

輸入ヒナの検疫とSalmonella choleraesuis subsp. Choleraesuis, serovar Enteritidis (S. Enteritidis) 感染症の発生例

誌名	鶏病研究会報
ISSN	0285709X
著者名	市原, 讓 芦田, 義則 浦本, 京也 井本, 浩嗣 山崎, 宗延
発行元	鶏病研究会
巻/号	27巻
掲載ページ	p. 7-12
発行年月	1991年9月

農林水産省 農林水産技術会議事務局筑波産学連携支援センター
Tsukuba Business-Academia Cooperation Support Center, Agriculture, Forestry and Fisheries Research Council
Secretariat



輸入ヒナの検疫と *Salmonella choleraesuis* subsp. *choleraesuis*, serovar Enteritidis (*S. Enteritidis*) 感染症の発生例

Quarantine and Outbreaks of *Salmonella choleraesuis* subsp. *choleraesuis*,
serovar Enteritidis (*S. Enteritidis*) Infections in Imported Chicks

市原 讓・芦田義則¹⁾・浦本京也²⁾・
井本浩嗣³⁾・山崎宗延

兵庫県姫路家畜保健衛生所神戸分室, 〒 651-32 兵庫県神戸市西区神出町小東野 30

¹⁾和田山家畜保健衛生所

²⁾兵庫県農林水産部畜産課

³⁾洲本家畜保健衛生所

Yuzuru ICHIHARA, Yoshinari ASHIDA, Kyōya URAMOTO,
Kouji IMOTO and Toshinobu YAMASAKI

Himeji Livestock Hygiene Service Center, Kobe subcenter, 30 Kosokuno
Kande-cho Nishiku, Kobe, Hyogo 651-32

キーワード: サルモネラ, *S. Enteritidis*, ファージタイプ 4, 輸入検疫, プロイラー

I. はじめに

輸入ヒナの輸入検査は家畜伝染病予防法⁵⁾第40条第3項の農林水産大臣が指定した指定検査場所において14日間の繋留期間を設け実施されている。指定検査場所が遠隔地に存在する場合またはその他の理由により家畜防疫官の指示を受けることができない場合、到着確認、繋留期間中の検査は家畜保健衛生所長に委ねられている²⁾。繋留期間中、家畜保健衛生所は到着確認検査、1週間目の中間確認検査、解放時の最終確認検査を実施しているが管理者から異常を認めたという報告を受けた場合はその都度立ち入り検査を実施している。到着確認検査ではヒナが輸入された空港から到着確認検査時までの、中間確認検査では到着確認検査から中間確認検査時までの、最終確認検査では中間確認検査から最終確認検査時までに死亡したヒナの病性鑑定と育雛しているヒナの臨床検査を実施し、成績を動物検疫所にその都度報告し指示を仰いでいる。そして異常がなければ検疫証明書が発行され、異常が認められれば検疫延長措置がとられるか、法

1991年6月30日受付

鶏病研報, 27巻, 増刊号, 7~12 (1991)

定伝染病の場合は殺処分となる。

当所管内には、2箇所の輸入検査場所が指定されているが、1988年10月、1989年3月にイギリスから輸入したヒナに鶏のバラチフス症が発生し *S. Enteritidis* Phage Type 4 (PT 4) が分離された。 *S. Enteritidis* PT 4 は近年イギリスをはじめヨーロッパ各国で主に鶏卵を介して発生する人の食中毒の原因菌として注目を浴びているが、 *S. Enteritidis* PT 4 が日本に侵入したという報告はこれまでになかった。1988年10月、日本ではまだ *S. Enteritidis* による食中毒は重要視されていなかったが、同年12月、イギリスでカーリー次官がサルモネラ発言を機に辞任したというニュース³⁾をきっかけに、にわかに *S. Enteritidis* による食中毒問題がもち上がってきた。その後1989年3月にも本菌による鶏のバラチフスが発生し対応策を講じてきたが最終的に解放となった事は悔やまれてならない。日本で事実上社会問題に発展したのは1990年3月頃にNHKのテレビニュースで「サルモネラ汚染」という特集番組が放映されて以降のことだと思われる。

以下、 *S. Enteritidis* 感染症の発生例について述べる。

II. 材料及び方法

1. 材 料

- (1) 1988年10月発生例
 用途 ブロイラー種鶏
 銘柄 M種
 羽数 6,744羽(雄946羽, 雌5,798羽)
- (2) 1989年3月発生例
 用途 ブロイラー種鶏
 銘柄 M種
 羽数 7,218羽(雄959羽, 雌6,259羽)

2. 方 法

1988年10月の発生例では、一般細菌用分離培地としてトリプトソーヤ寒天培地(日水)、選択培地としてDHL寒天培地(日水)を使用し、肝臓、心臓を培養した。投薬後のクロアカスワブの培養では、ラバポート培地(栄研)で材料を24~48時間培養後、DHL寒天培地に1エーゼ量接種し24時間培養した。

1989年3月の発生例では、一般細菌用分離培地にチョコレート寒天培地、選択培地としてマンニット食塩培地(日水)、マッコンキー寒天培地(日水)を使用し、肝臓、心臓、遺残卵黄、腸内容物について培養した。

投薬後の細菌検査は前例と同じ方法で実施した。

サルモネラ菌の同定は、サルモネラ診断用免疫血清(デンカ生研)を使用した。O多価免疫血清でスライド凝集反応を実施し、凝集を確認後、各O免疫血清にて順次スライド凝集反応を実施し、O抗原を特定した。次にH免疫血清(a, b, c, d, eh, G, i, k, L, r, y, en, 1, 2, 5, 6, 7, v, w, Z₆, m, s, u, q, p, t, f)計27種類を使用して試験管凝集反応を実施し1相を特定した。

薬剤感受性試験は、分離されたサルモネラについて、一濃度ディスク法(昭和)(オキシリン酸, ビコザマイシンは試験用)を用い、ペニシリン(P), アミノペニジルペニシリン(Pb), フラジオマイシン(F), ストレプトマイシン(S), カナマイシン(Ka), ゲンタマイシン(Gm), テトラサイクリン(T), オキシテトラサイクリン(O), ドキシサイクリン(Dot), スピラマイシン(Sp), エリスロマイシン(E), オレアンドマイシン(OI), セファロシン(Ct), クロラムフェニコール(C), フラドリゾン(f), スルファジメトキシ(x), ノボピオシン(N), ポリミキシンB(Xp), ミカマイシン(Mi), リンコマイシン(Li), オキシリン酸(A₂), ナリジクス酸(Nd), ビコザマイシンについて薬剤感受性試験を実施した。

病理組織検査では、各臓器を10%ホルマリン液に固定し、パラフィン包埋、薄切後ヘマトキシリン・エオジン(HE)染色を施し鏡検した。

III. 成 績

1. 発生経過及び臨床症状

- (1) 1988年10月発生例(表1)

この群の輸入総数は7,260羽(雄960羽, 雌6,300羽)で、空港到着時に516羽が死亡していた(死亡率7.1%)。死亡の原因は暑さによる「ムレ」との報告であったが、到着確認検査時に死亡鶏を検査した結果、鶏のパラチフス症と診断した。死亡は約1週間続き、検疫解放日までの死亡淘汰総羽数は711羽(9.8%)にのぼった。薬剤感受性試験成績に基づきクロラムフェニコールを3日間経口投与しその後2回細菌検査を実施したが、臓器、直腸スワブからサルモネラが分離できないこと、臨床症状

表1. 発 生 経 過

死亡淘汰率9.8%

年月日	63/10/7	10/8	10/9	10/10	10/11	10/12	10/13	10/14	10/15-21	10/22-28	10/29-11/3	11/4
項 目	到着	検査							検査↓	検査	検査	解放
	6,744								(10/17, 20)	(10/24)	(10/31)	
死 亡	43	46	21	16	22	13	8	0	3	0	0	
淘 汰	0	4	0	0	0	0	0	1	5	11	2	
健 康	6,701	6,651	6,630	6,614	6,592	6,579	6,571	6,570	6,562	6,551	6,549	
分離方法	DHL直			DHL直			DHL直	DHL直	DHL直	ラバポート	DHL	
材 料	肝臓・心臓			肝臓			肝臓	肝臓	肝臓・腸	腸		
菌 分 離	Sal(+)			Sal(+)			Sal(+)	Sal(+)	Sal(-)	Sal(-)		

Sal: *Salmonella* Enteritidis

↓: 投薬

に異常が認められないことから 13 日遅れの 11 月 4 日に解放となった。

臨床症状は佇立, 肛門周囲の汚れ, 発育遅延が認められた。

(2) 1989 年 3 月発生例 (表 2)

この群の指定検査場所到着羽数は 7,218 羽であった。輸入総数は家畜保健衛生所では把握できなかった。前群と同様, 死亡は約 1 週間続き, 検査解放日までの死亡淘汰総羽数は 282 羽 (3.9%) であった。しかし, 空港到着時の死亡羽数が加算されていないため実際の死亡率は相当高率であると推察される。この群もクロラムフェニコールを 3 日間経口投与し, 直腸スワブからサルモネラが分離できないこと, 臨床症状に異常が認められないことから 5 日遅れの 4 月 11 日に解放となった。

臨床症状は前群と同様であるが, それ以外に跛行が認められた。

2. 解剖及び細菌検査成績

(1) 1988 年 10 月発生例

10 月 8 日の到着確認検査で死亡鶏 10 羽 (No. 1~10), 淘汰鶏 4 羽 (No. 11~14) について細菌検査を実施した。解剖所見では心外膜炎 (5/14), 肝点状出血 (2/14), 卵黄嚢の汚濁 (1/14), 著変なし (7/14) という成績であった。細菌検査は死亡鶏のうち病変の認められた 3 羽と淘汰鶏の 4 羽について実施した。その結果, 淘汰鶏のうち病変の認められなかった 1 羽からサルモネラ (サルモネラ O 多価免疫血清に凝集) が分離された (表 3)。

各 O 免疫血清にてスライド凝集反応をした結果, O 抗原は 9 群と決定された。

次に 27 種類のサルモネラ H 免疫血清を用い, 1 相の検出を行った結果, G と m に凝集を認めた。サルモネ

ラ抗原構造表から O 抗原が 9 群, H 抗原の 1 相に g, m を含むサルモネラを拾いだしたところ S. Enteritidis (9:g, m:-), S. Blegdam (9:g, m, q:-), S. Muizenberg (9:g, m, s, t:1, 5), S. Kuilsrivier (9:g, m, s, t:e, n, x), S. Manica (9:g, m, s, t:Z₄₂), S. Hamburg (9:g, m,t:-) の 6 種類が存在した。H 抗原の 1 相の検出で q, s, t に凝集が認められないことにより S. Enteritidis と同定した (図 1)。

17 日の検査では 12 日, 13 日に死亡した雛からそれぞれ 5 羽ずつ検査し, 13 日死亡分のうち 1 羽からサルモネラが分離された。また, 20 日の検査では直腸スワブ (4 検体) と 19 日に死亡したヒナ 2 羽の検査を実施したところ, 19 日に死亡した発育遅延ヒナから S. Enteritidis が分離された。

投薬後の細菌検査では, 10 月 24 日に発育遅延ヒナ 10 羽のクロアカスワブと, このうち 3 羽の肝臓, 腸を DHL 寒天培地に直接, あるいはラバポート培地で増菌した後 DHL 寒天培地で分離培養したがサルモネラは分離できなかった。

10 月 31 日の検査でもサルモネラは分離できなかった。

なお, 投薬以後の検査では動物検疫所でも同時に検査を実施している。

(2) 1989 年 3 月発生例

3 月 29 日の中間確認検査時に淘汰した 11 羽 (No. 1~11) の雛のうち 6 羽 (No. 1~6) について細菌検査を実施した。解剖所見では全例著変は認められなかった。心臓, 肝臓, 遺残卵黄, 腸内容物を材料として検査した結果, No. 1 の遺残卵黄, No. 2, 3, 4, 5, 6 の肝臓からサルモネラが分離された。前例と同じ方法で分離されたサルモネラを同定した結果, S. Enteritidis と同

表 2. 発 生 経 過

死亡淘汰率 3.9%

年月日	1/3/22	3/23	3/24	3/25	3/26	3/27	3/28	3/29	3/30-4/5	4/6-10	4/11
項 目	到着	検査						検査	↓ (4/3)	検査	解放
	7,218									(4/6)	
死 亡	34	39	41	23	18	6	0	0	0	0	
淘 汰	0	17	15	14	18	46	0	11	0	0	
健 康	7,184	7,128	7,072	7,035	6,999	6,947	6,947	6,936	6,936	6,936	6,936
分離方法								マッコンキー直		ラバポート DHL	
材 料								肝臓・卵黄		直腸	
菌 分 離								Sal(+)		Sal(-)	

Sal: *Salmonella* Enteritidis

↓: 投薬

表 3. 細菌検査成績 (63.10.08)

材料 No.	剖 検 所 見	肝 臓		心 臓	
		TS 寒天	DHL 寒天	TS 寒天	DHL 寒天
死亡 1	心外膜炎・肝点状出血	—	—	+	+
	2 心外膜炎	++	—	+	++
	3 心外膜炎	++	—	+	++
	4 卵黄囊汚濁	N.T.	N.T.	N.T.	N.T.
	5				
	6 著変なし	N.T.	N.T.	N.T.	N.T.
10					
淘汰	11 心外膜炎	—	—	+	+
	12 心外膜炎	—	—	+++	+++
	13 肝点状出血	—	—	—	—
	14 著変なし	+++	+++*	++	++++*

* : *Salmonella* Enteritidis が分離された

+ : 1~10 ++ : 11~100 +++ : 101~1000 ++++ : 1000<

スライド凝集反応 ○多価免疫血清 (+)
○9群免疫血清 (+)
試験管凝集反応 1相の検出 G (+) m (+)
2相の検出 (-)
同定結果 *Salmonella* Enteritidis
(Phage type 4)

図 1. サルモネラの同定成績

死, 単核性細胞の結節性浸潤を認めた。

心臓 (2例); 偽好酸球, 単核性細胞の浸潤及び細菌塊を伴う心外膜炎, 間質への軽い偽好酸球, 単核性細胞の浸潤を認めた。

脾臓 (1例); び慢性巣状壊死
F 嚢 (3例); 軽度の萎縮 (リンパ球の減少)
腎臓, 肺; 著者なし
胃, 腸; 検査せず

5. 防 疫

クロラムフェニコールを3日間連続して経口投与することで臓器, 腸内容物からサルモネラが分離されなくなったため解放となった。

解放後の検査場所の消毒は鶏糞搬出後水洗し, オルソ剤 (200倍), グルタクリン (200倍), 消石灰の壁床面への塗り込み後, 最終的にホルマリン薫蒸を行った。

その後, 検査場所の床, 壁, 天井, 換気扇, 器具器材等からのサルモネラ分離を試みたが分離できなかった。

検疫終了後, 両鶏群は県内の W 家畜保健衛生所管内の種鶏場に移されたため, 定期的な投薬と検査を依頼した。

W 家畜保健衛生所は, 1988年10月発生例では11月4日に解放後, 11月10日, 1989年1月11日, 7月29日にそれぞれ50羽, 30羽, 35羽のクロアカスワブのサルモネラ分離を試みたが分離できなかった。

1989年3月発生例についても定期的にクロアカスワブからサルモネラ分離を試みたが分離できなかった。

定された (表4)。

投薬後, 4月6日に直腸スワブ40検体をラバポート培地で増菌し, DHL 寒天培地で分離培養したがサルモネラは分離できなかった。

3. 薬剤感受性試験成績 (表5)

S. Enteritidis に対する薬剤感受性試験成績では C に強い感受性が認められたが, 薬剤によっては分離菌株の違いにより感受性に強弱が認められた。Sp, E, Ol, x, N, Mi, Li には感受性が認められなかった。

4. 病理学的検査成績

1989年3月発生例淘汰ヒナ10例の組織所見。

脳・脊髄 (2例); 髄膜, 脈絡膜及び実質内血管周囲における偽好酸球, 単核性細胞の浸潤を認めた。小脳の一部において, 分子層への偽好酸球の浸潤, 毛細血管内に硝子様血栓形成, プルキンエ細胞の変性及び脂肪顆粒細胞の出現を認めた (髄膜炎からの波及)。髄膜血管内に細菌塊を多数認めた (化膿性髄膜炎及び脈絡膜炎)。

肝臓 (全例); 単核性細胞の浸潤を伴うび慢性巣状壊

表 4. 細菌検査成績 (元. 3. 29)

材料 No.	マッコンキー寒天	マンニット食塩培地	チョコレート寒天	部位
1	{ + +++*	—	+ +++	心臓 卵黄囊
2	{ +* +++	—	+ +++	肝臓 腸内容
3	+*	—	—	肝臓
4	+*	—	—	肝臓
5	+++*	—	+	肝臓
6	+*	—	++	肝臓

* : *Salmonella Eenteritidis* が分離された

+ : 1~10 ++ : 11~100 +++ : 101~1000

表 5. 薬剤感受性試験成績

薬 剤		感 受 性		
		1	2	3
ペニシリン系	ペニシリン	+	—	—
	アミノベンジルペニシリン	+++	++	++
アミノグリコシド系	フラジオマイシン	+++	++	+
	ストレプトマイシン	+++	+	++
	カナマイシン	+++	++	++
	ゲンタマイシン	++	++	++
テトラサイクリン系	テトラサイクリン	+++	++	++
	オキシテトラサイクリン	++	N.T.	N.T.
	ドキシサイクリン	++	++	++
マクロライド系	スピラマイシン	—	—	—
	エリスロマイシン	—	—	—
	オレアンドマイシン	—	—	—
セフェム系	セファロシン	++	++	++
クロラムフェニコール	クロラムフェニコール	+++	+++	+++
フラン剤	フラドリゾン	++	N.T.	N.T.
サルファ剤	スルファジメトキシ	—	—	—
その他	ノボピオシン	—	—	—
	ポリミキシン B	++	N.T.	N.T.
	ミカマイシン	—	—	—
	リンコマイシン	—	—	—
	オキシリン酸	23	13	14
	ナリジクス酸	++	++	++
	ピコザマイシン	26	15	20

N.T. : 試験せず

数字 : 阻止円直径 (mm)

6. 疫学

今回指定検査場所で分離された *S. Enteritidis* は PT 4 でありイギリスで問題になっているファージタイプと同じものであった。

1988年10月発生例のコマーシャル雛は県外4府県、県内3町に販売された。このうち、県内某養鶏場に導入された雛に導入後2週間で約80羽の死亡(死亡率約1.6%)が認められたので業者を通じてW家畜保健衛生所に病性鑑定依頼があった。6羽の解剖所見は心嚢炎(3/6)、気嚢炎(2/6)、肝包膜炎(3/6)、他腹膜炎等が認められ、これらの材料からサルモネラが分離され *S. Enteritidis* と同定された。

1989年3月発生例の雛も同種鶏場に導入され、定期の種鶏検査時のひな白痢凝集反応検査で50羽中8羽の疑陽性鶏が摘発された。この摘発鶏8羽中4羽を絶食後解剖し、細菌分離を行ったところ卵巣からサルモネラ菌が分離され(1/4)、*S. Enteritidis* と同定された。

その後の検査で、コマーシャル雛、種鶏から分離された *S. Enteritidis* ファージタイプは4と判明した。

IV. 考 察

今回分離された *S. Enteritidis* PT 4 はイギリスで問題になっているファージタイプと同一であった。

サルモネラの伝播経路には介卵伝染、飼料経由伝染、環境経由伝染がある。1988年10月の発生例では到着確認検査時に、またコマーシャルヒナから *S. Enteritidis* PT 4 が分離されたこと、1989年3月の発生例では中間確認検査時に遺残卵黄あるいは成鶏の卵巣から *S. Enteritidis* PT 4 が分離されたことからインエッグによる介卵感染も起こりうると考えられる。

防疫で今回一番問題となったことはこの病気が家畜伝

染病以外の家畜伝染性疾患であったことである。

輸入検査中に家畜伝染病以外の家畜伝染性疾患が摘発された場合、家畜伝染病予防法施行規則第50条に基づき、伝染病疾患にかかっている疑いのある動物は疑いがなくなるまでの期間繋留期間の延長措置がとられるが、何をもって疑いがなくなる基準とするかが明確でない。

今回の事例は輸入検査中に発生した鶏のバラチフスのほんの一事例にすぎない。総務庁が動物検疫所の検査手続きの簡略化を勧告^{1,4)}しており、今後ますます家畜伝染性疾患が国内に侵入する機会が増えてくると予想される。

そこでサルモネラ対策としては今後菌種を特定し法的措置をとる、あるいは通達等で衛生指導を強化する。サルモネラフリーの種鶏群、コマーシャル鶏群維持のため、定期的にサルモネラ検査を義務づけ、汚染鶏群に対する取り扱い基準を定める。流通飼料のサルモネラ検査を義務づけ、サルモネラフリーの飼料を給与する等の対策が必要かと思われる。

最後に、*S. Enteritidis* PT 4 の同定に協力いただきました国立予防衛生研究所の中村明子先生、家畜衛生試験場の寺門誠致先生に深謝いたします。

引用文献

- 1) 神戸新聞, 神戸新聞社, 神戸(1991. 5. 13)
- 2) 日本初生ひな輸入協議会編, 輸出入初生ひなの検査関係資料集, 14~15(1984)
- 3) 日本経済新聞, 日本経済新聞社, 大阪(1988. 12)
- 4) 日本経済新聞, 日本経済新聞社, 大阪(1991. 5. 13)
- 5) 農林水産省畜産局監修, 獣医畜産六法, 新日本法規(1986)