

食肉加工工程における食中毒菌の分子生物学的手法による 汚染源追跡とその防除法

東京海洋大学食品生産科学部門食品微生物学研究室・准教授 高橋 肇

■ 目 的

鶏肉加工工程におけるサルモネラを防除するためには、その汚染原因を明らかにし、加工工程におけるサルモネラの残存性、常在性を評価し、適切な洗浄法で完全に取り除く必要がある。本研究においては、鶏肉加工ライン上に混入しているこれら食中毒菌の動態を株レベルで把握するため、次世代シーケンサーを用いた core genome MLST (cgMLST) 法及び whole genome MLST (wgMLST) 法を構築し、詳細に汚染動態を把握することとした。

■ 方 法

2017 年に台湾の農業科技研究院が実施した Biomapping プロジェクトにおいて、屠殺・解体工程中の鶏肉から分離された計 54 株の *Salmonella* Enteritidis を試供菌株とした。本プロジェクトは、鶏肉加工場において (1) Post-bleeding (放血後)、(2) Post-defeathering (脱羽後)、(3) Post-evisceration (内臓除去後)、(4) Pre-washing (洗浄前)、(5) Post-washing (洗浄後)、(6) Post-chilling (冷却後) の計 6 つの工程より、それぞれ 8 羽ずつ抜き取り、*Salmonella* 属の検査を 12 日間連続で行っており、その試験において、*Salmonella* Enteritidis が脱羽後以降の工程において頻繁に検出されたことから、本菌を対象とした。*Salmonella* Enteritidis 54 株について、Illumina 社の MiSeq System を用い、Whole genome sequencing を行った。その後、Genious ソフトウェアを用いてクオリティコントロール及びアセンブルを行い、ドラフトゲノムを取得した。cgMLST 解析及び wgMLST 解析は、BioNumerics v7.6 (Applied Maths, Sint-Martens-Latem, Belgium) の whole-genome sequencing アプリケーションを用いて行った。Enterobase の *Salmonella* スキームに準拠し、各ドラフトゲノム中の 3002 (core gene) 及び 21,065 (whole gene) loci にアレル番号を振り、Sequence type を決定、本菌の屠殺・解体工程中の動態を解析した。

■ 結果および考察

鶏肉の屠殺・解体工程中より分離された 54 株の *Salmonella* Enteritidis は、cgMLST 解析では 12 の Sequence type (ST) に分類されたのに対し、wgMLST 解析では 46 の ST に分類された。このことより、株識別の解像度は wgMLST 解析の方が圧倒的に高く、遺伝的に近縁な *Salmonella* Enteritidis の分離株を識別する場合には本手法が最適であることが示された。更に、wgMLST 解析の結果、*Salmonella* Enteritidis は分離日ごとに異なる遺伝型を示す傾向にあり、屠畜・解体後の鶏肉への *Salmonella* の汚染は同日に処理された鶏に由来する可能性が示された。一方で、ST と分離日及び分離箇所が関連していないクラスターも存在しており、これらは加工場内に残存し、解体後の鶏肉への汚染を繰り返している可能性が考えられた。

■ 結 語

wgMLST 解析を鶏肉加工場内の *Salmonella* Enteritidis の株識別法として用いることで、加工場内での本菌の動態が明らかとなった。*Salmonella* は、鶏の腸内や糞便に存在しているため、屠殺の段階で屠体への付着を防ぐことは困難である。しかし、洗浄工程や冷却工程を経て、屠体に付着した *Salmonella* がどのように変遷するのか株レベルで把握することで、より効率的な洗浄・殺菌方法の構築に貢献できると考えられる。