

令和3年度  
福井県家畜保健衛生業績発表集録  
( 第1部・第2部 )



令和4年10月  
福井県家畜保健衛生所

## 目次

### 第1部

- 1 豚熱発生後における埋却地周辺の状況について  
宮谷 正巳・・・1
- 2 鳥インフルエンザ発生時における家畜防疫員の防疫対応力の平準化  
新田 愛・・・6
- 3 家畜保健衛生所での新たなET体制を目指して  
西川清文・・・10

### 第2部

- 4 3年間の県内野生いのししにおける豚熱ウイルス浸潤状況の推移  
清水誠也・・・14
- 5 *Streptococcus uberis* による牛乳房炎の難治化の要因に関する一考察  
ロタウイルス病  
田中知未・・・20
- ◎○6 起立不能子牛における単球系、好塩基球系および巨核球系への  
細胞分化を伴う急性骨髄性白血病  
武田佳絵・・・25

◎ 第63回全国家畜保健衛生業績発表会選出演題

○ 第63回東海北陸ブロック家畜保健衛生業績発表会選出演

# 1 豚熱発生後における埋却地周辺の状況について

家畜保健衛生所 宮谷正巳

## 【はじめに】

令和元年度に2件の豚熱が発生し、殺処分豚及び汚染物品などが埋却された（図1）。埋却作業終了後には臭気が残留し、凹部が形成されると水が貯まり、その水の汚濁がみられた（図2）。住民からの要望もあり埋却地周辺の環境調査を行った。



図1 埋却作業の様子



図2 凹部に貯まった水の汚濁（点線内）

## 【調査期間と回数】

水質調査を埋却地周辺の環境水で5回（令和元年11月～令和3年12月）、近隣世帯の所有する井戸水で4回（令和2年1月～令和3年12月）行った。臭気調査を埋却地上部空気で1回（令和2年2月）行った。環境水の採材地点は、埋却地の傍を流れる川・用水路とし、埋却地上流側と下流側の2地点とした（図3、4）。

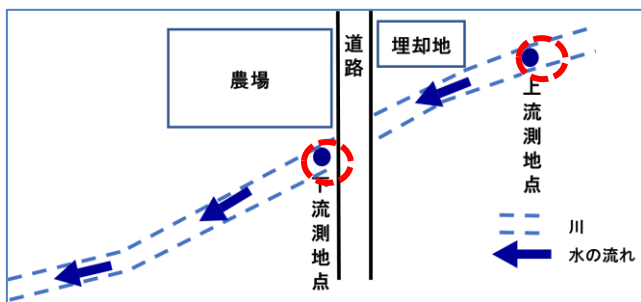


図3 A 農場埋却地採材地点（点線内）

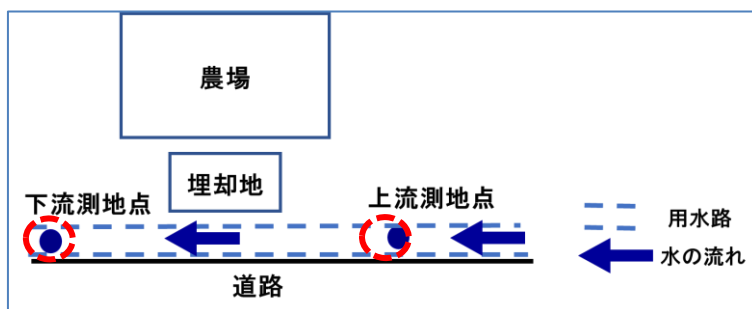


図4 B 農場埋却地採材地点（点線内）

井戸水の検体は、各世帯が提出する水とし、臭気調査の材料は埋却地上部とした。

【方法】

環境水の調査方法は、畜産排水基準 5 項目と飲用水基準 11 項目を参考とし、特に畜産排水基準 5 項目のうち①生物学的酸素要求量（BOD）、②アンモニア性窒素等の 2 項目を、飲用水基準 11 項目のうち③亜硝酸態窒素、④硝酸態窒素および亜硝酸態窒素、⑤有機物の 3 項目を「埋却地の影響を考える指標」とした。

井戸水の調査方法は、飲用水基準を参考とし 11 項目を「埋却地の影響を考える指標」とした。

空気の調査方法は、特定悪臭物質アンモニア、硫化水素、メチルメルカプタン、硫化メチル、二硫化メチルと腐敗の際に発生するメタンガスを含めた 6 項目を「埋却地の影響を考える指標」とした。

【結果】

1 埋却地周辺の環境水

A農場、B農場の第1回目（調査日：令和元年 11 月）の畜産排水基準を指標とした結果（表 1）、飲用水基準を指標とした結果（表 2）を示す。畜産排水基準では①BOD、②アンモニア性窒素等の 2 項目は基準値以下を両農場とも示した。飲用水基準では、③亜硝酸態窒素、④硝酸態窒素および亜硝酸態窒素、⑤有機物の 3 項目は基準値以下をA農場では示した。一方B農場では、④硝酸態窒素および亜硝酸態窒素、⑤有機物の 2 項目で基準値以下であったが③亜硝酸態窒素では基準値以上であった。ただし上流側よりも下流側で低値を示した。他の調査日 4 回の結果は、全て基準値以下だった。

表 1 畜産排水基準を指標とした環境水調査結果（令和元年 11 月実施）

	A農場		B農場		参考値 (基準値)
	上流側地点	下流側地点	上流側地点	下流側地点	
① <b>BOD</b> (生物学的酸素要求量)	0.5 mg/L未満	0.5 mg/L未満	1.0 mg/L	1.1 mg/L	160mg/L
SS (浮遊物質)	3 mg/L	2 mg/L	6 mg/L	8 mg/L	200mg/L
大腸菌群数(MPN)	130 個/mL	330 個/mL	130 個/mL	49 個/mL	3,000個/mL
全窒素	0.8 mg/L	0.79 mg/L	5.2 mg/L	2.8 mg/L	120mg/L
全磷(リン)	0.054mg/L	0.054 mg/L	0.78 mg/L	0.44 mg/L	16mg/L
② <b>アンモニア性窒素等</b>	0.02 mg/L	0.02 mg/L	0.17 mg/L	0.1 mg/L	130mg/L

(太字が参考指標項目)

表2 飲用水基準を指標とした環境水調査結果（令和元年11月実施）

	A農場		B農場		参考値 (基準値)
	上流側地点	下流側地点	上流側地点	下流側地点	
一般細菌	760 個/mL	1200 個/mL	630 個/mL	720 個/mL	100個/L以下
大腸菌	検出	検出	検出	検出	検出なし
③亜硝酸態窒素	0.004 mg/L 未満	0.004 mg/L 未満	0.086 mg/L	0.045 mg/L	0.04mg/L
④硝酸態窒素及び 亜硝酸態窒素	0.67 mg/L	0.67 mg/L	4.35mg/L	2.2mg/L	10mg/L 以下
塩化物イオン	7.7 mg/L	8.0 mg/L	9.3 mg/L	10.2 mg/L	200mg/L 以下
⑤有機物(全有機炭素 (TOC)の量)	1.2 mg/L	1.2 mg/L	1.9 mg/L	2.0 mg/L	3mg/L 以下
pH値	8.0	8.0	7.6	8.6	5.8~8.6以下
臭気	異常なし	異常なし	異常なし	異常なし	異常なし
色度	9.6 度	10 度	9.9 度	12 度	5度以下
濁度	2.5 度	2.4 度	1.8 度	2.4 度	2度以下

(太字が参考指標項目)

## 2 埋却地周辺の井戸水

A農場、B農場周辺世帯の第1回目（令和2年1月実施）の井戸水の調査結果を示す（表3、4、図5、6）。A農場付近で2か所、B農場付近で6か所、基準を上回る井戸が見られた。その後、3回実施した調査においても基準を上回る井戸が見られた（表5）。

表3 A農場埋却地周辺の井戸水調査結果（令和2年1月実施）

調査数	不適合	一般細菌	大腸菌
<b>22</b>	<b>2</b>	<b>1</b>	<b>1</b>

表4 B農場埋却地周辺の井戸水調査結果（令和2年1月実施）

調査数	不適合	一般細菌	大腸菌	臭気	色度	濁度
<b>34</b>	<b>6</b>	<b>2</b>	<b>1</b>	<b>3</b>	<b>4</b>	<b>3</b>

表5 両農場の埋却地周辺の井戸水調査結果（R2年6月～R3年7月実施）

年月	調査数	不適合	一般細菌	大腸菌	臭気	色度	濁度
R2年6月	60	7	2	3	1	3	1
R3年2月	47	5	2	2	0	3	1
R3年7月	40	9	8	7	0	5	4

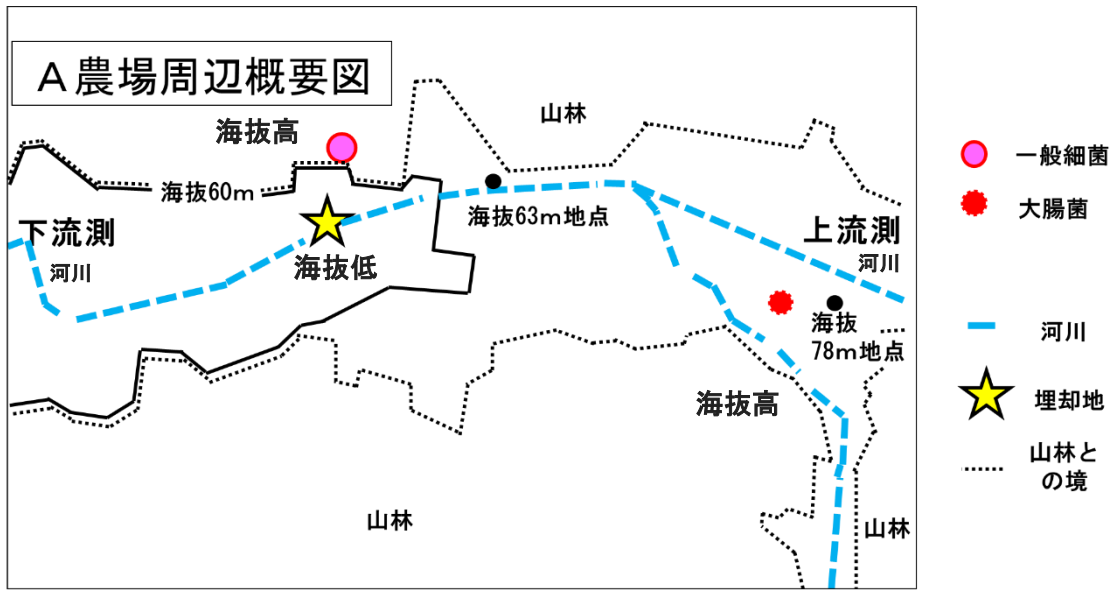


図5 A 農場周辺の井戸水調査結果 (令和2年1月実施)

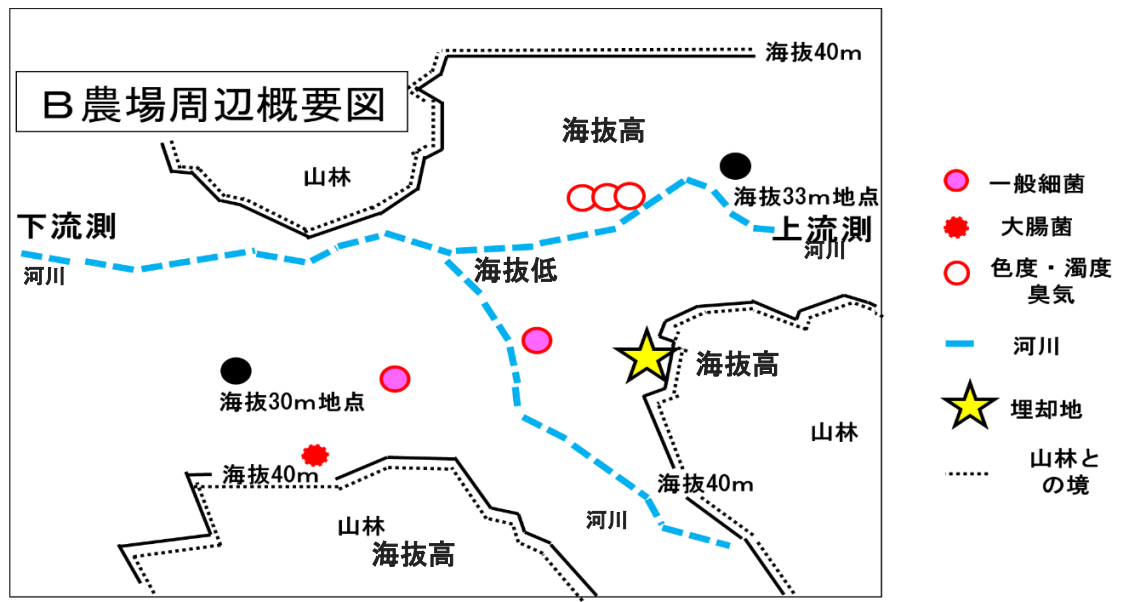


図6 B 農場周辺の井戸水調査結果 (令和2年1月実施)

### 3 埋却地周辺の臭気

令和2年2月にA農場で行い、全て規制値未満だった（表6）。

表6 埋却地周辺の臭気調査結果（令和2年2月実施）

物質名	実測値	規制値
アンモニア	0.1ppm未満	1～5ppm
硫化水素	0.001ppm未満	0.02～0.2ppm
メチルメルカプタン	0.001ppm未満	0.002～0.01ppm
硫化メチル	0.001ppm未満	0.01～0.1ppm
二硫化メチル	0.001ppm未満	0.009～0.1ppm
メタンガス	0.1%未満	—

#### 【考察】

埋却地周辺の環境水調査で、A農場での亜硝酸態窒素が基準値以上となったことがあったが、埋却地より上流側のほうが下流側より高値を示したことから埋却地の影響はないと判断した。また、埋却地周辺の井戸水調査では、A農場で一般細菌数と大腸菌数で基準値以上の値を示す井戸があったが、埋却地より上流側もしくは海拔が高い地点であることから埋却地の影響はないと判断した。B農場で一般細菌数と大腸菌数、臭気、色度、濁度で基準値以上を示す井戸があったが、埋却地より上流側もしくは海拔が高い地点の井戸であること、水源が同じ場所と思われる隣接する井戸で基準値未満であったこと、隣接する井戸であっても同じ項目で基準値以上を示すことがなかったことなどから埋却地の影響はないと判断した。

臭気調査は、悪臭防止法で定められている5項目において規制値を大きく下回り、メタンガスにおいても検出限界地を示したことから埋却地の影響はないと判断した。

#### まとめ

少なくとも調査を行った時点においては、埋却地周辺の環境水および井戸水、空気において埋却地の影響はないと考えられた。調査結果については住民説明会にて公表しているが、調査は継続中であるため今後の調査結果にも注視していく。

## 2 鳥インフルエンザ発生時における家畜防疫員の防疫対応力の平準化

家畜保健衛生所 新田愛

### 【はじめに】

令和2年度は、過去最大規模となる18県52事例の養鶏場で高病原性鳥インフルエンザ（HPAI）が発生し、令和3年度も10県16事例（2/15時点）の発生が続いている。本県では、HPAI発生時における対策の一環として、例年、県職員を対象とした防護服着脱や殺処分、家畜の取り扱いなどの防疫訓練を実施している。職員の中には、私も含め新任獣医師や畜産に従事経験がない他部局の家畜防疫員も多い。そこで今年度は、従来実施してきた防疫訓練に加え、家畜防疫員を対象とした異常家きん通報対応、評価作業、発生状況確認検査の3つの防疫訓練を実施し、家畜防疫員の防疫対応力の平準化を目指した。

### 【防疫訓練の内容】

#### 1. 異常家きん通報対応訓練

##### （1）実施内容および流れ

家畜保健衛生所（家保）の新任職員を対象とし、異常家きん発生時の初動対応訓練を行った。家保で作成した異常家きん発生時の初動対応マニュアルを使用し、農家からの異常家きん模擬通報を受け、特定家畜伝染病防疫指針様式3（様式3）に基づき聞き取りを行い、農場立入用品など携行品を確認した。

##### （2）農家聞き取り調査票の作成

通報対応訓練を実施した結果、防疫作業に不慣れな新任職員では、様式3の内容をすべて聞き取るには時間がかかること、様式3の文面だけでは具体的な内容がわかりにくいこと、様式3の表現は簡易でないため農家が理解しづらいこと、防疫指針に定められた農場への指示事項が伝わりにくいこと、がわかった。

農家からの聞き取りをよりスムーズに行えるよう、農家聞き取り調査票を作成した。聞き取りの要点・ポイントをまとめ、聞き取る順番を明確にした（表1-1）。記載のまま読んでも理解しやすく伝わりやすいように表現を簡易にし、具体的に記載した（表1-2）。聞き漏れ・指示漏れ防止のため、必要な確認および指示事項を聞き取り調査票に記載し、確認欄を設ける等の工夫をした（表1-3）。

異常家きん通報の聞き取り調査票	
通報受理日時： 年 月 日 時 分	
通報受理者： _____	
1. 農場情報	
◆ 通報者（農場名）	
◆ 農場住所	
◆ 携帯電話番号（連絡がとれる番号）	
◆ 飼養鶏の種類	採卵用鶏・肉用鶏・種鶏・その他（ ）
◆ 飼養羽数（鶏舎数）	
◆ 飼養形態	ケージ飼い・平飼い・その他

表1-1 聞き取り調査票（聞き取りポイント・順番の明確化）



2. 異常通報の内容		3. 確認事項	
異常家さんの羽数、週齢	↔	通常の平均死亡羽数/日（最近の平均死亡数）	↔
異常家さんの確認日時（いつから？）	↔	通常の産卵率	↔
主な症状	↔	ワクチン接種履歴（最低限 ND の接種有無）	↔
異常家さんの舎内の分布（奥、入口 etc.）	↔	実施済みの措置（治療、消毒、隔離等）	↔
<<その他症状の確認>> ・鶏冠、肉垂等のチアノーゼ、沈うつ、産卵率低下等 ・同一舎内において、1日の死亡率が通常の2倍以上ないか ・5羽以上の家さんがまとまって死亡していないか		直近で鶏の移動があったか	↔

表1-2 聞き取り調査票（表現を簡易にし、具体的に記載）

4. 届出者への指示事項	
↔	・農場で飼っている全ての家さんは、農場からの移動を自粛すること。
↔	・卵の出荷を止めること。（出荷した場合、出荷先を確認する）
↔	・全ての鶏舎入口に消石灰を散布し、各鶏舎に殺鼠剤を散布すること。
↔	・農場の出入口を1か所にし、農場および防疫関係者以外の立入り禁止。
↔	・農場外に物を持ち出さない。
↔	・原則、農場から出ないこと。外出する場合は適切な消毒、作業衣と長靴を交換すること。
↔	・異常家さんの卵、排泄物、敷料等は他の家さんと接触しないようにすること。
5. 電話の最後に確認	
↔	・準備が出来次第、家保が立ち入りすること。
↔	・必ず畜舎で会えるようにすること。
↔	・途中で連絡ができる電話番号を確認しておくこと。

表1-3 聞き取り調査票（指示事項を記載し、確認欄を設置）

(3) まとめ

作成した農家聞き取り票を用いて通報対応訓練を行うことで、新任家保職員も落ち着いてスムーズに対応でき、聞き取り時間も短縮できた。

今後は、新任以外の職員も使用することでより良いものへと改訂していくこととした。

2. 評価作業の防疫訓練

(1) 実施内容および流れ

今年度の評価作業班長（県出先機関所属）および新任家保職員を対象とし、県畜産試験場の鶏舎を使用して評価作業の流れや作業内容の確認、実践を行った。

評価作業班長が家畜防疫員役、新任家保職員が市町職員および関連事業者（JA 職員）役となり、3人一組で行う評価作業を実施した。

県対策本部からの評価作業員派遣依頼を受け、家保で携行品を積み込み、現地対策本部で集まった後、発生農場（県畜産試験場）へ移動して評価作業を実施した。

家畜防疫員の指示の下、農場に立ち入り、評価対象物品（生成物・飼料関係・医薬品関係・たい肥関係・購入伝票）の記録を行った。家畜防疫員が撮影対象物の指示と資料

複写、市町および JA 職員が対象物の撮影およびホワイトボードに撮影対象物を記入した（写真 1）。

評価作業終了後、県対策本部へ評価資料を送信した。



写真 1 評価作業訓練の様子（評価対象物品の記）

## (2) まとめ

評価作業員の派遣依頼から報告までの一連の流れを実践したことで、作業内容を具体的に理解できた。訓練後、大規模養鶏場を有する地区の防疫検討会で、評価者となる市町・JA 職員と評価作業班の動きや作業内容について情報共有を行った。

## 3. 発生状況確認検査の防疫訓練

### (1) 実施内容および流れ

畜産従事経験のない他部局の家畜防疫員および新任家保職員を対象として、農家への衛生的な立ち入り方の実践、採材（スワブおよび血液）の実技訓練を行った。

発生状況確認検査の内容や採材方法などの座学後、家保職員による防護服着脱、立ち入りおよび採材方法のデモンストレーションを行い、模擬農場（家保）にて実技訓練を実施した（写真 2、3）。



写真 2 発生状況確認検査、実技訓練の様子（農場立ち入り・捕鳥）



写真3 発生状況確認検査、実技訓練の様子（スワブ採材・採血）

## （2）まとめ

防護服着脱から採材までを実践したことで、作業内容を具体的に理解できた。生きた鶏を使用することで、採材手技や方法を確認できた。訓練後、農場立ち入り者用マニュアルおよび立ち入り携行品の準備物リストを整備した。

## 【考察】

HPAI の発生時には、迅速かつ的確な防疫対応がまん延防止および早期終息を図るために重要であり、万々に備えて防疫訓練を繰り返し行うことが大切である。

今回、家畜防疫員を対象とした3つの防疫訓練を実施したことにより、防疫作業に不慣れな家畜防疫員も作業内容を具体的にイメージでき、理解が進んだ。また、実用性のある聞き取り票作成や、市町・JA職員との情報共有、各種マニュアルの整備改善につながった。今後は、市町・JA職員を対象とした訓練も必要と考える。

訓練を継続して行うことで、家畜防疫員一人ひとりの意識の向上、防疫対応力の平準化を図り、職員の異動や配置転換に左右されない防疫対応力の維持向上につなげたい。

### 3 家畜保健衛生所での新たな ET 体制を目指して

家畜保健衛生所 西川清文

#### 【はじめに】

本県では、受精卵移植により若狭牛の生産を推進するとともに受胎率の向上と技術の普及を図る目的で「受精卵移植技術向上対策事業」を昭和 63 年より開始し、乳用牛および繁殖用肉牛を借り腹とした受精卵移植（ET）を実施している。ET での受胎には受胎牛、受精卵、移植器具、移植技術など様々な要因が影響している。受精卵については、若狭牛の受精卵を供給している嶺南牧場にて平成 26 年より後期収縮胚を標的とした採卵スケジュールに変更し、凍結方法は 2 ステップ法からダイレクト法へ変更した。さらに、平成 27 年には受精卵を深部に注入するために移植器具（YT ガン）を変更した。移植技術については、家畜保健衛生所（家保）では技術の安定化を図るために担当者の専従化が行われている。その結果、平成 28 年以降受胎率は 40% を超え、安定化している（表 1）。しかし、近年は家畜伝染病が県内外で多発し、それに伴う防疫業務が増加し、多様化している。さらに、令和 2 年には嶺南家畜保健衛生センターの廃止により、家保が一つに集約され、ET 担当者の専従は困難となっている。そこで今回、異動に伴う ET 担当者の変更に合わせて、ET 業務の複数名体制の構築および家きん衛生等の他業務も同じ出張業務内で対応できるように取り組んだので報告する。

表 1 ET 受胎率の推移

	H23	H24	H25	H26	H27	H28	H29	H30	R1	R2
移植数*	223	234	162	219	315	378	296	283	289	275
受胎数	74	74	63	83	116	152	129	124	127	125
受胎率(%)	33.2	31.6	38.9	37.9	36.8	40.2	43.6	43.8	43.9	45.5

\*全て凍結 1 卵移植（追い移植無し）

#### 【共有化事項の設定】

過去に ET の経験がある者を今回の対象者とし、基本操作の確認と、受精卵融解法など現場での作業方法を統一し、これらを共有化事項として設定した。まず、YT ガンの基本操作として、①構造の理解と②子宮内での操作を確認した。つぎに現場での作業方法の統一化として①衛生意識および受精卵融解法の徹底と②移植可否基準を作成した。

#### （1）基本操作の確認

##### ① YT ガンの構造理解と取り扱い

YT ガンを分解し、受精卵の YT ガン内での動きを確認した。まず、受精卵の入った層を青色に着色した模擬受精卵ストローを作成し、分解した YT ガンの内芯にセットした（図 1）。その結果、受精卵の入った層はコネクタ部から約 10cm の部分に確認できた。



内芯を傾けても、液相が下に移動することはなかった。また、コネクタ部に1mL シリンジをセットし、移植時と同様に空気

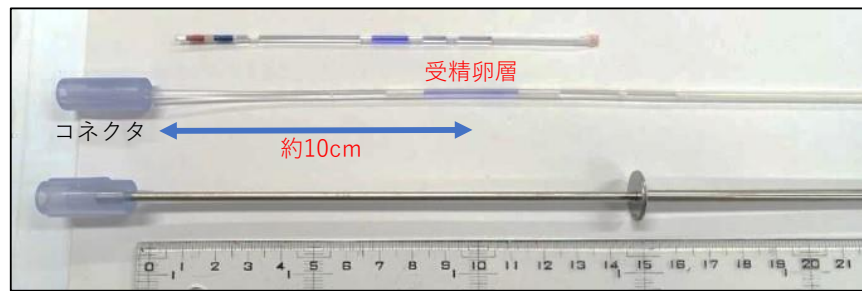


図 1 模擬受精卵ストローと YT ガン内芯での受精卵層の確認

を注入すると、YT ガン内芯にセットした液相の状態のまま先端部まで移動し、空気が約 0.5mL 注入されたときに受精卵層が放出された。そのため、コネクタから約 10cm は丁寧に扱い操作すること、移植時の空気注入では受精卵への影響や内芯での残存を抑えるため、空気を約 10 秒かけてゆっくり注入し [1]、空気注入約 0.5mL まではより慎重に実施することにした。

## ②子宮内での YT ガン操作

移植部位は子宮角深部であるため、深部に届くように YT ガン外筒を子宮角基底部まで注入することにした (図 2 赤丸、赤矢印部)。また外筒の位置が浅いと子宮深部に内筒が届かないことを確認した (図 2 青矢印)。

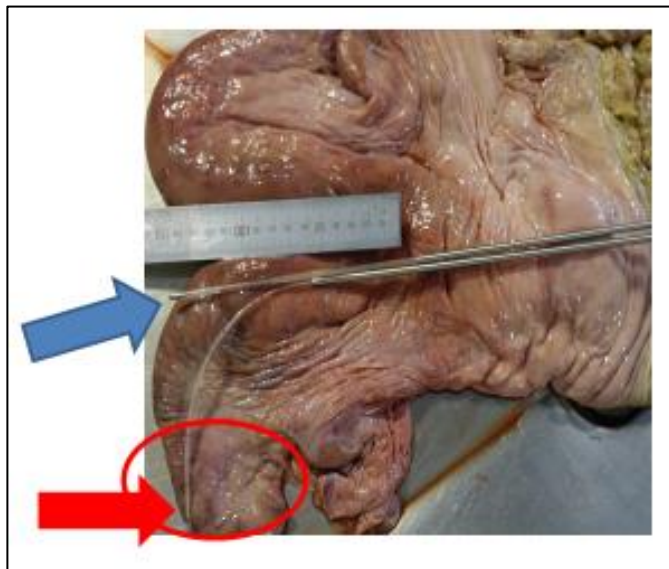


図 2 YT ガンの子宮内注入位置

## (2) 現場での作業方法の統一

### ①衛生意識および受精卵融解法の徹底

衛生意識として、移植前に必ず陰部を消毒液の入った水で洗浄後、使い捨てタオルでふき、YT ガン挿入直前にもアルコール綿花で陰部をふくことを徹底した。

受精卵融解法は、温度を正確に 30 度にして、ストローを液体窒素からとりだして空气中に 6 秒間保持してから、30 度の湯に 10 秒間浸漬する事とし、受精卵に大きな影響があるとされる温度変化や紫外線をさけるために、風や直射日光を避けた場所での融解を徹底した。

### ②移植可否選定基準の作成

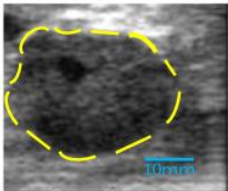
移植前の黄体診断について、前担当者までは直腸検査法で移植可否について長年の経験を活かして判断していたが、複数名での実施および経験数に差があることを考慮し、超音波診断装置を用いることで、客観的に卵巣および子宮の状態を判断するようにした。そのために超音波診断装置を用いた移植可否選定基準を作成した (表 2)。黄体ランクの基準を、移植可能、相談、不可能の 3 つに分類した。黄体ランクは、大き

さだけでなく、内腔や突起、共存卵胞の有無を確認し、選別した(図3)。相談となった場合は、その牛の空体日数や乳量等を考慮して、農家と相談して移植の判断を行った。また、超音波画像を実際に農家に見せて、移植の可否を明確かつ客観的に説明した(図4)。

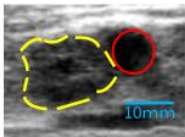
表2 移植可否選定基準

移植	不可	相談	可	
ランク	Poor	Fair	Good	Excellent
大きさ	15mm以下	15mm	18mm	20mm以上
黄体突起	無は1ランク下げる			
内腔	50%以上			
超音波像	低エコー(黒)			
共存卵胞	20mm以上	10mm以上は1ランク下げる		

- 大きさ20mm(Excellent)、共存卵胞無し → 可
- 大きさ18mm(Good)程度、共存卵胞有り  
→ 外口確認で充血無し → 可
- 大きさ15mm以下(Poor)、共存卵胞有り → 不可



20mm以上、突起有



13mm程度、共存卵胞

図3 移植可否の例



図4 超音波画像を用いた農家説明

### ③記録の統一化

カルテへの記載法を統一化し、聴取したことや気づいたことを細かく記載することとした。

#### 【保温器の作成】

冬季の移植器温度低下による受胎率低下を防ぐため、保温器を作成した(図5)。



加温した保冷剤(約40℃)で移植器を挟み、毛布でくるむ



持ち運びケースに収納、移植へ

図5 保温器の作成

### 【移植結果】

令和3年4月から12月までの移植者数5名で実施した移植結果は、移植依頼件数227件、移植頭数151頭、受胎頭数67頭で受胎率44.7%であった。担当者および担当者以外の受胎率は45.4%、43.9%で共に受胎率は40%を超えていた（表3）。

表3 令和3年4月～12月受胎率結果

	担当者	担当者以外
移植頭数	110	41
受胎頭数	49	18
不明頭数	2	0
受胎率(%)	45.4	43.9

### 【複数業務への対応】

ETセットを整理・コンパクト化し、複数人使用でも使いやすいようにし、家きん衛生など他業務のセットも車に積載可能にした。ETセットの車内での配置を固定する（図6）ことで、慌てずにETが可能となり、ET時間の短縮化にもつながった。また、複数農家巡回時の衛生対応として、移動車内での長靴消毒を実施した（図7）。



図6 車内配置



図7 長靴消毒

### 【まとめ】

ET担当者および担当者以外も受胎率は40%以上を維持できた。また、依頼数も変わらず、農家の信頼も維持できている（R2年度：223件、R3年度227件）。他畜種などの他業務にも対応することができた。さらに、複数人体制によって新型コロナウイルス感染症予防のための分散勤務にも対応可能となった。

### 引用文献

- [1] 小林崇之：令和2年度福井県家畜保健衛生業績発表会抄録, No2 (2020)

#### 4 3年間の県内野生いのししにおける豚熱ウイルス浸潤状況の推移

家畜保健衛生所 清水誠也

##### 【はじめに】

豚熱は平成30年、岐阜県の養豚場において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4年2月末までに16県で76事例の発生が確認された。

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がなされ、関係機関、猟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。本県においては、令和元年6月に福井県境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。

また、令和元年8月から農林水産省主導で豚熱ウイルス(CSFV)感染拡大防止のため豚熱経口ワクチン(図1)を散布することとなった。これはワクチンベルト構想(図2)と呼ばれ、CSFV 確認地域の外縁を囲むように経口ワクチンを散布することでウイルスの拡大を防ぐというものである。本県では令和元年8~11月、令和2年2、3月に南越前町、敦賀市、美浜町、令和2年6、10月に南越前町、敦賀市、美浜町、若狭町、小浜市、おおい町、高浜町、令和3年2月に小浜市、おおい町、高浜町に散布した(図3、4)。さらに、令和元年10月から養豚場での豚熱ワクチン接種も開始された。



図1 経口ワクチン

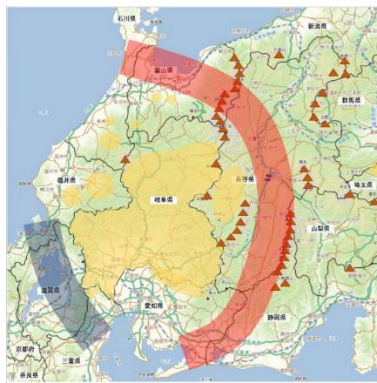


図2 ワクチンベルト構想

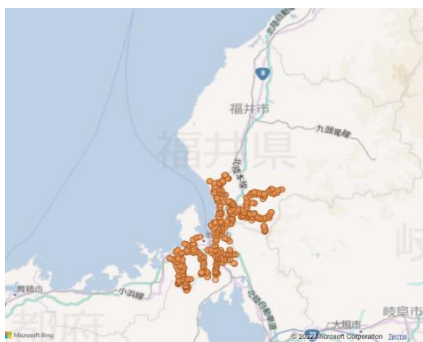


図3 令和元年度ワクチン散布地

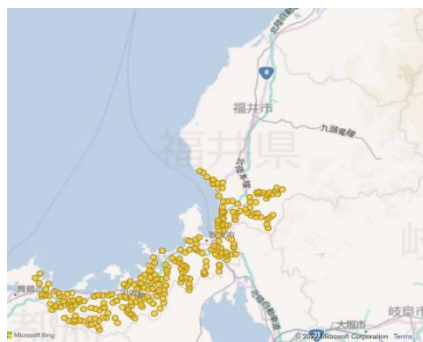


図4 令和2年度ワクチン散布地



今回、令和元年から3年間の県内野生いのししにおけるCSFV浸潤状況の推移について調査した結果を報告する。

材料および方法

【材料】

防疫指針に基づき、死亡いのしし15検体については臓器（扁桃、腎臓、脾臓）をPBSで10%乳剤にしたもの。捕獲いのしし1584検体については10%臓器乳剤あるいは血清を材料とした。

【方法】

遺伝子検査に関しては、QIAamp Viral RNA Mini kit (QIAGEN)を用いて10%乳剤あるいは血清からRNAを抽出し、QIAGEN OneStep RT-PCR Kit (QIAGEN)を用いVilcekら[1]の方法でコンベンショナルRT-PCRを実施した。指針の改正によりリアルタイムRT-PCRの使用が可能になってからはRealPCR CSFV RNA Test (IDEXX)あるいはCSFV/ASFV Direct RT-qPCR Mix & Primer/Probe (TaKaRa)を用い検査を実施した。

抗体検査に関しては豚熱エライザキットII(ニッポンジーン)を用いELISAを実施した。

【結果】

令和元年7月から3か月ごとに、遺伝子陽性と抗体陽性が確認された地点をプロットしたものが図5から図14になる。経口ワクチン散布地域については黒枠で囲った地域で示す。CSFVはまず県北地域に拡がり、それから県南地域に浸潤したことが確認された。図6,7をみると、抗体に関しては、経口ワクチン散布地域でも確認され、経口ワクチン散布地域を超えたCSFVの浸潤は確認されていない。その後、徐々に経口ワクチン散布地域にもCSFVの浸潤が確認され、令和3年3月には経口ワクチン散布地域を超え京都府で遺伝子陽性個体が確認された(図11)。結果的に令和3年末までに県全域で遺伝子陽性が確認された。



図5 遺伝子および抗体陽性個体分布



図6 遺伝子および抗体陽性個体分布

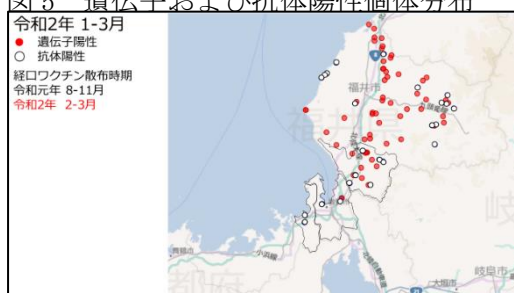


図7 遺伝子および抗体陽性個体分布



図8 遺伝子および抗体陽性個体分布

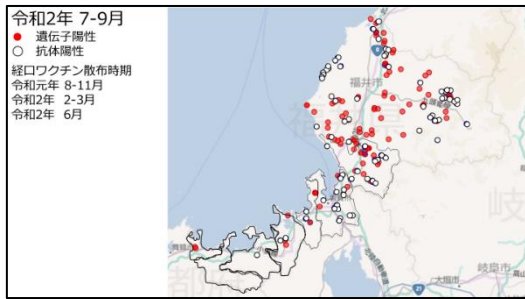


図9 遺伝子および抗体陽性個体分布



図10 遺伝子および抗体陽性個体分布



図11 遺伝子および抗体陽性個体分布

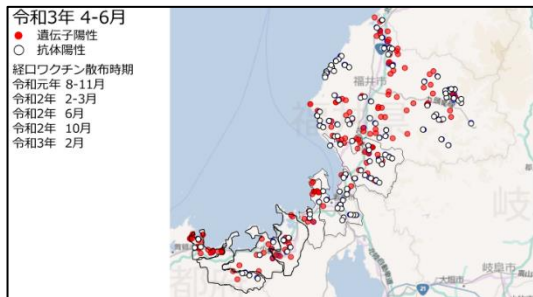


図12 遺伝子および抗体陽性個体分布

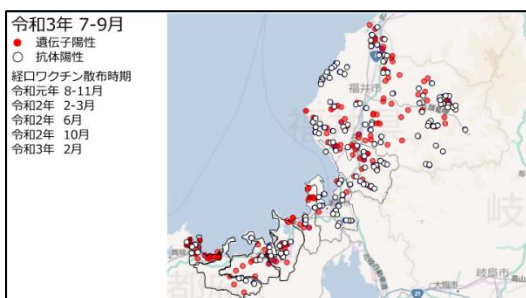


図13 遺伝子および抗体陽性個体分布

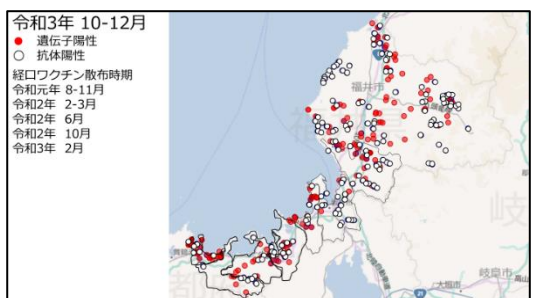


図14 遺伝子および抗体陽性個体分布

令和元年から令和3年までの遺伝子陽性率(%)と抗体陽性率(%)を比較すると遺伝子陽性率はそれぞれ11.7、7.6、16.4で抗体陽性率は16.5、33.3、44.1だった(図15)。

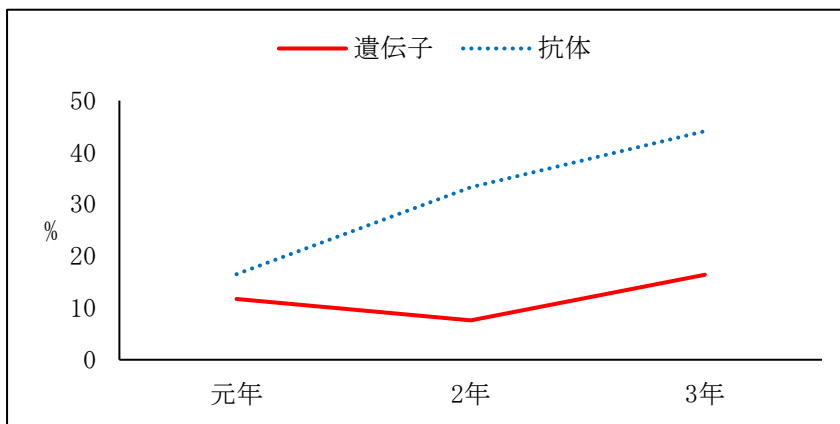


図15 年別遺伝子および抗体陽性率(県全域)

遺伝子陽性率と抗体陽性率を四半期別に比較したものを図 16 に示す。グラフをみると遺伝子陽性率上昇後、抗体陽性率も上昇していることが確認される。

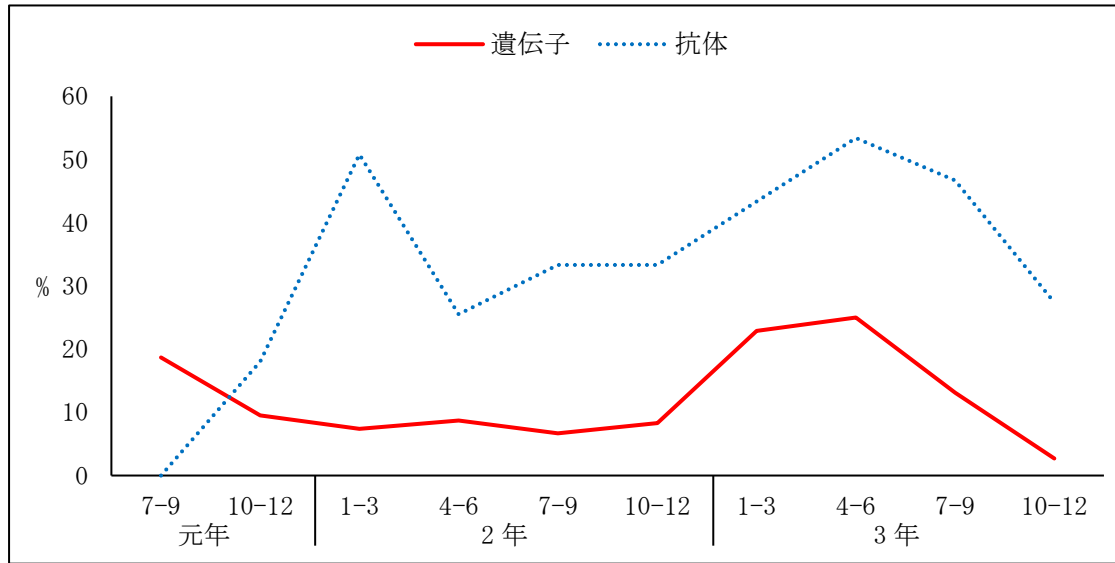


図 16 四半期別遺伝子および抗体陽性率（県全域）

図 17 に四半期別の遺伝子陽性率を地域別で分けたものを示す。図から県北は令和 2 年 4 月から 6 月をピークに遺伝子陽性率が減少し、県南は令和 3 年 1 月から 3 月をピークに減少していることがわかる。

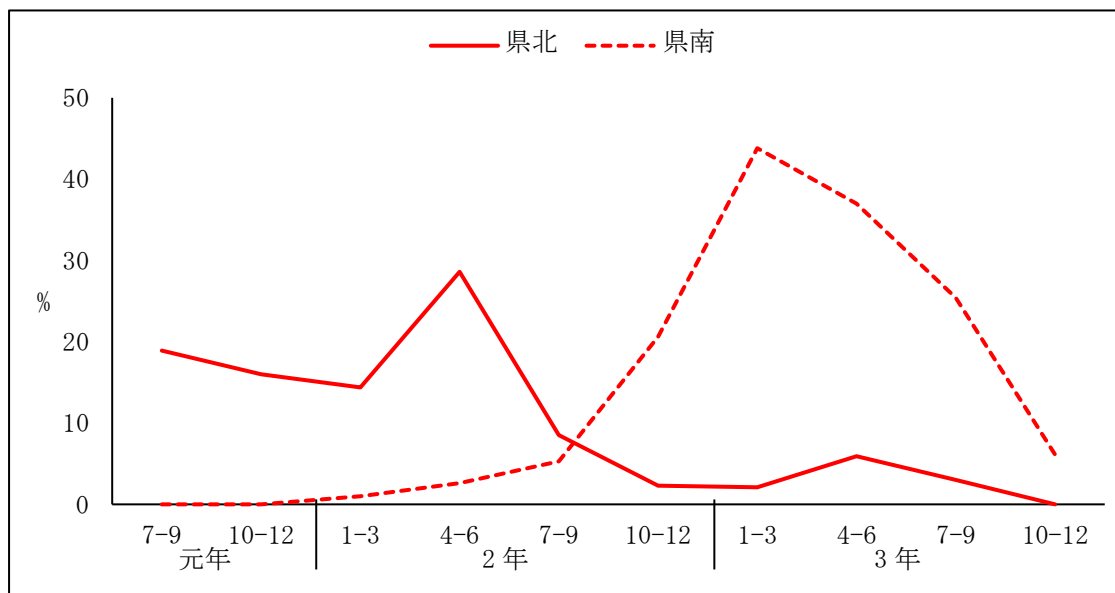


図 17 四半期別遺伝子陽性率（地域別）

図 18 に四半期別の抗体陽性率を地域別で分けたものを示す。抗体陽性率についても県北で増加後、県南で増加が認められた。また令和元年の県南での抗体陽性率の増加は経口ワクチン散布によるものと考えられた。

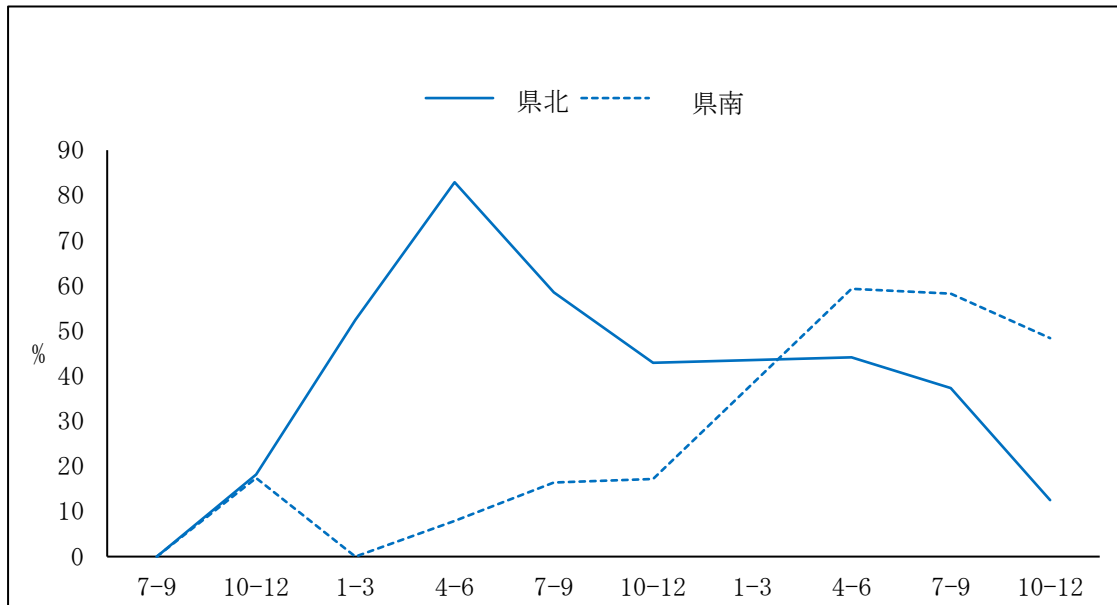


図 18 四半期別抗体陽性率（地域別）

図 19, 20 に四半期別の遺伝子および陽性率を地域別で比較したグラフを示す。図 19 では遺伝子陽性率と抗体陽性率が同様の動きであることから、県北の野生いのししは CSFV 感染により抗体を獲得したと考えた。図 20 では令和元年度の経口ワクチン散布時期（令和元年 7 月～令和 2 年 3 月）は、遺伝子陽性率が低く抗体陽性率が増加しており、経口ワクチンにより抗体が獲得されたと考えた。一方、令和 2 年度の経口ワクチン散布時期（令和 2 年 4 月～6 月、10 月～12 月、令和 3 年 1 月～3 月）では抗体陽性率の増加は認められるものの、遺伝子陽性率の増加もみられ、この時期の抗体陽性率の増加は CSFV 感染によるものと考えた。

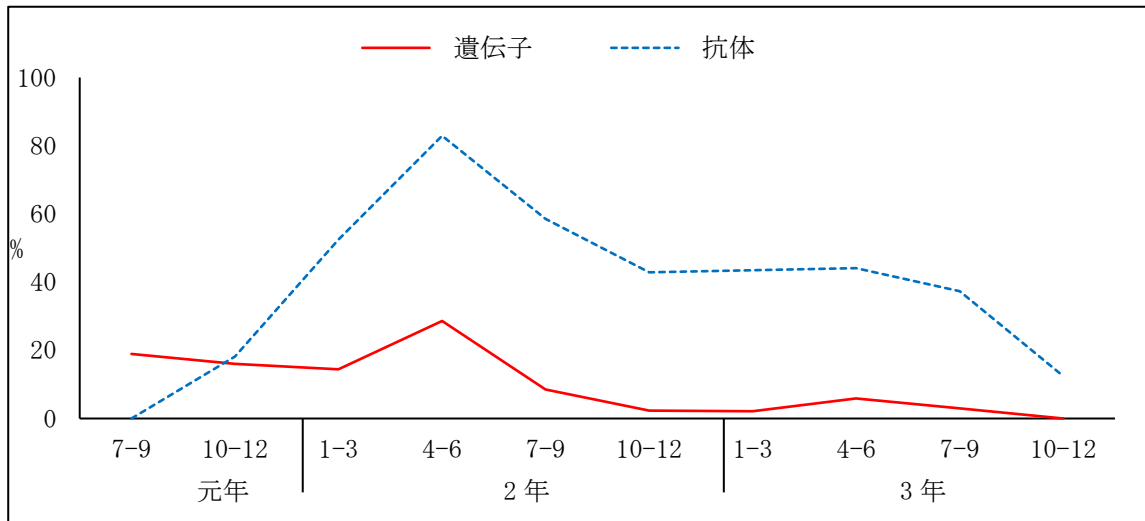


図 19 四半期別遺伝子および抗体陽性率（県北）

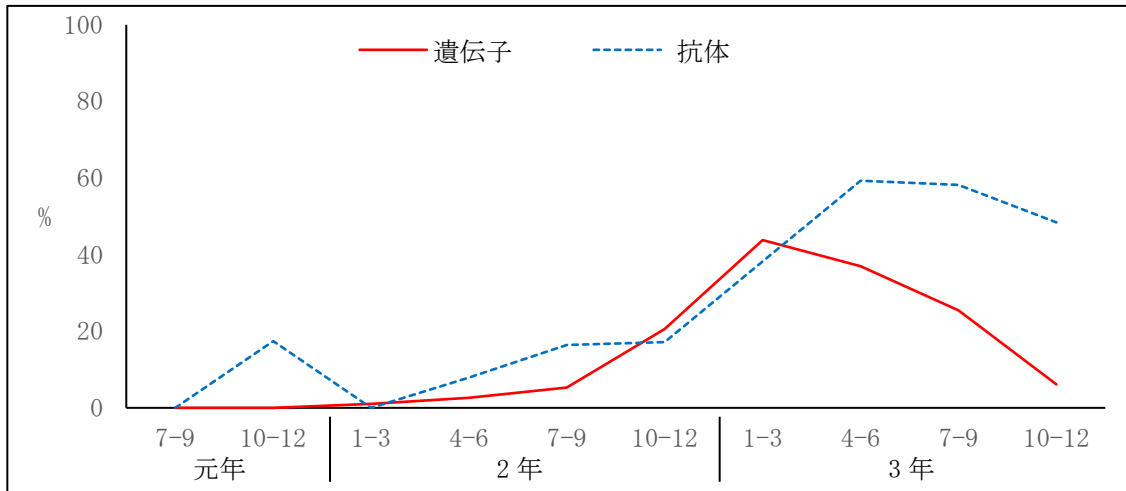


図 20 四半期別遺伝子および抗体陽性率 (県南)

### 【まとめ・考察】

令和元年から令和3年の豚熱陽性いのししの推移から、県内におけるCSFVは県北地域に侵入後、県北地域で感染拡大し、県南地域に拡大、あるいは隣接県から県南地域に侵入したと推察された。図19および図20からCSFVは野生いのししにおいて一過性に拡がり、感染個体が死亡あるいは耐化し抗体を獲得したことで感染率が減少したと推察された。野生いのししの80%が抗体を獲得すると流行が終息するとされている[2]。これは今回の調査とも概ね一致しており、令和2年第2四半期に抗体陽性率が80%を超えた県北での感染率は令和3年第4四半期には0%となった。全国的な感染の拡がりを見ても、初発生から同心円状に拡大し、感染が蔓延した地域では終息傾向になると考えられた[3]。

令和2年度の経口ワクチン散布後に嶺南で抗体陽性率のみ増加したこと、令和3年度の経口ワクチン散布後は遺伝子および抗体陽性率が増加し、京都でも豚熱感染いのししが確認されたことから、県南地域への感染拡大を遅らせた可能性はあるがワクチンベルトによる感染拡大防止効果は低かったのではないかと推察された。令和4年3月16日時点での全国における豚熱感染野生いのししは北は山形県、宮城県、西は山口県まで拡大しており[4]、さらなる拡大が懸念される。

いのししは主に春に出産することが知られており、県北地域ではCSFVに対する抗体保有率が低下しているため(図19)、現在CSFV遺伝子の検出率は低いが、来春の新生いのししで再び感染が蔓延することは考えられる。また、近隣諸国ではアフリカ豚熱(ASF)の発生が報告されており、海外からの持ち込み物でもASFVの遺伝子が検出されていることを考えると野生いのししにおける調査は今後も続ける意義があると考えられた。

### 参考文献

- [1] Vileek S, Herring AJ, Herring JA, et al: Arch Virol, 136, 309-323 (1994)
- [2] 蒔田浩平ら: 日獣会誌 74, 819-825 (2021)
- [3] 農林水産省 HP: アフリカ豚熱対策の現状と今後の対応
- [4] 農林水産 HP

<https://www.maff.go.jp/j/syouan/douei/csf/attach/pdf/domestic-158.pdf>

## 5 *Streptococcus uberis* による牛乳房炎の難治化の要因に関する一考察

家畜保健衛生所 田中知未

### 【はじめに】

*Streptococcus uberis* (*S. uberis*) による牛の難治性乳房炎は、治療効果がみられず、再発を繰り返し、廃棄乳や治療費が増加することから、経済的損失の大きな疾病の一つとなっている。また、長期治療による薬剤耐性菌の出現も懸念されている。*S. uberis* による乳房炎の難治化にはバイオフィーム (BF) などの病原因子が関与していると考えられている。

今回、県内酪農場における乳房炎由来 *S. uberis* 54 株について、バイオフィーム形成量を他の菌と比較した。また、難治化に関与すると考えられる病原性関連遺伝子の検索、および薬剤感受性試験を実施した。さらに、BF 形成時と非形成時の *S. uberis* の消毒効果の比較を行った。

### 【材料および方法】

2016 年から 2022 年に県内 11 酪農場で発生した乳房炎の乳汁から分離した *S. uberis* 54 株、*Streptococcus equinus* (*S. equinus*) 27 株、黄色ブドウ球菌 (SA) 74 株、コアグラールゼ陰性ブドウ球菌 (CNS) 30 株、アエロコッカス 26 株を材料とした。

#### 1. BF 形成量の比較

BF の定量は既報を参考に、マイクロプレート法にて実施した [1]。-80℃ に凍結保存された菌株を 5% 羊血液寒天培地で、37℃ 24 時間培養後、1 白金耳量をトリプトソーヤブイヨン (TSB) 1ml に接種し、37℃ 24 時間培養した。培養後、遠心分離 (10,000×g, 5 分, 4℃) し、上清を除去、1ml の生理食塩水で洗浄した。これを 2 回行った後、生理食塩水で菌混濁液 ( $10^9$ - $10^{10}$ cfu/ml:MacFarlands6 相当) を作成し、前培養液とした。

前培養液を TSB で 100 倍希釈したものを 96 穴平底マイクロプレートの各ウェルに 200  $\mu$ l 分注し、37℃ 24 時間培養した。

培養後、ウェルの底面および壁面に形成した BF がはがれないように静かに培養液を取り除き、滅菌蒸留水 (DW) 250  $\mu$ l で 2 回洗浄した。ウェル内を乾燥させた後、0.1% クリスタルバイオレット (CV) 液 250  $\mu$ l を各ウェルに添加し 30 分間室温にて静置し、ウェル内の BF を染色した。

静置後、染色液を除去し、DW 250  $\mu$ l で 2 回洗浄した。ウェル内を乾燥させた後、99.5% エタノール 300  $\mu$ l を各ウェルに添加し、60 分間室温にて静置し、CV の色素を抽出した。

別のマイクロプレートに各ウェルの抽出液 200  $\mu$ l を分注し、595nm の吸光値を測定した。各ウェルの平均吸光値が 0.1 未満を陰性、0.1 以上 0.2 未満を弱陽性、0.2 以上を陽性とした。

この方法で、*S. uberis* 54 株、*S. equinus* 27 株、SA 74 株、CNS 30 株、アエロコッカス 26 株にて BF の検出を行い、形成量を比較した。

#### 2. 病原性関連遺伝子の検索

*S. uberis* 54 株の DNA を InstaGene DNA 精製マトリックス (BIO-RAD 社) にて抽出し、

病原性関連遺伝子 (*gapC*, *oppF*, *pauA*, *sua*, *hasA*, *hasB*, *hasC*) を PCR 法にて検索した [2]

### 3. 薬剤感受性試験

*S. uberis*54 株の薬剤感受性試験は、ペニシリン (PCG)、アンピシリン (ABPC)、セフアゾリン (CEZ)、オキシテトラサイクリン (OTC)、エリスロマイシン (EM) について、CLSI (Clinical and Laboratory Standards institute) の方法に準拠し、1 濃度ディスク法にて実施した。

### 4. 消毒効果の比較

1 で実施したマイクロプレート法にて BF 形成量の多い *S. uberis* 3 株を用いた。消毒液は 500 倍に希釈した逆性石けん製剤 (M 社) および、500 倍に希釈した複合塩素系消毒液 (B 社) を用いた。

1 の方法で 96 穴マイクロプレートに BF を形成させ、これを BF 形成時の *S. uberis* モデルとした。各菌株の BF を形成させたマイクロプレートに消毒薬を添加し、室温で 5、10、30、60 分間感作させた。感作後、それぞれのマイクロプレート内の消毒液を除去し、ウェル内に残った BF を滅菌綿棒で拭い取り、DW5ml に収集した。収集液を 5%羊血液寒天培地に塗布し、37°C24 時間培養し、生菌数を計測した。消毒薬を添加しない、非感作のマイクロプレートのウェル内の BF 収集液を同様に培養し、生菌数を計測した。非感作における生菌数を対照とし、各消毒薬に感作後の菌の残存率を算出した。

次に、1 の方法で作成した菌混濁液 ( $10^9$ - $10^{10}$ cfu/ml:MacFarlands6 相当) を BF 非形成時の *S. uberis* モデルとした。50ml の消毒薬および DW に 500  $\mu$ l の菌混濁液を懸濁し、室温で、5、10、30、60 分間感作させた。感作後、それぞれの菌懸濁液を 5%羊血液寒天培地に塗布、37°C24 時間培養し、生菌数を計測した。DW の菌懸濁液における生菌数を対照とし、各消毒液に感作後の菌の残存率を算出した。

BF 形成時および BF 非形成時における各消毒薬感作後の *S. uberis* の残存率を比較した。

## 【結果】

### 1. BF 形成量の比較

陽性株、弱陽性株および陰性株の割合を示した (図 1)。BF 形成株 (陽性株と弱陽性株) の割合は *S. uberis* で最も高く (96.3%)、アエロコッカス (88.5%)、CNS (66.7%) で高い傾向がみられた。また、*S. uberis* ではアエロコッカスや CNS に比べ、弱陽性株の割合が高く、BF 形成株の約 6 割が弱陽性株であった。

### 2. 病原性関連遺伝子の保有状況

*S. uberis*54 株中、46 株で検索した全ての病原性関連遺伝子 (*gapC*, *oppF*, *pauA*, *sua*, *hasA*, *hasB*, *hasC*) が検出された。また、8 株では、*hasA*, *hasB* を除く、病原性関連遺伝子が検出された (表 1)。

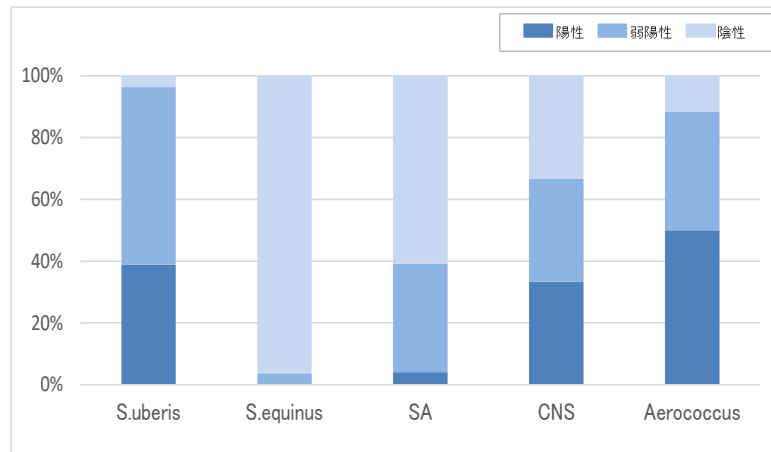


図1 乳房炎由来菌のBF形成能の比較

表1 病原性関連遺伝子の保有状況

病原性関連遺伝子							株数
<i>gapC</i>	<i>oppF</i>	<i>pauA</i>	<i>sua</i>	<i>hasA</i>	<i>hasB</i>	<i>hasC</i>	
●	●	●	●	●	●	●	46
●	●	●	●			●	8

表2 薬剤感受性試験結果

薬剤	PCG	ABPC	CEZ	OTC	EM
耐性株数	1	1	0	23	30

### 3. 薬剤耐性状況

OTCおよびEMで約半数の株が耐性を示した。PCG、ABPC、CEZはほぼ全ての株が感受性であった(表2)。

### 4. 消毒効果の比較

BF形成時の*S.uberis*では、3株とも両消毒薬の感作後に菌が残存しており、逆性石けん製剤では30分、60分後にも菌が生存している株がみられた。一方で、BF非形成時の*S.uberis*では、3株とも両消毒薬の感作後には菌の生存はみられなかった(表3)。

表3 消毒薬の感作後における菌の残存率

【BF形成時】		単位 (%)			
消毒薬	菌株 No.	感作時間 (分)			
		5	10	30	60
逆性石けん製剤	1	6.3	0.006	0	0
	2	50	50	1.8	0
	3	10.5	6.8	0.1	0.05
複合塩素系消毒薬	1	0.003	0	0	0
	2	3	0.005	0	0
	3	0.01	0	0	0

【BF非形成時】		単位 (%)			
消毒薬	菌株 No.	感作時間 (分)			
		5	10	30	60
逆性石けん製剤	1	0	0	0	0
	2	0	0	0	0
	3	0	0	0	0
複合塩素系消毒薬	1	0	0	0	0
	2	0	0	0	0
	3	0	0	0	0



## 【考察】

2016年から2021年に家畜保健衛生所で実施した乳房炎検査では黄色ブドウ球菌に次いで *S. uberis* の分離率が高く、再発や長期化など難治性の症例が多くみられる。

今回の調査で、県内酪農場の乳房炎由来 *S. uberis* は、他の菌に比べ、BF 形成能を有する株が多いことが判明した。BF は菌が周囲に多糖体を産生し、これを介して隣接した細菌が互いに凝集して共同体を作り、膜層を形成したもので、多糖類、ポリペプチド、細胞外核酸などからなるマトリクスで構成されている。BF 内の細菌が分泌する細胞外多糖は、バリアとなって環境変化や化学物質、抗菌薬から内部の菌を守っている。また、好中球などの生体防御機構をかわすため、難治性の原因となる [3]。

県内酪農場でみられる *S. uberis* による乳房炎においても、薬剤感受性試験で感受性であるにも関わらず、その抗菌薬による治療が効果を示さない症例が多くみられる。これは、BF 形成が大きく関与しているものと思われる。

成熟した BF 内で増殖した菌の代謝活動で生じた老廃物などにより環境が悪化すると、BF の一部が破壊され、浮遊菌として離脱し、異なる場所に接着し、感染を広げる [4]。一般的に、BF を形成すると、浮遊菌に比べ著しく消毒剤に抵抗性を示すようになることが知られている。そのため、BF を形成した菌を消毒するには、消毒剤を高濃度にしたたり、長時間暴露したりする必要がある [5]。今回、BF 非形成時の *S. uberis* に比べ、BF 形成時の *S. uberis* で消毒薬に対する抵抗性が高まることを確認した。これらのことより、農場で日常的に行われる消毒では、環境中で BF を形成し存在している *S. uberis* を完全に除去することは困難であると考えられる。

今回、供試した *S. uberis* は、BF 形成能の他に、組織への付着および浸潤、コロニー形成の促進、免疫回避等の難治化に関わるとされる病原性関連遺伝子を高率に保有していた。このことは、他の BF 形成能を有する菌に比べ、*S. uberis* が難治性乳房炎を高率に引き起こす要因の一つとなっているのではないかと考えられる。

これらのことより、*S. uberis* による乳房炎は難治化する可能性が高く、感染源となる環境中の *S. uberis* の除去は困難であることが予想される。したがって、*S. uberis* による難治性乳房炎対策として最も重要なことは感染予防であり、搾乳時の衛生管理を徹底することにより難治性乳房炎による損失を軽減することが可能であると考えられる。

## 引用文献

- [1] O' toole G, A. et al. Genetic approaches to study of biofilms. *Methods Enzymol* 1999;310, 91-109
- [2] Darico Calonzi et al. Technical note: Development of multiplex PCR assays for the molecular characterization of *Streptococcus uberis* strains isolated from bovine mastitis 2019;103, 915-921
- [3] 原口麻子ら. *Staphylococcus aureus* による戦時性乳房炎における乾乳期の乳房内タイロシン注入の効果 2016. Vol15. No. 4
- [4] Dunne W. M. et al. *Clin Microbiol Rev*, 2002;15 (2), 155-166

- [5] 西内由紀子ら. 抗菌薬およびそのバイオフィルムに対する次亜塩素酸ナトリウムと二酸化塩素ガス溶存液の殺菌効果 2015;Vol. 30, 4

## 6 起立不能子牛における単球系、好塩基球系および巨核球系への細胞分化を伴う急性骨髄性白血病

家畜保健衛生所 武田佳絵

### 【はじめに】

牛の血球系腫瘍は、大きくリンパ腫と骨髄性白血病に分けられる。牛伝染性リンパ腫ウイルス (BLV) が関与するリンパ球系肉腫である牛伝染性リンパ腫が全国的に発生しているが、一方で骨髄性白血病の報告は少なく、不明な点が多い。急性骨髄性白血病は、主に骨髄や末梢血で幼若な骨髄系細胞が増殖する病態で、細胞の起源に基づいて各血球系列に分類される [1]。今回、県内の肉牛肥育農場で飼養する起立不能となった子牛で、急性骨髄性白血病と診断した事例に遭遇したので概要を報告する。

### 【発生状況】

肉用交雑種の去勢、5 か月齢、122 kgの牛が、令和2年7月18日から座り込むことが増え、体温 40.0°Cで、同月22日には、前肢は動くが後肢に力が入らず、自力で起立することができなくなった。呼吸促迫であったが、餌を口元に運ぶと食欲はあった。同日、臨床獣医師からの依頼で、血液および生化学検査を実施した。ヘマトクリット値が12%と重度に貧血しており、白血球数は

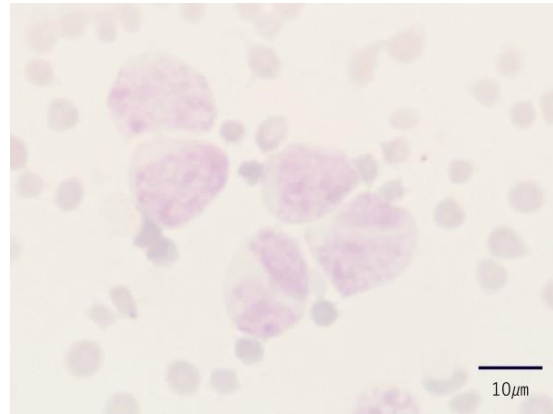


図1 血液塗抹上の異常な細胞

15,600/ $\mu\text{l}$ で軽度増加していた。血液塗抹では、10~15  $\mu\text{m}$ の血球系の異常な細胞 (図1) が8割を占めていた。血清中 GOT 値 400IU/L、LDH 値 4000IU/L 以上および CPK 値 2000 IU/L 以上と著しく上昇していた。加療するも反応せず、全身状態が悪化したため鑑定殺とし、病性鑑定を行った。

### 【剖検所見】

常法により剖検を行った結果、脾臓が通常の2倍以上に重度に腫大(45 cm×15 cm)していた。内側腸骨リンパ節相当部では、3 cm大のリンパ節様腫瘍物を10個程度認めた。第2腰椎付近では、脊髄が明らかに細く、また、軟化していた。同部位では、脊髄硬膜が暗赤色を呈し、脊柱管内硬膜外に増殖物が形成されており(図2 矢印)、脊柱管腔が著しく狭窄していた(図2 矢頭)。腎、空腸および肝リンパ節の軽度腫大と大腿骨骨髄白色化が観察された。

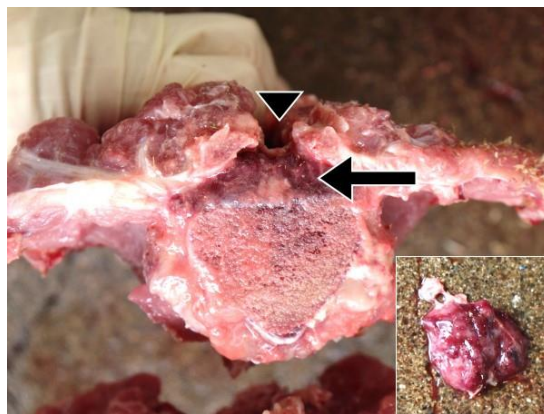


図2 腰椎断面と増殖物全体像 (挿入写真)

【検査方法 1】

ウイルス検査は、BLV について、血液および空腸リンパ節を用いて、ELISA で抗体を、nested PCR およびリアルタイム PCR で遺伝子について検査した。

細菌検査は、主要臓器、大脳、脊髄(腰髄)および脊髄硬膜外増殖物を用いて常法で分離培養を行った。

病理組織検査は、主要臓器、大脳、脊髄、リンパ節、大腿骨骨髓、リンパ節様腫瘍および硬膜外増殖物をホルマリン固定後、パラフィン包埋切片を作成し、ヘマトキシリンエオジン (HE) 染色を実施した。

【検査結果 1】

ウイルス検査では、BLV は抗体・遺伝子共に陰性だった。

細菌検査では、有意な菌は分離されなかった。

病理組織検査では、骨髓、脾臓、リンパ節および硬膜外増殖物では、血球系の細胞が腫瘍性に増殖していた。骨髓、脾臓およびリンパ節では、腫瘍細胞により固有構造が崩壊していた。骨髓では、明らかな造血像を認めなかった。肉眼的に異常のなかった腎臓、心臓、第三胃および第四胃の間質に軽度に腫瘍細胞が浸潤していた。骨髓や硬膜外増殖物では、好塩基性に染まる細胞質でやや大型の芽球様細胞が主体で、核は円形、楕円形および不正形で多核の細胞もみられた。様々な大きさの核小体を持ち、クロマチンは緩く凝集していた。脾臓やリンパ節等では比較的分化した腫瘍細胞が多く、核の大部分は円形から楕円形で、わずかに凝集または細かく分散されたクロマチンで核小体は不明瞭、細胞質は弱好塩基性から透明で、量は豊富から適度であった。一部に大型の細胞も確認されるなど、腫瘍細胞が多様であった。(図 3)

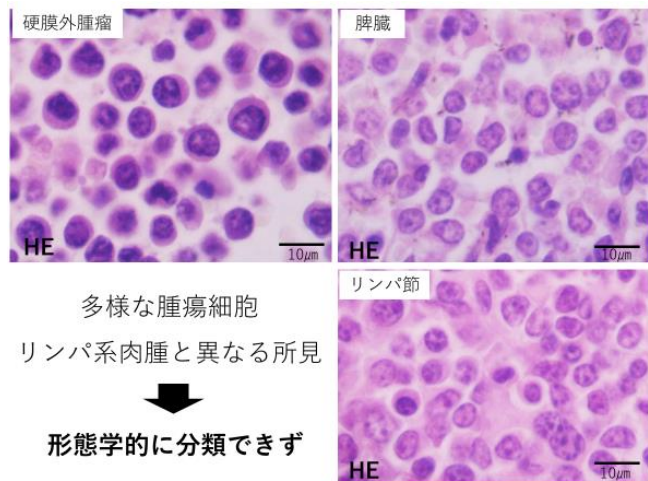


図 3 腫瘍細胞の HE 染色像

軟化した腰髄では、神経細胞の中心性色素融解や白質の空胞状変化が確認された。

【検査方法 2】

腫瘍細胞の詳細な検査を農研機構動物衛生研究部門に依頼し行った。HE 染色、トルイジンブルー (TB) 染色、ギムザ (G)染色、酵素組織化学染色では、好中球系列と肥満細胞系列が陽性を示すナフトール AS-D クロロアセテートエステラーゼ (CAE) 染色、および、免疫組織化学染色 (免染) では表 1 に示す各

表 1 免染の 1 次抗体

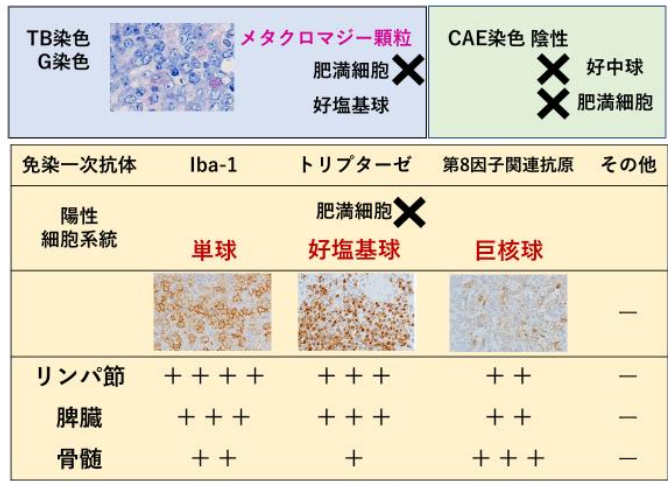
	タイプ	製造者	陽性となる細胞系列
Iba-1	pAb	Wako	単球
トリプターゼ	mAb	Lab Vision	肥満細胞, 好塩基球
第 8 因子関連抗原	pAb	BioGenex	巨核球
マクロファージ, ミエロイド / 組織球抗原	mAb	Dako A/S	好中球, 単球の一部
ヘモグロビン	pAb	Lipshaw	赤芽球
CD3	pAb	Dako A/S	T細胞
CD20	pAb	Abcam	B細胞

pAb, 兔ポリクローナル抗体 mAb, マウスモノクローナル抗体

血球のマーカーとなる1次抗体を用いて streptavidin-biotin-peroxidase 法で行った。

【検査結果2】

一部の腫瘍細胞の細胞質に、TB 染色等で紫色に染まるメタクロマジー顆粒が観察され、肥満細胞系列や好塩基球系列であることが示唆された。CAE 染色は陰性で、好中球系列および肥満細胞系列は否定されると考えられた。免染では lba-1、トリプターゼおよび第8因子関連抗原に陽性反応がみられ、それ以外は認められなかった。これらのことから、本症例の腫瘍細胞は、単球系列、好塩基球系列および巨核球系列に分化する傾向が示唆された。免染の各抗体の陽性細胞は、単球系が多い傾向にあったが、組織で出現頻度が異なっていた。(図4)



(写真：農研機構動物衛生研究部門)

図4 腫瘍細胞の検査結果

【まとめと考察】

骨髄で、幼若な骨髄系細胞が腫瘍性に増殖し、末梢血中に異常な血球系細胞が出現していたことから、急性骨髄性白血病と診断した。牛の骨髄性白血病は、国内でいくつか報告されている[4-8]。本症例は重度に貧血しており、検査結果から腫瘍細胞が骨髄内で増殖したことにより造血機能が低下したものと考えられた。また、本症例では末梢血白血球数の増加はわずかだったが、その大部分を異常細胞が占めていた。既報においても類似の病態を示すものがあり[4,5,8]、白血球数の増減にかかわらず、血液塗抹上で細胞を観察することが重要であると考えられた。本症例では脊髄硬膜外に腫瘍が形成され、白血病と腫瘍が共存する病態だった。ヒトでは、硬膜外に形成される腫瘍として硬膜や神経組織から発生するもの、脊椎から発生するもの、他臓器に形成された腫瘍からの血行性および浸潤性の腫瘍があるとされている[3]。牛では、牛伝染性リンパ腫において腰椎硬膜下に腫瘍が形成され[2]、脊髄を圧迫した後肢麻痺や起立不能になることが知られている。本症例の検査結果から、牛の急性骨髄性白血病においても同様の病態が起こることが分かった。本事例では明らかな体表リンパ節の腫大がみられなかったが、既報では確認されているものもあるため[7]、本症例では脊髄硬膜外に腫瘍が形成されたことで、体表リンパ節が腫大する前に急速に全身状態が悪化したものと考えられた。本事例の腫瘍細胞は単球系列、好塩基球系列および巨核球系列への細胞分化傾向を示していた。国内の報告では、同一個体で確認されているのは2系列までで、本症例は稀な例と考えられた。ヒトの単球系の白血病では、顆粒球系列と単球系列の双方に分化傾向を示す急性骨髄単球性白血病が知られている。本事例では、単球系列と顆粒球系である好塩基球系列に加えて巨核球系列への分化傾向がみられており、系列の組み合わせも珍しいものと考えられた。これは、白血病的増殖が骨髄性前駆体から生じている証拠と思われる。骨髄性

白血病の腫瘍細胞はある程度元の正常細胞の形態学的特徴を残しているとされるが[1]、その分類は熟練を有することから、詳細を診断するには組織化学的染色を併用することが有効であると考えられた。ヒトや一部の動物では FAB 分類や WHO 分類を用いて白血病を診断分類し[1,9]、病因・病態解明や治療法の開拓等に活用している。この分類は、血液や骨髄で明確に骨髄細胞系統に分化した、また、明らかに優勢な細胞に基づいており、本症例のように剖検材料により複数系列の腫瘍細胞を確認した白血病を、この分類に当てはめることは困難であった。一方で、骨髄性腫瘍はリンパ球系腫瘍ほどの動物種差は少ないとされていることから[10]、本症例の報告が獣医療分野のみならず、ヒトの医療分野への一助となることを願う。

#### 謝辞

病理組織検査の多大なるご助言と、腫瘍細胞分類に関する検査にご尽力賜りました農研機構動物衛生研究部門札幌研究拠点門田耕一先生、三上修先生および石川義春先生に深謝いたします。

#### 参考文献

- [1]門田耕一ら:動衛研研究報告第 123 号,35-46(平成 29 年 3 月)
- [2]全国家畜衛生職員会:病性鑑定マニュアル第 4 版
- [3]日本脊髄外科学会
- [4]Tsutomu IKEHAHA et al:J.Vet.Med.Sci.73(4):467-470,2011
- [5]Masaki MAWZAWA et al:J.Vet.Med.Sci.83(5):819-823,2021
- [6]Masaki MAWZAWA et al:J.Vet.Med.Sci.83(11):1643-1647,2021
- [7]Maki SEKIGUCHI et al:JARQ53(1):51-57,2019
- [8]壘玲子ら:平成 24 年度栃木県家畜保健衛生業績発表会
- [9]通山薫:日本内科学会雑誌第 102 巻第 7 号 1667-1675,2013
- [10]Valli,V.E et al: Armed Forced Institute of Pathology,Washington,DC.56-67(2002)