

8 過酢酸製剤を用いた実証試験に基づくヨーネ病対策農場における実践的な衛生管理方法の提案

釧路家畜保健衛生所

○互野 佑香 宮根 和弘
藤原 正俊

はじめに

ヨーネ病発生農場における対策は、関係機関及び団体の協力の下、北海道ヨーネ病防疫対策実施要領に基づき、検査による排菌牛の早期摘発・とう汰及び飼養衛生管理による感染防止を行っている。飼養衛生管理の中でも特に、飼槽・水槽を中心とした清掃・消毒及び特にヨーネ菌に対して感受性の高い若齢牛の管理が重要である。しかし、飼槽・水槽の日常の衛生管理に適した薬剤はなく、徹底した衛生管理の継続は困難である。今回、飼槽・水槽における使用に適し、かつヨーネ菌に有効な薬剤の検討及び継続可能な衛生管理方法についての検討を行い、これらをまとめてヨーネ病対策のための衛生管理マニュアルを作成したので、その概要を報告する。(図1)

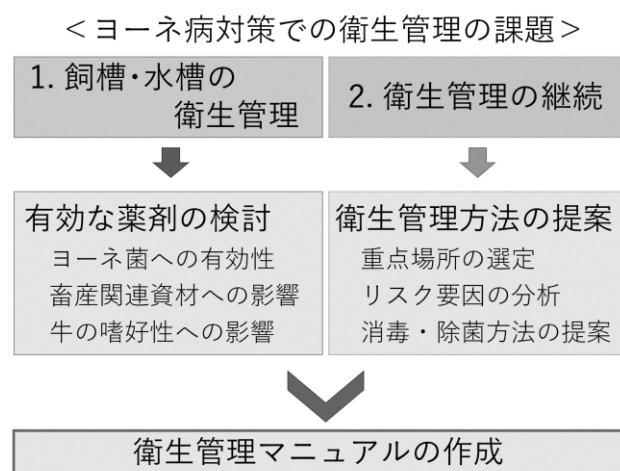


図1 取り組みの概要

I 飼槽・水槽の衛生管理

結核菌をはじめとする抗酸菌は消毒薬に対する抵抗性が高く、ヨーネ菌は抗酸菌の中でも特に消毒薬に対する抵抗性が高い細菌のひとつであることが知られている[1]。ヨーネ菌に対する消毒薬としては、石灰乳、高濃度の複合塩素系消毒薬、ジクロロイソシアヌル酸及びオルソ剤等の使用が推奨されている]が、金属の腐食、飼槽で使用した場合の臭気による嗜好性の低下及び有機物の混入による効果減弱といった問題点が存在し、これらの条件をすべて満たすものはない。そこで今回、ヨーネ菌に有効であり、有機物の影響や牛の嗜好性への影響も小さく、残留性も低いといった特長があり、飼槽及び水槽の衛生管理に適していると考えられる過酢酸製剤に着目した。

1 過酢酸製剤とは

過酢酸はヨーネ菌を含む抗酸菌に対する殺菌効果があることが確認されている[3、4]。また、有機物の影響を受けにくく[4]、さらに容易に分解するため残留性が低いという利点がある[5]。欠点としては、刺激性及び金属腐食性が強いとされている[2]。一方、鉄系の合金に対する腐食性は低く、消毒に用いても大きな問題はないとする報告や[6]、アレルギーや感作の報告はなく、安全性に優れるとする報告もある[6]。市販されている過酢酸の製品としては、医療分野で用いられる医薬品(消毒薬)、食品添加物及び畜産用資材(除菌剤)がある。

今回、畜産物への安全性を考慮し、食品添加物の過酢酸製剤を用いてヨーネ菌に対する

除菌効果及び有機物の影響といった過酢酸製剤のヨーネ菌への有効性、使用にあたっての畜産関連資材への影響、牛の嗜好性への影響の3点について実証試験を行い、ヨーネ病対策への有用性を検証した。

2 ヨーネ菌への有効性

(1) 使用薬剤

食品添加物である過酢酸製剤を 840 ppm、1,768 ppm、3,000 ppm の3種類の濃度に希釈し、実験を行った。840 ppm (200倍希釈) は既報[4]において10分間の感作でヨーネ菌を99%以上除菌した最低濃度、1,768 ppm (95倍希釈) は食品添加物として承認を受けた過酢酸製剤を牛肉及び豚肉に使用できる濃度、3,000 ppm (56倍希釈) は医療分野で用いられている医薬品としての過酢酸製剤の実用液濃度を基準に、比較的作製が容易な希釈倍率で設定した。また、有機物の影響を検証するため、各濃度の過酢酸製剤に牛胎子血清(FBS)を5%になるよう添加した。除菌効果の比較対象として、20%消石灰水の上清を使用した。

(2) 方法

各濃度の過酢酸製剤及び消石灰水 4.5 mL に 10^{10} CFU/mL のヨーネ菌液を 0.5 mL 混和し、過酢酸製剤については5分間、30分間、消石灰水については30分間の各時間常温で感作後、各混和液 0.1 mL を 0.9 mL の滅菌蒸留水で階段希釈した。 10^{-1} 希釈、 10^{-3} 希釈、 10^{-5} 希釈の菌液をマイコバクチン加ハロルド培地(寒天培地)に接種し、37°Cで3カ月培養後、菌数測定した。なお、未処理(対照)として滅菌蒸留水 4.5 mL にヨーネ菌液を 0.5 mL 混和し、同様に菌数測定した。

(3) 結果

ア 各薬剤に30分間感作させた場合

未処理の場合のヨーネ菌量が 1.5×10^9 CFU/mL であったのに対し、消石灰水では 1.8×10^7 CFU/mL、過酢酸製剤では 1.0×10^5 CFU/mL 以下に減少し、30分間感作時の除菌率は、消石灰水は約99%であったのに対して過酢酸製剤は99.99%以上であった。(図2)

イ 各濃度の過酢酸製剤に5分間感作させた場合

1,768 ppm 以上の濃度の場合、5分間感作で菌量が 1.0×10^5 CFU/mL 以下に減少し、99.99%以上の除菌率であった。(図3)

ウ 有機物の影響

有機物の添加が無い状態で99.99%以上の除菌効果が認められた840 ppm30分間感作、1,768 ppm5分間感作、3,000 ppm5分間感作の各条件では、有機物を添加しても99.99%以上の除菌効果が維持された。(図4)

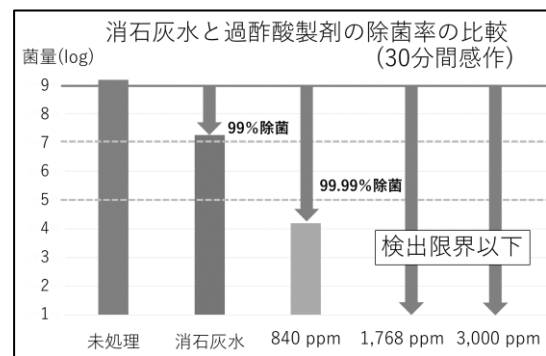


図2 各薬剤に30分間感作させた場合

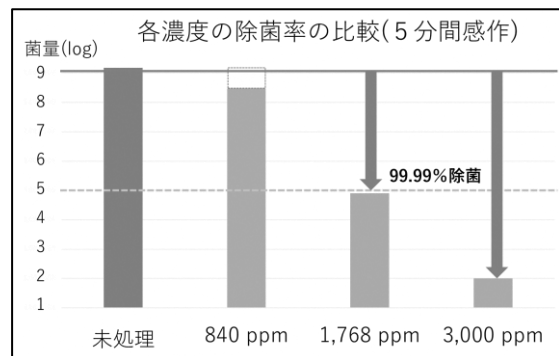


図3 各濃度の過酢酸製剤に5分間感作させた場合

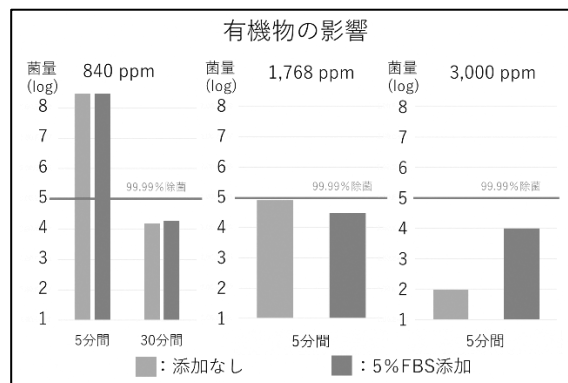


図4 有機物の影響

3 畜産関連資材への影響

(1) 使用薬剤

3,000 ppm に調製した過酢酸製剤及び、500 倍希釈した複合塩素系消毒薬、300 倍希釈した塩素系消毒薬を使用した。

(2) 方法

ポリプロピレンの容器に合成ゴム(風呂栓)、ステンレス(クッキー型)を常温で一晩浸漬し、1 回水洗した後に自然乾燥させたときの肉眼的な変化を観察した。同様の操作を 5 回行った後、さらに 5 日間浸漬し、肉眼的な変化を観察した。

(3) 結果

塩素系消毒薬の場合は 1 回の浸漬でステンレスに錆が発生し、5 回目の浸漬後に合成ゴムのわずかな硬化を確認した。過酢酸製剤及び複合塩素系消毒薬の場合はステンレスおよび合成ゴムに肉眼的な変化はなかった。ただし、過酢酸製剤では 1 回目の浸漬後、複合塩素系消毒薬では 5 日間の浸漬後に風呂栓の金属部品のメッキの剥離や錆がみられた。ポリプロピレンの容器については、いずれの薬剤の場合も肉眼的な変化はなかった。(図 5)



図 5 畜産関連資材への影響

4 牛の嗜好性への影響

(1) 方法

管内 3 農場に過酢酸製剤を配布し、2,000 ppm の過酢酸製剤を実際に使用した時の牛の様子について聞き取り調査を行った。

(2) 結果

じょうろ、簡易噴霧器およびスプレーを用いて飼槽・水槽に散布または噴霧して使用した場合、牛の嗜好性に影響はなかった。また、作業員自身も臭気を気にすることなく快適に作業に取り組めるとの前向きな回答もあった。

5 飼槽・水槽の衛生管理における過酢酸製剤の有用性

過酢酸製剤はヨーネ菌に対し、840 ppm30 分間または 1,768 ppm5 分間で 99.99 %以上の除菌率を有し、有機物の影響を受けにくいことが確認された。また、畜産関連資材への影響としては、ステンレス、合成ゴム、ポリプロピレンへの腐食性が低いことが確認された。さらに、牛の嗜好性への影響もなかった。このことから、過酢酸製剤はヨーネ病対策のための飼槽・水槽の衛生管理に有用であることが確認された。

II 衛生管理の継続

効果的な衛生管理を継続して実施することが最も重要だが、特に敷地面積が広い農場や牛舎数が多い農場では、農場内全体の徹底した衛生管理を毎日継続して行うことは困難である。そこで、重点場所の選定、リスク要因の分析、消毒・除菌方法の提案の 3 つの段階を踏んで継続的な衛生管理方法を提案した。

1 重点場所の選定

ヨーネ菌の感染リスクは感受性の高い哺乳期から育成期で高く、排菌リスクは育成期以降高くなる[7]。このことから、一般的にリスクの高い畜舎は育成舎及び感受性の高い新生子牛と排菌リスクの高い成牛が同居する分娩舎であると考えられる(図 6)。このことから、育成舎及び分娩舎を重点的に衛生管理を行う場所(重点場所)とし、各農場における牛の動線を考慮して重点場所の追加及び変更を行った。例として、牛の導入がある場合には導入牛の隔離スペース及び導入牛が合流する畜舎を追加し、自家産の牛を哺乳期

から育成期に販売し、後継牛を残さない経営形態の場合は、基本的に育成牛が農場内に存在せず、初妊牛を含む妊娠牛を導入している場合が多いため、導入牛が合流する乾乳舎を追加した。

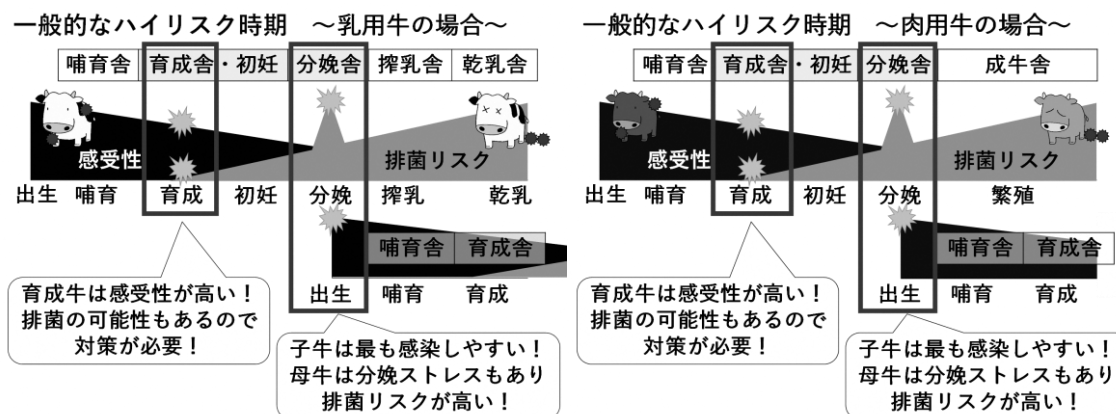


図 6 リスクの高い畜舎

2 リスク要因の分析

ヨーネ菌は主に経口感染するため、高感受性牛がヨーネ菌を経口摂取し得る状態がリスク要因となる。飼養形態として、育成牛は飼槽・水槽を利用するが、分娩舎に産み落とされた新生子牛は飼槽・水槽を利用しないことから、育成牛舎では飼槽及び水槽の汚染が、分娩舎では牛床の汚染が最大のリスク要因であると考えられる。また、畜舎構造毎の特性として、畜舎に隣接してパドックがあり、パドックに使用済み敷料や堆肥が一時的に積み重ねられている場合や、パドックの水はけが悪く一部に水が溜まりやすい場合には、高濃度に環境が汚染されている可能性があり、また、水たまりを牛が飲水等に利用してしまう可能性がある。また、繋ぎ牛舎では、哺育牛が成牛と同一牛舎の尿溝側で飼養されている場合、フリーストール及びフリーバーンと同様に親牛の糞便が飛び散ることにより哺乳牛の飼養場所に排菌リスクの高い親牛の糞便が入る可能性がある。(図 7)

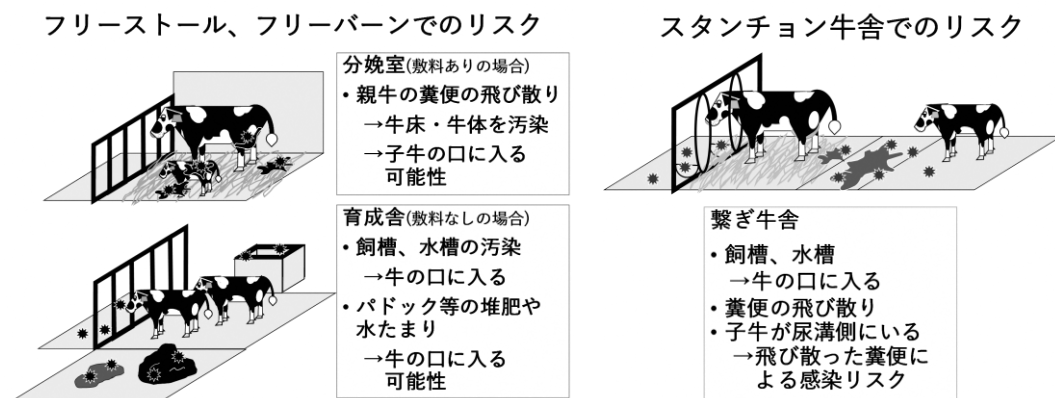


図 7 畜舎構造毎のリスク要因分析の例

3 消毒・除菌方法の提案

(1) 飼槽・水槽

飼槽及び水槽は牛の摂食・飲水の間であるため、除菌に要する時間が短く、牛の嗜好性を低下させないことが求められる。このため、2,000 ppm に希釈した過酢酸製剤を清掃後に散布または噴霧することを提案した。過酢酸製剤は、I で行った実証試験により 2,000 ppm 5 分間の感作でヨーネ菌を 99.99 % 除菌できるため、除菌に要する時間が短い。また、蒸発後は有効成分が残留しないため、散布した過酢酸製剤が乾燥した後は嗜好性及び安全性への影響がなく、通常どおり飼槽及び水槽を使用することができる。過

酢酸製剤の使用に際する注意点として、原液には非常に強い刺激性があるため、希釈時には手袋等を装着し、十分注意して作業するよう指導した。

(2) 牛床

牛床は常に糞便が存在する場所であるため、有機物の存在下でも有効であり、ヨーネ菌への効果が長時間維持される消毒薬が求められる。このため、有効かつ簡便な方法として、頻回の消石灰散布を提案した。消石灰の作用は高 pH によるため、有機物の影響を受けにくく、また、数日間にわたり殺菌効果を維持することから、消毒回数を抑えることができる。さらに、粉末または乳剤であるため、消毒したい箇所を被覆し牛が直接接触することを防ぐ効果も期待できる。

(3) パドック

パドックは牛床と同様に常に糞便が存在する場所であり、さらに排泄物の除去等を完全に行うことが困難であるため、比較的簡便な方法として定期的な消石灰散布を提案した。また、堆肥や使用済みの敷料が積まれている場合は、除去または堆肥周囲への重点的な消石灰散布を提案した。パドック内に水たまりができる場合についても同様に水たまりの周囲への重点的な消石灰散布を提案した。

(4) 繋ぎ牛舎

繋ぎ牛舎では、感染リスクの高い哺育牛及び育成牛が排菌リスクの高い成牛の糞便に曝露されることを防ぐため、哺育牛及び育成牛と成牛とを畜舎または区画を分離して飼養することを提案した。飼槽・水槽及び牛床の消毒・除菌方法については、(1) 及び(2)と同様の方法を提案した。

III ヨーネ病対策のための衛生管理マニュアルの作成

I 及び II の内容をとりまとめ、ヨーネ病対策のための衛生管理マニュアル（マニュアル）を作成した。まず、今回提案する衛生管理の目的として、農場全体の感染牛を減少させるために新規感染を防止することを提示した。また、衛生管理の継続のためには特に重要なポイントを定めて作業負担を軽減しながら必要な作業を確実に実施すること及び作業場所に適した薬剤を使用することが必要であるため、II で提案した重点場所の設定方法を記載した。リスク要因の分析及びリスクを低減するための対策については、畜舎構造毎に図を用いて例示した（図 8）。飼槽及び水槽の衛生管理については、過酢酸製剤の有効性及び使用方法について具体的な希釈方法や使用時の注意点を含めて記載し、I の実証試験結果を参考資料として添付した。作成したマニュアルは、ヨーネ病対策農場への立入時に持参し、口頭説明を加えて農場へ配布している。

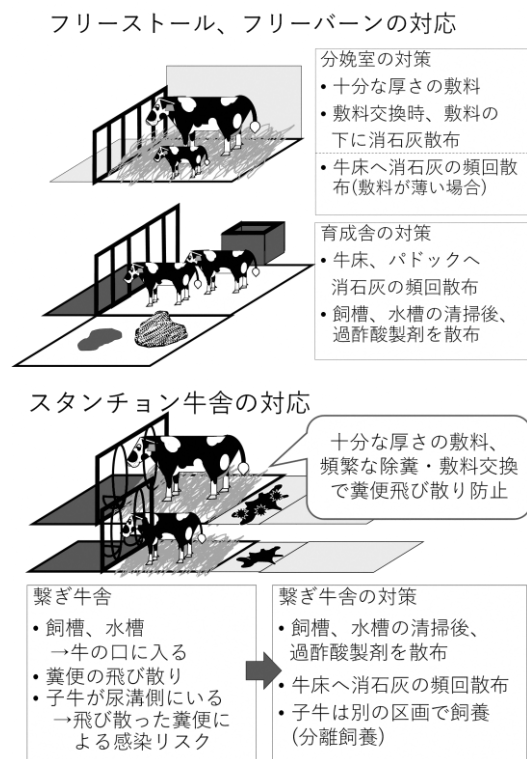


図 8 畜舎毎のリスク分析及び対策例

IV まとめ

今回我々は、ヨーネ病対策農場における環境衛生の向上のため、飼槽・水槽の衛生管

理に適した薬剤がないこと及び衛生管理の継続が困難であることの 2 点を改善するための取り組みを行った。前者に対しては有効な薬剤の検討として実証試験を行い、過酢酸製剤はヨーネ菌の除菌効果があり、畜産関連資材への影響が小さく、牛の嗜好性への影響もないことから飼槽・水槽の衛生管理に有用であることを確認した。後者に対しては、重点場所の選定、リスク分析、消毒・除菌方法の提案の 3 つの段階を踏むことにより、継続的な衛生管理方法の提案を行うことができた。これらをあわせて、ヨーネ病対策のための衛生管理マニュアルとし、管内のヨーネ病対策農場に向けて発信している。定期的な環境検査と併せ、この取り組みを継続することによりヨーネ病感染拡大防止を推進する。

引用文献

- [1] Stabel JR, Turner A, Walker M: An Eco-friendly Decontaminant to Kill *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis*, J Microbiol Methods, 176(2020)
- [2] 令和 2 年 2 月 26 日付け消安第 5374 号農林水産省消費・安全局長通知（別紙）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（家畜伝染病予防法施行規則第 30 条及び第 33 条の 4 関係）
- [3] Kralik P, Babak V, Dziedzinska R: Repeated cycles of chemical and physical disinfection and their influence on *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* viability measured by propidium monoazide F57 quantitative real time PCR, Vet J, 201, 359–364(2014)
- [4] 岩井友美、茅野崇、吉田敦、奥住捷子、森屋恭爾、木村哲：有芽胞菌を含めた各種細菌および肝炎ウイルスに対する過酢酸製剤の効果について、日本環境感染学会誌、18、395–400（2003）
- [5] 西功、浅利誠志、豊川真弘、堀川晶行、西村信哉：臨床使用後の医療器具および臨床分離株に対する過酢酸製剤の殺菌効果、環境感染、17、325–328（2002）
- [6] 尾立達治、遠藤一彦、井田有亮、斎藤隆史、川上智史：過酢酸製剤の歯科用金属製器材に対する腐食性とその低減化に関する研究、日本歯科保存学雑誌、54、208–221（2011）
- [7] 榎原伸一：牛ヨーネ病の疫学と国内の防疫対策、家畜感染症学会誌、6、71–77（2017）