

## 学 位 論 文 要 旨

氏名 矢野 小夜子

題 目：肉用鶏農場における *Campylobacter jejuni* の伝播並びに鶏の日齢が *C. jejuni* の定着に及ぼす影響に関する研究

### 論文要旨：

鶏は *Campylobacter jejuni* を腸管内に保菌していることがあり、それによって鶏が臨床症状を呈することはほとんどない。しかし、本菌に汚染された鶏肉等を介してヒトが感染した場合、消化器症状を呈することがあり、特に小児が感染した場合は血便をともない重篤化することや、ギラン・バレー症候群に先行する消化器感染は本菌によるものである場合が多い等、公衆衛生学上重要である。鶏肉を介した *C. jejuni* による食中毒のリスク低減のためには、鶏群への本菌の伝播を防止することが最も有効と考えられるが、農場への伝播経路や鶏がいつ本菌に曝露されるのかについては明らかでないことから、農場での感染防止策は未だ確立されていない。申請者は、ブロイラー鶏を飼養する商業農場におけるモニタリングを通じて、鶏群に本菌が浸潤する経緯を明らかにし、感染防止策を講じる必要性を認識した。そこで、本菌の農場への伝播経路と糞便への排菌が暴露の日齢に依存している可能性を明らかにすることを目的として本研究を行った。

第1章においては、*C. jejuni* の伝播のメカニズムを明らかにするため、3つのブロイラー農場（農場1、2及び3）及び1つの地鶏農場（農場4）において2003年から2012年の期間、本菌のモニタリングを行った成績を記載した。農場1、2及び3は企業養鶏会社に属し、14km以上離れた位置に設置され、共通する6つの孵卵場から初生のひなを導入し、同じ飼料会社の飼料を用いて飼養している。農場4は、上記と異なる企業に属し、農場1と270mの距離に位置している。4つの農場で採取された565の糞便試料から258株の *C. jejuni* が分離され、べん毛遺伝子 *flaA* のPCR産物の制限酵素切断断片長多型解析（RFLP）により10のRFLP型に区別された。複数の孵卵場から導入された各農場の複数の鶏舎の鶏個体から分離された *C. jejuni* は同一のRFLP型を示した。鶏群の飼養期間に1ないし2つのRFLP型の菌が定着しており、鶏群の更新とともに別のRFLP型を示す菌が分離される場合もあった。ハウスキーピング遺伝子の塩基配列の解析に基づくMultilocus Sequence Typing (MLST) 解析の結果、異なるRFLP型の菌はそれぞれ別のMLST型に区別された。農場1及び4、また、農場1及び2の鶏から分離された菌株において、それぞれRFLP及びMLST型が同一の菌株が認められた。野生動物の行動調査により、農場1敷地と農場4敷地の間を夜間におけるシカの行き来が示唆され、農場1の敷地内で採取したカラスの糞便から *C. jejuni* が分離されたことから、野生動物が伝播に関与している可能性も否定できないと考えられた。以上の成績から、異なる企業に属し異なる孵卵場からヒナを導入している農場において分離された *C. jejuni* は、農場の外部に存在する共通する起原に由来し、ひな導

入後に鶏群に伝播している可能性が示唆された。

第 2 章においては、*C. jejuni* に曝露される鶏の日齢が、その後の保菌および排菌に及ぼす影響を検討した結果を記載した。多くの場合、ブロイラー農場において 2・3 週齢以降の鶏の糞便から本菌が分離される。糞便への排菌が、本菌に曝露される日齢と関連があるかどうかを明らかにするために、異なる日齢のブロイラー鶏に *C. jejuni* を経口接種し、経時的に排菌を調査し、出荷日齢に到達した際の盲腸内容からの菌分離も合わせて試みた。コマーシャル養鶏農場に導入されるブロイラーのヒナの一部を譲り受け、隔離された環境で飼養し、 $5.5 \times 10^7$  から  $5.4 \times 10^8$  CFU の菌を、0、7、14、21、28 及び 35 日齢に接種した。感染実験に用いた以外のヒナは、上記コマーシャル農場において飼養され、糞便中の *C. jejuni* をモニタリングした。0 から 14 日齢に接種した鶏では、42 日齢まで糞便中への排菌を認めなかったが、一部の鶏の盲腸内容から本菌が分離され、分離菌株の *flaA* 遺伝子の制限酵素切断断片長多型解析 (RFLP) の結果、接種菌株の RFLP 型と一致した。21 から 35 日齢の鶏に接種した場合は、接種の 2・3 日後に糞便中への排菌を認め、49 日齢に至るまで継続的に排菌した。糞便 1 グラムあたりの生菌数は最大で  $1.7 \times 10^8$  から  $1.0 \times 10^{10}$  CFU に達した。感染実験に供した鶏の糞便から分離された *C. jejuni* の RFLP 型は接種に用いた菌とすべて一致した。コマーシャル農場においては、調査した 28 日齢の鶏 5 羽のうち 2 羽の糞便から *C. jejuni* が分離され、43 日齢では調査した鶏 5 羽すべてにおいて本菌が分離された。これらの菌の RFLP 型は、感染実験に用いた菌株のものと異なっていたため、ヒナが導入された後に農場において定着したことが強く示唆された。以上の成績から、2・3 週齢以下の鶏が *C. jejuni* に曝露された場合、盲腸等に保菌する可能性があること、また、3・4 週齢以降に本菌を糞便中に排菌している鶏の多くは、この日齢に達したときに曝露された可能性が示唆された。

本研究において得られた成績から、肉用鶏農場への *C. jejuni* の伝播経路は複数存在する可能性があり、農場外部の感染源より人、物品及び野生動物等の媒介要因によって農場内に持ち込まれたと推察された。また、3・4 週齢以降に鶏に曝露させないよう、農場外及び鶏舎外から本菌を持ち込む可能性のある人及び物品の移動の制限と消毒の徹底、野生動物侵入防止対策などいっそうの飼養衛生管理基準の遵守が重要であるとの結論に至った。

## 学位論文審査の結果の要旨

氏 名	矢野 小夜子
審 査 委 員	主 査：鳥取大学 教 授 村瀬 敏之
	副 査：鹿児島大学 教 授 中馬 猛久
	副 査：鳥取大学 教 授 山口 剛士
	副 査：鳥取大学 准教授 伊藤 啓史
	副 査：鳥取大学 准教授 尾崎 弘一
題 目	肉用鶏農場における <i>Campylobacter jejuni</i> の伝播並びに鶏の日齢が <i>C. jejuni</i> の定着に及ぼす影響に関する研究
<p>審査結果の要旨：</p> <p><i>Campylobacter jejuni</i> を腸管内に保菌している鶏が臨床症状を呈することはほとんどない。しかし、本菌に汚染された鶏肉等などを介してヒトが感染することがあるので、保菌鶏は公衆衛生学上重要である。鶏肉を介した <i>C. jejuni</i> による食中毒のリスク低減のためには、鶏群への本菌の伝播を防止することが最も有効と考えられるが、農場への伝播経路や鶏がいつ本菌に曝露されるのかについては明らかでない。申請者は、ブロイラー鶏を飼養するコマール農場におけるモニタリングを通じて、鶏群に本菌が浸潤する経緯を明らかにし、感染防止策を講じる必要性を認識した。そこで、本菌の農場への伝播経路と糞便への排菌が暴露の日齢に依存している可能性を明らかにすることを目的として本研究を行った。</p> <p>まず、3つのブロイラー農場（農場1、2及び3）及び1つの地鶏農場（農場4）において2003年から2012年の期間、本菌のモニタリングを行った（第1章）。農場1、2及び3は企業養鶏会社に属し、14 km 以上離れた位置に設置され、共通する6つの孵卵場から初生のひなを導入し、同じ飼料会社の飼料を用いて飼養していた。農場4は、上記と異なる企業に属し、農場1と270 m の距離に位置していた。4つの農場で採取した565の糞便試料から258株の <i>C. jejuni</i> が分離され、べん毛遺伝子 <i>flaA</i> のPCR産物の制限酵素切断断片長多型解析（RFLP）により10のRFLP型に区別された。複数の孵卵場から導入された各農場の複数の鶏舎の鶏個体から分離された <i>C. jejuni</i> は同一のRFLP型を示した。鶏群の飼養期間に1ないし2つのRFLP型の菌が定着しており、鶏群の更新とともに別のRFLP型を示す菌が分離される場合もあった。ハウスキーピング遺伝子の塩基配列の解析に基づくMultilocus Sequence Typing (MLST) 解析の結果、異なるRFLP型の菌はそれぞれ別の</p>	

MLST 型に区別された。農場 1 及び 4、また、農場 1 及び 2 の鶏から分離された菌株において、それぞれ RFLP 及び MLST 型が同一の菌株が認められた。野生動物の行動調査の結果から、野生動物が伝播に関与している可能性も否定できないと考えられた。以上の成績から、異なる企業に属し異なる孵卵場からヒナを導入している農場 1 及び農場 4 において分離された *C. jejuni* は、農場の外部に存在する共通する起原に由来し、ひな導入後に鶏群に伝播している可能性が示唆された。

続いて、*C. jejuni* に曝露される鶏の日齢が、その後の保菌および排菌に及ぼす影響を検討した (第 2 章)。すなわち、糞便への排菌が、本菌に曝露される日齢と関連があるかどうかを明らかにするために、異なる日齢のブロイラー鶏に *C. jejuni* を経口接種し、経時的に排菌を調査し、出荷日齢に到達した際の盲腸内容からの菌分離も合わせて試みた。商業養鶏農場に導入されるブロイラーのヒナの一部を譲り受け、隔離された環境で飼養し、 $5.5 \times 10^7$  から  $5.4 \times 10^8$  CFU の菌を、0、7、14、21、28 及び 35 日齢に接種した。感染実験に用いた以外のヒナは、上記商業農場において飼養され、糞便中の *C. jejuni* をモニタリングした。0 から 14 日齢に接種した鶏では、42 日齢まで糞便中への排菌を認めなかったが、一部の鶏の盲腸内容から本菌が分離された。21 から 35 日齢の鶏に接種した場合は、接種の 2-3 日後に糞便中への排菌を認め、49 日齢に至るまで継続的に排菌した。糞便 1 グラムあたりの生菌数は最大で  $1.7 \times 10^8$  から  $1.0 \times 10^{10}$  CFU に達した。感染実験に供した鶏の糞便から分離された *C. jejuni* の RFLP 型は接種に用いた菌とすべて一致した。商業農場においては、調査した 28 日齢の鶏 5 羽のうち 2 羽の糞便から *C. jejuni* が分離され、43 日齢では調査した鶏 5 羽すべてにおいて本菌が分離された。これらの菌の RFLP 型は、感染実験に用いた菌株のものと異なっていたため、ヒナが導入された後に農場において定着したことが強く示唆された。以上の成績から、2-3 週齢以下の鶏が *C. jejuni* に曝露された場合、盲腸等に保菌する可能性があること、また、3-4 週齢以降に本菌を糞便中に排菌している鶏の多くは、この日齢に達したときに曝露された可能性が示唆された。

本研究において得られた成績から、*C. jejuni* が農場外部の感染源より人、物品及び野生動物等の媒介要因によって農場内に持ち込まれたと推察された。また、3-4 週齢以降に鶏に曝露させないこと、飼養衛生管理基準の遵守が重要であるとの結論に至った。以上により、本論文は博士(獣医学)の学位を受けるにふさわしいものと判断した。