食鳥肉のサルモネラ汚染調査とその防止対策

VIII. *S. sofia* 培養菌による雛経口投与試験

渡辺昭宣* 徳丸雅一* 栗栖 誠* 正木宏幸* 池内俱子* 野田敬子*

(昭和 50 年 10 月 7 日受付)

Surveys and Control of Salmonella Contamination of Chicken Meat

VIII. Experiments on Oral Inoculation of Chicks with *Salmonella sofia* Culture

AKINOBU WATANABE, M. TOKUMARU, M. KURISU, T. IKEUCHI, H. MASAKI and K. NODA

(Division of Food Sanitation, Hygienic Laboratory, Prefecture of Saitama, Urawa)

SUMMARY

Groups A, B, C, and D of chicks were inoculated orally with 1 , 10^2 , 10^4 , and 10^7 cells *per capita* of *Salmonella sofia* culture, respectively. During a period of observation, the organism was not detected from group A, but began to be detected from the digestive tract, feathers, and the bursa of Fabricius in groups B, C, and D on the 21st, second, and first

day of observation. Group A and a control group were negative for antibody in the blood. Antibody began to be produced in groups B, C, and D on the 21st, 14th, and 10th day of observation and increased gradually. The chicks of these three groups seemed to be carriers to induce contamination of the environment and meat.

さきに、著者らは食鳥肉のサルモネラ汚染の実態およびこれに対する処理場での実施可能な防止対策について検討し、汚染排除および汚染拡大防止にかなり有効な手段を見出すことができた¹³⁾。しかし、これらの処理場におけるサルモネラ汚染防止対策だけでは食鳥肉の汚染を完全に排除することはできず、食鶏の生産から消費にわたった系統的な対策をたてなければ、これを根絶することはできないと考えられる。

最近、食鳥肉における汚染サルモネラのうち、*S. sofia* は短期間に急激に検出率を高め、ほぼ全国各地で生産されたものから検出されるようになった。また、本菌は、生鶏では内臓よりも羽毛、表皮から検出されることが多く、と体の体表皮汚染が食鳥肉の直接、間接の汚染源となることが証明された。いっぽう、本菌の人における保菌率も増加の傾向がみられ、また、食中毒も発生しているので、サルモネラ症の疫学上注目すべき菌型とみなされる。

そこで、食鶏における *S. sofia* の汚染経路と、それに対する病原性を追求するための基礎的研究として、初生雛に本菌を経口投与し、経時的に排菌、体内分布、体表汚染および抗体産生の推移を検討した。

実験材料と方法

1) 供試菌株

* 埼玉県衛生研究所食品衛生部 (浦和市上大久保639-1)

著者らが食鳥肉のサルモネラ汚染調査時に保菌鶏から分離した *S. sofia* (strain No. 1920) を用いた。

2) 実験雛と飼育方法

白色レグホン、2日齢雛167羽を県立養鶏試験場より購入し実験に供した。雛は1群30~40羽とし、5群に分け、バッテリー式育雛器(JPJミゼット型5段式)で飼育した。各階間の汚染を防ぐため育雛器の床と側面下部周囲を硫酸紙で覆い、最上段に对照群24羽を入れ、2段目にA群33羽、3段目にB群42羽、4段目にC群35羽、5段目にD群33羽を収容し、上段から下段にゆくに従って投与菌量を増加した。

飼料はブタイ用(Vゴールド前期用と後期用、明治飼糧)を購入し、開封時にサルモネラ陰性を確認して使用した。

3) *S. sofia* 培養菌の投与方法

S. sofia のトリプトソイブイオン 37℃ 24時間培養液を滅菌生理食塩水で適当な菌量になるように希釈し、A群からC群まではその0.2mlを、D群はその0.5mlをカテーテルで経口投与した。投与菌量はA群; 1~2個/0.2ml, B群; 100~400個/0.2ml, C群; 1.1×10^4 個/0.2ml, D群; 1.0×10^7 個/0.5mlとした。また、对照群には滅菌生理食塩水の0.2mlを同様に経口投与した。

4) *S. sofia* 投与後の調査

(1) 雛の投与菌検査

各群とも、投与後1週間は毎日、それ以後は3~7日

間隔で毎回2～3羽を無作為に選出し、放血と殺後、羽毛と臓器について菌検索を行なった。なおB、C、群および対照群は7週間、A、D群は4週間検索を行なった。

検体採取順序は、まず羽毛を体表の各所から採取した後、頸部を酒精綿でよく清拭し、皮膚を切開したのち同部位血管を一括切断して放血し、培養用と抗体測定用にかけて採取した。つぎに頸部を持って吊下げ、と体を3%クレゾール水に浸し、消毒した後、肝、心、脾、腎(各1/2～1/5量)、ファブリシウス囊(1/4量)、遺残卵黄(全部)、嗦囊、腺胃、筋胃(内容物の一部)、十二指腸、回腸、盲腸、直腸(内容物を含め2～3cm)の順に採取した。

培養方法は、試料をYCC液体培地(試料の10倍量)で35℃20時間前培養した後、その0.5mlをラパポート培地10mlに移殖して35℃20時間選択増菌し、菌分離はMLCB平板培地で35℃20時間培養で行なった。分離菌の同定は、1平板当たり5～10個の疑わしい集落をとり、生物および生化学的性状ならびに抗*S. sofia*血清による凝集反応によって行なった。

(2) ケージ内大便の菌検索

ケージの底に敷いた硫酸紙をとりかえる際、紙上の大便を数箇所から3～5g集め、各群とも投与後第1週は毎日、それ以後は3～7日間隔で、B、C群および対照群は7週間、A、D群は4週間にわたり前記と同様の方法で投与菌の検索を行なった。なお、床敷の硫酸紙は、菌検索実施の如何にかかわらず、毎日交換した。

(3) 血中抗体価(H)の測定

放血時に採取した血清について、常法に従って定量凝集反応を行ない、H抗体価を測定した。

抗原には*S. sofia*(No. 1290)のトリプトソイブイオン35℃18時間培養菌をホルマリン処理したものを用い、50℃水浴中で2時間反応させた後、ただちに凝集の有無を判定した。なお、抗体検査は投与後1週より7日間隔で行なった。

(4) 体重測定

各群雛の臨床所見を毎日観察するとともに、7日間隔で体重測定を行なった。体重は菌検索用雛の2～3羽について放血前に計量し、各群毎の平均値を算出した。

実験成績

各実験群とも、全実験期間を通じて元気、食欲および大便の性状についてとくに異常を示さず、また、死亡したものはなかった。菌投与群と対照群における体重増加曲線は図1に示すごとくであり、投与群と対照群の体重増加率にほとんど差異は認められなかった。

なお、A群3羽、B群2羽、D群1羽の計6羽から投与菌以外のサルモネラが検出された。菌型はいずれも*S. senftenberg*で、検出部位は、遺残卵黄、腺胃、羽毛が各

図1 *S. sofia* 投与群の体重増加

1例、嗦囊が2例、筋胃、十二指腸、回腸が各3例、ファブリシウス囊、直腸が各4例であり、盲腸は全例陽性であった。また、これらの雛からは投与菌(*S. sofia*)は検出されなかった。

1) *S. sofia* の検出状況

A群(1個/羽)は28日間、対照群は49日間観察を行なったが、その間、羽毛、諸臓器および排泄された大便のいずれからも投与菌は検出されなかった。

B群(10^2 個/羽)の成績は表1に示すごとくである。個体別にみると、第3週以後では、すべてのものが、それぞれ検査したいずれかの部位に投与菌を保有していた。また、プールした大便では、投与10日以後から陽性となった。

臓器別にみると投与後2週までは、ほとんどの部位が陰性で、第1日殺1例の嗦囊、回腸、第5日殺の1例の盲腸、直腸および第7日殺の1例の嗦囊、腺胃、盲腸が陽性を示したのみであった。第3週以降の投与菌検出状況をみると、消化管下部では第5週例を除き第3週以降から投与菌が回収されることが多く、盲腸、直腸ではほぼ全例陽性を示した。また、ファブリシウス囊からは第4週以降に投与菌が回収されることが多く、羽毛は全例が第3週以降に陽性を示した。

心、肝、脾は全期間を通じてすべて陰性であり、腎は第4週および第7週の各1例、遺残卵黄は第7週の1例がそれぞれ陽性を示した。

C群(10^4 個/羽)の成績は表2に示す通りである。個体別にみると、投与2日以後、観察終了時までほぼ全例

表1 *S. sofia* の臓器別検出状況B群; 10²/0.2 ml 経口投与

検査部位		投与後日数													
		1	2	3	4	5	6	7	10	14	21	28	35	42	49
心・血液	液	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	肝	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	脾	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	腎	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1
腺筋十二指腸回盲直	嚙嚢	1*	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0			
	胃	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1	1	0	2	1
	胃	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1	1
	腸	0	0	0	0	0	5	0	0	0	0	2	0	2	2
	腸	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1	2	1	3	2
	腸	0	0	0	0	1	0	1	0	0	3	2	0	3	2
ファブリシウス嚢	嚢	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	2	2	2	3
	遺残卵黄	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0			1/1
羽毛	毛	0	0	0	0	0	0	0	0	0	3	3	3	3	3
	検査羽数	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3
腸性羽数	腸性羽数	1	0	0	0	1	0	1	0	0	3	3	3	3	3
ケージ内大便		—	—	—	—	—	—	—	+	+	+	+	+	+	+

* 陽性例数

表2 *S. sofia* の臓器別検出状況C群; 10⁴/0.2 ml 経口投与

検査部位		投与後日数													
		1	2	3	4	5	6	7	10	14	21	28	35	42	49
心・血液	液	0	0	0	0	0	0	0		0	0	0	0	0	0
	肝	0	0	0	0	1	0	0		0	0	0	0	0	0
	脾	0	1*	0	0	0	0	0		0	0	0	0	0	0
	腎	0	1	1	0	0	2	3		0	0	0	0	0	0
腺筋十二指腸回盲直	胃										2	2	2	1	0
	胃										2	2	2	1	0
	腸										2	2	2	1	0
	腸										2	2	2	2	1
	腸	1	2	2	1	1	2	3		2	3	3	3	2	3
	腸	1	2	2	1	1	2	3		2	3	3	3	2	3
ファブリシウス嚢											3	2	3	2	2
羽毛	毛	0	0	2	2	2	1	2		2	3	3	3	3	2
	検査羽数	2	3	3	2	2	3	3		2	3	3	3	3	3
腸性羽数	腸性羽数	1	2	2	2	2	2	3		2	3	3	3	3	3
ケージ内大便		+	+	+	+	+	+	+		+	+	+	+	+	+

* 陽性例数 嚙嚢および遺残卵黄は検査せず

陽性の成績を示した。また、プールした大便は、全期間陽性であった。

臓器別にみると、盲腸、直腸は第1日、第4日および第5日例、羽毛は第1~2日および第6日例をそれぞれ

除き、ほとんどのものが全期間を通じて陽性であった。

腺胃、筋胃、十二指腸および回腸は第1~2週までは検査を行なわなかったが、前3者は第3~5週、後者は第3~6週まで、ほぼ全例陽性であった。また、ファブリ

食鳥肉のサルモネラ汚染調査とその防止対策

表3 *S. sofia* の臓器別検出状況

D群; $10^7/0.5\text{ ml}$ 経口投与

検査部位		投与後日数													
		1	2	3	4	5	6	7	10	14	21	28	35	42	49
心・血液	液	0	0	2*	0	1	1	0	0	0	0	0			
	肝	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0			
	脾	0	0	1	0	0	1	0	1	1	0	0			
	腎	1	0	1	0	0	1	1	1	0	0	0			
嗦腺筋十二指腸盲直	嚢	2	3	3	3	1	3	3	2	1	2	1			
	胃	1	3	2	2	3	2	3	3	0	0	1			
	胃	0	3	1	2	0	1	2	1	0	1	0			
	腸	1	3	1	2	1	0	0	1	1	0	0			
	腸	2	2	1	1	0	1	1	1	1	0	0			
	腸	3	2	3	3	3	3	3	3	3	2	3			
ファブリシウス嚢		1	3	2	2	3	2	3	3	3	2	3			
遺残卵黄		0	1	0	1	2	0	0	2	1	1	0			
羽毛		2	2	1	0	0	1	2	1	0	1	0			
検査羽数		3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3			
陽性羽数		3	3	3	3	3	3	3	3	3	2	3			
ケージ内大便		+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+			

* 陽性例数

* 陽性例数

図2 *S. sofia* 投与菌量と血中H抗体産生状況

シウス嚢は第3～7週の間のみ検査を行なったが、その間、ほとんどのものが陽性を示した。

腎は第2日、第3日に各1例、および第6日、第7日のほぼ全例が陽性を示した。心は全期間すべて陰性であったが、肝は第5日の1例、脾は第2日の1例のみが陽性を示した。

D群(10⁷個/羽)の成績は表3に示すごとくである。個体別にみると、投与第1日後より投与菌はいずれかの検体から回収された。また、プールした大便も全期間陽性であった。臓器別にみると、盲腸、直腸は第1日後より、ファブリシウス嚢は第2日後より、全期間にわたり、ほぼ全例陽性を示した。味嚢、腺胃は投与10日後まではほとんどのものが陽性を示したが、それ以後は検出頻度は下がる傾向を示した。腺胃、十二指腸、回腸、遺残卵黄、羽毛は全期間、心、脾、腎は投与後1～2週まで散発的に陽性を示した。

2) 血中抗体(H)の出現状況

各投与群の血中に出現するH抗体の測定は、菌投与1週間後より7日毎に、殺処分時に雛から採取した血清について行なった。A群と対照群のH抗体価は、いずれも陰性(4倍以下)であったが、他の群については図2のごとくである。B群では第14日まで抗体は陰性であると同時に、第7日の1例を除いていずれからも投与菌は回収されなかった。第21日では3羽のうち2羽が4倍陽性を示し、その後は個体差はみられるが4倍から最高64倍までの抗体価を示した。投与菌も第21日以降全例が陽性を示した。C群では第7日には抗体の出現はみられなかったが、第14日の2羽が4倍陽性を示し、第21日には3羽のうち2羽が16倍陽性となり、それ以後8倍から最高64倍の抗体価を示した。投与菌は第7日から全例が陽性を示した。D群では、第7日は抗体陰性であったが、第10日後では4倍から最高128倍までの抗体価を示した。投与菌は第21日の1例を除いて、全例が第7日から陽性を示した。

考 察

食鳥肉のサルモネラ汚染は年々増大しているが、その分離菌型の推移をみると昭和44年には12菌型が検出され、*S. thompson*、*S. typhimurium*、*S. infantis*などの検出頻度が高かった。ところが、昭和47年になると6菌型になり*S. sofia*の検出率が最も多く、ついで*S. typhimurium*、*S. thompson*の順となり、現在では*S. sofia*が食鳥肉の主要汚染型になった¹⁴、この*S. sofia*については貴田ら⁴が報告して以来、多くの報告^{9,12)}がみられ、全国的に食鶏間に汚染が広がっていることが示されている。また、余田ら¹⁶⁾は6週齢の発病鶏から高率に本菌を分離し、雛に対し病原性が強いことを示唆している。

人の感染例については、LUDKIN (1955)⁹⁾、THOMAS

(1957)¹¹⁾の記載がみられるほか、馬場ら¹⁾は昭和48年の調査から、生肉に接する女子で下痢、腹痛を訴える有症者から約40%に*S. sofia*を検出し、本菌を含む亜属IIの人に対する病原性を検討することが必要であることを指摘している。

そこで、著者らは*S. sofia*の食鶏間における急速な汚染拡大の原因、本菌の雛に対する病原性を追求するため、2日齢の雛を用いて経口投与による感染実験を試みた。

1個/羽投与例はすべて陰性の成績を示したが、10²個/羽投与例では第3週以後、10⁴および10⁷個/羽投与例では翌日より、諸臓器および羽毛から投与菌が検出された。これらの陽性雛について定量培養試験は行なわれなかったが、10²群では第3週以後、10⁴群では第2週以後、10⁷群では10日以後から、それぞれ抗体を産生し、かつ、体内各所に分布していることよりみて、雛は本菌に感染したものとみなされる。

また、いずれの雛も症状を示さず、死亡したものもないので、いわゆる健康保菌が成立したものと考えられる。

保菌雛の体内分布の推移をみると、投与菌量と体内における広がりとの間に関係がみられ、10²群では第3週、10⁴群では第4日、10⁷群では第1日後に、検出したいずれかの部位から投与菌が検出された。保菌部位としては、大腸とくに盲腸、ファブリシウス嚢、羽毛などが注目された。ただし、消化管以外の内臓からの検出率は、10²群および10⁴群では、10⁷群に比して低く、また、羽毛からの検出率は10²群および10⁴群が高く、10⁷群は低かった。

著者ら¹⁵⁾が行なった処理場に投入された食鶏(6～7ヵ月齢)の成績と比較してみると、保菌部位に若干の差がみられる。すなわち、調査した137羽のうち10例(7.3%)に*S. sofia*保菌鶏が見出され、その全例の体表(羽毛、皮膚)は陽性であった。これに対し、内臓より本菌が検出された例は少なく、盲・直腸混合内容4例、脾1例がそれぞれ陽性を示したのみで、その他の臓器はすべて陰性であった。今回の実験感染雛における*S. sofia*の分布と、食鶏における差異は、感染後の日齢によるものか、それとも感染した菌量にもとづくものか、さらに検討を要する問題であろう。

今回行なった実験条件下では、保菌の成立に10²個以上の菌量が必要であった。前述のごとく、2日齢の雛を用いたにもかかわらず発症、死亡した雛は1例もみられなかった。これに対し、余田ら¹⁶⁾は、6週例の発症雛から*S. sofia*を高率に検出し、本菌の雛に対する病原性を示唆する報告を発表している。田中ら¹⁰⁾の行なった*S. typhimurium*による感染実験の成績をみると、自然材料(保菌犬大便)中の菌は、分離培養されたものに比し格

段に病原性が強く、少量菌(数十個)の経口投与で犬は無症状感染(保菌)し、また、マウスは敗血症死することを報告している。いっぽう、松本⁹⁾は、*S. typhimurium*の大量の培養菌を子犬に経口投与した場合、ツリガネチマダニの濃厚感染をうけ、一般状態の悪い個体は敗血症死したことを記載している、したがって、本菌対鶏の関係においても、さらに菌側および宿主側の条件を考慮した検討が必要であろう。

鶏における保菌を含むサルモネラ症の疫源として、汚染飼料が注目されている。しかしながら、汚染飼料中のサルモネラ菌量は一般に少なく、通常、飼料 1g あたり 1 個以下といわれる。また、*S. sofia* を飼料から検出した報告は内外を問わず見当たらない^{2,3,7,8)}。したがって、鶏に *S. sofia* が到達するルートは、いまだ未解決といえる。また、前述のごとく、鶏が *S. sofia* を保菌する、あるいは感染発症する機序、保菌の持続期間などについては検討を要する問題が残されているが、ひとたび保菌が成立すれば長期間にわたって保菌鶏は排菌するので、鶏舎の諸環境を介して汚染は拡大し、ひいては食鳥肉の汚染に結びつくものと思われる。この事は、塚本¹²⁾の行なった主として *S. sofia* に汚染された養鶏場についての調査で、直腸内大便よりの本菌の検出率は低いが、鶏舎内に排泄された大便からは高率に分離され、かつ、該養鶏場由来の食鳥肉に少なからず *S. sofia* の汚染があることでも裏付けられている。したがって、これらの事実、食鳥肉のサルモネラ汚染防除には、孵卵、育雛段階から一貫した適切な処理が必要であることを示しているものと考えられる。

結 論

1. *S. sofia* 培養菌の 1 個/羽、 10^2 個/羽、 10^4 個/羽および 10^7 個/羽の各菌量を白色 レグホン 2 日齢雛に経口的に投与し、4～7 週間観察を行なったが、各投与群とも 1 羽の死亡例もなく、臨床的にも異常は認められなかった。また、体重増加率も投与群と対照群とに殆んど差異がみられなかった。

2. *S. sofia* 培養菌 1 個/羽投与群 (A 群) と対照群からは観察期間中羽毛、諸臓器およびケージ内大便からの投与菌の検出はなかった。

10^2 個/羽投与群 (B 群) では第 21 日以後において、全例の消化管、羽毛あるいはファブリシウス囊から投与菌が検出された。また、ケージ内大便は投与第 10 日後から全期間中陽性を示した。

10^4 個/羽投与群 (C 群) では、投与第 2 日以降、観察期間中全例陽性を示し、ケージ内大便は投与第 1 日から陽性を示した。また、羽毛は第 3 日から、消化管は第 2 日から殆んどすべてのものが陽性を示した。また、ファブリシウス囊は第 21～49 日の間のみ検査を行なったが、その間全例が陽性を示した。

10^7 個/羽投与群 (D 群) では、投与第 1 日後より全例から投与菌が検出され、ケージ内大便も投与第 1 日から全期間にわたり陽性を示した。

また、臓器別では、盲腸、直腸およびファブリシウス囊は全期間にわたりほとんどすべてのものが陽性を示したが、羽毛およびその他の臓器は散発的に陽性を示した。

3. 血中抗体 (H) は、A 群と対照群はすべて陰性であった。B 群では第 21 日以降、C 群では第 14 日以降、D 群では第 10 日以降から H 抗体の産生が開始され、その後、徐々に H 抗体価が上昇する傾向が認められた。

文 献

- 1) 馬場純一：感染症学誌，49，170 (1975)。
- 2) 藤田 雅：第 79 回日本獣医学会 (1975)。
- 3) 橋本秀夫：メヂャサークル，13，251 (1968)。
- 4) 貴田正義：日本公衛誌，19，83 (1972)。
- 5) LUDKIN, S.: *Mthl. Bull. Min. Hlth.* 14, 126 (1955)。
- 6) 松本治康：大阪府大紀要，18，73 (1966)。
- 7) 岡崎秀信：日獣会誌，24，18 (1971)。
- 8) SENCER, D. J., et al.: *Salmonella surveillance*, 1973～1974, U. S. Department of Health, Education and Welfare, 121～123。
- 9) 高塚 暹：食品衛生研究，25，841 (1975)。
- 10) 田中 鏡：日獣会誌，27，475 (1974)。
- 11) THOMAS, E. M.: *Mthl. Bull. Min. Hlth.* 16, 29 (1957)。
- 12) 塚本定三：日獣会誌，26，66 (1973)。
- 13) 渡辺昭宣，ほか：日獣会誌，28，296 (1975)。
- 14) 渡辺昭宣，ほか：日獣会誌，26，240 (1973)。
- 15) 渡辺昭宣，ほか：日獣会誌，27，9 (1974)。
- 16) 余田 岬：第 75 回日本獣医学会 (1973)。

—日獣新刊図書案内—

愛犬家、愛猫家の正しい飼育手引書として
是非おすすめ

//////犬とねこの正しい飼い方//////

—動物の保護および管理に関する法律のあらまし—

監 修：内閣総理大臣官房管理室

編集・発行：日本獣医師会

(編集担当者：一木彦三 猪野和郎 白井和哉 柏倉 則文 久山登美雄 小暮規夫 山村穂積 和田 明)

定 価 300 円 (送料実費)

<動物保護・管理知識の啓蒙、普及用として最適>
A 5 版 80 頁 カラー、色刷り、イラスト挿入、美装普及版

申込み先：日本獣医師会または所属地方獣医師会へ