

平成25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

「と畜・食鳥検査における疾病診断の標準化とカンピロバクター等の制御に関する研究」

分担研究報告書

農場におけるカンピロバクターの制御に関する研究
～農場侵入要因の探索と持続汚染に係る細菌学的研究～

研究分担者 中馬 猛久 鹿児島大学 共同獣医学部

協力研究者 川原 俊介 MP アグロ株式会社

研究要旨：九州地方の養鶏農場の協力の下、農場内で飼養されるブロイラー鶏盲腸便および当該施設・飼料・水等における汚染実態を、ブロイラー鶏の発育段階（0, 2, 15, 17, 29, 31, 43, 45 日齢）に応じて調査した。飼料・斃死雛遺残卵黄・飲用水原水・鶏舎内に供給された飲用水から、カンピロバクターは検出されなかった。ブロイラーが45日齢となった時点での貯水槽および堆積糞からは、*C. coli* が検出された。この他、農場内の環境検体として、野鳥の糞便、ネズミの糞便あるいは鶏舎前に配置されていた長靴底面も試験に供したが何れもカンピロバクター陰性を示した。別農場において日齢別汚染実態調査の結果、対象ブロイラー鶏は、31日齢よりカンピロバクター陽性となることが示された。また、継続的に汚染の認められた2農場（A・B）を対象として、一定の期間毎にブロイラー鶏由来 *C. jejuni* の遺伝特性を比較したところ、これらの多くは採取時期によって異なる遺伝子型を示す菌株から構成されていることが明らかとなった。以上の成績より、農場におけるカンピロバクターの汚染は、安定的な感染源に因るものではないことが示唆される。また、しばしば認められる同一農場内での継続汚染は、異なる汚染経路を経て、その都度生じている可能性が示された。

A．研究目的

農場から出荷されるブロイラー鶏の多くは高い割合でカンピロバクター汚染を受けていることが多くの疫学成績より、明らかになりつつある。カンピロバクター食中毒の発生低減のためには、ブロイラーの出荷前段階における汚染制御が根源的であると解されているが、近年の鶏インフルエンザ対策等に関わって講じられた農場段階での種々の衛生

対策をもってしても、未だにその制御は成し得ていない。本研究では、九州地方で生産・出荷されるブロイラー鶏およびその飼養環境におけるカンピロバクター汚染実態を農場レベルで検討することで、汚染経路に関する知見を集積することとした。また、継続的にカンピロバクター汚染を示す農場において、定期的なカンピロバクター分離を実施し、得られた菌株の遺伝特性を調べることで、持続汚染に関

わる細菌学的知見の集積をはかった。

B．研究方法

1. 検体採取

九州地方の養鶏農場の協力を得て、ブロイラー鶏の日齢に応じて、以下の検体を採取した。飼料、斃死雞遺残卵黄、飲用水原水、貯水槽、飲用水鶏舎内（手前、中央、奥の計3か所）、堆積糞、盲腸便、野鳥糞便、ネズミ糞便、鶏舎前長靴底面。

2. 分離培養

水系検体については、検体 5ml に対し、2 倍濃厚 Preston 培地 5ml を加え、42C で 48 時間培養した。飼料検体については、検体 10g に対し、Preston 培地 90ml を加え、同様に培養に供した。上述の Preston 培養液は、いずれもその後 mCCDA 培地に塗抹し、42C で 48 時間培養した後、疑わしい集落が認められた場合には Mueller-Hinton 培地に画線培養を行い、分離株の同定へと供することとした。ふき取り検体については、シードスワブを mCCDA 培地に直接塗抹し、同様の扱いとした。また、飼料および水系検体については、並行して mCCDA 培地を用いた直接培養も実施した。

3. MLST 解析

ブロイラー鶏由来 *C. jejuni* 株の MLST 解析については、Campylobacter MLST database 上のガイドラインに従って行った。

（倫理面への配慮）

本研究は、ヒト臨床情報を包含しておらず、また遺伝子情報は分離微生物に関するもののみであるため、倫理面の問題はない。

C．研究結果

1. 農場内環境におけるカンピロバクター汚染状況

九州地方の養鶏農場の協力を得て、ブロイラー鶏の日齢に応じて、様々な農場内環境検体からのカンピロバクター検出を試みた。その成績を表 1. に記す。ブロイラー鶏が 45 日齢の時点において、貯水槽および堆積糞から *C. coli* が検出されたが、その他の日齢の時点およびその他の検体は何れも陰性を示した。

以上より、供試農場環境下ではカンピロバクターの常在化は生じていないことが示された。

2. ブロイラー鶏の日齢に応じたカンピロバクター保菌変動

カンピロバクターのブロイラー鶏盲腸内定着は約 2~3 週令で最も高頻に生じるとされる。本研究では、ブロイラー鶏の盲腸便を試験対象として、Preston 培地+mCCDA 培地を用いた培養法によって検出されるカンピロバクターが検出される日齢を経時的に追跡した。結果として、試験対象としたブロイラー鶏では、31 日齢以降にカンピロバクターが分離されることが示された（図 1）。

3. 持続汚染を顕した農場における、*C. jejuni* の遺伝学的変動

カンピロバクター汚染農場の清浄化とその識別化は、食鳥処理段階における交差汚染を抑制する上で重要と考えられる。しかしながら、汚染農場の多くでは、持続的な汚染を示す例も多い。本研究では、持続的な汚染を認める農場のブロイラー鶏を対象として、食鳥処理場への搬入時に、盲腸便を採取し、*C. jejuni* 分離株の遺伝性状を MLST 法により比較検証することとした。図 2 に記したとおり、年度毎に追跡した農場 A のブロイラー鶏からは、いずれも異

なる遺伝子型の菌株が分離されていた。同様に、2年間に計5回のサンプリングを行った農場Bの検体では、ST-354 は一定の継続性をもって検出された一方、ST-5265 や ST-4389 等は散発性の検出に留まった。

以上より、カンピロバクターの持続汚染を示した供試農場では、異なる遺伝子型の株が入れ替わって汚染を示す事例が複数認められ、鶏舎内の常在化に因る可能性は低いと考えられた。

D．考察

本研究では、農場内環境におけるカンピロバクターの分布を検証したが、その多くは陰性を示し、これらがブロイラー鶏への汚染経路として常在的に機能していないことが想定された。しかしながら、本研究では、協力元でのサンプリング等の制約もあり、十分量の検体を分離培養に供したとは言い難い。従って、こうした環境検体が汚染経路となっていた可能性を否定することはできない。一方で、盲腸便の陰性結果は、供試農場におけるカンピロバクター汚染が低いであろうとの推察を供するものであり、今後は、汚染度の高い農場を対象とした上での環境評価が求められよう。更に、遺伝子検出法の併用も有効かもしれない。

また、カンピロバクターによる農場の持続汚染は、その後の食鳥処理段階において、非汚染農場より搬出される食鳥肉を交差汚染する要因ともなることから、その清浄化が求められよう。その意味で、必ずしも同一菌株の常在化が農場持続汚染の要因とはなっていないであろうとする本研究の知見は、対象農場等、持続汚染を示す農場の清浄化対策が飼養管理等によっても達成しうる可能性を示唆しているといえよう。

E．結論

本分担研究では九州地方の養鶏農場の協力を得

て、農場内環境におけるカンピロバクター汚染状況を調査したが、その多くは陰性を示した。また、カンピロバクター保菌を顕すブロイラー鶏の日齢を追跡した結果、31日齢より認められる事象を確認した。持続汚染が想定される2農場を対象として、一定の時間軸をとって、分離株の遺伝子型別を行い、農場の持続汚染が必ずしも同一株の常在化によるものではないことを明らかにした。

F．健康危険情報

(総括報告書にまとめて記載)

なし

G．研究発表(発表誌名巻号・頁・発行年等も記入)

なし

H．知的財産権の出願・登録状況(予定を含む。)

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

表1.飼育ブロイラーのカンピロバクター汚染要因

材料	0	2	15	17	29	31	43	45
飼料	—	—	—	—	—	—	—	—
斃死雞遺残卵黄	—	—	NT	NT	NT	NT	NT	NT
飲用水原水	NT	NT	—	—	NT	NT	—	—
貯水槽	NT	NT	—	—	NT	NT	—	<i>C.coli</i>
飲用水鶏舎内手前	NT	NT	—	—	NT	NT	—	—
飲用水鶏舎内中	NT	NT	—	—	NT	NT	—	—
飲用水鶏舎内奥	NT	NT	—	—	NT	NT	—	—
<hr/>								
堆積糞	NT	NT	—	—	—	—	—	<i>C.coli</i>
盲腸便	NT	NT	—	—	—	—	—	—
野鳥の糞	NT	NT	—	—	—	—	—	—
ネズミの糞	NT	NT	—	—	—	—	—	—
鶏舎前長靴底面	NT	NT	—	—	—	—	—	—

図2. ブロイラー日齢とカンピロバクター陽性数

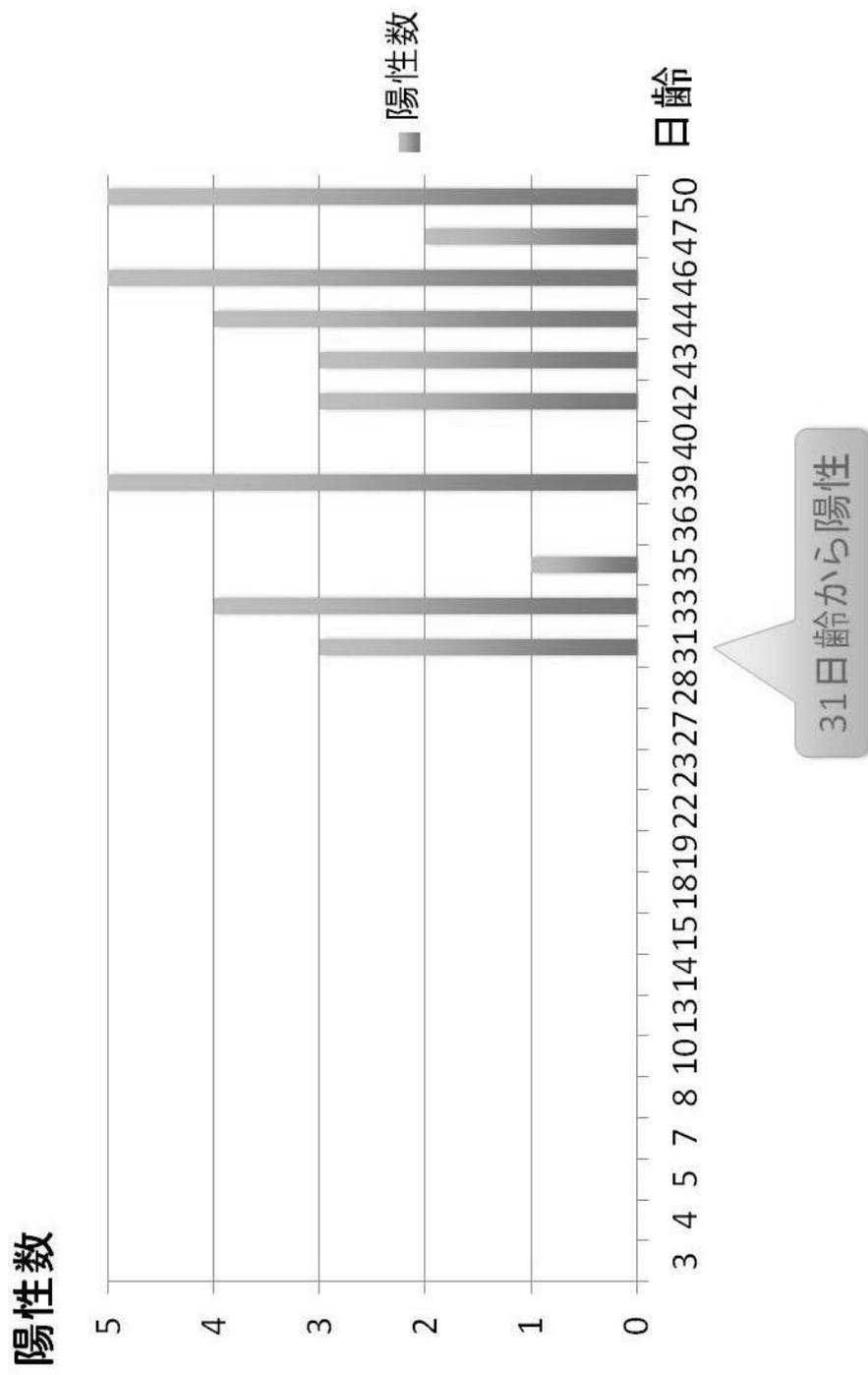


図3. 汚染農場におけるカンピロバクター持続感染の要因

