

種卵消毒試験 I.

誌名	鶏病研究会報
ISSN	0285709X
巻/号	63
掲載ページ	p. 123-126
発行年月	1970年10月

《業績発表》

1. 種 卵 消 毒 試 験

I. 各種消毒剤による殺ウイルス・殺菌効果

野村 護・原田良昭・村木八一・大内輝昭

(日本シエーバー原種農場総合技術センター)

緒 言

種卵の孵化を行う場合、卵殻を通しての微生物による汚染、孵化時におけるヒナの汚染等を防止するために、現在では種卵を消毒剤によって洗滌消毒することが一般になされている。これら市販の消毒剤は数多くあり、その使用濃度もかなり、まちまちである。そこで最も有効で経済的な消毒剤を知る目的で消毒試験を実施中であるが、本報告はその基礎試験として、両性、逆性石鹼とホルムアルデヒドガスについての殺ウイルス、殺菌効果を実際の種卵消毒に近い条件の下で行ったものである。

材料と方法

実験—1. 各種消毒剤の発育鶏卵に及ぼす影響

薬剤の殺ウイルス効果判定は、発育鶏卵によって行うので、あらかじめ薬液の胎児への影響を試験した。

供試薬剤は次の3種である。

a) 薬剤—O: Petain type 両性界面活性剤

(組成: 1. Polyoctyl polyamino ethyl glycin 6%

2. Polyoxyethylen alkyl phenol-ether 4%)

b) 薬剤—P: Cationic type 界面活性剤

(組成: 1. Methyl dodecyl benzyl trimethyl ammonium chloride

2. Methyl dodecyl xylilene bis (trimethyl ammonium chloride) 1と2の混合物 10%

3. Polyoxyethylene octyl phenyl ether 5%)

c) 薬剤—E: 逆性石鹼

(組成: 1. Methyl dodecyl benzyl trimethyl ammonium chloride
2. Methyl dodecyl xylilene-bis(trimethyl) ammonium chloride
1と2の混合物 5%
3. Sodium carbonate 20%
4. Sodium metacacrylate pentahydrate 5%)

毒性判定方法

滅菌蒸留水にて各薬剤の 100, 200, 400, 800, 1,600, 3,200 倍希釈階段列を作り、各希釈液の 0.1 ml を4個の9日令発育鶏卵の尿腔内に接種した。対照として滅菌蒸留水と滅菌生理的食塩液を接種した。そして判定は、その後起る胎児の死亡と胎児の発育状態によった。

実験—2. 各種消毒剤の殺ウイルス・殺菌効果

供試薬剤

薬剤—E (第4級アンモニウム化合物)

薬剤—P (")

薬剤—O (フェノール化合物)

ホルマリリン (ホルムアルデヒドガス)

供試微生物

ウイルス: ニューカッスル病ウイルス感染尿腔液 (藤枝分離ウイルス, 発育鶏卵2代継代株。 $10^{7.5}$ ELD₅₀/0.1 ml)

細菌: ブドウ球菌 (*Staphylococcus aureus*) ブイヨン培養液 (大阪家禽試験場分与株, YCC ブイヨン18時間培養液)

微生物の検出方法

ウイルス: 10日令の健康白レグ鶏由来の発育卵を用い、尿腔内に可検材料の 0.1 ml を接種。判定は接種後、24時間以内の死亡は事故死として除

外し、2～6日間に起った胎児の死亡と尿腔液の鶏赤血球凝集性によった。

細菌：YCC プイヨン5本に可検材料1白金耳ずつ移殖し、72時間培養時の液の混濁から判定した。

薬剤感作方法

各薬剤の100, 200, 400, 800, 1,600, 3,200, 6,400倍希釈階段列を作り、その10mlを44°Cに保持し、供試微生物液1mlを加え、2分間感作後、微生物の検出を行った。対照として滅菌蒸留水を希釈溶媒として用い、同様に処置した。

ガス感作は小シャーレに供試微生物液0.1mlをいれ、孵卵器内で30分間乾燥したものを約5.8m³ビニールテント内にて過マンガン酸カリ35gに水70mlとホルマリン70mlを加えてガス発生させて、室温(30°C)で30分間行った。感作後、乾燥微生物材料を1mlの滅菌生理的食塩液で再溶解し、可検材料とした。対照としては、ガス感作をしないで同様に処理したものを用いた。

実験—3. 薬剤E(逆性石鹼)の1,000倍洗卵液の細菌汚染状況

消毒剤は液の汚染により効果が減弱するので、その使用回数の限界範囲を薬剤Eを用い調べた。

供試材料

薬剤E 1,000倍希釈液で実際の洗卵を行いながら第1液槽と瞬間的浸漬を行う第2液槽の各液について洗卵回数毎に滅菌ピペットで採取したものを可検材料とした。

判定方法

可検材料0.1mlずつ10枚のシャーレに入れ、普通寒天30mlに混釈した後、24時間培養し、コロニー数を測定し、その平均を求めた。採取から検査までの時間は約1時間で、その間、室温(30°C)に保存した。

結果

実験—1. 各種消毒剤の發育鶏卵に及ぼす影響

表1に示すとおり、薬剤P区の100倍、200倍希釈液を接種した各4個中の3個では接種後120

表1 各種消毒剤の發育鶏卵に及ぼす影響

薬剤名	希釈倍数					
	100	200	400	800	1600	3200
E	0/4*	0/4	1/4	1/4	1/4	1/4
P	3/4	3/4	1/4	0/4	0/4	0/4
O	1/4	0/4	1/4	1/4	0/4	0/4
蒸留水				1/4		
生理的食塩液				0/3		

* 胎児死亡数/接種総数

表2 各種薬剤濃度による殺ウイルス殺菌効果

区分		希釈倍数						
		100	200	400	800	1600	3200	6400
E	ウイルス	0/2*	0/4	0/2	5/5	5/5	5/5	5/5
	細菌	—	—	—	—	—	—	—
P	ウイルス	0/2	0/3	0/5	4/5	5/5	5/5	5/5
	細菌	—	—	—	—	—	—	—
O	ウイルス	0/2	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5
	細菌	—	—	—	—	—	—	+
蒸留水 対照	27°C				5/5			
	44°C				5/5			
	44°C				+			
ガス感作	ウイルス				0/4			
	細菌				—			
無感作対照	ウイルス				5/5			
	細菌				+			

* 感染胎児数/接種総数

時間までに胎児は出血性変化を起して死亡した。これらの尿腔液は粘調であった。対照群、薬剤 E 区および薬剤 O 区での死亡例は接種後、24 時間以内に起ったものである。生存群は 18 日令時に割卵した。各薬剤の 100, 200 倍液接種群では尿腔液は粘調性を帯び、倭少胎児であった。

実験—2. 各種消毒剤の殺ウイルス・殺菌効果

ウイルスに対する効果は表 2 に示すとおり、薬剤 E 及び P 区では 800 倍以上希釈で 80% 以上が感染死した。薬剤 O 区では 200 倍以上の希釈液で全例が感染死した。ガス感作区では、死亡は認められなかった。細菌に対しての効果は、各消毒剤共、顕著に認められたが、薬剤 O 区の 6,400 倍希釈液では殺菌効果が認められなかった。

実験—3. 薬剤 E の 1,000 倍洗卵液の細菌汚染状況調査

表 3 に示すとおりである。100 個ケースで 5 ~ 6 回洗滌を行うと第 1 液槽中に有機物の浮游を認め、液の混濁が著しくなった。さらに 1 回目の試験より 2 回目の試験の方が液の汚染状態は強度であった。液中の細菌は消毒殺菌効果が減弱するのに伴って細菌の生存を許容し、おおむね 10 回前後ではじめて細菌が液中に認められた。第 2 液槽は第 1 液槽から取り出した洗卵ケースを瞬間的に浸漬するものであるが、その中の細菌数変動は、第 1 液槽内での細菌数に密接に関連して経時的に増加した。

考 察

消毒剤のうち、薬剤 E と薬剤 P のいずれも、細菌に対して、6,400 倍希釈でも、なお殺菌効果は明らかであったが、薬剤 O では 6,400 倍希釈液で細菌の生存が認められた。この実験では細菌と薬剤とが直接的に接触しているため、実際の有効濃度はこれらの最高希釈倍数より低下すると考えられる。実験—3 は 6,400 倍希釈でも効果の認められた薬剤 E を 1,000 倍液として実際に使用した場合であるが、100 個容 10 ケース程度の洗卵によって殺菌効果が失われてしまうことが証明された。これらのことにより、消毒液中への有機物の混在は薬剤の効力を減弱低下させることが想像される。

ウイルスに対して薬剤 E と薬剤 P は 400 倍、薬剤 O は 100 倍希釈液で殺ウイルス効果を示したが、それ以上の希釈液ではウイルス殺滅効果は認められない。各薬剤の 100 倍希釈液での胎児死亡が高率であったが、これは実験—1 において薬剤の直接的な影響が認められていることからみて恐らく、薬剤の毒性によるものであろう。薬剤 E の 400 倍希釈群での死亡率が高かったが、尿腔液の HA 性は陰性であったのでウイルスによる死亡とは認めず、データーに加えなかった。

ホルムアルデヒドガス燻蒸消毒は、僅か 30 分間の感作であったにもかかわらず、細菌及びウイルスに対する殺滅効果は著しく、省力的且つ経済的な方法として注目される。各種消毒剤とホルムアルデヒドガス燻蒸消毒の経費を比較すると表 4 の如くである。消毒剤 1 日 3 回 30 l に対し 30 g (ml) 溶解し、1,000 倍液とし、2 槽分として算出。ガスは 1 日 3 回 6 尺巾ビニールテント使用とし、過マンガン酸カリ 35 g, ホルマリン 70 ml として算出した。

要 約

3 種の洗卵用消毒剤と卵殻消毒剤としてのホル

表 3 薬剤 E 1000 倍洗卵液中の細菌数 (0.1 ml 中)

回数	0	1	4	6	10	13	16	18	19	20	22	24
第 1 液槽												
{ 1 次	0	0	0	0	0	1	7	—	∞	—	—	—
{ 2 次	0	—	—	—	7	9	48	27	—	58	60	32
第 2 液槽												
{ 1 次	0	0	0	0	0	0	2	—	2	—	—	—
{ 2 次	0	—	—	—	3	1	1	2	—	7	2	3

第 1 液槽は、薬剤 E 1000 倍液入、最初の 2 分間 44°C で洗滌する槽。
 第 2 液槽は、薬剤 E 1000 倍液入、第 1 液槽にて洗滌後、瞬間的に浸漬する槽。
 一：実施せず。

表4 各種消毒剤を種卵消毒に用いた場合の経済性

項目	容 量	単 価	1日使用量格	月間価格	年間価格
薬剤名					
E	5kg 粉 剤 4,500円	1kg 900円	180 g 162円	4,860~9,000円	59,130~ 108,000円
P	18 l 液 剤 7,500円	1 l 416円	180 ml 74.88円	2,246~4,043円	26,952円
O	18 l 液 剤 4,900円	1 l 272円	180 ml 48.96円	1,468~2,643円	17,616円
ホルムアルデヒドガス	ホ 20 l 1,150円 過 25kg 8,200円	1 l 57.5円 1kg 328円	210 ml 12.07円 105 g 34.44円	1,395円	16,740円

ムアルデヒドガスの殺ウイルス、殺菌効果試験をニューカッスル病ウイルスおよびブドウ球菌を用いて行い、次の結果を得た。種卵洗卵消毒時の状態の下で(44°C 2分間)薬剤E(逆性石鹼)薬剤P(Cationic 界面活性剤)は細菌に対して6400倍液で、ウイルスに対しては400倍液で効果を示した。薬剤O(Petain type 両性界面活性剤)は

細菌に対し、3,200倍液、ウイルスに対しては100倍液でしか効果がなかった。ホルムアルデヒドガス燻蒸は細菌、ウイルスに対し、30分間感作で十分な効果を示し、有効且つ省力的、経済的であることが示された。また、有機物の介在によって薬剤の効力が減弱することが認められた。

2. 種 卵 消 毒 試 験

II. 種卵のホルムアルデヒドガス燻蒸消毒効果と

孵化率に及ぼす影響

原田良昭・野村 護・村木八一・今村俊二・大内輝昭

(日本シェーパー原種農場総合技術センター)

緒 言

卵殻の表面には無数の病原微生物が付着しており、卵液の収縮作用によって、これら微生物が卵内に侵入し色々の事故を引き起こすと云われている。種卵の消毒は、通常逆性石鹼類での洗滌消毒が行なわれているが、近年、省力化、経済性の点からホルムアルデヒドガス燻蒸消毒による(以下ガス燻蒸と略す)方法が実施されつつある。前報においてガス燻蒸が有効且つ経済的であることを認めたので、さらにその点を明らかにすると共に種卵に対する影響について検討した。

材料と方法

供試微生物

ウイルス：ニューカッスル病ウイルス(NDV)
感染尿腔液(藤枝分離ウイルス。発育鶏卵2代継

代株。10^{7.5}ELD₅₀/0.1 ml)

細菌：ブドウ球菌(*Staphylococcus aureus*) プイオン培養液(大阪家禽試験場分与株 YCC プイオン18時間培養)。

供試種卵：健康白レグ種鶏由来の種卵(MGフリー1968年3月入雛群。485日~515日令に生産された。)を用いた。集卵は1日3回(9時, 11時, 15時)行ない、毎回集卵直後にガス燻蒸消毒した。消毒した種卵を専用ダンボール箱に収め密封し、室温17°C、湿度75~80%に保たれた貯卵室に保管した。5~6日間貯卵後入卵した。

ガス燻蒸消毒：約5.8m³のビニールテントを用い、過マンガン酸カリ35gと水70ml、ホルマリン70mlを順次加えてガス産生し室温(30°C)で燻蒸した。

有機物介在状態におけるガス燻蒸効果：有機物として鶏糞を用いた。鶏糞はあらかじめ乾燥さ