。

材 料 お よ び 方 法

市販鶏皮および鶏肉からの *Campylobacter* の分離：1998年3月と4月に埼玉県浦和市内の小売店（2店舗）において、鶏皮21検体および国産の新鮮な調理用の生鶏肉50検体（原則として検査当日の朝に加工されたもの；もも肉32検体、むね肉12検体、ささ身6検体）を購入し供試材料とした。以下の2通りの方法で増菌培養を行った。(1)鶏肉または鶏皮10gを大試験管に入れ、10倍量になるようにPreston培地 [4]（ニュートリエントブイヨンNo. 2^{a)} にプレストンカンピロバクター選択サプリメント^{b)} とカンピロバクター発育サプリメント^{c)} を添加し、5%量の馬脱繊維血液^{d)} を加えた）を加えたものと、(2)鶏肉または鶏皮10gをストマッカー袋に入れ、10倍量になるようにPreston培地を加えた後、約1分

間ストマッカー処理したものを用意した。(1),(2)それぞれを微好気状態（N₂：85%，CO₂：10%，O₂：5%）でthermophilic *Campylobacter* を対象として42℃で培養した。培養24、48および72時間後に培養液を十分に攪拌した後、その1白金耳をCCDA培地 [5]（カンピロバクター血液無添加選択カンテン基礎培地^{e)} にCCDAサプリメント^{f)} を添加）に塗抹後、42℃・48時間微好気培養した。1平板につき3コロニーを鈎菌し、グラム染色、位相差顕微鏡による運動性の確認、オキシダーゼ試験等による1次スクリーニングを行い、最終的には伊藤ら [10] の方法に基づきカンピロバクターの種の同定を行った。

保存鶏肉からの *C. jejuni* の分離：検体採取後に鶏肉を半分に分け、4℃、3日間および-20℃、14日間保存した。このうち即日検査で *C. jejuni* 陽性と判定された21検体を用い、同様に10gずつ採取し、ストマッカー処理したものと処理しないものからの菌の分離率を比較した。

C. jejuni の分離率の有意差検定：菌の分離率を処理法（ストマッカー処理の有無）と培養時間についてそれぞれ有意差検定を行った。統計処理は χ^2 検定を用いて百分率に関する検定を行い、組度数の実測度数に5以下の数がある場合にはイエーツの補正式を用いた。

成 績

鶏皮からの *Campylobacter* の分離：市販鶏皮から *Campylobacter* を分離した結果を表1に示した。分離されたのはすべて *C. jejuni* であった。増菌培養を24時間

a) Oxoid CM67, U.K.

b) Oxoid SR117, U.K.

c) Oxoid SR84, U.K.

d) 日本バイオテスト研究所、東京。

e) Oxoid CM739, U.K.

f) Oxoid SR155, U.K.

表1 鶏皮からの *Campylobacter jejuni* の分離

増菌培養時間／処理法*	分離率 (%)
(a) 24h/－	10/21 (47.6)
(b) 24h/+	21/21 (100.0)
(c) 48h/－	9/21 (42.9)
(d) 48h/+	17/21 (81.0)

*：ストマッカー処理検体，＋；ストマッカー非処理検体，－。
ストマッカー処理の有無により有意差あり：(a)－(b)
($P<0.01$)，(c)－(d) ($P<0.01$)。

表2 新鮮鶏肉からの *C. jejuni* の分離

増菌培養時間／処理法*	分離率 (%)
(a) 24h/－	30/50 (60.0)
(b) 24h/+	36/50 (72.0)
(c) 48h/－	32/50 (64.0)
(d) 48h/+	31/50 (62.0)
(e) 72h/－	14/50 (28.0)
(f) 72h/+	16/50 (32.0)

*：ストマッカー処理検体，＋；ストマッカー非処理検体，－。
培養時間により有意差あり：(a)－(e) ($P<0.01$)，(b)－(f)
($P<0.01$)，(c)－(e) ($P<0.01$)，(d)－(f) ($P<0.01$)。

行った場合には、ストマッカー非処理検体では21検体中10検体 (10/21, 47.6%) から菌が分離されたのに対し、ストマッカー処理検体ではすべての検体から菌が分離され、ストマッカー処理検体において菌分離率が有意に高かった ($P<0.01$)。また、増菌培養を48時間行った場合にもストマッカー処理検体において菌分離率が有意に高かった ($P<0.01$)。

新鮮鶏肉からの *Campylobacter* の分離：市販鶏肉から *Campylobacter* を分離した結果を表2に示した。分離されたのはすべて *C. jejuni* であった。ストマッカー処理の有無による菌分離率の差は認められなかった。増菌培養を24および48時間行った際の菌分離率に有意差は認められなかったが、72時間行くと雑菌の生える率が高く、ストマッカー非処理検体では14/50 (28.0%)、ストマッカー処理検体では16/50 (32.0%) と、どちらも菌分離率は有意に低かった ($P<0.01$)。ストマッカー非処理検体では *C. jejuni* 陰性であった36検体中11検体 (30.6%) は、雑菌が平板全体に広がってしまい菌の分離ができなかった。一方、ストマッカー処理検体では48時間培養したものよりも雑菌の発育が多くみられたが、平板全体に広がることはなかった。

保存鶏肉からの *Campylobacter* の分離：4℃、3日間保存した鶏肉から *Campylobacter* を分離した結果を表3に示した。分離されたのはすべて *C. jejuni* であった。増菌培養を24時間行った場合には、ストマッカー非処理検体では5/21 (23.8%)、ストマッカー処理検体では17/21 (81.0%) と、菌分離率はストマッカー処理検体において有意に高かった ($P<0.01$)。一方、増菌培養

表3 4℃、3日間保存した鶏肉からの *C. jejuni* の分離

増菌培養時間／処理法*	分離率 (%)
(a) 24h/－	5/21 (23.8)
(b) 24h/+	17/21 (81.0)
(c) 48h/－	2/21 (9.5)
(d) 48h/+	4/21 (19.0)

*：ストマッカー処理検体，＋；ストマッカー非処理検体，－。
ストマッカー処理の有無および培養時間により有意差あり：
(a)－(b) ($P<0.01$)，(b)－(d) ($P<0.01$)。

表4 -20℃、14日間保存した鶏肉からの *C. jejuni* の分離

増菌培養時間／処理法 ¹⁾	分離率 (%)
24h/－	4/21 (19.0)
24h/+	9/21 (42.9)
48h/－	6/21 (28.6)
48h/+	12/21 (57.1)
72h/－	1/21 (4.8)
72h/+	6/21 (28.6)

*：ストマッカー処理した検体，＋；
ストマッカー非処理検体，－。

を48時間行った場合には、ストマッカー処理の有無による菌分離率の差は認められなかったが、ストマッカー処理した場合の菌分離率は24時間培養に比べ有意に低かった ($P<0.01$)。

また、-20℃、14日間保存した鶏肉から *Campylobacter* を分離した結果を表4に示した。分離されたのはすべて *C. jejuni* であった。いずれの培養時間においてもストマッカー処理の有無による菌分離率の差は認められなかった。さらに、増菌した各培養時間での菌分離率にも有意差は認められなかった。

考 察

C. jejuni は乾燥にはきわめて弱い [12]、30℃以下では発育できない [7]、発育には微好気条件が必要であるなどの特徴を有するため、通常の流通過程において食品中で本菌が増殖することは難しいと考えられている。このため、食品から *C. jejuni* を分離する際には通常増菌培養を行っている。一方、Berndtsonら [3] は食鳥処理場において鶏を解体処理する過程で *C. jejuni* は毛穴の中に入り込み、冷却処理の段階で毛穴が閉じるために菌が中に閉じこめられてしまうことを報告している。そこで本実験では、鶏皮検体のストマッカー処理を試みたところ、菌分離率が有意に高かったことから、ストマッカー処理により毛穴の中に閉じこめられていた菌がたき出されたことが考えられた。

また、4℃、3日間保存した鶏肉の場合にもストマッカー処理検体において *C. jejuni* の分離率が有意に高かった。保存肉は新鮮肉に比べて劣化による微細構造の変

化が顕著であることから、毛穴あるいは筋肉繊維の間に潜んでいた菌が、ストマッカー処理を行うことで(増菌)培養液中への遊離が促進された可能性と、大試験管でそのまま培養した場合と違って、試料が培養液中の抗生物質と均一に混じり合うことにより雑菌の発育が抑制された可能性とが考えられた。

一方、増菌培養の時間を長くすると培養液中で他の菌が増えることにより、*C. jejuni* を分離することが難しくなると考えられた。ストマッカー処理により培養液中の雑菌の発育はある程度抑えられたが、添加された抗生物質の量に限りがあることから長時間培養では雑菌の抑制効果も持続せず、その結果、菌分離率が有意に低くなったものと考えられた。本菌の陽性率は検体中の雑菌の汚染菌種、菌量によって大きく異なり、雑菌の多い検体では *Campylobacter* の分離は困難で、本菌が存在しても陰性と判定されるケースがみられることが報告されている [15]。

今回保存試験に用いた21検体は、いずれも購入当初には *C. jejuni* 陽性と判定されたものである。しかし、4℃で消費期限である3日間保存した検体では、菌分離率は最も高いもので17/21 (81.0%) であり、-20℃、14日間の保存では12/21 (57.1%) であった。新鮮な市販鶏肉からは高率に *C. jejuni* が分離されたが、食中毒事件の原因究明のためには、残品あるいは検食(保存食)からいかに菌を分離するかが課題となる。4℃保存の鶏肉ではストマッカー処理が有効であったが、-20℃保存の鶏肉では菌分離率の有意差はみられなかった。もともと鶏肉中の *C. jejuni* の菌量はそれほど多くないものと思われるが、凍結(-20℃)保存によりその多くが死滅してしまった [16] ために、ストマッカ

ー処理の効果が現れなかったものと考えられた。

引用文献

- [1] 浅川 豊：食品衛生研究, 36, 21-29 (1986)
- [2] Annan-Prah A, Janc M : J Food Prot, 51, 562-564 (1988)
- [3] Berndtson E, Tivemo M, Engvall A : Int J Food Microbiol, 15, 45-50 (1992)
- [4] Bolton FJ, Robertson L : J Clin Pathol, 35, 462-467 (1982)
- [5] Bolton FJ, Hutchinson DN, Coates D : J Clin Microbiol, 19, 169-171 (1984)
- [6] Deming MS, Tauxe RV, Blake PA, Dixon SE, Fowler BS, Jones TS, Lockamy EA, Patton CM, Sikes RO : Am J Epidemiol, 126, 526-534 (1987)
- [7] Doyle MP, Roman DJ : J Food Microbiol, 44, 596-601 (1984)
- [8] Harris NV, Weiss NS, Nolan CM : Am J Public Health, 76, 407-411 (1986)
- [9] 伊藤 武：食水系感染症と細菌性食中毒, 坂崎利一編, 123-153, 中央法規出版, 東京 (1991)
- [10] 伊藤 武, 甲斐明美, 高橋正樹, 斎藤香彦, 高野伊知郎, 柳川義勢, 大橋 誠：東京都衛研年報, 35, 8-17 (1984)
- [11] 伊藤 武, 斎藤香彦, 柳川義勢, 甲斐明美, 高橋正樹, 稲葉美佐子, 高野伊知郎, 坂井千三, 大橋 誠：感染症誌, 57, 576-586 (1983)
- [12] Oosterom J, De Wilde GJA, De Boer E, De Blaauw LH, Hetty Karman : J Food Prot, 46, 702-706 (1983)
- [13] Oosterom J, Notermans S, Hetty Karman, Engels GB : J Food Prot, 46, 339-344 (1983)
- [14] 坂井千三, 伊藤 武：日細菌誌, 40, 563-580 (1995)
- [15] 品川邦汎：食品衛生研究, 36, 71-90 (1986)
- [16] Stern NJ, Green SS, Thaker N, Krout DJ, Chiu J : J Food Prot, 47, 372-374 (1984)

Effect of Homogenization in Stomacher Bags on the Isolation Rate of *Campylobacter jejuni* from Chicken Meat

Kazuaki ONO, Yukari SEGAWA, Kayoko OHTSUKA, Akinobu SAITO
and Hiroyuki MASAKI

Saitama Institute of Public Health, 639-1 Kamiohkubo, Urawa 338-0824, Japan

SUMMARY

By homogenization in stomacher bags, the isolation rates of *Campylobacter jejuni* from chicken skin and meat samples stored at 4℃ for 3 days were improved. The isolation rates were reduced after longer time cultivation of the homogenates in an enrichment medium.

— Key words : *Campylobacter jejuni*, chicken meat, enrichment culture, stomacher processing.

J. Jpn. Vet. Med. Assoc., 52, 326 ~ 328 (1999)