

〈原著〉

鶏卵の環境状況に関する概括的考察 —サルモネラ属菌汚染を中心に—

鈴木 光一¹⁾、眞野 容子²⁾、古谷 信彦^{1), 2)}、對馬 宣道³⁾、藤谷 克己^{1), 4)}

Hygienic environmental study of commercially supplied eggs - on the survey of salmonella contamination -

Koichi Suzuki¹⁾, Yoko Mano²⁾, Nobuhiko Furuya^{1), 2)},
Nobumichi Tsushima³⁾ and Katsumi Fujitani^{1), 4)}

Summary Causative organisms of *Salmonella* spp. which can result in human illness, *salmonellosis*, is mainly *Salmonella* enterica. They are subdivided into serotypes 2,500 species approximately. In this study, we studied the environmental situation of the microbial contamination of the egg shell on three types of *Salmonella* spp. (*Salmonella* Enteritidis;SE, *Salmonella* Typhimurium;ST, *Salmonella* Infantis;SI) that cause severe food poisoning case. There is almost no habit of eating unheated raw eggs in other countries, however, in Japan eating raw egg with rice has been one of the popular food styles. In recent years, MHLW (Ministry of Health, Labour and Welfare) reports of mass food poisoning case caused by *Salmonella* spp. is decreasing. We investigated the experimental test of *Salmonella* spp. listed above on the general egg contamination situation (on egg contamination) and *Salmonella* spp. temporal erosion test on the flesh egg. To verify the possibility of contamination, we examined the following 4steps; ①SE pollution survey of commercial eggs. ②SE pollution survey of the feces of broiler chicken (50days after birth). ③SE

1) 文京学院大学大学院 保健医療科学研究科
〒113-8668 東京都文京区向丘1-19-1

2) 文京学院大 保健医療技術学部 臨床検査学科
〒113-0023 東京都文京区向丘2-4-1

3) 日本獣医生命科学大学 応用生命科学部
動物科学科
〒180-8602 東京都武蔵野市境南町1-7-1

4) 文京学院大学 保健医療技術学部作業療法学科
〒356-8533 埼玉県ふじみ野市亀久保1196

受領日：平成28年6月28日

受理日：平成28年7月25日

1) Graduate School of Health Care Science, Bunkyo
Gakuin University 19-1, Mukogaoka 1-chome,
Bunkyo-ku, Tokyo 113-8668, Japan

2) Department of Clinical Laboratory Medicine,
Faculty of Health Science Technology, Bunkyo
Gakuin University 4-1, Mukogaoka 2-chome,
Bunkyo-ku, Tokyo 113-0023, Japan

3) School of Animal Science, Faculty of Applied Life
Science, Nippon Veterinary and Life Science
University 7-1, Kyonancho 1-chome, Musashino-shi,
Tokyo 180-8602, Japan

4) Department of Occupational Therapy, Faculty of
Health Science Technology, Bunkyo Gakuin
University 1196 Kamekubo, Fujimino-shi, Saitama
356-8533, Japan

detection from the cecal contents of broiler chicken. ④Temporal erosion mechanism of *Salmonella* spp. on egg shell. In the result, no *Salmonella* spp. was detected from the commercial eggs for one month after purchase nor feces of chicken. *Salmonella* Typhimurium was detected from one of the ten broiler chicken cecal feces. Further, in the erosion experiment of *Salmonella* spp. through the egg shell, SE in the contents of egg was confirmed in 9 days, but no other *Salmonella* spp. was found. It is proved from this experiment that SE from chicken feces, which attaching to the egg shell, could be penetrated through the egg shell into the egg contents. Therefore, egg contamination with the cecum feces, which contains *S. Typhimurium* might be dangerous to some extent, when eating raw eggs. For the food safety, it is necessary to process some special treatment for eating a raw egg. Or, in addition, we like to suggest that eggs are required to sell separately between the eggs for raw eating only and general eggs.

Key words: *Salmonella* spp (SE, ST, SI), Eggs, Food poisoning

I. 諸言

鶏卵の健康阻害因子として病原微生物、食物アレルギーのアレルゲン、コレステロールなどが知られている。その内で、最も重要視されているのが病原微生物で、中でも鶏卵の *Salmonella* 属菌汚染が深刻な問題となっている。*Salmonella* 感染症の原因菌は、主に *Salmonella enterica* で、2,500種ほどの血清型に細分されている。*Salmonella* 属菌の菌体表面を構成するリポ多糖体 (O) 及び鞭毛 (H) にはそれぞれ抗原番号が付けられており、血清型はO抗原とH抗原の組み合わせによって決定されている¹⁾。鶏卵の食中毒の原因となる *Salmonella Enteritidis* (以後、SE) は、我が国でも毎年、鶏卵食中毒の大多数を占めており最も検出率の高い血清型として知られている。1980年代の中頃から欧米諸国、特に英国、フランス、北ヨーロッパ諸国及び米国において鶏卵によるSE食中毒事件が急増した^{2),3)}。しかしながら、我が国では、鶏卵は安全で栄養価の高い食品として、病人や老人及び虚弱体質の人を初めとし、人々の鶏卵の生食は一般的な食事形態の一つとなっている。1990年代では鶏卵による多くの食中毒事件数を占めていたが、厚生労働省の食中毒統計によれば、*Salmonella* 属菌による食中毒の事件数は、1999年をピークに減少傾向が認められ、2007年になると約100件の報告となった。また、患者数も減少傾向が認められるものの、患者数が

2007年に約3000人であった⁴⁾。このように *Salmonella* 属菌による食中毒は減少傾向にあるものの、鶏卵の生食は食品衛生上の危険性がしばしば指摘される。

Salmonella 属菌が無傷の鶏卵を汚染することが可能な経路として、垂直伝播であるin egg汚染と水平伝播であるon egg汚染がある^{5),6)}。on egg汚染は、産卵後の鶏卵に鶏糞を経由して *Salmonella* 属菌が付着し、*Salmonella* 属菌が殻を貫通することによって鶏卵内部を汚染する⁷⁾。また、*Salmonella* 属菌以外の腸内細菌科の鶏卵内部の汚染もこのon egg汚染が最も一般的な経路となっている⁸⁾。

前述で示しているように、*Salmonella* 属菌による食中毒は減少しつつあるが、厚生労働省の2015年の報告では患者数は約2000件であり、感染の報告はなくなることはない。一般流通鶏卵の *Salmonella* 属菌汚染の調査は我が国でも多く行われおり、鶏の体内には *Salmonella* 属菌が常在し、汚染源となっていることは明らかである。そのため、鶏舎で鶏が鶏卵を産卵する段階での危険性に着目し、様々な汚染の可能性を探ることが課題である。本研究においては、鶏卵への *Salmonella* 属菌汚染であるon egg汚染環境につき、まずは一般流通鶏卵からの感染、そして鶏舎での鶏糞の汚染、鶏の解体後の検体からの汚染についての可能性を検証した。鶏の解体検体は、*Salmonella* 属菌の最終的な好寄生部位である盲腸便を用いた⁹⁾。実際に *Salmonella* 属菌の卵

殻への侵入性の確認のため、*Salmonella*属菌の血清型別について経日的な検討を行った。

II. 方法と材料

初めに、*Salmonella*属菌の同定は、以下の方法で行った。SS寒天培地上に*Salmonella*属菌を疑う無色透明又は黒色コロニーを確認した場合、同定キットapi20E（シスメックス・バイオメリュー株式会社）を使用し同定を行った。更に、血清型判別はサルモネラ免疫血清（デンカ生研株式会社）を使用した。

①一般流通鶏卵の*Salmonella*属菌の検出

実験に供する鶏卵は、一般流通の小売店鶏卵16個を使用した。正常卵と異常卵（卵殻にひびを入れる）をそれぞれ、購入後のプラスチックの容器を用いて冷蔵保存（5℃）と同様の容器で我々の研究室内の密封されていない、棚の中での常温保存（室温25 ± 3℃）に分け、購入日から、当日、1週間、2週間、1カ月後にSS寒天培地を用いて*Salmonella*属菌の検出を試みた。これらの検討を2回行い、計32個の一般流通の小売店鶏卵の*Salmonella*属菌の検出を試みた。

②鶏糞からの*Salmonella*属菌の検出

実験に供する鶏糞はトンネル換気型無窓鶏舎と開放型鶏舎の2種類の異なる鶏舎より、排出後2時間以内の新鮮鶏糞を採取し使用した。トンネル換気型無窓鶏舎では鶏糞約2 gを4検体、開放型鶏舎では鶏糞約5 gを12検体、計68 g、16検体を対象として、それぞれ鶏糞1 gに対して2.5 mLの滅菌生理食塩水で希釈し、SS寒天培地を用いて*Salmonella*属菌の検出を試みた。

③鶏の消化管より*Salmonella*属菌の検出

実験に供する消化管は、孵化後40日前後のブロイラー 10羽の解体後の盲腸便を使用した。10検体の盲腸便のそれぞれ約2 gをハーナ・テトラチオン液体培地にて増菌培養後、SS寒天培地を用いて*Salmonella*属菌の検出を試みた。

④卵殻侵入（on egg）に関する検討

実験に供する鶏卵は一般流通の小売店鶏卵を使用し、また使用菌株はSE, *S. Typhimurium*（以後、ST）*S. Infantis*（以後、SI）を使用した。鶏卵は30秒間70%エタノールに浸漬し、20～30分間自然乾燥した。乾燥後、10⁵ CFU/mLで調整した3種類の*Salmonella*属菌の菌液に、鶏卵を

90秒間浸漬した。浸漬後、5日、7日、9日、11日間、①と同様の環境下で収容容器を滅菌処理し、冷蔵または常温保存し卵殻を通過したか菌数算定を行い検討した。

III. 結果

①一般流通鶏卵の*Salmonella*属菌の検出

一般流通で市販される鶏卵の*Salmonella*属菌汚染について調査を行った。結果は、Table 1に示したように全ての日数で*Salmonella*属菌の発育は確認されなかった。

②鶏糞からの*Salmonella*属菌の検出

空気を設計通り動かし、又自由に換気することのできるトンネル換気型無窓鶏舎と鶏舎の内外が壁と窓、あるいはカーテンで仕切られた開放型鶏舎の2種類の異なる鶏舎より、鶏糞の*Salmonella*属菌汚染について調査した。結果としては、全ての鶏糞から*Salmonella*属菌の検出は認められなかった。しかし、開放型鶏舎では赤色コロニーと*Salmonella*属菌を疑う黒色コロニーがすべての検体で確認された。実際に、api20Eを用いて同定した結果は*Proteus mirabilis*、*Proteus vulgaris*、*Providencia rettgeri*であった。換気型無窓鶏舎は*Salmonella*属菌を疑うコロニーは確認されず、赤色コロニーだけであった。

③鶏の消化管より*Salmonella*属菌の検出

ブロイラー 10羽の解体後、盲腸便からの*Salmonella*属菌汚染について調査した。10検体中4検体で、*Salmonella*属菌を疑うコロニーが確認された。Api20Eより4検体の内1検体より*Salmonella* spp.と同定され、血清型判別よりSTと最終同定した。また、残りの3検体はapi20Eより*Proteus mirabilis*と同定された。ブロイラーの消化管*Salmonella*属菌汚染率としては10検体中1検体であった。

④卵殻侵入（on egg）に関する検討

3種類の*Salmonella*属菌の卵殻に対する侵入性についての検討を行った。結果は、Table 2に示したように侵入が確認されたのは常温保存での9日以降であり、またSEのみであった。同じSEでも冷蔵保存では侵入は確認されず、またST、SIは冷蔵保存、常温保存のどちらの場合においても侵入は観察されなかった。

Table 1 Detection of *Salmonella* spp. on the chronological observation

	正常卵				異常卵			
	当日	1週間	2週間	1ヶ月	当日	1週間	2週間	1ヶ月
冷蔵	0/2	0/2	0/2	0/2	0/2	0/2	0/2	0/2
常温	0/2	0/2	0/2	0/2	0/2	0/2	0/2	0/2

注) 異常卵とは、卵殻にひびを入れた卵である。

Table 2 Chronological observation over the intrusion of *Salmonella* spp. in the egg contents

冷蔵保存				
菌名	5日目	7日目	9日目	11日目
S.Enteritidis	0	0	0	0
S.Typhimurium	0	0	0	0
S.infantis	0	0	0	0
常温保存				
菌名	5日目	7日目	9日目	11日目
S.Enteritidis	0	0	1.0×10^4 CFU/mL	2.5×10^4 CFU/mL
S.Typhimurium	0	0	0	0
S.infantis	0	0	0	0

Ⅳ. 考察

一般流通鶏卵の*Salmonella*属菌汚染状況を温度の違いによる保存や経日的などの様々な観点から調査した結果、*Salmonella*属菌による汚染は確認されなかった。鈴木ら¹⁰⁾の文献調査によると近年の、国内一般流通鶏卵の汚染率を調べた15文献の内*Salmonella*属菌汚染を確認したのは1文献だけで、その報告での汚染率は0.03%であった。また、1992年に行われた大規模な殻付き卵の*Salmonella*汚染調査では、24,000個のうち7個が*Salmonella*属菌に汚染されていたと報告されており、汚染率は7/24,000=0.03%であった。1ヵ月という長期間の保存においても*Salmonella*属菌の検出が確認されなかったことは、付着の可能性が低いことを示していると考えられる。実際に、諸外国と比べてもかなり低い汚染率となっているため、国内で市販された鶏卵には大方危険性がないと示唆された。

*Salmonella*属菌の検出での結果も含め、これらの要因として近年の鶏舎では*Salmonella*属菌を繁殖させない徹底した環境づくりを行っていることがありと推測される。本研究結果からも、養鶏場から採取した鶏糞から*Salmonella*属菌の検出は確認されなかった。鶏舎は、食の安全性を保つために、HACCP (Hazard Analysis and

Critical Control Point) を導入し、トンネル換気型無窓鶏舎を導入する等、環境改善が一層進んでいる。それらの改善が進んでいない中小の養鶏業者では、一部食の安全が保障できないという差別化が生まれる状況が推測できよう。一方、ブロイラーの消化管から*Salmonella*属菌汚染が確認されたことより、我が国でも鶏卵が*Salmonella*属菌の汚染に晒されることは否定出来ない。今回、確認された菌はSTであり、STがネズミの腸管内正常細菌叢であることから鶏舎へのネズミの侵入が推測される。

一般流通の鶏卵は基本的に産卵後GPセンターに集められ洗浄、検卵、選別が行われている。そのため、on eggでの*Salmonella*属菌の汚染はほとんどないと考えられる。しかし、in eggの汚染は洗浄で回避することはできない。このような現状から紫外線滅菌を導入している工場も増えてきている。我が国の鶏卵の生食の安全のため、更なる追求が期待される。一方、農家直送などの自然鶏卵はこれらの工程を経っていないため、一般流通鶏卵より一層危険なのではないかと推測される。有機農業における鶏舎の鶏も、いわゆる放し飼いなという状態であり、また鶏卵の品質の低下を気にして洗浄や紫外線滅菌などを行っていない。農家直送の鶏卵が、実際にどの程度の*Salmonella*属菌汚染率であるのかどう

か検討する必要があるかもしれない。

今回、卵殻通過実験において実際にSEの侵入性を確認することができた。これは、*Salmonella*属菌ではSEがSTやSIよりも高い侵入性を示している。また、冷蔵保存での侵入が確認されなかった。*Salmonella*属菌は鶏卵の卵殻表面で存在する場合、冷蔵環境より常温環境でより侵入性が高い可能性がある。*Salmonella*属菌の増殖条件より、ほとんどの血清型は7℃で発育は不可とされている¹¹⁾。そのため、10⁵ CFU/mLの*Salmonella*属菌が卵殻に付着した場合において、増殖をさせないことで卵殻への侵入は観察されない可能性が示唆された。これは、鶏卵の保存は冷蔵保存が好ましく、常温ではより一層*Salmonella*属菌の侵入率を高めてしまう危険性がある。

V. 結語

我々が、最も確実と言える*Salmonella*属菌の汚染のない、安全な生卵を食するためには、流通経路上で紫外線滅菌などの下処理を加えた上で、生食専用の鶏卵を一般卵とに分けて販売する等の工夫が求められる。また、鶏卵を常温で保存する危険性を示唆し、冷蔵で保存する重要性を改めて証明した。

VI. 参考文献

1) 江崎孝行：*Salmonella*属の菌種の分類命名に関する裁定委員会の決定事項。感染症学雑誌，76：839-840，2002.

2) Duguid J P North R A E: Eggs and *Salmonella* food-poisoning. an evaluation J Med Microbiol, 34: 65-72, 1991.

3) Rodrigue D et al: International increase in *Salmonella* enteritidis. a new pandemic Epidemiol Infect, 105: 21-27, 1990.

4) 田村 豊：食卵によるサルモネラ食中毒の現状と対策. 日本食品科学工学会誌，60：375-379，2013.

5) Messens W Grijspeerdt K Herman L: Eggshell penetration by *Salmonella*. a review Worlds Poult Sci J, 61: 71-84, 2005.

6) Messens W Grijspeerdt K Herman L: Eggshell characteristics and penetration by *Salmonella* enterica serovar Enteritidis through the production period of a layerflock. Br Poult. Sci, 46: 694-700, 2005.

7) Miyamoto T et al: *Salmonella* penetration through eggshell associated with freshness of laid eggs and refrigeration. J Food Prot, 61: 350-353, 1998.

8) Humphrey T J: Contamination of egg shell and contents with *Salmonella* enteritidis. a review Int J Food Microbiol, 21: 31-40, 1994.

9) Nakamura et al: Intracheal infection of chickens with *Salmonella* Enteritidis and the effect of feed and water deprivation. Avian Dis, 39: 853-858, 1995.

10) 鈴木穂高, 山本茂貴：日本，および諸外国における鶏卵・液卵の*Salmonella*汚染状況（文献調査）. 食品衛生学雑誌，34：318-322，1993.

11) Food Safety Risk Profile for *Salmonella* species in broiler (young) chickens. Compiled by the CCFH Working Group on Guidelines for control of Campylobacter and *Salmonella* spp, in broiler (young bird) chicken meat June：1-30, 2007.