

< 食 鳥 検 査 >

I 概況

本県は、平成4年度の食鳥検査導入時に「大規模食鳥処理場」を17施設所管し、1億4千万羽余りの食鳥検査実績があったが、検査羽数の減少と市町村合併等の影響を受け、現在では、12施設となっている。

しかしながら、稼働している食鳥処理場はより衛生的な食鳥肉の生産や生産能力向上のため最新機器の導入等を行い、施設の改善・効率化に取り組んでおり、ここ10年で見ると検査羽数は増加傾向にある。

本県では、食鳥検査開始当初より検査結果入力装置や検査羽数カウンターを活用した現場検査の効率化を図り、疾病排除はもとより施設の衛生管理や微生物制御、従業員の衛生的な取扱いの指導、生産サイドへの検査データのフィードバック等により食鳥肉の総合的な安全性確保に努めている。

また、高病原性鳥インフルエンザ対策の一環として、農場からの前日の死鳥羽数報告等、関連業界、関連機関との連携を強化し、生産現場での疾病発生状況を踏まえ検査に当たっている。

本県は鶏刺しの食文化があることから、県独自で「生食用食鳥肉の衛生基準」を設け、施設、設備、製品等の拭き取り検査を実施して、衛生指導の強化を図っている。

1 検査羽数

ブロイラー 142,255,485羽、成鶏 9,229,726羽の合計 151,485,211羽で、対前年度比102.4%（内訳：ブロイラー 102.6%、成鶏 98.8%）であった。

2 検査結果による処分

(1) 禁止

ブロイラー 410,038羽（原因：腹水症、削瘦及び発育不良、変性、炎症、放血不良等）、成鶏 9,535羽（原因：削瘦及び発育不良）であった。

(2) 全部廃棄

ブロイラー 1,319,291羽（原因：大腸菌症、腹水症、炎症、変性等）で廃棄率は0.93%となっており、成鶏 74,574羽（原因：炎症、削瘦及び発育不良、腫瘍、外傷、変性等）で廃棄率は0.81%であった。

(3) 一部廃棄

ブロイラー 4,962,492羽（原因：炎症、出血、臓器の異常な形等）で、廃棄率は3.49%、成鶏 57,301羽（原因：腫瘍、出血、炎症等）で、廃棄率は0.62%であった。

3 残留有害物質モニタリング検査

118羽について検査を実施したが、全て陰性であった。

4 指導検査

639検体について拭き取り検査を行い、サルモネラ、黄色ブドウ球菌及びカンピロバクター等の細菌検査を実施した。

5 衛生指導

県で策定した「食品衛生監視指導計画」に基づき衛生指導を実施しているところであるが、本県には鶏刺しの食文化があることから、生食用鶏肉については特に「生食用食鳥肉の衛生基準」を設け努力目標としている。

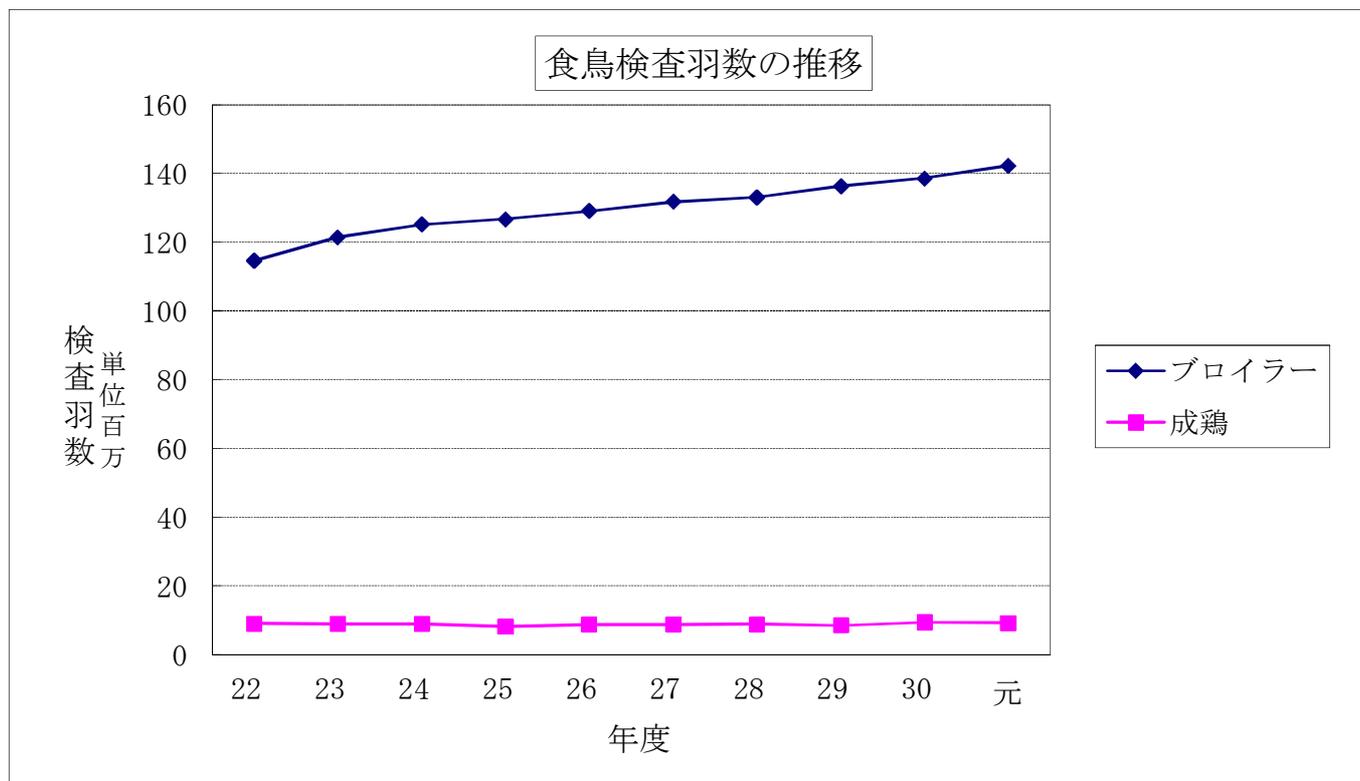
- (1) 食鳥処理場施設及び併設食肉処理場の作業前、作業中の衛生監視を強化し、施設の衛生管理や食鳥肉の衛生的な取扱いを指導している。
- (2) 年2回以上の拭き取り検査を実施して、食肉衛生検査所と食鳥処理場関係者から成る協議会を開催し、その検査結果を踏まえた衛生指導、教育を行っている。
- (3) 化製原料の衛生的な管理、保管等を指導している。

Ⅱ 検査統計

1 食鳥検査羽数

(1) 食鳥検査羽数の推移

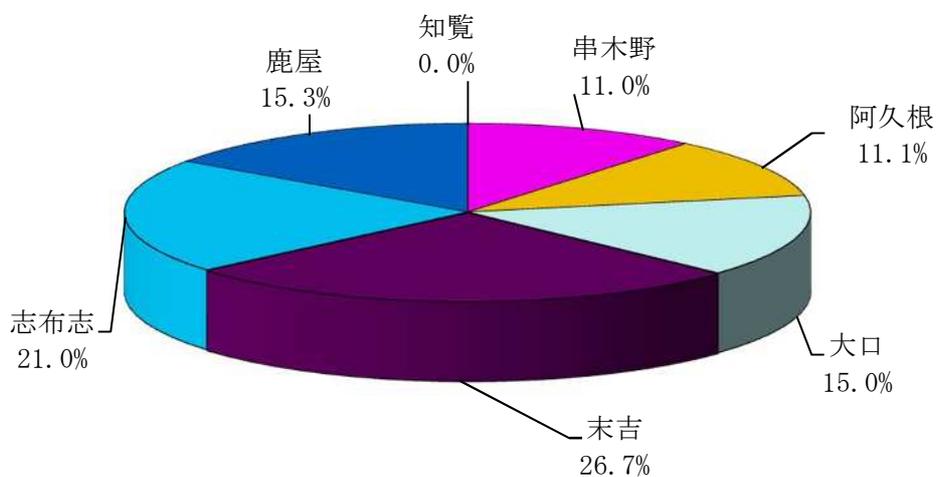
年度	ブロイラー	成鶏	その他	合計
22	114,588,550	9,008,682		123,597,232
23	121,377,456	8,892,866		130,270,322
24	125,168,764	8,908,666		134,077,430
25	126,679,789	8,140,400		134,820,189
26	129,110,719	8,753,314		137,864,033
27	131,770,039	8,695,362		140,465,401
28	133,100,853	8,856,524		141,957,377
29	136,289,031	8,546,881		144,835,912
30	138,629,660	9,340,469		147,970,129
元	142,255,485	9,229,726	0	151,485,211



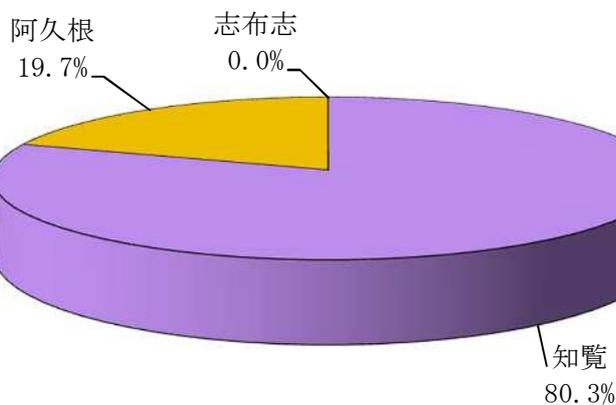
(2) 食肉衛生検査所別食鳥検査羽数(令和元年度)

検査所	ブロイラー	成鶏	その他	合計
知覧	12,354	7,414,120		7,426,474
串木野	15,589,578			15,589,578
阿久根	15,725,168	1,815,086		17,540,254
大口	21,340,504			21,340,504
末吉	37,939,858			37,939,858
志布志	29,887,080	520		29,887,600
鹿屋	21,760,943			21,760,943
合計	142,255,485	9,229,726	0	151,485,211

食肉衛生検査所別食鳥検査羽数の割合（ブロイラー）

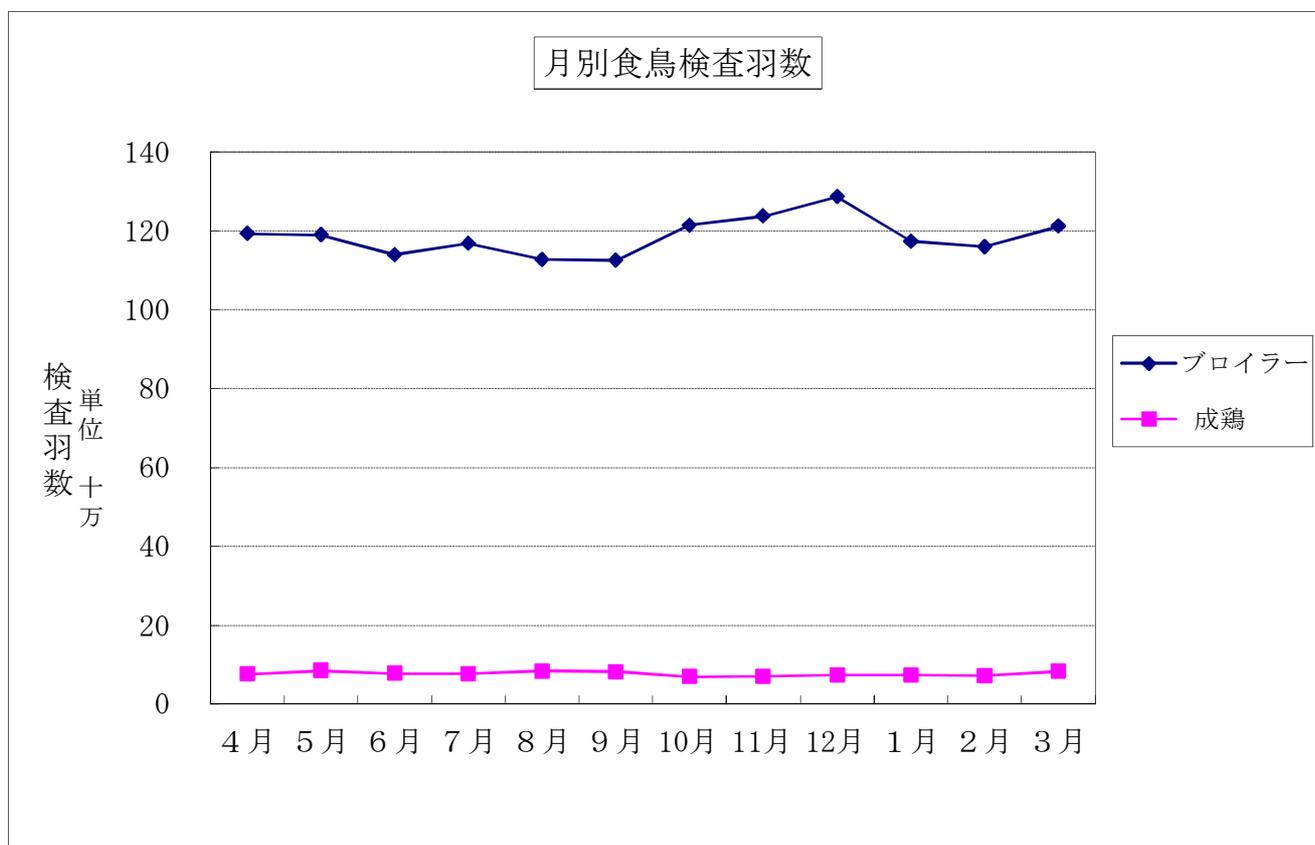


食肉衛生検査所別食鳥検査羽数の割合（成鶏）



(3) 月別食鳥検査羽数（7食肉衛生検査所）

	ブロイラー	成鶏	その他	合計
平成31年 4月	11,928,133	764,844		12,692,977
令和元年 5月	11,893,130	845,381		12,738,511
6月	11,391,465	781,970		12,173,435
7月	11,686,965	769,854		12,456,819
8月	11,272,349	837,176		12,109,525
9月	11,251,666	817,564		12,069,230
10月	12,142,204	692,572		12,834,776
11月	12,371,384	699,189		13,070,573
12月	12,863,938	738,623		13,602,561
令和 2年 1月	11,731,152	737,232		12,468,384
2月	11,603,309	718,792		12,322,101
3月	12,119,790	826,529		12,946,319
合計	142,255,485	9,229,726	0	151,485,211



2 食鳥検査に基づく処分

(1) 種類別処分状況(7食肉衛生検査所)

	ブロイラー	成鶏	その他
検査羽数(A)	142,255,485	9,229,726	0
禁止	410,038	9,535	0
全部廃棄(B)	1,319,291	74,574	0
一部廃棄(C)	4,962,492	57,301	0
全部廃棄廃棄率B/A(%)	0.93	0.81	
一部廃棄率C/A(%)	3.49	0.62	

(2) 禁止, 全部廃棄, 一部廃棄処分状況

		7 食肉衛生検査所								
		ブロイラー			成 鶏			合 計		
検査羽数		142, 255, 485			9, 229, 726			151, 485, 211		
		禁止	全部廃棄	一部廃棄	禁止	全部廃棄	一部廃棄	禁止	全部廃棄	一部廃棄
処分実羽数		410, 038	1, 319, 291	4, 962, 492	9, 535	74, 574	57, 301	419, 573	1, 393, 865	5, 019, 793
ウイルス・クラミジア病	鶏 痘									
	伝染性気管支炎									
	伝染性喉頭気管炎									
	ニューカッスル病									
	鶏白血病									
	封入体肝炎									
	マレック病		64						64	
	そ の 他									
細菌病	大腸菌症		904, 756			13			904, 769	
	伝染性コリーザ									
	サルモネラ症									
	ブドウ球菌症									
	そ の 他									
その他の疾病	毒血症									
	膿毒症									
	敗血症									
	真菌病									
	原虫病									
	寄生虫病									
	変性	65, 855	74, 534	3, 342	690	5, 398		66, 545	79, 932	3, 342
	尿酸塩沈着症									
	水腫									
	腹水症	134, 186	138, 394		110	4, 439		134, 296	142, 833	
	出血	298	5, 586	196, 652	15	3, 707	5, 581	313	9, 293	202, 233
	炎症	54, 177	137, 276	4, 734, 497	271	35, 783	3, 184	54, 448	173, 059	4, 737, 681
	萎縮									
	腫瘍		7	1	1	7, 825	16, 714	1	7, 832	16, 715
	臓器の異常な形等			28, 000			442			28, 442
	異常体温									
	黄疸		193			14			207	
	外傷	8, 390	13, 804		63	7, 194		8, 453	20, 998	
	中毒諸症									
	削瘦及び発育不良	92, 836	35, 473		7, 874	9, 113		100, 710	44, 586	
放血不良	33, 421	7, 139		11	1, 088		33, 432	8, 227		
湯漬過度	20, 875	2, 065		500			21, 375	2, 065		
そ の 他						31, 380			31, 380	
計	410, 038	1, 319, 291	4, 962, 492	9, 535	74, 574	57, 301	419, 573	1, 393, 865	5, 019, 793	

		知覧食肉衛生検査所								
		ブロイラー			成 鶏			合 計		
検査羽数		12,354			7,414,120			7,426,474		
		禁止	全部廃棄	一部廃棄	禁止	全部廃棄	一部廃棄	禁止	全部廃棄	一部廃棄
処分実羽数		7	36	2	3,104	62,729	45,195	3,111	62,765	45,197
ウイルス・クラミジア病	鶏 痘									
	伝染性気管支炎									
	伝染性喉頭気管炎									
	ニューカッスル病									
	鶏白血病									
	封入体肝炎									
	マレック病									
	そ の 他									
細菌病	大腸菌症									
	伝染性コリーザ									
	サルモネラ症									
	ブドウ球菌症									
	そ の 他									
その他の疾病	毒血症									
	膿毒症									
	敗血症									
	真菌病									
	原虫病									
	寄生虫病									
	変性		1		246	4,978		246	4,979	
	尿酸塩沈着症									
	水腫									
	腹水症	1	1		110	1,916		111	1,917	
	出血			1	15	3,374	2,448	15	3,374	2,449
	炎症	1	4		271	30,798	1,537	272	30,802	1,537
	萎縮									
	腫瘍				1	5,395	10,999	1	5,395	10,999
	臓器の異常な形等			1			430			431
	異常体温									
	黄疸					13			13	
	外傷		26		27	6,977		27	7,003	
	中毒諸症									
	削瘦及び発育不良	5	4		1,923	8,259		1,928	8,263	
放血不良				11	1,019		11	1,019		
湯漬過度				500			500			
そ の 他						29,781			29,781	
計	7	36	2	3,104	62,729	45,195	3,111	62,765	45,197	

		串木野食肉衛生検査所								
		ブロイラー			成 鶏			合 計		
検査羽数		15,589,578						15,589,578		
		禁止	全部廃棄	一部廃棄	禁止	全部廃棄	一部廃棄	禁止	全部廃棄	一部廃棄
処分実羽数		9,247	167,560	338,242				9,247	167,560	338,242
ウイルス・クラミジア病	鶏 痘									
	伝染性気管支炎									
	伝染性喉頭気管炎									
	ニューカッスル病									
	鶏白血病									
	封入体肝炎									
	マレック病		2						2	
そ の 他										
細菌病	大腸菌症		64,327						64,327	
	伝染性コリーザ									
	サルモネラ症									
	ブドウ球菌症									
	そ の 他									
その他の疾病	毒血症									
	膿毒症									
	敗血症									
	真菌病									
	原虫病									
	寄生虫病									
	変 性	1,430	19,173					1,430	19,173	
	尿酸塩沈着症									
	水 腫									
	腹水症	650	12,069					650	12,069	
	出 血		1,227	24					1,227	24
	炎 症	31	66,398	337,404				31	66,398	337,404
	萎 縮									
	腫 瘍			1						1
	臓器の異常な形等			813						813
	異常体温									
	黄 疸		35						35	
	外 傷	66	233					66	233	
	中毒諸症									
	削瘦及び発育不良	987	2,921					987	2,921	
放血不良	5,768	936					5,768	936		
湯漬過度	315	239					315	239		
そ の 他										
計	9,247	167,560	338,242				9,247	167,560	338,242	

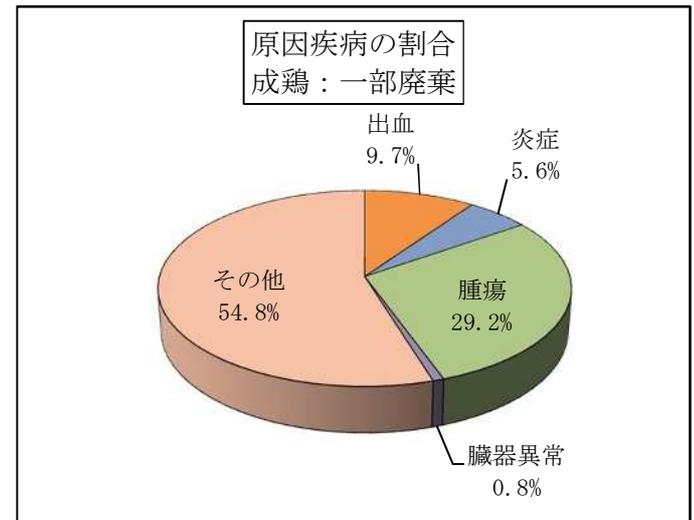
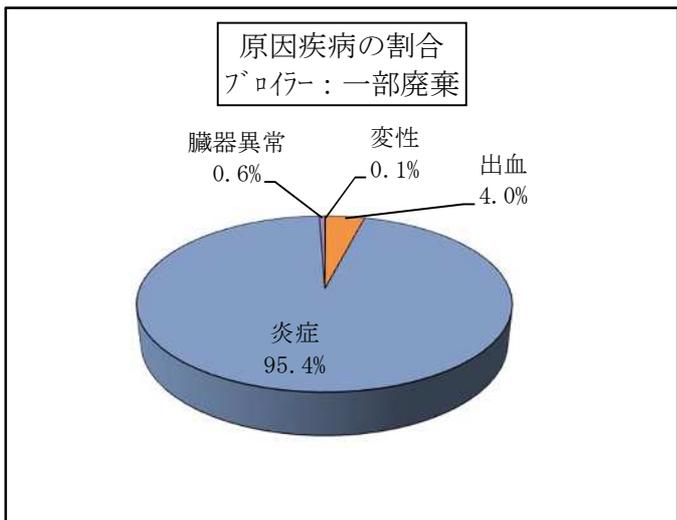
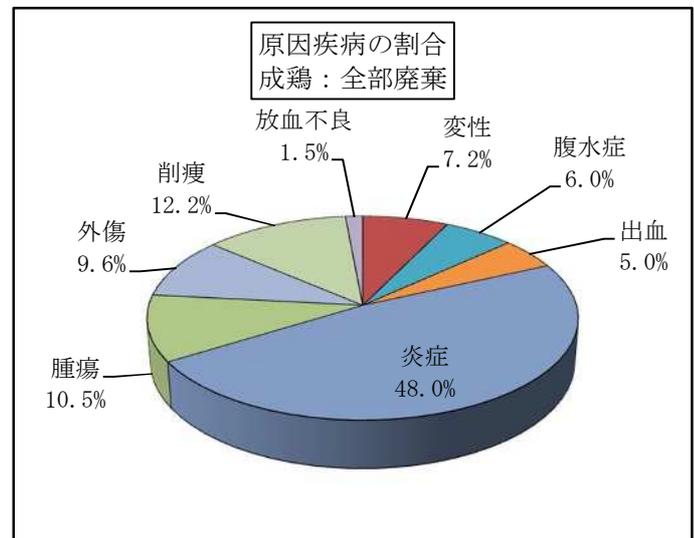
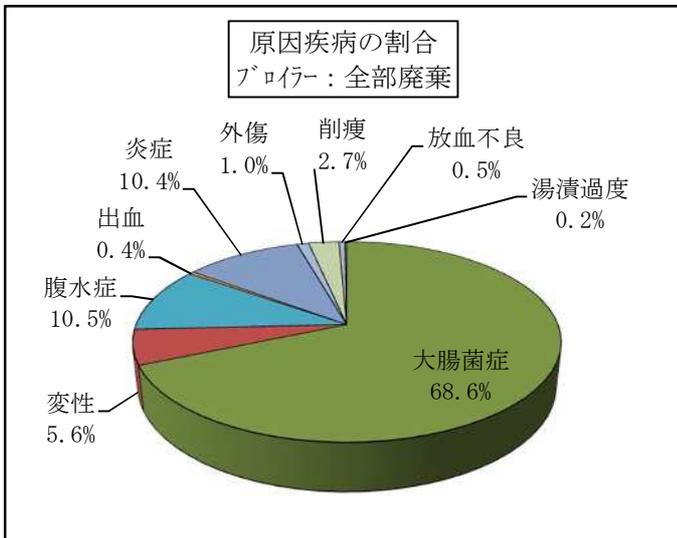
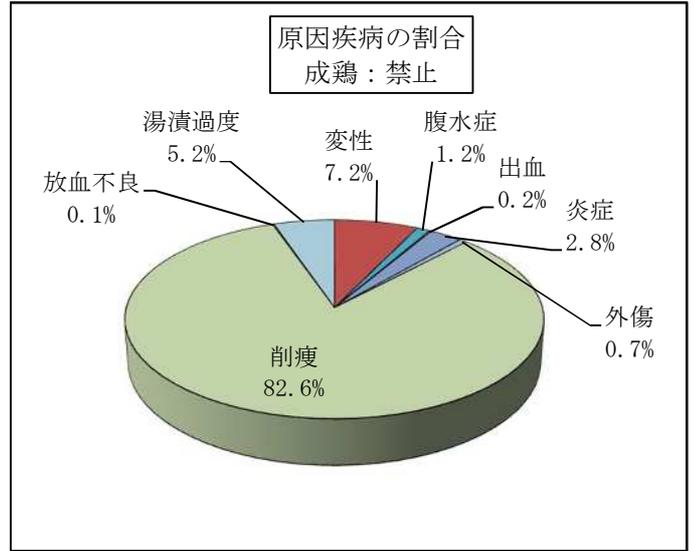
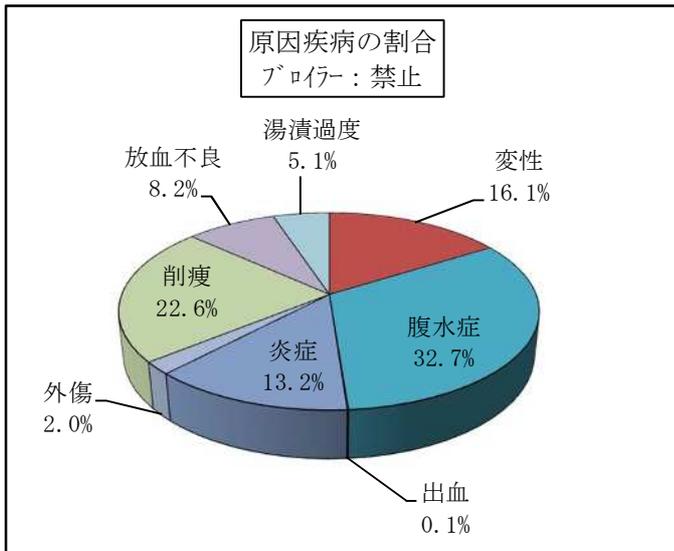
		阿久根食肉衛生検査所								
		ブロイラー			成 鶏			合 計		
検査羽数		15,725,168			1,815,086			17,540,254		
		禁止	全部廃棄	一部廃棄	禁止	全部廃棄	一部廃棄	禁止	全部廃棄	一部廃棄
処分実羽数		30,032	94,009	340,671	6,431	11,842	12,106	36,463	105,851	352,777
ウイルス・クラミジア病	鶏 痘									
	伝染性気管支炎									
	伝染性喉頭気管炎									
	ニューカッスル病									
	鶏白血病									
	封入体肝炎									
	マレック病									
	そ の 他									
細菌病	大腸菌症		27,047			13			27,060	
	伝染性コリーザ									
	サルモネラ症									
	ブドウ球菌症									
	そ の 他									
その他の疾病	毒血症									
	膿毒症									
	敗血症									
	真菌病									
	原虫病									
	寄生虫病									
	変性	6,605	2,433	3,331	444	419		7,049	2,852	3,331
	尿酸塩沈着症									
	水腫									
	腹水症	15,671	45,814			2,523		15,671	48,337	
	出血	126	653	5,736		333	3,133	126	986	8,869
	炎症	2,173	12,523	324,875		4,984	1,647	2,173	17,507	326,522
	萎縮									
	腫瘍					2,430	5,715		2,430	5,715
	臓器の異常な形等			6,729			12			6,741
	異常体温									
	黄疸		24			1			25	
	外傷	288	3,515		36	217		324	3,732	
	中毒諸症									
	削瘦及び発育不良	2,976	1,937		5,951	853		8,927	2,790	
放血不良	502	50			69		502	119		
湯漬過度	1,691	13					1,691	13		
そ の 他						1,599			1,599	
計	30,032	94,009	340,671	6,431	11,842	12,106	36,463	105,851	352,777	

		大口食肉衛生検査所								
		ブロイラー			成 鶏			合 計		
検査羽数		21,340,504						21,340,504		
		禁止	全部廃棄	一部廃棄	禁止	全部廃棄	一部廃棄	禁止	全部廃棄	一部廃棄
処分実羽数		38,118	151,249	547,451				38,118	151,249	547,451
ウイルス・クラミジア病	鶏 痘									
	伝染性気管支炎									
	伝染性喉頭気管炎									
	ニューカッスル病									
	鶏白血病									
	封入体肝炎									
	マレック病									
	そ の 他									
細菌病	大腸菌症		105,504						105,504	
	伝染性コリーザ									
	サルモネラ症									
	ブドウ球菌症									
	そ の 他									
その他の疾病	毒血症									
	膿毒症									
	敗血症									
	真菌病									
	原虫病									
	寄生虫病									
	変 性		2,379						2,379	
	尿酸塩沈着症									
	水 腫									
	腹水症		27,512						27,512	
	出 血		116	280					116	280
	炎 症	1,542	2,773	542,374				1,542	2,773	542,374
	萎 縮									
	腫 瘍									
	臓器の異常な形等			4,797						4,797
	異常体温									
	黄 疸		64						64	
	外 傷		2,436						2,436	
	中毒諸症									
	削瘦及び発育不良	32,876	9,138					32,876	9,138	
放血不良	888	1,307					888	1,307		
湯漬過度	2,812	20					2,812	20		
そ の 他										
計		38,118	151,249	547,451				38,118	151,249	547,451

		末吉食肉衛生検査所								
		ブロイラー			成 鶏			合 計		
検査羽数		37,939,858						37,939,858		
		禁止	全部廃棄	一部廃棄	禁止	全部廃棄	一部廃棄	禁止	全部廃棄	一部廃棄
処分実羽数		288,346	236,629	759,296				288,346	236,629	759,296
ウイルス・クラミジア病	鶏 痘									
	伝染性気管支炎									
	伝染性喉頭気管炎									
	ニューカッスル病									
	鶏白血病									
	封入体肝炎									
	マレック病		62						62	
その 他										
細菌病	大腸菌症		152,998						152,998	
	伝染性コリーザ									
	サルモネラ症									
	ブドウ球菌症									
その 他										
その他の疾病	毒血症									
	膿毒症									
	敗血症									
	真菌病									
	原虫病									
	寄生虫病									
	変 性	53,515	9,142					53,515	9,142	
	尿酸塩沈着症									
	水 腫									
	腹水症	116,896	29,233					116,896	29,233	
	出 血	22	1,205	129,790				22	1,205	129,790
	炎 症	50,314	36,278	619,832				50,314	36,278	619,832
	萎 縮									
	腫 瘍		7						7	
	臓器の異常な形等			9,674						9,674
	異常体温									
	黄 疸		42						42	
	外 傷	200	395					200	395	
	中毒諸症									
	削瘦及び発育不良	50,553	3,590					50,553	3,590	
放血不良	8,903	2,868					8,903	2,868		
湯漬過度	7,943	809					7,943	809		
その 他										
計	288,346	236,629	759,296				288,346	236,629	759,296	

		志布志食肉衛生検査所								
		ブロイラー			成 鶏			合 計		
検査羽数		29,887,080			520			29,887,600		
		禁止	全部廃棄	一部廃棄	禁止	全部廃棄	一部廃棄	禁止	全部廃棄	一部廃棄
処分実羽数		25,404	319,659	1,658,570		3		25,404	319,662	1,658,570
ウイルス・クラミジア病	鶏 痘									
	伝染性気管支炎									
	伝染性喉頭気管炎									
	ニューカッスル病									
	鶏白血病									
	封入体肝炎									
	マレック病									
	そ の 他									
細菌病	大腸菌症		252,688						252,688	
	伝染性コリーザ									
	サルモネラ症									
	ブドウ球菌症									
	そ の 他									
その他の疾病	毒血症									
	膿毒症									
	敗血症									
	真菌病									
	原虫病									
	寄生虫病									
	変 性	4,305	26,894			1		4,305	26,895	
	尿酸塩沈着症									
	水 腫									
	腹水症	968	15,455					968	15,455	
	出 血	150	1,334	60,724				150	1,334	60,724
	炎 症	116	6,532	1,593,220		1		116	6,533	1,593,220
	萎 縮									
	腫 瘍									
	臓器の異常な形等			4,626						4,626
	異常体温									
	黄 疸		1						1	
	外 傷	3,063	2,932					3,063	2,932	
	中毒諸症									
	削瘦及び発育不良	5,439	11,633			1		5,439	11,634	
放血不良	8,361	1,682					8,361	1,682		
湯漬過度	3,002	508					3,002	508		
そ の 他										
計	25,404	319,659	1,658,570		3		25,404	319,662	1,658,570	

		鹿屋食肉衛生検査所								
		ブロイラー			成 鶏			合 計		
検査羽数		21,760,943						21,760,943		
		禁止	全部廃棄	一部廃棄	禁止	全部廃棄	一部廃棄	禁止	全部廃棄	一部廃棄
処分実羽数		18,884	350,149	1,318,260				18,884	350,149	1,318,260
ウイルス・クラミジア病	鶏 痘									
	伝染性気管支炎									
	伝染性喉頭気管炎									
	ニューカッスル病									
	鶏白血病									
	封入体肝炎									
	マレック病									
	そ の 他									
細菌病	大腸菌症		302,192						302,192	
	伝染性コリーザ									
	サルモネラ症									
	ブドウ球菌症									
	そ の 他									
その他の疾病	毒血症									
	膿毒症									
	敗血症									
	真菌病									
	原虫病									
	寄生虫病									
	変 性		14,512	11					14,512	11
	尿酸塩沈着症									
	水 腫									
	腹水症		8,310						8,310	
	出 血		1,051	97					1,051	97
	炎 症		12,768	1,316,792					12,768	1,316,792
	萎 縮									
	腫 瘍									
	臓器の異常な形等			1,360						1,360
	異常体温									
	黄 疸		27						27	
	外 傷	4,773	4,267					4,773	4,267	
	中毒諸症									
	削瘦及び発育不良		6,250						6,250	
放血不良	8,999	296					8,999	296		
湯漬過度	5,112	476					5,112	476		
そ の 他										
計		18,884	350,149	1,318,260				18,884	350,149	1,318,260



3 食鳥検査における残留有害物質モニタリング検査実施状況

(1) 残留有害物質モニタリング検査

	検体名	知覧	串木野	阿久根	大口	末吉	志布志	鹿屋	合計
抗生物質	筋	4	5	4	4	4	4	4	29
合成抗菌剤	筋	2	4	4		4		2	16
OTC, CTC, TC	筋				5		5		10
フルベンダゾール	筋	5						5	10
エンロフロキサシン	筋			5					5
レバミゾール	筋			5					5
スルファジミジン	筋		5			5			10
ベンジルペニシリン	筋				5		5		10
スピラマイシン	筋				5		5		10
オキノリニック酸	筋			3					3
ナイカルバジン/ジクラズリル	筋					10			10
計		11	14	21	19	23	19	11	118

(2) 拭き取り検査

検査所名	管轄処理場数	サルモネラ		黄色ブドウ球菌		カンピロバクター	
		検体数	陽性数	検体数	陽性数	検体数	陽性数
知覧	1	42	1	42		42	1
串木野	1	80	2	80	9	80	4
阿久根	3	151		151	12	151	
大口	2	92	6	92	4	92	19
末吉	2	80	2	80	6	80	26
志布志	2	120	5	120		120	11
鹿屋	1	74	6	74	21	74	36
検査所計	12	639	22	639	52	639	97

第3章 調査研究

令和元年度 調査研究

- 1 食鳥処理場のカンピロバクター汚染度把握と低減への取り組み
大口食肉衛生検査所 岩元 美鈴
- 2 食肉加工施設における食鳥肉の表面加熱の効果の検証
知覧食肉衛生検査所 丸山 圭一
- 3 大規模食鳥処理場におけるブロイラーの浅胸筋変性症の発生状況
串木野食肉衛生検査所 是枝 七奈
- 4 鶏病原性大腸菌の鶏の増体への関連因子
志布志食肉衛生検査所 中山 裕
- 5 食鳥処理場で検出された *Campylobacter jejuni* におけるギランバレー症候群（GBS）
関連遺伝子の保有調査
末吉食肉衛生検査所 栗脇 良太
- 6 黒毛和種肥育牛における血液性状と枝肉成績との関連
阿久根食肉衛生検査所 米満 順子
- 7 *Mycoplasma* の関与した心内膜炎および腹大動脈塞栓を認めた牛の症例
阿久根食肉衛生検査所 篠原 光
- 8 と畜データを活用した地方病性牛白血病（EBL）の発生状況の調査
知覧食肉衛生検査所 飯尾 岳史
- 9 地方病性牛白血病の迅速診断の試み
志布志食肉衛生検査所 神田 卓弥
- 10 フィードバック対象農場における肺炎由来菌の薬剤感受性試験
鹿屋食肉衛生検査所 山田 広子

食鳥処理場のカンピロバクター汚染度把握と低減への取り組み

岩元美鈴 篠原謙二 木下利枝 鏡園仁
大口食肉衛生検査所

はじめに

カンピロバクターは、国内の食中毒事例数の上位を占めており、主な原因は鶏肉と考えられている。当所管内大規模食鳥処理場(以下、管内処理場)においても、衛生確保対策として実施している年2回の拭き取り検査でカンピロバクターが高率に検出されるため、各処理工程における改善点を探るべく以前から定量検査に取り組んできた。しかし、定量検査は手技が煩雑で労力を要し、また培地等の経費も小さいものではなく継続的な実施は容易ではない。そこで今回、定量法の1つであるMPN3管法(以下、定法)を簡便化した方法(以下、簡易法)でカンピロバクター汚染度を調査(以下、汚染調査)し、汚染低減に向けて管内処理場施設側と協議を重ね対策を講じたので、その概要を報告する。

材料及び方法

管内処理場において、2019年2月から5月の期間に合計7回の汚染調査を実施した(図1)。

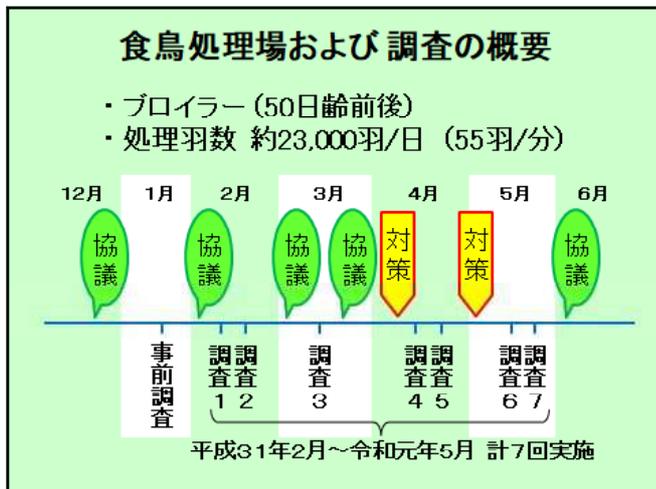


図1 食鳥処理場および調査の概要

今回用いた簡易法は、栗原ら[1]のディープウェルマイクロプレートを用いた定量法を参考にプレストン培地量等の設定を行ったが、ディープウェルマイクロプレートは高価で容量に余裕がないため、4.5mlのテストチューブを使用した。試料をプレストン培地に接種後、42℃で24時間好気培養し、1検体分のプレストン培地9本を8chマイクロピペットで10μlずつmCCDA培地1枚に接種した(図2, 3)。汚染調査前に定法と簡易法の比較試験を行い、簡易法による結果でも汚染度の指標として利用可能と判断し、今回の調査では簡易法を採用した(図4)。

例年の拭き取り検査と事前調査でカンピロバクターがチラー後と体からも多く検出されたため、中抜き室を含む5つの処理工程について、①中抜き前と体(中抜き室) ②最終洗浄後と体(中抜き室) ③チラー後と体(カット室) (①~③はと体モモ部分) ④モモラインのまな板及びベルトコンベア(カット室) ⑤製品(モモ肉)の各5検体を大綿棒で25cm²拭き取り10ml PBSに入れたものを試料として、カンピロバクターの定量を行った(図5)。また、併せて盲腸便での保菌状況も確認した。なお、調査で分離された菌はグラム染色及びPCRにてカンピロバクター属菌の確認を行った。これらの結果を基にカンピロバクター汚染低減に繋げるべく施設側と協議を重ねた。

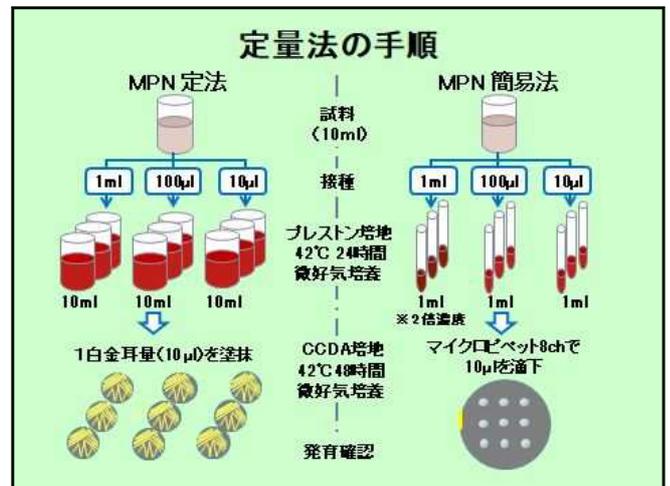


図2 定量法の手順

結果

各処理工程のカンピロバクター汚染調査の結果を図6に示した(MPN 検出範囲:<3.0 ~>1400)。以下、数値は各工程の菌数の幾何平均値(MPN/25cm²)を表す。

調査1及び2とも、中抜前と最終洗浄後と体で検出上限に近い値を示した後、調査1ではチラー後と体 86, 製品 432, 調査2ではチラー後と体 8.4, 製品 44の値を示した。

その結果を基に施設側と協議を行い、中抜と体の最終洗浄ノズルを清掃し水圧を改善した(対策1)。

調査3では盲腸便を含む全検体でカンピロバクター属菌は検出されなかった。対策1の後に実施した調査4及び5では、最終洗浄後と体の菌数に低下が認められ、チラー後と体からはカンピロバクターはほとんど検出されなかった。製品についても、調査4では<3.0 だったが、調査5では 50 だったことから、更なる洗浄強化を図るため、中抜と体の最終洗浄機のノズルを含めた取り替えを行った(対策2)。

対策2の後に実施した調査6及び7についてもチラー後と体からはカンピロバクターはほとんど検出されなかったが、調査6では最終洗浄後と体 65, 製品 10, 調査7では最終洗浄後と体 853, 製品 65となり、対策2の前後で改善は認められなかった。

調査1~7で mCCDA 培地に発育した菌体は全て *Campylobacter jejuni* と判定された。

簡易法については、定法と比べて資材費が 1/5 程度に縮減され、検査工程における各培地への接種時間や培地準備に要する時間も短縮されるなど、試験室における作業時間が大幅に短縮された。

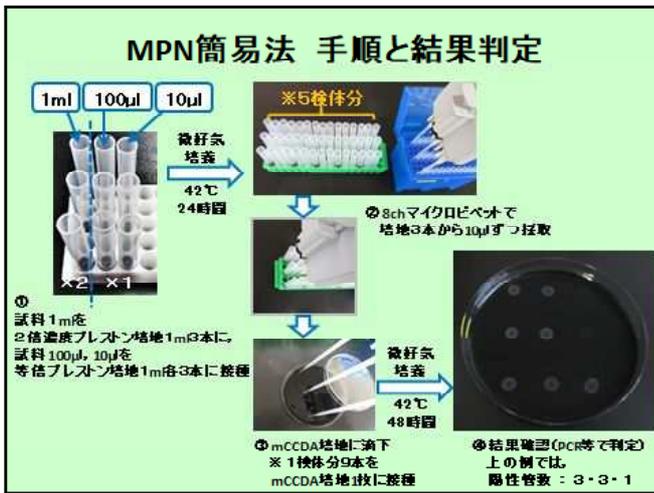


図3 MPN 簡易法 手順と結果判定

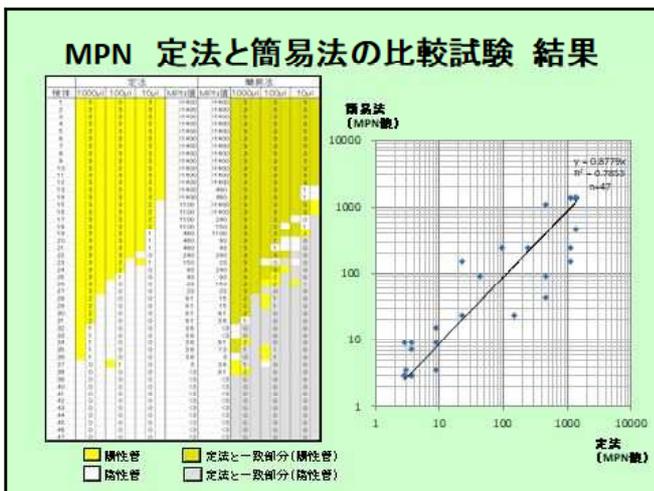


図4 MPN 定法と簡易法の比較試験 結果

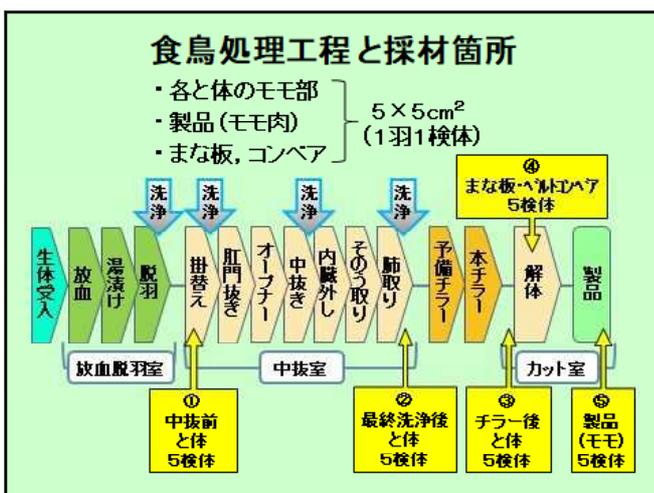


図5 食鳥処理工程と採材箇所

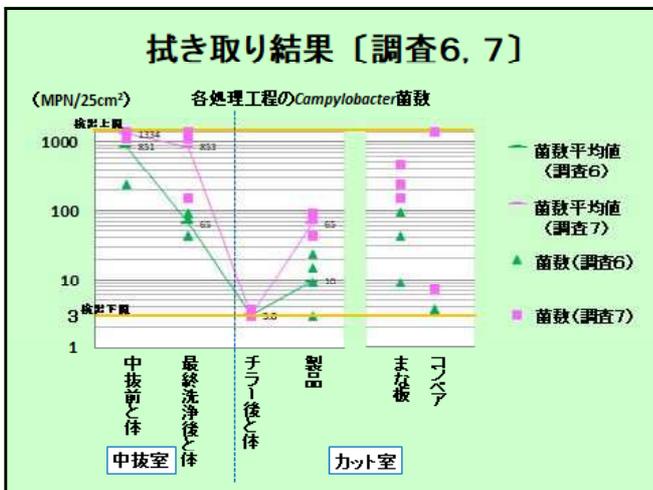
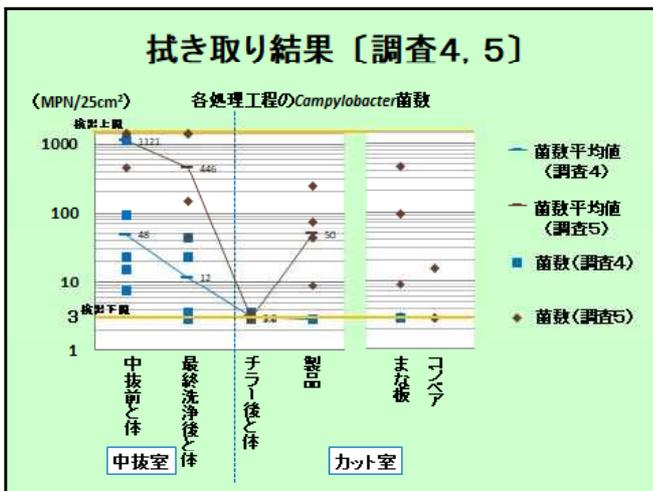
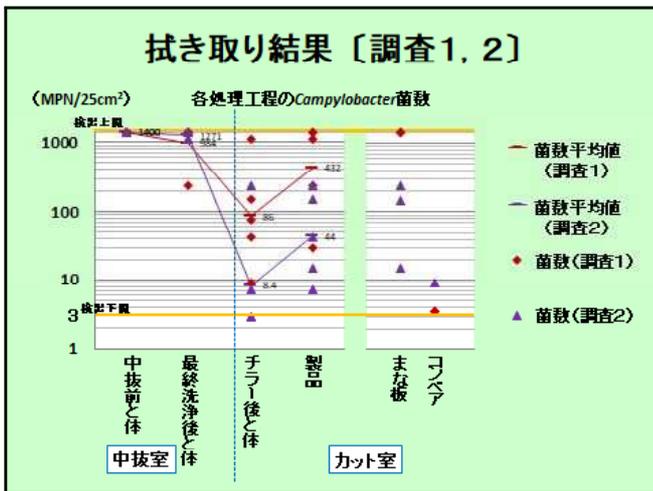


図6 拭き取り結果〔調査1～7〕

考察

今回の汚染調査により、中抜き工程前に既にと体表面がカンピロバクターに高度に汚染されていること、中抜き室での最終洗浄後も高度に汚染が保持された結果、カット室内にカンピロバクターが持ち込まれている可能性が示唆された。と体洗浄ノズルの清掃による水圧改善(対策1)の後、最終洗浄後と体の

菌数は対策前と比べ減少し、チラー後と体の菌数は激減した。一方で、中抜きと体の最終洗浄設備の取り替えを行った対策2では菌数低減は認められず、原因としては水圧が十分に上がらなかったことなどが考えられた。岩下ら[2]の報告にもあるように、と体表面に固着している汚染を洗浄により物理的に落とすことは菌数を低減するための有効な手段であり、製品の汚染低減にはカット室に入る前までに中抜きと体の汚染を減らすことも重要な点と考えられている。今回の調査でも最終洗浄後に 10¹ 台に菌数が落ちた調査4と6においては、製品の菌数も比較的強く抑えられている。チラー後に検出されなくなったカンピロバクターが製品において再び検出されたことは、まな板等からの交差汚染の可能性が示唆される。チラー後のと体内腔やカット室内の各処理工程での汚染状況を定量化することにより汚染ポイントを究明し、最終製品の汚染低減対策を模索することが今後の課題である。

カンピロバクター食中毒の大きな要因となっている鶏肉の汚染率を低減させることは公衆衛生上重要であり、そのためには定量による処理工程でのと体等の汚染度の把握が不可欠である。カンピロバクターの定量検査は一般的には MPN 3 管法が定法として用いられるが、現実的には手技が煩雑で労力と費用を必要とする。今回採用した簡易法は、特別な試薬や器具機材を必要とせず、定法と比べて資材費は 1/5 程度であり、更に検査工程における各培地への接種時間や培地準備に要する時間も大幅に短縮されるため継続的な指導検査として有用と思われる。汚染度を可視化することにより、施設側に説得力のある指導を行うことができ、協議を重ねながらコストをかけず改善しやすい対策を共に考え実行してもらうことが可能となった。

まとめ

労力と費用の軽減によってより多くの検体を検査できる簡易法を用いて、短期間に7回のカンピロバクター汚染度調査を行った。調査結果から、中抜き工程前に既にと体表面がカンピロバクターに高度に汚染されていることが判明し、中抜きと体の最終洗浄

の水圧改善により最終洗浄後及びチラー後と体の汚染を低減することができた。物理的な洗浄等で汚染の少ない中抜と体をカット室に供給することで、より安全な製品を生産することができるものと考えられる。簡易法による定量検査は継続的な実施が可能であり、処理工程ごとの汚染度を可視化し把握することで、施設側と共通認識を持って効果的な改善策について協議しやすく、衛生指導を行う上で有効な手法の一つであると思われる。

- [1] 栗原健 他：マイクロプレートを用いた牛胆汁中の *Campylobacter* の定量と保菌状況について，広島県獣医師会雑誌 No.20(2005)
- [2] 岩下香織 他：大規模食鳥処理場における衛生指導及び細菌汚染低減への取り組み，第 67 回九州地区獣医師大会(2018)

食肉加工施設における食鳥肉の表面加熱の効果の検証

丸山圭一 佐々木恭子 1) 西屋秀樹 2) 村田香 3) 山田耕一 4) 湯之原義弘
 知覧食肉衛生検査所 1) 大口食肉衛生検査所 2) 志布志食肉衛生検査所
 3) 末吉食肉衛生検査所 4) 阿久根食肉衛生検査所

はじめに

カンピロバクターによる食中毒は、国内の細菌性食中毒の中で、近年、発生件数が最も多く、その原因食品として加熱不十分な食鳥肉等の関与が疑われている。県では、鹿児島県の食文化である生食用食鳥肉の安全性を確保するため、「生食用鳥肉の衛生基準」のガイドラインを策定し、食鳥処理場における加工や飲食店での調理等における衛生基準目標を定め、関連施設への指導を行っている。今回、食鳥肉の安全性を高める方法を模索するため、食鳥肉製品の加工工程で微生物汚染低減の重要なポイントとなり得る表面加熱の効果について検証を行った。また、併せて表面加熱後の二次汚染の影響の検討を行い施設への衛生指導も実施した。

材料及び方法

平成 30 年 11 月及び 12 月に管内大規模食鳥処理場に隣接する食肉加工施設において、分割肉(モモ肉) 25g を、表面加熱前後・検品後・スライス後に各 5 検体採材し検査に供した。表面加熱方法は「加熱水蒸気」、「湯煎 83℃及び 93℃」、「焼烙低火力及び高火力」について検討した(図 1)。加熱後の二次汚染の影響として、モモ肉裏面の脱骨部、手作業による検品後、スライス刃に着目し検討した。また、焼烙加熱直後の肉の表面及び内部の温度測定(0, 10, 20 mm)を行い温度の影響を確認した。評価の指標は、カンピロバクター属菌数(Camp): MPN 法、一般生菌数(AC)、大腸菌群数(CC) 大腸菌数(EC): ペトリフィルム法、サルモネラ属菌(Sal)・黄色ブドウ球菌(SA)を用いた。

結果

AC は、湯煎 83℃及び 93℃、焼烙低火力及び高火力で有意($p<0.05$)な減少となった。CC は、湯煎 93℃、焼烙低火力及び高火力で有意($p<0.05$)な減少となり、EC では、焼烙高火力のみ有意($p<0.05$)な減少となった。Camp 属菌は、加熱前検体で検出が 10 検体中 1 検体あったが、加熱処理後は、全検体とも検出限界値以下であった。Sal 及び SA は、いずれの検体からも検出はなかった。表面加熱の効果とし



図 1

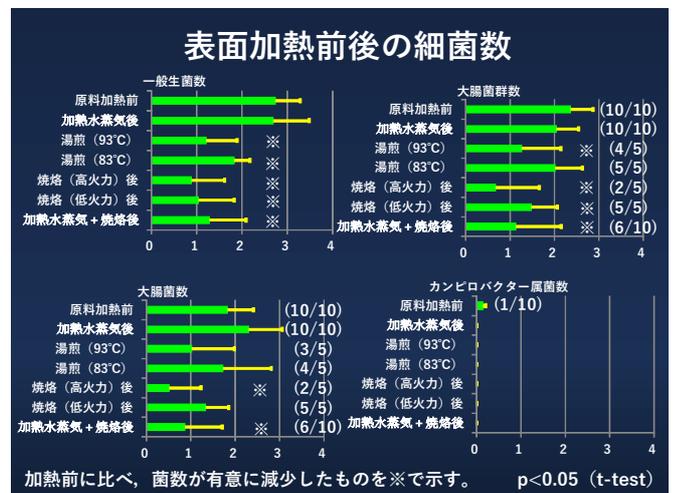


図 2



図 3

焼烙表面加熱後の分割肉の温度

検査日	検体No.	表面0mm	内部10mm	内部20mm
H30.11.26	1	72.2	53.2	24.2
	2	65.4	52.3	35.2
	3	61.8	45.2	33.0
	4	63.5	38.4	34.6
	5	70.0	53.4	27.5
H30.12.17	1	81.2	38.2	29.3
	2	70.5	33.9	34.1
	3	67.3	47.9	34.4
	4	74.2	34.2	32.3
	5	74.1	36.2	36.6
平均値 ± 標準偏差		70.0 ± 5.8	43.3 ± 8.0	32.1 ± 3.9

焼烙条件：バーナー距離2.5cm, 100秒

図 5



図 4

では、焼烙高火力 > 湯煎 93℃・焼烙低火力 > 湯煎 83℃の順となり、加熱水蒸気のみは差が見られない結果となった (図 2)。

焼烙後の二次汚染の影響は、AC でスライサー刃、CC・EC で裏面(脱骨部)の菌数が高い傾向にあった (図

3)。衛生指導の効果は、焼烙直後の肉表面の菌数を 100 %とした場合に、衛生指導前後のスライス肉で AC が 241%→ 105 %、CC は 101%→ 78%、EC は 120%→ 10%と菌数が減少した (図 4)。表面加熱直後(焼烙)の温度(平均値)は、表面：70.0℃、内部 10 mm：43.3℃、20 mm：32.1℃であった (図 5)。

考察

焼烙高火力は、今回実施した中で最も低減効果が高い方法であったが、それでも菌数が全てゼロになるものではなかった。焼烙や湯煎は、微生物汚染低減に非常に有効な方法であるが、それだけに頼らず、それ以前の工程で出来るだけ細菌数を低減させておくことが必要と考える。また、衛生指導後に菌数が明らかに減少していることから、二次汚染防止として製品を衛生的に取り扱うことが重要であることが改めて認識された。

大規模食鳥処理場におけるブロイラーの浅胸筋変性症の発生状況

是枝七奈 西園幹雄 宇宿徹郎 姫木学

串木野食肉衛生検査所

はじめに

鶏の浅胸筋変性症(以下:本疾患)は、発育が早く歩留まりの高いブロイラーにみられる疾患で、浅胸筋の著しい硬化及び腫脹、退色や白色線条病変などの筋肉の変性を主徴とする。日本では2010年に初めて報告[1]されて以降、胸肉の肉質低下などにより養鶏業界に大きな損失をもたらしている疾患である。原因について、急激な増体による循環障害や品種などの遺伝的要因、若齢での高い温度感作などが示唆されているが、未だ明確には分かっていない。

管内大規模食鳥処理場(以下:処理場)において、本疾患はその肉眼的所見から変性もしくは炎症で全部廃棄されている。本疾患の発生がみられるようになった平成26年度から変性及び炎症の全部廃棄数が増え始め、特に平成29年度からは急激に増加したため、対応に苦慮している。そこで今回、本疾患の発生状況について調査するとともに精密検査を実施し、若干の知見を得たので、その概要について報告する。

材料及び方法

①中抜きと体重量の調査:2018年11月から2019年1月の期間に本疾患で全部廃棄処分となった中抜きと体について、出荷者ごとに10羽ずつを無作為に抽出し、延べ100出荷者、合計1,000羽の重量を調べた。

②発生率の調査:2019年2月から5月にかけて、延べ214出荷者の本疾患による全部廃棄数を計上して発生率を調べ、出荷者及び銘柄ごとの比較を行った。

③胸部拭き取り検査:2018年12月から2019年3月にかけて計6回、本疾患の中抜きと体5検体ずつを無作為に抽出して拭き取り検査を実施した。胸部病変部を無菌的に切開し、滅菌綿棒を用いて25cm²枠で拭き取り、滅菌リン酸緩衝生理食塩水にて段階希釈し一般生菌数及び大腸菌群数を測定した。併せて陰性コントロール(以下:NC)として、病変のみられない中抜きと体5検体についても同様に拭き取り検査を行った。

④病理学的検査:本疾患の肉眼的検索を行い、浅胸筋、深胸筋及び主要臓器を10%中性緩衝ホルマリンにて固定後、常法に従い切片を作製してHE染色及びマッソントリクローム染色(以下:MT染色)を施

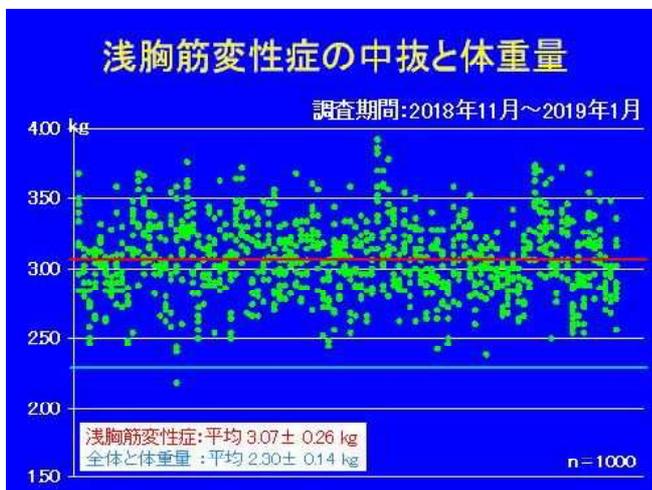
し、病理組織学的検索を行った。

⑤協議会の開催:2019年5月に検査所と処理場の系列会社関係者で本疾患に関する協議会を開催した。発生状況及び調査データについて報告し、会社側から出荷農場の導入鶏や飼養管理方法などの情報を得て、発生要因と今後の対策等について協議した。

結果

①中抜きと体重量は全体が平均2.30±0.14kgであるのに対し、本疾患の中抜きと体重量は平均3.07±0.26kgであった(表1)。

表1 本疾患の中抜きと体重量分布



②調査した出荷者数延べ214、総処理羽数2,876,190羽のうち、本疾患による全部廃棄数は7,508羽で発生率は0.26%であった。これは調査期間内の全部廃棄数36,880羽の約2割を占める割合であり、また、重複を除く全95出荷者のうち93出荷者で発生がみられることが分かった。

当処理場で処理されるブロイラーは飼料体系と飼育地域により3つの銘柄A、B、Cに分けられており、銘柄ごとの発生率はAが0.22%、Bが0.29%、Cが0.46%であった（表2）。

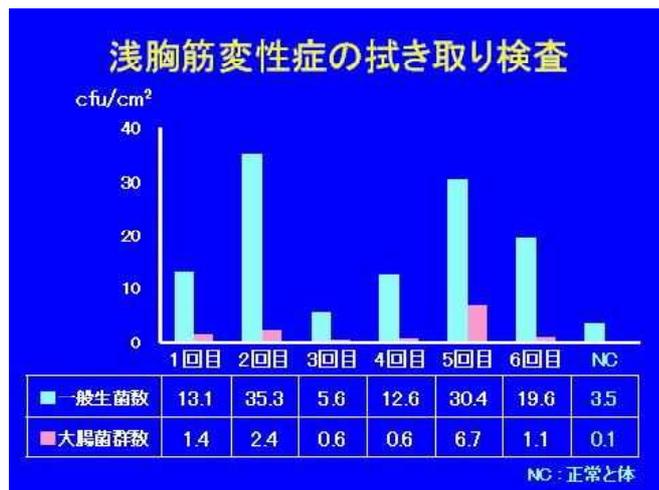
表2 本疾患発生率（銘柄別）

浅胸筋変性症の発生率					
調査期間:2019年2月~5月					
銘柄	出荷者数(延べ)	処理羽数(羽)	浅胸筋症(羽)	全部廃棄数(羽)	浅胸筋症発生率(%)
A	97	1,380,880	3,047	15,916	0.22
B	104	1,461,321	4,304	19,873	0.29
C	13	33,989	157	1,091	0.46
計	214	2,876,190	7,508	36,880	0.26

A: 主に有薬 B: 全期間無薬 C: 主に有薬
※ 発生率: カイ2乗検定で有意差あり(p<0.01)

③中抜きと体胸部の拭き取り検査の結果は、NCと比較してやや高い値であった（表3）。

表3 本疾患の拭き取り検査結果（各5検体平均）



④病理学的検索において、肉眼的に浅胸筋はゼリー状の滲出物を伴って著しく硬化し、出血及び白色線を認めた。断面では浅層から深層にかけて白く退色する部位がみられた。深胸筋においては軽度の

点状出血及び白色線を認めた。その他主要臓器に著変はみられなかった（図1）。



図1 病理肉眼的検索結果

組織学的には、浅胸筋において筋膜は肥厚し、コラーゲンの著しい増生と微小血管の形成を認めた。筋線維は大小不同となり、硝子様及び絮状変性を示し、マクロファージによる筋貪食像も認められた。筋線維間は水腫を伴って線維芽細胞やコラーゲンが増生し、血管周囲にリンパ球の浸潤もみられた。深胸筋においても同様の所見を認めたが、筋線維間の結合織の増生はやや軽度であった。その他主要臓器に著変はみられなかった（図2）。

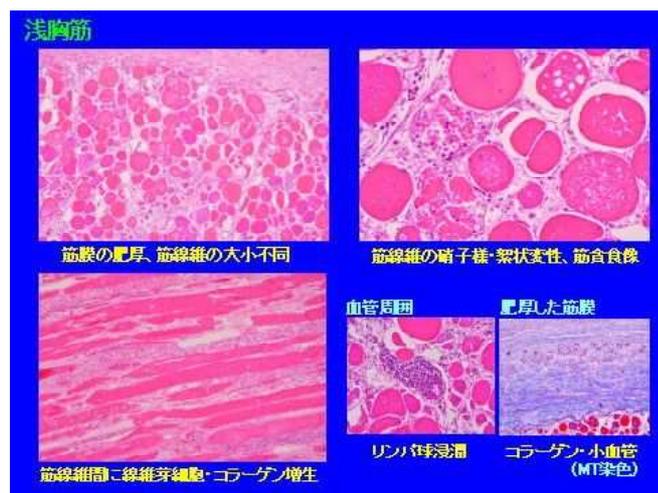


図2 病理組織学的検索結果

⑤本疾患に関する協議会を開催した結果、出荷されているブロイラーについての詳細な情報が得られ、会社側も本疾患の具体的な発生状況を把握することが

できた。協議会后、農場指導員及び家畜保健衛生所の担当者と出荷農場へ合同巡回を行い、本疾患についての情報提供と現在の飼養管理状況の確認を行った（表4）。

表4 本疾患に関する協議会の結果

浅胸筋変性症に関する協議会の結果	
■ 出荷農場について	<ul style="list-style-type: none"> 鶏舎：平飼、開放鶏舎（モデル農場のみウインドレス） 換気：縦断、送風 導入糶：入糶は系列会社で管理 飼料：3種の飼料体系（飼育地域も区別）
■ 発生状況について	<ul style="list-style-type: none"> 生産部：現状を把握できた 農場指導員：浅胸筋変性症を初めて理解
■ 原因について	<ul style="list-style-type: none"> 生産指数(PS)との関連、農場ごとの管理の違いなど調査
■ その他	<ul style="list-style-type: none"> 後日、農場へ合同巡回を実施（指導員、家保、検査所）

考 察

今回の調査結果から、本疾患は当処理場においても増体の良い鶏での発生が多い傾向にある[2]ことが分かった。発生率の調査では、期間内では把握しきれなかった出荷者があること、その後の協議会及び合同巡回にて、同一出荷者でも鶏舎や出荷サイクルで本疾患の発生率が異なる場合もあると判明したことから、更なる調査が必要と思われた。

本疾患では皮下に滲出物を認めることが多く、細菌汚染の可能性を考慮し拭き取り検査を実施したが、正常と比較してやや高いものの汚染を示す結果ではなかった。しかし細菌性皮下織炎を併発している症例もあり、判定の際には注意が必要と思われる。

本疾患の病変は皮下に形成され内臓に関連する所見はみられないことから重度であっても、と体表面から判別することは困難である。当処理場でみられる本疾患の肉眼的特徴として、と体が通常のものよりも大きく、胸部が外側に張り出すため角張った様相を呈して扁平化し、触診で容易に硬化を確認することができる。これらと体の大きさなどの肉眼的な特徴及び触診による硬化の確認は食鳥検査時の診断の一助となると思われた（図3）。



図3 浅胸筋変性症の肉眼的特徴

今回、本疾患の発生状況について調査を行い、協議会を開催して処理場並びに出荷農場を含む会社関係者へ情報を還元したことから、本疾患への認識が高まり、原因について調査するきっかけとなったことは非常に有意義であった。本疾患の発生は食鳥処理の工程でしか把握できないことから、原因究明のためには関係各所との連携が不可欠である。また、発症要因として増体速度と鶏舎内での高い温度感作も示唆されている[3]。今後も関係各所と連携しながら、発生状況の異なる農場間で実際の飼養管理方法の違いなどを比較検討するとともに、正常鶏と発症鶏の血液検査等も実施して、原因の究明及び発生減少につなげていきたいと考える。

参考文献

- [1] 半杭祥子、古川せい子、佐藤哲哉：ブロイラーにみられた浅胸筋の筋変性症、平成22年度福島県食肉衛生検査所事業概要、22-23（2011）
- [2] 古崎洋司、千葉一成、神谷可菜、河合達正：ブロイラーの筋変性（浅胸筋）に関する発症要因の模索、平成25年度北海道早来食肉衛生検査所調査研究
- [3] 佐々木保、佐藤良市、大池裕治：一食鳥処理場における浅胸筋変性症の発生状況と発症要因、鶏病研究会報51巻2号、99-105（2015）

鶏病原性大腸菌の鶏の増体への関連因子

中山裕 神田卓弥 早田真也 福元誠 福里吉文

志布志食肉衛生検査所

はじめに

鶏大腸菌症は鶏病原性大腸菌 (Avian pathogenic *Escherichia coli*, APEC) に起因する疾病であり、腸管以外の臓器に侵入し病原性を引き起こすことから腸管外病原性大腸菌の1つである。鶏大腸菌症は食鳥検査では全部廃棄の対象疾病であり、農場ではへい死や淘汰率の増加といった経済的損失の大きい疾病である。しかしAPECの生体に対する病態はいまだ不明な点が多く、APECに対する治療や予防には基礎的情報が必須である。

我々は農場へい死鶏及び食鳥検査廃棄鶏からそれぞれ分離されたAPECの病原性関連性遺伝子の比較を行い、毒素因子である*astA*は農場でのへい死への関与が示唆された[1]。そこでAPECの生体に対する病原性因子の更なる解明のため鶏の増体に着目し、食鳥検査において鶏大腸菌症として全部廃棄された個体からAPECを分離、体格毎にVAGsの比較を行い、APECと鶏の増体の関連性を調査した。

材料と方法

・材料

2019年4～5月の期間において同一系列4農場で飼育、管内食鳥処理場に7週齢で出荷され、鶏大腸菌症として全部廃棄された個体を対象とした。対象のうち、平均的な体格の個体 (HW群) と体格の小さい個体 (LW群) に分類し、それぞれ体格毎に32羽の肝臓を採材し、中抜きと体の重量を測定した。

・APEC

採材した肝臓をDHL寒天培地 (栄研化学) にスタンプし、好気条件下37°Cで一晩培養を行い、赤色定型コロニーのうち6コロニーを釣菌、ミューラーヒントン寒天培地 (関東化学) により同一条件下で培養を実施した。*E. coli*の同定はEMB寒天培地 (BD) を用い、前述と同じ条件下で培養を実施し、コロニーに金属光沢のあるものとした。-80°Cで使用まで保存した。

・DNA抽出

37°Cで一晩培養したミューラーヒントン液体培地 (BD) 200µlを12000rpmで10分遠心し、上清を除いた後、TE (10µM Tris, 1mM EDTA, pH7.4) 200µlを添加し、100°Cで15分間加熱し、遠心した上清をDNA抽出液とし、-20°Cで使用まで保存した。

・病原性関連遺伝子

病原性関連遺伝子 (Virulence Associated Genes

;VAGs) を*papC* (接着), *tsh* (接着), *astA* (毒素), *vat* (毒素), *irp2* (鉄キレート), *iucD* (鉄キレート), *cvaA/B* (コリシンVプラスミド), *iss* (血清抵抗) を対象にVAGs保有をPCRにより調査した[2]。

・統計解析

データベースはExcel2013を用い作成した。フリーソフトR3.5.0 (<http://www.r-project.org/>) により、統計解析を行い、フィッシャーの正確検定を用い、関連因子の特定を行った。

結果

・平均中抜きと体重量

それぞれ32羽の中抜きと体の平均重量はHW群で2,250g (SD 202), LW群では1,434g (SD 147) となった。

・APEC分離株数

HW群で32羽中22羽から132株, LW群では19羽から114株が分離された (表1)。

表1 APEC保有率

	HW群 (n=32)	LW群 (n=32)
APEC保有率 (%)	69% (22)	60% (19)

() 内は羽数

表2 分離 APEC におけるVAGs保有率

gene	<i>papC</i>	<i>tsh</i>	<i>astA</i>	<i>vat</i>	<i>irp2</i>	<i>iucD</i>	<i>cvaA/B</i>	<i>iss</i>
HW群 (n=132)	25% (33)	34% (45)	17% (23)	8% (11)	20% (27)	77% (102)	42% (55)	77% (101)
LW群 (n=114)	27% (31)	15% (17)	55% (63)	1% (1)	12% (14)	71% (81)	31% (35)	91% (104)

() 内は分離 APEC 株数

・VAGs保有率

分離株の*papC*, *tsh*, *astA*, *vat*, *irp2*, *iucD*, *cvaA/B*, *iss*の保有率はそれぞれHW群で25%, 34%, 17%, 8%, 20%, 77%, 42%, 77%, LW群では27%, 15%, 55%, 1%, 12%, 71%, 31%, 91%であった(表2)。HW群と比較し, LW群で*astA*と*iss*が有意に高い保有率を示した ($p < 0.01$) (図1)。

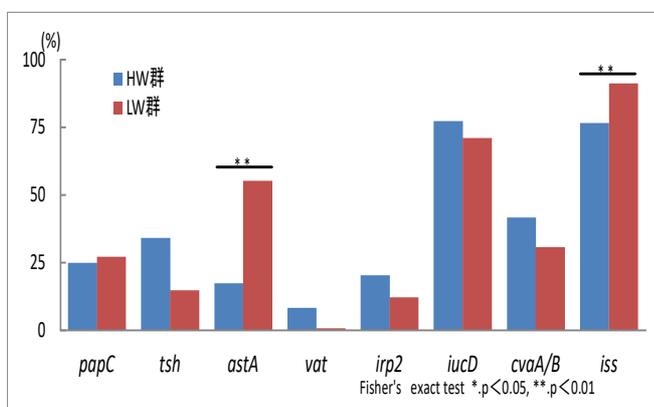


図1 VAGs保有率

また, *astA*保有株はHW群で23株, LW群では63株であり, そのうち*iss*も同時に保有している株はHW群で35%の8株, LW群では97%の61株であった(図2)。

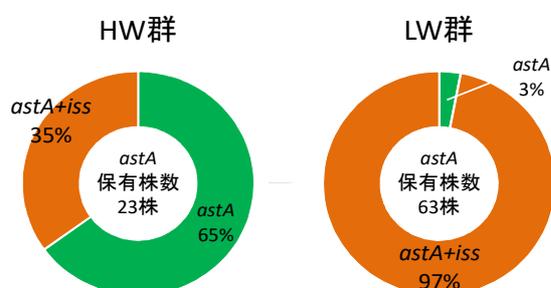


図2 *astA*保有株の*iss*保有状況

考察

本調査においてAPECと鶏の増体の関連性を調査するため中抜きと体重量に着目したところ, HW群の中抜きと体の平均重量は当処理場に出荷される鶏の平均値とほぼ一致していた。一方, 同一週齢で出荷されたLW群ではHW群より814g減少しており, 6~7週齢のプロイラー鶏の増体は77g/日との報告があることから[3], 両群間で1週間程度のと体重量の差があったと考えられた。また8VAGsの比較においてHW群に比べLW群で*astA*及び*iss*が有意に高い保有率を示した。*astA*は腸管外病原性大腸菌の病原因子として報告されており[4], *iss*はコードしている外膜たんぱく質によりAPECが血清に対し抵抗性を示すことが知られている[5, 6]。また前回の調査において*astA*が農場で鶏のへい死への関与が示唆されたことから[1], 本調査でも*astA*に着目し*astA*と*iss*の保有状況を両群で比較したところ, LW群では*astA*及び*iss*を同時に保有している株が多い傾向にあった。このことからLW群で*astA*と*iss*を保有するAPECが慢性的に感染し, 鶏大腸菌症の病態に関与することで両群間の増体に影響を与えたと思われる。また, *iucD*は感染実験において, 肝臓の病変形成に関与していると報告されており[7], 本調査においても*iucD*を両群ともに高率に保有していることから大腸菌症の病態の発現に重要な因子であることが示唆された。以上のことからAPECの保有VAGsの違いによって鶏の増体に影響を与える可能性が考えられ, 本研究において*astA*, *iss*及び*iucD*といったVAGsが特に重要な因子であると思われる。

今後もAPECの調査, 研究を行い, APECに対する基礎的情報を構築することで鶏大腸菌症の低減に貢献していきたい。

参 考 文 献

- [1] 神田卓弥, 牧田万悠子, 窪菌薫ら., (2018). 農場へい死鶏及び食鳥検査廃棄鶏おける鶏病原性大腸菌の遺伝子学的比較. 平成30年度 鹿児島県食肉衛生検査所業務概要. :75-80
- [2] Ewers C, Janssen T, Kiessling et al. (2005) Rapid detection of virulence-associated genes in avian pathogenic *Escherichia coli* by multiplex polymerase chain reaction. *Avian Dis.* 2005 Jun;49(2):269-73..
- [3] 板東成治, 富久章子, 吉岡正二ら., (2012) ブロイラーの発育性及び3週齢以降の産肉性の推移. 徳島畜研報 No11 (2012) :34-41.
- [4] Zhao S, Wang CL, Chang SK et al. (2019) CH3.Characterization of *Escherichia coli* Isolated from Day-old Chicken Fluff in Taiwanese Hatcheries. *Avian Dis.* 2019 Mar 1;63(1):9-16.
- [5] Ewers C, Janssen T, Wieler LH. (2003) [Avian pathogenic *Escherichia coli* (APEC)]. *Berl Munch Tierarztl Wochenschr.* 2003 Sep-Oct;116(9-10):381-95.
- [6] Lynne AM, Skyberg JA Logue CM et al. (2007) Characterization of a series of transconjugant mutants of an avian pathogenic *Escherichia coli* isolate for resistance to serum complement. *Avian Dis.* 2007 Sep;51(3):771-6.
- [7] Gao Q, Wang X, Xu H et al. (2012) Roles of iron acquisition systems in virulence of extraintestinal pathogenic *Escherichia coli*: salmochelin and aerobactin contribute more to virulence than heme in a chicken infection model. *BMC Microbiol.* 2012 Jul 20;12:143.

食鳥処理場で検出された *Campylobacter jejuni* におけるギランバレー症候群 (GBS) 関連遺伝子の保有調査

栗脇良太 下地なつ希 藤元英樹¹⁾ 抜迫卓也 吉満文隆
末吉食肉衛生検査所, 1) 始良保健所

はじめに

Campylobacter jejuni (以下 *C.j*) は消化器症状を主徴とする食中毒の起原因菌であり, 原因として食鳥肉が疑われる場合が多い。また, *C.j* 食中毒の経過後, 稀にギランバレー症候群 (以下 GBS) を発症することが知られている。そこで, 食鳥由来 *C.j* の GBS との関連を調べるため食鳥処理場における保菌調査及び解体室での拭き取り検査を行い, 検出された *C.j* について, GBS に関連すると報告されている *Cst-II*, *CgtA*, *CgtB* 遺伝子の保有について調査した。

材料と方法

保菌調査は管内2カ所の大規模食鳥処理場 (以下処理場A, B) において, 平成31年3月から5月にかけて, 各14農場, 肉用鶏140検体から採材した盲腸便1gを検体とした。

拭き取り検査は各処理場において平成30年7月, 平成31年1月はチラー後と体外側, 包丁, まな板, 製品 (もも肉) 各5検体ずつを対象に, 令和元年5月は前述の検体にチラー後と体内側を5検体追加し実施した。拭き取りにはふきふきチェック (栄研化学) を用い, チラー後と体はリン酸緩衝生理食塩水 (以下 PBS) 9ml と 0.02mol/L チオ硫酸ナトリウム 1ml を併せた混合液と, その他は PBS 10ml と混合し, うち 1ml を検体とした。

検体をそれぞれプレストンカンピロバクター選択増菌培地 9ml に接種し, 42°C, 微好気条件で 24 時間培養した。その後, カンピロバクター血液無添加選択寒天培地 (以下 CCD A 培地) を用いて 42°C, 微好気条件で 48 時間培養した。CCDA 培地上に発育した *Campylobacter* 属菌と疑わしいコロニー (無色, 半透明) を 1 検体あたり最大 3 コロニー 釣菌し, 血液寒天培地を用いて 42°C, 微好気条件で 24 時間純培養を行った。

Campylobacter 属菌を疑うコロニーに関して, 純培養後, 遺伝子検査法により菌種の同定を行った。*C.j*, *C.coli* に特異的な 2 種類のプライマーを用いて調整した反応液に釣菌した 1 つのコロニーを加える

ダイレクト PCR を実施した (表 1)。

表 1

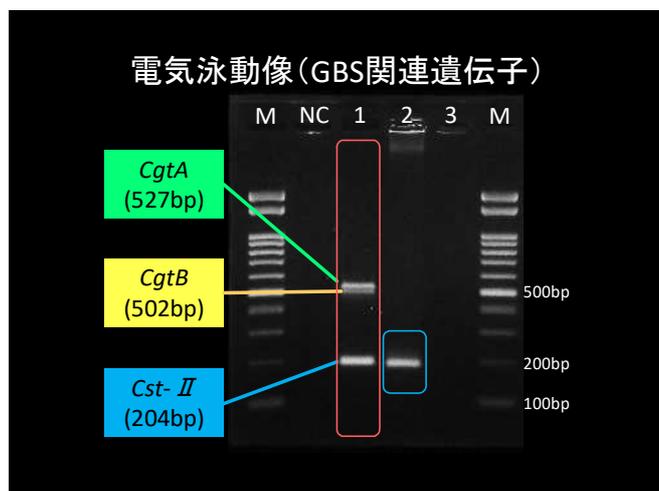
試薬・プライマー			
試薬	Quick Taq HS DyeMix		
プライマー	<i>C.jejuni</i> (159bp)	C-1F	CAA ATA AAG TTA GAG GTA GAA TGT
		C-4R	GGA TAA GCA CTA GCT AGC TGA T
	<i>C.coli</i> (500bp)	18F	GGT ATG ATT TCT ACA AAG CGA G
		519R	ATA AAA GAC TAT CGT CGC GTG

PCR による反応は TaKaRa Thermal Cycler を用いて, 熱変性 (94°C, 1 分), アニーリング (56°C, 1 分), 伸長 (72°C, 1 分) を 30 サイクル 行った。PCR を行った後, DNA 蛍光染色試薬であるミドリグリーンを加えた 2% アガロースゲルを用いて電気泳動を 30 分実施し, 159bp (*C.j*) あるいは 500bp (*C.coli*) のバンドを確認し菌種の同定を行った。また, *C.j* について GBS 関連遺伝子の保有状況調査には, *Cst-II*, *CgtA*, *CgtB* に特異的なプライマーを用いた。*Cst-II* に特異的なプライマーは Koga らより報告された塩基配列を用いた。*CgtA* 及び *CgtB* に特異的なプライマーは Nachamkin らにより報告された塩基配列を用いた (表 2)。

表2

試薬・プライマー			
試薬	Quick Taq HS DyeMix		
プライマー	<i>Cst-II</i> (204bp)	17F	TTT CTG GAA ATG GAC CAA GTT T
		220R	CGG TCT CAT ATT CTT GAT TTT GG
	<i>CgtA</i> (527bp)	CgtAUp	ATA CGG GAG GGG CAT AAA AG
		CgtADn	ATA AGC AAG CAA TCT CCT GGT T
	<i>CgtB</i> (502bp)	CgtBUp	AGA GCA AGA TAT GAA GGT GTG AA
		CgtBDn	AAA CCA ACT GCA ACT CTT GAA T

調整した反応液に*C. j*を1コロニー加え、PCRによる反応は熱変性（94℃、15秒）、アニーリング（50℃、15秒）、伸長（72℃、30秒）を30サイクル行った。その後、ミドリグリーンを加えた3%Nusieve3:1アガロースゲルを用いて電気泳動を90分を行い、204bp(*Cst-II*)、527bp(*CgtA*)、502bp(*CgtB*)のバンドを確認した（図1）。

図1
結果

保菌調査では、9/28農場（32.1%）、35/280検体（12.5%）から95株の*C. j*が検出された。また、GBS関連遺伝子の保有に関して、保菌調査由来株では、3遺伝子保有は1農場由来3株（3.2%）、1遺伝子(*Cst-II*)保有は2農場由来31株（32.6%）であり、残り6農場由来1株は関連遺伝子を保有していなかった（表3）。

表3

結果(保菌調査)						
処理場	保菌調査			GBS関連遺伝子		
	陽性農場	陽性検体	菌株数	3遺伝子保有	1遺伝子保有	保有無し
A	3	12	35	3 1農場	17 1農場	15
B	6	23	60	-	14 1農場	46
計	9	35	95	3 1農場	31 2農場	61

※遺伝子陽性農場はそれぞれ別農場

拭き取り検査においては、処理場AでH30年7月が9検体18株、H31年1月が20検体20株、R1年5月が5検体6株、処理場BでH30年7月が18検体18株、R1年5月が13検体39株、計65検体101株の*C. j*が検出された（表4）。

表4

採材箇所	分離菌株数 / 陽性検体			
	H30年7月	H31年1月	R1年5月	
処理場A	チラー後と体(外)	2/1	5/5	2/2
	チラー後と体(内)	NT	NT	2/2
	包丁	4/2	18/9	20/20
	まな板	8/4	5/5	2/1
	製品(もも肉)	4/2	5/5	-
処理場B	チラー後と体(外)	5/5	-	12/4
	チラー後と体(内)	NT	NT	3/1
	包丁	5/5	18/18	不検出
	まな板	4/4	-	12/4
	製品(もも肉)	4/4	-	6/2

また、GBS関連遺伝子の保有に関して、拭き取り検査由来株では、3遺伝子保有は処理場AでH31年1月に検出された全検体由来の全20株（19.8%）、1遺伝子(*Cst-II*)保有は処理場BでH30年7月に検出された株のうち、チラー後と体外側とまな板由来の4株（4.0%）であり、残り77株はいずれの遺伝子も保有していなかった（表5）。

表5

採材箇所		分離菌株数 / 陽性検体		
		H30年7月	H31年1月	R1年5月
処理場 A	テラー後と体(外)	2/1	5/5	2/2
	テラー後と体(内)	NT	NT	2/2
	包丁	4/2	18/9	5/5
	まな板	8/4	5/5	2/1
	製品(もも肉)	4/2	5/5	-
処理場 B	テラー後と体(外)	5/5	-	12/4
	テラー後と体(内)	NT	1遺伝子保有	3/1
	包丁	5/5	4株	6/2
	まな板	4/4	-	12/4
	製品(もも肉)	4/4	-	6/2

考察

保菌調査において1農場から3遺伝子保有の*C. j*が検出され、特定の農場でGBS関連遺伝子を保有した食鳥由来の*C. j*が確認された。また、拭き取り検査でも6回中1回で3遺伝子保有の*C. j*が器具等から検出され、当該日に処理された食鳥由来*C. j*の交差汚染による食中毒及びGBSのリスクが示唆された。北尾らの報告では3遺伝子保有*C. j*が製品（肝臓）由来株で43.5%、食中毒患者由来株で26.7%検出され、今回はこれに比べ、当該遺伝子の保有率は低かったが、処理の過程における交差汚染により遺伝子陽性率が上がることが示唆され、注意の必要性が再確認された。

上記リスク低減のためには、農場ごとの*C. j*保菌状況およびGBS関連遺伝子の保有状況を把握することにより、処理場における陰性農場と陽性農場の区分処理を考慮し、中抜き室における処理農場ごとのインターバル時間内での機械、器具の洗浄、消毒の徹底および解体室における農場ごとの器具交換等の衛生対策も併せて実施する必要があると思われる。また、処理場への衛生指導を実施する際、*C. j*は食中毒原因菌であると同時に慢性疾患の原因菌としての側面を持つことへの理解を促すことが重要である。

今後、処理場における衛生対策に併せ、継続的調査による陽性農場の把握とその素因の特定を行い、農場における*C. j*の保菌率低減への取り組みを強化する必要があると考える。

参考文献

- 1) 松田 正法, 他: 「下痢症患者や鶏肉類から分離された*Campylobacter jejuni* のギランバレー症候群 (GBS) 関連遺伝子保有状況と薬剤耐性」, 日本食品微生物学会誌, 2013; 30:39-42.
- 2) 国井 悦子, 他: 「下痢症患者由来カンピロバクター分離株のギランバレー症候群 (GBS) 関与遺伝子の保有状況」, 広島市衛研年報, 2010; 29: 58-60.
- 3) Koga M *et al.*: “Comprehensive analysis of bacterial risk factors for the development of Guillain-Barré syndrome after *Campylobacter jejuni* enteritis,” J Infect Dis, 2006; 193: 547-555.
- 4) 北尾孝司 他: ヒトおよび鶏から分離された *Campylobacter jejuni* におけるギラン・バレー症候群関連遺伝子の保有状況調査, 医学検査, 64 (2), 173~178(2015)
- 5) 古賀道明, 結城伸泰: *Campylobacter jejuni*腸炎とギラン・バレー症候群, 感染症誌, 77, 418-422(2003).
- 6) Nachamkin I *et al.*: *Campylobacter jejuni* from patients with Guillain-Barré syndrome preferentially expresses a GD1alike epitope, Infect. Immun., 70(9), 5299~5303(2002)
- 7) Takahashi M *et al.*: Epidemiology of *Campylobacter jejuni* Isolated from Patients with Guillain-Barré and Fisher Syndromes in Japan, J.Clin. Microbiol., 43 (1), 335~339(2005)

黒毛和種肥育牛における血液性状と枝肉成績との関連

米満順子 坂口善二郎 岩村晴美 内大久保 均

阿久根食肉衛生検査所

はじめに

これまで、肥育牛の血液性状と枝肉成績に関していくつか報告^{3),5),6)}がなされている。そこで今回、出荷牛の枝肉成績の向上を目的とし、管内と畜場で処理された黒毛和種肥育牛を対象に、各種血液性状(アルブミン, γ -グルタミルトランスフェラーゼ, 総コレステロール, ビタミンE)と、と畜検査所見(脂肪壊死症, 腸炎)および枝肉成績(枝肉重量, ロース芯面積, バラの厚さ, 皮下脂肪の厚さ, 歩留基準値, 脂肪交雑, 肉色)との関連について検討した。

材料と方法

1. 調査材料

管内と畜場に平成30年8月から翌年5月までの間に出荷された黒毛和種肥育牛103頭、(調査戸数33農場, 去勢93頭, 雌10頭)から採取した血清を用いて以下に示す測定方法(図1, 2)で各種血液性状を測定した。また、と畜検査所見として脂肪壊死症, 腸炎(以下, 白物病変)及び枝肉成績を用いそれぞれの関連について検討した。

2. 測定方法

(1) アルブミン(以下, Alb), γ -グルタミルトランスフェラーゼ(以下, GGT), 総コレステロール(以下, T-cho)は乾式臨床化学自動分析装置(arkray社 SPOTCHEMTMEZ)を用いて測定した。

(2) ビタミンE(以下, VE)は高速液体クロマトグラフィー(以下, HPLC, LC-20AD SHIMAZU)を用いて測定した。

①HPLC測定条件

移動相はメタノール100%, 流速1.0ml/min, 使用したカラムは逆相ODS-3.5 μ m 4.6 \times 150nm, 注入量20 μ l, 波長はPDA(紫外線)292nmで測定した。

②抽出方法

血清200 μ lに水1ml, エタノール1mlを加えボルテックスし, ヘキサン5mlを加え, 振とう10分, 遠心分離(3000rpm/5min)後, 上清4mlを分取し, 窒素乾固の後メタノール1mlで溶解した。

3. 統計学的解析

ロジスティック回帰分析, Student's-T検定, フィッシャーの正確性検定を用いて検査対象牛の枝肉成績ならびにと畜検査所見と血液性状の関連について解析を実施し, 危険率5%未満を有意差あり, 10%未満を有意差傾向ありとした。

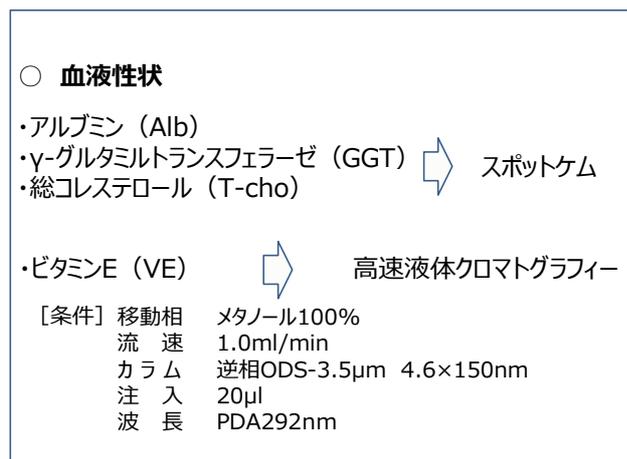


図1 材料と方法

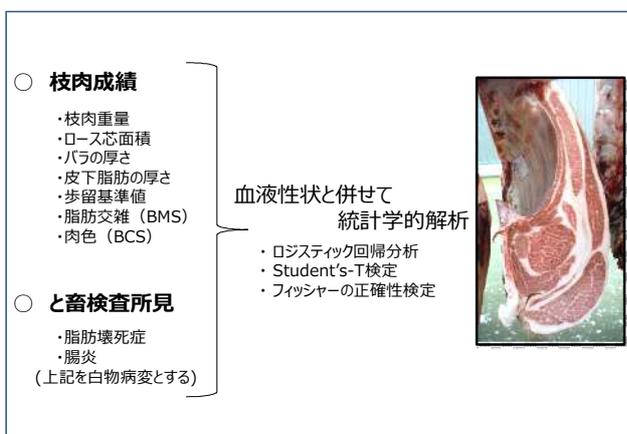


図2 材料と方法

結果

1. VE

血中VE濃度は、T-choが平均以上の群及び白物病変を認めなかった群において、T-choが平均未満の群および白物病変を認めた群と比較してそれぞれ有意に高値であった（図3）。

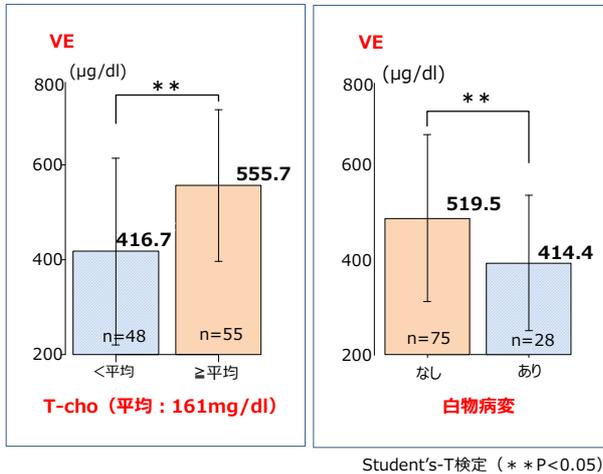


図3 VEとの相関

2. GGT

GGTは、ロース芯面積で平均以上となる確率は、GGTが平均未満の群において平均以上の群よりも3.45倍高く、歩留基準値が平均以上となる確率は、GGT平均未満の群において平均以上の群よりも2.27倍高かった（図4）。

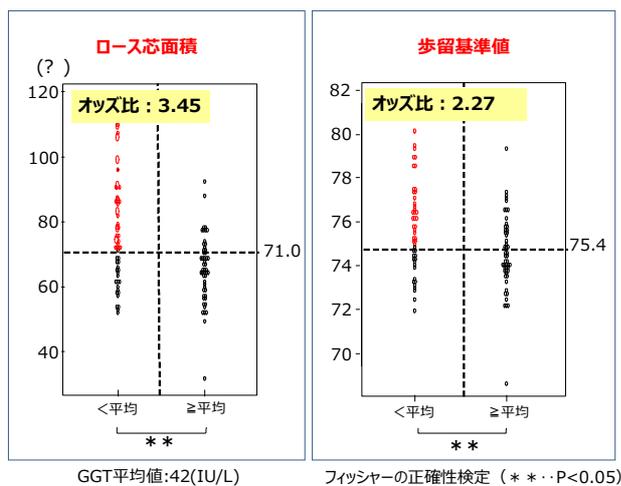


図4 GGTとの相関

3. バラの厚さ

バラの厚さは脂肪交雑（以下、BMS）が平均以上

の群、枝肉重量が平均以上の群でそれぞれ平均未満の群に比べ、有意に高値となった（図5）。

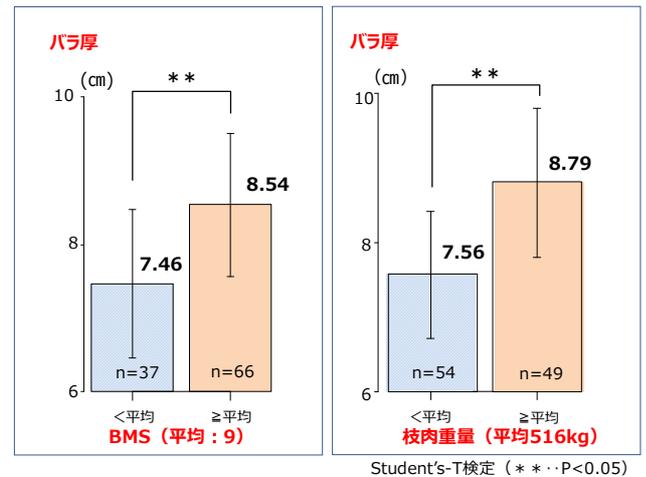


図5 バラの厚さとの相関

4. ロース芯面積

BMSが平均以上の群、枝肉重量が平均以上の群でそれぞれ平均未満の群に比べ、有意に高値となった（図6）。

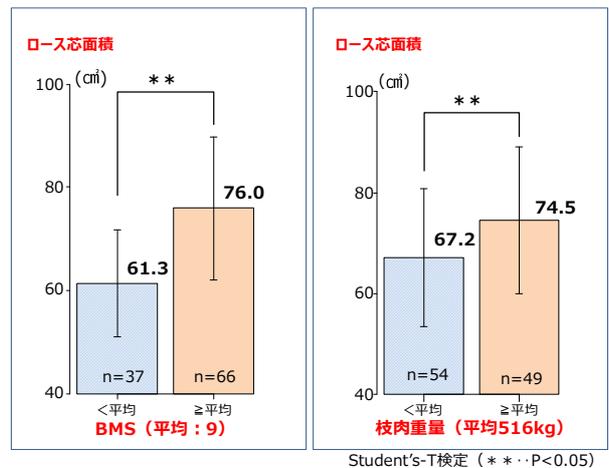


図6 ロース芯面積との相関

まとめと考察

今回の調査結果において、VEが白物病変を認めない群で高値を示した。このことは、とさつ前4週間のVE投与が牛肉色や脂質の安定化に資するという三津本らの報告⁴⁾にもあるように、白物病変の有無に関与している可能性を示唆した。

また、T-choが平均以上の群でVEが高値を示したことから、T-choとVEが飼料摂取の指標となるという乙丸らの見解³⁾が改めて確認された。

GGTは牛の肝障害の指標として広く用いられている項目であるが、GGTが低値の群でロース芯面積が大きく、歩留基準値も高値を示したことから、さらに、BMSが高く枝肉重量も大きい群でバラの厚さ、ロース芯面積が大きくなったことから、GGTが低値であること、すなわち良好な肝機能が枝肉成績を上げる要因となることも示唆され、黒毛和種肥育牛の血液性状が枝肉成績と強い関連があるとの報告^{1), 2)}を支持する結果が得られた。

今後は今回測定を実施しなかったビタミンA及び牛の発育に影響を与える微量元素についても測定し、さらにデータを蓄積して枝肉成績との関連性を研究する必要があると考える。

参考文献

- 1) 岩木史之ら：但馬牛去勢肥育牛の発育及び血液性状と枝肉性状の関係，兵庫農技研報 Bull. Hyogo Pre. Agri. Inst (Animal Husbandry) 38, 10-16(2002)
- 2) 渡辺大作ら：黒毛和種肥育牛の血漿 γ -グルタミルトランスフェラーゼ (GGT) と月齢および血液成分との関連，産業動物臨床医誌 1(4)：177-183, 2010
- 3) 乙丸孝之介ら：鹿児島県における黒毛和種肥育雌牛の血液生化学的性状，産業動物臨床医誌 3(4)：169-173, 2012
- 4) 三津本充ら：黒毛和種去勢牛への屠殺前4週間のビタミンE投与による展示中の牛肉色と資質の安定化，日本畜産学会報 66(11), 962-968, 1995
- 5) 矢野秀雄：高級牛肉生産のメカニズム，日本食生活学会誌 14(1), 2-5, 2003
- 6) 菅保礼ら：黒毛和種肥育牛における肉色を中心とした枝肉成績と出荷前の血液性状，平成21年度獣医学術近畿地区学会，
(http://www.kinrenju.jp/housyou/H21_B3.pdf)

Mycoplasmaの関与した心内膜炎および腹大動脈塞栓を認めた牛の症例

篠原光 篠崎綾 坂口善二郎 山田耕一 我部山厚 内大久保均

阿久根食肉衛生検査所

はじめに

牛の心内膜炎から*Mycoplasma*属菌が検出された症例について平成27年¹⁾および平成28年²⁾に当所から報告した。今回、心内膜炎および腹大動脈に塞栓が認められた牛の症例に遭遇したため、*Mycoplasma*属菌の関与を疑い検査を行ったので報告する。

材料と方法

当該牛は19ヶ月齢、去勢の黒毛和種で突然の起立不能、呼吸促迫及び皮温低下との稟告で搬入された。

生体検査では横臥、腹囲膨満、速迫な開口呼吸、前肢の軽度痙攣があった。

解体検査において左心房壁の心内膜面に直径7 cmほどの疣贅様物（以下、Ev）（図1）がみられ、腹大動脈には動脈を塞ぐように直径2 cm長さ10 cmほどの塞栓がみられた（図2）。塞栓は肉眼的に膜状の構造物が折り重なった様な構造をしていた。その他に、肺水腫、縦隔膜水腫、肝臓および腎臓に不整形のうっ血、第一胃の鼓張、小腸の暗赤色化がみられた。



図1 左心房壁の心内膜面の疣贅様物

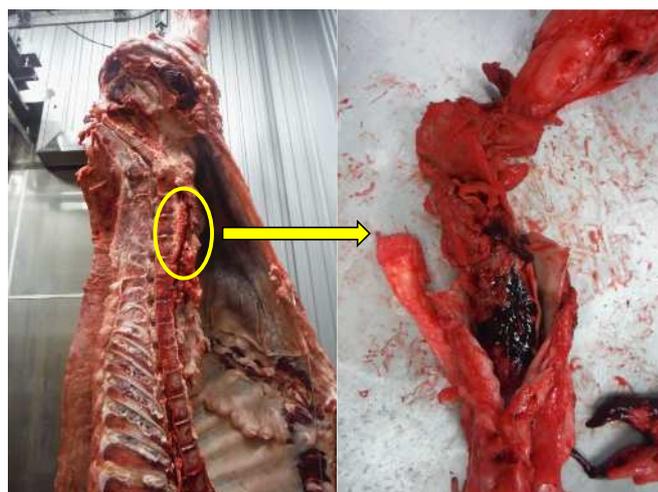


図2 腹大動脈の塞栓

微生物学的検査はEv、肝臓、腎臓、脾臓、塞栓について羊血液寒天培地（以下、血寒）にスタンプし、37℃でロウソク培養ならびに嫌気培養を実施した。また、冷凍保存していた検体（Ev、肝臓、腎臓、脾臓、肺および塞栓）についてマイコプラズマ（NK）液体培地（以下、NK液体培地）およびマイコプラズマ（NK）寒天培地（以下、NK寒天培地）を使用し*Mycoplasma*属菌の分離を実施した。

遺伝子学的検査は冷凍保存していた検体および、それらを接種したNK液体培地について*Mycoplasma*属を標的としたPCR法を実施し、*Mycoplasma*属に特異的な遺伝子を検出した検体について*M. bovis*（以下、M. b）、*M. disper*（以下、M. d）、*M. bovirhinis*（以下、M. br）を標的としたPCR法により同定を実施した。また、血寒に発育した*Mycoplasma*様コロニーについても純培養を実施し、M. bを標的としたPCR法により同定を実施した（図3）。

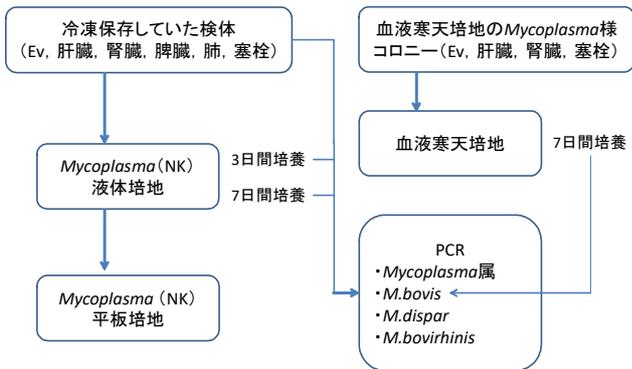


図3 *Mycoplasma*属菌の分離および同定方法

病理学的検査はEv, 肝臓, 腎臓, 脾臓, 塞栓についてHE染色, 抗M. b抗体を用いた免疫組織化学的染色(以下, IHC), Evと塞栓についてはPTAH染色を実施した。

結果

微生物学的検査において24時間培養した血寒ではEv及び脾臓から*Escherichia coli*が, Ev及び腎臓から*Streptococcus equinus*が分離されたことから敗血症(心内膜炎型)と判定し, 全部廃棄処分とした。

また, 48時間嫌気培養を行った血寒ではEvから*Prevotella*属菌, 脾臓から*Clostridium*属菌が同定された。嫌気培養を1週間続けた結果, Ev, 肝臓, 腎臓, 塞栓から*Mycoplasma*様の弱いβ溶血を示す透明の微小コロニーの発育が見られた。また, これらの*Mycoplasma*様コロニーは24時間ロウソク培養後に好気状態で室温保存していた培地でも確認された。

NK寒天培地では, Ev, 肝臓, 腎臓, 塞栓において*Mycoplasma*属菌特有の目玉焼き状のコロニーが確認された。

PCR検査の結果, 冷凍していた検体ではEvおよび塞栓から*Mycoplasma*属及びM. bに特異的な遺伝子が検出された。また, 培養3日目および7日目のNK液体培地では, Ev, 肝臓, 腎臓および塞栓から*Mycoplasma*属およびM. bに特異的な遺伝子が検出された。

M. dおよびM. brについては冷凍していた検体およびNK液体培地のどちらからも検出されなかった。血寒で純培養した*Mycoplasma*様コロニーについてPCR検査した結果, M. bに特異的な遺伝子が検出された(図4)。

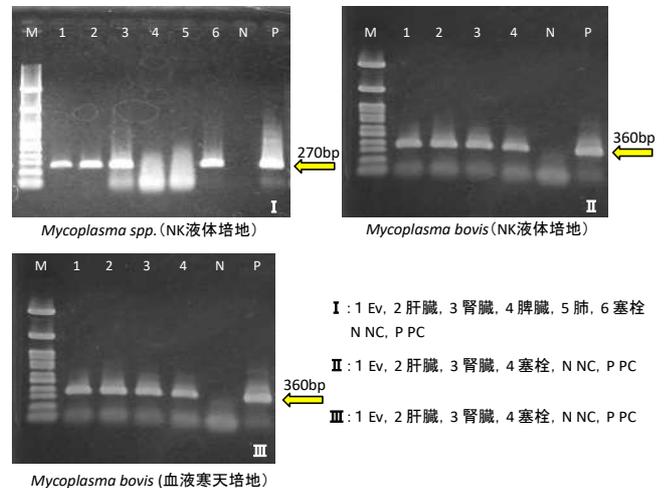


図4 PCRの結果

病理組織学的検査の結果, HE染色においてEvの心房内腔側は凝固壊死で, 一部に好中球とその退廃物の塊状集積がみられた。心内膜近辺には多数の好中球, 細胞退廃物の層状集積と一部に石灰沈着がみられ, それに隣接する外周には線維増生と新生した血管周囲を主体に好中球, マクロファージ, 形質細胞の浸潤を認めた。これら炎症部の外層には増生した結合組織に分画されて萎縮した心筋や空胞化した心筋がみられ, 巣状のリンパ球浸潤を伴っていた。

また, EvのIHCにおいて, 心内膜に近い部位の凝固壊死巣や層状の細胞退廃物, 石灰沈着部に限局して陽性反応がみられた(図5)。

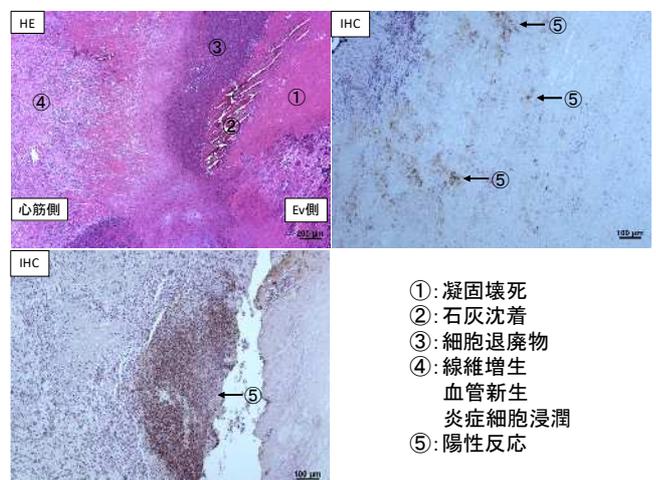


図5 EvのHE染色およびIHC

塞栓はHE染色において層状構造を呈する凝固壊死部で構築されていた。また、塞栓と動脈血管壁との接着は確認できなかった。塞栓のIHCにおいては凝固壊死部に層状に陽性反応がみられた。また、塞栓に付着する血液中の単球にも貪食に由来するものと思われる陽性反応がみられた（図6）。

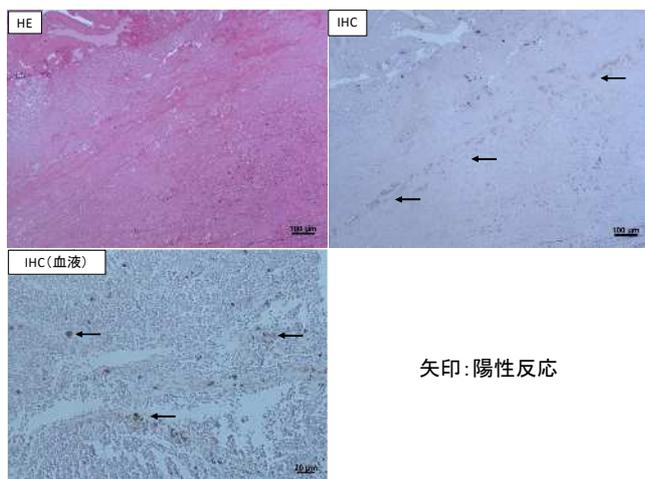


図6 塞栓のHE染色およびIHC

腎臓のHE染色においては弓状動脈の動脈壁の肥厚および動脈周囲への炎症細胞の浸潤がみられた。しかし、IHCで陽性反応はみられなかった。

肝臓および脾臓についてはHE染色で著変はみられず、IHCでも陽性反応は見られなかった。

Evと塞栓についてPTAH染色を実施したところ、どちらの壊死部とも、結合組織の層状凝固壊死に挟まれた細胞退廃物と線維素によって構成され、同様な構造を示した（図7）。

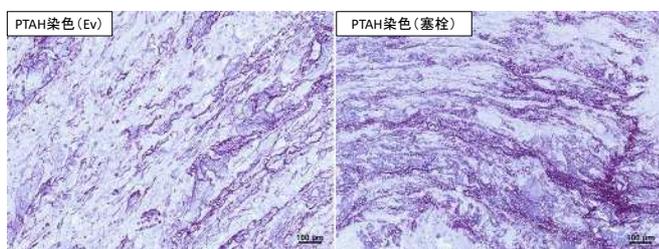


図7 Evと塞栓のPTAH染色

考察

本症例では腹大動脈に塞栓がみられたが、病理学的検査の結果、Evと同様な構造を示したことから、塞栓と動脈血管壁との接着は確認できなかったことか

ら、これは心内膜炎の表面の一部が剥離し、塞栓となったものと考えられ、生体検査の病態や解体所見でみられたうっ血性病変は、この塞栓が原因となった可能性が高いと思われる。このような塞栓を認める症例はまれであるが、今回の症例と同様の生体所見および解体所見を認めた場合は、塞栓の存在を疑う必要があると思われる。

また、今回の症例は、これまでの当所からの報告とは異なり、Evだけでなく肝臓、腎臓、塞栓を血塞にスタンプし培養したものからもM. bが分離された。また、IHCにおいて塞栓に付着する血液中の単球にも陽性反応を示すものがあった。これらのことより、M. bが血流に乗り、様々な臓器へ移動することが示唆された。したがって、今後巨大な心内膜炎に遭遇した場合、*Mycoplasma*属菌による敗血症の可能性を考慮する必要があると思われる。

謝辞

病理組織学的検査についてご協力いただきました農研機構九州研究拠点の田中省吾先生に深謝いたします。

参考文献

- 1) 濱田忠子ら：牛のマイコプラズマ関連疾病，平成27年度鹿児島県食肉衛生検査所業務概要；63-66
- 2) 神田卓弥ら：*Mycoplasma bovis*が関与した牛の心内膜炎，平成28年度鹿児島県食肉衛生検査所業務概要；63-66

と畜データを活用した地方病性牛白血病(EBL)の発生状況の調査

○飯尾岳史 塩賀由紀 向井猛 木下武 湯之原義弘

知覧食肉衛生検査所

はじめに

全国における地方病性牛白血病(以下、EBL)の発生は年々増加し、県内と畜場でも全身性腫瘍(EBLを含む)の発生頭数が平成10年度14/75,935頭から平成30年度140/87,730頭へと10倍に増加した。また、全部廃棄処分(以下、全廃)の割合は3.08%から39.4%に増え、平成29年度からは全廃の1位となっている。そこで、今後の業務の参考とするため、鹿児島市を除く県内と畜場外におけるEBL発生状況について調査したので報告する。

材料と方法

平成10～30年度における県内出荷牛の全身性腫瘍(EBLを含む)の発生状況について業務概要を用いて調査し、平成25～30年度における県内のEBL発生状況(以下、県)についてと畜管理システムからデータ抽出し調査した。また、平成25～30年度に本所でEBLで全廃した検体について畜種情報、生体・解体所見の結果(以下、管内)をシステムデータや検査記録を用いて30ヶ月齢以上牛と未満牛に分けて調査・検討した。

結果

全国における牛白血病の発生報告頭数と鹿児島市を除く県内と畜場における全身性腫瘍およびEBL(以下、腫瘍)による全廃頭数は年々増加している。県内と畜場では腫瘍の全廃頭数が平成10年度の14頭から平成30年度の140頭へと10倍に増加していた(図1)。



図1 牛白血病の発生状況

県内と畜場における腫瘍による全廃の割合は平成10年度の3.08%から平成30年度の39.4%に増え、平成29年度からは全廃理由の第1位となっている(図2)。

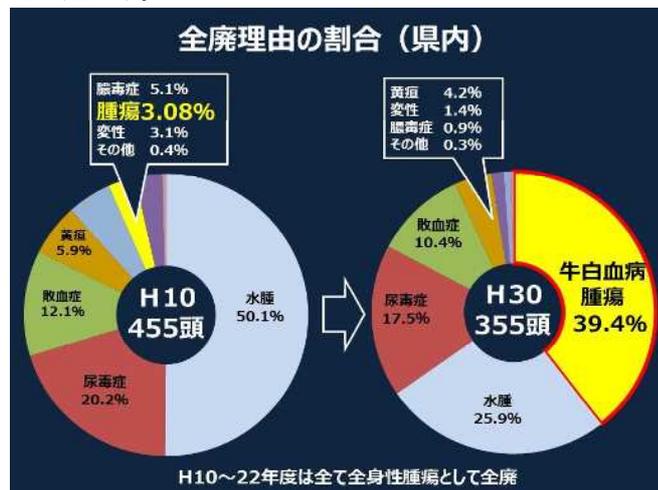


図2 全廃理由の割合

県内と畜場におけるEBL全廃頭数は668頭で、去勢196頭、雌472頭であった。品種別で見ると黒毛和種539頭、ホルスタイン105頭、交雑種24頭となり、黒毛和種の雌による発生が最も多いという結果であった。一方、管内は全て黒毛和種で去勢69頭、雌62頭であった(図3)。

県内と畜場における月別EBL全廃頭数は、3月の75頭、5月の68頭の順に多く、管内では、3月の17頭、4月の16頭の順に多いという結果であった。また、と畜数とEBL全廃頭数に相関は認められなかった(図4)。



図3 EBL発生状況 (性別・品種別)

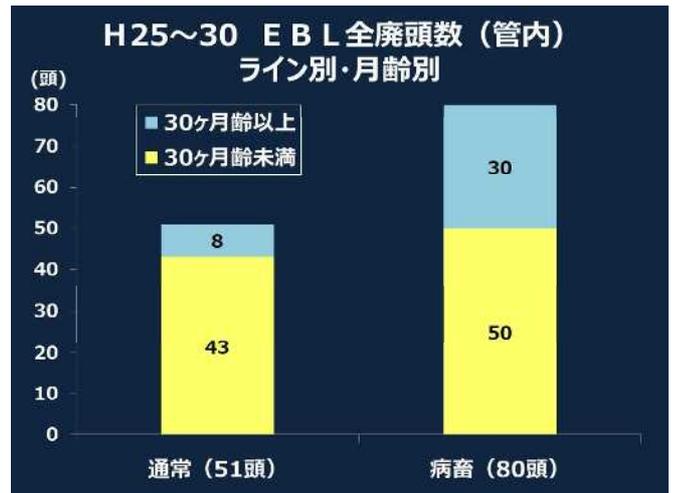


図5 EBL発生状況 (ライン別・月齢別)



図4 月別と畜数とEBL全廃頭数



図6 通常ラインにおけるEBL全廃頭数

管内における生体検査時に異常を認めず通常ラインで摘発された牛は51頭で、病畜舎で摘発された牛は80頭であった。通常ラインにおける30ヶ月齢未満牛が43頭に対し30ヶ月齢以上牛は8頭であった。病畜舎における30ヶ月齢未満牛が50頭に対し30ヶ月齢以上牛は30頭であった (図5)。

管内の通常ラインにおける30ヶ月齢未満牛のEBL全廃頭数は、平成25、26年度では3頭であったが、平成27~30年度では8~10頭と約3倍で増加傾向を示している (図6)。

管内でEBLにより全廃となった131頭の解体所見については、内臓所見、腫大が見られたリンパ節を図7、図8で好発順に示している。

次に、30ヶ月齢未満牛と30ヶ月齢以上牛で解体所見を比較すると、脾臓、肝臓、膀胱、肺リンパ節における所見は30ヶ月齢未満牛で顕著に見られた。一方、四胃、子宮における所見は30ヶ月齢以上牛でよく見られた。なお、子宮においては雌のみを対象としたため30ヶ月齢未満牛は27頭、30ヶ月齢以上牛は35頭が母数となっている (図9)。

まとめ

今回の調査で県内と畜場でのEBLによる全廃頭数は、黒毛和種の雌で多く、3～5月の春先で増加する傾向が見られた。管内では30ヶ月齢未満牛の通常ラインにおけるEBLの摘発が増加してきていた。これは体表リンパ節の腫大、眼球突出、削瘦などのEBLにおける特徴的な所見が認められない症例が増えたことが原因であると考えられた。解体所見におけるEBLの好発部位については、これまでの報告と大きな違いは認められなかったが、30ヶ月齢未満牛と30ヶ月齢以上牛で解体所見を比較した際に所見が見られる部位に差が認められた。

最後に

これまでEBLは5歳以上の牛で発生が多いという報告があったが、今回の調査では通常ラインにおける30ヶ月齢未満の肉用牛での発生も増加していることが確認できた。今後、安全な食肉の供給をするためにも繁殖農家だけでなく、肥育農家でもEBL対策の強化を図る必要があるので、定期的な連絡会議等で農政サイドと情報を共有し、協力していくことが必要であると思われた。



図7 EBLで見られた内臓所見



図8 EBLで見られたリンパ節の腫大



図9 月齢別の解体所見

地方病性牛白血病の迅速診断の試み

神田卓弥 富野由通 郷原正文 福里吉文
志布志食肉衛生検査所

はじめに

地方病性牛白血病(EBL)は牛白血病ウイルス(BLV)に起因する牛の感染症であり、家畜伝染病予防法においては届出伝染病であり、と畜場法においても、全部廃棄対象疾病である。近年、本国でのEBL発生は増加傾向にあり、本県のと畜検査においても摘発数は増加傾向にある(図1)。BLV感染牛の30%で持続感染するとされ、5%でリンパ球増多症となる[1]。その半数でリンパ芽球性のリンパ腫を発症するとされており、生体において摘発することが難しい疾病であり、その多くがと畜場で摘発されている。

BLVは牛のリンパ細胞(B1細胞)に自身の遺伝子をプロウイルスとして組み込み、増殖する。そのため、抗原検出には広くnested-PCRを用いたプロウイルス検出が用いられている。しかしながら、このnested-PCRはDNA抽出と2回のPCRを行うため、その手技は煩雑で、判定までに3時間以上を要する検査である。そこで、EBLの診断を迅速、簡便にするため、市販されている紙媒体によるDNA抽出・保管手法を参考に、一般的なる紙を用いた簡易DNA抽出技術の検討を行った。

また、LAMPは遺伝子検出技術の一つで、迅速かつ高感度な検査として知られている。一般的にLAMPは、濁度により判定するため、濁度計を用いた判定が推奨される。そこで、専用機器を必要としないLAMPによる簡便・迅速なBLVプロウイルス検出法の検討を行った。

材料と方法

1. DNA抽出法

1) 検体

と畜検査においてEBLと診断された牛10頭から各5臓器(心臓、肝臓、腎臓、脾臓および体幹・付属リンパ節)を採材し、計50検体を材料に供した。

2) DNA抽出

DNA抽出は、下記の2つの手法(従来法・PEx)を用

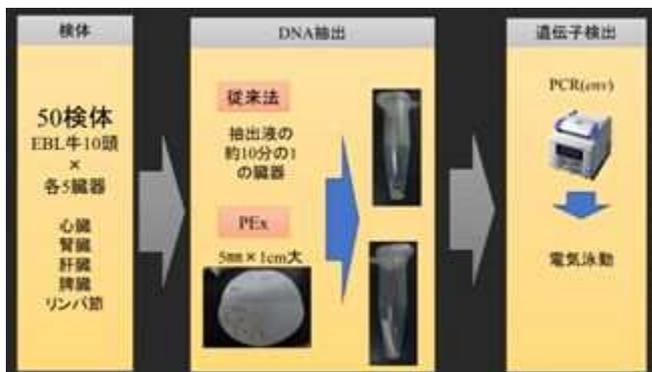


図2 DNA抽出法の検討方法(概略)

いて前処理を行い、DNA簡易抽出キット(Kaneka)を

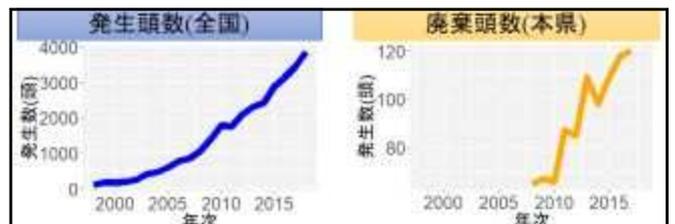


図1 EBL発生数(左)および摘発数(右)

抽出試薬としてDNA抽出を行った(図2)。

Iー従来法；DNA抽出液100uLに対し10mgの臓器を用いて抽出した。

IIーろ紙法(PEx)；ろ紙に臓器をスタンプし、DNA抽出液100uLに対し1x5mmに細切したろ紙を加え抽出した。

3) PCR

抽出したDNAを用いて、Env領域をターゲットにしたPCRを実施した[2]。

・ろ紙Direct-PCR

PExで用いたろ紙を1x3mmに細切したものをテンプレートとし、本県がEBL診断に用いているnested-PCRを実施した。

2. 遺伝子検出法

1) LAMP

プライマーは過去の報告を基に[3]、FASMACに委託精製した。LAMPの反応はLoopamp(栄研化学)を用い、説明書に準拠し試薬を調整した。検体として、

Nested-PCRでBLV陽性となった牛の16頭分のDNAを用い、Myabscope (Kaneka)を用い、63°Cで45分間反応させた。最終的な判定は、濁度を目視により確認した。

2) カラーチェンジLAMP (c-LAMP)

DNAの増幅によりpHが低下することが報告されており[4]、それを応用したpHの変化を利用したLAMPが確立されている[5]。c-LAMPは、x2 c-LAMP bufferは、表に示す試薬を混合しDDWを500uL加え、0.5M KOHでbufferが赤色(pH8.0-8.4程度)に調整し(図3)、1000uLまでメスアップしてc-LAMPのx2 bufferを作製し、c-LAMPはDDW 7.5uL, x2 buffer 12.5uL, x10 primer MIX(16uM FIP/BIP, 2uM BLP/FLP, 8uM F3/B3) 2.5uL, *Bst* DNA Polymerase(ニッポンジーン) 0.5uL, テンプレートDNA 2uLを混合し、65°C30分反応させた。さらに、EBLの検体を用いた10倍段階希釈した材料を用い、Nested-PCRとc-LAMPを行い、検出限界の比較を行った。

表1 x2 c-LAMP bufferの組成 (1ml)

試薬	メーカー	(uL)
0.4M Mg2SO4	関東化学	40
0.5M (NH4)2SO4	関東化学	40
0.1M KCL	関東化学	40
10mM dNTPs	New England Labs	240
10% (v/v) Tween20	ナカライテスク	10
10mM フェノールレッド	富士フィルムワコー	40

結果

1. DNA抽出法

従来法で抽出したDNAでは、76%(38/50)の検体で陽性、PExの場合は、すべての検体(50/50)が陽性となった(表2)。



図3 フェノールレッドのpHによる色調

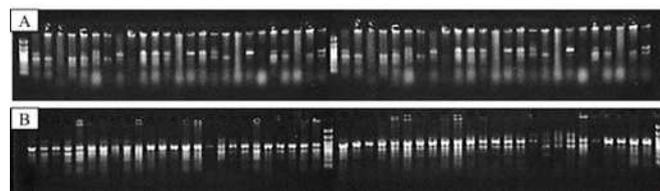


図4 従来法(A)と PEx(B)のDNAを用いたPCR さらに泳動像において、PExでは比較的明瞭なバンドを確認できた(図4)。

泳動像の比較において、DNA抽出を省略したろ紙Direct-PCRでは、DNAを抽出したPExと大きな違いは認められなかった(図5)。しかしながら、DNA抽出を行ったPExでは、陽性11検体、陰性2検体となった。これに対し、DNA抽出を行わなかったろ紙Direct-PCRでは、陽性9検体、陰性4検体となり、PExとの一致率は86.4%であった(表3ljhf)。

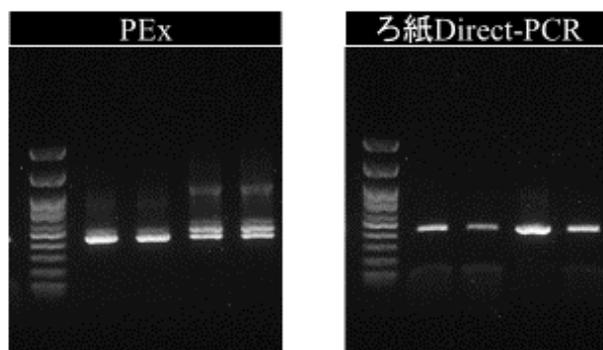


図5 PEx(左)とろ紙Direct(右)のPCR

2. 遺伝子検出

Nested-PCR陽性16頭分のDNAは、LAMPでもすべての検体で陽性であり、一致率は100%であった。

c-LAMPにおいて、15分で 10^2 希釈まで(図6A上)、30分で 10^3 希釈まで(図6A下)で色調が赤から黄色に変わり、陽性となった。一方、nested-PCRでは 10^2 希釈まで検出でき(図6B)、c-LAMPはnested-PCRと同等程度の感度を有していた。

定価で算出した1件体当たりのコストはそれぞれ、PCRは160円/sample, LAMP(Loopamp)は440円/sample, c-LAMPは、150円/sampleであった(表4)。

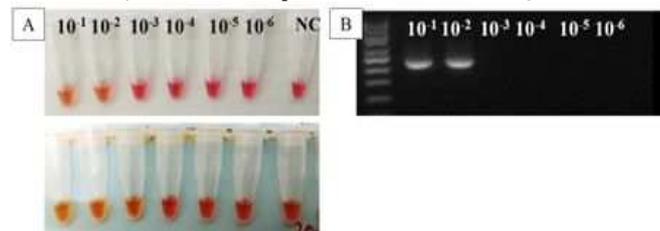


図6 c-LAMP(A)とnested-PCR(B)の結果

表2 従来法とPExのPCR結果

		従来法	
		陰性 (n=12)	陽性 (n=38)
PEx	陰性 (n=0)	0	0
	陽性 (n=50)	12	38

表3 PExとろ紙Direct-PCRのPCR結果

		ろ紙Direct-PCR	
		陰性 (n=4)	陽性 (n=9)
PEx	陰性 (n=2)	2	0
	陽性 (n=11)	2	9

考 察

本調査において、ろ紙を用いた PEx は特別な技術、機材が不要でありながら、効率的な DNA 抽出法であると思われた。スライドガラスを用いた細胞診において、腫瘍細胞が多く見られることから、ろ紙においても同様に、腫瘍細胞が多ろ紙に捕集され、さらに、タンパクが熱変性によりろ紙に固定されたことで、抽出液への夾雑物の混入が減り、泳動像が明瞭になったと推察している。DNA 抽出を省略したろ紙 Direct-PCR では、DNA 抽出に係る費用、時間、手技を省略することが可能であった。本調査では、抽出を実施する PEx より、検出感度は低い結果であったが、これは初期変性の時間を長くすることで、改善されるものと考えており、今後も検討を重ねていきたと考える。

LAMP は PCR の結果と一致しており、大幅な時間短縮、簡素化を実現するものであった。濁度は標的遺伝子の増幅に比例しており、リアルタイムに検出でき、PCR と比較して簡素化・迅速化に寄与するものであった。さらに、c-LAMP は、判定が赤から黄色への色調の変化によるもので、客観的に評価をすることが可能であり、等温装置だけの試験においても、信頼判定が得られるものと思われた。

表4 各検査系の費用と時間

	nested-PCR	LAMP	c-LAMP
費用	320 円	400 円	130 円
時間	3 時間	45 分	30 分

pH による増幅のモニタリングは指示薬としていくつかの試薬を試してみたが、フェノールレッドは、室温と 65 °C での色調に顕著な差は認めなかった。さらにフェノールレッドはメジャーな pH 指示薬で、安価であることから、コスト面でも抑えることが可能であった。また、さらに c-LAMP は、PCR と同等程度のコストでありながら、迅速・簡便な検査を可能にした。

本調査において、PEx は PCR においては有効な結果であったが、c-LAMP は pH 依存性であり、PEx を c-LAMP に適応させることができなかった。PEx は簡便で、良質な DNA を得ることができる方法であると考えており、今後も DNA 抽出から LAMP までの一貫の検査系として迅速・簡便な BLV 検出系の検討を継続する。

謝 辞

本研究遂行に際し、等温増幅装置「Myabscope」を貸与いただき、本研究へのご協力・ご理解いただきましたこと株式会社Kanekaの兼崎様に深謝申し上げます。

参 考 文 献

- [1] Australia and New Zealand Standard Diagnostic Procedures. 2005
- [2] Monti GE, Frankena K, Engel B, Buist W, Tarabla HD, de Jong MC. Evaluation of a new antibody-based enzyme-linked immunosorbent assay for the detection of bovine leukemia virus infection in dairy cattle. J Vet Diagn Investig. 2005;17:451-7.
- [3] Komiyama C, Suzuki K, Miura Y, Sentsui H. Development of loop-mediated isothermal amplification method for diagnosis of bovine leukemia virus infection. J Virol Methods. 157(2):175-179.2009.
- [4] Toumazou C, Shepherd LM, Reed SC et al. Simultaneous DNA amplification and detection using a pH-sensing semiconductor system. Nat Methods. 2013. (7):641-6.
- [5]

フィードバック対象農場における肺炎由来菌の薬剤感受性試験

山田広子 矢野貴久¹⁾ 堀郁子 川畑仁志 仲町康正

鹿屋食肉衛生検査所 1) 志布志保健所

はじめに

当所とフィードバック対象A農場とは、平成28年11月より出荷計画検討会で情報交換を行っている。昨年度技術研修会では頻発する肺炎等の検査データ解析を通じた双方向性フィードバックの概要を報告した。今回はさらに、疾病対策の一助となるよう、A農場で頻発する肺病変からの菌分離とその薬剤感受性試験等を実施したのでその概要を報告する。

材料と方法

A農場で多く見られた硬結、膨隆した病巣（図1）または膿瘍を有する肺（図2）21検体から直接スタブにて菌分離を試みた。分離菌の同定は簡易キット（HN-20キット[®], rapid ID32 STREP, rapid ID32E）を用い、そのうち*Actinobacillus pleuropneumoniae* (App) と同定された株については血清型判別を目的としたmultiplex-PCR [1] を実施した。

薬剤感受性試験は、ヘモフィルテスト寒天培地またはミュラーヒント寒天培地を用い、ベンゾルペニシリン(PC)・アンピシリン(ABPC)・アモキシシリン(AMPC)・セファゾリン(CEZ)・カナマイシン(KM)・エリスロマイシン(EM)・テトラサイクリン(TC)・ドキシサイクリン(DOXY)・クロラムフェニコール(CP)・エゾフロキサシン(EFRX)・ST合剤(ST)の8系統11薬剤に対して1濃度ディスク法(KB法)にて実施した。さらにApp株については、Etestを用いて3薬剤(ABPC, TC, CP)の最小発育阻止濃度(MIC)を測定した。また、昨年度同農場から分離されたApp6株についても同様に試験を実施し、比較を行った。

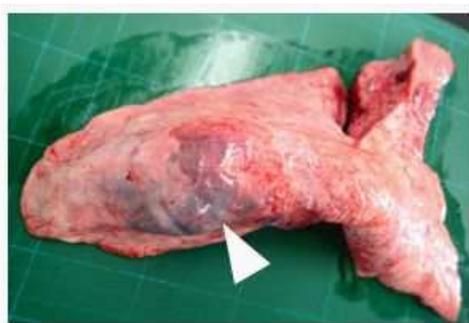


図1 硬結、膨隆した病巣（矢頭）



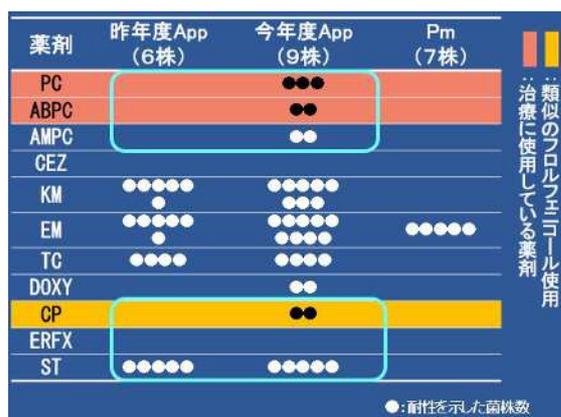
図2 肺膿瘍（矢頭）

結果

採取した21検体から23菌株が分離され、内訳はAppが9株(血清型2型(7), 1型(1), 不明(1)), 次いで*Pasteurella multocida* (Pm)が7株, その他の菌種が7株であった。また、21検体中2検体からは2菌種が分離された。

薬剤感受性試験の結果、KB法で耐性が認められたのは、昨年度App株(6)ではKM(6)・EM(6)・TC(4)・ST(5)であった。一方今年度のApp株(9)ではPC(3)・ABPC(2)・AMPC(2)・KM(8)・EM(9)・TC(4)・DOXY(2)・CP(2)・ST(5)で8薬剤耐性株も認められた。また、Pm株(7)ではEM(5)に耐性が認められた(表1)。MIC測定結果からは、今年度のApp株で、ABPC(2)・TC(2)・CP(1)に耐性が認められ、KB法の結果と相関があった。

表1 KB法による薬剤感受性試験で
各薬剤に耐性を示した菌株数



考察

今回の調査では肺病変からの分離菌はApp及びPmが全体の約7割を占めた。このうち今年度のApp株では、昨年度の株で耐性が確認された4薬剤に加え、新たに5薬剤でも耐性株が確認され、耐性が拡大傾向にあることが示唆された。さらに、同農場ではPC、ABPC及びフロルフェニコールを使用しているが、前2者は今回初めて耐性が確認された薬剤に含まれ、後者についても作用機序が類似するCPで今回耐性が認められたことから、今後の投与方法を慎重に考える必要があると思われた。

今回のようなデータのフィードバックを積み重ねることが、農場による詳細な現況把握と適切な対策の一助となり、安心安全な食肉を消費者へ供給することにつながると思う。

参考文献

- [1] 伊藤博哉：日獣会誌、64、184-186 (2011)

過去の業績発表及び調査研究（平成10年度以降）

年度	検査所名	発表内容及び研究内容
平成10	知覧食肉衛生検査所 串木野食肉衛生検査所 阿久根食肉衛生検査所 大口食肉衛生検査所 末吉食肉衛生検査所 志布志食肉衛生検査所	<ul style="list-style-type: none"> ・豚赤痢様病変及び大腸炎を呈した豚の結腸粘膜から分離された <i>Serpulina</i> 属菌の性状について ・と畜場で認めれた牛の悪性水腫について ・豚肺炎からの <i>Actinobacillus pleuropneumoniae</i> の分離 ・豚の敗血症（第1報） ・PCRにおけるペロ毒素産生性大腸菌検出感度の向上 ・豚におけると畜検査データの解析とフィードバックシステムへの応用 ・養豚農家へのフィードバック事業
平成11	知覧食肉衛生検査所 大口食肉衛生検査所 末吉食肉衛生検査所 志布志食肉衛生検査所 鹿屋食肉衛生検査所	<ul style="list-style-type: none"> ・精度管理の立場からみた <i>Bacillus subtilis</i>, <i>Bacillus mycoides</i>, <i>Micrococcus luteus</i> の各種抗生物質の感受性について ・牛の病畜検査状況と健康畜で検査した枝肉及び肝臓の疾病状況（誌上発表） ・豚の敗血症（第2報）－フィードバック事業の1つの成果－ ・牛の肝臓及び胆汁からの <i>Campylobacter</i> 属菌の検出 ・豚盲腸内容物におけるサルモネラ保菌調査 ・と畜場で認められた牛の嚢胞腺癌の1症例 ・豚血清中のインフルエンザウイルス抗体の継続的観察
平成12	知覧食肉衛生検査所 阿久根食肉衛生検査所 大口食肉衛生検査所 末吉食肉衛生検査所 志布志食肉衛生検査所 鹿屋食肉衛生検査所	<ul style="list-style-type: none"> ・鶏白血病について ・肝蛭による病変 ・筋間水腫における一考察 ・と畜場における牛のヨーネ病診断事例 ・豚の敗血症（第3報）－フィードバック事業の一例－ ・と畜場で認められた牛の顆粒膜細胞腫の1症例 ・HPLCによる合成抗菌剤及び寄生虫用剤の同時分析法の検討 ・末吉食肉衛生検査所における口蹄疫発生時の対応経過 ・フィードバック農家の意向調査 ・ブロイラー養鶏農場におけるサルモネラ衛生対策 ～その1～
平成13	阿久根食肉衛生検査所 大口食肉衛生検査所 末吉食肉衛生検査所 志布志食肉衛生検査所 鹿屋食肉衛生検査所	<ul style="list-style-type: none"> ・気腫疽と悪性水腫の鑑別と迅速診断 ・県下の大規模食鳥処理場における細菌汚染調査について ・豚繁殖・呼吸障害症候群ウイルス（PRRSV）の抗体保有率及び分離状況について ・豚頭肉の汚染状況 ・と畜場搬入牛・豚における Q 熱リケッチア抗体保有ならびに <i>Coxiella burnetii</i> 遺伝子の検出状況 ・ブロイラーにおけるサルモネラおよびカンピロバクター保菌調査

年度	検査所名	発表内容及び研究内容
平成14	知覧食肉衛生検査所 阿久根食肉衛生検査所 末吉食肉衛生検査所 鹿屋食肉衛生検査所	<ul style="list-style-type: none"> ・敗血症(心内膜炎型)の培養法に関する検討 ・豚のリンパ類上皮細胞性(Lennert)リンパ腫の一例 ・DFD様筋肉変性鶏(ブロイラー)に対する伝染性気管支炎ウイルス(IBV)および腎疾患の関与について ・湯はぎ式解体ラインにおける枝肉細菌数の推移 ・と畜段階及び生産段階における発育不良豚の実態と処理方法に関する一考察
平成15	知覧食肉衛生検査所 串木野食肉衛生検査所 阿久根食肉衛生検査所 末吉食肉衛生検査所 鹿屋食肉衛生検査所	<ul style="list-style-type: none"> ・関節炎型豚丹毒の凝集反応法による診断法の検討 ・発育不良の黒毛和種牛における腎尿細管異形成の一症例 ・正常肥育豚の血液検査及び発育不良豚との比較 ・慢性貧血が疑われた高齢牛の一症例 ・豚丹毒迅速診断の比較検討 ・と畜豚の肺疾患及び豚繁殖・呼吸器障害症候群ウイルス(PRRSV), 豚サーコウイルス2型(PVC2)および豚オーエスキー病ウイルス(ADV)との関係について ・ブロイラーにおける胆管肝炎の病理 ・湯はぎ式解体ラインにおける衛生管理への取り組み
平成16	知覧食肉衛生検査所 串木野食肉衛生検査所 阿久根食肉衛生検査所 大口食肉衛生検査所 末吉食肉衛生検査所 鹿屋食肉衛生検査所	<ul style="list-style-type: none"> ・黒毛和種牛におけるクローディン16欠損症とその類似疾患 ・豚カット室における細菌数の変動と衛生対策の効果 ・豚のアレルギー性皮膚炎について ・食鳥検査でみられたブロイラーの <i>Aspergillus flavus</i> 感染症 ・牛, 豚の体表におけるリステリア属菌付着状況調査 ・と畜場で発見される豚抗酸菌症への一考察(ホルマリン固定材料からの抗酸菌検索) ・豚解体処理工程別の枝肉細菌数の推移と衛生管理の改善への試み ・PCRによる <i>Clostridium chauvoei</i> と <i>Clostridium septicum</i> の迅速鑑別診断の検討 ・DFD様筋肉変性鶏の過酸化脂質及び深胸筋と肝臓のプロテオーム解析 ・管内一と畜場におけるサルモネラ浸潤状況
平成17	知覧食肉衛生検査所 串木野食肉衛生検査所 阿久根食肉衛生検査所 大口食肉衛生検査所 末吉食肉衛生検査所 志布志食肉衛生検査所 鹿屋食肉衛生検査所	<ul style="list-style-type: none"> ・発育不良豚血漿のプロテオーム解析 ・成鶏に見られた骨外性骨肉腫の一例 ・と畜検査時にみられた牛のアクチノバチルス症 ・<i>Clostridium septicum</i> 分離同定法の一考察 ・クマリン系殺鼠剤中毒を疑った豚のHPLC分析 ・豚丹毒迅速診断の比較検討(第2報) ・牛の胆汁中における <i>Campylobacter</i> 汚染調査及び分離菌株の遺伝子型比較 ・大規模食鳥処理場におけるカンピロバクター汚染状況調査 ・豚赤痢のPCR法導入による迅速診断と病理組織学的診断の比較検討 ・PCR法による抗酸菌検出法の検討 ・間質性肝炎を呈する豚肝臓の細菌汚染調査(第1報) ・寄生虫用剤イベルメクチンの牛への残留状況について ・残留抗生物質簡易検査における <i>Bacillus mycoides</i> 芽胞原液作成法の検討

年度	検査所名	発表内容及び研究内容
平成18	阿久根食肉衛生検査所 大口食肉衛生検査所 末吉食肉衛生検査所 志布志食肉衛生検査所 鹿屋食肉衛生検査所	<ul style="list-style-type: none"> ・異常な臭い及び黒色を呈する牛の大腸に関する調査 ・<i>Streptococcus gallolyticus</i> が分離されたブロイラーの心内膜炎 ・食鳥検査データからみたと体廃棄の原因疾病 ・牛枝肉の脳・脊髄組織汚染状況調査及び汚染除去方針の検討 ・豚敗血症（心内膜炎型）からの <i>Streptococcus suis</i> 分離状況調査 ・ブロイラーの育成から出荷過程におけるカンピロバクター汚染状況調査 ・牛血漿の SDS-PAGE 解析 ・食鳥処理場におけるカンピロバクター汚染状況調査（第1報） ・緊急搬入牛から検出されたイベルメクチンについて（症例報告） ・豚腸管由来の多剤耐性 <i>Salmonella Typhimurium</i> (ST) 分離状況と分離株の特徴
平成19	串木野食肉衛生検査所 阿久根食肉衛生検査所 大口食肉衛生検査所 末吉食肉衛生検査所 志布志食肉衛生検査所 鹿屋食肉衛生検査所	<ul style="list-style-type: none"> ・と畜場搬入豚由来 <i>Salmonella Choleraesuis</i> の薬剤感受性とプラスミドプロファイナル ・バイオアッセイによる抗菌性物質の感受性試験 ・牛の好酸球性筋炎の1症例 ・管内と畜場でみられた豚サルモネラ症の発生状況 ・食肉衛生検査所における牛の腫瘍 ・県下で分離された腸管出血性大腸菌 O157の疫学的検討 ・牛，豚糞便からの O157分離状況調査 ・残留抗生物質簡易検査用 <i>Bacillus mycoides</i> 芽胞菌液作成及び保存法の検討 ・一部廃棄としたブロイラーの肝炎に関する調査
平成20	知覧食肉衛生検査所 阿久根食肉衛生検査所 大口食肉衛生検査所 末吉食肉衛生検査所 志布志食肉衛生検査所 鹿屋食肉衛生検査所	<ul style="list-style-type: none"> ・病畜牛における血漿中ビタミン A，E と副腎皮質ホルモン（コルチゾール）の測定 ・ML培地における豚肝臓の抗菌作用 ・県内のと畜場でみられた牛白血病の基礎的調査 ・と畜場に搬入された豚におけるサルモネラの保菌状況及び疫学的検討（第1報） ・豚尿毒症の調査結果について ・と畜場でみられた牛の腫瘍と牛白血病抗体保有状況 ・食肉衛生検査微生物分野におけるカラーアトラスの作成（平成19年度微生物部会調査研究） ・家畜由来カンピロバクターの薬剤感受性成績
平成21	阿久根食肉衛生検査所 大口食肉衛生検査所 末吉食肉衛生検査所 志布志食肉衛生検査所 鹿屋食肉衛生検査所	<ul style="list-style-type: none"> ・食肉衛生検査所における牛白血病の鑑別 ・と畜場に搬入される牛のレプトスピラ浸潤状況調査 ・と畜場搬入豚の肝臓及び盲腸便から分離された <i>Salmonella Choleraesuis</i> の疫学的検討 ・MGIT法及びPCR法を併用した抗酸菌検出法の検討（平成20年度微生物部会調査研究） ・管内と畜場における牛腫瘍の発生状況 ・サルモネラ相誘導試験における簡易法の検討

年度	検査所名	発表内容及び研究内容
平成22	知覧食肉衛生検査所 串木野食肉衛生検査所 阿久根食肉衛生検査所 末吉食肉衛生検査所 志布志食肉衛生検査所 鹿屋食肉衛生検査所	<ul style="list-style-type: none"> 管内と畜場で見られた緊急搬入牛における肺炎調査 食肉衛生検査所の施設検証の取り組みについて 食肉衛生検査所のフィードバックの取り組みについて 黒毛和種にみられた転移を伴う腎臓腫瘍 大規模食鳥処理場における衛生実態調査 住肉胞子虫の寄生が認められた牛の好酸球性筋炎の一症例 豚疣状心内膜炎由来 β 溶血性 <i>Streptococcus dysgalactiae subsp. equisimilis</i> の薬剤感受性と遺伝学的特徴 <i>Actinobacillus pleuropneumoniae</i> による豚の疣状性心内膜炎の発生実態 豚の疣状性心内膜炎から分離された <i>Actinobacillus equuli subsp. equuli</i>
平成23	阿久根食肉衛生検査所 大口食肉衛生検査所 末吉食肉衛生検査所 志布志食肉衛生検査所 鹿屋食肉衛生検査所	<ul style="list-style-type: none"> 食肉・食鳥検査等カラーアトラスデータの簡易データベース化 対米輸出食肉を取り扱うと畜場等に係る認定までの衛生指導について 食鳥処理場におけるカンピロバクター汚染低減への取り組み 管内と畜場で分離された <i>Salmonella Choleraesuis</i> の性状 管内と畜場における豚丹毒の疫学的検討 管内と畜場で牛白血病が疑われた症例の検討 牛のリンパ腫におけるスタンブ標本を用いた免疫組織化学的検査の有用性 全身性腫瘍が疑われた牛2例の病理組織学的検討 食鳥処理場における ESBL 産生 <i>Escherichia Coli</i> の浸潤調査
平成24	知覧食肉衛生検査所 阿久根食肉衛生検査所 大口食肉衛生検査所 末吉食肉衛生検査所 志布志食肉衛生検査所 鹿屋食肉衛生検査所	<ul style="list-style-type: none"> 管内と畜場でみられた敗血症型豚丹毒2症例 牛胆汁及び直腸便の <i>Campylobacter jejuni/coli</i> 分離状況及び分離方法の検討 大規模食鳥処理場における施設衛生指導について 管内と畜場における豚丹毒の発生状況 豚丹毒が多発した農場の分離株における遺伝子型別と薬剤感受性 MALDI-TOF MS 活用による豚丹毒菌迅速同定法の検討（第一報） LAMP 法を用いた <i>Streptococcus.suis</i> の検出法の検討 T細胞性リンパ腫の病理組織学的検討 リンパ腫と中皮腫の併発が疑われた牛の病理組織学的検討 と畜場搬入豚由来 <i>Actinobacillus pleuropneumoniae</i> の薬剤感受性 PCR-RFLP 法により未知の遺伝子型が確認された牛白血病の一症例

年度	検査所名	発表内容及び研究内容
平成25	知覧食肉衛生検査所 串木野食肉衛生検査所 阿久根食肉衛生検査所 末吉食肉衛生検査所 志布志食肉衛生検査所 鹿屋食肉衛生検査所	<ul style="list-style-type: none"> 成鶏における <i>Campylobacter jejuni/coli</i> の保菌調査及び検出法の検討 病畜と室における牛のと畜検査概要 と畜検査における腸病変(牛・豚)の病理アトラス作成 ブロイラーのカンピロバクター保菌調査及び食鳥処理場の汚染状況(第1報) 対米等牛肉輸出認定施設におけると畜解体工程の衛生管理に係る検証 と畜場で認められた牛の悪性水腫の検査と対応(事例報告) Propidium monoazide (PMA) を用いた豚丹毒早期診断法の検討 ブロイラーにおけるカンピロバクターの保菌及び製品汚染調査 <i>Streptococcus suis</i> における ST1complex の分布状況調査及び簡易識別法の検討 対シンガポール輸出食肉を取り扱うと畜場等の認定までの経緯と対応
平成26	知覧食肉衛生検査所 串木野食肉衛生検査所 阿久根食肉衛生検査所 大口食肉衛生検査所 末吉食肉衛生検査所 志布志食肉衛生検査所 鹿屋食肉衛生検査所	<ul style="list-style-type: none"> 牛の真性多血症の一例について 牛の肝臓・胆嚢及び糞便における腸管出血性大腸菌及びカンピロバクターの保菌状況調査 カンピロバクター保菌調査及び食鳥処理場における汚染状況調査 と畜検査でみられた牛の脳幹部硬膜下膿瘍 大規模食鳥処理場の各処理工程におけるカンピロバクター汚染実態調査 ワーキンググループを活用したと畜場等への衛生講習会 食鳥検査でみられた鶏マラリア 県内と畜場における豚丹毒の発生状況 と畜場で発生したヨーネ病の検査事例 腸内細菌科群数を用いた牛豚枝肉の胃腸内容物汚染の検討 対米等及び対 EU 輸出牛肉認定施設におけるサルモネラ属菌の分離試験に関する一考察 プレミックス試薬を用いたダイレクトコロニー PCR 法の検討
平成27	知覧食肉衛生検査所 阿久根食肉衛生検査所 大口食肉衛生検査所 末吉食肉衛生検査所 志布志食肉衛生検査所 鹿屋食肉衛生検査所	<ul style="list-style-type: none"> マルボフロキサシン残留が認められた牛の一例 牛のマイコプラズマ関連疾病肝臓 と畜検査でみられた皮膚型牛白血病および非定型型牛白血病 ブロイラーの多発性黒色腫 豚にみられた腎芽腫の1例 豚と畜検査データフィードバックにおける SEP グレード分けの取り組み <i>Clostridium</i> 属菌が分離された4症例と検査方法の検討 食鳥におけるサルモネラの保菌状況調査 枝肉検査時に認められる牛胸部石灰化病変の検討 豚と畜場及び食肉処理場における衛生指導の一考察 と畜検査において、豚骨髓性白血病を疑った事例 保存菌株台帳のデータベース化とその活用の検討

年度	検査所名	発表内容及び研究内容
平成28	知覧食肉衛生検査所	・と畜場における牛枝肉の衛生対策
	串木野食肉衛生検査所	・過去10年間のと畜検査データのまとめ及び検査所におけるフィードバック事業の取り組み
	阿久根食肉衛生検査所	・ <i>Mycoplasma bovis</i> が関与した牛の心内膜炎
	大口食肉衛生検査所	・と畜場における口蹄疫実務実践型防疫演習の概要と検証
	末吉食肉衛生検査所	・鹿児島県内の大規模食鳥処理場で分離された <i>Salmonella Infantis</i> , <i>S.Schwarzengrund</i> 及び <i>S.Manhattan</i> の保有プラスミドと薬剤耐性
	志布志食肉衛生検査所	・BLV陰性牛でみられたB細胞性リンパ腫 ・FSIS（米国食品安全検査局）指摘事項の変遷
	鹿屋食肉衛生検査所	・豚枝肉における微生物汚染調査（平成27年度微生物部会調査研究報告） ・牛にみられた腹腔内播種性腫瘍の1例 ・食鳥処理場で分離された大腸菌の薬剤感受性
平成29	知覧食肉衛生検査所	・生食用食鳥肉加工工程における細菌汚染実態調査
	串木野食肉衛生検査所	・大規模食鳥処理場におけるカンピロバクター等の微生物汚染の調査とその対策 ～厚生労働省「亜塩素酸水処理による微生物低減策の有効性実証事業」～
	阿久根食肉衛生検査所	・豚赤痢の分離培地及び検査法の検討
	大口食肉衛生検査所	・黒毛和種における <i>Mycoplasma bovis</i> の浸潤状況
	末吉食肉衛生検査所	・ヨーネ病対応マニュアルの作成
	志布志食肉衛生検査所	・スタンプ標本を用いた免疫組織化学的染色による牛白血病の簡易診断法 ・尿毒症に係る検査方法の調査 ・食鳥検査結果と農場生産成績の関連性
	鹿屋食肉衛生検査所	・牛及び豚敗血症由来 <i>Trueperella pyogenes</i> の薬剤感受性と遺伝学的特徴 ・鶏大腸菌症由来 <i>Escherichia coli</i> の薬剤耐性および遺伝学的特徴 ・ <i>Clostridium</i> 属菌の混合感染症における菌種同定PCR法の検討 ・牛の原発不明腺癌の1例
平成30	知覧食肉衛生検査所	・鶏肝臓におけるカンピロバクター汚染状況調査
	串木野食肉衛生検査所	・牛の腹腔内腫瘍にみられた内分泌系腫瘍の1例
	阿久根食肉衛生検査所	・大規模食鳥処理場における衛生指導及び細菌汚染低減への取り組み
	大口食肉衛生検査所	・豚の心臓腫瘍の1例と疣贅性心内膜炎の比較
	末吉食肉衛生検査所	・豚の疣贅性心内膜炎由来 <i>Streptococcus suis</i> の疾病リスクと薬剤耐性状況調査 ・酸性電解水及び過酢酸製剤処理による微生物汚染低減効果の検証 ～平成29年度厚生労働省「食鳥肉における微生物汚染低減策の有効性実証事業」実績報告～
	志布志食肉衛生検査所	・管轄食鳥処理場等への外国政府調査の概要 ・農場へい死鶏及び食鳥検査廃棄鶏における鶏病原性大腸菌の遺伝子学的比較
	鹿屋食肉衛生検査所	・輸出認定施設におけるATP拭き取り検査を活用した衛生指導 ・ <i>Lawsonia intracellularis</i> によると考えられる豚の小腸炎に関する調査 ・と畜検査データの双方向性フィードバックの一例

年度	検査所名	発表内容及び研究内容
令和元	知覧食肉衛生検査所 串木野食肉衛生検査所 大口食肉衛生検査所 阿久根食肉衛生検査所 末吉食肉衛生検査所 志布志食肉衛生検査所 鹿屋食肉衛生検査所	<ul style="list-style-type: none"> ・食肉加工施設における食鳥肉の表面加熱の効果の検証 ・と畜データを活用した地方病性牛白血病(EBL)の発生状況の調査 ・鶏病原性大腸菌の鶏の増体への関連因子 ・食鳥処理場のカンピロバクター汚染度把握と低減への取り組み ・黒毛和種肥育牛における血液性状と枝肉成績との関連 ・<i>Mycoplasma</i> の関与した心内膜炎および腹大動脈塞栓を認めた牛の症例 ・食鳥処理場で検出された <i>Campylobacter jejuni</i> におけるギランバレー症候群 (GBS) 関連遺伝子の保有調査 ・鶏病原性大腸菌の鶏の増体への関連因子 ・地方病性牛白血病の迅速診断の試み ・フィードバック対象農場における肺炎由来菌の薬剤感受性試験