1．論文発表

国井悦子　他：鶏肉のカンピロバクター培養検査法の検討-鶏肉の検査方法別検出感度および検出率の比較，広島市衛生研究所年報，24,49 -54(2005)

F．知的所有権の取得状況

該当なし

表１　微好気培養法（ガスパック）および好気培養法（気密性袋）の比較試験結果

実験１		×5 希釈(Preston)			×10 希釈(Preston)		
培養条件		微好気	好気	好気	微好気	好気	好気
培養方法		MPN (100g)	MPN (100g)	定性（残液）	MPN (100g)	MPN (100g)	定性（残液）
分離培地		mCCDA					
検番	国種類　産地						
1	国チ　岩	18	<15	－	<30	36	－
2	国チ　岩	<15	18	－	92	36	－
3	国チ　？	1200	1200	＋	230	750	＋
4	国チ　？	46	18	＋	92	92	＋
5	国チ　鹿	1200	345	＋	230	430	＋
6	国チ　鹿	1200	1200	＋	230	2400	＋
7	国チ　鹿	215	215	＋	230	92	－
8	国チ　鹿	2300	2300	＋	430	230	－
9	国チ　宮	190	465	＋	230	1500	＋
10	国チ　岡	>5500	1200	＋	4600	11000	＋
陽性数/検体数		9/10	9/10	8/10	9/10	10/10	6/10
調査		×５希釈(Preston)					
培養条件		微好気	好気	好気	微好気	好気	好気
培養方法		MPN (100g)	MPN (100g)	定性（残液）	MPN (100g)	MPN (100g)	定性（残液）
分離培地		mCCDA			Butzler		
11	国チ　山	1200	31	＋	1200	15	＋
12	国チ　鹿	215	2300	＋	215	750	(雑菌)
13	国チ　熊	1200	105	＋	465	36	(雑菌)
14	国チ　鹿	37	18	－	215	18	＋
15	国チ　鹿	2300	1050	＋	2300	465	＋
16	国チ　大	465	115	－	105	46	－
17	国チ　広	18	175	－	18	105	－
18	国チ　鹿	<15	<15	－	<15	<15	－
19	国チ　広	<15	<15	－	<15	<15	－
20	国チ　広	>5500	>5500	＋	>5500	>5500	＋
21	国チ　岩	46	<15	－	46	<15	－
22	国チ　岡	<15	<15	＋	<15	<15	＋
23	国チ　香	>5500	>5500	＋	>5500	2300	＋
24	国チ　鹿	46	47	－	15	<15	－
25	国チ　山	46	18	＋	215	46	＋
26	国チ　熊	18	<15	－	46	<15	－
陽性数/検体数		13/16	11/16	8/16	13/16	10/16	7/16

は、微好気培養および好気培養の MPN 値を比較し、高値を示したもの。

国チ：国産チルド

厚生労働科学研究費補助金（食品の安全性高度化推進事業）
（協力研究報告書）

細菌性食中毒の予防に関する研究
鶏肉におけるカンピロバクター食中毒の予防に関する研究

分担研究者　山本茂貴　国立医薬品食品衛生研究所食品衛生管理部長

研究要旨

鶏肉からのカンピロバクターの分離は、その検査法により検出率が異なり、鶏肉におけるカンピロバクターの汚染実態を調べるには、その検査法の標準化が必須である。そこで、研究班として検査法の統一を試み、統一したプロトコールの確認と、微好気培養法の妥当性を確認することを目的とし、市販鶏肉からのカンピロバクター検出を試みると共に、定量的な汚染状況を検討した。

協力研究者

冨田正章

山口県環境保健研究センター

専門研究員

A. 研究目的

我が国においては、食品からのカンピロバクターの分離培養法について統一的なものがないため、食品の汚染状況などについてこれまでに得られているデータ間の単純な比較評価が難しい点があった。このため、カンピロバクターの最も適切な増菌培養法及び分離培養法を確立することを目的とし本検討を行った。

B. 研究方法

１．添加する増菌培地の量及び微好気条件下における培養法の評価

増菌培地として、プレストン培地（５%馬脱繊血添加）（「培地」）を用いて鶏肉25gをフィルター付きストマッカー袋に採取し培地100ml（５倍乳剤）、または225ml（１０倍乳剤）を添加し３０秒間ストマッカー処理を行った。それぞれの試料は微好気条件下及び気密性条件下での増菌効果を併せて比較評価するため、それぞれ３本の試験管による最確数を測定した。なお、試験管に分注した残りの乳剤試料は気密性袋に入れプラスチック製シーラーで密封し定性試験用とした。微好気条件下での培養は、ガス発生袋（アネロパックカンピロ）により培養ジャー内で２４時間行った後、増菌培養液30μlをmCCDA寒天培地に塗抹し42℃、48時間の分離培養を行った。気密条件下での培養は統一された気密性袋に試験管、または試験管に分注した残りの乳剤試料（定性試験用の培養検査を実施）を入れプラスチック製シーラーで密封し、微好気条件下と同様の方法で増菌培養と分離培養を実施した（「気密培養法」）。

２．ボルトン培地（５%馬脱繊血添加）による増菌培養法における、３７℃での前培養法の

有効性と分離培地の種類による分離結果への影響評価

凍結融解などにより損傷状態となったカンピロバクターの増菌培養法として提案されているボルトン培地での３７℃の前培養の効果性を評価するため、研究方法１でカンピロバクターが分離された鶏肉を-３０℃で約１ヶ月間凍結保存した後、室温で解凍し、その 25g にボルトン培地 100ml を添加し、３０秒間ストマッカー処理の後、炭酸ガス発生袋による微好気条件下で（ア）３７℃で４時間前培養の後４２℃で培養、（イ）４２℃での培養の２種類の方法で行い、それぞれについて２４時間後と４８時間後に mCCDA 培地とスキロー培地を分離培地として、それぞれの増菌培養液を 30μl 塗抹し微好気条件下で 42℃、４８時間培養を行った。

３.発育したカンピロバクターに疑わしい集落は、直接鏡検、カンピロバクターＬＡ（デンカ生研）による凝集性、馬尿酸塩加水分解性試によりカンピロバクターの同定を行った。

C.研究結果及び考察

１．増菌培地の添加量による分離率の比較（実験１）

微好気培養法では５倍乳剤、１０倍乳剤でそれぞれ１検体（NO.１０）が検出限界以下であり、気密培養法では５倍乳剤で１検体（No.１２）、１０倍乳剤で２検体(No.２, No.１２)が検出限界以下でカンピロバクターは分離されなかったが、気密培養法による定性試験では全ての検体からカンピロバクターが分離され増菌培地の添加量による違いは見られなかった。MPN 法で検出できなかった検体の MPN 値は 100CFU 以下に分布しており、小数の汚染菌数の場合は試験管法による MPN 法による培養検査では、結果に不一致の検体もあるが定性試験法を併用すれば５倍乳剤と１０倍乳剤の増菌培養法はほぼ同程度の結果であった。このことから、操作性の面からは、５倍乳剤による増菌培養法が優れていると考えられる。

２．微好気培養法と気密培養法による分離率の比較（実験１）

１０倍乳剤では微好気培養法で１検体(Ｎo.１０)、気密培養法で２検体(No.２,No.１２)、５倍乳剤では微好気培養法で１検体(No.１０)、気密培養法で１検体（No.１２）が MPN 法では検出下限値以下であった。これらの３検体は、結果が一致した検体(５倍乳剤と１０倍乳剤における微好気培養法（No.１０）、５倍乳剤と１０倍乳剤における気密培養法（No.１２））と一致しない検体（１０倍乳剤の気密培養法（No.２））があった。また、MPN 法では微好気培養法で得られた菌数が気密培養法のそれより高い値を示すものが多く見られる傾向のあるものの、顕著な違いは認められなかった。

３．ボルトン培地による３７℃での前培養法の有効性と分離培地の種類が分離結果に及ぼす影響（実験２）

試験に供した７検体のうち、５検体はいずれかの方法でカンピロバクターが分離されその

分離率は４／７～５／７の範囲であった。２検体（No. ５，No. ６）はいずれの方法でも分離されなかった。また、この内の１検体（No. ５）では、用いた全ての分離培地に凍結前の培養では確認されなかった強い遊走性をもつ雑菌の発育がみられた。

カンピロバクターの分離率に関しては３７℃による前培養法の顕著な有効性は確認できず、検体（No. ４）によっては４２℃での培養が優れているものもあった。このことから、今回の結果に関してはボルトン培地による３７℃の前培養は、分離成績に重要な影響を及ぼすものではないことが考えられた。

分離培地の種類による、カンピロバクターの分離成績への影響については、mCCDA 培地のほうがスキロー培地に比べカンピロバクターの鑑別が容易な傾向ではあったが、顕著な違いはみられず、凍結処理による細菌相の状態によって培地の分離能へ影響することも考えられるので、例数を増やしての検証や冷凍状態、あるいは冷凍処理のされた市場流通の鶏肉を用いての評価試験も必要と考えられる。

D．結論

１．鶏肉 25ｇを検体として、プレストン培地によるカンピロバクターの増菌培養では、添加するプレストン培地の量は検体の５倍量（５倍乳剤）でも、従来からの１０倍量（１０倍乳剤）でもほぼ同程度の増菌効果があった。

２．微好気培養と気密性袋内での培養法では、試験管によるＭＰＮ法においては分離結果が一致しない検体もあったが、定性試験では同じ結果であり、定性試験を併用することで気密性袋での増菌効果も有効と考えられる。

３．ボルトン培地による、３７℃の前培養法の有効性と、分離培地の種類が分離結果に及ぼす影響については確認できなかった。

E．健康危険情報

使用した培地等の微生物汚染が考えられるものについては、高圧滅菌のうえ適正に廃棄した。

F．研究発表

無し

実験１　鶏肉（冷蔵）からの分離結果

検体番号	25g＋２２５ｍＬ（10倍乳剤）							25g＋１００ｍＬ（５倍乳剤）						
	微好気			シール				微好気			シール			
	10mL	1mL	0.1mL	10mL	1mL	0.1mL	残り	10mL	1mL	0.1mL	10mL	1mL	0.1mL	残り
1	3	3	2	3	3	1	＋	3	3	2	3	3	3	+
2	0	1	0	0	0	0	＋	2	0	0	0	2	0	+
3	3	0	0	3	1	0	＋	3	0	0	2	0	0	+
4	3	1	0	2	1	0	＋	3	3	1	2	2	0	+
5	3	1	0	3	0	0	＋	3	0	0	3	2	0	+
6	3	0	0	2	0	0	＋	0	2	0	0	1	0	+
7	3	3	1	3	2	1	＋	2	3	1	0	3	1	+
8	3	2	0	3	1	0	＋	3	2	0	3	2	0	+
9	3	1	1	2	1	0	＋	2	2	0	2	1	0	+
10	0	0	0	2	0	0	＋	0	0	0	0	1	0	+
11	3	3	0	3	3	0	＋	3	3	3	3	3	1	+
12	0	1	0	0	0	0	＋	0	2	0	0	0	0	+

実験１のデータをＭＰＮに換算した値

検体番号	25g＋２２５ｍＬ(10倍乳剤)					25g＋１００ｍＬ（５倍乳剤）				
	微好気		シール			微好気		シール		
	補正前	最確数	補正前	最確数	残り	補正前	最確数	補正前	最確数	残り
1	1100	11000	460	4600	+	1100	5500	1400<	7000<	+
2	3	30	<3	<30	+	9	45	6	30	+
3	23	230	43	430	+	23	115	9	45	+
4	43	430	15	150	+	460	2300	21	105	+
5	43	430	23	230	+	23	115	93	465	+
6	23	230	9	90	+	6	30	3	15	+
7	460	4600	150	1500	+	36	180	13	65	+
8	93	930	43	430	+	93	465	93	465	+
9	75	750	15	150	+	21	105	15	75	+
10	<3	<30	9	90	+	<3	<15	3	15	+
11	240	2400	240	2400	+	1400<	7000<	460	2300	+
12	3	30		<30	+	6	30	<3	<15	+

注)　□：検体内での最高数値、　網掛：検体内での最低数値

実験２ 凍結解凍処理試料における培養温度の影響

検体番号	４２℃培養				３７℃４時間後４２℃培養			
	２４時間		４８時間		２４時間		４８時間	
	ＣＣＤＡ培地	スキロー培地	ＣＣＤＡ培地	スキロー培地	ＣＣＤＡ培地	スキロー培地	ＣＣＤＡ培地	スキロー培地
1	陽性	陽性 (雑菌+)	陽性 (雑菌+)	陽性 (雑菌+)	陽性	陽性	陽性	陽性
2	陽性	陽性 (雑菌+)	陽性	陽性	陽性	陽性	陽性	陽性
3	陽性	陽性	陽性	陽性	陽性	陽性 (雑菌+)	陽性	陽性 (雑菌+)
4	陽性	陽性	陽性	陽性 (雑菌+)	陽性	陰性 (雑菌：スオーミング)	陽性	陰性 (雑菌)
5	陰性 (雑菌：スオーミング)	陰性 (雑菌：スオーミング)	陰性 (雑菌：スオーミング)	陰性 (雑菌：スオーミング)	陰性 (雑菌：スオーミング)	陰性 (雑菌：スオーミング)	陰性 (雑菌：スオーミング)	陰性 (雑菌：スオーミング)
6	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性
7	陽性 (雑菌+)	陽性	陽性 (雑菌+)	陽性	陽性	陽性	陽性 (雑菌+)	陽性

厚生労働科学研究費補助金（食品の安全性高度化推進事業）
（協力研究報告書）

細菌性食中毒の予防に関する研究
鶏肉におけるカンピロバクター食中毒の予防に関する研究

分担研究者　山本茂貴　国立医薬品食品衛生研究所食品衛生管理部長

協力研究者　平松　愛知県衛生研究所

A.　研究目的
カンピロバクター食中毒は、食品衛生上重要であるが、予防対策のリスクアセスメントをするうえで、統一された検査方法でデータを比較解析する必要がある。このため、カンピロバクター食中毒の原因食品として、しばしば問題となる鶏肉を用いて、カンピロバクター検査法の検討をおこなった。

B.　研究方法
１．検体　　市販皮付きもも肉　１０検体(No.1-10)
No.1,2,5,6 国産、No.4,7,8,10 宮崎産、No.3 九州産、No.9 岐阜産
２．検出　　No.4-6 の３検体については定性・定量ともすべて不検出（表１）。
C.　研究結果及び D.　考察
３．実験１
３－１．定量試験における好気・微好気培養の比較
微好気が好気と比較し感度良好であったのが１５回、好気の方が感度良好であったのが５回、両者同感度であったのが２０回であったため、やはり微好気の方が感度がよいと結論された（表２）。
３－２．好気定性および微好気定量の比較
微好気定量試験で不検出であったものが好気定性試験で検出されたのが４回、微好気定量試験で検出され好気定性試験で不検出であったのが１回であるため、好気より微好気の方が感度良好とも言い切れない（表３）。
３－３．プレストン培地 100ml,および 225ml の定性試験での相違
100ml で検出され 225ml で不検出であったのが１回、あとは同様であったので、培地量は 100ml で十分、むしろ 100ml の方が良好なものと結論される（表４）。
３－４．プレストン培地 100ml,および 225ml の定量試験での相違
100ml の方が感度良好１２回、225ml の方が感度良好９回であったため、定量試験においても 100ml の方が良好なものと結論される（表５）。
４．実験２
カンピロバクターが検出された No.1(冷凍後 44 日目)および No.2(冷凍後 17 日目)のもも肉を用いて実験。両検体とも温度シフトあり、なしに関わらずカンピロバクター不検出（表６）。

E.　結　論
上記結果より、確かに定量試験では微好気培養の方が良好であると判断されるが、定性試験では気密法でも十分検出可能であることが証明され、すなわちルーチンの検査において実際の試料からカンピロバクター菌を見逃すことはないものと思われた。また、増菌培地の量は 100ml と 225ml はほぼ同等もしくは 100ml の方がやや良好なくらいであり、経済的、スペース的な意味においても 100ml の使用が望ましいと考えられた。

表1-1. 実験1データ

No	部位	プレストン量	培養法	10ml	1ml	0.1ml	MPN	定性
1	鶏皮	100ml	好気	0	0	0	＜41	検出
			微好気	2	0	0	124	ND
		225ml	好気	1	0	0	104	検出
			微好気	0	0	0	＜87	ND
	もも肉	100ml	好気	0	0	0	＜15	検出
			微好気	2	2	0	105	ND
		225ml	好気	1	0	0	36	検出
			微好気	1	0	0	36	ND
2	鶏皮	100ml	好気	0	0	0	＜41	検出
			微好気	0	0	0	＜41	ND
		225ml	好気	0	0	0	＜15	検出
			微好気	0	0	0	＜15	ND
	もも肉	100ml	好気	1	1	0	37	検出
			微好気	2	1	0	75	ND
		225ml	好気	0	0	0	＜30	検出
			微好気	1	0	0	36	ND
3	鶏皮	100ml	好気	2	1	0	203	検出
			微好気	2	2	0	284	ND
		225ml	好気	0	0	0	＜87	検出
			微好気	0	1	0	87	ND
	もも肉	100ml	好気	0	0	0	＜15	検出
			微好気	2	1	0	75	ND
		225ml	好気	0	0	0	＜30	検出
			微好気	2	0	0	92	ND
4	鶏皮	100ml	好気	0	0	0	＜41	不検出
			微好気	0	0	0	＜41	ND
		225ml	好気	0	0	0	＜87	不検出
			微好気	0	0	0	＜87	ND
	もも肉	100ml	好気	0	0	0	＜15	不検出
			微好気	0	0	0	＜15	ND
		225ml	好気	0	0	0	＜30	不検出
			微好気	0	0	0	＜30	ND
5	鶏皮	100ml	好気	0	0	0	＜41	不検出
			微好気	0	0	0	＜41	ND
		225ml	好気	0	0	0	＜87	不検出
			微好気	0	0	0	＜87	ND
	もも肉	100ml	好気	0	0	0	＜15	不検出
			微好気	0	0	0	＜15	ND
		225ml	好気	0	0	0	＜30	不検出
			微好気	0	0	0	＜30	ND

表1-2. 実験1データ

No	部位	プレストン量	培養法	10ml	1ml	0.1ml	MPN	定性
6	鶏皮	100ml	好気	0	0	0	<41	不検出
			微好気	0	0	0	<41	ND
		225ml	好気	0	0	0	<87	不検出
			微好気	0	0	0	<87	ND
	もも肉	100ml	好気	0	0	0	<15	不検出
			微好気	0	0	0	<15	ND
		225ml	好気	0	0	0	<30	不検出
			微好気	0	0	0	<30	ND
7	鶏皮	100ml	好気	0	0	0	<41	不検出
			微好気	0	0	0	<41	ND
		225ml	好気	0	0	0	<87	不検出
			微好気	0	0	0	<87	ND
	もも肉	100ml	好気	0	0	0	<15	不検出
			微好気	1	0	0	18	ND
		225ml	好気	0	0	0	<30	不検出
			微好気	0	0	0	<30	ND
8	鶏皮	100ml	好気	2	2	0	284	検出
			微好気	0	1	0	41	ND
		225ml	好気	3	1	0	1247	検出
			微好気	3	1	0	1247	ND
	もも肉	100ml	好気	2	1	0	75	検出
			微好気	2	3	0	145	ND
		225ml	好気	2	3	0	290	検出
			微好気	3	3	0	2400	ND
9	鶏皮	100ml	好気	2	0	0	124	検出
			微好気	0	0	0	<41	ND
		225ml	好気	0	1	0	87	不検出
			微好気	0	0	0	<87	ND
	もも肉	100ml	好気	1	0	0	18	検出
			微好気	1	0	0	18	ND
		225ml	好気	0	0	0	<30	検出
			微好気	1	0	0	36	ND
10	鶏皮	100ml	好気	1	1	0	100	検出
			微好気	2	2	0	284	ND
		225ml	好気	1	0	0	104	検出
			微好気	1	1	0	215	ND
	もも肉	100ml	好気	2	1	0	75	検出
			微好気	1	1	0	37	ND
		225ml	好気	1	0	0	36	検出
			微好気	1	1	0	74	ND

表２．定量試験における好気・微好気培養での検出感度の相違

	回数
微好気＞好気	15
微好気＜好気	5
微好気＝好気	20
計	40

表３．好気定性および微好気定量試験の検出感度の相違

好気定性	微好気定量	回数
検出	検出	19
検出	不検出	4
不検出	検出	1
不検出	不検出	16
	計	40

表４．プレストン培地 100ml および 225ml での定性試験における検出感度の相違

100ml	225ml	回数
検出	検出	11
検出	不検出	1
不検出	検出	0
不検出	不検出	8
	計	20

表5．プレストン培地 100ml および 225ml での定量試験における検出感度の相違

No		プレストン培地量 100ml	225ml
1鶏皮	好気		○
	微好気	○	
もも肉	好気		○
	微好気	○	
2もも肉	好気	○	
	微好気	○	
3鶏皮	好気	○	
	微好気	○	
もも肉	微好気		○
7もも肉	微好気	△	
8鶏皮	好気		○
	微好気		○
もも肉	好気		○
	微好気		○
9鶏皮	好気	○	
もも肉	好気	△	
	微好気		○
10鶏皮	好気	○	
	微好気	○	
もも肉	好気	○	
	微好気		○
	計	12	9

表6．実験2データ

No.	材料	冷凍開始日	解凍・検査開始日	培養法	培養時間	結果 スキロー培地	CCDA
1	もも肉	9月2日	10月17日	温度シフトあり	24h	検出せず	検出せず
					48h	検出せず	検出せず
				温度シフトなし	24h	検出せず	検出せず
					48h	検出せず	検出せず
2	もも肉	9月2日	9月20日	温度シフトあり	24h	検出せず	検出せず
					48h	検出せず	検出せず
				温度シフトなし	24h	検出せず	検出せず
					48h	検出せず	検出せず

厚生労働科学研究費補助金（食品の安全性高度化推進事業）
（協力研究報告書）

細菌性食中毒の予防に関する研究
鶏肉におけるカンピロバクター食中毒の予防に関する研究

分担研究者　山本茂貴　国立医薬品食品衛生研究所食品衛生管理部長

食品からのキャンピロバクター検出法の検討（2005年度）

協力研究　八尋俊輔，荒平雄二，宮坂次郎　者熊本県保健環境科学研究所　微生物科学部

A. 研究目的

食品からのキャンピロバクターの検出法は統一されていないため，検出法によって検出率が変動するので，検出方法を統一する必要がある。最適な検出法を選択するため以下の検討を行った。

（増菌方法の検討）

B. 研究方法

市販の鶏肉（モモ肉，胸肉）を検体として用いて，検討を行った（表1)。

表1　検査に用いた検体

No.	種類	産地
1	鶏むね肉	国産
2	鶏もも肉	国産
3	鶏もも肉	国産
4	鶏もも肉	国産
5	鶏もも肉	国産
6	鶏もも肉	国産
7	鶏もも肉	国産
8	鶏もも肉	国産
9	鶏もも肉	国産
10	鶏もも肉	国産
11	鶏もも肉	国産
12	鶏もも肉	国産

キャンピロバクター増菌法として以下の4系列を検討した（図1)。

①検体 25gにプレストン培地（馬溶血液5%含有）225mlを加え，ストマッカーにて30秒間処理後，菌数をMPN3管法10ml, 1ml, 0.1mlの3段階で算定した。培養は微好気で行い，培養時間は24±1時間とした。残りの乳剤は，定性試験としてストマッカー袋をシーラーにて密閉した後，42℃，24±1時間培養した。

②①と同様の方法にて実施したが，MPN測定の培養は試験管をストマッカー袋に入れ，シーラーで密閉した後，42℃，24±1時間好気培養した。

③増菌用のプレストン培地の量を100mlとした以外は①と同様の方法で実施した。

④③と同様の方法にて実施したが，MPN測定の培養は試験管をストマッカー袋に入れ，シーラーで密閉した後，42℃，24±1時間好気培養した。

なお，①③の微好気培養はCampyPak Plus (BBL) を使用し，嫌気ジャー内で行った。

増菌培養後，分離選択培地として

mCCDA を用い 42℃，48±2 時間培養後，キャンピロバクターが疑われるコロニーを分離した。分離したコロニーは以下の 1～5 によって同定した。

1. 直接検鏡で形態，運動性の確認
2. グラム染色でグラム陰性のらせん型の桿菌を確認
3. オキシダーゼ陽性
4. カタラーゼ陽性
5. PCR[1)]による遺伝子確認

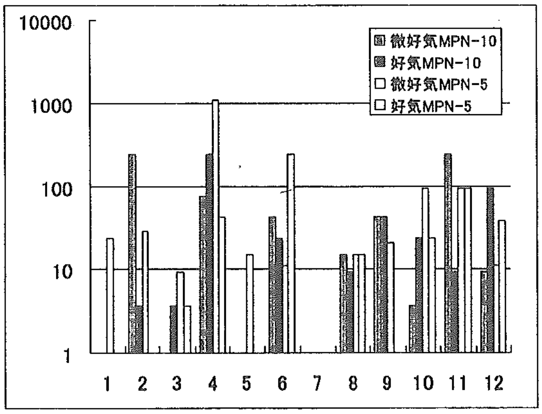
表 2. 増菌方法の検討結果

No.＼系列	10 倍乳剤			5 倍乳剤		
	定性	微好気 MPN	好気 MPN	定性	微好気 MPN	好気 MPN
1	＋	＜3	＜3	＋	23	＜3
2	＋	240	3.6	＋	29	＜3
3	＋	＜3	3.6	－	9.2	3.6
4	＋	75	240	＋	＞1100	43
5	＋	＜3	＜3	＋	15	＜3
6	＋	43	23	＋	11	240
7	＋	＜3	＜3	＋	＜3	＜3
8	＋	15	9.2	＋	15	15
9	＋	43	43	＋	21	＜3
10	＋	3.6	23	＋	93	23
11	＋	240	9.2	＋	93	93
12	＋	9.2	93	＋	11	38

C. 研究結果と考察

結果を表 2，図 1 に示す。

図 1　増菌方法の検討結果



各検討間の有意差はみられなかった。微好気と好気培養の差はほとんどみられず，増菌培養を好気で行うことはコストの面から考えて有用であった。

また増菌培地の量においても 5 倍乳剤，10 倍乳剤に差はみられなかったことから，5 倍乳剤がコスト面で優れていることわかった。

(分離培地の検討)

研究方法と材料

検体は増菌培地の検討で用いたものと同じものを用い，1 週間冷凍（－20℃）にて保存した後，ボルトン培地で 5 倍乳剤を作

り微好気で培養後，各分離培地（mCCDA, Skirrow，Butzler）でキャンピロバクターを分離した。

また，ボルトン培地の増菌方法を検討するため，温度のシフトアップ（37℃4 時間培養後，42℃にて 20 時間培養）の有無，培養時間の比較（24 時間と 48 時間）を行った。

なお，検討はすべて定性試験で行い，分離されたキャンピロバクターは前検討と同様に同定した。

では有意に優れていた）。Skirrow，Butzler の 2 種においての有意差はみられなかった。原因として，ボルトン培地で長時間培養すると，キャンピロバクター以外の菌が増殖し，mCCDA で分離不能になると考えられた。Skirrow，Butzler の 2 種においては長期間培養による他菌の発育も選択的に抑えることができると考えられた。

よって mCCDA で分離する場合は 24 時間培養，Skirrow，Butzler で分離する場合は 48 時間培養が望ましいと思われた。

シフトアップ	有						無					
培養時間	24 時間			48 時間			24 時間			48 時間		
分離培地※	C	S	B	C	S	B	C	S	B	C	S	B
1	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−
2	+	+	+	−	+	+	+	+	+	−	+	+
3	−	−	−	−	−	−	+	+	+	+	+	+
4	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
5	−	−	−	+	+	+	−	−	−	−	−	−
6	+	+	+	−	+	+	+	+	+	−	+	+
7	−	−	−	−	−	−	−	+	+	+	+	+
8	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
9	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
10	+	+	+	+	+	+	+	−	−	+	+	+
11	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
12	−	−	−	−	+	+	−	−	−	−	−	−
陽性率（%）	58	58	58	50	75	75	67	67	67	58	75	75

表 3　分離培地の検討結果

※C…mCCDA，S…Skirrow，B…Butzler

研究結果と考察

結果を表 3 に示す。ボルトン培地で増菌後の分離培地は mCCDA より Skirrow, Butzler の方が優れていることがわかった（24 時間培養では差がないが 48 時間培養

また，ボルトン培地のシフトアップの効果は検体番号 5，12 でみられたが，逆にシフトアップにより分離できなくなる検体もあり，有意に効果があるとはいえなかった。

参考文献

1)Stephen L. W. On and Penelope J. Jordan 2003. Evaluation of 11 PCR Assay for Species-Level Identification of *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli*.J.Clin.Microbiol.41:330-335

厚生労働科学研究費補助金（食品の安全性高度化推進事業）
（協力研究報告書）

細菌性食中毒の予防に関する研究
鶏肉におけるカンピロバクター食中毒の予防に関する研究

分担研究者　山本茂貴　国立医薬品食品衛生研究所食品衛生管理部長

ブロイラー農場でのカンピロバクター汚染実態

協力研究者　中馬猛久　鹿児島大学

A.　研究目的

鶏肉によるカンピロバクター食中毒を予防するため、農場から消費に至るフードチェーンを通じてカンピロバクターの暴露菌量を推計するため定量的リスクアセスメントを行う必要がある。生産段階での定量データとして保菌率及び保菌菌数などが必要となる。そこで、特定のブロイラー飼育農場での保菌率を検討した。

B.　研究方法

鹿児島県下のブロイラー飼育農場から食鳥処理場に搬入されたブロイラーの盲腸内容物をプレストンブロス、バツラー寒天培地でそれぞれ４２℃４８時間増菌選択培養し、常法に従い同定を行い、菌株を収集した。２週ごとに２農場２鶏群ずつ（１９９５年度：１鶏群５羽、２００３年度から２００５年度：１鶏群１６羽）調査した。ナリジクス酸感受性はディスク法（３０μg）で調べた。

C.　研究結果

農場における汚染実態、ブロイラー個体における菌汚染実態を表１に示した。２００３年度では４５鶏群中２６鶏群（５７．８％）がカンピロバクター陽性を示したが２００５年度では４４鶏群中９鶏群（２０．５％）と減少傾向が認められた。分離された菌株のナリジクス酸耐性状況を表２に示した。２００３年度は８１株中３３株（４１．０％）が耐性を示し、２００４年度もほぼ同様な値を示したが、２００５年度は３６株中耐性が６株（１６．７％）と減少を示した。２００５年度では耐性株はすべてカンピロバクター・ジェジュニでありカンピロバクター・コリはすべて感受性であった。

D. 考　察

本調査では個々の農場の衛生管理状態に関する情報まで把握できておらず、菌分離頻度の減少傾向に関わる特定の要因は明確ではない。しかしながら、カンピロバクター陽性鶏群の減少は、ブロイラー飼育農家に対する衛生指導の効果を表しているのかもしれない。一方、１９９０年代から増加してきたキノロン系抗菌剤耐性菌は２００４年までは減少しておらず、２００５年度のみ低い値を示した。無薬飼育の普及等による衛生管理意識の増大によるものかもしれないが今後の耐性率の変動を続けてモニターし解析していく必要があろう。

E. 結　論

農場（鶏群）およびブロイラー（個体）における菌汚染実態を調査した結果。カンピロバクター陽性鶏群、個体ともに減少傾向が認められた。分離された菌のナリジクス酸耐性は２００５年度に減少傾向を示した。

表1、ブロイラーからのカンピロバクター分離頻度

年度	陽性／鶏群 (%)	陽性／羽数 (%)	*C. jejuni* (%)	*C. coli* (%)
95	32／68 (47. 1)	78／340 (23. 0)	ND	ND
03	26／45 (57. 8)	81／719 (11. 3)	48 (6. 7)	33 (4. 6)
04	15／47 (32. 0)	62／752 (8. 2)	41 (5. 5)	21 (2. 8)
05	9／44 (20. 5)	36／704 (5. 1)	26 (3. 7)	10 (1. 4)

ND:データ無し