

6 蜜蜂の麻痺病の発生事例とウイルス性疾病の浸潤状況

県中央家畜保健衛生所

猿山由美、濱谷景祐、矢島佳世、青木亜紀子、宇佐美佳秀

はじめに

蜜蜂に大量死を起こす原因のひとつに麻痺病があり、100年以上前からイギリスの養蜂家では経験的に認識されていた¹⁾。その後、1963年にその原因がウイルスであると明らかになり²⁾、現在までに数種類の麻痺病ウイルスが確認されている。代表的なものに慢性麻痺病ウイルス（以下 CBPV）、急性麻痺病ウイルス（以下 ABPV）、イスラエル急性麻痺病ウイルス（以下 IAPV）及びカシミール蜂ウイルス（以下 KBV）がある³⁾。これらの麻痺病については世界各国で発生が報告されており^{4,5,6,7,8)}、日本でも発生が確認されている^{9,10,11)}。

麻痺病は、成蜂の脱毛、黒色化及び腹部のバンド模様の不鮮明化が特徴的な症状である。発症した成蜂は巣箱から追い出され衰弱し、末期には飛翔不能に陥り、体や羽の痙攣、旋回を呈し死亡する。また、CBPV、ABPV 及び KBV の媒介には、ミツバチヘギイタダニが関与すると言われていた³⁾。

今回、本県で初めて蜜蜂の麻痺病の発生を確認し、対策を講じるとともに、前述の麻痺病に関する3種類のウイルス（CBPV、ABPV 及び KBV）に加え、チズレバネウイルス（以下 DWV）、サックブルードウイルス（以下 SBV）及び黒色女王蜂児病ウイルス（以下 BQCV）の計6種類のウイルスについて、管内における浸潤状況を調査したので、その概要を報告する。

病性鑑定

【発生状況】

A 養蜂場：平成 25 年 3 月頃から死亡する成蜂の増加が始まり、チョーク病蜂児が認められたためその対策を講じたが、改善されなかった。その後、巣門付近で成蜂が大量に死亡するようになったため、5 月に病性鑑定の依頼があった。

B 養蜂場：4、5 年前から春先に成蜂の大量死が発生していた。平成 25 年は 1 月中旬から死亡が増加、3～5 月に被害が最大となり、6 月に病性鑑定の依頼があった。

なお、両養蜂場とも M 市にあるが、約 10km 離れており、飼養者同士の養蜂場への往来や巣箱及び器具の共有や交換は行われていなかった。

【臨床症状】

立入検査を行ったところ、A 及び B 養蜂場とも、発症蜂は巣箱から追い出され巣門付近で地面を這い、羽や体を振るわせていた。また、それらの腹部では脱毛や膨満を認め、黒く光っていた。また、巣門付近には大量の死亡蜂が集積していた（写真 1 及び 2）。

なお、A 養蜂場では 11 群中 2 群、B 養蜂場では 73 群中 3 群で臨床症状を呈する発症蜂が確認された。



写真1 巣門周囲における発症蜂及び死亡蜂



写真2 発症蜂の様子

【材料及び方法】

供試材料：A及びB養蜂場において、発症群からは成蜂の死体及び症状を示し衰弱した生体を、未発症群（対照群）からは健康な生体を、各々1群あたり50匹程度採材した。なお、A養蜂場では1群から3回（平成25年5月、6月及び10月）、B養蜂場では3群から2回（平成25年6月）採材を行った。

ウイルス学的検査：発症及び未発症の各群10匹の頭部及び腹部をすり潰し培養液に加えて乳剤とし、常法の処理を行った後、逆転写ポリメラーゼ連鎖反応（以下RT-PCR）にてCBPV及びABPVについて遺伝子の検出を行った^{6、11）}（写真3）。

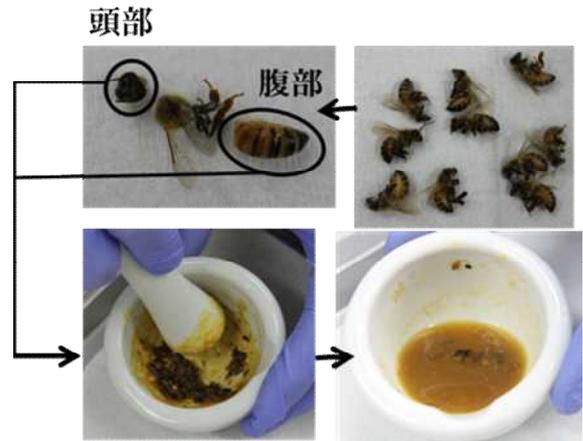


写真3 乳剤の作成

病理組織学的検査：A及びB養蜂場とも、2回目（6月）に採材した検体を用いた。20%中性緩衝ホルマリン液及びエタノール混合ブアン液で固定後、常法によりパラフィン切片を作成しヘマトキシリン・エオジン（HE）染色を行った^{9、12、13）}。

【結果】

表1 検査結果

養蜂場	群	回	採材	臨床症状	RT-PCR		病理	
					CBPV	ABPV	変性	好塩基性封入体
A	①	1	H25.5.20	+	-	+	NT	NT
		2	H25.6.24	+	-	+	+	+
		3	H25.10.8	-	-	-	NT	NT
B	①	1	H25.6.14	+	+	+	NT	NT
				+	+	-	NT	NT
				+	+	-	NT	NT
	②	2	H25.6.24	-	-	-	-	-

ウイルス学的検査：A養蜂場では5月の1回目及び6月の2回目に採材した群で、ABPVの遺伝子が検出された。3回目の採材を行った10月には、群の勢いは回復し臨床症状は認められず、いずれのウイルス遺伝子も検出されなかった。

B養蜂場では1回目に採材を行った3群のうち、①群からCBPV及びABPVの遺伝子、②及

び③群からは CBPV の遺伝子が検出された。2 回目の採材では①及び②群は既に処分されていたため、③群のみ採材を行った。③群は衰弱を示すものの麻痺病の症状は認められず、ウイルス遺伝子も検出されなかった（表 1）。なお、未発症群（対照群）からはいずれのウイルス遺伝子も検出されなかった。

病理組織学的検査：A 養蜂場において、麻痺病の症状を呈し ABPV の遺伝子が検出された個体の下咽頭腺では、腺細胞の変性、好酸性分泌物の減少及び細胞質内における好塩基性封入体の形成が認められた（図 1）。

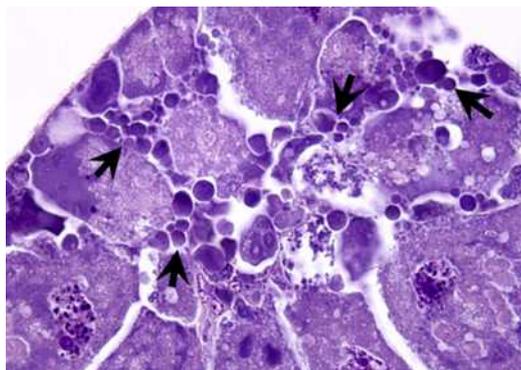


図 1 A 養蜂場の発症蜂における下咽頭腺細胞の変性、細胞質内封入体（矢印）（HE×400）

B 養蜂場において、麻痺病の症状を呈し CBPV の遺伝子が検出された個体の下咽頭腺では、腺細胞の変性及び好酸性分泌物の減少が認められたが、封入体の形成は認められなかった。なお、病性鑑定マニュアル¹⁴⁾に基づき A 養蜂場の発症群 1 群をチョーク病と診断した。また、いずれの養蜂場においても、ダニ等の外部寄生虫の付着及び腐蛆病の発生は認められなかった。

これらの結果に基づき、2 事例を麻痺病と

診断した。

【考察及び取組】

今回の事例は麻痺病の特徴的な臨床症状を示す群のみで CBPV 及び ABPV の遺伝子が検出され、未発症群（対照群）からは検出されなかったことから、CBPV 又は ABPV に感染したことによる影響が示唆された。

これまで、CBPV の発症例について中腸及び後腸内腔の粘膜上皮細胞における好塩基性封入体の形成についての報告があるが（9、12）、ABPV については明確な報告はない。このため、ABPV の発症例について、さらに病理組織学的な検討を加える必要があると考えられる。県内初となる麻痺病の発生及び管内における CBPV 及び ABPV の浸潤が確認されたことから、8 月に開催した養蜂組合の支部長会議において、麻痺病の概要及び発生について説明を行った。また、9～11 月に実施した腐蛆病検査に併せて、養蜂家 85 戸に麻痺病についてのリーフレットを配布し、情報提供を行うとともに注意を促した。

ウイルスの浸潤状況調査

【対象】

麻痺病発症群：病性鑑定で麻痺病と診断された事例について、同一の検体（乳剤）を用いた。

麻痺病未発症群：前述の 2 養蜂場の未発症群に加え、腐蛆病検査の際に麻痺病の症状が認められないことを確認し、浸潤状況調査について快諾を得られた養蜂場において採材を行った。

【材料及び方法】

供試材料：平成 25 年 5～11 月に、管内 7 市町の養蜂家 12 戸 13 養蜂場 25 群を供試し、1 養蜂場あたり 1～3 群を用いた。巣脾を 45ℓ のビニール袋に向けて軽く振り下ろし、1 群あたり成蜂 30 匹程度を袋に閉じ込めて捕獲した（図 2）。検体は検査の実施まで -80℃ で凍結保存した。

ウイルス学的検査：病性鑑定の方法と同様に RT-PCR により、CBPV、ABPV、KBV、DWV、SBV 及び BQCV について遺伝子検出を行った^{6, 11)}。



図 2 採材場所と捕獲方法

【結果及び考察】

麻痺病発症群： A 養蜂場では KBV 及び DWV の遺伝子が、B 養蜂場では DWV 及び SBV の遺伝子が検出された。また、B 養蜂場では未発症群（対照群）を含む全ての群において、SBV の遺伝子が検出された（表 2）。

表 2 RT-PCR 結果（麻痺病発症群）

養蜂場	群	回	採材	CBPV	ABPV	KBV	DWV	SBV	BQCV
A	①	1	H25.5.20	-	+	+	-	-	-
		2	H25.6.24	-	+	+	+	-	-
		3	H25.10.8	-	-	-	-	-	-
B	①	1	H25.6.14	+	+	-	+	+	-
				+	-	-	-	+	-
				+	-	-	-	+	-
	③	2	H25.6.24	-	-	-	-	+	-

麻痺病未発症群：17 群中 11 群において ABPV、KBV、DWV 及び SBV のいずれかのウイルス遺伝子が検出され、ABPV 及び KBV の 2 種の遺伝子が検出された群も認められた。また、DWV の遺伝子は調査を実施した全 7 市町の 8 群で検出され、管内に広く浸潤していることが示唆された（図 3）。

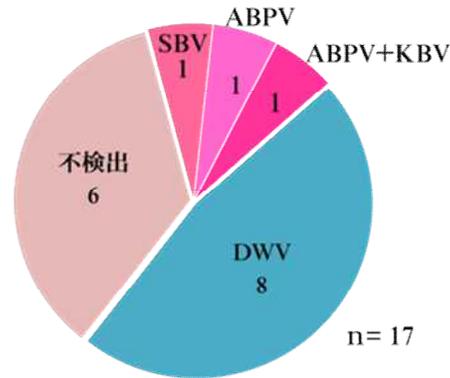


図 3 麻痺病未発症群のウイルス浸潤状況

なお、J 養蜂場では西洋蜜蜂と日本蜜蜂を同じ敷地内で飼育しているが、西洋蜜蜂では DWV の遺伝子が検出され、日本蜜蜂では検出されなかった（表 3）。

今回の浸潤状況調査において、CBPV 及び BQCV の遺伝子は検出されなかった。

表 3 RT-PCR 結果（麻痺病未発症群）

市町	養蜂場		CBPV	ABPV	KBV	DWV	SBV	BQCV
	群							
U市	C		-	-	-	-	-	-
	D		-	-	-	+	-	-
	E		-	-	-	-	-	-
M市	B	⑤	-	-	-	+	-	-
		④	-	-	-	-	+	-
	A	②-1	-	-	-	-	-	-
		②-2	-	-	-	-	-	-
	⑤	-	-	-	+	-	-	
G町	G		-	-	-	+	-	-
I町	F		-	-	-	+	-	-
	H		-	+	-	-	-	-
K市	I		-	+	+	-	-	-
	L	①	-	-	-	-	-	-
		②	-	-	-	+	-	-
S市	J※	①	-	-	-	+	-	-
		②	-	-	-	-	-	-
Y町	K		-	-	-	+	-	-
計			0	2	1	8	1	0

※J①群－西洋蜜蜂 J②群－日本蜜蜂

養蜂場ごとの浸潤状況：13 養蜂場のうち 11 養蜂場で何らかのウイルス遺伝子が検出され、各養蜂場に 1～4 種類のウイルスが浸潤していることが確認された（図 4）。

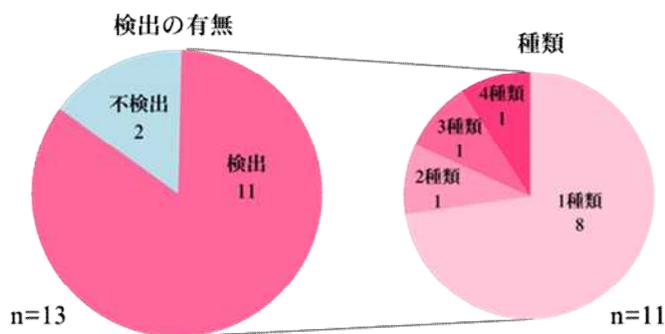


図 4 養蜂場ごとの浸潤状況

考察及び課題

今回の調査では、麻痺病について 3 種類のウイルス（CBPV、ABPV 及び KBV）の遺伝子検出を行い、麻痺病発症群 3 群及び未発症群 1 群において混合感染が確認された。前述のよ

うに麻痺病に關与するウイルスは複数種あり、關与する種類を臨床症状から判断することは不可能である。このため、今回検査を行っていない IAPV 及び遅発性麻痺病ウイルスについても調査が必要であると考えられる。また、麻痺病未発症群の 2 群において ABPV 及び KBV の遺伝子が検出されたことから、症状が確認されていない養蜂場でも不顕性感染をしていると推察された。

麻痺病以外のウイルス性疾病（DWV 及び SBV）については、それらの關与を疑う症状を呈している群は認められなかったが、多くの養蜂場でウイルス遺伝子が検出され、不顕性感染が示唆された。また、M 市の B 養蜂場では、採材を行った全 4 群で SBV の遺伝子が検出され、場内に広く SBV が浸潤していることが確認された。

不顕性感染では、環境性のストレスや餌不足により栄養状態が悪化した際に発症の可能性が高まることから、飼養管理には特に注意が必要となる。このため、飼養者に対して注意喚起を行うとともに、感染と発症との関係について更に追跡調査を行い、実態を解明していきたい。

今後の課題として、麻痺病は春から夏に好発する³⁾とされているため、ウイルスの浸潤状況の季節的変動を確認するとともに、媒介に関わるとされるミツバチヘギイタダニからのウイルス遺伝子の検出、さらに西洋蜜蜂と日本蜜蜂のウイルスに対する感受性の違いなどについて検討を加えたいと考えている。蜜蜂のウイルス性疾病に関する報告はまだ少なく未知な部分も多いため、今後も継続して疫学的情報を集積し、ウイルス性疾病対策の一助となるよう努めていきたい。

【参考文献】

- 1) L. Bailey & B. V. Ball. 1991. HONEY BEE PATHOLOGY 2ndEd.
- 2) Roger A. Morse & Kim Flottum. 1997. Honey Bee Pests, Predators, and Diseases 3rdEd.
- 3) みつばち協議会. 2011. 「養蜂マニュアル」
- 4) Tentcheva, D. *et al.* 2004. Prevalence and Seasonal Variations of Six Bee Viruses in *Apis mellifera* L. and *destructor* Mite Populations in France, Applied and Environmental Microbiology Dec:7185-7191
- 5) Berenyi, O. *et al.* 2006. Occurrence of Six Honeybee Viruses in Diseased Austrian Apiaries, Applied and Environmental Microbiology Apr:2414-2420
- 6) Nielsen, S. *et al.* 2008. Incidence of acute paralysis virus, black queen cell virus, chronic bee paralysis virus, deformed wing virus, Kashmir bee virus and sacbrood virus in honey bees (*Apis mellifera*) in Denmark, Apidologie 39:310-314
- 7) Teixeira E. *et al.* 2008. Virus infections in Brazilian honey bees, Journal of Invertebrate Pathology 99:117-119
- 8) AL-ABBADI, A. *et al.* 2010. Novel detection of Israel acute paralysis virus and Kashmir bee virus from honeybees *Apis mellifera* L. (Hymenoptera: Apidae) of Jordan using reverse transcriptase PCR technique, Appl. Entomol. Zool 45(1):183-190
- 9) 山下ら. 2005. みつばちの麻痺病
- 10) 森光ら. 2010. 高知県内3農場におけるみつばちウイルス病の浸潤状況
- 11) Moritomo, T. *et al.* 2012. Molecular Identification of Chronic Bee Paralysis Virus Infection in *Apis mellifera* Colonies in Japan, Viruses 4:1093-1103
- 12) L. Bailey. 1965. Paralysis of the Honey Bee, *Apis mellifera* Linnaeus, Journal of Invertebrate Pathology 7:132-140
- 13) 安藝秀実. 2011. ミツバチ病理標本作製方法の検討
- 14) 全国家畜衛生職員会. 2013. 病性鑑定マニュアル第3版