

消石灰のウイルス性下痢症に対する消毒効果の検討

石倉洋司、狩野綾子、安部茂樹

要 約

生産者を対象とした消毒に関するアンケート調査を実施したところ消毒の普及には効果の実証が必要と考えられたため、筆者らは既報にて鳥インフルエンザウイルスに対する消石灰の消毒効果の検討を行った。そこで今回は、養牛農家において経済的損失を与える病原体として、A群ロタウイルス、コロナウイルスおよび牛ウイルス性下痢ウイルスを取り上げ、これら下痢症起因ウイルスに消石灰乳剤を20分間感作させた場合の消毒効果を確認できた。消石灰には牛の蹄病予防効果（薬浴）、サルモネラ、ヨーネ菌といった生産現場で問題となっている病原体に対する高い殺菌効果が報告されており、今回の試験結果を加えることで、消石灰は細菌やウイルスを効果的に死滅させることができることが明らかになった。

島根県家畜病性鑑定室報 第13号, 19~22, (2009)

1. はじめに

生産現場における消毒薬の適切な使用には、農場形態の差による消毒効果への影響、主要疾病に対する効果的な消毒薬の選定及び使用方法等に課題がある。平成19年度、各畜種毎の消毒方法の問題点を把握する目的で、生産者を対象とした消毒に関するアンケート調査を実施した。当アンケートから、養牛農家は消毒の必要性を認識しているが実施率が低く、有効な消毒方法がわからないか、効果に疑問を持っている傾向が示唆され、消毒の普及には効果の実証が必要と考えられた。そこで今回、養牛農家において外部から持ち込まれ、経済的損失を与える病原体として、子牛下痢症の主な原因であるA群ロタウイルス(BoGAR)、育成牛や成牛の下痢にも関与するコロナウイルス(BCV)および牛ウイルス性下痢ウイルス(BVDV)を取り上げ、これらウイルスに対する消石灰の消毒効果の検討を行い、牛舎消毒あるいは踏み込み消毒槽の有効性について検証したので概要を報告する。

2. アンケートについて

各畜種毎の現在の消毒方法の問題点の把握を目的として、生産者を対象とした消毒に関するアンケート調査を実施し、消毒に対するイメージ、消毒槽設置・定期的な畜舎消毒の実施状況、消毒に関する疑問・問題点を整理した。結果として、県内191戸の畜産農家を抽出し、消毒に関するアンケートを送付したところ100戸から回答があった(表1)。

消毒に対するイメージとしては「安全な畜産物の生産」ならびに「家畜の疾病予防」に必要であると回答しているが、畜舎への消毒槽設置は、養鶏、養豚農家では89%であったのに対し、養牛農家では33%であり、養牛農家は消毒に関する意識はあるが、実践していない状況が判明した。また、回答の中で、消毒に対し消極的な農家は有効な消毒方法がわからないか、効果に疑問を持っている傾向があり、消毒の普及には効果の実証が必要と考えられた。

表1.アンケート結果(抜粋)

質問	選択肢(抜粋)	酪農	繁殖	肥育	養豚	養鶏
	回答戸数	28	32	12	8	20
	回答率	45.9%	42.7%	100.0%	72.7%	62.5%
消毒のイメージは？	①安全な畜産物生産のため必要	50.0%	37.5%	25.0%	50.0%	70.0%
	②家畜の疾病予防のため必要	78.6%	71.9%	75.0%	75.0%	80.0%
	③効果が疑問	28.6%	21.9%	16.7%	25.0%	5.0%
	④消毒薬の交換等が面倒	17.9%	6.3%	8.3%	12.5%	20.0%
	⑤消毒方法が分からない	25.0%	12.5%	33.3%	0.0%	5.0%
踏み込み消毒槽は？	設置している	64.3%	15.6%	33.3%	87.5%	90.0%
畜舎消毒の頻度は？	①ほとんど実施しない	14.3%	6.3%	8.3%	0.0%	10.0%
	②関係団体による消毒のみ	50.0%	62.5%	50.0%	0.0%	0.0%
	③不定期に実施(年1回以上)	32.1%	21.9%	33.3%	25.0%	45.0%
	④定期的に実施(年1回以上)	0.0%	9.4%	8.3%	50.0%	30.0%
消毒に関する疑問等は？	①適切な消毒薬が分からない	53.6%	31.3%	50.0%	12.5%	10.0%
	②消毒の適正頻度が分からない	39.3%	37.5%	33.3%	12.5%	15.0%
	③消毒方法が適切かどうか不安	50.0%	25.0%	58.3%	25.0%	45.0%
	④消毒薬の価格が高い	10.7%	6.3%	16.7%	37.5%	10.0%
	⑤畜産物への残留が不安	25.0%	6.3%	0.0%	12.5%	10.0%
消毒に関して欲しい情報や要望等は？	①有効な消毒薬(製品情報)	53.6%	31.3%	41.7%	25.0%	30.0%
	②有効な消毒方法(技術情報)	50.0%	46.9%	58.3%	25.0%	25.0%
	③消毒薬の効果持続期間	42.9%	28.1%	50.0%	37.5%	60.0%
	④消毒効果の判定を希望	25.0%	15.6%	25.0%	37.5%	15.0%

3. 消石灰について

消石灰は有機物の存在下でも使用可能であることから畜産現場で頻繁に使われる消毒資材であり、その特性としては強力なアルカリ化作用や脱水作用、脱脂作用が挙げられる^{2,13)}。また、消石灰はポジティブリスト規制対象外であり、一般の消毒薬よりも安価で入手しやすく、使用方法も手軽で簡単であるため、生産現場へ普及・啓発がしやすい資材と考えられる。

平成19年度、緊急度の高い鳥インフルエンザウイルス(AIV)に対する消石灰の消毒効果の検討を行ったところ、高pHおよび固形成分による吸着効果によって消毒効果を示すことを明らかにし、本消毒法の有効性を実証できた³⁾。

4. 消石灰の消毒効果の検討

4-1. 対象とする病原体の選定

生産現場で問題視される病原体に対する消毒効果の検討を行うにあたり、平成18、19年度の家畜共済傷病事故件数を調べたところ、消化器病の占める割合が最も高く、それぞれ33.5%(58,208件中19,514件)、31.8%(58,401件中18,574件)であった。さらに子牛の事故件数に絞った場合、下痢症は全体の58.7%(11,349件中6,664件)、54.0%(10,752件中5,811件)と過半数を超えており、本症に対する消毒の効果の実証が必要と考えられた。よって、今回、ウイルス性下痢症の主な原因であるBoGAR、BCVおよびBVDVに対する消石灰の消毒効果を検討した。

4-2. 材料と方法(図1)

供試ウイルス液として BoGAR は shimane 株、BCV は 66 株ならびに BVDV は KZ-91 株の培養上清、培養細胞として BoGAR は MA104 細胞、BCV は HRT18 細胞、BVDV は MDBK-SY 細胞を用いた。消石灰は市販の肥料用消石灰 (65%) を用いた。

蒸留水を用いて 1%ならびに 10%(w/v) 消石灰乳剤を作製し、3000rpm で 10 分間遠心分離後の上清 1.8ml に対してウイルス液 0.2ml を加え、室温で 20 分間感作させた。この上清感作ウイルス液を $0.45 \mu\text{m}$ 濾過処理したものを培養細胞接種材料(ウイルス液としては 10^{-1} 希釈)として 10 倍階段希釈系列を作成し、96 穴マイクロタイタープレートにシートさせた培養細胞に感作させ、 $5\% \text{CO}_2 \cdot 37^\circ\text{C}$ 7 日間培養し、細胞変性効果(CPE)の確認により感染価(50%組織培養感染量 TCID_{50})を算出した。対照として、蒸留水 1.8ml に対してウイルス液 0.2ml を加えたものについても同様に TCID_{50} 値を算出し、感染価の減弱を消毒効果の指標とした。また、対照消毒薬として市販の逆性石けん([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(C9-C15)トルエン(50%溶液))の 500 倍希釈(用法用量の最高濃度)および 100 倍希釈(用法外の高濃度)の水溶液についても同様に実施した。

4-3. 成績

BoGAR については対照区の感染価 [$\log(\text{TCID}_{50}/0.05\text{mL})$ 、以下同様]が 4.9 であったのに対し、消石灰区は 1%, 10% いずれも 1.5 以下(消石灰の細胞障害性により 10 倍希釈列は判定不可)であった。BCV、BVDV についても同様で、対照区がそれぞれ 5.2、4.25 であったのに対し、消石灰区では 1.5 以下であった。また、対照消毒薬としての逆性石けんは 500 倍、100 倍希釈液ともに 2.5 以下(消毒薬の細胞障害性により 10² 倍以下の希釈列は判定不可)であり、消石灰乳剤による 3 つのウイルスに対する消毒効果は市販消毒薬と同等以上であることが明らかとなった。なお、消石灰乳剤上清の pH はいずれも 12.9 であった。

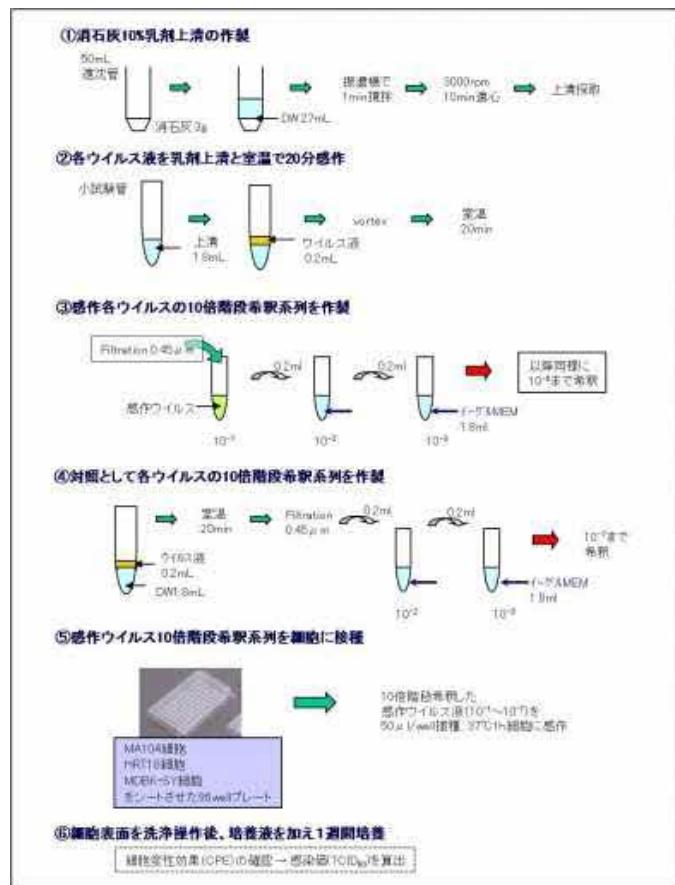


図1. 消石灰乳剤上清による消毒効果の検討

表2. 消石灰乳剤上清の各種ウイルスに対する消毒効果

ウイルス $\log(\text{TCID}_{50}/0.05\text{mL})$	対照(DW)	消石灰感作*
BoGAR	4.90	≤ 1.50
BCV	5.20	≤ 1.50
BVDV	4.25	≤ 1.50

*消石灰乳剤濃度は10および1%(weight/volume)でも効果は同じ。

*対照消毒薬として

[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(C9-15)トルエン(50%溶液)の100倍希釈水溶液を用いた場合は、 ≤ 2.50 であった(500倍希釈でも同様)。

5. 考察

本試験から消石灰乳剤と 20 分間感作させた場合の今回用いた各種下痢症起因ウイルスへの消毒効果を確認できた。既報にて消石灰には牛の蹄病予防効果（薬浴）⁷⁾、サルモネラ¹²⁾、ヨーネ菌⁶⁾といった生産現場で問題となっている病原体に対する高い殺菌効果が報告されており、今回の試験結果を加えることで、消石灰は細菌やウイルスを効果的に死滅させることが明らかになった。

当室における消石灰の AIV に対する消毒効果の検討から、作用機序として pH12 より高い強アルカリであることが示唆されており、今回 1%、10% のいずれの乳剤濃度においても消毒効果に差が見られなかつたことから同様であると思われる。群馬県蚕業試験場における「消石灰上澄み液による蚕ウイルス病の消毒」の研究では蚕ウイルス病原を完全に不活化する pH 値は 12.3 以上だった⁴⁾ことからも、当該値付近がウイルスに対する消毒効果の境界である可能性も示唆される。

消石灰は有機物によって消毒効果が低減しにくいことが知られており¹²⁾、強アルカリが消毒作用の主体であるため、弱アルカリ性である家畜ふん尿に汚染された生産現場においても安定した消毒効果が期待できる。久利らは肉用牛、養豚、養鶏の各農場にて 10% 消石灰乳の踏み込み消毒槽内 pH 値の経日変化を調べたところいずれも 10 日間 pH12.5 を維持していたこと⁵⁾、森下らは石灰乳蹄浴液が 3 日目も pH12.6 を示していたことを確認しており⁷⁾、消石灰乳は高い消毒効果が長期間持続するものと考えられる。しかしながら、消石灰上澄み液は細菌に対して消毒効果が無いことが報告¹¹⁾されていること、昨年度の AIV に対する消毒効果の検討からも消石灰の固形成分存在下の方がより消毒効果が高いと考えられることから、消毒資材として用いる場合はしっかりと懸濁された状態で対象物と接触する必要がある。また、腸管出血性大腸菌 0157 高率保菌牛群において牛床への定期的な消石灰散布消毒（週 1 回 0.5kg/m²）により 0157 低減効果が認められる¹⁾ことからも、粉末散布も有効であるといえる。

以上のことから、生産現場における消石灰を用いた効果的な消毒方法として、①畜舎の入り口に 1% 消石灰乳剤の踏込消毒槽を設置する（3 日で交換）、②畜舎周辺や畜舎内の床面には消石灰を粉末のまま散布し、疾病発生リスクの高い時期・下痢症発生時は週 1 回実施する（散布量は 0.5kg/m² で、満遍なくうっすらと白くなる程度が目安）、③畜舎の壁面やゲージ（柵）等には 1% 消石灰乳剤を洗車ブラシ等で塗布する（よく混ぜて白色乳剤状態のものを塗布）の 3 点が挙げられた。さらに、踏み込み消毒槽については、苛性ソーダによる逆性石けんに対する pH 調製アルカリ化技術^{8, 10)}を応用して、1% 消石灰乳剤に逆性石けんを添加することで消毒効果の増強が期待される⁹⁾。

前述したが、消石灰はポジティブリストの規制対象外であり、安価で入手しやすい消毒資材である。今回の検討結果を踏まえ、消毒効果が安定して高く、環境負荷が少ない消石灰の利用法を普及していきたい。

[参考文献]

- 1) 北海道立試験場：平成 15 年度北海道立畜産試験場年報, p41 (2003)
- 2) 飯塚三喜：家畜消毒薬の作用機序と適正利用(2), 動薬資材だより, 15, p30-34 (1987)
- 3) 石倉洋司ら：平成 19 年度島根県畜産関係機関業績発表集録, p113-116 (2007)
- 4) 伊藤寛：群馬県蚕業試験場研究報告, 6, p6-14 (2000)

- 5) 久利俊二:畜産技術, 12, p16-20 (2000)
- 6) 丸谷敏博ら:第 39 回北海道家畜保健衛生業績発表集録, p70-76 (2006)
- 7) 森下康ら:平成 18 年度鳥取県畜産技術業績発表会集録 (2006)
- 8) 森田達志ら:第 144 回日本獣医学会学術集会講演要旨集, p58 (2007)
- 9) 大久保喜美ら:臨床獣医, 26, p23-27 (2006)
- 10) 迫田義博ら:家畜衛生学雑誌, 32, p67-70 (2006)
- 11) 代田丈志:シルク情報, 4 (2005)
- 12) 牛山市忠ら:平成 19 年度山梨県家畜保健衛生業績発表会集録, p54-63 (2007)
- 13) 渡邊拓一郎ら:平成 18 年度宮崎県畜産関係機関業績発表集録, p113-116 (2006)