

孵卵時におけるニワトリ卵およびアヒル卵の *Enterobacteriaceae* ならびにこれら細菌の卵内 への侵入に関する研究

白 坂 昭 治

Studies on *Enterobacteriaceae* Isolated from Hens' and Ducks' Eggs, and the Penetration of these Microorganisms into the Eggs at the Hatching Period.

SHOJI SHIRASAKA

わが国民の食生活の変化によって食卵、鳥肉またはこれらを原料とする調味料、嗜好品等の需要が著しく増加しその将来の発展は益々期待されている。

これに関連してニワトリ、アヒルの畜産業としての生産面からの研究や食品としての公衆衛生面からの研究が近時とみに盛んとなって来た。特に生産面の重要な基盤をなす卵の孵卵時を中心として發育停止卵（死籠卵を含む）の卵内細菌に関する研究や、これらの細菌の孵化、育雛、人の食中毒などに関連する研究が実施されつつある。

大阪府、鹿児島県、東京都および茨城県下のニワトリ卵およびアヒル卵の二者を共に孵卵する計5孵卵場において、ニワトリ卵およびアヒル卵の有精卵に対する孵化率は第1表に示すように孵卵場別間や孵卵実施の月別間に多少の差異は見られるがニワトリ卵で約85%前後、アヒル卵で約60%前後であった。ニワトリ卵の同様な孵化率は石黒¹⁾が国立種畜牧場における孵化成績を取纏めた統計によっても窺われるし、アヒル卵の孵化率がニワトリ卵のそれに比して甚だ低率であることは最近のKAMAR²⁾の報告によっても窺われ得る。

第1表 有精卵に対する孵化率調査（1955年～1961年）

卵 種	ニ ワ ト リ 卵													
	月 別 有精 卵個数	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	平均
大 阪	21675	•	77	86	88	90	•	•	•	•	•	•	•	86
鹿 児 島	14495	71	76	•	92	85	•	•	•	•	•	•	•	76
東 京	58304	82	88	91	91	89	87	75	91	68	84	87	85	86
茨 城 A	3518	89	88	90	91	90	•	•	•	86	89	86	•	89
茨 城 B	40467	88	87	87	84	83	•	•	•	86	80	85	86	85

卵 種	ア ヒ ル 卵													
	月 別 有精 卵個数	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	平均
大 阪	2534	•	•	•	68	91	•	•	•	•	•	•	•	75
鹿 児 島	4156	76	58	•	80	52	•	•	•	•	•	•	•	68
東 京	25507	62	64	65	62	60	49	50	32	38	46	60	57	56
茨 城 A	3524	72	78	63	56	43	40	37	54	42	56	64	17	50
茨 城 B	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•

第2表 发育停止卵発生率調査（1955年～1961年）

卵種 发育停止卵 卵令	ニワトリ卵				アヒル卵				
	第1回 中止卵	第2回 中止卵	死籠卵	合計	第1回 中止卵	第2回 中止卵	第3回 中止卵	死籠卵	合計
大阪	2	2	9	14	6	2	3	14	25
鹿児島	10		14	24	16			16	32
東京	4	3	7	14	10	5	3	26	44
茨城 A	4	3	4	11	10	11	8	21	50
茨城 B	3	2	10	15	・	・	・	・	・

孵卵時における发育中止卵および死籠卵（ニワトリ卵では第3回目、アヒル卵では第4回目の検卵時の发育中止卵および孵化時の所謂死籠卵を含む）、すなわち发育停止の有精卵に対する発生率は第2表に示すように孵卵場別間に多少の差異は見られるがニワトリ卵で約15%前後、アヒル卵で約40%前後であった。

孵卵時における发育停止卵内容物の細菌の中で最も重要視されている *Enterobacteriaceae* の菌検出率ならびにその菌属等を検討して、ニワトリ卵の菌検出率はアヒル卵のそれに比してより低率であり、发育停止卵における菌検出率は正常发育卵および無精卵におけるそれらよ

りもニワトリ卵およびアヒル卵共により高率に検出されることを明らかにした。さらに *Enterobacteriaceae* が孵卵時卵の卵殻を通過し、卵内へ侵入する態度を検討して、これら細菌は胚児の发育停止卵内には容易に侵入するが正常发育卵内には極めて侵入し難いことを確かめた。

よって初めに第1編として孵卵時におけるニワトリ卵およびアヒル卵内容物の *Enterobacteriaceae* について、次いで第2編として *Enterobacteriaceae* の孵卵時における卵内への侵入について検討した成績を順を追って報告する。

第1編 孵卵時におけるニワトリ卵およびアヒル卵内容物の *Enterobacteriaceae*.

目次

I. ま え が き

II. 実験方法

1. 菌検索材料
2. 菌検索方法
3. 分離菌株同定法

III. 実験成績

A. 发育中止卵および死籠卵の *Enterobacteriaceae*

1. 菌検出率
 - a. 卵令別、孵卵場別菌検出率
 - b. 卵令別、月別菌検出率
2. 検出菌叢
 - a. 卵令別検出菌叢
 - b. 孵卵場別検出菌叢
 - c. 月別検出菌叢
 - d. 純粋検出菌の検出成績
 - e. サルモネラ検出成績
 - 1) 卵令別サルモネラ検出成績
 - 2) 孵卵場別サルモネラ検出成績

3) 月別サルモネラ検出成績

f. 大腸菌の菌型

g. 非腸内細菌の性状

B. 孵卵時における無精卵の *Enterobacteriaceae*

1. 孵卵場別菌検出率および菌叢
2. 月別菌検出率および菌叢

C. 孵卵時における正常发育卵の *Enterobacteriaceae*

IV. 総括および考察

I. ま え が き

孵卵時におけるニワトリ卵およびアヒル卵の发育停止卵（死籠卵を含む）からの細菌検出はヒナ白痢の病因菌 *Salmonella pullorum*、家禽チフス、家禽パラチフスの病因菌または发育停止の原因菌等すなわち広い意味での主としてニワトリの、従としてアヒルの *Salmonellosis* の病因菌、または卵を原因食とした食中毒の病因菌を対象としてサルモネラの菌検出を中心に行なわれて来たこ

とは周知の事実である。

卵、ヒナ由来サルモネラとしてニワトリで RETTGER³⁾ (1900) が *S. pullorum*, アヒルで MANNINGER⁴⁾ (1918) が *S. paratyphi B* を始めて認め HINSHAW⁵⁾ (1937), EDWARDS⁶⁾ (1939) 等の広範囲に亘る研究以来多数の研究者は多種多様のサルモネラの菌型を分離し, FENSTERMACHER は Diseases of Poultry 3rd Edition (1952. The Iowa State College Press) においてニワトリおよび七面鳥の家禽パラチフス関連菌としてサルモネラの 50 菌型以上を列挙し, WILLIAMS は Diseases of Poultry 4th Edition⁷⁾ (1962) においてニワトリおよび七面鳥の同じ関連菌として 100 菌型以上を列挙し, かつアヒルについて *S. paratyphi B*, *S. anatum*, *S. enteritidis*, *S. typhimurium*, *S. thompson* および *S. give* の 6 菌型を列挙している。またアヒルについて KARLSHOJ and SZABO⁷⁾ (1949) は *S. typhimurium* と *S. enteritidis* の 2 菌型を, JESSIE. I. PRICE ら⁸⁾ (1962) は *S. typhimurium*, *S. anatum*, *S. enteritidis*, *S. bredeney*, *S. panama*, *S. give*, *S. senftenberg*, *S. newport*, *S. oregon*, *S. saintpaul*, *S. manhattan* および *S. manchester* の 12 菌型を挙げている。

わが国においても主としてサルモネラを中心に多くの検討がなされ, 近年において僅かにサルモネラ以外の細菌についても検討されて来た。

すなわち孵卵時のニワトリ卵から田嶋ら⁹⁾ (1948) は奉天で *S. thompson var berlin*, 浜田¹¹⁾ (1953) は北海道で *S. pullorum* および *S. senftenberg*, 小野ら^{12)~14)} (1951, 1953, 1955) は北海道で *S. pullorum*, *S. senftenberg*, *S. bareilly*, SATO ら^{15), 16)} (1955, 1956) は北海道で *S. gallinarum-pullorum*, *S. senftenberg*, *S. thompson*, *S. newbrunswick*, *S. bareilly*, *S. potsdam*, 岩森ら¹⁷⁾ (1954) は岐阜で *S. pullorum*, *S. senftenberg*, 渡辺ら^{18)~21)} (1952, 1954, 1958) は東京都で *S. pullorum*, *S. senftenberg*, *S. thompson*, *S. bareilly*, *S. cholerae suis*, *S. paratyphi B*, *S. give*, 赤沢ら²²⁾ (1958) は東京都で *S. pullorum*, *S. irumu*, 桑原ら²³⁾ (1959) は和歌山県で *S. senftenberg*, 秋山ら²⁴⁾ (1959) は青森県で *S. senftenberg*, *S. give*, 板垣ら²⁵⁾ (1960) は鳥取県で *S. pullorum*, *S. senftenberg*, *S. newbrunswick*, 佐々木ら²⁶⁾ (1958) は広島県で *S. pullorum*, *S. senftenberg*, *S. give*, 吉村²⁷⁾ (1962) は大阪府で *S. pullorum*, *S. give*, *S. senftenberg*, *S. potsdam*, *S. bareilly* を分離している。更に SAKAZAKI ら²⁸⁾ (1959) は 1949 年~1957 年の間, 各地の動物腸内細菌委員会から集められた多数のニワトリ卵, 小数のアヒル卵および七面鳥卵等か

ら *S. java*, *S. thompson*, *S. irumu*, *S. potsdam*, *S. bareilly*, *S. enteritidis*, *S. gallinarum-pullorum*, *S. give*, *S. newbrunswick*, *S. senftenberg* を分離している。

また主として病弱または斃死, 従として健康ニワトリヒナから田嶋ら⁹⁾ (1948) は *S. thompson var berlin*, 浜田ら^{11), 29), 30)} (1953, 1955, 1958) は *S. thompson var berlin*, *S. senftenberg*, *S. bareilly*, *S. newbrunswick*, 小野ら¹³⁾ (1953) は *S. pullorum*, *S. senftenberg*, 三浦ら^{31)~33)} (1956, 1958) は *S. pullorum*, *S. senftenberg*, *S. bareilly*, *S. thompson*, *S. enteritidis*, *S. newington*, 板垣ら²⁵⁾ (1960) は *S. pullorum*, 秋山ら^{24), 34)} (1959, 1961) は *S. oranienburg*, *S. potsdam*, *S. bareilly*, *S. pullorum*, *S. give*, *S. senftenberg*, 渡辺ら²¹⁾ (1958) は *S. thompson*, 白坂ら³⁵⁾ (1955) は *S. thompson*, 岩森ら¹⁰⁾ (1959) は *S. pullorum*, *S. bareilly*, *S. monte-video*, *S. senftenberg* を分離している。

孵卵時のニワトリ卵およびニワトリヒナ由来サルモネラの分離については前述の如くわが国においても多数の研究報告があるがアヒル卵およびアヒルヒナについての研究はわが国では僅かにアヒル卵についての井手³⁶⁾ (1936) の *S. enteritidis* の分離および小堀ら³⁷⁾ (1955) の成アヒル糞から *S. typhimurium*, *S. bareilly* 分離の研究報告があるにすぎず, アヒルと同様な水禽類の鶯鳥卵から原田ら³⁸⁾ (1953) は *S. typhimurium* を分離している。

また孵卵時ニワトリ卵のサルモネラ以外の細菌についての報告は極めて少く BEAN ら³⁹⁾, 浜田¹¹⁾, 渡辺ら¹⁸⁾ および板垣ら²⁵⁾ は以下のように述べているし, 孵卵時アヒル卵のサルモネラ以外の細菌についての報告は見られない。

BEAN ら (1959) は孵卵時ニワトリ卵より *Pseudomonas*, *Streptococcus* および *Proteus* を検出した。

浜田 (1953) はニワトリ卵の發育停止卵 (死籠卵を含む) および不完全ニワトリヒナが北海道では 22.5~31% に発生していて 1948 年ニワトリ發育停止卵 (死籠卵を含む) 795 個の検索卵に対して無菌 64.7%, 大腸菌群 7.4%, 不明菌 6.2%, α -連さ球菌 4.5%, 糸状菌 3.6%, *S. pullorum* 3.0% その他のサルモネラ 3.6%, *Bacillus* 群 2.8%, ふどう球菌 2.0% その他 2.1% を検出した。

渡辺ら (1952) は 1951 年 487 個の發育停止卵 (死籠卵を含む) から無菌 42.1%, ふどう球菌 39.6%, 連さ球菌 17.7%, *Bacterium* 14.0%, *S. senftenberg* 7.8%, *S. pullorum* 0.2%, *Proteus* 4.1%, *Micrococcus* 0.8%, *Bacillus* 1.9% および *Corynebacterium* 0.4%

を、板垣ら（1960）は 1956年～1959 年 1062 個の發育停止卵（死籠卵を含む）から無菌 53.9%, *Micrococca-ceae* 31.6%, *Salmonella* 1.8%, *Escherichia* 3.0%, その他の *Enterobacteriaceae* 5.8%, *Streptococcus* 2.6%, *Bact. anitratum* 0.6%, その他 7.8% を検出している。以上前述の 4 者と雖も *Enterobacteriaceae* の細部については詳細な記載をしてない。

1956 年 *Kauffmann* の *Enterobacteriaceae* の分類様式⁴¹⁾に準拠して *Enterobacteriaceae* の分類までに言及した卵の報告は坂崎ら⁴⁰⁾(1955)の七面鳥卵について行った報告のみで同氏は七面鳥死籠卵 77 個から *Salmonella* 1.3%, *E. coli* 14%, *Klebsiella* 15%, *Cloaca* 44% および *Bac. anitratum* 50% を検出している。

以上のように孵卵時發育停止卵の細菌は特にニワトリ卵を対象としサルモネラを中心として検討されているので、本実験は孵卵時正常發育卵、無精卵および發育停止卵の卵内容物の細菌として重要と思われる *Enterobacteriaceae* について *Kauffmann* の 1956 年 *Enterobacteriaceae* 分類様式に準拠し、ニワトリ卵、アヒル卵の二者卵を対象として検討したのでその得た成績をここに報告する。

II. 実験方法

1. 菌検索材料

菌検索材料である孵卵時の正常發育卵、無精卵、發育中止卵および死籠卵はニワトリ卵では茨城県下の A, B, C, D, K, S および T の計 7 孵卵場において、アヒル卵では茨城県下の D および O の 2 孵卵場ならびに東京都下の E 孵卵場計 3 孵卵場において 蒐集されたものである。

供試ニワトリの品種の大部分は白色レグホン種であり、供試アヒルの品種の大部分はカーキーキャンベル種、白色関東種および白色ペキン種であった。

A, B, C, D, K, S, T および E 孵卵場は共に立体孵卵器を使用し、A, B, C, K, S および T 孵卵場はニワトリ卵のみ、D および E 孵卵場はアヒル卵とニワトリ卵とを同一孵卵器を使用して同時に孵卵し、O 孵卵場は平面孵卵器を使用してアヒル卵のみを孵化していた。

本実験においての無精卵は第 1 回検卵時（孵卵器へ卵を納入後 4 日後の検卵時）に検出された無精卵であり、第 2, 第 3, 第 4 回中止卵は第 1 回検卵後 6 日～7 日後毎に第 2, 第 3, 第 4 回目の検卵（ニワトリ卵では第 3 回検卵まで、アヒル卵では第 4 回検卵まで）を行い、その都度発見摘出された發育中止卵である。

死籠卵は孵卵器内に卵を納入後ニワトリ卵では 22 日、

アヒル卵では 29 日に至ってもなお孵化することなく死胚児が卵内に存在する卵である。

2. 菌検索方法

検索材料卵の気室部を 3% クレゾール水綿花および 70% アルコール水綿花で清拭し、さらに火焰によって消毒した後、気室部の卵殻を滅菌ピンセットをもって除去した。その切除孔から菌分離の材料として卵白および卵黄を白金耳で採取し、その 1 白金耳量を分離培地上へ直接塗抹培養した。孵卵経過日数の進んだ第 3, 第 4 回中止卵および死籠卵での卵白は主として尿膜液、羊膜液であった。

本実験の当初においては菌分離培地として家兎血液加寒天培地およびマッコンキー寒天培地の両者を併用したが両者培地における菌検出成績は第 3 表 分離培地の検討

第 3 表 分離培地の検討表

培地名		マッコンキー寒天培地			
卵種		ニワトリ卵		アヒル卵	
菌分離		陽性	陰性	陽性	陰性
血液加寒天培地	陽性	28 (13.6%)	5 (2.4%)	31 (26.0%)	4 (3.3%)
	陰性	0 (0%)	173 (84.0%)	0 (0%)	84 (70.7%)

備考：数字は卵個数で（ ）内の数字は検索卵個数に対する百分率。

表に示すように、血液加寒天培地發育陽性菌の大部分はマッコンキー寒天培地にも發育したので *Enterobacteriaceae* 分離培地としては強い血液加寒天培地をも同時に併用する必要もないと認め本実験の爾後の検査ではマッコンキー寒天培地のみを使用した。

検索材料を塗抹したマッコンキー寒天培地は 37°C 18～24 時間培養し、その代表的發育集落はそれぞれクリグラー培地又は TSI 培地へ釣菌移植して、爾後の同定試験に供した。その發育菌集落の外見に肉眼的差異を認めた場合にはその各々について爾後の性状検索を実施した。

そもそも *Enterobacteriaceae* とはグラム染色陰性、無芽胞性の短桿菌で普通寒天によく發育し、硝酸塩を亜硝酸塩に還元し、ブドウ糖を 24 時間以内に分解して酸およびガスまたは酸のみを形成する一群の細菌を指すのであるが、本実験ではマッコンキー培地を以って菌分離を行ったのでこの培地發育菌を一応仮りに *Enterobacteriaceae*（その類似菌をも含む）としてこの培地に發育した菌の検出率を *Enterobacteriaceae* の検出率と見做した。

3. 分離菌株の同定法

分離菌株の同定には先づクリグラー培地又は TSI 培地から SIM 培地、シモンズクエン酸ソーダ培地およびブドウ糖磷酸塩培地に移植培養して IMVIC 性状を調べ、爾後坂崎ら^{42)~45)}、福見ら⁴⁶⁾によって詳細に説明せられている方法に準拠して生化学的性状を調べ、その結果に基いて *Kauffmann* 1956 の年の分類様式⁴¹⁾による *Enterobacteriaceae* の属名を決定した。

分離したサルモネラの血清学的型別決定は農林省家畜衛生試験場内に設けられた動物の腸内細菌委員会に依頼した。

分離した大腸菌の各種 O 抗原凝集反応の検索は埼玉県衛生試験場河島俊一博士に依頼した。

III. 実験成績

A. 発育中止卵および死籠卵の *Enterobacteriaceae*

1. 菌検出率

a. 卵令別、孵卵場別菌検出率

A, B, C, D, K, S および T の計 7 孵卵場において 1957 年 3 月～1957 年 12 月の間に蒐集した卵令（孵卵時卵令）4 日、11 日、18 日および 22 日の各孵卵時卵令

別のニワトリ卵計 837 個ならびに D, E および O の計 3 孵卵場において 1955 年 6 月～1962 年 8 月の間に蒐集した卵令 4 日、11 日、18 日、25 日および 29 日の各孵化卵令別のアヒル卵計 707 個について菌検索を行い、第 1 回～第 4 回発育中止卵および死籠卵内容物からの *Enterobacteriaceae* の菌検出率を各孵卵場別に見た成績は第 4 表の如くであった。

第 1 回～第 4 回発育中止卵および死籠卵について各孵卵場間においての最低、最高および平均の菌検出率を第 4 表から略示したのが第 5 表：（第 4 表の略表）である。

ニワトリ発育停止卵の各卵令（第 1～第 3 回中止卵、死籠卵）別平均菌検出率は孵卵時の卵令が進むに従って 3%, 12%, 20%, 27% と逐次に高率となり、アヒル発育停止卵の各卵令（第 1～第 4 回中止卵、死籠卵）別平均菌検出率はニワトリ卵のその如く著明に逐次高率となることなく、第 2 回中止卵（68%）において既に第 3 回中止卵以後の平均菌検出率（第 3 回中止卵 82%, 第 4 回中止卵 67%, 死籠卵 78%）と殆んど同率にまで高率となり、且つアヒル卵の各卵令別平均菌検出率は 47～82% でニワトリ卵のそれ（3～27%）に比して各卵令別共に

第 4 表 卵令別、孵卵場別菌検出率

卵 種		ニ ワ ト リ 卵								ア ヒ ル 卵				
孵卵場別		A	B	C	D	K	S	T	計	D	E	O	計	
卵令別														
発 育 停 止 卵	第一回中止卵	A	20	33	39	19	38	45	29	223	51	54	54	159
		B	0	1	2	0	1	1	2	7	28	21	26	75
		C	0	3.1	5.1	0	2.6	2.1	6.9	3.1	54.9	38.8	48.1	47.1
	第二回中止卵	A	•	11	39	34	38	50	41	213	97	26	22	145
		B	•	3	2	2	7	5	6	25	69	17	13	99
		C	•	27.2	5.1	5.9	18.4	10.0	14.6	11.7	71.1	65.3	59.0	68.2
	第三回中止卵	A	20	13	10	18	47	40	19	167	37	•	30	67
		B	6	2	0	2	10	10	3	33	33	•	22	55
		C	30.0	15.8	0	11.1	21.3	24.4	15.8	19.7	89.1	•	73.3	82.0
	第四回中止卵	A	•	•	•	•	•	•	•	•	65	9	51	125
		B	•	•	•	•	•	•	•	•	54	2	28	84
		C	•	•	•	•	•	•	•	•	83.0	22.2	54.9	67.2
	死 籠 卵	A	30	19	41	23	48	47	26	234	67	9	135	211
		B	10	9	19	3	8	14	1	64	56	5	103	164
		C	33.3	47.4	46.4	13.0	16.7	29.8	3.8	27.3	83.5	55.5	76.3	77.7
	計	A	70	76	129	94	171	182	115	837	317	98	292	707
		B	16	15	23	7	26	30	12	129	240	45	192	477
		C	22.8	19.2	17.8	7.4	15.2	16.4	10.4	15.4	75.7	45.9	65.2	67.4

備考：卵令別欄の A は菌検索卵個数，B は菌検出陽性卵個数，C は B/A 百分率を示す。

第5表 第4表の略表（百分率）

卵 種		ニ ワ ト リ 卵				ア ヒ ル 卵			
区 分		検索卵 個 数	最低	最高	平均	検索卵 個 数	最低	最高	平均
卵 令 別	第一回中止卵	223	0	6.9	3.1	159	38.8	54.9	47.1
	第二回中止卵	213	5.1	27.2	11.7	145	59.0	71.1	68.2
	第三回中止卵	167	0	30.0	19.7	67	73.3	89.1	82.0
	第四回中止卵	・	・	・	・	125	22.2	83.0	67.2
	死 籠 卵	234	3.8	47.4	27.3	211	55.5	83.5	77.7
孵 卵 場 別		837	7.4	22.8	15.4	707	45.9	75.7	67.4

著しく高率であった。

ニワトリ卵の孵卵場別平均菌検出率は約 15% でアヒル卵のそれの約 67% に比して著しく低率であった。

各孵卵場間における平均（計）菌検出率は第4表に示すようにニワトリ卵（7～23%）およびアヒル卵（46～76%）において共に大きな差を示さなかったが、さらに各卵令別に見れば各孵卵場別間には第5表に示すように卵令の進んだニワトリ卵の第3回中止卵、死籠卵およびアヒル卵の第4回中止卵、死籠卵の孵卵場間の菌検出率

の差異（ニワトリ卵、第3回中止卵 0～30%、死籠卵 4～47%、アヒル卵、第4回中止卵 22～83%、死籠卵 56～84%）は卵令の進まない時期の卵の菌検出率の差異（ニワトリ卵、第1回中止卵 0～7%、第2回中止卵 5～27%、アヒル卵、第1回中止卵 39～55%、第2回中止卵 59～71%、第3回中止卵 73～89%）に比してより大きな差異を示していた。

b. 卵令別、月別菌検出率

第1回～第4回發育中止卵および死籠卵内容物からの

第6表 卵令別、月別菌検出率

卵 種		ニワトリ卵						アヒル卵								
月 別		3	5	8	10	12	計	3	5	6	7	8	9	10	計	
卵令別	第一回中止卵	A	70	35	61	38	19	223	12	15	11	54	12	6	49	159
		B	2	0	5	0	0	7	5	12	10	21	3	2	22	75
		C	2.9	0	8.2	0	0	3.1	41.6	80.0	90.9	38.8	25.0	35.0	44.8	47.1
	第二回中止卵	A	51	36	47	71	8	213	•	37	18	26	23	17	24	145
		B	4	3	6	10	2	25	•	29	13	17	15	9	16	99
		C	7.8	8.3	12.7	14.0	25.0	11.7	•	78.3	72.2	65.3	65.2	52.9	66.6	68.2
	第三回中止卵	A	66	16	30	36	19	167	•	11	12	•	17	1	26	67
		B	7	3	8	10	5	33	•	10	11	•	16	1	17	55
		C	16.0	5.0	26.6	27.7	26.3	19.7	•	90.9	91.6	•	94.1	100.0	65.3	82.0
	第四回中止卵	A	•	•	•	•	•	•	4	26	26	9	14	7	39	125
		B	•	•	•	•	•	•	4	25	14	2	10	7	22	84
		C	•	•	•	•	•	•	100	96.1	53.8	22.2	71.4	100	56.4	67.2
	死籠卵	A	62	42	64	46	20	234	10	23	95	9	7	16	51	211
		B	21	16	15	7	5	64	8	21	87	5	6	13	24	164
		C	33.9	38.2	23.5	15.2	25.0	27.3	80.0	91.3	91.5	55.5	85.7	81.2	47.0	77.7
計	A	249	129	202	191	66	837	26	112	162	98	73	47	189	707	
	B	39	22	34	27	12	129	17	97	136	45	49	32	101	477	
	C	13.6	17.0	16.8	14.1	18.1	15.4	65.3	86.6	83.9	45.9	67.1	68.0	53.4	67.4	

備考：卵令別欄のAは菌検索卵個数，Bは菌検出陽性卵個数，Cは B/A 百分率を示す。

白坂： 孵卵時におけるニワトリ卵およびアヒル卵の *Enterobacteriaceae*
ならびにこれら細菌の卵内への侵入に関する研究

第 7 表 第 6 表の略表 (百分率)

卵 種		ニ ワ ト リ 卵				ア ヒ ル 卵			
区 分		検索卵個数	最低	最高	平均	検索卵個数	最低	最高	平均
卵 令 別	第一回中止卵	223	0	8.2	3.1	159	25.0	90.9	47.1
	第二回中止卵	213	7.8	25.0	11.7	145	52.9	78.3	68.2
	第三回中止卵	167	5.0	27.7	19.7	67	65.3	100.0	82.0
	第四回中止卵	・	・	・	・	125	22.0	100.0	67.2
	死 籠 卵	234	15.2	38.2	27.3	211	47.0	91.5	77.7
月 別		837	13.6	18.1	15.4	707	45.9	86.6	67.4

第 8 表 卵令別發育停止卵の卵内菌叢

種 別	ニ ワ ト リ 卵					ア ヒ ル 卵					
	第一回中止卵	第二回中止卵	第三回中止卵	死籠卵	合計	第一回中止卵	第二回中止卵	第三回中止卵	第四回中止卵	死籠卵	合計
検 索 卵 個 数	223	213	167	234	837	159	145	67	125	211	707
菌検出卵個数	7	25	33	64	129	75	99	55	84	164	477
菌 検 出 率	3.1	11.7	19.7	27.3	15.4	47.1	68.2	82.0	67.2	77.7	67.4
供 試 菌 株 数	7	28	37	73	145	105	163	93	142	235	738
<i>Salmonella</i>	3 (1.3)	1 (0.5)	8 (4.8)	7 (3.0)	19 (2.2)	4 (2.5)	6 (4.1)	1 (1.5)	4 (3.2)	5 (2.4)	20 (2.8)
<i>Arizona</i>		1 (0.5)			1 (0.1)						
<i>Shigella</i>											
<i>Escherichia</i>	1 (0.4)	10 (4.7)	13 (7.8)	14 (5.9)	38 (4.5)	8 (5.0)	20 (13.8)	13 (19.4)	22 (17.6)	15 (7.1)	78 (11.0)
<i>Citrobacter</i>			1 (0.6)	3 (1.3)	4 (0.5)	9 (5.7)	10 (6.9)	1 (1.5)	13 (10.4)	11 (5.2)	44 (6.2)
<i>Klebsiella</i>		4 (1.9)	3 (1.8)	2 (0.9)	9 (1.1)	5 (3.1)	7 (4.8)	8 (11.9)	4 (3.2)	6 (2.8)	30 (4.2)
<i>Cloaca</i>	3 (1.3)	2 (0.9)	1 (0.6)	3 (1.3)	9 (1.1)	19 (11.9)	29 (20.0)	10 (14.9)	17 (13.6)	15 (7.1)	90 (12.7)
<i>Hafnia</i>				1 (0.4)	1 (0.1)		1 (0.7)				1 (0.1)
<i>Erwina</i>											
<i>Serratia</i>						1 (0.6)	4 (2.8)	1 (1.5)	1 (0.8)	1 (0.5)	8 (1.1)
<i>Proteus</i>		3 (1.4)	4 (2.4)	3 (1.3)	10 (1.2)	3 (1.9)	17 (11.7)	7 (10.4)	16 (12.8)	19 (9.1)	62 (8.8)
<i>Morganella</i>						2 (1.3)	15 (10.3)	7 (10.4)	1 (0.8)	8 (3.8)	33 (4.7)
<i>Rettgerella</i>				1 (0.4)	1 (0.1)		2 (1.4)		2 (1.6)		4 (0.6)
<i>Providencia</i>		1 (0.5)		1 (0.4)	2 (0.2)			1 (1.5)		1 (0.5)	2 (0.3)
<i>Eschericheae</i>			1 (0.6)	5 (2.1)	6 (0.7)	18 (11.3)	4 (2.8)	17 (25.4)	28 (22.4)	85 (39.3)	152 (21.5)
<i>Proteae</i>						3 (1.9)	2 (1.4)	6 (9.0)	6 (4.8)	22 (10.4)	39 (5.6)
<i>Non Enterobacteriaceae</i>		6 (2.8)	6 (3.6)	33 (14.1)	45 (5.4)	33 (20.8)	46 (31.7)	21 (31.3)	28 (22.4)	47 (22.3)	175 (24.8)

備考：1. () 内の数字は菌陽性卵個数の各卵令別菌検索卵個数に対する百分率。

2. *Eschericheae* および *Proteae* はその性状検査において IMVIC のみで判定したもの。

Enterobacteriaceae の菌検出率を月別に見た成績は第6表の如くであった。

第1回～第4回中止卵ならびに死籠卵について月別においての最低、最高および平均の菌検出率を第6表から略示したのが第7表: (第6表の略表) である。

ニワトリ卵の月別平均菌検出率は最低 14%, 最高 18%, 平均 15% で月別の間には著しい差異を示さなかった。

アヒル卵の月別平均菌検出率は最低 46%, 最高 87%, 平均 67% でニワトリのそれに比して各月とも著しく高率であった。またアヒル卵のそれは5月および6月において他の月(春, 盛夏, 秋)に比して僅かに高率であった。

2. 検出菌叢

a. 卵令別検出菌叢

マッコンキー培地上の異なる集落を鈎菌し、爾後常法に従って細菌同定試験を行ない、同定した *Enterobacteriaceae* を卵令(孵卵時卵令)別に区分した成績は第8表に見られる如くであった。

ニワトリ卵の第1回中止卵では僅かに *Salmonella*, *Cloaca* および *Escherichia* の3菌属(*Genus*)のみが、しかも甚だ低率(0.4~1.3%)に分離されたが第3回中止以後の卵令では *Salmonella*, *Escherichia*, *Citrobacter*, *Klebsiella*, *Cloaca*, *Proteus*, *Non Enterobacteriaceae* および *Eschericheae* 等の多種の菌属が検出された。

各菌属の検索卵個数に対する検出率は第8表ニワトリ卵合計欄に示す如く *Non Enterobacteriaceae* (5.4%), *Escherichia* (4.5%), *Salmonella* (2.2%), *Proteus* (1.2%), *Klebsiella* (1.1%), *Cloaca* (1.1%), *Citrobacter* (0.5%), *Providencia* (0.2%), *Arizona* (0.1%), *Hafnia* (0.1%) および *Rettgerella* (0.1%) の順であり、その他 *Eschericheae* の検出率は0.7%であった。

換言すればマッコンキー培地に發育した菌叢の主なるものは *Non Enterobacteriaceae* および *Escherichia* であり *Salmonella*, *Proteus*, *Klebsiella* および *Cloaca* もまた相当の頻度に検出され *Citrobacter*, *Providencia*, *Arizona*, *Hafnia* および *Rettgerella* の検出頻度は甚だ僅少で *Shigella*, *Serratia* および *Morganella* は全く検出されなかった。

アヒル卵の第1回中止卵ではニワトリ卵のそれに比して既に *Salmonella*, *Escherichia*, *Citrobacter*, *Klebsiella*, *Cloaca*, *Serratia*, *Proteus*, *Morganella*, *Non Enterobacteriaceae* および *Eschericheae*, *Proteae* 等の多種の菌属が、しかも高率(0.6~20.8%)に検出され、

第2回中止卵で分離された菌属の種類は第1回中止卵より僅かに増加していて爾後卵令の進んだ死籠卵までその分離された菌属の種類はほぼ同様であった。

各菌属の検索卵個数に対する検出率は第8表アヒル卵合計欄に示す如く *Non Enterobacteriaceae* (24.8%), *Cloaca* (12.7%), *Escherichia* (11.0%), *Proteus* (8.8%), *Citrobacter* (6.2%), *Morganella* (4.7%), *Klebsiella* (4.2%), *Salmonella* (2.8%), *Serratia* (1.1%), *Rettgerella* (0.6%), *Providencia* (0.2%) および *Hafnia* (0.1%) の順であり、その他 *Eschericheae*, *Proteae* の検出率はそれぞれ 21.5%, 5.5% であった。

換言すればマッコンキー培地に發育した菌叢の主なるものは *Non Enterobacteriaceae*, *Cloaca*, *Escherichia* および *Proteus* であり、*Citrobacter*, *Morganella*, *Klebsiella*, *Salmonella*, *Serratia* もまた相当の頻度に検出され *Rettgerella*, *Providencia* および *Hafnia* は甚だ僅少で *Arizona* および *Shigella* は全く検出されなかった。

b. 孵卵場別検出菌叢

孵卵場別に第1回中止卵から死籠卵までの検出菌叢を検討した成績は第9表の如くであった。

ニワトリ卵, アヒル卵共に各孵卵場で分離された菌属の中で検出頻度の高率であった菌属は共に各孵卵場から分離され、検出頻度の低率であった菌属は特定の孵卵場のみから分離された。

すなわちニワトリ卵では検出率が比較的高い *Escherichia* (4.5%) および *Salmonella* (2.2%) は共に7孵卵場中全孵卵場から検出され、検出率中等度であった *Proteus* (1.2%), *Klebsiella* (1.1%) および *Cloaca* (1.1%) は5~6孵卵場から検出され、検出率の低い *Arizona* (0.1%), *Hafnia* (0.1%) および *Rettgerella* (0.1%) は特定の孵卵場のみから検出され、アヒル卵では検出率が比較的高い *Cloaca* (12.7%) *Escherichia* (11.0%) および *Proteus* (8.8%) は共に3孵卵場中2~3孵卵場から検出され、検出率が比較的低い *Hafnia* (0.1%), *Providencia* (0.3%), *Rettgerella* (0.6%) および *Serratia* (1.1%) 等は特定の孵卵場のみから検出された。

c. 月別検出菌叢

月別に第1回中止卵から死籠卵までの検出菌叢を検討した成績は第10表の如くであった。

ニワトリ卵, アヒル卵共に各月に分離した菌属の種類の中で検出頻度の高率であった菌属は検査月のほぼ何れの月にも分離され、検出頻度の低率であった菌属は特定の月のみに検出された。

すなわちニワトリ卵では検出頻度の比較的高い *Esche-*

第 9 表 孵卵場別發育停止卵の卵内菌叢

種 別	ニ ワ ト リ 卵								ア ヒ ル 卵			
	A	B	C	D	K	S	T	合計	D	E	O	合計
孵 場 卵 別												
検 索 卵 個 数	70	76	129	94	171	182	115	837	317	98	292	707
菌 検 出 卵 個 数	16	15	23	7	26	30	12	129	240	45	192	477
菌 検 出 率	22.8	19.7	17.8	7.8	15.2	16.4	10.4	15.4	75.7	62	65.2	67.4
供 試 菌 株 数	18	18	26	7	29	32	15	145	414	62	262	738
<i>Salmonella</i>	3 (4.3)	3 (3.9)	2 (1.6)	1 (1.1)	4 (2.3)	2 (1.1)	4 (3.5)	19 (2.2)		1 (1.0)	19 (6.5)	20 (2.8)
<i>Arizona</i>					1 (0.6)			1 (0.1)				
<i>Shigella</i>												
<i>Escherichia</i>	4 (5.7)	4 (5.3)	5 (3.9)	2 (2.1)	10 (5.8)	11 (6.0)	2 (1.7)	38 (4.5)	63 (19.9)	15 (15.3)		78 (11.0)
<i>Citrobacter</i>	1 (1.4)	1 (1.3)	1 (0.8)			1 (0.5)		4 (0.5)	42 (13.2)	2 (2.0)		44 (6.2)
<i>Klebsiella</i>		2 (2.6)	2 (1.6)	1 (1.1)	1 (0.6)	3 (1.6)		9 (1.1)	30 (9.5)			30 (4.2)
<i>Cloaca</i>	1 (1.4)		1 (0.8)	1 (1.1)	1 (0.6)	3 (1.6)	2 (1.7)	9 (1.1)	70 (24.9)	11 (11.2)		90 (12.7)
<i>Hafnia</i>						1 (0.5)		1 (0.1)	1 (0.3)			1 (0.1)
<i>Erwinia</i>												
<i>Serratia</i>									8 (2.5)			8 (1.1)
<i>Proteus</i>		2 (2.6)	1 (0.8)		1 (0.6)	5 (2.7)	1 (0.9)	10 (1.2)	52 (16.4)	10 (10.2)		62 (8.8)
<i>Morganella</i>									33 (10.4)			33 (4.7)
<i>Rettgerella</i>					1 (0.6)			1 (0.1)	4 (1.3)			4 (0.6)
<i>Providencia</i>						2 (1.1)		2 (0.2)	2 (0.6)			2 (0.3)
<i>Eschericheae</i>			6 (4.7)					6 (0.7)	3 (0.9)		149 (51.0)	152 (21.5)
<i>Proteae</i>											39 (13.4)	39 (5.6)
<i>Non Enterobacteriaceae</i>	9 (12.9)	6 (7.9)	8 (6.2)	2 (2.1)	10 (5.8)	4 (2.2)	6 (5.2)	45 (5.4)	97 (30.1)	23 (23.5)	55 (18.8)	175 (24.8)

備考：() 内数字は菌陽性卵個数の各孵卵場別検索卵個数に対する百分率。

richia, *Salmonella*, *Proteus*, *Klebsiella* および *Cloaca* は 5 ケの検査月の中 3~5 ケの月に分離され、検出頻度の低い *Arizona*, *Hafnia*, *Rettgerella* および *Providencia* は 8 月又は 10 月の 1~2 ケの月においてのみ検出され、アヒル卵では *Cloaca*, *Escherichia* および *Proteus* は 7 ケの検査月の中何れの月にも分離され、*Hafnia*, *Providencia*, *Rettgerella* および *Serratia* は 1~3 ケの検査月の特定月のみに検出された。

またニワトリ卵、アヒル卵の両者共に検出頻度の高かった *Escherichia*, *Salmonella*, *Proteus*, *Klebsiella* および *Cloaca* は月別の検出頻度には或る程度の差異が認められた。例へば *Escherichia* ではニワトリ卵で 2~12% アヒル卵で 0.6~42% であり、*Salmonella* ではニワトリ卵で 0~4.8%, アヒル卵で 0~7.4% の如く月別間における差異があった。しかして *Escherichia* はニワトリ卵では 12 月、アヒル卵では 3 月に、*Salmonella*

第 10 表 月別發育停止卵の卵内菌叢

種 別	ニ フ ト リ 卵						ア ヒ ル 卵							
月 別	3	5	8	10	12	合計	3	5	6	7	8	9	10	合計
検 索 卵 個 数	249	129	202	191	66	837	26	112	162	98	73	47	189	707
菌検出卵個数	34	22	34	27	12	129	17	97	136	145	49	32	101	477
菌 検 出 率	13.6	17.0	16.8	14.1	18.1	15.4	65.3	86.6	83.9	45.9	67.1	68.0	53.4	67.4
供 試 菌 株 数	37	25	43	28	12	145	27	188	189	62	82	48	142	738
<i>Salmonella</i>	12 (4.8)	2 (1.6)	2 (1.6)	3 (1.6)		19 (2.2)			12 (7.4)	1 (1.0)			7 (3.7)	20 (2.8)
<i>Arizona</i>				1 (0.5)		1 (0.1)								
<i>Shigella</i>														
<i>Escherichia</i>	5 (2.0)	10 (7.8)	9 (4.5)	6 (3.1)	8 (12.1)	38 (4.5)	11 (42.3)	20 (17.9)	1 (0.6)	15 (15.3)	16 (21.9)	6 (12.8)	9 (4.7)	78 (11.0)
<i>Citrobacter</i>			3 (1.5)	1 (0.5)		4 (0.5)		22 (19.6)	5 (3.1)	2 (2.0)	4 (5.5)	10 (21.3)	1 (0.5)	44 (6.2)
<i>Klebsiella</i>		1 (0.8)	7 (3.5)		1 (1.5)	9 (1.1)	1 (3.8)	16 (14.3)			6 (3.2)	2 (4.3)	5 (2.6)	30 (4.2)
<i>Cloaca</i>	1 (0.4)	1 (0.8)	4 (2.0)	3 (1.6)		9 (1.1)	5 (19.0)	39 (34.8)	6 (3.7)	11 (11.2)	17 (23.3)	6 (12.8)	6 (3.2)	90 (12.7)
<i>Hafnia</i>			1 (0.5)			1 (0.1)			1 (0.6)					1 (0.1)
<i>Erwina</i>														
<i>Serratia</i>								4 (3.6)	2 (1.2)		1 (1.4)		1 (0.5)	8 (1.1)
<i>Proteus</i>	1 (0.4)	1 (0.8)	3 (1.5)	4 (2.1)	1 (1.5)	10 (1.2)	3 (11.5)	25 (22.3)	1 (0.6)	10 (10.2)	10 (13.7)	8 (17.0)	5 (2.6)	62 (8.8)
<i>Morganella</i>								17 (15.2)	1 (0.6)		11 (15.1)	4 (8.5)		33 (4.7)
<i>Rettgerella</i>			1 (0.5)			1 (0.1)		2 (1.8)	1 (0.6)		1 (1.4)			4 (0.6)
<i>Providencia</i>			1 (0.5)	1 (0.5)		2 (0.2)		2 (1.8)						2 (0.3)
<i>Eschericheae</i>	5 (2.0)	1 (0.8)				6 (0.7)		2 (1.8)	105 (64.8)				45 (23.8)	152 (21.5)
<i>Proteae</i>									27 (16.7)				12 (6.3)	39 (5.6)
<i>Non Enterobacteriaceae</i>	13 (5.2)	9 (7.0)	12 (5.9)	9 (4.7)	2 (3.0)	45 (5.4)	7 (26.9)	39 (34.8)	27 (16.7)	23 (23.5)	16 (21.9)	12 (25.5)	51 (27.0)	175 (24.8)

備考：（ ）内の数字は菌陽性卵個数の各月別検索卵個数に対する百分率。

はニワトリ卵では3月に、アヒル卵では6月に他の月に比して高率に検出された。

d. 純粹検出菌の検出成績

第8表卵令別發育停止卵の卵内菌叢で表示した検出菌叢のうち、菌集落の外見に肉眼的差異を認め得ず、単一の菌種が純粹に検出されたと思われる卵と、その卵から検出された菌属の成績は第11表に示す如くである。また単一菌種の純粹菌検出卵個数の菌検出陽性卵個数に対する百分率および単一菌種の純粹菌検出卵個数の純粹菌

検出陽性卵個数に対する百分率を第12表に示した。

すなわちニワトリ卵の孵卵時發育中止卵および死籠卵の各卵令別単一菌種の純粹菌検出卵個数の検索卵個数に対する検出率は第11表に示す如く平均12.8%であった。また卵令別に見たこの純粹菌検出卵個数の菌検出卵個数に対する百分率は第11表に示す如く100%（第1回中止卵）、92%（第2回中止卵）、82%（第3回中止卵）、78%（死籠卵）であり、その平均（合計）百分率は高率（82.9%）で孵化卵令の進むに従って100%より逐

第 11 表 卵令別发育停止卵における純粋検出菌の検出成績

種 別 卵 令 別	ニ ワ ト リ 卵					ア ヒ ル 卵					
	第一回 中止卵	第二回 中止卵	第三回 中止卵	死籠卵	合計	第一回 中止卵	第二回 中止卵	第三回 中止卵	第四回 中止卵	死籠卵	合計
検 索 卵 個 数	223	213	167	234	837	159	145	67	125	211	707
菌 検 出 卵 個 数	7	25	33	64	129	75	99	55	84	164	477
菌 検 出 率	3.1	11.7	19.7	27.3	15.4	47.1	68.2	82.0	67.2	77.7	67.4
純 粋 菌 検 出 卵 個 数	7	23	27	50	107	37	42	20	38	41	178
検 索 卵 個 数 対 する 百分率	3.1	10.7	16.2	21.4	12.8	23.2	28.9	29.8	30.4	19.4	25.1
菌 検 出 卵 個 数 対 する 百分率	100.0	92.0	81.8	78.1	82.9	49.3	42.3	36.3	45.2	25.0	37.3
供 試 菌 株 数	7	23	27	50	107	37	42	20	38	41	178
<i>Salmonella</i>	3 (1.3)	1 (0.5)	8 (4.8)	5 (2.1)	17 (2.0)	4 (2.5)	5 (3.4)	1 (1.5)	3 (2.4)	3 (1.4)	16 (2.3)
<i>Arizona</i>											
<i>Shigella</i>											
<i>Escherichia</i>	1 (0.4)	9 (4.2)	10 (6.0)	9 (3.8)	29 (3.5)	3 (1.9)	7 (4.8)	4 (6.0)	8 (6.4)	3 (1.4)	25 (3.5)
<i>Citrobacter</i>				1 (0.4)	1 (0.1)	2 (1.3)	2 (1.4)	1 (1.5)	3 (2.4)	2 (0.9)	10 (1.4)
<i>Klebsiella</i>		4 (1.9)	3 (1.8)	1 (0.4)	8 (1.0)	3 (1.9)	2 (1.4)		3 (2.4)	1 (0.5)	9 (1.3)
<i>Cloaca</i>	3 (1.3)	2 (0.9)	1 (0.6)	2 (0.9)	8 (1.0)	7 (4.4)	4 (2.8)	3 (4.5)	6 (4.8)	5 (2.4)	25 (3.5)
<i>Hafnia</i>											
<i>Erwina</i>											
<i>Serratia</i>								1 (1.5)			1 (0.1)
<i>Proteus</i>		1 (0.5)	1 (0.6)	2 (0.9)	4 (0.5)	1 (0.6)	4 (2.8)	1 (1.5)	2 (1.6)	3 (1.4)	11 (1.6)
<i>Morganella</i>							2 (1.4)	2 (3.0)			4 (0.6)
<i>Rettgerella</i>											
<i>Providencia</i>				1 (0.4)	1 (0.1)						
<i>Eschericheae</i>			1 (0.6)	3 (1.3)	4 (0.5)	1 (1.6)		3 (4.5)	4 (3.2)	2 (0.9)	10 (1.4)
<i>Proteae</i>											
<i>Non Enterobacteri- aceae</i>		6 (2.8)	3 (1.8)	26 (11.1)	35 (4.2)	16 (10.0)	16 (11.0)	4 (6.0)	9 (7.2)	22 (10.4)	67 (9.5)

備考：（ ）内数字は属名欄純粋菌検出菌個数の孵化卵令別検索卵個数に対する百分率。

次低率となる傾向があった。

アヒル卵の菌検索卵個数に対する単一菌種の純粋菌検出率は第 11 表に示す如く各卵令平均 25.1% であった。また卵令別に見たこの純粋菌検出卵個数の菌検出卵個数に対する百分率は第 11 表に示す如く 49% (第 1 回中止卵), 42% (第 2 回中止卵), 36% (第 3 回中止卵), 45% (第 4 回中止卵), 25% (死籠卵) でこの平均(合

計) 純粋菌検出率 (37.3%) はニワトリ卵のそれ (82.9%) と比較すればはるかに低率であったが卵令の進むに従ってその百分率が低下する傾向はニワトリ卵のそれとほぼ同様であった。

なおまた第 8 表卵内検出菌叢および第 11 表卵内純粋検出菌叢の両表の検出成績から了解の便宜のために検出菌叢ならびに純粋検出菌叢の各菌属を検出した卵個数が

第 12 表 純粋菌検出卵個数の菌検出陽性卵個数および純粋菌検出陽性卵個数に対する百分率

種 別 卵 令 別	ニ ワ ト リ 卵					ア ヒ ル 卵					
	第 1 回 中止卵	第 2 回 中止卵	第 3 回 中止卵	死籠卵	合計	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	233	213	167	234	837	159	145	67	125	211	707
菌 検 出 卵 個 数	7	25	33	64	129	75	99	55	84	164	477
菌 検 出 率	3.1	11.7	19.7	27.3	15.4	47.1	68.2	82.0	67.2	77.7	67.4
純粋菌検出卵個数	7	23	27	50	107	37	43	20	38	41	178
検索卵個数に対する百分率	3.1	10.7	16.2	21.4	12.8	23.2	28.9	29.8	30.4	19.4	25.1
菌検出卵個数に対する百分率	100.0	92.0	81.8	78.1	82.9	49.3	42.4	36.3	45.2	25.0	37.3
供 試 菌 株 数	7	23	27	50	107	37	42	20	38	41	178
<i>Salmonella</i>	42.9 (42.9)	4.3 (4.0)	29.6 (24.2)	10.0 (7.8)	15.9 (13.2)	10.8 (5.3)	11.9 (5.0)	5.0 (1.8)	7.9 (3.5)	7.3 (1.8)	9.8 (3.3)
<i>Arizona</i>											
<i>Shigella</i>											
<i>Escherichia</i>	14.3 (14.3)	39.1 (36.0)	37.0 (30.0)	18.0 (14.1)	27.1 (22.5)	8.1 (4.0)	16.7 (7.0)	20.0 (7.2)	21.1 (9.5)	7.3 (1.8)	14.0 (5.2)
<i>Citrobacter</i>				2.0 (1.6)	0.9 (0.8)	5.4 (2.7)	4.8 (2.0)	5.0 (1.8)	7.9 (3.6)	4.9 (1.2)	5.0 (2.0)
<i>Klebsiella</i>		17.4 (16.0)	11.1 (9.1)	2.0 (1.6)	7.5 (6.2)	8.1 (4.0)	4.8 (2.0)		7.9 (3.6)	2.4 (0.6)	5.1 (1.8)
<i>Cloaca</i>	42.9 (42.9)	8.7 (8.0)	3.7 (3.0)	4.0 (3.1)	7.5 (6.2)	18.9 (9.3)	9.5 (4.3)	15.0 (5.4)	15.8 (7.1)	12.2 (3.0)	14.0 (5.2)
<i>Hafnia</i>											
<i>Erwina</i>											
<i>Serratia</i>								5.0 (1.8)			0.6 (0.2)
<i>Proteus</i>		4.3 (4.0)	3.7 (3.0)	4.0 (3.1)	3.7 (3.1)	2.7 (1.3)	9.5 (4.0)	5.0 (1.8)	5.3 (2.3)	7.3 (1.8)	6.2 (2.3)
<i>Morganella</i>							4.8 (2.0)	10.0 (3.6)			2.2 (0.8)
<i>Rettgerella</i>											
<i>Providencia</i>				2.0 (1.6)	0.9 (0.8)						
<i>Eschericheae</i>			3.7 (3.0)	6.0 (4.7)	3.7 (3.1)	2.7 (1.3)		15.0 (5.4)	10.5 (4.7)	4.9 (1.2)	5.6 (2.0)
<i>Proteae</i>											
<i>Non Enterobacteriaceae</i>		26.1 (24.0)	11.1 (9.1)	52.0 (40.6)	32.7 (27.1)	43.2 (21.3)	38.1 (16.1)	20.0 (7.2)	23.7 (10.7)	53.7 (13.4)	37.6 (14.0)

備考： 1. 属名欄数字は属名欄純粋菌検出卵個数の卵令別純粋菌検出陽性卵個数に対する百分率。

2. 属名欄（ ）内数字は属名欄純粋菌検出卵個数の卵令別菌検出陽性卵個数に対する百分率。

検索卵個数に対する百分率を略示したのが第 13 表：（第 8 表および第 11 表の略表）である。

第 13 表に示されたようにニワトリ卵，アヒル卵共に検出菌の菌叢および純粋検出菌の菌叢の検出菌属ならびにその検索卵個数に対する検出率の割合には大きな差は見られなかった。

e. サルモネラ検出成績

1) 卵令別サルモネラ検出成績

1953 年 9 月から 1958 年 3 月に至る間に前記 A, B, C, D, K, S および T の 7 孵卵場ならびにその他の育すう場において蒐集された孵卵時の無精卵，発育中止卵（第 1, 2, 3 回中止卵）および死籠卵のニワトリ卵計 1256 個，斃死ニワトリヒナ（孵化後 1～2 日，3～14 日および 15～45 日に斃死した計 317 羽），健康ニワトリ

白坂： 孵卵時におけるニワトリ卵およびアヒル卵の *Enterobacteriaceae*
ならびにこれら細菌の卵内への侵入に関する研究

第 13 表 第 8 表および第 11 表の略表 (検索卵個数に対する百分率)

卵 種		ニ ワ ト リ 卵		卵 種		ア ヒ ル 卵	
属 名		検出菌 の場合	純粋検出 菌の場合	属 名		検出菌 の場合	純粋検出 菌の場合
<i>Non Enterobacteriaceae</i>		5.4	4.2	<i>Non Enterobacteriaceae</i>		24.8	9.5
<i>Escherichia</i>		4.5	3.5	<i>Cloaca</i>		12.7	3.5
<i>Salmonella</i>		2.2	2.0	<i>Escherichia</i>		11.0	3.5
<i>Proteus</i>		1.2	0.5	<i>Proteus</i>		8.8	1.6
<i>Klebsiella</i>		1.1	1.0	<i>Citrobacter</i>		6.2	1.4
<i>Cloaca</i>		1.1	1.0	<i>Morganella</i>		4.7	0.6
<i>Citrobacter</i>		0.5	0.1	<i>Klebsiella</i>		4.2	1.3
<i>Providencia</i>		0.2	0.1	<i>Salmonella</i>		2.8	2.3
<i>Arizona</i>		0.1	0	<i>Serratia</i>		1.1	0.1
<i>Hafnia</i>		0.1	0	<i>Rettgerella</i>		0.6	0
<i>Rettgerella</i>		0.1	0	<i>Providencia</i>		0.3	0
				<i>Hafnia</i>		0.1	0

第 14 表 卵令別サルモネラ検出成績

種 別	区 分	孵 卵 時 卵							ヒ ナ					卵殻表面			成 鳥	
		無 精 卵	発 育 停 止 卵						斃 死				健康	新 鮮 卵	発 育 停 止 卵	小 計	ニ ワ ト リ 病 変 卵 巢	ア ヒ ル 直 腸 糞
			第 一 回 中 止 卵	第 二 回 中 止 卵	第 三 回 中 止 卵	第 四 回 中 止 卵	死 籠 卵	小 計	生 後 一 二 日	生 後 三 十 四 日	生 後 五 十 五 日 計	小 計	生 後 一 二 日					
ニ ワ ト リ	検 索 卵 個 数 サルモネラ検出卵 個数 菌 検 出 率	170 0 0	223 3 1.3	213 1 0.5	320 9 2.8	• • •	330 17 5.1	1086 30 2.8	186 29 15.6	40 10 25.0	91 5 5.5	317 44 13.9	291 25 8.6	79 0 0	10 1 10.0	89 1 1.1	5 1 20.0	• • •
	<i>S. pullorum</i>		3	1	8		4	16 (1.5)	4		5	9 (2.8)	1 (0.3)				1 (20.0)	
	<i>S. thompson</i>						1	1 (0.1)	5	10		15 (4.7)	2 (0.7)					
	<i>S. potsdam</i>						1	1 (0.1)	3			3 (0.9)						
	<i>S. irumu</i>								6			6 (1.9)	2 (0.7)					
	<i>S. senftenberg</i>				1		11	12 (1.1)	11				11 (3.5)	20 (6.9)		1	1 (1.1)	
ア ヒ ル	検 索 卵 個 数 サルモネラ検出卵 個数 菌 検 出 率	247 0 0	159 4 2.5	145 6 4.1	67 1 1.5	125 4 3.2	211 5 2.4	707 20 2.8	5 0 0	• • •	• • •	5 0 0	• • •	15 0 0	110 0 0	125 0 0	• • •	44 1 2.3
	<i>S. pullorum</i>		1					1 (0.1)										
	<i>S. enteritidis</i>		3	6	1	4	5	19 (2.7)										
	<i>S. newbrunswick</i>																	1 (2.3)

備考： () 内数字は検索卵個数に対する百分率である。

ヒナ (孵化後 1~2 日の 291 羽で殺処分後菌検索), 成ニワトリ 5 羽 (内 4 羽はヒナ白痢凝集反応陽性) およびニワトリ卵々殻表面 (新鮮卵および发育停止卵 89 個) についてサルモネラ検索を行った成績は第 14 表の如くであった。

すなわち検索卵個数に対するサルモネラ検出率は無精卵で 0%, 发育停止卵 (死籠卵を含む) で 2.8% であって第 1 回中止卵 1.3%, 第 2 回中止卵 0.5%, 第 3 回中止卵 2.8% および死籠卵 5.1% で发育停止卵における検出率は概ね卵令が進むにしたがって逐次高率となる傾向を示していた。

また发育停止卵に比較すれば孵化後斃死したニワトリヒナにおいても可成りの高率 (13.9%) に, また健康ニワトリ初生ヒナにおいても可成りの高率 (8.6%) にサルモネラが検出された。

以上の分離されたサルモネラを菌型別にみれば *S. pullorum* は第 1 回中止卵から第 3 回中止卵までの各卵令の发育中止卵および死籠卵に検出され, さらに斃死ヒナ (生後 1~2 日および 15~45 日令), 健康初生ヒナおよび成ニワトリ (病変卵巣) からもまた検出されたのに反し, *S. thompson*, *S. potsdam* および *S. senftenberg* は孵卵初期の第 1, 第 2 回中止卵では検出されることなく孵卵末期の第 3 回中止卵からも僅かに検出されたが主として死籠卵, 斃死ヒナおよび健康初生ヒナから検出された。*S. irumu* はニワトリヒナ (斃死初生ヒナおよび健康初生ヒナ) から分離された。

孵卵時发育中止卵および死籠卵においてのサルモネラ検出率は *S. pullorum* 1.5%, *S. thompson* 0.1%, *S. potsdam* 0.1%, *S. senftenberg* 1.1% であった。

なおニワトリ新鮮卵 (産卵後 1~3 日) 卵殻表面および孵卵時の发育停止卵々殻表面を滅菌ブイオン綿棒で清拭し, この材料を *Kauffmann* の増菌培地に 12 時間培養し, その 1 白金耳をマッコンキー寒天培地に塗抹培養してサルモネラの検出を実施した結果, 新鮮卵では 79 個中全例ともにサルモネラの検出は陰性であり, 发育停止卵 10 個中 1 個から *S. senftenberg* を検出し得た。

また 1953 年 9 月から 1962 年 8 月にわたる間前記 D, E および O 孵卵場において蒐集した孵卵時の無精卵, 发育中止卵および死籠卵のアヒル卵計 954 個, D 孵卵場において斃死したアヒル初生ヒナ 5 羽, 成アヒル 44 羽の直腸糞, およびアヒル卵々殻表面 (新鮮卵および发育停止卵 125 個) についてサルモネラ検索を行った成績は第 14 表の如くであった。

すなわち検索卵個数に対するサルモネラ検出率は無精卵で 0%, 发育停止卵 (死籠卵を含む) で 2.8% であ

り第 1 回中止卵では 2.5%, 第 2 回中止卵 4.1%, 第 3 回中止卵 1.5%, 第 4 回中止卵 3.2% および死籠卵 2.4% で第 1 回中止卵の検出率は死籠卵のそれと同様に既に高い検出率を示していた。斃死アヒルヒナからのサルモネラ検出は陰性であったが成アヒル直腸糞 44 例の菌検索においてその 1 羽の直腸糞から *S. newbrunswick* を分離し得た。

孵卵時に分離し得たサルモネラを菌型別に見れば *S. pullorum* (1 株) および *S. enteritidis* (19 株) であり, *S. pullorum* は第 1 回中止卵のみから検出され, *S. enteritidis* は第 1 回中止卵から第 2, 3, 4 回中止卵に至る全孵卵期間における发育中止卵および死籠卵から検出された。前者の検索卵個数に対する検出率は 0.1%, 後者のそれは 2.7% であった。

2) 孵卵場別サルモネラ検出成績

孵卵場別に第 14 表に示した (イ) 发育中止卵, 死籠卵, (ロ) 斃死ヒナ, (ハ) 健康ヒナ, (ニ) 卵殻表面, (ホ) 成ニワトリ病変卵巣, (ヘ) 成アヒル直腸糞等の検索材料からのサルモネラ検出成績を検討したのが第 15 表である。

すなわちニワトリ卵の孵卵時第 1 回中止卵~死籠卵までの孵卵場別サルモネラ検出成績では検索を実施した 7 孵卵場共にサルモネラが陽性に検出され, その孵卵場別検出率は 2.7% (A 場), 3.5% (B 場), 6.0% (C 場), 1.1% (D 場), 2.0% (K 場), 0.9% (S 場) および 2.6% (T 場) であった。

前述の孵卵時ニワトリ卵から検出されたサルモネラを菌型別に見れば *S. pullorum* は 7 孵卵場の中 6 孵卵場から検出され, *S. pullorum* 以外のサルモネラすなわち *S. thompson*, *S. potsdam* および *S. senftenberg* はそれぞれ単に 1 個所の孵卵場のみから検出された。

換言すれば *S. pullorum* は各所の孵卵場間に広範囲に広く分布していたが *S. thompson*, *S. potsdam* および *S. senftenberg* は特定の孵卵場のみに分布していた。

孵卵場別斃死ニワトリヒナからのサルモネラ検索では前述の 7 孵卵場の中 3 孵卵場がサルモネラ陰性で 4 孵卵場がサルモネラ陽性であり, その各孵卵場の陽性検出率は 3~28% であった。その他斃死ヒナの菌検索を依頼された 1 育雛場のサルモネラ検出成績は 100% 陽性であった。菌型別には *S. pullorum* 3 孵卵場, *S. thompson* 2 孵卵場, *S. senftenberg* 2 孵卵場, *S. potsdam* 1 孵卵場および *S. irumu* 1 孵卵場であり, *S. pullorum* は 1 育雛場からも検出された。

換言すれば斃死ニワトリヒナの孵卵場別サルモネラ検出陽性孵卵場は 7 孵卵場中 4 孵卵場であり, *S. pullorum*

白坂： 孵卵時におけるニワトリ卵およびアヒル卵の *Enterobacteriaceae*
ならびにこれら細菌の卵内への侵入に関する研究

第 15 表 孵卵場別サルモネラ検出成績

種 別		ニ ワ ト リ									ア ヒ ル				
孵 卵 場 別		A	B	C	D	K	S	T	その他	計	D	E	O	その他	計
発 育 停 止 卵	菌 検 索 卵 個 数	110	86	216	94	196	233	151	・	1086	317	98	292	・	707
	サルモネラ検出卵個数	3 (2.7)	3 (3.5)	13 (6.0)	1 (1.1)	4 (2.0)	2 (0.9)	4 (2.6)		30 (2.8)	0 (0)	1 (1.0)	19 (6.5)		20 (2.8)
	<i>S. pullorum</i>	3	3		1	3	2	4		16 (1.5)		1			1 (0.1)
	<i>S. thompson</i>			1						1 (0.1)					
	<i>S. senftenberg</i>			12						12 (1.1)					
	<i>S. potsdam</i>					1				1 (0.1)					
	<i>S. irumu</i>														
	<i>S. enteritidis</i>												19		19 (2.7)
斃 死 ヒ ナ	菌 検 索 羽 数	33	32	50	27	56	74	40	5	317	5	・	・	・	5
	サルモネラ検出羽数	1 (3.0)	0 (0)	14 (28.0)	0 (0)	6 (10.7)	18 (24.3)	0 (0)	5 (100.0)	44 (13.9)	0 (0)				0 (0)
	<i>S. pullorum</i>	1				1	2		5	9 (2.8)					
	<i>S. thompson</i>			5			10			15 (4.7)					
	<i>S. senftenberg</i>			9		2				11 (3.5)					
	<i>S. potsdam</i>					3				3 (0.9)					
	<i>S. irumu</i>						6			6 (1.9)					
健 康 ヒ ナ	菌 検 索 羽 数	30	30	60	41	50	48	30	・	291	・	・	・	・	・
	サルモネラ検出卵羽数	1 (3.3)	0 (0)	20 (33.3)	0 (0)	4 (8.3)	0 (0)	0 (0)		25 (8.6)					
	<i>S. pullorum</i>	1								1 (0.3)					
	<i>S. thompson</i>						2			2 (0.7)					
	<i>S. senftenberg</i>			20						20 (6.9)					
	<i>S. potsdam</i>														
	<i>S. irumu</i>						2			2 (0.7)					
卵 殻 表 面	菌 検 索 卵 個 数	・	・	10	・	・	・	・	79	89	125	・	・	・	125
	サルモネラ検出卵個数			1 (10.0)						1 (1.1)	0 (0)			・	0 (0)
	<i>S. senftenberg</i>			1						1 (1.1)					
成 ニ ワ ト リ	菌 検 索 羽 数	・	・	・	・	・	・	・	5	5					
	サルモネラ菌出羽数								1 (20.0)	1 (20.0)					
	<i>S. pullorum</i>								1	1 (20.0)					
ア ヒ ル 直 腸 糞	菌 検 索 羽 数										・	・	・	44	44
	サルモネラ検出羽数													1 (2.3)	1 (2.3)
	<i>S. newbrunswick</i>													1 (2.3)	1 (2.3)

備考： () 内の数字は検索卵（羽）個数に対する百分率である。

は3 孵卵場で、*S. thompson*、*S. potsdam* および *S. irumu* はそれぞれ 1~2 孵卵場であった。

健康ニワトリ初生ヒナからのサルモネラ検索では7 孵卵場の中4 孵卵場は陰性で他の3 孵卵場は陽性に検出され、その検出率は 3.3~33.3% であった。菌型別には *S. pullorum*、*S. thompson*、*S. irumu* および *S. senftenberg* がそれぞれ各1 ケ所の孵卵場のみから検出された。

ニワトリ发育停止卵卵殻表面から検出されたサルモネラは *S. senftenberg* のみでC 孵卵場に由来した。

成ニワトリ（病変卵巣）から検出した *S. pullorum* は1 農家の飼養ニワトリに由来するものであった。

またさらにニワトリの发育中止卵、死籠卵、斃死ヒナ、健康ヒナおよび发育停止卵の卵殻表面から検出されたサルモネラの菌株を各孵卵場別に第15 表によって検討すれば *S. pullorum* は7 孵卵場中6 孵卵場から、*S. thompson* および *S. senftenberg* はそれぞれ2 ケ所の孵卵場から、*S. potsdam* および *S. irumu* はそれぞれ1 ケ所の孵卵場から検出され、且つ3 ケの菌型を検出した孵卵場は2 ケ所の孵卵場、2 ケの菌型を検出した孵卵場は1 ケ所の孵卵場、1 ケの菌型を検出した孵卵場は4 ケ所の孵卵場であった。

アヒル卵について孵卵時发育停止卵（第1 回中止卵~第4 回中止卵および死籠卵）の孵卵場別サルモネラ検出成績を検討すればサルモネラは3 孵卵場中2 孵卵場において検出され、その検出率は 1.0%（E 場）および 6.5%（O 場）であった。

分離されたサルモネラは菌型別には *S. pullorum* および *S. enteritidis* であり、これらはそれぞれ1 ケ所の孵卵場（E およびO 孵卵場）のみから検出された。

D 場の斃死アヒルヒナおよび同場のアヒル卵々殻表面（新鮮卵および死籠卵）のサルモネラ検索成績は陰性であった。

S. newbrunswick を分離した成アヒル直腸糞は茨城県々南地区の農家飼育由来のものであった。

3) 月別サルモネラ検出成績

第14 表に示した(イ)发育停止卵（死籠卵を含む）、(ロ)斃死ヒナ、(ハ)健康ヒナ、(ニ)卵殻表面、(ホ)成ニワトリ病変卵巣、(ヘ)成アヒル直腸糞等の検索材料からのサルモネラ検出成績を月別に検討したのが第16 表である。

すなわちニワトリ卵の孵卵時第1 回中止卵~死籠卵までの3 月、5 月、8 月、10 月および12 月の月別サルモネラ検出成績では全ての各月に共にサルモネラが陽性に検出され、その月別検出率は5.4%、2.5%、1.0%、1.6% および 0.6% で3 月、5 月の月に比較的検出率が高か

った。菌型別には *S. pullorum* は全ての検索月に共に検出され、それ以外のサルモネラすなわち *S. thompson* は5 月のみに、*S. potsdam* は3 月のみに、*S. senftenberg* は3 月、5 月の検索月に検出された。

換言すれば *S. pullorum* は年間を通して分離されたが *S. thompson*、*S. potsdam* および *S. senftenberg* は3 月、5 月の月にのみ検出された。

斃死ニワトリヒナの月別検索ではサルモネラは3 月、5 月、10 月、および12 月に検出され、その検出率はそれぞれ 15.9%、44.4%、4.4%、6.9% で发育停止卵の検出率よりも高率であり、特に3 月および5 月の月に高かった。菌型別にみれば *S. pullorum* は3 月、5 月、10 月および12 月に、*S. thompson* は5 月および10 月に、*S. senftenberg* は3 月および5 月に、*S. potsdam* および *S. irumu* は共に5 月にのみ検出された。

健康ニワトリヒナの月別検索ではサルモネラは3 月、5 月、10 月に検出され、その検出率はそれぞれ 23.3%、6.3%、1.7% で3 月および5 月は10 月に比して高い検出率を示していた。菌型別には *S. pullorum* は3 月に、*S. thompson* は5 月、10 月に、*S. irumu* は5 月に、*S. senftenberg* は3 月に検出された。

ニワトリ发育停止卵卵殻表面から検出された *S. senftenberg* は3 月に検出されたものであり、成ニワトリ病変卵巣から検出された *S. pullorum* は12 月に検出されたものである。

またさらにニワトリの发育中止卵、死籠卵、斃死ヒナ、健康ヒナおよび发育停止卵の卵殻表面からのサルモネラ検出成績を各月別に第16 表によって検討すれば、*S. pullorum* は5 ケの検索月の全ての月から、*S. thompson*、*S. potsdam* および *S. senftenberg* は2 ケの検索月から、*S. irumu* は1 ケの検索月から検出された。且つ5 月には5 ケの菌型を、3 月には3 ケの菌型を、10 月には2 ケの菌型を、8 月および12 月には1 ケの菌型が検出された。

アヒル卵の孵卵時第1 回中止卵~死籠までの月別サルモネラ検出成績ではサルモネラが6 月、7 月および10 月に検出され、その検出率は 7.4%、1.0% および 3.7% であった。菌型別には *S. pullorum* を7 月に、*S. enteritidis* を6 月および10 月に検出した。

また8 月に斃死アヒルヒナならびに5 月、6 月、にアヒル卵殻表面（新鮮卵および发育停止卵）についてサルモネラ検索を行った成績は全て陰性であった。

8 月および12 月に実施した成アヒル直腸糞サルモネラ検索では12 月検索時に *S. newbrunswick* 1 株が検出され8 月の検索成績は陰性であった。

第 16 表 月別サルモネラ検出成績

種 別		ニ ワ ト リ						ア ヒ ル								
月 別		3	5	8	10	12	計	3	5	6	7	8	9	10	12	計
発 育 停 止 卵	菌 索 卵 個 数	372	163	202	191	158	1086	26	112	162	98	73	47	189	•	707
	サルモネラ検出卵個数	20 (5.4)	4 (2.5)	2 (1.0)	3 (1.6)	1 (0.6)	30 (2.8)	0 (0)	0 (0)	12 (7.4)	1 (1.0)	0 (0)	0 (0)	7 (3.7)		20 (2.8)
	<i>S. pullorum</i>	8	2	2	3	1	16 (1.5)				1					1 (0.1)
	<i>S. thompson</i>		1				1 (0.1)									
	<i>S. senftenberg</i>	11	1				12 (1.1)									
	<i>S. potsdam</i>	1					1 (0.1)									
	<i>S. irumu</i>															
	<i>S. enteritidis</i>									12				7		19 (2.7)
斃 死 ヒ ナ	菌 検 索 羽 数	82	54	39	113	29	317	•	•	•	•	5	•	•	•	5
	サルモネラ検出羽数	13 (15.9)	24 (44.4)	0 (0)	5 (4.4)	2 (6.9)	44 (13.9)					0 (0)				0 (0)
	<i>S. pullorum</i>	4	1		2	2	9 (2.8)									
	<i>S. thompson</i>		12		3		15 (4.7)									
	<i>S. senftenberg</i>	9	2				11 (3.5)									
	<i>S. potsdam</i>		3				3 (0.9)									
	<i>S. irumu</i>		6				6 (1.9)									
	<i>S. enteritidis</i>															
健 康 ヒ ナ	菌 検 索 羽 数	90	48	63	60	30	291	•	•	•	•	•	•	•	•	•
	サルモネラ検出羽数	21 (23.3)	3 (6.3)	0 (0)	1 (1.7)	0 (0)	25 (8.6)									
	<i>S. pullorum</i>	1					1 (0.3)									
	<i>S. thompson</i>		1		1		2 (0.7)									
	<i>S. senftenberg</i>	20					20 (6.9)									
	<i>S. potsdam</i>															
	<i>S. irumu</i>		2				2 (0.7)									
	<i>S. enteritidis</i>															
卵 殻 表 面	菌 検 索 個 数	10	79	•	•	•	89	•	105	20	•	•	•	•	•	125
	サルモネラ検出個数	1 (10.0)	0 (0)				1 (1.1)		0 (0)	0 (0)						0 (0)
	<i>S. senftenberg</i>	1					1 (1.1)									
成 ニ ワ ト リ	菌 検 索 個 数	•	•	•	•	5	5									
	サルモネラ検出個数					1 (20.0)	1 (20.0)									
	<i>S. pullorum</i>					1 (20.0)	1 (20.0)									
ア ヒ ル 鶯	菌 検 索 卵 個 数							•	•	•		20	•	•	24	44
	サルモネラ検出個数											0 (0)			1 (4.2)	1 (2.3)
	<i>S. newbrunswick</i>														1 (2.3)	1 (2.3)

備考：（ ）内数字は検索卵個数に対する百分率である。

第 17 表 アヒル由来大腸菌の菌型

由来部位	新鮮卵		無 精 卵			發育停止卵					孵卵器 4 日 目に腐敗卵		成 ア ヒ ル 糞	計	
	膜		膜	膜	卵 白	卵 黄	膜	膜	白 黄 混	卵 白	卵 黄	白 黄 混			白
	内	外													
供 試 株 数	2	6	1	5	2	7	2	3		2	1	15	46		
凝集反応陰性 O-119	0	2	0	1	1	1	1	0		0	0	8	14		
	0	2	0	2	1	2	1	2		1	0	0	11		
菌 型 不 明	2	2	1	2	0	4	0	1		1	1	7	21		

備考： 使用 O-抗血清は 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49, 50, 51, 52, 53, 55, 56, 58, 59, 60, 61, 62, 63, 64, 66, 67, 68, 69, 70, 75, 86, 87, 102, 111, 112, 115, 119, 124, 125, 126, 127, 128, 129, 131, 132, 133, 134, 136, 137, 139, 140, 計 87 種

f. 大腸菌の菌型

アヒルの新鮮卵，孵卵時の無精卵および發育停止卵ならびにこれらの卵を産卵した同一群の成アヒル 15 羽の直腸糞から分離し得た *Escherichia* 46 株について *Escherichia* O 抗血清 87 種をもって O 凝集反応（試験管内）を検討した結果，その成績は第 17 表に示す如く O 抗血清 87 種の何づれの血清にも凝集反応陰性（400 倍以下）と認められたものは 14 株（30.4%）で，これら凝集反応陰性の 14 株は主としてアヒルの無精卵，發育停止卵および成アヒル直腸糞に由来するものであった。

また O-119 抗血清に 6400 倍以上に強く凝集したものは 11 株（23.4%）でこの O-119 抗血清に強く凝集する菌株は無精卵および發育停止卵に由来するものであった。

その他各種 O 抗血清に種々の類属反応を示して型別不

明のものは 21 株（45.6%）でこの型別不明株は新鮮卵，無精卵，發育停止卵および成アヒル直腸糞等の各種検査材料に由来していた。

g. 非腸内細菌の性状

ニワトリ卵およびアヒル卵の發育中止卵および死籠卵から非腸内細菌が第 8 表で表示したようにニワトリ卵では 5.4%，アヒル卵では 24.8% の菌検出率で分離された。

ここで述べる非腸内細菌はマッコンキー培地に發育し，爾後の性状検査で *Enterobacteriaceae* と同定し得なかった細菌である。すなわちマッコンキー培地發育分離菌株の同定試験においては先づその培地發育菌をクリグラ培地又は TSI 培地に移植培養し，その高層部が無変化のもの，又はその高層部が赤色に変化するもの，又はその高層部が黄色に変化しても他の性状が腸内細菌の性状に合致しないものを一括して非腸内細菌とした。

第 18 表 非腸内細菌の分離成績

種 別	ニ ワ ト リ 卵					ア ヒ ル 卵					
卵 令 別	第 1 回 中止卵	第 2 回 中止卵	第 3 回 中止卵	死籠卵	計	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	計
検 索 卵 個 数	223	213	167	234	837	159	145	67	125	211	707
非腸内細菌検出卵個数	0	6	6	33	45	33	46	21	28	47	175
非腸内細菌純粋検出卵個数	0	6	3	26	35	16	16	4	9	22	67
B 5 W 検 出 卵 個 数		2	3	24	29			1	2	3	6
B 5 W 純粋検出卵個数		2	3	20	25				1	2	3
非 腸 内 細 菌 検 出 率		2.8	3.6	14.1	5.4	20.8	31.7	31.3	22.4	22.3	24.8
B 5 W 検 出 率		0.9	1.8	10.3	3.5			1.5	1.6	1.4	0.8

之等菌株の大多数はグラム染色陰性の桿菌であり且つその陰性桿菌の大部分は IMVIC の性状検査ではインドール産生能陰性、メチールレッド試験陰性、VP 反応陰性およびシモンズクエン酸ソーダ培地発育陽性であった。

さらに之等の菌株の中、硝酸塩の還元試験陰性で且つ 5% 乳糖斜面寒天試験陽性のものを一応 B5W (*Bacterium anitratum*)とすればこの B5W 分離成績は第 18 表に示す如くニワトリ卵（孵卵時の発育中止卵および死籠卵）からは多数（3.5%）に検出されたのに反し、アヒル卵からは極めて僅少（0.8%）に分離された。

アヒル卵から分離される非腸内細菌の大部分は硝酸塩の還元が陰性でも 5% 乳糖斜面寒天試験陰性のもの又は硝酸塩の還元が陽性でも 1% グルコース寒天色素産生が緑色、黄色又は無変化のものであり、これらのアヒル

由来非腸内細菌はおそらく諸性状より判断して *Achromobacter*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Flavobacterium* および *Alcaligenes faecalis* などの何づれかに属する菌であると推察される。またこれらの菌の生化学的性状ではラクトーズ、アドニット、マンニット、ヅルチット、イノシット、サッカロース、キシロース（稀れに陽性）、尿素等の分解能、ゲラチン液化能、VP 反応、メチルレッド反応、インドール反応、硫化水素産生能等は共に陰性、クエン酸ソーダ培地発育能陽性（稀れに陰性）、硝酸塩の還元能、グルコース分解能、運動性等は陰陽区々の性状であった。

B. 孵卵時における無精卵の *Enterobacteriaceae*

1. 孵卵場別菌検出率および菌数

ニワトリ卵およびアヒル卵の発育中止卵および死籠卵の菌検索を行った前記 A, B, C, D, K, S, T および E

第 19 表 無精卵の孵卵場別菌検出成績

種 別	ニ ワ ト リ 卵								ア ヒ ル 卵		
	A	B	C	D	K	S	T	計	D	E	計
孵 卵 場 別											
検 索 卵 個 数	10	22	39	31	24	24	20	170	98	50	148
菌 検 出 卵 個 数	0	0	1	0	1	0	0	2	32	9	41
菌 検 出 率	0	0	2.6	0	4.6	0	0	1.2	32.6	18.0	27.7
菌 純 粋 分 離 卵 個 数			1		1			2	16	3	19
菌 検 索 卵 個 数 に対 する 百分 率			2.6		4.6			1.2	16.3	6.0	12.8
菌 検 出 卵 個 数 に対 する 百分 率			100.0		100.0			100.0	50.0	33.3	46.3
供 試 菌 株 数			1		1			2	45	14	69
<i>Salmonella</i>											
<i>Escherichia</i>			1 ^① (2.6)					1 ^① (0.6)	3 ^① (3.1)	3 ^① (6.0)	6 ^② (4.1)
<i>Citrobacter</i>									9 ^③ (9.2)	1 ^④ (2.0)	10 ^③ (6.8)
<i>Klebsiella</i>					1 ^① (4.6)			1 ^① (0.6)	4 ^⑤ (4.1)		4 ^⑥ (2.7)
<i>Cloaca</i>									18 ^⑦ (18.4)		18 ^⑦ (12.2)
<i>Serratia</i>									1 ^⑧ (1.0)		1 ^⑧ (0.7)
<i>Proteus</i>									2 ^⑨ (2.0)		2 ^⑨ (1.4)
<i>Morganella</i>									1 ^⑩ (1.0)		1 ^⑩ (0.7)
<i>Eschericheae</i>										4 ^⑪ (8.0)	4 ^⑪ (2.7)
<i>Non Enterobacteriaceae</i>									17 ^⑫ (17.3)	6 ^⑬ (12.0)	23 ^⑭ (15.5)

備考： 1. ○内数字は純粋菌検出卵個数

2. () 内数字は検索卵個数に対する百分率である。

第 20 表 無精卵の月別菌検出成績

種 別	ニワトリ卵						アヒル卵							
	3	5	8	10	12	計	3	5	6	7	8	9	10	計
検 索 卵 個 数	20	25	62	44	19	170	6	25	12	50	15	33	7	148
菌 検 出 卵 個 数	0	0	1	1	0	2	3	12	5	9	3	8	1	41
菌 検 出 率	0	0	1.6	2.3	0	1.2	50.0	48.0	41.6	18.0	20.0	24.0	14.3	27.7
菌純粋分離卵個数			1	1		2	2	7	2	3	1	3	1	19
菌検索卵個数に対する百分率			1.6	2.3		1.2	28.6	28.0	16.7	6.0	6.7	9.1	14.3	12.8
菌検出卵個数に対する百分率			100.0	100.0		100.0	66.7	58.3	40.0	33.3	33.3	37.5	100.0	46.3
同 定 菌 株 数			1	1		2	5	23	9	14	6	11	1	69
<i>Salmonella</i>														
<i>Arizona</i>														
<i>Shigella</i>														
<i>Escherichia</i>			1 ① (1.6)(1.6)		1 ① (0.6)(0.6)	1 (33.3)				3 ① (6.0)(2.0)		2 ① (6.1)(3.0)		6 ② (4.1)(1.4)
<i>Citrobacter</i>								4 ① (16.0)(4.0)	5 ② (41.6)(16.7)	1 (2.0)				10 ③ (6.8)(2.0)
<i>Klebsiella</i>			1 ① (2.3)(2.3)		1 ① (0.6)(0.6)			3 (12.0)				1 (3.0)		4 (2.7)
<i>Cloaca</i>						2 ① (33.3)(16.7)	9 ④ (36.0)(16.0)	1 (8.3)			2 ① (13.3)(6.7)	4 ① (12.1)(3.0)		18 ⑦ (12.2)(4.7)
<i>Hafnia</i>														
<i>Erwina</i>														
<i>Serratia</i>											1 (6.7)			1 (0.7)
<i>Proteus</i>							1 (4.0)				1 (6.7)			2 (1.4)
<i>Morganella</i>							1 (4.0)							1 (0.7)
<i>Retterella</i>														
<i>Providencia</i>														
<i>Eschericheae</i>										4 ① (8.0)(2.0)				4 ① (2.7)(0.7)
<i>Proteae</i>														
<i>Non Enterobacteriaceae</i>						2 ① (33.3)(16.7)	5 ② (20.0)(8.0)	3 (25.0)		6 ① (12.0)(2.0)	2 (13.3)	4 ① (12.1)(3.0)	1 ① (14.3)(14.3)	23 ⑥ (15.5)(4.1)

備考： 1. ○内数字は純粋菌検出卵個数。
2. () 内数字は検索卵個数に対する百分率。

孵卵場において第1回検卵時に摘出された無精卵（ニワトリ卵計 170 個およびアヒル卵計 148 個）について菌検索を行い、無精卵の孵卵場別菌検出成績は第 19 表の如くであった。

ニワトリ孵卵時無精卵からの菌検出率は 1.2%（2 個）で極めて低く、C 場および K 場の 2 孵卵場にそれぞれ 1 個宛 *Escherichia* および *Klebsiella* が検出された。

一方アヒル孵卵時無精卵からの菌検出率（27.7%）はニワトリのそれ（1.2%）と較べてはるかに高率で D 場 32.6%，E 場 18.0%，平均 27.7% であった。その検出菌叢は D 孵卵場および E 孵卵場間に多少の差異は見られるが D 孵卵場および E 孵卵場合計では *Non Enterobacteriaceae*（15.5%），*Cloaca*（12.2%），*Citrobacter*（6.8%），*Escherichia*（4.1%），*Klebsiella*（2.7%），*Proteus*

(1.4%), *Serratia* (0.7%) および *Morganella* (0.7%)
ならびに *Escherichiae* (2.7%) 等の多数の菌属が検出
され、その各菌属の検出頻度では *Non Enterobacteri-*
aceae および *Cloaca* が最も高率であり、*Proteus* がや
や低率であってその検出菌叢ならびに検出頻度はアヒル
卵の発育停止卵のそれらと概ね一致していた。

2. 月別菌検出率および菌叢

第 16 表で示した孵卵時無精卵の菌検出および菌叢を
月別に検討した成績は第 20 表の如くであった。

ニワトリ孵卵時無精卵 170 個からの菌検出率は 8 月
(1.6%) および 10 月 (2.3%) に各 1 個あて 検出され
た。

アヒル孵卵時無精卵 148 個の月別菌検出率は 3 月
(50.0%), 5 月 (48.0%), 6 月 (41.6%), 7 月 (18.0
%), 8 月 (20.0%), 9 月 (24.0%), 10 月 (14.3%) で
3 月, 5 月, 6 月が他の月に比してやや高率であり, 5
~6 月の時期に高率であったことは発育停止卵の月別菌
検出率と同じ傾向を示していた。

C. 孵卵時における正常発育卵の *Enterobacteri-* *aceae*

孵卵時における各卵令別の正常発育卵の菌検索成績は
第 21 表に示す如くであった。

第 21 表 正常発育卵の菌検出成績

孵化卵 令日	ニワトリ卵 検索個数	アヒル卵 検索個数	菌検出成績
5	・	34	1. アヒル卵 12 日 卵令の 45 個の中 1 個に卵白, 卵黄 のそれぞれに <i>cloaca</i> 陽性
8	10	・	
12	・	45	
13	40	28	
15	20	・	
17	30	・	2. 他は悉く卵白, 卵黄共に菌検出陰 性
18	38	・	
19	30	・	
20	41	22	
27	・	7	
計	209	136	

すなわちニワトリ卵 209 個およびアヒル卵 136 個の正
常発育卵からの菌検出では、僅かにアヒル卵 1 個の卵白
および卵黄から *Cloaca* を純粹に検出し得たのみで他の
正常発育卵からの菌検出はことごとく陰性であった。

しかし孵化 1 日前に卵殻の破れた卵の菌検出を参考の
ため実施して得た成績は次の通りであった。

(イ) ニワトリ卵の孵卵 20 日卵令で卵殻および卵殻膜
が共に破れたものの卵白, 卵黄から菌検出陽性のものが

あった。

(ウ) アヒル卵の孵卵 27 日卵令で卵殻および卵殻膜が
共に破れたものの卵白, 卵黄から菌検出陽性のものがあ
り, また同卵令で卵殻が破れ卵殻膜が完全であると思わ
れたものの卵白, 卵黄から菌検出陰性のものがあった。

(エ) すなわち正常発育卵においても孵化直前の胚児の
嘴打によって卵殻および卵殻膜が破れた場合には卵外よ
り侵入したと推量される菌の卵内に検出し得る可能性が
多いと思われる。従って孵化直前卵を収容する孵卵器内
の清潔は育すう率の向上に大きな影響を及ぼすものと考
えられる。

IV. 総括および考察

1. 正常発育卵, 無精卵および発育停止卵の *Entero-* *bacteriaceae* 検出

孵卵時におけるニワトリ卵およびアヒル卵の正常発育
卵, 無精卵ならびに発育停止卵 (死籠卵を含む) 卵内容
物の *Enterobacteriaceae* (マッコンキー培地発育菌) 菌
検出成績は第 22 表 (第 4 表, 第 19 表, 第 21 表の整
理) に示す如くであった。

すなわち正常発育卵ではニワトリ卵の菌検出率は陰性
であったが, アヒルのそれは 0.7% で *Cloaca* のみを
純粹に分離した。

無精卵 (孵卵器入卵 4 日後の検卵時に摘出) ではニワ
トリ卵の菌検出率 (1.2%) はアヒル卵のそれ (27.7%)
に比して甚だ低率であった。また無精卵からの分離菌種
もニワトリ卵では *Escherichia* (0.6%), *Klebsiella*
(0.6%) の僅か 2 菌属であったが, アヒル卵では *Cloaca*
(12.2%), *Citrobacter* (6.8%), *Escherichia* (4.1%),
Klebsiella (2.7%), *Proteus* (1.4%), *Serratia* (0.7%)
および *Morganella* (0.7%) 等多種の菌属が検出され
た。

発育停止卵ではその菌検出率 (ニワトリ卵 15.4%, ア
ヒル卵 67.4%) はニワトリ卵アヒル卵共に無精卵の菌
検出率 (ニワトリ卵 1.2%, アヒル卵 27.7%) に比して
甚だ高率であり, またニワトリ卵の菌検出率 (15.4%)
はアヒル卵のそれ (67.4%) に比して甚だ低率であっ
た。

すなわち イ) ニワトリ卵, アヒル卵共に孵卵時の正
常発育卵, 無精卵および発育停止卵 (死籠卵を含む) の
3 者間の *Enterobacteriaceae* 検出率には差異があり,
また ロ) 無精卵および発育停止卵共にニワトリ卵およ
びアヒル卵の 2 者間の菌検出率には大きな差異があっ
た。

第 22 表 孵卵時における各種卵からの菌検出成績

孵卵時卵別		正 常 発 育 卵						無精卵	発 育 停 止 卵					
孵 卵 時 卵 令		入 卵 後 5 日	9 日	13 日	19 日	21 日	小 計	入 卵 4 後 日	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	小 計
ニ ワ ト リ	検 索 卵 個 数	10	•	128	71	•	209	170	223	213	167	•	234	837
	菌 検 出 卵 個 数	0	•	0	0	•	0	2	7	25	33	•	64	129
	検 出 率	0	•	0	0	•	0	1.2	3.1	11.7	19.7	•	27.3	15.4
ア ヒ ル	検 索 卵 個 数	34	45	28	22	7	136	148	159	145	67	125	211	707
	菌 検 出 卵 個 数	0	1	0	0	0	1	41	75	99	55	84	164	477
	検 出 率	0	2.2	0	0	0	0.7	27.7	47.1	68.2	82.0	67.2	77.7	67.4

ニワトリ卵、アヒル卵共に正常發育卵の菌検出が無精卵のそれに比して低率であることは生体の發育と云う環境によるものと推察する。

ニワトリ卵の菌検出率がアヒル卵のそれに比して無精卵、發育停止卵共に甚だしく低率であることは陸棲家禽と水棲家禽の環境差異によっておこる卵外、卵内の菌汚染度の相違によるものと先づ推量し得るが、さらに渡辺^{47)~50)}、橋本^{51), 52)}がニワトリ卵について述べている卵殻通過の難易、卵内容物の菌に対する自然抵抗性、卵内容物の殺菌作用等の細菌を主体とした側面や、卵を主体とした側面からの各種内外要因の両卵における差異等については将来の検討を待つものである。

2. 發育停止卵の *Enterobacteriaceae* 検出率

ニワトリ卵の孵卵時各卵令別（第1回中止卵～第3回中止卵および死籠卵）菌検出率は 3%, 12%, 20%, 27% 計（平均）15.4% で孵卵時卵令の進むに従い逐次高率となり、アヒル卵のそれ（第1回中止卵～第4回中止卵および死籠卵の菌検率）は 47%, 68%, 82%, 67%, 78% 計（平均）67.4% でニワトリ卵と比べて甚だ高率であり、且つニワトリ卵のように孵卵時卵令の進むに従って逐次高率となることなく第2回中止卵の菌検出率は既に死籠卵のそれと殆んど同率であった。

各孵卵場別菌検出率では卵令の進んだ時期のニワトリ卵（第3回中止卵 0~30%, 死籠卵 4~47%）およびアヒル卵（第4回中止卵 22~83%, 死籠卵 56~84%）の菌検出率は卵令の進まない時期卵の菌検出率に比して差異を示していた。

月別菌検出率ではニワトリ卵は最低 14%, 最高 18% で月別の間には著しい差異を示さなかったが、アヒル卵は最低 46%, 最高 87% で5月および6月に他の月に比

して僅かに高率を示していた。

浜田¹¹⁾ (1953) はニワトリ發育停止卵から 35.3% の菌検出を行い、渡辺¹⁵⁾ (1952) はニワトリ卵の孵卵時第1回中止卵 38.2%, 第2回中止卵 24.2%, 第3回中止卵 25.0%, 死籠卵 73.0%, 計（平均）57.9% の菌検出を行っている。板垣²⁵⁾ (1960) はニワトリ卵の孵卵時發育中止卵から 26.9%, 死籠卵から 71.5% 計（平均）42.9% の菌検出を行っている。死籠卵の菌検出率が發育中止卵のそれよりも大であることは渡辺、板垣等によって指摘されているし、本実験の成績もまた同様な成績を示している。しかし發育停止卵の菌検出率は本実験成績では 15.4%, 渡辺の成績では 57.9%, 板垣の成績では 42.9%, 浜田の成績では 35.3% であって前記三者は本実験成績より高い検出率を示している。

本実験では *Enterobacteriaceae* 分離培地としてマッコンキー寒天培地が使用され、前記三者の実験では血液寒天または遠藤培地が使用されているので、この菌検出率の差異は使用培地の差異にも因るであろうが本実験では実験方法の項で前述したように卵内容物の検索材料では血液寒天培地およびマッコンキー寒天培地の両培地發育菌の間には菌検出率に大差がないので、この差異の主なる理由は菌検出培地の差異によるよりもむしろ検索材料卵が發育停止後孵卵器内に長い期間の間納置されていたおそれあること、および孵卵場間の差異等のために起った差異によるものであると考えられる。

3. 發育停止卵の *Enterobacteriaceae*

ニワトリ卵の孵卵時發育停止卵から検出された *Enterobacteriaceae*（マッコンキー寒天培地發育菌）の菌属およびその検出率は *Escherichia* 4.5%, *Salmonella* 2.2%, *Proteus* 1.2%, *Klebsiella* 1.1%, *Cloaca* 1.1%,

Citrobacter 0.5%, *Providencia* 0.2%, *Arizona* 0.1%, *Hafnia* 0.1%, *Rettgerella* 0.1%, *Eschericheae* 0.7% および *Non Enterobacteriaceae* 5.4% 計 17.2% (但し菌検出率 15.4%) であり, その 検出菌属の種類は第 1 回中止卵では僅かに 3 菌属であったが死籠卵では殆んど全菌属におよび卵令の進むにしたがって検出される菌属の種類は多くなっていた。

アヒル卵の孵卵時發育停止卵から分離される菌属およびその検出率は *Cloaca* 12.7%, *Escherichia* 11.0%, *Proteus* 8.8%, *Citrobacter* 6.2%, *Morganella* 4.7%, *Klebsiella* 4.2%, *Salmonella* 2.8%, *Serratia* 1.1%, *Rettgerella* 0.6%, *Providencia* 0.3%, *Hafnia* 0.1%, *Eschericheae* 21.5%, *Proteae* 5.6%, および *Non Enterobacteriaceae* 24.8% 計 104.4% (但し菌検出率 67.4%) であり, 卵令別検出菌属の種類はニワトリのそれと異り既に第 1 回中止卵から死籠卵と同様に多種類の菌属が検出された。

ニワトリ卵およびアヒル卵の両者における検出菌属を比較検討すれば (イ) ニワトリ卵およびアヒル卵の両者共に比較的多く検出された菌属は *Escherichia* (ロ) ニワトリ卵で比較的高い検出率でアヒル卵で比較的低い検出率で検出された菌属は *Salmonella* (ハ) アヒル卵に比較的多くニワトリ卵に比較的小さい菌属は *Cloaca* および *Citrobacter* (ニ) 両者共に中等度に検出されたものは *Proteus* および *Klebsiella* (ホ) 両者共に比較的検出頻度の少い菌属は *Providencia*, *Hafnia* および *Rettgerella* で (ヘ) ニワトリ卵で検出されたがアヒル卵で検出されなかった菌属は *Arizona*, アヒル卵で検出されたがニワトリ卵で検出されなかった菌属は *Serratia* および *Morganella* (ト) *Shigella* は両者共に検出されなかった。

ニワトリ卵およびアヒル卵の孵卵場別検出菌属はニワトリ卵, アヒル卵共に検出率の高率であった菌属は共に各孵卵場から検出され, 検出率の低率であったものは当然の事乍ら共に特定の孵卵場のみから検出された。

また月別検出菌属においてもニワトリ卵, アヒル卵共に検出率の高率であった菌属は各月に検出され, 検出率の低率であったものは当然の事乍ら特定の月にのみ検出された。

また之等菌検出陽性卵のうち菌純粋検出卵個数の菌検出卵個数に対する百分率ではニワトリ卵 (82.9%) に比しアヒル卵 (37.3%) ははるかに低率であったが第 1 回中止卵から死籠卵に至るまで, 卵令の進むに従って次第に菌純粋検出卵個数の菌検出卵個数に対する百分率が減少してゆく傾向 (ニワトリ卵 100%, 92%, 82%, 78%, アヒル卵で 49%, 42%, 36%, 45%, 25%) は両者共

に同様であり, また純粋菌の菌属およびその検出頻度の割合は両卵ともにほぼ發育停止卵のそれらと同様であった。

浜田¹¹⁾は發育停止卵の検出菌の中, 大腸菌群 7.4%, サルモネラ 6.6% の計 14% の *Enterobacteriaceae* 検出を挙げ大腸菌群 15 株につき生物学的性状を検した結果, *Escherichia coli communior* およびその変異種; *E. para enterica* およびその変異種; *E. paragruenthami*, *Aerobacter oxytocolum*, *E. colotropicalis* および *E. coloides* var A その他の菌で大腸菌属は多種性であったとしている。渡辺¹²⁾は發育停止卵からの検出菌の中で *Bacterium* 14%, *Salmonella* 8.0%, *Proteus* 4.1% 計 26.1% のグラム陰性桿菌の検出を行い, 板垣²³⁾は發育停止卵から *Escherichia* 3.0%, *Salmonella* 1.8% その他の *Enterobacteriaceae* 5.8%, *Bacterium anitratum* 0.6% の計 11.2% を検出している。

前述のように之等先人の報告によっても検出される *Enterobacteriaceae* は多種性である事がほぼうかがえるが, さらに本研究において發育停止卵から検出される *Enterobacteriaceae* はサルモネラなどの特定の菌属のみに限定されることなく広く多種多様の菌属に亘ることが明らかにされた。

4. サルモネラ

孵卵時正常發育卵および無精卵におけるサルモネラの検出率はニワトリ卵, アヒル卵共に陰性であった。

サルモネラの孵卵時發育停止卵 (死籠卵を含む) における検出ではニワトリ卵, アヒル卵共にその検出率は同率の 2.8% であったがニワトリ卵は卵令の進むにしたがって逐次高率の検出率を示し, アヒル卵は第 1 回中止卵において既に死籠卵と同様な検出率を示していた。

検出菌型はニワトリ卵で *S. pullorum*, *S. thompson*, *S. potsdam* および *S. senftenberg* であり, アヒル卵で *S. pullorum* および *S. enteritidis* であった。

ニワトリ卵では *S. pullorum* (検出率 1.5%) は第 1 回中止卵から死籠卵に至る迄各卵令の發育停止卵に検出され, 孵卵場別に見ても 7 孵卵場中 6 孵卵場から検出され, 検索月別に見ても検索月の全月にわたって検出された。さらに斃死ニワトリヒナおよび健康ニワトリヒナからも検出率 2.8% および 0.3% で検出された。

S. thompson (検出率 0.1%), *S. potsdam* (0.1%) および *S. senftenberg* (1.1%) は主として死籠卵に検出され特定の孵卵場のみに, また 3 月, 5 月の月のみに検出された。さらに斃死ニワトリヒナおよび健康ニワトリヒナからの菌検出率はそれぞれ *S. thompson* 4.7%,

0.7%, *S. potsdam* 0.9%, 0%, *S. senftenberg* 3.5%, 6.9% であり、斃死ヒナおよび健康ヒナのみからは *S. irumu* もまた 1.9%, 0.7% の検出率で検出された。

前述のニワトリヒナ由来4種の菌型は特定の孵卵場のみに、また3月、5月および10月の春、初夏および秋の検索月に検出された。

S. irumu はわが国で初めて分離同定された^{22), 25)}サルモネラの菌型である。

アヒル卵では *S. pullorum* (検出率 0.1%) は第1回中止卵のみに、1孵卵場から、8月に検出され、*S. enteritidis* (検出率 2.7%) は第1回中止卵から死籠卵に至るまでの各卵令の发育停止卵に、1孵卵場から、6月および10月の月に検出された。斃死アヒルヒナからのサルモネラ検索は陰性であった。

なおニワトリ发育中止卵々殻表面から *S. senftenberg* 1株を、成ニワトリ病変卵巣から *S. pullorum* 1株を検出し、アヒル卵々殻表面からのサルモネラ検出は陰性、成アヒル直腸糞から *S. newbrunswick* 1株を分離し得た。

S. pullorum (卵由来) および *S. newbrunswick* (直腸糞由来) がアヒル由来として分離されたのはわが国で初めてのことである。

すでに「まえがき」で述べたようにニワトリ卵、ニワトリヒナおよび成ニワトリのサルモネラ感染に関する研究は数多くなされていて、之等のうち卵に対するサルモネラの感染様式としては2つの様式が考えられ、1つは成ニワトリからその産卵した卵への先天的感染様式であり、他の1つは保管途上とか孵卵途上とかにおいて産卵後、糞、周囲の物件等の外界からの後天的感染様式があると考えられる。

すなわち前者の感染様式として *S. pullorum* 感染ニワトリが産卵した卵では *S. pullorum* がその親からその卵へ伝達されることは周知の事であり、この事はわが国においても川島ら⁵³⁾、渡辺ら^{54), 62)}、佐藤ら^{55), 56)}、田坂ら⁵⁷⁾、秋山⁵⁸⁾、島倉⁷⁶⁾等によって既に報告されている。本実験成績での *S. pullorum* が他のサルモネラと異り、すでに孵卵時发育初期のニワトリ发育中止卵から検出されたことは前述の先天的感染を裏付けるものであらうと考察し得る。また本実験成績で *S. pullorum* が孵卵場別にも、月別にも広範囲に検出されたことから本菌が種鶏場ないしは孵卵場間に相当の広範囲に浸潤していることがうかがわれる。

S. thompson, *S. potsdam* *S. senftenberg* などの *S. pullorum* 以外のサルモネラが孵卵時ニワトリ卵およびニワトリヒナから検出された成績は前述のように数多

くあるが成ニワトリから検出されることは極めて稀れであって、成ニワトリからの検出が稀れであることについては EDWARDSら⁵⁹⁾も既に述べているし、わが国においてもこれら菌型の分離については河島ら⁶⁰⁾、岩森ら¹⁰⁾、三浦ら⁸⁰⁾の分離報告を僅かに見るにすぎない。また渡辺ら^{19), 21)}、佐々木ら²⁶⁾、小野ら¹²⁾、浜田⁶¹⁾、三浦ら³²⁾が急速凝集反応によって摘出された野外および人工感染ニワトリの体内菌検索で *S. senftenberg* 等の菌検出は陰性ですなわち保菌ニワトリの検出成績は陰性に終り、これら菌型サルモネラの成ニワトリから卵えの先天的感染は明確にされていない。

渡辺ら²⁰⁾は卵の卵殻膜、卵黄等の検索部位別菌検出によって二つの感染様式のあることを明らかにし、孵卵時卵のサルモネラ感染には孵卵開始前から卵黄嚢内に保有されていた菌によるものと卵殻膜上から侵入した菌によるものとがあり、*S. senftenberg* の感染様式には前者を確認する事は出来なかったとし、LANCASTER⁶³⁾、BIGLAND⁶⁴⁾、OREL⁶⁵⁾、浜田⁶¹⁾等多くの研究者は *S. pullorum*, *S. senftenberg*, *S. thompson*, *S. typhimurium* 等の或る菌種は卵殻を通過して卵内に侵入し得ることを、渡辺ら⁴⁷⁾は孵卵時の卵が卵殻外から卵内へ *S. senftenberg* の感染をうけることを実験的に証明している。

S. pullorum 以外のサルモネラが特に孵卵時卵令の最末期である死籠卵に多く検出されて、孵卵初期の发育中止卵からは検出されていないとの成績を得た本実験成績は「*S. pullorum* 以外の感染様式が *S. pullorum* の如き先天的感染よりもむしろ孵卵途上における外界からの感染によるもの」と示唆している前述の多数研究者の成績を裏付けているものと考えられる。

孵卵時ニワトリ卵、斃死ニワトリヒナおよび健康ニワトリ初生ヒナの3者の検索材料から検出されたサルモネラを菌型別、孵卵場別および月別に考察すれば *S. pullorum* を除く他のサルモネラでは或る特定の菌種が3者の検索材料間に共に検出され、しかもその検出菌は特定の孵卵場に、且つ特定の月に検出されたこと、さらに发育停止卵の卵殻表面から *S. senftenberg* を検出したことなどから推量して、孵卵時发育停止卵、斃死ヒナおよび健康ヒナの相互間のサルモネラ感染は、特定の孵卵場単位に密接な関係があると考えられる。

以上のことは同一孵卵場において孵卵時卵およびヒナの両者から検出される *S. pullorum* 以外のサルモネラ菌型はほぼ特定の菌型で、ヒナ由来サルモネラ菌型は孵卵時卵由来のサルモネラ菌型と密接な関係があることを示し、このことは秋山^{34), 58)}、島倉⁷⁶⁾等の報告からも同様

なことが推量される。

アヒルのサルモネラ病の中、ニワトリにおけるヒナ白痢と同様に損害の大きな疾病としてアヒルヒナにおける家畜パラチフスの KEEL 病が昔から知られ、その病因菌の 1 つである *S. anatum* はニワトリにおける *S. pullorum* と同様に病アヒルから産卵された卵を通じてその孵化アヒルヒナに先天的感染を成立させるとされている。

本実験でアヒル卵からの *S. pullorum* 検出は E 孵卵場飼育アヒル産卵由来のもので、後日当孵卵場飼育アヒルについてヒナ白痢急速診断を実施した結果、強陽性アヒル 1 羽、弱陽性アヒル 2 羽が検出された。*S. pullorum* はこの E 場アヒル卵の孵卵時第 1 回中止卵の卵黄のみから検出され、第 2 回中止卵以後の孵卵時卵で分離されていないことは、*S. pullorum* はニワトリ卵におけると同様にアヒル卵でも先天的感染によって卵内に菌は感染していたことが可能であったとも考えられる。

またアヒル卵由来 *S. enteritidis* がニワトリ卵における *S. pullorum* のように第 1 回中止卵から死籠卵までの各孵卵時卵令検索卵から検出されたことから考察してアヒル卵由来 *S. enteritidis* は孵卵前にすなわち排卵直後から長期間を経過しない以前に外界から卵内に侵入したとも推量されるしあるいはまたニワトリ卵における *S. pullorum* のように *S. enteritidis* は産卵された卵にすでに先天的に成アヒルから感染していたとも推量される。

アヒル卵を原因食とした食中毒の病因菌として *S. enteritidis* および *S. typhimurium* が最も重要視されていることから考えて^{81), 79)}、本実験での *S. enteritidis* がアヒル卵から高率に検出され、加うるに孵卵前の卵内に既に本菌が存在していたおそれのあることは食中毒予防の公衆衛生面から注目されるべき重要な問題であると考える。

5. 大腸菌の菌型

成アヒル直腸糞ならびにこれら一群が産卵したアヒル卵の新鮮卵、孵卵時無精卵および发育停止卵から分離した 46 株中に *Escherichia* O-凝集反応で O-119 で抗血清に強く凝集するもの 11 株 (23.4%) があり、之等は無精卵および发育停止卵に由来するものであった。

O-119 抗血清に凝集する大腸菌は SMITH⁶⁰⁾(1953) によって乳児に散発性或は小集団性に発生する比較的重篤な急性下痢症から検出されている。

この流行性乳幼児腸炎病因菌として認められている O-119 抗元を有する大腸菌をアヒル卵由来菌として分離したことはアヒル卵由来食中毒の研究上甚だ興味あることと思われる。

6. 非腸内細菌の性状

ニワトリ卵およびアヒル卵の孵卵時发育停止卵 (死籠卵を含む) についてマッコンキー寒天培地を分離培地とした腸内細菌検索を行った結果、非腸内細菌がニワトリ卵で 5.4%、アヒル卵で 24.8% の検出率で検出された。

非腸内細菌もまた *Enterobacteriaceae* と同様にニワトリ卵で低率に、アヒル卵で高率に検出された。

非腸内細菌の中で B5 W (*Bact. anitratum*) はニワトリ卵に多く検出 (3.5%) され、アヒル卵にはその検出 (0.8%) は少なかった。

坂崎ら⁴⁰⁾、板垣ら²⁵⁾もそれぞれ七面鳥の死籠卵、ニワトリ卵の发育停止卵から 50%、0.6% の検出率で B5 W を検出している。

アヒル卵の非腸内細菌は生物学的性状から *Achromobacter*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Fravobacterium* または *Alcaligenes faecalis* 等の何れかに属する菌種であると思われる。これらアヒル卵から検出された非腸内細菌群は土壌ないし水中から多く分離される菌種であるのでニワトリ卵、アヒル卵の間の非腸内細菌の菌分離差異は陸棲家禽と水棲家禽の棲息場所の環境相異によっておこったものと考えられる。

第 II 編 *Enterobacteriaceae* の孵卵時卵内への侵入

目 次

I. ま え が き

II. 実験方法ならびに実験成績

A. *Enterobacteriaceae* の孵卵時精卵内への侵入

1. 人工殺正常發育卵を孵卵器内に納置した場合における菌の卵内への侵入

a. 実験方法

b. 実験成績

- 1) 正常發育卵
- 2) 孵卵器内納置日数別, 人工冷殺正常發育卵
- 3) 卵令別人工冷殺正常發育卵と發育停止卵
- 4) パラフィン包人工殺正常發育卵

2. 卵殻にサルモネラを塗布した人工殺正常發育卵を孵卵器内に納置した場合における菌の卵内への侵入

a. 実験方法

b. 実験成績

- 1) 人工冷殺正常發育卵の卵殻表面に *S. senftenberg* を塗布した場合
- 2) ニワトリ人工冷殺正常發育卵の卵殻表面に *S. pullorum* または *Escherichia* を塗布した場合
- 3) 殺方法を異にしたニワトリ人工殺正常發育卵の卵殻表面に *S. senftenberg* を塗布した場合

3. 腸内細菌の協生 (Association) 作用

a. 実験方法

b. 実験成績

4. 卵令別發育停止卵の卵殻に対するアルカリ液および色素液の浸透性

B. *Enterobacteriaceae* の孵卵時無精卵内への侵入

1. 無精卵を孵卵器内に納置した場合における菌の卵内への侵入

a. 実験方法

b. 実験成績

2. 卵殻にサルモネラを塗布した無精卵を孵卵器内に納置した場合における菌の卵内への侵入

a. 実験方法

b. 実験成績

- 1) 無精卵を *S. senftenberg* 菌液中に浸漬して室温に放置した場合

- 2) 無精卵を *S. senftenberg* 菌液中に浸漬して孵卵器内に納置した場合

- 3) 無精卵の卵殻表面に *S. senftenberg* を塗布し孵卵器内に納置した場合

C. *Enterobacteriaceae* の新鮮卵内への侵入

1. 産卵場別新鮮卵における菌の卵内への侵入

a. 実験方法

b. 実験成績

- 1) 室温放置経過日数別および卵殻表面汚染率別菌検出率
- 2) 室温放置経過日数別検出菌叢

2. 室温放置経過日数別新鮮卵を孵卵器内に納置した場合における菌の卵内への侵入

a. 実験方法

b. 実験成績

- 1) 正常發育卵
- 2) 無 精 卵
- 3) 發育停止卵

3. 新鮮卵々殻に糞を塗布した場合またはその卵殻を水洗した場合における菌の卵内への侵入

a. 実験方法

b. 実験成績

- 1) 新鮮卵々殻にニワトリ糞またはアヒル糞を塗布した場合
- 2) アヒル新鮮卵を水洗した場合

III. 総括および考察

I. ま え が き

孵卵時におけるニワトリ卵およびアヒル卵の發育停止卵 (死籠卵を含む), 正常發育卵および無精卵の卵内容物からの *Enterobacteriaceae* 検出にはそれぞれ卵種別間ならびに正常發育卵, または發育停止すなわち胚児の發育または胚児の死によってその検出率に大差あることを第 I 編で述べ, その差異の主なるものは環境汚染の低い陸棲家禽と環境汚染の高い水棲家禽の差異, ならびに生体の發育と生体の死の差異と云う環境によるものであらうと云うことを考察推量した。

従来孵卵時の卵についての細菌学的研究は主としてすでに胚児の致死した發育停止卵を対象として検索され, 特にこれらの卵から検出されるサルモネラと家禽の疾病あるいは卵の發育停止の原因, はたまた公衆衛生面との

関連においての重要性から数多くの研究報告がなされている。また新鮮卵の細菌学的研究は主として公衆衛生面または卵の腐敗防止の面から研究されて来た。

しかし孵卵時发育停止卵から検出される細菌の感染には先天的感染（母鶏体内における卵巣感染、排泄腔感染等も含めて）と産卵された後、外界から卵内へ侵入する後天的感染が考えられ、前者においては *S. pullorum* の如く感染母鶏から卵への伝達様式が考えられ、後者においては菌の外部から卵殻を通過して卵内へ侵入することが多数の研究者によってすでに実験的に明らかにされている。また後者においては先づ卵殻の透過性（卵殻膜を含む）が問題となり、その検討は気体を用いる方法（ROMANOFF⁶⁷⁾、WALDEN ら⁶⁸⁾等）、液体を用いる方法（FROMM⁶⁹⁾、野並⁷⁰⁾等）または微生物を用いる方法（TRUSSEL⁷¹⁾、WALDEN ら⁶⁸⁾、KRAFT ら⁷²⁾、OREL⁶⁵⁾、STUART ら⁷³⁾、MALLMAN ら⁷⁴⁾、BEAN ら³⁹⁾、LANKASTER ら⁶³⁾、BIGLAND ら⁶⁴⁾、浜田⁶¹⁾、渡辺ら⁴⁷⁾）等の測定によって測定検討され、ニワトリ卵の透過性は主として卵殻の多孔性によるものであるが、ニワトリ卵の品種、年令、飼料、産卵時の季節、卵殻の厚さ等の条件によって卵の透過性は変化することが述べられているし、微生物の卵殻侵入は温度、湿度、卵の比重、微生物の種類によっても異り、孵卵時の卵ではその卵令別によっても異なることが述べられている。

すなわち OREL⁶⁵⁾(1959) は *Pseudomonas* を新鮮ニワトリ卵殻に塗布乾燥させ常温 (20~21°C)、相対湿度 70~90% に放置してその卵内への菌侵入には平均 21 日を要すると述べ、STUART ら⁷³⁾ (1943) は *Pseudomonas aeruginosa* の培養菌液でニワトリ卵殻を処理した場合、数分間で卵殻膜の汚染される割合は 60% であるが卵白の汚染は 10%、卵黄 5% であったとし、MALLMAN ら⁷⁴⁾ (1944) は同様の条件下でニワトリ卵が腐敗するのは少なくとも 48 時間以降であると報告している。また BEAN ら³⁹⁾ (1959) は *Pseudomonas aeruginosa*, *Streptococcus faecalis*, *Proteus morganii*, *Proteus vulgaris* の菌液中に 15 分間浸漬したニワトリ卵を約 23°C (室温) および 13°C の両温度に保存した場合には細菌の卵殻通過の速度は保存温度によって差はないが卵白へ到達する速度は低温において著しく低くなると述べている。浜田⁶¹⁾ (1953) はまた新鮮な無精ニワトリ卵の卵殻全面または 1/3 程度を *S. senftenberg* 菌液中に浸漬し、湿度を異にする 37°C 保存卵について検し、湿度の高い程卵内への菌侵入率は高くなる実験を報告して、微生物が卵殻を通過し得るためには種々の要約すなわち菌の側から云えばその運動性と大いさ、卵の側から云えば不適当な

貯蔵と汚染、これらにさらに湿度、温度等の条件が加わって初めて可能性が生ずるものと考察している。渡辺ら⁴⁷⁾ (1959) は孵卵時ニワトリ卵の経卵殻感染試験を行い、卵殻上のサルモネラによる孵化卵の感染は孵化卵令 4~8 日に卵殻上に附着した菌は 12 日までに卵殻膜に達し、卵の内部に侵入するから多くの場合胎児は孵卵の中期から後半期に发育を停止する。そしてその可能性は *S. senftenberg* に多く *S. pullorum* にきわめて少ないと考えられると述べている。

しかし孵卵時におけるニワトリ卵およびアヒル卵内容物からの *Enterobacteriaceae* 菌検出の差異、または正常发育卵、发育停止卵および無精卵内容物からの菌検出の差異について卵外から卵内への菌侵入態度から検討された成績が見られない。依って本実験では卵殻内面、卵殻膜内面、卵白および卵黄の各検査部位からニワトリ、アヒルの両者の正常发育卵、发育停止卵、無精卵、新鮮卵、人工殺正常发育卵および菌の卵殻表面塗布卵等について菌検出を実施し、菌のこれら卵の卵外から卵内への侵入態度の難易性を比較検討したのでそれらの検討成績を報告する。

II. 実験方法ならびに実験成績

A. *Enterobacteriaceae* の孵卵時精卵内への侵入

1. 人工殺正常发育卵を孵卵器内に納置した場合における菌の卵内への侵入

孵卵時ニワトリ卵およびアヒル卵の正常发育卵ならびに发育停止卵内容物（卵白、卵黄）からの *Enterobacteriaceae* 検出率は両卵種共に、正常发育卵では極めて低率（ニワトリ卵 0%、アヒル卵 0.7%）であるが发育停止卵のそれ（ニワトリ卵 15.4%、アヒル卵 67.4%）は正常发育卵に比して両卵種共に高率である。またニワトリ发育停止卵の菌検出はアヒル卵のそれに比して甚だ低率であり、かつニワトリ卵のそれは第 1 回（入卵 4 日後）、第 2 回（入卵 11 日後）、第 3 回（入卵 18 日後）中止卵および死籠卵（入卵 22 日）と孵化卵令（日数）の進むに従って漸次高率（3.1%、11.7%、19.7%、27.3%）となるが、アヒル卵のそれはニワトリ卵のそれと異なり、第 1 回中止卵（入卵 4 日後）では 47.1% であり、第 2 回（入卵 11 日後）中止卵（68.2%）においてすでに第 3 回（入卵 18 日後）、第 4 回（入卵 25 日後）中止卵および死籠卵（入卵 29 日）と同様な高率（82.0%、67.2%、77.7%）を示すことを第 I 編において述べた。

正常发育卵内容物（卵白、卵黄）からの菌検出が極わ

めて低率であることは生体の發育という環境によるものと推察しうが、發育停止卵内容物からの菌検出が高率であることは主として胚児を発症死せしめた病因菌によるものであるか、または逆に菌が外界または卵内の外側部（卵殻、卵殻膜）から卵の内側部（卵内容物である卵白、卵黄）へと侵入して来て死胚児に寄生増殖したものによるものであるかは推察し難いことと思われる。従って發育停止卵からの検出菌が卵外または卵内の外側部から卵内内側部へと侵入したものに由来するか否かを確かめる目的で、正常發育卵を人工的に致死せしめた人工殺正常發育卵を孵卵器内に納入し、この孵卵器内納置人工殺正常發育卵の外側部（卵殻内面、卵殻膜内面）から内側部（卵白、卵黄）への検索部位別菌検出、さらに人工殺正常發育卵の卵殻外側をパラフィンで包み、外界との連絡を断った孵卵器内納置パラフィン包人工殺正常發育卵の各検索部位別菌検出を検討した。

a. 実験方法

ニワトリ卵およびアヒル卵の人工殺正常發育卵の作成には孵卵時各卵令（ニワトリ卵では入卵後5日、10日および15日等、アヒル卵では入卵後8日、15日および22日等）の正常發育卵を摘出して、これらを直ちに2°C冷室中に24時間放置する冷殺方法で卵内胚児を致死せしめた。但しアヒル卵15日卵令および22日卵令の卵では2°C24時間放置で全卵個数を致死せしめることが出来なかったので2°C48時間冷室に放置して致死せしめた。

また一部の人工殺正常發育卵は冷殺方法によって殺処置した後、加熱滅菌融解パラフィン中に瞬間浸漬を2〜3回繰り返して卵殻にパラフィン薄膜をつくらしめ、その卵を実験に供した。これら人工殺およびパラフィン包の両種実験卵を孵卵器内に納置後、各検索部位の菌検索を実施し、また同一孵卵器内の發育停止卵および比較的清浄な孵卵器内人工殺正常發育卵の菌検索をも実施した。

正常發育卵、人工冷殺正常發育卵、パラフィン包人工冷殺正常發育卵および發育停止卵の菌検索部位は各卵の卵殻内面、卵殻膜内面、卵白（卵令の進んだものでは尿膜液）および卵黄の卵内各部位とした。

菌検索の実施にあたっては先づ卵の気室部を3%クレゾール水綿花および70%アルコール水綿花で清拭し、さらに火焰によって滅菌した後、気室部の卵殻を滅菌ピンセットをもって除去し、その切除孔から菌分離の材料として卵白および卵黄の1白金耳量を採取し、マッコンキー寒天培地に直接塗抹接種した。

卵内容物を全部抜き出した後、滅菌ブイオンを浸した滅菌綿棒で卵殻膜内面をおおむね5cm²拭き取り、この

綿棒をマッコンキー寒天培地へ卵殻膜内面の材料として塗抹接種した。さらに滅菌ピンセットをもって卵殻膜を静かに卵殻から剝離し、その間隙から卵殻内面のほぼ5cm²を滅菌ブイオンを浸した滅菌綿棒で拭き取り、この綿棒をマッコンキー寒天培地へ卵殻膜内面の検索材料として塗抹接種した。卵殻膜の剝離にはニワトリ卵では孵卵時卵令18日頃から、アヒル卵では孵卵時卵令0日（孵化当日）から容易であった。

接種培地は18〜24時間37°C培養を行い、菌の集落發育をみた培地を *Enterobacteriaceae* 菌検出陽性とした。

b. 実験成績

1) 正常發育卵

ニワトリ、アヒルの両卵種共に正常發育卵内容物（卵白、卵黄）からの菌検出は殆んど陰性（ニワトリ卵0%、アヒル卵0.7%）であることはすでに第I編で述べたが、本実験で実施した5〜27日卵令（孵卵器内へ入卵後の日数）のニワトリおよびアヒル正常發育卵の卵殻内面、卵殻膜内面、卵白、卵黄からの各検索部位別菌検出成績は第1表に示すようであった。

ニワトリ卵では8〜19日卵令正常發育卵の菌検出は各検索部位共に陰性であったが、20日卵令41個のうち1個の卵殻内面および卵殻膜内面の菌検出は陽性で卵白および卵黄の菌検出は陰性であり8〜20日卵令209個合計の各検索部位別菌検出率はそれぞれ0.5、0.5、0、0%であった。

アヒル卵ではニワトリ卵と異り、すでに5日卵令正常發育卵の卵殻内面菌検出率が14.7%で5〜27日卵令計136個の各検索部位別菌検出率はそれぞれ11.0、2.1、0.7、0.7%であり、アヒル卵の菌検出はニワトリ卵のそれに比して各検索部位共に高率であった。

すなわちニワトリ正常發育卵内では菌は殆んど検出されないが、アヒル正常發育卵内では特に卵殻内面では菌は検出されることがあるとの実験成績であった。

2) 孵卵器内納置経過日数別、人工冷殺正常發育卵

孵卵時卵令5日、11日および17日の人工冷殺正常發育ニワトリ卵ならびに卵令8日の人工冷殺正常發育アヒル卵を孵卵器（入卵個数少数で、ホルマリン消毒直後であり器内の空気が比較的菌に汚染せられることなく清浄と思われた）内に1日、3日、5日および10日間納置後に行った合計ニワトリ卵120個、アヒル卵40個（各実験群10個宛）の各検索部位別菌検出成績は第2表に示す通りであった。

ニワトリ各卵令人工冷殺正常發育卵では共に孵卵器内

第 1 表 正常發育卵の各検索部位別菌検出成績

卵 令	ニワトリ卵					アヒル卵						
	供試個 卵数	検 索 部 位	卵内 殻面	卵内 殻膜	卵 白	卵 黄	供試個 卵数	検 索 部 位	卵内 殻面	卵内 殻膜面	卵 白	卵 黄
5	・						34		5 (14.7)	0	0	0
8	10		0	0	0	0	・					
12	・						45		5 (11.1)	3 (6.7)	1 (2.2)	1 (2.2)
13	40		0	0	0	0	28		0	0	0	0
15	20		0	0	0	0	・					
17	30		0	0	0	0	・					
18	38		0	0	0	0	・					
19	30		0	0	0	0	・					
20	41		1 (2.4)	1 (2.4)	0	0	22		3 (13.6)	0	0	0
27	・						7		2 (28.6)	0	0	0
合 計	209		1 (0.5)	1 (0.5)	0 (0)	0 (0)	136		15 (11.0)	3 (2.1)	1 (0.7)	1 (0.7)

備考：（ ）内数字は供試卵個数に対する百分率

第 2 表 人工冷殺正常發育卵の孵器納置経過日
数別菌検出成績

卵 種 別		ニ ワ ト リ 卵			アヒル卵
殺後孵 卵器納 置日数	殺時の卵令				
	検索部位	5	11	17	8
1	卵 殻 内 面	0	0	0	1
	卵 殻 膜 内 面	0	0	0	0
	卵 白	0	0	0	0
	卵 黄	0	0	0	0
3	卵 殻 内 面	1	0	2	3
	卵 殻 膜 内 面	0	0	1	2
	卵 白	0	0	1	2
	卵 黄	0	0	1	2
5	卵 殻 内 面	0	1	0	4
	卵 殻 膜 内 面	0	1	0	3
	卵 白	0	1	0	3
	卵 黄	0	1	0	3
10	卵 殻 内 面	0	1	1	6
	卵 殻 膜 内 面	0	1	1	5
	卵 白	0	1	1	5
	卵 黄	1	1	1	5

備考： 供試卵個数は各実験共に 10 個宛である

納置日数が 10 日に至るも卵内各部位別菌検出率はほぼ 10%以下であってニワトリ正常發育卵の菌検出率よりもわずかに高かった。

アヒル卵のそれはニワトリ卵に比して高くかつ孵卵器内納置日数が 3, 5, 10 日と長くなるに従って卵内の各検索部位別菌検出率は 逐次高くなり、 孵卵器内納置 10 日の卵では菌検出率 50% を示した。また検索部位別には各納置日数別検索時共に卵殻内面が他の部位に比し高い検出率を示した。

3) 卵令別人工冷殺正常發育卵と發育停止卵

卵令（孵卵器内入卵後の日数）の異なるニワトリ卵（卵令 5 日、10 日、15 日）およびアヒル卵（卵令 8 日、15 日、22 日）の人工冷殺正常發育卵を 5 日間（ニワトリ 15 日卵令の卵のみ 6 日間） 孵卵器内に納置したものおよび同一孵卵器内の卵令日数（人工殺卵の卵令日数＋人工殺後の孵卵器内納置日数）をほぼ同じくする發育停止卵の兩者卵について卵殻内面、 卵殻膜内面、 卵白および卵黄の各検索部位別菌検出率は第 3 表に示す通りであった。

ニワトリ卵では人工冷殺時卵令 5 日の人工冷殺正常發育卵の各検索部位別菌検出率は 10.0, •, 15.0, 15.0 %, 殺時卵令 10 日の卵のそれは 20.0, •, 20.0, 20.0 %, 殺時卵令 15 日の卵のそれは 20.0, 15.4, 12.3, 10.8 %であって、この菌検出率は人工冷殺正常發育ニワトリ

第3表 卵令別人工冷殺正常発育卵および発育停止卵の菌検出成績

卵 種			人工冷殺正常發育卵				発 育 停 止 卵							
卵 種	殺卵時の令	供試個卵数	検索部位	卵内殻面	卵内殻膜面	卵白	卵黄	卵令	供試個卵数	検索部位	卵内殻面	卵内殻膜面	卵白	卵黄
ニワトリ卵	5	20		2 (10.0)	・	3 (15.0)	3 (15.0)	9	18		2 (11.1)	・	2 (11.1)	2 (11.1)
	10	20		4 (20.0)	・	4 (20.0)	4 (20.0)	15	20		4 (20.0)	・	3 (15.0)	3 (15.0)
	15	65		13 (20.0)	10 (15.4)	8 (12.3)	7 (10.8)	21	63		12 (19.0)	10 (15.9)	10 (15.9)	10 (15.9)
アヒル卵	8	15		2 (13.3)	1 (6.7)	1 (6.7)	1 (6.7)	13	22		4 (18.2)	4 (18.2)	3 (13.6)	2 (9.1)
	15	15		7 (46.7)	8 (53.3)	8 (53.3)	8 (53.3)	20	10		4 (40.0)	4 (40.0)	4 (40.0)	4 (40.0)
	22	15		9 (60.0)	8 (53.3)	6 (40.0)	5 (33.3)	28	9		5 (55.6)	5 (55.6)	5 (55.6)	4 (44.4)

備考：（ ）内数字は供試卵個数に対する百分率

卵と同一孵卵器内で摘出され、かつその卵令とはほぼ同一卵令（人工殺卵の卵令日数＋人工殺後の孵卵器納置数の5日間）の無処置発育停止ニワトリ卵からの菌検出率（卵令9日の卵で 11.1, ・, 11.1, 11.1%, 卵令15日の卵で 20.0, ・, 15.0, 15.0%, 卵令21日の卵で 19.0, 15.9, 15.9, 15.9%）と各卵令別にも、各検索部位別にもほぼ同様な成績を示していた。

アヒル卵では人工冷殺時卵令8日の人工冷殺正常発育卵の各検索部位別菌検出率は 13.3, 6.7, 6.7, 6.7%, 15日卵令のそれは 46.7, 53.3, 53.3, 53.3%, 22日卵令のそれは 60.0, 53.3, 40.0, 33.3% であって、この菌検出率は人工冷殺正常発育アヒル卵と同一の孵卵器内で摘出され、かつその卵令とはほぼ同一卵令の無処置発育停止アヒル卵からの菌検出率（卵令13日の卵で 18.2, 18.2, 13.6, 9.1%, 卵令20日の卵で 40.0, 40.0, 40.0, 40.0%, 卵令28日の卵で 55.6, 55.6, 55.6, 44.4%）と各卵令別にもまた各検索部位別にもほぼ同様な成績を示していた。

またニワトリ卵の菌検出率は人工冷殺正常発育卵においても、また無処置発育停止卵においても共にアヒル卵のそれに比して低率であり、卵令の進んだ卵（ニワトリ卵10日卵令、アヒル卵15日卵令）の菌検出率は卵令の短かい卵（ニワトリ卵5日卵令、アヒル卵8日卵令）のそれに比して高率であった。

4) パラフィン包人工冷殺正常発育卵

卵令の異なる（ニワトリ卵5日、11日、17日、アヒル卵5日、17日、24日）人工冷殺正常発育卵の卵殻表面をパラフィンで包み外界との連絡を断った卵を孵卵器

第4表 パラフィン包人工冷殺正常発育卵の菌検出成績

卵 種 別	ニワトリ卵			アヒル卵		
殺 時 の 卵 令	5	11	17	5	17	24
殺後孵卵器納置日数	5	5	5	5	5	5
供試卵個数	10	10	10	5	5	10
菌検索部位						
卵 殻 内 面	0	0	0	4	1	4
卵 殻 膜 内 面	0	0	0	4	1	3
卵 白	0	0	0	4	0	2
卵 黄	0	0	0	4	0	2

内に5日間納置したものにつき各検索部位別菌検索を実施した成績は第4表に示す通りであった。

ニワトリ卵では人工冷殺時卵令5日、11日、17日の卵の各検索部位別菌検出は全て陰性であった。

アヒル卵では人工冷殺時卵令5日の卵5個のうち4個の各検索部位別菌検出は共に陽性、人工冷殺時卵令17日の卵5個のうち1個の卵殻内面および卵殻膜内面菌検出は陽性、人工冷殺時卵令24日の卵10個のうち4個が菌検出陽性で検索部位別には卵殻内面4個、卵殻膜内面3個、卵白、卵黄共に2個の卵に菌検出陽性であり、アヒル卵の菌検出はニワトリ卵に比べ各人工殺時卵令別共に、また各検索部位別共に高い菌検出率を示した。

すなわちニワトリ正常発育卵の卵内には菌は存在しないが、アヒル正常発育卵の卵内には菌が存在することがあるとの実験成績であった。

2. 卵殻にサルモネラを塗布した人工殺正常発育卵を 孵卵器内に納置した場合における菌の卵内への侵入

ニワトリ正常発育卵の卵内容は殆んど無菌であるが、発育停止卵の卵内容では菌検出が陽性であり、かつ人工冷殺正常発育卵を孵卵器内に納置すればその菌検出は同一孵卵器内の卵令を同じくする発育停止卵のそれとほぼ同様な成績であるが、人工殺ニワトリ卵をパラフィンで包み孵卵器内に納置すればその卵内の菌検出は陰性であるので、ニワトリ発育停止卵の検出菌由来は孵卵器内で卵殻外より卵内外側部（卵殻内面、卵殻膜内面）、卵内内側部（卵白、卵黄）へと侵入したものによると思われる。

またアヒル正常発育卵の卵内容ではニワトリ卵と異り、菌検出が陽性であるが発育停止卵の卵内容のそれよりも低率であり、人工冷殺正常発育卵を孵卵器内に納置すればその卵内の菌検出は同一孵卵器内の卵令を同じくする発育停止卵のそれとほぼ同様な成績であり、人工冷殺卵をパラフィンで包み孵卵器内に納置すればその卵内の菌検出は陽性であるので、アヒル発育停止卵の検出菌由来は孵化のための孵卵器納入前にすでに卵内に潜在していた菌と孵卵器内で卵殻外より卵内へと侵入した菌との2者の菌によるものと思われる。

そこで本実験では人工殺正常発育卵、および無処置正常発育卵の卵殻表面に菌を塗布し、この菌が卵内に侵入

するや否やを確かめる目的で実験を行った。

a. 実験方法

人工殺正常発育卵の作成には正常発育卵を冷却（2℃ 24 時間）、加熱（60℃ 2 時間）、または炭酸ガス内納置（24 時間）の方法によって卵の胚児を致死せしめた。

冷殺方法は前述の通り卵を 2℃ 冷室中に 24 時間放置する方法（ただし卵令 15 日および 22 日アヒル卵のみは 48 時間）であり、温殺方法は卵を 60℃ 温水中に 2 時間浸漬する方法であり、炭酸ガス殺方法は卵を炭酸ガスの充満したガラス瓶中に 24 時間納置する方法である。

これら人工殺正常発育卵および無処置正常発育卵の卵殻表面に培養菌液を塗布する方法は卵の長径中央部卵殻表面の約 10～16 cm² の広さに *S. senftenberg*, *S. pullorum* または *Escherichia* の 24 時間ブイヨン培養菌液を滅菌綿棒を用いて塗布する方法であり、塗布後直ちに所要日数の期間、孵卵器（平面孵卵器）内に納置して孵卵を継続した。

供試卵の卵内検索部位は卵殻内面、卵殻膜内面、卵白（卵令の進んだものでは尿膜液）、および卵黄であり、菌検出方法は前述した通り慣行常法に従った。

b. 実験成績

1) 人工冷殺正常発育卵の卵殻表面に *S. senftenberg* を塗布した場合

卵令（種卵を孵卵器に納入後ニワトリ卵では 5 日、10

第 5 表 卵殻表面に *S. senftenberg* を塗布した人工冷殺及び無処置正常発育卵を孵卵器
に納入した場合における菌検出成績

卵 種 別		ニ ワ ト リ 卵						ア ヒ ル 卵		
卵	令	5	10	15	17			8	15	22
菌塗布後の孵卵器納置日数		5	3	5	3	5	4	5	5	5
正 常 発 育 卵	供試卵個数	10	25	10	21	34	10	28	19	14
	検索部位									
	卵 殻 内 面	0	0	0	0	1	0①	0	0③	0③
	卵 殻 膜 内 面	0	0	0	0	1	0①	0	0	0
	卵 白	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	卵 黄	0	0	0	0	0	0	0	0	0
人 工 冷 殺 正 常 発 育 卵	供試卵個数	20	20	15	36	44	20	11	20	20
	検索部位									
	卵 殻 内 面	0	0	4②	5②	9①	17①	0②	0④	1④
	卵 殻 膜 内 面	0	0	3②	4②	9①	17	0②	0④	1④
	卵 白	0	0	3②	2②	7①	15	0②	0④	1④
	卵 黄	0	0	3②	2②	7①	15	0②	0④	1④

備考：○内数字は *S. Senftenberg* 以外の菌検出陽性卵個数

日、15日、17日、アヒル卵では8日、15日、22日）を異にするニワトリおよびアヒルの人工冷殺正常発育卵ならびに無処置の正常発育卵の卵殻表面の1部（約10～16cm²）に *S. senftenberg* 24時間ブイヨン培養菌液を塗布した後に孵卵器内に納置し、納置後3日または5日間の日数を経過した卵について各検索部位別に菌検索を実施した成績は第5表の通りであった。

卵令を異にするニワトリ正常発育卵計110個のうち僅かに1個（卵令15日の卵で菌塗布後孵卵器内納置5日経過した卵）のみの卵殻内面および卵殻膜内面に塗布菌の菌検出が陽性であった。

なお孵卵末期である卵令17日卵10個のうち1個の卵殻内面および卵殻膜内面から塗布菌（*S. senftenberg*）以外の菌が検出された。

しかしニワトリ人工冷殺正常発育卵計155個の供試卵の各検索部位別塗布菌の菌検索では卵令5日（菌塗布後納置日数5日）および10日（菌塗布後納置日数3日）のそれは各検索部位共に陰性であったが、卵令10日（菌塗布後納置日数5日）の卵、卵令15日（菌塗布後納置日数3日および5日）の卵、ならびに卵令17日（菌塗布後納置日数5日）の卵のそれには各検索部位共に陽性のものがあつた。

それらの菌検出率は孵卵時卵令が進んだ卵程高率となる傾向を示し、人工冷殺後の孵卵器内納置日数が長い程高率となる傾向であり、各卵令別卵共に卵殻内面、卵殻膜内面、卵白、卵黄の順に菌検出率は低下する傾向を示した。

すなわち各検索部位別百分率は卵令10日孵卵器内納置日数5日卵で27, 20, 20, 20%, 卵令15日納置日数3日卵で14, 11, 6, 6%, 卵令15日納置日数5日卵で20, 20, 16, 16%, 卵令17日納置日数5日卵で85, 85, 75, 75%であった。

なお卵令10日、15日および17日の卵からはそれぞれ *S. senftenberg* 以外の菌も少数ではあるが検出された。

各卵令別アヒル正常発育卵計61個に *S. senftenberg* を塗布し、孵卵器内納置5日を経過したこの供試卵について行った各検索部位別塗布菌の菌検出はことごとく陰性であり、15日卵令および22日卵令の卵の卵殻内面に塗布菌以外の菌が少数例に検出された。

また正常発育卵61個の卵令と卵令を同じくする人工冷殺正常発育卵計51個を菌塗布後孵卵器内に5日間納置して行った検索部位別菌検索においても塗布菌は僅か22日卵令人工冷殺卵20個のうち1個に各検索部位から検出されたのみであった。しかるにこのアヒル人工冷殺

正常発育卵からは塗布菌以外の菌が高率に検出され、その塗布菌以外の菌の各検索部位別菌検出率は8日卵令の卵で18.2, 18.2, 18.2, 18.2%, 15日卵令の卵で95.0, 95.0, 95.0, 80.0%, 22日卵令の卵で55.0, 55.0, 55.0, 55.0%であった。

すなわち卵殻表面に塗布された *S. senftenberg* はニワトリ正常発育卵では卵内に侵入し難いがニワトリ人工冷殺正常発育卵では卵令10日孵卵器内納置5日卵、卵令15日納置3日卵の卵内には侵入し得るし、アヒル正常発育卵ではニワトリ卵とほぼ同様に卵内へ侵入し難いとの成績を本実験で得た。また本実験では人工冷殺正常発育アヒル卵内に卵殻表面塗布菌が検出陰性であったが塗布菌以外の *Enterobacteriaceae* が特に高率に検出陽性であった。

2) ニワトリ人工冷殺正常発育卵の卵殻表面に *S. pullorum* または *Escherichia* を塗布した場合

卵令5日、10日および17日ニワトリ人工冷殺正常発育卵の卵殻表面の1部（約10～16cm²）に *S. pullorum* または *Escherichia* 24時間ブイヨン培養菌液を塗布した後、孵卵器内に3日または5日間納置し、しかる後各検索部位別に菌検索を実施した成績は第6表に示す通りであった。

アヒル人工冷殺正常発育卵を孵卵器に納置すれば胚児の冷殺前にすでに卵内に潜在していた菌によってこの種の実験の成績は障害されるのでアヒル卵における本実験は実施しなかった。

ニワトリの卵令を異にする卵を人工冷殺した正常発育卵計96個の卵殻表面に *S. pullorum* を塗布した卵の検索部位別菌検索では、塗布菌である *S. pullorum* は卵令10日の卵（菌塗布後孵卵器内納置日数3日および5日）、卵令15日の卵（菌塗布後納置日数3日および5日）ならびに卵令17日の卵（菌塗布後納置日数5日）の各検索部位別に共に陽性に検出された。

さらにその菌検出率は卵令が進んだ卵程高率となる傾向を示し、各卵令別の卵共に卵殻内面、卵殻膜内面、卵白、卵黄の順に低率となる傾向を示した。

各検索部位別塗布菌（*S. pullorum*）の菌検出百分率は10日卵令3日孵卵器内納置の卵で20, 20, 0, 0%, 10日卵令5日納置の卵で7, 7, 7, 7%, 15日卵令3日納置の卵で26, 26, 9, 6%, 15日卵令5日納置の卵で22, 19, 19, 19%, 17日卵令5日納置の卵で60, 50, 50, 50%であった。

なお塗布菌以外の菌検出も少数ではあるが検出された。

正常発育卵計89個の卵殻表面に *S. pullorum* を塗

第 6 表 卵殻表面に *S. pullorum* 又は *Escherichia* を塗布したニワトリの人工冷殺および無
処置正常発育卵を孵卵器に納置した場合における菌検出成績

卵 種		正 常 発 育 卵						人工冷殺正常発育卵				
卵 令		5	10		15		17	10		15		17
菌塗布後の孵卵器納置 日数		3	3	5	3	5	5	3	5	3	5	5
塗 布 菌	供試卵数	10 15 10 17 27 10						10 15 34 27 10				
	検索部位											
<i>S. pullorum</i>	卵 殻 内 面	0	0	0	0	0①	0①	2①	1⑥	9⑤	6②	6①
	卵 殻 膜 内 面	0	0	0	0	0①	0①	2①	1③	9②	5②	5
	卵 白	0	0	0	0	0	0①	0①	1③	3②	5①	5
	卵 黄	0	0	0	0	0	0①	0①	1③	2①	5①	5
<i>Escherichia</i>	供試卵個数	・ ・ ・ 10 ・ 10						・ ・ ・ 10 10				
	検索部位											
	卵 殻 内 面	0 0②						4① 5				
	卵 殻 膜 内 面	0 0②						4 5				
	卵 白	0 0②						4 5				
	卵 黄	0 0②						4 5				

備考： ○内数字は塗布菌以外の菌検出陽性卵個数

布した卵では塗布菌は卵内に検出されなかったし、また
塗布菌以外の菌も殆んど検出されなかった。

*Escherichia*を塗布した人工冷殺正常発育卵（卵令 15
日および 17 日）計 20 個についての卵内菌検索では
S. senftenberg および *S. pullorum* と同様にこの塗布
菌（*Escherichia*）は各検索部位共に 40 または 50% の
検出率で検出された。

卵殻表面に *Escherichia* を塗布した正常発育卵（卵令
15 日および 17 日）の卵内菌検索で塗布菌（*Escheri-*
chia）は全て各検索部位共に陰性であり、17 日卵令の卵
に塗布菌以外の菌が僅かに検出された。

すなわち卵殻表面に塗布された *S. pullorum* および
Escherichia は *S. senftenberg* と同様に、ニワトリ正常
発育卵では卵内へ侵入し難いがニワトリ人工冷殺正常発
育卵では卵内へ侵入し得るし、かつ孵卵時の卵令の進む
に従って逐次侵入は容易になるとの成績を得た。

3) 殺方法を異にしたニワトリ人工殺正常発育卵の卵
殻表面に *S. senftenberg* を塗布した場合

卵令 14 日のニワトリ正常発育卵を冷殺、温殺および
炭酸ガス殺の 3 種方法で卵内胚児を致死せしめ、その卵
殻表面の 1 部（約 10~16 cm²）に *S. senftenberg* 24 時
間ブイヨン培養液を塗布し、さらに再び孵卵器内に 6 日
間納置した卵について各検索部位別に塗布菌（*S. senfte-*
nberg）の菌検出を実施した成績は第 7 表の通りであっ
た。

第 7 表 人工殺方法別ニワトリ正常発育卵の卵
殻表面に *S. senftenberg* を塗布した
場合における菌検出成績

殺 方 法 別		冷殺	温殺	炭酸ガス殺
供試卵数		25	22	24
検索部位				
卵 殻 内 面		23	19	14
卵 殻 膜 内 面		25	20	18
卵 白		25	20	18
卵 黄		22	20	18

備考： 数字は *S. senftenberg* 陽性卵個数

冷殺、温殺および炭酸ガス殺したニワトリ卵の *S.*
senftenberg 卵内検索部位別検出百分率は冷殺卵で 92,
100, 100, 80%, 温殺卵で 79, 83, 83, 83%, 炭酸ガス
殺卵で 64, 82, 82, 82%であり、3 種の殺方法間におけ
る塗布菌の卵内検索部位別菌検出率には大きな差がなか
った。

3. 腸内細菌の協生（Association）作用

卵殻表面に塗布された *S. senftenberg* はニワトリ卵、
アヒル卵共に正常発育卵の卵内に殆んど侵入し難いが、
卵令 10 日のニワトリ人工冷殺正常発育卵の卵内には侵
入し得た。しかしアヒル人工冷殺正常発育卵の各卵内検
索部位別菌検索では塗布菌は陰性で、塗布菌以外の菌検
出が陽性であるため、塗布菌以外の菌の発育増殖によっ

て塗布菌が発育増殖し難く、したがって塗布菌の菌検出が陰性ではなかったかとも推量されるのでニトリおよびアヒル卵内容物から検出される代表的な *Enterobacteriaceae* (*Escherichia*, *Cloaca*, *Citrobacter*) およびその類似菌 (*Alkaligenes*) と *S. senftenberg* とを供試してそれぞれの菌種の間における試験管内協生（拮抗、共生を含む）作用を検討した。

a. 実験方法

ニトリ卵およびアヒル卵由来の *S. senftenberg*, *Escherichia*, *Cloaca*, *Citrobacter* および *Alkaligenes faecalis* の5種菌をそれぞれ24時間ブイヨン培養し、その培養菌液 5c.c 中に同じ5種類の24時間ブイヨン培養の1白金耳をそれぞれ接種し、37°C 1日間、3日間および5日間培養した後、その培養液の1白金耳量をマッコンキー寒天培地に塗抹24時間培養した。この培地発育菌集落の菌種を肉眼的集落形態によって区別し、その菌集落数の大略を符号 卅, 卅, 卅, 卅, 卅, 卅 を以て記した。

b. 実験成績

S. senftenberg, *Escherichia*, *Cloaca*, *Citrobacter* および *Alkaligenes faecalis* の相互間における協生作用

の大略を検査した結果は第8表の如くであった。

S. senftenberg 培養菌液中に1白金耳量接種した *Escherichia*, *Cloaca*, *Citrobacter* および *Alkaligenes faecalis* は発育増殖し、また *Escherichia*, *Cloaca*, *Citrobacter* および *Alkaligenes faecalis* 培養菌液中に1白金耳量接種した *S. senftenberg* の発育増殖は抑制されていた。

S. senftenberg 以外の *Escherichia*, *Cloaca*, *Citrobacter* および *Alkaligenes faecalis* 相互間の協生については *S. senftenberg* に見られるような顕著な差異のある現象は見られなかった。

すなわち人工冷殺正常発育アヒル卵において卵殻表面に塗布した *S. senftenberg* が卵内に検出陰性の成績は塗布菌以外の菌の増殖によって表れた協生作用によるものであろうと推測した。

4. 卵令別発育停止卵の卵殻に対するアルカリ液および色素液の浸透性

人工殺正常発育卵および発育停止卵の卵令の進んだ卵では卵令の進まない卵に比して卵内容物の菌検出率が高いことから菌の卵殻通過性は卵令の進むに従って高くなるだろうとの推量を持ち、これの証明の一つとして卵令

第8表 腸内細菌の試験管内協生作用

菌液	接種菌	培養日数	<i>S. senftenberg</i>	<i>Escherichia</i>	<i>Cloaca</i>	<i>Citrobacter</i>	<i>Alkaligenes faecalis</i>
<i>S. senftenberg</i>		1	卅	S 卅	S 卅	S 卅	S +
		3	卅	卅	+	卅	+
		5	卅	卅	+	卅	+
<i>Escherichia</i>		1	E 卅	卅	E 卅	E 卅	E 卅
		3	卅	卅	卅	卅	卅
		5	卅	卅	卅	・	+
<i>Cloaca</i>		1	Clo 卅	Clo 卅	卅	Clo 卅	Clo 卅
		3	卅	卅	卅	卅	卅
		5	卅	卅	卅	卅	卅
<i>Citrobacter</i>		1	Cit 卅	Cit 卅	Cit 卅	卅	Cit 卅
		3	卅	卅	卅	卅	卅
		5	卅	卅	卅	卅	卅
<i>Alkaligenes faecalis</i>		1	A 卅	A 卅	A 卅	A 卅	卅
		3	卅	卅	卅	卅	卅
		5	卅	卅	卅	卅	卅

備考：表中の左側は母菌液菌，右側は接種菌を示す

を異にするニワトリ卵およびアヒル卵の發育停止卵の卵殻についてアルカリ液および色素液の浸透性を検討した。

a. 実験方法

卵令（孵卵器内納入日数）を異にする第1回中止卵より死籠卵に至るニワトリ卵およびアヒル卵の發育停止卵の卵内容物を気室側に開いた孔から取り除き、水道水で出来うる限りよく卵殻膜内面ならびに卵殻外面を洗滌した後、さらに蒸留水で3,4回洗滌し、水分を吸水紙で充分拭き取り約2時間室温に放置して乾燥させた卵殻（卵殻膜は附着する）を実験供試卵殻として用いた。

アルカリ溶液浸透性の検討実験にあたってはそれぞれの卵殻を先づ卵殻の尖端部を下に、バット中に並べおき、卵殻内に蒸留水 3 c.c および1滴のフェノールフタレインを指示薬として滴下し、バット中に 1N 苛性ソーダ水溶液を卵殻内の蒸留水とほぼ同じ高さまで注ぎこみ、その後 30 分および 60 分の経過時間後に卵殻内のフェノールフタレインの色調の変化（淡紅→紅）の程度によりその強弱をⅢ, Ⅱ, Ⅰ, +, - の5段階の符号で記し

た。

メチレン青色溶液の卵殻浸透度はアルカリ溶液の浸透度の方法と同じく卵殻尖端部を下にしてバット中の卵殻内に 50% メチールアルコール水溶液 3 c.c を注入し、卵殻外側のバットの中に 0.1% メチレン青 50% メチールアルコール水溶液を卵殻内メチールアルコールとほぼ同じ高さまで注入し、5 時間および 12 時間後その卵殻内メチールアルコールの色調によって判定し、その強弱の程度を Ⅲ, Ⅱ, Ⅰ, +, - の5段階で記した。

また 1N 塩酸水溶液は卵殻を溶解するため卵殻はこの実験目的に使用不能であり、0.01 N 塩酸を卵殻外側に使用し、卵殻内側にメチールレッド加蒸留水を使用する実験もまた色調判定不能であったので酸液の浸透性実験は実施しなかった。

b. 実験成績

ニワトリ卵およびアヒル卵の卵令別（第1回中止卵より死籠卵に至る）發育停止卵の卵殻（卵殻膜を含む）のアルカリ溶液（苛性ソーダ）および色素液（メチレン青）の浸透度について検した成績は第9表に示す通りで

第 9 表 卵令別發育停止卵の卵殻に対する色素液およびアルカリ液の浸透性

卵 種 別	卵 令 別	浸透液		1N NaOH 溶液							0.1% メチレン青溶液								
		判定 時間	卵殻 No.	1	2	3	4	5	6	7	判定 時間	卵殻 No.	1	2	3	4	5	6	7
ニ ワ ト リ 卵	第一 回卵	30 分		+	+	+	+	+	+	+	5 時 間		+	+	+	+	+	+	+
		60 分		+	+	+	+	+	+	+	12 時 間		+	+	+	+	+	+	+
	第二 回卵	30 分		+	+	+	+	+	+	+	5 時 間		+	+	+	+	+	+	+
		60 分		+	+	+	+	+	+	+	12 時 間		+	+	+	+	+	+	+
	第三 回卵	30 分		+	+	+	+	+	+	+	5 時 間		+	+	+	+	+	+	+
		60 分		+	+	+	+	+	+	+	12 時 間		+	+	+	+	+	+	+
	死 籠 卵	30 分		+	+	+	+	+	+	+	5 時 間		+	+	+	+	+	+	+
		60 分		+	+	+	+	+	+	+	12 時 間		+	+	+	+	+	+	+
ア ヒ ル 卵	第一 回卵	30 分		+	+	+	+	+	+	+	5 時 間		+	+	+	+	+	+	+
		60 分		+	+	+	+	+	+	+	12 時 間		+	+	+	+	+	+	+
	第二 回卵	30 分		+	+	+	+	+	+	+	5 時 間		+	+	+	+	+	+	+
		60 分		+	+	+	+	+	+	+	12 時 間		+	+	+	+	+	+	+
	第三 回卵	30 分		+	+	+	+	+	+	+	5 時 間		+	+	+	+	+	+	+
		60 分		+	+	+	+	+	+	+	12 時 間		+	+	+	+	+	+	+
	第四 回卵	30 分		+	+	+	+	+	+	+	5 時 間		+	+	+	+	+	+	+
		60 分		+	+	+	+	+	+	+	12 時 間		+	+	+	+	+	+	+
死 籠 卵	30 分		+	+	+	+	+	+	+	5 時 間		+	+	+	+	+	+	+	
	60 分		+	+	+	+	+	+	+	12 時 間		+	+	+	+	+	+	+	

あった。

ニワトリ卵の各卵令別发育停止卵（第1回，第2回，第3回中止卵および死籠卵）卵殻のアルカリ溶液浸透度は全例共に60分判定時の方が30分より強くあらわれ，個々の卵殻によってその浸透度の程度には可成りの差が見られたが，総体的にアルカリ溶液の浸透度は第1回中止卵殻において最も高く，卵令が進んだ卵の卵殻程低くなるの傾向を示し，死籠卵卵殻において最も低くアルカリ溶液は卵殻を浸透し難かった。

またメチレン青のニワトリ发育停止卵卵殻浸透性の各卵令別による差異は不明確であったが死籠卵卵殻の色素液浸透度はアルカリ溶液の浸透度と同じく卵令の短い他の卵令の卵殻に比すれば弱い（低い）傾向にあった。

アヒル卵におけるアルカリ溶液および色素液の各卵令別卵の卵殻浸透度の成績はニワトリ卵とほぼ同様であった。すなわち本実験ではニワトリ，アヒル両卵共にアルカリ液ならびに色素液の发育停止卵々殻の浸透性は卵令の進んだ死籠卵々殻において弱く，卵令の進まない第1回中止卵々殻において強く，卵令別发育停止卵の菌検出の多少と逆の成績を示していた。

B. *Enterobacteriaceae* の孵卵時無精卵内への侵入

1. 無精卵を孵卵器内に納置した場合における菌の卵内への侵入

a. 実験方法

ニワトリ卵およびアヒル卵をE孵卵場の孵卵器に納入後4～5日後に検卵して無精卵を摘出し，これら摘出した無精卵をさらに引き続き同孵卵器内に納置して得た入卵（始めの孵卵器入卵）後4～5日後（無精卵を摘出した

日に当る），10日後，15日後および20日後の各孵卵器納置経過日数を経た無精卵の卵殻内面，卵殻膜内面，卵白および卵黄の卵内各部位について菌検索を実施した。

b. 実験成績

ニワトリおよびアヒルの無精卵を孵卵器内に納置して，孵卵器納置後4～5，10，15，20日を経過したニワトリ無精卵72個およびアヒル無精卵137個について卵内各検索部位別菌検索を行った成績は第10表に示す通りであった。

ニワトリ無精卵では孵卵器納入後4～5日，10日および15日を経過した卵では全卵が検索部位別菌検出は陰性であり，孵卵器納入後20日を経過した卵では全卵共に卵内の内側部（卵白，卵黄）の菌検出は陰性であったが，16個のうち僅かに1個のみ卵内の外側部（卵殻内面および卵殻膜内面）に菌検出陽性であった。すなわちニワトリ無精卵では孵卵器納入後15日までは菌は卵内の外側部にも検出陰性であったが孵卵器納入後20日においては卵内の外側部に菌は検出された。

アヒル無精卵では孵卵器納入後5日を経過した卵では卵殻内面30.0%，卵殻膜内面18.3%，卵白16.7%，卵黄15.0%の菌検出率で菌検出は卵内の外側部より卵内の内側部へと逐次低率となり，爾後孵卵器納置日数が10日，15日，20日と進むにつれて各検索部位別の菌検出率は逐次高くなり，孵卵器納置20日後の卵では各検索部位共に77.8%の菌検出率で卵内の外側部も卵内の内側部も共に同じ検出率であった。

すなわち無精卵を孵卵器内に納置し納置経過日数別に検索した無精卵の各検索部位別菌検出はニワトリ卵においては正常发育卵におけるそれと同様に殆んど陰性であ

第10表 無精卵の孵卵器内納置経過日数別卵内菌検出成績

卵種別	ニワトリ卵					アヒル卵				
	検索部位 供試卵個数	卵内 殻面	卵内 殻膜面	卵 白	卵 黄	検索部位 供試卵個数	卵内 殻面	卵内 殻膜面	卵 白	卵 黄
4～5	20	0	0	0	0	60	18 (30.0)	11 (18.3)	10 (16.7)	9 (15.0)
10	10	0	0	0	0	24	9 (37.5)	10 (41.7)	8 (33.3)	8 (33.3)
15	26	0	0	0	0	44	20 (45.5)	20 (45.5)	20 (45.5)	19 (43.2)
20	16	1 (6.3)	1 (6.3)	0	0	9	7 (77.8)	7 (77.8)	7 (77.8)	7 (77.8)
合計	72	1 (1.4)	1 (1.4)	0	0	137	54 (39.4)	48 (35.0)	45 (32.1)	43 (31.4)

備考：（ ）内数字は供試卵個数に対する百分率

ったがアヒル卵においては甚だ高率であった。しかしアヒル無精卵のそれはアヒル正常発育卵におけるそれより甚だ高率であった。

2. 卵殻にサルモネラを塗布した無精卵を孵卵器内に納置した場合における菌の卵内への侵入

a. 実験方法

E孵卵場において孵卵器に納入 4～5 日後に検卵して摘出したニワトリおよびアヒル無精卵を *S. senftenberg* 24 時間ブイヨン培養液の容器内にその卵殻表面の約 1/3 面積が浸る程度に浸漬し、この処置無精卵を容器内に浸漬したままの状態 で室温 (6～12°C) または平面孵卵器内に 1 日、5 日および 10 日間放置または納置経過せしめた後、卵内各検索部位別菌検索を実施した。孵卵器内ブイヨン培養液は孵卵器内納置 5 日経過後の卵の菌検索時にはすでに乾燥していた。

また孵卵器入卵後 4～5 日に摘出した無精卵の卵殻表面の 1 部 (約 10～16 cm²) または全面に *S. senftenberg* ブイヨン培養液を滅菌綿棒をもって塗布し、直ちに孵卵器に納置し 1 日、5 日および 10 日を経過した後、それぞれの卵について菌検索を実施した。

菌検索方法および *S. senftenberg* 同定法は慣行常法によって実施した。

b. 実験成績

1) 無精卵を *S. senftenberg* 菌液中に浸漬して室温に放置した場合

S. senftenberg 菌液中にニワトリおよびアヒルの無精卵を約 1/3 程度浸漬したままの状態 で室温放置して 1 日、5 日および 10 日間経過後に各検索部位別に *S. senftenberg* の検出を実施した成績は第 11 表の通りであった。

ニワトリ卵では室温経過 10 日後まで、アヒル卵では

室温経過 5 日後までの卵の *S. senftenberg* 検出は各検索部位共に陰性であり、室温経過 10 日後のアヒル卵の 6 個のうち 1 個に僅かに卵殻内面からの菌検出が陽性であった。

また *S. senftenberg* 以外の *Enterobacteriaceae* (マッコンキー寒天培地発育菌) の検索部位別菌検出率は室温経過日数別合計供試卵においてニワトリ卵 38.9, 0, 0, 0%, アヒル卵 38.9, 0, 0, 0% であって卵殻内面のみ菌検出が陽性で卵内の内側部の菌検出は陰性であった。

無精卵の室温放置の場合には *S. senftenberg* の卵殻外から卵内への侵入が甚だ困難であったので孵卵器納置の場合の実験を次に行った。

2) 無精卵を *S. senftenberg* 菌液中に浸漬して孵卵器内に納置した場合

S. senftenberg 菌液中にニワトリおよびアヒルの無精卵を約 1/3 程度浸漬したままの状態 で孵卵器内に納置して 1 日、5 日および 10 日間経過後、各検索部位別に *S. senftenberg* 検索を実施した成績は第 12 表の通りであった。

S. senftenberg はニワトリ無精卵では孵卵器納置 1 日経過ですでに卵殻内面まで侵入し、5 日経過卵で卵黄まで侵入していた。

アヒル無精卵では 5 日経過卵で卵殻内面まで侵入していなかったが 10 日経過卵では卵白まで侵入していた。

すなわち *S. senftenberg* 菌液中に無精卵を浸漬したまま孵卵器内に納置しておけばニワトリ卵、アヒル卵共に室温に放置しておく場合 (殆んど卵内には菌は侵入しない) と異って菌は卵内に可成り容易に侵入し得るとの成績を得た。

3) 無精卵の卵殻表面に *S. senftenberg* を塗布し孵卵器内に納置した場合

第 11 表 *S. senftenberg* 菌液中に無精卵を浸漬したまま室温に放置した場合の卵内菌検出成績

卵 種 別	ニ ワ ト リ 卵					ア ヒ ル 卵				
	検 索 部 位	卵内 殻面	卵内 殻膜面	卵 白	卵 黄	検 索 部 位	卵内 殻面	卵内 殻膜面	卵 白	卵 黄
室 温 経過日数	供試卵 個数					供試卵 個数				
1	6	0②	0	0	0	6	0①	0	0	0
5	6	0⑤	0	0	0	6	0④	0	0	0
10	6	0	0	0	0	6	1②	0	0	0
合 計	18	0⑦	0	0	0	18	1⑦	0	0	0

備考： 1. 数字は *S. senftenberg* 検出陽性卵個数

2. ○内数字は *S. senftenberg* 以外の *Enterobacteriaceae* 検出陽性卵個数

第12表 *S. senftenberg* 菌液中に無精卵を浸漬したまま孵卵器に納置した場合の卵内菌検出成績

卵種別	ニワトリ卵						アヒル卵					
	孵卵器納置日数	検索部位 供試卵個数	卵内殻面	卵内殻膜面	卵白	卵黄	検索部位 供試卵個数	卵内殻面	卵内殻膜面	卵白	卵黄	
1	6	6	1⑤	0①	0	0	6	0③	0③	0①	0①	
5	6	6	1⑥	1⑤	1④	1④	6	0⑤	0③	0③	0③	
10	6	6	1⑥	1⑤	0④	0④	6	3⑤	3⑤	1②	0①	
合計	18	18	3⑦	2⑦	1⑤	1⑤	18	3③	3⑦	1⑥	0⑤	

備考：1. 数字は *S. senftenberg* 検出陽性卵個数
2. 〇内数字は *S. senftenberg* 以外の *Enterobacteriaceae* 検出陽性卵個数

第13表 無精卵の卵殻表面に *S. senftenberg* を塗布後孵卵器に納置した卵の卵内菌検出成績

卵種別	ニワトリ卵						アヒル卵					
	菌塗布部位	孵卵器内納置日数	検索部位 供試卵個数	卵内殻面	卵内殻膜面	卵白	卵黄	検索部位 供試卵個数	卵内殻面	卵内殻膜面	卵白	卵黄
一部	1	6	6	0①	0	0	0	6	0②	0②	0②	0②
	5	6	6	0	0	0	0	6	1②	1②	1②	0①
	10	6	6	0	0	0	0	6	0③	0②	0②	0②
全部	1	6	6	0	0	0	0	6	0	0	0	0
	5	6	6	0	0	0	0	6	0	0	0	0
	10	6	6	0②	0①	0①	0①	6	0④	0④	0④	0④

備考：1. 数字は *S. senftenberg* 検出陽性卵個数
2. 〇内数字は *S. senftenberg* 以外の *Enterobacteriaceae* 検出陽性卵個数

ニワトリおよびアヒル無精卵々殻表面の1部または全面に *S. senftenberg* 菌液を塗布し、直ちに孵卵器に納置して1日、5日および10日間経過した後各検索部位別に菌検索を実施した成績は第13表の通りであった。

S. senftenberg の検出陽性はアヒル卵殻表面の1部塗布5日経過の卵6個のうち1個（卵殻内面、卵殻膜内面および卵白）のみであった。

すなわちニワトリ卵、アヒル卵共に無精卵の卵殻表面に塗布された *S. senftenberg* は孵卵器内納置10日経過卵では培養菌液中に浸漬したまま室温に放置された無精卵の場合と同様に、また培養菌液中に浸漬したまま孵卵器内に納置された無精卵の場合（可成り容易に侵入する）と異りその卵内には侵入し難いとの実験成績であった。

また *S. senfteberg* 以外の *Enterobacteriaceae* 検出はニワトリ無精卵に比してアヒル無精卵において高率に検

出された。

C. *Enterobacteriaceae* の新鮮卵内への侵入

1. 産卵場別新鮮卵における菌の卵内への侵入

a. 実験方法

東京都（E）および茨城県（F, G, H）の4アヒル産卵場（飼育場）で産卵されたアヒル卵計217個の産卵直後の卵（産卵後1～6時間経過したもの）をダンボール容器内に納め、産卵当日（産卵後5～10時間経過したもの、0日）、5日後、10日後および20日後の産卵後の経過日数を室温で経過した卵の各検索部位別（卵殻内面、卵殻膜内面、卵白、卵黄）菌検索を実施した。

ニワトリ新鮮卵内容物の菌検出は殆んど陰性であるので本実験ではニワトリ新鮮卵は供試卵として試験に供しなかった。

4アヒル産卵場共に平地飼いであり、水浴場を有し、産卵は半屋根の小舎で行われるが産卵する場所の環境汚

染状態ならびに卵殻表面の汚染度には各産卵場間に可成りの差があった。すなわち E 場においては産卵箱が備えられ、乾燥敷藁が常時取換えられて産卵する場所の環境の清潔度は比較的良好でアヒルはその場所のみに概ね産卵した。従って卵殻表面の糞その他の汚物による肉眼的汚染は比較的少なく卵殻表面の清潔度は良好で汚染度は低かった (+)。F 場においては産卵箱の備えなく産卵する場所の敷藁は常時使用されているとは云え、清潔度は E 場に劣り、卵殻表面の汚染度は E 場のそれよりも高かった (++)。G および H 場の産卵する場所には全く敷藁なく、アヒル糞等によって著しく泥状をした地上に卵は産み落され、従って卵殻表面の汚染度は E および F 産卵場に比して甚だしく高かった (+++)。本実験では各産卵場のアヒル卵殻表面の汚染程度の符号を便宜上 + (低, E 場), ++ (高, F 場), +++ (甚高, G および H 場) とした。

実験は 7 月 (E および G 場) ならびに 9 月 (F および H 場) に行い、室温に放置された保存ダンボール箱中の温度 (気温) は 20~30°C であった。

卵内の *Enterobacteriaceae* 検出はすでに前述した菌検出の常法に従って行い、分離菌株の同定は第 1 編と同様に 1956 年 KAUFFMANN の *Enterobacteriaceae* 分類様式によって決定した。

b. 実験成績

1) 室温放置経過日数別および卵殻表面汚染度別菌検出率

4 アヒル産卵場の産卵直後アヒル卵 (E 場卵 41 個, F 場卵 126 個, G 場卵 30 個, H 場卵 20 個) の計 217 個を室温放置して産卵当日 (0 日), 5 日後, 10 日後および 20 日後の各室温放置経過日数別に, さらに卵殻表面汚染度の程度 + (低), ++ (高), +++ (甚高) 別に検索部位別菌検索を行った成績は第 14 表に示す通りであった。

この第 14 表から菌検索部位別および各室温放置経過日数別に菌検出率を見た成績は第 15 表の通りであった。

産卵当日 (0 日)~5 日室温放置した卵の菌検索では卵の外側である卵殻内面および卵殻膜内面の菌検出率は 8.3~31.7% であったが卵の内側である卵白および卵黄のそれは 0~3.9% で前者より低率であった。また産卵後 10~20 日室温放置した卵の菌検索では卵内の外側部 (卵殻内面, 卵殻膜内面) の菌検出率は 35.6~55.3% であったが卵内の内側部 (卵白, 卵黄) の菌検出率は 27.1~42.6% で前者より低率であり, 各検索部位別菌検出率は産卵当日, 5 日後, 10 日後および 20 日後の各経過

第 14 表 アヒル新鮮卵の室温放置経過日数別
卵殻表面汚染度別菌検出成績

ア産 ヒ卵 ル場	汚 染 度	経 過 日 数	検 索 卵 個 数	検 索 部 位 別			
				卵内 殻面	卵内 殻膜面	卵 白	卵 黄
E	+	0	10	1	0	0	0
		5	11	4	2	0	0
		10	10	2	0	0	0
		20	10	2	2	2	1
F	++	0	30	6	1	0	0
		5	40	4	3	2	0
		10	29	10	13	11	9
		20	27	12	18	13	10
G	+++	0	10	4	2	1	0
		5					
		10	10	3	2	2	2
		20	10	6	6	5	3
H	+++	0	10	8	2	0	0
		5					
		10	10	8	6	5	5
		20					
合 計			217	70	57	41	30

備考：菌検索部位欄数字は菌検出陽性卵個数

第 15 表 アヒル新鮮卵の室温放置経過日数別
菌検出率

経過日数	0	5	10	20	合計
検索卵 個数	60	51	59	47	217
検索 部位					
卵 殻 内 面	19 (31.7)	8 (15.7)	23 (39.0)	20 (42.6)	70 (32.3)
卵 殻 膜 内 面	5 (8.3)	5 (9.8)	21 (35.6)	26 (55.3)	57 (26.3)
卵 白	1 (1.7)	2 (3.9)	18 (30.5)	20 (42.6)	41 (18.9)
卵 黄	0	0	16 (27.1)	14 (29.8)	30 (13.8)
平 均	6.3 (10.5)	3.8 (7.5)	19.5 (33.1)	20.0 (42.6)	49.5 (22.8)

備考：1. 数字は菌検出陽性卵個数

2. () 内数字は検索卵個数に対する百分率

日数別共に卵殻内面、卵殻膜内面、卵白、卵黄の外側から内側への順に逐次低率（合計欄百分率 32.3, 26.3, 18.9, 13.8%）となっていた。また各検索部位別菌検出率は室温放置経過日数（0, 5, 10, 20 日）が進むに従ってほぼ逐次高率となっていた。（平均百分率 10.5, 7.5, 33.1, 42.6%）。すなわち産卵当日（0 日）～5 日室温放置卵の外側部（卵殻内面、卵殻膜内面）では 8.3～31.7%、内側部（卵白および卵黄）では 0～3.9% であったが、室温放置 10 日の卵においてはそれぞれ高率となり外側部 35.6～39.0%、内側部 27.1～30.5% の菌検出率で、室温放置 20 日の卵ではその菌検出率はさらに高率（外側部で 42.6～55.3%、内側部で 29.8～42.6%）となっていた。

すなわち検索部位別菌検出率は各室温経過日数別の何づれの場合にも卵の外側部から内側部へと逐次低率となり、かつ室温経過日数が進むにしたがって逐次高率となる傾向を示した。これらの菌検出率の傾向は第 14 表に示すように 4 産卵場の卵殻表面汚染度の高低別の何れの場合にもほぼ同様な傾向を示していた。

第 16 表 アヒル新鮮卵の卵殻表面汚染度別菌検出率

汚染度	+	++	+++	++++	合計	総計
検索卵個数	41	126	30	20	50	217
検索部位						
卵殻内面	9 (22.0)	32 (25.4)	13 (43.3)	16 (80.0)	29 (58.0)	70 (32.3)
卵殻膜内面	4 (9.8)	37 (29.4)	10 (33.3)	8 (40.0)	18 (36.0)	57 (26.3)
卵白	2 (4.9)	26 (20.6)	8 (26.7)	5 (25.0)	13 (26.0)	41 (18.9)
卵黄	1 (2.4)	19 (15.1)	5 (16.7)	5 (25.0)	10 (20.0)	30 (13.8)
平均	4 (9.8)	28.5 (22.6)	9 (30.0)	8.5 (42.5)	17.5 (35.0)	49.5 (22.8)

備考：1. 数字は菌検出陽性卵個数

2. () 内数字は汚染度別菌検出率に対する百分率

第 14 表から検索部位別および卵殻表面汚染度の程度別に菌検出率を見た成績を第 16 表に示した。

卵殻表面の汚染度+（低）の卵内の外側部（卵殻内面、卵殻膜内面）の菌検出率は 9.8～22.0%、内側部（卵白、卵黄）のそれは 2.4～4.9% であったが汚染度++（高）では外側部 25.4～29.4%、内側部 15.1～20.6% でさらに汚染度+++（甚高）では外側部 33.3～80.0%、内側部 16.7～26.7% であり、検索部位別菌検出率は卵殻表面

汚染度の低、高（+, ++, +++）の何づれの場合にも共に卵殻内面、卵殻膜内面、卵白、卵黄の順に逐次低率（総計百分率 32.3, 26.3, 18.9, 13.8%）となっていた。また卵殻内面、卵殻膜内面、卵白および卵黄における各菌検出率は共に卵殻表面汚染度の低より高へと強くなるに従って逐次高率となっていた（平均百分率 9.8, 22.6, 35.0%）。

以上の検索部位別菌検出率は卵殻表面の汚染度の低高の何づれの場合にも卵の外側部から内側部へと逐次低率となり、かつ卵殻表面の汚染度が低より高へと進むに従って逐次高率となるその傾向は第 14 表に示すように 4 産卵場の室温放置経過日数別の何れの場合にも同様な傾向を示していた。

2) 室温放置経過日数別検出菌叢

E, F および G の 3 アヒル産卵場の室温放置日数 0 日, 5 日, 10 日および 20 日の各室温放置経過日数別、検索部位別菌検出率の結果、得たマッコンギー寒天培地発育検出菌叢の成績は第 17 表に示す通りであった。

産卵後室温放置経過日数が 0 日の場合（産卵当日）に卵殻内面から検出得た菌属は *Escherichia*, *Klebsiella*, *Cloaca*, *Proteus* および *Non Enterobacteriaceae* で卵殻膜内面からは *Citrobacter* および *Non Enterobacteriaceae* であり、卵白、卵黄からは菌検出陰性であったが、室温放置の経過日数が 10 日を経たものでは卵殻内面、卵殻膜内面のみならず卵白、卵黄からも *Escherichia*, *Citrobacter*, *Klebsiella*, *Cloaca*, *Proteus* および *Non Enterobacteriaceae* 等の菌属が検出された。

室温放置経過日数が 0 日より 20 日までの合計供試卵について卵内検索部位別に検出した菌属およびその菌検出率は卵殻内面で *Non Enterobacteriaceae* (20.8%), *Escherichia* (12.7%), *Cloaca* (7.6%), *Klebsiella* (4.6%), *Proteus* (4.6%), *Citrobacter* (2.0%), 卵殻膜内面で *Non Enterobacteriaceae* (15.7%), *Escherichia* (7.1%), *Cloaca* (6.1%), *Klebsiella* (6.1%), *Citrobacter* (3.0%), *Proteus* (2.5%), 卵白で *Non Enterobacteriaceae* (12.2%), *Cloaca* (6.6%), *Klebsiella* (4.1%), *Escherichia* (3.0%), *Citrobacter* (3.0%), *Proteus* (2.5%), 卵黄で *Non Enterobacteriaceae* (9.6%), *Cloaca* (3.6%), *Klebsiella* (3.0%), *Proteus* (2.5%), *Escherichia* (2.0%) であり、各検索部位別による菌属間には著しい差異が見られなかった。

純粋菌検出卵個数の菌検出陽性卵個数に対する百分率は各室温放置経過日数別の合計平均において卵殻内面 33.3%, 卵殻膜内面 40.8%, 卵白 44.4% 卵黄 44.0% であった。

第 17 表 アヒル新鮮卵の室温放置経過日数別および検索部位別検出菌叢

経過日数	0				5				10				20				合計			
検索卵個数	50				51				49				47				197			
検索部位	卵内 殻面	卵内 殻膜面	卵 白	卵 黄	卵内 殻面	卵内 殻膜面	卵 白	卵 黄	卵内 殻面	卵内 殻膜面	卵 白	卵 黄	卵内 殻面	卵内 殻膜面	卵 白	卵 黄	卵内 殻面	卵内 殻膜面	卵 白	卵 黄
菌検出陽性卵個数	11	3	1	0	8	5	2	0	15	15	13	11	20	2	20	14	54	49	36	25
純粋菌検出卵個数	2	2	1	0	3	3	2	0	4	3	3	4	9	12	10	7	18	20	16	11
菌検出陽性卵個数 に対する百分率	18.2	66.7	100	0	37.5	60.0	100	0	26.7	20.0	23.1	36.4	45.0	46.2	50.0	50.0	33.3	40.8	44.4	44.0
供試菌株数	23	4	1	0	14	7	2	0	31	30	22	19	39	41	38	26	107	82	63	45
<i>Salmonella</i>																				
<i>Arizona</i>																				
<i>Shigella</i>																				
<i>Escherichia</i>	5①				5	3①			7②	5①	2	2	8①	6①	4	2	25④	14③	6	4
<i>Citrobacter</i>		1			1	1	2②		1	2	2①	1①	2	2	2	2	4	6	6③	3①
<i>Klebsiella</i>	2				1	1			1	4	2	2	5①	7③	6②	4①	9①	12③	8②	6①
<i>Cloaca</i>	3				1				6	5①	5①	4①	5	7①	8②	3①	15	12②	13③	7②
<i>Hafnia</i>													3②	2	1	1	3②	2	1	1
<i>Erwina</i>																				
<i>Serratia</i>																				
<i>Proteus</i>	1				2②				5	4	4	4	1	1	1	1	9②	5	5	5
<i>Morganella</i>													1				1			
<i>Retterella</i>																				
<i>Pervidencia</i>																				
<i>Non</i> <i>Enterobacteriaceae</i>	12①	3②	1①		4①	2②			11②	10①	7①	6②	14⑤	16⑦	16⑥	13⑤	41⑨	31⑩	24⑧	19⑦

備考： 属名欄数字は菌検出陽性卵個数を示し、○内数字は純粋菌検出陽性卵個数を示す

2. 室温放置経過日数別新鮮卵を孵卵器内に納置した場合における菌の卵内への侵入

a. 実験方法

産卵直後のアヒル新鮮卵においては室温放置日数の経過に従って卵内の菌検出率は逐次高くなり、かつ菌検出率はその産卵場の汚染度ひいては産卵した直後の卵殻表面汚染度の高低にも密接に関係することを明らかにしたので、さらにこれらの卵の孵卵器納置の経過においてその菌検出率が室温放置経過日数および卵殻表面の汚染度にいかに関係するかを確かめる目的で、卵殻表面の汚染度の低かった汚染度ⅠのE産卵場および最も卵殻表面の汚染度の高かった汚染度ⅢのG産卵場の産卵直後の新鮮卵を0日～3日、4日～8日、9日～13日の3経過日数群別に室温（20～30℃）に放置して之等を同時に孵卵器に納入し、5日間および10日間孵卵器内で経過した後、それらの卵より正常発育卵、無精卵および発育停止

卵を選別摘出してその各々の卵について各卵内検索部位別に菌検索を実施した。

b. 実験成績

1) 正常発育卵

産卵後0日～13日間室温放置して孵卵器に納置した汚染度ⅠE産卵場のアヒル卵（17個）および汚染度ⅢG産卵場のアヒル卵（17個）の孵卵日数5日卵令正常発育卵ならびに産卵後0日～13日間室温放置して孵卵器に納置した汚染度ⅠE産卵場のアヒル卵（26個）および産卵後0日～8日間室温放置して入卵した汚染度ⅢG産卵場のアヒル卵（19個）の孵卵日数12日卵令正常発育卵についてその各検索部位別菌検索を実施した成績は第18表に示す通りであった。

孵卵日数5日卵においては汚染度Ⅰ場（E産卵場）の卵の卵殻内面から1個（5.9%）および汚染度の甚だ高かったⅢ場（G産卵場）の卵の卵殻内面から4個（23.5

第 18 表 アヒル卵の室温放置経過日数別、及び卵殻表面汚染度別卵の孵卵器納置後における菌検出成績

孵卵日数		5 日									
汚染度		+ (E産卵場の卵)					卅 (G産卵場の卵)				
卵種	室温放置日数	検索部位 検索卵個数	卵内 殻面	卵内 殻膜面	卵 白	卵 黄	検索部位 検索卵個数	卵内 殻面	卵内 殻膜面	卵 白	卵 黄
正常發育卵	0~3	9	0	0	0	0	9	1 (11.1)	0	0	0
	4~8	•					•				
	9~13	8	1 (12.5)	0	0	0	8	3 (37.5)	0	0	0
	小計	17	1 (5.9)	0	0	0	17	4 (23.5)	0	0	0
無精卵	0~3	15	2 (13.3)	1 (6.7)	1 (6.7)	1 (6.7)	10	1 (10.0)	0	0	0
	4~8	•					•				
	9~13	15	2 (13.3)	1 (6.7)	1 (6.7)	1 (6.7)	10	9 (90.0)	7 (70.0)	7 (70.0)	7 (70.0)
	小計	30	4 (13.3)	2 (6.7)	2 (6.7)	2 (6.7)	20	10 (50.0)	7 (35.0)	7 (35.0)	7 (35.0)
發育停止卵	0~3	7	3 (42.9)	0	0	0	3	0	0	0	0
	4~8	•					8	7 (87.5)	4 (50.0)	2 (25.0)	3 (37.5)
	9~13	8	2 (11.1)	0	0	1 (5.6)	19	19 (100.0)	16 (84.2)	16 (84.2)	16 (84.2)
	小計	15	5 (33.3)	0	0	1 (6.7)	30	26 (86.7)	20 (66.7)	18 (60.0)	19 (63.3)
孵卵日数		12 日									
汚染度		+ (E産卵場の卵)					卅 (G産卵場の卵)				
正常發育卵	0~3	14	0	0	0	0	12	1 (8.3)	0	0	0
	4~8	•					7	3 (42.9)	1 (14.3)	0	0
	9~13	12	1 (8.3)	2 (16.7)	1 (8.3)	1 (8.3)	•				
	小計	26	1 (3.8)	2 (7.7)	1 (3.8)	1 (3.8)	19	4 (21.1)	1 (5.3)	0	0
無精卵	0~3	•					•				
	4~8	•					22	12 (54.5)	12 (54.5)	12 (54.5)	12 (54.5)
	9~13	22	7 (31.8)	8 (36.4)	7 (31.8)	7 (31.8)	•				
	小計	22	7 (31.8)	8 (36.4)	7 (31.8)	7 (31.8)	22	12 (54.5)	12 (54.5)	12 (54.5)	12 (54.5)
發育停止卵	0~3	•					•				
	4~8	3	3 (100.0)	2 (66.7)	1 (33.3)	1 (33.3)	5	5 (100.0)	5 (100.0)	5 (100.0)	5 (100.0)
	9~13	•					•				
	小計	3	3 (100.0)	1 (66.7)	1 (33.3)	1 (33.3)	5	5 (100.0)	5 (100.0)	5 (100.0)	5 (100.0)

備考： 数字は菌検出陽性卵個数を示し（ ）内数字は検索卵個数に対する百分率を示す

%)に菌検出が陽性であり、EおよびG産卵場卵共に卵殻膜内面、卵白および卵黄からの菌検出は陰性であった。

解卵日数 12 日卵においては汚染度+場 (E産卵場)の卵からの各検索部位別検出率は 3.8, 7.7, 3.8, 3.8%であり、汚染度卅場 (G産卵場)の卵からのそれは 21.1, 5.3, 0, 0% であり解卵日数の進むに従って汚染度+場および汚染度卅場の卵は共に卵殻内面から卵殻膜内面、卵白、卵黄へと菌検出が陽性化する傾向にあった。

また卵殻表面汚染度別には汚染度卅場の卵の菌検出率が汚染度+場の卵に比し解卵日数 5 日および 12 日の両者卵共に高かった。

解卵前の室温放置日数別にこれら解卵経過日数別および卵殻表面汚染度別の菌検出率を検討すれば、解卵経過日数別にも、卵殻表面汚染度別にもそれぞれ室温放置日数の長いもの程その菌検出率は高かった。

2) 無 精 卵

産卵後 0 日~13 日間室温放置して 解卵器に 納置した E産卵場のアヒル卵 (30 個) および G 産卵場のアヒル卵 (20 個) の解卵器内納置 5 日後の無精卵ならびに産卵後 9 日~13 日間室温放置して 解卵器内に納置した E産卵場のアヒル卵 (22 個) および産卵後 4 日~8 日間室温放置して解卵器内に納置した G産卵場のアヒル卵 (22 個) の解卵器納置後 12 日の無精卵について各検索部位別菌検索を行った成績は第 18 表に示す通りであった。

解卵日数 5 日卵においては汚染度+場 (E産卵場)の卵の検索部位別菌検出率はそれぞれ 13.3, 6.7, 6.7, 6.7% であり、汚染度卅場の卵のそれはそれぞれ 50.0, 35.0, 35.0, 35.0% であった。

解卵日数 12 日卵においては汚染度+場の卵の各検索部位別菌検出率はそれぞれ 31.8, 36.4, 31.8, 31.8% で汚染度卅場の卵のそれはそれぞれ 54.5, 54.5, 54.5, 54.5% であり、解卵日数の進むに従って 2 産卵場の卵共に、またその各検索部位別共にそれぞれ菌検出率は高くなっていた。

また卵殻表面汚染度別には汚染度卅場 (G産卵場)の卵が汚染度+場 (E産卵場)の卵に比し、解卵日数 5 日および 12 日の卵共にその菌検出率は高かった。解卵日数 12 日の卵においては汚染度+のもの (9 日~13 日室温放置卵) で各検索部位別菌検出平均 34.1%, 汚染度卅のもの (4~8 日室温放置卵) で各検索部位別菌検出平均 54.5% であり、汚染度卅の産卵場卵の菌検出率は室温放置日数が短期間にかかわらず汚染度+の産卵場卵の室温放置日数の長期間のものよりも菌の汚染度は高かった。さらに解卵前の室温放置日数別にみたこれら解

卵日数別および卵殻表面汚染度別の菌検出率は解卵日数 5 日卵においては汚染度+ および 卅の両産卵場共に室温放置日数が長い卵程その菌検出率は高かった。

3) 発育停止卵

産卵後 0 日~13 日間室温放置して 解卵器に 入卵した E 産卵場の 卵殻表面汚染度の低いアヒル卵 (15 個) および G産卵場の卵殻表面汚染度の甚だ高いアヒル卵 (30 個) の解卵器納置 5 日後に摘出した発育停止卵ならびに産卵後 4~8 日間室温に放置して解卵器納置した E産卵場のアヒル卵 (3 個) および G産卵場のアヒル卵 (5 個) の解卵器納置 12 日後に摘出した発育停止卵についてその各検索部位別菌検索を実施した成績は第 18 表に示す通りであった。

すなわち解卵日数 5 日卵の各検索部位別菌検出率は汚染度+場の卵ではそれぞれ 33.3, 0, 0, 6.7% であり、汚染度卅場の卵ではそれぞれ 86.7, 66.7, 60.0, 63.3% であったが、解卵日数 12 日卵においての各検索部位別菌検出率は汚染度+場の卵ではそれぞれ 100.0, 66.7, 33.3, 33.3% であり、汚染度卅場の卵ではそれぞれ共に 100.0% であり、解卵日数の進んだ (解卵日数 12 日) 発育停止卵の各検索部位別菌検出率は解卵日数の短い (解卵日数 5 日) 卵のそれよりも高かった。また卵殻表面汚染度別には汚染度卅場の卵の菌検出率が汚染度+場の卵に比し解卵日数 5 日および 12 日の発育停止卵共に高かった。

さらにこれら解卵日数別および卵殻表面汚染度別の菌検出率を解卵前の室温放置日数別に見れば解卵日数別 (解卵日数 12 日卵では室温放置日数別群が少数例であるが) にも、卵殻表面汚染度別にも室温放置日数の長いもの程、短いものに比してその各検索部位別菌検出率はそれぞれ高いように思われた。

3. 新鮮卵々殻に糞を塗布した場合またはその卵殻を水洗した場合における菌の卵内への侵入

a. 実験方法

新鮮アヒル卵の卵内菌検出率は産卵後の室温放置経過日数別およびアヒル産卵場の環境汚染度ひいては卵殻表面の汚染度に関係があることが見られたので、ニワトリ卵およびアヒル卵について人工的に卵殻表面汚染卵を作成し、室温放置経過日数別に両者卵の菌検索を試みた。

比較的環境汚染度の良好であった E産卵場の産卵後 0 ~3 日のアヒル卵およびニワトリ卵両種卵の卵殻表面全面に少量の水を加えたニワトリ糞およびアヒル糞の泥状糞を薄膜を作る程度に人工塗布し、ダンボール箱の中に納置して室温に放置し、糞塗布後 10 日後および 20 日後に各卵内検索部位別菌検索を実施した。また同場産の

第 19 表 新鮮卵卵殻に糞塗布した場合における菌検出成績

処 置 別		無 処 置		ニワトリ糞塗布		アヒル糞塗布	
卵 ・ 種 別		ニワトリ卵	アヒル卵	ニワトリ卵	アヒル卵	ニワトリ卵	アヒル卵
経過日数別	供試卵個数 検索部位	13	17	15	14	16	16
10	卵 殻 内 面	0	3 (17.6)	4 (26.7)	1 (7.1)	4 (25.0)	5 (31.3)
	卵 殻 膜 内 面	0	2 (11.8)	2 (13.3)	1 (7.1)	4 (25.0)	3 (18.8)
	卵 白	0	2 (11.8)	2 (13.3)	1 (7.1)	0	3 (18.8)
	卵 黄	0	2 (11.8)	2 (13.3)	1 (7.1)	0	3 (18.8)
20	供試卵個数 菌検索部位	15	16	15	14	16	16
	卵 殻 内 面	2 (13.3)	4 (25.0)	4 (26.7)	3 (21.4)	1 (6.3)	3 (18.8)
	卵 殻 膜 内 面	0	4 (25.0)	3 (20.0)	5 (35.7)	1 (6.3)	3 (18.8)
	卵 白	0	3 (18.8)	2 (13.3)	5 (35.7)	1 (6.3)	3 (18.8)
	卵 黄	0	3 (18.8)	1 (6.7)	5 (35.7)	1 (6.3)	3 (18.8)

備考： 数字は菌検出陽性卵個数を示し，（ ）内数字は供試卵個数に対する百分率を示す

無処置のニワトリ卵およびアヒル卵をも同時に納置して対照群とした。ダンボール箱の中の温度（気温）は 22℃～32℃ で，塗布した泥状糞は自然室温放置 10 日後においてすでに乾燥していた。

またアヒル卵殻表面の汚染度の高かった汚染度 Ⅱ（F 産卵場）の産卵直後の新鮮卵を水道水をもって水洗し，水洗直後のもの（経過日数 0 日）およびその後室温に 5 日，10 日，20 日間放置した卵について菌検索を実施した。

b. 実験成績

1) 新鮮卵々殻にニワトリ糞またはアヒル糞を塗布した場合

ニワトリおよびアヒル新鮮卵の卵殻表面にニワトリおよびアヒルの糞を人工塗布し室温に放置して 10 日後および 20 日後にその各卵について各卵内検索部位別菌検索を行った成績は第 19 表に示す通りであった。

ニワトリ糞人工塗布ニワトリ卵の卵殻内面，卵殻膜内面，卵白および卵黄の各検索部位別菌検出率は 10 日室温放置卵ではそれぞれ 26.7，13.3，13.3，13.3% でニワトリ卵 10 日室温放置無処置対照群のそれ（0，0，0，0%）に比して高率であり，20 日室温放置卵ではそれぞれ 26.7，20.0，13.3，6.7% でニワトリ卵 20 日室温放置無

処置対照群のそれ（13.3，0，0，0%）に比して高率であった。しかして室温放置 10 日の卵と 20 日の卵との菌検出率の間には著明な差が見られなかった。

アヒル糞人工塗布ニワトリ卵の前述と同様な各検索部位別菌検出率は 10 日室温放置卵ではそれぞれ 25.0，25.0，0，0% でニワトリ卵 10 日室温放置無処置対照群に比し卵殻内面および卵殻膜内面において高率であった。20 日室温放置卵ではその菌検出率はそれぞれ 6.3，6.3，6.3，6.3% でニワトリ卵 20 日室温放置無処置対照群（13.3，0，0，0%）に比し卵殻膜内面，卵白，卵黄の菌検出は陽性となった。

アヒル卵の卵殻内面，卵殻膜内面，卵白および卵黄の各検索部位別菌検出率はニワトリ糞人工塗布 10 日室温放置卵ではそれぞれ 7.1，7.1，7.1，7.1% でアヒル卵 10 日室温放置無処置対照群のそれ（17.6，11.8，11.8，11.8%）に比してやや低率であり，20 日室温放置卵ではそれぞれ 21.4，35.7，35.7，35.7% でアヒル卵 20 日室温放置無処置対照群のそれ（25.0，25.0，18.8，18.8%）に比してやや高率であった。しかして室温放置 10 日の卵に比し 20 日の卵の菌検出は各検索部位共に高率であった。

アヒル糞人工塗布アヒル卵の各検索部位別菌検出率は

白坂： 孵卵時におけるニワトリ卵およびアヒル卵の *Enterobacteriaceae*
ならびにこれら細菌の卵内への侵入に関する研究

第 20 表 アヒル卵を水洗した場合における経過日数別菌検出成績

処 置 別 経過日数	無 処 置 卵					水 洗 卵				
	検索部位 卵数	卵面 殻内	卵内 殻面 膜	卵 白	卵 黄	検索数 卵	卵面 殻内	卵内 殻面 膜	卵 白	卵 黄
0	30	6 (20.0)	1 (3.0)	0	0	10	1 (10.0)	0	0	0
5	40	4 (10.0)	3 (7.5)	2 (5.0)	0	16	4 (25.0)	4 (25.0)	3 (18.7)	2 (12.5)
10	29	10 (34.5)	13 (44.8)	11 (37.9)	9 (31.0)	15	11 (73.3)	10 (66.7)	5 (33.3)	3 (20.0)
20	27	12 (44.4)	18 (66.7)	13 (48.1)	10 (37.0)	9	5 (55.6)	5 (55.6)	5 (55.6)	5 (55.6)
合 計	126	32 (25.3)	35 (27.7)	26 (20.6)	19 (15.0)	50	21 (42.0)	9 (18.0)	13 (26.0)	10 (20.0)

備考： 数字は菌検出陽性卵個数を示し，（ ）内数字は検索卵個数に対する百分率を示す

第 21 表 アヒル卵殻を水洗した場合における検出菌叢

処 置 別	無 処 置 卵				水 洗 卵			
検 索 卵 個 数	126				50			
検 索 部 位	卵内 殻面	卵内 殻面 膜	卵 白	卵 黄	卵内 殻面	卵内 殻面 膜	卵 白	卵 黄
菌 検 出 陽 性 卵 個 数	32	35	26	19	21	19	13	10
純 粋 菌 検 出 陽 性 卵 個 数	10	14	11	6	12	11	9	9
供 試 菌 株 数	61	58	45	34	31	28	17	11
<i>Salmonella</i>								
<i>Arizona</i>								
<i>Shigella</i>								
<i>Escherichia</i>	13② (10.3)	13③ (10.3)	5 (4.0)	4 (3.2)	5① (10.0)	4① (8.0)	2① (4.0)	1 (2.0)
<i>Citrobacter</i>	4 (3.2)	6 (4.8)	6③ (4.8)	3① (2.4)	1 (2.0)	1 (2.0)	1 (2.0)	
<i>Klebsiella</i>	7① (5.6)	12③ (9.5)	8② (6.3)	6① (4.8)	2 (4.0)	3 (6.0)	2① (4.0)	
<i>Cloaca</i>	10 (7.9)	10② (7.9)	9② (7.1)	6② (4.8)	7④ (14.0)	8⑤ (16.0)	4③ (8.0)	4④ (8.0)
<i>Hafnia</i>					1 (2.0)			
<i>Erwina</i>								
<i>Serratia</i>								
<i>Proteus</i>	3① (2.4)	2 (1.6)	2 (1.6)	2 (1.6)	2 (4.0)	2① (4.0)	1① (2.0)	1① (2.0)
<i>Morganella</i>								
<i>Rettgerella</i>								
<i>Providencia</i>								
<i>Non Enterobacteriaceae</i>	24⑥ (19.0)	19⑥ (15.1)	15④ (11.9)	13② (10.3)	13⑦ (26.0)	10④ (20.0)	7③ (14.0)	5④ (10.0)

備考： 〇内数字は純粋菌の検出陽性卵個数であり，（ ）内数字は検索卵個数に対する百分率を示す

10 日室温放置卵ではそれぞれ 31.3, 18.8, 18.8, 18.8% でアヒル卵 10 日室温放置無処置対照群に比し各検索部位共にやや高率であったが 20 日室温放置卵ではその菌検出率はそれぞれ 18.8, 18.8, 18.8, 18.8% とアヒル卵 20 日室温放置対照群に比し 卵殻内面および 卵殻膜内面ではむしろ低率であり卵白および卵黄は同率であった。

以上の成績からニワトリ卵においては卵殻表面に糞を人工塗布することにより、ある程度卵内菌検出率が高くなり、またその経過日数によっても菌検出率が高くなることは菌の卵外より卵内への侵入がある程度うかがわれるが、一方アヒル卵の菌検出率が糞の人工塗布群と無処置対照群との間に大差を示さなかったことは、アヒル卵ではすでに産卵前後の時期において卵内の外側部（卵殻膜内、外面等）がすでに汚染されていることを示唆するものと思われた。

2) アヒル新鮮卵を水洗した場合

卵殻表面の汚染度 Ⅱ（F 産卵場）の産卵直後のアヒル卵殻表面を水洗し、0 日、5 日、10 日および 20 日間室温放置した卵について無処置対照群の卵と共に各卵の検索部位別菌検出率を行い、その菌検出率およびその検索部位別検出菌叢の成績は第 20 表および第 21 表に示す通りであった。

水洗直後室温放置 0, 5, 10, 20 日のアヒル卵の各検索部位別菌検出率と対照群のそれらとの間には大きな差が認められなかった。

また検索部位別検出菌叢では各検索部位共に *Escherichia*, *Citrobacter*, *Klebsiella*, *Cloaca*, *Hafnia*, *Proteus*, *Non Enterobacteriaceae* が検出されこれら菌属の種類および各菌属の菌検出率は対照無処置卵のそれとほぼ同様な成績であった。

アヒル卵の産卵直後に卵殻表面を水洗した卵の室温放置経過日数別菌検出率は無処置対照群のそれらと大差を示すことなく、かつ水洗卵の検出菌叢の種類および各菌属の検出率が無処置対照群卵のそれとほぼ同様であることは卵内の外側部（卵殻内面、卵殻膜内面等）が産卵前後の時期においてすでに菌によって汚染されていたことを示唆するものと思われた。

III. 総括および考察

(I). 正常発育卵

孵卵時 8 日～20 日卵令のニワトリ正常発育卵計 209 個の卵殻内面、卵殻膜内面、卵白および卵黄の各検索部位別 *Enterobacteriaceae* 菌検出率はそれぞれ 0.5, 0.5, 0, 0% であり、ニワトリ正常発育卵の卵内には菌は殆ん

ど存在しなかったが、5 日～27 日卵令のアヒル正常発育計 136 個の各検索部位別菌検出率はそれぞれニワトリ卵のそれに比して高率で 11.0, 2.1, 0.7, 0.7% であり特に卵内の外側部（卵殻内面 11.0% 卵殻膜内面 2.1%）に菌が高率に存在していた。（第 1 表）

(II). 人工殺正常発育卵および発育停止卵

1) 孵卵時卵令の異なるニワトリ卵（卵令 5, 11, 17 日）およびアヒル卵（卵令 8 日）の人工冷殺正常発育卵を収納卵個数が僅少で器内空気の菌汚染が比較的低く清浄と思われる孵卵器内に納置して経過日数別（1, 3, 5, 10 日）にみた各検索部位別菌検出は低率であったが両卵種共に正常発育卵のそれよりも高率であった（第 2 表）。

2) 孵卵時各卵令のニワトリ卵（5, 10, 15 日）およびアヒル卵（8, 15, 22 日）の人工冷殺正常発育卵を孵卵器内に納置して 5 日経過後に検索した各検索部位別菌検出（例えばニワトリ卵令 15 日殺卵 20.0, 15.4, 12.3, 10.8%, アヒル卵令 22 日殺卵 60.0, 53.3, 40.0, 33.3%）は両卵種共に同一孵卵器内の卵令をほぼ同じくする発育停止卵のそれ（例えばニワトリ 21 日卵令卵 19.0, 15.9, 15.9, 15.9%, アヒル 28 日卵令卵 55.6, 55.6, 55.6, 44.4%）と各卵令別にも、また各検索部位別にもほぼ同様な成績であった。（第 3 表）

また人工冷殺正常発育卵、発育停止卵共に各検索部位別菌検出はニワトリ卵において低く、アヒル卵において高くかつ卵令の進んだ卵において高く卵令の短い卵において低かった。

3) 孵卵時卵令の異なるニワトリ卵（5, 11, 17 日）およびアヒル卵（5, 17, 24 日）人工冷殺パラフィン包正常発育卵の孵卵器内 5 日後における各検索部位別菌検出はニワトリ卵では陰性であったがアヒル卵では陽性であった。（第 4 表）

4) 正常発育卵の卵内に存在する菌はニワトリ卵では陰性であり、アヒル卵では陽性である。孵卵器（孵卵場で使用中の）内納置の人工冷殺正常発育卵の卵内に存在する菌は両卵種共にそれぞれ同一孵卵器内の同卵令の発育停止卵のそれとほぼ同様であり、また清浄な孵卵器内納置人工冷殺正常発育卵のそれよりも高率であり、かつ卵令の進んだ卵は卵令の短い卵よりも高い菌検出率を示すこと、ならびに人工冷殺パラフィン包正常発育卵の菌検出はニワトリ卵で陰性、アヒル卵で陽性であったことなどから、発育停止卵から検出し得る菌はニワトリ卵では大部分のものが孵卵器内で卵外より卵内へと侵入したものであり、アヒル卵では孵化のための孵卵器納入前にすでに卵内に潜在していたものと、孵卵器内で卵外から

卵内へと侵入したものの両者であると推察し得た。

5) 孵卵時各卵令 (5, 10, 15, 17 日) のニワトリ正常發育卵の卵殻表面に *S. senftenberg* および *S. pullorum* の菌液を塗布し孵卵器内納置 3 日または 5 日経過後に実施した塗布菌の各検索部位別菌検出は、卵令 15 日卵の 34 個のうち僅かに 1 個の卵内の外側部 (卵殻内面, 卵殻膜内面) にのみ陽性で他の供試卵では悉く陰性であった。(第 5 表, 第 6 表) また *Escherichia* の菌液を塗布し孵卵器内に納置したニワトリ正常發育卵においても同様な陰性成績を示したと思われた。

本実験の卵殻通過成績が渡辺ら⁴⁷⁾ (1959) が行った孵卵時の各卵令別ニワトリ有精卵における *S. senftenberg* および *S. pullorum* の卵殻感染試験での卵殻通過陽性成績より低率であったことは実験条件の差異 (塗布材料, 増菌法などの菌検出方法, 孵卵器内納置日数など) によるものと考えられる。

また孵卵時各卵令 (5, 10, 15, 17 日) のニワトリ人工冷殺正常發育卵の卵殻表面に *S. senftenberg* および *S. pullorum* の菌液を塗布し、孵卵器内納置 3 日または 5 日経過後に実施した塗布菌の各検索部位別菌検出は殺時卵令 10 日孵卵器内納置 5 日間卵の卵内の内側部 (卵白, 卵黄) で陽性であり、殺時卵令 (5 日卵令卵陰性, 10 日卵令卵陽性) が進むに従って、また孵卵器内納置日数 (10 日卵令卵では 3 日納置日数で陰性または卵内の外側部のみ陽性, 15 日卵令卵では 3 日納置日数で陽性) が長くなるに従って逐次高くなり、さらに検索部位の外側部 (卵殻内面, 卵殻膜内面) から内側部へと逐次低くなっていて菌は卵殻表面から逐次卵内の内部 (内側部) へと侵入する傾向の成績を示していた。また *Escherichia* 菌液を塗布し孵卵器内に納置した人工冷殺正常發育卵においても同様な成績を示していたと思われた。

(第 5 表, 第 6 表)

さらに孵卵時各卵令 (8, 15, 22 日) のアヒル正常發育卵および同卵令アヒル人工冷殺發育卵の卵殻表面に *S. senftenberg* 菌液を塗布し、孵卵器内納置 5 日経過後卵内各検索部位別に塗布菌の菌検索を行った結果、正常發育卵においては全卵各検索部位共に塗布菌は検出されなかったし、人工冷殺正常發育卵においても殺時卵令 22 日 (孵卵器内納置 5 日) の卵 20 個のうち 1 個に塗布菌が各検索部位共に検出されたのみであった。しかし人工冷殺正常發育卵では塗布菌以外の *Enterobacteriaceae* が 15 日卵令以後の卵令卵に特に高率に検出されていた。(第 5 表)

すなわちアヒル人工冷殺正常發育卵で *S. senftenberg* 塗布菌が卵内で検出されなかったがアヒル正常發育卵

(菌検出低い, 第 1 表) とアヒル人工冷殺正常發育卵 (菌検出高い, 第 3 表) との菌検出の差異から塗布菌は卵内に侵入し得るものと推量する。従って塗布菌の卵内検出陰性は、塗布菌以外の検出率の高かった菌の増殖に関連しているものと推量される。

このことから正常發育卵の卵殻表面に塗布された菌はニワトリ卵, アヒル卵共にその卵内へ侵入し難い (あるいは侵入しても發育し難い) が人工冷殺正常發育卵では両卵種共に塗布菌はその卵内へ侵入し得る。しかしアヒル人工冷殺正常發育卵では *S. senftenberg* 塗布菌がその卵内に検出されることは少なく、むしろ塗布菌以外の *Enterobacteriaceae* が多く検出された。

アヒル人工冷殺正常發育卵で *S. senftenberg* 塗布菌以外の菌が検出され塗布菌が検出されなかったことは、胚児の人工殺以前にすでに卵内に存在していて増殖した塗布菌以外の菌の拮抗作用によって後に述べる試験管内腸内細菌の協生作用実験で明らかになったように *S. senftenberg* 塗布菌の發育増殖が抑制されたためと推量した。

6) *S. senftenberg* 培養菌液中に *Escherichia*, *Cloaca*, *Citrobacter* または *Alkaligenes faecalis* の 1 白金耳量を接種培養しても、また *Escherichia*, *Cloaca*, *Citrobacter* または *Alkaligenes faecalis* 培養菌液中に *S. senftenberg* の 1 白金耳量を接種培養しても *S. senftenberg* の發育増殖は抑制された。(第 8 表)

S. senftenberg の發育増殖が他の菌で抑制されることは“人工冷殺正常發育卵において卵殻表面塗布菌 *S. senftenberg* がその卵内で他の菌の検出が著しい場合には検出され得ないことがあってもその塗布菌の卵内侵入を否定し得ない”ことを示唆したものと考える。

7) アルカリ液または色素液の發育停止卵々殻の浸透性はニワトリ, アヒル卵共に、孵卵時卵令の進んだ死籠卵々殻において弱く、卵令の進まない第 1 回中止卵々殻において強く、卵令別發育停止卵の菌検出率の大小 (強弱) と逆の成績を示していた。

野並⁷⁰⁾ (1958) は新鮮卵々殻のアルカリ液浸透速度を測定し、卵殻の厚さの比較的薄い白レグ卵々殻のそれは速く、比較的厚いニューハンプホーン卵およびアヒル卵々殻のそれは遅いと述べているが孵卵時の卵については測定していない。

渡辺ら⁴⁷⁾ (1959) は“*S. senftenberg* がニワトリ卵の卵殻膜を通過する可能性は孵卵初期の孵化卵に多く、14 日卵令以降のニワトリ卵では認められなかった。これは卵殻膜が孵卵の初期に薄く、また湿度に富んでいるが、孵卵の後半期には肥厚乾燥するために菌が卵殻膜を

通過することが困難になることを示している”と述べている。

本実験でのアルカリ液または色素液の卵殻の浸透性が第1回發育中止卵殻で強く、死籠卵殻で弱いことは渡辺らの菌の卵殻通過可能性の多少を示唆しているように推量される。

しかし菌 (*S. senftenberg*) の卵殻 (ニワトリ人工冷殺正常發育卵々殻) 通過可能性は卵令の進むに従って強くなる (第5表参照) ことはアルカリ液または色素液の卵殻浸透性の強弱と逆の成績である。

卵殻 (卵殻膜を含む) のアルカリ液または色素液の浸透性と菌の通過性との関連については、さらに将来詳細な卵殻そのものや、卵殻膜そのものについての物理的作用ならびに卵内容物 (特に卵白) の菌に対する生物学的作用 (殺菌作用, 抵抗性, 増殖に対する影響など) などについて検討を待つものである。

(III). 無 精 卵

1) 孵卵時に摘出したニワトリ無精卵 72 個アヒル無精卵 137 個を孵卵器内に継続納置して経過日数別 (4~5, 10, 15, 20 日) に行った検索部位別菌検出はニワトリ卵では納置経過日数 15 日までは陰性であり, 20 日卵の卵内の外側部 (卵殻内面, 卵殻膜内面) で陽性であったが, アヒル卵では納置経過日数 5 日ですでに陽性 (30.0, 18.3, 16.7, 15.0%) であり, また卵内の外側部より卵内の内側部へと逐次低率であり爾後経過日数が進むにつれて逐次高率となって 20 日卵では卵内の外側部も卵内の内側部も共に同じ検出率 (77.8%) となっていた。(第 10 表)

すなわち孵卵器内納置のニワトリ無精卵の各検索部位別菌検出はニワトリ正常發育卵のそれと同様に殆んど陰性であり, アヒル無精卵の菌検出はニワトリ無精卵と異り甚だ高率であるがアヒル發育停止卵のそれよりは低率であった。(第 3 表, 第 18 表)

2) 孵卵時摘出したニワトリおよびアヒル無精卵について *S. senftenberg* 菌液中にその 1/3 を浸漬したまま室温および孵卵器内に納置し, また *S. senftenberg* 菌液をその卵殻の 1 部または全面に塗布して孵卵器内に納置し, それぞれの経過日数別 (1, 5, 10 日) に各検索部位別菌検出を実施しニワトリ卵では菌液浸漬卵の室温放置および菌液塗布卵の孵卵器内納置の場合には共に菌は陰性で菌液浸漬卵の孵卵器内納置の場合には 1 日経過の 6 個中 1 個に菌は陽性であり, アヒル卵では *S. senftenberg* 菌液中にその 1/3 を浸漬したまま室温放置または孵卵器内納置の場合にも共に 10 日経過で菌はその卵内に陽性であったが菌液塗布後孵卵器内納置の場合に菌

は辛うじて侵入し得る程度の甚だ低い侵入程度であった。(第 11, 12, 13 表)

(IV). 新 鮮 卵

1) 卵殻表面汚染度の異なるアヒル新鮮卵 (産卵当日) を室温放置して経過日数別 (0, 5, 10, 20 日) に実施した各検索部位別菌検出率は室温放置経過日数が長くなるほど高率 (5 日卵 15.7, 9.8, 3.9, 0%, 20 日卵 42.6, 55.3, 42.6, 29.8%) となり, また卵殻表面の汚染度が高くなるほど高率 (汚染度 + 22.0, 9.8, 4.9, 2.4%, 汚染度 + 25.4, 29.4, 20.6, 15.1%, 汚染度 + 58.0, 36.0, 26.0, 20.0%) となり, さらに卵内の外側部から卵内の内側部へと逐次低率 (卵殻内面 32.3%, 卵殻膜内面 26.3%, 卵白 18.9%, 卵黄 13.8%) となっていた。(第 14, 15, 16 表)

室温放置経過日数の異なる新鮮卵について検討した各検索部位別菌検出菌叢は, 各経過日数別にも, 検索部位別にも著しい差異を示さず, *Non Enterobacteriaceae*, *Escherichia*, *Citrobacter*, *Cloaca*, *Klebsiella*, *Proteus* などであり, 経過日数の長い卵では少数例に *Hafnia*, *Morganella* が検出された。

2) 産卵後 0 日~13 日間の室温放置経過日数別に, また卵殻表面の汚染度別に孵卵器内納入後 5 日および 12 日に摘出したアヒル正常發育卵, 無精卵ならびに發育停止卵のそれぞれについて行った各検索部位別菌検出は, 正常發育卵, 無精卵, 發育停止卵の順に, 室温放置経過日数の短より長へと長くなる順に, 汚染度が低より高へと強くなる順に, また卵内の内側部から卵内の外側部への順に逐次高率となる傾向を示していた。(第 18 表)

ドイツ特許⁷⁵⁾でアヒル卵の貯蔵に卵を 58~61°C 30~40 分加熱することは, 卵殻表面の微生物だけでなく卵殻細孔を通過した微生物の殺菌にも効果的であるとしている。このことは本実験でのアヒル卵 (正常發育卵, 無精卵, 新鮮卵) の卵内の外側部 (卵殻内面, 卵殻膜内面) が菌によって汚染せられていることによって首肯されうることである。

3) ニワトリおよびアヒル新鮮卵 (産卵後 0 日~3 日) の卵殻表面にニワトリ糞またはアヒル糞を塗布して室温放置 10 日および 20 日経過後の卵について行った各検索部位別菌検出は無処置の対照卵に比してニワトリ卵では高く, アヒル卵では大差を示さなかった。(第 19 表)

ニワトリ新鮮卵では塗布された糞内の菌は卵殻外面より卵内へと侵入することが実験的に示されたが, アヒル新鮮卵では新鮮卵においてさえ, すでに卵内に菌が潜存するためにこの卵内に潜存する菌の發育増殖によって塗布された糞内の菌が卵殻外面から卵内へと侵入の実験

の検討が障害され、糞内の菌が卵殻外面より卵内へと侵入すると成績は実験的に明瞭に示され得なかったと推量している。

4) 産卵直後のアヒル卵殻を水洗し室温放置した卵について室温経過日数別 (0, 5, 10, 20 日) にみた各検索部位別菌検出率および検出菌叢は無処置の対照アヒル卵のそれらと大差を示さなかった。(第 20, 21 表)

(V). ニワトリ卵およびアヒル卵の比較

1) 第 1 編においてニワトリ正常發育卵の卵内容物 (卵白, 卵黄) からの菌検出は陰性 (0%) であるがアヒル卵のそれは 0.7% でニワトリ卵のそれよりもやや高率であり, ニワトリ卵, アヒル卵共に無精卵 (孵卵器納入後 4 日後の検卵時に摘出) は正常發育卵より, 發育停止卵 (菌検出率: ニワトリ卵 15.4%, アヒル卵 67.4%) は無精卵 (菌検出率: ニワトリ卵 1.2%, アヒル卵 27.7%) より高率の菌検出率を示すことをすでに述べた。

本実験において検討した卵殻内面, 卵殻膜内面, 卵白, 卵黄の各検索部位別菌検出率はニワトリ正常發育卵で 0.5, 0.5, 0, 0%, アヒル正常發育卵で 11.0, 2.1, 0.7, 0.7%, ニワトリ無精卵で 1.4, 1.4, 0, 0%, アヒル無精卵で 39.4, 35.0, 32.1, 31.4%, ニワトリ發育停止卵 (卵令 21 日) で 19.0, 15.9, 15.9, 15.9%, アヒル發育停止卵 (卵令 28 日卵殻表面清浄卵) で 55.6, 55.6, 55.6, 44.4% で何づれの卵においても卵内の外側部 (卵殻内面, 卵殻膜内面) が卵内の内側部 (卵白, 卵黄) より高率の菌検出率を示し, またニワトリ卵, アヒル卵共に正常發育卵, 無精卵, 發育停止卵の順に逐次に検索部位別菌検出率は高率となる傾向を示していた。

2) 正常發育卵の検索部位別菌検出が無精卵, 發育停止卵のそれに比して甚だ低率であることは胚児生体の發育と云う環境によるものであり, ニワトリ正常發育卵のそれがアヒルのそれに比して低率であることは環境汚染の低い陸棲家禽と環境汚染の高い水棲家禽の差異によるものであろうと推察した。このことは正常發育卵では卵外より卵内へと菌は侵入し發育増殖し難いが發育停止卵では菌は比較的容易に卵外より卵内へと侵入し發育増殖することや, 外界との連絡を断たれた人工殺パラフィン包正常發育卵の菌検索でニワトリ卵においては菌検出陰性であり, アヒル卵においては菌検出陽性で産卵時前後にはすでに卵内が菌に汚染されていることを示した実験成績によっても明らかであった。

3) 無精卵の卵殻表面に塗布された培養菌はニワトリ卵, アヒル卵共に卵内に侵入し難く, 新鮮卵の卵殻表面に塗布された糞の菌はニワトリ卵, アヒル卵共に同じ程

度に卵殻を通過し卵内へ侵入して發育増殖し得ることから考察すれば, ニワトリ無精卵の検索部位別菌検出がアヒル卵のそれよりも低率であることは兩種卵における菌の卵殻通過の難易性の差異によるよりもむしろアヒル卵ではニワトリ卵におけると異り, 産卵前後にすでに卵内の外側部が菌で汚染せられており, かつ卵殻表面の菌汚染が高いために現われた差異によるものであると推察した。以上のアヒル卵とニワトリ卵との菌汚染の差異は以下のことから推量した。

(イ) ニワトリ新鮮卵では卵殻内面菌検出が 10 日室温放置で 0%, 20 日室温放置で 13.3% であり, 卵内の内側部は 0% であるが, アヒル新鮮卵では環境汚染の低い卵でさえ 10 日室温放置で検索部位別菌検出は 17.6, 11.8, 11.8, 11.8% を示し (第 19 表), 環境汚染度の高い卵の 20 日室温放置で 60.0, 60.0, 50.0, 30.0% (第 14 表) を示し, (ロ) 無精卵を孵卵器内に納置すればニワトリ卵では 15 日納置卵でも菌検出陰性, 20 日納置で卵内の外側部のみ 6.3% 菌陽性であるが, アヒル卵では 4~5 日納置ですでに検索部位別菌検出率は 30.0, 18.3, 16.7, 15.0% を示している。(第 10 表) さらに (ハ) アヒル卵では検索部位別菌検出が正常發育卵, 無精卵, 發育停止卵の順に, 室温放置経過日数の短長の順に, 汚染度の低高の順に, 卵内の内側部から外側部への順に, 逐次高率となる傾向を示している (第 18 表)。

4) 發育停止卵では菌が高率に検出され, 特にアヒル卵で菌が甚だ高い率で検出されている。

孵卵器納入前の室温放置経過日数別, 孵卵器内納置後の経過日数別および検索部位別に検討した (イ) 正常發育卵からの菌検出, (ロ) 人工殺正常發育卵からの菌検出, (ハ) 人工殺正常發育卵と同一孵卵器内, 同一卵令の發育停止卵との菌検出比較, (ニ) 發育停止卵, 無精卵, 正常發育卵における菌の卵殻通過の難易, (ホ) 卵殻表面の汚染度の異なる卵からの菌検出等の差異から考察し, 發育停止卵からの検出菌の 1 部は胚児の發育停止の原因菌であり得るだろうことは想像し得るが, その検出菌の大部分のものは胚児發育停止の原因菌ではなく, むしろニワトリ卵では何らかの原因による胚児の發育停止と云う卵内環境によって卵外から卵内へと侵入した菌に由来するものであり, アヒル卵では汚染環境によって母鳥の産卵前後にすでに卵内の外側部に潜在していた菌と胚児の發育停止と云う卵内環境によって卵外から卵内へと侵入した菌の 2 群の菌に由来するものであると推察した。

む す び

孵卵時卵の卵内容物 (卵白, 卵黄) の *Enterobacteri-*

aceae 菌検索の結果、アヒル卵はニワトリ卵に比して高率の菌検出を示し、かつ正常発育卵、無精卵、発育停止卵の順に逐次高率の菌検出率を示した。

菌検出のこれら相互間における差異を卵内の外側部（卵殻内面、卵殻膜内面）および卵内の内側部（卵白、卵黄）の菌検索成績の面から比較検討し以下に述べるような成績を得た。

正常発育卵の菌検出は胚児生体の発育と云う環境と卵外所在菌の卵殻通過発育増殖の困難性と、さらに環境汚染が比較的低いと云う環境とによって陸棲家禽ニワトリ卵では殆んど陰性であるが、環境汚染が比較的高いと云う環境とによって水棲家禽アヒル卵の卵内の外側部では甚だ低率ではあると云へ陽性であってアヒル卵の卵内の外側部には菌が産卵時の前後においてすでに潜在している。

ニワトリ無精卵の菌検出は卵外から卵内へと侵入した菌によってニワトリ正常発育卵よりも高率となるが、菌の無精卵々殻通過発育増殖が困難であるのでニワトリ正常発育卵に比して僅かに高率であるに過ぎなかった。

アヒル無精卵の菌検出はアヒル正常発育卵およびニワトリ無精卵よりも著しく高率であって、この検出菌はアヒルの環境汚染が比較的高くひいては、卵の内外が高く汚染されていることに関連して、(イ)産卵前後すでに卵内に潜在していた菌と (ロ) 卵外から卵内へと侵入し得た比較的多量の菌、との2群の菌に由来するものと考えた。

発育停止卵の菌検出は無精卵より著しく高率であり、かつアヒル発育停止卵の菌検出はニワトリ卵のそれより著しく高率であって、ニワトリ発育停止卵からの検出菌の大部分は胚児生体の発育停止の原因菌ではなく、むしろ細菌感染以外の何らかの原因によっておこった胚児生体の発育停止（死）と云う環境とか、卵外所在菌の卵殻通過発育増殖の容易性とかに関連して胚児生体の発育停止後に卵外から卵内へと侵入した菌に由来し、アヒル発育停止卵では比較的高い環境汚染ひいては卵の内外部の比較的高い汚染、胚児生体の発育停止（死）と云う環境、卵外所在菌の卵殻通過発育増殖の容易性等に関連して、産卵前後にすでに卵内に潜在していた菌と卵外から卵内へと侵入した菌に由来するものであり、アヒル発育停止卵の菌検出がアヒル無精卵の菌検出より高率であるのは胚児生体の発育停止後に卵外から卵内へと侵入した菌によるものと考ええる。

卵の孵化率の向上特に成績の悪いアヒル卵の孵化率の向上、および育雛率の向上にあたっては産卵場、卵殻表面、卵内の菌汚染度の防止、産卵後の経過日数の短縮、孵卵器特に孵化直前の時期の孵卵器の清潔等が甚だ重要

な役割りを演ずることを孵卵時ニワトリ卵およびアヒル卵についての前述した菌の検出成績および菌の卵外から卵内へとの侵入の検討成績は示唆し、さらに公衆衛生面において卵由来食品を原因食とする食中毒の予防に重要な示唆をあたえているものと考ええる。

稿を終わるに臨み懇切な指導ならびに校閲をいただいた茨城大学教授久池井忠男博士および日本大学教授小堀進博士、材料提供に御協力下さった東京都畜場江戸川分場永田分場長、田中技師、茨城県畜産試験場藤田場長、諸岡技師、坂上技師、その他、霞ヶ浦孵卵場、友水孵卵場、荒川沖孵卵場、安達孵卵場、土屋孵卵場等、実験実施に御協力下さった動物腸内細菌委員会委員坂崎利一博士、波岡茂郎博士、埼玉県衛生研究所河島俊一博士、茨大助教授玉崎幸二博士、他本庄重男氏、田上末四郎氏、舟橋昭次氏、根本彰氏、渡辺仁衛氏、大島健太郎氏、岡野多門氏、伊森啓純氏、渡辺侑一氏その他関係者皆々様に深謝します。

本研究の一部は、第43回（昭和32年4月、東京）および第51回（昭和36年4月、東京）日本獣医学会において発表した。

文 献

- 1) 石黒：家禽病学最近の進歩，第一輯（1959）山口大学農学部獣医学科発行
- 2) KAMAR, G.A.R.: Poultry Sci. **41**, 1029 (1962)
- 3) RETTGER, L.F.: N.Y. Med. Jour. **71**, 803 (1900) [78] から引用]
- 4) MANNINGER, R.: Allatorvosi Lapok, Budapest, p. 165 [78] から引用]
- 5) HINSHAW, W.R.: Cal. Agr. Exp. Sta. Bul. 613, 1937, revised 1943 [EDWARDS, P.R., et al.: Cornell Vet. **38**, 247 (1948) から引用]
- 6) EDWARDS, P.R.: Proc. 7th World's Poultry Cong. p. 271 (1939) [78] から引用]
- 7) KARLSHOJ, K., and L. SZABO: Am. J. Vet. Res. **10**, 388 (1949)
- 8) JESSIE, I. PRICE., et al.: Avian Disease **6**, 2, 145 (1962)
- 9) 田嶋，鈴木：日獣学誌. **10**, 111 (1948)
- 10) 岩森ら：岐阜大学農学部研究報告 **11**, 173 (1959)
- 11) 浜田：日獣学誌. **15**, 79 (1953)
- 12) 小野ら：日獣学誌. **13**, 357 (1951)
- 13) 小野ら：獣医学研究. **1**, 61 (1953)
- 14) 小野ら：日獣学誌. **17**, 附, 8 (1955)
- 15) SATO, G., et al.: Jap. J. Vet. Res. **3**, 111 (1955)

- 16) SATO, G., et al.: Jap. J. Vet. Res. 4, 44 (1956)
- 17) 岩森, 島倉: 日獣学誌. 16, 附, 7 (1954)
- 18) WATANABE, S., et al.: Experimental Report No. 24 of Government Experimental Station for Animal Hygien, 24, 1 (1952)
- 19) 渡辺ら: 家畜衛生試験場研究報告. 28, 285 (1954)
- 20) 渡辺ら: Bull. N.I.A.H. 35, 29 (1958)
- 21) 渡辺ら: Bull. N.I.A.H. 36, 1 (1958)
- 22) 赤沢, 清水: 日本獣医畜産大学紀要 7, 23 (1958)
- 23) 桑原, 田淵: 日獣会誌. 12, 243 (1959)
- 24) 秋山ら: 日獣会誌. 12, 210 (1959)
- 25) 板垣, 坪倉: 日獣会誌. 13, 439 (1960)
- 26) 佐々木ら: 日獣会誌. 11, 407 (1958)
- 27) 吉村: 獣医畜産新報 333, 16 (1962)
- 28) SAKAZAKI, R., et al.: Jap. J. Exp. Med. 29, 15 (1959)
- 29) HAMADA, S., et al.: Jap. J. Vet. Res. 3, 1 (1955)
- 30) HAMADA, S., et al.: Jap. J. Vet. Res. 6, 181 (1958)
- 31) 三浦ら: 日獣学誌. 18, 附, 18 (1956)
- 32) 三浦ら: 日獣会誌. 9, 118 (1956)
- 33) 三浦ら: 日獣学誌. 20, 352 (1958)
- 34) 秋山: 日本細菌学雑誌 16, 430 (1961)
- 35) 白坂ら: 茨城大学農学部学術報告 3, 73 (1955)
- 36) 井手: 日本医事新報 744, 4285 (1936)
- 37) 小堀ら: 東京獣医畜産学雑誌 4, 14 (1955)
- 38) 原田ら: 医学中央雑誌 102, 416 (1953)
- 39) BEAN, K.C., and D.W. MACLAURY: Poultry Sci. 38, 693 (1959)
- 40) 坂崎, 波岡: 水曜会記事. 4, 65 (1955)
- 41) KAUFFMANN, F.: Zbl. Bakt. I. Orig. 165, 344 (1956)
- 42) 坂崎, 波岡: 腸内細菌検索法 (1956) 納谷書店発行
- 43) 坂崎: 臨床病理 7, 15 (1958)
- 44) 坂崎: モダンメディア 8, 52 (1962)
- 45) 坂崎: 腸内細菌とその類似菌の簡易なしらべかた (1961) 日本栄養化学株式会社発行
- 46) 福見ら: 病原微生物学, 細菌篇 (1959) 医学書院発行
- 47) 渡辺ら: Bull. N.I.A.H. 37, 47 (1959)
- 48) 渡辺ら: Bull. N.I.A.H. 37, 61 (1959)
- 49) 渡辺ら: Bull. N.I.A.H. 38, 11 (1960)
- 50) 渡辺ら: Bull. N.I.A.H. 39, 29 (1960)
- 51) 橋本: 日本細菌学雑誌 16, 419 (1961)
- 52) 橋本: 日本細菌学雑誌 16, 447 (1961)
- 53) 川島ら: 家畜衛生試験場研究報告 29, 61 (1955)
- 54) 渡辺ら: Bull. N.I.A.H. 39, 37 (1960)
- 55) 佐藤ら: Bull. N.I.A.H. 39, 59 (1960)
- 56) 佐藤ら: Bull. N.I.A.H. 44, 13 (1962)
- 57) 田坂ら: 日獣学誌. 20, 277 (1958)
- 58) 秋山: 日本細菌学雑誌 16, 460 (1961)
- 59) EDWARDS, P.R., et al.: Kentucky Agric. Exp. Sta. Bull., No. 525 (1948) [20] から引用]
- 60) 河島ら: 日獣会誌. 10, 318 (1957)
- 61) 浜田: 日獣学誌. 15, 91 (1953)
- 62) 渡辺ら: Bull. N.I.A.H. 39, 29 (1960)
- 63) LANCASTER, J.E., and W.F. CRABB: Brit. Vet. J. 109, 3 (1953)
- 64) BIGLAND, C.H., and G. PAPAS: Biol. Abst. 27, abst, no. 23011 (1953)
- 65) OREL, V.: Poultry Sci. 38, 8 (1959)
- 66) SMITH, J.: J. Path & Bact. 66, 503 (1953)
- 67) ROMANOFF, A.L.: Food Research 5, 291 (1943)
- 68) WALDEN, C.C., et al.: Poultry Sci. 35, 1190 (1956)
- 69) FROMM, D.: Poultry Sci. 38, 171 (1959)
- 70) 野並: 農化. 32, 745 (1958)
- 71) TRUSSEL, P.C.: Food Tech. 9, 126 (1955) [77] から引用]
- 72) KRAFT, A.A., et al.: Poultry Sci. 37, 638 (1958)
- 73) STUART, L.S., and E.H. MCNALLY: U.S. Egg Poultry Mag. 48, 28, 45 (1943) [77] から引用]
- 74) MALLMAN, W.S., and J.A. DAVIDSON: U.S. Egg Poultry Mag. 50, 113 (1944) [77] から引用]
- 75) N.V.N.I.V.E. Nederlandsche Industrie Veredeld Ei.: 独国特許 72, 454 (1953) [77] から引用]
- 76) 島倉: 岐阜大学農学部研究報告 13, 1 (1960)
- 77) 野並: 鶏卵の化学と利用法 (1960) 地球出版株式会社発行
- 78) BIESTER, H.E., et al: Diseases of Poultry 4th (1962) The Iowa State University Press.
- 79) 辺野喜, 善養寺: 細菌性食中毒 (1959) 南山堂発

行

80) 三浦ら: 日獣学誌. 24, 469 (1962)

81) ROMANOFF, A.L. and A.J. ROMANOFF: The Avian Egg (1949)

Résumé

- 1) Bacteriological examinations were made for the purpose of isolating Enterobacteriaceae from albumen and yolk of hens' and ducks' eggs in the following four cases: 1) Normal fertile eggs with normal developing germs, 2) Infertile eggs removed 4-5 days after incubating, 3) Eggs with dead germs, 4) Eggs with dead-in-shell baby bodies.

The results obtained are summarized as in the following table I.

- 2) Salmonella microorganisms isolated from hens' eggs were identified with *S. pullorum*, *S. thompson*, *S. potsdam* and *S. senftenberg*. *S. pullorum* microorganisms were isolated from eggs with dead germs and eggs with dead-in-shell baby chickens. The other Salmonella microorganisms were isolated only from eggs with dead-in-shell baby chickens.

Salmonella microorganisms isolated from ducks' eggs were identified with *S. pullorum* and *S. enteritidis*. *S. pullorum* microorganisms were isolated from eggs with dead germs and *S. enteritidis* microorganisms were isolated from eggs with dead germs and eggs with dead-in-shell baby ducks.

Of forty six strains of *Escherichia* microorganisms isolated from ducks' eggs and faeces eleven strains agglutinated strongly with *Escherichia* 0-119 anti-serum. In the case of non-Enterobacteriaceae microorganisms *Bac. anitratum* (B5W) microorganisms were isolated from hens' eggs with an incidence of 3.5 per cent and from ducks' eggs with an incidence of 0.8 per cent.

Almost all genera or species of non-Enterobacteriaceae microorganisms which isolated originally from ducks' eggs are supposed to belong to *Achromobacter*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Fravobacterium* or *Alcaligenes faecalis*.

- 3) Bacterial examinations were made for the purpose of isolating Enterobacteriaceae from the inside of shell and the inside of membrane, as well as from albumen and yolk in hens' and ducks' eggs at various periods of incubation.

The kinds of eggs examined were five, i.e., 1) normal fertile eggs, 2) normal fertile eggs which were artificially killed by way of cold exposure, 3) eggs with dead germs, 4) normal fertile eggs the surfaces of which were coated artificially with melted paraffin after they were killed, and 5) infertile eggs.

The results obtained are summarized as in the following table II.

- 4) (a) When normal fertile eggs and the same which were artificially killed by way of cold exposure were put in the clean incubator, frequency of bacteria found in the former eggs showed the lower rate than that of the latter eggs.

(b) When the culture media containing *S. senftenberg*, *S. pullorum* or *Escherichia* were coated of surfaces of normal fertile eggs, infertile eggs, and normal fertile eggs which were artificially killed by way of cold exposure, the coated microorganisms did not penetrate easily into the inside of normal fertile eggs.

(c) In the case of ducks' eggs, the more the dirtiness of the environment increases, and the longer the duration of days stored in the common room proceeds, the higher the frequency of isolating microorganisms was observed.

- 5) According to the above experimental results, it was supposed that microorganisms isolated from the hens' eggs with dead germs and the hens' eggs with dead-in-shell baby chicken originated generally the microorganisms which penetrated into the insides of the eggs after death of germs during incu-

Table I. Enterobacteriaceae isolated from Albumen and Yolk.

Kinds of Eggs		Hens' Eggs						Ducks' Eggs									
Egg Materials		Normal Fertile	Infertile	with Dead Germs			with Dead-in-shell Baby Bodies	Total	Normal Fertile	Infertile	with Dead Germs				with Dead-in-shell Baby Bodies	Total	
Duration of Incubation (Day)		8-20	4	4	11	18	22		5-27	4	4	11	18	25	29		
Num. of Eggs Examined		209	170	223	213	167	234	837	136	148	159	145	67	125	211	707	
Percentages of the Detection		0	1.2	3.1	11.7	19.7	27.3	15.4	0.7	27.7	47.1	68.2	82.0	67.2	77.7	67.4	
Per cent of Eggs Bacteria Positive to Total Eggs Examined	Salmonella			1.3	0.5	4.8	3.0	2.2			2.5	4.1	1.5	3.2	2.4	2.8	
	Arizona				0.5			0.1									
	Shigella																
	Escherichia		0.6	0.4	4.7	7.8	5.9	4.5		4.1	5.0	13.8	19.4	17.6	7.1	11.0	
	Citrobacter					0.6	1.3	0.5		6.8	5.7	6.9	1.5	10.4	5.2	6.2	
	Klebsiella		0.6		1.9	1.8	0.9	1.1		2.7	3.1	4.8	11.9	3.2	2.8	4.2	
	Cloaca			1.3	0.9	0.6	1.3	1.1	0.7	12.2	11.9	20.0	14.9	13.6	7.1	12.7	
	Hafnia						0.4	0.1				0.7				0.1	
	Erwina																
	Serratia									0.7	0.6	2.8	1.5	0.8	0.5	1.1	
	Proteus				1.4	2.4	1.3	1.2		1.4	1.9	11.7	10.4	12.8	9.1	8.8	
	Morganella									0.7	1.3	10.3	10.4	0.8	3.8	4.7	
	Rettgerella						0.4	0.1				1.4		1.6		0.6	
	Providencia				0.5		0.4	0.2					1.5		0.5	0.3	
	Eschericheae					0.6	2.1	0.7		2.7	11.3	2.8	25.4	22.4	39.3	21.5	
	Proteae											1.9	1.4	9.0	4.8	10.4	5.6
	Non-Enterobacteriaceae				2.8	3.6	14.1	5.4		15.5	20.8	31.7	31.3	22.4	22.3	24.8	

白坂： 孵卵時におけるニフトリ卵およびアヒル卵の *Enterobacteriaceae* ならびにこれら細菌の卵内への侵入に関する研究

Table II. Enterobacteriaceae isolated from the Four Areas Examined. (Per cent)

Kinds of Eggs Areas Examined Materials	Hens' Eggs						Ducks' Eggs					
	Duration of Incubation (Day)	Num. of Eggs Examined	Inside of Shell	Inside of Membrane	Albumen	Yolk	Duration of Incubation (Day)	Num. of Eggs Examined	Inside of Shell	Inside of Membrane	Albumen	Yolk
1*	8-20	209	0.5	0.5	0	0	5-27	136	11.0	2.1	0.7	0.7
2*	5	20	10.0	•	15.0	15.0	8	15	13.3	6.7	6.7	6.7
	10	20	20.0	•	20.0	20.0	15	15	46.7	53.3	53.3	53.3
	15	65	20.0	15.4	12.3	10.8	22	15	60.0	53.3	40.0	33.3
3*	9	18	11.1	•	11.1	11.1	13	22	18.2	18.2	13.6	9.1
	15	20	20.0	•	15.0	15.0	20	10	40.0	40.0	40.0	40.0
	21	63	19.0	15.9	15.9	15.9	28	9	55.6	55.6	55.6	44.4
4*	5	10	0	0	0	0	5	5	80.0	80.0	80.0	80.0
	11	10	0	0	0	0	17	5	20.0	20.0	0	0
	17	10	0	0	0	0	24	10	40.0	30.0	20.0	20.0
5*	4-5	20	0	0	0	0	4-5	60	30.0	18.3	16.7	15.0
	10	10	0	0	0	0	10	24	37.5	41.7	33.3	33.3
	15	26	0	0	0	0	15	49	45.5	45.5	45.5	43.2
	20	16	6.3	6.3	0	0	20	9	77.8	77.8	77.8	77.8

1*. Normal fertile eggs.

2*. Normal fertile eggs which were artificially killed by exposure in the cold.

3*. Eggs with dead germs.

4*. Normal fertile eggs of which surface were coated artificially with melted parafin after they were killed.

5*. Infertile eggs.

bation and those of ducks originated generally the two kinds of microorganisms which already existed at the inside of the eggs before they were set in incubator and which penetrated into the inside of the eggs after death of germs during incubation.