

4 蜜蜂のアカリンダニ症検査のための気管摘出法の検討

県北家畜保健衛生所

谷本朱紀 渡邊絵里子

はじめに

アカリンダニ症は、蜜蜂の気管にアカリンダニ (*Acarapis woodi*) が寄生することにより発生する疾病で、罹患すると衰弱蜂や死亡蜂が増加し、重篤な場合は蜂群が崩壊する。家畜伝染病予防法で届出伝染病に指定されており、日本では、2010年に長野県で初めて発生が確認され、その後、各地で報告が相次ぎ、2017年度には19県39戸で発生している(図1)。

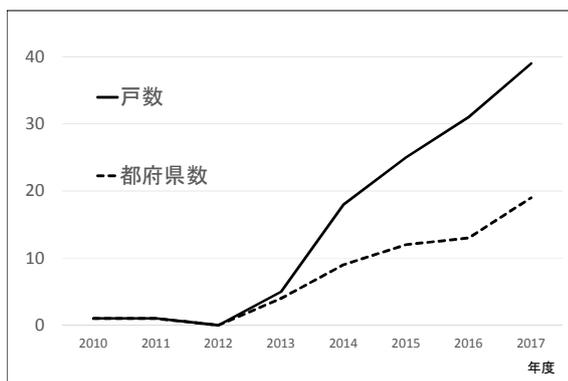


図1 国内のアカリンダニ症発生数

栃木県内では2014年に初めて発生があり、県北家畜保健衛生所管内では2016年の初発に続いて毎年摘発されている。

背景

2017年11月、日本蜜蜂6群を飼養する養蜂家から、蜂群の活力減衰と蜂数の減少を主訴として病性鑑定依頼があった。症状が顕著であった2群からそれぞれ10匹を採取し、当所にて実体顕微鏡下で解剖をしたところ、アカリンダニの寄生が確認され、アカリンダニ症と診

断した。

この検査の際、蜜蜂の解剖及びアカリンダニ症の診断を経験している職員は1名のみであり、また、当所に配備されている実体顕微鏡は1台のみであった。このため、1名が実体顕微鏡下での解剖及び気管の確認を行うことになり、診断までに長時間を要した。さらに、実体顕微鏡では視野の共有ができず、蜂の固定も手作業であるため解剖手技や気管の確認について他職員へ伝達することが非常に困難であった。

現在、管内では趣味的な養蜂が増加しており、アカリンダニ症の全国的な拡大とあいまって、今後検査の機会が大幅に増加すると予測される。そのような中所属内でアカリンダニ症の検査を滞りなく実施できるよう、検査体制を整える必要があった。

新しい検査体制を構築するにあたって、①実体顕微鏡の台数が限られるため、台数が確保できる光学顕微鏡下での検査が可能であること、②蜜蜂解剖未経験の職員が実施できるよう手技が簡易であること、③複数の職員が同時に作業できるよう、顕微鏡を使う時間を極力短縮すること、の3要件を満たす必要があった。これらの要件を満たす手法(簡易法と呼称)を考案し、マニュアルを作成、実際に実用に耐えうるか検証を実施した。

簡易法マニュアル

必要な機材：解剖用のはさみとピンセット(先が細く鋭利なもの)、ディスプレイザブル

のシャーレ、プレパラート作成のためのスライドガラス、カバーガラス、蒸留水（図2）、及び光学顕微鏡。



図2 準備機材

手法：ディスプレイザブルのシャーレ上で、蜜蜂の関節を切断し、頭部・胸部・腹部に分割する（気管は胸部に存在するので、検査には胸部を使用）。足は根本から切断して除去し、羽は残す（図3）。



図3 蜜蜂の分割

ピンセットで羽をつまみ、ハサミで胸部を正中線で2分割する（図4、5）。



図4 胸部の分割



図5 胸部分割後の断面

スライドガラス上に蒸留水を滴下し、羽もしくは甲殻の一部をピンセットでつまみ、ハサミの先を使って胸部内容（ピンクの肉様の軟組織）を全て水中に摘出する。軟組織をハサミとピンセットの先を使って水中に広げる（図6）。



図6 内容物の摘出と展開

カバーガラスをかけて光学顕微鏡で鏡検する（図7）

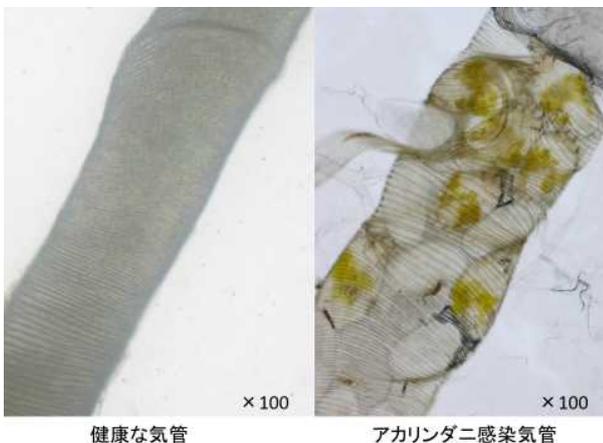


図7 プレパラート作成

注意：胸部を2分割した後は乾燥させないよう速やかに作業すること。胸部内容を全てスライドガラス上に出すことにより、気管を視認することなくプレパラート上に摘出することができるが、摘出時には気管を傷つけないよう優しく扱う必要がある。また、外骨格の破片は鏡検の妨げになるので混入しないよう注意する。

簡易法による気管の確認

健康蜜蜂及びアカリダニ感染蜜蜂を用いて簡易法による気管摘出を行ったところ、気管及びアカリダニの寄生の確認は問題なく実施できた（図8）。



健康な気管

アカリダニ感染気管

図8 簡易法により摘出した気管

なお、簡易法により鏡検した場合、胸部の内容物をすべて摘出しているため、筋組織や腺組織が同一スライド上にあり、気管と重なる場合があったが、筋組織などは光を透過するため、重なった状態でもおおむね気管の内部を確認することができた。また、検査に支障がある場合はカバーガラスを外して重なった部分を再度広げることが可能であった（図9）。



図9 簡易法により摘出した気管と筋組織

一方、簡易法による摘出では、気管が短く切れたり、一部が裂けたりする傾向がみられた。

簡易法の有効性の検証

この簡易法マニュアルでアカリダニ症診断のための気管の確認が可能かどうか、以下の検証を行った。

対象：行政体験研修の獣医学生2名、家畜防疫員である職員8名の計10名。なお、事前にアンケートを実施し、蜂の解剖及びアカリダニ症診断の経験が無いことを確認した。

方法：被験者は、作成した簡易法マニュアルと器具、健康な蜜蜂1匹を準備した状態から、気管の摘出及び光学顕微鏡下での気管の確認

をする。

条件：他者からの助言を受けず、単独での実施とし、マニュアルの事前確認はしないこととした。

計測：解剖開始から鏡検用のプレパラートを完成させるまでの時間、光学顕微鏡での確認作業を終えるまでの時間及び確認できた気管の本数を計測した。

結果

1匹目で気管を確認できたのは、10名中8名であり、確認できなかった2名中1名はプレパラート上に気管を摘出することができず、もう1名は気管は摘出できていたが、マニュアルのみでは気管を認識することができなかった。また、気管を確認できた8名中7名が、2本以上の気管を確認することができた。

2匹目では10名全員が気管を確認することができており、10名中8名が2本以上の気管を摘出・確認することができた。

プレパラート作成を完了するまでの平均時間は7.9分、鏡検完了までに要した平均時間は9.6分であった。この時間は2匹目で短縮され、プレパラート作成まで平均4.9分、鏡検完了まで平均6.7分であった（表）。

これらの結果から、このマニュアルを用いて経験の乏しい家畜防疫員でもアカリндаニ症診断のための気管確認を実施することが可能であると考えられた。

考察

今回考案した簡易法では、気管を損傷する確率が高く、従来の実体顕微鏡を用いた検査に比べて確実性に欠ける傾向があった。しかし、この簡易法で、アカリндаニ症の検査経験がない場合でも光学顕微鏡のみで検査することができ、また、多検体を一度に処理することが可能であった。検査経験の乏しい職員でも、簡易法で複数回検査を実施することにより、気管の形態や大きさが実感できるようになっていた。簡易法により診断を行った職員のうち数名は、この後よりスムーズに実体顕微鏡での解剖、検査に移行することができた。

これらのことから、この簡易法は、実体顕微鏡がない場合や多数の検体を処理する場合などの補助法として、また、アカリндаニ症の検査に不慣れな場合の入門法として有用であると考えられた。

表 検証結果

被験者 No	1匹目			2匹目		
	摘出まで (分)	鏡検完了 まで(分)	気管確認	摘出まで (分)	鏡検完了 まで(分)	気管確認
1	10.0	11.5	複数	6.0	7.2	複数
2	8.0	10.0	できない	5.0	9.0	複数
3	7.3	12.0	できない	6.2	8.0	複数
4	9.0	10.0	複数	4.3	4.8	複数
5	8.8	10.7	複数	7.0	7.8	複数
6	7.9	11.3	1本	5.2	6.5	複数
7	9.2	9.6	複数	3.2	7.5	1本
8	7.3	7.7	複数	3.8	3.9	複数
9	2.8	3.8	複数	2.0	5.8	1本
10	8.5	9.8	複数	6.3	6.8	複数