

病原微生物汚染鶏舎の消毒法(2)

誌名	愛知県農業総合試験場研究報告 = Research bulletin of the Aichi-ken Agricultural Research Center
ISSN	03887995
著者	番場, 久雄 水野, 眞樹 田和, 均 三輪, 寿男
巻/号	20号
掲載ページ	p. 471-475
発行年月	1988年10月

病原微生物汚染鶏舎の消毒法 (第2報)

マイコプラズマ・ガリセプチカム、及びサルモネラ・チヒムリウムに対する効果

番場久雄*・水野真樹*・田和均*・三輪寿男*

緒言

養鶏経営は大型化が進み、大規模飼育に伴う飼養環境の悪化や各種病原体の常在化による伝染性疾病の多発が生産性低下の大きな要因となっている。

急性伝染病はワクチンの開発により、被害は減少の傾向にあるが、反面、慢性伝染病は多発の傾向にあり、かつ複合化して来ている。従って、鶏病対策としての養鶏施設の消毒は、病原微生物の鶏への感染環を断つ方法として重要性を増して来ている。また、消毒方法においても高床式鶏舎等にみられるような鶏舎構造の変化や、環境保全のために消毒後の薬液流出防止を図るなど、水量の少ない消毒方法が求められている。

消毒剤の効果判定では、石炭酸係数法から鶏舎の付着一般細菌を効果判定の指標とする方法^(2, 4, 5, 6)が報告され、より効果的な消毒方法に改善されてきている。しかし、最も実用的な消毒効果の判定基準に病原微生物を対象にした消毒指針はほとんど無く、著者らは伝染性ファブリキウス囊病ウイルス及びアイメリア・テネラ汚染鶏舎に対する消毒効果について前回報告した。今回はマイコプラズマ・ガリセプチカム、及びサルモネラ・チヒムリウムの感染鶏で汚染させた鶏舎を使用して病原微生物汚染に対する水洗・消毒効果について調査し、若干の知見を得たので報告する。

なお、本試験の実施に当たり、御指導を賜わった全国農業協同組合連合会家畜衛生研究所佐藤静夫博士に感謝の意を表する。

材料及び方法

1 試験方法

供試鶏はサルモネラ菌、マイコプラズマ菌フリーである特定病原不在(SPP)鶏を用いた。

飼料は當場慣用飼料(幼すう用:CP20%,ME2,800kcal/kg育成用:CP15%,ME2,700kcal/kg)の抗菌剤無添加のものを用い、自由摂取とし、飲水は不断給水とした。

汚染鶏舎は床面積25.0m²、内壁面積137.0m²でコンクリート壁で2室に隔離された平飼い無窓鶏舎を使用し、各室の一部を金網で6m²の広さに仕切り15羽の鶏を飼育した。

供試薬剤はフォーム塩素剤でA、Bの2液から構成され、A液は二酸化塩素ナトリウム15%、活性剤2%を含む水溶液、B液は塩酸を含む酸性成分14%、活性剤22.5%を含む水溶液で、使用時にA、B液を1:4の比率で混合し、5分間反応させた後、100倍液に希釈して使用した。

反応後の薬剤中の有効二酸化塩素量は176ppmである。二酸化塩素ガスを有効的に消毒面に作用させる目的でフォーム(泡状)で散布するため、84ℓ/min能力のエアークンプレッサーで排出空気を5.0kg/cm²に圧縮し、薬剤も、2kg/cm²で加圧して、同時に排出し泡を発生させてフォーム状で消毒を行った。使用薬剤料は1ℓ/m²量とした。

(1) 試験 1

Mycoplasma gallisepticum (MG) の汚染鶏舎に対する二酸化塩素剤の効果进行调查した。

6週齢のひな30羽にMG強毒株(KP-13株)を1羽当たり 6.0×10^7 CFU/0.1ml経鼻接種し、隔離された2室で各15羽ずつ、3週間飼育して鶏舎を汚染させた。鶏舎のMG汚染状況は、毎週、気管から菌培養検査と血清のMG凝集抗体検査により確認した。

3週間飼育後に感染鶏をオールアウトし、室内を清掃後3ℓ/m²量の水道水で水洗した。試験区分は2区分とし、1区は水洗1日後に二酸化塩素フォーム剤を1ℓ/m²量で消毒し、2区は水洗のみ実施し無消毒とした。そ

れぞれ6及び7日間放置乾燥後6週齢のSPFひなを各室15羽ずつ入れ、8週間飼育した。

試験期間は1987年7月16日～1987年10月22日である。

(2) 試験 2

Salmonella typhimurium (S T) の汚染鶏舎に対する二酸化塩素フォーム剤の効果を調査した。

鶏舎は試験1と同じ無窓鶏舎2室を使用し、側壁をビニールで覆った金網製鶏籠(0.75×0.75×0.75m)を利用し、中に60W電球を地上20cmにつるして熱源とし、その中で飼育した。

2週齢のひな30羽にS Tのナリジクス酸耐性株L-4 17 N^R株 $9.0 \times 10^7 / 0.5\text{ml}$ を経口接種し、各室15羽ずつ3週間飼育して汚染した後、感染鶏をオールアウトした。鶏舎のS T汚染については、接種鶏の臨床観察と毎週1回実施した肛門スワブ、敷料からのS T菌分離により確認した。

オールアウト後は試験1と同様に水洗し、試験区分は2区分とした。1区は水洗1日後、二酸化塩素フォーム剤1ℓ/m²量で消毒し、2区は水洗のみで、無消毒とした。それぞれ6及び7日間放置乾燥後2週齢のSPFひなを各室15羽ずつ入れ、6週間飼育した。

試験期間は1987年12月10日～1988年3月17日である。

2 調査項目と方法

付着菌数の測定は、水洗、消毒後の鶏舎の床面、壁面の10cm²からハートインフィジョン(H I) ブイオン液を浸したスタンプスプレッドで付着菌を採取し、10mlのH Iブイオン液に浸漬、振盪後、採取菌を浮遊させた。その浮遊液を10倍段階に希釈して、それぞれの検体について0.005mlをH I寒天培地に滴下して、37℃24時間培養し、増殖したコロニー数から1cm²当たりの細菌数を算出し常用対数値で示した。

(1) 試験 1

M G菌の分離・培養は導入時から0、2、4、8週間後に気管、副鼻腔から綿棒スワブで採取した材料をFREYらの培地を用いて行った。

M Gの血清凝集抗体の測定は市販の急速凝集反応用菌液(S₆株)を用い、導入0、2、4、8週間後に採取した血清を平板凝集反応法により調査した。

臨床症状の観察は、毎日行い、剖検は導入8週間後に全羽数実施し、呼吸器病変、特に気のう病変について調査するとともにFREYらの培地を用いて菌分離を行った。

鶏舎の水洗、消毒後のM G菌の回収検査はFREYらの培地で浸漬したガーゼで、床面の100cm²を拭き取り、FREYらの培地に浮遊させ、遠沈後上清を3代まで継代培養した。

(2) 試験 2

S T菌の分離培養は、導入から6週間、各週毎に直腸

内の糞を綿棒スワブで採取し、ナリジクス酸を100r/ml添加したD H L培地で行った。

臨床症状の観察は毎日行い、剖検は導入6週間後に全羽数実施し、腸管、肝臓を重点に調査し、菌分離を行った。

鶏舎の水洗、消毒後のS T菌の回収検査は、生理食塩水に浸漬したガーゼで床面の100cm²を拭き取りラバポート培地に浮遊させて選択増菌培養し、ナリジクス酸加D H L培地で確認培養した。

結果及び考察

1 試験 1

(1) 付着菌数の推移

二酸化塩素フォーム剤消毒による付着菌数の推移を、第1表に示した。水洗前の菌数は1、2区とも側壁で10⁴程度、程度、床面で10^{6.5}程度であったが、水洗で10⁴程度減少し、消毒により10^{1.5}程度の減少を示した。これらの成績は牧野ら^(6, 7)や、第1報⁽¹⁾での成績とほぼ一致した。

第1表 二酸化塩素剤消毒による
鶏舎付着菌数の推移(試験1)

区分	位置	水洗前	水洗1日後	消毒1日後
1	側壁	10 ^{4.4±0.3} ^{注1)}	10 ^{2.8±0.1}	10 ^{1.9±0.5}
	床面	10 ^{6.5±0.1}	10 ^{3.8±0.3}	10 ^{2.6±0.3}
2	側壁	10 ^{4.0±0.1}	10 ^{2.5±0.3}	— ^{注2)}
	床面	10 ^{6.8±0.2}	10 ^{3.4±0.2}	—

注1) 1cm²当たりの菌数、平均値±標準偏差

注2) -: 非消毒

(2) 臨床症状・剖検成績

臨床症状では1、2区とも特に異常は認められなかった。

剖検所見では1区では病変は認めなかったが、2区で7羽に気嚢の軽度な混濁を認めた。

(3) M G菌分離成績

供試鶏からの菌分離の成績を第2表に示した。2区では導入4週間後に2羽から菌が分離され、6週間後には半数以上の8羽、8週間後では13羽から菌が分離された。このことは同居感染によって陽性鶏が増加した事も考えられる。1区では全期間を通じて菌は分離されなかった。

剖検時での気管、気嚢のM G菌分離培養の結果、2区では13羽から菌が分離されたが、1区では全例陰性であった。

第2表 MG菌分離成績（試験1）

区分	導入後経過週				
	0	2	4	6	8
1	0/15 ^{注1)}	0/15	0/15	0/15	0/15
2	0/15(0) ^{注2)}	0/15(0)	2/15(13)	8/15(53)	13/15(87)

注1) MG菌分離羽数/検査羽数
注2) ()は分離率

(4) 平板凝集抗体の推移

血清中のMG平板凝集抗体の推移を第3表に示した。1区では抗体陽性鶏は認められなかったが、2区では導入4週間後、1羽に抗体陽性を認め、6週間後で3羽、8週間後では12羽に増加した。牧野ら⁷⁾はMG菌で汚染させた鶏舎を逆性石鹼300倍液で消毒した結果、その後導入したSPF鶏にMG感染を認めず、無消毒区では導入7週間後はMG抗体陽性鶏を認めたと報告しており、これらの成績とほぼ一致している。

鶏舎の水洗及び消毒後の床面からのMG菌の回収は、1、2区ともできなかった。松永ら⁸⁾は糞、ほこりにMG菌を混じた場合の生存期間について、4℃では10~20日間、15℃では7日間生存した事を報告しており、本試験でも菌の残存は考えられるが、菌量が少なく分離でき

第3表 MG平板凝集抗体の推移（試験1）

区分	導入後経過週				
	0	2	4	6	8
1	0/15 ^{注1)}	0/15	0/15	0/15	0/15
2	0/15(0) ^{注2)}	0/15(0)	1/15(6)	3/15(20)	12/15(80)

注1) MG抗体陽性羽数/検査羽数
注2) ()内は陽性率

第5表 ST菌分離成績（試験2）

区分	導入後経過週							
	0	1	2	3	4	5	6	
1	0/15 ^{注1)}	0/15	0/15	0/15	0/15	0/15	0/15	
2	0/15	0/15	2/15(13)	5/15(33)	3/15(20)	7/15(47)	5/15(33)	

注1) ST菌分離羽数/検査羽数
注2) ()は分離率

なかったものと考えられる。

2 試験2

(1) 付着菌数の推移

二酸化塩素フォーム剤消毒による付着菌数の推移を、第4表に示した。1、2区とも水洗前の菌数は側面で 10^4 程度、床面で 10^7 程度であった。水洗により側面で 10^3 程度減少したが、床面では $10^{1.2}$ 程度の減少と少なかった。このことは比較的飼育密度が高く、汚れの程度が重度で、水洗による洗浄効果が低かったものと考えられる。しかし、消毒後は側面で $10^{0.8}$ 、床面で $10^{2.6}$ の減少を示した。

第4表 二酸化塩素剤消毒による鶏舎付着菌数の推移（試験2）

区分位置	水洗前	水洗1日後	消毒1日後	
1	側壁	$10^{3.8 \pm 0.2}$ ^{注1)}	$10^{2.0 \pm 0.2}$	$10^{1.2 \pm 0.1}$
	床面	$10^{7.0 \pm 0.3}$	$10^{5.8 \pm 0.4}$	$10^{3.2 \pm 0.4}$ ^{注2)}
2	側壁	$10^{4.1 \pm 0.4}$	$10^{2.2 \pm 0.1}$	—
	床面	$10^{6.8 \pm 0.2}$	$10^{5.2 \pm 0.5}$	—

注1) 1cm当たりの菌数、平均値±標準偏差
注2) —：非消毒

(2) 臨床症状・剖検成績

1区では飼育期間を通して臨床的な変化は認められなかった。2区では導入2週間後に軽度の元気消失、白色下痢便が2羽に認められたが1週間で回復した。6週間後に全羽数剖検したが1、2区とも特に病変を認めなかった。

(3) ST菌分離成績

ST菌の分離成績を、第5表に示した。1区では各週ともST菌は分離されなかった。2区では導入2週間後に2羽にST菌を認め、3週間後に保菌鶏が5羽に増加したが、4週間後は3羽となり、5週間後は7羽に増加

し、6週間後には5羽となった。同一個体で一度菌陽性となっても、次の週では菌が検出されなくなるものや、その後に陽転するものもみられた。6週間後の剖検時のS T菌培養では、1区ではS T菌の分離は認められず、2区で5羽の腸内容からS T菌が分離されたが、肝臓、腎臓など他の臓器からはS T菌は分離されなかった。野々村ら⁹⁾はサルモネラ菌に対する鶏の感受性は幼すう期、特に日齢の若いものほど感受性が強いことを報告しており、日齢が進み腸内フローラが安定した健康なひなでは、腸管の一部で菌が増殖するのみで、重度な感染に至らないものと考えられた。

鶏舎の水洗後のS T菌の回収では床面から増菌培養により菌の回収ができたが、消毒後での回収はできなかった。

以上のことから二酸化塩素フォーム剤 100倍液のフォーム散布はS T菌に有効に作用し、導入したS P Fひなの感染を阻止した。フォーム状での薬剤散布は薬液の流出を少なく、ケージや、天井にも長く滞留して、消毒面での薬剤の作用時間を長くする有効な方法と考えられるが、泡を発生させる機器を必要とするため、コスト高になること、時間当たりの泡発生量が少なく、消毒時間が通常の方法より長時間を要することから、これらの点の改善が必要であると思われる。

摘 要

ニワトリの飼育環境の改善と疾病発生防除の資とするため、平飼い飼育時に病原微生物である *Mycoplasma gallisepticum* (MG) と、*Salmonella typhimurium* (S T) の感染鶏を飼育して鶏舎を汚染させた。その後ニワトリをオールアウトし、それぞれに二酸化塩素フォーム剤の消毒効果を調査して、つぎのような結果を得た。

1 MG汚染鶏舎を水洗後、二酸化塩素フォーム剤 100倍液の $1 \ell / m^2$ 量で消毒した結果、その後の導入鶏にMGの感染が認められず、実用化できうる優れた消毒効果が認められた。

2 S T菌汚染鶏舎を水洗後、二酸化塩素フォーム剤 100倍液の $1 \ell / m^2$ で消毒した結果、その後の導入鶏にS T菌の感染が認められず、実用化できうる優れた効果が

認められた。

3 消毒による付着菌数の調査では、床面で、水洗により 10^2 、消毒により 10^1 程度、菌数が減少したが、水洗・消毒しても $10^3 / cm^2$ 程度の菌数が残存した。

4 病原微生物で汚染した鶏舎の水洗後の病原菌回収では、床面からS T菌は回収されたが、MG菌は回収されなかった。

消毒後の床面からの菌回収ではMG菌、S T菌とも回収されなかった。

引用文献

1. 番場久雄ら, 1987, 病原微生物汚染鶏舎の消毒法 (第1報), 伝染性ファブリキウス嚢病ウイルス、及びアイメリア・テネラに対する効果, 愛知農総試研報, 19, 485~489.
2. 今西禎雄ら, 1983, 慣行消毒法及びその改善による無窓鶏舎の消毒, 家禽会誌, 20, 354~359.
3. FREY, M. L., R. P. HANSON & D. P. ANDERSON, 1968, A medium for the isolation of avian mycoplasmas, Am. J. vet. Res., 2163-2171.
4. 古田賢治ら, 1979, 消毒の実施方法に関する研究, I. 鶏舎の水洗による付着菌数の減少とホルムアルデヒド燻蒸による消毒効果, 鶏病研報, 15, 159~162.
5. 古田賢治ら, 1981, 消毒の実施方法に関する研究, IV. スチームクリーナーと動力噴霧機の水洗による付着菌数の減少とホルムアルデヒド燻蒸による鶏舎及び管理器材の消毒効果, 鶏病研報, 17, 39~45.
6. 牧野吉伸ら, 1983, 鶏舎の消毒法の再検討, 人工汚染物を指標にした鶏舎の水洗, 消毒効果, 愛知農総試研報, 15, 508~514.
7. 牧野吉伸ら, 1984, 鶏舎消毒法の再検討, 自然汚染鶏舎に対する水洗・消毒効果, 愛知農総試研報, 16, 448~455.
8. 松永親奉ら, 1972, *Mycoplasma gallisepticum* の鶏体外での生存期間について, 愛知農総試研報, C 4, 65~67.
9. 野々村勲ら, 1982, 鶏病診断 (鶏パラチフス), 家の光協会, 東京. 343~354.

Sanitization of a Chicken House Contaminated with Pathogenic Microbe II

Microbicidal effect of disinfectants on *Mycoplasma Gallisepticum*
and *Salmonella Typhimurium*

Hisao BAMBА, Hitoshi TAWA, Maki MIZUNO and Toshio MIWA

Summary

Experiments were conducted to evaluate the microbicidal effect of disinfectants on *Mycoplasma Gallisepticum* (MG) and *Salmonella Typhimurium* (ST) in a chicken house.

Exp. 1)

A windowless house, with a division in the middle, was contaminated with MG-infected chickens. They were kept in this house for 3 weeks.

After removing the chickens, the pen was swept to remove the litter. Washing was carried out by a jet stream of 3 liter water per 1 m².

One side of the pen was disinfected with 1 liter of chlorinedioxide (CLO₂) solution 1:100 per 1 m² in foam and the other side was left as it was.

After one week of postdisinfection, the chickens free of MG were housed in both sides of the pen for 8 weeks in isolation.

Exp. 2)

A windowless house, with a division in the middle, was contaminated with ST-infected chickens. They were kept in this house for 3 weeks.

After removing the chickens, sweeping, washing and disinfecting were carried out as mentioned in Exp. 1.

After one week of postdisinfection, the chickens free of ST were reared in isolation in both sides of the pen for 6 weeks.

Microbicidal effects of disinfection in these experiments were determined by development of positive serum plate agglutination (SPA) test against MG, isolation of MG and ST.

The following results were obtained.

Exp. 1)

The chickens in the disinfected side of the pen failed to develop detectable MG-SPA antibody, and to discharge MG during the experimental period.

The chickens in the undisinfected side of the pen developed 80% positive SPA test and showed 87% positive excrement of MG after 8 weeks of confinement.

Exp. 2)

The chickens in the disinfected side of the pen failed to discharge ST during the experimental period.

The chickens in the undisinfected side of the pen showed 44% positive excrement of ST after 6 weeks of observation.

From these results, we could infer that the disinfections against the pathogenic MG and ST in the chicken house were markedly effective.