

平成24年度
福井県畜産技術業績発表集録
(第1部, 第2部)



目次

第1部

- 1 家畜保健衛生所における鳥インフルエンザ防疫体制の強化 朝倉 利江・・・1
- 2 口蹄疫を疑う家畜の写真撮影と送信方法に対する検討 吉田 靖・・・4
- 3 酪農家とのET受胎率向上に向けた取り組み 武野侍那子・・・10
- 4 和牛繁殖農家と酪農家の連携による繁殖素牛用受精卵の有効利用 横田 昌己・・・15

第2部

- 5 A群ロタウイルスの持続感染が疑われた子牛の1例と腸間膜リンパ節でのウイルス潜伏 三竹 博道・・・18
- 6 リンパ節転移が認められた肉用子牛の悪性中皮腫 山崎 俊雄・・・22
- 7 皮下腫瘤形成と眼窩内浸潤がみられた馬の悪性リンパ腫 田中 知未・・・27
- ◎ 8 新しい遺伝子型を示す豚丹毒菌による急性敗血症型豚丹毒の集団発生事例 葛城 肅仁・・・32
- 9 哺乳豚で発生した豚サイトメガロウイルス病 三竹 博道・・・38

○ 第54回東海北陸ブロック家畜保健衛生業績発表会選出演題

◎ 第54回全国家畜保健衛生業績発表会（平成25年4月25,26日東京都にて開催）選出演題

1 家畜保健衛生所における鳥インフルエンザ防疫体制の強化

家畜保健衛生所

○朝倉利江 竹内隆泰

はじめに

平成22年4月から翌年3月にかけて国内では高病原性鳥インフルエンザ（HPAI）および口蹄疫が多発した。これらで実施した防疫対応をうけて、平成23年に家畜伝染病予防法（法）の改正が行われた。また、インターネット環境を活用した家畜防疫マップの運用も開始された。そこで、これらの改正等にあわせてさらなる鳥インフルエンザ防疫体制の強化に取り組んだ。

情報の整理

当所では法第51条第1項に基づき、家きん飼養農場への立入を定期的実施してきた。立ち入り指導用の台帳としては衛生検査台帳を農場ごとに作成し、その都度更新した。衛生検査台帳では、飼養状況、ワクチン接種状況、農場平面図、飼料情報、採材情報などを記載し、防疫台帳としても兼用した。しかし、法改正等に伴い、防疫台帳として活用するには情報が不足してきたことから、必要な情報を精査し農場ごとに家きん防疫台帳を新しく整理した。

防疫台帳には定期報告に記載される所有者情報、飼養羽数、農場平面図および衛生管理区域設定状況、消毒設備設置状況、埋却候補地情報に加え、通常の死亡鳥処理方法、出入り業者一覧、従業員人数を追加した。

さらに、稼働を開始した家畜防疫マップで農場ごとに制限区域内畜産施設一覧を検索して追加した（図1）。

堆肥処理施設の調査

鳥インフルエンザ発生時の汚染物品処理は焼却または埋却が基本の処分方法であるが、実際発生した際には堆肥処理施設を使用した発酵消毒の選択もありうる



図1 情報の整理



図2 堆肥処理施設の調査風景

ことから、堆肥処理施設状況の確認調査を実施した（図2）。調査項目は農場内の堆肥施設の位置、処理能力、容積、糞運搬方法などとし、立ち入り検査に併せて実施した。また、鳥インフルエンザ防疫対応を想定し、通常使用されている除糞機材および方法を併せて確認し、特記すべき事項があれば記載したうえで堆肥処理施設調査票として整理した（図3）。



図3 堆肥施設調査票

情報共有化対策

これまで防疫台帳等の資料は担当者のパソコンおよび一部の紙媒体で保管されていた。そのため、緊急対応時には情報共有までに時間がかかるおそれがあった。そこで、家保本所および嶺南家畜保健衛生センターの全職員がアクセスできるサーバーを設置した。また、サーバー内には各農場の防疫台帳、堆肥処理施設調査票、国内外で発生した場合の農場に対する周知用文書のひながたや防疫対応時に必要とされる情報を保存し、担当者不在時においても速やかな対応が可能となった。

家保職員に対する初動対応強化対策

家保職員全員が確実かつ迅速に防疫対応を実施することを目的として、特定家畜防疫指針の様式3である異常家きん等の届出を受けた際の報告を各課電話近くへ配置し、異常家きん等の届出があった場合に確実な聞き取りが出来る体制を整えた。また、稼働を開始した家畜防疫マップの国マニュアルの簡易版を作成し、複数の家保職員が家畜防疫マップを操作できる環境を整えた。

続いて、職員用初動対応マニュアルを作成し、家保職員がマニュアルを確認しながら防疫対応に当たることで職員全員が的確な対応が実施できるように体制を整えた。

さらに、これまで病性鑑定班の出動セットは準備していたものの、疫学調査班の出動セットは準備していなかったため、防疫資材に加え聞き取り様式4、死亡鳥カウント用カウンター、携帯機器用充電器、電卓などをケースにまとめ、速やかに出動対応が可能となる

よう準備した（図4）。

まとめ

鳥インフルエンザ防疫体制の強化を目的として、農場ごとの防疫台帳の情報を精査し情報の追加および整理を行った。特に汚染物品処理の基礎情報として堆肥処理施設についての情報収集を新たに実施し、追加した。また、家保職員に対する初動対応強化を目的として防疫台帳を家保職員全員が速やかに活用できるよう、共有サーバーを設置した。共有サーバーには防疫台帳に加え共有すべき情報を入れることにより、家保全体として速やかに仕事の共有が図られるようになった。職員の変更があっても的確かつ確実な初動対応がとれるよう、家保初動対応マニュアルを作成し、疫学調査班用の出動セットを準備した。これらにより、従来以上に確実かつ迅速な初動対応の実現が可能になったと考えられた。



図4 疫学調査班セットの準備

2 口蹄疫を疑う家畜の写真撮影と送信方法に対する検討

家畜保健衛生所

○吉田靖 竹内隆泰 ほか

背景および目的

家畜保健衛生所（以下家保）では、農林水産省からの通知文により、口蹄疫を疑う農場への立入検査を行った際には、口蹄疫に特徴的な病変の有無の確認と臨床検査を実施した後、異常家畜の病変の好発部位をできるだけ鮮明に写真撮影し、県主務課を通じて農林水産省に送信するよう指示されている。また、その注意事項として写真撮影では暗所では十分な光源を確保すること、適切な撮影機器を使用すること、好発部位は必ず撮影することとある。また、写真はファイル名の変更や番号札を利用して個体の識別を可能にし、画素サイズは 80 万以上であること、送信には通信機器の利用や最寄りの県施設を利用し、家保に戻ることなく迅速に送信するとされている。そこで、今回対象農家での適切な写真撮影と送信方法について、検討したのでその概要を報告する。

方法

撮影方法の検討では、光源と撮影機器を変えて病変の好発部位を撮影し、画像の鮮明さと利便性について比較した。光源は 250W のハロゲンライト、撮影機器内蔵フラッシュ（以下内臓フラッシュ）、LED 懐中電灯の 3 種類を使用した。撮影機器は一眼レフデジタルカメラ（以下一眼レフ）、コンパクトデジタルカメラ（以下コンパクト）、スマートフォン内蔵カメラ（以下スマホ）の 3 種類を使用した。それぞれの方法で好発部位 6 か所を撮影し、比較した。また撮影機器の画素サイズを 3M ピクセルに統一したところ、ファイルサイズは 700KB～1.3MB となった（表 1）。このような条件で実際に管内の一般的な肉牛繁殖農家で撮影を行った。また立ち入り検査の際には様々な気候や時間帯が予想されることから、あえて自然光は取り込まず、戸を締め

表 1 撮影方法の検討

| 撮影機器 | 画素サイズ | ファイルサイズ | 光源 | | |
|---|--------------------|---------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|
| | | | ハロゲンライト | 内臓フラッシュ | LED 懐中電灯 |
|  | 2,048 × 1,536 (3M) | 約 1.3MB | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
|  | 2,048 × 1,536 (3M) | 約 1.3MB | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
|  | 2,048 × 1,536 (3M) | 約 700KB | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |



図 1 送信方法の検討

切った暗所の状態で牛の頭部を保定し、好発部位を撮影した。

送信方法の検討では、撮影したデータを地域管轄の農林総合事務所まで持ち込み、行政端末パソコンで送信した場合と、撮影後にその場でスマホのインターネット機能で送信した場合とでかかる時間について比較した（図1）。

結果

一眼レフでの撮影を写真1、コンパクトでの撮影を写真2、スマホカメラでの撮影を写真3に示した。一眼レフではハロゲンライトと内蔵フラッシュで共に良好で、特に口蓋など狭い部分でも十分に光が届き、撮影することができた。それに対しLED電灯は、主要部分に光を当てると青白く光りぼやけて写り、判断できない画像がほとんどであった。コンパクトでも同様にハロゲンライトと内蔵フラッシュで共に良好であったが、内蔵フラッシュで若干口蓋の奥や乳頭などの狭い部分では光が届かず影ができた。LED電灯は、一眼レフと同様に良くなかった。スマホカメラは、ハロゲンライトを使用した場合と、内蔵フラッシュでは歯茎や鼻鏡など接写しやすい部分で判断可能な画像が得られた。

光源の利便性の比較では、ハロゲンライトは十分な光源量で鮮明な画像を得られるものの電源を確保する必要があり、また照明を保定するのに人員が必要となった。また強い光に牛が興奮し足をあげるなど危険性も伴い利便性は良くなかった。また内蔵フラッシュは、瞬間的な光に牛が興奮するのではと考えていたが、意外と牛は落ち着いており良好に撮影できた。LED電灯はハレーションができやすく、判断できない画像となり不適であった。

カメラの利便性の比較では、一眼レフがピント合わせからシャッターをきるまでの時間が最も早く、被写体のブレが少なく操作性が一番良かった。そのため鮮明な画像を得るまでの撮影回数は、一眼レフでは約3回であったのに対し、コンパクトでは約5回、スマホカメラで約8回必要であった。以上の結果から今回の撮影で最も適していたのは、内蔵フラッシュと一眼レフを使用した撮影方法であった。

送信方法の検討では、まず管内の各農家から県施設まで移動にかかる時間を調査した。

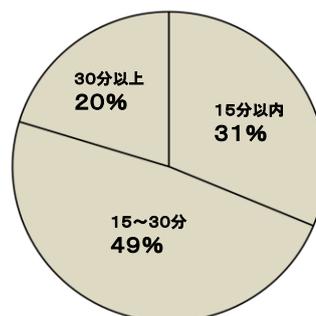


図2 農家から県施設への移動時間



移動時間
0分
送信容量
10MB送信(7~14画像)
10分以内で送信完了!

評価:スマートフォンでの送信が迅速

図3 スマートフォンでの送信時間

その結果農家全体の約70%が移動に15分以上かかり、そのうち20%で30分以上かかることが判った(図2)。また、それから送信作業時間が必要となるため、送信が完了するにはおおよそ30分以上かかると予想された。

それに対し牛舎内でのスマホの送信では、移動時間は0分で1回の送信で10MBが可能なことから、7~14画像を約100秒で送信することができた。そのため複数回送信したとしてもおおよそ15分以内で送信が可能で、スマホ送信の方が迅速であった(図3)。また管内の対象農家はすべて携帯電話の通信エリア内であった。

まとめおよび考察

今回の検討結果では、口蹄疫を疑う立ち入り検査をした際に好発部位の写真を県の主務課に送信するには、一眼レフで撮った画像を牛舎内からスマホで送信する方法が一番迅速であった。その他の利点として、画像の写り具合の確認の際にデジカメの液晶では判断しにくいのが、スマホでは液晶画面を利用することで、確認作業が容易になった。また撮影した職員が現場で待機することができ、万一の写真の撮り直しや追加の写真が必要になった場合においても迅速に対応できると思われた。

また、農場に立ち入った職員が県施設に移動することは、口蹄疫ウイルスの汚染を拡大することになるため避けるべきである。他県では画像のデータを別の職員が農場外で受け取り、搬送する方法を取っているが、家畜防疫員が少ない福井県では緊急時に現地調査の人員を増やすことは難しい。

撮影機器は様々な機能が備わっているが、一番重要なのはカメラに精通していない職員でも判断可能な画像を容易に撮影できることであり、操作マニュアルの作成も必要と考えられた。また、今回のコンパクトとスマホは防水機能になっているが、一眼レフに防水機能はない。実際に口蹄疫と診断された場合は、消毒ができないため破棄する予定である。

スマホは個人の所有物でありすべての職員が常備しているとは限らない。今後は事務所で契約している携帯電話をスマホに変更する必要があると思われた。

以上の結果を踏まえ、今後も口蹄疫に対する防疫体制を、より迅速に強固なものに構築していきたいと考える。

写真1 一眼レフデジタルカメラでの撮影

ハロゲンライト

内蔵フラッシュ

LED電灯

蹄



乳頭



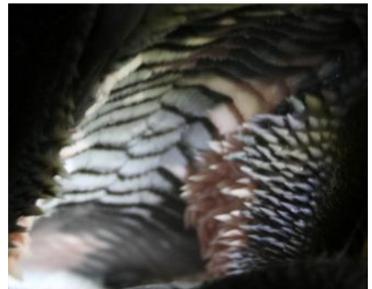
鼻鏡



歯茎



口蓋



舌



写真2 コンパクトデジタルカメラでの撮影

ハロゲンライト

内蔵フラッシュ

LED電灯

蹄



乳頭



鼻鏡



歯茎



口蓋



舌

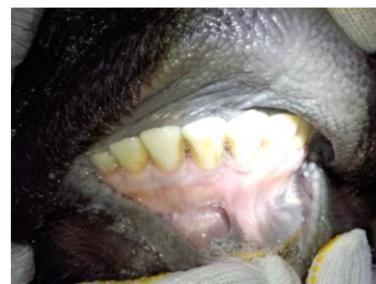
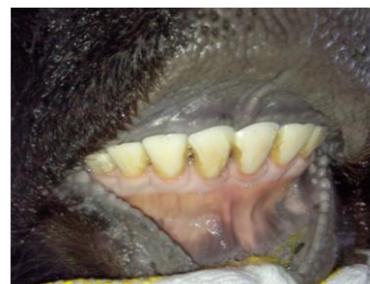
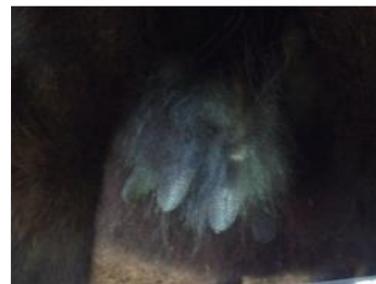


写真一3 スマートフォン内蔵カメラでの撮影

ハロゲンライト

内蔵フラッシュ

LED電灯



3 酪農家との ET 受胎率向上に向けた取組み

嶺南家畜保健衛生センター
○武野侍那子、山崎俊雄

はじめに

福井県では、ブランド牛「若狭牛」の増産を目的に酪農家の乳牛へ受精卵移植（ET）を実施している。平成 23 年度および平成 24 年度 11 月までの北陸三県子牛市場への ET 子牛出品頭数は、嶺南管内の農家による出品がともに県全体の約 70%を占めている（図 1）。さらに、管内出品牛のうち乳用牛を借り腹として生まれたものは、80%前後となっており（図 2）、乳用牛飼養農家戸数が昨年度 6 戸、今年度 4 戸と少ないにも関わらず、若狭子牛の生産に大きく貢献している。そこで、今年度 6 月から 11 月までに管内酪農家の協力を得て、受胎率向上に向けた取組みを実施した。

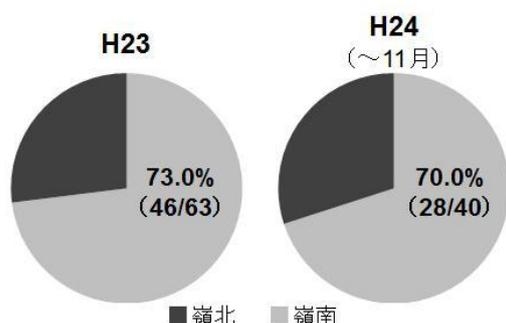


図 1. 北陸三県子牛市場への ET 子牛出品状況

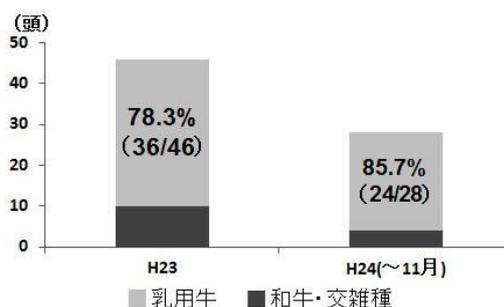


図 2. 嶺南管内出品牛の母牛品種

受胎率向上への取組み

管内酪農家 4 戸の経産牛延べ 39 頭を対象として、4 つの項目を実施した（表 1）。移植候補牛に発情行動あるいは出血が観察されると農家から依頼があり、発情後 5 日目に移植前検査を行った。今回、直腸検査による卵巣の触診に加え、膣鏡検査と超音波画像診断装置（本田電子株式会社, HS-101V, 以下エコー）による黄体検査により受卵牛を選定した。移植時も同様の検査を行い、移植を実施した。検査および移植時には、必要に応じて踏み台を使用した。さらに、今後の受卵牛選定条件を検討するため、移植時の最大黄体断面像をエコーで記録し、移植後に採血を行うことで、最大黄体断面積の大きさおよび血液生化学値と受胎との関係を調査した（表 2）。

期間:平成24年6月～11月

取組み:酪農家の協力

- ① 腔鏡検査による受卵牛の選定
- ② 踏み台の使用
- ③ 超音波画像診断装置(エコー)の活用
- ④ 血液生化学検査

対象:酪農家4戸の経産牛 延べ39頭

〔新鮮卵移植 13頭
凍結卵移植 26頭(2step法)〕



表1. 受胎率向上への取組み

表2. 検査・移植のながれ

①腔鏡検査による受卵牛の選定

農家に牛を保定してもらい、腔鏡を挿入することで、外子宮口の開閉の状態、充血の有無、粘液の有無・性状など腔および外子宮口の状態を観察した。

②踏み台の使用

各農家にプラスチックパレットなど踏み台になるものを用意してもらい、検査および移植時に使用した(図3)。

③エコーの活用

農家に牛を保定してもらい、エコーを用いて卵巣状態を評価し、受卵牛の選定を行った。そこで、今回の受卵牛について、最大黄体断面積(A)を測定し、受胎との関係について調査した(図4)。

④血液生化学検査

移植後に尾静脈から採血後、栄養状態の指標となる血液尿素窒素(BUN)と総蛋白(TP)の値を測定(京都第一科学, スポットケム®SP-4410)し、受胎との関係について調査した。



図3. 踏み台の使用①



図4. エコーの活用

結果

①腔鏡検査による受卵牛の選定

粘液の汚れにより子宮内膜炎等が疑われる牛を8頭摘発し、移植に不適とした。

②踏み台の使用

プラスチックパレットは110cm×110cm×20cmと十分な大きさがあるため、安定した足場が得られた。また、牛の後肢がパレットにあたることで後ろに下がらなくなり、牛の動き

を制限できた。4戸中3戸の牛舎に糞尿溝があるため、作業時の足場が制限されてしまうが、パレットが溝の蓋となることで足場を気にせず作業できた(図5)。さらに、踏み台によって牛の体高に合わせることで直腸へ腕を水平に挿入でき、直腸検査がしやすくなり、移植器を水平に保持できることから移植も容易になった(図6)。

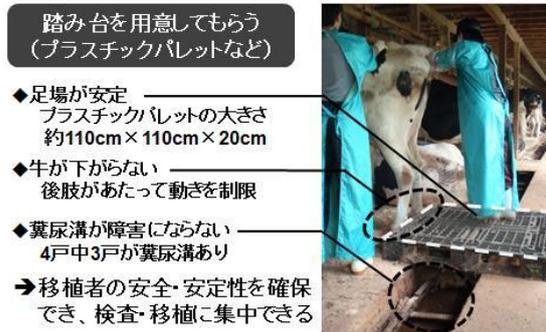


図5. 踏み台の使用②



図6. 踏み台の使用③

③エコーの活用

エコーにより卵胞嚢腫や嚢腫様黄体などの卵巣疾患が明確に描出され、嚢腫様黄体の受胎率は33.3% (n=4)、黄体側に卵胞が共存した場合の受胎率も33.3% (n=12)であった。

受胎牛の平均Aは3.10cm²で不受胎牛の2.56cm²に対し有意に大きく、受胎牛のAはすべて2.0cm²以上であった。このように、エコーを活用し、実際に農家に画像を見てもらうことで移植可否の説明が明確かつ容易に行えるようになった。

④血液生化学検査

BUN値は、10~12mg/dlの範囲で受胎率が75% (n=8)と高く、値が高くなるにつれて不受胎牛の割合が高くなり、19mg/dl以上は不受胎牛のみであった(図7)。

TP値は、正常範囲とされる6.5~7.5g/dlの間で受胎牛の割合が高く、受胎率は71.4% (n=7)であった(図8)。

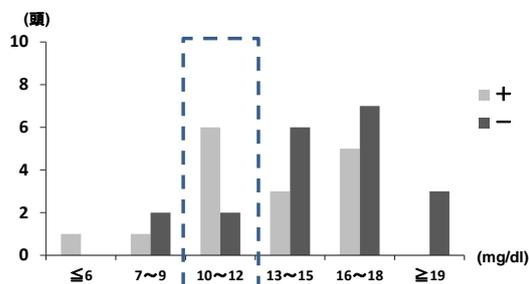


図7. BUN値と受胎の関係

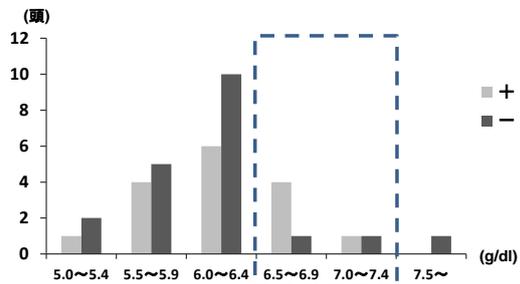


図8. TP値と受胎の関係

今年度の取組み開始以降と昨年度同期間の受胎率を比較すると、有意差はないがわずかに向上しており、移植頭数は 29 頭から 39 頭へ 34%増加した (図 9)。月別依頼件数は、6 月を除く全ての月で昨年度を上回り、今後もこのまま上回ることが予想される (図 10)。さらに、今年度 12 月までの依頼件数は昨年度同期間と比較して、76 件から 135 件へ 1.8 倍に増加した (図 11)。

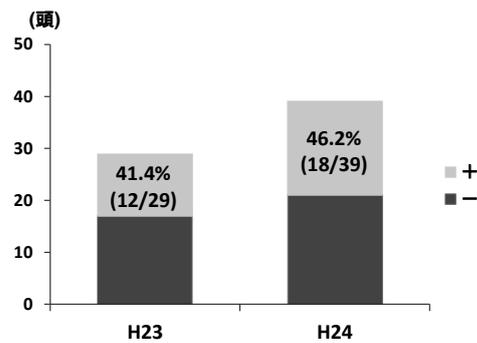


図9. 受胎率(6月～11月)

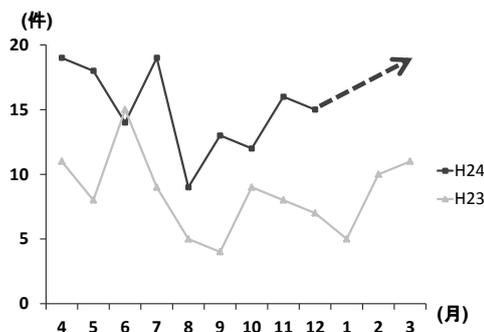


図10. 依頼件数(月別)

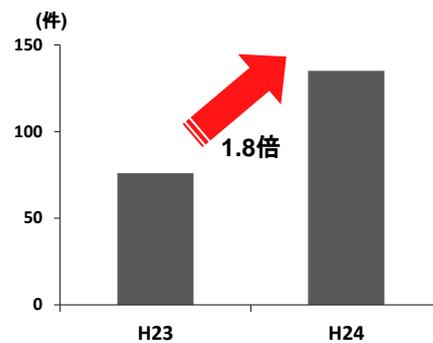


図11. 依頼件数(4月～12月)

まとめおよび考察

腔鏡検査による腔・外子宮口の観察や、直腸検査とエコーによる黄体検査で、より厳密に移植に適した受精卵を選定できた。また、踏み台を使用して移植者の安全・安定性を確保することで、作業に集中できるようになり、大幅に移植しやすくなった。受精卵の移植時の最大黄体断面積が 2.0 cm^2 以上であったことから、農家に超音波画像を見せ、視覚的なイメージを与えることで移植に関する説明がしやすくなった。竹内らは最大黄体断面積と血中プロゲステロン値に高い相関関係が認められることを報告しており [5]、また西貝は受精卵の血中プロゲステロン濃度が高くなるに従い受胎率が高くなる傾向があることを報告している [1] ことから、今後は血中プロゲステロン値の測定も必要と思われた。

血液生化学値と受胎の関係については、低 BUN と低受胎率の関係が知られている [2, 3, 4] が、今回ある程度の傾向が認められたものの、飼料の内容や給与時間との関係により変動するため、今後も継続して検討する必要があると思われた。取組み開始後の受胎率は昨年度と比較してわずかに向上し、移植依頼件数も 1.8 倍に増加したことから若狭牛のさらなる増産が期待される。今後も継続して ET による若狭子牛の増産を推進する。

参考文献

- [1] 西貝正彦：牛凍結胚移植の受胎率向上に関する研究，臨床獣医，18，50-53 (2000)。
- [2] 細川泰子：受精卵移植時の血液検査値と受胎率・糞便 pH との関係，岩手農業研究センター畜産研究所試験研究成果，指-48，1-2 (2008)。
- [3] 細川泰子：受胎率向上のための黒毛和種受胎牛の飼料給与プログラムと血液検査指標値，岩手農業研究センター畜産研究所試験研究成果，普-10，1-2 (2009)。

- [4]細川泰子:受胎率向上のためのホルスタイン種未経産受胎牛の飼料給与プログラムと血液検査指標値, 岩手県農業研究センター畜産研究所試験研究成果, 普-15, 1-2 (2010).
- [5]竹内隆泰ら:分娩後の発情回帰と血液生化学値との関係, 福井県畜産試験場研究報告 23, 10-14(2010).

4 和牛繁殖農家と酪農家の連携による繁殖素牛用受精卵の

有効利用

家畜保健衛生所

○横田昌己 吉田靖ほか

はじめに

家畜保健衛生所では、福井県ブランド和牛「若狭牛」の改良増殖を効率的に推進し、肉牛経営を改善することを目的に、また乳牛の借り腹を利用した和子牛生産で酪農経営を改善することを第2番目の目的に、昭和63年度から受精卵移植(ET)事業を実施している。

県内和牛の子牛登記頭数はやや減少傾向にあるが、近年は約300頭で推移している。そのうちET産子は事業開始から徐々に増加し、近年では約100頭前後で推移しており、登記頭数全体の約3割を占めている(図1)。

登記頭数の約3割を占めるET産子のほとんどが肥育素牛として利用されているため、肥育牛の増産については大いに貢献していると考えられる。しかし、県内和牛繁殖農家牛群の資質向上のための繁殖素牛生産についてはなかなか進まず課題の1つである。

繁殖素牛用の受精卵(繁殖卵)は嶺南牧場繋養の『金幸』、『平茂勝』、『安平』等の優良な父を持つ供卵牛に『平茂勝』、『北国7の8』、『安福久』等の優良な種雄牛をかけあわせた非常に貴重な受精卵を生産している(図2)。現在のETの現状は、酪農家には肥育素牛用受精卵を移植し、生産された子牛は性別にかかわらず、子牛市場を通して、あるいは直接哺乳子牛で肥育農家に売られ、肥育素牛として利用されている。それに対して繁殖卵は和牛繁殖農家にETし、生産された雌牛が自家保留され、繁殖素牛として利用され、雄子牛は肥育素牛として利用されている(図3)。そのため、ETで生産された子牛の大半が肥育素牛として利用されている。

嶺北地域での繁殖卵の利用割合は、22年度の全ET頭数134頭のうち10頭で利用率7.5%、23年

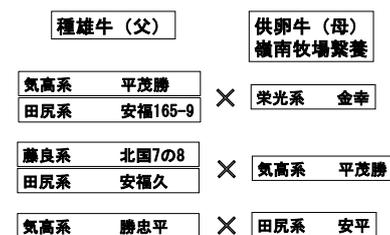
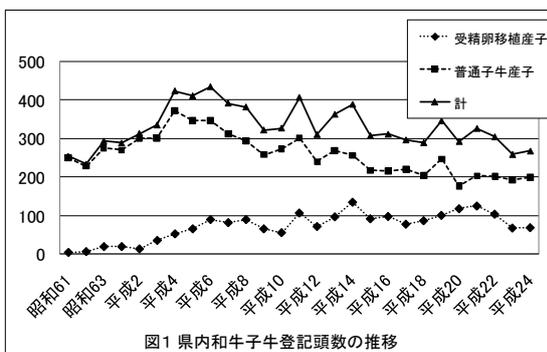


図2 繁殖素牛用受精卵(繁殖卵)の系統例

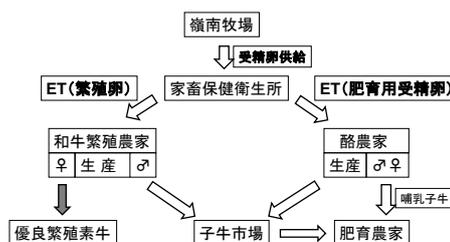


図3 受精卵移植(ET)の流れ

度は135頭のうち14頭で10.4%と1割程度しか利用されていない(表1)。近年の和牛繁殖農家のET成績は、22年度は10頭ETし4頭受胎、受胎率40%で雌生産頭数3頭、23年度は14頭ETし7頭受胎、受胎率50%で雌生産頭数3頭、24年度12月末まで7頭にETし4頭受胎、受胎率57.1%で雌雄率50%での計算上の雌生産頭数は2頭と生産頭数が非常に少ない。3年間の平均受胎率は48.4%と良好だが、繁殖卵利用率が全体の一割程度と低いために、雌生産頭数が少ない現状にある(表2)。これは繁殖農家だけでは受卵牛が不足していることが考えられた。これを改善するためには受卵牛を確保し、繁殖卵利用率をあげることが重要である。

受卵牛確保の一つの方法として、繁殖農家と酪農家との連携強化をはかり、酪農家にも繁殖用受精卵をETし、雌子牛が生産された場合は繁殖農家に譲渡するルートをつくることが考えられる(図4)。ただし、連携が不足した場合に子牛市場等に出品され、貴重な遺伝資源が県外に流出する可能性がある。また、肥育農家で肥育素牛として利用されることがあるため(図5)、必ず繁殖農家へ雌子牛を譲渡する農家間の強い連携が必要である。

表1 繁殖卵の利用割合(嶺北)

| | 全移植頭数 | 繁殖卵移植頭数 | 繁殖卵利用率 |
|------|-------|---------|--------|
| 22年度 | 134 | 10 | 7.5% |
| 23年度 | 135 | 14 | 10.4% |

表2 和牛繁殖農家の移植成績(嶺北)

| | 移植頭数 | 受胎頭数 | 受胎率 | ♀頭数 |
|-------------|------|------|-------|-----|
| H22年度 | 10 | 4 | 40.0% | 3 |
| H23年度 | 14 | 7 | 50.0% | 3 |
| H24年度(12月末) | 7 | 4 | 57.1% | (2) |
| 計 | 31 | 15 | 48.4% | (8) |

()内は計算上の数値

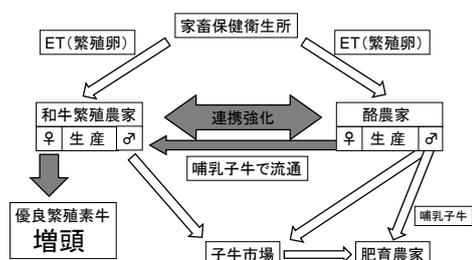


図4 繁殖素牛改良・増殖のためのET活用

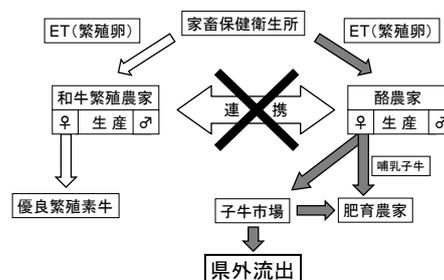


図5 連携不足時の弊害

今回の取り組み

農家間の連携について、ETや繁殖管理等の農家巡回時や和牛生産振興会の理事会で説明をしてきたところ24年7月に、ある和牛繁殖農家と酪農家双方から連携して繁殖卵を利用したいという申し出があり、その酪農家での繁殖卵のETを開始したので、その事例について報告する。

A 和牛農家は繁殖肥育一貫経営で、雌子牛が生産された場合は繁殖素牛として利用し、雄子牛が生まれた場合は優良な血統の肥育素牛として利用できるメリットがある。B 酪農家は搾乳牛30頭繋養の農家で、牛白血病抗体については24年度の5条検査時に全頭陰性を確認した。この2戸の農家はET産子の肥育素牛流通で以前から取引がある関係であった。連

携前のB酪農家のET成績は、平成22年度はET依頼頭数8頭あり、そのうちET頭数5頭、受胎頭数2頭で受胎率40%、23年度は26頭依頼、うち16頭ETし、6頭受胎し受胎率37.5%、24年度6月までは6頭依頼のうち2頭ETし、1頭受胎し受胎率50%であり、ETの依頼も多く、受胎率も毎年3割以上とETに対して理解のある農家である(表3)。連携後(7月~12月)は17頭依頼があり、10頭にETを実施し、そのうち繁殖卵のETは6頭に実施し、2頭受胎し、受胎率33.3%であった。約半年間で2頭受胎したことから、A繁殖農家はB酪農家から計算上年間4頭の繁殖卵由来産子を得ることができ、2頭の繁殖素牛を確保できることとなった(表4)。

繁殖卵を有効に利用し、繁殖素牛生産につなげていくためには和牛繁殖農家と酪農家の連携が最も重要であり、今回の事例でA繁殖農家は年間2頭の繁殖素牛を得られ、農家間の連携が繁殖卵を有効利用できる可能性が示された。今後はこの事例を普及啓発し、繁殖卵活用を拡大することにより、繁殖牛群の改良を促進する体制づくりを進めていくことが重要である。

表3 連携前のB酪農家の移植成績
(H22~24年度6月)

| | 依頼頭数 | 移植頭数 | 受胎頭数 | 受胎率 |
|--------------|------|------|------|-------|
| H22 | 8 | 5 | 2 | 40.0% |
| H23 | 26 | 16 | 6 | 37.5% |
| H24 (~6月) | 6 | 2 | 1 | 50.0% |
| 計 | 40 | 23 | 9 | 39.1% |

表4 連携後のB酪農家の移植成績
(H24年7月~12月)

| 受精卵 | 移植頭数 | 受胎頭数 | 受胎率 |
|-----|------|------|-------|
| 繁殖卵 | 6 | 2 | 33.3% |
| 肥育卵 | 4 | 1 | 25.0% |
| 計 | 10 | 3 | 30.0% |

| |
|--|
| 計算上の年間雌生産頭数(繁殖卵由来) $\text{受胎2頭} \div 2 \text{ (雌)} \times 2 \text{ (年間)} = 2 \text{ 頭}$ |
|--|

5 A 群ロタウイルスの持続感染が疑われた子牛の 1 例と腸間膜リンパ節でのウイルス潜伏

家畜保健衛生所

○三竹博道、松田真紀代ほか

A 群ロタウイルス (RVA) は哺乳動物や鳥類の幼若動物に急性胃腸炎を引き起こす代表的な病原体である。RVA のゲノムは 2 本鎖 RNA の 11 本の分節化構造を持ち、そのうちの VP7 および VP4 がそれぞれ独立して中和抗体を誘導することが知られている。また、VP7 および VP4 は遺伝子解析により、それぞれ G 遺伝子型、P 遺伝子型に分類される。

牛における RVA は疫学的特徴として、子牛に急性下痢症を引き起こすことや冬季に流行のピークを示すことが知られている。また、一度 RVA による下痢症が発生した農場では繰り返し発生がみられることから、RVA は農場内に常在化していると考えられている。

近年、健康牛における RVA の感染動態に関する研究により、農場内の RVA 常在化には不顕性感染牛が関与していることが示唆されるようになってきた[1, 2]。そこで、我々は RVA がどのように農場内に常在化するかを解明し牛 RVA 病の防疫対策の一助とすることを目的として、主に不顕性感染牛を対象とした調査を実施してきた。その中で、RVA は子牛に持続感染しうる可能性を見出したので報告する。

材料と方法

調査および採材概要：県内酪農家で出生し、平成 23 年 11 月下旬 (28 日齢) に県内肥育農家へ導入された 1 頭の子牛が下痢を発症したことを契機に追跡、採材した。当該子牛は導入された約 10 日後 (38 日齢) から下痢を呈した。下痢の症状は約 4 日で治癒したが、54 日齢時に罹患した呼吸器病が慢性化し、平成 24 年 2 月上旬に死亡したため病性鑑定を実施した。材料には下痢便、下痢治癒後の平成 23 年 12 月中旬 (46 日齢) および平成 24 年 1 月下旬 (83 日齢) に採取した正常便と死亡後の病性鑑定時に採取した腸間膜リンパ節 (MLN)、空回腸内容、直腸便を用いた (図 1)。

また、平成 24 年に当所で病性鑑定のため病理解剖した 12 ヶ月齢未満の子牛 9 頭からも MLN を採取し材料とした。

RVA 遺伝子の検出：下痢発症牛を追跡し採取した材料は 20% 乳剤を作製し、その上清から RNA を抽出した。抽出した RNA は逆転写反応 (RT) により cDNA を合成し、表 1 のプライマーを用いて semi-nested PCR を実施した。増幅された遺伝子はダイレクトシーケンスを実施し塩基配列を決定の後、既知の株との相同性検索により G および P 遺伝子型を決定した。また、今回検出された遺伝子間の相同性を比較した。

病性鑑定牛から採取した MLN は上記と同様に RT-semi-nested PCR 法を実施し、VP7 および VP4 遺伝子型を決定した。

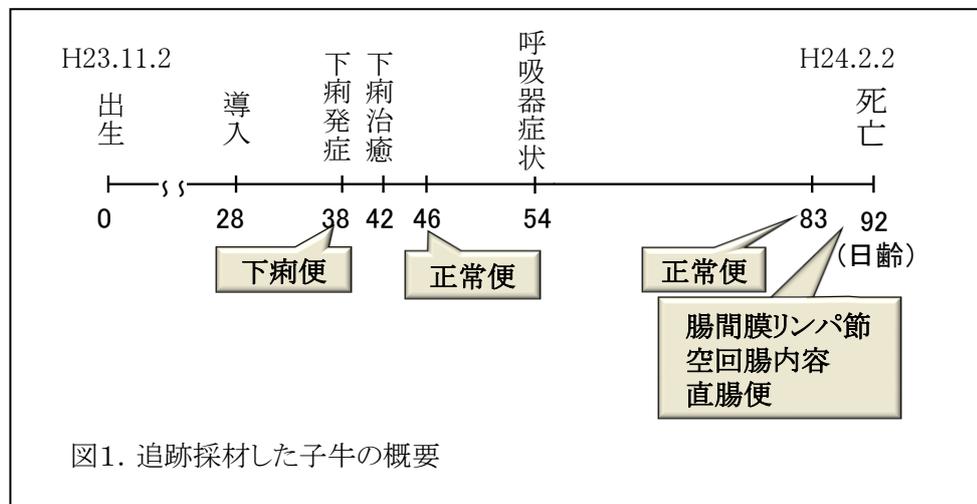


図1. 追跡採材した子牛の概要

表1. 使用したプライマー

| 標的遺伝子 | プライマー | 位置* | 配列 | |
|-------|------------|------------|-----------|----------------------------|
| VP7 | 1st&nested | VP7_headF | 1-22 | ggcttttaaagagagaatttcc |
| | 1st | VP7_932R | 914-932 | acttgccaccattttttcc |
| | Nested | VP7_611R | 590-611 | cccattgatatccattttatttg |
| VP4 | 1st&nested | VP4-HeadF | 1-26 | ggctataaaatggcttcgctcattta |
| | 1st | VP4-1094R2 | 1069-1094 | aatgcttgtaRtcRtcccaRtaatc |
| | Nested | VP4-887R | 861-887 | tcWgaccatttataWccYaRcccWcc |

*NCDV の塩基番号に基づく

結果

下痢発症牛を追跡・調査した下痢および正常便すべてから VP7 および VP4 遺伝子が検出された。また、死亡後の病性鑑定の結果、死因は重度の肺炎と考えられた。一方、消化器においては RVA 感染に特徴的な小腸の菲薄化等の病変は認められなかったが、採取した MLN および直腸便から両遺伝子が検出された。相同性検索の結果、検出された全ての検体が G10P[11]を示し(表2)、その相同性は VP7 遺伝子で 99.9-100%、VP4 遺伝子で 100%であった。

表 2. 追跡採材した子牛から検出された VP7 および VP4 遺伝子型

| 日齢 | 材料 | VP 7 | VP 4 |
|----|----------|------|-------|
| 28 | 下痢便 | G10 | P[11] |
| 46 | 正常便 | G10 | P[11] |
| 83 | 正常便 | G10 | P[11] |
| | MLN | G10 | P[11] |
| 92 | 空回腸内容 | — | — |
| | 直腸便 (正常) | G10 | P[11] |

平成 24 年の病性鑑定牛から採取した MLN からは、9 頭中 6 頭から RVA 遺伝子が検出され、それらは牛に特徴的と考えられる遺伝子型を示した (表 3)。また、RVA 遺伝子が検出された 6 頭については、下痢の症状や所見は認められなかった。

表 3. 病性鑑定牛における RVA 遺伝子の検出結果

| 月齢 | 下痢 | RVA 遺伝子 |
|------|----|-----------|
| 1.0 | + | - |
| 1.0 | + | - |
| 2.9 | - | G6 P[11] |
| 3.1 | - | G10 P[11] |
| 5.3 | - | - |
| 5.8 | - | G10 P[11] |
| 6.3 | - | - |
| 7.3 | - | G6 P[29] |
| 7.5 | - | G10 P[11] |
| 11.5 | - | G8 P[14] |

考察

農場内に RVA が常在化する一要因として、RVA に持続感染している個体の存在が示唆されてきたが [3]、これまでその証拠を示した報告はなかった。今回、下痢発症から死亡に至るまで直腸便を採材した個体から RVA 遺伝子が検出され、それらは高い相同性を示した。従って、この個体では約 2 ヶ月もの期間同じウイルスが感染しており、RVA の持続感染が示唆された。また、この個体の MLN からは直腸便から検出されたウイルスと同一と考えられる RVA 遺伝子が検出された。さらに、平成 24 年に病性鑑定のため病理解剖された子牛から採取した MLN からも 9 頭中 6 頭と高率に RVA 遺伝子が検出されたことから、RVA は MLN に潜伏している可能性が示された。なお、これら 6 頭には下痢の症状や所見はなく、下痢を呈し

ていない個体でも感染源となり得ることが示唆された。

持続感染が疑われた子牛の1例は56日齢時に罹患した肺炎が慢性化し死亡しており、免疫機能が低下していたことが推察された。以上のことが、下痢が治癒したにも関わらず持続的に直腸便から RVA 遺伝子が検出された要因の一つとして考えられたが、詳細な機序は不明であった。今後、RVA が持続的に直腸便に排出される機序や宿主免疫状態との関連性の検討が必要である。

なお、本報告は RVA が子牛に持続感染し、MLN で潜伏しているという RVA の存続様式のひとつを明らかにした世界で初めての報告である。

共同研究者

本報告は岐阜大学の人獣共通感染症学研究室、杉山誠教授、伊藤直人准教授、岡寺康太との共同研究のもと実施された。

引用文献

- [1] Abe *et al.*, *Virus Res.*, 144, 250-7, 2009
- [2] Swiatek *et al.*, *Vet. Microbiol.*, 140:56-62, 2010
- [3] Murakami *et al.*, *Vet. Microbiol.*, 12, 7-14, 1986

6 リンパ節転移が認められた肉用子牛の悪性中皮腫

嶺南家畜保健衛生センター

○山崎俊雄、田中知未^{*)}ほか

^{*)}家畜保健衛生所

はじめに

中皮腫は腹膜、胸膜、心外膜などの最表層である中皮細胞が腫瘍化^{3),9)}し、牛の腫瘍の中では発生件数が多いとされる腫瘍⁴⁾である。0日齢から生後数ヶ月の子牛⁷⁾に多数の発生報告があり、山羊や豚、馬、犬、猫では高齢動物に発生するとされている。また、牛の腹腔内播腫が見られる腫瘍には中皮腫の他に子宮腺癌、顆粒膜細胞腫、胆管細胞癌などがあり、鑑別診断が必要となる^{2),5),10)}。

今回、5ヶ月齢の子牛に腹部膨満や発育不良、呼吸器症状を呈した症例が発生し、病性鑑定を実施したので概要を報告する。

材料と方法

発生状況

発生農場は黒毛和種と交雑種を約270頭飼養する肥育牛農家で、発症牛は平成24年2月7日生まれの黒毛和種の雌であった。同年3月16日、当該牛を県内酪農家から導入し、6月～7月にかけて呼吸器症状を呈したことから、抗生物質等の治療を受けていた。その後、発育不良、腹部膨満が認められるようになり、7月31日死亡が確認されたことから、家畜保健衛生所へ搬入され、生後5ヶ月齢で病性鑑定を実施した。

方法

常法に従い病理解剖を実施した。細菌学的検査では脳、主要臓器、腫瘍、腹水を用いて5%羊血液寒天培地で好気培養し、菌分離を実施した。

病理組織学的検査では全身諸臓器を用いてヘマトキシリン・エオジン(HE)染色を実施し、腫瘍、空回腸、リンパ節を用いてアルシアンブルー(AB)染色と渡辺鍍銀染色を実施した。さらに腫瘍を用いて上皮細胞系腫瘍マーカーである抗ケラチン抗体と間葉系腫瘍マーカーである抗ビメンチン抗体を一次抗体として用い、免疫組織化学的検査(免疫染色)⁶⁾を実施した。

結果

剖検所見では、腹部の膨満が認められた(図1)。血様色の腹水が多量に貯留し、腹腔内腫瘍と腹水により、胸腔が圧迫されていた。腫瘍は大網や腹腔内臓器と強固に癒着していたため、剥離は困難であった(図2)。腫瘍は大網に多数認められ、大きいもので直径約15cm



図1 腹部膨大

大あり、小腸漿膜や腸間膜にも粒状に散在していた(図3)。腫瘤の包膜は弾力があつたが、断面は脆弱で血餅様のものを含有し、全体的に暗赤色を呈していた(図4)。その他の臓器では、肺や骨盤腔内のリンパ節が腫大していた。



図2 腹腔内の腫瘤

細菌学的検査では有意な菌は認められなかった。



図3 大網や小腸漿膜、腸間膜に付着した腫瘤

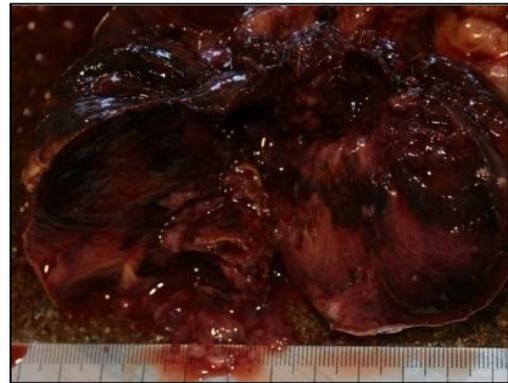


図4 腫瘤断面

病理組織学的検査では、腹腔内に認められた腫瘤は好酸性の細胞質を持った細胞が漿膜面から腹腔内へ単一に増殖している病変によって形成されていた。腫瘍組織表面は滑沢ではなく、毛羽立ったように認められ、腫瘍細胞は乳頭状配列を示していた(図5)。立方形から類円形の細胞が胞巣状ないし腺管状増殖を示していた。間質結合組織は乏しく網目状に

認められた (図 6)。腫瘍細胞は異型性が強く、多核細胞や異型有糸分裂像が顕著に観察された (図 7)。転移性腫瘍細胞がリンパ節内に増殖し、リンパ節の固有組織を置換していた。また、腫瘍細胞のリンパ管内転移を認めた (図 8)。同様の腫瘍細胞は空回腸の肥厚した漿膜の表面に乳頭状に増殖していたが、その部位では実質臓器内へ浸潤増殖する像は認められなかった (図 9)。腫瘍細胞は腫大した中皮細胞と連続して乳頭状に認められた (図 10)。AB 染色では、青く染まる酸性ムコ多糖類が腫瘍組織内に多数認められ、腫瘍細胞が AB 陽性の酸性ムコ多糖類を分泌している様子が観察された (図 11)。渡辺鍍銀染色では、間質結合織や血管周囲に鍍銀線維が認められ、腺管状または乳頭状増殖部位で基底膜構造は観察されなかった (図 12)。免疫染色では、腫瘍細胞の多くでケラチン陽性、一部でビメンチン陽性を示した (図 13)。

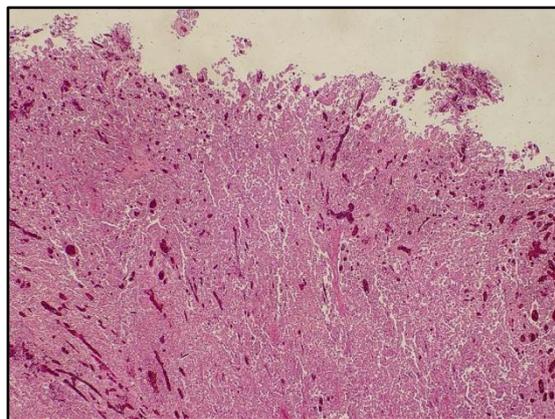


図 5 腫瘍表層 (HE)

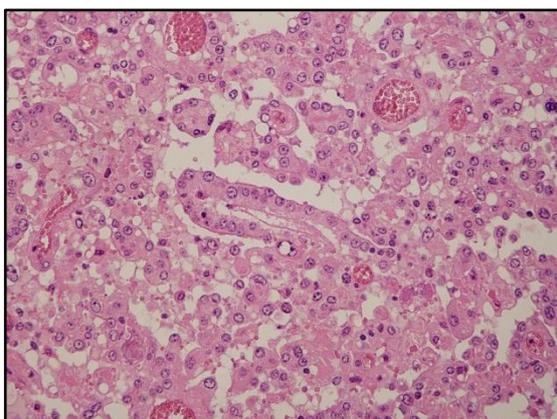


図 6 腫瘍組織内 (HE)

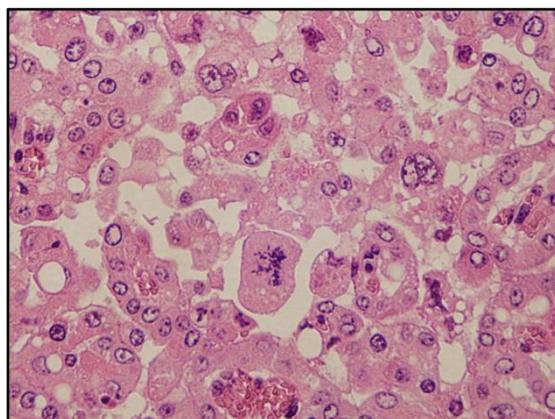


図 7 腫瘍組織内 (HE)

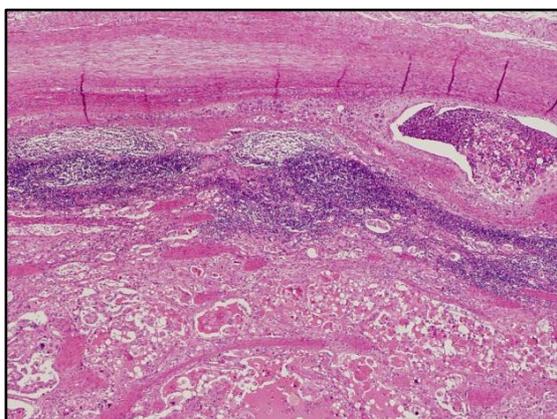


図 8 リンパ節内 (HE)

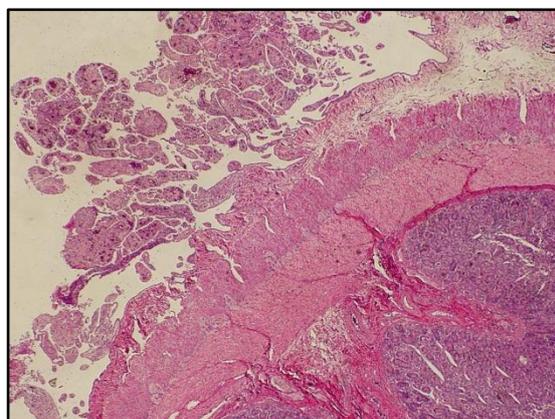


図 9 空回腸 (HE)

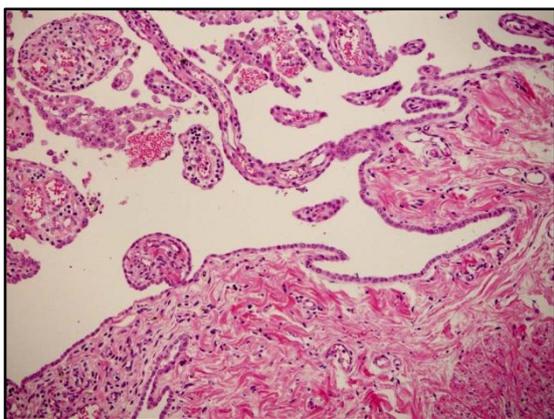


図 10 空回腸(HE)

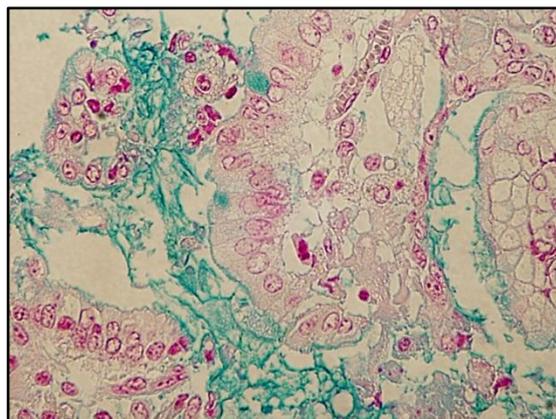


図 11 腫瘍組織内(AB 染色)

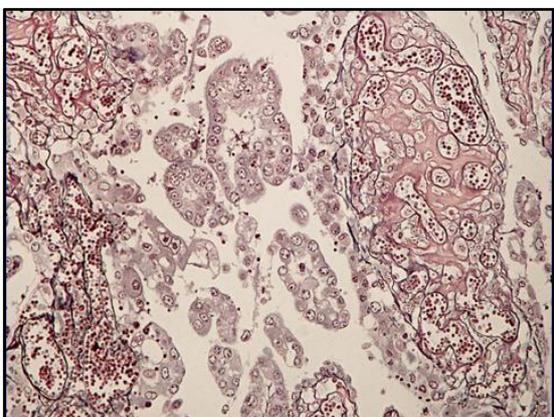


図 12 腫瘍組織内(渡辺鍍銀染色)

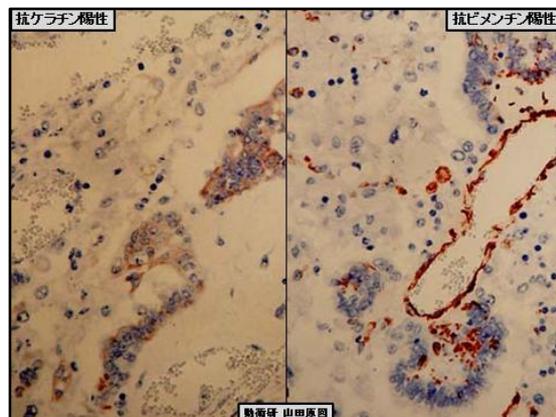


図 13 腫瘍組織内(免疫染色)

考察およびまとめ

HE 染色では腫瘍細胞が播種性に乳頭状に増殖し、立方形から類円形の細胞が胞巣状ないし腺管状増殖を示し¹⁾、上皮様の形態を示していた。また、中皮細胞との連続性が確認されたことから中皮腫の特徴と一致していた。今回の腫瘍は、異型性、異型有糸分裂像、リンパ管内転移、リンパ節転移が確認され、悪性度の高い中皮腫が疑われた。中皮腫は酸性ムコ多糖類を産生する性質をもつものが多いこと⁸⁾から酸性ムコ多糖類を染める AB 染色を実施し、青く染まる酸性ムコ多糖類が腫瘍組織内に多数観察された。中皮は通常その直下に鍍銀線維を持ち、腫瘍化した場合には、間質結合織や血管周囲に鍍銀線維を保持するが、本症例も同様の所見が観察され、上皮性腫瘍で観察される基底膜構造は観察されなかった⁸⁾。さらに、中皮腫の場合、免疫染色では上皮細胞系腫瘍マーカーのケラチンと間葉系腫瘍マーカーのビメンチンの両方に陽性反応を示すが、2つの腫瘍マーカーともに陽性反応を示した。

以上のことから、本症例はリンパ節転移が認められた悪性中皮腫と診断された稀な症例であった。

謝辞

中皮腫の免疫染色等に御指導、御助言を賜りました、独立行政法人 農業・食品産業技術総合研究機構 動物衛生研究所 病態研究領域 山田学主任研究員に深謝いたします。

参考文献

- 1) Beytut. E. 2002. Jul. *Aust. Vet. J.* 80(7) : 409-11
- 2) 板倉智敏, 後藤直彰編. 文永堂. 獣医病理組織カラーアトラス
- 3) 猪俣明日香, 柳潤一郎, 星野麻衣子. 新潟県長岡食肉衛生検査センター
- 4) 上村俊一, 甲斐身江子, 牛之浜寛治, 浜名克己., 三好宣彰. 1999. 鹿大農学術報告. 21: 19-24.
- 5) 免疫組織・細胞化学検査. 臨床検査増刊号. 医学書院.
- 6) Pizarro, M., Brandau, C., Sanchez, M. A., Flores, J. M. 1992. *Zentralbl. Veterinarmed. A.* 39(6) : 476-480.
- 7) Takasu, M., Shirota, K., Uchida, N., Iguchi, T., Nishii, N., Ohba, Y., Maeda, S., Miyazawa, K., Murase. T., Kitagawa. H. 2006. *J. Vet. Med. Sci.* 68(5) : 519-521.
- 8) 多久和正ら. 1985. 日獣会誌. 38. : 179-182 .
- 9) Wolfe, D. F., Carson, R. L., Hudson, R. S., Boosinger, T. R., Mysinger, P. W., Powe, T. A. Jr., Claxton, M. S., Angel, K. L. 1991. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 199(4) : 486-491.
- 10) 全国食肉衛生検査所協議会編. 学窓社. 食肉衛生検査病理学カラーアトラス.

7 皮下腫瘤形成と眼窩内浸潤がみられた馬の悪性リンパ腫

家畜保健衛生所

○田中知未、葛城肅仁ほか

はじめに

悪性リンパ腫は造血系の腫瘍の中で最も一般的なものであり、各種の動物に発生することが知られているが、わが国における馬の悪性リンパ腫の報告は少ない[1]。

馬の悪性リンパ腫では胸腔内および腹腔内臓器へ浸潤することが知られているが、眼窩内への浸潤は、他の臓器への浸潤に比べて稀である[2]。今回、多数の皮下腫瘤および胸腔内腫瘤形成、リンパ組織への浸潤および眼窩内への浸潤が認められた馬の悪性リンパ腫の症例に遭遇したので報告する。

発生概要

死亡馬は乗馬施設で乗用馬として飼養されていたサラブレッド種（去勢雄、19歳）で、平成23年1月以降全身の皮下に腫瘤の形成がみられるようになった。腫瘤は徐々に腫大し、自壊を呈するものもみられた。皮下腫瘤の形成以外に全身状態の異常はみられないまま経過したが、平成24年5月に左上腕部と左後肢にフレグモーネを発症した。これに対し、抗生剤軟膏による治療が施されたが、再発を繰り返した。この頃から徐々に消瘦したため、管理獣医師による血液検査を実施したところ、軽度の貧血、好中球の上昇、血小板の減少が認められた。その後、全身状態は悪化し、起立不能を呈した後、平成24年7月11日に衰弱死した。他の同居馬に異常は認められなかった。

材料および方法

○病理解剖

死亡馬を病理解剖し、脳、主要臓器、リンパ節および腫瘤を採材した。

○病理組織学的検査

脳、主要臓器、リンパ節および腫瘤について、10%中性緩衝ホルマリン液で固定後、パラフィン切片を作製し、ヘマトキシリン・エオジン染色を実施した。また腫瘤、眼球後部の筋層およびリンパ節について、抗ヒト CD3マウスモノクローナル抗体および抗ヒト CD79a マウスモノクローナル抗体を用いた免疫組織学的検査（動物衛生研究所に検査依頼）ならびに特殊染色（PAS 染色、チールネルゼン染色、グロコット染色）を実施した。

○細菌学的検査

脳、主要臓器、リンパ節および腫瘤について、5%羊血液寒天培地、チョコレート寒天培地、GAM 寒天培地を用い、定法により培養した。

結果

○外貌所見

削瘦および全身の皮下に腫瘤の形成が認められた。肩甲間部から前肢にかけて直径20-25cmの皮下腫瘤が左右1か所ずつ、左側胸部から腹部にかけて直径5-20cmの皮下腫瘤が複数形成され、自壊している腫瘤も認められた(写真1)(写真2)。左側後肢にも直径5-10cmの皮下腫瘤が形成されていた。その他、下顎リンパ節および浅頸リンパ節の腫大、右眼球の突出および結膜の浮腫と充血が認められた(写真3)。



(写真1) 自壊した皮下腫瘤



(写真2) 胸部・腹部の皮下腫瘤

○剖検所見

皮下腫瘤は皮下組織から筋層にかけて形成されており、断面は白色充実性で周囲組織との境界は明瞭であった(写真4)。胸腔内では、左側第13-14肋骨下に筋層から隆起するように腫瘤が形成されていた(写真5)。右眼球には強膜の充血と角膜の血管新生が認められた。その他、全身の皮下には膠様浸潤が認められ、腎臓は漿膜が癒着し、断面で粘稠尿の貯留を確認した。その他の臓器に著変はみられなかった。



(写真3) 右眼球の突出・結膜の浮腫と充血



(写真4) 皮下腫瘤の断面



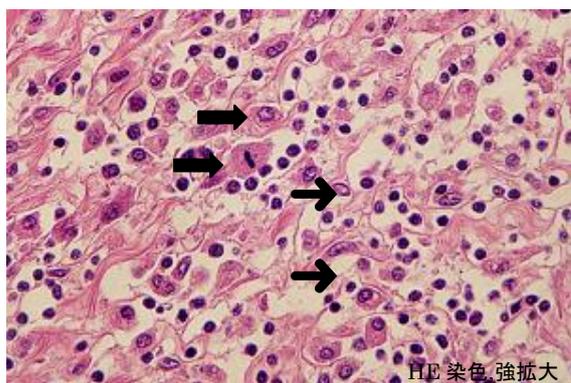
(写真5) 左側第13-14肋骨下の腫瘤

○病理組織学的検査

皮下腫瘍と胸腔内腫瘍はいずれも豊富な線維性細網組織中に浸潤増殖した、好酸性細胞質の豊富な明るい大型核を持つ大型腫瘍性細胞と、細胞質の乏しい好塩基性の小型核を持つ小型反応性細胞によって構成されていた（写真6）。大型腫瘍性細胞には異型有糸分裂像が散見された。また、核・細胞異型性が強く、いびつな核や偏在した核を持つ細胞、二核の細胞がみられた。一方、小型反応性細胞には核・細胞異型性や異型有糸分裂像はみられなかった。

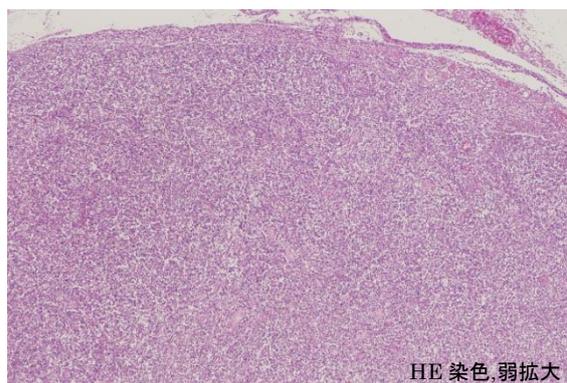
眼窩内では眼球後部の筋層に腫瘍細胞の浸潤性増殖が認められた。また、下顎リンパ節、浅頸リンパ節、肺門リンパ節、腸間膜リンパ節は固有構造が失われ、腫瘍病変で置換されていた（写真7）。眼窩内およびリンパ節にみられた腫瘍病変の組織構造は、皮下腫瘍や胸腔内腫瘍と同様であった。その他、脾臓の赤脾髄に大型の腫瘍細胞がみられ、異型有糸分裂像が認められた。

その他、腎臓の尿細管内および胃粘膜の血管周囲に石灰化が認められた。また、浅頸リンパ節のリンパ洞に、リンパ球の核濃縮や核崩壊を特徴とした壊死病変がみられ、病変の一部に石灰化が認められた。



(写真6)《皮下腫瘍》

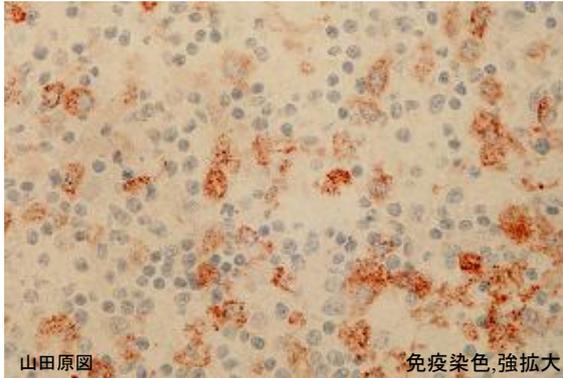
大型腫瘍性細胞 (➡)・小型反応性細胞 (➡)



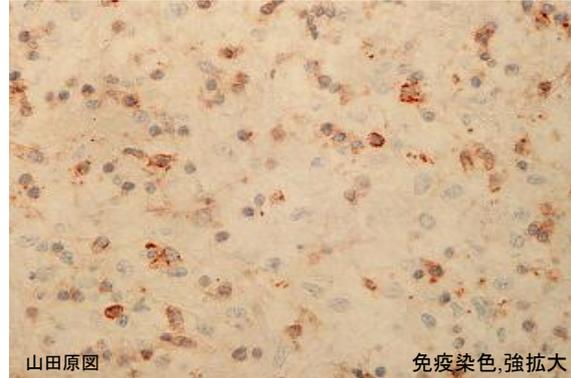
(写真7)《浅頸リンパ節》腫瘍病変により置換された組織

皮下腫瘍、胸腔内腫瘍、眼球後部の筋層、リンパ節について抗 CD79a 抗体を用いた免疫染色を実施した結果、大型腫瘍性細胞に陽性反応が認められた（写真8）。また抗 CD3抗体を用いた免疫染色を実施した結果、小型反応性細胞に陽性反応が認められた（写真9）。腫瘍病変では、豊富な線維性細網組織中に大型腫瘍性 B 細胞と小型反応性 T 細胞が散在する組織構造が認められた。この組織構造は T-cell-rich B-cell Lymphoma の形態的特徴に一致した。また、同一の腫瘍病変が皮下腫瘍、胸腔内腫瘍、胸腹腔内のリンパ組織、眼窩内に認められた。

皮下腫瘍、胸腔内腫瘍、眼球後部の筋層、リンパ節について特殊染色を実施した結果、組織内に真菌および抗酸菌は検出されなかった。



(写真8)《皮下腫瘍》: 抗 CD79a 免疫染色



(写真9)《皮下腫瘍》: 抗 CD3免疫染色

○細菌学的検査

心臓、肝臓、脾臓、腎臓から *Streptococcus bovis*、*Escherichia coli* 等の菌が分離された。また肺、下顎リンパ節、皮下腫瘍および胸腔内腫瘍から *Actinobacillus volantium* 等の菌が分離された。

考察

病理組織学的検査の結果より、本症例を組織学的に T-cell-rich B-cell Lymphoma に分類される「馬の悪性リンパ腫」と診断した。

馬の悪性リンパ腫は品種や性別に関係なく発生し、4歳から9歳までに多発する傾向があると言われている。多中心型が多く、全身状態が悪化することから、早期に安楽死される場合が多いが、皮膚や皮下が原発のリンパ腫では、臨床症状がみられないことから、長期間生存することが知られている[1][3][4]。

馬の T-cell-rich B-cell Lymphoma は他の動物種に比べ多くみられ、特に老齢馬に多い傾向があり、皮膚や皮下に腫瘍を形成する 경우가多く、胸腔および腹腔臓器、骨格筋に浸潤することが知られている[3][5]。

本症例に発生したリンパ腫は皮下に局限した状態で長期間経過した後に、周囲組織やリンパ組織および眼窩内に浸潤したものと考えられた。馬の悪性リンパ腫における眼窩内への浸潤は眼瞼、結膜、ブドウ膜、強膜、瞬膜、眼球後部などで報告があるものの、稀である[2][6]。

リンパ腫の症例では正常リンパ球が腫瘍化したリンパ球に置換されたり、正常リンパ球の発達を干渉することにより免疫不全が生じるとされている[7]。本症例では生前にフレグモーネの再発を繰り返したことや、細菌学的検査の結果、全身から多種の菌が分離されたことから、生前の免疫機能低下が示唆された。

腎臓の尿細管および胃粘膜にみられた石灰化については、老齢性変化によるものと考えられた。また、浅頸リンパ節にみられた壊死病変の石灰化については、皮下腫瘍の自壊部からの細菌感染に起因するものと考えられた。

謝辞

病理組織学的検査および免疫組織化学的検査において御指導いただきました、独立行政法人農業・食品産業技術総合研究機構 動物衛生研究所 病態研究領域 山田学主任研究員に深謝いたします。

参考文献

- [1] 堀内祐子, 佐藤常男, 白井弥 : 日獣会誌, 52, 11-14 (1999)
- [2] Stephanie E. Germann, Marianne Richer, et al: Veterinary Ophthalmology 11, 51-56 (2008)
- [3] J. Meyer, J. DeLay, D. Bienzle: Vet Pathol 43, 914-924 (2006)
- [4] L. C. Kelly, E. A. Mahaffey, et al: Vet Pathol 35, 241-252 (1998)
- [5] Hermeyer K, Seehusen F, Gehlen H, Peters M, Wohlsein P: Berl Munch Tierarztl Wochenschr 123, 9-10 (2010)
- [6] Rebhun WC, Del Piero F: J Am Vet Med Assoc Mar 15, 852-854 (1998)
- [7] 小沼操, 小野寺節, 山内一也 : 動物の免疫学, 文永堂出版, 213-222 (1996)

8 新しい遺伝子型を示す豚丹毒菌による急性敗血症型豚丹毒の集団発生事例

家畜保健衛生所

○葛城肅仁、笠原香澄ほか

はじめに

豚丹毒は豚丹毒菌 (*Erysipelothrix rhusiopathiae* 以下 Er)による豚の伝染性疾患である。その病態は急性型(敗血症)、亜急性型(蕁麻疹)および慢性型(関節炎、リンパ節炎、心内膜炎)の3つに大別されるが、近年、敗血症型豚丹毒を発症した死亡豚から新しい遺伝子型を示す Er が分離されており、養豚農家に甚大な被害を及ぼしている[1-3]。

2009年に長野県で分離された新しい遺伝子型を示す Er は、これまでの分離株とは異なる遺伝子配列を示していた。血清型は1aで、SpaA 遺伝子高度変異領域の609番目がGに、769番目がAとなっている。東北や関東地方を中心に発生が認められ、全国的に広がりつつあり、重篤な急性敗血症を発症しやすいといわれている。長野県の事例では、敗血症型豚丹毒の特徴である腎糸球体毛細血管の硝子様血栓形成は少数に限られており、通常あまり見られない心筋壊死が多数認められた[2]。

今回、県内の一養豚農家で新しい遺伝子型を示す Er による急性敗血症型豚丹毒の集団発生事例に遭遇したのでその概要を報告する。

発生概要

発生農家(A農家)はB農家とC農家より生後2.5~3ヶ月齢の子豚を導入し肥育している。この豚舎には左右に10ずつ豚房があり、1つの豚房の大きさが約3m×3mで、その中に肥育後期豚が約15頭飼育されており、非常に過密な状態であった。

平成24年2月11日、「豚舎奥の1豚房で肥育豚2頭が死亡、14日にも2頭が死亡し1頭が全身チアノーゼで衰弱している」との稟告で2月14日に家畜保健衛生所に病性鑑定依頼があったため、家畜防疫員が豚舎に立入り、口蹄疫の症状がないことを確認した。2月15日から死亡豚が搬入され病性鑑定を開始したが、連日のよう

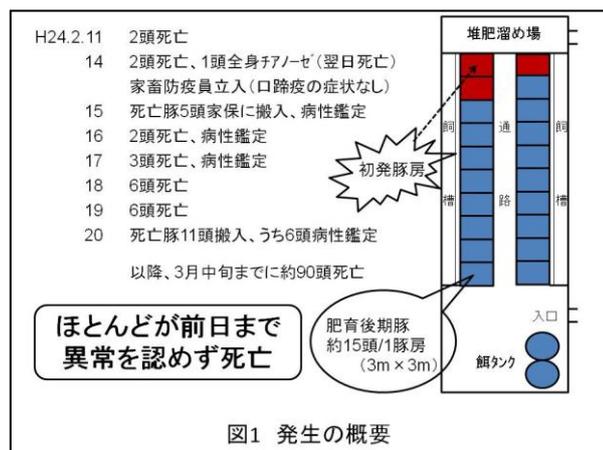


図1 発生の概要

ほとんどが前日まで異常を認めず死亡

に肥育豚は死亡し、3月中旬までに約90頭が死亡した。畜主からの稟告ではほとんどが前日まで異常を認めずに死亡したとのことである。

なお、B農家からの最終導入は平成23年12月、C農家からの最終導入は平成23年8月であり、発生直前の豚の導入はなかった。豚丹毒ワクチンについては、AおよびC農家では未接種、B農家では生後30日齢で不活化ワクチンが1回接種されていた。

材料および方法

1. 病理学的検査

2月20日までに死亡した豚22頭のうち16頭について剖検後、常法に従い病理組織学的検査を実施した。

2. 細菌学的検査

(1) 菌分離

脳および主要臓器を5%羊血液寒天培地(以下血寒)、チョコレート寒天培地(以下チョコ寒)で37°C24時間5%炭酸ガス培養を行った。また、同材料をGAM寒天培地で37°C48時間嫌気培養を行った。

(2) 分離菌の同定

市販の簡易同定キットであるアピコリネを用いた。また、Takeshiら[文献4]のプライマーを用いたPCRを実施した。

(3) 血清型別

動物衛生研究所に依頼した。

(4) SpaA 遺伝子高度変異領域のシークエンス

動物衛生研究所に依頼した。

(5) 薬剤感受性試験

ベンジルペニシリン(PCG)、アンピシリン(ABPC)、アモキシシリン(AMPC)、ジクロキサシリン(MDIPC)、クロキサシリン(MCIPC)、カナマイシン(KM)、ストレプトマイシン(SM)、ゲンタマイシン(GM)、エリスロマイシン(EM)、オキシテトラサイクリン(OTC)、ドキシサイクリン(DOXY)、セファゾリン(CEZ)、リンコマイシン(LCM)、オフロキサシン(OFLX)、エンロフロキサシン(ERFX)、クロラムフェニコール(CP)の16薬剤について一濃度ディスク法により実施した。

3. ウイルス学的検査

扁桃の豚コレラ蛍光抗体法(FA)を実施した。

扁桃および腎臓乳剤をCPK細胞に接種し、3代まで盲継代した。

結果

1. 病理学的検査

(1) 剖検所見

全身のチアノーゼおよび肺水腫が 16 頭に共通して認められた他、脾臓の腫大が 2 頭、胃粘膜の充血が 4 頭、豚回虫の寄生が 6 頭および肝臓の白斑が 5 頭で認められた。

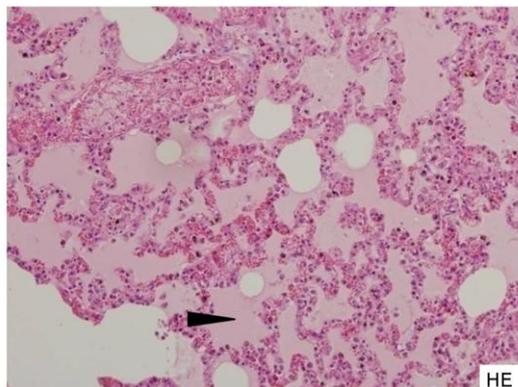


図2 肺胞内の漿液の貯留

(2) 病理組織学的検査

肺胞内の漿液の貯留 (図 2) および全臓器における血管内線維素の析出 (図 3) が 16 頭に共通して認められた他、大脳および小脳の小血管血栓が 4 頭、心臓の間質小血管血栓が 2 頭、肺の間質小血管血栓が 4 頭、腎臓の間質小血管血栓が 5 頭、白脾髄におけるリンパ球の減少が 9 頭に認められた。腎糸球体毛細血管の硝子様血栓形成 (図 4) は 3 頭で認められた。心筋壊死は全く認められなかった。

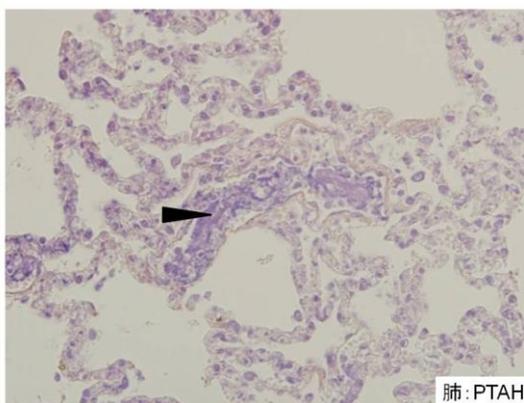


図3 全臓器における血管内線維素の析出

2. 細菌学的検査

(1) 菌分離

全ての死亡豚の脳および主要臓器から血寒およびチョコ寒での 24 時間好気培養でグラム陽性・ α 様溶血・カタラーゼ陰性・オキシダーゼ陰性の小短桿菌が純培養的に多数分離された。

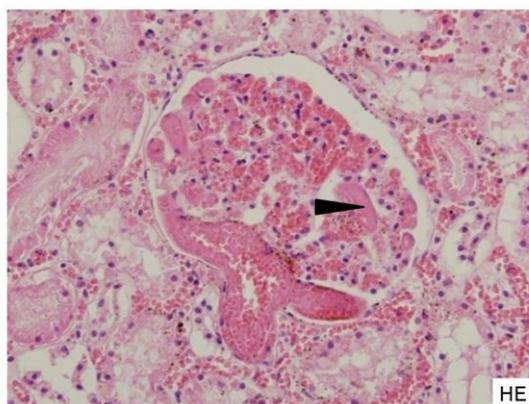


図4 腎糸球体毛細血管硝子様血栓形成

(2) 分離菌の同定

簡易キットでは Er (コードNo.0020140 99.9%) と判定された。

PCR では目的サイズ (399bp) のバンドが確認され、この領域のシーケンス

を実施したが、Er と 99.9%の相同性が認められた。これらの結果より分離菌を Er と同定した。

(3) 血清型別

1a であった。

(4) SpaA 遺伝子高度変異領域のシーケンス

野外強毒株である Fujisawa 株の 609 番目の T および 769 番目の C が Fukui 株ではそれぞれ G と A となっており、新しい遺伝子型を示す Er であることが判明した (図 5)。

(5) 薬剤感受性試験

KM、GM および SM に対して耐性を示したが、その他の薬剤に対しては感受性を示した (表 1)。

| | |
|-----------|---|
| Fukui株 | ACGATTCTGAACTTGATGAAGCATACGTTGATTACTCGTGAATTACGA |
| Fujisawa株 | XX |
| 501 | GGTGAAACACCGTATTTTAGTAAATATGAAGGTTAAAGGTAGAG |
| | XX |
| 551 | CTCCCTTAGAAGCATTATAGTTCTCCTAAGAGATAGAATTGATGATG |
| | XX |
| 601 | AATGAAATGCGTGCAGAAGTAAATTTTACCTGAAGCGCATGAGGATTT |
| | XXXXXXXXTXX |
| 651 | CTTAGTTTCAGATTCAAGCGAGTATAATGACAACTAAATAATCAACT |
| | XX |
| 701 | TTGCTTTGGGTCTAGGGGTCAGCGAGTTTATTGACTATAACCGGCTCGAA |
| | XX |
| 751 | AATATGATGGAAAAGAAATTTCATCCACTGTATCTTGAACCTTTATGCTAT |
| | XXXXXXXXXXXXXXXXXCTXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXX |
| 801 | GCGGAGAAATCGCC |
| | XX |

上段はFukui分離株、下段はFujisawa株
数字は塩基数 *は相同であることを示す

図5 SpaA遺伝子高度変異領域のシーケンス

3. ウイルス学的検査

豚コレラの FA は全て陰性で、ウイルス分離も全て陰性であった。

以上の結果より、本症例を新しい遺伝子型を示す Er による急性敗血症型豚丹毒と診断した。

| 抗生物質名 | 判定 | 抗生物質名 | 判定 |
|-------|----|-------|----|
| ABPC | S | EM | S |
| PCG | S | OTC | S |
| AMPC | S | DOXY | S |
| MDIPC | S | CEZ | S |
| MCIPC | S | LCM | S |
| KM | R | OFLX | S |
| SM | R | ERFX | S |
| GM | R | CP | S |

S: 感受性 R: 耐性

経過および対策

病性鑑定の結果、2月18日に豚丹毒と診断したため、畜主に対し、診療獣医師への治療(有効抗生物質の投与)依頼、飼養環境改善、健康豚の早期出荷等の対策を指導した。しかし、休業期間および経営的問題から、畜主が十分に対策を実施しなかったため、被害は拡大し、死亡が限局していた豚舎奥の3豚房から豚舎全体に死亡豚が拡大した。このため、2月29日に再度農場に立ち入り、有効抗生物質の投与などの指導を徹底したところ、3月中旬までに約90頭が死亡したが、漸次、終息へと向かった(表2)。

| 月 日 | 死亡頭数(累計) | 家 保 | 発 生 農 場 | 備 考 |
|-------|----------|-----------------|-----------------|----------------|
| 2月11日 | 2 | | | 死亡豚は豚舎奥の3豚房に限局 |
| 2月14日 | 5 | 農場立入 | | |
| 2月15日 | 20 | 病性鑑定開始 | | |
| 2月18日 | | 豚丹毒と診断 | 抗生物質を数頭に投与・消毒 | |
| 2月21日 | 41 | 農場立入・指導 | 3日間抗生物質散剤を全頭に投与 | 死亡豚は豚舎全体に拡大 |
| 2月27日 | 48 | | | |
| 2月28日 | 60 | 新しい遺伝子型を示すErと判明 | | 終息 |
| 2月29日 | 69 | 農場立入・指導 | 飼養環境改善 | |
| 3月1日 | 78 | | 抗生物質の全頭投与開始 | |
| 3月中旬 | 約90 | | 再度抗生物質を全頭に投与 | |

まとめおよび考察

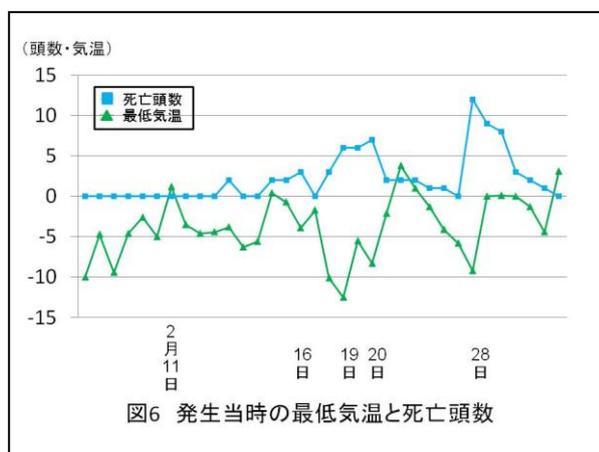
病性鑑定の結果、今回の症例は新しい遺伝子型を示す Er による急性敗血症型豚丹毒と診断した。ペニシリン系抗生物質投与を中心とした対策をとったが、終息するまで 1 ヶ月以上を要し、約 90 頭が死亡するという大惨事となった。

今回の豚丹毒の特徴は、経過が極めて急性であったということと、全身のチアノーゼであった。また、腎糸球体毛細血管の硝子様血栓形成は、長野県の事例と同様少数に限られており、逆に長野県の事例で多く見られた心筋壊死は、全く認められなかった。よって心筋壊死については、新しい遺伝子型を示す Er に特有の所見ではないことが明らかとなった。

本菌の侵入ルートについては不明だが、発生直前に豚の導入がなかったことから以前より農場内に潜伏していたと推察された。そして、ワクチンが未接種もしくは不完全接種だったことに加え、過密飼育によるストレスや不衛生な飼養環境が主な発生要因と考えられた。また、死亡豚をそのまま放置したために共食いが始まったことや、抗生物質投与の不徹底が主なまん延要因と考えられた。

図 6 は、発生当時の最低気温と死亡頭数をグラフに表したものであるが、気温が急激に下がった時に死亡頭数が増えるという傾向が見られたことから、寒冷感作も誘因になったものと推察された。

新しい遺伝子型を示す Er については、不明な点は多くあるが、今回の経験より対策をひとつ間違えると全滅する恐れもある極めて危険な細菌であると考えられる。よって養豚農家を対象に広報誌や研修会を介し、ワクチン接種の重要性や飼養衛生管理基準遵守の重要性について啓発した。今後、このような悪夢を二度と繰り返さないためにも、引き続き衛生指導を徹底していきたいと考える。



謝辞

Er の血清型別および SpaA 遺伝子の解析にご協力をいただいた、独立行政法人農業・食品産業技術総合研究機構動物衛生研究所細菌・寄生虫研究領域下地善弘領域長補佐に深謝する。

参考文献

- 1 栗林一博ら 平成 23 年度青森県業績発表会収録 58-61
- 2 神田章ら 2011. 獣医畜産新報 Vol164 No. 11:905-909
- 3 下地善弘 2012. 臨床獣医 Vol130 No. 3:12-16

4 Takeshi K et al. 1999. J Clin Microbiol. Dec;37(12):4093-8

9 哺乳豚で発生した豚サイトメガロウイルス病

家畜保健衛生所

○三竹博道、葛城肅仁ほか

はじめに

豚サイトメガロウイルス（PCMV）は、ヘルペスウイルス科、ベータヘルペスウイルス亜科に分類されるウイルスである。PCMV に感染しても多くは不顕性であるが、抗体陰性の若齢豚に感染すると重篤な症状を示す。また、Tajima ら[1]によって国内の 98.4%の肥育豚が PCMV に対する抗体を保有していたことが報告されており、ほとんどの農場が PCMV に汚染されていることが示唆されている。このように、PCMV は全国的に浸潤していると考えられてきたウイルスではあるが、これまで県内で PCMV 病の発生は確認されていなかった。今回、哺乳豚で発生した呼吸器病を病性鑑定した結果、県内で初めて PCMV 病と診断したので報告する。

発生状況

発生農場は母豚 40 頭、肥育豚 400 頭を使用する繁殖肥育一貫農場で、2、3 年前から抗生物質の投与で症状の改善が認められない呼吸器症状を示す子豚が月 1、2 頭の割合で発生していた。そのような中、平成 24 年 6 月 10 日生まれの 15 日齢の哺乳豚にも同様な症状が認められたため、病性鑑定を実施した。なお、当該農場では表 1 に示す疾病に対するワクチンをそれぞれ母豚、子豚に接種していた。

表 1. 発生農場で使用されていたワクチン

| 区分 | 使用ワクチン |
|----|---|
| 母豚 | 豚死産三種混合、豚丹毒、豚ボルデテラ感染症・豚パストツレラ症混合 豚サーコウイルス 2 型感染症 |
| 子豚 | 豚マイコプラズマ症、豚丹毒、グレーサー病 |

材料と方法

病理解剖：15 日齢の発症豚を鑑定殺の後、病理解剖を実施した。

ウイルス学的検査：鑑定殺した豚から採取した扁桃の凍結切片を作製し、抗豚コレラウイルス蛍光標識抗体（微生物化学研究所）を用いて直接蛍光抗体法を実施した。

また、鑑定殺前に採取した血清、病理解剖時に採取した臓器（脳、扁桃、肺および腎）の 10%乳剤、気管スワブ液を材料として表 2 に示すウイルスについて遺伝子の検出を試みた。

ウイルス分離では、上記の全ての材料を CPK 細胞に接種し 3 代盲継代した。

抗体検査は、豚サーコウイルス 2 型 (PCV2) は間接蛍光抗体法、豚コレラウイルスおよび PRRSV は ELISA、オーエスキー病ウイルスはラテックス凝集反応で抗体の有無を確認した。

表 2. 遺伝子検査に使用したプライマー配列

| ウイルス | プライマー | 配列 | 引用文献 |
|--------------|---------|--------------------------|------|
| PCMV | PcPo11 | GCCAATAATCTGTGTTACTCTACC | [2] |
| | PcPo14 | AATCACCGTCTGAGAGAC | |
| PRRSV | No.21 | GTACATTCTGGCCCCTGCC | [3] |
| | No.26 | GCCGTAATTGAATAGGTGAC | |
| 呼吸器コロナウイルス | 21209 | GGGTAAGTTGCTCATTAGAAA | [4] |
| | 2374R | CATAACTAGCACATTGATCA | |
| 豚インフルエンザウイルス | NP1200f | CAGRTACTGGGCHATAAGRAC | [5] |
| | NP1529r | CGATTGTCTCCGAAGAAATAAG | |

細菌学的検査：脳および主要臓器を 5%羊血液寒天培地およびチョコレート寒天培地で好気培養を実施した。また、GAM 寒天培地で嫌気培養を試みた。

肺については、BHL 液体培地に乳剤を接種したのち、PCR でマイコプラズマの分離の成否を確認した。

病理学的検査：脳および主要臓器を 10%ホルマリン液で固定後、定法により HE 染色を実施した。また、抗 PCMV 抗体を用いた免疫組織化学的染色を動物衛生研究所に病性鑑定依頼した。

結果

病理解剖：発症豚を病理解剖した結果、気管に泡沫状粘液の貯留および水腫様の肺炎が確認された。また、腎臓では点状出血が確認された。

ウイルス学的検査：扁桃の凍結切片では、豚コレラウイルス陽性を示す細胞は認められなかった。一方、遺伝子検査においては PCMV 特異遺伝子のみが検出された。また、CPK 細胞からはウイルスは分離されず、抗体検査においても豚コレラウイルス、PRRS ウイルスおよびオーエスキー病ウイルスに対する抗体は陰性で、PCV 2 に対する IFA 抗体価は 10 倍未満を示した。

細菌学的検査：菌およびマイコプラズマは分離されなかった。

病理学的検査：肺では間質の肥厚を伴う非化膿性間質性肺炎が認められ、明瞭な核内封入体が観察された。また、抗豚サイトメガロウイルス血清に対して陽性反応を示す細胞が、腎臓（図 1）、肺（図 2）、脾臓、肝臓で認められた。この陽性反応は、核内封入体をもつ細胞の細胞質に確認された。大脳、小脳、腸、扁桃では陽性反応は確認されなかった。

以上の結果より、本症例を PCMV の全身感染症と診断した。

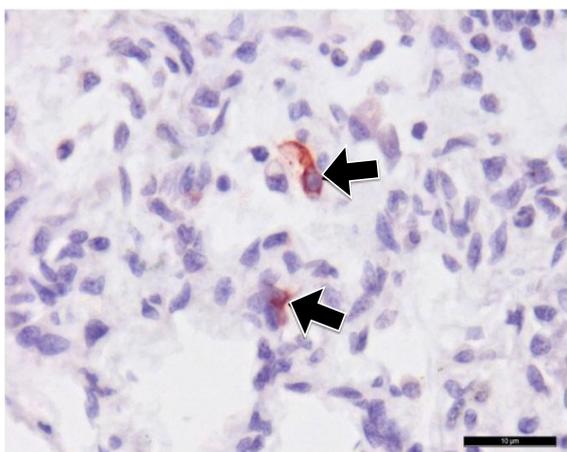


図1. 肺. 抗豚サイトメガロウイルス血清に対する陽性反応。肺病変部の核内封入体をもつ細胞（矢印）の細胞質に陽性反応がみられる。■

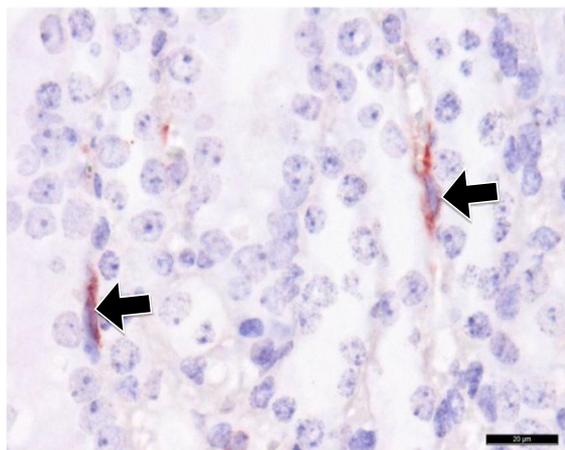


図2. ■腎臓. 抗豚サイトメガロウイルス血清に対する陽性反応。腎臓病変部の核内封入体をもつ細胞（矢印）の細胞質に陽性反応がみられる。■

考察

今回の、発生状況から PCMV は当該農場に常在化していることが推察された。

PCMV が哺乳豚に感染して発症する要因としては、初乳摂取不足のため PCMV に対する移行抗体が付与されなかったことや寒冷ストレス等の感作が報告されている[6, 7]。当該農場では今回の事例と同様な症状を示す哺乳豚が 2, 3 年前から一年を通してみられていたことから、寒冷ストレス等の環境ストレスより発症する哺乳豚側の要因の方が大きいと考えられた。実際、母豚に PCV2 感染症に対するワクチンを接種していたが、発症豚の PCV2 に対する IFA 抗体価は 10 倍未満であった。このことから、初乳を摂取できなかったために PCMV に対する抗体を付与されなかったことが示唆された。

近年、PCMV 病の発生が多くなりつつある[8]。その背景には PRRSV や PCV2 の被害がワクチンや飼養衛生の向上等によりある程度沈静化されことで、PCMV 病が顕在化したことが推察される。現在、PCMV の遺伝子や抗原性に関する報告はほとんどなく、ウイルス自体にも不明な点が多い。今後はできるだけ多くの野外株を分離し、ウイルス自体の解析や疫学データの蓄積をすることで PCMV の防疫対策を確立していきたい。

引用文献

- [1] Tajima T et al, J Vet Med Sci, 55, 421-4 (1993)

- [2] Widen, B. F. et al, *Epidemiol Infect*, 123, 177-180 (1999)
- [3] Kono et al, *J Vet Med Sci*, 58, 941-6(1996)
- [4] Usami Y et al, *J Vet Med Sci*, 70, 929-936(2008)
- [5] Lee M et al, *J Virol Methods*, 97, 13-22(2001)
- [6] 田嶋朋子, 豚病学第4版 (近代出版), 244-247
- [7] 山本昇ら, *家畜診療* 59(7), 435-440 (2012)
- [8] 芝原知之ら, *日本獣医師会雑誌*, 65(6), 429-435, 2012