

#### 4. 酪農家における牛白血病清浄化に向けた取組みと課題

県南家畜保健衛生所

○村山 丹穂 新海 桐子  
渡邊 晃行 鴨川 修

地方病性牛白血病（以下、牛白血病）は牛白血病ウイルス（以下、BLV）の感染によって起きる腫瘍性疾患である。平成 10 年に家畜伝染病予防法の届出伝染病に指定され、以降近年の急激な発生増加が問題となっている。

今回、管内一酪農家において牛白血病清浄化を図るため、抗体検査等により感染状況を調査するとともに、垂直感染防止のための初乳対策等を実施した。今回これらの調査結果等について検証したので、その概要を報告する。

##### 農場の概要

搾乳牛約 30 頭を飼養する酪農場で、後継牛は全て自家育成している。子牛は生後約 2 か月までカウハッチで、約 12 か月齢までは子牛舎で、約 25 か月齢の分娩間近までは育成・乾乳舎で飼養し、分娩後はタイストール牛舎で飼養している。子牛舎は 3 区画、育成・乾乳舎は 5 区画に区分されており、1 区画は 1～6 頭ずつ群飼されている（図 1）。

##### 検査経過及び清浄化対策の取組み状況

平成 26 年 6 月に、搾乳牛 30 頭の牛白血病抗体検査を実施したところ、全頭陽性であることが判明したことから、垂直感染防止のために早期分離と初乳対策を翌 7 月から開始した。初乳対策としては生後直後に人工初乳を給与し、生後 7 日目までは凍結初乳、約 2 か月齢までは人工乳を給与した。人為的感染対策としての直検手袋の交換、1 頭 1 針の注射針使用は平成 27 年より徹底され、除角は以前から焼きごてを使用している。

また、農場の抗体陽性率が高かったことから、陽性牛の中でも特に感染源となる可能性が高い牛としている感染伝播ハイリスク牛を摘発するためのリンパ球数算出、リアルタイム PCR による検査（以下、ハイリスク牛検査）を、平成 26 年 8 月及び平成 28 年 7 月に実施し、後継牛作出や淘汰・更新の際の判断基準とした。

平成 27 年度から、抗体検査では移行抗体の影響を判別できない生後 6 か月未満の子牛について、感染状況把握のためリアルタイム PCR 検査を実施した。

平成 28 年 7 月からは搾乳舎での水平感染防止のため、陽性牛搾乳後に陰性牛を搾乳する際は搾乳ユニットの洗浄を行う事とした。また、畜主によると農場でアブ、サシバエなどの吸血昆虫はあまり見かけないとのことであったが、状況を把握するため、平成 28 年 7 月に白石ら<sup>1)</sup>によるボックス型アブトラップを牛舎隣の草地付近に 2 台設置した。また、8 月末には寺田ら<sup>2)</sup>による報告を参考に、ハエ取り用粘着シートをボックストラップ内に設置した。

## 検査方法

### 1 抗体検査及びハイリスク牛検査

抗体検査は 6 か月齢以上の牛について、牛白血病エライザキット (JNC) を用い、ELISA による抗体検査を実施した。

平成 26 年 8 月には抗体陽性牛 30 頭および未検査牛 13 頭、平成 28 年 7 月には抗体陽性牛 24 頭および未検査牛 12 頭について、以下の方法でリンパ球数測定およびリアルタイム PCR によるハイリスク牛検査を行った。

#### (1) リンパ球数の算出

血球計算機での白血球数測定及び血液塗抹を行い、ギムザ染色後に白血球百分比を計測し、リンパ球数を算出した。

#### (2) リアルタイム PCR 検査

塩化アンモニウム法で分離した白血球から DNA を抽出し、Cycleave 牛白血病ウイルス検出キット (タカラバイオ株式会社) を用いてリアルタイム PCR を実施した。なお、ハイリスク牛の定義は EC の鍵が「真症」であり、かつ BLV の遺伝子量が 1000 コピー/ul 以上のもの (平成 26 年 8 月)、もしくは 2000 コピー/DNA10ng 以上のもの (平成 28 年 7 月) とした。

### 2 初乳対策の効果確認

6 か月未満の子牛 13 頭について、リアルタイム PCR による遺伝子検査を実施した。なお、母牛の抗体保有状況については直近の検査結果を参考とした。

## 結果

### 1 抗体検査及びハイリスク牛検査

平成 26 年 6 月に抗体検査を実施し搾乳牛 30 頭中 30 頭が陽性であったため、8 月に未検査牛（育成牛）13 頭を含めた 43 頭についてハイリスク牛検査を実施したところ、未検査牛 13 頭中 2 頭は BLV 陽性であり、ハイリスク牛は BLV 感染牛 32 頭中 2 頭、農場陽性率は 74.4%であった。

平成 27 年 7 月には成牛及び育成牛 41 頭について改めて抗体検査を実施し、農場陽性率は 70.7%、陽転率は 30.8%であった。また越夏後は 10 月に抗体検査を実施し、抗体陽性率は 84.2%、陽転率は 45.5%であった。

平成 28 年度は 6 月に前回陰性もしくは未検査の牛 10 頭について検査を実施し、農場陽性率は 74%、陽転率は 33.3%であった。11 月には越夏後の検査を、前回陰性もしくは未検査の牛 11 頭について実施し、農場陽性率は 79.6%、陽転率は 44.4%であった。また、7 月に抗体陽性牛 24 頭及び未検査牛 12 頭の計 36 頭についてハイリスク牛検査を実施したところ、BLV 感染牛 30 頭中 0 頭であった（表 1, 2）。

## 2 初乳対策の効果確認

平成 26 年 6 月 30 日から平成 28 年 10 月 11 日までに出生した 6 か月未満の子牛 12 頭について、リアルタイム PCR による遺伝子検査を実施した。分離飼育ができていない 0 か月、1 か月齢以下の子牛 9 頭中、陽性母牛の子牛は 7 頭で、うち 3 頭が陽性であった（表 3）。

## 3 アブトラップによるアブの捕獲状況

平成 28 年 7 月からの 2 か月間ではアブ捕獲数が 3～4 匹のみであったため、8 月末、トラップ内に粘着シートを設置した。シートには主に小型のハエが捕獲されており、アブは確認できなかった。

## 考察

農場内の BLV 浸潤状況の検査は夏前、越夏後に実施し、7 割から 8 割で推移している。抗体陰性牛の感染状況把握検査における平成 27 年度からの季節毎の陽転率を比較すると、平成 27 年度越夏後は 45.5%、平成 27 年夏後から平成 28 年夏前まででは 33.3%、平成 28 年の越夏後では 44.4%（表 1）と、陽転率は夏後でやや高いものの、おおむね 3～4 割となっている。このことから、本農場の水平感染に対し吸血昆虫の関与は低いものと思われた。

農場内のハイリスク牛検査は、平成 26 年に BLV 感染牛 32 頭中 2 頭が摘発された。当該牛は摘発後半年以内に淘汰された。平成 28

年は感染牛 30 頭について検査を実施したが、ハイリスク牛は摘発されなかった（表 2）。

また、子牛の早期分離と初乳対策の結果、分離飼育ができている 0～1 か月齢以下の子牛 9 頭中、陽性母牛の子牛は 7 頭で、うち 4 頭は陰性であった（表 3）。2 か月齢以上では 3 頭中 2 頭陽性であったが、パドックで 3, 4 頭ずつ混飼されていたため、子牛同士の水平感染により検査時に陽性となった可能性も疑われた。

感染が起きているステージを調べるため、平成 24 年生まれから平成 28 年 9 月生まれの、初回検査で陰性であった育成牛 26 頭について感染確認月齢を調べた。結果、平成 28 年 11 月までに陽性を確認したのは 15 頭、平均月齢は 32 か月齢であり、15 頭中 3 頭を除いて全て 36 か月齢未満であった。平成 27 年度にはパドックでの混飼により陰性牛が全頭陽転した事例もあった（図 2）。年間 2 回の検査により感染状況を把握していることを考えると、実際の感染月齢はこれより低い月齢であることが推測される。農場内では陰性牛が一定割合で産まれているものの、低月齢のうちに半数以上で感染が成立していることが明らかになった。また、搾乳舎では陽性率が常に 8～9 割で推移し、常に陰性牛が陽性牛と隣り合っており、搾乳舎での感染による陽転が疑われる事例も 4 例あった。

今回確認された搾乳牛舎、育成牛舎での陽転事例は、吸血昆虫のいない時期も陽転したことから、微細な傷等からの接触による水平感染が疑われた。酪農家での分離飼育については搾乳作業、牛の管理等の毎日の作業の変更を伴い、更に別の飼養場所を必要とする場合もあるため分離飼育をためらう農家が多い。しかし分離飼育が難しい場合、人工初乳や初乳凍結などの垂直感染防止対策を行って陰性牛が産まれても、その後のステージで水平感染が成立してしまう。

今後の清浄化対策として、現在実施している垂直感染防止のための初乳対策、水平感染防止として人為的感染防止対策及び陰性牛搾乳前の搾乳ユニット洗浄と合わせ、育成牛等での陰性牛・陽性牛分離飼育を行うことが重要であると考えられる。

## 参考文献

- 1)白石昭彦，アブ捕殺用ボックストラップ，  
<http://cse.naro.affrc.go.jp/siraisi/trap/>
- 2)寺田裕，粘着シートを利用したボックストラップによるアブの捕虫効果 畜産会経営情報,246,16-7

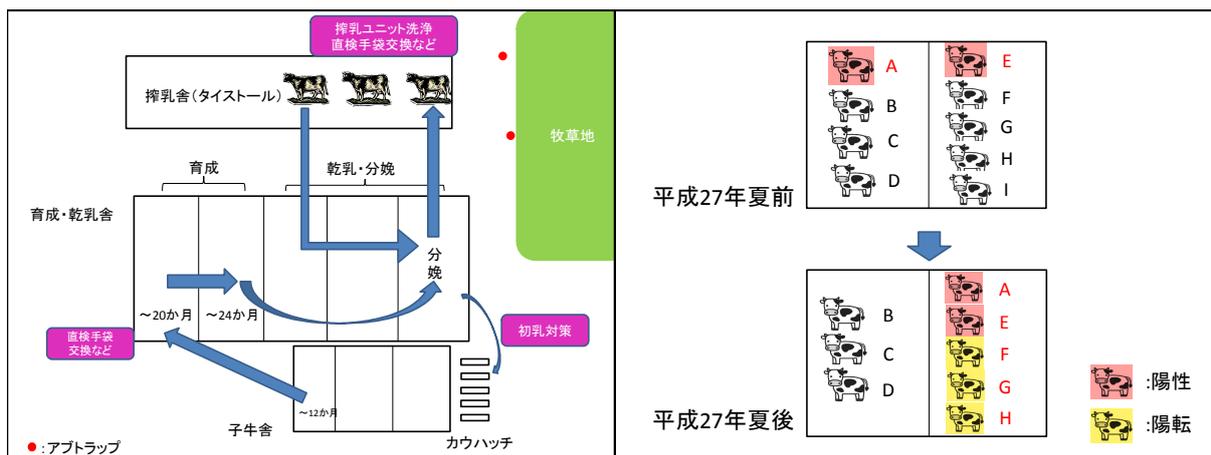


図1 牛舎フロー図

図2 育成舎陽転事例

表1 検査の概要

| 採材時期       | 検査対象       | 検査頭数 | 陽性頭数 | 農場陽性率 | 前回検査陰性牛 | 陽性頭数 | 前回検査からの陽転率 |
|------------|------------|------|------|-------|---------|------|------------|
| H26 6月     | 搾乳牛        | 30   | 30   | -     | -       | -    | -          |
| 8月         | 成牛・育成牛     | 43   | 32   | 74.4  | -       | -    | -          |
| H27 7月(夏前) | 成牛・育成牛     | 41   | 29   | 70.7  | 13      | 4    | 30.8       |
| 10月(夏後)    | 前回陰性牛      | 11   | 5    | 84.2  | 11      | 5    | 45.5       |
| H28 6月(夏前) | 前回陰性牛・未検査牛 | 10   | 4    | 74    | 9       | 3    | 33.3       |
| 11月(夏後)    | 前回陰性牛・未検査牛 | 11   | 6    | 79.6  | 9       | 4    | 44.4       |

表2 ハイリスク牛検査

| 検査時期   | 陽性牛 | ハイリスク牛 |
|--------|-----|--------|
| H26年8月 | 32  | 2      |
| H28年7月 | 30  | 0      |

表3 初乳対策の効果確認

| 子牛月齢 | 検査頭数 | 陽性頭数 | 陽性母牛頭数 |
|------|------|------|--------|
| 6か月  | 1    | 0    | 1      |
| 5か月  | 1    | 1    | 1      |
| 3か月  | 1    | 1    | 1      |
| 1か月  | 1    | 0    | 0      |
| 0か月  | 8    | 3    | 7      |

## 5. 黒毛和種肥育農場における牛白血病感染拡大防止対策

県西家畜保健衛生所

○柏井 美穂 川西菜穂子  
高橋 覚志 栗山 伸人

地方病性牛白血病（以下、EBL）は牛白血病ウイルス（以下、BLV）の感染によって引き起こされる腫瘍性疾病で、わが国における EBL の発生数は年々増加している。また、平成 21 年～平成 23 年に実施された全国的な抗体保有調査で BLV が国内に広く浸潤していることが明らかとなった<sup>1)</sup>。本調査で肉用牛の抗体保有率は 12% と高い値を示しており、肉用牛においても BLV 感染拡大防止対策が必要であるといえる。

今回管内の黒毛和種肥育農場において、BLV の浸潤状況調査、吸血昆虫対策を検討するための検証試験及び吸血昆虫の生息状況調査を実施したので報告する。

### 農場概要

当該農場（以下、農場）（図 1）は肥育牛を約 300 頭飼養する黒毛和種肥育農場であり、10 か月齢前後の肥育素牛を県外及び県内の 2 市場から、毎月 25 頭前後導入している。導入牛は牛房ごとに 2～3 頭ずつ群分けし、出荷までの約 12 か月間同一牛房で飼養している。

農場周辺には水田や河川の他に貯水池があり、蚊やアブなどの吸血昆虫が繁殖しやすい環境である。農場は隣接する金属加工場の騒音対策のため高さ 3m ほどのガルバリウム鋼板で周囲を囲っている。また、牛房天井に送風ファンを設置し、糞を乾燥させるため常時稼働させている。

農場では平成 26 年度に 17 か月齢の肥育牛が牛白血病の疑いで死亡したことから、当所の指導のもと、BLV 対策への取り組みを開始した。

### 方法

#### 1 BLV 浸潤状況調査

平成 26 年 10 月～平成 28 年 10 月までの約 2 年間、導入した肥育素牛 600 頭を対象に ELISA による抗体検査を実施し、導入時の BLV 抗体保有状況を調査した。

また、水平感染状況を調査するため、導入時抗体陰性牛について出荷直前に抗体検査を実施した。なお対象は、導入時の検査で BLV 抗体陽性であった牛（以下、陽性牛）と出荷までの約 12 か月間同居していた牛（以下、同居牛）17 頭、陽性牛と隣接していた牛（以下、隣接牛）34 頭及び BLV 抗体陰性牛群内で飼養されていた牛（以下、陰性牛）22 頭とした。

## 2 吸血昆虫対策のための検証試験（図2）

試験区を下記のとおり設定し、試験前検査として吸血昆虫が発生する前の平成27年6月、試験後検査として吸血昆虫の発生がみられなくなった平成27年12月及び平成28年1月に採血後、抗体検査を実施し、陽転の有無を確認した。

### （試験区1）コンパネを用いた対策

陽性牛群と陰性牛群を分離飼育し、陽性牛3頭使用の牛房と陰性牛3頭飼養の牛房が隣接している区画を検証試験牛房とした。牛群間に牛の体高プラス1m程度の高さでコンパネを設置する（写真1）ことでBLVの伝播を抑制するかを検証した。

### （試験区2）ペルメトリン製剤の噴霧対策

陽性牛にペルメトリン製剤を使用し吸血昆虫による吸血を阻止することで、BLV伝播を抑制できるかを検証するため、陽性牛1頭と陰性牛2頭が混在している2牛房を検証試験の牛房とした。陽性牛（あわせて2頭）の牛体に週2回ペルメトリン製剤を噴霧した。

### （試験区3）耳標型ペルメトリン製剤の装着

耳標型ペルメトリン製剤の装着による効果を検証するため、陽性牛1頭と陰性牛1頭が混飼している2牛房を対象牛房とし、陽性牛に耳標型ペルメトリン製剤を装着した。

### （対照区）

陽性牛1頭と陰性牛2頭が同居している2牛房及び陰性牛3頭飼養の牛房と陽性牛3頭飼養の牛房が隣接している2牛房を選定し、対策未実施下での水平感染の状況を調査した。

## 3 吸血昆虫の捕獲調査（図1）

農場内における吸血昆虫の捕獲状況を把握するため、平成27年7月～12月及び平成28年8月～12月にアブトラップ、平成28年8月～12月に粘着式有害飛翔昆虫捕獲器（以下、粘着シート）を3箇所（①～③）に設置した。

アブトラップは3号舎の東側の草むらに設置した。

粘着シートはプラスチック段ボール製の組み立て式で、畜主がハエの発生が多いと感じている3号舎及び4号舎の東側に設置した。設置後毎週シートを交換し、捕獲されたハエの数を計測した。

## 結果

### 1 BLV浸潤状況調査

平成26年10月～平成28年10月までに導入した肥育素牛600頭のうち、陽性牛は87頭で、陽性率は14.5%であった。

BLV陽転率は、同居牛は58.8%（10/17）、隣接牛は11.8%（4/34）及び陰性牛は

0% (0/22) であり、カイ 2 乗検定により相互に有意差 ( $p < 0.01$ ) が認められた (図 3)。

## 2 吸血昆虫対策のための検証試験

### (試験区 1) コンパネを用いた対策

陰性牛 3 頭は全て陰性で、陽転は確認されなかった (陽転率 0%)。

### (試験区 2) ペルメトリン製剤を用いた対策

ペルメトリン製剤を噴霧した陽性牛と同居していた陰性牛 4 頭は全て陰性であった (陽転率 0%)。

### (試験区 3) 耳標型ペルメトリン製剤の装着

耳標型ペルメトリン製剤を装着した陽性牛と同居していた陰性牛 2 頭は全て陰性であった (陽転率 0%)。

### (対照区)

陽性牛 1 頭と陰性牛 2 頭が同居している 2 牛房で陰性牛 4 頭のうち 1 頭で陽転が確認された。また、陰性牛 3 頭飼養の牛房と陽性牛 3 頭飼養の牛房が隣接している 2 牛房において陰性牛 3 頭のうち 1 頭で陽転が確認された。

## 3 吸血昆虫の捕獲調査

平成 27 年、平成 28 年ともに設置したアブトラップでアブは捕獲されなかった。

サシバエの捕獲数は、平成 28 年 9 月末から捕獲数が上昇し、10 月 3 週目をピークに、その後徐々に減少した (図 4)。

また、牛床の敷料中にサシバエの幼虫と蛹が多数認められた。

## 考察

今回の調査で、導入時に陽性牛が全国調査とほぼ同じ割合でいるということが分かり、肥育農場においても BLV の感染拡大を防ぐことが必要であると考えられた。

また、陽転率について、同居牛は 58.8% と最も高く、隣接牛は 11.8%、陰性牛群は 0% であったことから、陽性牛と陰性牛の分離飼育は BLV 感染拡大阻止に効果的な対策であると考えられた。

平成 27 年 4 月に農林水産省が示した「牛白血病に関する衛生対策ガイドライン」<sup>2)</sup>にも挙げられているとおり、吸血昆虫対策は農場内の感染拡大防止対策の柱となる。今回検証試験を実施するにあたり、畜主に吸血昆虫対策としてネットの設置を提案したところ、牛の異嗜が心配とのことでコンパネを設置した。検証頭数は少なかったものの、コンパネ設置の牛房で陽転が認められなかったことから、コンパネの設置により陽性牛を吸血した吸血昆虫が陰性牛へ移動するまでの時間が延長され BLV が不活化することで感染が阻止されたと考えられた。

また、今回陽性牛にペルメトリン製剤を用いた結果、同居牛に陽転は認められ

なかったことから、本製剤の使用は BLV の感染拡大防止に効果的な方法であると考えられた。畜主にペルメトリン製剤の使用を指導したところ、製剤噴霧と耳標での対策効果は同程度であることから、労力がより軽減される耳標型ペルメトリン製剤を用いて今後も対策を継続していくとのことであった。

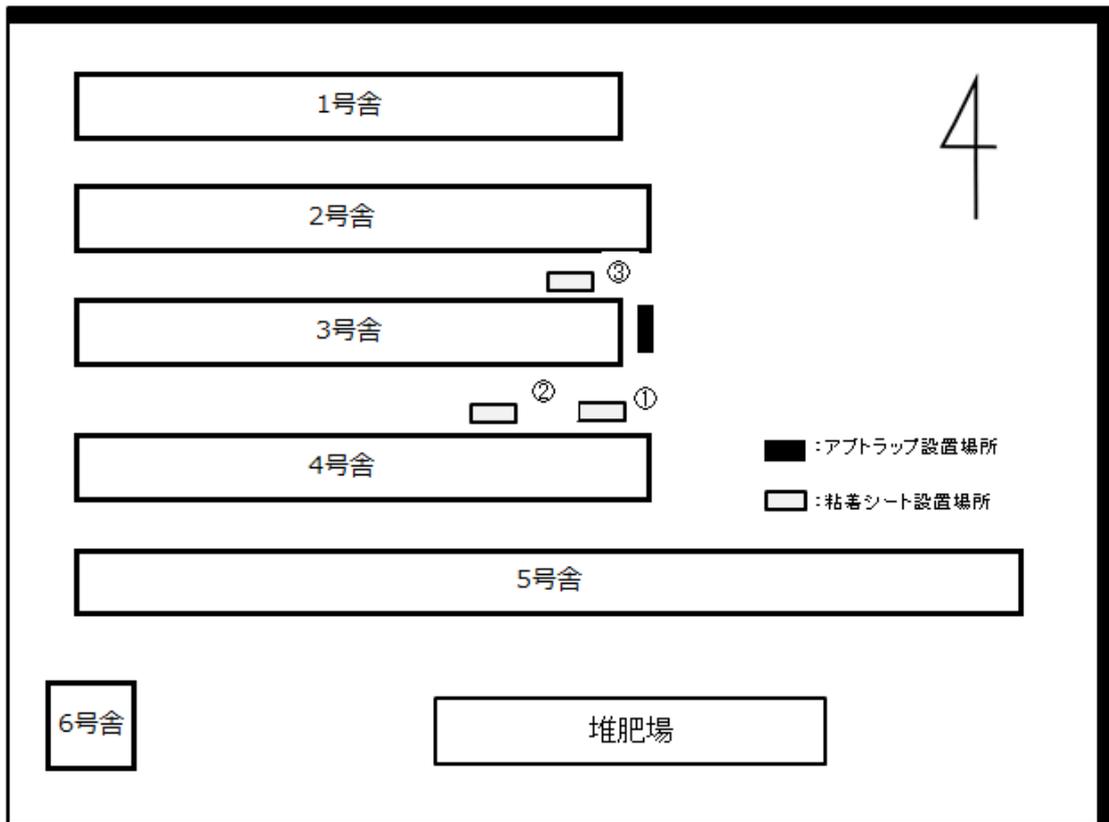
検証試験の結果から、対照区では陽転牛が確認されたが、コンパネ設置やペルメトリン製剤を用いた対策を実施した牛群では陽転が認められなかった。今後は導入時検査により、陽性牛と陰性牛を分離飼育し、牛群間に牛房を空けられない場合はコンパネ等の仕切りを設置することを指導した。

平成 27 年度及び平成 28 年度の 2 シーズンに渡り、アブトラップを設置したがアブは捕獲されず、畜主への聞き取りでもアブの出現頻度は低いことがわかった。農場周辺はアブが発生しやすい環境であるが、農場周囲に設置した高さ 3m のガルバリウム鋼板によって侵入を阻止されていると考えられた。一方、10 月をピークにサシバエが多く捕獲されたことから、サシバエが農場内の BLV 感染拡大に大きく関与していると考えられたため、定期的な除糞や吸血後のサシバエの休息場所となる牛舎周囲の除草を実施することも効果的な対策となると思われる。

今回、農場で牛白血病を疑う死亡例が契機となり、畜主が BLV 感染拡大に危機感を持ち当所に BLV 対策の指導を求めたことで取り組みが始まった。当所管内の肥育農場において BLV 対策に取り組む農場は少ない中で、畜主は BLV 対策に真剣に向き合い、当所の指導のもと浸潤状況調査や検証試験に積極的に取り組んできた。その結果、農場に適した効果的な BLV 対策を見出すことができた。本事例に取り組む中で、指導機関である家畜保健衛生所は実施不可能な対策を羅列するよりも、個々の農場にあった効果的な対策を提案することが重要であることを痛感した。今後も個々の農家にあった実施可能な対策を提案していきたい。

## 参考文献

- 1) Murakami K.*et al*, Nationwide Survey of Bovine Leukemia Virus Infection among Dairy and Beef Breeding Cattle in Japan from 2009-2011, J Vet Med Sci, 75, 1123-1126, 2013
- 2) 農林水産省消費・安全局動物衛生課, 牛白血病に関する衛生対策ガイドライン, 2015



ガルバリウム鋼板

図1 農場見取図



写真1 牛部屋のコンパネ



図2 試験区及び対照区

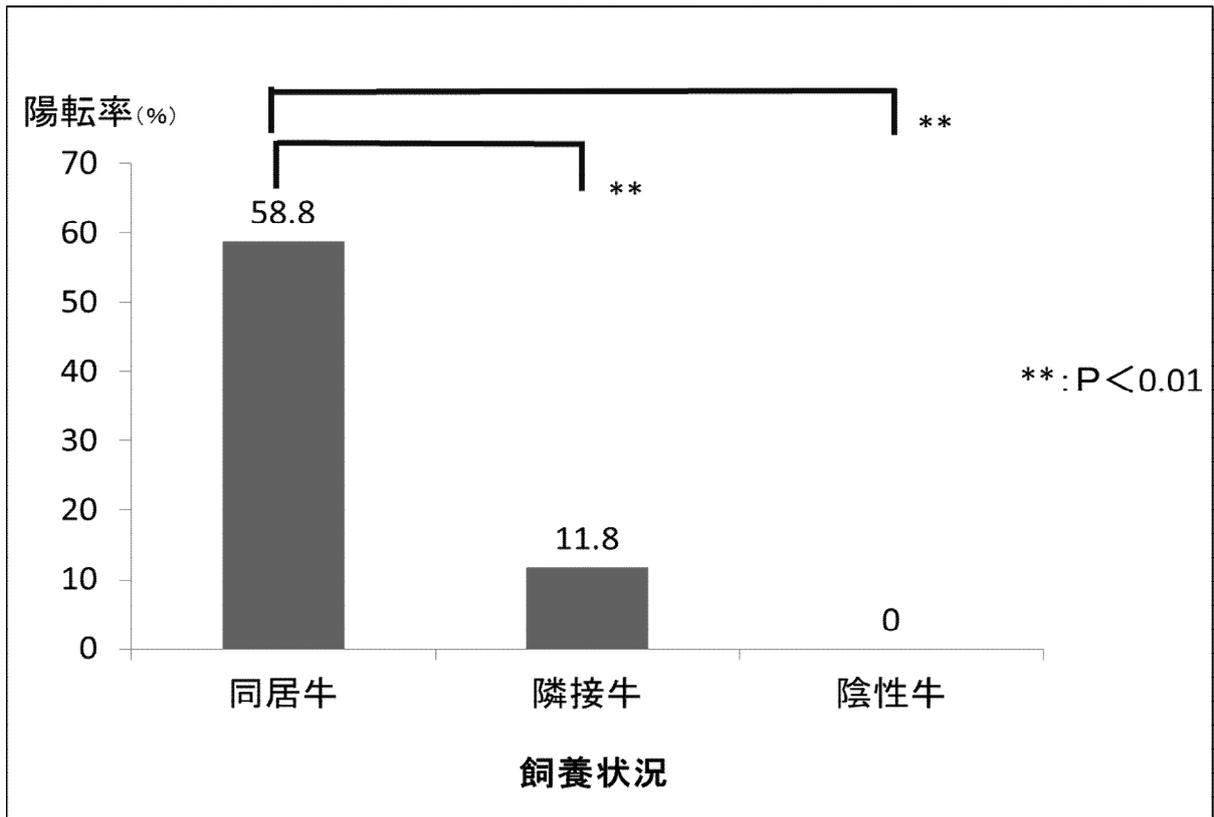


図3 BLVの陽転率

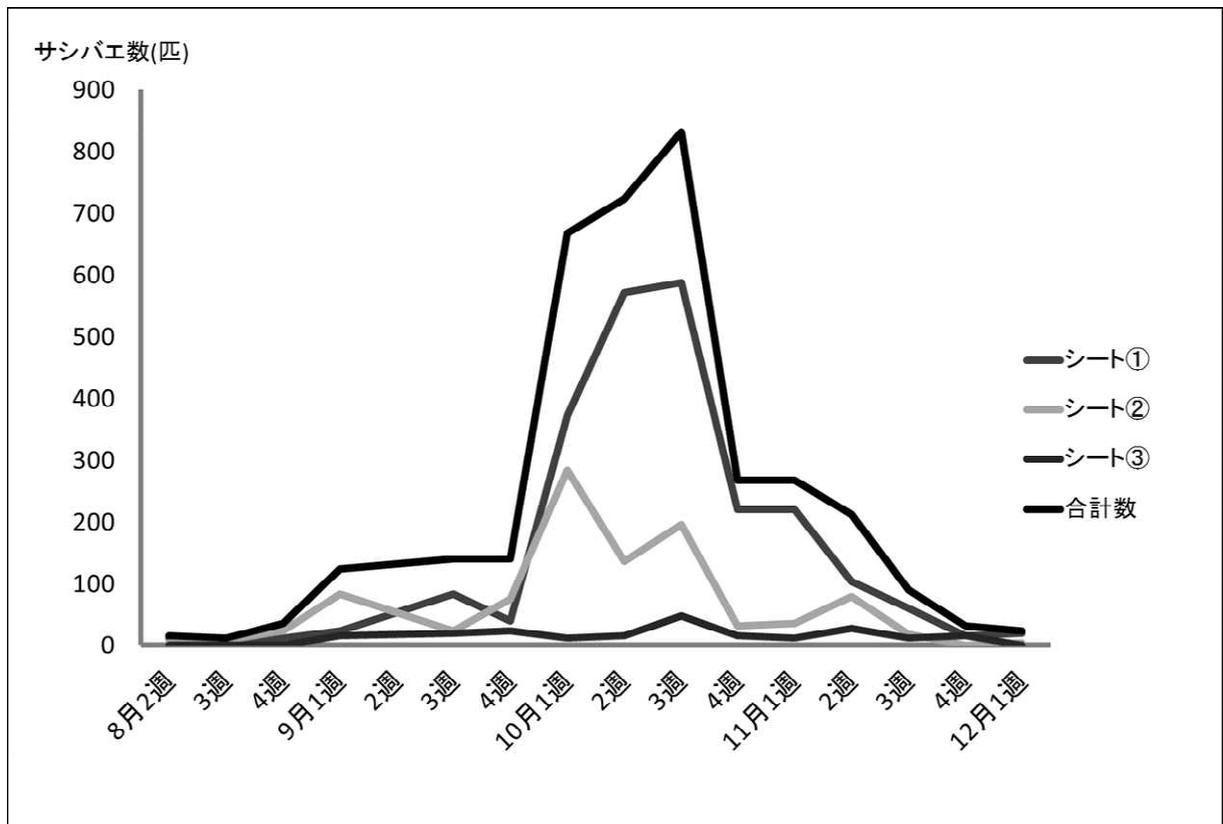


図4 サシバエの推移

## 6. ヨーネ病スクリーニング検査の陽性率が高い大規模農場の検査体制の見直し

県北家畜保健衛生所

○水野 博明 藤井 勇紀  
赤上 正貴 須永 静二

当所管内にある大規模酪農場では、平成 20 年度からヨーネ病の清浄化対策として年 1 回の全頭検査を実施してきた。平成 25 年度からは、糞便による遺伝子検査（以下、確定検査）が導入され、スクリーニング検査（以下、S 検査）陽性牛の確定検査を複数回に分けて実施してきた。しかし、S 検査の陽性率が高いこと、また、確定検査の際は、患畜が確認された場合に備え、結果が判明するまで検査牛全頭の生乳出荷を制限することから、農場側の負担は非常に大きかった。そこで、確定検査の対象頭数を絞り込むために、S 検査陽性牛を対象に、ヨーネ菌特異遺伝子 ISO900 をターゲットとするプライマーを使用したリアルタイム PCR（以下、研究用試薬 qPCR）を実施し、遺伝子量で 3 段階にリスク区分し、ヨーネ病の発生リスクの高い順から確定検査を実施し、検査の省力化及び効率化を図ったので、その概要を報告する。

### 大規模酪農場の概要及び検査方法の変遷とその結果

#### 1 農場の概要（平成 28 年 2 月時点）

当該農場は、乳用牛 1,760 頭、肉用肥育牛 4,380 頭を飼養している。乳用牛は全て外部導入で、自家育成はしていない。そのため、乳用牛には肉用牛の受精卵を移植もしくは黒毛和種の精液を人工授精して肥育素牛を生産している。なお、搾乳はロータリーパーラーを用いて 1 日 3 回実施している。

#### 2 ヨーネ病検査の変遷

##### （1）平成 20～24 年度

当該農場は、病牛や種付け用の少数の自動スタンションしかなく、一度に全頭検査を実施することは物理的に不可能であったこと、また、ELISA 陽性牛は、即、患畜となり、生乳が出荷できなくなることから、平成 20 年度の家畜伝染病予防法第 5 条に基づく定期検査は、乾乳牛を対象に 2 か月毎に計 6 回かけて実施し、患畜を 1 頭確認した。

当該農場は、前述のとおり、乳用牛を全て外部導入しており、当該農場のヨーネ病罹患リスクは、導入牛の産地のヨーネ病感染率に依存する。そのため、ヨーネ病対策要領に示されている年 3 回の検査を実施しても、ヨーネ病の発生リスクを低減することは難しく、たとえ清浄農場に復帰できても再発リスクは高い。そこで、平成 21～24 年度までの清浄化対策は、年 1 回の全頭検査を実施することで

一定の清浄性を維持することとした。全頭検査は、平成 20 年度と同じく、乾乳牛を対象に 2 か月毎に計 6 回かけて実施した。

## (2) 平成 25～27 年度

平成 24 年 10 月、当該農場はロータリーパーラーを導入した。これで搾乳牛を一度に漏れなく検査できる農場側の条件が整った。加えて、家畜伝染病予防法施行規則が改正され、平成 25 年度から、S 検査陽性牛について確定検査を実施する体制に変更になった。

平成 25 年度以降の当該農場の清浄化対策は、搾乳牛を年 2 回に分けて全頭採血し、S 検査を実施した。これまでの知見から、患畜と同居している牛は、患畜からの大量の排菌によって、確定検査で通過菌が検出されることがあり、未感染牛を患畜と誤認するおそれがあることがわかっている。そのため、確定検査は S 検査の ELISA 値が高い牛から実施し、患畜が確認された場合は、殺処分してから少なくとも 3 週間以上間隔をあけて次の確定検査を実施した。確定検査は搾乳牛を対象として実施しており、採材から結果が判明するまで生乳の出荷が制限されることから、当該農場では、確定検査当日の生乳を全て廃棄していた。

## 3 ヨーネ病検査結果

### (1) 平成 21～24 年度

平成 21～24 年度までの清浄化対策の結果、計 9 頭の患畜を摘発した。この期間は、検査対象が乾乳牛であったため、生乳を廃棄することはなかった。

### (2) 平成 25～27 年度

平成 25～27 年度までの当該農場の S 検査陽性率は、検査を導入した平成 25 年度は 9.79% (172/1,756)、平成 26 年度は 9.24% (127/1,375)、平成 27 年度は 10.14% (171/1,686) であった。また、管内の他農場の S 検査陽性率は、平成 25 年度は 0.48% (13/2,713)、平成 26 年度は 0% (0/3,244)、平成 27 年度は 1.92% (85/4,418) であり、当該農場の S 検査陽性率は管内の他農場に比べ著しく高かった (図 1)。

確定検査は 1 回で 32 頭を検査できるが、当該農場のように S 検査の陽性率が高い場合、複数回に分けて実施する必要がある。平成 25 年度は、確定検査を 10 回 172 頭で実施し、4 頭の患畜を初回検査時に摘発した。平成 26 年度は 8 回 116 頭で実施し、患畜を初回 (1 頭) と 4 回目 (1 頭) の計 2 頭摘発した。平成 27 年度は 8 回 139 頭で実施し、患畜を初回 (5 頭)、3 回目 (3 頭)、5 回目 (1 頭) の計 9 頭摘発した (表 1)。なお、管内の他農場における患畜の摘発は平成 27 年度の 1 頭のみだった。

当該農場の確定検査で患畜となる割合は、3 年間の通算で 3.51% (15/427) (平成 25 年度 2.33% (4/172)、平成 26 年度 1.72% (2/116)、平成 27 年度 6.47% (9/139)) であった。それ以外の S 検査陽性牛の生乳は廃棄されていた。そのため、農場側の経済的な負担は大きく、清浄化対策を継続的に実施するため、当該農場は、生

乳の廃棄回数や頭数の軽減化が出来る検査法の導入を望んでいた。

## 平成 28 年度の検査方法及びその結果

### 1 検査方法

平成 25～27 年度までの清浄化対策の結果から、平成 25 年度以降の検査方法を実施した場合、全飼養牛の約 10% (180 頭) が S 検査で陽性になり、S 検査陽性牛の約 5% (10 頭) が確定検査で陽性になると推定された。そのため、確定検査を 1 回ないし 2 回に集約すれば、生乳の廃棄量を減らし、農場側の負担軽減が図られると考えた。

そこで、人の医療において、大事故や災害の際に多数の患者が出た場合、重症度に応じて治療の順番を決める「トリアージ」という方法があるが、このトリアージをヨーネ病検査に取り入れた。S 検査陽性牛について、糞便を別途採材し、研究用試薬 qPCR で測定した遺伝子量に応じてリスク区分した。リスク区分は、遺伝子量が確定検査陽性と同量 ( $1.0 \times 10^{-3}$  pg/well) 以上を高リスク、遺伝子が確認されたものの確定検査陽性量未満を中リスク、遺伝子が確認されなかった場合を低リスクとした (図 2)。

確定検査は、トリアージにより 3 段階にリスク区分した牛群のうち、患畜となる可能性が高い高リスク牛群を 1 回目に実施し、実施の時点で患畜の殺処分予定日を農場側と調整した。中リスク牛群は、高リスク牛群の患畜処分後、最低 3 週間以上の期間を設けて実施した。低リスク牛群は、研究用試薬 qPCR で、遺伝子が確認されていないため、この牛群から同居牛へのヨーネ病のまん延リスクは極めて低いと判断し、次回検査時まで農場の管理獣医師が経過観察することとした。

### 2 検査結果

平成 28 年 6 月 6 日、ロータリーパーラーを利用し、搾乳牛 1,461 頭の採血を実施した。翌 7 日、搾乳牛とは別の牛舎で飼養されている乾乳牛及び治療牛群 191 頭の採血を実施した。1,652 頭について S 検査を実施した結果、84 頭が陽性であった。6 月 20 日、S 検査陽性牛について研究用試薬 qPCR を実施した。その結果からトリアージを実施し、遺伝子量が  $4.5 \times 10^{-1}$  pg/well (A)、 $1.76 \times 10^{-3}$  pg/well (B) の 2 頭を高リスク、3 頭を中リスク、79 頭を低リスクに区分した (表 2)。A と B は同じで牛舎で飼養されており、トリアージの時点で B は A に比べ遺伝子量が少なかったため、通過菌による影響が考えられ、B を中リスク牛群に区分した。

また、6 月の検査時に導入直後のため S 検査を猶予した 99 頭の検査を 7 月 4 日に実施し、全頭陰性を確認した。

高リスクの A は、7 月 14 日に確定検査を実施し患畜と診断し、7 月 21 日に殺処分した。A を殺処分後、約 1 か月の期間において、8 月 23 日に B を含む中リスクの 4 頭の確定検査を実施した。B の遺伝子量は  $1.2 \times 10^{-1}$  pg/well と基準値を超え

たため、患畜と診断し、8月25日に殺処分した。

## 平成28年度の清浄化対策の検証

当該農場の全頭検査の結果、S検査陽性牛は84頭で、陽性率は4.80% (84/1,751)であった。また、その後の確定検査で、患畜が2頭摘発された。平成28年度のS検査陽性率は、平成25～27年度と比べ低下したものの、管内の他農場と比べると依然として高かった。

今年度の患畜の発生頭数は、前年度に比べ減少したが、確定検査を実施するようになった平成25年度以降は、それ以前（平成21～24年度）に比べ増加している。

研究用試薬 qPCR は、確定検査とほぼ同一の精度で遺伝子量を測定できるため、その結果は信頼性が高い。今回、研究用試薬 qPCR を使って S 検査陽性牛を対象にトリアージを実施したところ、確定検査を実施する5頭（高リスク2頭、中リスク3頭）まで絞り込むことができ、効率的に患畜を摘発することができた。今回のトリアージは、高リスクと区分した2頭のうち、Aの遺伝子量が  $4.5 \times 10^{-1}$  pg/well と大量に排菌していたため、同居していた B ( $1.76 \times 10^{-3}$  pg/well) は通過菌の可能性が高く、中リスク牛群として確定検査したところ基準値以上だったため、患畜と診断した。このことから、トリアージにより高リスクに区分した牛は、確定検査で患畜となる可能性が高いことが示唆された。今後は、知見を積み重ね、トリアージの精度を向上していきたい。

## まとめ

当該農場は、平成25年度以降、複数回にわたる確定検査時の生乳廃棄が大きな負担になっていた。今後も生乳の廃棄が続くようであればヨーネ病清浄化への意思が挫け、年1回の全頭検査に難色を示すことが考えられた。そこで、平成28年度は農場側の負担軽減を目的に、研究用試薬 qPCR によるトリアージを取り入れ、患畜摘発の集約化を試みたところ、2回に集約化することができ、その結果、生乳廃棄量を大幅に減らすことができた。

当所では、来年度以降も当該農場における一定の清浄性を維持するため、トリアージの手法を取り入れ、年1回の全頭検査を継続的に実施するとともに、特に今回のトリアージで低リスクとされた牛群について注視して検査をしていく予定である。また、当該農場での S 検査陽性率は他の管内農場に比べ高い結果となっていることから、今後は陽性率を低下させるための原因究明を実施していきたい。

図 1 当該農場と管内の他農場における S 検査陽性率の年度別の推移

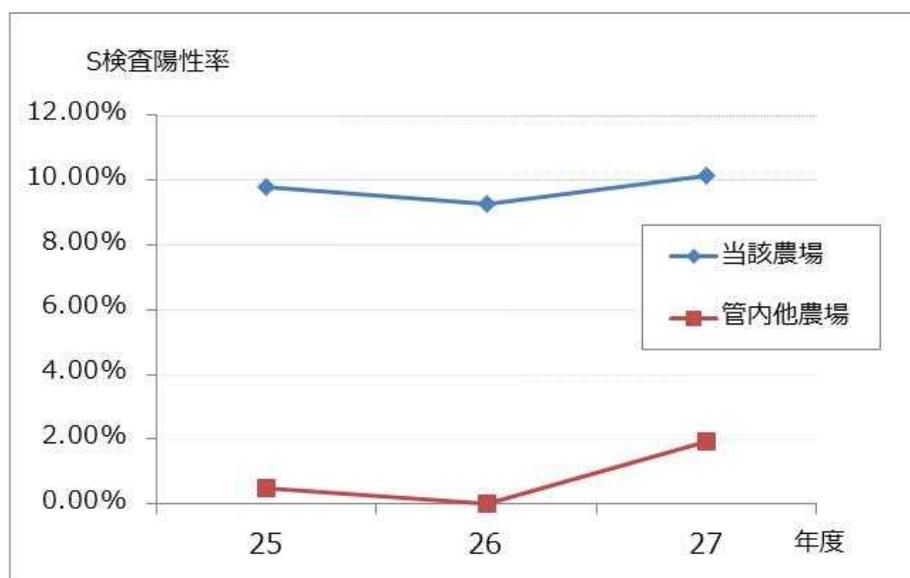


表 1 当該農場における S 検査及び確定検査の実施状況 (H25～27 年度)

| 年度 | S検査   |      | 確定検査 |      |      |
|----|-------|------|------|------|------|
|    | 検査頭数  | 陽性頭数 | 検査頭数 | 検査回数 | 陽性頭数 |
| 25 | 1,316 | 71   | 71   | 4    | 4    |
|    | 440   | 101  | 18   | 1    | 0    |
|    |       |      | 83   | 5    | 0    |
| 計  | 1,756 | 172  | 172  | 10   | 4    |
| 26 |       |      | 5    | 1    | 1    |
|    | 631   | 85   | 60   | 3    | 0    |
|    |       |      | 20   | 1    | 0    |
|    | 744   | 31   | 3    | 1    | 1    |
|    |       |      | 28   | 2    | 0    |
| 計  | 1,375 | 116  | 116  | 8    | 2    |
| 27 |       |      | 7    | 1    | 5    |
|    | 1,150 | 77   | 23   | 1    | 0    |
|    |       |      | 23   | 1    | 3    |
|    |       |      | 24   | 1    | 0    |
|    | 536   | 62   | 42   | 3    | 1    |
|    |       |      | 20   | 1    | 0    |
| 計  | 1,686 | 139  | 139  | 8    | 9    |
| 合計 | 4,817 | 427  | 427  | 26   | 15   |

図2 当該農場における平成28年度のヨーネ検査の流れ

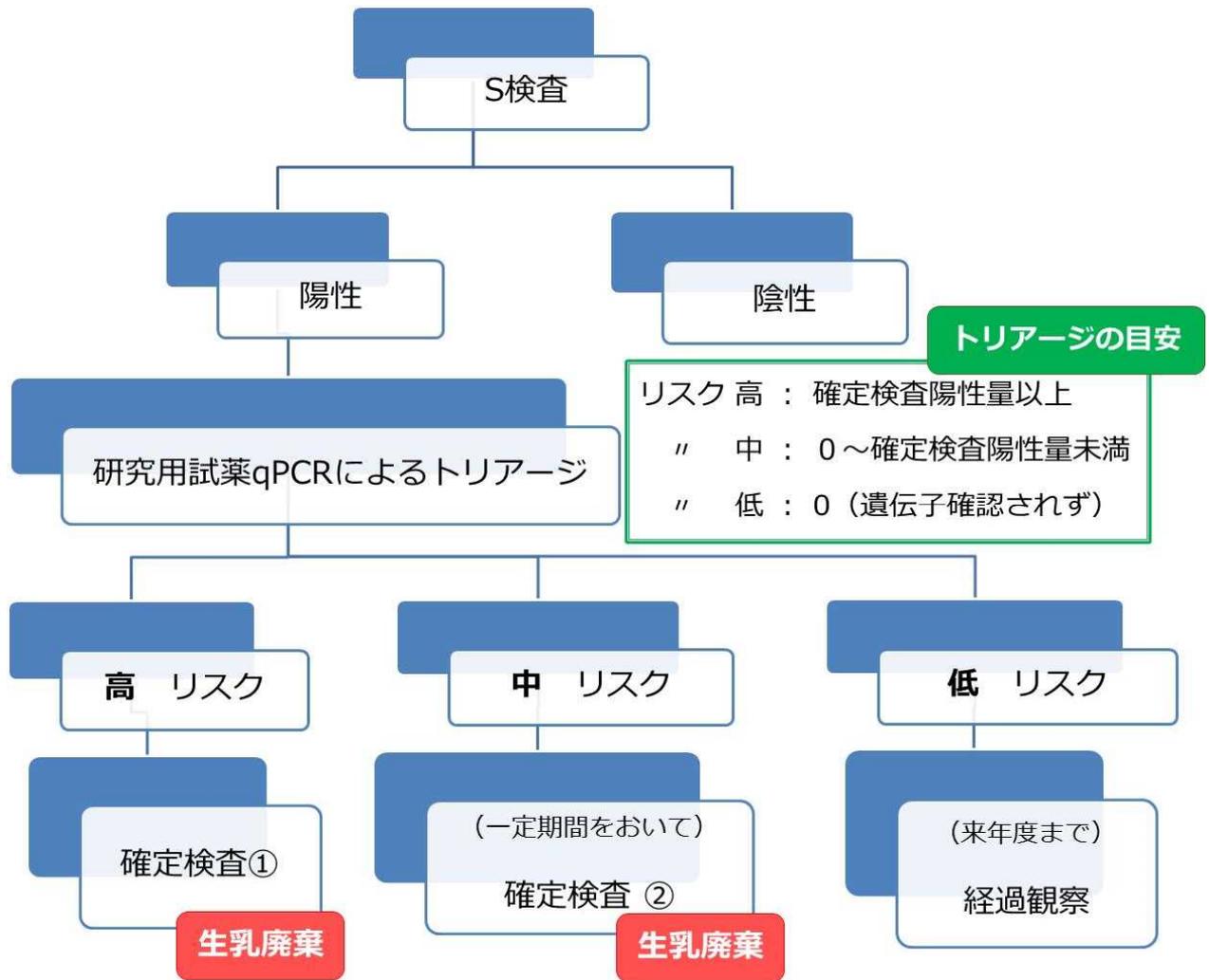


表2 研究用試薬 qPCR によるトリアージの結果

| トリアージ | 頭数 | 遺伝子量 (pg/well) |          |
|-------|----|----------------|----------|
| 高 リスク | 2  | A              | 4.50E-01 |
|       |    | B              | 1.76E-03 |
| 中 リスク | 3  |                | 5.07E-04 |
|       |    |                | 3.25E-04 |
|       |    |                | 6.21E-04 |
| 低 リスク | 79 |                |          |

※0.001 = 1.0E-03

遺伝子量  $A > B$   
 A と B 飼養場所が同じ  
 ↓  
 (推察)  
 Aから排菌されたヨーネ菌を  
 Bが摂取し一時的に排泄  
 ↓  
 Bを**中リスク**と判断