

第 2 部

県内で初めて確認された悪性カタル熱の発生事例

東部家畜保健衛生所 小林洋平・丸山稔他

はじめに

悪性カタル熱は、平成 10 年より届出伝染病に指定され、対象家畜は牛、水牛、鹿、めん羊となっている。また、本疾病はヒツジヘルペスウイルス（以下 OvHV-2）が原因となるヒツジ随伴型（以下 SA-MCF）とオオカモシカヘルペスウイルスが原因となる牛カモシカ媒介型に分類され、一般に自然宿主は不顕性感染だが、牛等の終末宿主に感染すると発熱、食欲廃絶、起立不能などの全身症状、鼻や唇などの可視粘膜のカタルと化膿、角膜混濁、眼瞼浮腫、下痢、出血便等を呈し、発病後は短期間で死亡するとされている。国内における発生状況は平成 10 年以降牛で 7 頭、鹿で 6 頭の報告があり（図 1）全て SA-MCF である。平成 25 年 11 月、本県で初めて牛における SA-MCF の発生が確認されたのでその概要及び追加調査として同居していためん羊・山羊の OvHV-2 保有状況を調査したので併せて報告する。

平成25年	山梨	牛1頭
	宮城	牛1頭
平成21年	北海道	牛2頭(2戸)
平成19年	福島	牛1頭
	福岡	鹿1頭
平成18年	栃木	鹿2頭(1戸)
平成17年	北海道	牛1頭
平成14年	山形	牛1頭
平成13年	福井	牛1頭
平成11年	福島	鹿2頭(1戸)
平成10年	北海道	鹿1頭

農水省HP 監視伝染病の発生状況より(平成26年7月分まで)

図 1

発生の概要

発生農場は管内 F 地域で乳用牛 50 頭、肉用繁殖牛 12 頭の他めん羊 35 頭、山羊 10 頭を飼養。発生牛は平成 23 年 12 月生まれ（自家産）のホルスタイン種未経産牛で、平成 25 年 11 月 25 日より発熱、流涎、眼瞼の腫脹、眼球の充血、呼吸の異常、歩様の異常を呈した。11 月 27 日、当所に呼吸器疾病を疑い病性鑑定依頼があり現地にて病性鑑定材料を採材、その後 11 月 30 日に死亡し現地にて剖検を実施した（図 2）。当該牛の飼養されていた畜舎では、直接的な接触はないものの同一畜舎内において当該牛を含め牛 10 頭その他、めん羊 9 頭及び山羊 3 頭が飼養されていた（図 3）。

病性鑑定事例

平成23年12月生(23ヶ月齢) ホルスタイン種 未経産雌牛

発生状況
平成25年

11月25日: 発熱(40.3℃)、流涎、眼瞼の腫脹、眼球充血、呼吸の異常、歩様の異常を呈す



11月27日: 病性鑑定依頼→農場立入、採材
体温39.5℃、同居牛に異状なし
採材内容: 発症牛の鼻汁、血清
同居牛2頭の血清



11月30日: ふらつき、起立不能、眼振
死亡→剖検

図 2



図 3

材料と方法

1. 病性鑑定

1) 発症牛の病性鑑定

農場立ち入り時に発症牛の鼻汁と血清及び同居牛 2 頭の血清を採材。剖検時には延髄、肺、腸内容物を追加採材。ウイルス学的検査は牛ウイルス性下痢ウイルス、牛伝染性鼻気管炎ウイルス、牛 RS ウイルス、OvHV-2 の遺伝子検査を実施、ウイルス分離は MDBK-SY 細胞に 3 代静置培養にて実施。細菌、病理学的検査は定法により実施した。

2) 同居家畜の検査

発症牛と同一畜舎内で飼養されていた牛、めん羊及び山羊の血液とめん羊及び山羊の落下糞便を採材、OvHV-2 の遺伝子検査を実施した。

2. 管内めん羊飼養農場における OvHV-2 浸潤状況調査

管内におけるめん羊飼養農場でのめん羊の OvHV-2 保有状況及び排出状況を調査するため、A 農場の他、ふれあい体験牧場を営んでいる B 農場に立ち入り、めん羊の血液、鼻腔スワブ、唾液を採材し OvHV-2 の遺伝子検査を実施した。

結果

1. 病性鑑定

1) 発症牛の病性鑑定

剖検所見：気管内に充出血が認められ泡沫様液が貯留、肺は左前葉が暗赤色化し無色透明の胸水が貯留していた。

細菌学的検査：有意菌の分離陰性、リステリア遺伝子検査陰性。

ウイルス学的検査：発症牛の鼻汁、延髄、肺及び血清より OvHV-2 特異遺伝子が検出された。その他の遺伝子検査及びウイルス分離検査は陰性(図 4)。

病理学的検査：延髄及び肺に中程度の血管炎と軽度のフィブリノイド変性が確認された(図 5)。

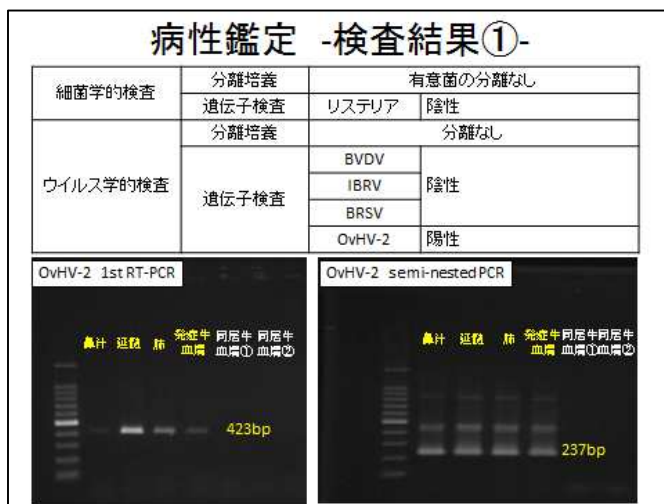


図 4

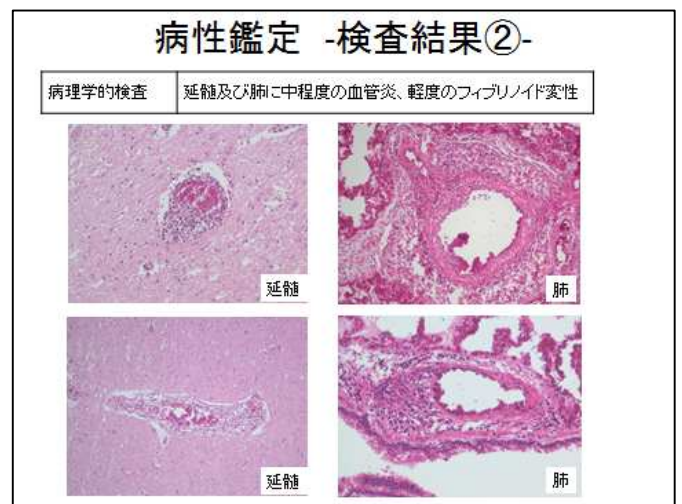


図 5

2)同居家畜の検査

めん羊全頭及び山羊 1 頭の白血球より OvHV-2 特異遺伝子が検出されたが、糞便からは検出されなかった。同居牛は全頭陰性（表 1）。

	白血球	糞便
めん羊	9/9	0/1
山羊	1/3	0/1
同居牛	0/10	NT

表 1

2.管内めん羊飼養農場における OvHV-2 浸潤状況調査

A 農場及び B 農場全てのめん羊の白血球より OvHV-2 特異遺伝子が検出されたが、鼻腔スワブ及び唾液からは不検出であった。また、めん羊と同居していた A 農場の山羊の白血球において OvHV-2 特異遺伝子が検出された。B 農場でめん羊の隣で飼養されている牛は陰性であった（表 2）。

		白血球	鼻腔スワブ	唾液
A農場	めん羊	8/8	0/8	0/8
	山羊	1/4	0/4	0/4
B農場	めん羊	5/5	0/5	0/5
	牛	0/1	NT	NT

表 2

考察

病性鑑定結果において発症牛より OvHV-2 特異遺伝子が検出され、血管炎等の特徴的な病変が認められたことや、OvHV-2 を保有しているめん羊・山羊と同一畜舎で飼養されていることから本症例は SA-MCF と診断した。病性鑑定依頼を受けた当初は、稟告やその症状等から呼吸器疾病を疑い採材、検査を開始したが、呼吸器疾病関連の病原体は検出されず、また同居畜への感染が認められない等通常の呼吸器疾病とは異なる病態であった。今回のケースにおいては疫学的にめん羊等の OvHV-2 保有動物との接触が否定できない農場であり、なおかつ牛から牛への伝播が確認されない事例であることから病性鑑定開始時より悪性カタル熱を類症鑑別に含め検査する必要があったと考えられ、今後の病性鑑定に生かしていきたい。

SA-MCF はめん羊等の OvHV-2 保有動物との接触、特に出生直後の子めん羊やその胎盤との接触により感染する可能性が高いとされている。本事例では同一畜舎内に OvHV-2 保有めん羊が飼育されていたが、畜舎の構造上、直接接触することはなく、発生前に分娩もなかったことから、分娩期以外にも OvHV-2 保有動物からウイルスが排出され、作業員等により機械的伝播が成立したものと推察、追加調査として OvHV-2 保有めん羊及び山羊の鼻腔スワブ、唾液からの OvHV-2 排出状況を調査したが、遺伝子は検出されなかった。しかしながら、発情時やストレス等により間欠的にウイルスが排出された可能性もあり、今後も継続して調査していきたい。また、追加調査においてめん羊と同居している山羊からも OvHV-2 特異遺伝子が検出されたことから、めん羊を同居歴のある山羊が不顕性感染し OvHV-2 保有動物となる可能性が示唆され、OvHV-2 保有動物としてめん羊だけでなく山羊においても注意喚起していく必要があると考えられる。

県内で初めて確認されたヨーロッパ腐蛆病発生事例

東部家畜保健衛生所 清水春菜・丸山稔他

【はじめに】

ヨーロッパ腐蛆病は *Melissococcus plutonius* (以下、*M.plutonius*) による蜂児の細菌感染症である。流蜜期に多発する傾向があり、無蓋蜂児の死亡、乳白色、粘稠性のない死亡蜂児がみられるのが特徴である(図1)。平成26年5月、西洋蜜蜂1群飼養農家において、蜂群が増えず、無蓋蜂児の死亡、酸臭、水っぽく粘稠性のない死亡蜂児が確認され、本病が疑われることから、病性鑑定を実施した(図2)。その結果、*M.plutonius* が分離され、ヨーロッパ腐蛆病と診断した。後日、飼養場所周辺等の追加調査を実施したので病性鑑定事例と併せて報告する。

| ヨーロッパ腐蛆病



【病原体】
Melissococcus plutonius (以下、*M.plutonius*)

【特徴】


- 死亡時期が早く、蓋がかかる前に死亡。
- 死亡蜂児は乳白色で粘稠性がない。
- 酸臭や発酵臭が強い。
- 芽胞を形成しないが、再発性が高いと言われている。

図 1

| 概要

飼養場所: 北杜市
畜種: 西洋蜜蜂
蜂群数: 1群

【経過】
平成26年5月
「幼虫が茶色くなり死んでいる」
「腐蛆病を疑う」



現地にて無蓋蜂児の死亡、酸臭、水っぽく粘稠性のない死亡蜂児を確認し、病性鑑定を実施

図 2

【材料及び方法】

1、死亡蜂児を用いたミルクテスト・芽胞染色・グラム染色、中腸内容物の塗抹鏡検を実施。細菌分離培養では死亡蜂児乳剤を KSBHI 培地に塗抹し、37℃、5日間嫌気培養を実施し、分離菌のグラム染色、死亡蜂児及び分離菌から抽出した DNA の *M.plutonius* 特異遺伝子の PCR 検査(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所に依頼)を実施した(図3)。さらに分離菌の薬剤感受性試験(寒天平板希釈法による最小発育阻止濃度(MIC)測定)を実施した(図4)。

| 病性鑑定

【材料】死亡蜂児

【方法】

- ・ミルクテスト
- ・芽胞染色
- ・グラム染色
- ・中腸内容物の塗抹鏡検
- ・細菌分離培養

死亡蜂児乳剤を KSBHI 培地に塗抹し、37℃5日間嫌気培養

- 分離菌のグラム染色
- M.Plutonius* 特異遺伝子の PCR 検査 (動物衛生研究所に依頼)
- 薬剤感受性試験

図 3

| 薬剤感受性試験

今回分離された *M.plutonius* 2株に対するミロサマイシンの最小発育阻止濃度(MIC)を測定

ミロサマイシン: アメリカ腐蝕病予防薬「アピテン」に含まれる
日本で唯一蜜蜂への使用が許可されている

【測定方法】

方法	寒天平板希釈法
培地	KSBHI培地(液体・寒天)
薬剤	ミロサマイシン
濃度	128µg/ml - 0.008µg/mlの15段階
培養条件	37℃、4日間嫌気培養

(「動物用抗菌剤研究会の2003年改定標準法」に準拠して実施)

図 4

- 2、追加調査として、平成 26 年 6 月、12 月に過去に使用していた未消毒の巣箱・巣脾、養蜂器具、蜜蜂用水飲み場の水、飼養場所周辺土壌等について、KSBHI 培地による細菌分離培養と *M.plutonius* 特異遺伝子の PCR 検査を実施した(図 5、6)。

追加調査 H26.6月

【材料】
未消毒の巣箱、巣脾
養蜂器具
蜜蜂用水飲み場の水
飼養場所周辺土壌
死亡蜜蜂

【方法】
細菌分離培養
PCR検査



飼養場所 巣箱 蜜蜂用水飲み場

図 5

追加調査 H26.12月

【材料】
未消毒の巣箱、巣脾
作業場の蜜
火炎消毒後の巣箱
蜜蜂用水飲み場の水
飼養場所周辺土壌

【方法】
細菌分離培養
PCR検査



作業場に付着した蜜 未消毒の巣箱 火炎消毒後の巣箱


図 6

【結果】

- 1、ミルクテスト、芽胞染色は陰性、グラム染色ではグラム陽性球菌を確認した。中腸内容物の塗抹鏡検ではチョーク粉様物を確認した。細菌分離培養では白色小集落を認め、分離菌をグラム染色したところグラム陽性球菌が確認された。死亡蜂児及び分離菌から抽出した DNA での PCR 検査では、*M.plutonius* 特異遺伝子が検出された(図 7)。薬剤感受性試験では同一検体から分離した *M.plutonius* 2 株の MIC を測定したが、株 1 では $4 \mu\text{g/ml}$ 、株 2 では $0.125 \mu\text{g/ml}$ であった(図 8)。

病性鑑定結果1

方法	結果
ミルクテスト	陰性
芽胞染色	陰性
グラム染色(死亡蜂児)	グラム陽性球菌
中腸内容物の塗抹鏡検	チョーク粉様物
細菌分離培養	白色小集落
グラム染色(分離菌)	グラム陽性球菌
PCR検査	陽性



陽性 PCR グラム染色(死亡蜂児) 細菌分離培養

図 7

薬剤感受性試験結果

濃度 ($\mu\text{g/ml}$)	320	64	32	16	8	4	2	1	0.5	0.25	0.125	0.06	0.03	0.015	0.008
株1	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+
株2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+

MIC 株1 $4 \mu\text{g/ml}$
株2 $0.125 \mu\text{g/ml}$

図 8

- 2、追加調査では、6 月に採材した検体のうち、全てで菌分離陰性となった。PCR 検査では未消毒巣箱、養蜂器具、蜜蜂用水飲み場の水、飼養場所周辺土壌、死亡蜜蜂から遺伝子が検出された(図 9)。12 月に採材した検体でも全てで菌分離陰性となった。PCR 検査では作業場に付着していた蜜、飼養場所周辺土壌から遺伝子が検出された。12 月の追加調査では、6 月と同じ場所から採材した検体で、6 月調査時に PCR 陽性だったものが、12 月調査時には PCR 陰性となった検体があった(図 10)。

追加調査結果				H26.6月
採材場所		菌分離	PCR検査	
1		巣門	-	-
2	巣箱1	底	-	-
3		巣脾	-	-
4	巣箱2	底	-	+
5		巣門	-	-
6	巣箱3	巣脾	-	-
7		巣脾	-	+
8		器具	-	+
9	環境	水	-	+
10		土壌①	-	-
11		土壌②	-	+
12		死亡蜜蜂	-	+

図 9

追加調査結果				H26.12月
採材場所		菌分離	PCR検査	
1	巣箱2	巣門	-	-
2	※1	底	-	-
3	作業場の蜜		-	+
4	消毒後巣箱	底	-	-
5		底	-	-
6	環境	水※2	-	-
7		土壌※3	-	+
8		土壌	-	-
9		土壌	-	-
10		網	-	-

※ 6月追加調査時と同じところから採材
 1 → No.11,12
 2 → No.18
 3 → No.21

6月PCR陽性 → 12月PCR陰性

図 10

【まとめと考察】

飼養者から腐蛆病を疑うとの連絡があり、現地にて無蓋蜂児の死亡、酸臭、水っぽく粘稠性のない死亡蜂児を確認した。細菌分離培養により、死亡蜂児から *M.plutonius* を分離し、ヨーロッパ腐蛆病と診断した。

薬剤感受性試験では、分離菌のミロサマイシンに対する MIC を測定し、MIC はそれぞれ 4 μg/ml、0.125 μg/ml であった。同一検体から分離した菌であっても異なる MIC を示したが、これは複数の株が同時に感染していたものと考えられる。今回の MIC の結果からミロサマイシンに対する *M.plutonius* の MIC は高く、この株に対しては有効であるとは言えない。

6月と12月に実施した追加調査において、全ての検体で菌分離陰性であった。6月の追加調査では巣箱、養蜂器具、蜜蜂用水飲み場の水、飼養場所周辺土壌、死亡蜜蜂から *M.plutonius* 特異遺伝子が検出された。12月の追加調査において、作業場に付着した蜜、飼養場所周辺土壌から遺伝子が検出された。これらの結果から、*M.plutonius* は蜜蜂体内だけでなく、環境中にも広く拡散していることが考えられる。また6月調査時には PCR 陽性で、12月調査時には PCR 陰性となる検体があったが、これは日光や温度等の条件により菌が破壊され、遺伝子が検出できなくなったものと考えられる。

【対策】

飼養者は来春から同敷地内の別の場所での飼養を考えていることから、巣箱、巣脾等に付着した蜜等を綺麗に取り除いた上で火炎消毒やホルマリン燻蒸を行うこと、土壌からも遺伝子が検出されていることから、消石灰散布等による土壌の消毒を行うこと、グルタルアルデヒドへの浸漬による器具の消毒を行うことを指導した。

また来春の飼養前には再度同様の調査を実施する予定である。

県内で初めて確認された「IARS 異常症」の発症事例

東部家畜保健衛生所 秋山倫子 丸山稔ほか

【はじめに】

原因が特定できないが、哺乳欲減退や起立困難など様々な臨床症状を呈し「虚弱」と診断される子牛の総称として、虚弱子牛症候群（WCS）が知られている。この WCS を引き起こす原因の1つとして IARS 異常症（IARS）があり、WCS の1/3～1/4 で IARS が関与しているという報告もある。

IARS とは、牛の常染色体第 8 番染色体にある、タンパク質の基を作る IARS（isoleucyl-tRNA synthetase）遺伝子の変異することによって起こる遺伝性疾患で、2013 年 4 月公表遺伝性疾患に指定された。発症牛の主な症状は、出生時体重が小さい（概ね 20kg 以下）、自力哺乳や起立が困難、虚弱で下痢や肺炎にかかりやすく発育遅延などである。常染色体劣性の遺伝様式をとり、有効な治療法は無い。2014 年 8 月、県内において IARS を発症した子牛の死亡事例に遭遇したので、その概要を報告する。

【発症概要】

県内 A 農場において、出生時から虚弱で発熱や下痢を繰り返していた子牛が死亡した。当該牛は、2014 年 3 月 4 日生まれ黒毛和牛の雄。出生時体重は 16kg で、約 4 ヶ月たった 7 月 2 日の体重は 38kg と通常の約 1/3 程度しかなく発育不良状態であった。6 月中にサンプルを家畜改良事業団に送付し、遺伝疾患検査を実施した。その結果、2014 年 7 月 15 日に IARS と確定した。出生後から、発熱や鼻水、発咳、下痢を繰り返し、8 月 18 日に死亡した（図 1）。IARS と確定した牛の死亡例は経験が無かったため、病態や形態異常の有無等を確認するため検査を実施した。

【剖検所見】

重度に消瘦し、明らかに発育不良状態であった。肺では、肺胸膜が胸壁に癒着し、大小様々な大きさの膿瘍を形成していた（図 2）。また、腎臓はやや小さめであった。その他の臓器や骨格等の形態異常は認めら

《 発症概要 》

出生時から虚弱で発熱や下痢を繰り返していた子牛が死亡

当該牛の概要

2014年3月4日生まれ 黒毛和牛 雄
出生時体重→16kg 約4ヶ月齢時体重→38kg
2014年7月15日 IARS異常症と確定

経過

2014/04/12 : T39.3℃、P1、発咳
2014/04/30 : T40.1℃、鼻水、発咳、肺雑音
2014/05/02 : T40.5℃、鼻水、肺雑音
2014/06/30 : T41.0℃、発咳、発育悪、消瘦
2014/07/25 : 消瘦、水様便
2014/08/05 : T41.0℃、水様便、元気↓
2014/08/18 : 死亡

（図 1）

《 剖検所見 》

- ✦ 重度消瘦、発育不良
- ✦ 肺：肺胸膜が胸壁に癒着
大小様々な大きさの膿瘍形成
- ✦ 腎臓：やや小さめ

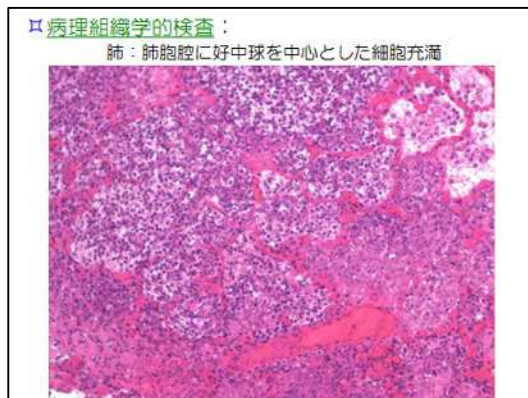


（図 2）

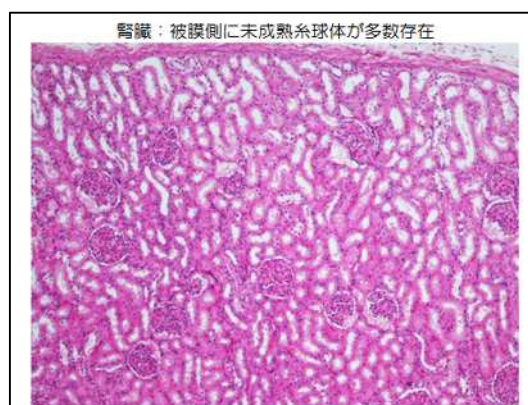
れなかった。

【検査方法・結果】

細菌学的検査として、主要5臓器(肝臓、脾臓、腎臓、心臓、肺)、脳、リンパ節を材料に常法に従い菌分離を実施したところ、肺から *Pasteurella multocida* が分離された。ウイルス学的検査として、肺の10%乳剤を用いて4つの呼吸器関連疾病(牛伝染性鼻気管炎ウイルス、牛RSウイルス、牛ウイルス性下痢ウイルス、牛パラインフルエンザウイルス3型)の遺伝子検査を実施したが、4ウイルスの遺伝子は全て未検出であった。病理組織学的検査では、肺胞腔内に好中球を中心とした細胞が充満した重度の化膿性肺炎像が認められた(図3)。IARSは肺炎にかかりやすいとのことであるが、本症例も肺から *Pasteurella multocida* が分離され、重度の化膿性肺炎像が認められたことから、パスツレラによる肺炎を起こしていたと考えられる。また、腎臓では被膜側に未成熟な糸球体が多数存在しており、腎臓の発達が悪かったことがわかる(図4)。



(図3)

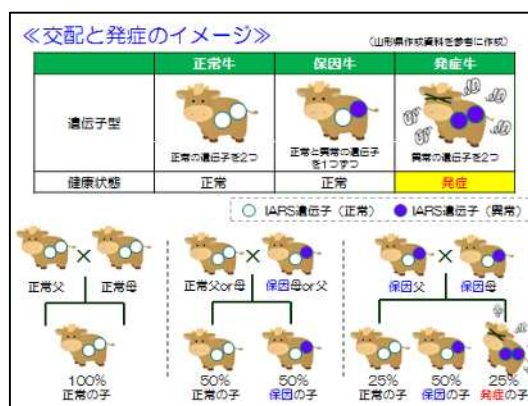


(図4)

【IARSの交配と発症のイメージ】

IARS正常牛(正常牛)は、正常遺伝子を2つ保有し、異常IARS遺伝子保因牛(保因牛)は正常遺伝子と異常遺伝子を1つずつ保有している。そして、IARS発症牛(発症牛)は異常遺伝子を2つ保有する。保因牛は、異常遺伝子を1つ持つが健康状態は正常である。

交配パターンとして、正常牛同士の交配(正常牛×正常牛)では100%正常な子が生まれ、どちらか一方が保因牛の交配(正常牛×保因牛)では、1/2の確率で保因牛が生まれる。そして、保因牛同士の交配(保因牛×保因牛)では、1/2の確率で保因牛、1/4の確率で発症牛が生まれる。保因同士を交配させなければ発症牛は生まれないが、保因牛は生まれるので注意が必要である(図5)。



(図5)

【A農場の繁殖母牛調査】

2014年11月末現在、A農場には186頭の繁殖母牛がいて、そのうちIARS遺伝子検査を実施したのは109頭で保因牛は48頭であった。

当該牛の母牛は2産目であったため、1産目の産子について調査した。1産目も2産目と同じ保因牛を交配していたが、産子はIARSを発症しておらず、遺伝子検査未実施のため保因状況は不明だが、現在も生存を確認している。

その他、5産以上の保因母牛の過去の産子についても調査を実施した。保因母牛は6産で、そのうち2回保因牛を交配していた。5産目の10kg（死産）はIARSであったと推察され（図6）、保因母牛は5産で、3回保因牛を交配しており、3産目の8kg（死産）がIARSと推察される。保因母牛は5産で、2回保因牛を交配し、5産目の12kg（出生日に死亡）がIARSと推察される。3頭いずれも出産予定日近辺での娩出であった（図7）。なお、これらの保因牛を交配させているのは、IARSという疾病が公表される以前のことであり、公表後は、A農場では、保因牛同士の交配は避けているため、今後は発生しないと思われる。



(図6)



(図7)

【まとめ】

2013年4月にIARSが公表遺伝性疾患に指定された。

2014年8月、本県でIARS発症牛が死亡した。当該牛は低体重で出生し、その後も下痢や発熱を繰り返し発育不良状態であった。解剖時に肺で多数の膿瘍を確認し、肺から*Pasteurella multocida*が分離され、重度の化膿性気管支肺炎像が認められたことからパスツレラによる肺炎を起こしており、IARSの定説どおりの病態を呈していた。また、腎臓の被膜側に未成熟な糸球体が多数存在し、発達が悪かった。その他の臓器や骨格等の形態異常は認められなかった。

A農場における繁殖母牛の保因状態は把握済みであり、保因牛は48頭であった。A農場では過去に、保因牛同士の交配でIARSを発症したと推察される牛が産出されていたが、公表後は、保因牛同士の交配を避けているため発症牛は出ておらず、今後も出ない。成績優秀な種雄牛の中には保因牛もいるが、保因状況が多く公開されている。IARSは保因牛同士を交配させなければ発症しないため、交配に注意すれば防げる疾病である。A農場以外の和牛繁殖農家においても、繁殖母牛の保因状況を検査し把握し

た上で交配させることが望ましいが、検査にはお金がかかるため、検査を実施せず保因状況が不明な場合は、保因牛を交配させないことが本病発症を防ぐ対策である。

