

原 著

豚用市販配合飼料の細菌叢について

柏 崎 守* 波 岡 茂 郎* 渡 辺 英 之*

Bacterial Contamination in Commercial Swine Feeds

M. Kashiwazaki, S. Namioka, H. Watanabe

First Research Division, National Institute of Animal Health, Kodaira, Tokyo

Samples were collected from 95 bags of commercial swine feeds, representing from four feed companies in Japan, with which the examinations were then carried out to observe the contamination of general bacteria in the feeds (Table 1).

The results obtained were as follows.

1. When 48 samples of mash and 47 samples of pellets checked respectively for the presence of *Escherichia coli*, a higher contamination of the organisms was seen in the mash (90 percent, 43 samples) compared with the pellets (42 percent, 20 samples). In the feeds of *Escherichia coli* positive, the population levels of the organisms in the mash were constantly higher than that of the pellets. On the other hand,

there were no significant differences in the total numbers of viable bacteria between the mash and pellets (Table 2).

2. No *Escherichia coli* organisms were recovered from the feeds which were heated at 80°C for 30 minutes while the total counts of viable bacteria (aerobic spore formers) in the heated feeds were relatively the same compared with those in the feeds before the heating (Table 3).

3. A number of *Streptococcus faecalis* recovered from the feeds was closely paralleled to those of *E. coli*. Such organisms as lactobacilli, staphylococci, yeasts and others were a few in number or negative in the feed examined (Table 4).

近年、わが国における豚の多頭飼育化にとともに、配合飼料への依存度はますます高まっております。その生産量は年々増加の一途をたどっている。このような状況において、最近の配合飼料は栄養学のおよび添加物質などの面から多くの検討が行なわれ、ひとところのものに比較してかなり改良された。

一方、これを衛生面からみた場合、国産および輸入飼料、とくに動物性原料についてサルモ

ネラ (*Salmonella*) の汚染に関する調査⁴⁾が一部なされているとはいえ、配合飼料における細菌叢および常務的衛生対策については不明の部分が大きい。しかし、このような飼料衛生は品質管理や疾病対策などの一要因としてきわめて重要であるばかりでなく、SPF (specific pathogen free) 豚による集団変換計画 (repopulation program) を実行するにあたり、飼料はどの程度まで規制すべきかが大きな問題となっ

* 農林省家畜衛生試験場 研究第1部

てこよう。

このようなことから、まず市販配合飼料の細菌汚染状態を明らかにしておく必要がある。そこで、わたくしどもは飼料の細菌検索を行ない、その成績から市販配合飼料の細菌汚染に関する一考察を得たので報告する。

材料および方法

1. 検索材料

検索材料はすべて豚用市販配合飼料であり、1968年9月から1969年2月までのあいだに4飼料会社の製品について採取を行なった。採取した飼料を形状別にわけると、ペレット (pellets) 47例およびマッシュ (mash) 48例であり、合計95検体を供試した。

飼料の採取は原則として10~20kgずつ紙袋に包装されたものから行ない、1袋につき飼料の200~1,000gずつを任意に抽出し、それぞれビニール袋に入れて実験室へ搬入した。採取後の検体は冷蔵庫(約4°C)に保存し、おおむね1週間以内に処置された。

2. 細菌検索

検体の希釈および加熱: 検体1gに対して希釈液9mlを加え、ガラスホモジナイザーで1~2分間攪拌して均等な乳剤とし、これを原液として10倍段階希釈を行なった。希釈された各検体はそれぞれ等量ずつ2分し、一方は温浴槽で80°C、30分間の加熱を行ない、他方はそのままとした。

ついで、加熱および非加熱の任意の段階希釈

された検体の0.2mlずつを、おのおのの培地に混釈または塗抹培養し菌数計算を行なった。

なお、希釈液はつぎの組成のものを使用した。すなわち、精製水の1,000mlに対しKH₂PO₄を4.5g, Na₂HPO₄・2H₂Oを6.0g, L-システイン塩酸塩を0.5g, Tweenを0.5gおよび寒天を1g加えて高圧感菌(121°C, 15分間)を行なったものである。

使用培地および培養方法: 使用培地および培養方法はTable 1に示したとおりで、おおむね腸内細菌叢の検索法⁶⁾に準拠した。

成 績

本実験において飼料中の細菌数を使用時期別(人工乳, 幼豚用, 成豚用など)や飼料会社別に検討した場合、それぞれのあいだでほとんど差異はみとめられなかった。この反面、飼料の形状別, すなわちペレットとマッシュとについてみると、細菌数は両者のあいだに明らかな差異のあることが示めされた。そこで、以下の成績は主として形状別にまとめたのである。

1. 飼料中の総菌数および大腸菌数

飼料1g中の総菌数および大腸菌数はTable 2に示したとおりである。この表から明かなように、細菌数はペレットおよびマッシュともかなり広範囲にわたり存在していた。

すなわち、まず総菌数についてみると、ペレット47検体はすべて5千~100万個の範囲に存在した。このうち5万個以下に存在するものが30検体(64%)でもっとも多く、5~50万

Table 1 Media and Incubation Employed in Bacteriological Testing

Media	Bacteria to be detected	Aerobiosis and duration	Temperature
Trypticase soy agar (BBL)*	(Non selective)	Aerobic 2 days	37°C
DHL agar (Eiken)	Enteric bacteria	Aerobic 2 days	37°C
SF agar (Nissan)	Streptococci	Aerobic 2 days	37°C
Mannite-salt medium (Nissan)	Staphylococci	Aerobic 2 days	37°C
LBS medium (BBL)	Lactobacilli	Aerobic 3 days**	37°C
Potato-dextrose agar (Difco)	Yeasts	Aerobic 2 days	25°C

* With addition of 0.3 % glucose.

** In an atmosphere containing 10 % CO₂.

Table 2 Distribution of Viable Count of Bacteria in Feeds

Type of feed	Plant	No. of sample	Total bacterial count per gram			<i>Escherichia coli</i> count per gram		
			$<5 \times 10^4$	$\sim 5 \times 10^5$	$5 \times 10^5 <$	0*	$\sim 1 \times 10^8$	$1 \times 10^8 <$
Pellet	A	27	20	4	3	18	4	5
	B	5	3	1	1	2	1	2
	C	7	1	3	3	2	3	2
	D	8	6	2	0	5	3	0
	Total	47	30(64%)	10(21%)	7(15%)	27(58%)	11(23%)	9(19%)
Mash	A	6	4	2	0	0	2	4
	B	13	6	5	2	3	5	5
	C	9	5	2	2	0	0	9
	D	20	12	3	5	2	5	13
	Total	48	27(56%)	12(25%)	9(19%)	5(10%)	12(25%)	31(65%)

* No viable organisms found in 0.02 g.

個の範囲にあるもの 10 検体 (21%) および 50 万個以上存在するもの 7 検体 (15%) であった。一方、マッシュ 48 検体の大部分は 1~100 万個の範囲に存在したが、なかには 100 万個以上におよぶものが少数みられた。このうち 5 万個以下のもの 27 検体 (56%), 5~50 万個の範囲のもの 12 検体 (25%) および 50 万個以上のもの 9 検体 (19%) であった。このように、総菌数はペレットおよびマッシュともおおむね同一の菌数パターンであった。

これに反し、大腸菌数についてみると、マッシュとペレットとはかなり異なった菌数パターンであった。

すなわち、ペレットではおおむね 1 万個以下に存在していたが、このうち大腸菌陰性のものが 47 検体中 27 検体 (58%) を占めた。また、1,000 個以下に存在するもの 11 検体 (23%) および 1,000 個以上存在するもの 9 検体 (19%) であった。

この反面、マッシュでは大腸菌陰性のものは 48 検体中 5 検体 (10%) と少数であり、1,000 個以下のものは 12 検体 (25%) であった。一方、1,000 個以上存在するものは 31 検体 (65%) でもっとも多かったが、このうち 5 万個内外に存在するものもまれではなく、例外的に 50 万個以上に達するものがあるなど、大腸菌数は

ペレットのそれに比較してきわめて多く、かつ広範囲に存在する傾向にあった。

以上のべたように、ペレットにおける細菌数、とくに大腸菌数はマッシュにおけるそれに比較してかなり規制されていることが明らかである。

そこで、飼料の品質や糞便汚染などの 1 指標になると考えられる総菌数および大腸菌数について、かりに一定の規準、たとえば「大腸菌陰性および総菌数 5 万個以下」という枠を設けた場合、これに核当するのはペレットで 47 検体中 21 検体 (45%) であった反面、マッシュでは 48 検体中わずか 3 検体 (6%) にすぎず、ほかの検体は大腸菌数および総菌数のいずれとも、または一方のみが規準外であった。

このように、飼料の形状によって細菌数、とくに大腸菌数に著しい差異のみとめられるのは、その配合原料の種類によって影響されるということよりも、むしろ製造方法に主な原因があると考えられた。

すなわち、ペレットではマッシュの状態からさらにペレット化の工程中にある程度の熱処理の行なわれることがあげられよう。このことはのちほどのべる飼料の加熱処理が細菌数に与える影響からも明らかである。

Table 3 Effect of Heat (80°C, 30 min.) on Viable Counts of Bacteria in Feeds

Type of feed	Sample no.	Total bacterial count per gram		<i>Escherichia coli</i> count per gram	
		before heating	after heating	before heating	after heating
Pellet	1	46,200	43,800	2,300	0*
	2	768,000	663,000	950	0
	3	8,450	8,800	0	0
	4	21,100	18,900	0	0
	5	438,000	435,000	11,000	0
Mash	6	88,000	89,000	2,200	0
	7	55,000	50,000	1,500	0
	8	924,000	759,000	43,000	0
	9	33,500	20,800	800	0
	10	647,000	606,000	8,500	0

* No viable organisms found in 0.02 g.

2. 加熱処理が飼料中の細菌数におよぼす影響

前述の成績で飼料をペレット化すると、大腸菌数が著しく減少することを明らかにしたが、これの主な原因として製造工程における加熱処理の影響をあげた。そこで、このことを実験的に確認するため、飼料の乳剤を80°C、30分間の加熱後にふたたび菌数計算し、この程度の加熱処理によって飼料中の総菌数および大腸菌数は加熱前のそれに比較してどのような影響がみられるかをしらべた。

Table 3はその成績の一部を示したものである。この表から明らかのように、ペレットおよびマッシュとも総菌数には加熱処理による影響(減少)がほとんどみられないか、またはみられたとしてもその減少率は比較的少ないものであった。これに対し、加熱前の飼料中に大腸菌が存在していても加熱後にはいずれも該菌が検出されなくなった。

以上のべた加熱処理による成績から、飼料中の細菌数を検査するにあたって対象となる菌種はほとんど有芽胞菌(*Bacillus*属)とみなされる。すなわち、このような菌種は熱抵抗性がきわめて強く、この程度の加熱処理(80°C、30分間)によって総菌数(有芽胞菌数)の大幅な減少はほとんどみられないのが普通であろう。この反面、大腸菌は熱抵抗性が比較的弱く、加

熱処理による影響はきわめて大きい。

このように、飼料中の大腸菌は比較的簡単な湿熱処理によって完全に死滅することから、飼料のペレット化によって総菌数まで規制することは困難であるとしても、毎常大腸菌陰性の飼料を製造することはけっしてむずかしい問題ではないであろう。

3. 飼料中の細菌叢

飼料中の細菌叢についてはいままでほとんど明らかにされていないが、本実験における細菌検索法の範囲ではTable 4のようであった。このうち、有芽胞菌および大腸菌についてはすでにのべたとおりである。

つぎに、腸球菌(*Streptococcus faecalis*)についてみると、その菌数は大腸菌のそれにかなり類似したパターンを示していた。すなわち、ペレットでは腸球菌陰性が47検体中24検体(51%)を占め、菌数のもっとも多く存在した検体でも5千個程度であった。これに反し、マッシュでは腸球菌が1千~5万個の範囲で存在する検体をもっとも多く、48検体中27検体(56%)を占め、該当菌陰性はわずか3検体(6%)にすぎなかった。

また、乳酸菌は存在しないか、または存在したとしてもその菌数はペレットおよびマッシュを問わずおおむね100個以下ときわめて少数で

Table 4 Bacterial Flora of Feeds

Flora	Pellet (47 samples)				Mash (48 samples)			
	Bacterial count per gram	0*	$\sim 1 \times 10^3$	$\sim 1 \times 10^4$	$5 \times 10^4 <$	0	$\sim 1 \times 10^3$	$\sim 5 \times 10^4$
Aerobic spore formers (bacilli)	0	0	33	14	0	0	29	19
<i>Escherichia coli</i>	27	11	9	0	5	12	25	6
<i>Streptococcus faecalis</i>	24	16	7	0	3	17	27	1
Lactobacilli	39	8	0	0	30	18	0	0
Staphylococci	0	40	7	0	0	43	5	0
Yeasts	35	12	0	0	11	21	16	0

* No viable organisms found in 0.02 g.

あった。一方、ブドウ球菌はペレットおよびマッシュとも該当陰性の検体はみられず、いずれの検体からも 50~1,000 個の範囲で検出された。

さらに、酵母 (Yeasts) の菌数についてみると、ペレットでは 47 検体中 35 検体 (74%) が該当陰性であり、該当菌の存在する検体でもその菌数はおおむね 500 個以下であった。この反面、マッシュにおける酵母菌数はペレットにおけるそれに比較して多く、該当菌は 48 検体中 37 検体 (77%) から検出され、その菌数は 500~5 千個の範囲で存在するものも多かった。

このほかの菌種として腸内細菌のうち *Proteus* や *Klebsiella* などがしばしば検出されたが、本実験における細菌検索法の範囲でサルモネラが検出されるようなことはなかった。

さらに、末同定のグラム陰性桿菌や球菌、およびグラム陽性桿菌や球菌が少数ずつ検出されることが多かった。

しかし、一般にこれらの菌種の菌数は不定であり、飼料中の細菌叢を構成する主要な菌種と考え難かった。

考 察

飼料の細菌検索は主にサルモネラの検出を目的として行なわれており、単味としての動物性飼料 (各種ミール) がその検索対象となっている場合が多い^{2,5,9)}。わが国では橋本ら (1966)⁴⁾ が国産および輸入の動物性飼料についてサルモネラの検索を行なっている。

それによると、供試ミール 424 検体のうち 25 検体 (5.9%) からサルモネラが検出され、その菌型は *S. thompson*, *S. infantis*, *S. tennessee*, *S. enteritidis*, *S. anatum*, *S. meleagridis*, *S. give*, *S. senftenberg* および *S. taksomy* など 9 型におよんだという。このように、動物性飼料がサルモネラに汚染されている危険はかなり大きく、今後この方面の飼料の管理法として細菌検査が励行されるべきであろう。

しかし、実際的な飼料の業務的衛生管理において直接にサルモネラ汚染のチェックを行なうことはかなりの困難をとまなうであろう。このことに関して坂崎ら (1960)⁸⁾ は国産フィッシュミール中の細菌数をしらべたところ、細菌汚染の程度は製造処理方法によってかなり異なり、機械乾燥のものは天日乾燥のものに比較して細菌数、とくに大腸菌数がきわめて規制されていることを明らかにしたが、このなかでサルモネラの汚染防止の 1 指標として直接サルモネラの検索を行なうよりも、その中に含まれる大腸菌を検索対称としたほうが合理的であるとのべている。

すなわち、大腸菌の存在は直接または間接的に糞便に汚染されていることを意味するのであり、必然的にサルモネラやその他の病原菌に汚染されていることの指標となるからである。しかし、たとえ配合原料中に大腸菌が存在したとしても、製造工程で該当菌が死滅する程度の熱処理が行なわれていれば、サルモネラなども当然死滅し、飼料はかなり清浄化されるであろう。

ところで、わが国で市販されている豚用配合

飼料中の細菌数についてはほとんど知られていない。しかし、今回わたくしどもが明らかにしたように、細菌汚染の程度は飼料の形状によってかなり異なった態度がみられた。

すなわち、飼料をペレット化したものでは大腸菌陰性、総菌数5万以下のものが比較的多かった反面、マッシュのかたちでは大腸菌陽性、総菌数5万以上のものが大部分であった。このような傾向はまた、Erwin (1955)³⁾が米国で市販されている鶏用配合飼料について形状別にサルモネラやそのほかの腸内細菌の検索を行なった成績からも明らかである。

すなわち、これらの菌種の検出率はそれぞれペレットで25%、グラニュール (granules) で15%、マッシュで60% およびコンセントレート (concentrate) で61%であったという。このように、細菌汚染の程度は飼料の形状によって明らかに異なっているが、これの原因についてはまえにのべたとおりである。

最近、赤池ら (1967)⁴⁾は SPF 豚用飼料を入手する必要にせまられ、まず市販配合飼料中の細菌数についてしらべたところ、総菌数および大腸菌数からみてほとんどのものはそのまま SPF 豚用飼料として使用するには不適當であったとのべている。

そこで、飼料の製造条件についていろいろ検討した結果、簡単な湿熱処理を行なうことによって大腸菌陰性、総菌数5万以下の SPF 豚用飼料を開発することに成功した。現在、わが国における SPF 豚の飼育に際してはこのような規制された飼料が使用されている。

しかし、SPF 豚用飼料において大腸菌陰性という点はきわめて重要な意味をもつとしても、総菌数5万以下という規制についてはさらに検討する必要がある。すなわち、総菌数は品質をみる1指標ではあっても、これの大部分は有芽胞菌とみなしてよく、該当菌の多少は必ずしも病原菌汚染の可能性を示唆するものではない。

さらに、市販配合飼料には総菌数5万個以上のもので普遍的にみられており、これを5万個以下に押えることは実際面でかなりの困難をと

もなうからである。したがって、飼料中に炭疽菌 (*Bacillus anthracis*) を除く有芽胞菌数が50万個程度まで存在したとしても、SPF 豚の維持に関してはほとんど影響ないものと考えられる。

いずれにしても、このような飼料の規制は SPF 豚に限らず、普通の (conventional) 豚においても飼料衛生という観点から大いに考慮を払う必要があり、製造、包装、輸送、貯蔵など全般にわたる品質管理の改善が望ましい。

なお、本実験においてはカビ (真菌) についてとくに触れなかったが、飼料を中心としたカビの中毒はしばしば問題になるところであり⁷⁾、これらについても十分な検討を行なう必要がある。

要 約

わが国で市販されている豚用配合飼料における細菌汚染の程度を明らかにするため、4飼料会社の製品について形状別 (ペレット 47 検体 およびマッシュ 48 検体) に細菌数の検索を行ない、つぎの成績を得た。

1. 飼料 1g 中の総菌数についてみると、ペレットでは5千~50万個の範囲で存在し、このうち5万個以下のもの 30 検体 (64%)、5~50万個のもの 10 検体 (21%) および50万個以上のもの 7 検体 (15%) であった。また、マッシュでは1~500万個の範囲で存在し、このうち5万個以下のもの 27 検体 (56%)、5~50万個のもの 12 検体 (25%) および50万個以上のもの 9 検体 (19%) であり、総菌数のパターンはペレットおよびマッシュともおおむね同じ傾向であった。

2. 大腸菌数はペレットの場合0~5千個の範囲で存在し、このうち大腸菌陰性のものももっとも多くて 27 検体 (58%) を占め、1,000個以下のもの 11 検体 (23%) および1,000個以上のもの 9 検体 (19%) であった。

これに対し、マッシュではおおむね0~5万個の範囲で存在し、このうち大腸菌陰性のものはわずか5検体 (10%) であり、1,000個以下のもの 12 検体 (25%) および1,000個以上のもの

もの 31 検体 (65%) であり, 明らかにマッシュ中の大腸菌数はペレット中のそれに比較して多数存在した。

3. 飼料を湿熱処理 (80°C, 30 分間) することによって, 飼料中の大腸菌は菌数の多少にかかわらず死滅したが, 総菌数 (主として有芽胞菌) にはほとんど変化がみられないか, またはみられたとしてもその減少率は比較的少なかった。

4. 腸球菌の場合, その菌数は大腸菌数と比較的一致していた。その他の菌種として乳酸菌, ブドウ球菌および酵母の検索を行ない, それぞれの菌数を明らかにした。

文 献

- 1) 赤池洋二, 中山昇, 長田久, 有吉修二郎, 柏崎守 : SPF 豚に関する研究, III. SPF 豚用飼料の検討, 日本畜産学会第53回大会, 京都 (1967).
- 2) Boyer, C.I., Bruner, D.W. and Brown, J.A.: *Salmonella* Organisms Isolated From Poultry Feeds. *Avian Dis.*, 2, 396-401 (1958).
- 3) Erwin, L.E.: Examination of Prepared Poultry Feeds for the Presence of *Salmonella* and Other Enteric Organisms. *Poultry Sci.*, 34, 215-216 (1955).
- 4) 橋本秀夫, 広森旭, 曾我部誠, 波岡茂郎: 国産および輸入飼料のサルモネラ. *食衛誌*, 7, 428-432 (1966).
- 5) Morehouse, L.G. and Wedman, E.E.: *Salmonella* and Other Disease-Producing Organisms in Animal By-Products A Survey. *J. Amer. Vet. Med. Ass.*, 139, 989-995 (1961).
- 6) 波岡茂郎, 村田昌芳, 長田久, 石沢武彦, 黒岡良治: 母乳による初生豚の腸内菌叢ならびに従来の人工乳および低蛋白人工乳が腸内菌叢に与える影響について. *日獣学誌*, 27, 221-231 (1965).
- 7) 大久保薫: 飼料を中心としたカビの中毒について. *日獣会誌*, 22, 453-468 (1969).
- 8) 坂崎利一, 蛭子悦郎: 魚粉中の細菌数について. *実験動物*, 9, 84-86 (1960).
- 9) Watkins, J.R., Flowers, A.I. and Grumbles, L.C.: *Salmonella* Organisms in Animal Products Used in Poultry Feeds. *Avian Dis.*, 3, 290-301 (1959).

※

※

※