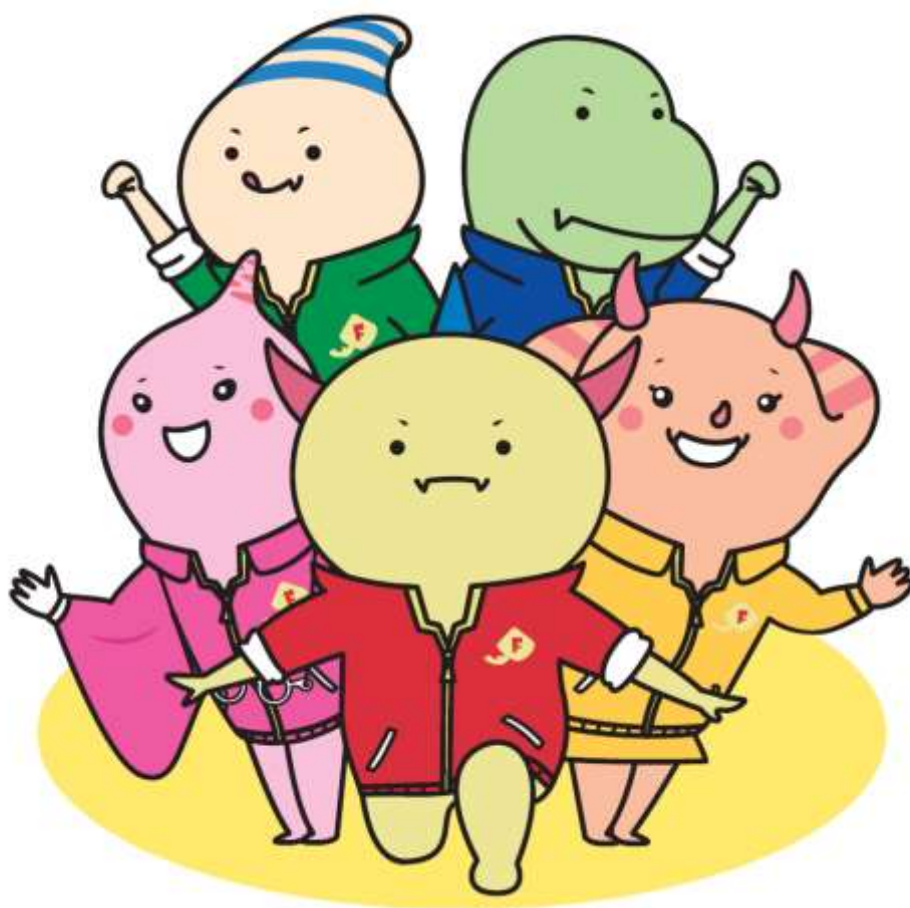


令和 6 年度
福井県家畜保健衛生業績発表集録
(第 1 部 ・ 第 2 部)



令和 7 年 8 月
福井県家畜保健衛生所

目 次

第Ⅰ部

- Ⅰ 県外導入牛の放牧中に認められた小型ピロプラズマと衛生対策・検査体制の
取り組み 武田佳絵 . . . Ⅰ
- 2 飼養衛生管理支援システム運用開始に係る取り組み 友膳弘喜 . . . 7
- 3 特定家畜伝染病発生に備えた防疫備蓄資材管理方法の再構築 西川清文 . . . 12
- 4 家畜保健衛生所における許可に関する動物薬事業務の概要 二本木俊英 . . . 17
- 5 病性鑑定カルテの電子化による業務効率の向上と今後の課題 落井真史 . . . 21

第2部

- 6 InversePCR 法が地方病型牛伝染性リンパ腫診断の一助となった一症例 清水誠也 . . . 25
- 7 県内一酪農場で発生した牛ウイルス性下痢について（第2報） 清水誠也 . . . 29
- ◎8 県内一養鶏場で発生した *Enterococcus cecorum* による化膿性脊椎炎 木村美貴 . . . 34
- 9 山羊の頬部皮下組織にみられた骨外性骨肉腫の一例 新田 愛 . . . 48

- 第66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66回全国家畜保健衛生業績発表会選出演題

Ⅰ 県外導入牛の放牧中に認められた小型ピロプラズマと衛生対策・検査体制の取り組み

家畜保健衛生所 武田佳絵

はじめに

近年、耕作放棄地対策として肉用繁殖牛を放牧するなど、牛の放牧様式が多様化しており、本県においても、牛の放牧飼育が増加傾向にある。放牧には多くのメリットがある一方で、家畜は天候・気温・植生などの様々な環境要因の影響を受ける。そのようなデメリットの一つとして放牧病があり、主に小型ピロプラズマ(小型ピロ)症が知られている。小型ピロを媒介するフタトゲチマダニ等(マダニ)



図1 全国のピロプラズマ症発生報告の推移
に対する殺ダニ剤の利用が奏功し、平成5年頃から被害が激減したが、ここ数年、全国からの報告数が増加傾向にある(図1)。今回、県外から導入した和種肉用牛で、放牧後に発熱などの症状を伴う小型ピロ感染を確認したため、その検査結果と事例を受けて行った衛生対策および検査体制の取り組みについて報告する。

症例の概要

和種の肉用牛、10か月齢の雌1頭(A)と9か月齢の去勢1頭(B)の計2頭が令和6年5月に県外から導入された。この2頭は同一県産で、また、放牧飼養歴があった。6月に殺ダニ剤を牛体に塗布し、放牧を開始した。7月5日にAが呼吸促迫を呈し、臨床獣医師が治療を行い回復傾向だった。しかし、同月17日にAが発熱と呼吸促迫、Bも軽症とのことと、当所に2頭の血液検査依頼が入った。



図2 放牧地近辺の気温(7月1日-17日)

国内統計史上、令和6年は最も暑い7月となり、当該放牧地の近辺でも最高気温35℃以上の日がみられていた(図2)。

検査方法①

血液検査はヘマトクリット値 (Ht 値)、計算盤を用いて白血球数測定および血液塗抹検査を行った。血液塗抹の染色方法は、簡易迅速染色液(ディフ・クイック(DQ)染色)、ギムザ染色(ギムザ)およびニューメチレンブルー染色を行った。生化学検査は、血清を用いて、乾式臨床化学分析装置により BUN、T-Bil、GOT、LDH、 γ -GTP、T-Cho、CPK、Glu、Ca、IP、Mg、アルブミンを測定した。血清総蛋白質は屈折計で計測した。

表1 血液検査結果(抜粋)

		A	B	基準値(肉用牛)
白血球数	(μ L)	14,500	12,800	5,100 - 10,300
ヘマトクリット値	(%)	35	29	34 - 44
血清総蛋白	(g/dL)	6.8	6.6	6.2 - 7.8
アルブミン	(g/dL)	4.0	3.8	3.0 - 3.8
A/G		1.42	1.35	0.75 - 1.29
LDH	(U/dL)	3,293	2,151	$\leq$ 3,000

検査結果①

2頭共に白血球数が増加していた。Ht 値は、Bは低下、Aは基準値内だった。Aのアルブミン値およびLDH値が上昇していた(表1)。血液塗抹検査では、A、B共に10 μ mを超える大型な赤血球が出現し、赤血球大小不同像を認めた。Aでは、核酸の残存を伴う幼若な赤血球像(図3-4, 5, 6)が併せて認められた。また、2頭共に赤血球内に小型ピロ様原虫の寄生を認めた。石原法[1]にて原虫寄生度を計測した結果、4段階中、Aは+++で、Bは++だった(表2)。原虫の形状は、コンマ状(図3-1)や卵円形(図3-2)など多様であり、形状の割合を計測したところ、コンマ状の割合が高かった。小型ピロ(*Thaileria (T.) orientalis*) 寄生の赤血球に形成されるベイル(図3-3 矢印)を伴うものも散見された。

表2 小型ピロ寄生度の検査結果

	A	B
寄生度(石原法)	+++	++
棒状・コンマ状(%)	86	70
卵円形、洋梨形(%)	14	30
	100	100

石原法		
原虫寄生赤血球数	寄生度	寄生率
各視野に10個以上	++++	$\geq 4\%$
各視野に1個以上	+++	$\geq 0.4\%$
10視野に1個以上	++	$\geq 0.04\%$
10視野に1個未満	+	$\sim 0.04\%$

*1視野に赤血球約250個を含むように10視野鏡検

検査方法②

小型ピロの確定診断のため *T.orientalis* の主要ピロプラズマ表面蛋白(MPSP)をターゲットとしたPCR法による遺伝子検査[2]と、類症鑑別のため *Babesia (B.) ovata* およびその他のバベシアの遺伝子検査も併せて行った。国内では、少なくとも1から5のMPSP遺伝子型の小型ピロが存在しており[3]、5つのタイプを検出できる特異的PCR法が開発

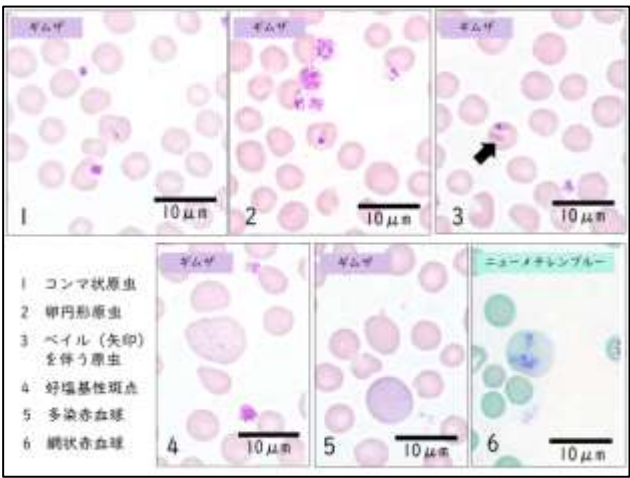


図3 血液塗抹像

されている[4]。*T. orientalis*と同定された遺伝子抽出物を用いて、MPSP 遺伝子タイピングPCRを行った。なお、検査は、帯広畜産大学原虫病研究センターに依頼した。

表3 遺伝子検査結果

PCR検査			
	<i>T. orientalis</i>	<i>B. ovata</i>	<i>B. spp</i>
A	+	-	-
B	+	-	-

検査結果②

A、Bとも小型ピロ陽性で、バベシア属は陰性だった。MPSP 遺伝子タイピングPCRでは、AからType1,2,4および5の遺伝子が検出され、複合感染であることが確認された(表3)。

MPSP遺伝子タイピングPCR					
	Type 1	Type 2	Type 3	Type 4	Type 5
A	+	+	-	+	+

* Bは遺伝子量が少なく、判定できず

衛生対策・検査体制の取り組み

本県において、乳牛では平成18年以降、肉牛では平成9年以降に小型ピロ症の発生記録がなく、本症の経験のない放牧飼養者や県職員が増加していることが考えられた。よって、次に示す2つの取り組みを行った。

取り組み①

小型ピロ寄生の有無を検査する方法で簡便なものとして、血液塗抹の観察がある。まず、小型ピロの血液塗抹検査の方法について簡易マニュアルを作成した。当所のルーティン検査では、短時間で染色できるDQ染色を行っているが、原虫検出には不向きとされる[5]。ギムザを第一選択方法として、血液塗抹作成方法をはじめとし、ギムザのコツ、増殖ステージで多様な形を示す小型ピロの顕微鏡写真を掲載した。



図4 取り組み①の概要

また、寄生度の測定法を盛り込んだ。次に、作成したマニュアルを用い、職員向けの説明会を行った。あらかじめ用意した牛の血液で塗抹標本を作成したのち、ギムザを行い染め上がりの特徴を確認した。当日染色した塗抹と既に小型ピロ寄生を確認しているAの塗抹を比較しながら顕微鏡で観察した。

取り組み②

県関係機関協力のもと、新たに放牧飼養を予定している牛飼養者を交えて、小型ピロ対策を主体に放牧衛生の説明を行った(図5)。牛は放牧用として購入予定で、また、導入個体の小型ピロ寄生の有無は明らかではない。牧野にこれまで牛を放牧したことはな

いが、放牧を開始する春頃は、主な媒介者とされるフタトゲチマダニの若ダニの増殖時期であること、若ダニに対するフルメトリン製剤の効果持続期間は2週間とされること[6]から、フルメトリン製剤を放牧開始から2週間毎に牛体に塗布することを推奨した。

塗布方法の注意点として、鼻先から尾根部までかけること、油分を含む薬のため、雨などで流れ落ちないように塗布日の天候に注意することなどを併せて説明した。近年、猛暑が続いていることから、暑熱対策を行うこと、馴致期間を十分設定するなどストレス緩和に努めること、また、小型ピロ症は黒毛和種は発症しにくく、ホルスタイン種はしやすいなど品種差があることから、多種を混合飼育すると発症しやすい品種にリスクとなることを説明した。

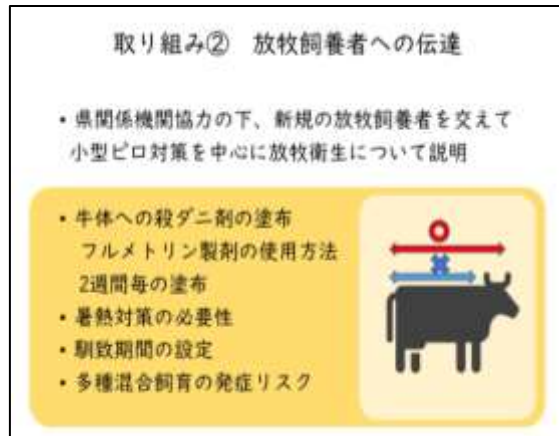


図5 取り組み②の概要

考察とまとめ

県外から導入し放牧した和種の肥育用肉牛2頭で、小型ピロ感染と赤血球再生像や貧血を認めた。導入時に検査を行っていないため、どの時点で小型ピロに感染したかは不明だった。一方で、導入前に放牧で飼養されていた履歴があり、また、小型ピロに一度感染すると終生持ち続けていることから、導入時すでに感染していた可能性があった。

小型ピロの寄生度と貧血の関連性は、Ht値が低いものは寄生度が高い傾向にあるが、寄生度が高いものが必ずしも著しくHt値が低いわけではない[7]。本事例においても、寄生度が高いAのHt値は基準値で、症状が強かった。一方でAよりも寄生度や症状が軽度のBはHt値が低下していた。

小型ピロに感染すると、ヘモグロビン変性や赤血球膜の酸化障害により、脾臓などで血管外溶血が起こる[8]。赤血球の生成頻度は増加し、次第に核分裂に必要な養分が不足した結果、未成熟な巨

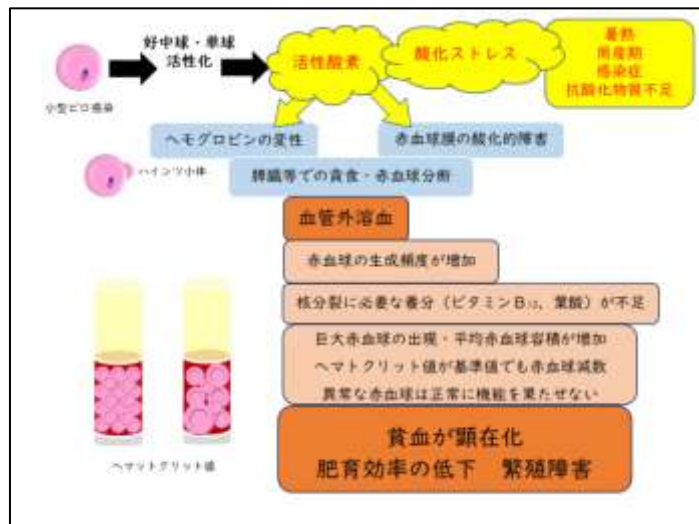


図6 小型ピロ感染牛の貧血機構

大赤血球が出現する[9]。平均赤血球容積（MCV）が増加するため、Ht値が基準値であっても、赤血球数は少なく、かつ、異常な赤血球は酸素を運ぶ機能を正常に果たせないため酸欠状態に陥る。これらの反応は、暑熱などによる酸化ストレスがかかると増強され、

貧血が顕在化し、肥育効率の低下や繁殖障害が起きると考えられる(図6)。今回、MCVの測定はしていないが、Aでは、幼若な赤血球を伴う赤血球の大小不同があり、MCVが上昇していたと推察される。また、アルブミン値が上昇しており、脱水によりHt値が基準値となった可能性も考えられた。今後、小型ピロの関与を疑う貧血事例では、Ht値だけで判定せずに、血液塗抹検査やMCVの測定を行う必要があることが分かった。

血清LDH値は主に筋肉損傷や肝機能低下などの指標として使われている。LDHは赤血球内にも存在しており、溶血時に血中LDH値が上昇する[5]。Aの生化学検査では、筋肉損傷や肝機能低下を疑う他の項目の異常値はなく、今回のLDH値上昇は、小型ピロ感染に伴う溶血が原因と考えられた。

横山らの報告[4]において、小型ピロ症を発症しにくいとされる黒毛和種では、複数のMPSP遺伝子型タイプに感染していることが多く、また、ホルスタイン種ではType2単独感染しているという傾向が示されている。本事例のAにおいて、Type2を含む複合感染が確認されたことから、様々なTypeの小型ピロに不顕性感染する黒毛和種等は、飼養形態や衛生対策の度合によって、ホルスタイン種への汚染源となる可能性が示唆された。

小型ピロを媒介するマダニは、成長ステージ毎で吸血する動物を変える3宿主性であること、また、感染牛を吸血したマダニの体内で小型ピロが増える生物学的伝播をすることから、マダニの生息数やその小型ピロ汚染度を低く保つことがまん延防止や発症予防上重要とされる。

寺田らの報告[10]では、マダニが採取された小規模放牧場では、①10年以上の放牧歴、②不十分なマダニ対策、③公共牧場の併用、④山林周辺の立地、⑤野生動物の侵入が、その共通の要因として挙げられている。また、牧野に対する総殺ダニ剤投与量や面積当たりの投与量が多いほどマダニ生息数が少ないことが報告されており[11]、放牧頭数や放牧面積を勘案する必要がある。フルメトリン製剤は体重1kgあたりで計算して牛体に塗布するため、体重が少ない若齢の牛では、1頭あたりの有効薬剤の絶対量が少ない、かつ、塗布総液量が減るため、滴加ムラが起こることから牛体へのマダニ付着開始時期の短縮する傾向が指摘されている[12]。

近年は、野生動物やマダニなどの環境中の分布変化、猛暑が連続してみられるなど、小型ピロに感染しやすい、また、発症しやすい状況になっていることが考えられる。一度感染すると終生持ち続け、有効な駆虫薬やワクチンがないことから、今後も積極的な検査や小型ピロの感染予防と発症予防についての啓発を継続して行いたい。

謝辞

PCR検査およびMPSP遺伝子型別検査の実施、および、小型ピロプラズマに関するご助言を賜りました帯広畜産大学原虫病研究センター教授横山直明先生、諸先生方にこの場を借りて感謝申し上げます。

- [1] 南哲郎ら:獣医住血微生物学
- [2] 横山直明:牛臨床寄生虫研究会誌. 2(1), 15-18(2011)
- [3] Ota N et.al:J.Vet.Med.Sci., 71, 937-944(2009)
- [4] Yokoyama N et.al:J.Vet.Med.Sci., 73, 305-312(2011)
- [5] 水谷尚:牛の血液検査学
- [6] 榊原真一:臨床獣医 Vol. 32, No.3, 30-34(March2014)
- [7] 小谷道子ら:平成 24 年度鳥取県畜産業績発表集録
- [8] 塩野浩紀:動物衛生研究所研究報告. 112, 51-53(2006)
- [9] 横山直明ら:臨床獣医 Vol. 32, No.3, 21-24(March2014)
- [10] 寺田裕:動物衛生研究所研究報告. 117, 11-18(2011)
- [11] 寺田裕:動物衛生研究所研究成果情報(2012)
- [12] 白石昭彦:東北農業研究. 60, 77-78(2007)

2 飼養衛生管理支援システム運用開始に係る取り組み

家畜保健衛生所 友膳弘喜 山崎俊雄

はじめに

畜産現場では、不十分な飼養衛生管理に起因する疾病が生産性を押し下げる一因となり、生産者への指導・改善記録や病性鑑定結果等の飼養衛生管理に関するデータが十分に連携・分析されずにいる。また、家畜保健衛生所（家保）をはじめとする自治体は、家畜伝染病予防法に基づく事務作業等に追われ、本来果たすべき生産者の支援にまで十分に手が回っていない状況である。

そこで、農林水産省は安全な畜産物の安定供給に向け、各種情報の効率的な収集・管理とその利活用、自治体の事務作業を省力化することによる生産者への質の高い衛生指導、疾病の発生予防による生産性の向上を目的とし、飼養衛生管理支援システムを段階的に開発している。

飼養衛生管理支援システムについて

飼養衛生管理支援システム（支援システム）とは、飼養衛生管理に関する情報を一元管理するデータベース群である。従来、定期報告等の届出・報告は生産者から個別に家保へ行われ、それらを集計したものを各家保から本庁へ報告している。そして、本庁でも各家保からの報告を集計し国へと報告している。それが支援システム導入後には、これらの作業は支援システム上で行われ、事務作業の軽減が可能となる（図1、2）。

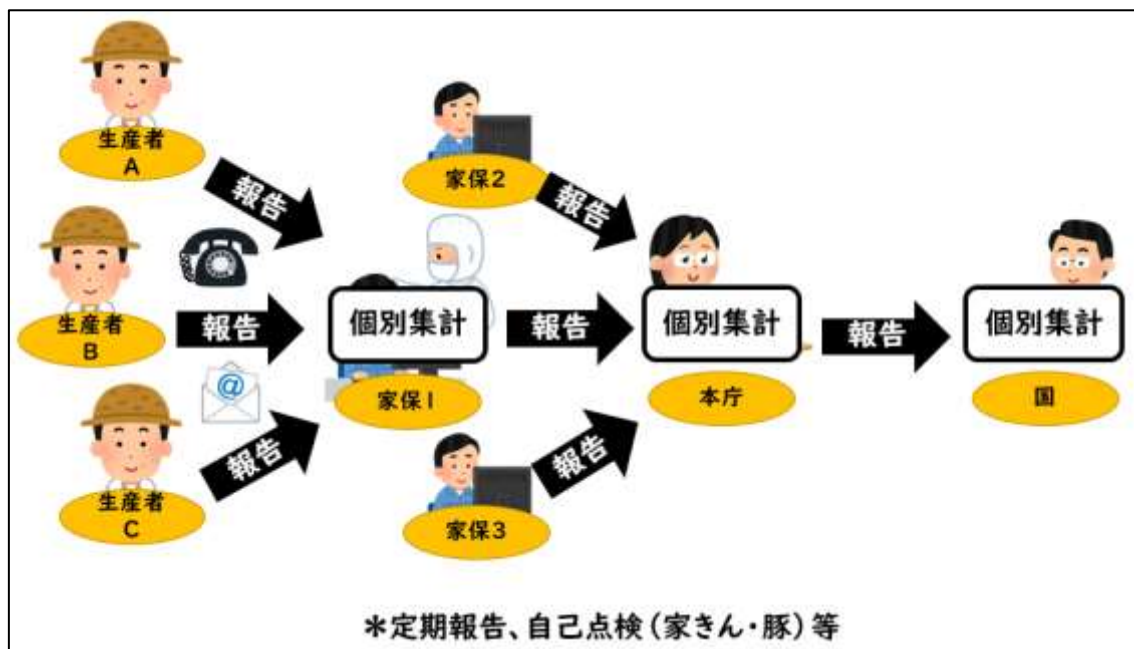


図1 従来の報告の流れ

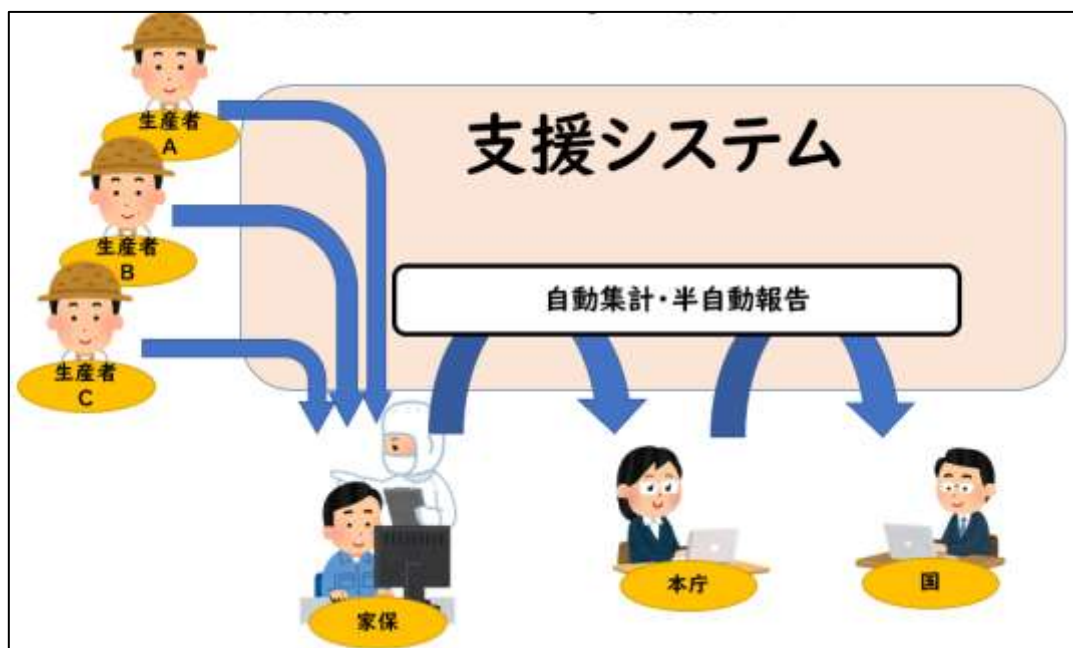


図2 支援システム導入後の流れ

生産者が支援システムを利用するには、必要な作業①としてデジタル庁ホームページでgBizIDを登録し、本人確認を経て、農林水産省共通申請サービス（eMAFF）アカウントを取得する必要がある（図3）。その後、必要な作業②として生産者自身に関する情報である「経営体情報」を登録し、さらに必要な作業③としてその経営体に紐づいた「農場台帳」を、畜種ごとに登録することで電子申請が可能となる（図4）。

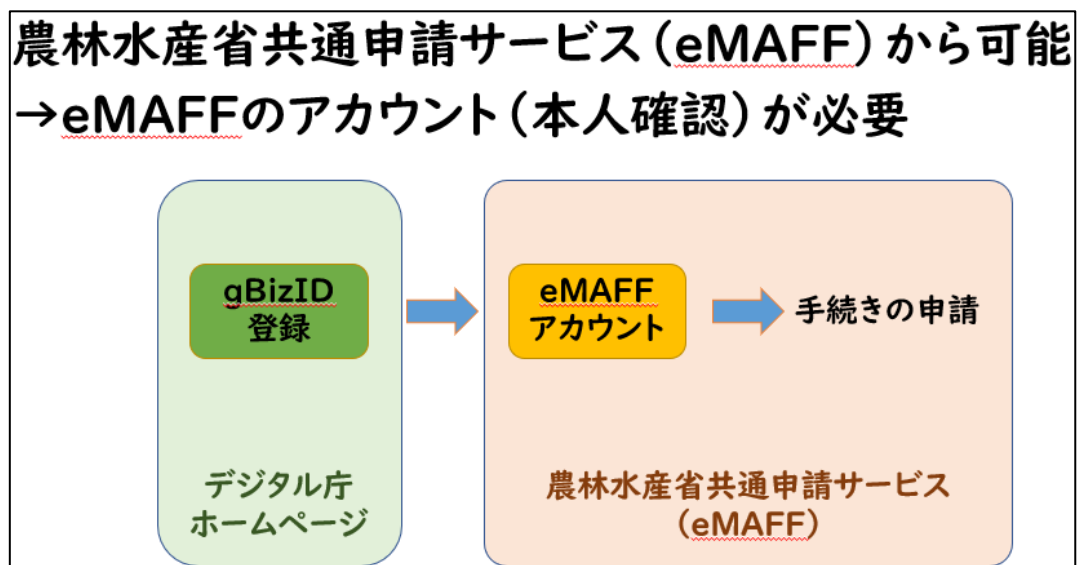


図3 支援システムの利用（必要な作業①）

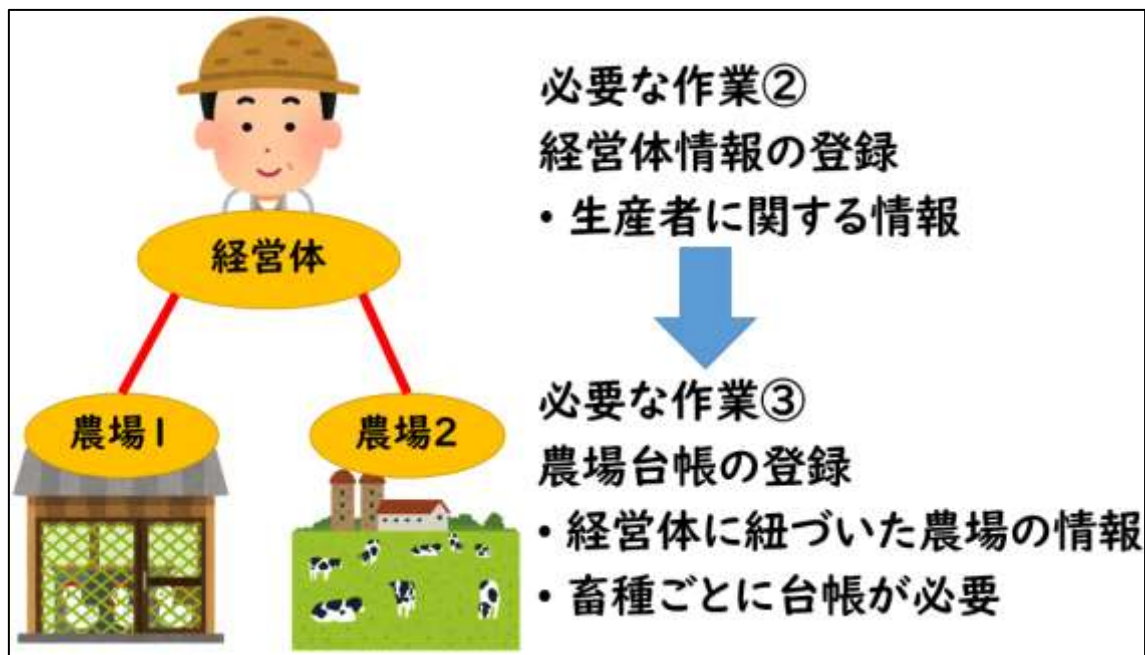


図4 支援システムの利用（必要な作業②、③）

当所の取り組み

生産者自身の支援システムの利用については、本人確認も含め登録に手間がかかる点や、愛玩目的（ペット）として家畜を飼養している人や、パソコンやスマホに不慣れな高齢の生産者も含め、アカウントを取得するにはハードルが高いと考えた。そこで当所では、前述の点に加え、比較的農場数が少ない点（令和6年5月時点165戸）等を総合的に判断し、原則として生産者からは従来どおり電話や郵送、メール、ファックス等で受け付け、家保が各種手続きを代行することとした。

家きん自己点検報告の準備

令和6年10月の家きんの自己点検から支援システムでの電子申請運用が始まることを受け、7月に家きん飼養者73戸へ通知を出し、支援システムについて説明した上で、自身で登録するか、家保による代行を希望するか意向を確認し、その結果、2戸が自身で登録する意向であり、残り71戸については家保で代理登録することとなった。また、経営規模の大きい法人については、家保で把握しきれていない入力情報に齟齬が出る恐れがあることから、法人でのアカウント取得、運用について依頼し、農場へ出向き登録作業等をサポートした。

代理登録

「経営体情報」「農場台帳」登録には、代表者や家畜所有者、飼養衛生管理者の氏名やその住所、電話番号等の連絡先の入力が必要であるが、代表者や所有者、飼養衛生管理者は同じであることが多く、重複する項目について入力済みの情報を引用する機能が

なく時間がとられ、「経営体情報」登録には約 15 分、「農場台帳」登録には約 10～30 分かかった（図 5）。職員 5 人で取り掛かり、1 カ月かけて家きん飼養者の登録を終わらせた。

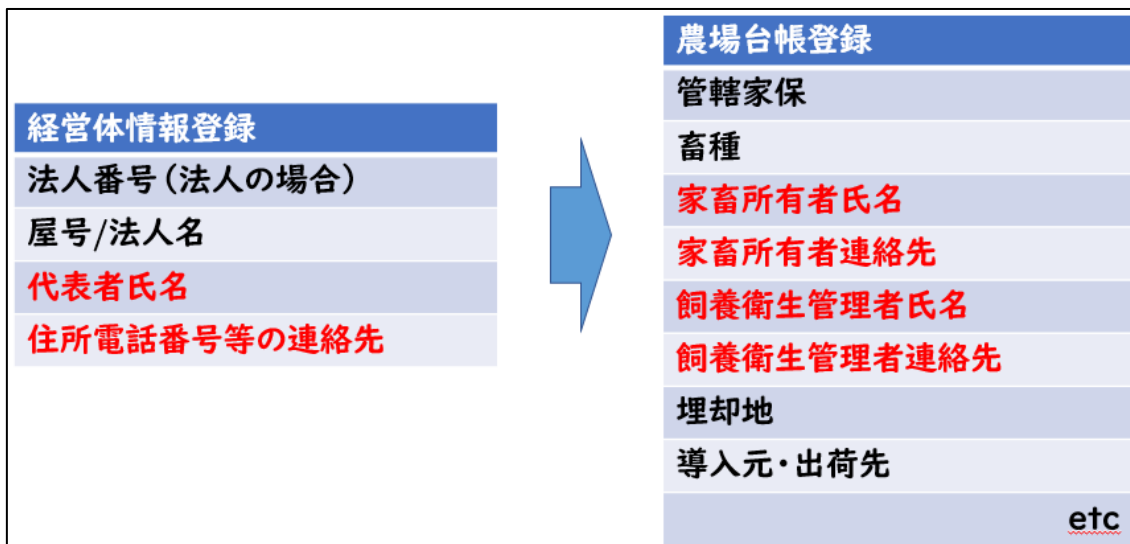


図 5 経営体情報と農場台帳登録で重複する項目

家きんの飼養衛生管理重点 7 項目自己点検の電子申請についてテストを実施した。生産者の報告を、1 戸あたり約 5 分かけて代理入力・申請まで行くと、支援システム上で飼養規模・項目毎に自動集計され、その結果を県庁へそのまま報告でき、この作業について省力化を感じられた。しかし代理入力に約 6 時間（1 戸あたり約 5 分×71 戸）必要となるため、そこでの効率化を図った。支援システムには CSV ファイルを用いて一括登録できる機能があり、それを利用した。提出先や申請年度、経営体や農場の ID などの必要項目を入力し、家きん自己点検用の CSV ファイルを作成し、毎月の報告内容に変更点がなければ、CSV ファイルの申請年月日を変えるだけで済むようになった。

課題

実際には、支援システムの開発が遅れたことで当初の運用スケジュールが変更となり、従来の方式での家きん自己点検報告も可能となった。また、支援システム自体の動作が重く、入力中にタイムアウトすることや、ログインすらできないこともあった。自身で登録する意向だった 2 戸については、マニュアルがよく理解できず、時間もかかったこともあり手続きを途中で断念し、最終的に家保で代理登録することとなった。

今後

当所としては、令和 6 年度シーズンの各届出については従来どおりの方式で報告する予定としている。支援システムは生産者自身が参加し、蓄積された情報が還元されてこそ意義がある。また、家畜保健衛生所が代行している限り事務負担は増え、省力化とい

う恩恵は受けられない。支援システムを利用・運用することが目的になるのではなく、生産者自身が参加・運用しやすくなるような開発・環境づくりを農林水産省へ要望したい。

3 特定家畜伝染病発生に備えた防疫備蓄資材管理方法の再構築

家畜保健衛生所 西川清文

はじめに

特定家畜伝染病は、家畜伝染病予防法により、発生の予防およびまん延防止のための措置を講ずる必要があるとされている家畜伝染病である。その中でも、高病原性鳥インフルエンザは続発しており、令和6年シーズンも発生リスクが依然として高い状態であり、家きんでは14道県51事例、約932万羽が殺処分の対象となっている（令和7年3月21日時点）[1]。福井県では家きんでの発生はないものの、令和6年11月9日に福井市で発見された死亡ハヤブサで高病原性の鳥インフルエンザウイルスが確認[2]されており、他県同様に発生リスクが高い状態であった。また、豚熱は平成30年9月以降、全国で発生しており、福井県でも令和元年7月以降、野生いのししで感染が確認され[3-5]、令和元年7月および8月には、養豚場2戸で発生し、防疫措置を実施している[6-8]。

福井県では豚熱発生以降、防疫備蓄資材（資材）は、畜産試験場（畜試）、家畜保健衛生所（家保）、坂井農林総合事務所（坂農倉庫）の3か所に分散し、配置されていた。しかし、その配置に規則性はなく、施設によっては老朽化が認められ、構造的にも資材の搬出入が困難であるといった資材配置、施設運営の課題があった。また、どの資材をどの施設にどのくらい配置しているかの情報についてExcelファイルを用いて資材管理担当者（担当者）間で共有していたが、人事異動による担当者の変更で、最新のファイルが不明になる、資材更新時等に台帳更新が滞るなどの問題が発生し、担当者間での情報共有にズレが生じるといった資材管理の課題があった。そこで、これらの問題を解決するために、備蓄庫の体制整備、資材の種類・数・配置の再整備を実施し、アプリ作成クラウドサービス（kintone）を活用して資材管理法の再構築を行ったので、これを報告する。

備蓄庫の体制整備

令和元年の豚熱発生以降、畜試の活用していない研修施設で資材の保管を行ってきた。しかし、老朽化が進み構造的に資材の搬出入が困難な状況であった（図1、2）。そこで、令和6年4月より福井市酒生地区の民間倉庫（備蓄庫）を借入し（図3）、畜試での備蓄を廃止した。



図1 老朽化した施設



図2 資材の搬出入困難な構造

そのため、備蓄庫の体制整備として新たに備蓄庫管理者を設け、家畜伝染病発生時の防疫作業班編成に組み入れることにした。備蓄庫管理者は、発生時に資材の管理や搬出の担当とすることにした。



図3 備蓄庫外観

また、備蓄庫は電気契約をしていないため、新たに発電機およびボールライトを購入（図4）し、夜間の作業も可能とした。資材はパレット上に配置することで、通常管理時にはハンドリフトで運搬（図5）し、発生時にはフォークリフトをレンタルし、運搬用トラックに搬入することにした。



図4 発電機とボールライト



図5 ハンドリフトによる管理・運搬

備蓄資材の整理

新たな資材配置案として、家きんの飼養規模別で各備蓄場所ですみ分け配置することにし、飼養規模6千羽未満（動員規模100名未満）は、家保のみの資材で対応、6千羽から10万羽の場合は、家保と備蓄庫の資材で対応、10万羽以上の場合は、防疫準備から第1クールまでの資材を坂農倉庫、第2クール以降を家保および備蓄庫の資

材で対応することにした（表1）。牛・豚での家畜伝染病発生時は、家保および備蓄庫の資材を使用することにした。

表1 家さんの飼養規模別における資材の備蓄場所すみ分け表

備蓄場所	6千羽未満 (動員:100名まで)	6千~10万羽	10万羽以上
坂農倉庫			○ 準備~第1クール
家保	○	○	○ } 第2クール以降
備蓄庫		○	○ }

そして、各備蓄場所の現状把握を行い、配置予定資材の種類および数量の確定を行った。また、発生時の備蓄資材の流れをシミュレーションした（図6）。

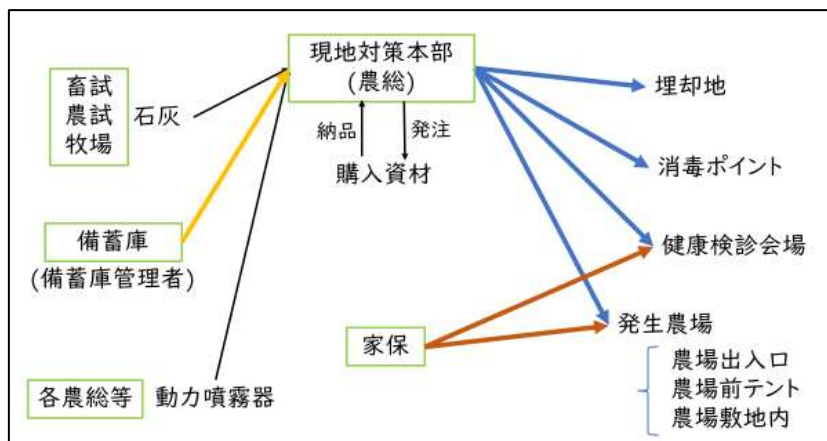


図6 資材の流れ

kintone の活用

資材管理法として、福井県が導入している kintone [9] を活用し、専用の資材管理アプリ（アプリ）を作成、共有することにした。kintone を活用する利点は、1 所属 1 アカウントで、別所属の複数名がアプリに同時ログイン可能なことである。これらの利点により、家畜伝染病発生時には迅速に対応可能で、また、人事異動時にも参加メンバーの変更が不要となる。また、kintone は直感的に、用途に合った専用アプリを作成することができるため、担当者が変更になっても簡単にアプリの追加や修正が可能である。

アプリの作成にあたり、まずアプリを共有するスペースを作成、畜産関係所属と共有した。スペースのお知らせの部分には、スペースおよびアプリのルールを掲示し（図7）、誰でも分かりやすいようにして、下記のアプリを作成した。アプリは普段の資材管理を行う所属のみが編集でき、他の畜産関係所属は閲覧のみ可能とした。



図7 アプリ共有スペース（坂井農総・家保防疫資材共有）

<作成アプリ一覧>

- ・防疫資材管理：普段の資材の種類・在庫管理（資材台帳）
- ・防疫資材配置図：坂農倉庫・家保・備蓄庫の資材配置図（図8）
- ・防疫資材 使用/購入 受払簿：家畜伝染病発生時、現地対策本部の資材担当が活用
初見でも利用できるようにマニュアル作成
- ・購入・レンタル資材：発生時に購入またはレンタルする資材一覧

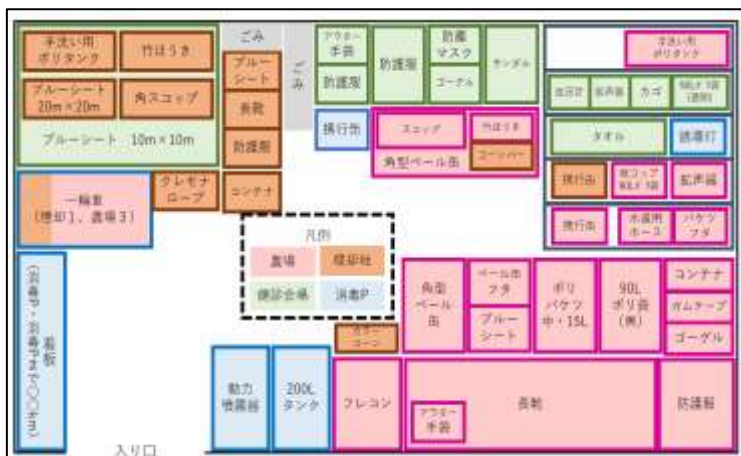


図8 防疫資材配置図（坂農倉庫）

研修会の実施

令和6年11月に家保で、新しい防疫資材管理体制、kintone 説明、備蓄庫視察の内容で研修会を実施した。中山間農業・畜産課の防疫担当2名、坂井地区および丹南地区畜産担当農業普及員3名、令和6年度備蓄倉庫管理者1名を参集し、kintone の操作、備蓄庫の鍵の開錠、ハンドリフトでの資材運搬等を行った（図9）。



図 9 研修会の様子

今後の予定

人事異動の度に各備蓄場所での資材の数・配置の再確認を実施する予定である。また、備蓄庫内の設備の充実で、常設のフォークリフトやパレットの 2 段配置用の棚の整備を行いたい。さらに、備蓄庫内から発生農場へのトラック搬出を想定した動線の確認や、資材の梱包をさらに検討していく必要がある。

参考文献

- [1] 農林水産省：令和 6 年度 鳥インフルエンザに関する情報について
https://www.maff.go.jp/j/syouan/doue/tori/r6_hpai_kokunai.html
- [2] 環境省：令和 6（2024）年シーズンの野鳥の鳥インフルエンザ発生状況
https://www.env.go.jp/nature/dobutsu/bird_flu/
- [3] 福井県：福井県内における野生イノシシの豚熱検査について
https://www.pref.fukui.lg.jp/doc/021500/kachikueisei/yaseiinosisi_0.html
- [4] 西川清文ほか：福井県における野生いのししの豚熱浸潤調査
令和元年度福井県家畜保健衛生技術業績発表会集録 4
- [5] 竹内隆泰ほか：豚熱発生から 4 年、清浄化への取り組み
令和 5 年度福井県家畜保健衛生技術業績発表会集録 3
- [6] 福井県：福井県内の養豚農家における CSF（豚熱）発生について
https://www.pref.fukui.lg.jp/doc/021500/kachikueisei/tonkorera_0.html
- [7] 小林崇之ほか：県内 2 例目豚熱発生農場における防疫対応
令和元年度福井県家畜保健衛生技術業績発表会集録 2
- [8] 朝倉利江ほか：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
令和元年度福井県家畜保健衛生技術業績発表会集録 3
- [9] 福井県：令和 5 年 9 月 29 日 D 推第 1172 号
kintone の正式導入開始について（通知）

4 家畜保健衛生所における許可に関する動物薬事業務の概要

家畜保健衛生所 二本木俊英

はじめに

家畜保健衛生所（以下、家保）では、許可・届出に係る動物薬事業務を行っている。動物用医薬品の販売業ならびに医療機器の販売業・貸与業については、「医薬品、医療機器等の品質、有効性及び安全性の確保等に関する法律（以下、薬機法）」、「動物用医薬品取締規則（以下、規則）」に基づき許可・届出業務を行っている。動物用医薬品の販売業には、店舗販売業（以下、店舗）、特例店舗販売業（以下、特例店舗）、配置販売業、卸売販売業（以下、卸売）、再生医療等製品の販売業（以下、再生医療）があり、動物用医療機器の販売業貸与業には動物用高度管理医療機器等販売業・貸与業（以下、高度管理）の許可と動物用管理医療機器販売業・貸与業（以下、管理）の届出がある。今回、これらの許可・届出に係る動物薬事業務について県内の状況と指導事項について概要を報告する。

令和 6 年度の許可、申請、届出等の概要

令和 7 年 2 月末現在の状況は表 1 のとおりで、許可届出件数は、店舗 7 件、特例 39 件、卸売 10 件、高度管理 9 件、管理 14 件、再生医療 2 件の計 81 件であった。新規の申請・届出は計 9 件、更新申請は計 13 件であった。立入は新規、更新申請に伴うものがほとんどで計 24 件実施した。また、店舗、特例、卸売で計 4 件の廃止届出が提出された。なお、配置販売業については、現在まで申請は皆無である。

表 1 令和 6 年度動物薬事許可、申請、届出等の概要

	許可・届出	新規申請・届出	更新申請	立入	廃止届
店舗販売業	7	1	3	5	0
特例店舗販売業	39	1	9	10	2
卸売販売業	10	2	0	2	1
高度管理医療機器等販売業・貸与業	9	1	1	3	1
管理医療機器販売業・貸与業	14	2		2	0
再生医療等製品の販売業	2	2	0	2	0
計	81	9	13	24	4

令和 2 年度以降の変更届の概要

令和 2 年度から 6 年度（令和 7 年 2 月末現在）までに店舗で 60 件、特例で 42 件、卸売で 18 件、高度管理で 18 件、管理で 13 件、再生医療で 1 件の計 151 件の変更届出が提出された。届け出内容は表 2 のとおりで、主なものは、代表者、責任役員、管理者、構造設備の変更であった。また、店舗では登録販売者の変更で 35 件、特例では品目の変更で 18 件の届出が提出された。

表 2 変更届の内容（令和 2～6 年度）

	店舗	特例	卸売	高度管理	管理	再生医療	計
社名	0	1	0	0	0	0	1
代表者	3	6	3	2	5	0	19
申請者住所	4	0	0	0	0	0	4
責任役員	3	0	5	8	2	0	18
店舗・営業所名称	0	3	0	1	1	0	5
管理者	10	—	5	3	2	1	20
登録販売者	35	—	—	—	—	—	35
構造設備	2	14	5	3	3	0	27
品目	—	18	—	1	—	0	19
特定販売	3	0	—	—	—	—	3
合計	60	42	18	18	13	1	151

許可申請（新規・更新）手続き

許可の申請については、新規の場合は希望する許可日、また更新の場合は有効期間満了日の概ね 1 か月前に申請するよう指導した。申請書が提出されたら、内容を精査するとともに施設の立ち入り検査を実施した。申請書ならびに施設に不備がなく適正と判断したならば、起案決裁後、知事印を押印した許可証を作成し、立入の 2 週間後を目途に許可証を交付するという流れで手続きを完了した（図 1）。



図 1 許可申請（新規・更新）手続き

「陳列」についての指導

薬機法第 57 条の 2 第 1 項において、「陳列」について「薬局開設者又は医薬品の販売者は、医薬品を他の物と区別して貯蔵し、または販売しなければならない」と定められている。特に、特例店舗では、商品棚で陳列販売している店舗がほとんどであることから、「動物用医薬品は他の物と区別」することを指導した。

店舗での陳列の例は次のとおり。陳列商品棚には空箱のみ陳列し、バックヤードに医薬品を保管（写真 1）。商品棚に保管ケースを設置（写真 2）。「動物用医薬品」の看板を設置し陳列（写真 3、4）。



写真 1



写真 2



写真 3



写真 4

指導事例

指導した 3 事例について次のとおり報告する

事例 1

特例店舗に許可更新立入の際、申請者から「観賞魚用の治療用に消毒殺菌剤を自分で調合し、小分けしたものを客に斡旋している」旨の聴取を得た。この行為は、薬機法第 13 条（製造業の許可）ならびに第 83 条の 2（動物用医薬品の製造及び輸入の禁止）に違反している虞があることから、消毒殺菌剤の自己調合を止めること、指定品目一覧に掲載されている医薬品について品目の追加申請をすること、追加申請した品目を小分けすることなく販売することを指導した。

事例 2

特店舗新規申請の際、35 品目の動物用医薬品について取扱いの可否について、またインターネットによる特定販売を実施したい旨の相談を受けた。

取扱品目については、リストを精査した結果、要指示薬 6 品目、指定品目一覧に掲載のない 13 品目は取扱い不可とした。また、海外からの輸入医薬品については薬機法第 83 条の 2 の 2（動物用医薬品の製造及び輸入の禁止）抵触することからこれら 6 品

目についても取扱い不可とし 10 品目について許可を与えた。特定販売については、必要な許可は特例店舗ではなく店舗の許可であること、また店舗管理者として薬剤師または登録販売者の有資格者が必要であることを説明した結果、特定販売は実施しないとの回答を得た。

事例 3

不許可でインターネットを利用した動物用医薬品の販売広告を掲載している個人がいる旨の通報が県庁中山間農業・畜産課に寄せられた。広告に表示された住所地を複数回にわたり訪ねるものの不在であったり、記載の電話番号に電話するが不通の状態が続いたりした。そのため、週休日の昼頃に電話したところようやく本人に連絡することができた。

本人に、動物用医薬品を販売する場合、許可が必要であることに加え、ネット販売には店舗販売業の許可が必要なこと、また店舗管理者として薬剤師または登録販売者の有資格者が必要であることを説明した結果、速やかにネット広告を削除するとともに許可については申請しないとの確約を得た。

まとめ

値段が安い、手軽に買えることから動物用医薬品の購入がインターネット通販で盛んに行われているが、アジア・アフリカ地域では半数近くが偽薬や不良医薬品などの不正医薬品であるとの報告があり、動物衛生、公衆衛生、食糧安全への懸念があるとして WOHAI は対策強化を図っている。国内においては、農林水産省は違法に未承認医薬品の広告を行う個人輸入代行業者に対し直接的な是正指導や、サイト管理者に対する当該サイトの閉鎖要請を実施するなどの対応を実施している。

また、許可・届出関係では、登録販売者が管理者となる場合に要する従事期間、営業所管理者の基準の明確化、特例店舗販売業者における指定品目の通知方法、許可更新に併せて届出る許可事項変更、卸売販売業の妥当な販売先の認可、卸売販売業の管理者兼務の条件等について農林水産省内で見直しが検討されている。

動物用医薬品の許可・届出に関しては全国の動物薬事担当者から多数の疑義照会が寄せられているが、国や県と連携を密にするとともに薬機法ならびに規則を遵守し今後とも適正な動物薬事行政の推進に努めていきたい。

参考文献

- [1] 家畜保健衛生事業計画・事業成績（平成 25 年度～令和 5 年度）
- [2] 医薬品、医療機器等の品質、有効性及び安全性の確保等に関する法律
- [3] 動物用医薬品取締規則 第 92 条～第 150 条

5 病性鑑定カルテの電子化による業務効率の向上と今後の課題

家畜保健衛生所 落井真史、清水誠也

はじめに

家畜保健衛生所(家保)では病性鑑定の依頼にあたって、農家情報、概要、各種検査結果および農家への指導内容等を記録した病性鑑定カルテ(病鑑カルテ)を年間約 450 件にわたり作成、ファイリングして過去 10 年分を保管している。県内の家畜伝染病の発生状況、畜産農家の家畜衛生事情などを把握するための重要な資料である。しかし、家保で長年使用していた紙製の病鑑カルテには、データ管理の不便さ、保管場所などの問題が生じていた。そこで一昨年より、従来使用していた紙製の病鑑カルテを廃止し、福井県が導入しているアプリ作成クラウドサービス kintone [1]で電子病鑑カルテを作成、これを活用することで、課題の解決を試みた。結果、病性鑑定情報の一元管理化、業務の省力化およびペーパーレス化を実現し、業務効率の改善に成功したため、これを報告する。

紙製の病鑑カルテの概要

A3 サイズの専用用紙に両面印刷したものを病鑑カルテとして使用していた(図 1)。依頼者、患畜の情報、解剖所見および各種検査結果等を記載し、電気泳動などの結果は印刷した画像を直接貼り付けるか、OneDrive に保存していた。また、解剖写真、組織写真および参考文献等は OneDrive の別々の場所に保管していた。また、紙製の病鑑カルテとは別に病性鑑定一覧を Excel ファイルで作成し保管していた。このように病性鑑定の情報の保管場所が多岐にわたっていたことから、過去の症例の検索等に時間を要していた。また、カルテのファイリングミスや Excel への入力ミス等もあり検索が困難な場合もあった。さらに紙製の病鑑カルテは 1 部のみであるため、病性鑑定情報の所内共有が困難であった。ファイリングした紙製の病鑑カルテは、スチール製の書棚に収納し、10 年間保管している(図 2)。そのため保管場所や書棚を確保する必要があった。また、年間約 450 件分の紙製の病鑑カルテの作製費用が必要であった。

図 1 紙製の病鑑カルテ



図2 ファイリングし書棚に収納された紙製の病鑑カルテ

方法

紙製の病鑑カルテの課題解決のため、福井県が導入している kintone を活用した病鑑カルテの電子化を試みた。必要項目や検索機能について課員で検討し、実装した。電子カルテは全ての所員が確認、編集することができる。また、入力画面では一部情報をプルダウン方式での入力とし、入力ミス、表記ゆれ削減を目指した(図3)。

The screenshot shows a web-based form for entering medical record data. It includes fields for '診療科目' (Medical Department) with a dropdown menu, '受付月日' (Reception Date) with a date picker, '診療費' (Medical Fee), and '病歴' (Medical History). There are also fields for '氏名' (Name) and '性別' (Gender). At the bottom, there are fields for '生年月日' (Date of Birth), '年齢' (Age), '性別' (Gender), and '体重' (Weight). The form is designed with a clean, professional layout and includes a '保存' (Save) button.

図3 電子カルテの入力画面

結果

従来の紙製の病鑑カルテに記入していた情報に加え、OneDriveに保管した解剖写真、参考文献等の情報を電子カルテにリンクさせることにより病性鑑定情報の一元管理が可能となり、電子カルテから各情報へのアクセスが容易になった(図4)。

また、月齢自動計算や他のカルテ(血液検査、乳房炎検査等のカルテ)との連携機能の活用により利便性が向上した(図5)。電子カルテは各所員のパソコンから閲覧可能であるため、情報共有が円滑となり、現場立ち入りや電話対応において、各所員が病性鑑定情報を引用した共通の認識で農家指導を行うことが可能となった(図6)。また、病性鑑定情報の絞り込み検索が可能となったことから、過去の病性鑑定情報の検索が簡便かつ迅速に実施できるようになった(図7)。電子カルテの情報はCSVファイルへの出力が可能であるため、Excelでの病性鑑定一覧の作製作業が不要となった。

紙製の病鑑カルテを廃止し電子カルテに移行したことでペーパーレス化が進み、紙製の病鑑カルテの作製費用約15,000円/年が削減された。また、保管場所や書棚の確保が不要となった。

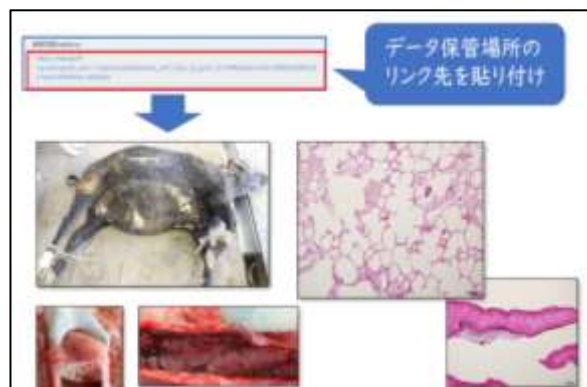


図4 電子カルテから各情報へアクセス



図5 kintoneの機能の活用例



図6 情報共有の円滑化



図7 絞り込み機能

今後の課題

現在、解剖所見等は解剖室にて記録用紙に書き込んでいる。解剖が終わった時点で、記入済みの記録用紙を事務所に持ち出して、内容を電子カルテに入力している。この方法では、解剖室で解剖した病畜由来の病原体が記録用紙を介して持ち出され、所内が汚染される恐れがある。今後、解剖室での記録は解剖室専用のタブレットなどを使用し、事務所パソコンにデータを送信し、事務所で電子カルテに入力する方法を取り入れることにより所内の病原体汚染を予防する工夫が必要と考える(図8)。

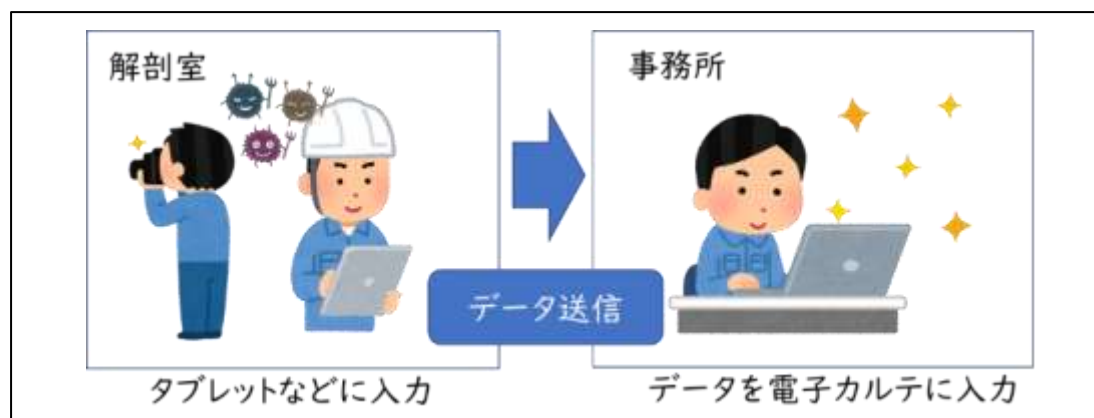


図 8 改善案

参考

- [1] 福井県：令和 5 年 9 月 29 日 D 推第 1172 号
kintone の正式導入開始について（通知）

6 InversePCR法が地方病型牛伝染性リンパ腫診断の一助となった一症例

家畜保健衛生所 清水誠也 新田愛

はじめに

牛伝染性リンパ腫は、全身性の悪性リンパ腫を主徴とする牛の疾病で、ウイルス感染による地方病型（EBL）と原因不明の散発型（SBL）に分けられる。EBLの原因ウイルスである牛伝染性リンパ腫ウイルス（BLV）はレトロウイルス科デルタレトロウイルス属に属するウイルスであり、牛のB細胞に持続感染する。EBLの発症は感染牛の数%で、4～8歳齢に好発するといわれるが、近年、若齢での発症の報告も増加している[1-3]。

EBLの診断は臨床症状、血液検査、病理組織検査、ウイルス検査の結果により総合的に判断する必要があるとあり、診断が難しい症例もある。実際、埼玉県での報告に外観所見や白血球を用いたBLV-PCR検査でBLV特異遺伝子が検出されたことからEBLを疑ったが、免疫組織化学的検査結果にてSBLと診断した事例がある[4]。そんな中、近年inverse PCR（IPCR）法やRAISING法といった手法でEBL診断が可能という報告がなされた[5, 6]。

今回、若齢牛でのEBL発症を疑った症例にIPCR法を用いEBLと診断した事例について概要を報告する。

発生概要

当該牛は黒毛和種、肥育、去勢、13ヶ月齢。令和6年12月5日、食欲低下、翌日起立不能となり、開業獣医師による治療を受けていたが12月7日に死亡した。12月9日に病性鑑定解剖を実施した結果、下顎リンパ節の腫大、眼窩組織の腫大、脾臓の腫大を認め（図1-3）、EBLを疑い各種検査を実施した。



図1 下顎リンパ節腫大



図2 眼窩組織腫大



図3 脾臓腫大

材料および方法

1. 血液検査

令和6年12月7日に開業獣医師が採取した血液を用い、自動血球計算装置（シスメックス株式会社）にて白血球数を測定し、血液塗抹検査をディフ・クイック染色にて実施した。

2. 病理組織検査

肝臓、脾臓、腎臓、心臓、肺、脳、胃、小腸、結腸、胸腺、眼窩組織、付属リンパ節（肝臓、肺、下顎、空腸）を用い、HE染色を実施した。

3. ウイルス検査

血液、肝臓、脾臓、腎臓、心臓、肺、脳、胸腺、肝臓リンパ節、左右眼窩組織から市販試薬（DNeasy Blood and Tissue Kit, QIAGEN）を用いてDNA抽出を行った。抽出した核酸を鋳型とし、pol法（牛伝染性リンパ腫ウイルス検出キット，タカラバイオ）にてBLVプロウイルス量を定量した。

定量PCRと同検体を用い、西森らの方法[7]でIPCR法を実施した。

4. 細菌検査

肝臓、脾臓、腎臓、心臓、肺、脳、胸腺を用い、常法に従い実施した。

成績

1. 血液検査

血液検査の結果、白血球数は297,300/ μ lだった。血液塗抹検査の結果、異形リンパ球が多数認められた（図4,5）。

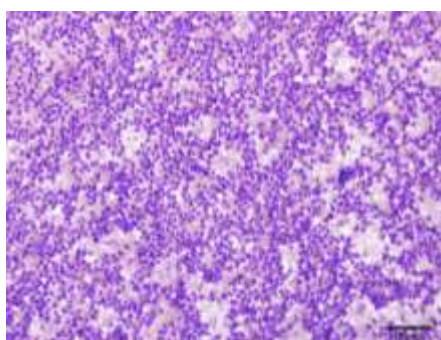


図4 血液塗抹検査（低倍率）

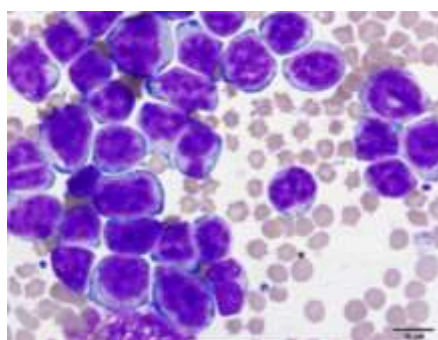


図5 血液塗抹検査（高倍率）

2. 病理組織検査

病理組織検査の結果、脾臓、リンパ節、眼窩組織に大型のリンパ球様腫瘍細胞の浸潤増殖を認めた。また、死後変化による細胞の変性、核の崩壊がみられた（図6-8）。

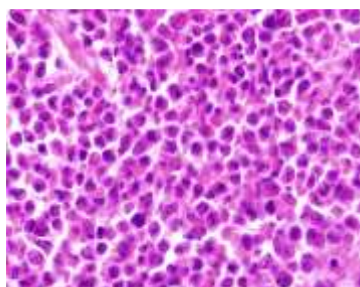


図6 脾臓（強拡大）

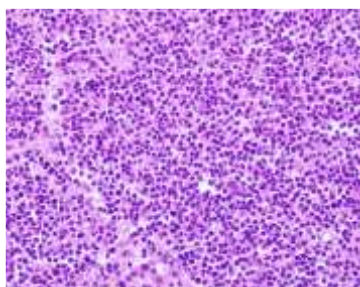


図7 リンパ節

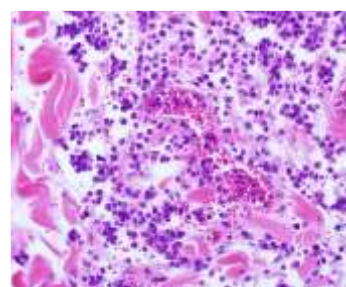


図8 眼窩組織

ウイルス検査

定量 PCR の結果、全検体で BLV 遺伝子が検出され、12,000copies/100,000cells を超える高コピー数の検体も認めた（図9）。

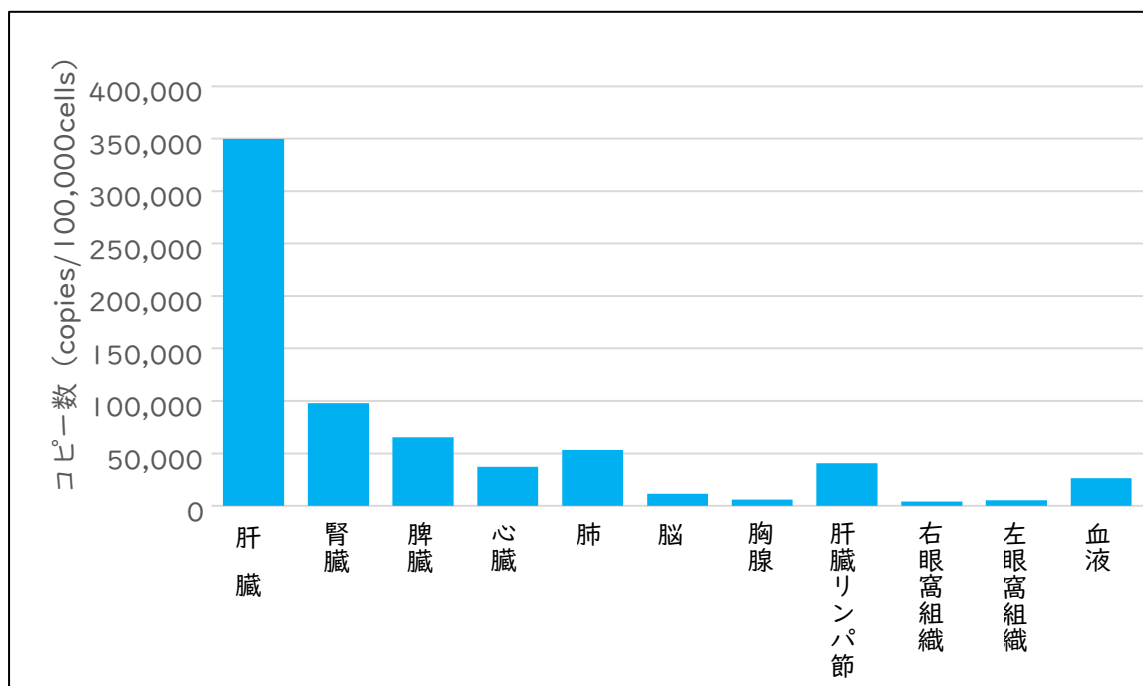


図9 定量 PCR

IPCR 法の結果、心臓、肺、脳、胸腺、左右眼窩組織、血液から抽出した検体で同一長のバンドが検出された（図10）。

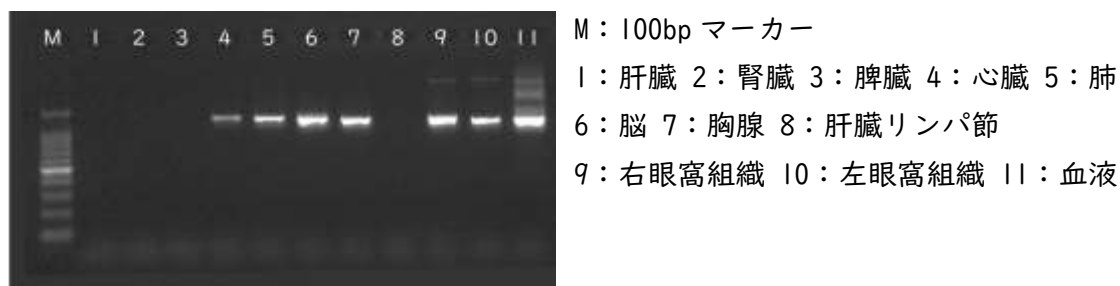


図10 IPCR 法の電気泳動像

4.細菌検査

細菌検査の結果、有意な菌は検出されなかった。

考察

本症例は、解剖所見、血液検査、病理組織検査、定量 PCR の結果、EBL を疑うも 13 か月齢と若齢であること、病理組織検査で死後変化による細胞の変性、核の崩壊がみられたこと、同様の所見で SBL と診断された事例[4]があることから、確定診断には至らな

かった。そこで近年 EBL の診断に有用との報告[5]がある IPCR 法を実施した。IPCR 法において、①バンドが検出される②バンドの数が少数③検体間で同一のバンドが検出される、これら3つの条件すべてを満たした場合 EBL と診断可能とされる[5]。本症例において、上記の条件をすべて満たしたため、EBL と診断した。今後の展望として IPCR 法を用いた症例を蓄積するとともに、血液や体表リンパ節等の生検材料を用い、EBL の生前診断に活用できたら農家の経済的な負担軽減につながると考える。

参考文献

- [1] 平川 素子, 里 秀樹, 佐藤 亘, 近藤 信彦: 地方病性牛白血病の若齢発症に関する一考察, 大分県畜産関係業績発表会集録, 2013
- [2] 石井 圭子, 銘苅 裕二, 高木 和香子, 荒木 美穂: 3 カ月齢の黒毛和種子牛にみられた地方病性牛白血病の1症例, 沖縄県家畜衛生試験場年報, 第 55 号, 2019
- [3] 若槻 拓司, 杉山 定, 高岡 亜沙子, 橋田 明彦, 水上 智秋, 廣瀬 友理, 門田 耕一, 竹嶋 伸之輔, 間 陽子: 若齢牛において地方病性牛白血病と診断した1例, 日獣会誌, 72, 608~613, 2019
- [4] 増田 杏菜, 御村 宗人: 肥育牛にみられた散発性牛白血病の一症例, 埼玉県調査研究成績報告書(家畜保健衛生業績発表集録), 第 59 報(平成 29 年度)
- [5] 西森 朝美: 牛伝染性リンパ腫の診断に有用な簡便インバース PCR 法の確立, 畜産技術 研究レポート, 13-17, 2021
- [6] Okagawa T, Shimakura H, Konnai S, Saito M, Matsudaira T, Nao N, Yamada S, Murakami K, Maekawa N, Murata S, Ohashi K.: Diagnosis and Early Prediction of Lymphoma Using High-Throughput Clonality Analysis of Bovine Leukemia Virus-Infected Cells. Microbiology Spectrum, 10(6), 2022
- [7] Nishimori A, Andoh K, Matsuura Y, Kumagai A, Hatama S: Establishment of a simplified inverse polymerase chain reaction method for diagnosis of enzootic bovine leukosis. Arch Virol, 166 (3) , 841-851, 2021

7 県内一酪農場で発生した牛ウイルス性下痢について（第2報）

家畜保健衛生所 清水誠也 落井真史

はじめに

牛ウイルス性下痢（BVD）は牛ウイルス性下痢ウイルス（BVDV）を原因とする届出伝染病で、発症牛は下痢、呼吸器症状、発熱、乳量低下等、様々な臨床症状を呈する[1]。また、妊娠牛が BVDV に感染した場合、胎齢に応じて胚死滅、流死産、異常産を引き起こし、胎齢 100 日前後で感染すると、胎子は免疫寛容となり持続感染（PI）牛として娩出される[1]。PI 牛は生涯にわたりウイルスを排出して農場を汚染する感染源となるため、BVD の対策においては PI 牛の摘発淘汰と、ウイルスの伝搬経路を明らかにして蔓延を防止するための疫学調査が重要である[1]。

BVDV はフラビウイルス科ペスチウイルス属に分類され、BVDV1（Pestivirus bovis）および BVDV2（Pestivirus tauri）の2種類が存在する。BVDV1 と BVDV2 は、遺伝子配列の違いによりそれぞれ Ia から Iv および 2a から 2d の亜型に細分され、国や地域により流行している亜型が異なる[2、3]。近年、日本国内では主に 1b および 2a 亜型のウイルスが流行しており[4]、それらの株は E2 領域の塩基配列の違いによりさらに細かいクラスターに分類できることが報告されている[5]。

第1報では、令和5年12月に県内一酪農場で BVDV2 による集団下痢が発生し、当該農場の浸潤状況調査の結果、子牛1頭が PI 牛であった点、当該農場が利用していた県内公共牧場および関連農場において清浄性を確認した点、県内農場に対する BVDV 侵入防止対策を整備した点を報告した[6]。今回、本症例の原因ウイルスについて遺伝子解析および分子系統解析、疫学調査を実施したためその概要を報告する。

材料および方法

1. 遺伝子解析および分子系統解析

BVD 発症牛の糞便および PI 牛血清の抽出核酸をテンプレートとして、5' UTR および E2 領域の塩基配列情報および BLAST 解析、E2 領域の系統樹作成を国立研究開発法人農業・食品産業技術総合研究機構動物衛生研究部門に依頼した。

2. 疫学調査

本症例で摘発された PI 牛を分娩した母牛が飼育されていた公共牧場における導入牛の有無および当該母牛の個体情報を、公共牧場への聞き取りおよび独立行政法人家畜改良センター〔牛の個体識別情報検索サービス〕から取得した。

公共牧場で実施している牛伝染性リンパ腫ウイルス（BLV）検査の余剰血清（令和5年度受入子牛：80 検体、令和5年3月全頭検査：167 検体、令和5年9月全頭検査：135 検体）を用い、抗体検査を ELISA 法にて実施した（VDPro ウシウイルス性下痢ウイルス抗体 ELIS キット, FUJIFILM）。また、10 検体ごとのプール検体とし、Vilcek ら [7]の方法で RT-PCR を実施した。

さらに、令和5年度に公共牧場と同一地域で採材された野生いのしし豚熱検査の余剰血清を用い、RT-PCR 法[7]を実施した。遺伝子が検出された検体については、制限酵素 Pst I および Bgl I を用いた制限酵素切断長多型（RFLP）解析[7-8]を実施した。また、中和試験は BVDVKZ91 株を指示ウイルスとし MDBK 細胞で実施した。

成績

1. 遺伝子解析および分子系統解析

第1報で報告した[6]、鑑定殺牛の糞便およびPI牛血清に由来するウイルスの5' UTR領域の塩基配列情報を解析した結果、両者の配列は100%一致した。BLAST解析の結果、この株は BVDV2a に近縁であり、アメリカの分離株である WiscA 株（MH231146）と最も高い類似性を示した（98.4%）。また、E2 領域の塩基配列についても両者の配列は100%一致し、BLAST 解析の結果、WiscA 株（MH231146）や、同じくアメリカの分離株である GBK 株（AB894424）、MadSpl 株（MH231137）に対して高い類似性を示した（WiscA：97.4%，GBK：96.4%，MadSpl：98.3%）。一方、既報[4,5]の BVDV2a 国内分離株クラスターI および II との類似性は、近縁なものでそれぞれ 89.4%（LC630478）および 89.5%（LC016727）であった。分子系統解析の結果、本症例の原因ウイルスと WiscA 株、GBK 株および MadSpl 株は、既報[4,5]の BVDV2a 国内分離株とは異なるクラスターを形成した（図1）。

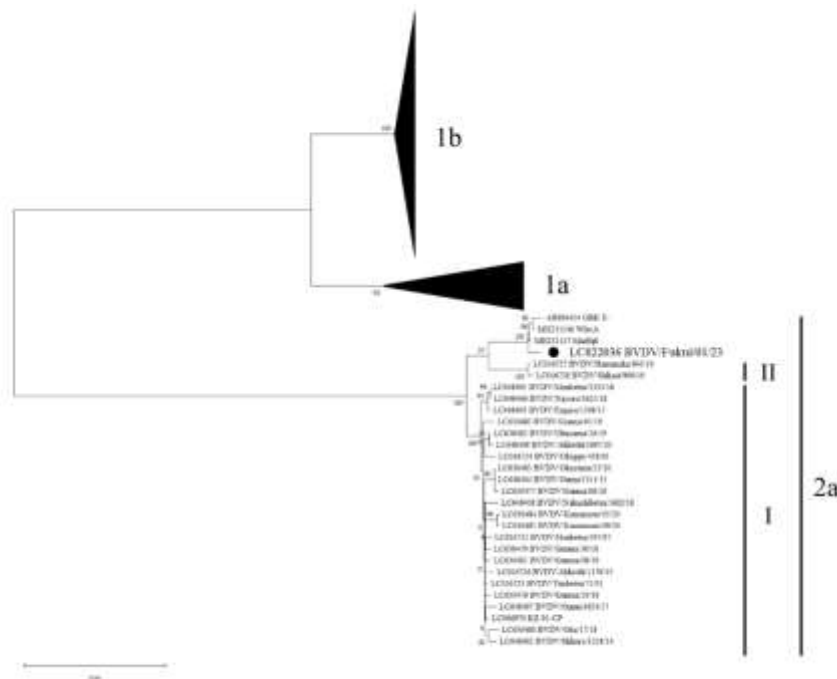


図1 E2配列（1122 bp）を用いた分子系統解析結果

2. 疫学調査

公共牧場への県外導入牛は、平成30年2月20日に北海道から導入され令和5年5月2日に死亡した個体（雌、ホルスタイン種）以降存在しなかった。本症例のPI牛の母牛は令和3年12月21日に当該農場で生まれ、令和4年3月8日に公共牧場に預託後、6か月齢時にBVDV1および2を含む不活化ワクチンを接種されていた。その後、令和5年3月5日に人工授精を行い妊娠が確認され、令和5年10月24日に公共牧場から当該酪農場に移動し、令和5年12月10日にPI牛を産出した。

BLV検査の余剰血清を用いたBVDV遺伝子検査の結果、全検体で遺伝子は検出されなかった。BVDV抗体検査の結果、令和5年3月の血清で3検体、9月の血清で15検体陽性だった（図2）。

結果（疫学調査）				
個体No.	R5.3月		R5.9月	
	月齢	ELISA	月齢	ELISA
1	12.8	+	18.5	NT
2	11.3	+	17.0	+
3	7.6	-	13.2	+
4	7.5	-	13.2	+
5	7.2	-	12.9	+
6	7.6	-	13.2	+
7	7.5	+	13.2	+
8	7.1	-	12.8	+
9	4.4	NT	10.1	+
10	6.6	-	12.3	+
11	4.3	NT	10.0	+
12	8.4	-	14.0	+
13	5.7	NT	11.3	+
14	5.7	NT	11.3	+
15	5.5	NT	11.2	+
16	60.5	-	66.1	+

R5.3月 3/167 陽性
 R5.9月 15/125 陽性

-：陰性 +：陽性 NT：未検査

図2 BVDV抗体検査結果

野生いのししの血清を用いた遺伝子検査の結果、6検体で陽性が確認され、RFLPの結果、6検体すべてPst IおよびBgl Iで切断された。

野性いのしし血清を用いBVDV2に対する中和抗体を測定したところ4検体で2倍、6検体で4倍、2検体で8倍の抗体価が確認されたが、豚熱ELISAでも陽性の個体だった。

考察

県内一酪農場において集団下痢が発生し、検査の結果BVDの発生が確認され、その後の調査で子牛1頭がPI牛であることが確認された。BVD発症牛糞便およびPI牛血清に由来するウイルスの遺伝子検査を実施した結果、原因ウイルスはBVDV2であり、両者の5'UTR領域およびE2領域の配列が100%一致したことから、BVDの発生はPI牛由来ウイルスに起因すると推察された。原因ウイルスの塩基配列をBLAST解析した結果、この株はBVDV2a亜型のアメリカ分離株WiscA株やGBK株、MadSpI株と高い類似性を示し、分子系統解析の結果、近年報告されている[4,5]国内流行株とは異なるクラスターに分類された。これまでこのクラスターに分類される国内株の報告事例はないため、本症例は当該クラスターに分類されるBVDVによる初めての症例報告である。

これまでに報告のないクラスターに属するウイルスの伝搬経路を特定するため、疫学的な解析を実施した。胎齢100日前後でBVDVの感染が成立すると胎子が免疫寛容によりPI牛となることが知られている。そこで、PI牛を産出した母牛の移動歴を調査したところ、該当期間中は公共牧場に預託されていたため、公共牧場でウイルスに感染したと考えられた。公共牧場では、以前よりBVD対策として、導入牛が6か月齢に達した時点でBVDV1および2を含む混合不活化ワクチン単回接種を行っている。しかしながら、不活化ワクチン接種のみで子宮内感染を完全に防御することは困難という報告がある[9]ことに加えて、今回の原因ウイルスはワクチン株とは抗原性がわずかに異なる可能性があることから、ワクチンの効果が限定的であり、今回の感染を防ぐことができなかった可能性がある。公共牧場で採取された余剰血清を用いた疫学調査の結果、導入子牛の検査においてBVDVが検出されなかったことから、PI牛によりBVDVが公共牧場に持ち込まれた可能性は否定された。しかし、令和5年3月と9月に採取した検体においてBVDVに対する抗体の陽転を認めたことから、この期間にウイルスが侵入した可能性が高いと推察された。

公共牧場と同一地域で採材された野生いのしし豚熱検査の余剰血清を用いた疫学調査では、遺伝子検査陽性だった検体は制限酵素(Pst I および Bgl I) で切断されたため豚熱遺伝子と判明した。また、いのしし血清を用いた抗体検査では抗体価2~8倍の検体が認められたが、豚熱ELISAでも陽性の検体であることから、豚熱抗体が交差したと推察した。

公共牧場は、平成30年2月以降県外からの牛の導入はなく、また、野生いのししを介したBVDVの関与は認められなかったことから、ウイルスの侵入経路の特定には至らなかった。しかし、公共牧場は観光牧場としての側面も持ち、また、放牧地は公道に面しており野生動物が容易に侵入できる構造となっている。豚にBVDVが感染した報告[10]や、野生の反芻獣がBVDVの感染源となる報告[11]があるため、車両およびイノシシやシカ等の野生動物からウイルスが侵入した可能性も考えられる。そのため、今後のBVD対策として公共牧場における定期的なワクチン接種や受け入れ時の検査に加えて、飼養衛生管理のさらなる徹底が重要と考える。

参考文献

- [1] 田島誉士：牛ウイルス性下痢ウイルス感染症, 日獣会誌, 65, 111-117 (2012)
- [2] Yeşilbağ K, Alpay G, Becher P: Variability and Global Distribution of Subgenotypes of Bovine Viral Diarrhea Virus, Viruses, 9:128 (2017)
- [3] Oguzoglu TÇ, Koç BT, Coşkun N, Dogan F, Duran-Yelken S: Endless variety for bovine virus diarrhea viruses: new members of a novel subgroup into pestivirus A from Turkey, Trop Anim Health Prod, 51, 1083-1087 (2019)
- [4] Nishimori A, Hirose S, Ogino S, Andoh K, Isoda K, Sakoda Y: Endemic infections of bovine viral diarrhea virus genotypes 1b and 2a isolated from

- cattle in Japan between 2014 and 2020, J Vet Med Sci, 84(2), 228-232 (2022)
- [5] Abe Y, Tamura T, Torii S, Wakamori S, Nagai M, Mitsunashi K, Mine J, Fujimoto Y, Nagashima N, Yoshino F, Sugita Y, Nomura T, Okamatsu M, Kida H, Sakoda Y: Genetic and antigenic characterization of bovine viral diarrhea viruses isolated from cattle in Hokkaido, Japan. J Vet Med Sci, 78, 61-70 (2016)
- [6] 清水誠也: 県内一酪農場で発生した牛ウイルス性下痢 (BVD) について (第1報), 令和5年度福井県家畜保健衛生業績発表集録 (第1部・第2部), 21-24, 2024
- [7] Vilcek S, Herring AJ, Herring JA, Nettleton PF, Lowings JP, Paton DJ: Pestiviruses isolated from pigs, cattle and sheep can be allocated into at least three genogroups using polymerase chain reaction and restriction endonuclease analysis, Arch Virol, 136, 309-323 (1994)
- [8] Harpin S, Elahi SM, Cornaglia E, Yolken RH, Elazhary Y: The 5' -untranslated region sequence of a potential new genotype of bovine viral diarrhea virus, Arch Virol, 140, 1285-1290 (1995)
- [9] Grooms DL, Bolin SR, Coe PH, Borges R, Coutu CE: Fetal protection against continuous exposure to bovine viral diarrhea virus following administration of a vaccine containing an inactivated BVDV fraction, Am J Vet Res, 68, 1417-1422 (2007)
- [10] 高久 英徳, 五十嵐 康博, 清原 博光, 大山 和幸, 黒澤 篤, 齋藤 真里子, 宮根 和弘, 平松 美裕子: 野外豚からの牛ウイルス性下痢ウイルス抗体の検出, 日獣会誌 60, 125~130 (2007)
- [11] Cima G: Wildlife a concern in BVDV control, J Am Vet Med Assoc, 234, 864-865 (2009)

8 県内一養鶏場で発生した *Enterococcus cecorum* による化膿性脊椎炎

家畜保健衛生所 木村美貴 新田愛

はじめに

Enterococcus cecorum (以下 EC) は通性嫌気性のグラム陽性球菌で、鳥類・哺乳類の腸内細菌叢の一菌種である。病原性は少ないと考えられていたが、近年、損害が大きい新興感染症として注目されている[1,3]。病原性を示す EC (pathogenic *E. cecorum* : PEC) と共生型の EC (commensal *E. cecorum* : CEC) が存在し[1,2]、病原性だけではなく腸内へ定着する時期などに差がみられる。第一病期では敗血症がみられ、心膜炎・肝被膜炎・脾腫を呈する[1,6]が、無症状の鶏も多く[2]、その後、血行性に移行し脊椎膿瘍を形成、第二病期の歩行困難・跛行・脚部の麻痺などを呈し[1,2,4]、飢餓と脱水により死亡率・淘汰率が上昇して問題が表面化するといわれている[1]。

発生概要

令和 6 年 3 月 25 日、県内の養鶏場から脚弱の鶏が増えているとの相談を受け、現地に立ち入りした。当該農場は全国に農場を持つ畜産企業の一養鶏場で、ウインドレス平飼鶏舎 6 棟にて肉用鶏(チャンキー)約 36,000 羽を飼養しており、1 週間ごとに初生雛を導入し、45 日齢で出荷している。



図 1 脚を投げ出して座る個体

立入り時、脚を投げ出して座り(図 1)、起立を嫌がり、不安定な歩き方をする鶏が目立った。このような症状は 20 日齢を過ぎた頃からみられるとのことであった。死亡羽数の増加はないが、増体が悪くて出荷できず、最大 10%程が淘汰となっていた。

それぞれの鶏舎では一部、種鶏が共通していたが、種鶏に関係なく日齢に比例して罹患率が上がっていた(表 1)。

表 1 鶏舎ごとの発症率と日齢および種鶏の関係

鶏舎	日齢	発症率	種鶏
1 号舎	空舎(出荷後)	-	B
2 号舎	空舎(出荷後)	8.8%	A
3 号舎	46 日齢(出荷直後)	8.4%	A
4 号舎	39 日齢	3.5%	B
5 号舎	32 日齢	1.8%	A
6 号舎	25 日齢	0%	C

餌を替えた直後から脚弱が発生したため、栄養不足が原因のペローシスを疑って病性鑑定を開始した。ただし、変えた後の餌はこの会社の別の農場でも使っており、そこでは異常は発生していなかった。

生鶏5羽で鳥インフルエンザ簡易検査を行ったところ、全て陰性だった。

材料および方法

1. 解剖検査および病理組織検査

生鶏12羽について鑑定殺し、解剖検査実施後、主要臓器について10%ホルマリン液で固定後、常法に従いパラフィン包埋切片を作製してヘマトキシリン・エオジン（HE）染色およびグラム染色を実施した。

2. 細菌検査

① 臓器からの菌分離

解剖した鶏のうち、一部の個体の肝臓、脾臓、腎臓、心臓、肺、大脳、胸椎膿瘍部を用いて、5%羊血液寒天培地、DHL寒天培地にそれぞれスタンプし、5%CO₂下で37℃24時間培養した。5%羊血液寒天培地については37℃24時間の嫌気培養も実施した。分離された菌株に対しグラム染色を行い、その形状を確認後、純培養した。5%CO₂下で37℃24時間培養後、API 20 STREP（バイオメリュース社）を用いて菌種同定を試みた。さらに国立研究開発法人農業・食品産業技術総合研究機構動物衛生研究部門（動物衛生研究部門）に依頼し、*sodA*遺伝子の特徴的な配列を標的としたPCR法[7]を用いて菌種を同定した。

② 薬剤感受性試験

分離したECの薬剤感受性試験は、ペニシリン、アンピシリン、エリスロマイシン、テトラサイクリン、ドキシサイクリン、バンコマイシン、クロラムフェニコール、シプロフロキサシンの8薬剤について、センシ・ディスク（ベクトン・ディッキンソン社製）を用いて、一濃度ディスク法にて実施した[8]。感受性についてはCLSI（Clinical and Laboratory Standards institute）の *Enterococcus* spp. の基準[9]を元に判定した。

3. 寄生虫検査

3号舎から6号舎の落下便を用いて、浮遊法によって簡易寄生虫検査を行った。

4. 血液検査

4号舎と5号舎の鶏5羽の血液を用いて、血液生化学検査を行った。

5. 疫学検査

以下の検査は動物衛生研究部門に依頼した。

① パルスフィールドゲル電気泳動法による遺伝子型別

分離株 10 株について、Okura ら[10]の方法に準拠し、制限酵素は SmaI を用いて、パルスフィールドゲル電気泳動 (PFGE) を行った。

② 病原性の強い株が持つ遺伝子の検索

海外の先行研究において、病鶏由来株で高く保存されている 5 つの遺伝子と、ヒトの患者由来株で高く保存されている 1 つの遺伝子が発見されている[11]。これらの遺伝子の有無を調べた。

6. 環境調査

① 環境ふき取り、落下便からの DNA 検出

海外の先行研究では、不十分な洗浄・消毒により、生産サイクルを越えて EC が伝播していることが示されている[12]。環境中に排出された EC がどの程度残存するのか調査するため、立ち入りを行った。鶏が残っていた 3~6 号鶏舎の左右壁のふき取り検体と落下便を採取した。壁のふき取りには、プロワイプ (大王製紙株式会社製) 1 枚に滅菌精製水 40ml を含ませたものを使用した。Brain Heart Infusion(BHI)液体培地で一晚増菌後、上清から市販の DNA 抽出キットを用いて DNA を抽出し、PCR を実施した。

② 環境ふき取り、落下便からの菌分離

各検体の BHI 増菌液をコロンビア CNA 5%ヒツジ血液寒天培地 (ベクトン・ディッキンソン社) に画線培養し、6 株ずつ純培養した。菌株から DNA を抽出し、PCR を用いて菌種を同定した。分離株に関して、臓器からの分離株と同様に、薬剤感受性試験および病原性の強い株が持つ遺伝子の検索を行った。

③ 環境からの分離菌の疫学検査

環境から分離された菌の PFGE を動物衛生研究部門に依頼した。

7. 発育鶏卵接種

胸椎膿瘍由来株および肺由来株の病原性の違いを調べるため、発育鶏卵接種を行った。既報[1, 11, 13, 14]を参考に、それぞれの菌株を生理食塩水でマクファーランド No.0.5 (1.7×10^8 cfu/ml) に調整し、それを原液として 10^2 倍、 10^4 倍、 10^6 倍、 10^8 倍に段階希釈した。原液および希釈液を 11 日齢の発育鶏卵の尿膜腔内に $100 \mu\text{l}$ 接種して day0 とし、18 日齢になるまで 7 日間孵卵した (n=2)。陰性コントロールには生理食塩水を使用した。尿膜腔内から菌を分離し、菌数を計測した。途中で死亡した胚について病理組織検査を行った。

結果

1. 解剖検査および病理組織検査

解剖した12羽(図2)に共通して、脚の関節・骨格筋に著変はみられなかった。白く濁った心嚢水が貯留している(図3)個体や、心嚢と肝臓の漿膜面が一部癒着している(図4)個体がみられた。ほぼ全ての鶏に共通して、第六胸椎が膨隆しており(図5)、断面には黄色から赤色の炎症性の塊によって椎体構造が破壊されている様子が観察された(図6)。これを脱灰して矢状面で切断したところ、椎体部が膨隆して脊髄を圧迫していた(図7)。



図2 剖検前の外貌



図3 白く濁った心嚢水が貯留

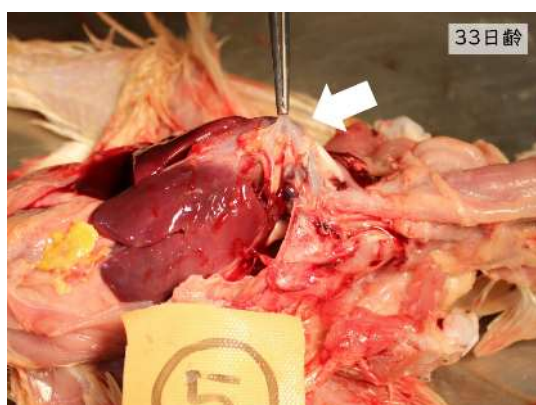


図4 心嚢と肝臓の漿膜面の癒着

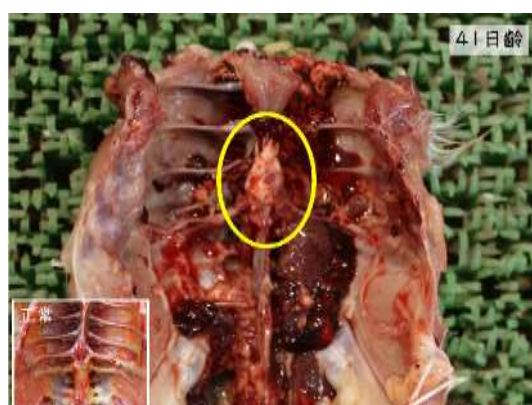


図5 第六胸椎の膨隆

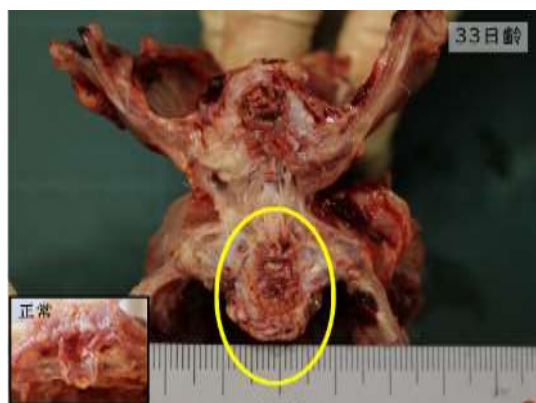


図6 椎体構造の破壊

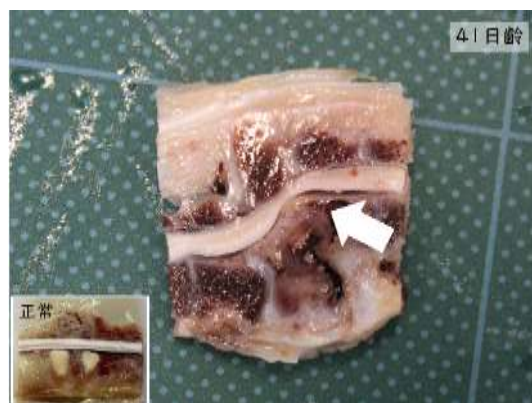


図7 椎体部膨隆による脊髄の圧迫

病理組織検査では第六胸椎の椎体部に出血を伴う膿瘍（図8）および多数のグラム陽性球菌が確認された（図9）。肝臓にはリンパ濾胞が形成され、リンパ球の浸潤がみられた（図10）。心外膜および直下の心筋線維間に偽好酸球が軽度に浸潤しており（図11）、大脳では囲管性細胞浸潤がみられた（図12）。

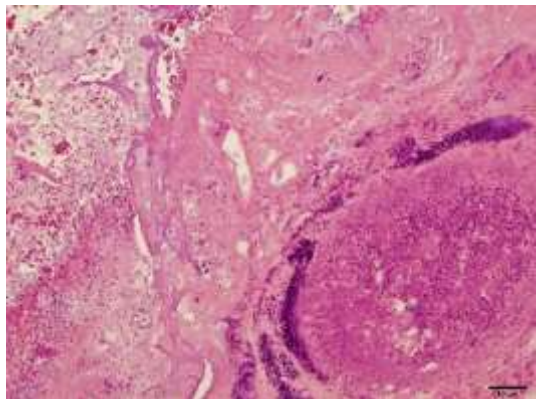


図8 胸椎膿瘍 HE 染色 ×200

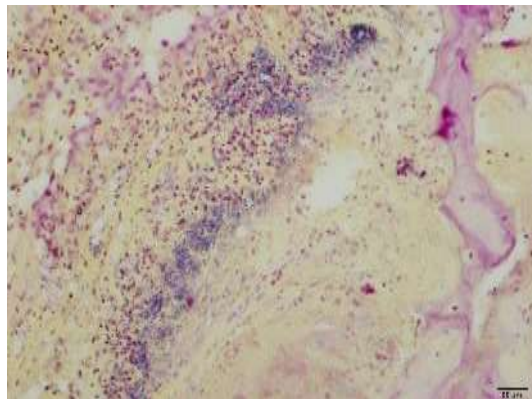


図9 胸椎膿瘍 グラム染色 ×400

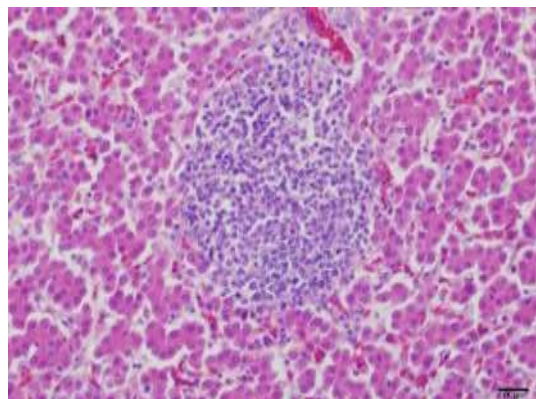


図10 肝臓 HE 染色 ×400

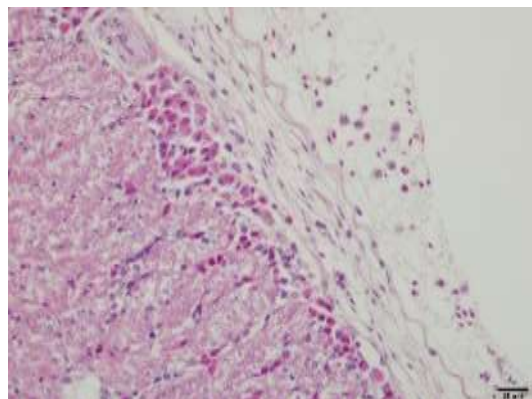


図11 心外膜 HE 染色 ×400



図12 大脳 HE 染色 ×400

2. 細菌検査

① 臓器からの菌分離

7羽中2羽の肝臓、7羽中2羽の脾臓、7羽中1羽の肺、6羽中5羽の胸椎膿瘍から栄

養要求性の高いグラム陽性双球菌が合計10株分離された。API 20 STREPによる同定の結果、*Aerococcus viridans*等が候補にあがったが、生化学性状に非典型反応もあり、*A. viridans*を特異的に検出するPCR[15, 16]で否定されるなど明確な同定が困難であった。そこで、ECを特異的に検出するPCRを実施したところ全株陽性を示したため、今回分離された株をECと同定した。また、肺からECを分離した個体においては、同じく肺から*Escherichia coli*が分離された。

② 薬剤感受性試験

全体的に感受性があり、ペニシリン系に感受性があるという報告[1, 3, 6, 17]に合致していたが、臨床由来株の方が健康由来株よりも耐性率が高いという報告[1, 8]に反していた。肺由来株はテトラサイクリンに耐性があり、他の株と異なるパターンを示した。*Enterococcus*属菌ではバンコマイシン耐性腸球菌の多剤耐性化が問題視されている[18]が、本症例での分離株に耐性はみられなかった(図14)。

3. 寄生虫検査

落下便から線虫卵、コクシジウムオオシストが検出されたが、化膿性脊椎炎の病状と数的な相関がみられず、脚弱との関連は薄いと考えられた。

4. 血液検査

5羽すべてにおいてGGT、LDH、Caが上昇、グルコースとBUNが低下しており、肝臓や胆管の炎症、栄養不足・脱水が示唆されたが、これまでの筋肉変性・腱鞘炎・Ca不足が原因となった脚弱の検査結果[19, 20]とはデータが一致しなかった。

5. 疫学検査

① パルスフィールドゲル電気泳動法による遺伝子型別

肺以外由来の株は同一のPFGE型を示したが、肺由来株は別のパターンを示した(図13)。

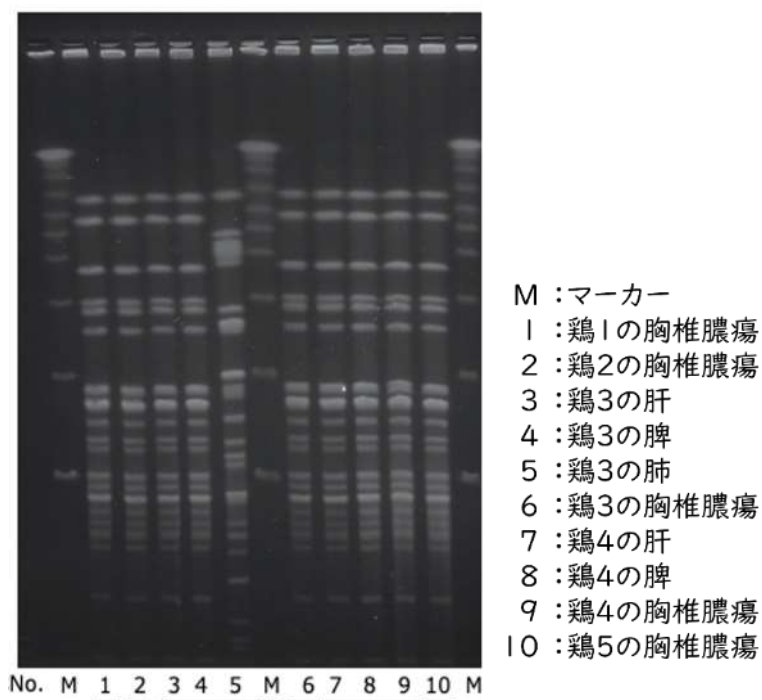


図 13 EC 10 株の PFGE 解析パターンの比較

② 病原性の強い株が持つ遺伝子の検索

肺以外由来の株では 5 遺伝子全てを保有しており、肺由来株で保有していたのは 1 遺伝子のみであった (図 15)。

6. 環境調査

① 環境ふき取り、落下便からの DNA 検出

4～6 号舎の壁と、3～6 号舎の落下便から EC の DNA を検出した (表 2)。

② 環境ふき取り、落下便からの菌分離

各鶏舎の壁の拭き取り検体からはそれぞれ 1 株も EC を分離することができず、3 号舎・4 号舎の落下便も同様だったが、5 号舎・6 号舎の落下便からはそれぞれ 1 株ずつ EC を分離した (表 2)。

表 2 環境からの DNA 検出および菌分離の結果

	壁 DNA	落下便 DNA	壁 菌分離	落下便 菌分離
3 号舎	-	+++	0	0
4 号舎	+++	+++	0	0
5 号舎	++	+++	0	1
6 号舎	+	+++	0	1

薬剤感受性試験において、5号舎落下便由来株は胸椎膿瘍由来株と同様に概ね感受性があり、6号舎落下便由来株はテトラサイクリンに耐性がある点で、肺由来株と類似の傾向があった（図14）。

S:感性 I:中間 R:耐性

	分離部位	ABPC	PCG	EM	TC	DOXY	VCM	CP	CPFX
鶏1	胸椎膿瘍	S	S	S	S	S	S	S	I
鶏2	胸椎膿瘍	S	S	S	S	S	S	S	S
鶏3	肝	S	S	S	S	S	S	S	I
	脾	S	S	S	S	S	S	S	S
	肺	S	S	S	R	I	S	S	S
	胸椎膿瘍	S	S	S	S	S	S	S	S
鶏4	肝	S	S	S	S	S	S	S	S
	脾	S	S	S	S	S	S	S	S
	胸椎膿瘍	S	S	S	S	S	S	S	S
鶏5	胸椎膿瘍	S	S	S	S	S	S	S	S
	5号舎落下便	S	S	S	S	S	S	S	I
	6号舎落下便	S	S	S	R	I	S	S	R

図14 薬剤感受性試験結果

病原性が強い株がもつ遺伝子の有無を調べたところ、5号舎落下便由来株は胸椎膿瘍由来株と同じパターンを、6号舎落下便由来株は肺由来株と同じパターンを示した（図15）。

※ 病鶏由来株で高保有率 ※ 患者由来株で高保有率

	分離部位	EC 0573	EC 1816	EC 0586	EC 2735	EC 0757	EC 1424
鶏1	胸椎膿瘍	+	+	+	+	+	-
鶏2	胸椎膿瘍	+	+	+	+	+	-
鶏3	肝	+	+	+	+	+	-
	脾	+	+	+	+	+	-
	肺	-	-	-	+	-	-
	胸椎膿瘍	+	+	+	+	+	-
鶏4	肝	+	+	+	+	+	-
	脾	+	+	+	+	+	-
	胸椎膿瘍	+	+	+	+	+	-
鶏5	胸椎膿瘍	+	+	+	+	+	-
	5号舎落下便	+	+	+	+	+	-
	6号舎落下便	-	-	-	+	-	-

図15 病原性の強い株がもつ遺伝子の検出

③ 環境からの分離菌の疫学的検査

5 号舎落下便由来株は胸椎膿瘍由来株と同一、6 号舎落下便由来株は肺由来株と同一の PFGE パターンを示し、それぞれのクローン株が環境中に存在することが示された(図 16)。

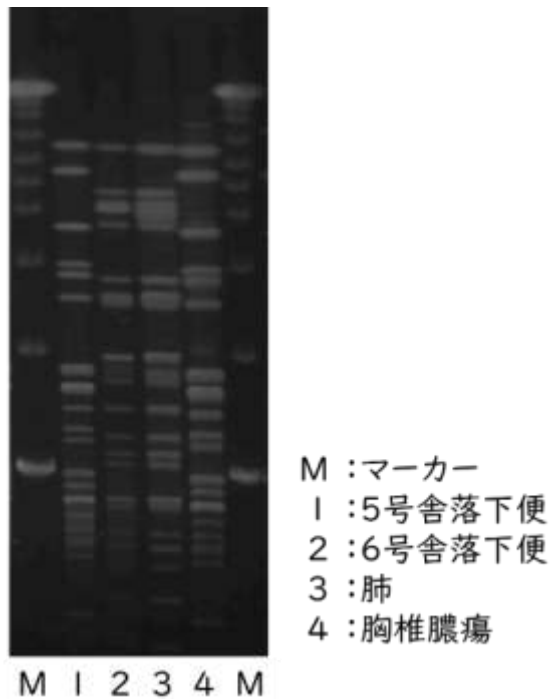


図 16 落下便由来 EC 2 株と病鑑由来株との PFGE 解析パターンの比較

7. 発育鶏卵接種

胸椎膿瘍由来株と肺由来株では、発育鶏卵の生存率に明らかな差がみられた。胸椎膿瘍由来株を原液で接種した 2 個の発育鶏卵は、接種後 2 日以内に 2 個とも死亡した(図 17)。割卵してみると全身の皮膚に点状出血がみられ(図 18)、既報と一致した[13, 14]。病理学的検査では各臓器にうっ血がみられ(図 19)、グラム染色すると陽性菌が観察された(図 20)。肺由来株を接種した胚は全て、孵卵最終日の day7 まで生存した。最終日まで生き延びた胚は、胸椎膿瘍由来株、肺由来株、およびコントロールとして使用した生理食塩水全て肉眼・組織ともに出血斑等の著変が見られず(図 21)、体重にも差はみられなかった(図 22)。胸椎膿瘍由来株に比べて肺由来株は発育鶏卵内でほとんど増殖しない傾向にあった(図 23)。

本症例で分離した胸椎膿瘍由来株と肺由来株の間にも明確な病原性および増殖能の違いがみられたことにより、胸椎膿瘍由来株を病原性のある PEC、肺由来株を CEC であると判定した。また、病原性のある株でも、発育鶏卵に対してその病原性を示すには接種時に一定の菌数が必要であることが分かり、48 時間以内に致死性を示す菌でも 100 倍希釈するとその病原性の発現が著しく落ちることが分かった。

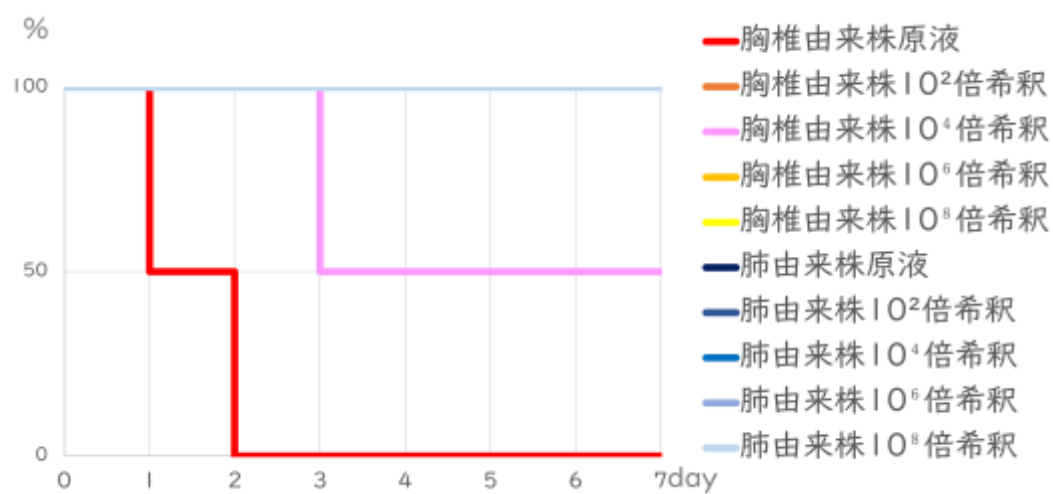


図17 生存率曲線 (%)

生理食塩水 胸椎膿瘍由来株



図18 死亡した胚の外貌

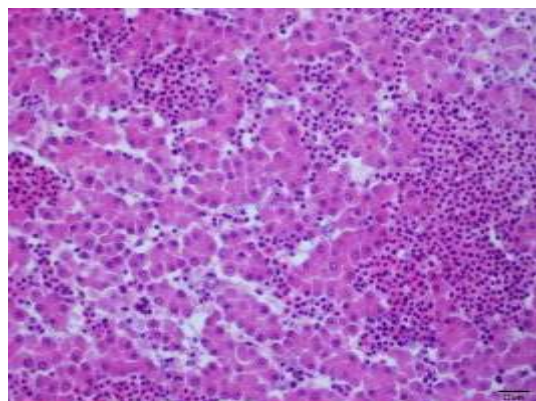


図19 肝臓 HE 染色 ×400

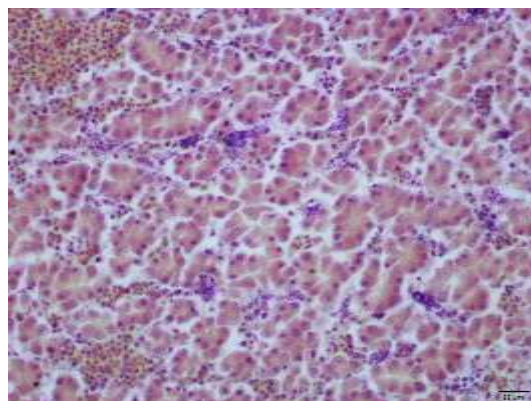


図20 肝臓 グラム染色 ×400

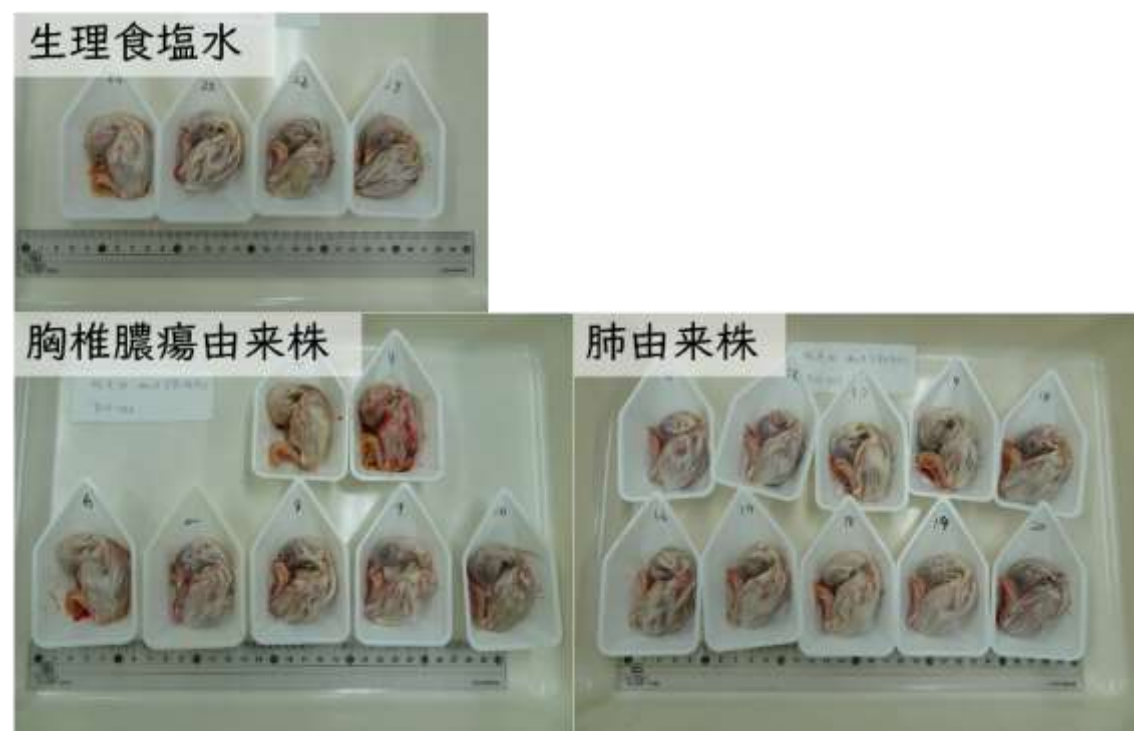


図 21 day7 まで生き延びた胚（18 日齢）の外貌

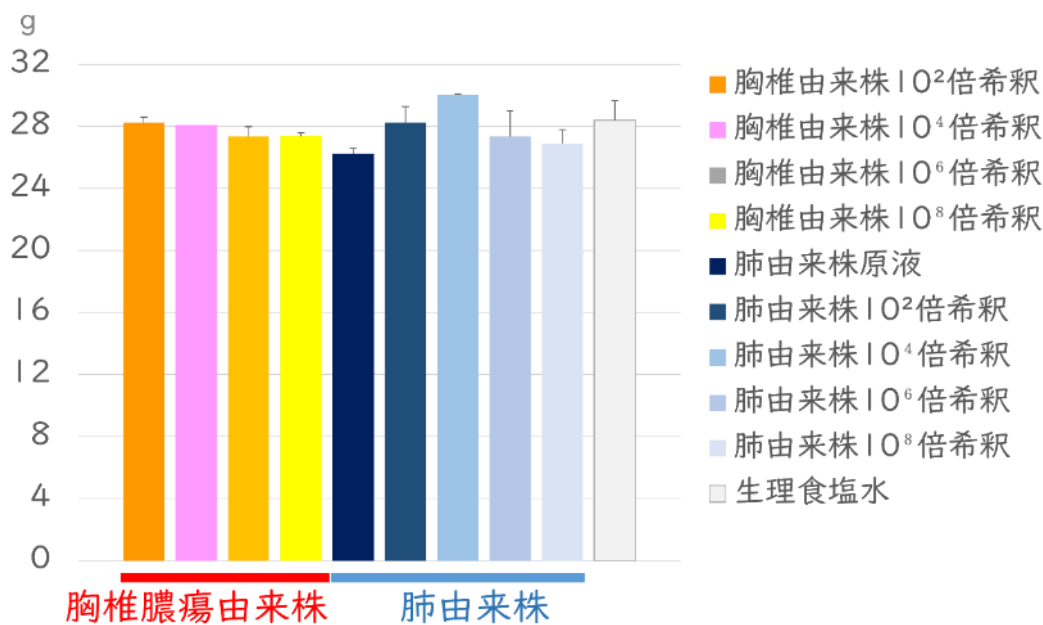


図 22 day7 まで生き延びた胚の平均体重 (g)

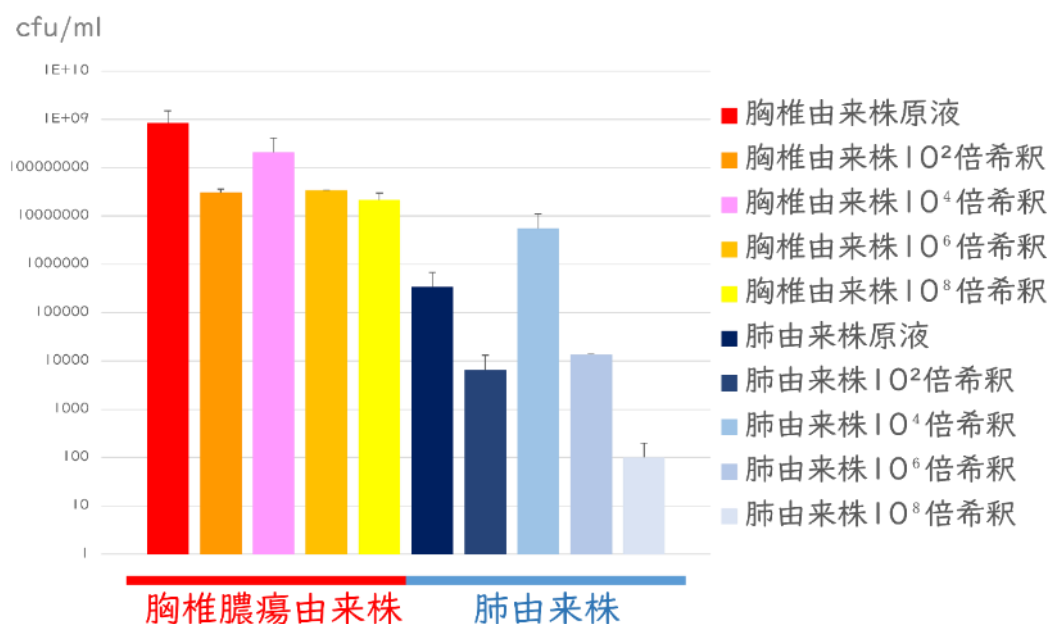


図 23 尿膜腔内液の平均菌数 (cfu/ml)

考察およびまとめ

病性鑑定の結果から、本症例を病原性のある EC による化膿性脊椎炎の第二病期であると判定した。

米国で実施された PFGE による解析では、病変部由来株はいくつかのクラスターへの収束が見られるのに対し、健康鶏腸管由来株は多様なパターンを示すことが明らかになっている[5, 8, 13]。

本検査では、全羽から同一 PFGE 型の株が分離され、単一のクローンによる感染事例であることが示唆された。また、県外分離株でもこの PFGE 型と類似または一致した株が分離されており（未公表）、国内の EC 感染症において、特定のクローナルな集団が広がっていることが強く示唆された。

一方、肺由来株はこれまでの国内分離株にないパターン（未公表）で、疾病に関与しているかは不明であった。共生型の EC は腸内細菌叢の一菌種であり、さらにこの個体からは同時に大腸菌も検出されているため、これらを含む乾燥した糞便が舞い上がり吸入され感染したと考えられる。EC の気道感染はブロイラーで示唆されている[1, 21, 22]が、第六胸椎へは気嚢が分布していない[23, 24]ため、気道感染した EC が胸椎や全身へ広がっていくかは疑わしく、本症例でも肺のみの感染に留まった。

また本症例では種鶏が異なるロットでも発生しており、発症に血縁が関係ないことが示唆されたが、ブロイラーは急激に増体するため、微小骨折から細菌が定着し、結果として EC による化膿性脊椎炎を発症しやすい[25]と言われており、品種には関連性があると考えられる。

出荷後であり鶏が少なかった3号舎の壁からはECのDNAを検出しなかった。清掃を開始しており、環境中の残留菌が少なくなったと考えた。4号舎は病期としてはピークにあたるため、PCRでは強い反応がみられたが、菌分離は困難だった。5号舎、6号舎は徐々に反応が強くなっていることから、環境への汚染が進む過程であると考えた。落下便からはいずれの鶏舎もPCRにおいて強い反応がみられ、5号舎と6号舎からは実際に菌株を分離した。既報[26]からも農場内に汚染源があってECの再感染が繰り返されることが示唆されており、基本的なことではあるが壁・床ともに丁寧に清掃・消毒することが重要である。実際に発生農場では、清掃・消毒後に脚弱の鶏は続発していない。

謝辞

稿を終えるにあたり、菌種の同定とPFGEの実施、さらに様々な助言をくださった国立農研機構動物衛生研究部門 越境性家畜感染症研究領域 疫学・昆虫媒介感染症グループ 大倉正稔先生に深謝します。

参考文献

- [1] *Enterococcus cecorum*感染症 鶏病研究会報 60 巻1号 10-21 (2024)
- [2] 宮崎県内のブロイラーに発生した *Enterococcus cecorum*感染症 黒田萌黄 鶏病研究会報第59巻第2号 75-79 (2023)
- [3] 長崎県の5ブロイラー養鶏場で認められた *Enterococcus cecorum*による化膿性脊椎炎 寺山好美 鶏病研究会報第60巻第1号 27-32 (2024)
- [4] ブロイラーの *Enterococcus cecorum*の関与を疑う化膿性脊椎炎 寺山好美 鶏病研究会報59巻1号 34 (2023)
- [5] *Enterococcus cecorum*によるブロイラーの化膿性脊椎炎 有吉理佳子 鶏病研究会報第59巻第2号 69-74 (2023)
- [6] 肉用鶏の *Enterococcus cecorum*による化膿性脊椎炎 寺山好美 令和5年度長崎県業績発表会
- [7] Use of a Genus- and Species-Specific Multiplex PCR for Identification of Enterococci Charlene R.Jakson JOURNAL OF CLINICAL MICROBIOLOGY 3558-3565 (2004)
- [8] Molecular epidemiology of *Enterococcus cecorum* isolates recovered from enterococcal spondylitis outbreaks in the southeastern United States Luke B.Borst AVIAN PATHOLOGY 41(5),479-485 (2012)
- [9] M100 34th Edition Clinical & Laboratory Standards Institute (2024)
- [10] Genotypic diversity of *Streptococcus suis* and the *S. suis*-like bacterium *Streptococcus ruminantium* in ruminants Masatoshi Okura VETERINARY RESEARCH (2019)
- [11] Comparative Genome Analysis of *Enterococcus cecorum* Reveals

- Intercontinental Spread of a Lineage of Clinical Poultry Isolates Jeanne Laurentie mSphere Volume8 Issue2 (2023)
- [12] Detection of *Enterococcus cecorum* to identify persistently contaminated locations using faecal and environmental samples in broiler houses of clinically healthy flocks Jesper Tessin AVIAN PATHOLOGY Vol.53, No.4, 312-320 (2024)
- [13] A Chicken Embryo Lethality Assay for Pathogenic *Enterococcus cecorum* Luke B. Borst AVIAN DISEASES 58:244-248 (2014)
- [14] Chicken embryo lethality assay for determining the lethal dose, tissue distribution and pathogenicity of clinical *Enterococcus cecorum* isolates from poultry Beata Dolka SCIENTIFIC REPORTS 12 (2022)
- [15] Characterization of *Aerococcus viridns* Isolates from Swine Clinical Specimens V.Martin JOURNAL OF CLINICAL MICROBIOLOGY 3053-3057 (2007)
- [16] Bacteriophage Protects Against *Aerococcus viridans* Infection in a Murine Mastitis Model Hengyu Xi FRONTIERS IN VETERINARY SCIENCE (2020)
- [17] Diversity of *Enterococcus cecorum* from chickens Patrick Boerlin VETERINARY MICROBIOLOGY (2012)
- [18] バンコマイシン耐性腸球菌 富田治芳 日本臨床微生物学雑誌 Vol.24 No.3 (2014)
- [19] 鶏の健康時および病態時の血液学的ならびに血液化学的データ 鶏病研究会報 第52巻第4号 242-253 (2016)
- [20] 鶏の血液学のおよび血液生化学的検査の正常値 斉藤恵子 鶏病研究会報 第53巻第4号 241-243 (2017)
- [21] Comprehensive report of an *Enterococcus cecorum* infection in a broiler flock in Northern Germany Arne Jung BMC VETERINARY RESEARCH (2014)
- [22] ブロイラー淘汰鶏における脊椎椎体膿瘍 松野純子 岩手県獣医師会会報 Vol.34 No.4 133-138 (2008)
- [23] X線CTを用いたブロイラーにみられる脊椎膿瘍の感染経路の検討 佐々木淳 日本獣医師会雑誌 67 839-843 (2014)
- [24] ブロイラーにおける脊椎膿瘍の集団発生 佐々木淳 日本獣医師会雑誌 70 580-583 (2017)
- [25] *Salmonella* Infantis が関与したブロイラーの脊椎膿瘍 小笠原一憲 鶏病研究会報 49巻2号 112-117 (2013)
- [26] Colonization patterns of *Enterococcus cecorum* in two different broiler production cycles detected with a newly developed quantitative real-time PCR Arne Jung BMC MICROBIOLOGY (2017)

9 山羊の頬部皮下組織にみられた骨外性骨肉腫の一例

福井県家畜保健衛生所 新田愛 田中知未

はじめに

骨肉腫は腫瘍細胞が類骨を形成する悪性間葉系腫瘍である。骨に関連して発生する骨内性骨肉腫と骨以外の軟部組織で発生する骨外性骨肉腫に分類されるが、その大部分は骨内性骨肉腫である[1]。骨肉腫は犬と猫の四肢骨（長管骨）に好発し、犬の悪性骨腫瘍の最大85%、猫の悪性骨腫瘍の約70%を占める[2]。牛や馬、羊など家畜で発生することもあるが、山羊においては非常に稀な腫瘍であり、これまでに上腕骨、下顎骨、胸腔内に1例ずつの3例が報告されているのみである[3-5]。

今回、県内のザーネン種山羊の頬部皮下組織において骨外性骨肉腫がみられたので報告する。

発生概要

2024年4月13日、9歳のザーネン種雌山羊の右頬の腫脹が確認された。5月7日には右頬の腫脹は著しく大きくなり、口腔内に直径4cm大の腫瘤と嚥下できずに溜まった粗飼料を認めた。以降、食欲減退し全身状態が悪化して5月20日夜に斃死した。翌日病性鑑定を行った。

病性鑑定

1. 解剖検査

死亡山羊を常法に従い解剖した。

2. 病理組織検査

主要臓器、胃、空腸、結腸、舌、気管および腫瘤について10%中性緩衝ホルマリン液で固定後、常法に従いパラフィン包埋切片を作製してヘマトキシリン・エオジン(HE)染色を実施した。腫瘤については特殊染色および免疫組織化学染色を実施した。

3. 細菌検査

主要臓器、大脳および腫瘤を用いて5%羊血液寒天培地およびDHL寒天培地を用い、常法により培養した。

成績

1. 剖検所見

外貌は消瘦し、右頬の腫脹により顔面右側が変形していた(図1)。右頬部皮下に7×5×5cm大、背側軟口蓋に5×5×5cm大の類円形腫瘤形成がみられた。腫瘤の表面は粗造で壊死しており、軟口蓋腫瘤には脱落した上顎後臼歯が付着していた(図2)。肉眼的には皮下の腫瘤が上顎後臼歯を押し出し、臼歯が脱落した隙間から腫瘤が口腔内に広がっていた。腫瘤断面は乳白色領域と暗赤色壊死領域とが混在してい

た。

腫瘍と上顎骨との間に連続性はなく、既存の骨組織に腫瘍形成は認められなかった。舌の中央部に 0.5×1 cm大の壊死巣がみられたほか、左肺の全葉うっ血、右肺の拡張不全、気管内に赤色泡沫状液体の貯留を認めた。第一胃内にロープの混入を認めた。

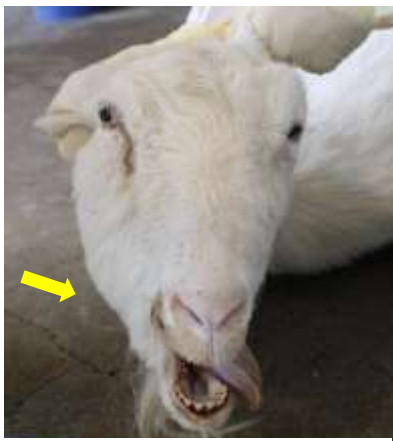


図1 右頬が腫脹（矢印）し顔面が変形していた。



図2 右頬部皮下と背側軟口蓋に類円形腫瘍の形成を認めた。軟口蓋腫瘍には上顎後臼歯（矢印）が付着していた。

2. 病理組織検査

真皮から皮下組織にかけて充実性の腫瘍形成がみられた。腫瘍内には紡錘形の腫瘍細胞が束状ないし花むしろ状に浸潤増殖していた（図3）。腫瘍細胞は卵円形から多形性の核と線維状の好酸性細胞質を有し、核の大小不同、高度の核異型を伴い、有糸分裂像を高頻度に認めた。高頻度に破骨細胞様の多核巨細胞（図4）を認めたほか、散在性に微細な類骨形成および石灰化（図5）、出血、間質の線維化を認めた。間質の線維はアザン染色で濃青色、渡辺鍍銀染色で赤色に染色された。類骨組織の一部がアザン染色およびPAS反応に陽性を示し（図6）、石灰化した骨組織はコッサ反応に陽性を示した。

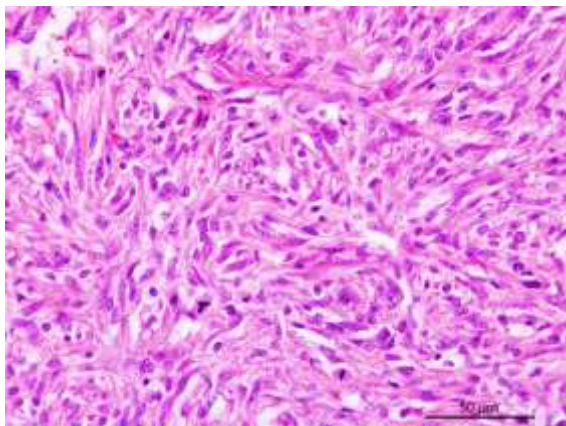


図3 紡錘形細胞が花むしろ状に増殖

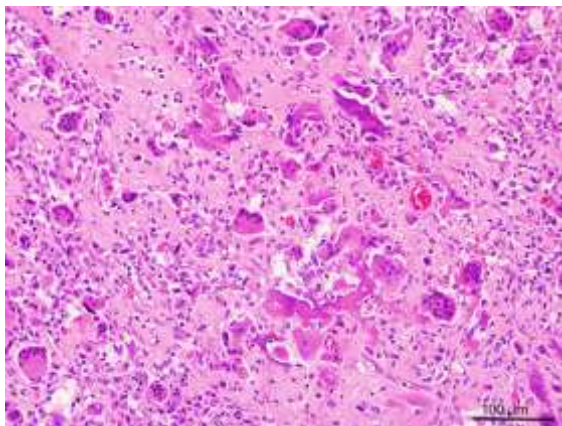


図4 多核巨細胞を高頻度に認めた

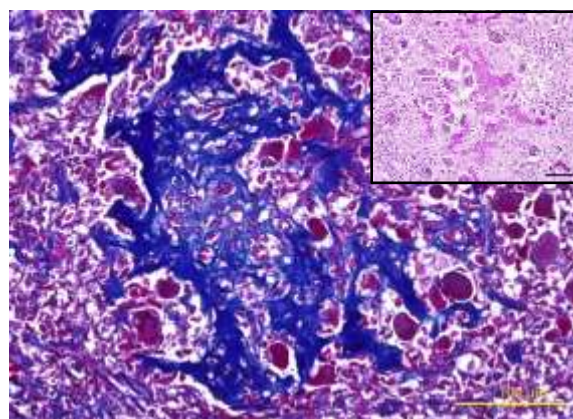
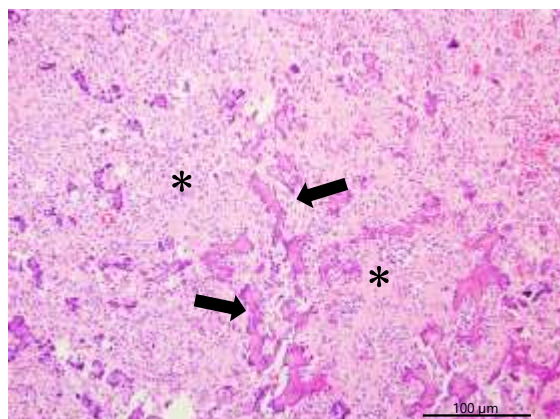


図5 類骨(*)の形成と石灰化(矢印)

図6 類骨はアザンおよびPASに陽性

腫瘍表層では高度の出血、好中球浸潤、PTAH染色で青色に染色される線維素析出を伴う広範な壊死がみられた。その他、肺に充うっ血、ヘモジデリン沈着、肺胞腔内の漿液および赤血球の貯留がみられたほか、第一胃および舌に壊死巣を認めた。検索した諸臓器に腫瘍の転移病変は認められなかった。

免疫組織化学染色では、腫瘍細胞は間葉系マーカーの Vimentin に陽性(図7)、上皮系マーカーの Keratin (図7)、平滑筋マーカーの Smooth Muscle Actin (SMA) および筋線維マーカーの Desmin に陰性を示した。一方で、腫瘍細胞は分化度が低く、神経系マーカーの S100 および単球系マーカーの Iba1 に陽性を示した。Osteocalcin は類骨および石灰化組織に陽性を示した一方で、周囲の腫瘍細胞は陰性であった(図8)。

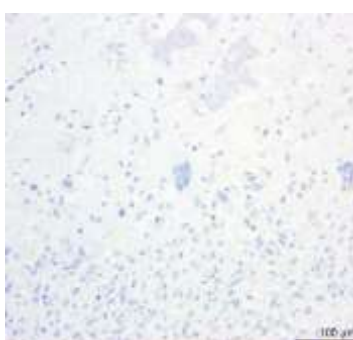
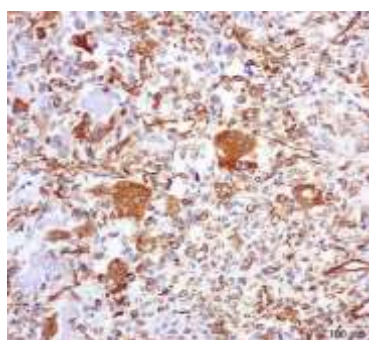


図7 腫瘍細胞は Vimentin に陽性、Keratin に陰性

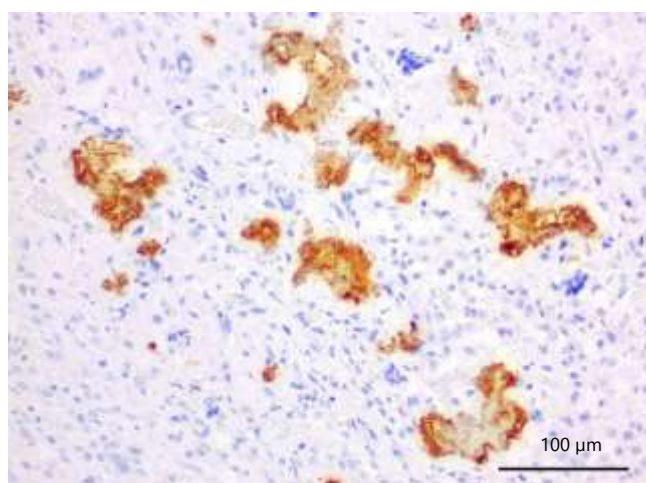


図8 腫瘍細胞は Osteocalcin に陰性

3. 細菌検査

有意な菌は検出されなかった。

まとめおよび考察

本症例では、頬部皮下組織と背側軟口蓋に類円形腫瘤形成を認めた。腫瘤内では Vimentin に陽性で細胞異型に富む紡錘形細胞の束状ないし花むしろ状増殖および異型分裂像を含む豊富な有糸分裂像がみられたことから肉腫と考えられた。また、多核巨細胞を高頻度に認めるほか、散在性に類骨形成および石灰化を認めたことから、巨細胞型の骨外性骨肉腫と診断した。

骨肉腫の腫瘍細胞は骨芽細胞と同様に糖原や膠原線維などの骨基質を細胞外に分泌し、これらの分泌物の堆積が骨様の硬組織の形成に関与している可能性が示唆されている[6]。本症例でも既報と同様に、類骨組織の一部がアザン染色および PAS 反応に陽性を示した。

骨肉腫の鑑別診断として、その他の肉腫があげられるが、腫瘍性類骨の有無によって鑑別が可能である[7]。診断に免疫組織化学染色が用いられることは少なく、骨肉腫の腫瘍細胞を特異的に染色するマーカーは知られていない[7]。そのような中で近年、犬や猫の骨肉腫マーカータンパク質として Osteocalcin の有用性が示唆されている[8]。本症例では腫瘍細胞は Osteocalcin に陰性であったことから、山羊における有用性は不明である。今後、山羊の骨肉腫における Osteocalcin の有用性についてさらなる症例の蓄積がもとめられる。

骨外性骨肉腫は稀な腫瘍であり、人や犬では軟部肉腫の約 1-2%とされている[1, 9, 10]。若年層に発生する骨内性骨肉腫と異なり、骨外性骨肉腫は成人、特に 40-60 歳代に多く、発症時の平均年齢は 51 歳と報告されている[11]。犬においては、これまでに十二指腸、皮下組織、腎臓など様々な軟部組織において発生が報告されている[12]。これに対して家畜における骨外性骨肉腫の報告は少なく、5 歳の牛の頸部[13]、16 歳の牛の腹腔内[6]で各 1 例、16 歳の山羊の胸腔内[5]に 1 例報告されているのみである。本症例は腫瘤と上顎骨との間に連続性はなく、既存の骨組織に腫瘤形成は認められなかったことから、皮下組織で発生した骨外性の骨肉腫と考えた。

骨内性骨肉腫と同様に、骨外性骨肉腫においても線維芽細胞型、骨芽細胞型、軟骨芽細胞型、巨細胞型（破骨細胞型）等の亜型が報告されており[14]、牛では軟骨芽細胞型と骨芽細胞型が各 1 例報告されている[6, 13]。本症例では腫瘍内に破骨細胞様の多核巨細胞を高頻度に認めたことから、巨細胞型（破骨細胞型）の骨外性骨肉腫に該当すると考えた。

山羊において骨肉腫は非常に稀な腫瘍であり、2011 年にオレゴン州で行われた 100 頭の山羊の腫瘍を検索した報告でも、リンパ腫、皮膚の扁平上皮癌、乳腺腺癌、悪性黒色腫など様々な腫瘍が確認された中で骨肉腫は確認されていない[15]。

本症例は山羊における骨外性骨肉腫の 2 例目の報告例であり、発生疫学や組織形態は

人や犬、牛における骨外性骨肉腫と類似していた。骨肉腫は稀な腫瘍であり家畜で発生することは少ないが、今後山羊の腫瘍に遭遇した場合は骨肉腫も鑑別診断の一つとして考慮する必要があると考える。

謝辞

本症例の病性鑑定にあたり、免疫組織化学染色の実施ならびに多くのご助言を賜りました国立研究開発法人農業・食品産業技術総合研究機構動物衛生研究部門 衛生管理研究領域 研究領域長 芝原友幸先生、病理・生産病グループ 岩出進先生に深謝いたします。

参考文献

- [1] Chung EB, Enzinger FM: Extraskkeletal osteosarcoma. *Cancer*, 1987, 60, 1132-1142
- [2] 日本獣医病理学会編:動物病理学各論, 第3版, 2021, 415
- [3] Steinberg H, George C: Fracture-associated osteogenic sarcoma and a mandibular osteoma in two Goats. *J Comp Path*, 1989, 100(4), 453-457
- [4] Domenis L, Zanardello C, *et al.*: Mandibular osteosarcoma in a goat. *Large Animal Review*, 2018, 24, 207-209
- [5] Braun U, Schwarzwald CC, *et al.*: Extraskkeletal osteosarcoma of the thorax in a goat. *BMC Vet Res*, 2011, 7, 55-58
- [6] 須藤亜寿佳, 岩田竜治ら: 腹腔内の多発性結節性腫瘍を特徴とする牛の骨外性骨肉腫の1例. *日獣会誌*, 2014, 67, 665-669
- [7] Dittmer K, Bell C, *et al.*: Surgical Pathology of Tumors of Domestic Animals, Vol 4: Tumors of Bone, Cartilage, and Other Hard Tissues. *Kiupel Meds*, 2022, Davis-Thompson DVM Foundation, IL, USA
- [8] Wehrle-Martinez AS, Dittmer KE, *et al.*: Osteocalcin and osteonectin expression in canine osteosarcoma. *Vet Pathol*, 2016, 53(4), 781-787
- [9] 芳賀高浩, 福岡みずき: 縦郭に原発した骨外性骨肉腫の1剖検例. *日呼吸会誌*, 2011, 49(3), 237-240
- [10] 鋤柄緑, 宇治正憲ら: 心底部に発生した犬の骨外性骨肉腫の一例. *動物の循環器*, 2018, 51(2), 75-81
- [11] Peter P, Steven I, *et al.*: Extraosseous osteogenic sarcoma. *Cancer*, 1983, 51, 727-734
- [12] 望月俊輔, 前田浩人ら: 腎臓に発生した骨外性骨肉腫の犬の1例. *日獣会誌*, 2009, 62, 724-727
- [13] Braun U, Sydler T, *et al.*: Ultrasonographic findings in a cow with extraskkeletal chondroblastic osteosarcoma of the neck region. *Schweiz*

Arch Tierheilkd, 2010, 152, 379-383

[14] Patnaik A: Canine extraskeletal osteosarcoma and chondrosarcoma. Vet Pathol, 1990, 27, 46-55

[15] Lohr C.: One hundred two tumors in 100 goats(1987-2011). Vet Pathol, 2012, 50(4), 668-675

