

採卵鶏農場の飼料、卵および家畜用飼料原料のサルモネラ汚染状況と鶏卵中のサルモネラ

金子通治 植松香星

Incidence of *Salmonella* Organisms in Poultry Feeds, Eggs and Livestock Feedstuffs, and *Salmonella* serovar Enteritidis in Eggs

Michiharu KANEKO and Kousei UEMATSU

1989年以降、わが国で急増したサルモネラ血清型エンテリティディス (*S. Enteritidis*, 以下SEと略す) による食中毒、下痢症は現在もその流行が続いている。また、SEによる食中毒のみならず、他の血清型によるサルモネラ食中毒件数も減少せず公衆衛生上危惧されている¹⁻³⁾。1989年以降ヒトから分離されるサルモネラの血清型は *S. Typhimurium* にかわり、SEが首位となっている。その後、SE食中毒の疫学調査の結果、SE食中毒、SE下痢症の増加の原因はSEに汚染された鶏卵の存在があることが判明した。これらのことからわが国においては、鶏卵の衛生対策上、農林水産省から「採卵鶏農場におけるサルモネラ衛生対策指針」⁴⁾が、厚生省から「液卵製造施設等の衛生指導要領」⁵⁾がそれぞれ出され、鶏卵のSE汚染対策が図られている。

われわれは、サルモネラ食中毒予防上の疫学的基礎資料を提供する目的でヒト由来、環境由来等のサルモネラについて報告してきた⁶⁻⁹⁾。

今回はSEの分離が全国で急増する以前に実施した調査成績、すなわち1988年に実施した家畜用飼料原料および配合飼料のサルモネラ汚染状況と、1990年から約3年間山梨県生活衛生課、甲府保健所食品監視専門班および当所で、SE汚染対策の一環として採卵鶏農場の卵、飼料と集卵出荷施設の鶏卵のサルモネラ汚染について調査を実施したのでその成績を報告する。

また、鶏卵中のSEの挙動、とくに卵黄中での増殖態度およびゆで卵の加熱時間とSEの消長をも検討したので合わせて報告する。

材料および方法

1 調査期間および材料

1988年7月から1989年7月までの1年間は、Y社の家畜用飼料原料である大豆かす、ミート・ミール、フスマ、コウリヤン、トウモロコシ、フィッシュ・ミールおよび配合飼料各々50gを検査材料とし、月2回調査を実施した。植物性飼料原料である大豆かす、フスマ、コウリヤン、トウモロコシはいずれも中国産である。試料数は計182である。

また、1990年6月から1993年2月までの約3年間は毎月1回、県内の9カ所の採卵鶏農場から飼料、鶏卵および糞便を、さらに1カ所の集卵出荷施設からは鶏卵についてサルモネラ検索を実施した。糞便についてはカンピロバクターの検索も合わせて行なった。試料数は飼料234、鶏卵346および糞便468である。検体量は、飼料は30g、鶏卵は1検体につき5個、また糞便は約2gである。鶏卵については殻付き全卵を増菌培養し、サルモネラ検索を試みた。

2 サルモネラの分離、同定法

飼料および鶏卵についてはEEMブイヨン培地による増菌培養後、さらにその培養液をセレナイト培地に移し、選択増菌培養した。分離培地はSSBおよびDHL寒天培地を用いた。検査材料が糞便の場合は試料をキャリア・ブレイア培地に採取し、セレナイト培地を用い同様に実施した。分離培地上に出現したコロニーは常法¹⁰⁾に従い、生化学的および血清学的性状検査を行い菌の同定、血清型別をした。

表1 飼料原料および配合飼料のサルモネラ陽性率

No.	試料名	試料数	陽性数 (%)	分離株数	血清型
1	大豆かす	26	1 (3.8)	1	S.Mbandaka
2	ミート・ミール	26	5 (19.2)	6	S.Taksony, S.Oranienburg, 07:- S.Sandiego, S.Havana, S.Anatum
3	フスマ	26	0		
4	コウリヤン	26	1 (3.8)	2	S.Havana, 07:-
5	トウモロコシ	26	0		
6	フィッシュ・ミール	26	0		
7	配合飼料	26	2 (7.7)	2	S.Havana, S.Mbandaka
計		182	9 (4.9)	11	6種類の血清型 (07:-を除く)

3 分離株の薬剤感受性試験

NCCLS法の規格に準拠した一濃度ディスク法 (Kirby-Bauer法: BBL) によった。使用薬剤はサルファ剤はスルフィソキサゾール (SA), ストレプトマイシン (SM), テトラサイクリン (TC), クロラムフェニコール (CP), カナマイシン (KM), アンピシリン (ABPC), セファロチン (CET), セフォキシチン (CFX), モクサラクタム (LMOX), コリスチン (CL), ノルフロキサシン (NFLX) およびナリジクス酸 (NA) の12薬剤である。

4 鶏卵でのSEの増殖態度

新鮮な鶏卵を2%ヨード・チンキに1時間浸漬しアルコール綿で清拭後、割卵して滅菌カップに卵黄と卵白を別々に分け、新鮮SE菌液 ($3.6 \times 10^2 / \text{ml}$) を0.5mlずつ接種、同時に他の卵は割卵せず注射器にて卵黄に同様のSE菌液を接種し、経時的にSE菌数を測定する方法によった。鶏卵の保存温度は結果の項に示したが、4°C, 10°C, 20°C, 25°C, 30°Cおよび37°Cの各温度である。

5 ゆで卵の加熱時間によるSEの消長

卵をゆでる鍋は直径18cm、深さ7.5cmのサイズのものを使用した。新鮮な鶏卵を上記4と同様な方法で注射器にて新鮮SE菌液 ($3.4 \times 10^6 / \text{ml}$) 1mlを卵黄内に接種後、卵を鍋に入れ1ℓの水を加え加熱し、5分後から1分ごとにSE菌数を測定した。

結果および成績

1 家畜用飼料原料および配合飼料のサルモネラ陽性率

表1に飼料原料の種類別と配合飼料のサルモネラ陽性率および分離株の血清型を示した。動物性飼料原料であるミート・ミールが26試料のうち5試料がサルモネラ

表2 飼料の採取年月日とサルモネラ陽性数

採取年月日	陽性数*	試料No.	サルモネラ
1988. 7.12	0		陰性
	26	0	"
	8. 9	0	"
		23	0
	9. 6	1	No. 7 : S.Havana
		28	2
			No. 2 : S.Taksony, No. 7 : S.Mbandaka
	10.11	1	No. 2 : S.Havana
		25	0
			陰性
	11. 8	1	No. 4 : S.Havana, 07:-
		22	0
			陰性
	12. 7	0	"
		21	0
			"
1989. 1.10	0		"
		31	0
			"
	2. 7	0	"
		21	1
			No. 1 : S.Mbandaka
	3.14	0	陰性
		21	0
			"
	4. 4	0	"
		18	1
			No. 2 : S.Oranienburg
	5. 9	0	陰性
		23	1
			No. 2 : 07:-
	6. 5	0	陰性
		19	1
			No. 2 : S.Sandiego, S.Anatum
	7. 3	0	陰性
		17	0
			"

月2回、計26回、陽性数9、分離株数11

* 検体数は各日とも表1に示した試料の7つである。

陽性で19.2%と最も高い陽性率を示した。一方、同じ動物性飼料原料であるフィッシュ・ミールからは全くサルモネラが分離されなかった。植物性飼料原料では、フスマ、トウモロコシからはサルモネラが分離されなかったが、大豆かすとコウリヤンからはそれぞれ1試料がサルモネラ陽性で、3.8%の陽性率であった。動物性、植物性の飼料原料を混合調整した配合飼料は9月の2回のみがサルモネラ陽性で、7.7%の陽性率を示した。飼料原料および配合飼料合計182試料のうち9試料がサルモネラ陽性で、4.9%の陽性率であった。分離株は計11株であった。

表2にはそれら試料の採取年月日を示した。1年間のみなので季節別は明確でないが、7、8月の夏期と12、1、3月の冬期がサルモネラ陰性であった。春と秋の4～6月および9～11月のそれぞれ3ヵ月間はいずれもサルモネラが分離された。表3には分離されたサルモネラの血清型と株数および薬剤感受性試験の結果を示した。11株のサルモネラは07群の1株を除いて、6種類の血清型に分類された。S.Havana, S.Mbandakaが目立った血清型であった。また、S.Sandiegoが1株分離されたが、山梨県では由来を問わず初めて分離された血清型であった。これら分離株はすべて薬剤感受性株で耐性株はみられなかった。

2 採卵鶏農場の飼料および卵のサルモネラ

(1) 年次別にみた各種試料のサルモネラ陽性数

県内9カ所の養鶏場（試料は鶏卵、飼料および鶏の糞便）の試料および1カ所の集卵出荷施設（9カ所の養鶏場以外の他の養鶏場から鶏卵が集められ、出荷する施設

表5 採卵鶏農場別の飼料由来サルモネラ陽性数 *陽性数/試料数

農場	1990年	1991	1992	1993	計 (%)	血清型 (株数)
A	1/6*	0/11	2/11	0/1	3/29 (10.3)	S.Bredeney, 07:-, 01,3,19:-
B	0/6	0/11	0/11	0/1	0/29	
C	0/6	0/11	0/11	0/1	0/29	
D	1/6	1/11	0/11	0/1	2/29 (6.9)	S.Derby (2)
E	1/5	2/10	0/2		3/17 (17.6)	S.Tennessee (1), 07:-(2)
F	0/5	0/9	0/8	0/1	0/23	
G	1/5	1/11	1/11	0/1	3/28 (10.7)	S.Tennessee, S.Anatum, 07:-
H	0/5	0/11	0/11	0/1	0/28	
I	0/4	1/9	2/8	1/1	4/22 (18.2)	S.Derby, S.Mbandaka, S.Havana, 04:-
計 (%)	4/48 (8.3)	5/94 (5.3)	5/84 (6.0)	1/8 (12.5)	15/234 (6.4)	6種類の血清型 (不明分を除く)

表3 飼料由来分離株の血清型と薬剤感受性

血清型	株数	薬剤感受性
S.Havana	3	感受性
S.Mbandaka	2	"
S.Sandiego	1	"
S.Oranienburg	1	"
S.Anatum	1	"
S.Taksony	1	"
S. 07:-	2	"
計	11	

表4 年次別の採卵鶏農場由来サルモネラ陽性数

試料名	1990	1991	1992	1993	計
	上段:陽性数/試料数、下段:(陽性%)				
鶏卵	0/73	0/129	2/129	0/15	2/346 (0.6)
飼料	4/48	5/94	5/84	1/8	15/234 (6.4)
糞便*	0/96	0/188	0/168	0/16	0/468

*1991年までの132試料についてカンピロバクターの検索を実施、その結果、5試料(3.9%)が陽性であった。

のため、試料は鶏卵のみ)の試料のサルモネラ陽性数を年次別に表4に示した。鶏卵は計346試料のうち2試料がサルモネラ陽性であった。それらは1992年の集卵出荷施設由来の2試料で、血清型はいずれもS.Mbandakaであった。飼料は計234試料のうち15試料がサルモネラ陽性で、陽性率は6.4%であった。1990~1993年のいずれの年次においてもサルモネラが分離された。しかし、鶏の糞便試料468検体からはサルモネラは全く分離されなかった。また、材料および方法に示さなかったが、表4の下方に示した成績すなわち1991年途中までの糞便132試料についてカンピロバクターの検出も試みた。その結果、5試料、3.9%からカンピロバクターが分離された。それらはいずれも *Campylobacter jejuni* であった。

(2) 採卵鶏農場別のサルモネラ陽性数

表5には飼料のサルモネラ陽性数を9カ所の採卵鶏農場別、年次別に示した。9カ所の農場のうち、5カ所の農場の飼料がサルモネラ陽性で、他の4カ所の農場からは全くサルモネラが分離されず、農場によってサルモネラ陽性数に偏りがみられた。I農場の飼料は22試料のうち4試料がサルモネラ陽性で、18.2%と最も高い陽性率を示した。次いで、調査期間中に廃業したE農場が、試料数が少ないこともあろうが、陽性率17.6%と高い率であった。また、分離した血清型をみると、D農場の分離株2株がいずれもS.Derbyであったほかは、農場ごとの偏りはとくにみられなかった。表6に飼料由来の15株および鶏卵由来の2株の血清型を示した。飼料由来15株のうち、3種類、6株が市販の血清では型別できなかった。他の9株は6種類の血清型に分類され、うち3株がS.Derbyであった。他はS.Tennessee, S.Mbandaka, S.Havana等であった。鶏卵由来株はともにS.Mbandakaで、集卵出荷施設由来であった。これら17株はいずれも12薬剤に感受性を示した。

表6 採卵鶏農場、集卵出荷施設由来株の血清型と薬剤感受性

由来	血清型	株数	薬剤感受性
飼料	S.Derby	3	感受性
	S.Tennessee	2	"
	S.Bredeney	1	"
	S.Mbandaka	1	"
	S.Anatum	1	"
	S.Havana	1	"
鶏卵	07:-	4	"
	04:-	1	"
	01,3,19:-	1	"
	S.Mbandaka	2	"
計		17	

3 鶏卵中の各温度におけるSEの増殖

(1) 卵黄、卵白および未割卵卵黄中でのSEの増殖
予備実験的に4℃, 10℃, 20℃, 25℃, 30℃, 37℃と6段階に温度を設定し、それぞれの試料に 3.6×10^2 個のSEを接種した。1日ごとにSEを測定したが、卵白中では7日経過後もいずれの温度においてもSEは100個以下で、菌の増殖はみられなかった。卵黄、未割卵卵黄中では、図示しなかったが、10℃以下においてSEの増殖はみられなかった。温度が20℃以上になるとSEの増殖は菌数の差こそあるが、1日経過後で食中毒を起こす発症菌量に達した。図1にそれらを示した。図2には10℃, 20℃および30℃における卵黄中のSEの増殖の様子を示した。2時間ごとに12時間目までと以後15, 18, 24, 48, 72, 96, 120時間経過後まで菌数を測定し

表7 ゆで卵の加熱時間とSEの消長*1

時間	水温	SE菌数 (/g)	鶏卵の様子	
			卵黄	卵白
5分	85.0℃	3.1×10^6	変化なし	殻に一部凝固、ほとんどゾル状態
6分	96.9℃	4.0×10^5	"	" 半分ゾル状態
7分	99.8℃	1.6×10^5	表面のみうすく凝固	一部を残してゾル状態
8分	99.8℃	陰性*2	表面軽く凝固、中心部粘稠度増す	かなり凝固、一部ゾル状態
9分	99.8℃	"	表面凝固、中心部ドロットしてる	凝固
10分	99.8℃	"	表面固く凝固、中心部ドロットしてる	"
12分	99.8℃	"	表面固く凝固、中心部凝固	"

*1 SE接種菌量： 3.4×10^6 個、 *2 100個以下(増菌培養：陰性)

た結果である。接種菌量は 1.6×10^6 個である。10℃においては15時間まで菌の増殖はみられなかったが、18時間目よりわずかに増え、24時間では 1.2×10^2 個、48時間後 1.6×10^3 個、72時間後 8.2×10^3 個、96時間後 8.2×10^4 個、5日目の120時間後 1.0×10^6 個であった。10℃以下では時間ごとの顕著な増殖はみられなかった。20℃では18時間後に食中毒発症菌量となり 3.4×10^5 個、24時間後 1.8×10^7 個、48時間後 2.1×10^9 個であった。30℃では8時間後に 1.7×10^5 個に達し、24時間後は 2.7×10^9 個となった。

(2) ゆで卵の加熱時間とSEの消長

9個の鶏卵にSEを接種し、鍋で加熱5分後から1分ごとに測定したSEの菌数、水温、鶏卵の様子等を表7に示した。接種菌数 3.4×10^6 個のSEは、5分後では全く加熱の影響を受けず、菌数の減少はみられなかった。水温は85℃で卵黄は全く変化がみられなかった。6分後、SEはわずかに減少し、 4.0×10^5 個/gとなった。7分後は1オーダー減少したものの 1.6×10^5 個/gの菌数が存在した。しかし、8分経過後はSEが100個以下となり、測定されなかった。卵黄を増菌培養しても菌の増殖はみられなかった。8分以後はすべて同様であり、従って今回の実験条件では、最低8分間卵をゆでることによりSEが死滅した。

考 察

1989年に全国で流行したSEによる食中毒および散発性下痢症はその後も続いている。それら原因はサルモネラに汚染された卵によったと思われる事例が多かった。例えばババロア、ティラミス、厚焼き卵等の調理食品などである。山梨県においても、卵に関連した調理食品によるSE食中毒¹¹⁾を2事例経験した。このようなことから卵とサルモネラについて、関係各機関からSE食中毒防止のための基礎的な疫学調査成績の報告¹²⁻¹⁵⁾が多数なされている。また、飼料とくに動物性飼料原料についてのサルモネラ汚染の成績も報告¹⁶⁾されている。

われわれの今回の調査成績、すなわちY社の家畜用飼料原料等および採卵鶏農場の飼料のサルモネラ汚染率はそれぞれ4.9%、6.4%であった。これらは通常報告されている飼料のサルモネラ汚染は約5%という成績¹⁸⁾と同じであった。飼料原料のうち、動物性飼料であるミート・ミールの陽性率19.2%は藤田らの成績¹⁶⁾とほぼ同率であった。しかし、フィッシュ・ミールからは全くサルモネラが分離されなかった。外国産、国産等地域による差があったのか調査数を増やし、データを蓄積する必要がある。また、植物性飼料原料である中国産の大豆かすお

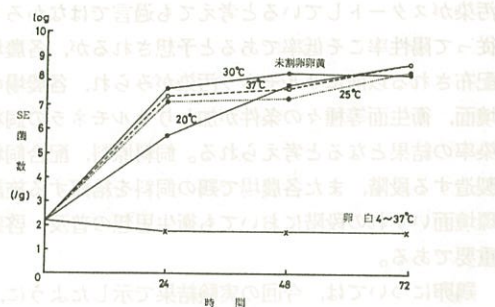


図1 各温度における卵中でのSEの増殖

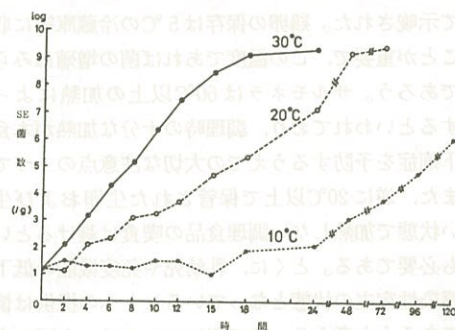


図2 卵黄中でのSEの増殖

よびコウリヤンから1試料ずつが陽性となり、植物性飼料原料のサルモネラ汚染も考慮せねばならないだろう。これら飼料汚染は、Gastmeierら¹⁹⁾が示したように動物、ヒト、排水、植物そして再び動物というサルモネラの自然界のサイクルにも合致する。分離されたその血清型はMbandaka, Havana等であり、配合飼料から分離された血清型と同じであった。ミート・ミールから分離された血清型Oranienburgは散発性下痢症のヒト由来株としても多く、注目する必要がある。血清型Sandiegoは県内では由来を問わず初めて分離された血清型であり、多型化がうかがえる。

採卵鶏農場の飼料のサルモネラ汚染率は6.4%は飼料原料等の汚染率4.9%より若干高かった。9カ所の農場のうち、全くサルモネラが分離されなかったのは4農場であった。陽性率が最も高かったのはI農場の18.2%であり、次いでE農場の17.6%であった。農場によってその陽性率が大きく異なるのは、農場の施設面だけでなく環境面における衛生管理が大きな比重を占めると考えられる。また、飼料の保管場所についても配慮する必要があるだろう。

Y社の家畜用飼料原料、配合飼料と採卵鶏農場の飼料から分離されるサルモネラの血清型の種類が似ており、この原因は飼料原料に由来すると思われる。すなわちY社に限らず、飼料会社が各採卵鶏農場に類似した同一の飼料を配布することによっていると考えられる。外国産の飼料に対しては、輸入した時点からサルモネラの飼料

文 献

汚染がスタートしていると考えても過言ではなかろう。従って陽性率こそ低率であると予想されるが、各農場に配布される以前にサルモネラ汚染がみられ、各農場の環境面、衛生面等種々の条件が加わりサルモネラの飼料汚染率の結果となると考えられる。飼料原料、配合飼料を製造する段階、また各農場で鶏の飼料を給餌する施設、環境面いずれの段階においても衛生思想の普及、啓蒙が重要である。

鶏卵については、今回の実験結果で示したように、卵黄中のサルモネラは20℃以上では1日経過した時点で食中毒等の発症菌量となり、温度管理が重要であることが改めて示唆された。鶏卵の保存は5℃の冷蔵庫等に収納することが重要で、この温度であれば菌の増殖はみられないであろう。サルモネラは60℃以上の加熱によって死滅するといわれており、調理時の十分な加熱が本食中毒、下痢症を予防するうえでの大切な注意点の1つである。また、逆に20℃以上で保管された生卵および生卵に近い状態で加熱しない調理食品の喫食は避けるということも必要である。とくに、乳幼児や免疫機能の低下した易感染性宿主の状態となっているヒトへの提供は慎むべきであろうと考える。ゆで卵については、今回の実験から少なくとも最低8分はゆでる必要があると考える。従来7分間という成績^{20, 21)}もみられるが、より安全という観点から、8分以上ゆでることが必要であると結論したい。以上のように鶏卵の取り扱いが重要で、できる限り10℃以下それも可能ならば5℃以下に保存する必要がある。本菌は加熱によって容易に死滅するが、調理形態、例えばスクランブルエッグ、厚焼き卵、ゆで卵等それぞれ食品の形態によって食品の中心温度が異なり、それらの温度を得るのに時間が異なる。従って、卵とサルモネラに関しては、食品の中心温度を考慮し、少なくとも65℃、10分間加熱することによって、サルモネラ食中毒、下痢症は未然に防止することが可能であると考えられる。

謝辞：稿を終わるにあたり、調査を進めるうえで多大な御協力をいただいた安藤幸夫氏（現、山梨県健康増進課）と飼料を快く提供して下さったY社ならびに飼料および鶏卵を提供して下さいました各採卵鶏農場と集卵出荷施設の皆様方に深謝致します。また、鶏卵のサルモネラ調査を推進して下さいました県生活衛生課、食品衛生担当の皆様および農場からの試料採取に労をとっていただきました甲府保健所食品監視専門班の皆様方に感謝致します。

- 1) 中村明子：食品衛生研究, 41(7), 17~28 (1991)
- 2) 金子通治：感染症誌, 65, 1533~1540 (1991)
- 3) 国立予防衛生研究所, 厚生省保健医療局疾病対策課 結核・感染症対策室：病原微生物検出情報, 14, 1~2 (1993)
- 4) 農林水産省畜産局衛生課長：5-65, 平成5年9月10日
- 5) 厚生省生活衛生局食品保健課長, 乳肉衛生課長：衛食第116号, 衛乳第190号, 平成5年8月27日
- 6) 金子通治：日本公衛誌, 31, 227~233 (1984)
- 7) 金子通治：日本公衛誌, 32, 602~608 (1985)
- 8) 金子通治, 植松香星：感染症誌, 64, 612~619 (1990)
- 9) 金子通治ら：日本公衛誌, 38, 808~814 (1991)
- 10) 厚生省監修：微生物検査必携細菌・真菌検査, 第3版, p.D-43~D-54, 日本公衆衛生協会, (1987)
- 11) 金子通治ら：山梨衛公研年報, 35, 38~41 (1992)
- 12) 村瀬 稔：食品と微生物, 10, 181~184 (1994)
- 13) 梅迫誠一, 小沼博隆, 品川邦汎：食品と微生物, 10, 195~202 (1994)
- 14) 大中隆史ら：堺市衛研年報, 8, 81~86 (1990)
- 15) 樋口淑美ら：群馬県衛環研年報, 24, 55~62 (1992)
- 16) 藤田 雅ら：家畜衛試研究報告, 75, 9~15 (1977)
- 17) 佐藤静夫：鶏病研報, 26, 85~99 (1990)
- 18) 海老洋一：鶏病研報, 7, 170~178 (1971)
- 19) Gastmeier, P. et al. : Z. gesamte Hyg., 31, 521~523 (1985)
- 20) Chapman, P.A. et al. : Communicable Dis. Rep., 15, 3~4 (1987)
- 21) Humphrey, T.J. et al. : Epidemiol. Infect., 103, 33~45 (1989)