

平成 28 年度

(第 61 回)

# 宮城県家畜保健衛生業績発表会集録

宮城県農林水産部畜産課



## 平成 28 年度宮城県家畜保健衛生業績発表会

開催月日 平成29年1月20日（金）  
開催場所 宮城県庁 講堂  
宮城県仙台市青葉区本町3丁目8番1号

### 審査員

国立研究開発法人農業・食品産業技術総合研究機構  
動物衛生研究所病態研究領域 領域長補佐

勝田 賢

東北大学大学院農学研究科 教授

麻生 久

宮城県農業共済組合 家畜部長

大石 武志

宮城県畜産試験場 場長

鹿野 裕志

宮城県農林水産部畜産課 監視伝染病対策専門監

大久 範幸

## 目 次

### 【第1部】

- 1 乳肉複合農場における牛ウイルス性下痢・粘膜病発生事例及び地域の発生予防対策..... 1  
 仙台家畜保健衛生所 佐沢公子，大越啓司
- 2 3農場で発生した搾乳牛のサルモネラ症の清浄化対策と分離菌の性状比較 ..... 5  
 ○大河原家畜保健衛生所 岡野純，國井洋，西川彰子，斉藤隼人，小寺文
- 3 過去10年の栗原地域和牛産子検査の分析と今後の展望 ..... 9  
 北部地方振興事務所栗原地域事務所 佐藤元道，小野寺伸也，山田治
- 4 豚オーエスキー病清浄化への道筋 ..... 13  
 ◎◎東部家畜保健衛生所 柴田千尋，清水ゆう子，千葉直幸，網代隆，日野正浩，山田稲生
- 5 と畜検査データを活用した一養豚場における生産性向上への取組 ..... 17  
 ○東部家畜保健衛生所 佐々木春香，柴田千尋，上村健人，清水ゆう子
- 6 高病原性鳥インフルエンザ農場別対応計画の構築 ..... 21  
 東部地方振興事務所 石橋拓英，日野義彦，西清志，柴崎卓也
- 7 鳥インフルエンザ発生時の防疫対応が最も困難と思われる農場における課題の検討 ..... 25  
 北部家畜保健衛生所 三浦達弥，豊島たまき，加藤里子，鈴木千尋，山田侑希，福田純子，小川修平
- 8 廃業した養鶏場を活用した鳥インフルエンザの実践的防疫演習 ..... 28  
 ◎◎北部家畜保健衛生所 福田純子，佐藤文恵，三浦達弥，山田侑希，鈴木千尋，阿部博行，加藤里子，安達裕美，中條満，豊島たまき，小川修平，鈴木英作，大場実
- 9 めん羊飼養農場における捻転胃虫症の発生とその対策 ..... 32  
 北部家畜保健衛生所 山田侑希，福田純子

### 【第2部】

- 10 結膜浮腫を主徴とした非白血性牛白血病の症例におけるLDHアイソザイムの有用性の検討 ..... 37  
 仙台家畜保健衛生所 竹田百合子，板橋 知子，高森 広典，高橋 幸治
- 11 C群ロタウイルスによる搾乳牛の下痢症と県内浸潤状況 ..... 41  
 仙台家畜保健衛生所 高森 広典，竹田 百合子，松尾 賢吾，高橋 幸治
- 12 子牛の腸管外病原性大腸菌感染症における病変と病原因子の関連性 ..... 46  
 ○仙台家畜保健衛生所 板橋 知子，江頭 宏之，高橋 幸治
- 13 牛ヨーネ病における液体培養検査及びプール糞便を用いたリアルタイムPCR法の検証 ..... 49  
 仙台家畜保健衛生所 江頭宏之，檜崎菜々子
- 14 過去12年間ににおける乳用牛由来Salmonella Typhimuriumの分子疫学的解析 ..... 52  
 ◎◎仙台家畜保健衛生所 檜崎菜々子，江頭宏之

【第3部】

- 15 枯草菌給与による乳用牛の乳房炎対策 .....56  
宮城県畜産試験場 佐藤佑子, 伊藤愛, 小林宏子
- 16 宮城県における高糖分型飼料用稲栽培と利用技術 .....59  
◎宮城県畜産試験場 森田昌孝, 遠藤 潤

◎◎ 全国家畜保健衛生業績発表会選出

◎ 宮城県農林水産部畜産課長賞 (1部, 2部演題はブロック大会選出)

○ 宮城県獣医師会会長賞

## 1 乳肉複合農場における牛ウイルス性下痢・粘膜病発生事例及び地域の発生予防対策

仙台家畜保健衛生所  
佐沢公子，大越啓司

### 1 はじめに

牛ウイルス性下痢・粘膜病（以下BVD-MD）は、牛ウイルス性下痢ウイルス（以下BVDV）を感染原因とし、感染牛で下痢、呼吸器等の臨床症状のほか、妊娠牛では流産、産子の異常等の繁殖障害をおこす疾病であり、家畜伝染病予防法第4条第1項に規定する届出伝染病である。通常、本病は、牛がBVDVに感染してから2～3週間後に体内で十分な抗体を産生してBVDVを排除することから、症状は一過性で回復する。しかし、胎齢100日前後に母体がBVDVに感染すると、胎子はBVDVに対して免疫寛容となり持続感染牛（以下PI牛）となって娩出され、同一牛群内のBVDV汚染源、他農場への伝播源として問題になる<sup>4) 5)</sup>。国内のBVD-MD届出数は年々増加傾向で推移しており<sup>3)</sup>、全国的なまん延が危惧されていることから、より効果的かつ効率的に防疫対策を実施するため、農林水産省により防疫対策ガイドライン（平成28年4月28日付28消安第734号）が策定された。このような中、管内の乳肉複合農場においてBVD-MDが発生し、ガイドラインに基づいた対策を実施したので概要を報告する。

### 2 管内BVD-MD発生事例

#### （1）農場概要

当該農場は乳用牛11頭、肉用牛27頭（成牛17頭、育成牛8頭、子牛2頭）を飼養する乳肉複合経営であり、70代男性が一人で飼養管理を行っている。牛の導入状況は、平成27年に乳用牛7頭（県外）、平成28年に乳用牛3頭（県外）、肉用牛1頭（県内）となっており、乳用牛の導入頻度が比較的多い状況であった。ワクチンについては、繁殖牛にアカバネ病ワクチン、市場出荷子牛に呼吸器5種混合及びヘモフィルスワクチンを接種していた。

#### （2）発生概要

当該牛は平成28年4月2日に出生した黒毛和種の雌であり、出生時に異常は認められなかった。母牛は平成24年に県内から導入し、今回4産目であったが、過去の分娩時に異常は認められなかった。平成28年6月4日、当該牛が黒色水様下痢及び発熱（40℃以上）等の症状を示し、飼養者が獣医師へ往診を依頼した。診療獣医師が抗生物質および補液等の治療を実施したが症状は改善せず、再発を繰り返したため、BVD-MDを疑い当家保へ病性鑑定を依頼した。平成28年7月1日、当家保が立入調査を実施したところ、当該牛は血液を混じた膿性鼻汁を漏出し（図1）、歩様踴躍で、食欲は低下していた。その後、予後不良となり、7月12日死亡したため、剖検を行った。



図1 膿性鼻汁の漏出

#### （3）当該子牛の検査材料及び方法

- i) 細菌学的検査：鼻腔スワブ（7/4採材）を用いて細菌培養検査及びマイコプラズマ遺伝子検査を実施した。
- ii) 病理組織学的検査：死亡子牛の剖検を実施し、採材した各種臓器を10%中性緩衝ホルマリンで固定後、パラフィン包埋・薄切し、ヘマトキシリン・エオジン染色にて標本を作成した。

iii) ウイルス学的検査：血清及び白血球（6/28採材），鼻腔スワブ（7/4採材），死亡子牛（7/13採材）の臓器乳剤を用いて遺伝子検査，ウイルス分離及び血清学的検査を実施した。

#### （４）結果

i) 細菌学的検査：有意菌は分離されず，牛呼吸器 *Mycoplasma* (*M. bovis*・*M. bovirhinis*・*M. dispar*) 遺伝子は陰性であった。

ii) 病理組織学的検査：剖検において空腸中部に偽膜様物が大量に貯留し，粘膜の一部に出血部位を認めた（図2）。



図2 剖検所見（空腸の偽膜様構造物）

組織学的検査では舌，扁桃（表皮）及び第一胃～第三胃において，軽度から中等度のびらんが認められた。第四胃以降は自己融解が激しく観察困難な状態であったが，空腸において偽膜様構造物が見られたことから壊死性の腸炎が起っていたと推察された。

iii) ウイルス学的検査：生前及び2週間経過後の剖検時に採材した白血球，血清，鼻腔スワブ及び諸臓器等からBVDV2型遺伝子が検出され，BVDVの非細胞病原性（NCP）株が分離された。また，2週間間隔において採材したペア血清について，BVDV2型抗体はともに検出されなかった。

以上より，ウイルス学的検査によりNCP（株）が分離されたものの，BVD-MD特有の臨床症状及び病変が認められたことからBVD-MD（2型）と診断した。

### 3 同居牛の全頭検査

診断後，同居牛44頭の血清を用いてBVDV遺伝子検査を実施したところ，全頭陰性でPI牛は摘発されなかった。また，成牛31頭（乳用牛13頭，肉用牛18頭）について，BVDV抗体検査を実施したところ，抗体を保有していない個体が1型で5頭，2型で10頭確認され，抗体価は4から4096倍以上とばらつきが認められた（表1）。なお，発症子牛の母牛はBVDV2型に対する抗体を128倍保有していた。

表1 同居牛のBVDV抗体検査結果

| 血清型 | 抗体保有 | 乳用 | 肉繁殖 | 合計   |
|-----|------|----|-----|------|
| 1型  | なし   | 4  | 1   | 5    |
|     | あり   | 9  | 17  | 26※1 |
|     | 計    | 13 | 18  | 31   |
| 2型  | なし   | 5  | 5   | 10   |
|     | あり   | 8  | 13  | 20※2 |
|     | 計    | 13 | 18  | 31   |

※1 抗体価16～4096≦

※2 抗体価 4～4096≦

### 4 発生農場でのまん延防止対策

発生確認後，農場，家保および獣医師の3者で協議し，農場のまん延防止対策として下記に示す事項を指導した。

#### （１）予防接種

成牛には牛6種混合ワクチン（BVD1型・2型，IBR，PI3，アデノ，RS）を年1回接種し，子牛には市場出荷前に実施していた5種混合ワクチン（BVD1型，IBR，PI3，RS，アデノ7型）に代えて牛6種混合ワクチンの接種を指導した。

平成28年10月28日，診療獣医師に依頼し，肉用繁殖牛14頭へ牛6種混合ワクチンを接種した。効果判定のため12月1日に採血し，BVDVの抗体検査を実施した。結果，14頭中7頭に抗体価の有意な上昇が認められ，GM値は18.6倍から41.0倍へと増加した（表2）。今回，成牛へ接種したワクチン費については，今年度から農林水産省により公募が始まった「家畜生産農場清浄化対策

事業」におけるワクチン接種推進費を活用することとなり、現在申請の手続きを進めている。

## (2) 出生子牛のBVDV遺伝子検査

BVD-MD防疫対策ガイドラインに基づき、当該牛死亡10ヶ月後である平成29年5月まで、出生した子牛のBVDV遺伝子検査を実施することとした。なお、平成28年9月に出生した3頭についてBVDV遺伝子検査を実施したところ、全頭陰性であった。

表2 ワクチン接種前後の抗体価

| 検体No. | 接種前  | 接種後   |
|-------|------|-------|
| 1     | 16   | 256   |
| 2     | <2   | 4     |
| 3     | 256  | 1024  |
| 4     | <2   | <2    |
| 5     | 4    | 16    |
| 6     | <2   | <2    |
| 7     | <2   | 4     |
| 8     | 512  | 1024  |
| 9     | 1024 | ≥4096 |
| 10    | <2   | 16    |
| 11    | 8    | 8     |
| 12    | 2048 | 4096  |
| 13    | 128  | 256   |
| 14    | 32   | <2    |
| GM    | 18.6 | 41.0  |

## 5 地域での発生予防対策

今回の発生を契機に、発生予防対策を3段階で進めることとした(図3)。ステップ1では、本病の知識や発生予防対策を普及啓発し、地域の理解を得ることで、ステップ2の定期的な浸潤状況調査や病性鑑定によるPI牛の摘発を可能にし、ステップ3では、摘発したPI牛の自主淘汰、ワクチン接種の助言・指導を目指したいと考えた。そこで、初めにステップ1となる普及啓発について管内牛飼養農場、獣医師及び関係機関を対象に取組を開始した。

普及啓発のため、リーフレットを作成し、獣医師及び関係機関へは各種会議で、管内牛飼養者へは一般病性鑑定で立ち入りした際に説明した。その結果、本病への認識が向上し、BVD-MDを疑う病性鑑定依頼(奇形、早産、流産、難治性下痢、肺炎・発育不良等の原因究明)が増加

した。検査の結果、いずれもBVDVの感染は否定された。

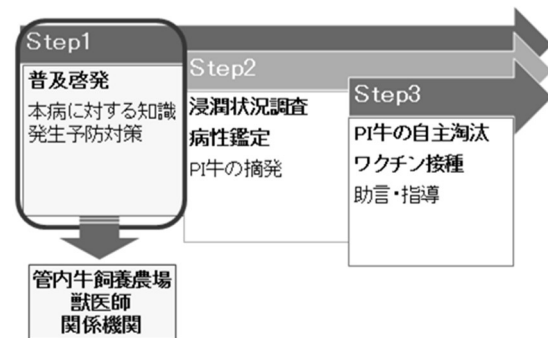


図3 地域での発生予防対策

## 6 まとめ及び考察

胎子がBVDVに子宮内感染して免疫寛容となる時期は胎齢125日未満と知られている<sup>3)</sup>。本症例においては、母牛が当該牛妊娠期間中である平成27年7月から10月にかけてBVDV2型に急性感染し、PI牛(当該牛)を娩出したものと考えられた。感染経路として同居牛からの感染が推察されたが、同居牛44頭からPI牛は摘発されなかった。しかし、母牛が感染したと推察された期間(平成27年7月から10月)の同居牛において、本症発生前にと畜・死廃となっていた牛が5頭存在し、これらについてはBVDV遺伝子検査を実施できなかった。本県において2012年から2014年にかけて実施された死亡牛延髄乳剤を用いたBVDV感染実態調査では、陽性牛が全て導入牛であったと報告されている<sup>6)</sup>。当該農場においても、乳用牛の9割以上が導入牛であったことから、導入牛による病原体の持ち込みが感染源の1つと推察された。しかし、今回の検査では感染が推察された時期の同居牛全頭を追跡できなかったため、発生要因を明らかにすることはできなかった。

まん延防止対策を実行するにあたり、飼養者には本疾病について複数回にわたり丁寧な説明を行うことで、理解が得られ、対策を前向きに進めてもらうことができた。成牛へ牛6種混合ワクチンを接種した結果、GM値の上昇が確認され、

一定の効果があつたものと推察された。一方、接種後も抗体を保有しない牛が3頭認められたことから、これらの牛については追加接種が必要と考えられた。接種方法に関しては、BVDV1型及び2型を含む牛6種混合ワクチンの2回接種により効果が得られたとの報告<sup>2)</sup>がある。また、BVDV1型及び2型を含む不活化ワクチン接種後にBVDV1型の生ワクチンを接種することでBVDV2型に対する感染防御効果の向上が期待されたと報告されている<sup>1)</sup>。本農場における、ワクチン追加接種の方法及び時期について検討が必要である。また、定期的なワクチン接種の他に、病原体の新たな侵入を防止するため導入牛の着地検査についても検討していきたいと考えている。

地域では、普及啓発の機会をさらに増やし、牛飼養者及び関係機関の理解を得ることで、可能なエリアから浸潤状況調査を開始したいと考えている。また、PI牛が摘発された際は、助成事業を活用しながら淘汰、予防接種を推進し、効果的かつ効率的な防疫対策を目指す。

## 7 謝辞

遺伝子解析を実施していただいた、国立研究開発法人農業・食品産業技術総合研究機構、動物衛生研究部門、亀山健一郎先生に深謝いたします。

## 8 引用文献

- 1) 加藤肇, 江村有希子, 澤向陽一, 佐藤洋平, 西松栄光, 佐藤礼一郎, 大西守, 田島誉士(2011) Two-step vaccine programの牛ウイルス性下痢ウイルス2型に対する有用性評価, 日獣会誌, 64, 453-456.
- 2) 小林朋子, 増田恒幸(2013) ワクチン接種方法が抗体価に及ぼす影響への一考察, 平成25年度畜産技術業績発表会集録.
- 3) 農林水産省消費・安全局動物衛生課「届出伝染病発生年報(平成10年分～平成27年分)」  
[http://www.maff.go.jp/j/syouan/douei/kansk\\_densen/kansi\\_densen.html](http://www.maff.go.jp/j/syouan/douei/kansk_densen/kansi_densen.html).

4) 清水悠紀臣, 明石博臣, 小沼操, 菅野康則, 澤田拓士, 辻本元, 山元孝史(2002)『動物の感染症Infectious Disease of Animals』株式会社近代出版.

5) 田島誉士(2012) 牛ウイルス性下痢ウイルス感染症, 日獣会誌, 65, 111-117.

6) 竹田百合子, 高森広典, 西 清志(2014) 宮城県における死亡牛の延髄乳剤を用いた牛ウイルス性下痢ウイルスの感染実態調査, 宮城県獣医師会会報, 67, 3, 121-124.

## 2 農場で発生した搾乳牛のサルモネラ症の清浄化対策と分離菌の性状比較

大河原家畜保健衛生所

岡野純，國井洋，西川彰子，斉藤隼人，小寺文

### 1 はじめに

平成28年6月から7月にかけて、管内の3農場で*Salmonella* Typhimurium (ST) による搾乳牛のサルモネラ症が発生し、治療、消毒等の対策を実施し、清浄化を達成した。

今回の対応を通じて、各農場から分離された菌株の性状比較や、抗生物質を長期投与した牛群及び牛舎に出入りを確認した動物を対象に大腸菌の耐性菌出現状況調査を実施したので、発生及び対策の概要にあわせ一連の成績を報告する。

### 2 各農場の概要と発生状況

3農場は同じ酪農協に所属し、特にA、C農場は隣接し、飼育犬・猫の往来があったほか、診療獣医師及び集乳路線が同一であった。

#### 1) A農場

搾乳牛34頭、育成牛20頭、子牛6頭を飼養。家保立入時に3頭が発症しており、その臨床症状は水様性粘液血便、食欲廃絶及び41.5℃程度の熱発。飼養牛の発症は広範囲にわたり、沈静化までの間に初発牛を含めて3頭が死亡した。

牛舎は対頭式で、飼槽表面にタイル剥離、初発牛係留場所の天井破損部に大きな穴があり、その直下に、落下したネズミの糞が散見された。また、乳処理室にツバメの営巣を確認。飼育犬2頭、猫3頭は、牛舎内に自由に出入りしており、飼育犬は、抗生物質投与による廃棄乳をたびたび摂取していた。

#### 2) B農場

成牛30頭、育成牛19頭を飼養。家保立入時に7頭が発症しており、臨床症状は水様性下痢、食欲不振及び40.4℃程度の熱発。発症牛は、搾乳牛舎の片側に限局した。牛舎は対尻式で、飼槽はステンレス製で消毒が容易な構造であった。

#### 3) C農場

主に廃用牛を導入飼養する農場で、成牛5頭、育成牛1頭を繋ぎ飼養。家保立入時に1頭が発症しており、臨床症状は水様性下痢、食欲廃絶、及び41.8℃の熱発。搾乳舎内で発症の広がりは見られなかった。ペットとして猫を飼育しており、普段から、隣接するA農場との間で犬や猫の行き来があった。

### 3 材料及び方法

#### 1) 分離培養検査及び菌同定検査

各農場の飼養牛、A農場の犬2匹及び猫1匹の直腸便、ネズミ9匹の盲腸内容、ツバメの巣、消毒後1か月経過した後の牛床、壁及びウォーターカップの拭取り材料について、菌分離を行った。分離材料は、常法に従い、ESサルモネラ寒天培地及びハーナテトラチオン酸塩培地を用いた直接又は増菌培養により分離。分離菌の同定は、市販キット(API20E)を用いた生化学性状試験、O群凝集試験(サルモネラ免疫血清「生研」)、血清型別(サルモネラ相誘導用免疫血清「生研」)により実施した。

#### 2) 薬剤感受性試験

分離STのうち、牛由来11株(A農場4頭、B農場3頭、C農場4頭)、A農場で捕獲したネズミ由来1株について、18薬剤(ABPC, CZ, CAZ, KM, GM, SM, TC, OTC, DOXY, ERFX, CPFX, MBFX, NA, IPM, MEM, CL, SXT, CP)について1濃度ディスク法により実施した。

#### 3) パルスフィールドゲル電気泳動(PFGE)法

薬剤感受性試験を実施した分離ST12株について、制限酵素Xba Iを用い、泳動6V/cm, 5-50sec, 22hrの条件で実施した。

#### 4) 乳量減少による経済評価

A農場及びB農場について出荷乳量を調査し、4月の平均出荷乳量と比較し、減少量に平成28年度乳価1kgあたり105円を乗じ損害額とした。

#### 5) 清浄化対策

3農場共通の対策としては、踏込み消毒槽の設置、搾乳順序の変更、作業動線の改善、繋留場所変更及びパドック利用の中止、飼槽を中心とした日々の消毒の徹底を指導し、治療により牛群の症状が落ち着いた後に牛舎内（スタンション、ウォーターカップ、飼槽、マット裏壁、床）の徹底消毒（清掃→水洗→消毒→乾燥→ドロマイト石灰の塗布→乾燥）を実施した。

また、まん延防止の観点から、対策期間中は、集乳車の経路を最終農場としたほか、牛の出荷導入を原則中止し、やむを得ず移動する場合は、出荷前に、2回の分離培養検査により陰性を確認した。

各農場の治療経過と発症頭数の推移を図1に示す。

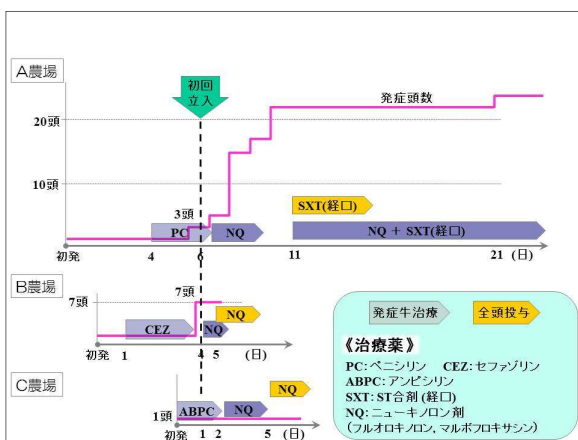


図1 各農場の治療経過

A農場では、初発時、ペニシリンにより加療されていたが、直接培養によりサルモネラが分離されたことから、発症牛へのニューキノロン(NQ)剤静脈内投与に加え、立入5日後（初発7日目）から、飼養牛全頭へのST合剤の経口投与、生菌剤(サルトーゼ)及びワクチンを活用したほか、処理室内のツバメの巣の撤去、愛玩犬等の牛舎侵入制限を指導した。

B農場では、当所立入日（初発後4日目）の発症牛へのNQ剤の静脈内投与に加え、翌日から1クール3日で全頭投与した。

C農場では、アンピシリンによる初診治療から、当所立入の翌日（初発後2日目）からNQ剤の静脈内投与による治療に切り替えたほか、初発後5日目からNQ剤全頭投与を実施した。

なお、清浄化対策の指標として、牛群に発熱及び下痢の臨床症状がなく、全ての牛が分離陰性となった時点「沈静化」、その約2ヶ月後に再度全頭検査を実施し、陰性であった時点「清浄化」とした。

#### 6) 薬剤耐性菌出現調査

NQ剤の投与が長期化したA・C農場では、新たな耐性菌出現の可能性が危惧されたため、大腸菌を対象とした耐性菌出現状況調査を追加実施した。

大腸菌は、A・C農場の治療期間が長かった牛8頭（NQ剤2～4クール投与）、A農場の犬2頭、猫1頭の直腸便及びネズミ2匹の盲腸内容について、分離培養（XM-G寒天培地、37℃、24hr、好気）し、各2株を生化学性状試験（API20E）により同定した。

薬剤感受性試験は、13薬剤（ABPC、CZ、KM、GM、SM、TC、DOXY、ERFX、CPFX、MBFX、NA、IPM、MEM、CP、SXT）について、1濃度ディスク法により実施し、うち、犬由来1株、ネズミ由来1株について、PCR法による病原遺伝子（ehx, eae, stx1, stx2, LT1, STa, STb, F4, F5, F6, F17, F18, F41）の検索及びカルバペネム系薬剤の薬剤感受性試験（IPM、MEM）を追加実施した。

#### 4 結果

A～Cの各農場の発症頭数は、それぞれ74頭中26頭、51頭中7頭、6頭中1頭、ST分離陽性頭数は、74頭中36頭、51頭中14頭、6頭中2頭、初発から沈静化までの日数は、105日、9日、40日、清浄化までの日数は、182日、72日、94日であった。各農場の経時的分離状況を図2に示す。分離ST

のAPIコードでは、B農場由来株に酵素反応 (ONPG) に相異が見られた。

また、各農場の分離STの薬剤感受性は、A・C農場由来(牛及びネズミ)STが、全て同一パターンで12薬剤に対し耐性を示し、PFGE法の結果でも、B農場以外、全て同一のパターンを示した(図3)。

環境検査の結果、捕獲ネズミ9匹中1匹でSTが分離された他は、畜舎環境及び飼育犬・猫の分離培養検査は陰性であった。

出荷乳量の推移及び損害額は、図4に示すとおりで、B農場では、短期間の出荷停止の後に速やかに発生前のレベルに回復したが、A農場では、農場内まん延と長期治療による出荷停止の影響により回復が大幅に遅れた。

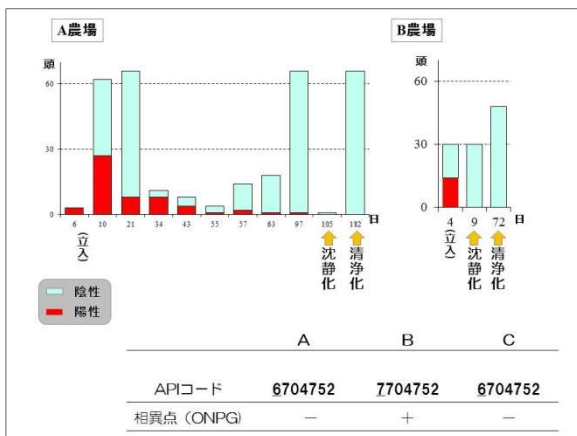


図2 ST分離状況

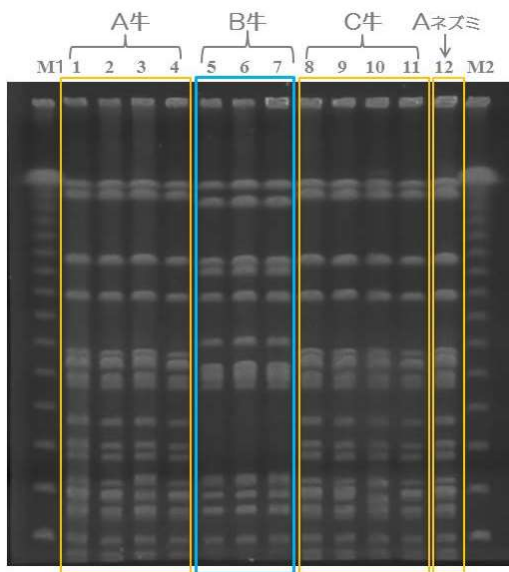


図3 分離されたSTの性状比較

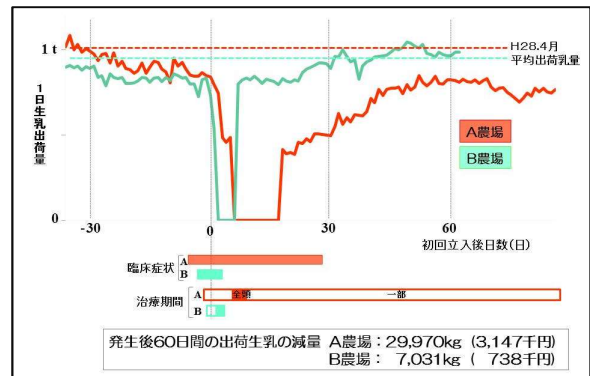


図4 A・B農場の出荷乳量の推移

薬剤耐性菌出現調査の結果は、図5のとおりで、A農場の犬1頭からNQ剤を含む10薬剤、ネズミ1匹から4薬剤に耐性を示す多剤耐性大腸菌が分離された。なお、これら2株は、共通し、ehx遺伝子検出、カルバペネム系薬剤感受性であった。

|     |   | NQ剤  |    |    |    |    |      |      |     |      |   | NA | CP | SXT |
|-----|---|------|----|----|----|----|------|------|-----|------|---|----|----|-----|
|     |   | ABPC | CZ | GM | SM | TC | DOXY | ERYT | CFX | MBFX |   |    |    |     |
| 牛   | 1 | S    | S  | S  | I  | R  | R    | S    | S   | S    | S | I  | S  | S   |
|     | 2 | I    | I  | S  | S  | S  | S    | S    | S   | S    | S | I  | S  | S   |
|     | 3 | S    | I  | S  | S  | R  | R    | S    | S   | S    | S | S  | S  | S   |
|     | 4 | I    | S  | S  | I  | I  | S    | S    | S   | S    | S | S  | S  | S   |
| 犬   | 1 | R    | R  | R  | S  | R  | R    | R    | R   | R    | R | R  | S  | I   |
|     | 2 | R    | I  | S  | R  | S  | S    | R    | I   | S    | S | S  | S  | R   |
| 猫   | 1 | S    | S  | S  | S  | S  | S    | S    | S   | S    | S | S  | S  | S   |
|     | 2 | S    | S  | S  | S  | S  | S    | S    | S   | S    | S | S  | S  | S   |
| ネズミ | 1 | R    | S  | S  | R  | R  | S    | S    | S   | S    | S | S  | S  | R   |
|     | 2 | R    | S  | S  | S  | S  | S    | S    | S   | S    | S | S  | S  | S   |
|     | 3 | I    | I  | S  | S  | I  | S    | S    | S   | S    | S | S  | S  | S   |

図5 薬剤耐性菌出現調査

## 5 考察

同時期に発生したSTの3症例の分離菌の分子疫学的解析結果により、隣接A・C農場は同一由来で、B農場のみが異なる由来と判明し、この結果は、薬剤感受性試験の結果や初発症例の発熱等臨床症状の違いと一致した。またA・C農場は清浄化に長期を要したのに対し、B農場は早期に清浄化を達成した。

また、特にA農場では、全頭治療が遅れたことから、経済的損失が甚大となったことから、有効薬剤を使用した早期全頭治療による排菌量低

減が、まん延防止対策として重要である事を再確認した。

発生農場で対策を実施した他に、さらなるまん延を防止するため、県内の酪農場や関係機関、地域隣接県の家保等へのリーフレット配布による啓蒙、立入業者への注意喚起をおこなった。

A農場の初発牛係留場所の天井にネズミが往来する穴を確認したため、ネズミを捕獲して菌分離を試みたところ、薬剤感受性、分子疫学的パターンを同一にするSTが分離され、ネズミが本病まん延に関与している可能性が強く示唆された。継続的なネズミ対策について指導したが、酪農場におけるネズミ侵入対策の難しさや、環境中へのSTの残存が課題である。

抗生剤を頻回投与したA・C農場で、大腸菌を対象とした耐性菌出現状況調査を実施し、犬から分離した1株でNQ剤を含めた多剤耐性を確認した。当該農場ではNQ剤の使用歴が無く、今回の発生の過程で、廃棄乳を介して耐性菌出現となった可能性が示唆された。なお、廃棄乳の適正処理を指導した後、約3ヶ月経過してから当該犬の再検査を実施したところ、大腸菌の多剤耐性は見られなかった。

多剤耐性を示した大腸菌は、 $\beta$ ラクタム系薬剤やアミノグリコシド系の広域な薬剤に耐性を認めたことからカルバペネム系薬剤について追加試験を行い感受性を確認した。また、病原因子の試験により、EHECヘモリシン（ehx）遺伝子が検出されたことから、今後とも多剤耐性菌の存在と病原因子について注意が必要と考える。

薬剤耐性対策や酪農場における乳房炎、及び下痢症対策は、家畜保健衛生所のみならず、多くの畜産関係機関が共有する重大な課題であり、各自が直ちに取組んでいくべきものである。家畜保健衛生所では、病性鑑定や衛生指導等の業務を通じて情報を収集し、農場や関係機関と連携して、今後もこれらの課題に取り組んでいきたい。

## 6 参考文献

- 1) 荒川宜親 国際的に注目されている主な薬剤耐性菌 国立感染症研究所 (2010)
- 2) 山崎伸二 出血性大腸菌感染症とVero (志賀) 毒素 日獣会誌67 433-441 (2014)
- 3) 病性鑑定マニュアル第3版 94-95

### 3 過去10年の栗原地域和牛産子検査の分析と今後の展望

北部地方振興事務所栗原地域事務所

佐藤元道，小野寺伸也，山田治

#### 1 地域の概要

栗原地域の繁殖和牛飼養戸数・飼養頭数は672戸，3,859頭（宮城県家畜改良頭羽数調査平成28年2月現在）で県内有数の和牛産地である。みやぎ総合家畜市場への出荷子牛は，平成27年度では2,814頭で，取引価格が県平均よりも高く，地域の和牛改良や様々な取り組みが県内外から高い評価を受けている。

#### 2 繁殖雌牛群と産子検査の重要性

栗原地域の繁殖雌牛群は産肉能力や体型に優れたものから①育種牛（1.4%），②原種基礎雌牛（46%），③一般牛（53%）の3種に分かれる。その上位の①，②に指定交配し，生産された雌子牛に対し，育種組合や改良組合，畜産振興部が連携し毎月約30頭の産子検査を実施する。図1に示した評価・判定で合格となった雌牛が地域内に保留され，他地域からの導入牛とともに繁殖雌牛群に組み込まれていく。つまり，産子検査は雌牛群整備の入り口にあたる。

・約9ヶ月齢時（市場上場の約2週間前）の雌子牛を対象

**【検査項目】**

- 1) 体測…体高，十字部高，胸囲，腹囲※  
※：腹囲はH26から測定実施
- 2) 栄養度（ボディーコンディション）  
き甲，背骨，肋骨，腰角，臀部，尾根部の触診
- 3) 子牛の総合判定…①～③で判定  
【8段階：D（劣），C2，C1，B2，B1，A3，A2，A1（優）】  
①発育…体高値を発育曲線で判定  
②体積・均称…体の大きさとバランス，肢蹄  
③資質・品位…被毛・皮膚，品，肩付
- 4) 特徴確認…美点（優点），欠点（劣点・損傷）

→ 検査合格牛（総合判定A3級以上）を保留対象



図1：産子検査について

平成17年に産子検査後地域内保留された雌牛は43頭，平成22年は14頭だったが，県基幹種雄牛「茂洋」の再評価などで，平成24年には121

頭に増加した。今後も毎年100頭程の雌牛が保留されていくと考えられ，平成30年には雌牛群の20%以上を占める大集団となる。そのため，産子検査での能力評価が群の改良速度や優良牛生産に影響してくる。そこで，過去10年分の検査結果を用いて，産子検査が改良に有用であることを明らかにするとともに，検査時の能力評価と産肉性，繁殖性の関連を分析した。

#### 3 材料と方法

##### (1) 材料

①平成17年から平成28年11月に行われた2,911頭の産子検査データ，②宮城県肉用牛改良データベース（以下，改良DB）の栗原地域52,225頭及びそれに付随する血統，育種価（以下，BV）情報を分析データとした。BV情報は宮城県和牛育種価報告の数値とした。

##### (2) 方法

産子検査の結果として，体測値と子牛の判定項目について，平均及び検査年次毎の平均を算出した。体重及び日増体量（DG）は子牛市場上場時のものを使用した。子牛の判定項目の解析には図2に示したスコア値を用いた。

また，体高と胸囲を月齢に関係なく比較するために，体高 $\sigma$ 値，胸囲 $\sigma$ 値を算出し分析を行った。 $\sigma$ 値は体高，胸囲を牛の月齢に応じた発育分布の標準偏差（ $\sigma$ ）で補正した値で，平均値の牛は0 $\sigma$ ，平均から標準偏差分大きい牛は1 $\sigma$ となる。

検査後に地域内保留された雌牛の産肉能力と繁殖成績として，産肉能力は枝肉肉質（枝肉重量，ロース芯面積，バラ厚，皮下脂肪厚，歩留，脂肪交雑）の推定BVとし，検査後後代等の枝肉データから推定BVが判明した211頭を用いた。繁殖成績は初産月齢，分娩間隔で，改良DBよ

り算出できた301頭を対象とした。分娩間隔は749日以上を除外値とした。

(1) 発育の判定

|     |   |   |   |    |   |    |     |
|-----|---|---|---|----|---|----|-----|
|     | 劣 |   |   |    |   | 良  |     |
| 判 定 | D | C | B | A- | A | A+ | A++ |
| スコア | 1 | 2 | 3 | 4  | 5 | 6  | 7   |

(2) 体積・均称(体均), 資質・品位(資品)の判定

|     |   |   |   |    |   |    |
|-----|---|---|---|----|---|----|
|     | 劣 |   |   |    | 良 |    |
| 判 定 | D | C | B | A- | A | A+ |
| スコア | 1 | 2 | 3 | 4  | 5 | 6  |

(3) 総合判定

|     |   |    |    |    |    |    |    |    |
|-----|---|----|----|----|----|----|----|----|
|     | 劣 |    |    |    |    |    |    | 良  |
| 判 定 | D | C2 | C1 | B2 | B1 | A3 | A2 | A1 |
| スコア | 1 | 2  | 3  | 4  | 5  | 6  | 7  | 8  |

図2：産子検査の子牛判定のスコア化

産子検査結果と産肉能力、繁殖成績の関連について、測定値は相関分析、子牛判定項目は分散分析を用い、各形質への影響を調べた。各枝肉形質の推定BVとの分散分析は上記211頭のうち、父牛で5頭以上、母方祖父牛で3頭以上の産子がいる血統に限定した雌牛174頭について、母数効果を子牛判定項目の発育5水準、体均4水準、資品3水準、総合判定3水準と父牛4水準、母方祖父11水準、栄養度3水準にしておこなった。繁殖成績との分散分析は繁殖成績を持つ301頭のうち、茂洋産子116頭について、母数効果を子牛判定項目の発育5水準、体均4水準、資品3水準、総合判定3水準と母方祖父6水準、栄養度3水準、雌牛の生まれた生産地区6水準、雌牛の飼養されている繁殖地区6水準、自家保留2水準、繁殖地区と自家保留の交互作用12水準にしておこなった。地区は旧町村単位としたが、花山、高清水、若柳、志波姫は頭数が少ないため一つの地区とした。各水準間の有意差はTukey-kramer検定を用いた。

併せて、産子検査と産肉性の関連として、産子検査時に判明する期待BVと後に判明する推定BVとの相関分析をおこなった。改良DBから推定BVが判明している382頭を抽出し、その個体の9ヶ月齢時の年度の両親の推定BVから算出した

期待BVと、現在判明している推定BVとの相関分析をおこなった。

#### 4 結果

##### (1) 産子検査の結果

子牛検査時の栄養度及び子牛判定結果の度数分布を図3に示した。産子検査後に保留された繁殖雌牛は806頭。総合判定ではA3級が最も多く、保留牛はA2級が最も多くなった。

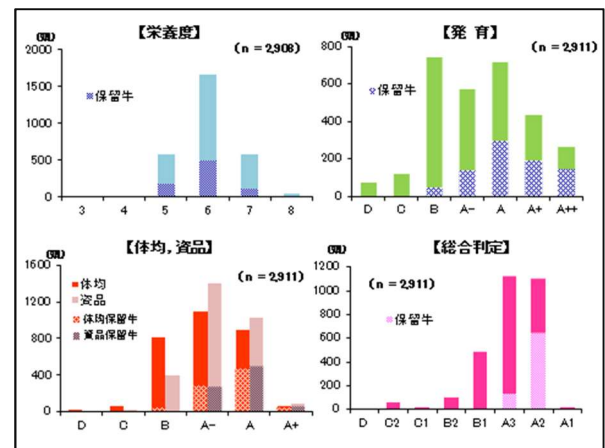


図3：栄養度及び子牛判定の度数分布

産子検査受検の平均月齢は9.3ヶ月齢で、平成17年9.5ヶ月齢から28年は9.1ヶ月齢と短くなった。体高は検査牛全体で112.8cmから115.4cmに増加し、群全体の改良がうかがえた。検査全体は113.4cm、保留牛は115.1cmで大きいものが保留されている。体高 $\sigma$ 値も増加し、検査全体は0.68、保留牛は1.27となった。月齢を補正した体高 $\sigma$ 値の方が発育程度を比較しやすく、選抜に有用と考えられた。胸囲及び胸囲 $\sigma$ 値も増加し、胸囲では154.0cmから158.7cm、胸囲 $\sigma$ 値は1.13から2.13に増加した。検査全体の胸囲は156.5cm、保留牛158.2cm、胸囲 $\sigma$ 値は1.67、保留牛2.03となり、胸囲の大きいものが保留されている。また、体高同様、胸囲 $\sigma$ 値の方が選抜に有用と考えられた。

子牛判定について、発育項目は4.1から5.3、体均項目は3.8から4.4、総合判定は5.8から6.5に増加しており、保留牛は全判定項目で検査全体よりもスコアが高く、よりよいものが保留され

ていることが明らかになった。このことから、産子検査は体型改良に有用であることが示唆された。

(2) 地域内保留雌牛の産肉能力、繁殖成績  
産子検査後に地域内に保留された雌牛211頭の推定BVについて、平成17年とH24年に保留された雌牛の平均を比較すると、枝肉重量が26.39から58.64、ロース芯面積は9.17から14.31、バラ厚は0.61から0.77、皮下脂肪厚は-0.25から-0.04、歩留は1.56から1.71、脂肪交雑は1.82から2.52に増加しており、改良の進捗がうかがえた。

繁殖成績は初産月齢(n=296)が23.8ヶ月齢、分娩間隔(n=301)が419.1日と県平均24.8ヶ月齢、420.6日より短くなった。

(3) 産子検査結果と産肉能力、繁殖成績の関連性

産子検査時の測定項目である体高、体高σ値、胸囲、胸囲σ値、DGと各枝肉形質の推定BVとの相関係数を図4に示した。胸囲、胸囲σ値、DGで歩留を除く5形質の推定BVと有意な正の相関がみられ、中でも胸囲σ値との相関係数が高くなった。このことから、産子検査時の胸囲σ値が推定BVの評価に有用と考えられた。

|                       |        | 産子検査の測定項目 |        |         |         |              |
|-----------------------|--------|-----------|--------|---------|---------|--------------|
|                       |        | 体高        | 体高σ    | 胸囲      | 胸囲σ     | 日増体量(DG)(kg) |
| 頭数                    |        | 211       | 211    | 211     | 211     | 146          |
| 推<br>定<br>育<br>種<br>値 | 枝肉重量   | 0.15*     | 0.21** | 0.38*** | 0.47*** | 0.33***      |
|                       | ロース芯面積 | -0.07     | 0.01   | 0.20**  | 0.29*** | 0.19*        |
|                       | バラ厚の厚さ | 0.03      | 0.08   | 0.34*** | 0.41*** | 0.18*        |
|                       | 皮下脂肪厚  | 0.04      | 0.09   | 0.19**  | 0.25*** | 0.20*        |
|                       | 歩留基準値  | -0.14*    | -0.11  | 0.01    | 0.04    | -0.03        |
|                       | 脂肪交雑   | -0.02     | 0.02   | 0.24*** | 0.29*** | 0.19*        |

\*:  $p < 0.05$ , \*\*:  $p < 0.01$ , \*\*\*:  $p < 0.001$   
注1: 子牛市場上場時の体重及び日齢から算出

図4：測定項目と推定BVの相関係数

各枝肉形質の推定BVの分散分析結果は、父牛、母方祖父牛の母数効果に0.1%水準の有意差がみられたが、子牛判定項目では有意差がみられなかった。このことから、産子検査時の子

牛判定項目では後に判明する枝肉形質の推定BVの評価がおこなえないと考えられた。

子牛検査時に算出可能な期待BVと後に判明する推定BVとの相関係数は、枝肉重量では0.79、ロース芯面積0.62、バラ厚0.70、皮下脂肪厚0.63、歩留0.61、脂肪交雑0.49と中程度から高い相関( $p < 0.001$ )となった。また、期待BV算出に用いた父牛の推定BVとその娘牛の推定BVの相関係数は0.50, 0.50, 0.53, 0.50, 0.45, 0.27となり、母牛の推定BVでは0.29, 0.49, 0.17, 0.32, 0.37, 0.45になったことから、親の推定BVからその子牛の推定BVを予測するより、期待BVを用いたほうが相関係数が高く、選抜指標として有用と考えられた。

産子検査と繁殖成績の関連性として、体高、体高σ値、胸囲、胸囲σ値、体重と繁殖成績の初産月齢、分娩間隔の相関係数は、初産月齢と体高で-0.21の有意な負の相関( $p < 0.001$ )がみられ、分娩間隔では胸囲及び胸囲σ値で-0.12, -0.13と有意な負の相関( $p < 0.01$ )がみられた。繁殖成績の分散分析結果は、初産月齢で母数効果との有意差はみられず、分娩間隔で繁殖地区と自家保留の交互作用に5%水準の有意差がみられた。

繁殖地区と自家保留の交互作用の最小二乗平均値を図5に示した。

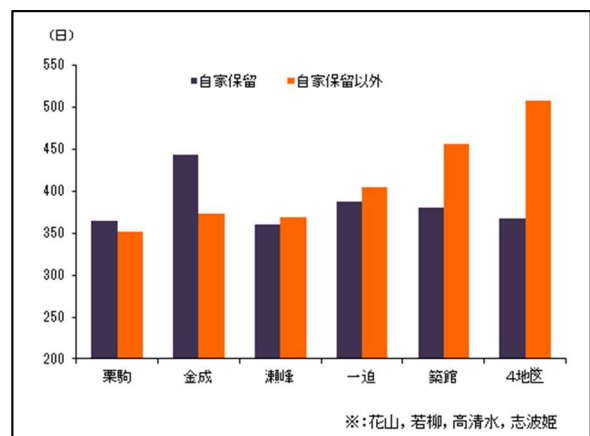


図5：繁殖地区と自家保留の交互作用

各水準間に有意差は見られなかったが、地区により自家保留で分娩間隔が短くなる地区と、

それ以外の方が短くなる地区があったことから、地区に応じた繁殖指導が必要と考えた。

## 6 まとめと今後の展望

産子検査はこれまでの和牛改良に有効であったと考えられ、そこに、新たな評価項目として体高 $\sigma$ 値、胸囲 $\sigma$ 値、期待BVを加えることで、より保留する繁殖雌牛の効果的な能力評価・選抜をおこなうことができ、改良基盤強化につながるができると思われた。併せて地区に応じた繁殖指導を強化していくことで、継続的な生産振興につながっていくと考えられた。

今後の展望として、新たな評価項目の体高 $\sigma$ 値、胸囲 $\sigma$ 値、期待BVを選抜基準に設定した場合の効果や影響について検討していくとともに、検査に併せて繁殖指導を追加し、繁殖成績向上を図っていきたいと考えている。

## 8 参考文献

- 1) 公益社団法人 全国和牛登録協会正常発育曲線 平成16年 (2004)。
- 2) 宮城県・全国農業協同組合宮城県本部・公益社団法人全国和牛登録協会宮城県支部、宮城県和牛育種価報告(2016)

## 4 豚オースキー病清浄化への道筋

### 東部家畜保健衛生所

柴田千尋，清水ゆう子，千葉直幸，網代隆，日野正浩，山田稻生

#### 1 はじめに

豚オースキー病（AD）は，昭和56年2月に初めて国内で発生が確認された。本県では，同時期に初発生農場と疫学関連のある県内一養豚場において野外抗体陽性豚（陽性豚）が初めて確認された<sup>1)</sup>。以後，現在までに県北地域を中心とした11市町村でのAD浸潤が確認された。

当家保が所管する県北東部4市2町の内，特にT市は昔から養豚が盛んな地域で，飼養戸数は県内の約1/3，母豚頭数は約1/4を占める密集地帯である（図1）。また，管内にはと畜場が1カ所有り，県内外から豚が多数集まってくる地域である。このような背景の下，管内は特にAD陽性豚摘発が多い地域となったが，清浄化対策に取り組んできた結果，平成29年2月をもって清浄化を達成したので，その概要を報告する。



| 養豚概要<br>(畜産統計より) |    | S56    | H1     | H28    |
|------------------|----|--------|--------|--------|
| 戸数               | 県内 | 8,960  | 4,660  | 171    |
|                  | T市 | 2,210  | 1,460  | 54     |
| 子取り雌豚<br>頭数      | 県内 | 50,000 | 46,200 | 21,000 |
|                  | T市 | 12,171 | 11,237 | 5,187  |

図.1 宮城県内におけるAD浸潤地域と養豚概要

#### 2 県内及び管内におけるAD検査状況

図2に県内のAD検査頭数と，県内及び管内の陽性頭数の推移を示した。本県では，昭和58年度から指定種豚場を中心にAD抗体検査が行われていたが，昭和60年度からは繁殖母豚飼養農場を対象とした一般浸潤検査を県として実施することとなり<sup>2)</sup>，この年から管内でも毎年のように陽性豚が摘発されるようになった。平成27年度まで，県内検査頭数累計468,673頭に対し，陽性は3,061頭，そのうち半分以上の1,607頭が管内での摘発であった。

#### 3 本県でのAD初発生

平成3年3月，管内A町で県内初となるADの発生が確認された。

当該農場は母豚77頭，総飼養頭数981頭の一貫経営で，当時としては規模の大きな農場であった。平成3年2月20日に新生子豚4腹42頭で神経症状を呈し，診療獣医師より家保へ通報があった。その後，病性鑑定を実施し，3月1日にADと診断された。また，同時に行った母豚全頭を含む106頭の抗体検査（ラテックス凝集反応）では，102頭が抗体陽性を示したことから，農場全体に蔓延していると推察された。当時は，陽性豚の淘汰による清浄化が基本であったため，当該農場では全頭淘汰という厳しい措置をとった。この発生は，農場の直接的被害だけでなく，情報の混乱や農家間交流停滞など，地域全体に暗い影を落とした出来事であった<sup>3)</sup>。

#### 4 ワクチン接種による清浄化対策の開始

全国的な発生の拡大から，平成3年3月には，ワクチン接種による防疫を盛り込んだ「AD病防

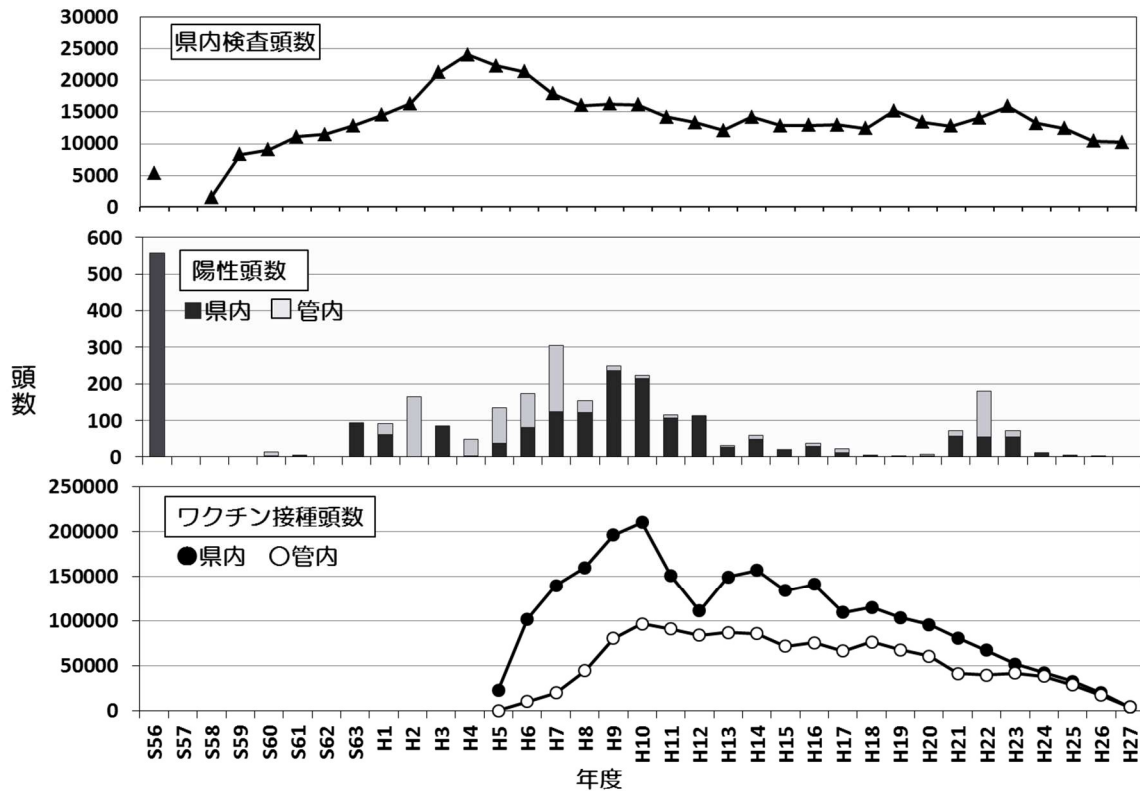


図. 2 県内・管内のAD検査頭数・陽性頭数・ワクチン接種頭数の推移

(昭和56～平成27年度宮城県家畜保健衛生事業実績, 平成14～27年度AD四半期報告, 平成5～27年度(一社)宮城県畜産協会事業実績調べ)

疫対策要領」(平成3年3月22日付け3畜A代431号農林水産省畜産局長通達)が施行された。県では、国のAD防疫対策要領に基づき、平成3年6月に「宮城県AD防疫対策要領」(平成3年6月18日畜第203号農政部長通知)を定めた。本要領では、ADの総合的な防疫対策を講ずるために必要な事項が定められ、陽性豚の早期淘汰が困難な場合のワクチン使用についても明記された。しかしながら、実際には平成6年1月の大規模養豚場での摘発から、本県でもgⅢマーカー生ワクチンを使用した清浄化対策が始まった<sup>4)</sup>、<sup>5)</sup>、<sup>6)</sup>。管内では、平成6年4月以降の摘発農場からワクチン接種を開始した<sup>7)</sup>。図2には県内及び管内のワクチン接種頭数の推移を示した。平成12年4月からはgⅠマーカー生ワクチンへ変更し<sup>8)</sup>、以降、摘発淘汰とワクチン接種の継続により沈静化傾向となった。

## 5 AD防疫対策要領の改正と清浄化推進における管内の問題と対応

平成20年度には、本病の新たな清浄化対策を推進するため、国のAD防疫対策要領が改正された(平成20年6月9日付け20消安第2520号農林水産省消費・安全局長通知)。これに基づき、同年10月に県のAD防疫対策要領も改正された。以前の要領では、市町村毎に清浄化推進・準清浄化・清浄地域の3つに地域区分され、防疫対策を行っていた。一方、新しい要領では、清浄度の低いものから高い順にステータスⅠ・Ⅱ・Ⅲ・Ⅳとし、各段階の清浄度の条件が明確化され、地域も市町村を基本とするが、より細かな区分も可能となった<sup>9)</sup>。その後、平成22年3月に要領は再度改正され(平成22年3月19日付け21消安第14413号農林水産省消費・安全局長通知)、ステータスⅡが更に前期と後期に分かれた。

要領改正以降、地域・農場毎に清浄化対策を進めていく中、管内では1)ステータスⅠの存

在、2) ワクチン不徹底による陽性農場の摘発の2つの問題が発生した。

### 1) ステータスⅠの存在と対応

図3には平成20年度要領改正時の県内ステータス区分、及び平成20、22、24年のT市内のステータス区分を示した。管内は市町村及び旧町単位で12地域に区分し、T市内は9地域に区分した。この内、A-1地域の1戸は、平成3年の県内初の発生農場であるが、平成20年度以前からAD検査の拒否が続いていたため、県内唯一のステータスⅠと設定せざるを得なかった。

検査拒否への対応は、畜主の理解を得るため、毎年農場へ訪問し、話し合いを行った。また、家保職員が異動で変わる場合は、引き継ぎながら、諦めずに説得を継続した結果、平成24年度に検査の了承を導くことができた。検査で陰性を確認し、同農場は平成7年度にADの再度陽転以降、ワクチン接種による清浄化対策を継続していたことから、ステータスⅡ後期へ移行した。しかしながら、平成25年度半ばには廃業に至った。

| 地域防疫対策協議会名 | 地域数 | ステータス (H20.11.28時点) |    |     |    |
|------------|-----|---------------------|----|-----|----|
|            |     | I                   | II | III | IV |
| 大河原        | 7   |                     |    |     | 7  |
| 仙台         | 7   |                     |    |     | 7  |
| 北部         | 33  |                     | 12 |     | 21 |
| 東部         | 12  | 1                   | 7  |     | 4  |
| 合計         | 59  | 1                   | 19 | 0   | 39 |

| T市地域区分 | ステータス |       |       |
|--------|-------|-------|-------|
|        | H20   | H22   | H24末  |
| A-1    | I     |       | II 後期 |
| A-2    | II    | III   | IV    |
| B-1    | II    | II 後期 |       |
| B-2    | II    | II 後期 |       |
| C      | II    | II 前期 | II 後期 |
| D      | II    | III   | IV    |
| E      | II    | III   | IV    |
| F      | II    | III   | IV    |
| G      | IV    |       |       |

図.3 県内・T市内のADステータス地域区分

2) ワクチン接種不徹底による陽性農場の摘発と対応

平成21～23年度に、陽性摘発頭数が増加した(図2)。これはワクチン接種不徹底による陽性農場の摘発が原因と考えられ、管内ではT市C地域の3戸で摘発した。この内、繁殖経営の2戸は、他管内で陽性豚が摘発された農場からの種豚導入が原因で、繁殖豚(30～40頭)の2割で陽性を示した。これらの農場は飼養規模も小さかったため、繁殖豚のみへのワクチン接種で対応していた。一方、同じ時期に摘発された、一貫経営の1戸(母豚200頭規模)では、ワクチンプログラムの指導と全頭接種徹底でウイルスの動きは沈静化したが、母豚の6割以上が陽性を示し、経営的にも早期更新が難しい状況にあった<sup>10)</sup>。そこで、同農場での淘汰更新に係る経済的負担軽減を図るため、家畜生産農場清浄化支援対策事業の活用を模索した。同事業には、ワクチン接種推進費や感染豚の淘汰推進費の補助等が項目としてあるが、これらの補助を受ける要件として、C地域の場合、現状ではワクチン接種農場での全頭接種実施が必要であり、接種対象が違う農場が同一地域に存在する以上、補助が受けられない問題が発生した。そこで、平成24年度末に開催した東部地域AD防疫対策協議会(以下、協議会)の承認を得て、T市内を9地域から13地域へ、特に問題となったC地域を4地域に区分変更した(図4)。これにより、農場の理解を得ながら陽性豚の早期淘汰更新へつなげることができた。

| H24末 9地域  |       |       |              | 変<br>更 | H25 13地域  |       |       |              |
|-----------|-------|-------|--------------|--------|-----------|-------|-------|--------------|
| 旧<br>地域区分 | ステータス | 農場数   | ワクチン<br>(陽性) |        | 新<br>地域区分 | ステータス | 農場数   | ワクチン<br>(陽性) |
| A-1       | Ⅱ 後期  | 1     | 1            |        | A-1       | Ⅱ 後期  | 1(廃業) | －            |
| A-2       | Ⅳ     | 3     | 0            |        | A-2       | Ⅳ     | 2     | 0            |
| B-1       | Ⅱ 後期  | 11    | 2            |        | B-1       | Ⅱ 後期  | 11    | 2            |
| B-2       | Ⅱ 後期  | 2     | 1            |        | B-2       | Ⅱ 後期  | 2     | 1            |
| C         | Ⅱ 後期  | 27    | 12<br>(3)    |        | C-1       | Ⅱ 後期  | 9     | 1(1)         |
|           |       |       |              |        | C-2       | Ⅱ 後期  | 6     | 3(2)         |
|           |       |       |              |        | C-3       | Ⅱ 後期  | 3     | 2            |
| D         | Ⅳ     | 3     | 0            |        | C-4       | Ⅱ 後期  | 7     | 4            |
|           |       |       |              |        | D-1       | Ⅱ 後期  | 2     | 2            |
|           |       |       |              |        | D-2       | Ⅳ     | 3     | 0            |
| E・F・G     | Ⅳ     | 6・2・3 | 0            |        | E・F・G     | Ⅳ     | 6・2・3 | 0            |

図.4 T市内のADステータス地域区分の変更

## 6 清浄化最終段階

平成25年度当初は依然、T市内7地域で陽性農場3戸とワクチン中止に対する不安感から接種を続けている農場が12戸混在していた。そこで、協議会において、清浄化の目標時期を設定し、さらに、個別協議で農場毎の清浄化時期を決定した（図5）。

C-2地域の陽性農場2戸については平成26年の春までに陽性豚の淘汰が完了する見込みだったため、それに合わせて、C-3、4、D-1地域のワクチン接種農場9戸の清浄化を進めた。これらの農場については平成26年度中に清浄度確認検査で陰性を確認し、ワクチン中止（ステータスⅢ）、1年後の平成27年度の清浄度確認検査でも陰性を確認し、清浄化を達成（ステータスⅣ）した。

C-1地域の陽性農場については、陽性頭数が多く、淘汰更新に時間がかかる見込みだったため、その間、頻回に訪問し、母豚全頭と肥育豚の検査を実施した。また、B-1、2地域のワクチン接種3戸については、同農場と清浄化の時期を合わせることにした。

平成27年6月には全ての陽性豚の淘汰及び全頭検査が終了した。その後、半年ほどワクチン接種を続け、翌1月までにワクチン接種3戸も含めて清浄度確認検査で陰性を確認し、ワクチンを中止した。これにより、管内全域でのワクチン中止を達成した。平成29年2月までに、これらの農場の清浄度確認検査、及び浸潤検査を含む管内全農場で陰性を確認し、管内全域で清浄化を達成した。

## 7 結び

平成29年2月、管内でのAD清浄化の達成により、本県の清浄化が達成した。昭和56年のAD陽性豚初摘発から36年、平成3年の県内初発生から26年の長い年月に渡る清浄化への道筋だったが、これまでの本県のAD対策にご尽力された多くの職員、生産者並びに関係者に敬意を表し、本稿を終える。

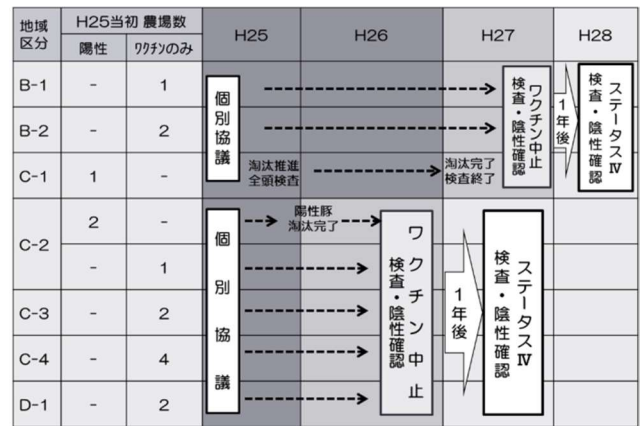


図5 清浄化への過程

## 10 引用文献

- 1) 高橋勝一 他：昭和57年度宮城県家畜保健衛生業績発表会集録. 76-81 (1982) .
- 2) 小野寺瑞穂 他：平成2年度宮城県家畜保健衛生業績発表会集録. 13-16 (1990) .
- 3) 小野寺瑞穂 他：平成3年度宮城県家畜保健衛生業績発表会集録. 48-51 (1991) .
- 4) 岡崎紀之 他：平成6年度宮城県家畜保健衛生業績発表会集録. 5-8 (1994) .
- 5) 大越啓司 他：平成6年度宮城県家畜保健衛生業績発表会集録. 27-30 (1994) .
- 6) 小川修平 他：平成8年度宮城県家畜保健衛生行政発表会集録. 15-18 (1996) .
- 7) 國井洋 他：平成6年度宮城県家畜保健衛生業績発表会集録. 24-26 (1994) .
- 8) 福田智子 他：平成12年度宮城県家畜保健衛生業績発表会集録. 18-21 (2000) .
- 9) 荻窪恭明：オーエスキー病防疫対策要領の改正について. 豚病会報. No. 54. 16-21. (2009)
- 10) 千葉直幸 他：平成23年度宮城県家畜保健衛生業績発表会集録. 19-21 (2011)

## 5 と畜検査データを活用した一養豚場における生産性向上への取組

東部家畜保健衛生所

佐々木春香，柴田千尋，上村健人，清水ゆう子

### 1 はじめに

と畜場での検査データには、農場の状況を把握するための有益な情報が多く含まれている。各種臓器の病変率や廃棄率から、呼吸器病や消化器病、寄生虫症など農場の疾病発生の傾向を知ることが出来、衛生対策の立案や効果判定を行う際にも有効な手段となる。<sup>1)</sup>

今回、子豚舎での事故率が高い管内一養豚場において、と畜検査データを活用した生産性向上対策を講じた。あわせて、と畜検査データの生産現場での更なる活用推進に向けた取組を実施したので、その概要を報告する。

### 2 農場概要

当該農場は母豚約120頭を飼養する一貫経営である。繁殖部門と肥育部門が分かれたツーサイトシステムをとっており、生まれた子豚は50日齢頃までを分娩舎で、その後肥育農場へ移り50～100日齢までを子豚舎で、100日齢～出荷までを肉豚舎で飼養されている。

当農場では子豚舎へ移動後に呼吸器症状、消化器症状、発育不良を呈する子豚が多発し、事故率も高い傾向があった。

平成25年度及び平成27年度に実施した、呼吸器症状を呈する子豚の病性鑑定では、豚繁殖・呼吸障害症候群（以下、PRRS）とマイコプラズマ・ハイオライニスの複合感染症と診断された。また、豚胸膜肺炎の抗体価もPRRSの感染時期と一致して上昇していることが判明したことから、PRRSに起因した複合感染により子豚舎での事故率が上昇したものと推察された。

子豚舎での事故率改善に向けて、これまで対策を行ってきたが、当農場では生産記録が保存されておらず、対策前後の状況把握が難しいこ

と、また、畜主は衛生意欲の維持が出来ず、対策が続かないという問題があった。

そこで、対策前の農場の状況を把握するため、出荷豚のと畜検査データを活用することとした。

### 3 と畜検査データの活用

宮城県食肉衛生検査所には以前から、情報還元業務として家畜の所有者が申請を行えば、と畜検査データを閲覧出来るシステムがある。

と畜検査データは、書面にと畜番号と各種臓器の疾病名が略語表記されており（図1）、このデータから農場の疾病発生の傾向等を読み取る為には、パソコン等での経時的なグラフ化処理や、専門的知識を必要とする。そこで、畜主から受け取ったデータを家畜保健衛生所が集計、グラフ化し、解析を行った。

| 番号    | 肺   | 肝臓 | 腸 | その他 |
|-------|-----|----|---|-----|
| B0415 | S キ | 間  |   |     |
| B0416 |     |    |   | キフ  |
| B0417 | キ   | ○  | ○ | 心   |
| B0418 |     |    |   |     |
| B0419 | S   |    |   |     |
| B0420 | キ   |    | ○ |     |

図.1 と畜検査データ（抜粋）

当農場の平成26年10月から平成27年9月までの過去1年間のと畜検査データを解析した。各種疾病の平均廃棄率は、流行性肺炎（以下SEP）が59%、胸膜性肺炎が19%、胸腹膜炎が5%であり、宮城県食肉衛生検査所の平成27年度の平均廃棄率であるSEP47%、胸膜性肺炎13%、胸腹膜炎2%よりも高い値で推移しており、呼吸器病の発生が多いことが判明した。また、寄生性肝炎、

腸回虫症が平成27年の6月頃から増加し、回虫症が多発している事が判明した（図2）。

以上のことから以下の4点のことについて対策を講じることとした。

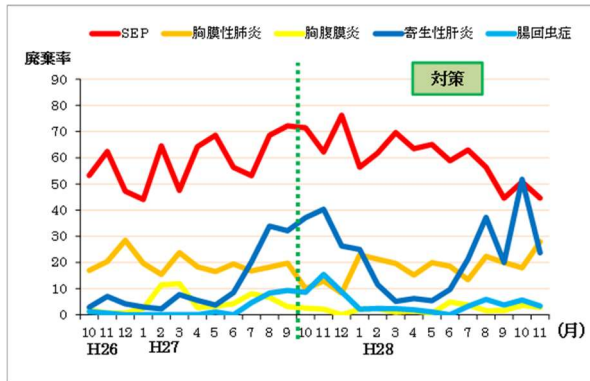


図.2 と畜検査データのモニタリング結果

#### 4 生産性向上対策

##### 1) 飼養衛生管理の改善

疾病対策の基本として、飼養密度及び換気の適正化、空き豚房の洗浄・消毒・乾燥の徹底、長靴及び着衣の繁殖・肥育農場毎の専用化、隣接豚房との仕切りを設置、日齢毎の区画管理や、作業動線の一方向化を徹底するよう指導した。

##### 2) 子豚へのPRRSワクチン接種

ステージ別の検査により子豚舎へ移動後の60日齢頃にPRRSの感染が起きている事が推察されたので、子豚へのワクチン接種を実施した。当農場は連続式豚舎のため、PRRSの清浄化に有効とされるオールインオールアウトが困難な飼養条件であった。村山ら<sup>2)</sup>は、このような条件の場合、子豚へのワクチン接種を行うことで野外ウイルスのコントロールと生産性向上が期待できると報告していることから、子豚舎移動前の21日齢でワクチンを接種し、その後抗体価が十分に上昇する45日齢以降に子豚舎へ移動するよう指導した。ワクチネーションは平成27年10月より実施した。

##### 3) 駆虫

畜主への聞き取りから回虫症が多発した時期の駆虫が不十分であったことが分かったので、分娩舎及び子豚舎移動時での駆虫を指導した。

#### 4) と畜検査データのモニタリング

対策開始後も継続してと畜検査データをモニタリングすることで対策の効果を検証した。さらに、モニタリング結果をグラフ化資料として畜主へ随時解説することで、農場の現状を把握してもらい衛生意識の改善及び対策が継続されるよう指導した。

#### 5 取組の結果

##### 1) 事故率及び出荷頭数の改善

子豚舎移動前後の31～90日齢までの子豚の事故率は対策前の平成27年7月時点の約30%から、対策後の平成28年10月時点で約1%にまで減少した。また、出荷頭数は対策前（平成26年10月～平成27年9月）の月平均156頭に対し、対策後（平成27年10月～平成28年9月）の月平均は203頭に増加した。

##### 2) 各種疾病による廃棄率の改善

呼吸器病については対策後、SEP及び胸膜炎の減少傾向が認められた。また、回虫症については寄生性肝炎は未だ改善が認められていないが、腸回虫症は対策後の減少が認められた（図2）。

##### 3) 畜主の衛生意識の改善

対策を行う中で、畜主の衛生意識も徐々に改善された。特に、グラフ化したと畜検査データを見せることにより、客観的に状況を把握できるようになり、畜主のやる気につながった。

対策を行う前は豚舎の洗浄消毒が不十分で、汚れている豚や発育のバラツキが散見されたが、対策後は洗浄消毒が徹底され、発育のバラツキも改善された（図3）。

#### 6 と畜検査データの更なる活用推進

取組結果を基に、今後、他の農場においても生産性向上対策にと畜検査データを活用していきたいと考え、生産者へのアンケート調査と食肉衛生検査所との協議を実施した。

##### 1) 生産者へのアンケート調査

管内生産者へのアンケート調査結果（調査農場数26、回答数16）では、と畜検査データを関

覧出来ることを知っている生産者は56%であり、そのうちの78%はデータの申請方法を知らないと回答した。また、日々の飼養衛生管理にデータの活用を希望するかという問いには75%の生産者が活用を希望すると回答。一方、自身でのデータの集計解析が可能かという問いには56%の生産者が不可能と回答した（図4）。



図.3 畜主の衛生意識の改善

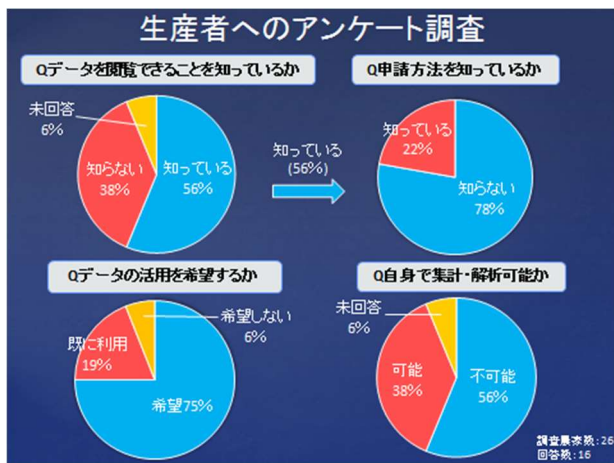


図.4 生産者へのアンケート調査結果

## 2) 食肉衛生検査所との協議

と畜検査データの活用については生産者からのニーズもあることから、と畜検査データ活用推進に向けて食肉衛生検査所との協議を行った。

今回の取組で行ったように、データ解析の作業を家畜保健衛生所が行い、その結果を生産者へ分かり易く伝えることで、と畜検査データを

生産現場でより生かすことが出来るが、現在本県では家畜保健衛生所と食肉衛生検査所の間で直接の検査データのやり取りは行われていない。そこで、より効率的に生産者へのデータ還元を行うため、今後は生産者の同意の基、食肉衛生検査所と家畜保健衛生所が互いに連携したシステムを構築していきたいと考えている（図5）。

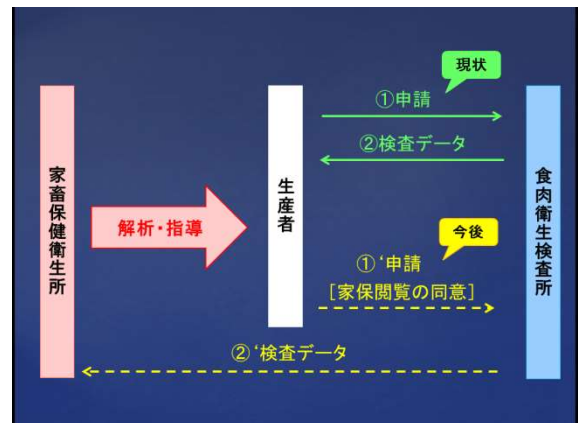


図.5 食肉衛生検査所との協議

## 7 まとめ及び考察

今回取組を行った農場において、と畜検査データの活用は疾病発生傾向など、農場の状況を知るための有効な手段となった。さらに、データのモニタリング結果をグラフ化資料として指導に活用することで、畜主の衛生意識が改善され衛生対策も継続されるようになった。その結果、事故率の減少や出荷頭数の増加など生産性の向上が認められた。一方、呼吸器病や回虫症については今後も対策を行う必要があるため、と畜検査データでモニタリングしながら指導を継続する。

今回の取組をモデルケースとして、今後も家畜保健衛生所と食肉衛生検査所が連携し、生産者へのデータ還元・活用推進を図っていききたいと考えている。

## 8 参考文献

1) 阿部隆司, 里麻啓, 中林大 : 新潟県におけると畜検査データの活用と豚衛生対策の推進. A11 About Swine. 27. 18-23 (2005)

2) 村山修吾, 権田寛子, 山家菜摘美 他 : PRRS  
清浄化に向けた地域ぐるみでのワクチン子豚接  
種による生産性向上対策とその効果. 新潟県家  
畜保健衛生業績発表会集録. 18-22 (2015)

## 6 高病原性鳥インフルエンザ農場別対応計画の構築

東部地方振興事務所

石橋拓英，日野義彦，西清志，柴崎卓也

### 1 はじめに

管内は，宮城県東部に位置し，養鶏は肉用12農場，採卵2農場があり，飼養羽数は合計で約47万羽である。養鶏場のほか，大型の食鳥処理場やふ卵場，南東北最大の飼料工場区域があることが特徴である。

管内では，高病原性鳥インフルエンザ発生時の初動対応を迅速に実施するため，平成27年度に，養鶏場の埋却候補地の状況など，各農場を調査し，実態にあった初動対応を計画した。

今回は，埋却候補地を建設業者とともに調査し，埋却作業の計画を作成した。その後，詳細な埋却作業計画を踏まえて，作業者の動員計画や資機材リストの作成など，農場別対応計画を作成した。その他，管内の飼料工場地域の業者との連携を構築したので，これらの概要を報告する。

### 2 埋却候補地の調査及び埋却作業計画の作成

埋却作業は，殺処分作業とともに発生農場における主たる業務であるが，掘削作業や使用する重機など，家畜保健衛生所の職員では，判断できない分野が含まれている。従って，埋却作業の計画には，作業に従事する建設業協会の協力が必須である。そこで，宮城県建設業協会石巻支部35社，及び，宮城県東部地方振興事務所農業農村整備部の職員を参集し，埋却作業の説明会を開催した。その後，建設業者の同行のもと，管内14農場の埋却候補地の現地調査を行った。調査結果を受けて，建設業者が，発生時に掘削する埋却溝の図面を作成した。また，作業の流れや重機の搬入経路，必要な作業員数，資機材について，建設業者に確認した。

調査結果から14農場を次の4つに分類した。

① 全量埋却可 (8農場)

② 鶏のみ埋却可 (3農場)

③ 移動焼却炉 (1農場)

④ 埋却不可 (2農場)

①～③の12農場については，建設業者が埋却溝や掘削した土壌の仮置場などを示した図面を作成した。(図1)

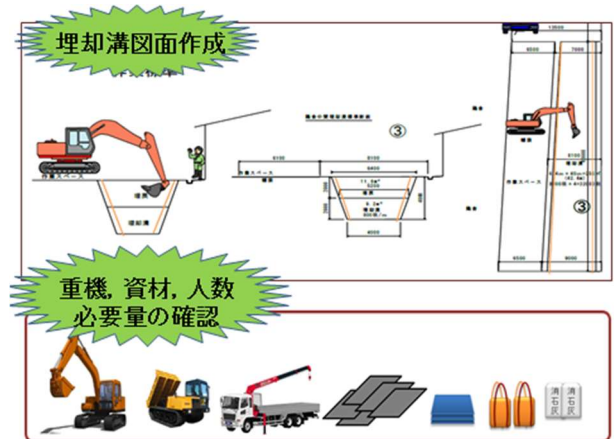


図1 埋却候補地の調査を受けた対応

また，養鶏場の所有者である養鶏企業や市役所，建設業者と協議し，②の農場で残存する汚染物品は，発酵消毒による対応を検討し，③の農場は，当初，全量埋却で計画していたが，建設業者が埋却候補地の土地の状況から湧水の可能性が高いと判断し，国が保有する移動式焼却炉で対応する計画に変更した。④の農場では，養鶏企業が保有する土地及び市役所の所有地を活用して埋却対応するよう調整した。これらの調整後，14農場の埋却作業計画を作成した。

なお，②の1農場と④の2農場については，養鶏企業が新たな土地確保に向けた検討がされ，平成29年度までに確保される予定となった。建設業者による詳細な調査結果によって，埋却候補地の面積が明確になり，養鶏企業の改善策や

市役所による協力体制構築に繋がったと考える。また、建設業協会石巻支部の全業者が、担当する農場の埋却候補地を確認したため、発生時の作業内容や必要人数が明確になり、1業者による対応は困難であることが判明し、埋却作業72時間の業務について、建設業協会石巻支部が、自ら、建設業者間の作業協力体制を構築した。

### 3 農場別対応計画の作成

次の3項目について、東部現地地方支部の関係機関が協議し、14農場の農場別対応計画を作成した。

#### (1) 動員計画及び資機材リストの作成

前述1.の埋却作業計画を受け、既存の動員計画や必要となる資機材のリストに修正が必要となった。また、発生農場の処分羽数、消毒ポイント数により、動員人数、資機材の量が異なるため、農場別に動員計画、資機材リストを作成した。動員計画では、防疫措置完了までの72時間分を想定した。

動員者については、東部現地地方支部の各部所において職種（農業土木職、普及員、保健師、薬剤師など）や健康状態を考慮して、実働可能な職員から選抜し、動員者名簿を作成した。支部で不足する人員は、県庁本部からの応援職員を充てる計画としている。

#### (2) 集合施設等の確保

発生時には、多数の作業者を収容し、健康確認や作業説明、資材管理を行う体育館等の集合施設が必要である。これまで、東部現地地方支部では、養鶏場周辺で、市役所等が所有する施設を想定している状況だったが、今回、迅速な対応のため、市役所に対して、集合施設における業務や施設の要件を説明し、市役所が集合施設のリストを作成するよう依頼した。また、それらの施設では、作業用者の駐車場が不足するため、市の運動公園の駐車場2か所の活用を調整した。（図2）

養鶏場12農場を5つのエリアに分類し、エリア内とその近隣の集合施設8か所が、市役所から提案された。

その後、作業者の検診を担当する保健福祉事務所が、集合施設の現地調査を行い、発生時の受付や健康確認場所等のレイアウトを作成した。動員者の移動のため、管内のバス業者2社に協力依頼し、了承を得た。



（図2）集合施設等の確保

#### (3) 消毒ポイントの設定

周辺農場への蔓延防止のために設置する消毒ポイントは、平成27年度、畜産振興部が家畜防疫マップを用いて14農場分の設置案を事前に作成していたが、今回、発生時に消毒ポイントを運営する土木事務所と協議した。実際に設置可能な地点76箇所に、土木事務所が精査し、周辺地図を整理した。また、土木事務所が主催で、職員を対象とした車両消毒の研修会が開催された。消毒用の動力噴霧器の動かし方から、知りたいという要望に答え、写真による動作手順マニュアルを作成し、提供した。（図3）

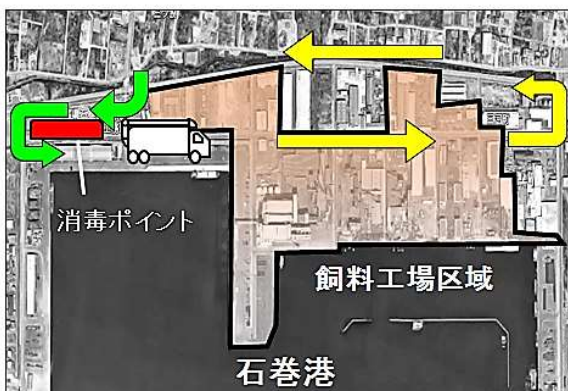


(図3) 動作手順マニュアル

#### 4 飼料業者との連携構築

管内には、飼料工場区域があり、石巻港の港湾地区に、飼料製造工場6社、飼料倉庫業者4社がある。東北地方における飼料取扱シェア(重量ベース)は、八戸に次いで第2位である。飼料業者への聞き取り調査の結果、この地域の飼料運搬車両の往来は、1日400台を超えることが判明し、石巻港周辺の養鶏場で発生した場合、多数の飼料運搬車両の消毒を、一般道で実施することは困難である。この地域での円滑な車両消毒のため、一般道ではなく港湾地区での車両消毒体制について調整を行った。

港湾地区を管理者は、国道や県道とは異なっており、県の港湾事務所であることから、港湾事務所と消毒ポイントが設置可能な場所を選定し、飼料工場区域の清浄性の維持のための車両動線について調整した。(図4)。



(図4) 飼料工場区域の消毒ポイントと車両動線

また、これらを周知するため、石巻港にある飼料業者や関連企業15社を対象とした研修会を開催した。飼料業者のみを対象とした高病原性鳥インフルエンザ対策の研修会は、東北では初めての開催であったが、発生時に飼料業者が行う蔓延防止対策や県が実施する車両消毒体制について説明し、理解を得られた。また、飼料運搬業者まで、情報を伝達することが必要であるため、県から飼料工場を経て、各運搬業者まで伝達する連絡体制を整備した。

#### 5 まとめ

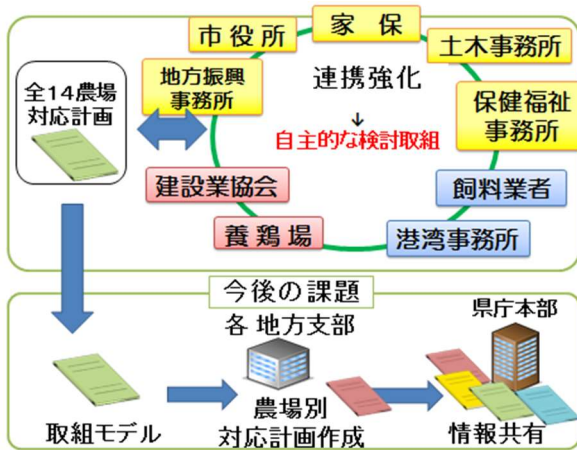
今回、高病原性鳥インフルエンザ発生時、迅速に初動対応を行うため、多くの関係機関の協力を得て、農場別に対応計画を作成した。

今回の取り組みで、関係機関との連携が強化された。対応計画を協議、作成する過程で、関係機関の担当者らに課題や役割が明確となり、各部所で自主的な検討や取り組みが行われた。それらは、市役所が、集合施設のリストを作成し、施設管理者への説明会を行ったことや、保健福祉事務所が、集合施設の現地調査を実施し、発生時の施設レイアウトを作成したこと。土木事務所が、車両消毒作業の研修会を開催するなど、本県でモデルとなるような、自主的な取り組みがあった。さらに、建設業協会石巻支部が、発生時の連携体制を検討したことや、養鶏企業が埋却候補地の取得することなど、民間業者への影響もみられた。

このような連携や取り組みによって、家畜保健衛生所のみでは作成できなかった、詳細な農場別に対応計画ができた。

平成27年11月、総務省は、家畜伝染病対策に関する行政評価で、本病の防疫対策では、農場の規模を多段階に分けて、実効性のある対応計画の作成を勧告している。このことから、今後は、県全体が、迅速に初動対応できるよう、各現地地方支部で農場規模を多段階に分けた計画、延いては農場別に対応計画を作成し、県庁

本部と共有することが必要であり，今回の取り組みをモデルに，体制を構築することが重要と考える。



## 7 鳥インフルエンザ発生時の防疫対応が最も困難と思われる農場における課題の検討

北部家畜保健衛生所

三浦達弥，豊島たまき，加藤里子，  
鈴木千尋，山田侑希，福田純子，小川修平

### 1 はじめに

当所ではこれまで5万羽、10万羽の飼養規模別に高病原性鳥インフルエンザ及び低病原性鳥インフルエンザ発生時の防疫計画を作成してきたが、最も飼養羽数の多い農場について、詳細な検討をした防疫計画はなかった。今回、防疫計画を検討するにあたり、課題の整理と課題解決に向けた検討を行ったので、その概要を報告する。

### 2 農場概要

当該農場は、採卵鶏250万羽を飼養し、ウインドウレス鶏舎18棟、直立3段ケージ・2階建てで、一部、6段ケージの鶏舎もある。このように飼養規模が非常に大きいことから、鳥インフルエンザが発生した場合、迅速な防疫対応が困難で、長期間におよぶことが想定される。

### 3 これまでの経過と課題

平成20年度から家保、農場、町、さらに必要に応じて災害対策や農業土木に関する部署を交えながら、防疫対策に関する打合せを行ってきた。農場からは、鶏舎内構造や埋却候補地について、町からは、地下水の利用状況等の情報が得られた。家保からは、国内発生事例の紹介や殺処分後の処理方法について情報提供した。

打合せにおいて、大規模採卵鶏農場での発生事例を参考に、殺処分に要する日数は、1日あたり10万羽、25日間かかると想定していた。しかしながら、殺処分に25日間要することは下記のような問題点がある。

① 防疫指針では、まん延防止のために患畜・疑似患畜の決定から原則24時間以内にと殺完了

することとされており、目安となる飼養規模が3～6万羽とはいえ、大幅に超過してしまうこと。

② 殺処分待ちの鶏から卵、糞が排出され、武縄らの報告<sup>1)</sup>をもとに無産卵維持熱量の70%に制限給餌をした場合の産卵率の低下を考慮し試算したところ、25日後にはそれぞれ779トン、855トン増加すること。

③ 運搬車両によるウイルス拡散リスクを考慮し、農場外からの飼料供給を停止せざるをえないと思われるが、農場内の飼料が枯渇し、絶食ストレスや餓死といった動物福祉上の問題が想定されること。

### 4 課題への対応策の検討

今年度は、殺処分完了までの日数を短縮することを目的に殺処分作業の見直しや農場、町からの情報収集を行い農場個別の防疫計画を作成した。

従来から想定していた殺処分方法は、台車に載せたペールを運搬し、捕鳥者が10羽投入するごとに一方通行で運び出し、鶏舎出入口に配置した二酸化炭素ガスを注入する方法である。この方法では、10羽ごとに90mの鶏舎を往復するため、運搬者の労力が大きく、大量のペール・運搬者が必要、鶏舎内の狭い場所での二酸化炭素ガスの使用は従事者に危険性があるという問題があった。また、フォークリフトでペールを降ろす作業に時間がかかるが、従来の防疫計画では2階建ての鶏舎構造は考慮されていなかった。(図1)

殺処分作業をより安全で効率的に進めるための検討資料として、農場に対し、廃鶏出荷作業の動画、防疫作業に利用可能な機械や用具の情

報提供を依頼した。町に対しては収容人数や駐車台数を考慮し、体育館等の集合施設の選定を依頼した。

提供された情報から、農場では120羽収容可能な輸送ラックを400個所有していることがわかったため、捕鳥・運搬については、廃鶏出荷時と同様の手順で輸送ラックを用いて行い、殺処分については、平成17年に茨城県で行われた事例2)を参考に、密閉型コンテナにラックごと入れ二酸化炭素ガスを注入する方法が最適だと考えた。また、通路幅、フォークリフトの台数等を考慮し作業動線を検討したところ、一方通行でラックを運び入れるのは従来と同様だが、ラック1個で120羽捕鳥可能なため、従来のペールを用いた方法に比べ運搬に係る人員が少なくなり、2階から1階へフォークリフトで下ろす作業は1度にペール4個で40羽だったのに対し、ラック2個で240羽、昇降回数は6分の1に減少した。二酸化炭素ガスの使用は作業者の安全を考慮し、鶏舎外に設置したコンテナで行い、一度に12ラック、1400羽の殺処分を行うという計画とした。(図2)

今回作成した防疫計画では、農場敷地面積が広く、鶏舎数も多いため、同時に多人数での作業が可能であり、輸送ラック、コンテナの活用により鶏の殺処分作業を省力化できることから、1日の殺処分羽数を20万羽に増やし、13日間で殺処分完了となった。

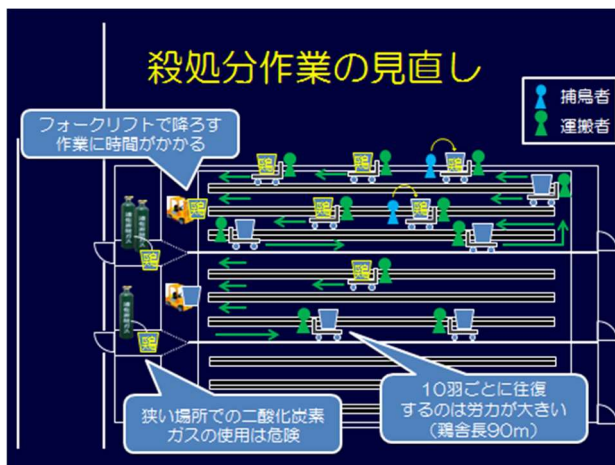


図1 従来の殺処分作業の見直し

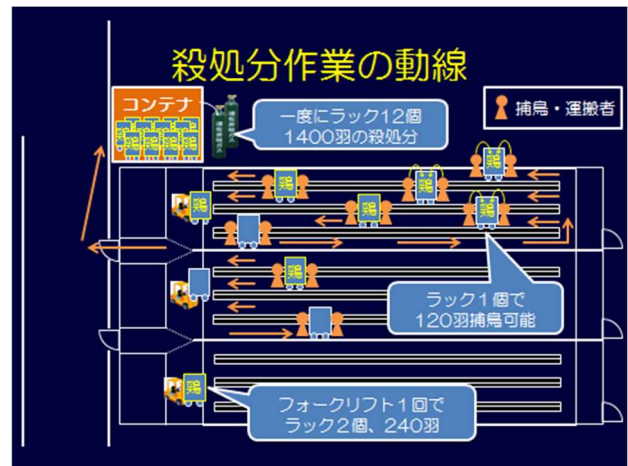


図2 検討後の殺処分作業動線

## 5 新たな防疫計画での試算

従事者数は、1クール8時間の3交代制とし、1クールあたり殺処分に480人、健康調査に24人、防護服の着脱サポートに240人、1日あたり2,200人、13日間で延べ3万人が必要となり、また、その約半数を県外動員者に頼ることになる。また、町に依頼していた集合施設の選定については、1つの体育館では収容人数を超えてしまうため、近隣の武道館、公民館もあわせて3つの施設を一体の集合施設として機能させるという提案があった。(図3)

汚染物品量は、卵が174トン、糞が411トン減少し、飼料は枯渇することなく殺処分完了まで余裕があり、合計で192トン減少した。(図4)

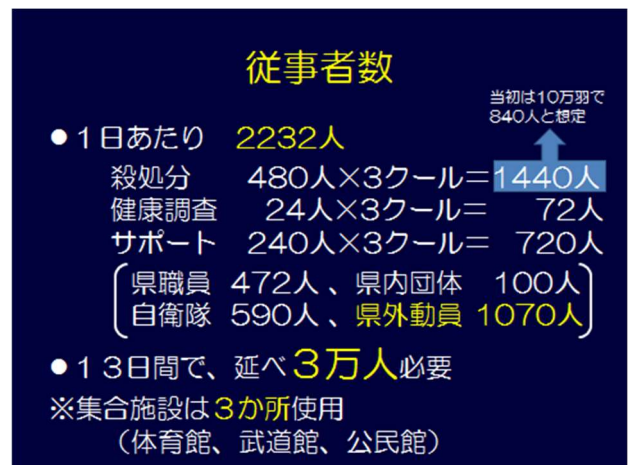


図3 従事者数の試算

| 汚染物品量      |        |     |      |
|------------|--------|-----|------|
| (単位：トン)    |        |     |      |
|            | 25日    | 13日 | 増減   |
| 卵          | 931    | 757 | ▲174 |
| 糞          | 1043   | 632 | ▲411 |
| 飼料         | 17日で枯渇 | 393 | 393  |
| 合計 192トン減少 |        |     |      |

図4 汚染物品量の試算

## 6 検討会

今回作成した防疫計画をもとに、県内4家保および畜産課で検討会を行った。検討会では、殺処分前の鶏を鶏舎外へ運び出すため、鶏舎周囲の汚染防止策が必要、鶏舎外で人と車両の動線が交差している、汚染物品が減ることで埋却地も少なくて済む、といった意見が挙げられた。ラックを運び出す際の移動ルートにブルーシートで防疫フェンスを設置したり、従事者の安全性を確保するために、コーンやポールで動線を明確化、誘導員を配置したりする等の改善策を防疫計画に盛り込んだ。

## 7 まとめ

大規模養鶏場における殺処分日数の短縮を目的に、情報収集を行い、12日短縮となる防疫計画を作成した。さらに、他家保職員を含めた検討会で防疫計画の共有と課題を協議し、より洗練された防疫計画が作成できた。

## 8 今後の課題

試算では殺処分完了までに延べ3万人が必要であり、埋却処理、農場消毒も含め防疫措置の完了にはさらに膨大な人数が必要となる。必要な人員、資材の確保が実際にできるのか、県外動員者の宿泊施設はどうするか、という課題がある。また、農場所所有の埋却候補地については、

試掘調査で湧水がないことが確認されているものの、生活用水として地下水を利用している地域住民の反対が予想され、近隣にある国有地への埋却は、原状復帰が条件となり、再掘削・焼却に係る費用の捻出が困難であることから、殺処分後の処理方法が課題として残っている。費用負担についての国への働きかけや、焼却に関する協議を継続していきたいと思う。

## 9 参考文献

- 1) 武縄 勝浩：高病原性鳥インフルエンザ等による鶏卵移動禁止措置等の緊急事態における鶏卵生産調整技術の検討、岡山県総合畜産センター研究報告 第17号、39-43（2008）
- 2) 真原 隆司：鳥インフルエンザ発生時の鶏処分方法(1)、畜産茨城 18年7月号（2006）

## 8 廃業した養鶏場を活用した鳥インフルエンザの実践的防疫演習

北部家畜保健衛生所

福田純子，佐藤文恵，三浦達弥，山田侑希，鈴木千尋，  
阿部博行，加藤里子，安達裕美，中條満，豊島たまき，  
小川修平，鈴木英作，大場実

### 1 はじめに

北部家畜保健衛生所が管轄する宮城県北部大崎地域は，家きん約340万羽（採卵鶏280万羽および肉用鶏59万羽，平成28年11月1日現在）が飼養されている。また，大崎地域は国内有数の渡り鳥の越冬地であり，毎年冬になると渡り鳥がいたるところで観察され，家きん舎への鳥インフルエンザの侵入リスクは非常に高くなる。

### 2 組織体制（表1）

当所管内で高病原性鳥インフルエンザ（以下，HPAI）が発生した場合，北部家保は県大崎合同庁舎に所属する各部所とともに宮城県高病原性及び低病原性鳥インフルエンザ対策本部北部現地地方支部（以下，現地地方支部）を組織し，防疫対応に当たる。家保は防疫計画の策定などを行い，処分鶏や汚染物品の運搬や埋却，消毒ポイントにおける車両消毒など，様々な業務については他の部所が役割を担う。作業内容は現地地方支部運用ガイドブックにマニュアル化されており，各部所の役割と作業内容が明確化されている。危機意識保持と作業内容の確認のため，定期的に研修会や防疫演習を行うことで周知を図っており，実施後に意見聴取を行うことで現地地方支部運用ガイドブックの内容を見直し，体制強化を図っている。

### 3 これまでの防疫演習

平成26年度までは，県大崎合同庁舎内で家保が主体となり，防護服の着脱をメインとして実施していたが，アンケート調査では「より参加型の演習を希望する」といった意見が多数挙げられた<sup>1)</sup>。それを受け平成27年度は，事前にチームリーダ

ー会議を開催し，各チームリーダーが主体となり，県大崎合同庁舎内駐車

場を養鶏場と見立て，各チームが一斉に演習を実施した。特に，殺処分チームは模擬鶏を使って殺処分の演習を行い，埋却対策チームは埋却地までの処分鶏運搬と重機消毒の演習を行った。参加班は12班22チームであった（図1）。アンケート調査では「養鶏場での作業を希望する」や「埋却溝を掘削し，埋却作業一連の演習を希望する」といった意見が多数得られた<sup>2)</sup>。

表1. 鳥インフルエンザ発生時における対策本部  
北部現地地方支部内の役割分担

| 班名    | 作業内容                             | 担当部署           |
|-------|----------------------------------|----------------|
| 発生地   | 防疫計画策定、家きん殺処分、農場消毒<br>死体、汚染物品の埋却 | 当家保<br>農業農村整備部 |
| 総務    | 資料調達、人員調整                        | 総務部・地方振興部      |
| サポート  | 農場防疫従事者の後方支援                     | 農業振興部          |
| 移動規制  | 消毒ポイントでの車両消毒                     | 土木事務所・警察署      |
| 健康対策  | 農場防疫従事者等の健康管理                    | 保健福祉事務所        |
| 学校対策  | 学校飼育鳥の監視                         | 教育事務所          |
| 野鳥対策  | 野鳥の監視                            | 林業振興部          |
| 経済評価班 | 殺処分家畜等の評価調査                      | 当家保            |
| 病性鑑定班 | 病性鑑定業務                           | 仙台家保           |
| 検診班   | 周辺農場の消毒確認検査                      | 他家保            |
| 追跡班   | 接触者・生体物の追跡調査                     | 他家保            |
| 疫学調査班 | 疫学調査                             | 他家保            |

### 4 平成28年度の防疫演習

平成28年度は前年度の意見を踏まえ，廃業した養鶏場を発生農場として想定し，県大崎合同庁舎に現地地方支部を，養鶏場近隣の体育館に現地事務所を設置し，3会場で演習を行った。また，昨年度と同様，チームリーダー会議を開催し，各チームリーダーが主体となって，会場間の移動や情報連絡を含めた防疫措置一連の演習を実施した。参加班は，昨年度より2チーム多い12班1

8チームであり（図1），さらに建設業協会も参加し，発生農場敷地内に埋却溝を掘削，埋却作業も実施した。

| 図1. 防疫演習の参加班チーム（平成27，28年度） |                                   |                                                                        |                              |                |                                  |
|----------------------------|-----------------------------------|------------------------------------------------------------------------|------------------------------|----------------|----------------------------------|
| ●平成27年度                    |                                   |                                                                        | ・防疫演習参加者：80名（8班16チーム）        |                |                                  |
| 総務班<br>●総務<br>●調整<br>●相談   | 移動規制班<br>●移動規制<br>●学校対策班<br>●学校対策 | 発生地班<br>●発生地総務<br>●防疫対策<br>●殺処分・処理<br>●埋却対策<br>（重複消毒）                  | サポート班<br>●サポート準備<br>●防疫従事者支援 | 野鳥対策班<br>●野鳥対策 | ●実施チーム<br>○未実施チーム                |
| 追跡班<br>○追跡                 | 病性鑑定班<br>○病性鑑定                    | 健康対策班<br>●健康相談<br>○健康相談等対応<br>○養鶏場従業員等健康調査<br>○防疫従事者健康調査<br>○検体・有症状者搬送 |                              |                |                                  |
| 検診班<br>○検診                 | 疫学調査班<br>○疫学調査                    | 経済評価班<br>●経済評価                                                         |                              |                |                                  |
| ●平成28年度                    |                                   |                                                                        | ・防疫演習参加者：131名（8班18チーム）       |                |                                  |
| 総務班<br>●総務<br>●調整<br>●相談   | 移動規制班<br>●移動規制<br>●学校対策班<br>●学校対策 | 発生地班<br>●発生地総務<br>●防疫対策<br>●殺処分・処理<br>●埋却対策<br>（埋却作業）                  | サポート班<br>●サポート準備<br>●防疫従事者支援 | 野鳥対策班<br>●野鳥対策 | ●実施チーム<br>○未実施チーム<br>★H28年度実施チーム |
| 追跡班<br>○追跡                 | 病性鑑定班<br>○病性鑑定                    | 健康対策班<br>●健康相談<br>○健康相談等対応<br>○養鶏場従業員等健康調査<br>○防疫従事者健康調査<br>○検体・有症状者搬送 |                              |                |                                  |
| 検診班<br>○検診                 | 疫学調査班<br>○疫学調査                    | 経済評価班<br>●経済評価                                                         |                              |                |                                  |

## 5 各会場の演習内容

現地地方支部では，1万5千羽飼養する採卵鶏農場において，午前9時に疑似患畜が決定したことを想定し，現地地方支部立ち上げに係る会議を開催した。

現地事務所は，防疫従事者の集合場所として，防疫作業前後の受け付け，防疫従事者へ防疫資材の配布，作業内容の説明，防疫従事前後の健康診断を行った。会場は，防疫従事前後で入り口を別にして動線を分け，混乱防止と交差汚染防止を図った。また，発生農場に従事者を搬送するバス等が出入りすることから，消毒ポイントを設けて車両消毒を行った。

発生農場では，捕鳥から埋却まで一連の演習を行った。農場出入り口には消毒ポイントを設置し，農場に出入りするバスや処理鶏搬送車両等の車両消毒を行った。また，仮設テントを設置し従事者を支援するスペースを設け，汚染区域，準汚染区域，清浄区域を明確化することで交差汚染防止を図った（図2）。

## 6 各チームの演習内容

### （1）総務班

資材管理を担当する総務チームでは，現地地方支部において資材台帳の作成及び資材の輸送の

手配を行った。運営関係機関との連絡調整を担う調整チームは，動員名簿の作成を行ったほか，各部所から提出された防疫作業報告書を受領し，確認を行った。また，相談チームは県民からの相談を想定し，対応事例の作成を行った。

図2. 養鶏場内での演習風景



### （2）健康対策班

防疫従事者健康調査チームは，現地事務所において防疫従事者の問診と診察を行った。また，防疫従事者のうち1人が，体調不良となった想定で，検体・有症状者搬送チームが養鶏場から現地事務所への搬送をし，防疫従事者健康調査チームが診察を行った。健康相談等対応チームは人やペットの健康相談を想定し，対応事例の作成を行った。

### （3）サポート班

サポート準備チームは，現地事務所及び農場内の仮設テントを設営した。また，資材の不足を想定し，農場に追加資材を搬入した。防疫従事者支援チームは，従事者の防護服着脱補助と作業後の全身消毒を行った。

### （4）移動規制班

移動規制チームは，農場と現地事務所に消毒ポイントを設置し，車両消毒及び消毒証明書の発行を行った。

### （5）発生地班

発生地総務チームは，現地事務所の設営及び資材管理を行い，防疫従事者の受付業務及び進捗状況の確認・記録など，現地事務所での統括業務を担当した。

防疫対策チームは、農場内の防疫作業の進捗状況の把握と調整を行い、現地事務所との連絡調整を行った。

殺処分・処理チームは、捕鳥係、運搬係、殺処分係及び搬出係に分かれて作業を行い、チームの参加者全員が全ての作業を体験できるよう役割を入れ替えながら複数回実施した。捕鳥係は模擬鶏10羽をケージから取り出し、ペールに入れ、運搬係は台車に乗せたペールを、殺処分係のもとに運搬、殺処分係は炭酸ガスを注入した。搬出係は、殺処分終了後の模擬鶏を袋詰めし、袋の外側を消毒し、フレコンバックに投入した。また、模擬鶏の運搬から殺処分を行うまでの時間を活用して、捕鳥係は生きた鶏の捕鳥も体験した(図3)。

埋却対策チームは、建設業協会協力のもと、演習前日に埋却溝を掘削、当日は消石灰を埋却溝へ散布、ブルーシートを敷設した。模擬鶏の入ったフレコンバックを鶏舎入り口から運搬、埋却溝へ投入し、再度消石灰を散布後、ブルーシートを杭ごと投げ込むまでの一連の埋却作業を実施した。



#### (6) 経済評価班

経済評価チームは、殺処分家畜等の評価額を算定するため、フレコンバックに投入した袋の数量をカウントし、評価台帳を作成した。

#### (7) 野鳥対策班

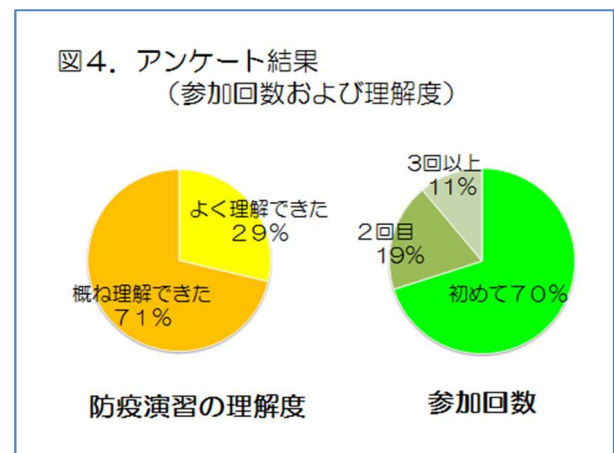
野鳥対策チームは、死亡野鳥発見の通報を受けたことを想定して、農場内敷地内で鶏を用い、簡易検査を実施した。また、確定検査用検体として

送付する準備を行い、死亡野鳥回収地点の消毒作業を行った。

#### (8) 学校対策班

学校対策チームは、管内の小中学校で飼育されている愛玩鶏の異常の有無を電話で確認し、愛玩鶏飼育状況調査結果報告書を作成し、調整チームへ提出したほか、愛玩鶏飼育校への注意喚起文書を作成した。

#### 7 演習従事者へのアンケート調査結果(図4)



演習後のアンケート調査では、アンケート回答者全員が演習を「理解できた」と回答した。参加回数は、初参加の人が7割と多く、基礎的知識の伝達を目的とした事前研修の重要性を改めて認識した。演習の効果に関する質問では、①会場間やチーム間との連携を含め、防疫作業の流れを理解できたこと、②養鶏場での作業を体験したことから、多くの従事者が作業内容をイメージ化できたこと、の2点に集約された。

今後の課題に関する設問では、①情報伝達手段が不足していたため、通信手段・連絡体制の確保が必要であること、②現地事務所の防疫従事者の受け付けに質問が集中し対応が困難であったことから、人員配置の修正と情報を一元化した総合窓口を設ける必要があること、③仮設テント内において、防護服を着脱する際、防疫従事者と防疫従事者支援チームが同じ防護服であったため識別しにくく、人員不足も重なり、適切な補助が受けられなかったことから、防疫従事者のサポート

体制の検討が必要であること、の3点が今後の課題となった。

#### 8. まとめ

今回の防疫演習で、担当業務及び防疫作業一連の流れに対する理解向上が得られた。また、リーダー主体かつ全員参加型の実践的な演習を行ったことから、危機意識が向上し、演習実施後もチーム内で作業内容を復習するとともに、現状で不明確な部分を確認するなど、主体性を持たせる効果も得られた。また、今回実施した演習をDVDにまとめ、非参加者への伝達を含めて今後の参考にしてもらえるよう、チームリーダーに配布した。

今後も、実践的な防疫演習を継続し、課題の把握とその解消に努めながら、体制強化に繋げていきたい。

#### 9. 参考文献

- 1) 阿部洋平：高病原性鳥インフルエンザ発生時初動対応強化にむけた取り組み，第58回宮城県家畜保健衛生業績発表会集録（2014）
- 2) 三浦達弥：地方支部一丸となった高病原性鳥インフルエンザの初動防疫体制強化に向けた取り組み，第61回宮城県家畜衛生業績発表会集録（2017）

## 9 めん羊飼養農場における捻転胃虫症の発生とその対策

北部家畜保健衛生所

山田侑希，福田純子

### 1 はじめに

捻転胃虫は、めん羊・山羊・牛等の反芻獣を宿主とし、第四胃粘膜に頭部を穿孔させ、吸血する。吸血量は1匹あたり1日0.05mlともいわれ、病原性は強い<sup>14)</sup>。そのため、宿主は貧血や栄養障害を呈し、それらに付随して、粘膜蒼白、被毛粗剛、下顎の浮腫(bottle jaw)、体重減少等を引き起こし、重度感染では死亡する<sup>5,8,10,11,14)</sup>。わが国では、春季～秋季に主にめん山羊に本虫を優勢種とする寄生性胃腸炎による死亡事故がしばしば発生している<sup>8,11)</sup>。

今回、管内のめん羊飼養農場で捻転胃虫症が発生し、対策を講じたので、その概要を報告する。

### 2 農場概要及び発生状況

#### (1) 農場概要

当農場は約3年前から飼養を開始し、平成28年4月21日時点でサフォーク種約80頭(繁殖雌40頭、繁殖雄5頭、育成・子・肥育35頭)を飼養していた(表1)。また、毎年、外部からの導入があり、近隣農場間での飼養めん羊の移動も確認された。

表1 飼養状況

| 畜舎 | 飼養形態 (■:放牧あり) |                   |            |
|----|---------------|-------------------|------------|
|    |               | H28年4月21日時点       | H28年5月下旬以降 |
| ①  | 単飼            | 分娩房               | 空          |
|    | 群飼            | ♀, ♂, 子(生後1か月齢まで) | ♀, ♂, 子    |
| ②  | 群飼            | ♀, 子(生後1～3か月齢)    | 出荷前飼い直し    |
| ③  | 単飼            | 育成・肥育・隔離          |            |

#### (2) 発生状況

平成28年3月、畜舎②の繁殖雌めん羊で活力低下、食欲不振、削瘦を呈し、重度削瘦を呈した3

頭を畜舎③に隔離するとともに、繁殖めん羊全頭にイベルメクチン製剤(I剤)皮膚投与を行っていたが、4月中旬に隔離した3頭中1頭が死亡、4月21日に2頭目が死亡したため、病性鑑定を実施した。

### 3 病性鑑定

#### (1) 材料

死亡めん羊1頭を剖検に供するとともに、重度削瘦を呈した1頭を含む同居めん羊4頭の血液、糞便及び鼻腔スワブを採材した。

#### (2) 方法

- 1) 病理組織学的検査:剖検後、採材した検査材料を定法に従い、10%中性緩衝ホルマリンで固定後、組織標本を作製し、ヘマトキシリン・エオジン(HE)染色を実施後、鏡検した。
- 2) 細菌学的検査:同居めん羊の血液、糞便及び鼻腔スワブについて、定法に従い、分離培養及び分離菌の同定を行った。
- 3) 寄生虫学的検査:定性検査(直接塗抹法、シヨ糖遠心浮遊法)を行い、虫卵が検出された検体については、定量検査(マックマスター法)及び同定検査(瓦培養法、ろ紙培養法)を実施した。
- 4) 血液検査、血液生化学的検査:全自動血球計数器及び生化学自動分析装置により測定した。
- 5) TSE 検査:ウエスタンブロット法及び免疫組織化学的検査を実施した。検査は国立研究開発法人農業・食品産業技術総合研究機構動物衛生研究部門に依頼した。

#### (3) 成績

##### 1) 死亡めん羊(図1)

死後変化により腹囲は膨満しており、削瘦は確認できなかった。外貌上、口唇周囲の腫脹を

認めたが、呼吸器症状や下痢を示す体表の汚れ等は認められなかった。体内には胸水・腹水の貯留を認めた。諸臓器においては、すでに死後変化が始まっていた。

第四胃内には血様内容物が貯留し、粘膜面に結節及び体長 3cm の線虫の寄生を認め、結節部位の病理組織学的検査では、粘膜固有層に化膿性肉芽腫を認めた。また、直腸便からは多数の線虫卵(110,400 EPG)を検出し、第四胃内の成虫及び虫卵を培養して得られた3期子虫(L3)の形態から、捻転胃虫と同定された。

なお、TSE 検査は陰性だった。

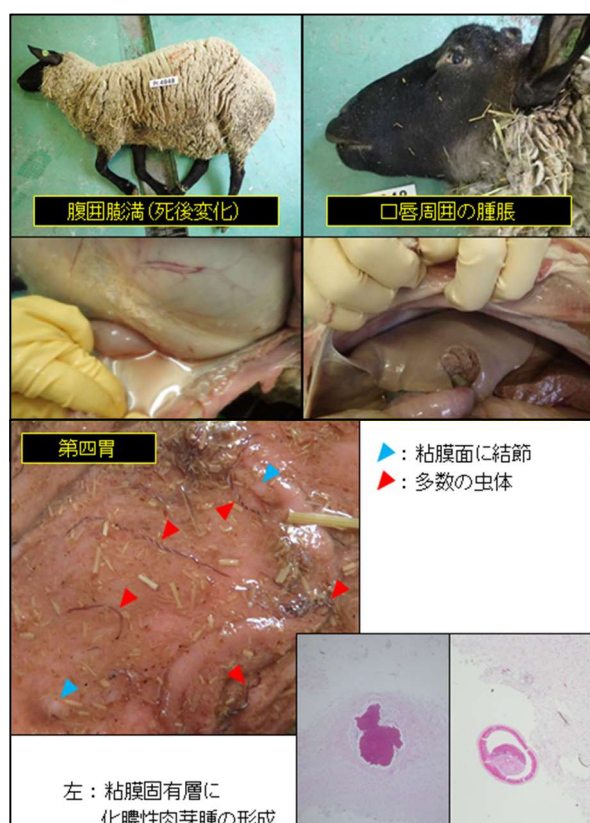


図1 死亡めん羊剖検所見

## 2)同居めん羊(表2)

4頭中2頭で重度貧血及び低栄養が確認され、この2頭からは多数の線虫卵を検出、培養後のL3の形態から、捻転胃虫と同定された。また、いずれの検体からも有意菌は分離されなかった。

なお、4頭中、消瘦を呈した1頭は採材4日後に死亡した。

表2 同居めん羊検査結果

| 項目                        | 参考値 <sup>※</sup> | 同居1    | 同居2  | 同居3   | 同居4(消瘦)              |
|---------------------------|------------------|--------|------|-------|----------------------|
| 畜舎                        | —                | ②      | ②    | ③     | ②⇒③移動・隔離             |
| WBC (10 <sup>3</sup> /μl) | 40~120           | 60     | 77   | 86    | 54                   |
| RBC (10 <sup>4</sup> /μl) | 900~1,500        | 306    | 920  | 701   | 189                  |
| HGB (g/dl)                | 9~15             | 2.7    | 9.3  | 6.8   | 1.9                  |
| HCT (%)                   | 27~45            | 9.4    | 29.0 | 21.4  | 6.6                  |
| TP (g/dl)                 | 6.0~7.9          | 4.0    | 6.2  | 5.8   | 3.9                  |
| ALB (g/dl)                | 2.4~3.0          | 1.3    | 2.5  | 2.3   | 1.4                  |
| BUN (mg/dl)               | 8~20             | 19.2   | 16.2 | 21.5  | 24.9                 |
| TCHO (mg/dl)              | 52~76            | 36     | 61   | 75    | 25                   |
| AST (U/L)                 | 60~280           | 62     | 108  | 71    | 98                   |
| γGTP (U/L)                | 33~55            | 84     | 79   | 98    | 100                  |
| 線虫卵 EPG                   | —                | 14,300 | 300  | 2,000 | 19,100<br>ほか鞭虫100EPG |

4日後に死亡

## 4 対策

以上より、本事例を捻転胃虫症と診断し、下記4点について対策を実施した。

### (1) 個体管理の徹底

初回立入時点で、すでに複数回投薬されており、過剰投与の可能性も考えられたこと、また、約半数の個体に耳標が付けられておらず、個体毎の投薬記録が曖昧だったことから、まずは耳標の付け直しを指導した。併せて、今後の投薬のために体重測定をするよう指導した。

### (2) 畜舎の洗浄・乾燥

敷料の小まめな交換や畜舎の洗浄により、環境中の虫体を物理的に減らすこと、さらに、洗浄後には十分に乾燥させることを指導した。

### (3) 駆虫プログラム(図2)

当農場では、I剤皮膚投与のみ行っていたが、捻転胃虫に対しては駆虫効果が乏しいとの報告<sup>12)</sup>もあることから、I剤皮下注射及びレバミゾール製剤(L剤)経口投与を併用することとした。これら駆虫薬はいずれも牛用として認可されたものであり、用量も牛用に準じ、繁殖全頭へ投与した。初回立入までに複数回I剤皮膚投与を行っていたことから、生体への負荷も考慮し、初回のI剤皮下注射は用量の約半量とし、虫卵数の多い1頭には追加でI剤皮下注射を実施した。L剤投与後は、虫卵数の推移から、主に腰麻痺対策へ切り替え、I剤皮膚投与のみを行い、秋に再度繁殖全頭へI剤皮下注射を行った。

## (4) モニタリング検査 (図 2)

初回の病性鑑定も含め、12月までに計7回実施した(検査①～⑦)。検査時期は、診断確定後の5月に現状把握のために1回行い、その後は、駆虫薬の投与時期をみて、その都度調整した。検査⑦は糞便検査(EPG)のみ行い、他6回は糞便検査及び血液検査(貧血、栄養状態、肝機能)を実施した。

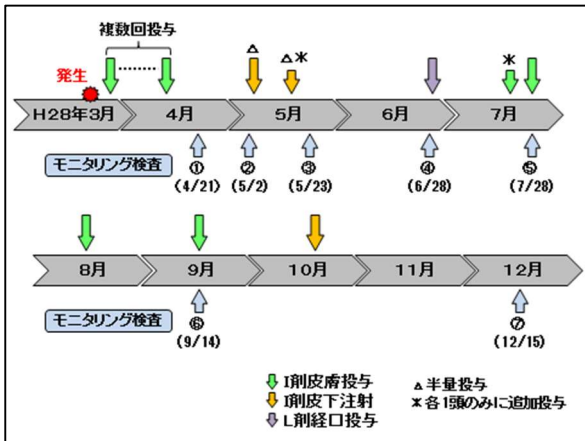


図2 駆虫プログラム及びモニタリング検査

## 5 モニタリング検査結果(図3)

検査②において、1頭で死亡めん羊の虫卵数を超える数値(24,400 EPG)を検出した。この1頭については、検査③の約1週間前に追加でI剤皮下注射を実施した。その後、虫卵数は400EPGまで激減した一方で、注射直後には一過性のBUNの低下(7.3mg/dl)、ASTの上昇(637U/l)を認めた。Ht値やTPについては、駆虫後の検査③時においても、参考値より低い値(それぞれ、22.9%、5.1g/dl)であった。また、この時点では、虫卵数は低いものの、Ht値またはA/G比が低い個体も複数頭確認された。

駆虫後、虫卵数は全頭低い値で推移し、新たな死亡はみられなかったが、検査⑥時に1頭で虫卵数の軽度増加(2,700EPG)を認めた。この1頭については、7月時点で軽度消瘦を呈していたため、検査⑤の約1週間前に追加でI剤皮膚投与を行っており、BUNが高い値(38.0mg/dl)を示し、A/G比は低い値(0.45)を示した。 $\gamma$ GTPは、I剤皮膚投与直後に高い値(243U/l)を示したほか、他めん羊に

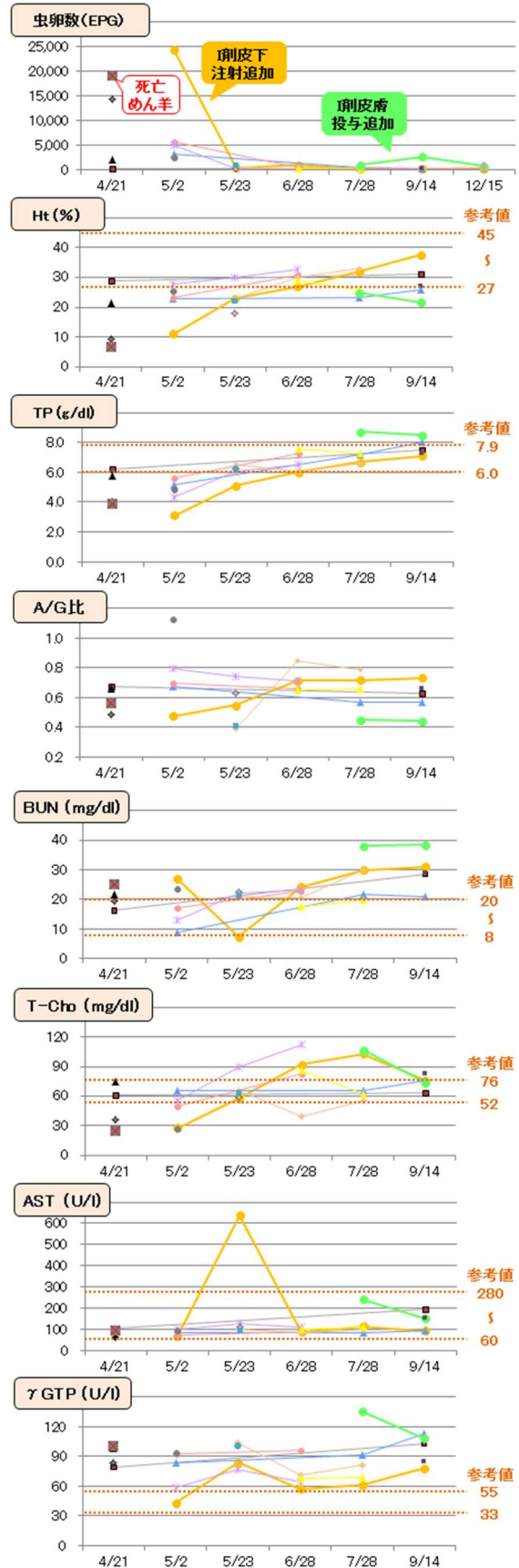


図3 モニタリング検査結果

においてもモニタリング検査期間を通じ、高めで推移していた。

## 6 まとめ及び考察

今回、春季に分娩後のめん羊が複数頭死亡したため、病性鑑定を実施したところ、死亡めん羊の第四胃内から多数の捻転胃虫の寄生が確認され、同居めん羊の糞便内からも多数の捻転胃虫卵が検出された。

捻転胃虫症では、下痢は認められず<sup>8,11)</sup>、吸血に伴う低蛋白血症に由来する下顎の浮腫<sup>2,5)</sup>が特徴的であり、本事例においても同様の所見が認められた。また、他細菌や寄生虫は検出されず、本虫単独によるものであると考えられた。

捻転胃虫の特徴として、感染子虫の冬季の発育停止(hypobiosis)及び春季の虫卵密度と感染虫体数の増加(spring rise)が挙げられ<sup>6,13,14)</sup>、分娩前2週間から分娩後8週間のリスクが高いとされている<sup>5,14)</sup>。当農場では、発生前年にも外部からの導入を行っており、発生前の駆虫薬の使用状況は、夏季の腰麻痺対策としてのI剤皮膚投与のみであったことから、導入めん羊により農場内に持ち込まれ、秋季の不十分な駆虫及び分娩が重なり、発症したものと考えられた。

本事例においては、個体管理の徹底や畜舎の乾燥等、飼養管理による対策に加え、駆虫薬を変更し、駆虫後には、モニタリング検査を実施した。その結果、虫卵数は速やかに減少し、駆虫効果を確認することができた。一方で、貧血や低栄養等の症状の改善には時間を要したことから、駆虫後の飼養管理の重要性も示唆された。また、駆虫後、虫卵数は低いものの、貧血や炎症を疑う個体が複数認められたことから、捻転胃虫が農場内に広くまん延していたと考えられた。

I剤皮下注射直後には、一過性のAST上昇・BUN低下が認められ、I剤皮膚投与直後にはγGTPが高い値を示した。I剤については、肝臓及び脂肪での残留が多いとの報告もあり<sup>15)</sup>、投与時には肝機能への負荷を考慮すべきであることが示唆された。

9月の検査で虫卵数の軽度増加が認められた1頭については、7月時点で軽度消瘦を呈し、BUNが高い値を、A/G比は低い値を示していた。捻転胃虫のprepatent periodが18～21日であること<sup>8)</sup>を考慮すると、7月時点で本虫が再感染、第四胃内で吸血しており、その後の検査で産卵された虫卵が検出されたものと考えられた。このように、モニタリング検査で糞便検査だけでなく、血液検査も併せて実施することにより、虫卵数増加前の状態悪化を把握することが可能であり、これは、今後、対策を継続する上で、参考になるものと思われた。

今回、対策後は新たな死亡はみられなかったが、依然として線虫卵が検出されていることから、今後も継続的な対策が必要であり、本症コントロールのためには放牧地対策や駆虫プログラムについても検討しなければならない。

現在、飼養めん羊の健康管理や畜舎対策を行っているが、放牧地対策として有効とされる草地更新や牧野のローテーション<sup>2,5,6)</sup>を行うためには、区分けのための柵の設置等が必要であり、対策を講じるまでに時間を要する。

そのため、当面は定期的な駆虫が必要と考えられるが、その際には、肝臓への負荷を考慮しつつ、再発を防止するための適切な投薬間隔を見極める必要がある。また、本症の発生に気温や降水量といった気候条件も関与しているとの報告<sup>1,7)</sup>もみられることから、これらも考慮した駆虫プログラムを検討していく必要がある。さらに、駆虫薬に関しては、本虫の薬剤耐性獲得といった問題も危惧される<sup>3,4,9)</sup>。この点に関しては、飼養者も憂慮しており、駆虫効果を維持するための新たな戦略である「レフュージア」<sup>2,5)</sup>についても検討している。

今回使用した駆虫薬は牛用として認可されているものであるため、食肉の安全確保に向け、休業期間も考慮していかなければならない。当該農場では、東日本大震災に伴う原発事故による畜産物への放射性物質残留問題に対応するため、出荷前に放牧せず、舎飼いする「飼い直し期間」を設けている。I剤の牛での休業期間は37～40日、L剤で7日であり、I剤については、投与約1か月後に

は、筋肉中の残留濃度が基準値以下となるとの報告もあることから<sup>15)</sup>、飼い直し期間の1～3か月間は駆虫薬を使用しないことで、食肉の安全を確保できると考えられる。

未だ検討すべき課題は多く、農場の完全な清浄化は達成困難であるが、複数の対策を併用することにより、本症のコントロールを目指している。まずはすぐに実行可能な対策から取り組み、当面の目標として、分娩後の3～5月の再発防止に努めたい。

## 7 参考文献

- 1) 福井豊:めん羊の糞便内捻転胃虫虫卵数と血球容積(PCV)値の季節的変化及び2種の薬剤による駆除効果. 季刊誌シーブジャパン, 1993年7月号(7号), 公益社団法人畜産技術協会(1993).
- 2) 福本奈津子:めん羊と寄生虫(後編). 季刊誌シーブジャパン, 2016年10月号(100号), 公益社団法人畜産技術協会(2016).
- 3) García, C., Sprenger, L. K., Ortiz, E. B., & Molento, M. B. : First report of multiple anthelmintic resistance in nematodes of sheep in Colombia. Anais da Academia Brasileira de Ciências, 88(1), 397-402 (2016).
- 4) Maroto, R., Jiménez, A. E., Romero, J. J., et al. : First report of anthelmintic resistance in gastrointestinal nematodes of sheep from Costa Rica. Veterinary medicine international, 2011(2011).
- 5) Peregrine, A., Fernandez, S., Kelton, D., et al. : Handbook for the Control of Internal Parasites of Sheep. University of Guelph (2009).
- 6) Pugh, David G., and N. Nickie Baird. : Sheep & goat medicine. Elsevier Health Sciences (2012).
- 7) 李英輝, 小野寺由香:管内めん羊飼養農場における消化管内寄生虫症対策. 第61回秋田県獣医畜産技術研究発表会集録, 15-23(2016).
- 8) 新版獣医寄生虫学編集委員会 編:新版獣医寄生虫学(産業動物編). 128-148, 文永堂出版, 東京都(1995).
- 9) Silvestre, A., Leignel, V., Berrag, B., et al. : Sheep and goat nematode resistance to anthelmintics: pro and cons among breeding management factors. Veterinary Reserch, 33(5), 465-480 (2002)
- 10) 社団法人日本緬羊協会:めん羊・山羊の重要疾病解説書(内・外寄生虫症 腰麻痺 腐蹄症), 日本緬羊協会(1999).
- 11) 平詔亨, 藤崎幸蔵, 安藤義路:家畜臨床寄生虫アトラス. 68-69, チクサン出版社, 東京(1995).
- 12) 柄武志, 中川和克, 川口めぐみ, ほか:めん羊牧場における捻転胃虫症の被害と駆虫対策の検討. 日獣会誌 59, 607-611(2006).
- 13) 内田明彦, 野上貞雄, 黄鴻堅:改訂第2版図説獣医寄生虫学. 96-97, メディカグローブ, 青森県(2008).
- 14) Whittier, W. D., Zajac, A., & Umberger, S. H. : Control of Internal Parasites in Sheep. Virginia Cooperative Extension (2009).
- 15) 薬事・食品衛生審議会食品衛生分科会農薬・医薬品部会報告について(平成19年3月19日付け)

## 10 結膜浮腫を主徴とした非白血性牛白血病の症例における LDH アイソザ

### イムの有用性の検討

仙台家畜保健衛生所

竹田百合子，板橋知子，高森広典，高橋幸治

#### 1 はじめに

地方病性牛白血病（EBL）は牛白血病ウイルス（BLV）の感染が原因とされ<sup>7)</sup>，本県における EBL の生前診断は，臨床症状，BLV 抗体検査，血液検査等から総合的に判断している。血液学的診断基準のひとつとして，リンパ球数の増加による EC の鍵<sup>11)</sup>があるが，その増加がない非白血性牛白血病の症例も以前から報告されている<sup>5)</sup>。臨床所見や血液所見に乏しい EBL の生前診断は困難で，発症マーカーとしてチミジンキナーゼや乳酸脱水酵素（Lactate dehydrogenase : LDH）の活用が検討されてきた<sup>4) 6) 9)</sup>。

今回，臨床症状が結膜浮腫のみで，リンパ節の腫大等の典型的な所見がない非白血性の症例に遭遇し，経過観察を実施した。EBL 診断における LDH の有用性を検討するため，本症例および本県で EBL と生前診断した牛の総 LDH および LDH アイソザイムについて検証したので報告する。

#### 2 症例の概要

当該農場は成牛 9 頭，育成牛および子牛 7 頭を飼養する黒毛和種繁殖経営で，当該牛は黒毛和種，8 歳（平成 20 年 2 月 2 日生）雌である。平成 28 年 4 月上旬より左眼結膜が充血，5 月 2 日（第 1 病日）に秋期結膜炎に類似した結膜浮腫の稟告で獣医師の診察をうけた（図 1）。疼痛や熱感はなく，洗浄や抗生物質，デキサメタゾン等で治療したが，改善されなかった。5 月 21 日（第 20 病日）分娩，5 月 30 日（第 29 病日）には結膜浮腫が進行し，軽度消瘦してきたため，牛白血病を疑い検査を実施した。

5 月 30 日（第 29 病日）の血液検査では，白血球数は  $6,500/\mu\text{l}$ ，リンパ球数  $2,470/\mu\text{l}$ （白血球百分比：好中球 29.5%，リンパ球 38%，好酸球 32.5%），異型リンパ球の割合はリンパ球全体の 3.9%を呈した。BLV 抗原および抗体は陽性で，総 LDH は  $3,072\text{U/L}$  と増加していたが，その他の生化学的検査項目に異常はなかった（TP:6.7，Alb:3.1g/dl，BUN:8.6，T-Cho:98mg/dl，AST:98， $\gamma\text{-GTP}$ :17，CPK:76U/L）。食欲不振や体表リンパ節の腫大，骨盤腔内腫瘍などの典型的な所見がなく，血液所見に乏しいことから，EBL の確定診断に至らなかった。このため，6 月 2 日（第 32 病日）に左目の結膜の浮腫部分を切除し，その後約 1 ヶ月間経過観察を実施後，7 月 5 日（第 65 病日）に鑑定殺に供した。



図1: 結膜浮腫の症状

#### 3 材料と方法

経過観察では，当該牛 1 頭の血液（全血，EDTA 血）を 1 ヶ月間で 5 回採取し，同時に臨床症状を確認した。（①平成 28 年 6 月 2 日（切除日），②6 月 7 日，③6 月 17 日，④6 月 28 日，⑤7 月 5 日（鑑定殺））

## (1) 生化学的検査

1) 血液検査：全血について、血球計数は全自動血球計数器 MEK-6450 で測定し、血液塗抹はヘマカラーまたはメイギムザ染色を実施した。

2) 血液生化学性状：血清について富士ドライケム 3000 で測定した。

3) LDH アイソザイム：血清についてタイタン LDH アイソザイムキットで測定した。

(2) 病理学的検査：結膜の切除した部分の大きさは約 7×4cm で、割面白色、腫瘤様で、スタンブ標本（ヘマカラー染色）では大小不同のリンパ球様の細胞を多数認めた。それを 10% 中性緩衝ホルマリン固定、パラフィン包埋し、ヘマトキシリン・エオジン（H・E）染色標本を作製し鏡検した。免疫組織学的染色（免疫染色）は 1 次抗体 CD3,CD79a,CD68 を用いて実施した。

生体 1 頭については、沈静および麻酔後、剖検、H・E 染色を実施した。免疫染色は心臓について実施した。

## 4 結果

削瘦は徐々に進行し、6 月 27 日（第 57 病日）から臨床症状が悪化し、軟便、頸静脈怒張、呼吸促迫、結膜の切除部分の再腫張を認めた。

## (1) 生化学的検査（表 1）

- 血液検査：白血球数は  $7,840 \pm 1,501$ （平均値 ± 標準偏差）/ $\mu\text{l}$ 、リンパ球数は  $4,065 \pm 1,155$  / $\mu\text{l}$  で推移し、EC の鍵が陽性になることはなかった。異型リンパ球の割合は  $24.2 \pm 14.6\%$  で次第に増加した。
- 血液生化学性状：切除後も LDH は  $4,075 \pm 900 \text{ U/L}$  と高値で推移した。AST, CPK,  $\gamma$  GTP は臨床症状の悪化（第 57 病日）以降に上昇した。
- LDH アイソザイム：分画の割合は平均 LDH1： $33.8 \pm 2.9\%$ 、LDH2： $39.7 \pm 0.9\%$ 、LDH3： $21.0 \pm 2.9\%$ 、LDH4： $4.2 \pm 0.8\%$ 、LDH5：

$1.2 \pm 0.4\%$  であった。LDH2 と 3 分画の合計は  $60.8 \pm 2.5\%$  で推移した。（表 2）

表1:血液検査結果

|                                     | 切除前   | 切除後   |       |       |       |       | 切除後<br>平均<br>±標準偏差 |
|-------------------------------------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|--------------------|
|                                     | 5/30  | ①6/2  | ②6/7  | ③6/17 | ④6/28 | ⑤7/2  |                    |
| 病日                                  | 29    | 32    | 37    | 47    | 58    | 65    |                    |
| 白血球数<br>( $\times / \mu\text{l}$ )  | 6,500 | 9,600 | 6,100 | 7,900 | 6,600 | 9,000 | $7,840 \pm 1,501$  |
| リンパ球数<br>( $\times / \mu\text{l}$ ) | 2,470 | 5,568 | 3,172 | 3,081 | 3,465 | 5,040 | $4,065 \pm 1,155$  |
| 異型リンパ<br>球割合(%)                     | 3.9   | 10.3  | 15.4  | 15.4  | 39.0  | 41.1  | $24.2 \pm 14.6$    |
| LDH(U/L)                            | 3,072 | 3,220 | 3,295 | 3,840 | 4,790 | 5,230 | $4,075 \pm 900$    |
| AST(U/L)                            | 98    | 109   | 92    | 116   | 154   | 274   | $149 \pm 74$       |
| $\gamma$ GTP(U/L)                   | 17    | 23    | 23    | 25    | 424   | 613   | $222 \pm 279$      |
| CPK(U/L)                            | 76    | 117   | 113   | 109   | 110   | 214   | $133 \pm 46$       |

↑臨床症状の悪化

表2:LDHアイソザイム検査結果

|               | 切除前   | 切除後   |       |       |       |       | 切除後<br>平均<br>±標準偏差 |
|---------------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|--------------------|
|               | 5/30  | ①6/2  | ②6/7  | ③6/17 | ④6/28 | ⑤7/2  |                    |
| 病日            | 29    | 32    | 37    | 47    | 58    | 65    |                    |
| LDH(U/L)      | 3,072 | 3,220 | 3,295 | 3,840 | 4,790 | 5,230 | $4,075 \pm 900$    |
| LDH1(%)       | 35.8  | 32.2  | 34.5  | 29.9  | 35.1  | 37.5  | $33.8 \pm 2.9$     |
| LDH2(%)       | 40.3  | 39.5  | 39.8  | 38.8  | 41.3  | 39.3  | $39.7 \pm 0.9$     |
| LDH3(%)       | 19.4  | 22.9  | 20.8  | 24.9  | 18.5  | 18.0  | $21.0 \pm 2.9$     |
| LDH4(%)       | 3.9   | 4.6   | 3.1   | 5.3   | 3.9   | 3.9   | $4.2 \pm 0.8$      |
| LDH5(%)       | 0.6   | 0.8   | 1.8   | 1.1   | 1.2   | 1.3   | $1.2 \pm 0.4$      |
| LDH2+3<br>(%) | 59.7  | 62.4  | 60.6  | 63.7  | 59.8  | 57.3  | $60.8 \pm 2.5$     |

↑臨床症状の悪化

## (2) 病理学的検査

外貌は、削瘦、左右の眼球突出、頬部の腫脹および頸静脈の怒張を認めた。剖検では、特に心臓周囲の腫瘍化が著しく、心臓や心膜に腫瘍が浸潤し、肺門リンパ節が  $20 \times 6 \text{ cm}$  大に腫大していた。その他、全身に腫瘍（腎臓の白色結節、膀胱に野球ボール大の腫瘍、子宮頸管に腫瘍）や腫瘍の浸潤（咬筋や眼球周囲の筋肉、第 2～4 胃壁）、複数のリンパ節の腫大を認めた（図 2）。これらはほとんどが生前触知困難な位置に分布していた。病理組織学的検査では全身リンパ節と臓器にリンパ芽球様の腫瘍細胞が浸潤し、免疫染色で CD79a が弱陽性であったため、B 細胞性リンパ腫と判明した。結膜の切除部分も同様の結果であった。このことから、本症例を EBL と診断した。

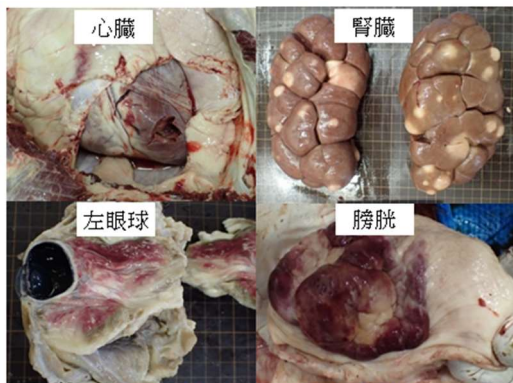


図2:全身の腫瘍病変

## 5 本県の EBL 診断牛における LDH の検証

EBL 診断における LDH の有用性を検討するため、本県で EBL と生前診断した牛の総 LDH および LDH アイソザイムについて検証した。

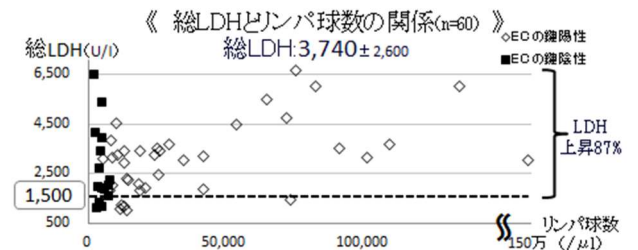
### (1) 総 LDH (図 3)

平成 26～28 年度の EBL 診断牛 60 頭 (黒毛和種 33 頭, ホルスタイン種 27 頭) の血清総 LDH を調べた。60 頭は食欲不振などの一般症状の悪化が 78% (47/60 頭), リンパ節の腫大が 92% (55/60 頭) で認め, リンパ球全体に占める異型リンパ球割合が平均 43.8%を示し, 臨床所見と血液所見から EBL と診断した症例である。リンパ球数の増加を認めた症例 (EC の鍵陽性) は 72% (43/60 頭), 認めなかった非白血性の症例 (EC の鍵陰性または擬陽性) は 28% (17/60 頭) であった。総 LDH は 956～14,190U/L (平均 3,740 ± 2,600), リンパ球数は 1,820～1,498,464/μl (平均 59,755 ± 198,143) で, LDH とリンパ球数に相関は認めなかった。総 LDH は 87% (52/60 頭) の症例が 1,500U/L 以上を示し, 基準値 (692～1,445U/L)<sup>3)</sup> より上昇していた。

### (2) LDH アイソザイム (図 3)

LDH アイソザイムは, 前述の EBL 牛のうち, 30 頭について実施した。対照牛として成牛 10 頭 (黒毛和種: ヨーネ病患畜 5 頭, 分娩後 1 ヶ月以内の母牛 5 頭) を用いた。EBL 牛の総 LDH (平均 3,726 ± 1,904U/L) は, 対照牛 (平均 1,120 ± 228U/L) に対し, 有意に高い値を示した (t

検定:  $P < 0.01$  で有意差あり)。また, 対照牛は LDH 1 分画 (平均 48.8 ± 4.4%) が最も多い割合を示したのに対し, EBL 牛は対照牛と比較し LDH2 (平均 34.9 ± 3.4%) と LDH3 分画 (平均 20.7 ± 4.7%) が有意に増加していた。



《 LDHアイソザイム分画 》 \* $p < 0.01$ で有意差あり

|            | 総LDH* (U/L)<br>平均±標準偏差 | LDHアイソザイム分画(%) |       |       |      |      |
|------------|------------------------|----------------|-------|-------|------|------|
|            |                        | LDH1*          | LDH2* | LDH3* | LDH4 | LDH5 |
| EBL (n=30) | 3,726 ± 1,904          | 34.9           | 34.9  | 20.7  | 6.0  | 3.5  |
| 対照牛 (n=10) | 1,120 ± 228            | 48.8           | 27.1  | 14.5  | 5.4  | 4.2  |

図3:EBL診断牛の総LDHとLDHアイソザイム

## 6 まとめ及び考察

本症例は当初, 秋期結膜炎に類似した結膜浮腫を認め, 典型的な臨床所見や血液所見を示さない EBL であったが, LDH は高値を示し, 結膜の切除後も低下せず平均 4,075U/L で推移した。うち LDH2 と 3 分画が高く, その和は平均 60.8%であった。EBL 牛では総 LDH や LDH2, LDH3 活性値が上昇し<sup>2) 12)</sup>, リンパ球増多症や体表リンパ節等の腫大などの所見がない非定型 EBL においても 78.9%が基準値 (1,445U/L) を超えるとの報告がある<sup>4)</sup>。本県で EBL と生前診断した牛も, 非白血性の症例が 28%存在し, リンパ球数の増加に係らず 87%の症例で総 LDH が上昇していた。また EBL 診断牛の LDH アイソザイムは対照牛より LDH2 と LDH3 分画が有意に高かった。このため, 本症例の LDH の高値は切除部位以外の腫瘍病変があると推察し, 剖検の結果多数の腫瘍を確認した。以上の結果から, 総 LDH および LDH アイソザイムが本症例の EBL 診断の一助に有用であったことが示唆された。

加えて今回は, LDH と他の血清酵素の動態も確認した。LDH の上昇は EBL 以外に, 骨格筋

や心臓、肝臓などの各種疾患でも報告されているが<sup>10)</sup>、本症例はAST等の血清酵素の異常は当初認めなかった。しかし第57病日に頸静脈の怒張や呼吸速迫の症状を認め、その後にAST、 $\gamma$  GTP、CPKが上昇した。これらは心臓の著しい腫瘍化による循環障害および肝障害によるものと判明した。ヒトでは肝疾患との類症鑑別にLDH/AST比も活用されている<sup>10)</sup>。他疾病との鑑別のため、AST等の血清酵素を併用すべきと思われた。

牛白血病の発症マーカーとして、血清チミジンキナーゼが高い感度と特異性を示すことが報告されているが<sup>6) 9)</sup>、測定には特殊なキットを必要とする。それに対しLDHは広く利用されている検査項目で、活用しやすい。三浦らはLDHの感度と特異度を調べ、EBLの発症マーカーとしての有用性を報告した<sup>4)</sup>。しかし同時に他の腫瘍の鑑別診断においては特異性に乏しいことも報告しており、実際に子牛型<sup>1)</sup>や皮膚型<sup>8)</sup>牛白血病でもLDHは上昇している。類症鑑別には様々な疾患のLDHの検討が必要であり、平成28年度診断予防技術向上対策事業(EBL)で、調査が進められている。今後もLDHを活用したEBL診断の精度向上のため、本県でも症例を積み重ねていく。

## 7 謝辞

検査にご協力いただいた、あさひ獣医科医院 武蔵昌文先生に深謝します。

## 8 引用文献

- 1) 阿部薫, et al. :起立不能を呈したホルスタイン種育成牛にみられた子牛型牛白血病の1症例. 北海道獣医師会雑誌 56.4 128-130(2012).
- 2) Ishihara, K., Ohtani, T., Kitagawa, H., and Onuma, M. :Clinical studies on bovine leukemia in Japanese Black cattle. III. Serum lactate dehydrogenase activity and its isoenzyme pattern in groups of cattle affected by bovine leukemia and with negative or positive antibodies against bovine

leukemia virus. Jpn. J. Vet. Sci.,42, 289-295 (1980).

- 3) 川村清市:臨床検査項目の基準範囲, 獣医内科学大動物編, 日本獣医内科学アカデミー編, 339-344.文永堂出版, (2011)
- 4) 三浦沙織 et al. : 地方病性牛白血病発症マーカーとしての乳酸脱水素酵素活性の評価. 産業動物臨床医学雑誌.6: 149-153 (2016)
- 5) Ohshima, K., et al. :Pathological studies on aleukemic case of bovine leukosis.Jpn. J. Vet. S.42.3, 297-309 (1980).
- 6) Sakamoto,L.,et al.:Serum thymidine kinase activity as a useful marker for bovine leucosis.J Vet Diagn Invest,21,871-784(2009).
- 7) 清水悠紀臣, 鹿江雅光, 田淵清ほか: 獣医伝染病学第5版.近代出版.101-103 (1999).
- 8) 高井光, et al. :皮膚型牛白血病の1例. 日本獣医師会雑誌. 49.7: 435-438 (1996) .
- 9) Tawfeeq,MM, et al. :Utility of serum thymidine kinase activity measurements for cases of bovine leukosis with difficult clinical diagnoses. J Vet Med Sci, 75(9)1167-1172 (2013).
- 10) 臼井和哉, 友田勇ほか: 獣医学臨床シリーズ 臨床血液化学検査 I 肝機能検査と血清酵素.学窓社.163-193 (1987)
- 11) 安田純夫, 村上大蔵: 新版獣医内科学.文永堂出版,620 (1988) .
- 12) Yasutomi Y et al, : Early diagnosis of enzootic bovine leukosis. Jpn. J. Vet. Sci 49.(6) ,957-963(1987).

## 11 C 群ロタウイルスによる搾乳牛の下痢症と県内浸潤状況

仙台家畜保健衛生所

高森広典，竹田百合子，松尾賢吾，高橋幸治

### 1 はじめに

搾乳牛の下痢症は，乳量損失等により経済的損失が大きい。国内における成牛の下痢症は，サルモネラ症，牛コロナウイルス（BCV）病，A 群ロタウイルス（RVA）病，B 群ロタウイルス（RVB）病，C 群ロタウイルス（RVC）病及び牛トロウイルス（BToV）病が多数を占めている<sup>2)</sup>。なかでも RVC による下痢症は，国内でも数例が報告されているが<sup>2-5)</sup>，本県における浸潤状況や発生の実態は不明である。今年度，県内で RVC による搾乳牛の下痢症が発生したので，その概要を報告するとともに，本県における RVC による下痢症の発生実態を解明するため，RVC の浸潤状況及び下痢症の病性鑑定における RVC 遺伝子の検出状況を調査したので報告する。

### 2 材料及び方法

#### 1) 発生農場の概要

2016 年 5 月 13 日，ホルスタイン種 17 頭を飼養する酪農場で，発熱(39～41℃)及び水様性下痢を示す搾乳牛が 3 頭確認された。当該農場では，下痢症が発生する直前にカビの生えた粗飼料を給与していたことから，当該飼料の給与中止，補液，生菌剤投与等の処置を行ったが，改善が認められず，第 4 病日（5 月 16 日）に病性鑑定を実施した。発症牛の発症期間は，5～8 日で，第 8 病日(5 月 20 日)には全ての発症牛が治癒した。1 日当たりのバルク乳量は，初診日に 51%まで著減し（352 kg→178 kg），回復までに 10 日間を要した。損失乳量は，合計で 1,150kg にのぼり，乳量の損失額は 115,000 円と推算された（1,150 kg×100 円/kg=115,000 円）。発症牛は，1 頭に心内膜炎の既往があったが，その他

の牛では確認されなかった。当該農場では，全ての飼養牛に下痢 5 種混合不活化ワクチンを接種していなかった。

#### 2) 病性鑑定

##### ①材料

搾乳牛 6 頭（重度発症 3 頭，軽症 1 頭及び未発症 2 頭）の糞便及びペア血清 5 頭 10 検体（第 4 病日（5 月 16 日）及び 6 月 2 日に採材）を検査に供した。

##### ②遺伝子検査

10%糞便乳剤から，市販キット（QIAamp Viral RNA Mini kit, QIAGEN）を用いて RNA を抽出し，RVA，RVB，RVC，BCV 及び BToV について市販キット（One Step RT-PCR Kit, QIAGEN）を用いて RT-PCR を実施した<sup>1,7)</sup>。また，牛ウイルス性下痢ウイルス（BVDV）について市販キット（PrimeScript One Step RT-PCR kit ver. 2.0，タカラバイオ（株））を用いて RT-PCR を実施した<sup>8)</sup>。

##### ③遺伝子解析及びウイルス分離

検出された RVC 遺伝子を用いて，VP7 及び VP4 領域の増幅を行い，ダイレクトシーケンシング法で塩基配列を決定した。得られた塩基配列を既報の RVC 株の塩基配列と比較し，分子系統樹を作製した。RVC の分離は，RVC 遺伝子が検出された検体をサル胎児腎臓由来株化（MA104）細胞に接種し，37℃で回転培養を行い，細胞変性効果（CPE）の出現を指標に 4 代継代した。

##### ④抗体検査

ペア血清について，RVC Shintoku 株を用いた間接蛍光抗体法（IFA）及び BCV Kakegawa 株並

びに BToV Aichi2004 株を用いた中和試験を実施した。

#### ⑤細菌学的検査

糞便検体について、常法により、下痢原性細菌の分離検査を実施した。また、第4病日に採材した血清について、市販キット（ヨーネライザ・スクリーニング KS, 共立製薬株式会社）を用いてヨーネ病 ELISA 抗体検査を実施した。

#### 3) 浸潤状況調査

2015～2016 年度にかけて県内4地域(大河原, 仙台, 北部, 東部) から採材した乳用牛血清 40 酪農場 200 検体（各地域 10 酪農場 50 検体）を材料として、RVC Shintoku 株を用いた IFA により RVC 抗体の保有状況を調査した。

#### 4) 遡及調査

2008～2016 年度にかけて牛下痢症の病性鑑定を実施した51件210検体の糞便について下痢原性ウイルス遺伝子の検出状況を調査した。

### 3 検査成績

#### 1) 病性鑑定

遺伝子検査及び抗体検査の結果を表1に示した。遺伝子検査では、6頭全ての糞便から RVC 遺伝子が検出された。その他のウイルス遺伝子は検出されなかった。抗体検査では、5頭全てに RVC に対する抗体価の有意な上昇が確認された。また、1頭は BToV に対する抗体価の有意な上昇が確認された。BCV 及び BToV の抗体価は、第4病日の時点で 512～2048 倍と高値を示した。下痢原性細菌は分離されず、ヨーネ病 ELISA 抗体検査は陰性であった。RVC 遺伝子が検出された検体から RVC は分離できなかった。

当該ウイルス株の VP4 及び VP7 遺伝子の塩基配列を解析し、既報の他動物由来 RVC 株のそれぞれの塩基配列と比較した結果、本ウイルス遺伝子は、ヒト及びブタ由来 RVC 株とは遺伝学的に区別され、また、国内のウシ RVC 株で構成される P3 (VP4 遺伝子型) 及び G2 (VP7 遺伝子

型) クラスターに分類された(図 1, 2)。

表1 病性鑑定 結果

#### ● 遺伝子検査

| 牛No. | 症状  | RVA | RVB | RVC | BCV | BToV | BVDV |
|------|-----|-----|-----|-----|-----|------|------|
| 5    | 未発症 | -   | -   | +   | -   | -    | -    |
| 9    | 軽度  | -   | -   | +   | -   | -    | -    |
| 11   | 未発症 | -   | -   | +   | -   | -    | -    |
| 12   | 重度  | -   | -   | +   | -   | -    | -    |
| 15   | 重度  | -   | -   | +   | -   | -    | -    |
| 16   | 重度  | -   | -   | +   | -   | -    | -    |

#### ● 抗体検査

| 牛No. | RVC  |       | BCV  |      | BToV |       |
|------|------|-------|------|------|------|-------|
|      | 5/16 | 6/2   | 5/16 | 6/2  | 5/16 | 6/2   |
| 5    | 80   | 1280≤ | 1024 | 1024 | 512  | 1024  |
| 9    | 80   | 640   | 1024 | 2048 | 512  | 512   |
| 12   | 10   | 1280≤ | 1024 | 1024 | 2048 | 512   |
| 15   | 40   | 1280≤ | 2048 | 512  | 1024 | 4098≤ |
| 16   | 10   | 1280≤ | 1024 | 1024 | 512  | 512   |

#### 2) 浸潤状況調査

県全体の対象農場における RVC に対する抗体保有率は、農場別で 85% (34/40)、個体別で 45% (90/200) であり、抗体を保有していない農場は、6 農場のみであった(表 2)。大河原地域では他の地域と比べて、個体別抗体保有率が 56%, GM 値が 20.0 倍と比較的高値を示したが、地域間及び年齢差による顕著な傾向は認められなかった。抗体を保有していた個体の抗体価は、90 検体中 54 検体が 40～80 倍であったが、2 検体が 640 倍と高い抗体価を示し、本事例の発生約 3 週間後に採材された検体と同程度のレベルであった(表 3)。

#### 3) 遡及調査

牛下痢症の病性鑑定事例 51 件のうち、下痢原性ウイルス遺伝子の単独検出事例は 16 件 (BCV: 10 件, GAR: 4 件, GCR: 1 件, BToV: 1 件)、複数検出事例は 5 件 (BCV と GAR: 4 件, BCV と GCR: 1 件)、非検出事例は 30 件であった。BCV の検出事例は、単独検出事例と複数検出事例合わせて 15 件であったが、RVC の検出事例は 2 件のみであった。

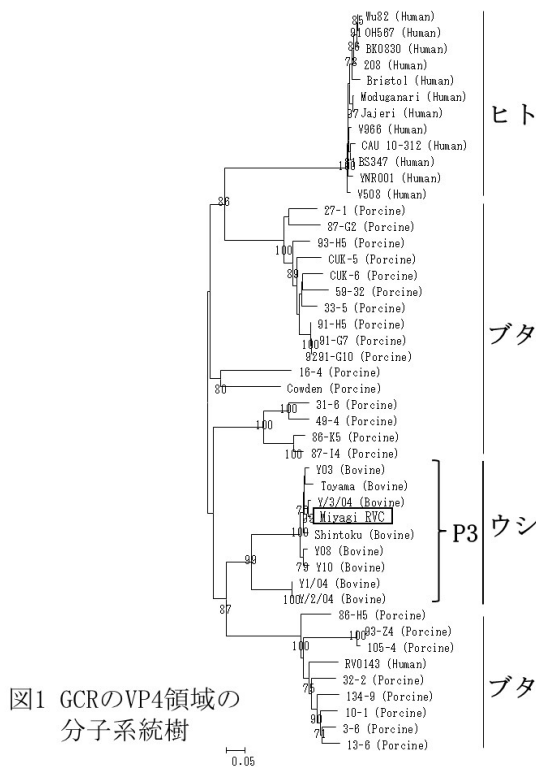


図1 GCRのVP4領域の分子系統樹

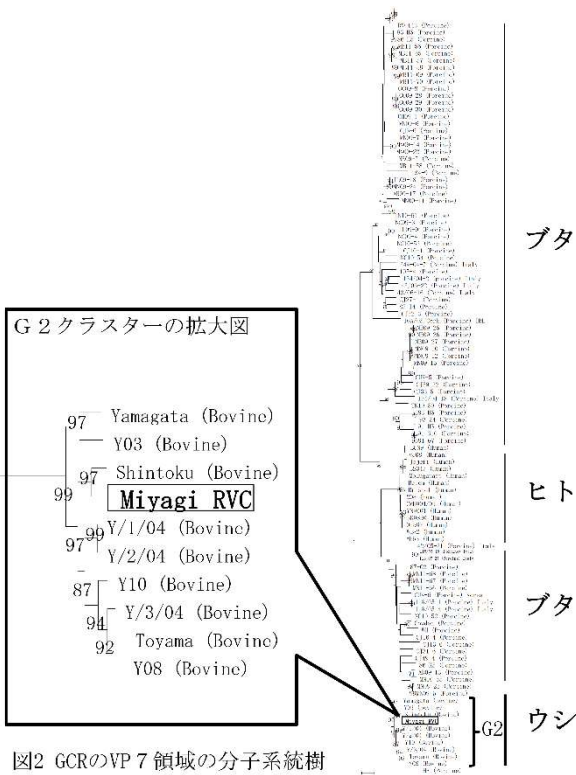


図2 GCRのVP7領域の分子系統樹

表2 浸潤状況調査 結果

| ● 地域別 | 抗体保有率                     |                           | GM値  |
|-------|---------------------------|---------------------------|------|
|       | 農場別抗体保有率<br>(陽性農場数/検査農場数) | 個体別抗体保有率<br>(陽性検体数/検査検体数) |      |
| 大河原   | 80% ( 8/10)               | 56% (28/ 50)              | 20.0 |
| 仙台    | 80% ( 8/10)               | 40% (20/ 50)              | 12.7 |
| 北部    | 80% ( 8/10)               | 42% (21/ 50)              | 16.0 |
| 東部    | 100% (10/10)              | 42% (21/ 50)              | 14.5 |
| 県全体   | 85% (34/40)               | 45% (90/200)              | 15.6 |

| ● 年齢別 | 抗体保有率<br>(陽性検体数/検査検体数) | GM値  |
|-------|------------------------|------|
| 2歳以下  | 39% (25/64)            | 13.7 |
| 3歳    | 50% (25/50)            | 17.7 |
| 4歳    | 42% (12/29)            | 14.3 |
| 5歳以上  | 49% (28/57)            | 14.9 |

表3 浸潤状況調査におけるRVCの抗体価の分布

|              | 各抗体価を示した検体数 |     |     |     |     |      |      |              |
|--------------|-------------|-----|-----|-----|-----|------|------|--------------|
|              | 10倍未満       | 10倍 | 20倍 | 40倍 | 80倍 | 160倍 | 320倍 | 640倍 1280倍以上 |
| 浸潤調査 (n=200) | 110         | 4   | 12  | 25  | 29  | 13   | 5    | 2 0          |
| 本事例※ (n=5)   |             |     |     |     |     |      |      | 1 4          |

※発生約3週間後 (6/2) に採材した血清

#### 4 まとめ及び考察

県内で発生した搾乳牛の下痢症を病性鑑定した結果、下痢便から RVC 遺伝子が検出され、その他のウイルス遺伝子は検出されず、サルモネラ等の下痢原性細菌による関与も認められなかったことから、RVC による下痢症と診断した。RVC による下痢症の発生事例では、軟便や水様便を主徴とし、発熱が認められた事例はなかったと報告されているが<sup>2)</sup>、本事例の発症牛は約 40℃の発熱を伴う水様性下痢を呈し、1 日当たりのバルク乳量が 51%まで著減し、経済的損失が甚大であった。宮本は、RVC 及び BCV の混合感染事例において RVC 単独の感染事例より症状が重篤であったと報告している<sup>4)</sup>。本事例では、BCV による特徴的な血便は認められず、糞便から BCV 遺伝子が検出されなかったことから、BCV が本事例の主要因ではなかったと推察された。しかしながら、第 4 病日に採材した血清において BCV 及び BToV に対する高い抗体価が確認されたことから、本農場では発生以前

にこれらのウイルスが流行していたことが推察されたため、BCV あるいは BToV の感染履歴が RVC の重篤化に何らかの影響を与えた可能性が示唆された。また、発生前にカビの生えた粗飼料が給与されていたことから、発症牛の採食量が低下し、栄養状態及び免疫状態が通常より悪化していたことも推察され、このことが原因となり、RVC 病の重篤化に影響した可能性も示唆された。また、本病が発生した 5 月は年間で日較差が大きい時期であり、気象データを確認したところ、本事例の発生前も寒暖差が大きかったことから、環境要因が RVC 病の発生に影響したことも考えられた。以上に述べたような複数の要因が複合的に影響し、本事例の症状が顕在・重篤化したと考察された。

本県における RVC 病の発生実態を解明するため、抗体検査を通じて RVC 病の浸潤状況を調査したところ、県内における RVC に対する抗体保有率は農場別で 85%、個体別で 45%を示し、既報の報告と同様の結果であった<sup>4, 6)</sup>。一方、本県における RVC 病の遡及調査の結果、RVC の検出事例は、過去 8 年間で 51 件中本事例を含め 2 症例のみであった。福田らは、国内で発生した成牛の下痢症 200 症例の原因病原体を調査した結果、RVC 感染による下痢症例は 5 件 (2.5%) であったと報告しており<sup>2)</sup>、本県における発生頻度もその報告と同様の結果を示した。これらのことから、RVC は県内全域に広く浸潤しているものの、多くの牛は不顕性または軽度の発症にとどまっている可能性が示唆された。

本調査の結果から、RVC に感染した牛の多くが不顕性または軽症にとどまる一方で、本事例のように症状が顕在化する場合があることが明らかになった。しかしながら、RVC の発症要因は未だ十分に解明されていない。今後は、RVC を含む牛の下痢症について、正確な鑑別診断を行い、本病の監視を継続し、さらなる発症要因の究明に努めていくことが重要と考える。

## 5 謝辞

本事例における検査材料の採材及び診療データを提供していただいた宮城県農業共済組合中央家畜診療センターの坂井靖先生並びに遺伝子解析の実施及び検査法について助言していただいた国立研究開発法人農業・食品産業技術総合研究機構動物衛生研究部門ウイルス疫学研究領域の鈴木亨先生に深謝する。

## 6 引用文献

- 1) Fukuda M., Kuga K., Miyazaki A., et al. : Development and application of one-step multiplex reverse transcription PCR for simultaneous detection of five diarrheal viruses in adult cattle. Arch Virol. 157, 1063-1069 (2012).
- 2) 福田昌治: 成牛のウイルス性下痢症について. 家畜診療. 62(10), 599-609 (2015).
- 3) Mawatari T., Taneichi A., Kawagoe T., et al. : Detection of a bovine group C rotavirus from adult cows with diarrhea and reduced milk production. J Vet Med Sci. 66(7), 877-890 (2004).
- 4) 宮本剛志: 複数農場で流行した C 群ロタウイルスによる搾乳牛の下痢症. 平成 23 年度富山県家畜保健衛生業績発表会集録. 33-39 (2011).
- 5) 村山和範, 会田恒彦, 田中健介ら: 県内で初確認された B 群及び C 群ロタウイルスによる牛ロタウイルス病. 平成 24 年度新潟県家畜保健衛生業績発表会集録. (2012).
- 6) Tsunemitsu H., Jiang B., Saif LJ., et al. : Detection of group C rotavirus antigens and antibodies in animals and humans by enzyme-linked immunosorbent assays. J. Clin. Microbiol. 30(8), 2129-2134 (1992).
- 7) Tsunemitsu H., Jiang B., Saif LJ., et al. : Sequence comparison of the VP7 gene encoding the outer capsid glycoprotein among animal and

human group C rotaviruses. Arch. Virol. 141, 705-713 (1996).

8) Vicek S., Herring AJ., Herring JA., et al. : Pestiviruses isolated from pigs, cattle and sheep can be allocated into at least three genogroups using polymerase chain reaction and restriction endonuclease analysis., Arch Virol., 136 (3-4), 309- 323 (1994)

## 12 子牛の腸管外病原性大腸菌感染症における病変と病原因子の関連性

仙台家畜保健衛生所

板橋知子, 江頭宏之, 高橋幸治

### 1 はじめに

牛の大腸菌症は、ETEC（毒素原生大腸菌）やVTEC（ベロ毒素産生大腸菌）に代表される主に腸管内において病原性を発揮する下痢病原性大腸菌に起因するものと、腸管外において病原性を発揮する腸管外病原性大腸菌（ExPEC）に大別される。ExPECは、敗血症や髄膜炎、肺炎等様々な病態を引き起こすことが報告されているが<sup>1-3)</sup>、病原因子について種々の報告はあるものの未確定で、病変と病原因子との関連性も不明である。

今年度、本県では3例目となるExPEC感染症例に遭遇したので、過去に診断した2症例と併せて病変と病原因子を検索し、症例間で比較することで、病変と病原因子の関連性について検討したので報告する。

### 2 材料および方法

#### (1) 材料

これまで県内においてExPEC感染症と診断された子牛3頭を用いた。

#### (2) 方法

##### 1) 病理組織学的検査

剖検後、採材した検査材料を定法に従い、10%中性緩衝ホルマリンで固定後、パラフィン包埋・薄切し組織標本を作製し、中枢神経系における病変の分布と程度（軽度、中等度、高度）を評価した。

##### 2) 大腸菌病原遺伝子検査

3頭から分離された大腸菌7株（No.1：大脳、延髄 No.2：大脳、延髄、腎臓 No.3：大脳、腎臓）について、下痢病原性大腸菌病原遺伝子12種（*stx1*, *stx2*, *stx2e*, *LTA*, *STa*, *STb*, *F4*, *F5*, *F6*, *F18*, *F41*, インチミン）,

その他の病原性関連遺伝子18種（*cnf1*, *cnf2*, *cdtB*, *ompA*, *afa*, *F17A*, *fimH*, *fyuA*, *iutA*, *irp1*, *irp2*, *ibeA*, *cvaC*, *papA*, *iss*, *pap G allele I*, *pap G allele II*）をPCR法にて検索した。

### 3 結果

#### (1) 病性鑑定

3頭は平成23年、26年、28年生まれの黒毛和種の雄で、3～7日齢で眼球の白濁や突然の起立不能、発熱等を発症し、神経症状を呈した後2～6日で死亡または鑑定殺に供された（表1）。

細菌学的検査では、3頭からそれぞれO群血清型別の異なる大腸菌（No.1:OUT, No.2:O23, No.3:O78）が複数臓器から分離された。生化学的検査では3頭に共通してγ-Glbの低値が認められた。剖検では、No.2の四肢体表に数箇所擦過傷が認められたほか、外貌に著変は認められなかった。肉眼病変は中枢神経系が主体であり、3頭に共通して髄膜の混濁、脳溝における白色クリーム様物の貯留、椎孔における黄色チーズ様物の付

表1 症例の概要

|    | No.1                  | No.2                  | No.3                  |
|----|-----------------------|-----------------------|-----------------------|
| 日齢 | 黒毛和種 ♂<br>H23.5.20生まれ | 黒毛和種 ♂<br>H26.7.15生まれ | 黒毛和種 ♂<br>H28.5.24生まれ |
| 0  | 起立不能、哺乳欲無し            |                       |                       |
| 1  |                       |                       |                       |
| 2  | 元気回復                  |                       |                       |
| 3  | 右眼球白濁                 |                       |                       |
| 4  |                       |                       |                       |
| 5  | 四肢伸張、横臥、<br>脳炎様症状     |                       | 元気消失、発熱               |
| 6  |                       |                       |                       |
| 7  |                       | 突然の起立不能<br>四肢伸張、遊泳運動  |                       |
| 8  | てんかん様発作、<br>起立不能      |                       | 解熱                    |
| 9  | 頭頸部軽度反張、<br>遊泳運動      | 昏睡（鑑定殺）               |                       |
| 10 |                       |                       |                       |
| 11 | （鑑定殺）                 |                       | 軽度神経症状                |
| 12 |                       |                       | 神経症状悪化                |
| 13 |                       |                       | 発熱、横臥、<br>遊泳運動        |
| 14 |                       |                       | （へい死）                 |

なお、同一個体から分離された株は全て同じ病原遺伝子を保有していた。

表3 大腸菌病原遺伝子検査結果

1.下痢原性大腸菌病原遺伝子(12種)  
毒素: *stx1*, *stx2*, *stx2e*, *LTA*, *STa*, *STb*  
付着因子: *F4*, *F5*, *F6*, *F18*, *F41*, インチミン } 全て陰性

2.その他の病原性関連遺伝子(18種)

|                      | 毒素          |             |             | 付着因子       |             |             | 鉄取込能        |             |             | 侵入性         | 他※ |             |
|----------------------|-------------|-------------|-------------|------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|----|-------------|
|                      | <i>cnf1</i> | <i>cnf2</i> | <i>cdtB</i> | <i>afa</i> | <i>F17A</i> | <i>fimH</i> | <i>fyuA</i> | <i>iutA</i> | <i>irp1</i> | <i>irp2</i> |    | <i>ompA</i> |
| No.1<br>(大脳, 延髄)     | +           | +           | +           | +          | +           | +           | —           | +           | —           | +           | +  | —           |
| No.2<br>(大脳, 延髄, 腎臓) | +           | +           | +           | +          | +           | —           | +           | +           | +           | +           | +  | —           |
| No.3<br>(大脳, 腎臓)     | —           | +           | +           | +          | +           | +           | +           | +           | +           | +           | +  | —           |

※*ibeA*, *cvaC*, *papA*, *iss*, *papG* allele I, *papG* allele II

#### (4)組織病変の程度と保有病原遺伝子の関連性

各症例の病原遺伝子の保有状況と組織病変の程度を比較すると(表4), ①保有遺伝子数が最も少ないNo.1はNo.2, 3と比較して髄膜病変が軽度であったが, ②保有遺伝子数が同数であったNo.2, 3は, 脳脊髄実質および血管病変の程度に差が認められ, ③全体として最も病変が重度であったNo.3は, 全ての保有遺伝子がNo.1, 2のいずれかまたは両方と一致しており, 病変の程度と保有遺伝子数との関連性および病変の程度に与する可能性のある病原遺伝子を確認することはできなかった。

表4 組織病変の程度と保有病原遺伝子との関連

|      | 組織病変 |    |    | 病原遺伝子       |             |             |             |   | 共通7<br>遺伝子<br>数 |
|------|------|----|----|-------------|-------------|-------------|-------------|---|-----------------|
|      | 髄膜   | 実質 | 血管 | <i>cnf1</i> | <i>fimH</i> | <i>fyuA</i> | <i>irp1</i> |   |                 |
| No.1 | 軽    | 軽  | なし | +           | +           | -           | -           | + | 9               |
| No.2 | 重    | 軽  | なし | +           | -           | +           | +           | + | 10              |
| No.3 | 重    | 重  | 重  | -           | +           | +           | +           | + | 10              |

#### 5 まとめ及び考察

今回検索した3頭は, 肉眼的・組織学的に中枢神経系の化膿性病変が主体であり, 血管病変の有無を含めた組織病変の程度について, 症例間に差が認められた。病性鑑定において, No.2, 3に化膿性臍帯炎が認められたことから, この2頭については病原体は臍帯を介して侵入した可能性が考えられた。また, 3頭に共通して胸腺

着が認められ, また, 種々の程度の胸腺の萎縮が認められた。組織学的には3頭に共通して化膿性髄膜脳脊髄炎が認められ, No.2, 3では化膿性臍帯炎も観察された。以上の結果から, 3頭はExPEC感染症と診断された。

#### (2)中枢神経系病変の分布と程度(表2)

髄膜の化膿性病変は3頭の中枢神経系全域で認められ, 病変の程度はNo.1が軽度, No.2, 3は重度であった。脳脊髄実質の壊死性病変は, No.1は脊髄を主体に軽度, No.2は広範囲に軽度の病巣が散見され, No.3は線条体と間脳に重度大型の壊死巣が認められ, 脊髄にも軽度の病変が観察された。さらに, No.3の髄膜全域および脳幹部実質を主体として重度から軽度の血管壁の変性・壊死が認められた(図1)。このような病変は, No.1, 2では認められなかった。

表2 中枢神経系組織病変まとめ

|      | 髄膜の化膿性病変 | 実質の壊死性病変 | 血管病変 |
|------|----------|----------|------|
| No.1 | 軽度       | 軽度限局     | なし   |
| No.2 | 重度       | 広範囲に軽度散発 | なし   |
| No.3 | 重度       | 重度限局     | 重度   |

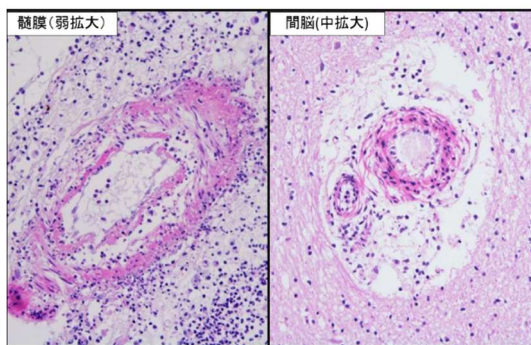


図1 症例No.3: 重度の血管壁の変性・壊死

#### (3)大腸菌病原遺伝子検索(表3)

3頭から分離された大腸菌7株は, 下痢原性大腸菌は全て陰性, その他の病原性関連遺伝子は各症例9~10種が検出された。このうち, *cnf2*, *cdtIII*, *afa*, *F17A*, *iutA*, *irp2*, *ompA*の7遺伝子が3頭から共通して検出された。

の萎縮， $\gamma$ -Glb の低値が認められたことから、易感染状態にあったと推察された。

細菌学的検査では、3 頭からそれぞれ血清型の異なる大腸菌が複数臓器から分離され、これらは下痢原性大腸菌病原遺伝子を除く 9～10 種の母病原遺伝子を保有していた。このうち *cnf2*, *cdt III*, *afa*, *F17A*, *iutA*, *irp2*, *ompA* の 7 遺伝子が共通して検出されたことから、これらは子牛の ExPEC 感染症と関連する可能性が考えられた。菅原らは、*cnf2*, *cdt III* の 2 つの毒素産生能を有し、*F17A* または *afa-8* による付着因子と鉄取込能を保有する大腸菌が、子牛 ExPEC 感染症に関連する可能性があることを報告している<sup>2)</sup>。また、古田らの報告においても、2 症例から *cnf2*, *cdt III*, *F17A* および *iutA* が共通して検出されている<sup>1)</sup>。今回検索した 3 頭に共通して検出された 7 遺伝子のうち *omp* を除く 6 遺伝子は、これらの報告と一致していたことから、今回の結果は過去の報告を支持するものと思われた。

各症例の組織病変の程度と、分離菌の病原遺伝子の保有状況を比較した結果、病変の程度と保有病原遺伝子数および病変の程度と関連する可能性のある病原遺伝子を確認することはできなかった。このことから、組織病変の程度差には、保有する遺伝子の数や種類だけでなく、宿主免疫や環境等、他の要因が関与する可能性が考えられた。

今回、他県の報告では未検索であった *ompA* が 3 頭から共通して検出された。*OmpA* (outer membrane protein A) はグラム陰性菌の外膜を構成する主要なタンパク質であり、ヒトの新生児髄膜炎の起因菌の一つである大腸菌 K1 株が脳血管内皮細胞に侵入する際に関与する因子のひとつと考えられている<sup>4)</sup>。今回検索した 3 頭は、いずれも化膿性髄膜炎が認められたことから、*ompA* を保有する大腸菌は、中枢神経系の病変形成に関与する可能性が考えられた。

今回検索した症例数は少ないため、今後症例数を増やして検討を重ねていきたい。

## 6 引用文献

- 1)古田信道, 大貫淳, 小嶋暢: 子牛の腸管外病原性大腸菌感染症 2 例と培養細胞を用いた病原性の検討. 日本獣医師会雑誌 69.9: 524-528 (2016).
- 2)菅原克, 松本裕一, 壁谷昌彦ら: 子牛の腸管外病原性大腸菌感染症と PCR による分離株の病原関連遺伝子の検索についての報告. 日本獣医師会雑誌 65.9: 689-693(2012).
- 3)滝澤亮, 河上友: 黒毛和種子牛に発生した大腸菌 O-119 による敗血症事例. 平成 27 年度大分県家畜保険業績発表会集録
- 4)Wang, Ying, and Kwang Sik Kim. Role of OmpA and IbeB in Escherichia coli K1 invasion of brain microvascular endothelial cells *in vitro* and *in vivo*. Pediatric research 51.5: 559-563(2002).

## 13 牛ヨーネ病における液体培養検査及びプール糞便を用いたリアルタイム PCR 法の検証

仙台家畜保健衛生所  
江頭宏之，檜崎菜々子

### 1 はじめに

牛ヨーネ病は，家畜伝染病予防法で法定伝染病に指定されており，摘発淘汰が進められている。本病は，鳥型結核菌の1亜種であるヨーネ菌(*Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis*)の感染により，牛等の反芻動物において，長い不顕性感染期を経て発症し，慢性肉芽腫性腸炎を起こす<sup>1)</sup>。牛ヨーネ病の清浄化の達成には長い期間を要するため，ヨーネ菌排菌牛の早期摘発，淘汰が重要である。効率的に，また高感度にヨーネ菌を検出する手法として，液体培養検査並びにプール糞便を用いたリアルタイムPCR法がある。液体培養検査は『病性鑑定マニュアル第4版』で新たに追加された検査法であり，プール糞便を用いたリアルタイムPCR法は国立研究開発法人 農業・食品産業技術総合研究機構(農研機構) 動物衛生研究部門で作製した『プール糞便を用いたヨーネ病スクリーニング遺伝子検査法』が示された。そこで今回，これらの検査法の検証を実施したので，その概要を報告する。

### 2 材料及び方法(図1)

#### (1)液体培養検査

材料は，県内の野外ヨーネ病陽性検体(糞便6検体，臓器11検体，環境材料2検体)19検体で，検体の遺伝子量は  $5.9\text{E}-04 \sim 3.9\text{E}+04\text{pg}/2.5\mu\text{l}$  ( $1\text{pg}/2.5\mu\text{l}$ 以上が14検体， $1\text{pg}/2.5\mu\text{l}$ 未満が5検体)を示した検体を用いた。農研機構 動物衛生研究部門が作製した『ヨーネ病検査マニュアル』に基づき，検体浮遊液 0.1ml を培地添加剤(Para TB Supplement, 2.5% Vancomycin, 2.5% Nalidixic acid, 1% AmphotericinB, 50%卵黄液)

を添加した液体培地(BD BACTEC MGIT Para TB Medium)に接種し，37℃で50日間培養を実施した。今回は，蛍光発色と遺伝子量の関連をみるため，UV照射による蛍光発色判定及びリアルタイムPCR法によるヨーネ菌遺伝子の定量を5日毎に50日間実施した。リアルタイムPCR法は，液体培地を攪拌後に  $170\mu\text{l}$  採取し，100℃で8分間加熱し，その遠心上清(13,000rpm, 5分)を用い，研究用試薬 SYBR Green PCR キットで実施した。リアルタイムPCR装置は，サーモフィッシャーサイエンティフィック株式会社のABI7500を用いた。また，抗酸菌染色を，培養開始後2週目と4週目の2回実施し，遺伝子検出法との感度の比較を行った。

#### (2)プール糞便を用いたリアルタイムPCR法

材料は県内の野外ヨーネ病陽性糞便11検体で，検体の遺伝子量は  $2.2\text{E}-04 \sim 9.1\text{E}+01\text{pg}/2.5\mu\text{l}$  ( $1\text{E}-03\text{pg}/2.5\mu\text{l}$ 以上が6検体， $1\text{E}-03\text{pg}/2.5\mu\text{l}$ 未満が5検体)を示した検体を用いた。この11検体をそれぞれに，ヨーネ菌遺伝子陰性糞便を複数検体混和し，10，15，20プールの糞便液を作製した。作製したプール糞便液計33サンプル(11検体×3種類)について，農研機構 動物衛生研究部門が作製した『プール糞便を用いたヨーネ病スクリーニング遺伝子検査法』に基づき実施した。



※ヨーネ菌以外の菌の増殖でも蛍光発色が確認される

#### ＞ 蛍光発色判定

5日毎(50日間)にUVを照射し判定

#### ＞ リアルタイムPCR法

5日毎(50日間)に100℃8分の加熱で遺伝子抽出後、

SYBR Green PCRキット(研究用試薬)を使用し実施

#### ＞ 抗酸菌染色

培養開始2, 4週目の2回, 液体培地から抗酸菌染色を実施

図1: 液体培養検査方法

### 3 結果

#### (1)液体培養検査

蛍光発色の判定と合わせたヨーネ菌遺伝子検出の結果(図2)は, 遺伝子量が  $1\text{pg}/2.5\mu\text{l}$  以上の検体( $n=14$ )では, 培養開始15日目までに全ての検体で蛍光発色かつヨーネ菌遺伝子が確認され, 平均10日であった。一方,  $1\text{pg}/2.5\mu\text{l}$  未満の検体( $n=5$ )では培養開始15日目までに1検体から蛍光発色かつヨーネ菌遺伝子が確認されたものの, 30日目で1検体, 40日目に3検体で蛍光発色かつヨーネ菌遺伝子が確認され, 平均33日であった。

液体培養検体における抗酸菌染色結果(図3)は, 抗酸菌染色で菌体を認め, かつ蛍光発色がみられた検体は, 培養2週目では陽性率47%(9/19), 4週目では陽性率68%(13/19)であった。ヨーネ菌遺伝子検出かつ蛍光発色がみられた検体は, 培養2週目及び4週目で陽性率79%(15/19)であった。

また, 検体中の遺伝子量別の抗酸菌染色陽性率は, 遺伝子量  $1\text{E}-03\text{pg}/2.5\mu\text{l}$  未満で50%(3/6),  $1\text{E}-03\sim 1\text{E}-02\text{pg}/2.5\mu\text{l}$  で63%(5/8),  $1\text{E}-02\sim 1\text{E}-01\text{pg}/2.5\mu\text{l}$  で84%(11/13),  $1\text{E}-01\text{pg}/2.5\mu\text{l}$  以上の検体で75%(3/4)であった。

#### (2)プール糞便を用いたリアルタイムPCR法 (図4)

10 プール糞便では11検体全てからヨーネ菌遺伝子が検出された。一方, 15, 20 プール糞便

では, 陽性糞便の遺伝子量が  $3.6\text{E}-04\text{pg}/2.5\mu\text{l}$  を示したプール糞便のみヨーネ菌遺伝子が検出されなかった。

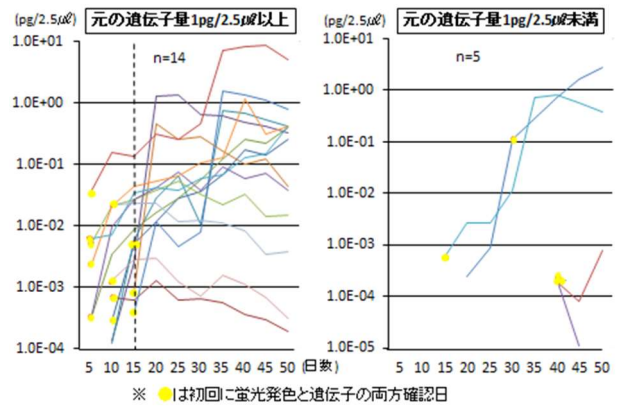


図3: 液体培養検査結果

遺伝子検出と抗酸菌染色結果の比較

|           | 2週目    |       | 4週目    |       |
|-----------|--------|-------|--------|-------|
|           | 遺伝子+発色 | 染色+発色 | 遺伝子+発色 | 染色+発色 |
| 陽性検体数/検査数 | 15/19  | 9/19  | 15/19  | 13/19 |
| 陽性率       | 79%    | 47%   | 79%    | 68%   |

| 遺伝子量別<br>抗酸菌染色陽性率 | 遺伝子量<br>(pg/2.5μl) | 陽性率        |
|-------------------|--------------------|------------|
|                   | 0.001未満            | 50%(3/6)   |
|                   | 0.001~0.01         | 63%(5/8)   |
|                   | 0.01~0.1           | 84%(11/13) |
|                   | 0.1~               | 75%(3/4)   |

図3: 液体培養検体における抗酸菌染色結果

| 検体<br>No. | 陽性糞便の遺伝子量<br>(pg/2.5μl) | 結果        |           |           |
|-----------|-------------------------|-----------|-----------|-----------|
|           |                         | 10<br>プール | 15<br>プール | 20<br>プール |
| 1         | 2.2E-04                 | ●         | ●         | ●         |
| 2         | 3.6E-04                 | ●         | ×         | ×         |
| 3         | 4.0E-04                 | ●         | ●         | ●         |
| 4         | 5.9E-04                 | ●         | ●         | ●         |
| 5         | 7.4E-04                 | ●         | ●         | ●         |
| 6         | 1.3E-02                 | ●         | ●         | ●         |
| 7         | 2.8E-02                 | ●         | ●         | ●         |
| 8         | 1.5E+00                 | ●         | ●         | ●         |
| 9         | 3.6E+00                 | ●         | ●         | ●         |
| 10        | 6.9E+01                 | ●         | ●         | ●         |
| 11        | 9.1E+01                 | ●         | ●         | ●         |

●:ヨーネ菌遺伝子陽性  
×:ヨーネ菌遺伝子陰性

図4: プール糞便を用いたリアルタイムPCR法の結果

#### 4 考察

液体培養検査では、野外ヨーネ病陽性検体の遺伝子量が  $1\text{pg}/2.5\mu\text{l}$  以上の検体では平均 10 日、 $1\text{pg}/2.5\mu\text{l}$  未満の検体では平均 33 日で蛍光発色かつヨーネ菌遺伝子が確認され、判定までに 4 ヶ月培養を実施している現行の固形培地よりも早期に検出可能であった。また、固形培地での検出限界とされている  $1\text{E}-03\text{pg}/2.5\mu\text{l}$  未満の検体においても液体培地では検出され、固形培地と比較してより高感度と考えられた。また、小島ら<sup>2)</sup>は、液体培養で検体の遺伝子量が最少  $2\text{E}-03\text{pg}/2.5\mu\text{l}$  で検出されたと報告しているが、今回の検証では最少  $5.9\text{E}-04\text{pg}/2.5\mu\text{l}$  でも培養 40 日目に検出されており、その報告より低い遺伝子量でも検出可能な結果となった。液体培養した検体からの抗酸菌染色は、遺伝子検出法と比較して陽性率が低かった。また、検体の遺伝子量に関連せず、陽性率にばらつきが認められた。このことから、蛍光発色を確認後、抗酸菌染色を実施せずに、直接リアルタイム PCR 法で判定をした方がより検出率が高いと推察された。

プール糞便を用いたリアルタイム PCR 法では、10 プール糞便では陽性糞便の遺伝子量が  $1\text{E}-03\text{pg}/2.5\mu\text{l}$  未満の検体においてもヨーネ菌遺伝子が検出され、高い検出感度が示唆された。一方、15、20 プール糞便では、ヨーネ菌遺伝子が検出されない検体を認めた。農研機構 動物衛生研究部門が作製した『プール糞便を用いたヨーネ病スクリーニング遺伝子検査法』では 10 検体のプールを推奨している。今回の検証においても 10 プールまでの利用を推奨する結果となった。

以上の検証結果から、液体培養検査及びプール糞便を用いたリアルタイム PCR 法は、ヨーネ病発生農場において、ヨーネ菌排菌牛の早期摘発が可能であり、農場内でのヨーネ菌のまん延防止と、早期清浄化に有用であると考えられた。

#### 5 参考文献

- 1) 永田礼子:最新の家畜疾病情報(XⅢ)ヨーネ病. 日本獣医師会雑誌第六十九巻二号,66-68(2016)
- 2) 小島温子:液体培地を応用したヨーネ病診断法の検討.平成 22 年度全国家畜保健衛生業績抄録,41(2010)

## 14 過去 12 年間に於ける乳用牛由来 Salmonella Typhimurium の分子疫学的解析

仙台家畜保健衛生所  
 榎崎菜々子，江頭宏之

### 1 はじめに

牛サルモネラ症は，発熱，下痢，肺炎の症状を示し，重症例では敗血症を呈し死亡する<sup>1)</sup>。1980 年代までは子牛での発生が主体であったが，1990 年以降は成牛における発生が急増した。また，近年では，搾乳牛の発生が増加しており，乳量低下や生乳出荷停止など経済的な損失も大きい<sup>2)</sup>。県内の過去 12 年間の牛サルモネラ症の発生状況は Salmonella Typhimurium(ST)が全国同様最も多く分離されている。このことから，過去 12 年間に県内 8 農場で分離された乳用牛由来 ST の分子疫学的解析を実施したので，その概要を報告する。

### 2 発生農場概要

平成 17 年度に A と B 農場，平成 24 年度に C 農場，平成 25 年度に D と E 農場，平成 28 年度は F，G，H 農場で発生があった。農場の位置は，C と E 農場，F と H 農場がそれぞれ近隣だった。

### 3 材料および方法

#### (1) 材料

平成 17 年度から 28 年度に県内 8 農場(A～H)で乳用牛から分離された 21 株 (A-1～4，B-1，C-1，2，D-1～3，E-1～3，F-1～3，G-1～3，H-1，2) を試験に供した。

#### (2) 方法

##### 1) 薬剤感受性試験

ミューラー・ヒントン寒天培地 (Difco) を用いて，アンピシリン (ABPC)，アモキシシリン (AMPC)，セファゾリン (CEZ)，セフロキシム (CXM)，セフトキシム (CTX)，カナマイシン (KM)，ゲンタマイ

シン (GM)，ストレプトマイシン (SM)，テトラサイクリン (TC)，オキシテトラサイクリン (OTC)，ナリジクス酸 (NA)，シプロフロキサシン (CPFX)，マルボフロキサシン (MBFX)，エンロフロキサシン (ERFX)，コリスチン (CL)，ST 合剤 (ST)，ホスホマイシン (FOM)，クロラムフェニコール (CP) の 18 薬剤について 1 濃度ディスク法で実施した。なお，ERFX はバイエル薬品株式会社から，MBFX は Meiji Seika ファルマ株式会社からの試供品を用い，その他の薬剤はセンシディスク (日本ベクトン・ディッキンソン株式会社) を用いた。

##### 2) パルスフィールドゲル電気泳動法 (PFGE)

秋庭の報告<sup>3)</sup> に準じて行った。制限酵素は Xba I (TaKaRa) 及び Bln I (TaKaRa) を用いて，泳動条件 6V/cm，5-50 秒，22 時間で実施した。結果の解析は Tenover らの判定基準<sup>4)</sup> に基づき行った。

##### 3) Multiple locus variable number tandem repeats analysis (MLVA)

反復縦列配列を含む 5 カ所の遺伝子座位を PCR で増幅し，シーケンサーにより得られた塩基配列から繰り返し回数を算出し，系統樹解析を行った。

※農研機構動物衛生研究部門で実施。

### 4 結果

#### 1) 薬剤感受性試験 (図 1)

7 薬剤から多剤耐性の A，F，H 農場の多剤耐性農場と，耐性なしから 1 薬剤耐性の耐性の少ない農場の 2 グループに分類された。A 農場は，ペニシリン系薬剤，カナマイシン，ストレプトマイシン，テトラサイクリン系薬剤，クロラムフェニコールで耐性を示した。

F, H 農場では, A 農場で耐性を示した 7 薬剤に加えて, セファゾリン, セフロキシム, ナリジクス酸の 3 薬剤でも耐性を示した。耐性の少ない農場の G 農場は, ストレプトマイシンの 1 薬剤で耐性を示し, その他の農場は耐性を示さなかった。

|    | ペニシリン系 |       |  | セフェム系 |     |     | アミノグリコシド系 |    |     | テトラサイクリン系 |     |    | キノロン系 |        |       | その他 |    |     |    | 耐性数 |
|----|--------|-------|--|-------|-----|-----|-----------|----|-----|-----------|-----|----|-------|--------|-------|-----|----|-----|----|-----|
| 農場 | AMP C  | AMP C |  | CZ    | CXM | CTX | KM        | GM | SM  | TC        | OTC | NA | CPFX  | MBFX X | EFEX  | CL  | ST | FOM | CP |     |
| A  | R      | R     |  | S     | S   | S   | R         | S  | R   | R         | R   | S  | S     | S      | +++   | S~I | S  | S   | R  | 7   |
| B  | S      | S     |  | S     | S   | S   | S         | S  | S   | S         | S   | I  | S     | S      | +++   | S   | S  | S   | S  | 0   |
| C  | S      | S     |  | S     | S   | S   | S         | S  | S~I | S         | S   | S  | S     | S      | +++   | S   | S  | S   | S  | 0   |
| D  | S      | S     |  | S     | S   | S   | S         | S  | S   | S         | S~I | S  | S     | S      | +++   | S   | S  | S   | S  | 0   |
| E  | S      | S     |  | S     | S   | S   | S         | S  | S   | S         | S~I | S  | S     | S      | +++   | S   | S  | S   | S  | 0   |
| F  | R      | R     |  | R     | R   | I   | R         | S  | R   | R         | R   | R  | S     | S      | +     | S   | S  | S   | R  | 10  |
| G  | S      | S     |  | S     | S   | S   | S         | S  | R   | S~I       | I   | S  | S     | S      | +++   | S~I | S  | S   | S  | 1   |
| H  | R      | R     |  | R     | R   | I   | R         | S  | R   | R         | R   | R  | S~I   | S      | ++ ~+ | S   | S  | S   | R  | 10  |

※S:感受性, I:中間, R:耐性 ERFXは-<sub>1</sub>+, <sub>2</sub>+, <sub>3</sub>+, +++で判定

図 1 : 薬剤感受性試験結果

## 2) PFGE (図 2)

制限酵素 Xba I を用いた場合, C と E 農場由来株, F と H 農場由来株で切断パターンの相違は 3 本以内だった。A 農場由来株と F, H 農場由来株の切断パターンの相違は 4 本以内だった。制限酵素 Bln I を用いた場合, C と E 農場, F と H 農場の切断パターンの相違も 3 本以内だった。A 農場由来株と F, H 農場由来株の切断パターンの相違も 3 本以内だった。また, Xba I, Bln I どちらの酵素を用いた場合も, 農場ごとの株は同一パターンもしくは, 切断パターンの相違は 3 本以内だった。

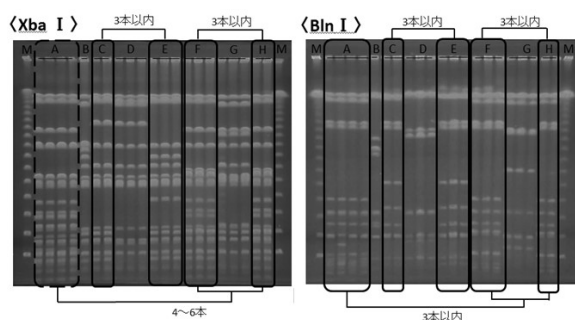


図 2 : PFGE パターン

## 3) MLVA (図 3)

STの5カ所の遺伝子座位における縦列反復配列のプロファイルと PFGE の結果を基に系統樹を作成した。図は, 菌株間の関連性を示す。円の大きさは菌株数を表す。円の間の線はプロファイル間を表し, 1 遺伝子座位以内を太線, 2 遺伝子座位のものを細い線, 3 遺伝子座位以上異なるものを破線で連結した。C と E 農場由来株, F 農場由来の F-1, 3 株と H 農場由来株は, 同一プロファイルに分類された。F 農場由来の F-2 株は F, H 農場由来株のプロファイルと 1 遺伝子座位異なり, A 農場由来の A-1, 2, 4 株とは 2 遺伝子座位異なった。その他の農場由来株は, 3 遺伝子座位以上異なった。多剤耐性の A, F, H 農場由来株は, プロファイル間の距離が 2 遺伝子座位以内と比較的近く, 耐性の少ない農場のプロファイル間の距離は全て 3 遺伝子座位以上異なった。

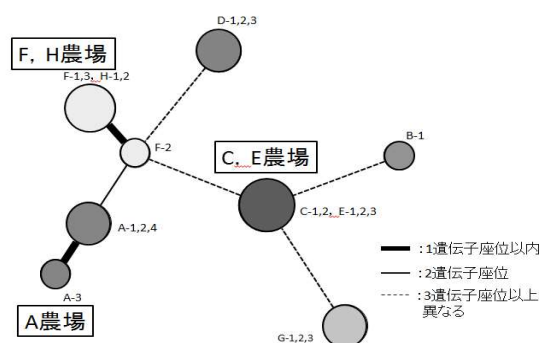


図 3 : MLVA の結果に基づく系統樹

## 5 県内分離株まとめ (表 1)

C と E 農場, F と H 農場は発生年度も近く, 農場間距離も近隣だった。薬剤感受性試験において, C と E 農場では耐性なし, F と H 農場は多剤耐性で耐性パターンも同一だった。PFGE, MLVA の結果からも C と E 農場, F と H 農場はそれぞれ同一由来株と判定された。A 農場の発生年度は平成 17 年度で F, H 農場と近隣ではなかったが, 多剤耐性で耐性パターンも類似していた。PFGE と MLVA の結果からも, A 農場由

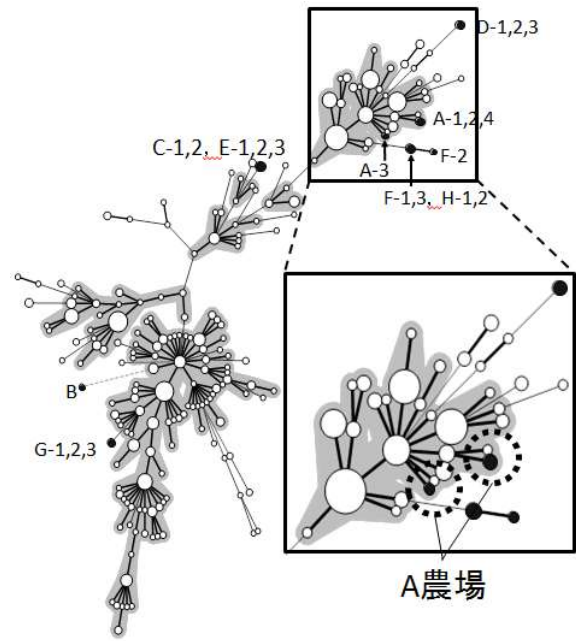
来株と F, H 農場由来株は、関係がある可能性が示唆された。

表 1 県内分離株まとめ

| 農場      | CとE     | FとH                        | A               |
|---------|---------|----------------------------|-----------------|
| 発生年度    | H24 H25 | H28                        | H17             |
| 農場間距離   | 近隣      | 近隣                         |                 |
| 薬剤感受性試験 | 耐性なし    | 多剤耐性<br>(10薬剤耐性)           | 多剤耐性<br>(7薬剤耐性) |
| PFGE    |         | 同一                         |                 |
| MLVA    | 同一      | 同一<br>(一株のみ1遺伝子<br>座位異なった) | F,H農場と関連あり      |

## 6 県内と北海道分離株の比較

北海道の牛由来 ST は PFGE と MLVA によるデータベース化が進んでいることから、県内分離株と比較を実施した。県内と北海道分離株の MLVA プロファイルに基づく系統樹を図 4 に示した。北海道の菌株を白色、県内分離株を黒色で示す。3 つ以上のプロファイルが太線で連結された場合は、グレーで囲い 1 つのクラスターとした。北海道由来株は 6 つのクラスターが形成され、A 農場由来株のみ PFGEⅦ型が含まれるクラスターに分類された。PFGEⅦ型とは、玉村らにより北海道由来株の PFGEⅦ型結果から分類された遺伝子型の 1 つである<sup>5)</sup>。A 農場以外の農場はどのクラスターにも分類されず、分散した。



Kurosawa A, Imamura T, Tanaka K, Tamamura Y, Uchida I, Kobayashi A, et al. Molecular typing of *Salmonella enterica* serotype Typhimurium and serotype 4,5,12:i:- isolates from cattle by multiple-locus variable-number tandem-repeats analysis. *Vet Microbiol*

図 4：県内と北海道分離株の MLVA プロファイルに基づく系統樹

## 7 まとめおよび考察

平成 17 年度に分離された A 農場由来株は、MLVA の結果から北海道由来株と比較をしたところ、PFGEⅦ型が含まれるクラスターに分類された。PFGEⅦ型は、北海道で 2000 年以降に増加したことが明らかになっている<sup>6)</sup>。その多くは多剤耐性であり、中には第 3 世代セフェム系薬剤に耐性を示す株も存在する<sup>5)</sup>。今回の解析結果から、本県にも平成 17 年度には PFGEⅦ型に近縁な株が侵入していたことが判明した。また、A 農場由来株と関係がある可能性が示唆された F, H 農場は、さらに耐性薬剤が増加しており、第 2 世代セフェム系薬剤にも耐性を示したことから、薬剤感受性試験を行った上で有効な抗菌剤を選択するなど、抗菌剤の慎重使用が重要になる。

今回の解析結果から、宮城県内では北海道流行株とは異なる多様な ST が侵入している

ことが判明。今後も、菌株を収集し監視と情報提供を継続していきたい。

稿を終えるにあたり、検査にご協力いただきました、国立研究開発法人農業・食品産業技術総合研究機構、動物衛生研究部門の玉村雪乃先生に深謝致します。

## 8 引用文献

- 1) 川村清市ほか: 獣医内科学. 文永堂出版.  
231 (2011)
- 2) 玉村雪乃, and 内田郁夫. 多剤耐性 *Salmonella* Typhimurium PFGE VII 型菌が保有する薬剤耐性病原性プラスミドの構造解析. Bull. Natl. Inst. Anim. Health No 121: 23-25. (2015)
- 3) 秋庭正人: パルスフィールドゲル電気泳動による腸管出血性大腸菌 O157 : H7 の分子疫学的解析法 .JVM.Vol53No.1,14-21 (2000)
- 4 ) Tenover, FC, et al. Interpreting chromosomal DNA restriction patterns produced by pulsed-field gel electrophoresis: criteria for bacterial strain typing.” Journal of clinical microbiology 33.9: 2233. (1995)
- 5) 玉村雪乃. 牛由来 *Salmonella enterica* subsp. *enterica* serovar Typhimurium に関する分子疫学的研究 . 北 獣 会 誌.56,157-162(2012)
- 6) Tamamura et al. Environ.Microbiol.77, 1739-1750(2011)Kurosawa et al. Vet.Microbiol. 160,264-268 (2012)

## 15 枯草菌給与による乳用牛の乳房炎対策

宮城県畜産試験場

佐藤佑子, 伊藤愛, 小林宏子

### 1. はじめに

乳用牛の乳房炎は発症しやすく、治療が困難な疾病である。分娩後に多発する傾向にあり、要因の1つとして免疫機能の低下が考えられる。経済的損失も大きく<sup>1)</sup>、日本においては1年間で約1千億円にのぼるとも言われている。現在は抗生剤を用いた治療が一般的となっているが、予防法開発や抗生剤の使用量削減等が、重要な課題となっている。一方で、プロバイオティクスには免疫賦活や抗菌作用があることが報告されており<sup>2)</sup>、そのひとつである枯草菌は、これまでの共同研究で、乳房炎発症予防への有用性を確認していることを報告している<sup>3)</sup>。そこで、本試験では、1泌乳期間(305日)を通して枯草菌を給与し、乳房炎の発症予防効果について検討した。

### 2. 材料および方法

供試牛として、宮城県畜産試験場で飼養管理されている、乳房炎発症歴の有る乳用牛(ホルスタイン種)を用い、試験区10頭(平均産次5.3産)と対照区10頭(平均産次3.3産)を供試した。試験区には、分娩予定1ヵ月前から、枯草菌を含む飼料添加物(カルスポリン®:アサヒカルピスウェルネス株式会社、東京)を1日あたり40g(*Bacillus subtilis* C-3102株として、 $6 \times 10^9$ 個)個別給与した。測定は目視、乳房炎の発症については、CMT法(P.L.テスター、日本全薬工業株式会社、福島)等により臨床型乳房炎と診断した。診断後、治療する牛については、投薬日数とそれに伴う出荷停止日数についても記録した。乳サンプルは

全分房個別に採集し、分房別の乳汁中体細胞数は、体細胞測定機(フォソマチックマイナー:FOSS)を用いて測定した。血液については分娩予定1ヵ月前と分娩1週間後、その後1ヵ月ごとに採血し、氷冷後速やかに分析または凍結保存した。生化学検査については、栄養因子であるグルコース、尿素態窒素(以下、BUN)、遊離脂肪酸(以下、NEFA)、コレステロールについて、また、ストレス指標である、コルチゾール、チオバルビツール酸反応性物質(以下、TBARS)について、血漿中の各濃度を、市販のキットを用いて計測した。免疫能については、血液中の各細胞割合をフローサイトメトリー法にて解析した。

乳房炎発症状況については、1泌乳期について分娩後3ヶ月のそれと比較し、分房別乳汁中体細胞数については分娩後3ヶ月間についてのみ比較した。その他栄養因子とストレス指標、免疫能については1泌乳期の比較を行った。統計分析には、u検定を用いた。

### 3. 結果

1泌乳期(305日)の乳房炎発症状況について、乳房炎の発症回数、投薬日数、出荷停止日数の3項目から検討した。試験区と対照区それぞれについて、前乳期と今乳期間で比較し表1、表2に示した。両区ともに、3項目すべてにおいて有意差はみられなかったが、対照区では全項目で値が増加しているのに対し、試験区では投薬日数が減少した。次に、特に発症しやすい分娩後約3ヶ月間について、同様に比較を行い、表3、表4に

示した。試験区では、乳房炎発症回数、投薬日数、出荷停止日数とすべての項目で有意に減少していたが、対照区では、前乳期と今乳期の間に有意差は認められなかった。

表1. 乳房炎の発症状況(1泌乳期)試験区

| 乳期  | 乳房炎発症回数 | 投薬日数     | 出荷停止日数    |
|-----|---------|----------|-----------|
| 前乳期 | 3.4±0.8 | 27.9±7.8 | 55.3±16.6 |
| 今乳期 | 3.4±1.3 | 21.4±6.6 | 61.0±20.6 |

平均値±標準誤差, 行間で有意差無し

表2. 乳房炎の発症状況(1泌乳期)対照区

| 乳期  | 乳房炎発症回数 | 投薬日数     | 出荷停止日数   |
|-----|---------|----------|----------|
| 前乳期 | 2.0±0.3 | 12.6±2.5 | 23.0±3.6 |
| 今乳期 | 2.4±0.7 | 13.2±5.3 | 24.8±9.6 |

平均値±標準誤差, 行間で有意差無し

表3. 乳房炎の発症状況(3ヶ月間)試験区

| 乳期  | 乳房炎発症回数* | 投薬日数*   | 出荷停止日数*  |
|-----|----------|---------|----------|
| 前乳期 | 1.3±0.3  | 7.5±1.8 | 14.7±3.6 |
| 今乳期 | 0.3±0.2  | 2.0±1.5 | 2.8±1.8  |

平均値±標準誤差, \*:p<0.05

表4. 乳房炎の発症状況(3ヶ月間)対照区

| 乳期  | 乳房炎発症回数 | 投薬日数     | 出荷停止日数   |
|-----|---------|----------|----------|
| 前乳期 | 1.3±0.2 | 11.3±3.6 | 20.8±7.2 |
| 今乳期 | 1.5±0.4 | 7.5±3.6  | 14.2±6.1 |

平均値±標準誤差, 行間で有意差無し

分房別乳汁中体細胞数について、分娩後25日ごとに区分し、さらに両区の平均値を比較した。対照区の平均値は、10万から100万の間で推移していたのに対して、試験区の平均値は、1万から10万の間で推移し、3ヶ月間を通して対照区よりも低い値をとっていた。特に、分娩後26日から、試験区の平均は対照区の平均に比べて有意に低い値をとっていた。

栄養因子については、血漿中のグルコース濃度は、両区ともに、一時的に濃度が低下したものの速やかに回復し、両区の間には大きな差はみられなかった。血漿中 NEFA 濃度については、両区ともに分娩後、一時的な上昇がみられたが、両区の間には大きな差はみられなかった。BUN は、分娩後125日頃から対照区が試験区に比べて高い傾向にあった。血漿中コレステロール濃度は、分娩後100日頃まで試験区で有意に低くなった。

ストレス指標について、血漿中コルチゾール濃度と血漿中 TBARS 濃度から検討した。血漿中コルチゾール濃度は、ストレス状態を反映しており、試験期間を通して、有意差はみられなかったが、対照区では正常値の範囲内であるものの高い値をとっているのに対し、試験区では低い値を維持していた。血漿中 TBARS 濃度は、酸化ストレスに応答して濃度が上昇するが、試験区で変動が少なく、対照区よりも比較的低い値を維持していた。

免疫能については、T 細胞の構成を測定した結果、ヘルパーT 細胞の割合が対照区より試験区の方が多かった。同様に、キラーT 細胞および  $\gamma \delta$  T 細胞について測定した結果、いずれの割合も試験区より対照区の方が多かった。T 細胞の構成には、有意ではないが、違いがみられた。

#### 4. まとめおよび考察

乳房炎発症に関する比較では、枯草菌の給与は、特に乳房炎を発症しやすい分娩後に、発症の予防効果を有すると考えられた。また、栄養因子とストレス指標の比較から、ストレスが軽減されていたことが示唆された。T 細胞割合の比較から、枯草菌給与により免疫細胞の構成が変化し、乳房炎に対する免疫能の向上が示唆された。

以上のことから、枯草菌の給与により、乳房炎発症が軽減されたと考えられる。

## 5. 参考文献

- 1) 山根逸郎:疫学的調査に基づく乳房炎の経済的損失評価. 畜産技術,7,20-22(2008)
- 2) 辨野義己:牛の生産性向上に期待されるプロバイオテックス. 酪農ジャーナル,6, 59-61.  
(2011)
- 3) 麻生久ら:枯草菌給与による乳房炎発症予防効果とその作用機構, ルーメン研究会報, 26(1), p17-22(2015)

## 16 宮城県における高糖分型飼料用稲栽培と利用技術

### 畜産試験場

森田昌孝，遠藤 潤

#### 1 はじめに

稲の茎葉と子実を同時に収穫，密封し乳酸発酵させた飼料である稲ホークロップサイレージ(以下，イネ WCS)の栽培が注目されている。イネ WCS は遊休水田や転作田において既存の水田や機械，設備などを活用できるとともに耕畜連携を通じた地域内循環を達成しうる重要な作物として栽培が拡大している。東北有数の水田面積を誇る本県においても栽培面積を着実に増大させており，平成 27 年度においては全国 5 位の 2000ha を超えるイネ WCS が栽培され，粗飼料自給率向上に貢献している。

しかし，イネ WCS となる稲体には付着する乳酸菌数が少なく，また糖分含量が低いため良質なサイレージを作るには課題を抱えていた。また，子実割合が高いことから不消化のまま排出される子実によって TDN 含量の低下や生理障害の発生などの問題を生じさせていた。

これらの課題を解決する高糖分型飼料用稲品種(以下，高糖分イネ)が近年，開発された。この高糖分イネは品種の特性上，子実割合が低く茎葉が充実していることから，光合成により作られた糖分がシンクである穂へ転流させず，茎葉に蓄積させることによって糖分含量が高まる性質を有する品種である。これにより高糖分・高栄養・高品質のイネ WCS 生産が可能となることから西日本を中心に栽培面積が急速に拡大している。本品種が県内に普及することになれば自給飼料増産のみならず高品質な畜

産物生産につながることから，本試験では高糖分イネの本県への適応性を評価するために各種調査を行った。

#### 2 材料および方法

調査は移植時期ならびに追肥時期の違いが栽培特性，収量性，糖分含量に与える影響を明らかにした。さらにサイレージの発酵品質についても調査した。

供試品種は高糖分イネである「たちすずか」，「たちあやか」，「リーフスター」(標準品種；本県奨励品種)の 3 種を用いて古川農業試験場内圃場にて行った。移植時期は 5 月 1，15，29 日に分けて行い，幼苗期に移植した。追肥時期は各 5 葉期，8 葉期，11 葉期および無追肥区を設けた。調査項目は出穂日，草丈，茎数，倒伏程度，収量，茎葉割合，糖分含量について調査した。なお，糖分は少糖類(グルコース，スクロース，フルクトース)の合計値を糖分含量とし，市販の糖分含量検査キット(F キット)を用いて行った。

発酵品質は専用収穫機にて収穫したロールベールを用い，約 2 ヶ月後に採材したものを試料とし，水分，pH，有機酸組成(乳酸，酢酸，プロピオン酸，酪酸)，VBN を調査した。また，有機酸組成と VBN から V2-スコアを算出し，評点を求めた。なお，添加した乳酸菌製剤として，「たちすずか」については平成 27 年度に畜

表1. 移植時期の違いが栽培特性に与える影響

| 品種     | 移植時期<br>(月/日) | 出穂期<br>(月/日) | 収穫日<br>(月/日) | 止葉<br>(枚) | 収穫期調査  |                       | 倒伏程度<br>(0-400) |
|--------|---------------|--------------|--------------|-----------|--------|-----------------------|-----------------|
|        |               |              |              |           | 草丈(cm) | 茎数(本/m <sup>2</sup> ) |                 |
| たちすずか  | 5/1           | 9/24         | 10/8         | 16.8      | 159.4  | 386.0                 | 133             |
|        | 5/15          | 9/28         | 10/8         | 17.3      | 157.5  | 347.9                 | 0               |
|        | 5/29          | 10/4         | 10/16        | 17.2      | 158.4  | 384.8                 | 50              |
| たちあやか  | 5/15          | 8/18         | 10/1         | 13.8      | 158.3  | 369.0                 | 0               |
|        | 5/29          | 8/31         | 10/1         | 14.3      | 168.4  | 418.7                 | 0               |
| リーフスター | 5/1           | 9/3          | 10/1         | 14.8      | 140.5  | 321.9                 | 0               |
|        | 5/15          | 9/16         | 10/1         | 15.3      | 139.5  | 285.6                 | 0               |
|        | 5/29          | 9/24         | 10/1         | 15.6      | 141.4  | 318.2                 | 0               |

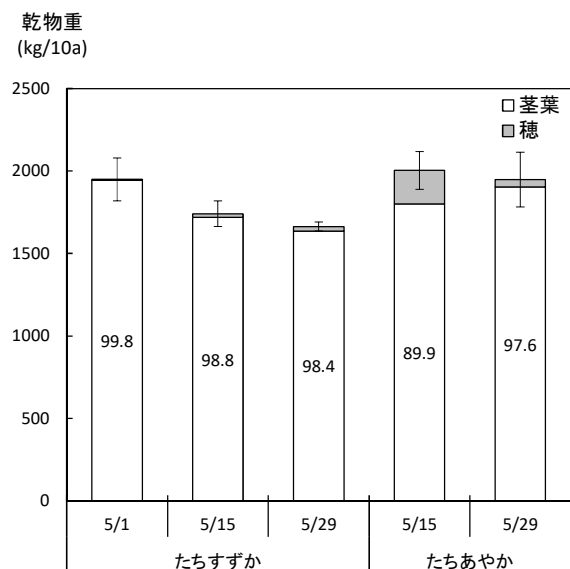
草1号を添加し、「たちあやか」は平成28年度に畜草2号を添加したものを試料とした。

なお、本試験は農林水産省委託プロジェクト「栄養収量の高い国産飼料の低コスト生産・利用技術の開発」の支援を受けて行い、栽培および収量に関する試験は古川農業試験場が行い、糖分含量および発酵品質に関する試験は畜産試験場が行った。

### 3 結果

表1に移植時期の違いが栽培特性に与える影響を示した。「たちすずか」は出穂期は9月下旬から10月上旬となり、出穂しない個体も見られた。「たちあやか」については8月中下旬に出穂が見られた。リーフスターについては移植時期により9月上旬から下旬になった。草丈については両高糖分イネともに160cm程度の草丈となり、従来品種であるリーフスターよりさらに長稈であった。茎数では高糖分イネはリーフスターに比べ1000本/m<sup>2</sup>程度、多くなった。倒伏程度については「たちあやか」、「リーフスター」の倒伏はみられなかったが「たちすずか」については挫折型倒伏がみられ、倒伏程度が高くなった。

図1に移植時期の違いが地上部乾物重と茎



※ 乾物重は株元5cm程度から刈取り後の地上部乾物重のこと

図1. 移植時期の違いが地上部乾物重と茎葉割合与える影響

葉割合に与える影響について示した。「たちすずか」は穂重が著しく少なくなり、茎葉割合は98%を超えた。「たちあやか」については「たちすずか」より穂重割合が高いものの茎葉割合は90%程度となった。収量については移植時期を5月1日とした場合、最も多くなり、両高糖分イネともに2000kg/10a程度の収量となった。

図2に出穂後日数の違いが糖分含量に与える影響を示した。「たちすずか」は出穂後日数に影響されず、どの時期においても糖分含量は

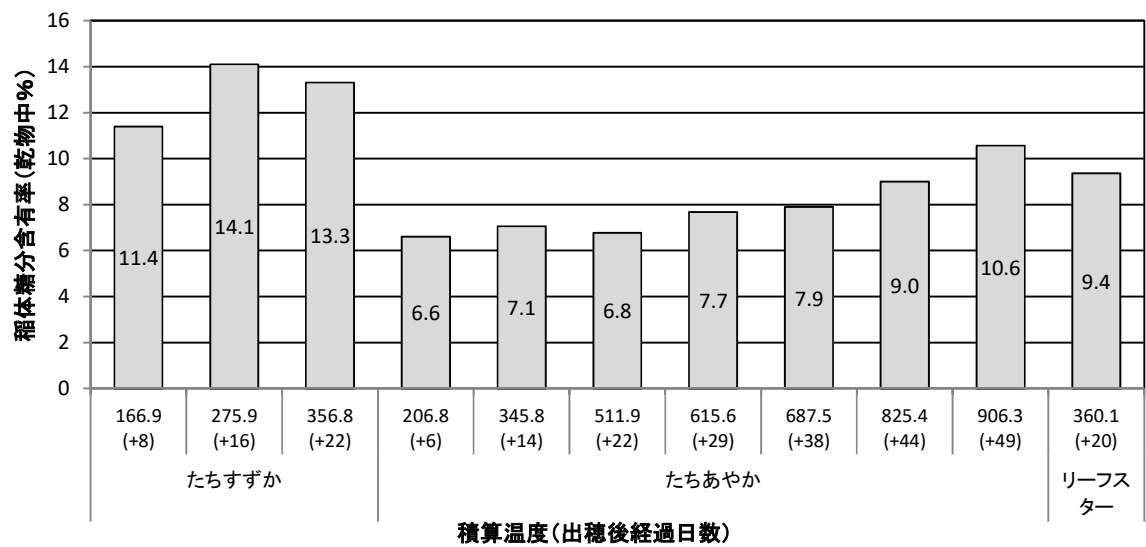
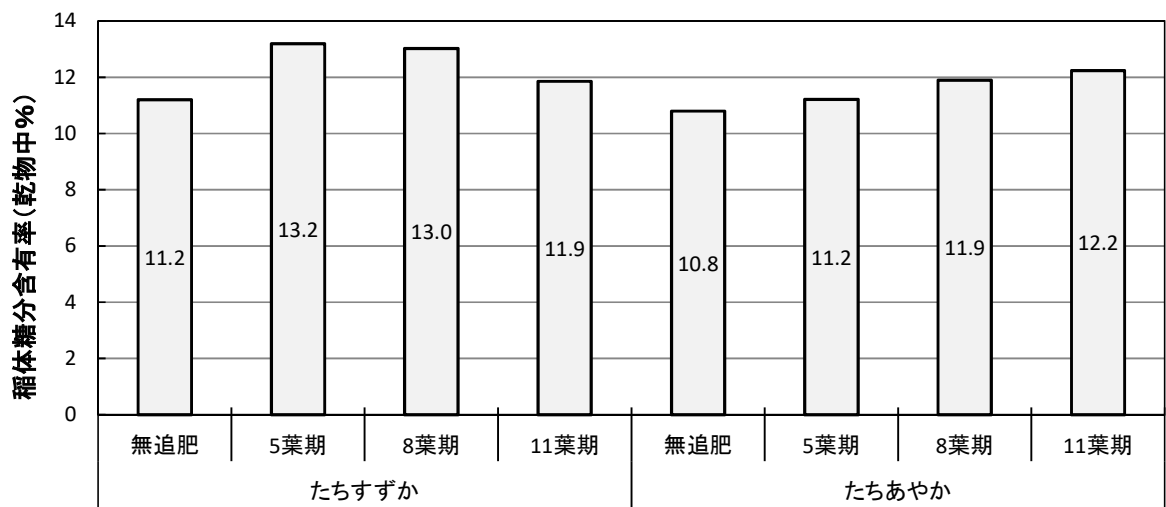


図2. 出穂後日数の違いが糖分含量に与える影響



1) 追肥はそれぞれの葉期に1回行った。無追肥区は追肥は行わなかった。

図3. 追肥時期の違いが糖分含量に与える影響

| 表2. 高糖分型飼料用稲品種のサイレージ発酵品質 |             |     |     |                              |        |      |        |
|--------------------------|-------------|-----|-----|------------------------------|--------|------|--------|
| 品種                       | 実施年度        | pH  | 乳酸  | 有機酸含量割合(新鮮物中%) <sup>1)</sup> |        |      | V2-スコア |
|                          | 乳酸菌         |     |     | 酢酸                           | プロピオン酸 | 酪酸   |        |
| たちすずか                    | H27<br>畜草1号 | 3.8 | 1.4 | 0.3                          | 0.002  | 0.00 | 98.8   |
| たちあやか                    | H28<br>畜草2号 | 4.0 | 1.5 | 0.7                          | 0.001  | 0.02 | 95.9   |

1)有機酸分析については島津高速液体クロマトグラムLC-20Aを用いて行った。

高く、11～14%となった。「たちあやか」については出穂後経過日数が増えるに従い、糖分含量も上昇し、49日になると10%を超えた。

図3に追肥時期の違いが糖分含量に与える影響の結果を示した。「たちすずか」については無追肥区と比べ追肥区が糖分含量の値が高くなるものの追肥時期での顕著な差はみられなかった。「たちあやか」は追肥時期が遅くなるに従い糖分含量は高くなり11葉期には12%程度になり最も高くなった。

表2にサイレージの発酵品質の結果を示した。両高糖分イネともpHは4.2以下となり、プロピオン酸、酪酸割合も低くなった。なお、「たちあやか」に添加した畜草2号は抗菌作用を持つ酢酸の生成量の多い乳酸菌が含まれることから、酢酸含量の値が高くなった。V2スコアについても両高糖分イネは評点が高く良質なサイレージ発酵となった。

#### 4 まとめ

高品質で高栄養が期待される高糖分イネは従来品種と比べ、さら草丈が高くなり、5月上旬移植により茎葉収量が2000kg/10a程度となり、多収となることが明らかとなった。「たちすずか」は出穂後日数に関わらず、高い糖分含量を示すことから刈取り時期の幅が広くなり収穫作業の分散にもつながることが考えられた。「たちあやか」については追肥を8～11葉期頃に行い、刈取り時期を遅らせ9月下旬から10月上旬に行うことにより糖分含量が高まり、高品質サイレージ生産につながることが示された。

しかし、「たちすずか」については挫折型倒伏が確認されたことから倒伏に弱く、収穫作業に対して課題を残すことが明らかになった。

以上のことから宮城県への高糖分イネの普及については「たちあやか」の適応性が高いことが示唆された。

近年、細断長を1cm以下にし高密度なサイレージ生産に寄与する汎用型微細断飼料収穫機や高糖分イネへの効果の高い畜草2号の開発など高糖分イネの安定収穫および貯蔵に資する周辺技術が開発されてきている。このようにイネWCSを利用する環境もさらに整っており、「たちあやか」などの高糖分型飼料用稲品種を本県においても積極的に普及し、高品質な畜産物生産に貢献していくことが重要である。

#### 5 参考文献

1) 高糖分飼料イネ「たちすずか」栽培技術マニュアル, 農研機構, 近畿中国四国農業研究センター (2013)

