

小課題 2 - (2) 洗浄消毒方法の再現性試験

令和4年8月と10月実施の対照鶏舎と試験鶏舎のサンプリング箇所ごとの腸内細菌科菌群数は以下のとおりであった。

表45 E商事の対照鶏舎数と試験鶏舎における洗浄及び消毒後の腸内細菌科菌群数

鶏舎		対照区			試験区		
		4号舎			5号舎		
採取日		8月19日	8月20日		8月19日	8月20日	
NO.	場所	洗浄後	消毒後	差	洗浄後	消毒後	差
1	床面	8	0	8	12	2	10
2	床面	4	10	-6	3	0	3
3	床面	2	7	-5	6	9	-3
4	床面	0	22	-22	0	0	0
5	床面	29	9	20	2	0	2
6	床面	9	27	-18	5	3	2
7	床面	6	18	-12	258	0	258
8	床面	2	2	0	0	0	0
9	床面	12	30	-18	3	1	2
10	天井柱	2	1	1	2	0	2
平均				-5.2 *	29.1	1.5	27.6 *

鶏舎		対照区			試験区		
		4号舎			5号舎		
採取日		10月24日	10月26日		10月24日	10月26日	
NO.	場所	洗浄後	消毒後	差	洗浄後	消毒後	差
1	床面	0	0	0	10	0	10
2	床面	2	0	2	1	0	1
3	床面	1	1	0	25	1	24
4	床面	5	0	5	2	0	2
5	床面	9	2	7	4	0	4
6	床面	1	0	1	5	0	5
7	床面	3	0	3	20	1	19
8	床面	0	0	0	0	0	0
9	床面	3	0	3	8	0	8
10	天井柱	0	0	0	0	0	0
平均		2.4	0.3	2.1**	7.5	0.2	7**

【1回目】

4号舎は、洗浄後0～29個に対し、消毒後は、0～30個で、その差は20減から22増、平均5.2増であった。

5号舎は、洗浄後0～258個、消毒後は0～9で、その差は258減から3増、平均27.6減であり、対照区の平均値の差と試験区の平均値の差を比較し（表中*で示した）、消毒効果に有意差が認められた(p<0.05)。（t検定、この項目で以下同じ）

【2回目】

4号舎は、洗浄後0～9個（平均2.4）に対し、消毒後は0～2個（平均0.3）で、その差は7減から

0、平均2.1減であった。

5号舎は、洗浄後0～25個（平均7.5）、消毒後は0～1（平均0.2）で、その差は24減から0、対照区の平均値の差と試験区の平均値の差を比較し（表中**で示した）、試験区の消毒効果に有意差が認められた（ $p<0.05$ ）。

1回目より2回目の方が、全体的に菌数は少ない状況となった（2回目のほうは気温が低いことも要因の一部かと考えられた）。

1回目は4号舎は石灰塗布がないが、2回目は石灰塗布があった。

表46 試験区と対照区 新品チップ搬入前食中毒菌検出結果（上が1回目、下が2回目）

〔1回目〕

採材時期	サルモネラ					カンピロバクター	
	号舎	4号舎		5号舎		4号舎	5号舎
	項目	血清型	薬剤耐性	血清型	薬剤耐性		
新品チップ搬入	1 鶏舎内(ソックススワブ)	S. Schwarzengrund	KM, SM,NA,TMP, TC KM,SM,TMP,TC	—	— —	— —	— —
	2 鶏舎周囲(ソックススワブ)	—	—	—	—	—	—
	3 換気扇 ぼこり	—	—	—	—	—	—
	4 鶏舎内 天井柱部分	S. Schwarzengrund	KM, SM,NA,TMP, TC KM,SM,TMP,TC	—	—	— —	— —
	5 ブルーダー傘部分	—	—	—	—	—	—

〔2回目〕

採材時期	サルモネラ					カンピロバクター	
	号舎	4号舎		5号舎		4号舎	5号舎
	項目	血清型	薬剤耐性	血清型	薬剤耐性		
新品チップ搬入	1 鶏舎内(ソックススワブ)	-	-	-	-	—	—
	2 鶏舎周囲(ソックススワブ)	-	-	S. Schwarzengrund	KM, SM,NA, TMP, TC	—	—
	3 換気扇 ぼこり	-	-	-	-	—	—
	4 鶏舎内 天井柱部分	S. Schwarzengrund	KM, SM,NA, TMP, TC	S. Schwarzengrund	KM, SM,NA, TMP, TC	—	—
	5 ブルーダー傘部分	S. Schwarzengrund	KM, SM,NA, TMP, TC	S. Schwarzengrund	KM, SM,NA, TMP, TC	—	—

4号舎では、1回目導入前の検査では、鶏舎内ソックススワブ、天井柱部分からS. Schwarzengrund（以下、S. S）が検出され、2回目は鶏舎内スワブでは不検出であったが、天井柱部分とブルーダー傘部分からS. Sが検出された。その薬剤耐性は、5剤耐性、4剤耐性の多剤耐性のサルモネラが検出されていることから、洗浄消毒不足により、鶏舎内に残存したものと考えられる。

一方、5号舎では、1回目は、すべての箇所、サルモネラ、カンピロバクターは検出されなかったが、2回目は、鶏舎周囲、天井柱、ブルーダー傘部分からS. Sが検出された。このことから、5号舎において設定した洗浄消毒プログラムにより、導入前の洗浄消毒が効果的に実施され、導入前のサルモネラ及びカンピロバクターがいない環境を再現することが1回目ではできたが、同じ洗浄消毒プログラムを実施した2回目では、鶏舎柱、ブルーダー傘から検出されていることから、F養鶏と同様、ソフト面での作業者の持続的な教育訓練の必要性が示唆された。

表47 農場共用物品の食中毒菌検査結果

農場共用物品	サルモネラ		カンピロバクター
	血清型	薬剤耐性パターン	
体測計	—	—	—
補充用おがこ	S.Thompson	SM	—
共用スコップ・ほうき	—	—	—
手袋・ヤッケ	S. Schwarzengrund	KM, SM, NA, TMP, TC	—

体測計表面および底のふきとりでは、サルモネラ、カンピロバクターともに検出されなかったが、補充用おがこから、*S. Thompson*が、手袋・ヤッケからは、*S. Schwarzengrund*が検出された。

手袋・ヤッケから検出された*S. schwarzengrund*は、4号舎 鶏舎内ソックスワブと同じ*S. schwarzengrund*であり、薬剤耐性パターンも同じであることから、作業中に手袋に付着したサルモネラが、作業終了後、倉庫にそのまま保管されていることから、鶏舎内から、農場共用倉庫に持ち込まれた可能性が考えられた。

補充用おがこから検出された*S. Thompson*は、過去に令和2年9月 導入前3号舎 サービスルームから検出されていた。

薬剤耐性パターンもSMであり、どちらが、最初に汚染されていたのかは、不明であるが、少なくとも、令和2年9月以降、農場内の環境下に持続的に存在していたものと考えられた。

小課題2-（2）小括

【洗浄・消毒プログラムの再現性試験】

1回目の試験では、5号舎では、洗浄前に出荷した鶏群はサルモネラ及びカンピロバクター陽性であったにもかかわらず、両菌ともに検出されない環境を再現することができたが、一方で、2回目は、ブルーダー傘、天井柱でサルモネラが検出されたことから、消毒プログラムの確立のみならず、持続的な作業者の教育訓練が必要であると考えられた。

効果的な洗浄消毒の実現には、

- ①作業者の熟練度(正しい洗浄及び消毒薬を決められた濃度及び量使用することを含む)
 - ②作業に使用する機械
 - ③十分な空舎期間、水洗後の十分な乾燥期間の設定（天候にも左右される）
- などのさまざまな要件をクリアしなければならない。

また、専門委託業者による作業においては、綿密な作業スケジュールの立案も大切な要件の一つと考えられた。

詳細は別紙3 洗浄消毒法 参照。

【環境中の残存について】

一方で、農場倉庫に保管されていた、補充用おがこ及び手袋・ヤッケからサルモネラが検出されていることから、鶏舎内および鶏舎周囲のサルモネラ、カンピロバクターが検出されない環境を実現できても、その他の農場内の環境下でサルモネラが持続的に生存していることも考えられた。

【衛生対策の検討】

検出されたサルモネラ血清型から、少なくとも、以下2点の衛生対策が求められる。

- ①補充用おがこ：保管時は、ビニールシートをかぶせ、倉庫内環境中からのサルモネラの付

着を防ぐ。可能であれば、使用前の消毒を行うことがよいが、実際には、難しい。

②手袋：空舎期間中・飼育期間中問わず使用後毎回の消毒液による浸漬消毒と洗濯。手袋の消毒方法は、科学的根拠があり、かつ現場で実践できる、持続可能な衛生管理手法でなければならない。

飼育期間中鶏舎入口でアルコールによる消毒を実施しているが、科学的根拠が乏しい。F養鶏においても手袋から検出されている。

※鶏群出荷と同時に、その鶏群について使用した廃棄可能な物品は廃棄することが望ましい。

（エ）研究成果の活用における留意点

サルモネラは、導入前・導入時・3週齢時、更には孵卵場の環境検体からの検出から、垂直感染や農場での持続的生存の可能性は大きく、上流（種鶏場、孵卵場）も含む衛生対策の必要性を周知する。

農場調査表を活用した衛生管理の実態把握及び総合的な衛生対策の検討事例を通じて、細部まで含む、妥当性の確認された農場衛生管理向上の必要性を周知する。

空舎後の鶏舎の洗浄消毒効果の微生物検査による妥当性確認と検証と見直しの必要性を周知する。

（オ）研究目標の達成に当たっての問題点

商業的農場でのデータ収集には、農場経営者の深い理解と協力が不可欠であることに加え、実際の作業者との意思疎通が必須であり、日常業務に加えてプラス業務となるケースが多いことから、効果が明確にならないケースにおいては次のステップに進むことは至難の業である。一方で飼養衛生管理基準に基づいた厳格な衛生管理の実施により、対照鶏舎においてもカンピロバクター不検出のサイクルがみられたり、サルモネラの陽性率が100%とならないケースが増えたりしていることから、日常的な衛生管理の実質的实施と確認作業が一定の効果をもたらすことが推察された。

また、肉用鶏農場では、堆積糞の処理方法1つとってもばらつきが大きく、日本中の肉用鶏農場に適用できる衛生管理対策を講じることは困難であると考えられた。また、対策も机上では考えられるが、農場での実行可能性や費用対効果を考慮すると、実行できることは限られている。

<引用文献>

特になし

4 研究成果の発表

別添のとおり。

5 研究期間中に生じた問題、今後の課題等

小課題1：農場内や鶏舎内への食中毒菌の侵入及び蔓延に寄与の高い汚染源の推定と寄与の低減に有効な衛生管理手法の検討（汚染源推定・衛生管理手法開発）

サルモネラは農場よりも上流での管理の必要性が認められた。

感染防止対策には飼養衛生管理基準の要求項目をすべて科学的の妥当性確認を行ったうえで、確実に実施し続け、その効果をモニタリングし、さらに検証する必要がある、一カ所でも実施にもれが生じると、菌が養鶏場に侵入し、一度侵入した場合、排除することは困難であると考えられた。

現行の飼養衛生管理基準を遵守している農場で、冬期でも食中毒菌は出荷鶏の盲腸内容物から検出されることから、食中毒菌を農場段階で排除するためには鳥インフルエンザ対策以上に厳しい農場における衛生管理が必要である。

小課題2：農場における食中毒菌の侵入及び蔓延の汚染源の確認と有効な衛生管理手法の検討（汚染源確認と衛生管理手法の一般化）

介入することにより、その介入に関連するパラメータは改善されるが、結果として出荷時の鶏盲腸内容物の食中毒菌の汚染率及び菌数低減にはつながらなかった。

図表一覧

- 表1 推定汚染源の追求のための献体採材時期及び採材箇所
- 表2 採取材料及び検体調整方法
- 表3 孵卵場での拭き取り箇所と、採材方法及び検体数
- 表4 廃卵検査の実施時期及び採材場所
- 表5 環境検体の経時的検査の採材時期及び採取箇所
- 表6 採取材料及び検体調整方法
- 表7 F養鶏 堆積糞搬出及び洗浄消毒徹底した鶏舎での採材時期、箇所及び対象鶏群
- 表8 E商事 堆積糞搬出及び洗浄消毒徹底した鶏舎での採材時期、箇所及び対象鶏群
- 表9 試験区及び対照区における洗浄消毒概要
- 表10 文献調査で明らかになったリスク因子と汚染防止となる要因
- 表11 カンピロバクターの農場での感染のリスク因子
- 表12 アンケート調査で聴取した感染関連因子と農場カンピロバクター汚染率の関係
- 表13 A,B農場で、採材時期ごと、各検査材料から分離された食中毒菌の結果
- 表14 孵卵場検査の検査場所と食中毒菌の検出状況
- 表15 S農場5号鶏舎由来*C. jejuni*の遺伝子解析結果
- 表16 M農場で分離された*C. jejuni*遺伝子解析及び薬剤耐性結果
- 表17 Y県とM県の農場で分離されたサルモネラの薬剤耐性と遺伝子型
- 表18 Y県のA、B農場での経時的食中毒菌検査結果
- 表19 分離されたカンピロバクターの遺伝子解析結果
- 表20 E商事のM農場の1鶏舎における経時的環境検査の結果
- 表21 介入鶏舎と対照鶏舎の出荷時の生鳥の盲腸内容物の食中毒菌検査結果
- 表22 F養鶏における空舎期間の洗浄・消毒を徹底しての介入結果
- 表23 同鶏舎の10月入雛の1及び4号鶏舎の経時的検査結果
- 表24 E商事における経時的環境検査の結果
- 表25 重要なリスク因子、実験農場で行う介入措置、評価のパラメータ及び実施サイクル
- 表26 カンピロバクター及びサルモネラの経時的分離検査を実施した採材場所及び時期
- 表27 実際の洗浄消毒の実施の流れ
- 表28 9サイクルの入雛日、概要及びProduction Score
- 表29 各サイクルの検査総数と食中毒菌ごとの陽性検体数の推移
- 表30 9サイクルにおける環境検査の検査材料ごとのまとめ
- 表31 1号舎と4号舎の採材場所別経時的環境検査 結果（サルモネラ）
- 表32 1号舎と4号舎の採材場所別経時的環境検査 結果（カンピロバクター）
- 表33 サルモネラの鶏舎内スワブ(6週齢以前) 飼養衛生管理基準の完全実施前(1～5サイクル)と実施後の比較 (6～9サイクル)
- 表34 カンピロバクター鶏舎内スワブ (6週齢以前) 飼養衛生管理基準の完全実施前(1～5サイクル)と実施後の比較 (6～9サイクル)
- 表35 サイクル毎、試験鶏舎と対照鶏舎の出荷時盲腸内容物サルモネラ検査結果
- 表36 出荷時盲腸内容物サルモネラ検査結果の1号4号別、飼養衛生管理基準の完全実施前(1～5サイクル)と実施後の比較 (6～9サイクル)
- 表37 出荷時盲腸内容物のサルモネラ陽性率が70%以上であった鶏群の数
- 表38 サイクル毎、鶏舎毎のカンピロバクターの10羽中の陽性率、菌種及び菌数

表39	試験鶏舎と対照鶏舎の全体、環境試料、死鳥及び盲腸内容物の両菌の検出率
表40	サービスルーム内サルモネラ拭き取り検査結果
表41	サルモネラ、サービスルームスワブ（6週齢以前）
表42	死鳥の消化管内容物検査結果
表43	死鳥のサルモネラとカンピロバクターの鶏舎別陽性率の比較
表44	死鳥の遺残卵黄の検査結果
表45	E商事の対照鶏舎数と試験鶏舎における洗浄及び消毒後の腸内細菌科菌群数
表46	試験区と対照区 新品チップ搬入前食中毒菌検出結果（上が1回目、下が②回目）
表47	農場共用物品の食中毒菌検査結果

図1	設定した空舎後の鶏舎の洗浄消毒プログラム
図2	微生物検査のサンプリング箇所
図3	F養鶏 S農場 カンピロバクターST型解析結果

<別紙一覧>

別紙1	文献一覧
別紙2	農場調査表
別紙3	洗浄消毒法