食鳥肉のサルモネラ汚染調査とその防止対策

IV. 冷却水での Chlorination の応用

渡辺昭宣* 栗栖 誠* 雨宮一彦* 徳丸雅一*

(昭和 47 年 8 月 17 日受付)

A Survey on Salmonella Contamination of Chicken Meat and Its Prevention

IV. Application of Chlorination to Cooling Water

AKINOBU WATANABE, M. KURUSU, K. AMEMIYA and M. TOKUMARU
(Epidemiological Section, Hygienic Laboratory, Prefecture of Saitama)

SUMMARY

In a broiler-processing plant, chlorine preparation was added to the cooling water in a tank. The rate of removal of bacteria was 50.0 and 93.4% when residual chlorine (RC) was 10~80 and 100×200 ppm, respectively. The rate of Salmonella detection was high when RC was below 50 ppm, and low when RC was maintained at a level higher than 50 ppm. However, when the body was highly contaminated

with Salmonella, it was difficult to destroy the germ completely even at a level of RC higher than 50 ppm.

It is recommended that chlorine preparation should be added to the cooling water held below 5°C in such amount as to make RC exceed 100 ppm, and that the body should be shaken in the cooling water and held in it for more than 10 minutes.

緒 言

さきの報告¹⁻⁵⁾から、ブロイラーのサルモネラ(以下 S 菌と略)汚染について、その汚染源および汚染経路を追求し、さらに、これら汚染菌に対する防止策を実験的に検討し、ブロイラー処理場での S 菌汚染防止に対する一連の対策案をたてた。

その主意は、ブロイラーの S 菌体表汚染に対しては湯漬槽において加熱殺菌を行ない、脱毛機内での汚染菌には塩素水を噴射して屠体を洗條し、なるべく処理場内に S 菌が侵入しないようにすることである。

また、腸ぬき時の腸内容漏出による汚染菌や前段の工程での未殺菌の S 菌に対しては、屠体の冷却工程で 100~200 ppm の残留塩素量を有する冷却水中で 10~20 分間作用させることによって再汚染の拡大を防止することである。また、加工工程における作業員の手指および器具からの再汚染についても同様、塩素水で常に消毒するよう教育し、この工程での汚染拡大を極力防止することである。

これらの対策案のうち、今回は冷却水への薬剤添加法を処理場の作業工程中にくみ入れ冷却水での二次汚染防止の効果を検討したので報告する。

実験材料および方法

使用薬剤：S 処理場 (1 日約 1,000~2,000 羽処理)

* 埼玉県衛生研究所疫学部 (浦和市大字上大久保字東 639-1)

は、冷却水にブロイラー用高級除菌清浄剤として市販されている糖エステル剤 (商品名 SP-Kleen white, 主成分：ショ糖脂肪酸エステル, ソルビタン脂肪酸エステルおよびプロピレングリコール) を 0.2% の割に 1 日 1 回作業開始前に添加した。

D 処理場 (1 日約 5,000~6,000 羽処理) は、次亜塩素酸ソーダ (オーヤラックス 4~6%) を冷却水中に自動滴下し、残留塩素量で 10~80 ppm の範囲で使用した。

A 処理場 (1 日約 5,000~6,000 羽処理) は、次亜塩素酸ソーダを作業前に、冷却水量に対し 200 ppm になるよう添加し、作業中は 1~2 時間毎に残留塩素を測定し不足分を補充添加した。

また、調査時における残留塩素の測定は、オルトトリデンによる比色法を用いた。

検体採取法：生鶏の羽毛は放血後一羽ずつ手でむしり、ビニール袋につめて実験室にもちかえた。

脱毛機のゴムヘラの検査は、滅菌ガーゼタンポン 5 個を用いて約 300 cm² の面積をふきとった。

脱毛後の屠体、腸ぬき後の屠体、冷却後の屠体およびカット後の屠体については、すべて脚指以外の両後肢部の皮膚を滅菌ガーゼタンポンでふきとった。ガーゼタンポンは 1 瓶に 5 個ずつ入れて高圧滅菌しておき、1 タンポンで 1 羽の皮膚をふきとり、5 羽分を 1 検体として実験室にもちかえた。

S 菌検査法：羽毛については 10 g をホモジナイズカップに秤量し、滅菌生理食塩水 90 ml を加えてホモジ

ナイズし、その振盪液を検査用原液とした。

皮膚ふきとりタンポンについては、結紮糸をきり離してから滅菌生理食塩水 50 ml を加え、よく振盪して検査用原液とした。

S 菌定量試験は、Hajna's Tetrathionate Broth と Rappaport Broth を試料の各三段階希釈液にそれぞれ 3 本ずつ用い、37℃ 24 時間培養後 DHL と MLCB 分離培地を用いて分離同定した後、MPN/100g あるいは MPN/100 cm² の値を算出した。

S 菌定性試験は、試料から定量試験用検体をとった残液について、倍濃度の Hajna's Tetrathionate Broth と Rappaport Broth と Selenite Broth の 25 ml に同量接

種し、前二者の培地は 37℃ 24 時間、後者の培地は 43℃ 24 時間培養した後、定量法と同様に分離し、各平板から 5~10 個の疑わしい集落を TSI 培地に純培養し、生物学的性状検査と血清学型別を行なって同定した。

実験成績

今回実施したブロイラー処理場の製造工程は表 1 に示すようである。著者らの S 菌汚染防止対策案のうち、湯槽漬での加熱温度と作用時間の実験はメーカー側の製品への影響考慮と設置機械の変更不能のため実施できなかったが、薬剤添加については各処理場の洗條冷却槽に種々の条件で薬剤を投入し、水温の調整も同時に行なっ

表 1 各処理場の工程法の比較

表 2 処理場別・防止対策前、後の S 菌検出率

調査月日	昭.44~昭.45				昭.46~昭.47			
処理場名	S	D	A	計	S	D	A	計
湯づけ温度	60℃ 50''	57℃ 90''	53℃ 100''		60~64℃ 70''	56~58℃ 77''	53~55℃ 95''	
冷却温度	6~10℃ 50'	0~1℃ 12'	1~2℃ 8'		6~14℃ 50'	0~1℃ 12'	1~2℃ 8'	
使用薬剤					除菌清浄剤 Sugar Eter 0.2%	塩素剤 残留 Cl 10~80 ppm	塩素剤 残留 Cl 100~200 ppm	
検体								
生体羽毛	3/10(30.0)	1/10(10.0)	8/10(80.0)	12/30(40.0)	3/50(6.0)	6/48(12.5)	4/39(10.3)	13/137(9.5)
脱毛機					3/5(60.0)	7/14(50.0)	7/8(87.5)	17/27(63.0)
脱毛後羽毛	2/10(20.0)	1/10(10.0)	10/10(100.0)	13/30(43.3)				
脱毛後皮	1/10(10.0)	0/5	5/5(100.0)	6/20(30.0)	9/30(30.0)	7/30(23.3)	18/25(72.0)	34/85(40.0)
内臓除去後皮		1/5(20.0)	5/5(100.0)	6/10(60.0)	17/24(70.8)	12/30(40.0)	15/25(60.0)	44/79(55.7)
冷却水	1/11(9.1)	3/11(27.3)	2/8(25.0)	6/30(20.0)				
冷却後皮					17/30(56.7)	6/30(20.0)	1/25(4.0)	24/85(28.2)
カット加工後肉または皮	8/15(53.3)	8/15(53.3)	15/15(100.0)	31/45(68.9)	18/29(62.1)	8/30(26.7)	2/25(8.0)	28/84(33.3)

た。

1. 冷却水における薬剤添加前後のS菌検出率の比較

今回冷却水に薬剤を添加した処理場における各工程別S菌検出率を、薬剤を使用していなかった昭和44年の同処理場の検出率と比較すると表2に示すとおりである。すなわち、最終製品での検出率についてみると、S

処理場では薬剤使用後も検出率に変化なく、薬剤の除菌効果は認められなかった。D処理場では塩素剤使用によって検出率は約半減し、A処理場では約1/13に減少した。

また、今回の調査で各処理場の工程別検出率からS菌の汚染経路を推測すると、生鶏汚染菌が湯漬け時の熱処

図1 冷却水中の残留塩素量とS菌検出率

図2 処理場別、防除法別、S菌検出率

図3 処理工程におけるサルモネラ菌数分布 (MPN/100 cm²)

理に耐え、その生残菌が脱毛機内のゴムヘラを汚染し、脱毛機の洗條消毒が不完全なことからS菌が果積汚染し、この脱毛機を通過する屠体にS菌を再汚染するような形で汚染が拡大していることがわかった。いま一つの汚染経路は、腸ぬき作業で腸内容がもれ、直接または手指・器具を介して再汚染が広がるものと思われる。

したがって、各処理場とも、この腸ぬき工程までのS菌検出率は、ほぼ同率とみられるので、冷却後のS菌検出率の差は使用薬剤の殺菌効果による結果とみてよいと考えられる。しかし、屠体付着S菌の完全殺菌は望めないため、次の工程に入ると再び検出率が上昇する傾向がみられる。

2. 冷却水の残留塩素量とS菌検出の関係

3 処理場における通算17回の調査での冷却水の残留塩素量と、冷却後の屠体からのS菌検出率の関係を示すと図1のとおりである。

すなわち、残留塩素量の低い場合に検出率が高く、塩素濃度の上昇にともない検出率は低下し、50 ppm以上ではほとんど検出されなかった。しかし、例外として200 ppm濃度の例に1例だけS菌が検出されたが、この場合の汚染菌量をみると冷却水浸漬前の菌量が460/100cm² (MPN) と、かなり汚染度の高い屠体であった。また、最終製品からのS菌検出率と残留塩素濃度との関係を見ると、冷却後の場合とほぼ同様の成績を示しているが、80~100 ppmの時に検出率が上昇していることから、少数生残菌によ

る再汚染の可能性もあるため、冷却水中の残留塩素量を100 ppm以上とすることが必要であると思われた。

3. 工程別S菌検出率と汚染菌量の推移

各処理場の工程の流れにそってのS菌の検出率と汚染菌量の変化を観察し、これを図示すると図2および図3のようになる。

図2は処理場別・工程別のS菌検出率を調査日毎の検出率と比較したもので、S処理場ではほとんど毎回S菌が各工程から検出され、検出率も工程の進みに従って増加している。

また、薬剤使用後の冷却屠体からも56.7%の検出率を示し、除菌剤使用前の工程における検出率とほとんど変わらない結果を示した。

図4 皮膚汚染サルモネラの薬液処理前後の菌数と除菌効果

D処理場では、腸ぬき後の屠体からの検出率に比べると、冷却後の屠体からの検出率はほぼ半減しているが、残留塩素量が50 ppm以下のときには検出率が高いところから、塩素剤の殺菌効果の限界線を上下する様相がみられ、添加法に問題があると思われる。

ところが、A処理場では冷却後のS菌陽性は25検体中わずか1検体だけで、腸ぬき後の屠体からの検出率に比べると遙かに低下していることがわかった。

また、これら陽性検体の工程別汚染菌量を比較すると、S処理場では脱毛から腸ぬきの工程に進むにつれ汚染菌量の増加がみられ、冷却後にいったん減少はするが、ほとんど殺菌されず、再び加工時に増加することがみられた。

すなわち、糖エステル使用では個体ごとの汚染菌量には減少がみられるが、冷却水中での再汚染による分布の拡がり認められ陽性率が増加した。

D処理場では、腸ぬきまではS処理場と同じく検出率は上昇しているが、冷却後陽性率が減少するにもかかわらず汚染菌量は高いものがみられた。このことは、薬剤の濃度による殺菌限度と汚染菌量との間に相関があることを示唆している。

ところが、A処理場は腸ぬきまでは他の処理場と同じく汚染菌量は増加し、とくに3処理場中で最も陽性率、汚染菌量とも高い成績を示したものであるが、冷却後には著しく減少し、定性試験でようやく陽性を示す程度であった。

以上の事実から、屠体汚染S菌に対する塩素殺菌は、好条件下で行なえばある程度有効であることをみとめ

た。

次に薬剤処理前後の菌数の変動と除菌率との関係をみると、図4に示すとおりである。

図表中、縦実線は腸ぬき後の菌数が冷却後に減少した菌数を示した検体を、また、横破線は腸ぬき後の菌数が冷却後に増加した菌数を示した検体をそれぞれ示したものである。

また、・印横の数字は検体数を示す。

この成績から、S 処理場では冷却後の汚染菌量はさほど高くないが、検出率は減少せず、なかには薬剤処理後にかえって増加したものが4件もみられた。

D処理場では、処理前の汚染菌量の高いものは、冷却後もあまり菌量の減少がみられず、全般的に汚染菌量は横這いの傾向にあることがみとめられた。ところが、A処理場では腸ぬきまでの汚染菌量が高いものでも冷却後にはほとんどS菌は検出されない状態にまで殺菌され、1検体だけが460/100cm² (MPN) の菌量のものが薬剤処理後に定性試験で陽性となった程度であった。このような菌量の変動がみられた各処理場での薬剤処理後の除菌率を比較すると、残留塩素量100~200 ppm 使用の処理場では93.4%の除菌率を示し、10~80 ppm 使用の処理場では50%除菌率を、糖エステル0.2%使用の処理場では20%の除菌率であった。

考 察

ブロイラーにS菌の汚染が高いという報告は、国の内外の調査から枚挙にいとまないほどであるが、その汚染個所については、ブロイラー処理場の工程調査から、主と

表3 ブロイラー処理場におけるS菌汚染経路とその防止対策

して脱毛機、腸ぬきおよび冷却の工程にあることが Morris⁶⁾、渡辺²⁾、岡崎⁷⁾などにより報告されている。

著者らは、ブロイラー処理場に搬入される生鶏の羽毛、皮膚および腸内容からのS菌検出率やその菌型が各処理場内の工程における屠体や器具からのものとよく一致することを調査したことから、ブロイラーにおけるS菌汚染の主な汚染源は養鶏場における保菌鶏の糞便と、それによる環境汚染にあるとみられ、処理場はむしろS菌の汚染拡大の経路にあたっているにすぎないと推察している。

これら養鶏場における飼育環境汚染については、佐藤^{8,9)}、Williams¹⁰⁾および Simmons¹¹⁾などの報告から、孵卵所における感染雛からのS菌が鶏舎の敷糞、床、水などにばらまかれ、これらを通じて同一鶏舎内の育雛群に環境汚染していくことがうかがわれる。

また、橋本¹²⁾、桑原¹³⁾、渡辺¹⁴⁾の鶏飼料からのS菌検出率から、雛のS菌感染源として飼料が重要なルートであると考えられるが、経口感染したS菌は日齢を経た雛では一時的に腸内増殖がみられても、一般に永続保菌の形はとらず、一過性に排菌される事実が認められる。したがってS菌の鶏汚染は、むしろ糞便とともに外界に排出されたS菌が鶏舎内を汚染し自然環境において乾燥に耐え、長く生存するため、ここで飼育される鶏の体表に附着することの方が汚染の機会としては頻度が高いように思われる。

これら、鶏のS菌汚染源に対する防止対策と同時に、食品衛生の立場からブロイラー処理場に入ってからからの防止対策も早急にたてなければならないので、著者らは実験的に熱処理法³⁾、塩素殺菌法^{4,5)}を検討し、ブロイラーの羽毛や皮膚汚染菌に対しては62℃以上の温度で2分以上処理しなければS菌の殺菌は十分でないことを実験データで示した。塩素剤については仲西¹⁴⁾、鈴木¹⁵⁾、岡崎⁷⁾の報告も著者の実験結果とほぼ一致し、冷却水中に遊離したS菌は塩素剤で殺菌できるが、皮膚または肉汚染菌については7,000~10,000ppmの塩素濃度でも殺菌不可能であったので、処理場での塩素剤使用の目的は、冷却水由来のS菌の再汚染防止に導入するつもりであった。

ところが、今回の野外応用実験ではブロイラー屠体からのS菌検出率と塩素剤の使用濃度との間に高い相関性が認められた。

このような差異を生じたのは、屠体のS菌汚染の様式が実験室内の場合と自然汚染の場合とでは機構を異にするためであろうと考えられる。

また、著者は、今回の調査結果から冷却水での塩素剤の使用条件として、水温5℃以下と、塩素消費物質除去のための換水を基礎として、これに塩素剤を残留塩素量として100ppm以上に保つ必要があると考える。

このことは、Dixon¹⁶⁾が報告した200ppm 10分という条件とよく一致している。

また、1972年、イスラエルで開かれた「家禽衛生と検査」と題する円卓会議での勧告¹⁷⁾でブロイラー処理場における使用水に5~10ppmの有効塩素濃度が提示され、さらに脱毛機、冷却槽などのS菌再汚染の危険の多い工程では20ppmあるいはそれ以上の高濃度塩素殺菌の必要性を勧告している。

そこで、今までの調査結果にもとづいて、ブロイラー処理場におけるS菌の汚染個所を表3に示すように処理工程と結びつけ、第一次汚染から第四次汚染までを推測したが、これら汚染個所に対する防止対策についても既報³⁾の実験結果などから提示してみた。

そのうち、今回は一応冷却水への塩素殺菌法を導入してある程度の目的を達することができたので、今後は他の対策についても実験的検討を試み、一連のS菌汚染防止法を確立したいと考えている。

結 論

ブロイラーの製造・規格基準の設定を目的としてS菌汚染調査を実施し、その防止対策として冷却水中に薬剤を添加する方法を実験的に検討し、この成績にもとづき処理場の冷却水に薬剤を添加した結果、次のような成績を得た。

1) S処理場では湯漬槽と冷却槽(水温6~14℃、作用時間50分)に糖エステルを0.2%に添加した。D処理場では冷却槽(水温0~1℃、作用時間12分)に塩素剤を残留塩素量として10~80ppm添加した。A処理場では冷却槽(水温1~2℃、作用時間8分)に塩素剤を残留塩素量として100~200ppm添加した。

2) 各処理場における薬剤添加時と非添加時の最終製品からのS菌検出率を比較すると、S処理場では非添加時53.3%に対し、添加時62.1%で除菌効果はみられなかった。D処理場では前者53.3%に対し後者26.7%ではほぼ半減した。A処理場では前者の100%に対し後者は8%で約1/13に低下した。

3) 冷却水中の残留塩素量とS菌検出率との関係は、水中の残留塩素量が50ppm以上の場合S菌は屠体からほとんど検出されなくなるが、冷却工程以前の屠体汚染菌量が高いと完全除菌は困難であった。

4) 添加薬剤によるS菌除菌率は、糖エステル0.2%添加では20%の除菌率、塩素剤の残留塩素量10~80ppmでは50%除菌率、同じく100~200ppmでは93.4%除菌率であった。

5) 冷却水における塩素剤によるS菌汚染防止要領として、低温保持(水温5℃以下)、ひんばんな換水(塩素消費物質の除去)および残留塩素量として100ppm以上を保持するように塩素剤を添加することを必要条件と

する。

文 献

- 1) 渡辺昭宣, ほか: 日獣会誌, 23, 275 (1970). 2) 同上: 同上, 24, 186 (1971). 3) 同上: 同上, 25, 175 (1972). 4) 同上: 同上, 25, 489 (1972). 5) 同上: 同上, 投稿中. 6) G.K. MORRIS & J.G. WELLS: *Appl. Microbiol.*, 19, 795 (1970). 7) 岡崎秀信: 日獣会誌, 24, 18 (1971). 8) 佐藤儀平: 鶏病研究会報, 6, 113 (1970). 9) 佐藤儀平: 同上, 7, 111 (1971). 10) H. WILL-

IAM-SMITH: *J. Appl. Bacteriol.*, 34, 593 (1971).

- 11) G. C. SIMMONS & R. V. BYRNES: *Aust. Vet. J.*, 48, 186 (1972). 12) 橋本秀夫: 日獣会誌, 21, 109 (1968). 13) 桑原 寛: 同上, 23, 718 (1970), (第112回学会抄録). 14) 仲西寿男: 私信. 15) 鈴木 昭: 第22回日本食品衛生学会抄録 (1971). 16) M. S. DIXON: *J. Hyg.*, 59, 343 (1961). 17) W.A.V.F.H.: *Report of the Round Table Conference on Poultry Hygiene and Inspection* (1972).

家畜衛生

マレック病ワクチンの野外試験

山田進二* 内布洋一* 幸田祐一* 時吉幸男* 藤川英雄* 水野喬介*

小原速美* 市原 強* 秦 敦朗** 阿部 弘**

(昭和 47 年 5 月 26 日受付)

A Field Experiment of Marek's Disease Vaccine

S. YAMADA, Y. UCHINUNO, Y. KODA, S. TOKIYOSHI, H. FUJIKAWA, K. MIZUNO,
H. OBARA, T. ICHIHARA, *A. HATA and *H. ABE

(Chemo-Sero-Therapeutic Research Institute, Inc., Kumamoto 860, and*

Dai Nippon Pharmaceutical Co., Ltd.)

SUMMARY

A preparation of Marek's disease vaccine (Deptavac-HVT) was tested for safety and immunogenicity. A total of 2,000~2,100 chickens in each of five poultry farms were inoculated with 1,000 PFU *per capita* of this vaccine by the intraperitoneal or subcutaneous route and held under observation for 180 days. On each farm 894~1,050 chickens served as controls.

The rate of death and condemnation was 3.3~9.8% in the inoculated group and 9.1~23.0% in the control group. Tumor was found macroscopically in 117 inoculated birds and 348 control ones. The histological diagnosis of Marek's disease was made on 116 inoculated and 355 control chickens. The number

of birds infected was reduced by 77.1~87.6% (84.0% on the average) in the inoculated group, as compared with the control group.

Vaccine virus was detected from 85.7~100% of the chickens of the inoculated group for 30~180 days. Field Marek's disease virus was isolated from all the tested flocks of the control group at 28~30 days of age. Contact infection with vaccine virus was noticed in some birds. Gel precipitation antibody against HVT began to appear at 31~60 days of age. These results indicate that the tested vaccine is very high in safety and efficacy.

マレック病(MD)に関する研究は数年来著しく進み、病原ウイルスの分離がなされ、性状も明らかになった²⁾。本病はひなの育成率低下の大きな原因となり、また、被害の程度も大きいことが判明した。このことから病原ウイルスの確定とともに予防のためのワクチンの研究が積極的に進められた^{1,3)}。

現在MDワクチンとしてMDウイルスを用いるもの^{1,3,15,16,22,24)}および七面鳥ヘルペスウイルス(HVT)を使用するもの^{4,5,6,21,23,26)}の2種類が開発され、実験室内

および野外試験が行なわれている。

いっぽう、わが国においてもMDの研究が進むにしたがい、病原ウイルスが広範かつ濃厚に浸潤していることが報告され^{9,12,17,20,27,28,30,31)}、また、ワクチンに関する研究も精力的に進められ^{7,8,10,11,13,14,19,25,29)}つつある。今回著者らはHVTを用いるMDワクチンについて検討する機会を得たので、その安全性およびワクチンの効果について報告する。

実験材料および方法

ひな: デカルプ、パブコックおよびシェパースターク

* 化学及血清療法研究所 (熊本市清水町大窪668)

** 大日本製薬株式会社 (大阪市東区道修町3-25)