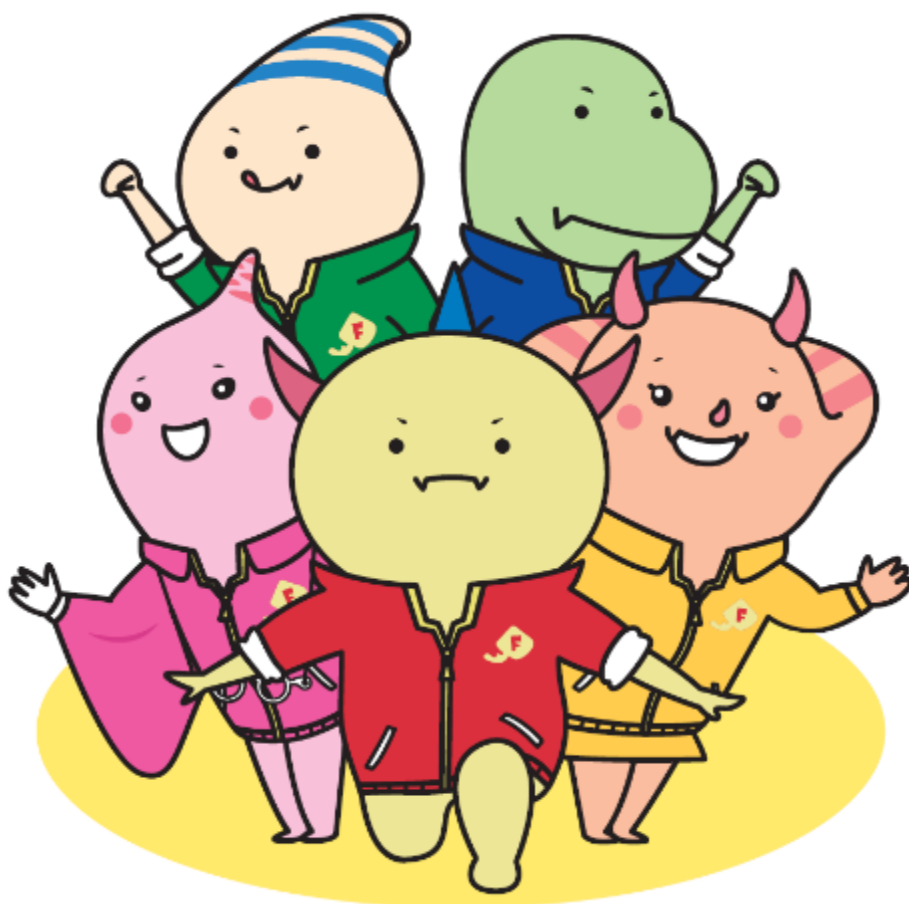


令和 7 年度
福井県家畜保健衛生業績発表集録
(第 1 部 ・ 第 2 部)



令和 8 年 8 月
福井県家畜保健衛生所

目 次

第1部

- 1 県営牧場を利用する牧場における牛伝染性リンパ腫ウイルス対策の実施状況と効果の検証 鈴木要人 . . . 1
- 2 県内飼養牛のヨーネ病検査体制の見直し 高田優仁 . . . 6
- 3 アフリカ豚熱発生に備えた防疫演習 吉田 靖 . . . 10
- 4 大規模養鶏場の操業開始に伴う鳥インフルエンザ防疫体制の構築 高塚真理子 . . . 14

第2部

- 5 RPA-Cas12a-LFA 法を用いた地方病性牛伝染性リンパ腫ウイルス検出方法の検討 清水誠也 . . . 19
- ◎6 胸腺低形成子牛における *Aspergillus fumigatus* による疣贅性心内膜炎の一例 新田 愛 . . . 23
- 7 県内めん山羊牧場における肝蛭症の発生事例 落井真史 . . . 28
- 8 県内一酪農場における *Streptococcus uberis* 乳房炎対策 木村美貴 . . . 36
- 9 コンパクト型測定器を用いた乳用牛の血中イオン化カルシウム濃度測定と関連疾病 武田佳絵 . . . 43

○ 第67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67回全国家畜保健衛生業績発表会選出演題

Ⅰ 県営牧場を利用する牧場における牛伝染性リンパ腫ウイルス対策の実施状況と効果の検証

家畜保健衛生所 鈴木要人

はじめに

地方病性牛伝染性リンパ腫は、牛伝染性リンパ腫ウイルス (bovine leukemia virus : BLV) 感染によって発症する疾病である。BLV 感染牛の多くは無症状で経過するが、一部の牛で発症し、リンパ節の腫脹や消瘦といった臨床症状を呈する。BLV の感染経路には水平感染および垂直感染があり、水平感染では主に吸血昆虫を介した伝播が知られている。一方、垂直感染では母牛から子牛へ子宮内、産道ならびに初乳を介して感染が成立する [1-3]。全国における BLV 抗体陽性率は、1982 年には肉用牛で 6.0%、乳用牛で 4.2% であったが、2011 年には肉用牛で 28.7%、乳用牛で 40.9% と、それぞれ約 4 倍および約 10 倍に増加している [4]。近年の全国的な BLV 抗体陽性率に関する調査報告は公表されていないものの、牛伝染性リンパ腫の全国届出頭数は、2011 年には 2,000 頭未満であったのに対し、2024 年には 4,000 頭以上と約 2 倍に増加している [5]。このことから、現在の全国的な BLV 抗体陽性率は、2011 年当時よりもさらに上昇している可能性がある。

福井県には複数の酪農家の子牛を集約し、一括して育成を行う県営牧場が存在する。県営牧場を利用する牧場（以下、利用牧場）は県内に 12 戸あり、利用牧場から BLV 感染牛が導入された場合、県営牧場内において BLV 感染が拡大するリスクがある。そのため当所では、「福井県牛伝染性リンパ腫防疫対策要領（制定：1998 年）」に基づき、県営牧場の BLV 清浄性の維持を目的とした検査を行うとともに、利用牧場の清浄性の維持および BLV 感染牛の低減を目的とした BLV 対策の指導と定期検査を長年にわたり実施してきた。

本調査では、利用牧場における BLV 対策の現状および BLV 抗体陽性率の実態を把握し、これまでに実施してきた当所の指導効果を検証するとともに、今後の課題について検討したので、その結果を報告する。

材料および方法

Ⅰ. BLV 対策聞き取り調査

福井県内の利用牧場における BLV 対策の実態を把握するため、2025 年 12 月から 2026 年 2 月の期間に利用牧場 12 戸（A～L 牧場）の牧場主から BLV 対策の実施状況について聞き取り調査を実施した。調査項目は、「福井県牛伝染性リンパ腫防疫対策要領 3. 指導項目」に基づき以下の 5 項目とした。

①県外牛導入前の BLV 抗体の事前確認②県外牛導入後の着地検査③BLV 感染牛摘発後の隔離・早期淘汰④水平感染の防止⑤垂直感染の防止

ただし、利用牧場 12 戸のうち、現在県外から牛を導入している牧場は 4 戸で、残り

8戸は県外から導入がないため、①②については調査対象外とした。

2. BLV 抗体陽性率と推移

2004 年から 2025 年に当所職員が利用牧場から採取した血液を用い遠心分離機（3,000rpm、10min）により血清を分離した。分離した血清は、ゲル内沈降反応または酵素免疫測定（ELISA）法*により抗体検査を実施し、牧場ごとの抗体陽性率と推移を調査した。なお、検査頻度については利用牧場ごとに異なるが、原則として5年に1回実施しているほか、利用牧場からの依頼により年1回または年2回の頻度で検査を実施した。

*2009 年 7 月に病性鑑定指針の一部が改正。改正により ELISA 法が追加されたことを受け、ゲル内沈降反応から ELISA 法へ移行。

成績

1. BLV 対策聞き取り調査

聞き取り調査の結果、①県外牛導入前の BLV 抗体の事前確認を実施している牧場はなかったが、②県外牛導入後の着地検査については、聞き取りした 4 牧場（I～L 牧場）全てで実施していた。③BLV 感染牛摘発後の隔離・早期淘汰は、12 牧場中 4 牧場（A～D 牧場）で実施。④水平感染の防止および⑤垂直感染の防止については、両方の対策を実施していた牧場が 7 牧場（E～K 牧場）あり、11 戸の利用牧場（A～K 牧場）で BLV 感染牛の早期淘汰や感染牛と非感染牛の間に緩衝帯を設ける等の水平感染対策、感染牛の初乳を給与しない等の垂直感染対策を講じていた。飼養形態等で BLV 対策が難しい 1 戸の牧場（L 牧場）では、育成牛のみ水平感染対策を実施していた（表 1）。

表 1 BLV 対策聞き取り調査結果

牧場	対策				
	導入前の事前確認	着地検査	早期淘汰	水平感染	垂直感染
A	—	—	○	—	—
B	—	—	○	—	—
C	—	—	○	—	—
D	—	—	○	—	—
E	—	—	×	○	○
F	—	—	×	○	○
G	—	—	△	○	○
H	—	—	△	○	○
I	×	○	△	○	○
J	×	○	△	○	○
K	×	○	△	○	○
L	×	○	×	△	×

早期淘汰△：感染牛を廃用時の優先的な候補としている

水平感染△：育成牛のみ実施

2. BLV 抗体陽性率と推移

BLV 対策として BLV 感染牛摘発後の早期淘汰を実施している利用牧場（A～D 牧場）では、飼養形態にかかわらず BLV 抗体陽性率が 0%であった。BLV 対策を実施かつ県外から牛の導入がない利用牧場（E～H 牧場）では BLV 抗体陽性率が年々減少しており、県外から牛の導入がある利用牧場（I～K 牧場）では、横ばいであった。

一方、フリーストール飼養など BLV 対策が難しい牧場（L 牧場）では BLV 抗体陽性率が高値で推移していたが、利用牧場全体（12 戸）の直近の抗体陽性率についてみると合計 BLV 抗体陽性率は 17.7%であり、全国の乳用牛における BLV 抗体陽性率 40.9%より低い結果となった（表 2、図 1）。

表 2 調査期間中の利用牧場における直近の抗体陽性率と合計 BLV 抗体陽性率

牧場	飼養形態	県外導入	定期検査	直近の抗体陽性率（%）
A	つなぎ	×	1回/5年	0
B	つなぎ	×	1回/5年	0
C	つなぎ	×	1回/年	0
D	フリーストール	×	1回/年	0
E	つなぎ	×	1回/年	1.4
F	つなぎ	×	1回/年	13.3
G	つなぎ	×	1回/年	17.9
H	つなぎ	×	1回/年	4.3
I	つなぎ	○	2回/年	34.6
J	つなぎ	○	2回/年	10.7
K	つなぎ	○	2回/年	9.1
L	フリーストール	○	1回/5年	77.7
全体				17.7

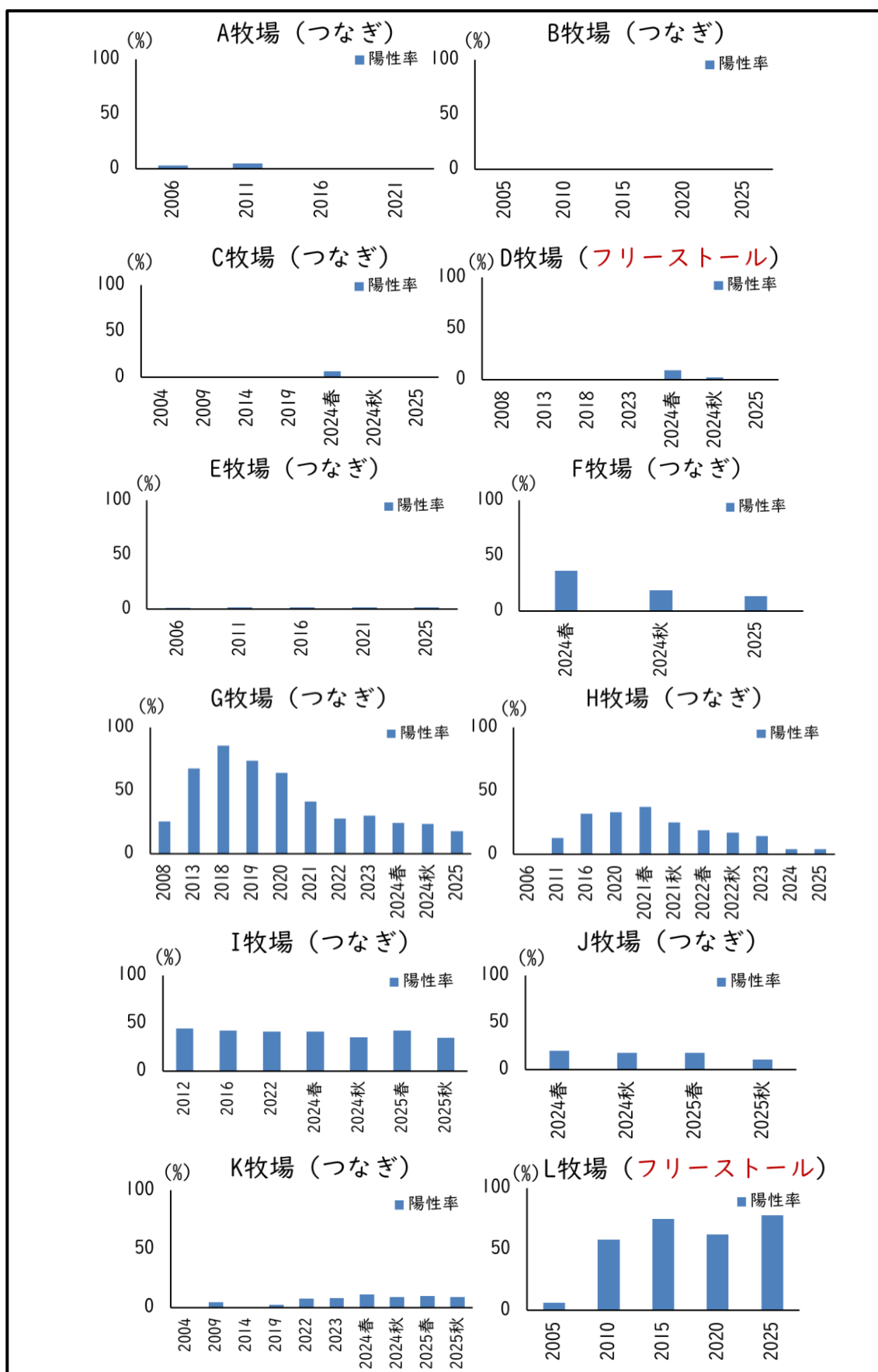


図1 各牧場における BLV 抗体陽性率の推移

考察

飼養形態に関わらず BLV 感染牛の早期淘汰を実施している牧場では、BLV 抗体陽性率は 0%であった。この結果から、早期淘汰は飼養形態に関わらず効果が高いことが、改めて確認された。また、利用牧場 12 戸の直近の抗体陽性率についてみると合計 BLV 抗体陽性率は 17.7%であり、全国の乳用牛における BLV 抗体陽性率 40.7%と比較して低値であった。さらに、県外からの牛の導入を行っていない牧場では、県外から牛の導入を行っている牧場に比べ BLV 抗体陽性率の減少が認められた。これらのことから、福井県の場合、県外からの牛の導入は BLV 感染拡大のリスク要因になり得ると考えられた。利用牧場の合計 BLV 抗体陽性率が全国と比較して低い結果となったのは「福井県牛伝染性リンパ腫防疫対策要領」制定以降、長年にわたり BLV 対策に関する指導を継続してきた結果、各利用牧場において BLV 対策への積極的な取り組みが定着したことによるものと考えられ、当所が実施してきた BLV 対策の指導効果が確認された。

指導の効果が確認されたことから今後も現在の指導を継続していくとともに、飼養形態がフリーストールかつ BLV 抗体陽性率(77.7%)の BLV 対策が難しい牧場に対しては、サシバエの忌避剤を含有する耳標の装着等を提案していきたい。

参考文献

- [1] 松田 敬一：宮城県における肉用牛に対する地方病性牛伝染性リンパ腫の対策と課題, J.Vet Epidemiol, 28 (2) , 101-107, 2024
- [2] 公益社団法人 中央畜産会：「地方病性牛白血病 Enzootic bovine leukosis:EBL」2017
- [3] 農研機構 動物衛生研究部門 家畜疾病図鑑 Web 牛伝染性リンパ腫
https://www.naro.go.jp/laboratory/niah/disease_dictionary/todoke/152194.html
- [4] Murakami K, Kobayashi S, Konishi M, Kameyama K, Tsutsui T. : Nationwide Survey of Bovine Leukemia Virus Infection among Dairy and Beef Breeding Cattle in Japan from 2009-2011. J Vet Med Sci, 75, 1123-1126, 2013
- [5] 農林水産省：監視伝染病の発生状況 監視伝染病発生年報
https://www.maff.go.jp/j/syouan/douei/kansi_densen/kansi_densen.html

2 県内飼養牛のヨーネ病検査体制の見直し

家畜保健衛生所 高田優仁 田中知未

はじめに

牛のヨーネ病はヨーネ菌により引き起こされる慢性消化器感染症で、発症すると、持続性の下痢、急激な消瘦、乳量低下などを示す。感染は主に感染牛の糞便、乳汁を介した経口感染や、胎盤感染で成立する。また、おもに生後6か月齢以下の子牛が感染する可能性が高く、発症の多くは分娩してから1～数週間後といわれている。本病は、家畜伝染病予防法（家伝法）で家畜伝染病に指定され、有効な治療法やワクチンがないため、定期的に検査し感染牛の早期摘発、淘汰を行うことが重要とされる[1]。近年の報告では、全国の年間発生数は約1000頭前後となり、このうち北海道における発生が約9割を占めている（図1）。なお、県内での発生は2009年以降確認されていない。

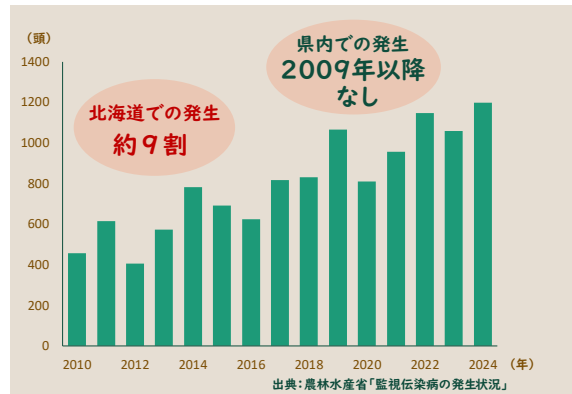


図1 全国の牛のヨーネ病発生頭数

遺伝子検査の導入

牛のヨーネ病の清浄化を目指し、「家伝法施行規則」および「牛のヨーネ病防疫対策要領」が2024年4月に一部改正された。ここで、新しい検査法が導入されてスクリーニング検査の選択肢が増え、従来の抗体検査に加えて遺伝子検査を選択出来るようになった[2]（図2）。遺伝子検査の検出感度は、抗体検査の数倍～10倍程度と推定され、感染牛を早期発見できるという利点がある[3]。またプール糞便検査も導入され、個体ごとに行う遺伝子検査と同等の感度で最大10頭分まで一度に検査ができ、効率的なスクリーニングが可能となる[3-4]。

ヨーネ病は感染経過を考えると、抗体検査では、2歳齢未満の牛は摘発が難しい[2]。抗体検査で陽性となる半年～1年ほど前から排菌が始まると考えられ[4]、感染初期の子牛の多くが一時的に排菌することも明らかにされている[5]。したがって、遺伝子検査により早期に排菌牛を摘発することが本病の清浄化の推進につながると期待されている（図3）。

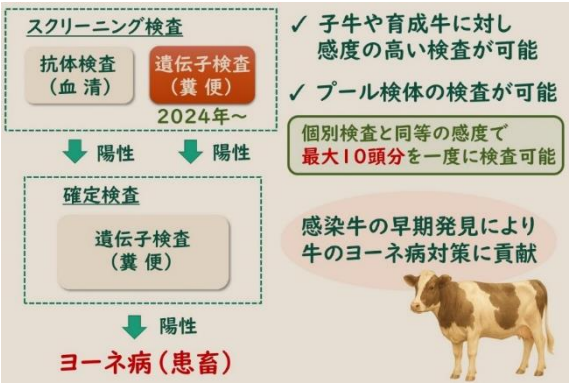


図 2 省令改正後の検査の流れ

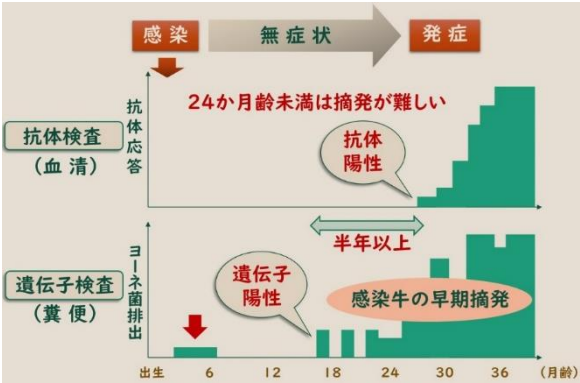


図 3 感染経過と検査法による摘発時期

ヨーネ病のスクリーニング検査体制

本県では家伝法第 5 条に基づく定期検査 (5 条検査)、県営牧場の買取り牛の母牛等を対象とするヨーネ病検査を行っており、いずれの検査もスクリーニング検査は抗体検査で実施している (表 1)。

表 1 本県における現在のスクリーニング検査体制

目的	対象	頻度	検査方法
着地検査	県外から導入した乳用牛	随時 (導入後)	抗体検査
県営牧場の買取り牛に関する検査	買取り牛の母牛	随時 (買取前)	抗体検査
農場の定期検査	搾乳牛、繁殖肉牛等、およびその同居牛	農場単位で 5 年に 1 回	抗体検査
県営牧場の定期検査	12 か月齢以上	年に 1 回	抗体検査
その他	県営牧場からの譲渡牛、放牧前の検査など	随時	抗体検査

現状における課題

県外導入牛の着地検査の対象は、育成牛や初妊牛の割合が高く、2022～2024 年度の検査対象牛のうち 24 か月齢未満の牛が全体の 81.2%となっている。また、全体の 55% はヨーネ病の発生が多い北海道から導入されている (図 4)。県営牧場の買取り牛に関する検査では、2022～2024 年度の検査対象牛 (買取り牛の母牛) のうち、24 か月齢未満は 14.3%と限られるが、分娩事故などにより母牛が死亡もしくは廃用となり検査ができない場合がある (図 5)。また母牛以外の感染源から子牛が感染する可能性があることから、母牛の検査で必ずしも感染子牛を摘発できるとは言えない状況である。

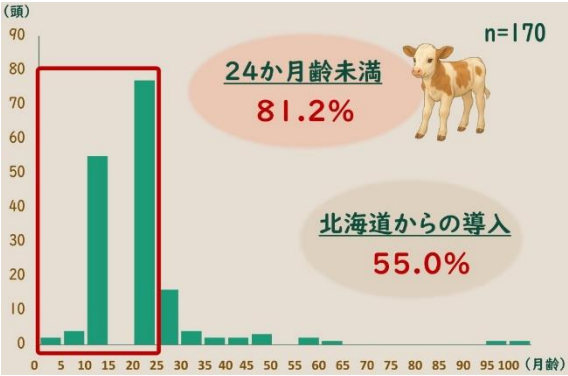


図 4 着地検査における牛の月齢分布
(2022～2024 年度)

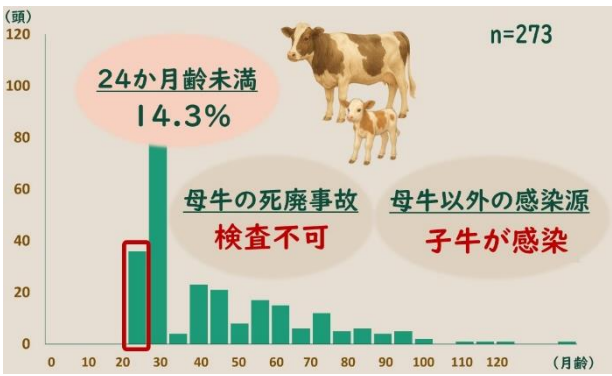


図 5 県営牧場買取子牛の母牛の月齢分布
(2022～2024 年度)

検査体制の整備

今回、本県における牛のヨーネ病検査体制の現状と課題を踏まえ、遺伝子検査を活用したスクリーニング検査体制を整備した（表 2）。

県外導入牛の着地検査については、抗体検査を遺伝子検査に変更し、県営牧場の買取子牛に関する検査については、母牛の抗体検査から買取子牛の遺伝子検査に変更することとした。また、県営牧場からの譲渡牛および放牧前の検査等については、24 か月齢未満の牛に限り遺伝子検査にて実施することとした。なお、農場および県営牧場の定期検査については、従来の抗体検査を継続することとした。

スクリーニング検査を抗体検査から遺伝子検査に変更した場合に、多検体の検査にかかる時間の延長および費用の増加が想定されるが、「牛のヨーネ病防疫対策要領」では、最大 10 頭分まで検体をプールすることで検査の所要時間、費用負担を軽減する方法を示している(図 6)。

表 2 本県におけるスクリーニング検査
体制の変更

目的	対象	頻度	検査方法
着地検査	県外から導入した乳用牛	随時（導入後）	遺伝子検査
県営牧場の買取子牛に関する検査	買取子牛	随時（買取前）	遺伝子検査
農場の定期検査	搾乳牛、繁殖肉牛等、およびその同居牛	農場単位で 5 年に 1 回	抗体検査
県営牧場の定期検査	12 か月齢以上の牛	年に 1 回	抗体検査
その他	県営牧場からの譲渡牛、放牧前の検査など	随時	抗体検査 遺伝子検査



図 6 多検体の検査に伴う負担と対応

まとめ

ヨーネ病は一般的に、ヨーネ菌に感染した牛が農場に導入されて発生するため、本県では導入牛および県営牧場の買取り牛を対象に遺伝子検査を活用した検査体制を整備した。

着地検査については、従来の抗体検査を遺伝子検査に変更することにより、導入時に抗体が上昇していない感染牛の摘発が可能となる。また、県営牧場の買取り牛に関する検査については、従来の母牛の抗体検査から子牛の遺伝子検査に変更することにより、母牛の状況に関わらず検査を実施することが可能となる。また、県営牧場は排菌していないことを確認した子牛のみを導入することができる。

このように、今回の検査体制の整備は、県内農場および県営牧場へのヨーネ病侵入防止対策を強化し、県内の発生予防、まん延防止および清浄性維持に貢献できると考える。

参考文献

- [1] 赤石博臣:動物の感染症-第3版 116, (2014)
- [2] 川治聡子:臨床獣医 vol.43, No.4, 20-21(April 2025)
- [3] Kawaji S, Nagata R, Minegishi Y, et al.:J Clin Microbiol, 58(12), e01761-20, (2020)
- [4] 川治聡子:畜産技術 799, 20-23, (2021)
- [5] Mortier RA, Barkema HW, Orsel K, et al.:Vet Res, 45(1), 71(2014)

3 アフリカ豚熱発生に備えた防疫演習

家畜保健衛生所 吉田 靖

はじめに

アフリカ豚熱（ASF）は、ASF ウイルスによって引き起こされる出血性感染症で、豚熱とはまったく別の病気である。有効なワクチンや治療法はなく、致死率はおおむね 100%で ASF ウイルスは自然環境下で長期生存し感染が可能なため、国内にウイルスの侵入を許した場合、養豚業界に対し甚大な被害が危惧される。そのため家畜伝染病予防法の「特定家畜伝染病」に指定され、発生時は高病原性鳥インフルエンザや豚熱と同様な対応が必要となる。

農林水産省は、ASF に関する特定家畜伝染病防疫指針[1]、および野生いのししにおける ASF の浸潤状況の的確な把握と感染防止のための基本方針[2]に基づき、「野生いのししにおけるアフリカ豚熱の防疫演習実施要項」[3]を作成し、各都道府県に対して、地域特性に合った具体的対策を講じるよう求めている。そこで本県においても防疫演習を実施したので、その概要について報告する。

材料および方法

演習は令和 7 年 11 月に福井県奥越高原牧場において、座学と 2 つの演習を実施した。座学では、県内野生いのししでの ASF 発生時の対応について、演習 1 では、散逸などを防ぐための電気防護柵の設置方法の注意点、演習 2 では、積極的死体搜索により発見した死体の取扱いについてダミーを使用して実演した。

結果

1 座学

県内で野生いのしし感染を確認した際の防疫措置として、1)電気防護柵の設置場所と範囲について、2)消毒ポイントの設置場所と範囲について、3)積極的死体搜索および死体対応について、関係各所と情報を共有した。

1)電気防護柵の設置場所と範囲では、他の野生いのししの散逸を防ぐことを目的に ASF 陽性の野生いのししの死体の発見場所を起点として、図 1 の様に半径 3km に電気防護柵を設置するべきであるが、現実的には困難であることから、図 2 の範囲の様に準用することを説明した。

2)消毒ポイント設置場所と範囲では、半径 10km 範囲内に通過する道路での車両、および歩行者の消毒ポイントを設置し、特に半径 3km 範囲内を通過する道路については、通行を制限、または遮断することを説明した。ただし、通勤・通学、医療・福祉、山林・道路・電線・水道等の保守管理などは例外とし、発生から 22 日間継続して行うこととした（図 3）。

3)積極的死体搜索および死体対応については、同様にウイルスの拡散防止を目的

に、半径10km範囲内の死体を搜索し、新たにいのししの死体を発見した場合は、検体採取、死体の処分、消毒が必要となることを説明した。



図1 防護柵の設置範囲（本来）



図2 防護柵の設置範囲（準用）

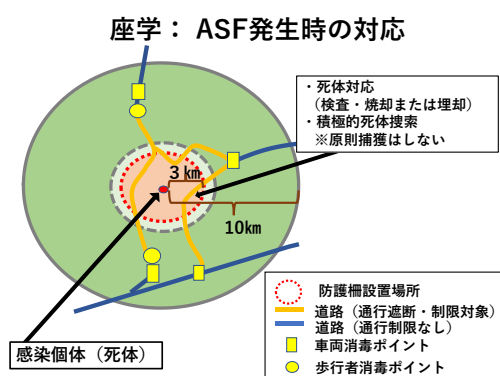


図3 消毒ポイント設置場所

2 演習1

実際に電気防護柵の設置方法について、高浜町で鳥獣害対策を請け負う業者を講師に招いて実習を行った。

防護柵は支柱を立て、碍子で金属ワイヤーを張って高電圧電流を流し、ショックを与える方法で、野生いのししの濡れた鼻にワイヤーを接触させるのが最も効果があるので、1本目は地上から20cmの高さで、2本目はその上20cmの高さに張り、電気柵本体とアースを繋いだ。その後6,000V以上の電圧が確保できているかテスターで確認する必要があることや、漏電防止のための辺縁の草刈りも重要であることなどを説明した。

3 演習2

積極的死体搜索により発見した死体を処理するまでの流れを、死亡いのししのダミーを用いて実演した。必要資材として、死亡した死体を包む納袋を2袋、検体採取道具、保管容器、運搬用ソリ、消毒噴霧器などを用意した。

死亡いのししを納袋①の内側に置いた後、ASF 検査のため耳片を採取した。納袋①のチャックを閉めた後つなぎ目から体液などの漏れを防ぐため、耐水性のテープで目張りをした。さらに納袋②で納袋①を同様に包み込んだ後、全体を消毒し、運搬用そりに乗せた。搬送中は、汚染の拡散を防止するため、通過する地面も消毒しながら埋却地まで搬送することとした。

まとめおよび課題

今回野生いのししにおける ASF 防疫演習実施要領に基づき、ASF 発生疑いおよび発生に備え防疫演習を実施した。これまでに口蹄疫や高病原性鳥インフルエンザ発生時に対する防疫演習は実施してきたが、ASF 発生時には全く別の防疫資材や人員の確保が必要であるなど、まだ多くの課題が残っている。

例えば、防護柵設置においては、森林や急傾斜地で作業することが前提で、安全な作業を確保するには、森林作業に精通した人材が必要となるが、どれだけの人数が必要で、集められるのかも不明である。

防疫資材の確保では、例えば防護柵を設置するのに必要な防疫資材は、支柱が約5,000本、碍子は約10,000個、ワイヤーは38km必要となるが、調達方法や予算の確保なども全くされていない。

また、生きた野生いのししを散逸させない搜索方法では、素人の搜索は、逆に野生いのししの散逸を招く恐れがあり、野生動物の習性に熟知した専門機関の協力が必要となるが、協議をするにも至っていない。

今後の予定

これらの問題解決には関係各所の連絡調整と協力が不可欠であり、農林総合事務所、猟友会、森林組合、森づくり課、県産材活用課、自然環境課などと、今後どのような役割を分担して行っていくかを連絡・調整していく必要があった（表1）。

表 1 関係各所との連絡調整と協力（例）

農林総合事務所	農林経営支援部	総括 防疫対策拠点の設置	[現場対応]
	農村整備部	消毒ポイント設置	死体対応班
	林業部	森林組合等との調整	死体捜索班
猟友会 森林組合	積極的死体捜索および死体対応グループへの参加		
森づくり課 県産材活用課	森林組合との連絡調整 積極的死体捜索範囲、電気柵設置に関する意見 林道等の通行制限に関する意見		
自然環境課	山に入る人への注意喚起 狩猟者への注意喚起		

参考文献

- [1] アフリカ豚熱に関する特定家畜伝染病防疫指針
(令和 2 年 7 月 1 日付け農林水産大臣公表)
- [2] 野生いのししにおけるアフリカ豚熱の浸潤状況の的確な把握と感染拡大防止のための基本方針
(令和 6 年 3 月 28 日付け 5 消安第 7804 号農林水産省消費・安全局長通知)
- [3] 「野生いのししにおけるアフリカ豚熱の防疫演習実施要項」の制定について
(令和 6 年 4 月 12 日付け 6 消安第 374 号農林水産省消費・安全局長通知)

4 大規模養鶏場の操業開始に伴う鳥インフルエンザ防疫体制の構築

家畜保健衛生所 高塚真理子 山崎俊雄

はじめに

2025 年 4 月に県内最大規模の養鶏場が操業を開始した。この養鶏場の飼養羽数は県内で最も多く、鳥インフルエンザ(AI)が発生した場合の被害は甚大となる。そのため、操業開始に合わせて、発生時に迅速かつ確実に対応できる体制を整える必要があった。

農場の概要

本農場は、県内南西部の A 町に位置しており、鶏舎構造はウインドウレス鶏舎（全 4 棟）で最大 40 万羽の飼養が可能な採卵鶏農場であった。

方法

1. 現地調査（視察、聞き取り）と指導

農場に複数回訪問し、防疫措置で使用する場所の選定や作業の具体的なマニュアルを策定するための準備として、現地調査を行った。

まず、鶏舎構造を確認した。鶏舎 1 棟の内部は 2 室に分かれていた。1 室は、背中合わせの直立 8 段ケージ（1 ケージあたり 12 羽飼養可能）を 3 列（1 列あたり 88 ケージ）有しており、最大 5 万羽の飼養が可能であった。また、鶏舎は 2 階建てであり、直立 8 段ケージのうち下 4 段は 1 階、上 4 段は 2 階に位置していた（図 1）。

殺処分作業時の備蓄台車使用の可否や作業動線を検討するため、鶏舎内の通路幅やグレーチングの格子幅を測定した（図 2）。通路は、グレーチングに備蓄台車のタイヤがはまることなく、一方向で通行可能であることを確認した。

次に鶏舎周囲を視察した。敷地内は全面がコンクリートで舗装されており、車両動線には大型車両の通行に十分な幅があることや、車両消毒設備が 3 カ所に設置されていることなどを確認した（図 3）。

さらに、バスの乗降車場所、発生農場前テントの設営候補地の選定のため、敷地周辺を視察した。農場南西側道路には広いスペースがあり、バスの乗降場所としての利用が

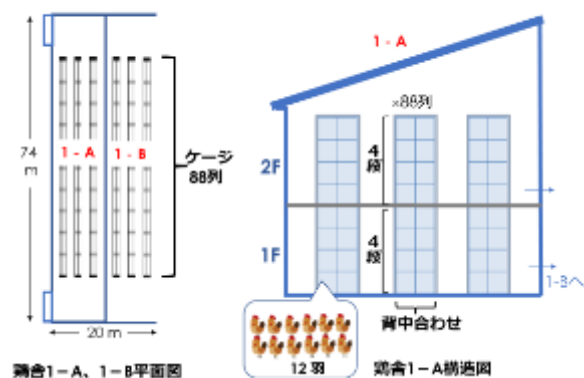


図 1 鶏舎構造

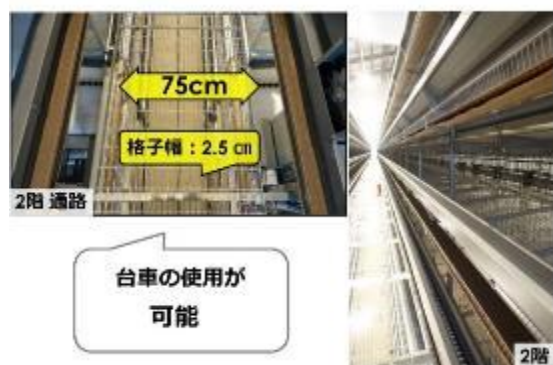


図 2 鶏舎内部の様子

可能であること、南側道路には十分な幅がありテント設営が可能であることを確認した（図4）。



図3 消毒設備



図4 バスの乗降車・テント設置候補場所

次に、農場の管理責任者への聞き取りを行った。飼養衛生管理の詳細、農場の出入り業者、従業員情報、埋却候補地の確保状況などを把握し、これらの情報をもとに家畜保健衛生所（当所）が現地立入の際に作成・更新する防疫カルテを作成し、防疫計画作成時の基礎資料とした。

また、現地調査の結果、鶏舎前室での外用長靴と舎内用長靴の動線交差がみられたため、同じ場所を通ることのないよう、境界をラインで区切り汚染ゾーンと清浄ゾーンを明確に分けるよう指導した（図5）。

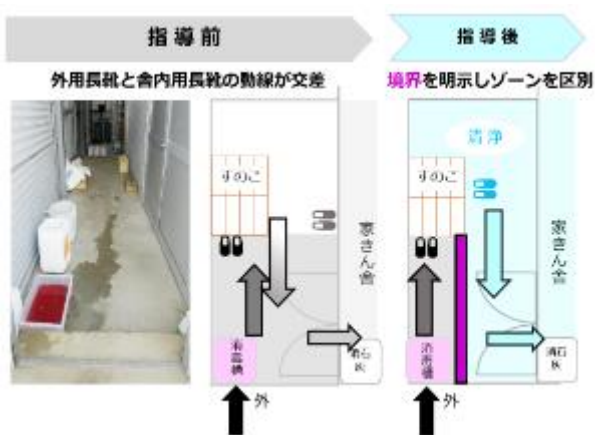


図5 長靴動線の交差汚染指導前と後

2. 防疫計画の策定

現地調査の結果、防疫カルテをもとに本農場の防疫計画を作成した。防疫計画とは、伝染病発生時の迅速な防疫措置とまん延防止を目的として平時に作成しておく、防疫措置の具体的な手順書であり、9項目から構成される（図6）。「テント配置図」と「殺処分作業」の項目には、今季、県外派遣された家畜防疫員3名の経験から得た知見も取り入れ、以下のように策定した。

防疫計画の内容

1. 農場概要
2. 農場広域図
3. 農場レイアウト
4. テント配置図
5. 各鶏舎構造
6. 消毒作業
7. 殺処分作業
8. 汚染物品処理作業
9. 埋却作業

防疫措置経験者の知見



図6 防疫計画の内容

ア. テント配置図

農場平面図中に、発生農場前テントの設置場所・必要数に加え、トイレ、バルーンライトの設置場所・必要数量、バス乗降車場所と作業員動線、消毒ポイント位置などを一括して図示した（図7）。

これまでは発生農場前テントを単一の場所に設置し、テント内で清浄汚染ゾーンを区別する方法を採用してきたが、本農場には出入り用ゲートが2カ所に設置されていたため、作業前用と作業後用のテントを分離して設けることとした。これにより、交差汚染リスクの低減が期待された。

イ. 殺処分方法

2階で殺処分した鶏は10羽ずつ袋に入れ、ブルーシートを滑らせて地面まで降ろす方法とした（図8）。殺処分の進行状況によっては1階・2階同時作業もあり得るため、搬出口が上下で重ならないように設定した。

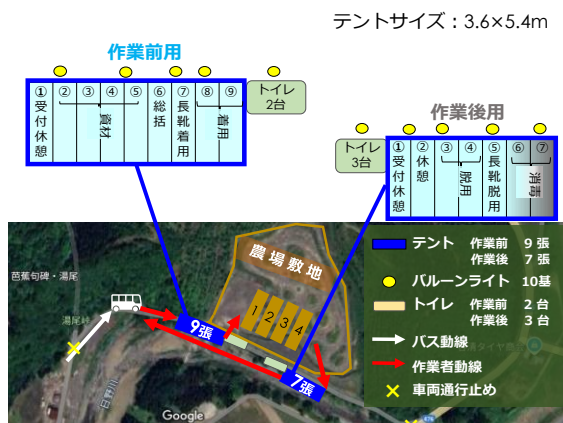


図7 テント配置図

殺処分方法

1階と2階の処分鶏搬出口が重ならないようにする



図8 殺処分方法

3. 防疫演習の実施

中山間農業・畜産課と協力し、本農場でAIが発生した想定で防疫演習を行った。演習会場はA町と連携し、農場から1kmの廃校施設（体育館）を初めて使用することができた。この会場は、実際の発生時に健診会場として使うことを想定し、町と協議中である。参加者は県・市町の関係者、畜産関係団体、民間事業者などであり、内容は、主に防護具の着脱訓練、防疫作業全体の流れの確認、各作業の具体的な演習であった。



図9 防護具着脱説明動画

防護具の着脱訓練は、有事の際に実際の使用を想定して作成した防護具着脱の説明動画（図9）を参加者に事前に配信し、演習

の前日までに各自に視聴してもらった。その結果、当日はこれまでの演習よりもスムーズに防護具の着脱が行われた。

各作業の具体的な演習は実際の流れに沿って進めた(図10)。グループ内の役割分担はグループ長が実施した。サポートグループの演習は、殺処分作業グループが健診会場からバスで発生農場前テントに到着する場面から開始し、殺処分作業グループ員の防護具着脱をサポートした(図11)。防護具を着用した殺処分作業グループは、演習上の発生農場に移動し、鶏舎周囲に消石灰散布後、鶏の取り出し、炭酸ガスによる殺処分、フレコンバッグへの投入までの手順を確認した(図12)。埋却の方法を説明後、フレコンバッグを演習上の埋却地へ運び、埋却作業グループがビニールシートで被覆した。埋却作業の演習を一連の流れの中で行ったのは今回が初めてであった(図13)。

さらに、今回、本農場の近隣施設に関係者が参集し、発生を想定した防疫演習を行ったことで、市町など関係者間で意識の共有と連携強化を図ることができた。

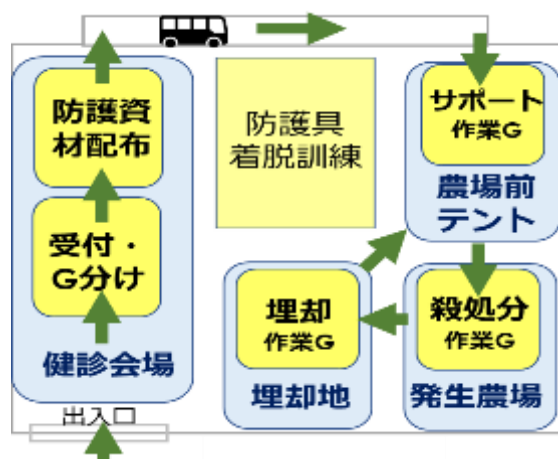


図10 会場レイアウト

農場前テント



図11 サポートグループの演習

発生農場



図12 殺処分作業グループの演習

埋却地



図13 埋却作業グループの演習

4. 防疫備蓄資材の配置

県内の大規模養鶏場でAIが発生した場合に迅速な初動対応ができるよう、これまではB市に1カ所（備蓄1）、C市に2カ所（備蓄2、3）に分散して防疫備蓄資材を配置していた。本農場はA町に位置し、従来の備蓄場所からの輸送には時間を要するため、近隣施設に新たな備蓄資材保管場所を整備する必要があった。そこでA町と交渉した結果、



図 14 県内の防疫備蓄資材場所

農場から約1kmと近隣に位置する施設を備蓄場所として借用することができた(図14)。この施設は、先述の防疫演習で使用した廃校施設体育館に隣接している旧寄宿舎である。初動防疫の迅速化を実現するため、備蓄資材の内容は現地で最も早く必要とされる健診用会場と埋却地で使用するものを中心とした(図15)。在庫管理は、備蓄1~3と同様に業務アプリ構築クラウドサービス(kintone)で行うこととした(図16)[1]。kintoneで在庫管理を行うことで、本農場でAIが発生した際に現地対策本部となる農林総合事務所と在庫管理などの情報共有が可能となり、業務の効率化も期待された。また、A町との協働により、市町との協力体制をさらに強化することができた。



図 15 備蓄資材の配置が完了した状態

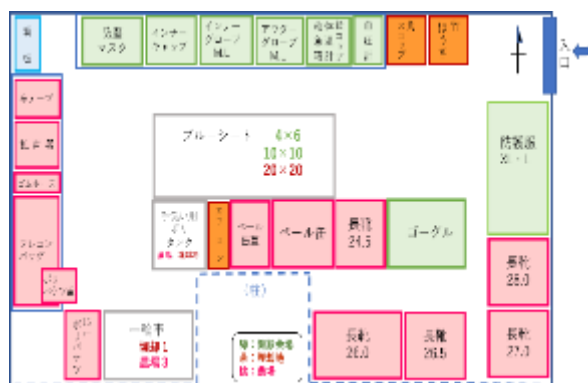


図 16 資材の配置図 (kintone 格納)

5. まとめおよび今後の方針

以上の取り組みにより、本農場における AI 発生時の防疫体制を構築した。今後は、現地指導を通して本農場の飼養衛生管理基準の遵守徹底を継続すること、備蓄資材の更新・補充、定期的な防疫演習の実施などを継続するとともに、関係機関とのさらなる連携強化を進め、AI の発生に備えていきたいと考える。

参考文献

- [1] 西川清文：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

令和 6 年度福井県家畜保健衛生技術業績発表会集録 3

5 RPA-Cas12a-LFA 法を用いた地方病性牛伝染性リンパ腫ウイルス検出方法の検討

家畜保健衛生所 清水誠也

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ウシの疾病で、ウイルス感染による地方病性牛伝染性リンパ腫(EBL)と原因不明の散発性牛伝染性リンパ腫(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。

BLV感染の診断方法には、BLVに対する抗体を検出する方法とBLVの遺伝子を検出する方法がある。BLV抗体を検出する方法は主にenzyme-linked immunosorbent assay(ELISA)法が用いられ、BLV遺伝子を検出する方法はreal-time polymerase chain reaction(PCR)法とnested PCR法が用いられる。

Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats(CRISPR)/CRISPR-associated protein(Cas)システムは細菌や古細菌から発見された免疫システムで、バクテリオファージ等のウイルスへの防御機構として働くことが知られている[1]。近年、このCRISPR/Casシステムの核酸認識機構およびCasタンパク質の特性を応用した迅速かつ高感度な遺伝子検出技術が急速に発展している。特にCas12aが標的DNAに結合した際に示す非特異的単鎖DNA分解活性を利用したDETECTR(DNA Endonuclease Targeted CRISPR Trans Reporter)や、Cas13aのRNA依存的コラテラル切断活性を組み合わせたSHERLOCK(Specific High-Sensitivity Enzymatic Reporter UnLOCKing)が開発され[2,3]、新たな遺伝子検出方法として注目されている。

今回、Recombinase Polymerase Amplification(RPA)、Cas12a、Lateral Flow Assay(LFA)を組み合わせた検査方法、CRISPR LFA integrated Protocol(CLiP)を考案し、BLV遺伝子の検出が可能か検討したので報告する。

材料および方法

1. RPA条件検討

EBL発症牛の血液(EDTA血)から、DNeasy Blood & Tissue Kit(QIAGEN)を用い抽出した核酸を材料とした。BLV pol領域を標的としたプライマーセットをHPLC精製で合成した(表)。RPA試薬はTwistAmp Basic(TwistDX)を使用し、反応条件は標準プロトコルに準じ、10 μ Mに調整したプライマーセットを用いた。反応温度については最適条件を探索するため37 $^{\circ}$ C~42 $^{\circ}$ Cでグラディエント法により検討した。反応後、TBE Bufferで作成した3%アガロースS(ニッポンジーン)を用い、100Vで70分、電気泳動後、目的の大きさのバンド(154bp)の有無を確認した。

2. レポーターDNA量の検討

5'末端にFAM、3'末端にBiotinを修飾したレポーターDNAを作成し(表)、LFA

には Universal Lateral Flow Assay Kit (CYTODIAGNOSTICS) を用いた。Cas 反応液中のレポーターDNA 最終濃度を 5nM とし 37℃で 30 分反応後、LFA 反応液中のレポーターDNA 量 (pmol) を 0.0025、0.005、0.01、0.05 に調整し、LFA における最適なレポーターDNA 量を検討した。

3. BLV-CLip

EBL 発症牛および BLV 遺伝子検査陰性牛の血液 (EDTA 血) から DNeasy Blood & Tissue Kit (QIAGEN) を用い抽出した核酸各 1 検体とブランクとして RNase Free Water を用い、検証結果を基に RPA を実施した。Cas 反応液は、RNase Free Water 15.4μL、10×Buffer 2.0μL、10μM L.b.Cas12a Nuclease (Invitrogen) 0.2μL、10μM crRNA (表) 0.4μL、0.1μM レポーターDNA1.0μL、RPA 反応液 1.0μL を混合し、37℃で 30 分反応させた。Cas 反応液と Running Buffer を 10μL : 40μL で混合後 LFA に供し、3 分後に判定した。

表 検査に用いたプライマー、レポーターDNA 一覧

名称	配列 (5' - 3')
BLV_RPA_F	TGTCAAAGGCTCAATCCAACCTGGAGGTGGG
BLV_RPA_R	TAGCTCCAGAGTAAGTATCTACAAACACGT
レポーターDNA	FAM-TTATT-Biotin
BLV-crRNA_3979-3999	UAAUUUCUACUAAGUGUAGAUGCAGGCCGAUAUAACCCAUUA

成績

1. RPA 条件検討

37℃～42℃でグラディエントし電気泳動でバンドを確認した結果、図1に示すようにすべてのレーンでバンドが検出された。その中で、目的の大きさである 154bp 付近に最も明瞭なバンドが確認されたのは 40.2℃の条件であったため、最適反応温度を 40℃とした。

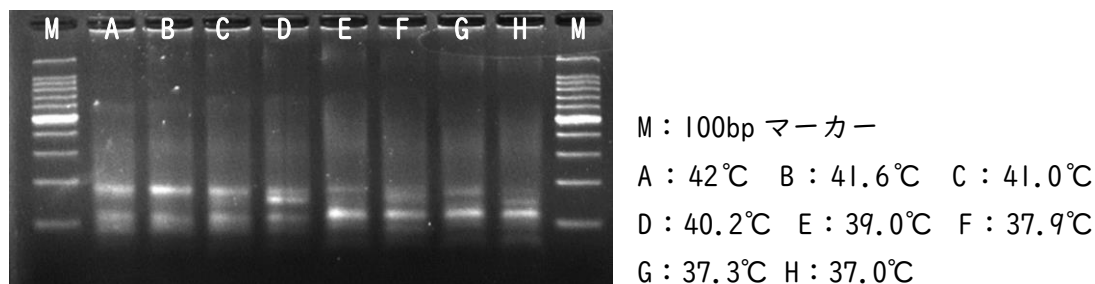
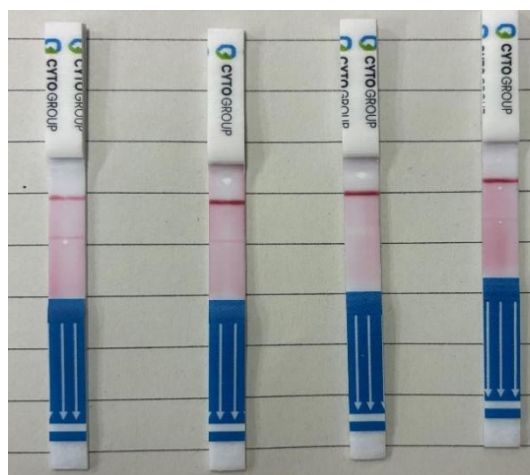


図1 グラディエントの電気泳動像

2. レポーターDNA 量の検討

レポーターDNA 量 (pmol) を 0.0025、0.005、0.01、0.05 に調整し LFA を実施した結果を図2に示す。コントロールラインは全検体で確認され、テストラインは 0.01 および 0.05 でのみ確認された。検証の結果から LFA に供するレポーターDNA 量は

0.05pmol で実施することとした。



A B C D

A : 0.05 pmol B : 0.01 pmol

C : 0.005pmol D : 0.0025pmol

図2 レポーターDNA 量検証結果

3. BLV-CLiP

RPA の反応液を電気泳動した結果、EBL 検体でのみバンドが確認された (図 3)。

Cas12a-LFA の結果、EBL 検体でのみテストラインが確認されなかった (図 4)。

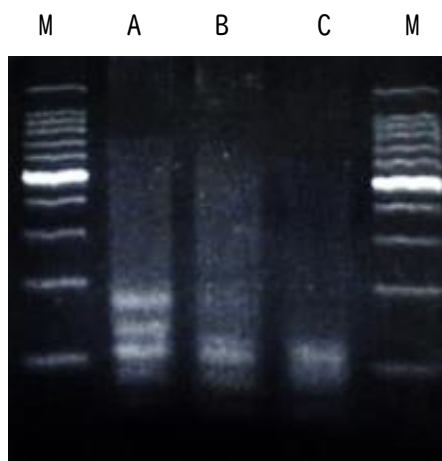


図3 RPA の結果



M : 100bp マーカー

A : EBL 検体

B : BLV 陰性検体

C : ブランク

図4 LFA の結果

考察

CRISPR/Cas を応用した核酸検査 (CRISPR-Dx) は、Cas12a を利用した DETECTR および Cas13a を利用した SHERLOCK の開発により、ヒト医療分野で最初に大きな進展を遂げた。DETECTR は ヒトパピローマウイルスの迅速検出に応用され[2]、SHERLOCK はジカウイルスやデング熱ウイルスといった RNA ウイルスを高感度に検出できることが示されている[3]。これらの技術は当初ヒト疾患の迅速診断法として発展してきたが、近年では畜産・獣医領域においても CRISPR-Dx の応用が急速に広がっている。たとえば、アフリカ豚熱 (ASF) に対しては Cas12a-LFA を用いた現場対応型の迅速検査が開発され[4]、また、豚口タウイルスについては RPA と Cas13a を組み合わせた迅速検査が開発された[5]。

今回、BLV の新たな検査方法として、RPA-Cas12a-LFA を組み合わせた検査法 (CLiP)

を考案し、RPAの反応条件や、レポーターDNAの反応量を検討した。検討した条件でBLV陽性検体、陰性検体およびブランクを用いてCLiPを実施した結果、陽性検体でのみ陽性反応を確認し、CLiPはBLV診断に応用可能であることが示唆された。一方、今回の検査では検体数が限られており、再現性の確保、感度および特異度の検証、核酸抽出工程の簡略化など、実用化に向けた課題が残されている。今後はこれらの課題を解決し現場家保や臨床施設等での運用につなげたいと考える。

PCR法の開発から40年余り[6]、リアルタイムPCR法も30年以上が経過している[7]。一方、CRISPR-Dx技術は開発から10年に満たない新しい核酸診断技術である。今後の改良と普及によって、CRISPR-Dxは家畜感染症を含むさまざまな領域において重要な役割を担う技術となることが期待される。

参考文献

- [1] Newsom SN, Parameshwaran HP, Martin LL, Rajan R. The CRISPR-Cas Mechanism for Adaptive Immunity and Alternate Bacterial Functions Fuels Diverse Biotechnologies. *Front Cell Infect Microbiol*. 2021;10:619763.
- [2] Chen JS, Ma E, Harrington LB, Da Costa M, Tian X, Palefsky JM, Doudna JA. CRISPR-Cas12a target binding unleashes indiscriminate single-stranded DNase activity. *Science*. 2018;359(6373):436-440.
- [3] Kellner MJ, Koob JG, Gootenberg JS, Abudayyeh OO, Zhang F. SHERLOCK: nucleic acid detection with CRISPR nucleases. *Nat Protoc*. 2019;14(10):2986-3012.
- [4] Wang X, Ji P, Fan H, Dang L, Wan W, Liu S, Li Y, Yu W, Li X, Ma X, Ma X, Zhao Q, Huang X, Liao M. CRISPR/Cas12a technology combined with immunochromatographic strips for portable detection of African swine fever virus. *Commun Biol*. 2020;3:62.
- [5] Mi Y, Dai M, Xing X, Zhang Y, Xu Z, Zhu L. Rapid, sensitive, and visual detection of porcine rotavirus with RPA-CRISPR/Cas13. *Front Microbiol*. 2025;16:1617955.
- [6] Saiki RK, Scharf S, Faloona F, Mullis KB, Horn GT, Erlich HA, Arnheim N. Enzymatic amplification of β -globin genomic sequences and restriction site analysis for diagnosis of sickle cell anemia.
- [7] Higuchi R, Fockler C, Dollinger G, Watson R. Kinetic PCR analysis: real-time monitoring of DNA amplification reactions. *Biotechnology (NY)*. 1993;11:1026-1030.

6 胸腺低形成子牛における *Aspergillus fumigatus* による疣贅性心内膜炎の一例

家畜保健衛生所 新田愛 木村美貴

はじめに

疣贅性心内膜炎は菌血症から続発して生じ、弁膜に細菌が付着して疣贅を形成し弁膜の機能異常を引き起こす疾病である。牛では、創傷性胃炎や肝膿瘍などの化膿性病巣から細菌が心臓に達し、主に右心系（三尖弁および肺動脈弁）に好発し、左心系（僧帽弁および大動脈弁）における病変形成の発生報告は少ない。病巣からは *Trueperella pyogenes* や *Streptococcus* 属菌が分離されることが多く、真菌による発生は極めて稀である[1-3]。

Aspergillus 属菌は土壌や乾草、わら、濃厚飼料など広く生活環境に生息する最も普遍的な糸状真菌である。経気道的に人や動物に吸入され体内に侵入し、健康な状態であれば気道粘膜や肺胞マクロファージを中心とする貪食細胞により排除されて感染は成立しないが、免疫抑制剤の使用や抗生物質の長期使用といった全身性の免疫不全状態において、日和見感染症の要因となる[4, 5]。

今回、胸腺低形成の子牛において *Aspergillus fumigatus* (*A. fumigatus*) による僧帽弁の疣贅性心内膜炎の症例に遭遇したので報告する。

発生概要

飼養頭数約 30 頭の肉用牛繁殖農家において、2 か月齢の黒毛和種、雄子牛が斃死した。当該子牛は雌雄双子で生まれ、初乳はストマックチューブで給与されていた。1 か月齢より肺炎治療目的で抗生剤が投与されていたが、熱発を繰り返したのち 2025 年 4 月 18 日に斃死した。3 日後の 4 月 21 日に病性鑑定を行った。

病性鑑定

1. 解剖検査

死亡子牛を常法に従い解剖した。

2. 病理組織検査

主要臓器について 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。心臓、腎臓、脳、肺および肝臓については PAS 反応、グロコット染色、グラム染色（Brown-Hopps 法）および PTAH 染色を実施したほか、心臓、腎臓、大脳および橋については抗 *Aspergillus* 抗体、抗 *Rhizomucor* 抗体および抗 *Candida albicans* 抗体を用いた免疫組織化学染色を実施した。

3. 細菌検査および真菌検査

主要臓器および疣贅物について5%羊血液寒天培地およびDHL寒天培地を用い、常法に従い分離培養した。疣贅物および心臓についてはポテトデキストロース寒天培地を用いて37℃48時間培養し、ラクトフェノール・コットンブルー染色を実施した。分離された真菌よりDNAを抽出し、 β -tubulin遺伝子を標的としたシーケンス解析により菌種同定を行った。

成績

1. 剖検所見

心臓の僧帽弁に2×3 cm大の乳白色疣贅物が付着し、心肥大および心筋の褪色を認めた(図1)。腎臓はびまん性に褪色し出血巣が多発していた。第四胃内には腐敗した液体ともみ殻やオガクズが貯留し、粘膜面に斑状潰瘍が散在していた。肺では右中葉に白色硬結巣、その他の肺葉の一部に暗赤色化を認めた。胸腺は矮小で、重量は頸部・胸部合わせて115gであった(図2)。

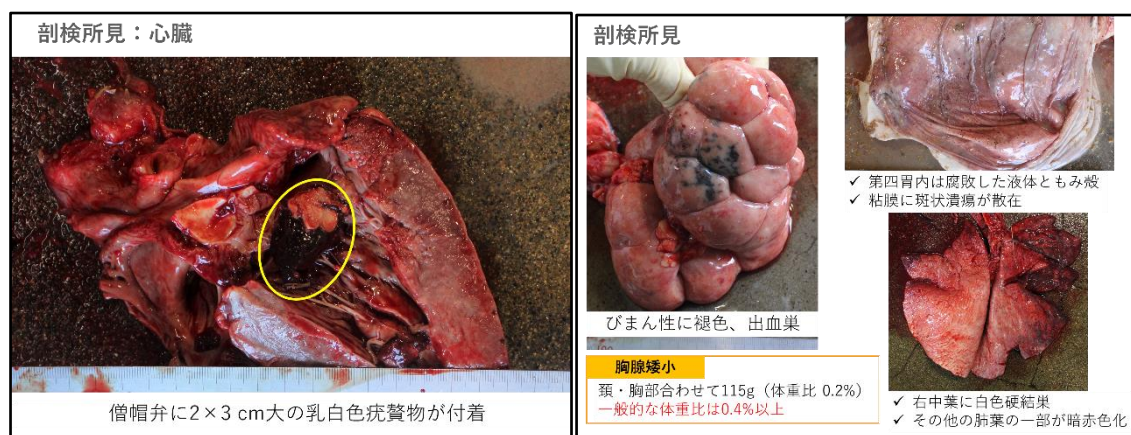


図1 剖検所見(心臓)

図2 剖検所見(心臓以外)

2. 病理組織検査

肺の右中葉では壊死性化膿性病変を認め、壊死中心部にのみグラム陽性球菌を認めた。その他の肺葉では線維素性化膿性気管支肺炎を認めた。胸腺は皮質と髓質の境界が不明瞭で、リンパ球数の減少を認めた。ハッサル小体は認められなかった。

心臓では僧帽弁に疣贅物が付着していた。疣贅物は凝固壊死、高度の好中球浸潤、出血および線維素の析出で構成されており、疣贅物内には多数の真菌菌糸を認めた。左心室壁の心筋層では多発性巣状壊死を認め、心筋線維の硝子様変性、好中球の高度浸潤のほか、多数の真菌菌糸を認めた(図3)。疣贅物内および心筋層に認められた真菌菌糸は幅が一定であり、Y字状に分枝し隔壁を有していた(図4)。腎臓では、皮質において広範囲の凝固壊死を認めた。同部位では、尿細管上皮の壊死、出血、好中球を主体とする炎症細胞浸潤、血管壁の壊死を伴う血栓形成、間質の線維増生を認めた。また、一部の壊死巣では心臓でみられたものと同様の菌糸がみられた。

大脳および橋では、髄膜において化膿性髄膜炎を認めた。同部位では多数の菌糸、好中球の高度浸潤、出血、壊死、線維素の析出およびフィブリノイド壊死を伴う血管炎が認められた。また、大脳の皮質および髄質ではしばしば微小膿瘍の形成がみられ、同部位において心臓でみられたものと同様の菌糸が認められた（図5）。

心臓、腎臓、大脳および橋で認められた真菌菌糸はPAS反応で赤紫色、グロコット染色で黒色に染色された。免疫組織化学染色では、検索したすべての臓器において、真菌菌糸に一致して抗 *Aspergillus* 抗体に対する陽性反応がみられた。抗 *Rhizomucor* 抗体および抗 *Candida albicans* 抗体に陽性反応を示す菌糸はみられなかった（図6）。

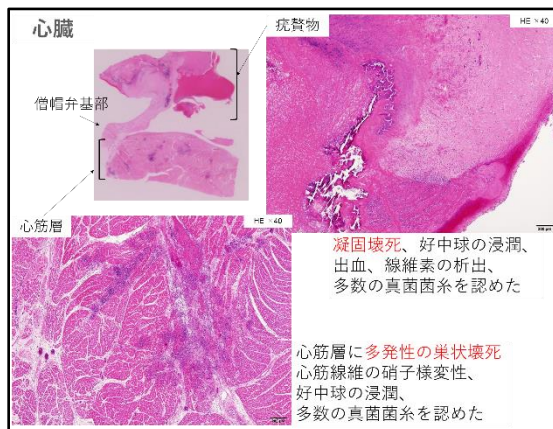


図3 組織所見（心臓）

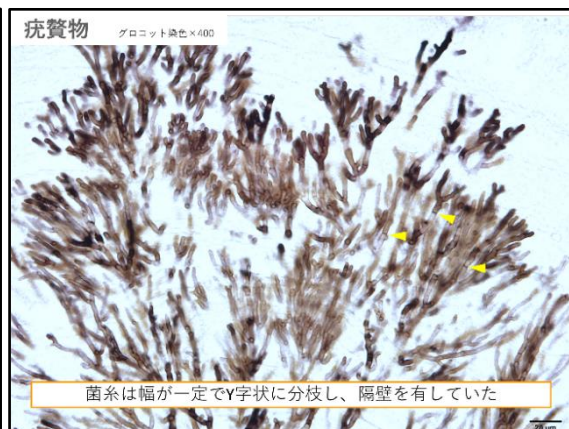


図4 真菌菌糸（グロコット染色）

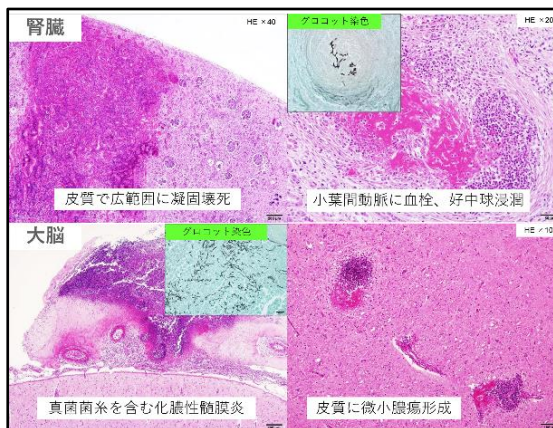


図5 組織所見（腎臓および大脳）

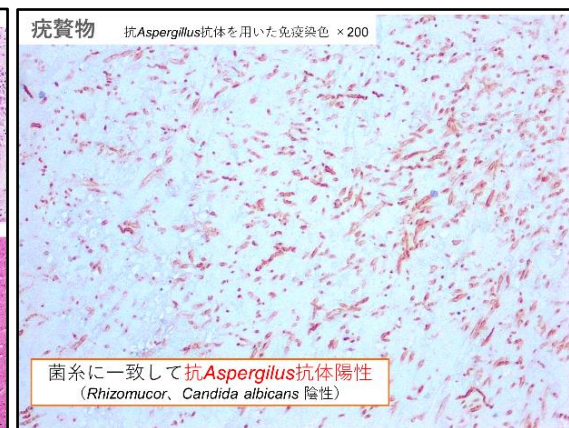


図6 免疫組織化学染色

3. 細菌検査および真菌検査

細菌検査では、いずれの臓器からも有意菌は分離されなかった。

真菌検査では、濃緑色コロニーを形成する真菌が分離され、分生子および頂のうの形態学的特徴から *Aspergillus* 属菌と考えられた。抽出した DNA を用いて β -tubulin 遺伝子を標的としたシーケンス解析を行った結果、*A. fumigatus* と 100% の相同性を示した。

類似症例

同時期（同年2～5月）に、県内の別農家においても胸腺低形成子牛の病性鑑定事例が相次いで発生した。いずれも肉用子牛で、胸腺は体重比0.1%に満たない低形成であった。さまざまな臓器に多様な病原体による病変が形成されていたが、いずれの症例も真菌の関与が確認された（図7）。このことから、胸腺低形成を背景とした細胞性免疫の低下が、日和見感染症の大きなリスクになっている可能性が示唆された。

類似症例							
✓ 同時期、別農家にて胸腺低形成を伴う子牛の病性鑑定事例が相次いで発生							
	性別	種	発生時期	胸腺 (体重比)	哺乳	主病変	病原
本症例	肉用	2ヵ月齢	4月中旬	低形成 (0.2%)	人工哺乳	僧帽弁	アスペルギルス
症例4	肉用	19日齢	2月末	低形成 (0.05%)	人工哺乳	第一胃	真菌分離
症例3	肉用	31日齢	4月中旬	低形成 (0.02%)	人工哺乳	肺	細菌＋真菌
症例2	肉用	17日齢	5月中旬	低形成 (0.08%)	人工哺乳	第三胃	カンジダ属真菌
✓ さまざまな臓器に多様な病変が形成されていた							
✓ 全例で真菌が関与していた							
胸腺低形成を背景とした細胞性免疫の低下が、 日和見感染症の大きなリスクになっている可能性が示唆された							

図7 同時期に発生した類似症例

まとめおよび考察

本症例では、僧帽弁に疣贅性心内膜炎、壊死性化膿性心筋炎、壊死性化膿性腎炎および化膿性壊死性髄膜脳炎が認められた。これら病変部には、幅が一定でY字状の分枝を示し、隔壁を有する真菌菌糸が確認された。真菌菌糸はPAS反応で赤紫色、グロコット染色で黒色に染色され、免疫染色では抗 *Aspergillus* 抗体に陽性反応を示した。また、分離された真菌の遺伝子解析により *A. fumigatus* に100%の相同性を示したことから、*A. fumigatus* による深在性真菌症と診断した。

一般的に牛の疣贅性心内膜炎は右心系に発生することが多く、左心系においては肺炎を原発とした症例が報告されている[6, 7]。本症例においても *A. fumigatus* が経気道的に体内に侵入した可能性は否定できないが、肺の壊死性化膿性病変に真菌菌糸は認められず、細菌のみが認められていることから、肺が深在性真菌症の原発である可能性は低いと考えられた。一方で、第四胃内にはオガクズを含む腐敗内容物の貯留および多数の斑状潰瘍が確認された。第四胃の病理組織検査を実施していないため特定はできないが、第四胃内で異常増殖した *A. fumigatus* が粘膜から静脈内へ侵入し、右心や肺を通過して僧帽弁に疣贅を形成したものと推察された。

人では、免疫抑制剤の使用やカテーテルの留置、抗生剤の長期投与といった全身性の免疫不全状態において、アスペルギルス症による心内膜炎が多く報告されている [8, 9]。本症例では生後1ヵ月齢より肺炎と反復性の発熱の治療として抗生剤投与を行っており、抗生剤の投与が真菌の異常増殖に起因したと考えられた。また、本症例では胸腺の低形成がみられており、先天的な免疫機能低下も全身性の真菌感染に関与したものと考えられた。

同時期に発生した類似症例の集積から、胸腺低形成が真菌を含む日和見感染症の発症に関与した可能性が示唆された。そこで、家保だよりを発行し、胸腺発達の重要性や妊娠後期における母牛の栄養管理の重要性、日和見感染症を防ぐための衛生的な環境づく

りについて注意喚起を行った。

子牛の病性鑑定においては、胸腺を評価するとともに、細菌のみならず真菌感染の可能性も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、病理組織検査にご協力いただいた東京農工大学ワンウェルフェア高等研究所 岩出進先生ならびに真菌同定にご助言いただいた国立研究開発法人農業・食品産業技術総合研究機構企画戦略本部 研究統括部 花房泰子先生に深謝いたします。

参考文献

- [1] 内野富弥：心内膜炎，牛病学，第二版，1988，440-442
- [2] Mohamed T, Buczinski S: Clinicopathological findings and echocardiographic prediction of the localization of bovine endocarditis. Vet Rec 2011, 169(7), 180-186
- [3] 木村享史：心内膜，動物病理学各論，第3版，日本獣医病理学会編：動物病理学各論，第3版，2021，13-15
- [4] 田淵清：深在性真菌症，牛病学，第二版，1988，357-368
- [5] 矢口貴志： *Aspergillus* 属，Med Mycol J, 2011, 52(3), 193-197
- [6] 猪熊壽，秋月久美子ら：多発性乳房膿瘍に罹患したホルスタイン種乳牛にみられた左心系心内膜炎の1症例. 北獣会誌, 2014, 58, 600-604
- [7] 高橋英二，渡邊謙一ら：ホルスタイン種成乳牛にみられた多発性疣贅性心内膜炎の1症例. 北獣会誌, 2015, 59, 43-48
- [8] Thompson GR 3rd, Jenks JD, *et al.* : Fungal Endocarditis: Pathophysiology, epidemiology, clinical presentation, diagnosis, and management. Clin Microbiol Rev, 2023, 36(3), 1-34
- [9] 佐藤幸子，池田智子ら：感染性心内膜炎を併発した侵襲性肺アスペルギルス症の1例. 日集中医誌, 2008, 15, 533-538

7 県内めん山羊牧場における肝蛭症の発生事例

家畜保健衛生所 落井真史 新田愛

はじめに

肝蛭症は主に反芻類の肝実質、胆管への肝蛭の寄生により引き起こされる疾患で、食欲廃絶、進行性の貧血、消瘦などの臨床症状を示し、重度感染しためん羊、山羊では死亡する場合がある。国内における牛での発生件数は1970年以降年々減少傾向にあるが、今も肝蛭が寄生した牛は局所的に存在し、都道府県によっては増加傾向にある。また、近年の野生シカの増加により、放牧めん山羊での肝蛭寄生のリスクも増加している[1]。肝臓に寄生した肝蛭の成虫が産んだ虫卵が胆汁とともに消化管に移動し、糞便とともに排泄される。虫卵は水中で孵化した後、中間宿主であるヒメモノアラガイに寄生する。セルカリアに発育後、稲や青草に付着し、メタセルカリアとなりこれを反芻類などが経口摂取すると寄生が成立する。今回、県内でめん山羊を飼養する農場で肝蛭症が発生したため、環境調査および感染状況調査を実施した。その概要と治療の経過、今後の対応について報告する。

発生概要

2025年8月28日、めん羊9頭および山羊3頭を飼養するめん山羊農場において、めん羊1頭が死亡し、8月29日に、病性鑑定を実施した。当該めん羊は死亡直前に貧血、食欲および活力低下がみられていた。また、同居の雌めん羊1頭および子羊2頭でも食欲低下がみられた。当該農場では、めん羊をA舎とB舎に分けて飼養し、飼養舎ごとに別の放牧地を使用していた。死亡めん羊はA舎で飼養されていた。

1. 死亡めん羊の病性鑑定

材料および方法

① 解剖検査

常法に従い実施した。

② 病理組織検査

主要臓器について10%ホルマリン液で固定後、定法に従い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。

③ 寄生虫検査

直腸便を用いて、浮遊法および沈殿法(渡辺法)による簡易寄生虫検査を実施した。

④ 細菌検査

主要臓器、胸水、腹水、心嚢水について、5%羊血液寒天培地およびDHL寒天培地に、5%CO₂下で37℃24時間培養した。

結果

① 剖検所見

削瘦し(図1)、重度の貧血により、可視粘膜の蒼白、臓器の褪色がみられた(図2)。また、頸部皮下に水腫がみられた。赤色透明の腹水、淡い黄褐色透明の胸水が軽度に貯留していた。心嚢水は軽度に増量していた。肝臓では富脈斑が散在し、著しい褪色と脆弱化がみられた。胆管壁は肥厚し、内腔には肝蛭虫体(3×0.7cm)が多数みられた。胆嚢内は肝蛭虫体で充満しており、胆嚢壁は肥厚していた(図3)。また、肺では水腫がみられた。



図1 外貌



図2 口腔粘膜の蒼白



図3 胆管の肥厚と肝蛭虫体

② 病理組織検査

肝臓では胆管が高度に拡張し、管腔内に虫体、虫卵、細胞退廃物がみられた(図4)。グリソン鞘では結合組織が中等度～高度に増生し、リンパ球およびヘモジデリン貪食マクロファージが中等度に浸潤していた。また、小胆管が高度に増生していた(図5)。肝実質では多数の虫道が形成され、肝細胞はび慢性、小葉中心性に空胞変性がみられた。類洞は拡張し、うっ血がみられた。胆嚢壁は線維性に肥厚し、リンパ球が高度、好酸球が中等度に浸潤していた。

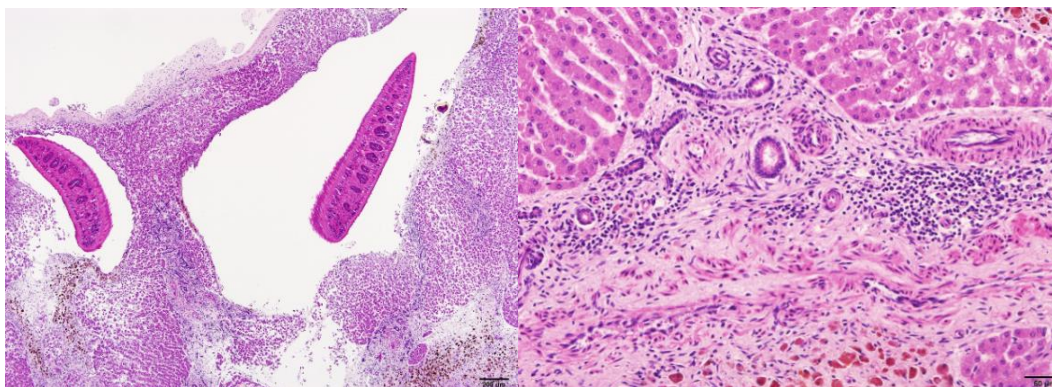


図4 肝臓 胆管内の虫体(HE×40)

図5 肝臓 結合組織および小胆管の増生(HE×100)

③ 寄生虫検査

沈殿法(渡辺法)で肝蛭虫卵が検出された(図6)。浮遊法で線虫卵が5000EPG検出された。



図6 糞便中の肝蛭虫卵

④ 細菌検査

有意菌は分離されなかった。

2. 感染状況調査

病性鑑定の結果から、肝蛭症と診断し、同居めん山羊について感染状況調査を実施した。

材料および方法

農場立入り時に同居めん山羊8頭の血液および直腸便を採材し、以下の検査を実施した。

① 肝蛭虫卵検査

直腸便を用いて、沈殿法(渡辺法)により実施した。

② 血清抗体検査

血清を用いて、寒天ゲル内沈降反応により実施した。

③ 糞便抗原検査

直腸便を用いて、糞便抗原 ELISA(牛肝蛭 ELISA キット, コスモ・バイオ)により実施した。

④ 血液生化学検査

ヘマトクリット(Ht)、 γ -GTP、血清総蛋白(STP)を測定した。

結果

A 舎めん羊 2/5 頭の直腸便から肝蛭虫卵が検出された。また、A 舎めん羊 4/4 頭で血清抗体が陽性、5/5 頭で糞便抗原が陽性となった。血液生化学検査では、A 舎めん羊 5/5 頭および B 舎めん羊 2/3 頭で Ht が低値であった。A 舎および B 舎めん羊 7/7 頭で γ -GTP が高値となり、A 舎めん羊 2/4 頭および B 舎めん羊 2/3 頭で STP が低値となった(表 1)。

検査結果から、A 舎めん羊に、貧血傾向および肝機能低下がみられ、これは肝蛭の寄生が要因であると考えられた。B 舎めん羊にも血液生化学検査において同様の所見がみられたが、肝蛭の感染は確認されず、線虫の感染による栄養低下が主要因と考えられた。山羊では肝蛭の感染は確認されず、血液生化学検査の結果に異常はみられなかった。

表 1 感染状況確認調査 結果

畜舎	No.	肝蛭虫卵	血清抗体	糞便抗原	Ht	γ -GTP	STP
山羊舎	①	—	—	—	26	59	6.4
	②	—	—	—	44	66	8.4
	③	—	—	—	28	67	7.7
A 舎 めん羊	①	—	+	+	16.5 ↓	125 ↑	6.7
	②	++	+	+	14 ↓	213 ↑	6.5
	③	—	NT	+	22.5 ↓	NT	NT
	④	+	+	+	19 ↓	210 ↑	3.6 ↓
	⑤	—	+	+	15 ↓	115 ↑	5.2 ↓
B 舎 めん羊	①	—	—	—	17 ↓	116 ↑	5.8 ↓
	②	—	—	—	14 ↓	109 ↑	5.6 ↓
	③	—	—	—	29.5	93 ↑	9

3. 環境調査

肝蛭の感染経路を明らかにするため、放牧地に立ち入り、ヒメモノアラガイの生息状況、飲用水および野生動物を介した感染の可能性について調査を実施した。

方法

農場に立ち入り、放牧地および飲用水について聞き取り調査を実施し、ヒメモノアラガイが生息可能な湿地、水たまりの有無を調査した。

結果



図7 農場見取り図

農場の概要を見取り図に示す(図7)。聞き取り調査では、A舎めん羊は放牧地①—③を使用し、当該放牧地にB舎めん羊および山羊は侵入していなかった。A舎めん羊の放牧地のうち、放牧地②の排水性が不良であるという情報が得られた。また、A舎めん羊にのみ青草刈場の青草を与えていた。めん山羊の飲用水は放牧地から約500m離れた水源より簡易水道で供給されているとのことであった。

青草刈場および放牧地①③は乾燥し、湿地はみられなかった。放牧地②は水はけが悪く、湿地や水たまりが確認され、ヒメモノアラガイの生息が可能と考えられたが、貝の確認には至らなかった(図8)。飲用水の採水場所周辺にはヒメモノアラガイが生息可能な環境は確認されなかった。放牧地周辺では野生のシカが目撃されており、シカの糞が確認された。



図8 放牧地② 湿地や水たまりがみられる

4. 対策

感染状況調査および環境調査の結果を踏まえ、ヒメモノアラガイが生息している可能性のある放牧地②における放牧を避けるよう指導し、A舎めん羊への駆虫薬投与による治療を実施した。駆虫は9月～10月にかけて駆虫薬A、それ以降は駆虫薬Bを投与し、感染状況調査と同様に肝蛭虫卵検査、糞便抗原検査、血清抗体検査および血液生化学検査(Ht、 γ -GTP、STP)を定期的に行い、駆虫効果を確認した。

結果

2025年9月より、駆虫薬Aによる駆虫を開始したが、肝蛭虫卵が引き続き確認され、十分な駆虫効果が確認されず、めん羊3頭が死亡した。そこで駆虫薬を変更することとし、生存している2頭に対し、11月以降は駆虫薬Bを投与したところ、速やかに糞便抗原が検出されなくなり、2か月後には肝蛭虫卵も確認されなくなった(表2)。また、血液生化学検査では、貧血及び肝機能の改善が認められた(表3)。

表2 駆虫効果確認検査 結果

No.	検査内容	9/3	10/9	10/16	11/18	12/24
①	肝蛭虫卵	－	++	－	死亡	
	抗原ELISA	＋	NT	NT		
	抗体	＋	＋	＋		
②	肝蛭虫卵	++	死亡			
	抗原ELISA	＋				
	抗体	＋				
③	肝蛭虫卵	NT	++	＋	－	－
	抗原ELISA	＋	NT	NT	－	－
	抗体	NT	＋	＋	＋	－
④	肝蛭虫卵	＋	++	＋	＋	－
	抗原ELISA	＋	NT	NT	－	－
	抗体	＋	＋	＋	＋	＋
⑤	肝蛭虫卵	－	++	＋	死亡	
	抗原ELISA	＋	NT	NT		
	抗体	＋	＋	＋		

表3 血液生化学検査 結果

Ht

No.	9/3	10/9	10/16	11/18	12/24
①	16.5 ↓	11.1 ↓	13 ↓	死亡	
②	14 ↓	死亡			
③	22.5 ↓	32.5	28 ↓	43.7	35
④	19 ↓	21.9 ↓	18 ↓	40	34
⑤	15 ↓	17.3 ↓	16 ↓	死亡	

γ-GTP

No.	9/3	10/9	10/16	11/18	12/24
①	125 ↑	59	56	死亡	
②	213 ↑	死亡			
③	NT	88	91	233 ↑	77
④	210 ↑	214 ↑	156 ↑	283 ↑	111
⑤	115 ↑	64	63	死亡	

STP

No.	9/3	10/9	10/16	11/18	12/24
①	6.7	3.6 ↓	3.5 ↓	死亡	
②	6.5	死亡			
③	NT	5.1 ↓	4.9 ↓	5.9	6.2
④	3.6 ↓	4.1 ↓	4.0 ↓	7.2	6.8
⑤	5.2 ↓	3.3 ↓	2.7 ↓	死亡	

5. 考察およびまとめ

環境調査の結果から、野生のシカなどによって放牧場に肝蛭が持ち込まれ、放牧地に生息しているヒメモノアラガイとめん羊との間で肝蛭の生活環が成立、まん延したと考えられた。越冬したヒメモノアラガイは5月上旬に活動を開始し、夏季に大部分が死亡する[2]ため、今回環境調査を実施した9月上旬にはヒメモノアラガイは確認されなかったと考えられた。

駆虫薬による治療では、駆虫薬の成分による効果の違いが示唆された。したがって、肝蛭の重度寄生を防ぐためには、適切な駆虫薬を選択する必要があると考えられた。

駆虫後の確認検査では肝蛭抗原が確認されなくなった後も、肝蛭虫卵検査および抗体検査は陽性であった。肝蛭虫卵が成体死滅後も胆管等に残存している場合があり、血清抗体は駆虫薬投与後も数か月間持続するという報告がある。一方で、糞便抗原検査は産卵前の虫体の検出が可能であり、虫体死滅後に速やかに陰性となることから、駆虫効果の確認には糞便抗原検査が最も適していると考えられた。

肝蛭対策として、ヒメモノアラガイの生息している可能性がある場所を避けて放牧するとともに、適切な駆虫薬を定期的に投与し、糞便抗原検査による駆虫効果の確認を実施することが必要だと考えられた。

今回の肝蛭症は、ヒメモノアラガイとシカなどの野生動物間で肝蛭の生活環が成立していた環境に、めん羊が参入したことで発生したと考えられた(図9)。したがって、農場の肝蛭汚染を広げないために野生動物の侵入防止対策を実施することが必要と考えられた。

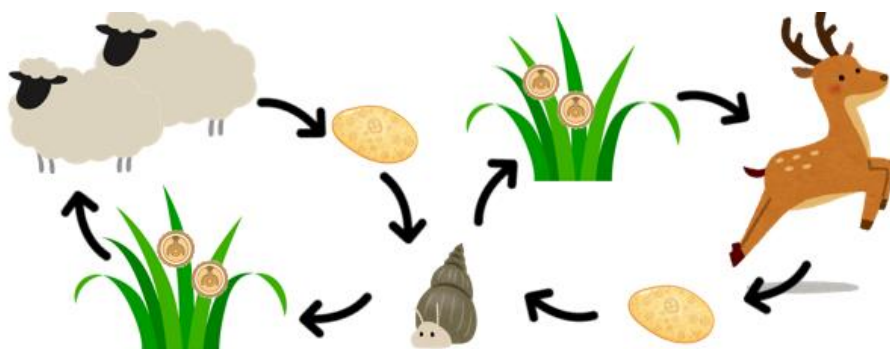


図9 感染環の成立

引用文献

- [1] 松尾加代子, 高井尚治ら: 我が国の牛、特に黒毛和種繁殖雌牛における肝蛭症の現状, 家畜感染症学会誌, 2020, 9 巻 1 号, 1-7
- [2] 赤羽啓栄, 原田行雄, 大島智夫: 肝蛭症の予防に関する研究 第1報 中部高冷地におけるヒメモノアラガイの発育と貝体内の肝蛭寄生状況, 寄生虫学雑誌, 1971, 第 20 巻第 1 号, 72-80

8 県内一酪農場における *Streptococcus uberis* 乳房炎対策

家畜保健衛生所 木村美貴

はじめに

乳房炎は、乳量の減少、治療費の増加、感染牛の淘汰などによって経済的損失をもたらす。酪農経営に深刻な影響を及ぼす。大きく分けて伝染性と環境性があり、伝染性乳房炎は、感染した乳汁中に病原菌が存在し、搾乳中に他の分房や牛に感染する乳房炎である。環境性乳房炎は環境に存在する病原菌が乳頭に付着し、感染する乳房炎である。*Streptococcus uberis* (以下 SU) はグラム陽性球菌で、環境性乳房炎原因菌の代表例である[1]。難治性乳房炎を引き起こし、通常のような短期間の抗菌薬の投与では効果が低いと言われている。今回、県内一酪農場において、SU 乳房炎対策を実施したので、その概要を報告する。

K 牧場の概要

継続して体細胞数が高い牛が多く、乳房炎の症状に応じた治療を行っているが、再発を繰り返している。フリーバーンで搾乳牛約 45 頭を飼養しており、パーラーで搾乳を行っている。以前は現在とは別の市で酪農業を営んでいたが、2023 年 5 月に、廃業する酪農家の場所と一部の牛を引き継ぎ、3 つの酪農家による酪農団地の一員となって現在に至る。隣接する I 牧場・KT 牧場と特に交流はないが、堆肥場を共有している。山間部にあるため野生動物が出入りしやすい環境であり、2025 年にはクマが飼料を目当てに入りこんだ後、隣接する I 牧場へ移動し、再び K 牧場で捕獲された。

材料と方法

1. 大規模検査

2024 年 6 月 17 日に、K 牧場の搾乳に立ち会い、体細胞数が高い 21 頭を対象として合乳を採取し、常法に従って細菌検査を実施した。

2. 対策・解析

① ショート乾乳

合乳から SU が分離された個体に対して、感染分房を特定した後、2024 年 8 月から 2025 年 3 月にかけて順番にショート乾乳を行った[2]。0 日目の夕方に乳房炎軟膏（泌乳期用スペクトラゾール：セフロキシムナトリウム）を注入し、乳頭保護材料（ティートナー：ゼノアック社製）でシールした。軟膏注入分房は 72 時間搾乳を停止した。残りの分房は搾乳するが出荷停止とした。4 日目の朝に搾乳を再開し、1 週間以上経過観察した。搾乳再開から 7 日目を目途に再検査を行った。同時に牛舎の清掃消毒で環境からの感染を予防するための指導をおこなった。

② 死亡子牛の病性鑑定

2025年3月に14日齢の子牛が死亡したため、病性鑑定を実施した。

③ 薬剤感受性試験

大規模検査からショート乾乳終了までに分離したSU 37株について、薬剤感受性試験を行った。ペニシリン (PCG)、アンピシリン (ABPC)、セフェピム (CFPM)、セフォタキシム (CTX)、セフトリアキソン (CTRX)、メロペネム (MEPM)、バンコマイシン (VCM)、エリスロマイシン (EM)、アジスロマイシン (AZM)、クラリスロマイシン (CAM)、レボフロキサシン (LVFX)、クリンダマイシン (CLDM) の12薬剤について、ドライプレート‘栄研’96プレート DP44を用いて、微量液体希釈法にて実施した。感受性についてはCLSI (Clinical and Laboratory Standards institute) (M100-Ed35, 2025年) の *Streptococcus* spp. Viridans Groupの基準[3]に基づき判定した。

④ 疫学的検査

K牧場および隣接するKT牧場において2010年以降に分離されたSUの近縁性を解析するため、パルスフィールドゲル電気泳動 (PFGE) による遺伝子型別の検査を国立農研機構動物衛生研究部門に依頼した。K牧場由来53株、KT牧場由来6株 (それぞれ死亡牛の臓器由来を含む) について、Okuraら[4]の方法に準拠して実施し、制限酵素はSmaIを用いた。

結果

1. 大規模検査

21頭中9頭からSUを検出した。

2. 対策・解析

① ショート乾乳

青矢印で示すようにほとんどは治癒したが、赤矢印で示すように、再発した個体と、治療後に菌が再分離された個体がそれぞれ認められた。個体Jに関してはSU以外のレンサ球菌が検出されたため、同様に治療対象としたが、新たにSUが分離されている (図1)。

個体	2024/6/17	2024/7/2	2024/8/21	2024/9/24	2024/11/13	2024/11/26	2025/1/29	2025/3/11
A	合乳	右前/右後/左前				右前/右後/左前	→	治癒
B	合乳	左前				→	治癒	
C	合乳	右前/左後	右前/左後 →	治癒			→	治癒
D	合乳	右前					→	治癒
E	合乳	右前/左前				→	右前	
F	合乳	右前		右前 →	治癒			
G	合乳	左前		左前 →	治癒		→	右前
H	合乳	右後/左後				→	治癒	
I	合乳	乾乳						
J			左前 →	治癒	左前	→	右前/左前	

図 1 ショート乾乳での治療の経過

② 死亡子牛の病性鑑定

剖検の結果、臍静脈の臍付近に炎症産物が軽度貯留しており、細菌検査で肝臓から SU を検出した。この株も、その後の試験に供することとした。子牛の死亡から約 1 週間後に乳房炎検査で SU を分離しているが、この子牛の母牛ではない。

③ 薬剤感受性試験

検査から治療の過程で分離された株について、乳房炎の治療に用いている抗菌薬はセフェム系であり、問題となりそうな耐性はほとんどみられなかったが、子牛の肝臓から分離した SU において、マクロライド系およびリンコマイシン系に耐性があり、その直後に乳汁から分離した SU に全く同じ耐性がみられた（図 2）。

分離月日	動物種	分離部位	PCG	ABPC	CFPM	CTX	CTRX	MEPM	VCM	EM	AZM	CAM	LVFX	CLDM
2024/6/17	乳牛	乳汁	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
	乳牛	乳汁	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
	乳牛	乳汁	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
	乳牛	乳汁	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
	乳牛	乳汁	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
	乳牛	乳汁	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
	乳牛	乳汁	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
	乳牛	乳汁	S	S	S	S	S	S	S	S	I	S	S	S
	乳牛	乳汁	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
	乳牛	乳汁	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
2024/7/2	乳牛	乳汁	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
	乳牛	乳汁	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
	乳牛	乳汁	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
	乳牛	乳汁	S	S	S	S	S	S	S	S	I	S	S	S
	乳牛	乳汁	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
	乳牛	乳汁	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
	乳牛	乳汁	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
	乳牛	乳汁	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
	乳牛	乳汁	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
	乳牛	乳汁	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
2024/8/21	乳牛	乳汁	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
	乳牛	乳汁	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
2024/9/24	乳牛	乳汁	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
	乳牛	乳汁	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
2024/11/13	乳牛	乳汁	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
	乳牛	乳汁	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
2024/11/26	乳牛	乳汁	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
	乳牛	乳汁	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
	乳牛	乳汁	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
2025/1/29	乳牛	乳汁	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
	乳牛	乳汁	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
2025/3/6	肉牛	肝	S	S	S	S	S	S	S	R	R	R	S	R
2025/3/11	乳牛	乳汁	S	S	S	S	S	S	S	R	R	R	S	R

図 2 薬剤感受性試験結果

④ 疫学的検査

2024 年 6 月 17 日の大規模検査で分離された株は、I 系統と J 型の 2 種類のみであった（図 3）（表 1：No.23～31）が、長期的には多様な型の株が乳房炎を引き起こしていることが示された（図 4）。F 系統のように 5 年以上分離される系統もあるが、年ごとに入れ替わる傾向があり、2023 年 5 月の引っ越しを機に、型が一新している。

同一日または 1 ヶ月以内に分離された株は同一または類似したパターンを示したが、2 系統認められる場合もあった（図 4：2021 年 10 月、2024 年 6 月～7 月）。また、2 農家で共通または類似したパターンの株が分離されている。

全 59 株中、最多となったのは II 型の 17 株であり、うち K 牧場からは 14 株を 8 頭の乳汁から分離している。また、II 型は隣接する KT 牧場からも分離された。

死亡子牛の肝臓から分離された SU は K 型であり、その直後に乳房炎検査の乳汁から分離された株と PFGE 型が一致した（表 1：No.58、59）。

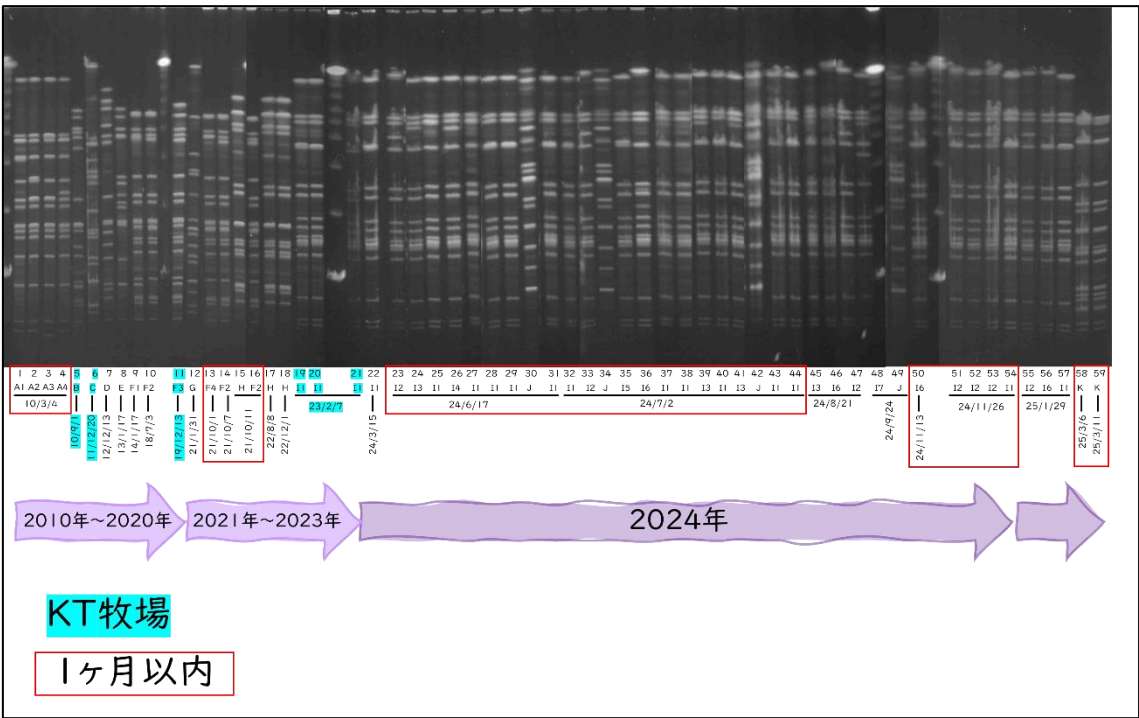


図 3 SU 59 株の PFGE 解析パターンの比較

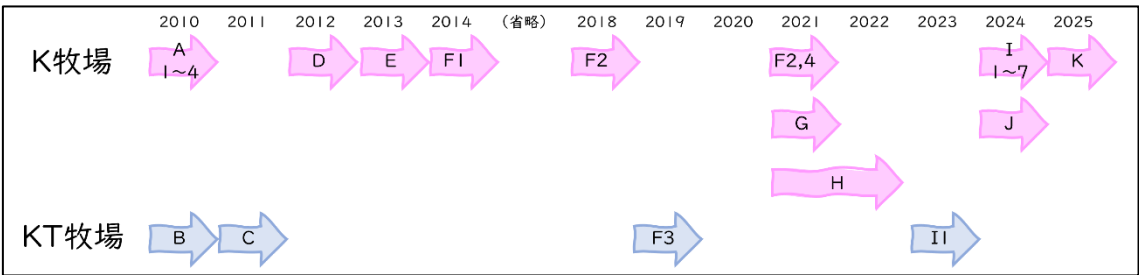


図 4 2 農場における PFGE パターンの推移

表1 SU 59 株の由来および PFGE 型

No.	牧場	動物種	分離部位	分離月日	PFGE型	No.	牧場	動物種	分離部位	分離月日	PFGE型
1	K	乳牛	乳汁	2010/3/4	A1	31	K	乳牛	乳汁	2024/6/17	I1
2	K	乳牛	乳汁	2010/3/4	A2	32	K	乳牛	乳汁	2024/7/2	I1
3	K	乳牛	乳汁	2010/3/4	A3	33	K	乳牛	乳汁	2024/7/2	I2
4	K	乳牛	乳汁	2010/3/4	A4	34	K	乳牛	乳汁	2024/7/2	J
5	KT	乳牛	乳汁	2010/9/1	B	35	K	乳牛	乳汁	2024/7/2	I5
6	KT	乳牛	脾	2011/12/20	C	36	K	乳牛	乳汁	2024/7/2	I6
7	K	乳牛	乳汁	2012/12/13	D	37	K	乳牛	乳汁	2024/7/2	I1
8	K	乳牛	乳汁	2013/1/17	E	38	K	乳牛	乳汁	2024/7/2	I1
9	K	乳牛	乳汁	2014/1/17	F1	39	K	乳牛	乳汁	2024/7/2	I3
10	K	乳牛	乳汁	2018/7/3	F2	40	K	乳牛	乳汁	2024/7/2	I1
11	KT	乳牛	肝	2019/12/13	F3	41	K	乳牛	乳汁	2024/7/2	I3
12	K	乳牛	乳汁	2021/1/31	G	42	K	乳牛	乳汁	2024/7/2	J
13	K	乳牛	乳汁	2021/10/1	F4	43	K	乳牛	乳汁	2024/7/2	I1
14	K	乳牛	乳汁	2021/10/7	F2	44	K	乳牛	乳汁	2024/7/2	I1
15	K	乳牛	乳汁	2021/10/11	H	45	K	乳牛	乳汁	2024/8/21	I3
16	K	乳牛	乳汁	2021/10/11	F2	46	K	乳牛	乳汁	2024/8/21	I6
17	K	乳牛	乳汁	2022/8/8	H	47	K	乳牛	乳汁	2024/8/21	I2
18	K	乳牛	乳汁	2022/12/1	H	48	K	乳牛	乳汁	2024/9/24	I7
19	KT	乳牛	乳汁	2023/2/7	I1	49	K	乳牛	乳汁	2024/9/24	J
20	KT	乳牛	乳汁	2023/2/7	I1	50	K	乳牛	乳汁	2024/11/13	I6
21	KT	乳牛	乳汁	2023/2/7	I1	51	K	乳牛	乳汁	2024/11/26	I2
22	K	乳牛	乳汁	2024/3/15	I1	52	K	乳牛	乳汁	2024/11/26	I2
23	K	乳牛	乳汁	2024/6/17	I2	53	K	乳牛	乳汁	2024/11/26	I2
24	K	乳牛	乳汁	2024/6/17	I3	54	K	乳牛	乳汁	2024/11/26	I1
25	K	乳牛	乳汁	2024/6/17	I1	55	K	乳牛	乳汁	2025/1/29	I2
26	K	乳牛	乳汁	2024/6/17	I4	56	K	乳牛	乳汁	2025/1/29	I6
27	K	乳牛	乳汁	2024/6/17	I1	57	K	乳牛	乳汁	2025/1/29	I1
28	K	乳牛	乳汁	2024/6/17	I1	58	K	肉牛	肝	2025/3/6	K
29	K	乳牛	乳汁	2024/6/17	I1	59	K	乳牛	乳汁	2025/3/11	K
30	K	乳牛	乳汁	2024/6/17	J						

考察及びまとめ

伝染性乳房炎と環境性乳房炎では対策の方向性が大きく異なる。従来、SU に対しては環境由来感染を主とする観点から、飼養環境の改善など環境性乳房炎対策が重視されてきた。しかしながら本調査の結果、搾乳時における他個体あるいは分房間での感染の可能性も否定できず、伝染性乳房炎と同様に、罹患牛の別搾りやポストディッピングの

実施といった搾乳時の衛生管理についても徹底する必要性が示された。

K牧場では、2025年4月に間仕切りを設置してフリーバーンからフリーストールとなった。その結果、牛が寝床を明確に認識するようになり、寝床での排泄が減少したことで乳房の清潔性が向上し、乳房炎が減少したとの畜主の感想を得た。このことは、乳頭の汚染機会を減少させる環境整備が乳房炎対策において重要であることを示している。一方、本事例においては抗菌薬の選択圧による顕著な耐性化は確認されなかったが、抗菌薬に過度に依存しない管理を継続することが耐性化の抑制につながると考えられる。そのため、今後も抗菌薬の適正使用を徹底するとともに、飼養環境の改善による予防的管理を重視する必要がある。

遺伝子学的解析として、同一農場を中心に収集したSU株に対しPFGEによる型別を行った結果、乳房炎の発症には多様な遺伝子型の株が関与していることが明らかとなった。死亡子牛の肝臓から分離された菌と同一型の菌が搾乳牛からも分離されたが、両者は親子関係がなく飼養場所も離れていたことから、直接的な牛間伝播よりも、環境や第三の媒介要因を介した間接的な伝播の可能性が考えられた。

一部では1年以上にわたり類似した遺伝子型の株が継続して分離され、特定のクローン株が一定期間関与し、牛から牛へ伝染性に感染した可能性があることを示唆している[5]。

一方で、長期的にはPFGE型の変遷が認められ、遺伝子型が多様であったことから、単一クローンによる持続的流行ではなく、環境中の多様な菌が関与している動態が示唆された。

さらに、同一個体由来の株であっても採材時期や分房により異なる遺伝子型が確認され、本菌種が高い遺伝的多様性を有すること、環境汚染が高い牧場であることが示された。これらの結果は、国内外における先行研究で報告されているSU株の高い遺伝的多様性と一致しており[6]、特定のクローン系統の国際的な広範囲拡散が少ないとされる知見とも整合する。したがって、SUによる乳房炎は主として環境由来感染であるという従来の見解を支持しつつも、部分的には伝染性の側面も併せ持つ複合的な感染様式を示すものと考えられた。

さらに、野生動物等を介した農場間伝播が疑われる事例も認められたことから、バイオセキュリティの観点として野生動物の侵入防止対策も重要であると考えられた。

以上より、SU対策では、環境を清潔に保つことを基本としながら、搾乳時の感染防止や外部からの菌の侵入対策を組み合わせる行うことが重要である。

謝辞

稿を終えるにあたり、PFGEの実施、さらに様々なお助言をいただきまし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。

引用文献

- [1] 牛の乳房炎の防除 疾患の基礎と最新概念（緑書房）（2019）
- [2] 慢性乳房炎（*Streptococcus uberis*感染症）に対するショート乾乳治療の取り組み 田中秀和 臨床獣医 Vol.35 No.6（2017）
- [3] M100 35th Edition Clinical & Laboratory Standards Institute（2025）
- [4] Genotypic diversity of *Streptococcus suis* and the *S. suis*-like bacterium *Streptococcus ruminantium* in ruminants Masatoshi Okura VETERINARY RESEARCH（2019）
- [5] ウベリスレンサ球菌性乳房炎：分子疫学でみる原因菌の分布と伝播様式 渡部淳 畜産技術 2023年8月号（2023）
- [6] Comparison of the population structure of *Streptococcus uberis* mastitis isolates from Austrian small-scale dairy farms and a Slovakian large-scale farm Regina Wald J. Dairy Sci.（2019）

9 コンパクト型測定器を用いた乳用牛の血中イオン化カルシウム濃度測定と関連疾病
家畜保健衛生所 武田佳絵

はじめに

カルシウム(Ca)は筋肉収縮、血液凝固などの生命維持に直結する重要な働きをしている。分娩後の乳用牛は、生理的に血中Ca濃度が低下しやすく、消化管からの吸収や骨吸収により速やかに補充されない場合、分娩性低Ca血症（乳熱）となり、筋肉の弛緩性麻痺による起立不能などに陥る。また、血中Ca濃度の低下が軽度でも、食欲不振や胎盤停滞など周産期疾病を引き起こし、廃用や繁殖成績低下などの原因になる(図1)。

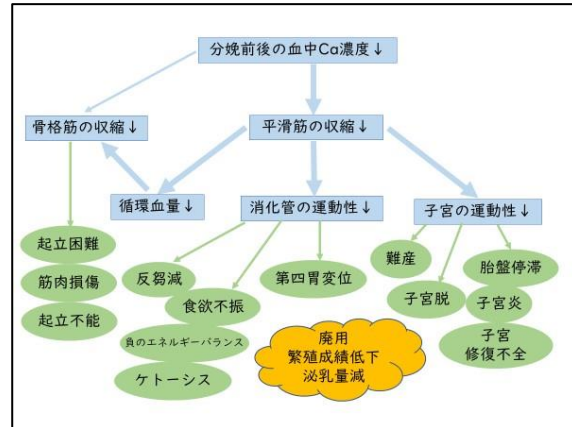


図1 分娩前後の血中Ca濃度低下の影響

目的

当所には、様々な理由で血液検査依頼があり、特に、分娩後の乳用牛の起立困難や食欲不振が多い傾向にある。分娩性低Ca血症を疑って血液検査をしていく中で、判定に通常使用している血清総Ca濃度（総Ca）が正常値に近い事例を経験した。総Caは3つの形態の総量で、主に、アルブミン(ALB)と結合している蛋白結合Caが50%、およびイオン化Ca(iCa)が45%とされる(図2)[1]。そのうち生理活性

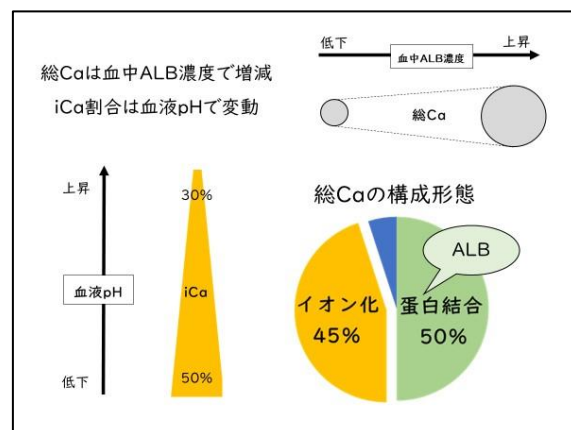


図2 総Ca構成とiCa割合変動要因

を持つのはiCaであり、総Caが正常値であってもiCa値が低下しているのではないかと考えた。総Caに占めるiCaの割合(iCa割合)は、血中ALB濃度に比例して総Caが上下すること、また、血液pHが低下するとiCa割合は増加、上昇するとiCa割合が減少することから[2]、総Caを基にした単純計算では正しいiCa値を求めることはできない。これまで、直接iCa値を測定するには、高度な測定機器や煩雑な測定手順が必要だった。近年、導入しやすい牛血液専用のコンパクト型iCa値測定器が市販されたことから、牛の血中iCa値を測定し、総Caとの関連や、関連疾病について調査を行った。

材料

2024年2月8日から2026年1月6日の期間で、当所に検査依頼があった乳用牛64頭（11農

場)の血清とヘパリン処理全血を用いた。採血理由を表1に、検査牛の年齢分布を図3に示す。分娩後7日以内(分娩関連)の牛の年齢分布は、図3棒グラフの下部に示した。

表1 採血理由ごとの頭数

採血理由	頭*
健康診断	30
食欲不振、食いどまり	15
起立困難、不能	8
ウイルス性下痢	7
乳房炎、乳量減少	4
腹囲膨満	2
ケトーシス	1
経過観察	1
難産	1
子宮脱	1
鼻出血	1
合計	71

*延べ頭数

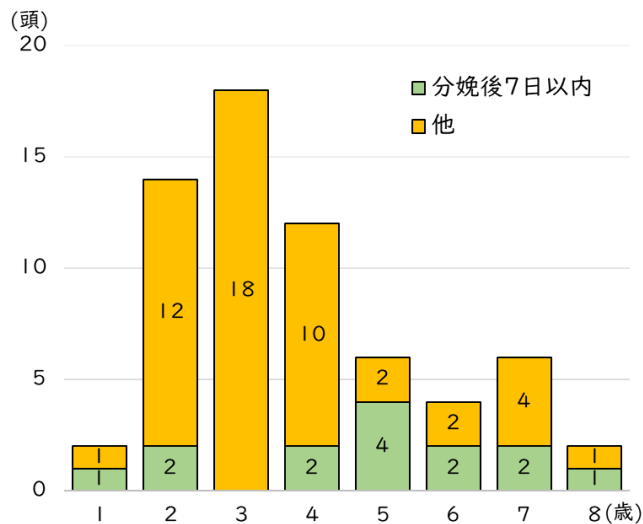


図3 検査を行った牛の年齢分布

検査方法

総Caは乾式生化学測定装置を使用し、その値で、7.5 mg/dl 未満の牛を低Ca群、7.5-8.5 mg/dlの牛を潜在性群および8.6 mg/dl以上の牛を正常群とし、3つに群分けした。

iCa値は、コンパクト型ウシ血液iCaチェッカ(株式会社堀場アドバンスドテクノ)を用いた。これは、イオン選択性電極法による開放型平面センサがあり、ヘパリン処理全血を感作させiCa値を測定する。冷蔵して搬入された血液や測定用器具等を室温(20-25℃)に戻した後、2濃度の標準液(1.25、2.50mM)で校正後、ヘパリン処理全血0.3mlで測定した(図4)。加藤の報告[1]の乳用牛のiCa正常値(1.05-1.30mM)から1.0mM未満をiCa値低下と判定した。



図4 コンパクト型iCa値測定器

上記以外の測定項目は、常法によりヘマトクリット値(Ht値)および白血球数を、乾式生化学測定装置により血清総蛋白(STP)、ALB、無機リン(IP)、マグネシウム(Mg)、BUN、総ビリルビン(T-Bil)、GOT、 γ -GTP(GGT)、T-Cho、LDH、CPK、Glu、Cre、電解質(Na、K、Cl)を測定した。 $1\alpha, 25(\text{OH})_2\text{D}_3$ (活性型ビタミン D_3)を液体クロマトグラフィー・タンデム型質量分析法で測定した(民間検査機関にて測定)。

結果

総Caの群分けでは、低Ca群12頭、潜在性群8頭および正常群44頭となった。iCa値が低下していたのは、低Ca群12頭全頭、潜在性群7頭および正常群10頭だった(表2)。群ごとの総Caの中央値(IQR)は低Ca群6.25(5.4-6.95)、潜在性群8.15(8.07-8.32)

表2 総Ca群ごとのiCa値低下頭数

iCa値	低Ca群 (分焼関連)	潜在性群 (分焼関連)	正常群 (分焼関連)	合計 (分焼関連)
<1.0	12 (9)	7 (4)	10 (0)	29 (13)
≥1.0	0 (0)	1 (0)	34 (1)	35 (1)
頭	12 (9)	8 (4)	44 (1)	64 (14)

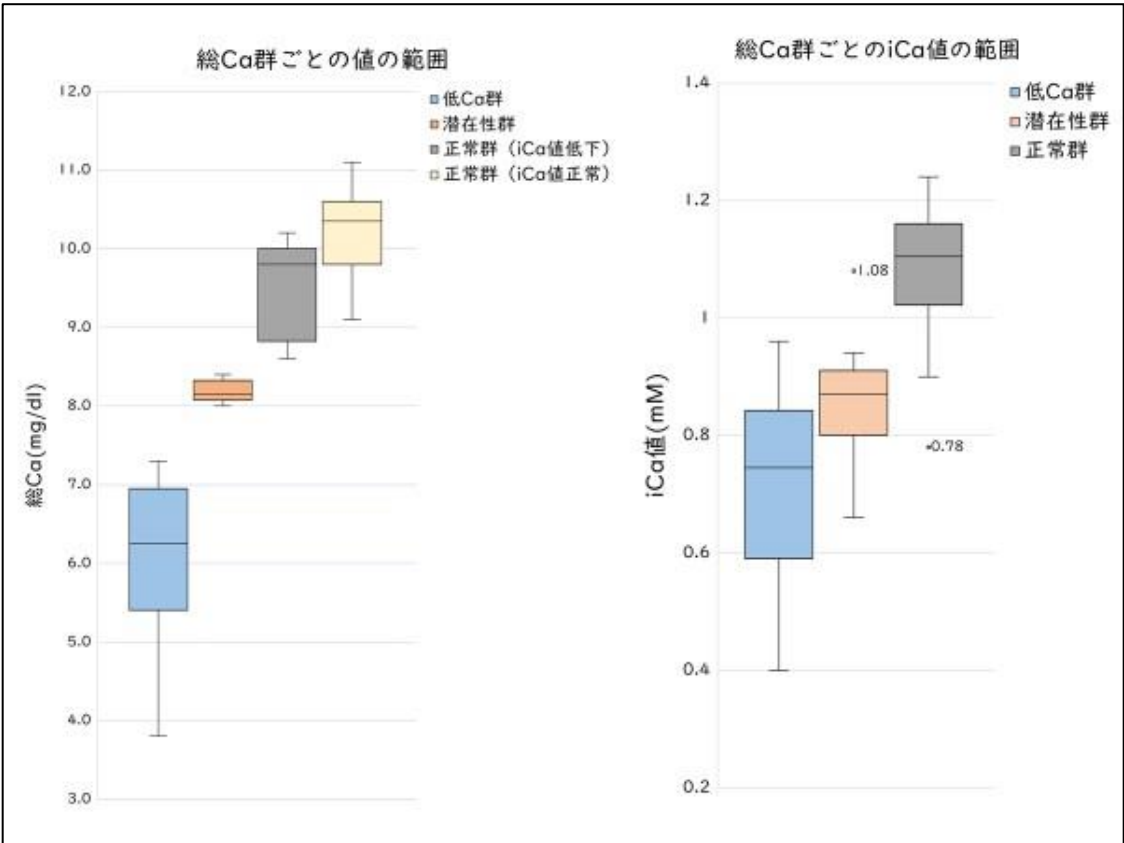


図5 総Ca群ごとの総CaとiCa値の範囲

および正常性群10.1(9.7-10.5)だった(図5左)。正常群でiCa値が低下していた10頭は、低下していなかった34頭より総Caも低い傾向だった。また、総Ca群ごとのiCa値の中央値(IQR)は、低Ca群0.74(0.59-0.84)、潜在性群0.87(0.80-0.91)および正常群1.10(1.02-1.16)だった(図5右)。潜在性群で血清ALB濃度が低下(2.0mg/dl)していた1頭、また、血清ALB濃度が上昇(4.0mg/dl)していた1頭は、各群のiCa値の外れ値となった。この2頭を除いた62頭において、各々のiCa割合を算出した結果、それらの範囲は32-57%であり、40%台がその7割を占めていた。また、30%台は11頭、50%台は4頭だった(図6上段)。総Caの群ごとで分けると、30%台11頭のうち7頭が正常性群の牛で、また、そのうち6頭でiCa値が低下していた(図6下段右)。採血理由で頭数が多い上位4項目(健康診断、食欲不振、起立困難・不能、ウイルス性下痢)で総CaとiCa値の範囲を比較した。食欲不振および起立困難・不能は原因が多岐にわたるため、総Caは値の範囲が広がった。一方

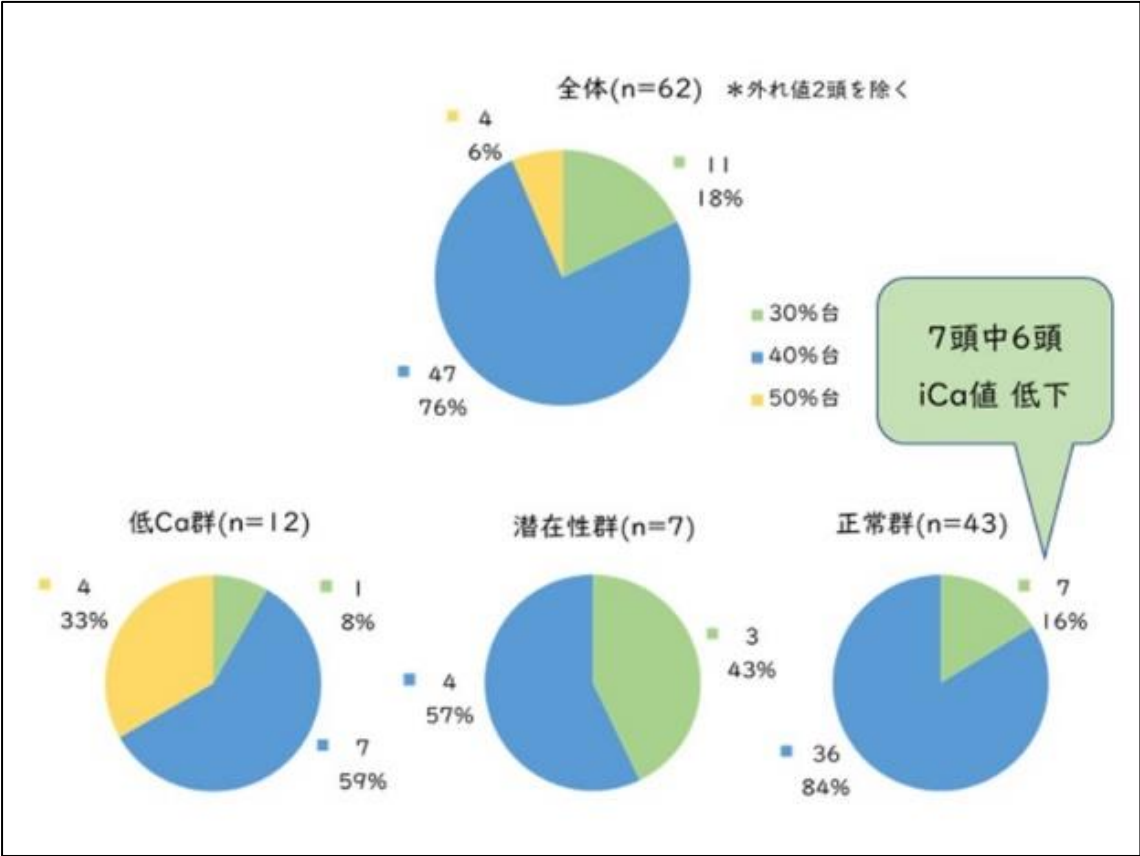


図6 iCa割合の全体と総Ca群での傾向

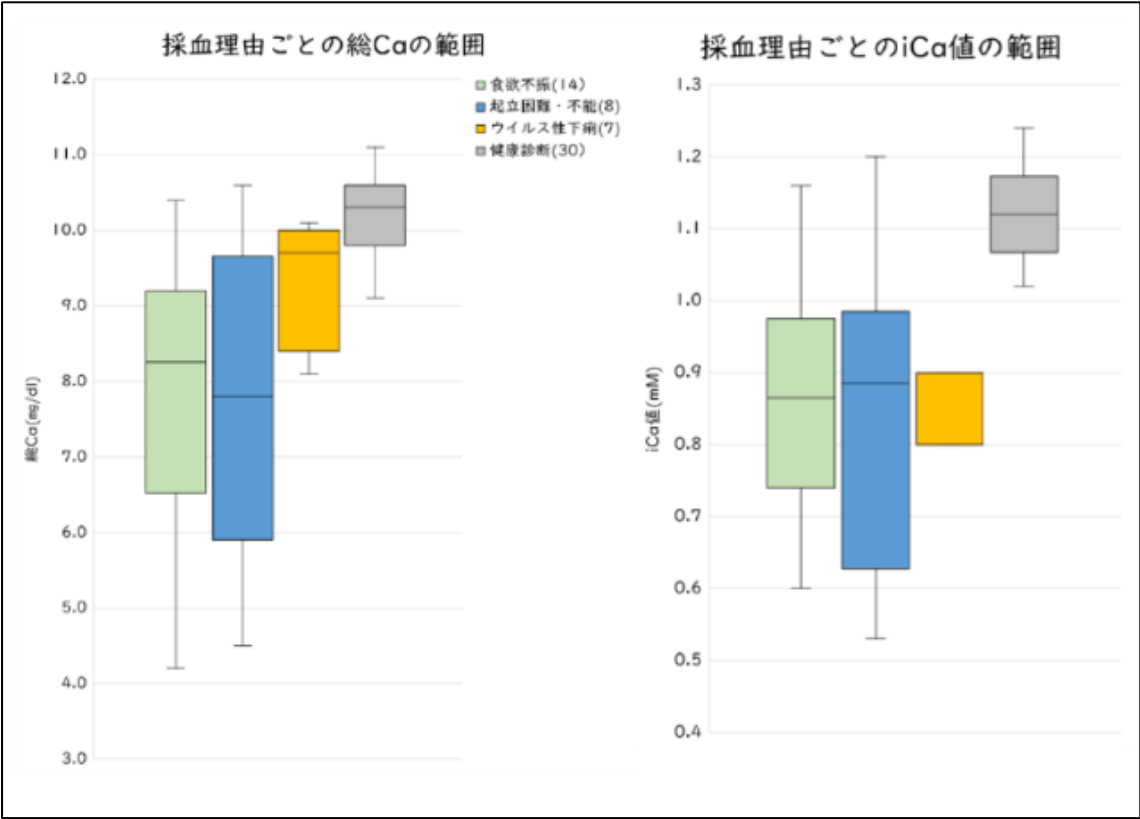


図7 採血理由ごとの総CaとiCa値

でiCa値は約4分の3の牛が低下していた。
ウイルス性下痢の牛ではiCa値が0.8mMから0.9mMの範囲にあった。健康診断では総CaおよびiCa値共に正常値だった(図7)。分娩関連の不調の14頭の総Ca群分けでは、低Ca群9頭、潜在性群4頭および正常群1頭となった(表3)。低Ca群の9頭の年齢は、全て4歳以上だった。iCa値は低Ca群が潜在性群より低い傾向であり、そのうち下位2頭(0.40mM、0.53mM)が、その後死亡および廃用となった。分娩関連以外で低Ca群となった3頭全頭でBUNが上昇していた。そのうち1頭は突然に原因不明の起立困難となり、血液検査では、BUNの上昇に加えて、ほかの腎機能低下を疑うCre、IPおよびMgの血中濃度上昇も認めた。追加で測定した活性化ビタミンD₃

の値は123.7 pg/mlで、Okuraらの報告[3]と比較すると低下していなかった。本調査において、血液検査の結果、出血による貧血と考えられた2頭でiCa値の測定を実施した。この2頭は予後不良とされ、剖検に供され病性鑑定の結果、①疣贅性心内膜炎と肺出血、②出血性腸症候群(HBS)と疾病診断された。

2頭のHt値や総Caは同程度だったが、HBSの牛ではiCa値が低下し、iCa割合は本調査で最低の32%だった。追加で電解質を測定したところ、K およびClが牛の基準値(K 3.9-5.3、Cl 96-110) [4,5]より大幅に低下していた(表5)。

まとめと考察

低Ca群全頭および外れ値1頭を除く潜在性群全頭でiCa値が低下しており、コンパクト型測定器で測定したiCa値は総Caと同等に低Ca血症の判定が可能であった。iCa割合

表3 分娩関連の不調のまとめ

頭	年齢内訳(頭)				iCa値 (mM)	採血理由
	3歳未満	3歳	4歳	5歳以上		
低Ca群	9	0	0	2	7	0.40 腹囲膨満
						0.53 起立不能
						0.60 食欲不振
						0.73 食欲不振
						0.76 食欲不振
						0.83 起立困難
						0.84 食欲不振
潜在性群	4	2	0	0	2	0.87 起立困難
						0.96 難産(淘汰)
						0.80 子宮脱(淘汰)
						0.88 食欲不振
正常群	1	1	0	0	0	0.90 食欲不振
						0.94 食欲不振
						1.16 食欲不振(肝機能低下)

表4 分娩関連以外の低Ca血症3頭のまとめ

		①	②	③
採血理由		食欲不振、下痢	食欲不振、下痢	突然の起立困難
年齢		2歳	2歳	5歳
分娩との関連		後4か月	前1か月	後7か月
転機		6か月後に廃用	分娩後4か月死亡 (出血性腸症候群)	死亡
総Ca	(mg/dl)	6.0	7.2	5.7
iCa値	(mM)	0.68	0.85	0.56
iCa割合	(%)	45	47	39
IP	(mg/dl)	5.9	8.3	10.7
Mg	(mg/dl)	1.9	2.5	4.2
BUN	(mg/dl)	46.0	38.5	35.3
Cre	(mg/dl)	1.08	1.30	2.11
活性化ビタミンD ₃	(pg/ml)	NT	NT	123.7

表5 Ht値低下2頭の検査結果

		①	②
症状		鼻出血	食欲不振 起立不能
診断名		疣贅性心内膜炎	出血性腸症候群
Ht	(%)	18.0	19.9
総Ca	(mg/dl)	8.0	8.2
iCa値	(mM)	1.08	0.66
iCa割合	(%)	-	32
STP	(mg/dl)	8.5	5.3
ALB	(mg/dl)	2.0	3.1
IP	(mg/dl)	5.4	14.0
Mg	(mg/dl)	1.4	3.7
Na	(mEq/l)	NT	134.0
K	(mEq/l)	NT	2.7
Cl	(mEq/l)	NT	66.0

は、調査した牛の7割で40%台となり、iCa値はおおむね総Caを反映していた。一方で、正常群でiCa値が低下していた10頭のうち6頭のiCa割合は30%台だった。iCa値の測定は、総Caが低下していない個体の病態に、Ca代謝が関連しているか知る有用な手段と考えられた。ALB濃度が上昇すると、蛋白結合Caの増加から総Caが上昇し、iCa値が低下していても分からないことが考えられ、低Ca血症の判定にはALB濃度やiCa値を測定し、総合的な判定が必要と考えられた。採血理由ごとの総CaおよびiCa値では、健康診断の群では異常値はみられず、食欲不振および起立困難・不能の群では4分の3が、下痢の群では全てが軽度低下していた。これは、iCa値の低下からくる平滑筋収縮不全の影響に加え、採食量の減少や下痢による吸収不良によるものが考えられた。

乳用牛では、2産以上の特に高泌乳牛で分娩性低Ca血症のリスクが高く、それは、年齢とともに小腸でのCa吸収能力が低下し、かつ、泌乳量増加に伴いCa消費量が増加することによる[6, 7]。本調査の分娩性低Ca血症の9頭全てが4歳以上であり、リスクの傾向と合致していた。iCa値が最低および下から2番目の低値の2頭が死亡または廃用となり、iCa値が低いほど予後が悪い傾向があった。分娩性低Ca血症の予防方法は長年研究され、飼料面からのアプローチとして、乾乳後期の飼料中の陽イオン陰イオン差(Dietary Anion-Cation Difference:DACD)を調整する方法がある[8]。摂取牛を代謝性アシドーシスに傾けることで、上皮小体ホルモン感受性が高まり、生理的な経路をもって、分娩後に低下した血中Ca濃度の回復が促進される。低DACD飼料の効果が現れているかを確認する方法として、体液とpHがリンクする尿のpHの確認が提唱されている[9]。iCa値は、体液が酸性に傾くと増加することから、この効果検証への活用も可能と考えられた。

分娩関連以外の低Ca血症の3頭全頭でBUNが上昇し、腎機能低下が考えられた。腎臓は尿細管からのCa再吸収、ビタミンD₃を活性化し、小腸からのCa吸収を促進することで血中Ca濃度を調整している[10]。3頭のうち、原因不明の起立困難となった1頭では、BUN以外に腎機能の低下を反映する異常値(IP上昇、Mg上昇、Cre上昇)がみられた。この事例では活性化ビタミンD₃の低下はしておらず、腎機能低下による低Ca血症の主な原因とされる原尿からの再吸収不良により、尿中へのCa排出量が増加[11]したことが、低Ca血症につながったと考えられた。

HBSは小腸内に大量出血することで、貧血や腸閉塞を起こし甚急性に経過する乳用牛の疾病で、*Aspergillus fumigatus*や*Clostridium perfringens*の関与が示唆されているが、不明な点も多い。今回経験した症例では、血清中のKとClの値が低下していた。これは腸閉塞で見られる所見で、Clが低下すると陽陰イオンのバランスをとるCl⁻・HCO₃⁻移動により重炭酸イオンが増加しアルカローシスとなる[5]。本症例の解剖所見では、小腸内に血餅が充満し、腸閉塞が疑われた。また、iCa割合が本調査で最低であり、体液pHが上昇していたと考えられた。これらのことがiCa値の低下につながり、血液凝固への影響や一般状態の悪化などの要因となっていたと考えられた。

今回使用したコンパクト型測定器では、検査時の血液検体の適温は20-25℃とされており、それは、血液検体の温度の高低により血液中の二酸化炭素溶解度が増減するた

めである[12]。検体温30℃以上の時はpHが上昇しiCa値が約0.1mM下がり、検体温15℃以下になるとpHが低下しiCa値が約0.3-0.4mM上昇するとされる。また、検査機器や標準液と血液検体の温度差を抑える必要があるため、冬季に屋外などで使用する際の温度管理方法や測定値の考察することが、今後の課題として検討が必要と考えられた。

- [1] 加藤敏英：獣医輸液研究会会誌. 2004. 4(1), 1-4
- [2] 鈴木一由ら：臨床獣医38巻第4号, 24-30, 2020
- [3] N.Okura et.al: Journal of Dairy Science Vol.87, No.8, 2004
- [4] 水谷尚：臨床獣医第39巻第3号, 56-60, 2021
- [5] 水谷尚：臨床獣医第39巻第4号, 58-61, 2021
- [6] 山岸則夫：産業動物臨床医誌2(2)：64-69, 2011
- [7] 石井三都夫：酪農家を楽にする牛のためのお産Book, 154-162
- [8] 恩田賢ら：家畜診療64巻1号, 5-14
- [9] Goff J.P.: Vet J, 176(1), 50-57, 2008
- [10] 水谷尚：臨床獣医第40巻第2号, 58-61, 2022
- [11] 水谷尚：臨床獣医第38巻第11号, 48-52, 2020
- [12] 佐藤礼一郎ら：家畜診療60巻12号, 719-727, 2013
- [13] 内海理伽：ReadoutNo.53 October, 2019