

総説

ヨーネ病の発生状況と対策の実情

藤原正俊

ヨーネ菌 (*Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis*) は牛やめん羊に感染すると長い潜伏期間を経て治療に反応しない慢性の下痢を発症し、最終的に衰弱死にいたる病原菌であり、ヨーネ病は日本では家畜伝染病に指定されている。国内での牛のヨーネ病の発生状況を図1に示す。1970年代までは輸入牛を中心に散発していたが1980年に初めて国産牛で発生、1986年には100頭を超え、1998年以降は家畜伝染病予防法第5条により少なくとも5年ごとに検査が実施され、検査頭数の増加に伴い発生頭数は増加した。なお、検査対象牛は都道府県で異なり、岩手県では行われている肉用牛の検査を実施していない地域も多い [1]。2004年に全国の発生数が1,000頭を超えたが、2007年に起きた食品衛生法の規定に基づくヨーネ病疑似患畜の生乳出荷停止事例を発端として、時間を要する培養検査の対象牛が見直されることとなった。患畜となる可能性がある場合、確定検査のための採材から結果が判明するまで生乳を出荷できなくなったためである。翌2008年にはスクリーニング検査（抗体検査）が導入されたが、摘発頭数は465頭と半分以下になった。後で詳しく述べるが、抗体検査では感染初期の家畜を摘

発できないため [2]、培養検査対象牛の縮小が摘発数の減少につながったと考えられる。2013年には検出感度、特異性に優れたリアルタイムPCR法が導入され、その後は徐々に増加し、2022年以降は再び1,000頭を超えている。患畜の9割程度が北海道であるが、岩手県でも2024年に26頭摘発されている。ヨーネ病患畜と診断された家畜は法に基づき殺処分となり、発生農場は対策要領に基づき清浄化を達成するまで定期的な検査を行うこととなる。

ヨーネ病の病態進行を説明すると、体内に侵入したヨーネ菌はマクロファージ等の細胞内で増殖する。宿主は多核巨細胞の形成等、細胞性免疫を賦活して、ヨーネ菌の増殖を抑え込む。個体差が大きいものの、一般的には感染後数か月間は一過性の排菌はみられるがその後は1年以上糞便中からヨーネ菌が検出されない時期が続く [2, 3]。分娩等、何らかのストレスが引き金となり、T細胞の免疫疲弊により液性免疫へ転換すると、病理組織学的には多核巨細胞が減少～消滅し、類上皮細胞が主体となる。こうなるとヨーネ菌の増殖を抑えることができず、排菌量が増加し、下痢を発症する。類上皮細胞の集簇が見られる頃には糞便中のヨーネ菌遺伝子量がおおよそ1pg/well、培養検査ではおおよそ 6.3×10^3 CFU/g に相当する量を排菌している [4]。ここまで病態が進行している場合には50%程度の確率で胎児への感染が確認される（病理組織学的に胎児感染が確認された割合であるので実際にはもっと高率であると予想される） [5]。また、初乳中には発症牛で250 CFU/ml程度を排菌しているという報告がある [6]。子牛は成牛よりも感受性が高く、国内の患畜のほとんどは母牛から垂直感染、又は子牛間で水平感染し、数年を経ってから摘発されていると考えられる。加温処理した初乳の給与や早期の母子分離等でリスクを低減することはできるかもしれない

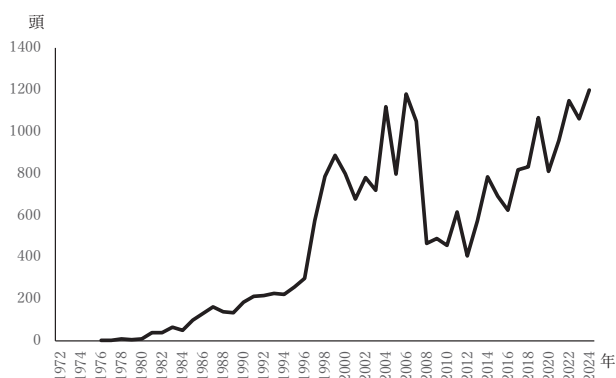


図1 牛のヨーネ病発生推移

が、確実に防止することは不可能であり、患畜となった娘牛を繁殖に供しないことも対策の一つである。一方、成牛では必要感染菌量が多く、また、潜伏期間も長いことから、清掃消毒を徹底し汚染度の低い農場では成牛間の水平感染はほとんど表面化していない。陰性農場においては保菌牛の導入に最も警戒する必要があるが、地域によっては野生動物からの感染にも注意が必要である。平成28年から令和5年までの調査において国内の鹿1,794検体中39検体からヨーネ菌遺伝子が検出されており、そのうち北海道が604検体中24検体と大部分を占めているものの、岩手県においても定性陽性個体が確認されている (https://www.maff.go.jp/j/syouan/douei/katiku_yobo/wildlife_surveillance.html)。筆者は過去に北海道のエゾシカやカラスから100pg/wellを超えるヨーネ菌遺伝子を検出した経験がある。高度汚染が見られる地域では野生動物からの感染にも最大限の警戒が必要である。農場は勿論であるが、採草地にも侵入させない対策が必要である。海外における調査ではウサギやキツネ、そして鳥類等様々な野生動物からの検出報告があることから[7]、汚染地域では全ての野生動物を対象として警戒すべきと考えられる。

上述のとおりヨーネ菌は経胎盤および糞や乳を介した直接的な感染が主であるが、環境中のヨーネ菌は一部の消毒薬には抵抗し、長期間生残する。消毒薬は過酢酸製剤や次亜塩素酸製剤が有効である。特に過酢酸は食品にも使用可能で安全性が高く、また、酢の臭いで牛が嫌がらないため餌槽の消毒に適している（ただし金属腐食性があるので材質によっては使用できない）。消石灰液もヨーネ菌を殺滅させるが、長い感作時間が必要で、また、水に溶かしていない消石灰粉末には効果はない。さらに糞便中のヨーネ菌はバイオフィーム様構造を形成すること（図2）、また、ある条件では芽胞様形態をとることも知られており、通常の培養菌と比較して消毒薬に抵抗するため、農場における確実な消毒には培養菌での消毒検証結果に基づく有効条件よりも高濃度長時間の感作が推奨される[8]。

現在ヨーネ病の確定診断にはヨーネ菌の分離培養とリアルタイムPCR法が主に行われている。ヨーネ菌は増殖が遅く、寒天培地における培養には3か月以上を要する。液体培地では寒天培地より早く増殖を確認することができるが、それがヨーネ菌であるのか糞便中の他の細菌であるのかは推測できず、遺伝子検査等により確認する必要がある。検査においては増殖が速く、コロニー性状からヨーネ菌を疑うか否かを判断で

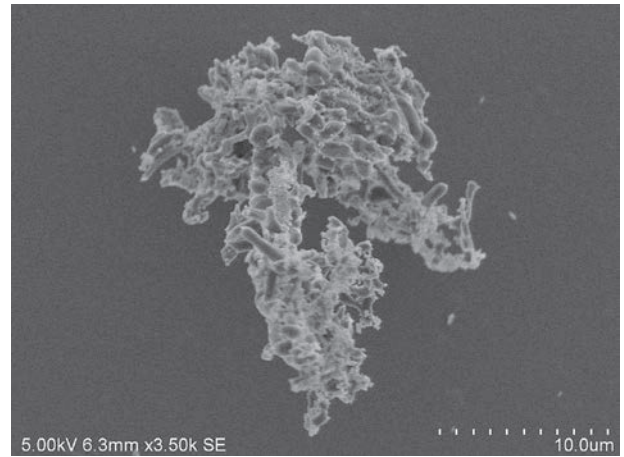


図2 糞便中のヨーネ菌集塊と思われる走査顕微鏡写真。菌体には顆粒状のバイオフィーム様構造が付着している。

きる寒天培地が求められる。2022年に20日程度でコロニーが形成される寒天培地が報告されており[9]、現在、この培地にさらに改良を加え、糞便からの分離を検証しているところである。

リアルタイムPCR法については2024年に検査マニュアルにプール法が加えられた。そこで茨城県の家畜保健衛生所が考案したユニークな検査法を紹介する[10]。通常では10検体のプール検査を行い、陽性となったものについて、個別に再検査して陽性検体を確定するが、最初に縦列と横列で10検体をプールして検査を行い、陽性が交差した検体を摘発するというものである。この報告では陽性検体の摘発までとしており、確定検査は別途行うことを想定しているが、陽性率が1～11%だと交差法が効率的となる。

この他、ヨーネ病検査マニュアルでは糞便塗抹検査、抗酸菌染色によるヨーネ菌の集塊の確認も確定診断とすることが可能となっている。感度は低く、遺伝子量1pg/wellを超えていなければ摘発できないが、安価で迅速に診断可能である。しかし、下痢を発症していると孤在性のヨーネ菌が増え、集塊がほとんどみられないこともあるので注意が必要である。ヨーネ菌は脂質に富む細胞壁を有していることから疎水性であり、流動パラフィン等のアルカン類に親和性を示す。その性質により糞便中からヨーネ菌を集約することに成功したが（図3）、感度の向上や簡略化につながる新たな検査法の開発には至っていない[11]。現在も継続して効率的で有効な検査法の開発に取り組んでいる。

以上のようにヨーネ病は長い潜伏期があり、現在の検査法ではその期間中の摘発は不可能である。さらに一部地域では野生動物内でもまん延している可能性が

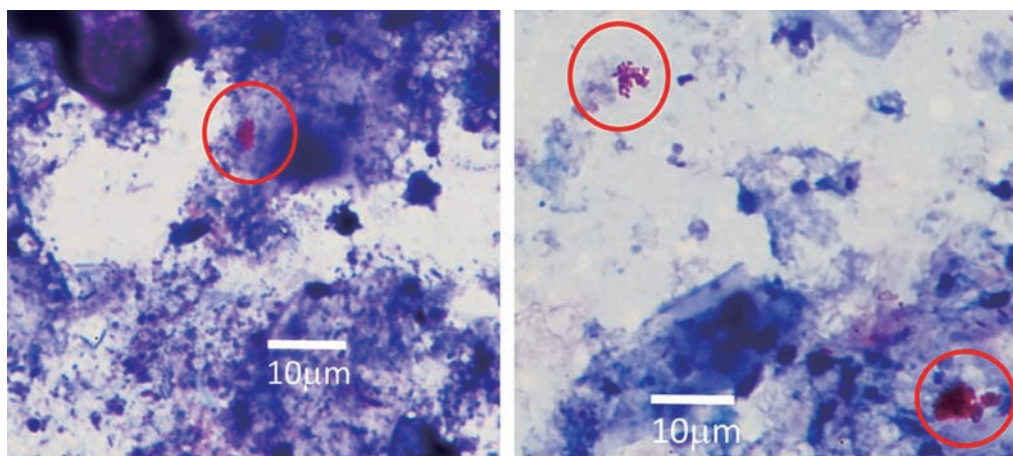


図3 糞便塗抹標本のチール・ネルゼン染色像。ヨーネ菌遺伝子 60pg/well の糞便を直接塗抹したもの（左）と流動パラフィンにより濃縮したもの（右）。直接塗抹では赤丸で囲むヨーネ菌の集塊は30視野に1個程度であったが、濃縮により夾雑物の大部分が除去され、数視野に1個以上観察できるようになった。

高く、国内の清浄化は非常に困難となっている。一方農場レベルにおいては発生農場となっても根気強い対策により清浄化は達成可能である。頻回検査による早期摘発が鍵となるが、遺伝子検査は検査費用と労力から多検体処理に不向きである。スクリーニング抗体検査は多検体処理が可能であるが、ある程度病態が進んだ牛しか摘発できないという問題がある。榊原らは0.01pg/wellの排菌牛が1頭いれば畜舎内の環境検査でヨーネ菌遺伝子が90%の確率でヨーネ菌遺伝子を検出できると報告している[12]。この様な効率化と有効性を備えた研究報告は各家畜保健衛生所でも精力的に行われており、微力ながら私も国内で抱えているヨーネ病の問題が解決するよう研究に取り組んで参りたい。

引用文献

- [1] 小林創太, 筒井俊之: わが国の牛ヨーネ病の発生動向と防疫体制の現状, 日獣会誌, 60, 853-857 (2007)
- [2] 永田礼子: 最新の家畜疾病情報 (XIII) ヨーネ病, 日獣会誌, 69, 66-68 (2016)
- [3] Koets AP, Eda S, Sreevatsan S: The within host dynamics of *Mycobacterium avium* ssp. *paratuberculosis* infection in cattle: where time and place matter, Vet Res (Faisalabad), 46, 61 (2015)
- [4] Taniguchi Y, Sakakibara SI, Fujihara M, Yagi A, Fujiyoshi S: The association between detection of *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* DNA in feces and histopathological classification, J Vet Med Sci, 82, 541-545 (2020)
- [5] 谷口有紀子, 榊原伸一, 八木梓, 藤吉聡, 上村伸子: 牛ヨーネ病患者における腸管病変の病型分類とヨーネ菌遺伝子量との比較検討, 北海道家畜保健衛生業績発表集録, 64, 58-62 (2016)
- [6] Stabel JR, Bradner L, Robbe-Austerman S, Beitz DC: Clinical disease and stage of lactation influence shedding of *Mycobacterium avium* subspecies *paratuberculosis* into milk and colostrum of naturally infected dairy cows. J Dairy Sci, 97, 6296-6304 (2014)
- [7] Di Rosso A, Francesca C, Biliotti C, Cerri D, Fratini F, Felicioli A: The enigmatic role of non-ruminant wildlife in the spread, epidemiology and control of paratuberculosis in livestock. Eur J Wildl Res, 72, 18 (2026)
- [8] Matsuzawa S, Takechi M, Fujihara M: *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* excreted in cattle feces shows higher resistance to disinfectants than cultured cells, J Jpn Vet Res. ahead of print.
- [9] Dane H, Koidis A, Stewart LD, Grant IR: Optimization of the composition of a solid culture medium for *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* using factorial design and response surface methodology, J Appl Microbiol, 132, 4252-4265 (2022)
- [10] 藤井勇紀, 都筑智子, 前田育子, 飯島知一: ヨーネ病スクリーニング遺伝子検査における交差プールの有効性の検討, 茨城県家畜保健衛生

業績発表集録 (2016)

- [11] Fujihara M, Kondoh D, Matsuzawa S, Naito I :
Electron microscopic observation of *Mycobacterium*
avium subsp. *paratuberculosis* in cattle feces
after a novel purification using liquid paraffin. J
Microbiol Methods, 217-218, 106891 (2024)
- [12] 榊原伸一, 菅野宏, 立花智 : 環境材料を用いた
農場レベルのヨーネ病スクリーニング検査, 日
獣会誌, 70, 511-515 (2017)

