令和4年度富山県畜産関係業績集録



🛕 富 山 県

# 令和4年度 富山県畜産関係業績集録目次

第一	部			
1	高病原性鳥インフルエンザ発生に備えた集合施設運営体制強化への取り組み	槻尾 里佳	··· 1	
(2)	情報通信技術(ICT)を活用した繁殖管理の有用性の検討	田知 慶久	··· 5	
3	管内の山羊飼養者への飼養衛生管理指導	宮澤 馨	8	
第二	二部			
4	リアルタイム PCR を用いた乳汁中 Staphylococcus aureus 迅速検出法の検討	竹中 悠人	13	3
5	黒毛和種繁殖農場で発生した牛パスツレラ(マンヘミア)症	増永 梢	18	8
6	搾乳牛の下痢便から検出された A 群ロタウイルスの遺伝子解析	藤井 晃太郎	••• 22	2
7	黒毛和種子牛に発生した銅中毒	岡部 知恵	20	6
8	放牧養豚場において発生した豚肺虫症の発生事例	西村 加奈	3	1
9	適期接種に向けた母豚群の豚熱ワクチン免疫状況の分析	水木 亮史	••• 3	5
10	鶏痘ワクチン接種鶏に発生した皮膚型鶏痘	石原 未希	••• 39	9
п	<b>ウは並みに済むい</b> 力			
П	広域普及指導センター			
1	地域資源を活用した「とやま和牛」のブランド力強化 ~酒粕が醸すおいしさの循環~	蓑和 誠也	••• 43	3
Ш	農林水産総合技術センター畜産研究所			
1	トウモロコシサイレージの収量予測	稲葉 真	••• 4	16
2	竹酢粉末を給与した豚肉の特徴	青柳 浩	••• 4	18

第64回 東海・北陸ブロック家畜保健衛生業績発表会(令和5年 三重県開催予定)選出演題

[令和4年度富山県畜産関係業績・成果発表会(開催日:令和5年1月26日 場所:富山県農協会館)]

I 家畜保健衛生所

# 1 高病原性鳥インフルエンザ発生に備えた集合施設運営体制強化への取り組み

○ 槻尾里佳、森岡秀就 東部家畜保健衛生所

#### [はじめに]

国内では高病原性鳥インフルエンザ (HPAI) の発生が相次いでおり、本県においても令和3年1月に13万羽規模の家きん農場で初めて本病が確認され、関係機関等の多くの協力のもと防疫措置を完了し、続発なく終息した。その後の防疫対応の検証では多くの課題が確認され、作業従事時間、動員数の変更、作業体系の見直し等が行われた。

一方、集合施設は、作業従事者を受け入れ健康調査を行い、防疫作業を開始するまでの 準備を行う要となる施設であるが、検証でも施設面や運営方法の課題が指摘された。

そこで、防疫体制全体の見直しを行う中で、集合施設の運営を強化するための取り組みを行ったので、その概要を報告する。

#### [取り組み内容]

1 県内発生時の集合施設の課題の整理

防疫業務にあたった作業従事者からは、施設面では、「施設が狭く外で待たされた」、「駐車場が混雑していた」、運営面では、「受付がどこにあるか不明であった」、「スタッフが誰かわからない」、「農場作業の進捗がわからない」、「飲食料を提供してほしい」などの指摘があった。

一方、運営に携わったスタッフからは、施設面では、「大雪の影響で除雪作業が難航し設営が遅れた」、「暖房が不足していた」、運営面では、「業務が多岐にわたる中、予定人員が来られない事態など人員不足が続き長時間勤務となった」、資材面では、「集合施設に一度に大量の資材が搬入され、現地用資材と混在し管理できなかった」、「搬入が手作業となり重労働となった」などの指摘があった。上記指摘から、施設面、資材面、運営面の3つの課題の見直しを行った。

#### 2 課題に基づく集合施設の見直し

#### (1) 施設面の見直し

市町に衛生対策会議や防疫体制ヒアリングを通して課題を説明し、十分なスペースが確保できる施設の再選定を依頼した。市町から提案された施設の平面図を入手し、事前にレイアウトを作成した。

# (2) 資材面の見直し

資材の搬入時に混乱したことから、資材備蓄場所での集合施設用資材と現地用資材の区分けと資材の搬入方法の検討を行った。

#### (3) 運営面の見直し

集合施設運営の各係の業務内容と指揮系統が曖昧であり、勤務体制や代替人員まで考慮されていなかったことから、組織体制の整理と係の再編を行った。

また、設営から集合施設業務の全体の見直しを行うとともに、作業従事者に配慮した施設の運営の検討も行った。

#### (4) 防疫演習による検証

1町から新たに選定された集合施設を会場として、町と合同で防疫演習を行い、施設面、 資材面、運営面の見直し内容について検証を行った。

#### [結果]

#### 1 施設面の見直し

集合施設は、作業従事者の受付、健康調査、防護具の着脱、資材の管理まで幅広い業務を行うため一定のスペースが必要なことから、発生時に集合施設を設置する管内の4市町から4施設の提案があったため、事前にレイアウト案を作成した上で全ての現地確認を行った。施設を管理する市町、作業従事者の健康調査を担当する厚生センター、施設の運営を行う広域普及指導センター(広域)及び家畜保健衛生所(家保)で施設の状況を調査し、意見交換を行うとともに必要資材を積算し、レイアウトを完成させた。

3 市町からは、体育館等の施設が提案され、面積が 800 ㎡以上と十分なスペースがあった一方、1 市から提案された遊休施設は、500 ㎡でやや狭いことから屋外に資材保管スペースを設ける等の調整を行った(図 1、図 2)。

また、除雪作業に苦慮した経験から駐車場を含む施設全体の除雪体制の確認を行った。

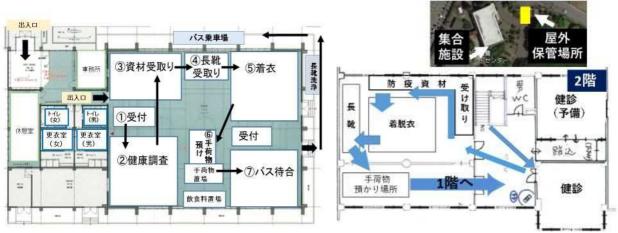


図1 体育館施設のレイアウト例

図2 遊休施設のレイアウト例

#### 2 資材面の見直し

資材の備蓄場所では、防疫服や防護具等の資材を県内最大規模のHPAI 発生時に対応しやすいよう配置している。まず、資材の整理を行ったうえで農場ごとに集合施設と現地用資材の区分けを明確にし、備蓄場所の区分レイアウトを作成した(図 3)。

また、資材の搬出をトラック協会に依頼し、搬出入作業を重機で行うなど省力化を図ることとした。

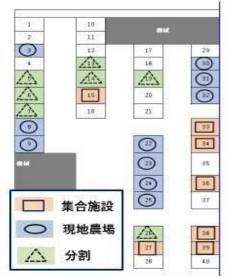


図3 備蓄場所の区分レイアウト例

さらに集合施設に資材の一時保管と中継を行うストックポイントとしての機能を追加し、急な不足への対応や重複発注がないように資材管理の充実を図った(図 4)。



図4 集合施設での資材管理

#### 3 運営面の見直し

#### (1)組織体制の整理と係の再編

集合施設班の業務内容と指揮系統が曖昧であったことから、発生時に実施した業務をすべて洗い出し組織体制の整理を行った。

集合施設の運営の責任者を家保職員が中心に担うことし、1名体制であった班長を広域職員1名に家保職員2名を加え3名体制とし、その下に施設のレイアウト作成や資材管理に関与した職員を配置し調整業務を行うことにした。

また、運営体制を明確にし、運営は広域職員に中心となってもらい、市町が補助する体制とした。

さらに係の再編成を行い、運営係、資材係、健康管理係から編成されていたものに加えて資材手荷物係、着衣係、駐車場係を新たに設置することとした。

#### (2) 運営方法の見直し

異常通報から集合施設で作業従事者の受付を開始するまでの準備を円滑に行うために 業務担当者の動きを時系列で整理したゼロクールマニュアルを作成し管理を行うことと した(図 5)。

集合施設の設営を迅速にできるよう一部の不足資材の備蓄を行った。

そして、受付時の混雑防止対策として、これまで FAX で受取りを行っていた作業従事者の名簿については、通信環境を整備し、新たにタブレットで受取りを行いプリンターで印刷することとした。

また、リストバンドを用いたクール分けと手荷物管理を運営に取り入れた(図 6)。クール毎に色分けされ、受付番号を記載したリストバンドを作業従事者が装着することで人員を把握することが容易になった。

同様に荷札を手荷物管理に用いることで、荷物の管理がしやすくなり、荷物の取り違いの防止につながった。



図 6 リストバンド

通報	R	1	10:	00	)		11	: 0	0			1:	2:(	00				13	:0	0			1	14	:0	0		1	5:	00			16	:0	0				17	:0	0		1	18	: 00	)			19	):(	00			20	:0	0	
	1																																																								
A	١,		連	絡	担当 指名													資	材多	発法	È.											絡消			ポヘ	<b>、</b> の	連	絡													所内 会請		Ŗ	目係	^j	連終	7
В	3						集合					ウト  成						设 <i>σ.</i> 劦諱								集 合t	Ŧ	多動			集台	合施	設	現均	也打	丁合	ìせ				動約	レ 養:			<b>ト</b> ዥ	隺認	E C		備	蓄	・レ	ンタ	ル	資材	受.	入	
C							般・則 Jス					資材 込信		i				静・資				発 [へ					Ŧ	多動	_				資	材	積:	込.	·運	搬ź	も 指	示					家	保	^	#	设告		所内 会請		資	材料打			務
D	<b>,</b> [			防៖	支措:	置計画	١.	動	計	画	、農	場場	資材	すり	ノス	1	作成	į		備	蓄	材油計画				スト	Ŧ	多動					ì	資材	積:	込.	·運	搬ź	も指	示					家	保	^	‡	设告		所内 会請		防	疫/ 打			前

図5 ゼロクールマニュアル (職員のスケジュール表抜粋)

#### (3)作業従事者への配慮

作業従事者に配慮した運営を行うため、①「防疫作業従事者のしおり」の共有による集合施設及び駐車場の案内、②各工程を示した案内板の設置、③スタッフを区別するためのビブスの着用、④農場の概要と進捗状況の掲示、⑤飲食料の提供等の対応を行うこととした。

#### (4) マニュアル作成

組織の再編や運営方法の見直しに伴い、各係の業務内容、指揮系統を明確化した「業務文掌」を作成し検討を重ね、最終的に集合施設運営マニュアル(マニュアル)を作成した。

#### (5) 防疫演習による検証

令和 4 年 10 月、集合施設の運営を担当する職員(広域、市町職員、家保)を対象に、 選定された施設で作業従事者を受入れ農場へ送り出すまでの一連の業務の実技演習を行った。

設営は、事前に作成したレイアウト図に基づき行うことで、約2時間という短時間で終えることができた。

また、①受付、②健康調査、③資材配布、④防護具装着、⑤手荷物預け、⑥バス待合までの各係の防疫作業前と作業後の運営業務を円滑に行うことができた。

参加者の理解度も高く、アンケート調査では「演習の内容を理解できたとか」という問いに対し、55%が「よく理解できた」、45%が「理解できた」と回答した。

さらに、「発生時の動きを把握することができた」、「関係する機関が顔を合わせて、実際の状況を想定して検討することに意義を感じた」などの意見があった。

これら防疫演習の検証を踏まえ、再度関係機関で検討し、マニュアルに反映した。

#### 「まとめ及び考察]

HPAI 発生時に浮かび上がった集合施設の施設面、資材面、運営面の3つの課題に対して、関係機関と連携し、課題の改善に向けて総合的に取り組みを行った。

施設面では、関係機関で現地確認し、それぞれの意見を反映させたことで、より実情に 即したレイアウトになり、設営をスムーズに行うことが可能となった。

一方、不測の事態により、発生時に施設を使用できない事も想定されることから、他の 候補施設の選定も必要と考えられる。

資材面では、備蓄場所での資材の区分けと、運搬計画の整理によって、より速やかな搬出入対応が可能になるとともに、資材のストックポイント機能の追加により、資材の管理、発注機能が向上した。

運営面では、組織体制を整理し、各係の業務内容を明確化し、作業従事者への配慮を運営に取り入れた。見直しによって、運営者と作業従事者の双方にとってより良い運営環境に改善されたと考えられる。

これらの取り組みによって作成したマニュアルは、防疫演習での検証により完成し、市 町、関係機関に周知しているところである。

今後とも関係機関と連携して、集合施設を含めた防疫体制の強化に努めてまいりたい。

# 2 情報通信技術 (ICT) を活用した繁殖管理の有用性の検討

田知慶久、加納直人、稲畑裕子西部家畜保健衛生所

#### [背景]

近年、酪農現場では経営規模の拡大や労働力の不足等によって、個体管理が不十分となり、乳牛の繁殖成績に影響を及ぼしている<sup>1)</sup>。そのような状況の中、A農場は種付けを同期化処置による受精卵移植(以下、ET)に頼っていたが、その経費を抑えるため、人工授精(以下、AI)主体の繁殖管理に移行した。しかし、自然発情での発情牛発見は難しく<sup>2)</sup>、種付けのタイミングを逃してしまうことが多かったため、繁殖成績の低迷を招き繁殖管理に係る負担が増加した。A農場からは、発情の見逃し防止や繁殖管理に係る負担を軽減したいとの相談が県にあったことから、今回ICTを用いた繁殖管理指導を行ったところ一定の有用性が確認できたのでその概要を報告する。

#### [A 農場の概要]

A農場はフリーストール牛舎に搾乳牛約60頭飼養し、後継牛を自家育成している。従業員は畜主を含め3名おり、繁殖管理は畜主1名で実施している。また、AIの受胎率が低迷したことで、後継牛の確保が難しくなり、平成30年までは、種付けを県外の開業獣医師による同期化処置によるETに頼っていたところ、受精卵代やET等の繁殖経費が経営状況を圧迫していたため、平成31年1月からAI主体の繁殖管理に移行した。しかし、A農場は自然発情でのAIを実施していたが、発情発見は難しいだけでなく、繁殖管理に係る負担が増加することとなり、令和2年1月からICTを活用した繁殖管理を実施した。

#### [導入した ICT の特徴]

令和2年1月、A農場に導入したICTは、牛の首に装着した発情発見装置(以下、センサー)が 採食、飲水、反芻などの行動データをクラウド内に蓄積することにより、畜主が十分な観察時間を 確保できない状況でも、発情兆候を検知できる。また、検知した発情行動はグラフで可視化するこ とにより、発情の開始と終了をPC及びスマートフォン上で確認できる(図1,2)。



図1 発情発見装置

図2 センサーを用いた行動観察

#### [取り組み内容]

1 発情牛の見逃し防止対策

発情牛の見逃しを防ぐため、目視による発情観察に加えセンサー40 台をリースで導入し、発情の 微弱な牛や夜間などでも ICT を活用し発情牛の発見に努めた。また、発情周期に複数回の発情アラ ートが観察されたことから、発情発見の正確度を高めるため、行動データの解析を行うとともに、 家畜保健衛生所(以下、家保)が直腸検査により発情牛の見極めを支援した。

#### 2 繁殖台帳の共有

繁殖状況をクラウド上に保存し畜主と家保が共有することにより、種付け状況に合わせた繁殖検診を実施した。また、後継牛を安定的に確保するため、家保はクラウド上のデータから凍結精液の使用状況の確認を行うとともに、交配計画についても指導を行った。

#### 3 AI の技術支援

AI 主体の繁殖管理へのスムーズな移行のため、AI の手技・手法及び凍結精液の融解方法を指導した。また、センサーに偏った種付けにならないように、畜主が発情診断を行えるよう直腸検査の技術指導を行った。

#### 4 作業の効率化

畜主から繁殖作業に係る時間を聞き取り調査した。

#### [結果]

#### 1 発情牛の見逃し防止対策

AI 主体であった平成 31 年 1 月では発情発見率(初回授精から最終授精までの間、実際に授精出来た割合)は 31% だったが、R4.12 では 64%となった(図 3)。

#### 2 繁殖台帳の共有

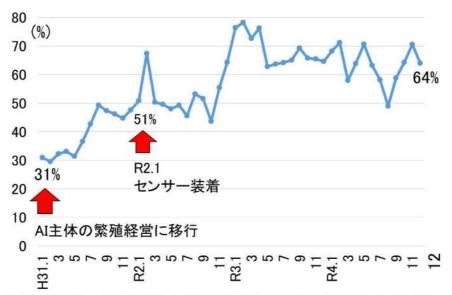
繁殖台帳を共有した結果、受胎確認の遅れを防ぐとともに、分娩後 60 日経過しても発情が確認できない牛は摘発が容易となり、授精の遅れを防ぐことにも繋がった。また、令和 4 年 12 月の平均空胎日数は 136 日、平均分娩間隔は 446 日であり、センサー装着前と比較し、平均空胎日数は 62 日間、平均分娩間隔は 36 日間短縮した(表 1)。さらに、令和 3 年度の子牛の生産頭数はホルスタイン種の雌が 16 頭、肉用交雑種及び黒毛和種の合計出荷頭数は目標頭数を上回った(表 2)。

#### 3 AIの技術支援

AI 主体の繁殖管理に変更したことで、ET 及び繁殖治療にかかる経費が減少し、繁殖経費を削減することができた(図 4)。

#### 4 作業の効率化

センサーの装着により、発情兆候の微弱な牛や夜中に発情した牛を検知することで、限られた時間の中でも発情牛を見つけることができ、発情観察の効率が上がった。また、繁殖台帳の整理や種付け状況の確認がスマートフォン上で簡便に行うことが可能となったため、繁殖作業に係る時間が減少した。



※発情発見率=(授精回数)÷((初回授精から最終授精までの日数)÷21+1)

図3 発情発見率の推移

表 1 繁殖成績

		X 1 米/區/水順		
	センサー装着前	R2 年度	R3 年度	R4.12 時点
	R1(1月~12月)			
平均空胎日数	198 日	165 日	181 日	136 日
初回授精平均日数	78 日	81 日	85 日	86 日
平均分娩間隔	482 日	452 日	447 日	446 日
受胎までの	2.5 回	2.7 回	3.6 回	2.1 回
平均授精回数				
			.,	

表 2	子生	の生	産頭数
4X 4		マン・エ.	

		P( = 1   1   =	3,331,71,791		
	ホルスタイン種	ホルスタイン種	肉用交雑種	黒毛和種	合計
	雌	雄			
実績	16	3	11	6	47
(目標)	(17)	(3)	(5)	(11)	(36)

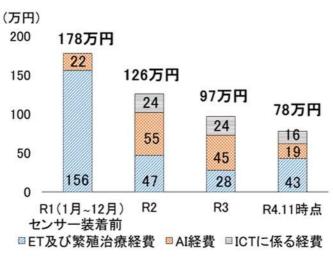


図4 繁殖経費

#### [まとめ及び課題]

今回、繁殖成績の低迷や繁殖管理に係る負担が増加した農場に対しICTを用いた繁殖管理指導を行ったところ平均空胎日数及び平均分娩間隔が短縮した。また、発情発見率が上昇したことから、発情兆候が微弱な牛の発見にも有効であることが示唆され、ICTを用いた繁殖管理が繋殖成績の向上に一定の有用性があると考えられた。繁殖経費においては、自然発情でのAIが増えたことで、繁殖治療及びETにかかる経費が削減された。さらに、発情観察の効率化、繁殖台帳の整理及び確認にかかる作業時間の短縮や、AI適期の見極めが容易になったことで、繁殖業務の負担が軽減し、畜主の意欲の向上にも繋がった。

一方課題としては、繁殖成績の更なる向上のため、分娩前後の飼養管理の見直しや発情観察の精度を上げるとともに、初回受精日数の短縮を図るために、授精技術の向上を図る必要がある。また、ICT を活用した繁殖管理を他農場にも普及させるため、今後は作業手順書の作成や定期的な研修会の開催が必要であると考えられた。さらに、牛舎構造(フリーストール、タイストール)の違いによって、その効果の違いが認められるかを検証する必要もあるが、これらの課題については、今後も調査を継続し、ICT を活用した繁殖管理の普及に繋げてまいりたい。

# [参考文献]

- 1) 今井敬:日本胚移植研究会(日本胚移植学雑誌).38:161-168.2016.9
- 2) 吉田智佳子:新大農研報.59(1):1-9.2006

# 3 管内の山羊飼養者への飼養衛生管理指導

○宮澤馨、稲垣達也 東部家畜保健衛生所

#### [はじめに]

令和 4 年 2 月 1 日現在、管内には 33 戸の山羊飼養農場で 235 頭飼養されているが、搾乳用に 67 頭を飼養する 1 戸を除き、地域おこし、除草、愛玩などの畜産業以外の用途であり、営利を目的としないことから交配計画及び飼養管理が不十分になるケースが少なくない。令和 3 年 4 月から令和 4 年 10 月までに山羊の病性鑑定が 28 頭、一般検査依頼が 127 検体、山羊に関する相談が 15 件あり、その都度助言・指導を行っている。また飼養衛生管理は家畜伝染病や一般の疾病の予防に極めて重要であり、特に愛玩等の飼養者にはきめ細かで丁寧な助言指導が必要であることから、適宜、飼養衛生管理基準に基づく指導として年一回の巡回指導(飼養頭数 6 頭以上)を実施している。

今回、管内2戸の山羊飼養農場における飼養衛生管理基準に基づく指導事例について報告する。

# [取り組み内容及び結果]

# 1. A農場への指導

# (1)農場概要

飼養頭数:19頭(雄10雌9) 畜舎数:1棟 管理者数:2名

飼養状況:教材用として山羊を飼育しているが、2年ほど前から教材として利用さ

れていなく、山羊の飼育管理が行き届いていない状況。

#### (2) 経緯

令和3年12月28日から翌年1月4日にかけて5頭が死亡し、当所へ病性鑑定の依頼があった。

#### (3)病性鑑定結果

1頭はコクシジウム病、4頭は衰弱死と診断された(表1)。

表 1 A農場病性鑑定成績

No.	性別	死亡日	月齢等	診断名
1.	雄	R3. 12. 28	1歳未満	衰弱死
2	雄	R4. 1. 1	推定10ケ月齢	衰弱死
3	雌	R4. 1. 2	推定10ケ月齢	衰弱死
4	雌	R4. 1. 2	1日齢	衰弱死
5	此隹	R4. 1. 4	2ケ月齢	コクシジウム病

#### (4) 立入時の状況

短期間に5頭の死亡があったことを踏まえて、令和4年1月11日に立入り調査を実施した。農場は25坪程度のビニールハウスで山羊を飼養しているが、雄雌同居飼育で無計画な交配を放置した結果、19頭(雄10頭、雌9頭)の山羊がひしめき合っていた。また、飼料置き場付近には、大きい山羊に畜房を追われた小さい山羊であふれる等、飼養衛生管理における複数の問題点が確認されたことから(図1)、飼養衛生管理基準に基づいた指導を行った。



図1 立入時の問題点

# (5) 飼養衛生管理基準に基づく指導内容

家畜伝染病予防法で定められている山羊の飼養衛生管理基準 38 項目のうち、問題であった以下の 3 項目について指導した。

- ①密飼の防止(項目12)
- ・不要な山羊、特に雄山羊を処分して飼養頭数を減らすこと。
- ・無計画な交配を避けるため、雌雄別飼い又は去勢すること。
- ②給餌設備給水設備等への野生動物の排泄物等の混入の防止 (項目 28)
- ・サイレージが山羊の排泄物で汚染されないようにすること。
- ③畜舎等施設の清掃及び消毒 (項目 31)
- ・不要な飲水用の水槽コンテナ等を減らして、清掃しやすい状況にすること。

# (6) 再立入による改善状況の確認

指導事項の改善状況を確認するため、令和 4 年 3 月 15 日及び 6 月 14 日に再度、立入 調査を実施した。

- ① 密飼の防止 (項目 12)
  - ・飼料置き場を畜房として利用するため、脱柵防止に柵下部にステンレスメッシュ を張り、雄と雌を分離飼育していた。また、小さい山羊を追い回す大きな山羊を 売却し飼養頭数を 8 頭(雄 2 頭、雌 6 頭)まで減らしていた。(図 2)
- ② 給餌設備給水設備等への野生動物の排泄物等の混入の防止 (項目 28)
  - ・サイレージが山羊の汚染物で汚染されないように草架が設置されていた。
- ③ 畜舎等施設の清掃及び消毒(項目31)
  - ・水槽コンテナ等を減らし不要物を撤去し、畜舎内の清掃も行き届いていた。



図2 再立入時の改善状況

# (7) 飼養衛生管理基準に基づいた今後の指導方針

問題点の3項目については改善されたことから、今後も定期的に立入時に確認をすることとした。また、頭数管理を適切に行うために、計画的な交配を適宜指導することとした。

# 2. B農場への指導

#### 「農場概要〕

飼養頭数:13頭 畜舎数:1棟 管理者数:1名

飼養状況:山羊を活用した耕作放棄地の除草や、地域との交流をはじめとする循環

型里山活性化に取り組んでいる。

# 「事例1]

# (1) 経緯

令和 4 年 3 月 16 日、飼養衛生管理指導の定期巡回時に、畜主より予定外の分娩が続き 畜舎が過密となったので 再発防止に取り組みたいと相談があった。

#### (2) 立入時の状況

当牧場は山羊を 13 頭飼養し、春から秋に 3 牧区で放牧しているが、放牧期には雄と雌を同じ牧区で飼養していた。冬から春にかけては越冬用の6坪程度の畜舎に山羊を収容していた。

無計画な交配による予定外の分娩の結果、本来1 畜房1頭で設計されている越冬用畜舎の畜房が足らず、広めの区画に体格の小さな山羊を雌雄分けることなく複数頭収容となっていた(図3)。更にその結果として予定外の交配が発生していた。

飼養管理における問題が確認されたことから、飼養衛生管理 基準に基づいた指導を行った。

# (3) 飼養衛生管理基準に基づく指導内容

密飼が確認されたことから、以下の指導を行った。

・密飼の防止 (項目 12)



図3 立入時の問題点 (雄雌同居飼育)

無計画な交配が越冬用畜舎での密飼状況に繋がることから、交配に供さない雌山羊は年間を通じて雄山羊と離して飼育すること。又は不要な雄山羊を去勢すること。

#### (4) 再立入による改善状況の確認

指導事項の改善状況を確認するため、令和 4 年 9 月 28 日に再度、立入り調査を実施した。

・密飼の防止(項目12)

3 頭譲渡し、飼養頭数を減らすとともに、雄と雌は分けて放牧し自然交配対策が実施されていた。このため、予定外の増頭による越冬用畜舎での密飼い状況は避けられると推察された。

#### 「事例2]

#### (1) 経緯

令和 4 年 9 月 28 日の農場再立入時に、数日前から下痢を呈している山羊への対応について相談があった。

#### (2) 立入時の状況

当該山羊は 4歳の雌で、体温は 39.5℃で平熱であったが、 眼瞼、口腔内等の可視粘膜は蒼白で皮膚温は冷たく、歩様 蹌踉で貧血・衰弱著く、便は褐色泥状であった。また下顎 に浮腫が認められ、捻転胃虫の感染が疑われた(図 4)。本 農場では過去にも腸管内寄生虫病の発生があることから直 ちに管理獣医師への受診を勧めた。その後管理獣医師が対 症療法等加療するも 10 月 3 日死亡したため、当所で病性鑑 定を行った。



図4 下顎の浮腫

#### (3)病性鑑定結果

第四胃内に捻転胃虫が寄生し、結腸便の虫卵検査で線虫卵が 2,200epg と重度の感染 <sup>1)</sup>が認められ、捻転胃虫症と診断された。

# (4) 飼養衛生管理基準に基づく指導内容及び結果

今回の症例を受けて、以下の項目を指導した。

- ① 獣医師等の健康管理指導(項目6)
  - ・飼養している山羊に異常を認めたら、速やかに管理獣医師に連絡すること。
- ② 毎日の健康観察(項目32)
  - ・当牧場では、腰麻痺予防のために梅雨明けから秋まではイベルメクチンを定期的に投与しているが、捻転胃虫は多くの系統の薬剤に対して、駆虫薬耐性が知られている<sup>2)</sup>。今回の病性鑑定結果により、捻転胃虫が既に耐性を獲得している可能性も考えられたことから、本病の発症予防には、駆虫よりも常に健康状態、特に十分に餌を与える等栄養ストレスを減らし抵抗力、免疫力を保つことと、個体別の毎日の健康観察を行うことを指導。

なお、その後捻転胃虫症の続発はない。

#### (5) 飼養衛生管理基準の今後の指導方針

当農場は管理者1人で山羊を多頭飼育しており、引き続き飼養衛生管理の指導をし

ていくこととした。

#### [まとめ及び考察]

管内では山羊の飼養頭数が年々増加し、疾病に関する病性鑑定及び相談件数も増加する中、管理獣医師よりも先に家畜保健衛生所に相談が寄せられる例は少なくなく、積極的に獣医師に受診しない傾向がみられ、死亡頭数が減少しない要因の一つと考えられる。

また、今回立入指導した2戸の相談事例では、無計画な増頭が引き起こした密飼状況が飼養衛生管理に悪影響を及ぼしており、多頭飼育崩壊に繋がりかねない状況であった。 今後、山羊飼養者から家畜保健衛生所に相談があった際には獣医師への受診を勧めると ともに、密飼防止のために計画的な交配を勧めることが必要であると考えられた。

管内の山羊飼養者の大半は非畜産業であり、経営計画に基づく頭数、飼養衛生管理への興味は低い状況と考えられるが、今回、山羊飼養者への飼養衛生管理基準に基づいた助言、指導を実施した結果、飼養管理と衛生意識の向上がみられた。適切な飼養衛生管理は、家畜を健康に飼養し、更に防疫の観点からも重要である。

今後も山羊飼養者から相談があった際には積極的に立入調査を実施し、飼養の実態について把握するとともに、飼養衛生管理基準に基づいた指導を実施していきたい。

#### [参考文献]

- 1) Handbook for the Control of Internal Parasites of Sheep and Goats, 14, University of Guelph (2019)
- 2) Handbook for the Control of Internal Parasites of Sheep and Goats, 22, University of Guelph (2019)

# 4 リアルタイム PCR を用いた乳汁中 Staphylococcus aureus 迅速検出法の検討

○竹中悠人、西井純 東部家畜保健衛生所

#### [はじめに]

 $Staphylococcus\ aureus\ (以下、Sa)$ は牛の乳房炎における主要な原因菌の一つ  $^{1),2),3),4)$ であり、牛の乳腺組織を損傷することで乳量を低下させ経済的損失を引き起こす  $^{17)}$ 。また、抗菌薬等の治療には抵抗を示すことが多く、明確な症状なく長期間保菌される傾向にある  $^{5),9)}$ 。この特徴から、主に搾乳機械や搾乳者の手指等によって容易に水平感染が起こり  $^{11)}$ 、対策には感染牛の把握が重要となる。従来、Sa を含む乳房炎の診断は寒天平板培地を用いた乳汁培養検査が一般的に用いられており  $^{14)}$ 、培養には  $24\sim48$  時間を要する  $^{7)}$ 。一方で、近年は短時間での判定が可能な PCR 法を含む分子的手法も考案されている  $^{15)}$ 。

今回、管内で Sa による乳房炎に苦慮する酪農家において、清浄化対策の一環として乳汁中 Sa の迅速検出を目的に分子的手法の一つであるリアルタイム PCR (以下、qPCR) を用いた検査法の検討を行ったので、その概要を報告する。

### 「材料および方法]

材料:搾乳牛約30頭を飼養する酪農家において、令和3年12月~令和4年8月に各個体より採取した合乳及び各分房乳を用いた。

方法:qPCR については、細井らの報告  $^{8)}$ に基づき次のとおり実施した。SYBR Green によるインターカレーター法を使用し、プライマーは nuc 遺伝子領域より 114bp にて設定した。PCR 条件は、初期熱変性を 95  $\mathbb{C}$  · 15 分、サイクリングは、熱変性を 94  $\mathbb{C}$  · 15 秒、アニーリングを 56  $\mathbb{C}$  · 30 秒、伸長反応を 72  $\mathbb{C}$  · 50 秒で、50 サイクルとした。増幅産物の特異性の確認は、2.0%アガロースゲルを用いた電気泳動において、増幅産物のサイズを調べることにより実施した。乳汁培養検査については、乳汁 50  $\mu$  1 を 5%馬血液寒天培地、DHL 寒天培地、卵黄加マンニット食塩寒天培地、X-SA 寒天培地に塗布し、37  $\mathbb{C}$  、24 時間、好気培養し、Sa を疑うコロニーにはラテックス凝集試験、コアグラーゼ試験を実施した。これらの手技を用いて以下の検討を行った。

<検討1>遺伝子検査の前処理方法別、抽出方法別の結果比較

遺伝子検査について、乳汁 A (Sa 濃度:  $218cfu/50 \mu$  1)、乳汁 B (Sa 濃度:  $850cfu/50 \mu$  1) を検体とし、前処理方法には①未処理、②液体培地である broth での増菌培養、③遠心の 3 方法を、抽出方法には①アルカリボイル法、②B 社抽出 kit、③K 社抽出 kit の 3 方法を用いて検討し、前処理方法別、抽出方法別の Ct 値の比較を実施した(表 1)。また、 1 検体あたりの各処理時間とコストの比較を実施した。

表1 前処理及び抽出の内容

工程	方法	内容
前処理	①未処理	乳汁をそのまま使用
	②broth增菌培養	brothに乳汁を100または300 μ l添加し、 2または4時間培養。 遠心(12,000rpm・3分)後、上清を除去し沈渣を使用。
	③遠心	乳汁を2段階遠心(3,000rpm・10分→12,000rpm・3分)し 上澄みの脂肪分を除去。上清を除去し沈渣を使用。
抽出	①アルカリボイル法	乳汁をNaOH溶液に添加し95°Cで加熱。 上清を使用。
	②B社抽出kit	手順書に従う。上清を使用。
	③K社抽出kit	手順書に従う(一部変更)。上清を使用。

#### <検討2>個体合乳における遺伝子検査と乳汁培養検査の結果比較

検討1の結果より遺伝子検査に適当と考えられた前処理方法及び抽出方法を選択し、Sa陽性牛を含む合乳サンプル2群(令和4年6月採材の23頭及び7月採材の13頭)を材料として、遺伝子検査と乳汁培養検査の結果比較を実施した。また、1検体あたりの各検査所要時間とコストの比較を実施した。

#### 「結果」

<検討 1>未処理では Ct 値は得られなかったが、その他すべての前処理方法、抽出方法では 20 前半~30 前半の Ct 値が得られ、十分な感度を示した。なお、増幅産物はすべて 114bp であることを確認した。前処理方法別の Ct 値の比較(図 1)について、broth 増 菌では培養時間の長さに関わらず、添加する乳汁量が  $100\,\mu$  1 から  $300\,\mu$  1 に増えると Ct 値は低くなり感度が上昇する傾向にあった。中でも乳汁量  $300\,\mu$  1・4 時間の broth 増菌で Ct 値は最も低くなり感度が高い傾向にあった。抽出方法別の Ct 値の比較(図 2)では、B 社抽出 kit、アルカリボイル法、K 社抽出 kit の順に Ct 値が高くなり感度は低下する傾向となった。各処理時間とコストの比較結果(表 2)について最も処理時間が短く安価な組合せは、前処理では遠心、抽出ではアルカリボイル法であった。

<検討 2>検討 1 の結果から、遺伝子検査について前処理は遠心を、抽出はアルカリボイル法を選択し、合乳サンプルで遺伝子検査と乳汁培養検査の結果を比較したところ、どちらの群でも Sa 検出について結果は一致した。なお、増幅産物はすべて 114bp であることを確認し、非特異反応を疑うような結果はみられなかった。また、各検査所要時間とコストの比較結果(表 3)について、乳汁培養検査に比較して遺伝子検査では、所要時間は約 1/10 に短縮、コストは約 2.5 倍に増加となった。

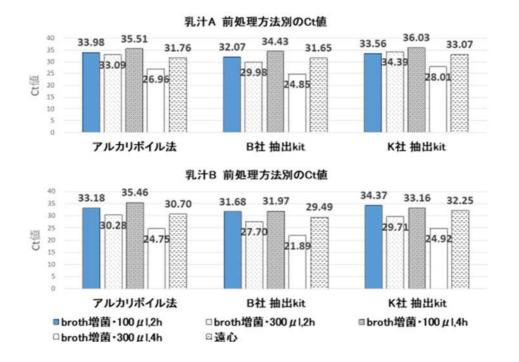


図1 <検討1>前処理方法別のCt値

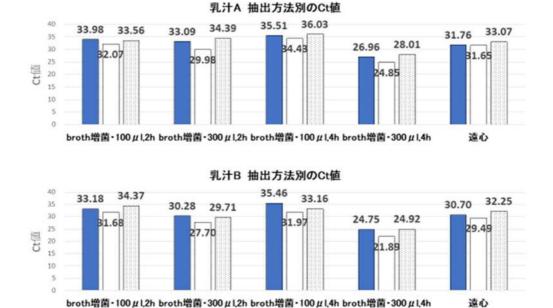


図2 <検討1>抽出方法別のCt値

■アルカリボイル法 □B社 抽出kit □K社 抽出kit

表 2 <検討 1> 各処理時間とコスト

工程	方法	処理時間(/検体)	コスト(/検体)
前処理	未処理		
	broth增菌	2時間10分 ~4時間10分	5.58円
	遠心	20分	0円
抽出	アルカリボイル法	7分	0.07円
	B社抽出kit	55分	134.64円
	T社抽出kit	25分	189.75円

表 3 <検討 2> 各検査所要時間とコスト

検査方法	所要時間(/検体)	コスト (/検体)
遺伝子検査 前処理:遠心 抽出:アルカリボイル法 の場合	2時間45分	299.3円
<b>乳汁培養検査</b> 血加BHI培養のみ の場合	20~24時間	124.2円

#### 「考察]

検討結果から、遺伝子検査について未処理を除くいずれの組合せでも Sa 陽性検体の検出が可能と考えられた。前処理方法別の Ct 値の比較では乳汁量  $300\,\mu$   $1\cdot 4$  時間の broth 増菌で Ct 値は最も低くなる傾向にあったが、生乳中の乳房炎原因菌に対する qPCR における Ct 値は生乳中の細菌 DNA 量に負の相関を示す報告  $^{12)}$ もあり、前処理の中では本処理において最も細菌 DNA 量が増加した可能性が考えられた。検査所要時間の短さ及びコスト面を考慮すると、併用する前処理は遠心、抽出はアルカリボイル法が適当と思われた。Sa 陽性牛を含む牛群の個体合乳を用いて遺伝子検査と乳汁培養検査の結果を比較したところ、その結果は一致し、遺伝子検査が乳汁培養検査の代用になり得ることが示唆され、検査時間も大幅に短縮された。以上のことから、今後例数を増やした検討が必要ではあるものの、qPCR を用いた本検出法は有用性があると考えられた。

乳汁検査における qPCR の利用はその迅速性と高い感度、結果の解釈のしやすさ等から従来の乳汁培養法を補完できる可能性があるとの報告  $^{13)}$ もあり、国外では  $^{2010}$  年以降、非無菌的な合乳サンプルを対象とした  $^{10)}$ 、今後国内においても  $^{50}$  なんにおける  $^{50}$  の応用が期待できる。一方で、 $^{50}$  は牛の皮膚に常在する菌であるため採材時にコンタミネーションが生じる可能性が存在  $^{60}$  し、また

qPCR は生存細胞でなくゲノム DNA を検出する検査法 <sup>16)</sup>であるため、結果の臨床的関連性には注意を要する。このため、現段階では今回検討した検出法は牛群に対し個体合乳スクリーニング検査として行い、陽性の場合は摘発個体のみ分房乳の採材及び乳汁培養を行う体制として実施することで、効率的に陽性分房を把握できると思われる。これにより、スクリーニング段階からまん延防止対策を講じることが可能となるとともに、検査の効率化が期待できる。

# [参考文献]

- 1) Barkema, H. W., et al: J. Dairy Sci., 89, 1877-1895 (2006)
- 2) Boss, R., et al: J. Dairy Sci., 99, 515-528 (2016)
- 3) Bruno Campos, et al: BMC Veterinary Research, 18:115(2022)
- 4) Dufour, S., et al: J. Dairy Sci., 95, 1283-1300(2012)
- 5) Erskine, R. J., et al: J. Dairy Sci., 77, 3347-3353(1994)
- 6) Haveri, M., et al: J. Clin. Microbiol., 46, 3728-3735 (2008)
- 7) Hogan, J. S., et al: Laboratory Handbook on Bovine Mastitis., Madison, NMC (1999)
- 8) 細井知弘:東京都立食品技術センター研究報告, 14, 6-10(2005)
- 9) Kamata, S., et al: Jpn. J. Antibiot., 43, 1698-1712 (1990)
- 10) Katholm, J., et al: J. Dairy Sci, 95, 5702-5708 (2012)
- 11) Keefe, G.: Vet. Clin., 28, 203-216 (2012)
- 12) Koskinen, M. T., et al: Mastitis Control From Science to Practice, 183-189, Wageningen, Wageningen Academic Publishers (2008)
- 13) Koskinen, M. T., et al: J. Dairy Sci., 93, 5707-5715 (2010)
- 14) Madison: Laboratory handbook on bovine mastitis(1999)
- 15) Oliver, S. P., et al: FEMS Microbiol. Lett., 160, 69-73 (1998)
- 16) Schukken, Y, et al: Mastitis Research Into Practice, Wellington, Vet Learn (2010)
- 17) Zecconi, A., et al: IDF Bull, 408, 21-22(2006)

# 5 黒毛和種繁殖農場で発生した牛パスツレラ(マンヘミア)症

○ 増永梢、長澤健太、飯田佳代 西部家畜保健衛生所

#### [はじめに]

牛パスツレラ(マンへミア)症は微生物を病原体とする牛の呼吸器病であり、その病原体の1つである Mannheimia haemolytica (Mh) は牛の上部気道の常在菌であり、我が国で分離される主な血清型は1型である。Mh は各種ウイルスやマイコプラズマと混合感染することが多く、外毒素であるロイコトキシンを産生することから病原性が強く、牛呼吸器病症候群における致死的要因の1つとして重要視されている。

一方、Mh による牛の肺炎症例は、若齢牛に関するものが多数報告されているが、成牛の死亡例についての報告は多くない。今回、黒毛和種繁殖牛を飼養する農場で成牛の死亡が相次いだ事例に遭遇したため、その概要を報告する。

#### [発生の概要]

当該農場は黒毛和種繁殖牛を約 100 頭飼養する肉用牛農家であり、繁殖牛は1頭毎の分房で飼養されている。令和 4 年 3 月下旬に県外より牛を導入した。約 1 週間後の 4 月上旬より食欲不振や 40℃以上の発熱症状が散見されるようになり、同 14 日から 20 日にかけて計 7 頭が死亡した。そのうちの繁殖雌牛 5 頭と 2 日齢の子牛 1 頭の計 6 頭について病性鑑定を実施し、その結果を受け農場への立ち入り、同居牛の血清学的検査を行った。なお、当該農場は細菌性およびウイルス性の呼吸器感染症に対するワクチンは未接種であった。

# [材料および方法]

- 1 病理組織学的検査 死亡牛は剖検後、常法に従いヘマトキシリン・エオジン染色を実施した。
- 2 細菌学的検査
  - 1) 菌分離:主要臓器について 5%馬血液加寒天培地、DHL 寒天培地を用い、37℃、24 時間、 好気および炭酸ガス培養を実施し、分離菌株は市販の同定キットにて同定した。
  - 2)血清型別:分離された菌株について Klima ら<sup>1)</sup>の方法に従い PCR 法により同定した。
  - 3)分子疫学的解析:分離されたMh17株について、 $Sthitmatee^2$ )らの方法による制限酵素 ApaIを用いたパルスフィールドゲル電気泳動 (PFGE)にて実施した(動物衛生研究部門に依頼)。
  - 4) 薬剤感受性試験:11 薬剤(PCG:ペニシリン、ABPC:アンピシリン、OTC:オキシテトラサイクリン、KM:カナマイシン、EM:エリスロマイシン、MAR:マルボシル、ENR:エンロフロキサシン、FF:フロルフェニコール、OBFX:オルビフロキサシン、CIF:セフチオフル、CEZ:セファゾリン)について一濃度ディスク法により実施した。
- 3 ウイルス学的検査
  - 1)抗原検索:肺乳剤を用いて牛呼吸器病関連ウイルスの遺伝子検査を PCR 法にて実施した。
  - 2)血清学的検査:導入牛3頭を含め同居牛10頭の血液を用いて、牛RSウイルス(BRSV)の中和試験を実施した(図1)。

#### [結果]

#### 1 病理組織学的検査

割検:ほぼすべての牛において、肺が暗赤色を呈し出血や硬結などの同一の所見が認められた(図 2)。胸腔内には胸水が貯留しており、肺と胸壁の癒着が認められた。肺の漿膜面には繊維素の付着が認められるものもあった。肺の割面は間質の著しい線維化や実質の暗赤色化による大理石様文様が認められた(図 3)。また気管粘膜には出血が見られ、気管内は泡沫様物で充満していた。

病理組織学的検査: 剖検したすべての牛において化膿性線維素性肺炎が認められた(表1)。肺胞腔内には多数の好中球やマクロファージ等の炎症細胞の浸潤が認められ、好中球の中にはロイコトキシンによって変性した燕麦様細胞も認められた。

#### 2 細菌学的検査

- 1) 剖検した全ての牛より Mh が分離された(表 1)。
- 2) 血清型は1型と同定された。
- 3)供試菌株はすべて同一バンドパターンを示し、遺伝的に近縁であることが示唆された(図 4)。
- 4)薬剤感受性試験の結果は、11薬剤すべて感受性であり、耐性は認められなかった。(表2)

#### 3 ウイルス学的検査

- 1)6頭中1頭からBRSV遺伝子を検出した(表1)。
- 2)10 頭すべてで BRSV に対する中和抗体が認められ、その抗体価も全体的に高い傾向が認められた(表 3)。

導入牛 導入牛 No.3 導入牛 No.4			No.10		
導入牛 No.5 導入牛 D-7 No.7 4/20死	通路			通路	No.8
D-9		D-11	No.9		No.2
D-8 母牛No.6 D-15		D-12			



D-7~D-15 病性鑑定 NO.1~10 BRSV 抗体検査

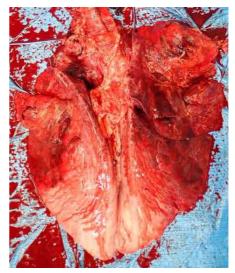


図 2 肺



図3 肺割面

表 1 病性鑑定結果まとめ

番号	D-7	D-8	D-9	D-11	D-12	D-15
年齢	5歳	2日齢	11歳	4歳	5歳	8歳
死亡日	4/14	4/15	4/16	4/17	4/17	4/18
剖検所見	右肺前葉の腫大、 肝変化	肺前葉・中葉の出血、 腫大、硬結、	右肺前葉の腫大、 前葉~中葉の硬結	肺前葉、中葉の硬結 肺葉の癒着	肺前葉、中葉の硬結 肺葉の癒着	肺の一部硬結、暗赤色 肺葉の癒着
細菌検査 M.haemolytica	脾腎心肺(+)	肝脾心肺(+)	肺(+)	肝脾心肺(+)	肝心肺(+)	肝脾腎心肺(+)
ウイルス検査 BRSV	_	_	_	_	_	+
病理組織学的検査 肺	化膿性繊維素性胸膜肺炎	化膿性繊維素性気管支肺炎	化膿性繊維素性気管支肺炎	化膿性繊維素性肺炎	化膿性繊維素性肺炎	化膿性繊維素性胸膜肺炎

PFGEバンドパターン	分離臟器	個体情報
	肺	
	牌	D-7 死亡 (2022/4/14) 肺炎
114	/Lì	D-1 死亡 (2022/4/14) 加灭
	野	
	肺	
	牌	D-8 死亡 (2022/4/15) 肺炎
	!Ù	202214110) 1110
	肝	
	肺	D-9 死亡 (2022/4/16) 肺炎
4 4 444 114	ıù	D-11 死亡 (2022/4/17) 肺炎
	肝	
1 1 1111	肺	D-12 死亡 (2022/4/17) 肺炎
	ιÙ	
	肺	
	脾	D-15 死亡 (2022/4/18) 肺炎
	腎	2 .3 .3
STATE OF THE PARTY	肝	

図 4 PFGE

表 2 薬剤感受性試験

	PCG	ABPC	отс	KM	EM	ENR	MAR	FF	OBFX	CIF	CEZ
D-7	S	S	S	I	I	S	S	S	S	S	S
D-8	S	S	S	I	I	S	S	S	S	S	S
D-9	S	S	S	I	I	S	S	S	S	S	S
D-11	S	S	S	I	I	S	S	S	S	S	S
D-12	S	S	S	I	I	S	S	S	S	S	S
D-15	S	S	S	I	I	S	S	S	S	S	S

S:感受性 I:中間 R:耐性

表 3 BRSV の中和抗体価

血清番号	抗体価
No. 1	32
No. 2	64
No. 3	128
No. 4	64
No. 5	128
No. 6	256 <
No. 7	64
No. 8	64
No. 9	16
No. 10	64

#### 「まとめおよび考察]

病性鑑定の結果より、一連の死亡牛は Mh の感染による牛パスツレラ(マンヘミア)症と診断された。

今回分離された Mh は最も多く分離される血清型 1 型であり、PFGE のバンドパターンも国内で一般的にみられるものと同じであった。

当該農場において牛呼吸器関連のワクチンは未接種であったにも関わらず、同居牛検査で BRSV に対する高い抗体価を認めたことから、今回の Mh の流行には BRSV の関与があったことが疑われた。

病性鑑定の結果より、今回成牛において死亡が相次ぐ大きな被害となった要因として、呼吸器関連のワクチンが未接種であったこと等の宿主側の要因と抗菌剤による治療が遅れたことによる影響が大きいと考えられた。これらのことから農場主へは異常の早期発見と早期治療、牛房等の消毒を指導し、またワクチン接種プログラムを提示した。その結果、農場主の衛生意識が向上し、早期治療の徹底に努めている。

#### [謝辞]

PFGE を実施していただき、ご助言ご指導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上野勇一先生に深謝いたします。

#### 「引用文献]

- 1) Cassidy L. Klima, et al: Journal of Microbiological Methods., 139, 155-160 (2017)
- 2) Nattawooti Sthimatee, et al: J. Vet. Med. Sci., 72(11):1465-1470(2010)

# 6 搾乳牛の下痢便から検出された A 群ロタウイルスの遺伝子解析

○藤井晃太郎、西井純 東部家畜保健衛生所

#### [はじめに]

A 群ロタウイルス (RAV) は主に新生子牛の下痢症の重要な原因の一つである。ゲノムは 6 種の構造タンパク (VP1~4、6、7) と 6 種の非構造タンパクをコードする 11 本の分節化した RNA から構成される。このうち、中和抗原を有する VP7 (G タイプ) 及び VP4 (P タイプ) の 2 種類の抗原性により血清型が規定される。新生子牛の下痢から検出された RAV の VP7 及び VP4 の多くが G6P[11] や G10P[11] の血清型に分類されるという報告  $^{5)$ 、 $^{6)}$ がある一方で、成牛の下痢症に関与した RAV の詳細な報告は少ない。

令和4年3月、管内酪農家(A 酪農家:症例1)の搾乳牛において、RAV が関与した集団下痢が発生したので、その概要と令和元年度以降の RAV 発生事例(症例1~症例4)との疫学関連調査を行ったので報告する。

#### [発生概要]

#### (症例 1)

令和 4 年 3 月に A 酪農家 (搾乳牛 70 頭飼養) において、同一牛舎でつなぎ飼養されている搾乳牛約 10 頭が下痢を呈し、乳量の減少が認められた。A 酪農家で生産された子牛は主に県外で預託・育成しており、母牛には定期的に不活化 A 群ロタウイルス 3 価 (G6P[11]、G6[P1]、G10[11]:メーカー聞き取り)、牛コロナウイルス、大腸菌の繊毛抗原を含む下痢 5 種混合ワクチンを接種していた。下痢が終息し、乳量が回復するまでにおよそ 1 カ月を要した。 (症例 2)

令和3年7月に搾乳牛200頭以上を飼養する管内酪農家(B 酪農家)において、10から60日齢の子牛が下痢を呈し、下痢便からRAV遺伝子が単独で検出された。B 酪農家は成牛を県外から導入して、近年規模を急拡大させており、母牛にはA 酪農家同様、定期的に下痢5種混合ワクチンを接種していた。

#### (症例3)

令和2年7月に黒毛和種繁殖牛約40頭を飼養する県内繁殖農家(C繁殖農家)において、16から26日齢の子牛が下痢を呈し、下痢便からRAV遺伝子が単独で検出された。C繁殖農家は自家産の子牛以外に比較的小規模な県内酪農家に受精卵を提供し、受精卵移植産子を導入し育成している。母牛には下痢5種混合ワクチンを接種していた。

#### (症例 4)

令和2年2月にB酪農家において、搾乳牛で散発的に下痢が発生し、乳量の減少が認められた。下痢が終息するまで、およそ4日程度であった。

#### [材料及び方法]

- (1)遺伝子検査:症例1の下痢を呈した搾乳牛から採取した糞便6検体を用いて、RAV、B群ロタウイルス(RBV)、C群ロタウイルス(RCV)、牛コロナウイルス(BCV)、牛トロウイルス(BToV)、牛ウイルス性下痢ウイルス(BVDV)についてRT-PCRを実施。
- (2) ウイルス分離:遺伝子検査で RAV 遺伝子が検出された糞便を 20%乳剤にして、上清をトリプシンで 37%30 分処理後、MA104 細胞に接種し、トリプシン加 MEM 培地により、37%で回転培養、3 代継代。判定は簡易キット(「ディップスティック'栄研'ロタ」)を用いた。
- (3)抗体検査:症例1の下痢を呈した搾乳牛6頭分のペア血清について、BCV(掛川株)、BToV、

BVDV1型(Nose株)及び2型(KZ91株)を用いた中和試験を行った。

- (4)遺伝子解析:成牛に下痢を起こした RAV の血清型や疫学的な関連を検索するため、A 酪農家 (症例 1)で分離された RAV と、令和元年度以降 B 酪農家 (症例 2 及び症例 4)及び C 繁殖農家 (症例 3)で検出された RAV の塩基配列をダイレクトシークエンス法で解析した。得られた塩基配列を用いて、分子系統樹解析を実施し、既報の RAV の塩基配列と比較・解析し、VP7 及び VP4 を決定した。
- (5)細菌検査:常法に従い実施した。

# [結果]

- (1)遺伝子検査: 糞便 6 検体全てから RAV の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。
- (2) ウイルス分離:6 検体中4 検体から RAV が分離された(表1)。
- (3) 抗体検査: BCV、BToV、BVDV1 型及び2型においていずれの検体も有意な抗体上昇は認められなかった(表2)。
- (4)遺伝子解析:分子系統樹解析の結果、VP7については、症例1はG15、症例2及び4はG10、症例3はG6に分類された。また、VP4はすべての症例でP[11]に分類された(表3及び図1)。
- (5)細菌学的検査:有意な菌は検出されなかった。

# 「考察]

遺伝子検査、ウイルス分離及び抗体検査の結果から症例 1(A 酪農家)は RAV の単独感染による搾乳牛の牛ロタウイルス病と診断した。まん延対策として、預託や削蹄師の巡回のキャンセル等により牛や人の移動を制限した。下痢は牛舎全体に広がり、完全に収まるまで約1か月を要したことで、乳量減少による損失は約78万円と見込まれた。

遺伝子解析の結果、症例1で分離されたRAVはG15P[11]という国内では未報告の株であった。 A 酪農家は定期的な県外預託を利用しており、病原体の侵入の機会が多いことから、外部から の侵入、または農場内での遺伝子再集合が起こった可能性が示唆され、この新しい株が牛群に おける下痢の長期化に関与したことが考えられた。一方、症例2及び症例4ではG10P[11]、症 例3ではG6P[11]に分類され、これらは国内の子牛で検出される株として一般的な型であった。 県内では、平成 20 年に RAV による搾乳牛の下痢症が続発した事例があり、その際に B 酪農家 を含む搾乳牛から検出された RAV は G6P[11]に分類された。B 酪農家で検出された血清型は G6P[11]から G10P[11]へ代わっている一方で、C 繁殖農家は平成 20 年に県内で検出された株と 同一の血清型であった。この背景には、B酪農家及びC繁殖農家はともに近年規模拡大をはか っているが、B 酪農家は県外からの成牛の導入を増大させていること、C 繁殖農家は県外から の導入の比較的少ない県内酪農家から子牛を導入していることの関与が考えられた。これらか ら B 酪農家は、急速な牛群の変化により、平成 20 年や令和 2 年の下痢発生当時、牛群の免疫 状態が不均一であったことが考えられる一方で、ワクチンが牛群全体に接種されていたことか ら、散発的な発生にとどまったことが推察される。また、C繁殖農家のように牛の移動が県内 に限定的である場合は、新規の血清型が侵入しづらいことが示唆された。なお、A 酪農家、B 酪農家、C 繁殖農家間で検出された RAV の血清型が異なることから、少なくともこれらの症例 における RAV の伝播の可能性は低いと考えられた。

国内における搾乳牛の下痢において RAV が検出された事例では、鳥取県において平成 25 年 と平成 27 年に国内未報告であった G15P[14]が検出され、それぞれ約 20 日間にわたり乳量減少がみられたという報告がある  $^{3),4)}$ 。一方で秋田県 (平成 13 年) や富山県 (平成 20 年) において、比較的子牛に一般的な型である G6P[1]  $^{1)}$ や G6P[11]  $^{2)}$ が検出され、それぞれ 3 日程度で終息したという報告もある。これらを踏まえ、B 酪農家のように一般的な血清型の RAV が侵入して

も、ワクチンに含まれる RAV の血清型とある程度一致する可能性が高く、ワクチン接種は搾乳牛での RAV による下痢症に対して予防、症状軽減に一定の効果が期待できると考えられる。しかし、鳥取県や症例 1 のように新しい株の侵入は、牛群従来の抗体では十分な防御が期待できず、成牛での乳量減少などの著しい経済的損失を招く恐れがある。特に搾乳牛の発症では、隔離や消毒が困難な場合が多く、牛舎での急速なまん延、変異したウイルスの常在化を招く恐れが高い。今一度導入牛の一時隔離、農場内動線管理、ワクチン接種や消毒の徹底について農家への指導が必要であると考えられる。

#### [謝辞]

本発表にご助言及び遺伝子解析を実施頂いた動物衛生研究部門 衛生管理研究領域病理・ 生産病グループ 鈴木 亨上級研究員に深謝いたします。

表 1 . A 酪農家 RAV 分離結果

37 1 · 11 日1 及 37 · 111 / 37 · 111 / 37								
	継代数							
検体番号	初代	2代	3代					
No. 1	-	-	-					
No. 2	_	+						
No. 3	-	+						
No. 4	-	-	+					
No. 5	_	_	_					
No. 6	+							

 $+: CPE + \setminus -: CPE -$ 

表 2. A 酪農家 抗体検査結果

			中和	抗体価				
	BCV BToV		BVDV 1型		BVDV 2型			
検体番号	Pre	Post	Pre	Post	Pre	Post	Pre	Post
No. 1	16	32	2	<2	256<	256<	256<	256<
No. 2	64	64	4	2	16	16	8	8
No. 3	64	64	8	4	256<	256<	8	16
No. 4	64	128	8	4	128	32	16	32
No. 5	128	128	4	4	32	16	16	32
No. 6	32	16	4	4	256<	256<	128	256<

表 3. 各症例の RAV の血清型

			H /333 / 3		
	発生年月	農場	飼養形態	発生ステージ	血清型
					VP7及び VP4
症例 1	令和4年3月	A	酪農	搾乳牛	G15P[11]
症例 2	令和3年7月	В	酪農	10~60 日齢	G10P[11]
症例 3	令和2年7月	С	肉用繁殖	16~26 日齢	G6P[11]
症例 4	令和2年2月	В	酪農	搾乳牛	G10P[11]
症例 4	令和2年2月	В	酪農	搾乳牛	G10P[11]

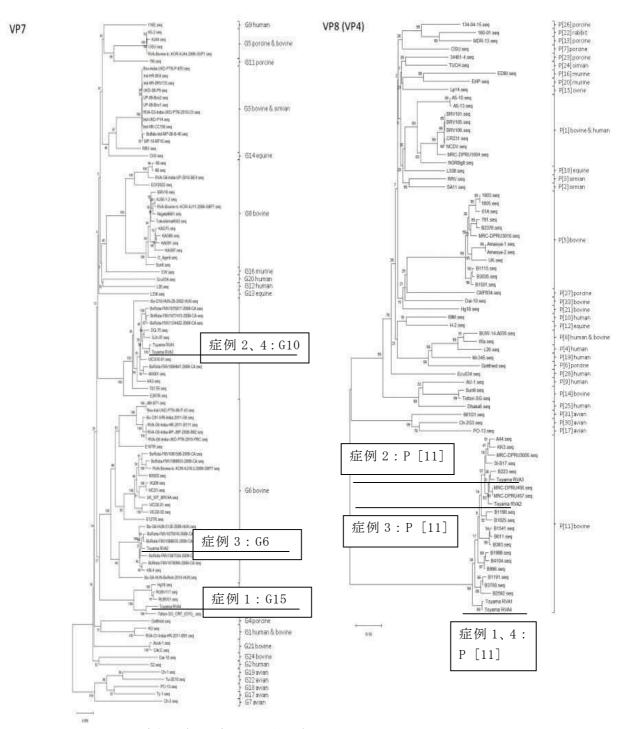


図 1. 遺伝子解析結果:系統樹解析による VP7 及び VP4 の分類

#### [引用文献]

- 1) 小沼成尚ら:日獣会誌 56,245-248(2003)
- 2) 神吉武ら:平成20年度富山県家畜保健衛生所業績発表会集録,36-37(2008)
- 3) 增田恒幸: 平成 25 年度鳥取県家畜保健衛生所集録(2013)
- 4) 中口真美子ら:平成27年度鳥取県家畜保健衛生所集録(2015)
- 5) Fukai K, et al.: Australian Veterinary Journal, 76, 418-422 (1998)
- 6) Fukai K, et al.: Veterinary Microbiology, 86, 343-349 (2002)

# 7 黒毛和種子牛に発生した銅中毒

○岡部知恵、石原未希、西井純 東部家畜保健衛生所

#### [はじめに]

銅は生体内で胃腸管にて吸収後主に肝臓に蓄積され、過剰に摂取された銅は血中に放出されて肝障害、溶血性貧血および黄疸などの中毒症状を起こす<sup>4)</sup>。急性中毒は腹痛、嘔吐などを呈し24時間以内で死亡するのに対し、慢性に摂取された銅は肝臓に蓄積され、ストレスなどの刺激により肝障害が生じ、血中銅濃度の急上昇により溶血を起こし<sup>2)</sup>、食欲不振やヘモグロビン尿症、黄疸を呈し、通常発症後1~2日で死亡するとされる<sup>3)</sup>。

銅中毒は銅要求量と中毒量の差が小さいめん羊や子牛に主に発生する<sup>7)</sup>。その原因として子牛に育成用飼料、めん羊に牛用の配合飼料を与えるなど、対象外の飼料給与があげられる<sup>6)</sup>。加えて慢性銅中毒は銅含有量の多い土壌で生育した飼料作物の給与、防カビ剤で処理された穀物飼料の給与、銅濃度の高いミネラル剤の投与などが原因となる事例<sup>3)</sup>もあり、また、牛の銅中毒は近年報告が増えている。

今回、肉用牛肥育農場において本県で初めて牛の銅中毒が発生したのでその概要と、 発症牛の臓器、血液、給与飼料および同居牛の血液中銅含有量の調査を行ったので報告する。

# [発生状況]

当該農場は肉用肥育牛 258 頭を飼養し、県内酪農家から主に交雑種を導入するとともに、一部は黒毛和種の受精卵移植産子を約 10 日齢で導入し、哺育から肥育まで行っている。哺育舎では黒毛和種は 3 カ月齢まで、F1 は 2 カ月齢まで単飼し、育成舎では 1 マス6~12 頭程度で群飼し成長に伴い移動させている(図 1)。

育成舎 2 マス目の 5 カ月齢の子牛 (黒毛和種、去勢)が発育不良を呈し、 育成舎 1 マス目に戻して飼養してい たところ、令和 4 年 11 月 2 日、元気 消失し、抗生剤、補液、強肝剤等の治療 をしたが、11 月 6 日斃死した (No.1)。 No.1 は過去に肺炎の治療履歴があった。

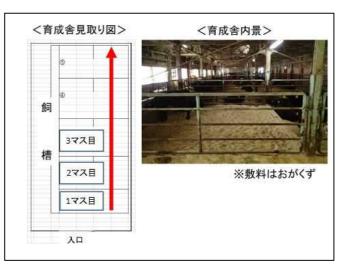


図1 育成舎見取り図および内景

同月27日、1マス目にて4か月齢の子牛(黒毛和種、雌)が食欲不振を呈し、補液、強肝剤等の治療をした。11月29日と30日に血液検査を実施したところ、肝機能障害が確認され、12月3日に斃死した(No.2)。両牛は当所にて病性鑑定を実施するとともに、飼養状況を確認するため12月13日に立入り調査を実施した。なお、2頭の発症以後は、異常は認められていない。

#### [材料および方法]

1 剖検および病理組織学的検査

死亡牛について剖検し、主要臓器について常法に従いヘマトキシリン・エオジン (HE) 染色標本を作製後、鏡検した。また、肝臓、腎臓についてロダニン染色を実施した。

#### 2 細菌学的検査

主要臓器および脳について、5%馬血液加 BHI 寒天培地を用い 37℃、24~48 時間、10% 炭酸ガス培養、DHL 寒天培地を用い 37℃、24 時間、好気培養を実施した。

#### 3 ウイルス学的検査

主要臓器および脳について乳剤を作成し、牛ウイルス性下痢ウイルス (BVDV) 5'非翻訳 領域のリアルタイム RT-PCR を実施した。

#### 4 血液学的検査および生化学的検査

No.2 の 11 月 29 日および 30 日の血液および立入り時に下痢を呈していた 2 マス目飼養牛 (同居牛) 2 頭と対照として 3 マス目の牛 2 頭の血液について、血液学的検査および生化学的検査を実施した。全血については多項目自動血球計数装置 (pocH-100iVDiff) を用いて白血球数、赤血球数を測定した。血清については、自動分析装置(富士ドライケム 3500V)を用い、ALB、BUN、CRE、GOT、GGT、ALP、T-bil を測定した。

#### 5 銅含有量検査

No.1、2の肝臓・腎臓およびNo.2の血清、立入り時に採取した同居牛および3マス目の牛の計4頭の血清について実施した。また、給与飼料については、1~3マス目に給与されていた飼料等のうち給与量が多い飼料、銅含有の表示が確認された飼料および飼料添加物の計3検体、銅含有の表示がない飼料添加物1検体、乾草1検体について実施した。血清および臓器は湿式灰化し、飼料および飼料添加物については水分含量を測定した後、湿式灰化し、原子吸光分光光度計を用いて定量した。測定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(動衛研)に依頼した。

#### 「結果」

# 1 剖検および病理組織学的検査

2 頭とも皮下脂肪および筋肉全体は黄色、肝臓は橙色で黄疸を呈していた。腎臓は暗赤色を呈し、膀胱には血色尿が貯留していた(図 2)。No.1 には発育不良、脱水と胸腺低形成がみられた。

病理組織学的検査では、2 頭とも肝臓において肝細胞がびまん性に変性・壊死し、赤色 ~ 橙色の顆粒状の色素沈着を伴っており、同部位にロダニン染色により銅の沈着を確認した(図3)。腎臓では2頭ともに尿細管上皮細胞の変性・壊死を認めた。



図 2 No.1 の肝臓の橙色化、腎臓の暗赤色化 および血色尿

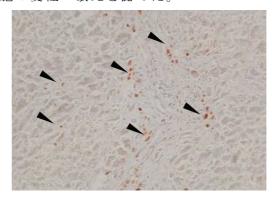


図 3 肝臓に沈着した銅 肝臓、ロダニン染色×200

#### 2 細菌学的検査

No.1 では主要臓器および脳は、菌分離陰性。No.2 では胃、肺、心、大脳より大腸菌が分離された。

#### 3 ウイルス学的検査

主要臓器および脳より BVDV 遺伝子は検出されなかった。

#### 4 血液学的検査および生化学的検査

No.2 の血液では赤血球数と白血球数の上昇および GOT、GGT の高度な上昇がみられた(表 1)。立入り時に採材した同居牛の1頭で GGT と GOT 値が上昇し(表 2)、GOT の上昇が同居 牛および 3 マス目の1頭にみられた。

#### 5 銅含有量検査

肝臓ではNo.1 で 438  $\mu$ g/g、No.2 で 242  $\mu$ g/g で、基準値 20~30  $\mu$ g/g に対し非常に多量の銅含有量が認められ、病性鑑定指針の中毒量 150ppm を超えていた。腎臓ではNo.1 で 27  $\mu$ g/g、No.2 で 9  $\mu$ g/g と基準値の 5  $\mu$ g/g よりも多量の銅含有量が認められた(表 3)。同居牛の血中銅含有量は 1 頭で 118  $\mu$ g/dL とやや高値を示した (表 2)。

育成舎で給与していた飼料の銅濃度は、配合飼料および牧草は  $10\sim17~\mu g/g$  であったが、 飼料添加物 A は  $77~\mu g/g$  と高値を示した。 $1\sim2$  マス目で給与していた飼料中銅濃度概算値は、乾物中で  $14.17\sim14.63~\mu g/g$  であった(表 4)。

	血清中銅	RBC数	WBC数	GOT	GGT	ALB	BUN	CRE	ALPi
	$(\mu \mathrm{g}/\mathrm{dL})$	$(\times 10^6/\mu \ell)$	$(\times 10^3/\mu \ell)$	(U/d1)	(mg/d1)	(g/dl)	(mg/d1)	(mg/d1)	(U/1)
基準値	70~105	5~9	5~12	53.3∼ 80.6	12.2~ 20.5	2.9~ 3.6	8.3~ 16.4	0.75~ 1.07	107.6~ 210.3
11月29日	346	17. 36	21.0	910	281	2.9	10.2	0.75	287
11月30日	148	16.63	14. 7	607	288	3. 7	NT	NT	425

表 1 No.2 の血液検査結果

表 2 同居牛(2マス目)および対照牛(3マス目)の血液検査結果

	生年月日	品種	飼養マス	RBC数	WBC数	GGT	GOT	T-bil	ALB	BUN	CRE	血清中銅
				$(\times 10^6/\mu \ell)$	$(\times 10^3/\mu \ell)$	(mg/d1)	(U/d1)	(mg/d1)	(g/dl)	(mg/d1)	(mg/d1)	$(\mu g/dL)$
1	R4. 8. 4	黒毛和種	2マス目	14. 34	12.6	43	131	0.1	3. 3	8.6	0.61	118
2	R4. 9. 3	F1	2マス目	NT	NT	14	106	0.1	3. 0	7.3	0. 55	74
3	R4. 5. 30	黒毛和種	3マス目	NT	NT	12	61	0.1	2.8	4. 3	0.48	78
4	R4. 8. 29	F1	3マス目	NT	NT	26	124	0.2	3. 1	4.2	0.61	83

表 3 臟器中銅濃度(湿重量)

	肝臓	腎臓
	$(\mu \mathrm{g}/\mathrm{g})$	$(\mu \mathrm{g}/\mathrm{g})$
基準値	20~30	5
No. 1	438	27
No. 2	242	9

表 4 飼料給与量と飼料中銅濃度(乾物中)

飼料	銅濃度	給	与量(kg/日	)
長	$(\mu \mathrm{g}/\mathrm{g/DM})$	1マス目	2マス目	3マス目
ほ乳期子牛育成用配合飼料●	17	1.96	2. 1	2.45
若齢牛育成用配合飼料●	14	0.84	0.9	1.05
カナダチモシー	10	1	1.5	2
飼料添加物A/週1回●	77	0.01	0.01	0.01
飼料添加物B	7	0.02	0.02	0.02
飼料添加物C	NT	0.002	0.002	0.002
混合飼料	NT	0.16	0. 16	0.16
飼料中銅濃度概算値 (μg/g/DM)		14.63	14. 17	13.96

●:銅添加あり NT:未実施

#### [考察]

本症例では、2 頭とも剖検において黄疸、腎臓の暗赤色化、血色尿がみられ、病理検査では肝細胞の変性・壊死がみられ、肝臓の銅沈着が確認された。また、肝臓の銅含有量が438  $\mu$ g/g、242  $\mu$ g/gであり、正常組織の10~20倍程度の高値を示し、病性鑑定指針に基づき、発症より数日の経過を経て死亡したため、慢性銅中毒と診断した。これまで本県では動物園飼育めん羊での銅中毒の症例があったが、牛での診断は初めてであった。

1 例目は発育不良牛であり、剖検所見にて胸腺低形成があり、過去に肺炎の治療履歴があった。肺炎、下痢などが長引き、摂食量が少なく代謝障害から肝障害を起こすような子牛では、給与量が過剰とまではいえない場合でも、銅代謝にかかわるセルロプラスミン合成が十分でなく、吸収された銅を処理できないために単独で銅中毒を発症するとされで、本牛のみの発症であれば、発症原因は個体に肝障害による銅排泄能低下があったと考えられた。しかし 2 例目の発生により飼料が原因であることも疑われたため、飼養環境と給与飼料の聞き取り調査、育成舎で給与された飼料から給与飼料中銅濃度の概算値を算出したところ、育成舎の  $1\sim3$  マス目までの給与飼料の銅濃度概算値は  $13.96\sim14.63~\mu g/g$  であり、日本飼養標準の要求量  $4\sim10~m g/k g$  は上回るものの、病性鑑定指針にある 25~p p m に満たないことから  $1^{16}$ 、調査した範囲では原因は特定されなかった。

銅中毒を疑う症例の診断の指標として GGT 等肝酵素の測定が有効とされ <sup>2)5)</sup>、本症例でも同居牛の血液検査で銅濃度が高い個体で、GGT と GOT 値の上昇がみられた。

育成舎では発育につれ乾草給与量の増加により飼料中銅濃度は減少していくと考えられるものの、哺育舎から育成舎2マス目にかけての単飼から群飼、群飼の頭数の増加といった環境の変化は子牛に大きなストレスを与え、銅中毒発症の引き金となり得ると考えられることから、これらの子牛の健康状態を注意深く観察し、異常があれば、併せて血液検査を実施することで続発に警戒したい。また、銅濃度の高い飼料添加物については過剰給与にならないよう取り扱いを注意すべきであると考えられた。

今後は当該農家での飼料等の調査を継続し、再発防止につなげたい。

# [謝辞]

銅含有量定量およびご指導いただきました、動衛研衛生管理研究領域衛生管理グループ 西浦研究員に深謝します。

#### [参考文献]

- 1) 独立行政法人農業·食品産業技術総合研究機構編:日本飼養標準·肉用牛,2008年版, 東京,社団法人中央畜産会(2010)
- 2) 浜名克己:新版主要症状を基礎にした牛の臨床,387-388,北海道,デーリィマン (2002)
- 3) 家畜感染症学会: 子牛の医学 胎子期から出生・育成期まで, 第1版, 366~365, 東京, 株式会社緑書房(2014)
- 4) 久保周一郎·友田勇監訳:獣医臨床生化学,第四版,762~763,759~767,東京,株式社近代出版(1991).
- 5) 松尾ら: 日獣会誌, 73, 305~309 (2020)
- 6) 農林水産省消費・安全局: 病性鑑定指針, 26 消安第 4686 号, 560~561(2016)
- 7) Todd JR: PNutr Soc, 28, 189~198(1969)
- 8) 山中典子: 令和 2 年家畜衛生研修会病性鑑定生化学部門資料: 7~10(2020)

# 8 放牧養豚場において発生した豚肺虫症の発生事例

○西村加奈、長澤健太、穴田美佳、飯田佳代 西部家畜保健衛生所

#### [はじめに]

豚肺虫症は、豚やいのししの気管支や細気管支に豚肺虫が寄生することによって起こる疾病であり、本病に罹患した豚は、強い発咳による呼吸困難や食欲不振のために増体量が低下することで養豚経営に大きな影響を与える。本病は中間宿主であるミミズを介して感染が広がるが、豚舎での飼養が一般的となった現在では、本病に遭遇することは稀である<sup>1)</sup>(図1)。

全国的に放牧養豚戸数は、アニマルウェルフェアの観点や耕作放棄地対策として増加の傾向にある。県内でも平成27年6月から放牧養豚が開始され、令和4年には2戸3農場で年間46頭の肥育豚が出荷された。放牧養豚は、家畜の行動様式を妨げないため豚にストレスがなく、一般的な舎飼豚とは異なる質の肉を提供できるというメリットがある一方、野生動物が持ち込む疾病に感染する危険性が高い。

今回、管内の放牧養豚場の飼養豚において豚肺虫症の発生があったため、その概要を報告する。

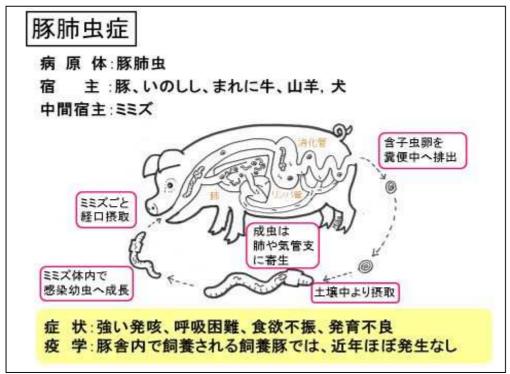


図1 豚肺虫の生活環

#### [発生概要]

#### 1)農場の概要

管内に所在する A 農場は、平成 27 年より総面積約 4,000 ㎡の放牧地を 7 区画(放牧区 1~7)に分け、そのうち 4 区画(放牧区 1、3、4、7)において計 32 頭を放牧飼養し、残りの区画(放牧区 2、5、6)は休牧地としていた(図 2)。肥育元豚の導入は、管内の他農場より 100 日齢前後の豚を一度に約10 頭ずつ導入しており、平均 280 日齢で出荷していた。なお、A 農場は管内の他市に 1 関連農場を有し、総面積約 1,650 ㎡の放牧地 1 区画で 15 頭の肥育豚を放牧飼養していた(表 1)。

表1 A農場の概要

農場	放牧 開始	飼養 形態	放牧 時期	飼養 規模	放牧地 面積	放牧 区数	導入 元	導入 日齢	出荷 日齢
A農場	平成 27年	肥育 農場	通年	約 30頭	約 4000㎡	7区	管内 農場	約	約
関連 農場	令和 2年	肥育 農場	春~秋	約 15頭	約 1650㎡	1区	管内 農場	100 日	280 日

#### 2) 発生状況

令和4年8月17日、飼養頭数10頭の放牧区1において、133日齢の去勢豚1頭が食欲不振、元気消失、発咳を呈し死亡した。放牧区1の飼養豚は、令和4年7月12日に97日齢で導入し、導入後は当区で飼養されていた。また、放牧区1の残り9頭の飼養豚も同様に発咳や食欲不振、沈鬱等が認められた(図2)。

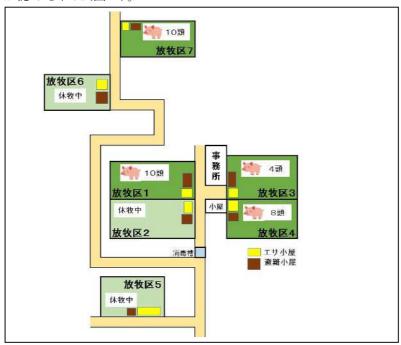


図2 A農場の放牧区の配置(令和4年8月時点)

#### [材料と方法]

# 1) 剖検

死亡豚の剖検を実施した。

# 2) 病理組織学的検査

定法に従い、HE染色を行った。

# 3) ウイルス学的検査

扁桃を用いた豚熱の蛍光抗体検査と扁桃、腎臓、脾臓を用いた豚熱のリアルタイム PCR 検査を実施した。

#### 4)細菌学的検査

5 臓器および心嚢水を 5%馬血液加寒天培地にて 37℃24 時間 5%炭酸ガス培養を行った。 また分離菌は、1 濃度ディスク法による薬剤感受性試験を実施した。

# 5) 寄生虫学的検査

肺の鏡検と胃内容および大腸内容について寄生虫卵数を計測した。

#### 「結果〕

#### 1) 剖検所見

外貌所見として著しい発育不良と全身皮膚の蒼白が認められ、剖検では肺の気管支内に線虫体の 寄生を確認した(図3)。さらに、結腸の漿膜面に直径2~3mmの白色結節の散在を認めた。

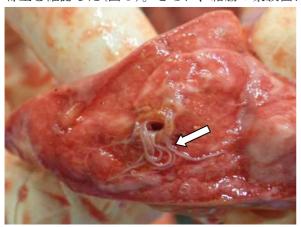
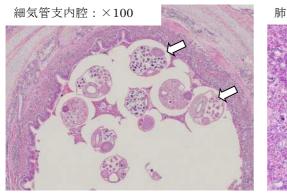
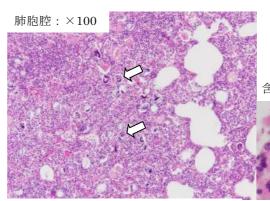


図3 肺の気管支腔内に認められた線虫体 (矢印)

#### 2) 病理組織学的検査

肺では、一部に膿瘍を認め、好中球、好酸球、マクロファージ等の炎症細胞の浸潤が認められた。 また、細気管支内には線虫体の寄生を認め、肺胞腔内には含子虫卵が確認され、壊死性線維素性気 管支肺炎が確認された(図4)。また結腸粘膜上皮への線虫体の寄生が認められた。





含子虫卵(拡大)



図4 細気管支内の線虫体および肺胞腔内に認められた含子虫卵(矢印)

#### 3) ウイルス学的検査

PCG

0

0

蛍光抗体検査とリアルタイム PCR 検査の結果、豚熱はともに陰性だった。

DOXY

0

0

#### 4)細菌学検査

分離部位

心囊水

肺と心嚢水より  $Pasteurella\ multocida$  (以下 Pm) が分離された。分離菌は、アンピシリンを含む多くの薬剤に対して感受性を示した(表 2)。

OTC

0

0

表2 分離された Pm の薬剤感受性試験成績

ABPC

0

0

CTF

0

0

ST	км	FF	ENR	овгх	MAR	CL
×	0	0	0	0	0	0
			<u> </u>			

【 ◎: 高感受性 ○: 中感受性 ×:耐性 】

PCG:ペニシリン、ABPC:アンビシリン、CTF: セフチオフルナトリウム、DOXY:ドキシサイクリン、OTCオキシテトラサイクリン、ST:サルファ剤トリメトブリム KM:カナマイシン、FF:フロルフェニコール、ENR:エンロアロキサシン、OBFX:オルビフロキサシン、MAR:マルボフロキサシン、CL:コリスチン

#### 5) 寄生虫学的検査

肺の細気管支より豚肺虫の虫体と虫卵が多数確認され、胃内容からも豚肺虫卵 500 EPG が確認された(図 5)。さらに大腸内容からは、コクシジウムのオーシスト 11,800 0PG と鞭虫の虫体が多数確認された。

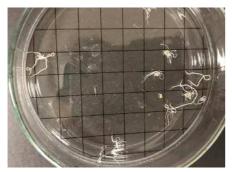






図5 細気管支内に認められた豚肺虫の虫体及び虫卵

# [A 農場への対応]

今回の発生を受け、イベルメクチンの休薬期間であると畜前 35 日間を考慮し、出荷直前の豚を除く飼養豚全頭に対して、Pm に感受性を示したアンピシリン 10~mg/kg と肺虫の駆虫薬としてイベルメクチン  $300~\mu~g/kg$  を投与した。また、農家への衛生指導として、疾病のまん延防止のため健康観察を強化し、異常豚の早期発見に努めること、各放牧地には十分な休牧期間を確保すること、さらに放牧地の土壌への消石灰の散布、野生動物侵入防止ネットや電気牧柵の点検を再徹底するように指導した。

# [考察およびまとめ]

病性鑑定結果より死亡豚は、豚パスツレラ症と豚コクシジウム病と豚鞭虫症と豚肺虫症と診断した。

豚肺虫症は、本病の中間宿主であるミミズを豚やいのししが経口摂取することにより感染が成立するため、豚舎での飼養が一般的となった現在ではほとんど問題とならない。しかし、A 農場は、山間部にあり放牧地の周辺には野生いのししの生息が多数確認されている。また放牧飼養のため、飼養豚は土壌を自由に掘り返しミミズを捕食したことで、野生いのししに由来する豚肺虫が、放牧豚へ感染し発症したものと思われる。このため放牧形態での飼養においては、本病の予防対策が必要であると思われる。

当所ではA農場の放牧開始当初より、土壌の循環を促し、衛生面を保つために、放牧地には休牧期間を設け、連続使用を避けるように指導を続けていた。しかし、放牧区1はもともと水田であった他区に比べて放牧地の土壌が固くぬかるみにくい性状の放牧区であり、さらに事務所のすぐ側という立地条件も加わり、飼養管理が容易であるという理由から当区の使用頻度が高く、休牧期間が短く設定される傾向が見られた。これにより豚肺虫の感染環が断ち切られることがなく、土壌の汚染度が徐々に高まり、当区のみで豚肺虫症が認められた要因と考えられる。

また放牧区1の飼養豚は、1頭目の死亡が確認される以前から発咳や発育不良などの症状を認めていたが、異常豚の治療や飼養豚の予防対策への対応に遅れが生じた。さらに、豚肺虫の寄生に加え、Pm や消化管内寄生虫との複合感染が、より重篤な症状を引き起こしたものと思われる。

今回の肺炎は、全放牧区のうち1区のみでの発生であったものの、最終的に放牧区1の飼養豚全10頭のうち9頭が死亡し、生存した1頭についても発育不良を呈し出荷が遅れるなど農場にとって大きな被害となった。今後は、きめ細やかな観察により、異常豚の早期発見と治療に努め、疾病のまん延防止や重症化を予防するとともに、野生動物の侵入防止のため放牧地の境界柵や電気牧柵の定期点検を一層強化し、寄生虫対策として、各放牧区に十分な休牧期間を設定し、導入豚や飼養豚への駆虫薬の計画的な投与等を行い、再発防止に努めていきたい。

#### [参考文献]

1) 獣医臨床寄生虫学編集委員会編:獣医臨床寄生虫学,319~324

# 9 適期接種に向けた母豚群の豚熱ワクチン免疫状況の分析

〇水木亮史、藤井晃太郎、稲垣達也 東部家畜保健衛生所

# [はじめに]

豚熱の予防的ワクチン接種は、令和元年 10 月より開始され、本県でも同月から実施し、本病の発生リスク低減を図っている。

本ワクチンは、ワクチンブレイクと免疫的空白期間の発生<sup>2),3),4)</sup> をなくすため、移行抗体を 考慮した接種時期の適切な設定が重要な課題となっている。

これまで当家保の調査で、エライザ検査 SP 値と中和抗体価間(R2 値: 0.7002)及び母豚と産子のエライザ検査 SP 値間 (R2 値: 0.7992) に強い正の相関があることを確認  $^{11}$ しており、子豚のワクチン接種適期の見極めには母豚群の免疫状況を把握が重要と考えられた。

本県では、接種開始から3年が経過し、更新による母豚の世代交代が進んでいる。そのため、 母豚群の免疫状況の経時的変化を捉え、子豚の接種時期の適切な調整によりリスクコントロール を図ることが必要となっている。

そこで、母豚群の豚熱ワクチン免疫状況の分析を行い、ワクチンの適期接種に向けた検討を行ったので、その概要を報告する。

# [材料及び方法]

調査対象は、管内で母豚 100 頭以上を飼養する 5 農場とした。分析は、6 か月ごとに実施している豚熱ワクチン免疫付与状況確認のためのエライザ検査(使用キット:豚熱エライザキット II (株式会社ニッポンジーン))の母豚の SP 値 (n=467)を用いた。なお、初回接種概ね 30 日後の令和元年 12 月に実施した第 1 回目の結果は、抗体上昇ピーク前の検査となった可能性があり、除外した。

また、母豚は生年月日又は産歴からの推定により、生産農場初回接種以前に生まれた個体を第一世代 (n=318)、以後に生まれた個体を第二世代 (n=149) として、移行抗体の影響の有無で区分を行った。

(調査1) 母豚群のワクチン免疫状況の経時的変化

母豚群のワクチン免疫状況の経時的変化を確認するため、検査各回のデータ分布と世代割合 を調査した。

(調査2) 世代別 SP 値の分布

移行抗体の影響の有無による母豚群のワクチン免疫状況比較のため、世代ごとにデータ分布 や四分位範囲、中央値を調査した。

(調査3) 個体の SP 値の経時的変化

同一個体の時間経過に伴うワクチン免疫状況の変動を確認するため、初回検査実施時から 12 か月以上経過して再度受検が確認された個体を抽出し、SP 値の変動を調査した。

(調査4) 各農場の母豚更新期と免疫状況の推移

母豚更新期の決定方針の影響を検討するため、各農場の母豚更新状況と母豚群のワクチン免疫状況の推移を調査した。

#### [結果]

(調査1) 母豚群のワクチン免疫状況の経時的変化

エライザ検査 SP 値の分布は、令和 2 年上期(初回接種 7 か月後)検査時は 0.9 付近をピーク(中央値: 0.875)とする一峰性を示した(図 1)。その後、検査回を経るにつれて、徐々にピーク値が低下し、二峰性あるいは明瞭なピークが認められない分布となったが、直近の令和 4 年下期には、0.1 付近でピーク(中央値: 0.477)を示した(図 2.3)。

検査に占める第二世代割合は令和2年上期まで0%だったが、以後検査の都度漸増し、令和

4年下期には73.8%となった(表1)。

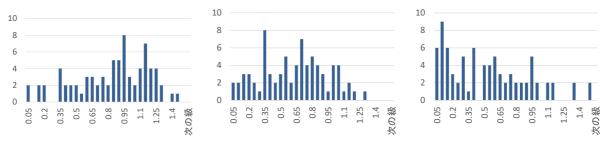


図 1 SP 値の分布 (令和 2 年上期) 図 2 SP 値の分布 (令和 3 年下期) 図 3 SP 値の分布 (令和 4 年下期)

表 1 世代割合の推移

一時期 (初回接種後経過月)	R2上期 (7か月)	R2下期 (13か月)	R3上期 (19か月)	R3下期 (25か月)	R4上期 (31か月)	R4下期 (37か月)
検査頭数	76	80	76	76	79	80
第一世代頭数	76	77	65	47	32	21
第二世代頭数	0	3	11	29	47	59
第二世代割合	0%	3.8%	14.5%	38.2%	59.5%	73.8%

各回の結果を世代別に調査したところ、世代ごとに概ね一峰性のグラフを示し、いずれの回 も第二世代は、第一世代に比べ低値でピークを示した(図4、5)。

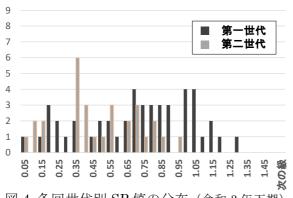


図 4 各回世代別 SP 値の分布 (令和 3 年下期)

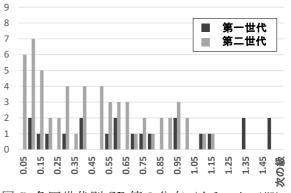


図 5 各回世代別 SP 値の分布 (令和 4 年下期)

# (調査2) 世代別 SP 値の分布

世代間でデータ範囲や四分位範囲は同程度とな った。一方で、平均値は第一世代で 0.761、第二世 代で 0.510 と有意に差が認められた(図 6)。

#### (調査3) 個体の SP 値の経時的変化

個体によって多少の変動を示すものも認められ たが、多くの個体で、時間が経過しても初回検査時 の SP 値と概ね同水準で維持されていた (図 7)。

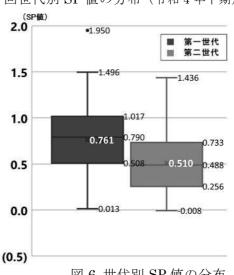


図 6 世代別 SP 値の分布

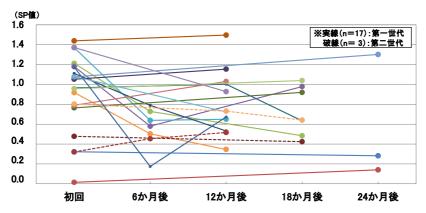


図 7 個体の SP 値の経時的変化

#### (調査4) 各農場の母豚更新期と免疫状況の推移

調査対象農場の母豚更新方針の決定は個々に様々であった(表 2)。

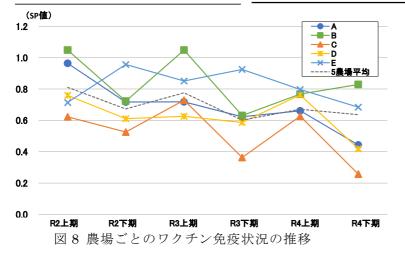
A農場は、令和3年上期より第二世代が50%確認され、その後、他農場より高く第二世代割合が漸増し、令和4年下期には93%であった。それに伴い、SP値は段階的に低下が認められた。B農場は、母豚更新には繁殖成績を重視しており、各回の検査では6産以上の高産歴母豚が散見された。そのため、A農場ほど速やかな第二世代への移行は確認されなかった。また、令和2年上期の母豚群の平均SP値は5農場で最も高い値を示し、回を経るにつれて、SP値の低下傾向を示したものの他農場より高値で推移した。C農場は、当県と同時期にワクチン接種を行った地域から繁殖素豚を導入しており、母豚更新が進むにつれてSP値低下が認められた。D農場では、県内と県外から1:1の割合で繁殖素豚導入を行っており、県外導入元は当県よりワクチン接種が1年遅く開始された地域に所在した。本農場ではSP値の変動が少なく概ね同水準で推移したが、令和4年度下期に第二世代が76%となりSP値は低下した。E農場は、当県よりワクチン接種が1年6か月遅く開始された地域から繁殖素豚を導入し、第二世代の確認が最も遅かった。本農場ではSP値が令和4年上期まで高く推移した(表3、図8)。

表 2 各農場の母豚更新状況

表3 各農場の第二世代割合の推移

(%)

_												(/0/
農場	母豚數	年間 更新率	素豚確保	秦豚生産農場 初回接種時期	更新時期		R2上期	R2下期	R3上期	R3下期	R4上期	R4下期
Α	100	30	自家育成	R1.10	6產	全体	0	3.8	14.5	38.2	59.5	73.8
В	100	30	自家育成	R1.10	成績重視	Α	0	0	50.0	57.1	73.3	93.3
С	250	40	県外導入	R1.11	7産	В	0	0	20.0	33.3	60.0	53.3
U	200	40			/ <u>库</u>	С	0	0	8.3	46.7	66.7	80.0
D	330	45	県内導入: 50% 県外導入: 50%	R1.10 R2.10	6產	D	0	12.0	0	40.0	58.3	76.0
Ε	430	40	県外導入	R3. 4	6產	Е	0	0	0	0	30.0	60.0



- 37 -

#### [まとめ及び考察]

調査農場ではワクチン接種開始より 13 か月後の令和 2 年下期の検査より第二世代が確認され、回を重ねるごとに割合が増加した。SP 値は、第一世代のみで構成された令和 2 年上期に 0.9 付近でピークを示す分布となったが、以後、世代の混在に伴い、徐々にピークの低下と不明瞭化を示し、第二世代割が 73.8%となった令和 4 年下期に 0.1 付近でピークを示す分布へ変化した。一方で、各回を世代ごとに確認したところ、それぞれ概ね一峰性の分布を示した。このことから、世代の混在がピークの不明瞭化、つまりは母豚群の抗体価のバラつきを招くものと思われた。

世代別 SP 値の分布は、データ範囲や四分位範囲に差はなかったが、平均値は第二世代で有意に低下した。第二世代では、移行抗体の影響を受け、抗体価の水準が低下しているものと考えられた。

また、個体の SP 値の経時的調査では、時間が経過しても多くの個体で同水準の SP 値を示し、 長期間に渡り一定の抗体価が維持されているものと推察された。このことから、更新が母豚群 の免疫状況の大きな変動要因となっていると考えられた。

各農場の母豚更新期の決定方針は様々で、それ伴い第二世代の確認時期や増加率も異なっていた。しかし、いずれの農場も第二世代への更新割合が増加するに従って、抗体水準は低下を示した。このことから、母豚更新方針の違いが母豚群のワクチン免疫状況の変動に影響しているものと思われた。特に、接種開始時期が異なる地域から繁殖素豚導入を行っている農場では、母豚群の免疫安定化に時間を要する可能性が有り、注意が必要と考えられた。

子豚へのワクチン接種適期を見極めるには、母豚群の免疫状況を十分把握し、接種時期の設定する必要がある。今回の調査により、更新による世代交代が母豚の免疫状況の大きな変動要因であることが確認された。また、世代交代の進行度に影響する各農場の母豚更新方針の把握も接種適期検討に重要であると考えられた。一方、第二世代で抗体水準の大幅な低下が認められており、次世代で再度抗体水準が上昇することも懸念される。

今後も、農家ごとに免疫状態の変動を総合的に評価し、ワクチンの適期接種を行うとともに、 バイオセキュリティの維持・向上など侵入防止対策の徹底を図って本病の発生予防に努めたい。

#### [参考文献]

- 1) 水木亮史ら: 令和2年度富山県畜産関係業績集録, 18-22 (2020)
- 2) 農林水産省: 豚コレラ防疫史, 88-122, 東京, 社団法人 全国家畜畜産物衛生指導協会 (2009)
- 3) 迫田義弘:北獣会誌, 64, 285-293 (2020)
- 4) 清水実嗣: 豚病会報, 29, 2-13 (1996)

# 10 鶏痘ワクチン接種鶏に発生した皮膚型鶏痘

〇石原未希、竹中悠人、藤井晃太郎、岡部知恵、西井純 東部家畜保健衛生所

#### [はじめに]

鶏痘(FP)は FP ウイルス(FPV)によって引き起こされる発痘を主症状とした伝染性疾病で、家畜伝染病予防法により届出伝染病に指定され、国内では毎年散発的に発生している。発痘部位により皮膚型および粘膜型の 2 つの病型に分類されるが、産卵率の低下や死亡率の上昇を伴うこともある 3)。近年、FP ワクチン接種済の飼養鶏における発生例では、検出された FPV に鳥類に様々な病態を引き起こす細網内皮症ウイルス(REV)遺伝子が組み込まれている事例が報告されている 4)5)。今回、管内養鶏場でワクチン接種済の採卵鶏にFP が発生したことからウイルスおよび病理学的検索を実施したのでその概要を報告する。

#### [発生の概要]

採卵鶏約 11,000 羽を飼養する管内養鶏場で、直近 2 週間で顔面から胸部にかけて皮膚の発痘および痂皮形成を伴い衰弱して死亡する個体が増加しているとの連絡を受け、令和 3 年 9 月 24 日に農場立ち入りを実施した。立ち入り時、500~590 日齢の鶏群の列のみに顔面及び胸部皮膚の痂皮形成、顔面腫脹を呈する個体が散見され、衰弱・沈鬱を伴うものもあった(図 1、2)。死亡羽数は前月に比べ 4 倍程度増加しており、群全体の産卵率の低下も認められた。同日死亡していた鶏 4 羽および衰弱鶏 1 羽(いずれも 500~590 日齢、もみじ)について当所で病性鑑定を実施した。なお、本農場では初生および 60 日齢で FP ワクチンが接種された雛を 110 日齢で県外から導入していた。

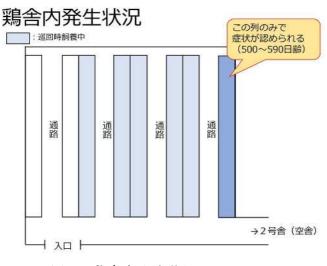


図1 鶏舎内発生状況



図2 痂皮形成、沈鬱を呈する鶏

### [材料および方法]

<材料>

死亡鶏 4 羽 (No. 1~4) および衰弱鶏 1 羽 (No. 5) の計 5 羽 (No. 5 は当所で鑑定殺を実施)。

#### <方法>

- ①解剖検査:常法に基づき実施した。
- ②ウイルス検査:全羽の皮膚発痘部由来乳剤を用いた 9~11 日齢発育鶏卵漿尿膜への接種試験を実施した。次に漿尿膜由来乳剤から DNA を抽出し、PCR 法により FPV 野外株に特徴的な REV の挿入配列を検索した 1)2)。そのほか、気管及びクロアカスワブを用いて発育鶏卵尿膜腔接種試験を実施した。
- ③病理組織検査:全羽の諸臓器および発痘部について10%中性緩衝ホルマリン液に浸漬後、常法に基づきパラフィン包埋ブロックを作成しヘマトキシリン・エオジン(HE)染色を実施した。また、皮膚病変部について透過型電子顕微鏡(TEM)検索を実施した(東京大学で実施)。
- ④細菌検査:全羽の肝臓、腎臓、脾臓、肺、心臓について 5%馬血液加 BHI 寒天培地および DHL 寒天培地にそれぞれ塗布し 37℃、5% CO₂下で 24 時間培養した。

#### [結果]

- ①全羽で体重減少  $(1.0 \sim 1.3 \text{kg})$ 、顔面から胸部皮膚にかけての痂皮形成を認めた。No. 2、3、5 では体表にワクモの寄生が認められた。そのほか、No. 1 の筋胃でびらんを認めた (図 3、4)
- ②発育鶏卵漿尿膜接種試験では全羽の発痘部乳剤を接種した漿尿膜は肥厚しポック形成を認め、変性した漿尿膜で細胞質内封入体を確認した。PCR では全羽で分離された FPV 全てに REV 遺伝子の挿入が確認された。鳥インフルエンザおよびニューカッスル病ウイルスは検出されなかった。
- ③HE 染色では全羽の皮膚発痘部で表皮角化層の過角化、偽好酸球やリンパ球などの炎症細胞浸潤を認めた。また、中間層では有棘細胞の増生および風船様変性を認め、No. 1~4 の変性した有棘細胞では好酸性細胞質内封入体(ボリンゲル小体)を認めた(図 5、6)。また、全羽で真皮および気管粘膜固有層の炎症細胞浸潤を認めた。そのほか、No. 1 で胃の粘膜上皮表層に、No. 2 で心臓・肝臓・腎臓実質にそれぞれ炎症細胞浸潤を認めた。TEM検索で皮膚発痘部に認められた細胞質内封入体に一致して長さ 250~340nm、幅 120~200nm のウイルス粒子を多数認めた(図 7)。
- ④全羽いずれも有意菌は分離されなかった。



図3 顔面の痂皮形成(No.1)



図 4 体表のワクモ寄生(No, 2)

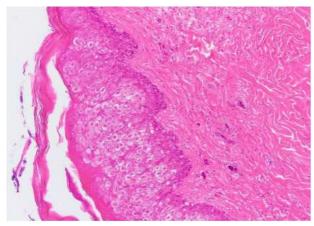


図 5 表皮有棘細胞の増生、風船様変性

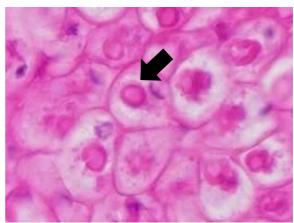


図6 ボリンゲル小体(矢印)

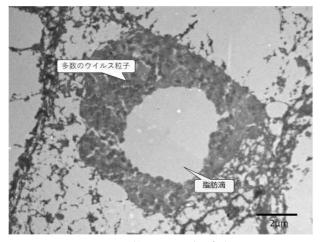


図7 封入体の TEM 観察像

# [考察]

顔面及び頸部皮膚の発痘を主症状とする採卵鶏の病性鑑定を実施し、検査結果から FP と診断した。病理検査では発痘部病変の HE 染色で FP に特徴的な細胞質内封入体を認め、TEM 検索でも封入体に一致した多数のポックスウイルス粒子を認めたことから、FPV による病変形成と確認された。なお、同症状はその後農場内の最も日齢の低い鶏群を除く全ての列で発生し、約1カ月間死亡率の増加、産卵率および採食量が低下したのち終息した。農場内の採卵鶏はワクチン接種済であったものの、導入元への聞き取り調査では他農場へ出荷した同一ロットで FP の発生は認められておらず、また今回ウイルス検査で FPV 野外株が検出されたことから、飼養鶏が FPV 野外株に感染・発症し鶏舎内でまん延したと考えられた。

発症原因については、最初に発症を認めた鶏群は本農場でも最も日齢の高いものであったことから、飼養鶏のワクチン抗体低下に起因するものと考えられた。更に、発生時期は日中の最高気温が30℃前後の日も多く、暑熱ストレスも関与していたと推察された。また、病性鑑定時にワクモの寄生が認められたことから、農場内でのまん延はこれらを介した機械的伝播による可能性が考えられた。本農場は平成28年11月にもFPの発症が認められておりワクモ対策を継続的に実施しているが、今回改めて薬剤耐性を考慮した殺ダニ剤の変更や個体側の免疫機能改善を目的とした飲用水へのビタミン剤の添加等を指導したところ、現在まで発生は認められていない。

近年、国内養鶏場での FP 発生事例において REV 遺伝子が挿入された FPV (REV 挿入野外

株)が相次いで検出されていることから、本症例についても遺伝子検索を実施した結果 REV 挿入野外株が確認され、管内養鶏場でも REV が浸潤していることが明らかとなった。REV の水平感染は一般的に金網等で鶏同士の接触を妨げれば予防できるが、ワクモによる FPV の機械的伝播に伴い REV も農場内に浸潤している可能性が高いと考えられる。また、平成30年に西部家保管内の養鶏場で発生した FP でもウイルス検査 REV 挿入野外株が確認されていたことから、REV は既に県内で広く浸潤していると考えられた。

REV はレトロウイルス科ガンマレトロウイルス属に分類され、野外例では鶏を含む家禽類に発育不全・羽毛異常等からなるラント病症候群や慢性リンパ腫などの病態を引き起こすことが知られている 5)。国内の飼養鶏での発生報告は 1970 年代に REV が迷入したマレック病ワクチン接種による事故以降目立ったものはなく、飼養鶏に対する病原性はあまり重要視されていない。しかし、国内での FP 発生事例における REV 挿入野外株の検出報告が少なくないことから、ワクチン接種鶏における FP 発症には REV 遺伝子の存在が何らかの影響を与えている可能性が考えられた。また、県内に REV が広く浸潤している可能性を考慮し、マレック病や鶏白血病などのリンパ腫病変を形成する伝染性疾病に遭遇した際には類症鑑別として REV の関与に留意すべきと考えられる。

#### 「鞛樵〕

本発表にご助言頂いた国立研究開発法人 農研機構動物衛生研究部門 山本佑上級研究員および透過型電子顕微鏡検索を実施頂いた東京大学大学院農学生命科学研究科 播谷 売先生に深謝いたします。

#### [参考文献]

- 1) Garcia M et al. : Avian Diseases 47, 343-354(2002)
- 2) Huong CT et al.: The Journal of veterinary medical science Dec;76(12):1583-1587(2014)
- 3) 鶏病研究会編:家禽疾病学、第一版、56~59、鶏病研究会(2015)
- 4) 山本英次ら:平成19年度中国四国鶏病技術研修会(2007)
- 5) 湯浅襄: 鶏病研報 47 巻 9 号、149~159(2011)

II 広域普及指導センター

# 1 地域資源を活用した「とやま和牛」のブランド力強化 ~酒粕が醸すおいしさの循環~

○蓑和誠也、髙平寧子

農業技術課広域普及指導センター、農業技術課畜産振興班

#### [対象の概要]

対象は、県内で黒毛和種の肉用牛(以下、「和牛」)を肥育する18戸の生産者である。これらの生産者が飼養する頭数は令和2年以降増加傾向で、令和4年2月現在、1,210頭となっている。

#### [普及活動の課題・目標]

全国でブランド牛は320種以上ある中で、県産牛肉は、平成22年度に「とやま牛」として地域団体商標に登録され、そのうち和牛については「とやま和牛」と称し、ブランド化を推進している。これと並行して当センターでは「とやま和牛」の品質向上のため、出荷成績を分析した枝肉カルテや飼養マニュアル等で飼養管理技術を指導してきた。この結果、飼養管理の改善や和牛の改良により県産和牛の枝肉品質は年々向上し、令和元年度の「枝肉格付結果(去勢)」は、A5等級割合が68%と全国平均より

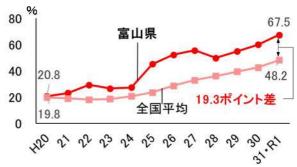


図1 牛枝肉格付A5等級割合の推移 出所:公益社団法人日本食肉格付協会 「枝肉格付結果」

19.3 ポイント高いトップクラスの品質となった。(図1)

こうした中でも消費者の「とやま和牛」に対する知名度はまだ低く、優先的な購買に結び付いていないなどの問題が残されている。

一方、県では平成29年度から食品廃棄物を飼料としてリサイクルする「エコフィード」を推進しており、中でも県内の酒造会社から多く発生する酒粕については、その飼料としての利用が期待されている。

そこで、酒どころ富山の酒粕を県産和牛に給与することで、「とやま和牛」のブランド力強化による知名度向上とエコフィードの利用拡大を目指すことにした。

#### [普及活動の内容]

#### (1) 酒粕給与の現場実証1年目(令和2年度)

和牛への酒粕給与に当たり、令和2年3月、酒粕給与に取り組みそうな生産者3戸を集め、給与の目的を説明し、課題を意見交換した結果、2戸が実施を決定した。既に試験を行っている県畜産研究所で酒粕の給与方法や試験牛の様子を研究員から聞き取り、その知見を生産者に提示して実証を開始し、酒粕の給与作業や嗜好性、牛の健康状態、出荷成績を21頭で調査した。

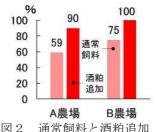


図2 通常飼料と酒粕追加 とのA5等級割合比較

その結果、酒粕の給与作業はやや面倒であったものの、嗜好性は 良好で、牛の健康状態にも特に異常はなかった。また、出荷成績は酒粕を追加給与した実証牛は、 通常飼料給与牛(令和元年度)に比べてA5等級割合が向上した(図2)。

#### (2) 酒粕の給与方法の改善(令和2~3年度)

#### ア 酒粕の搬入時期別の形状・色の変化

令和2年5月に搬入した酒粕は白く粘土状、6月には軟化し、8月になると褐変してぬか床状となった(写真1)。したがって、給与作業で取扱いに苦労することがわかったため、その改善に向けて酒粕入り飼料の開発を検討することにした。









令和2年5月 同年6月

写真1 酒粕の搬入時期別の形状・色の変化

写真 2 開発された酒粕入り飼料

#### イ 酒粕入り飼料の開発

飼料会社等と連携し、酒粕の給与が容易にできる飼料の調製を検討した。その結果、穀類等と混合して酒粕が粒状の酒粕入り飼料が開発された。試行版を現場で使ったところ、梱包形態による鳥獣害が発生したものの、関係者と情報を共有して飼料袋を改良し、問題は解消した(写真 2)。

(3)酒粕給与の現場実証2年目(令和3年度) 酒粕入り飼料の給与について、実証生産者を募り、5戸、74頭で実施した。

その結果、酒粕給与作業は、酒粕の固まりをちぎり、バケツに入れてから「しゃくし」で飼槽に投入する酒粕単体より飼料袋からすくって飼槽に投入する酒粕入り飼料の方が容易になった。また、酒粕粕入り飼料を追加給与した実証牛は通常飼料を給与した牛に比べ、A5等級割合が向上した(図3)。

その他、嗜好性は良好で、牛の健康状態も特に異常がなかった。

(4) 給与マニュアルの作成と生産者の掘り起こし 現場実証や畜産研究所での給与試験の結果に基づ き、令和3年度に酒粕入り飼料の給与方法や給与の ポイントをとりまとめ、給与マニュアルを作成した (図4)。

生産者の掘り起こしは、生産者に対し、給与マニュアルを配布するとともに、酒粕給与によって肉質の向上効果が得られた事例の提示や、飼料の現物を手に取ってもらうことにより、取組みへの誘導を図った。

#### (5) 牛肉の官能評価(令和4年度)

酒粕入り飼料を給与した「とやま和牛」(牛肉)の 官能評価を実施したところ、対照に比べ、やわらか く、多汁性に優れ、脂の甘味が強いという結果であ った(写真3、図5)。



写真3 パネラーによる官能評価の様子

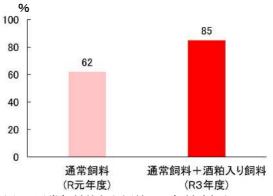


図3 通常飼料給与と酒粕入り飼料追加とのA5 等級割合の比較



図4 飼料給与マニュアル

注) 酒かすで育った「とやま和牛」は暫定の名称

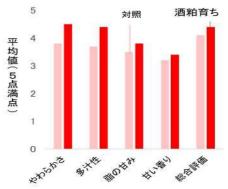


図5 官能評価の結果

注:学校法人富山国際学園富山短期大学の 食物栄養学科の学生及び教職員81名のパ ネラーにより評価

### 「普及活動の成果]

# (1)「とやま和牛酒粕育ち」のデビュー

酒粕入り飼料を給与した「とやま和牛」は、名称や定義、ロゴデザインが決定、令和4年7月19日にデビューし、本格的に販売を開始した。

定義は品種が黒毛和種、飼養方法が県内で12か月以上飼養されて 県産酒粕を3か月以上給与することとしている。牛枝肉格付の肉質等 級については、従来の「とやま牛」(とやま和牛を含む)よりも1等 級高い4等級以上としている。

ロゴデザインは、酒粕を食べて育った和牛をイメージし、酒粕の 原料の「米」の字や、8つに分割された部分が肉の色、口元の菱形が 酒粕を表現している(図6)。



図6 「とやま和牛 酒粕育ち」 のロゴデザイン

#### (2)酒粕入り飼料の給与生産者数の増加

酒粕入り飼料の給与生産者は令和2年度の2戸から4年度には9戸(全戸数の50%)まで増加した(図7)。年間出荷頭数は200頭(年間出荷頭数の30%)の見込みである。

#### (3)「とやま和牛 酒粕育ち」の枝肉単価がアップ

「とやま和牛 酒粕育ち」の枝肉単価はkg当たり、それ以外と比べ、牛枝肉格付A4等級では72円、A5等級では105円それぞれ高くなった(図8)。



図7 「とやま和牛酒粕育ち」生産者の分布図



図8 とやま和牛酒粕育ちとそれ以外との枝肉単価比較 注)集計期間は酒粕育ちとしてデビューした 令和4年7月22日から同年12月16日まで

#### (4)酒粕を地域資源として活用

令和4年度における酒粕のエコフィード利用は5tの見込みで、循環型社会づくりの取組みに貢献できるようになった(図9)。

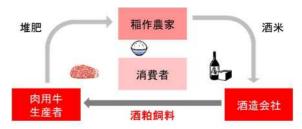


図9 酒粕のエコフィード利用による資源循環

#### [今後の普及活動に向けて]

和牛生産者に対し、酒粕入り飼料の給与による枝肉品質向上効果の理解を促進するとともに、ブランド力を強化することで、消費者から愛され続けてもらえる「とやま和牛 酒粕育ち」の生産拡大を図る。

# Ⅲ 農林水産総合技術センター 畜産研究所

# 1 トウモロコシサイレージの収量予測

稲葉真

農林水産総合技術センター畜産研究所

#### 「はじめに」

トウモロコシは、ほかの飼料用作物や牧草類に比べて収量性が高く、トウモロコシサイレージは乳用牛の粗飼料として全国で栽培されている。

近年、ドローンが産業用に利用され始め、空撮用、農業用、構造体・設備点検用、測量用、警備用、災害対応用、物流用など様々な分野で活躍している。

今回の試験では、産業用ドローンにカメラを取り付け、写真から生育したトウモロコシのほ場体積を求め、収量の予測を試みた。

#### [材料および方法]

産業用ドローン Matrice100 (DIJ社) を使用し、カメラは Red-Edge M (Micasence 社) を搭載した。 撮影は、播種後と雄穂抽出以降に行い、ドローンの自動航行アプリケーション DJI GS Pro (DJI社) を 用いて、撮影画像がオーバーラップ率 80%以上、サイドラップ率 70%以上の条件を満たすように自動飛行し、シャッター間隔は2秒に設定した。

撮影した画像から、Metashape professional (Agisoft 社)を用いてデジタル表面モデル (Digital Surface Model: DSM) を作成した。また、予め対空標識設置場所を測量し、対空標識から位置情報を取り込み、DSM に反映させた。

生育したトウモロコシのほ場体積は、無料の地理情報システムである QGIS2.18 を用いて、雄穂抽出期 以降のほ場 DSM から播種後のほ場 DSM を引いた高さと播種面積から算出した。

各年の播種日、雄穂抽出期、写真の撮影日は、表1のとおりであり、令和2年度及び令和4年度は、獣害により8月に撮影したものを使用した。

試験ほ場は、当研究所の通常管理のほ場を使用し、トウモロコシは、ロイヤルデント TX1334 (タキイ種苗) をジェットシーダー(株式会社タカキタ)で点播し、栽植本数は、6,500 本/10a とした。

試験期間は、平成31年度から令和4年度に実施し、令和3年度及び令和4年度はそれぞれのほ場体積から直径90cmのロール数を予測した。

収量予測は、「ほ場体積  $(m^3)$ 」÷「平均ほ場体積/ロール  $(m^3/個)$ 」の式を用いた。

#### [結果]

平成 31 年度と令和 2 年度のロール当たりの平均ほ場体積は、189.72  $\mathrm{m}^3$  であった(表 2)。この結果から令和 3 年度のロール数を予測すると、219.4 個となった。

実際の収穫ロール数は、229 個であったことから予測値と実測値の差は、ほ場当たり 9.6 個、誤差率 4.2%であった(表 3)。

次に、平成 31 年度から令和 3 年度までのロール当たりの平均ほ場体積は、 $187.72 \text{m}^3$ であった(表 4)。この結果から令和 4 年度のロール数を予測すると、176.1 個となった。実際の収穫ロール数は、180 個であったことから、予測値と実測値の差は、ほ場あたり 3.9 個、誤差率 2.2%であった(表 5)。

平成 31 年度から平成 4 年度までの 4 年間のロール当たりの平均ほ場体積は、186.91 m<sup>3</sup> となった。

#### 「考察]

トウモロコシは、登熟初期に稈長、稈径、葉面積が決まることから、本試験では雄穂抽出期以降の DSM を用いてほ場体積を測定した。

その結果、雄穂抽出期から収穫する黄熟期まで約1か月半近くの期間があり、1か月以上前に収量予測が可能であった。

誤差率は、令和3年度が4.2%、令和4年度が2.2%とデータを蓄積していくことで誤差がある程度小さくなると考えられた。

また、今回の試験では高さの0m基準となるDSMとして、播種後のDSMを用いたが、整地後播種前のDSMや前年に整地した後のDSMを用いるなど播種後DSMにこだわる必要は無いと考えられる。

獣害などの倒伏等により撮影以降にほ場の状態が変化した場合は、撮影し再計算する対応が必要になる。

表1 各年度の播種日、雄穂抽出日およびほ場撮影日

	ほ場	播種日	雄穂抽出日	ほ場推	最影日
平成31年度	2区①	2019/4/18	2019/6/26	2019/4/20	2019/7/25
	4区下	2019/4/18	2019/6/26	2019/4/20	2019/7/8
令和2年度	3区①	2020/5/14	2020/7/13	2020/5/28	2020/8/12
令和3年度	2区①	2021/4/23	2021/7/5	2021/4/28	2021/7/19
令和4年度	3区①	2022/4/21	2022/7/1	2022/4/25	2022/8/12

#### 表 2 平成31年度~令和2年度のロール当たり平均ほ場体積

	ほ場	ほ場体積 (m³)	収穫ロール数 (個)	ほ場体積/ロール (m <sup>3</sup> /ロール)			
平成31年度	2区①	43, 266	243	178.05			
平成31平及	4区下	7, 542	40	188. 55			
令和2年度	3区①	28, 154	139	202.55			
令和3年度	2区①	41,621	平均	189.72			

# 表3 令和3年度予測収量と実収量の差

	収穫ロール数 (個)	予測ロール数 (個)	ほ場当たりの ロール数の差 (個)	誤差率(%)
令和3年度	229	219. 4	9. 6	4. 2

# 表 4 平成31年度~令和3年度のロール当たり平均ほ場体積

	ほ場	ほ場体積 (m³)	収穫ロール数 (個)	ほ場体積/ロール (m³/ロール)
平成31年度	2区①	43, 266	243	178. 05
平成31平及	4区下	7, 542	40	188. 55
令和2年度	3区①	28, 154	139	202. 55
令和3年度	2区①	41,621	229	181. 75
令和4年度	3区①	33, 057	平均	187.72

# 表 5 令和 4 年度予測収量と実収量の差

	収穫ロール数 (個)	予測ロール数 (個)	ほ場当たりの ロール数の差 (個)	誤差率(%)
令和4年度	180	176. 1	3. 9	2. 2

# 2 竹酢粉末を給与した豚肉の特徴

○青柳浩、前坪直人、坪川正、上田博美 農林水産総合技術センター 畜産研究所

#### [はじめに]

県内の養豚業界においては、統一銘柄の「とやまポーク」を初めとして、「黒部名水ポーク」などの銘柄豚がそれぞれの特徴を活かした販売を行っている。県内ブランド豚肉の特徴としては、豚を健康に育てて、美味しい豚肉を生産するために、飼料に「竹酢粉末」などを添加している。

そこで、「竹酢粉末」の給与が、肉豚の肉質に与える影響について科学的に解明することと した。

#### 「材料および方法]

#### 試験 1: 理化学的肉質評価試験

① 区構成 竹酢粉末 0%区, 同 0.3%混合区, 同 0.6%混合区

② 供試頭数 各区 去勢2頭,雌2頭の4頭、 計12頭

③ 分析サンプル 115kg を目標に屠場出荷した個体の枝肉の右側ロース部を3分割し、その中央部から得られる胸最長筋を分析サンプルとして供試した。

④ 調査項目

加熱損失率 (加熱前重量-加熱後重量) ×100÷加熱前重量

破断応力 テンシプレッサー

肉色・皮下脂肪色色差計(L\*白、a\*赤、b\*黄)加圧保水性35kg・1 分間加圧伸展法

皮下脂肪の融点 ガラス毛細管法

脂肪酸組成 ガスクロマトグラフィー

#### 試験2:官能評価試験

① 区構成 竹酢粉末 0%区, 同 0.3%混合区, 同 0.6%混合区

② 供試豚 理化学的分析に用いたものと同じ、胸最長筋を供試する。

③ 調査方法 パネラーに対して、五味(甘味、塩味、酸味、苦味、旨味)の識別テスト

を実施し、焼き肉法によるアンケート調査を実施

※甘味 (スクロース 0.4%) 塩味 (塩化ナトリウム 0.13%) 酸味 (酒石酸 0.005%)

苦味 (カフェイン 0.02%) 旨味 (グルタミン酸ナトリウム 0.05%)

④ 調査項目 「味(おいしさ)」、「脂っぽさ」、「硬さ」、「ジューシーさ」、「歯ごたえ」、

「好ましい豚の香り」、「獣臭」

#### 「結果]

#### 試験 1: 理化学的肉質評価試験

竹酢粉末を混合した飼料を豚に給与した場合、通常飼料を給与した豚と比較した結果、食肉性状(肉色、脂肪色)及び脂肪の質(脂肪融点、飽和脂肪酸)では有意差が見られなかった (表 1)。

しかし、物理的性質(破断応力、加熱損失、保水性)においては、破断応力、加熱損失では有意差は見られなかったものの、肉の保水性 (P < 0.05) において、対照区に対し竹酢粉末混合区 (0.3%, 0.6%) を給与した豚肉で有意に高い結果が得られた(表  $2 \cdot \mathbf{図} 1$ )。

#### 試験2:官能評価試験

「味(おいしさ)」において、0.6%区で評価が高かったものの、有意差は認められず、その他の「好ましい豚の香り」、「脂っぽさ」、「硬さ」、「ジューシーさ」、「歯ごたえ」、「獣臭」については、対照区と竹酢粉末混合区の間で有意差は見られなかった(表3)。

# [考 察]

試験1では、全農中研報(1995 No24)において、肥育豚への竹酢粉末を給与することで肉の保水性を高めるとした結果を裏づけることとなった。

試験2では、官能評価試験にあたり、識別テストを実施したものの、アンケート結果ではパネラーの評価がバラバラとなり、有意差を明らかにすることはできなかった。

表1 竹酢添加飼料給与による肉の性状および脂肪の質

<b>双            </b>	7/JW /JH JA-J 4	<del>                                       </del>				脂肪色 脂肪色			脂肪	飽和
	•	明度	赤味	黄味	_	明度	赤味	黄味	融点	脂肪酸
		白→黒	赤→緑	黄→青		白→黒	赤→緑	黄→青	$(\mathcal{C})$	割合
		L*	a*	b*		L*	a*	$b^*$		(%)
対照区	平均値	53. 65	9.49	8. 90		75. 35	3.60	7.34	37.81	43. 1
竹酢 0%	STD	2.6	1.22	1.04		0.83	0.92	0.67	1. 96	0.53
	平均値	52.04	9.33	8.41		74. 77	4. 43	7. 13	36. 77	43.4
竹酢 0.3%	STD	2. 77	1.64	0.40		3. 71	1. 20	0.41	3.80	0.82
	平均値	54. 38	8.75	8. 78		75. 13	4. 11	7.02	36.01	43. 1
竹酢 0.6%	STD	2.04	1.61	1. 4		0.63	0.42	0.67	3. 55	1.81
P 値	•	0.52	0.78	0.72		0.55	0.65	0.87	0.92	0.94

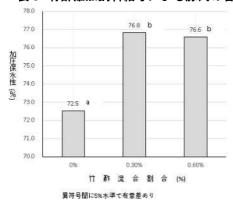
各区 n=4、P 値 < 0.05 で有意差あり

表 2 竹酢添加飼料給与による物理的性質

			破断応力※	**	**	
		柔らかさ	噛み応え	脆さ	加熱損失	保水性
		Tenderness	Toughness	Brittleness		
		$kgw/cm^2$	${\rm kgw/cm^2}$			
対照区	平均値	50.86	3.84	1.55	24. 22	72. 53
竹酢 0%	STD	6. 18	0.94	0.09	1. 23	2. 55
	平均值	69.75	3. 92	1.41	22. 57	76.83
竹酢 0.3%	STD	18. 98	1.60	0.16	1.71	3. 31
	平均值	61. 28	4. 28	1.45	22. 93	76. 6
竹酢 0.6%	STD	7. 13	0.78	0.05	1. 59	2.01
P 値		0.14	0.84	0.25	0.09	0.006

※破断応力:各区 n=4、※※加熱損失、保水性:各区 n=8、P 値<0.05 で有意差あり

表3 竹酢添加飼料給与による豚肉の官能評価



項目	対照区	0.3%区	0.6%区	P値
味(おいしさ)	3.00	3.00	3.56	0.31
脂っぽさ	2.33	2.67	2.56	0.71
硬さ	3.33	3.22	3.11	0.91
ジューシーさ	2.56	2.56	3.00	0.57
歯ごたえ	3.44	3.33	3.33	0.87
好ましい豚の香り	3.33	3.33	2.78	0.22
獣臭	2.78	2.44	2.33	0.57

図1 竹酢添加飼料給与による豚肉の保水性

# 令和4年度 富山県畜産関係業績集録

発行 富山県農林水産部農業技術課 〒930-8501 富山市桜橋通り5番13号 TEL 076-444-3289