

博 士 論 文

抗菌性物質を使用しない飼育管理による肉用鶏
農場でのサルモネラ汚染防止技術に関する研究

平成 2 2 年 3 月

三重大学大学院生物資源学研究所

巽 俊 彰

(三重県畜産研究所)

目 次

	頁
略語一覧	6
第1章 緒論	
第1節 研究の背景	7
第2節 サルモネラ汚染防止技術に関するこれまでの研究	9
第3節 研究の目的	13
第2章 競合排除製品による鶏腸管内 <i>Salmonella</i> Enteritidis に対する 作用効果	
第1節 各種資材との複合投与が競合排除製品による鶏腸管内 <i>Salmonella</i> Enteritidis に及ぼす影響	
1. 緒言	16
2. 材料と方法	17
3. 結果	20
4. 考察	22
5. 要約	24
第2節 競合排除製品とフマル酸の複合投与が鶏腸管内 <i>Salmonella</i> Enteritidis に及ぼす影響	
1. 緒言	30
2. 材料と方法	30
3. 結果	32
4. 考察	34

5. 要約	38
-------	----

第 3 節 床面の形状や敷料の違いが競合排除製品とフマル酸の複
合投与による *Salmonella* Enteritidis の水平感染に及ぼす影
響

1. 緒言	44
2. 材料と方法	45
3. 結果	49
4. 考察	52
5. 要約	56

第 3 章 天然物由来資材の投与による鶏腸管内 *Salmonella* Enteritidis
に対する作用効果

第 1 節 微生物資材の飼料添加が肉用鶏の鶏腸管内 *Salmonella*
Enteritidis 抑制効果および生産性に及ぼす影響

1. 緒言	61
2. 材料と方法	63
3. 結果	66
4. 考察	68
5. 要約	70

第 2 節 サトウキビ抽出物の飼料添加が肉用鶏の鶏腸管内
Salmonella Enteritidis 抑制効果および生産性に及ぼす影響

1. 緒言	77
2. 材料と方法	78

3. 結果	82
4. 考察	83
5. 要約	86

第4章 噴霧消毒による鶏舎内細菌数の低減効果

第1節 新規消毒資材の浸漬および噴霧による消毒効果の検討

1. 緒言	95
2. 材料と方法	97
3. 結果	100
4. 考察	101
5. 要約	105

第2節 中性次亜塩素酸水の噴霧と床面形状が鶏舎内落下細菌数と生産性に及ぼす影響

1. 緒言	111
2. 材料と方法	113
3. 結果	116
4. 考察	119
5. 要約	123

第3節 陰圧横断換気方式無窓平床鶏舎における塩化ジデシルジメチルアンモニウム製剤の噴霧が空中浮遊細菌に及ぼす影響

1. 緒言	135
2. 材料と方法	136

3. 結果	139
4. 考察	140
5. 要約	142

第 5 章 石灰を用いた鶏舎環境細菌数の低減効果

第 1 節 *Salmonella* Enteritidis 汚染鶏糞の石灰処理効果

1. 緒言	148
2. 材料と方法	149
3. 結果	150
4. 考察	152
5. 要約	154

第 2 節 消石灰懸濁液塗布を取り入れた消毒方法による鶏舎内細菌数低減効果

1. 緒言	161
2. 材料と方法	161
3. 結果	162
4. 考察	162
5. 要約	164

第 6 章 総合考察

要 約	175
-----	-----

謝 辞	178
-----	-----

英文要約	180
引用文献	183
論文目録	199

略語一覧

本文において使用する主な略語を以下に示す

BA : *Brucella abortus*; ブルセラ・アボルタス

CE : Competitive exclusion; 競合排除

CFU : Colony forming unite; コロニー数 (単位)

CP : Crude protain; 粗蛋白質

DDAC : Didecyl dimethyl ammonium chloride; 塩化ジデシルジメチルアンモニウム

DTH : Delayed type hypersensitivity; 遅延型過敏反応

GP センター : Grading and Packaging Center; 鶏卵選別・包装施設

HYG : human gamma globulin; ヒトガンマーグロブリン

in vitro: 生体外試験

in vivo: 生体内試験

MRSA : Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*; メシチリン耐性黄色ブドウ球菌

ME : Metabolizable emergy; 代謝エネルギー

pH : Hydrogen ion exponent; 水素イオン濃度

SCE : Sugar cane extract; サトウキビ抽出物

SE : *Salmonella* Enteritidis; サルモネラ・エンテリティディス

SRBC : Sheep red blood cells; ヒツジ赤血球

ST : *Salmonella* Typhimurium; サルモネラ・ティフィムリウム

VFA : Volatile fatty acids; 揮発性脂肪酸

ZME : 2-mercaptoethanol; 2-メルカプトエタノール

第 1 章 緒 論

第 1 節 研究の背景

1. 国内および三重県におけるサルモネラ食中毒の発生状況

1) サルモネラ食中毒の国内発生状況

Salmonella Enteritidis (SE) による食中毒が、英国では 1984 年頃から、米国では 1985 年頃から、そしてわが国ではフランス、ドイツ、イタリア、オランダなどとともに 1989 年頃から増加傾向がみられており (ALLEN H. 1994; 佐藤 1994)、食品衛生上の大きな問題となっている (伊藤 1995; 村瀬 1994; 中村 1994; 佐藤 1991a; 佐藤 1991b; 佐藤 1994)。わが国におけるサルモネラによる食中毒患者数は、1992 年～2007 年の 16 年間で、1998 年、2000 年、2006 年を除いて、細菌性食中毒の第 1 位であり、その原因食材として鶏卵・鶏肉によるものが多いと指摘されている (病原微生物検出情報)。一方、年間の発生件数は 1996 年～2003 年は 350 件～825 件であったものが 2004 年～2007 年は 225 件以下となり、患者数も 4,912 人～16,576 人であったものが 3788 人以下と減少傾向を示したが、現在横ばいに転じている。

2) サルモネラ食中毒の県内発生事例

サルモネラ食中毒は、しばしば患者数等において規模が大きいことが特徴として挙げられる。三重県では、1991 年に発生したサルモネラ食中毒事件では、喫食者 600 名のうち、患者数 420 名の発生があった給食事件が集団発生では初発で、原因食材は卵焼きであると推定された。1993 年～1994 年に桑名保健所管内で 3 件の SE 食中毒事件が発生した。喫食者 53 名のうち患者数 38 名の飲食店の事例では、原因食材として鶏卵を使用した非加熱食品である自家製マヨネーズ

が原因食材として推定された。2例目は、喫食者 1,563 名のうち患者数 1004 名の仕出し弁当の事例で、原因食材として卵うどんが特定された。この事例では、卵うどんを作る際に前日に割卵して保管した条件が不適切であったために SE が増殖したこと、調理課程での加熱が不十分で、配送までの保存が常温であったことが、SE を増殖させたためと推察された。3例目は、喫食者 129 名のうち患者数 92 名の飲食店での事例で、原因食材は特定できなかったが、調理台と冷蔵庫内から SE が検出されたことから調理器具を介しての二次感染が疑われた。また、患者便から 2 例目と同じ phage type の SE が検出され、使用した鶏卵の流通も 2 例目と同じであったことから、同じ生産者の鶏卵の関与が示唆された。ちなみに事例 2 および 3 で使用した鶏卵の生産地は三重県外であると考えられた（三重県桑名保健所 1997）。

2. 国内および三重県における養鶏場でのサルモネラ症発生状況

1) 鶏のサルモネラ症国内発生状況

国内では 1988 ～ 1989 年に英国から輸入されたブロイラー種鶏の検査中に SE によるサルモネラ症が発生し、その一部が抗菌性物質投薬治療後開放され、その後まもなくコマーシャル農場で SE 感染症が発生した（佐藤静夫 2003）。都道府県からの家畜伝染病発生報告を農林水産省が取りまとめた家畜衛生週報によると、1999 年から 2008 年の 10 年間に於いて鶏のサルモネラ症（*Salmonella* Enteritidis および *Salmonella* Typhimurium が原因菌となる疾病）の発生は、わずかに農家戸数 16 戸、発生羽数 1,594 羽で、三重県では 2004 年 6 月に 1 戸 7 羽の発生が認められた。また、全国規模でのサルモネラ浸潤調査は実

施されていないので、実態の把握は困難である。なお、1997年に岩手県内の肉用鶏農場319戸の3,190羽の盲腸便からのサルモネラ検出率は56.1%（平賀ら1998）、1998年に愛知県内の4処理場の鶏肉のサルモネラ検出率は35.2%（石原ら2000）であったとの報告がある。

2) 三重県内の肉用鶏農場におけるサルモネラの浸潤状況およびSE汚染事例

三重県内の肉用鶏農場でのサルモネラの浸潤状況を把握する目的で、1989年8月～9月に61戸中27戸(44.3%)において30日齢から出荷までの肉用鶏43群からクロアカスワブ（鶏の総排泄腔から採取した直腸便）を1群あたり10羽から採材し、サルモネラの検出を行った。その結果、27戸43群のうち、3戸(11.1%)、3群(7.0%)からサルモネラが検出された（安藤ら1991）。

また、三重県内の肉用鶏農場でのSE汚染事例としては、2004年6月9日にA孵化場から導入した肉用鶏雛が導入直後から元気消失、下痢等の症状を示したSEによるサルモネラ症を発症し、導入雛は全て淘汰する事例が発生した。その直後の調査において、A孵化場から肉用鶏雛を導入した他の2農場でもSEを検出したほか、同年10月28日にA孵化場から導入した他の1農場からSEを検出した（伊藤ら2005）。

第2節 サルモネラ汚染防止技術に関するこれまでの研究

1998年に鶏病研究会が安全な鶏卵・鶏肉の生産・流通のためのサルモネラ対策を目的に、鶏のサルモネラ症の性状、検査方法、養鶏場や鶏卵選別・包装施設（Grading and Packaging Center：GPセンター）での衛生対策等について、わが国のみならず、欧米での既報の内容

をもとに、「鶏卵・鶏肉のサルモネラ全書」を発行した。この背景には、1989年以降急増したSEを原因とする食中毒が衰えを見せず、その原因食材のひとつである鶏卵・鶏肉の安全な食品としての信頼性の損失、さらには鶏卵・鶏肉の消費減退を危惧する生産者・流通業者の危機感が伺われる。なお、その後も精力的に研究が進められており、肉用鶏農場におけるサルモネラ汚染防止技術に関するこれまでの主な技術的成果には、抗菌性物質、競合排除法、各種有用資材の飼料添加、鶏舎内消毒による方法があり、その内容は以下のとおりである。

1. 抗菌性物質

抗菌性物質とは、細菌や寄生虫などによる疾病の予防・治療を目的に使用する薬剤である。抗菌性物質の投与は、サルモネラ感染による初生雛の敗血症死を阻止でき、損耗率の低減には効果的である（佐藤 1969）。しかし、サルモネラ感染雛に有効な抗菌性物質であるオキシテトラサイクリンを添加した飼料を給与しても同居雛への伝搬を完全には阻止できない（Jarolmenら 1976）。また、ニューキノロン製剤をサルモネラ感染雛に飲水投与すると投与中は糞便中への排泄がみられなくなるが、投薬中止後、再び排菌がみられるようになったと報告されている（Guillotら 1992）。さらに、SE汚染防止に抗菌性物質を使用した場合、使用した抗菌性物質に対して耐性化する恐れがあり、耐性化したSEが食中毒の原因となった場合は、患者に抗菌性物質を投与しても満足な治療効果を得ることができず、重大な問題になる恐れがあることから、その使用には十分な配慮が必要となる（小島 2004）。このように、抗菌性物質によるサル

モネラ防除効果は完全ではなく、腸内有用細菌の減少が感染を長期化させることや排菌量を増加させること、さらには鶏卵・鶏肉への薬剤の残留や薬剤耐性菌の出現など人の健康に関わる内容も含め様々な問題点が指摘されており、サルモネラ症の防除に抗菌性物質を常用する状況にはない（中村 1995）。

2. 競合排除 (CE) 法

競合排除 (Competitive exclusion ; CE) 法は、成鶏の盲腸内容あるいはその嫌気性培養物、すなわち正常盲腸内細菌叢を餌付け前の雛に投与して、腸管内でのサルモネラの定着・増殖を抑制するという方法で、1973年にフィンランドの Nurmi らによって開発された (Nurmi, E. and Rantala, M. 1973)。現在、諸外国でも種々の製品が使用されており、わが国でも数種類の製品が販売され、使用されている。CE法の原理としては、1)有用細菌叢とサルモネラの腸管粘膜における定着と栄養分摂取の競合、2)有用細菌叢が生産する抗菌性物質によるサルモネラ増殖抑制効果等の仮説がたてられている (鶏病研究会 1998c)。CE法はサルモネラ汚染のない孵化場から導入した清浄な雛が、飼料や環境から汚染されるのを防ぐための方法であり、成長後期には作用が減弱することが考えられる。また、サルモネラの経口感染に対しては有効であるが、サルモネラ汚染が広く蔓延した農場で生じやすい気道感染に対する効果は期待できない (鶏病研究会 1998c)。

3. 各種有用資材の飼料添加による方法

腸内細菌叢を改善することで、健康維持に貢献するプロバイオテ

イクスやプレバイオティクスを飼料添加して鶏に給与する方法がサルモネラ対策としても検討されている。

深田ら（1995）は、飼料に添加したオリゴ糖がサルモネラの腸管内定着に及ぼす効果を検討した結果、その効果はわずかであると報告している。また、飼料に添加したデキストラン発酵副産シロップのサルモネラ腸管内定着抑制効果を検討したところ、無添加飼料に比べその効果が有意に認められたが、完全に消滅させることはできなかったと報告している（深田ら 1999）。

4. 鶏舎内消毒

消毒とは、病原微生物を殺すこと、または病原微生物の能力を減退させ病原性をなくすことである。サルモネラを対象とした鶏舎内消毒では、サルモネラの殺滅を目的とする。サルモネラは乾燥した塵埃や糞便中などで比較的長期間生存し、鶏舎内に広く拡散し汚染するので、徹底した洗浄、消毒が重要である。鶏舎内のすべての鶏を出荷した（オールアウト）後の鶏舎は、念入りに清掃後、高圧洗浄ならびに擦り洗いで可能な限り有機物を除去してから、消毒液を十分に散布する。ウインドウレス鶏舎など密閉可能な施設では仕上げ消毒としてホルムアルデヒド燻蒸が可能であるが、人体への有害性が指摘されている（佐藤 2004）。また、サルモネラは空気中の塵埃や綿毛などに付着して鶏舎内や孵卵施設での汚染源になっている。空気イオン装置を応用することにより鶏舎あるいは孵卵施設内の塵埃や細菌数を数十%以上減少させることができる（佐藤 2004）が高価であり、鶏舎での実用性には疑問がある。

5. ワクチン

ワクチンとは、宿主に接種して特定の病原体に対して感染症を予防する医薬品のことである。現在、わが国において数種類の SE 不活化ワクチンが製品化され、採卵鶏および種鶏での使用が認可されている。SE 不活化ワクチンの効能・効果は「種鶏および採卵鶏の腸管における SE の定着軽減」であり、感染を防止することはできない。山田ら(1999)は、SE 不活化ワクチン接種区と無接種区を設定し、ワクチン接種後に SE をそ嚢内に接種した結果、排菌数、肝臓・脾臓・盲腸内容の SE 菌数においてワクチン接種区は無接種区に比べ有意に少なかったが検出されたと報告しており、臓器への侵襲性の抑制効果および腸管への定着抑制効果は認められたが、感染を防止することはできなかった。同様のことを村野ら(2000)も報告している。なお、SE 不活化ワクチンは、薬事法によりその使用が種鶏および採卵鶏に限定されていることから、肉用鶏のサルモネラ対策にはならない。

第3節 研究の目的

わが国の養鶏産業は、経営の省力化や鶏病対策などによる生産性向上に努めた結果、良質な鶏卵・鶏肉の安価な供給により国民の食生活や健康維持に大きく貢献している。一方、食中毒の原因菌であるサルモネラ菌、なかでも SE は、その原因食材として鶏卵を用いたものが多いと指摘されているが、鶏肉の関与が疑われる事例やブロイラー農場での SE 発生事例もあり、米国 (Kimura ら 2004)、英国 (Vet.Lab.Agency 2002)、オランダ、カナダ (Poppe ら 2000)、フランス (Rosa ら 1999) でもブロイラー群から SE が検出されていることか

ら、鶏肉の SE 汚染にも注意を払う必要があると指摘されている（中村 1996）。

これらの理由から鶏卵・鶏肉においては、流通・加工段階とともに生産段階である養鶏場での SE 汚染防止の取り組みが必要となっている。一方、この対策については過去に多くの研究が行われてきたものの、入雛から鶏卵・鶏肉の出荷、さらに次の入雛に至る養鶏場での生産工程全般における「SE 汚染防止を可能とする飼育管理」までには、未だに多くの解決すべき技術的課題が残されている。また、抗菌性物質の使用は、鶏への SE 感染を完全には阻止できないこと、さらに鶏卵・鶏肉への残留や家禽由来のサルモネラに多剤耐性菌が近年増加する傾向（兼子ら 1996；高橋 2003）があり、特に多剤耐性 ST DT104 による人獣感染症の増加が注目される（鮫島 2002，Barrow ら 2003）なか、鶏への抗菌性物質の使用を抑制する傾向にある。

そこで、本研究では、抗菌性物質を使用しない飼育管理による肉用鶏農場での SE 汚染防止技術の開発を目的に、人為的に SE を雛時に接種した SE 感染鶏を供試して、各種資材の経口投与ならびに床面形状等による鶏腸管内 SE 増殖に及ぼす影響、さらに消毒方法による飼育環境の清浄化に及ぼす影響について一連の研究を実施した。

第 2 章では、人為的に SE を経口接種した肉用鶏雛に対する競合排除製品単独、ならびに競合排除製品と各種資材の複合投与による腸管内 SE 増殖抑制効果を検討した。特に、フマル酸投与による効果が著しかったことから、飼料添加濃度および飼育環境（床面の形状や敷料）を違えて比較検討した。

第3章では、人為的にSEを経口接種した肉用鶏雛に対する各種微生物資材の投与による腸管内SE増殖抑制効果を検討した。さらに競合排除製品とサトウキビ抽出物の投与による腸管内SE増殖抑制効果を検討した。

第4章では、消毒資材として一定の効果が認められた中性次亜塩素酸水の噴霧による肉用鶏舎内の細菌数低減効果、および鶏舎床面の形状による影響について検討した。また、生産現場で使用できる資材として塩化ジデシルジメチルアンモニウム噴霧による空中浮遊細菌濃度の低減効果を検討した。

第5章では、石灰による鶏舎環境での細菌数の低減効果を明らかにするために、SEに汚染された敷料および鶏糞を対象に生石灰ならびに消石灰処理による殺菌効果を比較検討した。さらに、肉用鶏出荷後の鶏舎内において消石灰を用いた消毒方法による鶏舎内細菌数低減効果についても検討した。

第 2 章 競合排除製品による鶏腸管内 *Salmonella* Enteritidis に対する 作用効果

第 1 節 各種資材との複合投与が競合排除製品による鶏腸管内 *Salmonella* Enteritidis に及ぼす影響

緒 言

欧米では 1985 年以降、またわが国でも 1989 年から、*Salmonella* Enteritidis (SE) 汚染に起因するサルモネラ食中毒が急増し、食品衛生上の大きな問題となっている。病原微生物検出情報 (2003 ; 2008) によれば、サルモネラによる食中毒患者数は、1998 年、2000 年、2006 年を除いて、細菌性食中毒の原因の第 1 位であり、とくに SE を原因菌とする食中毒が最も頻発している。その原因食品のうち、鶏卵・鶏肉およびその加工品における SE 汚染が多いと指摘されていることから、流通・消費段階での SE 汚染防止対策とともに、養鶏場における SE 汚染防止を可能とする飼育管理技術の確立が望まれている。

従来、肉用鶏の生産段階では、抗菌性物質によるサルモネラ対策が一応の成果を挙げているものの、薬剤の残留、耐性菌の出現、腸内有用微生物の減少が感染を長期化させること、また排菌量を増加させる等、様々な問題点が指摘されている (中村 1995)。このため、競合排除 (Competitive Exclusion ; CE) 法や各種資材の飼料添加による方法が抗菌性物質に替わる方法として検討されている (深田ら 1994 ; 深田ら 1998 ; 深田ら 1999 ; 今井ら 1999 ; 今井ら 2000 ; 鶏病研究

会 1997；鶏病研究会 1998a；中村ら 2000；小野ら 1998）。CE法は、雛の腸内細菌叢を早期に形成させて有害微生物を競合的に排除する方法で、サルモネラ感染に対する有効な手段として注目されている（今井ら 1999；鶏病研究会 1998a；小野ら 1998）。また、各種資材による抑制効果について、清水ら（1995）は、フマル酸添加がグラム陰性菌に対して強い抗菌作用のあることを *in vitro* において確認し、*Salmonella* Typhimurium に対する発育阻止濃度は 0.2～0.3%(w/w)であったと報告している。また、乾燥酵母細胞壁は高分子多糖体の β -1-3 グルカンを含み、鶏貪食細胞を活性化して免疫力を高めることや、レクチンに対する特異的吸着性がサルモネラや大腸菌等有害細菌の腸管定着を阻害する働きのあることを田中ら（2001）が、さらにその主成分であるマンナンは腸内乳酸菌等の有用細菌の栄養素となりその増殖を助ける効果も期待できることを Gadd（1994）が報告している。その他、緑茶抽出物であるカテキンは抗酸化作用や幾つかの薬理作用が明らかにされており、特定の細菌やウイルスに対して増殖抑制効果のあることが原ら（1989）により報告されている。

本研究では、人為的に SE 感染させた肉用鶏に対する CE 製品の単一処理や CE 製品と各種資材（フマル酸、酵母細胞壁、カテキン）の複合処理が SE の鶏腸管内定着性や盲腸便中の排菌抑制に有効であるかどうかを検証した。また、非感染鶏を供試して、これらの抗 SE 処理が飼養成績や盲腸性状に及ぼす影響についても検討した。

材料と方法

1. 試験区の設定

SE非感染雛による飼養試験（試験1）とSE感染試験（試験2）は、褐色羽装の銘柄肉用鶏「伊勢赤どり」の雌初生雛を供試し、0～28日齢は自由採食、自由飲水の管理条件下で行った。供試雛は、対照区を除いて導入直後にCE製品（CEテクト：科学飼料研究所、1ドース分として6.25倍希釈液0.25ml）を1回強制経口投与した。試験区は、基礎飼料（Crude protein；CP 20%，Metabolizable energy；ME 3000kcal/kg、抗菌性物質無添加）のみ給与したCE区、基礎飼料にフマル酸（三井武田ケミカル株式会社）を1%添加したCE+1%フマル酸区、酵母細胞壁製品（YCW：田辺製薬株式会社）を0.5%添加したCE+0.5%酵母区、カテキン（ポリフェノン30：三井農林株式会社）を成分として0.07%添加したCE+0.07%カテキン区、CE製品無投与で基本飼料のみの対照区の計5区で行った。なお、CE製品は、SPF鶏の盲腸内容物をもとに製造し、きわめて安全性が高く、有用な腸内細菌群を豊富に含んでいると紹介されている。

2. 調査項目と試験方法

非感染雛を供試した飼養試験は、各試験区50羽を25～30℃の幼雛鶏舎内のバタリー型育雛器（ケージ床、面積1.76m²）内で群飼した。各試験区とも、生体重、飼料摂取量は全供試雛について、盲腸の長さ重量は平均体重に近い5羽を抽出して、それぞれ7、14、21、28日齢に調査した。同時に盲腸内容物を採材し、盲腸内容物のpHは、滅菌蒸留水で10倍希釈後、pHメーター（堀場製作所、pH METER F-13）にて、揮発性脂肪酸（Volatile fatty acids；VFA）である酢酸、プロピオン酸、n-酪酸、iso-吉草酸は、滅菌蒸留水で10倍希釈後、上清液0.99mlを取り、内部標準物質（250ppm 2Me-butyric acid（和光）in 0.3M Oxalic

acid (和光)) 0.11ml と混合，さらに同条件で遠心し，得られた上清をガスクロマトグラフィー（島津製作所，GC-7AG）にて，標準ガラス充填カラム（2m，5mmOD，3mlID，スペルコ，充填剤：80/120 Carboack B-DA/4% Carbowax 20M，スペルコ）を用い，温度は注入口が 200℃，検出口が 225℃，カラムが 175℃，キャリアガスは窒素 50ml/min，大気 0.5kg/cm²，水素 0.5kg/cm² の条件で分析した。

SE 感染試験は，各試験区 10 羽をバイオハザード実験施設内（ケージ床，面積 0.53m²）に群飼し，1 日齢時に全農家畜衛生研究所から分与された SE ZK-2a 株をそ嚢内に接種（ 2.5×10^6 CFU/羽）して行った。試験期間中，サーモスタット制御された電球を温源とする温度管理を行った（0～3 日齢：35℃以上，4～7 日齢：33℃以上，8～11 日齢：31℃以上，12～14 日齢：29℃以上，15～18 日齢：27℃以上，19～28 日齢：25℃以上）。また，盲腸便を含む糞便は毎日午後 3 時前後にケージ下のトレイから回収して処理した。盲腸便の採材はこの際に行った。なお，トレイは糞便回収後に洗浄し，滅菌処理したビニールシートで覆ったものを供試した。

盲腸便中の SE 検出は，1，7，10，14，17，21，24，28 日齢に，各試験区毎に 10 検体を綿棒で採材したものをを用いた。このうち，SE 検出率は，採取した盲腸便サンプルを SBG 基礎培地（日水製薬株式会社）で 37℃，24 時間増菌培養し，さらにその培養液 0.1ml を ES サルモネラ寒天培地（栄研化学株式会社）に塗布，37℃，24 時間培養した。その後，ES サルモネラ寒天培地上のコロニーをサンプリングし，これをサルモネラ免疫血清「生研」09 群の急速凝集反応によって凝集したコロニーを陽性と判定，その検体を陽性検体とし，陽性検体数を百分率 (%) で表わした。また，SE 菌数は各処理区 10 検

体の盲腸便を混合したサンプルを滅菌生理食塩水で10階段希釈し、各希釈液0.1mlをESサルモネラ寒天培地に塗布、37℃、24時間培養してコロニーが30～300個の平板について形状の異なるコロニー毎に5個をサルモネラ凝集反応に供して陽性となったコロニーと同一形状のコロニー数を測定し、算出した。

盲腸内容物と肝臓のSE菌数は、28日齢のと殺時に全羽から採取して個体別に上記の方法で測定した。

統計処理は、盲腸便中のSE菌数は二元配置分散分析法および最小二乗法、その他の項目は一元配置分散分析法および最小有意差法を用いて解析した(吉田 1978)。

結 果

非感染雛の飼養試験では、へい死した個体もなく良好に成長し、28日齢の平均生体重は対照区 871.1g, CE区 813.8g, CE + 1%フマル酸区 889.4g, CE + 0.5%酵母区 822.9g, CE + 0.07%カテキン区 821.2gで、各試験区間に有意差は認められなかった。また、各試験区の飼料要求率は1.71～1.84で、有意差は認められなかった。しかし、7日齢と14日齢における対照区の平均生体重は125.7g, 306.0g, CE区 141.1g, 328.1g, CE + 1%フマル酸区 146.5g, 334.5g, CE + 0.5%酵母区 138.1g, 332.8g, CE + 0.07%カテキン区 142.4g, 315.8gで、各CE処理区は対照区よりも高い傾向であった(表1)。

盲腸重量は、各CE処理区が対照区よりも21日齢まで重い傾向であった。盲腸の長さは、各CE処理区が対照区よりも28日齢まで長い傾向であり、特に7日齢ではCE+1%フマル酸区が、21日齢と28日

齢では CE 区と CE+0.07%カテキン区が対照区よりも、それぞれ有意 ($p<0.05$) に小さいことが認められた。また、7日齢の CE+1%フマル酸区の盲腸の長さは、対照区や他の CE 複合処理区よりも有意 ($p<0.05$) に大きかった (表 2)。盲腸内容物の pH, VFA 組成および濃度は、各試験区間に差は認められなかったが、7日齢と 14日齢の CE + 0.5%酵母区を除いた各 CE 処理区の総 VFA 濃度は、対照区よりも 21日齢まで高い傾向が認められた (表 3)。

盲腸便中の SE 検出率 (7 ~ 28日齢における 7回の平均値) は、対照区 94.3%, CE 区 72.9%, CE + 1%フマル酸区 74.3%, CE + 0.5%酵母区 90.0%, CE + 0.07%カテキン区 74.3%で、対照区よりも各 CE 処理区で低い傾向がみられた (表 4)。また、盲腸便中の SE 菌数は対数平均値で対照区 6.13, CE 区 5.31, CE+1%フマル酸区 3.18, CE+0.5%酵母区 4.15, CE+0.07%カテキン区 4.75 で、対照区よりも各 CE 処理区で低かった。特に、CE+1%フマル酸区は 7 ~ 17日齢まで 10^3 CFU/g 未満であったのに対して、対照区の SE 菌数は感染初期からほぼ $10^5 \sim 10^7$ CFU/g と高く推移した (表 4)。

一方、28日齢における盲腸内容物の SE 検出率は、対照区 90%, CE 区 80%, CE+1%フマル酸区 60%, CE+0.5%酵母区 70%, CE+0.07%カテキン区 90%で、各区とも盲腸内での SE 定着率が高く、試験区間に有意差は認められなかった。しかし、盲腸内容物の SE 菌数は、対照区で検体羽数の 70%が $<10^2$ CFU/g (検出限界未満)、20%が $<10^3$ CFU/g、10%が $<10^4$ CFU/g であったのに比べ、各 CE 処理区はすべて 10^2 CFU/g (検出限界) 未満であった (表 5)。なお、各試験区とも 28日齢の肝臓における SE 検出率は 0%であり、また肝臓・脾臓・心臓・小腸・盲腸の病理組織学的異常は認められなかった。

考 察

小野ら（1998）も報告しているとおおり，CE製品などの資材の投与が雛の増体や消化管形状に影響を及ぼすことは知られており，さらに資材の種類や飼料中の添加濃度によってその影響が異なることが想定される。そこで，SEの鶏腸管内増殖抑制効果が期待されるCE製品の投与ならびにフマル酸，酵母細胞壁，カテキンの飼料添加によるCE製品との複合投与による飼養成績や盲腸性状への影響ならびにSEの鶏腸管内増殖抑制効果について調査した。

非感染雛の飼養試験では，CE製品を投与した各CE処理区，とくにCE+1%フマル酸区で対照区よりも21日齢までの発育初期段階における増体や盲腸の発達に優れていることが観察された。このことは，各CE処理区におけるこの期間中の飼料摂取量が高かった（表1）ことと一致している。小野ら（1998）は，CE製品投与区は無投与区よりも7日齢体重は有意に小さいが，14日齢体重は有意に大きかったと報告している。また，20日齢以降においては，両区の体重や小腸長に有意差は認められなかったと報告している。一方，本研究では，各CE処理区の生体重が対照区と比べ14日齢まで大きい傾向があり，CE製品投与は初期の増体重に良い影響を与えることが示唆された。また，CE+1%フマル酸区は他の試験区に比べ28日齢までの生体重が重く，フマル酸の給与が初期の増体にさらに良い影響を与えることが示唆された。各CE処理区の盲腸重量，盲腸の長さが対照区よりも長い傾向が認められたことから，CE製品投与，さらにフマル酸やカテキンの給与が初期の飼料摂取量に好影響したことが初期生育にも良好な結果をもたらすものと示唆された。今後，

さらに CE 製品および各種資材がどのように作用しての結果であるか、検討される必要がある。

盲腸は下部消化管のなかでも微生物が最も生息している場所であり、その内容物中の VFA はこれら微生物の活性の指標と考えられる。光岡（1990）は、サルモネラの腸管感染に対する腸内細菌叢の防御機構は、高 VFA 濃度、低 pH、低酸化還元電位が重要であると報告している。本研究において、盲腸内容物の pH、VFA 組成や濃度は各処理区間に有意差は認められなかったものの、各 CE 処理区の総 VFA 濃度は対照区よりも 21 日齢まで高い傾向が認められた。これは、CE 製品を投与した場合、速やかに腸内細菌叢が定着し、腸内発酵が促進されたため、低 pH 条件が作り出される結果、サルモネラの盲腸内検出が低くなったと考えられる。光岡（1971）によると鶏の腸内細菌叢の確立は 3 週齢であること、また鶏卵・鶏肉のサルモネラ全書（1998b）によると肉用鶏のサルモネラ症は多くが 3 週齢頃までに発症することから、CE 製品投与により鶏の腸内細菌叢の確立を 3 週齢以前に早めることがサルモネラ対策に有望であることを理由づけた。

CE 製品の単一処理ならびに CE 製品とフマル酸、酵母細胞壁、カテキンとの複合処理は、盲腸内容物中の SE 菌数を減ずる効果が認められたことから、SE の鶏腸管内増殖を抑制する効果があると考えられた。今井ら（1999）は、4 種類の市販 CE 製品の SE 増殖抑制効果を検討して、盲腸内容物中の SE 菌数を有意に低めることを報告しており、これは本研究の結果と一致する。特に、盲腸便中の SE 菌数は CE+1%フマル酸区で最も低く、特に 7～17 日齢は 10^3 CFU/g 未満であり、盲腸便中の SE 増殖を抑制した。なお、盲腸内容物中の SE

検出率は、対照区、各 CE 処理区ともに高かったので、SE の盲腸内定着を完全に阻止するには至らないことも認められた。

以上のことから、鶏腸管内における SE 増殖は初生時の CE 製品投与によって抑制できることが認められた。また、鶏体外に排出された盲腸便中の SE 菌数を抑制する方法として、CE 製品投与と 1%フマル酸添加飼料の併用が有効であることが認められた。なお、これらの方法は、増体等の飼養成績に悪影響を与えなかった。

今後は、フマル酸の飼料への添加水準を検討するとともに、長期間の給与が飼養成績に及ぼす影響を検討し、抗菌性物質に頼らない鶏の腸管内 SE 増殖抑制技術を開発することが望まれる。

要 約

CE 製品の単一投与、ならびに CE 製品と各種資材（1%フマル酸、0.5%酵母細胞壁、0.07%カテキン）の複合投与が飼養成績や盲腸に及ぼす影響も検討した。その結果、CE 製品投与した各区は、CE 製品無投与の対照区に比べ生体重が 14 日齢まで重く、盲腸重量が 21 日齢まで重く、盲腸の長さが 28 日齢まで長く、盲腸内容物の総 VFA 濃度が 21 日齢まで高い傾向が認められた。同様に、SE 感染させた肉用鶏の盲腸便および盲腸内容物中の SE 検出率、SE 菌数に及ぼす影響を 1～28 日齢において検証した結果、鶏腸管内における SE 増殖は初生時の CE 製品投与によって抑制できることが認められた。また、鶏体外に排出された盲腸便中の SE 菌数を抑制する方法として、CE 製品投与と 1%フマル酸添加飼料の併用が最も有効であることが認められた。

表1. 競合排除製品と各種資材の複合投与が肉用鶏の飼養成績に及ぼす影響

	対照区 ¹⁾	CE区 ²⁾	CE+1%フマル酸区 ³⁾	CE+0.5%酵母区 ⁴⁾	CE+0.07%カテキン区 ⁵⁾
生体重 (g)					
7日齢	125.7±11.4 ⁶⁾	141.1±13.1	146.5±15.9	138.1±14.9	142.4±11.3
14日齢	306.9±23.4	328.1±24.6	334.5±55.9	332.8±33.3	315.8±26.5
21日齢	590.1±44.6	581.2±39.1	620.2±71.2	594.1±60.8	567.9±44.2
28日齢	871.1±72.2	813.8±62.8	889.4±106.7	822.9±88.8	821.2±84.9
飼料摂取量 (g/羽)					
0～7日齢	94.4	123.2	115.4	123.2	118.2
0～14日齢	436.1	515.2	577.2	530.6	494.1
0～21日齢	840.1	888.7	879.2	864.1	814.8
0～28日齢	1425.8	1412.5	1484.8	1445.3	1371.9
飼料要求量					
0～7日齢	1.11	1.21	1.08	1.25	1.15
0～14日齢	1.63	1.79	1.96	1.81	1.79
0～21日齢	1.53	1.64	1.51	1.56	1.54
0～28日齢	1.71	1.82	1.75	1.84	1.76

¹⁾CE製品無投与で無添加飼料給与区

³⁾CE製品投与で1%フマル酸添加飼料給与区

⁵⁾CE製品投与で0.07%カテキン添加飼料給与区
処理間に有意差なし

²⁾CE製品投与で無添加飼料給与区

⁴⁾CE製品投与で0.5%酵母細胞壁製品添加飼料給与区

⁶⁾平均値±標準偏差

表2. 競合排除製品と各種資材の複合投与が肉用鶏の盲腸の発達に及ぼす影響

	対照区	CE区	CE+1%フマル酸区	CE+0.5%酵母区	CE+0.07%カテキン区
盲腸の重さ (g)					
7日齢	1.23±0.28 ¹⁾	1.42±0.44	1.41±0.25	1.27±0.22	1.61±0.55
14日齢	2.75±0.83	3.04±1.04	2.83±0.64	2.92±0.83	2.47±0.63
21日齢	3.92±0.65	4.93±2.16	4.33±1.14	4.27±0.83	4.01±1.57
28日齢	6.48±1.52	6.01±2.63	6.09±2.52	6.92±2.51	7.64±1.19
盲腸の長さ (mm)					
7日齢	72.2±2.2 ^{b2)}	75.2±4.1 ^{ab}	77.4±8.5 ^a	72.8±6.8 ^b	74.8±4.7 ^b
14日齢	93.8±6.4	92.4±10.4	95.1±12.3	97.4±8.9,	91.1±7.5
21日齢	110.2±10.1 ^b	129.8±12.5 ^a	121.6±10.1 ^{ab}	121.4±9.9 ^{ab}	127.4±11.5 ^a
28日齢	134.6±11.5 ^b	152.1±14.4 ^a	150.8±17.1 ^{ab}	147.8±8.2 ^{ab}	163.4±10.6 ^a

¹⁾ 平均値±標準偏差

²⁾ 異符号は処理間に5%水準で有意差あり

表3. 競合排除製品と各種資材の複合投与が肉用鶏の盲腸内容物のpHとVFA濃度に及ぼす影響

	対照区	CE区	CE+1%フマル酸区	CE+0.5%酵母区	CE+0.07%カテキン区
7日齢					
pH	7.42±0.44 ¹⁾	7.33±0.36	7.28±0.38	7.76±0.32	7.25±0.56
総VFA濃度 (mg/g)	4.59±0.91	4.96±0.88	4.74±1.18	3.75±1.32	4.91±1.03
VFA組成 (mol%)					
酢酸	51.8	45.9	47.7	47.5	53.8
プロピオン酸	17.1	25.4	23.5	23.7	21.4
n-酪酸	28.9	26.4	26.2	25.7	22.9
iso-吉草酸	2.2	2.3	2.7	3.1	1.9
14日齢					
pH	6.96±0.51	6.81±0.21	7.02±0.49	6.88±0.41	6.92±0.59
総VFA濃度 (mg/g)	3.38±1.23	4.14±0.84	3.84±0.95	3.07±0.54	4.04±1.79
VFA組成 (mol%)					
酢酸	55.7	51.9	54.4	51.2	50.9
プロピオン酸	18.9	22.5	21.1	24.2	21.8
n-酪酸	22.9	23.1	22.0	21.4	24.7
iso-吉草酸	2.5	2.5	2.5	3.2	2.6
21日齢					
pH	7.12±0.31	7.06±0.59	6.81±0.17	6.44±0.38	6.71±0.27
総VFA濃度 (mg/g)	4.23±1.89	6.36±2.38	6.15±1.59	7.51±1.04	4.99±0.53
VFA組成 (mol%)					
酢酸	52.4	51.3	49.7	50.2	49.9
プロピオン酸	20.4	17.7	16.1	16.3	15.7
n-酪酸	24.2	28.9	32.0	32.1	32.4
iso-吉草酸	3.0	2.0	2.1	1.4	2.0
28日齢					
pH	7.54±0.24	7.24±0.56	7.24±0.34	7.56±0.24	7.38±0.36
総VFA濃度 (mg/g)	8.64±1.15	8.36±0.64	8.32±1.31	8.54±1.05	9.26±1.34
VFA組成 (mol%)					
酢酸	49.1	47.6	50.5	48.4	49.9
プロピオン酸	19.9	16.9	14.5	17.1	16.4
n-酪酸	28.0	32.8	32.8	32.0	31.3
iso-吉草酸	3.0	2.7	2.1	2.4	2.4

¹⁾ 平均値±標準偏差

各項目において処理間に有意差なし

表4. 競合排除製品と各種資材の複合投与がサルモネラ感染肉用鶏の盲腸便中のサルモネラに及ぼす影響

	対照区	CE区	CE+1%フマル酸区	CE+0.5%酵母区	CE+0.07%カテキン区
盲腸便中のSE検出率 (%)					
1日齢	0	0	0	0	0
7日齢	70	80	30	90	60
10日齢	100	60	60	80	80
14日齢	100	90	80	100	60
17日齢	100	40	100	90	70
21日齢	100	70	90	100	60
24日齢	100	90	100	100	100
28日齢	90	80	60	70	90
平均値(1日齢除く)	94.3	72.9	74.3	90.0	74.3
盲腸便中のSE菌数 (CFU/gFW) ¹⁾					
7日齢	1.0×10^5	1.0×10^3	$<1.0 \times 10^2$	1.0×10^3	1.0×10^3
10日齢	1.0×10^7	1.0×10^3	3.0×10^2	1.0×10^4	4.0×10^3
14日齢	1.0×10^7	2.0×10^6	2.0×10^2	6.0×10^4	1.0×10^4
17日齢	3.0×10^5	8.4×10^5	1.0×10^2	1.0×10^2	6.0×10^4
21日齢	7.0×10^6	2.1×10^6	2.0×10^4	2.0×10^4	1.0×10^4
24日齢	2.4×10^5	1.9×10^7	1.3×10^5	3.1×10^5	1.7×10^7
28日齢	1.7×10^6	2.3×10^5	1.2×10^5	3.5×10^5	4.0×10^6
対数の平均値(logCFU/gFW)	6.13 ^{a2)}	5.31 ^{ab}	3.18 ^b	4.15 ^b	4.75 ^{ab}

¹⁾盲腸便10検体混合後のSE数 (1.0×10^2はlog1として換算)

²⁾異符号は処理間に5%水準で有意差あり

表 5. 競合排除製品と各種資材の複合投与がサルモネラ感染肉用鶏の盲腸内容物中のサルモネラに及ぼす影響

	対照区	CE区	CE+1%フマル酸区	CE+0.5%酵母区	CE+0.07%カテキン区
SE数における検出率(%)					
0 ~10 ² (CFU/gFW)	70	100	100	100	100
10 ² ~10 ³ (CFU/gFW)	20	0	0	0	0
10 ³ ~10 ⁴ (CFU/gFW)	10	0	0	0	0
増菌培養後のSE検出率 (%)	90	80	60	70	90

第 2 節 競合排除製品とフマル酸の複合投与が鶏腸管内 *Salmonella* Enteritidis に及ぼす影響

緒 言

第 2 章第 1 節では、鶏腸管内における SE 増殖は初生時の CE 製品投与によって抑制できること、さらに鶏体外に排出された盲腸便中の SE 菌数を抑制するには CE 製品投与と フマル酸添加飼料の併用が有効であり、これらの方法は増体等の飼養成績に悪影響のないことを明らかにした（巽ら 2005a）。フマル酸は真菌、ケシ属等の植物に多く含まれるほか、動物体内にも TCA サイクルの中間代謝産物として存在する有機酸の一種で、フマル酸 0.3% 溶液は食鶏処理場の器具類の除菌処理にも利用される（古田ら 1994；熊谷 1993）など、抗菌作用を有することも知られている。例えば古田ら（1994）は、細菌が $10^{2.4}$ CFU/cm² 検出されたまな板と $10^{3.9}$ CFU/cm² 検出された包丁の柄をフマル酸 97% 含む食品添加物の 0.3% 水溶液に 15 分以上浸漬した結果、細菌数は 10^1 CFU/cm² 以下となったことを報告している。

本研究では、SE 接種感染肉用鶏に対する CE 製品の単一処理や CE 製品との複合投与におけるフマル酸濃度が、鶏腸管内における SE 増殖抑制や排出盲腸便中の SE 菌数抑制に有効であるかどうかを検証した。また、非感染鶏を供試して、フマル酸濃度が飼養成績や盲腸性状に及ぼす影響についても検討した。

材料と方法

1. 試験区の設定

SE非感染雛の飼養試験（試験1）とSE感染試験（試験2）は、褐色羽装の銘柄肉用鶏「伊勢赤どり」の雌初生雛を供試した。試験1は0～22日齢，試験2は0～21日齢において，それぞれ自由採食，自由飲水の管理条件下で行い，供試雛は導入直後にCE製品（CEテクト：科学飼料研究所，1ドース分として6.25倍希釈液0.25m）を1回強制経口投与した。試験区は，基礎飼料（CP20%，ME3000kcal/kg，抗菌性物質無添加）のみ給与した無添加区（対照区），基礎飼料にフマル酸（三井武田ケミカル株式会社）を0.5%，1%，2%，4%（w/w）添加したフマル酸0.5%区，フマル酸1%区，フマル酸2%区，フマル酸4%区の計5区で行った。

2. 調査項目と試験方法

非感染雛の飼養試験は，各試験区1群20羽を室温25～30℃に管理された幼雛鶏舎内のバッテリー型育雛器（ケージ床，面積1.76m²）内で群飼した。各試験区とも，生体重，飼料摂取量は全供試雛について7，14，21日齢に，盲腸の長さ重量は平均体重に近い6羽を抽出して，それぞれ8，15，22日齢に調査した。

SE感染試験は，各試験区1群30羽をバイオハザード実験施設内（ケージ床，面積0.53m²）に群飼し，SE感染は2日齢時にSE ZK-2a株（全農家畜衛生研究所から分与）をそ嚢内に接種（ 2.5×10^5 CFU/羽）して行った。試験期間中，室温はサーモスタット制御された電球を温源として通常管理した（0～3日齢：35℃以上，4～7日齢：33℃以上，8～11日齢：31℃以上，12～14日齢：29℃以上，15～18日齢：27℃以上，19～21日齢：25℃以上）。また，盲腸便を含む糞便

は毎日午後 3 時前後にケージ下のトレイから回収して処理した。盲腸便の採材はこの際に行った。なお、トレイは糞便回収後に洗浄し、滅菌処理したビニールシートで覆ったものを供試した。

盲腸便中の SE 検出は 3, 7, 10, 14, 17, 21 日齢時に、落下盲腸便 10 検体を綿棒で採材して調査した。SE 検出率は採取した盲腸便サンプルをハーナーテトラチオン酸塩培地（栄研化学株式会社）で 37℃, 24 時間増菌培養し、その培養液 0.1ml を ES サルモネラ寒天培地（栄研化学株式会社）に塗布後、37℃, 24 時間培養した。その後、ES サルモネラ寒天培地上のコロニーをサンプリングし、これをサルモネラ免疫血清「生研」09 群の急速凝集反応によって判定を行い、陽性検体数を百分率 (%) で表わした。また、SE 菌数は各処理区 10 検体の盲腸便を混合したサンプルを滅菌生理食塩水で 10 段階希釈し、各希釈液 0.1ml を ES サルモネラ寒天培地に塗布、37℃, 24 時間培養して形成されたコロニーを用いてサルモネラ凝集反応によって SE 数を測定し、算出した。盲腸内容物の SE 菌数は、21 日齢のと殺時に全羽から採取して個体別に上記の方法で測定した。

3. 統計処理

統計処理は、盲腸便中の SE 菌数を二元配置分散分析法および最小二乗法、その他は一元配置分散分析法および最小有意差法を用いて解析した（吉田 1978）。

結 果

非感染雛の飼養試験では、斃死した個体もなく、良好な成長が認

められた。生体重は 7 日齢では対照区のほうがフマル酸 2%区とフマル酸 4%区よりも有意 ($p<0.05$) に高く、21 日齢では対照区のほうがフマル酸 1%区よりも有意ではないが低い傾向が認められた。一方、飼料摂取量は、フマル酸 1%区を除いて、対照区のほうがフマル酸添加区よりも高い傾向がみられた。また、飼料要求率は、各処理区間で大きな違いはみられず、全期間を通じて一定の傾向はみられなかった (表 6)。

盲腸重量ならびに盲腸の長さはフマル酸添加によって優れる傾向が伺われた。すなわち、すべてのフマル酸添加区の盲腸重量は 8 日齢では対照区よりも重い傾向、15 日齢では対照区よりも有意 ($p<0.05$) に重かった。また、22 日齢においても、フマル酸 0.5%区、フマル酸 1%区、フマル酸 2%区は対照区よりも重い傾向であった。盲腸の長さは、8 日齢においてフマル酸 0.5%区とフマル酸 2%区のほうが対照区よりも長い傾向、15 日齢ではすべてのフマル酸添加区のほうが対照区よりも有意 ($p<0.05$) に長いことが認められた。また、22 日齢においても、すべてのフマル酸添加区のほうが対照区よりも長い傾向で、特にフマル酸 1%区とフマル酸 2%区は有意 ($p<0.05$) に長かった。(表 7)。

盲腸便の SE 検出率 (3 ~ 21 日齢における 19 回の平均値) は、対照区 94.7%、フマル酸 0.5%区 52.6%、フマル酸 1%区 52.6%、フマル酸 2%区 57.9%、フマル酸 4%区 89.5%で、フマル酸 0.5%区、フマル酸 1%区、フマル酸 2%区は対照区よりも低い傾向がみられた (表 8)。また、盲腸便の SE 菌数 (対数平均値: 単位 $\log\text{CFU/g}$) は、対照区 5.35、フマル酸 0.5%区 1.80、フマル酸 1%区 2.31、フマル酸 2%区 1.91、フマル酸 4%区 4.80 で、フマル酸 0.5%区、フマル酸 1%区、フマル酸 2%区は対

照区よりも有意 ($p < 0.05$) に低かった。また、対照区の SE 菌数は 7 日齢からほぼ $10^4 \sim 10^7$ CFU/g と高く推移した (表 8)。

盲腸内容物の SE 菌数は、7 日齢の場合、対照区は検体羽数の 80% が 10^2 CFU/g (検出限界) 未満、10% が $< 10^3$ CFU/g、10% が $< 10^4$ CFU/g であったが、フマル酸添加区はすべて検出限界未満であった。14 日齢の場合、対照区の 70% が検出限界未満であったが、フマル酸 0.5% 区は 90%、フマル酸 1% 区は 90%、フマル酸 2% 区は 80%、フマル酸 4% 区は 70% がそれぞれ検出限界未満であった。21 日齢では、対照区、フマル酸 0.5% 区、フマル酸 1% 区、フマル酸 2% 区のすべて、フマル酸 4% 区の 80% がそれぞれ検出限界未満であった (表 9)。

盲腸内容物中の SE 検出率は、各処理区とも調査日齢 (7 日齢、14 日齢、21 日齢) 間で有意差は認められなかった。一方、フマル酸添加区は、いずれの日齢でも対照区よりも低かった。フマル酸添加区では SE の経口接種当初の 7 日齢から保菌率は少なかった。これに対し、対照区では 7 日齢に全羽から検出され、日齢の経過とともに検出率が減少したが、21 日齢でも半数から検出された (表 9)。

考 察

筆者ら (巽ら 2005a) は、初生時の CE 製品の投与は、鶏腸管内における SE の増殖を抑制すること、またフマル酸添加飼料との複合投与は鶏体外に排出された盲腸便中の SE 菌数を抑制し、酵母細胞壁添加飼料やカテキン添加飼料との複合投与よりも有効であることを明らかにした。これは、CE 製品の投与が雛の増体や消化管形状に影響を及ぼすとする小野ら (1998) の報告と一致する。しかし、投

与資材の種類，その組み合わせ，飼料中の添加濃度による影響はまだ十分に検討されていない。本研究では，CE製品投与を基本として，SEの鶏腸管内増殖抑制や盲腸便中への排菌抑制に最も効果のあるフマル酸の飼料添加濃度の検証を行った。また，非感染鶏を供試して，フマル酸の飼料添加濃度が飼養成績や盲腸性状に及ぼす影響についても検討した。

非感染雛の飼養試験において，フマル酸 1%区は対照区よりも 21 日齢の飼料摂取量が多く，14 日齢および 21 日齢の増体，飼料要求率に優れる（表 1）ことが観察された。このことは，筆者らのこれまでの報告（巽ら 2005a）と一致している。Patten ら（1988）は，ブロイラーの 21 日齢体重は飼料中にフマル酸 0.5%または 1%添加によって改善されると報告しており，岸井ら（1997）はフマル酸 0.3%～0.7%添加において同様の結果を報告している。これらの成績は，今回の結果とフマル酸 1%区においては一致しているが，フマル酸 0.5%区については異なった結果となった。これは供試鶏が岸井らは発育の速い白色羽装ブロイラーに対し，本研究は発育の遅い褐色羽装ブロイラーであること，飼育場所が岸井らは平床に対し，本研究は網床のバッテリー型育雛器であること，CE製品を岸井らは投与しなかったのに対し本研究は投与したこと，給与飼料成分が岸井らは CP23%，ME3060kcal/g に対し本研究は CP20%，ME3000kcal/kg であったことなど，供試品種や飼養条件の違いによる影響と推察される。また，21 日齢までの盲腸重量および盲腸の長さは，フマル酸 0.5%区，フマル酸 1%区，フマル酸 2%区が対照区よりも優れる傾向があった（表 2）。フマル酸投与が盲腸に影響を与え，これが発育初期段階における増体に影響を与えており，この影響はフマル酸の飼料添加濃度に依存し

ていることが推察される。これは、Kirchgessnerら（1982）が、①飼料にフマル酸を1%、2%添加するとpHは5.9からそれぞれ5.0、4.4に下がること、②豚の胃内容物のpHは、フマル酸を0.7%、1%(w/w)添加することによって4.5からそれぞれ4.2、3.5に下がる結果、ペプシン活性が高くなり蛋白質消化率の改善があると報告している。このことから、フマル酸は豚と同様にペプシン活性向上を介して肉用鶏にも効果があったものと推察される。

SEに感染した雛において、盲腸内容物中ならびに盲腸便中のSE菌数は、CE製品と0.5%～2%フマル酸飼料添加との複合処理により抑制されることが認められた。この結果は、これまでに筆者ら（巽ら2005a）が行った結果と同じ傾向であり、CE製品とフマル酸添加効果が追認された。一方、磯部ら（2000）は、157日齢の白色レグホン種採卵鶏を用いて、フマル酸を無添加、0.2%、0.5%、1%添加した飼料を給与し、SE排菌抑制効果について調査した結果、盲腸便中のSE菌数はSE経口接種後3日において1%添加区では対照区より減少する傾向を示し、7日以降ではすべての供試鶏で検出されないものの、0.5%以下の添加では有意な効果は認められなかったと報告している。フマル酸添加によるSE抑制に関して、今回の試験と磯部らの報告はフマル酸1%区での効果については同様の傾向が認められる一方、フマル酸0.5%添加による反応は異なる結果となった。これは、本研究では供試日齢が0日齢と早い時期であるためにCE製品投与による腸内細菌叢の早期確立と安定化が促されたのに対して、157日齢の成鶏ではその作用効果が顕在化しにくかったためと推察された。また、鶏のサルモネラに対する感受性は品種、日齢によって異なり、肉用鶏は採卵鶏に比べて感受性が高く、また2週齢

を過ぎる頃から感受性は急速に低下することが知られており（佐藤 1998），磯部らの報告は本研究に比べ SE 感受性の弱い鶏種ならびに日齢で行ったことが，フマル酸の作用効果が顕在化しにくかったもうひとつの理由と推察された。CE 製品投与の有無による鶏腸管内での SE に対する増殖抑制効果の差，SE 菌株ならびに SE 投与菌数の違いによる鶏腸管内での SE 増殖性の差や飼育環境等の試験設定条件の違いによる影響であると考えられる。

盲腸は下部消化管のなかでも微生物が最も生息している場所であり，その内容物中の揮発性脂肪酸 (VFA) はこれら微生物の活性の指標と考えられる。光岡（1971）は，サルモネラの腸管感染に対する腸内細菌叢の防御機構は，高 VFA 濃度，低 pH，低酸化還元電位が主要因子であると報告している。一般に有機酸の抗菌作用は，① pH の低下による作用，② 非解離分子が微生物の菌体へ透過しやすいことに基づく作用，③ 有機酸の持つ独自の抗菌作用に由来する。フマル酸は，有機酸の中では非解離分子の濃度が小さいものの pH の低下による作用が強く，その結果抗菌作用を有していると推察された。したがって，CE 製品を投与した場合，早くから腸内細菌叢の定着が良好であると期待され，さらにフマル酸の投与によって，消化管内各部位の大腸菌やサルモネラ菌等の酸不耐性菌を抑制することが推察される。この場合，フマル酸の特性である水に溶けにくい性質により，体内に吸収されることなく，盲腸を含めた下部消化管まで到達し，その効果を発揮するものと思われる。光岡（1990）によると鶏の腸内細菌叢の確立は 3 週齢であること，鶏卵・鶏肉のサルモネラ全書（鶏病研究会 1998）によると，肉用鶏のサルモネラ症は多くが 3 週齢頃までに発症することから，CE 製品およびフマル酸

投与により鶏の腸内細菌叢の確立を3週齢以前に早めることがサルモネラ対策に有望であることを理由づけた。

以上のことから、鶏腸管内におけるSE増殖抑制および鶏体外に排出された盲腸便中のSE増殖抑制は、初生時であればCE製品投与と0.5%フマル酸添加飼料の複合投与が有効であることが認められた。また、日齢に即してフマル酸添加濃度を上げることも有効であることが認められた。さらに、CE製品と1%フマル酸添加飼料の複合投与は、21日齢の発育初期段階における増体に優れる傾向が認められた。

要 約

CE製品の単一投与、ならびにCE製品と飼料添加濃度の異なる(0%: 対照区, 0.5%, 1%, 2%, 4%)フマル酸の複合投与が非感染鶏の飼養成績や盲腸に及ぼす影響も検討した。その結果、生体重は、フマル酸添加1%が対照区よりも14日齢と21日齢で高く、盲腸重量は、フマル酸添加0.5%, 1%, 2%が対照区よりも全期間を通じて高く、盲腸の長さは、フマル酸添加0.5%, 1%, 2%, 4%が対照区よりも15日齢と22日齢に長い傾向が認められた。同様に、SE感染肉用鶏の盲腸便および盲腸内容物中のSE検出率、SE菌数に及ぼす影響を21日齢まで検証した。その結果、盲腸便中のSE検出率、SE菌数は、フマル酸添加0.5%, 1%, 2%が対照区よりも低く、盲腸内容物中のSE検出率は、フマル酸添加0.5%, 1%, 2%, 4%が対照区よりも低い傾向であった。盲腸内容物のSE菌数は、対照区よりも7日齢ではフマル酸添加0.5%, 1%, 2%, 4%が低く、14日齢ではフマル酸添加0.5%, 1%, 2%が対照区

よりも低かった。

以上のことから，CE製品と0.5%～2%フマル酸添加飼料の複合投与により鶏腸管内および盲腸便中でのSE増殖を抑制することが認められた。

表6. 競合排除製品と飼料添加濃度の異なるフマル酸の複合投与が肉用鶏の飼養成績に及ぼす影響

	対照区 ¹⁾	フマル酸0.5%区 ²⁾	フマル酸1%区 ³⁾	フマル酸2%区 ⁴⁾	フマル酸4%区 ⁵⁾
生体重 (g/羽)					
7日齢	130.8±16.3 ⁶⁾ a ⁷⁾	129.0±9.4 ^{ab}	127.2±10.8 ^{ab}	121.3±13.3 ^b	122.2±15.1 ^b
14日齢	311.4±44.4	319.9±30.7	337.4±31.8	324.3±37.5	310.9±38.9
21日齢	544.4±48.9 ^{ab}	529.4±31.8 ^{ab}	574.5±57.7 ^a	541.1±38.6 ^{ab}	513.7±49.7 ^b
飼料摂取量 (g/羽)					
0～7日齢	121.7	104.5	131.8	113.6	118.2
0～14日齢	506.0	421.7	504.4	442.4	477.9
0～21日齢	917.1	755.0	954.4	842.4	902.9
飼料要求率					
0～7日齢	1.51	1.32	1.71	1.59	1.64
0～14日齢	1.94	1.57	1.76	1.62	1.84
0～21日齢	1.86	1.58	1.82	1.42	1.95

¹⁾ CE製品投与で無添加飼料給与区

³⁾ CE製品投与で1%フマル酸添加飼料給与区

⁵⁾ CE製品投与で4%フマル酸添加飼料給与区

⁷⁾ 異符号は同日齢の処理間に5%水準で有意差あり

²⁾ CE製品投与で0.5%フマル酸添加飼料給与区

⁴⁾ CE製品投与で2%フマル酸添加飼料給与区

⁶⁾ 平均値±標準偏差

表7. 競合排除製品と飼料添加濃度の異なるフマル酸の複合投与が肉用鶏の盲腸の発達に及ぼす影響

	対照区	フマル酸0.5%区	フマル酸1%区	フマル酸2%区	フマル酸4%区
盲腸の重さ (g)					
8日齢	1.12±0.24 ¹⁾	1.36±0.37	1.37±0.27	1.28±0.32	1.16±0.09
15日齢	2.07±0.74 ²⁾	2.85±0.28 ^{ab}	2.63±0.58 ^{ab}	2.29±0.64 ^{ab}	3.00±0.77 ^a
22日齢	4.78±1.80	5.28±2.17	4.89±1.11	5.06±0.69	4.65±0.75
盲腸の長さ (mm)					
8日齢	71.8± 7.9	72.5± 5.2	71.0± 5.4	75.5± 2.9	69.5± 6.5
15日齢	85.0± 4.4 ^c	101.2±8.7 ^a	101.2±9.6 ^a	86.5± 9.7 ^b	96.8± 6.8 ^{ab}
22日齢	102.0±8.7 ^b	114.7±15.9 ^{ab}	120.5±4.4 ^a	120.2± 6.7 ^a	114.8±16.9 ^{ab}

¹⁾ 平均値±標準偏差

²⁾ 異符号は同日齢の処理間に5%水準で有意差あり

表8. 競合排除製品と飼料添加濃度の異なるフマル酸の複合投与がSE感染肉用鶏の盲腸便中のSEに及ぼす影響

	対照区	フマル酸0.5%区	フマル酸1%区	フマル酸2%区	フマル酸4%区
盲腸便中のSE検出率					
3～6日齢	3/4	1/4	1/4	3/4	2/4
7～9日齢	3/3	2/3	1/3	1/3	3/3
10～13日齢	4/4	4/4	4/4	4/4	4/4
14～16日齢	3/3	2/3	2/3	1/3	3/3
17～20日齢	4/4	1/4	2/4	2/4	4/4
21日齢	1/1	0/1	0/1	0/1	1/1
平均値	94.7%	52.6%	52.6%	57.9%	89.5%
盲腸便中のSE菌数 (CFU/gFW) ¹⁾					
3日齢	3.0×10^2	$<1.0 \times 10^2$	1.0×10^2	$<1.0 \times 10^2$	$<1.0 \times 10^2$
7日齢	5.0×10^5	$<1.0 \times 10^2$	$<1.0 \times 10^2$	$<1.0 \times 10^2$	5.0×10^3
10日齢	2.3×10^4	$<1.0 \times 10^2$	$<1.0 \times 10^2$	$<1.0 \times 10^2$	4.0×10^3
14日齢	2.0×10^5	3.0×10^3	3.0×10^3	1.5×10^4	6.7×10^5
17日齢	2.3×10^7	2.1×10^3	4.0×10^3	2.0×10^3	2.5×10^7
21日齢	7.4×10^6	$<1.0 \times 10^2$	6.0×10^2	$<1.0 \times 10^2$	1.9×10^7
対数の平均値(logCFU/gFW)	5.35 ^{a2)}	1.80 ^b	2.31 ^b	1.91 ^b	4.80 ^{ab}

¹⁾盲腸便10検体混合後のSE数($<1.0 \times 10^2$ はlog1として換算)

²⁾異符号は処理間に5%水準で有意差あり

表9. 競合排除製品と飼料添加濃度の異なるフマル酸の複合投与がSE感染肉用鶏の盲腸内容物中のSEに及ぼす影響

		対照区	フマル酸0.5%区	フマル酸1%区	フマル酸2%区	フマル酸4%区
7日齢	SE菌数における検出率 (%)					
	0~10 ² (CFU/gFW)	80	100	100	100	100
	10 ² ~10 ³ (CFU/gFW)	10	0	0	0	0
	10 ³ ~10 ⁴ (CFU/gFW)	10	0	0	0	0
	増菌培養後のSE検出率 (%)	100	30	30	30	30
14日齢	SE菌数における検出率 (%)					
	0~10 ² (CFU/gFW)	70	90	90	80	70
	10 ² ~10 ³ (CFU/gFW)	30	10	10	20	30
	10 ³ ~10 ⁴ (CFU/gFW)	0	0	0	0	0
	増菌培養後のSE検出率 (%)	90	40	30	40	50
21日齢	SE菌数における検出率 (%)					
	0~10 ² (CFU/gFW)	100	100	100	100	80
	10 ² ~10 ³ (CFU/gFW)	0	0	0	0	20
	10 ³ ~10 ⁴ (CFU/gFW)	0	0	0	0	0
	増菌培養後のSE検出率 (%)	50	30	50	30	40

各日齢において処理間に有意差なし

第3節 床面の形状や敷料の違いが競合排除製品とフマル酸の複合投与による *Salmonella* Enteritidis の水平感染に及ぼす影響

緒 言

わが国を含め世界各地で 1980 年代後半から 1990 年代にかけて、鶏卵の *Salmonella* Enteritidis (SE) 汚染に起因するサルモネラ食中毒が急増し、養鶏産業のみならず食品衛生上の大きな問題となっている(中村 1999; 佐藤 1998)。さらに米国では SE 食中毒要因としてブロイラーが注目されている(Kimura ら 2004)ほか、英国(Vet. Lab. Agency 2002)、オランダ、カナダ(Poppe C ら 2000)、フランス(Rosa N ら 1999)でもブロイラー群から SE が検出されており、わが国でも鶏卵以外の感染源にも注意を払う必要があると指摘されている(中村 1996)。そこで、鶏卵のみならず、鶏肉においても流通・消費段階での SE 汚染防止対策とともに、養鶏場における SE 汚染防止を可能とする飼育管理技術の確立が望まれている。

抗菌性物質によるサルモネラ対策では、鶏卵肉への薬剤残留や薬剤耐性菌の出現のほか、腸内有用微生物の減少が感染を長期化させることや排菌量を増加させる等、様々な問題点が指摘されている(中村 1995)。このため、抗菌性物質の代替技術として、雛の腸内細菌叢を早期に形成させてサルモネラ等の有害微生物を競合的に排除する競合排除(CE)法(今井ら 1999; 今井ら 2000; 鶏病研究会 1997; 鶏病研究会 1998; 中村ら 2000; 小野ら 1998)や各種資材の飼料添加による方法(深田ら 1994; 深田ら 1998; 深田ら 1999)が検討

されている。

第2章第1節および第2節(巽ら 2005a; 巽ら 2005b)では、肉用鶏の腸管内におけるSE増殖が初生時のCE製品投与によって抑制できることや、CE製品と1%フマル酸添加飼料の併用が盲腸便中のSE菌数を抑制する方法として有効であることを報告している。また、これらの方法は増体重等の飼養成績に悪影響を及ぼさないことも明らかにした。しかし、SEの汚染は鶏舎内の構造によって大きく左右され、特に床面の形状や敷料の有無や種類によって影響されることが考えられる。*Salmonella* Thompsonの場合、新しい敷料中では8～20週間、古い敷料中では4～5週間生存していたとの報告(NAGARAJAら1991)もあり、肉用鶏は平床飼育が多いので床面上の敷料などが感染源になりやすい。一方、ケージ飼育は鶏と排泄便が分離されるため、床面が感染源となる可能性が平床と比べ低いことが推察される。

本研究では、肉用鶏を対象に床面形状の違いとCE製品単一投与もしくはフマル酸添加飼料との複合投与との相互作用がSE感染鶏から同居鶏に対する水平感染に及ぼす影響について検討した。また、平床飼育におけるCE製品単一投与もしくはフマル酸添加飼料との複合投与と敷料材料の影響についても検討した。なお、本研究では群飼におけるSE水平感染を調査する必要性から、サンプリングは個体識別が可能なクロアカスワブと盲腸内容物を主に行った。

材料と方法

1. 試験区の設定

褐色羽装の銘柄肉用鶏「伊勢赤どり」の雌初生雛を供試し、SE

感染試験（試験 1, 2, 3）は 0 日齢から最長で 13 日齢まで、生産性・肉質試験（試験 4）は 77 日齢までの自由採食、自由飲水の飼養管理のもとで行った。試験 1 は平床飼育における水平感染を、試験 2 は網床と平床飼育における水平感染を、試験 3 は平床飼育での敷料の違いにおける水平感染を、試験 4 は肉用鶏の生産性および肉質によるフマル酸添加飼料の総合評価を検討した。SE 感染は、全農家畜衛生研究所から分与された SE ZK-2a 株（ナリジクス酸耐性）を用い、経口接種した。

試験 1～3 はバイオハザード実験施設内（ケージ床、あるいは平床）に群飼し、試験 1, 2 は電球を温源とする温度管理（0～3 日齢：35℃以上、4～7 日齢：33℃以上、8～11 日齢：31℃以上、12～13 日齢：29℃以上）で、試験 3 は常時 25℃で行った。盲腸便を含む糞便は毎日午後 3 時前後にケージ下のトレイから回収して処理した。盲腸便の採材はこの際に行った。なお、トレイは糞便回収後に洗浄し、滅菌処理したビニールシートで覆ったものを供試した。試験 4 は、開放平床鶏舎で各区 40 羽の 2 群を群飼し、21 日齢までガスブルーダーによる温度管理（0～3 日齢：35℃、4～7 日齢：33℃、8～11 日齢：31℃、12～13 日齢：29℃、14～15 日齢：27℃、16～17 日齢：25℃、18～19 日齢：23℃、20～21 日齢：21℃、以降は廃温し、室温管理）を行った。なお、供試雛は、試験 3 と試験 4 の無添加区、抗菌性物質添加区を除いた各区において、導入直後（0 日齢時）に CE 製品（CE テクト：科学飼料研究所、1 ドース分として 6.25 倍希釈液 0.25ml）を 1 回経口投与した。

1) 試験 1 平床飼育における SE 水平感染に及ぼす影響

供試羽数は一群 30 羽で、うち 6 羽は 1 日齢時に SE ZK-2a 株 1.2×10^8 CFU/羽を経口接種した。クロアカスワブ中の SE 検出率は、3 日齢時に 30 個体、6 日齢時に 20 個体のクロアカスワブを採材して調査した。盲腸便中の SE 菌数および SE 検出率は、6、11、13 日齢に 10 検体の盲腸便を採材して調査した。盲腸内容物中の SE 菌数および SE 検出率は、6、11、13 日齢に、SE 接種雛 2 羽を含む 10 羽の盲腸内容物を採材して調査した。なお、クロアカスワブ、盲腸便および盲腸内容物は滅菌綿棒で採取した。

SE 検出率は、採取したサンプルをハーナーテトラチオン酸塩培地（栄研化学株式会社）で 37°C 、24 時間増菌培養し、その培養液 0.1ml を ES サルモネラ寒天培地（栄研化学株式会社）に塗布後、 37°C 、24 時間培養した。その後、ES サルモネラ寒天培地上のコロニーをサンプリングし、これをサルモネラ免疫血清「生研」09 群の急速凝集反応によって判定を行い、陽性検体数を百分率 (%) で表わした。SE 菌数はサンプルを滅菌生理食塩水で 10 段階希釈し、各希釈液 0.1ml を ES サルモネラ寒天培地に塗布、 37°C 、24 時間培養して形成されたコロニーを用いてサルモネラ凝集反応によって SE 菌数を測定し、算出した。なお、給与飼料は、抗菌性物質無添加の基礎飼料 (CP20%, ME3000kcal/kg) にフマル酸（三井武田ケミカル株式会社）を 0.5% 添加した。

2) 試験 2 異なる床面形状による SE 水平感染に及ぼす影響

試験区は、網床と平床の 2 床面とフマル酸添加有無（無添加区、フマル酸区）を組み合わせた網床無添加区、網床フマル酸区、平床無添加区、平床フマル酸区の 4 試験区を設定した。無添加区は基礎飼料（CP20%, ME3000kcal/kg, 抗菌性物質無添加）のみ、フマル酸区は

基礎飼料にフマル酸を 1%(w/w)添加した。網床は無敷料，平床は木材チップを敷料とした。供試羽数は各試験区 21羽とし，各区 1群管理とした。

各区 3羽に対して SE ZK-2a 株 2.0×10^3 CFU/羽を，1日齢時に経口接種した。盲腸内容物中の SE 菌数および SE 検出率は，各区 SE 接種鶏 1羽を含む 7羽の盲腸内容物を，4，7，10日齢に採材して調査した。

3) 試験 3 敷料の違いによる SE 水平感染に及ぼす影響

試験区は，CE 製品無投与で基礎飼料（CP20%，ME3000kcal/kg，抗菌性物質無添加）を給与し，木材チップを敷料とした「無添加チップ区」，導入直後に CE 製品 1ドース/羽の経口投与と基礎飼料にフマル酸 1%添加した飼料を給与し，木材チップを敷料とした「フマル酸添加チップ区」，CE 製品投与後，基礎飼料にフマル酸 1%添加した飼料を給与し，pH8.3の縦型密閉式コンポスト発酵鶏糞堆肥を敷料とした「フマル酸添加堆肥区」の計 3区とした。供試羽数は各区 30羽で群飼した。

1日齢時に各区 30羽中 6羽(20%)に，SE ZK-2a 株 2.8×10^7 CFU/羽を経口接種した。クロアカスワブ中の SE 検出率は，クロアカスワブを 4，7，10日齢時に各区 10検体を採材して調査した。盲腸内容物中の SE 菌数および SE 検出率は，10日齢に各区 10羽を鑑定殺後，個体毎に盲腸内容物を採材して調査した。敷料中の SE 菌数および SE 検出率は，10日齢の敷料を採材して調査した。

4) 試験 4 肉用鶏の生産性および肉質によるフマル酸添加飼料の総合評価

試験区は，CE 製品無投与で抗菌性物質無添加の基礎飼料（0～21日齢：CP20%，ME3000kcal/kg，22～77日齢：CP19%，ME3100kcal/kg）を給

与し，木材チップを敷料とした「対照区」，CE製品無投与で0～56日齢に基礎飼料に抗菌性物質を添加した飼料，57～77日齢に基礎飼料を給与し，木材チップを敷料とした「抗菌性物質添加区」，CE製品投与後に基礎飼料にフマル酸1%添加した飼料を給与し，木材チップを敷料とした「フマル酸添加区」，CE製品投与後に基礎飼料にフマル酸1%添加した飼料を給与し，pH8.3の縦型密閉式コンポスト発酵鶏糞堆肥を敷料とした「フマル酸堆肥区」とした。供試羽数は320羽（40羽/群×2群/区×4区）で群飼した。

飼料測定と体重測定を0日齢および77日齢に実施した。なお，78日齢に解体調査を各区4羽ずつ行い，浅胸筋の肉質検査として水分，粗脂肪，粗蛋白，伸展率，保水力，加熱損失率，剪断力価について「鶏肉の品質評価に関する研究実施要領」（農林水産省畜産試験場加工部1996）に基づき行った。さらに浅胸筋および腓腹筋の肉色を色彩色差計（CR-100：ミノルタ）で測定した。

2. 統計処理

統計処理は，クロアカスワブ，盲腸便，敷料中のSE検出率およびSE数頻度を χ^2 検定，生産性および肉質形質を一元配置分散分析法および最小有意差法にて解析した（吉田1978）。

結 果

SE接種雛とSE未接種雛を平床群飼した場合，CE製品と0.5%フマル酸添加飼料の複合投与を行っても，SE未接種雛に対するSEの水平感染が認められた（試験1）。6日齢でのSE検出率は，クロアカス

ワブでは SE 接種雛から 50%で SE 未接種雛からは検出されなかったが、盲腸便中の SE 検出率は、SE 接種雛と SE 未接種雛を併せて算出すると、6 日齢で 20%、11 日齢、13 日齢とも 100%で SE 未接種雛からも検出された。盲腸便中の SE 菌数は 11 日齢の全羽が $10^7 \sim 10^8$ CFU/g、13 日齢の 10%が 10^5 CFU/g $\sim 10^6$ CFU/g、40%が $10^6 \sim 10^7$ CFU/g、50%が $10^7 \sim 10^8$ CFU/g であった。盲腸内容物中の SE 検出率は、SE 接種雛と SE 未接種雛を併せて算出すると、6 日齢、11 日齢、13 日齢とも 100%で、SE 未接種雛からも検出された。盲腸内容物中の SE 菌数は、6 日齢の全羽が 10^2 CFU/g 未満、11 日齢の 20%が $10^2 \sim 10^3$ CFU/g、20%が $10^3 \sim 10^4$ CFU/g、60%が $10^3 \sim 10^4$ CFU/g であった。13 日齢の 10%が $10^3 \sim 10^4$ CFU/g、90%が $10^3 \sim 10^4$ CFU/g であった（表 10）。

SE 水平感染は各区（網床無添加区、網床フマル酸区、平床無添加区、平床フマル酸区）の SE 未接種の同居雛に認められたが、盲腸内容物中の SE 検出率は平床より網床の方が低い傾向が認められた（試験 2）。盲腸内容物中の SE 検出率は、網床無添加区の 4 日齢で 57.1%、7 日齢と 10 日齢では 0%であった。これに対し、平床無添加区はそれぞれ 28.6%、28.6%、14.3%で、7 日齢と 10 日齢で検出率の高いことが認められた。また、フマル酸添加飼料給与の場合、網床では 4 日齢 14.3%、7 日齢と 10 日齢では 0%であったのに対し、平床では 4 日齢 42.9%、7 日齢 0%、10 日齢 14.3%と高かった。SE 数は各検体とも 10^2 CFU/g 未満であった（表 11）。

木材チップを敷料とした平床では SE 検出率は高く、例えば、クロアスワブ中の SE 検出率は SE 接種雛と SE 未接種雛を併せて算出すると、無添加区では 4 日齢が 60%、7 日齢が 80%、10 日齢が 40%と高く推移した。一方、フマル酸を 1%添加した場合には 4 日齢が 10%、7

日齢が 10%，10 日齢が 0%であった。また，盲腸内容物での SE 検出率や SE 菌数でもフマル酸添加飼料による一定の効果が認められた。しかし，堆肥を敷料とした場合には，フマル酸を添加した場合でもクロアカスワブの SE 検出率（7 日齢時）は 70%，盲腸内容物の SE 検出率は 80%と高く，フマル酸添加の効果が認められなかった。盲腸内容物中の SE 菌数も，無添加区と同じであった。敷料中の SE 検出率は，無添加飼料，フマル酸添加飼料の違いにかかわらず，木材チップ敷料では 4，7，10 日齢時のすべてで検出され，10 日齢時での SE 菌数は，無添加区 2.9×10^6 CFU/g，フマル酸添加区 2.4×10^4 CFU/g であった。一方，コンポスト堆肥敷料では，フマル酸添加飼料でも SE は検出されなかった（表 12）。

SE 感染を制御するための資材である抗菌性物質，CE 製品とフマル酸の複合投与，ならびに CE 製品とフマル酸の複合投与におけるコンポスト堆肥敷料が，生産性および肉質に及ぼす効果を無添加の場合と比較検討した（試験 4）。その結果，増体重（77 日齢）は，対照区 3464g，抗菌性物質添加区 3523g，フマル酸添加区 3598g，フマル酸堆肥区 3540g で，フマル酸添加区が無添加区よりも有意に高かった。飼料摂取量は，対照区 10301g，抗菌性物質添加区 10023g，フマル酸添加区 10009g，フマル酸堆肥区 10362g，飼料要求率は，対照区 2.98，抗菌性物質添加区 2.84，フマル酸添加区 2.78，フマル酸堆肥区 2.93 で，両項目ともフマル酸添加区が他区と比べ優れた。育成率は，対照区 95.0%，抗菌性物質添加区 95.0%，フマル酸添加区 93.8%，フマル酸堆肥区 95.0%で，各区とも同等であった。生産指数は，対照区 145.1，抗菌性物質添加区 154.8，フマル酸添加区 159.3，フマル酸堆肥区 150.7 で，フマル酸添加区が他区と比べ優れた（表 13）。

肉質調査では、浅胸筋の水分、粗脂肪、粗蛋白、伸展率、保水力、加熱損失率、剪断力価は、各区に差は認められなかった。浅胸筋および腓腹筋の肉色は、L値（明度）、a値（赤色度）、b値（黄色度）とも各区間に差は認められなかった（表13）。

考 察

CE製品の単独投与および生菌剤混合物との複合投与が雛の腸管内でのSE増殖抑制効果および腸管からの排除効果を有することは今井ら（2000）も報告しているが、投与資材の種類や飼料中の添加濃度によってその影響が異なることが想定される。筆者ら（巽ら2005a；巽ら2005b）は、肉用鶏に対する初生時のCE製品の投与は、鶏腸管内におけるSEの増殖を抑制しうること、また1%フマル酸添加飼料との複合投与は雛の体外に排出された盲腸便中のSE菌数を抑制し、0.5%酵母細胞壁添加飼料や0.07%カテキン添加飼料との複合投与よりも有効であることを明らかにした。また、フマル酸添加濃度は0.5%～2%で雛腸管内におけるSE増殖抑制および雛体外に排出された盲腸便中のSE増殖抑制に有効であること、発育初期段階（21日齢）における増体効果に優れる傾向があることを明らかにした。これら一連のSE感染試験は網床飼育であったため、本研究ではCE製品とフマル酸添加飼料の複合投与の効果、ならびに床面形状や敷料の及ぼす影響について検証した。

平床飼育では、30羽中6羽（20%）に $SE1.2 \times 10^5$ CFU/羽を経口接種したところ、接種後5日（6日齢）に抽出した全同居鶏の盲腸内容物からSEが検出されたことから、SE接種雛から排出された盲腸便

が床面上の敷料を汚染して、水平感染を促したことが伺われる。また、クロアカスワブからの SE 検出率は低いが、盲腸内容物中に SE は存在し、SE 菌数は日数の経過とともに増加した。これに伴い、盲腸便中の SE 検出率および SE 菌数は日数の経過とともに高くなった。これは、SE 感染した雛の腸管内で SE が増殖し、SE 菌数の多い盲腸便として排出され、これを経口摂取した同居雛の腸管内でさらに増殖することで、SE 感染雛および感染雛の腸管内 SE 菌数が増加したことが推察される。これまでに筆者ら（巽ら 2005b）は、CE 製品と 0.5%フマル酸添加飼料の複合投与を行い、3日齢に 10羽中全羽に SE 2.5×10^6 CFU/羽を接種して、4日後の盲腸内容物中の SE 検出率と SE 菌数を調査したところ、網床飼育では、SE 検出率は 30%、SE 菌数も 10^2 CFU/g 未満で少なかった。これは、CE 製品と 0.5%フマル酸添加飼料の複合投与が網床に比べ平床では SE 増殖抑制効果を発揮しにくいことを示唆している。このことは、3日齢雛群飼の 14.3%に相当する羽数に SE 2.0×10^3 CFU/羽を経口接種して、網床と平床飼育を比較した結果と一致した。すなわち、網床は平床よりも SE の水平感染を抑制する傾向が認められた。

立川ら（1999）は、肉用鶏の皮膚 1g 当たりの大腸菌群数は網床飼育 $0 \sim 10^{3.3}$ CFU/g が平床飼育 $10^{2.8} \sim 10^{4.4}$ CFU/g よりも少なかったと報告している。これは、網床飼育では糞便の多くが網の隙間から床下へ落下するので、鶏体と糞便が常に接触している平床飼育よりも大腸菌群の付着数が低いことを示唆している。一般に、網床飼育は採卵鶏飼育に用いられ、コクシジウム症などの疾病予防のうえで有効とされている（田先ら 1988）。平床飼育は肉用鶏において一般の飼育方法で、網床飼育は増体および飼料効率の低下、むね肉腫瘍の発生、

施設建設費が高いこと等の理由から、その導入は進んでいない。しかし、衛生的な飼育管理システムとして床面素材を工夫したプロイラー用網床鶏舎（細谷 2001）の動向が期待される。

また、平床飼育において、群飼の3日齢雛の20%相当羽数にSE ZK-2a株 2.8×10^7 CFUを経口接種して、敷料中のSE検出率およびSE菌数を検討した結果、敷料は木材チップよりも堆肥の方が顕著にSE汚染を低減する効果が認められた。これは、Fanelliら（1969）が、新しい敷料に比べて堆積敷料では *Salmonella* *Infantis* と *Salmonella* *Typhimurium* が早く消失すると報告しており、今回の成績と同じ傾向であった。これは、本研究で使用した縦型密閉式コンポスト発酵鶏糞堆肥ならびに Fanelliら（1969）の使用した堆積敷料とも高 pH による SE の増殖抑制、ならびに敷料に含まれる微生物による SE に対する競合排除によるものと推察される。しかし、それにも関わらず、盲腸内容物中の SE 検出率および SE 菌数は対照区と同等の成績であり、SE の鶏体内定着阻止および増殖抑制効果が認められなかった。これは、フマル酸を摂取することにより本来得られるはずの腸管内の低 pH 状態が pH8.3 の発酵鶏糞堆肥を摂取することで pH が上昇し、その結果、SE の雛体内定着阻止および増殖抑制効果が得られなかったものと推察される。

ちなみに Kirchgessnerら（1982）は、豚での試験結果に基づきフマル酸の作用効果について、①フマル酸を1%、2%添加することにより、飼料の pH は 5.9 からそれぞれ 5.0、4.4 に低下する、②フマル酸を 0.7%、1%添加することにより、豚の胃内容物の pH は 4.5 からそれぞれ 4.2、3.5 に低下する、③その結果、ペプシン活性が高くなり蛋白消化率の改善および抗菌作用があると推定し、さらにフマル酸が難

水溶性であることから、フマル酸の経口摂取が消化管内、特に下部消化管である盲腸、結腸、直腸内の大腸菌等を抑制することを報告している。

CE製品と1%フマル酸添加飼料の複合投与および敷料の違いが平床飼育での肉用鶏の生産性に及ぼす影響を検討した結果、77日齢での増体重は、フマル酸添加区、抗菌性物質添加区、フマル酸堆肥区、無添加区の順で、フマル酸添加区が無添加区より5%水準で有意に重く、増体効果が認められた。また、77日齢での飼料要求率は、フマル酸添加区は2.78と最も優れ、ついで抗菌性物質添加区の2.84、フマル酸堆肥区の2.93と続き、無添加区は2.98と最も劣った。この結果は前述のKirchgessnerら(1982)が豚での試験結果で記述したようにフマル酸の飼料添加により豚の胃内容物のpHが低下し、その結果、ペプシン活性が高くなり蛋白消化率の改善があるものと推定しており、増体および飼料効率の向上について報告していることと一致する。したがって、敷料を堆肥にした場合、高pH(8.33)のコンポスト堆肥を摂取することが予想されるので、胃内pHが高まって、フマル酸による蛋白消化率の改善効果が低下し、増体および飼料効率向上が認められないことも推察される。本研究でも、木材チップ敷料に比べコンポスト堆肥敷料は増体重が低下し、飼料要求率が上昇する傾向がみられた。また、抗菌性物質添加は、増体重や飼料要求率を改善することが認められたことから、抗菌性物質無添加飼料給与による生産性の低下が示唆された。

以上のことから、平床飼育においてもCE製品と1%フマル酸添加飼料の複合投与はSE水平感染を抑制するが、平床飼育では網床飼育よりもSE水平感染の危険性が高まるため、敷料を介した感染経

路を遮断できる添加剤の可能性を検討する必要性も示唆された。

要 約

CE製品とフマル酸添加飼料の複合投与が、SEの水平感染に及ぼす影響を肉用鶏で検討した。一部の雛にSEを経口接種し、床面と敷料の異なる飼育環境で群飼した。1日齢時に試験羽数の20%の個体にSE (1.2×10^8 CFU/羽) を経口接種し、平床飼育した結果、6日齢までに同居鶏全羽に水平感染が成立していた。平床飼育は網床飼育よりも水平感染の確率が高く、10日齢の盲腸内容物中のSE検出率は、平床区14.3%、網床区0%であった。またフマル酸1%添加飼料の給与は、網床飼育の水平感染を低める効果が認められた。平床飼育でも木材チップ敷料の場合には、1%フマル酸添加飼料の給与によって、SEの腸管内定着および増殖を抑制する効果が認められた。また、飼料要求率や増体重の有意な向上にも反映された。なお、コンポスト堆肥敷料では効果が認められなかった。

表10. 平床でのSE水平感染に及ぼすフマル酸0.5%添加飼料の影響(試験1)

	3日齢	6日齢	11日齢	13日齢
	SE検出率(%) ¹⁾			
クロアカスワブ	0	10	NT ²⁾	NT
(うちSE接種鶏)	0	50	NT	NT
盲腸内容物	NT	100	100	100
盲腸便	NT	20	100	100
	SE菌数頻度(%) ³⁾			
盲腸内容物				
<10 ² CFU/g	NT	100	0	0
10 ² ~10 ³ CFU/g	NT	0	20	0
10 ³ ~10 ⁴ CFU/g	NT	0	20	10
10 ⁴ ~10 ⁵ CFU/g	NT	0	60	90
	SE菌数頻度(%)			
盲腸便				
10 ⁵ ~10 ⁶ CFU/g	NT	NT	0	10
10 ⁶ ~10 ⁷ CFU/g	NT	NT	0	40
10 ⁷ ~10 ⁸ CFU/g	NT	NT	100	50

SE: *Salmonella* Enteritidis

1) SE検出率: SEが検出された羽数/試験羽数×100

2) NT: 未検査

3) SE菌数頻度: 検出されたSE菌数に該当する羽数/試験羽数×100

表11. 床面形状の違いがSE水平感染に及ぼすフマル酸1%添加飼料の影響(試験2)

盲腸内容物	網床飼育		平床飼育	
	無添加区 ¹⁾	フマル酸区 ²⁾	無添加区 ³⁾	フマル酸区 ⁴⁾
SE検出率(%)				
4日齢	57.1(+) ⁵⁾	14.3(-)	28.6(-)	42.9(-)
7日齢	0(-)	0(-)	28.6(-)	0(-)
10日齢	0(-)	0(-)	14.3(-)	14.3(-)
SE菌数頻度(%)				
0~10 ² CFU/gFW	100 ⁶⁾	100	100	100

¹⁾ 網床飼育で無添加飼料給与区

²⁾ 網床飼育で1%フマル酸添加飼料給与区

³⁾ 平床飼育で無添加飼料給与区

⁴⁾ 平床飼育で1%フマル酸添加飼料給与区

⁵⁾ (+), (-): 接種鶏にSEが検出されたこと, 検出されなかったことを示す。

⁶⁾ SE菌数頻度は, 各区とも全羽が10²CFU/gFW (検出限界) 未満であった。

各日齢において処理間に有意差なし

表12. 敷料の違いがSE水平感染に及ぼすフマル酸1%添加飼料の影響(試験3)

項目	フマル酸1%添加		
	無添加	チップ区 ²⁾	堆肥区 ³⁾
クロアカスワブ	SE検出率(%) ⁴⁾		
4日齢	60 a ⁵⁾	10 b	10 b
7日齢	80 a	10 b	70 a
10日齢	40 a	0 b	0 b
盲腸内容物	SE検出率(%)		
10日齢	80	40	80
10日齢	SE菌数頻度(%) ⁶⁾		
0 ~10 ² CFU/g	20	60	20
10 ⁴ ~10 ⁵ CFU/g	80	40	80
敷料	SE検出率(%)		
4日齢	100	100	0
7日齢	100	100	0
10日齢	100	100	0
10日齢	SE数(CFU/g)		
	2.9×10 ⁵	2.4×10 ⁴	<10 ²

¹⁾ 木材チップを敷料として、無添加飼料給与区

²⁾ 木材チップを敷料として、1%フマル酸添加飼料給与区

³⁾ 縦型密閉コンポスト堆肥を敷料として、1%フマル酸添加飼料給与区

⁴⁾ SE検出率: SEが検出された羽数/試験羽数×100

⁵⁾ 同日齢の異符号間に5%水準で有意差あり

⁶⁾ SE菌数頻度: 検出されたSE菌数に該当する羽数/試験羽数×100

表13. 平床飼育での生産性および肉質に及ぼすフマル酸1%添加飼料ならびに敷料の影響(試験4)

	処理区			
	対照区 ¹⁾	抗菌性物質添加区 ²⁾	フマル酸添加区 ³⁾	フマル酸堆肥区 ⁴⁾
生産性形質				
増体重(g/羽)	3464 b ⁵⁾	3523 ab	3598 a	3540 ab
飼料摂取量(g/羽)	10301	10023	10009	10362
飼料要求率	2.98	2.84	2.78	2.93
育成率(%)	95.0	95.0	93.8	95.0
生産指数 ⁶⁾	145.1	154.8	159.3	150.7
肉質形質				
浅胸筋 (ムネ肉)				
水分(%)	74.0	73.7	73.9	73.6
粗脂肪(%)	1.3	1.0	0.8	1.0
粗蛋白(%)	24.2	24.8	24.8	24.9
伸展率(cm ² /g)	43.3	42.6	39.7	40.7
保水力(%)	82.0	81.5	78.2	80.4
加熱損失率(%)	20.3	18.8	20.7	18.8
剪断力価(Ib)	5.6	6.1	10.5	6.0
肉色(L値)	52.1	49	49.1	50.7
肉色(a値)	1.7	1.6	2.3	2.2
肉色(b値)	0.8	1.4	1	1.1
腓腹筋 (モモ肉)				
肉色(L値)	42.5	41.4	42.8	43.5
肉色(a値)	11.5	10.6	11.4	11.5
肉色(b値)	1.4	0.8	1.6	1.4

¹⁾ 木材チップを敷料としてCE製品無投与で無添加飼料給与区

²⁾ 木材チップを敷料としてCE製品無投与で56日齢まで抗菌性物質添加飼料給与区

³⁾ 木材チップを敷料としてCE製品投与し、1%フマル酸添加飼料給与区

⁴⁾ 縦型密閉コンポスト堆肥を敷料としてCE製品投与し、1%フマル酸添加飼料給与区

⁵⁾ 異符号間に5%水準で有意差あり ⁶⁾ 生産指数 = 育成率 × 出荷体重(kg) × 100 / (出荷日齢 × 飼料要求率)

第3章 天然物由来資材の投与による鶏腸管内 *Salmonella* Enteritidis に対する作用効果

第1節 微生物資材の飼料添加が肉用鶏の鶏腸管内 *Salmonella* Enteritidis 抑制効果および生産性に及ぼす影響

緒 言

畜産物における抗菌性物質の残留や薬剤耐性菌出現の問題等（石橋 2007）を背景として、生産者、消費者の双方から抗菌性物質を添加しない飼料給与による肉用鶏の飼育管理方法が強く求められている。三重県の銘柄肉用鶏である「伊勢赤どり」についても、ブロイラーや他の銘柄肉用鶏との差別化の一貫として、抗菌性物質を添加しない飼育管理技術の確立に取り組んでいる。しかし、こうした条件では育成率や増体重の減少、飼料要求率や出荷後の廃棄率の増加等といった生産性の低下を招き易く、収益性低下を及ぼすものと懸念されている（矢野ら 2000；米持 2003）。

抗菌性物質の添加は、腸内細菌叢を適正に保って有害細菌が家畜にもたらす有害作用を抑制することを目的としており、その結果、栄養成分の吸収性や利用性を高めて生産性を向上させると考えられている（石橋 2007）。一般に、飼料添加物として流通している抗菌性物質の使用量は、国家検定合格量の推移をみると、1996年度は242.6tであったが、2005年度には169.7tと、1996年度の約70%に減少している（鶏病研究会 2007）。また、疾病治療用に使用される動物用医薬品として流通している抗菌性物質の使用量は、販売高の推移を

みると、1994年度は355.9億円であったが、2003年度には272.3億円に減少している。動物別使用割合を原末換算量で見ると、2001年度は豚用56.2%、水産用18.6%、肉用鶏13.2%、採卵鶏4.2%、2003年度は豚用61.5%、水産用18.4%、肉用鶏8.7%、採卵鶏4.4%とほぼ同様の傾向であるが、肉用鶏の使用量の減少が認められる(鶏病研究会2007)。一方、微生物資材は、乳酸菌や酪酸菌等の有用微生物およびこれらの微生物から生産された酵素や酸の働きが腸管内の有用微生物の増殖および病原微生物の抑制や免疫機能を亢進させるとされ、国内外において抗菌性物質に代わるものとして期待されている(服部2001; 大成2004; 田村2003)。したがって、こうした微生物資材の使用量や使用方法の改善、確立が強く望まれている。

特に、薬剤使用の低減による問題として、食中毒等の原因となる細菌汚染を適切に防止する保証が必要である。わが国を含め世界各地で1980年代後半から1990年代にかけて、鶏卵の*Salmonella* Enteritidis (SE) 汚染に起因するサルモネラ食中毒が急増し、養鶏産業のみならず食品衛生上の大きな問題となっている(中村1999; 佐藤1998)。さらに米国ではSE食中毒要因としてブロイラーが注目されている(Kimuraら2004)ほか、英国(Vet.Lab.Agency2002)、オランダ、カナダ(Poppe Cら2000)、フランス(Rosa Nら1999)でもブロイラー群からSEが検出されており、わが国でも鶏卵以外の感染源にも注意を払う必要があると指摘されている(中村1996)。しかし、鶏に成長促進の目的で治療量以下の抗菌性物質を飼料に添加し、連続投与すると糞便中へのサルモネラの排菌が長期間持続することが指摘されている(深田ら1994)こと、さらに複数の抗菌性物質に耐性を示す*Salmonella* Typhimurium DT104株等の出現が重視されている(鶏病

研究会 2007) ように、薬剤耐性 ST 菌が出現していることから、真に抗菌性物質に依存しない SE 汚染防止を可能とする飼育管理技術が求められている。

第 2 章(巽ら 2005a; 巽ら 2005b; 巽ら 2007)では、肉用鶏の腸管内における SE 増殖が初生時の CE 製品投与によって抑制できることや、CE 製品と 1%フマル酸添加飼料の併用が盲腸便中の SE 菌数を抑制する方法として有効であること、これらの方法は、増体等の飼養成績に悪影響を及ぼさないこと、さらに網床飼育は平床飼育よりも水平感染の確率が低いことを明らかにした。一方、フマル酸の鶏飼料への添加は飼料安全法により認可されていないため、本研究では、肉用鶏の抗菌性物質無添加飼料給与による飼育管理技術の開発を目的として、最初に肉用鶏の腸管内から病原菌を排除することが期待される鶏飼料への添加が可能な市販の鶏用微生物資材 5 種類 (腸球菌 1 種の腸球菌資材, 乳酸菌 6 種の乳酸菌資材, 酪酸菌 1 種の酪酸菌資材, 乳酸菌 1 種, 酪酸菌 1 種, 枯草菌 2 種, 腸球菌 2 種, アルカリゲネス菌 1 種の複合菌資材, 枯草菌 5 種の枯草菌資材) について、これらの 1%飼料添加による SE に対する排菌抑制効果ならびに腸管内増殖抑制効果を検討した。さらに、最も効果の認められた微生物資材を対象として、飼料添加濃度を違えて SE に対する排菌抑制効果ならびに腸管内増殖抑制効果、さらに生産性についての検討を行った。

材料と方法

1. 試験区の設定

褐色羽装の銘柄肉用鶏「伊勢赤どり」の雌初生雛を供試し、0～10日齢のSE感染試験（試験1, 2）と、0～70日齢の生産性試験（試験3）を実施した。SE感染は、全農家畜衛生研究所から分与されたSE ZK-2ax株を3日齢で経口接種した。各試験で用いた基礎飼料は、抗菌性物質を含有しておらず、0～21日齢はCP 22%, ME 3050kcal/kgのブロイラー前期用配合飼料、21日齢以降はCP 19%, ME 3100kcal/kgのブロイラー仕上用配合飼料を用いた。なお、各試験とも自由採食、自由飲水とした。

試験1と試験2は、室温25℃に管理されたバイオハザード実験施設内の単飼ケージで行った。試験3は、開放平床鶏舎内で群飼し、21日齢まではガスブルーダーによる漸減式温度管理（0～3日齢は35℃以上、4～7日齢は33℃以上、8～11日齢は31℃以上、12～13日齢は29℃以上、14～15日齢は27℃以上、16～17日齢は25℃以上、18～19日齢は23℃以上、20～21日齢は21℃以上）を行い、その後は温源なしで飼育した。

1) 試験1：各種微生物資材によるSEの排菌抑制および腸管内増殖抑制への影響

伊勢赤どり雌初生雛を各区6羽供試し、抗菌性物質が含まれていない基礎飼料に、市販鶏用微生物資材5種類を1%(w/w)添加した5区、いわゆる腸球菌1種（バランツール散、コーキン化学株式会社：腸球菌区）、乳酸菌6種（ラクトビダン、株式会社ゲン・コーポレーション：乳酸菌区）、酪酸菌1種（ミヤゴールド、ミヤリサン株式会社：酪酸菌区）、乳酸菌1種、酪酸菌1種、枯草菌2種、腸球菌2種、アルカリゲネス菌1種（ピービーオー2、東富士農産株式会社：複合菌区）、枯草菌5種（リオターゼ、尾花屋産業：枯草菌区）

を含む資材，基礎飼料のみを給与した対照区の計6区を設定した。3日齢時に $SE\ 2.6 \times 10^6 CFU/0.5ml/羽$ を強制経口接種し，10日齢まで飼養し，盲腸便中のSE検出率，SE菌数を調査した。

盲腸便中のSE検出率は，個体別に3～10日齢間の毎日行い，10日齢時には盲腸内容物中のSE菌数およびSE検出率を調査した。

盲腸便および盲腸内容物から採取したサンプルは，直ちにハーナーテトラチオン酸塩培地（栄研化学株式会社）で $37^\circ C$ ，24時間増菌培養し，その培養液 $0.1ml$ をESサルモネラ寒天培地（栄研化学株式会社）に塗布後， $37^\circ C$ ，24時間培養した。その後，ESサルモネラ寒天培地上のコロニーをサンプリングし，これをサルモネラ免疫血清「生研」09群の急速凝集反応によって判定を行い，陽性検体数をもとに表わした。盲腸内容物 $1\ g$ あたりのSE菌数は，直ちにサンプルを滅菌生理食塩水で10段階希釈し，各希釈液 $0.1ml$ をESサルモネラ寒天培地に塗布， $37^\circ C$ ，24時間培養して形成されたコロニーを計数し，算出した。なお，検体のSE菌数が $500CFU/g$ 未満の場合，増菌培養後にSEが検出されたものは $50CFU/g$ ，検出されなかったものは $5CFU/g$ として幾何平均値を算出した。

2) 試験2：微生物資材の飼料添加濃度の違いがSEの排菌抑制および腸管内増殖抑制に及ぼす影響

基礎飼料に対する複合菌資材の添加量を 0% （対照区）， 0.2% （複合菌 0.2% 区）， 0.5% （複合菌 0.5% 区）， 1% （複合菌 1% 区）， 2% （複合菌 2% 区）， 4% （複合菌 4% 区）の計6試験区を設定した。各区雌初生雛6羽を供試し，3日齢時に $SE\ 7.3 \times 10^5 CFU/0.5ml/羽$ を強制経口接種して，10日齢まで飼養した。調査項目および調査方法は前節に示した方法と同様の方法で実施した。

3) 試験 3: 微生物資材の飼料添加濃度の違いが生産性に及ぼす影響
基礎飼料に対する複合菌資材添加量を 0% (対照区), 0.2% (複合菌
0.2%区), 1% (複合菌 1%区), 2% (複合菌 2%区), および抗菌剤区
の計 5 試験区を設定した。なお, 抗菌剤区は 0 ~ 21 日齢に抗菌性物質
(ハロフジノン (40mg/kg), 亜鉛バシトラシン (400 単位/kg), 硫酸コリ
スチン (5mg 力価/kg)), 21 ~ 56 日齢に抗菌性物質 (サリノマイシン
ナトリウム (50mg 力価/kg), 亜鉛バシトラシン (400 単位/kg) および
硫酸コリスチン (5mg 力価/kg)) を添加した抗菌性物質添加飼料, 57
~ 70 日齢に基礎飼料のみ給与した。

伊勢赤どり雌初生雛を各区 26 羽/群を 3 群ずつ供試して 70 日齢ま
で飼養した。検査は 0 日齢および 70 日齢に全羽の体重を測定し, 70
日齢に区毎の飼料摂取量を測定した。生産指数は, 育成率 × 出荷体
重 (kg) × 100 / (出荷日齢 × 飼料要求率) として求めた。

2. 統計処理

統計処理は, 盲腸便および盲腸内容物中の SE 検出率を χ^2 検定,
盲腸便中の SE 菌数および生産性各形質を一元配置分散分析法およ
び最小有意差法により解析した (吉田 1978)。

結 果

SE を接種した翌日の 4 日齢では, 各区ともに盲腸便中の SE 検出率
は 100%であった。4 ~ 10 日齢間の平均 SE 検出率は, 対照区 57.1%,
腸球菌区 76.2%, 乳酸菌区 73.8%, 酪酸菌区 73.8%, 複合菌区 33.3%, 枯
草菌区 57.1%で, 複合菌区が有意 ($p < 0.05$) に低かった。複合菌区で

は、5日齢以降で16.7%と最も低かった（表14）。盲腸内容物中のSE菌数が500CFU/g未満であった割合は、複合菌区では10日齢時で100%、平均SE菌数は0.87LogCFU/g、増菌培養後のSE検出率は16.7%で、いずれも他区よりも優れていた（表15）。

複合菌区の添加量(w/w)を0～4%まで6段階に違えて、盲腸便中のSE検出率を検討した結果、複合菌0.2%区では6、7日齢に16.7%、8、9、10日齢には全く検出されず、平均SE検出率（4～10日齢）が27.1%とその他の区よりも低く、特に複合菌2%区、複合菌4%区よりも有意（ $p<0.05$ ）に低かった（表16）。また、複合菌0.2%区では、盲腸内容物中のSE菌数が500CFU/g未満であった割合の検出率は10日齢時には100%で、複合菌1%区以外の他区に比べ高く、平均SE菌数は0.70LogCFU/g、増菌培養後のSE検出率は0%で他区よりも優れていた（表17）。

対照区の増体重は2969gで、複合菌2%区2892gとの間に有意差（ $p<0.05$ ）が認められた。飼料摂取量では、各区間の差はみられなかったが、飼料要求率は抗菌剤区2.66、対照区2.67に対し、複合菌1%区は2.77と有意に高かった。育成率は区間に差は認められなかった。生産指数は抗菌剤区が161.5と最も良好であり、次いで対照区が160.9、複合菌0.2%区が154.6、複合菌2%区が153.0%、複合菌1%区が149.7で、複合菌1%区は抗菌剤区と無添加区に対して、複合菌2%区は抗菌剤区に対して有意に低かったが、複合菌0.2%区では区間における有意な差は認められなかった（表18）。

考 察

市販鶏用微生物資材 5 種類について、SE に対する排菌抑制ならびに腸管内増殖抑制に効果的な微生物資材の選定を行った結果、複合菌資材が最も優れていることが示唆された。今回使用した微生物資材の中で、腸球菌 1 種（腸球菌資材）、乳酸菌 6 種（乳酸菌資材）、酪酸菌 1 種（酪酸菌資材）、枯草菌 5 種（枯草菌資材）といった単一菌もしくは同属菌のみを含む資材よりも、乳酸菌 1 種、酪酸菌 1 種、枯草菌 2 種、腸球菌 2 種、アルカリゲネス菌 1 種（複合菌資材）といった多種類の微生物を含有する資材が有効であることが認められた。これは、奥村 (2007) が「腸内の付着場所の特異性があるので、プロバイオティクスは一系統よりも多系統であることが守備範囲を広げることになって望ましい効果が期待できる」と述べていることと一致した。村瀬 (2007) は、複合菌資材に含まれる腸球菌 2 種 (*Enterococcus faecium*, *Enterococcus gallinarum*) を分離し、肉汁ブイヨンのなかで SE と 41 °C で混合培養し、SE の純粋培養と比較した。その結果、SE の純粋培養に比べ混合培養では SE 菌数が 8 時間後と 24 時間後において少なくなり、結論として 2 種類の腸球菌は SE の増殖抑制効果を有すると報告している。このことは、in vivo において SE に対する排菌抑制ならびに腸管内増殖抑制に複合菌資材の飼料添加が効果的であることを述べた本研究での試験成績を裏付けるものと考えられる。

微生物資材、いわゆるプロバイオティクスは、FAO および WHO により「適正な量を投与した場合に、投与された宿主に健康上の利益をもたらす生きた微生物」と定義されており、それぞれの微生物資材

には宿主への投与適正量が存在することが伺われる。本研究では、複合菌資材の飼料添加量(w/w)は0.2%、0.5%、1%添加で効果が認められたが、このうち0.2%添加が最も優れていた。一方、2%添加および4%添加では、効果が認められなかった。微生物資材の有害細菌に対する抑制効果は、①腸内での栄養成分の取り合い(競合)、②腸内での定着場所の取り合い(競合)、③サイトカインの産出量の増加、食細胞活性の増加、抗体産出の増加等免疫調節作用、④有機酸を産生し、腸内のpHの低下をもたらし、有害細菌の増殖を抑制すること、⑤バクテオリシンを産生し、有害細菌の殺菌あるいは増殖を抑制すること、⑥消化を促進すること、⑦上皮細胞障壁を強化し、粘液産出を増やすことによるといわれている(奥村 2007)。したがって、SEに対する排菌抑制、腸管内増殖抑制効果も上記の相加的、相乗的作用により発現すると考えられる。飼料中の添加濃度の違いは含有する微生物の菌量やそれら微生物が産生する生成物量と密接に関係していると推察される。本研究において最適な添加濃度とされた0.2%添加が上記のいずれの作用機序によるものであるかは不明ではあるが、添加量を1%以下にすることが有効であると推察される。

しかし、複合菌資材を0.2%添加した場合、その他の複合菌資材区よりも増体重、飼料要求率などの生産性に優れているものの、抗菌性物質添加との優位性は認められなかった。なお、微生物資材給与による成長促進作用は、抗菌性物質の場合と同様に成長を抑制する細菌が存在する場合にのみ効果が認められる(大成 2004)。本研究では、肉用鶏の成長を阻害する細菌群の少ない鶏舎環境での試験であったことから、抗菌性物質ならびに無添加との生産性に有意性は認められなかったと推察される。複合菌資材の0.2%~1%添加によるSE

排菌抑制効果が、腸管内に定着する病原性細菌に汚染された鶏舎において生産性の改善に有効であるかどうかを含めて、今後さらに検討される必要がある。

生産現場での肉用鶏の主な抗菌性物質添加の主な目的は、細菌疾病予防対策であるが、農場での細菌感染による被害は日常的に発生するものであることから、抗菌性物質を用いない飼養管理技術の確立に向け、微生物資材の添加による効果が期待される場所である。

以上のことから、複合菌資材 0.2%飼料添加が肉用鶏の SE 排菌抑制ならびに腸管内増殖抑制に効果のあることが明らかとなった。

要 約

肉用鶏において微生物資材の飼料添加給与による SE 排菌抑制効果および生産性に及ぼす影響を検討した。市販されている鶏用微生物資材 5 種類、いわゆる腸球菌 1 種の腸球菌資材、乳酸菌 6 種の乳酸菌資材、酪酸菌 1 種の酪酸菌資材、乳酸菌 1 種、酪酸菌 1 種、枯草菌 2 種、腸球菌 2 種、アルカリゲネス菌 1 種の複合菌資材、枯草菌 5 種の枯草菌資材をそれぞれ 1% 添加した飼料および無添加飼料を銘柄肉用鶏「伊勢赤どり」に初生時から給与し、3 日齢で $SE_{2.6} \times 10^6$ CFU を経口接種した結果、無添加飼料や単一菌もしくは同属菌のみを含む他の微生物資材に比べ、複合菌資材は盲腸便からの SE 検出率や盲腸内容物中の SE 菌数および SE 検出率が低く、SE に対する排菌抑制効果ならびに腸管内増殖抑制効果が認められた。さらに、複合菌資材の添加濃度を検討した結果、0.2%(w/w) で SE に対する排菌抑制効果および腸管内増殖抑制効果が認められ、生産性に対する悪

影響はなかった。

以上のことから、複合菌資材 0.2%飼料添加は、抗菌性物質無添加飼料給与による肉用鶏の飼養管理技術として活用でき、SEに対する排菌抑制効果および腸管内増殖抑制効果が期待できることが示唆された。

表14. 各種微生物資材の投与がSE感染肉用鶏の盲腸便中のSEに及ぼす影響

	微生物資材					
	対照区 ¹⁾	腸球菌区 ²⁾	乳酸菌区 ³⁾	酪酸菌区 ⁴⁾	複合菌区 ⁵⁾	枯草菌区 ⁶⁾
盲腸便中のSE検出率(%)						
3日齢	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
4日齢	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0
5日齢	100.0	83.3	100.0	100.0	16.7	66.7
6日齢	66.7	66.7	100.0	83.3	50.0	33.3
7日齢	33.3	66.7	66.7	66.7	16.7	50.0
8日齢	33.3	66.7	50.0	66.7	16.7	50.0
9日齢	33.3	66.7	50.0	50.0	16.7	50.0
10日齢	33.3	83.3	50.0	50.0	16.7	50.0
平均(4-10日齢)	57.1 ^{a7)}	76.2 ^a	73.8 ^a	73.8 ^a	33.3 ^b	57.1 ^a

¹⁾ 無添加飼料給与区

²⁾ 腸球菌1種含有資材1%(W/W)添加飼料給与区

³⁾ 乳酸菌6種含有資材1%(W/W)添加飼料給与区

⁴⁾ 酪酸菌1種含有資材1%(W/W)添加飼料給与区

⁵⁾ 乳酸菌1種, 酪酸菌1種, 枯草菌2種, 腸球菌2種, アルカリゲネス菌1種含有資材1%(W/W)添加飼料給与区

⁶⁾ 枯草菌5種含有資材1%(W/W)添加飼料給与区

⁷⁾ 異符号間に5%水準で有意差あり

表15. 各種微生物資材の投与がSE感染肉用鶏の盲腸内容物中のSEに及ぼす影響 (10日齢)

	微生物資材					
	対照区	腸球菌区	乳酸菌区	酪酸菌区	複合菌区	枯草菌区
SE菌数における検出率(%)						
0~500 (CFU/gFW)	66.7	50.0	50.0	66.7	100.0	66.7
500~10 ³ (CFU/gFW)	0.0	16.7	16.7	0.0	0.0	16.7
10 ³ ~10 ⁴ (CFU/gFW)	16.7	16.7	16.7	33.3	0.0	16.7
10 ⁴ ~10 ⁵ (CFU/gFW)	16.7	16.7	0.0	0.0	0.0	0.0
10 ⁵ ~10 ⁶ (CFU/gFW)	0.0	0.0	16.7	0.0	0.0	0.0
SE数幾何平均(logCFU/gFW)	1.86	2.14	2.52	1.76	0.87	1.77
増菌培養後のSE検出率(%)	33.3	66.7	50.0	83.3	16.7	50.0
各項目において処理間に有意差なし						

表16. 複合菌資材¹⁾の添加濃度がSE感染肉用鶏の盲腸便中のSE検出率(%)に及ぼす影響

	添加濃度					
	対照区 ²⁾	複合菌0.2%区 ³⁾	複合菌0.5%区 ⁴⁾	複合菌1%区 ⁵⁾	複合菌2%区 ⁶⁾	複合菌4%区 ⁷⁾
3日齢	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
4日齢	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0
5日齢	83.3	83.3	66.7	50.0	83.3	83.3
6日齢	33.3	16.7	33.3	16.7	50.0	33.3
7日齢	50.0	16.7	16.7	16.7	50.0	66.7
8日齢	16.7	0.0	16.7	16.7	33.3	16.7
9日齢	16.7	0.0	16.7	33.3	33.3	33.3
10日齢	33.3	0.0	0.0	33.3	33.3	33.3
平均(4-10日齢)	41.7 ^{ab8)}	27.1 ^b	31.3 ^{ab}	33.3 ^{ab}	47.9 ^a	45.8 ^a

¹⁾ 複合菌資材：乳酸菌1種、酪酸菌1種、枯草菌2種、腸球菌2種、アルカリゲネス菌1種含有資材

²⁾ 無添加飼料給与区

³⁾ 複合菌資材0.2%(W/W)添加飼料給与区

⁴⁾ 複合菌資材0.5%(W/W)添加飼料給与区

⁵⁾ 複合菌資材1%(W/W)添加飼料給与区

⁶⁾ 複合菌資材2%(W/W)添加飼料給与区

⁷⁾ 複合菌資材4%(W/W)添加飼料給与区

⁸⁾ 異符号間に5%水準で有意差あり

表17. 複合菌資材の飼料添加濃度がSE感染肉用鶏の盲腸内容物中のSEに及ぼす影響 (10日齢)

	添加濃度					
	対照区	複合菌0.2%区	複合菌0.5%区	複合菌1%区	複合菌2%区	複合菌4%区
SE菌数における検出率(%)						
0~500 (CFU/gFW)	66.7	100	83.3	100	66.7	66.7
500~10 ³ (CFU/gFW)	16.7	0	16.7	0	0	0
10 ³ ~10 ⁴ (CFU/gFW)	0	0	0	0	0	16.7
10 ⁴ ~10 ⁵ (CFU/gFW)	0	0	0	0	33.3	0
10 ⁵ ~10 ⁶ (CFU/gFW)	0	0	0	0	0	16.7
10 ⁶ ~10 ⁷ (CFU/gFW)	16.7	0	0	0	0	0
SE数幾何平均(logCFU/gFW)	2.00	0.70	1.05	1.03	1.83	1.88
増菌培養後のSE検出率(%)	33.3	0	16.7	33.3	33.3	33.3

各項目において処理間に有意差なし

表18. 複合菌資材の飼料添加濃度が生産性に及ぼす影響 (70日齢)

	添加濃度				
	対照区	複合菌0.2%区	複合菌1%区	複合菌2%区	抗菌剤区
増体重 (g/羽)	2969 ^a	2937 ^{ab}	2900 ^{ab}	2892 ^b	2964 ^{ab}
飼料摂取量 (kg/羽)	7.94	7.98	8.03	7.92	7.88
飼料要求率	2.67 ^b	2.72 ^{ab}	2.77 ^a	2.74 ^{ab}	2.66 ^b
育成率 (%)	100.0	98.7	98.7	100.0	100.0
生産指数 ¹⁾	160.9 ^{ab}	154.6 ^{abc}	149.7 ^c	153.0 ^{bc}	161.5 ^a

1) 生産指数 = 育成率 × 出荷体重 (kg) × 100 / (出荷日齢 × 飼料要求率)

2) 異符号間に5%水準で有意差あり

第 2 節 サトウキビ抽出物の飼料添加が肉用鶏の鶏腸管内 *Salmonella* Enteritidis 抑制効果および生産性に及ぼす影響

緒 言

消費者からの「安全・安心」に対する強いニーズに呼応して、三重県の銘柄肉用鶏「伊勢赤どり」に対しても抗菌性物質をまったく添加しない方法で飼育された「安全・安心」をセールスポイントとした鶏肉が流通業界からも強く求められている。しかし、すでに確立された抗菌性物質投与による飼育技術と異なり、育成率や増体重の減少、飼料要求率や出荷後の廃棄率の増加等といった生産性の低下を招き易く、収益性低下を及ぼすものと懸念されている（矢野ら 2000；米持 2003）。

第 3 章 第 1 節（巽ら 2009a）では、抗菌性物質無添加飼料への各種微生物資材の添加による *Salmonella* Enteritidis (SE) 排菌抑制効果および生産性に及ぼす影響を検討し、乳酸菌 1 種、酪酸菌 1 種、枯草菌 2 種、腸球菌 2 種、アルカリゲネス菌 1 種を含む微生物資材を 0.2%(w/w) 添加することが、SE に対する排菌抑制効果ならびに腸管内増殖抑制効果が期待できることが示唆された。

一方、サトウキビ抽出物（きびしぼり EX，三井製糖株式会社，Sugar cane extract；SCE）は、砂糖製造工程において、サトウキビから脱糖した搾り汁を陽イオンクロマトグラフィーでポリフェノール含有分画を抽出し、脱脂米ぬかに 20%(w/w) 吸着させた顆粒品であるが、マウスに対する抗酸化作用や細菌およびウイルス感染防御効果等が報告（古家ら 2000a；古家ら 2000b）されており、さらに鶏への 3 また

は 6 日間の連続経口投与により免疫増強効果ならびに成長促進効果を示すことが報告されている (Moshira ら 2002 ; Moshira ら 2003)。また, SCE の飼料添加による採卵鶏雄雛への持続的な給与が SE に対し, 排菌抑制効果を示すことが中村ら (2001) によって報告されている。

本研究では, 競合排除 (Competitive exclusion:CE) 製品および SCE の単一投与, ならびに CE 製品と SCE の複合投与が SE 排菌抑制効果および鶏腸管内 SE 増殖抑制効果に及ぼす影響について検討を行った。さらに, CE 製品の単一投与, ならびに CE 製品と SCE の複合投与が免疫機能および生産性に及ぼす影響を検証した。

材料と方法

1. 試験区の設定

褐色羽装の銘柄肉用鶏「伊勢赤どり」の雌初生雛を供試し, 0 ~ 10 日齢の SE 感染試験 (試験 1) と, 0 ~ 70 日齢の免疫反応試験 (試験 2) および生産性試験 (試験 3) を実施した。各試験で用いた基礎飼料は, 抗菌性物質を含有しておらず, 0 ~ 21 日齢は CP 22%, ME 3050kcal/kg のブロイラー前期用配合飼料, 21 ~ 70 日齢は CP19%, ME3100kcal/kg のブロイラー仕上用配合飼料を用いた。各試験とも自由採食, 自由飲水とした。また, 試験 1 の CE 製品投与区の雛, 試験 2 と試験 3 のすべての雛は, 0 日齢時に CE 製品 (CE テクト : 科学飼料研究所, 1 ドース分として 6.25 倍希釈液 0.25ml) を 1 回経口投与した。

試験 1 は, 室温 25℃ に管理されたバイオハザード実験施設内の単飼ケージで行った。試験 2 と試験 3 は, 開放平床鶏舎内で群飼し, 21 日齢まではガスブルーダーによる漸減式温度管理 (0 ~ 3 日齢は

35℃以上，4～7日齢は33℃以上，8～11日齢は31℃以上，12～13日齢は29℃以上，14～15日齢は27℃以上，16～17日齢は25℃以上，18～19日齢は23℃以上，20～21日齢は21℃以上）を行い，その後は温源なしで飼育した。

2. 試験方法

1) 試験1：CE製品の投与とSCEの飼料添加濃度の違いがSEの排菌抑制および腸管内増殖抑制に及ぼす影響

SE感染試験は，伊勢赤どり雌初生雛各区6羽を供試した。試験区は，CE製品投与の有無とSCE添加濃度の違い（0%，0.05%，1%）とを組み合わせ，無添加飼料（対照区），CE製品投与と無添加飼料（CE区），0.05%SCE添加飼料（SEC0.05%区），CE製品投与と0.05%SCE添加飼料（CE+SEC0.05%区），1%SCE添加飼料（SEC1%区），CE製品投与と1%SCE添加飼料（CE+SEC1%区）の計6区を設けた。3日齢に，SE（全農家畜衛生研究所分与株）を 2.2×10^7 CFU/0.5ml強制経口接種後，個体別にケージ飼育した。

盲腸便中のSE検出率は，個体毎に3～10日齢の毎日行い，10日齢時には盲腸内容物中のSE菌数およびSE検出率を調査した。

盲腸便および盲腸内容物から採取したサンプルは，直ちにハーナーテトラチオン酸塩培地（栄研化学株式会社）で37℃，24時間増菌培養し，その培養液0.1mlをESサルモネラ寒天培地（栄研化学株式会社）に塗布後，37℃，24時間培養した。その後，ESサルモネラ寒天培地上のコロニーをサンプリングし，これをサルモネラ免疫血清「生研」09群の急速凝集反応によって判定を行い，陽性検体数をもとに表わした。盲腸内容物1gあたりのSE菌数は，直ちに

サンプルを滅菌生理食塩水で 10 段階希釈し，各希釈液 0.1ml を ES サルモネラ寒天培地に塗布，37℃，24 時間培養して形成されたコロニーを計数し，算出した。なお，検体の SE 菌数が 500CFU/g 未満の場合，増菌培養後に SE が検出されたものは 50CFU/g，検出されなかったものは 5CFU/g として幾何平均値を算出した。

2) 試験 2：サトウキビ抽出物の飼料添加濃度の違いが免疫反応に及ぼす影響

免疫試験は，伊勢赤どり雌初生雛 50 羽（10 羽/区×5 区）を供試し，70 日齢まで飼育して抗体検査と遅延型過敏反応の検査を行った。試験区は，抗菌性物質無添加の基礎飼料を給与した CE 区，基礎飼料に SCE を 0.05%，0.25%，1% 添加した CE+SCE0.05% 区，CE+SCE0.25% 区，CE+SCE1% 区，基礎飼料に抗菌性物質を添加した CE+抗菌剤区の計 5 区を設けた。なお，CE+抗菌剤区は 0～21 日齢に抗菌性物質（ハロフジノン (40mg/kg)，亜鉛バシトラシン (400 単位/kg)，硫酸コリスチン (5mg 力価/kg)），21～56 日齢に抗菌性物質（サリノマイシンナトリウム (50mg 力価/kg)，亜鉛バシトラシン (400 単位/kg) および硫酸コリスチン (5mg 力価/kg)）を添加した抗菌性物質添加飼料，57～70 日齢に基礎飼料のみ給与した。

抗体検査は，ヒツジ赤血球 (SRBC) 凝集抗体価およびブルセラ・アボルタス (BA) 凝集抗体価を以下のように測定した (Hirota ら 1980a；Hirota ら 1980b；Paula ら 1991)。すなわち，3，4 および 6 週齢に供試鶏の翼静脈内に，10% の SRBC と 2% の BA 菌液の等量混合液 0.1ml を接種し，3，4，5，8 および 10 週齢に翼静脈から採血した。血清を分離採取後，96 穴マイクロプレートにて未処理血清と 2-メルカプトエタノール (2ME) 処理血清の 2 倍希釈列を調整し，SRBC および BA に

対する凝集素力価を測定し、凝集陽性を示す血清の最終希釈倍数の逆数の Log_2 として表示した。

遅延型過敏反応 (delayed type hypersensitivity; DTH) は、ヒトガンマグロブリン (human gamma globulin; HYG, シグマ社) 接種による腫脹差で判定した (Hirota ら 1980a; Hirota ら 1980b)。7 週齢時に前感作として、HYG を滅菌生理食塩水で $400 \mu\text{g}/\text{ml}$ に調整後、1 羽毎にアジュバント・コンプリート・フロインド (ディフコ社) の等量混合液を 0.25ml を胸部筋肉および大腿筋肉内に各々 2 ヶ所の計 1ml を接種した。そして、9 週齢時にノギスで左右肉垂の厚さを測定した後に HYG [$400 \mu\text{g}/\text{ml}$ (生理食塩水)] を左肉垂、生理食塩水を右肉垂に 0.1ml ずつ皮内接種し、その 24 時間後にノギスで左右肉垂の厚さを測定し、左右肉垂の腫脹差を算出した。

3) 試験 3: サトウキビ抽出物の飼料添加濃度の違いが生産性に及ぼす影響

生産性試験は、伊勢赤どり雌初生雛 450 羽 ($30 \text{羽}/\text{群} \times 3 \text{群}/\text{区} \times 5 \text{区}$) を供試して試験 2 と同じの試験区を設定し、70 日齢まで飼育した。検査は、1 羽毎の体重を 0 日齢および 70 日齢に測定し、群毎の飼料摂取量を 70 日齢に測定した。生産指数は、育成率 \times 出荷体重 (kg) $\times 100 / (\text{出荷日齢} \times \text{飼料要求率})$ として算出した。

3. 統計処理

統計処理は、盲腸便および盲腸内容物中の SE 検出率を χ^2 検定、盲腸便中の SE 菌数、免疫反応および生産性各形質を一元配置分散分析法および最小有意差法により解析した (吉田 1978)。

結 果

4～10日齢における盲腸便中のSE検出率は、試験区間に有意な差が認められなかったが、SCE0.05%区、CE区、CE+SCE0.05%区は対照区よりも低かった(表19)。10日齢における盲腸内容物中のSE菌数では、SCE0.05%区は対照区と比較して有意な差は認められなかったが、試験区の中で最も低かった。また、10日齢における盲腸内容物中の増菌後のSE検出率は、SCE0.05%区、CE+SCE1%区が最も低かった(表20)。

SRBC抗体価は未処理血清および2ME処理後の血清ともに試験区間に有意な差はなく、ほぼ同様な値であった(図1, 2)。また、BA抗体価は未処理の血清および2ME処理後の血清とも各区間に有意な差はなく、ほぼ同様な値であった(図3, 4)。遅延型過敏反応である肉垂の腫脹差はCE+SCE0.05%区が、CE区、CE+SCE0.25%区、CE+SCE1%区よりも有意($p < 0.05$)に大きかった(図5)。

増体重は試験区間に有意な差は認められなかったが、CE+抗菌剤区が2778gと最も高く、次いでCE+SCE1%区2743g、CE+SCE0.25%区2730g、CE+SCE0.05%区2727g、CE区2716gの順であった。飼料摂取量は試験区間に有意な差は認められなかったが、CE+SCE0.05%区8489g、CE+SCE1%区8410g、CE+抗菌剤区8344g、CE区8317g、CE+SCE0.25%区8312gの順であった。飼料要求率も試験区間に有意な差は認められなかったが、CE+抗菌剤区3.00が最も低く、次いでCE+SCE0.25%区3.04、CE区3.06、CE+SCE1%区3.07、CE+SCE0.05%区3.11の順であった。生産指数は、CE+抗菌剤区、CE+SCE1%区、CE+SCE0.25%区はCE区よりも高かった(表21)。

考 察

本研究に供した SCE は、これまでに採卵鶏への 3 または 6 日間の連続経口投与による免疫増強作用や成長促進効果について報告されている (Moshira ら 2002 ; Moshira ら 2003)。また、中村ら (2001) は、1 日齢の採卵鶏雄雛に SCE10%製品の 0.05%および 0.1%添加飼料と無添加飼料を給与し、5 日齢で $SE10^5$ CFU/羽を経口接種し、44 日齢から 3 日間絶食・絶水処理した。そこで、40 日齢と 47 日齢に盲腸内容物中の SE 陽性率を測定したところ、0.1%添加は無添加飼料の半数に減少し、鶏腸管内 SE 増殖抑制に有効であったと報告している。一方、本研究において 4 ~ 10 日齢の盲腸便中の SE 検出率、10 日齢時の盲腸内容物中の SE 菌数および SE 検出率が最も低かった濃度は、0.05% (SCE20%製品) であった。本研究の 0.05% (SCE20%製品) と中村の報告の 0.1% (SCE10%製品) は飼料中の SCE 成分濃度がともに 0.01%である。このことから、SCE 成分として 0.01%濃度を飼料に添加することにより肉用鶏・採卵鶏ともに鶏腸管内 SE 増殖抑制効果が認められることが明らかとなった。

B 細胞は、免疫グロブリンが抗原レセプターであるリンパ球であり、抗体を産生する働き (液性免疫) を持つ。また、T 細胞は、免疫グロブリン以外の分子が抗原レセプターであるリンパ球であり、サイトカインを産生・放出することで B 細胞が抗体産生に至るまでの様々な段階を補助する作用や、微生物の侵入に際し微生物抗原に反応して様々なリンフォカインを産生・放出することで微生物を貪食するマクロファージを活性化させる作用 (細胞性免疫) などを有することが知られている。抗原に対して抗体を作る際に B 細胞単独

では不十分で T 細胞の補助作用を必要とする抗原のことを T 細胞依存性抗原といい，SRBC はこれに該当する。このため，SRBC 凝集抗体価は，T 細胞依存性液性免疫の指標である。一方，抗原に対して抗体を作る際に B 細胞単独で行い，T 細胞の存在を必要としないような抗原のことを T 細胞非依存性抗原といい，BA はこれに該当する（矢田 1998）。このため，BA 凝集抗体価は，T 細胞非依存性液性免疫の指標である。Moshira ら（2002）は，採卵鶏雄を供試し，1 週齢時に SCE500mg/kg/日 を 3 または 6 日間連日そ嚢内投与し，3 および 4 週齢時に SRBC と BA の混合抗原を静脈内に接種し 5 週齢時に両抗体価を測定した。その結果，SRBC 抗原および BA 抗原に対する抗体応答は，無処理の血清では 6 日間投与区で対照区に対して有意に高く，2ME 処理血清では 3 および 6 日間投与区で対照区に対して有意に高かったことを報告している。一方，本研究でも同様に 3 および 4 週齢時に SRBC と BA の混合抗原を静脈内に接種し 5 週齢，8 週齢，10 週齢時に両抗体価を測定したが，SRBC 抗原および BA 抗原に対する抗体応答において，無処理および 2ME 処理血清とも試験区間に有意差は認められなかった。このことから，液性免疫増強効果を期待するには，低濃度を持続的に投与する本研究で行った方法ではなく，高濃度を短期間に投与する Moshira ら（2002）が行った方法を行うべきであると推察された。

抗原と反応した T 細胞は様々のサイトカインを放出し，マクロファージを集め活性化する。活性化されたマクロファージもサイトカインなどを放出して組織反応をもたらす。組織反応は T 細胞が抗原と反応してから 1～2 日たって最大となる。これが DTH であり，細胞性免疫の指標となる（矢田 1998）。Moshira ら（2003）は，閉鎖系

の鶏を供試し、2または10月齢時に SCE500mg/kg/日を3日間連日そ嚢内投与した後、本研究と同じ方法で DTH 応答を評価したところ、両月齢とも3日間投与区は対照区に対して有意に高かったことを報告している。一方、本研究の DTH において、CE+SCE0.05%飼料添加は対照区よりも有意に腫脹差が大きく、Moshiraら(2003)の報告と同様に細胞性免疫増強効果を有することが明らかとなった。このことから、肉用鶏に CE 製品を投与し SCE0.05%添加飼料を給与することで、免疫増強効果による各種疾病防除効果が期待される。両試験結果から、細胞性免疫増強効果を期待するには、高濃度を短期間に投与する Moshiraら(2003)の方法の他に、低濃度を持続的に投与する本研究で行った方法でも可能であることが推察された。なお、本研究では CE 製品と SCE0.05%添加飼料の併用にて効果を検討しているため、今後、肉用鶏において SCE0.05%添加飼料単独による免疫増強効果を検討する必要がある。

一方、本研究で供試された SCE0.05%飼料添加は、飼料摂取量に優れる傾向が認められることから、嗜好性は良いものと考えられたが、増体重および生産指数は試験区間に有意な差が認められなかった。なお、本研究は比較的病原性微生物の汚染が少ない試験用鶏舎で行っており、汚染度の高い鶏舎において生産性の改善に有効であるかを、今後検討される必要がある。

以上のことから、SCE0.05%飼料添加が肉用鶏の SE 排菌抑制ならびに腸管内増殖抑制に効果があること、ならびに CE 製品との複合投与により細胞性免疫増強効果のあることが示唆された。

要 約

肉用鶏において抗菌性物質無添加飼料への SCE の添加給与による SE 排菌抑制効果および腸管内 SE 増殖抑制効果に及ぼす影響を検討した。その結果、SCE0.05%飼料添加により SE 排菌抑制ならびに腸管内 SE 増殖抑制効果が認められた。また、肉用鶏において抗菌性物質無添加飼料への SCE の添加給与による免疫増強効果および生産性に及ぼす影響を検討した。その結果、CE 製品と SCE0.05%飼料添加の複合投与は、細胞性免疫の指標である遅延型過敏反応において CE 製品を投与し、無添加飼料を給与した区よりも腫脹差が有意に大きく、生産性に対する悪影響は認められなかった。

以上のことから、SCE0.05%飼料添加が肉用鶏の SE 排菌抑制ならびに腸管内 SE 増殖抑制に効果があること、ならびに CE 製品との複合投与により細胞性免疫増強効果があることが示唆された。

表19. CE製品とSCEの投与がSE感染肉用鶏の盲腸便中のSEに及ぼす影響

	処理区					
	対照区 ¹⁾	CE区 ²⁾	SCE0.05%区 ³⁾	CE+SCE0.05%区 ⁴⁾	SCE1%区 ⁵⁾	CE+SCE%区 ⁶⁾
盲腸便中のSE検出率(%)						
3日齢	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
4日齢	83.3	83.3	33.3	83.3	100.0	100.0
5日齢	66.7	33.3	66.7	66.7	100.0	100.0
6日齢	83.3	100.0	66.7	66.7	33.3	83.3
7日齢	83.3	16.7	50.0	33.3	83.3	50.0
8日齢	66.7	50.0	50.0	50.0	66.7	50.0
9日齢	50.0	50.0	33.3	50.0	83.3	50.0
10日齢	50.0	50.0	33.3	33.3	100.0	50.0
平均(4-10日齢)	69.0	54.8	47.6	54.8	80.9	69.0

3日齢に *Salmonella* Enteritidis 2.2×10^7 CFU を経口投与

²⁾ CE製品投与で無添加飼料給与区

⁴⁾ CE製品投与でサトウキビ抽出物0.05% (W/W) 添加飼料給与区

⁶⁾ CE製品投与でサトウキビ抽出物1% (W/W) 添加飼料給与区

¹⁾ CE製品無投与で無添加飼料給与区

³⁾ CE製品無投与でサトウキビ抽出物0.05% (W/W) 添加飼料給与区

⁵⁾ CE製品無投与でサトウキビ抽出物1% (W/W) 添加飼料給与区

処理間に有意差なし

表20. CE製品とSCEの投与がSE感染肉用鶏の盲腸内容物中のSEに及ぼす影響(10日齢)

	処理区					
	対照区 ¹⁾	CE区 ²⁾	SCE0.05%区 ³⁾	CE+SCE0.05%区 ⁴⁾	SCE1%区 ⁵⁾	CE+SCE1%区 ⁶⁾
SE菌数における検出率(%)						
0~500 (CFU/gFW)	66.7	66.7	83.3	50.0	16.7	66.7
500~10 ³ (CFU/gFW)	0	0	16.7	16.7	16.7	0
10 ³ ~10 ⁴ (CFU/gFW)	16.7	33.3	0	16.7	66.7	16.7
10 ⁴ ~10 ⁵ (CFU/gFW)	0	0	0	16.7	0	16.7
10 ⁵ ~10 ⁶ (CFU/gFW)	16.7	0	0	0	0	0
SE菌数幾何平均(LogCFU/g)	2.51 ^{ab) 7)}	1.83 ^{ab)}	1.22 ^{b)}	2.09 ^{ab)}	3.07 ^{a)}	1.84 ^{ab)}
増菌後のSE検出率(%)	83.3	50.0	33.3	50.0	100.0	33.3

3日齢に *Salmonella* Enteritidis 2.2×10⁷CFUを経口投与

²⁾CE製品投与で無添加飼料給与区

⁴⁾CE製品投与でサトウキビ抽出物20%製品0.05% (W/W)添加飼料給与区

⁶⁾CE製品投与でサトウキビ抽出物20%製品1% (W/W)添加飼料給与区

¹⁾CE製品無投与で無添加飼料給与区

³⁾CE製品無投与でサトウキビ抽出物20%製品0.05% (W/W)添加飼料給与区

⁵⁾CE製品無投与でサトウキビ抽出物20%製品1% (W/W)添加飼料給与区

⁷⁾異符号間に5%水準で有意差あり

表21. SCEの飼料添加濃度の違いが生産性に及ぼす影響 (70日齢)

	処理区				
	CE区 ¹⁾	CE+SCE0.05%区 ²⁾	CE+SCE0.25%区 ³⁾	CE+SCE1%区 ⁴⁾	CE+抗菌剤区 ⁵⁾
増体重(g/羽)	2716	2727	2730	2743	2778
飼料摂取量(g/羽)	8317	8489	8312	8410	8344
飼料要求率	3.06	3.11	3.04	3.07	3.00
育成率(%)	97.8	97.8	97.8	100.0	97.8
生産指数 ⁶⁾	126.1	124.6	127.6	129.7	131.5

¹⁾CE製品投与、無添加飼料給与区

³⁾CE製品投与、サトウキビ抽出物20%製品0.25% (W/W) 添加飼料給与区

⁵⁾CE製品投与、56日齢まで抗菌性物質添加飼料給与区
各項目において処理間に有意差なし

²⁾CE製品投与、サトウキビ抽出物20%製品0.05% (W/W) 添加飼料給与区

⁴⁾CE製品投与、サトウキビ抽出物20%製品1% (W/W) 添加飼料給与区

⁶⁾生産指数=育成率×出荷体重(Kg)×100/ (出荷日齢×飼料要求率)

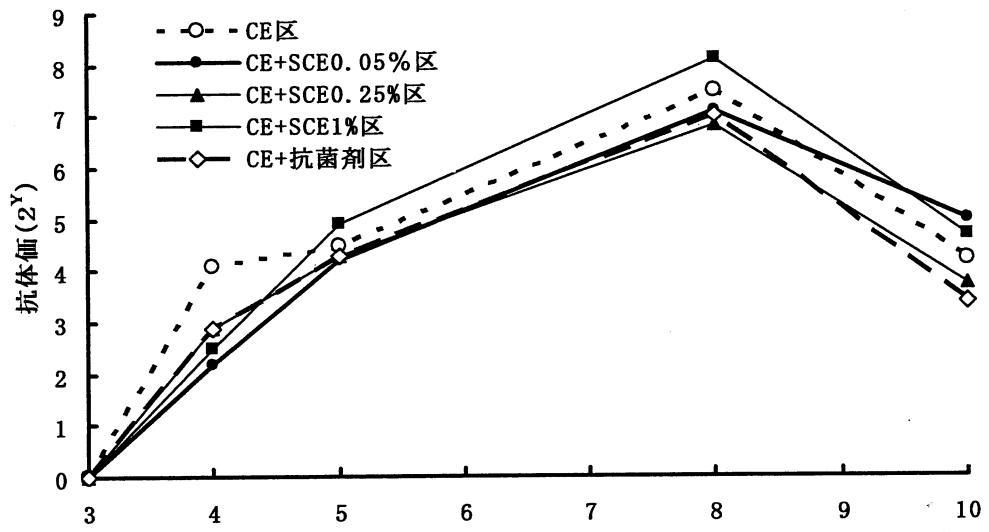


図1 ヒツジ赤血球抗体価の推移 (週齢)

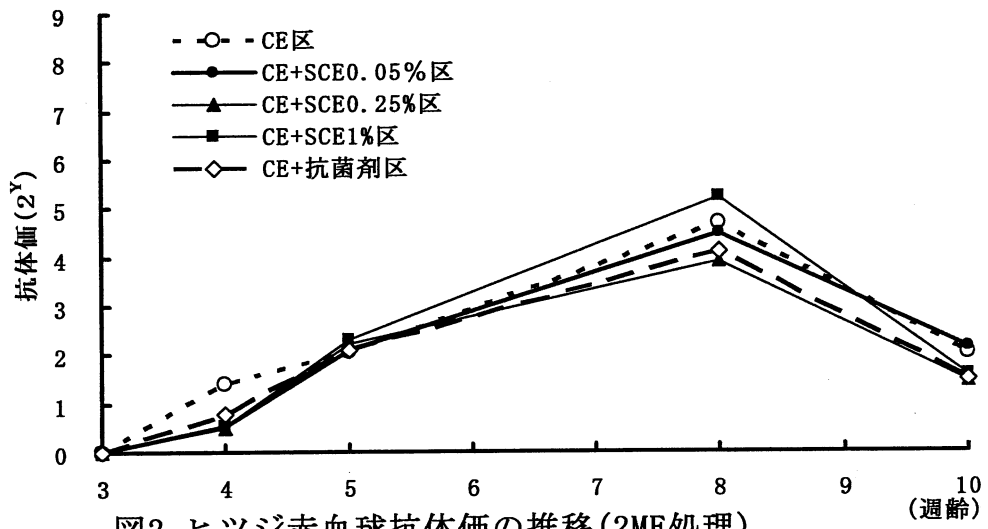


図2 ヒツジ赤血球抗体価の推移(2ME処理)

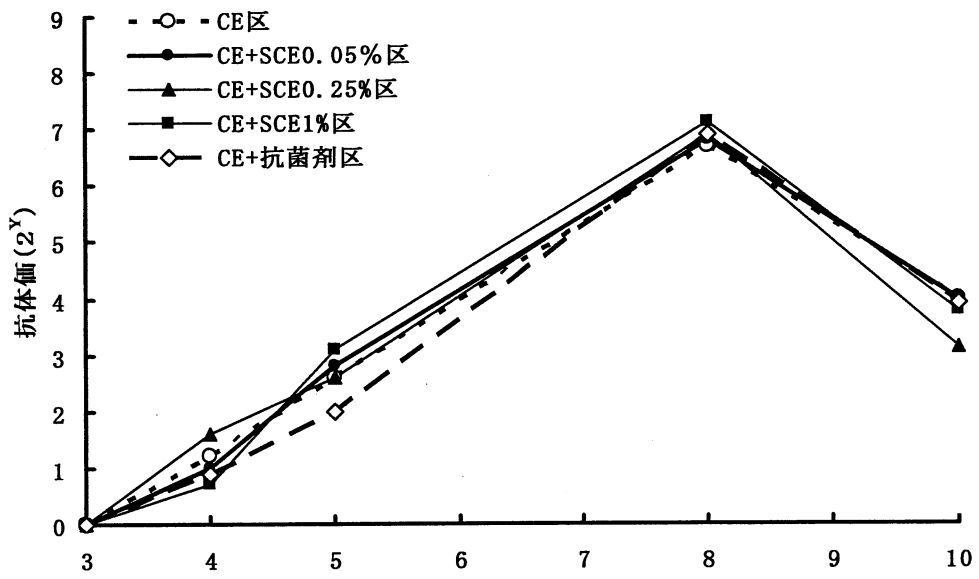


図3 フルセラ・アボルダス抗体価の推移 (週齢)

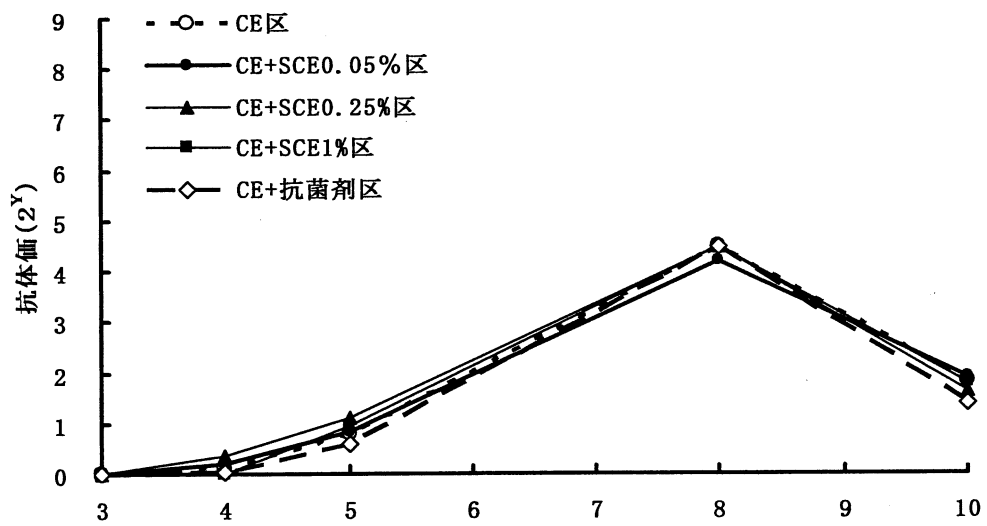


図4 フルセラ・アホルタス抗体価の推移(2ME処理) (週齢)

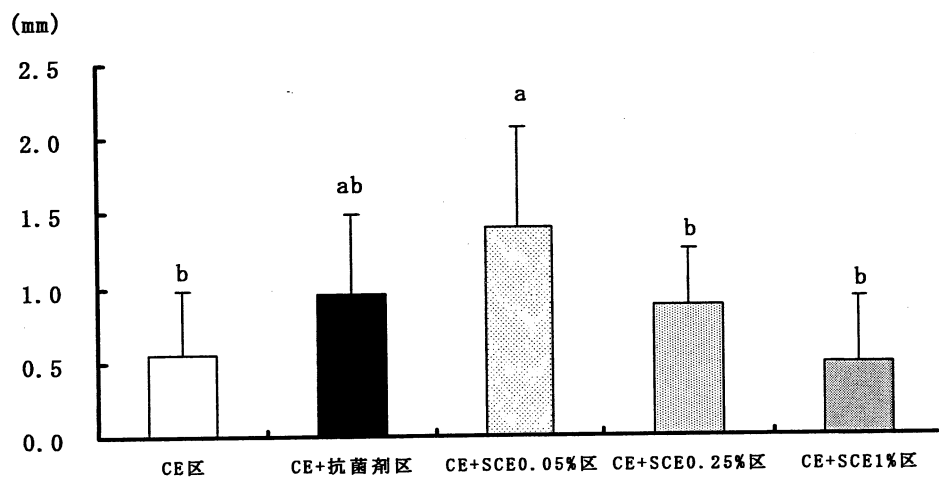


図5 接種24時間後の肉垂の腫脹差

(異符号間に5%水準で有意差あり)

第4章 噴霧消毒による鶏舎内細菌数の低減効果

第1節 新規消毒資材の浸漬および噴霧による消毒効果の検討

緒言

前章までに、飼料添加資材および有用微生物の給与による *Salmonella Enteritidis* (SE) の鶏腸管内増殖抑制効果ならびに排菌抑制効果を明らかにした。しかし、こうした方法は SE 対策としては限定的なものとならざるを得ないため、養鶏施設内消毒などと併用することが必要である。例えば、導入雛や購入飼料の SE 陰性確認、人および車両の立ち入り制限、鶏舎毎の専用作業服・長靴の着用、鶏導入前の鶏舎内消毒等のバイオセキュリティ対策の徹底であり、消毒剤には、[モノ、ビス(塩化トリメチルアンモニウムメチレン)]アルキルトルエン 10% 製剤や塩化ジデシルジメチルアンモニウム (Didecyl dimethyl ammonium chloride; DDAC) 10% 製剤等の逆性石鹼が一般的に利用されている(迫田ら 2007)。

また、微酸性次亜塩素酸水は、2～6%の希塩酸を無隔膜電解槽で電気分解して得られる pH5.0～6.5 の次亜塩素酸を主成分とする水溶液(中山ら 2003; 岡本ら 2006)、強酸性次亜塩素酸水は、0.2%以下の食塩を電解質水溶液とし、有隔膜電解槽を用いた電気分解で生成される pH2.7 以下の次亜塩素酸を主成分とする水溶液(岩沢ら 2002; 岩沢ら 2004; 泉 2004; 紙谷ら 2008; 小関ら 2000; 竹下ら 2001; 上田ら 1999)で、2002年6月10日付けの厚生労働省告示第212号により「次亜塩素酸水」として食品添加物に認可されている。食品

の除菌や殺菌剤として広く利用されている（泉 2008）ほか，畜産分野での使用についても検討されている（生田ら 1996；今村 1997；小松ら 1994；小松ら 1996）。同様に，食品添加物に認可されている 12%次亜塩素酸ナトリウムと 8.5%塩酸を水道水により希釈混合して pH および残留塩素濃度を調整した水溶液である次亜塩素酸水も広い抗菌スペクトルを持ち，残留性が低く，毒性が認められないこと（浅野 1993；古田 1997）から，近年，食品加工や調理などの様々な分野での消毒薬として広く利用されており，畜産分野での使用も検討されている（松馬ら 2001；松馬ら 2002；小野ら 2006a；小野ら 2006b；小野ら 2007；山内ら 2000）。その他，オゾンガスを水に溶解したオゾン水（内藤 1995；内藤 2008；高野ら 1998；浦野 2005；横関ら 1994），カキ殻を通電加熱処理により調整したカルシウム製品を水で溶解・懸濁した貝殻焼成カルシウム懸濁液（一色ら 1994；M.L.Bare ら 1999；大久ら 1999；山中ら 1995），緑茶葉からの抽出成分したカテキン（原ら 1989；中山ら 2008），アオモリヒバからの抽出したヒノキチオール（岡部ら 1992；岡部ら 1994；斉藤ら 1997）についても畜産分野における利用方法が期待されている。

本研究では，強酸性次亜塩素酸水，微酸性次亜塩素酸水，次亜塩素酸ナトリウム水溶液を塩酸で pH7.0 に調整した中性次亜塩素酸水，オゾン水，貝殻焼成カルシウム懸濁液，カテキン水溶液，ヒノキチオール水溶液の SE に対する *in vitro* での消毒効果を既存の消毒剤である [モノ，ビス（塩化トリメチルアンモニウムメチレン）] アルキルトルエン 10%製剤希釈液，DDAC10%製剤希釈液と比較検討した。また，中性次亜塩素酸水，貝殻焼成カルシウム飽和液上清の噴霧による黄色ブドウ球菌および大腸菌に対する消毒効果を DDAC10%製剤希

积液と比較検討した。さらに、残留塩素濃度および噴霧量の違う中性次亜塩素酸水の噴霧による黄色ブドウ球菌に対する消毒効果を検討した。

なお、鶏舎環境に常在する黄色ブドウ球菌や大腸菌は、鶏に日和見感染することで、黄色ブドウ球菌では浮腫性皮膚炎や骨髓炎、大腸菌では気嚢炎、敗血症、腸炎、関節炎等を発症させること、さらに人の食中毒の原因菌にもなりえることから、本研究では黄色ブドウ球菌をグラム陽性球菌の指標菌、大腸菌をグラム陰性桿菌の指標菌として用いた。

材料と方法

1. 試験設定

1) 試験 1：各種消毒資材が SE の殺菌時間に及ぼす影響

SE に対する各種消毒資材の殺菌効果は、細菌懸濁試験法(佐藤, 1995)に準じて検討した。供試した消毒資材は、強酸性次亜塩素酸水(残留塩素濃度 50ppm)、微酸性次亜塩素酸水(残留塩素濃度 50ppm, 80ppm)、中性次亜塩素酸水(残留塩素濃度 50, 80, 200ppm)、オゾン水(オゾン濃度 1, 4ppm)、貝殻焼成カルシウム懸濁液(0.01, 0.02, 0.04%)、カテキン水溶液(250, 500ppm)、ヒノキチオール水溶液(10, 50, 100 μ g/ml)、ならびに対照として既存の消毒剤である[モノ、ビス(塩化トリメチルアンモニウムメチレン)]アルキルトルエン 10%製剤、ならびに DDAC10%製剤(ともに使用説明書に記載された最低濃度 0.05%、最高濃度 0.2%)の 9 種類である。各種消毒資材をそれぞれ 2 本の滅菌試験管に 3ml ずつ分注し、10⁸CFU/ml に調整した SE (*Salmonella*

Enteritidis ZK-2a 株，全農家畜衛生研究所から分与) 菌液 30 μ l を滴下し，滴下後 10，30，60，120，180，300 秒と経時的に 25 $^{\circ}$ C の恒温槽で感作させた後に，培養液 30 μ l をサンプリングして SE の生存を調査した。SE の生存は，培養液サンプルを 3%Tween80 含有のトリプトソイブロス（栄研化学株式会社）に滴下し，37 $^{\circ}$ C，48 時間培養後，ブロスの混濁により菌の発育を判定した。ブランクは滅菌蒸留水 3ml とした。さらに，1 エーゼをトリプトソイ寒天培地（栄研化学株式会社）に塗抹し，37 $^{\circ}$ C，24 時間培養して菌の発育を確認した。また，ウマ血清 0.1ml を試験管内に添加することにより，消毒効果における共存する有機物の影響について検討を行った。

2) 試験 2：各種消毒資材の噴霧がろ紙に付着した黄色ブドウ球菌数
・大腸菌数に及ぼす影響

床面や壁面等に付着する細菌に対する各種消毒資材の消毒効果を検討するために行った。まず，黄色ブドウ球菌（*Staphylococcus aureus* ATCC 6538P 株）および大腸菌（*Escherichia coli* NIHJ 株）をそれぞれ 10⁵CFU/0.25ml に調整した後，馬血清 2% 添加（黄色ブドウ球菌では無添加も作成）し，その 0.25ml を 48mm × 90mm の各ろ紙に別々に滴下した後，37 $^{\circ}$ C のふ卵器にて 10 分間乾燥させた。乾燥後，作成したろ紙を一辺 90 cm 角の密閉可能な立方体容器の底面 3 箇所置き，中性次亜塩素酸水（残留塩素濃度 90ppm），DDAC10% 製剤 0.2% 液，貝殻焼成カルシウム飽和液上清，および蒸留水をコンプレッサーによる 3.0kg/cm の圧縮空気圧により二流体式ノズルから平均 40 μ m の粒子が 1 分間に 100ml を噴霧する機械（クリアフォガー CF70，株式会社昭和フランキ）を用いて各消毒資材 50ml を噴霧し，15 分間感作した。その後，ろ紙 3 枚を回収し，10ml 滅菌生理食塩水の入った試験管に

入れ振とう後，10段階希釈し，その希釈液各 0.1ml をマンニット加食塩寒天培地（栄研化学株式会社）および DHL 寒天培地（栄研化学株式会社）に塗布した。37℃，24時間培養後，黄色ブドウ球菌数および大腸菌数を測定した。また，無噴霧でも同様にろ紙を回収し，菌数を測定した。

3) 試験 3：各種消毒資材の噴霧が落下黄色ブドウ球菌数・大腸菌数に及ぼす影響

鶏舎空間に浮遊する細菌に対する各種消毒資材の消毒効果を検討するために，2%馬血清添加および馬血清無添加の黄色ブドウ球菌および大腸菌をそれぞれ 10^5 CFU/ml 含有した混合菌液 40ml を一辺 90 cm 角の密閉可能な立方体容器内に噴霧飛散させ，直ちに中性次亜塩素酸水（残留塩素濃度 90ppm），DDAC10%製剤 0.2%液，貝殻焼成カルシウム飽和液上清，および蒸留水を 40ml 噴霧し，噴霧終了後 1，5，15 分に密閉容器内の底面にマンニット加食塩寒天培地および DHL 寒天培地を 10 秒間挿入し，両培地を 37℃，24 時間培養後，落下黄色ブドウ球菌数，大腸菌数を測定した。

4) 試験 4：残留塩素濃度・噴霧量の違う中性次亜塩素酸水の噴霧が落下黄色ブドウ球菌数に及ぼす影響

黄色ブドウ球菌を $10^5 \sim 10^6$ CFU/ml 程度含有した菌液 40ml を一辺 90 cm 角の密閉可能な立方体容器内に噴霧飛散させ，直ちに残留塩素濃度と噴霧量の異なる中性次亜塩素酸水を噴霧し，噴霧終了後 1，5，15 分に密閉容器内の底面にマンニット加食塩寒天培地を 10 秒間挿入し，培地を 37℃，24 時間培養後，落下黄色ブドウ球菌数を測定した。

(1) 2.60×10^7 CFU の菌液を噴霧後，残留塩素濃度 50ppm および 90ppm の

中性次亜塩素酸水を 20ml, 40ml 噴霧し, 測定した。

(2) 2.28×10^7 CFU の菌液を噴霧後, 残留塩素濃度 90ppm の中性次亜塩素酸水を 10ml, 20ml, 40ml 噴霧し, 対照として無噴霧でも測定した。

(3) 1.24×10^8 CFU の菌液を噴霧後, 残留塩素濃度 50ppm の中性次亜塩素酸水を 5ml, 10ml, 20ml 噴霧し, 対照として無噴霧でも測定した。

結 果

試験 1 の結果は表 22 に示すように, 有機物が共存しない条件での殺菌時間は, 残留塩素濃度 50ppm 以上の強酸性次亜塩素酸水, 微酸性次亜塩素酸水, 中性次亜塩素酸水, および [モノ, ビス (塩化トリメチルアンモニウムメチレン)] アルキルトルエン 10% 製剤 0.2% 液, DDAC10% 製剤 0.2% 液は 10 秒, DDAC10% 製剤 0.05% 液は 30 秒, [モノ, ビス (塩化トリメチルアンモニウムメチレン)] アルキルトルエン 10% 製剤 0.05% 液は 60 秒であった。有機物が共存した条件での殺菌時間は, 残留塩素濃度 50ppm 以上の強酸性次亜塩素酸水, 微酸性次亜塩素酸水, 中性次亜塩素酸水, DDAC10% 製剤 0.2% 液は 10 秒, DDAC10% 製剤 0.05% 液は 30 秒, [モノ, ビス (塩化トリメチルアンモニウムメチレン)] アルキルトルエン 10% 製剤 0.2% 液および 0.05% 液は 60 秒であった。なお, 貝殻焼成カルシウム懸濁液, オゾン水, カテキン水溶液, ヒノキチオール水溶液は, 有機物共存の有無に関わらず, 各濃度ともに 5 分間の感作時間では SE 殺菌効果が認められなかった。

試験 2 の結果は表 23 に示すように, ろ紙に含まれる有機物共存の有無に関わらず, 中性次亜塩素酸水 (残留塩素濃度 90ppm) が DDAC10% 製剤 0.2% 液, 貝殻焼成カルシウム飽和液上清に比べ, 検出菌量がほ

ば 1/10 に低下した。DDAC10%製剤 0.2%液および貝殻焼成カルシウム飽和液上清は、蒸留水および無噴霧のまま培養したものと検出菌数はほぼ同等であり、消毒効果に乏しかった。

試験 3 の結果は表 24 に示すように、噴霧菌液中に含まれる有機物共存の有無に関わらず、中性次亜塩素酸水では検出菌量が 10CFU 以下であり、DDAC10%製剤 0.2%液および貝殻焼成カルシウム飽和液上清に比べ少なかった。DDAC10%製剤 0.2%液および貝殻焼成カルシウム飽和液上清は蒸留水と検出菌数はほぼ同等であり、消毒効果に乏しかった。

試験 4 の結果は表 25 に示すように、噴霧菌液が 2.60×10^7 CFU/40ml で、残留塩素濃度 50ppm 以上の中性次亜塩素酸水を 20ml 以上噴霧することにより感作時間 1 分で落下黄色ブドウ球菌は検出されなかった。噴霧菌液が 2.28×10^7 CFU/40ml で、残留塩素濃度 90ppm の中性次亜塩素酸水 10ml 以上の噴霧により感作時間 1 分で菌は検出されなかった。噴霧菌液が 1.24×10^8 CFU/40ml において、感作時間 1 分の検出菌数は、無噴霧で 1114CFU、残留塩素濃度 50ppm の NAHS の噴霧量が 5ml では 79CFU、10ml では 26CFU、20ml では 6CFU で、噴霧量の増加に伴い検出菌数は減少した。

考 察

既存の消毒剤である [モノ、ビス (塩化トリメチルアンモニウムメチレン)] アルキルトルエン 10%製剤 0.2%液は、有機物が共存しない条件では 10 秒で SE を殺菌したが、有機物が共存した条件では 60 秒と感作時間が長くかかり、有機物の存在により消毒効果が低下す

ることが認められた。また、有機物が共存しない条件において 0.05%液は 30 秒と 0.2%液より長くかかったことから濃度による殺菌効果の影響が認められた。DDAC10%製剤 0.2%液は、有機物共存の有無にかかわらず 10 秒で殺菌したが、0.05%液は 30 秒と長かったことから濃度による殺菌効果の影響が認められた。

一方、有機物の共存の有無に関わらず、残留塩素濃度 50ppm 以上の強酸性次亜塩素酸水、微酸性次亜塩素酸水、中性次亜塩素酸水は、10 秒の感作時間で SE を殺菌した。この結果は、多くの研究者による報告と一致している。次亜塩素酸水の殺菌力は、電気分解により陽極で塩化物イオンが酸化されて発生する塩素ガス (Cl_2) が水と反応した際に生じる非解離の次亜塩素酸 (HClO) によることが知られており、その殺菌原理は次亜塩素酸自体の酸化反応と次亜塩素酸から生じる活性酸素であるヒドロキシラジカル ($\cdot\text{OH}$) の酸化反応に起因すると推定されている (泉 2008)。なお、次亜塩素酸の解離が少ない pH3 ~ 7 付近では殺菌効果が高いことが報告されている (福崎ら 2009; 岩沢ら 2009; 泉 2008)。強酸性次亜塩素酸水と微酸性次亜塩素酸水の殺菌効果を検討した既報 (泉ら 2004) において、*in vitro* では微酸性次亜塩素酸水が強酸性次亜塩素酸よりも優れ、カット野菜に対する *in vivo* では両処理間に有意差は認められなかった。また、残留塩素濃度 20ppm の微酸性次亜塩素酸水と残留塩素濃度 200ppm の次亜塩素酸ナトリウム溶液は、カットキュウリおよびニンジンの製造ライン上で殺菌効果に差がないと報告している。これは、微酸性次亜塩素酸水は次亜塩素酸ナトリウム溶液よりも残留塩素濃度が低くても同等の殺菌効果が得られることを示唆する。竹下ら (2001) は、黄色ブドウ球菌を指標とした 5 秒間感作の定量的細菌濁法におい

て、食塩水の電気分解により生成する次亜塩素酸水の殺菌効果は、遊離塩素濃度が低くなるほど、また同一遊離塩素濃度であれば pH が低いほど高いと報告している。同様に、残留塩素濃度 20ppm, pH6.0 の微酸性次亜塩素酸水の抗微生物効果について岡本ら (2006) は、Clostridium の芽胞、メシチリン耐性黄色ブドウ球菌 (MRSA)、コレラ菌、赤痢菌に対して 10⁶CFU/ml の菌数を 30 秒の作用時間で 10CFU/ml 以下にし、インフルエンザウイルス、酵母、カビに対して失活もしくは殺菌効果が認められたことを報告している。

その一方、その他の天然成分による SE に対する作用時間 5 分間以内での、いわゆる即効性の殺菌作用は全く認められなかった。そして、本研究において殺菌効果が認められなかったのは、試験方法に起因することが推察された。例えば、貝殻焼成カルシウムは食品中の一般細菌数やサルモネラ菌、黄色ブドウ球菌、大腸菌、枯草菌を抑制するが、一色ら (1994) は貝殻焼成カルシウムおよび主成分の水酸化カルシウムが細菌生育を阻止する最小濃度を 0.07 ~ 0.1%、抗菌作用が観察される貝殻焼成カルシウム製品の濃度を、山中ら (1995) は 0.1 ~ 1%、M.L.Bari ら (1999) は 0.4%と報告している。本研究において検討した 0.01 ~ 0.04%は、殺菌効果が観察される濃度より低いことから、SE に対する殺菌効果が認められなかったものと推察された。オゾンには、広範囲の微生物に対して殺菌効果を示すことが知られている。その作用機序は、オゾン分解の際に生成するヒドロキシラジカルの強い酸化力による微生物細胞表層の破壊・分解と考えられており (高野ら 1998)、水溶液やガス状において広範囲の微生物に殺菌効果が認められる。一方、その殺菌効果の特徴として持続性がないこと、水溶液中の微生物に対するオゾンの殺菌は接

触時間，水温，pH，無機物および有機物の存在に著しく影響されること，さらに殺菌には時間を要すること（内藤 1995）が指摘されており，このことが本研究で検討した 5 分間以内の感作時間では SE 殺菌効果が認められなかった理由と推察された。カテキンの殺菌作用は，pH に依存した細胞表層へのカテキンの吸着とカテキンの過酸化水素産生が大きく関与しており，黄色ブドウ球菌，バチルス属細菌，ビブリオ属細菌に対しては高い抗菌活性を示す一方，乳酸菌，サルモネラ，大腸菌，緑膿菌に対しては低い活性を示すとされている（中山 2008）。また，カテキンの作用効果は感作時間が 48 時間程度の必要があり，速効性の効果は期待できないことと考えられた。また，ヒノキチオールは，広い抗菌スペクトルや蛋白質変性による抗菌作用機序のほか，薬剤耐性菌出現を促さないなどの特徴を持ち，MRSA に対する抗菌活性も報告（岡部ら 1994）されている。また，医療現場ではヒノキチオールナトリウム塩の殺菌力の遅効性と持続性に着目しており，長期使用の可能性に期待が集まっている（斉藤ら 1997）。このことから，ヒノキチオールは 5 分間の感作時間では SE 殺菌効果が認められなかったものと考えられる。

次に，噴霧による壁面等に付着する黄色ブドウ球菌および大腸菌（試験 2），空間に浮遊する黄色ブドウ球菌および大腸菌（試験 3）に対する噴霧による消毒効果を検討するために，試験 1 で効果のあった次亜塩素酸水の中でも pH による鶏体等への影響が少ない中性次亜塩素酸水（残留塩素濃度 90ppm），同じく試験 1 で効果のあった DDAC10% 製剤 0.2% 液，さらに貝殻焼成カルシウム飽和液上清を比較した。その結果，黄色ブドウ球菌・大腸菌に対する消毒効果が DDAC10% 製剤 0.2% 液，貝殻焼成カルシウム飽和液上清では認められず，中性

次亜塩素酸水では認められたことから、中性次亜塩素酸水は噴霧消毒資材として有効であることが明らかとなった。一方、DDAC10%製剤0.2%液は、通常、鶏を鶏舎へ搬入する前に行う鶏舎内消毒に用いられ、その際の使用量は 1 l/m^2 程度（佐藤 1998）であるのに対し、試験2では 0.062 l/m^2 、試験3では 0.049 l/m^2 で、それぞれ1/16、1/20程度であったことから、少量では十分な消毒効果が認められないものと推察された。次に、残留塩素濃度・噴霧量の違う中性次亜塩素酸水の噴霧が、空間に浮遊する黄色ブドウ球菌に及ぼす影響（試験4）を検討した。その結果、残留塩素濃度差による消毒効果への影響は明らかではなかったが、浮遊する黄色ブドウ球菌数が少なく、中性次亜塩素酸水の噴霧量が多いほど消毒効果が認められた。このことから、本研究のように少量の中性次亜塩素酸水を噴霧する場合には、噴霧量を増やすことにより落下黄色ブドウ球菌数を減少させることが明らかとなり、中性次亜塩素酸水の噴霧量は環境中の菌数等の条件により決定されるものと推察された。

以上のことから、有機物である粉塵に付着し、鶏舎内空間に浮遊する細菌数を低減させる噴霧消毒資材には、残留塩素濃度50ppm以上の中性次亜塩素酸水が有効であることが明らかとなった。なお、中性次亜塩素酸水は、現時点では鶏体噴霧を用法とする動物用医薬品に認可されていないが、今後研究が進み、鶏に対する安全性や資材の保存性等の検討項目が解決され、将来的に認可が受けられることが期待される。

要 約

鶏舎壁面や飼育器材への付着，および鶏舎に浮遊する粉塵等の有機物に付着した病原体による感染症を防除する対策として，器材の浸漬消毒や鶏舎内の噴霧消毒がある。本研究では粉塵等の有機物に付着した細菌数の低減を目的とした新規消毒資材の有効性を比較検討した。強酸性次亜塩素酸水（残留塩素濃度 50ppm），微酸性次亜塩素酸水（50，80ppm），中性次亜塩素酸水（50，80，200ppm），オゾン水（オゾン濃度 1，4ppm），貝殻焼成カルシウム懸濁液（0.01，0.02，0.04%），カテキン水溶液（250，500ppm），ヒノキチオール水溶液（10，50，100 μ g/ml），[モノ，ビス（塩化トリメチルアンモニウムメチレン）]アルキルトルエン 10%製剤（0.2，0.05%），塩化ジデシルジメチルアンモニウム（DDAC）10%製剤（0.2，0.05%），計 9 種類の消毒資材における *in vitro* での *Salmonella* Enteritidis 殺菌効果は，残留塩素濃度 50ppm 以上の強酸性次亜塩素酸水，微酸性次亜塩素酸水，中性次亜塩素酸水および DDAC10%製剤 0.2%液が顕著であった。次に，中性次亜塩素酸水，DDAC10%製剤 0.2%液，貝殻焼成カルシウム飽和液上清の噴霧が，ろ紙に付着した黄色ブドウ球菌，大腸菌に対する消毒効果を有機物が共存する条件で検討した結果，中性次亜塩素酸水が最も優れた。また，浮遊した黄色ブドウ球菌，大腸菌に対する消毒効果を有機物が共存する条件で検討した結果，中性次亜塩素酸水が最も優れた。さらに，中性次亜塩素酸水の噴霧量の違いが浮遊した黄色ブドウ球菌に対する消毒効果に及ぼす影響を検討した結果，消毒効果は噴霧量の増加に伴い高まる傾向が認められた。

以上の結果から，中性次亜塩素酸水は，浸漬および噴霧により消毒効果を有することが明らかとなった。

表22.各種消毒資材がサルモネラ(SE)の殺菌時間に及ぼす影響(試験1)

消毒資材	濃度	有機物なし ¹⁾ (秒)	有機物共存 ²⁾ (秒)
強酸性次亜塩素酸水	50ppm ³⁾	10	10
微酸性次亜塩素酸水	50ppm ³⁾	10	10
	80ppm ³⁾	10	10
中性次亜塩素酸水	50ppm ³⁾	10	10
	80ppm ³⁾	10	10
	200ppm ³⁾	10	10
オゾン水	1ppm ⁴⁾	— ⁵⁾	—
	4ppm ⁴⁾	—	—
貝殻焼成カルシウム	0.01% ⁴⁾	—	—
	0.02% ⁴⁾	—	—
	0.04% ⁴⁾	—	—
カテキン	250ppm ⁴⁾	—	—
	500ppm ⁴⁾	—	—
	1000ppm ⁴⁾	—	—
ヒノキチオール	10 μ g/ml ⁴⁾	—	—
	50 μ g/ml ⁴⁾	—	—
	100 μ g/ml ⁴⁾	—	—
[モノ、ビス(塩化トリメチルアンモニウムメチレン)]アルキルトルエン10%製剤	0.2% ⁴⁾	10	60
	0.05% ⁴⁾	60	60
塩化ジデシルジメチルアンモニウム10%製剤	0.2% ⁴⁾	10	10
	0.05% ⁴⁾	30	30

¹⁾有機物が含まれていない条件

³⁾残留塩素濃度

⁵⁾300秒以内では殺菌効果が認められなかったもの

²⁾有機物としてウマ血清が含まれている条件

⁴⁾蒸留水で希釈した資材を濃度

表23.各種消毒資材の噴霧がろ紙に付着した黄色ブドウ球菌・大腸菌数に及ぼす影響(試験2)

滴下菌	有機物なし ¹⁾		有機物共存 ²⁾	
	黄色ブドウ球菌 (8.00×10^6) ⁵⁾	黄色ブドウ球菌 (2.29×10^6)	黄色ブドウ球菌 (2.29×10^6)	大腸菌 (1.61×10^6)
無噴霧	2.08×10^5	1.81×10^5	1.81×10^5	3.32×10^5
蒸留水	2.05×10^5	1.49×10^5	1.49×10^5	3.21×10^5
DDAC ³⁾ 10%製剤0.2%液	2.49×10^5	2.16×10^5	2.16×10^5	2.72×10^5
貝殻焼成カルシウム飽和液上清	2.83×10^5	2.13×10^5	2.13×10^5	2.37×10^5
中性次亜塩素酸水(90ppm ⁴⁾)	2.71×10^4	2.24×10^4	2.24×10^4	4.40×10^4

¹⁾有機物が含まれていない条件

³⁾DDAC:塩化ジデシルジメチルアンモニウム

⁵⁾滴下菌数を表し、単位はCFU/ml

²⁾有機物としてウマ血清が含まれている条件,

⁴⁾残留塩素濃度

表24.各種消毒資材の噴霧が飛散した黄色ブドウ球菌・大腸菌数に及ぼす影響(試験3)

噴霧菌液	有機物なし ¹⁾						有機物共存 ²⁾					
	黄色ブドウ球菌 (5.00×10^7) ⁵⁾			大腸菌 (4.76×10^6) ⁶⁾			黄色ブドウ球菌 (9.16×10^7) ⁵⁾			大腸菌 (6.44×10^7) ⁶⁾		
	1分	5分	15分	1分	5分	15分	1分	5分	15分	1分	5分	15分
蒸留水	168	12	7	60	10	1	118	0	0	196	16	0
DDAC ³⁾ 10%製剤0.2%液	177	12	3	87	7	0	134	4	0	112	10	2
貝殻焼成カルシウム飽和液上清	140	13	7	30	4	2	68	6	0	108	10	4
中性次亜塩素酸水(90ppm ⁴⁾)	8 ⁶⁾	1	0	0	0	0	0	0	0	10	8	0

¹⁾有機物が含まれていない条件

³⁾DDAC:塩化ジデシルジメチルアンモニウム

⁵⁾滴下菌数を表し、単位はCFU/ml

²⁾有機物としてウマ血清が含まれている条件

⁴⁾残留塩素濃度

⁶⁾表面積20cm²に検出された落下細菌数(単位:CFU)を表示

表25. 中性次亜塩素酸水の濃度と噴霧量の違いが落下ブドウ球菌数に及ぼす影響(試験4)

供試菌	黄色ブドウ球菌 (2.60×10^7) ¹⁾			供試菌	黄色ブドウ球菌 (2.28×10^7)			供試菌	黄色ブドウ球菌 (1.24×10^8)		
	感作時間	1分	5分		15分	感作時間	1分		5分	15分	感作時間
50ppm20ml ²⁾	0 ³⁾	0	0	無噴霧	328	34	8	無噴霧	1114	95	658
50ppm40ml	0	0	0	90ppm10ml	0	0	0	50ppm 5ml	79	13	189
90ppm20ml	0	0	0	90ppm20ml	0	0	0	50ppm10ml	26	7	11
90ppm40ml	0	0	0	90ppm40ml	0	0	0	50ppm20ml	6	9	0

¹⁾噴霧菌量を表し、単位はCFU/40ml

²⁾ppmは残留塩素濃度を、mlは噴霧量を示す

³⁾表面積20cm²に検出された落下細菌数(単位:CFU)を表示

第2節 中性次亜塩素酸水の噴霧と床面形状が鶏舎内落下細菌数と生産性に及ぼす影響

緒 言

肉用鶏の生産現場では、抗菌性物質を添加しない飼料で飼育された「安全・安心な鶏肉」の生産が消費者のニーズに呼応して流通業界から強く求められている。一方、その生産管理が十分に確立されていないため、抗菌性物質を添加しない飼料では、病原性微生物汚染を防止する効果の低下を招き、これによる育成率の低下や食鳥処理場での廃棄率の増加を引き起こし、生産農家の収益に悪影響を及ぼすことが懸念されている（矢野ら 2000；米持 2003）。その対策として、鶏を導入する前に鶏舎内を消毒し、導入後は鶏舎毎の専用作業服・長靴の着用などのバイオセキュリティを行うことが重要であるととも、空気を介して粉塵に付着した病原性微生物が鶏飼育中の鶏舎内に侵入することを考えた対策も十分に考慮される必要がある。粉塵等有機物に付着した病原体の伝搬による感染症を防除する対策として、器材の浸漬消毒や鶏舎内の噴霧消毒がある。

次亜塩素酸水は、食品添加物に認可されている次亜塩素酸ナトリウム水溶液を塩酸と水道水で希釈混合して pH および残留塩素濃度を調整した水溶液で、広い抗菌スペクトルを持ち、残留性が低く、毒性が認められないこと（浅野 1993, 古田 1997）から、近年、食品加工や調理などの様々な分野での除菌、殺菌剤として広く利用されている。一方、養鶏分野では小野らが pH を 5.5 ～ 6.5 に調整した微酸性次亜塩素酸水を用い、種卵の噴霧消毒（2006a, 2006b）ならび

に飲水消毒（2007）について報告しているが，その他の利用方法についての研究は進んでいない。前節において，次亜塩素酸ナトリウム水溶液を塩酸で pH7.0 に調整した中性次亜塩素酸水について浸漬消毒や噴霧消毒の新規資材としての有用性を検討したところ，*in vitro*において *Salmonella* Enteritidis に対する殺菌効果が認められたこと，実験室内で噴霧による黄色ブドウ球菌や大腸菌に対する消毒効果を検討した結果，鶏舎内消毒に使用される塩化ジデシルジメチルアンモニウム 10%製剤 0.2%液よりも消毒効果が高いことを確認している（巽ら 2010）。

肉用鶏は，一般的に木材チップ等の敷料を敷いたコンクリート製の平床で入雛から出荷まで飼育されており，飼育期間を通して鶏糞やフケ等が鶏舎外へ搬出されないため，これらが堆積して空中浮遊粉塵および空中浮遊細菌の供給源となる。このように堆積した鶏糞と鶏体が接している平床飼育に対して，採卵鶏の一般的な飼育形態であるケージ飼育では，鶏糞がケージ床の下に落下するため鶏体と鶏糞は離れている。このことから，容積あたりの飼育羽数が同じであれば，鶏が呼吸する空気に含まれる浮遊粉塵濃度や浮遊細菌濃度は，平床に比べケージ床で少ないことが予想される。近年，肉用鶏の衛生的な飼育管理を目的とした網床飼育（細谷 1996）が検討されており，鶏体と糞便を分離するこのような飼育方法により，肉用鶏舎内落下細菌数の低減効果が期待できる。

そこで本研究では，肉用鶏飼育中における中性次亜塩素酸水の鶏舎内噴霧，ならびに床面形状の違いによる落下細菌数の低減効果と肉用鶏の生産性に及ぼす影響について検討を行った。

材料と方法

1. 試験材料

試験鶏舎は、容積 50m³ (幅 3.8 × 奥行き 5.4 × 高さ 2.44m)/室を 6 室有する陰圧換気が可能なウインドウレス鶏舎を用いた。噴霧器は、コンプレッサーによる 3.0kg/cm の圧縮空気圧により二流体式ノズルから平均 40 μ m の粒子が 1 分間に 100ml を噴霧する機器 (クリアフォガー CF70, 株式会社昭和フランキ) を用いた。

2. 試験設定

1) 試験 1: 平床での中性次亜塩素酸水噴霧量の違いが落下一般細菌数の経時的変化に及ぼす影響

銘柄肉用鶏「伊勢赤どり」を 50 羽飼育するコンクリート性床面に木材チップを敷料とした平床鶏舎 (容積 13.4m³: 幅 1.87 × 奥行 2.94 × 高さ 2.44m) 内を無換気条件にして、午前 10 時に床面上 1.5m の位置から斜め上方へ残留塩素濃度 90ppm の中性次亜塩素酸水を 7.5ml/m³ または 75ml/m³ 噴霧した。7.5ml/m³ 噴霧は 57, 64 日齢, 75ml/m³ 噴霧は 49, 51 日齢に行った。落下一般細菌数は、噴霧前、噴霧終了後 5, 15, 30, 60, 90, 180 分に床面から 80cm 上の 3 カ所において 1 カ所につき 1 シャーレのハートインフュージョン (HI) 寒天培地 (栄研化学株式会社) を 10 秒間開放した後、37℃, 24 時間培養し、平均値を算出した。

2) 試験 2: 中性次亜塩素酸水噴霧による平床と網床の違いが鶏舎内落下細菌数および増体重に及ぼす影響

換気量 1080m³/h の 4 室を用い、コンクリート性床面に木材チップを敷料とした平床区、平床で噴霧処理を行った噴霧平床区、床上 50cm

に設置した大雛用ケージの底面上にポリエステル縷り糸に軟質塩化ビニル樹脂を含浸した網目ベルト（細谷 1996）を敷いた網床区，網床で噴霧処理を行った噴霧網床区の計 4 区を設定し，30 日齢の銘柄肉用鶏「伊勢赤どり」雌雄混合 67 羽/区（飼育面積 6.5m²/区：幅 1.8m × 奥行 3.6m）を 70 日齢まで飼育した。飼育期間中毎日，午前 10 時に床面上 1.5m の位置から斜め上方へ残留塩素濃度 60ppm の中性次亜塩素酸水 6ml/m³ を噴霧した。落下細菌数は，噴霧平床区および噴霧網床区において 40，47，54，61 日齢の噴霧前，噴霧終了後 15，30，60，90，180 分に 1 区 2 カ所の各床面 35cm 上で HI 寒天培地，マンニット加食塩寒天培地（栄研化学株式会社），DHL 寒天培地（栄研化学株式会社）を 10 秒間開放した後，37℃，24 時間培養し，一般細菌数，ブドウ球菌数，大腸菌群数を測定し，平均値を算出した。また，胸骨下羽毛付着細菌数は噴霧平床区および噴霧網床区において 70 日齢に胸骨域の羽毛 1 g を採取し，滅菌生理食塩水を加え，振とう，混和した液を 10 段階希釈した。各希釈液 0.1ml を HI 寒天培地，マンニット加食塩寒天培地，DHL 寒天培地に塗抹培養して一般細菌数，ブドウ球菌数，大腸菌群数を算出した。体重は 30，70 日齢，飼料摂取量は 70 日齢に測定した。

3) 試験 3：平床，網床，強化網床の違いが鶏舎内落下細菌数および生産性に及ぼす影響

換気量 1080m³/h の 3 室を用い，コンクリート性床面に木材チップを敷料とした平床区，床上 50cm に設置した大雛用ケージ底面上に塩化ビニル製網を敷いた網床区，塩化ビニル製網の下に木製スノコを置いた強化網床区を設定した。21 日齢の銘柄肉用鶏「伊勢赤どり」雌雄混合 11 羽 × 2 群（飼育面積 1.6m²/群：幅 1.8m × 奥行 0.9m），計 22

羽/区を 77 日齢まで飼育した。落下細菌は 35, 42, 49, 56, 63, 70 日齢時の午前 10 時に, 1 群 2 カ所の床面から 50cm 上で HI 寒天培地, マンニット食塩寒天培地, DHL 寒天培地を 10 秒間開放して一般細菌数, ブドウ球菌数, 大腸菌群数を測定した。同時に空中浮遊細菌は鶏舎の 1 カ所で, 平床面から 50cm 上でメンブランフィルターを通して 5ℓ 吸引し, このメンブランフィルターを 10ml の滅菌リン酸緩衝液で 5 分間振とう後, その 1ml を滅菌リン酸緩衝液 9ml 入り試験管に入れ, 10 段階希釈後, 各希釈液 0.1ml を各 2 枚の HI 寒天培地, マンニット加食塩寒天培地, DHL 寒天培地に塗布し, 24 時間, 37℃ 培養後, 一般細菌濃度, ブドウ球菌濃度, 大腸菌群濃度を測定した。体重は 21, 77 日齢に測定し, 飼料摂取量の測定, むね肉の腫瘤および脚弱の観察は 77 日齢に行った。

4) 試験 4: 平床, スラット床, 中性次亜塩素酸水噴霧を伴ったスラット床の違いが鶏舎内落下細菌数および生産性に及ぼす影響

換気量 49m³/h 以下の自然換気の 3 室を用い, コンクリート性床面に木材チップを敷料とした平床区, 床上 30cm にポリプロピレン製スラット床を設置したスラット床区, さらにスラット床区で中性次亜塩素酸水を 1 日 2 回噴霧処理するスラット噴霧区を設定した。各区とも, 21 日齢の銘柄肉用鶏「伊勢赤どり」雌 27 羽 × 2 群 (飼育面積 3.0m²/群: 幅 1.85m × 奥行 1.6m), 計 54 羽/区を 77 日齢まで飼育した。スラット噴霧区において, 飼育期間中毎日 9 時 30 分と 13 時 30 分に床面上 1.5m の位置から斜め上方へ残留塩素濃度 60ppm の中性次亜塩素酸水 4ml/m³を噴霧した。落下細菌数は 28, 35, 42, 49, 56, 63, 70, 75 日齢時の午前 10 時に 1 群 2 カ所の床面 80cm 上で, HI 寒天培地, マ

ソニット加食塩寒天培地，DHL寒天培地を10秒間開放して，一般細菌数，ブドウ球菌数，大腸菌群数を調査した。体重は21，77日齢に測定し，飼料摂取量の測定，むね肉の腫瘤および脚弱の観察は77日齢に行った。鶏舎内のアンモニア濃度は，ガステック検知管（株式会社ガステック）を用いて，49，56，70日齢に測定した。

なお，各試験で用いた基礎飼料は，抗菌性物質を含有しておらず，CP 19%，ME 3100kcal/kgのブロイラー仕上用配合飼料を用いた。また，各試験とも自由採食，自由飲水とした。

3. 統計処理

統計処理は，育成率，むね肉腫瘤および脚弱の発生率を χ^2 検定，その他の項目を一元配置分散分析法および最小有意差法（吉田，1978）にて解析した。

結 果

無換気条件の平床鶏舎内における中性次亜塩素酸水の噴霧量を検討した結果，中性次亜塩素酸水噴霧180分後の落下一般細菌数は，噴霧量が7.5ml/m³では25.3CFU/cm²，75ml/m³では22.9CFU/cm²で，噴霧前よりもそれぞれ63.1%，52.5%に減少した（表26）。

強制換気条件での噴霧平床区，噴霧網床区における噴霧前の落下一般細菌数および落下ブドウ球菌数は，噴霧網床区は1.5CFU/cm²，2.0CFU/cm²で，噴霧平床区の13.8CFU/cm²，15.5CFU/cm²よりいずれも有意（ $p < 0.05$ ）に低かった。落下大腸菌群は両区とも検出されなかった。噴霧前に比べ中性次亜塩素酸水噴霧により噴霧平床区，噴霧網床区

ともに落下一般細菌数，落下ブドウ球菌数は減少した。噴霧平床区では落下一般細菌数，落下ブドウ球菌数が，噴霧前に比べて噴霧 30 分後で 37.9%，38.2%と最低値を示したが，その後徐々に増加し，180 分後で 97.3%，115.1%と噴霧前の値とほぼ同等になった。一方，噴霧網床区では噴霧 180 分後の落下一般細菌数，落下ブドウ球菌数は噴霧前と比べて 55.4%，36.5%と低く，噴霧による落下細菌数の低減効果は平床よりも網床の方が長時間持続した（表 27）。70 日齢における鶏の胸骨下羽毛に付着する細菌数は，噴霧網床区，噴霧平床区とも一般細菌数が $2.0 \times 10^{10} \sim 4.2 \times 10^{10}$ CFU/g，ブドウ球菌数が $1.3 \times 10^7 \sim 1.2 \times 10^8$ CFU/g，大腸菌群数が 10^2 CFU/g 未満であり，差は認められなかった（表 28）。30～70 日齢の増体重は，平床区が 2,119g，噴霧平床区が 2,067g に対し，網床区が 1,768g，噴霧網床区が 1,764g で，噴霧による差は認められなかったが，床面形状による差が認められ，平床区に比べ網床区では 83.4%，噴霧網床区では 83.3%と有意 ($p < 0.01$) に低く，特に雄において顕著に低かった。飼料摂取量は区間に大きな差がなかった。飼料要求率は，平床区が 2.73，噴霧平床区が 2.74 に対し，網床区が 3.19，噴霧網床区が 3.20 で，噴霧による差は認められなかったが，床面形状による差が認められた。育成率は区間に大きな差がなかった（表 29）。

平床区，塩化ビニル製網床の網床区，塩化ビニル製網の下に木製スノコを置いた強化網床区において，強制換気条件で落下細菌数および空中浮遊細菌濃度を調査した。その結果，落下細菌数では一般細菌が，平床区，網床区，強化網床区は 4.68 CFU/cm²， 0.23 CFU/cm²， 0.26 CFU/cm² で，網床区，強化網床区は平床区の 5.0%，5.5%，ブドウ球菌が， 2.87 CFU/cm²， 0.08 CFU/cm²， 0.16 CFU/cm² で，網床区，強化網床区は

平床区の 2.9%, 5.5%と有意 ($p<0.01$) に少なかった。空中浮遊細菌濃度では一般細菌が、空気 5 l 当たり 13,067CFU, 767CFU, 167CFU で、網床区、強化網床区は平床区の 5.9%, 1.3%, ブドウ球菌が、37,200CFU, 600CFU, 167CFU で、網床区、強化網床区は平床区の 1.6%, 0.4%と有意 ($p<0.01$) に少なかった。また、落下細菌および空中浮遊細菌とも大腸菌群は各区から検出されなかった(表 30, 31)。21 ~ 77 日齢の増体重は、平床区 2,977g, 網床区 2,308g, 強化網床区 2,455g で、平床区に比べ網床区では 77.5%で有意 ($p<0.01$) に低く、強化網床区では 82.5%で有意 ($p<0.05$) に低く、特に雄において顕著に低かった。飼料摂取量は、平床区に比べ網床区、強化網床区では 87.5%, 87.9%と低かった。飼料要求率は、平床区 2.97, 網床区 3.36, 強化網床区 3.17 で、網床区、強化網床区は平床区の 112.9%, 106.8%と高かった。むね肉の腫瘤は、平床区 4.5%, 網床区 4.8%, 強化網床区 4.8%で、雄のみに発生した。脚弱の発生率は、平床区 4.5%, 網床区 38.1%, 強化網床区 28.6%で、平床区に比べ網床区では有意 ($p<0.01$) 高く、各区とも雄が多かった(表 32)。

平床、スラット床、噴霧を伴うスラット床において自然換気条件で落下細菌数を調査した。その結果、一般細菌は、平床区、スラット床区、噴霧スラット床区が 10.4CFU/cm², 1.0CFU/cm², 0.4CFU/cm² で、スラット床区、噴霧スラット床区は平床区の 9.3%, 4.2%と有意 ($p<0.05$) に低かった。ブドウ球菌は 10.3CFU/cm², 1.0CFU/cm², 0.4CFU/cm² で、スラット床区、噴霧スラット床区は平床区の 9.7%, 3.5%と有意 ($p<0.05$) に低かった。また大腸菌群は、スラット床区、噴霧スラット床区からは検出されず、平床区からもほとんど検出されなかった(表 33)。21 ~ 77 日齢の増体重は、平床区 3,039g, スラット床区 2,654g, 噴霧ス

ラット床区 2,718g で，平床区に比ベスラット床区，噴霧スラット床区では 87.3%，89.4%と有意 ($p<0.01$) に低かった。飼料摂取量は，平床区に比ベスラット床区，噴霧スラット床区では 89.5%，92.2%と低かった。一方，飼料要求率は 2.52，2.59，2.60 でほぼ同等であった。育成率は 100%，94.4%，96.3%で，平床区に比ベスラット床区および噴霧スラット床区で低かった。むね肉の腫瘤は 0%，5.9%，3.8%，脚弱は 0%，1.9%，3.8%で，両項目とも平床区に比ベスラット床区，噴霧スラット床区で高かった(表 34)。床面 30cm 上でアンモニア濃度を測定したところ，平床区，スラット床区，噴霧スラット床区はそれぞれ 49 日齢では 30ppm，11ppm，12ppm，56 日齢では 33ppm，11ppm，14ppm，70 日齢では 42ppm，31ppm，28ppm で，各日齢とも平床区に比ベスラット床区，噴霧スラット床区で低かった(表 35)。

考 察

肉用鶏飼育中の平床鶏舎内における残留塩素濃度 90ppm の中性次亜塩素酸水の噴霧消毒効果試験では，無換気条件において噴霧量を $7.5\text{ml}/\text{m}^3$ とした場合，落下一般細菌数が噴霧 3 時間後でも噴霧前の 63.1%と低いレベルであったことから，その適正な噴霧間隔は 3 時間以上と推察された。さらに，噴霧量を 10 倍に設定した $75\text{ml}/\text{m}^3$ 試験区では，噴霧 3 時間後で 52.5%を示し， $7.5\text{ml}/\text{m}^3$ に比べ 10.6%少なくなったが，噴霧量との相関性は認められなかった。このことから，噴霧量を多くすることで落下一般細菌数を長時間低く維持することはできないことが判明し，噴霧間隔を短くして適正な量を噴霧する方が効果的であることが推察された。

次に，強制換気を行っている肉用鶏飼育中の平床鶏舎内において平床および塩化ビニル製網床を設定し，残留塩素濃度 60ppm の中性次亜塩素酸水を噴霧したところ，落下一般細菌数，落下ブドウ球菌数の減少が認められた。一方，噴霧後の細菌数は，平床では 180 分後で噴霧前の 97.3%，115.1%と同等に対し，噴霧網床区では 55.4%，36.5%と低かったことから，網床は平床よりも噴霧による落下細菌数の低減効果を長時間持続できることが明らかとなった。

立川ら（1999）は，本研究の網床区床面で使用した塩化ビニル製網（細谷 1996）を用いたケージ区ならびに対照として平飼区を設定し，ともにブロイラー「チャンキー」を飼育密度 15.46 羽/m²で育成し，8 週齢に胸骨下羽毛から検出された細菌数を比較した。その結果，大腸菌群数ではケージ区が 10^{3.5}CFU/g，平飼区が 10^{3.3}CFU/g で同等であったが，一般細菌数ではケージ区が 10^{6.7}CFU/g，平飼区が 10^{9.1}CFU/g，黄色ブドウ球菌数ではケージ区が 10^{5.7}CFU/g，平飼区が 10^{9.0}CFU/g で平飼区よりケージ区が有意に少なかったことから，ケージ飼育により出荷鶏による食鳥処理場への細菌数を低減する効果が期待できると報告している。一方，本研究では銘柄肉用鶏「伊勢赤どり」を飼育密度 10 羽/m²にて網床と平床で育成し，10 週齢に胸骨下羽毛に付着する細菌数を測定した結果，網床，平床とも一般細菌数が 10¹⁰CFU/g，ブドウ球菌数が 10⁷⁻⁸CFU/g，大腸菌群数が 10²CFU/g 未満で，立川らの成績とは異なり，床面の違いによる胸骨下羽毛に付着する細菌数に差は認められなかった。両試験成績が異なった理由については，使用した鶏種，飼育期間，飼育密度，給水器や換気量等の飼育施設の違いがその要因として考えられるが，詳細については明らかではない。一方，増体重は噴霧による影響はなかったが，網床は平

床に比べ有意に低く，特に雄ではこの傾向が顕著であった。これは，一般的に雄の方が雌に比べ体重が重いため，雌より床面に荷重のかかる雄の方が大きな影響を受けたことが伺われた。

そこで，鶏の荷重による床面のたわみを補正する目的で塩化ビニル製網の下に木製スノコを置いた強化網床区を設定し，強制換気条件下で平床区および網床区と比較した。その結果，落下細菌数および空中浮遊細菌濃度は，平床区に比べ網床区および強化網床区の方が有意に少なかった。一方，増体重および飼料要求率は，平床区に比べ網床区および強化網床区の方が劣ったが，強化網床区は網床区に比べ優れた。これは木製スノコにより床面のたわみが少なくなり床が安定したことにより，脚に荷重を架けやすくなり，これが鶏にとって増体重を向上させることや脚弱の発生を抑制することに有利に働いたものと推察される。一方，立川ら（2001）は，市販のブロイラー育成用ケージを用いてケージ床面の下部に横方向に 10cm 間隔で直径 0.5cm の園芸用の支棒を挿入し，床面の安定性を補強し，無補強のケージと比較した結果，ブロイラー 8 週齢体重に影響を及ぼさなかったと本研究結果とは異なった報告をしている。その理由としては支棒の材質による強度や形状，太さによるケージ床面との接触面積，および支棒の設置間隔の広さが鶏の荷重による床面のたわみを解消できなかったものと推察される。なお，本研究においても木製スノコにより床面の補強はできたが完全ではなく，さらに床面を支えていた木製の柱の強度不足により鶏の移動により揺らぎが生じていたこともあり，平床に比べると不安定で体の荷重を架けにくいことが，平床区に比べ脚弱が多くかつ増体重が低下した理由と推察された。これは，肉用鶏飼育には床面の安定が重要であると指摘

した Akopbome(1992)の報告からも伺うことができる。

さらに、鶏の荷重による床面のたわみを解消する目的でのポリプロピレン製スラット床、さらにポリプロピレン製スラット床において中性次亜塩素酸水を1日2回噴霧する区を設定し、自然換気条件下で平床区と比較した。その結果、落下細菌数のうち一般細菌は、平床区では $10.4\text{CFU}/\text{cm}^2$ に対して、スラット床区では $1.0\text{CFU}/\text{cm}^2$ 、噴霧スラット床区では $0.4\text{CFU}/\text{cm}^2$ で有意 ($P<0.05$) に少なく、噴霧スラット床区はスラット床区に比べ落下細菌数が少なく、かつ測定値の変動が少なく安定していた。その反面、増体重は平床区に比べスラット床区では 87.3%、噴霧スラット床区では 89.4%と有意 ($P<0.01$) に低かった。一方、飼料要求率は区間に差がなく、床面をスラットにしたことでむね肉の腫瘍、脚弱とも発生は少なかった。さらに鶏舎内のアンモニア濃度は、測定を行った各日齢とも平床区に比べスラット床区および噴霧スラット床区では低かったことから、臭気を抑制する効果が認められた。

以上の結果から、コンクリート製平床と比較して、塩化ビニル製網床、補強した塩化ビニル製網床、ポリプロピレン製スラット床では鶏舎内落下一般細菌数を10%以下に減少させること、ならびに中性次亜塩素酸水の噴霧を併用することで鶏舎内落下細菌数をさらに減少させることが明らかとなった。なお、網床飼育は鶏体と糞便を分離することからサルモネラの水平感染を抑制し(第2章第3節, 異ら 2007), 除糞ベルトの設置により飼育中でも鶏糞の鶏舎外搬出が可能となることから、より衛生的な飼育環境で肉用鶏を飼育することができる。また、木材チップ等の敷料が不要なためこれに要する費用と労力がかからないこと、敷料の混入のない鶏糞であるため

鶏糞の処理量が減ることや成分の安定した堆肥の生産が可能となる。一方、飼育日数がブロイラーと比べて長期である銘柄肉用鶏「伊勢赤どり」では、増体重が平床より 10%以上低くなることや脚弱の発生率が高くなることが明らかとなった。しかし、増体重への影響や脚弱の発生率は、鶏種や飼育日数によって異なることが予想されるので、ブロイラーでの検討が望まれる。今後は、平床と同等以上の生産性を持つ網床ならびに飼育システムの開発が期待される。

要 約

次亜塩素酸ナトリウム水溶液を塩酸で pH7.0 に調整した中性次亜塩素酸水の肉用鶏飼育中における鶏舎内噴霧と床面形状の違いが、落下細菌数の低減効果と肉用鶏の生産性に及ぼす影響について比較検討した。

無換気条件の平床鶏舎における落下一般細菌数は、中性次亜塩素酸水を噴霧することで、噴霧前に比べて噴霧 180 分後では噴霧量 $7.5\text{ml}/\text{m}^3$ で 63.1%， $75\text{ml}/\text{m}^3$ で 52.5% に低減した。次に、塩化ビニル製網床を設定し、強制換気条件にて床面形状の違いを検討した結果、落下一般細菌数は平床に比べて網床では 9.2% と有意 ($P<0.05$) に低く、床面による影響が認められた。さらに、中性次亜塩素酸水 $6\text{ml}/\text{m}^3$ 噴霧を行った結果、落下一般細菌数は平床、網床とも噴霧前に比べて減少したが、噴霧前に比べて噴霧 180 分後では平床が 97.3%，網床が 55.4% であり、網床は平床より噴霧による落下一般細菌数の低減効果を長時間持続した。一方、増体重は噴霧による影響はなかったが、網床は平床の 83% と有意 ($P<0.01$) に低く、床面による影響が認めら

れた。次に、強制換気条件にて平床、網床、網床の下に木製スノコを置いた強化網床の違いを検討した結果、落下一般細菌数は平床に比べ網床が 5.0%、強化網床が 5.5%と有意 ($P<0.01$) に低かった。一方、増体重は平床に比べ網床が 77.5%、強化網床が 82.5%でともに有意 ($P<0.05$) に低かったが、強化網床は網床より改善された。さらに、ポリプロリレン製スラット床を設定し自然換気条件にて平床と比較した結果、雌の増体重は平床の 87.3%と有意 ($P<0.01$) に低かった。一方、落下一般細菌数は平床と比較して 9.3%と有意 ($P<0.01$) に低減した。さらに、スラット床で中性次亜塩素酸水を 2 回/日噴霧した結果、落下細菌数は 4.2%と有意 ($P<0.01$) に低減した。

表26. 平床での中性次亜塩素酸水による一般細菌の落下数に及ぼす噴霧量の影響(試験1)

噴霧量	経過時間 (噴霧後)						
	0分	5分後	15分後	30分後	60分後	90分後	180分後
7.5ml/m ³	40.1 ^{a)} (100%) ^{b)}	23.1 (57.5%)	22.7 (56.6%)	30.6 (76.3%)	21.9 (54.6%)	17.3 (43.1%)	25.3 (63.1%)
75ml/m ³	43.7 (100%)	30.7 (70.2%)	24.1 (55.1%)	13.3 (30.5%)	22.3 (51.0%)	20.5 (46.8%)	22.9 (52.5%)

^{a)}左の数は測定値 (単位: CFU/cm²)

^{b)}カッコ内の数は噴霧前の測定値との百分率

表27. 中性次亜塩素酸水噴霧下における落下細菌数に及ぼす床面形状の影響(試験2)

検出細菌	試験区	経過時間 (噴霧後)					
		0分	15分後	30分後	60分後	90分後	180分後
一般細菌	噴霧平床区 (A)	13.8 ¹⁾ (100%) ²⁾ a ³⁾	10.5 (76.2%) a	5.2 (37.9%)	9.5 (69.0%)	10.5 (76.5%)	13.4 (97.3%)
	噴霧網床区 (B)	1.5 (100%) b	1.6 (106.1%) b	0.7 (45.9%)	0.5 (34.2%)	1.0 (66.7%)	0.8 (55.4%)
	B/A (%)	9.2	14.4	11.5	5.4	9.7	6.1
ブドウ球菌	噴霧平床区 (A)	15.5 (100%) a	9.6 (61.7%) a	5.9 (38.2%) a	10.5 (67.7%)	10.2 (65.9%)	17.9 (115.1%) a
	噴霧網床区 (B)	2.0 (100%) b	1.4 (73.6%) b	0.5 (25.7%) b	0.6 (32.2%)	0.9 (43.6%)	0.7 (36.5%) b
	B/A (%)	12.6	15.0	8.5	6.0	8.3	4.0
大腸菌群	噴霧平床区	0	0	0	0.01	0.01	0.01
	噴霧網床区	0	0	0	0	0	0

¹⁾左の数は測定値 (単位: CFU/cm²)

²⁾カッコ内の数は噴霧前の測定値との百分率

³⁾異符号間に5%水準で有意差あり

表28. 中性次亜塩素酸水噴霧下における胸骨下羽毛付着細菌数に及ぼす床面形状の影響(試験2)

雌雄	試験区	検出菌種		
		一般細菌	ブドウ球菌	大腸菌群
雄	噴霧平床区	2.0×10^{10} ¹⁾	1.2×10^8	$<10^2$ ²⁾
	噴霧網床区	4.2×10^{10}	1.3×10^7	$<10^2$
雌	噴霧平床区	2.3×10^{10}	4.1×10^7	$<10^2$
	噴霧網床区	2.6×10^{10}	9.6×10^7	$<10^2$

¹⁾ 単位：CFU/g

²⁾ $<10^2$ ：検出限界以下

表29. 床面形状と中性次亜塩素酸水噴霧の有無が肉用鶏の生産性に及ぼす影響(試験2)

試験区	雌雄	70日齢時の生育特性			
		増体重(g)	飼料摂取量(g)	飼料要求率	育成率(%)
平床区	雄	2405(100%) ¹⁾			97.1%(100%)
	雌	1841(100%)			100%(100%)
	合計	2119(100%)	5784(100%)	2.73(100%)	98.5%(100%)
噴霧平床区	雄	2255(93.8%)			97.1%(100%)
	雌	1875(101.8%)			100%(100%)
	合計	2067(97.6%)	5667(98.0%)	2.74(100.4%)	98.5%(100%)
網床区	雄	1936(80.5%)** ²⁾			100%(103.0%)
	雌	1595(86.6%)**			97.0%(97.0%)
	合計	1768(83.4%)**	5634(97.4%)	3.19(116.8%)	98.5(100%)
噴霧網床区	雄	1789(74.4%)**			94.1%(97.0%)
	雌	1783(94.4%)			100%(100%)
	合計	1764(83.3%)**	5646(97.6%)	3.20(117.3%)	97.0%(98.5%)

30~70日齢における測定値を示した。

¹⁾カッコ内の数は平床区の測定値との百分率

²⁾平床区に対して各項目の処理間に有意差あり(**:1%水準)

表30. 床面形状の違いが落下細菌数に及ぼす影響(試験3)

検出細菌	試験区	飼育日齢						平均
		35日齢	42日齢	49日齢	56日齢	63日齢	70日齢	
一般細菌	平床区	1.30 ¹⁾	2.50	8.75	3.15	2.70	9.70	4.68 A ²⁾ (100%) ³⁾
	網床区	0.20	0.25	0.15	0.20	0.30	0.30	0.23 B (5.0%)
	強化網床区	0.10	0.00	0.25	0.65	0.35	0.20	0.26 B (5.5%)
ブドウ球菌	平床区	0.85	1.90	2.50	4.65	2.20	5.10	2.87 A (100%)
	網床区	0.05	0.05	0.05	0.10	0.15	0.10	0.08 B (2.9%)
	強化網床区	0.05	0.15	0.15	0.25	0.10	0.25	0.16 B (5.5%)
大腸菌群	平床区	0	0	0	0	0	0	0
	網床区	0	0	0	0	0	0	0
	強化網床区	0	0	0	0	0	0	0

¹⁾単位：CFU/cm²

²⁾異符号間に1%水準で有意差あり

³⁾カッコ内の数は平床区の測定値との百分率

表31. 床面形状の違いが空中浮遊細菌濃度に及ぼす影響(試験3)

検出細菌	試験区	飼育日齢						平均
		35日齢	42日齢	49日齢	56日齢	63日齢	70日齢	
一般細菌	平床区	16,400 ¹⁾	8,000	2,000	11,400	28,400	12,200	13,067 A ³⁾ (100%) ⁴⁾
	網床区	< ²⁾	<	1,200	<	<	3,400	767 B (5.9%)
	強化網床区	<	<	200	<	<	800	167 B (1.3%)
ブドウ球菌	平床区	12,400	14,500	4,000	12,400	29,600	19,800	37,200 A (100%)
	網床区	<	<	<	<	<	3,600	600 B (1.6%)
	強化網床区	<	<	200	<	<	800	167 B (0.4%)
大腸菌群	平床区	<	<	<	<	<	<	<
	網床区	<	<	<	<	<	<	<
	強化網床区	<	<	<	<	<	<	<

¹⁾単位：CFU/5リットル(鶏舎内空気)

²⁾検出限界未満

³⁾異符号間に1%水準で有意差あり

⁴⁾カッコ内の数は平床区の測定値との百分率

表32. 床面形状の違いが肉用鶏の生産性に及ぼす影響(試験3)

		77日齢時の生育特性					
試験区	雌雄	増体重(g)	飼料摂取量(g)	飼料要求率	育成率(%)	むね肉腫瘍(%)	脚弱(%)
平床区	雄	3301(100%) ¹⁾			100 (100%)	9.1(100%)	9.1(100%)
	雌	2637(100%)			100 (100%)	0	0
	合計	2977(100%)	8845(100%)	2.97(100%)	100 (100%)	4.5(100%)	4.5(100%)
網床区	雄	2105(63.8%)** ²⁾			91.7(91.7%)	9.1(100%)	72.7(800%)**
	雌	2552(96.8%)			100 (100%)	0	0
	合計	2308(77.5%)**	7741(87.5%)	3.36(112.9%)	95.5(95.5%)	4.8(104.8%)	38.1(838%)*
強化網床区	雄	2483(72.5%)			91.7(91.7%)	9.1(100%)	45.5(500%)
	雌	2412(91.5%)*			100 (100%)	0	10
	合計	2455(82.5%)*	7773(87.9%)	3.17(106.8%)	95.5(95.5%)	4.8(104.8%)	28.6(629%)

21~77日齢における測定値を示した。

¹⁾カッコ内の数は平床区の測定値との百分率

²⁾平床区に対して各項目の処理間に有意差あり(**:1%水準, *:5%水準)

表33. 床面形状と中性次亜塩素酸水噴霧の有無が落下細菌数に及ぼす影響(試験4)

検出細菌	試験区	飼育日齢								平均
		28日齢	35日齢	42日齢	49日齢	56日齢	63日齢	70日齢	75日齢	
一般細菌	平床区	6.5 ¹⁾ a ²⁾	12.6 ^a	16.4 ^a	3.7 ^a	8.7 ^a	13.8 ^a	13.4 ^a	7.7 ^a	10.4(100%) ³⁾ a
	スラット床区	1.5 ^b	1.0 ^b	0.4 ^b	0.6 ^b	0.7 ^b	1.1 ^b	0.5 ^b	1.9 ^b	1.0(9.3%) ^b
	噴霧スラット床区	0.4 ^c	0.4 ^b	0.5 ^b	0.3 ^b	0.3 ^b	0.2 ^b	0.4 ^b	1.1 ^b	0.4(4.2%) ^b
ブドウ球菌	平床区	7.7 ^a	12.8 ^a	13.1 ^a	4.0 ^a	9.2 ^a	15.5 ^a	11.7 ^a	8.8 ^a	10.3(100%) ^a
	スラット床区	1.8 ^b	1.3 ^b	0.3 ^b	0.9 ^b	0.7 ^b	1.3 ^b	0.3 ^b	1.5 ^b	1.0(9.7%) ^b
	噴霧スラット床区	0.4 ^c	0.4 ^b	0.4 ^b	0.3 ^b	0.2 ^b	0.3 ^b	0.4 ^b	0.6 ^b	0.4(3.5%) ^b
大腸菌群	平床区	0.1	0.1	0	0	0	0	0	0	0
	スラット床区	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	噴霧スラット床区	0	0	0	0	0	0	0	0	0

¹⁾単位：CFU/cm²

²⁾各項目の同一日齢の異符号間に有意差あり(p<0.05)

³⁾カッコ内の数は平床区の測定値との百分率

表34. 床面形状と中性次亜塩素酸水噴霧の有無が肉用鶏の生産性に及ぼす影響(試験4)

試験区	77日齢時の生育特性					
	増体重(g)	飼料摂取量(g)	飼料要求率	育成率(%)	むね肉腫瘤(%)	脚弱(%)
平床区	3039(100%) ¹⁾	7659(100%)	2.52(100%)	100 (100%)	0	0
スラット床区	2654(87.3%)** ²⁾	6852(89.5%)	2.59(102.8%)	94.4(94.4%)	5.9	1.9
噴霧スラット床区	2718(89.4%)**	7063(92.2%)	2.60(103.1%)	96.3(96.3%)	3.8	3.8

21~77日齢における測定値を示した。

¹⁾カッコ内の数は平床区の測定値との百分率

²⁾平床区に対して各項目の処理間に有意差あり(**:1%水準)

表35. 床面形状と中性次亜塩素酸水噴霧の有無が鶏舎内NH₃濃度に及ぼす影響(試験4)

試験区	飼育日齢		
	49日齢	56日齢	70日齢
平床区	30 ¹⁾ (100%) ²⁾	33 (100%)	42 (100%)
スラット床区	11 (36.7%)	11 (33.3%)	31 (73.8%)
噴霧スラット床区	12 (40.0%)	14 (42.4%)	28 (66.7%)

¹⁾単位：ppm

²⁾カッコ内の数は平床区の測定値との百分率

第3節 陰圧横断換気方式無窓平床鶏舎における塩化ジデシルジメチルアンモニウム製剤の噴霧が空中浮遊細菌に及ぼす影響

緒言

肉用鶏の生産現場では、抗菌性物質を添加しない飼料で飼育された「安全・安心な鶏肉」の生産が消費者のニーズに呼応して流通業界から強く求められている。一方、その生産管理が十分に確立されていないため、抗菌性物質を添加しない飼料では、育成率の低下や食鳥処理場での廃棄率の増加を引き起こし、生産農家の収益に悪影響を及ぼすことが懸念されている（矢田 2000；米持 2003）。したがって、鶏舎内環境中の病原性微生物を含む空中浮遊細菌を低減することができれば、そのリスクを低減できると考えられる。鶏を導入する前に鶏舎内を消毒し、導入後は鶏舎専用長靴の履き替え等の鶏舎毎のバイオセキュリティを行うことが重要であるとともに、空気を介して粉塵に付着した病原性微生物が鶏飼育中の鶏舎内に侵入することを考えた対策も十分に考慮される必要がある。

第4章第2節では、第1節で消毒効果の認められた新規消毒資材である中性次亜塩素酸水の有効性および消毒資材の肉用鶏飼育中における鶏舎内噴霧と床面形状の違いが落下細菌数低減効果と肉用鶏の生産性に及ぼす影響について比較検討したところ、スラット床において中性次亜塩素酸水を2回/日噴霧することで落下細菌数低減効果の持続性が高まることを明らかとした。しかし、中性次亜塩素酸水の鶏体への噴霧は薬事法により認可されていない。

一方、塩化ジデシルジメチルアンモニウム (DDAC) は、逆性石鹼に分類される消毒薬の一種で、鶏の導入前の鶏舎内消毒に使用されるほか、ポジティブリスト制度による 3 日間の食鳥処理場への出荷制限期間を除き鶏体噴霧も認められている。また、同製剤は鳥インフルエンザウイルスに対しても消毒効果を有することが報告 (迫田 2007) されており、鶏舎内での鳥インフルエンザウイルス侵入防止対策としても有用であると考えられる。

そこで、本研究では、肉用鶏飼育中の陰圧横断換気方式無窓平床鶏舎内での空中浮遊細菌濃度および空中浮遊粉塵濃度を低減させることを目的に動物用医薬品として認可されている DDAC 噴霧効果について、三重県畜産研究所の鶏舎 (試験鶏舎) およびプロイラー農場の鶏舎 (商用鶏舎) で検討した。

材料と方法

1. 試験設定

1) 試験 1: 試験鶏舎での DDAC 製剤噴霧による空中浮遊細菌・粉塵低減効果の検討

換気量 $1,080\text{m}^3/\text{h}$ の陰圧横断換気方式無窓平床鶏舎で、容積 50m^3 の一室 (幅 3.8m × 奥行 5.4m × 高さ 2.44m) を 3 区画にして 21 日齢の銘柄肉用鶏「伊勢赤どり」40 羽/群を群飼し、これを 2 室設定した。DDAC 製剤噴霧は、噴霧機 (粒子径 $70\mu\text{m}$, マイクロジェット ULV, 木村農産商事株式会社) 2 台を鶏舎内上部 (床面上 2m) に設置し、鶏舎全体に均一に噴霧されるように DDAC10% 製剤 0.2%(v/v) 液を毎分 220ml 噴霧した。

試験 1-1 は、34 日齢（11 月 6 日）に DDAC10%製剤 0.2%(v/v)液の噴霧時間を 1 分間（時間換気量 1 m³あたり 0.2ml）と 2 分間（時間換気量 1 m³あたり 0.4ml）を設定して、空中浮遊細菌・粉塵の低減効果持続時間を検討するために、噴霧前、噴霧後 15、30、45、60、75、90、120、180 分の空中浮遊細菌濃度および空中浮遊粉塵濃度を測定した。

試験 1-2 では、36～70 日齢（11 月 8 日～12 月 12 日）の期間中、毎日 9～15 時の 1 時間に DDAC10%製剤 0.2%(v/v)液の 1 分間（時間換気量 1 m³あたり 0.2ml）噴霧を 7 回行う噴霧区、噴霧を行わない対照区を設定し、鶏舎内の温度・湿度、70 日齢時の敷料中の水分含量および生産性への影響を比較検討した。噴霧区では、空中浮遊細菌・粉塵低減効果を検討するために、56、62、69 日齢時の計 3 回、空中浮遊細菌濃度および空中浮遊粉塵濃度を噴霧前、1 回目噴霧後 15、30、45、75、90、105、135、150 分に測定した。また、鶏舎内温度・湿度、敷料中の水分含量および生産性を調査した。

なお、給与飼料は CP18.0%、ME3200kcal/kg の市販配合飼料を用い、点灯条件は毎日 5～20 時の 15 時間点灯とした。

2) 試験 2：商用鶏舎での消毒液噴霧による空中浮遊細菌・粉塵低減効果の検討

29 日齢のブロイラー「チャンキー」8,811 羽を陰圧横断換気方式商用無窓平床鶏舎（換気量 202,500m³/h，容積 1358m³/室）に群飼した。

昼間（9 時～16 時 30 分）に 30 分間隔で 1 回あたり 4 分間に 20 ℓ（時間換気量 1 m³あたり 0.2ml）の DDAC10%製剤 0.2%(v/v)液を噴霧する噴霧区と、噴霧を行わない対照区を設定し、各測定日の 11 時、12 時、13 時に空中浮遊細菌濃度および空中浮遊粉塵濃度を測定した。この噴霧試験は 2 日間実施した。噴霧には、鶏舎内入気口近くの上

部（床面上 2m）に設置した粒子径 100 μ m の噴霧ノズル（MycroMyst 社）67 基を用いた。また，給与飼料は CP18.0%，ME3200kcal/kg の市販配合飼料を用い，点灯条件は毎日 24 時間点灯とした。

2. 測定方法

空中浮遊細菌濃度は，空中菌サンプラーセット（ABB SAMPLER RS-1，柴田科学株式会社）を用いて，試験 1 では 8 分間で 0.28m³ の鶏舎内空気を，試験 2 では 25 分間で 0.87m³ の鶏舎内空気を 0.45 μ m メンブランフィルター吸引し，このフィルターを滅菌生理食塩水に入れ，振とうした後，これを 10 段階希釈し，希釈液を標準寒天培地（栄研化学株式会社）各 2 枚に混釈培養後，32℃，48 時間でコロニー数を計測し，算出した。

空中浮遊粉塵濃度は，105℃，1 時間乾燥させた後，重量を測定したガラス繊維フィルターをハイボリウムエアースンプラー（HVC-500，柴田科学株式会社）に装着し，試験 1 では 8 分間で 4m³ の鶏舎内空気を，試験 2 では 25 分間で 12.5m³ の鶏舎内空気を吸引した後，ガラス繊維フィルターを再度 105℃，1 時間乾燥後に重量を測定し，重量差を粉塵重量として算出した。

鶏舎内温度・湿度は，温湿度データロガー TR-72U（株式会社テイアンドデイ）で測定した。敷料中の水分含量は，70 日齢時（噴霧開始 35 日目）の敷料を対象とし，これを 105℃，24 時間乾燥させ，重量比で算出した。

生産性は，増体重，飼料摂取量，飼料要求率，育成率で判定を行った。

3. 統計処理

各項目の統計処理は、一元配置分散分析法および最小有意差法(吉田 1978)を用いて解析した。

結 果

試験 1-1. DDAC10%製剤 0.2%(v/v)液の噴霧による空中浮遊細菌濃度および空中浮遊粉塵濃度に及ぼす影響を調査した結果、空中浮遊細菌が噴霧前の濃度に戻るまでの時間は1分区で60分、2分区で75分で、空中浮遊粉塵では1分区で60分、2分区で180分であった(表36)。

試験 1-2. 同薬剤を1時間周期に1分間噴霧(時間換気量1 m³あたり0.2ml)することにより、噴霧前に比べて噴霧後の空中浮遊細菌濃度は平均58%(42～75%)、空中浮遊粉塵濃度は平均60%(54～68%)に低下した(表37)。さらに、噴霧の有無による生産性への影響を検討したところ、増体重は噴霧していない対照区が114.3kg、噴霧区が112.9kg、飼料摂取量は対照区が298.1kg、噴霧区が296.1kg、飼料要求率は対照区が2.61、噴霧区が2.62、育成率は対照区が98.3%、噴霧区が96.3%で、各項目に差は認められなかった(表38)。鶏舎内の平均温度は対照区が15.1℃、噴霧区が15.2℃で両区間に有意差は認められなかったが、湿度は対照区が67%、噴霧区が74%で噴霧区の方が高い傾向が認められた。敷料中の水分含量は対照区が32.4%、噴霧区が32.3%で両区間に有意差は認められなかった(表39)。

試験 2. 商用鶏舎においてDDAC10%製剤 0.2%(v/v)液を30分間に4分間(時間換気量1 m³あたり0.2ml)噴霧することにより、噴霧区は無

噴霧の対照区に比べ空中浮遊細菌濃度は平均 56.7%，空中浮遊粉塵濃度は平均 46.6%とともに有意に低減した（表 40）。

考 察

鶏飼育中の鶏舎での消毒薬噴霧，いわゆる鶏体噴霧は，これまでもマレック病による育成率の低下を改善させた事例（茶藪 1971），肉用鶏の育成成績を向上させた事例（坂井田 1971），夏季における鶏舎内温度を低下させた事例（坂井田 1974a），産卵生成を向上させた事例（坂井田 1974b）など，その有用性が示唆されている。坂井田ら（1980a）は，無窓平飼い種鶏舎において，夏季は毎日午後 1 時頃 120 秒間，秋季は晴天日のみ 80 秒間の逆性石鹼消毒薬（[モノ，ビス（塩化トリメチルアンモニウムメチレン）]アルキルトルエン 10%製剤）0.2%(v/v)液の 1 日 1 回噴霧を行い，開始前に比べて落下細菌数が無噴霧では 23%増加したのに対し，噴霧した場合には噴霧前に比べて 33%低減したこと，また粉塵量も無噴霧で 36%増加したのに対し，噴霧区で 38%低減し，落下細菌数，粉塵量とも噴霧により有意に低減したことを報告している。また，坂井田ら（1980b）は，無窓ケージ育成鶏舎では，卵用鶏の育成期に上記の逆性石鹼消毒薬 0.2%(v/v)液を 120 秒間に 500 ℓ（1.34 ℓ/m²，0.58 ℓ/m³），1 日 2 回噴霧することによって無噴霧の場合よりも，育成率が 0.75%，105 日齢時体重が 20.5g 向上，粉塵量が 66%，落下細菌数が 59%に低減したと報告している。さらに，鶏に対する安全性を組織学的に検討し，無噴霧では鼻腔内浸出物・異物や気管内細菌集塊，粘膜上皮の一部脱落，腺細胞・リンパ球の活性化が認められたのに対して，逆性石鹼消毒

薬噴霧区ではこれらの異常が認められなかったと報告している。本研究における DDAC による空中浮遊細菌の低減効果は、1 回毎の噴霧量、1 日の噴霧回数、噴霧資材の違い等条件は異なっているものの、坂井田ら (1974a, 1974b) の噴霧前後における落下細菌の低減率とほぼ同等であった。また、本研究では、床糞の水分含量は対照区が 32.4%、噴霧区が 32.3%で両区間に差は認められなかったことから、この点においても坂井田ら (1974a) の成績とほぼ同等の結果が得られた。

横関ら (2003) は、寒さ対策として鶏舎内の換気が制限される冬季では、鶏舎内の粉塵が滞留することで舎内空气中的浮遊細菌および浮遊粉塵が激増して舎内環境を悪化させるが、鶏体噴霧消毒法を用いることにより浮遊細菌・浮遊粉塵とも低く抑えられ、呼吸器粘膜の異常が少なくなることを認め、その有用性を報告している。さらに、寒冷時でも昼前の気温が上昇する時刻に行えば、雛の生育や鶏の産卵などには問題がないとしている。10 月下旬から 12 月上旬に行った本研究 1-2 でも噴霧を室温の高くなる時間帯 (9 ~ 15 時) に行うなどにより、生産性への影響に配慮した。なお、横関ら (1982) は、噴霧粒子の直径が空中浮遊細菌・粉塵濃度に及ぼす影響を検討し、60 ~ 160 μm が最も低減効果が高いと報告しており、本研究でも同程度の粒子径を採用し、実施した。

以上のことから、陰圧横断換気方式無窓平床鶏舎において、鶏舎全域に噴霧可能な台数の噴霧機を用いて DDAC10%製剤 0.2%(v/v)液を時間換気量 1 m^3 あたり 0.2ml 噴霧することで、噴霧期間中の空中浮遊細菌濃度を 60%程度に低減することが明らかとなった。この成績は、肉用鶏飼育中における DDAC10%製剤 0.2%(v/v)液の噴霧による空中浮遊

細菌低減効果の指標のひとつになるものと推察される。ただし、消毒液噴霧による鶏舎内空中浮遊細菌・粉塵低減効果は、噴霧資材、鶏舎構造、飼育形態（平飼い、ケージ飼い）、飼育密度、敷料の材質、換気構造、換気量等要因が相互に複雑に関連し合っただ変動することが考えられるので、これらの条件をもとに噴霧機の設置場所や台数、噴霧量、噴霧間隔を設定する必要がある。

要 約

肉用鶏飼育中の陰圧横断換気方式無窓平床鶏舎内での空中浮遊細菌濃度および空中浮遊粉塵濃度に及ぼす塩化ジデシルジメチルアンモニウム (DDAC) 噴霧効果について条件の異なる 2 種類の鶏舎で検討した。陰圧横断換気方式による無窓平床鶏舎（容積 50m^3 、換気量 $1,080\text{m}^3/\text{h}$ 、肉用鶏 120 羽飼育）で、DDAC10% 製剤 0.2%(v/v) 液を、9～15 時の 6 時間に 60 分周期で 1 分間に 220ml（時間換気量 1m^3 あたり 0.2ml）噴霧することで、空中浮遊細菌濃度を 60% 程度に低減した。陰圧横断換気方式商用無窓平床鶏舎（容積 $1,358\text{m}^3$ 、換気量 $202,500\text{m}^3/\text{h}$ 、肉用鶏 8,811 羽飼育）では、DDAC10% 製剤 0.2%(v/v) 液を、9 時～16 時 30 分の 7.5 時間に 30 分周期で 4 分間に 20ℓ（時間換気量 1m^3 あたり 0.2ml）噴霧することで、噴霧期間中の空中浮遊細菌濃度を 60% 程度に低減した。

以上のことから、陰圧横断換気方式無窓平床鶏舎では、DDAC10% 製剤 0.2%(v/v) 液を、時間換気量 1m^3 あたり 0.2ml 噴霧することで、噴霧期間中の空中浮遊細菌濃度を 60% 程度に低減することが明らかとなった。

表36. 噴霧処理および噴霧時間の違いによる空中浮遊細菌・粉塵濃度への影響

	空中浮遊細菌 (CFU/m ³)		空中浮遊粉塵 (mg/m ³)	
	噴霧 (1分区)	噴霧 (2分区)	噴霧 (1分区)	噴霧 (2分区)
噴霧前	12.1 (100%)	18.6 (100%) ¹⁾	2.35 (100%)	3.95 (100%)
15分後	6.4 (53%)	2.9 (15%)	1.60 (68%)	0.43 (11%)
30分後	6.1 (50%)	8.6 (46%)	1.62 (96%)	2.80 (71%)
45分後	5.7 (47%)	8.6 (46%)	1.17 (50%)	2.70 (68%)
60分後	15.7 (129%)	8.2 (44%)	2.50 (106%)	2.30 (58%)
75分後	5.0 (41%)	18.2 (98%)	1.57 (67%)	2.30 (58%)
90分後	9.6 (79%)	6.1 (33%)	2.17 (93%)	2.42 (61%)
120分後	10.7 (88%)	10.7 (58%)	2.65 (113%)	3.65 (92%)
180分後	20.4 (168%)	33.6 (181%)	3.92 (167%)	3.85 (97%)

¹⁾カッコ内は噴霧前の値に対する百分率

表37. 噴霧処理による空中浮遊細菌・粉塵濃度への影響

	空中浮遊細菌 (CFU/m ³)	空中浮遊粉塵 (mg/m ³)
噴霧前 ¹⁾	55.8 (100%) ²⁾	11.20 (100%)
15分後	29.7 (52.3%)	5.98 (56.0%)
30分後	41.4 (74.5%)	7.07 (67.5%)
45分後	31.1 (58.8%)	6.71 (61.8%)
75分後	22.8 (42.0%)	5.96 (54.2%)
90分後	29.7 (55.5%)	6.27 (57.5%)
105分後	33.0 (58.4%)	6.25 (53.9%)
135分後	30.8 (55.0%)	6.84 (63.2%)
150分後	37.4 (68.4%)	7.13 (65.8%)

¹⁾ 時間は1回目の噴霧を基準に示す。

²⁾ カッコ内は噴霧前の値に対する百分率

表38. 噴霧処理の有無による生産性への影響

	対照区	噴霧区
増体重(kg)	114.3	112.9
飼料摂取量(kg)	298.1	296.1
飼料要求率	2.61	2.62
育成率(%)	98.3	98.3

注) 3群/区の平均値を表記、各項目の処理間に有意差なし

表39. 噴霧処理の有無による鶏舎内環境への影響

	対照区	噴霧区
平均温度(°C)	15.1	15.2
平均湿度(%)	67	74
敷料中の水分含量(%)	32.4	32.3

表40. 噴霧処理の有無による空中浮遊細菌・粉塵濃度(商用鶏舎)

	対照区	噴霧区	噴霧区/対照区
空中浮遊細菌(CFU/L)	93,600 ^{a 1)}	53,000 ^b	56.7%
空中浮遊粉塵(mg/m ³)	23.0 ^a	10.7 ^b	46.6%

1) 同項目の異符号間に1%水準で有意差あり

第 5 章 石灰を用いた鶏舎環境細菌数の低減効果

第 1 節 *Salmonella* Enteritidis 汚染鶏糞の石灰処理効果

緒 言

第 2 章および第 3 章では、CE 製品と 1%フマル酸，0.2%複合菌資材および 0.05%サトウキビ抽出物製品の各添加飼料を肉用鶏に給与することによって，飼料中に抗菌性物質を添加せずに，鶏腸管内の SE 増殖抑制や排菌抑制できることを明らかにした(巽ら 2005a；巽ら 2005b；巽ら 2007；巽ら 2009a)。第 4 章では，肉用鶏飼育中の鶏舎内消毒液噴霧による空中浮遊細菌・粉塵濃度の低減効果について検討し，中性次亜塩素酸水とスラット床との併用効果，および陰圧横断換気方式無窓平床鶏舎での DDAC10%製剤 0.2%(v/v)液の効果を示した(巽ら 2010；巽ら 2009b)。

一方，サルモネラに汚染された敷料や鶏糞の対策はあまり考えられていないのが現状である。一般に出荷された後の敷料や鶏糞は袋詰め販売または田畑へ還元されているのが実状であるが，サルモネラに汚染された敷料や鶏糞は適切に処理されないと，サルモネラが敷料や鶏糞中に長期間生存するため，降雨により敷料や鶏糞が流出して河川や地下水を汚染したり，また農場内を再汚染することが懸念される。そこで SE 汚染敷料や SE 汚染糞便を管理処理方法の確立が求められている。

本研究では，消石灰，生石灰の処理効果および処理条件について検討した。

材料と方法

1. 試験方法

木材チップを敷料とした平床飼育で銘柄肉用鶏「伊勢赤どり」を70日間飼育した後に鶏舎床面に堆積した敷料，ならびにケージ飼育の採卵鶏から採取した新鮮便各25gを供し，*Salmonella* Enteritidis (SE) 汚染に対する石灰資材の効果を実験室レベルで検討した。

試験区分は，消石灰（65消石灰，赤坂共同石灰化工）区および生石灰（希石灰90%，川合石灰工業）区をそれぞれ1%，3%，5%添加した組み合わせ，さらに無添加の対照区の計7区を設定した。各処理区とも3反復で行った。

SE（ZK-2a ナリジクス酸耐性株，全農家畜衛生研究所から分与）をナリジクス酸100 μ g添加したDHL寒天培地（栄研化学株式会社）に37 $^{\circ}$ C 24時間培養した後，ハートインフュージョンブイヨン（栄研化学株式会社）に1エーゼ接種し，37 $^{\circ}$ C 18時間培養した。この培養液を100倍に希釈したものをSE菌液とした。各25gの敷料ならびに新鮮便を200ml容積の滅菌スクリーコップの中に入れた後，SE菌液10mlを加え，タッチミキサーで攪拌した。菌数測定のための採材後，各濃度の石灰を添加し，再度攪拌した。その後，室温（24 \sim 28 $^{\circ}$ C）に置き，1日後，3日後，6日後に菌数測定のため採材した。SE菌数は，滅菌リン酸緩衝液で試料1gを10段階希釈し，0.1mlをESサルモネラ寒天培地（栄研化学株式会社）に塗抹し，37 $^{\circ}$ C，24時間培養してコロニーが30 \sim 300個の平板について形状の異なるコロニー毎に5個をサルモネラ免疫血清「生研」09群の急速凝集反応に供して凝集したコロニーを陽性と判定し，陽性となったコロニー

と同一形状のコロニー数を測定し、算出した。また、7日後にハーナテトラチオン酸塩基礎培地 10ml に材料 1g を入れ、37℃、24時間増菌培養後、ESサルモネラ寒天培地で37℃、24時間培養し、培地上のコロニーをサンプリングし、これをサルモネラ免疫血清「生研」09群の急速凝集反応によって凝集したコロニーを陽性と判定した。pHはpHメーターで直接測定し、アンモニア濃度はガステック検知管（株式会社ガステック）で測定した。

2. 統計処理

各項目の統計処理は、一元配置分散分析法および最小有意差法(吉田 1978)を用いて解析した。

結 果

1. 石灰添加がSE菌数に及ぼす影響

1) 肉用鶏の敷料

消石灰区では、検出限界値 (10^2 CFU/g) 以下に達したのは5%区で1日後、3%区は3日後、1%区では6日後であった。生石灰区では、検出限界値以下に達したのは5%区は3日後、1%区および3%区では6日後であった。7日後の増菌培養では各石灰区は1%区、3%区および5%区ともSEは検出されなかった(表41)。

2) 採卵鶏の新鮮便

消石灰区では、3%区および5%区は添加1日後から検出限界値以下であったが、1%添加区では6日後に検出限界以下に減少した。生石灰区では、5%区は1日後で1%および3%区では6日後で検出限界以下

に減少した。増菌培養では、肉用鶏の敷料および採卵鶏の新鮮糞とも石灰添加区は、SEは検出されなかった（表 42）。

2. 石灰添加が pH 値に及ぼす影響

1) 肉用鶏の敷料

消石灰区では、添加直後から 5%区では pH11.3 以上の高値を示した。1%区および 3%区は対照区に比べてやや高い、pH8.6 ~ 9.5 を示したが、6 日目には対照区とほぼ同じ pH 8.4 ~ 8.7 の値を示した。生石灰区では、いずれの区も添加直後は対照区に比べて pH 8.7 ~ 10.5 と高い値を示したが、1 日目からは対照よりやや高い pH 8.6 ~ 8.9 の値を示した（表 43）。

2) 採卵鶏の新鮮便

消石灰区では、1%区は対照区の pH7.2 に比べて添加直後は pH8.2 まで上昇したが、以後は pH8.0 ~ 8.8 とほぼ同様であった。pH12 という高い値は 3%区は 3 日後まで、5%区は 6 日後も認められた。

生石灰区では、1%区、3%区、5%区とも、添加 1 日後までは対照区に比べて pH は上昇したが、3 日目以降はほぼ同様であった（表 44）。

3. 石灰添加がアンモニア濃度に及ぼす影響

1) 肉用鶏の敷料

消石灰区では添加直後のアンモニア濃度は、対照区の 23ppm と比べて 1%区は 390ppm、3%区は 410ppm、5%区は 830ppm と著しい上昇を示した。

添加 1 日後には、各区とも 54ppm、50ppm、99ppm と激減し、さらに 3 日後、6 日後と経過するにつれ、1%区は 34ppm および 18ppm、3%区は 11ppm および 10ppm と減少した。5%区では、3 日後には対照区の 23ppm と比べて 3ppm とさらに減少を示した。

生石灰区では消石灰区と同様に添加直後は、対照区に比べて 1%区は 350ppm, 3%区は 953ppm, 5%区は 967ppm と著しい上昇を示したが、1日後で 30ppm, 39ppm, 48ppm と激減した。

以後、3日後、6日後と経過するにつれ対照区の 24～30ppm と比べていずれも 16～32ppm と、近い値を示した（表 45）。

2) 採卵鶏の新鮮便

消石灰区では、添加直後のアンモニア濃度は、対照区の 173ppm に比べて 1%区は 593ppm, 3%区は 893ppm と上昇を示したが、5%区は逆に 143ppm と低かった。1日後は対照区は変化しなかったが各添加区は 95～167ppm と低値を示した。3日後以降は対照区も各添加区と同様に激減した。

生石灰区では、1%区は、添加直後および1日目は対照区の 175ppm, 177ppm に比べて 127ppm, 103ppm と低かったが、36日後および6日後では 192, 56ppm といずれも高かった。

3%区, 5%区ではいずれも添加直後は 343ppm, 527ppm と上昇したものの、以後激減した（表 46）。

考 察

一般に伝染病が発生した鶏群の糞便を含んだ敷料は、消毒し病原体を死滅させなければならないが、大量の敷料の処理について、焼却や埋却は実行が難しい（古田 1993）のが現状で、発酵熱を利用した発酵消毒の方法が家畜伝染病予防法（農林水産省畜産局監修 1997）で定められており消石灰の散布方法も定められている。消石灰は畜舎の床、糞尿だめ、汚水溝、湿潤な土地などの消毒に使用さ

れる他，肥料として酸性土壌の中和剤にわが国の畑や野草地，未墾地に使用されている（福山 1996）。また，豚糞や鶏糞の悪臭防止としても利用されている（中村 1998）。

そこで今回，SEに汚染された肉用鶏の敷料および採卵鶏の糞便に対する生石灰および消石灰添加による殺菌効果について検討した。

その結果，石灰添加後の菌数の推移から，生石灰より消石灰の方が殺菌効果が認められた。消石灰の濃度は1%添加で6日目後から検出限界以下に低下しているので1%添加で殺菌効果は期待できると考えられる。家畜伝染病予防法では生石灰に水を加えて消石灰として使用するよう方法が定められているが，直接消石灰を散布する方が効率的と考えられる。また，生石灰は水と反応すると熱が発生するので，取り扱いに考慮が必要で大量にストックしていると火災等の事故の危険性もあるので農家サイドでは消石灰の方が扱いやすいと思われる。しかし，消石灰はCO₂と反応して効力を失う（飯塚 1974）ので，再度散布する必要がある。

pH値は，生石灰より消石灰添加の方が高く，pHが高いほど菌数が減少する傾向が認められた。一般にサルモネラはpH9以上で死滅すると報告（佐藤 1998）されており，また石灰の消毒効果はpH11～12の強アルカリによって殺滅するためであるとも報告（石井 1983）されており，今回の消毒効果はこの強アルカリによることが推察される。

アンモニア濃度は，石灰の添加濃度が高いほど添加直後の濃度がかなり高くなるので作業に注意が必要と思われる。しかし，いずれの添加区においてもアンモニア濃度は1日後から激減し，その場で

刺激を感じる 100 ~ 200ppm 以下となったので周囲への影響は少ないと思われる。

以上のことから、SEに汚染された出荷後の肉用鶏の敷料および採卵鶏の新鮮便の消毒には、1%以上の消石灰添加すれば効果があると考えられ、その場合の周囲へのアンモニア臭は1日後から少なくなるとと思われる。

要 約

SEに汚染された肉用鶏の敷料および採卵鶏の糞便に対する生石灰および消石灰添加による殺菌効果について検討した。SEに汚染された肉用鶏出荷後の敷料および採卵鶏の糞便に対する生石灰および消石灰添加による殺菌効果について検討した結果、生石灰より消石灰の方が殺菌効果に優れ、1%以上の消石灰添加により殺菌効果が認められた。また、pH値は、生石灰より消石灰添加の方が高く、pHが高いほど菌数が減少する傾向が認められた。アンモニア濃度は、生石灰、消石灰とも添加直後に上昇したが、1日後には激減した。

表41. 石灰添加が肉用鶏敷料中のサルモネラ菌数に及ぼす影響

処理区	添加後日数				
	0日 ¹⁾	1日	3日	6日	7日 ²⁾
対照区	6.5 ³⁾	6.5	6.5	6.4	+
消石灰1%区	6.4	5.6	2.1	<2.0 ⁴⁾	-
消石灰3%区	6.2	5.2	<2.0	<2.0	-
消石灰5%区	6.5	<2.0	<2.0	<2.0	-
生石灰1%区	6.6	5.8	4.2	<2.0	-
生石灰3%区	6.5	5.8	2.1	<2.0	-
生石灰5%区	6.5	4.4	<2.0	<2.0	-

1) 添加直前の数値

2) 7日後に増菌培養後にSEの分離培養を行った。+は分離、-は分離せず。

3) 常用対数値の平均値 (n=3)、単位: logCFU/g

4) 検出限界未満

表42. 石灰添加が採卵鶏新鮮便中のサルモネラ菌数に及ぼす影響

処理区	添加後日数				
	0日 ¹⁾	1日	3日	6日	7日 ²⁾
対照区	7.2 ³⁾	7.3	7.2	7.2	+
消石灰1%区	7.0	5.1	1.7	<2.0 ⁴⁾	-
消石灰3%区	7.2	<2.0	<2.0	<2.0	-
消石灰5%区	7.0	<2.0	<2.0	<2.0	-
生石灰1%区	7.4	5.8	2.8	<2.0	-
生石灰3%区	7.5	3.8	1.6	<2.0	-
生石灰5%区	7.0	2.5	<2.0	<2.0	-

¹⁾ 添加直前の数値

²⁾ 7日後に増菌培養後にSEの分離培養を行った。+は分離、-は分離せず。

³⁾ 常用対数値の平均値 (n=3)、単位: logCFU/g

⁴⁾ 検出限界未満

表43. 石灰添加が肉用鶏敷料のpH値に及ぼす影響

処理区	添加後日数			
	0日 ¹⁾	1日	3日	6日
対照区	7.9	8.3	8.2	8.5
消石灰1%区	8.6	9.0	8.9	8.4
消石灰3%区	9.5	8.8	8.6	8.6
消石灰5%区	11.5	11.5	11.3	12.0
生石灰1%区	8.7	8.8	8.9	8.9
生石灰3%区	9.3	8.8	8.8	8.8
生石灰5%区	10.5	8.9	8.7	8.6

¹⁾ 添加直前の数値

表44. 石灰添加が採卵鶏新鮮便のpH値に及ぼす影響

処理区	添加後日数			
	0日 ¹⁾	1日	3日	6日
対照区	7.2	7.7	8.6	8.5
消石灰1%区	8.2	8.0	8.8	8.4
消石灰3%区	10.9	12.1	11.8	10.6
消石灰5%区	11.0	12.1	12.2	12.0
生石灰1%区	8.2	8.2	8.6	8.6
生石灰3%区	9.1	8.0	8.8	8.6
生石灰5%区	9.7	8.4	8.5	8.8

¹⁾ 添加直前の数値

表45. 石灰添加が肉用鶏敷料のアンモニア濃度に及ぼす影響

処理区	添加後日数			
	0日 ¹⁾	1日	3日	6日
対照区	23 ²⁾	23	23	28
消石灰1%区	390	54	34	18
消石灰3%区	410	50	11	10
消石灰5%区	830	99	3	5
生石灰1%区	350	30	16	20
生石灰3%区	953	39	20	32
生石灰5%区	967	48	21	21

¹⁾ 添加直前の数値

²⁾ 単位：ppm

表46. 石灰添加が採卵鶏新鮮便のアンモニア濃度に及ぼす影響

処理区	添加後日数			
	0日 ¹⁾	1日	3日	6日
対照区	173 ¹⁾	177	51	38
消石灰1%区	593	95	49	26
消石灰3%区	893	167	27	30
消石灰5%区	143	103	11	9
生石灰1%区	127	103	192	56
生石灰3%区	343	185	50	40
生石灰5%区	527	81	67	46

¹⁾ 添加直前の数値

²⁾ 単位：ppm

第2節 消石灰懸濁液塗布を取り入れた消毒方法による鶏舎内細菌数低減効果

緒言

肉用鶏農場において、サルモネラ汚染防止は経営上重要な問題であり、各種対策が講じられている。なかでも鶏出荷後に行う鶏舎内消毒方法は、重要な対策のひとつである。特に、サルモネラに汚染された鶏舎では、この鶏舎内消毒が有効でなければ、たとえサルモネラに汚染されていない清浄雛を導入し、鶏舎毎に作業服や長靴の履き替え等の作業管理を徹底しても、導入鶏がサルモネラに感染する可能性は非常に高くなる。また、サルモネラと同様に鶏舎内に存在する病原性微生物を低減できれば、鶏の疾病発生リスクを低減できることが考えられる。そこで、鶏舎内における病原性微生物の低減を目的に、出荷後における各消毒作業毎にその消毒効果を評価し、効果的な消毒方法の検討を行った。

材料と方法

試験期間は2006年12月19日～2006年12月26日で、試験鶏舎は床面 20.52m^2 ×高さ2.44m、容積 50m^3 のウインドウレス鶏舎で行った。

消毒作業および測定日は、除糞を12月19日、水洗（鶏舎内面全域に 3.4 l/m^2 ）を12月21日、塩化ジデシルジメチルアンモニウム（Didecyl dimethyl ammonium chloride；DDAC）20%製剤1%(v/v)液による発泡

消毒（鶏舎内面全域に 1.1 l/m^2 ）を 12 月 23 日、20%(w/v) 消石灰懸濁液（消石灰 1kg に水 4 l の割合）塗布（鶏舎床面のみ 0.5 l/m^2 ）を 12 月 26 日に行った。

床面の一般細菌数は、上記各消毒作業後に床面を乾燥させた後に、 100cm^2 （1 辺 10cm の正方形）/1 ヲ所につき滅菌生理食塩水を浸した滅菌綿棒 1 本でぬぐい、滅菌生理食塩水の入った試験管に入れ、振とう後、10 段階希釈し、希釈液を標準寒天培地（栄研化学株式会社）各 2 枚に 32°C 、48 時間で混釈培養後、コロニー数を計測した。なお、採材は床面 5 ヲ所で行い、床面 1cm^2 あたりの一般細菌数として算出した。

結 果

床面の一般細菌数は、除糞後が $4.4 \times 10^6\text{CFU/cm}^2$ 、水洗後が $5.3 \times 10^3\text{CFU/cm}^2$ で、除糞後に比べ 0.12% に減少した。DDAC20% 製剤 1%(v/v) 液による発泡消毒後は $1.2 \times 10^1\text{CFU/cm}^2$ で、水洗後に比べ 0.23% に減少し、除糞後に比べ 0.00027% に減少した。20%(w/v) 消石灰懸濁液塗布後は $3.1 \times 10^0\text{CFU/cm}^2$ で、発泡消毒後に比べ 25.8% に減少し、除糞後に比べ 0.000070% に減少した（表 47）。

考 察

小見ら (1983) は、動力噴霧機の水流による水洗の効果について検討した結果、鶏舎の床面を 4.5 l/m^2 の水を 0.5m の距離で直角方向か

ら噴射して水洗したところ、 $10^{7.2}/\text{cm}^2$ の菌が $10^{6.5}/\text{cm}^2$ と減少率は 10%未満であり、翌日に $0.5 \text{ l}/\text{m}^2$ のオルソ剤 100 倍希釈液を散布した結果、 $10^{5.3}/\text{cm}^2$ の菌が検出されたと報告している。また、今西ら (1983) は、ブローラー出荷後の鶏舎を除糞・清掃後の床面の菌数は $10^{6.2}/\text{cm}^2$ で噴射圧 $10\text{kg}/\text{cm}^2$ に調整した動力噴霧機を用いて鶏舎内面とノズルの距離約 1m、水流が内面に当たる角度約 45 度で鶏舎内面積 1m^3 あたり 4 l で水洗を行い、同時にデッキブラシによる擦り洗いを往復 3 回行った後の床面の菌数は $10^{5.0}/\text{cm}^2$ 、その翌日にオルソ剤 150 倍希釈液を鶏舎内表面積 1m^3 あたり 0.4 l で散布後の床面の菌数は $10^{3.7}/\text{cm}^2$ 、さらにその 11 日後に逆性石鹼 600 倍希釈液を鶏舎内表面積 1m^3 あたり 0.4 l で散布後の床面の菌数は $10^{3.3}/\text{cm}^2$ であり、この方法では付着菌数を十分減少させることは難しく、消毒効果は乏しいと報告している。木谷ら (1983) は、4 種類の消毒剤（逆性石鹼、ヨードホルム、塩素剤、オルソ剤）の散布による菌数の減少は、1/10 またはそれ未満の場合が多く、消毒液の種類およびその濃度による差は顕著ではなかったと報告している。これらの結果を踏まえ、鶏卵・鶏肉のサルモネラ全書（佐藤静夫 1998）では、鶏舎洗浄に用いる水量は 20 l 以上/ 3.3m^2 とし、加圧水流のみでは洗浄後の細菌数の減少は 1/10 程度であり、ブラシなどを用いた擦り洗いをすると細菌数を 1/100 程度まで減少することができると記載している。今回の結果では $3.4 \text{ l}/\text{m}^2$ の加圧水流のみで 0.12% に減少した。次に、消毒液の散布による細菌数の減少は 1 ~ 10% 程度であると言われているが、床面の一般細菌数において、今回行った DDAC20% 製剤 1%(v/v) 液による発泡消毒では 0.23% に減少した。さらに 20%(w/v) 消石灰懸濁液塗布により 25.8% に減

少したことから、発泡消毒，さらに消石灰懸濁液塗布を行った結果，水洗後と比べ 0.00059%に減少したことになる。ホルムアルデヒド燻蒸による一般細菌数の減少は 0.01 ～ 0.1%といわれていることから，これ以上の成績となった。ホルムアルデヒド燻蒸は，密閉できる施設でないで行うことができないこと，人に対する毒性が指摘されていることから使用が制限される。

以上のことから，発泡消毒，その後に消石灰懸濁液塗布を行うことは，肉用鶏舎における消毒方法として有効であることが明らかとなった。

要 約

肉用鶏出荷後に平床鶏舎において，①「除糞」，②「水洗（鶏舎内面全域に 3.4 ℓ/m²）」，③「DDAC20%製剤 1%(v/v)液による発泡消毒（鶏舎内面全域に 1.1 ℓ/m²）」，④「20%(w/v)消石灰懸濁液塗布（鶏舎床面のみ 0.5 ℓ/m²）」の順に実施したところ，床面の一般細菌数は除糞時に比べ 0.000070%に減少した。

表47. 消毒作業後床面の一般細菌数の推移

消毒作業	一般細菌数		
	(CFU/cm ²)	対前作業	対除糞後
除糞後	4.4×10^6		
水洗後	5.3×10^3	0.12%	0.12%
発泡消毒後	1.2×10^1	0.23%	0.00027%
消石灰懸濁液塗布後	3.1×10^0	25.8%	0.000070%

第6章 総合考察

鶏のサルモネラ症のうち、*Salmonella Pullorum*による雛白痢、*Salmonella Gallinarum*による家禽チフス以外は鶏パラチフスと呼ばれている。わが国における発生状況、損耗率が3%以下に過ぎないため、養鶏場での本症に対する関心は低かった。しかし、食の安全・安心に対する社会的な関心の高まりや1989年以降の*Salmonella Enteritidis* (SE)による食中毒の増加や1994年から導入された食鳥検査精度の導入などを契機に、採卵鶏ならびに肉用鶏におけるサルモネラ症が重視されるようになった(安藤ら 1991; 今村ら 1995; 岸ら 1989; 仲嶺ら 1994; 白井ら 1996)。

鶏のサルモネラに対する感受性は、一般に品種や日齢によって異なり、肉用鶏は採卵鶏に比べて感受性が高いこと、幼雛は感受性が高く2週齢を過ぎる頃から感受性が急速に低下すること、産卵前後には再び感受性が高まることが観察されている(Morrisら 1969)。また、飼料の変更、鶏の移動や輸送、暑熱、飼育環境条件の悪化、強制換羽、他の病原体との複合感染などのストレスにより、鶏の抗病性が低下した場合に感受性が高まることが報告されている(北川ら 1996; 佐藤 1993)。

一方、鶏におけるサルモネラの伝搬は、保菌鶏が保菌卵を産出することによって起こる垂直感染(SEなど限られた血清型のみ)と保菌鶏から排出されたサルモネラによる同居鶏への感染あるいは汚染飼料や飼育環境からの水平感染がある。垂直感染についての採卵鶏および肉用鶏農場での対策は、サルモネラに感染していない種鶏場・ふ化場から清浄雛を導入することに限られる。このため、サル

モネラ清浄雛であることを担保するために、種鶏群におけるサルモネラ検査陰性証明書の提示を種鶏場・ふ化場に求めること、ならびに雛導入時におけるサルモネラ検査が必要となる。水平感染についての採卵鶏および肉用鶏農場での対策は、飼料については飼料会社から同じ製造ロットにおけるサルモネラ検査陰性証明書の提示を求めること、ならびに必要なに応じて飼料搬入時におけるサルモネラ検査が必要である。一方、飼育環境からの水平感染については、適切な鶏舎消毒を行うことや鶏舎毎に長靴や作業着を替えることなど、家畜伝染病予防法施行規則第 21 条において規定されている「飼養衛生管理基準」（2004 年 12 月 1 日から施行）による対策が養鶏場管理者の責任において必要となる。

養鶏場におけるサルモネラ汚染防止対策については、これまでも多くの研究が取り組まれ、数々の研究成果が得られてきた。しかしながら、採卵鶏および肉用鶏農場において雛の導入から生産物の出荷、さらに次の雛の導入に至る一貫した「SE汚染防止を可能とする飼育管理」までには、未だに解決すべき技術的課題が残されている。また、抗菌性物質の使用は、鶏への SE 感染を完全には阻止できないこと、さらに鶏卵・鶏肉への残留や薬剤耐性菌の出現等の問題点も指摘されている。

そこで、本研究では抗菌性物質を使用しない飼育管理による肉用鶏農場でのサルモネラ汚染防止技術の開発を目的に、人為的に SE を雛時に接種した SE 感染鶏を供試して各種資材の経口投与ならびに床面形状等による鶏腸管内 SE 増殖に及ぼす影響、さらに消毒方法による飼育環境の清浄化に及ぼす影響について一連の研究を実施した。

第 2 章では、経口摂取により鶏腸管内 SE 増殖抑制効果のある資材を明らかにするために、SE を人為的に接種した肉用鶏雛を用い、競合排除 (Competitive exclusion; CE) 製品単独ならびに CE 製品と各種資材の複合投与による効果を評価した。さらに、そのなかで最も効果のあったフマル酸については効果的な飼料添加濃度を、また飼育環境については床面の形状や敷料を評価した。その結果、肉用鶏の腸管内における SE 増殖が初生時の CE 製品投与によって抑制できることや CE 製品と 1%フマル酸添加飼料の併用が盲腸便中の SE 菌数を抑制する方法として有効であり、増体重等の生産性に悪影響を及ぼさないこと、さらに網床飼育は平床飼育よりも水平感染の確率が低いことを明らかにした。

一方、フマル酸の鶏飼料への添加は飼料安全法により認可されていないため、第 3 章では生産現場において実際に使用可能な資材を対象とした。そこで、SE を人為的に接種した肉用鶏雛を用い、経口摂取により鶏腸管内 SE 増殖抑制効果のある各種微生物資材での効果を評価した。その結果、乳酸菌や腸球菌等多種類の微生物を含有する複合菌資材は、無添加飼料や単一菌もしくは同属菌のみを含む他の微生物資材に比べ、盲腸便からの SE 検出率や盲腸内容物中の SE 菌数および SE 検出率が低く、SE に対する排菌抑制効果や腸管内増殖抑制効果が認められた。なお、複合菌資材の最適な飼料添加濃度は 0.2%であり、生産性に対する悪影響は認められなかった。次に、CE 製品とサトウキビ抽出物 (Sugar cane extract; SCE) 製品の単独および複合投与による評価を行った。その結果、SCE 製品 0.05%飼料添加により SE に対する排菌抑制効果や腸管内増殖抑制効果が認められた。また、CE 製品と SCE 製品 0.05%飼料添加の複合投与により遅

延型過敏反応を指標とした細胞性免疫増強効果が認められ、生産性への悪影響は認められなかった。

しかし、先述の方法のみでは養鶏場の SE 汚染防止対策として限界があるため、これらの方法とともに肉用鶏農場内における SE を排除、もしくは可能な限り低減する方法を併用する必要がある。その方法には、鶏舎内環境中において粉塵に付着した SE を含む落下細菌や空中浮遊細菌を低減する方法、SE に汚染された敷料および鶏糞を適切に殺菌処理する方法、鶏導入前の鶏舎内を適切に消毒する方法などがあり、これらの方法が有効であれば、SE に対する感染リスクをさらに低減できる。

そこで、第 4 章では、噴霧消毒による肉用鶏飼育中の鶏舎内細菌数の低減効果を明らかにするために、実験室内で各種消毒資材の検討を行い、消毒効果の認められた中性次亜塩素酸水の噴霧および床面形状が肉用鶏舎内の落下細菌数低減効果について検討した。その結果、スラット床において中性次亜塩素酸水（残留塩素濃度 60ppm）

を 1 日 2 回、 1m^3 あたり 4ml 噴霧することで、落下細菌数の持続的な低減効果が認められることを明らかとした。しかし、中性次亜塩素酸水の鶏体への噴霧は薬事法により認可されていないため、鶏体噴霧が認可されている塩化ジデシルジメチルアンモニウム（Didecyl dimethyl ammonium chloride ; DDAC）10% 製剤を対象に肉用鶏舎内の空中浮遊細菌濃度低減効果について検討した。その結果、陰圧横断換気方式無窓平床鶏舎では、鶏舎全域に噴霧可能な台数の噴霧機を用いて時間換気量 1m^3 あたり DDAC10% 製剤 0.2%(v/v) 液を 0.2ml 噴霧することで、空中浮遊細菌濃度を 60% 程度に低減できることが明らかとなった。

Baskerville ら (1992) によると SE 感染は経口感染だけではなく、粉塵

に付着した SE による経気道感染によっても成立し、SE に汚染された環境では経気道感染および経口感染の両者による感染が起こっており、さらにこの両者による感染は卵巣や卵管からの分離率が高いことや菌血症が認められるなど、経口感染単独より重篤になることを報告している。また、Humphrey ら (1992) は SE による結膜感染も成立し、結膜感染は経口感染より生殖器および実質臓器からの SE 分離率が高いことから、結膜から涙管を通り咽頭に達し飲み込まれ、一部は直接血流に乗ると推察している。このように SE 感染は経口感染に加えて、粉塵に付着した SE による経気道感染および結膜感染が成立することが考えられる。

第 2 章および第 3 章で検討した資材の経口摂取による方法は、主として鶏腸管内での SE の増殖抑制に効果があるため SE の経口感染には有効であるが、経気道感染および結膜感染における効果は不明であり、今後検討する必要があるものと思われる。しかし、現時点において SE の経気道感染および結膜感染を低減する経口摂取資材は明らかとなっていないことから、SE の経気道感染および結膜感染を低減するためには、落下細菌数や空中浮遊細菌濃度を低減する第 4 章で検討した方法は、SE 感染リクスを低減できる有効な手段である。

さらに、第 5 章では、石灰による鶏舎環境での細菌数の低減効果を明らかにするために、SE に汚染された敷料および鶏糞を対象に生石灰ならびに消石灰処理による殺菌効果を比較検討した。その結果、1%以上の消石灰の混和により SE に対する殺菌効果が認められたことから、SE に汚染された敷料や鶏糞による肉用鶏農場の再汚染防止に有効な方法であると考えられる。次に、消石灰を用いた消

毒方法による鶏舎内細菌数低減効果について、肉用鶏出荷後の鶏舎内で検討を行った。その結果、肉用鶏出荷後に平床鶏舎内を、①除糞、②水洗(鶏舎内面全域に 3.4 l/m²)、③ DDAC20%製剤 1%(v/v)液による発泡消毒(鶏舎内面全域に 1.1 l/m²)、④ 20%(w/v)消石灰懸濁液塗布(鶏舎床面のみに 0.5 l/m²)したところ、床面の一般細菌数は 3.1CFU/cm²、いわゆる除糞時に比べ 0.000070%に減少し、極めて効果的であることが明らかとなり、この方法を実施することで鶏舎内からは SE が検出されないものと考えられる。なお、鶏舎消毒以後は、前述した「飼養衛生管理基準」に基づき、鶏舎外からの SE 侵入防止を図ることが重要である。

本研究の一連の実験において、SE の経口感染リスクを低減させる方法として SE の経口感染に有効な資材の経口摂取ならびに床面形状と敷料の違いによる鶏腸管内での SE 増殖抑制効果を明らかにするとともに、SE の経気道感染や結膜感染リスクを低減させる方法として肉用鶏飼育中における消毒資材の鶏舎内噴霧ならびに床面形状の違いによる落下細菌数または空中浮遊細菌濃度の低減化技術を開発した。さらに、飼育環境を清浄化するために、SE 汚染鶏糞への消石灰添加による殺菌効果、出荷後の肉用鶏舎内消毒方法による消毒効果を明らかにした。これらは、肉用鶏農場における雛の導入から生産物の出荷、次の雛の導入に至る一貫した「SE 汚染防止を可能とする飼育管理」を行う上できわめて重要な知見であり、同時に、安全・安心な鶏肉生産が求められる肉用鶏農場において取り組むことのできる技術である(図 6)。

また、種鶏・ふ化場、飼料会社から肉用鶏農場、さらに食鳥処理場、鶏肉販売店や飲食店の各段階におけるサルモネラ汚染防止技術

を伴った衛生管理による鶏肉流通システムを構築することで、サルモネラ汚染のない鶏肉の提供ができ、ひいては鶏肉由来のサルモネラ食中毒の発生防止が可能となる（図7）。

今後は、採卵鶏農場も含めたより効果的なSE汚染防止技術の開発が期待される。

肉用鶏農場の各生産工程で行う サルモネラ汚染防止技術

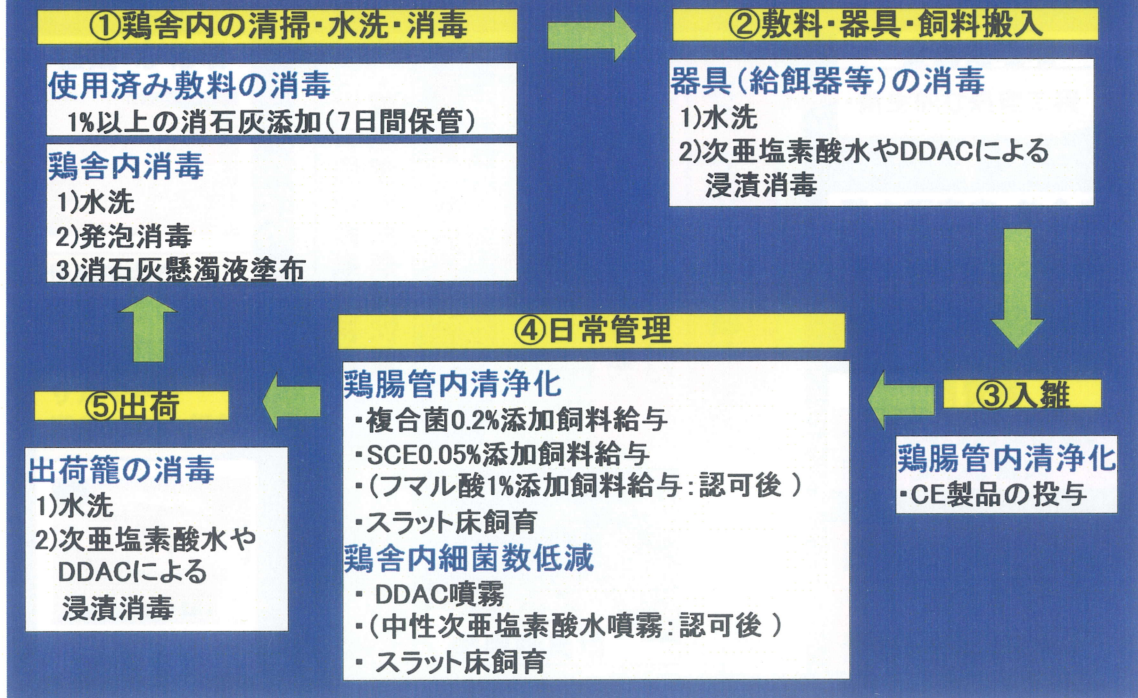


図 6 . 肉用鶏農場の各生産工程で行う

サルモネラ汚染防止技術の開発

サルモネラ汚染防止を基軸とした 安全・安心な鶏肉流通システム

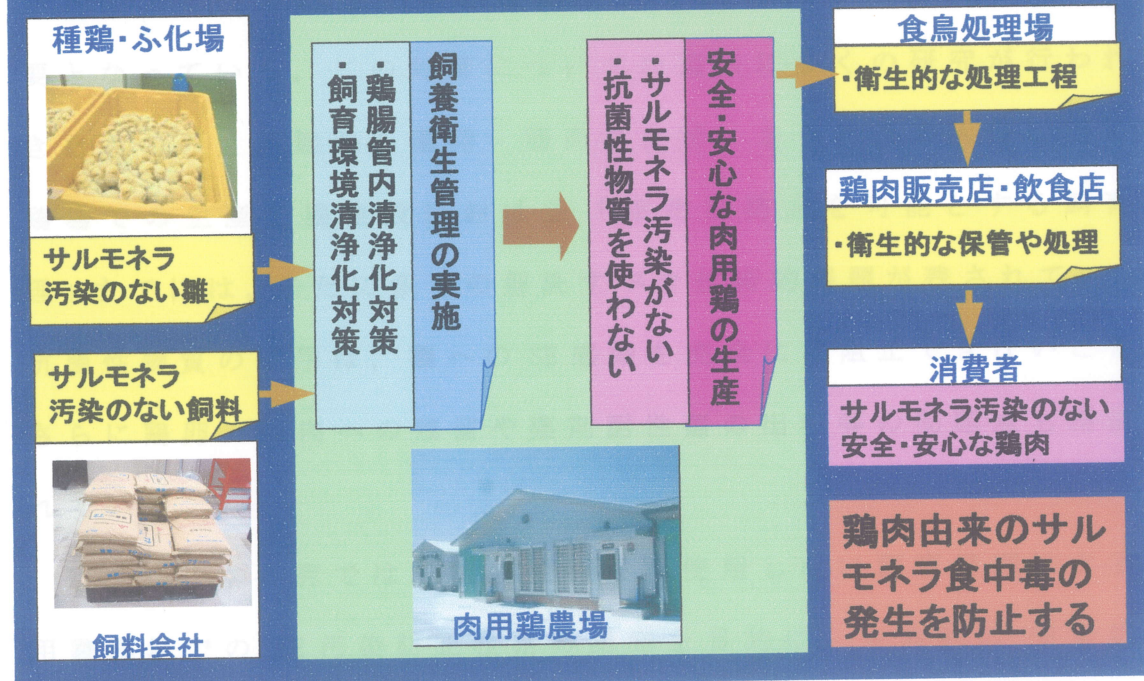


図 7. サルモネラ汚染防止を基軸とした
安全・安心な鶏肉流通システムの構築

要 約

わが国の養鶏産業は、経営の省力化や鶏病対策などによる生産性向上に努めた結果、良質な鶏卵・鶏肉の安価な供給により、国民の食生活や健康維持に大きく貢献している。一方、食中毒の原因菌であるサルモネラ菌、なかでも *Salmonella Enteritidis* (SE) は、鶏卵や鶏肉がその原因食材として指摘されていることから、流通・加工段階とともに生産段階である養鶏場での SE 汚染防止の取り組みが必要となっている。この対策については過去に多くの研究が行われてきたものの、入雛から鶏卵・鶏肉の出荷、さらに次の入雛に至る養鶏場での生産工程全般における「SE 汚染防止を可能とする飼育管理」までには、未だに多くの解決すべき技術的課題が残されている。抗菌性物質の使用は、鶏への SE 感染を完全には阻止できないこと、さらに鶏卵・鶏肉への残留や薬剤耐性菌の出現等の問題点も指摘されている。

そこで、本研究では、抗菌性物質を使用しない飼育管理による肉用鶏農場での SE 汚染防止技術の開発を目的に、人為的に SE を雛時に接種した SE 感染鶏を供試して各種資材の経口投与ならびに床面形状等による鶏腸管内 SE 増殖に及ぼす影響、さらに消毒方法による飼育環境の清浄化に及ぼす影響について一連の研究を実施した。まず、競合排除 (Competitive exclusion ; CE) 製品単独ならびに CE 製品と各種資材添加飼料の複合投与による鶏腸管内 SE 増殖抑制効果を検討した結果、CE 製品と 1%(w/w) フマル酸添加飼料の複合投与が最も効果的であることを明らかにするとともに、床面形状の違いが SE 水平感染に大きく関与し、網床飼育が平床飼育よりも水平感染を抑

制できること、そのことが 1%フマル酸添加飼料による SE 抑制効果を高く維持できることを明らかにした。したがって、平床飼育では、敷料が有害細菌の温床となりうることから、敷料材質による水平感染への影響を検討した結果、木材チップはコンポスト堆肥よりも水平感染を抑制しうることを明らかにするとともに、CE 製品と 1%フマル酸添加飼料の複合投与による SE 抑制および生産性（増体重）への効果を維持することを明らかにした。

さらに、各種微生物資材の投与による鶏腸管内 SE 増殖抑制効果を検討した。その結果、単一菌もしくは同属菌のみを含む資材より多様な微生物叢を形成する複合菌資材が有効であること、また飼料中の添加濃度は 0.2%(w/w) が最も安定した効果を期待できることを明らかにした。一方、サトウキビ抽出物製品（Sugar cane extract；SCE）も免疫作用を増強させることが知られていることから、SCE 単独投与もしくは CE 製品との複合投与による鶏腸管内 SE 増殖抑制効果を検討した。その結果、飼料中に SCE を 0.05%(w/w) 濃度で単一添加することによって SE 抑制効果が発揮されることを明らかにし、飼料添加が認可されている SCE による SE 抑制の可能性を示唆した。

次に、SE 汚染粉塵等を介した水平感染を防止するためには、鶏舎全体の消毒管理が必須であることから、各種の噴霧用消毒資材および床面形状を検討した。その結果、スラット床は鶏舎内における一般細菌の落下数を平床の 9.3% まで低減できること、さらに次亜塩素酸ナトリウムを塩酸で pH7 に調整した中性次亜塩素酸水を 1 日 2 回、1m³ あたり 4ml 噴霧することで、一般細菌の落下数を 4.2% まで低減できることを明らかにした。また、塩化ジデシルジメチルアンモニウム（Didecyl dimethyl ammonium chloride；DDAC）10% 製剤 0.2%(v/v) 液を時間換気

量 1 m³あたり 0.2ml 噴霧することで、陰圧換気無窓平床鶏舎内の空中浮遊細菌濃度を 60%程度まで低減することを明らかにした。

最後に、肉用鶏農場における SE 消毒方法を検討した。各濃度で生石灰と消石灰の SE 汚染鶏糞に対する殺菌効果を検討した結果、消石灰は生石灰より殺菌効果が高く、1%(w/w)以上の混和により殺菌効果が認められた。次に、肉用鶏出荷後の平床鶏舎内において、除糞、水洗、DDAC20%製剤 1%(v/v)液による発泡消毒、20%(w/v)消石灰懸濁液による床面の塗布を順に行うことによって、床面の一般細菌数は除糞後の 7×10^{-5} %と、ほぼ完全に抑制できることを明らかにした。

以上のように、本研究は、鶏腸管内 SE 増殖抑制効果のある各種有効資材の経口投与や床面形状等による対策、ならびに生産工程各段階での飼育環境の SE 清浄化に有効な消毒方法等、抗菌性物質を使用しない飼育管理による肉用鶏農場での SE 汚染防止技術に関する極めて重要な知見を得た。

謝 辞

本研究の遂行にあたり、終始貴重なご指導を賜りました三重大学生物資源学部教授 梅川逸人博士、同教授 後藤正和博士に深甚な万謝をささげます。また、本論文の審査に際して、懇切丁寧なご指導を賜りました三重大学生物資源学部教授 江原宏博士、同教授 藤原勉博士に深甚な感謝の意を表し上げます。

本研究の実施に際し、有益なご指導を賜った独立行政法人農業・生物系特定産業技術研究機構 動物衛生研究所 動物疾病対策センター長 中澤宗生博士、畜産草地研究所上席研究員 池口厚男博士、東京農業大学農学部教授 山本孝史博士（当時、動物衛生研究所疫学部長）、元東京農工大学教授 故廣田好和博士（当時、動物衛生研究所上席研究官）、共同研究機関（青森県産業技術センター畜産研究所、静岡県畜産技術研究所中小家畜研究センター、愛知県農業総合試験場畜産研究部、岐阜県畜産研究所）の諸先生方、菌株の分与および試験方法のご指導をいただいた科学飼料研究所 佐藤静夫博士（当時、全農家畜衛生研究所）、全農家畜衛生研究所 今井康雄博士、実験施設の利用等でお世話になった元三重県科学技術振興センター保健環境研究部総括研究員 杉山明博士、三重県保健環境研究所主幹研究員 岩出義人博士、株式会社近食社長 奥田利樹氏に甚大なる謝意を表します。

本研究の実施に際し、有益なご助言を授けられた三重県畜産研究所所長 余谷行義氏、同総括研究員兼研究管理監 山田陽稔氏、同総括研究員兼中小家畜研究課長 西康裕氏、元三重県科学技術振興センター畜産研究部長 加藤元信氏、水野隆夫氏、田上征夫氏に深

く感謝いたします。

本研究を進めるにあたり、甚大なご支援ご協力をいただいた元三重県科学技術振興センター畜産研究部中小家畜グループ主幹研究員 今西禎雄博士，故伊藤英雄氏，三重県農業大学校教授 出口裕二氏（当時，同中小家畜グループリーダー），三重県畜産研究所中小家畜研究課主幹研究員 市川隆久氏，同主任研究員 佐々木健二氏，大家畜研究課主幹研究員 森昌昭氏に厚く謝意を申し述べます。

また，本論文の作成に適切なご助言をいただいた三重大学生物資源学部非常勤職員 土屋邦恵氏，三重県畜産研究所大家畜研究課主任研究員 平岡啓司博士，山本泰也博士に感謝の意を表します。

さらに，本研究の実施に際し，飼育管理等に多大なご尽力をいただいた三重県畜産研究所主任技術員 岡秀和氏，寺田和彦氏，田中秀明氏，同技術員 伊藤浩也氏，元総括技術員 紀平三生氏，吉村雄志氏，小出勇氏，元主任技術員 深田喜郎氏，船木ひろみ氏，元技術員 故中西圭一氏，業務補助員 中森良子氏，桑名千代美氏，元業務補助員 片山朱実氏，ならびに職員諸氏に感謝いたします。

最後に，本研究の取り組みに理解を示し，支えてくれた妻の朋美，長女の穂菜美，次女の翔子に心よりお礼申し上げます。

なお，本論文は，農林水産省先端技術地域実用化研究促進事業である「地域特産鶏肉・鶏卵の安全性確保のためのサルモネラ汚染防止技術の確立（平成 11～13 年度）」，「無投薬飼育管理による地域特産鶏肉の生産技術の確立（平成 14～15 年度）」，県単独事業「抗菌性物質無添加飼料給与による鶏肉・豚肉生産技術の開発（平成 16～18 年度）」で実施した研究内容を中心に取りまとめたものです。

英文要約

The poultry farming industry of our country has been contributing greatly to people's eating habits and health by supplying eggs and chickens which are cheap and high in quality as a result of the improvements in productivity made by labor saving and chicken disease management. It has been pointed out that *Salmonella enteritidis* (SE), which is a human food poisoning bacterium, is often detected in eggs and chickens. SE controls have become necessary in poultry farms, which are one stage in production, as well as in distribution and processing. There have been a number of studies made of anti-SE contamination measures. However, there are still a lot of technical problems to be solved before achieving breeding management technology which would enable effective anti-SE controls in a series of production processes in poultry farms. It has been pointed out that the use of antibacterial agents does not completely prevent chickens from being infected with SE. In addition, it has been reported that the use of antibacterial agents can cause other problems such as having the antibacterial agents remain in the eggs and chickens, and the appearance of drug-resistant bacteria.

We conducted a series of experiments to develop anti-SE contamination technology in meat chicken farms. The first experiment was to see how oral administration of various materials affect the growth of *Salmonella enteritidis* in meat chicks' intestines, and for this experiment we used chicks which had been purposely infected with SE. The second experiment was to see what effects the disinfection method in meat chicken farms would bring to the cleanliness of the breeding environment.

In Chapter 2, we examined the effect of the Competitive Exclusion product (CE) and various effective materials on depressing the growth of *S. enteritidis* in meat chicks reared in a cage-floored environment. The results show that a combination of Competitive Exclusion Product (CE) and dietary fumaric acid was most effective, with a 1% feed addition density being most

efficacious. We examined the effect of CE, dietary fumaric acid and floor types on the horizontal infection of *S. enteritidis* in meat chicks and found that the frequency of horizontal infection was lower for chicks reared in a cage-floored environment than the ones reared in a flat-floored environment. The frequency of horizontal infection was low for chicks fed with the feed supplemented with fodder that included 1% of fumaric acid and reared in cage-floored environment. The frequency of horizontal infection was lower in chicks fed with the feed supplemented with 1% of fumaric acid with the sawdust litter than those fed with the compost and reared in a flat-floored environment. Body weight was significantly higher when the CE was given with fodder that included 1% of fumaric acid than without it.

In Chapter 3, we examined the effect of various probiotic materials on depressing the growth of SE in meat chicks reared in a flat-floored environment. We found that compound probiotic materials that contained many kinds of microorganisms were more effective than the probiotic materials including only the same kind of microorganisms or a single microorganism. The best fodder addition density of the compound probiotic material was 0.2%. We examined the effect of the competitive exclusion product (CE) and sugar cane extract products (SCE) on depressing the growth of SE in meat chicks reared in a flat-floored environment. The most effective fodder addition density of SCE was 0.05%. The combined application of the CE product and SCE 0.05% (w/w) was found to be the most effective after the examinations on the effect of the cell immunity reinforcement.

In Chapter 4, in order to minimize the frequency of horizontal infection by SE-polluted dust, it is necessary to control the number of bacteria that fall in the henhouse. For this purpose, we examined the disinfection materials for atomization and floor types. Then, the resulting decrease in the number of bacteria that fall in the henhouse caused by the atomization of the neutral acid hypochlorous solution was evaluated along with the floor types in the henhouse where chickens were bred. It was found that in the henhouse with a slatted floor, the number of bacteria that fell was as low as 9.3% of that in the henhouse with a flat floor. In addition, the bacterial levels in a

henhouse fogged with neutral hypochlorous solution twice a day were as low as 4.2% of that in a henhouse with a flat floor. In windowless negatively pressured henhouses which are ventilated crosswise, the number of aerial bacteria was decreased to about 60% of the original figure, when sprayed with 0.2ml/m^3 of 0.2% - solution of didecyl dimethyl ammonium chloride (10% products).

In Chapter 5, the method for disinfecting SE in meat chicken farms was evaluated. The disinfecting effect of various densities of quicklime and slaked lime on SE polluted dung was examined. We found that slaked lime could disinfect better than quicklime, and only 1% (w/w) or more of slaked lime in the mix would be effective for disinfection. After the chickens were taken from the henhouse for shipping, the flat floor was cleaned in the following sequence. First, the excrement was removed. Next, the floor was washed with water, then disinfected with the foamed disinfectant substance which was diluted DDAC 20% drug product. Finally, 20% slaked lime was applied. As a result, the number of bacteria that remained on the floor surface after the series of disinfection processes was only 0.000070% of what it was just after the removal of the excrement, from which it can be concluded that an effective disinfection method has been clarified.

As explained above, this study provided us with some extremely important findings on anti-SE contamination technology that could be used in antibacterial-agents-free meat chicken farms. The technology includes oral administration of various kinds of effective materials in the control of bacterial growth in chicken's intestines, choosing a suitable type of floor, and a disinfection method effective in clearing SE from the breeding environment at each stage in the production process.

引用文献

- ALLEN H. (1994) *Salmonella* trends in diagnosis and control (Report ref:SR133) PJB Publication Ltd. Richmond Surrey
- 安藤聖・福浦弘幸・界外昇・和田尚子・巽俊彰・田上宏明・佐藤佳久・加藤満年・山本安男 (1991) 三重県内の肉用鶏飼育農家におけるサルモネラおよびキャンピロバクターの浸潤状況. 鶏病研究会報 27 : 83-88
- 浅野俊雄 (1993) 化学的殺菌による微生物制御とその技術. 別冊フー
ドケミカル 5: 15-21
- Barrow PA, Mead GC, Wray C, Duchet-Suchaux M (2003) Control of food-poisoning salmonella in poultry-biological options. World's Poult Sci J 59 : 373-383
- Baskerville, A. et al. (1992) Airborne infection of laying hens with *Salmonella enteritidis* phage type 4. Vet. Rec, 130 : 395-398
- Fanelli, M., J., Sadier, W. W. and Brownell, J. R. (1969) Preliminary studies on persistence of Salmonellae in poultry litter. Avian. Dis, 14:131-141
- 深田恒夫・馬場栄一郎・荒川皓 (1994) 生菌剤による鶏のサルモネラ感染の抑制について. 鶏病研究会報 29 : 200-205
- 深田恒夫・笹井和美・馬場栄一郎 (1998) 食餌性オリゴ等による鶏のサルモネラ定着抑制効果について. 鶏病研究会報 34 : 20-23
- 深田恒夫・笹井和美・宮本忠・馬場栄一郎 (1999) デキストラン発酵副産シロップの鶏ひなにおけるサルモネラ定着抑制効果について. 日本獣医師会雑誌 52 : 125-128
- 深田恒夫 (1998) オリゴ糖類の応用. 鶏卵・鶏肉のサルモネラ全書 (鶏病研究会編). 185-189 項. 日本畜産振興会. 東京

- 福崎智司・浦野博水・高橋和宏・山田貞子・高木明彦(2009) 次亜塩素酸ナトリウムの洗浄および殺菌作用に及ぼす温度の影響の速度論的研究. 日本防菌防黴学会誌 37 : 253-262
- 福山正隆(1996) 畜産大辞典(田先威和夫監修). 305-306項. 養賢堂. 東京
- 古田賢治(1993) 養鶏施設における消毒に関する諸問題. 日本家禽学会誌 30 : 325-335
- 古田賢治・濃野正博・矢野明美(1994) 有機酸混合溶液浸漬による食鳥処理場の器具類を汚染した細菌の除去. 鶏病研究会報 30 : 14-17
- 古田太郎(1997) ハロゲン系製剤の特性と利用の実際. フードケミカル 2 : 31-35
- Gadd, J.(1994) マンナンオリゴ糖の効果. FEEDING 34 : 21-24
- Guillot, J. F. and Millemann, Y. (1992) Intestinal colonization of chickens and turkeys *Salmonella* and antibiotic decontamination. pp.13-420, In : Proceedings of the international symposium on *Salmonella* and salmonellosis (LE Minor, l. et al. Eds.), CNEVA, INEVA, Ploufragan/Saint Briec, France
- 原征彦・石上正(1989) 茶ポリフェノール類の食中毒細菌に対する抗菌作用. 日本食品工業学会誌 36 : 996-999
- 服部貴次(2001) スウェーデンモデル. 畜産の研究 55 : 539-543
- 平賀雅之・大島寛一(1998) 食鳥処理場におけるブロイラー鶏のサルモネラ汚染. 鶏病研究会報 34 : 188-191
- 細谷実(2001) 省力, 衛生的な(LSH)ブロイラー飼育システム. 日本家禽学会誌 38 : 177-181
- Humphrey, T. J. et al. (1992) Infection of laying hens with *Salmonella enteritidis* PT4 by conjunctival challenge. Vet. Rec, 131 : 386-388

- 飯塚三喜(1974) 鶏衛生における消毒の理論と消毒剤の特性. 鶏病研究会報 10, 増刊号: 1-16
- 生田健太郎・中家一郎(1996) 分娩後早期における乳牛子宮内細菌と強酸性イオン水による子宮洗浄効果. 日本獣医師会雑誌 49: 363-367
- 今井康雄・並松孝憲・藤井誠一・小川めぐみ・津田和宏・佐藤静夫(1999) 採卵鶏初生ひなにおける市販CE製品の *Salmonella* Enteritidis 排除効果比較試験. 鶏病研究会報 35: 22-26
- 今井康雄・小川めぐみ・藤井誠一・並松孝憲・矢澤慈人・奥田陽・津田和宏・佐藤静夫(2000) 採卵鶏ひなにおける生菌剤混合物の *Salmonella* Enteritidis に対する増殖抑制効果およびCE製品との併用効果. 鶏病研究会報 36: 139-144
- 今村和彦(1997) 畜産における酸化電解水の利用. 畜産の研究 51: 758-762
- 今村安孝・高本芳寿・原田誠也・戸泉慧・福山千英・松岡孝一(1995) 鶏由来サルモネラの薬感受性ならびにプラスミドプロフェイルと食鳥処理場の疫学調査. 鶏病研究会報 31: 19-24
- 今西禎雄・水野隆夫・矢下祐二・古田賢治(1983) 慣行消毒法およびその改善による無窓鶏舎の消毒. 日本家禽学会誌 20: 354-359
- 石橋 晃(2007) 飼料の現状と課題. 日本畜産学会報 78: 1-13
- 石原佑一・杉山博治・夏目昌知・川田正之(2000) 鶏肉の食鳥処理場別サルモネラ汚染と汚染防止策. 鶏病研究会報 36: 33-36
- 石井康明(1983) 効果的な石灰消毒の進め. 養豚界 4月号: 49-51
- 一色賢司・栖原浩・水内健二・徳岡敬子(1994) カルシウム製剤による微生物制御の可能性について. 日本食品工業学会誌, 41:135-140.

- 磯部 禎夫・伊藤利男・永良邦彦(2000) 採卵鶏に対するフマル酸のサルモネラ排菌抑制効果. 関東畜産学会報 50 : 30-34
- 伊藤英雄(2005) プロイラー・採卵鶏農場およびGPセンターでのサルモネラ汚染の原因と対策. 畜産の研究 59 : 569-573
- 伊藤武・楠淳(1995) サルモネラ食中毒の発生動向とニワトリ. 動薬研究 53 : 1-11
- 岩沢篤郎・中村良子・丹波友和・西本右子(2002) 強酸性電解水の殺菌効果に対する pH の影響. 日本防菌防黴学会誌 30 : 635-643
- 岩沢篤郎・中村良子・井上啓・丹波友和・西本右子(2004) 強酸性電解水の殺菌効果に対する pH 及び共存塩濃度の影響. 日本防菌防黴学会誌 32 : 301-306
- 岩沢篤郎・原野綾・穂山由貴・中村良子・西本右子(2009) 次亜塩素酸の殺菌効果に対する pH の影響. 日本防菌防黴学会誌 37 : 243-252
- 泉秀実. 酸性電解水のカット野菜の殺菌剤としての利用効果(2004). 日本防菌防黴学会誌 32 : 91-97
- 泉秀実(2008) 食品の殺菌手法－原理・特徴・現状・課題 4 化学的手法(2)食品の次亜塩素酸水による殺菌 その1. 原理と特徴. 日本防菌防黴学会誌 36 : 541-54
- Jarolmen, H., Sairk, R. J. and Langworth, B. F. (1976). Effect of chlortetracycline feeding on the Salmonella reservoir in chickens. J. Appl. Bact. 40 : 153-161
- 紙谷喜則・比恵島裕美・守田和夫・八木史郎(2008) 強電解水による食品殺菌洗浄方法と時間の検証. 日本防菌防黴学会誌 36 : 433-438
- 兼子松義・杉浦均・村松直矢・美濃口直和・鈴木清示(1996) 採卵鶏農場で分離されたサルモネラの薬剤感受性ならびにプラスミドの保有状況についての一考察. 鶏病研究会報 32 : 201-207

- 鶏病研究会 (1997) サルモネラ人工感染ヒナに対する CE 法製剤投与の効果. 鶏病研究会報 33 : 90-95
- 鶏病研究会 (1998a) 競合排除 (CE) 法による鶏のサルモネラ症対策. 鶏病研究会報 34 : 1-10
- 鶏病研究会 (1998b) ブロイラー農場における対策. 鶏卵・鶏肉のサルモネラ全書第 1 版 (鶏病研究会編). 84-85 項. 日本畜産振興会. 東京
- 鶏病研究会 (1998c) 競合排除 (CE) 法の応用. 鶏卵・鶏肉のサルモネラ全書第 1 版 (鶏病研究会編). 192-205 項. 日本畜産振興会. 東京
- 鶏病研究会 (2007) 抗菌性飼料添加物と抗菌性動物用医薬品の使用量. 鶏病研究会報 43 : 166-171
- 鶏病研究会 (2007) 多剤耐性 *Salmonella* Typhimurium DT104 の疫学. 鶏病研究会報 43 : 131-139
- Kimura AC, Reddy V, Macus R (2004) Cieslak PR, Mohle-Boetani JC, Kasenborg HD, Segler SD, Hardnett Fp, Barret T, Swerdlow DL. Clin Infect Dis, 38 Suppl 3 : S244-252
- Kirchgessner, M. and Roth, F. X. (1982) Pig News and Information, 3 : 259
- 岸善明・西形勝雄・鯉沼暉・大曾根智 (1989) 輸入雛に発生した鶏パラチフス. 鶏病研究会報 25 : 70-76
- 岸井誠男・ザキ・折原惟子・喜多浩一郎・引地宏二・伊藤利男・永良邦彦・山田直道 (1997) 飼料添加物用フマル酸がブロイラーの生産性に及ぼす影響. 日本家禽学会誌 34(春季大会号) : 45
- 北川久・松馬定子 (1996) ウインドウレス鶏舎におけるサルモネラ感染事例. 鶏病研究会報 32(増刊号) : 15-21
- 木谷隆・中島芳夫・海老沢昭二・古田賢治 (1983) 消毒液の散布に

よる消毒効果の検討. 日本家禽学会誌 20 : 187-191

古家健二 (2000) サトウキビ抽出物の特性と抗酸化能. 月刊フードケミカル 5 : 62-64

古家健二・永井幸枝・鈴木護・荒井誠一 (2000) さとうきび抽出物の各種生理効果. 食品と開発 35 : 39-41

小島明美 (2004) 動物用抗菌剤の基礎知識と適正使用 (15)-食品媒介性病原菌と食中毒-. 畜産の研究 58 : 297-300

小見清・古田賢治・佐藤雄次郎 (1983) 動力噴霧機の水流による水産効果に関する検討. 日本家禽学会誌 20 : 145-148

小松茂・佐藤隆・斉藤幸夫・西宮弘・庄司浩・高橋修二・伊豆肇・畠山直一郎・鈴木敏規・太田和宏・瀬田川清・金沢篤・菅野芳・田村隆男 (1994) 牛の皮膚糸状菌症および豚の滲出性皮膚炎に対するアクア酸化水の治療効果. 東北家畜臨床研究会誌 17 : 1-7

小松茂・斉藤幸夫・田村隆男 (1996) *Staphylococcus intermedius* に起因する子豚の膿皮症に対するアクア酸化水の治療効果. 東北家畜臨床研究会誌 19 : 1-6

厚生労働省告示第 212 号 (2002)

熊谷学・梅木久一・田村道子・斉藤幸一・品川邦汎 (1993) 食鳥処理場の微生物制御に関する実験的研究 (Ⅲ). 岩手県衛生研究所年報 35 : 11-14

松馬定子・森尚之 (2001) 安全な鶏卵生産における微生物制御方法の確立 - 弱酸性次亜塩素酸ソーダ水を利用した鶏卵洗浄効果 -. 岡山県総合畜産センター研究報告 12 : 51-53

松馬定子・森尚之・伊藤述史 (2002) 安全な鶏卵生産における微生物制御方法の確立 - 弱酸性次亜塩素酸ソーダ水を利用した洗卵実

証試験 - . 岡山県総合畜産センター研究報告 13 : 7-10

三重県桑名保健所 (1997) 地域保健推進特別事業 (平成 8 年度) 地域食品保健推進事業「サルモネラ食中毒の防止対策」: 2-9

光岡知足 (1971) ニワトリの腸内細菌叢. 鶏病研究会報 7 : 67-75

光岡知足 (1990) 腸内細菌学第 1 版. 293-295 項. 朝倉書店. 東京

M. L. Bari, H. Kusunoki, H. Furukawa, H. Ikeda, K. Isshiki and T. Uemura (1999) Inhibition of Growth of *Escherichia coli* O157:H7 in Fresh Radish (*Raphanus sativus* L.) Sprout Production by Calcinated Calcium. *Journal of Food Protection*, 62 : 128-132

Morris G. K. et al. (1969) A study of the dissemination of salmonellosis in a commercial broiler chicken operation. *Am. J. Vet. Res.*, 30 : 1413-1421

Moshira EL-ABASY, Maki MOTOBU, Kameo SHIMURA, Ki-Jeong, Chung-Boo KANG, Kenji KOGA, Takashi ONODERA and Yoshikazu HIROTA (2002) Immunostimulating and Growth-Promoting Effects of Sugar Cane Extract (SCE) in Chickens. *J. Vet. Med. Sci.*, 64:1061-1063

Moshira EL-ABASY, Maki MOTOBU, Toshiya SAMESHIMA, Kenji KOGA, Takashi ONODERA and Yoshikazu HIROTA (2003) Adjuvant Effects of Sugar Cane Extract (SCE) in Chickens. *J. Vet. Med. Sci.*, 65:117-119

村野多可子・青木ふき乃・脇雅之・椎名幸一・石原克己・小俣友紀子 (2000) *Salmonella* Enteritidis 不活化油性アジュバントワクチンの産卵鶏における野外応用試験. 鶏病研究会報 36 : 171-180

村瀬稔 (1994) サルモネラ, 特に Enteritidis 下痢症の現状. *食品と微生物* 10 : 181-184

村瀬敏之 (2007) 家禽のサルモネラ対策における生菌製剤の効果. 鶏卵肉情報, 2007 夏季特大号 : 150-153

NAGARAJA. K. V., POMEROY, B. S. and WILLIAMS, J. E. (1991) Paratyphoid infection. 99-130.

In:Diseases of Poultry, 9th ed. (Calnek, B. W. et al. eds.), Iowa State Univ. Press, Ames, Iowa.

- 内藤茂三(1995) 食品工場のサニテーションテクノロジー講座 ⑱ 11.
食品工場のサニテーションにおける殺菌技術 3) ガス殺菌と照射
殺菌の実際. 日本防菌防黴学会誌 23 : 177-185
- 内藤茂三(2008) 食品の殺菌手法－原理・特徴・現状・課題 3 化学
的手法 (1) 食品のオゾンによる殺菌. 日本防菌防黴学会誌 36 :
469-478
- 仲嶺マチ子・荷川取秀樹・大城弘四郎・池村薫・城間秀英・名幸方
光・幸喜吉信・江崎孝行(1994) ブロイラー鶏および採卵鶏から
のサルモネラの分離と農場内の疫学調査. 鶏病研究会報 30 : 18-22
- 中村明子(1994) *Salmonella* Enteritidis の疫学. モダンメディア 40 :
301-307
- 中村明子(1996) *Salmonella* Enteritidis の疫学について. 食品衛生研究 46
: 61-71
- 中村雅人(1998) 家畜糞尿等有機資源のリサイクル技術の開発. 三重
県農技センター試験成績報告(畜産): 40-41, 93-96
- 中村政幸(1995): 続・鶏のサルモネラ(SE)感染症の現状と対策. 鶏卵
肉情報 1023 : 44-50
- 中村政幸(1999) 人と動物の *Salmonella* Enteritidis. 疫学, 病理発生, 対
策 (1). 鶏病研究会報 35 : 127-137
- 中村政幸・方波見将人・竹原一明・森腰俊亨(2000) CE製品の投与方法
および投与場所の検討 寒天固化物を中心として. 鶏病研究
会報 36 : 82-90
- 中村修・山本敏昭・田上雅之・水谷武雄(2001) さとうきび抽出物

- 給与雛におけるサルモネラ・エンテリテイデイス排菌抑制効果
について. 第 132 回日本獣医学会学術集会講演要旨集 : 199
- 中山素一・藤本章人・樋口彰・渡辺誠・飯尾雅嘉・宮本敬久 (2003)
微酸性次亜塩素酸水の *Bacillus* 属細菌芽胞及び乳酸球菌に対する
効果と特性. 日本防菌防黴学会誌 31 : 421-425
- 中山素一・重宗尚文・徳田一・古田可菜子・松下知世・吉澤千尋・
宮本敬久 (2008) 緑茶抽出物の抗菌活性と pH の影響. 日本防菌防
黴学会誌 36 : 439-448
- 農林水産省 (1999 年 ~ 2008 年) 家畜衛生週報
- 農林水産省消費・安全局長 (2004) 「飼養衛生管理基準に係る指導指
針」の策定について
- 農林水産省畜産局監修 (1997) 獣医畜産六法平成 10 年版 (日本獣医師
会編). 1220-1223 項. 新日本法規出版株式会社. 東京
- 農林水産省畜産試験場加工部 (1996) 鶏肉の品質評価に関する研究実
施要領. 高品質肉用鶏研究会 : 1-20
- Nurumi, E. and Rantala, M. (1973) New aspects of *Salmonella* infection in broiler
production. Nature 241 : 210-211
- 岡部敏弘・斉藤幸司 (1992) ヒノキチオールの日持ち向上効果とその
利用分野. ジャパンフードサイエンス 31(9) : 41-48
- 岡部敏弘・斉藤幸司・福井徹・飯沼和三 (1994) メシチリン耐性黄色
ブドウ球菌 (MRSA) に対するヒノキチオールの抗菌活性. 木材学会
誌 40 : 1233-1238
- 岡本公彰・駒形安子・奥田舜治・宮本右子・鴨志田真弓・中村悌一
・小宮山寛機 (2006) 微酸性電解水の抗微生物効果. 日本防菌防黴
学会誌 34 : 3-10

- 大久長範・菅原真理・菅原久春・一色賢司(1999) カルシウム製剤と温度処理併用によるワラビ大腸菌群の抑制. 日本食品工業学会誌 46 : 334-338
- 奥村純市(2007) プロバイオティクスの作用機序. 鶏卵肉情報, 2007.11.25 : 64-68
- 大成 清(2004) 乳牛における DFA(直接給与微生物製剤) の給与効果 (1). 畜産の研究 58 : 462-468
- 小野雅章・今井康雄・並松孝憲・藤井誠一・小川めぐみ・津田和宏・佐藤静夫(1998) 競合排除 (C E) 製品を投与したブロイラー鶏の盲腸の形態学的変化. 鶏病研究会報 34 : 252-257
- 小野朋子・三宅真名・山下光治(2006a) 弱酸性次亜塩素酸水の噴霧による種卵消毒に関する研究. 日本防菌防黴学会誌 34 : 465-469
- 小野朋子・三宅真名・山下光治(2006b) 非イオン界面活性剤添加弱酸性次亜塩素酸水の噴霧によるニワトリ種卵表面の消毒効果. 日本防菌防黴学会誌 34 : 537-542
- 小野朋子・三宅真名・安本良・山下光治・藤井秀家・中山英治・内藤一郎・佐藤勝紀(2007) 弱酸性次亜塩素酸水を飲水消毒に用いた場合の殺菌効果およびブロイラー種鶏の育成率と産卵率への影響. 日本家禽学会誌 44 : 148-153
- 小関成樹・伊藤和彦(2000) 短期間および長期間の保存における電解水の特性値変化. 日本食品科学工学会誌 47 : 390-393
- 小関成樹・伊藤和彦(2000) 電解水による野菜の洗浄・殺菌における物理的補助手段の併用効果. 日本食品科学工学会誌 47 : 914-918
- Pattn, J. D. and Waldroup, P. W. (1988) Use of organic acids in broiler diets. *Poult. Sci.*, 67:1178-1182

Paula L. Munns and S. J. Lamont (1991) Effects of age and immunization interval on the anamnestic response to T-cell-dependent and T-cell-independent antigens in chickens. Poultry Sci, 70:2371-2374

Poppe C(2000) *Salmonella* in Domestic Animals. Wray C. and Wray A. eds. CAS International, Oxon U. K., New York U. S. A . : 107-132

Rose N, Beaudeau F, Drouin P, Toux Jy, Rose V, Colin P(1999) Prev Vet Med 39 : 265-277

齊藤幸司・岡部敏弘・福井徹・稲森善彦(1997) メシチリン耐性黄色ブドウ球菌(MRSA)に対するヒノキチオール抗菌活性(第2報) 医療環境消毒への適用. 木材学会誌 43 : 882-891

坂井田節・塩谷栗夫(1971) ブロイラーの育成成績向上に関する1, 2の対策, 日本家禽学会誌 8(秋季大会号) : 26-27

坂井田節・横山義彦・赤間栄蔵・梶山哲・茶菌明・横関正直(1974) ウインドウレス鶏舎内自動噴霧(消毒)装置の利用に関する研究 1. 噴霧の実施が鶏舎内環境に及ぼす影響について. 日本家禽学会誌 11(春季大会号) : 25-26

坂井田節・横山義彦・赤間栄蔵・梶山哲・茶菌明(1974) ウインドウレス鶏舎内自動噴霧(消毒)装置の利用に関する研究 2. 噴霧の実施が鶏の産卵成績に及ぼす影響について. 日本家禽学会誌 11(秋季大会号) : 59-60

坂井田節・赤間栄蔵・塩谷栗夫・茶菌明(1980) 長時間噴霧消毒の実施が鶏舎内衛生環境におよぼす影響について. 日本家禽学会誌 17 : 64-69

坂井田節(1980) 育成期噴霧消毒を実施した鶏の育成成績及び病理組織学的検討, 日本家禽学会誌 17 : 103-108

- 迫田義博・吉見泰・黒川知・喜田宏(2007) 鳥インフルエンザウイルスに対する消毒薬の効果. 日本獣医師会雑誌 60 : 519-522
- 鮫島俊哉(2002) 動物用抗菌性物質をめぐる最近の話題(4) 4. ネズミチフス菌 DT104 の疫学. 畜産の研究 56 : 51-56
- 佐藤静夫(1969) ひな白痢. 鶏病図説(堀内貞治, 川村斉, 関令二編). 127-154 項. 日本畜産振興会. 東京
- 佐藤静夫(1991a) 鶏の *Salmonella* Enteritidis (腸球菌) 感染症. 日本獣医師会雑誌 44 : 565-576
- 佐藤静夫(1991b) 鶏の *Salmonella* Enteritidis 感染症に対する防疫の現状. 鶏病研究会報 27(増刊号) : 25-37
- 佐藤静夫(1993) サルモネラ症. 動物疫学(小川益男ら編). 47-63 項. 近代出版. 東京
- 佐藤静夫(1994) ニワトリの *S.* Enteritidis 感染症に対する防疫. 食品と微生物 10 : 185-193
- 佐藤静夫(1998) サルモネラ食中毒の発生状況とサルモネラ対策の概要. 鶏卵・鶏肉のサルモネラ全書(鶏病研究会編). 15-22 項, 23-34 頁, 35-44 項, 171-182 項. 日本畜産振興会. 東京.
- 佐藤静夫(2003). 鶏病研究会報 39 : 145-147
- 佐藤静夫(2004) 鶏のサルモネラ症の現状と対策(その2). 日本獣医師会雑誌 57 : 742-749
- 佐藤智明(1995) 消毒剤の効果判定, 検査と技術 23 : 1067-1972
- 清水高正・高島俊弘・加藤正博(1995) 食品添加物として使用される数種の有機酸の抗菌作用. 日本食品衛生学会誌 36 : 50-54
- 白井和也・大関桂子・小林保裕・横山宏史・樺沢与志園・江口彰・後藤公吉・田沢崇(1996) 食鳥処理場に搬入された採卵鶏における

サルモネラ保菌状況. 鶏病研究会報 32(増刊号) : 9-13

高橋敏雄(2003) 家畜由来各種細菌の抗菌性物質感受性動向調査の概

要と薬剤耐性を巡るわが国の対応. 鶏病研究会報 39 : 69-78

竹下朱美・安藤茂(2001) 電解水の殺菌効果に及ぼす遊離残留塩素濃

度とpHの影響. 日本防菌防黴学会誌 29 : 69-72

田村 豊(2003) 動物用抗菌剤の使用動向と薬剤耐性菌対策. 日本獣

医学会誌 56 : 685-691

田中庸雄・安井喬(2001) マンナンオリゴ糖(乾燥酵母細胞壁) 給与

による *Salmonella* Enteritidis 感染抑制試験報告. 畜産の研究 55 :

861-862

高野光男・横山理雄(1998) 食品と殺菌—その科学と技術—. 196-202

項. 幸書房. 東京

田先威和夫・山田行雄・森田琢磨・田中克英(1988) 新編養鶏ハンド

ブック. 454-457 項. 養賢堂. 東京

立川昌子・早川博・石川寿美代・横山郁代・山田義武(1999) ケージ

で育成したブロイラーの羽毛と皮膚から検出された細菌数. 日

本家禽学会誌 36 : 190-193

巽俊彰・伊藤英雄・松下幸広・今西禎雄・後藤正和(2005a) 競合排除

製品と各種資材の複合投与による鶏腸管内サルモネラ増殖抑制

効果. 鶏病研究会報 41 : 39-46

巽俊彰・伊藤英雄・今西禎雄・後藤正和(2005b) 競合排除製品とフマ

ル酸の複合投与による鶏腸管内サルモネラ増殖抑制効果. 鶏病

研究会報 41 : 216-222

巽俊彰・伊藤英雄・今西禎雄・後藤正和(2007) 競合排除製品とフマ

ル酸の複合投与ならびに床面の形状や敷量の違いがサルモネラ

の水平感染に及ぼす影響．鶏病研究会報 43：140-147

巽俊彰・佐々木健二・伊藤英雄・後藤正和(2009a) 肉用鶏への微生物資材の飼料添加がサルモネラ排菌抑制および生産性に及ぼす影響．日本家禽学会誌 46：63-68

巽俊彰・池口厚男・佐々木健二・荻野暁史・西康裕・後藤正和(2009b) 肉用鶏飼育中の陰圧横断換気方式無窓平床鶏舎での塩化ジデシルジメチルアンモニウム製剤噴霧による空中浮遊細菌の低減効果．鶏病研究会報 45：214-218

巽俊彰・後藤正和(2010) 中性次亜塩素酸水の浸漬および噴霧による消毒効果の検討．日本家禽学会誌 47：8-13

茶菌明・大根田淳・横関正直(1971) ある種消毒薬の鶏体噴霧による育成率改善の試み(第1報)．日本家禽学会誌 8(春季大会号)：19

上田成子・桑原祥浩(1999) 生食用野菜の種々の洗浄・殺菌法による除菌・殺菌効果と強酸化電解水の腸管病原菌に対する殺菌効果．日本防菌防黴学会誌 27：301-307

浦野博水(2005) オゾンと電解水の洗浄・殺菌への利用．食品と開発 39(9)：13-15 (2005)

Vet. Lab. Agency, DEFRA (2002) *Salmonella* in Livestock production in GB-2002, VLA, New Haw, Surrey, U.K.

VLA, DEFRA(2002) *Salmonella* in Livestock production in GB-2002, VLA, New Haw, Surrey, U.K.

矢田純一．免疫学．第2刷(1998) 56-57, 96-111項．朝倉書店．東京

矢野克也・目見田清(2000) 無薬飼育を実施しているブロイラー農場の現状と今後の課題．養鶏の友 9月号：16-19

- 山田果林・竹原一明・中村政幸(1999) 鶏用 *Salmonella* Enteritidis 不活化ワクチンの有効性評価. 鶏病研究会報 5 : 13-21
- 山中俊介・峯裕喜・栖原浩・一色賢司(1995) カルシウム製剤の食品における日持ち効果について. 日本食品工業学会誌 42 : 442-445
- 山内章江・森尚之・河原貴裕・辻誠之(2000) よりよい鶏卵肉の生産管理－鶏舎消毒における弱酸性次亜塩素酸ソーダ水の効果の検討－. 岡山県総合畜産センター研究報告 11 : 63-65
- 予防医学推進センター(1997) 病原微生物検出情報(月報) 18 : 51-52
- 予防医学推進センター(2003) 病原微生物検出情報(月報) 24 : 179-180
- 予防医学推進センター(2006) 病原微生物検出情報(月報) 27 : 191-192
- 予防医学推進センター(2008) 病原微生物検出情報(月報) 29 : 213-215
- 予防医学推進センター(2009) 病原微生物検出情報(月報) 30 : 203-204, 206-207
- 横関正直・影山吉壮・村野祐司・金子晴寿・西芳秀(1982) 消毒液を噴霧するノズルの性能が消毒及び浮遊塵埃の除去効果に及ぼす影響について. 鶏病研究会報 18 : 55-57
- 横関正直・山本喜康(2003) 「クリーンな鶏舎」のアイデア. 102-104項. 日本畜産振興会. 東京
- 横関正直・菊池祐子・糸川知子・佐藤勝(1994) オゾンガスによる養鶏環境の消毒. 畜産の研究 48 : 1088-1092
- 米持千里(2003) 日本における抗菌性飼料添加物の役割と課題. 動物抗菌会報 25 : 33-38
- 吉田 実. 畜産を中心とする実験計画法. 改訂第2版(1978) 68-86, 209-210項. 養賢堂. 東京
- Y. Hirota, J. Galton, S. P. Lerman, M. A. Palladino, and G. J. Thorbecke (1980)

Chemical carcinogen-induced transplantable fibrosarcomas in histocompatible chickens. II . Effect of age and thymectomy on tumor incidence. J.Natl.Cancer Insti., 65:595-601

Yoshikazu Hirota, Maria-Teresa Martin, Matti Viljanen, Paavo Toivanen and ,
Richard M. Franklin (1980) Immunopathology of chickens infected in ova and at hatching with the avian osteoperrosis virus MAV. 2-0. Eur. J.Immunol, 10: 929-936

論文目録

学術論文

巽俊彰・伊藤英雄・松下幸広・今西禎雄・後藤正和(2005) 競合排除製品と各種資材の複合投与による鶏腸管内サルモネラ増殖抑制効果．鶏病研究会報 41：39-46

巽俊彰・伊藤英雄・今西禎雄・後藤正和(2005) 競合排除製品とフマル酸の複合投与による鶏腸管内サルモネラ増殖抑制効果．鶏病研究会報 41：216-222

巽俊彰・伊藤英雄・今西禎雄・後藤正和(2007) 競合排除製品とフマル酸の複合投与ならびに床面の形状や敷料の違いがサルモネラの水平感染に及ぼす影響．鶏病研究会報 43：140-147

巽俊彰・今西禎雄・澤裕之・森荘太郎・田中洋・後藤正和(2007) オゾンガスを利用した種卵の長期保存に関する研究．鶏病研究会報 43：83-88

巽俊彰・佐々木健二・伊藤英雄・後藤正和(2009) 肉用鶏への微生物資材の飼料添加がサルモネラ排菌抑制および生産性に及ぼす影響．日本家禽学会誌 46：63-68

巽俊彰・池口厚男・佐々木健二・荻野暁史・西康裕・後藤正和
(2009) 肉用鶏飼育中の陰圧横断換気方式無窓平床鶏舎での塩化
ジデシルジメチルアンモニウム製剤噴霧による空中浮遊細菌の低減
効果．鶏病研究会報 45：214-218

巽俊彰・後藤正和(2010) 中性次亜塩素酸水の浸漬および噴霧に
よる消毒効果の検討．日本家禽学会誌 47：8-13

参考論文

安藤聖・福浦弘幸・界外昇・和田尚子・巽俊彰・田上宏明・佐藤佳
久・加藤満年・山本安男(1991) 三重県内の肉用鶏飼育農家におけ
るサルモネラ及びキャンピロバクターの浸潤状況．鶏病研究会報
27：83-88

津越充子・柴田勝弘・小林治・巽俊彰(1993) ブロイラー農場での
飼育環境改善によるカンピロバクター清浄化．鶏病研究会報 29：
93-96

伊藤英雄・巽俊彰(2001) サルモネラ汚染鶏糞の石灰処理効果．鶏病
研究会報 37：182-185

学会発表

巽俊彰・伊藤英雄(2002) サルモネラに殺菌効果のある消毒資材の検討. 日本防菌防黴学会第29回年次大会要旨集: 35

巽俊彰・伊藤英雄(2002) 実験室内における鶏舎内浮遊細菌に殺菌効果のある噴霧消毒資材の検討. 日本防菌防黴学会第19回環境殺菌分野事例研究会: 15

巽俊彰・伊藤英雄(2002) 競合排除製品並びに各種資材の飼料添加による鶏体内サルモネラ抑制効果. 平成14年度日本産業動物獣医学会(近畿)講演要旨集: 41

巽俊彰・伊藤英雄(2002) 肉用鶏におけるフマル酸飼料添加濃度の違いによるサルモネラ排菌抑制効果. 日本家禽学会誌44(秋季大会号): 35

巽俊彰・伊藤英雄(2003) CE製品の投与とフマル酸の飼料添加並びに床面の形状がサルモネラの水平感染に及ぼす影響. 平成14年度日本産業動物獣医学会年次大会:160

巽俊彰・佐々木健二・伊藤英雄(2003) 競合排除製品とフマル酸の投与並びに敷料がサルモネラの水平感染に及ぼす影響. 日本家禽学会誌45(春季大会号): 26

巽俊彰・伊藤英雄(2003) 肉用鶏舎内の落下細菌数低減対策の検討.

日本防菌防黴学会第30回年次大会要旨集：93

巽俊彰・伊藤英雄(2003) 競合排除製品とフマル酸の投与並びに敷料が肉用鶏の増体に及ぼす影響. 日本家禽学会誌 45(秋季大会号) : 34,

巽俊彰・佐々木健二・森昌昭(2003) 微生物資材の飼料添加による肉用鶏のサルモネラ増殖抑制効果. 第136回日本獣医学会学会学術集会講演要旨集：160

巽俊彰・佐々木健二(2003) 微生物資材の飼料添加による肉用鶏の免疫増強効果. 平成15年度日本産業動物獣医学会(近畿)講演要旨集：34

巽俊彰・伊藤英雄(2004) 床面形状と噴霧による肉用鶏舎内落下細菌数の低減及び生産性に及ぼす影響. 日本家禽学会誌 45(秋季大会号) : 51

巽俊彰・佐々木健二・西康裕(2007) 平飼肉用鶏舎内でのミスト噴霧による空中浮遊細菌低減効果および生産性への影響. 日本家禽学会誌 48(春季大会号) : 36