

## 5 動物園で発生した山羊ヨーネ病の清浄化対策

川越家畜保健衛生所

○中里 有子・佐竹 吉人

### I はじめに

ヨーネ病はヨーネ菌を原因とする反芻動物の慢性腸管感染症で、牛では家畜伝染病予防法第5条の規定に基づく定期検査により平成29年に817頭が摘発されている。一方山羊では全国的にサーベランス検査が実施されておらず、平成29年の発生件数は1戸1頭となっている。今回管内の動物園で山羊ヨーネ病が発生したため、ヨーネ病検査マニュアル(2011年1月31日版)に記載されている研究用試薬を用いたヨーネ病遺伝子検出法を活用した清浄化対策を行ったので概要を報告する。

### II 発生概要

#### 1 動物園の概要

本園は、動物とのふれあい体験ができる小規模な動物園で、ヨーネ病感受性動物は山羊、羊の他に南アジア原産の野生山羊マーコールを飼育している。(図1) 山羊・羊はふれあいコーナーに隣接する畜舎で飼育されており、日中は雄を除き、ふれあいコーナーに放牧され、夜は畜舎に収用されている。(図2)



図1 動物園の概要

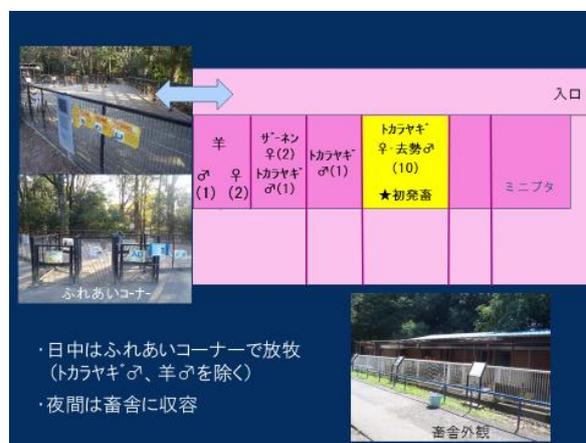


図2 山羊・羊飼育状況

#### 2 初発畜の状況及び病性鑑定結果

平成30年7月6日。トカラヤギ4歳雌が(図3)、削瘦、起立不能の主訴で病性鑑定した結果、空腸～回腸粘膜下組織に類上皮細胞、抗酸菌が確認されるとともに、直腸便のPCR(公定法)で定性陽性、定量で $1.125E+04\text{pg}/2.5\mu\text{l}$ のヨーネ菌DNAが検出され、7月18日患畜と確定した。(基準値： $1.00E-03\text{pg}/2.5\mu\text{l}$ )



図3 初発畜

### 3 清浄化方法

「埼玉県牛ヨーネ病防疫対策要領実施指針」(以下指針)に準じた清浄化対策に基づき実施した。

(1) 感染ハイリスク家畜の積極的な摘発淘汰の課題として、ヨーネ病感染畜の排菌により飼育環境がヨーネ菌 DNA に汚染され、感染していない家畜の直腸便からもヨーネ菌 DNA が検出されることが挙げられる。これら「環境汚染の影響による見かけ上の感染畜」と「真の感染畜」との識別をするために PCR 従来法を中心とした定期的な同居畜検査と飼育環境中のヨーネ菌汚染防除を指導した。

#### ①定期的な同居畜検査(図4)

第1回検査患畜と同居していた17頭の山羊・羊と14頭のマーコールについて、ヨーニン反応、血清学的検査(CF、ELISA)及びPCR従来法を実施し、第2回検査以降はPCR従来法のみを行った。環境材料については毎回PCR従来法を実施した。

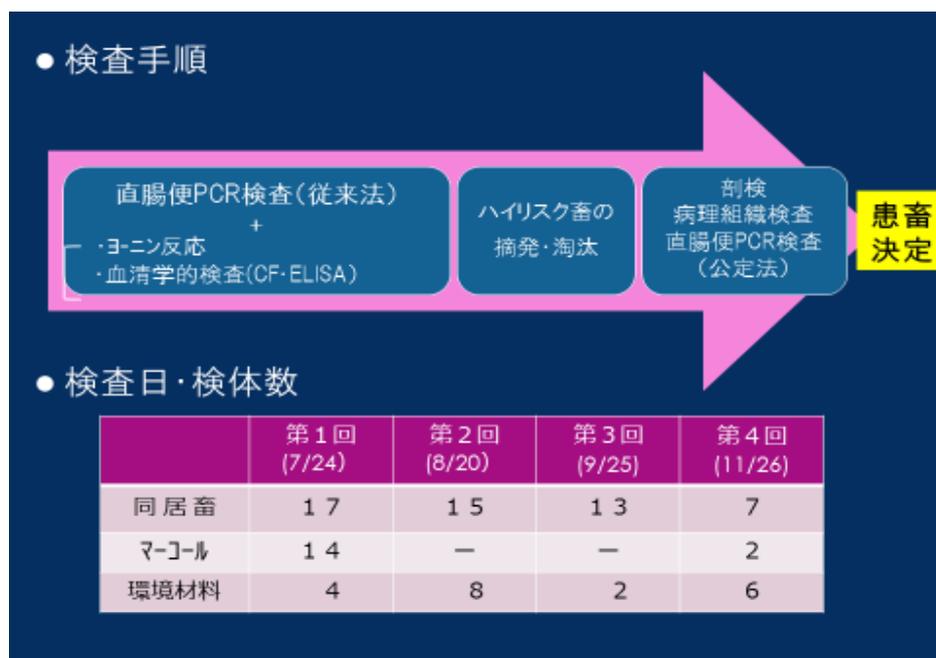


図4 検査の概要

#### ② ヨーネ菌の汚染防除

ふれあい体験の自粛を指導するとともに、専用長靴の利用、石灰による踏み込み消毒槽の設置、定期的な畜舎消毒の徹底を指導するとともに、管内農家の牛、緬山羊飼育者に対し山羊ヨーネ病の発生を広報で周知し、ヨーネ病の注意喚起を行った。

表 1 第 1 回同居畜検査結果

4 検査成績

(1) 第 1 回同居畜検査 (表 1)

トカラヤギ 12 頭中 9 頭の直腸便からヨーネ菌遺伝子が検出された。これら 9 頭は初発畜と血縁関係がある山羊 (以下血縁畜) であり、うち 4 頭が基準値を超過した。

環境材料 1 検体からヨーネ菌遺伝子が検出されたことから、環境汚染の影響を考慮し、ヨーニン反応と補体結合反応の陽性 2 頭のみ自主淘汰を提案した。

なお、血縁畜以外の同居畜とマーコールは第 1 回から 4 回全ての検査で陰性だった。

トカラヤギ No.	年齢	初発畜との血縁	PCR検査 (pg/μl)	ヨーニン反応	CF	スクリーニング ELISA	
1	2か月	+	9.25E-04	-	-	-	
2	2か月	+	1.43E-03	-	-	-	
3	1歳	+	1.01E-03	-	-	-	
4	1歳	+	5.10E-04	-	-	-	
5	2歳	+	1.30E-03	-	-	-	
6	2歳	+	4.00E-04	+	+	-	⇒ 鑑定致
7	2歳	+	-	-	-	-	
8	3歳	+	2.86E-04	-	-	-	
9	4歳	+	9.75E-01	+	+	+	⇒ 鑑定致
10	4歳	+	4.75E-04	-	-	-	
11	3歳	-	-	-	-	-	
12	8歳	-	-	-	-	-	

※ザーネン種、羊、マーコールは、第1~4回の同居畜検査の全検査が陰性

環境材料4検体中1検体(ふれあいコナ)からヨーネ菌DNAを検出(2.31E-04pg/2.5μl)

ヨーネ菌DNAの環境汚染を考慮し、ヨーニン反応陽性2頭の自主淘汰を提案

表 2 第 1 回病性鑑定成績

自主淘汰した 2 頭を病性鑑定したところ、高排菌の No.9 については抗酸菌及び空腸から回腸に類上皮細胞の浸潤が認められた。(表 2)

この 2 頭は PCR 公定法により患畜と判定した。(表 2)

トカラヤギ No.	臨床症状	PCR公定法検査 (pg/2.5μl)	抗酸菌	空腸 ~ 回腸肥厚	空腸~回腸の類上皮細胞浸潤
6	なし	1.32E-03	-	-	-
9	なし	7.66E+00	+~++	+++	+++

No.6 ヨーニン反応陽性(3.5mm)

抗酸菌染色陽性

患畜2頭を摘発

表 3 第 2 回同居畜検査結果

(2) 第 2 回同居畜検査 (表 3)

同居畜 10 頭のうち血縁畜 7 頭からヨーネ菌遺伝子が検出され、前回不検出だった No.7 は検出、前回検出されていた No.10 は陰性になった。

環境材料 1 検体からヨーネ菌 DNA が認められたことから、高排菌畜 2 頭 (No.5、8) の自主淘汰を提案した。

この 2 頭は PCR 公定法により患畜と判定した。

トカラヤギ No.	年齢	初発畜との血縁	PCR検査 (pg/2.5μl)		PCR公定法検査 (pg/2.5μg)	
			第2回(今回)	第1回(前回)		
1	3か月	+	4.77E-04	9.25E-04		
2	3か月	+	1.13E-03	1.43E-04		
3	1歳	+	5.36E-04	1.01E-03		
4	1歳	+	5.05E-04	5.10E-04		
5	2歳	+	1.40E-02	1.30E-03	2.04E-03	患畜2頭を摘発
7	2歳	+	4.34E-04	-		
8	3歳	+	2.53E-02	2.86E-04	1.42E-03	
10	4歳	+	-	4.75E-04		
11	3歳	-	-	-		
12	8歳	-	-	-		

環境材料8検体中1検体からヨーネ菌DNAを検出(1.23E-03pg/2.5μl)

ヨーネ菌DNAの環境汚染を考慮し、高排菌山羊2頭の自主淘汰を提案

表 4 第 3 回同居畜検査結果

(3) 第 3 回同居畜検査 (表 4)

8 頭のうち血縁畜 4 頭からヨーネ菌 DNA が検出され、前回検出された No.3 は不検出に、No.10 は引き続き検出されなかった。

また、全ての環境材料からヨーネ菌 DNA が検出されなかった。このため全ての血縁畜は「真の感染畜」である可能性が高いことから、血縁畜 6 頭の自主淘汰を提案した。

10月12日及び23日に血縁畜6頭を鑑定殺し、病性鑑定をしたところ、2頭が PCR 公定法で基準値を上回り患者となった。(表 5)

2頭の患者以外の4頭はPCR公定法が陰性だったが、うち3頭の回腸リンパ節からヨーネ菌遺伝子が認められた。(表 5)

陰性だった4頭については現在直腸便等の細菌培養を継続している。

トカラヤギ No.	年齢	初発畜との血縁	PCR検査 (pg/2.5μl)		
			第3回 (今回)	第2回 (前回)	第1回 (前々回)
1	3か月	+	3.64E-03	4.77E-04	9.25E-04
2	3か月	+	2.23E-03	1.13E-03	1.43E-04
3	1歳	+	-	5.36E-04	1.01E-03
4	1歳	+	8.24E-04	5.05E-04	5.10E-04
7	2歳	+	3.86E-03	4.34E-04	-
10	4歳	+	-	-	4.75E-04
11	3歳	-	-	-	-
12	8歳	-	-	-	-

全ての環境材料からヨーネ菌DNAは未検出

血縁畜は「真の感染畜」である可能性が高い  
 ・園からトカラヤギの繁殖再開の要望  
 ⇒ 血縁トカラヤギ6頭の自主淘汰を提案

表 5 血縁畜 6 頭の病性鑑定成績

**○血縁トカラヤギ6頭の鑑定殺**  
実施日:10月12日(3頭)、10月23日(3頭)

トカラヤギ No.	臨床症状	PCR検査※1 (pg/2.5μl)	PCR検査※2 (pg/2.5μg)
1	なし	-	4.67E-02
2	なし	1.54E-02	4.97E-02
3	なし	-	9.32E-05
4	なし	-	5.73E-04
7	なし	6.33E-03	2.78E-03
10	なし	-	-

**患者2頭を摘発**

直腸便の細菌培養を継続中

※1 公定法(直腸便)  
※2 従来法(回腸リンパ節)

(4) 第 4 回同居畜検査

血縁畜を淘汰した後実施した第 4 回検査 PCR 従来法では、同居畜 7 頭、マーコールの落下便 2 個、環境材料 6 検体の全てが陰性だった。

(5) トカラヤギの系統 (図 5)

初発畜を含む、摘発・淘汰したトカラヤギ 11 頭は平成 23 年県外の動物園から導入した 2 頭の系統であった。なお、この導入した雌山羊は平成 28 年の死亡時に削瘦が認められた。

平成 29 年に導入した別系統の雄山羊 1 頭及び 8 年前別系統の雌から生まれた雌山羊 1 頭からは、ヨーネ菌 DNA が一度も検出されなかった。

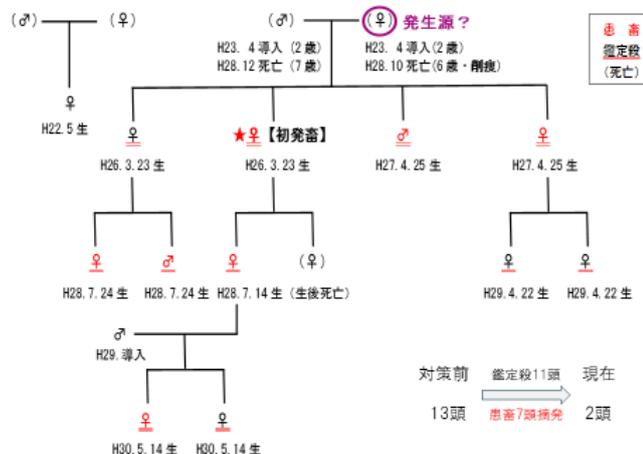


図 5 トカラヤギ系統図

## 5 まとめ

管内動物園の 4 歳雌のトカラヤギ 1 頭をヨーネ病患者で摘発した。ふれあい体験の自粛、定期的な畜舎消毒、専用長靴の利用等の防疫対策を指導するとともに、PCR 従来法を中心とした同居畜検査により 4 頭の患畜を摘発した。

環境中のヨーネ病汚染の清浄化が図られたことで、ヨーネ菌遺伝子が検出されていた血縁畜は「真の感染畜」である可能性が高いと判断し、全血縁畜 6 頭を自主淘汰し、さらに 2 頭の患畜を摘発した。

全血縁畜淘汰後の第 4 回同居畜検査では、全検体からヨーネ菌 DNA が検出されず、動物園の洗浄化が進展したものと考えられた。

平成 23 年に県外動物園から導入した雌トカラヤギ 1 頭が削瘦し死亡していることから、この山羊がヨーネ菌に感染しており、血縁畜に感染が拡大したと考えられる。

牛以外の反芻獣はヨーネ病スクリーニング検査が実施されておらず、無症状のうちに感染が広がっている可能性が懸念された。

## 6 今後の清浄化に向けて

今後も「埼玉県ヨーネ病防疫対策実施指針」に準じた清浄性確認検査を継続し 2 年後の清浄化を目指すとともに、入場者用の踏み込み消毒を設置するなどの防疫措置を行い、安全・安心なふれあい体験を支援していきたい。