

141 流行性脳炎（馬）（日本脳炎）〔法〕

担当	検 査 チ ャ ー ト
家畜保健衛生所	<pre> graph TD A1["(1) 疫学調査"] --> J1 A2["(2) 臨床検査"] --> J1 J1 -- "(死亡馬)" --> A3["(3) 剖検"] J1 --> A4["(4) 血液検査"] A4 -- "(血清)" --> A5["(5) 抗体検査"] A5 -- "(血清)" --> R5_1["(+/-)"] A4 -- "(血清)" --> A6["(6) PCR"] A4 -- "(中枢神経組織、脊髄液)" --> A6 A3 -- "(中枢神経組織、脊髄液)" --> A6 A3 --> A9["(9) 病理組織検査"] A6 -- "(血清)" --> A7["(7) ウイルス培養試験"] A6 -- "(中枢神経組織、脊髄液)" --> A8["(8) 動物接種試験"] A7 -- "(培養細胞接種試験)" --> R7_1["(+/-)"] A8 --> R8_1["(+/-)"] A9 --> R9_1["(+/-)"] R5_1 --> R1_1["(+/-)"] R7_1 --> R1_1 R8_1 --> R1_1 R9_1 --> R1_1 </pre>
病性鑑定施設	(+), (-) results for each test step.
判定・結果	(+), (-) results for each test step.
最終判定	最終判定は、抗体検査とウイルス培養試験またはPCRを実施し総合的に判定する。
その他	ウエストナイルウイルス感染症はウエストナイルウイルス防疫マニュアルに従う。

→類似疾病検査

- ① ボルナ病 ② 146 破傷風 ③ 脳脊髄糸状虫症 ④ 海4 狂犬病 ⑤ 152 馬ゲタウイルス病
⑥ 148 馬鼻肺炎 ⑦ 海3 流行性脳炎(ウエストナイルウイルス感染症)

○ 病原体: 日本脳炎ウイルス; Japanese encephalitis virus [*Japanese encephalitis virus*, *Flavivirus*, *Flaviviridae*]

(1) 疫学調査

- ① 発生時期が夏から秋に限定
② 非流行地からの導入馬に発生
③ 幼齢馬、老齢馬に好発

同定: 培養液の HA の確認および免疫血清による
HI 試験(HA 反応時の pH に注意)

(2) 臨床検査

- ① 発熱
② 一般症状の悪化
③ 神経症状(沈うつ、狂騒、麻痺、昏睡)
④ 呼吸促迫、心拍の不正促迫

(8) 動物接種試験

材料: 脳

方法: 乳のみマウス(生後2~4日)の脳内に接種

成績: 接種マウスの異常確認(神経症状)

(症状が明確でないものは盲継代または組織
培養)

同定: ガチョウ、初生ひなの赤血球に対する HA の
確認

既知免疫血清による同定

RT-PCR 検査による同定

(3) 剖 検

- ① 脳、脊髄の軟膜、脈絡叢の浮腫、血管の拡張、
充血、髄液の増量
② 脳軟膜下の微細出血
③ 脳実質の充出血、水腫

(9) 病理組織検査

- ① 脳、脊髄における充出血、神経膠細胞のび漫
性結節性増殖、囲管性細胞浸潤
② 非化膿性脳脊髄病変は灰白質に主座。神経細
胞の変性、壊死

(4) 血液検査

一過性の白血球の減少

(5) 抗体検査(HI反応、補体結合反応、ELISA)

ペア血清について実施

(備考)

牛、豚、めん羊・山羊にも感受性がある。豚では異
常産がみられる。

(6) P C R ^{1), 2)}

血清、中枢神経組織または脊髄液より RNA を抽
出し、RT-PCR を実施

その他:

(注意)

感染症法の四種病原体であるため、取扱い、保管
には注意すること。

(7) ウイルス培養試験(培養細胞接種試験)

使用細胞: Vero または C6/36 細胞

接種材料: 中枢神経組織、血清

培養方法: 37℃ (Vero) または 28℃ (C6/36) で静
置培養

成績: CPE の確認(CPE の出現しないものは盲継
代)

(参考文献)

- 1) Chung, Y., et al.: Am. J. Trop. Med. Hyg. 55, 91-97 (1996).
- 2) 小野哲朗ら: 病原体検出マニュアル. 国立感染症研究所 (2013).
http://www.nih.go.jp/niid/images/lab-manual/JP_Encephalitis.pdf

142 炭 疽（馬）〔法〕

担当	検 査 チ ャ ー ト
家畜保健衛生所	(1) 疫学調査 (2) 臨床検査 (死亡馬) → (3) 簡易細菌検査 (3) 簡易細菌検査 → (4) 剖 検 (3) 簡易細菌検査 → (5) アスコリー反応 (4) 剖 検 → (5) アスコリー反応 (5) アスコリー反応 → (6) 細菌培養試験 (8) 動物接種試験 → (6) 細菌培養試験 (6) 細菌培養試験 → (7) 細菌性状分析 (7) 細菌性状分析 → (+) (7) 細菌性状分析 → (-) (+) → (+) (-) → (-)
病性鑑定施設	(5) アスコリー反応 (8) 動物接種試験 (6) 細菌培養試験 (7) 細菌性状分析 (+) (-)
判定・結果	(+) (-)
最終判定	病原体検出判定(アスコリー反応および細菌培養試験)で(+)となった場合は本病とする。
その他	- 直接鏡検で炭疽が疑われる場合、剖検は周辺への汚染防止のため、必要最小限にとどめる。 - 類似疾病を疑う場合でも疫学調査、臨床検査、簡易細菌検査、アスコリー反応は必ず実施する。 - アスコリー反応が陽性で有莢膜桿菌の検出を見た場合は、本病の疑似患畜として適切なまん延防止措置を迅速に実施するとともに、引き続きその後の病性鑑定を速やかに行う必要がある(家畜防疫対策要領(平成11年4月12日付け11畜A第467号農林水産省畜産局長通知))。 - 炭疽菌は感染症法において二種病原体等に指定されており、同法の規制の対象となる。

→類似疾病検査

- ① 183 鉛中毒 ② 疝痛

○ 病原体: *Bacillus anthracis*

(1) 疫学調査

- ① 予防接種(炭疽)を受けていない。
- ② 過去に周辺地域で炭疽の発生があった。
- ③ 最近畜舎内外の土砂を移動した。
- ④ 経過が甚急性または急性である。
- ⑤ 施設内または周辺での家畜の急死例があった。
- ⑥ 創傷の有無
- ⑦ 同居家畜の臨床検査(発熱、血便、粘膜チアノーゼ)

(2) 臨床検査

- ① 肛門、鼻孔等の天然孔からの出血および血液の凝固不全
- ② 急死

(3) 簡易細菌検査(直接鏡検)

末梢血、頸静脈血、脾臓の直接塗抹標本のレビエーゲル染色、ギムザ染色またはメチレンブルー染色により、2～3 個連鎖した無芽胞、大型竹節状有莢膜の桿菌を確認する(直接鏡検は採材後速やかに実施する。)

(4) 剖 検

直接鏡検で炭疽が疑われる場合、剖検は周辺への汚染防止のため、必要最小限にとどめる。

- ① 血液の凝固不全
- ② 脾臓は腫大し、脾髄は暗赤色タール状
- ③ 全身性多発性の出血
- ④ 結合組織の水腫

(5) アスコリー反応

材料: 末梢血、頸静脈血、あるいは脾臓乳剤(5～10 倍)で抗原を作製する(菌数が少ない場合、炭疽であっても陰性となる。一方、腐敗進行の著しい検体では非特異反応が希に出る。)

(6) 細菌培養試験(分離培養)

- ① 血液および脾臓を普通寒天培地を用いて 37℃ で 24 時間分離培養を行う。
- ② 縮毛状、辺縁ラフの集落を形成する。

(7) 細菌性状分析

分離菌の性状

- ① グラム染色(+) 大桿菌、運動性(－)、溶血性(－)
- ② パールテスト(+) (ペニシリン耐性が希にあり)
- ③ ファージテスト(+)
- ④ PCR (pXO1 および pXO2 プラスミド) (+)^{1), 2)}

(8) 動物接種試験

腐敗進行が著しい材料について実施する。

材料: 血液および脾臓の乳剤を1 検体2 匹以上に行う。なお、腐敗した検体については加熱(70℃15 分)した材料を用いる。

方法: マウスまたはモルモットの皮下あるいは筋肉内に 0.2～0.5ml ずつ接種する。

成績: 急性経過で死亡

同定: 死亡例の心血について分離培養を行う。

その他:

(注意)

炭疽菌は人獣共通感染症の病原体であるため、病的材料の取扱いは予防衣、手袋、マスク、ゴーグル等の個人防護具の装着および十分な封じ込め条件下で行う。

(参考文献)

・Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals, 7th ed. OIE (2012).

1) Beyer, W., et al.: Salisbury Med. Bull. 87, Special Suppl., 47-49 (1996).

2) Hutson, R.A., et al.: J. Appl. Bacteriol. 75, 463-472 (1993).

143 鼻 疽〔法〕

担当	検 査 チ ャ ー ト
家畜保健衛生所	(1) 疫学調査 (2) 臨床検査 (鑑定殺馬) → (3) 剖 検 (血清、鼻汁、膿瘍 および潰瘍部膿汁)
病性鑑定施設	(4) 細菌培養試験 <分離培養> (5) 細菌性状分析 (+) (-)
判定・結果	(専門機関へ依頼) (-)
最終判定	病原体検出判定(細菌培養試験・細菌性状分析)で(+)となった場合は最終的な菌種同定を専門機関に依頼し、鼻疽菌と同定された場合に本病とする。
その他	- 細菌検査に鑑定殺材料を使用する。 - 分離された菌の性状から本疾病であることが疑われる場合、最終的な菌種同定は動物衛生研究所等の専門機関へ依頼する。 - 鼻疽菌は感染症法の三種病原体等に指定されており、同法の規制の対象となる。

→類似疾病検査

145 類鼻疽

○ 病原体: *Burkholderia mallei*

(1) 疫学調査

- ① 非常在地へ侵入した場合、急性の経過をとる。
- ② 馬、ラクダ、ロバ、ラバ、狼、犬、野生動物が感染(人獣共通感染症)。牛、めん羊、豚は抵抗性
- ③ 東南アジア、アフリカ、南米で発生
- ④ 感染した動物の気道、皮膚からの分泌物を介して、動物間および動物から人への経口、経鼻、創傷直接感染がある。

(2) 臨床検査

(急性型)

- ① 発熱
- ② 貧血、黄疸、浮腫、鼻漏
- ③ 鼻腔の鼻疽性結節、潰瘍
- ④ 皮膚の念珠状索腫、化膿、潰瘍
- ⑤ 体表リンパ節の腫脹
- ⑥ 通常 2 週間～1 ヶ月以内に死亡

(慢性型)

- ① 特徴的な症状はない。
- ① 長期にわたり発症と回復を繰り返す。

(3) 剖 検

菌分離のための材料採取は、解剖施設内の汚染を防ぐため、切開など必要最小限にとどめる。

- ① 血清
- ② 鼻汁
- ③ 膿瘍および潰瘍部膿汁

検査材料の送付には、感染性危険物の搬送に適した密閉した容器を用いること。

(4) 細菌培養試験(分離培養)

菌分離には、3%グリセリン寒天培地(pH6.0)あるいは0.5%馬血液加寒天培地を用いる。

(5) 細菌性状分析

(分離菌の性状)

菌 種	運動性	42℃での発育	マツコンキ―寒天での発育	オキシダーゼ	寒天での発育	シモンズクエン酸塩	KCN培地での発育	カゼイン加水分解
<i>B. mallei</i>	—	—	—	—	—	—	—	—
<i>B. pseudomallei</i>	+	+	+	+	+	+	+	+

その他:

(マレイン反応)

- ① 眼瞼皮内接種反応
- ② 点眼反応
- ③ 皮下接種反応

マレイン反応に用いる抗原は、我が国では入手できない。

(動物接種試験)

雄のモルモットの腹腔内に菌を接種すると、3～4日以内に精巣炎を起こす(Straus 反応)。

(抗体検査)

- ① 補体結合反応
- ② ELISA 反応
- ③ ローゼベンガル平板凝集反応

抗体検査に用いるいずれの抗原も我が国では市販されていない。

(注意)

鼻疽菌は人獣共通感染症の病原体であり、病的材料の取扱いは予防衣、手袋、マスク、ゴーグル等の個人防護および十分な封じ込め条件下で行う。

(参考文献)

- Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals, 7th ed. OIE (2012).
- 堀野敦子: 病原体検出マニュアル. 国立感染症研究所 (2011).
<http://www.nih.go.jp/niid/images/lab-manual/bmallei-2.pdf>

144 馬伝染性貧血〔法〕

担当	検 査 チ ャ ー ト
家畜保健衛生所	(1) 疫学調査 (2) 臨床検査 (4) 血液検査 ↓ (5) 抗体検査 <寒天ゲル内沈降反応> (+) ↓ (5) 抗体検査 <寒天ゲル内沈降反応> (+) (±) (-) (±) ↓ 再検査 ↓ (5) 抗体検査 <寒天ゲル内沈降反応> (+) (±) (-) (-) ↓ (5) 抗体検査 <寒天ゲル内沈降反応> (+) (±) (-)
病性鑑定施設	(3) 剖検 (+) ↓ 判定結果 (+) (±) ↓ 判定結果 (+) (-) ↓ 判定結果 (-) (-) ↓ 判定結果 (-) (-) ↓ 判定結果 (-) (-) ↓ 判定結果 (-)
判定・結果	(+) ↓ 判定結果 (+) (+) ↓ 判定結果 (+) (-) ↓ 判定結果 (-) (-) ↓ 判定結果 (-) (-) ↓ 判定結果 (-) (-) ↓ 判定結果 (-)
最終判定	(6) 病理組織検査 (+) ↓ 判定結果 (+) (-) ↓ 判定結果 (-)
その他	1. 再検査は検査日から15日～25日までの間に実施する。また、この場合には当該馬の馬血清2倍、4倍、8倍希釈血清について検査を行い、判定は希釈血清ごとに行うこと 2. 馬伝染性貧血ウイルスは、家畜伝染病予防法において届出伝染病等病原体に規定されており、その基準に従って使用、保管、運搬等を行うこと。

→類似疾病検査

- ① 海7 馬ピロプラズマ病 ② 海15 馬ウイルス性動脈炎 ③ 海13 トリパノソーマ病
- ④ 海8 アフリカ馬疫

○ 病原体:馬伝染性貧血ウイルス;Equine infectious anemia virus [*Equine infectious anemia virus*,
Lentivirus, *Retroviridae*]

(1) 疫学調査

- ① 過去に本病の発生があった。
- ② 過去に本病の発生があった農家より導入した。
- ③ 発生農家の馬群と同一放牧地に放牧されていた。
- ④ 移動経歴が多い。
- ⑤ 周辺に本病の発生があった。

(2) 臨床検査

- ① 一般症状の悪化
- ② 発熱(回帰弛張熱)

(3) 剖 検

- ① 脾臓の腫大、脾臓の断面における脾髄の軟化または顆粒状隆起
- ② 肝臓の腫大、濃淡の紋理形成
- ③ リンパ節の腫大
- ④ 骨髄における赤色髄の増加

(4) 血液検査

赤血球および白血球の減少
担鉄細胞の出現

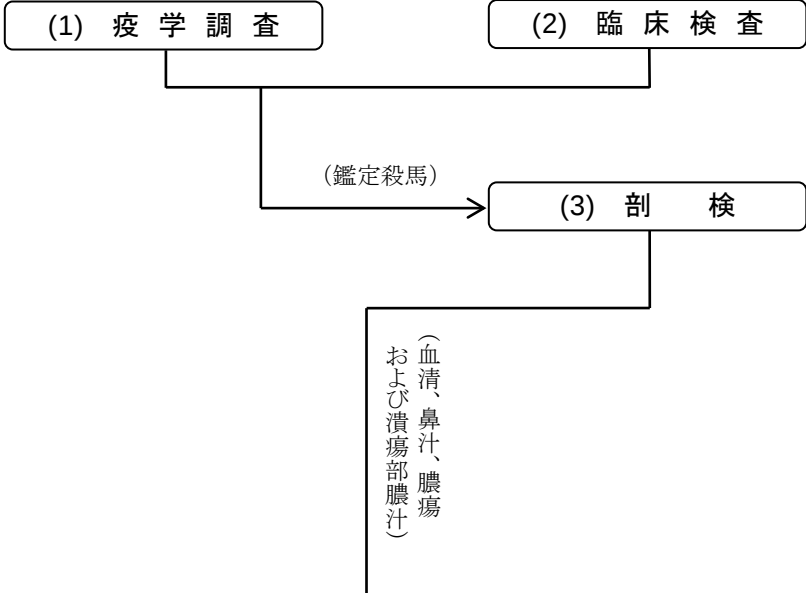
(5) 抗体検査(寒天ゲル内沈降反応)

家畜伝染病予防法施行規則(別表第一)参照

(6) 病理組織検査

- ① 肝臓のクッパー細胞の活性化とグリソン鞘における組織球、リンパ球の浸潤(亜急性型)
- ② 肝グリソン鞘のリンパ球の浸潤と小葉内多発性小結節形成(慢性型)
- ③ 多数の大食細胞とリンパ球の浸潤を伴った肝臓の小葉中心の崩壊(再燃型)
- ④ 脾臓の中心動脈周囲組織あるいは脾髄における好塩基性リンパ球あるいは小リンパ球の浸潤、網内系細胞の活性化
- ⑤ リンパ組織における、リンパ濾胞の萎縮、変性(発病初期)またはリンパ球の過形成
- ⑥ 骨髄における造血細胞の過形成

145 類 鼻 疽（馬・牛・豚・めん羊・山羊）〔届〕

担当	検 査 チ ャ ー ト
家畜保健衛生所	 <pre> graph TD A["(1) 疫学調査"] --- B["(2) 臨床検査"] A --- C["(3) 剖検"] B --- C C -- "(鑑定殺馬)" --> D["(3) 剖検"] D -- "(血清、鼻汁、膿瘍、および潰瘍部膿汁)" --> E["(4) 細菌培養試験"] E -- "<分離培養>" --> F["(5) 細菌性状分析"] F -- "(+)" --> G["(+)"] F -- "(-)" --> H["(-)"] G --> I["(専門機関へ依頼)"] H --> J["(-)"] </pre>
病性鑑定施設	
判定・結果	↓ (専門機関へ依頼) ↓ (－)
最終判定	病原体検出判定(細菌培養・性状分析)で(+)となった場合は、最終的な菌種同定を専門機関に依頼し、類鼻疽菌と同定された場合に本病とする。
その他	- 細菌検査に鑑定殺材料を使用する。 - 分離された菌の性状から本疾病であることが疑われる場合、最終的な菌種同定は動物衛生研究所等の専門機関へ依頼する。 - 類鼻疽菌は感染症法の三種病原体等に指定されており、同法の規制の対象となる。

→類似疾病検査

143 鼻疽

○ 病原体: *Burkholderia pseudomallei*

(1) 疫学調査

- ① 馬、めん羊、山羊、豚、牛、猿、犬、熱帯魚、野生動物が感染、希に人も感染(人獣共通感染症)
- ② 東南アジア、豪州で発生が多い。
- ③ 土壌中の常在菌
- ④ 土壌や水など汚染。環境から経皮・経口感染し、動物間の直接伝播はない。

(2) 臨床検査

- ① 発熱
- ② 肺炎
- ③ 膿性鼻汁、鼻腔粘膜の結節
- ④ 神経症状
- ⑤ 腸炎
- ⑥ 病変の出現部位や動物種により症状が異なる。

(3) 剖 検

菌分離のための材料採取は、解剖施設内の汚染を防ぐため、切開など必要最小限にとどめる。

- ① 腫脹したリンパ節部の膿瘍、潰瘍部、膿汁
- ② 鼻汁
- ③ 血清

検査材料の送付には、感染性危険物の搬送に適した密閉した容器を用いること。

(4) 細菌培養試験(分離培養)

血液寒天培地またはマッコンギー寒天培地によく発育し、3 日以上で皺のある乾燥コロニーとなる。

(5) 細菌性状分析

(分離菌の性状)

菌 種	運動性	42℃での発育	マッコンギー寒天での発育	オキシダーゼ	寒天での発育	シモンズクエン酸塩	発育	KCN培地での	カゼイン加水分解
<i>B. pseudomallei</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>B. mallei</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-

その他:

(動物接種試験)

雄のモルモットの腹腔内に菌を接種すると、3～4 日以内に精巣炎を起こす(Straus 反応)。

(抗体検査)

- ① 補体結合反応
- ② 間接血球凝集反応
- ③ 蛍光抗体法

いずれの検査試薬も我が国では市販されていない。

(注意)

類鼻疽菌は人獣共通感染症の病原体であり、病的材料の取扱いは予防衣、手袋、マスク、ゴーグル等の个人防护および十分な封じ込め条件下で行う。

(参考文献)

・Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals, 7th ed. OIE (2012).

・畠山 薫ら: 病原体検出マニュアル. 国立感染症研究所 (2011).

<http://www.nih.go.jp/niid/images/lab-manual/pseudomallei-2.pdf>

147 馬インフルエンザ〔届〕

担当	検 査 チ ャ ー ト
家畜保健衛生所	<pre> graph TD A["(1) 疫学調査"] --> D["(4) 血液検査"] A --> B["(2) 臨床検査"] B -- "(死亡馬、とう汰馬)" --> C["(3) 剖検"] B -.-> I["(9) 病理組織検査"] D -- "(ヘア血清)" --> F["(6) 抗体検査"] D -- "(鼻腔ぬぐい液、喉頭ぬぐい液)" --> E["(5) 簡易ウイルス検査"] D -.-> G["(肺、気管 滲出物)"] F -- "<HI 反応>" --> H1["(+)"] F -- "<HI 反応>" --> H2["(-)"] E -- "<イムノクロマト>" --> J["(7) PCR"] E -.-> I J --> K["(8) ウイルス培養試験"] K -- "<発育鶏卵接種試験>" --> L1["(+)"] K -- "<発育鶏卵接種試験>" --> L2["(-)"] I -.-> M1["(+)"] I -.-> M2["(-)"] H1 --> N1["(+)"] H2 --> N2["(-)"] L1 --> N3["(+)"] L2 --> N4["(-)"] M1 --> N3 M2 --> N4 </pre>
病性鑑定施設	(+) (−) (7) P C R (9) 病理組織検査 (+) (−) (8) ウイルス培養試験 (+) (−) (9) 病理組織検査
判定・結果	(+) (−) (7) P C R (9) 病理組織検査 (+) (−) (8) ウイルス培養試験 (+) (−) (9) 病理組織検査
最終判定	疫学調査、臨床検査の結果を基に、各種検査結果により総合的に判定する。
その他	1. PCRとウイルス培養試験については、少なくともいずれかの検査を実施する。 2. 馬インフルエンザウイルスは、家畜伝染病予防法において届出伝染病等病原体に規定されており、その基準に従って使用、保管、運搬等を行うこと。

→類似疾病検査

- ① 148 馬鼻肺炎 ② 馬ライノウイルス病 ③ 馬アデノウイルス病 ④ 海15 馬ウイルス性動脈炎
- ⑤ 154 腺疫

○ 病原体:A型インフルエンザウイルス;Influenza A virus [*Influenza A virus*, *Influenzavirus A*, *Orthomyxoviridae*]

(1) 疫学調査

- ① 伝播力が強く集団的に発生
- ② 周辺に本病の発生があった。
- ③ 最近、馬を移動・導入した。
- ④ 年間を通じて流行
- ⑤ 予防注射を受けていても発生することがある。

(2) 臨床検査

- ① 発咳(初期乾性のち湿性)
- ② 鼻汁漏出
- ③ 発熱
- ④ 一般症状の悪化
- ⑤ 羞明および流涙
- ⑥ 頸部リンパ節の腫脹

(3) 剖 検

- ① 鼻腔粘膜、咽喉頭および気管支のカタル〜び爛
- ② 希な急性死亡例では肺炎

(4) 血液検査

一過性の白血球の減少

(5) 簡易ウイルス検査(イムノクロマト)¹⁾

A型インフルエンザウイルス検出用キットを用いて
抗原検出

(6) 抗体検査(HI反応)

ペア血清について実施

(7) P C R ²⁾

鼻腔ぬぐい液からRNAを抽出し、RT-PCRを実施

(8) ウイルス培養試験(発育鶏卵接種試験)

接種材料:鼻腔・喉頭ぬぐい液、肺の乳剤、気管の
滲出物

方法:10〜12日発育鶏卵の尿膜腔内接種
(34〜36℃で2〜3日培養)

成績:尿膜腔液のHA検査によって判定
(陰性の場合は3〜5代盲継代)

同定:免疫血清によるHI試験(交差HI試験)、
RT-PCR

(9) 病理組織検査

- ① 鼻腔、咽喉頭、気管の粘膜のび爛
- ② 希な死亡例では、肺胞における硝子膜形成を
伴った壊死性気管支炎、気管支周囲炎

(参考文献)

- 1) Yamanaka, T., et al.: J. Vet. Med. Sci. 70, 189-192 (2008).
- 2) Newton, J.R., et al.: Vet. Rec. 158, 185-192 (2006).

148 馬 鼻 肺 炎〔届〕

担当	検 査 チ ャ ー ト
家畜保健衛生所	(1) 疫学調査 (2) 臨床検査 (死亡馬、とう汰馬、流死産胎子) → (3) 剖 検 (4) 血液検査 (ア)血清 ↓ (8) 抗体検査 (鼻腔ぬぐい液、血液) ↓ (5) 簡易ウイルス検査 (鼻粘膜、主要臓器、脳脊髄液) ↓ (3) 剖 検 <補体結合反応> <ELISA> ↓ (+)(-) <LAMP法> ↓ (6) 蛍光抗体検査 (7) 補体結合反応試験 (+)(-)
病性鑑定施設	<中和反応> ↓ (9) 抗体確認検査 (10) P C R (11) ウイルス培養試験 <培養細胞接種試験> (12) ウイルス型別 <制限酵素解析> (13) 病理組織検査 (+)(-) (+)(-) (+)(-) (+)(-) (+)(-) (+)(-)
判定・結果	(+)(+)(-)(+)(+)(-)(+)(-)
最終判定	最終判定は、抗体検査とウイルス培養試験またはPCRを実施し総合的に判定する。
その他	

→類似疾病検査

- ① 151 馬パラチフス ② 海15 馬ウイルス性動脈炎 ③ 147 馬インフルエンザ
④ 馬ライノウイルス病 ⑤ 馬アデノウイルス病 ⑥ 154 腺疫

○ 病原体:馬ヘルペスウイルス1型;Equid herpesvirus 1 [*Equid herpesvirus 1*, *Varicellovirus*, *Herpesviridae*]、馬ヘルペスウイルス4型;Equid herpesvirus 4 [*Equid herpesvirus 4*, *Varicellovirus*, *Herpesviridae*]

(1) 疫学調査

- ① 妊娠後期(特に9～11ヵ月齢)に流産が好発
② 秋から早春にかけ集団飼育されている育成馬に呼吸器病が流行
③ 冬季に競走馬群内に呼吸器病が流行
④ 最近の馬の移動、導入

馬ヘルペスウイルス1型

F 3: GGCATTTACGTGTGGTCCTT
B 3: TCGCGGGCATT TTTGTACC
FIP: GTCCAGCAACGGTGC GTTGTGGCAC
GCTCGTTAACAGT
BIP: CGAGCCTGAAGGGGGAAACTGGA
GCTGTGTGAAAGTAGC
LoopF: AGGTTGAGACGGTAACGCTG
LoopB: CACGTGCGTCGTCGCAA

(2) 臨床検査

- ① 突発的な流産
② 正常分娩で生まれた子馬も2～3日以内に死亡
③ 発熱
④ 漿液性から粘液性鼻汁の漏出
⑤ 鼻粘膜の充血
⑥ 一般症状の悪化
⑦ 顎下リンパ節の腫脹
⑧ 神経症状

馬ヘルペスウイルス4型

F 3: CAAGACGTAACAACGGGAGT
B 3: CGCAAGTAACGGCGATGA
FIP: CGCTCTCCGTTTCTTCCGACAAGC
CACCCAGGATTAGTCAA
BIP: TTACCCGGACGGCCTTCCAACGGGC
ATGTCCTCAACAA
LoopF: GCCTGCTACTCCGCATG
LoopB: AGCGTTGTATATGATGCATCCCCT

(3) 剖検(流産胎子)

- ① 全身臓器(特に肺、胸腺、皮下組織等)の充出血、水腫
② 胸水、腹水、心嚢水の増量
③ 肝臓、胎盤、胎膜の微小白斑

反応は63℃、40～60分間

(4) 血液検査

一過性の白血球の減少

(6) 蛍光抗体検査

蛍光抗体染色による抗原検出

(5) 簡易ウイルス検査(LAMP法^{1), 2)})

主要臓器、鼻腔ぬぐい液、末梢血単核球よりDNAを抽出し、以下の条件でLAMP法を実施

LAMP法用のプライマー(6種類)の塩基配列と反応条件は以下のとおりである。

(7) 補体結合反応試験

補体結合反応法による抗原検出

(8) 抗体検査(補体結合反応、ELISA)

補体結合反応またはELISA、ペア血清について実施

(9) 抗体確認検査(中和反応)

中和反応。ペア血清について実施

(10) P C R ³⁾

主要臓器、鼻腔ぬぐい液、末梢血単核球より
DNAを抽出し、PCRを実施

(11) ウイルス培養試験(培養細胞接種試験)

培養細胞:馬腎細胞、MDBK、うさぎ腎(RK13)細胞

接種材料:鼻腔ぬぐい液、末梢血単核球、胎子の
主要臓器

培養方法:37℃で回転または静置培養

成績:CPEの確認

同定:蛍光抗体染色による培養細胞中の特異蛍光
細胞の確認、交差中和試験、PCR

(12) ウイルス型別(制限酵素解析)^{4), 5)}

分離ウイルス DNA の制限酵素フラグメント解析

(13) 病理組織検査(流産胎子)

① 肺の充出血、水腫、斑状壊死

肺胸腔内への線維素の析出と気管支および肺
胞上皮細胞の壊死。気管支および肺胞上皮細胞
における好酸性核内封入体形成

② 肝臓の巣状壊死、壊死巣周辺の肝細胞の好酸
性核内封入体形成

③ 脾臓、リンパ節の小壊死巣と細網細胞における
好酸性核内封入体形成

(参考文献)

1) Nemoto, M., et al.: J. Vet. Diagn. Invest. 22,
30-36 (2010).

2) 小山ら: 日獣会誌. 64, 950-953 (2011).

3) Lawrence, G.L., et al.: J. Virol. Methods. 47,
59-72 (1994).

4) Sabine, M., et al.: Aus. Vet. J. 57, 148-149
(1981).

5) Studdert, M.J., et al.: Science 214, 562-564
(1981).

150 馬伝染性子宮炎〔届〕

担当	検 査 チ ャ ー ト
家畜保健衛生所	(1) 疫学調査 (2) 臨床検査 (ペア血清) ↓ ↓ ↓
病性鑑定施設	(3) 抗体検査 <間接血球凝集反応> <補体結合反応> (+) ↓ (-) ↓ P C R (+) ↓ (-) ↓ (4) 細菌培養試験 <分離培養> (5) スライド凝集試験 (6) 細菌性状分析 (+) ↓ 同 定 P C R ↓ (-) ↓
判定・結果	↓ (+) ↓ (-) ↓ (+) ↓ (-) ↓ (+) ↓ (-)
最終判定	PCRもしくは細菌培養試験のどちらかが陽性で馬伝染性子宮炎と判断する。抗体検査は非特異反応が認められるため、必ず他の検査結果と併せて判断する。
その他	PCRは、JRA総研栃木等の専門機関に依頼すること。

→類似疾病検査

- ① 他の細菌性子宮内膜炎 (β 溶血性レンサ球菌、大腸菌、緑膿菌、クレブシエラ) ② 151 馬パラチフス

○ 病原体: *Taylorella equigenitalis*

(1) 疫学調査

- ① 特定の交配種雄馬と関連
- ② 繁殖季節に多発
- ③ 繁殖雌馬は、感染後に保菌馬となることが多い
(種雄馬は非感染保菌馬となる。)
- ④ 受胎率の低下

(2) 臨床検査

- ① 交配後に子宮炎を発症
- ② 不受胎、発情間隔の短縮
- ③ 全身症状はない。

(3) 抗体検査(間接血球凝集反応、補体結合反応)

間接血球凝集反応¹⁾、補体結合反応²⁾を用いる。

(4) 細菌培養試験(分離培養)

- ① 雌馬は感染部位の子宮頸管および保菌部位の陰核窩と陰核洞から、また雄馬は保菌部位の尿道洞、包皮および尿道口から、それぞれスワブを採取し、OIE の推奨するユーゴンチョコレート寒天選択培地(5%チョコレート化馬血液および 5%馬溶血液加ユーゴン基礎寒天培地に、Iso Vitale X Enrichment 10 μ l/ml、トリメプリーム 1 μ g/ml、クリンダマイシン 5 μ g/ml、アンホテリシン B 5 μ g/ml を添加したもの)を用い 1 週間以上 37℃、10%炭酸ガス環境下で分離培養する。採材は 1 週間隔で 2~3 回実施する。
- ② 円形(直径 1~5mm)の辺縁平滑、灰白~茶褐色のメタリックな光沢ある集落を形成。ただし、分離培養時には集落形態の変異がしばしば起こる。

(5) スライド凝集試験

免疫血清とコロニーとを用いてスライド凝集反応を行い、1 分以内に凝集するものを陽性とする。

(6) 細菌性状分析

分離菌の性状

グラム染色(-)、球桿菌、炭酸ガス要求性(+)、オキシダーゼ(+)、カタラーゼ(+)、血液寒天培地(-)、好気培養での発育(-)

その他:

(PCR³⁾)

細菌培養試験と同じスワブ材料を用いた特異的 PCR 産物の検出により診断する。また、分離株の同定時にも利用可能である。

PCR は、JRA 総研栃木等の専門機関に依頼する。

(参考文献)

- 1) Eguchi, M., et al.: Vet. Microbiol. 18, 155-161 (1988).
- 2) Croxton-Smith, P., et al.: Vet. Rec. 103, 275-278 (1978).
- 3) Anzai, T., et al.: J. Vet. Med. Sci. 64, 999-1002 (2002).

151 馬パラチフス〔届〕

担当	検 査 チ ャ ー ト
家畜保健衛生所	(1) 疫学調査 (2) 臨床検査 (3) 剖 検 (死亡馬、流死産胎子) → (ペア血清) (4) 抗体検査 <急速凝集反応> <試験管凝集反応> <マイクロ凝集反応> (+) (-) (化膿巣、膿汁、精液、 胸骨骨髓液、悪露) (胃腸内容物、骨髓、 胎盤、主要臓器、 腸間膜根部の動脈瘤)
病性鑑定施設	(5) 細菌培養試験 <分離培養> (6) 細菌性状分析 (+) (-) (7) 血清型別 (+) (-) (8) 病理組織検査 (+) (-)
判定・結果	(+) (-) (+) (-) (-) (+) (-)
最終判定	細菌培養試験が陽性で馬パラチフスと診断する。病理組織検査では特徴的所見は乏しく、抗体検査では、他のO4群サルモネラの感染によっても検査が陽性になることがあるため、疫学調査並びに臨床検査の結果も併せて総合的に判断する
その他	<i>S. Abortusequi</i> 以外のサルモネラによる疾病については、牛のサルモネラ症に準じて検査する。

→類似疾病検査

- ① 148 馬鼻肺炎 ② 海15 馬ウイルス性動脈炎 ③ 150 馬伝染性子宮炎
④ 155 ロドコッカス・エクイ感染症 ⑤ 馬アクチノバチルス症

○ 病原体: *Salmonella* Abortusequi (*Salmonella enterica* subsp. *enterica* serovar Abortusequi)

(1) 疫学調査

- ① 妊娠後期(胎齢 5～10 ヲ月)の流行的流産
② 常在地からの導入馬またはそれに接触した馬から流産開始
③ 周期的に流行する傾向
④ 突発的な流産の発生
⑤ 産子は概して虚弱で、多くが死の転帰

(2) 臨床検査

- (子馬)
① 発病初期は稽留熱で、その後弛張熱に移行
② 臍帯炎、慢性下痢、関節炎を呈し起立不能になるものが多い。

(成馬)

- ① 日差の大きい不定熱型(弛張熱)が持続
② 妊娠馬は突発的な流産の後、2～3日間高熱が稽留し、悪露は不潔(帯黄白色)で悪臭
③ 化膿性腫脹は四肢関節、き甲部、胸前腋窩に多発し、熱感疼痛
④ 化膿巣は難治性で瘻管を形成し長期間排膿
⑤ 種雄馬は突然発熱し、精巣炎を起こし精液中に排菌

(3) 剖 検

(流死産胎子)

- ① 胎盤(脈絡膜)の充血、水腫あるいは灰白化。偽膜の付着
② 胎子では皮膚は不潔、混濁。肝臓および腎臓の腫大。胃、小腸の出血斑

(子馬)

- ① 死亡例では粘膜や漿膜における多発性出血などの敗血症所見
② 一般耐過例では関節腔内に多量の漿液、線維素浸出
③ 腸間膜根部の動脈瘤

(成馬)

- ① 雌馬では四肢関節、き甲部、胸前腋窩の化膿巣
② 種雄馬では精巣炎、精巣萎縮、陰嚢水腫、精巣上体炎

(4) 抗体検査(急速凝集反応、試験管凝集反応、マイクロ凝集反応)

- ① 急速凝集反応
② 試験管凝集反応
③ マイクロ凝集反応

菌体抗原を用いた抗体検査は、非特異反応により疑陽性に、また他のO4群サルモネラによる感染によっても検査結果が陽性になることがある。

(5) 細菌培養試験(分離培養)

- ① 流死産胎子の胃腸内容物、主要臓器、成馬の化膿巣、膿汁、剖検馬の腸間膜根部の動脈瘤を DHL 培地および血液寒天培地を用いて 37℃で 24～48 時間培養
② 流死産胎子の骨髓、成馬の胸骨骨髓液、流死産馬の胎盤、悪露、種雄馬の精液は材料 10g をハーナテトラチオン酸塩培地 100ml で増菌後、DHL 寒天培地および血液寒天培地を用いて 37℃で 24～48 時間培養
③ DHL 寒天培地上では、無色透明正円形の集落を形成

(6) 細菌性状分析

(分離菌の性状)

菌 種	インドール	V P	クエン酸	硫化水素	乳糖	リジン
一般のサルモネラ	—	—	+	+	—	+
<i>S. Abortusequi</i>	—	—	d	—	—	+
大腸菌	+	—	—	—	+	d
サイトロバクター	+	—	+	+	d	—

d:株によって異なる。

(7) 血清型別

抗原構造 (4.12: -e, n, x)

(8) 病理組織検査

(流死産胎子)

- ① 線維素性化膿性壊死性胎盤炎
- ② 胎子では自己融解が強い。

(子馬)

- ① 死亡例では、肺、肝臓、腎臓、脾臓、副腎などに内毒素血症性の病変
 - ② 関節炎例では、線維素性化膿性関節炎
- (成馬)
- ① 膿瘍形成を伴う精巣炎・精巣上体炎、間質の線維化

152 馬ゲタウイルス病

担当	検 査 チ ャ ー ト
家畜保健衛生所	<pre> graph TD A["(1) 疫学調査"] --- B["(2) 臨床検査"] A --- C["(4) 血液検査"] B -- "(死亡馬)" --> D["(3) 剖検"] C -- "(ヘア血清)" --> E["(5) 抗体検査"] C -- "(血液、血漿、鼻腔ぬぐい液)" --> F["(6) ウイルス培養試験"] D -- "(血液、血漿、鼻腔ぬぐい液、リンパ節)" --> F D -.-> G["(8) 病理組織検査"] E -- "<HI 反応>" --> H["(+)" / "(-)"] F -- "<培養細胞接種試験>" --> I["(7) 動物接種試験"] I --> J["(+)" / "(-)"] G -.-> K["(+)" / "(-)"] H --> L["(+)" / "(-)"] J --> L K -.-> L </pre>
病性鑑定施設	
判定・結果	(+) (-) (+) (-) (+) (-)
最終判定	抗体検査と併行してウイルス培養試験を実施する。
その他	

→類似疾病検査

141 流行性脳炎(日本脳炎)

○ 病原体:ゲタウイルス;Getah virus [*Getah virus*, *Alphavirus*, *Togaviridae*]

(1) 疫学調査

- ① 夏期～秋期(7～10月)にかけて発生する。
- ② 年齢に関係なく発生する。

(2) 臨床検査

- ① 発熱
- ② 発熱後5～7日目に頸、肩、臀部に突然に米粒～大豆大の発疹を認めることがある。
- ③ 四肢の下脚部に冷性浮腫を伴うことがある。
- ④ 体表リンパ節の腫大

(3) 剖 検

- ① 脳膜のうっ血
- ② 発疹部のリンパ管の拡張、リンパのうっ滞
- ③ リンパ節の腫大
- ④ 筋肉および臓器の湿潤感

(4) 血液検査

一過性の白血球の減少

(5) 抗体検査(HI反応)

ペア血清について実施

(6) ウイルス培養試験(培養細胞接種試験)

培養細胞:Vero細胞、RK-13細胞

接種材料:血液(血漿)、鼻腔ぬぐい液、リンパ節乳剤

培養方法:37℃で回転または静置培養

成績:CPEの確認(2～4日)(CPEの出現しないものは盲継代)

同定:培養液のHAの確認

交差HI試験、交差中和試験

(7) 動物接種試験

動物:乳のみマウス(24時間以内)

接種材料:血液(血漿)、鼻腔ぬぐい液、リンパ節乳剤

方法:材料を乳のみマウスの脳内に接種

成績:3～14日で発症死亡

(症状の明確でないものは盲継代し発症したマウスの脳乳剤をMA-104細胞またはVero細胞に接種。陽性の場合にはCPEの発現)

同定:組織培養液のHAの確認

交差HIまたは交差中和試験

(8) 病理組織検査

- ① 真皮層の水腫、リンパ球および好酸球の浸潤、ときに出血巣
- ② リンパ節の洞内にリンパ球の充満
- ③ ときに脳における囲管性細胞浸潤

153 馬ロタウイルス病

担当	検 査 チ ャ ー ト
家畜保健衛生所	<pre> graph TD A["(1) 疫学調査"] --> C["(3) 剖検"] A --> B["(2) 臨床検査"] B -- "(死亡馬)" --> C B --> D["(4) 血液検査"] D -- "(血清)" --> E["(6) 抗体検査"] D -- "(糞便)" --> F["(5) 簡易ウイルス検査"] D -- "(腸内容物)" --> F F --> G["(7) PCR"] F --> H["(8) ウイルス培養試験"] F --> I["(9) 病理組織検査"] E --> H E --> I G --> J["(+)" / "(-)"] H --> J I --> J J --> K["(+)" / "(-)"] </pre>
病性鑑定施設	(6) 抗体検査 <補体結合反応> <中和反応> (7) PCR (8) ウイルス培養試験 <培養細胞接種試験> (9) 病理組織検査 (+) (-) (+) (-) (+) (-)
判定・結果	(+) (-) (+) (-) (+) (-)
最終判定	簡易ウイルス検査および必要に応じてウイルス培養試験またはPCRのいずれかを実施し総合的に判定する。
その他	

→類似疾病検査

- ① サルモネラ症 ② クロストリジウム症

○ 病原体:A 群ロタウイルス;Rotavirus A [*Rotavirus A*, *Rotavirus*, *Reoviridae*]

(1) 疫学調査

- ① 集団飼育されている子馬、特に 1～3 ヶ月齢の子馬に下痢が流行的に発生する。
② 飼育密度の高い畜舎で発生しやすく、伝播性も強い。
③ 最近馬の移動、導入があった。
④ 一過性の下痢で回復し、死亡率は低い。

(2) 臨床検査

- ① 黄色水様性下痢(3～4 日の経過で回復)
② 発熱
③ 一般症状の悪化

(3) 剖 検

- ① 小腸特に十二指腸、空腸のカタル性変化
② 大腸における黄白色水様物貯留

(4) 血液検査

- ① 一過性の白血球の減少
② 血液濃縮、Ht 値上昇

(5) 簡易ウイルス検査(イムノクロマト、ラテックス凝集反応)¹⁾

下痢便材料からのラテックス凝集反応またはイムノクロマト法による抗原検出

(6) 抗体検査(補体結合反応、中和反応)

補体結合反応または中和反応
ペア血清について実施

(7) P C R ²⁾

下痢便より RNA を抽出し、RT-PCR を実施

(8) ウイルス培養試験(培養細胞接種試験)

使用細胞:MA-104 細胞

接種材料:トリプシン処理の下痢便、小腸内容物の濾液(乳剤の濾液と 10μg/ml の結晶トリプシン液を等量混合し、37℃で 30 分感作)

培養方法:37℃で回転培養(培養液中に 0.5～1μg/ml の割合でトリプシンを添加)

成績:CPEの確認(CPE(-)の場合は2～3代盲継代)

同定:培養細胞中に特異蛍光を確認

好酸性細胞質内封入体の確認

ラテックス凝集反応またはイムノクロマト法による抗原検出、RT-PCR

(9) 病理組織検査

- ① 小腸絨毛の萎縮、絨毛上皮細胞の立方化、扁平化、剥離
② 小腸粘膜固有層の単核細胞浸潤

(参考文献)

1) Nemoto, M., et al.: J. Vet. Med. Sci. 72, 1247-1250 (2010).

2) Tsunemitsu, H., et al.: Arch. Virol. 146, 1949-1962 (2001).

154 腺 疫

担当	検 査 チ ャ ー ト
家畜保健衛生所	(1) 疫学調査 (2) 臨床検査 (死亡馬、とう汰馬) → (3) 剖 検 (膿瘍または膿汁) (膿汁または鼻粘膜スワブ) (へア血青)
病性鑑定施設	(4) 抗体検査 <ペプチド ELISA> (5) P C R (6) 細菌培養試験 <分離培養> (7) 細菌性状分析 (+)(-) (+)(-)
判定・結果	(+)(-) (+)(-)
最終判定	PCRもしくは細菌培養試験のどちらかが陽性の場合腺疫とする。
その他	

→類似疾病検査

- ① (腺疫菌以外の) β 溶血性レンサ球菌症 ② 148 馬鼻肺炎 ③ 147 馬インフルエンザ
④ 155 ロドコッカス・エキイ感染症

○ 病原体: *Streptococcus equi* subsp. *equi*

(1) 疫学調査

- ① 輸送、集合等の後に流行が多い。
② 若齢馬は感受性が高いが、成馬も発症

(5) P C R ^{2), 3)}

次の細菌培養試験と同じスワブ等を用いた特異的PCR産物の検出により診断が可能

(2) 臨床検査

- ① 発熱
② 一般状態の悪化
③ 膿性の鼻汁
④ 下顎等頭部リンパ節の化膿性腫大、自潰、排膿
⑤ 表在リンパ節の多発的腫脹(転移性腺疫)
⑥ 嚥下困難
⑦ 続発症(出血性紫斑症)

(6) 細菌培養試験(分離培養)

- ① 膿汁または鼻粘膜スワブを、血液寒天培地または CNA 血液寒天培地を用いて 37℃で 48 時間分離培養
② β 溶血性で露滴状の透明な小集落を形成

(7) 細菌性状分析

“分離菌の性状” 参照

(3) 剖 検

- ① 下顎および咽頭後リンパ節の腫大、膿瘍形成
② 重症例では全身リンパ節に膿瘍形成
③ 上気道粘膜の膿性カタル
④ 喉嚢蓄膿症

(参考文献)

- 1) Hobo, S., et al.: Vet. Rec. 162, 471-474 (2008).
2) Anzai, T., et al.: J. Equine Sci. 17, 101-104 (2006).
3) Newton, J.R., et al.: Equine Vet. J. 32, 515-526 (2000).

(4) 抗体検査(ペプチドELISA) ¹⁾

ペプチド ELISA。

(分離菌の性状)

血清群	菌 種	発育性					抵抗性 30℃ 60分	エスクリン	アルギニン	馬尿酸	アラビノース	リボース	トレハロース	ラクトース	サリシン	グリセリン	マンニト	ソルビット
		45℃	6.5% NaCl	pH 9.6	10%胆汁	40%胆汁												
C	<i>S. dysgalactiae</i> subsp. <i>equisimilis</i>	—	—	—	—	—	—	—	+	—	—	+	+	d	d	d	—	—
	<i>S. equi</i> subsp. <i>zooepidemicus</i>	—	—	—	—	—	—	—	+	—	—	d	—	+	+	—	—	+
	<i>S. equi</i> subsp. <i>equi</i>	—	—	—	d	—	—	—	+	—	—	—	—	—	+	—	—	—

d:株によって異なる。

155 ロドコッカス・エクイ感染症

担当	検 査 チ ャ ー ト
家畜保健衛生所	(1) 疫学調査 (2) 臨床検査 (死亡馬、とう汰馬) (3) 剖検 (ヘア血清) (気管洗浄液) (肺病変部)
病性鑑定施設	(4) 抗体検査 <ELISA> (5) 細菌培養試験 <分離培養> (6) 細菌性状分析 (7) 毒力検査 <マウス接種法> <PCR> (8) 病理組織検査 (+) (-) (+) (-) (+) (-)
判定・結果	(+) (-) (+) (-) (+) (-)
最終判定	最終判定は、臨床検査、剖検、細菌培養試験、必要に応じて毒力検査の結果により総合的に判断する。
その他	

→類似疾病検査

- ① 148 馬鼻肺炎 ② 154 腺疫 ③ β 溶血性レンサ球菌症 ④ 153 馬ロタウイルス病
⑤ 馬サルモネラ症 ⑥ 馬アクチノバチルス症

○ 病原体: *Rhodococcus equi*

(1) 疫学調査

- ① 特定の牧場に多発
② 主に3ヵ月齢以下の子馬で肺炎または腸炎を発生
③ 流産(希)

(2) 臨床検査

- ① 肺炎型(最も多い):発熱、発咳、元気消失、肺胞音粗励、気管の捻髪音
② 腸炎型(比較的少ない、しばしば肺炎型と併発):異臭を伴う下痢

(3) 剖 検

- ① 多発性膿瘍を伴う肺炎。病変は肺の前背側部に好発するが、重症例では全葉に及ぶ。
② 小腸および大腸粘膜におけるび爛、潰瘍形成。病変は小腸パイエル板部粘膜で重度

(4) 抗体検査(ELISA)

ELISA¹⁾

(5) 細菌培養試験(分離培養)

- ① 肺病変部および気管吸引液(気管洗浄液)は血液寒天培地を用いて37℃で2日好気培養する。
糞便および土壌はNANAT培地を用いて37℃で3日以上好気培養する。
② 血液寒天培地では灰白色～サーモンピンクの露滴状集落。NANAT培地では濃灰色の集落。しばしば集落同士が融合

(6) 細菌性状分析

分離菌の性状:好気性球桿菌。グラム染色(+)、部分的に抗酸性。カタラーゼ(+)、ウレアーゼ(+)、硝酸塩還元、炭水化物とカゼイン分解能を欠く。運動性(-)、溶血性(-)、CAMP試験(+)

(7) 毒力検査(マウス接種法、PCR)

強毒株は、85-90kbの病原性プラスミドを保有し、15-17kDaの毒力関連抗原(VapA)を発現。VapA遺伝子の有無をPCRによって確認可能²⁾
(マウス接種法)

マウス LD₅₀ = 10⁶ CFU

(8) 病理組織検査

- ① 膿瘍ないし化膿性肉芽腫形成を伴う化膿性気管支肺炎
② び爛ないし潰瘍の形成を伴う大腸あるいは小腸炎。病変は小腸パイエル板で重度
③ 病変部のマクロファージおよび多核巨細胞の細胞質内にグラム陽性球桿菌が認められる。

(参考文献)

- 1) Takai, S., et al.: J. Vet. Med. Sci. 59, 1097-1101 (1997).
2) Takai, S., et al.: Vet. Microbiol. 61, 59-69 (1998).

156 馬原虫性脊髄脳炎

担当	検 査 チ ャ ー ト
家畜保健衛生所	(1) 疫学調査 (2) 臨床検査 ※1 (脊髄液) (死亡馬、とう汰馬) (3) 剖 検 (脊髄病変部、脊髄液)
病性鑑定施設	(4) 原虫培養試験 (5) 病理組織検査 ※2 (+) (-) (+) (-)
J R A 総研 栃木	抗体分析(脊髄液検査) <ウエスタンブロット> (+) (-)
判定・結果	(+) (-) (+) (-) (+) (-)
最終判定	疫学調査、臨床検査の結果を基に、病理組織検査、原虫培養試験、抗体分析結果から総合的に判断する。
その他	※1: 生前採取が可能ならば実施。 ※2: 病巣は非常に限局性で数も少ないことが多く、中枢神経全域にわたる詳細な病理組織学的検索が必要。原虫の分離培養も病変部以外からは不可能。

→類似疾病検査

- ① 141 流行性脳炎(日本脳炎) ② 148 馬鼻肺炎 ③ 146 破傷風 ④ 海4 狂犬病
- ⑤ 脳脊髄糸状虫症 ⑥ ウォブラー症候群(頸椎奇形)

○ 病原体: *Sarcocystis neurona*

(1) 疫学調査

アメリカ大陸に生息するオポッサムが糞便中に排泄するスポロシストを馬が経口的に摂取することで感染するが、それら原虫が脊髄や脳に侵入して組織を破壊した場合に発症。感染から発症までの期間や季節性は不定。米国で出生あるいは飼育後、我が国へ輸入された馬で発症

(2) 臨床検査

- ① 運動失調、起立不能
- ② 非対称性の骨格筋萎縮(神経原性筋萎縮)

(3) 剖 検

- ① 脊髄あるいは脳における限局性の出血病巣(急性)あるいは帯黄褐色病巣(慢性)
- ② 脊髄液の混濁
- ③ 病変形成部の脊髄から分布する神経線維に起因した骨格筋の偏側性萎縮(神経原性筋萎縮)

(4) 原虫培養試験

脊髄あるいは脳の出血ないし変色組織からの分離培養。細切組織と M617 細胞を混合培養し、メロゾイトを確認

(5) 病理組織検査

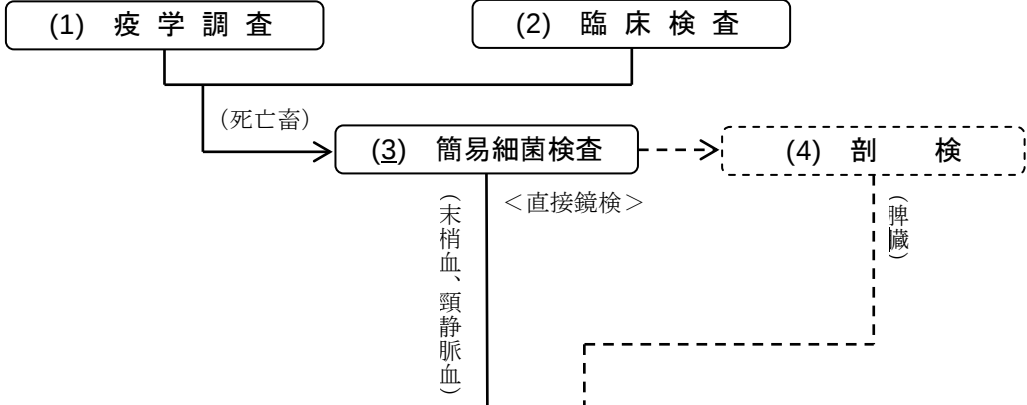
- ① 中枢神経組織における限局性非化膿性炎とシゾントの確認
- ② *S. neurona* 免疫血清(うさぎ)による免疫組織化学検査

その他:

(抗体分析)

環椎後頭部あるいは腰仙部から採取した脊髄液について *S. neurona* の培養メロゾイトを抗原としたウェスタンブロットにより特異抗体の存在を確認する(脊髄液検査)。血清中の抗体は米国産馬の約50%が陽性

157 炭疽（めん羊・山羊）〔法〕

担当	検 査 チ ャ ー ト
家畜保健衛生所	 <pre> graph TD 1["(1) 疫学調査"] 2["(2) 臨床検査"] 3["(3) 簡易細菌検査"] 4["(4) 剖検"] 5["(5) アスコリー反応"] 6["(6) 細菌培養試験"] 7["(7) 細菌性状分析"] 8["(8) 動物接種試験"] 1 --> 3 2 --> 3 3 -- "(死亡畜)" --> 4 3 -- "<直接鏡検>" --> 4 3 -- "(末梢血、頸静脈血)" --> 5 5 -- "(腐敗材料)" --> 8 5 --> 6 8 --> 6 6 -- "<分離培養>" --> 7 7 --> 7p["(+)" / "(-)"] 7p --> 7r["(+)" / "(-)"] </pre>
病性鑑定施設	
判定・結果	(+) ↓ (+) (-) ↓ (-)
最終判定	病原体検出判定(アスコリー反応および細菌培養試験)で(+)となった場合は本病とする。
その他	- 直接鏡検で炭疽が疑われる場合、剖検は周辺への汚染防止のため、必要最小限にとどめる。 - 類似疾病を疑う場合でも疫学調査、臨床検査、簡易細菌検査、アスコリー反応は必ず実施する。 - アスコリー反応が陽性で有荚膜桿菌の検出を見た場合は、本病の疑似患畜として適切なまん延防止措置を迅速に実施するとともに、引き続きその後の病性鑑定を速やかに行う必要がある(家畜防疫対策要領(平成11年4月12日付け11畜A第467号農林水産省畜産局長通知))。 - 炭疽菌は感染症法において二種病原体等に指定されており、同法の規制の対象となる。

→類似疾病検査

- ① 166 気腫疽 ② 悪性水腫 ③ 急性鼓脹症 ④ 急性中毒

○ 病原体: *Bacillus anthracis*

(1) 疫学調査

- ① 予防接種(炭疽、気腫疽)を受けていない。
② 過去に周辺地域で炭疽の発生があった。
③ 最近畜舎内外の土砂を移動した。
④ 経過が甚急性または急性である。
⑤ 施設内または周辺での家畜の急死例があった。
⑥ 創傷の有無
⑦ 同居家畜の臨床検査(発熱、血便、粘膜チアノーゼ)

(2) 臨床検査

- ① 肛門、鼻孔等の天然孔からの出血および血液の凝固不全
② 急死

(3) 簡易細菌検査(直接鏡検)

末梢血、頸静脈血、脾臓の直接塗抹標本のレビエーゲル染色、ギムザ染色またはメチレンブルー染色により、2～3個連鎖した無芽胞、大型竹節状有荚膜の桿菌を確認する(直接鏡検は採材後速やかに実施する。)

(4) 剖 検

直接鏡検で炭疽が疑われる場合、剖検は周辺への汚染防止のため、必要最小限にとどめる。

- ① 血液の凝固不全
② 脾臓は軟化暗赤色を呈するが、必ずしも腫大はない。

(5) アスコリー反応

材料:末梢血、頸静脈血、あるいは脾臓乳剤(5～10倍)で抗原を作製する(菌数が少ない場合、炭疽であっても陰性となる。一方、腐敗進行の著しい検体では非特異反応が希に出る。)

(6) 細菌培養試験(分離培養)

- ① 血液および脾臓を普通寒天培地を用いて37℃で24時間分離培養を行う。
② 縮毛状、辺縁ラフの集落を形成する。

(7) 細菌性状分析

分離菌の性状

- ① グラム染色(+)大桿菌、運動性(ー)、溶血性(ー)
② パールテスト(+) (ペニシリン耐性が希にあり)
③ ファージテスト(+)
④ PCR (pXO1 および pXO2 プラスミド) (+) ^{1),2)}

(8) 動物接種試験

腐敗進行が著しい材料について実施する。

材料:血液および脾臓の乳剤を1検体2匹以上について行う。

なお、腐敗した検体については加熱(70℃15分)した材料を用いる。

方法:マウスまたはモルモットの皮下あるいは筋肉内に0.2～0.5ml ずつ接種する。

成績:急性経過で死亡

同定:死亡例の心血について分離培養を行う。

その他:

(注意)

炭疽菌は人獣共通感染症の病原体であるため、病的材料の取扱いは予防衣、手袋、マスク、ゴーグル等の個人防護具の装着および十分な封じ込め条件下で行う。

(参考文献)

•Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals, 7th ed. OIE (2012).

- 1) Beyer, W., et al.: Salisbury Med. Bull. 87, Special Suppl. 47-49 (1996).
- 2) Hutson, R.A., et al.: J. Appl. Bacteriol. 75, 463-472 (1993).

159 ブルセラ病（めん羊・山羊）（除くめん羊 *Brucella ovis* 感染症）〔法〕

担当	検 査 チ ャ ー ト
家畜保健衛生所	<pre> graph TD 1[(1) 疫学調査] --> 2[(2) 臨床検査] 1 --> 4[(4) 抗体検査] 2 -- "(流死産胎子、鑑定殺畜)" --> 3[(3) 剖検] 2 -- "(乳汁、膿粘液、精液)" --> 5[(5) 簡易細菌検査] 2 -- "(流死産胎子、第四胃内容物、主要リンパ、生殖器他)" --> 5 3 --> 5 3 -.-> 9[(9) 病理組織検査] 4 -- "(血清)" --> 4 5 --> 6[(6) PCR] 5 --> 7[(7) 細菌培養試験] 5 --> 8[(8) 細菌性状分析] 6 --> 6p[(+) (-)] 7 --> 7p[(+) (-)] 8 --> 8p[(+) (-)] 9 --> 9p[(+) (-)] 6p --> 10[(法定判定)] 7p --> 10 8p --> 10 9p --> 10 4 --> 10 10 --> 11[(法定判定)] 10 --> 11 10 --> 11 10 --> 11 </pre>
病性鑑定施設	(+) (-) (法定判定) (+) (-) (法定判定) (+) (-) (法定判定) (+) (-) (法定判定)
判定・結果	(法定判定) (法定判定) (+) (-)
最終判定	最終判定は法定判定(家畜伝染病予防法施行規則別表第一)に従う。
その他	1. 法定判定等検査の方法は家畜伝染病予防法施行規則別表第一を参照する。 2. ブルセラ菌が疑われる菌が分離された場合、菌種同定・生物型別検査は動物衛生研究所等専門機関へ依頼する。 3. <i>B. melitensis</i> は感染症法の三種病原体等に指定されており、同法の規制の対象となる。 4. 抗体検査もしくは菌分離のいずれかが(+)であるものをブルセラ病の患畜とする(家畜伝染病予防法施行規則別表第一)。

→類似疾病検査

流産：① 159 ブルセラ病(*Brucella ovis* 感染症) ② *Campylobacter jejuni* 感染症

○ 病原体:*Brucella melitensis* (*Brucella melitensis* biovar *Melitensis*)

(1) 疫学調査

- ① 輸入めん羊・山羊を導入したことがある。
- ② 感染種雄めん羊・山羊と接触したことがある。
- ③ 妊娠後期に流産が好発する。
- ④ 輸入元が汚染地域である。

(補体結合反応)

家畜伝染病予防法施行規則(別表第一)参照。
試験管凝集反応と組み合わせて判定。

(2) 臨床検査:牛ブルセラ病に同じ

- ① 流産
- ② 後産停滞
- ③ 精巣炎・精巣上体炎
- ④ 関節炎(希)

(5) 簡易細菌検査(直接鏡検)

流死産胎子第四胃内容物、流死産牛膣排泄物を抗酸性染色。

(6) P C R

- ① 細菌検査(直接鏡検)で使用了材料について実施する。
- ② ブルセラ属特異的 PCR はブルセラ菌か否かのスクリーニングに有用¹⁾
- ③ 菌種同定のための PCR^{2),3)}も報告されている。

(3) 剖 検

- ① 牛ブルセラ病に類似している。
- ② 子宮内膜と脈絡膜間の水腫(無臭、黄色混濁、軽度粘性)、胎膜および臍帯の水腫(透明)
- ③ 胎盤の病変は正常のものから壊死性のものまで多様である。時折、粘性を持つキャラメル様滲出物で覆われていることがある。
- ④ 陰嚢は腫大し、熱感および弛緩している。精巣鞘膜腔は線維素化膿性の滲出物により拡張する。精巣では壊死巣が多発する。
- ⑤ 乳房に結節性病変を認めることがある。

(7) 細菌培養試験(分離培養)

細菌学上の確定診断は菌分離によって行う^{3),4)}。

- ① 流死産の場合には流産胎児の第四胃内容物、脾臓、肺、胎膜、および流死産牛の膣スワブを用いる。
- ② 殺材料の場合には主要リンパ節(頭部、乳房、生殖器)、脾臓、子宮、乳房、精巣を使用
- ③ 感染が疑われる生体では乳汁(全分房から採取、遠心し沈殿とクリーム層を培養)、精液、関節液も使用できる。
- ④ 10%炭酸ガス下で1%グルコース、5%馬血清加 TSA 寒天平板培地(選択剤添加および未添加培地を併用する。)を用いて 37℃で 8~10 日間分離培養を行う。
- ⑤ 通常は 2~3 日後に帯青色透明、小円形集落を形成する。

(4) 抗体検査(急速凝集反応、試験管凝集反応、補体結合反応)

(急速凝集反応)

家畜伝染病予防法施行規則(別表第一)参照
スクリーニング検査

(試験管凝集反応)

家畜伝染病予防法施行規則(別表第一)参照
補体結合反応と組み合わせて判定

(8) 細菌性状分析

“分離菌の性状”参照

(9) 病理組織検査

- ① 壊死性胎盤炎、急性子宮内膜炎。脈絡膜上皮における無数の菌塊(Stamp の Ziehl-Neelsen 染色変法⁴⁾により明瞭化)
- ② 壊死性精巣炎、線維索性化膿性精巣鞘膜炎、局限性壊死性精巣上体炎。精細管に無数の菌塊

その他:

(型別・同定)

ファージ感受性試験、生化学性状試験により菌種の同定および生物型別を行う。

ブルセラ菌が疑われる菌が分離された場合、菌種同定・生物型別検査は動物衛生研究所等専門機関へ依頼する。

(注意)

B. melitensis は人に感染しやすく病原性も強いいため、病的材料特に流産関連材料の取扱いはオーバーオール、他、ゴム手袋、マスク、ゴーグルを着用し粘膜や傷口からの侵入を防ぐなど个人防护および十分な封じ込め条件下で行うこと。

(分離菌の性状)

菌 種	血清 要求	CO ₂ 要求	コロニー 性状	オキシダーゼ	ウレアーゼ	ファージ感受性		
						Tb	Wb	R/C
<i>B. melitensis</i>	—	—	S	+	+	—	—	—
<i>B. abortus</i>	—d	+/-	S	+	+	+	+	—
<i>B. suis</i>	—	—	S	+	+R	—	+	—
<i>B. neotomae</i>	—	—	S	—	+R	—	+	—
<i>B. ovis</i>	+	+	R	—	—	—	—	+
<i>B. canis</i>	—	—	R	+	+R	—	—	+

d: *B. abortus* 生物型2 は初代分離に血清を要求

+/-: *B. abortus* 生物型1～4は初代分離にCO₂を要求

S/R: スムース/ラフ

+R: 迅速

ファージ感受性: 1 単位ファージによる。

(参考文献)

1) ブルセラ属特異的 PCR

Da Costa, M., et al.: J. Appl. Bacteriol. 81, 267-275 (1996).

2) 今岡浩一ら: ブルセラ症検査マニュアル. 国立感染症研究所.

3) Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals, 7th ed, Vol. I and II. OIE (2012).

4) Alton, G.G., et al.: Techniques for the Brucellosis laboratory. INRA, Paris (1988).

159 ブルセラ病（めん羊）（*Brucella ovis*感染症）〔法〕

担当	検 査 チ ャ ー ト
家畜保健衛生所	(1) 疫学調査 (2) 臨床検査 (3) 剖 検 （乳汁、 精液、 膿粘液、 (4) 簡易細菌検査 ＜直接鏡検＞ （流死産胎子、死亡畜） （流死産胎子 第四胃内容物、 主要リンパ、 生殖器他）
病性鑑定施設	(5) P C R (6) 細菌培養試験 ＜分離培養＞ (7) 細菌性状分析 (+)(-) 型 別 ・ 同 定 (8) 病理組織検査 (+)(-) (8) 病理組織検査 (+)(-)
判定・結果	(法定判定) (+) (-)
最終判定	最終判定は法定判定(家畜伝染病予防法施行規則別表第一)に従う。
その他	1. 法定判定等は家畜伝染病予防法施行規則別表第一を参照する。 2. 精巣炎または精巣上体炎が疑われる種雄めん羊については簡易細菌検査を実施する。 3. 分離菌の菌種同定については動物衛生研究所等の専門機関へ依頼する。 4. <i>B. ovis</i> は人に対する病原性がないため、感染症法において三種病原体等に指定されていないが、家畜伝染病予防法において届出伝染病等病原体に規定されており、その基準に従って使用、保管、運搬等を行うこと。 5. 国内では抗体検査が困難なため菌分離をもってブルセラ病の患畜とする(家畜伝染病予防法施行規則別表第一)。

→類似疾病検査

- 精巣上体炎：① *Actinobacillus seminis* 感染症 ② *A. actinomycetemcomitans* 感染症
③ 50 ヒストフィルス・ソムニ感染症 ④ *Haemophilus* spp. 感染症
⑤ *Corynebacterium pseudotuberculosis* 感染症
⑥ 159 ブルセラ病(除くめん羊 *Brucella ovis* 感染症)

- 流死産：① 159 ブルセラ病(除くめん羊 *Brucella ovis* 感染症) ② コクシエラ症(Q熱)
③ 海22 流行性羊流産

○ 病原体: *Brucella ovis* (*Brucella melitensis* biovar *Ovis*)

(1) 疫学調査

- ① 輸入めん羊を導入したことがある。
- ② 感染種雄めん羊と接触したことがある。
- ③ 繁殖シーズン後に精巣上体炎が好発する。
- ④ 輸入元が汚染地域である。

は *omp-31* 遺伝子の PCR-RFLP により同定が可能²⁾

(2) 臨床検査

- ① 一側性精巣上体炎(ときに両側性)
- ② 希に流産
- ③ 周産期の子羊死亡率の増加
- ④ 関節炎(希)

(6) 細菌培養試験(分離培養)

細菌学上の診断は菌分離によって行う³⁾。

- ① 流死産の場合には流死産胎子の第四胃内容物、脾臓、肺、胎膜、および流死産羊の膣スワブを用いる。
- ② 殺材料の場合には主要リンパ節(頭部、乳房、生殖器)、脾臓のほか、雄では精巣上体、精囊、雌では子宮、乳房を使用
- ③ 感染が疑われる生体では乳汁(全分房から採取、遠心し沈殿およびクリーム層を培養)、精液も使用できる。
- ④ 10%炭酸ガス下で 1%グルコース、5%馬血清加 TSA 寒天平板培地(選択剤添加および未添加培地を併用する。)を用いて 37℃で 8~10 日間分離培養を行う。
- ⑤ 通常は 2~3 日後に帯青色透明、小円形集落を形成する。

(3) 剖 検

- ① 成雄羊において、感染後期(末期)に精巣上体尾部の顕著な腫大が認められる。
- ② 胎盤は水腫性で肥厚する。宮阜間胎盤は斑状に肥厚し、ときに粘性を持つキャラメル様滲出物で覆われていることがある。
- ③ 胎子では皮下水腫および体腔に漿液の貯留がみられる。

(4) 簡易細菌検査(直接鏡検)

流死産胎子消化管の内容物、流死産羊の膣排泄物を抗酸性染色

(7) 細菌性状分析

“分離菌の性状”参照

(5) P C R

- ① 細菌検査(直接鏡検)で使用了材料についてブルセラ属特異的 PCR によるスクリーニング¹⁾
- ② ブルセラ属特異的 PCR はブルセラ菌か否かのスクリーニングに有用¹⁾
- ③ ブルセラ属と同定された場合、*B. ovis* について

(8) 病理組織検査

- ① 成雄羊の精巣上体は、初期には水腫およびマクロファージ浸潤を示し、後期には好中球浸潤が加わる。上皮細胞は過形成と水腫性変化を示し、間質の線維化を伴う。精子の間質への遊走による肉芽腫形成がみられる。二次的な精巣炎および精巣鞘膜炎がみられる。

- ② 血管周囲炎および血管炎を伴う壊死性胎盤炎、急性子宮内膜炎。脈絡膜上皮における無数の菌塊 (Stamp の Ziehl-Neelsen 染色変法⁴⁾により明瞭化)
- ③ 胎子に軽度の肺炎、リンパ節炎および間質性腎炎が観察されることがある。

その他:

(抗体検査)

原因菌である *B. ovis* はラフ型菌のため、動物衛生研究所より販売される牛 *B. abortus* 用診断液 (急速凝集反応、試験管凝集反応および補体結合反応用抗原) はいずれも使えない。抗体検査としては *B. ovis* 抗原を使用した補体結合反応および寒天ゲル内沈降反応が用いられる。国内に市販抗原はない。

(型別・同定)

ファージ感受性試験、生化学性状試験による菌種の同定。*B. ovis* に生物型はない。

(注意)

B. ovis は人への病原性はないが、人に感染しやすい病原性も強い *B. melitensis* によるブルセラ病の可能性があるため、病的材料特に流産関連材料の取扱いはオーバーオールその他、ゴム手袋、マスク、ゴーグルを着用し粘膜や傷口からの侵入を防ぐなど个人防护および十分な封じ込め条件下で行うこと。

分離菌の菌種同定については動物衛生研究所等の専門機関へ依頼する。

(参考文献)

1) ブルセラ属特異的 PCR

Da Costa, M., et al.: J. Appl. Bacteriol. 81, 267-275 (1996).

2) Vizcaino, N., et al.: Microbiology. 143, 2913-2921 (1997).

3) Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals, 7th ed, Vol. I and II. OIE (2012).

4) Alton, G.G., et al.: Techniques for the Brucellosis laboratory. INRA, Paris (1988).

(分離菌の性状)

菌 種	血清 要求	CO ₂ 要求	コロニー 性状	オキシダーゼ	ウレアーゼ	ファージ感受性		
						Tb	Wb	R/C
<i>B. melitensis</i>	—	—	S	+	+	—	—	—
<i>B. abortus</i>	—d	+/-	S	+	+	+	+	—
<i>B. suis</i>	—	—	S	+	+R	—	+	—
<i>B. neotomae</i>	—	—	S	—	+R	—	+	—
<i>B. ovis</i>	+	+	R	—	—	—	—	+
<i>B. canis</i>	—	—	R	+	+R	—	—	+

d: *B. abortus* 生物型2は初代分離に血清を要求。

+/-: *B. abortus* 生物型1~4は初代分離にCO₂を要求。

S/R: スムース/ラフ

+R: 迅速

ファージ感受性: 1単位ファージによる。

160 結 核 病（山羊）〔法〕

担当	検 査 チ ャ ー ト
家畜保健衛生所	(1) 疫学調査 (2) 臨床検査 ↓ (3) ツベルクリン検査 (死亡畜、鑑定殺畜) (ツベルクリン陽性畜) (4) 剖 検 検査結果(±)は、時期をあけさらに2回検査を繰り返す。 (+) / (±) ↓ (-) ↓ (各リンパ節、実質臓器) ↓
病性鑑定施設	(5) 細菌培養試験 <分離培養> (6) 遺伝子検査 <PCR> <DNA・DNA ハイブリダイゼーション> (+) ↓ (-) ↓ (7) 病理組織検査 (+) ↓ (-) ↓
判定・結果	(法定判定) ↓ (+) ↓ (-) ↓ (+) ↓ (-) ↓
最終判定	最終判定は、法定判定(家畜伝染病予防法施行規則別表第一)に従う。
その他	1. 法定判定等検査の方法は家畜伝染病予防法施行規則別表第一を参照する。 2. 多剤耐性結核菌は感染症法において三種病原体等に指定されており、同法の規制の対象となる。 3. <i>Mycobacterium caprae</i>および<i>M. bovis</i>は、家畜伝染病予防法において届出伝染病等病原体に規定されており、その基準に従って使用、保管、運搬等を行うこと。

→類似疾病検査

- ① 非結核性抗酸菌症 ② 51 放線菌症 ③ アクチノマイセス感染症

○ 病原体: *Mycobacterium caprae*、*M. bovis*

(1) 疫学調査

- ① 汚染地域から山羊を導入したことがある。
② 同居山羊が結核病として摘発された。

(2) 臨床検査

無症状に経過することが多いが、病末期には慢性の発咳、衰弱、消瘦、下痢などが認められる。

(3) 剖 検

- ① 典型病変は結核結節(径約 1～40mm、淡黄色から白色の境界明瞭な肉芽腫、しばしば乾酪壊死および石灰化を伴う)。大型の結節では中心部が融解し、膿瘍と間違われることがある。
② 好発部位は咽頭後リンパ節、気管気管支リンパ節および縦隔リンパ節であるが、剖検では全身のリンパ節を検査する必要がある。
③ 結核結節は肺、胸膜、腸間膜リンパ節をはじめ全身諸臓器に観察されることがある。

(4) ツベルクリン検査

疑陽性牛は 14 日から 60 日間隔で検査を繰り返し、判定する。

(5) 細菌培養試験(分離培養)

- ① 各リンパ節または実質臓器を 1%水酸化ナトリウムで処理した後、Tween 80 およびグリセリン加 1%小川培地、Middlebrook 7H10、7H11 寒天培地、あるいはレーベンシュタイン・イエンセン培地等を用いて分離培養を行う。
37℃で 1～2 ヶ月間培養をする。
② 灰白色の集落を形成する。

(6) 遺伝子検査(PCR、DNA-DNAハイブリダイゼーション)

① PCR

IS6110、IS1081、16SrDNA、あるいは RD 領域をターゲットとする PCR^{1), 2)}を行う。TB complex のうち、*M. tuberculosis*、*M. bovis*、およびこれら以外の結核菌群の識別が可能である。

② DNA-DNA ハイブリダイゼーション

分子生物学的性状試験として DNA-DNA ハイブリダイゼーション法も利用できる。

(7) 病理組織検査

- ① 結核結節形成。中心の乾酪壊死巣を、マクロファージ・ラングハンス巨細胞層、リンパ球・膠原線維層が包囲する。石灰化を伴うことがある。
② マクロファージ、巨細胞内あるいは乾酪壊死層内に Ziehl-Neelsen 染色により抗酸菌を認める。
③ 免疫組織化学的検索は有用であるが、他の抗酸菌、細菌、真菌と交差する場合があるので、注意が必要である。

その他:

(法定判定)

家畜伝染病予防法施行規則(別表第一)参照

(参考文献)

- 1) Pinsky, B.A. & Banaei, N.: J. Clin. Microbiol. 46, 2241-2246 (2008).
2) Dziadek, J., et al.: Int. J. Tuberc. Lung. Dis. 5, 569-574 (2001).

161 ヨーネ病（めん羊・山羊）〔法〕

担当	検 査 チ ャ ー ト
家畜保健衛生所	(1) 疫学調査 (2) 臨床検査 (3) 剖 検 （腸管、腸間膜 リンパ節、糞便） (4) ヨーニン検査 (6) 簡易細菌検査 (5) 抗体検査 ＜補体結合反応＞ (7) P C R （+）/（±） （-） (7) P C R (8) 細菌培養試験 ＜分離培養＞ （+） （-） （+） （-） (9) 病理組織検査 （+） （-）
病性鑑定施設	(7) P C R （+） （-） (7) P C R (8) 細菌培養試験 ＜分離培養＞ （+） （-） （+） （-） (9) 病理組織検査 （+） （-）
判定・結果	(7) P C R （+） （-） (7) P C R (8) 細菌培養試験 ＜分離培養＞ （+） （-） （+） （-） (9) 病理組織検査 （+） （-） （法定判定）
最終判定	最終判定は、法定判定（家畜伝染病予防法施行規則別表第一）に従う。
その他	1. 家畜伝染病予防法施行規則別表第一参照。 2. 病理学的な診断は他の検査成績と併せて総合的に判断すること。

→類似疾病検査

- ① 182 アミロイドーシス ② 14 牛ウイルス性下痢・粘膜病 ③ 41 コリネバクテリウム感染症

○ 病原体: *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis*

(1) 疫学調査

- ① 汚染地域からめん羊、山羊を導入したことがある。
- ② 輸入めん羊、山羊を導入したことがある。
- ③ 過去 5 年以内にヨーネ病の発生があった。
あるいは導入先でヨーネ病となった。

(2) 臨床検査

- ① 慢性的な頑固な下痢、軟便(めん羊、山羊では明らかでない場合がある。)
- ② 泌乳量の低下
- ③ 脱毛
- ④ 削瘦

(3) 剖 検

- ① 腸管特に回腸末端部の粘膜の肥厚、皺襞の形成。病変の程度は様々である。
- ② 腸間膜リンパ節の腫脹および水腫(必須ではない。)
- ③ 病変部中心に乾酪化および石灰化を伴うことがある。

(4) ヨーニン検査

家畜伝染病予防法施行規則(別表第一)参照

(5) 抗体検査(補体結合反応)

家畜伝染病予防法施行規則(別表第一)参照

(6) 簡易細菌検査(直接鏡検)

糞便の直接塗抹標本を抗酸性染色し、集塊状の抗酸菌を確認する。

(7) P C R

糞便等より DNA を抽出精製し、リアルタイム PCR 法によりヨーネ菌 DNA を検出、定量する。

PCR により遺伝子挿入配列 (IS900) を確認することもできる。

(8) 細菌培養試験(分離培養)

- ① 糞便を HPC (1-Hexadecylpyridinium Chloride) で処理した後、マイコバクチン加ハロルド培地、レーベンシュタイン・イエンセン培地、あるいは卵黄およびマイコバクチン添加 Middlebrook 7H10 寒天培地等を用いて分離培養を行う。37℃で 3 ヶ月以上培養する。特に、めん羊由来ヨーネ菌は初代分離に時間を要するとされているので、4~5 ヶ月以上培養する。
- ② 遅発育性の灰白色~象牙色の集落を形成する。
- ③ 羊型ヨーネ菌は液体培地でしか分離されないことが多いため、培養にはヨーネ菌用液体培地 (MGIT PataTB Medium、BD 等) を併用する方が望ましい。
- ④ リアルタイム PCR 法によりヨーネ菌 DNA を確認する。または PCR により遺伝子挿入配列 (IS900) あるいはマイコバクチン依存性を確認する。

(9) 病理組織検査

- ① 腸管特に回腸末端部の粘膜固有層(粘膜下組織)、パイエル板、腸間膜リンパ節皮質における類上皮細胞とラングハンス巨細胞を特徴とした肉芽腫性炎。中心部に乾酪壊死や石灰化、肉芽腫周囲の線維化を伴うことがある。
- ② Ziehl-Neelsen 染色により類上皮細胞、巨細胞内に抗酸菌を認める。あるいは病変部組織切片より遺伝子挿入配列 (IS900) を検出することもできる。

その他:

(法定判定)

家畜伝染病予防法施行規則(別表第一)参照

(参考文献)

・Paratuberculosis: organism, disease, control.
Edited by MA Behr & DM Collins, CAB
International (2010).

・ヨーネ病検査マニュアル(2013年3月29日版).

http://www.naro.affrc.go.jp/niah/disease/files/NIH_yone_kensahou_130329.pdf

162 伝達性海綿状脳症（めん羊・山羊等）（スクレイピー）〔法〕

担当	検 査 チ ャ ー ト
家畜保健衛生所	(1) 疫学調査 (2) 臨床検査 (12ヵ月齢以上の死亡めん羊、山羊並びに鹿) (異常めん羊、山羊並びに鹿) → (3) 剖 検
病性鑑定施設	
動物衛生研究所	ウエスタンブロット 病理組織検査 ↓ 免疫組織化学検査 (+) (-) ↓ (+) (-) ↓
判定・結果	↓ (法定判定) ↓ (法定判定)
最終判定	最終判定は、法定判定(家畜伝染病予防法施行規則別表第一)に従い、ウエスタンブロットあるいは免疫組織化学検査の少なくとも一方が(+)の場合は本病とする。何れもが(-)の場合は(-)とする。
その他	材料送付方法 延髄の凍結材料、ホルマリン固定材料を動物衛生研究所に送付する。 市販のBSEキットを用いて定型スクレイピーの検出が可能

→類似疾病検査

- ① 跳躍病 ② 52 リステリア症 ③ 流行性運動失調症
- ④ 灰白質脳軟化あるいは 186 大脳皮質壊死症 ⑤ 子羊の小脳萎縮
- ⑥ その他の中枢神経系の細菌感染症 ⑦ 21 破傷風 ⑧ 共尾虫症 ⑨ 趾間腐爛、その他の足の異常
- ⑩ 関節炎 ⑪ 骨形成異常

○ 病原体:プリオン

(1) 疫学調査

- ① 当該農場における過去のスクレイピーの発生の有無と導入歴
 - ② めん羊、山羊および鹿(以下「めん山羊等」と言う)の年齢、起源または導入元と過去のスクレイピー発生との関連
- 12 ヶ月齢以上の死亡めん山羊等および異常めん山羊等は TSE 検査の対象となっている。

(2) 臨床症状

- ① 掻痒症、脱毛
 - ② 運動失調、異常歩様
 - ③ 音や光に対して過敏
 - ④ 削瘦
 - ⑤ 異様な咀嚼行動、多飲および少量の頻回尿
- (全ての感染めん山羊等で、これらの症状がみられるわけではない。)

(3) 剖 検

脱毛以外に中枢神経系を含めて、特に著変は認められない。スクレイピーでは脳の萎縮、脳室の拡張は認められない。

その他:

(ウエスタンブロット)

被検動物の脳から異常プリオン蛋白質の分離精製を行い、ウエスタンブロットにより検出を行う。プロテイナーゼ K 抵抗性の異常プリオン蛋白質の検出されたものを陽性とする。

(病理組織検査)

組織病変は、中枢神経系に局在する。

- ① 神経網の空胞化
- ② 神経細胞の空胞化と脱落
- ③ 星状膠細胞の活性化
- ④ アミロイド斑の出現(ごく希)

(免疫組織化学検査)

脳、扁桃またはリンパ節などに異常プリオン蛋白質の蓄積が検出されれば陽性

(参考)

プリオンの伝達性の確認には、動物接種試験が用いられる。脳、リンパ節、胎盤を接種材料として、マウスに脳内接種。遺伝子組換えマウスの開発により潜伏期は短縮しているが、判定には長期間を要する。

従来とは異なる病変分布、プロテイナーゼ K 抵抗性の弱い異常プリオン蛋白質の蓄積を特徴とした非定型スクレイピーが欧州で報告されている。

169 伝染性無乳症〔届〕

担当	検 査 チ ャ ー ト
家畜保健衛生所	(1) 疫学調査 (2) 臨床検査 (乳汁、血液、関節液、 鼻汁) (死亡畜、鑑定殺畜) (乳房付属リンパ節、 肺病変部、関節液) (3) 剖 検 群の汚染度調査 ↓ (4) 抗体検査 <ELISA> <補体結合反応> (+) (-) (5) 細菌培養試験 <分離培養> (6) P C R (+) (-) 血清型別 (7) 病理組織検査 (+) (-)
病性鑑定施設	(+) (-) (+) (-) (+) (-)
判定・結果	(+) (-) (+) (-) (+) (-)
最終判定	疫学調査、臨床検査の結果を基に、細菌培養試験(PCRで代替可)、病理組織検査等の結果により総合的に判断する。
その他	- 分離マイコプラズマの血清型別が必要な場合は、動物衛生研究所等の専門機関に依頼する。 - 材料送付方法:分離菌を送付する場合は、以下のいずれかの方法で行う。 ・カラーチェンジした液体培養菌を保冷剤と共に冷凍で送付 ・1.8mlの液体培地に0.2ml接種し、培養しないでそのまま室温で送付 ・寒天培地でコロニーを十分発育させたものを4℃で送付

→類似疾病検査

- ① 他の原因による乳房炎 ② 172 山羊伝染性胸膜肺炎 ③ 171 山羊関節炎・脳脊髄炎

○ 病原体: *Mycoplasma agalactiae*、*M. capricolum* subsp. *capricolum*、*M. mycoides* subsp. *capri* および *M. putrefaciens*

(以前は *M. mycoides* subsp. *mycoides* LC (ラージコロニー) 型も本疾病の原因としていた。これは牛肺疫の原因菌である *M. mycoides* subsp. *mycoides* SC 型と区別するために使用された表現であった。現在 LC 型マイコプラズマは分類学的に *M. mycoides* subsp. *capri* に併合された → 1 牛肺疫参照)

(1) 疫学調査

- ① 山羊とめん羊(症例は少ない。)が感染し発病
- ② 乳房炎のほか胸膜肺炎、関節炎などを併発
- ③ 我が国を含む世界各地に発生
- ④ 病原体を含む汚染乳汁、エアロゾルの摂取と吸入、接触により伝播

(2) 臨床検査

- ① 乳房炎、泌乳量の低下および停止
- ② 病原体の違いで症状が異なる。
 - ・*M. agalactiae*: 発熱、食欲不振、流産、関節炎などの他、希に跛行、角結膜炎などを併発
 - ・*M. capricolum* subsp. *capricolum*: 発熱、敗血症、関節炎などを併発
 - ・*M. mycoides* subsp. *capri*: 関節炎、胸膜炎、肺炎、角結膜炎などを併発
 - ・*M. putrefaciens*: 流産、関節炎を併発

(3) 剖 検

- ① 乳房炎
- ② 関節炎、関節周囲炎
- ③ 角結膜炎
- ④ 胸膜肺炎

(4) 抗体検査(ELISA、補体結合反応)

群の汚染度を調べるため、血清抗体を ELISA または補体結合反応で測定。検査は自作の ELISA 抗原または CF 抗原で行う。抗原の作製法等は動物衛生研究所に問い合わせる。

(5) 細菌培養試験(分離培養)

生検材料では乳汁、血液、関節液、鼻汁を採取。剖検材料では乳房付属リンパ節、肺病変部、関節液を採取。生検または剖検材料について PPLO 寒天培地に接種し、37℃、5% CO₂ 条件下で 7 日間培養する。

(6) P C R

M. agalactiae ¹⁾ および *M. mycoides* subsp. *capri* ²⁾ と *M. capricolum* subsp. *capricolum* ³⁾ について菌種あるいはグループで検出可能な PCR が開発されている。

(7) 病理組織検査

- ① 乳房炎では、感染初期には間質における水腫、細胞浸潤。慢性化すると、間質の線維化と腺房の萎縮
- ② 線維素性化膿性関節炎
- ③ 粘液カタル性化膿性結膜炎、角膜炎
- ④ 線維素性化膿性胸膜肺炎あるいは間質性肺炎。壊死や石灰化を伴う。

その他:

(分離培地)

PPLO 培地

(基礎培地)

PPLO broth w/o CV (Difco)	21 g
蒸留水	815 ml

(添加物)

馬血清 (0.45µmろ過滅菌済み)	150ml
25% (w/w) 新鮮イーストエキス *	25ml
2.5% 酢酸タリウム液	10ml
ペニシリンG カリウム	100 万単位

基礎培地を作製後、121℃ 15 分オートクレーブ滅菌し、冷却後、添加物を無菌的に加える。通常 pH は 7.6 ± 0.2 の幅にあるので pH 調整は不要。冷蔵庫で 3 ヶ月まで保存可能。寒天培地の場合は基礎培地に Agar Noble (Difco) を 12g 加えてオートクレーブする。

* 25% (w/w) 新鮮イーストエキスの作製法

- ① サフーインスタントドライイースト「saf-instant」(フランス製: 日仏商事取扱い) 500g を 1,500ml の蒸留水に溶かす。家庭用ミキサーを用いドライイーストを少量ずつ加えながら溶かすのが効果的である。
- ② 溶かしたイーストを 5L コルベンに入れ、沸騰水中に温浴させる。5 分間隔で攪拌しながら 30 分間抽出する。
- ③ 冷却後、9,000g 以上で遠心し、上清を集める。
- ④ 1N NaOH で pH を 7.6 ~ 7.8 に調整する。
- ⑤ 再度沸騰水中で 10 分間温浴し、冷却後 9,000g 以上で遠心し上清を静かに集め、孔径 0.45µm のメンブランフィルターでろ過する。50ml ずつ無菌的に小分けし、冷凍保存する。凍結融解を繰り返さなければ約 3 年間は保存可能である。

(血清型別)

分離マイコプラズマ株の血清学的同定。各種マイコプラズマ抗血清を供試して代謝阻止試験を行う。

分離マイコプラズマの血清型別が必要な場合は、動物衛生研究所等の専門機関に依頼する。

(参考文献)

- 1) Chávez González, Y.R., et al.: Vet. Microbiol. 47, 183-190 (1995).
- 2) Bashiruddin, J.B., et al.: J. Vet. Diagn. Invest. 6, 428-434 (1994).
- 3) Bascuñana, C.R., et al.: J. Bacteriol. 176, 2577-2586 (1994).

170 トキソプラズマ病（めん羊・山羊）〔届〕

担当	検 査 チ ャ ー ト
家畜保健衛生所	<pre> graph TD A["(1) 疫学調査"] --- B["(2) 臨床検査"] B -- "(死亡畜、流死産胎子)" --> C["(3) 剖検"] C --> D["(4) 簡易原虫検査"] C -.-> E["(5) 動物接種試験"] C -.-> F["(6) 病理組織検査"] D --> G["(+)"] D --> H["(-)"] E -.-> I["(+)"] E -.-> J["(-)"] F -.-> K["(+)"] F -.-> L["(-)"] K -.-> M["(7) 免疫組織化学検査"] L -.-> M M -.-> N["(+)"] M -.-> O["(-)"] </pre>
病性鑑定施設	(+) (-) (+) (-) (+) (-)
判定・結果	(+) (-) (+) (-) (+) (-)
最終判定	疫学調査、臨床検査の結果を基に、剖検、簡易原虫検査の結果により本病とする。
その他	

→類似疾病検査

めん羊：流死産時 ① クラミジア感染症 ② カンピロバクター感染症 ③ 159 ブルセラ病

山羊：ウイルスおよび細菌感染症による熱性疾病

○ 病原体: *Toxoplasma gondii*

(1) 疫学調査

- ① 発生前の放牧の有無
- ② 散発的、ときに集団的に発生
- ③ 畜舎周辺に猫やネズミの出入りがある。

(2) 臨床検査

(めん羊)

流死産

(山羊)

- ① 発熱(40℃以上の稽留熱)
- ② 一般症状の悪化
- ③ 下痢
- ④ 咳、呼吸困難(腹式呼吸)
- ⑤ 歩様蹣跚、起立不能

(3) 剖 検

(めん羊)

- ① 胎子の全身性浮腫
- ② 脳の点状出血

(山羊)

- ① 肺は淡紅色～橙色を呈し、大葉性水腫、割面には多量の漿液を含み、ときに出血斑または白色壊死斑
- ② リンパ節の腫大、硬結、出血および広範囲の壊死
- ③ 肝臓の混濁腫脹、針頭大～肝小葉大の壊死巣または出血点
- ④ 腎臓の点状出血
- ⑤ 腸粘膜の潮紅、び爛、潰瘍、ときに出血

(4) 簡易原虫検査

(肺、リンパ節、脳等の病変を材料とする。)

- ① ギムザ染色
- ② 蛍光抗体法

(5) 動物接種試験

材料：肺、リンパ節等(病変部周囲)

方法：マウス腹腔内接種(3～5匹使用)

成績：発症(10日前後)マウスの腹水検査

無発症の場合は脳内シストの検査(1ヵ月後)

(6) 病理組織検査

(めん羊)

脳の壊死部周辺のグリア結節や白血球集簇

(山羊)

- ① リンパ節、脾臓のリンパ組織の壊死、細網細胞の腫大増殖
- ② 肝臓の多発性小壊死巣
- ③ 漿液性、増殖性間質性肺炎
- ④ 非化膿性脳炎(グリア結節の散在、巣状壊死)

(7) 免疫組織化学検査

病変部にトキソプラズマ抗原を検出する。

171 山羊関節炎・脳脊髄炎〔届〕

担当	検 査 チ ャ ー ト
家畜保健衛生所	(1) 疫学調査 (2) 臨床検査 (血清) ↓ (4) 抗体検査 ＜寒天ゲル内沈降反応＞ (+) (-) (死亡畜) → (3) 剖検 (EDTA血、乳汁、血清) ↓ (5) PCR (6) ウイルス培養試験 ＜培養細胞接種試験＞ (+) (-) (肺、乳腺、関節液、血清等) ↓ (7) 病理組織検査 (+) (-)
病性鑑定施設	↓ (+) ↓ (-) ↓ (+) ↓ (-) ↓ (+) ↓ (-) ↓ (+) ↓ (-)
判定・結果	(+) (-) (+) (-) (+) (-)
最終判定	疫学調査、臨床検査の結果を基に、PCR、抗体検査、病理組織検査、必要に応じてウイルス培養試験の結果により総合的に判断する。
その他	抗体検査と併行してできる限りウイルス培養試験を実施し、総合的に判断する。

→類似疾病検査

- ① 162 伝達性海綿状脳症(スクレイピー) ② 169 伝染性無乳症 ③ 海21 マエディ・ビスナ
- ④ 172 山羊伝染性胸膜肺炎 ⑤ 羊肺腺腫 ⑥ 173 リステリア症 ⑦ 167 野兔病
- ⑧ 伝染性趾間皮膚炎

○ 病原体: 山羊関節炎・脳脊髄炎ウイルス; *Caprine arthritis-encephalitis virus* [*Caprine arthritis-encephalitis virus*, *Lentivirus*, *Orthoretrovirinae*, *Retroviridae*]

(1) 疫学調査

- ① 世界的に発生。先進国に多い。欧米では、主に乳房炎による被害が重要視されている。
- ② 感染母山羊から初乳または常乳を介して垂直感染する。呼吸器飛沫による水平感染も成立する。
- ③ 感染後、抗体が陽転するまで数ヵ月から数年かかることもある。
- ④ 感染個体は終生ウイルスを保有するが、発症率は低く(10%程度)、多くが不顕性感染に終わる。
- ⑤ 生後4ヵ月未満の子山羊では主に白質脳脊髄炎、成山羊では主に関節炎、乳房炎または肺炎が認められる。
- ⑥ 症状の進行は緩徐だが、治療法および予防法はない。

(2) 臨床検査

- ① ほとんどが無症状
- ② 後肢に始まり、前肢に及ぶ進行性の運動失調や麻痺(子山羊の脳脊髄炎)
- ③ 主に手根関節にみられる関節の腫脹から、歩行困難、起立困難に至る(成山羊の関節炎)
- ④ 硬結性の乳房炎、泌乳量低下
- ⑤ 発咳等の呼吸器症状

(3) 剖 検

- ① 脳脊髄白質の巣状軟化(子山羊の脳脊髄炎)。病変は脳室上衣下および脊髄軟膜下で好発
- ② 関節液の増量、フィブリンの析出、関節包膜の増殖、希に石灰沈着や、腱断裂。手根関節前部では囊水腫(ヒグローマ)がみられることが多く、囊水腫腔は関節腔や腱鞘と連続(成山羊の関節炎)
- ③ 乳房の硬結

- ④ 肺の多発性～癒合性の退色、硬化病変

(4) 抗体検査(寒天ゲル内沈降反応)

寒天ゲル内沈降反応

(5) PCR¹⁾

末梢血中白血球または感染細胞からDNAを抽出し、PCRによりCAEV遺伝子を検出する。

(6) ウイルス培養試験(培養細胞接種試験)²⁾

血清、関節包膜等組織乳剤上清および末梢血中白血球等を、山羊またはめん羊のプライマリー細胞に接種。7日ごとに3代盲継代し、ギムザ染色による多核巨細胞形成もしくは間接蛍光抗体染色による特異蛍光を確認する。

(7) 病理組織検査

- ① 中枢神経白質における多発性～斑状の脱髄性脳脊髄炎。病変は中脳以降で強い(子山羊の脳脊髄炎)。
- ② 非化膿性関節および関節周囲炎。リンパ球、形質細胞浸潤を伴う関節滑膜の絨毛状増殖(成山羊の関節炎)
- ③ 非化膿性間質性肺炎、肺胞Ⅱ型上皮細胞の増殖と肺胞腔内における好酸性物質の貯留を特徴とする。
- ④ 非化膿性間質性乳腺炎

(参考文献)

- 1) Fieni, F., et al.: *Theriogenology*. 57, 931-940 (2002).
- 2) Konishi, M., et al.: *J. Vet. Med. Sci.* 66, 911-917 (2004).

172 山羊伝染性胸膜肺炎〔届〕

担当	検 査 チ ャ ー ト
家畜保健衛生所	(1) 疫学調査 (2) 臨床検査 (死亡畜・鑑定殺畜) (気管内容物) (3) 剖 検 (肺病変部、肺の近傍リンパ節、気管内容物)
病性鑑定施設	(4) 細菌培養試験 ＜分離培養＞ (5) P C R (+) ↓ 血清型別 (-) (6) 病理組織検査 (+) ↓ (-) ↓
判定・結果	↓ (+) ↓ (-) ↓ (+) ↓ (-)
最終判定	疫学調査、臨床検査の結果を基に、細菌培養試験(PCRで代替可)、病理組織検査等の結果により総合的に判断する。
その他	- 分離マイコプラズマの血清型別が必要な場合は、動物衛生研究所等の専門機関に依頼する。 - 材料送付方法:分離菌を送付する場合は、以下のいずれかの方法で行う。 ・カラーチェンジした液体培養菌を保冷剤と共に冷凍で送付 ・1.8mlの液体培地に0.2ml接種し、培養しないでそのまま室温で送付 ・寒天培地でコロニーを十分発育させたものを4℃で送付

→類似疾病検査

- ① パスツレラ症 ② マイコプラズマ性肺炎 ③ 169 伝染性無乳症

○ 病原体: *Mycoplasma capricolum* subsp. *capripneumoniae*

(1) 疫学調査

- ① 山羊のみが発病
② 中近東、アフリカ(地中海沿岸)で多く発生がみられる。
③ 感染山羊との接触、気道感染で伝播する。

その他:

(分離培地)

PPLO 培地

(基礎培地)

PPLO broth w/o CV (Difco)	21g
蒸留水	815ml

(2) 臨床検査

- ① 潜伏期は2～50日
② 40℃を超える発熱、食欲減失、呼吸困難、衰弱による横臥
③ 重症例では肺水腫と肺の肝変で死亡する。

(添加物)

馬血清(0.45μmろ過滅菌済み)	150ml
25% (w/w) 新鮮イーストエキス *	25ml
2.5% 酢酸タリウム液	10ml
ペニシリンGカリウム	100万単位

(3) 剖 検

- ① 胸膜肺炎
② 心外膜炎
③ 付属リンパ節の顕著な水腫状腫大。肺小葉間結合組織の拡大
④ 線維素性肋胸膜炎

基礎培地を作製後、121℃ 15分オートクレーブ滅菌し、冷却後、添加物を無菌的に加える。通常 pH は 7.6±0.2 の幅にあるので pH 調整は不要。冷蔵庫で3ヵ月まで保存可能。

寒天培地の場合は基礎培地に Agar Noble (Difco) を 12g 加えてオートクレーブする。

* 25% (w/w) 新鮮イーストエキスの作製法

- ① サーフインスタントドライイースト「saf-instant」(フランス製: 日仏商事取扱い) 500g を 1,500ml の蒸留水に溶かす。家庭用ミキサーを用いドライイーストを少量ずつ加えながら溶かすのが効果的である。
② 溶かしたイーストを 5L コルベンに入れ、沸騰水中に温浴させる。5分間隔で攪拌しながら30分間抽出する。
③ 冷却後、9,000g 以上で遠心し、上清を集める。
④ 1N NaOH で pH を 7.6～7.8 に調整する。
⑤ 再度沸騰水中で10分間温浴し、冷却後 9,000g 以上で遠心し上清を静かに集め、孔径 0.45μm のメンブランフィルターでろ過する。50ml ずつ無菌的に小分けし、冷凍保存する。凍結融解を繰り返さなければ約3年間は保存可能である。

(4) 細菌培養試験(分離培養)

肺病変部、肺の近傍リンパ節、気管内容物を PPLO 寒天培地に接種し、37℃、5%CO₂ 条件下で10日間まで培養する。

(5) P C R

PCR-RFLP解析による *M. capricolum* subsp. *capripneumoniae* のスクリーニング法が報告されている¹⁾。

(6) 病理組織検査

線維素性化膿性胸膜肺炎。壊死や石灰化を伴う。牛肺疫との違いは、壊死片形成や小葉間結合組織の水腫と線維素性浸出による拡張が顕著でないこと。

(血清型別)

分離マイコプラズマ株の血清学的同定。 *M. capricolum* subsp. *capripneumoniae* F38 株で作製した抗血清を供試して代謝阻止試験を行う。血清型別が必要な場合は、動物衛生研究所等の専門機関に依頼する。

(参考文献)

- 1) Bashiruddin, J.B., et al.: J. Vet. Diagn. Invest.
6, 428-434 (1994).

174 野 兎 病（うさぎ・豚・馬・めん羊）〔届〕

担当	検 査 チ ャ ー ト
家畜保健衛生所	<pre> graph TD A1["(1) 疫学調査"] -- "(死亡動物)" --> A3["(3) 剖 検"] A2["(2) 臨床検査"] -- "(死亡動物)" --> A3 A1 -- "(血液)" --> A4["(4) 簡易細菌検査"] A3 -- "(肝臓、脾臓、 腎臓、肺、 骨髄)" --> A4 A4 -- "<直接鏡検>" --> A5["(5) P C R"] A4 -- "<直接鏡検>" --> A6["(6) 細菌培養試験"] A3 --> A7["(7) 病理組織検査"] A5 --> B1["(+)"] A5 --> B2["(-)"] A6 -- "<分離培養>" --> B1 A6 -- "<分離培養>" --> B2 A7 --> B3["(+)"] A7 --> B4["(-)"] B1 --> C1["(+)"] B2 --> C2["(-)"] B3 --> C3["(+)"] B4 --> C4["(-)"] </pre>
病性鑑定施設	(5) P C R (6) 細菌培養試験 <分離培養> (+) (-) (+) (-)
判定・結果	(+) (-) (+) (-)
最終判定	最終判定は、細菌培養試験、PCRを主体に病理組織検査等の結果を併せて総合的に判断する。
その他	野兎病は感染症法の二種病原体等に指定されており、同法の規制の対象となる。

→類似疾病検査

他の菌が原因となる敗血症、急性肺炎

- 病原体: *Francisella tularensis* subsp. *tularensis* (旧名 *F. tularensis* A 型)、*F. tularensis* subsp. *holarctica* (旧名 *F. tularensis* B 型)、*F. tularensis* subsp. *mediasiatica*、*F. tularensis* subsp. *novicida*

(1) 疫学調査

- ① 日本では野うさぎ、人等に subsp. *holarctica* による野兎病の発生報告がある。
- ② subsp. *tularensis* は北米に分布し、うさぎに強い病原性を示す。
- ③ subsp. *holarctica* は北緯 30 度以北の北半球に広く分布するが、人や家畜に対する病原性は強くない。
- ④ subsp. *mediasiatica* は中央アジア、subsp. *novicida* は北米に分布するが、病原性は弱い。
- ⑤ 各種哺乳類、鳥類、無脊椎動物に感染する。
- ⑥ 感染・伝播はダニ、カ等による機械的伝播、汚染エアロゾルの吸入、汚染水の飲水、感染動物の摂食、直接接触等により起こる。

(2) 臨床検査

- ① 一般に家畜では顕著な臨床症状はない。
- ② 高感受性動物(うさぎ、モルモット、マウスなど)は敗血症に伴う諸症状(発熱、呼吸数・心拍数の増加、嗜眠、食欲不振、硬直歩行等)を呈し、2～10 日の経過で死亡する。うさぎでは下痢を伴うこともある。
- ③ めん羊では subsp. *tularensis* による高い死亡率の感染事例があり、敗血症に伴う諸症状の他に、咳や下痢、衰弱を伴うこともある。
- ④ 成豚では潜在性の感染を起こす。子豚は発熱、抑鬱、発汗、呼吸困難等の症状を示す場合もあり、7～10 日目に死亡することもある。
- ⑤ 馬では発熱、四肢の硬直・水腫を示すことがあり、子馬は呼吸困難、運動失調を伴うこともある。

(3) 剖 検

- ① 高感受性動物(うさぎなど)では肝臓、脾臓に小壊死巣、リンパ節の腫大、水腫、微小膿瘍、肺の水腫、充血、肝変化、線維素性肺炎、胸膜肺炎などが観察される。
- ② 急性死亡動物は、敗血症による肝臓や骨髄、脾臓に様々な大きさの白色巣状壊死と通常脾臓の腫大が観察される。

(注意)

野兎病菌は、感染症法で二種病原体に指定された人獣共通感染症の病原体であり、病的材料の取扱いは予防衣、手袋、マスク、ゴーグルなど个人防护および病原体の拡散を防ぐための十分な封じ込め条件下で行うこと。

(4) 簡易細菌検査(直接鏡検)

肝臓、脾臓、骨髄、腎臓、肺、血液などの塗抹標本をグラム染色し、グラム陰性の微小桿菌(0.2～0.7μm)を確認する。免疫染色¹⁾(蛍光抗体法、酵素抗体法)による検出も可能である。

(5) P C R^{2)・5)}

培養による検出法は困難な場合が多く、また日数を必要とするため、迅速な病原体検出法として検査材料からの野兎病菌特異的遺伝子断片を増幅検出する法が有効である。分離菌の同定にも用いられる。16S リボソーム RNA や外膜蛋白質遺伝子を標的とした PCR が開発されている。

(6) 細菌培養試験(分離培養)

- ① 原因菌は好気性、非運動性、芽胞非形成性グラム陰性の小さな桿菌で、両端濃染性、古い培養では多形性を示す。
- ② 肝臓、脾臓、骨髄、潰瘍部、腫脹リンパ節、心

血などを分離培養材料とする。

- ③ 通常の培地には発育しないため、Francis 培地、改良 Thayer-Martin 培地、8%血液加ユーゴン培地¹⁾などを使用し、37℃2～7日間培養する。原因菌は培養開始2日目以降に緑がかった灰色で光沢、粘稠性コロニーを形成する。
- ④ PCRにより菌を同定する。

(7) 病理組織検査

低感受性動物(めん羊、豚、馬など)では肝臓、脾臓、肺、腎臓に慢性肉芽腫が形成される。

その他:
(参考)

- ① 抗血清を用いた検査^{1), 4), 5)}

抗血清が入手可能であれば、培養試験で得られた菌を用いた凝集試験、あるいは組織切片標本の免疫組織染色(蛍光抗体法、酵素抗体法)による抗原の検出が判定に有効である。

- ② 分離菌の生化学性状検査

カタラーゼ弱陽性、オキシダーゼ陰性。その他、亜種の決定には各種糖分解能やエリスロマイシン感受性などを調べる。

- ③ 抗体検査^{1), 4), 5)}

野兔病菌に対する血中抗体価は発症後1～2週間で上昇し、長期間維持される。特異抗体の検出には主に凝集反応(試験管法または微量凝集反応法)が用いられる。高感受性動物では抗体価上昇前に死亡するため実用的ではないが、感受性の低い家畜種や野生動物などでは疫学調査を目的として実施される。

- ④ 動物接種試験¹⁾

材料中の本菌有無を確認するため、マウスやモルモットの腹腔内に生理食塩水で調整した材料の乳剤を接種する。接種後2～10日目に死亡し、病変の形成はほとんどない。死亡例の心血、肝臓、脾臓などを、あるいは生存例では接種後7～10日目にそれらを培養する(人への感染の危険性や実施施設、設備などの問題があり、菌の証明にはPCR^{3), 4)}が用いられることが多くなっている。)

(注意)

野兔病菌は、感染症法で二種病原体に指定された人獣共通感染症の病原体であり、病的材料の取扱いは予防衣、手袋、マスク、ゴーグルなど个人防护および病原体の拡散を防ぐための十分な封じ込め条件下で行うこと。

- ⑤ 免疫組織化学検査

組織切片標本の免疫染色¹⁾(蛍光抗体法、酵素抗体法)によって抗原が検出される。

(参考文献)

- 1) 佐藤 信ら: 大原総合病院年報、35、1-10 (1992).
- 2) Forsman, M., et. al.: Int. J. Syst. Bacteriol, 44, 38-46 (1994).
- 3) Johansson, A., et. al.: J. Clin. Microbiol. 38, 4180-4185 (2000).
- 4) Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals, 7th ed. OIE (2012).
- 5) 棚林 清ら: 野兔病菌検査マニュアル. 国立感染症研究所.

175 兔ウイルス性出血病〔届〕

担当	検 査 チ ャ ー ト
家畜保健衛生所	<pre> graph TD A["(1) 疫学調査"] --> D["(3) 剖検"] B["(2) 臨床検査"] --> D C["(死亡うさぎ)"] --> D D -- "(肝臓)" --> E["(4) PCR"] D --> F["(5) 病理組織検査"] E --> G["(+)"] E --> H["(-)"] F --> I["(6) 免疫組織化学検査"] I --> J["(+)"] I --> K["(-)"] </pre>
病性鑑定施設	(4) P C R (5) 病 理 組 織 検 査 (6) 免疫組織化学検査 (+) (-) (+) (-)
判定・結果	(+) (-) (+) (-)
最終判定	疫学調査、臨床検査の結果を基に、病理組織検査、PCR等の結果により総合的に判定する。
その他	

→類似疾病検査

- ① パスツレラ症(敗血症) ② 中毒性疾患

○ 病原体: 兎出血病ウイルス; Rabbit hemorrhagic disease virus [*Rabbit hemorrhagic disease virus*, *Lagovirus*, *Caliciviridae*]

(1) 疫学調査

- ① 成兎(おおむね2ヵ月齢以上)で発症
② 主に接触感染により伝播。ウイルスは室温中で数ヵ月間生存
③ 高い感染率。死亡率は40～90%

(2) 臨床検査

- ① 元気消失
② 食欲廃絶
③ 発熱
④ ときに神経症状や鼻出血
⑤ 一般に甚急性ないし急性経過で、突然死することもある。

(3) 剖 検

- ① 全身諸臓器の点状ないし斑状出血、重度のうっ血
② 肝臓の混濁、退色、脆弱化

(4) P C R

肝臓の生材料または凍結生材料からRNAを抽出して行う¹⁾。

(5) 病理組織検査

- ① 肝臓の小葉辺縁部を中心とした壊死と偽好酸球の浸潤(壊死性肝炎)
② 諸臓器の出血と播種性血管内凝固(DIC)
③ リンパ組織におけるリンパ球減少

(6) 免疫組織化学検査

肝細胞やマクロファージにウイルス抗原を検出する。

その他:

本ウイルスの細胞培養法は確立されていない。

(参考文献)

- 1) Le Gall, G., et al.: J. Gen. Virol. 79, 11-16 (1998).

176 レプトスピラ症（犬）〔一部届〕

担当	検 査 チ ャ ー ト
家畜保健衛生所	(1) 疫学調査 (2) 臨床検査 (3) 剖 検 (血液、肝臓、 腎臓、尿) (血清) (血液、尿)
病性鑑定施設	(7) P C R (4) 細菌培養試験 (5) 動物接種試験 (6) 病理組織検査 <分離培養> 抗体検査 ↓ 血清型別 (+) (-) ↓ ↓ 血清型別 血清型別 (+) (-) ↓ ↓ 血清型別 血清型別 (+) (-) ↓ ↓ 血清型別 血清型別
判定・結果	専門機関 に相談 (+) (-) (+) (-) (+) (-)
最終判定	疫学調査、臨床検査の結果を基に、細菌培養試験、抗体検査、PCR、病理組織検査等の結果を併せて総合的に判断する。
その他	抗体検査や分離菌の血清型別が必要な場合は動物衛生研究所等の専門機関に相談する。

→類似疾病検査

- ① 犬バベシア病 ② 犬の腎盂腎炎

○ 病原体: *Leptospira interrogans* など

(1) 疫学調査

- ① ワクチン接種の有無
② 飼料、水等がネズミの糞・尿で汚染されている。
③ 本病に感染あるいは不顕性感染した動物の尿で汚染されている。

(2) 臨床検査

- ① *L. Canicola* 感染: 嘔吐、口腔粘膜の壊死脱落、腎炎症状
② *L. Icterohaemorrhagiae* 感染: 口腔粘膜などの出血性黄疸、重症例は致死的経過
③ その他の感染: 不顕性感染が多い。
④ 回復犬は長期間(数ヵ月～数年)にわたり尿中に排菌

(3) 剖 検

- ① 急性例では粘膜、胸腹膜の出血、肝臓および腎臓など諸臓器の出血
② 慢性例では間質性腎炎

(4) 細菌培養試験(分離培養)

検査材料を培養液に接種し本菌に特徴的な細菌の増殖を確認する。

(注)

抗生物質投与前の尿、血液等を、死亡例については腎臓、肝臓等も使用し、検体採取後速やかに培地に入れる。培地は EMJH またはコルトフ培地を使用し、接種後 $29 \pm 1^\circ\text{C}$ で少なくとも 16 週、可能であれば 26 週まで培養する。1～2 週ごとに暗視野顕微鏡で特徴的な形態と運動性を確認する(細菌分離はレプトスピラ血症期(感染後約 7 日)は可能であるがそれ以降では困難である。))。

(補足)

- ① 材料から速やかに培養できない場合、尿は pH7.0～7.4 に調整、血液はヘパリン採血を行い、常温で維持する。組織の場合、 4°C で維持する。

- ② EMJH 基礎培地あるいはコルトフ基礎培地に滅菌非働化したウサギ血清を最終濃度 0.4～1% になるよう添加すると分離率が向上する。また、基礎培地に 0.1～0.2% agar を加えて半流動培地として使用することもできる。
③ 尿からの菌分離で他の細菌の混入を防止したい場合、5-フルオウラシルを最終濃度 100 $\mu\text{g/ml}$ となるように加えることもある。

(5) 動物接種試験(実験動物を用いた菌分離)

実験動物を用いた菌分離は以下のように行う。若いモルモット(150～175g)やゴールデンハムスター(4～6 週齢)の腹腔に検体 0.5～1ml を接種する。接種後 3 日目に腹水を採取し、暗視野顕微鏡で菌の存在の有無を観察する。培養には血液、腎臓および肝臓などを用い、(4)と同様に行う。

(6) 病理組織検査

- ① 急性例: 肝臓では肝細胞の解離、変性または壊死。胆汁のうっ滞による胆汁栓の形成。腎臓では尿細管の変性、壊死、上皮の剥離。間質へのリンパ球などの浸潤
② 慢性例: 尿毒症の所見。尿細管の変性、壊死、上皮の剥離。間質へのリンパ球などの浸潤が顕著

Levaditi 法などの鍍銀染色で螺旋状のレプトスピラ菌体が検出される。

(7) PCR¹⁾

血液、尿、髄液および組織検体からレプトスピラ DNA を検出するのに用いられる。検体から DNA を抽出し、鋳型として使用する。死菌にも適応できるので抗生物質投与後の検体でも検査可能である。

その他:

(抗体検査)

通常、感染抗体はワクチン抗体よりも高い抗体価を示すが、両者の明確な区別はできない。最も信頼できる方法はペア血清を用いた顕微鏡凝集試験 (MAT) で抗体価の上昇を確認することであり、ペア血清で4倍以上の抗体価上昇が認められた場合陽性と判定されるが、標準菌株と暗視野顕微鏡が必要である。

(血清型別)

標準菌株を用いた MAT による血清抗体価の測定により原因菌の血清型を知ることが可能である。

菌が分離された場合は、MAT の他に交差凝集吸収試験やマウス単クローン抗体を使用した血清型別法があり、限られた専門機関で実施されている。

なお、届出伝染病に指定されている血清型は以下の7血清型である。

L. Pomona, *L. Canicola*, *L. Icterohaemorrhagiae*, *L. Grippotyphosa*, *L. Hardjo*, *L. Autumnalis* および *L. Australis*。

抗体検査や分離菌の血清型別は専門機関に依頼する。

(参考文献)

1) Kawabata, H., et al.: Microbiol. Immunol. 45, 491-496 (2001).