

※11 S農場における自動投薬配合器の検証実験

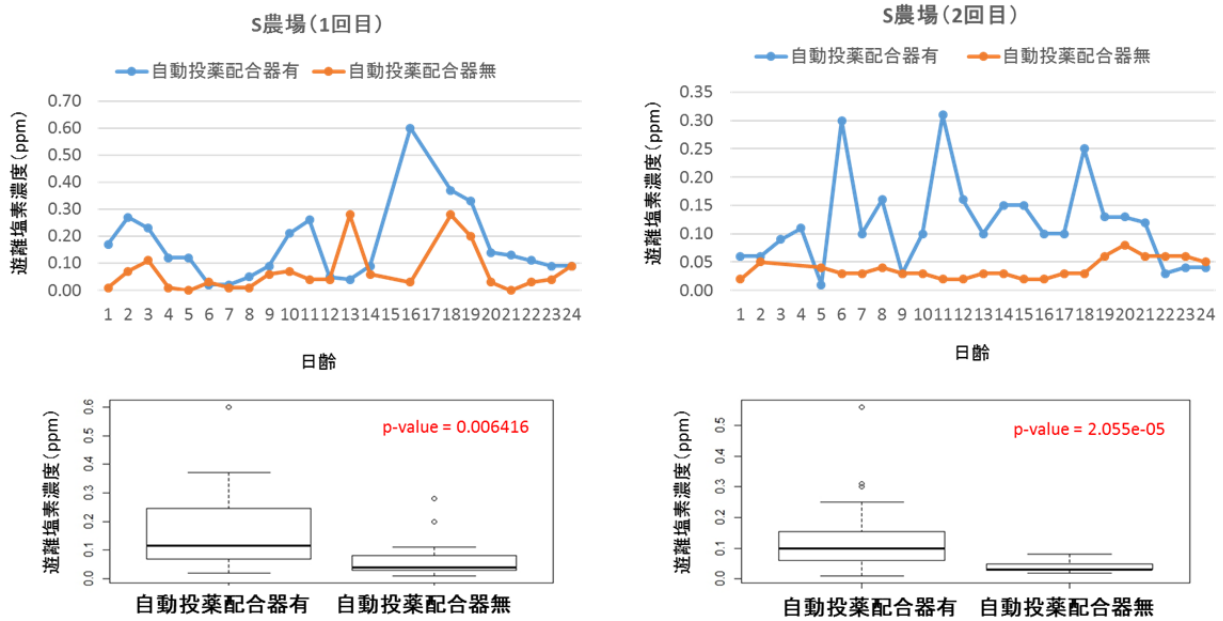


図6 自動投薬配合器使用の有無による鶏舎内飲用水中の遊離塩素濃度の継時的変化と平均濃度の比較

※12 鶏舎内の飲用水中の遊離塩素濃度と細菌数の関係

九州地域内の9農場について、平成25年8月から平成28年3月までの期間（42ロット）を対象に線形回帰分析による単変量および多変量解析を行った。

表11-1 大腸菌数と飲用水中の遊離塩素濃度に関する単変量解析結果

| 説明変数                       | 目的変数                        |      |
|----------------------------|-----------------------------|------|
|                            | 鶏舎内飲用水からの<br>大腸菌の分離（cfu/ml） | 決定係数 |
| 給水タンク内飲用水からの大腸菌の分離（cfu/ml） | NS                          | 0.15 |
| 給水タンク内飲用水中の遊離塩素濃度（ppm）     | NS                          | 0.48 |
| 鶏舎内飲用水中の遊離塩素濃度（ppm）        | NS                          | 0.54 |

\*:  $p < 0.05$ , \*\*:  $p < 0.01$ , \*\*\*:  $p < 0.001$ , NS: not significant

表 11－2 大腸菌数と飲用水中の遊離塩素濃度に関する多変量解析結果

| 説明変数 | 目的変数                                                   |      |
|------|--------------------------------------------------------|------|
|      | 鶏舎内飲用水からの<br>大腸菌の分離 (cfu/ml)                           |      |
| 主効果  | 給水タンク内飲用水からの大腸菌の分離 (cfu/ml)                            | ***  |
|      | 給水タンク内飲用水中の遊離塩素濃度 (ppm)                                | NS   |
|      | 鶏舎内飲用水中の遊離塩素濃度 (ppm)                                   | ***  |
| 交互作用 | 給水タンク内飲用水からの大腸菌の分離 (cfu/ml )<br>× 鶏舎内飲用水中の遊離塩素濃度 (ppm) | ***  |
|      | 給水タンク内飲用水中の遊離塩素濃度 (ppm)<br>× 鶏舎内飲用水中の遊離塩素濃度 (ppm)      | ***  |
| 決定係数 |                                                        | 0.97 |

\*: p &lt; 0.05, \*\*: p &lt; 0.01, \*\*\*: p &lt; 0.001, NS: not significant

表 11－3 サルモネラ感染と飲用水の消毒に関する単変量解析結果

| 説明変数                             | 目的変数                              |          |
|----------------------------------|-----------------------------------|----------|
|                                  | 盲腸便からサルモネラが検<br>出された一鶏舎当たりの羽<br>数 | 決定係<br>数 |
| 給水タンク内飲用水からのサルモネラの分離 (有または<br>無) | NS                                | 0.03     |
| 鶏舎内飲用水からのサルモネラの分離 (有または無)        | *                                 | 0.03     |
| 鶏舎内餌からのサルモネラの分離 (有または無)          | ***                               | 0.16     |
| 敷料からのサルモネラの分離 (有または無)            | ***                               | 0.20     |
| 給水タンク内飲用水中の遊離塩素濃度 (ppm)          | NS                                | 0.00     |
| 鶏舎内飲用水中の遊離塩素濃度 (ppm)             | NS                                | 0.00     |

\*: p &lt; 0.05, \*\*: p &lt; 0.01, \*\*\*: p &lt; 0.001, NS: not significant

表 11-4 サルモネラ感染と飲用水の消毒に関する多変量解析結果

| 説明変数 |                                                    | 目的変数                      |
|------|----------------------------------------------------|---------------------------|
|      |                                                    | 盲腸便からサルモネラが検出された一鶏舎当たりの羽数 |
| 主効果  | 鶏舎内飲用水からのサルモネラの分離（有または無）                           | NS                        |
|      | 鶏舎内餌からのサルモネラの分離（有または無）                             | **                        |
|      | 敷料からのサルモネラの分離（有または無）                               | **                        |
|      | 給水タンク内飲用水中の遊離塩素濃度（ppm）                             | NS                        |
|      | 鶏舎内飲用水中の遊離塩素濃度（ppm）                                | NS                        |
| 交互作用 | 鶏舎内飲用水からのサルモネラの分離（有または無）<br>× 鶏舎内飲用水中の遊離塩素濃度（ppm）  | *                         |
|      | 鶏舎内餌からのサルモネラの分離（有または無）<br>× 給水タンク内飲用水中の遊離塩素濃度（ppm） | *                         |
|      | 敷料からのサルモネラの分離（有または無）<br>× 給水タンク内飲用水中の遊離塩素濃度（ppm）   | NS                        |
|      |                                                    |                           |
|      |                                                    |                           |
|      |                                                    |                           |
| 決定係数 |                                                    | 0.44                      |

\*:  $p < 0.05$ , \*\*:  $p < 0.01$ , \*\*\*:  $p < 0.001$ , NS: not significant

#### ※13 自動投薬配合器又は塩素玉を用いた鶏舎内飲用水の消毒法について

自動投薬配合器設置によって鶏舎への水の配水圧が低下し、十分な給水ができない農場が数件みられた。また気温の急激な低下により自動投薬配合器内部の水が凍結し、自動投薬配合器が故障するケースもみられた。自動投薬配合器を設置する前に、農場環境や鶏舎構造を予め確認するとともに、設置後は配水圧に注意し、飲用水が正常に供給されているか確認する作業が必要である。

遊離塩素濃度のバラツキによって 0.1ppm 以下になることを防ぐために、遊離塩素濃度の設定は 0.2ppm とした。その結果、0.1ppm 以上を保つことが確認された（後述の Z 農場におけるクロスオーバー試験結果参照）。

塩素玉を用いる農場では、給水タンク中の遊離残留塩素が高濃度（本研究の事例では、数点観測で 5.9～14.3ppm を記録）で、配水パイプに送るためのポンプ部分のパッキンを痛めた事例があったため、給水タンクで塩素消毒を実施する場合には、給水タンク中の遊離塩素濃度の管理には注意する必要がある。

塩素玉を給水タンクに入れて消毒を行った鶏舎及び水道水をそのまま使用した鶏舎で測

定された、給水タンク内および鶏舎内飲用水中の遊離塩素濃度に関する相関分析と回帰分析を行った（図7-1～7-3）。その結果、タンク内飲用水の遊離塩素濃度と鶏舎内飲用水濃度は有意に相関することがわかった。また、タンク内飲用水の遊離塩素濃度が0.2ppm未満の時の鶏舎内飲用水の遊離塩素濃度とタンク内飲用水の遊離塩素濃度が0.2ppm以上の時の鶏舎内飲用水の遊離塩素濃度を比較した結果、タンク内飲用水の遊離塩素濃度が0.2ppm以上の時の鶏舎内飲用水の遊離塩素濃度が0.2ppm未満時に比べて有意に高い値を示した。なお、本結果は推測統計による解析結果のため、0.2ppm以上を維持すれば0.1ppm以上になることを100%保証するものではない。各農場の環境因子によって水質の条件が変わるため、全ての農場で同じ結果が得られることは不可能である。しかし、濃度依存的に鶏舎内の濃度が変化することは本結果によって証明することができた。鶏舎内の遊離塩素濃度は、給水タンク内の遊離塩素濃度から予測できる可能性があることが示された。

また、タンク内飲用水の遊離塩素濃度が鶏舎内よりも低い値を示すことがあった。これはタンク内飲用水の遊離塩素濃度が均一でなかったためと考えられる。塩素玉を用いて鶏舎内飲用水の遊離塩素濃度を一定濃度以上に保つためには、給水タンク内に適量（各塩素試薬の取り扱い説明書に記載）の塩素玉を継続的に投与し、塩素玉が給水タンク内に常に残留している状態を維持する必要があると考えられた。そのためには、塩素玉の残量をこまめに確認するなど、投与量と投薬の維持・管理に注意する必要があると考えられた。

なお、タンク内飲用水の遊離塩素濃度の測定には、市販されている残留塩素計を使用した。測定に用いる水の採取には洗浄された容器を用い、不純物が入らないようタンクの給水口から注意深く水を採取した。測定は鶏舎外の塵埃の少ない場所で行った。

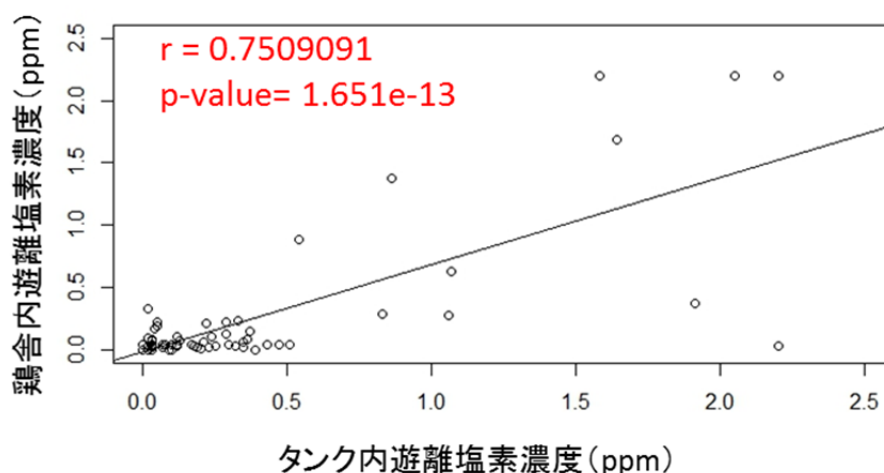


図7-1 タンク内飲用水と鶏舎内飲用水における遊離塩素濃度の相関分析および回帰分析結果

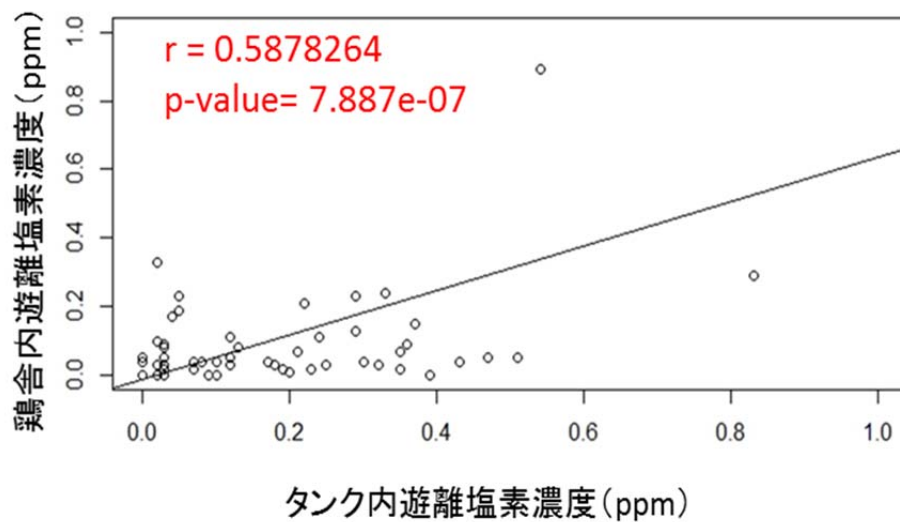


図 7 - 2 タンク内飲用水と鶏舎内飲用水における遊離塩素濃度の相関分析および回帰分析結果 (1.0ppm 以下)

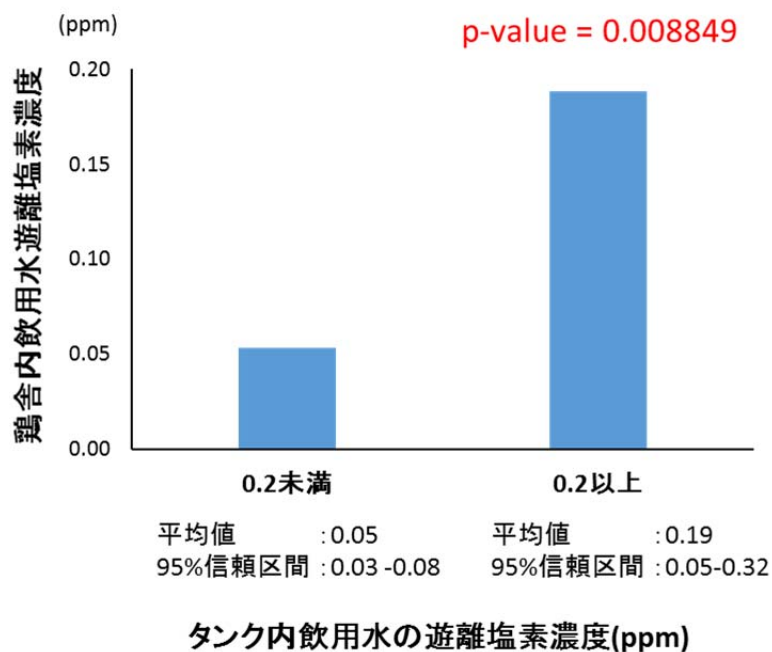


図 7 - 3 タンク内飲用水遊離塩素濃度 0.2ppm 未満とタンク内飲用水遊離塩素濃度 0.2ppm 以上における鶏舎内飲用水遊離塩素濃度の比較

上記の注意事項等を考慮し、以下に自動投薬配合器を使用した消毒方法（４農場において方法を検討し、うち２農場で鶏舎内の飲用水の遊離塩素濃度を検証）および塩素玉を使用した消毒方法（１農場での実施例を参考）に関するプロトコルを提案する（図８－１～８－２）。

# 自動投薬配合器を使用した消毒例

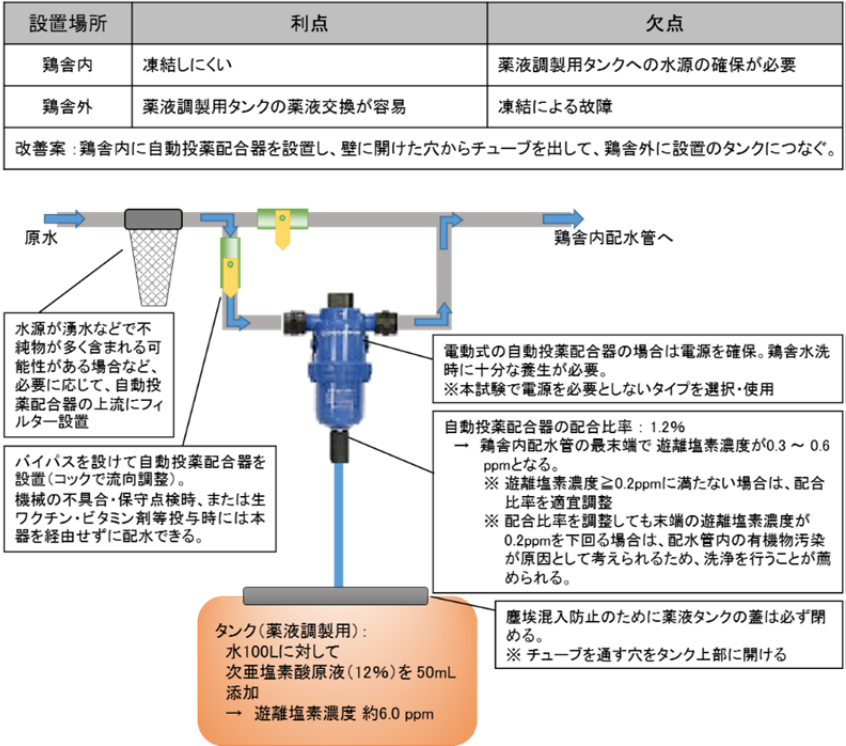


図８－１ 自動投薬配合器使用に関するプロトコル。  
（平成27年度のS、W、Y、Z農場（１ロットあたり約10,000羽）で消毒方法を検討し、うちS、Z農場で実際に鶏舎内の飲用水の遊離塩素濃度を検証）

## 固形塩素剤(塩素玉)を使用した消毒例

殺菌消毒用固形塩素剤(塩素玉, 有効塩素70%以上)を使用  
薬剤取扱説明書上の用量: 水16tあたり1錠投入

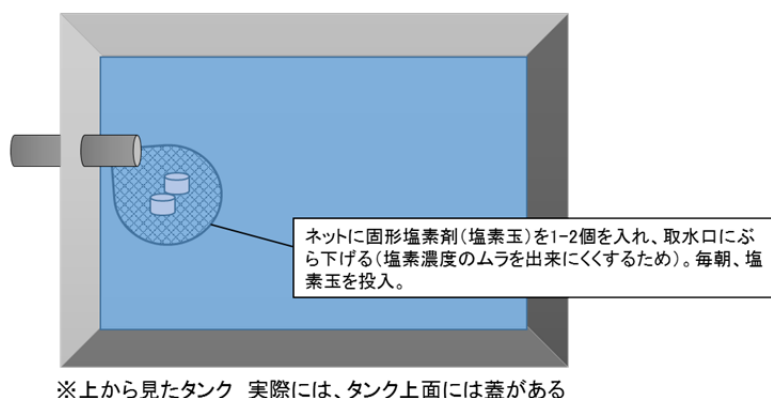


図8-2 塩素玉使用に関するプロトコール

(M農場(約1 m<sup>3</sup>タンク、通過水量は最大21 m<sup>3</sup>/日)での実施例を参考に立案)

### ※14 配水パイプ内の洗浄・消毒方法の検討

#### ○ 菌分離

M農場およびS農場から給水パイプ(塩化ビニール製)を採取し、パイプ内壁に付着している細菌の分離を実施した。給水パイプ内壁からサルモネラとカンピロバクターは分離されなかったが、 $10^2 - 10^3$  cfu/cm<sup>2</sup>程度の一般細菌が存在していることが明らかになった(表12)。

表12 配水パイプ汚染状況検査結果(M農場、S農場)

| 検査項目                                                          | M農場                 |                     |                     | S農場                 |                     |                     |
|---------------------------------------------------------------|---------------------|---------------------|---------------------|---------------------|---------------------|---------------------|
| パイプ長さ5cmの面積                                                   | 34 cm <sup>2</sup>  |                     |                     | 35 cm <sup>2</sup>  |                     |                     |
| ATP値                                                          | 58                  | 31                  | 46                  | 15                  | 16                  | 17                  |
| 一般生菌数<br>(cfu/34cm <sup>2</sup> )<br>(cfu/35cm <sup>2</sup> ) | 4.2×10 <sup>4</sup> | 4.0×10 <sup>4</sup> | 3.7×10 <sup>4</sup> | 1.4×10 <sup>4</sup> | 1.4×10 <sup>4</sup> | 7.5×10 <sup>3</sup> |
| カンピロバクター                                                      | (-)                 |                     |                     | (-)                 |                     |                     |
| サルモネラ                                                         | (-)                 |                     |                     | (-)                 |                     |                     |

# ○ 殺菌効果の検討

前述の給水パイプを使用して、次亜塩素酸による殺菌効果を検討した。給水パイプ内壁を次亜塩素酸（遊離塩素濃度 0、5、10、100、200ppm）に 1 時間感作させた後に菌数測定を実施した。その結果、10ppm までは一般生菌の生存が認められたが、50ppm 以上の濃度では菌の生存が確認できなかった（表 13）。

表 13 配水パイプの薬剤効果試験結果

## 標準寒天(好気培養)

| 遊離塩素濃度 (ppm)                       | 0                   | 5                   | 10                  | 50   | 100  | 200  |
|------------------------------------|---------------------|---------------------|---------------------|------|------|------|
| ATP値                               | 443                 | 190                 | 121                 | 136  | 51   | 29   |
| 一般生菌数<br>(cfu/34cm <sup>2</sup> )* | 3.0×10 <sup>5</sup> | 1.0×10 <sup>5</sup> | 2.2×10 <sup>3</sup> | <100 | <100 | <100 |

\*パイプ長さ5cm(34cm<sup>2</sup>)あたりの菌数

## 血液寒天(微好気培養)

| 遊離塩素濃度 (ppm)              | 0                   | 5                   | 10                  | 50   | 100  | 200  |
|---------------------------|---------------------|---------------------|---------------------|------|------|------|
| (cfu/34cm <sup>2</sup> )* | 7.0×10 <sup>5</sup> | 1.3×10 <sup>5</sup> | 2.3×10 <sup>3</sup> | <100 | <100 | <100 |

\*パイプ長さ5cm(34cm<sup>2</sup>)あたりの菌数

# ○ バイオフィーム形成試験

96 ウェルプレートに X 農場および M 農場の飲用水を分注し、25℃で培養した。陰性コントロールには、菌を接種していないものを置いて同様に測定した。文献データ (O' Toole and Kolter, 1998) に基づき、バイオフィーム形成能がない菌株の吸光度が 0.1 以下であることから、0.1 以上の吸光度を示す場合を陽性と判定した。X 農場の飲用水は約 3 か月、M 農場の飲用水は約 2 か月にわたって培養・観察したが、バイオフィームは形成されなかった。

次に、M 農場飲用水、S 農場飲用水、M 農場配水パイプふき取り PBS、S 農場配水パイプふき取り PBS をそれぞれペプトン水 (BPW) およびミューラーヒントンブロス (MHB) で 25℃ および 37℃で 1～14 日間培養した。その結果、BPW または MHB に M 農場飲用水を加えることによってバイオフィームが形成されることが示された（表 14）。

表 14 バイオフィルム形成試験結果

| 農場  | 試験水          | 増菌培地 | 培養温度 | 培養期間  |       |       |       |       |       |       |
|-----|--------------|------|------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
|     |              |      |      | 1日目   | 2日目   | 3日目   | 4日目   | 7日目   | 10日目  | 14日目  |
| M農場 | 飲用水          | BPW  | 37℃  | 0.111 | 0.173 | 0.567 | 0.164 | 0.141 | 0.064 | 0.065 |
|     | 配水パイプふき取りPBS |      |      | 0.014 | 0.019 | 0.016 | 0.007 | 0.011 | 0.005 | 0.007 |
|     | 飲用水          | MHB  |      | 0.028 | 0.025 | 0.323 | 0.620 | 0.073 | 0.053 | 0.218 |
|     | 配水パイプふき取りPBS |      |      | 0.015 | 0.016 | 0.013 | 0.004 | 0.010 | 0.005 | 0.004 |
| S農場 | 飲用水          | BPW  |      | 0.017 | 0.019 | 0.015 | 0.004 | 0.011 | 0.006 | 0.004 |
|     | 配水パイプふき取りPBS |      |      | 0.017 | 0.019 | 0.015 | 0.003 | 0.011 | 0.006 | 0.004 |
|     | 飲用水          | MHB  |      | 0.015 | 0.019 | 0.013 | 0.005 | 0.013 | 0.008 | 0.005 |
|     | 配水パイプふき取りPBS |      |      | 0.013 | 0.017 | 0.022 | 0.012 | 0.008 | 0.006 | 0.001 |
| M農場 | 飲用水          | BPW  | 25℃  | 0.085 | 0.141 | 0.237 | 0.092 | 0.043 | 0.016 | 0.012 |
|     | 配水パイプふき取りPBS |      |      | 0.017 | 0.013 | 0.013 | 0.002 | 0.007 | 0.004 | 0.003 |
|     | 飲用水          | MHB  |      | 0.096 | 0.053 | 0.300 | 0.043 | 0.324 | 0.128 | 0.145 |
|     | 配水パイプふき取りPBS |      |      | 0.015 | 0.013 | 0.012 | 0.007 | 0.013 | 0.031 | 0.011 |
| S農場 | 飲用水          | BPW  |      | 0.016 | 0.014 | 0.013 | 0.010 | 0.008 | 0.003 | 0.005 |
|     | 配水パイプふき取りPBS |      |      | 0.014 | 0.013 | 0.011 | 0.009 | 0.056 | 0.011 | 0.006 |
|     | 飲用水          | MHB  |      | 0.011 | 0.014 | 0.013 | 0.004 | 0.010 | 0.006 | 0.012 |
|     | 配水パイプふき取りPBS |      |      | 0.016 | 0.013 | 0.011 | 0.003 | 0.008 | 0.014 | 0.007 |

(単位は OD<sub>600</sub>)

#### ※15 配水パイプの洗浄および消毒試験

1 農場（M 農場）において、1 鶏舎で使用された配水パイプを用い、以下のとおり洗浄・消毒試験を実施した。薬剤には生産者が使用した経験のある汎用重質洗浄剤（非イオン性界面活性剤、両性界面活性剤、苛性ソーダなどを含有）と塩素系消毒薬を選別した。

○試験 日：平成 27 年 11 月 24 日～25 日

○試 料：使用済パイプ（全長 3 m、直径 1.7 cm のものが計 7 本：P-1～P-7）

|                                             |                 |               |
|---------------------------------------------|-----------------|---------------|
| 洗浄前                                         |                 | ×2 本 (P-1, 2) |
| 汎用重質洗浄剤洗浄のみ                                 | 汎用重質洗浄剤 100 倍希釈 | ×1 本 (P-3)    |
|                                             | 汎用重質洗浄剤 50 倍希釈  | ×1 本 (P-4)    |
| 汎用重質洗浄剤洗浄→塩素系消毒薬（タンク内遊離塩素濃度<br>濃度 450ppm）処理 |                 |               |
|                                             | 汎用重質洗浄剤 100 倍希釈 | ×1 本 (P-5)    |
|                                             | 汎用重質洗浄剤 50 倍希釈  | ×2 本 (P-6, 7) |

#### ○試験手順

- ① 給水パイプ内の水を排水（採水、採パイプ）し、自動投薬配合器を使用して汎用重質洗浄剤 100 および 50 倍希釈液を充填させ、一晩放置。
- ② 汎用重質洗浄剤の泡がなくなるまで通水（約 10 分間）後、採パイプ。
- ③ 塩素系消毒薬を流下処理（処理開始時採水）、処理 1 h 後に採パイプ。

#### ○パイプ処理

- ① 試料パイプ 1 本につき長さ 5 cm×5 個カット
- ② パイプ内部を滅菌ガーゼで拭い、ストマッカー袋へ（PBS 50 ml 入り）
- ③ PBS で希釈し、標準寒天培地に 100  $\mu$ l ずつ塗抹、37℃培養
- ④ 2 日後に一般生菌数を測定

試験の結果、汎用重質洗浄剤単独では洗浄前と比べて菌数にほとんど変化がみられなかったが、塩素系消毒薬と併用すると、菌数が著しく減少した（図 9）。ただし、併用時に塩素系消毒薬を送るポンプが傷んだため、引き続き実用可能な条件を検討する必要がある。

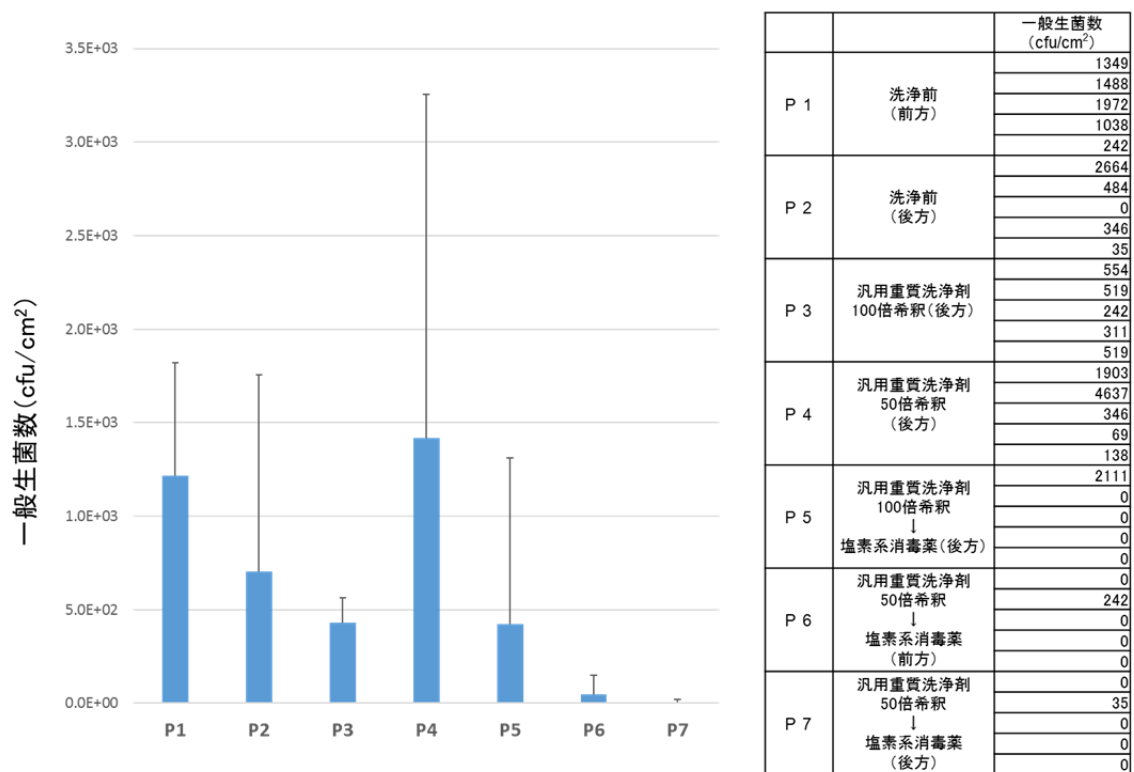


図9 鶏舎給水パイプ 汎用重質洗浄剤・塩素系消毒薬効果確認試験結果