

馬パラチフス

Equine paratyphoid

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. 海外での発生状況	3
2. 国内での発生状況	3
3. 流行形態.....	3
III 感染と保菌	4
1. 病原体	4
2. 感染.....	5
3. 免疫.....	6
4. 保菌.....	6
IV 臨床症状	8
1. 流産.....	8
2. その他.....	8
V 診断.....	10
1. 病原学的検査	10
1) 採材法	10
2) 菌分離法	10
3) 同定法	10
2. 血清学的検査.....	11
1) 試験管凝集反応法	11
2) マイクロ凝集反応法	13
3. 病理学的検査.....	14
VI 予防と治療.....	18
1. 予防法	18
2. 治療法.....	18
VII 馬のサルモネラ症	19
1. 発生状況	19
2. 多剤耐性ネズミチフス菌 DT104	19
参考文献	20
おわりに	20

発刊にあたって

馬パラチフスは、馬の流行性流産症として知られる細菌性の伝染病で、戦前には北海道や東北地方の馬産地でたびたび大きな流行を起こしました。また、戦時中には軍馬での関節炎の流行に関する記録も残っています。戦後になってからは、馬産業の衰退による飼養頭数の著しい減少もあってか、その発生頭数は激減しましたが、今なお北海道の一部地域を中心として発生が続いています。

届出伝染病である本病の診断には、凝集反応用抗原が市販されていることもあり、全国的には血清反応法がよく用いられています。しかしながら、血清学的検査だけで本病を診断することは困難であり、病原学的検査を含めて総合的に診断することが必要です。一方、本病においては摘発の難しい保菌馬の存在とその移動による汚染の拡大が、我が国において本病の清浄化ができない最大の理由であると考えられます。

本パンフレットでは前版をもとに、近年の疫学情報をはじめ新たに明らかとなった様々な知見および馬パラチフスの血清診断法として多検体処理に適したマイクロ凝集反応試験の術式を掲載することを主眼として改訂を計画しました。執筆を快く引き受けていただいた日本中央競馬会 競走馬総合研究所 栃木支所の丹羽秀和氏には心より感謝を申し上げます。

平成 27 年 12 月

公益社団法人 中央畜産会

I

疾病の概要

馬パラチフス(Equine paratyphoid)は、流産を主徴としたウマ科の動物特有の伝染病で、原因菌はサルモネラ属菌の一血清型、*Salmonella* Abortusequi である。

本病は1893年に米国で初めて菌分離に成功し、その後は世界各国で発生が報告されている。現在では、アジア地域ではしばしば発生があると考えられるが、南米でも発生が確認されている。ヨーロッパでもまれにではあるものの発生が報告される一方、北米やオセアニアでは長年にわたって報告がない。わが国では、戦前から戦後しばらくの間は大きな流行がたびたび認められたものの、近年は発生数が減少している。しかしながら、今なお北海道の一部地域の重種馬を中心に発生が続いている。

感染は主として経口的に起こり、妊娠馬であれば流産を起こす。本病の清浄馬群内で流産が起きた場合は、周囲の馬も次々と流産して集団発生の形態をとる。流産した馬が死亡することはほとんどないが、流行に巻き込まれた子馬が致命的な全身感染を起こすことがある。成馬では流産以外に、キ甲部をはじめとした全身各部位の化膿巣形成や関節炎が起こる。雄馬では精巣などの生殖器系に感染病巣を作ることもある。感染馬は、回復後に強固な免疫を獲得するが、まれに保菌馬となることもあり、保菌馬の移動が汚染の拡大と次の集団発生をもたらす。

診断は、菌分離と血清反応を中心に行う。菌分離用検体は、流産胎児であれば胃内容物、化膿性疾患であれば化膿巣から採材し、一般のサルモネラ属菌と同じ手順で分離培養する。菌の同定は、生化学性状と免疫学的性状に基づいて実施されるが、本菌は一般のサルモネラ属菌とは一部異なる生化学性状(硫化水素非産生、クエン酸非利用等)を示すので注意が必要である。抗原構造式は[4,12:-:e,n,x]である。血清学的検査は市販の診断用抗原を用い、凝集反応により実施する。

ワクチンは使用されていない。感染馬は菌が馬体内から完全に消失するまで隔離し、保菌馬あるいはその可能性のある馬は淘汰することが望ましい。若齢時に感染した馬は長期保菌馬となる確率が高いのでその取扱いについては特に注意が必要である。

Ⅱ 疫 学

1. 海外での発生状況

馬パラチフス菌は、1893年に米国ペンシルバニア州で Kilborne によって流産馬の膣から最初に分離され、Smith によって純培養された。その後、本病は米国のケンタッキー、アイオワ、イリノイ、ワシントン、ミネソタの各州で発生が報告され、さらに、南米、ヨーロッパ、アフリカ、アジアで発生が認められている。近年の発生状況に関しては正確な情報が少ないが、2011年および2012年にアルゼンチンで本病による集団的な流産の発生が確認されており、アジアでも今なお発生が続いているようである。一方、北米やオセアニアについては、長期間にわたって発生報告がない。ヨーロッパでは1980年にアルバニア、1982年にイタリア、1992年から1993年にかけてクロアチアにおいて集団発生が報告されている。

2. 国内での発生状況

わが国では1915年に三尾が青森県で流産が流行したことを初めて報告し、次いで1923年に佐藤らが同県で流行時に流産馬から馬パラチフス菌を最初に分離した。その後、本病は東北各県、北海道、栃木県、長野県などの馬産地で発生が報告され、特にわが国の馬産の中心地であった東北や北海道ではしばしば大流行が起こり、生産牧場に大きな被害を与えてきた。一方、本菌による関節炎が軍馬で集団発生した記録も残されている。第2次世界大戦以後は、馬産の衰退による飼養頭数の減少も手伝ってか、以前ほど大規模な発生は見られなくなったものの、今日もなお北海道の一部地域の重種馬を中心とした発生が続いている。最近では、2012年には1頭、2014年には4頭の発生がそれぞれ報告されている(表1)。

3. 流行形態

主として生産牧場での流産の集団発生として流行が認められる。その発生は、本病の清浄馬群に新たに導入された保菌馬が起点となって起こる場合が多い。流行は周期的に繰り返されるのが特徴

とされており、この現象は、「本病が一旦発生した馬群では多くの馬が感染して強い回復免疫を獲得するものの、数年を経過すると再び免疫非獲得馬が馬群の多数を占めるようになり、集団としての感受性が再度高まるため」と説明されている。一方、ある牧場で流産の集団発生が起こった数週間後に、その周辺牧場で同様の発生が認められることもある。これは、最初の発生が起こった牧場から、病原体が野生の鳥獣あるいは人を介して周辺牧場に伝播した結果と推定されている。

表1 わが国における近年の馬パラチフス発生状況

年度	発生数		都道府県別発生頭数					
	戸数	頭数	北海道	青森	岩手	愛媛	宮崎	熊本
1993	0	0						
1994	10	24	24					
1995	4	14	14					
1996	3	15	15					
1997	12	52	52					
1998	30	80	64				16	
1999	4	5	5					
2000	0	0						
2001	0	0						
2002	0	0						
2003	1	1		1				
2004	2	9	9					
2005	7	11	11					
2006	1	2	2					
2007	1	2	2					
2008	3	10	7		3			
2009	2	2	2					
2010	0	0						
2011	0	0						
2012	1	1						1
2013	0	0						
2014	1	4	4					

(農林水産省家畜衛生統計ならびに家畜衛生週報による)

Ⅲ 感染と保菌

1. 病原体

本病の原因菌は *Salmonella* Abortusequi である。サルモネラ属は2菌種、6亜種に分かれ、血清学的には2,600種類以上の血清型に分類されている。本菌の学名は *Salmonella enterica* subsp. *enterica* serovar Abortusequi であるが、通常は略記である *Salmonella* Abortusequi (S. Abortusequi) を使用する。なお、Abortusequi は血清型を示す表記であり、字体はローマン体を用いて最初のアルファベットを大文字にする。本菌は、古い文献では *S. abortus equi*, *S. abortus-equi*, 馬パラチフス菌、馬パラ菌あるいは馬流産菌と呼ばれることもある。

S. Abortusequi はサルモネラ属菌の中では例外的な性状を示す血清型の一つであり、一般的なサルモネラ属菌とは、硫化水素を産生しない、クエン酸を炭酸源として利用しない、粘液産を分解しない等の点で異なった生化学性状を示す。また大

半の株は(単相性の)鞭毛を有しており(図1)、運動性を示すが、一部に運動性の弱い株や運動性を失った株が認められる。さらに、寒天培地上での発育は遅く、他のサルモネラ属菌に比較してあまり大きな集落は形成しない(図2)。

血清型は分離されたサルモネラ属菌の病原性や種特異性を推定するうえで重要な性状であり、血清型の決定はサルモネラ属菌の同定のための最も重要な作業の一つである。血清型は、LPSで構成される67種類の菌体抗原(O抗原)と80種類の鞭毛抗原(H抗原)、さらには一部の菌のみが持つ莢膜抗原(Vi抗原)の組み合わせによって型別されている。一般のサルモネラ属菌は抗原性の異なる2種類の鞭毛を持ち、状況に応じてどちらか一方を発現する(相変異)ため、その血清型はO抗原、H抗原第1相、H抗原第2相の順にコロンで結んで表記する(Kauffmann-Whiteの抗原構造表)。しかし、*S. Abortusequi* の鞭毛は1種類(単相性)であり、抗原構造式は [4,12:-:e,n,x] で表される。



図1. *S. Abortusequi* の透過電子顕微鏡写真(ネガティブ染色) : 菌体の周囲に周毛性の鞭毛が認められる。

また、近年、秋庭らによって *S. Abortusequi* に病原性プラスミド(図3)が存在することが報告され、安斉らにより馬に対する病原性への関与が明らかにされた。さらに、最近になってゲノムならびに病原性プラスミドの全塩基配列も解明され、*S. Abortusequi* L-2508 株のゲノムサイズは 4,738,978 bp, 4,710 個の Open Reading Frame (ORF) を含み、病原性プラスミドのサイズは 93,820 bp, 117 個の ORF を含むことが明らかとなった。今後、これらの ORF の機能が解明されることで *S. Abortusequi* の病原メカニズムの全貌も明らかになっていくことが期待される。

2. 感染

サルモネラ属菌のヒトや動物に対する病原性は、非病原性のもの、ヒトや動物に広く感染するもの、動物種によって病態の異なる感染症を起こすもの、特定の種に限って感染するものなど様々である。*S. Abortusequi* はウマ科の動物にのみ感染して、流産、化膿巣、敗血症、関節炎、精巣炎など様々な病気を発症させる。

感染は主として経口的に起こる。感染馬や保菌馬から排出された菌によって飼料や牧草等の環境

が汚染され、これを馬が経口的に摂取することによって感染すると考えられている。実験的には、培養菌をそのまま経口投与しても困難であった感染の成立が、燕麦と混合してから投与することによって可能になったとする報告がある。これは飼料との混合によって胃液の殺菌力から菌が保護された結果と推測することが出来る。本病の潜伏期間は 10-13 日と言われているが、野外の流産馬では 2-4 週間の潜伏期間が記録されている。

馬体内における菌の侵入経路や体内分布についてはよくわかっていない。おそらく、消化管に到達した菌は小腸の粘膜上皮細胞を通過して侵入し、上皮細胞下でマクロファージ等の食細胞に貪食されるものの死滅せずにリンパ系組織内を移動し、増殖を続けるものと考えられる。増殖した菌はやがて血行性に全身を循環し、妊娠馬であれば流産を、雄馬であれば化膿巣の形成や精巣炎を、さらに生後間もない子馬であれば関節炎や全身感染症を起こす。このうち流産は最も起こりやすい病態であり、また流産排出物中には大量の菌が含まれているため、しばしば集団発生の原因となる(図4)。



図2. DHL 寒天培地上での *S. Abortusequi* の発育：37℃ 48 時間培養，比較的小さな集落が発育する。

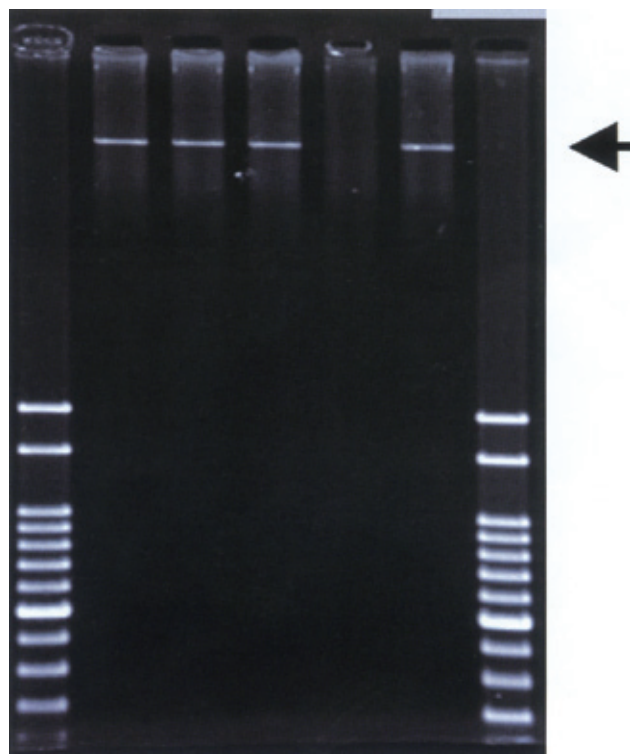


図3. *S. Abortusequi* の病原性プラスミド：ほとんどの株が約 94kb の病原性プラスミド(矢印)を単独で保有する。

3. 免疫

流産した馬は一旦発熱するものの、特に治療を行わなくても多くの場合はやがて解熱して自然に治癒する。これは、本病に感染した馬が比較的短期間の間に強い感染防御免疫を獲得するためと考えられる。一方、大規模な流産の集団発生いわゆる流産の嵐の中にあっても正常に分娩する雌馬が存在する。このような馬は過去に感染したことのある馬であり、一度流産した馬は二度目の流産をまず起こさないことが経験的に知られている。これは、本病において上述した強い感染免疫が長期

間持続することを示唆するものと思われる。これらの感染抵抗力は、凝集反応等で検出される血中抗体価の程度とは必ずしも一致せず、血中抗体価は流産後の比較的短い期間に徐々に低下するのに対し、感染抵抗力は血中抗体価の低下した後も持続すると考えられる。本菌は細胞内寄生菌であり、この感染抵抗力は細胞性免疫が主体であると考えられているが、その詳細な解析は行われていない。

4. 保菌

通常、感染した馬は、回復に併せて体内から菌を完全に排除する。流産後6ヶ月を過ぎた血中抗



図 4. 1952 年に記録された馬パラチルス流産の集団発生事例：
この牧場では不活化ワクチンを年 6 回接種し、流産初発後には免疫血清の注射、流産馬の隔離、消毒、馬取扱者の専任張り付け等の防疫措置が施されている。当時としては最小限に被害が食い止められた例と記載されている。なお、後に [21] と [29] は保菌馬であったことが判明した。

体価の未だ高い馬を病理解剖しても、保菌されている証拠はどこにも見つからなかったことが報告されている。一方、稀に回復後も菌の排除が完全に行われずそのまま保菌馬となる馬が存在する。保菌馬の骨髓、脾臓、肝臓、腸管内、全身のリンパ節等から菌が分離されたことが報告されている。また、青木ら(1953)は、胸骨々髄が長期保菌馬から菌を検出する部位として有用であることを報告しており、実験的には感染240日後に菌が検出された例が、さらに自然例では4年間にわたって保菌していたと考えられる例が記録されている。しかし、近年の感染例では胸骨々髄からは菌

が検出されない例が多い。一方、最近になって普通円虫の仔虫の寄生によって前腸間膜動脈に形成された寄生虫性動脈瘤での保菌例が報告され、新たな保菌部位の一つとして注目されている(図5)。

若齢時に感染した馬は成馬と比較して保菌馬になりやすいことが知られている。当歳時に集団流産に巻き込まれた馬が保菌馬となり、成長して妊娠した際に自発性感染を起こして馬パラチフスを発症、その流産が発生源となって流行が起こった例が報告されている。若齢馬がどうして保菌馬になりやすいのか、その免疫学的な理由は明らかにされていない。

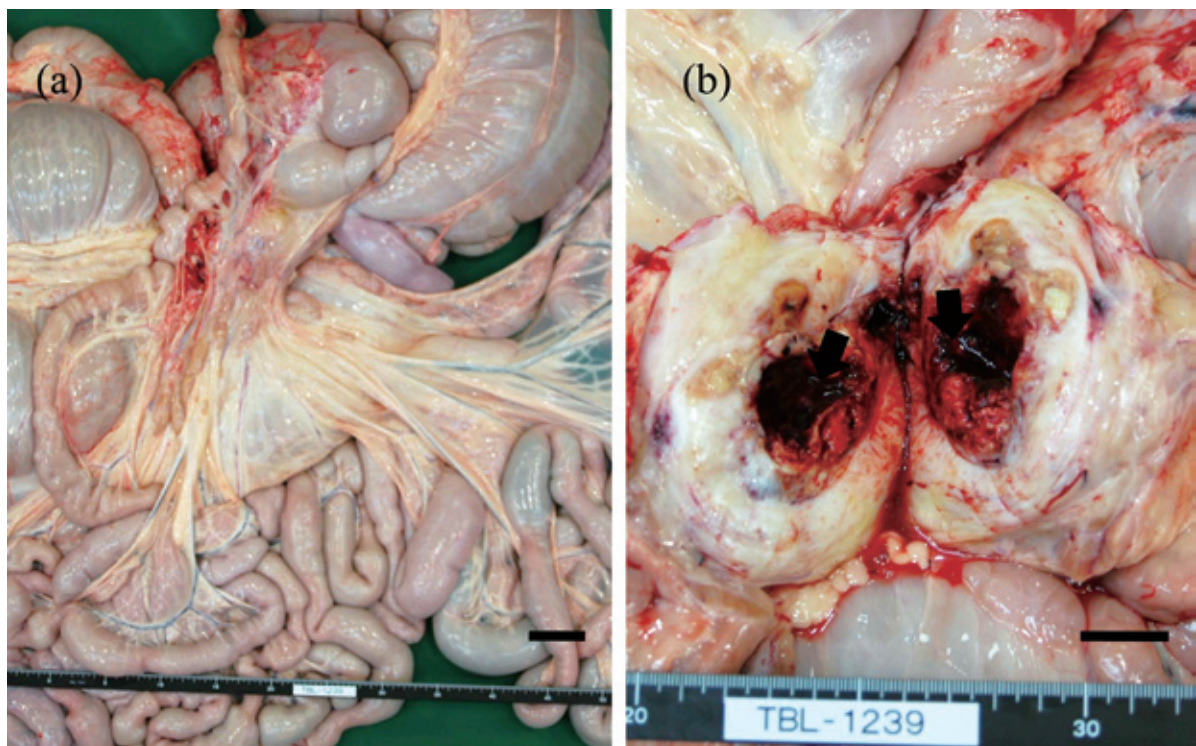


図5. 保菌馬の前腸間膜動脈に認められた寄生虫性動脈瘤の外貌(a)とその内部(b)：動脈瘤内に形成された血栓には多数の普通円虫の子虫と *S. Abortusequi* が認められた。

IV 臨床症状

1. 流産

流産は馬パラチフスに最もよく見られる病態である。一般には妊娠後期(図6)に起こることが多いと言われているが、末期の早死産や、逆に妊娠初期や中期(図7)に流産することもある。流産は前駆症状がなく突然起こることが多いが、前駆症状がある場合は、流産の1-2日前に発熱、乳房の軽度腫脹や漏乳、膿様の膣分泌物排出などが認められる。流産後、雌馬は発熱し、高熱が2-3日間稽留した後10日前後で平熱に戻る。この間、元気・食欲ともに不振となる。悪露は、流産のあと数日間は黄白色で、その後はしだいに乳白色透明になる。しかしながら、これらの臨床症状は他の細菌



図6. 馬パラチフスによる流産：胎齢約10ヶ月の流産胎児
(北海道釧路家畜保健衛生所提供)



図7. 馬パラチフスによる流産：胎齢約5ヶ月の流産胎児：
体表は混濁し不潔感がある。(北海道釧路家畜保健衛生所提供)

性流産と大差はなく、馬パラチフス流産の特徴的臨床症状と呼べるものは、その強い伝染力を除いて他にはない。

2. その他

流産以外の臨床症状としては、関節炎(図8)、き甲癭(図9)、その他の全身各部位における化膿(図10)などが認められる。これらの臨床症状は性・年齢を問わずに共通して認められるものであり、流産馬でもこのような症状が認められることがある。雄馬ではさらに精巢炎(図11)を発症することもある。

妊娠末期に感染した胎児が敗血症死を免れて分娩された場合や、生後間もなく感染した場合は、虚弱となることが多い。このような子馬には、臍帯炎、慢性下痢、関節炎等が認められ、やがて全身に感染が拡大して死の転帰をとることが多い。

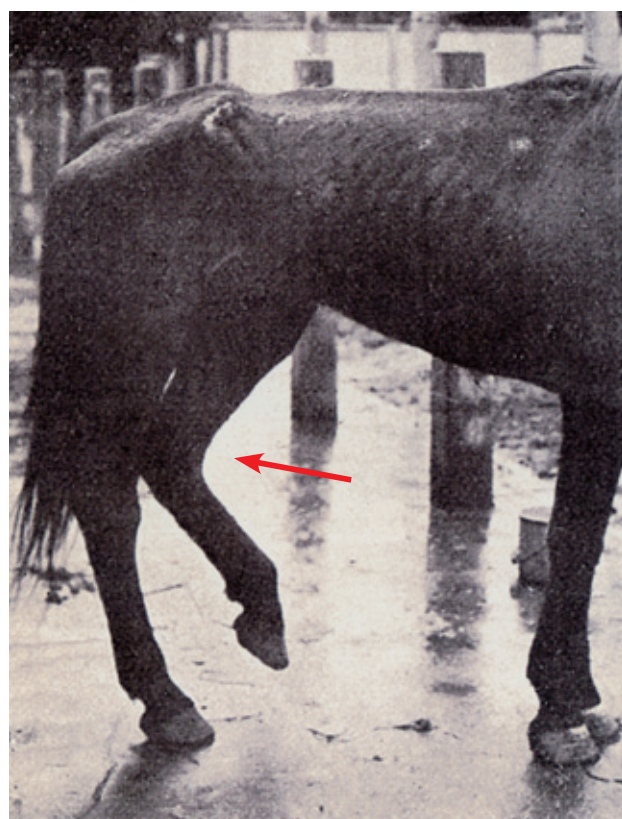


図8. 馬パラチフスによる足根関節炎
(深野, 馬の流産菌症に関する研究I 自然発生の流産菌症について, 日獣会誌(1940)より転載)

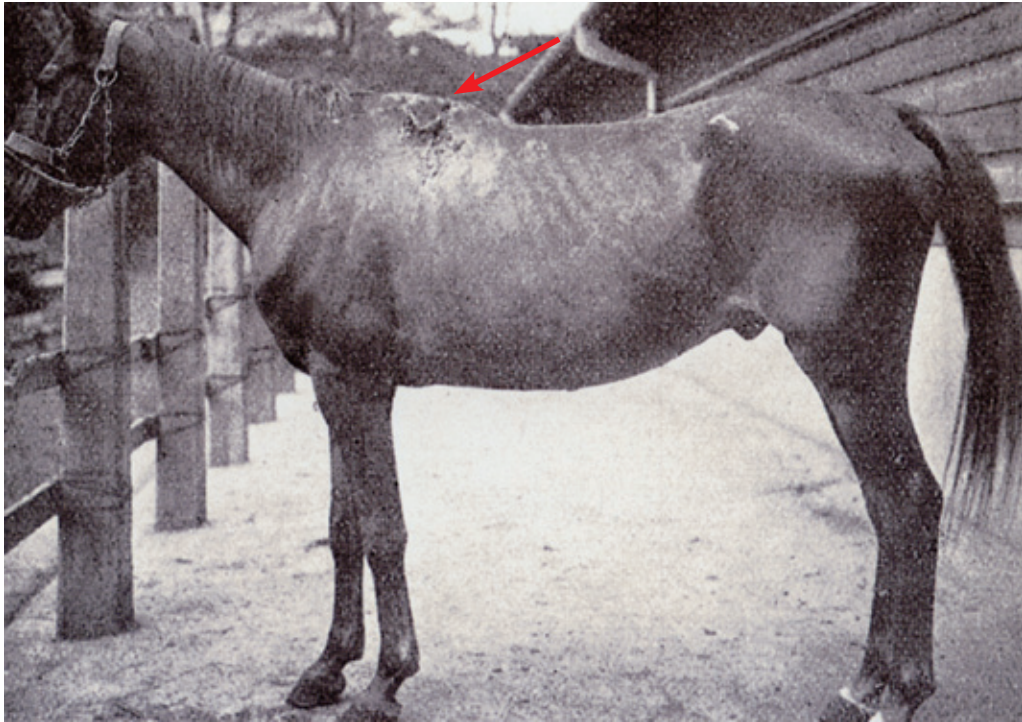


図 9. 馬パラチフスによるき甲瘻
(深野, 馬の流産菌症に関する研究 I 自然発生の流産菌症について, 日獣会誌(1940)より転載)

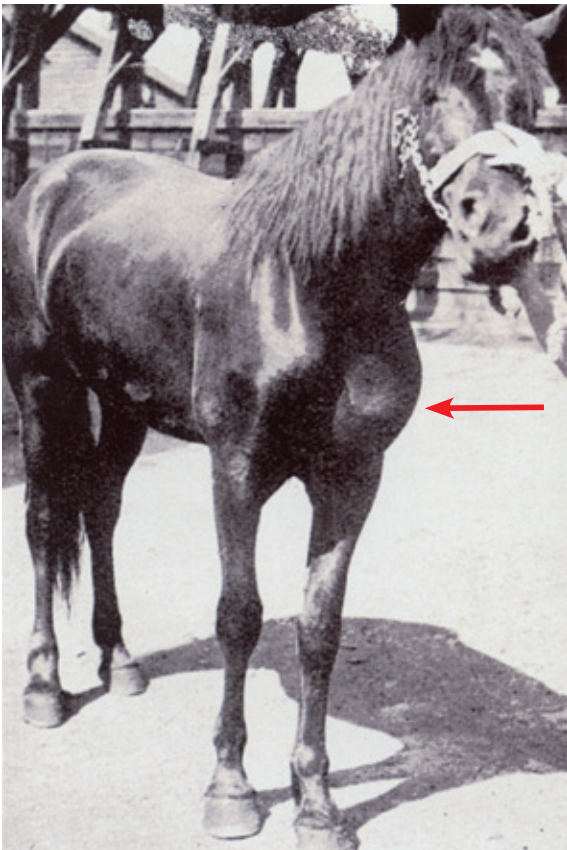


図 10. 馬パラチフスによる左胸前の化膿巣
(深野, 馬の流産菌症に関する研究 I 自然発生の流産菌症について, 日獣会誌(1940)より転載)

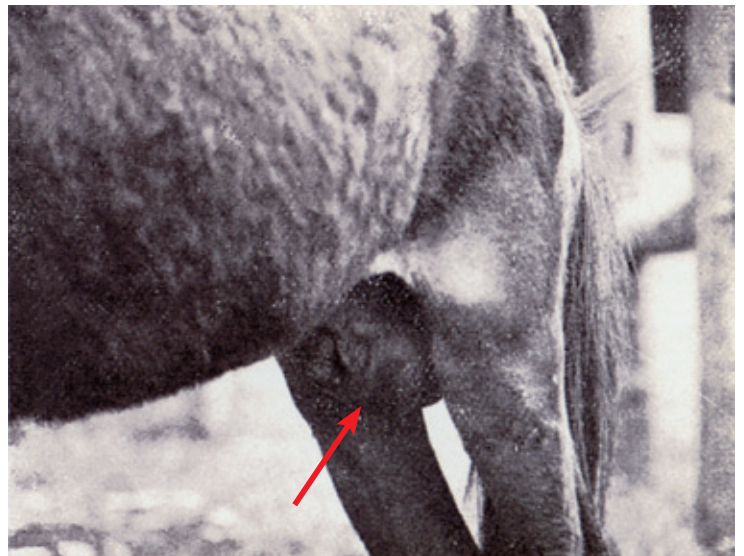


図 11. 馬パラチフスによる精巣炎
(深野, 馬の流産菌症に関する研究 II 人工感染おける臨床学的観察, 日獣会誌(1941)より転載)

1. 病原学的検査

1) 採材法

流産胎児では全身の臓器組織中に多数の菌が感染しており、特に消化管内容、肺、骨髄から多数の菌が検出される。通常は菌分離用の材料として胃の内容物(図 12)を採取するが、日数が経過して胎児が腐敗している場合には、骨髄を採取すると分離率が比較的高いと言われている。一方、雪面に残存したわずかな血液塊から菌分離に成功した事例もあり、胎児を失った場合でも、あきらめずに材料を求めて培養を試みるべきである。流産馬の悪露も胎児に次いで菌分離率の高い検体である。しかしながら、一般的に悪露中の菌は 1-2 週間で消失するため、流産後に日数を経た馬から菌を分離することは困難な場合がある。一般的な化膿巣からも菌は分離することが可能であり、精巣炎を起こした雄馬では精液中から分離されることもある。また、既往歴も臨床症状もなく血清反応だけが陽性を示すような場合は、長期保菌部位の一つである胸骨に穿刺を行って骨髄液から菌を証明する方法が考えられるが、胸骨々髄液の採取は必ずしも容易ではなく、近年では検出されない症例が多い。

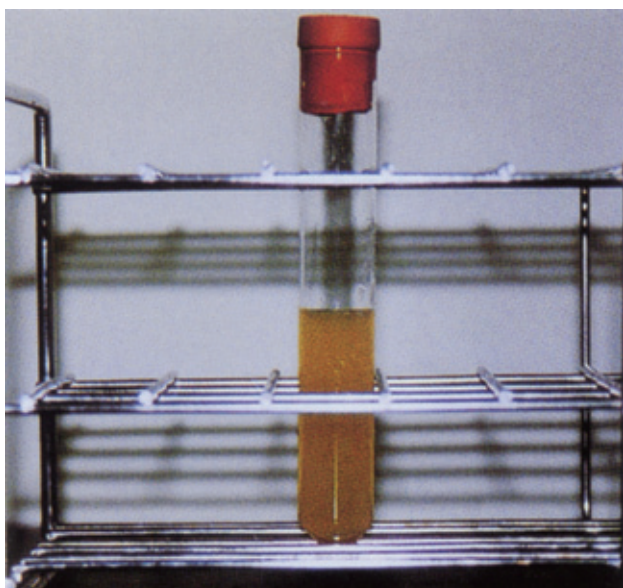


図 12. 流産胎児の混濁した胃内容物
(北海道釧路家畜保健衛生所提供)

採取した検体は密封して冷暗所に保存し、出来るだけ早く家畜保健衛生所等の検査機関へ送付する。

2) 菌分離法

流産胎児の胃内容物や化膿部から採取した検体など雑菌の汚染が少ない検体では、血液寒天培地等の非選択培地と DHL 等の選択鑑別培地の両方に接種し、37℃で好気培養を行う。保菌馬の骨髄液など菌数が極端に少ないことが予測される検体などでは、EEM ブイヨンなどの非選択増菌培地による増菌培養を行ってから分離培養を行うと良い。一方、腐敗胎児や悪露などの他の細菌による二次汚染が予想される検体では選択増菌培地を使用することが望ましいが、ラバポート培地やセレナイト培地は他の細菌と同様に本菌自体の増殖が阻害される可能性があることから、ハーナ・テトラチオン酸塩培地の使用が推奨される。

S. Abortusequi は一般のサルモネラ属菌と比べて発育が遅いため、培養は 48 時間程度まで行った方が良い。それでもなお他のサルモネラ属菌よりも小さい集落しか形成しないことが多い。血液寒天培地上での集落には特に一般的なサルモネラ属菌との違いはないが、DHL 寒天培地上では、本菌は硫化水素を産生しないため、通常のサルモネラ属菌とは異なる透明な集落を形成する。そのために他の腸内細菌科の菌が同時に発育している場合には見落としやすく、注意を要する(図 13)。

3) 同定法

a. 生化学性状

まず、グラム染色、OF 試験、オキシダーゼ試験等を行い、本菌が腸内細菌科の菌であることを確認する。次に属および種の同定を行うが、本菌は通常のサルモネラ属菌とは一部異なる生化学性状を示すことから、同定の際には十分な注意が必要である(III の 1. の項参照)。参考までに、代表的な腸内細菌の同定キットであるアピ 20E(日本ビオメリユーより販売)における *S. Abortusequi* の生化学性状を紹介する(図 14, 表 2)。

b. 血清型の決定

本菌の抗原構造式は [4,12:-:e,n,x] である(III の 1. の項参照)。血清型を決定するには、まず菌体抗

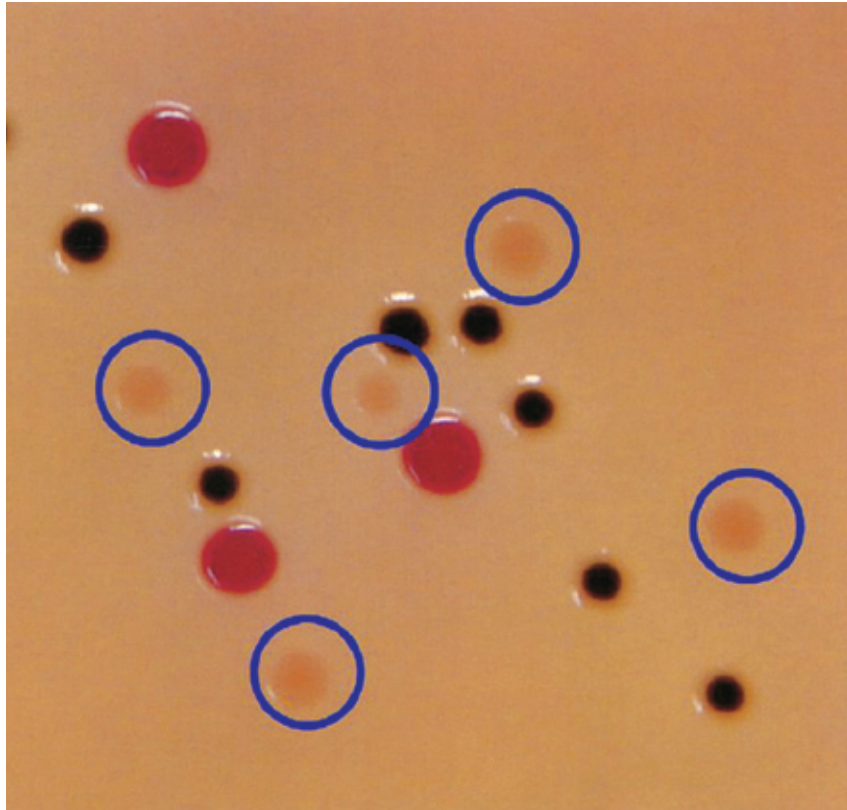


図 13. DHL 寒天培地上の *S. Abortusequi* 集落：
乳糖・白糖非分解，硫化水素非産生のため集落は透明なコロニーを形成する。
写真中○で囲まれたコロニーが *S. Abortusequi*。赤いコロニーは大腸菌，黒
いコロニーは馬の腸内から分離されたプロテウス属の菌である。

原を決定するが，デンカ生研株式会社から発売されている“サルモネラ免疫血清「生研」”を用いれば，スライド凝集反応によって簡便に O 抗原群を調べることが出来る(図 15)。本菌は O4 群である。

H 抗原の決定は，やはりデンカ生研株式会社から発売されている“サルモネラ免疫血清「生研」”(図 16)を用いて，試験管凝集反応法で行うことが出来る。また，鞭毛の発現が悪い株(表 3)があるので，H 抗原を調べる際には予めその発現を誘導しておくことが望ましい。鞭毛の発現は以下の方法で誘導することが出来る(図 17)。1) Nutrient broth に寒天を 0.15% になるように加え，寒天が完全に融解するまで加熱する。2) 試験管に底から 3cm 程度までこの培地を入れ，さらにこの中に 4cm 程度の長さの中空のガラス管(クレイギー管)を入れる。3) オートクレーブ滅菌を行う。4) ガラス管が試験管の内壁に接触しないように垂直に立て，その内側の培地上に菌を接種する。5) 37℃で

培養する。6) ときおり観察し，接種菌がガラス管の外側の培地上に達したら釣菌する。

2. 血清学的検査

馬パラチフスの血清学的検査は，農業・食品産業技術総合研究機構から市販されている診断用抗原を用いて行う(図 18)。

血清反応法には，平板凝集反応法，試験管凝集反応法，マイクロ凝集反応法などがある。ここでは試験管凝集反応法およびマイクロ凝集反応法の実施方法について詳細を紹介する。

1) 試験管凝集反応法：

- ① まずキズのない清浄な小試験管を被検血清 1 検体につき 10 本，試験管立てに立てる。
- ② 最初の試験管に滅菌生理食塩水を 0.9ml と被検血清 0.1ml を入れ，良く攪拌する。
- ③ 2 番目以降の試験管に滅菌生理食塩水を 0.5ml ずつ分注し，順次 2 倍階段希釈を行う。最後の一つ前の試験管は希釈後 0.5ml を捨て，



図 14. アピ 20E における *S. Abortusequi* 北大株の反応：37℃ 24 時間培養後

表 2. 国内 (32 株) および海外 (5 株) の *S. Abortusequi* 株のアピ 20E での反応成績

検査項目	反応時間	
	国内株(n=32)	国外株(n=5)
ONPG	0	0
ADH	0	0
LDC	(32)	(5)
ODC	32	5
CIT	0	0
H ₂ S	0	0
URE	0	0
TDA	0	0
IND	0	0
VP	0	0
GEL	0	0
GLU	32	5
MAN	32	5
INO	0	0
SOR	15	5
RHA	0	5
SAC	0	0
MEL	1	0
AMY	0	0
ARA	32	5
OX	0	0

数字は陽性反応株数を，カッコ内は弱陽性を示す。



図 15. サルモネラ免疫血清「生研」：O4 群



図 16. サルモネラ免疫血清「生研」：H-x と H-e,n

最後の試験管は血清を加えない陰性対照とする。この時，陰性対照を除く全ての試験管には階段希釈血清が 0.5ml 入っていることになる。

- ④市販抗原を滅菌生理食塩水で 15 倍希釈する。抗原は沈降しやすいので使用のたびに良く振って抗原を均等に浮遊させる。
- ⑤希釈抗原液を 0.5ml ずつ，全ての試験管に分

注して良く攪拌する。

- ⑥ 50℃ のウォーターバスに試験管立てごと試験管を入れ，2 時間反応させる。
- ⑦ 2 時間後に，ウォーターバスから試験管をそっと出し，少し室温に置いて温度を下げたから，4℃ の冷蔵庫に一夜入れる。
- ⑧翌朝に冷蔵庫から出し，室温にしばらく置く。
- ⑨各試験管の凝集像を観察し，以下の基準に

表 3. 血液寒天培地上に発育した *Salmonella Abortusequi*10 株のサルモネラ LA(生研)との反応

判定	菌株数
陽性	8
陰性	2

鞭毛抗血清結合ラテックスと反応しない2株は鞭毛の発現が不十分と考えられる。

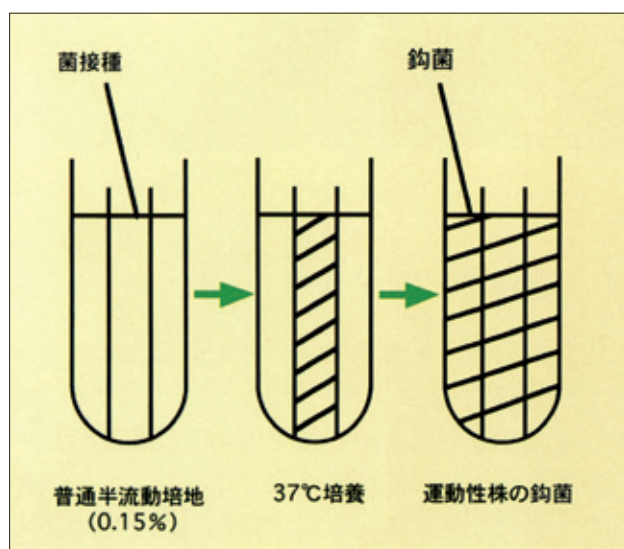


図 17. *S. Abortusequi* 鞭毛発現の誘導法

従って判定する(図 19)

- +++ : 上層部は完全に透明で、管底に著しく強い凝集像が認められる
- ++ : 上層部はほぼ透明で、管底に強い凝集像が認められる
- +: 上層部はやや混濁が認められるが、管底には凝集像が認められ、管底中央における非凝集沈降物は認められない
- : 上層部は混濁し、管底中央には非凝集抗原が目玉状の沈降物となって認められる

※ 判定のポイントは、管底中央に形成される目玉上の沈降物の存在である。まず、この目玉状沈降物が最初に認められる試験管を見つけ、-と判定する。次に、その1管上の目玉状沈降物が認められない試験管を+と判定する。



図 18. 凝集抗原：馬パラチフス診断用菌液 (農業・食品産業技術総合研究機構)

- ⑩ + 以上の凝集像が認められた血清の最大希釈倍率をもって凝集価とする

なお、本凝集反応においては抗原液添加後の最終希釈倍率を採用している(最初の試験管=20倍)。

- ⑪ 320倍以下の凝集価血清は陰性、640倍の凝集価血清は凝陽性、1,280倍以上の凝集価血清は陽性と判定する。

2) マイクロ凝集反応法(図 20)

- ① 滅菌されたフタ付きマイクロプレートのHの列にPBS 90μl, G～Aの列にはPBS 50μlを分注する。
- ② Hの列の各ウェルに新鮮な被検血清 10μlを接種し、良く混和する。
- ③ よく混和されたHの列の希釈血清 50μlをGの列に移し良く混和する。以降F～Aの列まで順に、チップを交換せずに2倍階段希釈系列を作製する。
- ④ PBSを用いて15倍に希釈した馬パラチフス急速診断用菌液 50μlを各ウェルに分注する。
- ⑤ マイクロプレートミキサーを用いて接種の終了したマイクロプレートを振とうし、希釈血清と診断用菌液を良く混和させる。
- ⑥ 密閉できる容器に水で濡らした紙などとともにマイクロプレートを入れて密閉し、37℃のインキュベーターの中で水平となるように静置、約18時間反応させる。
- ⑦ 反応終了後、各ウェルの凝集をイムノビューワを用いて観察する。

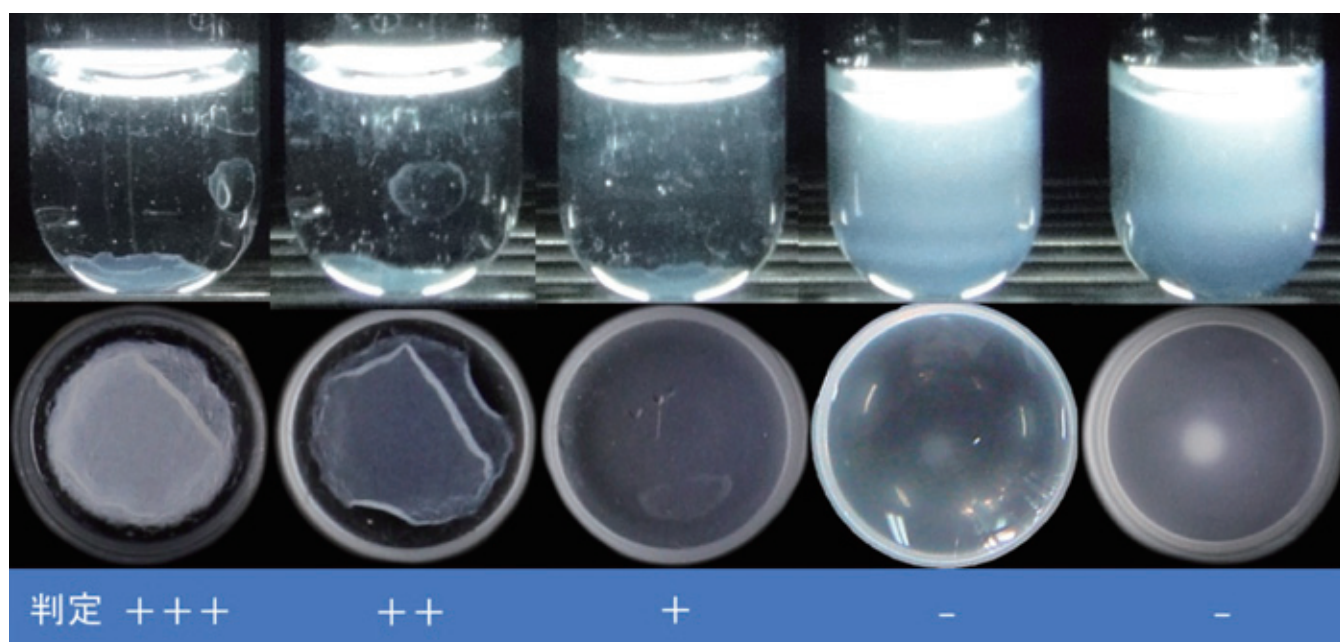


図 19. 馬パラチフス試験管凝集反応法における凝集の判定

⑧判定の基準は、目玉状の非凝集沈降物の有無のみとし、肉眼的にウェル底中央に非凝集沈降物が認められない最高希釈の倍率(抗原液添加後の最終希釈倍率)を凝集価とする。凝集価が 320 倍以下の血清は陰性、640 倍の血清は疑陽性、1,280 倍以上の血清は陽性と判定する(図 21)。

注)これらの血清学的検査だけで本病を診断することは困難であり、その結果の解釈には以下のような注意点を踏まえて当たるべきである。

- a)凝集抗体価は年齢とともに上昇する傾向があり、高齢馬では非感染馬であっても 640 倍の疑陽性を示すことがある。
- b)流産直後の馬では抗体の上昇が始まっていないことがある。
- c)若齢馬は感染しても凝集価が 1,280 倍に達しないことがある。
- d)感染馬の多くは、感染から回復して体内から菌が完全に排除された後もしばらくは陽性凝集価を保っている。
- e)感染後に凝集抗体価が下降して疑陽性あるいは陰性となった馬の中に保菌馬が存在する可能性は否定出来ない。
- f)本診断用抗原はネズミチフス菌等の O4 群サルモネラ属菌と共通抗原部分があるため、これらの菌によるサルモネラ症との区別ができない。

なお、本病の発生地域における血清疫学調査には、10 μ M ジチオスレイトール処理血清を用いた方法が、感染抗体の有無をより鋭敏に検出できる手段として有用と報告されている。また、若齢馬の抗体応答は鋭敏であることから、馬群への侵入状況を調べるには、若齢馬を中心にして抗体調査を行うのが効率的であると言われている。一方、H 抗原を用いて血清反応を行っても、感染馬で上昇しなかったり、上昇しても迅速に消失したりすることがある。このような理由から、現在では、H 抗原を用いた血清反応はほとんど用いられていないが、O 抗原では区別できない O4 群によるサルモネラ症と馬パラチフスを区別できる可能性があり、補助診断としての有用性は考えられる。

3. 病理学的検査

流産胎児は、妊娠中期までは胎膜に覆われたままで娩出されることが多いが、後期 - 末期では胎膜は破れ、軽い難産の状態で娩出される。胎児の病理所見は一般の敗血症と同じであり、脈絡膜の充血・壊死、尿羊膜の混濁、胎児の皮膚は不潔で混濁し(図 6)、肺(図 22)、肝臓(図 23)、腎臓(図 24)、脾臓(図 25)等の各臓器は充出血が強く、腫大し、時に軟化して溶解が認められる。心臓は冠状溝等に出血斑が現れることが多く(図 26)、心筋は退色して弛緩する(図 27)。しかしながら、これらの所見は他の細菌性の流産と大差はなく、

マイクロ凝集反応法

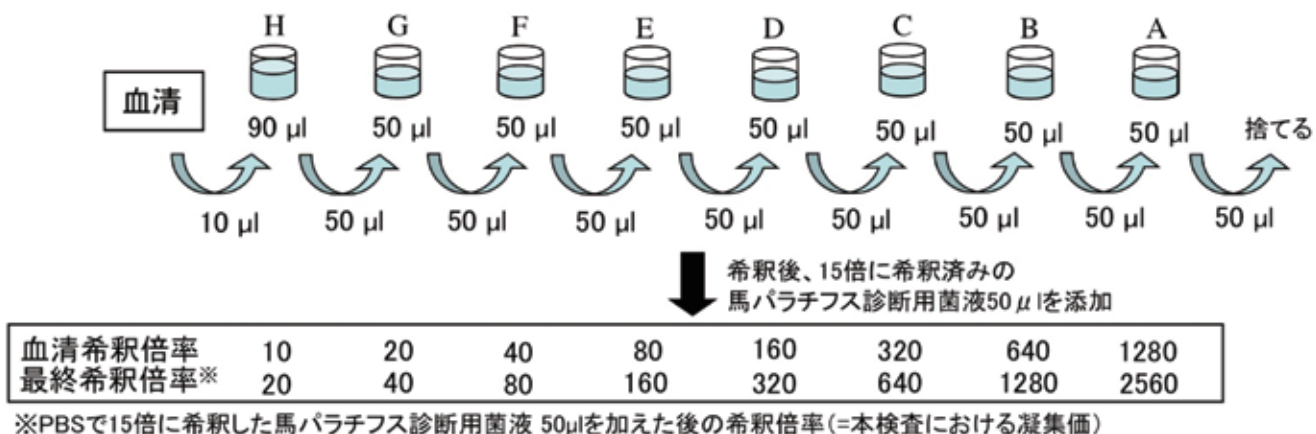


図 20. マイクロ凝集反応法の実施の概要

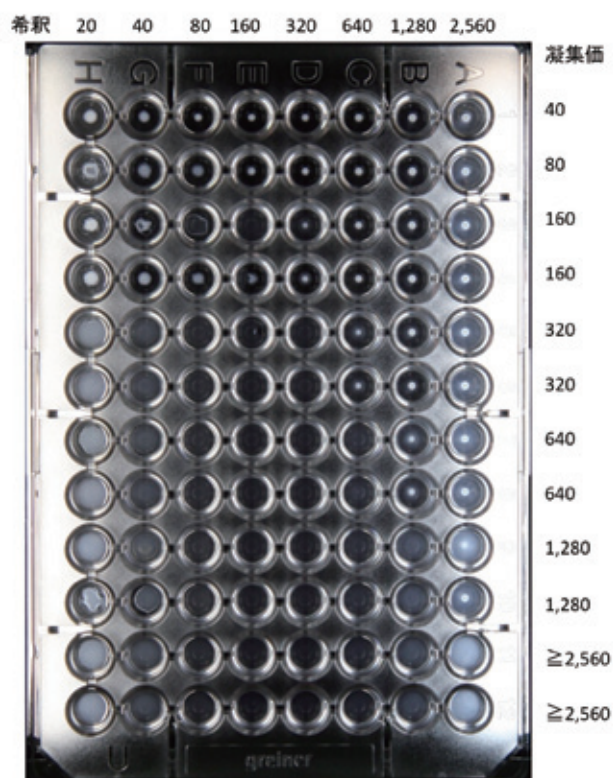


図 21. マイクロ凝集反応法における凝集の判定

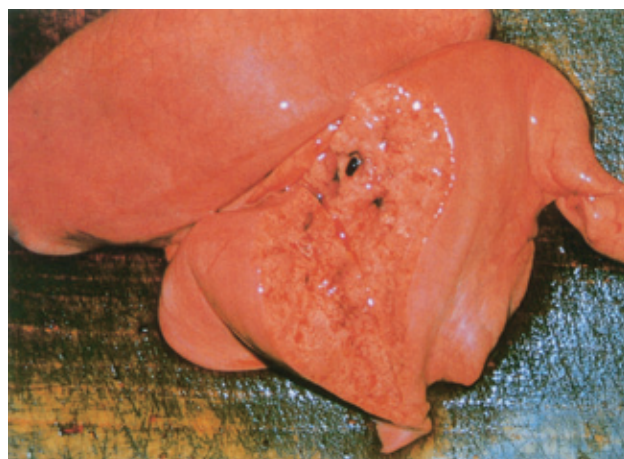


図 22. 流産胎児の肺：実質に漿液を含み腫大
(北海道釧路家畜保健衛生所提供)

病理所見のみで馬パラチルス流産を診断することは困難である。ただし、これらの所見の中でも特に胎膜の炎症、脾臓の腫大、胃粘膜の充出血が顕著なことが、本病の比較的特徴的な所見として認められる。

流産以外の症例では、一般のチフス性疾患と同

様の所見が得られることがあるが、これも人のチフスや子牛のパラチルスに見られるような顕著なものではない。

病理組織検査では、流産胎児の胃液および感染臓器中に多数の球桿もしくは球状の細菌が認められる(図 28)。



図 23. 流産胎児の肝臓：強度のうっ血と腫大，実質は軟化
(北海道釧路家畜保健衛生所提供)



図 24. 流産胎児の融解した腎臓(北海道釧路家畜保健衛生所提供)



図 25. 流産胎児のうっ血した脾臓(北海道釧路家畜保健衛生所提供)

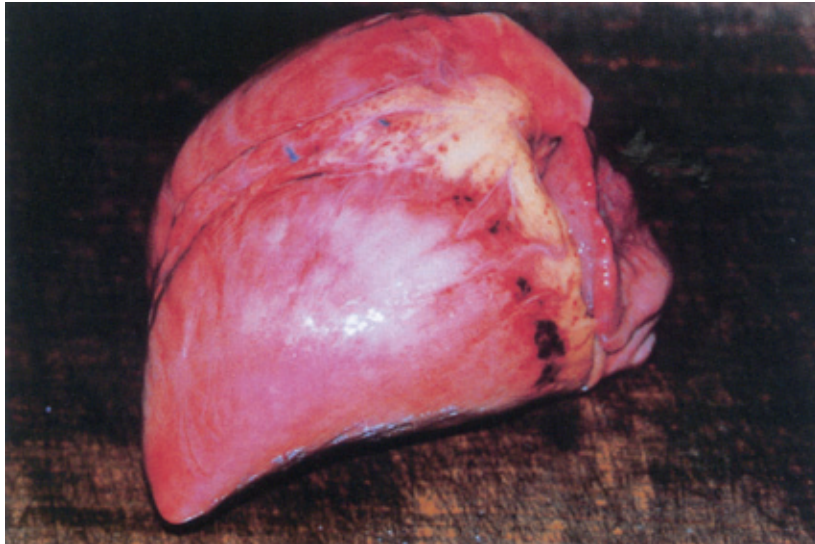


図 26. 流産胎児の心臓：出血巣の散在と心筋の退色
(北海道釧路家畜保健衛生所提供)

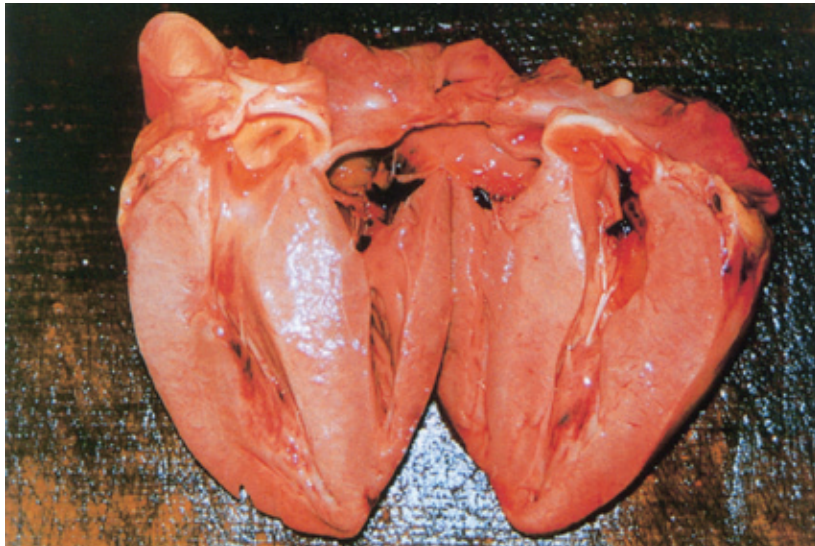


図 27. 流産胎児の心臓：心筋の退色と脆弱化(北海道釧路家畜保健衛生所提供)

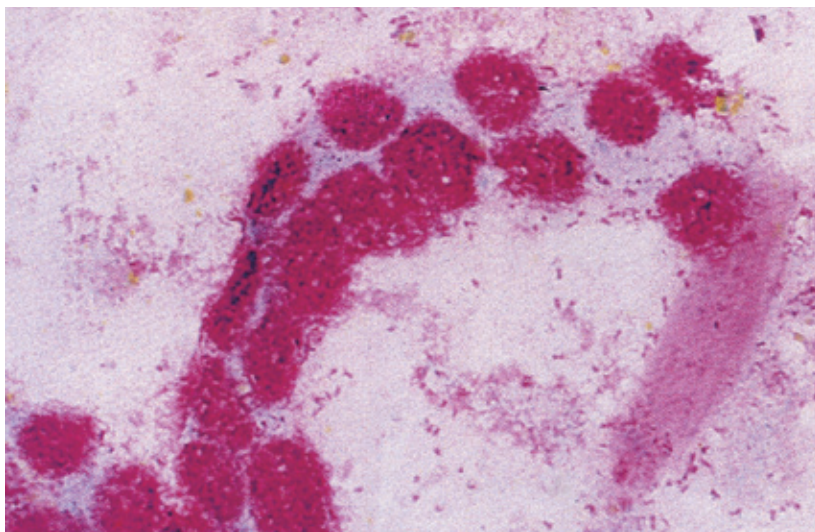


図 28. 流産胎児胃液の光学顕微鏡像(ギムザ染色)：球桿菌が多数認められる。
(北海道釧路家畜保健衛生所提供)

VI 予防と治療

1. 予防法

かつてわが国では死菌ワクチンが開発され使用されていたが、現在は使われていない。従って、本病の予防には感染の拡大防止と保菌馬の摘発が重要である。

感染馬は、隔離もしくは隔離に準じた措置を施し、他馬への水平伝播を防がなくてはならない。流産馬の排出物等には多量の病原体が含まれるため、必ず焼却等の処分を行う。また、これらが飛散した可能性のある範囲は良く消毒する。馬具や器具は感染馬専用とし、馬取扱者の履物・着衣等も専用とする。感染馬の取り扱い、専門に同一の者が行うことが望ましいが、それが出来ない場合には必ず作業を最後に行うようにする。さらに、野生動物やペットが菌の伝播に介在する可能性もあるので、それらに対して対策をとっておく必要がある。

一方、保菌馬の摘発は容易ではない。外から確認出来るような膿瘍がある場合を除いて、保菌馬から菌分離を行うことはかなり困難である。従って、防疫上は、感染馬はすべて保菌馬となる可能性があると考え、臨床的に回復して菌が分離されなくなった後も、定期的な臨床検査と抗体価の測定を行うべきである。抗体価が再び上昇したり長期間に渡って下降しない場合には、保菌馬である可能性が高いと考え、治療もしくは淘汰を実施する。

若齢時に感染した馬は特に保菌馬となりやすいと報告されている。このような馬は長期的な監視下に置くとともに、できるだけ繁殖用には供しないようにすべきであろう。

2. 治療法

免疫血清の投与は子馬の全身感染例における救命措置として有効である。しかしながら流産馬の治療、あるいは流行時における非感染馬の予防的投与についてはあまり効果が期待出来ないようである。これは、免疫血清には菌の感染そのものを防御する力はなく、内毒素等に対する抗毒素活性

だけが存在するからであろうと推測されている。なお、現在、本病の免疫血清の製造・販売は行われていない。

また、化学療法については、1950年代に体重1kgあたり50-60mgのクロラムフェニコールの6-7日間連続投与に効果が認められることが報告された。さらに最近では、人や他の動物のサルモネラ症と同様にニューキノロン系の薬剤による治療も試みられている。これらの化学療法は子馬の全身感染症例には有効であることが確かめられているものの、流産馬や化膿巣を形成した馬に対する治療効果、さらには保菌馬に対する除菌効果については、明らかになっていない。流産後の子宮の局所治療にはクロラムフェニコールやテトラサイクリン、あるいはアミノ配糖体系抗生物質の子宮内注入に効果が期待出来る。

一方、感染馬に抗菌薬を投与することによって、感染免疫の産生が遅れたり、あるいは不十分になるなど、かえって回復を遅らせたり保菌馬になる確率を高める可能性については否定できない。本病は感染しても強い免疫が獲得されると考えられていることから臨床的に重度な場合を除いて、抗菌薬の投与は慎重に行うべきであろう。また、保菌馬については出来る限り淘汰を行うように指導することが望ましいが、実際にはそのことが不可能であり抗菌薬による治療を行った場合にも、胸骨々髄のような長期保菌部位からの採材が困難である等の理由から、完全に除菌されたことを確認することは難しい場合もある。従って、そのような馬については、保菌の可能性も考慮して治療後も定期的に抗体価の監視を継続することが望ましい。

VII 馬のサルモネラ症

馬における Abortusequi 以外の血清型のサルモネラ属菌による感染を、ここでは馬のサルモネラ症として紹介する。

1. 発生状況

馬のサルモネラ症は、馬パラチフスと異なり欧米を中心に世界各地で発生が認められ、馬において発生率の高い細菌感染症の一つである。分離される血清型の種類も多く、米国では2000～2001年にかけて1,024件から48種類の血清型が分離されたことが報告されている。最も代表的な血清型は、Typhimurium(ネズミチフス菌)であり、その他に Agona, Newport, Newington, Enteritidis(腸炎菌)などの血清型も比較的多く分離される。特筆すべきこととして、米国ケンタッキー州では1999年以降、突如として Agona の発生数が増加し2000年には馬のサルモネラ症全体の75%を占めたことが報告されている。これまで日本では Agona による馬のサルモネラ症の発生は報告されていないが、米国から日本へ輸入される馬も多いことや、国内の野生動物からも Agona が検出されていることから、今後の動向が注目される。また、一般的にサルモネラ属菌は環境に対して抵抗性が強く、米国では大学付属の動物病院内でネズミチフス菌による院内感染が相次いで発生したため、施設が一時

的に閉鎖されたことも報告されている。このような事例は、いったんサルモネラ属菌に汚染されてしまった牧場や施設からそれらを取り除くことが、いかに困難な作業であるかを物語っている。

日本国内における馬のサルモネラ症の発生は、諸外国と比較してそれほど多くはないように見受けられる。しかし、ときおり生産地では流行や集団発生を引き起こして問題となっているほか、散发事例では都内での発生も認められている。このことは、サルモネラ症は馬パラチフスとは異なり限られた地域のみには発生するのではなく、国内のどの地域においても起こる可能性がある疾病であることを示している。血清型に関しては、国内では Typhimurium による事例がそのほとんどを占めているが、まれに Java, Infantis, Newport などの血清型による発生も報告されている。

2. 多剤耐性ネズミチフス菌 DT104

多剤耐性ネズミチフス菌 DT104 は、1990年代に突如として急速に世界中に拡大し、牛などの家畜や人に猛威を振るった菌として知られている。DTとはファージ型(Definitive Type)の略称であり、DT104の最も特徴的な性状は、そのほとんどの株が少なくとも5剤(アンピシリン、クロラムフェニコール、ストレプトマイシン、スルファメトキサゾール、テトラサイクリン)の抗菌薬に対して耐性を示すことである。このDT104による馬の感染は、カナダやオランダなどで感染例が報告されているだけでなく、国内においても1996年の重種馬、2004年の軽種馬で集団発生を引き起こしたことが確認されている。さらに疫学的な解析により、これらの株は1991年以降に同地域の乳牛で急速に広がった株と非常に近縁であったことも示された(図29)。ネズミチフス菌をはじめ多くの血清型が引き起こすサルモネラ症が、様々な宿主に感染する人獣共通感染症であることから、牧場や施設の周辺で牛や豚などの家畜や動物が飼育されている地域では、それらの動物におけるサルモネラ症の発生に関しても注意を向ける必要があると考えられる。

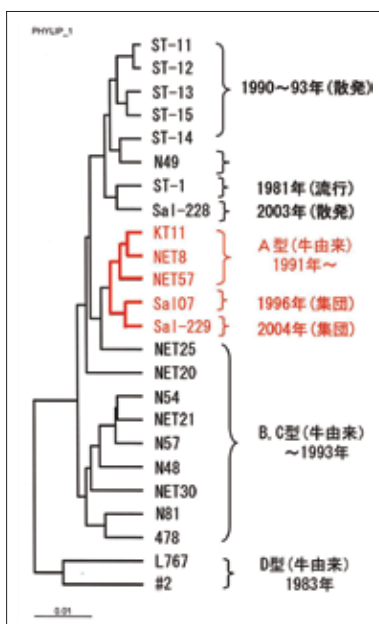


図29. 日本国内で馬から分離されたネズミチフス菌のAFLPによる系統樹解析: 1996年および2004年の集団発生由来株のファージ型はDT104であり、これらの株はいずれも同地域で1991年以降に蔓延した牛由来株と非常に近縁であった

参考資料

- ・馬のサルモネラ症，軽種馬防疫協議会(非売品)，1981。
- ・家畜伝染病の診断，農林水産省家畜衛生試験場技術者集団編，文永堂，1967。
- ・腸内細菌(上巻)第三版，坂崎利一・田村和満，近代出版，1992。
- ・動物の感染症(第三版)，明石博臣ら編，近代出版，2011。
- ・新馬の医学書，日本中央競馬会競走馬総合研究所編，チクサン出版社，2012。
- ・馬パラチフス試験管凝集反応法の改良，安齊 了ら，日獣会誌，48，945-948，1995。
- ・An outbreak of abortion in mare associated with Salmonella abortusequi infection. J. MADIC et al., Equine Vet. J. 29, 230-233, 1997.
- ・若齢時感染馬の流産を初発とした馬パラチフスの小流行，石井三都夫ら，北獣会誌，36，356-358，1992。
- ・馬パラチフスに対する新たな血清診断法導入の試み，中野良宣，第三十四回家畜衛生業績発表会(北海道)103-114，1986。

おわりに

この度の改訂版は，前版「馬パラチフス(第2版)」をもとに，最新の疫学情報や血清診断法の一つであるマイクロ凝集反応法について加筆することを主眼としました。

馬パラチフスは，2000年以降も国内での発生はなくなり，海外でもアルゼンチンで大規模な流産の発生を引き起こすなど，依然として馬産業に重大な影響を及ぼしかねない重要な疾病です。また，1996年や2004年における多剤耐性ネズミチフス菌による集団発生は，サルモネラ属菌の動物種を超えた感染の広がりが馬に対しても影響を及ぼすことを認識させられる事例であったといえます。馬産を取り巻く環境も時代の流れと共に変わりつつあるなか，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。

これまで本病に携わってこられた多くの獣医師，研究者の方々の多大な努力によって得られた貴重なデータ無くしては，本冊子の改訂を行うことはできませんでした。この場をお借りし厚く御礼申し上げます。

日本中央競馬会
競走馬総合研究所微生物研究室
丹羽秀和

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. 馬原虫性脊髓脳炎	平成 10 年
24. 馬パラチフス	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. 馬原虫性脊髓脳炎（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. 馬パラチフス（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. 馬原虫性脊髓脳炎（第 2 版・補訂版）	平成 24 年
52. 馬伝染性子宮炎（第 3 版）	平成 25 年
53. 馬の寄生虫病	平成 26 年
54. 馬伝染性貧血	平成 27 年

日本中央競馬会助成事業

地方競馬益金補助事業

平成 10 年 3 月 第 1 版第 1 刷発行

平成 16 年 3 月 2 刷

平成 20 年 3 月 第 2 版発行

平成 27 年 12 月 第 3 版発行

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