

平成27年度
福井県畜産技術業績発表集録
(第1部, 第2部)



福井県家畜保健衛生所

目 次

第 1 部

- | | | |
|------|---------------------------------------|------------|
| 1 | 簡易長靴消毒装置の製作とその効果 | 武野侍那子・・・1 |
| 2 | 一酪農家への濃密繁殖管理技術指導 | 生水 誠一・・・7 |
| ◎○ 3 | 若狭牛増産のための牛受精卵の回収および移植方法の変更と
その移植成績 | 横田 昌己・・・10 |
| 4 | 超音波診断装置を用いた早期妊娠診断の評価およびその効果 | 朝倉 裕樹・・・15 |

2 第 2 部

- | | | |
|-----|--|------------|
| 5 | 地方病性牛白血病を発症した牛の症例報告 | 岡田 真紀・・・21 |
| ○ 6 | 山羊に発症した <i>Conidiobolus</i> 属真菌の関与が示唆された
播種性真菌症 | 山崎 俊雄・・・27 |
| 7 | 七面鳥におけるヒストモナス病の発生 | 武田 佳絵・・・34 |
| ○ 8 | 一酪農家で発生した G8P[14] 遺伝子型ロタウイルス A による
成牛のロタウイルス病 | 岡田 真紀・・・38 |

○ 第 57 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 57 回全国家畜保健衛生業績発表会（平成 28 年 4 月 19、20 日東京都にて開催）選出演題

1 簡易長靴消毒装置の製作とその効果

家畜保健衛生所

○武野侍那子、仲村和典

はじめに

家畜伝染病の感染経路のひとつに、ヒト、野生動物、車両や衣服などを介した機械的伝播があり、これらによる感染拡大を防ぐことが防疫上重要となる。このため、家畜伝染病予防法に定められている飼養衛生管理基準では、立入り者の記録や手指消毒、防鳥ネットなどによる野生動物の侵入防止、農場内へ出入りする車両の消毒、畜舎ごとの専用の衣服や長靴の着用などの対策を講じるよう言及されている¹⁾。

本県における農場巡回時の衛生対策としては、養豚・養鶏農家への立入は1日1戸までとし、立入時は防疫服・手袋を着用して使用後に廃棄、車両は帰庁後に車体・タイヤ・足マットを水洗し消毒している。長靴に関しては、農場立入り前後に踏込み消毒槽内でブラシを使って消毒を行っているが、この方法では数秒間の踏込みであることから消毒液の感作時間が短く、長靴上部の消毒も困難であることから、その効果は十分に発揮されていないと考えられた。

衛生指導を行う我々家畜保健衛生所職員が病原体を持ち歩くことはあってはならないことであり、他の農家へ立ち入る際には可能な限り清潔な長靴を持参する必要がある。そこで、長靴の清浄度向上を目的に、操作が簡便かつ十分な消毒効果の期待できる簡易長靴消毒装置を製作した。

慣行法による消毒効果

通常行っている踏込み消毒のみでどの程度菌が残存しているか調査した。

1. 材料および方法

職員4名の帰庁後の長靴延べ10足を用いた。長靴の片足底面を、滅菌生理食塩水で湿らせた15cm×15cmの滅菌ガーゼで3回拭き取り、溝は



図 1. 慣行法による消毒効果の調査（方法）

滅菌綿棒を用いて拭き取った。拭き取り後のガーゼと綿棒を滅菌生理食塩水中に投じて混和、階段希釈したものを培地に接種し、一般細菌数については普通寒天培地、大

腸菌群数についてはデソキシコレート寒天培地で生えたコロニー数を測定して片足底面あたりの菌数を算出した（図 1）。

2. 結果

職員や調査した日によって多少のばらつきはあるものの、長靴片足底面あたり一般細菌が $7.4 \times 10^5 \sim 5.4 \times 10^7$ 個、大腸菌群が検出限界以下であったものを除き $4.0 \times 10^4 \sim 3.3 \times 10^6$ 個検出された（図 2）。検出されたものすべてが病原性のある菌というわけではないが、通常行っていた踏込み消毒のみでは多くの菌が残存していた。

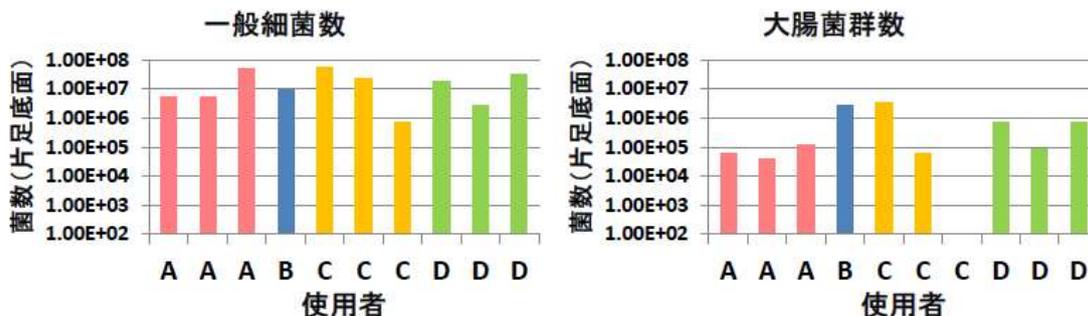


図 2. 慣行法による消毒効果の調査(結果)

装置の製作

[シャワー装置]

1 本当たり約 130 個の穴を等間隔に開けた塩化ビニルパイプを継手で組立て、ホースで水中ポンプと連結させ、消毒液の循環が可能なシャワー装置を製作し、プラスチックコンテナに取り付けた（写真 1）。塩化ビニルパイプに開けた穴は、小さすぎると砂利などが詰まり、大きすぎると水中ポンプ側と反対側でシャワー量に差がでるため、直径 2.5mm とした。また、塩化ビニルパイプの端にはプラグを取付けており、消毒液交換時にプラグを外して装置を稼働させることで簡単に排水可能である（写真 2）。



写真 1. シャワー装置



写真 2. 消毒液の排水

〔タイマー〕

水中ポンプにダイヤル式タイマーを接続し、設定した時間が経過すると自動で消毒液の循環が停止するようにした（写真3）。



写真3. タイマー

〔長靴ラック〕

ステンレス棒を溶接し、最大6足までの長靴を逆さまにかけることのできるラックを製作、コンテナ内に設置した（写真4）。

長靴を逆さまに少し傾けて設置することで、消毒液を長靴底面から側面に沿って、上部まで流動的に感作させることができる（図3、写真5）。



写真4. 長靴ラック



写真5. 稼働時の様子

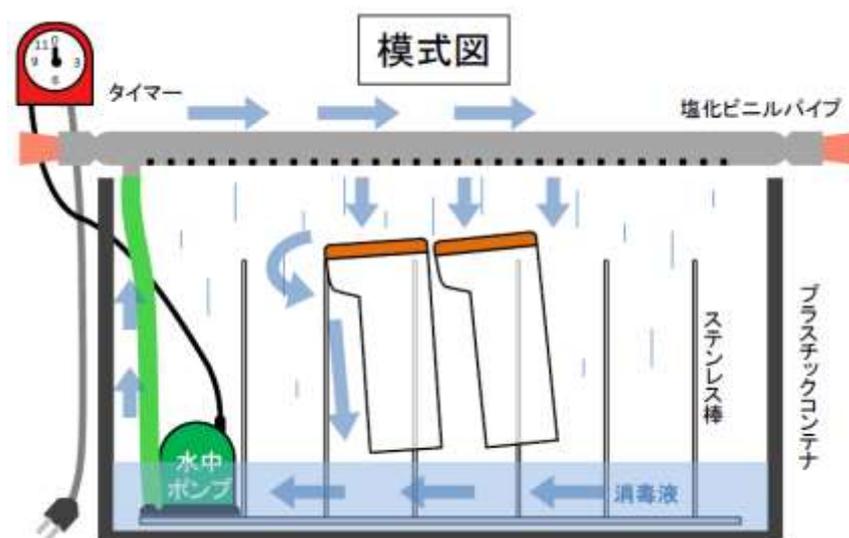


図3. 装置模式図

製作費用

装置の製作費用は合計 28,570 円であった(表)。長靴洗浄あるいは消毒装置として市販されているものでは、今回製作した装置のように複数の長靴を同時に全体的に消毒でき、自動で停止する機能をもつものではなく、オゾン殺菌装置では 100 万円程度することから、安価に十分な機能を備えたものを製作できたといえる。

表. 製作費用

材料	仕様	価格(円)
プラスチックコンテナ	外寸:503×1,005×565mm	10,000
水中ポンプ	最大吐出量:110L/分	8,640
ステンレス棒	1m(直径:10mm)	6,500
塩化ビニルパイプ他	パイプ内径:13mm	2,430
タイマー	設定:15分刻、最長11時間	1,000
合計		28,570

装置使用時の条件

装置は帰庁後すぐに使用できるよう防疫準備室の外に設置しており、農場での通常の踏込み消毒に加え、帰庁後に汚れが残っている場合は水洗してから装置へかけることとした。当初、消毒薬には踏込み消毒と同じく逆性石けんの使用を考えたが、シャワー装置によって液が泡立ち、長靴内部が濡れるため、今回製作した装置には不向きであった。そこで、口蹄疫ウイルス等にも効果があり、畜舎や器具の消毒に使用されるグルタルアルデヒド消毒薬を選択した。消毒液交換の手間やコスト面から、消毒薬を 500 倍に希釈、週 1 回交換することとし、その間に減る水量を考慮して液量は 60 L とした。また、職員の帰庁時間が遅くとも 16 時であることから、感作時間を 1 時間程度に設定して使用している。

装置による消毒効果

消毒液作製 1 日目から 5 日目の装置の消毒効果について調査した。

1. 材料および方法

各日数につき 2 足の長靴を用いた。長靴底面に、約 10^9 個/ml に増菌した黄色ブドウ球菌の培養菌液と大腸菌の培養菌液を塗布して自然乾燥させ、片足は消毒前、もう片足は消毒後に、慣行法による消毒効果の調査と同様の方法で底面を拭取った。拭取り後のガーゼおよび綿棒を滅菌生理食塩水中に投じて混和、階段希釈し、黄色ブドウ球菌はマンニト食塩培地、大腸菌はデソキシコレート寒天培地で生えたコロニー数を測定して片足底面あたりの菌



図 4. 装置による消毒効果の調査(方法)

数を測定して片足底面あたりの菌

数を算出した（図 4）。

2. 結果

黄色ブドウ球菌は消毒前に片足底面あたり $7.2 \times 10^5 \sim 2.0 \times 10^7$ 個検出されていたが、消毒後には全ての日数で検出限界以下まで減少していた。大腸菌についても同様に、消毒前に片足底面あたり $1.3 \times 10^6 \sim 8.2 \times 10^8$ 個検出されていたが、消毒後には全ての日数で検出限界以下まで減少していた（図 5、6）。



図 5. 装置による消毒効果の調査
(結果：黄色ブドウ球菌)



図 6. 装置による消毒効果の調査
(結果：大腸菌)

まとめ

今回、農場巡回時に持参する長靴について、従来の消毒方法のみでは消毒が不十分であると考えられたため、その清浄度の向上を目的に簡易長靴消毒装置を製作した。製作した装置は、長靴をセットしてタイマーのダイヤルを回すだけで作動し、自動で停止するため操作が簡単で、長靴内部が濡れることなく、底面から側面、上部まで消毒液を行き渡らせることができ、市販のものと比較して安価に十分な機能を備えたものである。また、培養菌液を用いて装置の消毒効果を調べたところ、消毒後の細菌数は検出限界以下に減少していた。実際に装置を使用する際には、農場立ち入り前後のブラシを用いた踏込消毒に加え、帰庁後に残っている有機物を水洗により落とすことを想定しており、本装置を用いることで十分な消毒効果が期待できると考えられた。

装置の設置以降、帰庁後には積極的に装置を利用しており、わずかな手間が加わるだけで職員の長靴の清浄度とともに長靴消毒に対する意識が向上した。今後も清潔な長靴で衛生指導を行いたい。

- 1) 農林水産省 飼養衛生管理基準（平成 23 年 10 月 1 日付）

2 一酪農家への濃密繁殖管理技術指導

嶺南家畜保健衛生センター

○生水 誠一、吉田 靖

【はじめに】

家畜保健衛生所では酪農家を対象に市町の担当者および診療獣医師と連携し繁殖管理技術指導事業を継続的に実施している。今回、平成 20 年に後継者が離農して以降、繁殖は和牛受精卵移植（ET）のみで人工授精（AI）は一切行っていない酪農家に対し継続的な濃密繁殖管理指導に取り組んだので、その概要について報告する。

【背景】

当該酪農家は酪農経営を始めて 38 年。親族が経営していた肥育牛舎をタイストール牛舎に改築、平成 18 年 5 月に移転した。搾乳牛 35 頭を飼養し経営者 1 名、雇用者 3 名で飼養管理していた。牛は全頭外部導入で自家育成は行っていない。自家生乳を原料にソフトクリームの製造・販売に早くから取り組み、23 年を経過していた。

繁殖成績はかなり以前より課題があり、後継者が離農して以降は、卵胞嚢腫などの繁殖障害と AI を行わないことによる長期不受胎牛が多く、平均空胎日数が 291 日であった。その結果、月 1 回の繁殖検診頭数が 20 頭を超えたことから、平成 25 年 8 月から関係機関が協力し、酪農家にとって基本となる AI に取り組むよう指導した。

【指導体制】

当センターと市の診療獣医師が協力し繁殖について技術指導するとともに、嶺南振興局の普及指導員と飼料メーカーとも協力しながら、関係機関がお互いに情報を共有し指導に取り組んだ（図-1）。

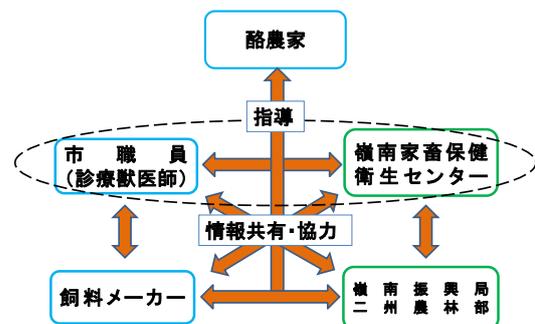


図-1 繁殖管理技術指導体制

【繁殖成績】

AI 指導開始前の空胎牛 27 頭の平均空胎日数は 291 日であり、空胎で 1 年を超える牛が半数近くを占めていた（図-2）。

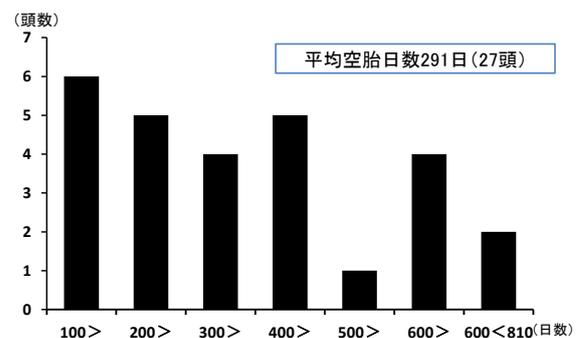


図-2 指導開始前の空胎日数

【AI 指導内容】

AI を実施するに当たっては、直腸検査と超音波診断装置の併用による個体ごとの発情周期の把握に努め、腔鏡を使った子宮外口の状態および粘液の確認による授精適期の確認を指導した。また、ホルモン製剤を使用した定時授精にも取り組んだ。

【結果】

平成 25 年 8 月から開始した AI 指導は、月 1 回の指導により 6 か月間で 10 頭が受胎した。

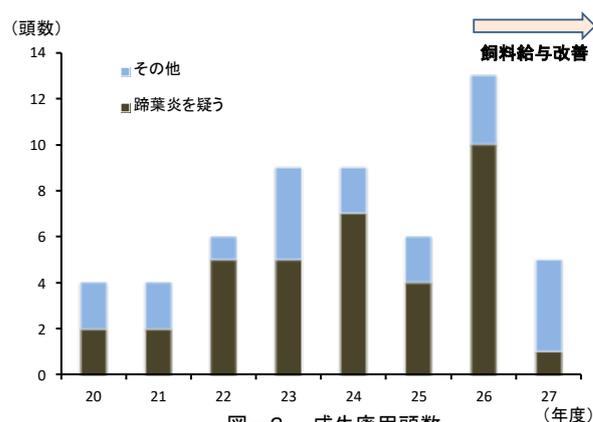
さらに繁殖成績を向上させるため、平成 26 年度から週 1 回の指導としたものの、9 か月で 12 頭と受胎成績は今一歩であった（表－1）。

表－1 AI 受胎成績

期 間	受胎頭数	指導頻度
平成25年8月～平成26年3月 (6か月)	10頭	月1回
平成26年4月～平成26年12月 (9か月)	12頭	週1回

【問題点】

このような中、前年度に導入した牛を中心に廃用となる事例が急増した（図－3）。ここ数年、分娩に関係なく立ち起きが悪い症状の牛が多いことも問題となっていた。その症状は突発的ではなく徐々に現れ、負重を嫌い、痛みを伴っていた。その後、分娩により起立不能となり廃用となる症状であった。この原因は、乳量を追求するあまり無理な飼料給与を続けたことによる蹄葉炎が悪化したためと考えられたため、経営者もようやく飼料給与改善に取り組む意向を示し、関係機関と連携して平成 26 年 12 月から飼料給与改善に取りかかった。



【対策】

平成 26 年 12 月に関係機関と連携して飼料給与改善に取り組んだ。乳量 25 k g の配合飼料で比較した場合、配合飼料は 16 k g と多く、スーダンやオーツヘイといった乾草の給与量が少なく、乾物摂取量が少ないことが明らかとなり、乳量に見合った給与量に改善した（表－2）。

表－2 飼料の給与改善(乳量25kgの場合)

	改善前	改善後
配合飼料	16.0 kg	10.5 kg
スーダン	1.0 kg	2.5 kg
オーツヘイ	1.0 kg	4.9 kg
稲WCS	8.0 kg	8.0 kg

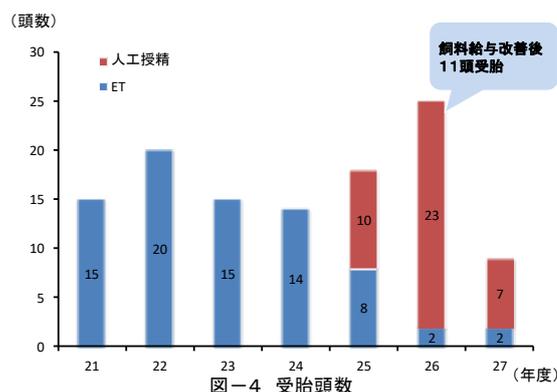
* 乳量5kgの増減で配合飼料2kgの増減、粗飼料の増減なし
* カビ吸着剤の添加

【後継者へ経営継承】

平成 27 年 6 月末から後継者が再就農したことにより、経営指導は後継者を対象とした。後継者は穴の開いた飼槽にステンレス板を敷く改善を行うなど自覚を持って経営に携わっている。

【まとめ】

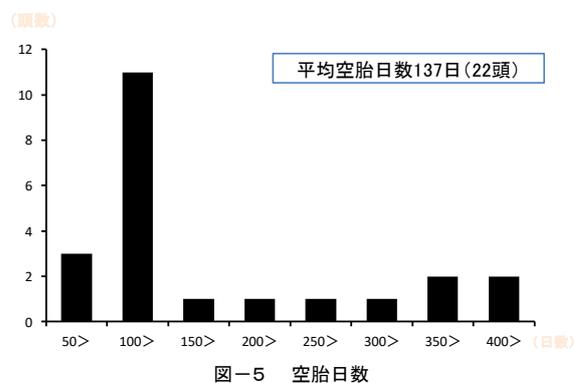
平成 25 年 8 月から始めた AI による受胎頭数は、平成 25 年度は 10 頭、平成 26 年度は 23 頭、平成 27 年度は 7 頭（12 月現在）となり、当然、ET による受胎頭数に比べ多くなった。平成 26 年度は、AI による受胎 23 頭のうち 11 頭が飼料給与改善後に受胎した（図一 4）。



平成 28 年 1 月現在の空胎日数は、空胎牛 22 頭の平均空胎日数は 137 日であり、分娩 100 日以内の受胎適期中の牛が多いことから、出来るだけ早く受胎させる必要がある（図一 5）。

【今後の課題】

後継者が酪農経営に復帰し繁殖はすべて一任されていることから、後継者に対し今後の課題となる技術指導を実施している。その内容は、繁殖状況把握の指導（繁殖カレンダーの記入徹底、繁殖台帳のとりまとめ）、発情の発見と AI の技術指導（膣鏡による粘液の確認、精液ストローの融解温度の確認、消毒徹底）、分娩後早期受胎の支援



（分娩 40 日以降のフレッシュチェック、定時人工授精）、後継牛の生産支援（AI はすべて和牛精液のため、ホルスタイン種の精液による自家産牛の生産）である。

今後、後継者が繁殖技術に自信を持ち繁殖成績が安定するまでは、継続した支援が必要と考えている。

【引用文献】

- ・ Dairy Japan : 酪農経営者へのアプローチ
- ・ (社) 全国畜産物衛生指導協会 : 生産獣医療システム 乳牛編 1、2

3. 若狭牛増産のための牛受精卵の回収および移植方法の変更とその移植成績

家畜保健衛生所

○横田昌己 朝倉裕樹ほか

はじめに

家畜保健衛生所では、福井県ブランド牛「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第1番目の目的に、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事業を実施している。

福井県では受精卵移植の現状把握と問題点を検討するため「受精卵移植技術者連絡会議」を設置している。それは受精卵移植に関する試験研究を行う「畜産試験場」を中心として、黒毛和種受精卵の回収・供給を行う「嶺南牧場」、乳牛受精卵の回収・供給を行う「奥越高原牧場」、酪農家・和牛繁殖農家での受精卵移植を行う我々「家畜保健衛生所」と「嶺南家畜保健衛生センター」、そしてこれら関係機関の調整を行う「生産振興課」で構成され、常に受精卵移植に関する情報を互いに共有し、関係機関が一丸となって受精卵移植に取り組んでいる（図1）。これまでの連絡会議の中で、受胎率向上を妨げている問題点として、移植全体の6割強を占める、乳牛経産の受胎率が低いこと、受胎率の高い収縮期桑実胚（以下CM）の利用率が低いこと、移植者の熟練度により受胎率が大きく左右されることが挙げられ、平成26年度の受精卵移植技術者連絡会議にてこれらについて協議し、CMの利用率の問題については、CMをより多く回収するための受精卵回収方法の変更、移植者の熟練度の問題については受精卵融解操作が簡便なダイレクト法への変更を決定し、実施したので、その結果について報告する。

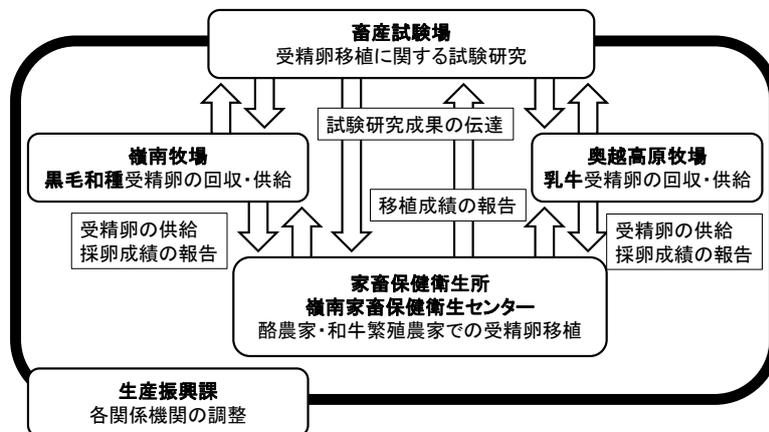


図1 受精卵移植技術者連絡会議の構成

受精卵回収方法の変更

受精卵回収の変更については、回収を行っている嶺南牧場にて、これまでは過排卵処理を行った後、人工授精後 7 日目に回収する Day7 採卵を行っていたものを、過排卵処理開始時期をずらし、人工授精後 6.5 日目で回収する Day6.5 採卵に変更し、CM を回収する試みを平成 26 年度後半から行った (図 2)。その結果、変更前は CM 利用率が 15.8% であり、CM より受胎率の低かった胚盤胞 (以下 Bla) と拡張期胚盤胞 (以下 Exp) が 60% 強を占めていたが、変更後は CM 供給数が増え、CM 利用率が 63.4% になり、Bla と Exp は合わせても 10% 以下となり、今回の変更が CM の利用促進につながった (図 3)。

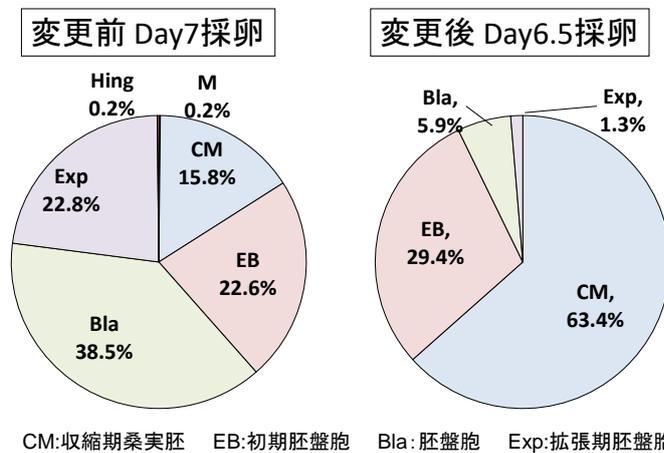
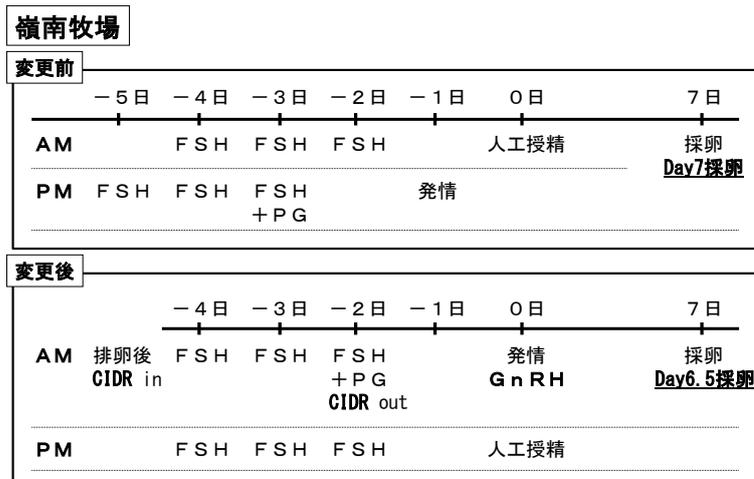


図3 変更前後の移植卵の発育ステージ

移植方法の変更

移植方法については、これまでは、ストロー内 2 ステップ法で行っていた。この方法は、ストロー内がシェーククロス層 (Su 層)、グリセリン層 (G 層)、リングル層 (R 層) の 3 層の液層で構成され、融解後まず Su 層と G 層の 2 層だけをストローを指ではじいて混合し脱グリセリン操作を行い、その後残りの R 層を混合して耐凍剤の希釈を

行い、移植器にセットして移植を行う方法である。融解後の操作が多いことや、最初の 2 層だけを混合する操作が非常に難しく移植者の熟練度によって受胎率が左右されると考えられる。

一方、今回変更したダイレクト法は、融解してそのまま移植器にセットし移植できる非常に操作が簡便な技術である。ただし、2 ステップ法と違い、耐凍剤が希釈されないことや、温度が上がると耐凍剤の毒性が強くなるため、融解後速やかに移植を終了しなければならない短所がある。平成 26 年度 11 月下旬よりこの方法に変更して移植を開始し、2 ステップ法とダイレクト法の受胎率の比較を行った。比較項目は変更前後の全体の受胎率の比較、発育ステージ別受胎率の比較、乳牛未経産と経産の受胎率について調査した。受胎率を比較するための条件は、使用受精卵は嶺南牧場から供給された黒毛和種凍結受精卵を用いた。凍結方法は 2 ステップ法とダイレクト法で、回収方法の変更と移植方法の変更を同時期に行っているため、2 ステップは Day7 採卵の受精卵になり、ダイレクトは Day6.5 採卵の受精卵となった。移植成績は主担当者 1 名のものに限定し、調査期間は平成 23 年 4 月から平成 27 年 10 月までの期間とし、移植頭数は 600 頭となった。

全体の受胎率の比較では、変更前の 2 ステップ法が 37.8%で、変更後のダイレクト法は 43.8%であり、有意差は認められなかったが、6%高い傾向が見られた（図 4）。

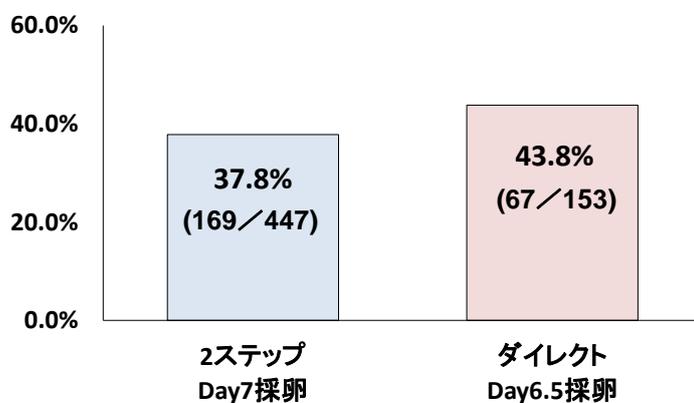


図4 移植方法別受胎率の比較

発育ステージ別受胎率の比較では、2 ステップでは CM の受胎率が B1a、Exp と比較して有意に高かった。ダイレクトでも CM の受胎率が初期胚盤胞（以下 EB）と比較して有意に高かった（図 5）。この結果から凍結受精卵においては、CM の受胎率が高いことは事実だと考えられた。また、それぞれの発育ステージの比較により、ダイレクト法は 2 ステップとほぼ同等の受胎率を得られる技術だと推察した。今回ダイレクトへの変更で 6%の受胎率向上傾向が得られた理由は、ダイレクト法の受胎率が高いというよりも、受胎率の高い CM をより多く利用できたことにあると推察された。

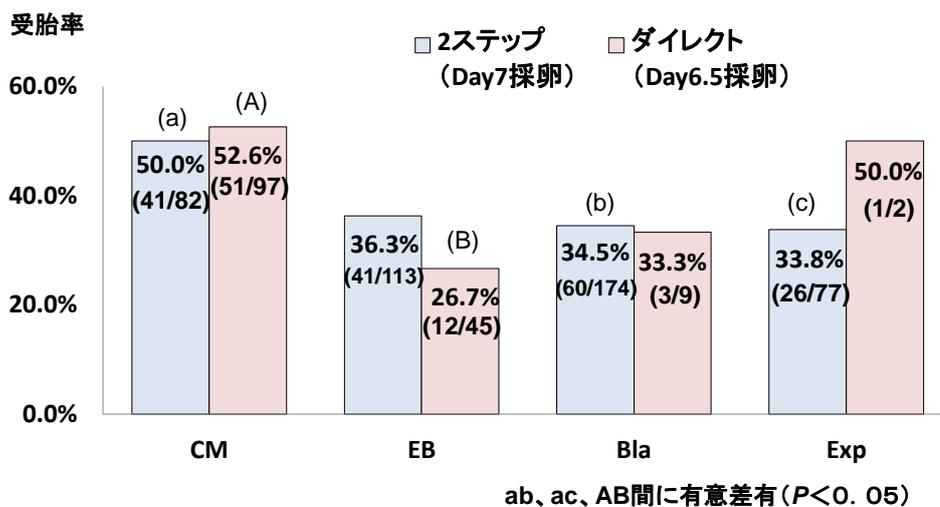


図5 発育ステージ別受胎率の比較

乳牛未経産と経産の受胎率では、2ステップでは乳牛未経産の受胎率が有意に高く、ダイレクトでも同様に高い傾向であった。問題点として挙げていた乳牛経産の受胎率が、有意差は認められなかったが、2ステップに比べダイレクトの受胎率が約10%高い傾向であった(図6)。これもCMを多用したことによる効果と推察された。また、これについては農家から最近経産牛もよく受胎するようになったと聞くようになり、統計上有意差はなかったが、農家には実感してもらえる向上になったと考えている。

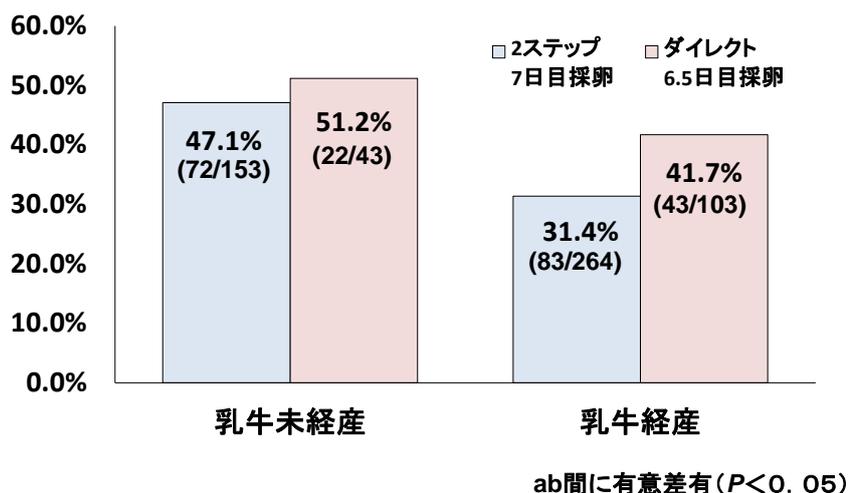


図6 乳牛未経産と経産の受胎率の比較

おわりに

現在全国的に肥育農家の素牛不足から、和牛子牛の価格が高騰しており、乳牛を借り腹にして和牛を生産する受精卵移植技術が非常に期待されている。その状況は福井県でも同様で、近年の嶺北地域での移植頭数の推移を見ると、22年度から135頭前後で推移していたが、26年度から200頭に達し、27年度については12月末の頭数で昨年度実績を超えており、移植利用農家も5戸増加した(図7)。このように今、農家から非常に期待されている技術であるため、今後も「受精卵移植技術者連絡会議」をしっかりと機能させ、関係機関と連携して受精卵移植技術を通して若狭牛の増産に貢献していきたいと考えている。

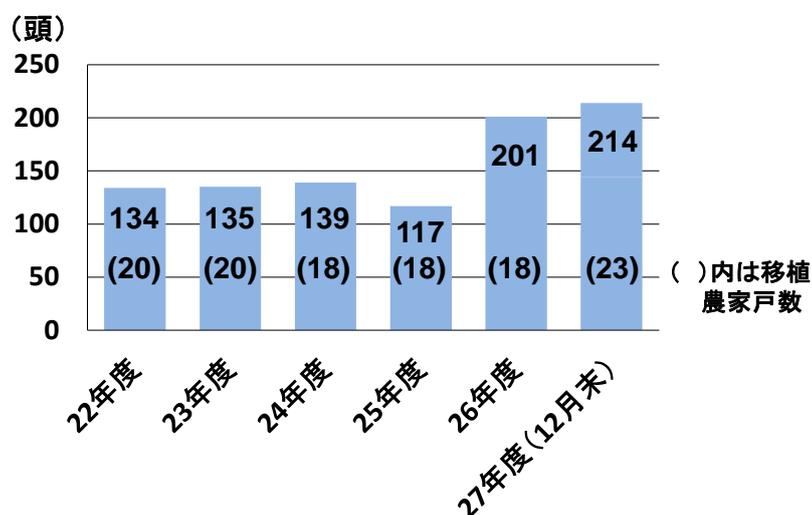


図7 近年の移植頭数の推移(嶺北)

4 超音波診断装置を用いた早期妊娠診断の評価およびその効果

家畜保健衛生所

○朝倉裕樹 横田昌己ほか

はじめに

家畜保健衛生所（家保）では県内酪農家の分娩間隔を短縮することを目的に、農家が所在する市町からの依頼を受け、家保、診療・共済獣医師、農林総合事務所が互いに連携しながら繁殖の検診、治療および指導等をする繁殖管理技術指導事業（事業）を行っている。この事業では分娩後の繁殖障害の早期発見、治療などの早期発情回帰のためのフレッシュチェックや種付け後 40 日以前つまり 2 回目の発情周期前に妊娠診断（早期妊娠診断）をすることにより、非妊娠牛の次回発情を見逃さないための取り組みに力を入れている。

繁殖検診手法としては、人の手を用いた手法（用手法）の他、超音波診断装置を用いた手法（超音波診断）も利用している。超音波診断は卵巣、子宮の状態や内容を視覚化できる（図 1）ため、農家との情報の共有化が容易であることが用手法と大きな違いであり、利点である。

また、欠点としては機器導入コストやランニングコストがかかることが挙げられる（表 1）。

表 1 繁殖検診手法比較

比較内容	超音波診断	用手法
卵巣、子宮内容の視覚化・共有化	◎	×
技術の習得の容易さ、速さ	○	×
種付け後40日以前の検診	○	△
胎子に対する安全性	○	△
一頭当たりの検診時間の短さ	△	○
卵巣、子宮の触診情報の得やすさ	×	○
コストの安さ	×	◎



図 1 用手法と超音波診断

妊娠診断の現状

平成 25 年 4 月から 27 年 12 月までの事業による再妊娠診断を含まない用手法と超音波診断による妊娠診断数は 2458 例（用手法 2053、超音波診断 405）であり、その内数の早期妊娠診断は 335 例（用手法 53、超音波診断 282）で普及が進んでいるとは言えない現状がある（図 2）。

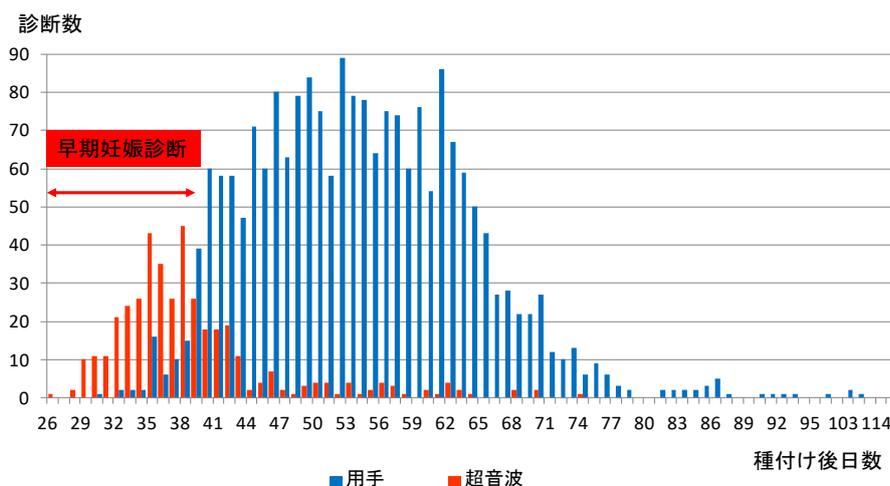


図2 平成 25 年 4 月から平成 27 年 12 月までの事業における妊娠診断

理由としては、用手法の方が診断精度が高い、早期妊娠診断後に流産をし易い、早期妊娠診断をしても繁殖効率は変わらないという農家の誤解や、一頭当たりの検診時間がかかる、早期妊娠診断後の再妊娠診断が煩雑であるという事実が普及の妨げになっている。

そこで、超音波診断および早期妊娠診断に対する不信を払拭し普及の一助とするため、早期妊娠診断についての診断精度を確認し、胚死滅を含んだ流産率を求め、さらに平成 26 年度から積極的に早期妊娠診断を活用している一農家についての分娩間隔の短縮等の事業効果を検討した。

調査、評価

(1) 診断精度の確認

用手法、超音波診断それぞれについて、種付け後 30 日以前（最短：種付け後 26 日）、31 日～35 日、36 日～39 日の 3 つに分け、感度、特異度、陽性的中度、陰性的中度、正診率を求めた（図 3）。

感度はこの場合、検診頭数全数の中で再妊娠鑑定時に妊娠と判断された個体（真に妊娠している個体）のうち用いた診断法で正しく妊娠と判断される割合を表し、特異度は再妊娠鑑定時に非妊娠である個体（真に非妊娠である個体）のうち、用いた診断法で正しく非妊娠と判断される割合を表す。また、陽性的中度は妊娠と判定した中で真に妊娠している割合を表し、陰性的中度は非妊娠と判定した中で真に非妊娠である割合を表している。さらに、正診率は判定した結果が真に正確である割合を表すものである。

これらを求めたところ、全体的に種付け後日齢が上がるほど診断精度が高くなる
ことが示され、超音波診断法においては種付け後 31 日以降、用手法においては種
付け後 36 日以降で早期妊娠診断をすることが望ましいことが示された（表 2）。

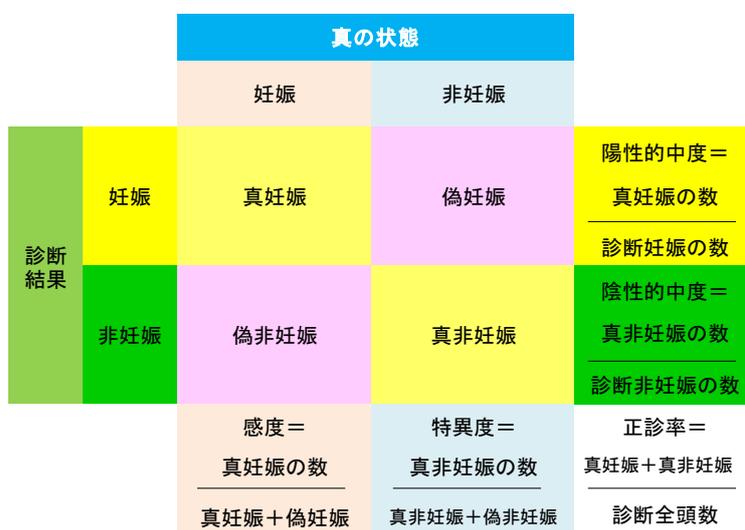


図3 診断精度模式図

表2 早期妊娠診断における診断精度

		種付けから妊娠診断までの日数(日)		
		≤30	31~35	36~39
超音波診断	n	24	127	131
	感度	0.60	0.94	0.95
	特異度	0.86	0.97	0.90
	陽性的中度	0.75	0.97	0.94
	陰性的中度	0.75	0.93	0.92
	正診率	0.75	0.95	0.93
用手法	n		7	48
	感度		0.50	0.89
	特異度		0.80	0.95
	陽性的中度		0.50	0.80
	陰性的中度		0.80	0.97
	正診率		0.71	0.93

(2) 流産率の確認

片桐は、胚死滅を含んだ流産率について受胎後着床期以降 42 日までに起こる胚死滅は 8 ~18%であり、受精後 30 日前後に超音波診断をした後 70~90 日までに起こる流産は、経産牛で 7~7.5%、未経産牛で 6.1%であるとしている。

そこで、上記で述べた早期妊娠診断 335 例のうち妊娠と判定した 168 例について

の胚死滅を含んだ流産率を求め、既報の値と比較しところ用手法超音波診断の両方を合わせた早期妊娠診断後の流産率は 8.3%、超音波診断における流産率では 7.6%、中でも胎子心拍を確認した事例のみでは流産率は 6.8%であり既報の範囲内であった（表 3）。

表3 早期妊娠診断時妊娠判定後の確定結果

検診手法	早期 妊娠+	
	確定+	確定-
用手法	9	2
超音波診断	145	12
計	154	14

判定内容	早期 妊娠+	
	確定+	確定-
胎児心拍確認	109	8
腔のみ	36	4
総計	145	12

(3) 分娩間隔短縮への効果

効果判定に必要な「対象期間に牛群検定などで繁殖情報が得られる。」「平成 26 年度以降ルーチンで早期妊娠診断を行っている。」「平成 25 年度と 26 年度での平均種付け回数に大きな変化がない。」の 3 条件を満たす一農家（表 4）について平成 25 年度に妊娠と診断した牛の分娩【平成 25 年 12 月から平成 26 年 11 月までの分娩】を早期妊娠診断活用前（活用前）、平成 26 年度の妊娠と診断した牛の分娩【平成 26 年 12 月から平成 27 年 11 月までの分娩】を早期妊娠診断活用後（活用後）として、分娩間隔を比較した。

表4 対象農家概要

飼養形態	フリーストール	
飼養頭数	32頭	
後継牛	外部導入	
人工授精	畜主実施	
受精卵移植	実施無し	

項目	25年度	26年度
総妊娠診断頭数	40	46
早期妊娠診断頭数	4	18
平均種付け回数	1.6	1.5

(i) 比較する材料の設定

2産目以上の分娩頭数は活用前 18 頭、活用後 27 頭であった。これらについての分娩間隔をフリーの統計ソフトEZRを用い、Smirnov-Grubbs外れ値検定を行ったところ、3頭の分娩間隔について外れ値が検出された。その検出個別別履歴を見たところ、妊娠途中で流産、高齢出産（7産）で死産、長期疾病で治療の履歴があり、除外適当と判断したため、活用前から1頭、活用後2頭を除外した。

外れ値検定で除外した結果、活用前は17例（うち分娩間隔365日以下4例）、平均産次2.7産、活用後は25例（うち分娩間隔365日以下11例）、平均産次は2.8産となった（表5）。

表5 分娩間隔比較材料

早期妊娠診断	分娩数 (検定数)	うち1年1産 達成数	総妊娠 診断数	平均産次
		活用前		
活用後	25	11	28	2.8

(ii) 検定結果

上記で設定した活用前、活用後の平均分娩間隔についてWelchのt検定、有意水準0.05で比較した。

なお、検定には外れ値検定と同じくEZRを用いた。

その結果、有意差は見られなかった（ $P=0.128$ ）が、活用前と活用後の平均分娩間隔で26.5日の短縮が見られた（図4）。

(iii) 分娩間隔短縮に伴う試算

分娩間隔が380日を越えた後、分娩間隔が一日延長するごとに1,200～1,600円の損失となると北海道農業共済組合連合会や十勝農協連により試算されている。そこで今回得られた分娩間隔26.5日の短縮により節減が見込まれる経費は、1日当たり1,600円と仮定すると1頭当たり $1,600円 \times 26.5日 = 42,400円$ の経費削減となり、群全体では $42,400円 \times 25頭 = 1,060,000円$ の経費削減と計算された。

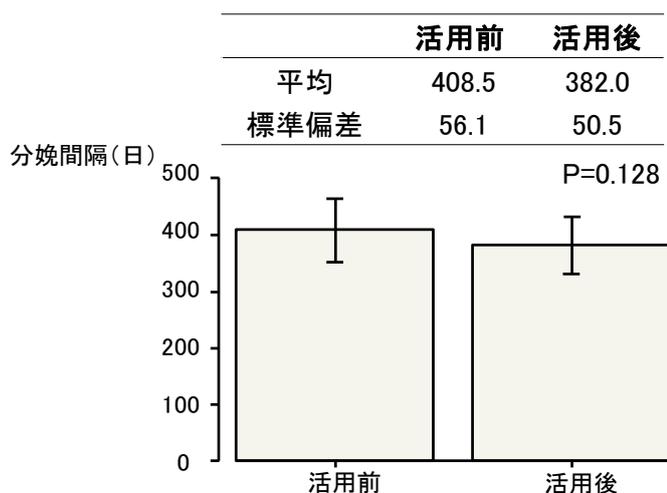


図4 活用前、活用後の平均分娩間隔の比較

まとめと今後の取り組み

超音波診断の診断精度は種付け後 36 日以降では用手法と変わらないどころか、31～35 日の間では用手法より精度が高いことが示された。また、早期妊娠診断や超音波診断により通常に起こる胚死滅を含んだ流産率に影響をあたえないことが示された。また、早期妊娠診断活用後の平均分娩間隔が活用前の分娩間隔より短くなることが期待できることが示された。分娩間隔の短縮は経費削減に大きな影響を与えるため早期妊娠診断の活用は非常に有用であることが実際に業務を行っている農家の現場データから得られたことにより、今まで以上に説得力を持って超音波診断装置使った早期妊娠診断の有用性を伝えることができる。

この結果を農家へ示すことで早期妊娠診断の普及と地域の繁殖成績の改善の一助となるよう活用していきたい。

参考文献

- 1 清水大樹：画像診断によるUpdateな繁殖検診テクニック
- 2 Manuel Fernandez Sanchez 著 大澤健司 訳：臨床獣医師のための牛の繁殖と超音波アトラス
- 3 山根逸郎：獣医疫学実用ハンドブック
- 4 片桐成二：乳牛における胚死滅 - 発生状況とその背景 MPアグロ ジャーナル 2011.07 P5～8
- 5 特集 牛の生殖器検査テクニックを極める-直腸検査と画像による生殖器検査- 獣医畜産新報, Vol. 67, No. 4, 249～269 (2014)
- 6 生産獣医療システム 乳牛編 1 農山漁村文化協会

5 地方病性牛白血病を発症した牛の症例報告

家畜保健衛生所

○岡田真紀、山崎俊雄ほか

牛白血病は牛白血病ウイルス（以下 BLV）が原因の地方病性（成牛型）と原因不明の散発性（子牛型、胸腺型、皮膚型）に分類される。BLV は感染牛の血液、初乳などから水平または垂直感染により伝播する。大多数は無症状のまま経過し、感染牛の数%が地方病性牛白血病（以下 EBL）を発症するとされている。EBL は 4 歳以上で発症することが多く、全身リンパ節や臓器に B 細胞性のリンパ腫を形成し、血液中の白血球数の増加、異型リンパ球の出現が認められる〔1、2〕。牛白血病の発生頭数は全国で年々増加しており、2012 年以降は年間 2000 頭を超えている〔3〕。福井県では年間 1、2 頭の発生だったが、昨年は 4 頭の発症が確認されている。そのうち 3 頭について EBL の病態を調べるために病性鑑定を行ったので、その概要を報告する。

【経過】

症例 1：発生農家は交雑種約 100 頭を飼養する肥育農家である。当該牛は 2014 年 4 月生まれ、交雑種、雌で 2014 年 6 月に県外より導入した。稟告では 2015 年 3 月頃、生後 11 か月齢で眼球の突出が認められたとのことだった。同年 4 月食欲不振、発熱を認めペニシリンを投与するが軟便、固形便を繰り返した。6 月に 14 か月齢で死亡したため、翌日、病性鑑定を実施した。

症例 2：発生農家は搾乳牛約 70 頭をフリーストールにて飼養する酪農家である。当該牛は 2009 年 7 月 14 日生まれ、ホルスタイン種で 2011 年 5 月に県内牧場より導入した。2015 年 1 月、妊娠鑑定時に子宮体部に多数の腫瘤を触知したことから、EBL 発症を疑い、血液検査を実施した。3 月に第四胃変位整復術を受け、リンパ節生検を実施し、再度、血液検査を行った。4 月に予後不良となり 5 歳 9 か月齢で死亡したため、同日、病性鑑定を実施した。

症例 3：発生農家は搾乳牛約 40 頭をタイストールにて飼養する酪農家である。当該牛は 2010 年 2 月生まれ、ホルスタイン種で、2011 年 12 月に県外預託先より導入した。この農家は 2015 年 BLV 清浄化対策を開始し、2 月、6 月、11 月と全頭血液検査を実施した。当該牛は初回 2 月の検査で BLV 抗体陽性を確認している。また、10 月に食欲不振、頸部浮腫を認め、血液検査の依頼があった。この時直腸検査を行ったが、子宮の腫瘤は触知しなかった。12 月に 5 歳 10 か月齢で死亡したため、同日、病性鑑定を実施した。

【材料および方法】

1. 生前の EBL 発症診断

症例 2,3 は生前の EBL 発症を確認するために血清を用いて BLV 抗体検査を牛白血病 ELISA キットにて実施した。血液中白血球数を測定し、EC の鍵判定を行った（表 1）。全血より DNA を抽出し、BLV 遺伝子量をリアルタイム PCR（Takara Cycleave PCR・牛白血病検出用 Probe/Primer/Positive control）で測定した。発症牛の 60% で血液中の BLV 遺伝子量が 100 コピー/ng 以上との報告 [4] があることから、100 コピー/ng 以上を発症の目安とした。

表 1 EC の鍵による判定基準

年齢	血液 1 μ L 中のリンパ球数		
	陰性	偽陽性	陽性
0～1 歳	< 10,000	10,000 ～ 12,000	12,000
1～2 歳	< 9,000	9,000 ～ 11,000	11,000
2～3 歳	< 7,500	7,500 ～ 9,500	9,500
3～4 歳	< 6,500	6,500 ～ 8,500	8,500
4 歳以上	< 5,000	5,000 ～ 7,000	7,000

2. 死亡後の検査

症例 1、2、3 について剖検を行った。症例 1 は胸水を用い、BLV 抗体検査を実施した。EBL 病態の解明のため症例 1、2、3 の脳、主要臓器およびリンパ節より DNA を抽出し、BLV 遺伝子量をリアルタイム PCR で測定した。病理組織検査は主要臓器の HE 染色、免疫染色を CD20 抗体および CD3 抗体を用いて実施した。細菌検査は分離培養を行った。

【結果】

1. 生前の EBL 発症診断

(1) 症例 2：死亡 3 か月前の妊娠鑑定時に子宮付近に多数の腫瘤を触知したことから、EBL 発症を疑い検査を実施した。BLV 抗体は陽性だったが、白血球数は 6,600/ μ L で EC の鍵判定は偽陽性であった。また、死亡 2 週間前のリンパ節の生検で異形リンパ球を認めたが、血液中の BLV 遺伝子量は 60 コピー/ng であり、発症の目安とした 100 コピー/ng 以下であった。以上の結果より、発症の診断には至らなかった。

(2) 症例 3：農場で BLV 清浄化対策を開始した 2015 年 2 月に当該牛の BLV 抗体陽性を確認している。2 月、6 月、11 月の清浄化対策立ち入り時の検査結果および、食欲不振を認め、血液検査の依頼があった 10 月の検査結果を表 2 にまとめた。白血球数は 2 月が最も多く 32,000/ μ L でその後徐々に減少し、11 月には 7,300/ μ L だった。EC の

鍵の判定も 2 月から 10 月までは陽性だったが、11 月には陰転した。血液中の BLV 遺伝子量は 6 月が 146 コピー/ng、11 月が 123 コピー/ng であり、発症の目安とした 100 コピー/ng を超えたが、BLV 遺伝子量に著しい増加は認められなかった。また、10 月には直腸検査を行っているが、子宮および周辺に腫瘍は触知しなかった。以上の結果より、発症の診断には至らなかった。

表 2 症例 3 血液検査結果

	2 月 23 日	6 月 30 日	10 月 19 日	11 月 24 日
WBC/ μ L	32,300	17,600	15,100	7,300
EC の鍵	陽性	陽性	陽性	陰性
BLV 遺伝子量 (コピー/ng)	75	146	NT	123

2. 死亡後の検査

(1) 剖検所見

症例 1、2、3 とも全身リンパ節の腫大など EBL に特徴的な所見を示した。症例 1 は眼球の突出が認められた。脾臓が著しく腫大し、第四胃粘膜面に潰瘍が認められた (写真 1)。症例 2 は肺周辺のリンパ節が著しく腫大し、第三胃、四胃周辺に腫瘍形成が認められた (写真 2)。症例 3 は心臓周辺および子宮粘膜面などの腫瘍と、肝臓の腫大が認められた (写真 3、4)。



写真 1 脾臓の腫大 (症例 1)



写真 2 第三胃周辺の腫瘍 (症例 2)



写真 3 心臓周辺の腫瘍 (症例 3)



写真 4 子宮粘膜面の腫瘍 (症例 3)

(2) ウイルス検査

症例 1 の胸水を用いた BLV 抗体検査は陽性であった。それぞれの臓器中およびリンパ節中の BLV 遺伝子量を表 3 に示した。3 頭の臓器中およびリンパ節中の BLV 遺伝子量は 0.1～85 コピー/ng と既報よりも低値だった。3 頭を比較すると症例 1 の BLV 遺伝子量が多く、症例 2 は著しく低い値を示した (図 1)。また、症例 1 は脾臓の腫大、症例 3 は肝臓の腫大が認められたが、それぞれの BLV 遺伝子量は低値で、病変部位と遺伝子量は必ずしも一致しなかった。

表 3 臓器およびリンパ節中の BLV 遺伝子量(コピー/ng)

	脳	肺	心	腎	肝	脾	リンパ節
症例 1	47	84	24	20	11	16	35
症例 2	0.1	0.7	0.2	1.2	0.6	1.2	27
症例 3	0.3	7.2	56	3.8	0.5	1	85

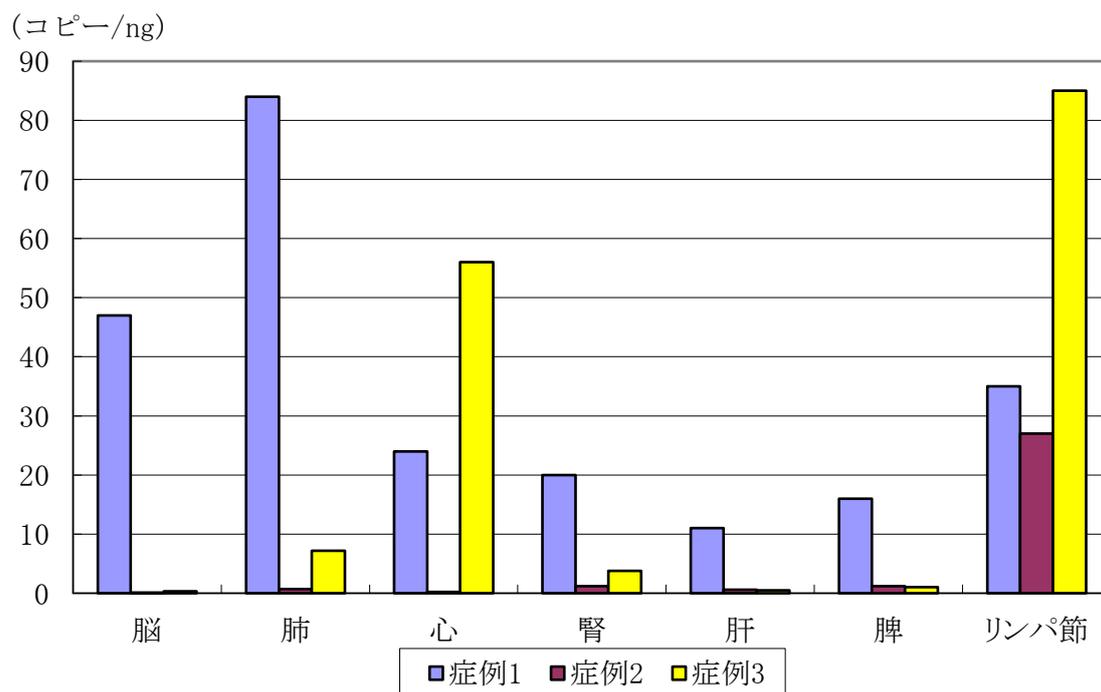


図 1 臓器およびリンパ節中の BLV 遺伝子量

(3) 病理組織検査

3 頭とも HE 染色で組織中に異形リンパ球の著しい浸潤が認められた (写真 5)。しかし、症例 1 は 11 か月齢で眼球の突出が認められたことから、散発性 (子牛型) 牛白血病の可能性があったため、リンパ節被膜の免疫染色を行った。その結果、B 細胞マーカーの CD20 抗体陽性であった (写真 6)。

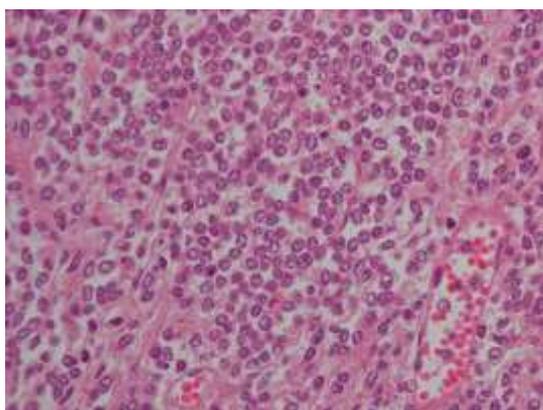


写真 5 心臓 HE 染色

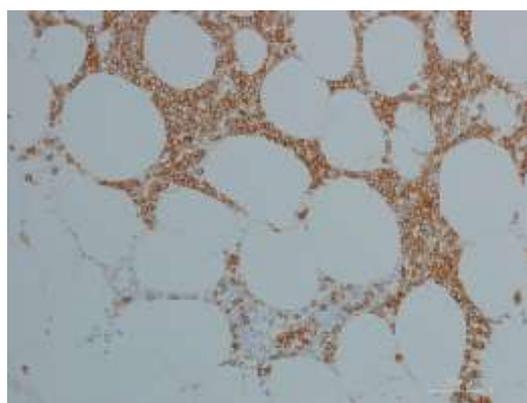


写真 6 リンパ節被膜 免疫染色

(4) 細菌検査

3 頭とも有意な細菌は検出されなかった。

【まとめおよび考察】

以上の結果から 3 症例とも EBL 発症と診断した。しかし、症例 1 は若齢であったこと、症例 2 は血液中の白血球数と BLV 遺伝子量が低値であったこと、また、症例 3 は血液中の白血球数が減少傾向だったことから、3 症例とも非典型的な EBL 発症例であった。そのため、生前の EBL 発症診断が困難であった。EBL の発症診断は一つの検査結果だけで判断するのではなく、視診、触診などの臨床検査に加え、白血球数の測定 EC の鍵、血液中の BLV 遺伝子量の測定を実施し、総合的な判断を行うことが必要だと考える。白血球数増多や体表リンパ節の腫大を示さない症例などでは、白血球ポピュレーションの解析やチミジンキナーゼ活性の測定が、EBL 発症診断の一助となること報告されており [5]、今後これらの検査の実施を検討したい。

EBL の病態を調べるため、臓器中およびリンパ節中の BLV 遺伝子量を測定した。Somura らは、と場で確認された発症牛の 70% で臓器中の BLV 遺伝子量は 100 コピー/ng 以上と報告している [4]。しかし、3 症例とも臓器およびリンパ節中の BLV 遺伝子量は 100 コピー/ng 以下と低値を示した。理由としてウイルスの病原性の強さ、宿主のウイルスへの感受性、死後変化による DNA の分解など様々な要因が考えられるが、今回の検査では明らかにならなかった。しかし、今回の症例が若齢であったり、白血球数が少なかったりするなど、非典型的な発症であったことと、何らかの関連があるのではないかと考える。

また、病変部位と BLV 遺伝子量とは必ずしも一致しないことが明らかとなった。EBL の病態は不明な点が多いため、今後もデータの蓄積を行い病態解明の一助としたい。

謝辞

免疫組織検査の実施にご協力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北海道支所寒地酪農衛生研究領域門田耕一上席研究員に深謝いたします。

引用文献

- [1] 村上賢二：臨床獣医 2011. Jul. Vol. 29, No. 7
- [2] (独) 農業・食品産業技術総合研究機構動物衛生研究所 HP：家畜の監視伝染病
http://www.naro.affrc.go.jp/org/niah/disease_fact/t08.html
- [3] 農林水産省 HP：監視伝染病の発生
http://www.maff.go.jp/j/syouan/douei/kansi_densen/kansi_densen.html
- [4] Yoshiko Somura : Arch Virol (2014) 159:2693-2697
- [5] 木野内久美：日本家畜臨床感染症研究会誌 5 巻 1 号 2010

6 山羊に発生した *Conidiobolus* 属真菌の関与が示唆された播種性 真菌症

家畜保健衛生所

○山崎俊雄、武野侍那子ほか

はじめに

Conidiobolus 属真菌は、熱帯や亜熱帯地域の土壌や腐敗した植物、昆虫に存在する接合菌類ハエカビ目の真菌であり、*Conidiobolus* 真菌症は動物とヒトに認められる接合菌症で、主に *C. incongruus*、*C. lamplauges*、*C. coronatus* などの *Conidiobolus* 属が関与するとされている^{1), 2), 3), 4), 5)}。感染経路は鼻顔部などに皮下感染または経口感染、まれに吸気感染するとされている。組織病変は壊死巣周囲に Splendore-Hoeppli 現象を伴う肉芽腫病変を形成する^{6), 7)}。*Conidiobolus* 属のサイズは種により様々で、サイズが大きい *C. coronatus* で菌糸巾 6~15 μm 、分生子で約 40 μm あるとされている⁸⁾。*Conidiobolus* 真菌症は日本での発生報告はヒトのみで^{9), 10)}、動物での報告は過去にない。

今回、山羊で *Conidiobolus* 属の関与を疑う真菌症が発生し、病性鑑定を実施したので、概要を報告する。

発生状況

発生農場は成山羊 8 頭、子山羊 5 頭を飼養する農家で、発症山羊は日本ザーネン種の雄、5 歳齢で、2014 年 10 月下旬に発咳、下痢を呈して徐々に衰弱し、同年 11 月 19 日死亡した。なお、同居している山羊に臨床症状は認められなかった。

材料および方法

剖検後、病理組織検査として、HE 染色、グロコット染色、PAS 染色およびチール・ネルゼン染色を全身諸臓器について実施した。免疫組織化学検査を、一次抗体に抗 *Aspergillus fumigatus* 抗体 (DAKO)、抗 *Rhizopus arrhizus* 抗体 (DAKO) および抗 *Candida albicans* 抗体 (Biogenesis) を用いて腎臓、心臓、肺および第四胃について実施した。

細菌検査として、培養検査では主要臓器および大脳の凍結生材料を常法により培養した。遺伝子検査では主要臓器および大脳の凍結生材料より、抗酸菌関連遺伝子の検出を実施した。

寄生虫検査として、直腸便を用いて、浮遊法および沈殿法により虫卵の確認を行った。伝達性海綿状脳症検査として、延髄および扁桃を採材し、動物衛生研究所に依頼した。

結果

剖検所見では、顕著な消瘦を認め（写真 1）、右肺の各葉は癒着し、右肺と左肺の後葉が各々壁側胸膜と癒着していた（写真 2）。黄白色に混濁した胸水が貯留し、右肺は各葉が自壊していた（写真 3）。前葉・中葉で直径 15cm の結節が自壊し、後葉で直径 5cm の結節を認めた（写真 4）。心内膜と心外膜に直径 3～5cm の白色結節を多発性に認めた（写真 5）。左右の腎臓表面に直径 0.5～1cm の白色結節を多発性に認め、断面は皮質が白色楔状で、梗塞巣を呈していた（写真 6、写真 7）。胆嚢粘膜面に直径 2cm の結節を認めた（写真 8）。第一胃粘膜面（写真 9）や回腸粘膜面（写真 10）に直径 1～3 cm の白色結節を多発性に認めた。その他、第二胃漿膜面、第四胃粘膜面、結腸漿膜面に直径 1～3cm の白色結節を多発性に認めた。



写真 1 剖検



写真 2 右側胸腔①

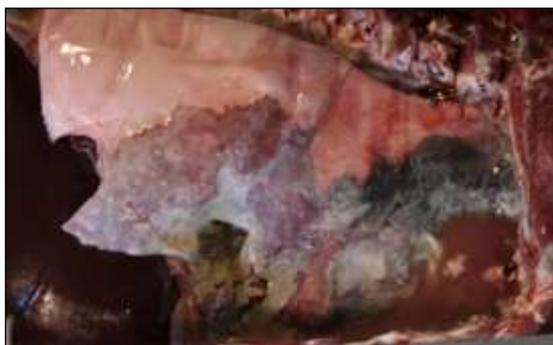


写真 3 右側胸腔②



写真 4 右肺断面(左から後葉、中葉、前葉の順)

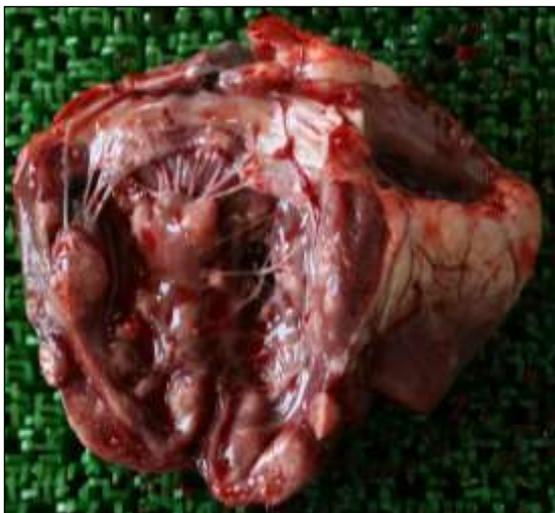


写真 5 心臓



写真 6 左側腎臓（表面）



写真 7 左側腎臓（剖面）

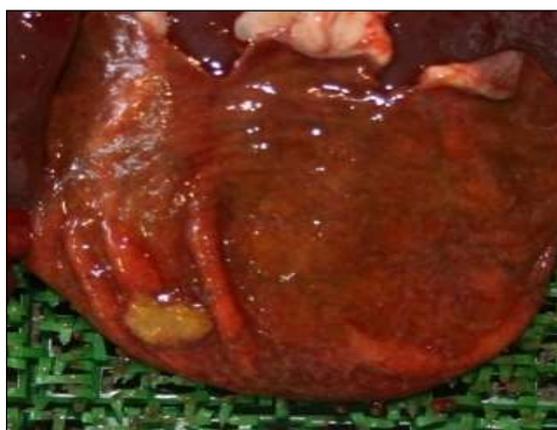


写真 8 胆嚢粘膜面



写真 9 第一胃粘膜面



写真 10 回腸粘膜面

病理組織検査では、第四胃で粘膜下組織に顕著な細胞浸潤と、好酸性様物を認め、結節を形成していた（写真 11）。粘膜下組織に主座する結節性病変は中心部が壊死し、周囲にマクロファージおよび多核巨細胞等が浸潤し、丸い菌糸様構造物の周囲には、Splendore-Hoepli 現象を伴う肉芽腫病変を形成していた（写真 12）。なお、これらの肉芽腫病変は結節を認めた全身諸臓器で観察した。Grocotto 染色では、形態が様々な菌糸様構造物を観察し（写真 13）、菌糸巾は約 $2.5\sim 10\mu\text{m}$ で稀に隔壁を伴い、一部では $20\sim 60\mu\text{m}$ の風船状の分生子を形成していた（写真 14）。その他、HE 染色で、前胃から小腸にかけて線虫寄生および大腸にコクシジウム寄生を認めた。免疫組織化学検査では、*Aspergillus fumigatus*、*Rhizopus arrhizus* および *Candida albicans* の抗原はいずれも検出されなかった。

細菌検査の培養検査では、真菌や有意菌は分離されなかった。遺伝子検査では抗酸菌関連遺伝子は検出されなかった。

寄生虫検査では、直腸便から線虫卵を 32,000EPG 検出した。

伝達性海綿状脳症検査は陰性であった。

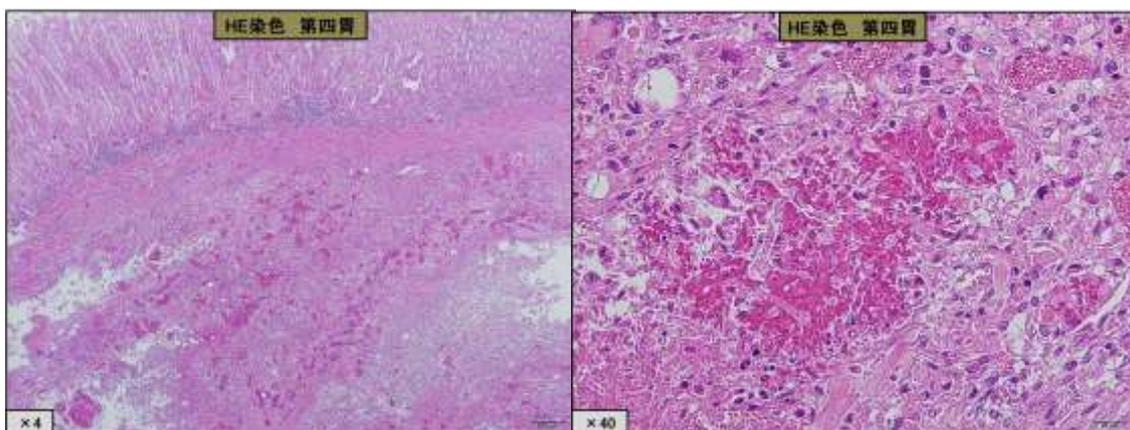


写真 11 第四胃 (HE 染色 ×4)

写真 12 第四胃 (HE 染色 ×40)

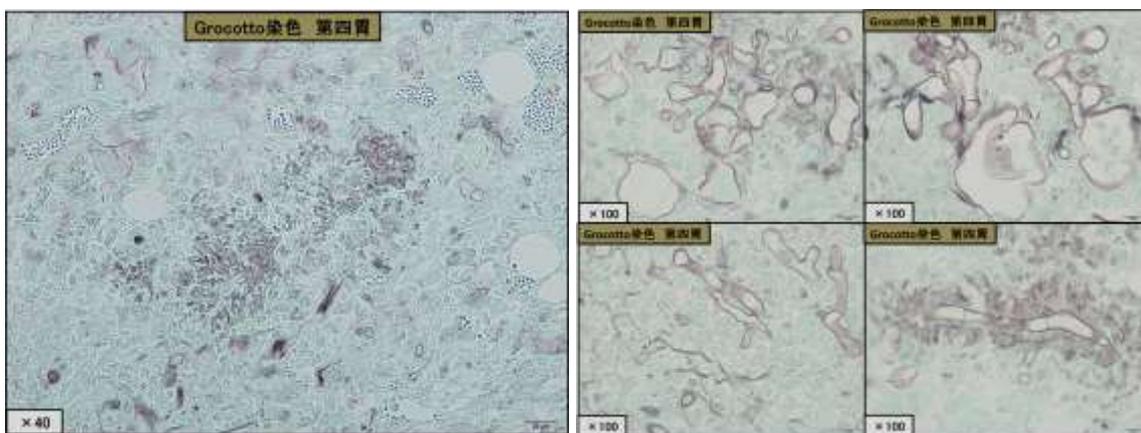


写真 13 第四胃 (Grocotto 染色 ×40)

写真 14 第四胃 (Grocotto 染色 ×100)

以上の検査で、肉芽腫に認められた菌糸用構造物の正体が不明であったため、以下の更なる検査を実施した。

菌糸用構造物の材料と方法

心臓の肉芽腫を認めた部位で透過型電子顕微鏡（TEM）検査を実施し、第四胃の肉芽腫を認めた部位で走査型電子顕微鏡（SEM）検査を実施した。また、腎臓病変部の凍結生材料を用いて DNA を抽出し、真菌の同定の指標となる D1D2 領域を増幅し、相同性解析と分子系統樹解析を実施した。

菌糸用構造物の結果

心臓の TEM 検査では、真菌の壁が二重構造であり（写真 15）、真菌内部には細胞残渣を認め、内壁は薄く、外壁は厚い構造であった（写真 16）。第四胃の SEM 検査では、菌糸体は巾約 $10\mu\text{m}$ の管状で、風船状の分生子は約 $40\mu\text{m}$ であった（写真 17、18）。

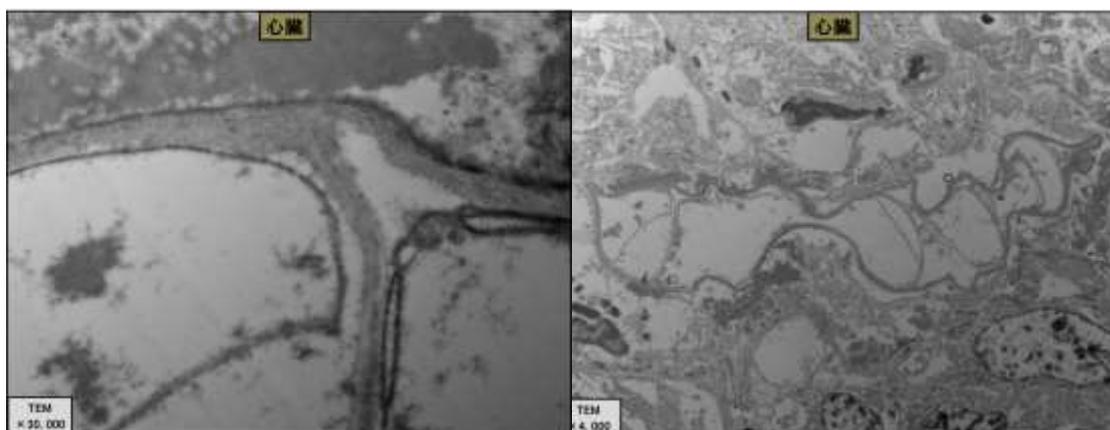


写真 15 心臓（TEM 検査 ×4,000）

写真 16 心臓（TEM 検査 ×30,000）

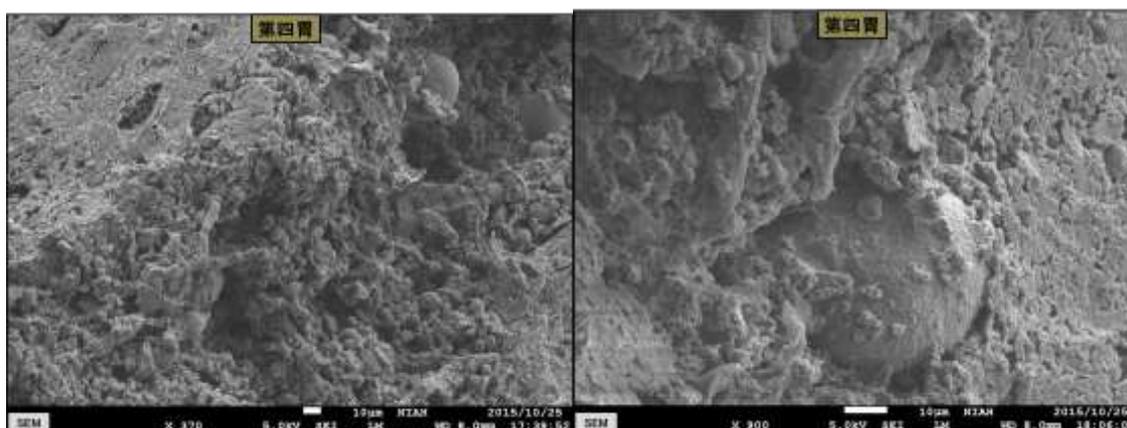


写真 17 第四胃（SEM 検査 ×370）

写真 18 第四胃（SEM 検査 ×900）

遺伝子解析の結果、増幅した DNA は、*Conidiobolus* 属と約 90%の相同性であり、分子系統樹解析では、*Conidiobolus* 属のクラスターに分類された(図)。

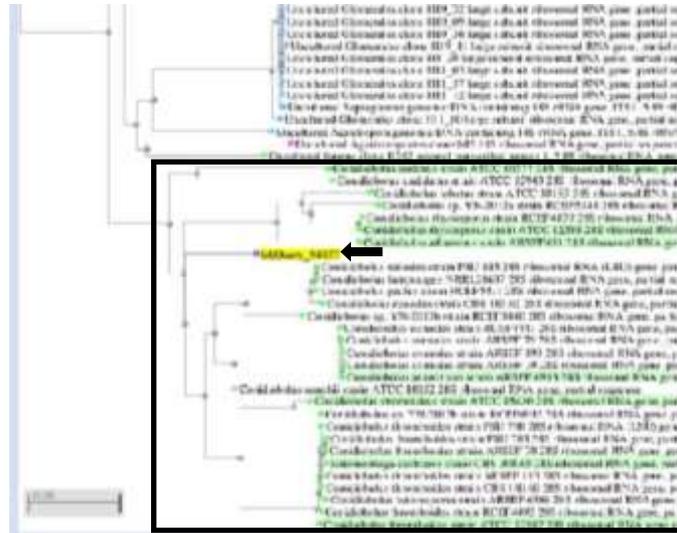


図 分子系統樹(菌糸用構造物を矢印、*Conidiobolus* 属を四角内に示す)

まとめおよび考察

全身で認めた結節性病変は菌糸様構造物を含む肉芽腫病変で、心内膜の結節や腎臓の梗塞巣から判断し、肺を原発として血行性に真菌が播種した全身性の深在性真菌症と考えられ、本症例は線虫およびコクシジウム寄生を伴った *Conidiobolus* 属の関与が示唆された播種性真菌症と診断した。

下表は 2001 年から 2014 年にかけて動物で発生した *Conidiobolus* 真菌症であるが、発症した動物種は犬、羊、鹿、馬などの報告があるが¹¹⁾、山羊での報告は過去に無く、本症例は稀有な症例と思われた(表)。

属種	動物種	発生国	発生年	頭数	病変部位	検査法	経過
<i>Conidiobolus</i> 属	犬	USA	2006	1	肺	C	回復
	羊	トリニダード	2001	1	鼻脳	H,C	安楽死
<i>C. incongruus</i>	鹿	USA	2009	1	播種性	H,P	安楽死
<i>C. lamprauges</i>	羊	ブラジル	2010	9	鼻脳	H,C,P	死亡 or 安楽死
	羊	ブラジル	2009	3	鼻咽喉	C,P	不明
	羊	ブラジル	2006-2012	15	鼻咽喉	H,C,P	死亡 or 安楽死
	羊	ブラジル	2006	6	鼻脳	C,P	死亡 or 安楽死
<i>C. coronatus</i>	羊	ブラジル	2007	60	播種性	H,C	安楽死
	馬	USA	2010	1	鼻	H,C	安楽死
	馬	USA	2003	2	鼻咽喉	H,C	回復

略号 H:病理組織学的, C:培養, P:PCR, -:未実施

表 *Conidiobolus* 真菌症(動物 2001~2014 年)

一般的に真菌症を発症する要因には日和見的な要因が関与するとされており、ヒトでは、悪性リンパ腫や免疫不全症患者が、*Conidiobolus* 真菌症を発症した報告がされている^{9), 10), 12), 13)}。本症例も線虫寄生などがあったことから、日和見的な要因が考えられたが、原因の特定には至らず、さらなる調査が必要と考えられた。また、日本の土壌

には様々な真菌が存在することが報告されており¹⁴⁾、検出頻度は低いが、*Conidiobolus* 属も例外ではない。このことから、発生農場の土壌中にも *Conidiobolus* 属が存在していたことが考えられ、本症例も何らかの要因により *Conidiobolus* 属が吸入され、吸気感染したものと考えられた。

謝辞

多大なる御指導、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木村久美子主任研究員に深謝いたします。

参考文献

- 1) 岡田忠虎. 1971. 九州病害虫会報 17 : 107-110.
- 2) Richard A. Humber., Corrie C. Brown., and Robert W. Kornegy. 1989. *Journal of clinical microbiology*. 27(3) : 573-576.
- 3) R. A. French and C. D. Ashworth. 1994. *Vet. Pathol.* 31 : 120-122.
- 4) R. Busapakum., U. Youngchaiyud., S. Sriumpai., G. Segretain and H. Fromentin. 1983. *Sabouraudia*. 21 : 323-330.
- 5) Anuradha Chowdhary. H. S. Randhawa., Z. U. Randhawa., S. Ahmad., G. Khanna., R. Gupta., A. Chakravarti., and P. Ray. 2010. *Medical Mycology*. 48 : 870-879.
- 6) S. M. M. S. SILVA, R. S. CASTRO, F. A. L. COSTA, A. C. VASCONCELOS, M. C. S. BATISTA, F. RIET-CORREA, AND E. M. S. CARVALHO. 2007. *Vet. Pathol.* 44 : 314-319.
- 7) R. I. MILLER., and R. S. F. CAMPBELL. 1984. *Vet. Pathol.* 21 : 325-332.
- 8) G. S. De Hoog. 2000. *Atlas of clinical fungi. 2nd ed.*
- 9) 土橋 千琴, 植田 清文, 上杉 忠雄, 佐藤 隆夫, 筑後 孝章, 木村 雅友. 2013. 日本臨床細胞学会雑誌. 52(5) : 444-447.
- 10) Masatomo Kimura., Takashi Yaguchi., Deanna A. Sutton., Annette W. Fothergill., Elizabeth H. Thompson., and Brian L. Wickes. 2011. *Journal of clinical microbiology*. 49(2) : 752-756.
- 11) Paige E. Mackey., Katharine G. Cappe., Rinosh Mani., Lana Rothenburg., Deanna A. Sutton., Nathan P. Wiederhold., Jonathan Lindner., Akhilesh Ramachandran., Corey R. Wall., Timothy Snider. 2015. *Medical Mycology Case Reports*8: 24-28.
- 12) Eleanor C. Hawkins., Amy M. Grooters., Elizabeth S. Cowgill., David R. Proulx., Grace M. Davainis., David M. Ruslander., and Carol B. Grindem. 2006. *J. Vet. Intern. Med.* 20 : 1479-1482.
- 13) Nicole Wu ppenhorst., Mi-Kyung Lee., Elfriede Rappold., Gian Kayser., Jan Beckervordersandforth., Katja de With., and Annerose Serr. 2010. *Journal of clinical microbiology*. Nov : 4322-4325
- 14) Katsuhiko Ando. 2012. *Microbiol. Cult. Coll.* 28(2) : 89-98.

7 七面鳥におけるヒストモナス病の発生

家畜保健衛生所

○武田佳絵 葛城肅仁ほか

はじめに

ヒストモナス病は *Histomonas meleagridis* (以下 Hm) の感染によって起こる原虫病で、鶏、七面鳥、クジャクなどキジ目鳥類に発生するが、4 か月齢以内の幼七面鳥に被害が大きく死亡率は 50~100%と言われる¹⁾。鶏は抵抗性が強く、感染しても多くは回復する。Hm が鳥に感染するには、Hm を含有した鶏盲腸虫卵の直接接取、Hm を含む糞便の直接接取、Hm 感染鶏盲腸虫を取り込んだシマミミズの摂取などにより起こる²⁾。

今回、県内の農場で初めて同病を確認したので、概要を報告する。

発生農場

発生農場は採卵用、および、ふれあい農園として、鶏、七面鳥、キジ、クジャク、インコを約 160 羽飼養し、平飼いの鶏舎 7 棟に加えビニールハウス 1 棟でケージを用いて飼育していた。また、山羊を 1 頭飼育していた。

飼料は、市販の成鶏用飼料に飼料米や野菜を自家配合し給与していた。

大雛で導入している採卵鶏は導入元で各種ワクチンを接種済みだったが、その他の鳥は未接種だった。

発生状況

七面鳥 3 羽および鶏 15 羽を平成 27 年 6 月下旬に自身の農場で孵化し、同年 8 月初旬からふれあい用鶏舎の一区画で飼育を開始した。七面鳥 3 羽のうち 1 羽が 10 月 2 日に、1 羽が 10 月 3 日に死亡し、残り 1 羽が衰弱したとのことで 10 月 5 日に農場主から病性鑑定の依頼が入った。依頼日と同日に農場立入をしたところ、衰弱とされた七面鳥 1 羽も死亡したことを確認した。七面鳥と同居する鶏やその他の飼養している鳥に特に異常はみられなかった。この農場では、これまでに鶏コクシジウム病の発生を経験していたことから、血便の有無を確認したが排出は確認されなかった。

発生場所には、餌箱 2 個と飲水用コンテナ 1 個が設置されており、常に飲食が可能な状態となっていた。

敷料としてそば殻を 10 cm 以上の厚さで敷き詰められていたが、当所への通報前に交換しており、敷料の汚染はみられなかった。

病性鑑定

○方法

(死亡七面鳥の検査)

10月5日に死亡した七面鳥1羽を剖検後、常法に従い病理組織検査を実施した。細菌検査は、脳および主要臓器を5%羊血液寒天培地で37℃24時間5%炭酸ガス培養した。ウイルス検査は、インフルエンザ簡易検査、および、盲腸便、脳および主要臓器乳剤を10日齢の発育鶏卵の尿膜腔内に接種し6日間培養、3代まで継代した。寄生虫検査は、死亡七面鳥の糞便内の虫体の確認を行うと共に、飽和食塩水浮遊法により虫卵検査を実施した。遺伝子検査は、脳および主要臓器のDNAを抽出し、Hm、*Tetratrichomonas gallinarum*についてPCRを実施した³⁾。

(同居鶏の検査)

類症鑑別としてロイコトゾーン原虫感染の有無を同居鶏3羽の血液を塗沫鏡検で確認した。また、同居鶏10羽の糞便を直接塗抹法で鏡検し寄生虫卵の有無を確認した。

○結果

死亡七面鳥の剖検時の体重は1.75kgで、外傷や外部寄生虫の寄生は確認されなかった。剖検では、右側盲腸の先端部から中部が膨大し、鞘膜面は斑状に充うっ血し(写真1)、粘膜面に巣状壊死病変が多数形成されていた。盲腸内容は茶褐色泥状から粘液状を呈していた。肝臓において、白色の小豆大から大豆大の菊花状病巣が表層から実質にかけて多発していた(写真2)。胃内容はほとんどみられなかった。

病理組織検査では、盲腸の粘膜上皮から粘膜下組織にかけ変性壊死がみられ(写真3)、多発性に潰瘍を形成していた。病変部には、空砲内にエオジン好性およびPAS陽性に染まるHm原虫を多数認めた(写真4)。Hm原虫は主に粘膜筋板に近い粘膜固有層で多く認めた。十二指腸では粘膜上皮の脱落、また、回腸では脱落した粘膜上皮とともに線虫および細菌塊が散見された。

細菌検査では有意な菌は分離されなかった。

ウイルス検査ではインフルエンザ簡易検査陰性で、また、ウイルスは分離されなかつ



写真1 剖検所見(盲腸)

写真2 剖検所見(肝臓)

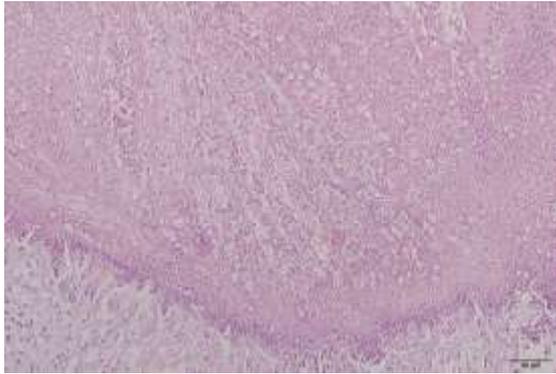


写真3 病理組織(盲腸)

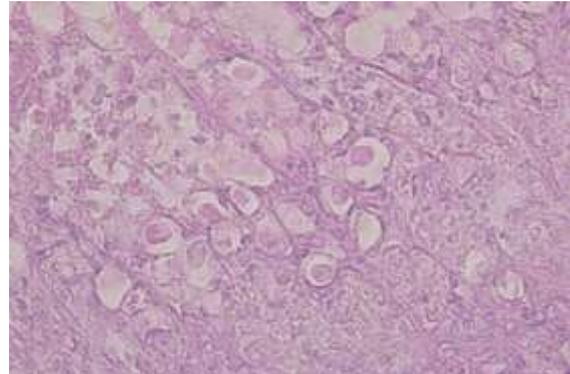


写真4 病理組織(盲腸、PAS染色)

た。

寄生虫検査では、虫体、虫卵およびコクシジウムオーシストは確認されなかった。

遺伝子検査では、病変が見られた肝臓でのみ Hm 特異遺伝子が検出された(写真5)。また、*Tetratrichomonas gallinarum* の特異的遺伝子は検出されなかった。

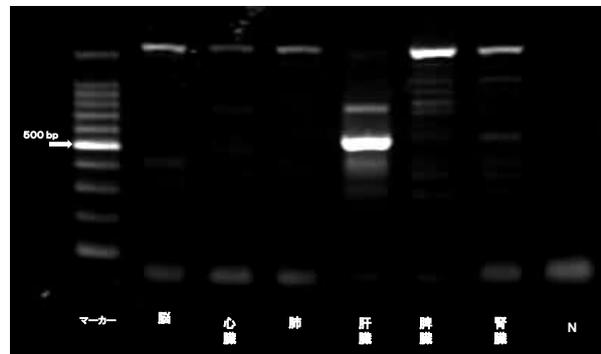


写真5 遺伝子検査(Hm)結果

以上の結果から、七面鳥のヒストモナス病と診断した。なお、同居鶏の検査では、ロイコトゾーンおよび寄生虫卵は確認されなかった。

考察

発生農場で飼育していた七面鳥 3 羽中 3 羽が死亡し、死亡率 100% となった。Hm 病の七面鳥における死亡率は高いことから、残りの 2 羽についても同病を発症していたものと推測された。

本事例の主病変は盲腸と肝臓に形成されていた。Hm の強毒株に感染すると盲腸と肝臓に、弱毒株は盲腸にのみ病変が形成される⁴⁾ことから、本事例は強毒株によるものと考えられた。

コクシジウム等混合感染は確認できず、Hm 単独感染と推測された。同病の好発する幼齢期であったこと、剖検時体重が同週齢の標準体重より少なく^{5,6)}、鶏と比較して多いタンパク等要求量⁷⁾を充足していなかったことが発症の一因と推測された。

本事例では、Hm を媒介するとされる鶏盲腸虫が確認できなかった。国内発生事例でも同様のことが報告されている^{8,9,10,11)}。盲腸虫が確認されない理由として盲腸炎に伴う体外排出が考えられている¹²⁾。本事例では、同居鶏の寄生虫検査においても盲腸虫は確認できなかったが、十分量の検査材料があれば浮遊法により虫卵が確認できた可能性はあった。

自家孵化した七面鳥で発生したことから、発生農場内のいずれかの場所で感染したものと考えられた。Hm の潜伏期間は 7～12 日程度とされており¹³⁾、発病時は発生場所に移動してから約 2 カ月間経過していたことから、発生場所で感染したと考えられた。

今回感染源の特定には至らなかったが、シマミミズの動きが活発になる暖かい時期に発生したことから、シマミミズの関与も念頭において指導をする必要があると考えられた。

これらのことから発生農場への指導、および、県内家きん飼養者への周知を行った。発生農場に対しては、感受性の異なる鳥を混合飼育しないこと、鶏盲腸虫を含む寄生虫の駆除、シマミミズ等の衛生害虫が鶏舎内に入らないようにすること、鶏盲腸虫卵は糞便と一緒に未分裂で排泄され、夏季は 7 日程度で子虫が形成されることから、虫卵が感染能力を獲得するまでに、糞便をできる限り早く撤去すること、Hm の発病誘因の一つとされるコクシジウムの対策を併せて実施することを指導した。また、県内家きん飼養者へは、当所で発行する家保だよりを通じて本事例を紹介し、Hm 病の予防にも有効とされる日頃からの飼養衛生管理を守ってもらうよう改めて周知した。

発生農場では続発はなかったが、再度七面鳥の飼育を希望していることから、通常の飼養衛生管理指導に合わせて寄生虫対策の指導を継続して実施することが必要と考えている。

参考文献

- 1) 板垣四郎ら：家畜寄生虫学10－11
- 2) 笹井和美：ヒストモナス症，カラーマニュアル 鶏の病気 第8版136-139
- 3) E.Grabensteiner et al:Veterinary Parasitology. 142(2006)223-230
- 4) 角田清：黒頭病，鶏病診断 443-449
- 5) 田名部雄一：シチメンチョウ，新編畜産大辞典 1222-1223
- 6) 入江正和：七面鳥・ホロホロ鳥，畜産の研究. 59, 35-39
- 7) 小川博：七面鳥・ホロホロ鳥，家禽学162-165
- 8) 筒井郁ら：鶏病研報. 48, 103-107
- 9) 佐野元彦ら：鶏病研報. 25, 209-213
- 10) 富永潔ら：鶏病研報. 20, 162-166
- 11) 矢野雅之ら：鶏病研報 24, 205-208
- 12) 新美大四郎：ヒストモナス病，黒頭病，家畜寄生虫病診療学 119-126
- 13) 今井壯一：ヒストモナス症，最新家畜寄生虫学病 22-24

8 一酪農家で発生した G8P[14] 遺伝子型ロタウイルス A による

成牛のロタウイルス病

家畜保健衛生所

○岡田真紀、葛城肅仁ほか

【はじめに】

ロタウイルス (RV) は、A~G までのウイルス種が知られているが、牛から検出される RV は A、B および C の 3 種である [10]。RVA は主に子牛に下痢を起こし、RVB および RVC は成牛に下痢を起こす [10]。RVA もまれに成牛に下痢を起こすが、その報告数は少ない

[2, 3, 4, 5, 6, 7, 8]。また、RV には 11 本の分節が存在し、RVA については外郭タンパクである VP7 により G 遺伝子型に、VP4 により P 遺伝子型に分類される [11]。今回、福井県内の一酪農家において G8 [P14] 遺伝子型の RVA による成牛の下痢症が発生したので、その概要を報告する。

【発生の概要】

2014 年 1 月 21 日、搾乳牛 25 頭、未経産牛 1 頭および 6 日齢 (1 月 21 日現在) の子牛 2 頭を飼養する酪農家において、搾乳牛 1 頭に水溶性下痢が発症した。その後 1 月 25 日までに搾乳牛 7 頭および未経産牛 1 頭に軟便~水様性下痢が発症した (図 1)。下痢は 1~2 日で治癒しており、血便や呼吸器症状は認められなかったが、発症牛は食欲不振を示した。飼養牛は県営牧場で育成または北海道より導入していたが、2013 年 4 月以降に導入した牛 9 頭のみが下痢を発症した。それ以前の導入牛および子牛 2 頭は発症しなかった。また、下痢を発症した個体では若干、乳量の低下が認められたとの稟告であったが、農場全体では大きな乳量の低下は認められなかった (図 2)。

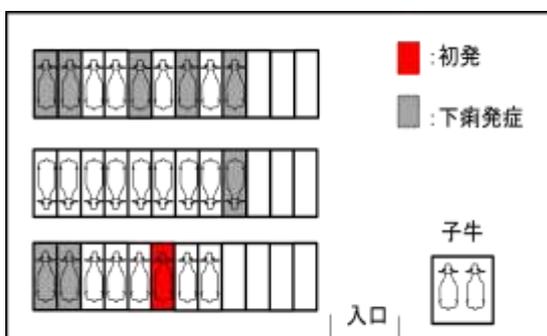


図 1 農場見取り図

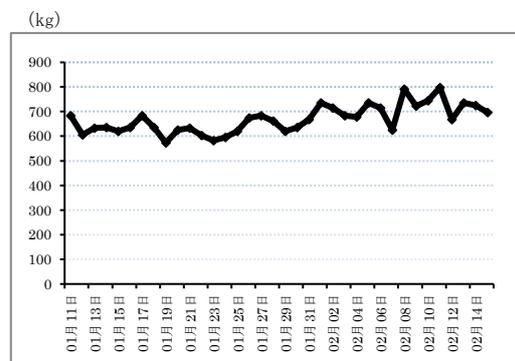


図 2 乳量の変化

【材料および方法】

材料は下痢発症牛 7 頭、未発症牛 7 頭の糞便およびペア血清（子牛 2 頭は pre 血清のみ）を用いた。

1. ウイルス検査

糞便を材料に RVA の簡易検査（ディップスティック“栄研”ロタ）を実施した。次に糞便乳剤より市販のキットを用いて RNA を抽出し、下痢関連ウイルスである RVA、B、C、牛コロナウイルス（BCV）およびトロウイルス（BToV）について Fukuda らの方法〔1〕で RT-PCR を実施し、同じく抽出した RNA を用いて RNA-ポリアクリルアミドゲル電気泳動（RNA-PAGE）を行った。

糞便乳剤を MA104 細胞に接種してウイルス分離を実施し、分離されたウイルスについて RT-PCR を行った。分離されたウイルスのシーケンスおよび分子系統樹解析は東京農工大学および岐阜大学に依頼した。

血清抗体検査は RVA、牛ウイルス性下痢ウイルス（BVDV）および BToV について中和試験を実施し、BCV については赤血球凝集抑制試験を行った。

2. 細菌検査および寄生虫検査

サルモネラ症検査は増菌、分離培養を実施し、ヨーネ病検査はスクリーニング ELISA およびリアルタイム PCR を実施した。糞便の寄生虫検査は浮遊法および沈殿法により虫卵の確認を行った。

【結果】

1. ウイルス検査

RVA の簡易検査および RT-PCR の結果、下痢を発症した 7 頭のうち水溶性下痢を示した 5 頭で RVA 陽性だった。その他ウイルスについては陰性だった。

RNA-PAGE の結果は RVA の簡易検査および RT-PCR の結果が陽性だった 5 検体で RVA の特徴である 4, 2, 3, 2 パターンを示した（写真）。RVB および RVC を疑うバンドは認められなかった。

下痢を示した 7 頭中 5 頭で細胞変性効果が認められ、ウイルスが分離された。分離されたウイルスは RT-PCR およびシーケンスの結果より、同一の RVA であることが明らかとなった。分子系統樹解析の結果、VP7 による遺伝子型は G8、VP4 による遺伝子型は P[14]であった。その他 9 分節については典型的な牛由来 RVA の遺伝子型を示した（図 3）。

血清抗体検査の結果を表 1 に示した。下痢発症牛 7 頭中 5 頭で RVA 抗体価に 2 管以上の動きが認められた。そして成牛の未発症牛はプレ血清ですでに極めて高い抗体価を保有していた。子牛は Pre 血清のみだが、抗体価は高くなかった。その他のウイルスについては抗体の動きは認められなかった。

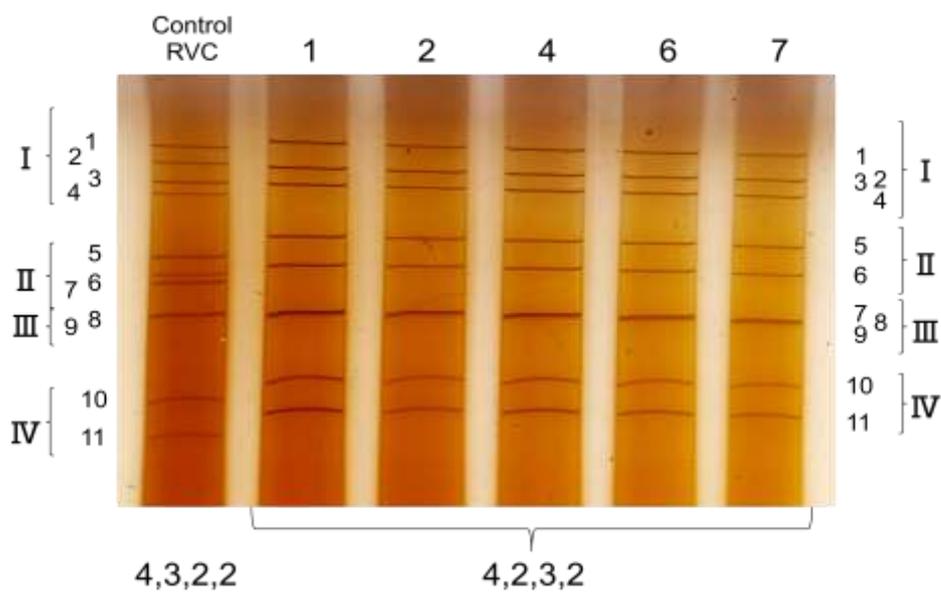


写真 RNA-PAGE の結果

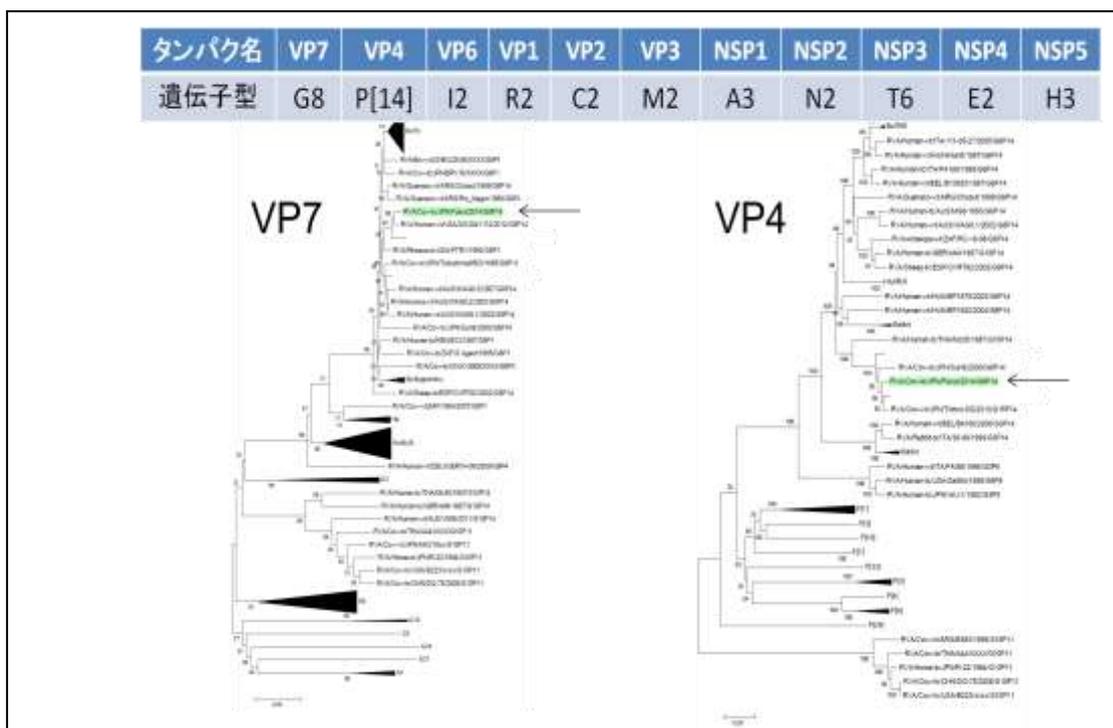


図 3 シークエンスの結果および分子系統樹
(← : 今回分離株)

表 1 血清抗体検査の結果

牛番号	RVA		BToV		BCV		BVDV1		BVDV2		
	Pre	Post	Pre	Post	Pre	Post	Pre	Post	Pre	Post	
下痢発症	1	256	2048	128	512	64	32	<2	<2	8	8
	2	128	512	256	256	128	64	<2	<2	4	4
	3	512	1024	1024	1024	128	128	64	64	16	16
	4	64	128	512	512	64	64	32	32	256	256
	5	8	512	256	256	64	32	<2	<2	<2	<2
	6	128	512	256	256	128	128	<2	<2	<2	<2
	7	128	1024	256	256	64	64	64	64	128	64
下痢未発症	8	4096<	4096<	512	512	32	16	<2	<2	8	8
	9	2048	2048	128	128	64	64	<2	<2	2	<2
	10	4096<	4096<	1024	1024	128	128	64	32	256	256
	11	2048	2048	1024	1024	128	128	<2	<2	8	8
	12	4096<	4096<	256	256	8	4	<2	<2	<2	<2
	子牛	13	64	NT	512	NT	64	NT	128	NT	64
子牛	14	64	NT	256	NT	64	NT	<2	NT	<2	NT

2. 細菌検査および寄生虫検査

サルモネラ症、ヨーネ病ともに陰性であり、寄生虫検査で虫卵は確認されなかった。

【まとめおよび考察】

福井県内の一酪農家において、成牛の下痢症が発生した。これは G8 [P14] 遺伝子型 RVA 単独感染による成牛の下痢症と診断した。2013 年 4 月以降に導入した牛のみが発症し、2013 年 3 月以前に導入した牛は発症しなかった。血清抗体検査では発症牛 7 頭中 5 頭で RVA 抗体価の動きが認められた。未発症牛は pre 血清ですでに極めて高い抗体価を保有していたことから、過去に RVA が当該農場に侵入していたことが明らかとなった。子牛は RVA 抗体価が低かったが発症しなかった。

今回の症例を含めた日本国内の RVA による成牛の下痢症の報告 [2, 3, 4, 5, 6, 7, 8] を表 2 に示した。8 例中 6 例が成牛のみの発症であり、子牛の発症が認められたのは 1 例だけであった。今回、子牛が発症しなかったことについて、成牛と子牛のウイルスに対する感受性の違いなどが考えられるが、原因は明らかとならなかった。しかし、これらの報告からも子牛に下痢を起こさない株が存在する可能性が示唆された。

今回の症例から分離された RVA は G8 [P14] 遺伝子型であった。牛から検出される RVA の遺伝子型は G6 と G10 が一般的である [10]。しかし、Fukai らの報告 [9] で G8 遺伝子型が最も多く検出された年があることから、G8 遺伝子型が広く野外に浸潤している可能性がある。成牛の下痢症の報告では G8 遺伝子型が 4 例あり、そのうち 3 例が G8P[14] 遺伝子型であった。このことから G8 [P14] 遺伝子型は成牛の RV 病の主要な遺伝子型である可能性が

示唆された。

表 2 国内の RVA による成牛の下痢症

発生年	発生県	遺伝子型	子牛の発症
1997	栃木	G8P[1]	なし
2001	秋田	G6P[1]	なし
2006	埼玉	G8P[14]	なし
2007	栃木	G8P[14]	なし
2008	富山	G6P[11]	不明
2010	福井	G6P[11]	あり
2013	鳥取	G15P[14]	なし
2014	福井	G8P[14]	なし

【謝辞】

分離した RVA のシーケンスおよび分子系統樹解析にご協力いただきました、東京農工大学および岐阜大学の諸先生方に深謝いたします。

【引用文献】

- [1] Fukuda M et al : Arch. Virol, 157(6) 1063-1069.
- [2] 福田昌治ら：平成 18 年度埼玉県家畜衛生業績発表集録 23-29 (2006)
- [3] 神吉武ら：平成 20 年富山県畜産関係業績発表集録 36-38 (2008)
- [4] Sato M et al. : J. Clin. Microbiol. 35, 1266-1268 (1997)
- [5] 三竹博道ら：平成 22 年度福井県畜産技術業績発表集録 (2010)
- [6] 小沼成尚：日獣会誌 56 245-248 (2003)
- [7] 増田恒幸：平成 25 年度鳥取県畜産技術業績発表集録 (2013)
- [8] Fukai et al. : Vet. Microbiol, 20, 123(1-3), (2007)
- [9] Fukai et al. : Veterinary Microbiology 86 343-349 (2002)
- [10] 牛病学 第三版 近代出版 237-239
- [11] Matthijnsens, J. et al. : Arch. Virol. 156, 1397-1413