

## —日本における競走馬医療の現状 (Ⅹ)—

## 馬 伝 染 性 子 宮 炎

丹羽秀和<sup>†</sup> (特)日本中央競馬会競走馬総合研究所微生物研究室研究役)

## 1 はじめに

馬伝染性子宮炎 (Contagious equine metritis : CEM) は, *Taylorella equigenitalis* の感染によって起こる馬科動物に特有の伝染病であり, 交配によって伝播し, 雌馬の子宮炎・不妊症をもたらす性感染症である。本病は, 1977年に英国の軽種馬生産牧場で最初に大流行し, 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。わが国では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, 毎年発生が続いていたが, 2005年6月を最後に認められておらず, 清浄化したと考えられている。本病の清浄化に約30年の歳月と馬関係者の多大な労力が必要であったことは, 症状を示さず長期間にわたって菌を保有する保菌馬の存在, 原因菌である *T. equigenitalis* の細菌学的特性, 正確な検査材料の採取が必ずしも容易ではないことがその要因としてあげられる。本稿では, CEMの発生状況をはじめ, 病原体の特性, 診断や治療法なども交え, 本病の概要について解説する。

## 2 海外の発生状況

CEMが最初に確認されたのは1977年の英国ニューマーケットにおける流行であり, これにより英国では29カ所の牧場で約250頭の繁殖用雌馬と25頭の種雄馬が摘発され, 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実施された。その後, 数年の間に欧州諸国, 米国, 豪州, 南米, 日本など世界の主要馬産国の多くで本病の発生が確認された。このように本病が瞬く間に世界中で確認されたことは, その伝播力の強さを示すとともに, 1977年よりも以前にこれらの国の中にはCEMがすでに存在していた可能性が指摘されている。CEMのその後の発生状況は国によってさまざまである。豪州では1980年の発生を最後に報告はなく, 1985年に清浄化が宣言されている。一方, 欧州では, 現在も発生が認められている。ドイツでは毎年のように保菌馬が摘発されているほか, 他の欧州諸国でも散発的

な発生が認められている。米国では, 1983年以降, 長らく発生が認められなかったが, 2006年に海外から導入された種雄馬が摘発されて以降, しばしば発生が報告されている。特に2008年のケンタッキー州における輸出用精液検査での摘発を発端とした集団感染事例では, 疫学的な関連が疑われた検査対象馬はハワイ州とロードアイランド州を除く全州に及び, 最終的に22頭の雄馬, 1頭の騾馬, 5頭の雌馬が摘発された [1]。他の地域では, 2010年以降, アラブ首長国連邦 (2012年), 南アフリカ共和国 (2011~2013年, 2017年), 韓国 (2015年) での発生が確認されている。

## 3 国内の発生状況

わが国では, 1980年に北海道日高・胆振地方で初めてCEMの発生が確認された [2]。その後, 家畜伝染病予防法第6条及び51条の適用, 検査や研究体制の整備などの官民一体となった対策が実施され, 1980年に321頭であった摘発馬は徐々に減少した。1998年, 家畜伝染病予防法施行規則の改正により, CEMは届出伝染病に指定され, 本格的な保菌馬の摘発とその治療を目的とした事業が開始された。特に, 2001年から2010年まで, 繁殖用軽種馬全頭を対象としたPCR検査が毎年実施され, 発生頭数はさらに減少した。2005年6月の発生以降, 国内では本病の発生は報告されておらず, 現在のところ清浄状態にあると考えられている [3]。

## 4 病 原 体

*T. equigenitalis* 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 [4] によって新しい属である *Taylorella* に再分類され, *Taylorella equigenitalis* と命名された。現在, *Taylorella* 属は, 本菌と2001年に新たな菌種として発表された *T. asinigenitalis* の2菌種で構成されている。本菌のおもな培養性状は以下のとおりである。非運動性グラム陰性桿菌で, 通常は球桿菌の形状をとる。微好気

<sup>†</sup> 連絡責任者: 丹羽秀和 (特)日本中央競馬会競走馬総合研究所微生物研究室)

〒329-0412 下野市柴1400-4 ☎0285-39-7589 FAX 0285-40-1064 E-mail: niwa@equinst.go.jp

性条件（5～10%炭酸ガス）下で良く発育するが、好気や嫌気条件下ではほとんど発育しない。チョコレート寒天培地上では良く発育し、血液寒天培地ではほとんど発育しないが、X及びV因子の要求性はない。至適発育温度は35～37℃である。カタラーゼ、オキシダーゼ、フォスファターゼ陽性、炭水化物から酸を産生しない。また、多くの消毒剤、抗菌剤に高い感受性を示す。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。わが国で分離された株はすべてストレプトマイシン耐性株であったが、諸外国で近年分離される株は、感受性株が主流である。本菌は、馬科動物の雌の生殖器粘膜のみに病原性を示し、雄馬では無症状のまま多くが保菌馬となる。本菌の自然界における分布については明らかになっていない。

本菌は、世界各国で分離されており、さまざまな遺伝子型が存在することが報告されている。国内の分離株はすべて同一の遺伝子型と考えられていたが、近年の全ゲノム解析を用いた研究により3系統に分かれていることが明らかにされている。本菌の病原因子についてはほとんどわかっていないが、莖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、定着因子と考えられている。なお、*T. equigenitalis*の全ゲノム配列は2011年に公表されている [5]。

## 5 臨床症状と保菌

CEM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し、受胎率は著しく低下する。通常は全身症状を示さない。滲出液は灰白色で子宮頸管から排出され、激しいものでは膣内に貯留したものが間欠的に陰門部から外部へ流出して外陰部や尾を著しく汚染する（図1）。まれに本菌による流産の発症も報告されている。しかし、近年の発症例ではこのような激しい症状を示すものは少なく、摘発される症例のほとんどが定期検査などで陽性となった無症状の馬である。



図1 CEM発症馬の外陰部から排出される滲出液

本菌は子宮内から消失しても外部生殖器に付着して長期間生息することが可能であり、このような保菌馬は、本病の清浄化を妨げる最大の原因となる。おもな保菌部位は陰核であり、特に陰核洞と陰核窩の恥垢中に生息する。実験感染例では、子宮内から菌が消失した後も陰核からは9カ月以上も菌が分離され続け、野外では7年間も保菌していた例もある。

感染雌馬あるいは保菌雌馬と交配した雄馬の陰茎にも菌が付着し長期間保菌される。陰茎におけるおもな保菌部位は尿道洞、亀頭窩、包皮の襞である。

## 6 伝 播

CEMは交配によって伝播する。感染した雌馬あるいは保菌雌馬と交配することによって雄馬の陰茎に菌が付着し、雄馬は保菌馬となる。このような保菌雄馬と交配した雌馬は感染して子宮炎を発症し、回復後も保菌馬となる。保菌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になるものもある。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感染が起こり、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。雄馬と雌馬の直接的な接触のない人工授精においても、保菌雄馬の凍結保存精液が本菌に汚染されることにより、感染が拡大した事例が報告されている。また、感染馬の滲出液で汚染した馬体は本病の間接的な感染の原因となる。雌馬や雄馬の外部生殖器に接触する獣医師や治療器具、馬取扱いや手入れ道具などによる人を介した感染に対しても注意が必要である。

## 7 診 断 法

本病の診断として病原学的検査法と血清学的検査法が開発されているが、血清学的検査法は感度や特異性が不十分であること、感染を伴わない保菌馬では抗体は検出されないことから、現在ではほとんど用いられていない。本稿では病原学的検査法について紹介する。

### (1) 採 材 法

適切な部位から適切な器材を用いて検体を採材することは、本病の正確な診断を実施する上で最も重要な要因の一つである。検体の採材には綿棒を用いるが、雌馬の陰核洞や雄馬の尿道洞など狭小な部位からの採材には、通常の大サイズの綿球を用いた綿棒は適しておらず、人の鼻咽頭検体採取用などの綿球の小さなものを使用する必要がある。輸送にはアミーズ培地が適しており、綿棒に培地が附属した市販キットを用いて採材することが推奨される。なお、培地に活性炭が含まれるものも販売されているが、活性炭はPCRの阻害要因となる可能性が指摘されており、遺伝子検査を前提とした採材には不向き

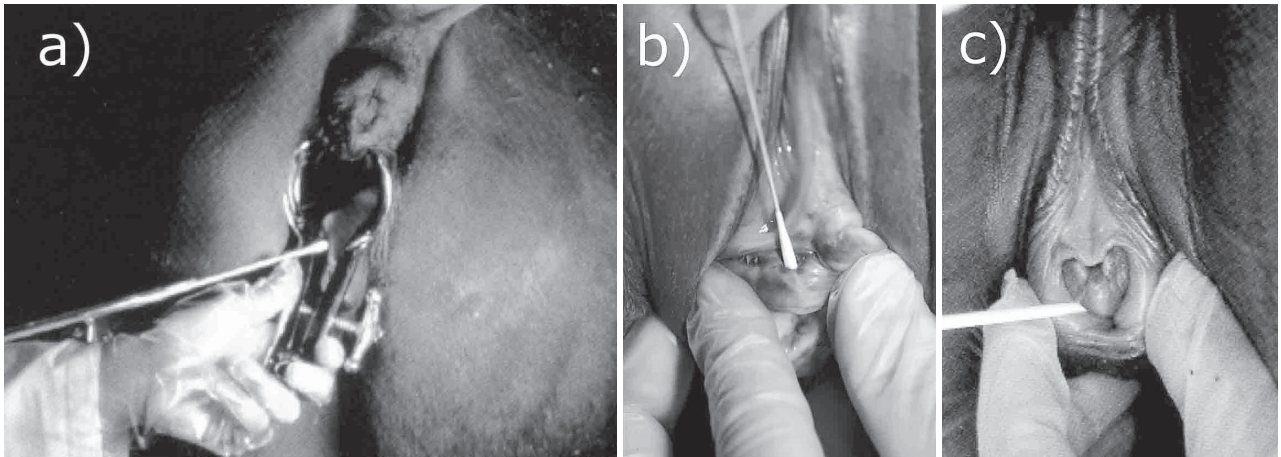


図2 雌馬における採材部位  
a) 子宮または子宮頸管粘膜, b) 正中陰核洞, c) 陰核窩

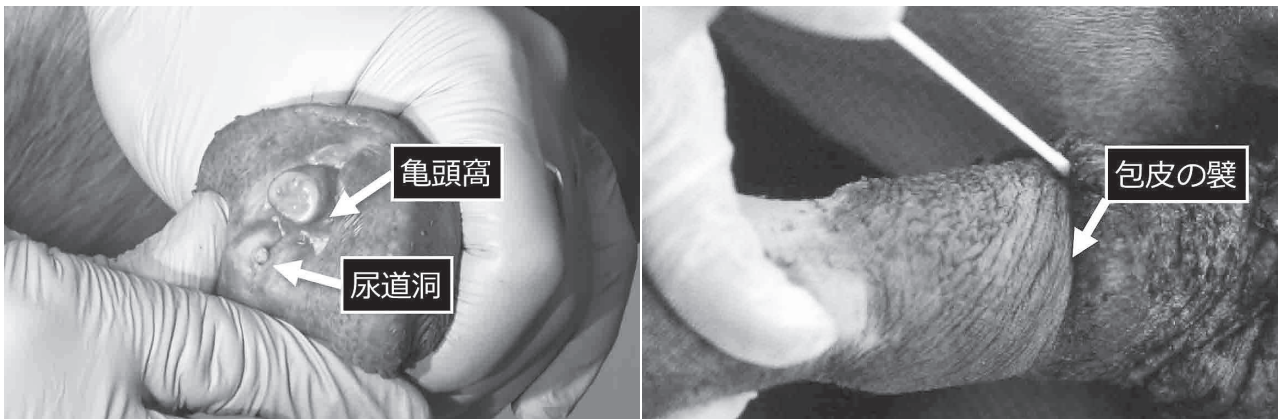


図3 雄馬における採材部位

である。雌馬では、子宮または子宮頸管粘膜、解剖学的な構造上、保菌部位となりやすい陰核洞及び陰核窩の3カ所から採材する（図2）。妊娠馬などで子宮からの採材が困難な場合は、少なくとも陰核洞及び陰核窩の2カ所から採材を行うことが重要である。雄馬では、解剖学的な構造上、保菌部位となりやすい尿道洞、龟头窩、包皮の3カ所から採材し（図3）、必要に応じて射精前液や尿道口のスワブについても採材することが望ましい。また、人工授精に供用する雄馬については、採取した精液の検査が必要となる。

## (2) 分離培養と同定

分離には5%チョコレート化血液及び5%馬溶血液加ユーゴン寒天培地を用いる [6]。分離材料には多数の雑菌も混在することから、培地にはトリメトプリム ( $1\mu\text{g}/\text{ml}$ ) とクリンダマイシン ( $5\mu\text{g}/\text{ml}$ )、アンホテリシン B ( $5\sim 15\mu\text{g}/\text{ml}$ ) を添加する。これらの添加物によって一部の *T. equigenitalis* 自体の発育が阻害される場合があり、添加物を含まないユーゴンチョコレート寒天培地の併用が推奨される。初期の流行株はストレプトマイ

シン耐性株であったことから、ストレプトマイシン ( $200\mu\text{g}/\text{ml}$ ) 添加ユーゴンチョコレート寒天培地も考案されているが、近年の海外の分離株の大部分はストレプトマイシン感受性株であり、現在はほとんど使用されていない。分離培養は10%の炭酸ガス ( $\text{CO}_2$ ) 存在下、 $37^\circ\text{C}$  で2週間まで行う。早ければ3~4日後にはコロニーが肉眼で認められるようになる。しかし、採材後の時間が経過した検体や抗生物質添加培地では発育が遅いことが多く、通常は3~4日間隔で観察しながら1週間以上培養を継続する必要がある。ユーゴンチョコレート寒天培地上では、純培養時には培養4日目まで直径1~2mm程度、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コロニーを形成する。しかし、分離培養時には0.1mm~1cmまでの大きさの異なる集落が一つの培地上に同時に認められることも多い（図4）。したがって分離培養時には、*T. equigenitalis* を否定できる性状をもつものの以外の疑わしいコロニーはすべて釣菌し、同定を行うべきである。*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

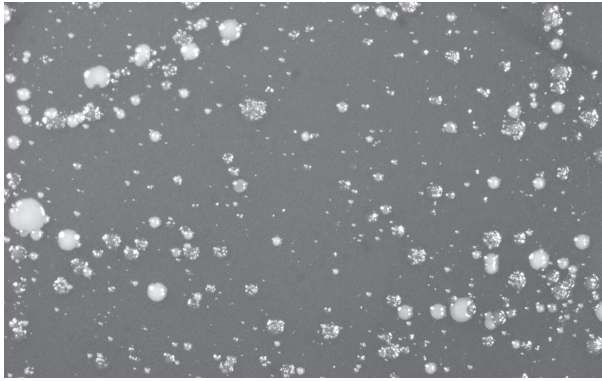


図4 ユーゴンチョコレート寒天培地上に形成された *T. equigenitalis* のコロニー：培養4日目  
大小様々な形態のコロニーが認められる。

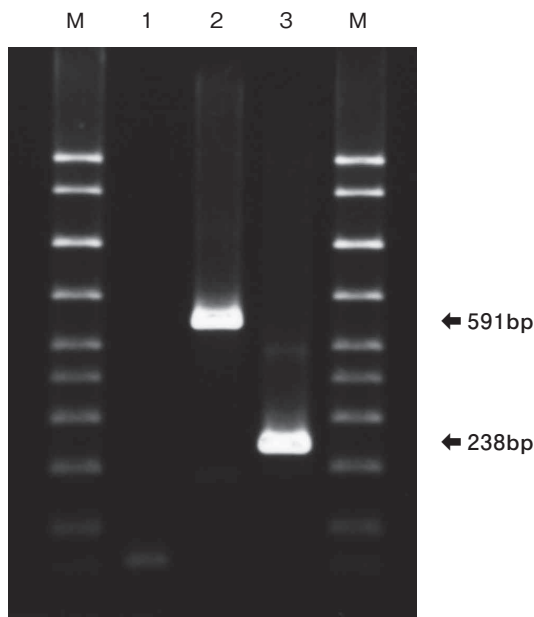


図5 Semi-nested PCR法による *T. equigenitalis* の検出

M：100bp ladder      1：陰性対照  
2：反応陽性対照      3：CEM陽性例

離培養時に非典型的な集落を形成していた株も、純培養することによって典型的な集落を形成することが多い。さらに紛らわしい場合には、家兎免疫血清を作製してスライド凝集反応を行うか、*T. equigenitalis* 特異的 PCR (後述) や 16S rRNA 遺伝子の塩基配列を用いた同定 [7] を実施する。

### (3) 遺伝子検査法

CEM の遺伝子検査法については、さまざまな方法が報告されている。PCR法 (Bleumink-Pluymら (1994) [8], Duquesneら (2007) [9]), semi-nested PCR法 (Anzaiら (1999) [10]), multiplex PCR法 (Arataら (1999) [11]), real-time PCR法 (Premanandhら

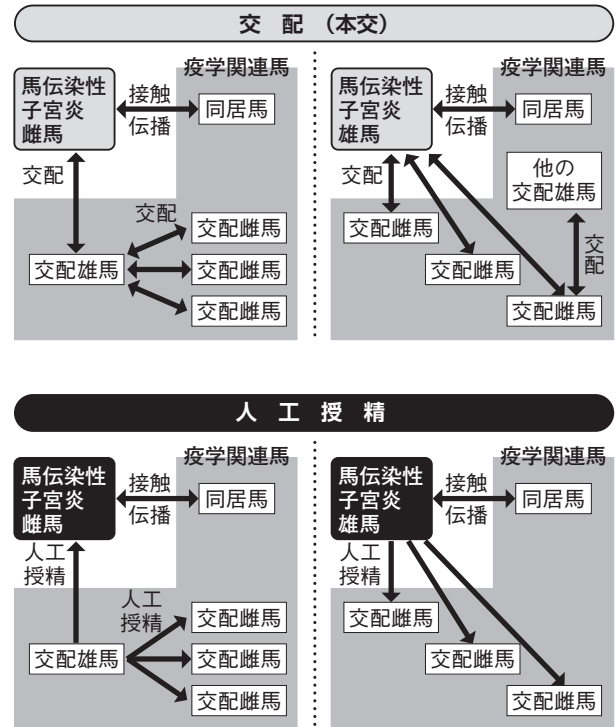


図6 CEM発生時における疫学関連馬の例

(2003) [12]), LAMP (Loop-mediated isothermal amplification) 法 (Kinoshitaら (2015) [13]) の方法などが公表されているが、国内では semi-nested PCR法がよく使用されている (図5)。遺伝子検査は、分離培養では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、かつ多検体を一度に処理することが可能となる。また、多数の雑菌の混入が予想される陰核や陰茎の恥垢を採取したスワブでは、分離培養による検出は感度が低く、これらの材料に対しては遺伝子検査法の使用が推奨される。現在、遺伝子検査法は本病の診断法の主流となっている。

## 8 予 防

ワクチンによる CEM の予防は行われていない。本病の予防には、保菌馬の摘発が最も重要である。繁殖に供するすべての雌馬、雄馬及び試情馬は交配に供する前に *T. equigenitalis* が陰性であることを確認しておかなければならない。一方、繁殖シーズン中は感染馬の早期発見と隔離ならびに交配の中止が重要である。臨床的に本病を疑う馬が認められた場合には、ただちに検査を実施し、陰性が証明されるまで交配を中止しなければならない。この間、当該馬は、隔離もしくは隔離に準じた環境下で管理する。馬を取扱う者や獣医師は、馬同士の接触及び人為的な伝播を防ぐための措置を最大限に実施する必要がある。また、検査によって本病の確定診断がなされた場合には、感染の拡大を防ぐために感染が確認された馬と疫学的な関連のある馬 (疫学関連馬) に対しても

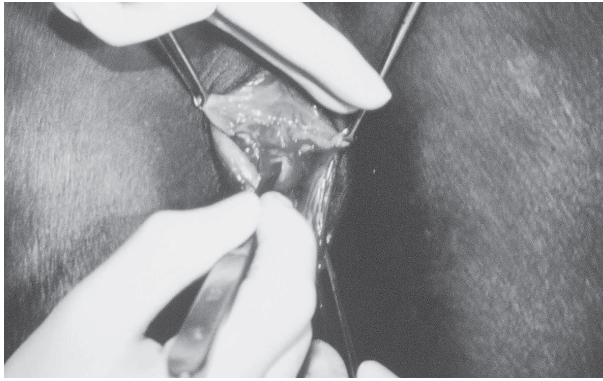


図7 陰核洞切除術

隔離などの防疫措置や検査の実施が強く推奨される。疫学関連馬の具体例を図6に示す。

## 9 治 療

CEMの感染が確認された雌馬に対しては、子宮洗浄と子宮内への抗菌剤の投与及び陰核からの除菌を行う。全身の薬物投与の併用も効果があるとされるが通常は必要ない。子宮洗浄液にはペニシリンGやアンピシリンなどのペニシリン系抗菌剤を単独で用いるか、これらにゲンタマイシン等のアミノ配糖体系抗菌剤などを併用する。また、陰核からの菌の除去も重要である。ブラシや綿棒などの器材を用い、0.02%のクロルヘキシジンなどの消毒薬によって陰核窩や陰核洞内の垢を完全に除去することが重要である。消毒薬の残存は皮膚や粘膜の炎症、*Klebsiella pneumoniae*や*Pseudomonas aeruginosa*などの他の病原細菌による子宮炎の要因となる可能性があることから、消毒後には水で消毒薬をよく洗い流し、ゲンタマイシンなどの抗生物質を含む軟膏を陰核表面に塗布する。これらの治療を毎日、5～7日間実施する。通常は、この治療によりほとんどの症例で治癒するが、まれに治療後も菌が検出され続ける頑固な保菌馬の存在も認められる。このような雌馬では、陰核洞の切除手術が必要となる(図7)。

雄馬の治療も雌馬の陰核と同様に陰茎の恥垢に潜伏している菌を完全に除去することが目的となる。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、龟头窩から恥垢を完全に除去する。水によって消毒薬をよく洗い流した後、抗生物質を含む軟膏を塗布する。これらの治療を毎日5～7日間実施する。

治癒の確認は、治療が終了したおおむね1週間後に最初の検査を実施し、その後1週間隔で2回行う。すべての検査で陰性が確認された場合に治癒が終了したと考える。なお、治療が確認された馬については、次年度以降の繁殖に供する際のリスクをより低減させるとともに、国内での再清浄化達成の検証に資するため、“ハイリスク馬”(過去3年間の内に馬伝染性子宮炎の感染馬であっ

た馬)として管理し、上記と同じ方法による検査を年1回、3年間実施することが推奨される。

## 10 お わ り に

CEMの最終発生(2005年6月)から本稿を執筆している現在(2017年6月)まで、10年以上が経過しており、馬産地である北海道でもCEMの臨床症状を実際に目の当たりにした獣医師だけでなく、保菌馬に遭遇した獣医師でさえも年々減少している。しかし、海外では現在も本病の発生があり、国内へふたたび侵入する危険性は常に存在している。万が一、国内でふたたびCEMが発生した場合にも早期に清浄化が達成できるよう、日頃から採材法や治療法に習熟しておく必要があると考えられる。

なお、本病の再侵入時の対応については軽種馬防疫協議会のHP(<http://keibokyo.com/>)からアクセスできる「馬伝染性子宮炎発生時の緊急防疫マニュアル」、採材法や治療法については「馬伝染性子宮炎—採材法と治療法—」に動画として掲載されているので、参照されたい。

## 参 考 文 献

- [1] Erdman MM, Creekmore LH, Fox PE, Pelzel AM, Porter-Spalding BA, Aalsburg AM, Cox LK, Morningstar-Shaw BR, Crom RL : Diagnostic and epidemiologic analysis of the 2008-2010 investigation of a multi-year outbreak of contagious equine metritis in the United States, *Prev Vet Med*, 101, 219-228 (2011)
- [2] Kamada M, Akiyama Y, Oda T, Fukuzawa Y : Contagious equine metritis: Isolation of *Haemophilus equigenitalis* from horses with endometritis in Japan, *Jpn J Vet Sci*, 43, 565-568 (1981)
- [3] Anzai T, Kamada M, Niwa H, Eguchi M, Nishi H : Contagious equine metritis eradicated from Japan, *J Vet Med Sci*, 74, 519-22 (2012)
- [4] 杉本千尋 : ウマ伝染性子宮炎起因菌について—新属 *Taylorella* の設立を中心に—, *日本細菌学雑誌*, 40, 883-893 (1985)
- [5] Hébert L, Moumen B, Duquesne F, Breuil MF, Laugier C, Batto JM, Renault P, Petry S : Genome sequence of *Taylorella equigenitalis* MCE9, the causative agent of contagious equine metritis, *J Bacteriol*, 193, 1785 (2011)
- [6] World Organization for Animal Health : Contagious equine metritis, *Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals*, (online), (<http://www.oie.int/manual-of-diagnostic-tests-and-vaccines-for-terrestrial-animals/>), (accessed 2017-6-23)
- [7] Petti CA, Bosshard PP, Brandt ME, Clarridge JE, Feldblyum TV, Foxall P, Furtado MR, Pace N, Procop G : Interpretive criteria for identification of bacteria and fungi by DNA target sequencing (MM18-A), 1st ed, 30, *Clinical and Laboratory Standards Institute*,

- Pennsylvania (2008)
- [ 8 ] Bleumink-Pluym NM, Werdler ME, Houwers DJ, Parlevliet JM, Colenbrander B, van der Zeijst BA : Development and evaluation of PCR test for detection of *Taylorella equigenitalis*, J Clin Microbiol, 32, 893-896 (1994)
- [ 9 ] Duquesne F, Pronost S, Laugier C, Petry S : Identification of *Taylorella equigenitalis* responsible for contagious equine metritis in equine genital swabs by direct polymerase chain reaction, Res Vet Sci, 82, 47-49 (2007)
- [10] Anzai T, Eguchi M, Sekizaki T, Kamada M, Yamamoto K, Okuda T : Development of a PCR test for rapid diagnosis of contagious equine metritis, J Vet Med Sci, 61, 1287-92 (1999)
- [11] Arata AB, Cooke CL, Jang SS, Hirsh DC : Multiplex polymerase chain reaction for distinguishing *Taylorella equigenitalis* from *Taylorella equigenitalis*-like organisms, J Vet Diagn Invest, 13, 263-264 (2007)
- [12] Premanandh J, George LV, Wernery U, Sasse J, Premanandh J1, George LV, Wernery U, Sasse J : Evaluation of a newly developed real-time PCR for the detection of *Taylorella equigenitalis* and discrimination from *T. asinigenitalis*, Vet Microbiol, 95, 229-237 (2003)
- [13] Kinoshita Y, Niwa H, Katayama Y, Hariu K : Development of loop-mediated isothermal amplification methods for detecting *Taylorella equigenitalis* and *Taylorella asinigenitalis*, J Equine Sci, 25-29 (2015)