

牧草サイレージの調製法と *Listeria* 属菌分離状況との関係

芹川 慎^{*1} 高橋 雅信^{*2} 小関 忠雄^{*3} 扇 勉^{*4}

根釧農業試験場で調製した各種牧草サイレージを対象に、*Listeria* 属菌 (L 属菌) の分離状況を調査した。タワーサイロおよびバンカーサイロで調製したサイレージでは、表層部、特に壁際で L 属菌が高率に分離された。ロールベールラップサイレージ (以下ラップサイレージ) では、表層部と同様に内側からも L 属菌が分離された。各種サイレージの pH と L 属菌分離状況との関係では、サイレージの pH が 6.6 以上では L 属菌が高率に分離され、4.5 以下では少ない傾向がみられた。これらから、タワーサイロおよびバンカーサイロの表層部とラップサイレージには、L 属菌が広く分布するが、サイレージ発酵が良好な部位では、L 属菌の増殖は抑えられるものと考えられた。

緒 言

Listeria monocytogenes (L.m) 菌はウシ、ウマ、ヒツジおよびヒトなど多くの動物に感染し、脳炎、敗血症および流産などの原因となる。また、乳製品、特に非殺菌乳を用いた製品から人に感染するため、食品衛生上も重要視されている。生乳の L.m 菌による汚染は、諸外国^[7,8] やわが国^[9,10,13] で多数報告されており、主要な汚染源として環境、糞便、サイレージなどが考えられている^[8]。Fenlon^[2-5] は、サイレージの調製条件や梱包状態と L.m 菌の増殖との関係を検討している。また、著者らは前報^[11] で牧草サイレージの調製条件と L.m 菌の発育との関連を、実験的に小規模に調製したサイレージで検討し、サイレージ中の空気残存あるいは空気漏れが、L.m 菌の増殖に最も関係することを明らかにしてきた。今回、実規模で調製した各種牧草サイレージを対象に、サイレージ調製条件と L.m 菌の分離状況との関係を検討したのでその概要を報告する。

試験方法

1) 牧草サイレージの調製法と採材方法

牧草サイレージの調製条件と L 属菌の分離状況を調査するために、根釧農業試験場で下記のように各種の牧

草サイレージを中水分で調製し、菌分離のための採材を行った。

・タワーサイロ：チモシー主体の 1 番牧草を 3 つのサイロ (1 号は大型、2, 3 号は中型) に詰め込み、調製後 80 日～110 日で開封した。採材は 1 号サイロではまず、ビニールシート (以下シート) 直下の壁際から 4 カ所と、中心部と壁際との間 (内側) から 5 カ所行った。その後、シート下 10～15, 35～40, 110, 170cm および 290cm より同様に採材した。2, 3 号サイロではシートの直下とシート下 30cm で、サイロの壁際と内側から各々 4 カ所ずつ採材した。

・バンカーサイロ：チモシー主体の 2 番牧草をバンカーサイロ (間口 5.2m, 高さ 2.3m, 奥行 22m) に詰め込みショベルローダで鎮圧後、上部をシートで覆った。採材は調製 2 カ月後にシートを取り除き、取り出し口の中央部と壁際の上、中間および下方より行った。さらに、シート下 10～15cm および 30cm から同様に採材した。

・ロールベール：チモシー主体の 1 番牧草および 2 番牧草のロールベールを、ラップフィルムの巻き数で 4, 6 および 8 重巻きで調製し、年内と翌春に開封した。表層部の採材は手で行い、内側はドリル式サンプラーを用い深さ 25～30cm から採材した。

2) 菌の培養方法

L 属菌の分離には、タワーサイロおよびバンカーサイロでは細切サイレージをそのまま用い、ロールベールラップサイレージ (以下ラップサイレージ) では 2～3 cm に細切し用いた。菌培養と pH 測定の方法は前報^[11] と同様に行った。L 属菌の分離状況は、サイレージ 20g 中検出されなかったものを陰性「－」とし、分離された菌数はサイレージ 1 g 中の指数値で示した。

2002 年 4 月 8 日受理

^{*1} 北海道立根釧農業試験場 (現：ホクレン農業協同組合連合会, 060-8651 札幌市中央区)

^{*2} 同上, 086-1153 標津郡中標津町

^{*3} 同上 (現：北海道農政部, 060-8588 札幌市中央区)

^{*4} 同上 (現：北海道立畜産試験場, 081-0038 上川郡新得町)

E-mail:ohgi @agri.pref.hokkaido.jp

結 果

タワーサイロで調製したサイレージのL属菌分離状況とpHは表1に示した。1号サイロの壁際では、シート直下でpHが平均8.9と高く、菌数も多く、カビの発生がみられた。シート下から深くなるにつれ菌数およびpHは低下し、シート下110cmより深くではL属菌が分離されなかった。一方、内側ではシート直下のpHが4.4と低かったが、L属菌は2部位から分離された。シート下10～15、35～40および110cmではL属菌が各々5、4、2部位から分離された。しかし、シート下170および290cmでは、L属菌は分離されなかった。2、3号サイロの壁際では、シート直下でpHが6以上と高く、L属菌が分離され、カビの発生もみられた。しかし、内側ではシート直下のpHが4.4以下で、L属菌も分離されなかった。シート下30cmでは、壁際、内側ともpHは低く、L属菌も分離されなかった。

表1 タワーサイロで調製した牧草サイレージのL属菌分離状況とpH

採取部位	サイロの壁際			サイロの内側		
	L属菌分離		サイレージ pH	L属菌分離		サイレージ pH
	部位数 ¹⁾	菌数 ²⁾		部位数 ¹⁾	菌数 ²⁾	
1号タワーサイロ						
シート直下	4/4	5.8	8.9	2/5	2.5	4.4
シート下10～15cm	4/4	4.0	6.6	5/5	4.4	4.8
シート下35～40cm	3/4	2.0	4.4	4/5	2.0	4.4
シート下110cm	0/4	-	4.3	2/5	2.0	4.4
シート下170cm	0/4	-	4.1	0/5	-	4.8
シート下290cm	0/4	-	3.9	0/5	-	4.3
2号タワーサイロ						
シート直下	1/4	1.0	6.3	0/4	-	4.3
シート下30cm	0/4	-	4.1	0/4	-	4.1
3号タワーサイロ						
シート直下	3/4	5.7	6.8	0/4	-	4.4
シート下30cm	0/4	-	4.1	0/4	-	4.5

¹⁾ 分離部位数/検査部位数

²⁾ 菌数は分離された部位の指数平均値で示した。

表2 バンカーサイロで調製した牧草サイレージのL属菌分離状況とpH

採取部位	サイロの壁際			サイロの内側		
	L属菌分離		サイレージ pH	L属菌分離		サイレージ pH
	部位数 ¹⁾	菌数 ²⁾		部位数 ¹⁾	菌数 ²⁾	
シート直下	3/3	6.0	7.1	2/3	2.5	4.2
シート下10～15cm	3/3	5.7	7.2	2/4	1.5	4.5
シート下30cm	0/1	-	4.1	0/1	-	4.1

¹⁾ 分離部位数/検査部位数

²⁾ 菌数は分離された部位の指数平均値で示した。

バンカーサイロで調製したサイレージのL属菌分離状況とpHは表2に示した。壁際のシート直下およびシート下10～15cmでは、pHは7以上と高く、すべての部位からL属菌が分離され、カビの発生もみられた。一方、内側のシート直下およびシート下10～15cmでは、pHは4.5以下であったが、L属菌はともに2部位から分離された。しかし、壁際および内側ともシート下30cmでは、L属菌は分離されなかった。

各種ラップサイレージのL属菌分離状況とpHは表3に示した。バール単位でみたL属菌分離状況は、4重巻きが8/11(73%)、6重巻きが1/4(25%)、8重巻きが3/4(75%)、翌春開封(4重巻き)が3/6(50%)であった。すべてのバールを部位別にまとめると、表層部からの分離率は186部位中39部位(21%)、内側からの分離率は107部位中21部位(20%)と差がなく、分離菌数およびpHも大差がなかった。また、翌春開封したバールの1つからは、全部位で多数のL属菌が分離された。

また、各種牧草サイレージの部位別pH域とL属菌の分離状況を表4にまとめた。サイレージのpHが6.6以上では、タワーサイロ、バンカーサイロおよびロールバールで調製したサイレージからL属菌が各々90%、100%、42%と高率に分離された。しかし、pH4.5以下ではタワーサイロおよびロールバールで調製したサイレージでL属菌が各々23.6%と低かった。

考 察

L.m菌は一般にpHが4.5以下あるいは5.0以下で発育が困難とされる^{1,4,6)}。しかし、1号サイロではpHが4.5

表3 各種ロールバールサイレージのL属菌分離状況とpH

	ロール数		表 層 部			内 側		
	検査 L属菌		L属菌分離		サイレージ pH	L属菌分離		サイレージ pH
	数	分離数	部位数 ¹⁾	菌数 ²⁾		部位数 ¹⁾	菌数 ²⁾	
4重巻き	11	8	15/74	2.7	5.0	13/45	2.7	5.0
6重巻き	4	1	1/30	4.0	8.3	1/18	1.0	5.0
8重巻き	4	3	11/30	4.3	5.4	1/18	4.0	5.6
翌春開封	6	3	12/52	5.8	5.6	6/26	4.3	5.3

¹⁾ 分離部位数/検査部位数

²⁾ 菌数は分離された部位の指数平均値で示した。

表4 各種サイレージのpHとL属菌分離状況との関係

	部位数	サイレージのpH域別L属菌分離状況		
		4.5以下	4.6～6.5	6.6以上
タワーサイロ	86	15/66 (23%)	4/10 (40%)	9/10 (90%)
バンカーサイロ	15	4/7 (57%)	1/3 (33%)	5/5 (100%)
ロールバール	293	2/32 (6%)	50/242 (21%)	8/19 (42%)

を示した内側のシート下110cm からも少数の *L* 属菌が検出された。これは本サイロではサイレージの取出しにトップアンローダを使用し、サイレージを壁際から中央に向かって集めているため、採材時に壁際の *L* 属菌に汚染されたサイレージが混入したためと推察された。Fenlon²⁾ はめん羊のリステリア脳炎の発生に際し給与したスタックサイロを調査し、堆積の端と表層部では pH が高く *L.m* 菌が増殖し、表層部2.5cm 以内ではサイレージ 1 g 当たり 1.2×10^4 個以上の発育があったと報告している。その原因として、重石を置いても表層部では、空気が十分排除されず残存するためと考察している。本成績ではシート直下の中央部では、*L* 属菌は陰性 $\sim 10^2$ 個/g 分離され、Fenlon の報告²⁾ より低かった。しかし、壁際からの菌数は 10^6 個/g と多数検出された。これは壁際の踏圧が弱く、乳酸発酵が十分でなかったためであろう。

一方、ロールベールサイレージでは、表層部と内側から同様の割合で *L* 属菌が分離され、内側も表層部とは同じ pH 環境であり、*L* 属菌が発育しやすいことを示している。ラップフィルムの巻き数と *L* 属菌の分離状況には差がなく、これは巻き数に関係なく穴のあるベールが含まれていたためと考えられた。また、翌春開封したロールベールから *L* 属菌が多数分離されたことから、*L* 属菌は耐凍性があり、春季の高温で増殖する可能性も示唆された。Wilesmith と Gitterl¹²⁾ は1980年代に入ってめん羊のリステリア症が増加したのは、ラップサイレージの普及と符合すると指摘し、ラップフィルムが損傷しやすいことに起因するとしている。Fenlon³⁾ はロールベールバッグサイレージでは傷穴がない場合でも、空気の流入し易い結束部で、表面にカビが発育して *L* 属菌が分離されたが、深部では分離されなかったと述べている。さらに、損傷の有無で *L.m* 菌の汚染率は変わらなかったが、 10^3 個/g 以上の検体は損傷のあるベールの方が多かったと述べている⁵⁾。本成績ではロールベールの内側からも *L* 属菌が分離されたことから、バッグサイレージとラップサイレージではサイレージ発酵に違いがあるのかもしれない。

以上のことから、タワーサイロおよびバンカーサイロで調製したサイレージは、表層部、特に壁際で pH が高く *L* 属菌の増殖がみられたのに対し、ロールベールサイレージでは表層部および内側からも *L* 属菌が検出されることが判明した。また、いずれのサイレージ調製法においても、サイレージ発酵が良好な部位では、*L* 属菌の増殖は抑えられるものと考えられた。

引用文献

1) 旭 興正, 岡 基. 家畜試年報 (昭和40年度).

171-176 (1967).

2) Fenlon, D.R. Vet Rec. 118, 240-242 (1986).

3) Fenlon, D.R. Grass and Forage Science. 41, 375-378 (1986).

4) Fenlon, D.R., Stark, B.A. et al eds. Silage and Health, 7-18, Chalcombe Publ, Marlow Bottom, Bucks (1988).

5) Fenlon, D.R., Wilson, J. and Weddell, J.R. Grass and Forage Science. 44, 97-100 (1989).

6) Irvine, A.D. Vet Rec. 27, 115-116 (1968).

7) 丸山 努, 寺尾道徳, 高井伸二, 井上 智, 仲真昌子, 小久保彌太郎. 獣医畜産新報 44, 753-779 (1991).

8) Prentice, G.A. 生乳中の病原菌 IDF Group A 10/11 A Document 158 (市川意子訳), 乳質改善資料. 99, 95-105 (1994).

9) 齊藤章暢, 徳丸雅一, 正木宏幸, 板屋民子, 青木敦子. 日獣会誌. 44, 378-393 (1991).

10) 笹野 貢. 生乳の品質管理. 50-51, 酪農総合研究所, 札幌 (1998).

11) 芹川 慎, 高橋雅信, 糟谷広高, 藤田真美子, 扇勉. 北海道立農試集報. 79, 98-101 (2000).

12) Wilesmith, J.W. and Gitter, M. Vet Rec. 119, 467-470 (1986).

13) Yoshida, T., Sato, M. and Hirai, K. J Vet Med Sci. 60, 311-314 (1998).

キーワード: *Listeria* 属菌, 牧草サイレージ調製

The Relationship between the Method for Making Grass Silage and the Prevalence of *Listeria* spp.

Shin SERIKAWA^{*1}, Masanobu TAKAHASHI^{*2}, Tadao OZEKI^{*3} and Tsutomu OHGI^{*4}

Summary

The prevalence of *Listeria* spp. in the grass silage ensiled at the Konsen Agricultural Experiment Station was surveyed. In the silage ensiled in tower silo and bunker silo, *Listeria* spp. was isolated from many surface specimens, especially from the specimens near the wall. In the round bale silage, *Listeria* spp. was isolated from the surface and inside specimens. *Listeria* spp. was isolated more frequently from specimens with pH over 6.6, and less frequently from specimens with pH below 4.5. These results indicated that *Listeria* spp. would grow well on the surface of the silage ensiled in tower silo and bunker silo, also in the round bale silage, and the growth of the bacteria would be suppressed in the appropriately fermented silage.

^{*1} Hokkaido Konsen Agricultural Experiment Station (Present; HOKUREN Federation of Agricultural Cooperatives, Sapporo, Hokkaido, 060-8651 Japan)

^{*2} *ibid.*, Nakashibetsu-cho, Hokkaido, 086-1153 Japan

^{*3} *ibid.* (Present; Department of Agriculture, Hokkaido Government, Sapporo, Hokkaido, 060-8588 Japan)

^{*4} *ibid.* (Present; Hokkaido Animal Research Center, Shintoku-cho, Hokkaido, 081-0038 Japan)

E-mail: ohgi@agri.pref.hokkaido.jp