採卵養鶏場における *Salmonella* 汚染状況と 除菌方法に関する検討

保 科 健・板垣朝夫・五明田 享

(島根県衛生公害研究所)

(受付 平成7年 5月 8日)

(受理 平成7年12月26日)

A Survey for Contamination of *Salmonella* in Poultry Farms, and Studies on the Elimination

Ken HOSHINA, Asao ITAGAKI and Manabu GOMYODA

(The Shimane Prefectural Institute of Public Health and Environmental Science,
582-1 Nishihamasada-cho, Matsue-shi, Shimane 690-01)

A Survey for contamination of *Salmonella* from poultry farms in Shimane Prefecture was carried out during the period from April, 1993 to March, 1994.

Salmonella were isolated from feces of laying hens and feed in 1 (7.7%) of 13 poultry farms and the detected serotype was only *Salmonella* Tennessee. The cause of contamination was bonito powder in feed.

Salmonella had been isolated for 8 weeks after disinfection in a poultry farm contaminated by *Salmonella*, but no *Salmonella* were isolated there after.

Key words: Survey, *Salmonella* Tennessee, Plasmid profile, poultry farm

緒 言

近年、海外との人の往来および動物、食品、飼料等の輸入増加に伴い、*Salmonella* による食中毒や散発下痢症の発生は、増加する傾向にあり、また、これまでわが国ではあまり分離されなかった血清型も報告されるようになった¹⁾。

Salmonella 感染症の主な原因食品として、食肉およびその加工食品が挙げられるが²⁾、1990年に広島市の洋菓子店において、ケーキ材料の液卵が本菌に汚染していたと推定される食中毒が発生し³⁾、その後、卵および卵加工食品も重要視されている。

そこで今回、著者らは採卵養鶏場（以下養鶏場）における本菌汚染状況を調査し、あわせて保菌鶏の除菌方法について検討したので報告する。

材料および方法

1. 材 料

1993年4月から1994年3月の間に、島根県東部の養鶏場13ヶ所を対象に毎月1回、鶏の飼育ケージの新

〒690-01 島根県松江市西浜佐陀町 582-1

鮮な鶏糞(1g)10検体、液卵(25ml: 卵10個を割卵し攪拌したもの)2検体、飼料(10g)1検体、鶏舎の排水(20ml)1検体を採取した。

また、鶏糞および飼料から *Salmonella* が検出されたA養鶏場については、本菌が分離された時点から、分離されなくなるまで鶏糞を毎週1回、10検体、さらに本菌が分離された時点から5週間、毎週1回、無洗浄の割卵後の殻10検体を採取し、*Salmonella* の検査を行った。

なお、配合飼料については、その各素材(コンミール、鰯粉末、鯉粉末、大豆かす、牧草、米糠、牡蛎殻、海草、唐辛子、炭酸カルシウム、ビタミン、食塩、リン酸カルシウム)を各々1検体を採取し、*Salmonella* が検出された鯉粉末は5検体を採取し、検査を行った。

Salmonella の生化学的性状、薬剤感受性およびプラスミドDNAの分離等の各試験には、A養鶏場で4~6月の各月に鶏糞から分離された3株と、配合飼料に含まれている鯉の粉末から、4、5月に分離された2株の合計5株を用いた。

2. *Salmonella* の分離および同定方法

Salmonella の分離方法は、食品衛生検査指針⁴⁾および微生物検査必携⁵⁾に基づいて実施した。液卵は10個を割

卵後、攪拌して1検体とし、その25 mlをEEM培地(日水)225 mlに接種、37℃、24時間増菌後、培養液10 mlを亜セレン酸加SBG培地(日水)90 mlに接種して、43℃、24時間増菌培養した。各培養液はMLCB平板培地(日水)に塗抹し、分離培養(37℃、24時間)後、疑わしい集落を5個から10個を1%乳糖加リンジ鉄寒天培地(日水)に釣菌し、確認培養を行った。なお鶏糞、飼料、排水溝の汚水および卵殻については、直接亜セレン酸加SBG培地で増菌を行った。

*Salmonella*の同定はAPI-20E(アスカ純薬)を用いて実施した。血清型別は市販診断用免疫血清(デンカ生研)を用い、Kauffman-whiteの抗原構造表にしたがって行った⁶⁾。

鶏糞および飼料中の*Salmonella*の菌数測定は、各試料の10倍段階希釈液0.1 mlをMLCB平板培地に塗抹、培養後、疑わしい集落を10個から20個釣菌し、確認試験を行った後、算出した。

3. 薬剤感受性試験

分離株の薬剤感受性試験は、昭和ディスクを用いて1濃度拡散法⁵⁾により行った。使用したディスクはアミノベンジルペニシリン(Pb)、プロカインペニシリン(GP)、セファロリジン(CZ)、セファレキシン(Cex)、硫酸カナマイシン(KM)、硫酸ゲンタマイシン(Gm)、塩酸テトラサイクリン(TC)、塩酸ミノサイクリン(Mno)、クロラムフェニコール(CP)、ホスホマイシン(Fom)、ナリジクス酸(Nd)、ラクトビオン酸エリスロマイシン(EM)、硫酸コリスチン(K)の13種類である。

4. プラスミドプロファイル試験

プラスミドの抽出はKodoおよびLiuの変法⁷⁾にしたがって行った。抽出したプラスミドDNAは0.7% agaroseゲルで100 V、30分間電気泳動後、ethidium bromide (0.5 µg/ml)で染色した。プラスミドの分子量の測

定は、*E. coli* V517 保有プラスミドを対照として行った。

5. 養鶏場の*Salmonella*除菌方法

*Salmonella*汚染鶏舎に逆性石鹼(パコマ:エーザイ)を3日から4日置きに9週間、噴霧消毒した。さらに、消毒を開始してから3週間後、カチオン系消毒薬(アストップ:エーザイ)を1週間置きに5回、飲水投与を行った。

結 果

1. 養鶏場の*Salmonella*汚染状況

*Salmonella*は、調査した13養鶏場のうちA養鶏場のみから検出された。

その検出状況は、4~6月には鶏糞から、4、5月には配合飼料からも分離された(Table 1)。なお、鶏糞中の*Salmonella*菌量は 4.2×10^2 CFU/g~ 3.8×10^4 CFU/g、配合飼料は 3.6×10^3 CFU/g~ 4.2×10^4 CFU/gであった。配合飼料から*Salmonella*が分離されたことから、その各素材の単品について汚染を調べたところ、自家製の鰹の粉末から*Salmonella*が分離された(Table 2)。

他方、A養鶏場から採取した無洗浄の卵殻から*Sal-*

Table 1. Detection of *Salmonella* in poultry farms during the period from April, 1993 to March, 1994

poultry farms	Feces of laying hens	Liquid Eggs	Feed	Drainage
A	18/120*	0/24	2/12	0/12
B~M	0/120	0/24	0/12	0/12

Ten samples of feces of laying hens, 2 samples of liquid eggs, 1 sample of feed and drainage were examined once a month.

* Number of *Salmonella*-positive samples/number of samples examined.

Table 2. Detection of *Salmonella* in A poultry farm

Samples	Number of Samples	Number of Positive Samples	<i>Salmonella</i> counts (CFU/g)
Feces	90	30	$4.2 \times 10^2 \sim 3.8 \times 10^4$
Egg shell	50	0	
Feed			$3.6 \times 10^3 \sim 4.2 \times 10^4$
Corn meal	1	0	
Sardine powder	1	0	
Bonito powder (home made)	5	5	
Soybean cake	1	0	
Grass	1	0	
Rice bran	1	0	
Oyster shell	1	0	
Seaweeds	1	0	
Guinea pepper	1	0	
Calcium carbonate	1	0	
Vitamin	1	0	
Sodium chloride	1	0	
Calcium hydrogenphosphate dihydrate	1	0	

The samples were collected in following manner: 10 samples of feces of laying hens were examined once a week for 9 weeks, 10 samples of egg shell were examined once a week for 5 weeks.

Fig. 1. Detection of *Salmonella* from feces of laying hens in A poultry farm after disinfection

monella は分離されなかった。

2. A 養鶏場における *Salmonella* 防除

鶏舎の消毒および消毒剤の飲水投与を行った結果、約 9 週間後には鶏糞から *Salmonella* は検出されなくなった (Fig. 1)。また、その後の 1 年間の検査でも検出されなかった。

3. *Salmonella* の血清型、生化学的性状、薬剤感受性試験およびプラスミド DNA の分離

A 養鶏場の鶏糞と配合飼料中の鰹の粉末からの分離菌株は同一性状を示し (Table 3)、その血清型は、*S. Tennessee* であった。さらに、薬剤感受性試験およびプラスミドプロファイル試験でも、すべて同一性状を示した。薬剤感受性試験は、使用した 13 薬剤の内 EM および CP の 2 剤に耐性を示し、またプラスミドプロファイル試験では、プラスミド DNA は保有していなかった。

考 察

Salmonella 食中毒の原因食品としては、鶏肉が関与しているものが多いと報告⁸⁻¹⁰⁾されている。また近年、*Salmonella* 汚染鶏卵による感染例も報告^{11, 12)}されており、大きな社会問題となってきた。

今回、著者らは *Salmonella* 疫学調査の一環として、採卵養鶏場の本菌の汚染状況を調査した。その結果、養鶏場 13 ヶ所中 1 ヶ所 (7.7%) から *Salmonella* が検出された。さらに、*Salmonella* が検出された A 養鶏場について詳細な調査を行った結果、鶏糞と配合飼料 (鰹の粉

Table 3. Biochemical characteristics and drug resistance of *S. Tennessee*

Characteristics	Reaction
ONGP test	—
Arginine dehydrolase	+
Lysine decarboxylase	+
Ornithine decarboxylase	+
Citrate (Simmons')	+
Hydrogen sulfide	+
Urease	—
Tryptophan deminase	—
Indole production	—
Voges-proskauer	—
Gelatinase	—
Motility	+
Oxidase	—
Acid produced from:	
Glucose	+
Mannitol	+
Inositol	+
Sorbitol	+
Rhamnose	+
Sucrose	—
Melibiose	+
Amygdalin	—
Arabinose	+
Drug resistance	EM, CP*

* EM: Erythromycin, CP: Chloramphenicol

末) から *S. Tennessee* が分離された。また、これらの菌はすべて同一性状を示したことから、その汚染源は、配合飼料に使われている自家製の鰹の粉末によると推察された。この鰹の粉末は A 養鶏場に搬入する前にインスタントラーメンのスープを作る工場で、煮汁を採取するために煮沸されていることから、鰹への *Salmonella* 汚染は煮沸以後の運搬中および A 養鶏場での保存期間中に発生したものと推察される。特に、A 養鶏場は鰹の粉末を搬入後、ビニールハウス内で約 1 ヶ月間放置し、乾燥を行っており、この期間にねずみなどの動物による汚染も考えられる。

鶏の *Salmonella* 除菌方法として、抗菌剤の投与が行われている¹³⁾が、佐藤ら¹⁴⁾は糞便中の *Salmonella* を減少させることは認められるが、完全には除菌することができず、in-egg による卵感染を防止することができないと報告している。今回実施した A 養鶏場での除菌方法は、カオチン系の逆性石鹼の養鶏場内の噴霧消毒と、塩化ジデシルジメチルアンモニウム含有カオチン系消毒剤の鶏への飲水投与であった。しかし、これらの消毒剤は、家畜伝染病予防法指定消毒薬成分含有製剤であり¹⁵⁾、飲水投与にあたっては、投与量を十分検討することが重要である。

平成 5 年 9 月に農林水産省は、採卵鶏農場におけるサルモネラ衛生対策指針を定めた¹⁶⁾。今後は、この指針を養鶏場に周知徹底させることにより、生産段階における *Salmonella* の汚染防止を図り、衛生対策の推進に努め

ることが汚染鶏卵の防除に必要と思われる。

文 献

- 1) 厚生省保健医療局エイズ結核感染症課：平成4年 感染症サーベランス事業年報，p. 249-253 (1995).
- 2) 坂崎利一：サルモネラ。食中毒。坂崎利一編，p. 105-147，中央法規出版，東京 (1981).
- 3) 萱島隆之，木戸照明，石村勝之，中野 清，松石武昭，荻野武雄：ティラミスによる *S. Enteritidis* 食中毒事例。病原微生物検出情報，**12**, No. 1 (No. 131), 5-6 (1991).
- 4) 仲西寿男：サルモネラ。食品衛生検査指針微生物編。厚生省生活衛生局監修，p. 118-126，日本食品衛生協会，東京 (1990).
- 5) 田村和満：サルモネラ。微生物検査必携細菌・真菌検査第3版。厚生省修監，日本公衆衛生協会，東京 (1987).
- 6) WHO collaborating center for Reference and Research on *Salmonella* (Antigenic formulae of the *Salmonella*), Institut Pasteur, (1984).
- 7) Kado, C. I. and Liu, S. T.: Rapid procedure for detection and isolation of large and small plasmids, *J. Bact.*, **145**, 1365-1373 (1981).
- 8) 保科 健，福島 博，中村 令，伊藤義広，五明田 孝：食肉販売店舗での食肉の *Salmonella* 汚染経路の解明。食品と微生物，**3**(2), 129-133 (1986).
- 9) 石井宮次：注目すべき食中毒菌 2. サルモネラ。生活衛生，**36**, 247-256 (1992).
- 10) 板屋民子，徳丸雅一，砂川 誠，正木宏幸，青木敦子，岩崎久夫：食鳥処理場および市販食鳥肉の食中毒細菌の汚染状況。日獣会誌，**40**, 191-196 (1987).
- 11) 村瀬 稔，仲西寿男：たまごとサルモネラ。食品と微生物，**8**(4), 181-187 (1992).
- 12) Bryan, F. L.: Current trends in foodborne Salmonellosis in the United States and Canada, *J. Food Prot.*, **44**, 394-402 (1981).
- 13) 佐藤静夫：新鶏病全書，高松泰人，監修，47-63，鶏友舎，東京 (1982).
- 14) 佐藤静夫：鶏の *Salmonella* Enteritidis (腸炎菌) 感染症。日獣会誌，**44**, 565-576 (1991).
- 15) 家畜伝染病予防法施行規則：「消毒の基準の備考に規定する医薬品の指定について」。
- 16) 農林水産省畜産局衛生課：5-65「鶏卵のサルモネラ衛生対策指針について」(平成5年9月10日)。