

令和元年度
福井県畜産技術業績発表集録
(第1部・第2部)



健康長寿な福井です。

令和2年10月

福井県家畜保健衛生所

目 次

第1部

- 1 黒毛和種受精卵を受胎した乳用牛ホルスタイン種の妊娠期間について
宮谷正巳・・・1
- 2 県内2例目豚熱発生養豚場における防疫対応
小林崇之・・・5
- 3 豚熱発生で見えてきた発生農場における防疫対応の問題点
朝倉利江・・・9
- 4 福井県における野生いのししの豚熱浸潤状況調査
西川清文・・・13

第2部

- 5 県内で発生した豚熱の病性鑑定結果および検査方法の検討
清水誠也・・・19
 - 6 県内1養豚場における豚レンサ球菌症発症豚由来 *Streptococcus suis* の
清浄検査
田中知未・・・29
 - 7 *Trueperella pyogenes* 感染を伴う山羊関節炎・脳脊髄炎の一症例
武田佳絵・・・34
-
- ◎ 第61回全国家畜保健衛生業績発表会選出演題
- 第61回東海北陸ブロック家畜保健衛生業績発表会選出演

1 黒毛和種受精卵を受胎した乳用牛ホルスタイン種の妊娠期間について

嶺南家畜保健衛生センター 宮谷正巳 生水誠一

はじめに

乳用牛ホルスタイン種（乳用牛）の妊娠期間は、精液がホルスタイン種の場合 280 日と言われている[1]。本県では、乳用牛に黒毛和種受精卵（受精卵）移植を希望する農家が多い。そこで、乳用牛に受精卵を移植した際の妊娠期間に関する文献を調べたところ、それに関する報告が少ないことがわかった。母牛の死廃事故において分娩が関わることが多い報告[2]もあり、妊娠期間の傾向や妊娠期間に関与する要因を調べることは分娩管理の労力や死廃事故を減らす可能性があることから、調査を実施した。

材料および方法

調査期間は平成 21 年度から平成 30 年度とし移植日で年度を区分した。調査対象は、乳用牛に受精卵を移植した移植日とその受精卵産子が生まれた分娩日が分かっている 573 例。調査方法は、調査期間の年度推移とともに①分娩経験の有無、②子牛の性別、③移植する子宮角、④受精卵の発育ステージ、⑤発情日からの移植日、⑥種雄牛、⑦農家別の 7 項目で比較した。

妊娠期間は発情日を 0 日とし分娩までの日数で算出、発情日が分からぬ場合は、発情出血を基準に算出したが、発情出血は発情後 2 日と判断した[1]。

結果

期間内の平均は 287.5 ± 6.2 日で、 284.07 ± 6.5 日から 289.3 ± 5.1 日の間を推移した（図 1）。

①分娩経験の有無で調べたところ分娩の経験がない未経産と分娩の経験がある経産で比較したところ、未経産は 287.1 ± 6.5 日、経産は 287.6 ± 6.2 日となり経産のほうが 0.5 日長くなる結果だが有意差はなかった（図 2）。

②子牛の性別で比濁したところ、雌で 286.5 ± 6.2 日、雄で 288.1 ± 6.3 日となり雄のほうが 1.6 日長い ($p < 0.01$) 結果となった（図 3）。

③移植する子宮角では、左側で 287.1 ± 6.3 日、右側で 287.6 ± 6.2 日となり有意差はなかった（図 4）。

④受精卵の発育ステージ別に見てみると後期桑実胚で 287.5 ± 6.2 日、初期胚盤胞で 286.2 ± 5.4 日、胚盤胞で 287.7 ± 6.6 日、拡張胚盤胞で 286.3 ± 6.8 日で各ステージによる有意差はなかった（図 5）。

⑤発情日を 0 日とし、その発情日から移植を行った移植日による違いは、DAY 8 が DAY 7 より 1.7 日長い結果 ($p < 0.05$) となった（図 6）。

⑥ 種雄牛を気高系、但馬系、藤良系で分類して比較したところ但馬系が平均 289.3 ± 6.7 日となり気高系の平均 286.6 ± 5.7 日より 2.7 日、藤良系の平均 286.5 ± 6.2 より 2.8 日長い結果となった（図 7）。系統別をさらに細かく種雄牛で比較した。気高系で一番長い日数となったのは幸忠栄で平均 292.1 ± 5.1 日で一番短い百合勝安の平均 282 ± 4.2 日より 10.1 日の日数差があった。同じように但馬系では、一番長い安福久で平均 296.1 ± 4.6 日、一番短い北平安で平均 287.4 ± 7.3 日で 8.7 日の差があった。

藤良系でみると、芳之国が一番長く平均 287.3 ± 6.5 日、一番短い北晴茂で平均 284.8 ± 7.3 日で 2.5 日の差があるなど系統の中でも違いがみられた（図 8、9、10）。

⑦農家別で比較したところ、長い農家で 290.5 ± 6.9 日、短い農家で 282.3 ± 7.3 日と 8.2 日の差がみられた（図 11）。そこで、先述のように種雄牛による有意差があることを踏まえ種雄牛の系統別で調べてみたところ（図 12）のうように各農家で割合が異なっていた。

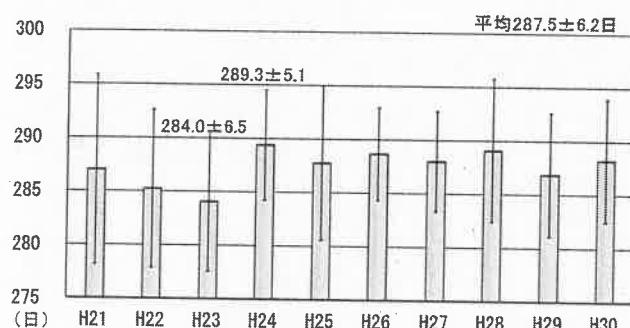


図 1 年度別推移

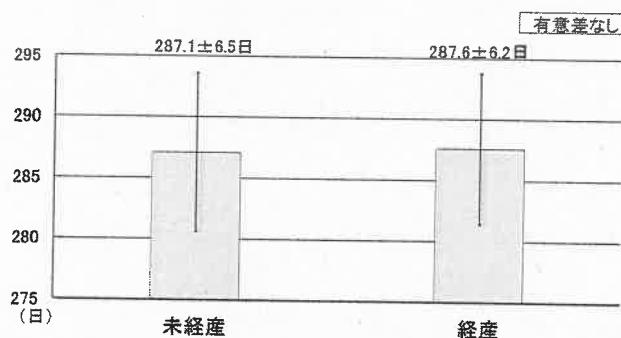


図 2 分娩経験の有無

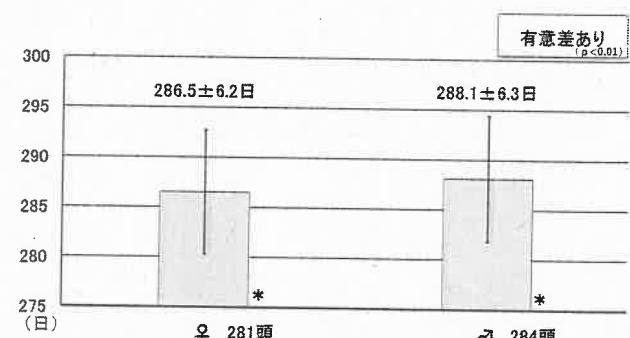


図 3 子牛の性別

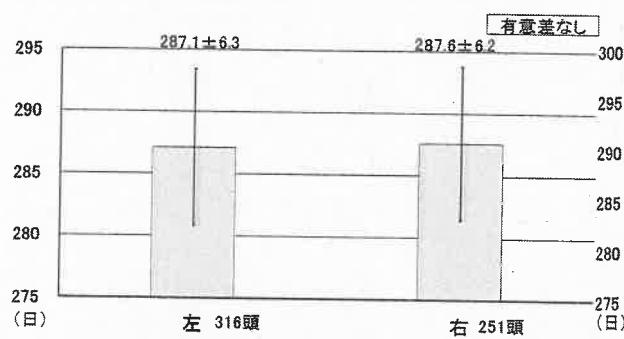


図 4 移植する子宮角

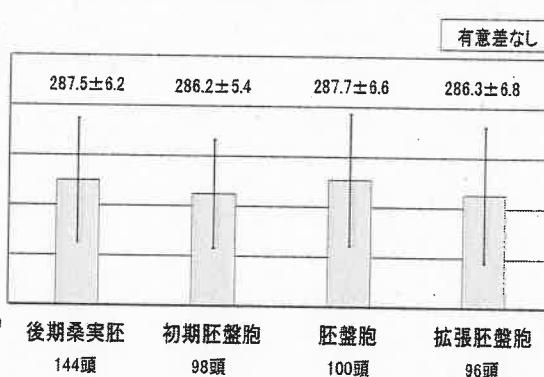


図 5 発育ステージ

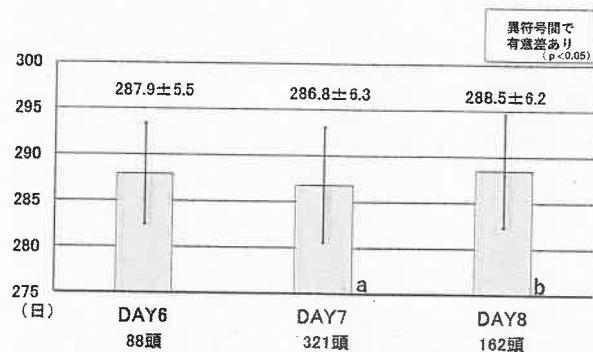


図6 発情日からの移植日

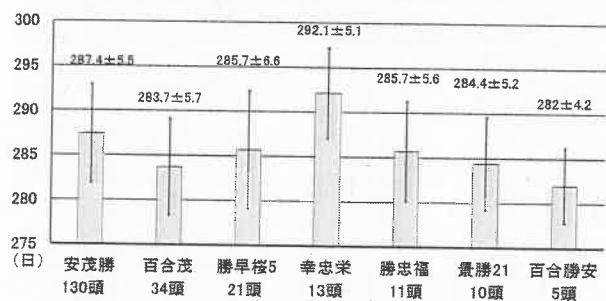


図8 種雄牛 気高系

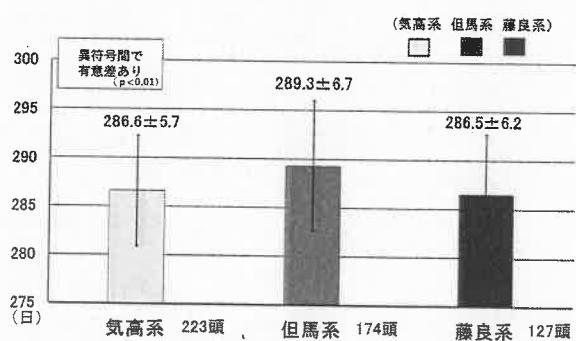


図7 種雄牛系統別

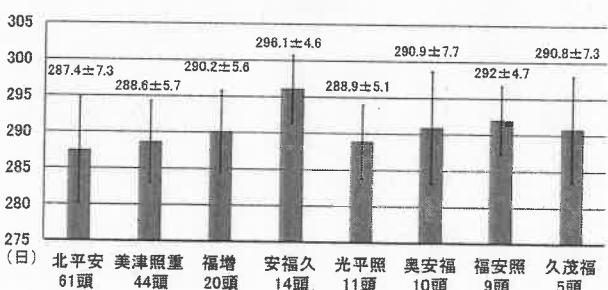


図9 種雄牛 但馬系

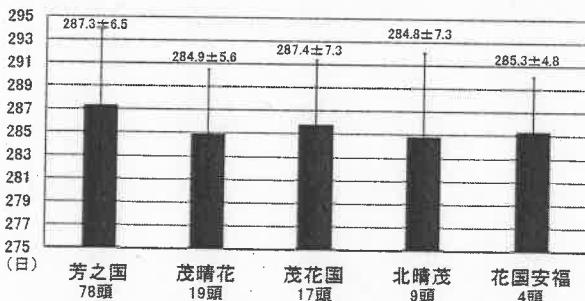


図10 種雄牛 藤良系

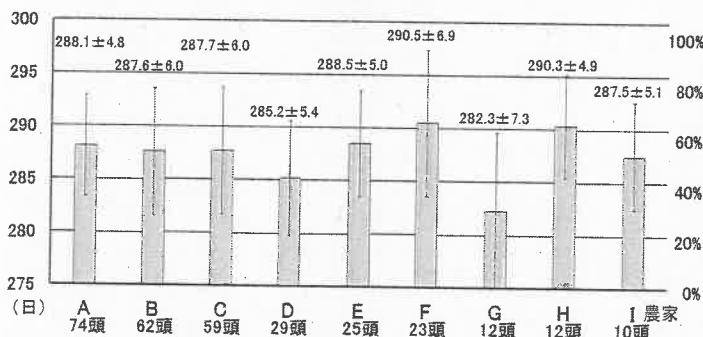


図11 農家別妊娠期間

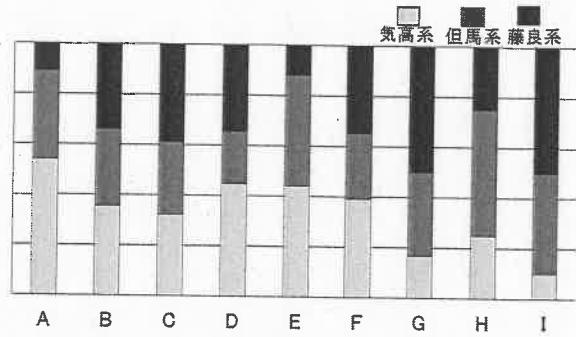


図12 農家別種雄牛の割合

まとめ

受精卵を移植した乳用牛ホルスタイン種の妊娠期間は平均 287.5 日であり、ホルスタイン種を人工授精した場合の妊娠期間 280 日より長く、肉用牛黒毛和種の人工授精の妊娠期間 285 日よりも長い結果となった。近年では、黒毛和種の妊娠期間は長期化

している報告[3]があることから、受精卵の妊娠期間は母体の品種より受精卵の品種が影響することが推察された。妊娠期間に影響を与える要因は、子牛の性別、発情日からの移植日、種雄牛、農家が考えられたが、その中でも種雄牛やその系統の関与が大きいことが推察された。農家間での違いには、移植された種雄牛の系統による割合の差が影響していると推察したが、今後は各農家の飼養管理等を調査し、データを蓄積して検証する必要がある。

引用文献

- [1] 小笠晃. 動物臨床繁殖学 朝倉書店.
- [2] 平成 28 年度家畜共済統計表
- [3] 波平知之. 高橋憲司. 仲村一郎. 赤嶺光. 2011. 日暖畜報 54 (2) 189～194

2 県内2例目豚熱発生養豚場における防疫対応

福井県家畜保健衛生所 小林崇之 横田昌己

はじめに

豚熱とは、ラビヴィルス科ペスキウイルス属 CSF ウィルスが原因の豚およびいのししに感染を引き起こす家畜伝染病である。日本では、平成4年度熊本県での発生以降、新たな発生はなく、平成12年度豚へのワクチン接種原則中止を経て、平成19年4月1日OIEの定めるCSF清浄国に指定された。しかし平成30年9月に国内養豚場にて26年ぶりのCSFの発生を確認し、以降野生いのしし等を介し日本各地へ感染地域を拡大している。福井県では、令和元年7月、8月に県内養豚場にて豚熱発生を確認し防疫措置を実施した。今回、8月に発生した県内2例目豚熱発生養豚場の一連の防疫対応について報告する。

発生農場の概要

当該農場は、福井県越前市の山間に位置するA養豚場である。飼養頭数は約700頭、豚舎は真ん中の通路を挟んで、種豚舎（母豚、種豚）、分娩舎（母豚、0～40日齢豚）、離乳子豚舎（40～90日齢）、肥育舎1（90～120日齢）、肥育舎2（120～180日齢）の5棟で構成、その他堆肥舎が2棟設置されていた。豚舎は水田に囲まれていたが、野生動物侵入防止の観点から、衛生管理区域に沿ってワイヤーメッシュによる1重柵が設置されていた（図1）。

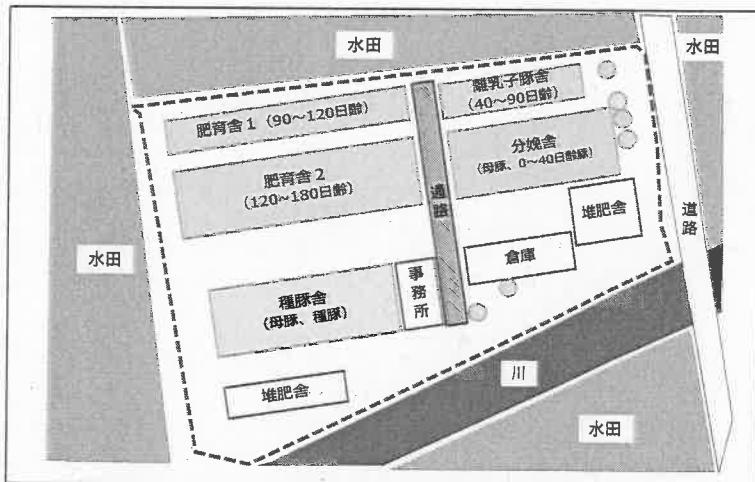


図1 農場周囲図

発生までの経緯

令和元年7月5日、福井県大野市で捕獲された野生いのししで遺伝子検査を実施したところ県内初の豚熱陽性を確認した。7月7日、農場より800mの山中で捕獲された野生いのししで遺伝子検査による豚熱陽性を確認し、当該農場は監視対象農場に指定された。さらに7月28日に農場より半径2km圏内の養豚場で遺伝子検査による豚熱陽性が

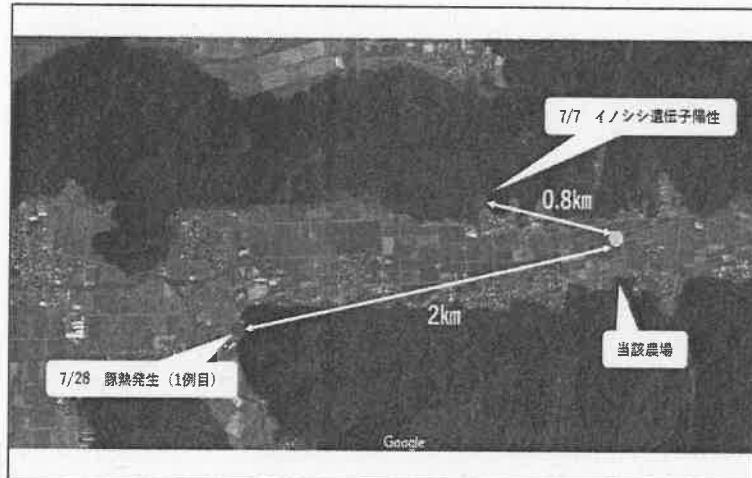


図2 発生までの経緯

確認（1例目）され移動制限区域に指定された（図2）。1例目の発生に伴い発生状況確認検査（30頭）を実施したところ、30頭全てで遺伝子検査陰性を確認した。

8月2日、肥育舎2の肥育豚が1頭死亡したと農場主より通報があった。立入検査を実施したところ特に異常は認められず、死亡豚および同居豚10頭で遺伝子検査により豚熱陰性を確認した。3日にも肥育豚1頭死亡と通報があったが腐敗がひどく検査不可と判断した。

8月11日、母豚1頭死亡と通報があり、立入検査を実施したところ複数の個体で食欲不振が認められたが、その他の顕著な症状は見受けられなかった。遺伝子検査を実施したところ、死亡豚1頭および同居豚（6/17頭）において陽性、また抗体検査の結果、同居豚において陽性（1/17頭）を確認したことから豚熱疑似患畜と確定した。

疫学調査

8月12日7:00から疫学調査のための採材を実施した。豚からは、各豚舎まんべんなく採材するように計75頭から採血を実施した。環境からも同様に各豚舎まんべんなく採材を実施し、計50ヶ所から採材を実施した。遺伝子検査の結果、種豚舎0.0%（0/15頭）、分娩舎25.0%（3/12頭）、離乳子豚舎16.7%（3/18頭）、肥育舎0.0%（0/15頭）、肥育舎2 0.0%（0/15頭）であり全頭の陽性率は、8.0%（6/75頭）であった。抗体検査の結果はすべて陰性であった。環境採材の遺伝子検査の結果はすべて陰性であった（表1）。同居豚検査及び疫学調査の結果から、ウィルスは7月中旬から下旬にかけて種豚舎から侵入したと推定された。

防疫措置

防疫作業1日目（8月12日 20:00～13日 8:00）今回の防疫措置は、熱中症予防の観点から夜中の作業となった。作業は動線を考慮し、電殺場所を2ヶ所

表1 疫学調査結果

<同居豚検査>		
	遺伝子検査	抗体検査
種豚舎	35.3% (6/17頭)	5.9% (1/17頭)
<疫学調査>		
	遺伝子検査	抗体検査
種豚舎	0.0% (0/15頭)	0.0% (0/15頭)
分娩舎	25.0% (3/12頭)	0.0% (0/12頭)
離乳子豚舎	16.7% (3/18頭)	0.0% (0/18頭)
肥育舎1	0.0% (0/15頭)	0.0% (0/15頭)
肥育舎2	0.0% (0/15頭)	0.0% (0/15頭)
合計	8.0% (6/75頭)	0.0% (0/75頭)
環境	0.0% (0/50ヶ所)	

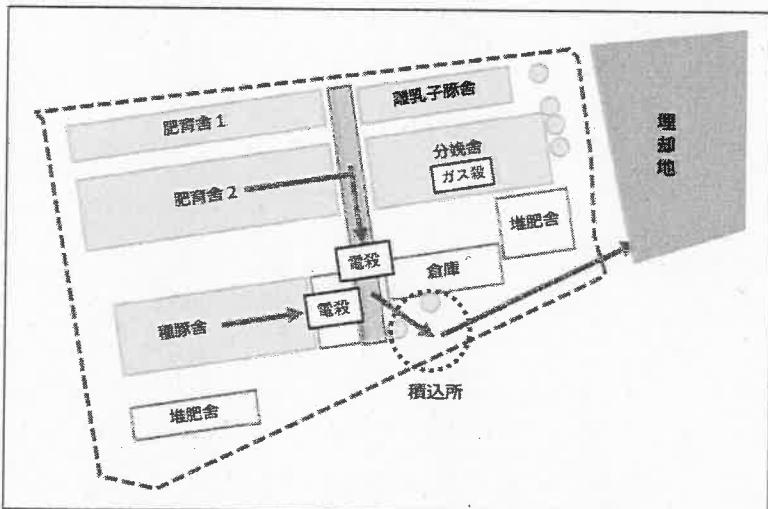


図3 殺処分動線①

設置、殺処分は感染の確認された種豚舎から始動することとした。種豚舎の母豚および肥育舎2の肥育豚は、電殺場所まで誘導後電殺、同時に分娩舎の新生子豚のガス殺を実施した(図3)。殺処分した死体は、積込所に搬出後、フレコンバックに投入後フォークリフトにて埋却地へ運搬した。この日のうちに種豚舎の全頭殺処分を終了した。

防疫作業2日目(8月13日20:00~14日8:00)

豚舎の構造上、電殺場所が1ヶ所しか設置できなかつたため、一部の豚には薬殺による殺処分を導入した。肥育舎2の肥育豚および分娩舎の母豚は電殺場所まで誘導後電殺、離乳仔豚舎の子豚は座位保定し薬殺、肥育舎1の肥育豚は鎮静剤投与後薬殺を実施した(図4)。前日同様、殺処分した死体は積込所に搬出後、フレコンバックに投入しフォークリフトにて埋却地へ運搬した。14日7:06に全頭の殺処分を完了した。

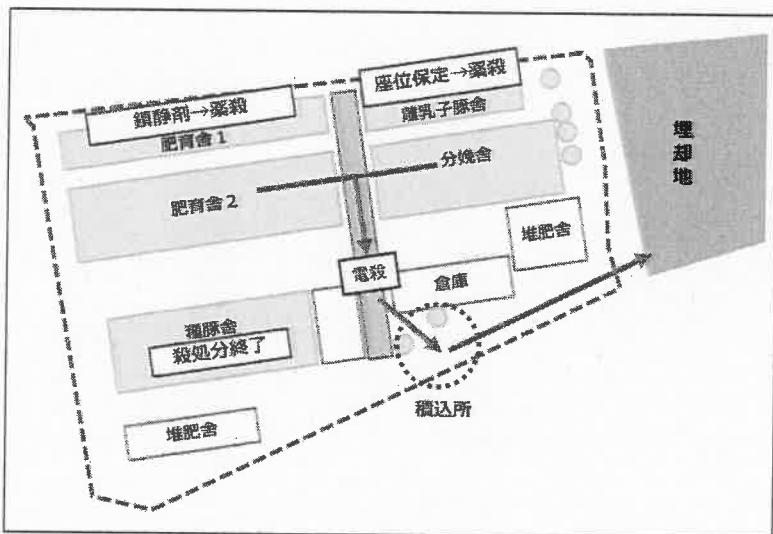


図4 殺処分動線②

防疫作業3日目(8月14日20:00~15日3:00)

台風10号の影響で作業時間を短縮した。汚染物品の処理、堆肥の清掃及び消毒薬による洗浄を実施した。洗浄中に停電が発生し復旧に時間を要した。また洗浄が完了した豚舎から石灰散布を実施した。15日2:40 すべての豚舎の清掃を完了した。

防疫作業4日目(8月16日9:00~17:00)

浄化槽及び固液分離装置の封じ込め作業、埋却作業および消毒作業を実施した。

16日16:30 埋却完了、16:34 消毒完了しすべての防疫処置が終了した。

表2 動員数

	県職員	市町・JA	国	民間	計
8/12~13	187	6	6	10	213
8/13~14	189	6	6	10	215
8/14~15	174	2	2	10	196
8/16	37	0	0	3	40
計	587	14	30	33	664

防疫作業の概要

作業日数に要した日数は延5日間、殺処分頭数は688頭、動員数は県職員、市町・JA、国、民間合わせて延664人になった（表2）。

まとめ

今回の防疫対応は、8月であったことから夜間を中心に作業を行った。1例目の経験から、夜間の豚舎は暗く作業が難航すると考えられたことから、事前に投光器を豚舎内に設置することとした。その結果、夜間の作業環境が改善し作業効率が向上した。当初、殺処分作業中の死体の搬出は複数人で行う予定であった。しかし豚舎内の通路は狭く、死体の搬出に時間がかかることが想定された。そこで搬出作業を少人数で行うことが出来るよう、現場にて急遽ワイヤーロープを作成することで搬出作業の負担軽減につなげた。汚染物品の処理作業では、豚舎内の給餌器からすべての飼料を搬出しないといけない。給餌器から飼料を搬出するためには、小型のシャベル等の道具が必要である。しかし今回の防疫作業ではこれらの道具がなかった。このため、職員が現地にて即席のシャベルを作成し、汚染物品の搬出作業に取り組み作業を終了させることができた。このように今回の防疫作業では当初想定していない様々な事例が起きたが現地の職員で臨機応変に対応することができた。

しかし防疫作業3日目の消毒洗浄中に停電が発生し復旧に時間を要した。当該農場の豚舎には、コンセントやコードリールが多数存在している。今回の停電は、それら電気系統の位置を把握しておらず洗浄中の水が浸水してしまったことが原因であった。また配電盤も複数存在し、現地の職員のみでは復旧できず畜主の応援が必要であったことが時間を要した原因であると考えられた。これらのことから、事前の情報収集の1つに電気系統の情報を加える必要があると考えられた。また今回の防疫作業では、豚舎の構造上全ての豚舎が1つの通路でつながっていたため、電殺箇所を複数設けると、殺処分時の死体の搬出が効率的に行きたいことが想定された。このため2日目以降の電殺箇所は1ヶ所としたが、逆に殺処分作業の速度低下が問題視された。そこで殺処分作業の効率化を考慮し、40～120日齢の豚に対し座位保定および鎮静剤投与後の薬殺を導入することとした。その結果電殺と薬殺を同時に進行することで、殺処分作業の効率化を図ることができ、2日間で殺処分を完了させることができた。しかし、座位保定からの薬殺は豚の鳴き声やうめき声等で一般動員者の精神的負担が大きく、離脱者が多数発生する事態となった。このため、座位保定からの薬殺を活用する場合は、一般動員者の配置に配慮し、畜産経験者を中心とした配置にするなどの注意が必要であると思われる。また今回以上の規模で発生した場合は農場等の構造を考慮してトラック等を用いたガス殺などの検討が必要であると思われるが、事前準備なしで実施するのは非常に困難であると思われた。今後は、様々な事例を想定したシミュレーションを実施し、農家毎の防疫マニュアルの再整備を行い、今後の防疫作業の円滑な進行の一助にしたい。

3 豚熱発生で見えてきた発生農場における防疫対応の問題点

家畜保健衛生所 朝倉利江 小林崇之

令和元年6月に福井県境10km以内の岐阜県内で豚熱陽性の野生いのししが確認された。続けて、県内では、7月に大野市で2頭、越前市で1頭、陽性いのししが確認された。これを受けた防疫対策を強化したが、7月と8月に越前市の2戸の農場において豚熱の発生があった(図1)。この2件の発生に伴い実施した防疫対応の中で見えてきた問題点とその後の対策について報告する。

1) 概要

1例目と2例目は陽性いのししから1.5kmおよび0.8kmの山間に立地していた。陽性いのしし確認に伴い監視対象農場となり、毎日、豚の状況について家畜保健衛生所(家保)へ報告がなされていた。

異常通報日の病性鑑定立入時に1例目では典型的な豚熱の症状が確認された(図2、図3)が、1例目は顕著な症状は確認されなかった。

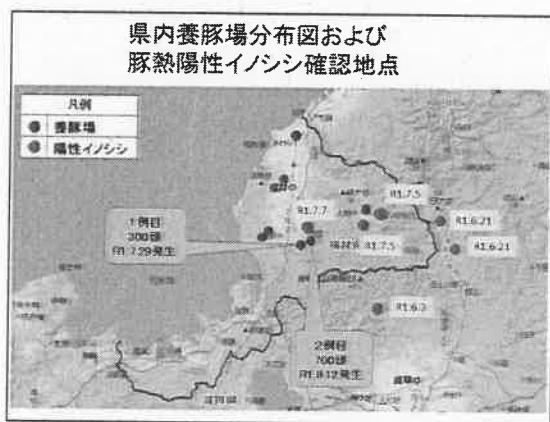


図1 養豚場分布図および
野生いのしし豚熱陽性地点

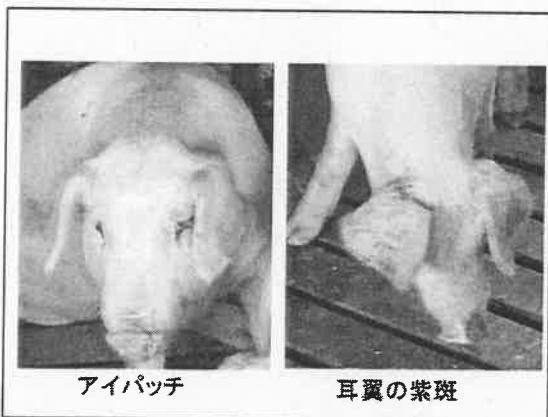


図2 1例目の豚熱症状 1



図3 1例目の豚熱症状 2

農場における一般的な防疫対応は、豚熱確定後、豚の殺処分を実施、死亡豚および畜舎や堆肥舎等にある汚染物品の埋却が行われ、その後清掃・消毒により完了する(図4)。しかし、1例目では豚舎床下に滞留している糞尿を搬出するスクレッパーが故障しており、滞留している糞尿の搬出・埋却ができなかつたため、封じ込め措置を実施することとした(図5)。

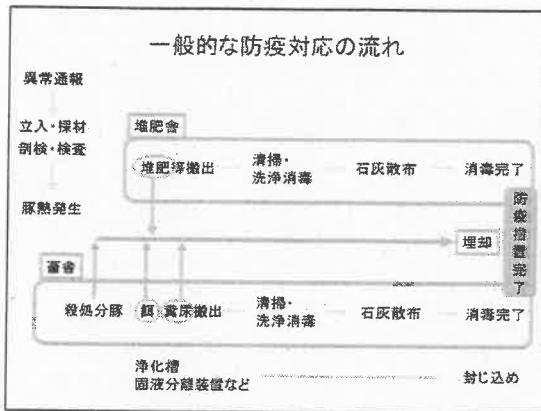


図4 防疫対応の流れ

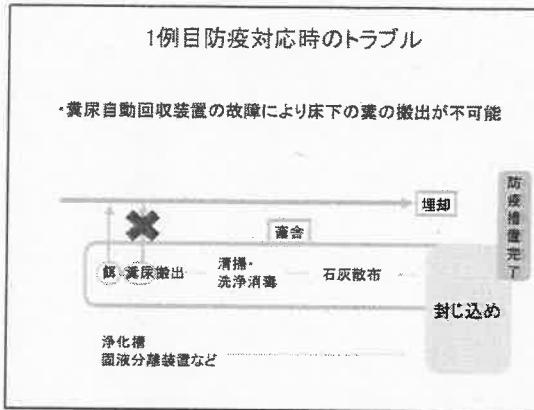


図5 1例目の防疫対応で選定した方法

封じ込め措置実施は事前に国と協議が必要となる。そこで、現状確認を含め、協議用の資料収集を実施した。協議後、畜舎内封じ込めおよび浄化槽等の封じ込めを実施した(図6)。

2) 問題点および対応

(1) 現場で発生した問題点および対応

1例目では、テント設営に時間がかかった。この原因是、テント業者への依頼がテント搬入までであり、テント設営を現地対策本部で実施せざるを得なかつたためであつた。そこで、2例目ではテント業者に設営まで依頼し、速やかにテント設営が実施された。

夜間作業において、テント内および畜舎の明かりが不十分であり、作業に支障が生じた。急遽、国土交通省所有の大型照明車を手配し、光源を確保した。2例目では事前に農場内照明について農場主と調整し、照明器具の持ち込みおよび照明車の手配を実施した。

現場では情報錯綜が著しく、混乱が生じたため、1例目殺処分開始前に現場総括を1名定め、現地との調整を実施した。資材管理については追加到着した資材の保管場所が不明確となり、求めている班に到着しないなどの事例があった。そこで、2例目では現地対策本部資材班が資材管理を強化し、対応した。

1例目では画像記録係を定めていなかったことから、現場作業中の画像記録が残っていなかった。2例目では記録係を定め、動画および静止画の記録をとり、マスコミへ提供した。

(2) 家畜防疫員(防疫員)に関する問題点および対応

1例目の防疫対応を時系列で示した(図7)。この図の中で四角く囲った部分について、家畜防疫員の不足が発生した。具体的には、①病鑑立入り②疫学調査採材③動衛研への検体搬送④発生状況確認検査⑤封じ込めの事前協議および完了協議に係る資料の収集、農場主との調整⑥その他農家資材配布などであった。1例目では①病鑑立入りに

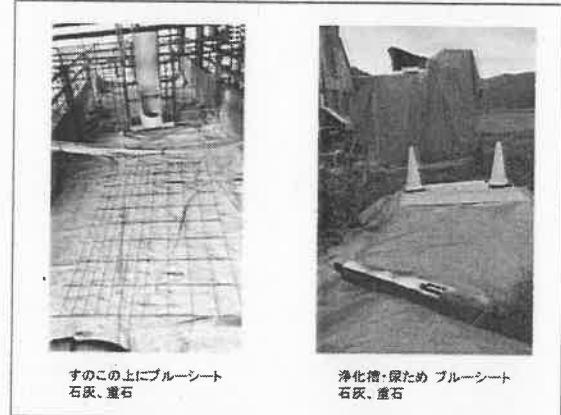


図6 1例目の封じ込め措置写真

ついて、予定では 6 名であったが人員が割けず、3 名で対応した。②採材・疫学調査では予定外の 5 名で対応した。③検体搬送は他職種を予定していたが防疫員 1 名が対応した。④発生状況確認検査は対象農場 1 戸に対し 2 名の防疫員を予定していたが、立入り可能職員が 1 名のみであったため、その 1 名で対応した。⑤封じ込め協議等の対応は防疫措置班より、豚担当者 1 名を振替えて対応した。

2 例目の防疫対応では、発生状況確認検査の対象農場が 0 戸であったことから、疫学調査目的の採材の人員を多く配置し、1 例目では 1 班体制であったものを 2 班体制とした。また、1 例目と同様に現地調査や農場主との調整に豚の担当者を 1 名配置するなどの対策をとり、おおむねスムーズに対応が進んだ（図 8）。

3) まとめ

家畜防疫員の計画人員および 1 例目、2 例目の実働人員を示した（表 1）。1 例目、2 例目ともに、病鑑立入および殺処分等の現地対応での人員不足においては解消できなかったが、その他の業務については 1 例目の配置を踏まえて、必要な場所に適切に人員を配置することができた。

しかし、2 例目では発生状況確認検査の対象農場がなかった。2 例目の防疫対応中に別の農場で疑い事例が発生したり、発生状況確認検査の対象農場があった場合は、県防疫員のみでの対応が困難であることが判明した。また、豚熱ではなく、口蹄疫などの疾病が発生した場合、採材が可能かつ病原体に汚染されていない防疫員の確保が困難であることも明らかとなった。

今回の 2 事例をうけて、机上では想定していなかった必要人員や、農場調査事項が判明した。そこで、今後の取り組みとして、家畜防疫員の配置見直し、他疾病発生時には県内防疫員での対応が困難であることから、応援要請人員の見直し、また、農場情報の追加収集と整理を行うべく取組を進めている。

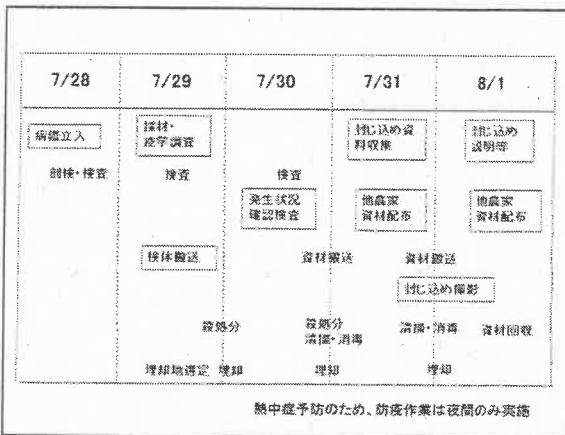


図 7 1 例目防疫対応時系列

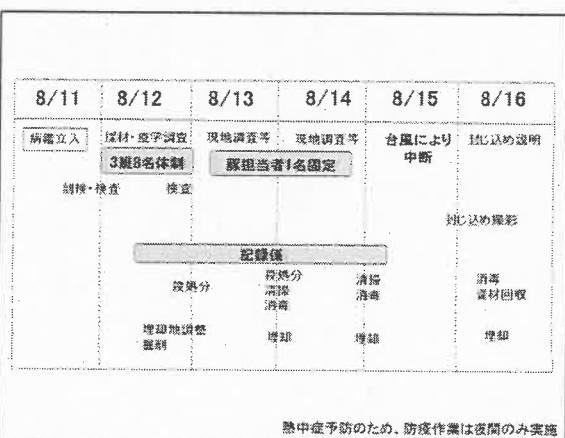


図 8 2 例目防疫対応時系列

表 1 防疫員の動員状況

項目	想定	1例目	2例目
病鑑立入	6名	3名	2名
疫学調査目的採材	-	5名	8名
検体搬送	-	1名	-
発生農場確認検査	2名	1名	-
封じ込め等資料収集、農場調査	-	1名	1名
病性鑑定業務（剖検・ウイルス検査等）	5名	5名	5名
防疫措置（殺処分等）	6名	5名	5名
現地対策本部	1名	1名	1名
連絡調整（家畜業務）	1名	1名	1名
緊急資材搬送	-	1名	-

引用文献

- [1] 豚熱に関する特定家畜伝染病防護指針

4 福井県における野生いのししの豚熱浸潤状況調査

家畜保健衛生所 西川清文 清水誠也

はじめに

豚熱は平成30年9月9日、岐阜県の養豚場において、平成4年以来26年ぶりに発生が確認された。本県においても令和元年7月および8月に発生し、その後、令和2年3月13日までに1府8県での発生が確認された。

また、平成30年9月13日に岐阜県の野生いのししから豚熱の感染事例が確認され、農場へのウイルスの侵入に野生いのししが関与していることが示唆された。これをうけて、平成30年9月に農林水産省から野生いのしし感染確認実施の通知[1]がなされ、都道府県は、関係機関、獣友会等の関係団体等の協力を得て、野生いのししの感染状況の把握に努めることとなった。さらに本県においては、令和元年6月に福井県境から10km圏内の岐阜県で野生いのししの豚熱感染が確認されたことから、県内での野生いのしし感染確認検査の強化を図ることになった。そのハイリスクないいのししを取り扱うにあたって家畜保健衛生所（以下、家保）での交差汚染防止対策および採材法について報告する。

交差汚染防止対策

1. いのしし対応職員の固定

採材等を行う職員を4名固定し、2名1組で対応することとした。

2. 作業動線の固定

通常業務と動線が重ならないように、駐車場所および出入口を変更した（図1）。通常業務は職員玄関から出入りし、いのしし対応は、防疫準備室出入口から出入りし、交差がないようにした。

3. 採材車の固定

採材車は1台を専用として固定した。採材後には車体、ペダル、足マットの洗浄を行った。

4. 専用採材セットの設置

採材車内に専用採材セットを設置した。セット内容は、防護服、ゴム手袋、手術帽、マスク、長靴、石灰、電池式噴霧器、消毒液、40Lゴミ袋、ペール缶、長靴用ブラシ、剪刀、解剖刀、研ぎ棒、使い捨てメス、シャーレ、注射針、シリソジ、採血管、検体番号シール、防水カメラ、30cm定規、チャック式袋、検体入れ、保冷剤、殺虫スプレー、アルコール綿とした（図2）。

5. 使用器具等の消毒

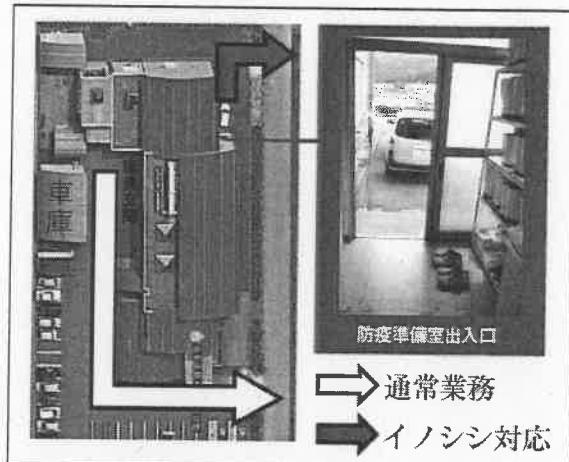


図1 作業動線の固定

使い捨てメスを用い、個体ごとに交換、廃棄した。防護服、ラテックスゴム手袋、マスク、手術帽は採材後、ゴミ袋に入れ、ペール缶に入れて持ち帰り廃棄した。使用器具と長靴は採材後、逆性石鹼を用いて、その場で消毒し、ペール缶に入れ持ち帰り、廃棄しないものは帰所後に再消毒を行った。



図2 専用採材セットの設置

採材

1. 採材部位の確認

豚熱検査のために必要な臓器(扁桃、脾臓、腎臓)の採材方法を武田らが作成した動画[2]を用いて採材部位および方法を確認した。さらに、当所に病性鑑定のため搬入された死亡豚で採材の練習を行った。

2. 通報から採材、帰所までの流れ

いのししの捕獲や死体確認の通報が各市町から中山間農業・畜産課(以下、中畜課)に入り。中畜課は採材時間などを調整し、家保へ連絡。家保は中畜課からの連絡を受け、出動し、現地到着後に市町担当者や獣友会と打ち合わせを行い、獣友会が止め刺しを行った後、採材した。

家保担当者は、防護服に着替え、簡易マスク、使い捨て手術帽、ラテックス手袋をし、採材器具などを採材場所まで持つて行き、採材場所で検体番号を貼り付けた30cm定規と共にいのししの写真を撮影した。その後、口蓋扁桃、脾臓、腎臓を採材した。口蓋扁桃は下顎骨に沿って筋肉を切開して舌を引き出し、上顎に見える部分を採取した(図3)。脾臓、腎臓採材は、いのししを右側横臥で、最後肋骨に沿って切開し、腸をよけて見えた部分を採取した(図4)。採材した臓器はシャーレに入れ、チャック付きのビニール袋にいれて保冷箱にいれて家保に持ち帰った。

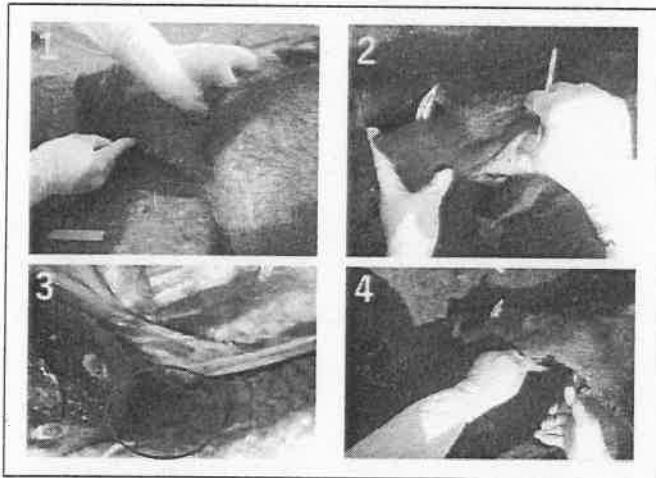


図3 口蓋扁桃採材

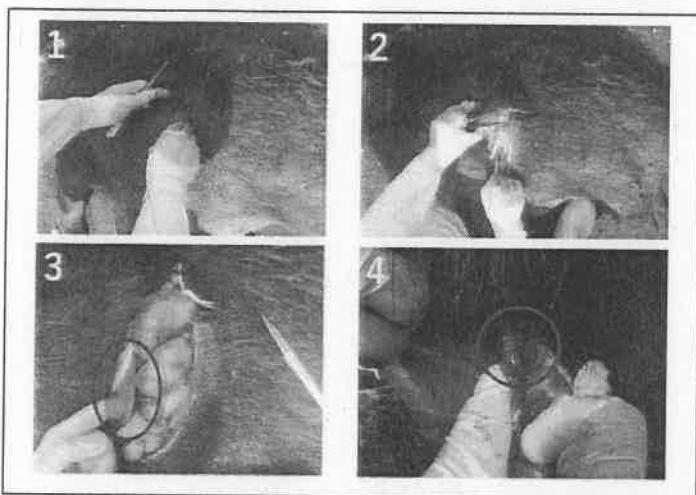


図4 脾臓・腎臓採材

3. 採材法の変更および改善

令和元年7月5日に県内で捕獲個体より豚熱が確認された事で、各自治体からの依頼が相次いだ。そのため採材機会が多くなり、より採材がしやすいように方法を検討した。まず、比較的採材が容易な脾臓または腎臓のみの採材に変更した。さらに、血液での遺伝子検査が可能となったため、血液採材が可能な場合は血液採材に変更した。血液採材も当初は頸動脈切開（図6）や、銃痕部からの採材を行った。この方法は容易であったが、手袋や器具の血液汚染が多く、交差汚染の危険が高まった。また、銃殺では血液がすぐに凝固してしまっている場合も多く、十分量を取れない場合もみられた。そのため、血液採材法の改善を検討した。

まず、いのししの頸部を頸静脈に沿ってメスで切開し、頸静脈に直接注射針を刺して血液採取を行った。この方法では、十分量の血液を採取できたが、頸部に銃痕がある場合などで困難な場合もあった。また、筋肉剥離に時間も要し、血液汚染も見られた。次に、心臓に注射針を刺して採血することを試みた。カテラン針（18G 70mm）とシリソジを使用し、いのししを右側横臥にし、肘部後方から頭側方向へ刺針した（図6）。この方法では血液汚染もなく、急傾斜地でも安全に行うことができた。また、臓器採材時よりも採材時間を短縮することができた。

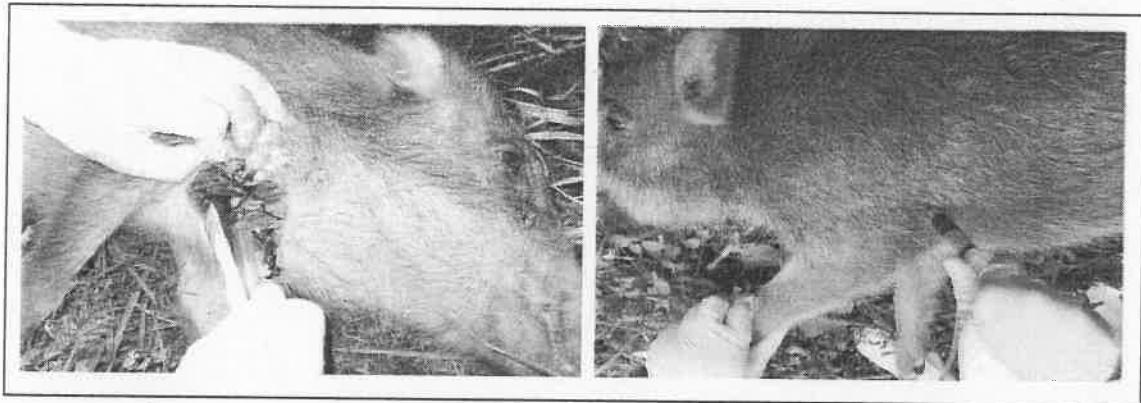


図 6 頸動脈切開採取および心採血

家保採材結果

家保が採材を行った令和元年 7 月 5 日から 10 月 11 日の 98 日間（豚熱農家発生に伴う中止期間含む）で、採材日数は 42 日、延べ動員人数は 85 人、採材地点は 88 地点、採材頭数は 109 頭であった。採材に向かったが、腐敗等で採材が出来ない事例もあった。採材時にはマダニやスズメバチなどに注意する必要があった。豚熱感染いのししの中には、遊泳運動、犬座姿勢（図 7）、削瘦、被毛粗造、紫斑を呈する個体も見られた。



図 7 犬座姿勢をする陽性いのしし

獣友会による血液採材

令和元年 10 月 7 日より捕獲いのししの血液採材については、獣友会が行うことになった。獣友会は採血管に血液採取を行い、採血管をアルコール綿できれいに拭いた後、チャック式袋に 2 重に封入し、各地区の農林総合事務所（以下、農総）に搬入した。農総に集約された血液検体は農総職員により家保へ搬入された。家保は農総からの血液検体を受け入れるため、正面玄関入り口に検体を受け取る Box を設置した。検体の受け渡し時には、いのししの情報が入った検体票を持参してもらい、検体票と検体が一致しているかを確認してから、Box に入れてもらい、Box を密閉して検査室に搬入した（図 8）。密閉した Box で運ぶことで、家保内での交差汚染防止対策とした。



図8 猪友会による血液採取検体、受け渡しBoxおよび受け渡し時の様子

遺伝子検査結果および浸潤調査結果

令和2年3月末までに579頭を遺伝子検査し、59頭から豚熱陽性が確認された(10.2%) (表1)。感染確認検査の強化が図られてから、検査頭数は増加し、7月には大野市で陽性いのししが初確認された。陽性いのししは県内12市町で確認され(図9)、大野市、池田町付近からウイルスが侵入し、北上し拡大していったことが推察された(図10)。

表1 検査頭数およびその推移

採材月	H30.9	H31.2	R1.7	R1.8	R1.9	R1.10	R1.11	R1.12	R2.1	R2.2
採材数	3	1	39	22	29	97	116	66	80	57
陰性頭数	3	1	32	18	23	79	105	58	72	52
陽性頭数	0	0	7	4	6	8	11	8	8	5

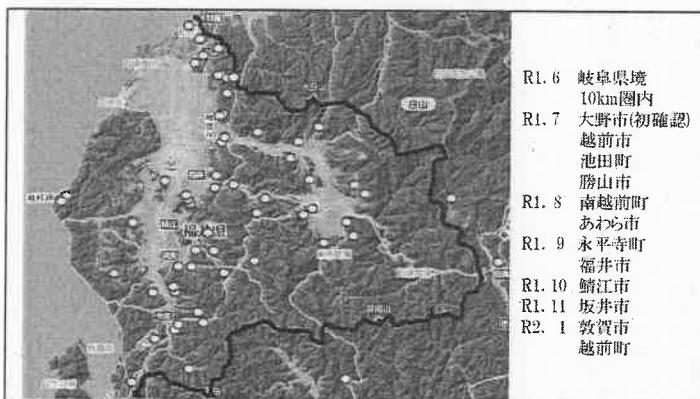


図9 陽性確認地域および初確認月

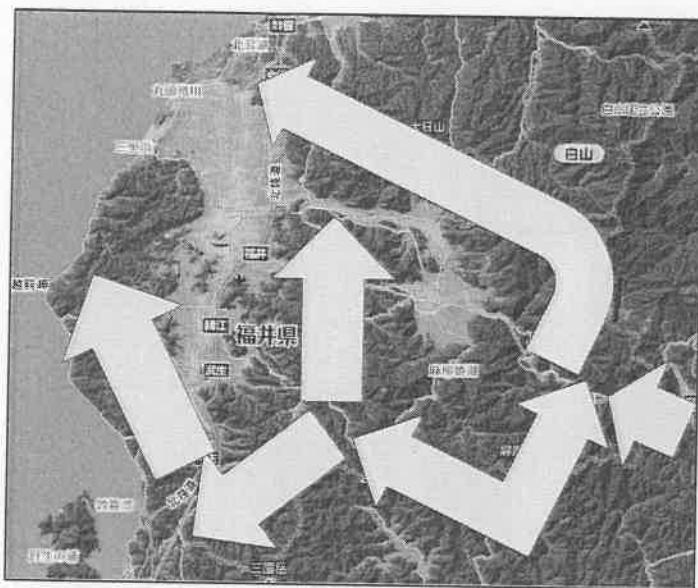


図 10 豚熱ウイルス拡散図

引用文献

- [1] 30 消安第 3127 号：岐阜県における豚コレラ発生に伴う野生動物の感染確認検査の実施について
- [2] 武田佳絵：平成 30 年度福井県家畜保健衛生業績発表会抄録，No4（2019）

5 県内で発生した豚熱の病性鑑定結果および検査方法の検討

家畜保健衛生所 清水誠也 武田佳絵

I 県内で発生した豚熱 (CSF) の病性鑑定結果

はじめに

豚熱とは、ラビウイルス科ペスキウイルス属 Classical swine fever virus (CSFV) により引き起こされる豚、いのししの法定伝染病で高い伝染力と致死率を示す [1]。発症豚は発熱、食欲不振、元気消失、便秘、下痢、結膜炎、アイパッチ、紫斑、神経症状等を呈す [1]。また、発熱豚で白血球数減少 ($10,000/\mu\text{L}$ 以下) が確認されることが多い [1]。

CSF は平成 30 年 9 月に日本の養豚場で 26 年ぶりに発生して以来、令和 2 年 3 月までに 8 県で発生が確認されている。今回、当県において令和元年 7 月と 8 月に CSF が発生した 2 農場について概要を報告する。

発生概要

【A 農場】

飼養頭数約 300 頭の一貫経営農場（繁殖舎 1 棟、肥育舎 1 棟）で、令和元年 7 月 9 日に農場周辺で CSF 陽性いのししが見つかり監視対象農場となる。7 月 24 日に肥育豚 1 頭死亡および呼吸器症状を呈する肥育豚が数頭ありの連絡を受けた。死亡豚については病性鑑定を実施し、結果は CSF 陰性だった。その後、呼吸器症状は治まることなく、7 月 28 日に肥育豚 1 頭死亡、肥育豚 2 頭衰弱の連絡を受け、死亡豚の解剖および農場立入で同居豚 14 頭の採血を実施した。

【B 農場】

飼養頭数約 700 頭の一貫経営農場（種豚舎 1 棟、分娩舎 1 棟、離乳子豚舎 1 棟、肥育舎 2 棟）で、令和元年 7 月 9 日に農場周辺で CSF 陽性いのししが見つかり監視対象農場となる。A 農場での CSF 発生を受け、7 月 30 日に発生状況確認検査を実施し、陰性を確認した。8 月 2 日、肥育豚 1 頭死亡の連絡を受け、病性鑑定および農場立入検査を実施し陰性を確認した。8 月 3 日、肥育豚 1 頭死亡の連絡を受けたが、腐敗していたため病性鑑定は実施せず、農場立入検査も実施しなかった。8 月 4 日、種豚舎の繁殖豚 4 頭の食欲低下の連絡を受けた。繁殖豚 4 頭に食欲不振以外の症状はみられなかった。8 月 11 日まで食欲不振は治まらず、繁殖豚 1 頭死亡の連絡を受け、死亡豚 1 頭および発熱、食欲不振を呈する鑑定殺豚 2 頭について病性鑑定を行い、農場立入検査を実施した。

解剖所見

A 農場の死亡豚で耳翼の紫斑、腸骨下リンパ節の暗赤色化が見られ（図 1、2）、B 農場の鑑定殺豚で耳翼の紫斑とアイパッチが見られた（図 3、4）。その他に CSF の特徴的な肉眼所見は認められなかった。また B 農場の死亡豚 1 頭については腐敗が進んでいた。



図1 耳翼の紫斑



図2 腸骨下リンパ節の暗赤色化

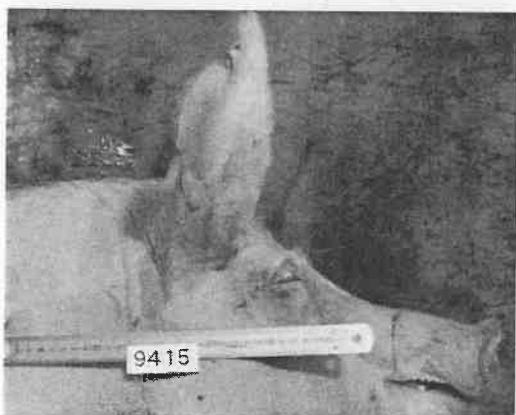


図3 耳翼の紫斑

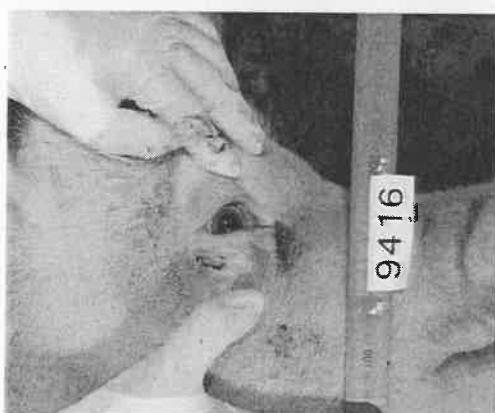


図4 アイパッチ

材料および方法

(1) 死亡豚および鑑定殺豚検査

2 農場の死亡豚およびB農場の鑑定殺豚から扁桃、腎臓および脾臓を採材し、3臓器で10%乳剤を作成し、RNA抽出後、ペスチウイルスに特異的なRT-PCRを防疫指針に則り実施し、陽性の検体についてはBg1 IおよびPst Iで制限酵素処理(RFLP)を防疫指針に則り実施した。また遺伝子系統樹解析を動物衛生研究部門に依頼した。また、扁桃および腎臓から凍結切片を作成し、蛍光抗体法(FA)を常法にて実施した。

(2) 同居豚検査

2農場において、死亡豚と同豚舎の個体をA農場14頭、B農場17頭それぞれ採血し、全血から白血球数測定、血清から遺伝子検査をRT-PCRで、抗体検査を豚コレラELISAキットII(JNC株式会社)で実施した。RT-PCR陽性の検体についてはBg1 IおよびPst IでRFLPを実施した。

結果

2農場の検査結果を表1, 2, 3および図5に示した。

A農場において死亡豚1頭から採材した3臓器でCSFV遺伝子(遺伝子)陽性を確認した。しかし、扁桃と腎臓のFAは陰性だった。また、同居豚検査において14頭中、白血球数減少を7頭、遺伝子陽性を7頭、抗体陽性を4頭で確認した。抗体陽性の4頭中3頭が遺伝子陰性だった(表1)。

表1 A農場死亡豚および同居豚の検査結果

検体	豚舎	白血球数	遺伝子	抗体	FA
扁桃		NT	+	NT	
腎臓	肥育	NT	+	NT	
脾臓		NT	+	NT	
1		NT	+	±	NT
2		7,900			NT
3		5,100	+		NT
4		4,700	+	±	NT
5		5,300	+		NT
6		12,700			NT
7	肥育	4,300	+		NT
8		14,800			NT
9		21,500			NT
10		14,600		+	NT
11		3,900	+		NT
12		8,200	+	+	NT
13		10,400		+	NT
14		18,800		+	NT

NT：血液凝固のため未検査 +：陽性 ±：疑陽性 空欄：陰性

B農場において死亡豚および鑑定殺豚から採材した3臓器で遺伝子陽性を確認した(表2)。しかし、扁桃および腎臓のFAは陰性だった。また、同居豚検査において17頭中、白血球数減少を6頭、遺伝子陽性を6頭、抗体陽性を1頭で確認した。抗体陽性かつ遺伝子陰性の個体は確認されなかった(表3)。

表2 B農場死亡豚および鑑定殺豚の検査結果

検体	豚舎	遺伝子	FA
扁桃	死亡豚	+	
腎臓	死亡豚	種豚	+
脾臓	死亡豚	+	NT
扁桃	鑑定殺豚1	+	
腎臓	鑑定殺豚1	種豚	+
脾臓	鑑定殺豚1	+	NT
扁桃	鑑定殺豚2	+	
腎臓	鑑定殺豚2	種豚	+
脾臓	鑑定殺豚2	+	NT

NT:未検査 +：陽性 空欄：陰性

表3 B農場同居豚検査結果

検体	豚舎	白血球数	遺伝子	抗体
1		14,500		
2		22,100		
3		12,400		
4		11,100		
5		11,400		
6		13,700		
7		12,900		
8		13,100		
9	種豚	17,700		
10		10,500		
11		5,900	+	
12		5,600	+	
13		4,000	+	
14		3,000	+	
15		3,000	+	
16		7,600	+	+
17		18,100		

+：陽性 空欄：陰性

遺伝子系統樹解析の結果、2農場から検出されたウイルス株（図5：福井）は農場近隣で発見された陽性いのししのウイルス株（図5：福井いのしし6）と同一であった。

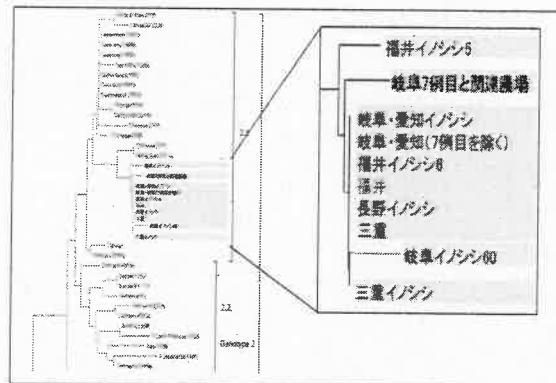


図5 遺伝子系統樹解析

疫学調査

A農場において、血液を53頭（繁殖舎：13頭、肥育舎：40頭）から採材し、白血球数、抗体検査、遺伝子検査を、環境材料を54か所から採材し、遺伝子検査を実施した。B農場でも同様に血液を75頭（種豚舎：15頭、分娩舎：12頭、離乳仔豚舎：18頭、肥育舎1：15頭、肥育舎2：15頭）から採材し、環境材料を50か所から採材した。環境材料の採材は木軸滅菌綿棒での拭き取りにより実施した。

疫学調査結果

A 農場の血液材料検査の結果、53 検体中、白血球減少を 2 検体、遺伝子陽性を 6 検体、抗体陽性を 8 検体確認した。白血球減少かつ遺伝子陰性は 2 検体、抗体陽性かつ遺伝子陰性は 6 検体確認した（表 4）。また、環境材料から遺伝子は検出されなかった。

表 4 A 農場疫学調査（血液）

検体	豚舎	白血球数	遺伝子	抗体	検体	豚舎	白血球数	遺伝子	抗体
1		12,500			33		16,000		+
2		10,000			34		21,400		+
3		7,300			35		15,400		+
4		15,600			36		13,800		
5		11,100			37		NT		
6		NT			38		23,100		
7	繁殖	18,400			39		21,800		
8		25,800			40		21,300		
9		13,900			41		19,900		
10		14,000			42	肥育	28,200		
11		16,400			43		25,500		
12		11,300			44		21,700		
13		NT			45		25,200		
14		10,800	+		46		25,500		
15		23,400		+	47		20,800		
16		NT	+		48		14,300		
17		21,900			49		47,300	+	+
18		23,500			50		28,300		
19		NT	+		51		NT	+	+
20		16,800			52		24,400		
21		15,000	+		53		8,800		
22	肥育	10,200	+						
23		19,500							
24		15,600							
25		19,700							
26		22,800							
27		15,500							
28		18,500							
29		17,400							
30		17,800							
31		23,900							
33		16,000		+					

NT：血液凝固のため未検査 +：陽性 空欄：陰性

B 農場の血液材料検査の結果、75 検体中、白血球減少を 26 検体、遺伝子陽性を 6 検体確認した。抗体陽性は確認されなかった。白血球減少かつ遺伝子陰性を 20 検体で確認した（表 5）。また、環境材料から遺伝子は検出されなかった。

表 5 B 農場疫学調査 (血液)

検体	豚舎	白血球数	遺伝子	検体	豚舎	白血球数	遺伝子
1		17600		39		14300	
2		11600		40		12900	
3		6300		41		17300	
4		7100		42		14900	
5		8900		43		15200	
6		7700		44	離乳 子豚	15900	
7		8800		45		6000	+
8	種豚	6500		46		6700	+
9		7000		47		4600	
10		5600		48		8800	
11		7500		49		10500	+
12		8100		50		3700	
13		13000		51		15500	
14		7000		52		26400	
15		8100		53		26500	
16		7900	+	54		10400	
17		8400		55		17500	
18		8600		56		20300	
19		6600	+	57	肥育1	17300	
20		8700		58		18100	
21	分娩	NT		59		17500	
22		7900		60		22400	
23		5300	+	61		22100	
24		11700		62		11600	
25		NT		63		19700	
26		10500		64		16700	
27		8900		65		17600	
28		16000		66		19000	
29	肥育2	14600		67		21300	
30		18500		68		19500	
31		26000		69		16800	
32		NT		70	肥育2	4600	
33		18000		71		18900	
34		NT		72		16200	
35	離乳 子豚	17900		73		20400	
36		12700		74		17100	
37		15600		75		18800	
38		11200					

+ : 陽性 空欄 : 陰性

まとめ

2 農場で白血球数減少かつ遺伝子陰性の個体を認めた。A 農場において遺伝子陰性かつ抗体陽性の個体を認めた。FA 陽性は確認されなかった。2 農場のウイルス株は農場周辺で確認された陽性いのししのウイルス株と同一株であった。疫学調査で環境中から遺伝子は検出されなかった。

II 検査方法の検討

はじめに

今回の CSF 発生に伴い課題が二つ明らかとなった。一つは FA 陽性が確認されなかったこと。もう一つは環境材料から遺伝子陽性が確認されなかっことである。FA 陽性が確認されなかっのは、当家畜保健衛生所（当所）で CSF 発生時使用していたクリオスタットと蛍光顕微鏡は 30 年以上前に導入されたもので、CSF 発生時期が夏ということもあり、クリオスタットの庫内の温度上昇による凍結切片の肥厚、蛍光顕微鏡の老朽化による蛍光抗体の視認性低下が要因だったと考えた。B 農場鑑定殺豚の扁桃を用いて FA を実施した際の写真を図 6 に示す。

また、環境材料から遺伝子が検出されなかっことについては木軸綿棒の木軸部分からの漏出物による影響や検体の温度上昇が影響したのではないかと考えた。そこでこれらの課題を解決するために検査方法を検討した。

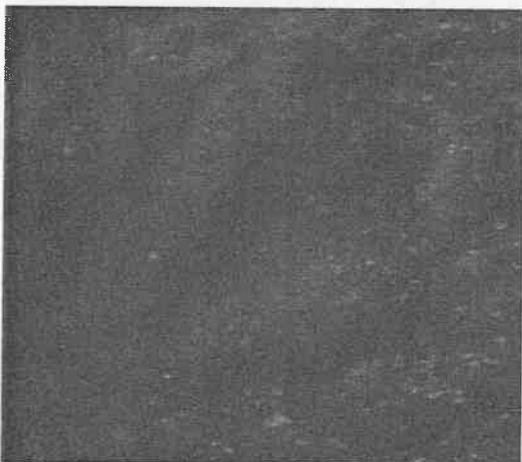


図 6 機器更新前の B 農場鑑定殺豚扁桃の FA 像

材料および方法

(1) FA 再検査

令和元年 9 月以降クリオスタットと蛍光顕微鏡を更新した。そこで、A 農場の死亡豚 1 頭および B 農場鑑定殺豚 2 頭の扁桃および腎臓を用い、常法に基づき再度 FA を実施した。

(2) 環境採材に使用する綿棒の軸の種類および気温による遺伝子検査への影響

CSF 陽性イノシシ血清を、10 倍から 10^5 倍まで希釈し、対象、紙軸綿棒浸漬、木軸綿棒浸漬の 3 グループに分け、室温あるいは 30°C に 2 時間静置した後、環境採材検査と同様に遺伝子検査を実施した。

結果

(1) FA 再検査

FA 再検査の結果、B 農場鑑定殺豚 2 頭の扁桃において FA 陽性を確認した（図 7）。更新前の蛍光顕微鏡で FA 陽性の切片を鏡検したところわずかに蛍光が認められたが、更新後蛍光顕微鏡ほど鮮明には認められなかった。

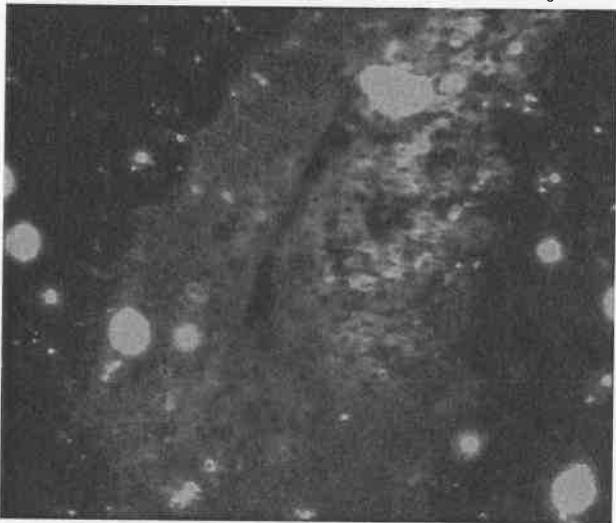


図 7 機器更新後の B 農場鑑定殺豚扁桃の FA 像

(2) 環境採材に使用する綿棒の軸の種類および気温による遺伝子検査への影響

室温静置群、30°C 静置群の両条件下において、対象群、木軸綿棒群、紙軸綿棒群すべてで 10^2 倍希釈まで遺伝子が検出された。

考察

今回、26 年ぶりに国内での CSF の発生があり、国内 1 例目から約 9 か月後に県内で CSF 陽性イノシシが確認された。その約 3 週間後に農場において県内 1 例目の CSF が発生し、さらに約 2 週間後には県内 2 例目の CSF が発生した。遺伝子系統樹解析の結果、野生いのしし由来のウイルス株と、農場由来のウイルス株は同一であったため、CSFV は野生いのししから農場に侵入したと推察された。環境材料から遺伝子が検出されなかつたため、侵入経路については不明だが、ヒト、モノ、野生動物等に付着して侵入したと考えられる。遺伝子検査陽性個体の豚房から環境採材をしたにも関わらず、遺伝子が検出されなかつたことについて、採材に使用した綿棒の種類、外気温の影響が考えられたため、それらの条件を変更し、比較検討した。検査結果に差は認められず、環境採材において、採取するウイルス量を多くすること、材料中の夾雑物をできる限り減らすことが重要であると思われた。

侵入時期について、A 農場の同居豚検査、疫学検査において遺伝子陰性かつ抗体陽性の個体が計 9 頭認められることから、CSF 発生確認よりかなり前であると推察された。B 農場においては抗体陽性の個体は繁殖雌豚 1 頭のみ認められ、その個体は遺伝子検査も陽性であった。B 農場では疫学調査において白血球数減少を認めるにも関わらず遺伝子陰性の個体を 21 頭認めた。動物衛生研究部門の CSFV 感染実験において、白血球数減少が認められた翌日に遺伝子陽性が認められている。以上のことから、B 農場への侵入は発生の数週間前に種豚舎から起り、農場全体に波及したと推察された。

また、機器更新後の FA 再検査により更新前は陰性だった B 農場の鑑定殺豚 2 頭の扁桃で陽性が確認された。このことからも機器の更新は検査の正確性の維持に重要であることが示された。しかし、再検査においても A 農場の死亡豚の扁桃は FA 陰性であった。A 農場の死亡豚は解剖時に腐敗が進んでいたことから、FA は臓器の鮮度にも影響を受けることをあらためて実感した。腎臓においては再検査においても FA 陰性であったことから、B 農場の鑑定殺豚 2 頭は CSFV 感染初期であることが推察された。

現在、県内養豚場はすべて CSF ワクチンを接種しており CSF 発生のリスクは以前より軽減したと思われる。しかし、農場内に CSFV が侵入した場合、ワクチン未接種の導入豚や新生豚が感染するリスクは残る。さらに、アフリカ豚熱や他の伝染病が侵入する可能性があるため飼養衛生管理基準を遵守することは病原体の農場への侵入防御に重要であると考える。

参考文献

- [1] (社)全国家畜産物衛生指導協会. 豚コレラ(Classical swine fever). 東京, (社)全國家畜産物衛生指導協会, 2006.

6 県内1養豚場における豚レンサ球菌症発症豚由来 *Streptococcus suis*の性状検査 家畜保健衛生所 田中知未

はじめに

Streptococcus suis (*S. suis*) は豚レンサ球菌症の主な原因菌の1つで、豚に髄膜炎、敗血症、心内膜炎などを引き起こす [1]。本菌は養豚産業に経済的な損失を与えるだけでなく、ヒトに感染し髄膜炎や敗血症などを引き起こす人獣共通病原細菌としても知られている。臨床上健常な豚の多くが鼻腔や扁桃などに *S. suis* を保菌しているが、病原性の違いから、ほとんど無害な株や侵襲性の高い強毒株が存在する [2]。その病原性については、血清型をはじめ様々な病原因子について検討されているが、未だ不明な点が多い [3]。しかし近年、Multilocus Sequence Typing (MLST) 法によって、病豚やヒト患者から分離された株の多くが Sequence Type1complex (ST1c) および ST27c に属することが明らかとなってきた [4]。

今回、豚レンサ球菌症が多発する県内1養豚場において、家畜衛生および公衆衛生的観点から疾病予防対策を講じることを目的とし、当該農場由来 *S. suis* の、血清型、遺伝子型および薬剤感受性について検査を実施したので、その概要を報告する。

農場における豚レンサ球菌症の発生状況

調査期間は2015年4月から2019年12月とした。この期間に当該農場より237頭の病性鑑定依頼があり、102頭(43%)が豚レンサ球菌症と診断された(図1)。うち55頭でレンサ球菌が分離され、45頭(82%)で分離されたレンサ球菌が *S. suis* と同定された(図2)。

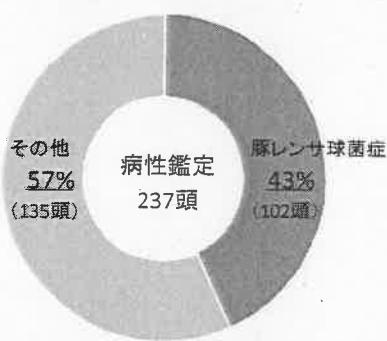


図1 豚レンサ球菌症の診断状況
(2015年4月～2019年12月)

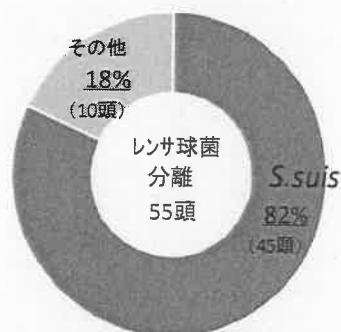


図2 *S.suis* 分離状況
(2015年4月～2019年12月)

また、発症は10～17週齢で最も多く、離乳舎から子豚舎への移動によるストレス等が豚レンサ球菌症発症の引き金となっていることが示唆された。
(図3)。

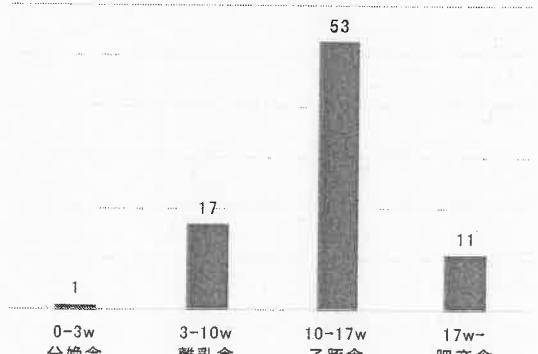


図3 豚舎ごとの豚レンサ球菌症発症頭数
(2015年4月～2019年12月)

材料・方法

1. 供試菌株

2015年4月から2019年12月に病性鑑定を実施した豚より分離された39株とした。分離菌はAPI20Strep（ビオメリュー・ジャパン（株））および*S. suis*の特異的遺伝子`gdh`を標的としたPCR法にて同定を行った。

2. *cps*-typing PCRによる血清型の推定

Okuraら[5]の方法に従い、*S. suis*の血清型を決定する莢膜多糖体の形成に関与する莢膜形成遺伝子(*cps*)をマルチプレックスPCRにて検出し、血清型の推定を行った。

3. 線毛関連遺伝子プロファイリング(PAGP)法によるSTcの推定

Takamatsuら[4]の方法に従い、3種類の線毛関連遺伝子(*sbp2*, *sep1*, *sgp1*)の有無をPCRで確認し、ST1cおよびST27cに属する株の推定を行った。

4. 薬剤感受性試験

ペニシリン(PC)、アンピシリン(ABPC)、アモキシシリン(AMPC)、セフォタキシム(CTX)、カナマイシン(KM)、エリスロマイシン(EM)、リンコマイシン(LCM)、オキシテトラサイクリン(OTC)、ドキシサイクリン(DOXY)、エンロフロキサシン(ERFX)、オルビフロキサシン(OBFX)、ST合剤(ST)の12薬剤について、BDセンシ・ディスク(日本ベクトン・ディッキンソン(株))およびVKBディスク(栄研化学(株))を用いた1濃度ディスク法により感受性試験を行った。

結果

1. *cps*-typing PCR

39株中37株が*cps*-group IIに分類され、うち36株が*cps*-type2or1/2、1株が*cps*-type16に型別された。その他2株は*cps*-group I、*cps*-group Vに分類された。(表2)。

2. PAGP法

39株中36株がST1cに属する株であると推察された。その他3株はいずれもST1c、ST27c以外のSTcに属する株であると推察された(表2)。

3. 薬剤感受性試験

LCM(100%)、EM(97.4%)、OTC(94.5%)、KM(53.8%)、SM(43.6%)で高い耐性率を示した。また、2株でPC耐性がみられた(表1)。

表1 供試菌株39株の薬剤耐性状況

	PC	ABPC	AMPC	CTX	KM	EM	LCM	OTC	DOXY	ERFX	OBFX	ST
耐性株数	2	0	0	0	21	38	39	37	0	0	0	17
耐性率(%)	5.1	0	0	0	53.8	97.4	100	94.5	0	0	0	43.6

表2 *cps*-typing PCR および PAGP 法の結果

No.	分離年度	<i>cps</i> group	<i>cps</i> type	<i>sbp2</i>	<i>sep1</i>	<i>sgp1</i>	推定STc
1	2015	II	2or1/2	+	-	-	ST1
2	2015	II	2or1/2	+	-	-	ST1
3	2015	II	2or1/2	+	-	-	ST1
4	2015	II	2or1/2	+	-	-	ST1
5	2015	II	2or1/2	+	-	-	ST1
6	2016	II	2or1/2	+	-	-	ST1
7	2016	II	2or1/2	+	-	-	ST1
8	2016	II	2or1/2	+	-	-	ST1
9	2016	II	2or1/2	+	-	-	ST1
10	2016	II	2or1/2	+	-	-	ST1
11	2016	II	2or1/2	+	-	-	ST1
12	2017	II	2or1/2	+	-	-	ST1
13	2017	II	2or1/2	+	-	-	ST1
14	2017	II	2or1/2	+	-	-	ST1
15	2018	II	2or1/2	+	-	-	ST1
16	2018	II	2or1/2	+	-	-	ST1
17	2018	II	2or1/2	+	-	-	ST1
18	2018	II	2or1/2	+	-	-	ST1
19	2018	II	2or1/2	+	-	-	ST1
20	2018	II	2or1/2	+	-	-	ST1
21	2018	II	2or1/2	+	-	-	ST1
22	2018	II	2or1/2	+	-	-	ST1
23	2018	II	2or1/2	+	-	-	ST1
24	2018	I	NT	-	-	-	other
25	2018	II	2or1/2	+	-	-	ST1
26	2018	II	2or1/2	+	-	-	ST1
27	2019	V	NT	-	+	-	other
28	2019	II	2or1/2	+	-	-	ST1
29	2019	II	2or1/2	+	-	-	ST1
30	2019	II	2or1/2	+	-	-	ST1
31	2019	II	2or1/2	+	-	-	ST1
32	2019	II	16	-	-	-	other
33	2019	II	2or1/2	+	-	-	ST1
34	2019	II	2or1/2	+	-	-	ST1
35	2019	II	2or1/2	+	-	-	ST1
36	2019	II	2or1/2	+	-	-	ST1
37	2019	II	2or1/2	+	-	-	ST1
38	2019	II	2or1/2	+	-	-	ST1
39	2019	II	2or1/2	+	-	-	ST1

NT:検査未実施

other:ST1c、ST27c以外のSTc

考察

cps 遺伝子は血清型特異的であり、本調査により供試菌 39 株中 36 株が *cps*-type2or1/2 であったことから、36 株の血清型は 2 もしくは 1/2 型であることが推察される [5]。*S. suis* には 35 の血清型（1 型～34 型および 1 型と 2 型の両方の抗原性を有する 1/2 型）が知られており、病豚およびヒト患者から高頻度に分離されるのは 2 型である。病豚からは 2 型以外にも様々な血清型の株が分離されるが、ヒト患者由来株のほとんどが 2 型である。したがって、近年アジアを中心に増加傾向にある 14 型とあわせて公衆衛生の観点から重要視されている血清型となっている [6]。近年、MLST 法による遺伝子型別が盛んに行われるようになり、遺伝的に近縁な特定の株集団と疾病との関係がより明らかになりつつある。また、病豚やヒト患者から分離された株の多くはいくつかの特定の集団に集約されることが分かっている [2]。ST1c は豚に髄膜炎や敗血症などの侵襲性の高い疾病を引き起こした株の割合が多く、さらに 2005 年の中国四川省におけるヒトの集団感染事例（約 1 ヶ月半で 215 名が *S. suis* に感染し 39 名が死亡）での分離株をはじめとするヒト患者由来株の多くが含まれていることから、最も強毒な株集団であると考えられている [2]。また、ST27c にも病豚由来株に加え、北米やタイのヒト患者由来株の多くが含まれ、これら 2 つの株集団が家畜衛生および公衆衛生上特に重要であることが示唆されている [7]。今回供試した 39 株中 36 株が *cps*-type2or1/2 に型別され、かつ ST1c に属する株であることが判明したことから、豚やヒトに疾病を起こしやすい強毒な株が農場内にまん延し、豚レンサ球菌症を引き起こしている可能性が高いと考えられる。

豚レンサ球菌症発症豚の治療ではペニシリン・セファロスポリン系の抗菌薬の感受性が高く、LCM、EM、TC の耐性率が高いとの報告が多い [8]。今回供試した 39 株では LCM には全ての株が耐性を示した。また EM、OTC には 9 割以上の株が耐性を示し、既報と一致した。また、39 株中 1 株が 12 薬剤のうち 6 薬剤に、9 株が 5 薬剤に、17 株が 4 薬剤に耐性を示し、多剤耐性傾向がみられた。

今後、農場では豚レンサ球菌症低減対策として飼育密度、換気および消毒などの豚舎環境の改善が求められる。発症予防としてワクチン接種も有効であると考える。また、*S. suis* は保菌豚あるいはその生肉や内臓等を介してヒトに感染するため、特に農場内の作業では手袋の着用等の感染予防措置が必要である [3]。今後、これらの対策について農家指導を行うとともに、薬剤耐性状況について管理獣医師と情報共有し、薬剤耐性菌の発現防止に努めることが重要であると考える。

引用文献

- [1] 片山康：豚のレンサ球菌症. 家畜診療, 48, 427-433 (2001)
- [2] 高松大輔ら：*Streptococcus suis* の多様性と病原因子. 日本細菌学雑誌, 66(1), 7-12 (2011)
- [3] 関崎勉：豚レンサ球菌の病原因子と強毒株マーカーについて. 日生研だより, 56(1), 5-12 (2010)
- [4] 高松大輔ら：線毛関連遺伝子のプロファイリングによる疾病リスクの高い *Streptococcus suis* 株の識別. 日獣会誌, 64, 600-603 (2011)

- [5] Masatoshi Okura et al. :Development of a Two-Step Multiplex PCR Assay for Typing of Capsular Polysaccharide Synthesis Gene Clusters of *Streptococcus suis*. J Clin Microbiol, 52, 1714–1719 (2014)
- [6] 大倉正稔ら：公衆衛生上重要な豚レンサ球菌血清型 2 型および 14 型株を識別可能な遺伝子の検索. 動衛研研究報告, 第 120 号, 73–75 (2014)
- [7] Takamatsu, Detal. : *Streptococcus suis* in humans, Thailand. Emerg. Infect. Dis. 14, 181–183 (2008)
- [8] 島田英明：豚レンサ球菌の家畜衛生・公衆衛生事情. SDI, 第 42 号 (2011)

7 *Trueperella pyogenes* 感染を伴う山羊関節炎・脳脊髄炎の一症例

家畜保健衛生所 武田佳絵

はじめに

山羊関節炎・脳脊髄炎（以下 CAE）はレトロウイルス科レンチウイルス属に属する CAE ウィルス（以下 CAEV）が原因の山羊の進行性消耗性疾患で、家畜伝染病予防法で届出伝染病に指定されている。発症すると、成山羊で滑膜の絨毛状増殖を特徴とする非化膿性関節炎、間質性乳房炎、肺炎を、4 か月齢未満の子山羊に脳脊髄炎を起こすが、発症率は 10%程度で、多くが不顕性感染のまま終生ウィルスを持続する。感染母山羊の常乳および初乳による垂直感染が主体で、呼吸器飛沫による水平感染も稀に成立する [1]。

Trueperella pyogenes (Tp) は、グラム陽性、非運動性、無芽胞の短桿菌で、反芻獣等の家畜で肺炎や関節炎等の疾病に関する日和見感染症の病原体である。動物の上部気道や泌尿生殖器、消化管粘膜に常在しており、物理的な傷害や他の微生物の感染後に二次的に感染し、化膿性病巣を形成する [2]。

今回、Tp に感染している山羊で CAE と診断したので、その病性鑑定の概要について報告する。

症例概要

山羊、ザーネン種、雌、8歳、愛玩用が、平成 30 年の春頃から左後肢の負重を嫌がり始め、経過観察するも改善がみられないとの稟告で、平成 31 年 1 月に飼養者から病性鑑定依頼があった。採血時の臨床検査では、座位からの起立時、右手根関節を支えとして左後肢を地面に着く様子が観察され、右手根関節へ重度に負荷がかかっていた（図 1）。血液を用いて検査した結果、CAEV 遺伝子および抗体が共に陽性であることが判明した。しかし、生体からの病理組織検査はできないことから CAE の診断には至らず、また、愛玩用であることから、飼育者に対し、外部山羊と接触させないこと、繁殖に供さないことの指導を行い、飼育を継続してもらった。その後、同年 4 月には右手根関節が腫脹し排膿、同年 5 月中旬から自力で起立ができなくなり、食欲低下の後、同年 7 月 21 日に斃死したため、病性鑑定を実施した。



図 1 起立時の右手根関節への負荷増大

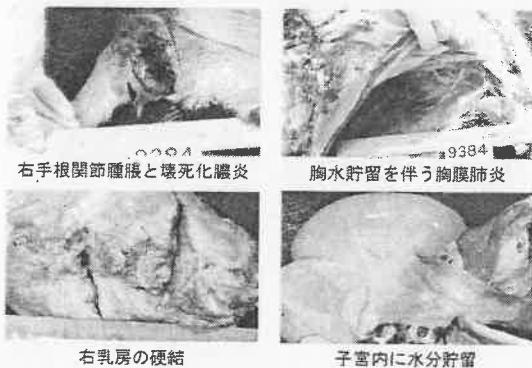


図 2 剖検所見

なお、本症例には月1回イベルメクチン製剤が投与されていた。

剖検所見

剖検では右手根関節が腫脹し、関節の中は壞死化膿していた。右手根関節を含む四肢の関節にCAEの典型的な関節病変は確認されなかった。その他に、混濁した淡黄色胸水の貯留と胸膜へのフィブリン付着を伴う胸膜肺炎、右乳腺の硬結および子宮の内腔に約5リットルの軽度粘調性のある無色透明の水分が貯留し、膨満していた（図2）。

検査

（1）方法

① ウイルス検査

脾臓、肺、気管スワブ、脳、右乳腺、乳房上リンパ節、乳汁、右手根関節包、左手根関節包、左肘関節包、左後肢関節液および子宮内貯留液からDNAを抽出し、それを鑄型にCAEVのgag領域に特異的なプライマーを用いてnested PCRを行った。

② 細菌検査

肝臓、脾臓、腎臓、心臓、肺、鼻腔スワブ、脳、右乳腺、乳汁、乳房上リンパ節、右手根関節膿汁、左後肢関節液および子宮内貯留液を用いて、定法に従い分離培養を行った。

③ 病理組織検査

肝臓、脾臓、腎臓、心臓、肺、気管支リンパ節、消化管（第一胃、第二胃、第三胃、第四胃、小腸、腸間膜リンパ節、回盲結口、結腸）、中枢神経（大脳、中脳蓋、小脳、延髄）、膀胱、子宮、右乳腺、乳房上リンパ節、右手根関節関節包、右後肢関節包、左手根関節包、左股関節包、左膝関節包および左足根関節包について10%ホルマリン固定後、常法によりパラフィン切片を作成し、ヘマトキシリソエオジン染色（HE染色）を実施した。

また、肝臓、腎臓、脾臓のパラフィン切片で、アミロイドの特殊染色としてコンゴーレッド染色（CR染色）、過マンガン酸カリウム還元処理後CR染色（還元CR染色）[3]を実施し蛍光顕微鏡（Nikon 560nmCLED フィルター）で鏡検した[4]。CR染色の切片上で、光学顕微鏡で橙赤色、蛍光顕微鏡で赤色発光したものをアミロイドと判定し、そのうち還元CR染色で染まらず蛍光顕微鏡で赤色発光しないものをアミロイドA（AA）と判定した。

④ 伝達海綿状脳症（TSE）検査

ウエスタンプロット法による検査を、国立研究開発法人農業・食品産業技術研究機構動物研究部門に依頼した。

（2）結果

① ウイルス検査

右手根関節包、左手根関節包、左肘関節包、右乳腺、乳汁、乳房上リンパ節および脾臓でCAEV遺伝子が検出された。

② 細菌検査

右手根関節および肺から *Tp* が有意に分離された。

③ 病理組織検査

左足根関節包を中心に、左手根関節包、左膝関節包でリンパ球や形質細胞の浸潤を伴い関節滑膜が絨毛状に増殖していた（図 3）。右手根関節包は壞死化膿性病変が強く、CAE 病変の有無は確認できなかった。右乳腺では非化膿性間質性乳腺炎が観察された（図 4）。肺では、菌塊を多数伴う線維素性化膿性胸膜気管支肺炎が観察されたが、CAE 病変は確認されなかった（図 5）。水分が貯留していた子宮では、粘膜に水疱形成を伴い子宮壁が菲薄化していたが、炎症反応は認めなかった。また、脾臓の白脾髄に重度に、腎臓の糸球体や血管周囲、肝類洞、消化管および関節包の血管周囲に軽度にエオジン好性硝子様物の沈着が多数観察された（図 6）。HE 染色の好酸性硝子様物に一致して、CR 染色は、光学顕微鏡では脾臓が弱陽性、肝臓・腎臓は陽性、蛍光顕微鏡では 3 臓器すべて陽性であったことから、沈着物をアミロイドと判定した。また、還元 CR 染色では、蛍光顕微鏡で赤色発光しなかった。よって、そのアミロイドは AA であることが示唆された（図 7）。

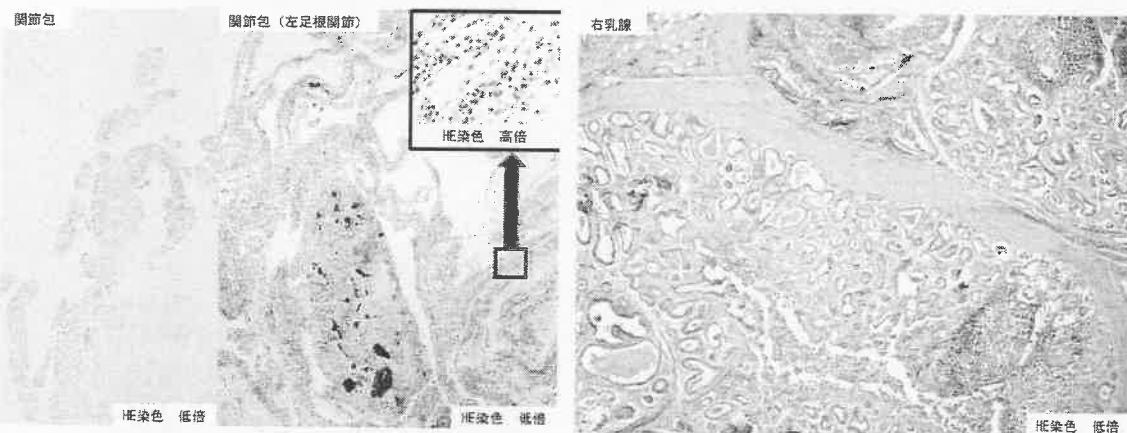


図 3 関節滑膜の絨毛状増殖

図 4 非化膿性間質性乳腺炎

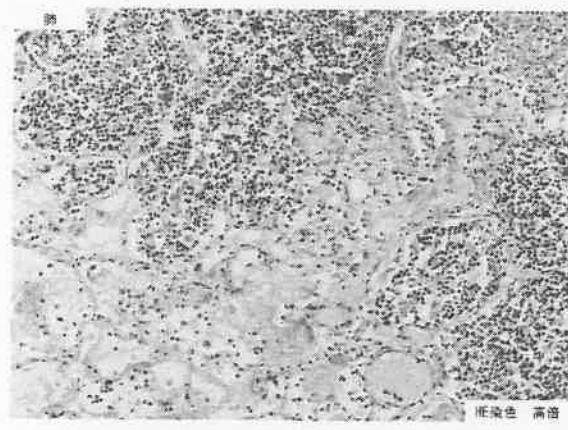


図 5 線維素性化膿性肺炎

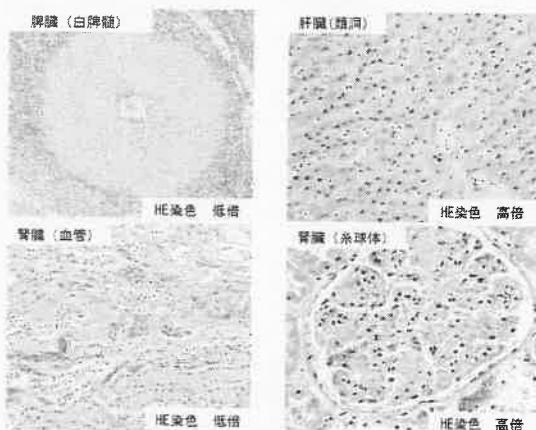


図 6 好酸性硝子様物の沈着

④ TSE 検査

陰性を確認した。

考察およびまとめ

関節包と乳腺に CAE の所見と一致する病変がみられ、また、同部位から遺伝子を検出したことから総合的に判断し CAE と診断した。

右手根関節と肺の化膿性病変
部から Tp が分離された。起立時に負荷がかかっていた右手根関節の皮膚の傷等から Tp に感染し、その後肺炎を起こし斃死したと考えられた。

全身に AA が沈着していた。過去に CAE にアミロイド沈着を伴う事例の報告があるが [5]、関連性は不明となっている。アミロイドは組織の間質に異常に沈着する様々なタンパク性物質の総称で、沈着程度および部位により様々な機能障害を起こすことがされている。人以外の動物では 10 型に分類され [6]、炎症性疾患に続発する AA が多くの動物種で確認されており、獣医学分野で一般的である [7]。本症例では関節炎や肺炎等の炎症に続発して AA が沈着し、臓器の機能低下を招いていたと考えられた。

子宮腔内に水分が貯留する子宮腔水貯留は、牛では、奇形や子宮頸管閉塞に続発するとされている [8]。本症例は出産履歴があることから、何等かの原因で後天的に子宮頸管が閉塞したと考えられた。CAE との関連性はないと思われるが、貯留していた水が 5 リットルと大量であったことから、体重増加により関節への負担が増したと考えられた。

本症例は、斃死時の病性鑑定時には CAE ウィルスに感染していることが判明しており、関節の詳しい検査を実施することができた。一方で、CAE ウィルス感染が不明な個体で、肉眼的に重度な化膿性病変があった場合、CAE が見逃される可能性も考えられた。よって、歩行困難等の CAE にみられる症状がある場合は、検査を併せて実施することが、まん延防止上重要であると考えられた。

今後も、県内飼養者に CAE について周知を行い、発生防止に努めたいと考えている。

引用文献

- [1] 全国家畜衛生職員会：病性鑑定マニュアル第 4 版
- [2] Jost, B. H. & Billington, S. J. (2005) : Antonie Van Leeuwenhoek. 88, 87–102.
- [3] 長嶺元久ら：日内会誌第 71 卷第 6 号 795–801
- [4] 星井嘉信：山口大学医学部付属病院病理診断科「アミロイドーシスの病理診断」
- [5] Tiomthy B. Crawford et al. : American Journal of Pathology 1980, 100 : 443 –454
- [6] Benson, M. D. et al. : Amyloid 25, 215–219 (2018)
- [7] Jakob, W : Vet. Pathol., 8, 292–306 (1971)
- [8] 明石博臣ら：牛病学第三版 146 - 147

	CR染色 光学	CR染色 蛍光	還元CR染色 蛍光
	弱陽性	陽性	染まらず
脾臓			
腎臓 (血管)			

図 7 CR 染色および還元 CR 染色の結果