

種卵消毒試験 III.

誌名	鶏病研究会報
ISSN	0285709X
巻/号	63
掲載ページ	p. 129-133
発行年月	1970年10月

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



においては 2.5 時間から急に減少を示したが、完全殺滅の点からは 3.5 時間以上要するものと考えられた。このことは、有機物の付着する程度が、比較的少ない卵殻表面を消毒した場合に細菌が、3 時間で殺滅出来たこと、また前報で報告したようにふんを含まないウイルス液では 30 分で死滅したとことと比較してみても明らかなように、有機物混在の程度で病原微生物の殺滅効果が左右されることが、ガス燻蒸消毒の上でもいえる。

さらにガス燻蒸消毒直後から入卵までの細菌数の変動は、燻蒸から入卵まで、5~6日の貯卵期間があったにもかかわらず、対照区に比べ試験区は、いずれも減少していたという事実は、ホルムアルデヒドガスの残存効果によるものと推察出来る。

ガス燻蒸消毒後における孵化状況は、C区 1.5 時間が最も良い成績であったが、しかし、ガス燻蒸が、ウイルスおよび細菌を殺滅するのに要する時間は、3.0 時間以上であるので、今回の試験で良い成績を示した 1.5 時間の感作およびそれ以下の感作時間では、卵殻消毒の効果への期待はうすいということが出来る。また 2.0 時間以上の D、E、F、G 区の区間および、2つの対照区との間には認めるべき差が生じなかった。このことから

2.0~5.0時間程度のホルムアルデヒドガス燻蒸消毒の孵化率に対する影響を考慮する必要はないものとする。

要 約

①有機物（鶏糞）を介在させた病原微生物に対するホルムアルデヒドガス燻蒸消毒の殺毒効果はニューカッスル病ウイルスに対して、3 時間感作で完全に殺滅した。そしてブドウ球菌に対して、2.5~3 時間感作で菌数の減少を認めたが、完全な殺菌は湿潤状態に於いて、3.5 時間以上の感作で認めることが出来た。

②ホルムアルデヒドガス燻蒸消毒の種卵の孵化成績に対する影響を、無感作対照区および薬剤感作対照区と比較検討したところ、最も良い孵化率を示したのは、C 区（1.5 時間ガス感作）の 87.7 % であった。

③ホルムアルデヒドガス燻蒸消毒後の卵殻表面の細菌は、ガス燻蒸区において、3.0 時間以上の感作で完全に殺菌され、またそれ以下の感作時間でも、消毒直後の菌数に比べ、入卵直前の菌数は、減少していた。しかしながら対照区では、菌数が増加していた。

3. 種 卵 消 毒 試 験

III. ホルムアルデゲンによるホルムアルデヒド ガス燻蒸の殺毒効果と種卵の孵化率に及ぼす影響

野村 護・原田良昭・中村喬之・村木八一・大内輝昭
(日本シェーパー原種農場総合技術センター)

上 野 皓 堂 (日本シェーパー原種農場袋井農場)

今 村 俊 二 (日本シェーパー原種農場卵舎)

緒 言

卵殻表面の病原微生物の殺滅を目的とした種卵に対する消毒剤の比較検討は、すでにこのシリーズの I と II で述べられた。それらの結果、ホルムアルデヒドガス燻蒸消毒法が効果的、且つ、経済

的であることが証明された。ホルムアルデヒドガス（以下ガスと略す）の発生は、通常、ホルマリンを基材として行いが、これらのガス濃度はあまり濃くない為、ガス感作時間が長くなり、省力的でなかった。そこでガス濃度の高い、ホルムアルデヒドの重合体であるホルムアルデゲン（パラホ

ホルムアルデヒドを用いて、その殺毒効果と孵化成績に及ぼす影響を調査した結果、良好な成績が得られたので報告する。

材料と方法

供試薬剤

Formaldeggen(paraformaldehydum): ホルムアルデヒド (HCHO) 95% 以上含有の白色粉末。水分共存により分解し、ホルムアルデヒドとなる。

供試消毒庫

サニーキャビネット (チックサブライイン, コーポレーション). ホルムアルデゲンを使って種卵消毒を行うために専用に作られたもので、内部循環、排気ファン、連続タイマー、電気加熱ナベの設置された密閉庫で、1,500個の種卵収容が可能で、容積約1m³ 弱のものを使用した。

ガス燻蒸法

ガスの発生は、サニーキャビネットの電気加熱ナベの温度調節装置を25°C にセットし、ナベに専用カップで水を1カップ (約20ml) とホルムアルデゲン1カップ (約5g) を容れて、10分間通電し、加熱してガスを発生させた。同時に10分間循環ファンを回転させた。ガス感作が10分を越える場合、必要時間まで密閉し、各時間で戸を開き種卵を取り出して、排気を行い残留ガスを排出した。時間の異なるたびに初めから実験を繰り返した。

実験—1 殺毒効果

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*) 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)

微生物証明法

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0.1ml を接種。判定は接種後、24時間以内に死亡したものは除外し、2~6日間に起った胎児の死亡と尿腔液の赤血球凝集 (HA) 性によった。

細菌: 普通寒天平板によるコロニー数の測定および YCC ブイヨン18時間培養後の液の混濁により確認した。

被検材料の調整

清浄卵殻: 卵殻膜を取り除いた卵殻を1cm² に切断し、オートクレーブで121°C 30分間滅菌したものを用いた。

汚染卵殻: 1cm² 卵殻に糞便を付着した後、オートクレーブで121°C 30分間滅菌したものを用いた。

各供試微生物の懸濁液0.1ml を上記卵殻にかけて湿らせ、その後、37°C 孵卵機内で乾燥した。ガス感作はそれぞれ通電開始から20, 30, 40, 60分間行い、その後、滅菌アール液10mlを加えて磨砕し、上清0.1ml を可検材料とした。また、重度の汚染状態を設定して、被検材料の卵殻を2枚重ねて両者の間に糞便を介在させた材料を同様処理し、検査した。但し、細菌はウイルスに準ずるものとして行なわなかった。対照はガス感作をせず同様に処置したものである。

実験—2 卵殻表面上の細菌数変動調査

II報に準じて、卵殻表面上の細菌数を調査した。ガス感作は通電開始から20, 30, 40, 60分間と別に40, 60, 90, 120分間行なった。測定はガス感作直後と入卵直前 (2~7日後) に行なった。種卵の卵殻表面に滅菌した1cm² の有窓アルミハクをあて、湿った滅菌綿花で拭き取り、滅菌生理食塩液10ml で抽出を1時間行ない、その0.1ml を小シャーレに移し、寒天に混釈培養し、18時間から72時間培養後、コロニー数を測定した。対照は、ガス感作しないものと第4級アンモニウム化合物洗剤剤1,000倍液で44°C 2分間感作したものを設けた。

実験—3 種卵の孵化成績

供試種卵

健康白レグ種鶏由来の種卵、54g±1g, MGフリー、1969年5月入雛210日~270日令 (試験期間平均産卵率93.1%, 平均受精率97%)。種卵の孵化成績に及ぼす影響は、長時間感作の影響と通常消毒時間の影響について調べた。前者は3回、後者は7回繰り返された。産卵された種卵は集卵され、翌日、消毒した後、1日経て入卵した。

長時間感作の実験では 40, 60, 90, 120 分感作し、それぞれ A, B, C, D 区とした。種卵は無作為的に試験区に配分した。時間の異なる度から繰り返して感作した。定時間感作の実験では、キャビネットの使用要領に準じ、ガス発生循環時間 10 分、密閉時間 15 分の計 25 分間感作した。その後、排気を 15 分間行い、操作時間は 40 分間を要した。それぞれ対照として、無感作群と薬剤感作群（第 4 級アンモニウム化合物 1,000 倍液、44°C 2 分間浸漬後、風乾し、入卵まで保存）を設けた。

入卵した種卵は 7 日後に検卵し、無精卵と中止卵を取り除き、これらについては割卵して確認した。更に 14 日後と 18 日後に検卵を行い、中止卵を取り除いた。18 日令で生存する発育卵は各群別々にハッチャーへ 20 日令で移動した。ヒナの孵化選別は 22 日後の入卵時刻とほぼ同時刻に行った。淘汰ヒナは臍帯炎を起すもの、卵黄を肛門部に付着するもの、発生が遅れ羽毛の乾いていないもの、活力に乏しいもの、脚の弱いもの、奇型、その他、商品価値のないと判断されたものを取り除いた。斃死は完全孵化後、選別までに死亡したヒナで発生羽数には加えていない。はしうちは卵殻から完全に脱していないものまで加えた。死籠は胎児の生死にかかわらず、はしうちの認められないものを計上した。資料の推計処理は χ^2 有意差検定によって行なった。

結果

実験—1 殺毒効果

清浄な卵殻および汚染卵殻上の病原微生物は、20 分間のガス感作によって殺滅された（表—1）。

表 1 ホルムアルデヒドガスの卵殻上微生物への各感作時間による殺ウイルス、殺菌効果

区分	時間(分)	20	30	40	60	対照
		清 浄	ウイルス 0/4*	0/4	0/4	0/4
	細菌	—	—	—	—	+
汚 染	ウイルス	0/4	0/4	0/4	0/4	4/4
	細菌	—	—	—	—	+

1 cm² 卵殻 1 枚 + 0.1 ml 微生物液 = 乾燥

* 感染胎児数 / 接種総数

対照は 2 日間の経過で胎児は全例死亡し、尿液は HA 性を呈した。しかしながら重度の汚染を想定した実験の結果（表—2）20 分間のガス感作では

表 2 重度汚染卵殻における各感作時間による殺ウイルス効果

区分	時間(分)	20	30	40	60	対照
汚染二重卵殻**		7/7*	5/7	0/7	0/7	7/7

* 感染胎児数 / 接種総数

** 1 cm² 卵殻 2 枚糞便介在 + 0.2 ml ウイルス液 = 乾燥

ウイルスが生存し、更に 30 分感作でも胎児 7 例中の 5 例にウイルス特有の変化が認められた。殺滅が完全に起る時間は 40 分であった。

実験—2 卵殻表面上の細菌数変動調査

2 回の実験が行なわれ、それぞれ若干の技術的差はあったが、20 分間のガス感作により、卵殻表面の細菌は認められなかった。これらの結果は、入卵直前でも変りはなかった。（表—3）。

表 3 卵殻表面の細菌数変動

区分	時間	20	30	40	60	無感作対照	薬剤対照
感作直後		0	0	0	0	1160	0
入卵直前		0	0	0	0	1180	0

貯卵条件: 7 日間貯卵 (室温冬期 10°C)

区分	時間	40	60	90	120	無感作対照	薬剤対照
感作直後		0	0	0	0	1200	0
入卵直前		0	0	0	0	1220	0

貯卵条件: 2 日間貯卵 (室温冬期 10°C)

実験—3 種卵の孵化成績

長時間感作の結果（表—4）感作時間が長くなるのに比例して、孵化率は漸減し、初期中止率も増大していた。しかし、この実験では各対照区の成績も通例の場合より不良であった。定時感作の結果（表—5）、試験区は各対照区に比べ中止率が低く特に後期中止卵が少ない。死籠卵も少なかった。孵化率はいずれの対照区よりも上回り、相対的な可販率で約 1% 成績が良好であった。これらの推計処理で試験区は他の区より中止率、孵

表4 第1次～第3次試験の孵化成績集計表

区分	項目	入卵 個数	無精卵 個数	受精卵 率 (対入卵)	中 止 卵				死 率 (対受 精卵)	籠 率 (対受 精卵)	はし うち 率 (対受 精卵)	斃 死 率 (対受 精卵)	発生羽数			淘 汰 率 (対發 生数)	健 康 率 (対發 生数)	可販 率						
					第1 次 7日	第2 次 13日	第3 次 18日	計					羽数 (対入 卵)	羽数 (対受 精卵)	羽数 (對發 生数)									
試験区	A区	117	2	115	98.29	8	4	0	12	10.43	16	13.91	16	13.91	1	0.87	70	59.83	60.87	5	7.14	65	92.86	55.56
	B区	117	5	112	95.73	12	6	1	19	16.96	14	12.50	9	8.04	0	—	70	59.83	62.50	9	12.89	61	87.14	52.14
	C区	116	3	113	97.41	25	1	1	27	23.89	9	7.96	12	10.62	0	—	65	56.03	57.52	12	18.46	53	81.54	45.69
	D区	116	1	115	99.14	30	1	0	31	26.96	8	6.96	15	13.04	0	—	61	52.59	53.04	9	14.75	52	85.25	44.83
無感 作 対 照 区	無感 作 対 照 区	115	2	113	98.26	4	0	0	4	3.54	9	7.96	15	13.27	0	—	85	73.91	75.22	9	10.59	76	89.41	66.09
	薬 劑 対 照 区	116	1	115	99.14	5	1	0	6	5.22	9	7.83	8	6.96	1	0.87	91	78.45	79.13	14	15.38	77	84.62	66.38

表5 第4次～第10次試験の孵化成績集計表

試験区	516	20	496	96.12	16	6	0	22	4.44	16	3.23	27	5.44	0	—	431	83.53	86.90	20	4.64	411	95.36	79.65
無感 作 対 照 区	509	12	497	97.64	17	4	4	25	5.03	21	4.23	28	5.63	0	—	423	83.10	85.11	24	5.67	399	94.33	78.39
薬 劑 対 照 区	518	16	502	96.91	14	11	2	27	5.38	21	4.18	33	6.57	0	—	421	81.27	83.86	13	3.09	408	96.91	78.76

表6 各試験次の中止，発生，可販率

試験	項目	試 験 区			無 感 作 対 照 区			薬 劑 対 照 区		
		対 中 止 率	対 發 生 率	可 販 率	対 中 止 率	対 發 生 率	可 販 率	対 中 止 率	対 發 生 率	可 販 率
第4次		7.41	77.78	71.43	1.27	79.75	72.50	2.41	84.34	80.23
5		2.47	93.83	87.95	3.70	87.65	81.71	4.94	81.48	79.52
6		1.54	89.23	82.09	1.56	90.63	83.33	4.55	83.33	77.61
7		3.75	87.50	79.52	10.00	86.25	80.49	7.32	80.49	78.31
8		4.69	87.50	82.09	1.59	92.06	83.58	6.35	87.30	79.10
9		8.20	81.97	72.73	12.31	75.38	71.21	3.17	85.71	78.79
10		3.13	90.63	81.82	4.62	84.62	75.76	9.38	85.94	77.27
平均		4.44	86.90	79.65	5.03	85.11	78.39	5.38	83.86	78.76

試験区はガス感作を25分，排気を40分の15分操作で実施。

薬剤区は第4級アンモニウム化合物の洗卵剤1000倍液44℃加温液中に2分間浸漬，後自然乾燥。

化発生率，可販率においていずれも有意差が認められ，優れていた。ヒナの状態は試験区で若干の黄褐色に羽毛の縮れたヒナが散見された。無感作区のヒナでは非常に汚れが目立つヒナが多く認められ，薬剤区では白っぽいヒナが多く認められた。各区からの孵化ヒナは30日間，育雛器中で観察したが，健康状態，发育状態にはめだつた差はなかった。孵化直後の各区からのヒナの呼吸器系と消化器系の細菌分離(DHL 寒天，血液寒天

培地)を試みたところ，無感作対照区のヒナの肺臓から多くの大腸菌群が検出されたが，試験区，薬剤対照区のヒナからは検出されなかった。また，消化器系からはいずれも検出されなかった。実験を通して，孵卵機は37.6℃から37.8℃に調節され，湿度は70%±5%に維持された。

考 察

卵殻表面に附着する病原微生物は種卵として取

り扱いが許される程度の軽微な汚染であるならば、ホルムアルデゲンを用いたホルムアルデヒドガス燻蒸消毒を密閉庫内で行った場合には、20分間の感作時間で殺滅が可能であろう。しかしながら、非常に濃厚な病原微生物が排泄されているような場合では、感作時間は長びき、ほぼ2倍の40分を要する。けれどもこの様な状態は実際には起りにくく、種卵ではそれほど問題にはならないだろう。卵殻表面の細菌数変動はⅡ報において、ガス感作群は減少を示し、ガス残存効果によるものと考えられ、一方無感作対照では明らかに入卵直前の菌数の増加が認められた。今回ホルムアルデゲンを使用してのガス燻蒸試験では消毒直後と入卵直前の細菌検査で試験区は0の状態に維持され、無感作対照区では消毒直後と入卵前の細菌数は、ほぼ同じであった。前報においては貯卵により対照区の菌数は増加し、今回の成績と違っているが、この違いは貯卵温度、貯卵方法、時期等に大きく左右されるものと推察できるが、直接比較した試験結果から得たものでないのだからわからない。

実験3の長時間感作から得られたようにホルムアルデヒドの種卵に及ぼす影響の1つとして、感作時間が長くなれば、高率に中止卵が発生すると考えられる。しかしながら、1回の直接的な感作時間で影響したと考えるよりもむしろ着色ヒナの発生や細菌分離での成績を考慮すると、種卵々殻内へのガス浸透と卵殻周囲に残存するガス体の持続感作であろうと考えられる。残留ガスの持続感作を証明するのは本試験シリーズⅡで実施された感作直後と入卵直前に於ける卵殻表面の細菌数変動の結果で対照が経時的に細菌数の増加を呈したのにガス感作区では漸減したという事実である。ホルムアルデヒドガスが非常に高濃度になったり、重複感作、長時間感作が行なわれたような場合、初期中止率が増加し、結果的に孵化率が低下するだろう。長時間感作での対照区の孵化率が低かったのは、運転開始まもない孵卵機を用いた為

であろう。定時間感作で述べたようにガス感作区で初期中止卵の発生に比較して、中後期での中止卵発生が少ないことと、死籠卵の発生が少ないことは、ホルムアルデヒドガスの作用が卵殻表面の微生物を殺滅し、その作用が持続していると考えられる。このことは、同様に卵殻表面の微生物を殺滅した薬剤区の例に比べ、それらの発現比率が少ないことから類推される。

ホルムアルデヒドガスを25分間感作した区での孵化成績は他の区よりもいずれの項目でも優れていたことは効果的、省力的、且つ経済的な卵殻消毒剤として、その使用を勧められる。取り扱い上の問題として、ホルムアルデゲン使用の場合、サニーキャビネットに準ずる装置が施され、その操作を自動化しないとかえって非省力となるだろう。また、ホルムアルデゲンとそのガスが可燃性で爆発性粉末であること、有毒気体であることは、注意が必要である。ホルマリンを用いた場合、時間的に要求に沿わない面が生ずる。しかし基本的には全く同じである。

要約

①ホルムアルデヒドガス燻蒸消毒にホルムアルデゲンをを用うることにより、消毒時間が短縮され、効果及び経済性ではホルマリンを用いた場合とほぼ同等であった。種卵消毒機サニーキャビネットを用いて、種卵消毒を行えば10分のガス発生と15分の保持、15分の排気で一連の作業が40分間で終了する。そしてその効果は期待できる。

②同時に孵化率に及ぼす影響を第4級アンモニウム化合物の洗卵薬剤と無感作対照群との間で比較検討した結果、ガス消毒したものは、他のものより、中止率、孵化率、可販率で最も良好な結果を得た。また、ガス感作を長くすると初期中止率が増加し、孵化成績に悪影響を及ぼすと結論された。