

琉球大学学術リポジトリ

食鳥処理場の器具類及び食鳥肉由来大腸菌の薬剤耐性(生物生産学科)

メタデータ	言語: 出版者: 琉球大学農学部 公開日: 2008-02-14 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: 日越, 博信, 内田, 雅美, 上原, 亮, Higoshi, Hironobu, Uchida, Masami, Uehara, Makoto メールアドレス: 所属:
URL	http://hdl.handle.net/20.500.12000/3788

食鳥処理場の器具類及び食鳥肉由来大腸菌の薬剤耐性

日越博信*・内田雅美*・上原亮*

Hironobu HIGOSHI, Masami UCHIDA and Makoto UEHARA : Drug resistance of *Escherichia coli* isolated from poultry meat, and from machines and equipment in a poultry meat processing plant

Summary

To assess the contamination of poultry meat by drug resistant *E. coli*, the organism was isolated from machines and equipment in the processing plant, from poultry carcasses, and from dressing machines and equipment of the carcasses in each step of poultry meat processing. These organisms were tested for sensitivity to ABPC, CTC, SM, CP, KM, NA, and SA.

In the *E. coli* found on machines and equipment in the processing plant such as the basket for transporting live animals, shackle, picker, abdominal spreader, and eviscerator, drug resistance was found in 271 of 336 strains (80.7%). Samples were taken from the carcasses after plucking, after evisceration, after preliminary cooling, and after final cooling. Drug resistance was seen in 56.7% (76 of 134) of these strains of *E. coli*. Samples from the dressing machines and equipment of the carcasses such as cutting table, knife, conveyor, and packing box revealed drug resistance in 41.5% (17 of 41) of the strains of *E. coli* detected.

Resistance to CTC was the most common (65.0%) followed by resistance to SM, SA, and KM, in this order, among strains from the carcasses and from the machines and equipment in the processing plant. Strains resistant to SA, however, were the most frequent finding from the dressing machines and equipment of the carcasses. Twenty three different patterns of resistance were detected. These ranged from resistance to a single drug up to resistance to six drugs. As the stage of poultry meat processing proceeded, however, the variety of patterns decreased. In 84.7% of the resistant strains, multiple drug resistance to more than two drugs was noted. While 77% of strains from the machines and equipment in the processing plant were resistant to more than three drugs, 64-74% of those from the carcasses and the dressing machines and equipment of the carcasses were resistant to less than two drugs.

Attempts were made to detect R plasmid in the resistant strains. It was detected in only 30 strains (9.7%), a rather low frequency.

* 琉球大学農学部生物生産学科

琉球大学農学部学術報告 40:21~28 (1993)

緒 言

家畜における薬剤耐性菌の増加が問題視されて久しいが、これらの耐性菌が畜産物を介してヒトへ伝播されることが懸念され、公衆衛生上の問題としても取り上げられている^{1,5,7,13-16}。しかし、わが国において食肉など畜産物由来細菌の薬剤耐性について調査した報告は意外に少ない^{8,10-16}。

著者ら³⁾は、食肉の薬剤耐性菌による汚染状況を知る第一歩として、食鳥検査制度導入前年の1991年に、食鳥処理場における処理工程別の食鳥と体から大腸菌を分離し、それらの薬剤感受性試験を行った。その結果耐性菌の検出率は、全体では69%であったが、処理工程の進むに伴って検出率が高くなり、処理場内の器具・機材、作業員など環境の影響が示唆された。

そこで今回は、食鳥検査制度が実施された初年度に前回とは別の食鳥処理場において、沖縄県食肉衛生検査所と共同で食鳥肉についての調査を行うと同時に、処理器具類、冷却水、食鳥解体器具類などから大腸菌を分離し、薬剤感受性試験を行った。また、耐性菌についてはRプラスミドの検索も試みたので、これらの成績の概要を報告する。

実験材料及び方法

1 供試材料及び採取方法

供試材料は、厚生省の食鳥処理場における衛生管理指針に基づいて沖縄県食肉衛生検査所の食鳥検査員が、1992年6、8、10、11月にG及びO食鳥処理場の2カ所で、工程別に器具類、食鳥肉から拭き取り法で採取した。

試料の採取部位または箇所及び試料数は、処理器具類として10カ所（生体輸送用容器、懸鳥用シャックル、湯漬け水、脱羽機、開腹機、掛け替えシャックル、排泄腔切除機、自動中抜機、予備冷却水、本冷却水）から128試料、食鳥肉として5カ所（脱羽後、中抜後、予備冷却後、本冷却後、冷蔵庫内）のと体から75試料、及び解体器具類として7カ所（カット台、包丁、コンベア、食鳥肉受箱、パック詰機、シャックル、軍手）から作業開始前及び作業中に計116試料である。試料採取は、器具類では各表面の10×10cm、食鳥肉では胸部表面5×5cmの範囲を滅菌ガーゼで拭き取り、また軍手は左右小指部分を切り取り、それぞれに滅菌生理食塩水10mlを加え、ストマッカー80で30秒間処理後、試料原液とした。なお、シャックルは食鳥が触れる部分を拭き取り、3本で1試料とした。冷却水などは、100mlを滅菌容器に採水した。

2 大腸菌の分離と同定

大腸菌の分離には、デスオキシコーレイト培地（栄研）平板を用いた。即ち、試料原液を $10^3 \sim 10^5$ に希釈し、その各0.1mlを上記培地平板に塗抹し、37℃24時間培養後、大腸菌らしい集落を可能な限り多く釣菌した。しかし、デスオキシコーレイト培地での大腸菌陽性率が低いため、サルモネラ検出に用いたDHL培地（栄研）平板からも大腸菌の分離を行った。

大腸菌の同定は、医学細菌同定の手びき⁹⁾に従って行った。その結果、大腸菌として処理器具類由来336株、食鳥肉由来134株、解体器具類由来41株、合計511株が得られた。

3 薬剤感受性試験の方法

薬剤感受性試験は、日本化学療法学会標準法⁶⁾に準拠し、寒天平板希釈法で行った。用いた薬剤は、アンピシリン（ABPC）、クロルテトラサイクリン（CTC）、ストレプトマイシン（SM）、クロラムフェニコール（CP）、カナマイシン（KM）、ナリジキシ酸（NA）、スルファジメトキシシン（SA）の7種類である。各薬剤の耐性限界濃度は、SAが $200 \mu\text{g}/\text{ml}$ 、他の6薬剤が $25 \mu\text{g}/\text{ml}$ とした。また、耐性菌につ

いてはRプラスミドの検索も行ったが、受容菌としてNA耐性の大腸菌ML1410株を用い、既報²⁾に準じて行った。

実験結果

試料の種類別に、分離された大腸菌における薬剤耐性菌の検出状況を表1に示したが、処理器具類及び食鳥肉由来株はG食鳥処理場の調査分であり、解体処理器具類由来株はG及びO食鳥処理場の作業前と作業中の調査分を合計したものである。

Table 1. Drug resistance frequency of *E. coli* isolated from poultry meat, and machines and equipment in a processing plant

Samples	No. of samples	No. of strains tested	Drug resistance	
			No. of strains	Percentage
Processing machines & equipment	128	336	271	80.7
Poultry carcasses	75	134	76	56.7
Dressing machines & equipment	116	41	17	41.5

全供試菌株511株のうち、364株 (71.2%) がいずれか1薬剤に耐性であった。この耐性菌の検出率を処理工程別にみると、処理器具類由来が80.7%、食鳥肉由来が56.7%、解体器具類由来が41.5%であり、順次低くなる傾向を示した。

なお、器具類の種類別には菌株数が少ないので表示しなかったが、処理器具類由来では掛替えシャックル及び排泄腔切除機以外の全器具で耐性菌が検出され、特に生体輸送用容器、懸鳥用シャックル、湯漬け水及び本冷却水で検出率 (75%以上) が高かった。また、食鳥肉由来では工程の進むほど検出率が高くなり、本冷却後及び冷蔵庫内の食鳥肉では70%以上が耐性菌であった。さらに、解体器具類由来では、作業中の耐性菌検出率 (45.2%、14/31株) が作業前のそれ (30.0%、3/10株) よりも若干高かった。

薬剤別にみた耐性菌の検出率を表2に示した。全体ではCTC耐性菌が65.0%で最も高く、以下SM耐性菌52.3%、SA耐性菌51.1%、KM耐性菌43.2%の順であり、ABPC、CP及びNA耐性菌はいずれも5%以下であった。

由来別にみると、各薬剤の検出率は異なるが、処理器具類及び食鳥肉ではCTC、SM、SA、KM耐性菌の順に検出され、ほぼ同じであった。一方、解体器具類ではSA耐性菌が最も多く、以下CTC、SM耐性菌の順であり、前2者由来とは若干異なっていた。また解体器具類由来では、各薬剤に対する耐性菌の検出率が前2者に比較して低い傾向を示した。なお、CP耐性菌は解体器具類由来で、NA耐性菌は解体器具類及び食鳥肉由来で、それぞれ検出されなかった。

薬剤耐性大腸菌における耐性型とその分布を表3に示した。全体の耐性型は、単剤耐性型から6剤耐性型まで23種類認められたが、由来別では処理器具類が21種類、食鳥肉が14種類、解体器具類が8種類であり、次第に減少した。また全体では、4剤耐性型が耐性菌株の約半数を占めて最も多く、次いで2

剤耐性型、単剤耐性型、3剤耐性型の順であり、5剤及び6剤耐性型はごく低率であった。

Table 2. Frequency of drug resistance *E. coli*, isolated from poultry meat, and machines and equipment in a processing plant

Drug* ¹	Processing machines & equipment (336)* ²	Poultry carcasses (134)	Dressing machines & equipment (41)	Total (511)
ABPC	6.0	2.2	4.9	4.9
CTC	77.1	46.3	26.8	65.0
SM	65.5	29.9	17.1	52.3
CP	1.5	2.2	0.0	1.6
KM	58.3	15.7	9.8	43.2
NA	0.3	0.0	0.0	0.2
SA	63.4	26.1	31.7	51.1
Sensitivity	19.3	43.3	58.5	28.8

*1 Abbreviation:ABPC, ampicillin; CTC, chlortetracyclin; SM, streptomycin sulfate; CP, chloramphenicol; KM, kanamycin sulfate; NA, nalidixic acid; SA, sulfadimethoxin

*2 Number of strains tested

Table 3. Drug resistance patterns of *E. coli* isolated from poultry meat, and machines and equipment in a processing plant

Resistance patterns	Processing machines & equipment	Poultry carcasses	Dressing machines & equipment	Total
ABPC	1			1
CTC	14	13	4	31
KM	2	3		5
SA	4	11	4	19
ABPC-CTC	2			2
CTC-SM	28	22		50
CTC-KM	3	1		4
CTC-SA	7	6	1	14
SM-SA	1		2	3
ABPC-CTC-SA	5			5
ABPC-KM-SA	1			1
CTC-SM-KM	8	2		10
CTC-SM-SA	11	2	2	15
CTC-KM-SA	10	1		11
SM-KM-SA	3			3
CTC-SM-CP-SA	1			1
CTC-SM-KM-SA	156	11	2	169
CTC-CP-KM-SA	2	1		3
CTC-SM-NA-SA	1			1
ABPC-CTC-KM-SA			1	1
ABPC-CTC-SM-KM-SA	9	1	1	11
ABPC-CTC-SM-CP-SA		1		1
ABPC-CTC-SM-CP-KM-SA	2	1		3
Total	271	76	17	364

* Numer in parenthesis indicates percentage

由来別にみると、処理器具類では3剤耐性型以上が80%近くを占め、しかもその大多数はCTC-SM-KM-SAの4剤耐性型であった。一方、食鳥肉及び解体器具類由来では、逆に単剤耐性型と2剤耐性型の両方で70%近くを占め、耐性型の内容が処理器具類由来とは異なっていた。

次いで、薬剤耐性菌のうち310株について、Rプラスミドの検索を行ったが、Rプラスミド保有菌は30株(9.7%)であった。これら菌株の薬剤別の伝達型は、SM伝達性が12株、KM伝達性とSA伝達性が各8株、CTC伝達性が7株、ABPC伝達性が5株であり、CP伝達性は見られなかった。Rプラスミド保有菌における伝達耐性型の出現状況は表4に示した。

Table 4. Transmitted resistance pattern of R plasmid in resistant *E. coli* steains

Resistance patterns of original strain	Transmitted resistance patterns	Processing machines & equipment	Poultry carcasses	Dressing machines & equipment	Total
		(226) * ¹	(69)	(15)	
CTC-ABPC	ABPC	2			2
CTC-SM	SM	4	1		5
CTC-SM-SA	〃	1			1
CTC-SM-KM-SA	〃	1		1	2
CTC-SM-CP-SA	〃	1			1
KM	KM	1			1
ABPC-KM-SA	〃	1			1
ABPC-CTC-KM-SA	〃			1	1
CTC-CP-KM-SA	〃		1		1
CTC	CTC		3		3
CTC-KM-SA	SA	1			1
CTC-SM-KM-SA	〃	2			2
ABPC-CTC-SA	ABPC-SA	1			1
ABPC-CTC-SM-KM-SA	ABPC-KM	1			1
CTC-KM	CTC-KM	2			2
ABPC-CTC-SM-CP-SA	CTC-SM		1		1
CTC-SM-SA	SM-SA	2			2
CTC-SM-KM-SA	KM-SA	1			1
ABPC-CTC-SM-KM-SA	ABPC-CTC-SA	1			1
		22	6	2	30
Total		(9.7) * ²	(8.7)	(13.3)	(9.7)

*1 Number of resistant strains

*2 Indicates percentage

単剤伝達型が5種類の21株で大部分を占め、2剤伝達型が6種類で8株、3剤伝達型が1種類1株であった。由来別の検出率は、いずれも10%前後の低率であり、大きな違いは見られなかったが、伝達型の種類では処理器具類由来が食鳥肉及び解体器具類由来に比べて多かった。なお、原菌株における薬剤耐性型は、殆どが2剤以上の多剤耐性型であった。

考 察

家畜における薬剤耐性菌がヒトへ伝播される経路として、農場及び畜場で直接伝播される場合と、乳、肉、卵などの畜産物を介して伝播される場合の二つが考えられている^{1,4,9,15,16)}。中でも食肉による伝播が重要視されているが、わが国において食肉など畜産物由来細菌の薬剤耐性についての調査報告は意外に少ない。

著者ら³⁾は、本県の食鳥処理場における食鳥肉由来薬剤耐性大腸菌についての調査を行い、全体では69.4%が耐性であったが、処理工程が進むほど耐性菌の検出率は高くなった。これは、食鳥糞便に加えて処理場の器具類等からの移行も考えられた。今回の調査では、食鳥肉由来の薬剤耐性大腸菌の検出率は56.7%で前回より低かった。しかし、工程別の検出率を見ると、脱羽後に比較して中抜後には一時低下したものの、冷却後の食鳥肉では最も高い値を示し、その後の汚染が考えられた。

食鳥処理器具類由来大腸菌で薬剤耐性菌の検出率が高かった箇所は、懸鳥用シャックル、湯漬水、本冷却水などであった。これらを含む調査した器具類及び食鳥肉由来大腸菌の薬剤耐性型は、一昨年著者ら⁴⁾が調査した食鳥糞便由来大腸菌の耐性型と殆どが一致し、糞便からの汚染を示唆していた。冷却水で冷却後の食鳥肉は、上記のように冷却前に比較して検出率が高く、さらに食鳥肉の解体に使用される器具類からも耐性菌は検出された。これらのことから、食鳥処理場における耐性菌は、食鳥糞便に由来したものが処理器具類、冷却水及び食鳥肉へ移行し、あるいはこれら相互間で汚染し合い、また解体器具類へも移行し、さらにこれら器具類から部分肉へと汚染が広がるものと考えられる。Kinjoら⁸⁾は、市販食鳥肉由来大腸菌の薬剤耐性菌の検出率が90.5%であったと報告し、処理工程中の汚染を指摘している。

食鳥肉及び豚肉由来大腸菌における薬剤別の耐性菌は、畜産分野で常用されている薬剤 (TC, SM, SA, KM, CP, ABPC など) のいずれかに耐性のものが多く、なかでも TC, SM, SA 耐性が主であると言われている^{8,10,11,16)}。今回の調査でも由来に関係なく、CTC, SM, SA 耐性が上位3位までを占め、上記のことを裏付けていた。しかし、耐性菌の検出率は処理器具類、食鳥肉、解体器具類と後の工程になるほど次第に低下し、また耐性型の種類も減少した。さらに、処理器具類由来では3剤以上の多剤耐性菌が大多数を占めていたのに対し、食鳥肉及び解体器具類由来では単剤耐性菌と2剤耐性菌が大部分であった。処理場内での最後の工程まで薬剤耐性菌の汚染はあるものの、汚染菌の内容が次第に好ましい方向へ変化していると言える。Kinjoら⁸⁾が市販食鳥肉から高率に耐性菌を検出したのは、食鳥処理場での汚染菌がそのまま付着して出荷されたのか、その後汚染されたのかは不明である。今回の調査は、食鳥検査制度が実施された初年度のものであり、Kinjoら⁸⁾の調査時とは事情が大きく変化し、単に処理場の違いだけでないことも考慮すべきであろう。

一方、今回の調査においてもRプラスミド保有菌の検出率は9.7%で、前回の調査 (10.6%) と同様低率であった。これは、先人^{8,10,11,16)}が調査した市販食鳥肉 (25~53%) 及び豚肉 (21~48%) 由来に比較してかなり低く、家畜糞便由来大腸菌⁴⁾でも他の地域に比較して低率であったことから、最近の本県における特徴と見なしたい。

今回の調査結果から、処理器具類の薬剤耐性大腸菌を除去するには、かなりの努力が必要のように思われた。処理場における最後の段階で、本冷却水による冷却時に食鳥肉が再度汚染されている。ここでの再汚染を防ぐには、冷却水に塩素剤の添加を行うと同時に、冷却水を滞留させないで常時オーバー・フ

ローするよう十分な水量を確保することが望まれる。また解体器具類については、食鳥肉の解体中随時洗浄、消毒できるような工夫が必要であろう。これらのことも含めて、処理施設・設備、工程など処理環境の改善を図ると同時に、従業員の衛生的な取り扱いが、より清潔で安全な食鳥肉生産につながると考える。しかし、このような処置をしても食鳥肉から完全に細菌を除去するのは困難であり¹²⁾、食鳥生産農場における衛生管理も十分に留意することが重要であろう。

摘 要

食鳥肉における薬剤耐性大腸菌の汚染状況を知る目的で、食鳥処理場の工程別に器具類、食鳥肉及び食鳥肉の解体器具類から大腸菌を分離し、ABPC, CTC, SM, CP, KM, NA, SA の7薬剤に対する感受性試験を行った。

処理器具類由来大腸菌では、80.7% (271/336株) が耐性であった。食鳥肉由来では56.7% (76/134株) が、また解体器具類由来では41.5% (17/41株) が、それぞれ耐性であった。薬剤別の耐性菌検出率は、全体ではCTCが65.0%で最も高く、以下SM, SA, KMの順であった。

また処理器具類と食鳥肉由来における耐性菌の検出順位は上記と同じであったが、解体器具類由来ではSA耐性が最も多かった。薬剤耐性型は、単剤耐性型から6剤耐性型まで23種類認められたが、工程が進むに伴ってその種類は減少した。また、耐性菌の84.7%が2剤以上に耐性の多剤耐性であったが、処理器具類由来の77%が3剤耐性型以上であったのに対し、食鳥肉及び解体器具類由来では64～74%が逆に2剤耐性型以下であった。

耐性菌におけるRプラスミド保有菌は、30株 (9.7%) であり、少なかった。

試料を快く提供して頂いた沖縄県食肉衛生検査所、細菌検査室の本田善美、中島秀人、新里武則、平安常寛の各氏に、また試料提供を許可して頂いた大城孝喜所長に、感謝致します。

引用文献

1. 吐山豊秋 1986 薬剤耐性菌による畜産食品汚染 (1)、日獣会誌、39：285～289
2. 日越博信、藤沢倫彦、高田潤一 1984 乳牛の分房乳から分離した大腸菌の薬剤耐性とRプラスミド、琉大農学報、31：111～117
3. 日越博信、永山輝代 1991 食鳥肉由来大腸菌の薬剤耐性とRプラスミド、琉大農学報、38：23～28
4. 日越博信、上間章功 1991 食鳥ふん便由来大腸菌の薬剤耐性とRプラスミド、琉大農学報、38：17～22
5. Hinton, M. H. 1991 家禽産業における抗生物質の使用と公衆衛生、畜産の研究、45：46～48
6. 河喜多龍祥 1987 薬剤感受性検査、1版、p66～69、東京、近代出版
7. 金城俊夫 1979 沖縄における各種動物および人糞便由来大腸菌の薬剤耐性とRプラスミド、日畜会報、50：542～548
8. Kinjo T., Simabukuro Y. and Tamaki M. 1977 Drug resistant strain of bacteria isolated from domestic animals in Okinawa. IV. Drug resistance and R factors of E. coli isolated from broiler chicken and pork, Sci. Bull. Coll. Agr. Univ. Ryukyus, 24：475～486
9. 坂崎利一訳 1981 医学細菌同定の手びき、2版、東京、近代出版
10. 佐藤昭子 1972 市販食品における病原大腸菌に関する研究 (第2報)、食衛誌、15：286～291
11. 佐藤昭子 1977 豚肉汚染大腸菌の薬剤耐性とRプラスミドについて、食衛誌、18：328～334

12. 品川邦汎 1986 食鳥処理場および小売店から採取した食鳥肉の微生物汚染、食品衛生研究、36(6) : 71~90
13. 高橋 勇 1977 家畜における薬剤耐性菌の発現機構と現況、獣医界、112 : 16~35
14. 寺門誠致 1971 抗生物質の飼料添加と耐性菌について、SPF Swine、2(2) : 38~43
15. 寺門誠致 1990 薬剤耐性の功罪、動薬研究、43 : 27~40
16. 寺門誠致、佐藤儀平、斉田 清、佐藤昭子、金井 久 1985 三橋進ら編、薬剤耐性菌による環境汚染、1版、p121~151、東京、学会出版センター