

馬伝染性子宮炎

Contagious equine metritis:CEM

(第3版)

公益社団法人 中央畜産会



目 次

発刊にあたって	1
Ⅰ. 疾病の概要	2
Ⅱ. 疫学	3
1. 海外における流行の歴史と現況	3
2. 国内における流行の歴史と現況	3
Ⅲ. 病原体と感染	5
1. 病原体	5
2. 感染と保菌	7
1) 雌馬	
2) 雄馬	
3. 伝播	7
Ⅳ. 臨床症状と診断法	8
1. 臨床症状	8
1) 雌馬	
2) 雄馬	
2. 臨床病理学的診断法	8
3. 病原学的診断法	9
1) 採材法	
2) 菌分離と同定	
3) PCR 検査	
4. 血清学的診断法	15
5. 病理学的診断法	16
1) 部検所見	
2) 病理組織学的所見	
Ⅴ. 予防と治療	18
1. 予防	18
2. 治療	18
1) 洗浄と抗菌薬投与	
2) 陰核洞切除手術	
3) 淘汰	
おわりに	20

発刊にあたって

1977 年、英国で突然発生した馬伝染性子宮炎（CEM）の世界的な拡大を目の当たりにした軽種馬防疫協議会は、本病のわが国への侵入の危険性を警告し関係者への啓蒙を図る目的で、日本中央競馬会競走馬総合研究所栃木支所の鎌田・田淵両氏に馬伝染性子宮炎のパンフレット作成を依頼、1980 年の 3 月に関係者へ配付しました。北海道で CEM の最初の発生が確認されたのは、そのわずか 2 か月後のことです。本病は、その後毎年、繁殖シーズンになると日高地方を中心に発生が認められ、関係者はその対応に追われながらも、清浄化への取り組みを始めました。本パンフレットの第 2 版が発行されたのは、ちょうどその頃のことです。

本病は関係者の長年の努力により、2005 年を最後に摘発例が認められなくなり、現在のわが国は清浄状態を維持しています。このパンフレットは、日本中央競馬会の安斉氏が 1997 年に作成した第 2 版の改訂版に相当するものであり、日本中央競馬会馬事部防疫課および競走馬総合研究所栃木支所の関係者に執筆をお願いしています。本版では近年の国内外での発生状況や国内清浄化への道のり、新たに研究開発された技術を紹介しながら、現時点での本病に関する最新の情報を出来るだけ幅広く記載していただきました。また、本パンフレットでは、本病の診断、治療、防疫に関わる項目についても、詳細かつ具体的に掲載されております。執筆にご協力いただいた皆様には、心より感謝申し上げます。

平成 25 年 11 月

公益社団法人 中央畜産会

I 疾病の概要

馬伝染性子宮炎 (Contagious equine metritis : CEM) は、グラム陰性微好気性桿菌である *Taylorella equigenitalis* (*T. equigenitalis*) の感染によって起こるウマ科の動物に特有の性感染症で、交配によって伝播して雌馬の子宮炎・不妊症をもたらす。本病は、1977 年に英国の軽種馬生産牧場で最初で大流行し、その後はヨーロッパ、オセアニア、米国、そしてアジアと世界中に広がった。わが国でも 1980 年に北海道日高地方の軽種馬生産牧場で発生が確認されて以降、20 年以上にわたり日高・胆振地方で発生が継続していたが、関係者の努力により少しずつ発生数が減少し、2005 年 6 月以降は保菌馬も摘発されなくなったことから、2010 年の馬防疫検討会において学識経験者による評価を受け清浄化達成が確認された。諸外国においては、オーストラリアでは本病は清浄化されている。欧米諸国ではサラブレッドでの発生はほとんど認められないものの、他の品種では毎年のように発生が認められている。

T. equigenitalis の感染部位は、雌馬の子宮に限局され、その他の器官への感染はなく発熱等の全身症状も示さない。雄馬は保菌するが感染は起こらない。感染した雌馬は子宮内膜炎を発症して滲出液を流出し、受胎率の低下を起こす。滲出液中

には多量の *T. equigenitalis* が含まれており、他馬への感染源となる。馬同士の伝播は主に交配によって起こるが、人や器具を介した間接的な伝播例も多い。感染した雌馬、あるいは感染雌馬と交配した種雄馬は、高い確率で保菌馬となる。保菌部位は雌馬では陰核、雄馬ではペニスであり、これらの部位では長期間にわたって菌が生存する。

診断は発症馬では子宮頸管から、保菌が疑われる馬では上記の保菌部位から採取したスワブを用い、病原学的診断 (菌分離または PCR 検査) によって行う。*T. equigenitalis* は多くの種類の消毒薬や抗菌薬に高い感受性を示すことから、治療は消毒薬を用いた洗浄と薬物による局所治療が行われる。しかしながら、本菌は解剖学的に複雑な構造をもつ外部生殖器の恥垢 (スメグマ) の中で長期間生存することから、特に雌馬では洗浄と薬物塗布だけでは *T. equigenitalis* をこの保菌部位から完全に排除することが困難な場合がある。そのような場合には、雌馬では保菌部位である陰核洞の切除が有効である。本病はワクチンによる予防は出来ず、感染馬・保菌馬の摘発と接触性伝播を防ぐための予防措置が防疫上重要である。国内清浄化が達成されたわが国は、海外からの侵入防止と蔓延防止対策の継続が最重要である。

Ⅱ 疫 学

1. 海外における流行の歴史と現況

馬伝染性子宮炎が知られるようになったのは1977年4月に英国ニューマーケットで勃発した大発生が最初である。この流行で、英国では29カ所の牧場で約250頭の繁殖用雌馬と25頭の種雄馬がCEMに罹患し、本格的な繁殖シーズンを前にして種付けの中止を含む厳しい措置がとられた。さらに同じ年に、アイルランド、フランス、オーストラリアでも発生が報告され、ついで、ベルギー、ドイツ、イタリア、ユーゴスラビア、オランダ、デンマーク、スウェーデン、米国、ブラジル、日本など世界の主要馬産国のほとんどで本症の発生が確認された。このように本症がまたたく間に世界中に広がったことは、その伝播力の強さを認識させると同時に、1977年より以前にこれらの国のいくつかにはすでにCEMが存在していたことを窺わせた。そのことを裏付けるように、その後に行われた多くの疫学調査の成績は1975年にフランスですでに本症の発生があったことを示唆している。

CEMのその後の発生状況は国によって様々である。オーストラリアでは1980年を最後に国内での発生報告はなく、1985年に正式に清浄化宣言が出されている。米国では1979年以降発生は認められていなかったが、2006年に再び確認されて以降、現在でも散発的な発生が報告されている。ヨーロッパにおいては、イギリス、フランス、ドイツ、イタリア、オランダ、スペイン、およびスウェーデンなどで毎年のように発生が報告されており、清浄化は未だなされてはいない。しかしながら、最近では以前のような大規模な流行は起こらず、多くはサラブレッド以外の馬における散発的な発生もしくは地域的な流行に留まっている。

2. 国内における流行の歴史と現況

わが国でCEMの発生が確認されたのは、1980年の北海道日高・胆振地方が最初である。しかしながら、その後に行われた血清学的研究の成績は、1978年にはすでにCEM罹患馬が日本国内に存在したことを示唆している。本症の発生が最初に確認された1980年には、緊急対策が実施され、日高家畜保健衛生所管内だけで308頭の繁殖雌馬と13頭の種雄馬から*T. equigenitalis*が分離された。この数字は英国のニューマーケットにおける最初の発生時に匹敵するものであり、当時のわが国の関係者の混乱が容易に想像できる。その後は家畜伝染病予防法第6条および51条の適用、検査および研究体制の整備などの措置により官民一体となった防疫対応がとられ、その結果1980年に321頭であった感染馬は徐々に減少して1983年にはいったん25頭にまで減少した。ところが1985年に再び212頭と増加し1989年まで顕著な減少が認められなかった。その後再度減少して1995年には一旦0頭となったが、1996年には1頭の種雄馬を介しての流行が発生し、摘発頭数は23頭に増加した(図1)。しかしながら、厳格な追跡調査の実施およびDNA検査法のひとつであるPCR検査の試験的導入もあり、翌年には摘発頭数は著しく減少した。1998年には家畜伝染病予防法施行規則の改正によりCEMは届出伝染病となり、また、馬防疫検討会の専門会議が1998～2001年に開催され、PCR検査法が正式な診断法として認定された。さらに、1998年にはCEMの本格的な保菌馬の摘発とその淘汰を目的としたCEM清浄化対策推進事業が開始され、摘発頭数は減少が続いた(表1)。さらに2001年からPCRによる全頭検査が実施され、2005年6月以降は全く摘発されなくなった。なお、2001年にみられた摘発頭数の増加は、PCR検査法がすべての繁殖用軽種馬に初めて適用されたこと

により、検査感度が高まったことが影響したものと考えられる。

これらの結果を受け、2008 年から開催された馬伝染性子宮炎清浄度評価専門会議において、学識経験者による CEM 清浄性についての議論が重ね

られた結果、2010 年の馬防疫検討会本会議で清浄化が確認された。また、この清浄化確認以降にも CEM の侵入防止および蔓延防止対策事業が継続されており、発生は確認されていない。

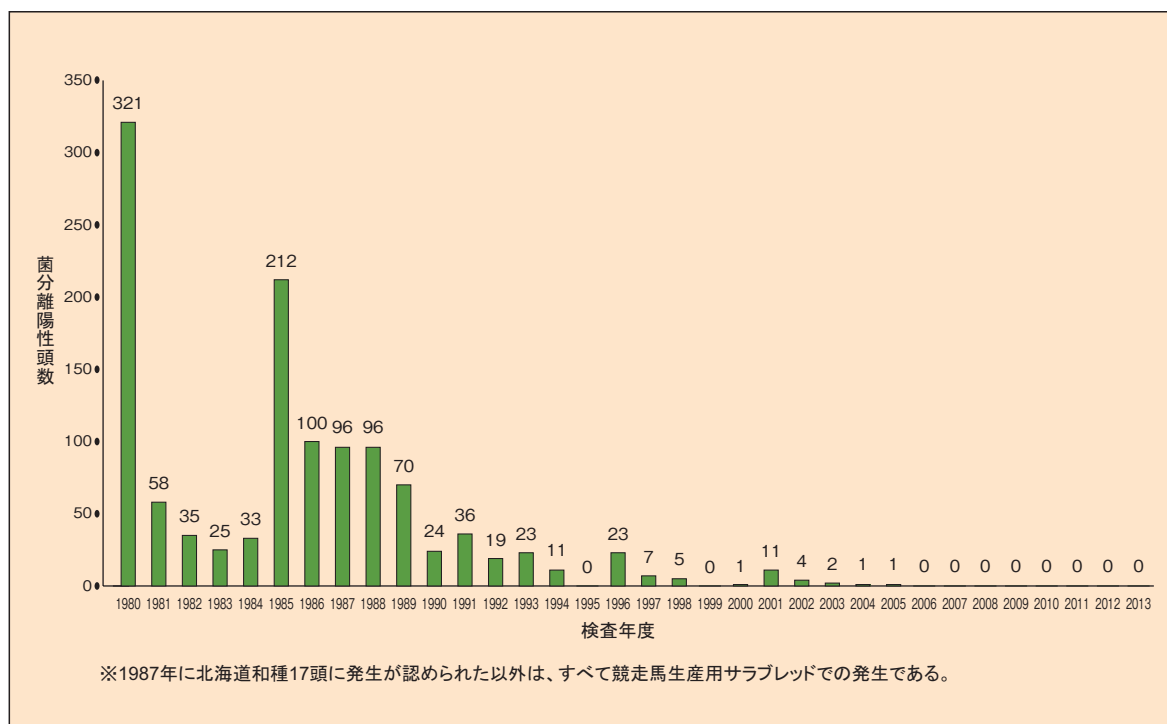


図 1. 日本国内で確認された馬伝染性子宮炎（CEM）の発生数

表 1 CEM 清浄化プログラムの成績

西暦	2001	2002	2003	2004	2005	2006	2007	2008	2009	2010
登録種雄馬頭数	411	412	389	351	331	305	281	282	311	269
登録繁殖雌馬頭数	12,411	12,276	11,499	11,130	10,670	10,297	10,253	10,263	9,872	10,765
PCR 検査頭数	12,356	12,762	12,124	12,152	11,769	12,650	12,738	12,261	12,305	11,796
PCR 陽性雄馬頭数	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
PCR 陽性雌馬頭数	10	4	2	1	1	0	0	0	0	0

Ⅲ 病原体と感染

1. 病原体

本病の原因菌は *Taylorella equigenitalis* である。(図2)。本菌は1977年のCEMが流行した際にPlattらによって初めて分離され、Taylorらによって *Haemophilus equigenitalis* と命名された。その後、杉本らによって新しい属である *Taylorella* の設定と当属への移行が行われ、*Taylorella equigenitalis* と命名された。現在、*Taylorella* 属には本菌と2001年に新たな菌種として発表された後述の *T. asinigenitalis* の2種が含まれている。本菌の主な培養性状は以下の通りである。

本菌は、グラム陰性の桿菌で、固体培地で培養すると通常は球桿菌の形状をとるが(図3)、時に多形性を示す。非運動性で芽胞を形成しない。微好気性条件(5～10%炭酸ガス含有)下で最も良く増殖するが、好気や嫌気条件下ではほとんど増殖しない。また、チョコレート寒天培地上では良く増殖するが、

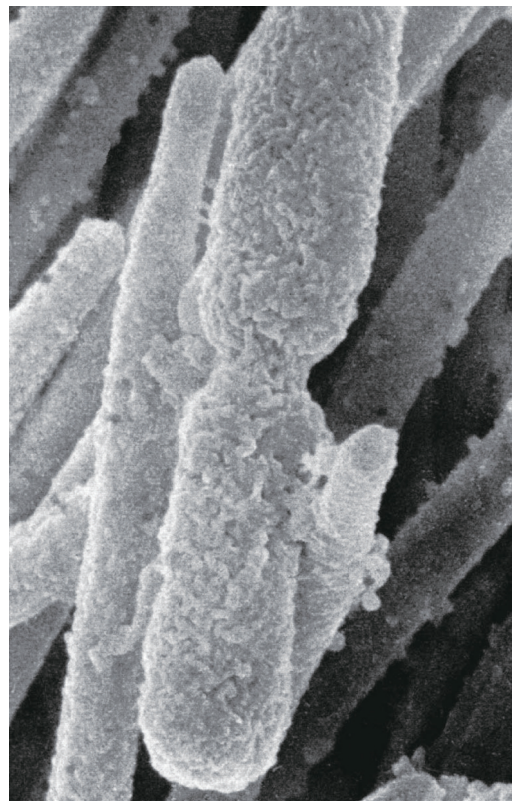


図2. 子宮内膜に感染した *T. equigenitalis* の走査電子顕微鏡像：子宮粘膜上皮細胞の微絨毛に付着している

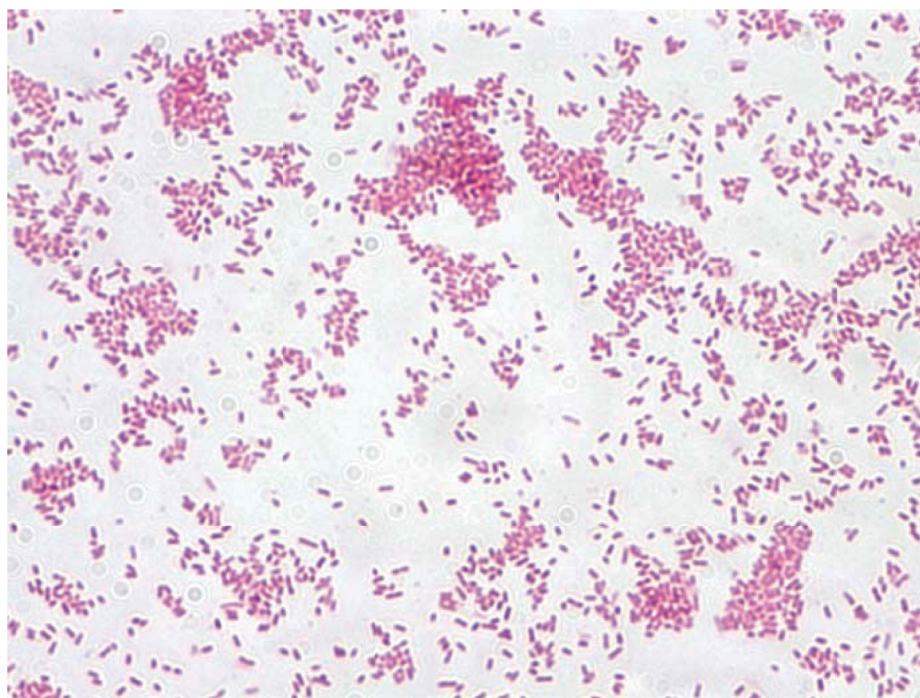


図3. *T. equigenitalis* のグラム染色像：グラム陰性に染色された球桿菌が認められる

血液寒天培地での増殖は悪い。増殖には血液の添加が必要であるが、X および V 因子の要求性はない。至適増殖温度は 35 ～ 37℃ である。カタラーゼ陽性、オキシダーゼ陽性、フォスファターゼ陽性、炭水化物から酸を産生しない。乾燥、加熱、直射日光、酸などに弱く、50℃ 1 分の加熱、1 時間の日光照射、pH3.0 での 5 分間放置で死滅する。多くの消毒薬や抗菌薬に対して高い感受性を示す。抗菌薬としてはペニシリン、アンピシリン、ペプチド系、テトラサイクリン系、ストレプトマイシン以外のアミノ配糖体系などに高感受性である。ストレプトマイシンに対しては感受性を示す株と耐性を示す株の両方が存在するが、これまでにわが国で分離された株は全てストレプトマイシン耐性株であった（図 4）。一方、現在、諸外国で分離される株は、ストレプトマイシン感受性株が多い。本菌は、ウマ科の動物の子宮にのみ感染して病原性を示し、雄馬では感染せず無症状のまま保菌馬となる。他の動物あるいは生殖器以外の部位に感染することはない。実験的にはマウス、ネコ、ウサギ、モルモットの子宮内で一定期間定着させることが可能であるが、自然感染例は報告されていない。



図 4. ストレプトマイシン耐性株の薬剤感受性：ストレプトマイシン (S) に耐性だが、アンピシリン (Pb) とカルベニシリン (Pcb) に強い感受性が認められる

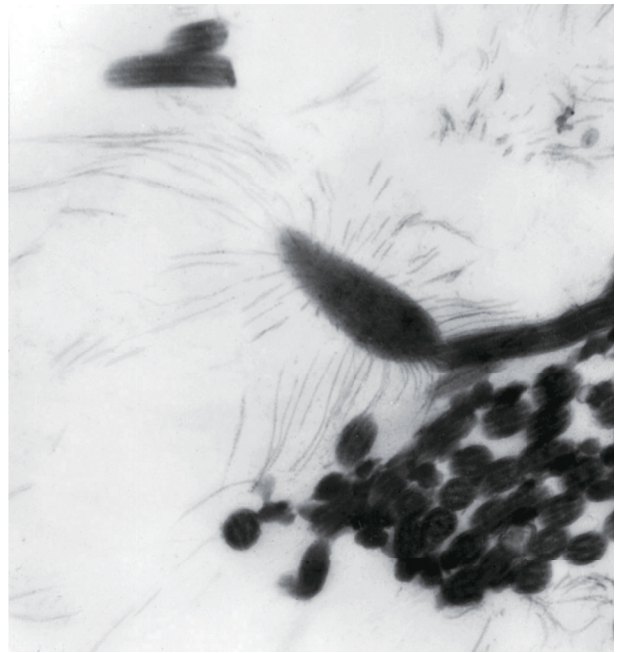


図 5. *T. equigenitalis* の透過電子顕微鏡像：菌体周囲に線毛が確認される。

本菌は、世界各国で分離されており、様々な DNA 型が存在していることが報告されている。国内の分離株は、これまで全て同一の DNA 型と考えられていたが、最近の全ゲノム解析を用いた研究により、国内流行の初期から 3 系統に分かれていたことが明らかになった。また、本菌の病原因子についてはほとんどわかっていないが、莢膜の存在と子宮粘膜上での線毛の発現が報告されており、本菌の付着因子と考えられている（図 5）。病原性に関わる酵素や毒素の報告はない。本菌の全ゲノム配列は 2011 年に公表されており、今後の研究の進展による病原性の解明が期待される。

T. asinigenitalis は、1997 年に口バから初めて分離された。*T. equigenitalis* に近縁であり、2001 年に新しい菌種として発表された。本菌は、米国や欧州で分離例が報告されているが、わが国では分離例はない。分離株の多くは口バ由来であるが、乳母馬や種雄馬からの分離例も報告されている。実験的な子宮内への菌の投与により一部の株で *T. equigenitalis* と同様の症状を示したことが報告されているが、自然感染による発症例は報告されておらず、本菌の馬に対する病原性に関しては不明の部分が多い。

2. 感染と保菌

1) 雌馬

感染部位は子宮である。子宮内に侵入した菌は子宮粘膜上に付着し、急激に増殖する。病理組織学的には感染馬の子宮リンパ管内に菌が認められることもあるが、通常は粘膜上皮細胞上にとどまる。卵巣への感染も起こらない。子宮内では菌の増殖に伴って大量の滲出液が産生され、膣、さらには体外へと排出される。本病の最初の流行時には、疼痛を伴う大量の滲出液の排出が特徴的な臨床症状であったが、近年の摘発例には、激しい症状や大量の滲出液の排出を示す症例は認められなくなっている。感染した雌馬の受胎率は著しく低下する。感染増殖した菌はやがて局所抗体の産生に伴って減少し始め、最終的には子宮内から完全に消失する。消失までの期間は馬によって異なるが、長い場合には2カ月間以上子宮内から検出された例もある。また、稀ではあるが本菌が流産胎子から分離された例も報告されている。一方、本菌は子宮内から消失しても外部生殖器の恥垢（スメグマ）中に長く生存するため、長期間にわたり保菌する馬が認められる。このような保菌馬が本疾病の清浄化を妨げる最大の原因となる。雌馬における主な保菌部位は陰核であり、特に陰核洞と陰核窩に溜まるスメグマが本菌の保菌に重要な役割を果たしていると考えられる。実験感染においては、子宮内から菌が消失した後も陰核からは9カ月以上にわたって菌が分離され続けることが確認されており（表2）、野外では7年間保菌していた例もある。子宮粘膜に感染した菌は馬の免疫系を刺激し、血液中の抗体および子宮粘膜上のIgA抗体の産生をもたらす。一方、陰核に保菌された状態では免疫刺激はまったくなく、抗体の上昇や維持も認められない。

2) 雄馬

雄馬では、生殖器への感染は起こらず、保菌のみが認められる。CEMに感染しているあるいは保菌している雌馬と交配した種雄馬は、そのペニスに菌が付着して保菌されるが、臨床症状の発現や抗体価の上昇は認められない。ペニスにおける保菌部位は尿道洞、亀頭窩、包皮襞内などである。雌馬の場合と同様、これらの部位のスメグマの中で *T. equigenitalis* は長期間生存する。

3. 伝 播

T. equigenitalis は主に交配によって伝播する。感染あるいは保菌している雌馬と交配することによって雄馬は保菌馬となる。さらにこのような保菌種雄馬と交配した雌馬は感染して子宮炎を発症し、回復後にはしばしば保菌馬となる。保菌種雄馬と交配した雌馬の中には、子宮炎を発症せずにそのまま保菌馬となるものもある。保菌馬が出産した際に保菌部位から新生子の外部生殖器への菌の付着が起こり、やがて成長した子馬が保菌馬として他馬への感染源となった例も報告されている。また、感染馬の滲出液に汚染された馬体や敷料などは、本病の間接的な伝播の原因となる。一方、雌馬や種雄馬の外部生殖器に接触する獣医師や治療器材、馬取り扱い者や保定器具などによる伝播も起こる。本病の最初の流行時には交配による直接伝播以外にも、これらを介して間接的に伝播した例が相当数あった。また、軽種馬以外では実施されることも多い人工授精においては、保菌種雄馬から採取された精液が菌に汚染され、その精液を注入した雌馬が感染することもある。

表2 馬伝染性子宮炎の感染と保菌：実験感染馬の長期観察例

菌接種後日数	1 週間	2 週間	1 ヶ月	3 ヶ月	6 ヶ月	9 ヶ月
臨床症状	++	—	—	—	—	—
子宮頸管からの菌分離	+++	++	+	—	—	—
陰核からの菌分離	++	++	+++	++	++	+++
血清中の抗体	++	+++	++	—	—	—

IV 臨床症状と診断法

1. 臨床症状

1) 雌馬

本病に罹患した雌馬は1～14日の潜伏期間を経て子宮内膜炎を発症し、不受胎、滲出液の排出、子宮頸管炎、膣炎、早期発情の繰り返しなどの臨床症状を示す。通常は発熱などの全身症状を示さない。滲出液は、臭気に乏しく灰白色で、子宮内に貯留していたものが子宮頸管から膣に排出され、症状の激しいものでは間欠的に陰門部から外部へ流出する。このような症状は初期の流行時によく見られ、本病の特徴的臨床症状とされた（図6）。一方、近年の発生例ではこのような激しい症状を示すものはほとんどなく滲出液の排出をほとんど認めないまま不受胎を繰り返す例も多い。さらには感染せずに保菌のみ起こすこともあり、このような保菌馬は臨床症状を示さないので診断が難しい。

2) 雄馬

雄馬は保菌のみを起し感染しないため臨床症状も示さない。しかし、サラブレッドでは1頭の種雄馬が多くの雌馬と交配を行うことから、防疫上は保菌馬の摘発や治療が雌馬以上に重要である。

2. 臨床病理学的診断法

臨床症状が認められる馬の子宮頸管や子宮内膜のスワブあるいは滲出液を採取し、塗沫標本を作製する。ギムザ染色やグラム染色を施すと滲出液中に多数の好中球に混じって少数の剥離上皮細胞、リンパ球、単球が認められる。また、これらの細胞の他にグラム陰性の球桿菌ないし短桿菌がみとめられ、好中球に貪食されている像がみられることもある（図7）。ただし、他の細菌性子宮内膜炎においても同様の所見が認められることがあるた

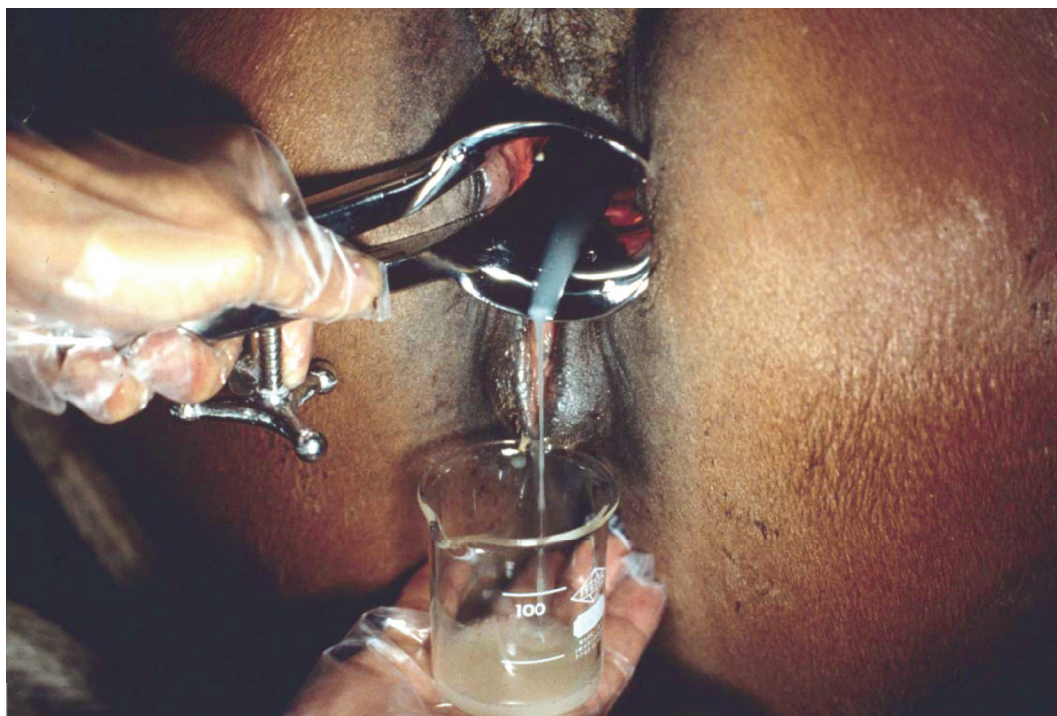


図6. CEMの臨床症状：牝馬の外陰部から流出する大量の滲出液

め、塗抹検査だけで本病を診断するのは困難である。直腸検査では子宮頸管の軟化や子宮の腫大が認められることがある。また、微弱発情を繰り返す症例では小さな複数の卵胞を有する萎縮卵巣を呈することもある。

3. 病原学的診断法

1) 採材法

菌分離用ならびに菌 DNA 検出用の検体の採材は、臨床症状が認められる雌馬の場合には子宮頸管から滅菌綿棒を用いてスワブを採取する（図8）。滲出液の流出がある場合には滲出液を検体として利用できるが、この場合でも雑菌による汚染を防ぐために出来るだけ子宮外口付近から採材する。子宮頸管からの採材法は以下の通りである。

まず鉗子など細長い器具の先に綿棒を固定する。次に保定した雌馬の外陰部を膣鏡で開き、綿棒を子宮頸管内に挿入する。この時、綿棒が外陰部や膣に触れて雑菌の汚染を受けないように注意する。発情期あるいは感染があれば子宮頸管は弛緩して

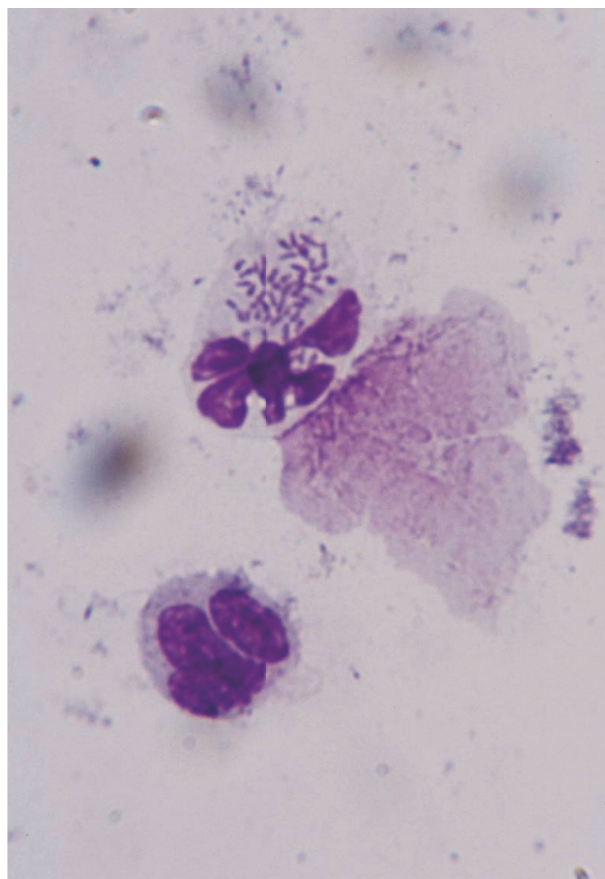


図7. 滲出液のギムザ染色塗抹標本：標本中に多数認められる好中球の中にはグラム陰性菌を貪食している像が認められる。

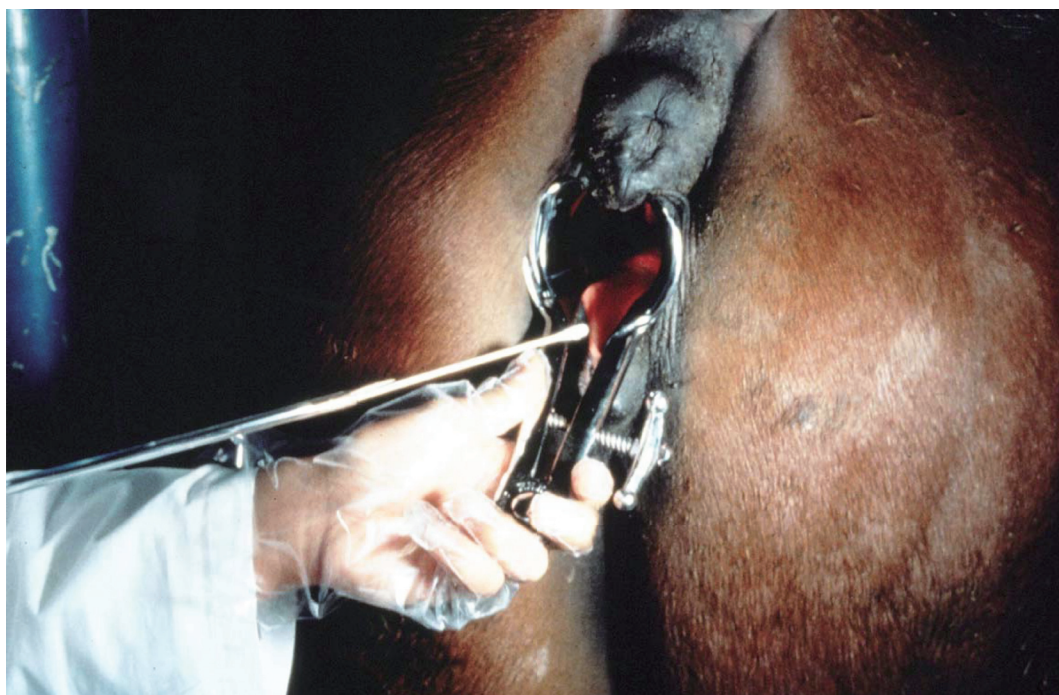
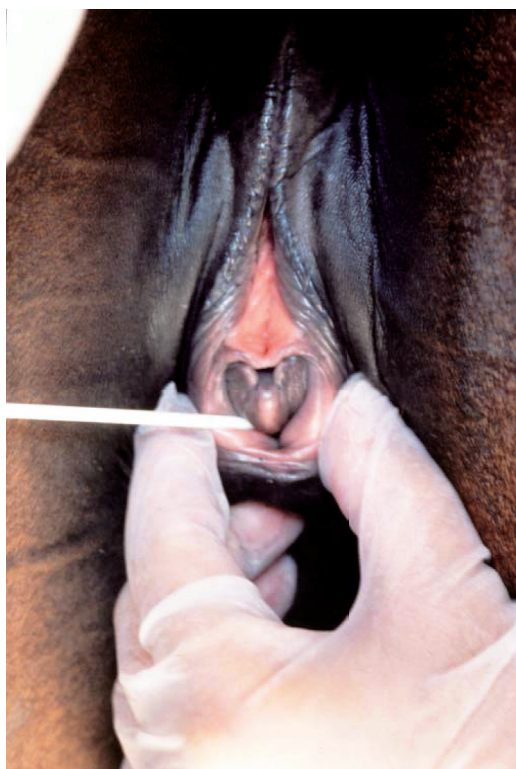


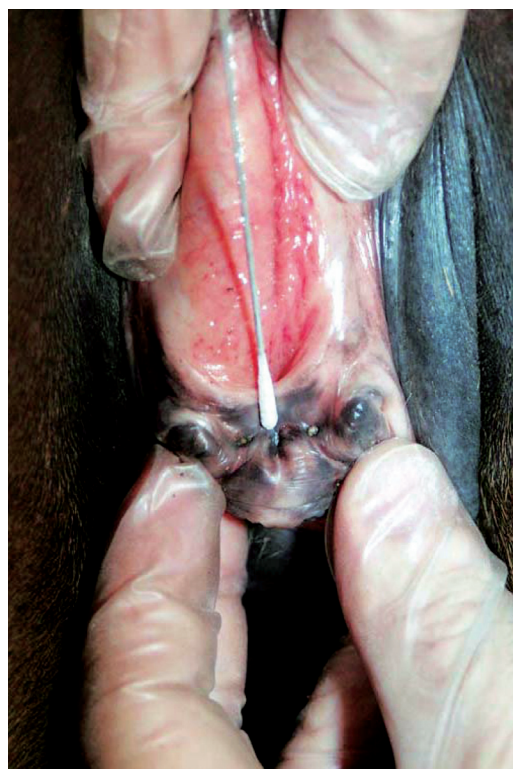
図8. 子宮頸管からの採材法：膣鏡で外陰部を開き、鉗子で挟んだ綿棒を子宮頸管まで挿入する

おり、綿棒の挿入は容易である。保菌馬検査のための採材は、雌馬では陰核の陰核窩および陰核洞から行う（図9）。保定した雌馬の陰唇を指で開いて陰核龟头を突出させ、陰核窩に綿棒を挿入して内部のスメグマを採材する。陰核洞からは耳鼻科もしくは小児科用の細い綿棒を用いて採材を行う。雄馬の採材はペニスから行う（図10）。この場合、ペニスは勃起させておくのが望ましい。尿道洞および包皮（図11）の皺内のスメグマ、それに尿道口からスワブを採取する。必要により龟头窩のスメグマおよび射精前液からも採取する。採材の際に最も注意しなければならないのは、採材器具や人の手を介した他馬への水平感染を防ぐことである。採材者、採材助手、馬の保定者は必ず使い捨ての手袋を着用し、器材も出来るだけ使い捨ての

ものを使う。菌が付着する可能性のある器具を再使用する場合は、必ず使用後に滅菌もしくは十分な消毒を行う。採材した綿棒は直ちに輸送用培地に入れて冷暗状態に保ち、48時間以内に検査室に輸送する。菌分離用検体の輸送には、アミーズ培地を用いる。アミーズ培地に含まれている活性炭は菌の発育阻害物質を吸着することから菌分離用には適している。一方、PCRなどのDNA検査では活性炭が検査の反応を阻害したり、DNAの抽出効率を低下させることから活性炭を含まない培地を用いる必要がある。採材は1頭につき3回行うことが望ましい。特に感染や保菌を疑う馬の検査、あるいは菌が分離されて治療を行った後の菌の消失を確認するための検査などでは、1週間程度の間隔をあけて3回の検査を行う必要がある。



陰核窩からの採取



正中陰核洞からの採取

図9. 陰核からの採材法



尿道洞（尿道口の背側）からの採取



尿道口からの採取

図 10. ペニスからの採材法



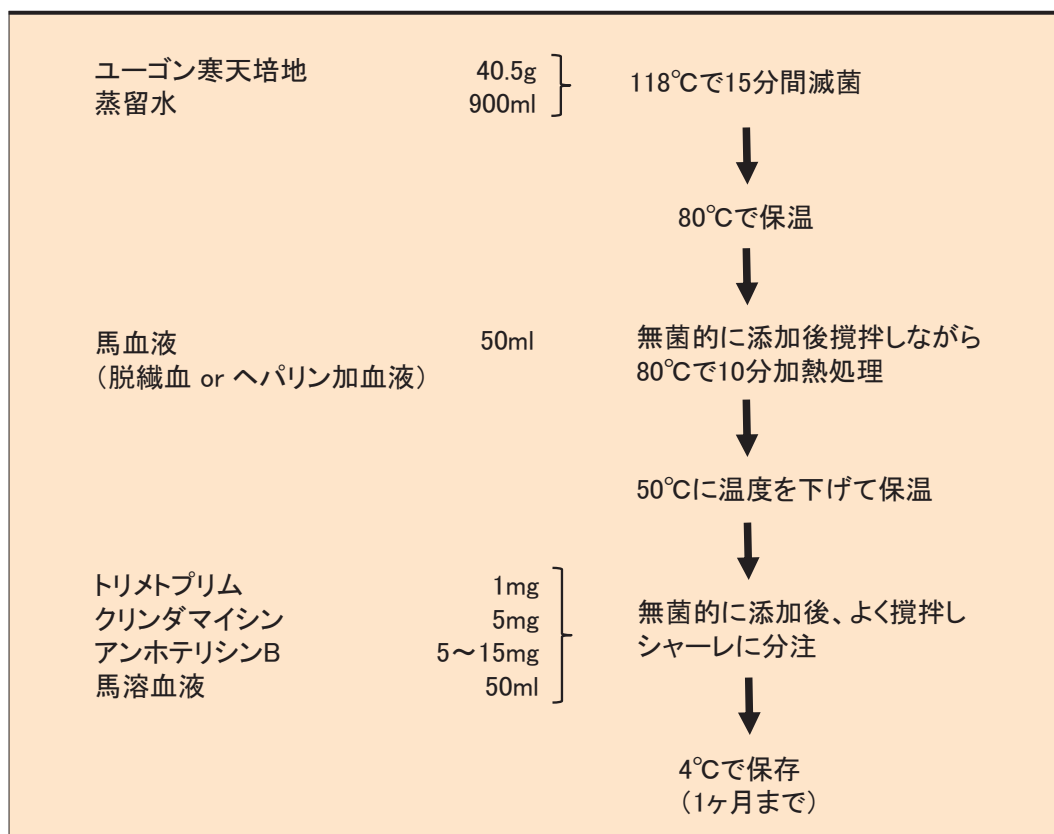
図 11. 包皮からの採材法

2) 菌分離と同定法

菌分離にはユーゴンチョコレート寒天培地 (ECA) を用いる (表3)。検体中に存在する雑菌の発育を抑制するため、培地にはトリメトプリム (1 μ g/ml)、クリンダマイシン (5 μ g/ml)、アンホテリシン B (5～15 μ g/ml) を添加して使用する。また、上記の薬剤によって発育が阻害される株も認められることから、トリメタプリムとクリンダマイシンを除いた培地も併用する。分離培養は10%の炭酸ガス (CO₂) 存在下、37 $^{\circ}$ C、2週間まで行う。特に湿度を高める必要はない。逆にあまり高湿度にするとシャーレの皿と蓋の間に水滴がたまり、これが接着剤の働きをして皿と蓋とを密着させてしまう事がある。このような状態ではシャーレの中が嫌気状態となり、菌は発育しないので注意が必要である。集落は早ければ3～4日後には肉眼で認められるようになる。しかしながら、採材後の時間が経過した検体では発育が遅いことが多く、培養15日目に初めて集落が確認された例も

報告されている。従って、通常は3～4日間隔で観察しながら2週間まで培養する。ECA上の集落の大きさは培養4日目に直径1～2mm程度で培養を続けるとさらに大きさを増す。ECA上に発育する典型的な集落は、形は円形・やや平坦な凸状・辺縁円滑、色は灰白色～茶褐色、表面は滑らかでメタリックな光沢がある。また、集落塊自体はまとまりが強いが、培地へ粘着することはない。一方、このような典型的な集落以外にも半透明あるいは透明な集落を形成したり、光沢を失った集落を形成したり、あるいは長期培養しても非常に小さな集落 (直径0.1mm) の形成に留まったりする集落変異株の存在が報告されている。また、そのような変異株でなくても、分離培養時には様々な非典型的な集落を形成することがある (図12)。いずれの形態の集落も臭気を発せず、周囲の培地の色を変化させない点では共通している。このように、本菌は典型的な集落では分離培地上の特徴から予測がつくものの、非典型的な集落では他の菌

表3 ユーゴンチョコレート寒天培地の作り方



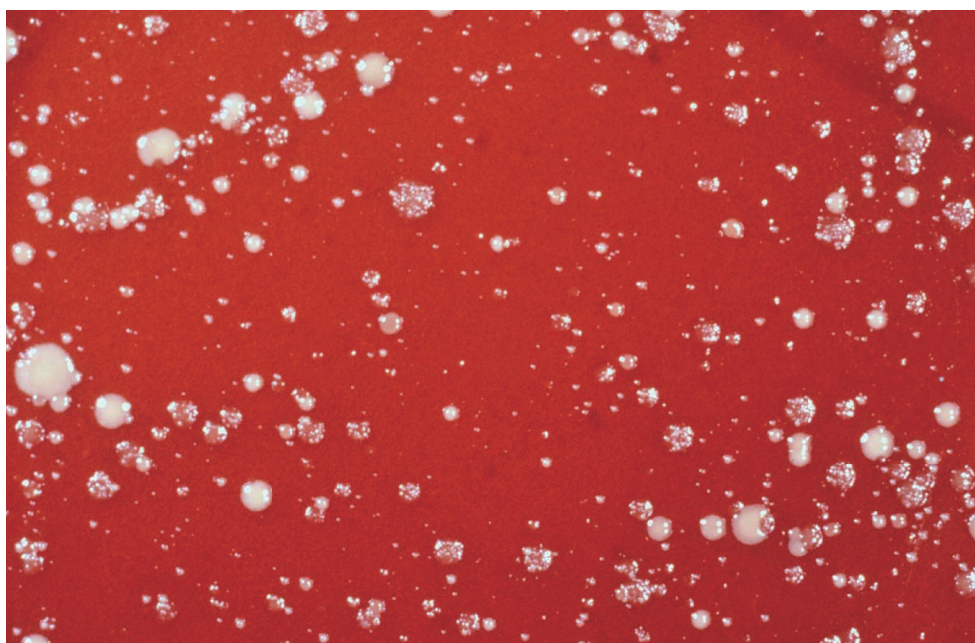


図 12. ユーゴンチョコレート寒天培地上に形成された *T. equigenitalis* の集落：培養 4 日目。
 大小さまざまな大きさの集落が認められる。

との区別は困難である。従って分離培地上で、臭気がなく周囲の培地に変化がない集落の中で、はっきりと *T. equigenitalis* を否定できると思ったもの以外は疑わしい集落とみなして釣菌し同定する必要がある。同定は PCR 検査等の DNA 検査もしくは以下の方法によって行う。釣菌した集落を血液寒天培地と ECA に接種し、前者は好気で、後者は 10% の炭酸ガス (CO₂) 存在下で 4 日間培養する。*T. equigenitalis* は血液寒天に集落を形成せず、ECA に集落を形成する。この集落の形態を観察するとともにグラム染色、カタラーゼ試験、オキシダーゼ試験を行う。*T. equigenitalis* はグラム陰性の球桿菌で、カタラーゼ試験陽性、オキシダーゼ試験陽性である。分離培養時に非典型的な集落を形成していた株も、稀な集落変異株を除いては純培養することによって典型的な集落を形成するようになる。さらに紛らわしい場合には、アピザイム（日本バイオメリュー）を用いて菌体酵素活性の測定を行う。純培養した菌をキットの使用説明に従って、プレートに接種すれば 4 時間で成績が得られる（表 4）。欧米では抗体を用いた同定キットも市販されている。また、公的機関から入手できる標準菌株を用いることで、同定の参考になる。

表 4 アピザイムによる *T. equigenitalis* の菌体酵素活性

Control	—
アルカリフォスファターゼ	+
エステラーゼ (C4)	—
エステラーゼリパーゼ (C8)	—
リパーゼ (C14)	—
ロイシンアリルアミダーゼ	+
バリンアリルアミターゼ	—
シスチンアリルアミダーゼ	—
トリプシン	—
α - キモトリプシン	—
酸性フォスファターゼ	+
ナフトール -AS-BI- フォスフォヒドロラーゼ	+
α - ガラクトシダーゼ	—
β - ガラクトシダーゼ	—
β - グルクロニダーゼ	—
α - グルコシダーゼ	—
β - グルコシダーゼ	—
N- アセチル - β - グルコサミニダーゼ	—
α - マンノシダーゼ	—
α - フコシダーゼ	—

3) PCR 検査

迅速かつ高感度で本症を診断できる方法として、これまで様々な種類の菌 DNA 検査法（PCR 法、リアルタイム PCR 法、LAMP 法）が報告されている。国内では安斉らが開発した semi-nested PCR 法が国が定める病性鑑定マニュアルに記載された方法として用いられている。PCR 検査に用いる検体は菌分離に用いるものと同様だが、輸送用培地は活性炭を含んでいないものが望ましい。PCR 検査は以下の順に行う。

1) 採材は綿棒（陰核洞から採材する際は耳鼻咽喉科または小児科用の綿球の小さなものを使用する）で行い、活性炭を含まない培地で輸送する。

2) 綿棒を 1.5ml のマイクロチューブ（多検体の場合はディープウェルマイクロプレートを使用）に入れた 100 μ l の滅菌蒸留水に懸濁し、100℃ 10 分間加熱する。3) 15,000rpm で 1 分間遠心した後の上清を DNA サンプルとする。4) 表 5 に示した条件で PCR 反応を 2 回実施し、2 回目に増幅された 238bp の DNA 断片を電気泳動で確認する（図 13）。なお、1 回目の PCR では 445bp の DNA 断片が増幅されている。なお、作業ミスによる偽陰性やコンタミネーションによる偽陽性などの検査失宜を防ぐため、同じ反応条件により異なるサイズのバンド約 590bp が増幅されるように開発された反応陽性対照を試験毎に使用することが望ましい。

表 5 馬伝染性子宮炎 semi-nested PCR 法の実施法

○使用プライマー: P1, 5'-CCATTAGAGGCTGTTATCAATCGGGAAACC-3'
P2, 5'-CCATACCGAACCCAATACCAAGCACACAAG-3'
N2, 5'-GTGTCATTAAGGTGTGTATTTGGTCTGGTG-3'

○反応液の組成

1st PCR用:

① 蒸留水 (A/C)	34.5 μ l
② 10×Buffer	5 μ l
③ D-NTP mix	4 μ l
④ Primer: P1 (20 μ M)	0.5 μ l
⑤ Primer: N2 (20 μ M)	0.5 μ l
⑥ Z -Taq (Takara)	0.5 μ l
⑦ 抽出DNA溶液	5 μ l
合計	50 μ l

2nd PCR用:

① 蒸留水 (A/C)	39 μ l
② 10×Buffer	5 μ l
③ D-NTP mix	4 μ l
④ Primer: P2 (20 μ M)	0.5 μ l
⑤ Primer: N2 (20 μ M)	0.5 μ l
⑥ Z -Taq (Takara)	0.5 μ l
⑦ 抽出DNA溶液	0.5 μ l
合計	50 μ l

反応プログラム

95℃ 3min : hot start

98℃ 1sec
68℃ 5sec } 30 cycle

72℃ 3min : final extension

PCR 検査は、特に保菌馬検査において菌分離よりも数段高感度であるとともに、菌分離法では1週間以上かかる検査日数を1日に短縮することができる。従って、わが国では、輸出入検査や軽種馬生産地で行われている繁殖供用前の検査など、大半の検査にこの PCR 法が用いられている。

4. 血清学的診断法

血清診断法には、間接赤血球凝集反応、試験管凝集反応、補体結合反応、ELISA などがある。感染馬の血中抗体は、感染後7日ごろから血中に出

現しはじめ3週間後にピークとなる。感染後6～10週間後には低下してしまうことから、抗体の存在が確認された場合は、直近の感染を示すと考えられる。しかしながら、雄馬は保菌のみ起こるため抗体の上昇は認められず、雌馬でも保菌だけで感染せず抗体も上昇しないこともある。さらに血清診断には非特異的な反応も見られることから、血清学的診断の結果のみで本症の診断を行ってはいならない。しかし、多検体を一度に処理できるというメリットから、流行時のスクリーニングや疫学調査への利用価値は高い。

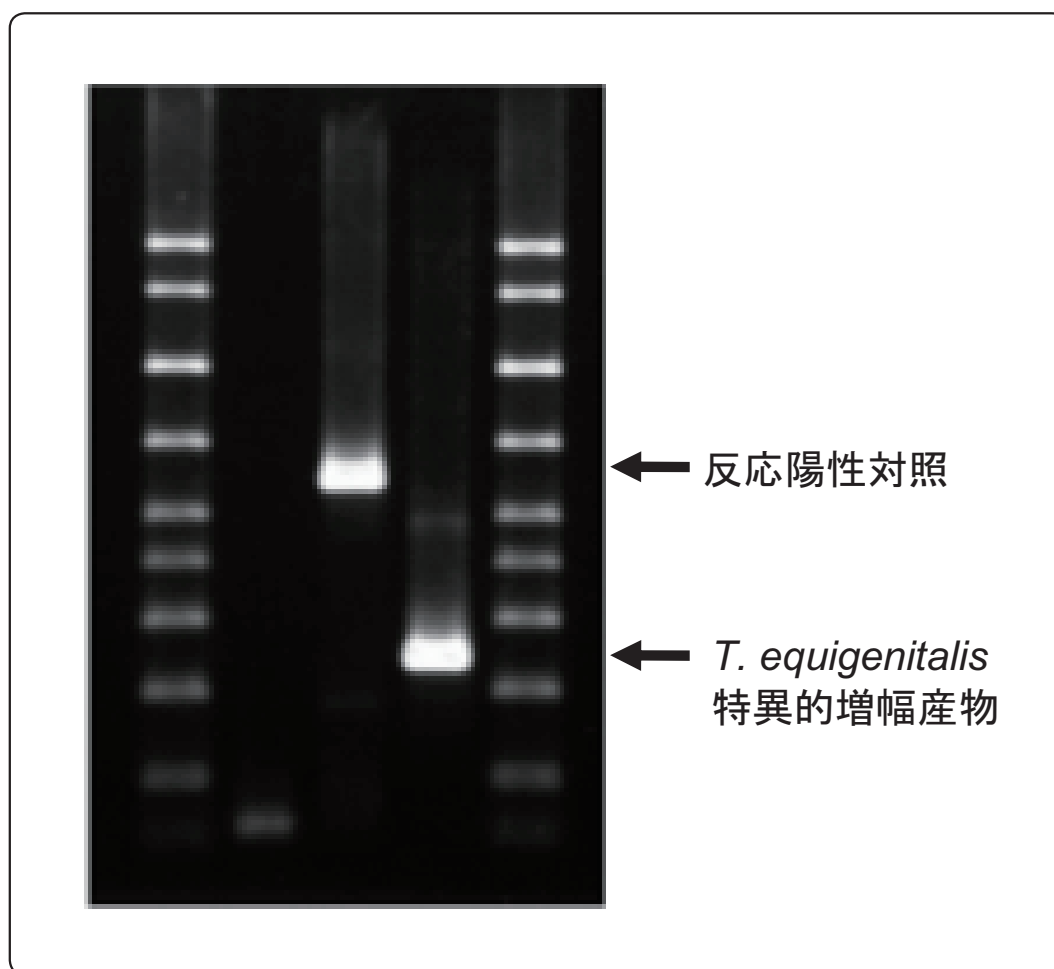


図 13. semi-nested PCR 法による *T. equigenitalis* の検出 *T. equigenitalis* では 238bp、反応陽性対照は約 590bp の増幅産物が検出される。

5. 病理学的診断法

1) 部検所見

肉眼的病変は子宮内膜と子宮頸管にほぼ限局している。子宮内膜の皺壁は水腫性となり、粘膜は灰白色でやや粘稠な滲出液におおわれる。滲出液は、急性例では重湯様の粘度の低い混濁液であり、経過が長引いた例では粘度を増し、淡黄色調を帯びる。通常は卵巣、卵管、膣および膣前庭に病変は認められない。実験感染例では、急性期には子宮内膜、子宮頸管、卵管、膣などの粘膜の著しい水腫が認められ、子宮および膣に滲出液の貯留を認めた。また、子宮頸管および膣の粘膜はしばしば充血が顕著で、ときに出血を認める例もあった(図14および図15)。

2) 病理組織学的所見

病理組織学的には子宮全域におよぶ急性子宮内膜炎像を呈する。特に、粘膜固有層の水腫と好中球およびリンパ球からなる炎症性細胞浸潤が顕著である。子宮内膜上皮および腺上皮の細胞間隙はしばしば拡張し、好中球の遊走を認める。子宮内膜表面および腺腔には多数の好中球を認める。固有層には好中球の他、リンパ球やプラズマ細胞が多数浸潤し、ときには好酸球が認められる。その他、実験感染例では子宮内膜上皮の変性・壊死あるいは過形成、子宮腺の拡張、固有層のリンパ管の拡張なども認められている(図16)。通常、*T. equigenitalis* は子宮内膜表面(腺腔内)の粘液中で増殖するので、病変は内膜にとどまる。しかし、ときに上皮間隙から侵入し、リンパ管のなかで増殖することがある。このような症例では病変は筋層におよぶ。

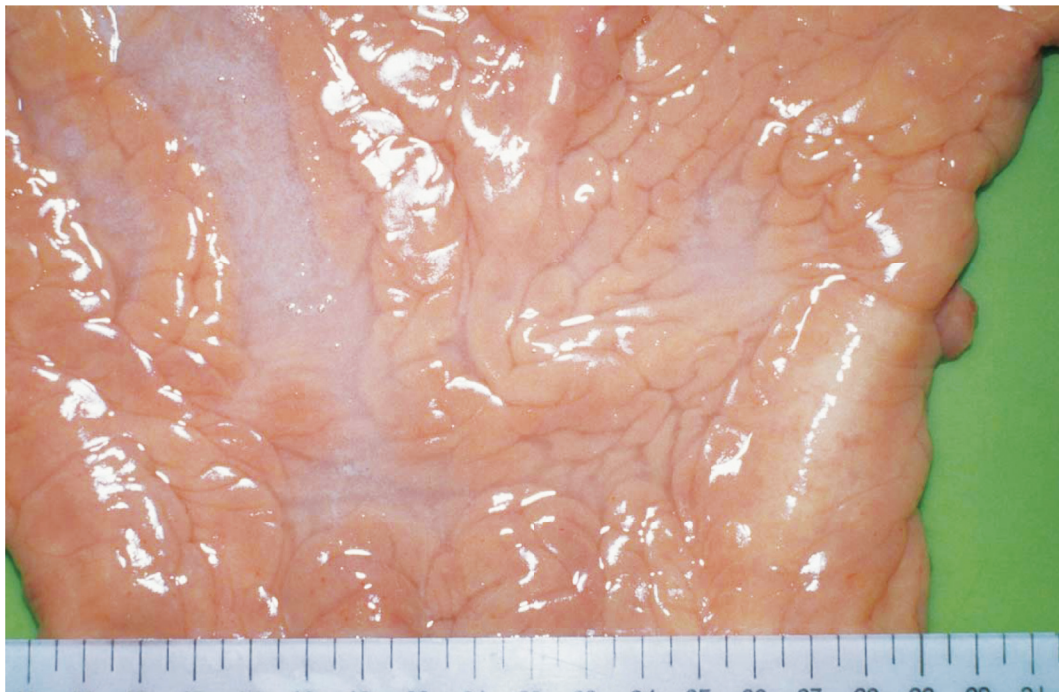


図 14. 急性期剖検例：子宮粘膜は水腫性。乳白色（重湯用）の粘稠性をもつ滲出液に被われている。



図 15. 亜急性性期剖検例：子宮粘膜は軽度に充血し、不潔な茶褐色を呈する。子宮体部には乳白色の滲出液が貯留している。子宮腔部にも充血が認められる。

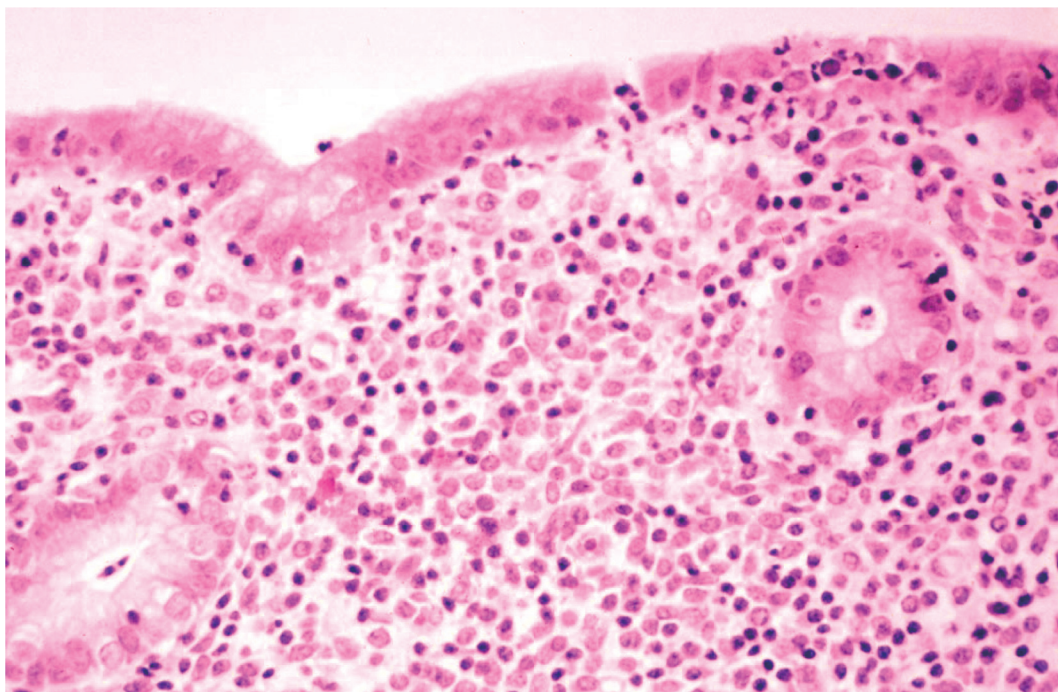


図 16. 子宮粘膜面の病理組織所見：粘膜固有層には水腫と炎症細胞浸潤が顕著。浸潤細胞の大多数はリンパ球で、子宮粘膜表面や子宮腺腔には上皮細胞間隙から遊走する好中球が認められる。

V 予防と治療

1. 予 防

ワクチンによる予防は出来ない。これまでの試作ワクチンが子宮内における感染抗体の十分な産生を促さず、感染実験においても感染を十分に防ぐことが出来なかったことに加え、理論上ワクチンは保菌状態にある *T. equigenitalis* に効果が期待できないことがその理由である。本病の予防には、感染馬及び保菌馬を交配に供さないことが最も重要である。本症が常在する地域では、すべての繁殖雌馬、種雄馬および試情馬は交配に供する前に *T. equigenitalis* が陰性であることを検査により確認しておかなければならない。また繁殖シーズン中は早期発見とそれに対する迅速かつ的確な防疫対応が重要である。臨床的に本病を疑う馬が認められた場合は、ただちに検査を実施しなければならない。また陰性が確認されるまでは、当該馬はもちろん、その疫学関連馬も交配を中止し、感染の拡大を防ぐ必要がある。馬を取り扱う者や獣医師はこの間、馬同士の接触または人為的な伝播を防ぐための最大限の努力を払うことも大切である。

2. 治 療

1) 洗浄と抗菌薬投与

i) 雌馬

本病に感染した雌馬は、子宮洗浄と子宮内への抗菌薬の投与および陰核からの除菌を行う。全身の薬物投与は、通常は必要ない。子宮洗浄液は必ず抗菌薬を含んだものを用いる。抗菌薬としては、ペニシリン G やアンピシリンなどのペニシリン系抗生物質、ゲンタマイシン等のアミノ配糖体系抗生物質（ストレプトマイシンを除く）、ポリミキシン B、ニトロフラゾンなどを併用する。子宮洗浄後は子宮内に抗菌薬の水溶液を注入しておくとい。子宮洗浄と併せて陰核からの菌の除去が必要

であり、0.02%のクロルヘキシジンを使って陰核の消毒を行う、この際、ブラシや綿棒などの器材を用い、菌が潜んでいる陰核窩や陰核洞内のスメグマを完全に除去することが重要である。消毒後は、消毒薬をよく洗い流すとともに、十分量の抗菌薬入り軟膏を陰核に塗り、表面を覆って菌の再付着を防ぐ。これらの治療を5～7日間行った後、子宮頸管および陰核のPCR検査もしくは菌分離検査を行って、菌の消失を確認する。検査は治療終了後、無処置で1週間以上放置した後に始め、1週間隔で3回行う。通常は上述した治療により治癒するが、治療を行っても菌が検出される保菌馬も認められる。このような雌馬では、外科手術による陰核の摘出・除去を行うか、馬そのものを淘汰する。

ii) 雄馬

雄馬の治療も雌馬の陰核と同様の方法で陰茎垢の中に潜伏している菌を完全に除去することを念頭に実施する。0.02%のクロルヘキシジン液を使ってブラッシングを行い、包皮の襞、尿道洞、亀頭窩からスメグマを完全に除去する。その後、抗菌薬入り軟膏を塗布して菌の再付着を防ぐ。処置は陰茎を勃起させて実施するとよい。これらの治療を毎日5～7日間行い、治療終了後雌馬と同様のスケジュールで検査を行い、菌が消失したことを確かめる。本病の治療を行う際に注意しなければならないことに、菌交代症がある。抗菌薬や消毒薬に対して抵抗性を示す菌による菌交代現象は雌雄を問わず起こる危険性があり、特に莢膜1、2、5型のクレブシェラと緑膿菌が、治療後の生殖器に感染してCEMと類似の子宮炎の流行を起こすことが報告されている。このような疾病を防ぐためには、高濃度の治療薬や強すぎるブラッシングに注意し、皮膚や粘膜に過剰な刺激を与えないことが重要である。また、治療後の生殖器の衛生管理も大切である。

2) 陰核洞切除手術

洗浄と抗菌薬の投与を十分に実施すれば、理論上は感染馬さらには保菌馬も治療が可能である。しかしながら雌馬の場合は、陰核洞の深部に菌が存在するため、洗浄によってこれを除くことが困難なことも多く、その場合は陰核洞切除手術が有効である。以下にその術式を紹介する。

1) 馬を柵場保定して、鎮静処置を施し、尾を上方につり上げて固定する。2) 陰核を0.02%クロルヘキシジン液で良く洗浄し、陰核洞内の除去困難なもの以外の陰核のスメグマを完全に除去する。3) 細い探子を用いて正中および左右側陰核洞の深さおよび方向を予め測っておく。4) 鼻捻子保定する。5) 陰核洞周囲の切開部位（横行小帯ヒダ、陰核亀頭等の組織）に、局所麻酔を注入する（図17）。その際、陰核亀頭部への注入は大きな圧を必要とし疼痛を伴うので注意を要する。通常は2%キシロカイン10mlで十分である。6) 2本のアリス組織用ピンセットを用いて横行小帯ヒダを背側に持ち上げ、助手がそのまま押さえる。7) 外科用メスを用いて陰核洞周囲に横行小帯ヒダを含む台形の切り込みを入れる（図18）。8) 切り込み部分をピンセットで挟み。曲尖鉗を用いて横行小帯ヒダおよび陰核洞を含む組織を切り取る（図19）。その際には2)で予め測っておいた陰核洞の深さおよび方向を念頭におき陰核洞の取り残しがないようにすることが重要である。9) 切除面にイソジンなどの消毒薬を塗布する。通常、出血は少量であり、傷口は約2週間で治癒する。

3) 淘汰

頑固な保菌馬の最終的な対処法は淘汰である。治療による効果が認められない場合、淘汰が推奨される。



図17. 陰核洞切除手術：陰核亀頭へ局所麻酔薬の注入。

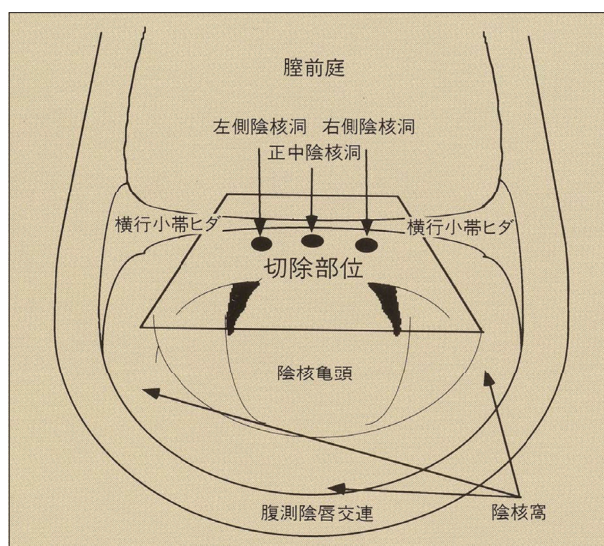


図18. 陰核洞切除手術：切除部位



図19. 陰核洞切除手術：切除後の陰核

おわりに

この度の改訂版は、平成9年に出版された「馬伝染性子宮炎」をもとに、近年の疫学情報、病原体である *T. equigenitalis* に関する最新の知見、国内における清浄化に大きく貢献した遺伝子検査法に関する記述を主眼に加筆いたしました。

国内での清浄化が達成された馬伝染性子宮炎に対しては、これまでの感染馬や保菌馬の摘発を目的とした対策から、輸入検疫による海外からの侵入防止や生産地におけるモニタリングによる疫学監視と再侵入時の拡散防止を目的とした対策に変わっています。このような流れの中で、本冊子が獣医師、牧場関係者ならびに馬の衛生に携わる方々に少しでもお役に立つことができれば幸いです。

1980年の国内での最初の流行から清浄化が達成された現在に至るまで、本病の対策に携わられた多くの獣医師、研究者の方々の貴重なデータ無くしては本冊子を作成することはできません。この場をお借りし、諸先生方のご尽力に心より敬意を表すとともに、深く御礼申し上げます。

日本中央競馬会

馬事部防疫課

競走馬総合研究所栃木支所

刊行の馬感染症シリーズ

1. 馬伝染性貧血診断のための寒天ゲル内沈降反応の術式	昭和 51 年
2. 馬伝染性子宮炎	昭和 55 年
3. 馬ウイルス性動脈炎	昭和 56 年
4. 馬のサルモネラ症	昭和 56 年
5. ベネズエラ馬脳炎	昭和 57 年
6. アフリカ馬疫	昭和 58 年
7. 馬鼻肺炎	昭和 59 年
8. 馬鼻肺炎ウイルス感染症のための寒天ゲル内沈降反応の術式と応用	昭和 59 年
9. 馬伝染性貧血診断のための寒天ゲル内沈降反応の術式(第2版)	昭和 59 年
10. 馬のピロプラズマ病	昭和 61 年
11. 馬の水胞性口炎	昭和 62 年
12. 馬の寄生虫病	昭和 63 年
13. 馬ウイルス性動脈炎(第2版)	平成 元年
14. 馬のポトマック熱	平成 2 年
15. 消毒法 Q & A	平成 3 年
16. 馬トリパノゾーマ病	平成 5 年
17. 馬インフルエンザ	平成 6 年
18. 馬の感染症	平成 6 年
19. 腺疫	平成 8 年
20. 子馬のロドコッカス感染症	平成 8 年
21. 馬鼻肺炎(第2版)	平成 9 年
22. 馬伝染性子宮炎(第2版)	平成 9 年
23. 馬原虫性脊髄脳炎	平成 10 年
24. 馬バラチフス	平成 10 年
25. 馬の日本脳炎	平成 10 年
26. 馬ピロプラズマ病(第2版)	平成 11 年
27. 馬のゲタウイルス感染症	平成 11 年
28. 馬ロタウイルス感染症	平成 12 年
29. 馬ウイルス性動脈炎(第2版・補訂版)	平成 12 年
30. 馬伝染性貧血の診断術式(第3版)	平成 13 年
31. 馬の水胞性口炎(第2版)	平成 13 年
32. 馬の感染症(第2版)	平成 13 年
33. 腺疫(第2版)	平成 14 年
34. 馬原虫性脊髄脳炎(第2版)	平成 15 年
35. 馬のウエストナイルウイルス感染症	平成 15 年
36. 馬の真菌症	平成 16 年
37. 馬の感染症(第3版)	平成 17 年
38. 馬インフルエンザ(第2版)	平成 17 年
39. 馬鼻肺炎(第3版)	平成 19 年
40. 馬バラチフス(第2版)	平成 20 年
41. 消毒法 Q & A(第1版・補訂版)	平成 20 年
42. 馬ウイルス性動脈炎(第3版)	平成 21 年
43. 馬伝染性貧血の診断術式(第3版・補訂版)	平成 22 年
44. 馬の寄生虫病(第1版・補訂版)	平成 22 年
45. アフリカ馬疫(第2版)	平成 23 年
46. 馬のゲタウイルス感染症(第1版・補訂版)	平成 23 年
47. 腺疫(第3版)	平成 23 年
48. 馬ピロプラズマ病(第3版)	平成 24 年
49. 馬インフルエンザ(第3版)	平成 24 年
50. 消毒法 Q&A	平成 24 年
51. 馬原虫性脊髄脳炎(第2版・補訂版)	平成 24 年

日本中央競馬会助成事業

地方競馬益金補助事業

昭和55年3月 第1版第1刷発行
平成9年2月 第2版第1刷発行
平成25年11月 第3版第1刷発行

公益社団法人 中央畜産会

〒101-0021 東京都千代田区外神田2丁目16番2号
第2ディーアイシービル9階
TEL. 03(6206)0832