

ヨーネ病発症事例とその清浄化対策

淡路家畜保健衛生所

○篠倉和己 三宅由利子 久保哲二
吉田裕一 亀山衛 香川裕一 加登岳史

平成25年4月に、牛のヨーネ病防疫対策要領及び家畜伝染病予防法施行規則が改正され、ヨーネ病の患畜確定検査が、2週間以上空けての2回のエライザ検査から糞便を検体としヨーネ菌遺伝子量を測定するリアルタイムPCR法(rPCR)に変更されました(表1)。

表1 牛のヨーネ病検査

検査方法(検体)	改正前	改正後
エライザ法(血清)	<ul style="list-style-type: none"> ● 法定検査法 ● ヨーネ病の確定診断 ● 1回目陽性→疑似患畜(2週間以上) ● 2回目陽性→患畜 	<ul style="list-style-type: none"> ● 法定検査法 ● 補助的診断
リアルタイムPCR法(糞便)	<ul style="list-style-type: none"> ● 法定検査法ではない ● 自主とう法の基準 	<ul style="list-style-type: none"> ● 法定検査法 ● ヨーネ病の確定診断 ● 基準値以上→患畜

- 要領等の改正(平成25年4月1日)
 - ①牛のヨーネ病防疫対策要領
 - ②家畜伝染病予防法施行規則 別表第一

管内でのヨーネ病の発生(図1)は、定期検査が全頭検査に移行した平成16年度から増加しましたが、平成20年度を最後に発生はなく、発症牛を病性鑑定し患畜としたのは平成14年度以降ありませんでした。今回、検査法の変更後、管内で初めてとなるヨーネ病の患畜を摘発し、ヨーネ病防疫対策要領に基づき清浄化対策を行っているので概要を報告します。

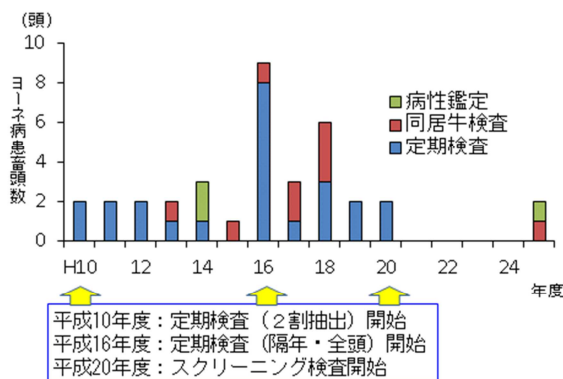


図1 管内におけるヨーネ病発生状況

療獣医師から病性鑑定依頼があり、ヨーネ病抗体検査をスクリーニング法で実施したところ陽性となりました。2日後に糞便を採取し、rPCRを実施したところ、ヨーネ菌遺伝子量が 1.32×10^2 pg/ μ lと基準値以上であり、ヨーネ病患畜と確定し、法令殺しました。なお、直接鏡検では抗酸菌は確認されませんでした。

2 病性鑑定成績

患畜は消瘦し、ヨーネ病に特有の浮腫を認めました(図2)。病理解剖では、回腸粘膜がヨーネ病特有のわらじ状の肥厚を呈しており、組織検査ではマクロファージや巨細胞等からなる肉芽腫性腸炎の所見を認めました(図3)。マクロファージ系細胞中には抗酸菌を認めました。回腸の病変は散見される程度で弱く(表2)、発症の初期病変であったと考えられました。分離培養により、回腸、空腸、回腸腸間膜リンパ節、糞便からヨーネ菌が検出されました(表3)。



図2 患畜外貌

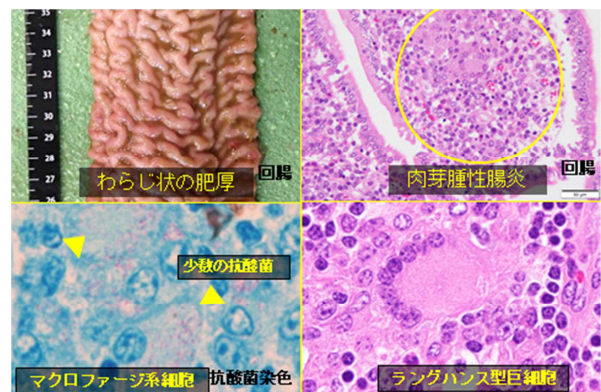


図3 解剖・病理組織所見

1 発生状況

平成26年3月に、管内酪農家1戸にて、分娩後1週間を経過する6歳の乳用牛1頭が、分娩前から水様性の下痢を呈し消瘦しているとの臨告で診

表2 病理組織所見

部位	病変程度	
	HE染色	抗酸菌染色
回腸①(回盲部より10cm上)	+	+
回腸②(回盲部より30cm上)	+	+
回腸③(回盲部より50cm上)	+	+
回腸④(回盲部より1m上)	+	+
空腸(ハ°板が見える所)	-	-
回盲リンパ節	++	+++
腸間膜リンパ節①(回腸)	++	+
腸間膜リンパ節②(空腸)	-	-
乳房上リンパ節	-	-

※肉芽腫性炎：マクロファージ、類上皮細胞、ラングハンス巨細胞の集簇

表3 細菌検査成績

部位	ヨーネ菌分離
回腸①(回盲部より10cm上)	+
回腸②(回盲部より30cm上)	+
回腸③(回盲部より50cm上)	+
回腸④(回盲部より1m上)	+
空腸(ハ°板が見える所)	+
回盲リンパ節	-
腸間膜リンパ節①(回腸)	+
腸間膜リンパ節②(空腸)	-
乳房上リンパ節	-
糞便	+

3 防疫対策

発生農家に対し、立ち入り制限、靴底消毒、車両消毒、初乳給与方法の指導を行いました。初乳給与は、経費面から市販の初乳製剤を用いず殺菌機を導入しました。

殺処分後の全頭検査では、1頭がrPCR定量判定陽性であり、患者として殺処分しましたが、顕著な病変はありませんでした。

牛舎は、環境面を考慮し2日間かけて、除糞、消毒、消石灰散布を実施しました。

まん延防止のための同居牛検査は、3か月後から、これまでに2回、ヨーネ菌検査とスクリーニング検査を行い、スクリーニング検査陽性の場合にはrPCRを実施し、全て陰性でした。この同居牛検査は3年間実施することとなっています。

4 環境中ヨーネ菌遺伝子検査

農場の汚染状況を調査する目的で、牛舎内の敷料と飲水中のヨーネ菌遺伝子量を、消毒前、患者殺処分1か月後、同8か月後の3回、rPCRにより測定しました(表4、5)。検査場所は、成牛舎の搾乳牛・乾乳牛・分娩後の飼養牛舎、搾乳室、発

酵堆肥、育成舎、子牛舎で、表中には遺伝量を6段階のレベルで示しました。そして、牛の陽性基準であるレベルⅢ ($1 \times 10^{-3} \text{Pg}/2.5 \mu\text{l}$) を環境検査の汚染基準として、消毒の効果判定をしました。消毒前は発症牛の居た分娩直後の飼養牛舎、乾乳及び堆肥舎等で遺伝子を多く検出しましたが、8か月以降は減少し、レベルはⅢ以下となったことから、新たな排菌牛は存在しないと考えられました。また、分離培養は全て陰性であり、遺伝子は死菌由来である可能性も考えられました。1か月後に採材した水槽1か所から遺伝子が検出されたので、口からの感染防止の観点から水槽の洗浄等を畜主に指導しました。

表4 環境中ヨーネ菌遺伝子検査成績 1

場所	材料	遺伝子レベル			表記	遺伝子レベル Pg/2.5μl		
		消毒前	1か月後	8か月後				
成牛舎	水槽①②	0	0	0	多 ↑ ↓ 少	V 1×10 ⁻¹ IV 1×10 ⁻² III 1×10 ⁻³ II 1×10 ⁻⁴ I 1×10 ⁻⁵ 以下 0 検出なし		
	水槽③	0	Ⅲ	0				
	乾乳A通路	敷料(堆肥)	Ⅳ	Ⅳ				
	乾乳B通路	敷料(堆肥)	Ⅳ	Ⅳ			Ⅱ	
	乾乳牛床	敷料(堆肥)	Ⅲ	Ⅳ			Ⅱ	
	搾乳A通路	敷料(堆肥)	Ⅲ	Ⅳ			Ⅰ	
	搾乳A牛床	敷料(堆肥)		Ⅲ			Ⅱ	
	搾乳B通路	敷料(堆肥)	Ⅲ	Ⅳ			Ⅱ	
	搾乳B牛床	敷料(堆肥)	Ⅲ	Ⅲ			Ⅱ	
	分娩直後	敷料(堆肥)	V	Ⅳ			0	
	搾乳室待機場	敷料		Ⅱ			0	
	堆肥舎	堆肥	V	Ⅳ			Ⅱ	
	Ⅲ以上(参考基準)/検査数		8/11	10/13			0/12	

☐: 検査せず

*ヨーネ菌分離検査は全て陰性
→死菌由来の可能性も考えられる

子牛・育成舎では、敷料に戻し堆肥を使用している育成2で、消毒前に遺伝子が検出されていましたが、1か月後には堆肥を使用していない牛舎でも検出されたため靴底消毒などの再徹底を指導しました。いずれも、8か月後の遺伝子レベルはⅢ以下となりました。

この農家では、誕生後すぐに子牛をカーフハッチに移動し、成牛舎とは別の育成牛舎で管理しています。この方法は遺伝子検査の結果からも、まん延防止対策に有効であると考えられました

表5 環境中ヨーネ菌遺伝子検査成績 2

場所	材料	遺伝子レベル			表記	遺伝子レベル Pg/2.5μl	
		消毒前	1か月後	8か月後			
子牛	敷料(オガ粉)	0	Ⅱ	0	多 ↑ ↓ 少	V 1×10 ⁻¹ IV 1×10 ⁻² III 1×10 ⁻³ II 1×10 ⁻⁴ I 1×10 ⁻⁵ 以下 0 検出なし	
育成1	水槽④	0	0	0			
	区画1	落下便等	0	0			
	区画2	落下便等	0	0			
	区画3	落下便等	0	Ⅱ			
育成2	水かづ	0	0	0			
	通路	敷料(堆肥)	Ⅲ	Ⅲ			
	牛床	敷料(堆肥)		Ⅲ			
育成3	水かづ	0	0	0			
	牛床	敷料	0	0			
Ⅲ以上(参考基準)/検査数		1/9	2/10	0/10			

☐: 検査せず

*ヨーネ菌分離検査は全て陰性

5 疫学調査

ヨーネ病は、若齢期に感染しやすいとされています。今回の患畜牛が14か月齢まで飼養されていた生産農家を調べたところ、全て自家産牛であり、過去にヨーネ病の発生はなく、生産農家に感染源があったのかは不明でした(図4)。また、この農家は平成21年に廃業しており、飼養されていた牛は8戸の酪農家へ移動または食肉処理されましたが、いずれの農家でもヨーネ病の発生はありませんでした。

患畜発生農家は、過去にヨーネ病の発生はありませんでしたが、県内外からの導入牛が多く、この中に排菌牛がいて感染した可能性も考えられました。患畜は過去に3度、直近で3か月前に5条検査(スクリーニング法)で陰性を確認していましたが、分娩前後のストレス等が引き金となって発症したと考えられました。また、発生農家には患畜牛の娘牛1頭が生存しています。垂直感染の可能性が考えられることから今後も、注意が必要と思われる。

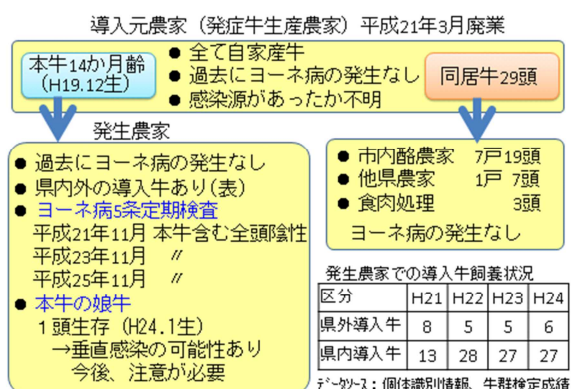


図4 疫学調査

6 まとめ

管内で5年ぶりとなるヨーネ病の発生がありました。rPCRにより迅速に確定診断、淘汰、同居牛検査が実施できました。rPCRによる環境中のヨーネ菌遺伝子検査は、畜主への衛生意識の啓発及び排菌牛の存在を知るために有効と思われました。今後、現行の清浄化対策を継続し、農場のヨーネ病清浄化を目指します。