

令和 7年 4月 8日

令和6年度 宮崎県内共同研究報告書

研究代表者： 久保 明子

1.研究課題名	日本語表記：宮崎県内食鳥処理場における食鳥と体のカンピロバクター汚染調査 英語表記：Investigation of <i>Campylobacter</i> contamination at poultry processing plants in Miyazaki Prefecture		
2.研究期間	令和 6年 4月 1日 ~ 令和 7年 3月 31日		
3.共同研究者	氏名	機関・所属部署名	職名
	久保 明子	宮崎県高崎食肉衛生検査所	主幹
	石川 幸治	宮崎県都城食肉衛生検査所	主幹
	中尾 敏章	宮崎県小林食肉衛生検査所	副主幹
	西村 幸江	宮崎県都農食肉衛生検査所	主幹
	内山 浩子	宮崎県日向食肉衛生検査所	主幹
4. 研究目的	<p>令和3年度より、宮崎県内9カ所の大規模食鳥処理場の食鳥と体のカンピロバクター汚染状況を調査してきた。その結果、採材された検体の26.5% (371/1,400検体) からカンピロバクターが検出された。しかしながら、処理場ごとでは、その検出率は12~48%と非常に幅広く、処理場によって汚染レベルに差があることが示唆された。さらに4カ所の処理場については、と体首皮を採材した同農場の盲腸内容物5検体も採材し、カンピロバクターの定量測定を行った。と体首皮と盲腸内容物のカンピロバクター検出率が同等である処理場がある一方で、盲腸内容物の検出率に比べ、と体首皮の検出率が半分以下である処理場もあった。後者の処理場においては、搬入鶏群の盲腸内容物に汚染があった場合でも、処理場における処理過程で、と体への汚染防止、もしくは殺菌処理が効果的に実施されている可能性が示唆された。今年度は、(1)カンピロバクターの汚染源となる処理工程や汚染低減につながる重要管理点について、カンピロバクター汚染状況を継続して定量的にモニタリングする。さらに汚染低減に向けた対策として、(2)処理場における交差汚染状況調査及び(3)区分処理に向けた新たな検査法について検討する。</p>		
5. 研究内容・成果	<p>(1) 処理工程別の汚染調査</p> <p>カンピロバクターの汚染源となる処理工程や汚染低減につながる重要管理点を調べるため、4処理場、7ロットについてのみ、工程毎（内臓摘出前、内臓摘出後、チラー前とチラー後）の汚染を定量的に調査した。各工程において、5羽のと体首皮（または胸皮）を集めて1検体（25g）とし、5検体を採材した。これらにリン酸緩衝食塩水（PBS）225mlを加え、1分間ストマッキングを行ったストマッキング液を培養液と混合後、自動生菌数測定装置（TEMPO）用検出カードに分注し、42℃、48時間微好気培養した。培養後、TEMPOで解析することにより、カンピロバクターのMPN（Most Probable Number）を測定した（図1）。処理場Aにおいては3ロットについて調査を行った結果、チラー前およびチラー後でカンピロバクター汚染菌数が減少した。処理場Bでは、中抜き後で汚染菌数が増加したものの、最終的にチラー後で減少した。処理場CおよびDにおいても最終的にチラー後で減少した。冷却槽内には各処理場によって50~150ppmの塩素が添加されている。塩素化合物はと体のカンピロバクター数を減少させることが報告されているものの、一方で有機物の存在によって効果が減少</p>		

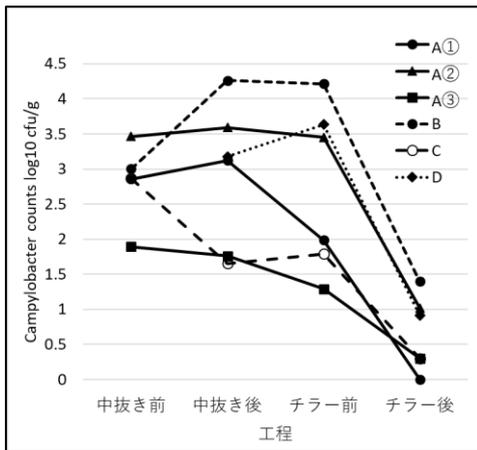


図 1. 各処理工程のカンピロバクター汚染

(2) 処理場における交差汚染調査

カンピロバクターを保菌した食鳥が処理場に搬入されると、処理場内では容易に交差汚染が起こり、と体からカンピロバクターが検出される。汚染鶏群から非汚染鶏群への交差汚染も報告されており、処理場におけると体汚染対策としては、処理場での交差汚染を減らすことが重要となってくる。しかしながら、これまで、最初の搬入鶏群のみ対象として汚染調査を行ってきたため、処理鶏群の違いによる交差汚染状況は不明である。そこで、処理場における交差汚染状況調査するため、処理場 D において、1 日の処理鶏群 5 ロットすべてについて盲腸内容物及びと体皮膚を採材し、カンピロバクター汚染調査を行った。盲腸内容物は、PBS で段階希釈し、mCCDA 培地に直接塗布後、培養することにより、カンピロバクターを定量測定した。と体皮膚については、チラー前、チラー後、製品から採材し、定量測定は前述したように TEMPO で解析した。検出されたカンピロバクターについては、1 検体あたり 3 コロニーを選択し、MALDI-Biotyper (Bruker) で同定した。

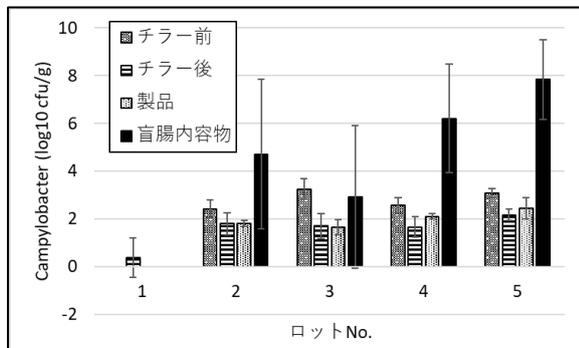


図 2. ロット別のカンピロバクター汚染

ロット	チラー前	チラー後	製品	盲腸内容物
1	ND	<i>C. jejuni</i>	ND	ND
2	<i>C. jejuni</i> <i>C. coli</i>	<i>C. jejuni</i> <i>C. coli</i>	<i>C. jejuni</i> <i>C. coli</i>	<i>C. jejuni</i>
3	<i>C. jejuni</i>	<i>C. jejuni</i>	<i>C. jejuni</i>	<i>C. jejuni</i>
4	<i>C. coli</i> ST1068	<i>C. coli</i> ST1068	<i>C. coli</i> ST1068	<i>C. jejuni</i> <i>C. coli</i> ST1068
5	<i>C. jejuni</i> <i>C. coli</i> ST1068	<i>C. jejuni</i>	<i>C. jejuni</i>	<i>C. jejuni</i>

ND:- not detected

表 1. 検出されたカンピロバクター種と ST 番号

することも報告されている。さらに冷却槽内では、タンク内に貯留層ができるとカンピロバクター数が増える可能性がある。そこで、と体の進行方向と逆向きに冷却水を流したり、新鮮な冷却水を補充したり、消化管内容物や血液等の汚染の有無や透視度のモニタリングが重要管理点となる。適正な塩素濃度のモニタリング、換水量の確保、及び水温管理が必要である。各処理場におけるチラー後のカンピロバクター汚染の大きな減少は、これらが最適化された上で運用していることを示唆している。

ロット No.1 のみ盲腸内容物からカンピロバクターが検出されなかったため、非汚染鶏群と予想されたが、チラー後のと体 1 検体からカンピロバクターが検出された (図 2)。ロット No.2-5 についてはすべての盲腸内容物から高濃度でカンピロバクターが検出されたため、汚染鶏群であることが示唆された。さらに、これらのロットについては、チラー前、チラー後、製品のすべての工程においてカンピロバクターが検出された。チラー前に比べチラー後で汚染菌数が減少していたものの、製品では、チラー後と汚染が同等もしくはわずかな増加が確認された。カット処理工程における二次汚染についても今後は衛生確保が重要となることが示唆された。

各工程におけると体及び盲腸内容物から検出されたカンピロバクター種の同定結果を表 1 に示した。ロット 1, 3 からは *C. jejuni* のみが検出され、ロット 2, 4, 5 からは *C. jejuni* と *C. coli* の 2 種類が検出された。ロット No.5 では、チラー前で *C. coli* が検出されたものの、その後の工程及び盲腸内容物からは *C. coli* が検出されておらず、ロット No.4 からの交差汚染が予測された。そこでロット No.4, 5 で検出された *C. coli* について、MLST (Multilocus sequence typing) 法により ST 番号を決定した。その結果、これら *C. coli* 株はすべて ST1068 であったことから、交差汚染が生じた

可能性が考えられた。その他、検出された *C. jejuni* 及び *C. coli* 株についても現在 MLST 解析を行っている。多くの場合、交差汚染の汚染菌数は、感染群由来の汚染と比較して、低菌数汚染であることが報告されているが、カンピロバクター汚染低減対策の1つとして、交差汚染に対する対策を講じることも必要であることが示唆された。

(3) 区分処理に向けた新たな検査法の検討 (Picogene を用いた非汚染鶏群と汚染鶏群の識別)

カンピロバクター非汚染鶏群と汚染鶏群を調べ、処理場でカンピロバクター非汚染鶏群を先に処理し、次に汚染鶏群を処理することを区分処理という。食品安全委員会の「微生物・ウイルス評価書 鶏肉のカンピロバクター・ジェジュニ/ コリ」(2009年6月)によると、この区分処理を行うことで鶏肉のカンピロバクター汚染を低減する効果が示されている。この区分処理を確実にを行うためには、鶏群を処理場に搬入する直前に検査をする必要がある。モバイバルリアルタイム PCR (Picogene) は、コンパクトで軽量、迅速、高感度であり、その場で測定が可能で、30分程度で検査結果を得ることが可能である。よって、区分処理に向けた新たな検査法として、この Picogene を用いて、処理場搬入直前に、区分処理のためのデータ取得が可能であることを検証した。

処理場 C において、処理場のプラットホームにて、処理前の鶏から鶏直腸スワブで 1 ロットあたり 5 検体採取し、7 ロットについて調査した。これらスワブ 5 本は合わせて PBS10mL に懸濁し、さらに PBS で 100 倍希釈後、カンピロバクター属菌を検出する試薬である Picogene *Campylobacter* spp, Kit (GoFoton) に 5 μL アプライし、Picogene で解析した。またプラットホームで採取した同じ鶏群 5 検体の便と、処理後の解体検査時に採取した同じ鶏群の盲腸内容物 5 検体については、PBS で段階希釈し、mCCDA 培地に直接塗布後、培養することにより、カンピロバクターを定量測定した。

Picogene による解析と、定量培養した結果を表 3 に示した。7 ロットのうち、ロット No.1、2 のみ、プラットホーム便及び盲腸便からカンピロバクターが検出され、汚染鶏群であることが示唆された。Picogene による解析では、直腸便由来の PCR 阻害物質によって反応が阻害されないよう、スワブ懸濁液を 100 倍希釈して解析した。これにより PCR 阻害物質を除去する等の前処理が不要となり、迅速に解析を行うことが可能である。その結果、Picogene ではロット 1、2 ともに陽性であり、プラットホーム便及び盲腸便の結果と一致した。一方、プラットホーム便及び盲腸便からカンピロバクターが検出

されなかったロット No.3-7 についてはすべて陰性であり、こちらについても Picogene の結果と一致した。この結果より、処理前に直腸スワブ検体を Picogene を用いて解析することで、処理前に汚染鶏群あるいは非汚染鶏群の迅速判定が可能であることが示唆された。

カンピロバクターは一度鶏群内で感染すると、群れ全体に急速に広がり、さらに感染した鶏の多くは盲腸内容物に 10^6 - 10^9 cfu/g のカンピロバクターを保有していると報告されている。しかしながら、感染時期や保有菌数によっては Picogene で検出できない可能性もあるため、今後はさらに継続して検討していく必要がある。

ロット No.	培養		Picogene
	プラットホーム便 (cfu/g)	盲腸便 (cfu/g)	スワブ5本懸濁液
1	10^7 - 10^8	10^4 - 10^8	陽性
2	10^7 - 10^8	10^5 - 10^8	陽性
3	<200	<200	陰性
4	<200	<200	陰性
5	<200	<200	陰性
6	<200	<200	陰性
7	<200	<200	陰性

表 3. カンピロバクター菌数と Picogene 解析

6. 成果となる論文・学会発表等

(※参考となる資料を添付してください。)

※必要に応じて、枠を広げて記載してください。