※11 S農場における自動投薬配合器の検証実験

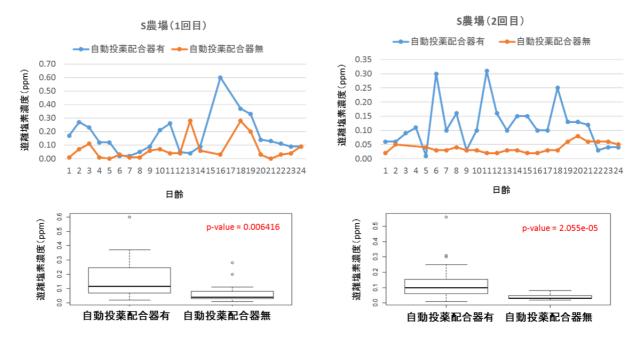


図6 自動投薬配合器使用の有無による鶏舎内飲用水中の遊離塩素濃度の継時的変化と平均農度の比較

※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

	目的変数	
説明変数	鶏舎内飲用水からの	— 決定係数
	大腸菌の分離(cfu/ml)	
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

		目的変数
	説明変数	 鶏舎内飲用水からの
		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) × 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) × 鶏舎内飲用水中の遊離塩素濃度(ppm)	***
決定係数		0.97

^{*:} p <0.05, **: p <0.01, ***: p <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

	目的変数	
説明変数	盲腸便からサルモネラが検	決定係
武	出された一鶏舎当たりの羽	数
	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	NS	0.03
無)	No	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 < 0.05, **: p < 0.01, ***: p < 0.001, NS: not significant

		目的変数
	説明変数	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) × 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) × 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) × 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。

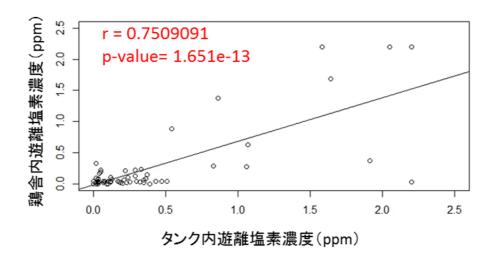


図 7-1 タンク内飲用水と鶏舎内飲用水における遊離塩素濃度の相関分析および 回帰分析結果

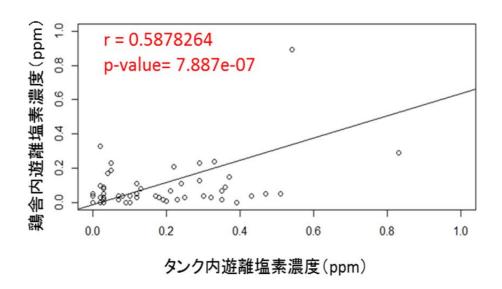
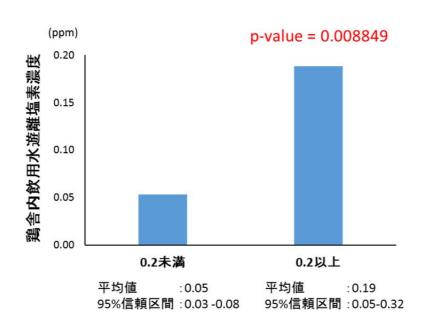


図 7-2 タンク内飲用水と鶏舎内飲用水における遊離塩素濃度の相関分析および 回帰分析結果 (1.0ppm 以下)



タンク内飲用水の遊離塩素濃度(ppm)

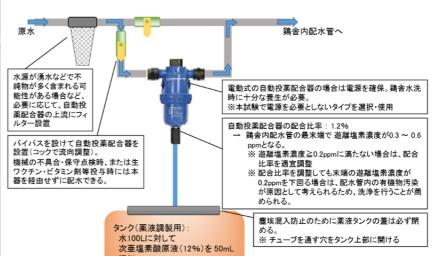
図 7-3 タンク内飲用水遊離塩素濃度 0.2ppm 未満とタンク内飲用水遊離塩素濃度 0.2ppm 以上における鶏舎内飲用水遊離塩素濃度の比較

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)に関するプロトコールを提案する(図 8-1 $\sim 8-2$)。

自動投薬配合器を使用した消毒例





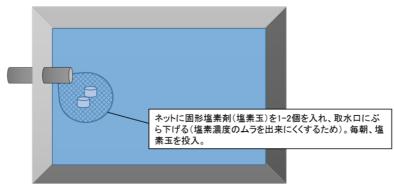


→ 遊離塩素濃度 約6.0 ppm

図8-1 自動投薬配合器使用に関するプロトコール。 (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



※上から見たタンク 実際には、タンク上面には蓋がある

図8-2 塩素玉使用に関するプロトコール

(M農場(約1 m³タンク、通過水量は最大21 m³/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 /cm² 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^2			35 cm^2	
ATP値	58	31	46	15	16	17
一般生菌数 (cfu/34cm ²) (cfu/35cm ²)	4.2x10 ⁴	4.0x10 ⁴	3.7x10 ⁴	1.4×10 ⁴	1.4x10 ⁴	7.5x10 ³
カンピロハ・クタ-		(-)			(-)	
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)

<u> </u>	<u> </u>					
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 (cfu/34cm²)*	3.0x10 ⁵	1.0x10 ⁵	2.2x10 ³	<100	<100	<100

*パイプ長さ5cm(34cm²)あたりの菌数

血液寒天(微好気培養)

	/ J / V / D 1/2 /					
遊離塩素濃度(ppm)	0	5	10	50	100	200
(cfu/34cm²)*	7.0x10 ⁵	1.3x10 ⁵	2.3x10 ³	<100	<100	<100

*パイプ長さ5cm(34cm²)あたりの菌数

○ バイオフィルム形成試験

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 (0' Toole and Kolter, 1998) に基づき、バイオフィル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、バイオフィル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° C および 37° Cで $1 \sim 14$ 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ル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							
辰场	武為火八	垣图	占食	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°C	0.111	0.173	0.567	0.164	0.141	0.064	0.065
	配水パイプふき取りPBS	BPW		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	MILIP		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	DPW		0.017	0.019	0.015	0.003	0.011	0.006	0.004
	飲用水	МНВ		0.015	0.019	0.013	0.005	0.013	0.008	0.005
	配水パイプふき取りPBS	MILIP		0.013	0.017	0.022	0.012	0.008	0.006	0.001
M農場	飲用水	BPW	25°C	0.085	0.141	0.237	0.092	0.043	0.016	0.012
	配水パイプふき取りPBS	DFW		0.017	0.013	0.013	0.002	0.007	0.004	0.003
	飲用水	МНВ		0.096	0.053	0.300	0.043	0.324	0.128	0.145
	配水パイプふき取りPBS	МПР		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	BPW		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	MHR		0.016	0.013	0.011	0.003	0.008	0.014	0.007

(単位は OD₆₀₀)

※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

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)

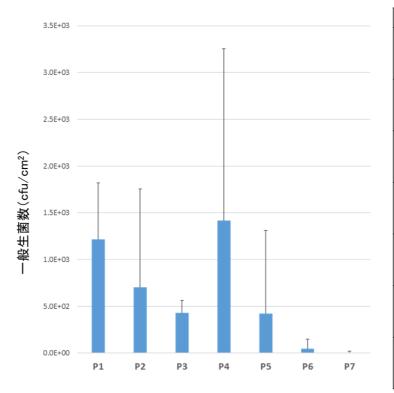
○試験手順

- 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1h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 μl ずつ塗沫、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。



P 1			
P 1 洗浄前 (前方) 1349 1488 1972 P 2 洗浄前 (後方) 2664 484 484 (後方) P 3 洗净前 (後方) 346 35 554 31 519 311 519 311 519 311 50倍希釈 (後方) P 4 八用重質洗浄剤 50倍希釈 (後方) 1903 4637 346 69 1388 346 69 N用重質洗浄剤 100倍希釈 (後方) 2111 0 100倍希釈 0 1388 0 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1			一般生菌数
P 1 洗净前 (前方) 1972 1038 242 2664 2664 3464 (後方) P 2 洗净前 (後方) 36 35 554 35 35 35 35 36 31 31 31 31 31 31 31 31 31 31 31 31 31			
P 1 洗浄前 (前方) 1972 1038 242 2664 484 484 (後方) P 2 洗浄前 (後方) 0 335 554 35 35 35 35 35 35 31 31 31 31 31 31 31 31 31 31 31 31 31			
P 1 (前方) 19/2 1038 242 2664 484 484 484 484 35 554 35 554 311 519 100倍希釈(後方) 311 519 4637 50倍希釈 346 69 138 311 100倍希釈 (後方) 69 138 311 50倍希釈 0 14素系消毒薬(後方) 0 138 2111 100倍希釈 0 14素系消毒薬(後方) 0 14素系消毒薬(後方) 0 14素系消毒薬(前方) 0 14素系消毒薬 0 150倍希釈 1506		洗浄前	
P 2 洗净前 (後方) 242 2664 484 484 (後方) P 3 洗净前 100倍希釈(後方) 346 519 242 311 519 311 50倍希釈 (後方) P 4 汎用重質洗净剤 50倍希釈 (後方) 1903 4637 346 69 1388 2111 100倍希釈 0 塩素系消毒薬(後方) 2111 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0	P 1		
P 2 洗净前 (後方) 2664 484 484 0 A84 (後方) 242 35 554 554 559 311 519 311 519 311 50倍希釈 (後方) P 4 八用重質洗净剤 50倍希釈 (後方) 1903 4637 346 (後方) A637 69 138 2111 100倍希釈 0 4素系消毒薬 (前方) 2111 0 0 0 0 0 0 A637 69 138 2111 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0			
P 2 洗净前 (後方) 484 0 335 以用重質洗净剤 100倍希釈(後方) 554 242 以用重質洗净剤 50倍希釈 (後方) 1903 4637 以用重質洗净剤 50倍希釈 100倍希釈 1 塩素系消毒薬(後方) 2111 以用重質洗净剤 50倍希釈 1 塩素系消毒薬 0 塩素系消毒薬 0 塩素系消毒薬 0 1 塩素系消毒薬 0 1 0 242 242 242 242 242 243 244 245 以用重質洗净剤 50倍希釈 242 242 243 244 245 245 246 247 247 247 247 248 248 248 248 249 249 249 249 249 249 249 249 249 249			
P 2 (後方) 346 35 35 35 36 37 38 38 38 39 39 30 311 311 311 311 311 311 311 311 311			
P 2 (後方) 346 355 351 368 369 375 375 376 376 376 377 377 378 378 378 378 378 378 378 378		洗浄前	
346 355 355 355 355 359 355 359 355 359 355 35	P 2		
19 100倍希釈 (後方) 242 100倍希釈 (後方) 243 100倍希釈 (後方) 311 519 1903		(27)	
P 3 汎用重質洗浄剤 100倍希釈(後方) 519 242 311 519 1903 16 条形 (後方) 別用重質洗浄剤 50倍希釈 346 (後方) 69 138 2111 100倍希釈 1 4 5 5 6 6 条形 242 1 5 6 6 条形 242 1 5 6 6 6 6 6 6 6 6 6 6 6 6 6 6 6 6 6 6			
P 3 100倍希釈(後方) 242 311 519 1903 4637 346 (後方) 69 138 2111 100倍希釈 0 138 2111 100倍希釈 0 138 2111 100倍希釈 0 138 211 100倍希釈 0 138 242 100 100倍希釈 0 138 242 100 100 100 100 100 100 100 100 100 10			554
311 519 1903 1903 1903 1903 1903 1903 1903 1905			519
P 4 次用重質洗浄剤 50倍希釈 (後方) 1903 4637 346 (後方) 取用重質洗浄剤 100倍希釈 1 2111 0 100倍希釈 1 塩素系消毒薬 (約方) 0 1 取用重質洗浄剤 50倍希釈 (前方) 0 242 0 1 242 0 1 243 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0	P 3	100倍希釈(後方)	242
P 4 1903 50倍希釈 (後方) 1903 4637 346 69 138 N,用重質洗净剤 100倍希釈 1 塩素系消毒薬 (核方) 2111 0 100倍希釈 1 0 100倍希釈 1 0 1006 1006 1006 1006 1006 1006 1006			311
P 4 次 50倍希釈 50倍希釈 (後方) 346 69 138 2111 100倍希釈 100倍希釈 1 0 塩素系消毒薬(後方) 0 汎用重質洗浄剤 50倍希釈 1 0 上 2 0 八用重質洗浄剤 50倍希釈 50倍希釈 50倍希釈 35 0 上 2 0 上 3 0 上 4 0 上 3 0 上 4 0 上 5 0 上 5 0 上 7 0			519
P 4			1903
P 4 (後方) 69 138 2111 100倍希釈			4637
P 5	P 4		346
P 5		(15万)	69
P 5 汎用重質洗浄剤 100倍希釈 0 1 2 2 2 2 2 2 2 2 2 2 2 2 2 2 2 2 2 2			138
P 5		an en elle siste ad. alte skul	2111
日本 0 塩素系消毒薬(後方) 0 以用重質洗浄剤 0 50倍希釈 242 塩素系消毒薬 0 (前方) 0 以用重質洗浄剤 0 50倍希釈 35 日 1 塩素系消毒薬 0			0
日本	P 5	100倍布状	0
1 0 1 0 50倍希釈 242 2 0 塩素系消毒薬 (前方) 0 1 0 1 0 50倍希釈 35 1 0 塩素系消毒薬 0		↓	0
P6 242 1 0 塩素系消毒薬 (前方) 0 汎用重質洗浄剤 50倍希釈 35 35 上 0 1 塩素系消毒薬 0 0		温茶ボ川毒栄(仮刀)	0
P 6 1 0 塩素系消毒薬 (前方) 0 汎用重質洗浄剤 50倍希釈 35 L 塩素系消毒薬 0		汎用重質洗浄剤	0
塩素系消毒薬 (前方) 0 汎用重質洗浄剤 50倍希釈 35 上 塩素系消毒薬 0		50倍希釈	242
(前方) 0 汎用重質洗浄剤 0 50倍希釈 35 1 0 塩素系消毒薬 0	P 6	1	0
汎用重質洗浄剤 0 50倍希釈 35 P 7 1 塩素系消毒薬 0		塩素系消毒薬	0
汎用重質洗浄剤 0 50倍希釈 35 P7 ↓ 0 塩素系消毒薬 0		(前方)	
50倍希釈 35 P7 L 0 塩素系消毒薬 0		汎用重管洗涤剤	
P 7 ↓ 0	P 7		
塩素系消毒薬 0		1	
		塩素系消毒薬	
		(後方)	

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