

平成30年度 厚生労働科学研究費補助金（食品の安全確保推進研究事業）

食品中の食中毒細菌の制御法の確立のための研究

研究代表者 工藤由起子 国立医薬品食品衛生研究所

分担研究報告書

Arcobacter butzleri の制御法の確立

研究分担者 大西貴弘 国立医薬品食品衛生研究所

研究要旨

本研究は *Arcobacter* 属菌による食中毒発生の可能性を検討することである。本年度は次年度以降に使用する基礎的な内容について検討を行った。まず、*Arcobacter* 属菌の培養、分離条件を検討した。その結果、継代にはアルコバクター基本培地、増菌培養には 0.005% 5-フルオロウラシルを添加したアルコバクター基本培地、分離培地には CAT サプリメントを添加したアルコバクター基本寒天培地を用いると良好な結果が得られた。検出方法としては *A. butzleri*、*A. cryaerophilus* および *A. skirrowii* を同時に検出できるマルチプレックス PCR を使用した。さらにこれらをまとめて *Arcobacter* 属菌の定量に用いる最確数法を確立した。また、次年度以降、研究協力機関で *Campylobacter* 食中毒発生時に患者便から *Arcobacter* 属菌の分離を行う際に用いる分離手順プロトコルを作製した。

研究協力者

岩手県環境保健研究センター

上山 昭、山中拓哉、

高橋幸子

宇都宮市衛生環境試験所

床井由紀

さいたま市健康科学研究センター

土屋彰彦

埼玉県衛生研究所

大塚佳代子

東京都健康安全研究センター

小西典子

静岡県環境衛生科学研究所

長岡宏美

静岡市環境保健研究所

望月瑞葉

富山県衛生研究所

磯部順子

三重県保健環境研究所	赤地重宏
奈良県保健研究センター	佐伯美由紀
広島県立総合技術研究所保健環境センター	平塚貴大
福岡市環境保健環境研究所	丸山浩幸
宮崎県衛生環境研究所	吉野修司
熊本県保健環境科学研究所	原田誠也
沖縄県衛生環境研究所	高良武俊

A. 研究目的

Arcobacter 属菌 (*A. butzleri*、*A. cryaerophilus*、*A. skirrowii*) はグラム陰性のラセン桿菌で鞭毛をもち運動性を有する。以前は *Campylobacter* 属菌に属していたが、その後、再分類され、現在では *Arcobacter* 属として独立している。*Arcobacter* 属菌は食肉、魚介類、野菜など幅広い食品をはじめ、水などの環境中からもしばしば検出される。*Arcobacter* 属菌は胃腸炎患者の便からしばしば分離されており、食中毒との関連性が示唆されている。例えば 2008 年の米国ウィスコンシン州での結婚式の事例では参加した 280 人中少なくとも 51 人が下痢、腹痛、嘔吐などを発症した。調査の結果、原因食としてフライドチキンが強く示唆されたが、フライドチキンから、または患者便からもウイルスを含む既知の食中毒微生物は検出されなかった。その後の調査の結果、フライドチキンおよび患

者便から *A. butzleri* が PCR で検出された。しかし、事例発生から日数が経過していたためか、菌分離は行えなかった。このため、最終的に *A. butzleri* を原因菌として同定出来なかった。また、1983 年にイタリア、フラッタ州の小学校で 10 名の学生が発症した。患者便からは *Campylobacter* 様の菌が分離された。その後、この菌は *A. butzleri* と同定された。この事例では食品からの菌分離は行われてはおらず、最終的な原因菌の同定はなされていない。また別の報告では、下痢症患者 6,744 名の便から菌分離を行ったところ、89 名 (1.3%) から *Arcobacter* 属菌が分離された (表 1)。さらにアメリカからメキシコ、グアテマラ、インドへの旅行者で下痢を発症した患者の 8%、また、タイの下痢症児童の便の 2.4% からそれぞれ *Arcobacter* 属菌が分離されている。この他にも多くの原因物質不明の事例で患者便から

Arcobacter 属菌が分離されている。

Arcobacter 属菌の病原性に関しては *A. butzleri* が詳しく調べられている (表 2)。それらによると *A. butzleri* は Cytolethal distending toxin、Cytotoxic enterotoxin、Cytotoxic enterotoxin などの毒素を産生し、腸管上皮細胞へ接着、侵入し、タイトジャンクションのバリア機能を低下させることが報告されている。これらの特徴は *C. jejuni* の病原性と非常に類似している。また、動物実験では新生仔豚やラットに下痢を惹起することが報告されている。

このように *Arcobacter* 属菌と食中毒発症との間に関連性が示唆されているが、*Arcobacter* 属菌が食中毒の原因菌であるかどうかについては結論が出ていない。その原因の一つとして *Arcobacter* 属菌に対する検査は通常の検査項目に入っていないため、*Arcobacter* 属菌が関与している事例が発生しても見逃される可能性が高いことが挙げられる。また、もう一つの理由として、*Arcobacter* 属菌が *Campylobacter* 属菌と非常に類似した性状を持っていることが挙げられる (表 3)。*Campylobacter* 属菌を分離するときには 42°C での発育や微好気条件下での発育が大きな

指標となるが、*A. butzleri* は 20°C ~ 42°C で発育でき、好気条件下、微好気条件下の何れでも発育できる。また、他の生化学性状も *Campylobacter* 属菌と類似しており、特に *C. coli* とは生化学性状的には区別することができない (表 3)。形態学的にも *Campylobacter* 属菌と同じグラム陰性のラセン桿菌である。また、*Arcobacter* 属菌は灰白色~クリーム色で表面に光沢のある隆起した微小集落を形成する (図 1-1)。また培地の表面が湿っていた場合、その運動性のため扁平なコロニーを形成する (図 1-2)。これらの特徴は *Campylobacter* 属菌と類似しており (図 2-1, 図 2-2)、集落の色調、形態でも区別することが難しい。さらに *Arcobacter* 属菌は *Campylobacter* 属菌を分離するとき用いられる多くの選択培地上で発育できることが報告されている。このようなことから *Arcobacter* 属菌が *Campylobacter* 属菌として誤同定され、*Campylobacter* の事例として処理されている可能性が示唆されている (図 3)。*Campylobacter* 属菌による事例の分離株 2, 855 株を再調査したところ、1% が *A. butzleri* が *Campylobacter* 属菌として誤同定

されたものであったとの報告もある。また、*Arcobacter* 属菌にも病原性があり、*Campylobacter* 属菌が単独ではなく *Arcobacter* 属菌とともに発症に関与していたとしても、前述のとおり *Arcobacter* 属菌に対する検査は通常行われていないため、表面上は *Campylobacter* 属菌単独の事例となってしまう（図 4）。例えば南アフリカの調査では患者便 322 検体のうち 35 検体から *Arcobacter* 属菌を検出したが、そのうち 27 検体から *C. jejuni/coli* も同時に検出され、最終的に *C. jejuni/coli* の事例として処理されている。以上のような要因から、*Arcobacter* 属菌の食中毒への関与は明らかになっていない。

本研究では *Arcobacter* 属菌の食中毒への関与について検討する。そのために、1) 肉類、野菜、魚介類など様々な食品における汚染実態を調査する、2) 地方衛生研究所に協力をお願いし、*Campylobacter* 食中毒発生時に患者便から *Arcobacter* 属菌の検出を試みる、3) *Arcobacter* 属菌の制御法の検討、以上の三点について研究を行う。本年度は次年度以降に用いる *Arcobacter* 属菌の検出法・定量法の作成を中心に検討した。

B. 研究方法

[1] 標準菌株

American Type Culture Collection (ATCC) より *A. butzleri* (ATCC49618)、*A. cryaerophilus* (ATCC43158)、*A. skirrowii* (ATCC51400) を購入し標準株として使用した。

[2] 試薬・培地

ブルセラ培地、ミューラーヒントン培地、アルコバクター基本培地、CAT サプリメントおよび CCDA サプリメントは Oxoid 社より購入した。トリプトソイ培地は (株) 栄研化学より購入した。馬脱繊維血は (株) 日本バイオテストより購入した。5-フルオロウラシルは (株) ナカライテスクより購入した。ブルセラ培地、ミューラーヒントン培地、アルコバクター基本培地には 1.5% の寒天を加え寒天培地としても使用した。各寒天培地は製造者推奨の方法で調整した後、121°C、15 分間、オートクレーブ処理後、滅菌シャーレに 15~20 ml ずつ分注し、使用した。選択剤もしくは馬脱繊維血を添加する場合は、オートクレーブ後の培地を 55°C まで冷却した後、無菌的に添加した。

[3] 検体

鶏肉は神奈川県内のスーパーマ

一ケツトより購入した。購入後、検体は 4℃で保管し、24 時間以内に試験に供した。

[4] 継代培地の検討

ブルセラ寒天培地で 30℃、2 日間、好気培養した *Arcobacter* 属菌を供試培地に塗抹した。各培地は 30℃、好気培養を行い、4 日間、集落の発育を観察した。

[5] 選択剤の検討

アルコバクター基本寒天培地で 30℃、2 日間、好気培養した *Arcobacter* 属菌を供試選択剤を添加したアルコバクター基本寒天培地に塗抹した。各培地は 30℃、好気培養を行い、4 日間、集落の発育を観察した。

[6] マルチプレックス PCR

A. butzleri、*A. cryaerophilus*、*A. skirrowii* を同時に検出できるマルチプレックス PCR は Houf らの方法 (FEMS Microbiol. Letter, p. 89-94, 2000) を改良して使用した。プライマーおよび PCR の条件を図 5 に示す。PCR 産物を 1.5% アガロースゲル電気泳動で分離し、641 bp のバンドを確認できた場合 *A. skirrowii* 陽性、401 bp のバンドを確認できた場合 *A. butzleri* 陽性、257 bp のバンドを確認できた場合 *A. cryaerophilus* 陽性とした(図 6)。

サンプルからの DNA 抽出はアルカリ熱抽出法で行った。具体的には増菌培養液 100 μ l を滅菌微量遠心チューブに移し、12,000 rpm、10 分間の遠心処理後、上清を捨て、50 mM NaOH を 85 μ l 加えた。100℃、10 分間加熱後、1 M Tris-HCl (pH7.0) を 15 μ l 加え、12,000 rpm、10 分間の遠心処理後、上清をテンプレートとして使用した。陽性コントロールは標準株から抽出した DNA をテンプレートとしてマルチプレックス PCR を行い、アガロースゲル電気泳動上の陽性バンドを切り出し、QIAquick gel extraction kit (キアゲン社製) を用いて DNA を抽出したものを使用した。

[7] 菌株の保存

分離した菌株は 7.5% DMSO を含むニュートリエントブロスに浮遊させ、-20℃で保存した。

C. 研究結果

[1] 培地の検討

Arcobacter 属菌の培養に用いる培地の検討を行った。検討は文献的に *Arcobacter* の発育が報告されている 1) ATCC が菌株分与時に推奨しているブルセラ寒天培地、2) *Campylobacter* 属菌の継代に用いられるミューラーヒントン

寒天培地、3) トリプトソイ培地に5%の馬血液を加えた血液寒天培地、4) アルコバクター基本寒天培地(表4)の4種類の培地で行った。その結果、ブルセラ寒天培地はATCCの推奨培地でもあるため *A. butzleri*、*A. cryaerophilus*、*A. skirrowii* の3菌種ともには良好に発育した。ミューラーヒントン寒天培地では *A. butzleri* は良好に発育したが、*A. skirrowii* の発育は悪く、また、*A. cryaerophilus* は4日間培養を継続しても発育は見られなかった。血液寒天培地およびアルコバクター基本寒天培地上では3菌種とも非常に良好な発育を示した。3菌種が最もよく発育したのは血液寒天培地とアルコバクター基本寒天培地であったが、試験の簡便化を考え、アルコバクター基本寒天培地を基本培地として使用することにした。

[2] 選択剤の検討

Arcobacter 属菌の分離培養に用いる選択剤の検討を行った。文献で報告されている *Arcobacter* 属菌の選択剤のうち0.005% 5-フルオロウラシル、CAT サプリメント、CCDA サプリメントを検討した(表5)。5-フルオロウラシルはウラシルの代謝拮抗薬であり、*A.*

butzleri の分離にしばしば用いられている。CAT サプリメントは *Campylobacter* 属菌の分離に用いられ、組成は培地500 ml に対して Cefoperazone 4 mg、Teicoplanin 2 mg、Amphotericin B 5 mg からなる。CCDA サプリメントも *Campylobacter* 属菌の分離に用いられ、組成は培地500 ml に対して Cefoperazone 16 mg、Amphotericin B 5 mg である。これらの選択剤を添加したアルコバクター基本寒天培地上で *Arcobacter* 属菌を30°C、2日間、好気培養したところ(表5)、5-フルオロウラシルもしくはCAT サプリメントを添加したアルコバクター基本寒天培地上では3菌種とも発育が良好であった。しかし、CCDA を添加したアルコバクター基本寒天培地上では *A. cryaerophilus* および *A. skirrowii* の発育は不良であった。

[3] マルチプレックスPCR法

標準株から抽出したDNAをテンプレートとして使用し、今回検討したマルチプレックスPCRを行ったところ、*A. butzleri*、*A. cryaerophilus*、*A. skirrowii* の3菌種を明確に同定することができた(図6)。次に本PCR法の感度を検討した。0.005% 5-フルオ

ロウラシルを添加したアルコバクター基本培地 225 ml に *A. butzleri*、*A. cryaerophilus* が存在しないことがあらかじめわかっている鶏肉 25 g を加え、ストマッカー処理し、乳剤を作製した。この乳剤に既知の菌数の *A. butzleri* もしくは *A. cryaerophilus* 菌液を加え攪拌後、この乳剤から DNA を抽出し、本マルチプレックス PCR を行った。その結果、乳剤中に 100 から 200 cfu/ml の *Arcobacter* 属菌が存在すれば検出できた (図 7)。また、*C. jejuni* および *C. coli* から抽出した DNA をテンプレートとして本 PCR を行っても陽性にならなかつた (図 8)。

[4] 最確数法の確立

本年度に検討した培地や選択剤を用いて、*Arcobacter* 属菌定量的ための最確数法を作製した。以下にその手順を示す (図 9)。増菌培地として 0.005% 5-フルオロウラシルを添加したアルコバクター基本培地を用い、分離培地として CAT サプリメントを添加したアルコバクター基本寒天培地を用いた。増菌培地 225 ml に検体 25 g を加え、2 分間ストマッキング処理を行う。これを 10 倍乳剤とする。10 倍乳剤を増菌培地でさらに

希釈し、100 倍乳剤を作製する。最確数法は 3 本法で行い、試験管 1 本あたり 10 倍乳剤 0.1 ml、100 倍乳剤 0.1 ml および 0.01 ml に増菌培地を加えて最終 1ml にする。各濃度につき試験管 3 本ずつ用意した。30℃、48 時間、好気培養後、各試験管から培養液を 0.1 ml を取り、アルカリ熱抽出法でテンプレートを作製する。作成したテンプレートを用いてマルチプレックス PCR を行い、*Arcobacter* 属菌の検出を行う。陽性となった試験管数をもとに *A. butzleri*、*A. cryaerophilus*、*A. skirrowii* それぞれの最確数を算出する。さらに、マルチプレックス PCR で陽性になった試験管の培養液を分離培地に塗抹し、30℃、48 時間、培養する。単離した集落から DNA を抽出し、マルチプレックス PCR を行う。PCR が陽性の場合、カタラーゼ試験、オキシダーゼ試験、馬尿酸の加水分解試験、グラム染色を行い、最終的に菌種を同定する。同定した菌株は冷凍保存する。

[5] 鶏肉中の *Arcobacter* 属菌の定量

今回確立した *Arcobacter* 属菌に対する最確数法を用いて鶏肉中の *Arcobacter* 属菌の定量を試験的に行った (表 6)。使用した検体

は鶏肉 11 検体で、産地の内訳は国産 10 検体、ブラジル産 1 検体であった。ブラジル産は冷凍処理されていたが、他の検体の冷凍処理の有無は不明であった。検体の種類はもも肉 6 検体、もも肉（ひき肉）1 検体、むね肉 1 検体、むね肉（ひき肉）1 検体、ササミ 1 検体、不明 1 検体であった。最確数法により定量の結果、11 検体すべてで *A. butzleri*、*A. cryaerophilus* のいずれか、もしくは両方が検出された（表 6 および図 10）。死菌由来の DNA を検出している可能性があるため増菌培養前の乳剤から DNA を抽出しマルチプレックス PCR を行っても検出できなかった（図 11）。*A. skirrowii* はすべての検体で検出されなかった。菌数は $10^2 - 10^4$ MPN/100 g に集中していた。*A. butzleri* で 10^3 MPN/100 g を超えたのは 1 検体だけであったのに対して、*A. cryaerophilus* では 4 検体が 10^3 MPN/100 g を超えており、*A. butzleri* よりも *A. cryaerophilus* の菌量の方が多い傾向がみられた。鶏肉の部位やひき肉であるかどうかなどで菌数に差は認められなかった。また、冷凍処理が行われていた検体からも *A. butzleri*、*A.*

cryaerophilus が検出された。

[6] *Arcobacter* 属菌分離プロトコルの作成

次年度以降、研究協力機関に *Campylobacter* 食中毒発生時に患者便から *Arcobacter* 属菌の分離を行っていただくが、そのためのプロトコルを作製した（図 12）。分離手順は以下のとおりである。分離培地として CAT サプリメントを添加したアルコバクター基本寒天培地を用い、これに患者便を塗抹後、30℃、48 時間、好気培養を行う。培養後、*Campylobacter* 様コロニーを 10 個選択し、アルカリ熱抽出法もしくは熱抽出法で DNA を抽出し、マルチプレックス PCR を行う。陽性の菌株は国立医薬品食品衛生研究所に送付してもらいさらに性状を解析する。

D. 考察

[1] 培地および選択剤の検討

本研究の目的は *Arcobacter* 属菌の食中毒事例への関与を明らかにすることである。本年度は培地や検出法、定量法など今後の研究で用いる基礎的な内容を検討した。検討にあたっては研究協力機関における省力化を図るためなるべく簡便でかつ市販されているものを使用することとした。検討

の結果、基本培地としては血液寒天培地とアルコバクター基本培地上で *A. butzleri*、*A. cryaerophilus* および *A. skirrowii* の3菌種が同程度に良好な発育を示した。このうちアルコバクター基本培地は市販されており、血液を添加する必要もないため、作業の簡便性を考慮して基本培地はアルコバクター基本培地を使用することとした。この培地はペプトン、イーストエクストラクト、食塩からなる単純な培地であるが、*Arcobacter* 属菌の発育に適したペプトンが使用されている。また、活性炭や血液を使用しないため *Campylobacter* 属菌が発育しにくいという特徴も持つ。

Arcobacter 属菌に対する選択剤に関しても多くのものが報告されているが、ここでも調整が簡単なものもしくは市販されているものから検討した。5-フルオロウラシルはもともとレプトスピラの分離に用いられてきたものであり、単体で多くの細菌の発育を阻止することができるため、*Arcobacter* 属菌を分離する際の基本的な選択剤として利用されている。他に *Arcobacter* 属菌の分離に利用できる選択剤を調査

したところ、*Campylobacter* 属菌の分離に用いられている CAT サプリメントと CCDA サプリメントが市販されていた。そこでこれらのサプリメントを添加したアルコバクター基本培地での発育を検討したところ、CAT サプリメントは3菌種とも良好に発育したが、CCDA サプリメントは *A. butzleri* 以外の2菌種の発育が悪かった。このため CAT サプリメントを使用することにした。ただし、CAT サプリメントは高価なため、5-フルオロウラシルを増菌培地で用い、その後の分離培地に CAT サプリメントを使用することにした。鶏肉を検体として増菌培養を行った場合、これら増菌培地と分離培地の組み合わせで、夾雑菌の発育を効果的に抑えることができた。

[2] マルチプレックス PCR 法の検討

A. butzleri、*A. cryaerophilus*、*A. skirrowii* は性状が非常に似ており、形態学的にも区別できないため、食品からの *Arcobacter* 属菌の検出はマルチプレックス PCR を用いた遺伝子検査法で行い、あわせて分離培地を用いて菌分離を行うこととした。マルチプレックス PCR は Houf らの方法をもと

に、使用する PCR 試薬、プライマー濃度、アニーリング温度などを最適化して使用した。本マルチプレックス PCR は増菌培養液 1ml に対して 100~200 cfu の菌濃度で検出できるため、増菌培養後の検出には十分な検出感度を有していると思われた。また、増菌培養は好気条件で行うため *Campylobacter* 属菌が発育してくる可能性は少ないと思われるが、本マルチプレックス PCR 法は *C. jejuni* および *C. coli* と交差しないことを確認している。

[3] 最確数法の確立

今回検討した内容をまとめ、*Arcobacter* 属菌に対する最確数法を作製し、試験的に鶏肉における *Arcobacter* 属菌の定量を行った。その結果、すべての検体から *Arcobacter* 属菌が検出された。今回検討した検体では 2 検体を除き *A. butzleri* と *A. cryaerophilus* が同時に検出された。また *A. butzleri* よりも *A. cryaerophilus* の菌数の方が高くなる傾向はみられたが、 10^2 - 10^4 MPN/100 g 範囲で収まっていた。これらのことから *A. butzleri* と *A. cryaerophilus* はニワトリにおける常在菌であることが示唆された。一方、今回の検討では *A.*

skirrowii は検出できなかった。*A. skirrowii* は鶏肉から検出されることは既に報告されており、今回検出できなかった原因は明らかできなかった。ひとつの可能性として、最確数法は通常、試験管 1 本あたり培養液 10 ml で行うが、今回検討した最確数法は試験の簡略化を考え、試験管 1 本あたり培養液 1 ml で行った。このため検出感度が低下した可能性がある。次年度からの本試験では定法どおり試験管 1 本あたり培養液 10 ml で行う予定である。

今回の鶏肉からの定量ではすべての検体で *Arcobacter* 属菌がマルチプレックス PCR 陽性となった。しかし、陽性になった試験管から分離培養を行っても、すべての検体で菌分離を行えたわけではなかった。このため菌分離ができなかった試験管では、死菌の DNA を PCR が検出している可能性も考えられた。しかし、増菌培養前の乳剤から DNA を抽出してマルチプレックス PCR を行っても陽性とならないことから、その可能性は低いと思われる。現時点では、おそらく培養液中の菌数が少ないのが原因ではないかと考えている。マルチプレックス PCR 陽性の試験管に関しては、培養日数を延ばすこ

とによって菌分離率が上昇するか検討を行ってみたい。

今回検討した 11 検体のうち 7 検体はもも肉(うち 1 検体はひき肉)であった。すべてのもも肉からは *A. butzleri* および *A. cryaerophilus* が同時に検出された。一方、むね肉 2 検体(うち 1 検体はひき肉)のうち 1 検体は *A. cryaerophilus* のみが検出された。ささみ 1 検体では *A. butzleri* だけが検出された。不明 1 検体では *A. cryaerophilus* だけが検出された。今回は検体数が 11 検体と少なく、7 検体はもも肉であったため、今回の結果だけで鶏肉の部位によって分離される菌種が異なるのかどうかについては結論できない。今後さらに検体数を増やして検討したい。

今回検討した鶏肉のうち、ブラジル産の 1 検体が冷凍処理済みであった。しかし、この検体からも *A. butzleri* と *A. cryaerophilus* が検出された。このことから *Arcobacter* 属菌は冷凍条件でも長期間生存できる可能性が示唆された。食品中における *Arcobacter* 属菌の増殖挙動や、生存性などは次年度以降さらに検討する予定である。

[4] *Arcobacter* 属菌分離プロト

コルの作成

次年度以降、研究協力機関に *Campylobacter* 食中毒発生時に患者便から *Arcobacter* 属菌の分離を行っていただくために分離手順プロトコルを作製した。今回のプロトコルでは CAT サプリメントを添加したアルコバクター基本寒天培地で分離を行うこととした。しかし CAT サプリメントの選択性は良いが、夾雑菌の発育を完全に抑えることはできない。そのため本プロトコルでは *Campylobacter* 様集落を 10 個選択して PCR で鑑別することにした。効率の上ではあまり良い方法ではないが、よい鑑別培地がない現時点ではやむを得ないと思われる。今後、*Arcobacter* 属菌の代謝性状などがさらに解析されれば、それらをもとに鑑別の容易な培地を作製できるかもしれない。

E. 結論

本年度は *Arcobacter* 属菌の培養法、検出法など次年度以降に使用する基礎的な項目の検討を行った。さらに *Arcobacter* 属菌の定量を行うための最確数法を作製した。*Arcobacter* 属菌は食肉からだけでなく野菜や魚介類、飲料水など様々な食品から検出されているが、本法

を用いることによって食品中の *Arcobacter* 属菌の定量を行うことができると思われる。さらに、*Arcobacter* 属菌の分離プロトコルを作製した。本年度作成した最確数法および分離プロトコルを用いて、次年度はわが国の食品における *Arcobacter* 属菌の汚染実態調査を行うとともに、研究協力機関では *Campylobacter* 食中毒発生時に患者便から *Arcobacter* 属菌の分離を行っていただく予定である。さらに汚染実態調査の結果をもとに *Arcobacter* 属菌の汚染が重篤な食品を選び、その食品中における *Arcobacter* 属菌の増殖挙動、生存性について検討を行う予定である。

本研究では *Arcobacter* 属菌が *Campylobacter* 属菌と性状が類似していることから、*Arcobacter* 属菌と *Campylobacter* 食中毒との関連性を中心に検討を行っている。しかし、*Arcobacter* 属菌は *Campylobacter* 食中毒事例以外の原因微生物が不明の事例からも多く分離されている。これらの事例では *Arcobacter* 属菌以外に問題となるような微生物は分離されていないことから *Arcobacter* 属菌が原因微生物である可能性がある。今後はこれらの原因微生物が不明の事例に関しても *Arcobacter* 属菌の分離

を行い、検討する必要があると思われる。また、*Arcobacter* 属菌の病原性についても分子生物学的、生化学的研究を進め、*Arcobacter* 属菌が下痢を引き起こすことができるのか結論を出す必要があると思われる。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

なし

2. 学会発表

なし

H. 知的財産権の出願・登録状況

なし