

2 1 ヨーネ病発生時の同居牛検査に関する一考察

倉吉家畜保健衛生所 ○下岸照和 渡邊祐治

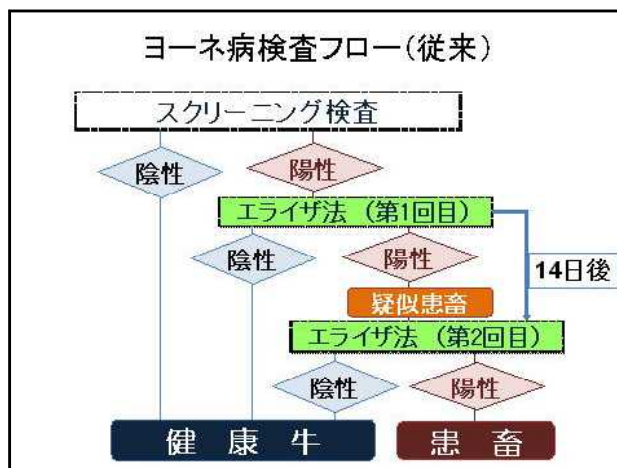
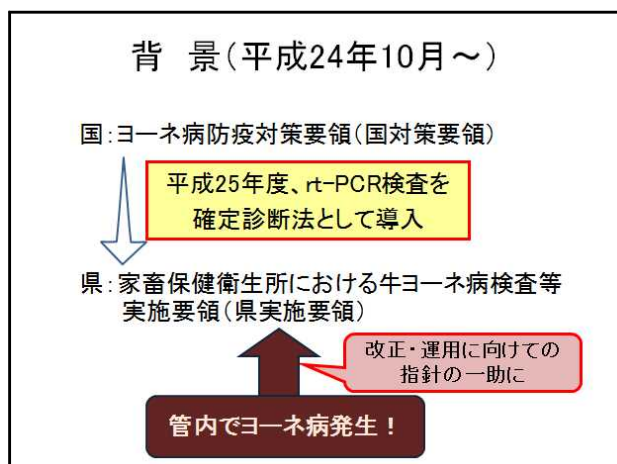
1 はじめに

ヨーネ病はヨーネ菌の経口感染によって起こる反芻獣の慢性消化器感染症で、家畜伝染病予防法で法定伝染病に指定されている。発症牛は長い潜伏期間の後、持続性の下痢・栄養状態の悪化による消瘦をおこし死亡。全国で年間400頭前後の発生頭数をみているが、鳥取県では平成16年度の12頭の発生をピークに、平成19年度以降は1年に0頭～1頭の発生をみるにとどまっている。

本疾病については、国が家畜伝染病予防法に基づく「ヨーネ病防疫対策要領」（以下「国対策要領」とする）により検査等の手続きを定めている他、当県においても「家畜保健衛生所における牛ヨーネ病検査等実施要領」（以下「県実施要領」とする）を定めている。

今回、平成25年度に国の対策要領が、リアルタイムPCR検査を確定診断法として導入することに伴い改正されるとのアナウンスがあった平成24年10月以降、管内で発生したヨーネ病を通じて得られた知見に基づき、当県の実施要領の改正・運用に向けての指針の一助となった事例があったので報告する。

従来実施されてきたヨーネ病検査フローは右表のとおり。全ての検査牛を対象にスクリーニング検査を実施。この検査で陽性であった牛について更にエライザ法検査を2回実施。また仮に患畜牛が発生した場合、同じ農場内の6ヶ月齢以上の繁殖牛・繁殖候補牛を対象に、エライザ法検査を実施し、必要に応じその他検査を実施する。



2 ヨーネ病発生の経緯

今回のヨーネ病発生農場は、乳肉複合経営。飼養頭数は600頭あまり。搾乳牛の産子は哺育、育成を農場内で行い、搾乳牛又は肥育牛へと育成される。

平成24年10月、5条告示検査によりこの農場を対象にヨーネ病と結核病の検査を実施。1

2ヶ月齢以上の乳用牛268頭を採血。ヨーネ病スクリーニング検査を実施したところ、うち1頭が陽性値を呈した。10月24日再度当該牛の採血を行い、エライザ法検査を行ったところ陽性値を呈し、疑似患畜に。本来の検査フローだと2週間後に再度エライザ法検査を行う予定となるが、更に翌日、結核病判定検査のため農場に赴いた際、当該牛が下痢便を排出していたため、急遽採糞を実施。なお当該牛は北海道からの導入牛、3産目の分娩直前。削瘦しておらず、他の臨床症状も呈していなかった。

採取した糞便にチール・ネルゼン染色を行ったところ、ヨーネ菌に特徴的な集合状の抗酸菌像を確認し、ヨーネ病患畜と診断。また同じ糞便を用いてリアルタイムPCR検査を行ったところ、陽性値の6万倍量のヨーネ菌遺伝子を確認。10月30日に殺処分ならびに病性解剖を実施。空回腸にヨーネ病に特有のわらじ状肥厚を確認した。

農場概要

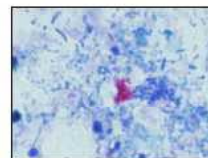
- ・ 乳肉複合経営
- ・ 飼養頭数 637頭
- ・ 牛群
 - 搾乳牛 231頭
 - 育成牛 119頭
 - 哺育牛 68頭
 - 肥育牛 219頭
- ・ 飼養形式(乳用牛) フリーストール形式



病性鑑定結果

○糞便(10月25日採糞):

- ・ 直接鏡見でヨーネ菌に特徴的な抗酸菌像を確認
→ ヨーネ病患畜と診断
- ・ rt-PCR検査で陽性値の6万倍量のヨーネ菌特異的遺伝子を確認



○10月30日 殺処分ならびに解剖:

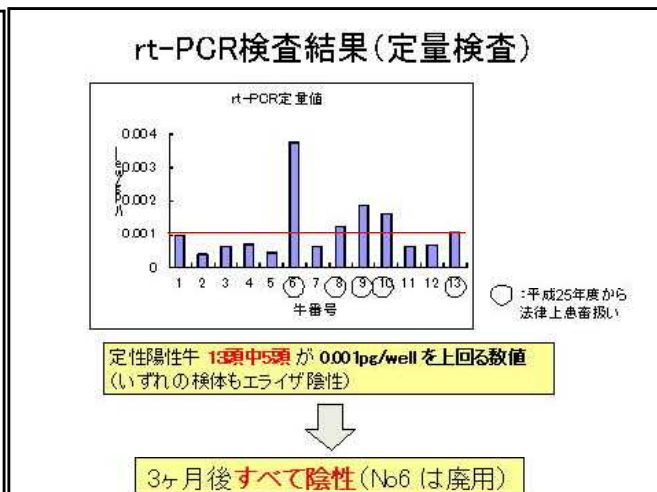
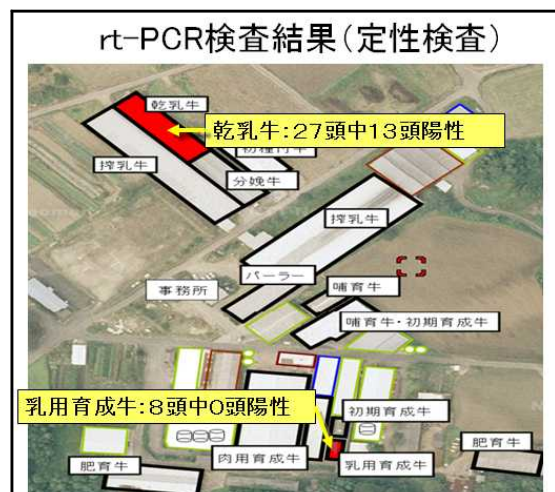
- ・ 空回腸にヨーネ病に特有のワラジ状肥厚
- ・ 腸管膜リンパ節の軽度の腫脹



3 同居牛検査の実施

殺処分後直ちに、牛舎内への消毒薬の噴霧と石灰散布による消毒を実施すると共に、6ヶ月齢以上の牛を対象に同居牛のエライザ検査を実施。およそ300頭について全頭陰性を確認した。更に患畜と同居していた乾乳牛ならびに乳用育成牛を対象に35頭の採糞を実施。この35頭を対象にリアルタイムPCRの定性判定ならびに定量判定を行った。

リアルタイムPCRによるヨーネ病検査は、ヨーネ菌に含まれる特異的遺伝子IS900を標的

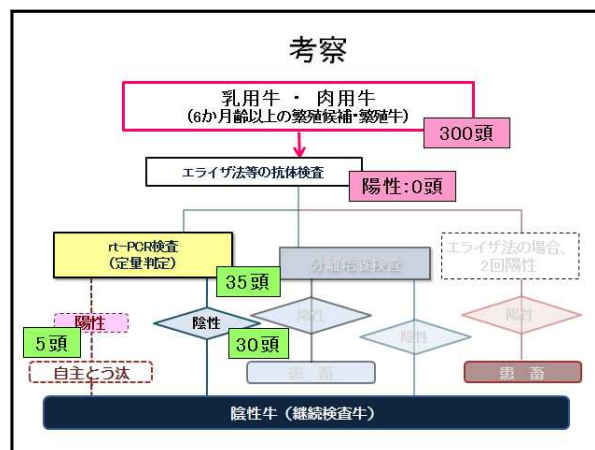


とし、IS900を増幅し、蛍光物質を増幅産物につけ、その光具合で増幅を見、何サイクルで増幅するかで遺伝子を計量。また併せてIS900が特異的に解離する温度、摂氏87℃時点で遺伝子が検出されるかを確認する。摂氏87度時点においてIS900が検出されたか否かで、定性陽性か否か判断。更に最終的にどれだけの量の遺伝子が検出されたかで定量判定を行う。平成25年度からの新たな国対策要領においては、1 ウェルあたり0.001ピコグラム以上の遺伝子が検出された場合に定量陽性と定められている。35頭の同居牛の定性試験の結果は、乾乳牛の採材分27頭のうち、13頭が定性陽性、乳用育成牛8頭のうち定性陽性の牛は0頭であった。

更にこの定性陽性牛13頭のうち5頭から0.001ピコグラムを上回る遺伝子量が検出されたが、これらの牛について、3ヶ月後の平成25年2月、同様にリアルタイムPCR検査を行ったところ、既に廃用とされ検査ができなかった6番の牛を除き、全ての牛が定性・定量検査のいずれもで陰転していることが確認された。

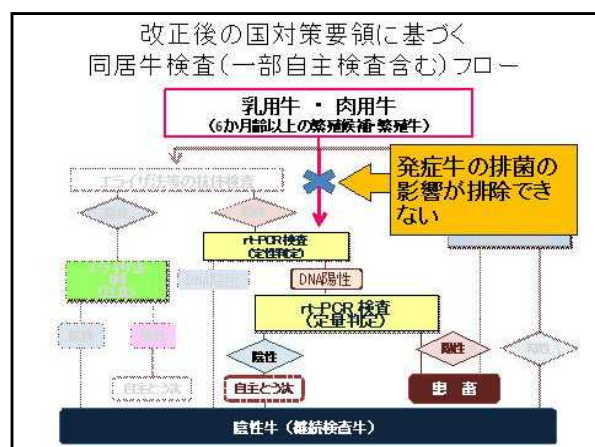
4 考察

発生直後の同居牛検査において、エライザ法による抗体検査結果は全頭陰性であったものの、35頭を対象としたリアルタイムPCR検査の結果、35頭のうち5頭が陽性であったが、発症牛の殺処分、牛舎の消毒を行い、3ヶ月を経過した後に再びリアルタイムPCR検査を実施したところ、全ての牛が陰転した。また1回目の検査で定性陽性となった牛が発症牛と同居していた乾乳牛に限られていたことから、1回目の検査において、発症牛が排菌したヨーネ菌あるいはその遺伝子断片が、一過性に陽性牛の消化管を通過している状態を反映していたことが強く疑われた。



5 まとめ

今回の改正後の国対策要領に基づく同居牛検査のフローにおいては、6ヶ月齢以上の全ての繁殖牛・繁殖候補牛を対象に、分離培養検査、リアルタイムPCR検査、エライザ法等の抗体検査、または抗体検査の実施後のリアルタイムPCR検査 いずれかを行うこととされている。このうち、分離培養検査は、結果判明に時間を要することから、生乳出荷とのかねあいでの現実的な検査手段とはいえない。直接にリアルタイムPCR検査を実施すること



も可能となったが、今回の事例で考察されたように、発症牛の排菌の影響が排除できない。

以上の結果から、ヨーネ病発生時の同居牛検査においては、まず抗体検査を行い、その後抗体検査陽性牛のみを対象としてリアルタイムPCR検査を実施するフローが、最適であると考えられた。このため本件を通じて得られた知見をふまえ、当県においては抗体検査陽性牛にのみリアルタイムPCR検査を実施する方針を県実施要領に反映。

