

管内酪農場におけるヨーネ病清浄化への取り組み

県央家畜保健衛生所

大屋 祥子	阿部 美樹
浅川 祐二	仲澤 浩江
荒木 尚登	井澤 清
吉田 昌司	

はじめに

ヨーネ病は、ヨーネ菌の経口感染等によって起こる伝染病で、家畜伝染病予防法（法）で家畜伝染病に指定されている。反芻獣に慢性の水様性下痢や削瘦等の症状が認められるほか、明確な症状のない不顕性感染も特徴である。全国での発生頭数は、平成 26 年は 783 頭、平成 27 年は 691 頭と毎年発生が続いており^{1) 2)}、全国的に清浄化対策が求められている。また、平成 25 年 4 月より法施行規則別表第一にリアルタイム PCR (qPCR) による遺伝子検査が記載され、より迅速な診断が可能となった。県内では平成 25 年度に管内酪農場において、遺伝子検査が導入されてから初めてヨーネ病患者が摘発され、その後継続発生があったため、「牛のヨーネ病防疫対策要領」に基づき、3 年間にわたる清浄化対策を実施し、平成 28 年度に清浄化に至った。本事例ではまん延防止のための同居牛検査（同居牛検査）に加えて環境中のヨーネ菌遺伝子検出検査（環境検査）を行い、当該農場のヨーネ病を清浄化することができたので、その概要を報告する。

概要

管内酪農場において、平成 25 年 9 月に実施した法第 5 条第 1 項に基づくヨーネ病の定期検査で患者 1 頭が摘発された。患者の殺処分及び農場の洗浄・消毒を実施したが、翌月の同居牛検査で新たに患者 2 頭を摘発し、遺伝子検査定性判定陽性牛（定性判定陽性牛）4 頭が確認された。患者及び定性判定陽性牛（患者等）の殺処分及び自主淘汰後、再度農場の洗浄・消毒を行い、同居牛検査を実施したところ、平成 26 年 2 月には全頭陰性であった。しかし、その後の同居牛検査で平成 26 年 6 月に 1 頭、平成 26 年 10 月に 2 頭の定性判定陽性牛が確認された。患者等は摘発後すぐに殺処分及び自主淘

汰され、農場の消毒も随時実施しているにもかかわらず、その後も定性判定陽性牛が散発的に確認されたことや、最初に摘発された患畜が摘発直前に運動場と牛舎を移動していたことから、農場内の環境中の広範囲にヨーネ菌が残存している可能性があった。そこで、環境中のヨーネ菌残存状況を把握するため、環境検査を実施することとした。

当該農場は、発生時には乳用牛 38 頭（搾乳牛 32 頭）を、対尻式のつなぎ形式で飼養していた。

当該農場では、一部県外導入牛もいたが、そのほ

とんどは自家産牛で、多くの育成牛は県内外に預託していた。農場内には、搾乳舎、乾乳・育成舎、堆肥舎の他、水路を挟み、広い運動場がある（図 1）。なお、運動場は患畜摘発後、消石灰の散布を実施し、その後 1 年間は使用を自粛していた。平成 26 年 10 月に使用を再開したところ、使用した牛が定性判定陽性牛となり淘汰され、以後使用を休止している。

環境検査は平成 27～28 年で計 4 回実施し、その都度環境検査によってヨーネ菌遺伝子残存が確認された場所を中心に、消毒等の徹底を指導した。環境検査実施以降、平成 27 年 10 月、平成 28 年 10 月に実施した同居牛検査は全頭陰性となり、平成 28 年 10 月に当該農場のヨーネ病清浄化に至った。

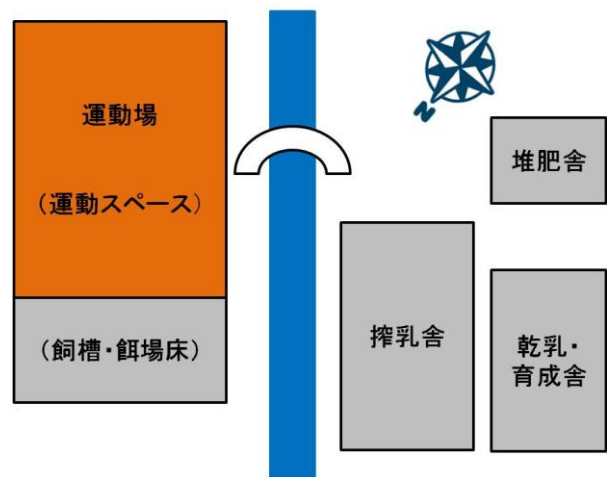


図 1 農場配置図

環境検査の概要

環境検査の採材には、10×10cm のガーゼ、割り箸、蒸留水、50ml 遠沈管等を用いた。採材に用いる器具等は、オートクレーブ滅菌後、遺伝子を壊すために UV 照射を行った。

検体はスワブ（滅菌蒸留水で湿らせたガーゼで拭ったもの）及び運動場の 1 検体のみ土壌とした。スワブは、割り箸を用いて採材場所全体をくまなく拭うように採材し（写真 1）、採材場所の面積が広い場合は複数枚のガーゼで採材し、プール検体とした。

環境検査は、平成 27 年 3、7、9 月、平成 28 年 9 月



写真 1 採材方法

の計 4 回行い、採材場所は、平成 27 年に実施した 1～3 回目は運動場 2 箇所、搾乳舎 9 箇所、乾乳・育成舎 2 箇所とし、平成 28 年に実施した 4 回目は 3 回目までの採材場所に堆肥舎 1 箇所を加えた。

ヨーネ菌遺伝子検出方法は、ヨーネ病検査マニュアル³⁾と同様の方法で実施し、ヨーネスピン(ファスマック)を用いたスピнкаラム法により DNA を抽出後、qPCR により検査を実施した。

環境検査結果

平成 27～28 年に実施した計 4 回の環境検査の結果は以下の 1～4 のとおりであった。

1 1 回目 (平成 27 年 3 月)

運動場の餌場床及び飼槽の 2 箇所、搾乳舎の飼槽 6 箇所及び通路 3 箇所、乾乳・育成舎の乾乳牛床及び育成牛床の 2 箇所の計 13 箇所環境検査を実施したところ、運動場の 2 箇所(餌場床、飼槽)からヨーネ菌遺伝子が検出された(表 1)。

2 2 回目 (平成 27 年 7 月)

運動場における採材場所を 1 回目と変更し、運動スペースの土壌及び餌場床・飼槽のプール検体の 2 箇所とし、搾乳舎、乾乳・育成舎は前回と同様の場所から採材を実施したところ、運動場の 2 箇所(餌場床・飼槽、運動スペース)と、搾乳舎の 2 箇所(飼槽)、計 4 箇所からヨーネ菌遺伝子が検出された(表 1)。

3 3 回目 (平成 27 年 9 月)

前回と同様の場所から採材を実施したところ、運動場の 1 箇所(餌場床・飼槽)と搾乳舎の 1 箇所(飼槽)、計 2 箇所からヨーネ菌遺伝子が検出された(表 1)。

4 4 回目 (平成 28 年 9 月)

前回採材を実施した場所に堆肥舎 1 箇所を加えて 14 箇所の採材を実施したところ、運動場の 1 箇所(餌場床・飼槽)からヨーネ菌遺伝子が検出された(表 1)。

平成 27～28 年に実施した計 4 回の環境検査において、乾乳・育成舎及び堆肥舎からはヨーネ菌遺伝子は検出されなかった。また、環境検査の結果により、運動場のような環境中では長期間にわたってヨーネ菌遺伝子が残存することが確認され、今後の課題となった。

表1 検出検査結果

	1回目 H27年3月		2回目 H27年7月		3回目 H27年9月		4回目 H28年9月	
	検出 箇所数	遺伝子量	検出 箇所数	遺伝子量	検出 箇所数	遺伝子量	検出 箇所数	遺伝子量
運動場	2/2	0.0017 0.0001	2/2	0.0004 0.0028	1/2	0.0003	1/2	0.0003
搾乳舎	0/9	ND	2/9	0.0004 <0.0001	1/9	<0.0001	0/9	ND
乾乳・ 育成舎	0/2	ND	0/2	ND	0/2	ND	0/2	ND
堆肥舎	—	—	—	—	—	—	0/1	ND

- ※ 検出箇所数とは「ヨーネ菌遺伝子検出箇所/採材箇所数」を示す
- ※ 遺伝子量の単位はpg/2.5μl ND: 検出されなかった
- ※ ピンク色部分: ヨーネ菌遺伝子検出場所

環境検査による効果

環境検査の実施により得られた効果について、2点あげる。1点目に、農家に対する指導の説得力が向上した。目に見えない環境中のヨーネ菌遺伝子の存在を把握できるようになり、農家にとって現状がわかりやすくなった。2点目に、患畜等の継続発生防止のための対策に農家自身が主体的に取り組んだ。実際に当該農場では、環境検査により判明したヨーネ菌遺伝子残存場所に重点的に対策を実施した。具体的には、運動場の使用を休止すること及び農場内の消毒を徹底することの2つがあげられる。

その後、環境検査実施以降に行った同居牛検査において、定性判定陽性牛は確認されなくなり、検査結果は全頭陰性となった。このことから、環境検査は農場内環境中のヨーネ菌遺伝子残存状況の指標となり、当該農場のヨーネ病清浄化の一助となったと考える。

まとめ

本事例では、同居牛検査において、定性判定陽性が確認された牛は農家の強い意向もあり、検査

直後に自主淘汰された。さらに、環境検査により農場内のヨーネ菌遺伝子残存場所を確認し、その結果に基づき、運動場の使用休止、徹底した消毒等の対応を行ったことで、患畜等の継続発生防止に効果的な取り組みとなり、当該農場のヨーネ病を清浄化することができた。

今後の課題として、運動場のヨーネ菌遺伝子残存があげられる。環境検査の結果から、運動場のような効果的な洗浄や消毒が難しい環境中では長期間にわたってヨーネ菌遺伝子が残存することが確認されたため、今後も当面運動場の使用は休止するとともに、農場内の消毒も継続する必要があると考えている。将来的に運動場を使用することを目標とし、今後も消毒の継続等の指導を続けていきたい。

引用文献

- 1) 農林水産省：家畜伝染病発生累年比較（1934－2014）
http://www.maff.go.jp/j/syouan/douei/kansi_densen/pdf/h26_kachiku_ruinen.pdf
- 2) 農林水産省：家畜伝染病の発生月報（平成 27 年 12 月）
http://www.maff.go.jp/j/syouan/douei/kansi_densen/attach/pdf/kansi_densen-1.pdf
- 3) 独立行政法人 農業・食品産業技術総合研究機構 動物衛生研究所・細菌寄生虫研究領域
（ヨーネ病）：ヨーネ病検査マニュアル（2011.10 版、2014.10 版、2016.4 版）