

3種類の市販 *Salmonella* Enteritidis (SE) 不活化ワクチン接種の ブロイラーにおけるSE防除効果

村野多可子

Effect of Three Commercial *Salmonella* Enteritidis (SE) Inactivated
Vaccines on Shedding of SE in Breeding Broilers

Takako MURANO

要 約

国内で市販されている *Salmonella* Enteritidis (SE) 不活化油性アジュバントワクチン (SEOEV) 2種類 (A、B) と、SE不活化アルミニウムゲルアジュバントワクチン (SEKV) 1種類 (C) の計3種類のSE不活化ワクチンを用い、ブロイラー種鶏の腸管におけるSE定着軽減効果に及ぼす影響について検討した。3種類のSEワクチンを最終接種日が同一となるように接種し、その1.5カ月後の251日齢鶏群に、リファンピシン耐性SE ZK-2a株を経口接種により攻撃した。その結果、盲腸内容物からの分離菌数はSEOEVB群が無接種対照群より明らかに低い値を示した。臓器中からの分離菌数は、肝臓ではA、B群が、脾臓ではC群が、卵巣ではB、C群が無接種対照群より明らかに低い値を示した。

緒 言

Salmonella Enteritidis (SE) 汚染に起因する食中毒が、欧米では1985年頃から増加し始め、公衆衛生上大きな問題として取り上げられた。これに伴い、1992年には米国、ドイツにおいて世界で初めてのSEワクチン¹⁾が市販された。わが国においても1989年以降、SE汚染に起因する食中毒が問題となり、1998年には米国からの輸入SE不活化油性アジュバントワクチン (OEV) が、また近年、数社がSEワクチンを市販している。SEワクチンの応用は、SEによる食中毒の原因食品として一番に鶏卵が指摘されるため、採卵鶏では国内においてもいくつかの報告^{2)*7)}がある。また、最近では我々が3種類のSEワクチンを用いて試験を実施し、すでに報告⁸⁾済みである。しかし、SEによる食中毒は鶏卵ばかりではなく、食鳥肉の汚染にもよって発生することから、今回、ブロイラー種鶏においてもSEワクチンは有効であるかを検討するため、採卵鶏で使用した3種類のSEワクチンを用いて試験を実施したので報告する。

材料および方法

1. 供試鶏とワクチン

251日齢のブロイラーのチャンキー種雌鶏28羽を用い

平成16年8月31日受付

た。飼養方法は1羽ずつのケージ飼いと、飼料と水は不断給与とした。

供試ワクチンは国内で市販されている *Salmonella* Enteritidis (SE) 不活化油性アジュバントワクチン (SEOEV) 2種類 (A、B) と、SE不活化アルミニウムゲルアジュバントワクチン (SEKV) 1種類 (C) の計3種類を用いた。28羽の鶏を7羽ずつの4群に分け、3種類のSE不活化ワクチンを最終ワクチン接種日が同一となるように接種した。すなわち、SEOEV-Aを173日齢と206日齢の2回、SEOEV-Bを206日齢の1回0.5ml/羽 肩部皮下、SEKV-Cを173日齢と206日齢の2回0.5ml/羽 脚部筋肉内接種し、残りの鶏群は無接種対照群とした。

2. 血清抗体価

SE攻撃前と解剖時に全ての試験鶏を対象に血清を採取した。採取した血清について直ちにひな白痢急速診断用菌液による平板凝集反応 (RST) を実施した。また、採取した血清は-30℃に凍結保存し、試験終了時に今井ら⁹⁾の方法に準じたELISAにより抗体価を測定した。RSTの反応速度を数値として表現するため、スコア化した。すなわち、血清と診断液を混合した瞬間に凝集したものを4、15秒以内を3、16~30秒以内を2、31~60秒以内を1、61秒以上を0とした。また、ELISA (E) 値は0.3以上を陽性とした。

3. 攻撃菌株

リファンピシン (rif) 耐性SE ZK-2a株 (全農家畜衛生研究所より分与) を 2.4×10^8 CFU/0.5ml/羽 経口接種した。

4. 細菌学的検査

SE攻撃後7日目に全羽数殺処分し、菌分離を試みた。

(1) 盲腸便

SE攻撃4日後の早朝に排泄された盲腸便を個別に全羽数より採取し秤量後9倍量の滅菌生理食塩液を加え十分に混和した。これを原液として10倍段階希釈を行い、それぞれの段階希釈液0.1mlをrif 50 µg/ml加DHL寒天培地(rif DHL)にコンラージ棒で塗抹し、生菌数を算出する(検出限界は100CFU/盲腸便1g)とともに、原液に9倍量の2倍濃度のハーナテトラチオン酸塩基礎培地(HTT、栄研)を加え、41.5℃、24時間増菌培養した。分離培地にはrifDHLを用い、37℃、24時間培養し、その結果コロニーの発育が認められた検体の菌数を100CFU/盲腸便1gとした。さらに遅延二次増菌¹⁰⁾(delayed secondary enrichment:DSE)を行い、コロニーの発育が認められた検体の菌数を10CFU/盲腸便1gとした²⁾。なお、発育コロニーは定法¹¹⁾に従いサルモネラと同定した。

(1) 盲腸内容物

盲腸を無菌的に採取し、内容物をしごき出し秤量後、盲腸便と同様の方法で菌数の測定を実施した。

(3) 臓器

肝臓、脾臓、卵巣、卵管漏斗部、卵管子宮部、卵管内形成卵を無菌的に採取し、9倍量のトリプトソイブイオン(TSB、ニッスイ)を加えた¹¹⁾。その後は盲腸便と同様に菌数計算、24時間増菌培養、DSEを行った。24時間培養には9倍量のTSBを用いた。検出限界は盲腸便と同様にした。

5. 統計処理

SE数については一元配置分散分析法、SE陽性率についてはFisherの直接確立計算法を用いて処理した¹²⁾。

結 果

表1 各ワクチン接種群と無接種対照群におけるSE攻撃前・後の平均RST反応数値と平均ELISA値

試験鶏群	平均RST反応数値		平均ELISA値	
	攻撃前	攻撃後	攻撃前	攻撃後
A	1.86 ± 0.90	2.14 ± 1.35	1.620 ± 0.368	1.355 ± 0.309
B	1.57 ± 1.13	2.57 ± 1.40	1.508 ± 0.129	1.464 ± 0.164
C	2.00 ± 0.58	2.57 ± 0.98	1.300 ± 0.331	1.359 ± 0.243
無接種対照	0	0.57 ± 1.13	0.124 ± 0.057	0.383 ± 0.139

表2 各ワクチン接種群と無接種対照群におけるSE攻撃4日後の盲腸便、7日後の盲腸内容物と臓器からのSE分離平均菌数 (logCFU/g)

試験鶏群	盲腸(4日目)	盲腸(7日目)	肝臓	脾臓	卵巣	卵管上部	子宮部	卵管内卵
A	2.54 ± 1.20	2.64 ± 0.82 ab)	0.86 ± 0.99 a)	1.65 ± 0.60 b)	0.83 ± 0.90 b)	0	1	0
B	1.69 ± 1.11	1.44 ± 1.32 a)	0.86 ± 0.83 a)	1.43 ± 0.73 ab)	0 a)	0	0.33 ± 0.47	0
C	1.91 ± 0.81	2.51 ± 0.87 ab)	1.61 ± 0.76 ab)	0.61 ± 0.97 a)	0 a)	0	0.33 ± 0.47	0
無接種対照	2.61 ± 1.00	2.92 ± 1.02 b)	2 b)	2.13 ± 0.22 b)	0.29 ± 0.45 ab)	0.43 ± 0.73	0.71 ± 0.70	0

* 異符号間に有意差あり (p<0.05)

表3 各ワクチン接種群と無接種対照群におけるSE攻撃4日後の盲腸便、7日後の盲腸内容物と臓器からのSE分離陽性羽数 (陽性羽数/検査羽数)

試験鶏群	盲腸(4日目)	盲腸(7日目)	肝臓	脾臓	卵巣	卵管上部	子宮部	卵管内卵
A	6/7	7/7	3/7	7/7	3/6	0/6	5/5	0/1
B	6/7	4/7	4/7	6/7	0/7	0/6	2/6	0/1
C	6/7	7/7	6/7	2/7	0/7	0/7	2/4	0/1
無接種対照	7/7	7/7	7/7	7/7	2/7	2/7	4/7	0/1

1. 血清抗体価

RSTは各ワクチン群、無接種対照群とも、攻撃後上昇した。E値は、A、C群ではSE攻撃前後で同様の値を示したが、B群では攻撃後若干下降し、無接種対照群ではE値は上昇した(表1)。

2. 盲腸便と盲腸内容物中のSE

攻撃4日後の盲腸便からの分離菌数は、各群とも明らかな差はみられなかったが、B群が低い値を示す傾向にあった(表2)。菌は無接種対照群のみで、すべての鶏から分離された(表3)。

盲腸内容物からの分離菌数は、B群が無接種対照群より明らかに低い値を示し(p<0.05)(表2)、菌分離陽性羽数も低い値を示した(表3)。

3. 臓器中のSE

各臓器からの分離菌数を表2、菌分離陽性羽数を表3に示した。

肝臓からの分離菌数は、A、B群が無接種対照群より明らかに低い値を示した(p<0.05)。菌は無接種対照群のみで、すべての鶏から分離された。

脾臓からの分離菌数は、C群がA群、無接種対照群より明らかに低い値を示した(p<0.05)。菌分離陽性羽数に差はみられなかったものの、C群は低い値を示した。

卵巣からの分離菌数は、B、C群がA群、無接種対照群より明らかに低い値を示した(p<0.05)。菌はB群、C群では分離出来なかった。

卵管上部、子宮部、卵管内卵からの分離菌数および菌分離陽性羽数は、各群とも差はみられなかった。

考 察

SE攻撃による血清抗体価は、RSTでは各群とも上昇したが、ELISAでは無接種対照群が上昇したほかは、ほぼ横ばい状態となった。この成績はRSTが初期のIgM抗体を検出したことに起因するもの¹³⁾であると考えられる。

腸管におけるSE定着軽減効果は、B群が良好であり、残りの群では差がみられなかった。採卵鶏ではアジュバントが油性のワクチンであるA、B群が良好な成績⁸⁾であり、今回の結果とは若干異なった。しかし、臓器における結果は

村野：3種類の市販*Salmonella* Enteritidis (SE) 不活化ワクチン接種のプロイラーにおけるSE防除効果

採卵鶏とはほぼ同様の傾向を示した。

プロイラー種鶏においても、SEワクチンを接種することにより腸管におけるSE定着軽減効果は期待出来るが、菌の排泄を完全に防御することは不可能なため、常日頃の衛生管理の徹底が重要である。プロイラーは飼養期間が短いため、不活化ワクチンの接種は不可能であり、今後、SEワクチン接種プロイラー母鶏由来の移行抗体が、ひなにおけるSE防御にどのような関わりを持つかを検討する必要がある。

参 考 文 献

- 1) 中村政幸(1998)、鶏卵・鶏肉サルモネラ全書、日本畜産振興会:206-218
- 2) 山田果林・竹原一明・中村政幸(1999)、鶏病研報、Vol 35、No 1:13-21
- 3) 村野多可子ら(2000)、鶏病研報、Vol 36、No 4:171-180
- 4) 渡邊理ら(2000)、鶏病研報、Vol 36、No 4:188-194
- 5) 渡邊理ら(2001)、鶏病研報、Vol 37、No 3:188-173
- 6) 村野多可子ら(2002)、鶏病研報、Vol 38、No 4:182-188
- 7) 青木ふき乃ら(2003)、鶏病研報、Vol 39、No 1:44-54
- 8) 村野多可子ら(2003)、鶏病研報、Vol 39、No 4:181-189
- 9) 今井康雄・並松孝憲・佐藤静夫(1995)、第120回獣医学会講演要旨集:139
- 10) 中村政幸ら(1998)、鶏病研報、Vol 33、No 4:143-151
- 11) 鶏病研究会(1998)、鶏卵・鶏肉サルモネラ全書、日本畜産振興会:130-136
- 12) 吉田実・阿部猛夫(1984)、畜産における統計的方法、中央畜産会
- 13) 中村政幸(1998)、鶏卵・鶏肉サルモネラ全書、日本畜産振興会:44-54