

PCR法によるヨーネ菌 (*Mycobacterium avium* subspecies *paratuberculosis*)
の検出、同定

豊橋市保健所食肉衛生検査所 ○後藤弘樹¹⁾ 菊地佐江¹⁾ 池川 敬²⁾
近藤武雄¹⁾ 松井育生¹⁾ 齋藤富士雄¹⁾
井野 仁¹⁾

1) 豊橋市保健所食肉衛生検査所 2) 愛知県健康福祉部生活衛生課

はじめに

ヨーネ病は、牛に最も多発する法定伝染病である。近年、愛知県における本病発生頭数の増加に伴い、ヨーネ病と診断された牛がと畜場に搬入される機会も増えている。当検査所ではヨーネ菌の微生物学的検査として直接鏡検と培養検査を行っている。しかし、検査に関わる検体処理は煩雑であり、菌の発育が遅いため、判定までに長い期間を要する。

そこで今回、ヨーネ菌の簡略かつ迅速な検出、同定方法として、最近ヨーネ病の診断に用いられつつある PCR 法^(1, 2, 3)の検討を行った。また、不顕性感染期にある牛では、ヨーネ菌が腸間膜付属リンパ節に存在する^(4, 5)ことから、ホルスタイン種の経産牛についても、当該リンパ節を用い、その保菌状況を調査したので報告する。

材料及び方法

〈供試動物〉

1999年4月から2000年7月までの期間、東三河食肉流通センターにヨーネ病として搬入された牛5頭(搬入日順に以下、No 1～5とする)、擬似患畜1頭およびホルスタイン種の経産牛25頭

〈材料〉

1. 分離菌株 (No 1, 3 および擬似患畜)

マイコバクチン添加ハロルド培地上コロニー

2. 空回腸粘膜および各リンパ節 (No 1～5)

空回腸粘膜(上部、中間部、下部の3ヶ所)、空回腸付属リンパ節(上部、中間部、下部の3ヶ所)、肝リンパ節および乳房リンパ節の計8ヶ所

(ただしNo 1 および 3 についてはホルマリン固定組織を使用)

3. 保菌状況調査(ホルスタイン種の経産牛25頭)

空回腸付属リンパ節下部

〈方法〉

ヨーネ菌に特異的な遺伝子配列 (IS900) をターゲットとする2段階PCR法⁽¹⁾

成績

1. 分離菌株

No 1、3の2頭については陽性、擬似患畜については陰性

2. 空回腸粘膜及び各リンパ節

No 1 空回腸粘膜 (中間部、下部) で陽性

No 2 空回腸粘膜 (下部)、空回腸付属リンパ節 (上部、中間部) で陽性

No 3 空回腸粘膜 (上部、下部)、空回腸付属リンパ節 (中間部) で陽性

No 4 空回腸付属リンパ節 (上部、下部) で陽性

No 5 空回腸粘膜 (上部、中間部、下部)、空回腸付属リンパ節 (上部) で陽性

3. 保菌状況調査

全て陰性

考察

本PCR法を用いることにより、肉眼所見が乏しい場合や直接鏡検で菌が認められない場合においても、迅速かつ簡略なヨーネ菌の検出が可能となった。また、今回の保菌状況調査は全て陰性であったが、本法により不顕性感染期にある牛の早期発見も可能になると考えられた。

一方、ヨーネ菌はサルにも感染し、反芻動物と類似した病態を引き起こす⁽⁶⁾。また、人への伝播を示す疫学的証拠はないものの、難治性腸炎を主徴としたクローン病患者の腸管からヨーネ菌が分離されており、クローン病とヨーネ菌に関わりがある可能性も示唆されている⁽⁷⁾。

畜産食品の安全性に関して、農場やと畜場からの微生物制御が求められる中、乳肉がヨーネ菌に汚染されている可能性は公衆衛生上看過できない。そこで、継続的な保菌状況調査を行うことは、ヨーネ病の清浄化および食品の安全性向上にも寄与すると考える。

引用文献

(1) 家畜衛生研究成果情報No 9 19~20 (1995)

- (2) 三木隆広ら；臨床獣医 14-1 28~34 (1996)
- (3) 百溪英一；臨床獣医 16-9 24~31 (1998)
- (4) 百溪英一ら；日獣会誌 42 229~237 (1989)
- (5) 横溝祐一；臨床獣医 7-12 21~31 (1989)
- (6) 横溝祐一ら；臨床獣医 14-1 13~19 (1996)
- (7) 横溝祐一；畜産の研究 43-1 150~156 (1989)