

病原体侵入防止資材ヨドックス粒®の開発に伴う効果検証の実施

井上巖夫*、上羽智恵美、藪田淑予**、高桑弘樹***

Implementation of effectiveness verification associated with the development of the pathogen intrusion prevention material Yodox Granules®

Iwao Inoue Chiemi Ueba Toshiyo Yabuta Hiroki Takakuwa

要 約

ヨドックス粒®（以下I粒）は当センター、京都産業大学、株式会社エーアンドエーマテリアル、の産官学連携で共同開発したヨウ素化合物日向土に担持させた病原体侵入防止資材である¹⁾。今回、当センターではI粒の病原体に対する防除効果を調べるために室内及び野外での検証を実施した。室内試験による効果検証では、I粒の大腸菌不活化効果は8週目でも有効であり、鳥インフルエンザ（以下AI）ウイルスを用いたウイルス不活化効果は、消石灰の2週間に対し、I粒は8週間持続した。鶏舎周囲で実施した野外試験では、I粒は、土壌の状況により効果に変化することが分かった。既に散布された消石灰等のアルカリ性物質により、効果が減弱することが分かり、効果改善目的で消石灰散布土壌にクエン酸製剤を散布したところ、I粒のAIウイルス不活化効果は8週まで持続した。また、8週ごとに反復散布を実施することで24週までウイルス不活化効果があることを確認した。

実際の動物展示施設（A施設、B施設）2か所でI粒の散布実証試験を行った。その結果、大腸菌不活化効果は両施設とも8週間まで持続した。一方、AIウイルス不活化効果については、A施設では16週目まで効果が認められたが、B施設では8週目までしか効果は認められなかった。A施設は冬期間の散布、B施設は夏期間の散布と散布時期の違いがあり、降雨量等によるヨウ素の流出等が考えられた。

今後は、散布方法等に改良を加えることで、I粒の散布場所や散布時期を拡大し、地域としての家畜防疫体制を強化する資材としての活用が望まれる。

キーワード：ヨドックス粒®、家畜伝染性疾患の予防対策

緒 言

高病原性鳥インフルエンザ（以下HPAI）の防疫措置には主に消石灰が使用されており²⁾、野生動物を介した農場内への侵入防止対策（待ち受け消毒）としても鶏舎周囲への消石灰散布が行われている。しかし、消石灰は降雨や大気暴露等の気象条件により消毒効果が低減する。特に降雨とその後の乾燥により、消毒効果は最短で1週間に短縮され³⁾、待ち受け消毒として用いる場合は短期間で追加の散布が必要となる。消毒効果を維持するためのこまめな反復散布は労力面で農家の大きな負担となり、防疫対策を徹底する上で大きな課題となっている。飼養者及び畜産関係者からは、農場及び地域全体の家畜伝染性疾患の防疫

レベルを上げるため、省力的で持続効果の高い消毒方法の開発が望まれている。

また、動物園等の動物展示施設においても、地域における家畜防疫体制強化の観点から待ち受け消毒等の対応は必要であるが、景観への配慮や、来場者の足裏が汚れる等の理由から消石灰の散布が困難であることが多い。今回これらの施設の景観に馴染みやすい外見のI粒の散布についても検討した。

なお、本研究は、当センター、京都産業大学感染症分子研究センター及び株式会社エーアンドエーマテリアルなどの産官学連携により実施した。

材料及び方法

* 農林水産技術センター農林センター環境部
** 京都産業大学感染症分子研究センター
*** 京都産業大学生命科学部先端生命科学科

1. I 粒の病原体防除効果検証 (室内試験)

2022 年 6 月から 9 月まで恒温器内で冬期間の環境を再現し、蒸留水を 4°C で散布、13°C で乾燥させるサイクルを週 2 回実施しながら、毎週 1 回 I 粒を回収、検査に供試した。

試験区はシャーレ内に I 粒を散布した区 (I 区)、同じく消石灰を散布した区 (S 区) を設定した。対照区は無処理とした。

2. I 粒の病原体防除効果検証 (鶏舎周囲散布による野外試験)

(1) 鶏舎周囲散布による野外試験

(I 粒の病原体の防除効果検証)

当センター鶏舎周囲で野外の多様な環境下での大腸菌及び AI ウイルスに対する不活化効果持続性を確認した。

2022 年 6 月から当センターの消石灰散布済みの鶏舎周囲 12 箇所に I 粒を散布し、2 週ごとに回収して検査に供した。散布試験の実施箇所は、鶏舎の南北の土壌上及びコンクリート (犬走り) 上、消石灰を散布した鶏舎の屋根下、日向土を散布処理したアスファルト上、ヨード液を散布処理したアスファルト上の 6 箇所とした。それぞれ I 粒の散布量を 1L/m² 及び 1.5L/m² を設定し、試験区は計 12 区とした (表 3)。ヨドックス液体は散布表面の除菌効果を期待し散布した。

また、土壌上に散布した I 粒について、大腸菌不活化効果を認められなかったため、土壌 pH を測定した。

(2) 鶏舎周囲散布による野外試験

(酸度矯正による I 粒の病原体への防除効果改善試験)

次に、I 粒は弱酸性であることから、アルカリ性である消石灰により I 粒の病原体への不活化効果が低下すると考え、pH を矯正し、土壌を中性にすることで、AI ウイルス不活化効果持続性が延長可能か検証した。3 種類の市販されている資材、クエン酸、硫酸アンモニウム (以下硫安) 及び炭酸カルシウム (以下炭 Ca) を用いた。クエン酸、硫安は即効的な酸度矯正を目的にまた、炭 Ca は過度なアルカリ性を穏やかに緩和する遅行的な効果を狙い使用した。

2022 年 10 月から 2023 年 4 月までの 24 週間にクエン酸、硫安及び炭 Ca を用い 3 方法の酸度矯正法を実施した。1 つ目は、コンクリート上に散布済みの消石灰に対し 5% のクエン酸液を 1 m² あたり 0.5 L 散布する方

法で、2 つ目は鶏舎周囲の土壌に 2% の硫安を 1 m² あたり 0.5L 散布する方法、3 つ目は炭酸 Ca (固形) を 1 m² あたり 0.75 L 散布する方法を実施した。それぞれに I 粒を 1L/m² 散布し、2 週ごとに I 粒を回収し、大腸菌及び AI ウイルス不活化効果を確認した。I 粒は室内試験で有効と確認した 8 週毎に反復散布を実施した。

また、消石灰の散布実績が無い鶏舎内のコンクリートへの散布も実施した。

3 I 粒の病原体への防除効果検証 (動物展示施設での実証試験)

A 施設、B 施設、2 か所の動物展示施設の協力のもと I 粒の散布実証試験を行った。施設内の鳥類展示舎の周囲に I 粒を散布し、A 施設では冬季 16 週間、B 施設では夏季 8 週間、散布間隔は 8 週で実施し、大腸菌及び AI ウイルスに対する不活化効果を調査した。

1、2、3 の試験に共通して、回収した I 粒を、土やホコリ等の有機物を手作業で除去した後、大腸菌の不活化効果については、JIS 法⁴⁾に従って実施し、効果の判定は、大腸菌数が無処理の対照区と比較して 10 の 3 乗以上減少した場合に有効とした。AI ウイルス不活化効果の判定は、発育鶏卵尿膜腔内接種法により EID₅₀ を算出し、AI ウイルスの接種のみを実施した対照区と比較して 4 以上減少した場合に有効とした

結果及び考察

1 I 粒の病原体防除効果検証 (室内試験)

恒温器内の I 粒の大腸菌及び AI ウイルス不活化効果持続性の結果を表 1、表 2 に示した。I 粒及び消石灰の大腸菌不活化効果は、8 週目でも対照区と比較して 10 の 3 乗以上減少しており、有効であることを確認した。なお、有効であると判定した場合には表に網掛けを施した。また、AI ウイルスへの不活化効果は 8 週間でも無処理の対照区と比較して 10 の 4 乗以上減少していた。恒温器内で蒸留水を 4°C で散布、13°C で乾燥を週 2 回繰り返し冬期間の環境を再現した条件では、8 週間有効であることを確認した。消石灰は同条件下で 2 週間までしか有効性を示さなかったことから、I 粒は消石灰に比べ不活化効果の持続性に優れることが確認された。

表1 室内試験での8週目でI粒及び消石灰の大腸菌への不活化効果

試験区	(CFU/mL)	
	経過時間	
	4週目	8週目
I粒区	0	0
消石灰区	0	0
対照	2×10^7	2×10^7

* 対照と比較して10の3乗以上減少した場合に有効

表2 室内試験での8週目でI粒及び消石灰のAIウイルスへの不活化効果

試験区	(log ₁₀ EID ₅₀ /0.2mL)					
	経過時間					
	0日	1週目	2週目	4週目	6週目	8週目
I粒区	≦0.5	≦0.5	0.75	≦0.5	1.87	3.75
消石灰区	0.67	-	0.75	6.0	6.5	5.5
対照	6.67	6.67	6.67	7.5	7.38	8.25

* 対照と比較して4以上減少した場合に有効

表3 鶏舎周囲に散布したI粒の8週目における大腸菌不活化効果

方角	散布量	散布場所	(CFU/mL)
			菌量
鶏舎北	1L/m ²	土壌上	2×10^7
		コンクリート上	0
	1.5L/m ²	土壌上	2×10^7
		コンクリート上	0
鶏舎南	1L/m ²	土壌上	2×10^7
		コンクリート上	2×10^5
	1.5L/m ²	土壌上	2×10^7
		コンクリート上	0
鶏舎東	1L/m ²	屋根下のコンクリート上	0
		1.5L/m ²	屋根下のコンクリート上
鶏舎西	1L/m ²	日向土散布後のアスファルト上	7×10^6
		ヨドックス液散布後のアスファルト上	1×10^2
		対照	2×10^7

* 対照と比較して10の3乗以上減少した場合に有効

2. I粒の病原体防除効果検証 (鶏舎周囲散布による野外試験)

(1) 鶏舎周囲散布による野外試験 (I粒の病原体への防除効果検証)

当センターの消石灰散布済み鶏舎周囲における8週目の大腸菌不活化効果を表3に示した。

土壌に散布したI粒は大腸菌不活化効果を認めなかったが、コンクリートへの散布では概ね不活化効果を認め、1L散布区と1.5L散布区で大きな不活化効果の差は無く、1m²あたりの散布量は1Lでも効果を示すことが確認された。鶏舎南の1L/m²コンクリート上では効果判定基準には達していないものの、対照区と比較して菌数の低下が認められ、不活化効果が示唆された。

(2) 鶏舎周囲散布による野外試験 (酸度矯正によるI粒の病原体への防除効果改善試験)

AIウイルス不活化効果を表4に示した。コンクリート上に散布したI粒は4週目まで不活化効果を認めたが、その後経時的にAIウイルス不活化効果の低下が認められた。

表4 鶏舎の犬走りに散布したI粒のAIウイルス不活化効果

散布場所	(log ₁₀ EID ₅₀ /0.2mL)			備考
	経過時間			
	4週目	6週目	8週目	
コンクリート(犬走り)上	2.75	4.5	7.25	
コンクリート(屋根下)上	≧6.5	6.75	6.75	消石灰散布済み
対照		7.25		

* 対照と比較して4以上減少した場合に有効

鶏舎周囲の土壌に散布したI粒の不活化効果を確認できなかった原因を検討するため、土壌のpHを測定した。表5に示すとおり、pHが8から11の範囲でアルカリ性を示した(表5)。

表5 鶏舎周囲の土壌 pH

方角	散布区	散布地	pH
鶏舎北	1L/m ²	土壌のみ	8.3
	1.5L/m ²		10.9
鶏舎南	1L/m ²		9.0
	1.5L/m ²		9.2
鶏舎西	1L/m ²	日向土のみ	9.3

これは冬季には HPAI 対策のため、鶏舎周囲に消石灰散布を実施しており、そのアルカリ性により弱酸性の I 粒の不活化効果が低下した可能性が考えられた。散布対象である土壌の pH を酸度矯正し、土壌を中性にすることで AI ウイルス不活化効果持続性が延長できると考え、次の土壌酸度矯正試験を実施した。酸度矯正には、クエン酸、硫安及び炭 Ca を用いた。大腸菌不活化効果は表 6 に示した。コンクリート上の消石灰にクエン酸を散布し、酸度矯正した後に I 粒を散布した場合、I 粒は 24 週まで大腸菌不活化効果が認められた。他の 2 資材についても I 粒を反復散布する事で、大腸菌不活化効果が認められた。

表 6 散布場所に対しクエン酸等を散布した場合の大腸菌不活化効果

散布場所の種類	処理の方法	大腸菌量 (CFU/mL)	
		8週目	24週目
コンクリート上の消石灰	クエン酸散布	0	0
鶏舎周囲の土壌	硫安散布	1×10 ⁸	1×10 ³
鶏舎周囲の土壌	炭Ca散布	1×10 ⁸	1×10 ⁵
鶏舎内のコンクリート	無処理	0	0
対照		1×10 ⁸	1×10 ⁸

* 対照と比較して10の3乗以上減少した場合に有効

表7 散布場所に対しクエン酸等を散布した場合のAIウイルス不活化効果

散布場所の種類	処理の方法	ウイルス力価 (log ₁₀ EID ₅₀ /0.2mL)	
		8週目	24週目
コンクリート上の消石灰	クエン酸散布	2.75	≦2.5
鶏舎周囲の土壌	硫安散布	6.25	NT
鶏舎周囲の土壌	炭Ca散布	6.5	NT
鶏舎内のコンクリート	無処理	4.5	3.5
対照		7.25	7.25

* 対照と比較して 4 以上減少した場合に有効

* 8週目、16週目の検体回収後、I粒散布

* NT : Not Tested : 検査未実施

また、ウイルス不活化効果について、表 7 に示した。クエン酸散布を実施することで 8 週毎に I 粒を反復散布することにより、

8 週目、24 週目でも高いウイルス不活化効果を認められた。しかし、硫安と炭 Ca の散布では、ウイルス不活化効果は認められなかった。表 6、表 7 に示すとおり消石灰の散布実績がなく、消石灰のアルカリ性の影響がない鶏舎内のコンクリート床へも I 粒を散布し同様に 2 週毎に検体を回収し病原体不活化効果を確認した。その結果、大腸菌の不活化効果は 24 週目まで有効であることが確認された。鶏舎内のコンクリートに散布した I 粒の AI ウイルスに対する不活化効果は認められなかったが、ウイルス力価が低下する傾向は認められたことから、クエン酸を散布による酸度矯正処理を実施後に I 粒を散布することや、I 粒自体の散布量の増量や頻度を上げることにより、ウイルス不活化効果を持続できる可能性があると考えられる。

3 I 粒の病原体への防除効果検証

(動物展示施設での実証試験)

A 施設では、冬期間 16 週間、B 施設では夏季 8 週間、鳥類展示施設前に散布間隔 8 週間で I 粒を散布し、病原体不活化効果の確認を実施した。

I 粒の大腸菌不活化効果は A 施設では 16 週目まで有効、B 施設でも 8 週目まで有効であることが確認された (表 8)。AI ウイルス不活化効果は、A 施設では効果あり、B 施設では効果がやや低い結果となった (表 9)。この差は季節間、冬季と夏季の降雨量の差による I 粒中の有効成分の消失の差と考えるが、使用条件などの実証調査が必要である。

表 8 動物展示施設での 8 週目及び 16 週目での大腸菌不活化効果

場所	鳥舎名	大腸菌数 (CFU/mL)		備考
		8週後	16週後	
A施設	7連ゲージ	NT	0	冬期16週散布
A施設	クジャク	NT	0	冬期16週散布
B施設	クジャクエミュー	60	NT	夏期8週散布
B施設	ホロホロチョウ	0	NT	夏期8週散布
対照		1×10 ⁸	1×10 ⁸	

* 対照と比較して10の3乗以上減少した場合に有効

* 8週目の検体回収後、I粒散布

* NT : Not Tested : 検査未実施

表9 動物展示施設での8週目及び16週目でのAIウイルス不活化効果
(log₁₀EID₅₀/0.2mL)

場所	鳥舎名	ウイルス力価		備考
		8週後	16週後	
A施設	7連ゲージ	NT	≦2.5	冬期16週散布
A施設	クジャク	NT	≦2.5	冬期16週散布
B施設	クジャクエミュー	4.75	NT	夏期8週散布
B施設	ホロホロチョウ	5.5	NT	夏期8週散布
対照		7.25	7.25	

* 対照と比較して4以上減少した場合に有効

* 8週目の検体回収後、I粒散布

* NT: Not Tested: 検査未実施

以上の結果より、今後のI粒の使用の方向性を検討した。現行の家畜伝染病予防法（家畜伝染病に基づく焼却、埋却及び消毒の方法に関する留意事項）⁵⁾では、ヨード系消毒薬については、「動物用医薬品を使用する」記述があり、現状では、完全にI粒を消石灰に置き換えて使用することはできない。しかし、自衛防疫の観点から鶏舎内の通路等人や家畜に接する可能性がある箇所においては消石灰と比較して安全性が高いI粒を散布することや、動物展示施設などの消石灰散布が困難な施設や場所において、I粒の活用によるバイオセキュリティの向上が期待される。

HPAI等の家畜伝染病対策における病原体の農場への侵入防止対策には、複数の侵入防止対策を併用して実施することで、病原体侵入リスクの低減が図られると考えられる。今回共同開発したI粒もその侵入防止対策の一つとなる資材である。さらに使いやすい資材となることを目指して、野外散布では病原体不活化効果の持続性について調査中である。

謝辞

本研究を進めるにあたり、開発、改良及び大腸菌の検査をしていただきました株式会社ヨードラボと株式会社エーアンドエーマテリアルの皆様、開発にご協力いただきました株式会社化研前会長の蓼沼克嘉氏、ご助言いただきました鳥取大学 大槻公一名誉教授に深謝いたします。

引用及び参考文献

- 1) 上羽智恵美, 藪田淑予, 高桑弘樹. 鳥インフルエンザ発生予防対策における待ち受け消毒資材の検討. 京都府農林技術センター畜産センター19号 (2024)

- 2) 高病原性鳥インフルエンザ及び低病原性鳥インフルエンザに関する特定家畜伝染病防疫指針令和2年7月1日 農林水産大臣公表
- 3) 鈴木勇摩, 金子和華子. 石灰資材の消毒効果持続期間の検証. 鶏病研報 56巻3号, p117-121. 2020
- 4) JIS法 L 1902 繊維製品の抗菌性試験方法及び抗菌効果
- 5) 家畜伝染病予防法に基づく焼却、埋却及び消毒の方法に関する留意事項（家畜伝染病予防施行規則第30条及び第33条の3関係）（平成