

第 5 章

研 修

及 び

調 査 研 究 等

1 技術研修等

研修会等の名称	場所	期間
全国食肉衛生検査所協議会 微生物部会研修会	静岡市	令和5年9月13日
全国食肉衛生検査所協議会中四国 ブロック会議及び技術研修会	書面開催	令和5年10月
全国食肉衛生検査所協議会 理化学部会研修会	横浜市	令和5年10月6日
全国食肉衛生検査所協議会 病理部会研修会	相模原市	令和5年11月2日
食肉及び食鳥肉衛生技術研修会 並びに研究発表会	東京都	令和6年1月23日 ～24日

2 講演及び研究発表

年月日	学会等の名称	題名	発表者
令和5年 8月4日	岡山県獣医 公衆衛生学会	廃用乳牛のカンピロバクター属菌保有 率及び薬剤耐性に直近の投薬歴が及ぼ す影響	片田 理志
		管内食鳥処理場における、高病原性鳥イ ンフルエンザ(HPAI)対応事例について	谷川 純子
令和5年 9月30日・ 10月1日	獣医学術 中国地区学会	廃用乳牛のカンピロバクター属菌保有 率及び薬剤耐性に直近の投薬歴が及ぼ す影響	片田 理志
		管内食鳥処理場における、高病原性鳥イ ンフルエンザ(HPAI)対応事例について	谷川 純子

廃用乳牛のカンピロバクター属菌保有率及び薬剤耐性に 直近の投薬歴が及ぼす影響

○片田理志 小川飛鳥 白石順也

はじめに

カンピロバクター属菌（以下 C 属菌）はヒトの主要な食中毒原因菌であり、重症化した場合には抗菌薬による治療が必要とされることもある [1]。C 属菌は牛の腸管内に常在菌として広く保菌されており [1]、ヒトへの感染経路は主に鶏肉を生あるいは加熱不十分で摂食することであるが、牛肉製品等も感染を引き起こすことがある [2]。また、牛と鶏の間で C 属菌の伝播が起こる可能性も示唆されており [3]、牛は C 属菌の重要な病原巣と考えられている。

また、近年は薬剤耐性菌が問題となっている。C 属菌では、原因菌特定前のヒトの感染性腸炎に対して多く用いられるキノロン系抗菌薬に対する耐性が多く報告されており [4]、牛の医療におけるキノロン系抗菌薬の使用が耐性化を促進している可能性がある。

このため、牛の C 属菌保有率や薬剤耐性状況について多くの調査が行われている [4] が、牛に対する抗菌薬の投与が C 属菌保有率や薬剤耐性へどのような影響を及ぼすかについては未だに情報が少ない。

このため、今回の研究では、管内と畜場に搬入された廃用乳牛を対象として C 属菌の検出と薬剤感受性試験を行い、診断書に記載される直近 3 ヶ月の抗菌薬投薬歴と C 属菌保有率及び薬剤耐性状況の関連について調査した。

材料および方法

1. 検体

令和 4 年 1 月から令和 5 年 3 月にかけて、管内と畜場に搬入された廃用乳牛（ホルスタイン種・雌）68 頭から、盲腸便 66 頭分、胆汁 61 頭分を無菌的に採取した。直近 3 ヶ月の抗菌薬投与歴の系統別内訳は表 1 の通りであった。キノロン系抗菌薬にはマルボフロキサシン、オルビフロキサシン、エンロフロキサシン、 β -ラクタム系抗菌薬にはセファゾリン、セフトオフル、アンピシリン、ペニシリン、クロキサシリ

投与された抗菌薬の系統	検体数	
キノロン系+β-ラクタム系	8	
キノロン系のみ	4	
β-ラクタム系のみ	アンピシリン使用	10
	アンピシリン不使用	9
抗菌薬不使用	37	

表1 直近3ヶ月の抗菌薬投与歴

2. 菌分離・同定

検体1mlをプレストン培地に添加し、微好気下で42°C、48時間増菌培養した後、mCCDA培地に画線塗抹し、微好気下で42°C、48時間培養を行った。mCCDA培地上に発育した灰白色コロニーから釣菌し、直接鏡検及びグラム染色を行った。

運動性を有するグラム陰性らせん菌について、熱抽出法によりDNAを抽出した後、Campylobacter (cdt gene) PCR Detection and Typing Kit (タカラバイオ)の説明書に従ってPCRを行い、*Campylobacter jejuni* (以下 *C.jejuni*) 及び *Campylobacter coli* (以下 *C.coli*) を同定した。

3. 薬剤感受性試験

*C.jejuni*または*C.coli*と同定された菌株のうち、表2に示す7検体由来18株に対し、6種の抗菌薬(シプロフロキサシン:CPFX、テトラサイクリン:TC、エリスロマイシン:EM、ストレプトマイシン:SM、クロラムフェニコール:CP、アンピシリン:ABPC)について、Clinical and Laboratory Standards Instituteのガイドライン[5]及びBDセンシ・ディスク(ベクトン・ディッキンソン)の説明書に従い、ディスク法による薬剤感受性試験を実施した。

精度管理株として *Staphylococcus aureus* ATCC25932 を使用した。

検体	薬剤投与歴	菌種	株数
盲腸	セファゾリン	<i>C.jejuni</i>	1株
盲腸	なし	<i>C.jejuni</i>	3株
盲腸	なし	<i>C.coli</i>	3株
胆汁	なし	<i>C.jejuni</i>	3株
胆汁	オルビフロキサシン	<i>C.jejuni</i>	3株
胆汁	セファゾリン	<i>C.jejuni</i>	2株
胆汁	セファゾリン	<i>C.jejuni</i>	3株

表2 薬剤感受性試験を実施した菌株

結果

1. C属菌検出率

C属菌は68頭中 *C.jejuni*が8頭、*C.coli*が2頭、*C.jejuni*と *C.coli*の双方が1頭、計12頭から検出された(表3)。検体別にみると、盲腸便では66検体中 *C.jejuni*が2検体、*C.coli*が3検体、計5検体(7.6%)から検出され、胆汁では61検体中 *C.jejuni*が7検体、*C.coli*が1検体、計8検体(13.1%)から検出された。

	頭数・検体数	検出数	検出率	菌種別内訳	
全体	68	12	17.6%	<i>C.jejuni</i> のみ: 8 <i>C.coli</i> のみ: 3 <i>C.jejuni</i> + <i>C.coli</i> : 1	
検体別	盲腸	66	5	7.6%	<i>C.jejuni</i> : 2 <i>C.coli</i> : 3
	胆汁	61	8	13.1%	<i>C.jejuni</i> : 7 <i>C.coli</i> : 1

表3 C属菌検出率

胆汁からのC属菌検出率は、キノロン系と β -ラクタム系を併用した群で0.0%、キノロン系のみを使用した群で33.3%、 β -ラクタム系のみを使用したもののうちABPCを使用した群で14.3%、ABPC以外の β -ラクタム系のみを使用した群で44.4%、抗菌薬不使用の群で5.9%であり、ABPC以外の β -ラクタム系のみを使用した群では抗菌薬不使用の群と比べて有意に高かった($p<0.05$) (図1)。

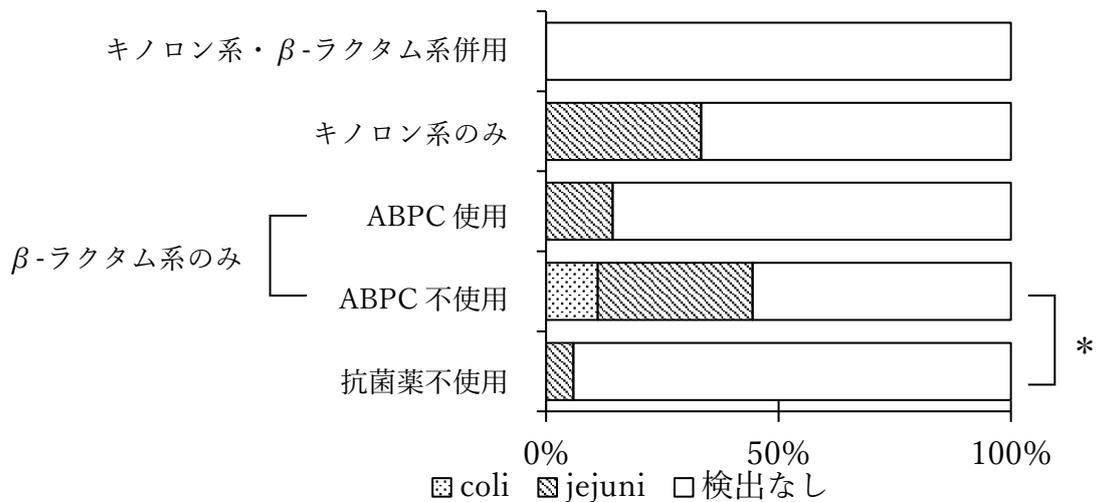


図1 胆汁検体からの抗菌薬投与歴別のC属菌検出率 (*は $p<0.05$)

盲腸便からの C 属菌検出率は、キノロン系と β -ラクタム系双方を使用した群で 0.0%、キノロン系のみを使用した群で 25.0%、ABPC を使用した群で 0.0%、ABPC 以外の β -ラクタム系のみを使用した群で 12.5%、抗菌薬不使用の群で 8.3%であり、いずれの群間でも有意な差を示さなかった（図 2）。

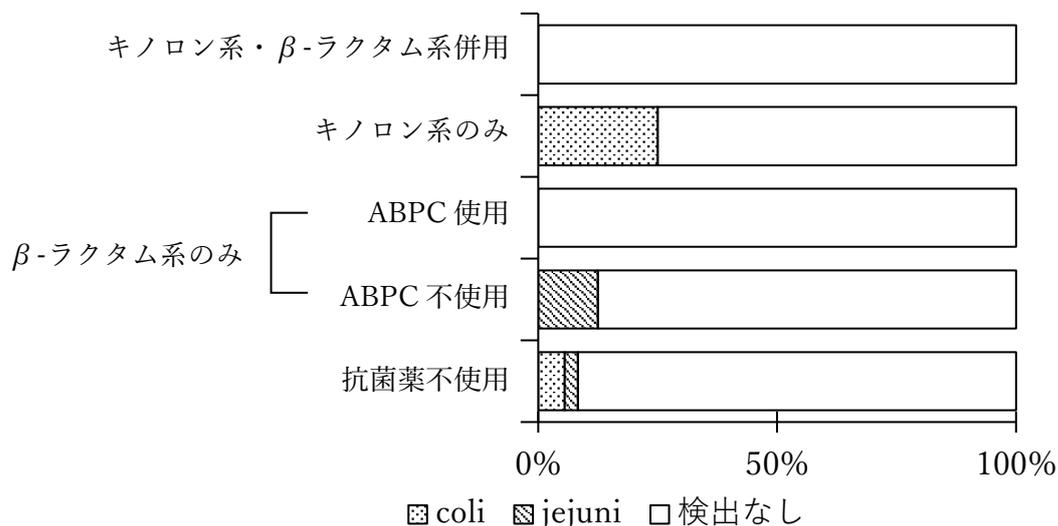


図 2 盲腸便検体からの抗菌薬投与歴別の C 属菌検出率

2. 薬剤感受性

同一検体に由来する菌株間で、同一の抗菌薬に対する耐性または感受性は全て一致していた。7 検体中、CPF_X と TC は 5 検体、SM は 2 検体、EM・CP・ABPC は 1 検体に由来する菌株が耐性を示した（表 4）。複数系統に耐性を示す多剤耐性菌は 7 検体中 5 検体から検出された。

検体	薬剤投与歴	菌種	CPF _X	TC	EM	SM	CP	ABPC
盲腸	セファゾリン	<i>C.jejuni</i>	R	R				
盲腸	-	<i>C.jejuni</i>		R				
盲腸	-	<i>C.coli</i>	R	R	R	R	R	
胆汁	-	<i>C.jejuni</i>	R	R		R		
胆汁	オルビ フロキサシン	<i>C.jejuni</i>						
胆汁	セファゾリン	<i>C.jejuni</i>	R					
胆汁	セファゾリン	<i>C.jejuni</i>	R	R				R
			71.4%	71.4%	14.3%	28.6%	14.3%	14.3%

表 4 薬剤感受性試験結果（R は耐性を示す）

考察

ABPC以外の β -ラクタム系のみを使用した群では、抗菌薬不使用の群と比べ有意に高い胆汁からのC属菌検出率を示した。抗菌薬への暴露は薬剤感受性菌を減少させ、薬剤耐性菌を増加させる選択圧として働く。C属菌はABPC、イミペネム及びセフピロム以外の β -ラクタム系抗菌薬に対し自然耐性を持つ [6] ため、今回の研究で投与歴のあったABPC以外の β -ラクタム系抗菌薬に対してC属菌はいずれも自然耐性を有しており、これらの抗菌薬を使用することが体内のC属菌増加を引き起こし、胆汁での検出率を上昇させた可能性がある。この結果は、牛臨床領域での抗菌薬の慎重使用が重要であることの裏付けの一つになると考えられる。

また、薬剤感受性試験ではCPFX耐性株とTC耐性株が多く検出されたが、CPFX耐性株はいずれも直近にキノロン系抗菌薬の投与歴のない検体から検出された。このことから、直近の抗菌薬投与がC属菌の薬剤耐性に及ぼす影響はあまり大きくなく、牛群や飼養環境中に薬剤耐性菌が既に多く存在しているのではないかと考えられる。加えて、多剤耐性を示す株やヒトのカンピロバクター症の治療で第一選択薬となるマクロライド系抗菌薬に耐性を示す株も検出されており、これらの菌株によってカンピロバクター食中毒が発生した場合、抗菌薬投与による治療が有効でなくなる恐れがある。食肉製造工程での汚染拡散防止や啓蒙などによって、カンピロバクター食中毒の発生自体を防止することがより重要になっていると言える。

参考文献

- [1] 高橋正樹,横山敬子. カンピロバクター感染症. Infectious Diseases Weekly Report Japan. 2005, 7, 19, p11-13
- [2] Kumagai Y, Pires SM, Kubota K, Asakura H. Attributing Human Foodborne Diseases to Food Sources and Water in Japan Using Analysis of Outbreak Surveillance Data. J Food Prot. 2020 Dec 1;83(12):2087-2094. doi: 10.4315/JFP-20-151. PMID: 32649749.
- [3] Teixeira JS, Boras VF, Hetman BM, Taboada EN, Inglis GD. Molecular Epidemiological Evidence Implicates Cattle as a Primary Reservoir of *Campylobacter jejuni* Infecting People via Contaminated Chickens. Pathogens. 2022 Nov 16;11(11):1366. doi: 10.3390/pathogens11111366. PMID: 36422616; PMCID: PMC9698452.

- [4] W.J. Snelling, M. Matsuda, J.E. Moore, J.S.G. Dooley, *Campylobacter jejuni*, Letters in Applied Microbiology, 2005 Oct 1;Volume 41, Issue 4,p 297–302,
<https://doi.org/10.1111/j.1472-765X.2005.01788.x>
- [5] Clinical Laboratory Standards Institute [CLSI], Methods for Antimicrobial Dilution and Disk Susceptibility Testing of Infrequently Isolated or Fastidious Bacteria(M45) 3rd Edition, 2018, p22-23
- [6] Iovine NM. Resistance mechanisms in *Campylobacter jejuni*. Virulence. 2013 Apr 1;4(3):230-40. doi: 10.4161/viru.23753. Epub 2013 Feb 13. PMID: 23406779; PMCID: PMC3711981.

管内食鳥処理場における、高病原性鳥インフルエンザ(HPAI)対応事例について

○谷川純子 村上泰之 秋山愛理彩

はじめに

令和4年12月、管内あひる農場で高病原性鳥インフルエンザ（HPAI）が発生し、農場で飼養されていたあひる1万7千羽あまりが殺処分された。県職員動員数は、延べ人数で2,364人となり、すべての制限区域の解除まで、約1か月を要する案件となった。

管内食鳥処理場でHPAIを疑う症例が発見された場合には、「食鳥処理場におけるHPAI対応マニュアル」（以下「マニュアル」とする。）に基づき、食肉衛生検査所（以下「当所」という。）が調査や消毒等の対応を行うこととなっている。

本事例は県内初のあひる農場におけるHPAI発生事例であり、同一敷地内に併設された食鳥処理場で処理が行われていたため、マニュアルに従い、食鳥処理場内の調査等を実施したので、結果について報告する。

ちなみに、食鳥処理場には2種類あり、年間食鳥処理羽数30万羽を超えるものが大規模食鳥処理場であり、処理羽数が年間30万羽以下のものが認定小規模食鳥処理場となる。本案件の食鳥処理場は、認定小規模食鳥処理場である。

内容

- (1) 令和4年12月、美作県民局から管内農場であひるが400羽ほど死んでいるとの情報提供があり、その後の簡易検査でHPAI陽性となった旨の連絡があった。
- (2) 同日、当該食鳥処理場に連絡し、発生日の食鳥処理は行っていないことと、発生日前日の処理羽数は750羽であること、前日の不可食部位はすでに廃棄物処理業者によって搬出済みであることなどを確認した。また、羽毛は処理場内の廃棄物用保管庫に保管中とのことだった。
- (3) 管轄家畜保健衛生所（以下「家保」とする。）と、食鳥処理場内の消毒方法等について協議を行い、農場の殺処分終了後に食鳥処理場内を消毒することとした。
- (4) 当所で消毒資材等を準備し、具体的な消毒手順について事前確認を行った。

結果

消毒作業の事前調整のため、家保と当所が合同立入を実施した時点で、すでに事業者により入念な清掃と消毒が実施されていたが、消毒が不十分な箇所があったため、その旨を指摘し、後日十分な清掃と消毒がされていることを確認した。

発生日前日処理分の 750 羽の食鳥肉はすでに出荷されていたが、冷却槽の温度や消毒剤の濃度の記録により、食鳥処理上は法的な問題はないことが確認できた。

また、不可食部位については、廃棄物処理業者が適切に廃棄処分を実施するように申し添えを行うよう、当該事業者には指示した。

当該農場の移動制限区域は翌年 1 月中旬に解除され、それに合わせて発生日から停止していた食鳥処理についても、あひるを県外から搬入し、再開された。

以上のことから、本案件における、HPAI 発生から防疫措置完了までの、当所と家保の動きの時系列を整理した。(図 1) 右側が当所の動き、左側が家保の動きである。

HPAI発生からの時系列

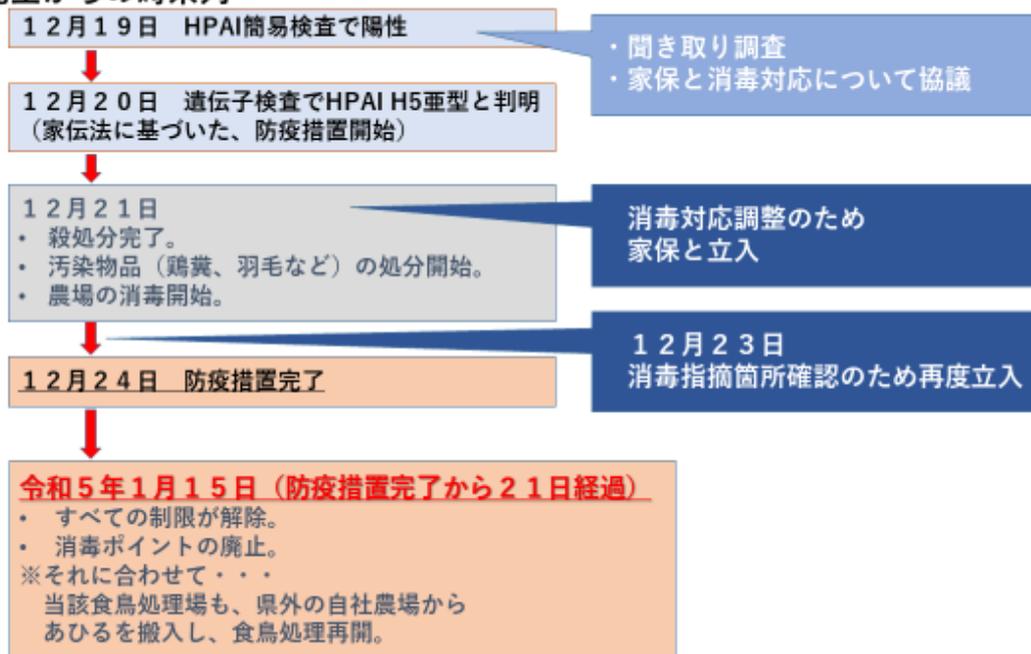


図 1 : HPAI 発生からの時系列

考察

今回の事例では、発生当初から家保と連絡を密にしていたことから、連携して適切な対応に当たることができた。

また、当所では今まで食鳥処理場での HPAI 対応事例がなく、消毒器材の確認や準備に時間を要した。消毒剤の使用期限などの定期的な確認も含めて、農場併設型の食鳥処理場においては、「今回のような事態がまた起こりうる」という考えのもとで、事前準備しておくことが大切であると考えられた。