

平成 25 年度
第 51 回広島県畜産関係業績発表会
集 録

と き 平成 26 年 1 月 23 日

ところ 県庁本館 6 階講堂

(広島市中区基町 10-52))

広 島 県

目 次

(第 51 回)

1	神石高原和牛の里再構築プロジェクトにおける子牛発育支援の取組……………	1
	東部畜産事務所 栗原 順三	
○ 2	肉用牛飼養農家の飼養衛生管理基準指導の取組……………	4
	北部畜産事務所 栗原 幸一	
○ 3	採卵技術の現場普及に向けた取組～ひとりのできるもん～ ……	8
	西部畜産事務所 玉野 光博	
4	豚肉のうま味成分の分析～アミノ酸, 脂肪酸の解析を通して～……………	13
	県立西条農業高等学校 近藤 竜平 外	
5	万能細胞を利用した遺伝子組換え動物作出に向けた研究 Part2……………	17
	県立西条農業高等学校 佐藤 太紀 外	
6	ニワトリ受精卵細胞に関する雌雄特異的 DNA バンドの確認方法に関する研究…	21
	県立西条農業高等学校 播磨 侑治 外	
7	飼料イネホールクroppサイレージ給与による肥育試験 Part 4 ……	25
	県立庄原実業高等学校 河原 耕平 外	
8	ミツバチから広がる交流・花とミツバチの里を目指して……………	28
	県立油木高等学校 河上 瑞樹 外	
9	蜜蜂の飼養衛生管理の現状と課題の検討 ……	31
	北部畜産事務所 船守 足穂	
10	哺乳子牛に発生した白筋症対策指導 ……	35
	西部畜産事務所 長澤 元	
11	養豚農家に対する飼養衛生管理基準の遵守に向けての取組 ……	42
	東部畜産事務所 本多 俊次	
12	だちょう雛にみられた大腸菌症 ……	46
	北部畜産事務所 久保井 智美	
13	採卵鶏に発生した <i>Pasteurella gallinarum</i> 及び伝染性喉頭気管炎ウイルス の混合感染事例 ……	49
	西部畜産事務所 伊藤 晴朗	
14	伝染性喉頭気管炎と伝染性気管支炎の同時検出法の検討 ……	53
	西部畜産事務所 桑山 勝	
15	採卵鶏飼養農場で発生した鶏パストツレラ症 ……	56
	北部畜産事務所 上川 真希佳	

◎ ○16	県内で同時期に流行した異なるサブグループによる牛パラインフルエンザ……………	59
	西部畜産事務所 清水 和	
17	当管内における地方病型牛白血病が疑われた症例の検討 ……………	64
	NOSAI 広島 府中家畜診療所 原口 麻子	
18	東広島管内肥育農家における2年間の子牛呼吸器疾患対策と発生数の変化……………	68
	NOSAI 広島 東広島家畜診療所 森本 優	
19	管内A肥育農場における導入子牛の抗体保有状況及びワクチンを用いた 肺炎予防対策……………	73
	NOSAI 広島 府中家畜診療所 岡本 誠	

(注)

◎：第55回全国家畜保健衛生業績発表会 発表演題

○：第55回中国・四国ブロック家畜保健衛生業績発表会 発表演題

神石高原和牛の里再構築プロジェクトにおける子牛発育支援の取組

東部畜産事務所

○栗原順三 宇田久康

はじめに

神石高原町（以下町）は、古くから県内有数の和牛産地であるが、飼養農家の高齢化や後継者不足のため、年々飼養戸数及び頭数が減少し、更に、最近の子牛せり価格については、他地域に比べ安価が続いている。町はこういった現状を打開し、活力ある和牛産地を再構築するため平成 23 年 2 月に活力ある「神石高原和牛の里再構築プロジェクト」を策定した。今回、そのプロジェクトの一環として、子牛の発育改善に”重点“を置き、関係機関（全農広島、JA 福山市、町、県）が連携して取組を行ったので、その概要を報告する。

方法

1. 対象農家

対象農家は、担い手の中核的な農家の中から、対市場平均価格（市場比）及び対市場平均 DG（DG 比）が平均を下回っている A～C の 3 農家を選定した。（表 1）

表 1 選定農家概要

子牛せり成績 (平成24年度)	A農家	B農家	C農家
子牛出荷頭数	20頭	17頭	10頭
対市場平均販売価格 (市場比)	94%	95%	97%
対市場平均DG (DG比)	92%	95%	97%

2. 調査方法

平成 24 年 5 月～平成 25 年 12 月まで 1～2 か月毎に子牛の発育測定（体高、胸囲、腹囲、体型評価）及び「元気な広島子牛育成マニュアル」に基づき飼料給与方法や衛生対策について聞き取り調査を実施し、課題を抽出した。また、調査対象牛がせりに出荷された際には、発育や販売価格を調査した。

3. 改善に向けた対応

課題解決のための対応策を検討し、指導をした。

4. 地域への啓発活動

研修会を利用し、取組で得られた情報等を地域全体で共有した。

表 2 調査結果（平成 24 年度）

1 子牛の発育	A農家	B農家	C農家
哺育期	×	○	×
育成初期	×	×	×
出荷時(保留含む)	×	○	○
外貌審査(欠点)		前軀幅・肩付	
2 飼養管理			
飼養密度	×	○	×
群編成	×	○	×
飼料給与	×	×	×
衛生管理	×	△	×
種雄牛の選択	○	○	×

○:概ね良好 △:一部見直し必要 ×:全体見直し必要

成績

1. 調査結果（平成 24 年度）

1) 発育

A 農家：哺育期に体高や胸囲が平均以下の子牛が多くみられ、発育が悪いまませりに出荷している状況であった。

B 農家：離乳後の育成初期の牛群に下痢の影響により発育遅延が見られたが、出荷時には中軀及び後軀の充実した牛に仕上がる傾向が見られた。しかし、育成初期の発育遅延の影響で、前軀幅の物足りない肩付の悪い子牛が散見される傾向にあった。

C 農家：哺育期から育成初期で下痢による発育遅延が見られるが、出荷時には改善する傾向であった。

2) 飼養管理

飼養密度、群編成、飼料給与及び衛生管理の課題は、A 及び C 農家では、狭いスペースに月齢や大きさがばらばらの牛群が混在状態のため、発育時期に応じた飼料内容や量が適正に給与されていないこと、牛床が不衛生及び母牛の分娩前後の増し飼いが不十分なことが挙げられる。B 農家では、哺育期から育成期にかけて急激な飼養環境の変化が見られた。C 農家では、交配精液の選択ミスにより生時体重が小さい傾向が見られた。（表 2）

表 3 対策

対策	A 農家	B 農家	C 農家
飼養密度緩和	牛舎賃借・新築	－	改築
群編成	月齢・体格考慮	－	体格・月齢考慮
飼料給与	1頭1頭に配慮	育成飼料馴致 離乳時期変更	1頭1頭に配慮 管理責任者固定
衛生管理	牛舎清掃・消毒徹底、生菌剤投与、母牛への分娩前後の増飼		
種雄牛の選択	－	－	雌牛の血統考慮

2. 対策

A 農場：牛舎を賃借、新築により拡大することにより、子牛の育成スペースを確保し、月齢や体格に応じた牛群に編成した。飼料給与対策としては、個体毎に配慮し、餌槽の増設等を行った。

B 農家：育成飼料への馴致期間や離乳のタイミングを変更し、子牛にかかるストレス軽減に努めた。

C 農家：牛舎を改築し育成スペースを確保し、月齢や体格に応じた牛群に編成した。飼料給与対策としては、個体毎に配慮し、管理責任者を固定、母牛の血統を考慮した交配に心掛けることにした。

全農家：牛舎の清掃・消毒の徹底、下痢予防として生菌剤の投与や母牛への分娩前後の増し飼いを見直した。（表 3）

表 4 調査結果（平成 25 年度）

3. 調査結果（平成 25 年度）

1) 発育

平成 25 年度生まれの子牛について調査したところ、A 農家では哺育期からの発育が改善したが、B 農家ではあまり改善が認められなかった。なお、C 農家については、調査対象が生まれたばかりだったので発育については今後実施予定。

2) 飼養管理

A 及び C 農家において飼養密度や群編成

を改善することで、子牛の発育時期に応じ、適切な飼料給与量になった。B 農家は飼養環境変化を緩和したが、下痢を完全に克服できたわけではなく試行錯誤が続いている。衛生管理について、C 農家で

1 子牛の発育	A 農家	B 農家	C 農家
哺育期	○	○	－
育成初期	○	×	－
出荷時(保留含む)	－	－	－
外貌審査(欠点)		前軀幅・肩付	
2 飼養管理			
飼養密度	△	○	△
群編成	△	○	△
飼料給与	○	○	○
衛生管理	△	△	△
種雄牛の選択	○	○	○
○:概ね良好 △:一部見直し必要 ×:全体見直し必要			

は母牛への分娩前後の増飼いを確実に実施するようになってからその効果がでてきている。種雄牛の選択について、C農家で注意するようになってから出生時の子牛の大きさが改善された。（表4）

4. 地域への啓発活動

この取組を地域全体で共有するため、神石郡和牛改良組合員に対し、町内の子牛市場成績の分析結果及び平成24年度に実施した子牛発育支援の事例を研修会で報告した。

成果

1.A農家：市場比向上には至っていないが、平成25年4月以降に生まれた子牛13頭について、哺育期からの発育が改善した。平成24年度生まれと平成25年度生まれの雌子牛の体高を比較すると、平成25年度生まれは哺育期から発育良好でその後も+1.5σのラインに沿って良好な発育をしている。

（図1）このことは、雌牛の体高だけでなく、雌牛の胸囲及び去勢牛（5頭）についても同様の成績であった。

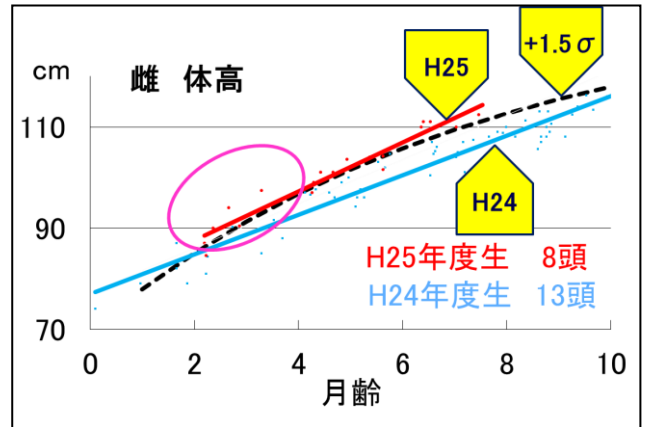


図1 成果（A農家 年度別体高比較）

2.B農家：平成24年度に対し平成25年度（12月せりまで）は市場比及びDG比が95%から96%にわずかに向上した。

3.C農家：平成24年度に対し平成25年度（12月せりまで）は市場比が97%から101%，DG比が97%から98%に向上した。

4.神石高原町全体：平成23年度に対し平成25年度（12月せりまで）は市場比が98%から99%に，DG比が100%から101%にわずかに向上した。

まとめ

今回の取組では、当初に目標値を設定し、それに向かった農家の日常管理と、関係機関が定期的に巡回調査した結果を、客観的な立場から評価、改善指導することにより、農家の改善意欲を高揚させ、徐々に意識改革をすることが出来た。この

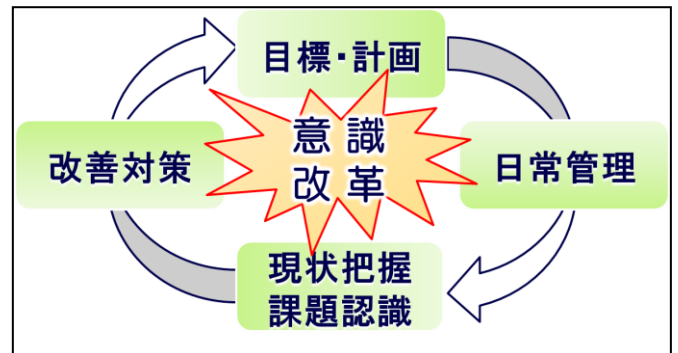


図2 取組イメージ

ことが今回の取組で得られた大きな成果だと考えられる。今後はこの間の取組の成果を検証した上で、巡回内容の見直し、対象農家の拡大及び改良組合員への啓発活動など地域全体の取組になるよう誘導していく必要があると考えられた。（図2）

肉用牛飼養農家の飼養衛生管理基準指導の取組

北部畜産事務所

○栗原幸一 五反田桃子

はじめに

平成 23 年度に改正された、家畜伝染病予防法の施行により、家畜飼養者に対して飼養衛生管理基準の遵守のため、原則として年に 1 回以上の巡回指導を実施することになった。

今回効率的に、肉用牛飼養農家の巡回指導を実施し、飼養衛生管理基準の向上に努め、あわせて、畜産振興業務にも一定の成果があったので報告する。

取組内容

表 1 平成 24 年度実施状況

1. 関連機関との連携体制構築

平成 24 年度の肉用牛飼養農家の巡回状況は、441 戸中の 203 戸、実施率は 46.0%にとどまり、全戸巡回は困難であった（表 1）。これは、肉用牛飼養農家は戸数が多く、連絡調整が困難であることが原因であった。

	肉用牛	乳用牛	豚	鶏
戸数（戸）	203/441	58/59	11/11	25/25
実施率（%）	46.0	98.3	100	100

巡回では、飼養衛生管理基準の遵守率が低いこと及び増頭や改良など飼養管理をはじめとする、畜産振興に関する指導要望が多く、それに対応する必要性が判明した。

平成 25 年度は、これらの課題を踏まえ、巡回実施の方針を、次の 3 つとすることにした。

- ① 市・農協との連携体制を構築し、効率的な全戸巡回をするとともに、巡回で得られた情報を共有化する。
- ② 飼養衛生管理基準の遵守項目のうち、重要かつ遵守率の低い項目を、重点指導項目と設定し、遵守率の向上を図る。
- ③ 育種改良や飼養管理などについて、指導する項目を設定し、畜産振興指導の要望へ対応する。

関係機関との連携体制構築については、年度当初に関係機関を招集し、推進会議を開催し、平成 24 年度の巡回実績を報告、平成 25 年度の全戸巡回に向け、連携協力を依頼した。

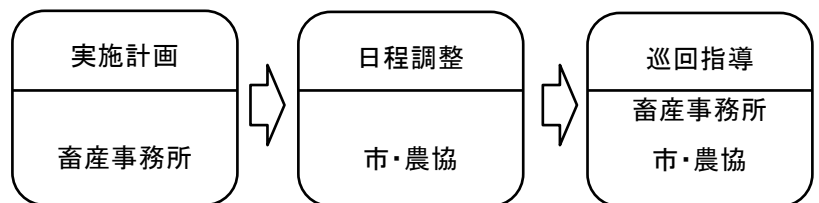


図 1 役割分担

役割分担については、当所が地区と巡回

計画原案を決め、市・農協に通知し、市・農協は巡回の行程と時間の調整を行い、各農家に連絡することとした。巡回に当たっては、当日可能な限り市・農協も同行し、一緒に指導することにした。巡回結果は情報を共有化するため、関係機関にフィードバックすることとした（図 1）。

その結果、平成 25 年度の巡回実施率は、平成 26 年 1 月現在、庄原市においては 92.7%と昨年度に比べ高く、三次市においては 44.2%実施となっているが、3 月末までには 100%となる見込みである（表 2）。

関係機関と連携をとることにより、効率的な巡回指導が可能となった。また、市・農協が同行することにより、肉用牛飼養農家に対し、県、市及び農協の畜産振興施策の一体的説明を行うことができた。

飼養衛生管理基準の重点指導項目は、伝染病の発生予防に重要度が高く、平成 24 年度の遵守率の低かった①部外者の立ち入り制限、②入場車両の消毒、③入場者の消毒、④来場者の記録の 4 項目とした。巡回は、1 戸当たりの指導時間を昨年度より長い 45 分程度とし、優良事例を参考にして作成したリーフレットを用い指導に当たった。

2. 飼養衛生管理基準の遵守率向上

1) 部外者の立入制限

全体の遵守率は 45.3%であり、規模別でみると、1～3 頭飼養農家が 4 頭以上飼養農家と比較し、低い結果となった（表 3）。遵守していない農家の多くは、飼養者しか立ち入らないので、必要性を感じておらず、看板は所有しているものの、設置していなかった。これらの農家に対して、部外者の立ち入り制限の必要性を説明し、設置するよう指導した。なお、看板を持ってない農家は、当所が作成した、関係者以外立ち入り禁止の看板を、配布し設置した。

2) 入場車両の消毒

全体の遵守率は 31.4%であり飼養規模に関係なく、低い結果となった（表 4）。遵守していない理由として、牛舎が道路や田畑に近いなどの構造上の問題、畜主の高齢化、凍結や雪などによる消毒薬の散布困難が挙げられた。遵守していない農家に対しては、石灰帯が設置できない場合は、石灰乳による消毒や、動力噴霧器の代替として、園芸用簡易噴霧器の活用等、農家実態に応じた消毒方法を提示した。

表 2 平成 25 年度実施状況 (平成 26 年 1 月現在)

	巡回戸数/全戸数	実施率 (%)
庄原市	267/288	92.7
三次市	57/129	44.2
計	324/417	77.7

表 3 1) 部外者の立入制限

	全体	1～3 頭飼養	4 頭以上飼養
遵守率 (%)	45.3	38.4	54.7

表 4 2) 入場車両の消毒

	全体	1～3 頭飼養	4 頭以上飼養
遵守率 (%)	31.4	28.8	35.0

3) 入場者の消毒

全体の遵守率は、全体で 52.8% であり、飼養規模によつての大きな差はなかった（表 5）。実施していない農家の多くは、国内で口蹄疫の発生した平成 22 年には実施していたもの

表 5 3) 入場者の消毒

	全体	1～3頭飼養	4頭以上飼養
遵守率 (%)	52.8	48.9	58.1

の、危機感の低下により消毒実施を止めていた。また、冬期間の凍結により、使用をやめてしまう農家もあった。このような農家に対しては、畜主自体も病原体を持ち込むことがあることを説明し、車両消毒と同様、個々の状況に応じた方法を提示し、指導した。

4) 来場者の記録

遵守率は、全体的に低かった。遵守していない農家は、記録することの意義及びその記録方法の理解が不足していた（表 6）。これらの農家に対しては、宮崎県での口蹄疫発生時の事例を挙げ、

表 6 4) 来場者の記録

	全体	1～3頭飼養	4頭以上飼養
遵守率 (%)	37.2	37.4	37.2

来場者の記録保存の必要性の説明を行うとともに、方法については記録様式を提示し、また、領収書や伝票などの保存や、日記やカレンダーへの記入など、実施可能な方法で行うよう指導した。

これらの 4 つの重点指導項目については、昨年同様遵守率が低い傾向がみられ、理由としては、共通して危機感が低下していることが分かった。

3. 畜産振興に関する指導

指導項目として、平成 24 年度の巡回実績から特に畜産農家からの要望が多かった 5 項目を設定した（表 7）。育種改良に関することでは、農家が所有する繁殖雌牛の育種価情報を作成し、交配指導を、また遺伝病について指導した。飼養管理に関することでは、繁殖牛や子牛の、飼料の適正給与や衛生管理についての指導を行った。経営に関することでは、農家の増頭又は、後継者による経営継続の確認を行い、それぞれ対応する事業を検討した。自給飼料に関することでは、飼料稲の生産技術及び飼料生産に関する助成事業について、環境に関することは、堆肥管

表 7 畜産振興に関する指導

	全体	戸数 (戸)
(1) 育種改良	交配計画, 遺伝病	324
(2) 飼養管理	繁殖牛	21
	子牛育成	18
(3) 経営	増頭意欲	22
	後継者による継続	17
(4) 自給飼料		103
(5) 環境	堆肥管理	7
	衛生害虫	2

理や衛生害虫対策についてなどを同時指導した。指導に当たっては、飼養管理や遺伝病などは、リーフレ

ットを作成し，必要に応じて配布，指導した。

まとめ

- 1.関係機関の協力と連携により，肉用牛飼養農家を全戸巡回する体制を構築した。
- 2.飼養衛生管理基準のうち，重要かつ遵守率が低い項目を重点指導項目に設定し，農家が実施可能な方法を農家とともに検討することにより，農家の防疫意識が向上した。
- 3.畜産振興指導について，具体的な指導項目を設定することにより，肉用牛飼養農家の要望に合致した指導が実施できた。

採卵技術の現場普及に向けた取組 ～ひとりのできるもん～

西部畜産事務所

○玉野光博 富永参代 松重忠美

はじめに

本県では、「2020 広島県農林水産業チャレンジプラン」において広島牛産地の再構築に取り組んでいる。その施策の一つとして、平成 24 年度から広島牛受精卵移植普及定着推進事業の中で、採卵業務の民間移転を図っているが、現状では採卵業務の民間移転には、人的及び物的なものを含め課題が山積みしている。今回、課題解決の取組みとして、開業獣医師への技術移転と一人での採卵作業（以下、一人採卵という）の手法について検討した。

方法

1. 技術移転

採卵意欲のある若い開業獣医師を対象とし、平成 25 年 4 月～平成 27 年 3 月（2 ヶ年）の計画で移転を図った。内容は、一般的な繁殖指導（6 回／年）及び採卵研修（3 回／年）とした。採卵研修は、子宮臓器実習及び実践採卵とし、毎回セットで行った。また研修会ごとにアンケートを実施し、次回へ反映させた。

1) 臓器実習

「還流の感覚をつかむ」ことを目的とし、バルーンの装着位置、空気送入力、還流液注入量、子宮内の空気量及び子宮の扱い等を確認した。

2) 実践採卵

供卵牛は、獣医師が自ら過排卵処置を施し人工授精を行った和牛 2 頭を用いた。子宮の還流は、従来の広島県方式により非外科的に行った。還流は「緊張感の中で体に叩き込む」ために、臓器実習で感覚をつかんだ直後に行い、子宮還流の一連の作業、バルーン装着、子宮操作及び還流液の回収状況等を確認した。回収率は、黄体の推定個数及び受精卵の回収個数から判断した。

2. 一人採卵の検討

県の採卵は、術者と助手の 2 人体制で施設採卵に準じた方法で行っている（図 1）が、今後新たに民間移転するには、全ての作業を一人で、かつ現場で行う必要がある。民間においては、他県や過去の本県に独自の工夫を行っている事例はある^{1) 2) 3)}が、今回、「ひとりで簡単にできる」をコンセプトとし、子宮還流作業について、作業の省力化、機材の簡素化を検討した。

1) バルーンカテーテル装着の簡便化

県では、バルーンの装着においては、膨らませたバルーンの空気がバルーンや子宮の圧力等により逆流し、カテーテル内芯はねじこみ式で止めてあるため、助手が術者の指示を受け、バルーンへの空気の



図1 県の採卵風景

送入及びカテーテル内芯の抜去を行っている。そこで、バルーン空気の送入方法とカテーテル内芯の抜去について一人でできる方法を検討した。

2) 還流液の注入方法

県では、図1のように助手が25mlのシリンジを使って注入している。今回、ひとりで手の届く範囲で全ての作業を行えるように、市販の乾電池式エアポンプ(0.9L/分, 2.0L/分)を用いた還流セットを作製し、還流液の注入にかかる時間を従来の方法と比較した。

3) 保温作業の省力化

県では、図1のように恒温槽を用いて還流液や回収液の保温を行っているので、電源の確保や恒温槽など大きな機材を必要としている。保温機材の省力化を図るために、気温25℃, 15℃, 10℃時の還流液の温度変化を調べ、結果を基に簡易な保温セットを作製した。なお、受精卵への影響⁴⁾を考慮し、25℃を設定限界温度とした。

4) 作業性の向上

一人での作業性を向上させるため、機材ラックを試作した。試作に当たっては、必要最小限の機材で済むことを基本とし、還流作業が全て手の届く範囲で実施可能なこと、どこでも出来ること、機材の持ち運びが容易なこと、倒れないこと、シンプルなことをコンセプトに作成した。

結果

1. 技術移転

受精卵の回収率は、黄体の推定個数及び受精卵の回収個数から、ほぼ100%と推察された。また、アンケートからも技術の習得に加え心理的にも向上した(表1)。

2. 一人採卵の検討

1) バルーンカテーテル装着の簡便化

バルーン空気の送入には、シリンジの内筒が戻りにくいオールプラスチックシリンジを利用し、カテーテルと内芯は、プラスチック製のチューブ鉗子で固定した

(図2)。シリンジと鉗子をセットした状態でカテーテルを操作し、カテーテルを子宮角の適当な位置まで挿入した後、片手で空気を送入する(図3)。バルーンを膨らませたら、鉗子はずし、内芯を抜去する。この方法により一人でカテーテルの装着が可能であった。

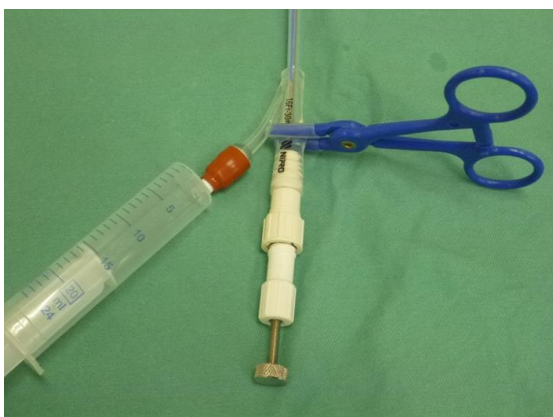


図2 カテーテル装着

表1 採卵研修結果

○ 採卵成績(2回の平均)
・受精卵の回収率 : ≒100%
・受精卵の回収個数 : 23個(≒県平均)
○ アンケート結果(抜粋)
・臓器実習によりイメージがもて、採卵で感覚がつかめた。
・心理的抵抗がなくなった
・想像より簡単



図3 カテーテル装着

2) 還流液の注入方法

図4にエアポンプを用いた作成した還流セットを示した。チューブの途中で2又の分岐コックを取り付け、容器内が高圧になると、任意に穴をあけたチューブから空気が漏れるようにすることで、圧力の調整を可能とした。これにより、ポンプのスイッチは、作業前にONにすれば、作業終了まで操作する必要がなく、また、鉗子の位置を変えることで、圧力を変更し、還流液を送る量を調整することが可能となった。なお、図のようにエアフィルターと逆流防止弁を取り付けた。

図5に20ml注入に要する平均時間を示した。平均時間は、20mlを15回連続注入した時間から算出した。エアポンプを用いた方法では、従来の方法と比較し、短時間での注入が可能であった。また、エアポンプの強弱や、圧力を変えることで、注入スピードを自由に調整することが可能であった。

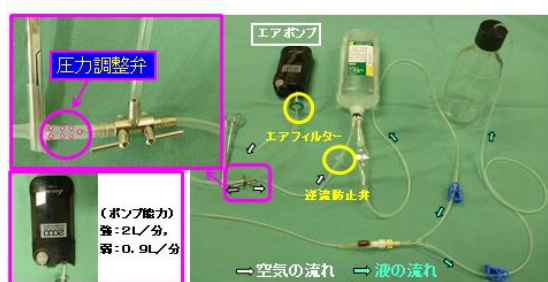


図4 還流セット

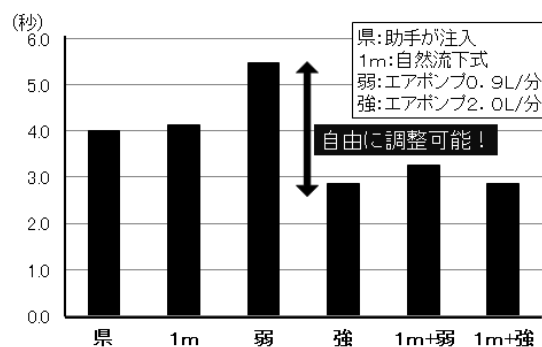


図5 20ml注入に要する平均時間

3) 保温作業の省力化

還流液の気温別温度変化を測定した結果、気温 15℃において、1 時間程度で還流液温度が 25℃付近まで低下した (図6)。現場での不測の事態を考慮し、気温 15℃以下では保温が必要と判断した。

電源を必要としない保温の方法として、発泡スチロール製の保温セットを作製 (図7) し、還流液の温度変化を測定した結果、気温 6℃の環境下においても、還流液の温度は 30℃前後で維持された (図6)。

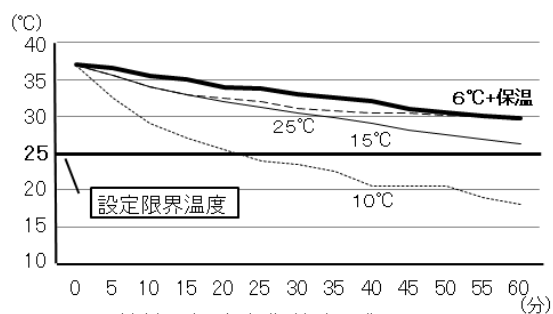


図6 還流液の温度変化(気温別)



図7 保温マット(7mm厚)

4) 一人での作業性の向上

還流するための機材一式を収容できるハードケースを選択 (図8) し、これらの機材を機能的に配置できるように市販の脚立を改造して機材ラックを試作した (図9)。

脚立の上部に、還流液を吊り下げるためのバーを取付け、還流液の位置が牛の後軀とほぼ同じ高さになるように調整した。また、ハードケースと中箱を、そのまま脚立のステップにおき、機材置場として

使えるように脚立を工夫した。ハードケースは、自転車用ゴムでつくった簡易フックで簡単に固定できた（図9）。一人還流セットをもって実際に採卵に出かけたところ、一人で楽に還流機材の持ち運びができ、（図10）効率的な作業が可能であった（図11）。



図8 還流機材一式



図10 一人還流セット

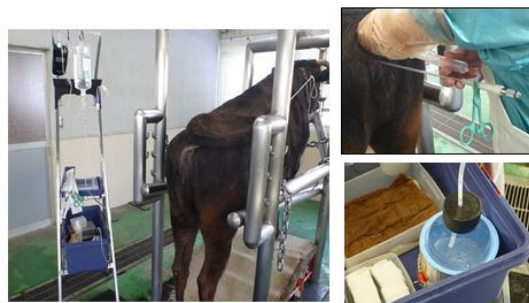


図11 一人での採卵

まとめ及び考察

今回、採卵の技術移転の手法として、子宮臓器実習と実践採卵をセットで実施した。子宮臓器実習において、子宮還流手技について具体的なイメージを持たせるとともに、獣医師の疑問や不安を理論的に解消した。また緊張感の中で技術習得を図るために、実践採卵の供試牛は開業獣医師が自ら用意し、子宮の還流は全て過排卵処置を施した供卵牛を用いた。実践採卵は、子宮臓器実習において還流の感覚を持たせた直後に行うことで、スムーズに実施できた。今回対象とした開業獣医師は、子宮還流について未経験であったが、技術的・心理的に向上したことがうかがえた。

以上の結果から、短期間かつ集中的に実践的な研修を行うことが、技術移転においては有効であった。

本県の採卵は、術者と助手の2人体制で施設採卵に準じた方法で行っているが、今後新たに採卵業務の民間移転を図るには、全ての作業を一人で、かつ現場で行う必要がある。またその方法について、県から獣医師に対し、理論的に説明できる必要がある。今回試作した還流セットによって、子宮還流作業がひとりで簡単にできることが確認できたことから、還流作業の民間移転は、十分可能と思われた。

今後、検卵及び凍結作業についても、今回と同様の取組みを行っていくが、技術習得に加え、高価な機材等の整備が必要なため、民間移転にはもう少し時間を要すると思われた。

広島牛の増頭には、民間における採卵や移植が必要不可欠であり、特に採卵の民間移転には、本県の技術的な支援体制の継続と採卵業務の分担制（還流・検卵・凍結）の導入等の検討が必要と思われた。

参考文献

- 1) 鈴木達行 (2003) : 獣医繁殖技術の基礎と実際－牛の胚回収, 移植, 体外受精用器具の開発と課題 : 獣医畜産新報 Vol. 56 No12 1001～1007
- 2) 福見善之ほか : 授精卵移植簡易化技術の確立 (簡易採卵技術の開発) : 徳島畜研報 No. 3 (2003) 27～30
- 3) 小松洋太郎ほか : 「どこでもかん流装置」による採卵方法の検討 : 東日本家畜受精卵移植技術研究会大会資料 (2003) 巻 : 18th ページ : 48-49
- 4) R.M.Azambuja, et al : EFFECT OF LOW TEMPERATURES ON IN-VITRO MATURED BOVINE OOCYTES : Theriogenology 49 : 1155-1164, 1998

豚肉のうま味成分の分析～アミノ酸, 脂肪酸の解析を通して～

県立西条農業高等学校

畜産科 3年 今田絵梨茄 齋原夏月 坂本果穂 篠原まるみ

武則早希 松浦 悠

畜産科 2年 近藤竜平 吉田将貴 国本成美 茶屋原文子

はじめに

私たちが生産する西農ポークのうまみを探るため、人間が肉を食べた時おいしいと感じる感覚を科学的に解析していくことにした。官能検査の項目と成分分析をリンクさせ、今年度は肉のジューシーさを測定する遠心保水性の試験と肉のうまみ成分の含量を測定する遊離アミノ酸の分析、そして脂肪融点の測定を行うことにした。

方法

1. 試験区の設定

1) 平成 24 年度

昨年度の試験では、同時期に 2 頭の母豚から生まれた 22 頭の肥育豚を用いて、表 1 の通り試験区を設定した。なお肥育豚の品種はいずれも LWD の三元豚である。放牧・酒粕区が本校で飼育する西農ポークにあたる。

表 1 平成 24 年度の試験区

試験区	母豚 (品種) × 雄豚 (品種)	飼育頭数	酒粕 7% 添加	放牧飼育
対照区	アズキ × ジャンボ (LW) (D)	6 頭	×	×
酒粕区		6 頭	○	×
放牧区	モナカ × ジャンボ (LW) (D)	5 頭	×	○
放牧・酒粕区		5 頭	○	○

対照区及び酒粕区は飼育頭数が 6 頭であるが、試験に用いた豚は 6 頭のうち無作為に抽出した 5 頭で行うこととした。

2) 平成 25 年度

表 2 平成 25 年度の試験区

試験区	母豚 (品種) × 雄豚 (品種)	飼育頭数	酒粕 7% 添加	放牧飼育
対照区	モナカ × ジャンボ (LW) (D)	3 頭	×	×
酒粕区		3 頭	○	×
放牧・酒粕区		3 頭	○	○

今年度はアズキが繁殖障害で出荷されたため、モナカから生まれた肥育豚 9 頭を表 2 の通り 3 区分に分け昨年同様に試験を行った。なお、酒粕の有効性を検証するため放牧区を省略した 3 区分とした。今年度の試験ではまず一般的な飼育方法で生産された豚肉と、西農ポークの違いを明確にすることを目的としたため、各分析は対照区と放牧・酒粕区で試験を行うことにした。

2.遠心保水性の試験

肉の保水性は食肉を評価する上で重要な項目であり、保水性の高い肉はジューシーな肉であると言える。試験の方法には、加圧保水性と、遠心保水性があるが、今回の試験は遠心保水性の試験を用いて行うことにした。なお、試験方法は家畜改良センターの理化学試験に準ずる方法で行った。

1) 試験方法

- ① 冷凍したロース肉の中心を 2cm 分切り出す。
- ② 切り出したロース芯を 2cm のサイコロ状にする。
- ③ 冷凍した状態で切り出したロース芯の重量を測定する。
- ④ 室温で解凍し、排出された肉汁をキムタオルで拭き取り、再度重量を測定する。この時に排出された肉汁を解凍ドリップ率とする。
- ⑤ 肉汁を拭き取ったサイコロ状のロース芯をファルコンチューブに入れ、2500g×10min で遠心分離を行う。なお 2500g×10min は人が肉を噛む力と同等である。
- ⑥ 分離後排出された肉汁を拭き取り、再度重量を測定する。この時に排出された肉汁を遠心ドリップ率とする。

2) 算出方法

$$\text{解凍ドリップ率 (\%)} = \frac{(\text{解凍前のサンプル重量} - \text{解凍後のサンプル重量})}{\text{解凍前のサンプル重量}} \times 100$$

※ 解凍ドリップは、解凍したときに出るドリップ量であり、実際に人の口に入らないため数値は低いものが評価は高くなる。

$$\text{遠心ドリップ率 (\%)} = \frac{(\text{遠心前のサンプル重量} - \text{遠心後のサンプル重量})}{\text{遠心前のサンプル重量}} \times 100$$

※ 遠心ドリップは、人が噛んだときに出るドリップ量であり、肉を食べた時にジューシーだと感じるドリップであるため、数値は高いものが評価は高くなる。

3.遊離アミノ酸の分析

うまみ成分であるグルタミン酸等のアミノ酸の量を測定することによって、人が食べた時においしいと感じる感覚を、具体的に数値で表すことができる。今回は、グルタミン酸量の含量の比較を行った。

1) 前処理

- ① サンプルのロース肉の中心部から 200mg 切り出す。
- ② 切り出した肉を試験管に入れ、除タンパク剤を 200mL 入れてホモジナイズする。
- ③ ②をマイクロチューブに移し、13000r.p.m で 10 分間遠心分離する。
- ④ 遠心後のマイクロチューブの上澄み液を 0.22μm クロマト用フィルターでろ過する。
- ⑤ ろ過液を分析機に入れる。



図1 アミノ酸分析機 JLC-500/V

2) 分析結果の補正方法

$$\text{グルタミン酸含量 (\mu\text{g}/\text{mL})} = \frac{\text{グルタミン酸濃度} \times 2}{\text{回収率} \times \text{湿重量}}$$

4.脂肪融点の測定

脂肪の融点はその脂肪酸組成によって決定される。食肉中の脂肪を構成する脂肪酸の主なものとして、飽和脂肪酸であるパルチミン酸，ステアリン酸や不飽和脂肪酸であるオレイン酸，リノール酸などがあるが，脂肪酸組成の不飽和脂肪酸の割合が多いほど脂肪の融点は低くなるため，脂肪融点の測定を行った。

試験方法

- ① 背脂肪を 20 g 程度切り出し，ろ紙を敷いた漏斗にのせる。
- ② 恒温器に入れ，105℃で 4 時間加熱抽出する。
- ③ あらかじめ 1cm のところに印をつけておいたヘマトクリットチューブを，三角フラスコ内に抽出された脂肪につけ，印まで脂肪を吸い上げる。
- ④ 一晩冷凍保存する。
- ⑤ ビーカーに水を入れ，中に前日のヘマトクリットチューブをセットする。
- ⑥ ホットスターラーで徐々に温度を上げながら，脂肪が溶けて 1cm 上昇したときの温度を測定する。

成績

1.解凍ドリップ（平成 24 年度）

表 3 解凍ドリップの測定結果（平均）

試験区	サンプル数	解凍前重量 (g)	解凍後重量 (g)	解凍ドリップ率 (%)
対照区	3	16.03	14.83	7.48
酒粕区	3	15.77	13.97	11.45
放牧区	3	15.67	14.00	10.64
放牧・酒粕区	3	15.43	14.47	6.20

2.遠心ドリップ（平成 24 年度）

表 4 遠心ドリップの測定結果（平均）

試験区	サンプル数	遠心前重量 (g)	遠心後重量 (g)	遠心ドリップ率 (%)
対照区	3	14.83	12.27	17.30
酒粕区	3	13.97	11.53	17.38
放牧区	3	14.00	11.37	18.81
放牧・酒粕区	3	14.47	11.37	21.43

解凍ドリップ率，遠心ドリップ率ともに放牧・酒粕区が最も評価が高くなった。

表 5 測定結果（平均）

試験区	サンプル数		解凍ドリップ率 (%)	遠心ドリップ率 (%)
	解凍	遠心		
対照区	4 3	5 3	6.36	12.28
放牧・酒粕区			6.81	12.52

3.解凍ドリップ・遠心ドリップ（平成 25 年度）

サンプル数を増やすと，昨年まで見られたような差は認められなかった。

4.グルタミン酸含量

放牧・酒粕区は対照区と比較すると約 2 倍含まれていることが分かった。また酒粕区の値は約 2.5 倍，放牧区の値は約 3.7 倍であった。

表 6 グルタミン酸含量の測定結果 (平均)

試験区	グルタミン酸含量 (μg/mL)
対照区	0.0385
酒粕区	0.0953
放牧区	0.1421
放牧・酒粕区	0.0815

5.脂肪融点

各 7 本ずつヘマトクリットチューブを準備し、比較を行った。結果を平均すると、対照区が 42.3℃、放牧・酒粕区が 41.4℃であった。この結果を日本ハム株式会社中央研究所の河口さんに統計処理していただいた結果、有意な差であると認められた。

表 7 脂肪融点の測定結果

サンプル	対照区 (°C)	放牧・酒粕区 (°C)
1	42.1	41.2
2	42.2	41.9
3	42.3	40.9
4	42.3	40.9
5	42.2	41.2
6	42.2	41.9
7	42.7	41.8
平均	42.3	41.4

考察

1.遠心保水性

今回の結果では、酒粕区、放牧区ではあまり差は見られないが、組み合わせることによって、西農ポークは解凍したときにドリップが出にくく、噛んだ時にドリップが多く出る肉であるといえる。

2.グルタミン酸含量

試験の際の気温や湿度、また試験までの時間などがバラバラであったため、今後もサンプル数を増やしながら、試験までの環境条件をきちんと揃える必要があると考えた。

3.脂肪融点

今回の試験の結果から、西農ポークはアミノ酸を豊富に含んでおり、脂肪融点も低かったため不飽和脂肪酸が豊富に含まれるのではないかと予想することができた。しかし、通常豚の脂肪の融点は 30℃前後であるため、温度計の位置が悪かったのではないかと考察した。

参考文献

1)現代農業 2013 年 6 月号 農文協

キーワード

放牧飼育, 酒粕添加, 遠心保水性, グルタミン酸含量, 脂肪融点

万能細胞を利用した遺伝子組換え動物作出に向けた研究 Part2

県立西条農業高等学校

畜産科 1年 佐藤太紀 福永倫之 有田萌望 大川麻里 川江莉花子 林茉莉香
 畜産科 2年 小笠原唯衣 住田 光 村上 咲 山下莉菜

はじめに

近年、胚性幹細胞（ES 細胞）や ips 細胞を活用しての人の再生医療の研究が盛んに推進されている。一方、ES 細胞は、実験動物を始め多種類の動物で作成され研究が進められている。万能性を維持した ES 細胞のメリットは、これに外来遺伝子を導入することで、遺伝子改変動物を作成出来ることにあり、新たな技術として有用物質の大量生産系の構築を可能にすると考えられている。牛や羊といった大中家畜である牛や豚を用いて研究が盛んに行われてきたが、一頭当たりの飼料代がかかることや、誰でも飼育することは難しいことから小動物（ニワトリやウサギ）の活用にその利用方向の変更が模索されるようになってきている。大量に飼育することを考えると、多頭羽飼育形態と多産卵（毎日卵を産む）という観点から、ニワトリの卵に有用物質を生産させるという方策が考えられ、多くの研究グループがそのための研究に凌ぎを削っている段階にある。そこで、ニワトリ※LIF の発見から新規のニワトリ ES 細胞の樹立に成功している広島大学に協力して頂き、この ES 細胞を用いて、外来遺伝子を導入して有用な遺伝子改変ニワトリの作出といった分野まで取り組みたいと考えた。（図 1）

※Leukemia Inhibitory Factor（白血病阻止因子）
 : ES 細胞の分化を抑制する因子。

方法

1. 実験 1 ドナーとなる胚盤葉細胞の回収，細胞の分離

- ① 受精卵から卵黄だけを取り出す。（図 2）
- ② 胚盤胞内部の細胞を回収するため，胚子をろ紙で軽く卵白を拭き取る。（図 2）
- ③ 胚子の大きさに切ったリング状のろ紙を乗せて，軽くピンセットでタップし，このろ紙の周りを卵黄膜ごと切り取る。（図 2）
- ④ このろ紙付きの胚子を PBS 溶液で卵黄を洗い流しました。今回の実験では 40 個の受精卵から胚子を採取する。
- ⑤ 採取した胚子を DMEM に chicken Seramm を混ぜ

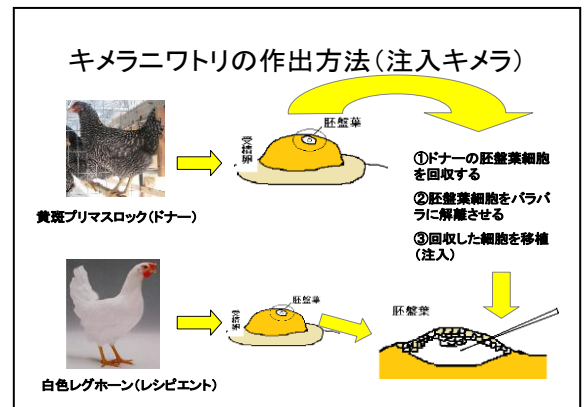


図 1 キメラニワトリの作出方法



図 2 胚盤葉細胞の回収と細胞の分離

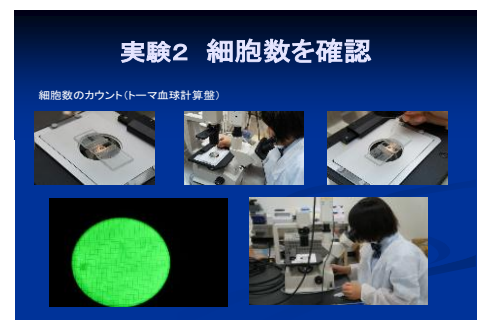


図 3 細胞数の確認

た保存液で洗浄を続ける。最終的には遠心分離器でドナーの受精卵の細胞だけにする。(図 2)

- ⑥ 卵黄と分離した受精卵の細胞が 1.5mL のチューブに保存する。(図 2)

2. 実験 2 細胞数を確認

- ① トーマの血球計算盤で希釈液にどのくらいの細胞が浮遊しているのかを確認する。(図 3)
- ② 顕微鏡下ではドナーの胚盤胞の細胞が浮遊していることが確認できる。(図 3)
- ③ 0.1 μ L 中の細胞数を数えて、回収した 1 mL 中の細胞数を換算する。34 万個の細胞を回収することができた。

3. 実験 3 ドナー細胞の注入

- ① マイクロチューブに scaling をして卵黄を傷つけないようにキャピラリーグラスを胚盤葉の下方からゆっくり突き刺し、胚盤胞内部細胞塊下の空隙に向かって、軽口でふいて注入する。2,500 個程度の細胞を 2 μ L 注入する。(図 4)
- ② DMEM 溶液はピンク色をしているのでうまく注入された胚盤葉はピンク色に染まって見える。(図 4)
- ③ これがキャピラリーグラスである。黒い筋が 2 μ L の間隔である。(図 4)

4. 実験 4 Perry 体外培養法システム I ~ II

- ① 水溶性卵白を多量にとっておく。図 5 の右上のビーカーは水溶性卵白である。(図 5)
- ② 同時進行で「ドナーの細胞が注入されているレシピエントの卵黄」を移し替える卵殻を作る。ダイヤモンドカッターで市販の L, LL の卵の卵殻の鋭端を削って中身を捨てる。このとき卵殻内部が乾燥しないように伏せて保存しておく。(図 5)
- ③ 水溶性卵白を卵殻の 1/3 程度入れていたものに、「ドナーの細胞が注入されているレシピエントの卵黄」を移植する。(図 5)

5. Perry 体外培養法システム III

- ① 次に卵黄が入った卵殻にアの水溶性卵白を継ぎ足し、気泡を追い出す。その上に空気が入らないようにラップをかける。卵の発生においては転卵が必要であり卵白・卵黄がこぼれないように固定する。このような器具を用意しなければならない。
- ② 孵卵器に入卵し、温度・湿度を管理する。(図 6)
- ③ 卵を孵卵器に入れ 72 時間後には胚子が大きく成長し、血管が成長していくため卵殻をさらに大き



図 4 ドナー細胞の注入

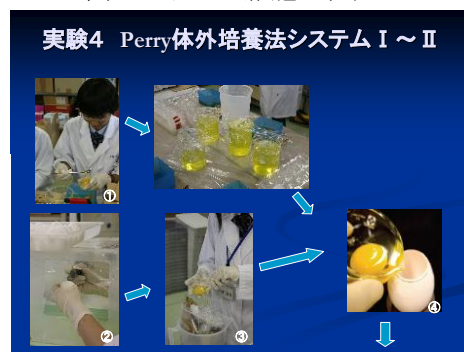


図 5 Perry 体外培養法システム I ~ II



図 6 Perry 体外培養法システム

なもの（3L卵殻）に移し替る。（図6）

- ④ 大きく成長し心臓も動いている様子が観察できる。（図6）
- ⑤ このまま18日間孵卵をするとキメラが誕生する。（図6）

成績

- 1.体外培養法の習得から注入キメラ作出までを完了することができた。
- 2.ドナー細胞とする黄斑プリマスロックの胚盤葉細胞の回収では、PBS溶液、DMEM溶液の作成を無菌状態で完了させ、クリーンベンチ内で洗浄、希釈しなければいけない。クリーンベンチ内の操作になれていないことから繰り返し練習しなければならない。
- 3.ドナー細胞のカウントに関してはトーマの血球計算盤の使用方法を理解することで、0.1 μ Lの細胞数から正確に換算することが出来た。40個の受精卵から約34万個の胚盤葉細胞を回収できた。



図7 体外培養での発生過



図8 体外培養での発生過

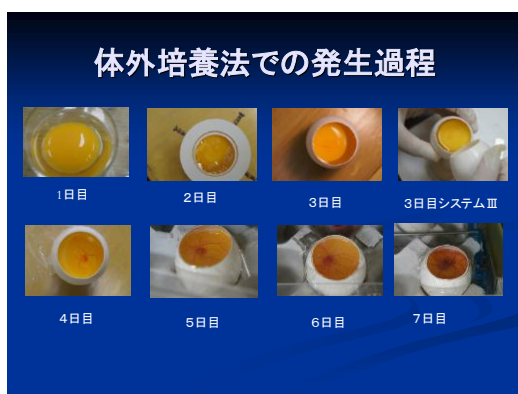


図9 体外培養での発生過



図10 体外培養での発生過程

- 4.ニワトリの場合、毎日のように受精卵を回収することができる。また卵割が卵黄表面における盤割であるため、これらの特性から実験材料として扱いやすく年間を通じて実験に供試できることが理解できた。
- 5.ドナー細胞を注入したレシピエント胚の体外培養の過程を孵化まで観察することができ記録に残すことができた。（図7、図8、図9、図10）
- 6.体外培養法ではやはりシステムIIからIIIが困難であり、5割の確率で成功するが発生の正確な時間を計算しなければ卵黄膜を傷つけてしまうことが分かった。

7.21 日目で発生するヒヨコは春期・秋期は 5～15 個/100 個，夏期においては若干低い傾向が見られた。

考察

昨年度，体外培養法を習得したことにより，今年度は一段階進め，キメラニワトリを作出することを目的として取組むことが出来た。仮説に従い理論通りに黄斑プリマスロック種の胚盤葉細胞を白色レグホン種に導入することでキメラニワトリの作出に成功した。成功率を上げるためには実験回数を増加させるだけでなく，正確な操作技術の習得，実験時間の確保が問題である。

本実験の到達目標である「病気に強いニワトリの作出」を達成するためには，「ニワトリ胚の体外培養」から進み「キメラ作出技術の習得」へ，さらには「ES 細胞の培養技術」，最後に「遺伝子組換え」を進めていく必要があることから，「遺伝子組換え」に関しては，校内において「遺伝子組換え生物等使用実験に関する安全委員会」を設置するとともに，広島大学大学院教育，理学，工学，生物圏科学研究科で行われている「遺伝子組換え生物等使用実験についての講習会」に参加し，広島大学で実験をすることが出来る知識と技術をマスターしているところである。

来年度の「万能細胞の培養」，「遺伝子組換え実験」に向け，生物における倫理，農業の倫理を遵守し研究を進めることである。

参考文献

- 1) 「生命・食・環境のサイエンス」江坂宗春 監修 共立出版
- 2) 「分子から見た生命の不思議」 深宮齋彦 監修 広大生物圏出版会
- 3) 「科学と生物 Vol.48.No.4.2010 ニワトリ万能細胞“ES 細胞”とその遺伝子組換え」
堀内浩幸，有澤謙二郎

キーワード

キメラ，胚性幹細胞（ES 細胞），遺伝子改変ニワトリ，多能性維持機構

ニワトリ受精卵細胞に関する雌雄特異的 DNA バンド の確認方法に関する研究

県立西条農業高等学校

畜産科 1 年 清水雅弘 池田冬乃 梶山瑞希 政岡真衣希
畜産科 2 年 播磨侑治 松浦美里

はじめに

ミルクを出すウシや卵を産むニワトリなどの産業動物では雌，肥育牛では雄が重要とされ，農家サイドでもその産み分けが経営を左右すると考えられる。一般農家の雌雄判別方法は，出生直後の生殖器の様子やその後の発育における形態的な変化すなわち，体つきや羽根の生え換わり等の外見を見て判断するしかない。

外部形態による雌雄判別以外で性差を確認するには DNA の鑑定がある。生まれてくる以前でいえば，ウシでは受精後 7 日目の胚の細胞から DNA を取り出し，PCR 法により DNA の増幅を図り雄特異的 DNA のバンドの有無によって判別できる。判別できた受精卵を培養，修復し受精卵移植により必要な性を得ることができる。ただ，哺乳類については妊娠期間が長いとか，性成熟に時間がかかることから，約 21 日で孵化する鳥類を用いて検証できないかと考えた。しかし鳥類の雌雄判別は，雛として誕生してからの肛門鑑別法や羽根鑑別法しかなく，鑑別後に雄を淘汰することになり家畜福祉の点や倫理的な面で問題が生じることも考えられる。私たちは，ニワトリの卵殻内で雌雄を判別することが出来れば，雌だけを孵化させる技術につなぐことが出来ると仮説を立て，今までに実験されていないニワトリの卵殻内での雌雄判別を試みた。

哺乳類での受精後から初期発生までの細胞レベルでの技術は顕微鏡下での操作となり，高度な技術を要するとともに，受精卵の準備についても高度な技術と経済的な面を解決しなければならない。

このため，次の 3 つの理由でニワトリを使用することとした。

- ① ニワトリは毎日卵を産むことから種卵（受精卵）が得やすい。
- ② 卵の中で発生が進むため，初期発生までの観察が容易である。
- ③ 成長が早く卵の中の血中 DNA を使い鑑定による雌雄判別が出来るとともに，解剖することでも雌雄判別が出来，結果を比較することが出来る。

また，以下の内容を到達目標とした。

- ① 解剖を行い，初期胚の肉眼的または顕微鏡観察により性判別を行い，発生何日目まで雌雄判別ができるか調査する。
- ② 初期胚からの採血法の確立と血液中 DNA を PCR 法で増幅し，DNA 鑑定により雌雄の特異的なバ

ンドを確認して雌雄判別を行なう。また、発生何日目で採血・DNA 鑑定がそれぞれ可能か調査する。

- ③ 解剖と DNA 鑑定での雌雄判別結果を比較する。
- ④ 初期胚からの採血による雌雄判別雛の、孵化の可能性を探る。

方法

1.解剖による雌雄判別

雄の場合、図の○の中に、2つの白い精巣がある。

雌の場合、体の左側に1つの卵巣があり、もう一方は成長にともなって退縮する。



図1 精巣

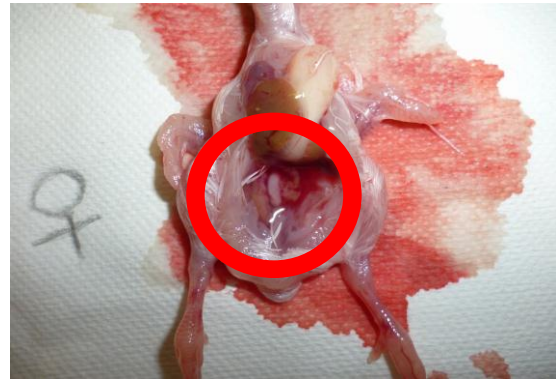


図2 卵巣

2. DNA 鑑定による雌雄判別

ニワトリの初期胚から血液を採取し、PCR を用いて DNA の増幅を図り雌特異的 DNA のバンドの有無によって判別し、解剖による確認をした。

- ア ニワトリの初期胚から血液を採取する。
- イ 血液中の微量の DNA を増幅する。
- ウ 負に電化した DNA を陽極側に泳動させる。
- エ 分離した DNA を染色し、紫外線を照射して写真撮影をする。



図3 サーマルサイクラー



図4 電気泳動装置



図5 トランスイルミネーター

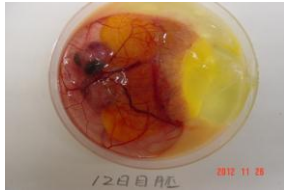
成績

1.解剖学的な雌雄判別に必要な1日目胚から21日目の孵化までを写真・スケッチに残すことができた。

2.解剖による雌雄判別

- 1) ふ卵前半の割卵は、お湯の中で行うと卵黄が割れにくいことが分かった。
- 2) 解剖した結果、12日目胚から雌雄の判別ができた。

12日目胚



胚子→



解剖したところ精巣が認められ雄だった。



3) DNA 鑑定による雌雄判別

ア 採血法の検討

当初、「採血場所周辺の溝切」、「卵殻剥離」の後、ツベルクリンシリンジと注射針（27G×3/4）を使用して採血を試みたが、初期胚では特定した採血場所の血管が細く、また移動するため、注射器の針を刺すことが困難であった。



図6 採血場所特定

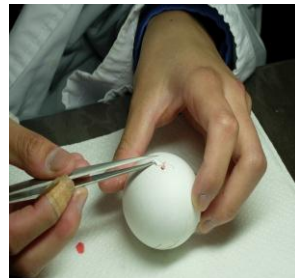


図7 卵殻剥離



図8 採血

イ 7日目胚で採血することができ、雌と判定できた。

ウ 雌雄判別結果の比較

DNA 鑑定による雌雄判別では、種卵⑦に雌特有のバンドが出ている。これは、人間では X, Y 染色体で男女に違いがでて、Y 染色体を持つ人が男性ということになるが、鳥類では逆になり、ニワトリでは Z, W 染色体の内、W 染色体があれば雌ということになり、この図のように雌特異バンドとして出現した。(図 9)

種卵⑦には卵巣、種卵⑧には精巣が確認でき、解剖と DNA 鑑定で雌雄が一致している。(図 10)

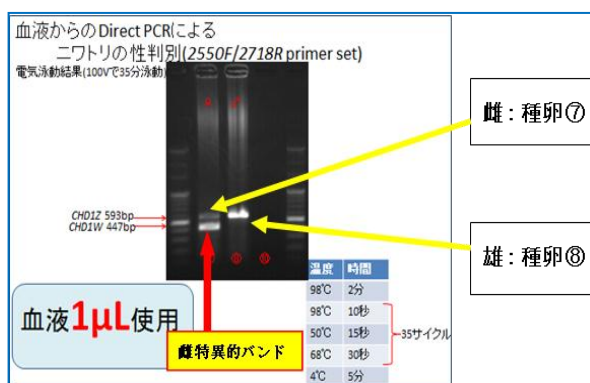


図9 DNA 鑑定結果

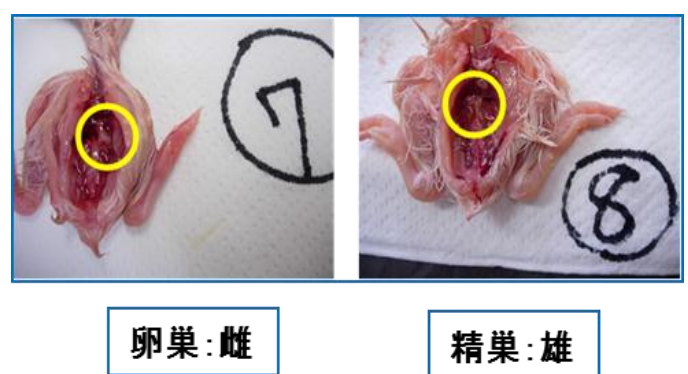


図10 解剖結果

エ 10日目胚において、採血後、孵卵を継続し孵化させることができた。孵化後の解剖でも雌雄の判別を行うことができた。卵殻内からの採血方法は不確実な面はあったが、血管を見つけることができた。

考察

1. 7日目胚で採血することができたが、初期胚においては特定した採血場所の血管が細く、かつ移動するため、注射器の針が刺さらず、採血は10～14日目胚ごろが良いと思われた。

2.採血法の改善

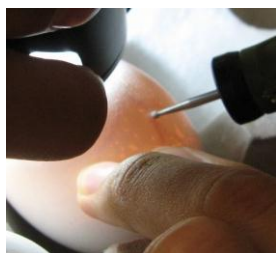


図 11 ドリルによる穴あけ

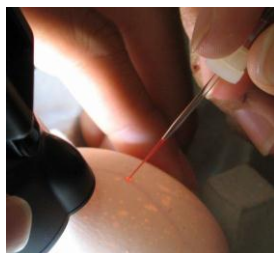


図 12 手製ピペットによる吸引



図 13 吸引用手製ピペット



図 14 マイクロピペットによる吸引



図 15 1 μL 採取



図 16 直接反応液との混合

採血法について、図 12 のように図 13 のピペットを使つての吸引と、図 14 のようにマイクロピペットで吸引する方法を試した。採血は吸い上げる方法(前者)が簡便であったが、マイクロピペットを使う方(後者)が、採血量が 1 μL ですぐに PCR 反応液と混合し、DNA の増幅に移れるため、時間短縮ができると考えられた。

3.卵殻内の血液による DNA 鑑定による雌雄判別が実用的にできるかという考察については、コスト面、判定時間等の点でいえば、現段階では割高で時間を要するとしか言えないであろう。しかし、孵化直後に判別された雄雛の処分については倫理的側面からの問題もあるので、判別時期、材料・方法等について、今後も検討していきたい。

参考文献

- 1) <http://www.root.ne.jp/nishide/pcr/PCR.htm>
- 2) 文部科学省編教科書：「動物・微生物バイオテクノロジー」

キーワード

DNA, 必要な性, PCR, 受精胚, 雌雄判別, 初生雛鑑別師, 倫理的側面

飼料イネホールクロップサイレージ給与による肥育試験 Part 4

広島県立庄原実業高等学校生物生産学科

○河原耕平 黒田和弘 佐々木健人 重久 敦
藤原公二郎 増田基樹 松山弘樹

はじめに

わが国の食料自給率は、約 40%と低く、飼料自給率にいたっては、25%とさらに低く推移している。また、休耕田や耕作放棄地の増加及び農業従事者の高齢化も大きな問題となっている。その課題への対策として、耕作放棄地を有効活用でき、既存の技術を活用し、低コスト生産ができる可能性のある飼料イネに注目した。本校は、飼料イネホールクロップサイレージ（以下飼料イネ WCS）を活用した黒毛和種肥育牛への飼料給与マニュアルの作成を目的としている。今回、昨年を引き続き、自給調製した飼料イネ WCS を給与し、その有効性と給与体系を検証したので、その概要を報告する（図 1）。

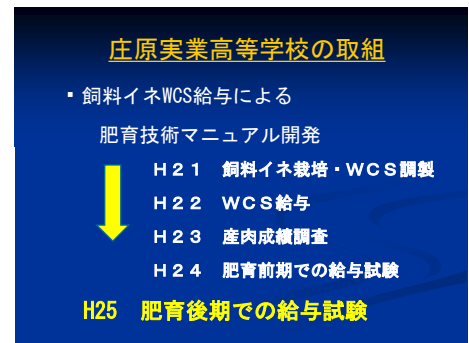


図 1 これまでの取組

方法

平成 24 年 2 月導入牛（平成 23 年生まれ）黒毛和種 4 頭を材料牛とし、肥育前期（9～12 か月齢）に飼料イネ WCS を給与（5Kg/頭/日）したのち、出荷前 2 か月間 2 頭を試験区として飼料イネ WCS を給与（2 kg/頭/日）し、2 頭を対照区（稲わら給与（2 kg/頭/日））とした（図 2 及び 3）。

実施期間及び材料

1 調査期間 H24.2.14 ~ H25.12.3
2 供試牛 黒毛和種去勢 (H24.2導入)

区分	No.	導入月齢	導入体重	父	祖父	曾祖父
試験区	5	8.9	293	勝白	北国7の8	第3神竜の4
	6	8.4	295	勝白	美津照	平茂勝
対照区	7	8.3	313	勝白	福谷福	神祇の10
	8	9.2	295	勝白	北伊藤	宝栄2

図 2 実施期間及び材料

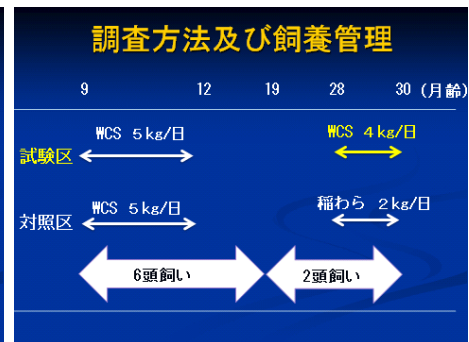


図 3 調査方法及び飼養

調査項目は、次のとおりである。

1. 体重の推移
2. 血液生化学的検査

血中ビタミン A 値（以下 VA 値）、血中ビタミン E 値（以下 VE 値）、総コレステロール値（以下 T-cho 値）、尿素態窒素値（以下 BUN 値）

3. 枝肉成績

枝肉重量、ロース芯、バラ厚、BMS、BCS、BFS

4. 粗飼料費比較

成績

1. 体重の推移 (図4)

試験区の No. 5, 対照区の No. 8 の成育がやや不良であるが, 試験区対照区とも体重の推移の傾向は変わらなかった。

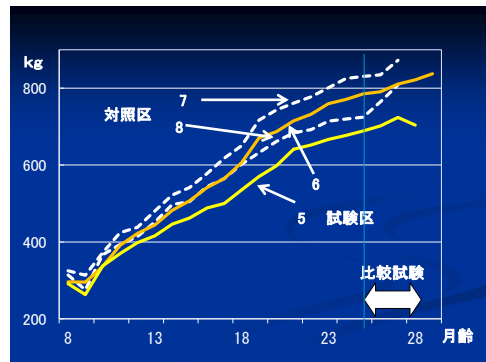


図4 体重の推移

2. 血液生化学的検査

VA 値は, 調査試験開始時 120~150IU/dℓと両区とも高い値を示し, 両区とも同じ傾向を示した (図5)。

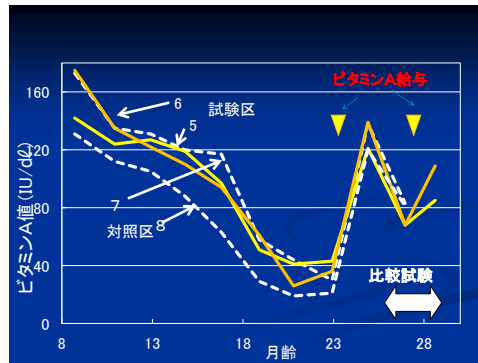


図5 VA 値の推移

VE 値の推移 (図6) は, 試験区対照区とも同様の傾向を示した。13 か月齢から 1 日 20 g のビタミン E を給与しており, 高い値を示した。

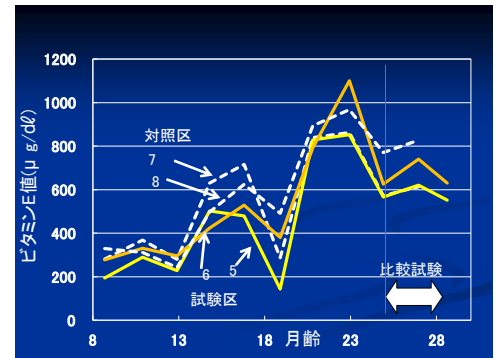


図6 VE 値の推移

T-cho 値 (図7) は, 試験区対照区とも試験期間において同様の傾向であった。試験区 No. 6 は肥育中期において低い値を示した。供試牛肥育期間の全体をみると No. 5 と No. 7 が 150mg/dℓ を下回った。

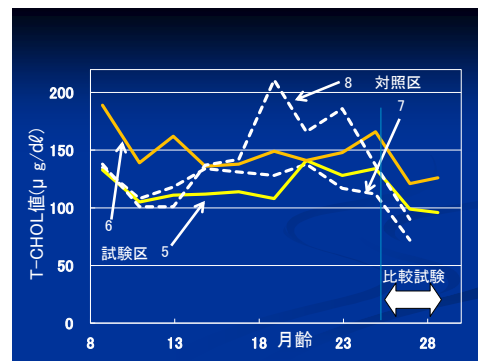


図7 T-cho 値の推移

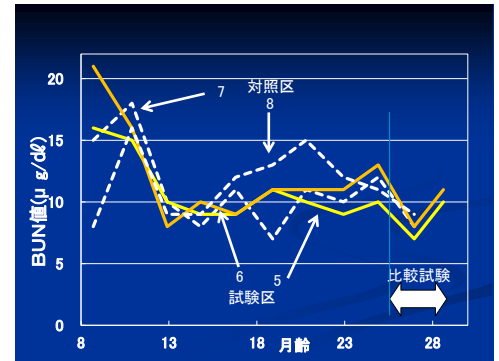


図8 BUN 値の推移

BUN 値の推移 (図8) は, 肥育前期で全体的に高い値を示したが, 中期後期で両区とも低い値となった。WCS を給与しても変化がなかった。

表1 枝肉成績

3. 枝肉成績

枝肉成績は, 試験区で B3(508.0 kg), A4(611.8 kg), 対照区 A3(584.0 kg), A4(560.0 kg)であった(表1)。BMS(No.), ロース芯面積 (cm²) 及びバラ厚 (cm) における育種価から算出した予測値との差は, 試験区で平均-2.2, -5.5, +1.0, 対照区で -3.0, +8.4, +0.5であった(表2)。

区分	No.	出荷時 体重	格付	枝肉重量 (kg)	ロース (cm ²)	バラ厚 (cm)	BMS	BCS	BFS
試験	5	704	B-3	508.0	39	7.3	3	4	3
	6	838	A-4	611.8	55	10.3	7	4	3
	平均	771		559.9	47	8.8	5	4	3
対照	7	873	A-3	584.0	60	8.4	3	5	3
	8	809	A-4	560.0	63	7.6	5	4	3
	平均	841		572.0	62	8.0	4	5	3

枝肉成績は両区で BCS, BFS に差はなく、飼料イネ WCS による影響はなかった。

表 2 期待育種価と枝肉成績の差

区分	No.	BMS (No.)	枝肉重量 (kg)	ロース芯面積 (cm ²)	バラ厚 (cm)	皮下脂肪 (cm)
	5	-4.0	17.6	-14.0	-0.5	1.3
試験	6	-0.5	123.7	3.0	2.5	0.2
	平均	-2.2	70.6	-5.5	1.0	0.7
	7	-4.1	113.0	5.8	0.8	0.8
対照	8	-1.9	82.8	10.9	0.1	0.0
	平均	-3.0	97.9	8.4	0.5	0.4

4. 粗飼料費比較 (表 3)

粗飼料費は、試験区 1 頭当たり 5,814 円、対照区 7,360 円となり、差額 1,546 円であった。全肥育期間で、飼料イネ WCS を利用した場合 1 頭当たり 11,098 円コストを下げることができた。

(※チモシー単価 60.8 円で計算)

表 3 粗飼料費比較

	給与飼料	給与総量 (kg/頭)	単価 (円/kg)	粗飼料費 (円/頭)
試験区	飼料イネWCS	368	15.8	5,814
対照区	稲わら	184	40.0	7,360
			差 額	1,546
試験区を含む全期間	飼料イネWCS +チモシー +稲わら	864 +439 +1,667	※チモシー 60.8	107,022
慣行法による全期間	チモシー +稲わら	725 +1,851		118,120
			差 額	11,098

まとめ

1. 飼料イネ WCS を出荷前 2 か月間給与する

ことは、BCS や BFS において、差が認められず、肥育成績に影響がないと考えられた。

2. 飼料イネ WCS 給与方法は、慣行法よりも、飼料費を抑えることができ、低コスト生産に有効であることが判明した。

3. 試験区 1 頭の枝肉成績が B3 となったことから、個体毎の採食量管理、体調管理及び群管理等の飼養管理体系を再検討する必要がある。

今回、飼料イネ WCS を、肥育前期及び出荷前 2 か月間給与することの可能性を見出した。今後は、生産費を抑え、出荷月齢を早められるよう、飼料イネ WCS 給与期間・給与体系・個体管理を再検証し、WCS 給与マニュアル構築へ向け取り組んでいく。このことは、自給飼料給与により、飼料費・耕作放棄地を削減することにつながる取組として期待でき、安全・安心な牛肉生産を目指していきたいと考える。

参考文献

1) 稲発酵粗飼料 (イネ WCS) 生産・利用の手引き (平成 24 年 3 月)

社団法人岡山県畜産協会 岡山県農林水産部畜産課

2) ビタミン A のコントロールを用いた効率的肥育技術 Q&A Vol. 2 (平成 17 年 3 月)

社団法人畜産技術協会

3) 稲発酵粗飼料の肥育牛への給与技術に関する共同試験・情報収集報告書 (平成 14~17 年度)

社団法人畜産技術協会

ミツバチから広がる交流・花とミツバチの里を目指して

県立油木高等学校 産業ビジネス科 2年

○河上瑞樹 松田卓也 平石慎吾

はじめに

私たちの住む広島県神石高原町はかつて養蜂の盛んな地域でしたが、海外から安い蜂蜜の輸入増加にともない里山の養蜂は人々の生活から遠退き、油木高校の前進、油木農学校の授業で行われた養蜂技術も失われ、姿を消しました。そこで、地域活性化の起爆剤として、養蜂を復活させようと考えました。「ミツバチ」は「環境指標生物」といわれ、農薬などの影響を受ける一番弱い生き物です。ミツバチが飛び交う環境は、安全・安心の証なのです。さらに、ミツバチの里として、花を育てることで480haの耕作放棄地の活用と地域交流の場を作ることを考え、活動を始めました。

研究の目標

1. ミツバチ飼育方法の確立
2. 活動蜜源植物の栽培拡大
3. 地域内外へのミツバチPR
4. ミツバチを活用した被災地支援

成績

1. ミツバチ飼育方法の確立

ミツバチを導入し、飼育管理について研究し、誰でも飼育できるように、マニュアルを作りました。しかし、ミツバチを飼育しても寒い神石高原町では春先にミツバチが増えず、蜂蜜の取れる量が少ない問題がありました。春から夏にかけては、1ヶ月しか生きられない働き蜂も秋からは花の蜜を集めない代わりに6ヶ月と長く生きます。次の年に生まれてくる次世代の働き蜂を育てたあとに死ぬのです。子育てしてくれる働き蜂の数がいなければ蜂は増えません。そのため養蜂業者は、冬は暖かい南に移動させますが、移動は肉体的にも金銭的にも負担です。そこで、冬場の管理について新たな方法を考えました。一般的には、巣箱の周りに断熱材の発泡スチロールなどで囲い寒さ対策を行いますが、冬場使われていない稲の育苗ハウスの中に入れることを思いつきました。さらに、巣箱を積み重ねることで個別に保温するのではなく、お互いの熱を外に逃がさない工夫を行いました。その結果、働き蜂の生存率が上がり、春先からの蜂蜜収量がアップしました。

2. 活動蜜源植物の栽培拡大

耕作放棄地を活用し、ミツバチのために花を育てることを考えました。花が咲けば景観もよくなり、花を見る観光客の誘致にもなります。種まきからイベントで行い、楽しみながら、花畑を作ることにしました。地元ホテルにも協力していただき、蜂蜜を使ったランチプランを考案し、イベントに参加していただいた方に認定書を送り、神石高原町のサポーターになっていただく活動になりました。

私たちの活動を知り、耕作放棄地を花畑に変えたいと依頼がありました。その広さ、なんと 5 ha。20 年以上放置され、木々が生えている状態でしたが、草を刈り、木を倒し、株を撤去し、土を耕して、レンゲの種をまき、花畑を作ることに成功したのです。この花畑は神石高原町の観光ポスターにも起用されました。はじめは高校生が何をやっているんだと、遠くから眺めていた地域の方も私たちの奮闘する姿を見て、何かしなくてはと思ってくださり、3 軒の家でミツバチの飼育をはじめられ、高齢者の生きがい作りにも貢献できました。地域の方が生産した蜂蜜は、広島の商品として認められ、東京銀座にできた広島県のアンテナショップ「TAU (タウ)」にて販売開始されました。この活動は、町議会で耕作放棄地対策として有効であることが認められ、町内の耕作放棄地にレンゲを植える場合、種代は町の予算で購入することが決まり、町全体へレンゲ畑を広げる活動になり、耕作放棄地をれんげ畑にしてくださる町内の方が増えてきています。

3. 地域内外へのミツバチ PR

耕作放棄地対策として、花畑を作り蜂蜜を生産し収入を得る地域活性化を提案し、実践してきたことを地元だけでなく、講演依頼を受け、京都や東京でも発表させていただきました。中山間地域の可能性を広げる活動として注目を集め、視察にこられる自治体が増え、島根県美郷町では実際に始められることが決まりました。また、蜂蜜の消費拡大のため蜂蜜を使ったメニューの開発を行いました。そのメニューを「地食甲子園」へ応募したところ全国大会へ出場し、入賞することができました。今後は道の駅と協力し、実際に販売する予定です。

4. ミツバチを活用した被災地支援

震災から時がたち、ボランティアの内容が重要視されるようになりました。被災地から遠く離れた広島でできることを考えていたとき、イチゴの産地で有名な宮城県のことを知りました。津波ですべてを失いながらも「自分たちにはイチゴしかない」と懸命に栽培を始められていました。イチゴ栽培において花粉交配を行ってくれるミツバチは大切なパートナーです。ミツバチを活用し、イチゴ農家さんへ送れば花粉交配の手助けができると考え、ミツバチを増殖することを決め、活動を始めました。暑い夏、ミツバチに刺されないように長袖を着込み、汗だくで作業をし、10月4日、15箱15万匹のミツバチを送る準備ができました。問題だった輸送は、卒業生が行ってくれることになり、1100kmの長旅をへてミツバチをイチゴ農家さんへ届けることができました。長く飼育できるように、ミツバチ飼育マニュアル、飼育道具も一緒にプレゼントしました。

12月10日、うれしい知らせがやってきました。イチゴの出荷がはじまったのです。農家さんから、ハウス内を飛び回るミツバチの姿の写真をいただき、私たちの育てたミツバチが花粉交配を行い、イチゴの実る手伝いができたと知ることができました。うれしそうな農家さんの姿を見ると、私たちまでうれしく幸せな気持ちになりました。

この活動は、全国で報道され、活動を応援する電話や手紙が多く寄せられ、反響の大きさに私たち自身驚きました。さらに、顕著な被災地支援活動として「全国農業協同組合中央会会長賞」受賞しました。できたイチゴの PR を東京で行い、販売の手伝いを行う交流も生まれました。地元ホテルでは宮城県からイチゴを購入し、イチゴスイーツフェアが実施され、交流の輪がさらに広がっています。町の皆さんからもこのボランティアに対する支持が高まり、今年度は町からボランティア補助金をいただき、ミツバチ支援

を続けていくことが決まりました。

2年目の交配用ミツバチ支援ボランティアでは、町の支援だけでなく、私たちの活動を応援したいと、交配用ミツバチを販売している会社からミツバチの輸送用段ボール箱を提供していただきました。さらに、地元のバス会社が輸送を支援してくださり、ボランティアに携わった生徒と共に、ミツバチを宮城県まで搬送してくれました。直接、イチゴ農家さんへミツバチを手渡すことができ、遠く離れていても、自分たちができるボランティアがあることを実感し、被災地の人と心がつながったような達成感を抱くことができました。農業に携わる者としてどんな困難があろうと、自分たちの培ってきた技術に誇りを持っておられるイチゴ農家さんの姿には、本当に感動しました。小さなミツバチが取り持ってくれた縁を今後も大切にしていきたいです。

まとめ

1. 冬季のミツバチ管理方法の提案ができました。
2. 耕作放棄地 5ha を再生し、花畑に変え、蜜源植物の栽培拡大ができました。
3. 蜂蜜を使った加工品の開発を行いました。
4. ミツバチ飼育技術を東北支援に活用でき、交流の輪を広げました。
5. 中山間地域の問題である耕作放棄地の活用として、花畑を作り、ミツバチを飼育して蜂蜜を得る実践活動は、多くの活動大会や研究発表会で認められ、地域に少しずつだが広がってきています。「ミツバチ」を中心とした活動は、里山保全だけでなく、蜂蜜を利用した6次産業化の可能性も広げ、更には東北支援活動まで広がり、交流の懸け橋にもなりました。

参考文献

- 1) 新特産シリーズミツバチ飼育・生産の実際と蜜源植物
- 2) ミツバチの不足と日本農業のこれから

蜜蜂の飼養衛生管理の現状と課題の検討

北部畜産事務所

○船守足穂 青山嘉朗

はじめに

養蜂振興法の改正により、平成 25 年度から蜜蜂飼育届の提出が義務化され、また広島県腐蛆病検査方針が新たに策定された。今回、当所管内において蜜蜂飼育届の提出があった養蜂農家の巡回指導を実施し、蜜蜂の飼養衛生管理の現状と課題について検討したので、その概要を報告する。

方法

1. 期間及び対象

平成 25 年に蜜蜂飼育届を提出した養蜂農家（表 1）を対象に、今年度（平成 25 年 4 月～平成 26 年 3 月）に全戸の巡回指導を実施することとした。

表 1 蜜蜂飼育届内訳

種別	戸数	届出群数
西洋蜜蜂	21 戸	2,136 群
日本蜜蜂	29 戸	132 群
計	50 戸	2,268 群

2. 実施内容

次のとおり、主に 4 項目の調査及び検査を実施した。また、巡回に当たり当所でリーフレットを作成し、それを用いて養蜂農家に対して蜜蜂の管理方法等について指導した。

1) 飼養実態調査

養蜂振興法に基づき、飼育群数及び巣箱の所在が適切であるかを現地で確認した。

2) 野生動物による被害調査

野生動物による蜂群の被害状況について確認した。

3) 腐蛆病等検査

家畜伝染病予防法に基づく検査を実施し、併せてその他監視伝染病についても検査した。

4) 医薬品使用状況調査

薬事法の違反事例の有無を確認し、併せて医薬品の使用状況を調査した。

成績

1. 飼養実態調査

平成 25 年 12 月現在、西洋蜜蜂は 21 戸中 19 戸巡回し、届出 1,796 群に対し 1,273 群の飼育を確認した。日本蜜蜂は 29 戸中 16 戸巡回し、届出 67 群に対し 20 群の飼育を確認した（表 2）。

巡回の結果、全て届出群数の範囲内で飼育されており、巣箱の設置場所にも問題は認められず、養蜂振興法に基づき適切に飼養されていた。

しかし、実際の飼育群数は飼育計画よりも減少しており、次のような原因が挙げられた。

- ・ 蜜蜂の採取や分蜂が計画通りでなかった
- ・ 県内転飼のため巡回時に当所管外に巣箱が移動していた（西洋蜜蜂）
- ・ 野生動物による蜂群の被害

表2 飼養実態調査結果

種別	調査戸数	届出群数	飼育群数
西洋蜜蜂	19 戸	1,796 群	1,273 群
日本蜜蜂	16 戸	67 群	20 群
計	35 戸	1,863 群	1,293 群

2. 野生動物による被害調査

1) ハチノスツヅリガによる被害

健康な蜂群はハチノスツヅリガによる被害を殆ど受けないが、働き蜂が減少した弱群では食害により巣を破壊され、蜂群の逃亡の原因となる^{1) 2)}。ハチノスツヅリガの被害は西洋蜜蜂で1戸、日本蜜蜂で14戸となり、日本蜜蜂で高い被害を受けていた（表3-1）。

原因として、日本蜜蜂は西洋蜜蜂と比べてハチノスツヅリガに弱いという種の問題と、飼育下の巣箱内は自然巣と比べて高温・多湿のため、ハチノスツヅリガが増殖しやすいという飼養環境の問題が挙げられる。

2) スズメバチによる被害

スズメバチは夏～秋にかけて蜂群を攻撃する^{1) 2)}。スズメバチによる被害は西洋蜜蜂で10戸、日本蜜蜂で11戸あり、どちらも高い被害を受けていた（表3-1）。

対策を実施していない農家に対して、スズメバチ捕獲器や粘着トラップの設置、あるいは必要に応じて巣門の閉鎖を指導した¹⁾。

3) クマによる被害

ツキノワグマ生息域では、しばしば蜂場内の蜂蜜や蜂児を狙われ、巣箱が壊滅的な被害を受けることがある¹⁾。クマによる被害は西洋蜜蜂で2戸、日本蜜蜂で1戸であり、被害件数自体は少なかった（表3-1）。しかし西洋蜜蜂飼養農家において、1蜂場30群が全滅した事例もあり、クマが出没すると深刻な被害になるため、無駄巣を巣箱周辺に放置しないことや、特に飼育群数が多い農家に対しては電気柵の設置を指導した¹⁾。

4) その他

日本蜜蜂におけるハチノスツヅリガとスズメバチによる被害の関連について検討した。ハチノスツヅリガの被害を受けた14戸のうちスズメバチの被害も受けた農家は10戸と高い割合であり、関連が示唆された（表3-2）。

さらに日本蜜蜂を2群飼養する農家では、ハチノスツヅリガの被害を受けた蜂群のみがスズメバチに

狙われた事例があった。そのためスズメバチ対策に加えて、特に越冬時に必要な給餌や巣箱の移動・温度によるストレスの低減などの健康管理に努めること、ハチノスツヅリガが発生した際には巣箱の清掃により食害を食い止めるなど、被害の一連の流れを防ぐ対策を指導した²⁾。

表 3-1 野生動物による被害調査

種別		ハチノスツヅリガ	スズメバチ	クマ
西洋蜜蜂	被害あり	1 戸	10 戸	2 戸
	被害なし	18 戸	9 戸	17 戸
日本蜜蜂	被害あり	14 戸	11 戸	1 戸
	被害なし	2 戸	5 戸	15 戸

表 3-2 日本蜜蜂飼養農家の被害状況

		ハチノスツヅリガ	
		被害あり	被害なし
スズメバチ	被害あり	10 戸	1 戸
	被害なし	4 戸	1 戸

3. 腐蛆病等検査

1) 腐蛆病検査

西洋蜜蜂は、肉眼的検査により蜂児の死亡や腐敗の有無などを確認したところ、異常は認められず全群陰性を確認した。

一方、日本蜜蜂の飼育に使われる重箱式巣箱は、構造上巣箱内部の蜂児を検査するためには巣箱を分解する必要がある。そのため、日本蜜蜂は巣箱を分解しない検査方法として腐蛆病に特徴的な腐敗臭の有無のみを巣箱外部から検査し、陰性を確認した。

2) その他監視伝染病

西洋蜜蜂 1 戸 1 群においてバロア病を診断した。病性鑑定を実施したところ、臨床検査で成虫の翅の奇形及び死亡数の増加を認め、寄生虫検査で成虫の腹部にミツバチヘギイタダニの寄生を認めた (図 1)。

3) ダニ発生状況

バロア病に関連して管内のダニ発生状況について調査した。ダニの発生は西洋蜜蜂で 9 戸あった。

しかし被害の認識はあるものの、バロア病が届出伝染病であることを認識していない農家があった。そのため監視伝染病について周知し、異常蜂発生時には当所に届出するよう指導した。



図 1 バロア病病性鑑定

4. 医薬品使用状況調査

1) 医薬品適正使用

西洋蜜蜂飼養農家・日本蜜蜂飼養農家ともに、薬事法の違反事例は認めなかった。

2) 腐蝕病予防薬

西洋蜜蜂飼養農家 10 戸で腐蝕病予防薬を使用していた。また腐蝕病予防をしていない西洋蜜蜂飼養 9 戸に対して腐蝕病予防の重要性について説明を行った結果、5 戸の農家が今後使用すると回答した。

3) ダニ駆虫薬

西洋蜜蜂飼養農家 15 戸でダニ駆虫薬を使用していた。しかし、中には投薬時期が不適切など、誤った使用方法のため十分な予防効果が得られていない事例があったため、効果的な予防方法を周知した。

まとめ

1. 今回、これまで把握出来なかった日本蜜蜂を含めた管内の新たな養蜂農家の飼養実態を調査した。
2. 腐蝕病検査については全群陰性を確認した。
3. 薬事法を遵守した適正な医薬品の使用を確認した。

今後の課題

1. 今年度特に深刻だった野生動物による被害の対策を実施し、被害の低減を図る。
2. 監視伝染病発生時に農家から当所への届出を徹底させ、発生を確実に把握する。
3. 医薬品の効果的な使用方法についてさらなる周知を行い、伝染病発生リスクの低減を図る。

参考文献

- 1) みつばち協議会：養蜂マニュアル, 31-32, 51-54(2011)
- 2) 京都ニホンミツバチ週末養蜂の会：これならできる！ニホンミツバチの週末養蜂(初版), 66-68, 75-77(2012)

哺乳子牛に発生した白筋症対策指導

西部畜産事務所

○長澤 元 伊藤晴朗

はじめに

白筋症はセレン（以下「Se」）あるいはビタミン E（以下「VE」）が欠乏し、筋線維が変性または破壊される疾病で、毎年数頭の発生報告がある。

平成 25 年 9 月 25 日、管内の酪農家において、子牛 1 頭（ホルスタイン種、雌、2 ヶ月齢）が起立不能となり、病性鑑定の結果、白筋症と診断した。その後 10 月 3 日に同居子牛 1 頭が、起立不能を呈したため、牛群全体の栄養状態の低下を疑い、当該牛及び、同居牛の血清中 Se 及び VE 値の測定を実施するとともに、搾乳牛舎への鉍塩の設置及び VE 製剤の連日投与で母牛の栄養状態の改善を図り、かつ、初乳へ VE 製剤を添加することで哺乳子牛の栄養状態の改善を図るなど、本症の発生対策指導を行ったところ、新たな発生はなく、一定の効果があったので、概要を報告する。

材料

1. 病性鑑定 1（平成 25 年 9 月 27 日実施）

9 月 27 日に起立不能を呈したホルスタイン種子牛（2 ヶ月齢、雌）1 頭（以下「初発牛」）を鑑定殺し、病性鑑定を実施した。

2. 対策指導

病性鑑定 1 の結果を基に実施した。

3. 病性鑑定 2（平成 25 年 10 月 4 日実施）

10 月 3 日に起立不能を呈したホルスタイン種子牛（49 日齢、雌）1 頭（以下「続発牛」）、同居ホルスタイン種子牛（7 日齢～28 日齢、雄 2 頭、雌 1 頭）及びホルスタイン種成牛 6 頭（33 ヶ月～160 ヶ月、雌）の血液及び血清を材料とした。

4. 対策指導後検査（平成 25 年 12 月 19 日実施）

黒毛和種子牛 1 頭（7 日齢、雄）及びホルスタイン種成牛 4 頭（42 ヶ月～82 ヶ月、雌）の血液及び血清を材料とした。

方法

1. 病性鑑定 1

1) 疫学調査

初発牛を含む飼養牛の飼料給与状況等を農場に立入、畜主から聞き取り調査を実施した。

2) 病理学的検査

病理解剖後、10%中性緩衝ホルマリン液で固定し、常法に従いパラフィン切片作成後、HE 染色及びグラム染色を施し鏡検した。

3) 細菌学的検査

心臓，腎臓，肝臓，脾臓及び肺を用い，5%羊血液寒天培地で37℃で48時間嫌気培養，DHL寒天培地で37℃で24時間好気培養を実施した。

4) ウイルス学的検査

脳を用い，HmLu-1細胞で2代継代培養を実施した。

5) 生化学的検査

鑑定殺前に採血し，一般血液生化学検査を実施するとともに，血清を材料としてSe及びVE値を，実質臓器を材料としてVE値を測定した。なお，血清中Se値は（独）動物衛生研究所に依頼し蛍光法で，VE値は当所にてHPLC法で実施した。

2. 対策指導

当該農場において，共済診療獣医師，当該農家及び当所職員の三者で協議した。

3. 病性鑑定2

生化学的検査

続発牛の一般血液生化学検査を実施するとともに，血清を材料として，Se及びVE値を測定した。

4. 対策指導後検査

対策実施後1ヶ月目に，前回検査牛を含むように，同居牛の血清Se及びVE値を測定し，効果を検証した。

成績

1. 病性鑑定1

1) 疫学調査

発生農場は，対尻式つなぎ方式で成牛（搾乳牛及び乾乳牛）約30頭，子牛・育成牛約20頭を飼育している酪農家である。導入等はほとんどなく，自家育成である。搾乳舎への鉋塩は未設置であった。

2) 発生状況

初発牛は平成25年7月13日生まれ。9月15日元気消失し，第2病日起立不能に陥ったため，共済診療獣医師が補液及び抗生剤投与を実施した。第6病～第10病日に後肢は負重可能となったものの，前肢は不能，第11病日再度起立不能に陥ったため，当所へ病性鑑定依頼があった。

3) 飼料給与状況

成牛には，イタリアン乾草5.5kg/日，スーダン乾草1.3kg/日，アルファルファ乾草3.0kg/日，燕麦乾草1.3kg/日，配合飼料10.0kg/日を給与していた。輸入乾草主体であるが，6～8月にかけては自給イタリアン乾草を3.5kg/日給与していた。哺乳子牛には，生後初乳を給与した後，代用乳などの使用はなく，生乳3.0L，イタリアン乾草及び成牛用配合飼料を各少量給与していた。

なお，飼料給与量と飼料中Se及びVE含量から，搾乳牛の充足率を算出した結果，当農場ではSe及びVEともに要求量を満たしていた¹⁾²⁾（表1）（表2）。

表1 飼料中 Se 及び VE 含量

飼料名	Se 含量 (mg/kg)	VE 含量 (mg/kg)
イタリアン乾草	0.02	—
スーダン乾草	0.12	—
アルファルファ乾草	0.07	426
燕麦乾草	0.05	—
配合飼料	0.20	49

※乾草中 Se 及び VE 含量は日本標準飼料成分表（2009年版）から引用 ※※配合飼料中 Se 及び VE 含量は飼料会社へ確認

表2 搾乳牛における Se 及び VE 充足率

搾乳牛飼料中 Se 要求量	0.10ppm (DM)
当農場飼料中 Se 含有量	0.12ppm (DM)
Se 充足率	120%
搾乳牛 VE 要求量	1,300mg/650kg (体重)
当農場 VE 給与量	1,510mg/650kg (体重)
VE 充足率	116%

※Se 要求量は日本標準飼料成分表（2009年版）から、VE 要求量は新獣医内科学(文英堂出版)から引用

4) 病理学的検査

ア 剖検所見

外観に異常は認められなかったが、四肢・背中を中心とした骨格筋の退色及び第四胃幽門部の潰瘍・穿孔が認められた（図1、図2）。



図1 退色した骨格筋



図2 第四胃幽門部の潰瘍・穿孔

イ 組織所見

骨格筋では、広範囲にわたる筋線維の凝固壊死と壊死した筋線維への異栄養性石灰沈着が認められた。病変は特に、左右前肢において重度であった。心臓では、心尖部に近い中隔及び右心室に心筋線維の変性・壊死が認められた。第四胃において筋層に至る粘膜の欠損が多発しており、残存組織の壊死好中球及びそれらが変性した炎症性細胞の集簇、線維芽細胞の増殖が重度に認められた。肺では細気管支及び肺胞内に中等度から重度の好中球浸潤、線維素析出及び軽度の出血が認められた。

また、肺胞の一部に、壊死と変性した炎症性細胞の集簇が認められた。

ウ 細菌学的検査

肝臓から *Streptococcus bovis*(3.4×10^2 cfu/ml) 及び *Staphylococcus xylosum*(1.5×10^3 cfu/ml)が、肺からは *Pasteurella trehalosi*(1.0×10^4 cfu/ml)が分離された。

エ ウイルス学的検査

全検体分離陰性であった。

5) 生化学的検査

WBC, GOT, CPK 及び LDH が増加しており, HGB, Ht, TP, T-Cho, Se 及び VE は低値であった(表 3)。また, 各臓器においても VE 濃度は欠乏基準値を下回っていた(表 4)。

表 3 血液及び生化学的検査(初発牛)

項目	成績
RBC	532 万/ μ l
WBC	21,100/ μ l ↑
HGB	4.8g/dl ↓
Ht	16.2% ↓
TP	5.2g/dl ↓
T-Cho	73mg/dl ↓
BUN	16mg/dl
GOT	188IU/L ↑
CPK	208IU/L ↑
LDH	>3937IU/L ↑
Se	34ng/ml ↓
VE	6 μ g/dl ↓

※↓低値↑高値

表 4 臓器中生化学的検査(初発牛)

材料	VE (μ g/g)	欠乏基準値 ³⁾
肺	<0.10	<2.1
心臓	<0.10	<1.45
肝臓	<0.10	<1.92
脾臓	<0.10	<2.08
腎臓	<0.10	<2.56

2. 対策指導内容

病性鑑定 1 の結果, 初発牛の血清中 Se 及び VE 値が低値であったこと, 及び続発牛の発生があったことから, 共済診療所獣医師, 当該農家及び当所職員の三者で協議し, 新たな起立不能牛の発生防止のため, 今後の方針について検討した。

3. 病性鑑定 2

RBC , WBC, GOT, CPK 及び LDH が増加しており, Ht, TP, T-Cho は低値であった (表 5)。

表 5 血液及び生化学的検査 (続発牛)

項目	成績		Se の正常値 40ng/ml 以上, 子牛の VE 正常値 70 μ g/dl 及び成牛の VE 正常値 150 μ g/dl と比較すると起立不能牛(検体No.1)では, Se 及び VE とも低値であり, 同居子牛(検体No.2~4)では, 3 頭中 2 頭で低値であった。同居成牛(検体No.5~10)では, Se は 6 頭中 5 頭で, VE は 6 頭中 2 頭で低値であった (表 6)。
RBC	972 万/ μ l	↑	
WBC	21,400/ μ l	↑	
HGB	9.0g/dl		
Ht	30.3%	↓	
TP	6.3g/dl	↓	
T-Cho	86mg/dl	↓	
BUN	16mg/dl		
GOT	1,000IU/L	↑	
CPK	536IU/L	↑	
LDH	>3937IU/L	↑	

↓低値 ↑高値

表 6 血清中 Se 及び VE 値(病性鑑定 2)

	検体No.	種別	性別	月 (日) 齢	Se (ng/ml)	VE (μ g/dl)
続発牛	1	ホルスタイン	雌	49 日	32 ↓	15 ↓
同居子牛	2	ホルスタイン	雌	28 日	32 ↓	24 ↓
	3	ホルスタイン	雄	9 日	55	112
	4	ホルスタイン	雄	7 日	36 ↓	23 ↓
同居成牛	5	ホルスタイン	雌	160 ヶ月	42	108
	6	ホルスタイン	雌	33 ヶ月	36 ↓	252
	7	ホルスタイン	雌	52 ヶ月	38 ↓	181
	8	ホルスタイン	雌	80 ヶ月	22 ↓	24 ↓
	9	ホルスタイン	雌	39 ヶ月	38 ↓	199
	10	ホルスタイン	雌	130 ヶ月	19 ↓	173
		正常値			40 <	70 < (子牛) 150 < (成牛)

※ ↓低値 ↑高値

4. 対策指導後検査

対策実施から約 1 ヶ月後の血清中 VE 値については, 全頭で正常値であった。なお, 血清中 Se 値については全頭で検査中である (表 7)。

表7 血清中 Se 及び VE 値(対策指導後)

検体No.	種別	性別	月(日) 齢	Se (ng/ml)		VE (µg/dl)	
				病性鑑定2	指導後検査	病性鑑定2	指導後検査
同居子牛 1	黒毛和種	雄	7日	—	検査中	—	373
同居成牛 2	ホルスタイン	雌	54ヶ月	38↓	検査中	181	326
3	ホルスタイン	雌	82ヶ月	22↓	検査中	24↓	157
4	ホルスタイン	雌	42ヶ月	38↓	検査中	199	618
5	ホルスタイン	雌	49ヶ月	—	検査中	—	321

※↓低値 ※※—検査未実施 ※※※No.2は病性鑑定2のNo.7, No.3は病性鑑定2のNo.8, No.4は病性鑑定2のNo.9とそれぞれ同一個体

まとめ及び考察

病性鑑定1の結果、骨格筋の退色及び変性・壊死、血清中 Se 及び VE 値及び臓器中 VE 値の低値などの所見から、初発牛を白筋症と診断した。本症例では血清中 VE 値が著しく低下していることから、抗酸化作用が十分機能せず、免疫細胞が影響を受け、二次的に肺炎を伴ったと考えられた。

初発牛の血清中 Se 及び VE 値が低値であったこと及び続発牛が発生したことから、共済診療獣医師、当該農家及び当所職員三者の協議により、母牛の栄養状態が子牛に影響を与えていると推測し、新たな白筋症の発生を抑える必要があると考え、病性鑑定2の結果を待たず、牛群全体の栄養改善のため、母牛に対して①搾乳舎へ鉍塩の設置、②VE 製剤の連日投与で栄養状態の改善を図ることとし、哺乳子牛に対して①初乳へ VE 製剤の添加、②必要に応じて共済診療獣医師による加療を実施することとし、直ちに対策を実施した。

なお、飼料給与状況が泌乳ステージ及び発育ステージに沿っておらず、改善の必要性が生じたが、直ちに改善することは困難であったため、今後検討することとした。

病性鑑定2の結果から、続発牛については、GOT, CPK, LDHの上昇から、筋肉損傷の可能性があり、かつ血清中 Se 及び VE 値が低値であったことから、白筋症が疑われた。同居牛についても、血清中 Se 及び VE 値が低値の牛が散在しており、潜在的に筋肉障害をもたらす栄養性欠乏の状態にあったと推察され、当初の推察どおり、母牛の栄養不良が、子牛の白筋症の原因となったと考えられた。

当農場の飼養状況から、飼料中の Se 及び VE 含量は、搾乳牛の要求量を満たしていたが、①当農場では夏場に自給乾草を給与しており、我が国の草地は Se 含量が低いこと⁴⁾、②搾乳舎の鉍塩が未設置であり効率的に Se を補給できないこと、③乾草中の VE 含量は保管中に損失する可能性があること⁵⁾、④胎子形成や泌乳開始に伴う酸化ストレスによって血清中 VE 値は減少する可能性があること⁶⁾から、複数の母牛の血清中 Se 及び VE 値が低値に陥ったと推察された。

また対策指導後の検証では、血清中 VE 値については、高値を示し、新たな起立不能牛の発生は認められなかったことから。対策の効果は有効であったと考えられた。なお、血清中 Se 値については、検査中である。

今回、自給乾草中の Se 含量が低値であることが疑われたが、現物は既に消費されており、含量は不明であったことから、次回生産時に、含量を確認する必要があると考えられた。

白筋症防止だけでなく、生産性や感染症予防のためにも適切な飼料設計は必要であり、今後は泌乳ステージ及び発育ステージを考慮した飼料設計に見直す予定である。なお、近年の白筋症は、血清中 Se 値の不足を伴わない例もみられており⁷⁾、これは下痢などの消耗性疾患に起因する、血清中 VE 値の不足によるものと推察され、引続き感染症対策に留意する必要があると考えられた。

参考文献

- 1) 独立行政法人農業・食品産業技術総合研究機構編：日本飼養標準・乳牛(2006年版)，(社)中央畜産会，18 (2007)
- 2) 村上大蔵ほか：セレン及びビタミン E の代謝障害，新獣医内科学，第 2 版，文永堂出版 555 (1996)
- 3) 高野泰司ほか：子牛の白筋症診断における臓器中ビタミン E 及びセレン測定の有用性の検討，日本獣医師会雑誌，Vol.66，No.6，420 (2013)
- 4) 其田三夫ほか：子牛の白筋症，牛の臨床，改訂増補第 6 版，デーリィマン社，421 (1993)
- 5) Gustav Rosenberger：ビタミン E 欠乏症，ローゼンベルガー牛疾病学消化器病・代謝病編，(社)日本獣医師会，362，(1985)
- 6) 安井 喬：分娩前後の免疫低下，Dairy Japan，デーリィジャパン社，78-79，12月号，(2013)
- 7) 高橋雄治：白筋症 ビタミン E など投与，日本農業新聞 e 農ネット，8月22日，(2012)

養豚農家に対する飼養衛生管理基準の遵守に向けての取組

東部畜産事務所

○本多俊次 中光務

はじめに

飼養衛生管理基準は、食品の生産段階における安全性を確保する観点から、衛生管理の徹底を図る目的で、家畜の所有者が守らなければならない責任並びに義務として、平成 16 年 9 月の家畜伝染病予防法改正により制定され、同年 12 月から施行された。しかし、その後、国内及び近隣諸国における悪性家畜伝染病の発生等が認められ、特に、平成 22 年の宮崎県において発生した口蹄疫は、我が国の畜産に対して未曾有の被害をもたらした。家畜伝染病による被害を最小限に食い止めるため、平成 23 年 10 月の法改正により、「発生の予防」、「早期発見・通報」及び「迅速・的確な初動」に取り組む体制を構築することとなった。

その改正内容に対する畜主の理解を深め、衛生意識の向上に取り組んだので、その概要を報告する。

方法

1. 対象農家

管内養豚農家全 12 戸（平成 25 年 12 月現在）

2. 方法

1) 改正内容についての説明

平成 23 年における飼養衛生管理基準の改正の柱は、「衛生管理区域」及び「埋却等の準備」である。しかし、家畜飼養者にとっては、新しい用語であったことから、この項目についての入念な解説が必要と考え、平成 24 年の定期報告書の提出時期に各農場に立ち入り、直接、畜主に説明した。

① 「衛生管理区域」については、農場への病原体侵入を未然に防ぐ目的で設定されることを前提として、その区域内においては、日常的な衛生管理が必要とされることを説明した。次に、当所で準備した各農場の平面図に「衛生管理区域」を当てはめ、農場で実際に行われている作業内容を確認するとともに、追加されるべき作業工程並びに必要とされる資材を提案しながら、作業全体の見直しを畜主と検討した。

② 「埋却等の準備」については、平成 22 年の宮崎県での口蹄疫発生時の農林水産省プレスリリースの情報から得られたデータをもとに説明を実施した。異常家畜発見の通報から防疫措置完了に至るまでの所要日数を整理したグラフを作成し、畜主に提示した（図 1）。防疫措置が遅延した原因の一つに埋

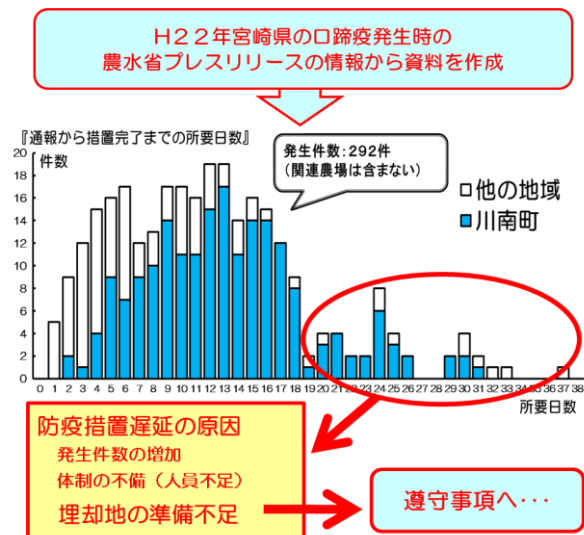


図 1 埋却等の準備についての説明のイメージ

却地の不足があったことから、埋却候補地の準備が遵守項目に盛り込まれたことを畜主に説明した。

③ 「消毒」については、平成16年制定の飼養衛生管理基準から必須事項として定められていたが、口蹄疫の発生以降、対象ウイルスに効果的な消毒剤を使用することが求められるようになった。今回、消毒方法に関して、「消毒剤の特徴と使用対象」、「各種病原体への消毒剤の効果」及び「pHと口蹄疫ウイルスへの有効性」の3種類の資料を作成した(表1, 表2及び表3)。これらの資料を用いて、畜主へ安全かつ適正な消毒剤の使用方法を畜主に指導し、畜産現場における日常的な衛生管理手段としての定着を図った。

表1 消毒の徹底についての作成資料①

『消毒剤の特徴と使用対象』

製剤分類	製品名 (代表的なもの)	消毒剤の特徴	短所	使用対象				
				畜舎	器具	人員	畜産	車両
グルタール系	グルターズ ヘルミン グルタクリン	○多くの畜舎等に強い効果あり ○各種の有機物の影響を軽減しにくい ○金属及びプラスチックへの腐食性が低い	○殺菌や消毒に強い効果が無い ○臭いの発散に比べて遅い	○	○	○	○	○
両性石鹼	バスター	○皮膚や衣類に強い効果がある ○金属及びプラスチックへの腐食性が低い	○皮膚や衣類に強い効果が無い ○臭いの発散に比べて遅い	○	○	○	○	○
逆性石鹼	アストップ、クリアキル、 パンバックス、 パコマ、オスパン	○無臭で安全、安全に使用可能 ○金属及びプラスチックへの腐食性が低い	○殺菌や消毒に効果が低い ○一部のウイルスや芽胞菌に強い効果	○	○	○	○	○
塩素系	クリンテ アンテックピルコス	○殺菌力の強い効果あり ○臭いの発散に比べて遅い	○アルカリ性物質との混合で効果が下がる ○臭いの発散に比べて遅い	△	○	○	○	△
ヨード剤	クリンナップA バイオシッド ポリアッパ16	○多くの畜舎等に強い効果あり ○各種の有機物の影響を軽減しにくい ○臭いの発散に比べて遅い	○殺菌力、殺菌作用より効果が下がる ○臭いの発散に比べて遅い	○	○	○	○	○
アルコール	タナベソール	○各種の有機物の影響を軽減しにくい ○臭いの発散に比べて遅い	○一部のプラスチックに強い効果あり ○一部のウイルスや芽胞菌に強い効果	○	○	○	○	○

○：効果あり △：やや効果あり ×：無効
注) ピルコスは金属腐食性あり
注) 殺菌力に注意
注) 臭い

表2 消毒の徹底についての作成資料②

『各種病原体への効果』

製剤分類	製品名 (代表的なもの)	ウイルス		細菌	真菌	芽胞菌	卵菌	原生動物	ハエ (他)	生体噴霧の許可 および休養期間
		19A型 PSEV	19B型 PSEV							
グルタール系	グルターズ	○	○	○	○	○	○	○	○	非許可
	ヘルミン25 グルタクリン	○	○	○	○	○	○	○	○	
両性石鹼	バスター	×	○	○	×	△	×	×	×	豚：7日
	アストップ クリアキル パンバックス パコマ	×	○	○	×	△	×	×	×	牛、馬、豚、 鶏：3日 豚：5日 鶏：1日
塩素系	クリンテ スミクロール	○	○	○	○	○	○	×	×	牛、馬、豚、鶏：2日 豚：5日 鶏：1日
	アンテックピルコス	○	○	○	○	○	×	×	×	非許可
ヨード剤	クリンナップA バイオシッド ファイナホール	○	○	○	○	○	○	○	×	制限なし
	タナベソール	×	△	○	×	○	○	○	○	非許可

○：有効 △：やや有効 ×：無効

2) 遵守状況の評価の見直し

現在、飼養衛生管理基準の遵守状況は、平成24年に改訂されたチェック表で確認している。このチェック表には、第1から第9までの9つの区分に分けられており、それぞれの区分に計37の遵守項目が記されている。

今回、効率的な指導並びに農場の課題の明確化を図るため、確認方法を改良した。

まず、項目を関連した内容で集約を図るため、「区分Ⅰ：日常的な防疫対策」、「区分Ⅱ：衛生管理区域の設備」、「区分Ⅲ：衛生管理区域での作業」、「区分Ⅳ：豚の健康状態」、「区分Ⅴ：飼料、飲用水、衛生動物対策」及び「区分Ⅵ：その他、防疫上の掌握事項」の6つの確認事項の区分を設定した。次に、前述のチェック表の項目を各区分に振り分けた。畜主の衛生意識の向上を図ることが本来の目的であるため、養豚経営上問題となる慢性疾患対策等の衛生管理に関する項目を追加し、各区分10項目の独自のチェック表を作成した(図2)。

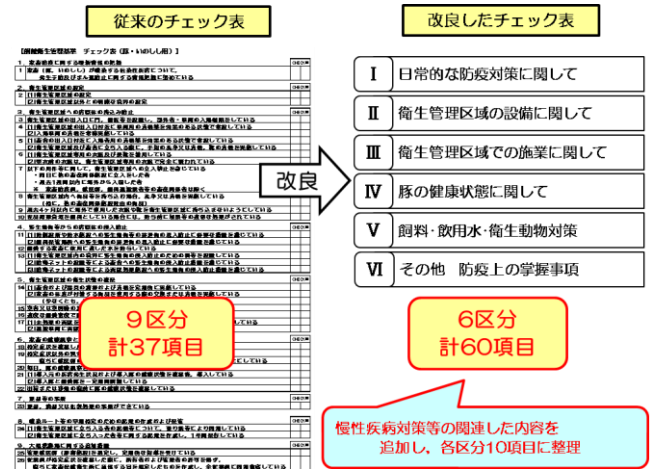


図2 チェック表の改良のイメージ

表3 消毒の徹底についての作成資料③

『pHと口蹄疫ウイルスへの効果』

酸性	製剤分類	製品名 (代表的なもの)	希釈倍率	水10Lに 添加量	口蹄疫ウイルス に対する効果
酸性	ヨード系	クリンナップA	200-400倍	25-50mL	○
		バイオシッド30	500-1000倍	25-50mL	○
		ポリアッパ16	500-1000倍	10-20mL	○
	塩素系	アンテックピルコス	500-1000倍	10-20g	○
		クリンテ	500-1000倍	10-20g	○
		スミクロール	500-1000倍	12.5-50g	○
その他	食塩	500倍	20mL	○	
	クエン酸(食用)	500倍	20mL	○	
中性	アルコール	消毒用エタノール	そのまま使用		×
	アルコール	タナベソール	100-200倍	50-100mL	×
弱アルカリ性	両性石鹼	バスター	500-800倍	1.25-20mL	×
	逆性石鹼	アストップ、クリアキル パンバックス、パコマ	500-800倍	1.25-20mL	×
アルカリ性	グルタール系製剤	グルターズ	※1	○	
		ヘルミン25	※1	○	
		グルタクリン	200-800倍	25-50mL	○
	複合系	アリアンド	200-400倍	10-20mL	○
		炭酸ソーダ	25倍	400g	○
		水酸化ナトリウム塩消毒剤	※2	○	
その他	10%漂白剤	1000g	○		
	漂白剤(水酸化カルシウム)	散布	0.5-1kg/m ²	○	
	生石灰(水酸化カルシウム)	散布	0.5-1kg/m ²	○	

※1 主剤20mL・補助剤20mL・水10L
※2 逆性石鹼20mL・水酸化ナトリウム10g・水10L

本チェック表は、前回分の指導を検証できるように2回分の確認欄を設定し、各農場の進捗度を明確にして指導するために、段階評価を用いた。すなわち、「遵守できている：○」、「実施済（効果を検証中）：□」、「指導中：△」及び「未着手：×」の状況を確認欄に記録した。

この評価の段階に、それぞれ5点、3点、1点及び0点と配点を加え、各区分の合計点を算出することで遵守状況を数値化した（図3）。さらに、各区分の点数に基づき、Microsoft Excelのグラフウィザードを用いてレーダーチャートを作成した。本チェック表に、このレーダーチャートを添付した「評価シート」を畜主に提示することにより、進捗状況を分かりやすく指導した（図4）。

IV 豚の健康状態に関する確認事項	前回	前回
1 飼養豚の日常的な健康状態を観察しているか	○	○
2 飼養豚を適切な密度で飼養しているか	△	□
3 快適な豚舎環境（温度・湿度・換気）の維持に努めているか ※	○	○
4 豚の体液が付着する物品（注射針、AI器具等）の交換・消毒を徹底しているか	○	○
5 豚の導入記録を保管しているか ※	○	○
6 導入元の衛生状況を充分把握しているか	○	○
7 導入豚の隔離観察のための施設を設置しているか	△	○
8 導入豚を3週間隔離し、健康状態を確認しているか	△	○
9 出荷または移動の直前に豚の健康状態を確認しているか	○	○
10 出荷豚の肉肉衛生検査成績および肉肉成績等の把握に努めているか ※	○	○

段階評価

○：遵守できている
□：実施済（効果検証中）
△：指導中
×：未実施

配点

○：5点
□：3点
△：1点
×：0点

図3 段階評価と配点の導入

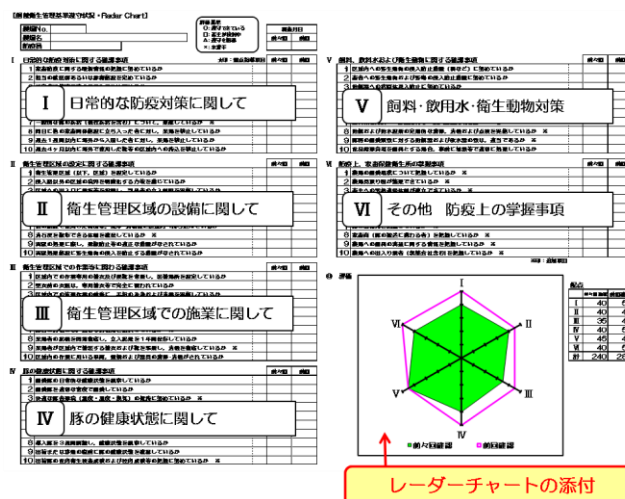


図4 評価シートの作成

成績

管内全12戸の養豚場において、遵守が確認された主な項目は、図5のとおりである。「衛生管理区域の出入口における境界の設定」（図6）及び「野生動物の侵入防止対策」については、積極的な資材購入等による改善があった。「適度な飼養密度」については、空き豚房の利用等による収容頭数の調整、「隔離施設の設定」（図7）については、畜舎の改築等の既存施設の有効活用により達成された。「侵入車両の消毒設備」については、機材の購入例も含めて動力噴霧器が配備された。「埋却地」については、全戸で「候補地」が確保されたが、今後、その実用性の検証が必要である。

埋却のための候補地
区域出入口の境界設定
車両消毒設備
適度な飼養密度
隔離施設の設定
野生動物の侵入防止

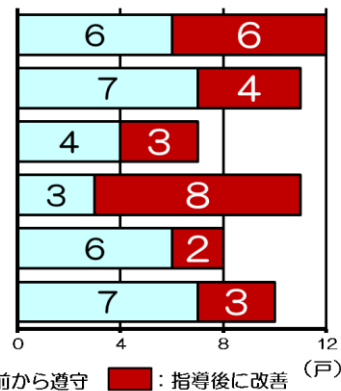


図5 管内全12戸で確認された主な改善事項

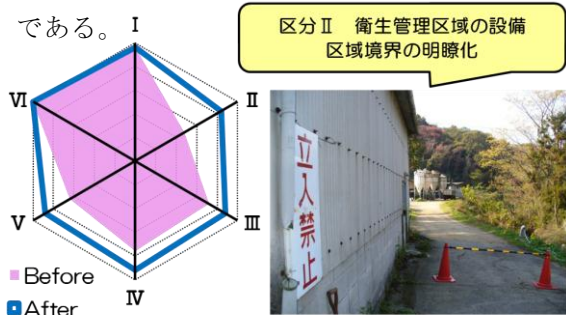


図6 遵守事例①

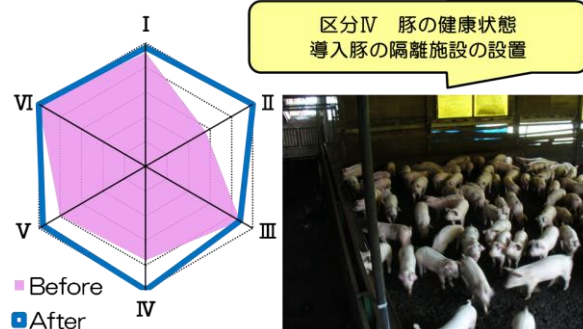


図7 遵守事例②

まとめ及び考察

法改正に伴う飼養衛生管理基準の遵守項目の改正点の説明については、一方的に遵守義務を畜主に求めるのではなく、重点項目に視点を置いて説明することにより、畜主の積極的な姿勢を引き出すことができた。要点を整理して作成した消毒方法等の資料については、農場立入時の説明に有効であり、畜主の理解が深まり、衛生意識の向上につながった。また、「評価シート」を用いた指導により、畜主が実践しやすい環境が整ったうえ、要点を絞った指導の継続が可能になった。

今回の取り組みが、養豚農家の衛生意識の向上の一助になったと考える。

だちょう雛にみられた大腸菌症

北部畜産事務所

○久保井智美 上川真希佳

はじめに

日本におけるオーストリッチ産業は、平成3年に沖縄に導入されたのが始まりで、その後各地に導入されている。当所管内においても、だちょう飼育場が存在し、だちょうの肉や卵を使った産業が行われている。だちょうは従来の家きんとは異なり、実験感染など十分に実施されておらず、だちょうから分離された病原体の病原性や有効な防疫対策等に関しては未だ不明な点が多いといわれている¹⁾。

今回、だちょう雛において、*Escherichia coli* (*E.coli*)による大腸菌症に遭遇したので、その概要を報告する。

方法

1. 農家概要

発生農家は、成鳥6羽、育成3羽を平飼いし、雛3羽を育雛舎内で飼育している。4ヶ月齢時にニューカッスル病ワクチンを点眼接種し、それ以降は半年ごとに接種している。

2. 発生状況

平成25年9月、他県から2日齢で導入しただちょう雛3羽のうち1羽に導入後18日目から体重減少がみられ、その後元気消失し嗜眠状態となり死亡した。

3. 病性鑑定

死亡だちょう1羽を検査材料とし、次のとおり実施した。

1) 病理学的検査

病理解剖後、定法により病理組織学的検査を実施した。

2) 細菌学的検査

定法により分離培養後、薬剤感受性試験を実施した。

3) ウイルス学的検査

鳥インフルエンザ簡易検査を実施後、発育鶏卵法及び培養細胞法によるウイルス分離を実施した。

成績

1. 病理学的検査

1) 病理解剖所見

小腸粘膜に充血を認めた(図1)。

2) 病理組織所見

十二指腸及び小腸に線維素析出、絨毛の壊死、変性した炎症性細胞の集簇及び細菌増殖がみられる線維

素性壊死性小腸炎を認めた (図 2, 3)。



図 1 小腸の充血

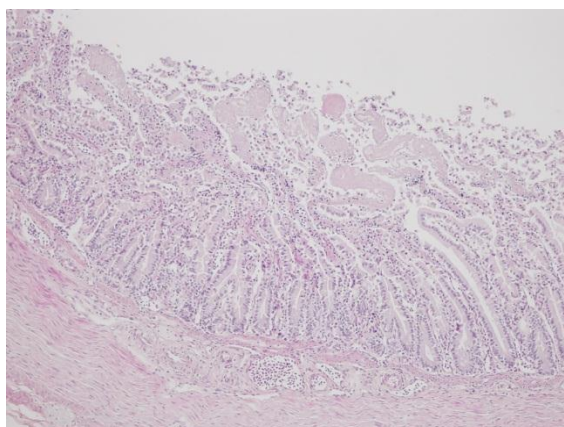


図 2 十二指腸の絨毛壊死, 線維素析出及び炎症性細胞の集簇

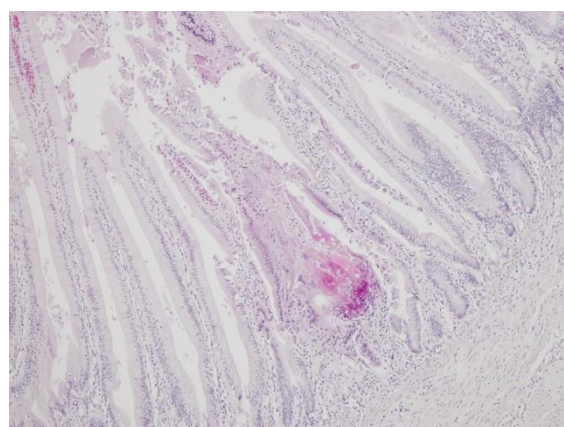


図 3 小腸上部の絨毛壊死, 炎症性細胞の集簇及び細菌増殖

2. 細菌学的検査

1) 細菌分離

脳, 腎臓, 十二指腸, 小腸上部, 結腸から *E.coli* ($2.0 \times 10^7 \sim 3.0 \times 10^7$ cfu/ml) が分離された (表 1)。

2) 薬剤感受性試験

分離菌は, ストレプトマイシンに対して耐性を示し, エンロフロキサシンに対して感受性を示した (表

2)。

表 1 分離部位及び菌量

分離部位	菌量 (cfu/ml)
脳	2.0×10
腎臓	$10^3 <$
十二指腸	3.0×10^7
小腸上部	6.0×10^6
結腸	1.5×10^7

表 2 薬剤感受性試験結果

分類	成分名	判定※
ペニシリン系	アンピシリン	I
	アモキシシリン	I
アミノグリコシド系	ストレプトマイシン	R
	カナマイシン	I
	スペクチノマイシン	I
テトラサイクリン系	オキシテトラサイクリン	I
ニューキノロン系	エンロフロキサシン	S

※S：感受性，I：中間，R：耐性

3. ウイルス学的検査

鳥インフルエンザ簡易検査は陰性，主要臓器からウイルスは検出されなかった。

4. 診断

今回死亡しただちょう雛を *Escherichia coli* (*E.coli*) による大腸菌症と診断した。

5. 対策

踏み込み消毒槽の設置，育雛舎内の消毒を実施し，温度管理を徹底した。

まとめ及び考察

1. 今回死亡しただちょう雛を大腸菌症と診断した。
2. 育雛舎内の消毒及び温度管理を徹底したことにより，残りの雛は順調に発育した。

参考文献

- 1) 鶏病研究会；ダチョウの感染症（第38巻），21（2002）

採卵鶏に発生した *Pasteurella gallinarum* 及び伝染性喉頭気管炎ウイルスの混合感染事例

西部畜産事務所

○伊藤晴朗 植松和史

はじめに

平成25年4月、管内の採卵養鶏農場において、無症状で死亡する個体及び顔面腫脹を呈する個体が複数羽発生し、病性鑑定の結果、*Pasteurella gallinarum* (Pg) 及び伝染性喉頭気管炎 (ILT) ウイルスの混合感染と診断したので、概要を報告する。

材料および方法

1 疫学調査

発生状況調査及び飼養状況調査について、農場に立入りし、聞き取り調査を行った。

2 インフルエンザ簡易検査

生存鶏及び死亡鶏各5羽を対象に、インフルエンザ簡易検査 (エスプラインインフルエンザA&B-N, 富士レビオ株式会社) を実施した。

3 病理学的検査

2の検査で陰性が確認された個体の内、顔面腫脹を呈した生存鶏1羽 (No.1) 及び無症状で死亡した2羽 (No.2, No.3) の計3羽について病理解剖を実施し、頭部を含む主要臓器について、定法に従って病理組織学的検査を実施した。

4 細菌学的検査

3の個体について、主要臓器、脳及び眼窩下洞について、5%羊血液寒天培地 (37°C48時間嫌気培養), DHL寒天培地 (37°C24時間好気培養), チョコレート寒天培地 (37°C48時間5%炭酸ガス培養) を用いた分離培養を実施した。分離菌は、IDテストHN-20ラピッド (api 20NE, ビオメリュー社) によって同定し、眼窩下洞由来の分離菌を用い、アモキシシリン, ペニシリン, アンピシリン, カナマイシン, オキシテトラサイクリン, オフロキサシン, エンロフロキサシンの7薬剤について、一濃度ディスク拡散法により薬剤感受性試験を実施した。

5 ウイルス学的検査

剖検した3羽について、気管のILTウイルス遺伝子を対象としたPCR検査及び脳, 気管, 肺, 肝臓, 腎臓からの初代鶏腎細胞を用いたウイルス分離検査を実施した。

成績

1 疫学調査結果

1) 発生状況

同一鶏舎内に飼養される2群（620日齢，530日齢）において，目立った症状のないまま死亡する個体が増加し，その数は通常時の3～4倍程度（死亡率0.1%程度）であった。また，これとは別に，両側性または片側性に軽度から重度に顔面腫脹を呈する個体（図1）が散発的に発生し，その一部で，元気消失，首を伸ばしての開口呼吸などの症状が認められた。

2) 飼養状況

当該農場は開放低床式鶏舎，複飼2段ケージの採卵養鶏農場で，ポリスブラウンを約120日齢で導入し，同一鶏舎に複数ロットが飼養されていた。いずれの鶏群においても，導入元で一般的な育成期の基本ワクチンプログラムを実施済みで，ILTワクチンについても2回接種されていた。

また，当該農家は，野鳥の侵入防止のみならずネズミの侵入防止対策も徹底して実施しており，防鳥ネットは定期的に清掃されていたが，発生当時は鶏舎内に塵埃が舞い，農場管理者が長時間鶏舎内で作業することが困難なほどに，鶏舎の換気状態が悪化していたことが確認された。

2 インフルエンザ簡易検査

インフルエンザ簡易検査は全羽陰性であった。

3 病理学的検査

1) 剖検所見

No.1で消瘦及び眼瞼周囲の浮腫，眼窩下洞のチーズ様物の貯留が認められ，肝臓表面に径5mmの赤色斑及び径10mmの白色斑が認められた。No.2の卵管膨大部内腔に，周囲を約1mmの硬い膜状物に覆われた卵が認められ，同部位より卵巣側の卵管内に乳白色半透明のゼリー様物に覆われた卵黄が数個認められた（図2）。また，腹部皮下に軽度の浮腫が認められ，肝臓はやや脆弱で，肝臓辺縁部の一部に径3mm程度の黒褐色斑が散見された。No.3は肝臓がやや脆弱であったが，その他に著変は認められなかった。

2) 病理組織学的検査結果

3羽に共通して，鼻腔，喉頭，気管内腔の線維素析出，偽好酸球浸潤とともに，粘膜上皮細胞の合胞体形成及び好酸性から両染性の核内封入体が認められ，膿性カタル性気道炎と診断された。また，消化管漿膜においてリンパ球やマクロファージの浸潤が認められ，卵黄性漿膜炎と診断された。その他，咽頭粘膜の炎症性細胞の集簇及び細菌増殖，肺のうっ血などが共通して認められた。

個体別には，No.1で，眼窩下洞及び鼻腔の細菌増殖と偽好酸球の浸潤，並びに粘膜上皮の合胞体の形成及び核内封入体を伴う化膿性眼窩下洞炎が認められた。No.2では，旁気管支の粘膜上皮に合胞体の形成及び核内封入体が認められ，卵管内に変性した卵の貯留が認められた。No.3では，二次気管支及び旁気管支内に偽好酸球，マクロファージ及び線維素の充満，二次気管支の粘膜上皮に合胞体の形成と核内封入体が重度に認められたほか，心外膜及び心筋間にリンパ濾胞形成を伴う中等度のリンパ球浸潤，



図1 顔面腫脹を呈した鶏



図2 卵管に貯留した卵黄

肝臓辺縁部の一部に多発性巣状壊死が認められた。

4 細菌学的検査

No.1の脳、眼窩下洞、腎臓、No.2の脳、腎臓、No.3の肺から、Pgが $10\sim 10^3$ cfu/ml分離された（表1）。

No.1の眼窩下洞由来分離菌の薬剤感受性試験は、ペニシリンを除く6薬剤に感受性であった（表2）。

表1 細菌分離結果

No.	分離部位	分離菌	菌量(cfu/ml)
1	脳	<i>Pasteurella gallinarum</i>	2.0×10
	眼窩下洞	<i>Pasteurella gallinarum</i>	4.0×10^2
	腎臓	<i>Pasteurella gallinarum</i>	2.0×10
2	脳	<i>Pasteurella gallinarum</i>	2.6×10^2
	腎臓	<i>Pasteurella gallinarum</i>	2.5×10^2
3	肺	<i>Pasteurella gallinarum</i>	8.0×10^3

表2 薬剤感受性試験結果

アモキシシリン	S
ペニシリン	I
アンピシリン	S
カナマイシン	S
オキシテトラサイクリン	S
オフロキサシン	S
エンロフロキサシン	+++
判定	R: 耐性 I: 中間 S: 感受性
	エンロフロキサシン: -~+++

5 ウイルス学的検査

1) PCR検査結果

全羽の気管からILTウイルス遺伝子が検出された。

2) ウイルス分離検査

全羽の気管及び死亡鶏2羽の肺で合胞体形成を伴うCPEが発現し、ILTウイルスに対するPCR法によりILTウイルスと同定された。

考察

顔面腫脹を呈する疾病には伝染性コリーザなどがよく知られているが、近年、Pgによる鶏の顔面腫脹事例が報告¹⁾²⁾³⁾されており、矢野らや松川らは、接種試験により本菌が眼窩下洞や頭部に病変形成することを報告¹⁾²⁾している。本事例においても、顔面腫脹を呈したNo.1でのみ眼窩下洞に細菌性病変が認められPgが分離されたため、Pgが顔面腫脹の原因と考えられた。脳、腎臓でもPgが分離されたが、炎症反応は認められず、死後増殖と判断した。

一方、ILTウイルスは全ての個体で検出されたが、死亡鶏のNo.2、No.3では肺に合胞体形成や核内封入体が認められ、肺でのILTによる病変形成が死亡の主要因であると推察された。

以上の結果から、本事例では、分離されたいずれの病原体もその病態に関与したと考えられ、基礎疾患としての特定は困難であったため、本事例をPg及びILTウイルスの混合感染と診断した。

なお、飼養する鶏群に実施されたILTワクチンの接種方法は、点眼やスプレーなど鶏群によって異なっていたが、最終的には他の若い鶏群も含めてほとんどの鶏群でILTの発症がみられたことから、ワクチン接種に問題はなく、農場内でのウイルス量の増加によって感染拡大したと考えられた。

当該農場は、鶏舎内への関係者以外の立ち入り制限や、防鳥ネットの敷設による野生動物の侵入防止など、飼養衛生管理基準を遵守した対策を徹底しており、病原体の侵入経路を特定することはできなかった。

しかし、環境要因として、防鳥ネットの定期的な清掃を実施していたにもかかわらず、発生当時は鶏舎の風の抜けが悪く、鶏舎内で管理者が長時間作業することが困難な程に換気状態が著しく悪化していたことが判明した。このような換気の悪化は、本来、開放鶏舎では起こりにくいですが、当該農場では、鶏舎構造

上、鶏舎外壁に沿うようにネットを張っていたこと、ネズミ対策として、特に地面側の隙間についてもきっちり目張りしていたことなどにより、空気の排出が抑制されたことが換気に影響したと考えられた。私たちはこれまで、野生動物による病原体の侵入防止を目的として、100羽以上の養鶏農場で飼養衛生管理基準の遵守指導をしてきたが、鶏舎構造にかかわらずネットを張ることを一様に求めてきた延長線上に本事例の発生があったことを受け止め、今後、その敷設方法や疾病対策についても検討する必要があると考えられた。

最後に、本事例における対応内容について、当初は、病性鑑定の実施と並行して、換気の改善と鶏舎出入り時の消毒の徹底を指導した。病性鑑定の結果 Pg と ILT ウイルスの混合感染が判明し、感染拡大したが、採卵鶏群であったため、ILT 対策を中心として緊急ワクチン接種などの対応を行った（図 3）。農場での緊急ワクチン接種には、ILT 単独感染に比べ死亡数増加などの副反応が強く懸念されたが、副反応は想定したより軽く、発症は 2 週間ほどで収束した。以後の発症は認められていないが、農場には病原体が残存するものとして、今後も注意していく必要がある。

本事例における対応について

- 換気状態の改善と鶏舎出入り時の消毒の徹底
 - 複合ビタミン製剤の飼料添加
 - 全群に対するILTワクチンの緊急接種
 - 次期導入延期及びワクチン接種
 - 以後の導入鶏群のワクチン接種方法を指定
- ↓
- 発症は2週間程度で収束、以後の発症なし

図 3 対応内容

参考文献

- 1) 矢野敦史ら：採卵鶏の頬部腫瘍を主徴とした *Pasteurella gallinarum* 感染症，平成 18 年度香川県家畜保健衛生所業績発表会，2006
- 2) 松川浩子ら： *Pasteurella gallinarum* および *Pasteurella multocida* が分離された採卵鶏の顔面腫脹の一例，平成 24 年度九州地区鶏病技術研修会，2012
- 3) 長千恵ら：顔面腫脹を呈した採卵鶏の一症例，平成 24 年度鳥取県畜産技術業績発表会，2013
- 4) K.MOHAN et al： *Pasteurella gallinarum*:Zimbabwean experience of a versatile pathogen，Onderstepoort Journal of Veterinary Research，67，301-305，2000

伝染性喉頭気管炎と伝染性気管支炎の同時検出法の検討

西部畜産事務所

○桑山 勝 清水 和

はじめに

平成 24 年と 25 年に伝染性喉頭気管炎 (ILT) が各 2 農場で発生した。平成 24 年の発生は 2 農場とも奇声や血痰など典型的な ILT の症状が認められた¹⁾²⁾のに対して、平成 25 年の 2 農場では、明瞭な臨床症状を示さず突然死を認めるのみだった (未発表)。また、平成 23 年には、死亡率の上昇に伴う病性鑑定で、大腸菌症と診断した鶏から伝染性気管支炎ウイルス (IBV) が分離された³⁾が、他県でも同様に死亡率の上昇に伴う病性鑑定で IBV 検出事例が報告されている⁴⁾。これらのことから、死亡率の上昇に伴う鶏の病性鑑定依頼があった場合には、両ウイルスを視野に入れた検査が必要であると思われた。

ILT ウイルス (ILTV) は DNA ウイルス (DNAV)、IBV は RNA ウイルス (RNAV) であり、PCR 法で両ウイルスの遺伝子検出を実施する場合には、通常同じ検体から DNA と RNA それぞれ専用の核酸抽出試薬を用いて核酸抽出を行い、PCR 反応も別々に実施している。また、当所にはサーマルサイクラーが 1 台しかないため、更に時間を要している。そこで今回、我々は核酸の異なる ILTV と IBV を同じ抽出キットで核酸抽出を行い、RT-マルチプレックス (マルチ) PCR 法で同一条件での遺伝子増幅による検出を検討したのでその概要を報告する。

材料と方法

1. ウイルス株 : ILTV は NS-175 株, IBV は H-120 株で, ウイルス力価はともに 10^6 TCID₅₀/mL のものを使用した。
2. 陽性検体 (陽性模擬検体) : PCR 法で ILTV が検出された鶏気管乳剤 5 検体 (平成 25 年発生事例), IBV は陽性検体がなかったため, ILTV と IBV が陰性の鶏気管乳剤に IBV H-120 株を, 最終ウイルス力価 10^5 TCID₅₀/mL を添加したもの 3 検体を模擬陽性検体として使用した。
3. 核酸抽出キット : QIAamp viral RNA Mini Kit (RNA 抽出キット, キアゲン) と QIAamp DNA Mini Kit (DNA 抽出キット, キアゲン) により, 説明書どおりに抽出を実施した。なお, どちらのキットの説明書にも DNA と RNA の両方が回収できると記載されている。
4. 遺伝子増幅キット : RT-PCR 法及び RT-マルチ PCR 法は 1 チューブで RT と遺伝子増幅ができる EZ rTth RNA PCR Kit (Roche) を, PCR 法は TaKaRa Ex Taq (タカラバイオ) を使用した。
5. プライマー : ILTV は Alexander らが報告⁵⁾したものを, IBV は Lin らが報告⁶⁾し, Mase らが改良⁷⁾したものを使用した。
6. 遺伝子増幅条件 : ILTV の PCR 法反応は熱変性を 94°C 30 秒, アニーリング反応は 55°C 30 秒, 伸長反応は 72°C 1 分で行い, これを 35 回実施した。IBV の RT-PCR 法反応は逆転写反応を 60°C 30 分, 94°C 10 分

実施した後、熱変性反応は 94°C30 秒、アニーリング反応は 50°C30 秒、伸長反応は 72°C 1 分を行い、これを 35 回実施した。また、RT マルチ PCR 反応は ILTV と IBV の反応条件から IBV の方が ILT に比べてアニーリング反応温度が低かったため、IBV の反応条件で実施した。

7. 電気泳動：増幅産物の確認は、アガロースゲル電気泳動で実施した。ゲル濃度は通常 1.5%で行い、ゲル濃度を検討は 1.5, 2 及び 3%で実施した。

成績

1. 核酸抽出キットの検討

まず初めに、DNA 抽出キット及び RNA 抽出キットを用いて ILTV と IBV の抽出を各々行ったところ、DNA 抽出キットを用いて IBV の抽出を行った場合のみ遺伝子の増幅が認められず、RNA 抽出キットを用いた場合、ILTV、IBV とともに遺伝子の増幅が認められた (図なし)。このことから、今回の核酸抽出は RNA 抽出キットを用いることにした。

次に、RNA 抽出キットを用いて ILTV の DNA 抽出量の検討を行ったところ、DNA 抽出キットを用いた場合と DNA 抽出量はほぼ同じだった (図 1)。

2. RT-マルチ PCR 法による検出感度の検討

IBV と ILTV の RT-マルチ PCR 法による検出感度を検討するため、両ウイルスを RNA 抽出キットで抽出後、各々 RT-マルチ PCR 法を実施し、モノ PCR 法の検出感度と比較したところ、IBV は RT-マルチ PCR 法とモノ PCR 法はほぼ同等だったが、ILTV はモノ PCR 法の方が 10 倍程度感度が良かった (図 2)。

3. 陽性 (模擬) 検体の検出

鶏気管乳剤を用いて RT-マルチ PCR 法を行ったところ、IBV 陽性模擬検体と ILTV 陽性検体は全て検出可能だった (図なし)。

4. 電気泳動用ゲル濃度の検討

今回用いたプライマーの増幅産物は ILTV が 443bp、IBV が 490bp と 50bp 足らずのため、アガロースゲル濃度が 1.5%では両ウイルスの増幅産物のバンドが一部重複する。この解決法としてゲル濃度 1.5%から 2%及び 3%に変更し電気泳動を実施したところ、2%以上では増幅産物はほとんど重複することなく容易に判別できた (図 3)。

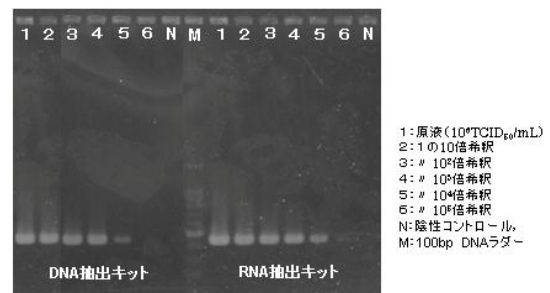


図1 RNA抽出キットによるILTV DNA抽出の検討 (Mono-PCR法)

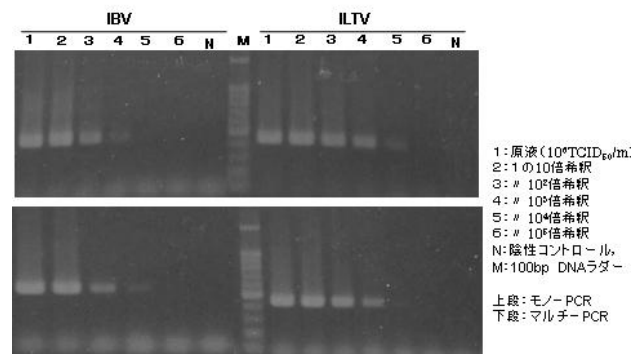


図2 IBV, ILTV RT-Multi-PCR法の検出感度

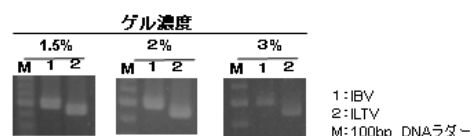


図3 アガロースゲル濃度の検討

まとめ及び考察

今回の結果から、RNA抽出キットを用いても ILTV の DNA は DNA 抽出キットを用いた場合とほぼ同等に抽出でき、RT-マルチ PCR 法の検出感度も、ILTV 及び IBV ともモノ PCR 法と比較し同等か 10 倍程度低いだけであり、これまで ILTV と IBV の遺伝子検査に核酸抽出から判定まで 6 時間程度（核酸抽出 70 分、PCR 反応 3 時間半、電気泳動・染色 60 分）かかっていたのが、4 時間程度（核酸抽出 30 分、PCR 反応 2 時間、電気泳動・染色 70 分）でできるようになった。

IB は養鶏農場では通常ワクチンが使用されているが、抗原性が多岐にわたり、ワクチンの種類も多いため、すべての IBV 感染を完全に防御することは難しく、死亡率の増加や大腸菌症と診断された鶏から分離報告がある³⁾⁴⁾。

また、ILT も広島県では平成 25 年に死亡率の増加は認められたものの、典型的な臨床症状を呈しない事例に遭遇しており（未発表）、同様の事案に遭遇した場合に省力的かつ迅速に両ウイルスの検査ができるようになった。

今後は、蛍光標識プライマーや新たなプライマーの設計など、ILTV と IBV の遺伝子産物のより容易な判別に向けた検討や、本法を用いた他のウイルスでの検出についても検討していきたい。

参考文献

- 1) 五反田桃子, 上川真希佳: 採卵鶏飼養農場に発生した伝染性喉頭気管炎, 第 50 回広島県畜産関係業績発表会集録集, 39-43 (2013)
- 2) 部屋智子, 佐々木栄美子: 肉用鶏農場における伝染性喉頭気管炎の発生事例, 第 50 回広島県畜産関係業績発表会集録集, 41-53 (2013)
- 3) 清水 和ら: 鶏大腸菌症を発症した肉用鶏における伝染性気管支炎ウイルス分離事例, 広島県獣医師会雑誌, 28, 33-37 (2013)
- 4) 村山和範ら: 伝染性気管支炎の発生と分離ウイルスの遺伝子解析, 平成 22 年度新潟県家畜衛生業績発表会集録 (2011)
- 5) Alexander, H.S., Nagy, E.: Polymerase chain reaction to detect infectious laryngotracheitis virus in conjunctival swabs from experimentally infected chickens, Avian Dis., 41, 646-653 (1997)
- 6) Lin, Z., et al.: A new typing method for the avian infectious bronchitis virus using polymerase chain reaction and restriction enzyme fragment length polymorphism, Arch. Virol., 116, 19-31 (1991)
- 7) Mase, M., et al.: Genetic diversity of avian infectious bronchitis viruses in Japan based on analysis of S2 glycoprotein gene, J. Vet. Med. Sic., 71 287-291 (2009)

採卵鶏飼養農場で発生した鶏パスツレラ症

北部家畜保健衛生所

○上川真希佳 久保井智美

はじめに

鶏パスツレラ症は *Pasteurella multocida* (*P.multocida*) による感染症で、急性敗血症を示す急性型と、斜頸、頭部・顔面の腫脹や呼吸困難などを起こす慢性型がある。中でも、鶏群の 70%以上が急性敗血症で死亡する症例を家きんコレラといい、家畜伝染病に指定されている¹⁾。

今回、管内採卵鶏飼養農場において、斜頸、頭部・顔面の腫脹を認めた鶏の病性鑑定を実施した結果、鶏パスツレラ症と診断したので、その概要を報告する。

方法

1. 農家概要

発生農家は高床式開放鶏舎（14 鶏舎）で、採卵鶏約 200,000 羽を飼養していた。また、飼養鶏は県内のふ卵場から初生で導入し、ワクチンは 100 日齢までに 10 種類の疾病（MD,IB,ND,IBD,FP,ILT, Mg,AE,SE, EDS）について農場既定のプログラムどおり接種されていた。Ms と TRT は未接種であった。

2. 発生状況

平成 25 年 4 月中旬、1 鶏舎において 290 日齢の鶏群の死亡率が 0.23%に上昇し（通常の死亡率は 0.02%前後）、斜頸や頭部・顔面の腫脹を呈していた（図 1, 2）。



図 1 斜頸



図 2 頭部・顔面の腫脹

3. 病性鑑定

死亡鶏 6 羽（検体 No. 1~6）について、次のとおり実施した。

1) 病理学的検査

病理解剖後、定法により病理組織学的検査を実施した。

2) 細菌学的検査

定法により分離培養後、血清型別、薬剤感受性試験を実施した。

3) ウイルス学的検査

インフルエンザウイルスキット、ILT ウイルス遺伝子検査、ウイルス分離を実施した。

4. 抗体検査

発生鶏舎及び隣接鶏舎3鶏舎（A, B, C）において、前血清として4月下旬に、後血清として5月下旬に40羽（10羽/鶏舎）採血し、前血清を用いてMg, Ms抗体検査（平板凝集反応）及びND抗体検査（HI試験）を実施した。また、前後血清を用いたTRT中和抗体検査は株式会社微生物化学研究所に依頼した。

成績

1. 剖検所見

気管内及び顔面に黄白色滲出物が認められた（図3, 4）。

2. 病理組織学的所見

粘膜肥厚を伴うリンパ球性気管炎、頭蓋骨気室の化膿性肉芽腫性炎、眼窩下洞の蜂窩織炎が認められた。



図3 気管内の黄白色滲出物



図4 顔面の黄白色滲出物

3. 細菌学的検査

6羽中4羽の脳、眼窩、主要臓器から*P.multocida*が分離され（表1）、血清型はCarterのA型、菌体抗原はHeddlestonの3・4型であった。本菌はペニシリン、オキシテトラサイクリン、ドキシサイクリン、エンロフロキサシンに感受性を、カナマイシンに中間性を、アンピシリン、ストレプトマイシンに耐性を示した。

4. ウイルス学的検査

インフルエンザウイルスキット、ILT ウイルス遺伝子検査、ウイルス分離すべて陰性であった。

5. 抗体検査

40羽すべてがMg, Ms抗体を保有しており、NDHI価は平均111で良好な値を示した。また、TRT中和抗体価の上昇は認められなかった（表2）。

6. 診断

以上の検査結果から、本症例を鶏パスツレラ症と診断した。

表1 *P.multocida* の分離部位と菌量

(単位: cfu/ml)

No	脳	腎	肝	脾	肺	心	眼窩
1	3,000	100	40	10	2,000	-	-
2	140	-	-	-	-	100	-
3	3,400	-	-	-	-	-	60,000
4	520	-	-	-	-	-	-
5	-	-	-	-	-	-	-
6	-	-	-	-	-	-	-

表2 抗体検査結果

鶏舎No	Mg	Ms	ND	TRT中和抗体価	
	凝集	凝集	HI価	前	後
発生鶏舎	10/10	10/10	80	119	69
A	10/10	10/10	197	256	119
B	10/10	10/10	98	104	74
C	10/10	10/10	98	119	104
計・平均	40/40	40/40	111	140	89

対策

1. 感受性薬剤による治療や消毒薬を用いた鶏舎内の消毒を検討したが、採卵鶏であったため実施できなかった。
2. 発生当初、顔面の浮腫等の症状から七面鳥鼻気管炎（TRT）を疑ったため、TRT ワクチン接種を検討した。
3. 鶏舎ごとに踏込消毒槽を設置し、発生鶏舎の作業を最後にするなど飼養衛生管理を強化した。

まとめ及び考察

1. 今回の症例を鶏パスツレラ症と診断した。
2. 発症の要因は、気温の日較差や産卵のピーク等のストレスと推察した。
3. 今回は採卵鶏での発生であったため、抗菌性物質による治療や消毒薬の使用はできなかったが、日頃からの飼養衛生管理の徹底を強化したことで、他鶏舎での発生を防止し、1か月後には終息した。
4. 発生当初、七面鳥鼻気管炎（TRT）を疑い、管理獣医師と共に TRT ワクチン接種を検討したが、検査結果に基づきワクチンを接種しない方針に決定した。今回の TRT 中和抗体価の測定は、ワクチンプログラムの変更を判断する上で極めて有用であった。

参考文献

- 1) 鶏病研究会；鳥の病気（第6版），78-81（2006）

県内で同時期に流行した異なるサブグループによる牛パラインフルエンザ

西部畜産事務所

○清水 和, 桑山 勝

はじめに

ウイルス性疾病が発生した際、その原因究明と迅速な蔓延防止対策のためには、ウイルス分離と抗体検査による確定診断が重要となる。しかし、これらの検査には時間を要するため、現在、広島県において、多数の疾病診断に遺伝子検査が導入されている。この遺伝子診断によりウイルスゲノムの塩基配列から血清学的な性状を推測することができ、また、遺伝子断片の効率的な増幅により微量のウイルスからも短時間で診断が可能となる。しかし、ターゲットとなる遺伝子領域に変異が生じた場合、検出感度の低下から診断に支障をきたす恐れがあることから、検査精度の維持には、流行株と検査に用いる標準株との抗原性の違いや、遺伝子の相同性を知る必要がある。

さらに、牛パラインフルエンザ（以下 BPI3）は牛パラインフルエンザウイルス 3 型（以下 BPIV3）の感染によるウイルス性呼吸器病であり、長距離輸送や放牧、集団飼育に際し多発することから輸送熱と呼ばれ、複合感染によりしばしば重症化する¹⁾ことから、その発症予防対策にはワクチン接種が重要となる。

今回、県内で呼吸器症状を呈した牛から国内では初となる遺伝子のサブグループに属する牛パラインフルエンザウイルス 3 型を分離し、分離株の抗原性の検索と遺伝学的解析を行ったので、その概要を報告する。

材料と方法

1. 発生状況及び材料

平成 24 年 1 月に県内の肉用牛肥育農家 2 戸（農家①、農家②）で発熱、発咳、食欲不振、水様鼻汁漏出を主症状とする呼吸器病が発生した。農家①は県北部、農家②は県西部に位置し、飼養頭数は農家①が 100 頭、農家②が 150 頭、導入元はいずれも県内の家畜市場、市場出荷時に牛呼吸器病 5 種混合生ワクチンを接種した牛を導入しており、農家②は導入後に牛呼吸器病 5 種混合不活化ワクチンを追加接種した。発生経過は、農家①は平成 24 年 1 月 23 日に発症し、1 月 27 日までに 7 頭の治療に至った。農家②は平成 24 年 1 月 21 日から発咳を認め、1 月 31 日に牛舎全体に呼吸器症状が拡大し、2 月 16 日までに 1 頭の死亡を認めた。

材料は、発症牛から採材後、Earle's 液²⁾に浸漬した鼻腔スワブ 8 検体と、発症期及び回復期に採材したペア血清 16 検体を用いた。

2. 方法

ウイルス分離は、鼻腔スワブを牛胎子筋肉細胞、MDBK 細胞及び Vero 細胞に接種し、34℃で 10～14 日間回転培養、3 代継代した。分離ウイルスは、桐沢らの報告した P 蛋白領域を標的としたプライマー³⁾を用いて、遺伝子検査により同定した。反応条件は、TaKaRa RNA PCR Kit(AMV)Ver.3.0（タカラバイオ株式会社）を使用し、42℃30 分間の逆転写反応により cDNA を合成した後、94℃30 秒、60℃30 秒、

72°C45秒を30サイクルで1st PCR反応を行い、その後、TaKaRa Ex Taq（タカラバイオ株式会社）を使用し、同様の条件で2nd PCR反応を行った。PCR産物は1.5%アガロースゲルで電気泳動し、エチジウムブロマイド染色の後、目的とする遺伝子の増幅の有無を確認した。抗体検査は、BPIV3 BN-1株、牛伝染性鼻気管支炎(IBR)ウイルス758株、BRSV NMK7株、BVDV Nose株を用い、中和試験を実施した。BPIV3分離株とペア血清を用いた交差中和試験により抗原性状を比較した。遺伝子解析はBPIV3分離株について、桐沢らの報告したP蛋白領域を標的としたプライマー³⁾及びZhuらの報告したM蛋白領域を標的としたプライマー⁴⁾を用いて遺伝子を増幅し、得られたPCR産物について、Big Dye Terminator v3.1 Cycle sequencing Kit (Applied Biosystems)を用いダイレクトシーケンス法により塩基配列を決定した。得られた塩基配列について、解析ソフトMEGA5 ver5.10を用い、既報の国内分離株及び比較対照株との相同性を比較し、系統樹を作成後、Zhuらの報告⁴⁾に従いサブグループに分類した。

成績

ウイルス分離検査で、2農家からBPIV3が分離され、抗体検査でBPIV3 BN-1株に対する抗体価の有意な上昇を認めたことから、BPI3と診断した。その他、農家①ではBRSVの関与を、農家②ではBVDの関与を認めた(表1)。細菌検査では、両農家の各1頭から*Pasteurella multocida*が有意に分離された。

表1 ウイルス検査結果

農家	分離		抗体検査			
	BPIV3	BRSV	BPIV3	BRSV	IBRV	BVDV
①	3/4	4/4	2/4	4/4	—	—
②	3/4	—	4/4	—	—	1/4

(陽性頭数/検査頭数)

2農家から分離されたBPIV3のうち、農家①の分離株1株をHS8株、農家②の分離株1株をHS9株とした。

分離株のPCR検査において、1stPCRで、農家①では731bp付近に遺伝子を検出したが、農家②では明瞭なバンドを認めなかった。2ndPCRでは農家①では535bp付近に遺伝子を検出し、農家②では同様の535bp付近に農家①と比較し薄いバンドが検出された(図1)。

農家①では同様の535bp付近に農家①と比較し薄いバンドが検出された(図1)。

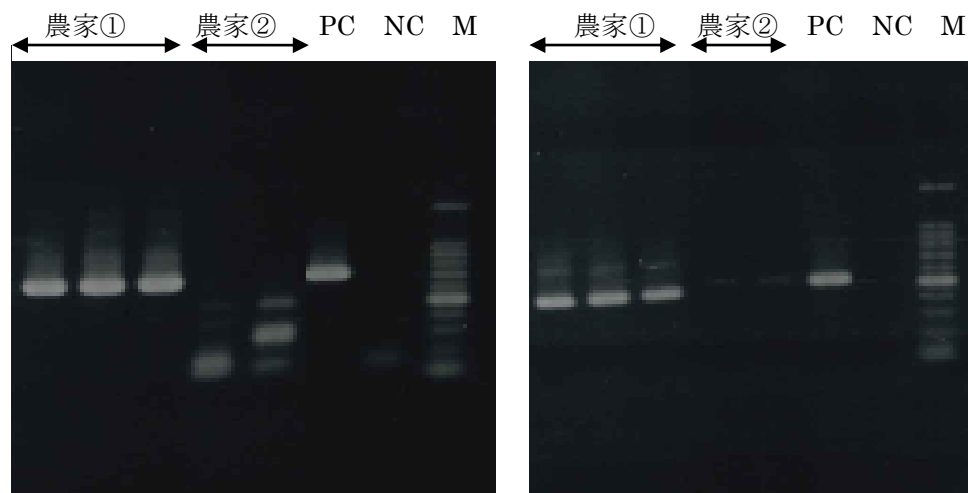


図1 PCR泳動像(分離株のBPIV3-PCR検査)

交差中和試験により、農家①と農家②において、標準株のBN-1株に対する抗体価とHS8株に対する抗

体価はほぼ同じで、有意な差は認めなかった。一方、HS9株に対する抗体価とBN-1株、HS8株に対する抗体価を比較すると、農家①では4倍から8倍と有意な差を認め、農家②では2倍の差を認めた（表2）。

表2 交差中和試験結果

農家	供試血清	供試ウイルス					
		BN-1		HS8		HS9	
		pre	post	pre	post	pre	post
①	HS8株感染牛	16	320	32	320	4	80
	同居牛	32	320	32	640	8	80
②	HS9株感染牛	16	1280	16	640	8	320
	同居牛	64	640	64	640	16	320
	同居牛	8	640	8	640	<2	320

(単位：倍)

遺伝学的解析の結果、HS8株とHS9株の分離株間の塩基配列の相同性はP蛋白領域で核酸レベルで76.2%、アミノ酸レベルで55.5%（表3）及びM蛋白領域で核酸レベルで85.3%、アミノ酸レベルで98.3%（表4）であった。さらに、分子系統樹解析により、HS8株は1987年国内分離株910N株⁵⁾と同じgenotypeAに分類された。一方、HS9株はgenotypeCに分類され、2011年に報告の中国分離株SD0835株⁴⁾と近縁であった（図2）。

表3 株間の相同性（P蛋白領域）

	HS8	910N	HS9	SD0835
HS8	-	99.2	55.5	57.6
910N	99.6	-	55.9	58.1
HS9	76.2	76.2	-	94.5
SD0835	77.2	77.2	97.7	-

(左下:塩基配列, 右上:アミノ酸配列, 単位:%)

表4 株間の相同性（M蛋白領域）

	HS8	910N	HS9	SD0835
HS8	-	100	98.3	98.3
910N	99.7	-	98.3	98.3
HS9	85.3	85.3	-	99.1
SD0835	83.9	83.9	97.5	-

(左下:塩基配列, 右上:アミノ酸配列, 単位:%)

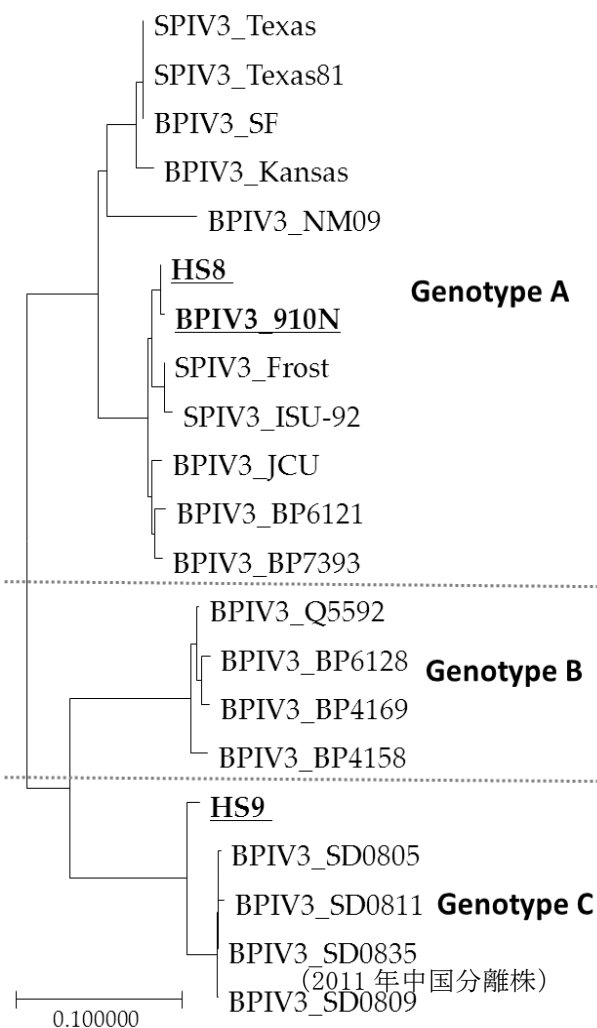


図2 系統樹解析結果（M蛋白領域）

まとめ及び考察

今回、2農家で BPIV3 を分離し、分離株はそれぞれ genotypeA と genotypeC に属しており、県内で同時期に異なる genotype に属する BPIV3 が流行したことが判明した。既報の国内分離株及びワクチン株 BN-CE 株は genotypeA に属する⁶⁾が、genotypeC に属する BPIV3 は中国で報告があるのみで、国内では初めての報告例であった。

HS8 株と HS9 株は、塩基配列の違いからその侵入経路は異なると考えられた。genotypeB に属する BPIV3 はオーストラリアにおける分離報告があるのみである⁷⁾が、その理由として地理的に隔離されていることを挙げている。しかし、中国においては、genotypeC のみならず genotypeA も分離され、Wen らの報告では、物流により海外から持ち込まれた genotypeA に属する BPIV3 が中国国内で長期間共存していた可能性を示唆している⁸⁾ことから、国内にも以前から genotypeC の分離株が存在していた可能性も考えられた。よって、県内における過去の BPIV3 分離株を検索するとともに、引き続き、流行状況を把握することが重要と考えられた。

交差中和試験により、HS8 株と HS9 株の分離株には抗原性状の差を認めたものの、交差免疫を有すると推測された。しかし、いずれの農家も呼吸器病のワクチンを接種しており、BN-1 株に対する基礎免疫を有していたと推測されたことから、ワクチンの効果を検討するに至らなかった。今回、従来のウイルス株と抗原性の異なる新たな遺伝子型の牛パラインフルエンザの国内への侵入を初めて確認したことから、今後は、BN-1 株の免疫血清を確保するとともに、2つの分離株の免疫血清を作出することにより、ワクチンによる予防効果を検討する必要があると考えられた。

遺伝子解析において、M 蛋白領域では、分離株間の核酸レベルでの相同性はやや低下を認めたものの、アミノ酸レベルでは比較的高い相同性を示した。しかし、P 蛋白領域では分離株間の相同性の低下を認めた。P 蛋白はウイルスゲノムの転写・複製に関与し、M 蛋白は粒子構造の形成に関与する内部蛋白である⁹⁾が、RNA ウイルスの内部蛋白は抗体による選択を受けづらく、変異率は小さいと予測される¹⁰⁾にもかかわらず、既報でも genotype の異なる BPIV3 株間で P 蛋白領域の相同性の低下が認められている⁴⁾、⁸⁾。今回、現行の病性鑑定マニュアル¹¹⁾で遺伝子診断のターゲットとなっている P 蛋白領域を増幅した PCR 検査において、genotypeC に属する分離株が形成した遺伝子のバンドは非常に薄く、増幅効率の低下が同われ、変異の進行により判定に支障が生じる可能性が考えられた。県内においても牛呼吸器病の発生に苦慮する農家は多く、発症予防対策が重要となっていることから¹²⁾、¹³⁾、牛ウイルス性呼吸器病の重要な病原因子となる BPIV3 の病性鑑定における検査精度を維持するためには、国内に浸潤している BPIV3 野外株の収集とともに、P 蛋白領域だけでなく、他の領域をターゲットとしたプライマーを併用するなど、現行の病性鑑定マニュアルにおける遺伝子診断技術に関する検討が必要と考えられた。

謝辞

最後に、遺伝子解析及び系統樹解析を実施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の小西美佐子先生に深謝します。

参考文献

- 1) 清水悠紀臣ら：牛のパラインフルエンザ，獣医伝染病学，第5版，近代出版，90（2000）
- 2) 北村 敬：細胞培養の基本技術，第1版，近代出版，30-63（1976）
- 3) 桐沢 力雄ら：ウシパラインフルエンザウイルス3型，ウシRSウイルスおよびウシウイルス性下痢・粘膜病ウイルス感染のPCRによる検出，J.Rakuno Gakuen Univ., 19(1), 225-237(1994)
- 4) Yuan-Mao Zhu.,et al: Isolation and genetic characterization of bovine parainfluenza virus type 3 from cattle in China, Vet. Micro., 149, 445-451(2011)
- 5) Sakai Y.,et al: Complete Nucleotide sequence of the bovine parainfluenza 3 virus genome: its 3' end and the genes of NP, P, C and M proteins., Nucleic Acids Res., 15, 2927-2944(1987)
- 6) Takashi Ohkura, et al: Complete Genome Sequence of Bovine Parainfluenza Virus Type 3 Strain BN-1 and Vaccine Strain BN-CE, genomea.asm.org., 1, 1(2013)
- 7) Paul.F.H, et al: Identification of two distinct bovine parainfluenza virus type 3 genotypes, Journal of General Virol., 89, 1643-1648(2008)
- 8) Yong-Jun Wen., et al: Phylogenetic analysis of the bovine parainfluenza virus type 3 from cattle herds revealing the existence of a genotype A strain in China, Virus Genes., (2012)
- 9) 入江 崇ら：パラミクソウイルスの出芽機構，ウイルス，第57巻，第1号，1-8（2007）
- 10) 谷口 孝喜：レオウイルス，ウイルス，第52巻，第1号，141-146(2002)
- 11) 農林水産省消費安全局監修：病性鑑定マニュアル 第3版(2008)
- 12) 廻野智典ら：呼吸器5種混合不活化ワクチンを用いた牛呼吸器病対策，広島県獣医学会雑誌，No.20, 24-27(2005)
- 13) 宮崎泰洋ら：肥育農家における呼吸器病対策，広島県畜産関係業績発表会集録(2006)

当管内における地方病型牛白血病が疑われた症例の検討

NOSAI 広島 府中家畜診療所

○原口麻子 片山孝 市場聖治 片山征洋 伊集院潔 岡本誠

はじめに

地方病型牛白血病（EBL）は、牛白血病ウイルス（BLV）により引き起こされる予後不良の届出伝染病である。BLV 感染は感染牛からの水平感染及び垂直感染により起こり、その 70%は無症状キャリアーとして、30%は持続性リンパ球増多症を示し、その 2~3%で EBL を発症するといわれている。その発生数は全国的に増加しており、広島県においても増加している。これに伴い府中家畜診療所管内においても EBL が疑われる症例は増加し、その被害も大きくなっている。これを受けて、平成 23 年 1 月~24 年 12 月にかけて当管内において EBL が疑われた症例について検討した。

方法

カルテ及び診断書より①異型リンパ球が認められた症例、②開腹手術等により腫瘍が確認された症例、③屠畜場において EBL 疑いと診断された症例を選出し、その検討を行った。

成績

1. 発生数

平成 23 年には 5 戸 6 頭（全て死亡）、平成 24 年には 10 戸 13 頭（10 頭で死亡、2 頭で廃用）で EBL が疑われた。牛種別では乳用種が 18 頭、F1 が 1 頭だった。

2. 年齢

約 9 割が 4 歳以上だったが、1 歳以下での発生も認められ、平均年齢は 5.2 歳だった。

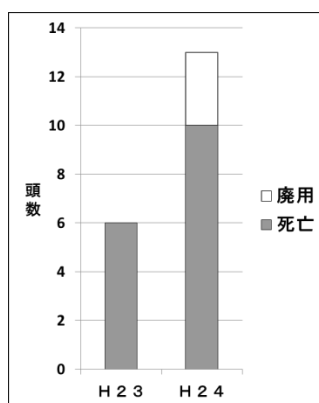


図 1 発生数

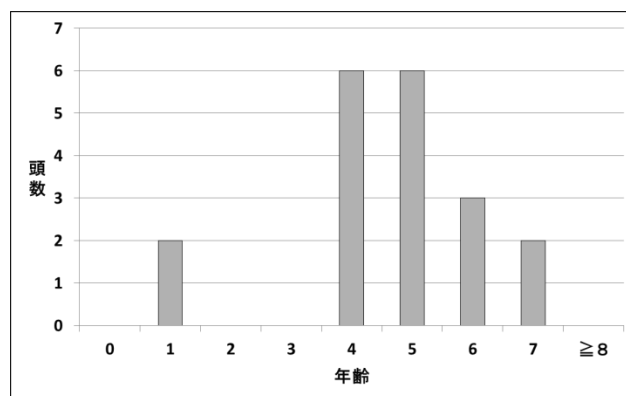


図 2 発生年齢

3. 導入元

北海道が 11 頭と半数以上を占めており、岡山県 1 頭、県内移動 3 頭、自家育成が 4 頭だった。

4. 臨床症状

食欲不振（19 頭）、消瘦（8 頭）、発熱（12 頭）、心悸亢進（4 頭）、呼吸速迫（9 頭）、排便量減少・

水様便（5頭）、起立難渋・不能（11頭）、体表リンパ節腫大（2頭）、眼球突出（1頭）、腹腔内腫瘍（4頭）を認めた。特に、体表リンパ節腫脹、眼球突出、内臓腫瘍は EBL に特徴的な症状だった。併発疾病として、乳房炎、肝機能障害、低カルシウム血症、腎機能障害などを認めた。

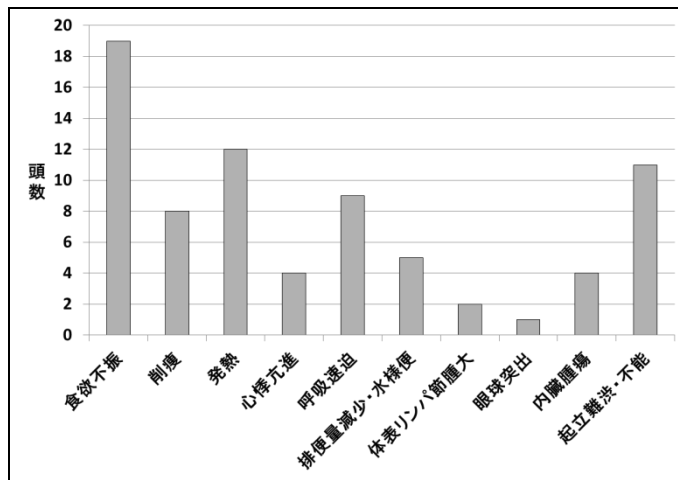


図3 主な臨床症状



写真1 眼球突出

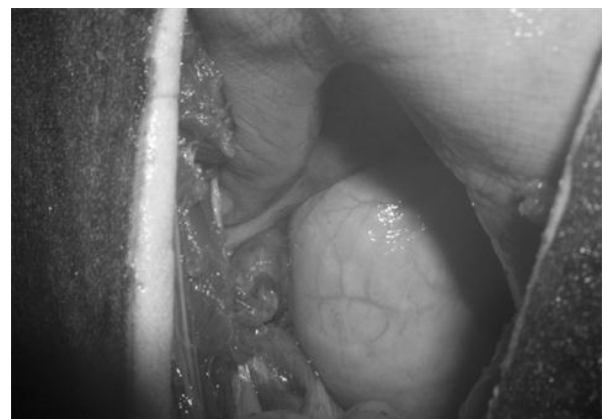


写真2 第四胃周囲の腫瘍

5. 血液検査

異型リンパ球の出現が 19 頭中 15 頭で認められた (4.8~100%)。白血球数は 19 頭中 6 頭で増加、9 頭で正常値、2 頭で低値を示した。LDH は第 2 分画の増加のために EBL において増加するとされており、19 頭中 17 頭で上昇した。なお未検査症例ではすべてで内臓腫瘍が認められた。

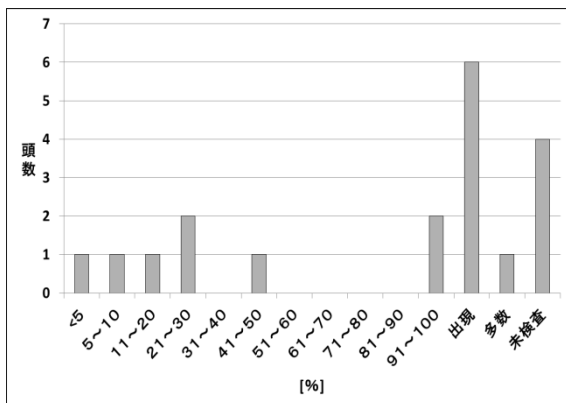


図4 異型リンパ球率

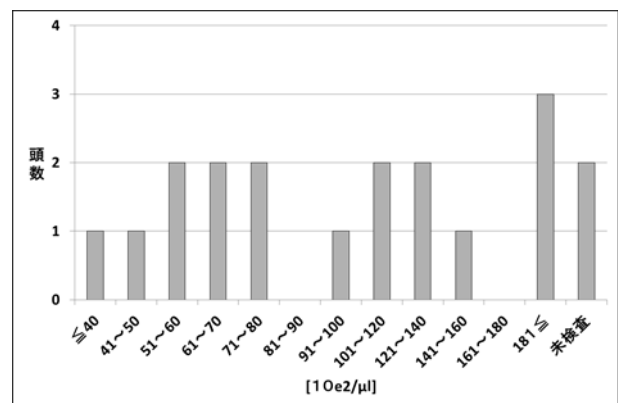


図5 白血球数

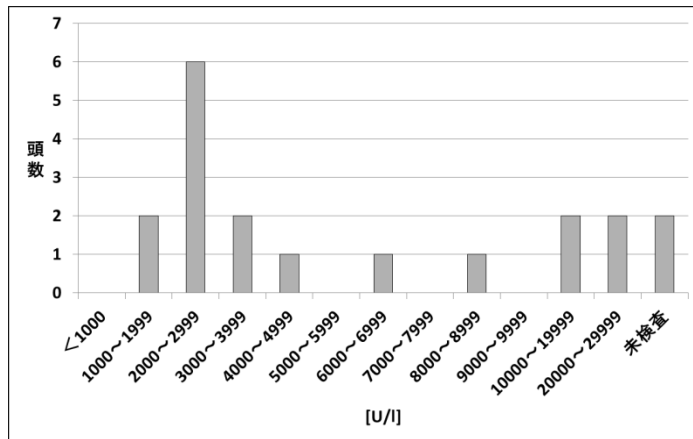


図6 LDH

考察

EBLが疑われる症例は平成23年から平成24年にかけて増加し、また一戸当たりの発生数の増加傾向が認められた。乳用種や自家育成牛での発生が主であり乳牛飼養農家での農場内感染が推察された。感染経路として水平感染（除角、削蹄、接触、吸血昆虫、初乳等）及び垂直感染（産道・胎盤感染）が疑われた。このため、農家側では、分離飼育や並べ替えの実施、搾乳順序の変更、出血を伴う処置（除角、削蹄、分娩など）時の消毒、防虫ネット等の吸血昆虫対策、陽性牛の初乳給与の中止、初乳消毒機の活用、優先淘汰等の対策が、獣医師側では注射針や直腸検査時の手袋の交換、エコープローブの消毒、定期的な抗体検査による感染拡大の管理等の対策を徹底することが重要であると考えられた。77%が導入牛での発生であり、導入時のBLV抗体検査の重要性が示唆された。

臨床症状や血液検査所見は様々であり、体表リンパ節の腫大、眼球突出、腹腔内腫瘍等の臨床症状に加えて異型リンパ球の出現、白血球数の増加等を認めるものでは、EBLが強く疑われた。しかし、特徴的な臨床症状を示さず、異型リンパ球の出現のみが認められるものや屠畜場にてEBLと診断されたものも存在し、このような症例の現場での診断は困難であると考えられた。EBLの正しい診断を行うためには、現場の獣医師によるBLV抗体陽性牛の把握、検査体制の確立など関係機関との情報共有、協力が不可欠であると考えられた。

EBLは70%が無症状キャリアーとなることから、知らない間に農場内で蔓延することが多く、畜主は「陽性牛であっても発症しない」と考えがちである。しかし、陽性牛の増加に伴い、発症牛の増加、生産性の低下などの経済的被害に加え、陽性牛の乳肉の出荷や風評被害など公衆衛生上の問題は大きくなっている。このことから、清浄化対策の早期実施は重要であり、BLV抗体検査によるモニタリング、導入時のBLV抗体検査、陽性牛の初乳給与の中止、陽性牛の分離飼育、優先淘汰等がこれに挙げられる。畜主の理解・協力を得るための啓蒙活動と共に、各関係機関が連携してこれに取り組んでいかなければならないと考えられる。

参考文献

- 1) 小沼操・明石博臣・菊池直哉・澤田拓士・杉本千尋・宝達勉：動物の感染症<第二版>、近代出版、東京、2006

- 2) 村上賢二ら：日獣会誌，62，499-502，2009
- 3) 今内覚ら：北獣会誌，56，245-251，2012
- 4) 大城守ら：臨床獣医，32，35-38，2014
- 5) 杉山明子ら：臨床獣医，32，40-43，2014

東広島管内肥育農家における2年間の子牛呼吸器疾患対策と発生数の変化

NOSAI 広島 東広島家畜診療所

○森本 優

はじめに

子牛における肺炎は、発症率、死亡率ともに高く、増体にも影響し多大な損失を及ぼす疾患である。管内のある肥育農家で、H23年度より導入子牛が増加し、それに伴い肺炎が多発した。対策を実施することで、H24年度の事故低減につながったのでその概要を報告する。また、H24年11月に短期間に離乳子牛59頭中32頭に肺炎が発生した事例について考察した。

材料と方法

農家の概要は、生後2～3週間の子牛を導入し、約2ヵ月間単独房で哺乳し、生後3か月で離乳の後に、群編成する肥育農家である。H23年3月より導入頭数が増え、肺炎を発症し死亡する子牛が増加していた。

1. 2年間（H23.3～H25.2）の肺炎発症・死亡率の変化

カルテを調査し、月別の肺炎発症・死亡頭数を子牛総数で割ったものを、肺炎発症・死亡率とした。当時の状況を農家・担当獣医師より、聞き取り調査を行った。

また、H24年10月13日にイレギュラーな4ヶ月齢子牛の導入が行われ、10月末より、離乳後子牛群で59頭中32頭に短期間に肺炎が蔓延した。この発生について以下のことを調査した。

2. 病性鑑定

H24年11月7日に新規発症した子牛の鼻汁、血液を用いたウイルス学的検査及び細菌学的検査を、西部家畜保健衛生所へ依頼した。

3. 血液検査

牛体状態の把握のため、初診時に採血を行った16検体を用い、血液生化学検査を行った。

4. 気温の変化と新規発症頭数の推移

東広島の日別の気温を気象庁のデータを用い、新規発症頭数との関係を調べた。

結果

1. 2年間の肺炎発生率・死亡率の変化（図1）

H23年4月より子牛の頭数が増加し、密飼となり、肺炎発症率は上昇した。

聞き取り調査より、導入時子牛の血液検査の結果から、白血球数、血清総タンパク数、 γ -Glbの低値がみられたため、導入時に抗生物質（チルミコシン 10mg/kg）・ビタミン剤投与、導入1週間後に呼吸器5種混合生ワクチンを接種する対策を、H23年9月より実施していた。さらに、H24年4月頃より哺育舎が増築され飼養スペースが広がり、群編成頭数が減少した。

導入時の対策を始めてから（H23.9～）、発症率は減少傾向にあり、導入1か月以内の肺炎の発症は見られなくなった。H24年4月ころより密飼が緩和され、さらに発症率は減少した。また、H24年8月以降死

亡は発生していない。

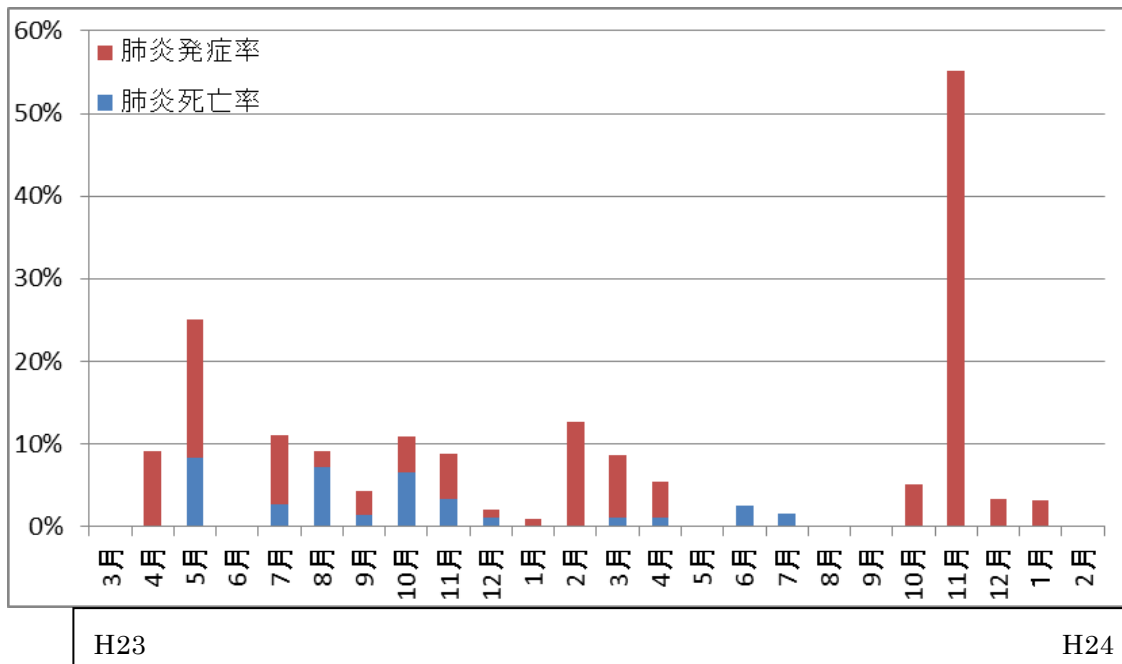


図1 2年間の肺炎発症・死亡率の変化

2. 病性鑑定結果

H24.11月に短時間で肺炎症状を示すものが蔓延し、ウイルス関与を疑う拡がり方を示したが、ウイルス学的検査ではウイルスは検出されなかった。血液中の抗体価は、RS、BVDウイルス抗体はすでに高いものが見られたが、有意な上昇は見られなかった。(図2)

検体No	RS		IBR		PI		BVD	
	11/7	11/21	11/7	11/21	11/7	11/21	11/7	11/21
1	128<	128<	4	2	4	2	256<	256<
2	<2	16	<2	<2	<2	2	32	128
3	128<	128<	<2	<2	<2	<2	4	2
4	128<	128<	<2	<2	<2	<2	256<	128
5	128<	128<	<2	<2	32	32	128	256

図2 ウイルス抗体価

細菌学的検査では、以下のような肺炎症状を引き起こす細菌の増殖が確認された。(図3)

細菌検査		菌量(cfu/ml)
1	パストツレラ属	3.3×10^5
3	パストツレラ マルトシダ	7.0×10^4
5	マンヘミア ヘモリティカ	2.3×10^5
	マイコプラズマ	1.0×10^5

図3 細菌学的検査

3. 初診時血液検査結果 (n=16) (図 4)

コレステロール値の低値 (平均値 84 ± 20.1 mg/dl) , 遊離脂肪酸の上昇 (平均値 $252 \pm 258 \mu\text{Eq/l}$)が見られ, 低栄養状態であった。

また, ビタミンAは全頭不足域以下 (平均値 70 ± 21.7 IU) であり、ビタミンEも低い値 (平均値 $100 \pm 38.8 \mu\text{g/dl}$)を示すものが多く見られ, 抗病性の低下がうかがえた。

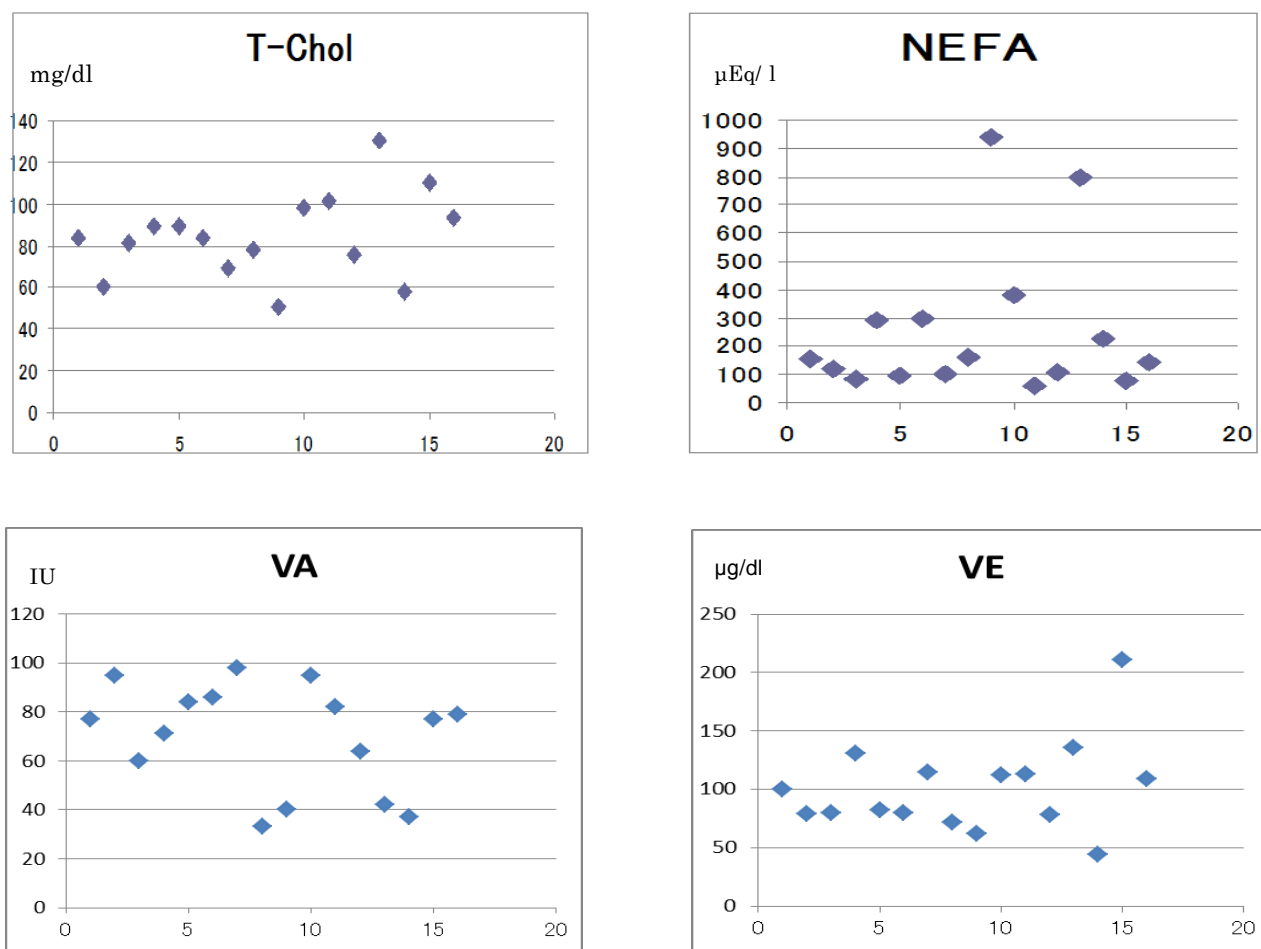
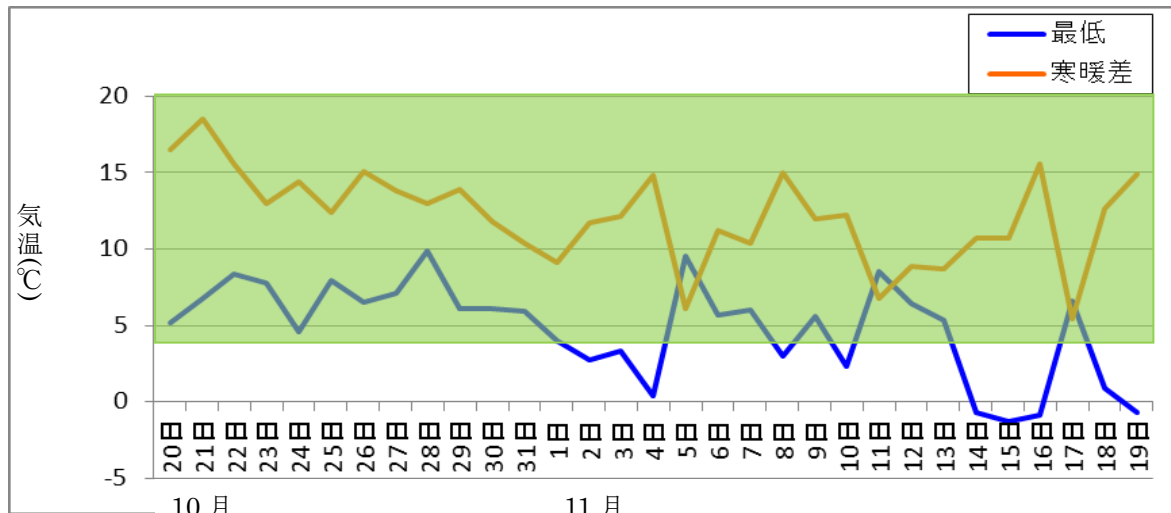


図 4 初診時血液検査 (n=16)

4. 東広島市の気温変化と発症頭数の推移 (図 5)

最低気温が子牛の発育適温 (帯で示した $4 \sim 20^{\circ}\text{C}$ の温度域 : 図 5) を下回り寒暖差 (最高気温 - 最低気温) が大きくなる時に, 新規発症牛が増えることがわかった。



新規発症数	1	1	4	1	8	1	3	5	1	2	1	1	1	1
-------	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---

図5 東広島市の気温変化と発症頭数の推移

考察

牛呼吸器病症候群（BRDC：Bovine Respiratory Disease Complex）は、ウイルスおよび細菌等の病原微生物とストレス等による免疫状態の変調が複雑に絡み合って発生し、牛の産業界で最も経済的損失の大きな疾病として知られている。

Cravens⁽¹⁾によると、BRDCは輸送、群編成、その他環境要因により牛がストレス感作を受け、IBR、RS、PI3、BVDなどのウイルス感染、マンヘミア・ヘモリチカ（*Mannheimia haemolytica*）の肺における増殖及びロイコトキシン産生により、さらに二次～三次的細菌感染がおこり、結果として複雑な混合感染による呼吸器疾病が成立するとされている。また、マイコプラズマ類もこの進行過程に関与しており、増悪因子ないし障害を与える先行因子として考えられている。

今回の離乳後子牛に蔓延した肺炎は、最低気温が牛の発育適正温度を下回り、寒暖差が大きくなる時期に群編成直後の個体から発症した。肺炎症状を示す導入子牛が病原体を持ち込み、寒冷ストレスや群編成ストレスにより採食不足となり低栄養・抗病性の低下状態のところ、気道常在菌の増殖が容易となり発症したBRDCであると考えられた。

Mannheimia haemolytica が関与すると死亡率は55%にもおよぶといわれているが、今回の発生では *Mannheimia haemolytica* が関与していたにもかかわらず、死亡牛が無く全頭治癒した。これは、検出された *Mannheimia haemolytica* の薬剤感受性が高かったこと、過密度の緩和などが理由と考えられる。

今後の対応として、導入後不調を示すものは隔離し、消毒を徹底し、病原体の侵入・増殖を阻止すること、寒暖差の大きくなる前からの防寒対策の必要性が考えられた。

謝辞

病性鑑定を行っていただいた 西部家畜保健衛生所の方々に深謝致します。

参考文献

- 1) Cravens : アメリカにおける牛呼吸器病症候群の現状と対策,岩隈昭裕訳,臨床獣医,22(6), 15-19,緑書房,東京(2004)
- 2) 田中伸一 : 牛呼吸器病症候群(BRDC)とその対策,臨床獣医,24(9), 13-18, 緑書房, 東京(2006)

管内 A 肥育農場における導入子牛の抗体保有状況及びワクチンを用いた肺炎予防対策

NOSAI 広島 府中家畜診療所

○岡本 誠 市場 聖治

はじめに

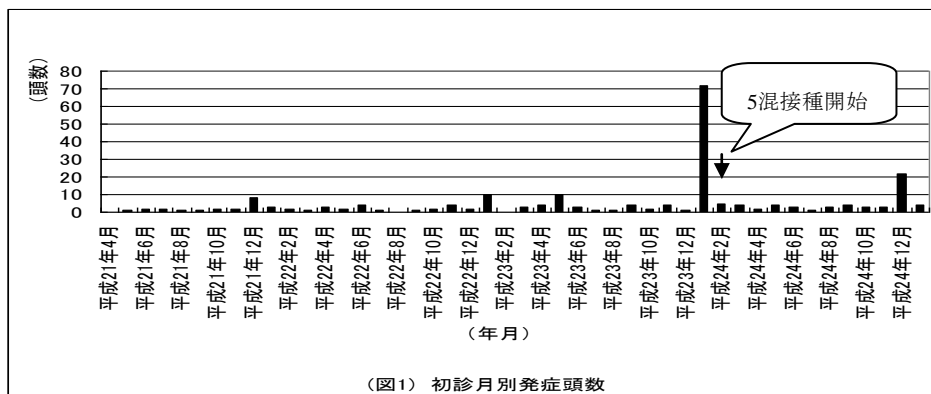
広島県三次家畜市場に入場する約 9 ヶ月令の黒毛和種子牛は、繁殖農家において牛 5 種混合生ワクチン（以下「5 混」という。）を接種しているが、肥育農家において、導入直後から肺炎を発症するものが多く見られる。なかでもウイルス性肺炎は、発症すれば一気に牛群内で感染が拡大し、治療も対症療法しかなく、細菌と混合感染し症状が重症化すれば、牛呼吸器病症候群(BRDC)と呼ばれる状態となり、経済的損失が大きく¹⁾、予防のためのワクチネーションが重要となる²⁾。当診療所管内の A 肥育農場において平成 24 年 1 月に RS ウイルスが原因と思われる肺炎が多発したため、導入された肥育素牛の保有抗体価を調べるとともに、その予防対策として導入時に 5 混を接種し、良好な成績が得られたのでその概要を報告する。

材料と方法

A 農場において、平成 21 年 4 月から平成 25 年 1 月までに、初診で肺炎として診察した頭数を初診月別、生後月令別に調査した。また、平成 24 年 2 月から 12 月まで、三次家畜市場で購入した導入牛 36 頭から導入時に採血した。肺炎対策として平成 24 年 2 月以降の導入時に 5 混を接種し、2, 3, 4, 5 月導入牛 20 頭において導入時を 0 として、0, 2, 4, 6 ヶ月後に採血し、一般生化学検査として VA, β-カロチンを測定し、IBR, BVD1, BVD2, RS は中和試験, PI3, AD7 は HI 試験にて抗体価を測定した。さらに A 農場で平成 24 年 1 月に肺炎を罹患した肥育牛のうち枝肉成績の出た 37 頭と、それらと同日に出荷された健康牛 32 頭の枝肉成績を比較した。

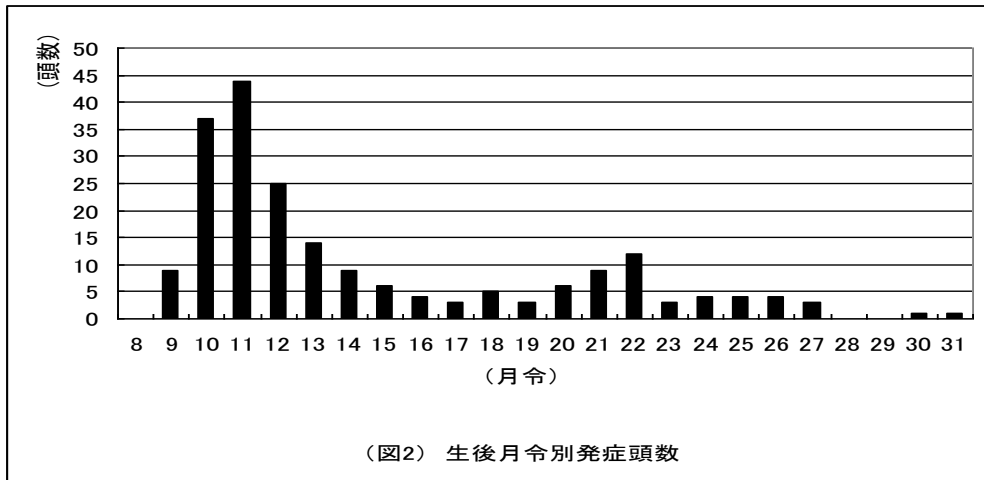
成績

初診月別発症状況は、年間を通して肺炎が発症するものの散見される程度であったが、平成 24 年 1 月に RS ウイルスが原因と思われる肺炎が多発した。そのため、同年 2 月から導入時に 5 混を接種することにより肺炎は終息し、翌年冬季は発症頭数が減少した（図 1）。

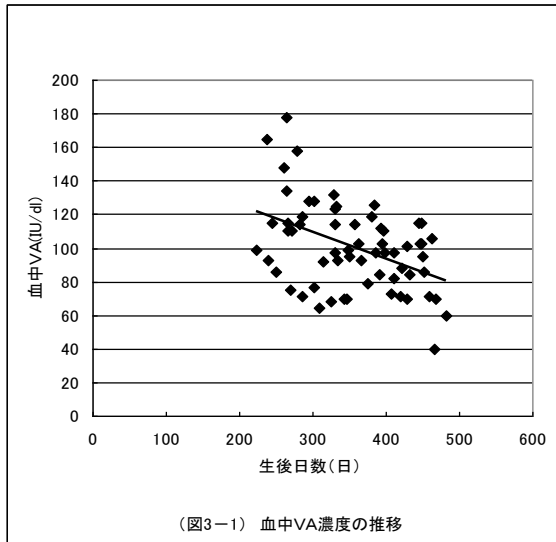


(図1) 初診月別発症頭数

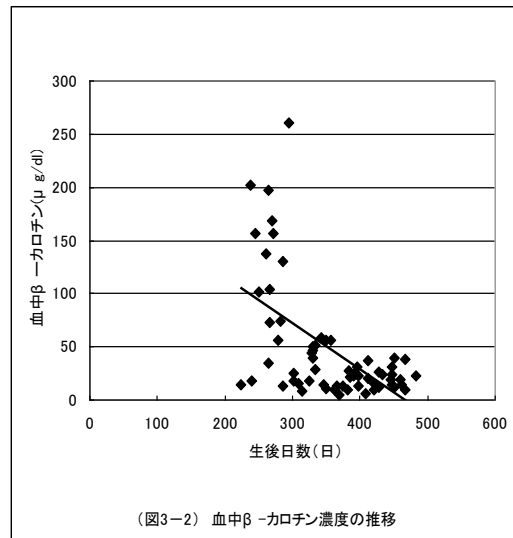
生後月令別発症状況は、10～12ヶ月令に大きなピークがあることが分かった（図2）。



A農場では14ヶ月令からVAを制限した飼料が給与されており、血中VA、β-カロチン濃度ともに日令とともに減少していた（図3-1, 2）。



(図3-1) 血中VA濃度の推移



(図3-2) 血中β-カロチン濃度の推移

導入時の有効抗体保有率はIBRは80.6%、BVD1は97.2%、BVD2は94.4%、PI3は58.3%、AD7は69.4%、RSは72.2%であったが、導入時に5混を接種することにより6ヵ月後の有効抗体保有率は、IBR 90.0%、BVD1 100.0%、BVD2 100.0%、PI3 95.0%、AD7 75.0%、RS 90.0%となりすべての有効抗体価が上昇した（表1）。枝肉成績においては、肺炎牛と健康牛との間には大きな差は認められなかった（表2）。

表1 各抗原の有効抗体保有率

	IBR	BVD1	BVD2	PI3	AD7	RS
導入時						
(n=36)	80.6%	97.2%	94.4%	58.3%	69.4%	72.2%
6ヵ月後						
(n=20)	90.0%	100.0%	100.0%	95.0%	75.0%	90.0%

表2 肺炎牛と健康牛の枝肉成績

	肺炎牛(n=37)	健康牛(n=32)
枝肉重量	479.5kg	468.8kg
増体率	0.54	0.53

(増体率=枝肉重量/と畜までの生後日数)

まとめ

肥育牛は VA の低下に伴い抗病力が低下し、その時期に肺炎を発症する危険性が最も高いと思われたが、実際には A 農場では VA の低下が肺炎の起因とはいえなかった。A 農場での肺炎は、導入後から 12 ヶ月令までが最も多く、寒冷感作、移動、密飼いなどの環境ストレスの関与が疑われた。また繁殖農場において、生後 5 ヶ月令で接種されている 5 混の抗体価は、導入時には消失している個体も多いことに、十分配慮しなければならないことが示唆された。導入時の有効抗体保有率は一見高いように見えるが、有効抗体価下限のものを除けば、IBR 63.9%，BVD1 97.2%，BVD2 88.8%，PI3 22.2%，AD7 52.8%，RS 52.8%となった（表 3）。

表 3 導入時の各抗原の抗体保有状況

	IBR	BVD1	BVD2	PI3	AD7	RS
≥有効抗体価 (n=36)	36.1%	2.8%	11.2%	77.8%	47.2%	47.2%
<有効抗体価 (n=36)	63.9%	97.2%	88.8%	22.2%	52.8%	52.8%

導入時に有効抗体価下限の個体は、A 肥育農場の発症ピークの 12 ヶ月令までに有効値以下になるため、県内での流行がよく確認される RS ウイルスを原因とする肺炎に対して危険な状態となるため、独自の肺炎予防対策が必要である。今回の調査で、導入時に 5 混を接種する予防対策により RS の 6 ヶ月後の有効抗体保有率は 90%（18/20）であり、その他 4 種の抗体価も 6 ヶ月間は高いレベルで維持されており、その他のウイルス性肺炎の予防にも対応できることが分かった。これは、市場出荷前のワクチン接種により抗体産生能が記憶され、その後の導入時における 2 回目のワクチン接種によりブースター効果が得られ、速やかに抗体価が上昇し、長期間抗体価が維持されたのではないかと考えられた³⁾。その結果、翌年の肺炎の流行がある程度抑制されたのではないかと考えられた。今回の調査で枝肉成績に差が見られなかったのは、この農場での肺炎の発症が 12 ヶ月令までに集中し、治癒から VA の給与制限、肥育仕上げまで十分時間があつたからではないかと思われた。このように農場での発病の原因、傾向を把握し、的確な予防対策を講じることで事故低減が実現され、農家の損害を軽減することができるのではないかとと思われる。

参考文献

- 1) 富永潔：臨床獣医，22（6），10-14（2004）
- 2) 高木順一：家畜診療，58，471-476（2011）
- 3) 川上徹：家畜診療，55，761-765（2008）