

アヒル卵からの腸内細菌の分離成績

白坂昭治・玉崎幸二・久池井忠男

Enterobacteriaceae in Duggs' Eggs

SHOJI SHIRASAKA, KOJI TAMASAKI and TADAO KUTII

まえがき

1953年9月から1955年6月に至る間において茨城県土浦市周辺地区の家畜を対象としたサルモネラの分布を調査した結果、成鶏の卵巣から *Sal. pullorum* を、鶏ヒナの体内遺残卵黄から *Sal. thompson* を、孵化途上のアヒル卵の発育停止及び死籠卵から *Sal. enteritidis* を豚の腸間膜淋巴節から *Arizona* (0-7. H-1, 7, 8) を分離したことを既に報告した¹⁾。その後も引き続き前記地区の家畜を対象として腸内細菌科の分布を調査している。而して1955年7月から1956年9月に至る間において得たサルモネラの分離成績は第一表に示す通りである。

そもそも我々は古来より食中毒の予防上アヒル卵の生食をさせているし又その孵化率が鶏卵のそれに比べて低いと云われている。之等の障害と卵内細菌との関連性を究明すべく目下研究を進めているが本報告では孵化途上におけるアヒル卵を対象として1956年9月までに実施して得た腸内細菌の分離成績のみを報告することにする。

I. 検索材料

A 卵孵場（江戸崎地方）及び B 卵孵場（河内地方）のアヒル卵を検索材料とした。新鮮卵は孵化の処置を行わない産卵後7日以内のものである。無精卵は第1回検卵（孵卵器へ入卵後4日目検査）時に摘出し、その後7日目毎に第2, 3, 4回目の検卵を行ってその都度、発育中止卵を摘出した。第1回検卵時に認め得た発育中止卵は附表中において第1回中止卵と省記されている。第2, 3, 4回検卵時の発育中止卵も亦これに準じて省記されている。死籠卵は入卵後約29日（一般に孵化日数は28日間である）に至つても猶孵化し得なかつたものである。

尚 A 卵孵場においてのアヒル卵の孵化率は1956年の調査では約30~70%平均約45%であつた。

II. 検索方法

卵殻表面を3%クレゾール水、アルコール、火焰の使用によつて消毒した後で気室部の卵殻を除去し、その切除小孔から卵内内容を菌分離の材料として採取した。

菌分離には主として、マツコンキー培地へ検索材料の1白金耳量を直接塗抹24時間培養して肉眼的に差異のある集落をそれぞれ釣菌した。

同定には通常行われているクリグラー培地、SIM培地、クエン酸ソーダ培地、ブドウ糖磷酸塩培地、尿素培地等の鑑別培地で分離菌の I. M. Vi. C 系等を検討した。尚不明な菌株については更にその他の生化学的諸性状を検した。

腸内細菌科の分類には Bergey 第 VI 版を参考として、主に1956年の Kauffmann の様式に依つた。これらのことは既に坂崎等²⁾によつて説明せられているので茲ではその詳細を省略する。

III. 成績及び考察

(1) 1955年度発育中止卵及び死籠卵からの分離成績 (第2表)

6月A場及び10月B場において孵化途上第1~第4回目検卵時に認め得た発育中止卵及び死籠卵から分離し得た成績は第2表に示す通りである。即ち菌を分離し得た卵の個数は菌を分離し得なかつた卵の個数に比らべて甚だ多数(約65:35の割合)であり、分離し得た菌の大部分は *Escherichiae* (1954年 Kauffmann の分類による) に属するものであつた。又分離し得た19株(19卵数)のサルモネラは悉く *Sal. enteritidis* であり B 場からの卵のみに由来した。

(2) 1956年度発育中止卵及び死籠卵からの分離成績 (第3表, 第4表)

5, 6, 8, 9月A場における検索材料を対象として分離菌の属名を検索した成績は第3表に示す通りである。各月別に見た分離菌の種類には顕著な相違が見られなかつたので第3表では各月別に検索した成績を合計して示している。菌分離陽性卵個数は陰性卵個数に比べて甚だ多数(約80:20)であり分離菌の60%は *Enterobacteriaceae* に属している。而して *Cloaca* (39%), *Citrobacter* (23%), *Escherichia* (14%), *Klebsiella* (14%), *Morganella* (18%), *Proteus* (15%) 等が多数検出された。

腸内細菌科に属しない細菌(マツコンキー培地に発育

第1表 サルモネラ の分離成績 (自1955年7月至1956年9月期間)

家畜別	検 索 月 日		家畜頭数	年 令	疾 病 の 有 無	検 索 材 料		Salmonella				
	年 次	月				材 料	頭 数	new brunswick	enteritidis	thompson	senftenberg	pullorum
鶏	1955	12	4	成 鶏	ヒナ白痢診断 凝集反応陽性 (殺)	卵 巢	4	•	•	•	•	•
						胆 汁	4	•	•	•	•	•
						直 腸 糞	4	•	•	•	•	•
鶏 ヒ ナ	1956	2,3	23	孵化後 1~2日	自然 死	遺残卵黄	23	•	•	•	5	•
						肝	23	•	•	•	9	•
			20	孵化後 1~2日	健康 (殺)	遺残卵黄	20	•	•	•	11	•
		肝				20	•	•	•	8	•	
		直 腸 糞				20	•	•	•	20	•	
		8	5	孵化後 15日	自然 死	肝	5	•	•	•	•	5
心 血	5					•	•	•	•	5		
鶏 卵	1955	5,6,7	79	産卵後 1~3日	新 鮮 卵	卵殻表面	79	•	•	•	•	•
		2	10		孵化中止卵	卵殻表面	10	•	•	•	1	•
	1956	2,3,5	320		孵化中止卵	卵 内 容	320	•	•	•	11	•
アヒル	1955	12	24	成アヒル	健康 (殺)	胆 汁	21	•	•	•	•	•
						直 腸 糞	24	1	•	•	•	•
アヒルヒナ	1956	8	5	孵化後 1~2日	自然 死	肝	5	•	•	•	•	•
						遺残卵黄	5	•	•	•	•	•
ア ヒ ル 卵	1955	5	15	産卵後 2~3日	新 鮮 卵	卵殻表面	15	•	•	•	•	•
		5,6	25		孵化中止卵	卵殻表面	25	•	•	•	•	•
		10	147		孵化中止卵	卵 内 容	147	•	7	•	•	•
	1956	5	85		孵化中止卵	卵殻表面	85	•	•	•	•	•
			94		〃	卵 内 容	94	•	•	•	•	•
		6	29		〃	〃	29	•	•	•	•	•
		8	38		〃	〃	38	•	•	•	•	•
		9	90		〃	〃	90	•	•	•	•	•

(註) (1) 検索材料中、卵殻表面の検索月には例外がある。

(2) 孵化中止卵とは孵化途上においての発育中止卵を意味する。

第 2 表 1955年 6 月 A 場及び10月 B 場における分離成績の合計卵個数表

孵化卵令別		第 1 回中止卵	第 2 回中止卵	第 3 回中止卵	第 4 回中止卵	死 籠 卵	合 計
検 索 卵 個 数		54	22	30	51	135	292
菌分離 状 態	不 発 育 卵 数	28 (52)	9 (41)	8 (27)	23 (45)	32 (24)	100 (34)
	発育卵数	26 (48)	13 (59)	22 (73)	28 (55)	103 (76)	192 (66)
Salmonellae		3 (12)	6 (46)	1 (4)	4 (14)	5 (5)	19 (10)
Eschericheae		18 (69)	3 (23)	15 (68)	28(100)	84 (82)	148 (78)
Proteae		2 (8)	2 (16)	4 (18)	5 (18)	19 (18)	32 (17)
No Enterobact- eriaceae		11 (40)	6 (46)	7 (32)	9 (32)	17 (17)	50 (26)
合 計		34(127)	17(131)	27(123)	46(164)	125(121)	249(129)

(註) (1) () 内の数字は百分率を示す。

(2) 菌分離の陽性(発育)及び陰性(不発育)の百分率は検索個数に対する百分率である。

(3) 分離菌の種類百分率は菌分離陽性数(菌分離状態の発育卵数)に対する百分率である。

第 3 表 1956年 A 場における分離成績の合計卵個数表

孵化卵令別		第 1 回中止卵	第 2 回中止卵	第 3 回中止卵	第 4 回中止卵	死 籠 卵	合 計
検 索 卵 個 数		30	69	21	30	30	180
菌分離 状 態	不 発 育 卵 数	7 (33)	21 (30)	2 (10)	0	3 (10)	33 (18)
	発育卵数	23 (77)	48 (70)	19 (90)	30(100)	27 (90)	147 (82)
Salmonella							
Escherichia			7 (15)	8 (42)	4 (13)	2 (7)	21 (14)
Citrobacter		8 (35)	9 (19)	1 (5)	9 (30)	7 (26)	34 (23)
Klebsiella		5 (22)	2 (4)	6 (31)	4 (13)	3 (11)	20 (14)
Cloaca		12 (52)	20 (42)	5 (26)	11 (37)	9 (33)	57 (39)
Erwina		1 (4)		2 (11)			3 (2)
Serratia			1 (2)				1 (1)
Proteus			10 (21)	1 (5)	8 (27)	3 (11)	22 (15)
Morganella		2 (9)	9 (19)	7 (37)	2 (7)	7 (26)	27 (18)
Rettgerella			2 (4)		1 (3)		3 (2)
Providencia				1 (5)			1 (1)
No Enterobact- eriaceae		8 (35)	22 (46)	6 (31)	11 (37)	11 (41)	58 (40)
Bact, Anitratum						1 (4)	1 (1)
合 計		36(157)	82(172)	37(195)	50(167)	43(159)	248(169)

註 百分率は第 2 表に準じ () 内に示されている。

する菌であつて)の大部分はグラム染色陰性の桿菌でその中には *Bacterium anitratum* 1株、及び *Achromobacter* に属すると推量し得た菌株も含まれていた。

我々が *Achromobacter* に属すると推量した菌種は、ぐるこーず、らくとーず、まんにつと、あどにつと、ずるちつと、いのしつと、さつかろーず、きしろーず、尿素等の分解能、ゲラチンの液化能、VP 反応、MR 反

応、いんどーる、硫化水素産生能及び運動性等は共に陰性、クエン酸ソーダ培地への発育能は陽性、硝酸塩の還元能は陰陽区々であつた。半流動寒天穿刺培養において培地表面にのみ菌は発育した。マツコンキー培地上の集落は分離当初の菌では白色微小であるが累代培養した菌では極めて発育不良のものもあつた。リトマス牛乳培地の変化は殆んど無変化であつた。

第4表 第3表中純粹に分離し得た株数(卵個数)

孵化卵令別	第1回中止卵	第2回中止卵	第3回中止卵	第4回中止卵	死籠卵	合計
菌発育卵数	23	48	19	30	27	147
Salmonella						
Escherichia		2	2	1		5(3)
Citrobacter	1	2	1	3	1	8(5)
Klebsiella	3			3	1	7(5)
Cloaca	5	3	1	4	3	16(11)
Erwinia			1			1(1)
Serratia						
Proteus		3		2		5(3)
Morganella			2			2(1)
Rettgerella						
Providencia						
No Enterobacteriaceae	3	7		2	4	16(11)
Bact. Anitratum						
合計	12(52)	17(35)	7(37)	15(50)	9(33)	60(40)

註 () 内は百分率を示す。

以上の検索した発育中止卵及び死籠卵計180個中菌分離陽性個数は147個(約80%)であり、この陽性個数147個中純粹に菌を分離し得た個数は60個(約40%に当る)で純粹に分離し得た菌種は第4表に示す通りである。即ち陽性個数に対して非腸内細菌、及び *Cloaca* は各々約10%、*Citrobacter*、*Klebsiella*、*Escherichia* 及び *Proteus* は各々約3~5%であつた。

(3) 無精卵からの分離成績(第5表)

発育中止卵、死籠卵の内容物を対象として多数の卵から腸内細菌を分離し得たが無精卵の内容物を対象とした結果では第5表に表示する通り菌分離陽性卵個数は陰性卵個数に比して稍々少数(約40:60)であつた。

然し月別に検討すれば、5、6月においては陽性個数

が甚だ多数であり、8、9月においては陰性個数が甚だ多数であつた。

又分離し得た菌種では *Cloaca* (55%) *Citrobacter* (35%) 非腸内細菌(30%)が特に多く、次いで *Klebsiella* (15%) *Escherichia* (8%) *Proteus* (8%) が分離されている。

(4) 新鮮卵からの分離成績

卵内容物を対象として死籠卵、発育中止卵の多数から無精卵の少数から菌を分離し得たが新鮮卵(産卵後7日以内)39個(6月22個、9月17個)の内容物からは菌を分離し得なかつた。然し産卵後15日を経た卵5個の1個から *Cloaca* を分離し得た。(4個は分離陰性)。

(5) 卵殻膜内外からの分離成績

第5表 無精卵の菌分離成績

検 索 月		1956. 5月	6 月	8 月	9 月	合 計
検 索 個 数		14	7	9	33	63
菌 分 離 状 態	不 発 育	3 (21)	2 (29)	8 (88)	25 (76)	38 (60)
	発 育	11 (79)	5 (71)	1 (12)	8 (25)	25 (40)
Salmonella						
Escherichia					2 ^①	2 (8)
Citrobacter		4 ^①	5 ^②			9 (36)
Klebsiella		3			1	4 (16)
Cloaca		9 ^④	1		4 ^①	14 (56)
Erwina						
Serratia						
Proteus		1		1		2 (8)
Morganella		1				1 (4)
Rettgerella						
Providencia						
No Enterobacteriaceae			3	1	4 ^①	8 (32)
Bact. Anitratum						
合 計		18	9	2	11	40(160)

註 1. ○内の数は純粋に分離し得た卵の個数で当該欄内の数の中に含まれている。
 2. () 内の数は百分率。

前述までの成績では何れも菌の分離法は検索材料の1白金耳量をマツコンキー培地に直接塗抹する方法であったが卵殻膜内外側からの菌分離に当つては増菌法を採用した。

即ち卵の内容物を捨てた後、卵殻と卵殻膜とを剥離し卵殻膜の内及び外側腔にブイヨン約 1cc を別々に入れて内容を攪拌し、その内容物をブイヨン約 10cc に約5時間培養増菌した。同一材料の内外側を検索した菌分離の

成績は第6表に示す通りである。

即ち新鮮卵においては外側の菌陽性率(40%)は内側のそれ(20%)の倍になるが無精卵においては内側の陽性率(40%)が外側のそれ(60%)に接近し、発育中止及び死籠卵においては内外側の陽性率は同率(共に70~85%)となる。而して全般的な陽性率は新鮮卵、無精卵発育中止卵、死籠卵の順に高率となつている。

このことは外側より内側に逐次日を逐つて菌は移り得ることもある事を示唆しているやうに思はれる。

第6表 卵殻膜内外側の菌分離陽性表

卵の種類	第2回 第4回 発育中止卵			
	新鮮卵	無精卵	死籠卵	
検索個数	10	28	14	15
卵殻膜内側	2 (20)	12 (43)	10 (71)	13 (87)
卵殻膜外側	4 (40)	17 (61)	10 (71)	13 (87)

註 () 内は百分率を示す。

主 要 文 献

- 1) 白坂等：茨大農学術報告 3：73 (1955) .
- 2) 坂崎・波岡：腸内細菌検索法。(1956)：納谷書店発行

Summary

Bacteriological examination was made of ducks' eggs which were fresh, unfertilized, or had dead germs as well as dead-in-shell body ducks.

These ducks' eggs originated from the A and B duck hatching plants in Tsuchiura district of Ibaraki Prefecture. The results obtained are summarized into the following table.

Frequency of duck-eggs bacteria of which are isolated.

Year		1955	1956						*Total	
Kinds of eggs	dead-germs and dead-in-shell ducks	Fresh	unfert- ilized	Dead germs						
			4 days	Duration on incubation of eggs						
				4 days	11 days	18 days	25 days	29 days		
Percentage of positive bacterial eggs for investigated eggs		66	2	40	77	70	90	100	90	82
Percentage for positive bacterial eggs.	Salmonella	10								
	Escherichia	78		8	15	42	13	7	14	
	Citrobacter			36	35	19	5	30	26	23
	Klebsiella			16	22	4	31	13	11	14
	Cloaca		2	56	52	42	26	37	33	39
	Erwina				4		11			2
	Serratia					2				1
	Proteus	17		8	21	5	27	11	15	
	Morganella			4	9	19	37	7	26	18
	Rettgerella					4		3		2
	Providencia						5			1
	No Enterobacteriaceae	26		32	35	46	31	37	41	40
Bact. Anitratum								4	1	
Inside of Shell-membran		20	43	71				87		
Outside of Shell-membran		40	61	71				87		

Note : * Total = deadgerms + dead-in-Shell ducks.

1. All of the isolated Salmonella bacilli were identified with *Sal. enteritidis* and they originated only from the B hatching plant.

2. The isolated organisms were classified into *Cloaca* with an incidence of 39 percent to eggs from which organisms were isolated, *Citrobacter* 23 percent, *Morganella* 18 percent, *Proteus* 15 percent *Klebsiella* 14 percent, *Escherichia* 14 percent and non-Enterobacteriaceae 40 percent.

3. Among the non-Enterobacteriaceae, the one strain of *Bacterium anitratum* 4 percent and some of uncertain organisms which are supposed to belong to *Achromobacter* were isolated.