

# 1 1 展示施設における鹿ヨーネ病の発生

○林 朋弘 寺崎 敏明 高野 真帆 小山 朗子

## 要 約

令和2年12月以降、都内展示施設（施設）において飼育されていた鹿に削瘦や軟便が見られ、翌年5月までに4頭が死亡したため、民間検査機関に依頼し検査を実施したところ、糞便中に抗酸菌が確認されたため当所に病性鑑定依頼があった。抗酸菌が確認された鹿2頭の糞便ヨーネ病リアルタイムPCR（qPCR）により *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis*（ヨーネ菌）DNA定量陽性となったため、ヨーネ病患畜と決定した。以降、3回の病理解剖を含む複数回の病性鑑定を実施した。1回目の病性鑑定により、糞便のqPCRの結果子鹿2頭も患畜となった。また、ヨーネ菌の牛/羊型 型別検索を国立研究開発法人農業・食品産業技術総合研究機構 動物衛生研究部門（動衛研）に依頼したところ、確認されたヨーネ菌はいずれも牛型と判明した。2回目の病性鑑定では、13頭の解剖と臓器および糞便のqPCRを実施し全頭が患畜となった。特にヨーネ菌DNA（DNA）検出量の多かった検体について菌の分離培養を実施したところヨーネ菌が分離された。3回目病性鑑定では、飼育鹿群最後の1頭について実施したが、病理検査や糞便qPCRでは確定診断できなかったが、臓器乳剤の一部からヨーネ菌が分離され、患畜となった。鹿の飼育場所は消毒後の検査で全てDNA未検出を確認しているため、今後とも環境検査を通じて早期の飼育環境の清浄化を確認する。

ヨーネ病は、ヨーネ菌による慢性的な下痢と肉芽腫性腸炎を主訴とする感染症で、令和3年は本事例も含めて全国で延449戸、1,015頭での発生が確認されている<sup>1)</sup>。都内展示施設で飼育されていた鹿においてヨーネ病の発生があったため、その概要について報告する。

## 発生状況等

令和2年12月から令和3年5月にかけて、16頭中4頭の鹿が軟便や顕著な削瘦により死亡した。展示施設から民間検査機関への検査依頼をしたところ、死亡鹿および生存鹿の糞便で抗酸菌が確認され

たことから、6月施設担当獣医師から届出があり病性鑑定を実施した。なお、抗酸菌が確認された個体は隔離を指示した。届出時の鹿飼育頭数は18頭で、外部からの導入は長期間行われていなかった（表1）。

表1 発生経過

発生施設（報告時）	
飼育形態：鹿、18頭、導入なし	
経過	
・ R2年12月～R3年5月	16頭中4頭軟便・削瘦呈し死亡。生存鹿2頭抗酸菌確認
・ 6月 9日	当所へ報告。生存鹿とその子、計3頭の隔離を指示
・ 14日	生存鹿2頭糞便のヨーネ病qPCRで2頭とも定量陽性 DNA量 ①：1.222E+02 pg/well (0.025cc) ②：6.351E+02 pg/well
・ 28日	患畜2頭とその子1頭、死亡子鹿計4頭(①～④)を解剖 【1回目】
・ 7月 2日	同居鹿12頭の糞便qPCR、12頭中11頭が定量陽性
・ 14日	患畜11頭、患畜の子2頭計13頭(⑤～⑯)を解剖【2回目】
・ 12月20日	同居鹿検査定量陽性個体(⑱)を自主淘汰・解剖【3回目】
・ 3月15日	分離菌がヨーネ菌であることを確認

飼育頭数が多かったことから、病性鑑定を複数回にわたって実施した(表2)。1回目では、生存鹿①②とその子③、死亡後冷蔵保存されていた子鹿④について、解剖と糞便遺伝子検査を実施した。この結果、ヨーネ菌 qPCR の結果で、DNA の検出量が①で 1.222E+02 pg/well、②で 6.351E+02 pg/well となりヨーネ病患者と決定した。③④についても糞便 qPCR により患者と決定した。

2回目の病性鑑定として、残りの同居鹿 12頭の糞便 qPCR の結果、11頭(⑤~⑮)が患者と決定されたため、患者 11頭と患者の子 2頭(⑯、⑰)について解剖を行った。糞便 qPCR の結果⑯と⑰も患者と決定された。3回目の病性鑑定として、糞便 qPCR 陰性だった最後の個体⑱について解剖を行った。

表2 病性鑑定一覧

【1回目】(6月28日解剖)					【2回目】(7月14日解剖)					【3回目】(12月20日解剖)				
No.	性別	生年月日	年齢	母親個体	No.	性別	生年月日	年齢	母親個体	No.	性別	生年月日	年齢	母親個体
①	♀	H24.7.7	8		⑤	♀	H20.6.1	13		⑬	♂	H21.6.1	12	
②	♀	H22.6.19	11		⑥	♀	H20.6.4	13		⑭	♀	H22.6.30	11	
③	♂	R3.6.4	0	②	⑦	♀	H29.6.2	4	②	⑮	♀	H23.5.30	10	
④	♀	R3.6.5	0	②	⑧	♀	R1.5.29	2	②	⑯	♀	H27.6.4	6	②
					⑨	♂	R2.5.25	1	②	⑰	♂	R3.6.7	0	②
					⑩	♀	R3.5.28	0	②					

### 材料及び方法

細菌検査の材料および方法を表3に示す。採材部位は、牛に準ずる形<sup>2)</sup>で実施し、一部検査を動衛研へ依頼した。液体培地による菌培養(MGIT法)は暗所でチューブ底面から紫外線を照射し蛍光発生の有無によってヨーネ菌の発育を確認するもので、寒天培地よりも分離率が高く、培養期間が短いことが利点である。検体中のヨーネ菌以外の細菌増殖を抑制するために抗

生物質を添加するが、羊型のヨーネ菌はバンコマイシンに感受性があり、バンコマイシン添加培地には牛型しか増殖しないため、培養にはどちらの型も増殖するホスホマイシン添加培地を用いた。ヨーネ菌の牛型/羊型鑑別である IS1311 PCR は増幅 PCR 産物を制限酵素で処理し電気泳動で現れたバンドのパターンにより型別を行った。

表3 材料および方法

材料	
【1回目】(①~④)	糞便、腸管(回盲部より10cm、30cm、50cm、1m、空腸)、各腸間膜リンパ節(回盲部・回腸・空腸)
【2回目】(⑤~⑮)	糞便(⑮、⑰のみ)、回腸(回盲部より50cm)、回腸リンパ節
方法	
【1回目】	糞便 および 臓器qPCR、牛/羊 型別 IS1311 PCR ヨーネ菌分離培養(MGIT ParaTB Medium) (Middlebrook 7H10 Agar)
【2回目】	牛/羊 型別 IS1311 PCR
【3回目】	糞便 および 臓器qPCR ヨーネ菌分離培養(ヨーネ菌用培地「共立」)

### 成績

1回目:①と②の外貌の比較を図1に示す。②は解剖時には肛門周囲の汚れも無く糞便も正常だったが、①は削瘦と軟便による肛門周囲の汚れが目立ち、被毛粗剛で冬毛のままであった。2例とも腸管粘膜に肥厚は認められず②は菲薄化していた。



図1 患者の状況(1回目)

また、腸管および腸間膜リンパ節の病理組織検査では、①、②ともに類上皮細胞による肉芽腫形成や抗酸菌の浸潤が確認された。4例の qPCR の結果を表4に示す。全

個体・全検体とも DNA 量が非常に多く、特に②の空腸や腸リンパ節の混合検体では 1.139E+04pg/well 以上の DNA が検出された。

表4 各検体のDNA量(pg/well)【1回目】

太字 : 1.0E + 03 以上

	①	②	③	④
糞便	7.773E+01	6.981E+02	9.663E+00	5.137E-01
回腸 (回盲部から10cm)	<b>1.541E+03</b>	<b>3.992E+03</b>	4.885E-01	5.191E+00
回腸 (回盲部から30cm)	NT	NT	NT	
回腸 (回盲部から50cm)	NT	NT	NT	2.309E+00
回腸 (回盲部から1m)	<b>3.511E+03</b>	<b>6.465E+03</b>	1.368E+01	
空腸 (バイエル板)	<b>3.985E+03</b>	<b>1.157E+04</b>	3.367E+00	2.427E+00
回盲部リンパ節			1.472E+00	NT
回腸部リンパ節	<b>2.850E+03</b>	<b>1.139E+04</b>	1.440E+00	2.076E+01
空腸部リンパ節			3.591E+00	1.580E+01

液体培地による菌培養では、培養開始 22 日目で全ての検体が蛍光を発する陽性となった (図 2)。

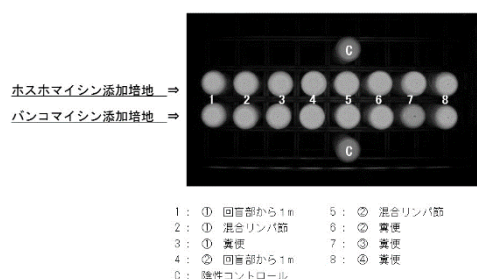


図2 液体培地(MGIT ParaTB)における培養(22日目)

ヨーネ菌の牛型/羊型鑑別である IS1311 PCR では、制限酵素処理により牛型の陽性コントロールと同じ位置に 3 本のバンドが確認されたことで、全て牛型と確認された(図 3)。

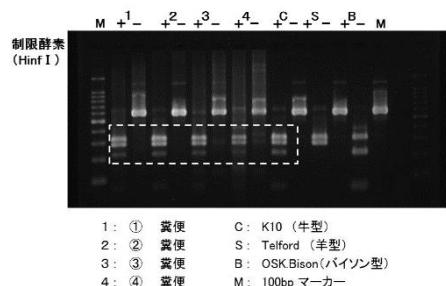


図3 牛/羊型別 IS1311 PCR

2 回目: qPCR の結果、糞便の DNA 量はいずれも 1.0E + 03pg/well を上回っている。臓器の DNA 量は、⑪の回腸や⑭の回腸リンパ節のような著しく多い検体もあったが、1.0E + 03pg/well 未満となる検体が散見された (表 5)。

表5 各検体のDNA量(pg/well)【2回目】

太字 : 1.0E + 03 以上  
下線 : 1.0E - 03 未満

	⑤	⑥	⑦	⑧	⑨	⑩
糞便	2.021E-01	1.045E-01	2.058E-02	2.202E+01	1.905E-02	1.024E-01
回腸	1.394E-03	2.000E-02	4.442E-01	8.117E+01	1.572E-03	2.089E-02
回腸リンパ節	1.268E-02	1.268E-02	6.061E+00	9.107E+01	3.048E-02	1.207E+00

	⑪	⑫	⑬	⑭	⑮	⑯	⑰
糞便	1.898E+02	2.497E-02	8.494E-02	2.789E+02	1.952E-01	2.622E-01	4.672E-01
回腸	<b>2.768E+04</b>	<u>2.259E-04</u>	<u>8.024E-04</u>	2.417E+02	5.796E-01	<u>2.618E-04</u>	<u>2.542E-04</u>
回腸リンパ節	4.673E+02	5.237E-03	2.203E-02	<b>5.947E+03</b>	6.356E-01	2.652E-04	4.857E-04

DNA 量が多かった⑧、⑪、⑭の臓器及び⑩と⑰の糞便培養を実施したところ、部位を記載するからヨーネ菌を分離した (図 4)。

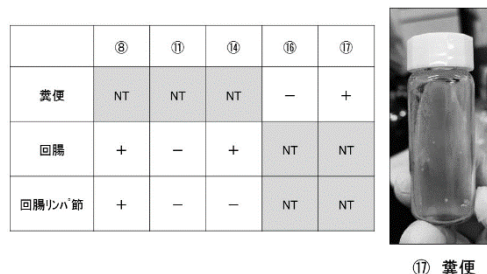


図4 ヨーネ菌の分離培養

3 回目: 同居鹿糞便 qPCR にて 1 頭だけヨーネ病陰性の⑱は隔離飼育していたが、患畜となる可能性が高いことから自主淘汰された。qPCR の結果は空腸リンパ節乳剤で 3.002E-03 pg/well であったが病理組織検査で病変が認められずヨーネ病患者と判定しなかった (図 5)。表中の各検体を用いた菌の分離培養を実施したところ、3 ヶ月後、空腸リンパ節および回腸リンパ節よりヨーネ菌が分離され、⑱も患畜とな

った。

糞便qPCR 一連の検査結果 (pg/well)

	DNA量
7月	1.392E-04
9月	ND
11月	3.097E-04



【3回目】 各検体のDNA量 (pg/well)

糞便	回腸 (回盲部 10cm)	回腸 (30cm)	回腸 (50cm)	回腸 (1m)	空腸 パイル板	回腸部 リンパ節	空腸部 リンパ節
1.190E-04	ND	ND	ND	ND	ND	9.687E-04	3.002E-03

図5 ⑱の病性鑑定結果

その他の検査：飼育場所の消毒は、当初は消石灰散布と次亜塩素酸系消毒剤の噴霧を実施し、その後は石灰乳噴霧する手法を実施した。飼育環境の qPCR 検査で清浄度の確認を実施している。また、その他の反芻動物についても延 3 種 10 頭の糞便 qPCR を実施し、全て DNA 未検出であることを確認している。

## 考 察

我が国の鹿ヨーネ病は平成 2 年 10 月に沖縄県における 3 頭が初発事例<sup>4)、5)</sup>で、少なくとも鹿が家畜伝染病予防法の対象とされた平成 10 年以降の発生報告はない<sup>1)</sup>。展示施設では、長期間外部導入をしておらず、鹿ヨーネ病感染が急性経過をとることが多いことから展示鹿以外からの感染が示唆され、野生鳥獣による伝播の可能性も否定できないため、侵入時期や経路の特定は困難である。

## 謝 辞

今回の報告に当り、各種検査を引き受けてくださった動衛研・動物感染症研究領域の川治聡子先生と上野勇一先生、ならびに北海道網走家畜保健衛生所の泉一宏氏に深謝致します。

## 引用文献

- 1) 農林水産省：監視伝染病の発生状況  
[https://www.maff.go.jp/j/syouan/douei/kansi\\_densen/kansi\\_densen.html](https://www.maff.go.jp/j/syouan/douei/kansi_densen/kansi_densen.html)
- 2) 国立研究開発法人 農業・食品産業技術総合研究機構 動物衛生研究部門：ヨーネ病検査マニュアル (2018. 2. 1 版)  
[https://www.naro.go.jp/laboratory/niah/disease/files/NIAH\\_yone\\_kensahou\\_180201.pdf](https://www.naro.go.jp/laboratory/niah/disease/files/NIAH_yone_kensahou_180201.pdf)
- 3) 農林水産省 消費・安全局監修：病性鑑定マニュアル第 4 版、44～45、全国家畜衛生職員会 (2016)
- 4) 貝賀眞俊ほか：バイカジカに発生したヨーネ病、沖家衛試年報第 27 号、74～81 (1991)
- 5) 慶留間智厚ほか：県外導入鹿に発生したヨーネ病の病理学的所見、沖家衛試年報第 27 号、57～67 (1991)