白血球数を同時に測定することができるので、これらの成績を総合すると予後の判定も困難ではない。

以上の成績を総括するとつぎのようになる。すなわち、来院時貧血を主徴とする犬フィラリア様疾患は、血中尿素態窒素量が 60 mg/dl 以上で、A/G 値が 0.2 以下の

ものでは予後が悪く死の転帰をとるものがほとんどである。しかし、血中尿素量が 30 mg/dl 以下のものは治療によりほとんど回復し、30 mg/dl 以上のものでは 30 mg/dl 以下にしてからフィラリアの駆虫をすべきものと思われる。

公衆衛生

低温細菌に関する研究

第二報 牛乳処理工程中の低温細菌汚染源について

岡崎秀信* 別所元茂*

(昭和 44 年 10 月 30 日受付)

Studies on Psychrophilic Bacteria II. Source of Contaminating Bacteria in the Process of Milk

Hideonobu OKAZAKI and M. Bessho (Hygienic Laboratory, Prefecture of Kagawa)

SUMMARY

A survey was conducted on the source of contamination with psychrophilic bacteria in a milk plant where ultra-high temperature pasteurization was carried out.

1. Psychrophilic bacteria were detected from all the samples tested of city milk stored at 5°C for 7 to 10 days. They were mostly of the genus *Pseudomonas*.

2. They were found in such portion of the process

as farther than the bottling machine.

3. The bottling machine was negative for the swab test of psychrophilic bacteria immediately after swabbing, but was positive after storage at 5°C for 10 days. The capping machine was negative in both cases.

4. The falling bacteria studies in the bottling room included *Pseudomonas* at the rate of 14.9%.

1. は し が き

最近低温細菌に対する関心が高まり、冷蔵食品について種々の報告¹⁰⁻¹²⁾がなされているが、著者らも前報³⁾で「牛乳中のいわゆる好冷細菌について」報告した。

牛乳処理工程中の細菌汚染については多くの報告があり、その大部分は中温菌汚染についてである。しかし最近の処理技術、機械、洗剤などの向上から、保存温度が守られている限り、問題は著しく減少している。

低温細菌汚染について最近種々の報告^{1-3,8)}があり、その実態も次第に明らかになりつつある。そこで前報について、処理工程中の低温細菌汚染源と、その細菌叢、および対策について調査したので報告する。

2. 調 査 方 法

1) 県下の代表的な UHT 殺菌処理 3 工場を選び、図 1 の箇所により滅菌瓶に無菌的に採取し、35°C、21°C、5°C の 3 温度で培養し、菌数、菌種、検出されるまでの日数などを調べた。

* 香川県衛生研究所

図 1 検体採取場所

2) 工場殺菌瓶は、滅菌 Tryptosoy broth を約 80cc 現場において分注し、打栓、冠帽して所定の温度に保存した。

3) キャップは広口瓶に Tryptosoy broth 約 200cc を入れて滅菌し、ポリ袋に入った新しいものから 15 枚程度を無菌的に投入し、所定の温度に保存した。

4) 瓶詰機、打栓機の Swab test は、拭き取ったタンポンを、滅菌 Tryptosoy broth 10 cc 中に投入し、よく振盪した後 5°C に保存した。

5) 充填室の落下細菌は、Plate count agar をもちい、10 分間開放、後 21℃で4日間培養した。

3. 調査成績

1) 市販牛乳の 5℃ 7日～10 日保存の成績

図2 市販牛乳の 5℃ 保存成績

上表のように、A～F（中、小処理場製品）は検査当日 $10^1 \sim 10^2$ 程度が検出され、7 日保存後では $10^4 \sim 10^5$ に達している。a～c（大処理場製品）は検査当日は検出されず、10 日保存後 $10^3 \sim 10^4$ であった。

2) 5℃ 保存後分離した菌種

表1 5℃ 保存後分離された菌種

条 件	H. T. S. T 式または保持式 U. H. T								
試料	A	B	C	D	E	F	a	b	c
分離菌種									
<i>Pseudomonas</i>	10	10	10	10	9	4	20	20	20
<i>Alcaligenes</i>	.	.	.	.	.	5	.	.	.
<i>Comamonas</i>	.	.	.	.	.	.	.	.	.
<i>Aeromonas</i>	.	.	.	.	1	.	.	.	.
<i>Micrococcus</i>	.	.	.	.	.	1	.	.	.
gram(+) rods	.	.	.	.	.	.	.	.	.

5℃に保存したA～F、a～cそれぞれから 10～20 コロニーを釣菌し、分類したところ、表1のように、A～D、a～cでは全部が *Pseudomonas* で、Eは *Aeromonas* 1株、Fに *Alcaligenes* 5株、*Micrococcus* 1株が分離されたのみで、大部分が *Pseudomonas* に偏っていた。

3) 工場各部の汚染状況

Sample 採取箇所は図1のとおりである。

A. A工場の状況

殺菌機出口、サージタンク入口、同出口、瓶詰機入口までは、採取直後はもとより、5℃ 11日保存後も 35℃、21℃、5℃いずれの培養温度からも菌は検出されなかった。しかし、滅菌瓶に瓶詰機ノズルより採取したものは、10日目に 10^2 程度が、最終製品からは9日目から21℃、5℃ 培養で 10^2 程度検出された。35℃ 培養ではい

表2 A 工場

保数 存 日	採取場所 培養温度	殺菌機 出口	サージ タンク 出口	瓶詰機 入口	瓶詰機 出口	製品
7	35°	<10	<10	<10	<10	<10
	21°	"	"	"	"	"
	5°	"	"	"	"	"
8	35°	"	"	"	"	"
	21°	"	"	"	"	"
	5°	"	"	"	"	"
9	35°	"	"	"	"	<10
	21°	"	"	"	"	80
	5°	"	"	"	"	100
10	35°	"	"	"	<10	<10
	21°	"	"	"	120	900
	5°	"	"	"	180	1200
11	35°	"	"	"	<10	<10
	21°	"	"	"	4800	7200
	5°	"	"	"	6000	9400

れも陰性であった。

B. B工場の状況

瓶詰機入口まではA工場と同じく、5℃ 11日保存後もいずれの培養温度でも陰性で、瓶詰機ノズルから採取したものが8日後、製品は7日後から検出され、35℃培養では 11 日後も陰性であった。

表3 B 工場

保数 存 日	採取場所 温度	殺菌機 出口	サージ タンク 出口	瓶詰機 入口	瓶詰機 出口	製品
7	35°	<10	<10	<10	<10	<10
	21°	"	"	"	"	410
	5°	"	"	"	"	340
8	35°	"	"	"	<10	<10
	21°	"	"	"	70	3800
	5°	"	"	"	70	4100
9	35°	"	"	"	<10	<10
	21°	"	"	"	890	9300
	5°	"	"	"	1500	9200
10	35°	"	"	"	<10	<10
	21°	"	"	"	9800	24000
	5°	"	"	"	16000	22000
11	35°	"	"	"	<10	<10
	21°	"	"	"	54000	20万
	5°	"	"	"	60000	19万

C. C工場の状況

前2工場と同じく瓶詰機入口までは、12日保存後も、各培養温度とも陰性で、瓶詰機ノズルから採取したもの、最終製品は8日目から 21℃、5℃培養で検出され、35℃培養は 12 日保存後も陰性であった。

4) 殺菌瓶、キャップの状況

A、B工場の成績から、瓶詰機ノズルから採取したものと、最終製品では、低温細菌の出現に約1日のずれがあり、殺菌瓶、あるいはキャップに原因が考えられたので調査をした。

表4 C 工 場

保数 存 日	採取場所 培養温度	殺菌機	サージ タンク	瓶詰機	瓶詰機	製品
		出 口	出 口	入 口	出 口	出 口
7	35°	<10	<10	<10	<10	<10
	21°	"	"	"	"	"
	5°	"	"	"	"	"
8	35°	"	"	"	<10	<10
	21°	"	"	"	60	70
	5°	"	"	"	60	60
9	35°	"	"	"	<10	<10
	21°	"	"	"	1200	1400
	5°	"	"	"	800	1300
10	35°	"	"	"	<10	<10
	21°	"	"	"	3000	5300
	5°	"	"	"	4200	7100
12	35°	"	"	"	<10	<10
	21°	"	"	"	16000	18000
	5°	"	"	"	45000	52000

表5 殺菌瓶、キャップの成績

種 工 場 別	保存温度	A			B			D		
		35°	21°	5°	35°	21°	5°	35°	21°	5°
工場殺菌瓶	試料No. 1	+	+	+	+	+	+	+	-	-
	2	+	+	-	+	+	+	-	-	-
	3	-	+	-	+	+	-	-	-	-
		かび			かび					
	4	-	+	-	-	+	-	-	-	-
		かび			かび					
試験室滅菌瓶	1	-	+	-	-	+	-	-	-	-
	2	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	3	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	4	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	5	-	-	-	-	-	-	-	-	-
キャップ	1	+	+	-	+	+	-	+	+	-
	2	+	+	-	+	+	-	+	-	-

表7 滅菌瓶、工場殺菌瓶の比較

成績は表5のようにA工場で35°Cで2/5, 21°Cで5/5, 5°Cで1/5が, B工場は35°Cで2/5, 21°Cで4/5, 5°Cで1/5が, C工場は35°Cで1/5, 21°C, 5°Cでは0/5であった。

なお試験室滅菌瓶は21°C保存でA, B工場に1本ずつ「かび」が生じたが, 胞子の落下によるものと思われる。

5) 殺菌瓶, キャップから分離した菌種

濁濁したした殺菌瓶からの6分離菌種は, 5°C保存では *Pseudomonas* のみが, 21°C保存では「かび」が多く, その他 *Alcaligenes*, *Aeromonas* なども検出され, 35°C保存では *Pseudomonas* は陰性であった。

表6 殺菌瓶, キャップから分離した菌種

試 料 菌種	保存温度	殺 菌 瓶			キャップ		
		35°	21°	5°	35°	21°	5°
<i>Pseudomonas</i>		•	1	5	•	•	•
<i>Aeromonas</i>		1	4	•	•	•	•
<i>Flavobacterium</i>		•	•	•	•	•	•
<i>Micrococcus</i>		1	1	•	•	•	•
Gram(+) rods		•	•	•	6	•	•
Mold		•	6	•	•	4	•
<i>Alcaligenes</i>		1	5	•	•	•	•
<i>Comamonas</i>		1	•	•	•	•	•
Yeast		•	•	•	•	•*	•
<i>Achromobacter</i>		•	•	•	•	1	•

* 使用中のものより

なおキャップは, 35°C, 21°C保存でグラム陽性, 有芽胞桿菌 (*B. subtilis*) が検出され, 5°C保存では陰性であった。

6) 工場殺菌瓶と試験室滅菌瓶に充填した場合の比較
A工場において工場殺菌瓶(A)と, 試験室滅菌瓶(B)10本に連続充填し, 5°C 10 日保存後菌数を調べた。

35°C培養ではA, Bともに 10^4 以下であり, 21°C, 5°C培養ではAはBより多くの菌数がみられた。

これを t -分布をもちいて検討してみた。

21°C培養 5°C培養

A	B	A	B
$\bar{x}=6610$	$\bar{x}=3358$	$\bar{x}=10304$	$\bar{x}=7104$
$\alpha=0.05$		$\alpha=0.05$	
$\omega=18$		$\nu=18$	
$t=2.10$		$t=2.10$	
$t_0=1.78$		$t_0=0.914$	
$t_0 1.78 < 2.10$		$t_0 0.914 < 2.10$	

以上のようにいじれも有意差は認められなかった。

7) 瓶詰機, 打栓機の Swab Test

3工場とも瓶詰機 10カ所, 打栓機 4~5カ所から採取したが, 直後はいずれも陰性で, 5°C 10日

表8 瓶詰機、打栓機の Swab Test

工場		A		B		C	
採取機械	採取箇數	瓶詰機	打栓機	瓶詰機	打栓機	瓶詰機	打栓機
		10	4	10	5	10	5
条件							
拭き取り直後		0/10	0/4	0/10	0/5	0/10	0/5
5℃ 10日保存後		3/10	0/4	0/10	0/5	2/10	0/5

保存後瓶詰機はA工場で3カ所、C工場で2カ所から検出された。打栓機はいずれも陰性であった。

なおB工場は瓶詰機、打栓機ともに検出されなかったが、これは本調査開始後考察に述べるような改善策を構じた結果と考えられる。

8) 各工場における落下細菌

表9 各工場における落下細菌 (10分開放)

菌の種類	色	5℃ 発育	A工場	B工場	C工場	計	%
Mold	白	—	1	0	0	1	12.8
	青	—	3	12	2	17	
Flavobacterium	淡桃	—	12	6	5	23	46.8
	淡黄	—	15	19	9	43	
Micrococcus	橙	—	3	2	0	5	17.0
	白	±	5	13	1	19	
Pseudomonas	無色	+	8	8	5	21	14.9
Aeromonas	無色	±	6	5	1	12	8.5
計			53	65	23	141	100

最も多いのは *Flavobacterium* で 46.8%, *Micrococcus* 17%, *Pseudomonas* 14.9%, mold 12.8% が主なもの。菌数はA工場が 63, B工場 65, C工場 23 であった。

なおこれらの菌種のうち、5℃でよく発育するのは *Pseudomonas* のみで、*Micrococcus*, *Aeromonas* が±程度の発育をしめた。

4. 考 察

市販牛乳から分離される低温細菌は、春田⁵⁾、浜本⁹⁾、岡崎³⁾ および本調査においても大部分 *Pseudomonas* に偏しており、一部小処理場の製品に *Alcaligenes*, *Micrococcus* などが検出されるにすぎない。とくに U.H.T 処理では3工場とともに *Pseudomonas* がその全部を占めている。このような汚染は小川¹⁾、春田⁵⁾ の報告にもあるとおり、殺菌乳が充填機に入るまではほとんど無菌であり、検出されるのはそれ以後である。このことは現在の器具殺菌の方法で空気に触れない閉鎖流通過程中は汚染を生じないことをしめしている。また打栓、冠帽後の再汚染は、正常の保存状態では一応考慮の外にあり、汚染源として充填機、打栓機、キャップ、殺菌瓶、落下細菌、人的要素などが考えられるが、打栓機、キャップからは低

温細菌は検出されず、殺菌瓶は春田⁵⁾ はわが国の場合汚染源として軽視できないものの一つと述べており、小川²⁾ は瓶装乳の低温細菌叢成立にほとんど関与しないと考えている。本調査では殺菌瓶からも検出される場合があるが、*t*-分布で検討してみると5%の α で有意差が認められず、汚染源として無視はできないが、原因として小さいと考えられる。

以上のことから主な直接原因は充填機にあり、充填機汚染の原因は人的要素、空中細菌などの環境汚染と考えられる。本調査でもB工場の最初の試料はA工場と大差のない低温細菌数をしめたが、つぎの改善策を行なったところ、その後の5℃保存試験で10日後も低温細菌が検出されない程度に減少している。すなわち、

イ。充填室は外部と遮断し、窓、扉は閉じる。

ロ。充填機の排気は必ず屋外に出す。

ハ。充填室内の清掃と整理を常に行ない、環境浄化に努める。

ニ。充填機上部に絶えず塩素水を噴霧する。

ホ。人的汚染要素の排除に努める。

以上のことは中温菌汚染対策として、従来行なわれていることに、空中細菌に対する考慮をしたのみであるが、低温細菌を10日間程度は検出されないよう減少させることも十分可能である。

なお Swab Test で充填機から5℃培養で検出されたのは *Pseudomonas* であり、落下細菌で5℃培養で発育するのも *Pseudomonas* であった。このことは小川²⁾ にも述べているように充填機汚染が主として環境汚染によることを示めており、低温細菌汚染防止の方法として、充填室内の環境浄化と充填機汚染に対する考慮が今後必要と思われる。

5. ま と め

U.H.T 牛乳処理工場の低温細菌汚染源を調査して、つぎの結果を得た。

1. 市販牛乳は5℃ 7~10日保存で、100%に低温細菌が検出され、その菌種は大部分 *Pseudomonas* に偏していた。

2. 製造工程中の汚染は、瓶詰機以後に生じており、それ以前は検出されなかった。

3. 殺菌瓶から *Pseudomonas* が検出されたが、滅菌瓶に充填したものと比較すると、5%の α で有意差は認められなかった。キャップからは中温菌は分離されたが、低温細菌は検出されなかった。

4. 充填機の Swab Test で低温細菌は、拭き取り直後は陰性で、5℃ 10日保存後は検出された。打栓機は保存後も陰性であった。

5. 充填室内の落下細菌は *Flavobacterium* が最も多くその他種々の細菌が分離されたが、5℃培養でよく発育

するのは *Pseudomonas* であり、その割合は 14.9% であった。

文 献

- 1) 小川益男, ほか: 日獣会誌, 21, 5, 197 (1968).
- 2) ——: 同誌, 21, 6, 248 (1968).
- 3) 岡崎秀信, ほか: 同誌, 21, 9, 387 (1968).
- 4) 後藤平吉, ほか: 日獣学誌(学会号), 27, 344 (1965).
- 5) 春田三佐

- 夫: メディヤサークル, 11, 11, 1 (1966).
- 6) 斎藤誠: 食品衛生学雑誌, 8, 4, 341 (1967).
- 7) 坂崎利一: モダンメディア, 13, 8, 20 (1967).
- 8) ——: 同誌, 13, 11, 34 (1967).
- 9) 浜本典男, ほか: 食品衛生学雑誌, 7, 14, 20 (1966).
- 10) 駒形和男, ほか: 同誌, 7, 3, 234 (1966).

- 11) 駒形和男, ほか: 食品衛生学雑誌, 5, 6, 641 (1964).
- 12) 矢野信礼: 同誌, 5, 2, 103 (1964).

家 畜 衛 生

チオフェニコールによる豚の流行性肺炎の野外予防試験

川崎益雄* 斎藤峰彦* 宮本敏朗* 松杉良正* 江藤文夫* 柳 節夫* 松原清夫**

(昭和 44 年 9 月 3 日受付)

豚の流行性肺炎(以下 SEP)は、1964年頃までに日本全土にも蔓延していることが確認され、本病による豚の発育遅延、飼料効率の低下等の損害は増大の傾向にある。近年 SEP の起病性因子の中で、*M. hyopneumoniae* が主因子であることが確認され、その予防対策の手段としては、飼養管理改善と薬剤応用などがあげられている。

私どもは 1964 年管内の一養豚場における肉豚の SEP 浸潤度が約 64% であったことを報告し、さらにその後 80 日齢以内の子豚で、すでに本病に罹病しているものが 6/25 (約 24%) あったことから、本病の感染期は哺乳期にあることがうかがわれた。そこで 1968 年 4 月、管内

で生産から肥育まで一貫肥育を行なっている一養豚場(常時繁殖豚 40 頭、肉豚約 500 頭)の、SEP 浸潤度は表 1 に掲げたとおり 31/50 (約 62%) であることを確認したため、SEP の起病性因子および増悪因子排除の目的で、薬用量が少なく手数のかからない哺乳期に、鶏の慢性呼吸器病因子(*H. gallinarum* および *M. gallisepticum* 等)に有効で、抗菌領域が広い、チオフェニコール(以下 Ne 剤)を応用し、その効果を検討したので試験の概要を報告する。

I. 実験材料ならびに方法

試験場所: 宮崎市, T 養豚場

試験期間: 自 43 年 4 月 26 日
至 43 年 12 月 23 日

試験豚: 43 年 4 月 23 日~43 年 6 月 8 日の出生豚 10 同腹 92 頭を試験区 44 頭と対照区 48 頭に区分した。品種は F₁ (LXY) 45 頭、三元雑 (L×Y×L) 47 頭を供用した。

供試剤ならびに投薬方法: 薬剤は Ne 剤の注射液と粉剤を用い、注射液は生後 2~3 日齢から各週ごとに毎回 50 mg/kg 宛 6 回注射を A 群、5 回注射を B 群、回注射を C 群とし、粉剤は C 群に離乳後 10 日間 2% の割りに飼料添加し、試験群と対照群はそれぞれ図 1 のとおり隔離飼育した。

調査項目: 1, 3, 6 カ月齢時の体重測定、出荷と殺時の肺病変の観察、肺の病理、細菌学的検査を主体に

日獣会誌 23 144~148 (1970)

表 1 S. E. P 浸潤度 (T 養豚場) (43 年 4 月)

(43 年 4 月)					
病変の 程 度	肉 眼 所 見				
頭 数 50	(一) 19	(+) 20	(++) 7	(+++) 3	(++++ 1
%	38.00	62.00			

病変の程度

- (+)-----1 葉に 1/4 以下の肉眼所見のあるもの。
- (++)-----2 葉以上に 1/4 以下の肉眼所見のあるもの。
- (+++)-----2 葉以上に 1/2 以下の肉眼所見のあるもの。
- (++++-----3 葉以上に 1/2 以上の肉眼所見のあるもの。

* 宮崎家畜保健衛生所 ** エーザイ株式会社