

平成 29 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）

「食鳥肉におけるカンピロバクター汚染のリスク管理に関する研究」

分担研究報告書

鶏盲腸菌叢が顕すカンピロバクター制御効果に関する研究

| | | |
|-------|------|---------------------|
| 研究分担者 | 朝倉 宏 | 国立医薬品食品衛生研究所食品衛生管理部 |
| 研究協力者 | 茶園 明 | NPO 法人日本食品安全検証機構 |
| 研究協力者 | 渡辺邦雄 | NPO 法人日本食品安全検証機構 |
| 研究協力者 | 倉園久生 | 国立大学法人帯広畜産大学 |
| 研究協力者 | 山本詩織 | 国立医薬品食品衛生研究所食品衛生管理部 |

研究要旨：昨年度、鶏盲腸便由来 *Bacteroides* 属菌体由来不活化抽出物が *Campylobacter jejuni* の生存・増殖に対して抑制作用を示すとの知見が得られたことを受け、本年度は、2 農場（A または B）で飼料切替時期 2 回に、飲水と共に当該成分を経口摂取させた場合の出荷時齢鶏腸管内におけるカンピロバクター菌数への影響を検討した。A 農場では非投与群が 1.46×10^9 CFU/g（平均）投与群平均が 1.16×10^7 CFU/g となり、約 2 対数個以上の減少が認められた。また、B 農場では非投与群平均が 1.15×10^6 CFU/g と A 農場に比べて少数の自然汚染を顕していたが、投与群では 8.40×10^3 CFU/g（平均）と A 農場と同様に 2 対数個/g 以上の低減を示した。以上の成績より、当該抽出物による鶏腸管内でのカンピロバクター保菌数の低減効果が示された。

A. 研究目的

鶏の生産段階におけるカンピロバクター汚染率は総じて高く、特に休薬期間を経た出荷時に急激な菌数の増加が生じるとされる。農場への導入時（幼雛期）には本菌が陰性であるが、2-3週齢の間に本菌の定着を生じ、以後少なくとも9週間は定着し続けるとの報告もある。国内に流通する鶏肉の多くは50日齢程度のプロイラー鶏由来であり、本菌による汚染を一旦受けた農場で飼育された鶏群由来の鶏肉の多くは高率に本

菌汚染を受けている。また、本菌による鶏肉汚染は、食鳥処理工程での交叉汚染が主な要因と目されるが、そもそも生産段階における本菌制御が確立すれば、カンピロバクター食中毒の低減をはかるにあたって、より根源的な対策を立てることが可能となるため、農場段階における本菌制御策の構築は必要不可欠な課題の一つといえる。

鶏生体における本菌の汚染（定着）への対策としては、これまでも乳酸菌やバシルス属菌等、いわゆる生菌剤（プロバイオティクス）の投与により、一定の抑制効

果を果たすことが報告されている。より近年では、こうしたプロバイオティクス効果を裏付ける要因として、乳酸菌の菌体表層タンパク分子あるいは有機酸代謝能といった分子や代謝機構が、カンピロバクターの鶏腸管定着抑制を支える分子基盤として明らかにされつつあるが、それらの多くは依然として不明である。養鶏場での本菌制御策は、現在も解決されていない世界的課題であるが、一般に知られる上述のプロバイオティクス細菌以外にも、近年ではカンピロバクターの鶏腸管定着に抑制作用を示す、種々の腸内菌叢の存在も見出されつつあり、生産段階での制御策の構築にあたって期待がもたれる研究分野の一つとなっている。

本分担研究では、出荷時齢のプロイラー鶏を対象として、昨年度までに見出されたカンピロバクターの生存増殖性に抑制効果を示した、鶏盲腸便由来 *Bacteroides* 属菌株の不活化菌体抽出物を 2 生産農場で投与し、腸管内容における本菌の定量的動態を比較解析したので報告する。

B. 研究方法

1) 検体

平成29年9月～11月の期間、九州地方にある A / B 農場の協力を得て、同農場で搬入後、飼養される肉用鶏の盲腸便を時系列を追って採材した。採材検体は速やかに冷蔵温度帯で研究室に輸送し、カンピロバクター定量検出試験(次項)に供した。なお、投与群及び非投与群は同一農場敷地内に設置される異なる鶏舎で別個に、但し同時期に導入・飼育されるものとした。

2) *B. fragilis* 不活化抽出物の投与

BHIS broth で培養した *B. fragilis* an-51 株由来菌体破碎抽出物を凍結乾燥品として、上記農場に送付し、飼料切替時期(前期から後期飼料への切り替え、約 24 日齢; 後期から休葉飼料への切替時期、約 33 日齢)にそれぞれ飲水に添加した。同時に搬入・飼育される鶏群については陰性対照として設定した。

3) 定量検出試験

盲腸便検体 1g を速やかに 9 mL の滅菌リン酸緩衝液 (PBS, pH7.4) に懸濁し、mCCDA 寒天培地に塗布し、42 °C で 48 時間微好気培養を行った。培養後、各検体につき、代表的発育集落を 5 つ釣菌し、継代培養を行った後、生化学性状試験及び PCR 法による菌種同定を行うことで、陽性・陰性の判定を行い、陽性集落数から検体 1g あたりの菌数を求めた。また、これと並行して、盲腸便検体懸濁液 1ml を 9mL のプレストン培地 (ニッセイバイオ) に加え、42 °C にて 48 時間、微好気培養を行った後、PCR 法によるスクリーニング試験に供し、カンピロバクターの陽性・陰性判定を実施した。

C. 結果

1. 陽性・陰性農場の識別

2 農場 (A・B 農場) で *B. fragilis* 菌体由来不活化抽出物投与群及び非投与群を設定し、盲腸内容物 1g 中のカンピロバクター菌数を求めたところ、出荷時齢における同菌数は A 農場では非投与群が 1.46×10^9 CFU/g (平均)、投与群が 1.16×10^7 CFU/g となり、約 2 対数個以上の減少

が認められた。また、B農場では非投与群が 1.15×10^6 CFU/gとA農場に比べて少数の自然汚染を顕していたが、投与群では 8.40×10^3 CFU/gとA農場での成績と同様に2対数個/g以上の低減を示した。

D. 考察

カンピロバクターが顕す鶏腸管定着は、概ね3 - 4週齢以降に生じるとされる。同時期は、いわゆる換羽期に相当するため、免疫機構の大幅な変動が予想される他、菌叢にも多大な影響が生じると目される。本研究では、昨年度の成果を受け、*Bacteroides* 属由来生理活性物質がカンピロバクター定着に示し得る生物学的役割を検討した。対象2農場において、投与群は非投与群に比べて有意な菌数低減を示したことは、その普遍性と今後の応用性が期待されると考えられる。一方で、その投与方法として今回実施した内容が最適であるかどうかは定かではなく、今後適用方法を含めた改良評価が実用化には必要不可欠な課題と考える。

E. 結論

Bacteroides 属由来不活化菌体抽出物の投与は、鶏腸管内におけるカンピロバクター菌数の有意な低減効果があることが示された。今後、適用条件の最適化に加え、低減効果を示し得る物質の特定とその分子基盤の解明が必要な課題と考えられた。

F. 研究発表

1. 論文発表
なし

2. 学会発表
なし

- G. 知的財産権の出願・登録状況
なし

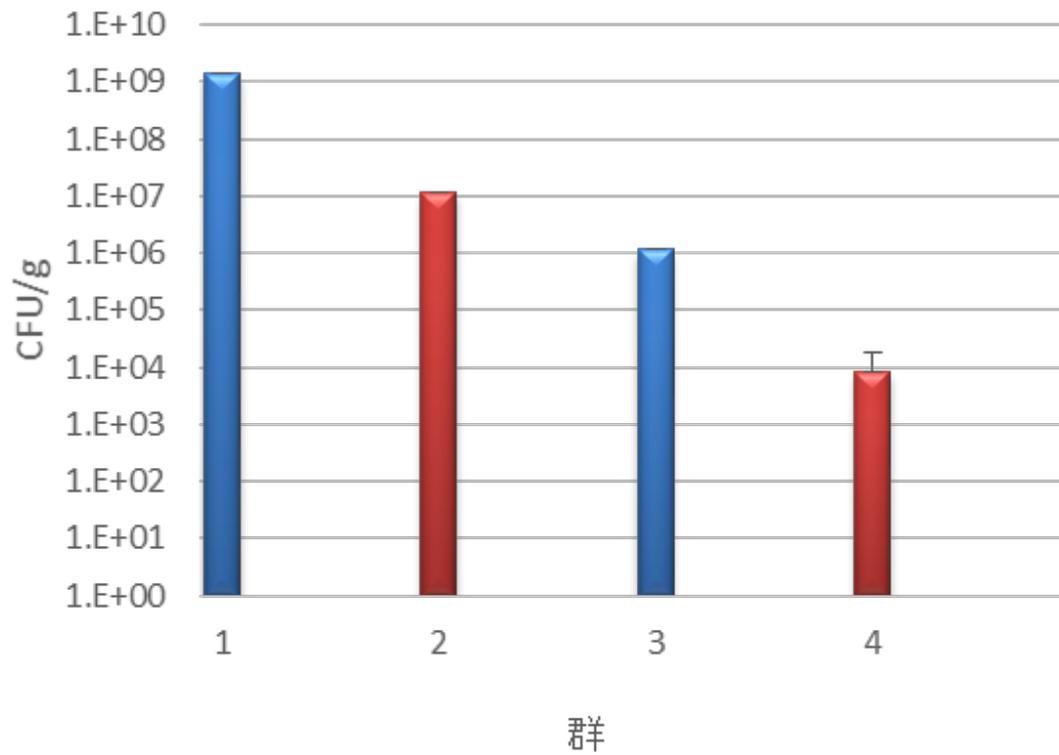


図1 . *Bacteroides* 属菌由来不活化抽出物投与による、出荷時齢鶏盲腸便におけるカンピロバクター菌数への影響 .

1 : A 農場・非投与群 (対照群) 2 : A 農場・投与群、 3 : B 農場・非投与群 (対照群) 4 : B 農場・投与群 .