

分担研究報告書（平成12年度）

農場の生産現場におけるカンピロバクター
汚染実態の文献学的調査

分担研究者 佐藤静夫
(全農家畜衛生研究所)

厚生科学研究費補助金（特別研究事業）
（分担）研究報告書

生産現場におけるカンピロバクター汚染実態の文献学的調査

分担研究者 佐藤静夫 全農家畜衛生研究所

研究要旨

生産現場におけるカンピロバクター汚染実態を把握するため、過去10～15年間における関連文献の検索を、農場・食鳥処理場・市場からの菌分離と汚染実態、検出方法、型別、予防対策、ヒトとの関連性などをキーワードとして95文献を選出し、汚染実態の文献学的調査を実施した。

分担研究者：高木昌美

農林水産省動物医薬品検査所
検査第一部細菌製剤検査室
室長

目次

1. カンピロバクター検査方法
2. 分離成績
 - 1) 養鶏場における分離
 - 2) 種鶏場における分離と垂直感染
 - 3) 食鳥処理場における分離と処理鶏・処置施設への汚染
 - 4) 市販品からの分離
3. 型別法（血清型別、遺伝子型別、生物別など）
4. ヒトの食中毒との関連性
5. 予防対策
 - 1) 養鶏場における予防対策
 - 2) 食鳥処理場における予防対策
 - 3) 処理場から搬出後および市販後の汚染対策

1. カンピロバクター検査方法

カンピロバクター検査方法としては、簡便性・迅速性を観点に、蛍光抗体法³⁾¹⁾、PCR法^{4)6, 48, 51, 57, 62, 65, 67, 68, 74, 76, 78, 81, 85)}やELISA法⁹⁾³⁾等の検出法が開発されているが、一般的には、従来から行われている分離培養法が実施されており、定性的検出法である直接培養法（表1）と、増菌培養後の分離培養法（表2）、定量法の菌数測定法が挙げられる。検索した文献では、定性的な分離培養法はほぼ同数の論文数が認められたが、定量法による分離報告は少なかった⁷⁾³⁾。しかし、汚染実態の調査においては、菌分離のみならず、汚染度も重要視されている。

(1) 検査材料

検出材料としては、鶏の腸内容、盲腸便、糞便、皮膚、臓器、鶏と体・製品（肉）・食品、環境（土壌、ネズミ等）、飼料、飲料水等が報告されている。

鶏と体や皮膚、鶏製品の検査の場合は、ペプトン水などで洗い出しを行った材料を用いて分離培養を行っている。器具・機材や、環境からの検出は、これらのふき取り材料を用いて培養を行い、検出を行っている^{17, 18)}。

また、食品、飲料水、環境材料などの検査材料には、含まれるカンピロバクターの菌数が少ないため、検出にあたっては増菌培養を必要である^{3, 4)}。たとえば、食品からの分離には、25gをホモジネートし、増菌培地 225mL を加え 10%乳剤を調製し、検査材料としている。また、環境ふき取り材料では、約 10mL の培地に入れ、42°C、24~48 時間の増菌培養後、選択分離培地へ塗抹する方法がとられていた。しかし、Humphrey らは^{2, 9)}、その一部を選択剤添加培地に移して、42°Cで培養することを推奨していた。

飲料水からの分離には、できる限り大量の検査材料をろ過させたメンブランフィルター（ポアサイズ 0.45 μ m）を増菌培地に入れ培養後、選択分離培地で分離する方法や、フィルターを選択寒天培地上に置き培養後、フィルターを除去してさらに培養し、分離する方法などが報告されている^{7, 9)}。

(2) 分離培地

選択分離培地としては、直接及び増菌培養法のいずれにおいても、*Campylobacter* blood-free 選択寒天培地、Skirrow 寒天培地、Preston 選択寒天培地、Butzler 培地などが広く用いられており、また増菌培地としては、ペプトン水、Preston 選択液体培地、Brucell 培地、Hunt's 培地が使用されている。これらのいずれの培地にも、カ

ンピロバクターが有為に増殖できるように選択剤が用いられており、*Campylobacter* growth supplement や *campylobacter* elective supplement (Oxoid CAT selective supplement (ceftiofur, amphotericin, teicoplanin)) といった市販の選択剤が、また、馬、羊、牛の溶血液や脱繊維血を添加するものも多い。また、血液添加の代わりに活性炭を用いるものの分離培地も報告されている。

(3) 培養条件

培養温度に若干の違いが認められるものの、多くは 42°C、24~48 時間の微好気培養 (5%O₂-10%CO₂-85%N₂、7%O₂-10%CO₂-83%N₂、5%O₂-8%CO₂-87%N₂、5%CO₂-87%N₂) が行われている。培養法としては、市販のガスパック（ガス発生袋）を用いる方法が多く認められ、gas generating kit (Oxoid)、Campy Pak Plus (BBL)、Campylobacter Microaerophilic System Gas Packs (Becton Dickinsons) 等が使用されている。

(4) 分離培養法

1) 直接培養法 (表 1)

検査材料から直接培養する方法で、分離には選択培地を用いる。

2) 増菌培養法 (表 2)

菌数の少ないと想定される検査材料から検出する場合には、増菌培養を行う必要がある。

3) 菌数測定法^{3, 4)}

定量試験には、寒天直接塗抹法と統計学的な確率（ポアソン分布）に基づく平均値、最確数 (Most Probable Number, MPN) により菌数を算出する MPN 法がある。前者の方法は、本菌の生菌数を正確に測定できないので推奨されないが、後者の MPN

値により菌数を測定する方法が一般的に用いられている。MPN法はまず、検査材料（食品等）を適当な希釈液中に混合し、これを試験原液とする。この検査原液 10mL、1mL、10 倍階段希釈液の 1mL、100 倍階段希釈液の 1mL を、それぞれの希釈段階で増菌培地 3 本（3 管法）若しくは 5 本（5 管法）に接種する。試験原液 10mL については、2 倍濃度の増菌培地 10mL に接種し、他は 9mL 分注した増菌培地に接種する。42°C、24 時間の微好気培養後、それぞれの試験管から、Butzler 培地で分離培養する。カンピロバクター陽性試験管数から、MPN 値を算出し、生菌数測定を行う。

また、鶏病研究会では、本菌の分離法として、後述した「カンピロバクターの検査法」を推奨しており、参考までに記載した。「カンピロバクター保菌鶏の検査法」³⁷⁾

(1) 培養方法

1) 検査材料：鶏の腸内容物、クロアカ・スワブ、新鮮な糞便。

本菌は、15°C以上の温度あるいは乾燥した状態では死滅しやすいため、採材後、直ちに培養を行う。直ちに培養ができない場合は、材料を Cary-Blair 培地（栄研、日水）または 1%食塩加グリセリン保存液に入れ、5-10°Cの冷保存しておく。

2) 培養方法：O₂ 5-10% + CO₂ 10%条件下の微好気培養法で良好な発育を示す。これらの培養法としては、Campy Pack (BBL)、Campylobacter Gasgenerating Kit (Oxoid)、といったカンピロバクター用ガス発生袋や、Gas Pack H₂ + O₂ (BBL)、Anaerobic Gasgenerating Kit (Oxoid) 等の嫌気培養用ガス発生袋が市販されている。また、嫌気培養ビン（平山製作所、トミー精工）、

微嫌気用培養孵卵器（平沢製作所）を用いて、内部の空気を抜き、大気圧から 650mmHg 減圧してから、微好気用混合ガス（5%O₂、10%CO₂、85%N₂）で置換して培養に用いる。

3) 培地：増菌培地と選択分離培地があり、以下に示した培地以外にも多くの市販品がある。

① 増菌培地

a. Preston 増菌培地

普通ブイヨン

ウマまたはヒツジ溶血液または脱繊維血

5% 選択剤：Preston Selective Supplement (Oxoid)

polymyxin B 50 IU/10ml

trimethoprim 0.1 mg/10ml

refampicin 0.1 mg/10ml

actidion(cycroheximide) 1 mg/10ml

b. CEM 培地

普通ブイヨン

ウマ脱繊維血 7%

選択剤

vancomycin 0.2 mg/10ml

polymyxin B 50 IU/10ml

trimethoprim 0.5 mg/10ml

amphotericin B 0.02 mg/10ml

② 選択分離培地：Butzler の培地、Skirrow の培地、活性炭末カンピロバクター寒天が広く用いられている。Butzler の培地は選択性が高く、増菌培養後の培養に適する。

a. Butzler の培地

血液寒天基礎培地 (Oxoid)

血液：

ウマまたはヒツジ脱繊維血液 5-7%

選択剤 (Oxoid)：

bacitracin 25,000 U/L

cycloheximide	50 mg/L
colistin sulphate	10,000 U/L
cephazolin sodium	15 mg/L
novobiocin	5 mg/L

b. Skirrow の培地

血液寒天培地 (Oxoid)

血液：ウマまたはヒツジ脱繊維血液

5 - 7 %

選択剤 (Oxoid) :

vancomycin	10 mg/L
polymyxin B	2,500 IU/L
trimethoprim	5 mg/L

c. カンピロバクター血液無添加選択寒天培地

(活性炭末カンピロバクター寒天培地、血液の代わりに活性炭を用いた培地)

選択剤 (Oxoid) :

cefoperazone 32 mg/L

(2) 菌の分離培養

1) 直接分離培養：検査材料の多くは、直接分離培養で菌分離が可能である。検査材料を選択分離培地に直接塗抹し、42-43°C 48 時間、微好気培養を行う。

2) 増菌培養：長時間保存した材料や水などの材料では増菌培地に接種後、42-43°C、18-24 時間、微好気培養を行う。次いで、選択分離培地に塗抹し、分離培養を行う。

(3) 分離菌株の同定

1) 選択分離培地上の *Campylobacter* 属の集落：1-2mm の隆起した帯紅褐色の混濁正円形の集落を形成する。培地表面の水分含量が多いと扁平なやや大きい集落を形成する。培地表面の乾燥が不十分な場合、集落は培地の表面を遊走する。

2) スクリーニング試験：

a. 形態と運動性：本菌は、螺旋状あるいは

はコンマ状を示すが、時には糸状あるいは陳旧化すると球状となる。螺旋菌のため、活発な螺旋状の運動をする。

b. オキシダーゼ試験：発育した集落の一部をガラス棒でとり、オキシダーゼ試験紙(栄研、日水)を用いて試験を行うとき、陽性を示す。

c. 確認試験：生化学的性状試験を実施して、菌種の同定を行う。

以下の各試験結果から、菌種を同定する

a) 好気培養試験：37°Cの好気培養を行う。

b) オキシダーゼ試験

c) ブドウ糖分解試験

d) カタラーゼ試験

e) 25°C及び42°Cでの発育試験

f) 馬尿酸塩加水分解試験(迅速法)

g) ナリジクス酸及びセファロシン感受性試験

菌種が同定できない場合は、以下の試験を追加する。

h) 1%グリシン抵抗性試験

i) 0.04% TTC

(2,3,5-triphenylterazolium chloride)

抵抗性

j) 硫化水素産生性

○シスチン加ブルセラ半流動培地による硫化水素産生性

○TSI 寒天による硫化水素産生性

検査を行うにあたって、多様な検査材料、様々な分離培地や選択剤、培養条件、分離法等があり、検査材料の状態や、どの培地を使ってどの培養方法で実施するかにより、分離率や分離成績に大きく影響してくる可能性がある。カンピロバクターは室温では死滅しやすいため、検査材料の送付の

際には、1%食塩加グリセリン保存液や Cary-Blair 輸送培地などに検査材料を混合し、10°C以下で、検体の乾燥を避けて輸送する必要がある。また、採材後迅速に処理することが望ましい^{3 2)}。

分離方法の表 1、2 からもわかるように、様々な分離培地や選択剤が使用されている。こうしたいずれの培地にも他の菌の増殖阻止を行い、分離率を向上させるために、各種の抗菌性物質が添加されているが、それぞれに一長一短があると思われる。

培養方法において、菌数が少ないと推定される検査材料、すなわち保存期間の長い材料や、抗菌剤の影響を受けているような場合、また食品やふき取り材料などについては、分離率を上げるために増菌培養を行うことは必須であろう。

性状の異なる検査材料毎に、用いる培地も含めた最適の分離培養法を選択するためには、多くのデータの蓄積が必要と思われる。

2. 分離成績

1) 養鶏場における分離

カンピロバクターは、多くの正常な家畜、家禽、野生動物の腸管内に広く分布していることが報告されている^{1 2), 1 8)}。特に、鶏の保菌率は高く、20%から 100%に至る報告もあり、他の動物から比べると非常に高いといえる。

養鶏場の分離成績に大きな差が見られるが、これは農場における衛生状態による影響が大きいと考えられている。この他に、検査日齢、採材時期、分離方法、技術など様々な要因によることも考えられる。その原因の一つとして、検査時期（季節）が挙

げられる。鶏からのカンピロバクター分離率の検査実施時期における変動を図 1 に示した。本図は、それぞれ 3 研究者によって行われた分離成績をまとめて表したものである。検査材料は、盲腸内容^{3 6)}、皮膚スワブ^{3 9)}、鶏肉^{8 4)}と異なるが、いずれの材料からも、1年間を通して 6-8 月の季節がもっとも分離率が高いことが示されている。また、検査材料を、1996~1998 の 3 年間で比較した場合でも、やはり 7-8 月が最も高い陽性率を示しており、カンピロバクターの分離率は、季節的影響が極めて大きいと考えられる。

また、分離率は、ヒナの日齢により差が見られる。初生ヒナではほとんど検出されないが、週齢が加わることにより検出率は高くなり、鶏の年齢も検出率に大きな影響がある。Lindblom ら^{2 1)}は、生後 8 時間齢のヒナでは 0%であったが、5 週齢では 5%、16 週齢 72%、35 週齢 32%、65 週齢 22%だったと報告している。また、Genigeorgis らは^{2 0)}、10 日齢のヒナでは 2.3%、20 日齢 9.5%、30 日齢 29.7%、40 日齢 47.9%、45 日齢 65.7%、50 日齢 78.6%と報告している。さらに、農場導入時には 0%だった鶏群が、飼育 2-3 週間目から菌が検出され始め、その後急速に汚染が広がり、加齢に伴い陽性率が高くなり、5 週齢で 100%を示したことも報告されている^{5 3)}。こうした急速な汚染の広がりについては、*C. jejuni*

を用いた排菌パターンと定着に関する検討結果からも明らかであることが示されている^{6 9)}。すなわち、初生ヒナに本菌を投与後 24 時間で陽性率は 50%、48 時間では 70%が陽性率を示していた。排菌のピークは 13-19 日で、3 週目以降は減少傾向

にあるものの、平均 25 日間排菌されていたことが明らかにされた (表 3)。

養鶏場における汚染原因を調査するため、鶏以外の飼育環境からの分離成績もいくつか見られる。ハエ・ダニなどの衛生害虫や飼育者、飼育者の履物、ドリンカーなどの器具^{5 3)、6 3)}、飲料水、周辺の川・井戸水^{3 8)}、土壌等^{8 4)}から本菌が検出されている。また、飼料や敷料からも検出が認められているが、これらは鶏からの汚染であると考えられており、汚染源とはいえなかった^{6 3)}。報告の中では、環境からの菌の検出が認められたが、汚染源と特定することはできていない^{6 3)}。しかし、養鶏場内には、飼料、飲料水、敷料、飼育者触など、潜在的汚染源が存在しており、これらを通じて鶏舎内の他の鶏を急速に水平感染すると考えられる。

2) 種鶏場におけるカンピロバクターの垂直感染と水平感染

Stern ら^{4 8)}は、種鶏場において、6、20、40 週齢の鶏群を対象にカンピロバクターの分離を実施したところ、43 群中 29 群、460/870 羽 (52.8%) が陽性を示し、6 週齢以上の週齢鶏群では分離率に差は認められなかったことを報告し、さらに本菌の垂直感染の可能性についても示唆した。Shanker ら^{2 2)}は、種鶏場において以下の成績を得た。すなわち、①種鶏場の 240 羽中 178 羽 (74%) から *C. jejuni* が分離されたにもかかわらず、陽性種鶏の卵 187 個中 185 個は陰性であった。陽性を示した卵 2 個は、床に産み落とされ、別ルートからの汚染卵であった。②種卵表面に付着させた *C. jejuni* は卵内に侵入しなかった。③本菌

陽性の種鶏からの種卵を孵化させたヒナ 840 羽は 6 週齢に達するまで、*C. jejuni* の排菌は認められなかった。④強制的に卵白に *C. jejuni* を接種させた種卵 167 個から孵化した 12 羽のうち 2 羽のみが陽性だった。これらの結果から、彼らは、*C. jejuni* の垂直感染の可能性を否定している。また、Lindblom ら^{2 0)}もカンピロバクターの水平感染を強く主張している。Chuma ら^{6 1)}は、8 週齢のプロイラーとその種鶏 (4-8 週齢) 及びそれらから孵化した子孫鶏から菌分離を試み、各群から分離した株を用いて、RFLP による性状比較を行った。プロイラー鶏からは、*C. jejuni* が 17/85 羽 (20%)、*C. coli* が 4/85 羽 (4.7%)、種鶏からは 100% 検出され、その子孫鶏からは *C. jejuni* 4/15 羽 (26.7%) が分離された。しかし、これらの分離株は RFLP による型別では全て異なるパターンを示していることから、汚染種鶏からの垂直感染は否定結果が得られている。

カンピロバクターの鶏への感染機構としては、垂直感染の可能性は低く、水平感染であるという見解が一般的であろう。

3) 食鳥処理場における分離と処理鶏への汚染

Lindblom ら^{4 3)}は、農場へのヒナの導入時には、カンピロバクター陰性であるが、飼育中に外部から感染を受け、汚染が拡大することを、またスウェーデンではプロイラーの出荷日齢は 5 週齢であるため、出荷段階でのカンピロバクターの制御は十分可能であることを報告している。しかし、スウェーデンの他の報告者は^{5 3)}、ヒナ導入後 2-3 週齢で本菌は陽性となり、5 週齢

で 100%の陽性を示す農場も見られることを発表しており、出荷段階でのカンピロバクターの制御は困難と考えられる。鶏の保菌率は 20-100%であることを考えると、食鳥処理場に搬入される大半の鶏腸管には、本菌を保有していると言っても過言ではないだろう。Nielsen ら^{6,9)}は、と畜場の牛、豚および鶏からカンピロバクター分離を行い、牛では 47%、豚 46%、鶏 47%が陽性であった。また、牛及び鶏由来株の 83-91%が *C. jejuni*、豚由来株の 95%が *C. coli* だったと報告している。さらに、農場のブロイラー鶏の盲腸便中には、カンピロバクターが平均約 10^{5.44} CFU/g 存在していたという報告もある^{4,8,87)}。このようにカンピロバクター保菌鶏が、食鳥処理工程中、と体を汚染し、解体処理中に二次汚染を引き起こし、製品としての鶏肉の汚染率を上昇させると考えられている^{5,3,60,80)}。また、農場から処理場への輸送のストレスなどにより、盲腸内の菌数も上昇することが確認されている^{4,8)}。

食鳥処理場における菌分離成績を、表 4 及び表 5 に示す。食鳥処理場の機械・器具、従事者の手指は、本菌に高度に汚染されており^{2,3)}、Berndts らの報告^{5,3)}によると、処理と体の 60%、また処理場で使用される器具の 100%が汚染していた。さらに、処理場内空気からも高率に本菌が検出され、処理場全体にわたって汚染されていることが明らかにされている。

こうした処理場においては、生鳥から処理過程が進むにつれて、汚染率は上昇し、解体工程で汚染拡大が認められる事例^{6,0)}や、解体処理中に二次汚染を引き起こしている例^{8,0)}が示されている。日本における

鶏の処理工程は、懸鳥から脱羽工程までは一貫した工程である、内蔵除去では手作業で行う「外むき解体法」と、自動的に機械で内蔵を取り除く「中抜き解体法」の 2 つ方法がある。前者は、手作業でと体外側から順次解体し、最後に内蔵を除去する方法であり、後者は、機械で自動的にと体の内蔵を取り出した後、次亜塩素酸ソーダ加水溶液中で冷却工程を経た後、カット工場において手作業で部分肉を採取する(表 6)。このと殺処理工程中での細菌汚染の起こりやすい箇所は、①脱羽、②中抜き、及び③内蔵除去の 3 つの工程と考えられる。Ono ら^{8,0)}は、と殺時にカンピロバクターの 100%陽性を示したと体を、解体処理工程に従い、浸漬後では、陽性率は低下するものの、脱羽工程後では再度汚染され、陽性率は増加する傾向を認めたと報告している。これは、浸漬高低により菌の減少があるものの、脱羽工程において、汚染された羽毛や付着した糞便が、作業者の手指や器具を汚染し、再感染を引き起こすものと思われる。Berrang ら^{8,7)}は、鶏の各臓器や体表など 5 つの部分における菌のポピュレーションを検討した結果、胸部羽毛 10^{6.4}、皮膚 10^{3.8}、素囊 10^{4.7}、盲腸 10^{7.3}、結腸 10^{7.2} のカンピロバクターが検出されたと報告している。内部の臓器に存在する菌数がかなり高いことから、中抜き作業や内臓除去作業中に盲腸や結腸が破損した場合、容易に鶏と体表面へ汚染する可能性が高いといえる。また、外部の羽毛の汚染量は、脱羽後に再感染する危険性を示唆しており、皮膚での汚染量の高さは、内部の破損による汚染から免れたとしても、加工工程の早い時期に多くの菌が皮膚に付着している

ことを示しているものと考えられる。

処理工程中の汚染を誘導する要因として、浸漬水が挙げられる。Wempe ら¹³⁾は、浸漬水の汚染率は、0-55.6%だったが、Pearson らの報告³⁸⁾では、96%と高率だった。

こうした処理場における汚染は、市販品への汚染を左右するものであり、処理工程中の汚染防止対策は、工程作業の改善（鶏体相互間の汚染、浸漬、内蔵除去、脱羽時の汚染への留意）や従事者の衛生管理が重要なポイントになってくるだろう。

4) 市販品からの分離

市販の鶏肉からのカンピロバクター汚染は、牛・豚・羊肉に比べ、高いといわれている。Fricker らの報告²⁷⁾では、市販の牛・豚肉では 18-23%の汚染率だったが、他の報告^{75, 80)}では検出されていない場合もある（表7）。しかし、表8で示したように、牛や豚の糞便から多くのカンピロバクターが検出されており、また、と畜場において牛(47%)、豚(46%)からカンピロバクターが分離され、牛では 83%が *C. jejuni*、豚では 95%だった成績も報告⁶⁹⁾されており、市販品への汚染の可能性は、鶏肉と同様に高いといえる。

汚染率が高いと言われている市販の鶏肉を検討したところ、と畜場では、デンマーク⁶⁹⁾で 36%、ドイツ⁷⁷⁾ 27.9%、ベルギー⁸⁴⁾ 25.6%が陽性だった。また、鶏肉製品を検査したところ、日本では、1980年代の調査では 73.2%¹⁸⁾、1998年の調査⁸⁰⁾では、国産肉から 45.8%、輸入肉から 3.7%がカンピロバクター陽性だった。この他にも、台湾で 70-75%⁷⁵⁾、オランダ 61%³⁰⁾、ベルギー

一では、1996年の調査で 57.5%⁵⁸⁾、1997-1998年の調査で 40%から検出され⁸⁴⁾、Atabay らは、英国で検査した 100%から本菌を検出したと報告⁶⁰⁾しており、報告された分離株の大半は *C. jejuni* だった。また、Madden ら⁷⁵⁾は、北アイルランドの市販鶏肉を採取し、菌分離を行ったところ、検体の 38%が陽性であり、分離株のうち、*C. jejuni* 18 株、*C. coli* 14 株だった。近年の日本における Ono らの報告⁸⁰⁾では、*C. jejuni* が国産鶏肉検体の 45.8%、輸入鶏肉検体 3.7%から検出されている。また、ベルギーでは、チルド状態で世界各国から輸入された鶏肉検体の 28.5%が陽性だった⁸⁴⁾。この時、輸出国別に分離結果を比較したところ、英国 54.5%、フランス 30.2%、ベルギー 21.9%、イタリア 15.4%、オランダ 0%という結果となり、輸出元における汚染度に差があることを報告している⁸⁴⁾（表9）。

こうした汚染された市販品中でのカンピロバクターの生存性は、保存温度や条件により大きく左右される。本菌は微好気性であることから、酸素に暴露されると短時間で死滅する。また、サルモネラや大腸菌が生存する乾燥条件でもカンピロバクターは死滅する。Lee ら⁷⁴⁾は、鶏の皮膚を検査材料とし、試験的に *C. jejuni* 強毒株を接種し、保存温度、充填剤を変えた保存条件の違い、凍結・融解等が、本菌の市販品における生存性にどのような影響を及ぼすかを検討した。保存条件（二酸化炭素、窒素、吸引真空、微好気性）の違いは、菌の生存性に大きく影響を及ぼさなかったが、どの保存状態でも菌の生存性は高かった。保存温度が-20℃及び-70℃では、生菌

数の減少は認められるものの、保存 56 日後でも生存しており、4°C 保存では、7 日目まではほぼ同等の菌量を保持していた。また、室温保存では、3 日目までに菌の増殖が認められた。家庭での保存条件は、-20°C もしくは 1-6°C が大半だが、この温度条件で市販品中の菌は長期間生存していることが明らかとなった。また、家庭内で起こりうる凍結・融解の繰り返しでも、本菌は生存しており、3 回の凍結融解後も感染レベルの菌量を保持しており、回数が増すにつれて菌量は減少するものの、8 回の繰り返し後においても生存が確認されている。また、-20°C や -70°C での保存後、解凍して室温に放置した場合の、菌の増殖性を検討したところ、-70°C で保存した場合、解凍後速やかに菌が増殖し、保存 56 日後でも同等の増殖性を示した。-20°C 保存では、-70°C 保存に比べると若干菌の増殖性は劣るが、保存 14 日間でも同等の増殖性を示していた。実際、市販品からの菌の検出を行った場合の検査材料は、チルド状態や冷凍保存のものが多数含まれており、いったん汚染された製品は、低温保存状態の中で長期間汚染されたままであるといえる。現在のような低温管理や真空包装等の品質保持における技術の進歩は、カンピロバクターの生存性に好都合の条件を付与している。

3. 疫学マーカー

カンピロバクターの感染経路や感染源を追求する手段として、生物型や血清群等の表現型をマーカーとした型別や、分子疫学マーカーによる遺伝子型別があり、これらのマーカーによる解析が重要となる。

(1) 表現型別

Skirrow & Benjamin⁷⁾ は、*C. jejuni* 及び *C. coli* をナリジキシン酸感受性、テトラゾリウム感受性ならびに 30.5°C 及び 45.5°C における発育性により、生物型を 9 種類に分類した。また、Hebert らは¹¹⁾、馬尿酸加水分解性、DNA 加水分解性及び CYE 寒天における発育性により、8 種類の生物型に分類を行った。次いで、Lior らは¹⁶⁾、馬尿酸加水分解性、DNA 加水分解性及び硫化水素産生性により、*C. jejuni* を 4 つの生物型に、*C. coli* 及び *C. lari* をそれぞれ 2 つの生物型に分類している。また、Grajewski らは¹⁹⁾、ファージ型別を報告した。これらの生物型別は、研究初期においては疫学調査に利用されたが、現在ではほとんど利用されていない。また、感染症腸炎研究会（感染研ホームページ）によると、近年の薬剤感受性試験により、ナリジクス酸 (NA) 耐性株の割合が、1995 年には 5.9% (2/34 株)、96 年 37% (15/41 株)、97 年 33% (11/33 株)、98 年 42% (8/19 株) で、増加傾向が認められた。NA に対する感受性は、*C. jejuni* や *C. coli* の同定に重要なマーカーだったが、NA 耐性菌の増加により区別が困難になってきている。

現在、一般的に用いられている表現型別は、血清群別である。カンピロバクターの抗原解析は、初期段階においては、Mogan²⁾ や Mitscherlich ら¹⁾、Berg ら³⁾ により、家畜由来の *C. fetus* を対象に検討が進められ、耐熱性抗原の 4 種類 (A-1、A-sub 1、A-2、B および C) が明らかにされた。その後、Abbott ら⁶⁾、Lauwers ら⁸⁾、Penner ら⁵⁾、Lior ら¹⁰⁾、Rogol ら¹⁴⁾ 及び Itoh ら⁹⁾ などにより、*C. jejuni* と *C. coli* を対象とし

た血清型別の検討が行われてきた。現在、血清群別に関しては、易熱性抗原を用いる方法と、耐熱性抗原を用いる方法の2法が報告されている(表10)。

1) 易熱性抗原による群別

Kosunen ら⁴⁾、Itoh ら⁹⁾は、121°C加熱された菌体抗原は免疫学的な特異性がなく、菌株間に交差反応を示し、菌体凝集反応や共同凝集反応では群別ににくい、生菌やホルマリン処理菌は抗原特異性が認められ、血清型別として応用できることを明らかにした。この知見を元にして、斉藤 ら²⁵⁾、Lior ら¹⁰⁾および Rogol ら¹⁴⁾は、ホルマリン処理死菌を用いるスライド凝集反応によって群別を行う方法をそれぞれ開発した。現在、国際型別委員会の検討により、易熱性抗原による血清群別法は、Lior らの方法¹⁰⁾が承認されている。本法は、*C. jejuni*、*C. coli* および *C. lari* を区別せずに血清群を組み立て、現在 108 群(Lio 1-110、Lio-3、37、43、58 は欠番)に分類されている。

群別に関与する抗原成分は、明確にされていないが、特異抗血清は分子量 62,000 のタンパクと反応し、主に鞭毛成分に存在すると考えられている。しかし、その他の菌体表層成分の関与も否定されておらず、易熱性抗原の成分については今後検討が必要である。

本法を用いた群別に関する試験成績を表11に示す。また、Itoh ら⁹⁾は本法を用いることにより、*C. jejuni* の食中毒由来菌株の 95%、散発下痢症由来菌株の 80.4%、動物由来菌株の 73%、食品由来菌株の 90% が群別可能であったと報告している。

2) 耐熱性抗原による群別

Lauwers ら⁸⁾や Penner & Hennessy⁵⁾は、加熱処理で得られた抽出抗原を用いた受身血球凝集反応によりカンピロバクターが群別可能であることを明らかにし、それぞれ独自の群別法を報告している。現在、耐熱性抗原による群別法としては、菌体を 100°C、1-2 時間加熱処理して得られた抽出抗原をヒツジ赤血球に感作し、ホルマリン死菌抗原で作製した抗血清とで受身血球凝集反応を行う Penner の方法⁵⁾が国際的に承認されている。この群別法では、*C. jejuni* は 40 群(1,44 群、2 群、3 群など)、*C. coli* は 17 群(5 群、14 群、20 群など)に群別されている。耐熱性抗原成分については、Logan & Trust¹⁵⁾の成績から、*C. jejuni* および *C. coli* は、型特異性を有し、リポ多糖体(LPS)であると考えられている。

カンピロバクター分離株の血清型別に関する報告を、表11に示した。血清群別は、疫学マーカーとして広く用いられるが、Nielsen ら⁶⁹⁾は、と畜場由来株と食中毒患者からの分離株について、Penner の方法で群別により、人の食中毒と家畜分離株との関連性を報告している。デンマークにおいて、食中毒患者からの分離株は、0:1,44、0:2、0:4 complex 群が分離株の 64%を占めていた。これらの血清群型は、同様に鶏及び牛由来株および鶏製品由来株の血清群にも含まれており、1999年に、鶏製品から分離を行った際には、分離株 156 株(*C. jejuni*85%、*C. coli*15%)が検出され、同様に群別したところ、0:1,44(12%)、0:2(30%)、0:4 complex(8%)だった⁸⁷⁾。鶏及び牛由来株および鶏製品由来株と人由

来株の血清群の相同性から、食中毒の原因として牛や鶏製品の重要性を指摘している。

(2) 遺伝子型別

カンピロバクターの疫学解析には、表現型別の他に分子疫学マーカーとしての遺伝子型別も応用されている。本菌はプラスミド保有率が低いいため、プラスミドプロファイルは、疫学マーカーとして利用されていない。近年、Automated ribotyping (RiboPrinting)⁹⁵⁾、random amplified polymorphic DNA typing (RAPD)^{77, 80, 95)}、pulsed-field gel electrophoresis (PFGE)^{75, 79, 91, 95)}、restriction fragment length polymorphisms of the flagellin gene (fla-RFLP)^{61, 77, 82, 83, 95)}、denaturing gradient gel electrophoresis of fla A (fla-DGGE)⁹⁵⁾などが開発されている。一般的にこれらの遺伝子型別法は、血清群別のような生物学的性状を基にした型別に比べ高い分類能をもつ。

野外の汚染実態に関する調査研究には、こうした遺伝子性状をもとにした分類法は大きな手助けとなるが、今までは、こうした方法が標準化されていなかったため、各研究者の報告結果を単純に比較することが困難だった。近年、カンピロバクターの分類(型別)に関して、ヨーロッパ連合の出資により、「Campynet」(<http://www.svs.dk/campynet/>)というプロジェクトが実施されている。このプロジェクトの目的は、食中毒の原因菌である *C. jejuni* および *C. coli* のために標準化した遺伝子型別法を推奨・供給し、本菌の国際的疫学研究の大きな手助けとするもの

である。現在のところ、3種類の遺伝子型別法が提供されている。

① Flagellin gene restriction fragment length polymorphism analysis (fla-PCR) PCR法により鞭毛遺伝子 (fla gene) を増幅させ、その増幅産物を制限酵素処理し、切断する。切断されたフラグメントを電気泳動により分離させ、株の比較を行うものである。株間における fla gene の酵素切断部位の多様性により違いが認められ、異なる大きさのフラグメントが発生し、異なるバンドパターンを示すことにより、株間の比較を行うものである。

② Pulsed-field gel electrophoresis (PFGE)-DNA profiling

全菌体DNAを“rare cutting”の制限酵素 (KpnI) で切断し、比較的大きな分子量の遺伝子断片に分けて比較するものである。DNAフラグメントは、特別な電気泳動装置であるパルスフィールド電気泳動装置を用いて分離される。

③ Amplified Fragment Length polymorphism (AFLP) analysis

この方法は、全菌体遺伝子を用いた点では、PFGE-DNA profiling と似通った方法である。標的とするDNAを2つの異なる制限酵素 (BglII, Csp6-A) で切断し、特別に構築した“Adaptor oligonucleotide”を分断されたDNAフラグメントに付ける。これらのフラグメントのサブセットを増幅させ、適切なシステムで分離し、解析を行うものである。

こうした3つの方法の他に、Automated ribotyping (RiboPrinting)、random amplified polymorphic DNA typing (RAPD) が今後導入される予定であり、さらに新し

く開発された方法についても募集が行われている。

Chuma ら^{6 1)}は、鞭毛遺伝子(fla 遺伝子)の一部をPCRで増幅し、制限酵素 DdeI による切断パターンによる型別(fla-RFLP)を行い、これを疫学マーカーとして、種鶏場及び養鶏場におけるカンピロバクター汚染の実態を調査した。fla-RFLP により、種鶏場由来株は 14 パターンに型別されたが、種鶏場由来株は、これらのパターンと全く一致しない 4 つのパターンがえられた。この fla-RFLP パターンの解析から、汚染源が種鶏場とブロイラー養鶏場は異なることを明らかにした。

Lind ら^{5 6)}は、食中毒由来株を用いて血清群別と DNA fingerprinting 法で型別を行った。血清群別で同一の型に分類された株の中には、DNA fingerprinting 法では異なるパターンを示した株が多数存在する事が明らかとなった。このことから、疫学的な検討には血清群別法はスクリーニング的な手段であり、さらに遺伝子レベルでの型別を行うことが必要であるとしている。

Madden ら^{7 5)}は、動物由来株を用いて、fla-RFLP、RAPD および Penner らの血清群別の各型別法を比較した。Penner らの群別と fla-RFLP での型別はほぼ一致しており、血清群別で分別不能に分類された株も、fla-RFLP では全て分類することができた。また、RAPD では、前述の 2 つにより分類された群を、さらに細分類することができることを報告した。

また、Nielsen ら^{9 4)}は、Penner らの血清群別、PFGE (SmaI digest)、

fla-RFLP(DdeI+AluI digest)、Ribo-Printing、RAPD、fla-DGGE を用いて、様々な由来のカンピロバクター株を分類し、判別係数(discriminatory index、D index)を計測して、それぞれの分類法の有用性を比較した。D index は、RAPD(0.984)、PFGE (0.974)、fla-RFLP (0.96)、Ribo-Printing(0.945)、fla-DGGE(0.896) および血清群別(0.868)を示し、判別性は血清群別が最も低かった。これらのことから、それぞれの方法の特徴を次のように示している。Penner の血清群別は、多数の分離株の群別や、採取時期別、国や地域別、様々な由来別などの分離株の群別には有益な方法である。fla-RFLP や Ribo-printing は、判別係数は若干低いものの、多くの分離株のスクリーニングには有用である。PFGE や RAPD は、高い判別係数を示す方法であり、全ゲノムを基に判別を行うため、食中毒発生例の遺伝子性状の相同性を比較するのに有益な方法であろうと結論付けている。

すなわち、疫学調査においては、血清群別はスクリーニング法として有用な方法ではあるが、様々な分子疫学マーカーをもとにした遺伝子性状を検討することにより、さらに疫学的解析が容易になる物と思われる。

4. ヒトの食中毒との関連性

ヒトの食中毒原因菌としては、*C. jejuni* と *C. coli* の 2 つが指定されている。実際、ヒトの下痢症患者からの *C. jejuni* の分離頻度は、他のカンピロバクター分離頻度を比べて高い傾向にある。散发下痢症患者からの本菌の検出率は、ベルギーで 5.1%、イギリスで 7.1%、スコットランド、カナダ、

米国、フランス、オーストラリア、南アメリカ、インドネシア、バングラデシュ、タイなどにおいても、下痢患者の4~31%から *C. jejuni* が分離されている。日本における検出成績は、諸外国の報告に類似している¹⁸⁾。また、1993~1998年のカンピロバクター食中毒集団発生例は169件が報告されているが、この中で従来ほとんど報告のなかった *C. coli* を起因菌とする事例が5件報告されていた（感染研ホームページ、<http://ids.jp>）。こうした菌の生物学的性状が食中毒原性とどのように関連しているかは明確ではないが、食品中の *C. jejuni* の生存性は、*C. coli* に比べて長いため、汚染源としての感染の機会は多くなると推察される²³⁾。食中毒の原因の大部分は、ナマ物や加熱不十分な飲食物の摂取であるが、食中毒の原因食品からの *C. jejuni* の分離は、他の細菌による食中毒事例と比べて少ない。また、我が国においては、1996年に検査食材の保存期間が2週間に延長されたにも関わらず、原因食品の判明率は相変わらず低い状態にある。しかし、食品の *C. jejuni* の汚染状況を調べた場合、生牛乳や飲料水の汚染率もさることながら、鶏肉や食鳥処理場の拭き取り材料からの検出率は非常に高く、カンピロバクター食中毒の原因は、汚染された鶏肉、もしくはその二次感染に起因するのではないかと注目されてきている（図2）。

近年、多くの研究者らにより、こうした食中毒症例と、その原因と思われる鶏のカンピロバクター汚染との関連性について、遺伝子情報や生物学的情報からの検討が行われている。Hanninenら⁷³⁾は、ヒト腸炎分離株と、フィンランドにおける三大生産地

由来の鶏糞便及び鶏肉からの分離株を用い、PFGEによる解析を行った。鶏製品がヒトの腸炎の原因と疑われた14例から、11のPFGE型が分類され、これらのうち8つのタイプが鶏由来株と一致していたことから、汚染された鶏が原因であることが示唆されたとしている。しかし、一方では、ヒト由来株で高率に検出されるタイプのうち4タイプは鶏由来株では検出されていない例もあった。また、1996-1998の3年間、ヒトの糞便や鶏製品から分離した株のPFGE型別を実施したところ、ヒト分離株に認められた主なPFGE型のほとんどが鶏由来株にも認められ、調査した地域において、同一の生物型の菌が循環している可能性を示唆していた。しかし、前述のように、必ずしもヒト由来株の性状と鶏由来株の性状は一致しておらず、ヒトの食中毒の要因としては、一つには鶏の汚染が挙げられるものの、さらに他の要因が関与していることも明らかであると強調している。

Nielsenら⁶⁹⁾は、と畜場における牛、豚、鶏からの本菌の汚染調査を実施し、牛47%、豚46%、ブロイラー36%から菌が分離された。牛・鶏由来株の83-91%が *C. jejuni* であり、豚由来株の95%が *C. coli* だった。ヒト食中毒症例由来株とこれらの株の血清型を比較した場合、ヒトの血清型と牛・鶏由来株の血清型はほとんどがオーバーラップし、また鶏由来製品において分離された株でも同様の結果が得られたこと⁸⁶⁾から、汚染された牛肉や鶏肉およびその製品からのヒトへの影響が疑われたと報告している。

ヒトとの関連性を明らかにするために、Korolikら⁶⁴⁾は、ヒト由来株及び鶏由来株

を用いた鶏における菌の定着試験を実施している。ヒト由来 *C. coli* 株は、すべて鶏に定着したものの、ヒト由来 *C. jejuni* 株の 4/7 は鶏に定着しなかった。鶏由来 *C. jejuni* 株でも 12 株中 10 株は鶏に定着したが、2 株については定着性を示さなかった。ゲノム DNA の RFLP 型別から、A・B の二つの型に大別したとき、B 型は鶏からよく分離されるが、ヒトへの定着性はない。しかし、*C. jejuni* には、鶏の定着性から①定着性のない群、②定着性は低くすぐに排除される群、③定着性がある群の 3 つのグループが存在することが示された。この③のグループが、ヒトの食中毒に関与する可能性が高いとしている。また、こうした株の定着性や病原性に関与する遺伝学的性状を検討することにより、ヒトへの影響が明らかになるかもしれないと考察している。

5. 予防対策

鶏のカンピロバクター汚染実態調査により、その汚染は種鶏場や養鶏場における感染から、食鳥処理場における二次汚染、製品間の二次汚染などがあり、生産から消費に至る全ての過程でカンピロバクター制御が必要であると考えられる。各過程における予防対策の試みを以下に示した。

1) 養鶏場における予防対策

ブロイラー出荷時におけるカンピロバクター陽性率は高く、大半が腸管や体表に保菌していると考えられる。また、農場への導入時には陰性だったヒナも、2 週間以降は容易に保菌し、以後、養鶏場内に急速に拡大し、カンピロバクターの浸潤性の早さが報告されている。こうした養鶏場での汚染拡

大を防ぐために、飼育環境の改善、抗菌剤の投与、生菌剤の使用等による排菌、諸外国においてはワクチンの応用が検討されている⁷²⁾。

津越ら³⁹⁾は、飼育環境改善によるカンピロバクターの清浄化を検討した。鶏舎外の土壌やネズミから本菌が検出されたため、作業者の①長靴の管理（鶏舎内への汚染防止）、②鶏舎周辺及び場内の土壌消毒（消石灰の散布）、③防鼠対策の 3 点に関する鶏舎衛生管理の改善を行った。この結果、飲水・飼料・敷料から *C. jejuni* の検出は陰性で、ヒナの本菌検出の陽転時期も遅れが認められ、飼育環境改善の効果は若干認められた。しかし、環境改善のみでカンピロバクターの汚染を防御することは期待できなかった。また、向原ら³⁵⁾は、分離株の薬剤感受性試験から、感受性が認められたオキシテトラサイクリンの飼料添加による汚染防止効果を検討したが、十分な抑制効果は得られなかった。養鶏場内の伝搬には、飲用水が大きな要因と考えられており、Pearson ら³⁸⁾は、この要因を防御対策の対象として、飲水の塩素消毒、飲水装置の清掃と消毒、試料からのフラゾリドンの除去をこころみたところ、鶏の汚染率が 81% から 7% に劇的に減少したと報告していた。

細菌性疾病の対策として抗菌剤の使用が考えられるが、本菌の場合、鶏自体に病害を与えないことが多いことや、食品としての薬剤残留問題から、薬剤の使用は困難な場合が多い。そのため、腸内細菌叢を性状に保つことで病原菌を排除することが期待されるオリゴ糖や生菌剤の飼料添加効果が実験的に検討されている。向原ら 4

0)は、オリゴ糖および生菌剤をそれぞれ飼料に添加し鶏に投与した後、攻撃試験(102個程度)を行い、排菌数を対照群と比較した時、添加飼料を投与した群は対照群に比べて顕著に菌数の減少が認められており、汚染の軽度な場合には有効であると報告した。また、Morishitaら⁶⁾⁶⁾は、*C. jejuni*の腸内での定着や排菌の抑制を目的とした生菌剤(Avian-Specific Probiotic)の投与を試みた。初生ヒナに1-3日齢まで生菌剤を与え、その6時間後に*C. jejuni*を経口投与し、出荷日齢(40日齢)まで排菌率を対照群と比較するとともに、空腸内における定着を検討した。生菌剤投与群は、対照群と比較した場合、70%の排菌抑制が認められ、空腸内定着も27%抑制されていた。この結果から、*Lactobacillus acidophilus*及び*Atreptococcus faecium*を含む生菌剤は、プロイラーにおける*C. jejuni*の定着や排菌を抑制する効果が認められたと報告している。

一方、食品及び食肉の汚染率を減少させるための手段として、日本では実施されていないが、諸外国ではワクチンの開発が行われている。キャンピロバクターは、鶏の腸管内の常在細菌であり、組織内に侵入しないため免疫応答によって排除することは非常に困難であると言われている。また、大腸菌と同様、様々な種類の菌株が存在し、ヒトに対して病原性のある株と、鶏の腸管内に正常細菌叢として定着し、何らかの有効な作用を担う株がある。ワクチン開発を行う際、こうした病原因子を持つ株と、正常細菌叢の菌株とを区別し、病原因子を保有する菌株を鶏群から排除する競合排除

的な方法により、病原キャンピロバクター菌株を抑制することが重要な点となる。鶏に対するワクチンの試みには、主として不活化全菌体や精製鞭毛が抗原として検討されている。Noorら⁴⁾⁹⁾は、加熱死菌を用いて、発育胎児に初回免疫を行い、ふ化後経口投与によるブースターを行うin ovo oral vaccinationを試みた。ふ化後、免疫群のヒナに鞭毛抗体が検出され、抗原認識は確認されたが、免疫を付与するには至らない成績だった。また、Widdersら⁵⁾⁹⁾は、不活化全菌体及び精製鞭毛タンパクの2種類の試作ワクチンを作成し、皮下、腹腔内、経口及びこれらの組み合わせによる免疫方法を検討した。両抗原で免疫した群の腸管内における抗体応答を検討したところ、IgG応答が確認されたが、IgAやIgMに顕著な変化は認められなかった。しかし、両抗原での免疫群のいずれも腸管内における本菌の定着阻止が認められ、これらの抗原によるワクチン効果が確認された。

こうした菌体の抗原物質を単独でワクチンとして用いる他に、ワクチン効果を上げるために大腸菌の易熱性毒素(LT)を付加したワクチンの検討が行われた。大腸菌のLTは、アジュバント効果を付与することが知られており、不活化全菌体とLTを混合した経口型ワクチンのほ乳類(マウス⁵⁾⁰⁾、ウサギ⁴⁾¹⁾、サル⁵⁾¹⁾など)を用いた検討が行われた。マウスやウサギでの検討では、いずれもワクチン効果が認められており、サルを用いた検討では、用量依存性のIgA応答が確認された。そこで、Khouryら⁵⁾²⁾は、*C. jejuni*の鞭毛遺伝子と大腸菌の易熱性毒素(LT)遺伝子を含む組み換え体から、ハイブリッドタンパクを作成し、鶏

への経口型ワクチンを検討した。免疫群では、*C. jejuni* の鞭毛に対する抗体応答や、腸管内での定着抑制が認められ、ワクチンとしての有用性が示唆されている。また、Riceら⁷¹⁾は、ホルマリン不活化*C. jejuni* 全菌体に、LTをアジュバントとして添加し、鶏に対する経口型不活化ワクチンの効果を検討したところ、腸管内における定着抑制に加え、腸管内におけるIgA抗体応答も確認され、経口投与型ワクチンとしての可能性が示唆された。本菌のワクチンの効果は、菌の感染を完全に防御するものではなく、サルモネラ不活化ワクチンと同様に、腸管内における定着阻止である。そのため、ワクチンの使用は、あくまでも、汚染拡大を防ぐために遂行される、飼育環境の改善、抗菌剤の投与、生菌剤の使用等の様々な防疫対策の一つであり、そのみで防御するものではない事を充分理解しておく必要がある。

2) 食鳥処理場における防御対策

食鳥処理場で使用する器具・器材の汚染率³⁴⁾から、食鳥と体への二次汚染が起きていることは明らかである。さらに器具・器材からだけでなく、鶏と体からの再汚染も認められ⁸⁰⁾、汚染のない製品を製造するには、処理場における汚染防止が重要である。解体工程中、汚染の起こりやすい箇所は、外むき法では、①脱羽、②冷却、③部分肉採取時の内蔵からの直接汚染もしくは器具・器材を通しての汚染等が挙げられる。また、中抜き解体法の場合では、①脱羽工程、②中抜き工程、③内蔵除去の各工程で汚染を起こしやすい。こうした点

を留意して、石井ら³⁴⁾は、解体工程中の改善事項(表12)を設け、解体を実施したところ、表13に示したように、外むき法では、その工程中*C. jejuni*は検出されなかったと報告している。

こうした改善策を講じる一方、工程中における汚染を防止するためには、様々な薬剤による抗菌処理が実施されている。このうち、塩素水によると体洗浄は、主として冷却水での細菌の交差汚染防止、ならびに設備や器具の効果的な消毒剤として、通常20~50ppmの有効塩素濃度でほとんどの食鳥処理場で使用されている²⁴⁾。また、抗菌効果が確認されている乳酸や酢酸を含む数種の有機酸を使用した制御²⁸⁾も検討されており、こうした処理による汚染菌数の軽減傾向が示されている。

米国では⁷⁰⁾、加熱処理工程を含む一般の食品工場とは異なり、食肉処理工程では、HACCPを完璧に実施しても細菌数をゼロにすることは困難であり、抗菌処理は必須であると考えられている。そのため、食肉の抗菌処理での消毒剤として、1992年にリン酸三ナトリウム(TSP)が、1995年に二酸化塩素の使用が許可されている。TSPに関しては、食肉に対し、8~15%溶液で、30秒間の噴霧又は浸漬を行うことにより、汚染菌を半減させる結果が得られている。また、二酸化塩素は、亜塩素酸ナトリウムの酸化、塩素酸ナトリウムの還元、あるいは酸存在下での亜塩素酸ナトリウムの不均化によって生成される強力な酸化剤であり、食鳥処理水中の汚染微生物やその他の有機物と反応すると期待されている。また、同じ濃度の塩素と比べて、食鳥処理水において4~7倍の殺菌効果を示すことが報告され

ており、塩素よりも極めて低い濃度で使用が可能となる。現在、米国では、小麦粉の漂白剤としても承認されている他、簡易浄水施設での使用も許可されている。本剤の使用は、食鳥処理水の残留二酸化塩素濃度が 3ppm とされており、この濃度で使用了場合、有害な副生成有機物は生成されず、本剤の暴露によると体の酸化作用もないことが示されている。また、本剤を添加した食鳥処理水の変異原活性は、無視できる程であり、変異原性物質の生成による人体への危害はないと報告された。また、と体の水洗による汚染除去法は、汚染を拡大する可能性が高いことから、トリミング等が実施される場合もあるが、こうした汚染部位を熱水又は蒸気で噴霧しながら真空吸引する方法も承認され、TSP や二酸化塩素などによる抗菌処理との併用が許可されている。カナダでは⁷⁰⁾、食鳥処理場において数種の酸塩化物から発生させる二酸化塩素による超塩素処理 (Hyperchlorination) が、赤身肉以外の食鳥肉の処理に許可されている。一方、ヨーロッパでは⁷⁰⁾、食鳥肉の解体処理工程はドライシステムを採用しており、米国や日本のような水洗工程がないため、汚染の拡大が少なく HACCP の徹底により、細菌汚染の制御が可能であり、化学物質処理による危害を防ぐ方が重要との認識があり、超塩素処理・TSP・有機酸などによる抗菌処理を、赤身肉、食鳥肉あるいは内臓肉に使用することは許可されておらず、水又は蒸気のみが許可されている。

日本では、まだ承認されていないが、米国食品薬品局 (FDA) は、1999 年、食鳥肉及び肉製品の放射線照射による抗菌処理

を許可した⁸⁸⁾。これは、コバルト 60 やセシウム 137 等から放射される放射線で処理する方法で、温度の上昇もなく食品や食肉の深部にまで浸透し、殺菌効果があり、人体への影響もないとしている。放射線照射は、食中毒の起因菌であるサルモネラ、大腸菌 0157、ブドウ球菌、カンピロバクターなどの細菌の他、トキソプラズマ等の病原微生物に対して、顕著な減少を示し、殺菌効果が認められたと報告している。また、病原微生物を 90% 減少させるために必要な放射線量 (D 値) は、冷蔵品の場合、*C. jejuni* で 0.18kGy、*C. perfringens* で 0.24kGy であり、冷凍品の場合、*C. jejuni* に対して 0.24kGy 必要だった。この D 値は、微生物の種類や対象となる製品によっても異なっている。

3) 処理場から搬出後及び市販後の汚染対策

処理場で解体処理後、カンピロバクターの汚染したと体は、輸送中に菌数の増加する結果も見られ^{48、53)}、鶏肉相互の汚染、輸送中の菌増殖、他の食品への二次汚染が懸念される。また、充填剤の使用による保存条件を変化させても、冷凍状態では菌の生残性に大きな違いは認められていない成績⁷⁵⁾もあり、保存中も菌は長期間生存している。鶏肉製品における汚染防止には、輸送も含め処理工程の改善や従事者の衛生管理が必要となる。食品汚染を示すカンピロバクターは、調理段階において加熱を行うことにより、容易に死滅することから、加熱処理の徹底により、家庭内での防御は可能であり、また調理後の器具・機材に対しても衛生管理を徹底することも重要な

防御対策となる。「Farm to Table」の最終段階である家庭内において汚染を防ぐためには、食中毒菌に対する基本的な知識と、対応策に対する衛生管理に対する啓蒙が必要であろう。

表1 各種材料中カンピロバクター検査(1) 使用培地と培養条件

材 料	分 離 培 地	培 養 条 件	文 献 番 号
肝臓	MHBA寒天培地 (Muller hinton agar, Oxoid+10%citratd牛血液) TSAB寒天培地 (Trypticase soy agar, BBL+10%citratd牛血液)	42℃、48hr、microaerobic	33
盲腸内容	Campylobacter blood-free選択培地(CCD寒天培地) CCD-agar(CM739) +cefoperazone + cyclohexamide CCD-agar(CM739) +cefoperazone + amphotericin-B	42℃、48hr、microaerobic	42
鶏皮膚	Campy-Cefex培地 (Pepton水で前処理)	42℃、48hr、microaerobic	45
盲腸便	Campylobacter blood-free選択培地(Oxoid, CM739) CCD-agar(CM739) +cefoperazone + actidione	37℃、48hr、microaerobic	47
鶏肉 腸管	CAT寒天培地 (Aspinallら1993) CAT agar + mCCDA basal medium(Oxoid) + CAT supplement(cefoperazone amphotericin teicoplanin) Blood Agar (Blood agar base No.2 + 5%羊脱線血)	37℃、48hr、microaerobic	60
鶏、臓器	Nutrient Agar + Skirrow antibiotic supplement(Oxoid) + 7%馬脱纖維素血	37℃、36-96hr、microaerobic	64
鶏	Campylobacter CVA 寒天培地 (Becton)	42℃、48hr、microaerobic	66
糞便ヒト 鶏肉・糞便	Campylobacter blood-free選択培地(Oxoid, CM739) (Charcoal cefopetazone deoxycholate agar (Oxoid) Campy.charcoal differential 寒天	42℃、48hr、microaerobic	73
糞便ヒト 糞便動物	Campylobacter-blood-free培地, Preston培地 Skirow寒天培地 継代 Campylobacter-blood-free培地, Preston培地	42℃、48hr、microaerobic 42℃、48hr、microaerobic	79
水	濾過後、濾紙をCampylobacter-blood-free培地 (残りの材料については、濾過後濾紙をPE培地で前培養し、選択培地で培養)	42℃、48hr、microaerobic	
生乳	Campylobacter-blood-free培地	42℃、48hr、microaerobic	
土壌	Prerichment培地 nutrient broth No.2(oxid) + 馬血液 +Preston Campy.SupplementSR117(Oxoid)	42℃、48hr、microaerobic	83
鶏肉	Campylo-Cefex寒天培地 (Sternら1992)	42℃、36hr、microaerobic	87
洗浄液	Campylo Blood 寒天培地 (DIFCO)	42℃、48hr、microaerobic	89
ヒト糞便	Campylobacter blood-free selective培地 (Charcoal cefopetazone deoxycholate agar, Oxoid)	42℃、48hr、microaerobic	90