

鳥インフルエンザ発生予防対策における消毒剤の検討

上羽 智恵美 西井真理※

Examination of disinfectants for avian influenza prevention measures .

Chiemi Ueba Mari Nishii

要 約

高病原性鳥インフルエンザ（Highly Pathogenic Avian Influenza：以下 HPAI）の予防対策として実施されている待ち受け消毒には固形の資材として消石灰系が用いられてきたが、消石灰は降雨や日照、温湿度等の気象条件により消毒効果が低減することが知られている。そこで、今回、消石灰の野外環境下での消毒効果低減条件を調査するとともに、新たな資材としてヨウ素を活性炭に担持した資材（ヨード活性炭）の待ち受け消毒の適否についても調査した。

その結果、粒子の小さい資材は、風や降雨により物理的に消失しやすく、一定の大きさが必要であった。

消石灰は、平均温度 $6.1 \pm 5.3^{\circ}\text{C}$ （平均値 $\pm$ SD）、平均湿度 $36.7 \pm 22.4\%$ の環境下では 2 週間以内に消毒効果が確認されなくなったが、平均温度 $5.6 \pm 3.4^{\circ}\text{C}$ 、平均湿度 $89.1 \pm 14\%$ の環境下では 2 か月消毒効果が持続することが確認された。

ヨード活性炭は今回調査した 2 種類の環境下のいずれでも 1 か月間の消毒効果があり、環境による影響に差は確認されなかった。

今回の結果を踏まえ、今後省力的かつ持続効果の高い資材について検討していく。

キーワード 鳥インフルエンザ、消毒、ウイルス、消石灰

結 言

HPAI の予防対策（待ち受け消毒）としては、主に鶏舎周囲への消石灰散布が行われているが、消石灰は降雨等の気象条件により消毒効果が低減することが知られている¹⁾。このため、HPAI のリスクが高まる 11 月～4 月の期間、頻回の散布が必要となり、生産者や家畜保健衛生所からは省力的かつ持続効果の高い待ち受け消毒方法の確立に対する要望がある。

そこで、野外で持続効果の高い消毒剤を検討するため、消石灰と新たな資材としてヨウ素を活性炭に担持したヨード活性炭を用い、鳥インフルエンザウイルスに対するウイルス不活化効果（以下消毒効果）及び有機物存在下と野外環境下における消毒効果への影響を調査したので報告する。

材料及び方法

- 1 消毒効果に対する有機物の影響調査
消石灰およびヨード活性炭の鳥インフルエ

ンザウイルスに対する消毒効果と、有機物存在下での消毒効果を調査した。

- (1) 材料
粉状消石灰
ヨード活性炭①（径 0.25～0.5mm）
- (2) 試験区分
有機物なし：ウイルス液のみ
有機物存在下：ウイルス液に最終濃度 1% 量の滅菌鶏糞を添加
- (3) 試験方法
ウイルス液 0.5ml を 50ml 遠沈管内の資材 1 g に直接滴下し、 4°C 10 分静置し感作させたものを有機物なし区とした。
有機物存在下区は 1 g の滅菌鶏糞をリン酸緩衝生理食塩水（PBS）で希釈し、ウイルス液に最終濃度 1% になるよう混和。この混和液を 0.5ml、50ml 遠沈管内の資材 1 g に直接滴下し、 4°C 10 分静置して感作させた。10 分後、遠沈管に、レシチン・ポリソルベート 80 加・ソイビーン・カゼイン・ダイジェスト

※ 京都府農林水産部農村振興課

(SCDLP) 培地 4.5ml を入れ、ボルテックスで混和、1,000 rpm 1 分遠心分離を行った。

マイクロピペットで両試験区の上澄みを 0.1ml とり、PBS で 10 倍段階希釈した。

その希釈液を尿膜腔内接種法により発育鶏卵に 0.2ml ずつ接種、37℃で 48 時間培養。

48 時間後、赤血球凝集反応 (HA) による効果判定を行った。

50% Embryo Infectious dose (以下 EID₅₀) は Reed and Muench 法²⁾ で算出した。

対照のウイルス力価と比較し、log 3 以上の差があれば消毒効果ありと判定した。

また、供試ウイルスは鳥インフルエンザウイルス A/swan/Shimane/499/83 (H5N3) 株を用いた。本ウイルス株は 1983 年に島根県に飛来したコハクチョウの糞便から、大槻らが分離した低病原性鳥インフルエンザウイルスであり、ヒナで累代継代することにより、高病原性を獲得することを確認している³⁾。

2 消毒剤の形状の違いによる消毒効果調査

複数の異なる粒子の資材を一定面積に散布し、散布量と風雨による影響を調査した。

(1) 材料

粉状消石灰

粒状消石灰

ヨード活性炭① (径 0.25~0.5mm)

ヨード活性炭② (径 2.4~4.8mm)

(2) 試験方法

ア 室内調査

各資材を 10cm² に散布し、均一に散布できる量を決定した。

イ 野外調査

畜産センター鶏舎犬走りコンクリート上にアの結果から、散布量が少量でも均一に散布できた資材を選定し、経時的に環境の影響を目視確認した。

3 消毒剤に対する野外環境の影響調査

消石灰およびヨード活性炭を野外環境下に設置し、ウイルス不活化効果の持続性を調査、同時に有機物の影響も調査した。

(1) 材料

粒状消石灰

ヨード活性炭② (径 2.4~4.8mm)

(2) 試験区分

鶏舎南側：温湿度差が大きい環境

鶏舎北側：高湿度を維持する環境

(3) 試験期間

鶏舎南側：2020 年 2 月 3 日~3 月 2 日

鶏舎北側：2019 年 12 月 23 日~2020 年 2 月 17 日

(4) 判定方法

ウイルス不活化効果判定を 1 と同様の方法で実施

(5) 野外環境調査項目

温度：おんどとり (株式会社ティアンドディ) で 30 分ごとに自動測定

湿度：温度と同様に測定

降雨量：貯水型雨量計で 1 日 1 回測定

積雪量：物差しを地上に設置して 1 日 1 回測定

結果及び考察

1 消毒効果に対する有機物の影響調査

消石灰およびヨード活性炭について鳥インフルエンザウイルスに対する消毒効果を確認、有機物存在下でも消毒効果は同様に認められた (表 1)。

表 1 鳥インフルエンザウイルスに対する各資材の有機物存在下でのウイルス不活化効果

資 材	ウイルス力価 (log ₁₀ EID ₅₀ /0.2 ml)	
	有機物なし	有機物存在下
粉状消石灰	≤0.5*	≤0.5
ヨード活性炭①	≤0.5	≤0.5
対照	7.5	7.5

*：残存ウイルス力価(log₁₀EID₅₀/0.2 ml)

2 消毒剤の形状の違いによる散布及び消毒効果調査

(1) 室内調査

粉末消石灰、粒状消石灰、ヨード活性炭①、ヨード活性炭②を 10cm² に散布したところ、粒子の小さい粉末消石灰およびヨード活性炭①は散布量が少量でも均一な散布が可能であった。

(2) 野外調査

粉末消石灰およびヨード活性炭①を野外環境下で散布したところ、風や降雨により散布した資材が飛散・流出し、10 日目以降の調査を中止した。

このことから、野外で使用するには一定の粒子の大きさと重量が必要であることが分かった。

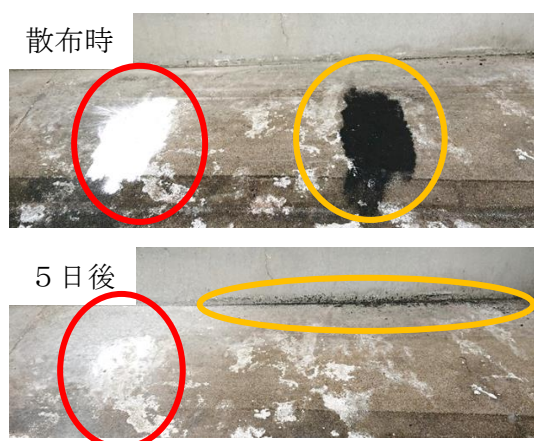


図1 粒子の細かい資材の散布前と散布後の様子

3 消毒剤に対する野外環境の影響調査

鶏舎南側は、2月3日～3月2日までの1か月間、平均温度 $5.7 \pm 4.3^\circ\text{C}$ 、平均湿度 $29.8 \pm 19.2\%$ であった。

鶏舎北側は、12月23日～2月17日までの2か月間、平均温度 $5.6 \pm 3.4^\circ\text{C}$ 、平均湿度 $89.1 \pm 14\%$ であった。

また、鶏舎南側は2月3日～17日までの2週間、平均湿度 $6.1 \pm 5.3^\circ\text{C}$ 、平均湿度 $36.7 \pm 22.4\%$ であった。同期間の鶏舎北側は、平均温度 $4.6 \pm 4.7^\circ\text{C}$ 、平均湿度 $89.2 \pm 14.8\%$ であった(図2)。

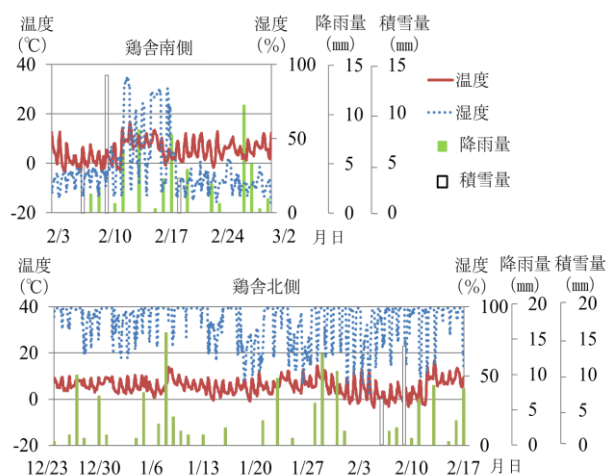


図2 設置した野外環境の温度、湿度および降雨・積雪量

鶏舎南側では、消石灰は散布2週間後に消毒効果を認めなかったが、ヨード活性炭は散布4週間後も消毒効果が確認できた。

鶏舎北側では、消石灰、ヨード活性炭いずれも散布4週間後の消毒効果を確認、消石灰は散布8週間後も効果を確認した。

消石灰、ヨード活性炭ともに、有機物存在下で消毒効果は低下した(表2)。

表2 鳥インフルエンザウイルスに対する野外環境下での各資材のウイルス不活化効果

環境	資材	設置期間	ウイルス力価 ($\log_{10}\text{EID}_{50}/0.2\text{ ml}$)	
			有機物なし	有機物存在下
鶏舎南側	粒状	2週	$\geq 7.5^*$	N T
	消石灰	4週	7.0	≥ 7.5
	ヨード	2週	≤ 0.5	3.5
	活性炭②	4週	≤ 0.5	4.25
鶏舎北側	粒状	2週	≤ 0.5	1.52
	消石灰	4週	≤ 0.5	3.5
		8週	≤ 0.5	N T
	ヨード	4週	≤ 0.5	1.75
	活性炭②	8週	4.5	N T
対照			7.5	7.5

*: 残存ウイルス力価($\log_{10}\text{EID}_{50}/0.2\text{ ml}$)

NT: 試験未実施

粒子の小さい資材は、風や降雨により物理的に消失しやすく、野外に散布するには一定の大きさと重量が必要であった。

消石灰は一日の温湿度差がある環境下では散布後2週間以内に消毒効果が確認されなくなった。しかし高湿度を維持する環境下では散布後2か月間消毒効果が持続することを確認した。

ヨード活性炭は今回調査した一日の温湿度差がある環境下と高湿度を維持する環境下のいずれでも1か月間消毒効果があり、環境による消毒効果に差は確認されなかった。

今回の結果を踏まえ、今後、省力的かつ持続効果の高い予防対策について検討していく。

引用及び参考文献

- 1) 大久保,喜美, 東條秀徳, 消石灰による「待ち受け消毒」効果の検証, 鶏病研究会報 45(2), 84-90, 2009
- 2) Reed L. J, Muench H.A, simple method of estimating fifty per cent endpoints. The American Journal of Hygiene. 27:493-497. 1938.
- 3) T Ito, H Goto et al., Generation of a Highly Pathogenic Avian Influenza A Virus from an Avirulent Field Isolate by Passaging in Chickens. Journal of Virology, May; 75(9): 4439-4443. 2001.
- 4) 安富政治, 藤井清和, 農場消毒における粒状消石灰の経時的変化と特徴, 京都府農林水産技術センター畜産センター試験研究報告第14号, 2019

