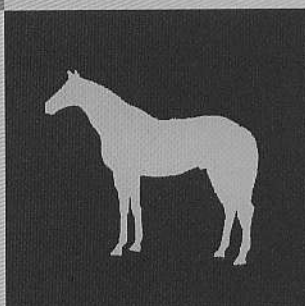


Journal of the Japan Veterinary Medical Association 日本獣医師会雑誌

◎ 全国知事会会長に対する公務員獣医師処遇の要請活動を掲載(108頁～112頁)

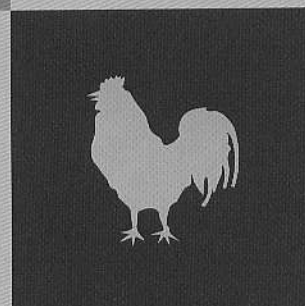
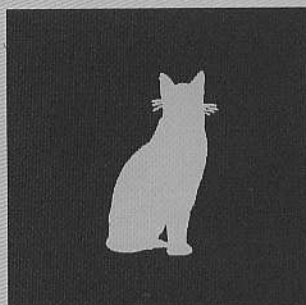


日獣会誌 J. Jpn. Vet. Med. Assoc.



2
Vol.61
No.2 2008

(P.82-162)



日本獣医師会会誌(日獣会誌)の主な内容

論 説：獣医師需給の動向と今後の対策 唐木英明

会 議 報 告：第4回理事会の議事概要

解説・報告：犬の輸入凍結・低温精液による人工授精 筒井敏彦

：競馬の薬物規制制度(アンチ・ドーピング)について 横田貞夫

：農場管理獣医師協会について(その2)

農場管理獣医師協会が展開する食肉生産情報認証システム事業の特徴
北村直人

学術・教育：一獣医学における学位の取得(XI)――

日本大学大学院獣医学研究科獣医学専攻博士課程について

酒井健夫

・日本産業動物獣医学会会誌

原 著：酵母細胞壁の給与が採卵鶏のワクチン抗体産生能に及ぼす影響

：トルトラズリルの牛コクシジウム病に対する有効性および安全性に
関する臨床的検討

・日本獣医公衆衛生学会会誌

原 著：と畜場搬入豚における*Brachyspira pilosicoli*と*Brachyspira*
*hyodysenteriae*の感染率

：高純度オゾンガスによる口蹄疫ウイルスの消毒効果試験



社団法人

日 本 獣 医 師 会

日本産業動物獣医学会

日本小動物獣医学会

日本獣医公衆衛生学会

高純度オゾンガスによる口蹄疫ウイルスの消毒効果試験

白井淳資^{1, 2)}

松村栄治³⁾

萩原信子³⁾

1) 御農業・食品産業技術総合研究機構動物衛生研究所海外病研究施設

(〒187-0022 小平市上水本町6-20-1)

2) 東京農工大学大学院共生科学技術院農学部 (〒183-8509 府中市幸町3-5-8)

3) ㈱ネイチャーズ (〒154-0011 世田谷区上馬3-18-11-305)

(2007年1月5日受付・2007年5月29日受理)

要 約

口蹄疫ウイルス (FMDV) および豚水疱病ウイルス (SVDV) を広さおよび構造の異なる2つの動物実験室内に置き、オゾンガスを噴射して、その消毒効果を調べた。その結果オゾンガスは実験に用いたウイルスの液量により効果が異なるが、オゾン濃度が4mg/lを超えると用いた2種類のウイルスに効果を示した。FMDVはオゾンガスで完全に不活化されたが、SVDVは不活化されるもののウイルスが少量残存した。これらの結果からオゾンガスはFMDVの消毒に利用できることが明らかとなった。オゾンガスは安全で脱臭効果もあり、ホルマリンに変わり使用できる燻蒸消毒剤として使用できると思われる。——キーワード：燻蒸消毒, FMDV, オゾンガス。

——日獣会誌 61, 157～161 (2008)

口蹄疫 (FMD) 等の重要伝染病発生時、感染動物および感受性動物をすべて殺処分した後、徹底的に畜舎を消毒する必要がある。動物舎の消毒方法として、動物舎全体の噴霧消毒でもかなりの消毒効果は望めるが、消毒薬が届かない場所や電気系統を保護するために消毒薬噴霧が行えない場合がある。このような場合に通常用いられている方法がホルマリン燻蒸による消毒である [1-3]。家畜をオールアウトした後、清掃消毒を行いホルマリン燻蒸を行えば動物舎の消毒はほぼ完全に行えるとされている [1-3]。確かにこの方法による消毒は大変有効で、しかも家畜の糞尿や飼料を残したままの動物舎を一度ホルマリン燻蒸し、その後動物舎の清掃を行ってふたたび消毒作業を行うという方法も可能である [1]。このように動物舎の燻蒸消毒といえばホルマリンガスによる消毒が一般的なものとして、通常現場では行われているが、ホルマリンによる燻蒸消毒には問題点がある。ホルマリンガスの消毒効果は高いが、非常に強い刺激臭があり、また人や動物の眼や呼吸器官に障害を与える [1]。そして米国の報告によれば、ホルマリンは発ガン性があるので使用法が細かに決められて、使用も極端に制限されている [4]。わが国では、ホルマリンの使用に関して規制はあるものの、現場ではあまり気にせずに使用されている場合もあるようである。本来は使用にあたって必ず防毒マスクを着用する等気をつけなければならない。この

ような状況からホルマリンガスによる消毒が行われていたわが国の医療現場では、ホルマリン消毒を全面中止しようとする動きが盛んになってきており、国際的にはホルマリン消毒は将来多くの国で正式には行われなくなるだろうといわれている [1]。このような状況において、ホルマリンガスによる燻蒸消毒に代わりうるものとして考えられるのが、オゾンガスによる動物舎の消毒である。オゾンガスによる消毒については、効果を示すという報告があるがホルマリン燻蒸に比べると効果が低いことや、孵卵器の消毒に使用した場合に孵化率が低下するとの報告があり [3, 5] あまり一般的には使用されていない。そこで、オゾンガス燻蒸の消毒効果を検証するため、窒素の混入がない高純度オゾンガスにより動物実験室に置いたウイルス材料に対して、どの程度効果を示すのか実験を行ったので報告する。

材料および方法

ウイルス：今回実験に用いたウイルスは、FMD ウィルス (FMDV) Asia1 型 Shamir 株 [6] および、消毒薬等に対して強い抵抗性を示す海外病原体の豚水疱病ウイルス (SVDV) J1 株 [7] である。両ウイルスは豚腎由来細胞株 SK-L [7] で継代されたものを用いた。

オゾンガス噴射試験：オゾンガス発生装置は窒素の混入がない高純度オゾンガスを無声放電により発生させる

† 連絡責任者：白井淳資 (東京農工大学大学院農学部獣医学科獣医伝染病学講座)

〒183-8509 府中市幸町3-5-8

☎・FAX 042-367-5780

E-mail: jshirai@cc.tuat.ac.jp

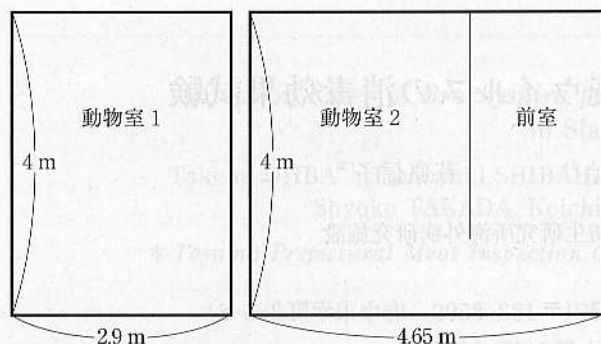


図1 実験に使用した動物実験室の外形

動物室1は長さ2.9m奥行き4mで高さ2.7mである。動物室2は壁を隔て前室があり、長さは前室を含め4.65m奥行き4mで高さ2.7mである。

装置（ネイチャーズオゾンガスシステムNGSNI005、ネイチャーズ㈱、東京）を用いて、広さおよび構造の異なる2タイプの動物実験室で実験を行った（図1）。オゾンガスは電極間に高電圧を加えて放電すれば、この空間に流入した酸素分子は酸素とオゾンの混合ガスとして放出される原理を利用し、火花を出すスパーク放電に比べて放電音を出さない無声放電により生成された[8]。動物室1は床の長さが2.9m×4mなので11.6m²の広さがあり、高さが2.7mであるから部屋の容積は31.32m³である。動物室2は作業準備のための前室が壁で仕切られ、扉により繋がっている。この動物室は前室を含め床の面積が4.65m×4m=18.6m²で、容積は高さが2.7mであるので50.22m³である。オゾンガスの噴射時間は動物室1で4時間、8時間および10時間の3段階に設定し、それぞれの噴射時間に対し、オゾンの分解時間を4時間、4時間および3時間に設定して実験を行った。動物室2ではオゾンガス噴射時間を5時間、9時間および11時間の3段階に設定し、それぞれの噴射時間に対し、オゾンの分解時間を4時間、4時間および3時間に設定して実験を行った。オゾンの分解は室内のオゾンガスを発生装置が2.5m³/min吸引し、オゾンを分解する触媒の入った筒を通過させオゾンを含まない空気に置換させることで行った。各室ではオゾンガスが部屋全体に行き渡るように、扇風機を置いて緩やかに空気を攪拌した。動物室の温度は約20℃に設定し、実験オゾン濃度は紫外線吸光式オゾン濃度計により測定した。動物実験室では、高純度オゾンガス発生装置のオゾンガス噴射を、スイッチを入れた後1時間後に噴射するように設定し、実験従事者がオゾンを吸入しないようにすべての実験において安全に行われた。

ウイルスへのオゾンガス感作試験：各ウイルス材料は滅菌濾紙を入れた直径5cmのシャーレに、ウイルス液を注入して行った。ウイルス液量のオゾンガス消毒に及ぼす影響を調べる試験は0.75、1.0、1.5および2.0mlの

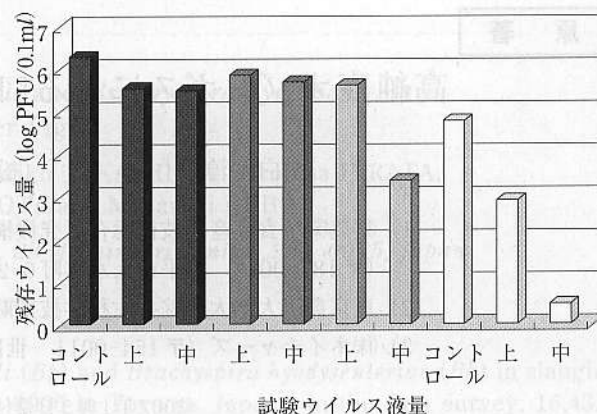


図2 ウイルス試料の液量の違いによるオゾンガス消毒効果の差

豚水疱病ウイルス（SVDV）の液量を□ 0.75ml, ▨ 1.0ml, ▩ 1.5ml, ■ 2.0mlとし、動物室1の天井付近（上）および作業台上（中）に置いて試験を行った。

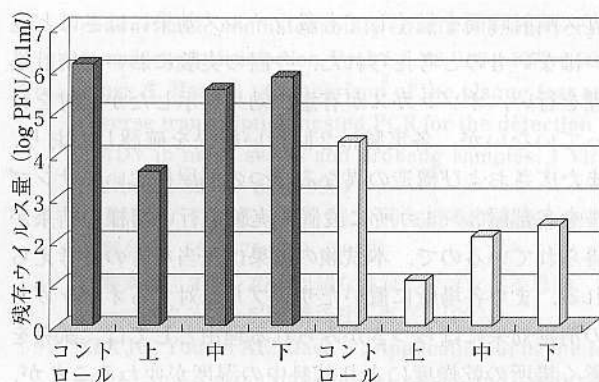
SVDVを加え、動物室1においてオゾンガスを9時間噴射し行った。各動物実験室における本試験では、適量試験の結果をもとに、動物室1ではFMDV 1.0ml, SVDV 0.8mlを用い、動物室2ではFMDV 0.9ml, SVDV 0.75mlを用いた。動物室1ではウイルスを入れたシャーレを天井付近（上）、作業台上（中）および床面（下）の3点に、シャーレの蓋を半開きにして置いた。動物室2ではウイルスを入れたシャーレを動物室の作業台上（中）および床面（下）、そして前室の作業台上（中）および床面（下）に、シャーレの蓋を半開きにして置いた。コントロールは同様に滅菌濾紙を入れた直径5cmのシャーレに試験区域と同様のウイルス量を加え、実験室内に試験区域の材料と同時間、シャーレの蓋を半開きにして置いた。

残存ウイルスの感染価測定：オゾンガス感作終了後は、それぞれのシャーレに無血清の培地（MEM）を入れて良く攪拌し、10倍階段希釈を行って、SK-L細胞に接種し、YLE培地に0.86%寒天（BACTO Agar）を重ね層し、接種後2日目に、10%メタノール、7%ホルマリンを含む0.25%クリスタルバイオレットで染色して、形成されたブラックを算定し残存ウイルスの感染価を測定した。

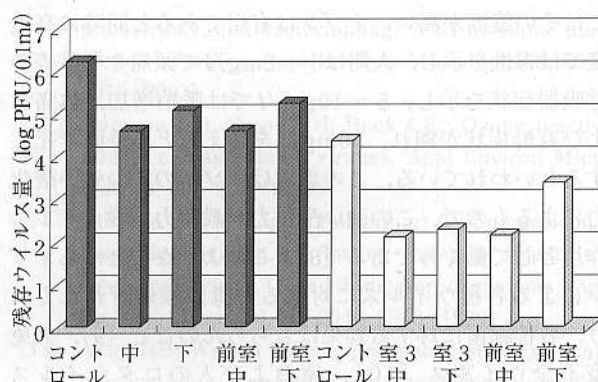
成績

ウイルスの液量がオゾンガス効果試験に及ぼす影響を調べた結果、SVDVが1.5～2.0mlではオゾンガスの影響をほとんど受けず殺ウイルス効果は認められなかった。しかし、ウイルス量が1.0mlおよび0.75mlの時は、オゾンガスが効果を示し、特に0.75mlでは材料の配置場所による差はあるものの明瞭な効果を認めた（図2）。

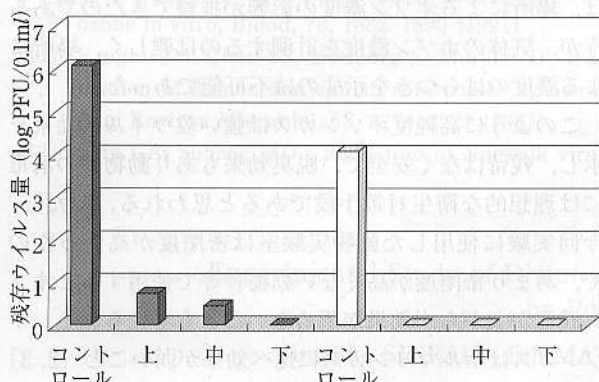
動物室1はウイルス試料が乾燥しやすく、FMDVは



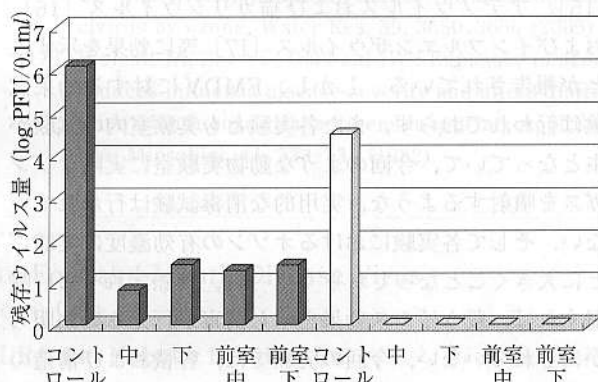
ウイルス材料の配置
噴射時間 4 時間 + 分解時間 4 時間 (2.285mg/l)



ウイルス材料の配置
噴射時間 5 時間 + 分解時間 4 時間 (2.57mg/l)



ウイルス材料の配置
噴射時間 8 時間 + 分解時間 4 時間 (4.36mg/l)



ウイルス材料の配置
噴射時間 9 時間 + 分解時間 4 時間 (4.035mg/l)

図3 動物室1 (31.32m³) におけるオゾンガス試験

■SVDV 0.8ml および □FMDV 1.0ml を動物室の天井付近 (上), 作業台上 (中) および床面 (下) に配置し, オゾンガス噴射時間が4時間の場合と8時間の場合で, 残存ウイルス量を測定し効果を調べた。

図4 動物室2 (50.22m³) におけるオゾンガス試験

■SVDV 0.75ml および □FMDV 0.9ml を動物室および前室の作業台上 (中) および床面 (下) に配置し, オゾンガス噴射時間が5時間の場合と9時間の場合で, 残存ウイルス量を測定し効果を調べた。

乾燥するとただで感染価が落ちてしまうので, オゾンガス噴射前に動物室床面に水をまいて実験を行った。動物室内のオゾン濃度を均一にするため, 扇風機によりオゾンガス噴射中部屋の空気を攪拌した。結果は図3に示すように, オゾンガス噴射時間4時間ではSVDVに対してほとんど効果を示さず, FMDVでは効果を示すものの, 完全に殺滅するには至らなかった。この条件での動物室のオゾン濃度は最大2.285mg/lを示した。オゾンガス噴射時間を8時間に設定した場合は実験に用いた両ウイルスで明瞭な効果を示した。この時の動物室のオゾン濃度は最大4.36mg/lを示した。結果を示していないが, オゾンガス噴射時間を10時間に設定した場合も効果は8時間と変わりなかったが, この条件での動物室のオゾン濃度は最大4.775mg/lと高い値を示した。

動物室2は壁を隔てて前室があるので, 前室と動物室の連絡扉を開放し, 動物室から前室に向かって扇風機でオゾンガスを送り込んで両室でのオゾン濃度をできるだけ均一にした。実験結果は図4に示すように, 噴射時間

5時間では, SVDVではほとんど効果が認められず, FMDVでは多少効果が認められるものの, 前室の床面に置いた試料では効果がほとんど無かった。この条件での動物室のオゾン濃度は最大2.57mg/lであった。ところがオゾンガスの噴射時間を9時間に設定した場合はSVDVでもかなりの効果が認められ, FMDVでは設置したすべての場所の試料で完全に殺滅が認められた。この条件での動物室のオゾン濃度は最大4.035mg/lを示した。オゾンガスの噴射時間を11時間と長めに設定した条件効果では, 9時間噴射の結果と効果は変わらなかったが, 動物室のオゾン濃度は最大4.42mg/lを示していた。以上の結果より, オゾン濃度が約4mg/lを超えればSVDVのような抵抗性の強いウイルスでも殺滅することが可能であることが明らかとなった。

考 察

オゾン (O₃) は大気中には0.005mg/l存在し, 晴天の海岸 (0.03~0.06mg/l) や森林 (0.05~0.1mg/l)

ではその濃度が高い、オゾンは有用であると同時に高濃度では毒性を示し、人間は1~2mg/lで頭痛や発咳等の呼吸器症状を示し、5~10mg/lでは脈拍増加、体痛および麻酔症状が顕れ、50mg/lを超えると1時間で死亡するといわれている。この毒性はオゾンの持つ強い酸化力によるもので、この強い酸化力が殺菌力、殺ウイルス作用として働くのである [8]。このようなことからオゾンによる各種ウイルスに対する消毒試験が行われており、各種細菌に対する効果はもちろんのこと [9]、人免疫不全ウイルス [10]、猿および人のロタウイルス [11]、ノロウイルス [12]、ポリオウイルスおよびA型肝炎ウイルス [13, 14]、ベネズエラ馬脳炎ウイルス [15]、アデノウイルスおよび猫カリシウイルス [16]、およびインフルエンザウイルス [17] 等に効果を示すことが報告されている。しかし、FMDVに対する効果試験は行われておらず、また各実験とも実験室内の試験が主となっていて、今回のような動物実験室に実際オゾンガスを噴射するような、実用的な消毒試験は行われていない。そして各実験におけるオゾンの有効濃度は実験ごとに大きくことになっており [10-17]、実際どれくらい噴射すれば、殺ウイルス効果を示し消毒が行えるのか明らかにされていない。今回の実験では、容積および構造の異なる2つの動物実験室において、オゾンガスの噴射時間を変えて実験を行い、各噴射時間における最高オゾン濃度を測定した。その結果、動物室1 (31.32m³) ではオゾンガスの噴射時間を8時間に設定したとき、天井付近、作業台上、床面に置いた各ウイルスサンプルに対し明瞭な殺ウイルス効果を示し、この時の部屋の最高オゾン濃度は4.36mg/lであった。動物室2 (50.22m³) ではオゾンガスの噴射時間を9時間に設定したとき、動物室および前室の作業台上および床面に置いた各ウイルスサンプルに対し明瞭な殺ウイルス効果を示し、この時の部屋の最高オゾン濃度は4.035mg/lであった。このオゾン濃度はポリオウイルスおよびコクサッキーウイルスを用いた実験結果 [13] の有効濃度4.81mg/lに近く、今回FMDVの対照ウイルスとして用いた消毒薬や温度に対して抵抗性の強いSVDVは、ポリオウイルスやコクサッキーウイルスと同じ仲間属するので、本実験の結果と同様の実験結果となったと思われる。本実験の有効濃度は正しいものと推察される。また別に行ったオゾン水の各種ウイルスに対する効果を調べる実験で、オゾン水のFMDVに対する有効オゾン濃度は1mg/l以上でSVDVを完全に死滅させる有効濃度は4mg/l以上という結果が得られており、有効濃度が本実験結果とほぼ一致している。実験結果は示さなかったが、動物室1で10時間、動物室2で11時間オゾンガスを噴射した結果は、8時間および9時間を噴射した結果とさほど変わりはない。このことから、有効オゾン濃度を超えれば、オゾン

ガス噴射時間を長くしても殺ウイルス効果にはさほど違いはないものと考えられた。今回の実験において統計処理を行い、オゾンガスが有意に効果を示したか検討を行っていないが、各実験は2回行い結果を確認しており、また広さおよび構造の異なる二つの部屋においてサンプルを各部屋3~4カ所に設置し実験を行い同様の結果が得られているので、本試験の結果は正当なものと考えられる。また各場所に置いたサンプルに対するオゾンガスの消毒効果にばらつきがみられる理由としては、試料を置く場所の乾燥度により試料中の湿度が変わることが、結果に大きく影響するのではないと思われる。実験場所の各部位におけるオゾン濃度をきめ細かく計測できれば、場所によるオゾン濃度の影響が推察できたのであろうが、気体のオゾン濃度を計測するのは難しく、場所による濃度のばらつきを示すのは不可能であった。

このように高純度オゾンガスは強い殺ウイルス効果を示し、残留はなく安全で、脱臭効果もあり動物舎の消毒には理想的な衛生対策手段であると思われる。ただし、今回実験に使用した動物実験室は密閉度が高かったもので、あまり密閉度が高くない動物舎等で使用するとオゾン濃度が上がらず効果が望めないことも考えられる。オゾンガスはホルマリンガスに比べ効果が弱いこと [2, 3] が報告されているので、ホルマリン燻蒸と同様の使用法、たとえば動物舎内に沢山ものを残したままや、清掃せずに行うと効果が弱くなるとと思われる。実験で示したようにウイルス液が濾紙に吸着しきれない液量の場合効果がほとんどなかった (図2)。このことは通常の気圧では液体中に気体のオゾンガスが溶け込めずに効果がみられないと考えられ、水分含量の多いウイルス材料では、オゾンガスが効果を示さないものと思われる。そのため通常の使用に際しては糞便中の病原体には効果を示さないと考えられるので注意が必要である。オゾンガスはホルマリンガスと同じ効果を示すことはないので、使用にあたってはオゾンガスができるだけ効果を発揮するように、動物舎の密閉度を高くし、清掃を行って使用することが必要であると考えられた。

参 考 文 献

- [1] Kahrs RF : General disinfection guidelines, Rev Sci Tech Off Int Epiz, 14, 105-122 (1995)
- [2] Whistler, Sheldon BW : Biocidal activity of ozone versus formaldehyde against poultry pathogens inoculated in a prototype setter, Poult Sci, 68, 1068-1073 (1989)
- [3] Whistler, Sheldon BW : Comparison of ozone and formaldehyde as poultry hatchery disinfectants. Poult Sci, 68, 1345-1350 (1989)
- [4] Rutala, WA : Am. APIC guideline for selection and use of disinfectants, J Infect Control, 24, 313-342 (1996)
- [5] Whistler, Sheldon BW : Bacterial activity, eggshell

- conductance, and hatchability effects of ozone versus formaldehyde disinfection, *Poult Sci*, 68, 1074-1077 (1989)
- [6] Moss A, Haas B : Comparison of the plaque test and reverse transcription nested PCR for the detection of FMDV in nasal swabs and probang samples, *J Virol Methods*, 80, 59-67 (1999)
- [7] 白井淳資 : 口蹄疫ウイルスに対する市販消毒薬の効果, *日獣会誌*, 55, 575-579 (2002)
- [8] 伊藤泰郎 : オゾンの不思議な性質. オゾンの不思議, プルーバックス, 3-52, 講談社, 東京 (1999)
- [9] Kim JG, Yousef AE, Dave S : Application of ozone for enhancing the microbiological safety and quality of foods, A review, *J Food Protect*, 62, 1071-1087 (1999)
- [10] Wells KH, Latino J, Gavalchin J, Poiesz BJ : Inactivation of human immunodeficiency virus type 1 by ozone in vitro, *Blood*, 78, 1882-1890 (1991)
- [11] Vaughn JM, Chen YS, Lindburg K, Morales D : Inactivation of human and simian rotaviruses by ozone, *Appl Environ Microbiol*, 53, 2218-2221 (1987)
- [12] Shin GA, Sobsey MD : Reduction of Norwalk virus, poliovirus 1, and bacteriophage MS2 by ozone disinfection of water, *Appl Environ Microbiol*, 69, 3975-3978 (2003)
- [13] Emerson MA, Sproul OJ, Buck CE : Ozone inactivation of cell-associated viruses, *Appl Environ Microbiol*, 43, 603-608 (1982)
- [14] Herbold K, Flehmig B, Botzenhart K : Comparison of ozone inactivation, in flowing water, of hepatitis A virus, poliovirus 1, and indicator organisms, *Appl Environ Microbiol*, 55, 2949-2953 (1989)
- [15] Akey DH, Walton TE : Liquid-phase study of ozone inactivation of Venezuelan equine encephalomyelitis virus, *Appl Environ Microbiol*, 50, 882-886 (1985)
- [16] Thurston-Enriquez JA, Hass CN, Jacangelo J, Gerba CP : Inactivation of enteric adenovirus and feline calicivirus by ozone, *Water Res*, 39, 3650-3656 (2005)
- [17] Wolcott JA, Zee YC, Osebold JW : Exposure to ozone reduces influenza disease severity and alters distribution of influenza viral antigens in murine, *Appl Environ Microbiol*, 44, 723-731 (1982)

Experimental Study of Disinfection to Foot-and-Mouth Disease Virus by Pure Ozone Gas

Junsuke SHIRAI^{*,†}, Eiji MATSUMURA and Nobuko HAGIWARA

^{*} Tokyo University of Agriculture and Technology, 3-5-8 Saiwai-cho, Fuchu, 183-8509, Japan

SUMMARY

Disinfection against foot-and-mouth disease virus (FMDV) and swine vesicular disease virus (SVDV) placed in two kinds of animal experimental rooms by pure ozone gas were examined. The disinfecting effect of ozone gas was influenced by the quantities of viral materials, but a clear disinfectant effect against two viruses was observed over 4mg/l of ozone concentration. FMDV was completely eliminated by ozone gas but a small amount of SVDV remained after disinfection. From these results, ozone gas could be used for disinfection against FMDV. Ozone gas was considered for use for vapor disinfection instead of formalin vapor disinfection.

—Key words : disinfection, foot-and-mouth disease virus, ozone gas.

[†] Correspondence to : Junsuke SHIRAI (Laboratory of Epizootiology, Department of Veterinary Medicine, Faculty of Agriculture Tokyo University of Agriculture and Technology)

3-5-8 Saiwai-cho, Fuchu, 183-8509, Japan TEL・FAX 042-367-5780 E-mail : jshirai@cc.tuat.ac.jp

J. Jpn. Vet. Med. Assoc., 61, 157 ~ 161 (2008)

日本獣医公衆衛生学会誌編集委員会委員

【編集委員】

◎山本 茂貴 (国立医薬品食品衛生研究所食品衛生管理部長)
○高島 郁夫 (北海道大学大学院獣医学研究科教授)
金内 長司 (麻布大学名誉教授)
高島 浩介 (東京農業大学客員教授)
津田 修治 (岩手大学農学部教授)
明石 博臣 (東京大学大学院農学生命科学研究科教授)
今井 壯一 (日本獣医生命科学大学獣医学部教授)

梅村 孝司 (北海道大学大学院獣医学研究科教授)
月瀬 東 (日本大学生物資源科学部教授)
中市 統三 (山口大学農学部教授)
中澤 宗生 (動物衛生研究所疫学研究チーム長)
(◎委員長, ○副委員長)

編集発行人 日本獣医公衆衛生学会
会長 熊谷 進

『*投稿を希望される方は, 学会誌投稿規程 (第60巻第12号885頁) 及び三学会誌投稿の手引き (第60巻第12号889頁) をご参照ください』