

調査研究成績報告書

— 家畜保健衛生業績発表集録 —

第56報（平成26年度）

埼玉県農林部畜産安全課

目 次

— 第 1 部 —

- 1 肉用牛のヨーネ病高度汚染農場におけるリアルタイムPCR法を活用した清浄化対策 ----- 1
熊谷家畜保健衛生所 宮 田 基 ほか
- 2 乳房炎の新たな治療薬剤への対応 ----- 8
中央家畜保健衛生所 平 田 圭 子 ほか
- 3 農場における黄色ブドウ球菌簡易同定キットを用いた乳房炎対策の検討
----- 13
川越家畜保健衛生所 増 田 杏 菜 ほか
- 4 県内初の豚流行性下痢の発生とその防疫対応 ----- 18
熊谷家畜保健衛生所 武 末 寛 子 ほか
- 5 腸管廃棄を減らせ！ ～と畜検査成績を活用した農場対策とその効果～
----- 24
熊谷家畜保健衛生所 伊 藤 麗 子 ほか
- 6 肉用鶏ビギナーに対する飼養衛生管理指導 ----- 29
川越家畜保健衛生所 加 島 恭 美
- 7 消毒ポイント現地調査から見えた問題点と対策 ----- 33
中央家畜保健衛生所 吉 田 輝 美 ほか
- 8 観測史上最大の大雪が畜産農家に残した爪痕 ----- 37
熊谷家畜保健衛生所 山 岸 聡 美 ほか

— 第 2 部 —

- 9 定量的PCRを用いた牛白血病の診断と牛白血病ウイルス伝播リスク評価
----- 42
中央家畜保健衛生所 曾 田 泰 史 ほか
- 10 リアルタイムPCR法による乳用牛のヨーネ病自主とう汰事例 ----- 52
熊谷家畜保健衛生所 向 井 海 渡 ほか
- 11 既知の種に属さないレンサ球菌属菌が分離された牛肺炎の一症例と分離株
の性状 ----- 57
中央家畜保健衛生所 荒 井 理 恵 ほか
- 12 県内酪農家で発生した趾乳頭腫症の一症例 ----- 65
中央家畜保健衛生所 平 野 晃 司 ほか
- 13 光・熱および振動感作が血清中ビタミンA・E濃度に及ぼす影響 ---- 71
中央家畜保健衛生所 畠 中 優 唯 ほか
- 14 展示施設で発生したシラコバトの*Yersinia pseudotuberculosis*感染症
----- 78
中央家畜保健衛生所 北 島 絵 理 子 ほか

— 第 3 部 —

- 15 秩父高原牧場における牛呼吸器病対策について ----- 85
秩父高原牧場 金 子 純 高 ほか
- 16 LED照明の経済性と採卵鶏及びタマシャモ種鶏への利用 ----- 92
農林総合研究センター畜産研究所 中 村 秀 夫

1 肉用牛のヨーネ病高度汚染農場におけるリアルタイム PCR 法 を活用した清浄化対策

熊谷家畜保健衛生所

○宮田 基、佐竹 吉人、宮本 賢一

中央家畜保健衛生所

荒井 理恵

I はじめに

ヨーネ病は全ての感染ステージを通じて感染牛を確実に検出できる検査法がなく(図1)、本病の診断には、検査精度、診断可能ステージと検査の効率及びコストを総合的に勘案することが求められる。

本菌の高度汚染農場では、非感染牛も遺伝子検査陽性となる可能性があるが、リアルタイム PCR 法は、特異性、迅速性に優れており、従来の検査法では診断が困難な早期の感染牛の摘発に有用である。

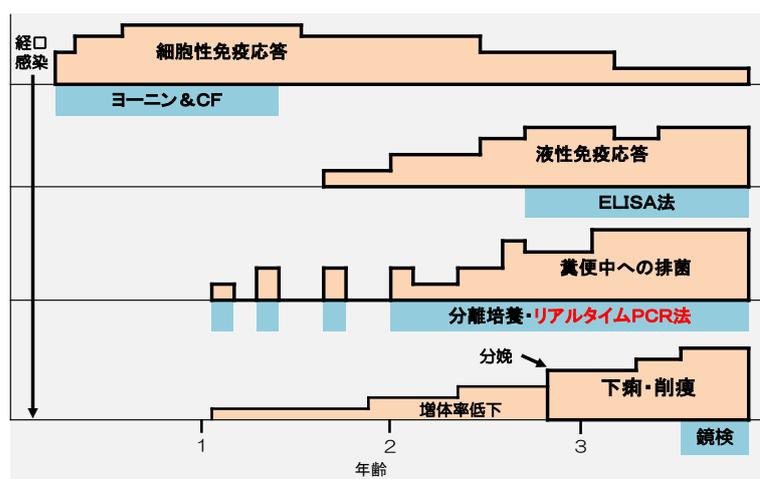


図1 初生期にヨーネ菌に感染した牛の免疫応答推移、排菌、臨床症状のモデルと各種検査

平成 18 年に牛のヨーネ病防疫対策要領(以下、「要領」という。)¹⁾が制定され、自主とう汰の推進のため、補助的検査法として安価な研究用試薬を用いたリアルタイム PCR 法(以下、「従来法」という。)²⁾が導入された。その後、ELISA 法の非特異反応への対応のため、平成 20 年にスクリーニング検査が、平成 25 年度の家畜伝染病予防法施行規則等の改正により、確定検査にリアルタイム PCR 法(以下、「公定法」という。)が導入された。

これに伴い、本県では、埼玉県牛のヨーネ病防疫対策要領実施指針等を改正し、発生確認農場におけるまん延防止のための同居牛検査のスクリーニング検査にヨーネ病スクリーニング ELISA 法(以下、「ELISA 法」という。)と従来法を併用する検査体制とした(図2)。

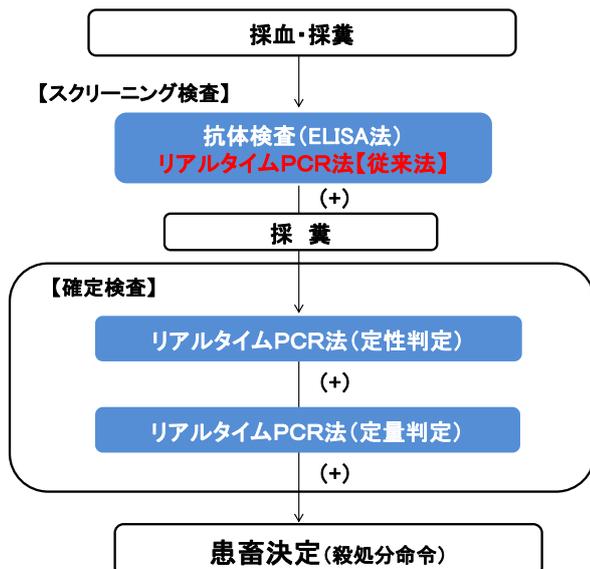


図2 埼玉県の牛ヨーネ病防疫対策要領に基づく同居牛検査（平成 25 年度以降）

今回、県内で確認された肉用牛のヨーネ病高度汚染農場において、従来法を活用した清浄化対策を実施したのでその概要を報告する。

II 農家概要

発生農場は黒毛和種繁殖経営で、繁殖牛約 40 頭、子牛・育成牛 30 頭を飼育している。後継牛は、主に自家育成で確保し、子牛は離乳まで母牛と同一パドックで飼育し、10 ヶ月齢で県内の家畜市場に出荷している（図 3）。

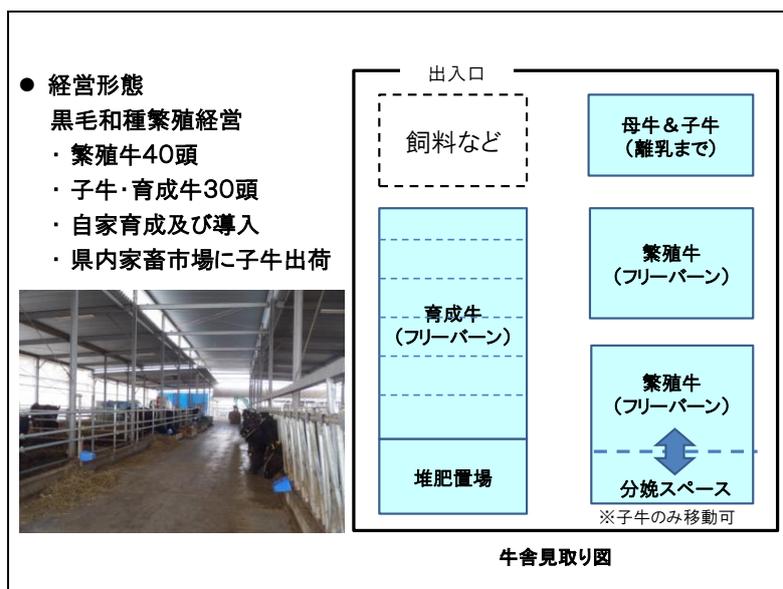


図3 農家概要

Ⅲ 病性鑑定

平成 26 年 1 月 6 日に、繁殖牛数頭が慢性の下痢及び消瘦を呈しているとの通報があり、当該農場の病性鑑定を実施し、立入時に下痢・消瘦(図 4)を呈していた 5 頭の直腸便・血清を材料した。



図 4 発症牛

臨床症状等からヨーネ病を疑ったため、ELISA 法及び公定法による検査を実施した結果、ELISA 法で 3 頭が陽性、公定法で全頭が陽性となり、5 頭全てがヨーネ病患者と確定した。

ELISA 法で陽性となった 3 頭は、DNA 量が $1.68E+02\text{pg}/2.5\mu\text{l}$ ~ $3.32E+02\text{pg}/2.5\mu\text{l}$ と非常に多い大量排菌牛だった(表 1)。

表 1 病性鑑定成績

No.	年齢	症状	スクリーニングELISA法 陽性:ELISA値 $0.3 \leq$	リアルタイムPCR(公定法)	
				定性判定	定量判定 (DNA量 $\text{pg}/2.5\mu\text{l}$) 陽性: $1.00-0.3 \leq$
1	12歳	消瘦	+	+	+(3.32E+02)
2	17歳	消瘦	-	+	+(1.39E-01)
3	17歳	消瘦	+	+	+(1.68E+02)
4	13歳	消瘦	-	+	+(8.28E-03)
5	3歳	消瘦・軟便 起立不能	+	+	+(2.88E+02)

Ⅳ 同居牛検査

1 材料と方法

患者の摘発を受け、直ちに要領に基づく同居牛検査を実施した。

さらに同年 7 月、11 月及び平成 27 年 3 月に検査を実施した(表 2)。

表 2 検査材料

採材日		第 1 回 (1/15)	第 2 回 (7/22)	第 3 回 (11/10)	第 4 回 (3/2)
材料 (検体数)	直腸便・血清	5 5	4 5	4 4	4 1
	環境材料	6	7	7	7

繁殖牛及び6ヵ月齢以上の育成牛の直腸便・血清について、スクリーニング検査として ELISA 法と従来法、確定検査として公定法を実施した。

また、環境中のヨーネ菌汚染状況を把握するため、敷料の検査を実施した。

2 成績

(1) 第 1 回検査

ア 検査成績

ELISA 法では 55 頭中 3 頭が陽性、従来法では 55 頭全頭が陽性となり、うち 53 頭の DNA 量は、公定法で陽性となる $1.00E-03$ pg/2.5 μ l 以上であった。

また、敷料も 6 検体全てが陽性で、うち 5 検体の DNA 量は 10~1pg/2.5 μ l と非常に多く、大量排菌牛の存在により環境中が高度に汚染されていた。

そのため、多くの個体は環境中のヨーネ菌の影響により従来法で陽性となっていると判断し、ELISA 法で陽性の 3 頭のみ、公定法を実施し患畜と確定した。

なお、患畜はいずれも自家産 (6 歳、3 歳、3 歳) であった。

イ 防疫対応と指導

病性鑑定及び 1 回目の同居牛検査成績より、当該農場はヨーネ菌の大量排菌牛が存在する高度汚染農場であることが判明した。

そこで、牛群から患畜を隔離・法令殺した後、環境中の汚染度を低下させるため、牛舎等の徹底的な除糞・清掃・洗浄・消毒を指導するとともに、新たに飼槽を設置した(図 5、図 6、図 7)。

なお、洗浄・消毒については、当所職員も支援を行った。



図 5 牛舎の清掃・洗浄・消毒作業



図6 石灰乳を塗布した牛舎



図7 新たに設置した飼槽

その他、感染・排菌している可能性が高い患畜の産子2頭を自主とう汰し、母乳及び母牛からの感染のリスクを低減させるため、新生子牛は出生直後に分離し(図8)、人工乳を給与(図9)することとした。



図8 分離飼育した子牛



図9 人工乳の給与に変更

子牛の出荷は、発生前の家畜市場への出荷から肥育農家2戸に限定した相対取引に変更し、検査実施後に出荷した。

また、今回の発生前の出荷牛については、出荷先12農場の追跡調査を実施し、繁殖農場3戸は繁殖牛4頭についてスクリーニング検査を実施し農場の陰性を確認、肥育農場9戸は全て肥育向けであることを確認した。

(2) 第2回検査

ア ELISA法では45頭全頭が陰性となり、従来法では、45頭中9頭が陽性となった。

敷料は7検体中3検体が陽性となり、DNA量は $5.79E-04$ から $5.37E-03pg/2.5\mu l$ と低下していた。環境中のヨーネ菌の影響を考慮し、従来法陽性牛のうち公定法の判定基準であるDNA量

1.00E-03 pg/2.5μl 以上の 5 頭について、公定法を実施し患者と決定した。患者の 1 頭 (10 歳) は導入牛で、その他 4 頭 (2 歳、9 ヶ月齢、7 ヶ月齢、7 ヶ月齢) は自家産であった。

また、患者 5 頭は精密検査により、全頭ヨーネ菌感染が確認された。

(3) 第 3 回検査

ELISA 法では 44 頭全頭が陰性、従来法では 44 頭中 2 頭が陽性となった。陽性牛 2 頭について公定法を実施したが、2 頭とも健康畜と判定された。敷料は 1 検体のみ陽性であった。

なお、この 2 頭と同居繁殖牛 3 頭、子牛 9 頭について、細胞性免疫応答の検査法である INF-γ 検査及び IL-10 検査⁴⁾ を実施したところ、感染している可能性が低いことが確認された。

(4) 第 4 回検査

ELISA 法及び従来法では 41 頭全頭が陰性で、敷料は 1 検体のみ陽性であった。

V まとめと考察

本農場は、牛群内に大量排菌牛が存在し、農場環境の DNA 量も極めて高いヨーネ病高度汚染農場であった。

初回の同居牛検査では、55 頭全頭が従来法陽性となり、うち 53 頭の DNA 量が公定法で陽性となる 1.00E-03 pg/2.5μl を大幅に超過していたことから、環境中のヨーネ菌の影響が強く示唆された。

患者 13 頭の摘発・とう汰と 2 頭の自主とう汰、牛舎の洗浄・消毒を繰り返し実施した結果、当初は従来法で 100%陽性だったが、2 回目 20%、3 回目 5%、4 回目 0%と環境中のヨーネ菌の影響を排除することができた (図 10)。

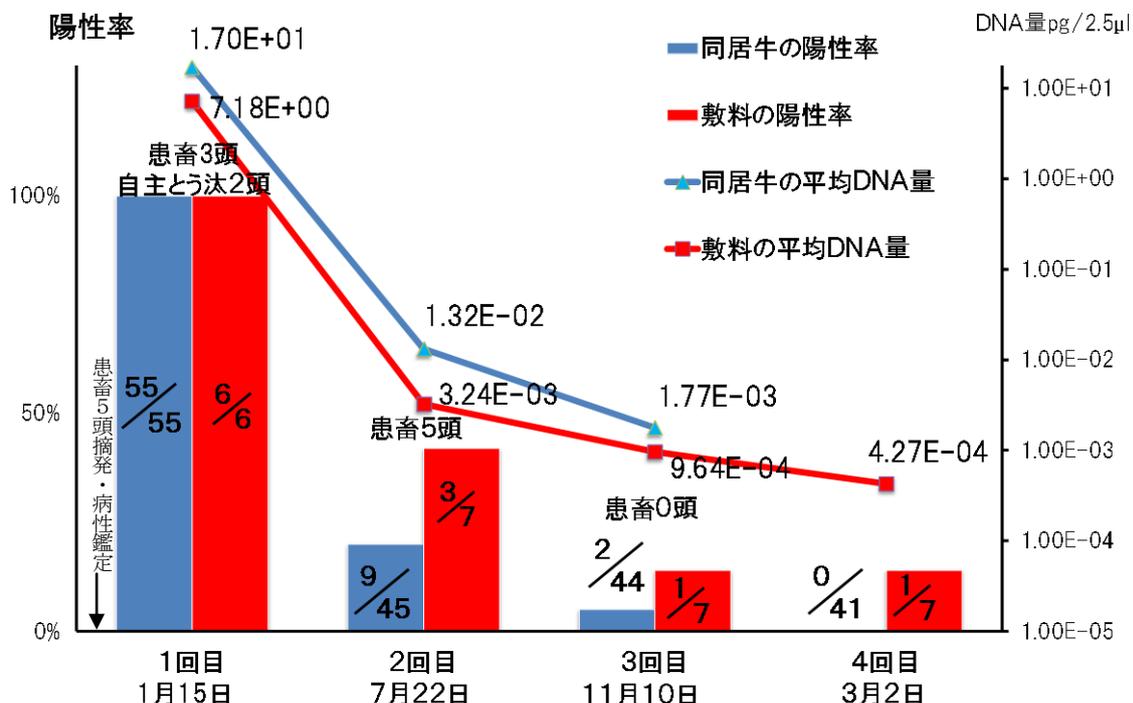


図 10 ヨーネ病リアルタイム PCR 法 (従来法) 成績の推移

また、子牛の飼養衛生管理も見直し、新生子牛を出生直後に母牛から早期分離し、人工乳を給与することとし、ヨーネ菌の感染リスクが高い6カ月齢以下の幼齢牛の感染を防止することが可能となった。

公定法は通過菌の影響を大きく受けるにも関わらず、その結果に法的拘束力を伴うため、その検査には慎重さが求められる。公定法が導入されるまで、本県を含む多くの都道府県でカテゴリーⅡ農場の同居牛検査に用いられた従来法は、その結果に法的拘束力がなく、従来法によるスクリーニング検査を実施し、飼養環境の清浄化を図ることにより、通過菌等の影響により陽性となった非感染牛を患畜として摘発する事態を回避できる。また、抗体検査で陰性の感染牛に対する早期摘発が可能で、高度汚染農場の清浄化を迅速に進めることができると考えられる。

VI 今後の対応

今後、当該農場において、従来法を活用した検査を継続することにより、清浄化を迅速に達成するとともに、本事例を高度汚染農場の清浄化モデルケースとしたい。

本県では、家畜伝染病予防法第5条に基づくヨーネ病の定期検査は、乳用牛についてのみ4年に1回実施していたが、平成26年度から肉用繁殖牛についても同様に定期検査を開始した。

さらに、肉用繁殖牛について未実施であったことと、本事例の発生を受けたことにより、県内のヨーネ病浸潤状況を把握するため、27年度までに全戸(63戸)・全頭(1131頭)の検査を実施することとし、これまでに38戸(60%)・642頭(57%)の検査を実施し全頭陰性を確認している。

引き続き、発生農場における清浄化対策と、定期検査による患畜の早期摘発により、牛ヨーネ病の清浄化を図っていく。

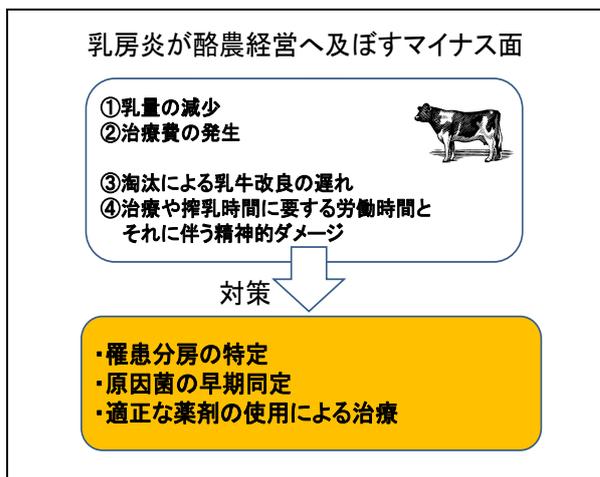
VI 参考文献

- 1) 牛の防疫対策要領(農林水産省消費・安全局、平成18年11月1日公表、平成25年4月1日最終改正)
- 2) ヨーネ病検査マニュアル2011.1.31版(動物衛生研究所ヨーネ病研究チーム)
- 3) 横溝祐一: ヨーネ病の発生状況と防疫のすすめ方, 臨床獣医, 7, 18-26 (2001)
- 4) 抗インターロイキン10抗体を用いた牛ヨーネ病のインターフェロンガンマELISA診断法の高感度化(2003年、動物衛生研究所ヨーネ病・炎症性腸管疾患研究チーム)

2 乳房炎の新たな治療薬剤への対応

中央家畜保健衛生所

○平田 圭子・山田 均・青山 達也



I はじめに

乳房炎は酪農経営において最も重要な疾病である。

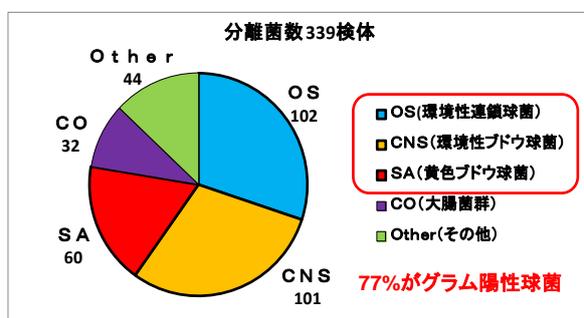
乳房炎が酪農経営に及ぼすマイナス面は、乳量の減少や治療費の発生といった直接的なものだけでなく、牛の淘汰による乳牛改良の遅れ、発症牛の治療や搾乳に要する労働時間と、それに伴う精神的ダメージなどが挙げられ、目に見えないところにも多大な影響を及ぼす。(図1)

図1 乳房炎が酪農経営へ及ぼすマイナス

面と対策

乳房炎を発生させないためには日頃の衛生管理が最も大切だが、発生した場合には出荷バルク乳の乳質を低下させないため、罹患分房を特定し、原因菌の早期同定及び薬剤感受性試験を行い、適正な薬剤を使用することが重要である。

筆者らが、平成 23 年 1 月～平成 24 年 4 月の期間に酪農家や獣医師からの依頼により実施した乳汁検査では、乳房炎の主な原因菌が図 2 のとおり分離された。このうち、黄色ブドウ球菌、環境性ブドウ球菌、環境性連鎖球菌といったグラム陽性球菌によるものが全体の 77%を占めていた。



CO: E.coli(10), Klebsiella(3), Proteus(2), Enterobacter(2), Serratia(1), その他14
Other: バチルス属15, Pseudomonas(2), Arcanobacterium(1), Prototheca(1)

(演者ら調べ、H23.1～H24.4)

図2 乳房炎の主要な原因菌



図3 乳房炎治療に使用されている抗菌剤

現在、乳房炎治療においては、図 3 に示す多くの系統の抗菌剤が使用されている。治療では最も適正と思われる薬剤を選択して処方しても、菌種によっては耐性を示したり、一度治癒してもすぐに再発することがある。特に環境性連鎖球菌や黄色ブドウ球菌の場合はその傾向があり、完治しない場合は盲乳処置や牛を廃用にせざるを得ないのが現状である。

II 新しい乳房炎治療薬の概要

このような背景の中、平成 26 年に牛で初めてとなるリンコマイシン系のピルリマイシン (以下 PRM) を主成分とする薬剤 (以下 PRM 製剤) が発売された。国内の乳房炎治療薬では 13 年ぶりに新薬として農林水産省に承認されたものである。

PRM 製剤の適応症は泌乳期における乳房炎で、有効菌種は本剤に感受性のあるブドウ球菌、連鎖球菌である。用法用量は、1 日 1 回 1 分房当たり 1 容器を 2 日間注入する。

PRM 製剤の特長は、出荷までの休薬期間が 60 時間であるため、現場で最も良く使用されているセフェム系製剤の休薬期間が 72 時間であるのに比べ、廃棄乳量が少ない点である。また、組織浸透性が高く、乳腺組織から細胞内への移行に優れるため、細胞内で増殖する黄色ブドウ球菌などに有効に働くことが期待される。

一方、デメリットは、投与分房以外の分房乳からもピルリマイシンが排出されるため、他の薬剤を使用した時と同様に、投与後の全分房乳の廃棄が必要である。また、これまで乳房炎注入剤で添加が義務付けられていた青色色素が、関係法規の改正により任意となったために色素が入っていない。このため、マーキングやレッグバンド等による個体識別を徹底しないと誤搾乳の危険がある。さらに、休薬期間後の生乳出荷前検査で使用しているペーパーディスク法ではピルリマイシンの検出が難しく、別の検出方法を検討する必要がある。

以上の特徴を踏まえたピルリマイシン製剤を使用した際の生乳出荷時の対応の検討と、併せて、乳房炎原因菌に対する薬剤効果の検証を行ったので、その概要を報告する。

III 乳房炎原因菌に対する薬剤感受性の検証

1 材料と方法

(1) 供試株

酪農家及び獣医師から依頼を受け、各家畜保健衛生所で体細胞数測定、細菌分離により乳房炎原因菌と判定した 56 株を使用した。(図 4)

(2) 方法

市販ディスクを用いた 1 濃度ディスク法 (6 薬剤) により実施した。

2 成績

(1) 全菌株における薬剤感受性成績(図 5)

56 株のうち、PRM に 83% (47 株)、CEZ に 85% (48 株) が感受性を示した他、21%~55%の菌株が PCG、MDIPC、EM、FRM に感受性を示した。

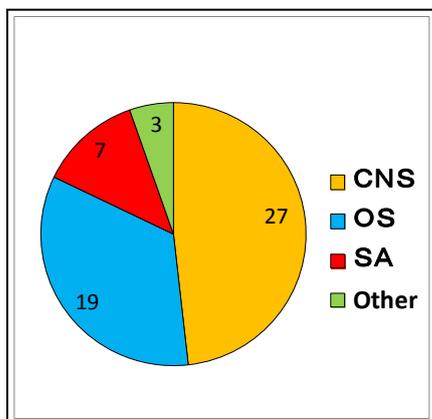


図4 供試株の内訳

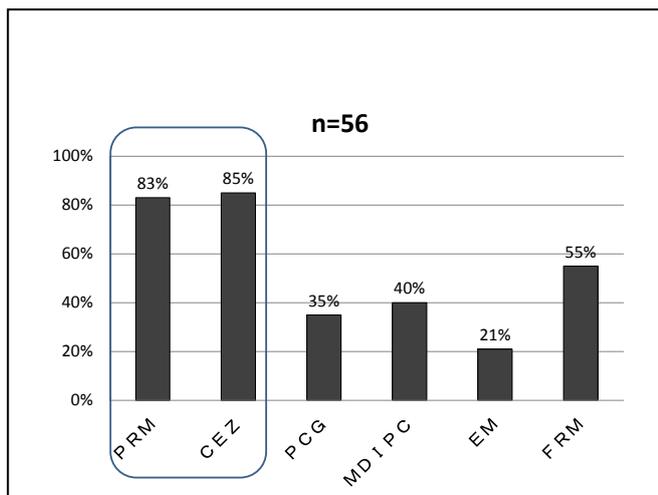


図5 各抗菌剤に対する感受性

(2) 黄色ブドウ球菌 (7 株) 及び連鎖球菌群 (19 株) における薬剤感受性成績
 黄色ブドウ球菌は PRM 及び CEZ で全ての菌株が感受性を示した。連鎖球菌群では PRM に 68% (13 株)、CEZ に 78% (15 株) が感受性を示した。
 (図6、7)

(3) 一部の抗菌剤に耐性を示した菌株における PRM 感受性成績
 PCG 耐性株 (29 株) で 89% (26 株)、EM 耐性株 (7 株) で 42% (3 株) が PRM に感受性を示したが、CEZ 耐性株 (5 株) では 1 株が感受

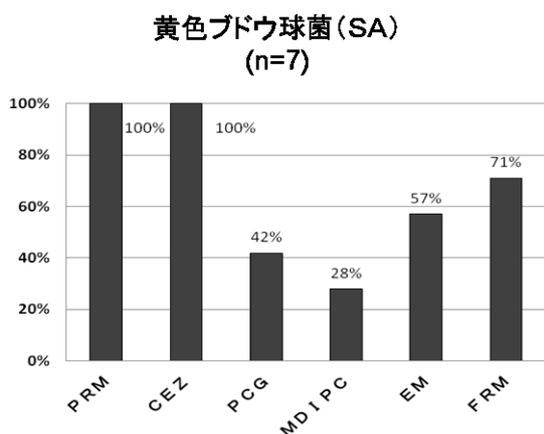


図6 菌種別の薬剤感受性 1

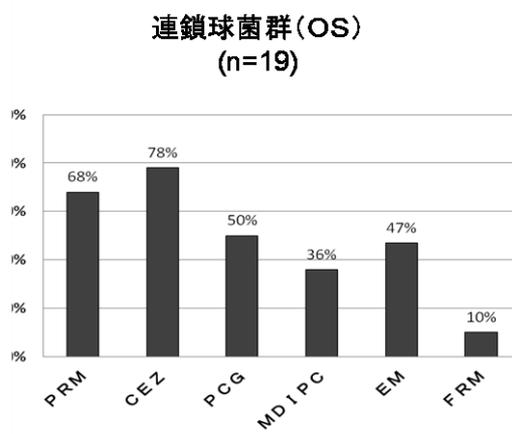


図7 菌種別の薬剤感受性 2

※PCGはn=10,EMはn=17

性を示すにとどまった。

IV 生乳出荷時の対応の検討

家畜保健衛生所（以下、家保）及び後述する乳質指導改善班での取組の概要を報告する。

1 家畜保健衛生所

家保では、衛生だよりを通じて県内全ての生乳出荷者へ PRM 製剤の概要及び注意点について情報提供を行った。

また、各家保で PRM の感受性ディスクを導入し、酪農家や獣医師からの検査依頼に対応できるようにした。

2 乳質指導改善班

乳質指導改善班は、平成 24 年に J A 全農さいたままで農家の乳質改善意識の向上を目的として組織された。構成員は生乳出荷者の代表、J A 職員、クーラーステーション（以下 CS）、臨床獣医師、家保乳質担当者である。普段の活動内容は、年 2 回の生乳出荷者全戸を対象としたバルク乳細菌検査、巡回指導による搾乳衛生や生乳生産管理チェックシートの記帳指導のほか、研修会の開催、消毒用石灰や搾乳用タオル等の衛生資材の配布を行っている。

乳質指導班の PRM への対応は、ポジティブリスト制度に基づく生乳への薬剤混入事故防止のため、治療牛の識別の徹底や生乳生産管理チェックシートへの記録、PRM 製剤に関わらず治療中の生乳は全ての分房乳を廃棄すること等について、改めて生乳出荷者へ文書で通知し、周知徹底した。

PRM製剤に対する乳質改善指導班の取組
 （生乳出荷時の混入事故防止）

酪農家へ

生乳の抗生物質残留事故をなくしましょう

残留事故の原因は「うっかりミス」がほとんどです。次のことを守って残留事故を防ぎましょう。

- ※ 取扱書の指示を守り、薬を正しく使用する。
- 治療したら（薬を使用した）すぐにマーキングし、治療牛をしっかり識別する。
- 薬を使用したら、「生乳生産管理チェックシート」に記録する。
- ※ 治療したら（薬を使用した）ら、作業期間で連絡を徹底し、治療牛確認してから搾乳する。
- 治療牛の出荷できない期間中の生乳は全部（4分房とも）廃棄する。
- 治療牛の生乳は、出荷できない期間が過ぎたら、抗生物質の検査を受け、陰性を確認してから出荷する。
- ※ 出荷前検査サンプルの送付には、取扱書に必要な事項（使用薬剤名など）を記入し必ず添付すること。

PRMのポジティブリストでの
規制基準値:0.3ppm)



PRM残留検査

検査キットの導入

使用上の注意を酪農家へ周知
検査キットの導入

図8 生乳への混入事故防止対策

また、従来のペーパーディスク法に加え、PRM 製剤に対応した検査キット（イムノクロマト法）を新たに導入し、出荷者からの依頼検査に対応できるようにした。（図8）

V まとめと考察

1 まとめ

(1) 乳房炎原因菌に対する薬剤感受性の検証

PRM 製剤の薬剤効果は、セフェム系薬剤と同等の感受性を示した。このことから、乳房炎治療において治療薬剤の選択肢が増え、耐性菌の発生が抑えられることが示唆された。また、PRM 製剤の休薬期間が短いことから廃棄乳量が削減され、酪農家の経済的負担が軽くなることが期待された。

今後は、治療牛の乳房炎再発の有無等、PRM 製剤の組織浸透性が高いという特長について、今後の経過を見守る必要がある。

(2) 生乳出荷時の対応の検討

PRM 製剤の発売に関する情報を受け、乳質指導改善班が普段の活動の中で迅速に対応した結果、治療分房の誤搾乳や生乳への薬剤混入事故等もなく、生乳の安全・安心の確保のための取組を行うことができた。

2 考察

獣医療や飼養管理の技術は日進月歩で発展する一方、酪農家数の減少や高齢化が進展しており、すぐに新しい技術に対応することは難しいのが現状である。このため、今回の乳質改善指導班のような、生産者を含んだ関係機関が連携し、諸問題に対応していくことは、今後ますます必要になると思われる。

なお、個々の牛に対する乳房炎治療を確立するのは言うまでもないが、牛群全体の乳質を良好な状態で維持し、所得を確保することが酪農経営にとって最も重要である。そのためには、牛舎環境の整備や、搾乳衛生などの日常管理の励行が大切である。家畜保健衛生所は、今後も関係機関と連携し酪農経営への支援を推進する。

VI 謝辞

今回の報告に御助言・御指導いただいた獣医師の神田実先生、松本和治先生、NOSAI 埼玉家畜診療所 金子博之先生をはじめ、関係者の方々に深謝します。

参考文献

南根室地区農業改良推進協議会：営農改善資料第 28 集 見開き 乳質のマネージメント、2000.2

公益社団法人日本動物用医薬品協会編：動物用医薬品医療機器要覧 2014 年版

3 農場における黄色ブドウ球菌簡易同定キットを用いた乳房炎 対策の検討

川越家畜保健衛生所

○増田 杏菜・塩入 陽介

I はじめに

牛の乳房炎は、酪農家に甚大な損失を与える疾病である。

その原因となる微生物の中でも黄色ブドウ球菌(以下「SA」という。)は、難治性の乳房炎を引き起こすことがよく知られている。

SAは搾乳者の手、ミルカーを介して他の牛に伝播するためSA感染牛は迅速に隔離し最後に別搾乳することで他の牛への感染を防ぐことが重要である。

そこで、食品の衛生検査に用いられている市販のSA簡易同定キット(以下「キット」という。)を比較し、農場におけるSA性乳房炎の早期発見について検討した。

II キットの比較試験

市販のキットA~Dを用いて、同一の乳汁6検体を用いて比較試験を行った。試験材料はスピッツ管、アルコール綿、使い捨てスポイト、培養装置である。培養は37°C24時間で実施した。平行してコロンビア血液寒天培地に乳汁を塗抹し24時間培養したものと卵黄加マンニット食塩培地に塗抹し48時間培養したものから菌を純培養し、カタラーゼ試験、オキシダーゼ試験、コアグララーゼ試験、VP試験、グラム染色にてSAが含まれている乳汁かどうか確認した(以下「通常同定法」という)。

1 キットA(図1、2)

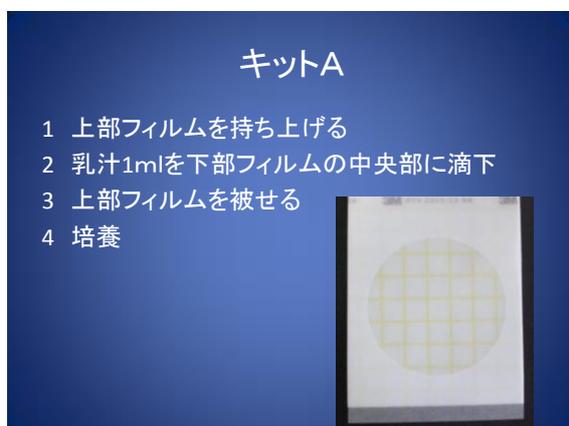


図1 キットAの試験方法

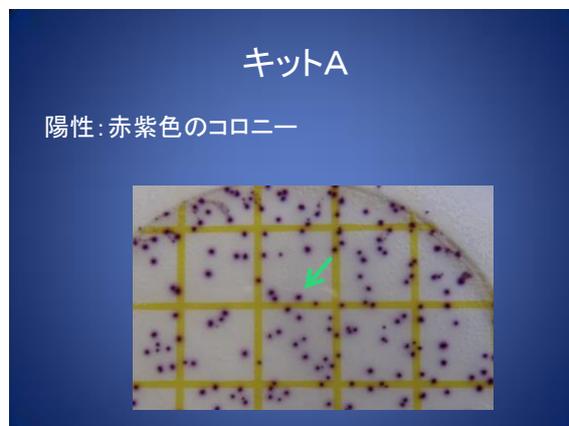


図2 キットAの陽性コロニー

2 キットB(図3、4)

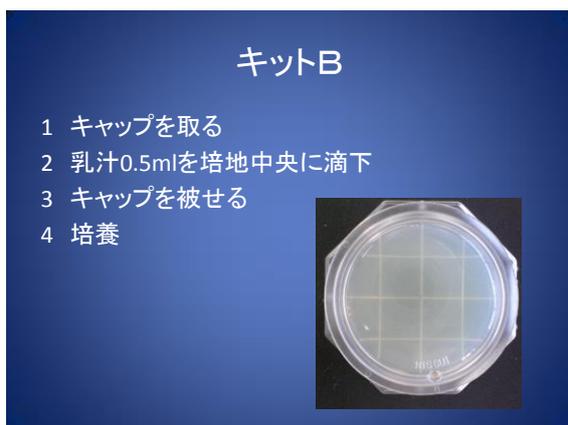


図3 キットBの試験方法

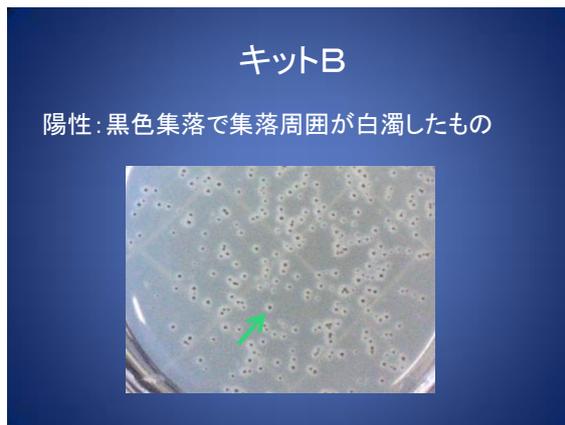


図4 キットBの陽性コロニー

3 キットC(図5、6)

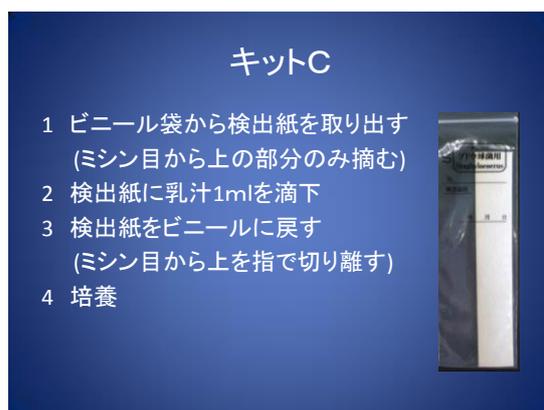


図5 キットCの試験方法

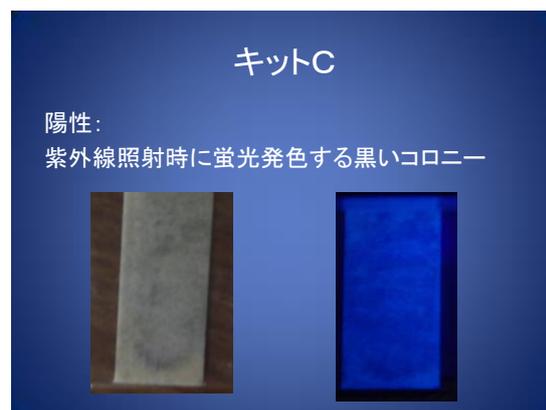


図6 キットCの陽性コロニー

4 キットD(図7、8)

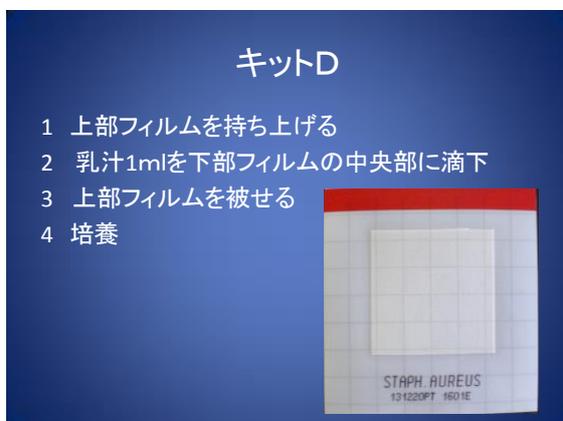


図7 キットDの試験方法

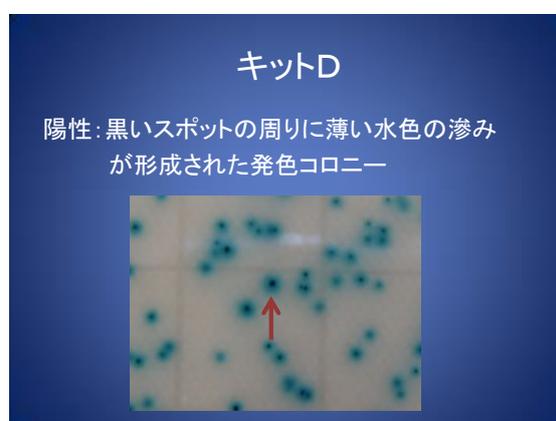


図8 キットDの陽性コロニー

III キットの比較

培養後にそれぞれのキットを観察し再現性、経済性、保管性で比較した。(図 9)

まず再現性であるが、これは通常の同定法で黄色ブドウ球菌と判定された結果と簡易キットでの判定が異なっていないかをみたものであり、SA と同定された乳汁は全てのキットで陽性を示した。

経済性は一枚あたり 60 円から 200 円台の幅で、キット C には紫外線照射灯の購入も必要であった。

保管はどれも冷蔵で、キット A および D は開封後の期限が短めである。

	キットA	キットB	キットC	キットD
再現性*	◎	◎	◎	◎
経済性	222円/枚	160円/枚	60円/枚 紫外線照射灯が必要	150円/枚
保管性	冷蔵 開封後1ヶ月	冷蔵 6ヶ月	冷蔵 遮光 1年2～3ヶ月	冷蔵 遮光 開封後1ヶ月

* 同じ乳汁を通常の同定法で検査した結果と比較

図 9 キットの比較結果

IV 農場での試験

1 試験

実際に農場において農家自身にキットを使用してもらい、キットの比較検討を行った。

まず、管内の a、b2 戸の酪農家にキット使用法を説明し、SA 性乳房炎が疑われる乳汁を採材してもらいそれぞれのキットに検体を滴下後、ポータブル培養器で 36°C24 時間培養後判定してもらった。

同時に家保において通常の同定方法で同じ乳汁の細菌検査も実施した。

2 判定

まず、a 農家で試験を実施し、再現性、判定容易性、操作性、経済性をみた。(図 10)

キット C および D の判定容易性が低い、すなわち農家が SA と判断しにくかった。

また、キット C の操作性も他のキットと比較し、低かった。

これはキット C が試験紙タイプのもので袋から紙を出すときに指で紙をもつため、袋に戻す際に指で汚染した部分の紙をちぎる必要があるが、うまくちぎれずほかの部分も指で汚染してしまうなど操作が難しいという意見であった。

結果(a農家)				
	キットA	キットB	キットC	キットD
再現性*	◎	◎	◎	◎
判定容易性	◎	◎	△	△
操作性	◎	◎	○	◎
経済性	◎	◎	◎	◎

* 同じ乳汁を通常の同定法で検査した結果と比較

図 10 a 農家による判定

次に、b 農家で試験を実施し a 農家と同様の再現性、判定容易性、操作性、経済性をみた。(図 11)

b 農家での結果は、ほぼ a 農家の結果と同様であった。

キット A の判定容易性が a 農家よりも低かった。

結果(b農家)				
	キットA	キットB	キットC	キットD
再現性*	◎	◎	◎	◎
判定容易性	○	◎	△	△
操作性	◎	◎	○	◎
経済性	◎	◎	◎	◎

* 同じ乳汁を通常の同定法で検査した結果と比較

図 11 b 農家による判定

V 農場における有用性

農場において判定容易性では A および B が優れ、操作性では A、B、D が使用しやすく C は無菌的に操作することが難しいという意見であった。

経済性は少々価格が高くても判定が容易な方がよく、保管性はどのキットもかさばらないので差はないという意見であった。

農家の意見としては第一に判定しやすいキットがよいということだったため、総合的に考えると A および B が農場で有用性が高いと思われる。

VI 今回の成果と今後の課題

農家でキットによる黄色ブドウ球菌性乳房炎判定が可能であった。

今後の展望としてはキットの普及により農場において搾乳時に乳房炎を疑う牛がいた場合、速やかに黄色ブドウ球菌の有無を検査し、早期発見および対策をとるという流れを作っていきたいと考える。

そして農家自身がキットで検査し、黄色ブドウ球菌が検出された場合家畜保健衛生所に薬剤感受性試験を依頼し、産業動物獣医師が治療するという連携体制を構築していきたい。

課題としては使用済みキットの取り扱いであり、使用済みキットは家保が責任をもって回収し感染性廃棄物として処理する体制が不可欠だと考える。

4 県内初の豚流行性下痢の発生とその防疫対応

熊谷家畜保健衛生所

○武末 寛子・伊藤 麗子

I はじめに

豚流行性下痢 (PED) は、食欲不振と水様性下痢を主徴とする豚の急性伝染病で、家畜伝染病予防法により届出伝染病に指定されている。

国内では 1990 年代に大規模な発生が相次ぎ、その後散発的に発生が報告された。平成 18 年の 1 件を最後に、7 年間発生は確認されていなかったが、平成 25 年 10 月、沖縄県で発生が報告され、その後、感染は全国に拡大した。

本県では、平成 26 年 3 月に初めての事例が、同年 7 月には 2 例目がいずれも当所管内で発生し、防疫対策を実施したのでその概要を報告する。

II 発生概要

1 発生農場の概要

発生農場は 2 例とも県北西部に位置し、2 農場間の距離は直線 6 km である (表 1)。飼養規模はいずれも母豚 90 頭の一貫経営で、畜主が全豚舎の管理を行い、他の作業者は管理の一部を補助していた。2 例目は農場が 4 箇所に分散している。PED ワクチンは 1 例目は未接種、2 例目は出荷先との契約上、一部接種であった。

表 1 発生農場の概要

	1例目	2例目
所在地	県北西部	県北西部 1例目から直線6km
経営形態	一貫	一貫
飼養規模	母豚90頭	母豚90頭
豚舎数	5棟	7棟
作業従事者	2人	3人 (パート1人含む)
PEDワクチン	未接種	一部接種
出荷先	県外・と場が運搬	県内・家畜商農場引取 県内・畜主直接搬入

2 発生状況

いずれの事例も分娩舎が初発豚舎で、本病の特徴である 10 日齢未満の哺乳豚の死亡、水様性下痢が認められた (表 2、図 1)。2 例目は 1 例目に比べて母豚の発症頭数が少なく、症状も軽度であった。

表 2 発生状況・症状

	1例目	2例目
初産豚舎	分娩舎(40房)	分娩舎(28房)
哺乳豚	水様性下痢 死亡(3~5日齢) 発症 12/13腹 うち死亡2腹25頭	水様性下痢嘔吐 死亡(5日齢) 発症 10/10腹 うち死亡1腹1頭
離乳豚	水様性下痢 発症 7/7腹	水様性下痢 発症 0/8腹 ※発生2日後に下痢を発症
母豚	食欲低下 熱発 水様性下痢 発症 16/16頭	食欲低下 軟便 発症 4/14頭



図 1 分娩舎内の状況

3 病性鑑定

(1) 材料と方法

1 例目は発症哺乳豚生体 3 頭並びに発症母豚の血液・糞便 3 頭分、2 例目は発症哺乳豚生体 3 頭を用いて、細菌学的検査、ウイルス学的検査、病理学的検査等を実施した。

(2) 剖検所見

2 事例の共通所見として、胃で未消化凝固乳の充満、空腸で腸壁の菲薄化が認められた(図 2)。

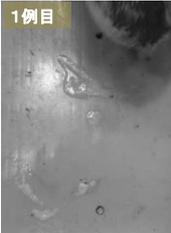
(3) ウイルス学的検査

直腸スワブを用いた RT-PCR 法で、1 例目、2 例目とも全ての材料において、PED ウイルス特異遺伝子陽性、豚伝染性胃腸炎ウイルス特異遺伝子陰性となった。

(4) 病理組織学的検査

HE 染色で空回腸に絨毛の萎縮及び絨毛の粘膜上皮細胞に空胞形成が認められた。さらに、免疫組織化学的検査において絨毛の粘膜上皮細胞に PED ウイルスの陽性抗原を検出したため(表 3)、PED と確定した。

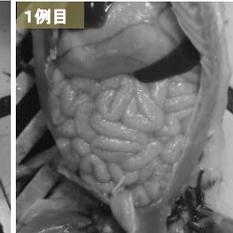
剖検所見	
1例目	2例目
病態 発症哺乳豚 生体3頭 材料 発症母豚 血液・糞便3頭	病態 発症哺乳豚 生体3頭 材料 発症母豚 血液・糞便3頭
剖検所見 外貌 削瘦 胃 未消化凝固乳の充満 空腸 腸壁の菲薄化	剖検所見 胃 未消化凝固乳貯留 空腸 腸壁の菲薄化(1/3頭)



1例目



1例目



1例目

図 2 病性鑑定成績 剖検所見

表 3 病性鑑定成績 病理組織学的検査

	1例目	2例目
病態	発症哺乳豚 生体3頭	発症哺乳豚 生体3頭
材料	母豚 血液・糞便3頭	
剖検	空回腸	空回腸
HE 染色	・絨毛の萎縮 ・粘膜上皮細胞の空胞形成	・絨毛の萎縮 ・粘膜上皮細胞の空胞形成
免疫組織化学的検査	空回腸 ・萎縮した粘膜上皮細胞に PEDV陽性抗原検出	空腸 ・粘膜上皮細胞に PEDV陽性抗原検出

(5) 遺伝子検査

1 例目のウイルス株について、独立行政法人農業食品産業技術総合研究機構動物衛生研究所で遺伝子解析を行った結果、該当株は平成 25 年以降の国内検出株と同じグループに属し、過去の国内株やワクチン株のグループとは遺伝学的に区別されることが確認された。

4 疫学調査

1 例目は、豚の導入先及び出荷先が県外の PED 非発生県であり、また、獣医師、医薬品販売業関係者及び死亡獣畜運搬業者は県内業者であった(表 4)。飼料業者のみが PED 発生県に所在しているが、この県での最終発生は 4 か月前であり、ウイルスの侵入経路の特定に至らなかった。

2 例目は発症 2 日前に PED 発生県から繁殖豚を導入していたが、発症 4 日後、5 頭中 3 頭について中和試験及び直腸スワブの RT-PCR を実施し、全検体陰性であることを確認した。また、死亡獣畜運搬業者が 1 例目と同一であったが、最終立入は発症 30 日前であり、2 例目もウイルスの侵入経路の特定に至らなかった。

表 4 2 事例の疫学調査

		斜字: 発生県		
		1 例目	2 例目	疫学 関連
農場間距離		6km		
導入先	非発生県農場	発生県農場	発生2日前に導入あり 発症4日目に3/5頭を検査 全検体PCR(-) 中和抗体(<2)	なし
出荷先 (運搬業者)	非発生県と場(県内業者) 非発生県と場 (非発生県業者)	県内と場(非発生県業者)	県内と場(畜主搬入)	なし
獣医師	県内獣医師	県内獣医師		なし
飼料業者	発生県業者 バラ 発生県業者 紙袋	県内業者 バラ 県内業者 バラ 県内業者 紙袋		なし
医薬品業者	県内業者	県内業者		なし
死亡獣畜 運搬業者	県内業者	県内業者		あり

III 防疫対応

1 発生農場への対応

(1) 農場間の伝搬防止対策

PCR 法で PED ウイルス特定遺伝子を確認したため、当所から豚の移動自粛を要請した。この自粛は、畜主の協力により、農場全体の症状がなくなるまで継続された。

また、他農場へのウイルス感染を防止するため、立入職員、車両を限定し、立入職員は最低 5 日間、他農場への立入を自粛した。

(2) 農場内の感染拡大防止対策

発症豚舎・各豚舎出入口の消毒徹底を指導した。特に、汚染度が高い分娩舎はヨード系消毒剤により、当所職員が速やかに消毒を実施し、その後、畜主が連日複数回の洗浄、乾燥、消毒を実施した。2 農場とも豚房が 2 列あったため、片側に豚を移動して空房列を確保することができた。

また、分娩舎の作業者を固定し、畜主の作業動線を整理し、発症豚舎を最後に管理することとした。

いずれの事例も発生直後から繁殖豚へのワクチン接種を開始した。1 例目ではワクチンの需給体制が整備されておらず、入手困難だったが、販売業者に協力を要請して必要量を確保した。

(3) 出荷再開

当所は立入や電話で農場の発症状況を随時調査し、出荷再開の時期を検討する一方、出荷の受入条件についてと畜場と連絡調整を行った。この連絡調整については、PED マニュアルが策定される以前であり明確な取り決め等が示されていなかったこと、各事例で取引条件等が異なったことから対応に苦慮した。出荷再開後 2 週間は、出荷立会や事前確認を行い、出荷豚の健康状態及び運搬車両の消毒状況を確認した。

ア 1 例目

出荷先は県外 2 県のと畜場 2 施設で、いずれも当時 PED 未発生県であった。この 2 施設のうち、出荷豚の受入に非常に消極的なと畜場については、調整開始に至らなかった。このため、残る 1 と畜場と受入条件の調整を始めたが、他県に所在しているため、連絡調整には時間を要した。

県畜産安全課は、他県の事例について情報収集を行い、出荷先県の担当者及び担当課長等との交渉に尽力し、当所は農場の発症状況を迅速に調査・報告し、調整を後押しした。その結果、出荷再開後 2 週間以内の出荷は当所の立会、出荷豚の症状や豚体・車両消毒の実施状況等の確認事項を記載した「豚の移動に係る確認書」を運搬車両に携行させることの 2 条件を満たすことにより、農場全体で症状が沈静化してから 5 日後に出荷を再開することができた。運搬車両は出荷先のと畜場に到着後、現地の家保立会の下で最後に入場し、出荷豚は指定の繋留所に収容の上、翌日最初にと畜された。

イ 2 例目

出荷先は県内のと畜場であり、出荷再開に支障はなかったが、出荷情報の連絡体制に問題が生じた。出荷に家畜商が介在し、畜主から直接と畜場へ連絡することが困難であり、加えて、農林部局と衛生部局間における出荷情報の連絡体制が未整備であったためである。そこで、県畜産安全課が出荷情報の連絡体制を整備し、当所から報告した情報は、県畜産安全課から出荷先と畜場・と畜場所在地の管轄家保・食品安全課（食肉衛生検査センターへ伝達）へ提供されることとなった。この結果、関係者への情報伝達は円滑に行われた。

2 その他の防疫対応

管内農家に対しては、発生の都度、電話や家畜衛生だよりで、発生状況の情報提供や衛生管理指導を行うほか、ワクチンの需要見込調査も実施し、ワクチンの安定供給に努めた。

また、近県での発生が多くなり、県外発生農場から県内と畜場へ出荷が増加した平成 26 年 5 月には、管内のと畜場に立入を行い、消毒用動力噴霧器の設置や出入口における消毒体制の状況を確認するとともに、と畜場開設者及び食肉衛生検査員と交差汚染の防止について打合せを行った。

平成 26 年 7 月から、全国で PED サーベイランスが開始され、県内においても、毎月 9 戸 90 頭の豚で中和試験を実施している。なお、平成 26 年 7～11 月までの結果は、全検体陰性（2 倍未満）であった。

IV 発生後の経過

1 1 例目

症状がなくなったことを確認したのは、発症から 17 日目であり（表 5）、異常分娩の終息はワクチン接種豚の分娩時期よりも早く、野外感染で免疫を獲得したと考えられる。

出荷再開は発症後 22 日目で、当所は出荷立会を 2 回行った。

1 例目は、その後再発は確認されていない。PED 防疫マニュアル（平成 26 年 10 月農林水産省策定）に基づく「非発生農場」への復帰は平成 26 年 6 月 5 日（発症後 73 日目）となった。復帰後 55 日目に全 5 豚舎から 42 検体の直腸スワブを採取し、RT-PCR を実施したところ、全検体陰性となった。

表 5 発生農場の経過 1 例目

日付	経過日数	各豚舎の症状					ワクチン	出荷状況
		分娩	繁殖	種豚	子豚	肥育		
26.03.24		▲*						
26.03.25	1	▲	▲	▲	▲	▲		
26.03.26	2	▲	▲	▲	▲	▲		
26.03.27	3	▲	▲	▲	▲	▲		
26.03.28	4	▲	▲	▲	▲	▲		
26.03.31	7	▲*	▲					
26.04.01	8	▲*	▲*					
26.04.03	10	▲	▲	▲	▲	▲		
26.04.08	15	▲	▲	▲	▲	▲		
26.04.10	17	■	■	■	■	■	1回目接種	自粛
26.04.15	22	■	■	■	■	■	2回目接種	
26.04.17	24	■	■	■	■	■		★
26.04.25	32	■	■	■	■	■	2回目接種	
26.04.29	36	■	■	■	■	■	豚の分娩	通常出荷

▲:症状あり ■:症状なし *:畜主から聴取 ★:立会出荷

2 2 例目

発症豚舎は分娩舎と隣接する第 1 肥育舎に限定されていた（表 6）。発症から 11 日目に症状が認められなくなったが、30 日目に分娩舎で再発が確認され、最終的に症状が認められなくなったのは 46 日目であった。この一時的な沈静化の要因としては、消毒によりウイルス濃度が低下したことと、ワクチン接種豚の分娩で、発症が予防されたことが考えられる。

出荷豚を飼育する肥育舎は 2 か所に分散しているため、肥育舎を区分して出荷自粛を行った。出荷再開後の立会は 6 回、事前確認は 4 回で、多くの立会は朝 6 時の出荷に併せて行った。

表 6 発生農場の経過 2 例目

日付	経過日数	各豚舎の症状					ワクチン	出荷状況	
		分娩	①繁殖	①子豚	②子豚	②肥育		★立会出荷	☆事前確認
26.06.30		▲*						①肥育舎	②肥育舎
26.07.02	2	▲	▲	▲	▲	▲			
26.07.03	3	▲	▲	▲	▲	▲			
26.07.04	4	▲	▲	▲	▲	▲			
26.07.05 -6	5-6	▲	▲	▲	▲	▲			
26.07.07	7	▲*							
26.07.11	11	■	■	■	■	■			
26.07.15	15	■	■	■	■	■			☆
26.07.23	23	■	■	■	■	■			★
26.07.30	30	■	■	■	■	■			★
26.07.31	31	■	■	■	■	■			
26.08.04	35	■	■	■	■	■			
26.08.05	36	■	■	■	■	■			★
26.08.06	37	■	■	■	■	■			★
26.08.10	41	■	■	■	■	■			★
26.08.15	46	■	■	■	■	■			★
26.08.17	48	■	■	■	■	■			★
26.08.19	50	■	■	■	■	■			★
26.08.26 -93	57-65	■	■	■	■	■			☆3回

▲:症状あり ■:症状なし *:畜主から聴取 ★:立会出荷 ☆:事前確認

2 例目においても、その後再発は確認されず、平成 26 年 10 月 10 日（発症後 102 日目）に「非発生農場」に復帰した。復帰後 19 日目に、全 7 豚舎から 32 検体の直腸スワブを採取し、RT-PCR を実施したところ、全検体陰性となった。

V まとめと考察

管内の 2 農場で PED が発生したが、県内の他農場への感染は確認されず、県内への感染拡大は、平成 26 年 12 月末の時点で認められていない。

その要因としては、①発生農場の所在地は豚の飼養密度が低い地域であったこと、②発生農場で適切な防疫対策が行われたこと、③県内と畜場で適切な交差汚染防止対策が実施されていること、④県

内では、自らが所有する運搬車両で出荷を行う農場が多く、消毒を厳格に実施していることの4項目が挙げられる。近県で発生が相次ぎ、多くの発生農場から県内と畜場へのお荷が續く状況で、特に④は大きな要因と想定され、高い衛生意識を維持することが今後の発生予防のポイントになると思われる。

また、出荷再開に係る対応を通して、日頃からと畜場関係者と情報共有し、信頼関係を構築することにより、伝染病発生時の防疫対応が、より迅速かつ円滑に進められるものと再認識した。

今回の経験を基に、本病の続発防止のため、今後も適切な防疫対応に努めていきたい。

VI 参考文献

- 1) (独法)農業食品産業技術総合研究機構動物衛生研究所(2013):豚流行性下痢(PED). <http://www.naro.affrc.go.jp/niah/disease/ped/index.html>
- 2) 豚流行性下痢(PED)防疫マニュアル (平成 26 年 10 月 24 日策定, 農林水産省消費・安全局)

5 腸管廃棄を減らせ！ ～ と畜検査成績を活用した農場対策とその効果 ～

熊谷家畜保健衛生所

○伊藤 麗子・武末 寛子

I. はじめに

豚赤痢は、*Brachyspira hyodysenteriae* (以下 Bh) に起因する粘血下痢便を主徴とした豚の届出伝染病であり、と畜場法施行規則別表 4 (表-1) によりと畜検査で感染が確認された場合、あるいは感染の疑いがあると判断された場合に、全部廃棄の対象となる疾病である。また、この全部廃棄対象疾病には、近年全国的に流行がみられている豚流行性下痢、現在本県において清浄化対策に取り組んでいるオーエスキー病を始めとし、養豚農場で問題になりやすい疾病も含まれている。従って、養豚農家の経済的損失を最小限にするるとともに食肉の安全性を確保するために、農場での疾病対策は非常に重要である。

今回、管内の一養豚農場で、出荷豚の内臓検査において結腸腸間膜の水腫による腸管廃棄が増加し結腸スピロヘータが疑われたため、病性鑑定を実施したところ豚赤痢菌が検出された。

そこで、管理獣医師と連携し農場対策を指導するとともに、と畜検査結果をもとに腸管廃棄の推移を監視したところ、腸管廃棄が低減したので、その概要を報告する。

表-1 と畜場法施行規則 別表 4 のうち全部廃棄対象疾病 (一部抜粋；豚に係るもの)

<p>家畜伝染病予防法関連</p> <p>家畜伝染病 (11) ; 牛疫、口蹄疫、流行性脳炎、狂犬病、水泡性口炎、炭疽、出血性敗血症、ブルセラ病、豚コレラ、アフリカ豚コレラ、豚水泡病</p> <p>届出伝染病 (16) ; 類鼻疽、気腫疽、レプトスピラ症、サルモネラ症、ニパウイルス感染症、野兔病、トキソプラズマ病、オーエスキー病、伝染性胃腸炎、豚エンテロウイルス性脳脊髄炎、豚繁殖・呼吸障害症候群、豚水泡疹、豚流行性下痢、萎縮性鼻炎、豚丹毒、豚赤痢</p>
<p>悪性水腫、白血病、リステリア症、痘病</p>
<p>膿毒症、敗血症、尿毒症、黄疸 (高度のものに限る。)、水腫 (高度のものに限る。)、腫瘍 (肉、臓器、骨又はリンパ節に多数発生しているものに限る。)</p>
<p>旋毛虫病、有鉤囊虫症、無鉤囊虫症 (全身にまん延しているものに限る。)、中毒諸症 (人体に有害のおそれがあるものに限る。)、熱性諸症 (著しい高熱を呈しているものに限る。)、注射反応 (生物学的製剤により著しい反応を呈しているものに限る。) 及び潤滑油又は炎性産物等による汚染 (全身が汚染されたものに限る。)</p>

II. 農場概要

当該農場は、繁殖用雌豚約 150 頭を飼養する一貫経営で、豚舎はそれぞれ、分娩舎 1 棟（高床式スノコ床）、繁殖豚舎 2 棟（ストール式）、子豚舎 2 棟（全面スノコ床）、肥育豚舎 2 棟（北舎；コンクリート平床、南舎；部分スノコ床）である（図-1）。

飼養管理は、夫婦と長男の 3 名で行い、子取り用雌は自家育成、留め雄と系統種豚を導入し、導入豚は南ストール舎の専用エリアで馴致している。



図-1 農場配置図

III. 腸管廃棄の概要

農場および出荷先の立入調査を実施したところ、農場においては、肥育豚に下痢等の臨床症状はなく、むしろ発育良好で肥育期間の延長等はなかった。なお、出荷は、豚舎毎に曜日が決まっていた。

出荷豚にも臨床症状はなく健康畜としてと殺されており、内臓検査で結腸に局限した腸間膜の水腫、漿膜面の発赤が様々な程度でみられ、腸炎として消化管全部が廃棄となっていた。これらは特定の曜日の出荷豚に多くみられるとのことであり、腸管廃棄率が高いのは特定の肥育豚舎からの出荷ロットに限られることが明らかとなった。

IV. 材料および方法

立入調査の結果をもとに、廃棄率の高い曜日に、結腸腸間膜の水腫で廃棄となった腸管 9 頭分を採取し、病性鑑定を実施した。

1 病理学的検査

採取した腸管は肉眼検査後、10%リン酸緩衝ホルマリン液に固定、常法に従ってパラフィン包埋組織切片を作製し、ヘマトキシリン・エオジン染色およびワーチンスターリー染色し鏡検した。

2 細菌学的検査

結腸粘膜を材料とし、1/2 濃度 BJ 寒天培地で嫌気培養、分離菌について薬剤感受性試験を実施した。また、PCR 法により、Bh 及び、結腸スピロヘータ *B. pilisicoli* (以下 Bp) の特異遺伝子検出を試みた。

V. 病性鑑定成績

1 病理学的検査

肉眼的には7頭で結腸腸間膜の水腫、4頭で結腸粘膜の発赤が軽度～中程度みられ、組織学的には、結腸粘膜の杯細胞の増生と粘液分泌更新が共通していたほかは、結腸粘膜固有層の軽度な充出血、ワーチンスターリー染色で陰窩腔内の大型らせん菌をごくわずかに検出した程度だった。

2 細菌学的検査

細菌分離、遺伝子検査とも、結腸粘膜材料から Bh が検出され、Bp は検出されなかった。また、分離された Bh は、ABPC、OTC、リンコマイシン、タイロシンに感受性を示した。

VI. 対策及び効果

1 農場における豚赤痢対策 (図-2)

投薬による豚体内からの菌の排除を目的とし、薬剤感受性試験成績をもとに豚赤痢対策の第1選択薬であり、飼料添加薬、注射薬とも使用禁止期間が短いリンコマイシンを選択し、腸管廃棄率が高い肥育豚舎での投薬プログラムを検討した。

第1段階は、出荷間際の群を除き、濃度勾配方式で10日間の豚舎内一斉飼料添加を実施、その後第2段階として、肥育豚舎へ移動してきた豚群毎に低濃度での2サイクル添加を提案し、プログラムに沿った投薬が実施された。

また、リンコマイシンはあくまでも静菌作用薬であることから、投薬により体外に排出された菌による再感染を防ぐため、あわせて豚舎の洗浄消毒、乾燥状態の維持、出荷後の空き豚房について、熱湯洗浄、空舎期間の設定を指導した。当該豚舎はスノコ式であり、洗浄消毒が容易だったこと、日常管理の中で、水洗、熱湯洗浄、消毒を適切に実施していたことから、実際の対策としてはリンコマイシン飼料添加のみとなった。

2 腸管廃棄の推移 (図-3)

当該農場は、通常1日30頭前後で出荷している。平成25年度当初からの当該肥育豚舎の出荷曜日における腸管廃棄の推移をみると、当初は0ないし数%であったのが、9月中旬から腸管廃棄が増加しており、10月以降は、ほとんどの出荷ロットで廃棄率25%を超えていた。

1回目の病性鑑定では原因が特定できなかったが、2回目で Bh が検出され、飼料添加プログラムを開始したところ、腸管廃棄率は明らかに低下し、ほぼ通常レベルに落ち着いた。

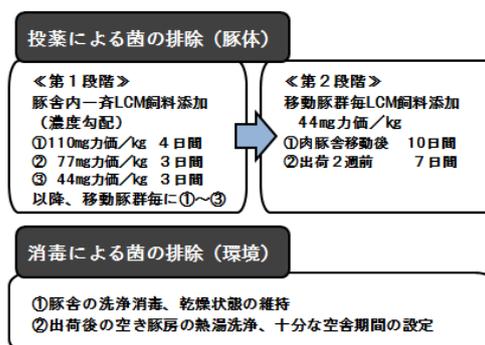


図-2 農場における豚赤痢対策

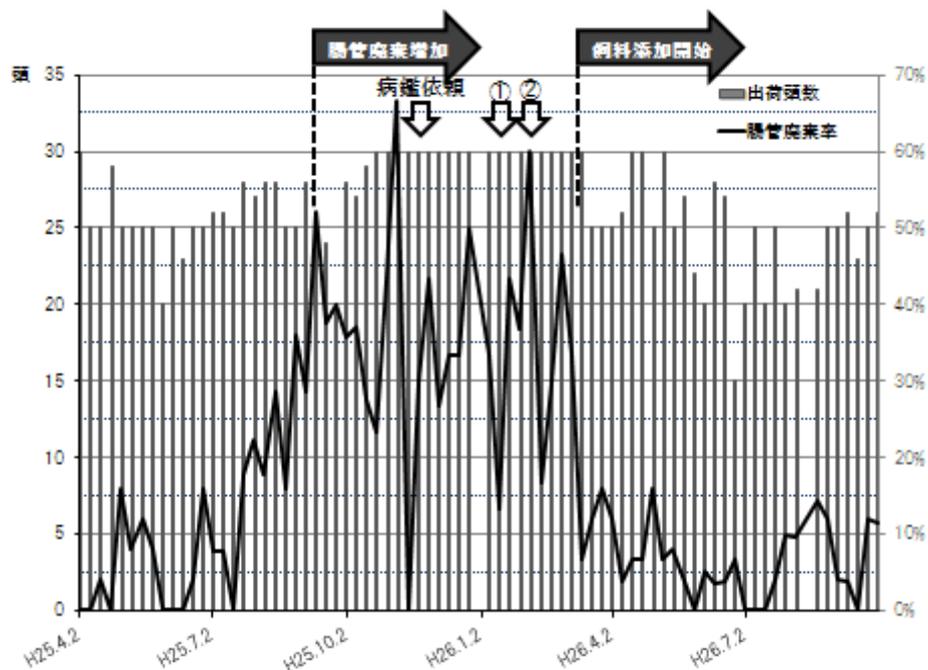


図-3 腸管廃棄の推移 (平成 25 年度以降、火曜のみ)

- ① 病性鑑定 1 回目実施、② 病性鑑定 2 回目実施

3 経営効果

腸管廃棄が実際に増加し始めた 25 年 9 月中旬から 26 年 3 月中旬の投薬開始までを対策前、投薬開始後から 26 年 9 月末までを対策後とすると、それぞれ約半年間の出荷頭数 1,400 頭前後に対し、腸管廃棄率は対策前が 22.5%、対策後は 4.7%となった。当該農場の 1 頭当たりの白モツ取引価格単価、リンコマイシン飼料添加に係る衛生対策費等をもとに腸管廃棄に伴う損失額を試算したところ、対策前後では約 196,000 円の損失削減につながった (表 - 2)。

表-2 豚赤痢対策の経営効果

	対 策 前	対 策 後	備 考
出荷頭数	1,436	1,392	
腸管廃棄頭数 (廃棄率)	323 (22.5%)	66 (4.7%)	
腸管廃棄損失額 (試算)	258,400 円	52,800 円	白モツ@800 円
獣医師診療費 (指示書交付料)	2,400 円 LCM 関連 1,000 円	2,300 円 LCM 関連 1,000 円	@1,000 円
薬剤購入費	10,000 円	20,000 円	総量 85kg (44mg 力価換算)
合 計	270,800 円	75,100 円	195,700 円の損失削減

VII. まとめ及び今後の課題

今回の事例は、粘血下痢便や消瘦といった臨床症状、肉眼病変いずれも豚赤痢の特徴所見がなく、結腸に局限した腸間膜の水腫性変化のみが共通所見であった。さらに、組織学的にも、豚赤痢の典型病変は認められず、結腸粘膜に粘液分泌亢進と菌体をわずかに認める程度であった。

しかし、畜主がと畜検査結果により腸管廃棄率の上昇を認識したことで病性鑑定につながり、その結果、農場に潜在する豚赤痢を摘発、腸管廃棄の低減につなげることができた。

今回と同様の特徴所見に乏しい豚赤痢は、北海道や宮城県、長野県でも報告があり、その清浄化対策には、と畜検査結果が有効活用されていた。豚赤痢に限らず、と畜検査結果は、農場の状況把握に有用な情報であるにも関わらず、それを入手していない、あるいは、入手するだけで内容を確認していない農家が多いことも現状である。

また、農場においてと畜検査結果を有効活用するためには、その結果を分析し、適切な投薬、疾病対策を講じるために管理獣医師や家畜保健衛生所の積極的な関与が重要である。

さらに、食肉衛生検査センターとの連携、情報共有も不可欠である。今回は農場、と畜場いずれも当所管内であったことから、比較的円滑に食肉衛生検査センターとの情報共有ができた。しかし、管外や県外へ出荷している農場については食肉検査機関との情報共有が困難となるため、その際の指導には、農場が積極的にと畜検査結果を入手しているかどうか鍵となる。

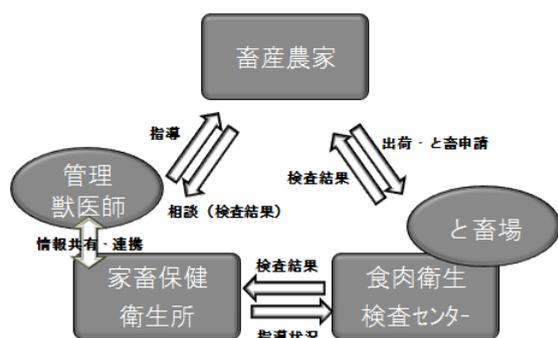


図-3 と畜検査結果を活用した指導体制

今回の取り組みを通じ、と畜検査結果の有用性に対する農家の意識向上、管理獣医師だけでなく食肉衛生検査センターとの連携が、農場の疾病対策に重要であることを再認識した。

少なくとも管内地域については、と畜検査結果や農場指導状況について、食肉衛生検査センターと情報共有を密にしながら、引き続き疾病発生予防に努めたい。

VIII. 参考文献

- 1) 松本 泉ほか (2007) : 管内と畜場搬入豚にみられた豚赤痢について. 長野県公衆衛生獣医師会調査研究発表会, 長野県上田食衛生検査所 HP
- 2) 矢口弘美・伊藤 満ほか (2007) : と畜場搬入豚にみられた豚赤痢病変と発生農場に対する清浄化対策. 獣医公衆衛生研究第 10 (1) , 40-41
- 3) 中田 聡ほか (2012) : 集団発生した結腸腸間膜病変を主徴とする豚の大腸炎. 平成 24 年度日本獣医師会獣医学術学会年次大会講演要旨集, 464-465
- 4) 本田祥宏ほか (2011) : 大分県家畜保健衛生並びに畜産関係業績発表会集録 60, 57-59

6 肉用鶏ビギナーに対する飼養衛生管理指導

川越家畜保健衛生所

○加島 恭美

埼玉県では、農林総合研究センター畜産研究所(以下、「畜研」という。)で県産肉用鶏の雛を生産し譲渡している。雛の生産羽数の平成 25 年度実績は約 35,000 羽であり、平成 27 年度以降に雛の生産羽数を増やすことを計画している。

県産肉用鶏を定期的に導入し、肥育している農家は県内に 5 戸あり、一方で新規に自家消費用として少羽数を導入する飼育者も存在している。

当家保では新規飼育者に対し導入前に、飼育施設や衛生状態の確認と、出入りの際の消毒方法や、鶏に異常が見られた場合の家保への連絡などを指導してきた。

新規に肉用鶏を飼い始めたこれまでの飼育者は少なからず過去に鶏の飼育経験があり、また自家消費用であることから、家保では雛を導入してからの指導は実施していなかった。

今回、鶏の飼育経験がない飼育者が肉用鶏の肥育生産を始めたため、家保が随時指導した事例があったので報告する。

1 新規飼育者について

新規飼育者の A 氏は、東南アジア系の外国人で管内 B 町に在住しており、自宅で食肉販売業を営んでいる。日本語は話せるが、読み書きはできず、また英語は単語も通じない。

日本に来てから鶏を飼育した経験はなく、農場の管理は、本人、妻、長男、次女が交代で行っている。

A 氏が肉用鶏の飼育を始めたきっかけは、平成 25 年 10 月頃に埼玉県のホームページに掲載されていた県産肉用鶏の紹介を見たことだった。早速、畜研へ肉用鶏雛の導入を希望したが、この時には準備が不十分ということで譲渡されなかった。

平成 26 年 1 月 6 日、畜研から家保へ 1 月 9 日に A 氏へ肉用鶏雛を譲渡する予定であるとの連絡があり、急遽、1 月 8 日に家保と畜研で、管内 C 町の A 氏の飼育場所(以下、A 農場)の確認のため立ち入りした。

当時の農場の様子は図 1 に示したように、周囲をネットで囲み、既存の小屋で肉用鶏を飼育する構想であった。

2 導入および育雛開始

1 月 9 日に、A 氏は初生雛を 50 羽導入し、自宅 2 階で育雛を開始した。育雛は、居室に置いた段ボール箱内にヒヨコ電球を点灯し保温する方法で行った。



図 1 A 農場の概要 (H26. 1 月)

A農場は、図2に示すように1月に50羽導入した後、5月に2回、6月に2回、7月に1回、9月に1回、10月に1回と合計1,000羽を導入した。

1月と5月の初生雛は、2階居室の段ボール箱で育雛していたが、部屋の汚れがひどくなったため、6月導入の雛は自宅駐車場に置いた保冷トラックのコンテナの中で育雛することにした。

7月に入り、気温が高くなったことから、初生雛を農場の小屋の中で育雛することにしたが、A農場には電気が引かれていなかったため、保温する手段はなかった。

9月にA農場の電気工事が完了し、ヒーターが使えるようになり、コンパネ製の保温箱で育雛するようになった。

3 家保による立入指導

1月8日に立入した際に農場の状況確認の他、疾病の侵入防止のために防鳥ネットや踏み込み消毒槽が必要であるなど、飼養衛生管理基準の基本事項を説明した。

4月、5月にも農場を訪問したが、畜主不在のため農場周囲のネット越しに様子を確認することどまった。

7月に、畜研が実施している飼育状況確認に同行を依頼されたため、家保は畜研とともにA農場に立ち入った。

7月以降は、毎月1回は立入し、飼育状況を確認した。

12月には、鶏を主体に診療する開業獣医師と共に立入し、疾病対策指導を行った。

農場の設備は改良され、8月には農場周囲はネットから獣害対策のため工事用フェンスに替わり、小屋も増設され、12月には、図3のように飼育小屋4棟で肉用鶏と山羊を飼育するようになった。

立入の度に、畜主から飼育管理方法について相談され、飼育管理上の問題点を洗い出し、現場に即した方法を提案・指導した。

4 飼育管理上の問題点と改善指導

定期的に立入る度に、何かしらの飼育管理上の問題点があり、雛の死亡や衰弱が見られ、その度に改善策を指導した。

暦月	導入回数	導入羽数	初生～30日
H26. 1月	1	50	自宅2階の1室で育雛(ひよこ電球)
5月	2	150	自宅2階の1室で育雛(ひよこ電球)
4月	0	0	
6月	2	200	自宅の保冷トラックコンテナ内で育雛(温源なし)
7月	1	200	農場の小屋で育雛(温源なし)
8月	0	0	
9月	1	200	保温箱で育雛(電気工事によりヒーター使用開始)
10月	1	200	保温箱で育雛(ヒーター使用)
11月	0	0	
12月	0	0	

※合計で1,000羽導入

図2 肉用鶏雛の導入状況



図3 A農場の概要 (H26. 12月)

夏季には、大雨や夏の暑さで雛がかなり死亡していたことから、雛の保護のためシートで庇を付けたり、雛はコンパネで囲った箱でしばらく飼うように指導した。

その他にも鉢受皿での給水から、ヒヨコ専用の給水器の使用を勧め、一日を通して飲水できるように管理の際に水を交換するように指導した。

飼料は、近所の養鶏場から購入した野菜くずなどを発酵させた発酵飼料を給与していたが、栄養成分が不明なので、雛には配合飼料の給与を勧めた。(図4)

秋季には、保温箱で1か月間育雛している間は、どの雛も元気が良いが、小屋を移動した頃から元気のない雛が散見され、そのような雛はそ嚢が空で飼料を摂取していなかった。弱った雛は、削瘦しているが、流涙・鼻汁漏出は見られず、尻汚れも見当たらないことから、飼料摂取できずに弱ったのではないかと推察された。

飼料は、配合飼料に米ぬか、水を加えて練り、団子状に固めて給与しており、元気のよい雛が一斉に群がり、飼料を摂取していた。そこで、多くの雛が飼料を摂取できるように、団子状ではなく、鉢受皿全体に広げて給与を勧めた。(図5)

冬季には、放飼場の水はけが悪く、常にぬかるんでいるため、モミガラを敷くことによりぬかるみの解消を図るように勧めた。

また、農場内の作業動線が、山羊の運動場を通して、雛の小屋へ行くなど衛生管理上問題があったので、各小屋の入口に踏み込み消毒槽を設置するように指導した。

飼育上の問題点と改善指導策(夏季)

問題点	改善指導策
大雨時に小屋に雨が吹き込み雛が死亡した 暑さでも雛がかなり死亡した	小屋にシートで雨よけ・日除けを付ける 雛はコンパネで囲った保温箱でしばらく飼う
飲水は浅い鉢受皿で給水し、雛が入り込み溺死した	飲水はヒヨコ専用の給水器で与える
給水は朝・昼・夕方の管理に 来た時間帯だけ行っていた	飲水は農場に来た時に交換し、 農場を出る前にもう一度冷たい水に交換する
近所の養鶏場から野菜くず等を発酵させた発酵飼料を購入し給与していた	発酵飼料は栄養成分が不明なので、雛には配合飼料を給与する

図4 飼育上の問題点と改善指導策(夏季)

飼育上の問題点と改善指導策(秋季)

問題点	改善指導策
保温箱から小屋を移動した頃から元気のない雛が散見	弱った雛は、削瘦しているが、流涙や鼻汁漏出は見られず、尻汚れも見当たらず →飼料摂取できずに衰弱したものと推察
元気のない雛はそ嚢が空で飼料を摂取していない	
飼料は配合飼料に米ぬか、水を加え、団子状に練り上げて鉢受皿に載せて給与している	加える水の量を減らし、飼料を団子状にせず、鉢受皿全面に拡げて入れ、一度に多くの雛が飼料を摂取できるようにする



図5 飼育上の問題点と改善指導策(秋季)

飼育上の問題点と改善指導策(冬季)

問題点	改善指導策
放飼場の水はけが悪く、常にぬかるんでいる	放飼場にモミガラを敷いて、ぬかるみの解消を図る
農場内の作業動線が、衛生管理上問題がある	小屋入口に踏み込み消毒槽を設置する
発育不良に加え、尻汚れや眼瞼腫脹の雛が散見された	配合飼料と米ぬかでは栄養的に不足しているので、魚粉等を加味して、雛には栄養価を高めた飼料給与を図る
開業獣医師の観察では、発育不良によるマイコプラズマなどの不顕性感染の鶏がいる	ワクチンについては、次回の導入雛から実施する計画

図6 飼育上の問題点と改善指導策(冬季)

一緒に立入した開業獣医師によると、発育不良により日和見的にマイコプラズマなどの不顕性感染の雛が数羽おり、鶏群全体に広がる恐れがあるとの見立てであった。

畜主の意向により、薬剤の投与ではなく、給与飼料から栄養面の改善を図るために、魚粉等を加味して栄養価を高めるように勧めた。

なお、ワクチンについては、ニューカッスル病と伝染性気管支炎予防のワクチン接種を実施する計画にしている。(図6)

5 今後の指導方針

家保が毎月立入し、飼育管理の問題点を洗い出し、改善点を提案する中で、雛の死亡羽数は減少した。一方で発育不良は解消されておらず、A 農場では、早急にマイコプラズマを始めとした疾病対策を取る必要がある。

ワクチンや抗生物質の投与については、開業獣医師と連携して、効果的な方法を分かりやすい日本語で具体的に示す必要がある。

A 氏の強い希望もあり、飼料は安価な自家製の発酵飼料給与へと切り替える方向での検討も必要である。その中で、発酵飼料の原料やビタミン、アミノ酸などの添加剤なども重要な検討事項になる。

A 氏は、新たな県産肉用鶏の生産者となる可能性があり、今後も継続して指導する必要がある。

7 消毒ポイント現地調査から見えた問題点と対策

中央家畜保健衛生所

○吉田 輝美・中里 有子・渡辺 志保

河合 正子

I はじめに

口蹄疫、高病原性鳥インフルエンザ (HPAI) 等の家畜伝染病は、近隣諸国においては継続的に発生が見られ、国内でも散発的に発生している。特に HPAI については、平成 26 年 4 月に熊本県で、12 月には宮崎県で発生したところであり、これらの疾病は、国内いっどこで発生してもおかしくない状況にある。

本県では、防疫措置全般についてソフト面の机上演習、発生農場における防疫措置に関する実地演習、焼却施設の調査、埋却候補地調査を行い、ハード面では動力噴霧器・消毒マット等の資材調達等を実施し、悪性伝染病の発生に備えている。

平成 24 年度、当所において家畜伝染病発生時の移動規制に関する防疫演習を実施したところ、演習を通し問題点が明確となった。その問題点とは、①家畜防疫員以外の従事者には作業手順が分かりにくい、②想定どおり消毒ポイントの人員が確保できるのか、③消毒ポイント候補地が実際に使用できるか、④管内市町の防疫措置に対する関心の低さ、の 4 つである。特に消毒ポイント候補地については、参加者から、演習で示した候補地が消毒ポイントとして使用できないという指摘が挙げられたり。

そこで今回、この問題点について着目し、家畜伝染病の発生に備え迅速な消毒ポイント設置に向け、事前に消毒ポイント候補地調査を実施し、その候補地が実際に使用できるか現地確認を行ったので、その概要を報告する。なお、管内には畜産農家がない市町もあるが、県内全域及び隣接都県の家畜伝染病発生時も考慮し、管内全市町を対象とした。

II 消毒ポイント調査実施概要

消毒ポイントについて、特定家畜伝染病防疫指針 (指針) により、都道府県は口蹄疫や HPAI 等の家畜伝染病の発生の確認後速やかに、市町村、管轄の警察署、道路管理者等の協力を得て、発生農場周辺並びに移動制限区域及び搬出制限区域の外側への感染拡大を防止することに重点を置き設置する、とされている。また、指針の留意事項には、①消毒ポイントの設置場所の検討に当たっては、警察署長及び道路管理者と十分に協議するとともに、周辺の住環境、農業への影響等も十分に勘案する、②消毒ポイントにおける消毒の方法は、設置場所の特性も踏まえ、道路上への消毒槽・消毒マットの設置又は駐車場等への引き込み方式 (動力噴霧器による消毒) により行う、とされている。そこで、市町へ候補地選定を依頼するに当たっては、消毒ポイントの要件として、①大型車両の誘導、停車可能なスペースがある、②車両の出入りに視界が確保できる、③機材等を設置できる、④深夜の作業時の音や照明が周辺住民の迷惑になる恐れがない、の 4 点を示した。

平成 25 年 1 月、管内 26 市町に文書により消毒ポイント候補地の選定を依頼し、26 市町 82 施設について回答を得た。この回答に基づき、平成 25～26 年にかけて、市町職員の立ち合いのもと現地調査を実施した。

III 調査結果

1 消毒ポイント候補地の内訳

全 26 市町から挙げられた 82 施設は、多くが市関連施設だったが、県や国、JA の施設も含まれていた。市関連施設の内訳は、公園・広場が 31 施設と最も多く、市役所・役場が 7 施設、農業関連施設及びごみ処理施設が各 4 施設、体育館及び公民館が各 3 施設、福祉施設が 2 施設となった (図 1)。

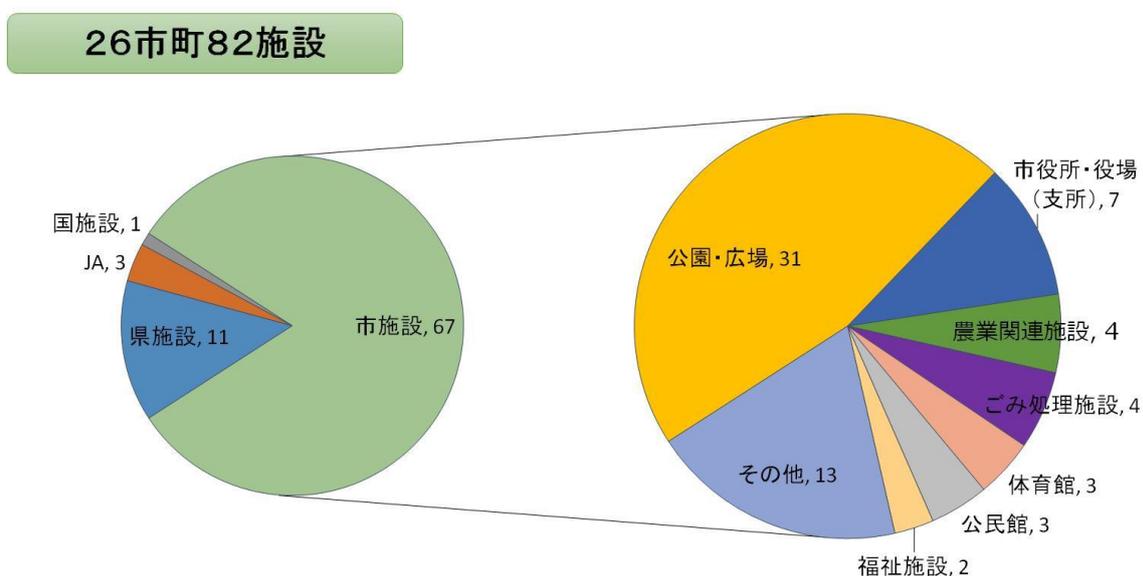


図 1 消毒ポイント候補地の内訳

2 消毒ポイント候補地の現地調査項目

現地調査では表 1 に示す 22 項目についてした。特に、給水、排水、電気の有無、照明設備、待機場所、トイレ等の確認、畜産関係車両などの大型車が入れるスペースが確保できるかを重視した。

表 1 消毒ポイント候補地現地調査項目

	項目	内容		項目	内容
1	施設名称		12	最寄りの畜産関係施設	
2	利用目的	例)公園	13	給水	有無
3	所在地		14	排水	有無
4	管理者	名称・連絡先	15	電気設備	有無、コンセントの形状
5	敷地面積	施設面積	16	コンセントから利用可能エリアまでの距離	
6	利用可能面積		17	照明設備	有無
7	利用可能エリアの舗装状況	アスファルト・土・その他	18	待機場所	有無
8	高さ制限	有無	19	トイレ	有無
9	周囲の環境		20	借用可能物品	例)テント、机
10	最寄りの国道・県道・高速道路		21	利用料金	
11	最寄りの幹線道路からの道路状況		22	レイアウト	

3 消毒ポイント候補地現地調査結果

82 の候補施設のうち、65 施設について現地調査を実施し、10 施設を使用不可とした。現地調査を実施しなかった 17 施設は、県有施設や、市町回答後に土地の用途が決定したり、施設側の理解が得られず候補地を取り下げた施設である。現地調査で使用不可と判断した理由の内訳は、①誘導路が狭い(3 件)、②用地が狭い(3 件)、③排水が魚飼養池へ直接放流される(2 件)、④長期にわたる使用が不可(1 件)、⑤工事開始が決定(1 件)であった。

4 調査による成果

今回、消毒ポイントの調査を行ったことにより、候補地が実際に使用できるか確認することができた。このことにより、防疫マップに消毒ポイントとして落とし込むことが可能となった。また、消毒作業に必要な給水設備や電源等の有無を把握できた。その他、市町の農政担当職員と状況を説明しながら現地を回ることで、防疫措置について市担当者の理解を深めることができた。畜産農家がない市町においても、防疫措置について直接説明することができたこと等が挙げられる。

IV 問題点と対策

成果があった一方、新たな問題点も浮かび上がった。

公共の広いスペースを求めると、多くが公園や広場となったが、イベント等の混雑時は施設利用車両が多く、使用が困難なことが推測された。対策として、施設の運営計画に合わせ、消毒ポイントを設置する必要があると考えられた。

2 点目として、市町により考え方が異なり、施設に対して、家畜伝染病発生時の使用を目的とすることを伝えられていないところもあった。施設管理者との事前調整ができるように、結果を文書で示し、今後の対応を依頼した。

また、排水条件については、どの位の消毒薬の使用で、農作物や生物、河川に影響が出るか不明で、判断が難しいところもあった。環境に配慮した消毒薬の選択や、消毒対象車両の数から、ある程度の使用量を把握する必要も考えられた。

今後も、これらの対策を実施しつつ、引き続き、有事の際の防疫体制の確立を図って行きたい。

V 参考文献

- 1) 土門尚貴ほか：平成 24 年度埼玉県調査研究成績報告書，54，10-14（2014）

8 観測史上最大の大雪が畜産農家に残した爪痕

熊谷家畜保健衛生所

○山岸 聡美、河津 理子、梅野 杏奴

黒沢 和久、山品 恒郎

I はじめに

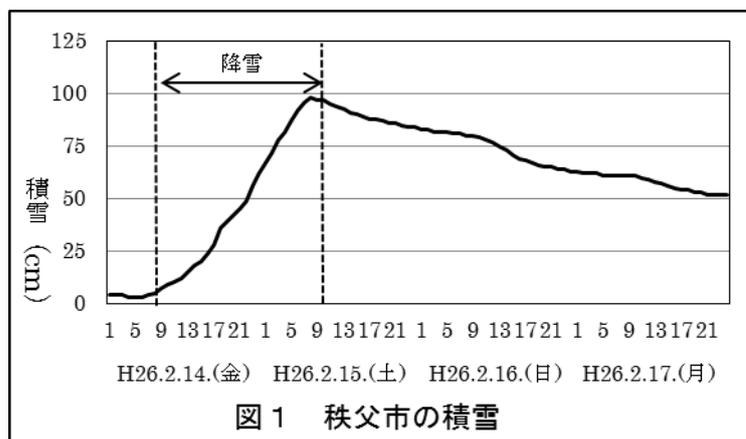
平成 26 年 2 月 14 日から 15 日未明にかけての大雪は、秩父市 98cm、熊谷市 62cm と本県の観測史上最大の積雪を記録し、県内の広い地域で交通遮断や施設の倒壊等の被害をもたらした。農業においては、農業用ハウスの倒壊などにより県全体で 229 億円、うち畜産関係では 21.4 億円もの農業被害が発生した。

当所は、畜産農家における被害状況を把握するため、降雪直後に電話による聞き取り調査を行うとともに、再度アンケートによる調査を実施し、当時の畜産農家が置かれた状況を明らかにした。

II 降雪の状況

降雪は平成 26 年 2 月 14 日午前 7 時頃から観測され、15 日午前 1 時頃みぞれに変わったため、水分を含んだ重たい雪が積もるようになった。降雪は 15 日午前 9 時頃まで続いた。この大雪により、秩父市では 15 日午前 8 時頃、積雪が 98cm を記録し、本県の観測史上最大の積雪となった(図 1)。

建物の被害は、15 日の正午前から確認されるようになった。



III 電話による聞き取り調査 (平成 26 年 2 月 17 日~18 日)

当所では、畜産農家における施設や家畜の被災直後の状況を早急に把握するため、2 月 17 日から 18 日にかけて、管内全畜産農家 373 戸に対し電話による聞き取り調査を行った。

373 戸のうち、雪により何らかの被害があったと回答した農家は 242 戸あり、全体の 65% に上った。施設別では畜舎が最も多く 260 棟、次いで飼料庫や器具庫等 101 棟、糞尿処理施設 81 棟、運動場等その他の施設 30 棟、合計 472 棟で被害があった。被害の程度は、倒壊等の全壊から半壊、ひさしや屋根等の損傷など、さまざまであった (図 2)。

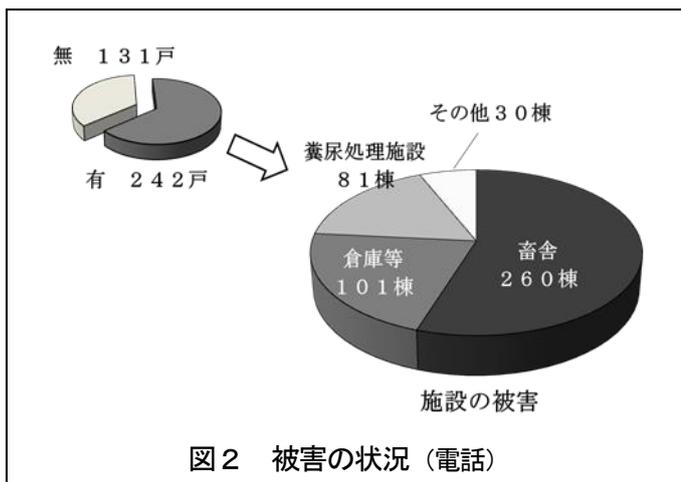


写真1 牛のすぐ近くに落下した牛舎の天井



写真2 崩れた車庫と下敷きになった車両



写真3 倒壊した鶏舎の屋根（解体工事中）

IV アンケートによる調査（平成 26 年 9 月）

被災直後の聞き取りでは、農家自身が混乱していたり、除雪や片付けなどに追われていて被害の詳細が把握できていなかったことなどから、時間が経過し落ち着いたところに再度アンケートによる調査を行った。このアンケート調査では、被害の詳細な内容を知るだけでなく、被災当時に農家が置かれた状況を知ることも目的とした。

調査は電話の聞き取りと同じく、全ての畜産農家 373 戸を対象とし、調査用紙を郵送、ファクシミリで回答してもらった。

回答は 195 戸から得られ、回答率は 52%であった。回答のうち、雪による何らかの被害があった農家は 154 戸（79%）であり、畜種別では、酪農が 80 戸（52%）、肉牛 36 戸（23%）、養豚 16 戸（10%）、採卵鶏 20 戸（13%）、肉用鶏・アヒル等 2 戸（2%）となった。

施設別では、畜舎 256 棟、飼料庫や倉庫等 75 棟、糞尿処理施設 69 棟、搾乳・集卵施設等その他 9 棟、合計 409 棟で被害の回答があった。被害の程度は電話での聞き取り内容と同様で、全壊から一部損傷まで、様々であった（図 3）。

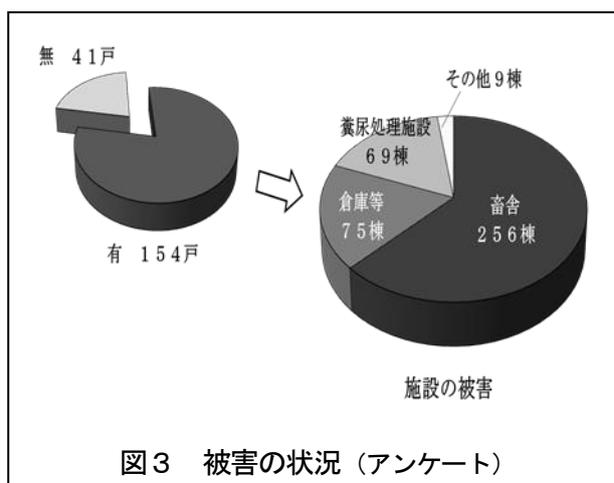


図3 被害の状況（アンケート）

建物の倒壊等により、家畜にも死亡や廃用等の被害が出ており、乳牛では死亡 17 頭、廃用 144 頭、肉牛では死亡 10 頭、廃用 8 頭、養豚では子豚も含めて 253 頭が死亡、廃用は 8 頭であった。採卵鶏では 1,200 羽が死亡、1,575 羽が廃用となった（図 4）。

畜種	戸数(戸)	死亡(頭・羽数)	廃用(頭・羽数)
乳用牛	11	17	144
肉用牛	7	10	8
豚	2	253	8
採卵鶏	4	1,200	1,575

図4 家畜の被害

さらに、出荷停止により 37 戸 (19%) が生産物 (生乳、鶏卵) の廃棄をしたと回答し、生乳約 6.7t、鶏卵約 4,000 個が廃棄された。

また、雪により支障が出た作業があったかを質問したところ、排せつ物の処理(64 戸)、出荷 (46 戸)、給餌 (41 戸) の他、資材搬入 (23 戸) など、日常の主だった飼養管理作業のほとんどで支障が生じていた。その理由としては、停電、機械施設の損壊、交通遮断による流通の停止や積雪で畜舎等に移動が困難などが挙げられた (図 5)。

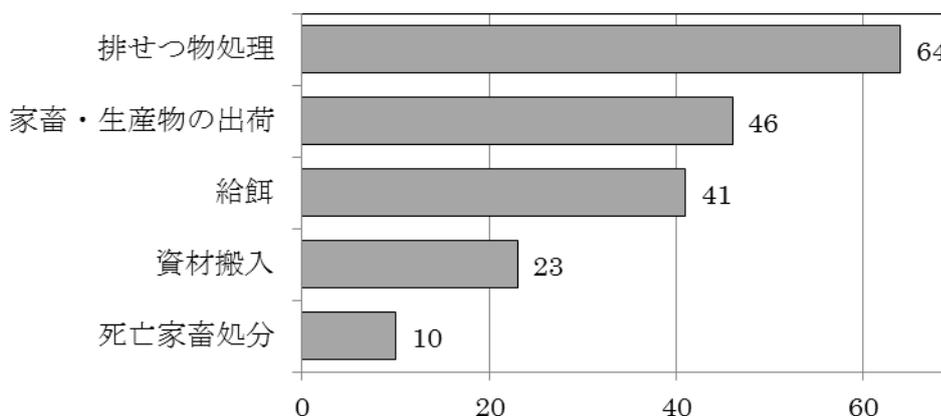


図5 実施困難だった作業 (複数回答) (件)

アンケート調査では被害の状況以外に、日ごろの備えについても質問した。

普段から、こうした災害等に対する備えをしていると回答した農家は 82 戸 (42%) で、備えとしては発電機 (52 戸) が最も多く、次いで除雪機 (34 戸)、重機類 (14 戸) と続いた。

また、今回の大雪にあたって 59 戸 (30%) の農家が、災害の備えとしてやっておいて良かったことがあったと回答した。内容としては建物の補強 (38 戸)、飼料等の資材の備蓄 (22 戸)、その他 (7 戸) と続いた。その他としては、大型バルククーラーの設置、連絡手段の確保、保険加入などが挙げられた。

しかし、日ごろの準備や、今回の大雪についての対策も特にしていなかったと回答した農家は 72 戸あり、回答数の 37%を占めた。

地域への協力として、除雪作業に参加したかという質問に対しては 113 戸 (58%) が参加したと回答し、そのうち 86 戸 (76%) は自主的な参加であった。また、今後同様の大雪があった場合にも除雪活動に参加が可能かという質問については 96 戸 (49%) が可能と回答した。

V まとめ

本県の観測史上最大の積雪を記録した大雪被害について、2 度にわたって畜産農家の被害状況を調査した。

電話での聞き取り調査では 65%の農家に被害があったことがわかった。この情報は市町村にも提供し、初期の支援対応に活用された。しかし、この調査は降雪直後の混乱期であったことから被害の内容については不確かな情報も多かった。

2 度目の調査は時間が経過し農家も落ち着いた時期での実施であり、最初の聞き取りでは分からなかった詳細な被害の内容が明らかになった。また、停電や交通遮断等により日常の管理作業ができなくなるなど、当時の畜産農家が置かれた状況を知る上での貴重な資料となった。同時に、作業に使用する重機を用いた近隣生活道路の除雪を自主的に行うなど、地域の復旧に積極的に関与する畜産農家の姿が明らかとなった。

一方で、自然災害に対する備えについては、半数以上の畜産農家が何もしていないことが判明した。これは、本県がこれまで大きな自然災害に遭遇したことがないことや、雪の少ない地域であることから、雪国では当たり前の対策がなされていなかったことが影響していると考えられた。今回の大雪を教訓に、畜産農家に対して資材の備蓄や建物の補強など、災害が予想される際には早めに準備をするよう広報による呼びかけを行った。

現在、被災農家支援として、撤去・再建のための県や国の補助事業が進められており、事業実施主体である市町村が現地確認等の作業を行っている。当所では、市町村に対して畜舎の構造や現地確認における防疫上の注意点など、技術的な助言をすることで円滑に事業が推進されるよう支援していきたい。

VI 参考資料

- ・大雪庁内検証委員会報告書 (埼玉県大雪庁内検証委員会、平成 26 年 5 月 28 日)
- ・過去の気象データ (気象庁ホームページ)

9 定量的 PCR を用いた牛白血病の診断と牛白血病ウイルス

伝播リスク評価

中央家畜保健衛生所

○曾田 泰史、多勢 景人、平野 晃司、
北島 絵理子、荒井 理恵、畠中 優唯
熊谷家畜保健衛生所

宮田 基、佐竹 吉人

I はじめに

地方病性牛白血病 (EBL) は、レトロウイルス科デルタレトロウイルス属に属する牛白血病ウイルス (BLV) により引き起こされる全身性のリンパ腫を主徴とする疾病である¹⁾。国内における BLV の浸潤は年々拡大しており、BLV に感染したことを示す BLV 抗体陽性率は、平成 23 年度に実施された全国サーベイランスによると乳用牛で 40.9%、肉用繁殖牛で 28.7%まで上昇している²⁾。また、EBL 発症頭数も増加し、年度ごとの発症頭数は平成 10 年には 99 頭であったが、平成 25 年度は 2310 頭まで増加した³⁾。EBL は BLV に感染後、数ヶ月から数年の無症状期を経て発症するが、治療法はなく、と畜場において摘発される場合は全廃棄処分となるため、BLV 感染個体を EBL 発症前に早期摘発、淘汰することが重要とされている¹⁾。

EBL の確定診断は病理学的検査によるが⁴⁾、本県では、BLV 感染牛の早期摘発を目的として、ELISA 法や寒天ゲル内沈降反応による血清学的検査、BLV 特異的定性 PCR 法 (BLV cPCR 法) による遺伝子検査⁵⁾、および血液検査を補助検査として実施してきた。その結果から、BLV 感染が認められた個体を淘汰するように指導してきたが、BLV が広く浸潤した農家では全頭淘汰は農場経営の大きな負担となる。そこで、本県では近年開発された TaqMan プローブを用いた BLV 定量的 PCR 法 (BLV qPCR 法)⁶⁾ を病理組織学的診断の補助検査法として導入した。BLV qPCR 法は血液または組織中の BLV 遺伝子量を定量することが可能で、BLV 感染牛の摘発ならびに EBL の診断法として有用とされている⁶⁾。本例では、県内の一農家で BLV qPCR 法を利用した EBL 診断を実施した。また、農場内 BLV 浸潤状況調査を行い、BLV 感染が確認された個体について、血液中 BLV 遺伝子量に基づき、BLV 感染を農場内の BLV 非感染牛に広げる可能性 (BLV 伝播リスク) を評価し、農場内 BLV 清浄化に向けた対策を実施したので報告する。

II 発生概要

1 農場概要

成牛 28 頭、育成牛 4 頭、子牛 8 頭を飼養するフリーストール形式の和牛繁殖農家。飼養する個体は北海道から導入した 1 頭、県内農家から導入した 1 頭を除き、自家産牛であった。また、当該農場においては過去に EBL 発症例はなく、BLV 検査は未実施で浸潤状況は不明であった。

2 発症経過と病性鑑定実施経過

平成 26 年 7 月末より 6 歳齢繁殖雌牛 1 頭(発症牛)が 2 週間に及ぶ黄色水様性下痢を呈し、食欲低下と顕著な消瘦が認められた。治療の効果がみられなかったため、8 月 12 日に病性鑑定を実施した。この病性鑑定で実施した血液学的検査およびウイルス学的検査結果から、EBL 発症が強く疑われたため、8 月 25 日に鑑定殺を実施した。農場内で飼養する他個体に異常は認められなかったが、BLV 浸潤状況の把握を目的として、9 月 2 日に同居牛の BLV 検査を実施した。

III 材料と方法

1 材料

(1) 発症牛の病性鑑定

発症牛から採取した糞便、EDTA 加血液、血清および鑑定殺を実施した生体各 1 検体を病性鑑定材料とした。

(2) 農場内 BLV 浸潤状況調査

同居牛 30 頭から EDTA 加血液および血清を採取し、病性鑑定材料とした。

2 方法

(1) 発症牛の病性鑑定

ア 血液学的検査

EDTA 加血液 1 検体を用いて、定法に従い赤血球数(個/ml)、白血球数(個/ml)、白血球百分率(%)、ヘマトクリット値(%)およびフィブリノーゲン値(mg/dl)を計測した。

イ 細菌学的検査

糞便 1 検体を材料として、ヨーネ病リアルタイム PCR 検査⁷⁾を実施した。さらに、DHL 寒天培地を用いた直接塗抹および Rappaport-Vassiliadis 培地を用いた増菌培養により、サルモネラ検査を行った。

ウ ウイルス学的検査

EDTA 加血液 1 検体を材料として、検体 2ml と 0.2% NaCl 水溶液 8ml を混合、2000rpm で 5 分間遠心し、白血球を沈殿させた。上清を除去し、さらに 0.2% NaCl 水溶液 10ml を加え、再度 2000rpm で 5 分間遠心した。同様の処理を再度行い、最終的に沈殿した白血球を PBS(-) 2ml で浮遊させ、-20°C で凍結、その後解凍し、白血球乳剤とした。また、糞便 1 検体を抗生物質添加 Eagle's MEM (日水製薬(株))を用いて糞便乳剤とした。白血球乳剤からは DNeasy Blood & Tissue Kit (QIAGEN) を用いて DNA を抽出し、BLV 遺伝子検査 (Fechner らの方法⁵⁾による BLV cPCR 法および宗村らの方法⁶⁾による BLV qPCR 法)を実施した。BLV qPCR 法は、Cycleave®PCR Reaction Mix SP およびウシ白血球ウイルス検出用 Probe / Primer / Positive control (TaKaRa) を使用した。また、牛下痢症関連ウイルスの遺伝子検索を目的として、白血球乳剤および糞便乳剤から High Pure Viral RNA Kit (Roche) を用いて RNA を抽出した。白血球乳剤から抽出した RNA を検体として、Vilcek らの方法⁸⁾によるペスチウイルス特異的

RT-PCR 法を実施し、糞便乳剤から抽出した RNA を検体として、Fukuda らの方法⁹⁾による下痢症関連 5 種ウイルスマルチプレックス RT-PCR 法を実施した。その他、白血球乳剤を検体として、MDBK-SY 細胞を用いたウイルス分離 (2 代 7 日間) を実施した。

エ 寄生虫学的検査

糞便 1 検体を材料として、シヨ糖浮遊法にて虫卵検査を実施した。

オ 病理学的検査

剖検した生体 1 検体から主要臓器等を採材し、10%中性緩衝ホルマリン液に浸漬後、定法に従い病理組織標本を作成し、一般染色としてヘマトキシリン・エオジン染色を実施した。また、心臓および子宮を材料として、抗ヒト CD79 α マウスモノクローナル抗体と抗ヒト CD3 マウスモノクローナル抗体を使用した免疫組織化学的検査を実施した。

(2) 農場内 BLV 浸潤状況調査

ア 血液学的検査

EDTA 加血液 30 検体を用いて、定法に従い白血球数 (個/ml) と白血球中リンパ球割合 (%) を計測した。

イ ウイルス学的検査

(1) ウと同様の方法で EDTA 加血液 30 検体から白血球乳剤を作製、DNA を抽出し、BLV cPCR 法および BLV qPCR 法を実施した。また、血清 30 検体を材料として、牛白血病エライザキット (JNC (株)) を用いて BLV 抗体検査 (ELISA 法) を実施した。

ウ 検査結果の相関の検討

全 30 頭の検査結果について、BLV qPCR 法により定量した BLV 遺伝子量と ELISA 値 (S/P 値)、白血球数 (個/ml) および白血球中リンパ球割合 (%) の相関係数 (r) をピアソンの積率相関係数に基づいて算出した。

IV 成績

1 発症牛の病性鑑定

(1) 血液学的検査

赤血球数減少 (356 万個/ml)、白血球数増加 (105833 個/ml)、白血球中リンパ球割合増加 (93.5%)、ヘマトクリット値低下 (21%) およびフィブリノーゲン値増加 (700mg/dl) が認められた。また、末梢血中に異型リンパ球 (巨大リンパ球、核辺縁不正、核分裂像) の出現 (2.5%) が認められた。

(2) 細菌学的検査

ヨーネ病リアルタイム PCR 検査およびサルモネラ検査はいずれも陰性であった。

(3) ウイルス学的検査

ア BLV 遺伝子検査成績

BLV cPCR 法により BLV 遺伝子が検出され、BLV qPCR 法を実施した結果、BLV 遺伝子量は 1395.6 copies/ng DNA と定量された。

イ 牛下痢症関連ウイルス遺伝子検査成績

ペスチウイルス、牛コロナウイルス、A 群ロタウイルス、牛 B 群ロタウイルス、C 群ロタウイルスおよび牛トロウイルス特異遺伝子は検出されなかった。

ウ ウイルス分離成績

ウイルス分離は陰性であった。

(4) 寄生虫学的検査成績

糞便中に寄生虫卵等は認められなかった。

(5) 病理学的検査

ア 剖検所見

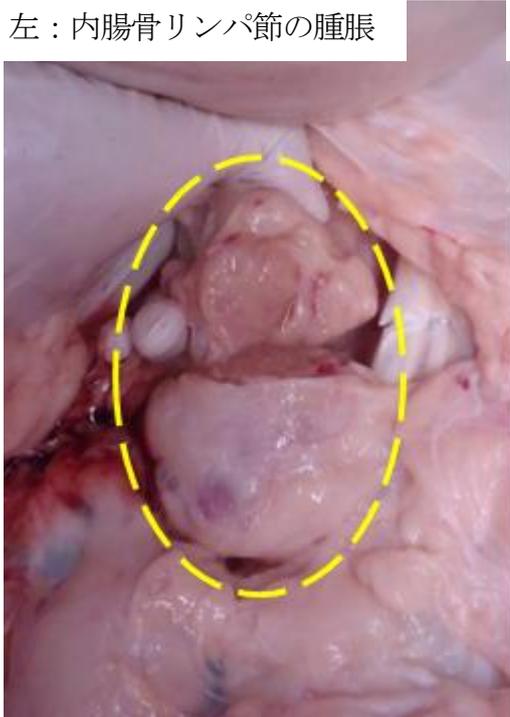
外貌は顕著な消瘦が認められたものの、眼球の突出や体表リンパ節の腫脹による体表部の膨隆等の EBL の際に特徴的な所見¹⁾は認められなかった(図 1)。剖検時、内腸骨リンパ節が手拳大に腫脹し(図 2 左)、下顎リンパ節、浅そ径リンパ節および腸骨下リンパ節に軽度腫脹(ピンポン玉大)がみられた。消化器系においては、第四胃漿膜に手拳大の白色腫瘤、十二指腸漿膜にクルミ大の白色結節、腸間膜リンパ節の腫脹(ピンポン玉大)(図 2 右)が認められた。心臓および腎臓には米粒大から大豆大の白色結節がみられた。特に、心臓では左右心耳、右心房壁および左心室壁に白色結節が密発していた(図 3 左)。また、子宮全体に渡り、子宮壁の硬結と肥厚がみられた(図 3 右)。

外貌 (顕著な削瘦)



図 1

左：内腸骨リンパ節の腫脹



右：腸間膜リンパ節の腫脹

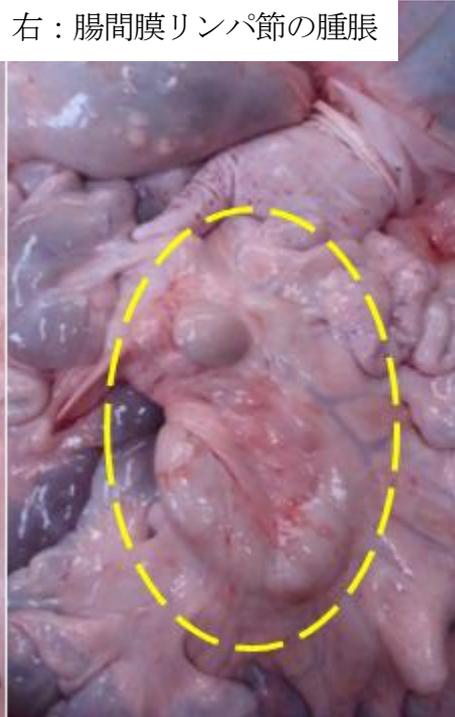


図 2

左：心臓（右心房）の白色結

右：子宮壁の肥厚（子宮全体）

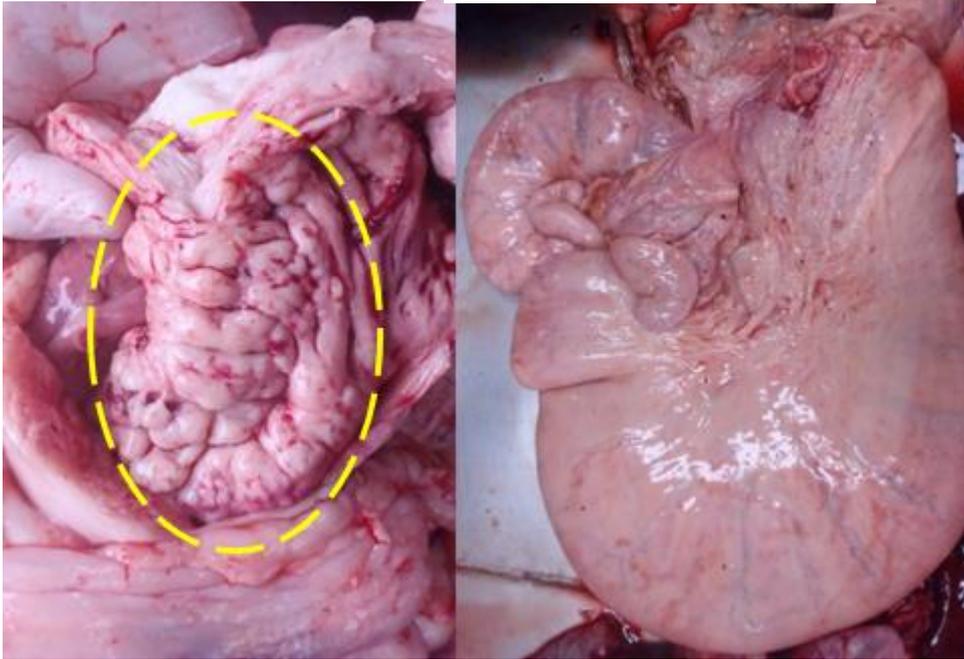


図 3

イ 組織所見

剖検時、白色結節が認められた心臓および腎臓、壁の肥厚および硬結の認められた子宮、腫大したリンパ節および腹腔内に認められた腫瘍では、腫瘍性リンパ球の重度浸潤が認められた（図 4 左）。腫瘍性リンパ球の浸潤は第四胃や消化管でも認められた。腫瘍性リンパ球の浸潤の著しかった心臓および子宮を用いて実施した免疫組織化学的検査では、腫瘍性リンパ球は抗ヒト CD79 α マウスモノクローナル抗体陽性（図 4 右上）、抗ヒト CD3 マウスモノクローナル抗体陰性（図 4 右下）を示したため、B 細胞性腫瘍と判定された。

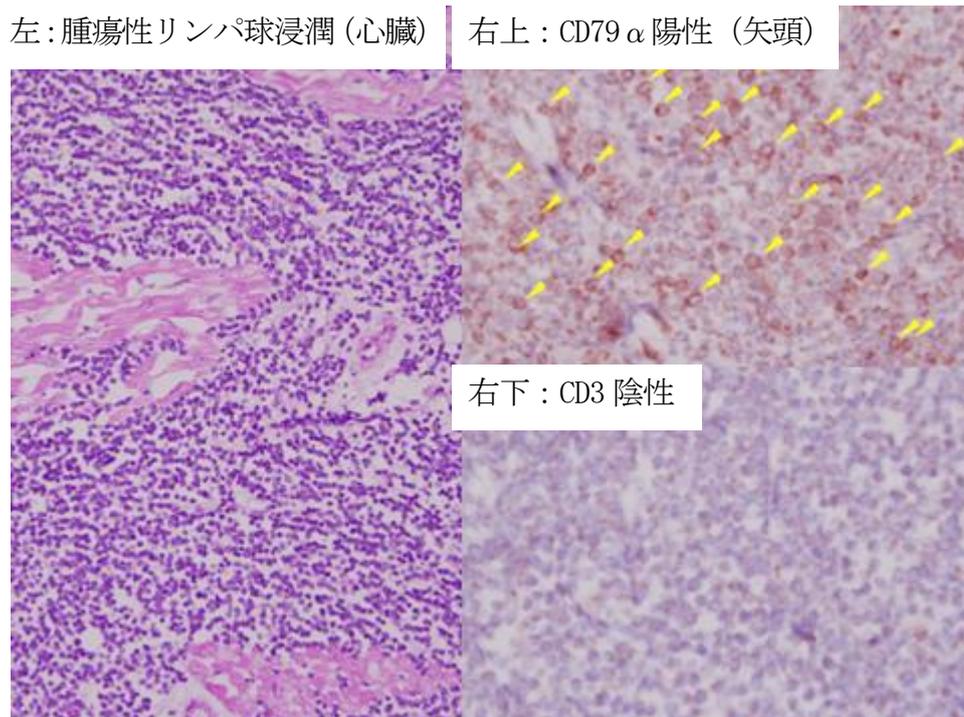


図 4

血液学的検査で白血球数の増加および白血球中リンパ球割合の増加が認められたこと、ウイルス学的検査で BLV 特異遺伝子が検出されたことから、発症牛は EBL が疑われた。特に、BLV qPCR 法で検出された BLV 遺伝子量について、BLV 感染牛における EBL 発症牛と非発症牛の血液中 BLV 遺伝子量を比較した報告¹⁰⁾と照らし合わせた結果、発症牛は EBL が強く疑われた。そして、病理学的検査成績から、発症牛は EBL と確定診断された。

2 農場内 BLV 浸潤状況調査

(1) 血液学的検査成績

30 頭中 1 頭で白血球数の増加 (12000 個/ml 以上) が認められ、11 頭で白血球中リンパ球割合の増加 (75%以上) が認められた。また、1 頭に末梢血中に異型リンパ球 (巨大リンパ球、核辺縁不正、核分裂像) の増加 (5.5%) が認められた。

(2) ウイルス学的検査成績

ア BLV 遺伝子検査成績

30 頭中 8 頭が BLV cPCR 法陽性であり、qPCR 法では、8 頭から 0.3~114.9 copies/ng DNA の BLV 特異遺伝子が検出された。また、qPCR 法で BLV 特異遺伝子が検出された 8 頭中、2 頭の BLV 遺伝子量が有意に多かった ($p < 0.05$)。

イ BLV 抗体検査成績 (ELISA 法)

30 頭中 11 頭が陽性 (S/P 値 \geq 0.3) であった。

BLV 感染を示す成績 (BLV 特異遺伝子が検出、または BLV 抗体検査陽性) が得られた 12 頭を No. 1

～12 とし、その検査結果を表 1 に示す。

表 1

No.	年齢	BLV cPCR	BLV qPCR (copies /ng DNA)	BLV ELISA (S/P値)	白血球数 (個/ml)	リンパ球 割合 (%)	異型 リンパ球
1	2	+	114.9*	2.174	11250	67.0	—
2	3	+	74.0*	1.773	16450	82.5	—
3	5	+	24.5	2.143	7625	71.5	—
4	7	+	18.0	2.07	8925	64.0	—
5	3	+	8.7	2.004	11450	57.0	—
6	5	+	4.8	2.17	7650	61.0	—
7	4	+	1.0	2.169	6325	77.0	—
8	3	+	0.3	0.01	6075	61.0	—
9	5	—	0.0	2.079	5425	54.0	—
10	6	—	0.0	2.002	7750	78.0	—
11	8	—	0.0	1.962	6925	79.0	—
12	4	—	0.0	1.922	5825	71.5	—

(*:p<0.05)

黄色背景:陽性、または増加

ウ 検査結果の相関の検討

BLV 遺伝子量と ELISA 値 (r=0.65) および白血球数 (r=0.43) との間に中間の強さの相関が認められた。白血球中リンパ球割合 (r=0.05) との間に相関は認められなかった。

以上の検査結果から、今回の検査に供した 30 頭中 12 頭 (40%) に BLV 感染が認められ、当該農場における BLV 浸潤が確認された。しかし、EBL の特徴所見¹⁾ が認められないこと、検出された BLV 遺伝子量が三村らの報告¹⁰⁾ と比較して少ないことから、当該農場に EBL 発症を疑う個体はいないと判定した。

V BLV 伝播リスク評価と農場内 BLV 清浄化対策

BLV 感染を示す成績 (BLV 特異遺伝子が検出、または BLV ELISA 陽性) が得られた 12 頭について、上記のとおり EBL 発症は疑われないが、BLV 伝播リスクがあると判定した。そこで、12 頭を BLV 伝播高リスク、中程度リスク、低リスクの 3 つに分類し、リスク別の対策を実施した。まず、遺伝子量が有意に多い 2 頭 (No. 1、2) を高リスクとし、優先淘汰対象とした。次に、遺伝子が検出された他の 6 頭 (No. 3～8) を中程度リスクとし、他の個体とは分離飼育するように指導、高リスク牛 2 頭の淘汰後の淘汰対象とした。そして、遺伝子は検出されなかったものの、ELISA 陽性であった 4 頭 (No. 9～12) を現時点では低リスクと判断、今後、リスクが高まる可能性を考慮し、定期的な BLV 検査を推奨した。なお、農場全体についても、BLV 浸潤の推移を把握するため、定期的な検査を推奨した。

VI まとめと考察

本例は、本県で初めて BLV qPCR を病性鑑定に応用した事例となった。過去に EBL と診断した事例は、特徴病変（体表リンパ節の腫脹、眼球突出）¹⁾ から EBL を疑ったものや、鑑定殺、または死亡後の剖検で EBL を疑い、組織学的検査で診断されたものであった。また、これまで本県で実施していた EBL 生前検査（BLV cPCR 法、血清学的検査）では、BLV 感染の有無の判定のみで、発症の程度は判定できなかった。しかし、本例で EBL と診断された 1 頭の病性鑑定では、特徴病変を認めず、生前検査として実施した EDTA 加血液を材料とした病性鑑定で、BLV qPCR 法を用いて血液中の BLV 遺伝子量を定量することにより、EBL が強く疑われた。この点から、BLV qPCR 法が EBL 診断において、病理学的検査の補助検査法として有用であることが確認された。

農場内清浄化に向けた対策においても、これまでの BLV 検査法（BLV cPCR 法、血清学的検査）では感染と非感染を区別するのみで、感染牛を淘汰することを指導してきたが、農家の経済的負担が大きな問題であった。しかし、BLV qPCR 法を利用することで、本例のように伝播リスクを評価し、リスクが高い個体から優先順位をつけて淘汰していくことが可能であった。現在、全国的に BLV が浸潤しているため、本法は清浄化対策として非常に有用と考えられた。今後、当該農家では定期的に農場内 BLV 浸潤状況調査を実施して清浄化対策を進め、その効果を検討していきたい。

今後の課題として、まず、1 頭あたり 1500 円の検査料が、多検体の検査を実施すると農家に大きな経済的負担となる点があげられた。次に、EBL 発症や伝播リスクが高いと判定する基準が決定していないことが課題としてあげられた。前者については、今回相関がみられた ELISA 検査や血液検査をスクリーニング検査として実施、スクリーニング検査陽性となった検体について BLV qPCR 検査を実施することで、検体数を減らすことを検討している。後者に関しては、本例のように、農家ごとの浸潤状況に合わせた基準を設定することを対応策として考えている。本県では BLV qPCR の応用事例はまだ少ないので、今後、例数を増やし、県内の BLV 清浄化を進めていきたい。

引用文献

- 1) 見上ら監修：獣医微生物学 第 3 版，文永堂出版，272（2002）
- 2) Kobayashi et al. : Analysis of risk factors associated with bovine leukemia virus seropositivity within dairy and beef breeding farms in Japan: a nationwide survey, Res Vet Sci, 96(1) 47-53（2013）
- 3) 農林水産省：届出伝染病発生状況の累年比較(昭和 12 年～平成 25 年)，農林水産省 HP (http://www.maff.go.jp/j/syouan/douei/kansi_densen/pdf/h25_ruinenn_todokede.pdf)（2013）
- 4) 農林水産省消費安全局監修：病性鑑定マニュアル 第 3 版，72-73（2008）
- 5) Fechner et al. : Provirus Variants of the Bovine Leukemia Virus and Their Relation to the Serological Status of Naturally Infected Cattle, Virology, 237(2), 261-269（1997）
- 6) 宗村ら：リアルタイム PCR による牛白血病診断法の検討，獣医畜産新報, vol. 60 No. 12, 1005-1011（2007）

- 7) 独立行政法人 動物衛生研究所 ヨーネ病研究チーム：ヨーネ病検査マニュアル (2011 年 1 月 31 日版) (2011)
- 8) Vilcek 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, 309-323 (1994)
- 9) Fukuda 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(6), 1063-1069 (2012)
- 10) 三村ら：リアルタイム PCR を用いた血中における BLV 遺伝子の定量とその考察，大分県調査研究内容 (平成 23 年度)，大分県 HP (http://www.pref.oita.jp/uploaded/life/270483_306572_misc.pdf) (2011)

10 リアルタイム PCR 法による乳用牛のヨーネ病自主とう汰

事例

熊谷家畜保健衛生所

○向井 海渡・宮本 賢一・佐竹 吉人

中央家畜保健衛生所

荒井 理恵・平野 晃司

I はじめに

家畜伝染病予防法の改正により、平成 25 年度から、ヨーネ病の確定診断法として新たにリアルタイム PCR 法が導入された¹⁾。本法では、定性判定として糞便中のヨーネ菌 DNA を検出し、さらに定量判定として DNA 量を測定することにより、患者の判定が行われる。そのため、ヨーネ菌 DNA が検出される（定性判定陽性）にも関わらず、その値が定量判定の基準値(1.00E-03pg/2.5 μ l)以下（定量判定陰性）であれば、当該牛は家畜伝染病予防法では、健康畜となる。

平成 26 年 4 月、平成 20 年度以降にヨーネ病患者 9 頭が摘発されている管内一酪農家の同居牛検査²⁾において、成牛 1 頭がスクリーニング検査で陽性となった³⁾。その後のリアルタイム PCR 法において定性判定陽性、定量判定陰性となり、健康畜と判定されたが、本病の清浄化を図るため、当該牛を自主とう汰し、病性鑑定を行ったのでその概要を報告する。

II 発生概要

1 農場概要

当該農場は成牛 60 頭、育成牛 5 頭を飼養する酪農経営である。飼育牛は、38 頭が自家産で、23 頭が北海道、残り 4 頭が埼玉県内からの導入牛であった。飼養形態は、成牛がフリーストールとフリーバーン、育成牛が単房式の牛舎である（図 1）。当該農場では、平成 20 年度以降、ヨーネ病患者を 9 頭摘発するとともに、1 頭を自主とう汰している。なお、これらの牛は全て自家産であった。

2 発生概要

平成 26 年 4 月 17 日に 65 頭の子同居牛検査を実施したところ、成牛 1 頭がスクリーニング検査で陽性となり、リアルタイム PCR 法で定性判定陽性、定量判定陰性となった。なお、定量判定の DNA 量は 7.47E-04pg/2.5 μ l であった。

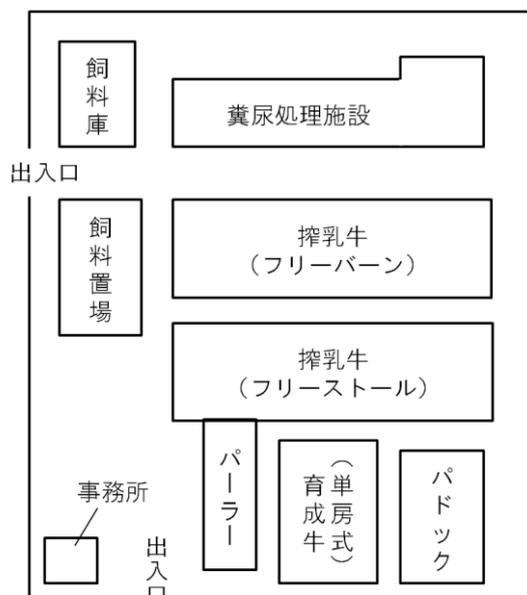


図 1 農場見取り図

当該牛には水様性下痢や消瘦は認められなかったが、平成 18 年 6 月生まれの自家産であること、平成 25 年 2 月に実施した検査でも糞便中からヨーネ菌 DNA が検出され、DNA 量も $1.94E-04\text{pg}/2.5\mu\text{l}$ であったことから、間欠的に排菌をしているハイリスク牛と判断し、平成 26 年 5 月 28 日に自主とう汰をした。

III 材料及び方法

1 病理学的検査

自主とう汰牛を剖検し、主要臓器についてヘマトキシリン・エオジン (HE) 染色とチール・ネルゼン染色による病理組織学的検査を行った。

2 細菌学的検査

ヨーネ病検査マニュアルに定められた腸管及びリンパ節に加え、肝臓、脾臓および腎臓などの主要臓器と乳汁、直腸便を材料として、液体培地(BD BACTEC MGIT ParaTB Medium)(好気培養、2ヶ月間)と寒天培地(7H10MEY 培地)(好気培養、3ヶ月間以上)を用いた細菌分離を実施した。また、同材料について研究用試薬(QuantiTect SYBR Green PCR Kit、Cat.No.:204143(キアゲン社))を用いてリアルタイム PCR 法を実施した。

IV 成績

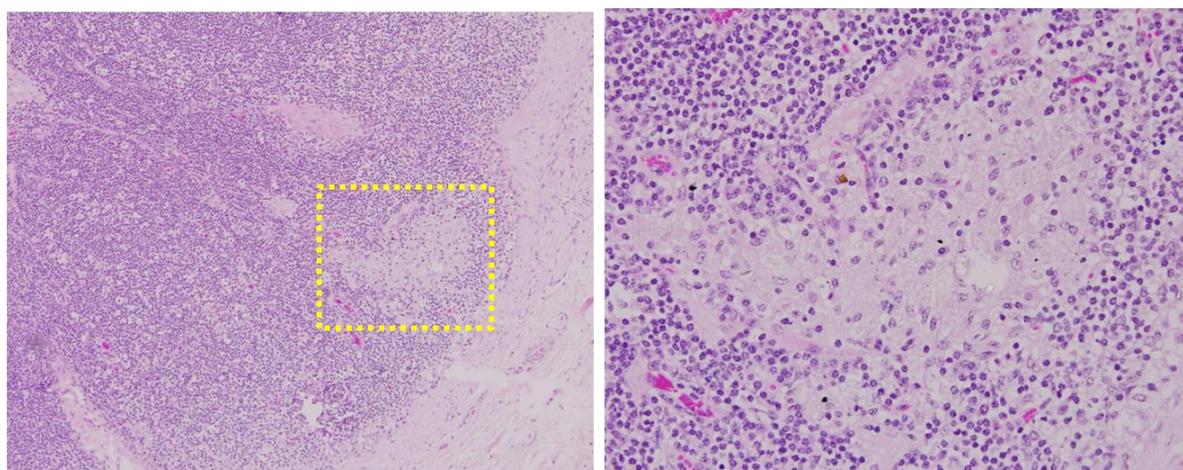
1 病理学的検査成績

(1) 剖検所見

有意な所見は認められなかった。

(2) 病理組織学的検査

HE 染色において、空腸部腸間膜リンパ節、回腸部腸間膜リンパ節、回腸(回盲部から 10cm の部位)でヨーネ病の特徴的病変である、類上皮細胞主体の肉芽腫性炎が確認された(図 2、3)。しかし、チール・ネルゼン染色では、これら肉芽腫性炎が確認された部位に好酸菌を確認できなかった。⁵⁾



回腸部腸間膜リンパ節 (HE染色) 【弱拡大】

回腸部腸間膜リンパ節 (HE染色) 【強拡大】

図 2. 回腸部腸間膜リンパ節で認められた肉芽腫性炎

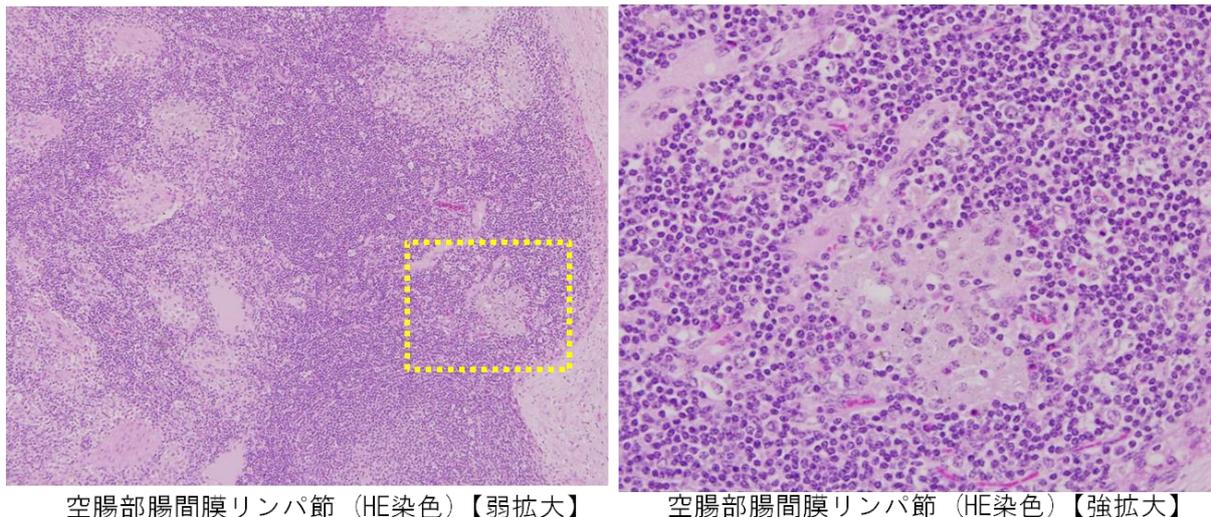


図 3. 空腸部腸間膜リンパ節で確認された肉芽腫性炎

2 細菌学的検査成績

リアルタイム PCR 法では、空腸、回腸、盲腸および結腸など腸管の多くの部位、直腸便および空腸部・回腸部腸間膜リンパ節からヨーネ菌 DNA が検出された。また、盲腸を除くこれらの部位からは、液体培地と寒天培地によりヨーネ菌が分離された。ヨーネ菌 DNA が多く検出された回盲部から 50 センチの部位や、空腸（パイエル板が肥厚した部位）および空腸・回腸部腸間膜リンパ節などの部位は、液体培地での蛍光検出までにかかった日数が短く、また寒天培地では確認されたコロニー数が多い傾向がみられた（表 1, 2）。なお、主要臓器、乳房リンパ節および乳汁については、リアルタイム PCR 法でヨーネ菌 DNA は検出されず、またヨーネ菌は分離されなかった。

表 1. 消化管、直腸便を材料とした細菌学的検査結果

部位	液体培地		寒天培地	リアルタイムPCR法	
	判定 (well)	蛍光検出 までの日数	判定※	判定 (well)	DNA量 [pg/2.5 μl]
十二指腸	-		0	-	
空腸 (パイエル板の明瞭な部位)	+	44	1	+	6.09E-04
空腸 (パイエル板が肥厚した部位)	+	19	3	+	3.21E-01
回盲部から1m	-		0	-	
回盲部から50cm	+	37	1	+	4.21E-01
回盲部から30cm	-		0	-	
回腸末端部	+	44	0	+	8.36E-04
盲腸	-		0	+	1.22E-04
結腸	+	55	1	+	2.58E-04
直腸便	+	48	1	+	2.29E-03

※寒天培地の判定(コロニー数/斜面) 0: 陰性 1:1-10個 2:11-99個 3:100個以上

表 2. 腸間膜リンパ節、回盲部を材料とした細菌学的検査結果

部位	液体培地		寒天培地	リアルタイムPCR法	
	判定 (well)	蛍光検出 までの日数	判定	判定 (well)	DNA量 [pg/2.5 μl]
空腸部腸間膜(上)	+	55	0	+	2.23E-04
空腸部腸間膜(中)	+	30	3	+	2.45E-01
空腸部腸間膜(下)	+	37	2	+	4.76E-03
回腸部腸間膜(上)	+	37	2	+	5.42E-03
回腸部腸間膜(中)	+	30	1	+	1.50E-01
回腸部腸間膜(下)	+	55	0	+	2.27E-04
回盲部	+	48	1	-	

V まとめおよび考察

今回、リアルタイム PCR 法で定性判定陽性、定量判定陰性となり、健康畜と判定された牛を自主とう汰し、病性鑑定を実施した結果、病理組織学的検査において回腸や腸間膜リンパ節にヨーネ病の特徴的病変が認められた。また、細菌学的検査では腸粘膜や腸間膜リンパ節及び直腸便からヨーネ菌 DNA が検出され、これらの部位からはヨーネ菌も分離された。これにより当該牛はヨーネ菌感染牛であることが明らかとなった。

以上のことから、リアルタイム PCR 法で定性判定陽性、定量判定陰性となった牛は、患畜とはならないが、潜在的なヨーネ病感染牛である可能性があると考えられる。一方で、環境がヨーネ菌で高度に汚染された農場では、環境中のヨーネ菌によるリアルタイム PCR 法陽性の事例もあることから、定性判定陽性、定量判定陰性となった牛においても、個体や農家の状況を考慮した上で自主とう汰を実施することが、ヨーネ病清浄化に重要であると考えられる。今回の症例により、ヨーネ病発生農場に対して清浄化対策の一環として自主とう汰を指導する際の有用な知見が得られた。

VI 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 動物衛生研究所・細菌寄生虫研究領域 (ヨーネ病), ヨーネ病検査マニュアル, 2013 年版, 2-3
- 2) 埼玉県, 埼玉県牛のヨーネ病防疫対策要領実施指針, 平成 25 年 4 月 1 日一部改正
- 3) 横溝祐一, ヨーネ病の発生状況と防疫のすすめ方, 臨床獣医, 7, 18-26 (2001)
- 4) 板倉智敏・後藤直彰, 文永堂出版, 獣医病理組織カラーアトラス, 72

11 既知の種に属さないレンサ球菌属菌が分離された牛肺

炎の一症例と分離株の性状

中央家畜保健衛生所

○荒井 理恵・中井 悠華・平野 晃司

I はじめに

牛のレンサ球菌症は乳房炎が最も良く知られているが、その他、流産、肺炎、心内膜炎や髄膜炎といった病態も報告されており、病性鑑定上、遭遇しうる疾病の一つである¹⁻⁸⁾。これらの原因菌としては *Streptococcus agalactiae*、*S. uberis*、*S. bovis* や *S. suis* が分離されている¹⁻⁸⁾。牛から分離される *S. suis* は様々な血清型 (2、9、10、15、16、18、20 および 33 型) が報告されており⁵⁻¹¹⁾、近年、注目されつつあるのが、血清型 33 型によるレンサ球菌症である。

S. suis にはこれまで 35 種類の血清型 (1~34 および 1/2 型) が知られているが、一部の血清型参考株は分類学的に *S. suis* とは異なる菌種であることが示されている。32 および 34 型参考株は *S. orisratti* に既に再分類されており¹²⁾、20、22、26 および 33 型参考株も新菌種として提唱されようとしている¹³⁾。

33 型参考株は関節炎の羊から分離された株であり¹⁴⁾、反芻獣への病原性が示唆されている。近年では、呼吸器病や心内膜炎等を呈した牛からの 33 型菌またはその近縁菌の分離事例が国内で相次いで報告されている^{8、15-17)}。2014 年、埼玉県内では初めて、子牛の肺炎事例から 33 型参考株に近縁なレンサ球菌属菌が分離された。本稿では、症例の概要に加えて、33 型参考株・本県分離株・他県分離株の簡易同定キット成績を比較検討したので、その結果を報告する。

II 農家概要および発生状況

当該農家は黒毛和種の繁殖経営農家であり、繁殖牛 40 頭および育成牛・子牛 30 頭を飼育している。

今回、呼吸器病の発生は子牛 1 頭のみで認められた。当該牛は 2014 年 1 月 16 日に出生した。母牛がヨーネ病患者であったことから、出生直後に母子分離を行ったため、初乳は未摂取であった。出生後間もなく呼吸器症状を呈し始め、ニューキノロン系抗生物質や解熱剤等で治療するも改善せず、2014 年 4 月 15 日、死亡した。

III 材料および方法

1 材料

当該牛の死体 1 体を、死亡当日、病性鑑定に供した。

2 方法

(1) 剖検および病理組織学的検査

剖検後、定法に従い、病理組織標本を作製し、HE 染色・グラム染色を行った。

(2) 細菌学的検査

ア 一般細菌検査

実質臓器、脳および心嚢水を材料に、5%羊血液加コロンビア寒天培地 (37°C・48 時間・5%CO₂ 培養) および DHL 寒天培地 (37°C・24 時間・好気培養) により分離培養を行った。

分離菌は一次鑑別後、簡易同定キット (アピ 20 ストレップ; 日本ビオメリュー) により生化学性状検査を行った。さらに、2 種類の *S. suis* 特異的 PCR 検査 (Okwumabua ら (2003 年)¹⁸、Ishida ら (2014 年)¹⁹) および 16S rRNA 遺伝子解析 (動物衛生研究所に依頼) に供試した。

イ マイコプラズマ検査

肺からセパジーン (エーディア株式会社) により DNA を抽出し、*Mycoplasma bovis*²⁰、*M. bovigenitalium*²¹、*M. bovirhinis*²¹ および *M. dispar*²² 特異的 PCR 検査を行った。

(3) ウイルス学的検査

肺、脾臓、腎臓、腸間膜リンパ節および残血 (血清) を材料に、10%組織乳剤を作製、MDBK-SY 細胞によりウイルス分離 (2 代 7 日間) を行った。また、腸間膜リンパ節および残血 (血清) から High Pure Viral RNA Kit (Roche) により RNA を抽出し、Pesti ウイルス RT-PCR 検査²³を行った。

IV 成績

1 剖検所見

当該牛は削瘦し、重度の発育不良を示していた (図 1)。病変は胸腔にのみ認められ、肺表面は混濁し、一部は胸壁と癒着していた (図 2)。肺は全葉にわたり硬結感を増し、その表面や断面には大小様々な大きさの黄白色結節が多数認められ、何らかの細菌感染が疑われた (図 2・3)。



図 1 外貌



図 2 胸腔および肺



図 3 肺 (断面)

2 病理組織学的検査成績

肺において、中心部に菌塊や壊死退廃物を含む膿瘍が多数認められ、膿瘍周囲には線維素析出や好中球浸潤も確認された(図4左)。グラム染色を実施したところ、膿瘍辺縁部を主としてグラム陽性球菌がわずかに確認された(図4右)。膿瘍中心にはグラム陽性球菌は確認されなかったが、病変形成より時間が経過しているためと考えられた。また、同様に菌塊形成や線維素析出を伴う化膿性気管支肺炎も重度に認められた。その他臓器に著変は確認されなかった。

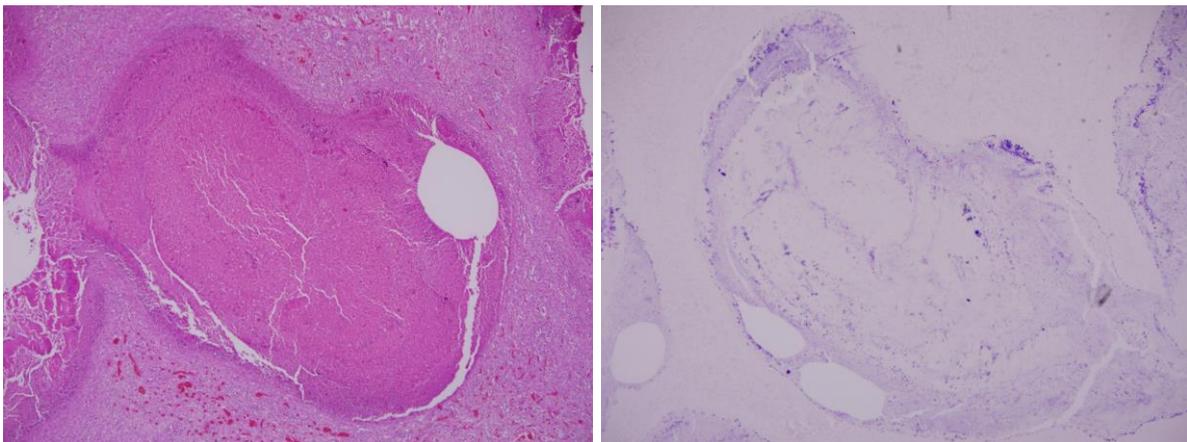


図 4 肺の病理組織像 (HE 染色 (左) およびグラム染色 (右))

3 細菌学的検査成績

一般細菌検査では、肺から α 溶血性を示すグラム陽性球菌が多数分離され、簡易同定キットにより、*S. suis* と判定された（プロファイル：4740473、同定確率：99.2%）。分離菌を *S. suis* 特異的 PCR 検査に供したところ、*S. suis* 35 種類全ての血清型をターゲットとする Okwumabua らの方法¹⁸⁾では陽性であったが、20、22、26、32、33、34 型以外の血清型をターゲットとする Ishida らの方法¹⁹⁾では陰性であった（図 5）。分離菌は *S. suis* とは異なる菌種であることが示唆されたため、16S rRNA 遺伝子部分塩基配列（1,514bp）を決定し、EzTaxon-e²⁴⁾（<http://eztaxon-e.ezbiocloud.net>）により解析を行った。その結果、既知の全ての種の基準株とは相同性 97%以下であった。一方、BLAST（<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/BLAST>）を用い、データベース上の全ての株との相同性を確認した結果、*S. suis* H23-Yamagata-NS978 株（血清型 33 型）とは 99.9%、*S. suis* 血清型 33 型参考株とは 99.1%の相同性を示し、これら 2 株以外に相同性 98%以上を示す株は確認されなかった。以上のことから、本分離菌は *S. suis* 血清型 33 型参考株に近縁な、既知の種に属さないレンサ球菌属菌と同定された。

マイコプラズマ検査では、肺から *M. dispar* 特異遺伝子が検出された。

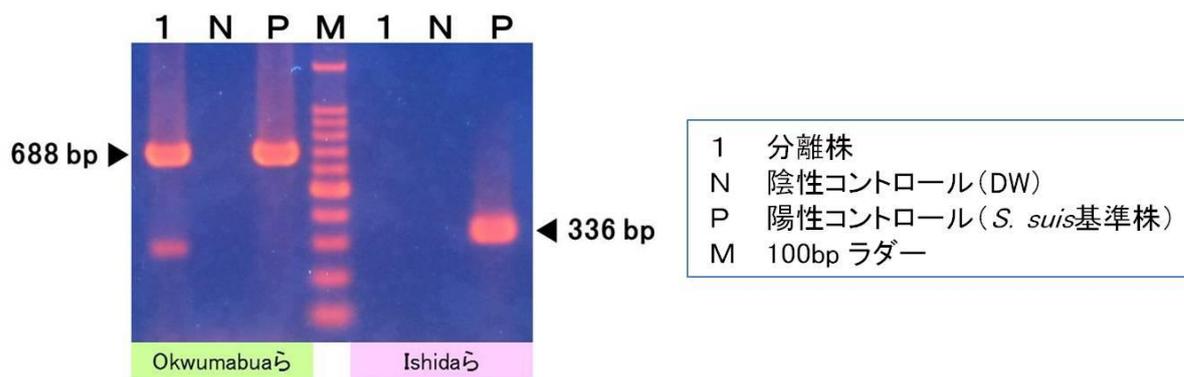


図 5 分離株の *S. suis* 特異的 PCR 検査成績

4 ウイルス学的検査成績

ウイルス分離および Pesti ウイルス RT-PCR 検査ともに陰性であった。

V 診断

以上の成績から、本症例を既知の種に属さないレンサ球菌属菌および *M. dispar* による膿瘍形成を伴う肺炎と診断した。今回は単発の発生であったため、特別な防疫対応は取らなかったが、その後、同様の呼吸器病の発生は認めていない。

VI *S. suis* 血清型 33 型参考株および野外分離株の簡易同定キット成績比較

今回の分離株は 16S rRNA 遺伝子解析により最終同定された。しかし、家畜保健衛生所等の現場で日常的に用いられている簡易同定キットによっても、同定の根拠たり得る成績が得られるのかどうか、*S. suis* 血清型 33 型参考株および野外分離株を用い検証を行った。

(1) 供試株

検証には、*S. suis* 血清型 33 型参考株、本県分離株、他県分離株 14 株（山形県 1 株・長崎県 8 株・福島県 5 株）の計 16 株を用いた（表 1）。なお、これら 16 株は、その 16S rRNA 遺伝子配列が互いに 98.9~99.9%と高い相同性を示し、遺伝子解析上、同一菌種であることを確認している。

表 1 供試株一覧

株名	株名2	分離年	畜種	病態など	参考文献
33型参考株	EA1832.92	1995年以前	羊	関節炎	13, 14
埼玉	-	2014年	肉牛(黒毛和種)	肺炎	
山形	H23-Yamagata-NS978	2011年	肉牛(黒毛和種)	疣贅性心内膜炎	8
長崎①	-	2013年	肉牛(黒毛和種)	肺炎	16
長崎②	-	2013年	肉牛(黒毛和種)	肺炎	16
長崎③	1	2013年	肉牛(黒毛和種)	呼吸器症状	17
長崎④	2	2013年	肉牛(黒毛和種)	呼吸器症状	17
長崎⑤	6	2013年	肉牛(黒毛和種)	呼吸器症状	17
長崎⑥	8	2013年	肉牛(黒毛和種)	健康	17
長崎⑦	9	2013年	肉牛(黒毛和種)	健康	17
長崎⑧	12	2013年	肉牛(黒毛和種)	環境材料(哺乳ロボット)	17
福島①	3	2012年	肉牛(黒毛和種)	肺炎	15
福島②	4	2012年	肉牛(黒毛和種)	内耳炎	15
福島③	5	2012年	肉牛(黒毛和種)	肺炎	15
福島④	2	2011年	肉牛(黒毛和種)	肺炎	15
福島⑤	1	2005年	肉牛(黒毛和種)	腹膜炎	15

(2) 検証項目

各株の簡易同定キットによる陽性項目および同定確率を比較した。本県分離株以外の株については、論文として発表されているデータ^{8, 13, 15}、または、株を分離した検査機関から直接提供頂いたデータを用いた。

(3) 成績

簡易同定キットでは全ての株が *S. suis* と判定された。しかし、その陽性項目や同定確率は株により様々であり、16 株が 12 パターンに分かれた（表 2）。分離地域や分離年にも特段の傾向は認めなかった。簡易同定キットでは *S. suis* と判定される以上の、同定に有用な情報は得られず、本菌の同定のためには 16S rRNA 遺伝子解析の実施が必要であることが明らかとなった。

表 2 各株の簡易同定キットによる陽性項目および同定確率

株名	ESC	PYRA	α GAL	β GAL	LAP	ADH	RIB	MAN	INU	RAF	AMD	同定確率 (%)
33型参考株	+	+	+	-	+	+	-	-	+	-	+	99.9
埼玉・山形	+	+	+	-	+	-	-	-	+	+	+	99.2
長崎①・②	+	-	+	-	+	-	-	-	+	+	+	97.3
長崎③・④	+	-	-	-	+	-	-	-	+	-	+	95.8
長崎⑤	+	+	-	-	+	-	+	-	+	-	+	57.9
長崎⑥	+	+	+	-	+	-	-	+	+	+	+	98.4
長崎⑦・⑧	+	+	-	-	+	-	-	-	+	-	+	97.3
福島①	ND	ND	+	-	ND	-	-	-	ND	+	ND	99.6
福島②	ND	ND	+	-	ND	+	-	-	ND	+	ND	99.9
福島③	ND	ND	+	+	ND	+	-	-	ND	-	ND	87.3
福島④	ND	ND	+	-	ND	-	-	-	ND	-	ND	99.4
福島⑤	ND	ND	+	-	ND	-	-	-	ND	-	ND	98.2

※ [全株陽性] β GUR, LAC, TRE, GLYG [全株陰性] VP, HIP, PAL, SOR, ARA, β HEM

VII まとめおよび考察

2014 年、県内では初めて、*S. suis* 血清型 33 型参考株に近縁な、既知の種に属さないレンサ球菌属菌が子牛の肺炎症例から分離された。当該個体は初乳未摂取という易感染状態にあったこと、発症から死亡までの経過が長いこと、また、肺からは *M. dispar* も検出されたことから、今回分離株の病原性の程度は不明である。しかし、複数頭の子牛が肺炎を発症し、しかも比較的急性経過で死亡した事例¹⁰⁾も報告されていることから、本菌は注意を要する病原体であると考えられる。本菌に関しては病原性の程度に加え、牛での保菌率等の疫学的な情報も不足していることから、今後も症例・データの集積が必要とされる。

データの集積のためには、本菌を正しく同定することが必要であるが、本菌は簡易同定キットのみでは *S. suis* と区別が付かない。牛からは血清型 33 型以外の *S. suis* も分離される^{5,7,9,11)}ため、例え分離株が簡易同定キットで *S. suis* と判定されても、必ず追加の検査が必要となる。本菌の同定に必要な 16S rRNA 遺伝子解析は、最近では広く実施されるようにはなってきたものの、家畜保健衛生所における日常業務の中で実施するにはまだまだ難しい検査である。PCR 検査等の簡便に実施可能な同定法の開発が望まれる。

VIII 謝辞

本県分離株の 16S rRNA 遺伝子解析を実施頂いた動物衛生研究所の大倉正稔先生、および野外分離株の検査データを提供頂いた福島県県中家畜保健衛生所および長崎県中央家畜保健衛生所の関係各位に深謝いたします。

IX 参考文献

- 1) 明石ら編集：牛病学<第三版>, 近代出版, 309-314 (2013)
- 2) 舛下ら：乳用牛の細菌性胎盤炎による流産例, 臨床獣医, 32, 22-24 (2014)
- 3) 矢島ら：栃木県における過去 3 年間における牛の流・死産に関する病理組織学的病因解析, 臨床獣医, 32, 18-21 (2014)
- 4) Seimiya et al. : Clinicopathology of meningoventriculitis due to *Streptococcus bovis* infection in neonatal calves, J Vet Med Sci, 54, 871-874 (1992)
- 5) Hampson et al. : Population structure of Australian isolates of *Streptococcus suis*, J Clin Microbiol, 31, 2895-2900 (1993)
- 6) 青野ら： *Streptococcus suis* が分離された乳用雄子牛の化膿性髄膜炎の 1 症例, 日獣会誌, 44, 802-805 (1991)
- 7) 荻野ら： *Streptococcus suis* type 15 が分離された乳用牛の流産例, 日獣会誌, 47, 737-740 (1994)
- 8) 佐藤ら：牛の心内膜炎から分離された *Streptococcus suis* type 33, 日獣会誌, 66, 195-199 (2013)
- 9) Gottschalk et al. : Description of 14 new capsular types of *Streptococcus suis*, J Clin Microbiol, 27, 2633-2636 (1989)
- 1 0) Higgins et al. : Isolation of *Streptococcus suis* from cattle, Can Vet J, 31, 529 (1990)
- 1 1) Kataoka et al. : The epidemiological studies of *Streptococcus suis* infections in Japan from 1987 to 1991, J Vet Med Sci, 55, 623-626 (1993)
- 1 2) Hill et al. : Biochemical analysis, cpn60 and 16S rDNA sequence data indicate that *Streptococcus suis* serotype 32 and 34, isolated from pigs, are *Streptococcus oriratti*, Vet Microbiol, 25, 63-69 (2005)
- 1 3) Tien et al. : Reappraisal of the taxonomy of *Streptococcus suis* serotype 20, 22, 26, and 33 based on DNA-DNA homology and *sodA* and *recN* phylogenies, Vet Microbiol, 162, 842-849 (2013)
- 1 4) Higgins et al. : Description of six new capsular types (29-34) of *Streptococcus suis*, J Vet Diagn Invest, 7, 405-406 (1995)
- 1 5) 大西：牛由来 *Streptococcus suis* 様菌の解析, 福島県, 平成 24 年度家畜保健衛生業績発表会, 54-56 (2012).

- 1 6) 木山ら：既知の種に属さないレンサ球菌属菌が関与した細菌性肺炎，長崎県，平成 25 年度家畜保健衛生業績発表会，45-47 (2013)
- 1 7) 下條ら：肉用牛から分離された既知の種に属さないレンサ球菌の疫学解析および同定法の検討，長崎県，平成 25 年度家畜保健衛生業績発表会，48-51 (2013)
- 1 8) Okwumabua et al. : A polymerase chain reaction (PCR) assay specific for *Streptococcus suis* based on the gene encoding the glutamate dehydrogenase, FEMS Microbiol, 218, 79-84 (2003)
- 1 9) Ishida et al. : Development of an appropriate PCR system for the reclassification of *Streptococcus suis*, J Microbiol Methods, 107, 66-70 (2014)
- 2 0) Subramaniam et al. : Species identification of *Mycoplasma bovis* and *Mycoplasma agalactiae* based on the *uvrC* genes by PCR, Mol Cell Probes, 12, 161-169 (1998)
- 2 1) Kobayashi et al. : *In vitro* amplification of the 16S rRNA genes from *Mycoplasma bovirhinis*, *Mycoplasma alkalescens* and *Mycoplasma bovigenitalium* by PCR, J Vet Med Sci, 60, 1299-1303 (1998)
- 2 2) Mori et al. : Detection of *Mycoplasma dispar* from pneumonic lungs of beef cattle, Japanese Journal of Mycoplasmaology, 25, 78-80 (1998)
- 2 3) Vilcek 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, 309-323 (1994)
- 2 4) Kim et al. : Introducing EzTaxon-e: a prokaryotic 16S rRNA gene sequence database with phylotypes that represent uncultured species, Int J Syst Evol Microbiol, 62, 716-721 (2012)

12 県内酪農家で発生した趾乳頭腫症の一症例

中央家畜保健衛生所

○平野 晃司

I はじめに

趾乳頭腫症は後肢の趾間隆起部付近に好発する皮膚病である。フリーストール飼養の泌乳初期の経産乳牛に多く、高温多湿となる夏季に多いと言われている^{1,2,4,5)}。罹患牛は疼痛による跛行のほか、乳量減少を呈し、一度農場内に蔓延すると再発、慢性化することが多く、大きな経済的損失をきたす疾病とされている^{1~3)}。病因および発生機序は特定されていないが、罹患牛の病変部から *Treponema* 属などのスピロヘータが分離されることが多いため、スピロヘータ様細菌の関与が疑われている^{10~12)}。感染経路は解明されていないが、汚染された牛床から、創傷感染により、農場内に蔓延することが考えられている^{4~6)}。治療は病変部の外科的な切除とオキシテトラサイクリン、エリスロマイシン等の抗生物質の塗布、噴霧、および5%硫酸銅等の脚浴が一般的である。しかし、効果は一時的で、再発や慢性化することが多いと言われている^{4,5)}。

本症の発生は1974年にイタリアで初めて報告⁸⁾され、国内では1993年に群馬県が報告⁹⁾している。今回、県内で初めて本症と診断した事例を報告する。

II 発生概要

1 農場の概要

発生農場は搾乳牛146頭、育成牛54頭、子牛32頭を飼育している。フリーストール牛舎で、敷料には戻し堆肥を使用している。削蹄は年2回実施している。

2 発生概要

当該農場では、2008年頃から跛行を呈する搾乳牛が散見されていた。2013年5月27日、搾乳牛群の半数近くに跛行の牛を認めたため、病性鑑定を実施した。

III 材料および方法

2013年5月27日、跛行の認めた牛群のうち、症状の顕著な1頭(ホルスタイン、34ヵ月齢、雌)を病性鑑定に供した。

病変部を外科的に採材し、10%中性緩衝ホルマリン液に浸漬後、病理組織学的検査を実施した。病理標本を作成し、ヘマトキシリン・エオジン(HE)染色、ワーチン・スターリー染色および抗 *Treponema pallidum* 家兎血清を用いた免疫組織化学的検査を実施した。

IV 成績

1 罹患部の肉眼所見

後肢の趾間隆起部付近に、白色から乳白色で疣状の乳頭突起物が認められた。また、病変部周囲には発赤がみられた (図 1)。

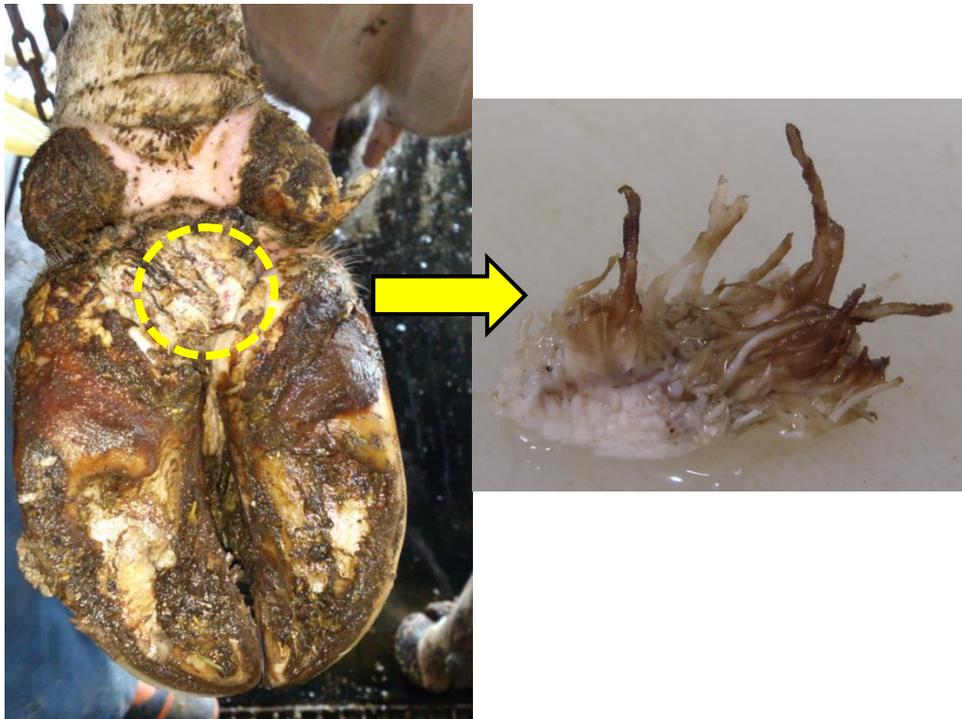


図 1 左：後肢罹患部、右：採材した病変部 (ホルマリン固定後)

2 病理組織学的所見

表皮の乳頭状増殖とびらんが中等度から重度に認められた (図 2)。表皮は錯角化により、角質層から有棘細胞層の肥厚が顕著に認められた。ワーチン・スターリー染色では、角質層と有棘細胞層の細胞間隙に黒色のらせん菌が認められた (図 3)。抗 *Treponema pallidum* 家兔血清を用いた免疫組織化学的検査では、らせん菌に一致して陽性反応が認められた (図 4)。その他、びらんの認められた部位では、出血を伴った好中球の浸潤が認められた。



図 2 後肢趾間部皮膚 (HE 染色)

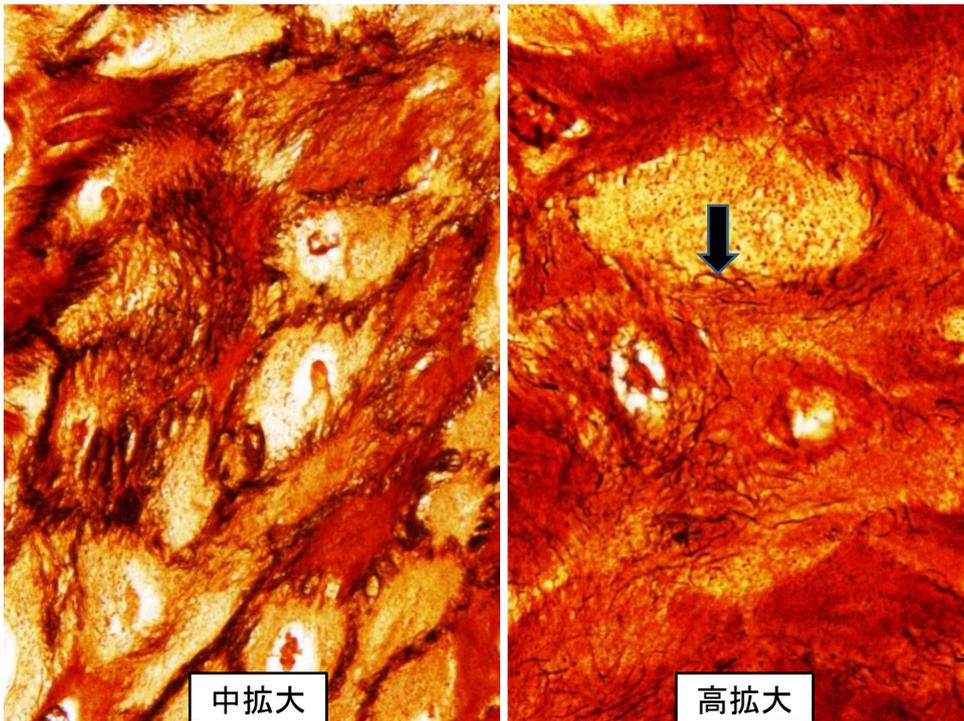


図 3 後肢趾間部皮膚有棘細胞層
(ワーチン・スターリー染色 矢印：らせん菌)

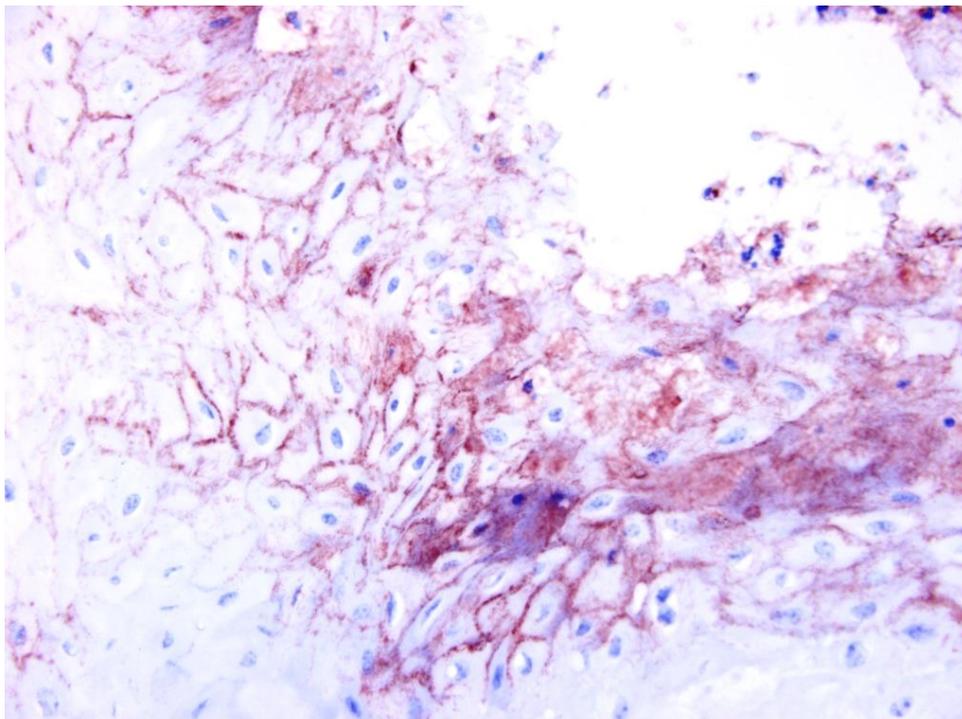


図 4 後肢趾間部皮膚有棘細胞層

(抗 *Treponema pallidum* 家兔血清を用いた免疫組織化学的検査 中拡大)

V 診断後の疾病対策およびその後の聞き取り調査

1 診断後の疾病対策

(1) 罹患牛の治療法

重症の牛に対しては、病変部を外科的に切除し、リンコマイシンの塗布を行った。

(2) 予防および衛生対策

搾乳時の牛の通路に硫酸銅やホルマリンを使用した踏み込み槽を設置し、脚浴を行った。その他、当該農場では、牛床の衛生管理のため、戻し堆肥の石灰消毒を行っている。

2 その後の聞き取り調査

(1) 疾病対策の効果

診断から約 28 ヶ月後となる 2014 年 10 月 14 日、農場の畜主から、治療牛の予後について聞き取りを行った。結果、治療牛の再発例や新たな蔓延は確認されなかった。

(2) 発生原因の調査

当該農場では、2008 年頃まで牛の導入をしており、畜主の記憶では、本症を疑う所見を呈した牛に気付いたのも同時期であった。したがって、罹患牛の導入により、農場内に本症の病原体が侵入したことが示唆された。

VI まとめおよび考察

今回、県内で初めて趾乳頭腫症と診断した事例となった。本症の病因については、*Treponema* 属などスピロヘータ様細菌の関与が疑われている^{10~12)}。今回の免疫組織化学的検索でも、*T. pallidum* に共通した抗原性を示したことから、過去の報告^{2,4,5,10)}と同様に、本例も *Treponema* 属またはその近縁のスピロヘータによる関与が疑われた。

当該農場での発生原因については、罹患牛の導入により、農場内に本症の病原体が侵入したものと推察された。過去の報告でも、罹患牛の導入が原因であったと考えられる事例¹⁰⁾が多い。よって、導入の際には、導入牛の罹患状況の確認等、農場内への病原体の侵入を防止することが必要となる。

また、本症がフリーストール農場に蔓延した場合の農場内対策としては、罹患牛の治療、衛生管理および病原体の侵入防止対策を総合的に組み合わせた取り組みによって効果をあげた事例⁷⁾も報告されている。当該農場でも対策の効果は出ており、現在のところ、再発例は確認されていない。しかし、今後も継続的な対策および予後観察は必要と考えられる。

VI 謝辞

御助言および免疫組織化学的検査にご協力頂いた独立行政法人 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 芝原友幸先生に深謝いたします。

VII 参考文献

- 1) 全国家畜衛生職員会：病性鑑定マニュアル第3版, 農林水産省消費安全局監修, 日本ハイコム, 174-175 (2008)
- 2) 日本獣医病理学会：獣医病理組織カラーアトラス, 文永堂出版, 241 (2007)
- 3) 西村晃豊：家畜診療, 57 (7), 395-399 (2010)
- 4) 文永堂出版：獣医感染症カラーアトラス第2版, 146-148 (2006)
- 5) 明石博臣, 江口正志, 神尾次彦, 加茂前秀夫, 酒井 豊, 芳賀 猛, 眞鍋 昇：牛病学第三版, 近代出版, 291-292 (2013)
- 6) Jennifer H Wilson-Welder, Margaret K Elliott, Richard L Zuerner, Darrell O Bayles, David P Alt and Thad B Stanton : Biochemical and molecular characterization of *Treponema phagedenis*-like spirochetes isolated from a bovine digital dermatitis lesion, *BMC Microbiology*, Vol. 13 Issue 1, p1 (2013)
- 7) 佐藤菜摘美, 仲山美樹子, 今井杏子, 馬上 斉, 小見 清, 中田 稔：フリーストール農場でまん延した趾乳頭腫症対策とその効果, 平成 23 年度新潟県家畜保健衛生業績発表集録, 11-14 (2012)
- 8) Cheli R, Mortellaro CM: Proceeding of 8th International Congress on Diseases of Cattle, Milan, Italy, 208 (1974)
- 9) 木村容子, 高橋正博, 松本尚武, 佃秀明, 佐藤雅彦, 大河原潔, 鹿江雅光, 後藤直彰, 久保正法, 青木修, 幡谷正明：獣畜新報, 46, 899-906 (1993)
- 10) 永井文紀, 太田浩運, 藤本勝久, 阿部英雄, 宗像 巧, 安倍健彦, 田中 実, 伊藤 篤, 山

本康朗, 安達達哉, 小岩政照, 谷山弘行, 菊池直哉, 草場信之: トレポネーマ様らせん菌による乳牛の疣状皮膚炎および趾乳頭腫症の集団発生, 日獣会誌, 53 : 577-581 (2000)

1 1) Read DH, Walker RL, Castro AE, Sundberg JP, Thurmond MC : Vet Rec, 130, 59-60 (1992)

1 2) Walker RL, Read DH, Loretz KJ, Nordhausen RW : Vet Microbiol, 47, 343-355 (1995)

13 光・熱および振動感作が血清中ビタミン A・E 濃度に及ぼす

影響

中央家畜保健衛生所

○畠中 優唯・御村 宗人

I はじめに

ビタミン A (VA) およびビタミン E (VE) は、発育や繁殖に関わるビタミンである。VA は視覚維持や骨の発育、繁殖機能維持に関与し、特に肉牛では脂肪の入り方に影響を与える。VE は粗飼料摂取量の指標となり、体内では抗酸化作用を示す。これらのビタミンは熱や光などによって失活する^{1,2)}。したがって、血清中 VA・VE 濃度を測定する際には、検体の取扱いに注意を要する。しかし、測定成績に影響を与える因子にはいくつか報告がある^{4~7)} もの、依然として不明な点が多い。そこで今回、採血から血清分離までの時間、および血清への直接感作が、血清中 VA・VE 濃度に与える影響を検証した。

II 採血から血清分離までの時間が血清中 VA・VE 濃度に与える影響

1 材料および方法

平成 26 年 8 月、搾乳牛 10 頭から採血後、アルミホイルで検体を遮光し、外気温 35°C 下で静置した。採血から 0.5、1、1.5、2 時間後に血清分離を実施し、血清中 VA・VE 濃度を測定した。濃度測定には高速液体クロマトグラフィー (HPLC) 法³⁾ を用い、レチノールを VA の、 α -トコフェロールを VE の指標とした。測定後、0.5 時間後に血清分離を実施した時の VA・VE 濃度と、各感作時間での値について、t-検定により、統計処理を実施した。

2 成績

血清分離を 0.5 時間後に実施した時の血清中 VA・VE 濃度と、1、1.5、2 時間後に血清分離した検体の濃度間に、有意な差はみられなかった (図 1)。

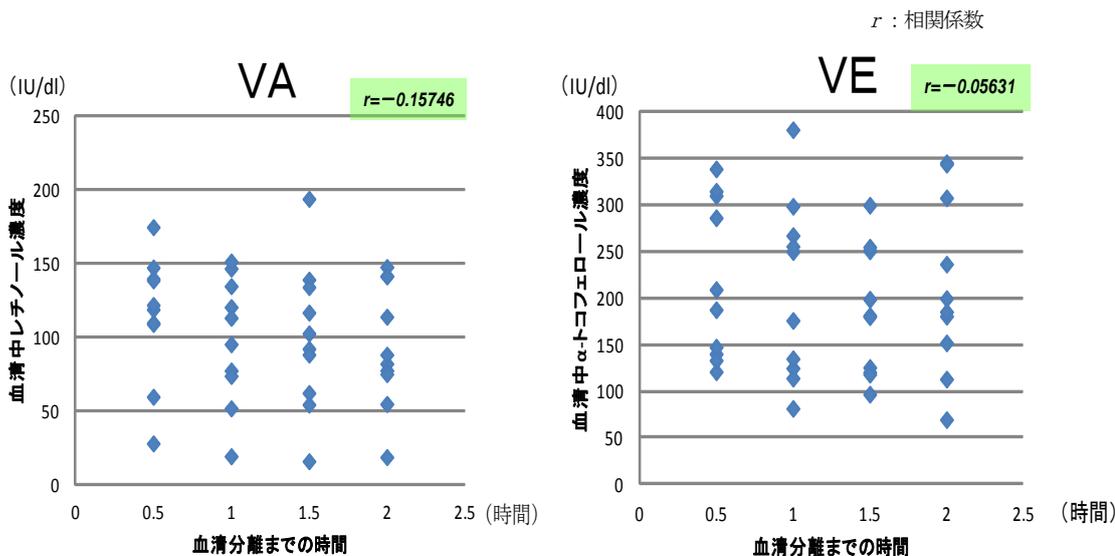


図 1 血清分離までの時間が及ぼす影響

III 血清への直接感作が血清中 VA・VE 濃度に与える影響

1 材料および方法

2時間以内に分離を実施した搾乳牛血清 58 検体の VA・VE 濃度を測定した。その後、両濃度を元に、高濃度区 (H 区)、中濃度区 (M 区)、低濃度区 (L 区) の 3 段階に区分し、各区毎にプール血清を作製後、 -20°C で凍結保存した。これらのプール血清を融解後、次の感作を加えた。

(1) 太陽光曝露

外気温 31°C の晴れた日に、室温 26°C の実験室内の直射日光が当たる窓際に、0、10、20、30、40、50、60 分間、遮光せずに検体を放置した。

(2) 蛍光灯曝露

室温 26°C の実験室内で、直射日光の当たらない実験台の上に静置し、0、10、20、30、40、50、60 分間蛍光灯を曝露した。

(3) 熱感作

検体を遮光し、冷蔵庫 (4°C)、室温 (26°C)、ヒートブロック (30°C 、 35°C) にそれぞれ 10 分間放置した。

(4) 振動感作

凍結融解した検体を、保冷材入りのクーラーボックスに入れ、振とう機にボックスごと固定した。その後、毎分 0、50、70、80、100、120 回の振とうを、10 分間ずつ加えた。

各感作後、それぞれの血清中 VA・VE 濃度を 3 回ずつ測定し、平均値を算出した。測定は、平成 26 年 10 月に実施し、II-1 と同様、HPLC 法を用い、結果は t-検定により、統計処理を行った。

2 成績

(1) 太陽光曝露 (図 2)

血清中 VA 濃度については、いずれの濃度区においても、曝露開始後 20 分から 30 分経過すると、減少し始めた。特に H 区よりも、濃度の低い M 区および L 区の方が、早く減少し始めた。また、50 分以上の曝露で、全濃度区において、非曝露群より有意に濃度が減少した。曝露 0 分の濃度を 100 としたとき、曝露 60 分では、52% (全濃度区平均) まで減少した。

血清中 VE 濃度については、統計学的に有意な差はみられなかったが、全濃度区において、50 分以上の曝露で濃度が減少した。

以上より、太陽光は、血清中 VA・VE 濃度を低下させることが分かった。特に VA 濃度に関しては、太陽光曝露時間と減少率に相関性がみられ、また、低濃度の方が、太陽光の影響を受けやすかった。

(2) 蛍光灯曝露 (図 3)

蛍光灯曝露による血清中 VA・VE 濃度の変化は認められなかった。

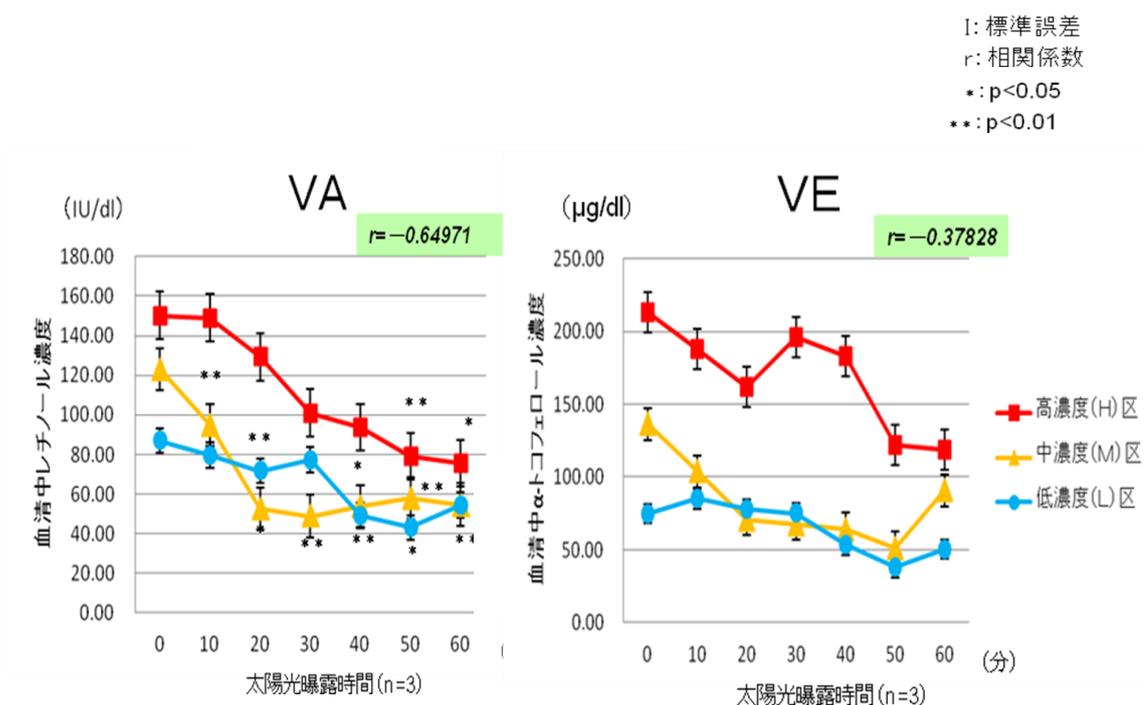


図 2 太陽光曝露の影響

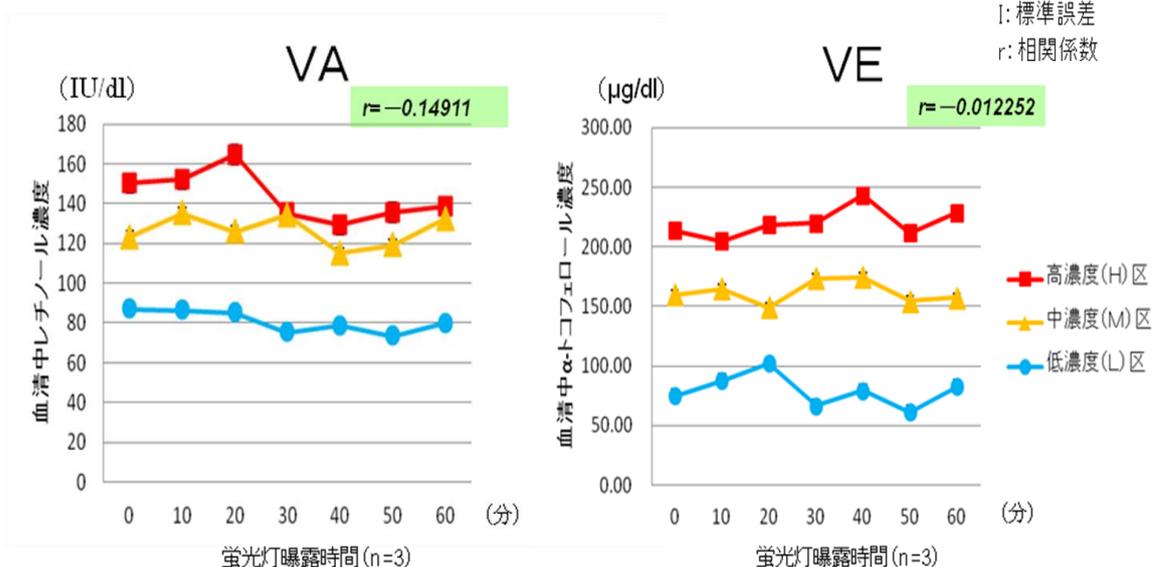


図3 蛍光灯曝露の影響

(3) 熱感作 (図4)

血清中 VA 濃度については、26℃以上の感作で、H 区および L 区の濃度が、無感作の場合と比較し、有意に減少した。また、温度が高いほど、減少率も高かった。

血清中 VE 濃度については、統計学的に有意な差はなかったが、30℃以上の感作で、M 区および L 区の濃度が減少した。

また、VA・VE のいずれにおいても、L 区の減少幅が他の濃度区に比べ、大きい傾向にあった。

(4) 振動感作 (図5)

血清中 VA 濃度については、毎分 50 回の振とうで、H 区および M 区の濃度が有意に減少した。また、振とう回数を毎分 50 回以上に設定すると、濃度が低値で推移した。

血清中 VE 濃度については、毎分 100 回の振とうで H 区が、120 回の振とうで L 区が有意に減少した。また、H 区および L 区において、毎分 70 回の振とうで濃度の増加がみられたが、その原因は不明であった。

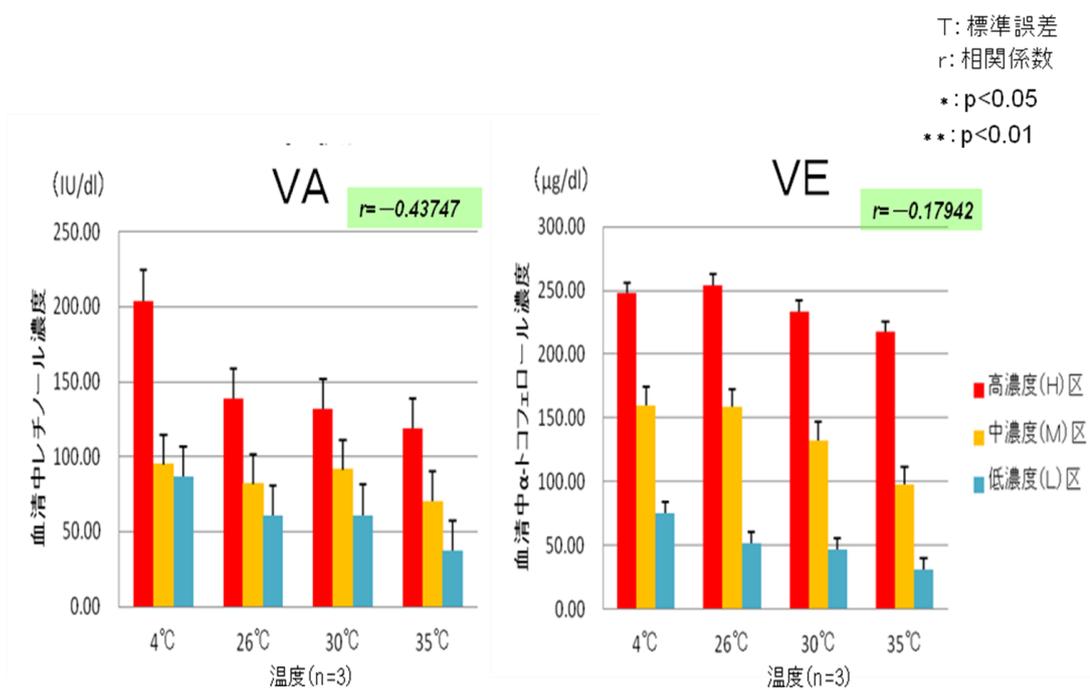


図 4 熱感作の影響

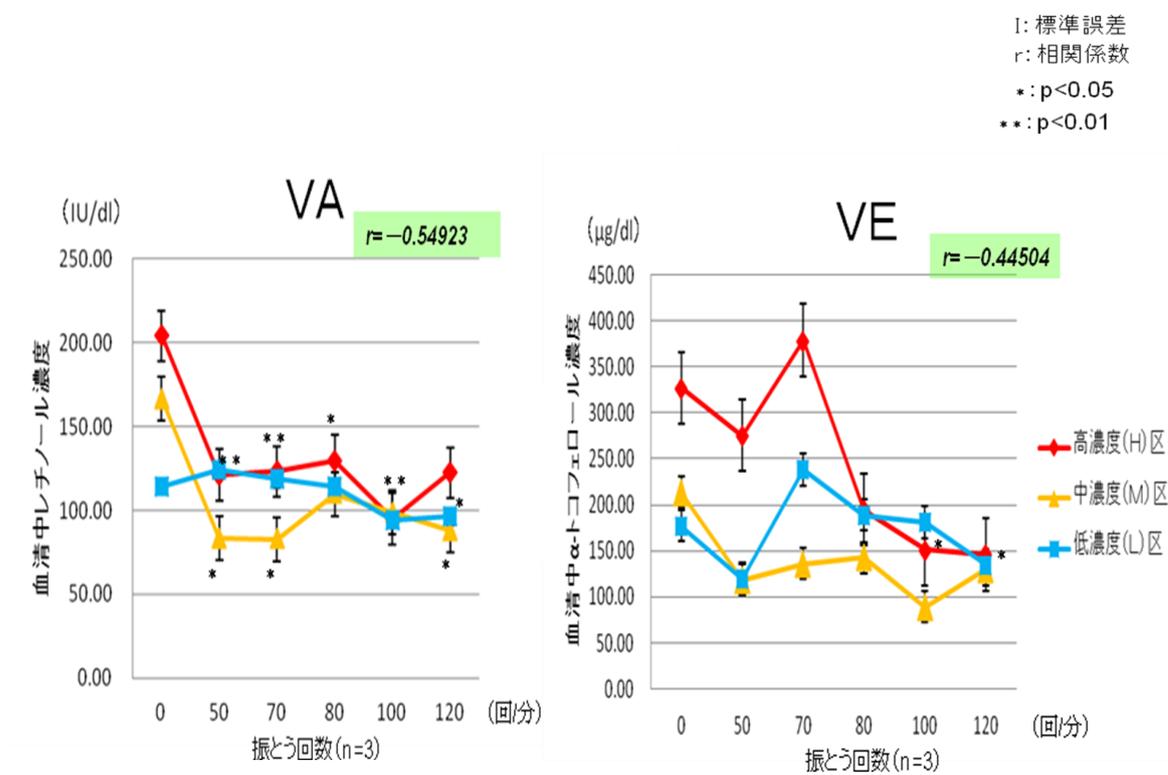


図 5 振動の影響

IV まとめおよび考察

平成 26 年 8 月から 10 月にかけて、光や熱などの感作が血清中 VA・VE 濃度に与える影響を調査した。過去の報告では、太陽光曝露、蛍光灯曝露、および熱感作が血清中濃度に与える影響が調査されている^{4~7)}。今回の成績とこれらの調査成績は概ね一致したが、一部異なる結果も得られた。

太陽光曝露では血清中濃度の減少が見られ、蛍光灯曝露では濃度変化がみられなかったことから、過去の報告^{4~7)}と同様、血清検体は直射日光からの遮光が必須であることが確認された。なお、鳩谷らは、LED の光でも、曝露 90 分後までは両濃度に変化がみられないことを確認している⁴⁾。さらに、太陽光曝露 0 分の濃度を 100 とした場合、太陽光曝露 60 分後の血清中 VA 濃度は、宮本らの報告⁶⁾では 7% (7 月測定)、今回は 52% (10 月測定)、鳩谷の報告⁴⁾では 77% (11 月測定) とばらつきがあった。また、9 月と 12 月に測定した報告では、9 月測定時の方が短時間の太陽光曝露で濃度が減少した⁷⁾。これらのことから、日射量もしくは日射強度によって、濃度変化に差が生じることが示唆された。その他に、日照による検体の温度上昇の影響も考えられた。低濃度の検体については、太陽光曝露による濃度変化がより大きいため、欠乏症を疑う場合は、直射日光が検体に当たらないよう、一層注意を払う必要があることも分かった。また、VE よりも VA の方が、太陽光曝露の影響を受けやすかったが、その理由は不明であった。

熱感作については、30℃以上の感作で、両濃度とも減少がみられた。しかし、非働化条件下(56℃ 30 分加熱)では有意な濃度変化はみられなかったとの報告⁴⁾もあることから、ビタミンの熱安定性や、結合タンパクの分解性などの検討も含め、更なる検証が必要である。

今回の検証では、血清中 VA・VE 濃度測定の際には、採血後、直ちに血清を分離する必要はないこと、具体的には、採血後、遮光して 35℃下に静置した場合、少なくとも 2 時間以内に血清分離を実施すれば、血清中 VA・VE 濃度への影響はなかった。したがって、採血から血清分離までの時間の目安は 2 時間以内とすることが望ましいと考えられた。

さらに、血清の振とう回数が増加するほど、濃度が減少する傾向にあったことから、血清分離後は、検体に振動を与えないよう工夫する必要があることも明らかとなった。濃度が減少した理由は、チューブ内の血清と空気が攪拌され、ビタミンが酸化したため、あるいは、堀の報告⁸⁾で示唆されたように、物理的な影響により、ビタミンと結合しているタンパクの構造が変化したためと考えられた。車で検体を運搬する際は、激しい振動を与えることは避けるべきである。

今回の検証では、測定成績にばらつきが見られた条件もあったため、今後は検体数を増やすとともに、血清分離前の振動感作や、凍結融解の頻度の影響なども検証し、より正確な測定が出来るよう検討を重ねていきたい。

V 参考文献

- 1) 川村清市ら：獣医内科学大動物編, 文永堂出版, 2005, 第一版：154-158, 311-312
- 2) 日本ビタミン学会編：ビタミン学 [I], 東京化学同人, 1989, 第四版：92-98, 208-216,

229-236

- 3) 日本ビタミン学会編：ビタミン学実験法[I], 東京化学同人, 1989, 第一版:23-26, 201-202

229-223

- 4) 鳩谷珠希ら：光および熱感作が牛血清中脂溶性ビタミン濃度に及ぼす影響. 和歌山県, 平成 2 4 年度家畜保健衛生・畜産技術検討会発表資料, 2012
- 5) 高野泰司ら：光および熱感作が牛血漿中脂溶性ビタミン濃度に及ぼす影響. 宮城県, 平成 2 2 年度家畜衛生研修会（生化学部門）資料, 2010, 11
- 6) 宮本純子ら：直射日光による牛血清ビタミンA濃度への影響調査. 香川県, 平成 2 1 年度家畜保健衛生業績発表資料, 2009
- 7) 松本拓也：各種の外感作が血清中脂溶性ビタミン濃度に与える影響. 姫路家畜保健衛生所広報「家畜衛生」, No. 151, 2013, 3
- 8) 堀明：振動のウサギ血液成分に及ぼす影響について. 東京女子医科大学雑誌, 1966, 36 (1/2), 1-6

14 展示施設で発生したシラコバトの *Yersinia pseudotuberculosis*

感染症

中央家畜保健衛生所

○北島 絵理子・平野 晃司・荒井 理恵

I はじめに

Yersinia pseudotuberculosis 感染症は、仮性結核とも呼ばれ、ヒトに下痢や腹痛などの胃腸炎症状を引き起こす人獣共通感染症である。動物の場合、多くは不顕性感染であり、ときに七面鳥、ノネズミ、サルなどに発症がみられる¹⁾が、今回、シラコバトで本症と診断した事例について報告する。シラコバトは、日本では埼玉県とその周辺に生息しており、国の天然記念物に指定されている²⁾。

II 発生概要

1 発生場所

当該施設は、県内の展示施設である。施設内のフライングケージでは、シラコバト 40 羽以外にオオフラミンゴやシロトキ、カルガモ等の鳥類が 9 種類飼育されていた。ケージ内には、一般客が入り、これらの鳥類を間近で観察することができる。また、当時、これらの鳥類には飲水として井戸水が給与されており、ケージ内にはノネズミの侵入が確認されていた。

2 発生経過

平成 25 年 12 月 2 日の朝、シラコバト 1 羽が死亡しているのが発見された。当該施設の管理獣医師が開腹したところ、肝臓全域に黄白色点の散在を認めたため、抗酸菌症を疑い、同日午後病性鑑定を依頼された。平成 25 年 12 月 24 日、さらに 1 羽の死亡が確認され、同様に病性鑑定を実施した。

III 材料および方法

1 材料

材料はシラコバトの死体 2 検体（ともに成鳥の雌）で、平成 25 年 12 月 2 日に死亡した 1 羽を No.1、同年 12 月 24 日に死亡した 1 羽を No.2 とした。

2 方法

(1) 病理学的検査

剖検し、病理組織学的検査を実施した。病理組織学的検査では、10%中性緩衝ホルマリン液浸漬後の諸臓器を用いて、ヘマトキシリン・エオジン染色 (HE 染色) での一般染色を行った。また、肝臓、脾臓、肺を材料に、PTAH 染色、グラム染色、アザン染色、チール・ネルゼン染色、グロコット染色、バルリンブルー染色、コンゴレッド染色での特殊染色および抗 *Y. pseudotuberculosis* 家兔血清を用いた免疫組織化学的検査を行った。コンゴレッド染色した標本は偏光顕微鏡下での鏡検を行った。

(2) 細菌学的検査

肝臓、脾臓および肺のスタンプ標本を作製し、チール・ネルゼン染色後、鏡検を行った。主要臓器 (肝臓、脾臓、腎臓、心臓、肺および脳) を材料に 5%羊血液加コロンビア寒天培地 (5%CO₂ 培養、48 時間、37°C および好気培養、24 時間、25°C) および DHL 寒天培地 (好気培養、24 時間、37°C および 25°C) で分離培養を行った。分離菌は、一次性状・簡易同定キット (アピ 20E) による同定後、一濃度ディスク法 (ABPC、CEZ、KM、GM、SM、CL、OTC、CP、ST、NFLX、ERFX) により薬剤感受性試験を行った。血清型別は、*Y. pseudotuberculosis* O 群抗血清を用いて、スライド凝集法により実施 (東京農工大学に依頼) した。

(3) ウイルス学的検査

No. 1、No. 2 の気管スワブおよびクロアスワブを抗生物質添加 Eagle's MEM (日水製薬 (株)) 2ml に浸漬し、乳剤とした。乳剤を 9~11 日齢発育鶏卵の尿膜腔内に接種し、37°C で 2 代 7 日間培養、鶏胚の異常の有無を確認した。また、培養後、尿膜腔液を採取、鶏赤血球を用いて赤血球凝集試験 (HA 試験) を実施した。

IV 検査成績

1 病理学的検査

(1) 剖検所見

No. 1 および No. 2 には、脱羽、外傷はなかった。2 羽ともに肝臓、脾臓および肺に針頭大黄白色点の散在を認め (図 1)、筋胃には食渣が充満していた。その他の臓器に著変は認められなかった。

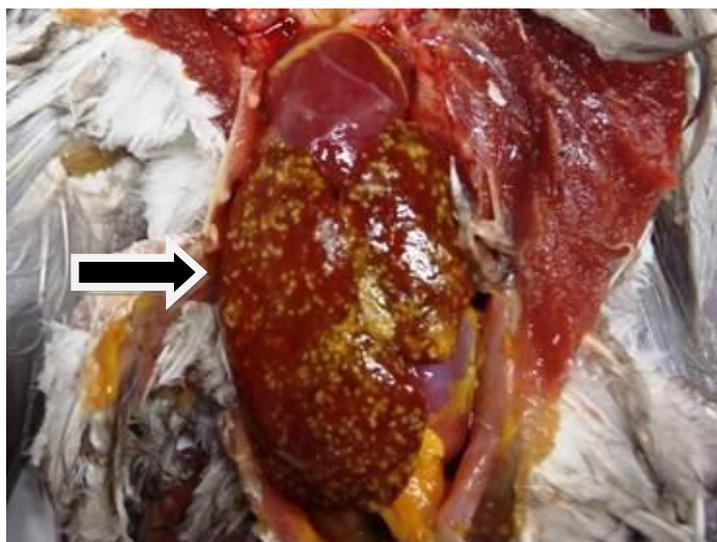


図 1：肝臓に散在する黄白色点

(2) 組織所見

No.1 および No.2 の所見はほぼ同様であった。肝臓では、多発性巣状壊死が認められた(図 2)。壊死巣は、中心部に菌塊、細胞退廃物を含み、その周囲には線維素の析出、偽好酸球、マクロファージおよび巨細胞の浸潤がみられた(図 3)。壊死巣中心部の菌塊は、グラム陰性桿菌であり、抗 *Y. pseudotuberculosis* 家兎血清を用いた免疫組織化学的検査では、陽性反応が認められた(図 4)。チール・ネルゼン染色で抗酸菌は確認されず、グロコット染色で真菌は認められなかった。壊死巣周囲は、アザン染色では軽度に青く染色された程度で、顕著な器質化がみられる部位はなかった。その他、一部の血管において、重度のフィブリノイド変性、中等度の血管壁の壊死、血管腔内の細胞退廃物貯留、血管周囲の線維素析出、偽好酸球浸潤および好酸性無構造物質の沈着が認められた。その好酸性無構造物質は、コンゴアレッド染色により、偏光顕微鏡下でわずかに緑黄色を示したことから、アミロイドであることが確認された。ベルリンブルー染色では、主に類洞のクッパー細胞の細胞質内にヘモジデリンの沈着を認めた。

肝臓以外の臓器では、脾臓および肺に多発性巣状壊死がみられ、小腸、大腸および深胸筋には軽度の巣状壊死がみられた。巣状壊死は脾臓で最も重度であった。脾臓および肺を材料に実施した抗 *Y. pseudotuberculosis* 家兎血清を用いた免疫組織化学的検査では、肝臓と同様に、壊死巣中心部の菌塊に一致して陽性反応が認められた。その他の臓器に著変は認められなかった。

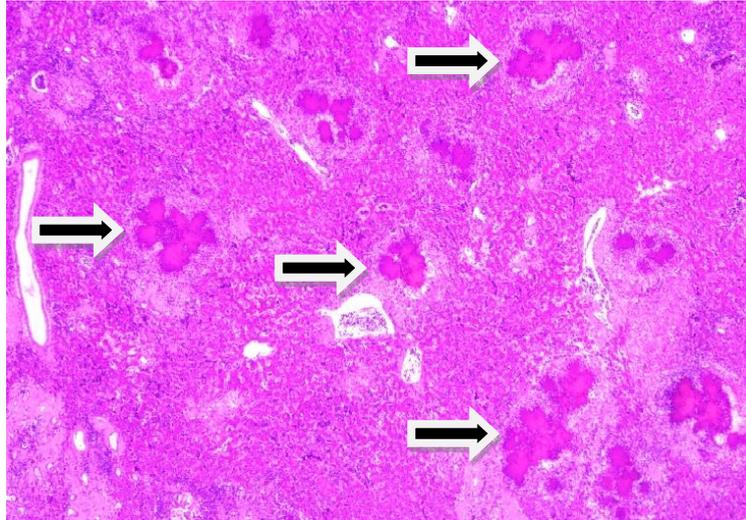


図 2 : 肝臓の多発性巣状壊死 (HE 染色、低倍像)

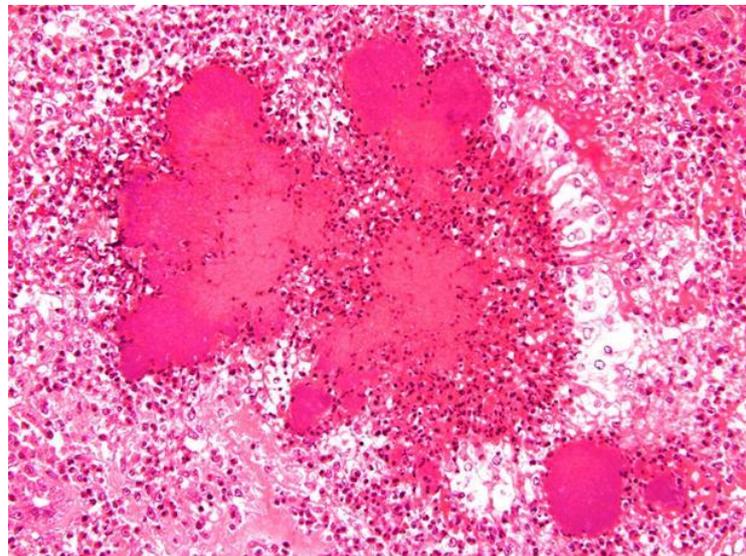


図 3 : 肝臓の壊死巣 (HE 染色、高倍像)

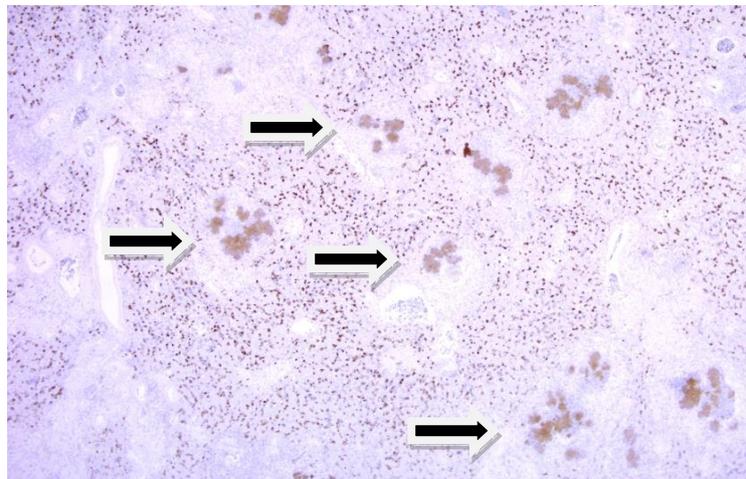


図 4 : 免疫組織学的検査

(矢印 : 陽性部位、周囲の茶褐色物質 : ヘモジデリン)

2 細菌学的検査

(1) 直接鏡検

肝臓、脾臓および肺の臓器スタンプ標本のチール・ネルゼン染色では、抗酸菌は認められなかった。

(2) 細菌分離

No.1、No.2ともに複数の臓器から *Y. pseudotuberculosis* が多量に分離された(表1)。*Y. pseudotuberculosis* の至適発育温度は 26℃から 28℃である³⁾ ことから、DHL 寒天培地では 25℃培養でのみ、その発育が認められた。その他有意な菌は分離されなかった。

表 1 : *Y. pseudotuberculosis* 分離成績

No.	培養温度	培地条件	肝	脾	腎	心	肺	脳
1	37℃	BA(CO ₂)	++++	++++	++++	—	++++	—
		DHL	—	—	—	—	—	—
	25℃	BA	++++	NT	NT	NT	++++	NT
		DHL	++++	NT	NT	NT	++++	NT
2	37℃	BA(CO ₂)	+++	+++	+++	++	+++	—
		DHL	—	—	—	—	—	—
	25℃	BA	+++	+++	NT	NT	+++	NT
		DHL	+++	+++	NT	NT	+++	NT

備考 培養時間はいずれも24時間
NT:未検査

(3) 分離菌の血清型別

分離菌の血清型は、No.1由来菌が 4b、No.2由来菌が 1b であった。

(4) 薬剤感受性試験

分離菌は、11種類の抗生物質のうち、CL以外に感受性を示した(表2)。

表 2 : 分離菌の薬剤感受性試験成績

No.	由 来	A	B	P	C	C	E	Z	KM	GM	SM	CL	OTC	CP	ST	NFLX	ERFX
1	肝臓	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S	S	S	+++
	肺	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S	S	S	+++
2	肝臓	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S	S	S	+++
	肺	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S	S	S	+++

備考 ・ S:感性, I:中間, R:耐性(++++:感性~ -:耐性)
・ ST:スルファメキサゾール・トリメプリム

3 ウイルス学的検査

鶏胚に異常はみられず、尿膜腔液の HA 試験も陰性であった。

V 診断

No.1 および No.2 に共通して、細菌学的検査で複数の臓器から *Y. pseudotuberculosis* が分離された。病理組織学的検査で肝臓等に多発性巣状壊死がみられ、抗 *Y. pseudotuberculosis* 家兔血清を用いた免疫化学組織学的検査が陽性であったことから、本症例を *Yersinia pseudotuberculosis* 感染症と診断した。

VI まとめと考察

鳥類の *Yersinia pseudotuberculosis* 感染症は、急性型と慢性型に大別される。急性型では、3～6 日の潜伏期を経て突発性下痢や急性敗血症をおこし、死亡する。病変としては、腸炎や肝臓および脾臓の腫大がみられる。それに対して慢性型では、2 週間以上の潜伏期を経て呼吸困難、下痢を呈し死亡する。病変として、腸炎、諸臓器、特に肝臓、脾臓、筋肉の粟粒状の壊死病巣がみられる⁴⁾。本症例では、No.1、No.2 の肝臓および脾臓に多発性巣状壊死がみられたことから、慢性型であると考えられた。また、慢性炎症の際には、アミロイド症が認められることがあり⁵⁾、No.1、No.2 の肝臓における血管周囲のアミロイドの沈着は、*Y. pseudotuberculosis* 感染に伴う病変と考察された。

本症は、感染動物の分泌・排泄物で汚染された土壌、飼料、水を介して伝播し、*Y. pseudotuberculosis* の体内への侵入は消化器あるいは創傷を介しておこる²⁾。今回、No.1 および No.2 に明らかな外傷がみられなかったため、*Y. pseudotuberculosis* は消化器から侵入したと考えられた。No.1 の小腸、大腸および深胸筋の壊死巣について、免疫化学組織学的検査は実施していないが、消化管が侵入経路と考えられること、筋肉は病変の好発部位である²⁾ ことから、いずれも病巣形成に *Y. pseudotuberculosis* が関与したと考察された。

Y. pseudotuberculosis は O 抗原により、1～15 の血清型に型別され、そのうち血清群 1、2、4 および 5 はさらに数亜群に分けられている⁶⁾。野鳥での本菌の国内分布について、ハシブトガラスの調査では、145 羽中 7 羽の盲腸内容から *Y. pseudotuberculosis* が分離され、その血清型がすべて 4b だったという報告があり⁷⁾、また、カモメの調査では、233 羽中 3 羽の糞便から *Y. pseudotuberculosis* が分離され、血清型がすべて 1b だったという報告もある⁸⁾。これらから、国内には *Y. pseudotuberculosis* 4b および 1b を保菌している野鳥が存在することが明らかとなっている。本症例の分離菌の血清型も 4b および 1b であったことから、当該施設のフライングケージでは、保菌野鳥の落下便や他種の保菌動物に接触する機会の多いノネズミなどの動物を介して土壌、飼料、水などの環境が汚染され、それらが本症例の感染源になった可能性が示唆された。

当該施設での対策として、本症は人獣共通感染症であるので、ヒトへの感染防止のため、フライングケージを閉鎖し出入りを禁止した。ノネズミの侵入を防ぐために、フライングケージ周辺に殺

鼠剤を設置し、飲水としての井戸水の使用を中止した。ケージ内に同居している鳥類に対しては、分離菌の感受性が確認されたエンロフロキサシンを飲水に混ぜて、4 日間経口投与を行った。これらの対策を継続したところ、およそ 1 か月間続発例はなく、フライングケージを一般開放した。しかし、施設の構造上、ノネズミの侵入を完全に防ぐことは困難であるため、今後も本症の監視を継続していく必要があると考える。

VI 謝辞

免疫組織化学的検査および特殊染色をしていただいた、独立行政法人 農業・食品産業技術総合研究機構 動物衛生研究所 病態研究領域の生澤充隆先生と、分離菌の血清型別をしていただいた、国立大学法人 東京農工大学大学院 農学研究院動物生命科学部門(兼務)農学部獣医学科獣医衛生学研究室の林谷秀樹先生に深謝いたします。

VII 参考文献

- 1) 小川益男, 金城俊夫, 丸山務: 獣医公衆衛生学<第 2 版>, 文永堂出版, 113-115, (2001)
- 2) 叶内拓哉: ポケット図鑑 日本の鳥 300, 文一総合出版, 168 (2005)
- 3) 明石博臣, 木内明男, 原澤亮, 本田英一: 動物微生物学, 朝倉書店, 196-198 (2008)
- 4) 清水悠紀臣, 鹿江雅光, 田淵清, 平棟孝志, 見上彪: 獣医伝染病学<第五版>, 近代出版, 294 (1999)
- 5) 日本獣医病理学会: 動物病理学各論, 文永堂出版, 62-63 (1998)
- 6) 坪倉操, 永野哲司: 仮性結核菌の血清群と, それに関するいくつかの何故?, 微生物の世界, 坪倉操, 平棟孝司, 金子賢一 編, 養賢堂, 東京, 57-70 (1997)
- 7) Y.OTSUKA, S.MAKINO, T.MARUYAMA, Y.OKADA: Isolation of *Yersinia pseudotuberculosis* from City-Living Crows Captured in a Zoo, *The journal of veterinary medical science* 56 (4), 785-786 (1994)
- 8) C.KANEUCHI, M.SHIBATA, T.KAWASAKI, T.KARIU, M.KANZAKI, T.MARUYAMA: Occurrence of *Yersinia* Spp.in Migratory Bird, Ducks, Seagulls, and Swallows in Japan.*Jpn.J.Vet.Sci.*51 (4), 805-808 (1989)

15 秩父高原牧場における牛呼吸器病対策について

秩父高原牧場

○金子 純高・福田 昌治・高田 新一郎

I はじめに

牛の呼吸器病は離乳、輸送、群飼いへの移行、気温の変化及び飼料の変更などの原因により発生リスクが増加する。また、当场のように時期を問わず年間を通して入牧を受け入れる随時入牧の形態をとっている預託牧場では常に病原体が侵入する危険性がある。ウイルスや細菌感染による呼吸器病はその後の育成に大きく影響を及ぼすとともに、肺炎に移行すると予後不良になるケースがあるため、育成牛における呼吸器病の発生予防は非常に重要である。今回、当场において発生した牛呼吸器病について分析し、その対策を実施したので報告する。

II 飼養状況と牛呼吸器病発生状況

1 飼養状況と牛呼吸器病ワクチン接種状況

当场では県内酪農家から受託した育成牛約 190 頭と、県有和牛約 50 頭を飼育している。受託牛と和牛は別々の離れた牛舎で飼育しており、受託牛は若齢や体調が悪い場合を除き、入牧後、牛舎で一定期間群飼いした後、放牧している。育成和牛は生後 3 カ月で離乳し、以後 2~3 頭を 1 つの牛房で約 10 カ月齢まで飼育している。呼吸器病対策として、受託牛では 5 種混合生ワクチンを入牧前に 1 回、育成和牛では 1 カ月齢及び 2 カ月齢で 5 種混合不活化ワクチンを接種している (表 1)。

2 牛呼吸器病発生状況

過去 3 年間の受託牛における呼吸器病発症日の入牧後日数をグラフで示した (図 1)。入牧後 30 日以内での発生数が全体の半数を占め、特に 15 日以内が最も多かった。

3 呼吸器病発症牛の農家別内訳

過去 3 年間の受託牛における農家別呼吸器病発生数をグラフで示した (図 2)。A 農家の受託牛は全 27 頭中 10 頭、約 37%を占め、最も多かった。なお、入牧時の平均月齢は A 農家が 5.0 カ月齢、その他の農家 (B~L) は 9.3 カ月齢であり、A 農家では他農家に比べ、若齢時に入牧していた。

表 1 接種ワクチン

区分	接種時期	ワクチン	牛伝染性 鼻気管炎 ウイルス (IBR)	牛RS ウイルス (RS)	牛パラインフ ルエンザ3型 ウイルス (PI3)	牛ウイルス性 下痢ウイルス 1	牛ウイルス性 下痢ウイルス 2	牛アデノ ウイルス 7型
受託牛	入牧前	5種混合 (生)	○	○	○	○		○
育成和牛	1、2カ月齢	5種混合 (不活化)	○	○	○	○	○	

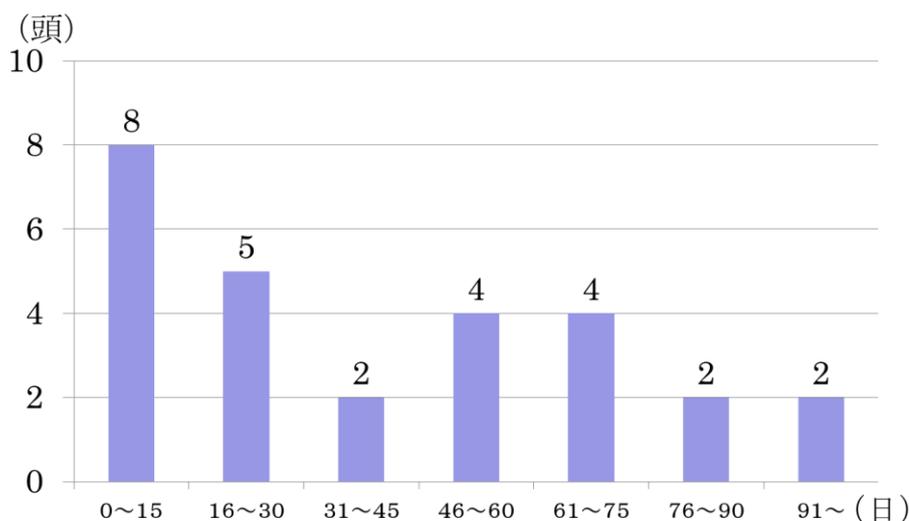


図 1 過去3年間の呼吸器病発症日の入牧後日数

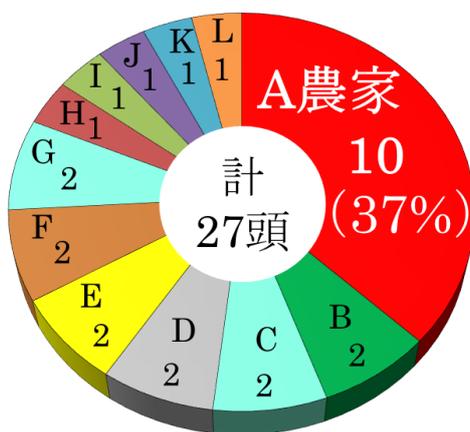


図 2 過去3年間の農家別呼吸器病発症数

III 平成 26 年度に実施した牛呼吸器病の病性鑑定

1 発生の概要

平成 26 年 3 月 7 日に A 農家から入牧した受託牛 (3 月入牧牛) 7 頭のうち 4 頭で入牧の約 1 週間後に発熱、発咳を認めた。このうち 2 頭は 4 月に入っても依然として症状がみられた。また、ほぼ同時期

に育成和牛 17 頭中 9 頭に同様の症状が 1 週間程度みられた。

平成 26 年 11 月には、受託牛及び育成和牛数頭で一過性の発咳、発熱、鼻汁を認めた。

2 材料と方法

3 月入牧牛 4 頭及び育成和牛 5 頭について、呼吸器病発生前後の 3～5 月に採取したペア血清を用いて牛呼吸器病関連ウイルス 4 種類(牛伝染性鼻気管炎ウイルス[IBR]、牛 RS ウイルス[RS]、牛パラインフルエンザ 3 型ウイルス[PI3]、牛ライノウイルス[ライノ])の中和抗体検査を実施した。また、11 月に発咳、発熱、鼻汁を認めた受託牛及び育成和牛各 2 頭から鼻腔スワブによる細菌及びウイルスの病原検査と、ペア血清によるウイルス中和抗体検査を実施した。

3 成績

3 月入牧牛の中和抗体検査では、4 頭全てで PI3 及びライノの抗体価に有意な上昇を認めた(表 2)。しかし、育成和牛では、いずれにおいても抗体価の有意な上昇は認められなかった。

11 月に発生した牛呼吸器病の検査では、受託牛及び育成和牛各 2 頭中各 1 頭の鼻腔スワブから *Mannheimia haemolytica* が有意に分離された(表 3)。また、受託牛からは RT-PCR において PI3 遺伝子の弱陽性バンドが確認されたものの、PI3 を含むウイルス抗体価に動きがなかったことから、今回の呼吸器病とは無関係と考えられた。

表 2 呼吸器病関連ウイルスの中和抗体価

3月入牧牛									
検体 No.	区分	IBR		RS		PI3		ライノ	
		発生前	回復期	発生前	回復期	発生前	回復期	発生前	回復期
1	発症牛	<2	<2	<2	<2	<2	4	<2	4
2	発症牛	<2	<2	<2	<2	<2	64	<2	64
3	未発症牛	<2	2	<2	<2	<2	32	<2	32
4	未発症牛	<2	<2	<2	<2	<2	64	<2	32
GM値		1.0	1.2	1.0	1.0	1.0	26.9	1.0	22.6

和牛育成牛									
検体 No.	区分	IBR		RS		PI3		ライノ	
		発生前	回復期	発生前	回復期	発生前	回復期	発生前	回復期
5	発症牛	<2	<2	<2	<2	<2	<2	<2	<2
6	発症牛	<2	<2	<2	<2	<2	<2	<2	<2
7	発症牛	<2	<2	<2	<2	2	4	4	<2
8	未発症牛	<2	<2	<2	<2	<2	<2	<2	<2
9	未発症牛	<2	<2	<2	<2	<2	<2	<2	<2
GM値		1.0	1.0	1.0	1.0	1.1	1.3	1.3	1.0

表 3 11 月発生の呼吸器病検査成績

No.	検体	分離細菌	検出ウイルス 遺伝子
1	受託牛①	<i>M. haemolytica</i>	PI3 ※
2	受託牛②	—	—
3	育成和牛①	<i>M. haemolytica</i>	—
4	育成和牛②	—	—

※弱陽性バンド

IV 抗体検査によるワクチンの評価

当場で実施しているウイルスワクチンを評価するため、抗体検査を実施した。

1 材料と方法

育成和牛 10 頭について、最終ワクチン接種後の月数と IBR、RS 及び PI3 の中和抗体価との関係について調べた。

また、ワクチン接種後の入牧に伴う移動や環境の変化が抗体価に及ぼす影響を調べるため、平成 26 年度に A 農家を含む 11 農家から入牧した受託牛 18 頭について、接種後 1～2 カ月の時点における中和抗体価と接種から入牧までの日数との関係について調べた。

2 成績

育成和牛では、最終ワクチン接種後 1～7 カ月時点で IBR 及び RS の抗体保有が認められなかった(表 4)。また、受託牛において発症頭数の多い A 農家では、入牧前のワクチン接種から 2 カ月後の時点で IBR 及び RS の抗体保有が認められなかった。一方、その他の農家(M～U)では、一部を除き、多くの牛に接種後 1～2 カ月の時点で RS の抗体保有が認められた。接種から入牧までの日数については、IBR、RS 及び PI3 のいずれにおいても抗体価との間に相関は認められなかった(表 5)。

表 4 育成和牛の最終ワクチン接種後月数と中和抗体価

検体 No.	接種後月数	IBR	RS	PI3
1	1.0	<2	4	4
2	1.0	<2	8	16
3	1.4	<2	<2	2
4	2.2	<2	<2	8
5	3.0	<2	<2	8
6	6.1	<2	<2	<2
7	6.4	<2	<2	2
8	6.6	<2	<2	<2
9	7.1	<2	<2	<2
10	7.3	<2	<2	<2

表 5 A 農家及びその他の農家における中和抗体価と接種から入牧までの日数

A 農家

検体 No.	農家	接種後日数	IBR	RS	PI3	接種～入牧日数
1	A	56	<2	<2	4	4
2	A	56	<2	<2	64	4
3	A	59	2	<2	32	4
4	A	60	<2	<2	4	4
5	A	59	<2	<2	4	6
6	A	59	<2	<2	<2	6

その他の農家

検体 No.	農家	接種後日数	IBR	RS	PI3	接種～入牧日数
7	M	38	<2	16	2	3
8	N	35	4	<2	8	7
9	L	35	<2	4	2	7
10	O	41	<2	<2	2	7
11	P	41	<2	<2	4	10
12	Q	32	<2	8	16	11
13	R	32	8	8	16	11
14	S	42	<2	4	4	17
15	S	42	<2	16	4	17
16	T	50	<2	8	2	20
17	T	50	<2	8	16	20
18	U	45	<2	2	16	24

V 考察と対策

牛の呼吸器病の発生リスクは様々な原因により増加する。当场において入牧後 15 日以内で呼吸器病の発生が最も多かったのは、入牧時に受けた移動ストレスや入牧後の飼育環境の変化に伴うストレスが原因と考えられた。また、A 農家の受託牛で呼吸器病発生数が多いのは、入牧時の平均月齢がその他の農家が 9 か月齢であるのに対し、A 農家の平均月齢が 5 か月齢であったことも影響していると考えられた。

牛呼吸器病の病性鑑定事例のうち、3 月入牧牛の事例では、抗体検査成績からウイルスの関与が示唆された。また、11 月の事例では、細菌の関与が認められたが、一般に牛の呼吸器病ではウイルス感染が最初の起因となることが多いと考えられる。牛の呼吸器病の予防として、ワクチン接種が広く実施されており、接種後、抗体が上昇し、その後の呼吸器病発生は減少したという事例は多数報告されている^{1,2)}。しかし、ワクチン接種直後の入牧は、移動や環境変化に伴うストレスから、ワクチンテイクに影響する可能性が懸念される。そこで、接種から入牧までの日数と、入牧後の中和抗体価との関係を調査したが、両者に相関は認められなかった。生体の免疫応答や抗体の消長には、移動や環境変化のストレス以外にも様々な要因が関与しているためと考えられる。

従来から中和抗体価はワクチンテイクの指標とされてきたが、特に IBR 及び RS のワクチン抗体価は上昇しにくいという報告³⁾があるように、今回の抗体調査において、ワクチン接種後、抗体保有の確認できない個体が多かった。IBR の属するヘルペスウイルスや、RS や PI3 の属するパラミクソウイルスは細胞から細胞に感染するため、体液中の中和抗体のような液性免疫は作用しにくく、抗体価も上がりにくいいため、これらの防御には細胞性免疫が主体となるとされる^{4,5)}。また、ワクチンには中和抗体価に現れない細胞性免疫の誘導効果もある。従って、中和抗体価はワクチンテイクの指標にはなるものの、必ずしもワクチンの効果の程度を示すとは言えないと考えられる。今後は、細胞性免疫の評価についても検討する必要があると考えられた。

今回の検査成績をふまえて、当场ではいくつかの対策を実施した。育成和牛における対策として、初回接種をより細胞性免疫の誘導効果が高いと考えられる生ワクチンに変更し、LK 方式とした。受託牛における対策としては、当场で平成 14 年度に実施した対策⁶⁾を参考に入牧時に長期持続型抗菌剤を投与し、入牧直後から発生しやすい呼吸器病の予防を実施した(図 3)。また、A 農家及び他農家の若齢牛には入牧時にマンヘミア不活化ワクチンを、入牧 1 カ月後に 5 種混合不活化ワクチンを追加接種し、入牧前と併せて LK 方式とすることで感染・発症のリスクを低減するよう努めた。平成 27 年度からは入牧牛全頭について、入牧 3 週後にマンヘミア不活化ワクチンを接種する予定である。さらに、入牧前の呼吸器病の発生を予防するため、A 農家に対して家畜保健衛生所と協力し、ワクチンや飼育環境の指導を実施した。その他、個体管理の改善策として、重症患者について個体ごとに主治医となる担当者を設定し、管理にあたらせた。また、群飼いに於いて、栄養状態が悪い牛は日増体重が低下し、疾病発症に影響することから、新設した隔離牛房で集中管理を実施した(図 4)。

今後も飼育衛生管理の向上に取り組み、健康で増体の良い牛を生産し、県内の畜産振興に貢献していきたい。



図 3 長期持続型抗菌剤投与



図 4 隔離牛房

VI 参考文献

- 1) 渡辺大作, 田口桃子, 藤貴朗ら:5 種混合生ワクチンを追加接種した肥育牛における牛 RS ウイルス自然感染時の免疫応答と発症予防効果, 日本家畜臨床感染症研究会誌, 4, 9-18 (2009)
- 2) 徳弘令奈, 明神由佳:和牛肥育農場の導入牛に対する衛生プログラム, 平成 24 年度全国家畜保健衛生業績抄録, 16 (2013)
- 3) 岩木史之:大規模肉用牛肥育農場におけるウイルス浸潤状況および導入時ウイルス性ワクチン接種について, 畜産技術ひょうご, 108, 2-3 (2012)
- 4) Notkins AL: Immune Mechanisms by which the spread of viral infections is stopped, Cell Immunol, 11, 478-483 (1974)
- 5) Cortese VS: Neonatal Immunology, Vet Clin Food Anim, 25, 221-227 (2009)
- 6) 蒔田浩平, 清水博之, 福田昌治ら:血清ハプトグロビンおよび血漿フィブリノゲン値測定を組み合わせた入牧牛の呼吸器病対策, 調査研究報告書一家畜保健衛生業績発表収録, 44 (平成 14 年度), 埼玉県, 91-96 (2003)

16 LED 照明の経済性と採卵鶏及びタマシャモ種鶏への利用

農林総合研究センター

○中村 秀夫

I. はじめに

現在、大規模な養鶏場ではウインドウレス鶏舎が主流となっている。採卵鶏及び種鶏では1日14時間の照明が必要であり、照明にかかる費用は、鶏舎の規模拡大に伴い増加する。近年、省エネルギーの観点から、従来用いられている白熱電球や蛍光灯から電力使用量が少ない発光ダイオード（以下 LED）への転換が進められている。しかし、LED への転換には経費がかかることや、生産性の低下を懸念する農家もあり、LED への転換は順調とはいえない。

一方、国内では白熱電球生産中止の方向性が決まっており、農家の対応が急務となっている。LED 照明の鶏に対する試験報告では、試験を行う鶏舎は規模が小さく、鶏舎全体を LED 化したものではない（堀野ら、2006、2008）。今回、蛍光灯と LED を使用した実用的ウインドウレス鶏舎（1 段式ケージ 800 羽収容可能）2 棟を用い、LED の電力消費量削減率と生産性、授精率への影響を調べた。

II. 材料及び方法

1 アンケート調査

LED 照明の普及状況を把握するため、県内の採卵鶏飼育農家にアンケート調査を実施した。

2 試験期間及び試験場所

試験期間は 2013 年 7 月 15 日から 2014 年 1 月 15 日までの 36 週間で、農林総合研究センター内のウインドウレス鶏舎 2 棟（有効面積 140m²）で実施した。

3 供試鶏

採卵鶏は 2012 年 12 月 14 日餌付けのジュリアを 130 日齢(18.9 週齢)で導入し、406 日齢 (58 週齢)まで飼育した。各鶏舎内の間口 23cm×奥行 39cm×高さ 44cm の産卵鶏ケージに 1 羽飼いとし、飼料は成鶏用飼料（粗蛋白質 16%、代謝エネルギー 2,800kcal/kg）を朝夕 2 回、常時飼料が残るように給与した。各鶏舎とも 1 群 14 羽の 6 群とし、群ごとに産卵率、卵重、飼料摂取量を測定した。卵質検査は 2 週間おきに実施した。成績は 140 日齢(20 週齢)から 392 日齢(56 週齢)までの値を用い、6 反復の一元配置による分散分析を行った(P<0.05)。

タマシャモ種鶏は各鶏舎で 2012 年 12 月 13 日餌付けの雌 14 羽雄 1 羽を 1 群とし 25~50 週齢まで集団ケージで計 5 群を飼育し、毎日の産卵個数及び授精率について調査を行った。

4 鶏舎照明設備

LED を使用した鶏舎（以下 LED 区）は直管 LED 照明 NK-DASCL（発売元 日本養鶏農業協同組合連合会：消費電力 24W）、市販の蛍光灯を使用した鶏舎（以下蛍光灯区）は直管型蛍光灯（Hf 管、消費電力 32W）を各 18 本ずつ試験開始前に設置した。両区とも鶏の頭上で 15Lux の照度となるように調光した。

消費電力量を算出するため両区に普通電力量計「ワットメーターMWC-01 (大崎電気製)」を設置し、消費電力量を毎日測定した。点灯時間は1日14時間とした。消費電力量の測定は140日齢(20週齢)から406日齢(58週齢)の266日間とした。

III 成績

1 アンケート調査

LED照明の普及状況を把握するため、県内の採卵鶏飼育農家にアンケート調査を実施した結果、図1、2の回答が得られた。

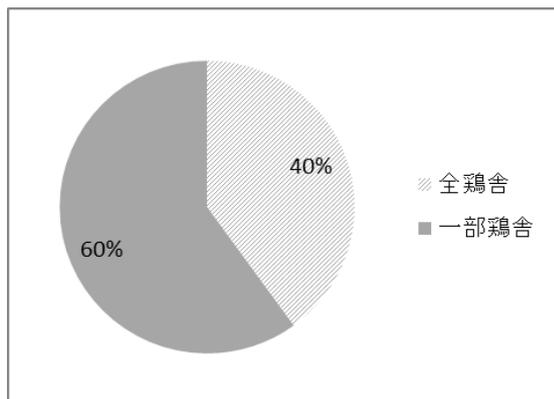


図1 ウインドウレス鶏舎での利用

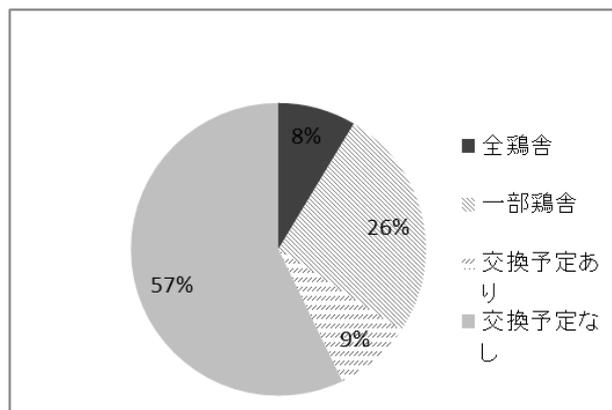


図2 開放鶏舎での利用

ウインドウレス鶏舎では全農家がLED照明を利用していたが、全鶏舎に利用しているのは全体の40%で、残りの60%は鶏舎の一部での利用に留まった。開放鶏舎ではLED照明を利用している農家は34%、交換予定ありが9%で、57%の農家は交換の予定なしであった。交換しない理由として、「高価である」、「LED照明以外の在庫がある」の他、「壊れやすい」、「ストレスがある」という意見も若干みられた。

2 採卵鶏に対する影響

1) 産卵成績

産卵率は両区とも28週齢がピークでその後95%前後で推移した(図3)。36~38週齢に蛍光灯区が90%を下回ったがその後回復した。

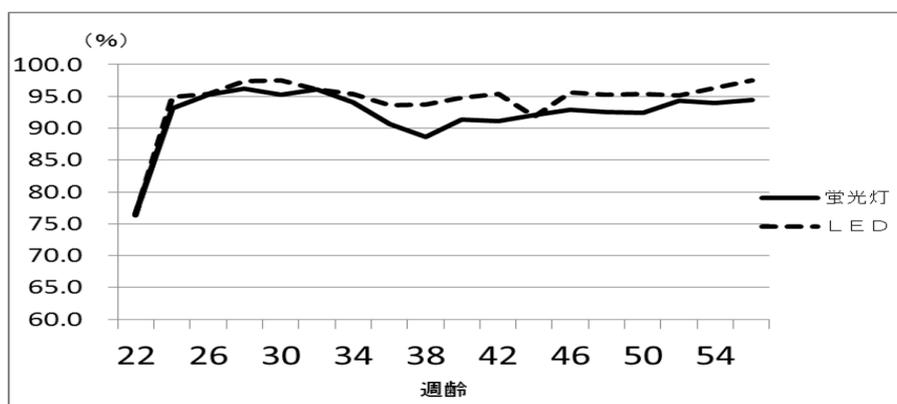


図3 産卵率の推移

全期間での産卵率は蛍光灯区が 92.3%、LED 区が 94.3%で、有意差は認められなかった。平均卵重は両区に差はなく、産卵日量は全期間の平均では蛍光灯区が LED 区より 1.3g 少なかったが、区間で有意差はなかった。1 日 1 羽あたりの飼料摂取量は蛍光灯区が LED 区より 2.6g 少なかったが、飼料要求率は両区とも 2.06 で有意差はなかった (表 1)

表 1 産卵性の比較

区分	産卵率 %	平均卵重 g	産卵日量 g/日・羽	飼料摂取量 g/日・羽	飼料要求率
蛍光灯区	92.3	59.7	55.2	112.6	2.06
LED区	94.3	59.8	56.5	115.2	2.06

各項目で区間に有意差なし

2) 卵質

2 週間隔で 20~56 週齢まで実施した卵質検査成績の平均を表 2 に示した。卵殻厚、卵殻強度、ハウユニット、ロッシュヨークカラーファン値は両区に有意差はなかった。

表 2 卵質検査成績

区分	卵殻厚 1/100mm	卵殻強度 kg/cm ²	ハウユニット	ロッシュヨーク カラーファン値
蛍光灯区	36.5	3.96	94.3	7.6
LED区	36.4	3.96	93.7	7.5

各項目で区間に有意差なし

3 タマシヤモ種鶏に対する影響

産卵率では試験開始から 3 カ月は蛍光灯区が 8%ほど上回ったが、以降は両区とも同様な傾向で低下した。受精率は LED 区が試験開始から 3 カ月までは上回ったが、4 カ月以降は蛍光灯区が逆転した。全期間の産卵率、受精率は蛍光灯区 57.1%、57.9%、LED 区 55.9%、57.7%で差はなかった。

4 電力使用量

毎日の電力使用量の積算を図 4 に示した。両区とも時期による変動は少なくほぼ直線的に推移した。20~58 週齢の鶏舎照明にかかる累積電力使用量は、蛍光灯区が 1,188kwh、LED 区が 177 kwh となり、LED 区は蛍光灯区に対して 85.1%の削減効果が認められた。

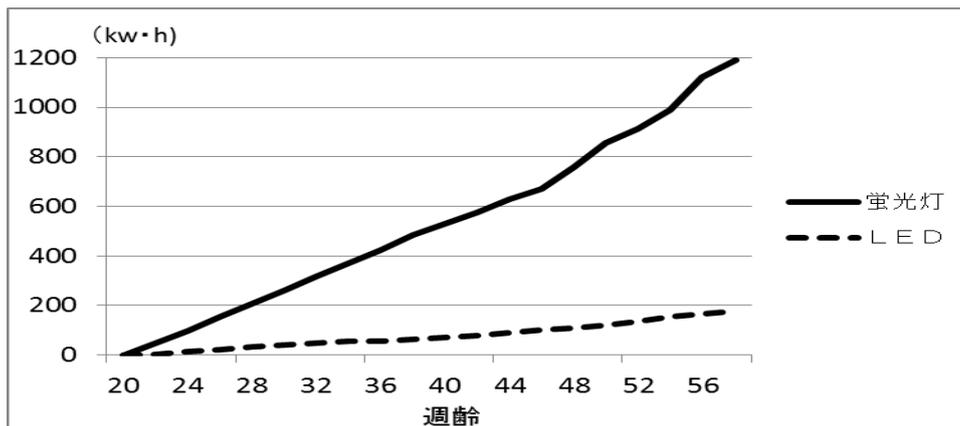


図4 電力使用量の推移

5 経済効果の試算

両区における電力使用量の値をもとに、照明器具の設置費用を含めた経済効果を試算した。試算の根拠は表3に示した。蛍光灯は1本当たり500円、18本使用で9,000円、耐用時間は6,000時間(1日14時間使用で429日)とした。LEDは1本3,800円、18本使用で68,400円、耐用時間は50,000時間(1日14時間使用で3,571日)とした。累積電力使用量を使用日数(266日間)で除した値から、1日当たり電力使用量は蛍光灯区では4,466kwh、LED区は0.665kwhとなり、電力料金を16.63円kwhとして計算すると、1日当たりの電力料金は蛍光灯区で74.27円、LED区で11.06円となる。

表3 経済効果の試算根拠

	使用本数 本/鶏舎	購入費 円/本	耐用時間 時間	照明時間 時間/日	電力使用量 kw/日	電力料金 円/日
蛍光灯区	18	500	6,000 (429日) (約1年2か月)	14	4.466	74.27
LED区	18	3800	50,000 (3571日) (約9年10月)	14	0.665	11.06
電力料金:				16.63 円/kw·h		

耐用時間を経過した照明器具をすべて交換しながら、連続して鶏舎を使用した場合の照明にかかる費用のシミュレーションを図5に示した。初期費用は差があるが、2年を超えると蛍光灯区はLED区を上回り、その後は差が拡大することが示された。

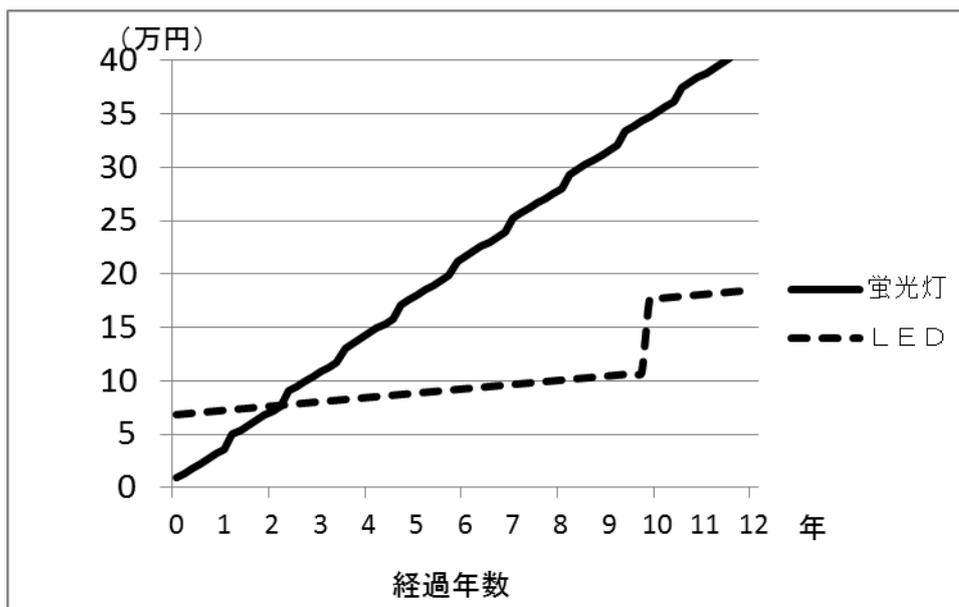


図5 照明にかかる費用のシミュレーション

V 考察

LEDの産卵性への影響については、2銘柄の採卵鶏（1区32羽）で白熱電球とLEDの照明下で飼育し、産卵率、飼料要求率、卵質に差はなかったとする報告（籠田ら、2012）がある。また、白色レグホーン400羽を4区画に分け、1区画7m×8mとしてLEDと白熱電球の産卵性を比較した報告（池谷ら、2012）でもやはり差は認められなかった。上記2者の試験は試験規模が小さく、鶏舎全体をLEDに変えたものではない。今回の試験は、800羽飼養規模の実用的な鶏舎の照明をすべてLEDに変換した場合でも、蛍光灯による照明と産卵性、卵質に差はないことが明らかとなり、その産卵成績は大規模鶏舎にも適用できるものと思われる。

タマシャモ種鶏に対してはLED照明の利用で産卵初期に蛍光灯区よりやや産卵率が低下する傾向がみられた。改良が進んでいる採卵鶏に比べると、光線管理に対する反応が鈍いとも考えられるが、詳細については今後検討を加える余地がある。

今回の試験から、蛍光灯に対してLEDは電力使用量が85.1%削減できることが明らかになった。白熱電球とLEDを比較した試験ではLEDにより電力使用量が89.4%削減された（池谷ら、2012）。また、大規模農場では白熱電球や蛍光灯からLEDに変えた結果、電力使用量が87%削減されたとする報告（鶏病研究会、2012）がある。池谷ら（2012）の試験は蛍光灯より電力使用量が多い白熱電球との比較であり、今回の蛍光灯との比較試験での削減率は比較の実用的な数値であると考えられる。

白熱電球からLEDに変えた場合の初期費用は電気使用量の削減により3年で回収可能とする報告（池谷ら、2012）や9か月で回収可能とする報告（籠田ら、2012）もある。今回の試算はLEDのみならず、蛍光灯の設置、交換費用も加味した。LEDは蛍光灯に比べ単価が高く、試験に使用したLEDは1鶏舎当たり68,400円で蛍光灯の9,000円に比べ7.6倍であった。しかし、照明器具代、器具の寿命、電力使用量を含めて試算すると、2年でLED区は蛍光灯区を下回り、その後は、蛍光灯区は1年2か月に1回の交換費用、電力使用量が加算されていく。LED区の電力使用量は蛍光灯区に対し85.1%削減される。

このため LED 区は蛍光灯区の 14.9%の電力使用量が増えていくだけとなる。その結果、LED の交換時期とされる 9 年目には、照明にかかる費用は蛍光灯区が 315,976 円に対して LED 区は 104,729 円となり、18 本の LED だけで 211,247 円の経費削減となる。9 年間で、蛍光灯は 7 回交換が必要となるため、その労力も削減されることになる。

今後はさらに LED が安価になり、性能の安定性や効率が高まる可能性は大きく、養鶏農家にとって LED の利用は利益の増加につながる事が予想される。

引用文献

- 堀野善久・鶴野保(2006)：発光ダイオードの養鶏分野への応用(1)．奈良畜試研報 32, 35-40
- 堀野善久・鶴野保(2008)：発光ダイオードの養鶏分野への応用(2)．奈良畜試研報 34, 19-25
- 池谷守司・松井繁幸(2012)：ウインドウレス鶏舎内における LED 電球による照明が卵の生産と経済性に及ぼす影響．静岡畜技研中小研セ研報 5, 20-23
- 籠田健・黒枝浩二(2012)：LED 照明が採卵鶏の産卵性及び経済性に及ぼす影響．兵庫農技総セ研報 48, 23-27
- 鶏病研究会(2013)：養鶏場における省エネルギーを考慮した環境対策．鶏病研報 49(1), 12-19