

1 研究用試薬を用いたリアルタイム PCR 法で全頭陽性を示したヨーネ病高度汚染農場の清浄化

熊谷家畜保健衛生所

○安井 杏菜・馬場 未帆

1 はじめに

ヨーネ病は、ヨーネ菌の感染によって起こる慢性の水様性下痢、泌乳量の低下、消瘦等を主徴とする反すう動物の疾病である。現在のヨーネ病検査法としてはヨーニン検査、補体結合反応検査、抗体検査、分離培養検査、ヨーネ病に特徴的な臨床症状および直接鏡検による糞便中抗酸菌の確認、リアルタイム PCR 法がある。リアルタイム PCR 法は平成 17 年頃からカテゴリーⅡ農場の同居牛検査において補助的診断法として活用されており、これは農研機構動物衛生研究部門が示すヨーネ病検査マニュアル(平成 23 年 1 月 31 日版)に記載されていた研究用試薬を用いた検査方法(以下、従来法)である。その後、平成 25 年に従来法を元に開発されたリアルタイム PCR(以下、確定検査)が確定診断法となった。本県ではカテゴリーⅡ農場における同居牛検査に抗体検査に加えスクリーニング的に従来法を用いており、今回県内の肉用牛繁殖農家で従来法を活用したヨーネ病清浄化対策を行い短期間で清浄化を達成したのでその概要を報告する。

2 農家概要および発生状況

当該農場は黒毛和種繁殖経営で成牛 40 頭、育成牛 20 頭、子牛 10 頭を飼養し、繁殖牛は自家育成および導入しており、子牛は家畜市場に出荷していた。牛舎は母牛と子牛が離乳まで共に

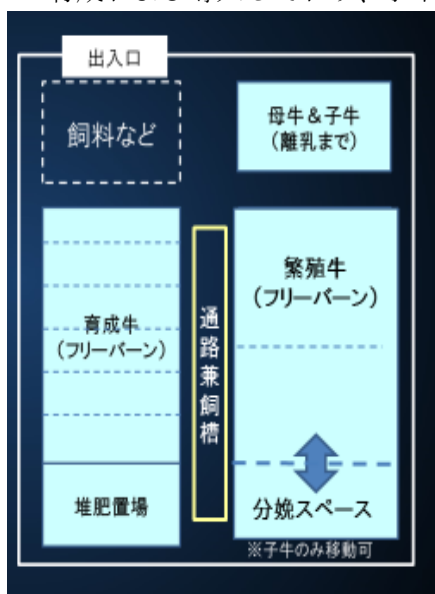


図 1 牛舎構造

過ごす構造になっていた(図 1)。発生状況は、平成 26 年 1 月に畜主より夏ごろから複数の繁殖牛が下痢を繰り返して消瘦している(図 2)ので調べて欲しいとの依頼があり、同年 1 月 8 日に病性鑑定のため、5 頭の抗体検査と確定検査を実施した。



図 2 消瘦牛写真

その結果、抗体検査では3頭、確定検査では5頭全頭が陽性となり患畜と診断した(表1)。本農場はカテゴリーⅡとなったため、その後はヨーネ病防疫対策要領に基づき、同居牛検査を実施していくこととなった。

3 同居牛検査および防疫対策

平成26年1月15日に第1回同居牛検査として55頭の抗体検査および従来法を実施し、抗体検査では3頭、従来法では全頭が陽性となり53頭のDNA量は確定検査で陽性となる $1.00E-03pg$ 以上であった。さらに農場の環境中ヨーネ病汚染状況を把握するため敷料の検査も実施したところ、6検体全てが陽性かつ5検体でDNA量 $1.05E+01\sim 3.65E+00pg$ となりDNA量が非常に高かったため、ヨーネ菌により農場内が高度に汚染されていることが推測された。これにより、従来法陽性牛は発症牛が排菌したヨーネ菌が一過性に腸管を通過している通過菌に起因する可能性を考慮し、現時点では従来法陽性牛を全頭確定検査せず抗体陽性牛3頭のみで確定検査を実施し、陽性であったため殺処分とした。

環境中のヨーネ菌汚染度を低下させる必要があったため、徹底した防疫対策を実施した。1つ目の防疫対策として家保職員も支援し、牛舎の徹底的な清掃消毒を行った。まず、牛糞の除去、堆肥・敷料の搬出、こびりついた汚れをヘラで落とした後に動噴で水洗を行った。牛舎、堆肥舎、車両には石灰乳を塗布し、運動場にも石灰散布を行った(図3)。2つ目の防疫対策として飼料を床に直接置いていたため糞が付着し、その飼料が感染源となる恐れがあったため飼槽を新設し、糞と接触しないような構造とした(図4)。3つ目の防疫対策として管理方法の改善を行った。子牛対策として出生直後に母子分離、人工初乳の給与、人工哺育を行い、子牛の口からヨーネ菌に汚染された糞便や初乳が入らないようにした。飼育牛房も変更し、子牛は出生後

表1 病性鑑定結果

	年齢	産地	症状	抗体検査	確定検査	
					定性判定	定量判定(DNA量)
No1	12歳	自家産	削瘦	+	+	+ (3.32E+02)
No2	17歳	自家産	削瘦	-	+	+ (1.39E-01)
No3	17歳	自家産	削瘦	+	+	+ (1.68E+02)
No4	13歳	自家産	削瘦	-	+	+ (8.28E-03)
No5	3歳	自家産	削瘦・軟便・起立不能	+	+	+ (2.88E+02)

5頭とも患畜と診断→殺処分



図3 防疫対策1



図4 防疫対策2

にペンで管理することで母子分離飼育を徹底した。また、運動場の土壌は、消毒後も汚染している可能性が高いため使用を制限した。また、飼料を作付していた圃場には堆肥を還元しており汚染の可能性が高いことから使用を禁止した。4 つ目の防疫対策としてまん延防止対策を行った。子牛は家畜市場への出荷を自粛し、肥育農家 2 戸との相対取引に限定した。出荷前には PCR 検査を実施し、陰性牛のみ出荷することとした。さらに、ヨーネ菌分離陽性であった患畜産子 2 頭は平成 26 年 3 月 6 日に自主淘汰した。

防疫対策後、2 回目の同居牛検査を平成 26 年 7 月 22 日に 45 頭実施し、従来法で 9 頭が陽性であった。抗体検査での陽性はなかったため環境汚染が影響している可能性を考慮し、DNA 量が多く患畜の子であるなどの疫学的関連がある個体 5 頭のみ確定検査を実施し全頭殺処分した。3 回目以降の検査で従来法陽性牛は徐々に減少していき、平成 27 年 8 月に再び患畜を摘発したもののそれ以降の摘発はなかった(表 2)。また、同居牛検査と同時に実施していた牛舎環境の PCR 検査結果の陽性率も徐々に低下していった。平成 28 年 6 月 28 日の検査で環境の陽性率が再び上昇しているが、このときには患畜摘発はなかった(表 3)。これは患畜発生時に作成した堆肥を撒いた圃場の使用再開時期と重なるため、まだヨーネ菌 DNA が残存している粗飼料を給与したことで通過菌を含んだ牛糞により敷料が汚染されたことが原因と推察された。

表 2 同居牛検査

検査月日	H26			H27			H28		H29		H30
	1月 1回目	7月	11月	3月	8月	11月	2月	6月	1月	9月	1月
検査頭数	55	45	44	41	46	46	45	44	40	41	43
PCR従来法 陽性	55	9	2	0	2	1	1	4	0	0	0
ELISA抗体 検査陽性	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
PCR確定検査 陽性 (患畜摘発)	3	5	0	-	1	0	0	0	-	-	-

表 3 牛舎環境検査

検査月日	H26			H27			H28		H29		H30
	1月 1回目	7月	11月	3月	8月	11月	2月	6月	1月	9月	1月
検査件数	6	7	7	7	10	10	10	11	19	10	10
陽性件数	6	3	1	1	1	1	1	6	2	0	1

4 清浄化の達成

同居牛検査を計 10 回行った後、平成 30 年 4 月 9 日実施の定期検査が陰性となり、清浄化を達成した。そしてカテゴリ I への復帰により市場出荷を再開することができた。清浄化達成までは 4 年間という短期間であった。早期清浄化を達成した理由として、①環境汚染を考慮した陽性牛の判定②牛舎消毒、子牛の飼養管理見直しなどの実施③従来法により感染牛を早期に摘発④汚染圃場の使用禁止の徹底などが考えられる。

5 経済性

ヨーネ病の発生による経済的損失について試算した。まず、殺処分及び自主淘汰した牛についての損失額は評価額から手当金を差し引いた額とした。患畜は 14 頭殺処分し、2 頭を自主淘

汰したため、前者で 160 万円、後者で 30 万円の損失があった。また子牛を相対取引に限定したことによる損失額は市場平均価格から取引価格を差し引いた額とした。年に 250 万円の損失があり、4 年間で約 1,000 万円の損失が生じた。その結果、相対取引期間が長引くとその分 250 万円/年の損失が増えていくと推測され、ヨーネ病高度汚染農場を 4 年間で清浄化を達成したことは経済的損失を最低限に留めることができたと考える。

6 考察

当該農場はヨーネ菌の大量排菌牛の存在により、同居牛全頭が遺伝子検査陽性となるようなヨーネ病高度汚染農場であった。今回、従来法を活用することにより通過菌の可能性のある個体を患畜とせず、抗体検査陰性の感染牛を早期に摘発できたことが農家の経営を維持しながらの早期清浄化へつながった。また、肉用牛繁殖農家でヨーネ病の発生があると子牛を販売できないなど経済的影響が大きいため、早期清浄化は重要である。今後はスクリーニング検査で陽性、確定検査で陰性であった個体のモニタリングを継続し、ヨーネ病清浄性を保っていく。

7 参考文献

- 1) 農林水産省：牛のヨーネ病防疫対策要領（平成 25 年 4 月 1 日 24 消安第 5999 号）
- 2) 宮田基ら（埼玉県熊谷家畜保健衛生所）：肉用牛のヨーネ病高度汚染農場におけるリアルタイム PCR 法を活用した清浄化対策, 埼玉県業績発表会（平成 26 年）