

塩素系消毒薬（ジクロルイソシアヌル酸ナトリウム）の散布による消毒効果の検討

今西禎雄，荒木誠一，水野隆夫，坂倉 元

Effects of Spraying of Chlorine Disinfectant (Sodium Dichloroisocyanurate) on Reduction of Viable Bacteria.

Yoshio IMANISHI, Seichi ARAKI, Takao MIZUNO and Hazime SAKAKURA,

緒 言

近年の養鶏経営は、経営の安定化を図るため、規模拡大や飼養管理の効率化が進められてきた。その反面、環境因子が発病を左右するような疾病が多発の傾向を示し、生産性低下の一因となっている。その対策として、飼養環境の浄化が重要であり、その際、消毒の果たす役割は大きい。しかし、養鶏施設において消毒効果を評価すると、消毒液の散布による菌数の減少は1/10未満のことが多いと報告されていて、消毒効果を高めるための検討が必要であると指摘されている^{2, 4, 5, 12)}。

ジクロルイソシアヌル酸ナトリウムは、最近（芽胞を含む）、真菌およびウイルスに対して強い殺菌及び殺ウイルス効果を有し^{1, 6, 7~11)}、水泳プール、環境殺菌剤などに広く使用されているが、実際の養鶏施設等を消毒しその効果を評価した例は少ない。

本報告は、ジクロルイソシアヌル酸ナトリウムの高い消毒効果を得るために、付着菌数の減少を指標として散布濃度と消毒効果（実験1）、水洗方法の違いが消毒効果に及ぼす影響（実験2）および鶏舎に対する消毒効果（実験3）について検討したものである。

材料と方法

供試消毒薬はジクロルイソシアヌル酸ナトリウム（有効塩素60%含有、SDICと略す）を用いた。

実験1ではSDICを人工汚染検体と自然汚染検体に散布してその消毒効果を調べた。実験に供した検体は次のようにして得た。人工汚染検体は1/2量の滅菌鶏盲腸内容物を加えたハートインフュージョン液体培地で培養した

S. aureus 209pの菌液0.05mlを、滅菌したベニヤ片（1×5×0.3 cm）に滴下塗布し、デシケータ内で約2時間乾燥したものを検体とし、その検体を滅菌ベニヤ板（7×10×0.7 cm）に固定した。また、自然汚染検体は、滅菌ベニヤ片（1×5×0.3）を、ブロイラーを飼育している平飼い鶏舎床面に3週間放置し、一週間自然乾燥させた後、動力噴霧機（噴射圧15kg/cm²）により6 l/m²の水量で水洗したものを検体とした。

人工または自然汚染検体を一辺1 mの立方体の木箱の一面に沿って針金で止めて吊した。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噴射圧15 kg/cm²に調整した動力噴霧機（コンパクトスプレー、オリンピア工業株式会社、ノズル口径3 mm）により2000, 4000 および8000倍液のSDICを1 m²あたり1 l霧状にして散布した。対照として水道水を消毒液と同様に散布した。

そして、菌数測定を消毒液の散布直前、散布1時間後および6時間後に実施して消毒効果を判定した。

また、自然汚染検体から分離した*S. aureus*, *S. epidermidis* または標準株 *S. aureus* 209 Pを消毒検査用ブイヨン培地³⁾で培養し、その菌液1 mlを2000倍液のSDIC10mlに入れて20°C、10分間反応させ、SDICの各菌株に対する殺菌力についても調べた。

実験2では、加圧水流のみで水洗した自然汚染検体と、加圧水流と擦り洗いを併用して水洗した自然汚染検体に2000倍液のSDICを散布し水洗方法が、消毒効果に及ぼす影響を調べた。検体は実験1と同様に、鶏舎床面で鶏により汚染されたベニヤ板（10×20×0.3 cm）を自然

* 三重県農業技術センター畜産部 ** エーザイ（株）動物実験室(483 岐阜県羽島郡川島町竹早町1)

自然汚染検体として用いた。水洗方法は、動力噴霧機（噴射圧15kg/cm²、水量6l/m²）の加圧水流による水洗と、加圧水流とタワシによる擦り洗い（往復12回）を併用した方法で実施した。加圧水流のみで水洗した検体と擦り洗いを併用した検体を、実験1と同様に1m²の木箱に固定し2000倍液のSDICを散布して消毒した。そして付着菌数を散布直前と散布24時間後で比較し消毒効果を判定した。

実験3では、実験1と実験2の結果に基づき、水洗方法と消毒液の散布濃度を改善して鶏舎床面にSDICを散布した。実験には、約800羽のブロイラー種鶏を16週間飼育し水洗した後の開放式平飼い鶏舎を用いた。鶏舎は、通路（30×1.35m）と飼育室（30×4.85m）からなり、棟の高さ2.7m、天井はなく梁木が露出していた。床面はコンクリート、壁面は耐水ペニヤ、窓はガラス、鶏舎の柱と梁木は鉄骨で構成され、通路と飼育室は金網で区切られていた。鶏舎の水洗は動力噴霧機（噴射圧25kg/cm²）により6l/m²の地下水を噴射した。床面は加圧水流とデッキブラシにより擦り洗い（往復12回）を併用して水洗した。

水洗した翌日の鶏舎床面に500又は1000倍液のSDICを、それぞれ動力噴霧機により1l/m²散布した。なお、対照として、同じハロゲン系消毒薬である複合ヨードホール（有効ヨー素2.6%含有）の500又は1000倍液を散布し付着菌数の減少を比較した。

菌数の測定：実験1では、消毒前後の検体を10mlの滅菌1%チオ硫酸ナトリウム加生理食塩水に入れ、振盪して菌を液中に浮遊させた。また、ブドウ球菌に対する殺菌力試験では細菌と消毒液を反応させた後に、1.10Nチオ硫酸ナトリウム1mlを加え、消毒液の反応を停止した。実験2と実験3では、ペニヤ板又は鶏舎床面の2×5cm範囲の付着菌を、滅菌生理食塩液で湿らせた滅菌脱脂綿

で拭い取り、この試料を滅菌1%チオ硫酸ナトリウム加生理食塩水に入れ、振盪して菌を液中に浮遊させた。これらの菌浮遊液を滅菌生理食塩水により10倍段階希釈し、各段階の希釈液をスタヒロコッカス倍地110又はハートインフュージョン寒天倍地（いずれも栄研化学株式会社）に混ぜて、37°Cで24時間又は48時間培養して菌数を測定した。

なお、測定した菌数は常用対数に変換して統計的な処理を行った。

実験結果

1. SDICの散布濃度と消毒効果（実験1）

2000、4000および8000倍液のSDICを人工又は自然汚染検体に散布した後に検出された菌数を第1表に示した。消毒前の人工汚染検体から検出されたブドウ球菌数は1検体当たり10^{3.5}であった。各濃度のSDICを散布すると、散布1時間後には散布前の1/10^{3.1}～1/10^{3.3}に減少した。

消毒前の自然汚染検体は、ペニヤ板の割れ目などに少し汚れが残っており、1cm²当たり10^{8.1}と多い菌数が検出された。SDIC散布による菌数の減少は、散布1時間後で1/10⁹～1/10¹⁴であった。散布6時間後では、各濃度ともに散布1時間後の約10倍程度まで増加した。

一方、SDICの各濃度間の消毒効果を比べると、人工汚染検体、自然汚染検体とともに各濃度間に差は認められなかった。

自然汚染検体から分離したS. aureus、S. epidermidis及び標準株S. aureus 209 pに対するSDICの殺菌効果については第2表に示した。蒸留水に浸漬した後の菌数は、自然汚染検体から分離したS. aureusで10^{6.0}/ml、S. epidermidisで10^{5.8}/ml、であり標準株のS. aureus 209 pでは10^{6.8}であった。SDICの2000倍液に浸漬した後に検出された菌数は、それぞれ10⁶～10⁷

第1表 人工汚染検体と自然汚染検体にSDICを散布した前後に回収された菌数（実験1）

区分	工汚染検体の細菌数 ¹⁾			自然汚染検体の細菌数 ²⁾		
	散 布 前	散 布 1 時間後	散 布 6 時間後	散 布 前	散 布 1 時間後	散 布 6 時間後
SDIC2000倍液	10 ^{3.5±0.3} (5/5) ³⁾	10 ^{0.4±0.1} (3/5) ³⁾	10 ^{0.2±0.2} (3/5) ³⁾	10 ^{8.1±0.3} (5/5) ³⁾	10 ^{6.8±0.5} (5/5) ³⁾	10 ^{7.7±0.4} (5/5) ³⁾
4000倍液		10 ^{0.3±0.1} (3/5)	10 ^{0.2±0.2} (4/5)		10 ^{6.7±0.7} (5/5)	10 ^{7.7±0.4} (5/5)
8000倍液		10 ^{0.4±0.3} (4/5)	10 ^{0.3±0.2} (4/5)		10 ^{7.2±0.6} (5/5)	10 ^{7.9±0.2} (5/5)
水道水		10 ^{2.7±0.1} (5/5)	10 ^{1.9±0.2} (5/5)		10 ^{7.5±0.4} (5/5)	10 ^{8.1±0.2} (5/5)

1) 資料1個当たりに検出された S.aureus 209 p の数。平均値±標準偏差

2) ハートインフュージョン寒天培地により検出された1検体当たりの菌数

3) 菌陽性検体数/検体数

第2表 SDIC2000倍液の自然汚染検体から分離したS.aureus, S.epidermidis および標準細菌株の S. aureus, 209 p に対する殺菌効果(実験1)

	SDIC 2000倍液	対照(蒸留水)
自然汚染検体から分離した S. aureus	$10^{6.0}$	$10^{6.0}$
" S. epidermidis	$10^{5.7}$	$10^{5.8}$
標準細菌株 S. aureus, 209 p	10^0	$10^{6.8}$

1 ml当たりの菌数

第3表 水洗方法の異なる自然汚染検体にSDIC2000倍液を散布した前後に回収された菌数(実験2)

区分	散 布 前	散 布 後
加圧水流により水洗した検体	$10^{6.5 \pm 0.3}$	$10^{6.2 \pm 0.4}$
擦り洗いにより水洗した検体	$10^{5.7 \pm 0.3}$	$10^{5.8 \pm 0.3}$

1 cm²当たりの菌数、平均値±標準偏差

/mlでありほとんどの菌が殺菌された。SDICに対する感受性について、各菌株ごとに比較すると自然汚染検体から分離した菌株と標準菌株との間に差は認められなかつた。

2. 水洗方法の違いによる消毒効果に及ぼす影響 (実験2)

加圧水流又は擦り洗い併用により水洗した自然汚染検体に、2000倍液のSDICを散布した後に検出された菌数を第3表に示した。

加圧水流で水洗した検体は、ベニヤ板の割れ目などに少し汚れが残っていたが、擦り洗いを併用した検体では肉眼的に清浄となっていた。消毒前の検体から検出された菌数は、加圧水流で水洗した検体よりも擦り洗いを併用した検体の方が少なかった。SDIC散布による菌

第4表 鶏舎床面にSDIC又はヨードホールを散布した前後に回収された菌数(実験3)

区分	散 布 前	散 布 後
SDIC 500倍液	$10^{4.2 \pm 0.4}$	$10^{2.2 \pm 0.3}$
" 1000倍液	$10^{3.3 \pm 0.4}$	
ヨードホール 500倍液	$10^{3.4 \pm 0.3}$	
1000倍液	$10^{3.6 \pm 0.5}$	
水道水	$10^{4.3 \pm 0.4}$	

1 cm²当たりの菌数、平均値±標準偏差

数の減少割り合を比べると、加圧水流で水洗した検体で $1/10^{0.3}$ 、擦り洗いを併用した検体では $1/10^{0.9}$ であり、擦り洗いを併用した検体の法が有意(1%水準)に減少した。

3. 鶏舎に対する消毒効果(実験3)

実験1と実験2の結果から、SDIC散布による菌数の減少が $1/10$ 以下であることから、消毒の前処置としての水洗方法や散布濃度を改善して鶏舎床面を消毒した。

500又は1000倍液のSDICとヨードホールを鶏舎床面に散布した後に検出された菌数を第4表に示した。消毒前の鶏舎床面は、肉眼的な汚れは流出していたが、1 cm²当たり $10^{4.2}$ の菌が検出された。SDICの散布による菌数の減少は、500倍液散布で $1/10^{2.0}$ 1000倍液散布では $1/10^{0.9}$ であり、500倍液散布では実験1と実験2の自然汚染検体に散布した結果よりも減少割合が大きかった。また、対照としたヨードホールの減少と比較すると、1000倍液散布では統計的な差は認められなかつたが、500倍液散布ではヨードホールよりもSDICの方が有意(1%水準)に減少した。

考 察

従来、消毒剤の使用条件は、主として培養菌液を用いて測定した成績に基づいて、決定される場合が多い。しかし鶏舎や管理器材を対象とした場合には、消毒効果に影響する主要な要因として、多種類の微生物汚染、微生物汚染の程度、有機物や塩類の共存等が考えられ、培養菌液を用いた効力試験では、これらの要因が重った条件

を設定することはきわめて難しい。したがって培養菌液に対する効果のみで野外における使用条件を決定するのには充分でない。そこで、これらの条件を加えて、養鶏施設における消毒剤の濃度、量および作用時間を決定する必要があると考えられる。

本実験では、こうした条件を加えた人工汚染検体および自然汚染検体を用いて、SDICの消毒効果を高めるための基礎的な検討（実験1、実験2）と、その結果に基づき水洗方法やSDICの散布濃度を改善して鶏舎を消毒した場合の効果（実験3）について調べた。木谷らは¹⁾ 塩素系消毒薬を含む4種類の消毒薬を人工汚染検体と自然汚染検体に散布したところ、菌数の減少は両検体とも $1/10$ 程度又はそれ未満であると報告しているが、本実験では人工汚染検体（実験1）にSDICを散布すると、その菌数の減少は $1/10^3$ 程度であり、自然汚染検体（実験1、実験2）では木谷らの報告¹⁾と同程度であった。人工汚染検体では著しい消毒効果が認められたのに比べ、自然汚染検体では菌数の減少が劣ることから、菌株の違いによってSDICの殺菌力が変化するのではないかという疑問が生じた。このため自然汚染検体で最も優先的に存在するS.aureus およびS.epidermidisを分離し、これらの菌株と人工汚染検体に用いた標準菌株S.aureus 209pとのSDICに対する感受性を比較した。その結果、自然汚染検体から分離した菌株と標準菌株との間にSDICに対する感受性に大きな差は認められなかった。このことから、自然汚染検体において消毒効果が発揮しにくいのは菌株の違いによるものではなく、有機物に付着した菌がベニヤ板の割れ目などに固着して消毒液から保護された状態で存在しているためではないかと推察される。

著者らは水洗により付着菌数を少なくしておけば、消毒液散布後の菌数が少ないことを報告してきた²⁾。本実験においても擦り洗いを併用した水洗により消毒前の菌数を少なくした検体では、加圧水流のみにより水洗した検体よりも消毒後の菌数が少なかった（実験2）。なお、擦り洗いを併用した検体では、加圧水流のみの検体よりも有機物の付着が少なく、SDIC散布による菌数の減少割合は大きかった。このことは、有機物の付着の程度が消毒効果に影響を及ぼしたものと考えられる。

鶏舎の消毒では、擦り洗い併用による水洗で有機物や付着菌数を少なくした後にSDICを散布した（実験3）。なお、散布濃度も実験1又は実験2よりも濃くして消毒した。その結果、500倍液のSDIC散布による菌数の減少は $1/10^{2.0}$ であり、実験1と実験2における自然汚染検体に散布した結果や対象として用いたヨードホール散布の結果よりも減少割合が大きかった。また、従来の知

見^{2, 4~6, 12)}よりも僅かであるが高い消毒効果が得られた。しかし、消毒後の床面にまだ $10^2/cm^2$ 程度の菌が生き残っており、今後さらに高い消毒効果が得られる方法を開発する必要があると考えられる。

SDICにより鶏舎を消毒する場合は、水洗により有機物や付着菌数を十分に少なくした後に高濃度のSDICを散布することが望まれる。

500倍液又は1000倍のSDIC散布は、目や粘膜等に強い刺激があり、本実験ではガスマスクを着用して散布したが、SDICの高濃度を散布する場合は、人や動物に対してはもとより鶏舎周辺環境に及ぼす悪影響を防止することが必要である。

要 約

塩素系消毒薬（ジクロルイソシアヌル酸ナトリウム、SDIC）の養鶏施設における効果的な消毒方法を検討するため、付着菌数の減少を指標として散布濃度とその消毒効果、水洗方法の違いが消毒効果に及ぼす影響および鶏舎に対する消毒効果について検討した。

1. 2000, 4000および8000倍液のSDICを人工又は自然汚染検体に散布したところ、菌数の減少は人工汚染検体で $1/10^{1.1} \sim 1/10^{3.3}$ 、自然汚染検体では $1/10^{0.2} \sim 1/10^{1.4}$ であった。なお、散布濃度の違いによる菌数の減少に大きな差は認められなかった。

2. 加圧水流による水洗と加圧水流と擦り洗いを併用して水洗した自然汚染検体に2000倍液のSDICを散布したところ、擦り洗いを併用した検体の方が菌数の減少割合が大きく、消毒効果を高めることができた。

3. 鶏舎に対する消毒効果では、擦り洗いを併用した水洗により、有機物や細菌をできるだけ少なくした条件で、床面に500倍又は1000倍液のSDICを散布したところ、その付着菌数の減少は500倍液散布で $1/10^{2.0}$ 、1000倍液では $1/10^{0.9}$ であった。

水洗により有機物の付着を少なくし、また、散布濃度を濃くすることによりSDICの消毒効果が高まることが認められた。

文 献

- 1) BLOOMFIELD, S. F. and MILES, G. A. (1979) : The antibacterial properties of sodium dichloroisocyanurate and sodium hypochlorite. Farmations . J. Appl. Bacteriol. 46, 65~74.
- 2) 今西禎雄、水野隆夫、矢下祐二ら (1983) : 常行消毒法およびその改善による無窓鶏舎の消毒. 家禽会誌, 20, 354~359.

- 3) 厚生省編集 (1952) 衛生検査指針 I. 消毒薬検査指針. 38, 協同医書出版社, 東京.
- 4) 木谷隆, 中島芳夫, 海老沢昭二ら (1983) : 消毒液の散布による消毒効果の検討. 家禽会誌, 20, 187—191.
- 5) 牧野吉伸, 中村幸彦, 山下近男ら (1982) : ケージ鶏舎における動力噴霧器の水流による水洗効果並びに消毒液散布による消毒効果の検討. 家禽会誌, 21, 97—101.
- 6) 村田昌稔, 真鍋政義, 下司一 (1984) : ケージ鶏舎の慣行消毒法の効果に関する検討. 家禽会誌, 21, 43—46.
- 7) 二宮昌樹, 谷口淳介, 紫田洋文ら (1980) : 塩素化イソシアヌル酸の殺菌作用機作に関する研究 (第2法) 塩素化イソシアヌル酸と多種消毒剤の殺菌効力の比較. 日細菌誌, 35, 464.
- 8) 二宮昌樹, 谷口淳介, 紫田洋文ら (1980) : 塩素化イソシアヌル酸の殺菌作用機作に関する研究 (第3法) 芽胞に対する塩素化イソシアヌル酸の殺菌効力. 日細菌誌, 35, 274.
- 9) 高野徹, 根本光輔, 古田賢治, (1986) : 鶏舎の消毒効果に及ぼす消毒液濃度の影響. 家禽会誌, 23, 33—36.
- 10) 谷勇, 川口良一, 二宮昌樹ら (1981) : 塩素化イソシアヌル酸の細胞毒性ならびにウイルス不活化作用について. 日細菌誌, 36, 508—509.
- 11) 谷勇, 川口良一, 紫田洋文ら (1982) : ジクロロイソシアヌル酸ナトリウムのヘルペスウイルス I型およびアデノウイルス III型に対する消毒効果について. 新薬と臨床, 31, 863—866.
- 12) 和田政夫, 余田岬, 渡辺理 (1983) : 慣行的消毒法によるブロイラー鶏舎の付着菌数の減少. 鶏病研報, 19, 143—146.