

4. リアルタイム PCR を用いた酪農家における牛ヨーネ菌の 浸潤調査及び清浄化に向けた取り組み

豊後大野家畜保健衛生所¹⁾ 大分家畜保健衛生所²⁾
○梅木英伸¹⁾・河野宣彦¹⁾・猪原明子¹⁾・伊藤雅之¹⁾
病鑑 滝澤亮²⁾・病鑑 山田美那子²⁾・病鑑 佐藤亘²⁾

【はじめに】

近年、ヨーネ病は全国的に摘発頭数は増加する傾向にあり、県下においては 1997 年に初の摘発以来 24 農家 56 頭（2009 年 9 月現在）の自主淘汰を含む摘発牛を認めている。また、ヨーネ病はワクチン予防・治療が難しく、発生農場の清浄化にはヨーネ病感染牛を早急に発見し排除するしか手段がなく、診断には塗抹染色鏡検法、ELISA 法、ヨーニン反応等があるが菌の特性により検出が困難な場合があり、最も有効な診断法である培養分離法は培養時間が長いことから早急な感染牛摘発・環境汚染把握には対応が難しい。しかし、リアルタイム PCR（IS900 遺伝子検出）は、高感度・迅速な検査法であることからヨーネ病の診断法として注目されている。

今回、ヨーネ病再発防止の対策を講じているが、12 年間摘発牛の散見を繰り返す酪農家において、リアルタイム PCR を用いて環境内のヨーネ菌浸潤状況を把握し、早急・的確な対策を講じてヨーネ病の清浄化に向けた指導を実施した。また、1 例であるが分娩した感染牛とその子牛を用いて胎盤感染の有無について検討を行ったので併せて報告する。

【材料及び方法】

環境内浸潤調査は、牛舎消毒前後に生食綿花の拭い等により農場環境（搾乳・子牛・育成・隔離・肥育牛舎、堆肥舎、飼料室、バルク室、事務所、圃場、乳汁等）の 56 検体について、野生動物の汚染調査は、牛舎内・周辺草地にシャーマントラップ 93 個を 5 日間設置しネズミを捕獲した。また採取した検体は、リアルタイム PCR によって調査した（現在追加調査中）。胎盤感染調査は、感染牛の母牛と初乳未接種（人工初乳接種）の子牛について病性鑑定を行い胎盤感染の有無について調査した。

【結果及び考察】

環境内浸潤調査では、牛舎消毒前において搾乳牛舎床 1 検体（1/5）、堆肥 2 検体（2/2）、堆肥散布圃場の土壌 4 検体（4/5）、10 年以上堆肥未散布圃場の土壌 1 検体（1/3）から IS900 遺伝子の検出を認め、当該農場における感染牛の存在と堆肥への濃厚汚染が疑われた。

これらの結果から、感染牛の摘発（発生農場検査）・淘汰、牛舎消毒、堆肥の完熟化等を指導した。その後、堆肥から遺伝子の検出は認められなかったが、バンクリーナー直下の糞から 1 検体（1/4）遺伝子の検出を認め、感染牛の存在が疑われた。また、野生動物の汚染調査では、アカネズミ 1 個体の捕獲のみで遺伝子の検出も認めなかった。

胎盤感染の有無は、母牛の病理組織学的検査の結果、好発部位とされる回腸下部から回盲部にかけて軽度な肉芽腫性腸炎及び肉芽腫性リンパ節炎を認めたが、抗酸菌染色では陽性像を認めなかった。細菌学的検査では、直腸内容から IS900 遺伝子の検出を認めたが、子牛では肝臓、脾臓、腸管、腸内容から遺伝子の検出を認めなかったことから、今回の症例では胎盤感染は確認されなかった。

【まとめ】

リアルタイム PCR を用いて当該農家のヨーネ菌浸潤調査を実施した結果、短期間で感染牛の存在と環境汚染状況が把握でき早急な対策が講じられた。しかし、農家のヨーネ病の清浄化にはまだ至らず、今後とも現在実施しているヨーネ病再発防止対策と併用して本検査法を実施することにより、早急・的確な問題点の抽出と対策を講じることが可能と思われることから、引き続き清浄化に向けて取り組みを実施していきたい。