

1 4. 管内豚飼養農場におけるレプトスピラ症の血清学的調査

県西家畜保健衛生所

○大芦 隆広 水野 博明

石井 正人 菊池 理之

レプトスピラ症は病原性レプトスピラ (*Leptospira interrogans* 等) の感染による人獣共通感染症 (以下, ズーノーシス) であり, ヒトでは感染症予防法の 4 類感染症に指定され, 感冒様症状を示す軽症型から腎不全を伴う重症型まで様々な臨床症状を示す公衆衛生上重要な疾病である。レプトスピラは感染宿主域が極めて広く, 家畜においては平成 10 年度から, 家畜伝染病予防法で監視伝染病に指定され Pomona, Canicola, Icterohaemorrhagiae, Grippotyphosa, Hardjo, Autumnalis, Australis の 7 つの血清型による感染症の届出義務が牛, 水牛, しか, 豚, いのしし及び犬に定められている。

本症はどの動物種においても不顕性感染が多いが, 豚では発熱, 抑うつ, 黄疸, 痙攣がみられることがあり, 妊娠豚では時に感染後 2~4 週後に早流産や虚弱児の娩出が起こる^{6, 7)}。

2001 年から 2004 年に実施された全国的な健康豚の血清学的調査で, 当県において Australis, Icterohaemorrhagiae, Pomona 等の血清型に対する抗体が検出されている^{1, 2)}。

また, 当所では過去に管内の乳牛と馬の血清を用いてレプトスピラ症の浸潤状況を調査した。その結果, 牛では Autumnalis と Hebdomadis のいずれかまたは両方に陽性を示したものが 15%, 馬では Icterohaemorrhagiae, Canicola, Autumnalis, Hebdomadis の 4 種類の血清型のいずれかに抗体陽性を示したものが 53.7%であった^{3, 4)}。

そこで今回, これまで血清学的調査を実施していなかった豚のレプトスピラ症の浸潤状況を把握するため, 調査を実施したのでその概要を報告する。

管内の浸潤状況調査

1 材料及び方法

(1) 検査材料

平成 25 年 4 月から平成 26 年 3 月にかけて採取した 3,437 頭の繁殖母豚の血清のうち, 管内の特定の地域に偏らないように抽出した 5 市 1 町の 20 農場から, なるべく産歴が偏らないように選別した各農場 10 頭, 計 200 頭の血清を検査材料とした。対象豚の産歴は聞き取りにより調査した (表 1)。

(2) 抗体検査

使用抗原は国内調査で高陽性率であった *L.autumnalis* Akiyami A 株,

L.australis Ballico 株, *L.bratislava* Jez Bratislava 株, *L.canicola* Hond Utrecht IV 株の 4 種類及び国内での陽性率は低いものの世界的に広く分布している *L.pomona* Pomona 株の計 5 種類を使用し, 顕微鏡凝集反応法 (Microscopic Agglutination Test : 以下, MAT) で実施した。陽性限界値は「レプトスピラ防疫指針 (WHO, 1982)」に基づき 100 倍とした。

2 結果

対象とした 200 頭のうち, C 市に所在する C-3 農場 (以下, 陽性農場) の 1 頭 (産歴 1 産) のみが *L.pomona* Pomona 株に対して抗体価が 200 倍 (陽性率 0.5%) であった。その他は, 検査を実施した 5 種類全ての血清型に陰性であった (表 2)。この抗体陽性豚 (以下, 陽性豚) は, 平成 24 年 8 月に導入された純粋種の繁殖母豚であった。

追跡調査

感染場所の特定と現在の浸潤状況を調査するため, 陽性農場と当該陽性豚の導入元の農場 (以下, 導入元農場) の追跡調査を行った。

1 材料と方法

(1) 検査材料

ア 陽性農場

平成 25 年 11 月と平成 26 年 10 月に日齢のステージ毎に採取した子豚計 50 頭, 及び抗体陽性豚と同時に同じ農場から導入された繁殖母豚 1 頭の合計 51 頭の血清を検査材料とした (表 3)。

イ 導入元農場

平成 26 年 11 月に採取した抗体陽性豚の親 (雄, 雌各 1 頭) 及びこれら 2 頭と同一の豚舎で飼育されている育成豚 31 頭の計 33 頭の血清を検査材料とした (表 4)。

(2) 抗体検査

追跡調査の抗体検査では, 使用抗原は浸潤状況調査で陽性が確認された *L.pomona* Pomona 株 1 種類とし, 浸潤状況調査と同様 MAT を実施した。

2 結果

陽性農場及び導入元農場の全ての検体が *L.pomona* Pomona 株に陰性であった (表 5, 6)。

考察

レプトスピラは 16 菌種に分類され, さらに 250 以上の血清型に分けられるが, 豚のレプトスピラ症で重要な血清型は Pomona, Canicola, Bratislava, Icterohaemorrhagiae 等であり, 特に Pomona は豚と密接な関係にあり世界的に最も広く分布すると言われ, 流死産の主要な原因菌とされる。全国の健康

豚におけるレプトスピラ症の浸潤状況は、1960年の家畜衛生試験場の家畜のレプトスピラ病に関する研究で *Icterohaemorrhagiae*, *Canicola*, *Autumnalis*, *Hebdomadis*, *Australis*, *Pomona* の6血清型について調査が行われており、3,060頭のうち334頭（陽性率10.9%）がいずれかの血清型に陽性であったと報告されている⁵⁾。また、足立らが2001年から2004年に行った調査では、県内で *Australis*, *Icterohaemorrhagiae*, *Pomona* 等の血清型に対する抗体が検出されている^{1, 2)}。

当所では健康豚の血清学的調査は実施しておらず、また、管内養豚場から血尿を排泄している豚がいるとの相談が寄せられたことから、今回管内の豚飼養農場20戸200頭のレプトスピラ浸潤状況を調査したところ、*Autumnalis*, *Australis*, *Bratislava*, *Canicola* の4つの血清型には陽性がなく、調査対象とした農場での浸潤はほぼ認められなかった。一方、*Pomona* では1検体のみが陽性（抗体価200倍）であった。陽性となった検体以外はスクリーニングの段階である25倍希釈の血清でも凝集を示さなかったこと、抗体価がレプトスピラ防疫指針に基づく陽性限界値の100倍よりも高く、検査を2回実施し同じ結果が得られたこと、加えて、陽性農場及び導入元農場ではレプトスピラ症のワクチン接種は実施していないことから、この抗体陽性例は野外感染によるものと判断した。管内には平成26年2月現在で168の豚飼養農場があり、13,270頭の繁殖豚が飼養されている。今回対象とした20農場は管内の全豚飼養農場数の約12%、200頭は管内の繁殖豚全飼養頭数の約1.5%にあたる。そして、これらの対象農場の所在地は5市1町と管内の広範囲にわたり、また、飼養規模についても繁殖母豚の飼養頭数で20頭前後から約800頭と平均的水準であったことから、当所管内の豚飼養農場は、これまでの報告に比べレプトスピラの浸潤は少ないと推察された。

陽性農場の追跡調査において、陽性豚と同時に導入された繁殖母豚は抗体陰性であった。一方、陽性豚の血清は平成25年4月に採取したものであったが、それから7か月後の同年11月及び1年5か月後の平成26年10月に採取した子豚の血清からも抗体は認められず、農場内で感染の広がりはなかったと思われた。レプトスピラは通常保菌動物の尿中に排出されて農場や水を汚染するが、当該農場ではこまめな清掃や消毒を徹底していたことが、感染が広がらなかった要因の一つと推察された。

さらに、陽性豚の導入元農場について追跡調査を実施した。陽性豚の親である繁殖母豚と種雄豚、及びこれらの繁殖豚と同一豚舎で飼育されていた育成豚の血清からも抗体は認められなかった。血清中のレプトスピラの抗体は、感染後3～5日後から検出され、おおむね、数週間から数か月持続するとの報告がある^{1, 2)}。今回、追跡調査のために導入元農場の検体を採取したのは平成26年11月であり、陽性豚を出荷してから約2年3か月が経過して、抗

体が消失していた可能性もあり，陽性豚出荷当時の導入元農場の汚染状況を確認することは出来なかった。しかし，追跡調査の結果から，導入元農場においても平成26年11月現在，レプトスピラの浸潤はないものと推察された。

豚のレプトスピラ症は時に早流産を起こし経済的損失の原因となるうえ，公衆衛生上も見逃ごすことの出来ない疾病であるが，臨床的に特徴的な症状を呈さないために現場では見過ごされやすいことから，血清学的調査でレプトスピラの浸潤状況を把握しておくことは重要である。今回実施した管内の豚飼養農場のレプトスピラ浸潤状況調査では，これまでの報告とは異なり本病の浸潤はほぼ認められなかった。このことは飼養衛生管理基準の遵守徹底指導などを通じ，養豚農家の衛生意識向上が進んだことも今回の調査結果の一因と思われた。

陽性農場からの聞き取りによると，陽性豚は産子数が少なく，受胎率も低かったことから早期に淘汰したとのことであった。陽性農場でのレプトスピラ症との因果関係は今回の調査では不明であったが，レプトスピラによる異常産胎児の腎から本病の特異遺伝子が検出された例も報告されている⁶⁾ことから，農場の立入検査の際には農場の繁殖成績等についても確実に聞き取り調査をおこない，原因不明の繁殖障害がある際は，レプトスピラの関与を疑って尿の抗原検索を実施する必要がある。

稿を終えるにあたり，顕微鏡凝集反応法を実施していただいた酪農学園大学の菊池直哉教授に深謝する。

参考文献

- 1) 足立義数ら：繁殖豚群でみられるレプトスピラ菌による流早産の防除，食肉に関する助成研究調査成果報告書（21），73－78，2003年
- 2) 足立義数ら：繁殖豚群でみられるレプトスピラ菌による早流産の摘発と防除，食肉に関する助成研究調査成果報告書（22），79－84，2004年
- 3) 蓮田安信ら：乳牛のレプトスピラ症抗体調査，第41回家畜保健衛生業績発表会，55－60，2000年
- 4) 蓮田安信ら：馬のレプトスピラ症抗体調査，第45回家畜保健衛生業績発表会，47－53，2004年
- 5) 家畜衛生試験場：家畜のレプトスピラ病の疫学的調査，農林水産技術会議事務局，5－34，1960年
- 6) 菊池直哉：豚のレプトスピラ症の現状と対策，豚病会報（50），1－6，2007年
- 7) 菊池直哉：牛のレプトスピラ症，動物の感染症，122－123，2011年

表 1 浸潤状況調査対象農場と対象豚の産歴別頭数

(単位:頭)

農場所在地(市町名) 農場名	A市			B市					C市		
	A-1	A-2	A-3	B-1	B-2	B-3	B-4	B-5	C-1	C-2	
採材日※	4/24	5/31	H26 1/22	5/29	6/4	10/1	10/25	10/30	4/22	4/23	
母豚飼養規模	70	100	125	280	350	20	128	506	200	300	
対象豚の産歴(産次)											
0~2			4	3	3			3	3	3	
3~5			3	3	4	3	4	4	3		
6~			3	4	3			3	3	4	
産歴不明	10	10					7				10

農場所在地(市町名) 農場名	C市			D市		E市			F町	
	C-3	C-4	C-5	D-1	D-2	E-1	E-2	F-1	F-2	F-3
採材日※	4/30	6/5	11/18	6/14	10/9	4/15	5/7	4/12	4/19	5/13
母豚飼養規模	300	43	334	50	380	341	780	110	140	89
対象豚の産歴(産次)										
0~2	3	3	3	5	3	3	3	3	3	
3~5	4	4	5	5	3	4	3	4	4	
6~	3	3	2			4	3	4	3	
産歴不明										10

※A-3農場以外は平成25年に採材

表 2 浸潤状況調査結果

血清型		Autumnalis		Australis		Pomona		Bratislava		Canicola	
農場名	検査頭数	陽性	陰性	陽性	陰性	陽性	陰性	陽性	陰性	陽性	陰性
F-1	10	0	10	0	10	0	10	0	10	0	10
E-1	10	0	10	0	10	0	10	0	10	0	10
F-2	10	0	10	0	10	0	10	0	10	0	10
C-1	10	0	10	0	10	0	10	0	10	0	10
C-2	10	0	10	0	10	0	10	0	10	0	10
A-1	10	0	10	0	10	0	10	0	10	0	10
C-3	10	0	10	0	10	1	9	0	10	0	10
E-2	10	0	10	0	10	0	10	0	10	0	10
F-3	10	0	10	0	10	0	10	0	10	0	10
B-1	10	0	10	0	10	0	10	0	10	0	10
A-2	10	0	10	0	10	0	10	0	10	0	10
B-2	10	0	10	0	10	0	10	0	10	0	10
C-4	10	0	10	0	10	0	10	0	10	0	10
D-1	10	0	10	0	10	0	10	0	10	0	10
B-3	10	0	10	0	10	0	10	0	10	0	10
D-2	10	0	10	0	10	0	10	0	10	0	10
B-4	10	0	10	0	10	0	10	0	10	0	10
B-5	10	0	10	0	10	0	10	0	10	0	10
C-5	10	0	10	0	10	0	10	0	10	0	10
A-3	10	0	10	0	10	0	10	0	10	0	10
計	200	0	200	0	200	1	199	0	200	0	200

表 3 陽性農場の追跡調査頭数

採材日	H25.4.30	H25.11.22		H26.10.7	
	陽性豚と同時に導入した豚	日齢(日)	頭数(頭)	日齢(日)	頭数(頭)
	1	30		45	
		60		75	
		90	各5頭	100	各5頭
		120		120	
		150		150	

表 4 導入元農場の追跡調査頭数

繁殖豚		育成豚	
雌雄	頭数	生年	頭数
繁殖豚♂※	1	H24	2
繁殖豚♀※	1	H25	3
		H26	26

※浸潤状況調査での陽性豚の親

表 5 陽性農場の追跡調査結果

		検査頭数	陽性	陰性
陽性豚と同時に導入した豚		1	0	1
子豚	H25.11.22採材	25	0	25
子豚	H26.10.7採材	25	0	25
計		51	0	51

表 6 導入元農場の追跡調査結果

		検査頭数	陽性	陰性
繁殖豚♂		1	0	1
繁殖豚♀		1	0	1
育成豚	H24生	2	0	2
育成豚	H25生	3	0	3
育成豚	H26生	26	0	26
計		33	0	51

15. 豚の肺における *Mycoplasma hyorhinis* 及び *M. hyopneumoniae* 保有状況調査

県北家畜保健衛生所

○田邊 ひとみ 大谷 芳子
小貫 登輝夫

Mycoplasma hyorhinis (以下, Mhr) は正常豚の鼻腔内に 30~60%の割合で存在しており, 子豚に関節炎や多発性漿膜炎を引き起こすが, 肺炎の惹起性については見解が分かれている。また, 豚マイコプラズマ肺炎は, *M. hyopneumoniae* (以下, Mhp) が気管支上皮細胞の表面に付着, 増殖することで, 繊毛運動の低下, 喪失を起こすことにより引き起こる呼吸器疾病で, 特徴的な肉眼所見や病理組織所見から病理検査のみで診断可能な疾病である。

平成 24 年に本県で Mhr が関与するマイコプラズマ肺炎事例を報告したが, それまで本県では豚マイコプラズマ病は病理組織所見のみで診断しており, マイコプラズマの検出を実施していなかったため, 豚の肺におけるマイコプラズマ保有状況は不明であった。このため, 過去の病性鑑定事例について Mhr 及び Mhp 保有状況調査を実施したので, その概要を報告する。

材料及び方法

1 Mhr 及び Mhp 保有状況調査

平成 23 年度から 25 年度に病性鑑定を実施し, -80°C で保存してあった豚の肺 247 検体の 10% 乳剤について, インスタジーン (BioRad 製) で DNA を抽出し, Mhr 及び Mhp それぞれに特異的な PCR 法を実施し, 肺病変の有無, 日齢及び豚マイコプラズマ病について, Mhr 及び Mhp の保有率を比較した。

また, 肺に病変を引き起こす疾病で, 病性鑑定で診断の多い豚繁殖・呼吸障害症候群 (以下, PRRS), 豚サーコウイルス関連疾病 (以下, PCVAD), 豚パストツレラ症及び豚胸膜肺炎 (以下, APP) と Mhr 及び Mhp の保有率について, カイ二乗検定で比較し, $P < 0.05$ を有意とした。

なお, 病性鑑定については, 病理組織学的, ウイルス学的, 細菌学的及び生化学的検査を常法のとおり実施し, 診断は病性鑑定マニュアルに準じて実施した。

2 PCR 法と培養法との比較

検出感度の比較のため, 無作為に抽出した 90 検体についてはムチン培地で 5% CO_2 培養 (以下, 直接培養) を実施し, さらに MG-broth により 10^{-2} 及び 10^{-3} 倍で培養した (以下, 液体培養)。

3 薬剤感受性試験

今回培養により分離された Mhr 及び病性鑑定において分離された Mhr 計 37 株

について、MG-broth で微量液体希釈法を実施した。基準株として BTS7 株を使用した。供試薬剤はチアムリン（以下、TML）、チルミコシン（以下、TMS）、タイロシン（以下、TS）、ツラシロマイシン（以下、TM）、オキシテトラサイクリン（以下、OTC）、エンロフロキサシン（以下、ERFX）及びオルビフロキサシン（以下、OBFX）とした。

結果

1 Mhr 及び Mhp 保有状況調査

PCR 法の結果、247 検体中 Mhr は 57 検体（23.1%）、Mhp は 49 検体（19.8%）陽性であった。このうち、病理組織学的検査で肺に何らかの病変が見られたものは 149 検体あり、Mhr は 55 検体（36.9%）、Mhp は 47 検体（31.5%）陽性で、このうち 19 検体（12.8%）は Mhr、Mhp 共に陽性であった。一方、肺に病変のなかった検体は 98 検体あり、Mhr は 2 検体（2.0%）、Mhp は 2 検体（2.0%）陽性であった。

肺に病変があったものを日齢別に分けると、Mhr 及び Mhp それぞれ、30 日齢未満が 3 検体（16.7%）、0 検体、30 日齢以上 60 日齢未満が 28 検体（52.8%）、5 検体（9.4%）、60 日齢以上 90 日齢未満が 15 検体（48.4%）、13 検体（41.9%）、90 日齢以上 120 日齢未満が 5 検体（22.7%）、11 検体（50.0%）、120 日齢以上が 4 検体（16.0%）、18 検体（72.0%）であった（表 1）。Mhr は 30 日齢から 90 日齢にかけて保有率が高く、一方、Mhp の保有率は日齢が大きくなるほど高かった（図 1）。病理組織学的検査で、豚マイコプラズマ病と診断されたものは 32 検体あり、そのうち 21 検体（65.6%）から Mhr、15 検体（46.8%）から Mhp が検出され、どちらも検出されたものは 6 検体（18.8%）、どちらも検出されなかったものは 2 検体（6.2%）であった。また、日齢別に分けたものを図 2 に示した。

また、肺に病変のあった 149 検体のうち、病性鑑定で PRRS、PCVAD、豚パストツレラ症及び APP と診断されたものは、それぞれ 44、34、22 及び 29 検体あり、それぞれの Mhr 及び Mhp 検出率は表 2 のとおりとなった。また、それぞれが診断された日齢（図 3）と検出率を比較すると、若齢に発生する傾向が高い、PRRS 及び PCVAD では Mhp よりも Mhr の検出率が有意（ $P < 0.05$ ）に高く、肥育期での発生が多い APP では Mhr よりも Mhp の検出率が有意（ $P < 0.05$ ）に高かった。また、ステージと相関がなく発生する豚パストツレラ症に関してはどちらも同等に検出された。

2 PCR 法と培養法（直接培養及び液体培養）との比較

PCR 法及び培養法のいずれかの検査で Mhr が検出された検体は 90 検体中 37 検体あり、この内訳は、3 つの検査法すべてで検出されたものが 18 検体、液体培養及び直接培養で検出されたものが 3 検体、液体培養及び PCR 法で検出されたもの

が1検体、液体培養のみで検出されたものが14検体、PCR法のみで検出されたものが1検体であった(表1)。検査法ごとにまとめると、液体培養では36検体、直接培養では21検体、PCR法では20検体で検出された。また、液体培養で検出されたもののうち、 10^2 CCU/mlが6検体、 10^3 CCU/ml以上が30検体であったが、他の2つの検査法でも検出されている検体については、液体培養では 10^3 CCU/ml以上であった。

3 薬剤感受性試験(表4)

最小発育阻止濃度は、TMLが0.063~0.5 μ g/ml、TMSが0.5~32 μ g/ml及び128 μ g/ml以上、TSが0.5 μ g/ml以下及び128 μ g/ml以上、TMが0.5~8 μ g/ml及び128 μ g/ml以上、OTCが1~8 μ g/ml、ERFXが1~4 μ g/ml、OBFXが1~8 μ g/mlに分布した。6株がTMS、TS及びTMに耐性を示した。

考察

豚のマイコプラズマ肺炎は、重要な慢性呼吸器病のひとつで、致死率は低いが、発育の遅延及び飼料効率の低下などにより経済的損失を与える疾病である。一方、Mhrは他の病原体により鼻粘膜や肺の上皮細胞が損傷を受けると、血流に入り込み、漿膜炎や関節炎を引き起こすといわれているが、肺炎惹起性については見解が分かれている。しかし、近年では、台湾やデンマークで豚の呼吸器複合感染で、Mhrも関与しているとの報告^{1, 2)}やPRRSによる肺炎の重篤化に関与するという報告^{3, 4)}がされている。

今回の調査ではMhr、Mhp共に正常な肺ではほとんど検出されず、病変のある肺での検出率が高かったことから、肺に病変を引き起こす病原体による炎症反応や免疫抑制作用に付随して、鼻腔内から肺へと到達するのではないかと考えられた。

MhrとMhpの保有日齢は異なり、Mhrは30~60日齢のステージが最も高く、それ以降、保有率が低下傾向にあることに対して、Mhpはステージが大きくなるほど保有率が高いため、日齢が大きくなるにつれてMhrからMhpへ移行することが示された。

また、肺に病変のあるものについて、Mhpのみでなく、Mhrも高率に検出されており、肥育期で発生の多いAPPではMhpの検出率がMhrに比べて高かったものの、若齢豚で発症する傾向の高いPRRSやPCVADではMhrが高率に検出された。特にPRRSにおいては、75%という高い割合でMhrが検出されたため、PRRSとMhrが関連することが示唆されたが、今回の調査では、Mhrが病変形成に関与するかは不明であった。しかし、Kawashimaらの報告³⁾にあるように、MhrがPRRSの重篤化に関与している可能性もあるため、農場での対策としてMhrも視野に入れていく必要があると考えられた。例えば、PRRSで重篤な被害が出ている農場

で高率に Mhr が検出される場合、通常の PRRS 対策を実施することは当然であるが、並行して感受性薬剤を投与することにより、PRRS による被害を抑えられる可能性が考えられる。このため、PRRS の病性鑑定では、マイコプラズマ検査も併用し、Mhr 保有状況を確認することは有用であると考えられる。

しかし、薬剤感受性試験では TML には高感受性を示すものの、マクロライド系の抗菌薬は耐性と感受性の二峰性を示しているため、抗生剤の使用には注意が必要である。従って、今後は、マイコプラズマの薬剤感受性試験も実施できるように整備する必要があると考えられた。

検査方法としては、液体培養が最も感度が良く 10^2 CCU/ml で検出可能だったが、一方、直接培養と PCR 法の感度はほぼ同等で、 10^3 CCU/ml 以上必要であるということが分かった。通常、病性鑑定における細菌検査は、寒天培地での培養を実施しているため、マイコプラズマ検査においても同様に寒天培地での培養を実施することが理想であるが、Mhr については今回の調査で PCR 法と同等の感度であったため、直接培養の代わりに PCR 法でも対応できる。従って、今後のマイコプラズマ検査では、主に PCR 法を実施するとともに、必要に応じて液体培養を実施し、マイコプラズマの保有状況についてデータを蓄積して農場の衛生対策に活かしていきたい。

稿を終えるにあたり、Mhr の培養の実施及びご助言を頂いた（独）農業・食品産業技術研究機構動物衛生研究所動物疾病対策センター生物学的製剤製造グループ品質管理課、小林秀樹先生に深謝致します。

参考文献

- 1)J.H.Lin et al., *Mycoplasma hyorhinis* in Taiwan: Diagnosis and isolation of swine pneumonia pathogen, *Veterinary Microbiology*, 115, 111-116, 2006
- 2)M.S.Hansen et al., An investigation of the pathology and pathogens associated with porcine respiratory disease complex in Denmark, *J. comp. path*, 143, 120-131, 2010
- 3)Kawashima et al., Detection of porcine reproductive and respiratory syndrome virus and *Mycoplasma hyorhinis* antigens in pulmonary lesions of pigs suffering from respiratory distress. *J Comp Pathol*, 114(3): 315-23, 1996
- 4)Kobayashi et al., *Mycoplasma hyorhinis* infection levels in lungs of piglets with porcine reproductive and respiratory syndrome (PRRS), *J Vet Med Sci*, 58(2): 109-13, 1996

表 1 Mhr 及び Mhp の保有状況

	実施 検体数	Mhr 検体 (%)	Mhp 検体 (%)	Mhr & Mhp 検体 (%)
肺病変あり	149	55 (36.9)	47 (31.5)	19 (12.8)
肺病変なし	98	2 (2.0)	2 (2.0)	0 (0.0)
計	247	57 (23.1)	49 (19.8)	19 (7.7)

表 2 Mhr 及び Mhp 検出検体数 (日齢別)

	実施 検体数	Mhr 検体 (%)	Mhp 検体 (%)	Mhr & Mhp 検体 (%)
30 日齢未満	18	3 (16.7)	0 (0.0)	0 (0.0)
30~60 日齢	53	28 (52.8)	5 (9.4)	5 (9.4)
60~90 日齢	31	15 (48.4)	13 (41.9)	6 (19.4)
90~120 日齢	22	5 (22.7)	11 (50.0)	5 (22.7)
120 日齢以上	25	4 (16.0)	18 (72.0)	3 (12.0)

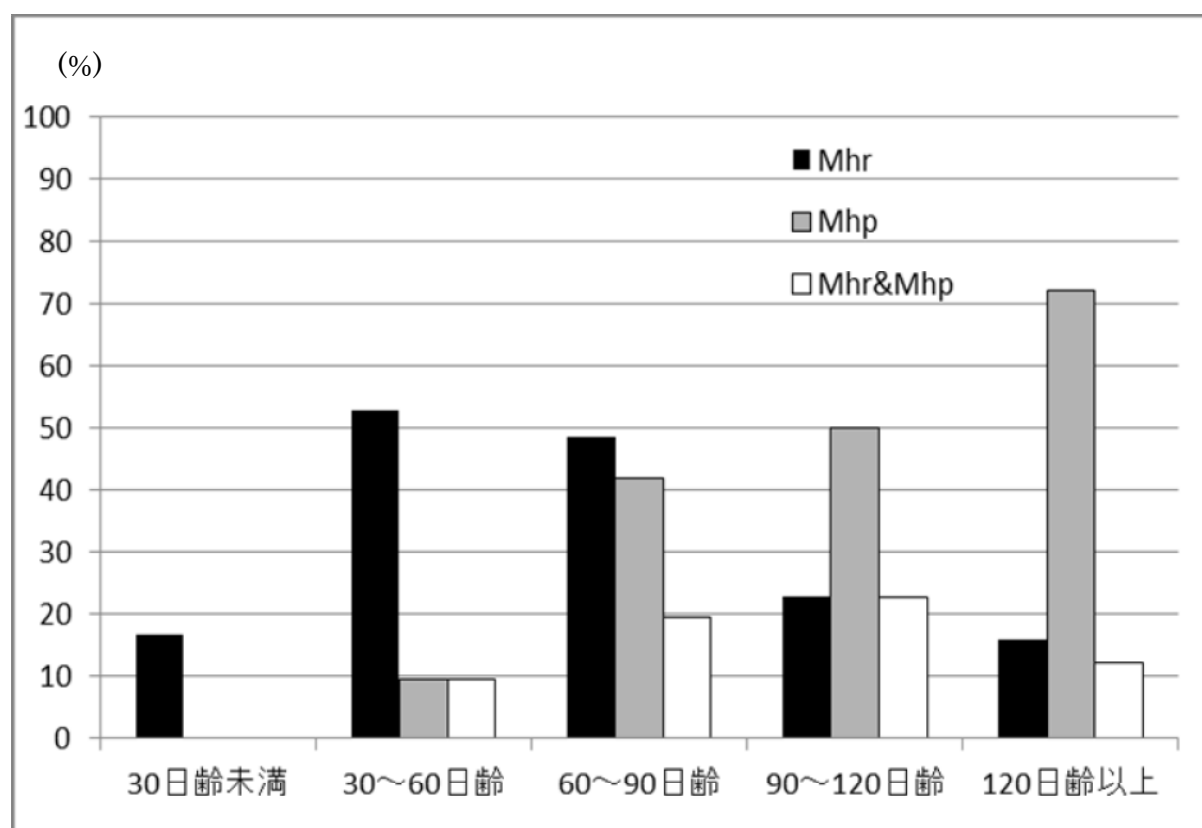


図 1 Mhr 及び Mhp 検出率 (日齢別)

表 3 豚マイコプラズマ病の Mhr 及び Mhp 保有状況

診断 検体数	Mhr 検体 (%)	Mhp 検体 (%)	Mhr & Mhp 検体 (%)	検出されず 検体 (%)
32	21 (65.6)	15 (46.8)	6 (18.8)	2 (6.2)

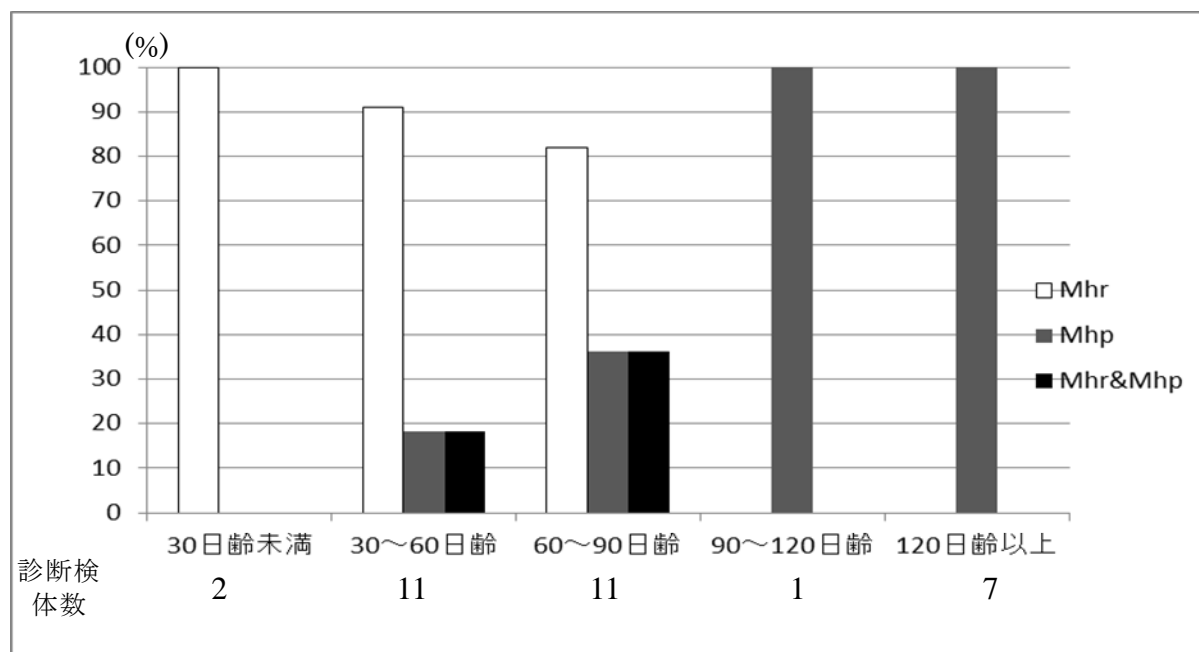


図 2 豚マイコプラズマ病における Mhr 及び Mhp 検出状況 (日齢別)

表 2 病性鑑定における診断疾病別の Mhr 及び Mhp 検出状況

	計	Mhr 検体 (%)	Mhp 検体 (%)	Mhr & Mhp 検体 (%)
PRRS	44	33 ^a (75.0)	16 ^b (36.4)	14 (31.8)
PCVAD	34	23 ^a (67.6)	14 ^b (41.2)	11 (32.4)
パステラ	22	11 (47.8)	11 (47.8)	7 (30.4)
APP	29	5 ^a (17.2)	13 ^b (44.8)	5 (17.2)

※ 異符号間に有意差あり(P<0.05)

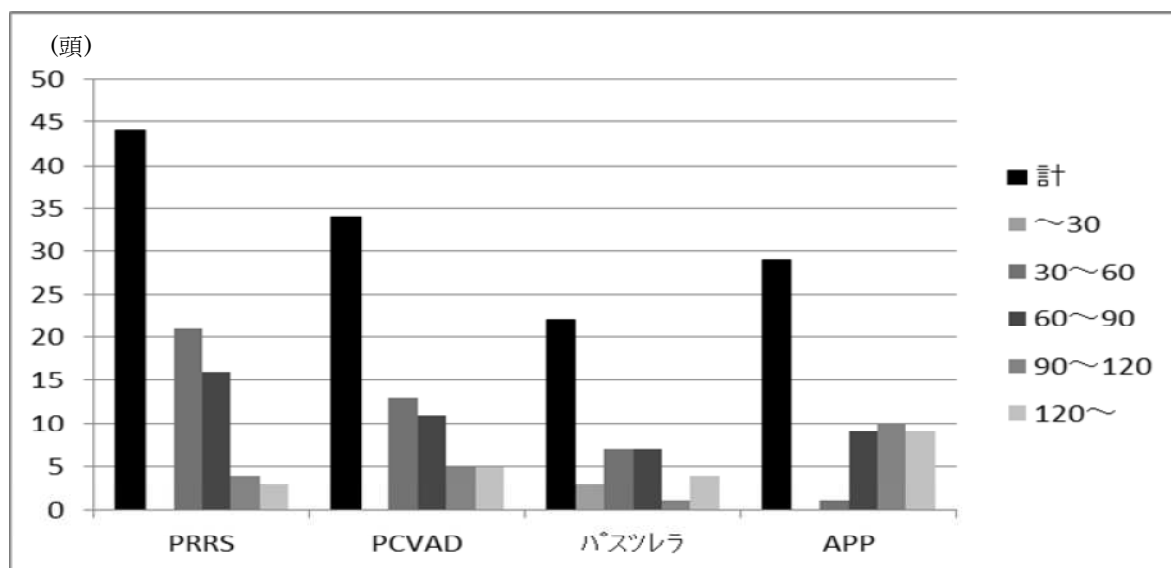


図3 病性鑑定における診断疾病（日齢別）

表3 検査法別の検出検体数

実施 検体数	陰性	液体培養 + 直接培養 + PCR法		液体培養 + 直接培養	液体培養 + PCR法	液体培養 のみ		PCR法 のみ
		10 ²	10 ³	10 ²	10 ³			
90	53	18	3	1	6	8	1	

表4 薬剤感受性試験結果

薬剤	(μg/ml)													
	>32	32	16	8	4	2	1	0.5	0.250	0.125	0.063	0.031	0.016	≧
TML								1	16	18★	2			
	>128	128	64	32	16	8	4	2	1	0.5	0.25	0.125	0.063	≧
TMS	6			1	1	2	9	16★	1	1				
TS	6									2	19	8★	2	
TM	2	4				1	1	6	20★	3				
	>64	64	32	16	8	4	2	1	0.5	0.25	0.125	0.063	0.031	≧
OTC					4	17	11	5	★					
ERFX						2	4	31★						
OBFX				1	1	17	18★							

★…BTS7株(基準株)
表中の数字は検体数

16. 管内の日本蜜蜂におけるアカリダニ寄生状況調査

県南家畜保健衛生所

○木村 将士 新海 桐子
植木 美登里 栗山 伸人

アカリダニ症はアカリダニ (*Acarapis woodi*) が蜜蜂成虫の気管に寄生することにより起こる疾病で、届出伝染病に指定されている。多くは無症状であるが、重度寄生により飛翔不能、呼吸困難、蜂数減少を引き起こす。

本症は平成 21 年度の農林水産技術会議の調査において初めて国内への浸潤が明らかになり、関東を中心に全国的に発生が報告され、蜂群崩壊症候群の要因の一つとしても注目されている。

平成 25 年、管内の日本蜜蜂において県内初となる 2 件のアカリダニ症を確認したことを受け、管内の日本蜜蜂でのアカリダニ寄生状況を調査したのでその概要を報告する。

管内の蜜蜂飼養状況

当所が把握している管内の蜜蜂飼養状況は、平成 26 年 6 月時点で管内 14 市町村中 9 市町村、59 戸 1,065 群で、うち日本蜜蜂は 7 市町村、14 戸 35 群で、主に趣味として飼養されている。

材料と方法

平成 25 年 3 月、管内 A 市にて a の飼養する 4 群のうち 1 群において徘徊、衰弱、蜂数減少などの症状を呈して全滅し、別の 1 群において巣門付近を徘徊する衰弱蜂及び死亡蜂が認められるとの連絡があり、臨床症状が認められた 1 群について病性鑑定を実施した。また、同年 11 月、管内 A 市にて b の飼養する 8 群のうち 2 群において、巣門付近を徘徊する衰弱蜂及び蜂数減少が認められるとの連絡があり、臨床症状が認められた 2 群及びその周囲の 2 群の計 4 群について病性鑑定を実施した。この結果は前年度に報告済みであるが今回の寄生状況調査に使用した。

平成 26 年 3 月～5 月、協力が得られた管内日本蜜蜂飼養者 5 戸において、1 戸あたり 1 群～4 群、計 11 群の寄生状況調査を実施した。

検査に供する蜂は捕獲器を用いて、巣門付近にいる蜂を 1 群あたり 30 匹程度採材した。捕獲器は市販の充電式小型掃除機に三角コーナーのネット、消毒用エタノールの空容器を加工したものを取り付け製作した (写真 1)。

剖検手順については国際獣疫事務局 (OIE) のアカリダニ症診断マニュアル

⁵⁾を参考にし、以下のとおり実施した。

蜂を仰臥位の状態でシャーレに固定し、実体顕微鏡下でピンセットを用い頭部と前脚を除去した。次いで頸部周囲のカラーと呼ばれる部位を除去し、気管を露出した（写真 2）。アカリダニの虫体及び虫卵の存在を確認するために気管を摘出し、顕微鏡下で鏡検を行った。気管の状態を確認した後、カバーガラスを軽く押し動かすことで気管を破壊し、アカリダニ虫体及び虫卵を観察した。

「逐次標本抽出法」に基づき群が高寄生率か、低寄生率かの判定を行った⁴⁾（表 1）。この方法での低寄生率は寄生率が 10%以下に相当し、高寄生率は寄生率 30%以上に相当する。剖検数は群の寄生率により変動する。剖検を進めていきながら、表 1 と照らし合わせ、検体数ごとに陽性蜂の数が高寄生率と判定できる数以上であれば高寄生率と判定、低寄生率と判定できる数以下であれば低寄生率と判定、陽性蜂の数がいずれの条件も満たさなければ検査を継続した。例えば蜂の剖検を進めて行き、3 匹剖検した時点でダニ寄生が蜂 3 匹で認められれば高寄生率とし、3 匹に満たなければ剖検を継続した。17 匹剖検した時点でダニ寄生が蜂 5 匹以上で認められれば高寄生率、蜂 1 匹のみにしか認められなければ低寄生率と判定し、蜂 2～4 匹で認められれば剖検を継続した。寄生が認められなければ検査を継続し、30 匹検査し寄生が認められなければ陰性と判定した。なお、低寄生率を高寄生率と判定するリスクは 10%、高寄生率を低寄生率と判定するリスクは 5%である。

成績

平成 25 年に病性鑑定を実施した 2 戸 5 群（飼養者 a が 1 群、飼養者 b が 4 群）の全てにおいて気管の変色が認められ、気管内にアカリダニ虫体及び虫卵が確認された（写真 2, 3, 4, 表 2）。そのうち 2 戸 4 群（1 戸 1 群、1 戸 3 群）でアカリダニが高寄生率となり、2 戸 3 群（1 戸 1 群、1 戸 2 群）でさらに徘徊、衰弱、蜂数減少などの臨床症状が認められた。高寄生率群では蜂 3～6 匹を剖検し 3 匹で寄生が認められ、低寄生率群では 17 匹剖検し 1 匹で寄生が認められた。

平成 26 年に寄生状況調査を実施した 5 戸 11 群のうち、3 戸 7 群（1 戸 3 群、1 戸 3 群、1 戸 1 群）において気管の変色、気管内にアカリダニ虫体及び虫卵が確認された。そのうち 3 戸 6 群（1 戸 2 群、1 戸 3 群、1 戸 1 群）でアカリダニが高寄生率となり、2 戸 3 群（1 戸 2 群、1 戸 1 群）で徘徊、衰弱、蜂数減少などの臨床症状が認められた。高寄生率群では蜂 3～12 匹を剖検し 3～4 匹で寄生が認められ、低寄生率群では蜂 17 匹剖検し 1 匹で寄生が認められた。陰性群では蜂 30 匹剖検し寄生が認められなかった。

以上をまとめると、平成 25 年及び 26 年に日本蜜蜂が飼養されている管内 7 市町村のうち 6 市町村 7 戸 16 群で検査を実施し、4 市町村 5 戸 12 群でアカリダニ

ニ寄生群が確認された。陽性 12 群のうち低寄生率で臨床症状が認められなかったのは 2 群で、高寄生率で臨床症状が認められたのは 6 群、高寄生率にもかかわらず臨床症状が認められなかったのは 4 群であった。

考察

アカリダニは *Acarapis* 属のダニであり、蜂の気管内に寄生し、気管を傷害し、養分として血液リンパを摂取する。蜂に対する影響としてはダニ虫体及び虫卵が気管に詰まることで呼吸困難、飛翔能力の低下、巣門前で徘徊するなどの異常が確認されるようになる。また気管を傷害することで病原体への寄生を起し、寿命短縮、蜂数減少も引き起こす。冬季の蜂の巣ごもりの結果寄生率が高くなるため、寄生状況調査についても冬～早春にかけて行うことが望ましいとされる。平成 25 年、飼養蜂に臨床症状が認められ、病性鑑定依頼があった時期も 11 月～3 月であり、平成 26 年の寄生状況調査も 3～5 月に実施した。

アカリダニの寄生により、群が越冬できずに全滅する確率が上がるとされている²⁾。このことから蜂のアカリダニ寄生率を把握し、早期発見して隔離や保温などの対策を取ることは、群を存続させるためにも重要だと思われる。しかしながら寄生率を把握するための検査には 30 匹～50 匹の蜂が必要となり、生きた蜂を必要量捕獲するのは容易なことではない。そこで生きた蜂を捕獲するために、掃除機を利用した捕獲機を考案したところ、掃除機の吸引力で巣門を出入りする蜂を安全で迅速に、容器に集めることができた。さらに容器を交換することで他の群も捕獲することができ、一度に多くの群を捕獲することができるようになった。

今回使用した逐次標本抽出法は群の寄生率により剖検数が変わる。今回実際に剖検した数は、高寄生率と判定した群は 3～12 匹、低寄生率と判定した群は 16, 17 匹、陰性と判定した群は 30 匹となった。1 検体あたりの剖検時間を 5 分とすれば、30 匹剖検するのに 2 時間半程要するが、抽出法を用いれば高寄生率群の場合早ければ 3 匹、15 分程度で診断が可能となり大幅な時間短縮となった。

国内におけるアカリダニの浸潤状況は日本蜜蜂群の 10.5%であるとの報告がある³⁾。今回、検査した群は飼養者の協力が得られた群のみというサンプリングに偏りがあったものの、全国より高い 71.4%の浸潤率となった。また、4 市町村においてアカリダニ寄生群が確認されており、多くが野生群由来の日本蜜蜂であったことから、アカリダニが管内に広く浸潤していることが推測された。

検査した 7 戸 16 群のうち、5 戸 12 群で寄生が確認され、徘徊、衰弱、蜂数減少などの臨床症状が認められたが、高寄生率にもかかわらず 4 群で臨床症状が認められなかった。アカリダニは蜂群崩壊症候群の一因と考えられているが、今回の結果から、飼養者が臨床症状に気づく前に蜂群がアカリダニに感染し、越

冬時に寄生率が重度になることで、アカリダニあるいはアカリダニが媒介するとされるウイルス病により急激な蜂数減少、全滅を引き起こすことが考えられた。

アカリダニ寄生群への対策として、黒い巣箱や日当たりの良い場所に巣箱を配置するなどの保温の他に、メントール¹⁾やダニ剤投与で一定の効果があったと報告されている。平成25年発生の管内飼養者1戸について、他の機関がメントール治療を行ったところ、寄生率の低下が確認されており、当所でも検討していきたいと考えている。

さらに、冬季のアカリダニ症発症に対する注意喚起として、管内養蜂家全戸に11月末、寄生状況調査の結果周知も兼ねたリーフレットを配布した。今後も管内の飼養者に対して、法定伝染病である腐蛆病、届出伝染病であるアカリダニ症やノゼマ病などについて積極的に情報提供を行い、蜜蜂疾病の発生予防及びまん延防止に努めていきたい。

引用

- 1) Delaplane, K. S et al, Controlling tracheal mites (Acari: Tarsonemidae) in colonies of honey bees (Hymenoptera: Apidae) with vegetable oil and menthol, *Journal of Economic Entomology*, 85: 2118-2124, 1992
- 2) GARD W. OTIS et al, Effect of *Acarapis woodi* on Overwintered Colonies of Honey Bees (Hymenoptera: Apidae) in New York, *Journal of Economic Entomology*, 85 (1): 40-46, 1992
- 3) Kojima Y. et al, Infestation of Japanese native honey bees by tracheal mite and virus from non-native European honey bees in Japan, *Microbial Ecology*, 62, 895-906, 2011
- 4) MARYANN T et al, A Sequential Sampling Scheme for Detecting Infestation Levels of Tracheal Mites (Heterostigmata: Tarsonemidae) in Honey Bee (Hymenoptera: Apidae) Colonies, *Journal of Economic Entomology*, 93 (3), 551-558, 2000
- 5) OIE, Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals, ACARAPISOSIS OF HONEY BEES, OIE Terrestrial Manual, 388-394, 2008



写真1 蜜蜂捕獲機

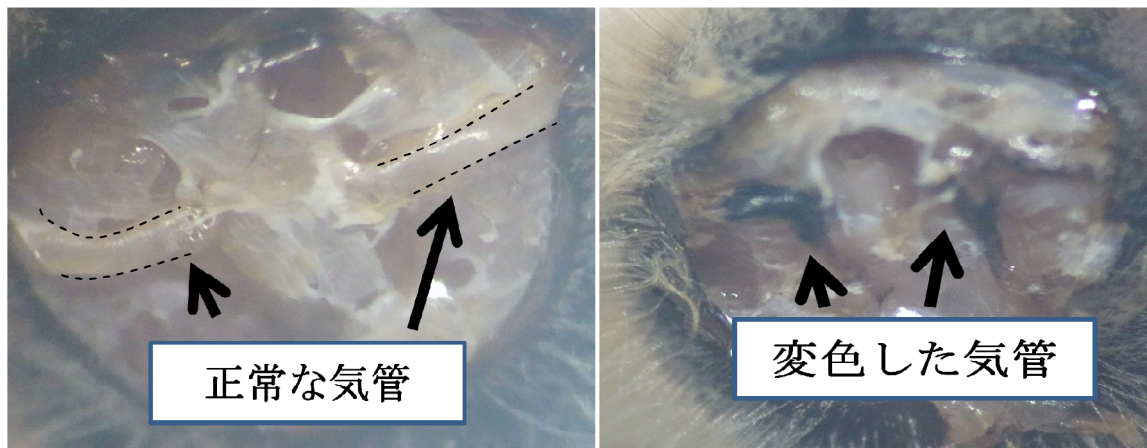


写真2 蜜蜂の頭部と前脚及びカラーを除去し、気管を露出させた断面
(左：正常，右：アカリダニ寄生)

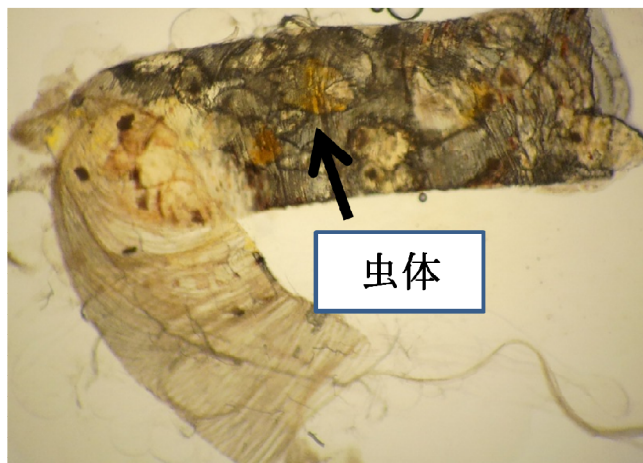


写真3 気管に寄生したダニ (×100)

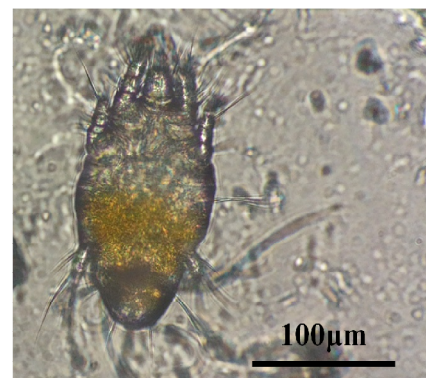


写真4 ダニ虫体の拡大像 (×200)

表1 逐次標本抽出法

(modified from Frazier et al.,2000);Calderone and Shimanuki 1992

検体数	陽性蜂の数			検体数	陽性蜂の数		
	低寄生率	高寄生率	検査継続		低寄生率	高寄生率	検査継続
1	-	-	0,1	26	2	7	3,4,5,6
2	-	-	0,1,2	27	2	7	3,4,5,6
3	-	3	0,1,2	28	3	7	4,5,6
4	-	3	0,1,2	29	3	8	4,5,6,7
5	-	3	0,1,2	30	3	8	4,5,6,7
6	-	3	0,1,2	31	3	8	4,5,6,7
7	-	3	0,1,2	32	3	8	4,5,6,7
8	-	4	0,1,2,3	33	4	8	5,6,7
9	-	4	0,1,2,3	34	4	8	5,6,7,8
10	-	4	0,1,2,3	35	4	9	5,6,7,8
11	-	4	0,1,2,3	36	4	9	5,6,7,8
12	0	4	1,2,3	37	4	9	5,6,7,8
13	0	5	1,2,3,4	38	4	9	5,6,7,8
14	0	5	1,2,3,4	39	5	9	6,7,8
15	0	5	1,2,3,4	40	5	10	6,7,8,9
16	0	5	1,2,3,4	41	5	10	6,7,8,9
17	1	5	2,3,4	42	5	10	6,7,8,9
18	1	6	2,3,4,5	43	5	10	6,7,8,9
19	1	6	2,3,4,5	44	6	10	7,8,9
20	1	6	2,3,4,5	45	6	11	7,8,9,10
21	1	6	2,3,4,5	46	6	11	7,8,9,10
22	1	6	2,3,4,5	47	6	11	7,8,9,10
23	2	6	3,4,5	48	6	11	7,8,9,10
24	2	7	3,4,5,6	49	6	11	7,8,9,10
25	2	7	3,4,5,6	50	7	11	8,9,10

表2 検査結果

検査分類	市町村	飼養者	群No.	検査数(匹)	陽性数(匹)	寄生	寄生率	臨床症状
H25年発生	A市	飼養者a	1	3	3	+	高	徘徊, 衰弱, 蜂数減少
			1	3	3	+	高	徘徊, 衰弱, 蜂数減少
H25年発生	A市	飼養者b	2	4	3	+	高	徘徊, 衰弱
			3	6	3	+	高	異常なし
			4	17	1	+	低	異常なし
H26寄生状況調査	B市	飼養者c	1	4	3	+	高	徘徊, 衰弱, 蜂数減少
			2	4	3	+	高	徘徊, 衰弱, 蜂数減少
			3	17	1	+	低	異常なし
H26寄生状況調査	C町	飼養者d	1	6	3	+	高	異常なし
			2	3	3	+	高	異常なし
			3	12	4	+	高	異常なし
H26寄生状況調査	D市	飼養者e	4	30	0	-	-	異常なし
			1	30	0	-	-	徘徊
H26寄生状況調査	E市	飼養者f	1	30	0	-	-	異常なし
			2	30	0	-	-	異常なし
H26寄生状況調査	F市	飼養者g	1	4	3	+	高	徘徊, 衰弱, 蜂数減少

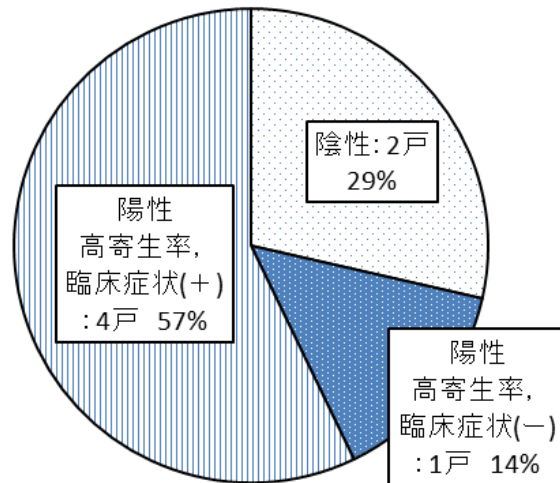


図 1 検査全戸における寄生及び症状の有無 (7 戸)

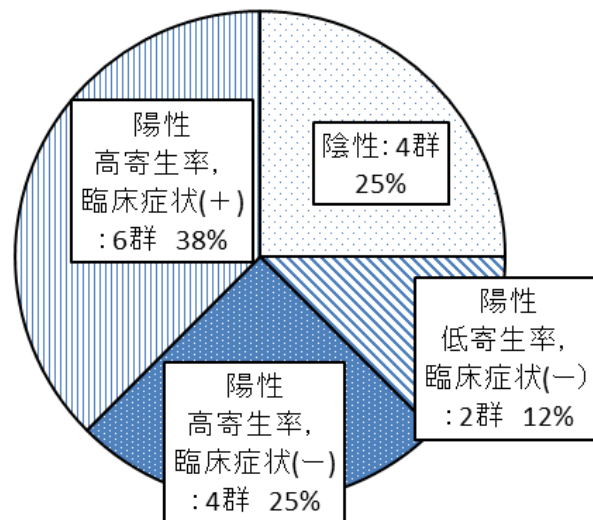


図 2 検査全群における寄生及び症状の有無 (16 群)