

第 2 部

日本蜜蜂のアカリダニ症発生事例

西部家畜保健衛生所

水谷直子 片山努

【はじめに】

アカリダニ症は、アカリダニ (*Acarapis woodi*) が蜜蜂の気管に寄生し、これらが増殖して気管を傷害・閉塞することで、飛翔不能・衰弱を呈した蜂の増加を招く感染症で、届出伝染病に指定されている(図1)。国内では、平成22年に長野県で発生し、その後各地で発生が確認されている。今回、管内で飼育されている日本蜜蜂において県内初の発生を含む2症例の発生を確認したのでその概要を報告する。また、蜜蜂飼育者に対するアンケート調査を実施したので併せて報告する。

【発生の概要】

(症例1)平成27年2月、M市で飼育する日本蜜蜂1群中1群及び西洋蜜蜂8群中1群について、1月下旬に巣箱内において各100匹程度の死骸を確認したと連絡があり、検査を実施した。西洋蜜蜂の残り7群については症状はなく、どちらの群についても、ヘギイタダニ対策としての殺ダニ剤の使用はなかった。発生蜂場は各巣箱が数メートル間隔で配置されていた(図2)。餌場を巣箱外に設置しており、日本蜜蜂と西洋蜜蜂が共有し、両者が接触する機会があった(図3)。

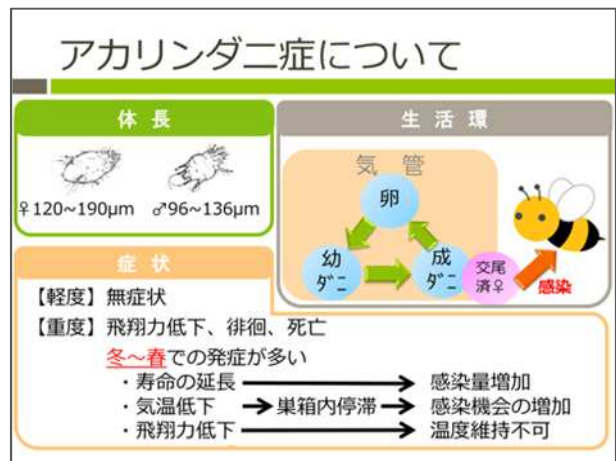


図 1

(症例2)平成27年4月、K市で飼育する日本蜜蜂2群に3月中旬頃から巣門付近で多数の成蜂、特に雄で死骸及び徘徊が観察されたと連絡があった。



図 2 発生蜂場



図 3 西洋蜜蜂(赤円)と日本蜜蜂(黄円)が同時に集まる餌場

【材料及び方法】

(症例 1) 日本蜜蜂及び西洋蜜蜂の死骸各 100 匹程度を 70%エタノールに浸漬した後、無作為に抽出した各 10 匹を材料とした。(症例 2) 各群の死骸各 20 匹程度から無作為に各 10 匹を抽出し検査を実施した。検査方法については、OIE のアカリダニ症診断マニュアルに準じ、摘出した気管はスライドガラスにホイヤー氏液で封入し光学顕微鏡で鏡検した(図 4~7)。ホイヤー氏液は、ガムクロラール液の一種で、ダニ、昆虫等を主として外部寄生虫の透過・封入に用いられ、数日かけて透過が進行し、内部構造が見えるようになる(図 7)。



図 4

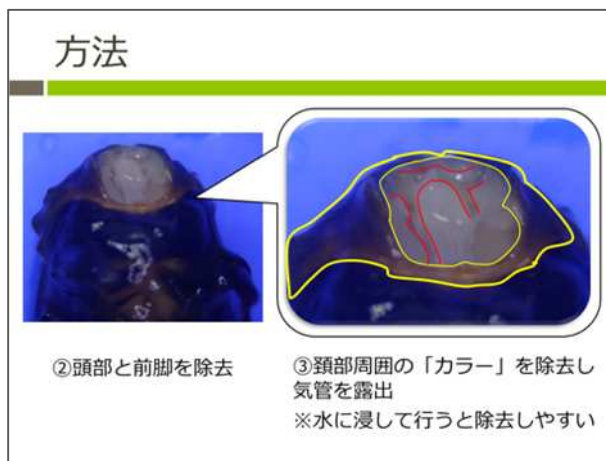


図 5

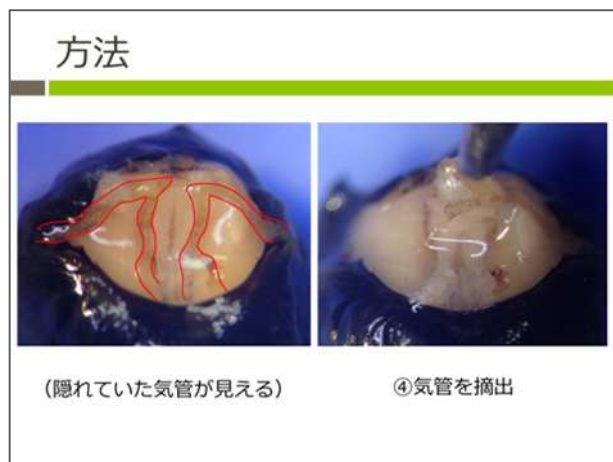


図 6



図 7

【結果】

(症例 1) 日本蜜蜂では全ての検体で摘出した気管に変色及びアカリダニ虫体・虫卵を確認し、アカリダニ症と診断した(図 8)。一方、西洋蜜蜂ではこれらは認められなかったが一部でヘギイタダニを確認した(図 9)。(症例 2) 全ての検体の気管でアカリダニを確認し、アカリダニ症と診断した(図 10)。



図 8



図 9

表 1

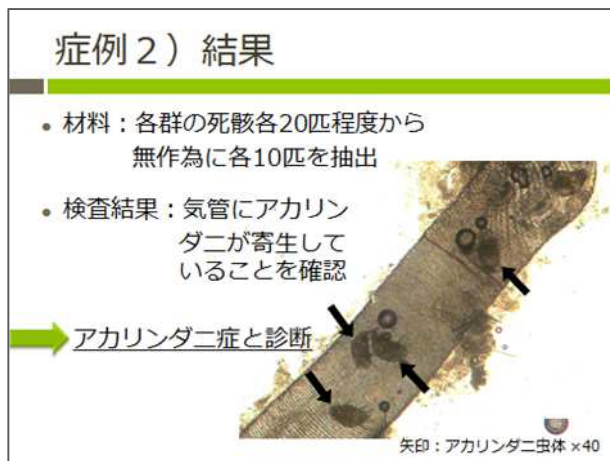


図 10

2 症例のまとめ

	症例 1	症例 2
時期	平成27年 1月~	平成27年 3月~
飼育環境	M市 自宅敷地	K市 自宅敷地
蜜蜂の種類 (飼養群数)	日本蜜蜂	西洋蜜蜂
巣箱の形態	重箱式巣箱	巣枠式巣箱
殺ダニ剤の使用の有無	無	無
症状	巣箱内での大量死	成蜂: 飛翔後落下 地面徘徊
アカリダニ寄生群数/発症 (検査) 群数/飼養群数	1/1/1	0/1/7
診断	アカリダニ症	不明
		アカリダニ症

【2 症例のまとめ】

両症例ともに、アカリダニ症の発生が多いとされる冬から春先にかけて、症状として、大量死や地面徘徊等の症状が見られた。また、両症例とも殺ダニ剤の使用はなかった。今回アカリダニが検出されたのは日本蜜蜂のみで、特に症例 1 では、日本蜜蜂と西洋蜜蜂が同じ敷地内で餌場を共有しているにも関わらず、感染はなかった(表 1)。

アカリダニ症は世界的に西洋蜜蜂で問題となっているが、国内では日本蜜蜂のみで確認され、西洋蜜蜂では確認されていない。この理由としては、国内で使用される殺ダニ剤の効果や、国内の系統にはアカリダニ抵抗性系統が多いこと等が考えられている。しかし、国内では西洋蜜蜂での調査報告も少なく実態が不明であるため、今回西洋蜜蜂飼育者に対し聞き取り調査を実施した。

【聞き取り調査】

平成 27 年 8 月から 11 月にかけて西洋蜜蜂飼育者 66 戸(日本蜜蜂同時飼育者 7 戸)で調査を実施した。アカリダニ症の発生が多い冬から春(平成 26 年冬から 27 年春)における死亡蜜蜂の有無について聞き取りしたところ、群の減数については、21%(14 戸)で有

り、巣門付近での大量死は 5% (3 戸) で有るという回答を得た (図 11)。殺ダニ剤の使用については、76% (50 戸) で使用していた。また、群の減数の有無と殺ダニ剤の使用について検討したところ、群の減数と関連はみられなかった (図 12)。

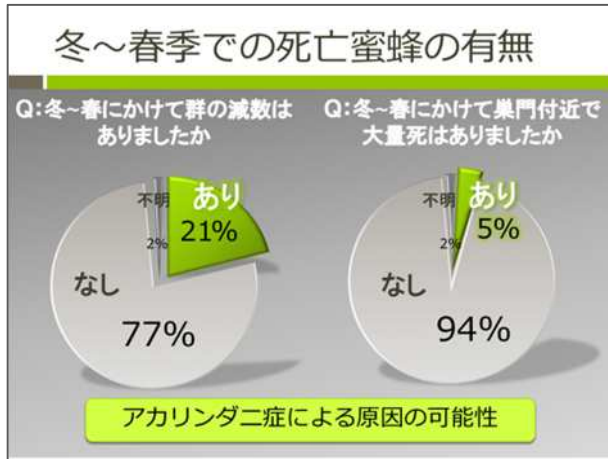


図 11

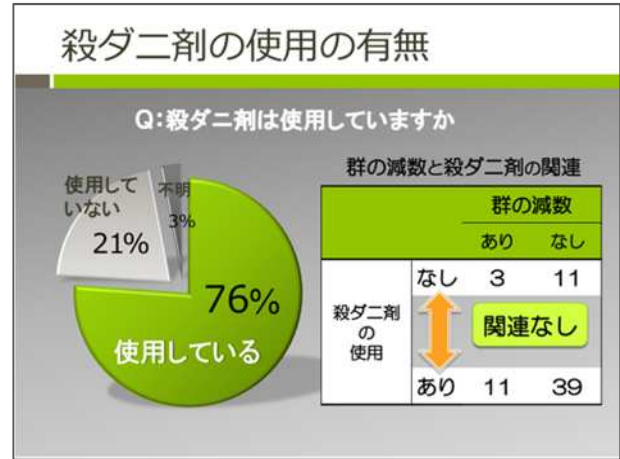


図 12

日本蜜蜂との接触機会については、同時飼育者の他、日本蜜蜂による盗蜜観察者を合わせて 47% (32 戸) であるという回答を得た (図 13)。アカリダニ症については、38% (25 戸) が知っているという回答をした。特に、日本蜜蜂同時飼育者 7 戸の内 6 戸で認知されており、日本蜜蜂飼育者では認知度が高いことがわかった。また、知っているという回答をした 25 戸の内、2 戸で過去にアカリダニによる症状を呈した西洋蜜蜂を観察したとの回答を得た (図 14)。

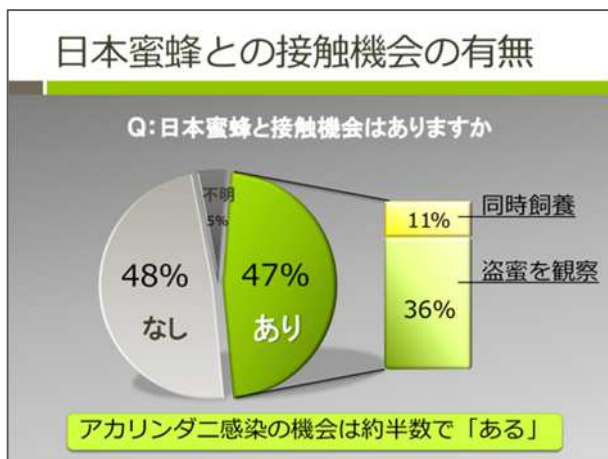


図 13

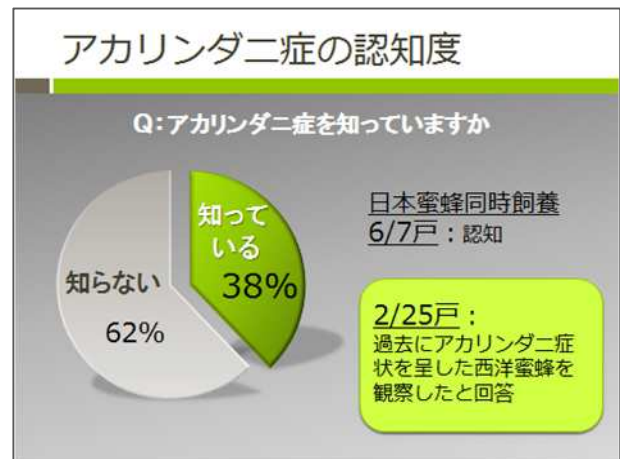


図 14

【考察】

一般的に、日本において西洋蜜蜂からアカリダニが検出されない理由に殺ダニ剤の使用やアカリダニ抵抗性系統の存在が挙げられており、症例 1 では殺ダニ剤の使用がなかったことや、聞き取り結果で、殺ダニ剤と冬～春先での群の減数に関連がみられなかったことから、抵抗性系統の存在が示唆された。しかし、国内の西洋蜜蜂全てがそのような系統であるとは考えにくいこと、過去にアカリダニ寄生様症状があったこと、日本蜜蜂と

の接触による感染機会が多いことから西洋蜜蜂におけるアカリダニ寄生の可能性も考えられる。しかし、聞き取り調査で、西洋蜜蜂飼育者での認知度は低かったことから、今後の対応として、西洋蜜蜂飼育者に対してアカリダニについての情報提供及び注意喚起を実施する。実際に今回の発生を受けて家保だよりや会議で情報提供等を実施したが、今後も継続する予定。さらに、大量死等が発生した際は連絡する旨の指導を実施する。また、発生農家での継続調査を実施し、今後もデータを収集しアカリダニの寄生実態を調査し、増加しつつある蜜蜂飼育者に対し情報提供を行い発生予防・まん延防止に努めていきたい。

牛白血病浸潤状況調査結果からの一考察

東部家畜保健衛生所

大町雅則 松下摩弥

1. 牛地方病性白血病について

牛白血病ウイルス（以下「BLV」という。）によって引き起こされる牛地方病性白血病は、平成 10 年に届出伝染病に指定されて以来発症頭数が 20 倍以上に急増している、生産現場で最も対策を講じるべき牛疾病の 1 つである（図 1）。

感染ルートは、直検手袋・注射針等を介した人為的伝播と、胎盤・初乳を介した垂直伝播、更に吸血昆虫による水平伝播とされている。

BLV 感染牛のうち発症に至る個体は僅か 5% 未満で、60% 以上が無症状キャリアーのまま生涯を終えるとされている。そのため、生産現場での問題意識が低いことも特徴としてあげられ、平均産次が低い酪農家ほど意識が低い傾向にある。

本年（平成 27 年）4 月に農林水産省が策定した「牛白血病に関する衛生対策ガイドライン」では、人為的伝播の徹底的な排除、定期的な農場モニタリングによる感染牛と非感染牛の群分け、吸血昆虫対策の強化が推奨され、様々な補助事業が仕組まれている。動衛検ニュース（2015.9.30 号）では、牛地方病性白血病について、「全国に浸潤しているという共通認識が得られたばかり」で、「発生までの機序については不明な点が多い疾病」と紹介されている。

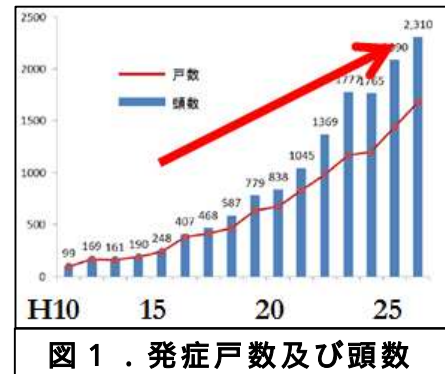


図 1 . 発症戸数及び頭数

2. 管内酪農家の浸潤状況調査

管内酪農家の約 8 割がフリーストールあるいは放牧による群管理をしており、感染牛と非感染牛に群分け管理することが困難な状況にある。また、数年前までは多くの農家で直腸検査手袋が使い回されており、現在でも検診時間短縮のため手袋を替えないよう依頼する酪農家さえ見受けられる。更に、県外導入牛に対する BLV 抗体検査で陽性が確認されても、ほとんどの酪農家が吸血昆虫対策等の衛生対策に取り組んでいない状況にあることから、白血病が浸潤して陽性率が高くなっていることが懸念された。

そこで、平成 26 年度に実施した定期検査の余剰血清を用いて、牛白血病検査を希望した酪農家 23 戸 1,260 頭について、受身赤血球凝集反応による抗体検査を実施した。陽性農家は 52% に充たる 12 戸で、BLV 抗体陽性率は 15% であった。農家別の陽性率は、最大で 68%、次いで 35%、20% 台が 2 戸、10% 台が 5 戸、10% 未満が 3 戸であった。平成 21～23 年度に行った全国浸潤状況調査における乳用牛の抗体陽性率 40% と比べると管内の浸潤率は低い状況にあり、前述した管内の状況と照らし合わせると予想外の浸潤状況であった。

3. 農家別陽性率の推移

前述の検査結果（H26）から、陽性率が 20%未満で、現在は直腸手袋を使い回していない酪農家 4 戸を選定して、農家別の陽性率の推移（平成 24 年、26 年、27 年）を調査した。

（1）被検血清：平成 24 年度余剰血清及び平成 27 年 11 月に採血した血清
延べ 823 頭（実頭数 450 頭）

（2）検査方法：受身赤血球凝集反応により抗体価を 128 倍まで測定

（3）結果

4 戸全体の陽性率：H24 が 7%、H26 が 11%、H27 が 12%と徐々に増加した。

農家別陽性率の推移（図 2）

A 農場：H24 は 6%、H26 が 17%、H27 が 19%と顕著に増加。

B 農場：H24 は 0%、H26 が 11%、H27 は今後実施予定。

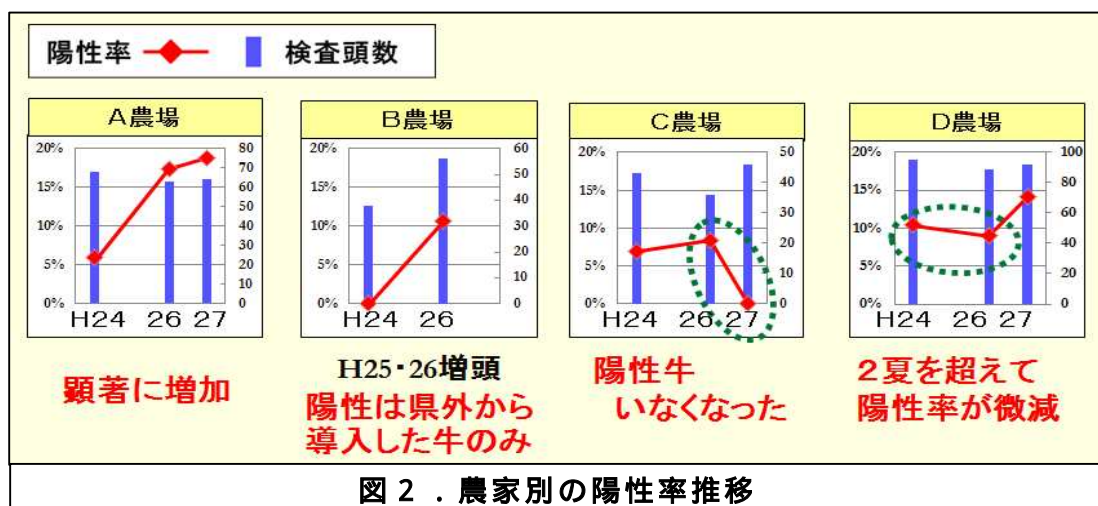
H26 の陽性牛は、全て H25 以降に県外から導入した牛であった。

C 農場：H24 は 7%、H26 が 8%、H27 が 0%。

意図的な淘汰はしていないが、陽性牛が死亡・廃用により全頭が除籍。

D 農場：H24 は 11%、H26 が 9%、H27 が 14%。

H24～26 では、2 夏が経過した後に陽性率が低下した。



4. 県外導入と陽性率との因果関係の分析

検査を実施した実頭数 450 頭のうち 12%にあたる 55 頭が陽性であった。陽性牛及びその母牛と祖母牛について個体識別番号から産地を調べ、三代にわたる県外導入との因果関係を調べた。陽性牛 55 頭のうち、県外から導入した牛が 26 頭（47%）、導入牛の娘牛が 8 頭（15%）、導入牛の孫牛が 8 頭（15%）、産地不明（個体識別番号装着前に生まれた牛が含まれる場合）が 10 頭（18%）、3 代とも県産が 3 頭（5%）と深い因果関係が疑われた。

そこで、検査を実施した 450 頭全頭について、本牛、母牛、祖母牛の産地を調べて、区分毎の陽性率を算出した（図 3）。450 頭のうち県外導入牛（87 頭）の陽性率は 30%で、県産（363 頭）の陽性率 8%と比べ有意に高かった。また、県産 363 頭について母牛の産地で区分すると、県外導入（66 頭）の陽性率は 12%で、県産（253 頭）の陽性

率 6%より有意に高かった。更に、祖母の産地で区分した場合も、県外導入（59 頭）の陽性率は 14%で、県産（114 頭）の陽性率 3%より有意に高かった。いずれも 1%未満の高い有意差であることから、管内酪農家における BLV 伝播は、水平伝播ではなく垂直伝播が主であると推察された。

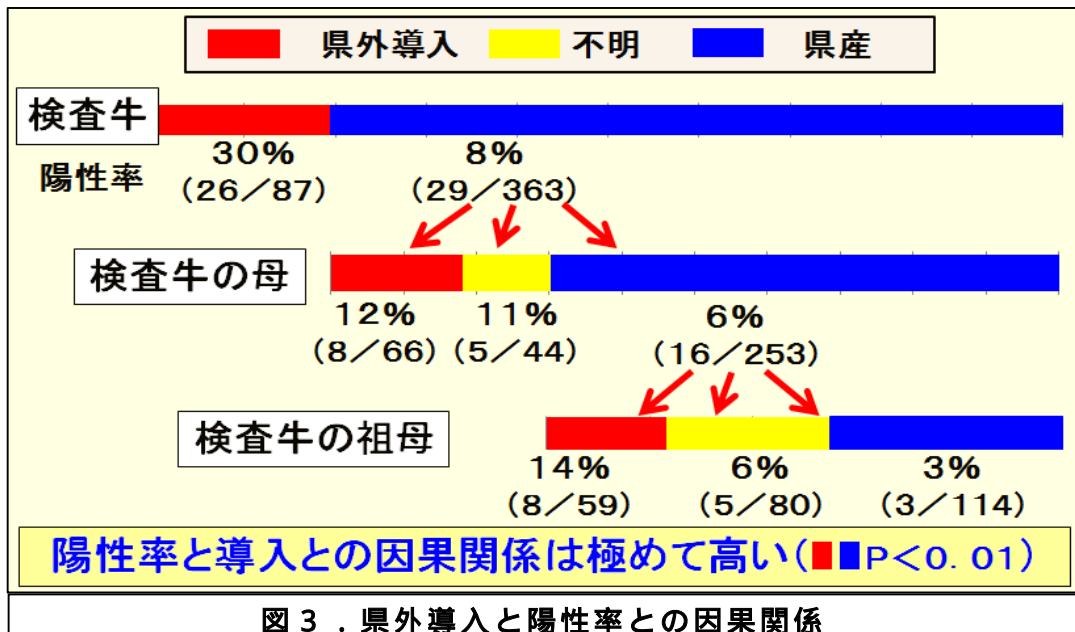


図 3 . 県外導入と陽性率との因果関係

5 . 陽転時期の分析

陽転事例が 30 頭あり、個体毎に、陽転前の検査月齢を青色、陽転検査月齢を赤色、間の期間を黄色の帯で示した（図 4）。年齢に関係なく（23～135 ヶ月齢）陽転が認められたものの、30 頭中 12 頭（40%）が 24 ヶ月齢に黄色い帯が重なっており、初産分娩前後に多発している可能性が示唆された。

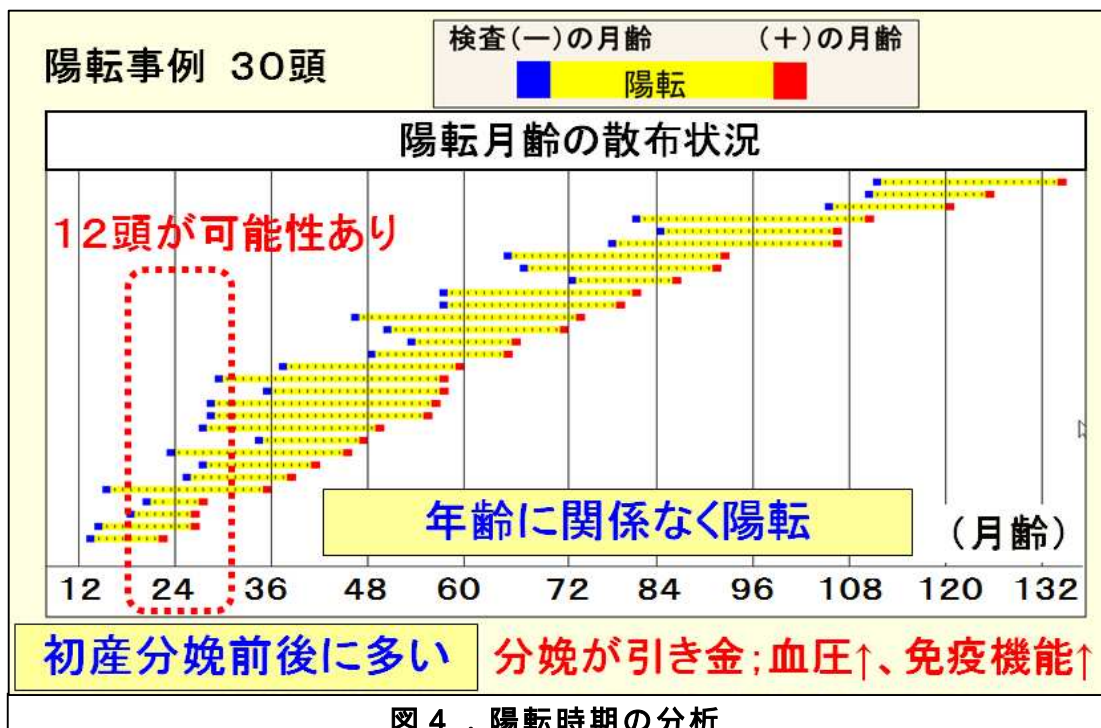
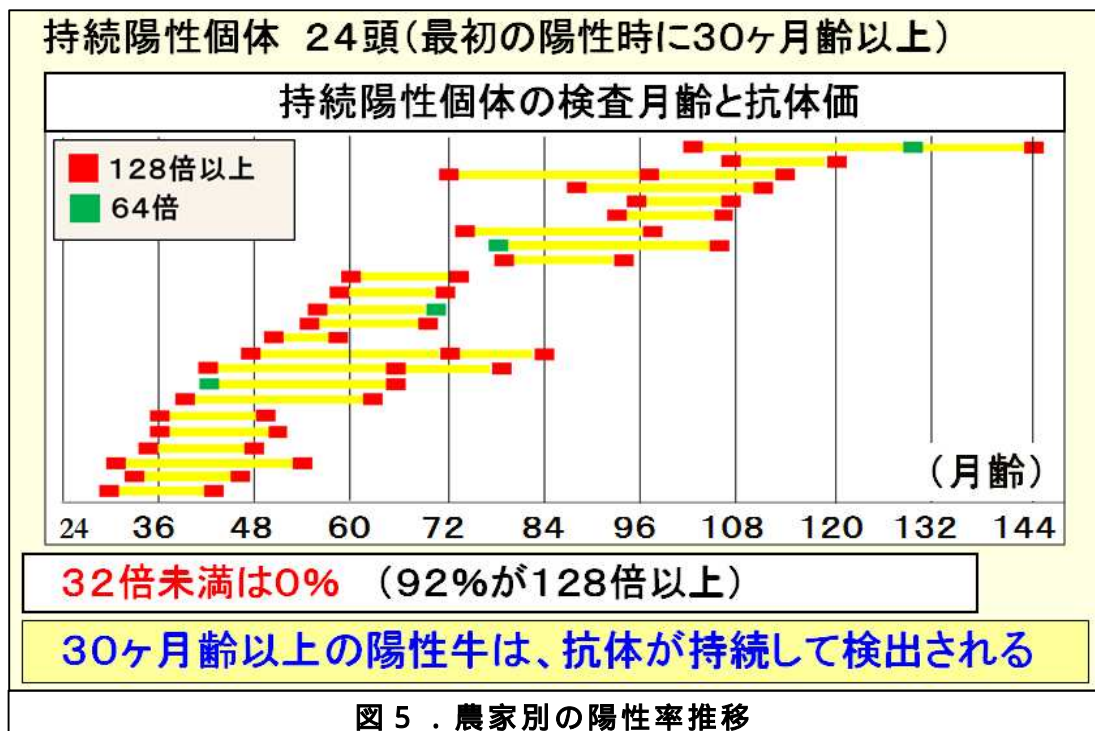


図 4 . 陽転時期の分析

6 . 持続陽性個体における抗体価の分析

連続して陽性だった個体は 24 頭で、いずれも最初の検査時に 30 ヶ月齢以上であった。これら持続陽性個体 24 頭延 52 回（2 回検査した個体が 20 頭、3 回検査した個体が 4 頭）の検査結果について、抗体価の推移を分析した。

図 5 の横軸は検査時の月齢で、黄色い帯が同一個体のデータを示している。延 52 回の検査のうち 92%が赤色で示した 128 倍以上の抗体価で、受身赤血球凝集反応の定性試験で強い反応が認められた。緑色で示した 64 倍が 8%、32 倍未満は 0%であった。30 ヶ月齢以上の抗体陽性牛は高い抗体価を持続することが確認された。



7 . 陰転事例の分析

陰転事例が 2 頭あり、いずれも北海道からの導入時に抗体陽性、その後の定期検査時には陰性であった。1 頭は 22 ヶ月齢時に抗体価が 64 倍であったが 24 ヶ月齢時には陰転し、37 ヶ月齢時も陰性であった。もう 1 頭は 25 ヶ月齢時の抗体価が 256 倍であったが 33 ヶ月齢時には陰性であった。

生後感染により持続していた抗体がこの時期に消失したか、

長距離輸送のストレスや飼養環境の変化等により体内でウイルスが動き、抗体価が一過性に上昇した可能性が示唆された。

8 . 哺育・育成牛の調査及び調査結果

管内には育成牛を公共牧場へ預託している酪農家が多く、6～22 ヶ月齢の牛が農場に残っていることは希である。預託前に BLV 検査を含めた衛生検査を年間約 150 頭程度実施しており、年間 1～数頭程度の白血病陽性牛が見つまっている。一方、哺乳牛についてはこれまで BLV 検査を実施したことはなく、アルボウイルス調査を実施した 6 戸（「3.陽性率推移調査」を実施した 4 戸を含む）に協力をお願いし、濡れ子を含めた哺乳・育成牛の BLV 浸潤状況調査を実施した（6,8,9,11 月）。また、聞き取り調査を行ったところ、いずれの酪農家も分娩直後の母子分離を行っておらず、分娩時の事故がない限り、子牛は母牛の初乳を給与されていた。

受身赤血球凝集反応による抗体検査を 119 頭（延 129 頭）実施したところ、10 頭（8%）が陽性であった。このうち、7 頭について追跡調査を実施し（4 頭は延べ 2 回検査、3 頭は延べ 3 回検査）、検査月齢と抗体価の相関を分析した。

図 6 は、縦軸を抗体価、横軸を検査月齢とした散布図で、抗体価は 3～6 ヶ月齢でピークを迎え、12～15 ヶ月齢で消失することが推察された。

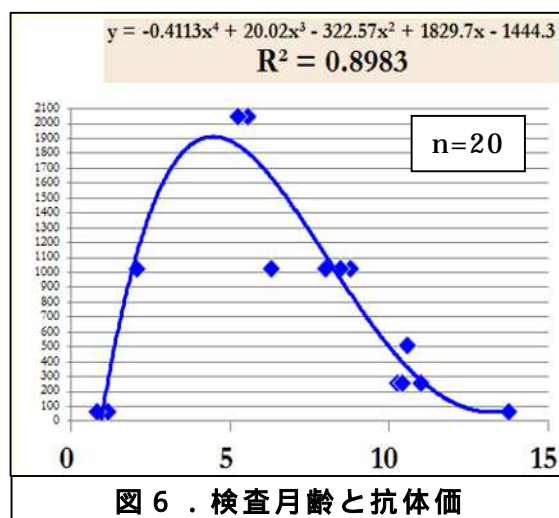


図 6 . 検査月齢と抗体価

9 . まとめ及び考察

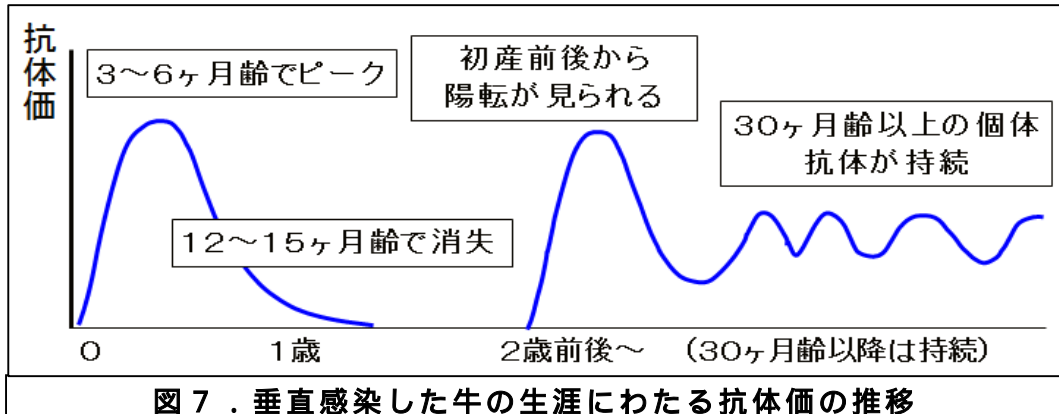
管内酪農家における BLV 伝播のほとんどが垂直伝播

BLV 抗体陽性率と県外導入との因果関係が極めて高かったことから、管内酪農家における BLV 伝播は、垂直伝播が主であると推察された。

また、過去に直腸検査手袋や注射針の使い回しがあった事実が確認されたことから、三代とも県産の牛が BLV 抗体陽性であった事例（3 頭）については、過去に人為的伝播があり、その後母子間で垂直伝播されていたと推察される。

垂直感染した牛の生涯にわたる抗体価の推移

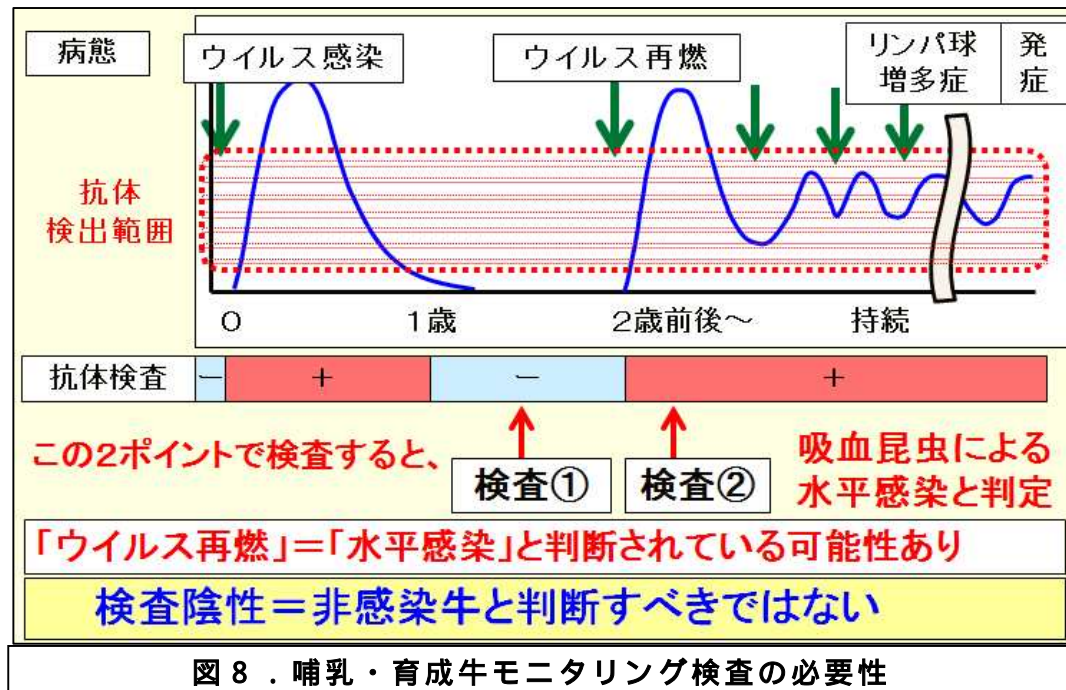
垂直感染した牛の抗体価推移モデルを図 7 に示した。初乳摂取によりウイルス感染し、3～6 ヶ月齢で抗体価はピークを迎え、12～15 ヶ月齢で抗体は一旦消失する。その後、年齢に関係なく分娩等のストレスを受けてウイルスが再燃すると抗体は陽転し、生涯にわたり 128 倍以上の高い抗体価を持続すると推察された。



ウイルス再燃を水平感染と誤って判断する可能性について

ウイルス再燃により抗体陽性となった牛を、誤って水平感染と判断してしまう可能性について図8に示した。12~15ヶ月齢で抗体が消失した後に、初めてモニタリング検査(検査①)を受けた場合には、抗体は検出されず「非感染牛」として群分けされる。しかし、ウイルス再燃後の検査(検査②)では、抗体が陽転したことから、「吸血昆虫による水平感染」と誤って判断することになる。

従って、抗体保有状況によって感染と非感染の群分けをする場合には、1~8ヶ月齢時の抗体保有状況を指標とする必要があり、哺乳・育成前期にモニタリング検査を行うことが重要と思われる。



10. 既に講じた措置

人為的伝播の徹底的な排除

直腸検査手袋を介した感染については、北海道立総合研究機構畜産試験場の感染実験で既に証明されている。また、今回の浸潤状況調査でも陽性率が20%以上と高かった酪農家については、直近あるいは数年前まで使い回しの事実が確認されたことから、人為的伝播の排除については指導を行った。

農家別陽性牛リストの配布と抗体陽性牛への耳標型昆虫忌避剤装着

農家毎に陽性牛リストを作成し、当該農家及びNOSAI獣医師に配布した。陽性個体を把握し易くするため、抗体陽性牛への耳標型昆虫忌避剤装着を推奨した。

初乳を介した垂直伝播対策

分娩に立ち合った場合は、冷凍初乳、加熱初乳あるいは初乳製剤の投与により垂直感染を防止するよう指導した。

11. 今後の対応

抗体陽性農家のモニタリング検査

抗体陽性農家を数戸選定し、管内の抗体保有状況を継続的に把握する。

哺乳・育成牛の追跡調査

生後早期に抗体陽性を確認した牛について、追跡調査を実施する。抗原検査を併用し、血中からのウイルス消長と抗体消長について経時的に調査する。

同時に群飼された同居牛についても抗原検査と抗体検査を実施し、育成期の水平感染発生状況について調査する。

陽転誘発要因の調査

陽転時期前後に分娩、重篤な罹患歴がなかったか調査し、因果関係を分析する。

豚の腸管外病原性大腸菌感染症発生事例

東部家畜保健衛生所 清水春菜 丸山稔 他

【はじめに】

腸管外病原性大腸菌（以下、ExPEC）は、腸管以外の臓器に侵入、定着し、敗血症、髄膜炎、尿路感染等の全身症状を引き起こす。平成 27 年 3 月、繁殖豚 130 頭飼養農場において、異常産 1 腹（黒子 1、死産子 14、衰弱子 1 頭）が発生し、病性鑑定を実施したところ、ExPEC 感染症と診断したので、その概要を報告する。



図 1

【剖検所見】

剖検時に著変が認められたのは、No.3 衰弱子の肺のみであり、灰白色の斑点がみとめられた。

その他の個体、臓器に著変は認められなかった。

【材料及び方法】

材料：黒子 1 (No.1；病理学的検査のみ)、死産子 3 (No.2,4,5)、衰弱子 1 頭 (No.3) の主要臓器及び消化管（病理学的検査のみ）を用いた（図 1）。

細菌学的検査：4 頭の主要臓器について、5%羊血液寒天培地（CO₂ 培養）及び DHL 寒天培地（好気培養）を用いた分離培養を実施した。分離菌について、菌種同定、血清型別（動衛研に依頼）及び病原遺伝子（豚大腸菌症関連遺伝子、浮腫病関連遺伝子、ExPEC 関連遺伝子）検索を実施した。病原遺伝子検索では、豚大腸菌症及び浮腫病関連遺伝子（F4、F5、F6、F18、F41、eae、LT、ST、*stx1*、*stx2*、*stx2e*）、ExPEC 関連遺伝子（F17A、*fimA*、*papC*、*sfaDE*、*afaE-8*、*fimH*、*cnf1*、*cnf2*、*cdt3*、*cdt4*、*iucD*、*iroN*、*iss*、*traT*）について PCR を実施した。

ウイルス学的検査：豚繁殖・呼吸障害症候群、流行性脳炎、豚パルボウイルス、豚サーコウイルス 2 型、豚コレラの PCR 検査、ウイルス分離を実施した。

豚に異常産を引き起こす主な疾病について検査を実施した。

病理学的検査：5 頭の主要臓器及び消化管について、ホルマリン固定後パラフィン切片を作製し、HE 染色、グラム染色、抗 *Escherichia coli*（以下 *E.coli*）家兎血清を用いて免疫組織化学染色（以下、免染）を実施した（免染は動衛研に依頼）。

【結果】

細菌学的検査では、死産子、衰弱子の 4 頭全ての臓器から *E.coli* を分離した。O 群血清型別では、O101 と型別不能（以下、OUT）に型別された。型別結果を各個体で比較すると、

No.2,4,5の死産子からはO101が多く分離され、No.3の衰弱子からはOUTが多く分離された(図2)。

病原遺伝子検索では、豚大腸菌症や浮腫病関連遺伝子は未検出であった。ExPEC 関連遺伝子は、すべての株で付着因子 *fimA* と *fimH* が検出されました。また OUT の株からのみ、鉄取込能に関する遺伝子 *iucD*、*iroN*、血清耐性に関する遺伝子 *iss*、*traT* が検出された(図3)。

結果 EXPEC関連遺伝子

◆全株から付着因子*fimA*,*fimH*を検出

	F17A	No.2				No.3				No.4				No.5			
		心	肺	肝	腎	心	肺	肝	腎	心	肺	肝	腎	心	肺	肝	腎
付着因子		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>fimA</i>		+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>papC</i>		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>sfaDE</i>		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>afaE-8</i>		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>fimH</i>		+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
毒素																	
<i>cnf1</i>		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>cnf2</i>		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>cdt3</i>		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>cdt4</i>		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
鉄取込能																	
<i>iucD</i>		-	-	+	+	-	-	+	+	-	-	+	+	-	-	+	+
<i>iroN</i>		-	-	+	+	-	-	+	+	-	-	+	+	-	-	+	+
血清耐性																	
<i>iss</i>		-	-	+	+	-	-	+	+	-	-	+	+	-	-	+	+
<i>traT</i>		-	-	+	+	-	-	+	+	-	-	+	+	-	-	+	+

図 2

結果 細菌学的検査

◆4頭すべての臓器から*E.coli*を分離

◆血清型O101と型別不能(OUT)に型別

No.	臓器	O群型別
No.2 死産子	心臓	O101
	肺	O101
	肝臓	O101
	腎臓	O101
No.3 衰弱子	心臓	OUT
	肺	OUT
	肝臓	OUT
	腎臓	O101
No.4 死産子	心臓	O101
	肺	OUT
	肝臓	O101
	腎臓	O101
No.5 死産子	心臓	O101
	肺	OUT
	肝臓	O101
	腎臓	O101

死産子からはO101、衰弱子からはOUTが多く分離

図 3

病理学的検査では、HE染色やグラム染色により、グラム陰性菌が確認され、抗*E.coli*家兎血清による免染で、これらのグラム陰性菌に一致して、陽性反応がみとめられた(図4)。

ウイルス学的検査では、豚に異常産を引き起こす疾病に関するPCR、ウイルス分離は全て陰性であった(図5)。

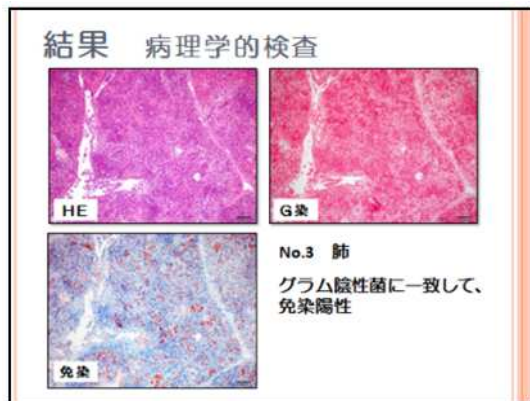


図 4

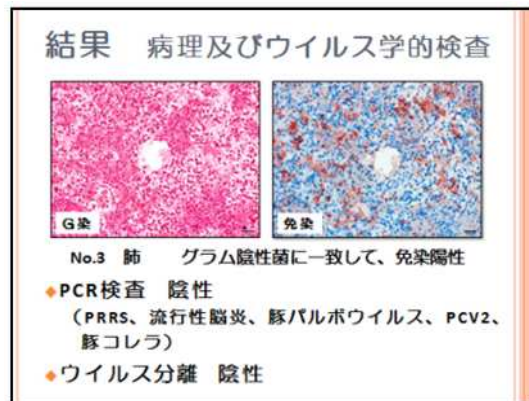


図 5

【まとめ】

細菌学的検査において *E.coli* が分離され、血清型は O101 及び型別不能であった。病原遺伝子検索では、豚大腸菌症や浮腫病に關与する病原遺伝子は検出されなかった。病理学的検査において壊死病変部に *E.coli* の存在が確認されたが、大腸菌共通抗原で免染しているため、いずれの *E.coli* が病変に關与したかは不明である。これらの結果から、本症例を ExPEC 感染症と診断した。本症例では死産子と衰弱子から分離された血清型に差が見られ、死産子からは主に O101、衰弱子からは主に OUT が分離されました。このことから、O101

に有意に感染した個体は、子宮内で死亡し死産となり、O101に感染しなかった若しくは有意にOUTに感染した個体は、生きて娩出されたものと考えます。

*E. coli*への感染時期や経路については不明ですが、今回の異常産子に黒子が含まれていることから、胎子は胎齢80日以降で死亡したものと考えられます。

今回のExPEC感染症は偶発的に発生したものと考えられますが、大腸菌は環境中や腸管内などに常在しているため、常に発生リスクがあると考えられます。

県内で初めて確認された *Actinobacillus pleuropneumoniae* 血清型 15 による豚胸膜肺炎発症事例

東部家畜保健衛生所 秋山倫子 丸山稔 ほか

【はじめに】

豚胸膜肺炎の原因菌である *Actinobacillus pleuropneumoniae* (以下 App) は、現在 15 の血清型が知られている。日本では血清型 2 の分離が最も多く、次いで、1、5 と続く。近年では 15 の報告が増えてきている。本県でも今までに分離された App は全て血清型 2 であったが、平成 27 年 6 月、県内で初めて App 血清型 15 (以下 App15) による豚胸膜肺炎を確認したので報告する。

【症例概要】(図 1)

母豚 285 頭規模の一貫経営農場 A において H27 年 6 月 8、9 日に、と畜場へ出荷した豚が 2 日続けて繋留場で 1 頭ずつ死亡した。農場でも、6 月 10 日に 4 頭死亡を確認したため、同日、死亡豚 3 頭について病性鑑定を実施した。3 頭は全て同じ豚舎で飼育された出荷間際の肥育豚であった。A 農場では、5 月に県内 B 農場から約 20 頭の豚の導入があった。

【材料と方法】(図 2)

約 180 日齢の肥育豚 (交雑種) 死体 3 頭 (No.1~No.3) について、病性鑑定を実施した。No.1 については、死後変化が強く肺のみの採材とした。また、App15 の浸潤状況把握のため、発生 A 農場、導入元 B 農場について App15 の LPS を抗原とする ELISA 検査を、(一財)日本生物科学研究所に依頼し実施した。

【剖検所見】

外観は、3 頭共に腹部を中心にチアノーゼを認め、鼻出血のある個体もあった。赤色透明な胸水及び心嚢水が貯留し、肺は、出血病変が顕著で暗赤色を呈し、硬結感があり腫脹していた。小葉間は水腫様に重度に拡張し、肺胸膜には線維素が析出し、軽度から中程度に胸壁と癒着していた (図 3)。肺病変は 3 頭中 2 頭で、左右の片側での病変が重度であり、片側性な病変形成であった (図 4)。

《 発生概要 》

- > 母豚285頭規模の一貫経営農場 A。
- > と畜場へ出荷した豚がH27年6月8、9日に2日続けて繋留場で1頭ずつ死亡。
- > 農場でも6月10日に4頭死亡確認。同日、死亡豚3頭について病性鑑定を実施。3頭は全て同じ豚舎(豚房は別)で出荷間際の肥育豚。
- > 5月に県内B農場から約20頭の導入あり。

死亡豚

ワクチン歴：子豚時・・・マイコプラズマ性肺炎 2週齢
豚丹毒 50日齢前後

母豚・・・豚サーコウイルス感染症
伝染性青腫炎・豚流行性下痢 混合

【図 1】

《 材料と方法 》

病性鑑定：肥育豚 (交雑種 約180日齢) 死体3頭 (No.1~3)

- > 組織学的検査：①分離培養：肺 (No.1~3)、心臓・肝臓・腎臓・脾臓 (No.2、3)
②分離菌血清型別検査 (スライド凝集反応、グルコシダーゼ反応)
③分離菌菌相感受性試験
- > ウイルス学的検査：①PCR検査：肺・腎臓・脾臓・リンパ節 (No.2、3) の10%乳剤 (肺炎種・豚胸膜肺炎状ウイルス、豚サーコウイルス2型)
②超薄型電子顕微鏡検査：腎臓 (No.2、3)
- > 免疫学的検査：①HE染色：肺 (No.1~3)、心臓・肝臓・腎臓・脾臓 (No.2、3)
②グラム染色：肺 (No.1~3)
③免疫組織化学的染色：肺 (No.1~3)

抗体検査：
App血清型15 (App15) のLPSを抗原とするELISA検査を実施 (一財)日本生物科学研究所に依頼

〔A農場〕 年度別調査：H22~26年、各10頭
H27年12月別調査：4~9月、各10頭
本症発生後の月別別調査：1~6ヶ月齢、各10頭、母豚23頭

〔B農場〕 H26年の母豚5頭、出荷豚10頭

【図 2】

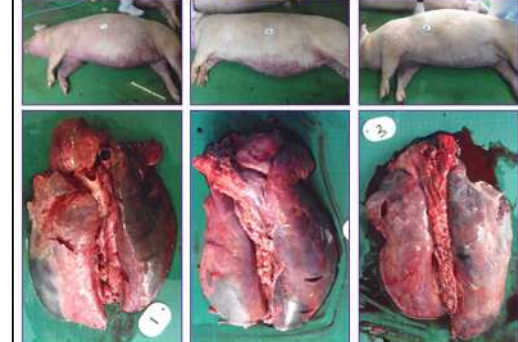
《 剖検所見 》

- ◇外観：腹部を中心にチアノーゼ、鼻出血
- ◇赤色透明な胸水及び心嚢水が貯留
- ◇肺：出血病変が顕著
暗赤色を呈し硬結感があり腫脹
小葉間は水腫様に重度に拡張
肺胸膜には線維素が析出し胸壁と軽度から中程度癒着



【図 3】

《 剖検写真 》



【図 4】

【病原検索結果】

細菌学的検査において、3頭の肺から App15 が分離された。肺から分離された App15 の薬剤感受性試験を実施したところ、複数の薬剤に感受性があった。ウイルス学的検査においては、PCR 検査で豚サーコウイルス 2 型のみ陽性であった。(図5)

《病原検索結果》

細菌学的検査：
3頭の肺からApp15が分離された。
他の分離菌なし。

ウイルス学的検査：
PCR検査：豚繁殖・呼吸障害症候群ウイルス(－)、
豚サーコウイルス2型(＋)
FA検査：豚コレラ(－)

肺から分離されたApp15の薬剤感受性試験結果

薬剤名	判定
アンピシリン	S
アモキシシリン	S
ペニシリン	R
オキシテトラサイクリン	S
ゲンタマイシン	R
ST合剤	S
ストレプトマイシン	S
カナマイシン	R
コリスチン	S

(S: 感受性 R: 耐性)

【図5】

【病理学的検査】

肺胸膜には線維素が析出し、小葉間結合組織が拡張していた。肺の実質は、重度に出血・壊死し、肺胞腔が確認できなかった。壊死部では、好中球を中心とした炎症細胞が重度に浸潤し、燕麦状を呈する細胞もみられた。グラム陰性桿菌が多数認められ、抗 App15 家兔血清を用いた免疫組織化学的染色では、強い陽性反応を示した。なお、肺以外に著変は認められなかった(図6~9)

病理学的検査

- 肺胸膜は肥厚・線維素析出。
- 小葉間結合組織は拡張。
- 重度に出血・壊死し、肺胞構造は大部分で崩壊。
- 好中球を中心とした炎症細胞が重度浸潤。
- 軽度燕麦状を呈する細胞あり。
- 抗App15の免疫染色で陽性反応。

※肺以外に著変なし

【図6】

No.1

HE染色
グラム染色
抗App15 IHC

【図7】

No.2

HE染色
グラム染色
抗App15 IHC

【図8】

No.3

HE染色
グラム染色
抗App15 IHC

【図9】

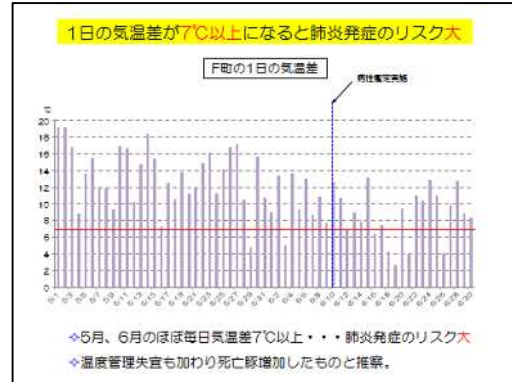
【発生原因考察】

1日の気温差が7度以上になると肺炎発症のリスクが高くなると言われていることから、A農場があるF町の5月、6月について1日の気温差を調べたところ、61日中55日で気温差は7度以上であった(図10)。当該農場では、本病発症時期に昼間は20度を超えていたため豚舎のカーテンを解放しており、夜も閉めていなかったことが発症の一因となったものと考えられた。

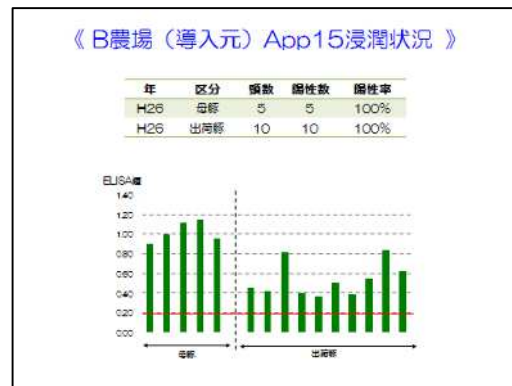
【浸潤状況調査】

B 農場からの豚の導入時期と本症例発症時期から、App15 は B 農場から侵入したものと推察し、抗体検査を実施した。B 農場の、H26 年に採材した母豚 5 頭、出荷豚 10 頭について検査を実施した。グラフの縦軸は ELISA 値を示し、0.2 以上が陽性であり、母豚、出荷豚共に全て陽性であった（図 11）。このことから、B 農場に App15 は浸潤していたことがわかった。

次に、H22 年～26 年までの A 農場の App15 抗体保有状況を検査した（図 12）。結果から、H22 年の時点で既に A 農場には App15 が侵入していたことがわかった。A 農場では、H25 年の夏頃から密飼いが酷くなっており、抗体価上昇に影響した可能性も示唆された。また、H27 年度、4 月～9 月の出荷豚について調査を実施したところ、4 月～9 月のいずれの月でも、高い陽性率を示した（図 13）。



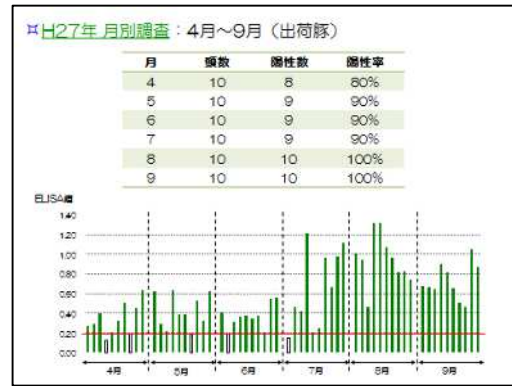
【図 10】



【図 11】



【図 12】



【図 13】

更に、本症例発生後、A 農場内の月齢別の状況を調査した（図 14）。1 ヶ月齢～6 ヶ月齢の肥育豚各 10 頭と、母豚 23 頭について検査を実施した。その結果、肥育豚では陽性率は低いが、各ステージで抗体保有豚が確認され、特に出荷に近い肥育後期で一気に陽性率が上昇していた。母豚はほぼ全てで抗体を保有していた。



【図 14】

【まとめ】(図 15)

本症例は、県内初の App15 分離例で、App15 による豚胸膜肺炎と診断した。分離された App15 は、複数の薬剤に感受性が認められた。本症例は、密飼いなどのストレスや温度管理失宜などが原因で発生したものと考えられたが、ストレス等の増悪因子の排除や、飼養衛生管理の徹底、適切な薬剤投与により終息した。

本症例発生当初、App15 は B 農場から侵入したものと推察したが、実際には H22 年に既に A 農場に侵入していたことが判明した。H27 年の出荷豚における App15 抗体陽性率は、4 月から 9 月いずれの月でも高値を示した。肥育後期に陽性率が一気に上昇しており、肥育豚舎内で App15 がまん延していたと考えられた。

1 日の気温差が大きいと App にかかわらず肺炎発症のリスクが大きくなるといわれていることから、気温差が大きい時期は特に温度管理が重要となる。現在 App15 に効果があるワクチンはないが、抗菌剤の多用を避けるためにも、ワクチン開発が望まれる。本症例のように、豚胸膜肺炎は、発育良好な出荷間際の肥育豚が突然死亡し、経済的損失が非常に大きいことから、App15 の存在を含め周知していきたい。

《まとめ》

- ✖ App15による豚胸膜肺炎と診断。県内初のApp15分離例。
- ✖ 分離されたApp15は、複数の薬剤に感受性。
- ✖ 密飼いなどのストレスや、温度管理失宜などにより発症したものと推察。
- ✖ ストレスの排除や飼養衛生管理の徹底、適切な薬剤投与により終息。
- ✖ A農場にApp15は、H22年に既に侵入していた。
- ✖ H27年出荷豚のApp15の抗体陽性率…80%以上と高値。
- ✖ 肥育後期に陽性率一気に上昇…豚舎内でまん延と推察。
- ✖ 気温差が大きい時期などは特に温度管理が重要。
- ✖ 現在App15に効果があるワクチンはない。
- ✖ 県内の他の養豚農家のApp15浸潤状況を調査中。

【図 15】

牛ウイルス性下痢ウイルス持続感染牛の摘発事例と管内浸潤状況調査

東部家畜保健衛生所

小林洋平 丸山稔

概要

牛ウイルス性下痢ウイルス(以下 BVDV)は、フラビウイルス科ペスチウイルス属に分類されるウイルスで、本ウイルスによる牛ウイルス性下痢・粘膜病は近年発生報告が増加傾向にある。BVDV は多様な病態をとり、特に妊娠牛に感染すると、妊娠ステージにより流産や死産といった異常産の他、胎子が免疫寛容により持続感染牛(以下 PI 牛)として分娩される可能性がある。PI 牛は生涯にわたりウイルスを多量に排泄し続けるため、農場内に PI 牛が潜んでいると牛群内に感染が広がり、生産性を低下させる。PI 牛は発育不良やウイルスの変異等により粘膜病を発症し死亡するが、中には健康牛と区別が付きにくい場合も多く、気づかないうちに牛群内に存在し絶えず感染源となる危険性もある。治療法はなく、早期に摘発し淘汰することが重要とされている。

平成 26 年 5 月、管内 F 地域の酪農家(搾乳牛 20 頭規模、以下 A 農家)において PI 牛が確認された(以下、個体 A)。個体 A は平成 22 年生まれの乳用雌牛であり、被毛粗剛であり受胎しないこと等から NOSAI 獣医師より PI 牛を疑い当所に病性鑑定依頼があり、BVDV 型の PI 牛と診断した(図 1)。個体 A は約 4 年に渡り摘発されることなく農場内で飼養されていたことから A 農家の BVDV 浸潤状況を調査した。また、A 農家のある F 地域は県内有数の酪農地域であり、他農場においても同様に PI 牛が存在している可能性も考えられることから平成 26 年度定期検査余剰血清を用いて PI 牛の摘発検査を実施したので併せて報告する。


A 農家での PI 牛摘発事例

経産牛17頭、育成牛10頭
BVDワクチン未接種

経緯：平成26年5月
馬面の顔つき、被毛粗剛、種が付かない等
→PI牛を疑いNOSAI獣医師より検査依頼

当該牛：平成22年7月13日生(46ヶ月齢)
未經産牛自家産ホルスタイン種

検査結果：
遺伝子検査：三週間隔のペア血清ともに(+)
制限酵素(Pst1)によるRFLP：BVDV I型
ウイルス分離(MDBK-SY細胞)：(+)
中和抗体検査(Nose株、KZ91CP株)：ペア血清ともに抗体価2倍未満



↓
当該牛をPI牛と確認(以下、個体A)

図 1

材料と方法

A 農家の浸潤状況調査

個体 A 摘発後に実施した全頭採血の血清(平成 26 年度)及び過去保存血清(平成 20,22,24 年度)を用いて 5' 非翻訳領域(Vilcek, 1994)の RT-PCR 及び BVDV 型(Nose 株)及び BVDV 型(KZ-91CP 株)中和抗体検査を実施(図 2)。

A 農家の浸潤状況調査

目的：農場内のPI牛摘発
BVDV侵入時期の解明

材料：平成26年度全頭血清
平成20年、22年、24年度の5条定期検査保存血清

方法：抗体検査：BVDV I型(Nose株)による中和抗体法
遺伝子検査：5'非翻訳領域(Vilcek,1994)のRT-PCR

図 2

F 地域の PI 牛摘発検査

管内酪農家 32 戸の平成 26 年度定期検査保存血清から 12 ヶ月齢未満の BVD ワクチン未接種牛を 1 戸あたり 4~5 頭抽出、遺伝子検査及び中和抗体検査を実施（以下、抽出検査）。抽出検査の結果、遺伝子検査または抗体検査が陽性となった農家（5 戸）及び抽出検査対象血清が確保できない農家（10 戸）においては全頭の保存血清を用いた遺伝子検査を実施（以下、全頭検査）。陽性牛を PI 牛疑いと判定した（図 3）。

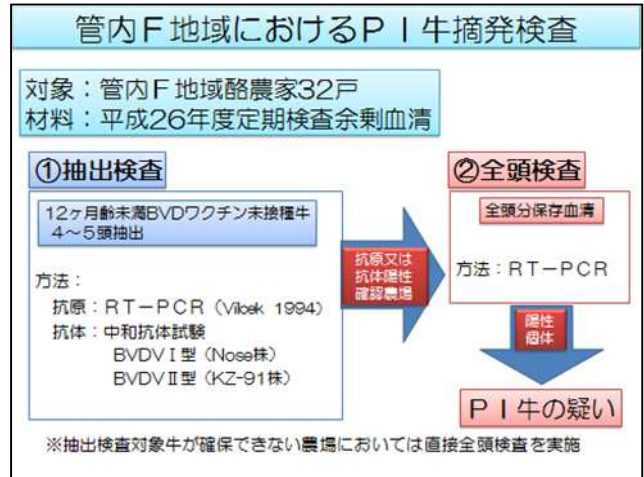


図 3

結果

A 農家の浸潤状況調査

個体 A 摘発後の全頭検査では全頭が陰性となり、個体 A 以外に PI 牛の存在は確認されなかった（図 4）。過去血清を用いた調査では平成 22 年度保存血清では平成 21 年県外導入牛（以下、個体 B）が陽性、平成 24 年度保存血清では個体 B の産子（以下、個体 C）及び個体 A から BVDV 型遺伝子が検出された。抗体検査の結果では平成 20 年度は全頭抗体陰性（2 倍未満）であったが、平成 22 年度からほとんどの個体で抗体陽転が確認された（図 5）。個体 A の母牛においても個体 A 分娩前後（平成 22 年 24 年）に抗体上昇（2 倍未満 512 倍）を認めた。

BVDV 遺伝子検査 - 結果 -				
採材年度 (月日)	廻り調査			PI 牛 摘発検査
	平成20年度 (8/19)	平成22年度 (10/29)	平成24年度 (7/2)	平成26年度 (6/30)
検査頭数	19	23	31	25
陽性頭数	0	1	2	0

遺伝子検査陽性牛の内訳						
個体	導入元	生年月日	平成20年 (8/19)	平成22年 (10/29)	平成24年 (7/2)	平成26年 (6/30)
A	PI牛 自家産	H22.7.13			+ <<2>	淘汰
B	県外導入牛 H21年県外導入	H19.4.21		+ <3>	死亡	死亡
C	Bの娘牛 自家産	H22.12.27			+ <<2>	死亡

個体A摘発後、農場内にPI牛の存在は確認されなかった
個体Bと、その娘牛である個体Cの2頭の遺伝子陽性牛を確認

図 4

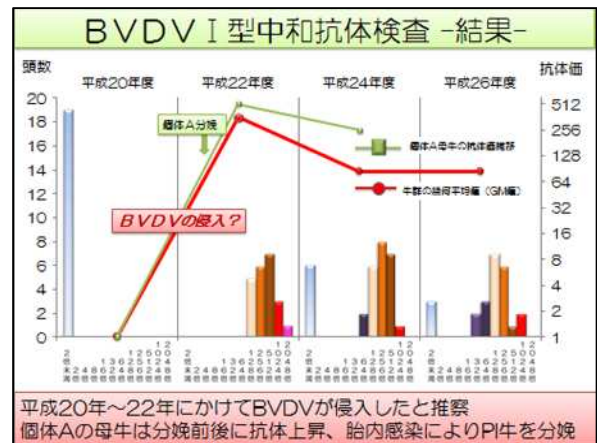


図 5

F 地域の PI 牛摘発検査

抽出検査を実施した 22 戸中 5 戸において抗体陽性牛が確認された（図 6）。抽出検査対象牛が確保できない農家 10 戸について直接全頭検査を実施した結果、全頭陰性であった。抽出検査陽性農家 5 戸について全頭検査を実施した結果、B 農家（搾乳牛 40 頭規模）で遺伝子陽性牛を 1 頭確認（平成 24 年産自家産牛）し、その後の再検査において BVDV 型の PI 牛と判定された（図 7）。PI 牛摘発後に B 農家の全頭検査を実施した結果、同居牛については全頭陰性を確認した。

①抽出検査結果	
検査対象 (F地域部農家)	32
抽出検査実施戸数	22
結果	
PCR陰性/ 抗体陽性	5
PCR陰性/ 抗体陰性	17

農場	飼養頭数	抽出検査結果			
		抽出検査実施頭数	BVD I型 (I型)	BVD II型 (II型)	RT-PCR
B	58	1	0	0	-
		2	10	24	18
		3	0	0	0
		4	0	0	0
		5	0	0	0
C	29	1	0	0	-
		2	0	0	0
		3	0	0	0
		4	0	0	0
		5	0	0	0
D	31	1	0	0	-
		2	0	0	0
		3	0	0	0
		4	0	0	0
		5	0	0	0
E	121	1	256	256	-
		2	4	4	0
		3	16	32	0
		4	0	0	0
		5	0	0	0
F	59	1	64	128	-
		2	0	0	0
		3	2	4	128
		4	0	0	0
		5	0	0	0

図 6

②全頭検査結果		
(1) 抽出検査陽性農家 (5戸) の検査結果		
農場	検査頭数	遺伝子検査 陽性頭数
B	58	1
C	29	0
D	31	0
E	121	0
F	59	0

平成24年2月24日生
自家産
見かけ上は健康牛と変わらない

(2) 抽出検査対象牛を確保できない農家 (10戸) の検査結果
10戸合計246頭：全頭陰性

- ・ B農場の1頭よりBVDV特異遺伝子を検出
→その後、再度採材した血清からも遺伝子を検出
- ・ RFLPの結果I型と判定、BVDV I型のPI牛と確認

図 7

考察

今回、管内 F 地域において 2 戸 2 頭の PI 牛が摘発された。A 農家・B 農家ともに摘発された PI 牛は数年にわたり摘発されず農場内に存在していた。このような見かけ上健康な PI 牛は、他地域においても摘発されず存在している可能性が充分にあると考えられ、摘発するにはより積極的な浸潤状況調査により地域内・農場内の実態を把握することが必要と考えられる。また、A 農家では、保存血清を用いた浸潤状況調査の結果から、平成 20 年度から 22 年度の間に県外から導入された個体 B が PI 牛もしくは一過性感染の状態を導入され農場内に BVDV が侵入したと推察、導入牛及びその産子に対する検査が本病の蔓延防止対策として大変重要と考えられた。しかしながら、本県で実施している BVD 検査は公共牧場への預託牛を対象とした検査のみであり、預託牛以外が PI 牛である場合や公共牧場を利用していない農家においては今回の事例のような見かけ上健康な PI 牛を摘発することは困難である。導入牛を対象とした検査や PI 牛が疑われる症例以外にも牛群内の繁殖成績低下や呼吸器疾病の流行等からも BVDV の関与を考慮した検査を積極的に実施し PI 牛の摘発淘汰を推進することが本病による被害を防除する上で必要と考えられ、今後も取り組んでいきたい。