

1 ギガファームにおける牛のヨーネ病清浄化に向けた取組

県央家畜保健衛生所

土合理美、猿山由美、手塚典子

はじめに

ヨーネ病は、ヨーネ菌(*Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis*)の経口感染によって引き起こされる、牛、めん羊、山羊などの反芻動物の疾病で、我が国では家畜伝染病に指定されている。感染後も多くの個体は発症せず、半年から数年にも及ぶ長い潜伏期間を経て、持続性の下痢を発症するが、無症状の時期においても糞便中に排菌が認められることが知られている¹⁾。

本病の診断は、抗体検査(ELISA法)、糞便培養、ヨーニン反応及び遺伝子検査(リアルタイムPCR法)等の方法で実施されている。牛のヨーネ病防疫対策要領(以下、防疫要領)²⁾では、患畜の発生後、年に3回の上記の検査法による同居牛検査を行うこと、続発があった場合にはその時点からさらに年3回の同居牛検査を繰り返すとともに、その後2年にわたって年1回の同居牛検査を行うことが定められている。しかし、大規模農場ではコストや労力の面から要領に沿った同居牛検査の実施が難しく、また、多検体処理が可能な抗体検査で診断を行うことが多いため、抗体価が上昇する前の排菌初期の感染牛を見逃す可能性が考えられる。

今回、管内の大規模農場において、患畜の早期摘発のための清浄化対策を実施し、抗体検査及び遺伝子検査を併用することで一定の成果が得られたので、その概要を報告する。

農場概要

当該農場は、成牛の飼養頭数約2,400頭の管内最大規模の酪農場である。毎月約70頭の初妊牛を主に北海道から導入しており、過去にはオーストラリアからも輸入していた。導入牛は農場到着後、導入牛舎に集められ、その後分娩舎を経て、搾乳牛舎へ移動する。出生した子牛は肥育素牛として、生後すぐに子牛舎へ移動し、約2か月齢で系列の肥育農場へ移動する。

経緯

当該農場におけるヨーネ病の患畜は、本県でサーベイランス検査が開始された平成11年当初から摘発されており、平成16年には、オーストラリアからの輸入牛が、動物検疫所の細菌培養検査で検疫解放後に患畜と診断された。また、平成25年には同じくオーストラリアからの輸入牛が、清浄性確認検査の際に患畜として摘発されたが、当該畜は水様性下痢を発症しており、農場内への高度汚染が疑われた。農場側はヨーネ病清浄化への意欲を持っていたものの、飼養頭数の多さや検査ストレスによる乳量の低下が懸念されたことなどから、対策の実施に踏み切れずにいたが、協議の上、平成25年度から本格的な清浄化対策を開始した。

検査体制の推移

平成25年度以降に実施した検査体制及び実

表 1 検査体制の概要と推移

| H25 | H26 | H27 | H28 | H29 | H30 |
|-------------------------|-----|-----|---------------|-------------|-----|
| 全頭検査(ELISA法) | | | | | |
| 乾乳牛検査(ELISA法) | | | 高齢乾乳牛検査(qPCR) | 分娩牛検査(qPCR) | |
| ELISA法陽性牛・豪州導入牛検査(qPCR) | | | | 導入牛初回分娩時検査 | |
| 導入牛検査 | | | | | |
| 環境検査(パラー糞便) | | | | | |
| 環境検査(分娩牛舎) | | | | | |

施内容等の概要を、表 1 に示した。

1 平成 25～27 年度

平成 25 年度から、年に 1 回、ELISA 法による全頭検査を開始した。全頭検査は、1 日 4 班体制で 2 日にかけて農場飼養牛全頭の採血を行い、並行して抗体検査を行った。採血終了日の翌日には全頭の抗体検査を終了するために、所内全体で対応し、地域の獣医師及び農場従業員をそれぞれ 10 名以上動員して実施した。加えて、乾乳牛の ELISA 法による抗体検査を月に 1 回行い、さらに、その陽性牛及びオーストラリアからの輸入牛について遺伝子検査を実施した。

平成 26 年度から、ELISA 法による全頭検査のほかに、農場採材（農場従業員が検体採取）による導入牛の遺伝子検査を開始した。また、各検査は、生乳の出荷の関係もあり乾乳牛を中心に行われていたことから、搾乳牛群のモニタリング検査として、パラー床落下糞便（以下、パラー糞便）を用いた環境材料の遺伝子検査を開始した。

その結果、平成 25 年から 27 年までの 3 年間で合計 8 頭の患畜を摘発したものの、環境材料からはヨーネ菌の遺伝子が継続して検出され（図 1）、抗体検査を主体とした検査体制では、排菌初期の感染牛を見逃していることが疑われた。

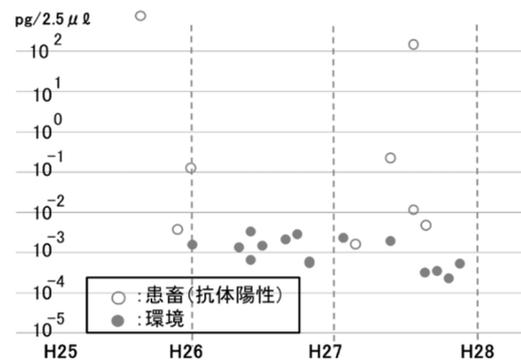


図 1 検査結果（平成 25 年～27 年）

2 平成 28 年度

平成 28 年度から、遺伝子検査を主体とした検査体制として、遺伝子検査の実施頭数を拡大し、乾乳牛で実施していた月 1 回の抗体検査を廃止した。更に、平成 27 年度までに摘発した患畜は平均 73.5 か月齢であったことから、ハイリスクと考えられる高齢牛を対象を限定して、月 1 回の高齢乾乳牛の遺伝子検査を開始した。検査の効率性を高めるため、農場採材の直腸便を最大 10 検体プールとしてスクリーニング遺伝子検査を実施し、陽性検体については家畜防疫員が再採材を行って個別に遺伝子検査を行った。定性陽性となった牛は、追跡牛として継続して検査を実施し、市川らの基準³⁾を参考に自主とう汰を指導した。

また、農場従業員を対象に講習会を実施し、ヨーネ病への理解を促すとともに対策を共有

し、清浄化への意識向上を図った。

平成 28 年次に摘発された患畜は 4 頭で、全て全頭検査での摘発であった (図 2)。4 頭中 3 頭は、ハイリスクとした高齢牛であったが、遺伝子検査の対象を変更後、全頭検査を実施するまでの期間に乾乳とならなかつたため、遺伝子検査の対象とならず、検査対象の拡大が必要であることが示唆された。また、高齢乾乳牛検査は年間で 506 頭実施したが、患畜の早期摘発のためには、1 年間に全頭を対象にできるような遺伝子検査の体制構築が必要であると考えられた。

| 患畜 | 月齢 | 遺伝子量 (pg/2.5 μℓ) | ELISA法 | 摘発 |
|------|----|---------------------|--------|--------------|
| 28-1 | 56 | 3.81 × 10 | + | 全頭検査(ELISA法) |
| 28-2 | 88 | 5.85 × 10 | + | 全頭検査(ELISA法) |
| 28-3 | 89 | 4.19 × 10 | + | 全頭検査(ELISA法) |
| 28-4 | 88 | 1.59 × 10 | + | 全頭検査(ELISA法) |

図 2 患畜摘発状況 (平成 28 年次)

3 平成 29 年度

平成 29 年度からは、月 1 回の遺伝子検査の対象を、高齢乾乳牛から飼養牛全頭に拡大し、採材時期を分娩直後に変更した。

分娩牛検査の有用性として、分娩などのストレスによりヨーネ菌の排菌リスクが高まることが知られていることから¹⁾、感染牛の効率的な摘発が可能になると考えられた。分娩牛を検査対象とするにあたっては、出生子牛の感染が懸念されるものの、当該農場では出生子牛を後継牛として育成せず、肥育素牛として出荷しているため、感染子牛が農場内での新たな感染源になる可能性は低いことから、農場側の理解が得られ、4 月後半の分娩牛から採材に協力していただいた。

平成 29 年次に摘発された患畜は 5 頭で、そのうち 3 頭は抗体検査で陰性であったことから、

抗体価が上昇する前の感染牛を早期に摘発することができた (図 3)。

| 患畜 | 月齢 | 遺伝子量 (pg/2.5 μℓ) | ELISA法 | 摘発 |
|------|----|---------------------|--------|--------------|
| 29-1 | 77 | 3.46 × 10 | + | 高齢牛検査(qPCR) |
| 29-2 | 44 | 1.97 × 10 | - | 分娩牛検査(qPCR) |
| 29-3 | 78 | 1.37 × 10 | - | 分娩牛検査(qPCR) |
| 29-4 | 62 | 1.56 × 10 | - | 分娩牛検査(qPCR) |
| 29-5 | 46 | 5.58 × 10 | + | 全頭検査(ELISA法) |

図 3 患畜摘発状況 (平成 29 年次)

また、年度内の分娩牛検査及び導入牛検査の合計検査頭数は 2,305 頭となり、全頭抗体検査と遺伝子検査の併用により、ほぼ全頭の年 2 回検査が可能となった。

しかし、導入後 2 回目の分娩時に摘発された患畜 No. 29-2 を含め、若齢の患畜が摘発されたこと、導入時検査から 2 回目の分娩時検査までに 1 年以上の空白がある個体が患畜として摘発されたことなどから、導入牛の初回分娩時検査の必要性が示唆された。

4 平成 30 年度

平成 30 年度からは、導入牛検査及び分娩牛検査を月 2 回行い、導入牛については農場到着後の隔離期間中に検査を実施するとともに、定量及び定性陽性牛への速やかな対応を目指した。また、導入牛の初回分娩時検査を年度の途中から実施した。

更に、分娩牛での患畜摘発が続いていたため、環境のモニタリング検査の対象に、パーラ一糞便に加えて分娩房周辺を追加した。

平成 30 年次に摘発された患畜は 1 頭で、全頭検査での摘発であった。当該牛は前年度の導入牛で、導入時検査で定性陽性となり追跡牛としたものの、その後頻回の追跡検査を実施できないまま、全頭検査により患畜として摘発された (図 4)。このことから、追跡牛の

検査体制についても協議が必要であると考えられ、検討を開始した。

| 患畜 | 月齢 | 遺伝子量 (pg/2.5 μ l) | ELISA法 | 摘発 |
|------|----|--------------------------|--------|--------------|
| 30-1 | 40 | 1.49 \times 10 | + | 全頭検査(ELISA法) |

図 4 患畜摘発状況 (平成 30 年)

まとめ及び考察

平成 25 年度からの検査頭数の推移を、図 5 に示した。

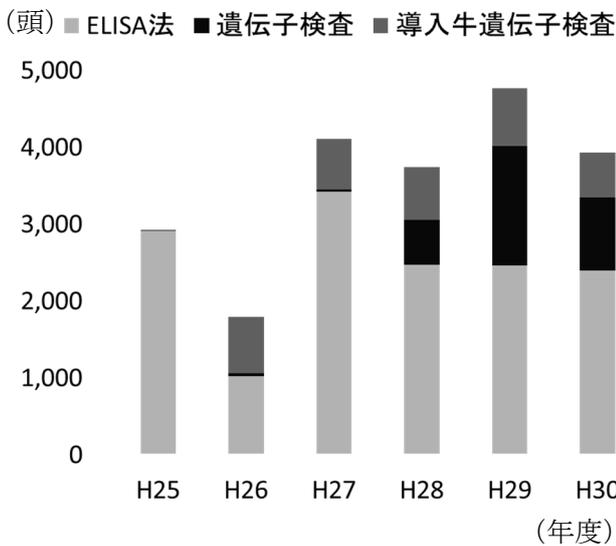


図 5 検査頭数の推移

平成 25 年度から 27 年度にかけては、抗体検査が主体の検査体制であったが、平成 28 年度に農場側と協議を行った上で体制を変更し、遺伝子検査の対象を拡大した。平成 29 年度には、抗体検査の実施頭数が 2,468 頭、導入牛及び分娩牛の遺伝子検査の実施頭数が 2,305 頭となり、いずれも 2,000 頭を超え、2 種の検査を併用した検査体制を確立するとともに、農場内のほぼ全頭を年に 2 回検査することが可能となった。

検査体制の変更後も、患畜は毎年摘発されているものの、平成 26 年から開始した環境材料 (パーラー糞便) の検査では、平成 29 年 5 月を最後に遺伝子は検出されなくなり、搾乳群内の感染牛が低減したことが示唆された (図 6)。環境材料の遺伝子検査成績が改善した理由としては、遺伝子検査の実施によって排菌初期の感染牛が摘発されるようになり、環境中の菌量が低減された可能性が考えられた。また、平成 30 年度から分娩房周辺での環境検査を開始し、農場環境の清浄化の参考とした。

感染牛を摘発し、環境改善を推進するため、遺伝子検査で定性陽性となった個体は追跡牛とし、自主とう汰を指導した。遺伝子量の高か

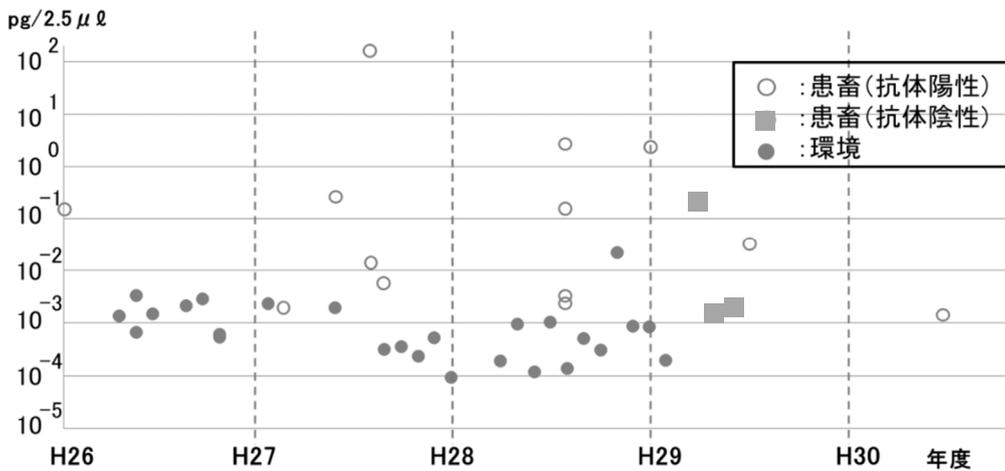


図 6 環境材料及び患畜糞便の遺伝子量の比較

った個体については早期に対応するよう指導したほか、定性陽性となった検査以降、3回の検査で連続して陰性となった個体については追跡牛の指定を解除し、自主とう汰の優先順位を明確化した。

農場側は、当初は症状の無い牛のとう汰に対し抵抗感を持っていたものの、平成28年度に農場従業員を対象に行った研修会以降は、ヨーネ病の特性を理解し、早急に対応を行うことが可能となった。また、検査体制の変更前には必ず農場側と協議を行うことで、検査の意義や変更の必要性を共有し、前向きな協力体制を築くことができた。

課題と今後の方針

本事例では、抗体検査及び遺伝子検査を併用した検査体制を確立し、ほぼ全頭の年2回検査を行うことで、感染牛の早期摘発が可能となり、農場内の清浄化に向けて大きく前進することができた。また、対策の実施に伴って農場側の意識も向上し、清浄化への期待もいっそう高まっている。

しかし、本農場では常に市場等から新たな初妊牛が導入されている。導入時検査を継続しても、疾病の特性上、検査結果のみで非感染牛であると決定することは困難であることから、検査によって農場内の清浄性を一旦は確認できたとしても、その後患畜が摘発される可能性は否定できない。農場内の真の清浄性を保つためには、導入元農場の清浄性を確認し、確実にヨーネ菌に感染していない牛を導入するとともに、定期的なモニタリング検査を実施することが重要である。

また、今回実施した検査体制は、防疫対策要領に規定されていないものであり、感染牛が存在しない真の清浄化が進んでも、要領上の検査

要件を満たすとは言えず、清浄化の認定は不透明である。要領で規定されている年3回の同居牛検査は、現実的に大規模農場での実施は難しく、また、実施できたとしても、ヨーネ病の特性上、真の清浄性を担保できるとは考えにくい。より精度・感度の高い新たな検査法の開発や、要領がより実効性のあるものになることを期待するとともに、今後も必要に応じて検査体制を改良しながら、農場に合わせた検査を実施し、清浄化対策を推進していきたい。

参考文献

- 1) 農林水産省消費・安全局長通知. 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) 永田礼子. 最新の家畜疾病情報（XⅢ）ヨーネ病, 日獣会誌, 69 第8号, (2016)
- 3) 市川優ら. 第56回栃木県家畜衛生業績発表会集録, 5-11, (2015)