ホルマリン散布による消毒効果の検討

古田 賢治・高橋 次夫

家畜衛生試験場 鶏病支場 関市倉知 501-32

* 株式会社 岩手シーアイファーム

岩手県胆沢郡金ヶ崎町 029-45

養鶏施設におけるホルムアルデヒドによる消毒は、ホルマリンからガスを発生させて燻蒸するのが一般的な方法である。燻蒸による消毒は密閉可能なことが要求されるため、ウィンドウレス鶏舎は消毒可能であるが、開放式鶏舎については応用できない。

一方、養蚕業においては、蚕室にホルマリンを散布あるいは養蚕器具をホルマリンに浸漬して消毒することが古くから実施されていて、その効果が高いことが知られている^{1,2)}。

最近、一部の養鶏施設においてホルマリン散布によって開放式鶏舎を消毒しているが、その方法は経験的であり、消毒の効果も明らかにされていない。散布による消毒効果が明らかにされ、開放鶏舎等で利用できる技術が開発されれば、ホルマリンによる消毒はさらに広範囲で利用可能となる。そこで、その第一歩として人工及び自然汚染検体を用いて、ホルマリン散布の消毒効果について基礎的検討を行った。

材 料 と 方 法

検体：ハート・インヒュージョン液体培地で増殖した大腸菌又は黄色ブドウ球菌の菌液 0.05 ml を滅菌した耐水ベニヤ片 (1×5×0.3 cm) に滴下し、デシケーター内で約 2 時間乾燥したものを人工汚染検体とした。

一方、同じ滅菌したベニヤ片 50 枚を同質のベニヤ板 (60×90 cm) に太さ 0.3 mm の針金で固定したもの、及び同質で同じ大きさのベニヤ板を平飼鶏舎の床面に 1 週間放置し汚染させた。ベニヤ片とベニヤ板をたわしを用いて水道水で洗い、室温で約 2 時間乾燥させて自然汚染検体とした。

実験：実験 1 では人工及び自然汚染したベニヤ片を使用した。密閉可能な一辺 1 m の立方体の木箱の一面に沿って 6 個の検体 (ベニヤ片) を針金に止めて吊した。相対する面にノズルを固定し、検体に対してほぼ水平直角方向からホルマリンを霧状にして木箱内に散布した。人工

汚染検体は菌が付着している面をノズル方向に向けて吊した。自然汚染検体は表面全体に菌が付着しているのので、ホルマリンを散布している間 (約 56 秒間) に検体を約 4 秒に 1 回の割合で回転し、検体表面に一樣にホルマリンが散布されるようにした。ホルマリン散布終了時には霧状の粒子が木箱内部全域に浮遊しているのが観察された。

実験 2 では自然汚染したベニヤ板を 2.0 (間口) × 2.9 (奥行) × 2.5 (高さ) m の消毒室の壁面に吊し、技術者が実験 1 に用いたノズルを持って室内に入り、ホルマリンを床面、壁面及び天井に向けて散布した。

ホルマリン散布の効果と比較するため、同じ大きさの木箱 (実験 1) 又は消毒室によりホルマリン燻蒸による消毒も実施した。また、木箱又は消毒室内に放置した検体の菌数を測定して対照とした。

ホルマリンの散布と燻蒸：燻蒸により消毒する場合のホルマリン量は空間 1 m³ 当たり 40 ml が基準とされているので^{3,4)}、本実験でも同量のホルマリンを散布又は燻蒸に用いた。35% のホルムアルデヒドを含む試薬一級品のホルマリンを、噴射圧 2.0 kg/cm² に調整した Insecto-Jet sprayer® (Spraying Systems Co., 米国) により散布した。散布ホルマリンの粒子径は 10~20 μ 程度であった。燻蒸の場合には試薬 1 級の過マンガン酸カリ 20 g/m³ を用い、上記のホルマリンと反応させガスを発生した。

菌数の測定：ホルマリンの散布又は燻蒸後 3, 6 及び 24 時間に行った。実験 1 では各所定時間に木箱上面に設けた直径約 1 cm の穴から針金を引上げ、1 又は 2 個の検体を取り出した。検体を取り出す場合を除いて穴を密閉し、ホルマリンの流出を防いだ。取出した検体を 10 ml の滅菌生理食塩液に入れ振盪して菌を浮遊させた。浮遊液を 10 倍段階に希釈し、各段階の希釈液 1 ml を培地に混釈した。大腸菌で人工汚染した検体については DHL 寒天培地、黄色ブドウ球菌の場合はスタヒロコッカス培地 110、自然汚染検体についてはハート・インヒュージ

ヨシ寒天培地を使用した。24時間培養後、コロニーを数え、1検体当たりの菌数を計算した。なお、菌数が少ないと予測される場合は、検体を入れ振盪した菌浮遊液の全量を4面のシャーレーに分けて培養した。

実験2では、所定時間に技術者が消毒室内に入り採材した。すなわち、ベニヤ板の2×5cmの範囲の付着菌を生理食塩液で湿らせた滅菌脱脂綿で拭い取った。脱脂綿を10mlの滅菌生理食塩液に入れ、以下実験1と同様に操作して菌数を測定し、1cm²当たりの菌数を計算した。なお、測定した菌数を常用対数に変換し結果を解析した。

結 果

人工汚染したベニヤ片をホルマリンの散布又は燻蒸により消毒した結果を表1に示す。対照としたベニヤ1片当たりの付着菌数は、ホルマリン処理前で大腸菌 $10^{4.7}$ 、黄色ブドウ球菌 $10^{4.5}$ で、時間の経過と共に菌数は減少した。24時間後には測定した6検体の全部から少数の菌が検出された。これに対し、ホルマリンの散布又は燻蒸により消毒すると、処理3時間以後には大腸菌、黄色ブドウ球菌ともに検出されなかった。

自然汚染したベニヤ片を木箱内でホルマリン処理した

表 1. ホルマリン処理による人工汚染したベニヤ片の消毒効果 (実験1)
Table 1. Effect of disinfection by formalin treatments on reduction of bacteria contaminated artificially on a plywood piece (Exp. 1)

汚 染 菌 Contaminant	処 理 Treatment	処理後の経過時間 (時間)		Hours after treatment	
		0	3	6	24
大 腸 菌 <i>E. coli</i>	散 布 Spraying	—	0	0	0
	燻 蒸 Fumigation	—	0	0	0
	対 照 Control	$10^{4.7 \pm 0.9} (6)$	$10^{3.9 \pm 0.9} (6)$	$10^{2.4 \pm 0.8} (6)$	$10^{0.4 \pm 0.4} (6)$
黄色ブドウ球菌 <i>S. aureus</i>	散 布 Spraying	—	0	0	0
	燻 蒸 Fumigation	—	0	0	0
	対 照 Control	$10^{4.5 \pm 1.4} (6)$	$10^{4.2 \pm 1.0} (6)$	$10^{2.5 \pm 2.3} (6)$	$10^{1.9 \pm 1.7} (6)$

散布又は燻蒸に 40 ml/m³ のホルマリンを使用

Formalin used for spraying or fumigation was 40 ml/m³.

測定数各6

Detection of bacteria was conducted from 6 pieces.

菌が検出されたベニヤ1片当たりの菌数

No. of bacteria per piece in which bacteria were detected.

平均値±標準偏差

Mean ± standard deviation.

カッコ内の数字は菌が検出されたベニヤ片数

No. in parenthesis shows a number of pieces in which bacteria were detected.

表 2. ホルマリン処理による自然汚染したベニヤ片の消毒効果 (実験1)
Table 2. Effect of disinfection by formalin treatments on reduction of bacteria contaminated naturally on a plywood piece (Exp. 1)

処 理 Treatment	処理後の経過時間 (時間)		Hours after treatment	
	0	3	6	24
散 布 Spraying	—	0	0	0
燻 蒸 Fumigation	—	$10^{0.9 \pm 0.5} (8)$	$10^{0.9 \pm 0.7} (4)$	$10^{0.7 \pm 0.4} (3)$
対 照 Control	$10^{7.3 \pm 0.7} (12)$	$10^{7.5 \pm 0.5} (12)$	$10^{8.2 \pm 0.4} (12)$	$10^{8.0 \pm 0.7} (12)$

測定数各12

Detection of bacteria was conducted from 12 pieces.

表1の脚注参照

See footnote in Table 1.

表 3. ホルマリン処理による自然汚染したベニヤ板の消毒効果 (実験 2)
 Table 3. Effect of disinfection by formalin treatments on reduction of bacteria contaminated naturally on a plywood board (EXP. 2)

処 理 Treatment	処理後の経過時間 (時間)		Hours after treatment	
	0	3	6	24
散 布 Spraying	—	$10^{0.2 \pm 0.8} (6)$	$10^{0.3 \pm 1.1} (6)$	$10^{-0.6 \pm 0.2} (3)$
燻 蒸 Fumigation	—	$10^{1.0 \pm 0.3} (7)$	$10^{1.0 \pm 0.7} (7)$	$10^{0.2 \pm 1.0} (6)$
対 照 Control	$10^{6.5 \pm 0.4} (7)$	$10^{6.0 \pm 0.5} (7)$	$10^{6.0 \pm 0.4} (7)$	$10^{5.6 \pm 1.0} (7)$

測定数各 7

Detection of bacteria was conducted from 7 samples.

ベニヤ板 1 cm^2 当たりの菌数

No. of bacteria per cm^2

表 1 の脚注参照

See footnote in Table 1.

結果を表 2 に示す。処理前の検体 1 片当たりの付着菌数は平均 $10^{7.8}$ で、人工汚染したベニヤ片よりも菌数の付着が多かった。対照としたベニヤ片では時間が経過しても菌数の減少が認められなかったが、ホルマリンを散布 3 時間以後には菌が検出されなかった。燻蒸による消毒では 3 時間後に 12 検体のうち 8 検体から平均 $10^{0.9}$ の菌が検出され、24 時間後にも 3 検体から $10^{0.7}$ の菌が検出された。燻蒸後 3, 6, 24 時間に検出された菌数を比較すると、三者間に有意差は認められなかった。

自然汚染したベニヤ板を消毒室内でホルマリン処理した結果を表 3 に示す。対照としたベニヤ板 1 cm^2 当たりの菌数は処理前が平均 $10^{6.5}$ で、時間の経過と共に減少し処理後 6 及び 24 時間の菌数は処理前に比べ有意 ($p < 0.01$) に少なかった。ホルマリン散布 3 時間後には 7 検体のうち 6 検体から平均 $10^{0.2}$ の菌が、燻蒸の場合は 7 検体から $10^{1.0}$ の菌が検出されたが、両者間の菌数には有意差が認められなかった。同様に 6, 24 時間後の菌数について比較すると、散布と燻蒸による差はなかった。しかし、24 時間後に菌が検出された検体数は燻蒸した場合が散布した場合より多かった。また、散布後 3, 6 及び 24 時間後の菌数について比較すると有意差はなく、燻蒸後の菌数についても同様であった。

考 察

自然汚染検体に対するホルマリンの散布と燻蒸による消毒効果を比べると、ベニヤ片では燻蒸後に少数の菌が検出され、散布後には検出されず (表 2) 散布効果が高く、ベニヤ板の場合は差がなかった (表 3)。散布による効果がベニヤ片とベニヤ板で異っていたのは主として散布方法によると考えられる。すなわち、ベニヤ片を 1 m^3 の空間の木箱内に吊し、ベニヤ片を回転しながら、

固定した sprayer によりほぼ直角方向からホルマリンを散布したため、ベニヤ片の表面全体に様にホルマリンが散布された。これに対し、ベニヤ板は 14.5 m^3 の消毒室の壁面に吊し、技術者が sprayer を持って室内に入り、室内全体にホルマリンを散布したので、ベニヤ板表面に散布されたホルマリンはベニヤ片に比べて一様でなかったと思われる。このことは散布技術の良否が効果に影響を及ぼすことを示唆している。 40 ml/m^3 のホルマリンを一様に散布すれば高い消毒効果が得られると考えられる。

散布によって鶏舎を消毒する場合、ホルマリンの刺激が強く技術者が鶏舎に入ってホルマリンを散布するのは容易でない。実験 2 では、衣服等により体表の露出をできるだけ少なくし、防毒マスク (GM-121, 有機ガス吸収罐 CA-501 使用, 重松製作所) を着用して散布したが、刺激を完全に防ぐことは困難であった。機械力の利用等によって鶏舎外部から内部に向かって散布するような方法を開発し、技術者に対する安全性を確保する必要がある。また、本実験で用いた木箱と消毒室はともに密閉可能であったが、養鶏産業においてホルマリン散布による消毒を利用するためには、窓を閉めた鶏舎、カーテンで窓を覆った鶏舎など密閉程度の低い鶏舎における効果も検討する必要がある。

要 約

ホルマリン散布による消毒効果について基礎的な検討を行った。大腸菌又は黄色ブドウ球菌で汚染した人工汚染検体、平飼鶏舎床面に放置して汚した自然汚染検体を、 1 m^3 の木箱内又は 14.5 m^3 の消毒室内で、 40 ml/m^3 のホルマリンを霧状に散布、又は燻蒸により消毒した。

1 検体当たり大腸菌 $10^{4.5}$ 、黄色ブドウ球菌 $10^{4.7}$ が付着していたが、ホルマリン散布後 3 時間以内に菌が検出されなくなった。自然汚染検体には $10^{7.3}$ /検体又は $10^{6.5}/\text{cm}^2$ の菌が付着していたが、ホルマリン散布 24 時間後に極く少数の菌が検出されることがあった。ホルマリン散布の効果は燻蒸による効果と差はなく、高い消毒効果が得られた。

文 献

- 1) 農林省蚕糸園芸局 (1972) 蚕病防除指導の手引：日本蚕糸新聞社，東京。
- 2) 日本蚕糸学会 (1979) 総合蚕糸学：日本蚕糸新聞社，東京。
- 3) 農林省畜産局 (1976) ふ卵衛生対策指針：鶏病研報，12，22-32。
- 4) 鶏病研究会 (1982) 養鶏施設における消毒の実施方法に関する指針：鶏病研報，18，80-85。

Effect of Disinfection by Spraying of a Formalin on Reduction of Bacteria Contaminating on a plywood

Kenji FURUTA and Tsugio TAKAHASHI*

Poultry Disease Laboratory, National Institute of Animal Health.
Kurachi, Seki, Gifu 501-32

* Iwate CI Farm. Kanegasaki-machi, Iwate 029-45

Plywood pieces ($1 \times 5 \times 0.3 \text{ cm}$) were contaminated artificially with $10^{4.5}$ of *Escherichia coli* or $10^{4.7}$ of *Staphylococcus aureus* per piece. Also, the pieces and plywood boards ($60 \times 90 \times 0.3 \text{ cm}$) were placed in the floor of a chicken house during 1 week to contaminate naturally. A number of $10^{7.3}$ of bacteria contaminated per piece or of $10^{6.5}$ per 1 cm^2 in the board.

The pieces were placed in a wooden box (1 m^3 of capacity) and the boards in a room (14.5 m^3 capacity). A volume of 40 ml of formalin per m^3 of the capacity were sprayed like a mist. A high degree of disinfection was obtained as well as the fumigation using the same volume of formalin.

(Japan. Poult. Sci., 21, 8~11, 1984)