

## 1 長期にわたる大規模酪農場でのヨーネ病清浄化達成までの取組

県北家畜保健衛生所

安田奈絵、安西真奈美、青木亜紀子

### はじめに

家畜伝染病の一つであるヨーネ病は、ヨーネ菌を病原体とする慢性疾病であり、従来は主に糞便を用いた分離培養による細菌学的検査及び ELISA 法による抗体検査で患畜を診断してきた。分離培養は最も有効で信頼できる方法であるが、液体培地を用いた場合でも 2～10 週間と長い培養期間を要する。一方、抗体検査は多検体の迅速な検査が可能である反面、ヨーネ菌以外の非定型抗酸菌が原因となる非特異反応の存在や、抗体が上昇するのは感染後期であることから、抗体検査のみでは抗体陰性排菌牛が摘発できない<sup>1)</sup>などの問題が指摘されている。

我が国では、平成 11 年から、家畜伝染病予防法第 5 条によるブルセラ病及び結核病検査に追加されてヨーネ病の抗体検査を開始した。しかし、抗体検査のこれらの問題のため、平成 20 年に国のヨーネ病防疫対策要領が改正され、リアルタイム PCR 検査(以下、PCR)が細菌学的検査に代えて実施できるようになり、平成 25 年には家畜伝染病予防法施行規則が改正され、PCR が確定検査法に追加された。

本県でも、平成 20 年に栃木県ヨーネ病防疫対策要領(以下、県要領)を改正し、PCR を本病の対策に取り入れた。平成 24 年に当所でカテゴリー II 農場を対象に PCR による全頭検査を実施した結果、多くのカテゴリー II 農場で抗体陰性排菌牛が飼養されていることが判明し<sup>2)</sup>、PCR が確定検査法に追加された平成 25 年以降は、患畜摘発に加え、清浄性確認検査

で積極的に PCR を実施し、遺伝子量が患畜基準値(糞便抽出物中の遺伝子量が  $1.0 \times 10^{-3}$  pg/2.5  $\mu$ g)未満の定性陽性牛についても自主とう汰を推進して、ヨーネ病の早期清浄化に取り組んできた。

しかし、国内でのヨーネ病患畜の摘発頭数は年間数百頭から 1,000 頭前後で推移し、依然として増加傾向にある<sup>3)</sup>。加えて、国内では年々牛飼養農場の大規模化が進んで、1 戸あたりの飼養頭数が増加しており<sup>4)</sup>、管内の大規模農場も 42 農場となった。このような中で、管内のカテゴリー II 農場は 6 農場あり、そのうち 4 農場が大規模農場であるため、本病の清浄化達成には大規模農場に合わせた対策が必要となってきた。

今回、平成 17 年度に初発があった大規模酪農場で対策に PCR を取り入れ、17 年間にわたる対策に取り組み清浄化を達成したので、概要を報告する。

### 農場概要

本農場はヨーネ病発生以前から規模拡大に取り組んでおり、平成 17 年度の初発時には成牛 120 頭、育成牛・子牛 110 頭を飼養し、令和 4 年度の清浄化達成時には、成牛 320 頭、育成牛・子牛 100 頭にまで増頭した大規模酪農場である。不定期に県内外から初妊牛を導入しており、最大で年間 30 頭程度の導入があった。なお、育成牛の外部預託はしていなかった。

主な飼養形態はフリーストール及びフリー

バーンで、子牛は子牛舎内のハッチで個別飼養していた。敷料には、堆肥を発酵させ、オガクズやもみがら等の副資材を混ぜた戻し堆肥を使用していた。発生当初、新生子牛の管理において、プール初乳を給与していた他、哺乳スペースに空きがない場合、生後数日間母子が同居することもあった。

### 患畜摘発の経過

ヨーネ病の初発は、平成 18 年 2 月に難治性下痢を発症した 59 か月齢の牛で病性鑑定を実施したところ、抗体検査陽性、糞便の直接塗抹のチール・ネルゼン染色で菌塊が確認され、患畜と確定された。

初発後、翌月の同居牛検査で患畜 4 頭が摘発されて以降、令和 4 年度に清浄化を達成するまでに計 17 頭の患畜を摘発した。うち、抗体検査で平成 17 から 24 年度までに 12 頭、PCR で平成 25 から 31 年度までに 5 頭を確定した(図 1、表 1)。

令和 2 及び 3 年度は患畜が摘発されず、定性陽性牛のとう汰を継続して、令和 4 年度に全頭の陰性を確認し、清浄化を達成した。

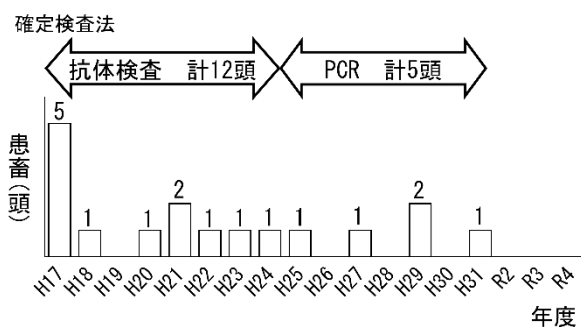


図 1 年度ごとの確定検査法及び患畜摘発頭数

表 1 患畜の摘発状況

番号	摘発年度	生産地	母牛の生産地	検査理由	確定検査法
1	H17	栃木県	栃木県	病性鑑定	抗体検査
2	H17	北海道	北海道	同居牛検査	抗体検査
3	H17	北海道	北海道	同居牛検査	抗体検査
4	H17	北海道	北海道	同居牛検査	抗体検査
5	H17	栃木県	栃木県	同居牛検査	抗体検査
6	H18	自家産	栃木県	定期検査(法5条)	抗体検査
7	H20	栃木県	岩手県	清浄性確認検査	抗体検査
8	H21	栃木県	栃木県	清浄性確認検査	抗体検査
9	H21	北海道	北海道	清浄性確認検査	抗体検査
10	H22	自家産	北海道	定期検査(法5条)	抗体検査
11	H23	自家産	栃木県	清浄性確認検査	抗体検査
12	H24	自家産	北海道	清浄性確認検査	抗体検査
13	H25	自家産	自家産	清浄性確認検査	PCR
14	H27	自家産	自家産	清浄性確認検査	PCR
15	H29	自家産	山形県	清浄性確認検査	PCR
16	H29	自家産	自家産	清浄性確認検査	PCR
17	H31	自家産	北海道	清浄性確認検査	PCR

### 取組の概要

#### 1) 経口感染防止対策

発生直後から、垂直感染対策としてプール初乳給与の中止及び早期母子分離を開始した。また、水平感染対策として、敷料のこまめな全交換、牛舎の消毒の強化及び定性陽性牛の隔離を開始した。牛舎の消毒は、牛舎通路、パーラー等に毎日朝晩 1 回ずつ消石灰を散布して実施した。また、隔離群は飼養場所を分けるだけでなく搾乳順を最後にする等、パーラーでの感染防止対策を実施した。

#### 2) 清浄性確認検査

全頭検査は原則年 1 回、抗体検査で実施した。

また、平成 24 年度から外部からの侵入防止対策として導入牛での PCR を開始した。

さらに、平成 27 年度から、定期的な乾乳牛検査を開始した。乾乳牛検査では、月 1 回、家保が農場を訪問して乾乳群の牛から糞便を

採取し、約1年間で初妊牛を含む成牛全頭でPCRによる検査を実施した。ここで定性陽性となった牛は隔離群に隔離し、次回の乾乳牛検査と同時に採材して追跡検査を行い、原則2回以上継続して遺伝子が検出された牛は、畜主に対して自主とう汰を指導した。追跡牛は原則として、2回以上遺伝子が検出されなかった場合は追跡を解除し、次回乾乳時まで経過観察とした。

### 3) 環境検査

平成27年度から定期的な環境検査を開始した。主に乾乳牛検査と同時に採材し、PCRを実施した。環境材料は、定性陽性牛の摘発されていた乾乳群及び分娩群を飼養する牛舎の牛床を中心に、牛舎通路、パーラー通路、堆肥舎の堆肥及び水槽等から採取した。特に、患畜摘発のなかった令和3及び4年度は、清浄化確認に向けて、子牛舎や堆肥舎等を含め、農場全体で材料を採取した。

## 検査結果

### 1) PCR及び抗体検査

平成27年度の定期的な乾乳牛検査開始以降、8年間で乾乳牛、追跡牛、導入牛について、年間300～500頭、合計のべ3,429頭でPCRを実施した。合計のべ187頭が定量もしくは定性陽性となり、合計4頭の患畜を摘発した。定性陽性の追跡牛については、8年間で計47頭を自主とう汰した(表2)。

令和4年度に陽性となった1頭は、その後、1か月おきの追跡検査で3回遺伝子が検出されず、かつ年度内に死亡し、これをもって農場内の全頭で陰性を確認した。

抗体検査は平成27年から令和3年度までの7年間で、計3,038頭実施したが、陽性となっ

たのは平成27年度の患畜を含む2頭のみであった。

なお、導入牛検査は、平成24年度から令和4年度までに計83頭で実施し、全頭陰性だった。

表2 平成27年から令和4年度におけるPCR及び抗体検査成績

年度	PCR		患畜 とう汰		抗体検査	
	陽性/検査頭数	(%)			陽性/検査頭数	(%)
H27	90/440	(20.5)	1	3	1/406	(0.2)
H28	33/477	(6.9)	0	5	1/475	(0.2)
H29	35/440	(8.0)	2	6	0/438	(0.0)
H30	8/329	(2.4)	0	8	0/681	(0.0)
H31	9/376	(2.4)	1	5	0/334	(0.0)
R2	8/348	(2.3)	0	7	0/337	(0.0)
R3	3/501	(0.6)	0	6	0/367	(0.0)
R4	1/518	(0.2)	0	7	NT	
計	187/3,429		4	47	2/3,038	

※導入牛検査は全頭陰性

NT:検査実施せず

### 2) 環境検査

平成27年から令和4年度に環境検査を実施したところ、いずれの年度も乾乳群及び分娩群牛舎で採取した材料で陽性検体が多い傾向がみられた。特に、患畜摘発のあった平成27及び29年度には、乾乳群及び分娩群の陽性率が高い結果となった。最後の患畜が摘発された平成31年度以降は、検出が減り、乾乳群、分娩群では、令和2年度を最後に、その後検出されなかった。令和3年度には定性陽性牛を隔離していた隔離群牛舎の材料で検出があったものの、清浄化を達成した令和4年度には、100検体全てで陰性を確認した。

表 3 平成 27 から令和 4 年度における環境  
検査成績 (PCR)

年度	乾乳	分娩	搾乳	その他	合計	(%)
H27	8/10	6/16	1/9	1/5	16/40	(40.0)
H28	1/13	1/22	0/18	0/5	2/58	(3.4)
H29	5/12	2/15	2/8	4/10	13/45	(28.9)
H30	2/12	2/15	0/1	0/7	4/35	(11.4)
H31	0/7	0/9	NT	0/4	0/20	(0.0)
R2	1/11	0/11	0/4	0/2	1/28	(3.6)
R3	0/11	0/10	0/7	2/18	2/46	(4.3)
R4	0/10	0/10	0/21	0/59	0/100	(0.0)

陽性数/検体数  
NT:検査実施せず

### まとめ及び考察

本農場は、難治性下痢を呈する発症牛の病性鑑定で本病が初めて摘発され、その後の同居牛検査で 4 頭、さらに平成 18 年度からの 14 年間で 12 頭の患畜が摘発された。農場の初発が発症牛である場合、同居牛検査で感染牛が摘発されるリスクが、初発が無症状牛である場合に比べて 3.8 倍になるという報告<sup>5)</sup>のとおり、初発が発症牛である事例については、農場内に他にも患畜がおり、清浄化までに長期を要する可能性が高いと考えられた。

また、平成 27 年度以降の検査結果から、多数の抗体陰性排菌牛が確認されただけでなく、環境からのヨーネ菌遺伝子の検出が継続しており、農場にヨーネ菌が浸潤している状態が続いていたと推測できた。

本農場では初発時までプール初乳を給与していた。プール初乳の給与はヨーネ病感染のリスクとなる<sup>6)</sup>とされており、さらに、生後数日間母子が同居していたこと等から、農場内感染のリスクが高い状態で飼養していた期間があったことが、本菌が農場内に深く浸潤する要因となっていたと考えられた。

また、一方で、本農場は外部から牛を導入

しており、本農場の患畜 17 頭のうち 8 頭が導入牛であり、さらに、患畜の母牛のうち 14 頭が導入牛であった。このことにより、導入牛が仮に排菌牛であった場合、導入先の農場を汚染するだけでなく、生まれてくる子牛の感染率が非常に高くなるおそれがあると考えられた。そのため、本病のまん延防止として、導入牛検査による本病の侵入防止対策が重要であることが示された。

今回、対策に PCR を積極的に活用し、定期的な乾乳牛検査及び定性陽性牛の追跡検査によって抗体陰性排菌牛を摘発した。さらに、環境検査も継続して実施したことで、牛と環境の二つの面から農場での浸潤状況を的確に把握することができた。さらに、月 1 回の採材の訪問時に状況説明や指導を繰り返したことにより、畜主が対策の意義を理解して、徐々に対策への前向きな姿勢が得られたと考えられた。

特に平成 30 年度からの最後の 5 年間は、過去 1 回のみ定性陽性となった牛もとう汰を行うなど、畜主が積極的に対策に取り組んだことで、清浄化が加速し、達成することができたと考えられた。

### 今後の方針

大規模酪農場は、生乳生産量確保のための定期的な導入や、労働負担の軽減や粗飼料給与等の飼養管理の省力化として育成牛の外部預託を行っており、常にヨーネ病の侵入リスクが高い農場が多い。また、ヨーネ病は幼若牛で感受性が高く、典型例で 3 年程度の無排菌期を経て排菌が始まるという長い経過をとる<sup>7)</sup>ことから、対策を開始しても成果が短期的に現れにくく、本病の特性、対策の意義あるいは清浄化の進捗状況を理解することが難

しい。このことにより、農場の対策へのモチベーション維持が難しく、定性陽性牛の自主とう汰あるいは優先的更新等の積極的な対策に至っていない農場もある。また、規模が大きいために検体数が膨大となり、農場と家保の双方にとって採材や検査の負担が大きく、県要領に基づく、年3回の全頭抗体検査を中心とした対策が困難である現状がある。今回の取組から、抗体検査では抗体陰性排菌牛を見逃す危険性が課題となることが改めて示され、全頭抗体検査よりも、分娩牛または乾乳牛の糞便を定期的に採取し、1年をかけて全頭のPCR検査を行う等の方法を活用して、排菌牛を把握することが改めて重要と考えられた。

また、PCRによる導入牛検査を確実に実施することが本病の侵入防止に有効であり、カテゴリーⅡ農場においては、環境検査を活用して農場の浸潤状況を把握、対策の成果を見える化し、農場ごとに適した清浄化対策の指導を行い農場の対策への理解を深めることが、積極的な対策へのモチベーションを高められると考えられた。また、大規模農場では、PCR検体数増加への対応として、複数個体の糞便材料を一つのプール検体として検査を行うプール法の有効活用や、検査人員の確保等、本病の早期清浄化に向けた体制整備を行うことも重要である。

これらを踏まえ、今後も導入牛検査及び全頭検査による清浄性維持のみならず、大規模農場におけるヨーネ病の早期清浄化のためのきめ細やかな指導を継続していきたい。

#### 参考資料

1) 永田礼子：ヨーネ病，日獣会誌．69，66-68(2016)

- 2) 黒川由貴江ら：リアルタイムPCR検査を活用したヨーネ病清浄化対策，第55回栃木県畜産関係業績発表会集録(2013)
- 3) 農林水産省ホームページ「監視伝染病の発生状況」より集計
- 4) 農林水産省ホームページ「畜産統計(令和4年2月1日現在)」
- 5) Kobayashi, S., Tsutsui, T., Yamamoto, T., Nishiguchi, A.: Epidemiologic indicators associated with within-farm spread of Johne's disease in dairy farms in Japan, *J. Vet. Med. Sci.*, 69, 1255-1258(2007)
- 6) S. S. Nielsen, H. Bjerre, and N. Toft: Colostrum and Milk as Risk Factors for Infection with *Mycobacterium avium* subspecies *paratuberculosis* in Dairy Cattle, *J. Dairy Sci.*, 91, 4610-4615(2008)
- 7) Mitchell, R. M., Schukken, Y., Koets, A., Weber, M., Bakker, D., Stabel, J., Whitlock, R. H., Louzoun, Y.: Differences in intermittent and continuous fecal shedding patterns between natural and experimental *Mycobacterium avium* subspecies *paratuberculosis* infections in cattle, *Vet. Res.*, 46, 66(2015)