

平成 26 年度
第 52 回広島県畜産関係業績発表会
集 録

広 島 県

目 次

(第 52 回)

◎ ○ 1	管内における肉用牛繁殖農場の牛白血病清浄化対策……………	1
	東部畜産事務所 大道 結乃	
2	三次市地域プロジェクトにおけるチーム広島牛の取組……………	4
	北部畜産事務所 青山 嘉朗	
3	地理院地図（電子国土 WEB）を用いた防疫地図の作成と活用……………	7
	北部畜産事務所 萬城 守郎	
4	西農パークのうまみの分析……………	12
	県立西条農業高等学校 山重 沙月 外	
5	鳥類の性決定メカニズムの解明－ニワトリのミートプロダクション、エッグ プロダクション化への可能性を探る－ ……………	16
	県立西条農業高等学校 佐藤 太紀 外	
6	飼料米が日本を救う－飼料米 SGS の飼料価値について－ ……………	20
	県立西条農業高等学校 杉元 美友 外	
7	飼料イネホールクroppサイレージの有効利用……………	24
	県立庄原実業高等学校 田畑 光 外	
8	蜜蜂から広がる交流，花と蜜蜂の里を目指して part II ……………	27
	県立油木高等学校 宮本 麗 外	
○ 9	蜜蜂の飼育状況の正確な把握と得られたデータの有効活用……………	30
	東部畜産事務所 向井 利太	
10	ニホンミツバチのヨーロッパ腐蛆病発生事例とその防疫対応……………	33
	北部畜産事務所 船守 足穂	
11	管内採卵鶏農場におけるロイコチトゾーン病の発生事例……………	37
	東部畜産事務所 中光 務	
○ 12	豚流行性下痢（PED）の発生事例……………	41
	西部畜産事務所 田村 和穂	
13	豚流行性下痢における病性鑑定課の対応……………	45
	西部畜産事務所 桑山 勝	
14	搾乳牛に発生したロタウイルス病 2 例……………	49
	西部畜産事務所 迫田 菜摘	
15	県内における地方病性牛白血病に関する遺伝子検査の試み ……………	54
	西部畜産事務所 清水 和	

16	赤血球増多症を伴わない先天性心奇形の一症例……………	58
	NOSAI 広島 庄原家畜診療所 原口 麻子	
17	管内乳房炎多発農場における乳房炎防除への取組……………	62
	NOSAI 広島 府中家畜診療所福山分室 森本 優	
18	牛の人工授精時に投与したホルモン剤の受胎効果……………	67
	NOSAI 広島 府中家畜診療所福山分室 竹内 泰造	

(注)

◎：第 56 回全国家畜保健衛生業績発表会 発表演題

○：第 56 回中国・四国ブロック家畜保健衛生業績発表会 発表演題

管内における肉用牛繁殖農場の牛白血病清浄化対策

東部畜産事務所

○大道結乃 秋山昌紀

はじめに

地方病性牛白血病は、アブやサシバエなどの吸血昆虫による機械的伝播、直検手袋や注射器の使い回し等による人為的な伝播によって、牛白血病ウイルス（BLV）に感染し引き起こされる疾病であり、届出伝染病に指定されている。一度 BLV に感染すると、牛は生涯ウイルスを保有し続け、70%は無症状キャリアーとして経過し、30%は持続性リンパ球増多症となり、数%はリンパ腫を発症する¹⁾。

全国の牛白血病の発生頭数は年々増加傾向にある²⁾。広島県内においても増加傾向にあり、肉用牛において、と畜場へ出荷した際に全部廃棄になるといった被害が発生している。今回、我々は牛白血病の発生を未然に防ぐために、浸潤状況調査及び清浄化対策を実施したので、その概要を報告する。

方法

1. 浸潤状況調査

1) 調査期間

平成 24 年 10 月～平成 26 年 12 月

2) 対象農場及び対象牛

肉用牛飼養農場 9 戸の繁殖牛及び繁殖素牛 360

頭（表 1）

3) 検査方法

寒天ゲル内沈降反応または ELISA 法による

BLV 抗体検査

2. 清浄化対策

1) 期間

平成 24 年 10 月～平成 26 年 12 月

2) 対象農場

飼養頭数が多く、清浄化に意欲的であり、平成 24 年の浸潤状況調査において、抗体陽性牛（以下、陽性牛）が多数認められた A 農場

3) 対策

① 定期的な抗体検査

陽性牛を摘発するため、陽性牛以外を対象に全頭検査を 5 回実施した。また、導入した牛は短期間隔離し、早期に検査を実施した。

② 陽性牛の隔離及び淘汰

摘発された陽性牛は、陰性牛との接触を防ぐために隔離牛舎へ移動し、計画的に淘汰するよう指導した。

表 1 農場概要

	飼養頭数	経営形態	飼養形態	導入
A農場	157	繁殖	群飼、放牧	あり
B農場	368	一貫	群飼	あり
C農場	216	一貫	群飼	あり
D農場	79	繁殖	放牧、つなぎ	あり
E農場	59	繁殖	つなぎ	あり
F農場	36	繁殖	つなぎ	あり
G農場	17	繁殖	単飼	あり
H農場	39	一貫	つなぎ	あり
I農場	10	繁殖	つなぎ	なし

③吸血昆虫

陽性牛は夏期の放牧を中止し、隔離牛舎に防虫ネットを設置し、陰性牛に虫除けタグを装着するよう指導した。

④子牛

抗体陽性母牛の分娩時には、出産に立ち会い、出生直後に子牛が初乳を摂取しないよう指導した。

結果

1. 浸潤状況調査

検査頭数 360 頭中 63 頭において抗体が陽性（17.5%）であった(表 2)。9 農場中 7 戸において陽性牛を認めた。

飼養形態別に比較すると、群飼または放牧を実施している A, B, C, D 農場(群飼・放牧農場)で 280 頭中 59 頭が陽性（21.1%）であった。また、つなぎ飼または単飼の E, F, G, H, I 農場(つなぎ・単飼農場)では 80 頭中 4 頭が陽性（5%）であり、群飼・放牧農場の方が、つなぎ・単飼農場よりも陽性率が高かった。

月齢による比較では、群飼・放牧農場において、12 か月齢以上の全ての月齢に陽性牛を認めた(図 1)。つなぎ・単飼農場では、24 か月齢未満と 72 か月齢以上のみで陽性牛を認めた。

なお、導入の有無による差は認められなかった。

表 2 浸潤状況調査結果

農場	頭数	陽性(%)
A	23/119	19.3
B	11/57	19.3
C	18/52	34.6
D	7/52	13.5
E	1/40	2.5
F	0/16	0.0
G	1/12	8.3
H	2/7	28.6
I	0/5	0.0
合計	63/360	17.5

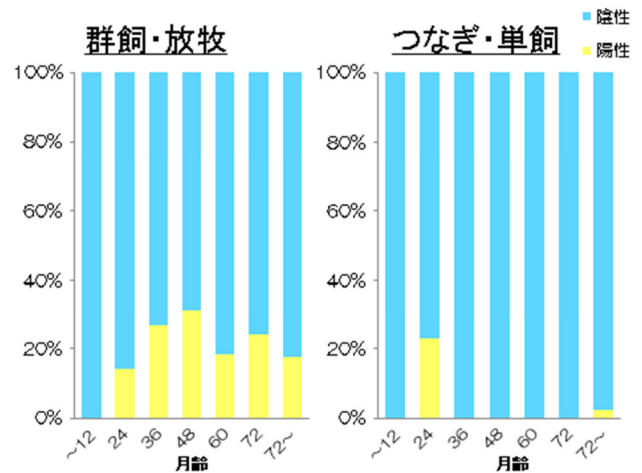


図 1 月齢別の比較

2. 清浄化対策

清浄化対策開始後の陽性牛を除く陰性牛と導入牛の抗体検査において、初回（平成 25 年 12 月 18 日）は 98 頭中 21 頭陽性（21.4%）、2 回目（平成 26 年 2 月 27 日）は 134 頭中 6 頭陽性（4.5%）であったが、3 回目（平成 26 年 4 月 22 日）は陽性牛及び陽転牛は認めず、以後陽性牛は確認されていない（表 3）。

浸潤状況調査で陽性を確認した 23 頭は、平成 25 年 12 月までに全頭隔離牛舎へ移動させ、淘汰を行った（図 2）。対策開始後、初回検査から陽性であった導入牛 4 頭と、陽転牛 17 頭を同様に隔離及び淘汰を行い、平成 26 年 2 月には隔離牛舎に陽性牛 15 頭となった。2 回目検査時に陽性を確認した導入牛 5 頭と陽転牛 1 頭も同様の措置を講じ、平成 26 年 4 月時点で隔離牛舎には陽性牛 19 頭になった。検査で陽性牛、陽転牛を認めなくなっ

てから、隔離牛舎の牛は計画的淘汰により減少し、現在（平成 27 年 1 月 21 日）は 5 頭陽性牛が隔離牛舎に残るのみとなった。

表 3 A 農場の抗体検査結果

検査月日	陽性頭数	陽性率(%)
H24.10.4	23/119	19.3
H25.12.18	21/ 98	21.4
H26.2.27	6/134	4.5
H26.4.22	0/129	0.0
H26.7.31	0/138	0.0
H26.12.11	0/158	0.0

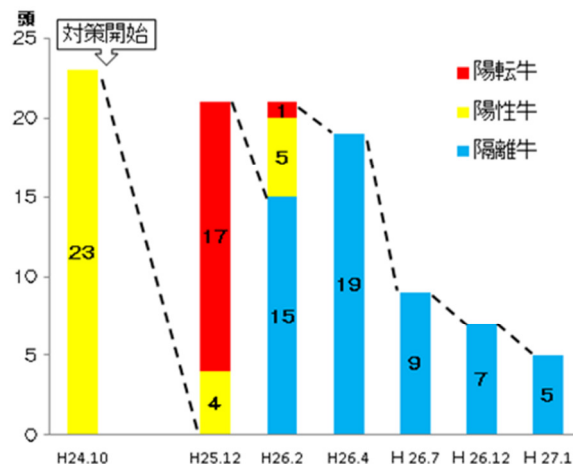


図 2 A 農場の抗体陽性頭数の推移

まとめ及び考察

1. 肉用繁殖牛の BLV 抗体陽性率は 17.5% という結果から、管内の肉用繁殖牛飼養農場において BLV が広く浸潤していることが判明した。また、群飼・放牧農場では陽性率が 21.1% であり、つなぎ・単飼農場が 5% と群飼・放牧農場の陽性率が高く、ほぼ全ての月齢で陽性牛を確認したことから、水平伝播により感染が広がった可能性が考えられた。

2. 今回 A 農場で行った対策の結果から、BLV 清浄化に有効な手段が示唆された。

- 1) 定期的及び導入時の検査による陽性牛の摘発，隔離を行うこと。
- 2) 吸血昆虫対策（陽性牛の夏期の放牧中止，隔離牛舎に防虫ネット設置，虫よけタグ装着）を実施すること。
- 3) 陽性牛を早期に淘汰すること。

しかし、これらの対策を行うには労力及び経費がかかることから、農家の理解と意欲が必要である。また、陽性牛が多数存在する農場においては、リアルタイム PCR 検査等の導入による淘汰順位の検討も必要と考えられる。

今後、A 農場をモデルケースとして、他の陽性牛が認められた農場においても、指導及び対策を積極的に行うことで、牛白血病清浄化が可能であると考えられた。

参考文献

- 1) 村上賢二：牛白血病の現状と臨床現場での診断法，家畜診療 607，13-18（2014）
- 2) 農林水産省監視伝染病発生年報

三次市地域プロジェクトにおけるチーム広島牛の取組

北部畜産事務所

○青山嘉朗 宮本悟

はじめに

三次市において、畜産業は古くから地域農業の中核を担ってきた。しかし、飼養農家の高齢化、後継者不足等により、繁殖和牛の飼養農家戸数及び頭数は平成7年度の425戸、1,195頭から、平成17年度には169戸、733頭に減少していた。このため、市、JA、県で構成される農業振興組織は畜産業による地域農業の活性化をめざし、平成18年度に、集落法人を核とする畜産構造改革を目的とした地域プロジェクトを策定した。このプロジェクトの推進組織（以下、「チーム広島牛」という。）による、地域の中核となる新たな担い手の育成と広島牛の増頭への取組について、その概要を報告する。

取組内容

1. 組織体制

平成16年度に関係機関が連携強化を図り、地域の活性化と魅力ある地域農業を構築し、新しい地域農業確立を目的として、市、JA及び県は合同で備北地域農業振興会議（現在の名称は三次市農業振興会議。以下、「振興会議」という。）を設置した。振興会議では振興施策内容協議、実施計画策定及び課題の整理・検討を行い、集落営農及び産地振興の分野で推進班を編成した。チーム広島牛は、産地振興推進班における肉用牛部門の推進組織として設立された（図1）。

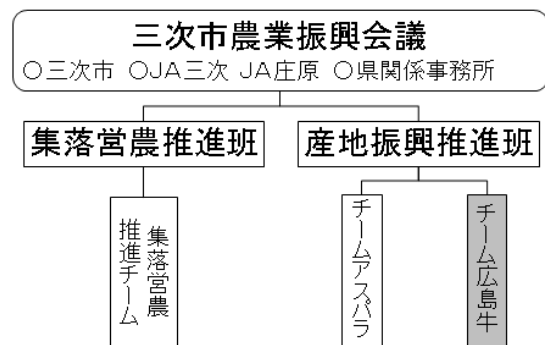


図1 組織体制図

平成18年度、振興会議は地域プロジェクトとして「集落法人を核にした農業生産構造の改革」を策定し、集落法人を持続発展可能な新たな担い手として位置づけ、広島牛の導入を推進することとした。

2. チーム広島牛の活動

チーム広島牛は、集落法人に対して広島牛の導入を推進するため、コスト、労力及び技術面から取り組み易い水田放牧の手法を啓発した。

チーム広島牛は構成機関で役割分担し、支援・指導を実施することとした（図2）。

	市	JA	県	
			農業技術指導所	畜産事務所
助成制度の活用	○			○
牛の導入・出荷		○		
経営管理・放牧地管理			○	
放牧衛生・繁殖・育成				○
連絡調整		○		○

図2 チーム広島牛の役割分担

3. 広島牛を導入した法人への指導状況

平成 18 年度は、8 月に、転作田と条件不利地の活用のため、集落法人である農事組合法人 K（以下、「法人 K」という。）は広島牛の導入を検討した（図 3）。チーム広島牛は法人 K をモデルケースとして位置づけ、支援・指導の対象とした。

法人 K は、同年 11 月に全組合員で県外の水田放牧先進地を視察し、12 月に広島牛の導入を決定した。それを受けてチーム広島牛は放牧計画を策定し、平成 19 年 1 月から 3 月にかけて放牧予定地の調査・整備、簡易牛舎の設置を支援した（図 4）。

平成 19 年度は、妊娠牛を 4 月に 3 頭、7 月に 2 頭導入し、放牧地 1.5ha で飼養開始した。親牛、放牧地の管理に専念するため、分娩後の子牛の育成は管内の和牛農家へ管理委託した。チーム広島牛による指導は週 1 回程度、放牧技術の習得を中心に飼養管理技術について実施した（図 5）。更に、この取組を地域に波及させるため、啓発活動として集落法人を対象に放牧現地研修会を開催し、法人 K の取組内容を紹介した。

平成 20 年度は、周年放牧を実現するため、放牧期間延長の技術として、飼料ヒエによる二毛作を検討し、月 2 回程度、指導を実施した。

平成 21 年度は、収益を向上させるため、子牛の育成を管理委託からヌレ子出荷へ切り替え、主に子牛の育成技術について月 1 回程度、指導を実施した。

法人 K の経営実績は平成 21 年度に飼養頭数が 9 頭に増頭し、放牧地の面積は 6.0ha に拡大した。

チーム広島牛は法人 K で習得したノウハウを活用して、新たに繁殖和牛を導入する他法人へ支援・指導を展開した。

4. 指導手法の検討

平成 21 年度末に広島牛飼養法人が 7 法人（うち、レンタルによる飼養が 3 法人）に増加したため、指導手法を検討した。平成 22 年度以降はチーム広島牛の構成員を集めたチーム会議を月 1 回程度で開催し、情報共有と支援・指導方針を統一することとした。支援・指導内容も各法人個別の現地指導から、チーム広島牛全構成機関による月 1 回程度の巡回に切り替えた。

所在地	三次市三和町
構成農家戸数	37戸
経営面積	約31ha
栽培作物	水稲25ha, 野菜
広島牛導入の動機	転作田, 条件不利地の活用

図3 法人Kの経営概要(平成18年度)

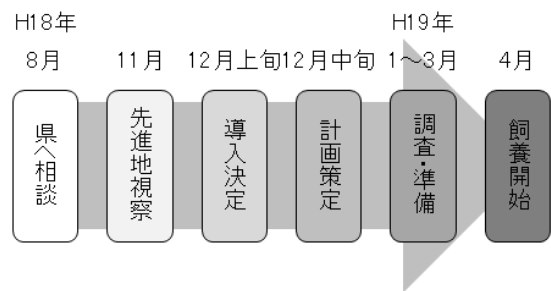


図4 法人Kの広島牛導入経緯

年度	主な支援・指導内容	飼養頭数	放牧地面積	牧草
H18	放牧地及び牛舎の整備			
H19	放牧牛の飼養管理	5頭	1.5ha	イタリアンライグラス, 畦草
H20	草地管理, 放牧期間の延長	8頭	3.0ha	イタリアンライグラス, 飼料ヒエ
H21	子牛育成, 分娩管理, 放牧期間の延長	9頭	6.0ha	イタリアンライグラス, 飼料ヒエ

図5 法人Kの支援・指導状況

平成 22 年度は、子牛市場で有利販売するため、子牛育成指導として体高を測定し、育成状況を記録・確認した。

巡回指導時に把握した、各飼養法人の課題や要望を解決するために研修会を開催し、飼養管理技術の向上を図った(図 6)。個別の課題については各飼養法人単独の研修会、共通の課題については飼養法人全体を対象とした全体研修会を開催した。

成果

チーム広島牛の取組もあり、平成 18 年度に 700 頭まで減少した三次市の広島牛飼養頭数は、平成 25 年度には 731 頭まで増加した。

集落法人において、平成 25 年度には 9 法人が 54 頭を飼養(うち、3 法人が 10 頭をレンタルにより飼養)し、放牧地面積は 64.9ha とそれぞれ純増した(図 7)。そのうち、新たな担い手となりうる 10 頭規模の法人は 4 法人となった。

チーム広島牛による巡回指導及び研修会の開催等により、広島牛導入法人に繁殖・飼養管理のノウハウが蓄積され、継続的な畜産経営が可能になった。

まとめ

チーム広島牛の取組により、集落法人への広島牛導入及び飼養頭数の拡大は進展した。

しかし、これら集落法人は水稻主体の経営であり、転作田利用として広島牛を導入しているため、今後の飛躍的な増頭は見込めず、検証を踏まえた指導手法の再構築が必要である。

今後は、経営基盤を有する現存の中核的畜産農家への支援と新規就農者の育成を併せて行う予定である。

年度	対象	頻度	主な内容
H22	全体	2回	放牧管理, 子牛の有利販売
H23	個別	2回	電気柵の設置, 繁殖・分娩管理
	全体	2回	放牧地管理, 家畜市場の動向
H24	全体	3回	放牧地管理, 分娩管理
	個別	1回	放牧開始前の準備, 日常の飼養管理
H25	個別	1回	放牧開始前の準備, 日常の飼養管理
	全体	3回	放牧先進地視察, 立毛放牧技術

図6 飼養法人への研修会

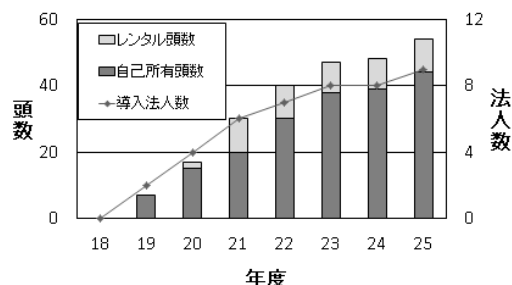


図7 集落法人への広島牛導入状況

地理院地図（電子国土 WEB）を用いた防疫地図の作成と活用

北部畜産事務所

○萬城守郎 船守足穂

はじめに

重大な動物感染症疑い例の発生時等には、迅速に移動または搬出制限区域、消毒ポイント及び畜産農家等の位置を地図上に描画し、関係機関と情報共有し、防疫体制を構築しなければならない。

今回、国土地理院等が提供している地図（地図タイル）を活用し、容易に防疫地図を作成、その地図を共有できるシステムを構築し、防疫業務に活用したので概要を報告する。

材料と方法

1. 基本地図

国土地理院がインターネット上に提供している、地図タイルのうち、標準地図、単色地図、白地図、色別標高図、OSM 財団が提供しているオープンストリートマップ及び独立行政法人農業・食品産業技術研究機構が提供している基盤地図情報 WMS 配信サービスを用いた。

【図 1～3】

2. 字・丁目境界データ

独立行政法人統計センターが運営管理している、eStat 政府統計窓口提供の平成 22 年国勢調査（小地域）の町丁・字等別境界データ（Shape 形式）を JSON 形式に変換して用いた。

【図 4】

3. API (Application Programming Interface)

API は Vladimir Agafonkin らが開発した Leaflet を用いた。【図 5】

Leaflet は、無料で利用できる JavaScript 汎用 API であり、プログラミングが容易かつライブラリサイズが小さく処理速度が速いという特徴を持っており、現在計画されている、国土交通省、「電子防災情報システム」もこの leaflet と国土地理院タイルにより構築されている。

4. 防疫地図の作成の流れ【図 6】

防疫対策の事前対応として、予めエクセルワークシートにより管理された農家の位置情報【表 1】、消毒ポイント位置情報（防疫情報）のうち、必要な情報をコピーし、地図作成用エクセルシート【表 2】に張り付ける。

エクセルマクロ機能により、地図作成用 HTML ファイル【表 3】が作成され、インターネットエクスプローラ上にインターネットを経由して必要な地図が呼び出され、重ね合わせ情報とともに表示される。【図 7】

成績

Microsoft Excel 2010 に発生地、制限区域、消毒ポイントの位置及び養鶏場の位置等を入力後、マクロ機能を用いて、HTML ファイルを作成、インターネットエクスプローラにより、防疫作業の目途にあった 5 つのパターンの防疫地図が作成した。

1. 防疫地図パターン1【図8】

発生地を中心に任意の半径の同心円と消毒ポイントを描画することが可能であり，最大5か所の発生地と10個の同心円の描画に対応している。

約4Kbの1つのHTMLファイルで構成されており，LAN及びインターネットを介した関係機関と情報共有に活用できる。

2. 防疫地図パターン2【図9】

パターン1の地図に加えて，20か所の消毒ポイントに数字付マーカーが使用可能であり，地図を印刷することにより，消毒ポイントの広報に活用することが出来る。

平成26年12月に岡山県での高病原性鳥インフルエンザ発生時には，消毒ポイントを示した地図を本県ホームページ上で公開し，県民への周知を図った。【図10】

3. 防疫地図パターン3【図11】

パターン2の地図に加えて，100か所の数字付農家マーカーが使用可能であり，各農家毎の制限区域の位置関係を明確にすることが出来る。

4. 防疫地図パターン4【図12】

パターン1の基本的な地図に5000か所のマーカーが設置可能であり，県内全畜産農家の描画が可能である。この防疫地図により，鳥インフルエンザ防疫対策の野鳥対策として県内ため池約5000か所と家きん農家との位置確認に活用している。【図13】

5. 防疫地図パターン5【図14】

パターン3の地図に加え字丁目データをオーバーレイすることが可能であり，容易に字丁目単位での制限区域設定が出来る。

管内でのヨーロッパ腐蛆病発生時の移動自粛区域設定に活用した。

まとめ【図15】

1. このシステムを使用することにより，容易に防疫地図の作成が可能となった。
2. 消毒ポイント候補作成時に電子メール等を用いて容易に関係機関と情報共有が可能であった。
3. 今回利用した，国土地理院地図等の地図は，その利用規約により，自由に掲示，配付ができるため，非常に有効な情報共有の手段になると考える。

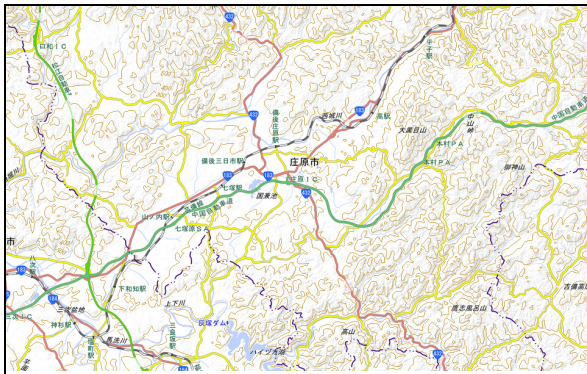


図1 標準地図

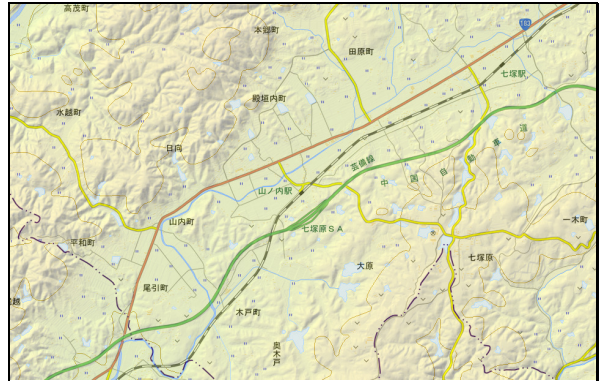


図2 色別標高図



図3 淡色地図+基盤地図情報

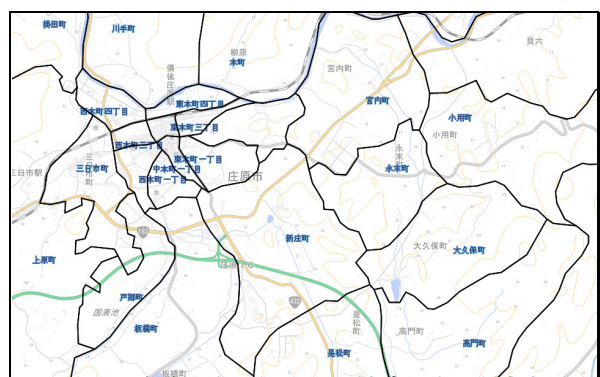


図4 淡色地図 + 基盤地図情報
+ 字・丁目境界データ



図5 Leafletについて
(Leaflet ウェブサイト)

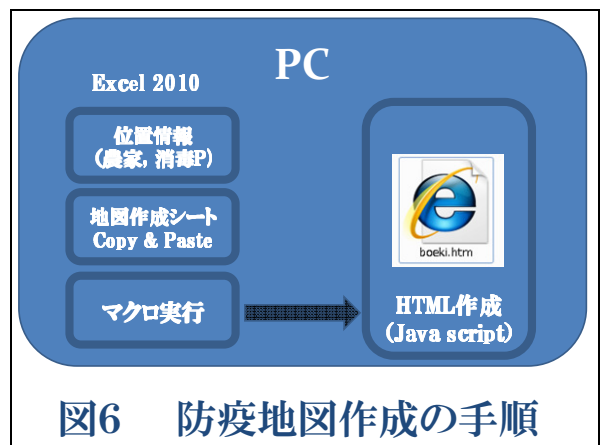
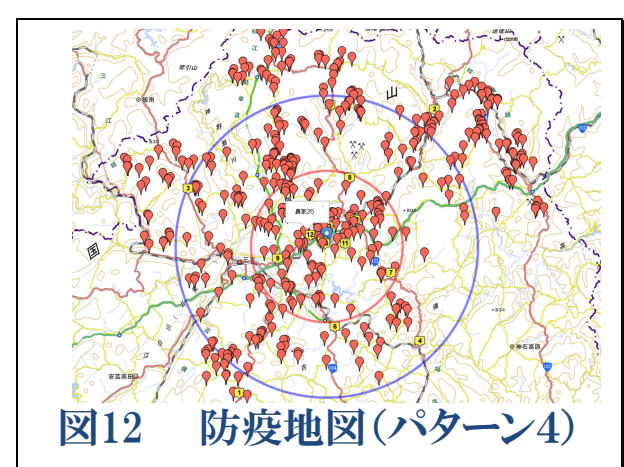
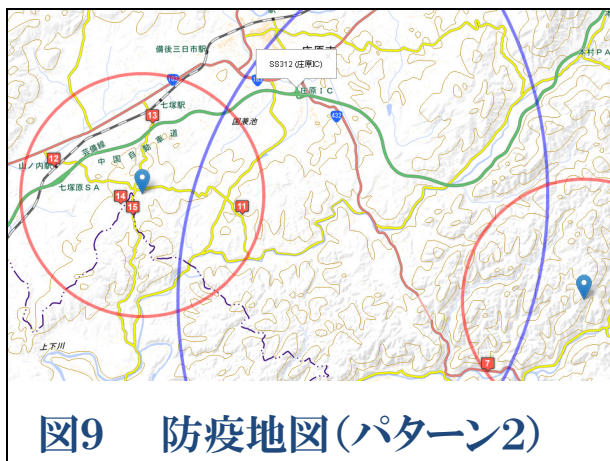
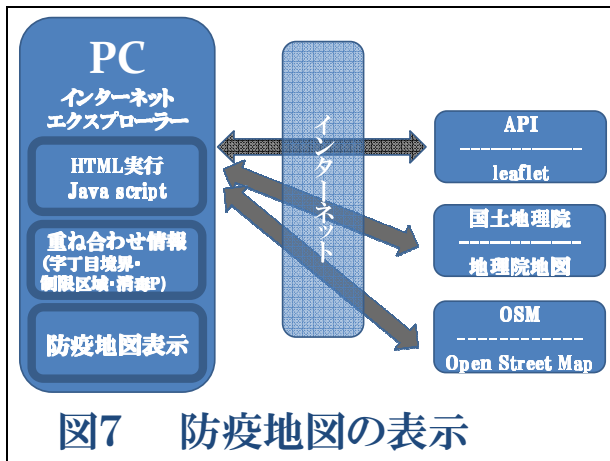


図6 防疫地図作成の手順



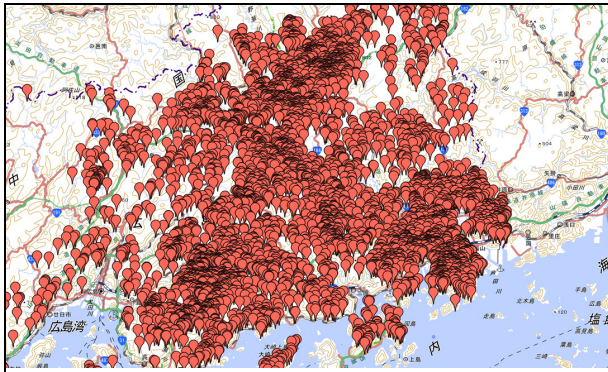


図13 県内ため池の位置図



図14 防疫地図(パターン5)

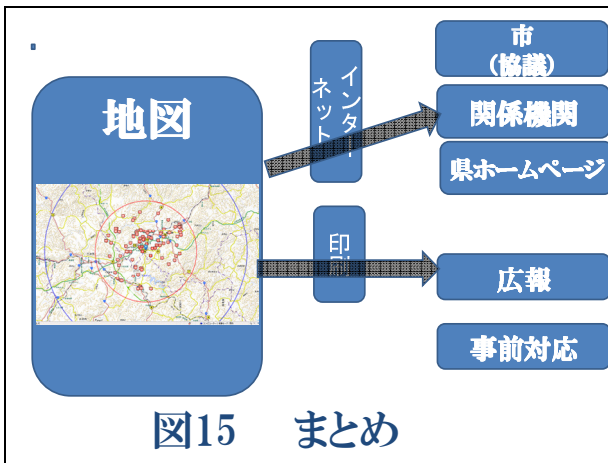


図15 まとめ

表1 農家の位置情報

	M	N	O	P	Q	R	BB	BC
1							このセルに発生地緯度入力	このセルに発生地経度入力
2	農場							
	農場名称	農場の郵便番号	農場の所在地	所在地のインデックス1	所在地のインデックス2	飼養形態のインデックス	緯度	経度
16		728-0024	三次市	1	三次市	*和牛繁殖	34.7603	132.8236
16		728-0025	三次市	2	三次市	*和牛繁殖	34.806	132.8368
17		728-0025	三次市		三次市	*和牛繁殖	34.7834	132.7981
10		728-0025	三次市		三次市	*和牛繁殖	34.7764	132.8042
10		728-0025	三次市		三次市	*和牛肥育	34.7782	132.7889
70		728-0025	三次市		三次市	*和牛繁殖	34.7785	132.7894
21		728-0025	三次市		三次市	*和牛繁殖	34.7758	132.7809
22		728-0025	三次市	13	三次市	*和牛繁殖	34.8127	132.8250
23		728-0621	三次市		三次市	*和牛繁殖	34.713	132.8854
24		728-0621	三次市	1	三次市	*和牛繁殖	34.7133	132.8869
25		728-0621	三次市	1	三次市	*和牛繁殖	34.7111	132.8843
26		728-0621	三次市		三次市	*和牛繁殖	34.7178	132.9001

表2 地図作成用エクセルシート

地図の縮尺	11	10【縮小】-15【拡大】	地図の作成1 円の半径1 (発生地<マーカー>あり)	地図の作成1 円の半径1 (発生地<マーカー>なし)
	緯度	経度	移動距離半径Km	圏外距離半径Km
地図の中心	34.823422	132.980971		発生地のコメント
発生地1	34.823422	132.980971	10	20 畜産技術センター
発生地2	34.823422	132.980971	1	1 畜産技術センター
発生地3				
発生地4				
発生地5				
マーカー 1	34.64051	132.85433	SS227 (みわ375)	
マーカー 2	34.92807	133.13707	SS216 (鹿野フェーン農産場)	
マーカー 3	34.80424	132.70023	GG231 (二次市非木野支所)	
マーカー 4	34.702656	133.115797	SS101 (上下運動公園)	
マーカー 5	34.98343	132.98602	SS220 (庄原市比和支所)	
マーカー 6	34.7195	132.99306	SS220 (二次市吉合支所)	

表3 地図作成用HTMLファイル(抜粋)

```

<script>
var map = L.map('map');
L.tileLayer('http://cyberjapandata.gsi.go.jp/xyz/std/{z}/{x}/{y}.png', {
  attribution: '<a href="http://portal.cyberjapan.jp/help/termsfuse.html" target="_blank">
  国土地理院</a>'
}).addTo(map);

// 半径10Kmの円を描く
var circle = L.circle([ 34.823422, 132.980971 ], 10000, {
  color: 'red', fillOpacity: 0
}).addTo(map);

// 指定した位置にアイコンを置く
var mapMarker = L.marker([ 34.64051, 132.85433 ]).addTo(map);
mapMarker.bindPopup('SS227 (みわ375)');

// 地図を描く(中心座標とする)
map.setView([34.8493818, 132.9880233], 12);
</script>

```

西農ポークのうまみの分析

県立西条農業高等学校 畜産科養豚部門

2年 山重沙月 山下華蓮 小坂和誠

はじめに

広島県東広島市は、高校や大学が13校もある学園都市である。農業の分野では米の生産から野菜、花そして畜産と幅広く、地域の特産品も多くあるが、東広島市の土地の利用状況を見ると、農地は約12%と少なく、面積の2/3が森林・原野となっている。東広島市の畜産業について調べたところ、総農家戸数のうち畜産農家は1%以下であるが農業産出額は約15%を占め、畜産業が東広島市の農業の大切な分野であることがわかった。これらのデータから、畜産分野の活性化が東広島市の農業全体の活性化につながると考えた。特に畜産分野の中でも養豚経営に注目した。その理由は次の3点である。豚は牛と比べると扱いやすく、短期間で収入を得ることができる生産性の高い家畜であること。猪が家畜化されたことから、農地以外の森林・原野でも飼育が可能であること。そして、豚肉は加工品に向くため、六次産業としての展開が可能であること。

そこで、本校の畜産科では養豚経営を通して、東広島市の農業の活性化を目指して平成19年度より地域資源である酒粕を給与した西農ポークの生産を行っている。また、その豚肉を使用したソーセージ「SAINO ポークZ」の製造を行い、地域の方に喜んでいただける商品が完成した。さらに東広島市内の精肉店では、西農ポークの精肉販売もできるようになり、お客様からは豚独特の臭みがなく、脂肪が甘くておいしいと評価していただいている。

研究の目的

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、今年度は昨年度の課題であった脂肪の融点と、脂肪酸組成の分析を行うことにした。

試験区の設定

今回の試験では、同じ母豚から生まれた6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 試験区の設定

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	3頭	×	×
放牧・酒粕区	(LW) (D)	3頭	○	○

研究 1 ～脂肪融点の測定（上昇融点法）～

脂肪の融点が低い脂肪は口どけが良いだけでなく、不飽和脂肪酸を多く含む脂肪であると言われる。脂肪融点を測定することにより、おいしい脂肪であるということを証明することにつながると考えた。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. 準備物

- ・豚背脂肪 ・包丁 ・まな板 ・電子天秤 ・ろ紙 ・キムタオル
- ・シャーレ ・漏斗 ・ビーカー ・ヘマトクリットチューブ ・ホットスターラー
- ・温度計 ・タイマー ・記録用紙

2. 試験方法

- ① 冷凍したロース肉の周辺から脂肪を 20 g 切り出す。
- ② 切り出した脂肪を細かく刻み、漏斗にセットしたろ紙にのせる。
- ③ 漏斗をビーカーにのせ、108℃にした恒温器に入れて4時間置く。
- ④ 4時間後、溶けだした脂肪をシャーレに取りヘマトクリットチューブに詰める。
- ⑤ ヘマトクリットチューブを1日冷凍し、翌日ホットスターラーにセットし、加温しながら融点を測定する。



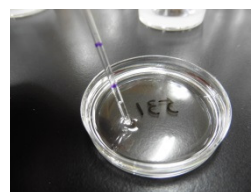
①背脂肪のカット



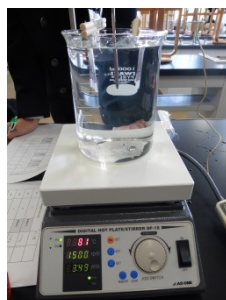
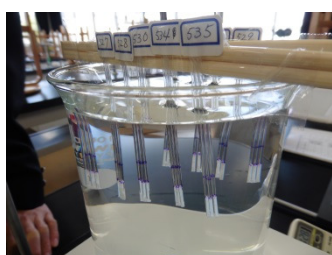
②ろ紙にセット



③恒温器に入れる



④チューブに詰める



⑤ホットスターラーで加温

3. 結果

表2 対照区の脂肪融点の平均

		融点(°C)	平均(°C)	
272	①	39.3	39.6	39.5
	②	39.8		
	③	39.6		
273	①	39.5	39.7	
	②	39.7		
	③	39.9		
274	①	39.2	39.2	
	②	39.7		
	③	38.8		

表3 放牧・酒粕区の脂肪融点の平均

		融点(°C)	平均(°C)	
279	①	35.6	35.7	33.1
	②	36.2		
	③	35.4		
278	①	31.8	31.8	
	②	31.8		
	③	31.7		
275	①	32.0	31.9	
	②	32.0		
	③	31.7		

融点は対照区が 39.5°Cで、放牧・酒粕区は 33.1°Cとなり、西農ポークの方が融点は 6.4°Cも低いことがわかった。昨年度も西農ポークの方が融点は低かったが、全体的に融点が 42°C前後と高かったことで、実験方法を改良し、正確に測るための工夫を行った。その結果、今年度のような差が見られ、融点も昨年度に比べ大幅に下がったと思われる。

研究2 ～脂肪酸組成の分析～

脂肪融点の測定によって、西農ポークの不飽和脂肪酸が多いことが予想されたため、日本ハム株式会社中央研究所に依頼し脂肪酸組成について分析していただくことにした。

1. 前処理

- ① サンプルから脂肪を 100 g 切り出す。



※このとき、脂肪融点の測定に使用したサンプルに近い場所から脂肪酸組成の分析サンプルを採取する。

- ② サンプルごとに冷凍し、日本ハム株式会社中央研究所へ郵送する。

2. 結果

表4 対照区の脂肪酸組成

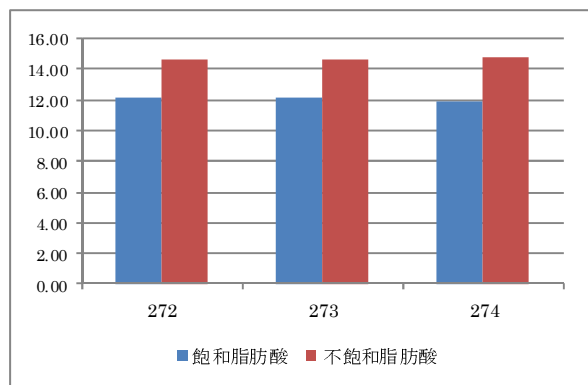
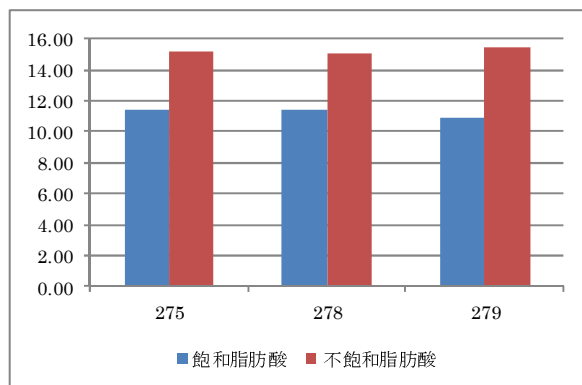
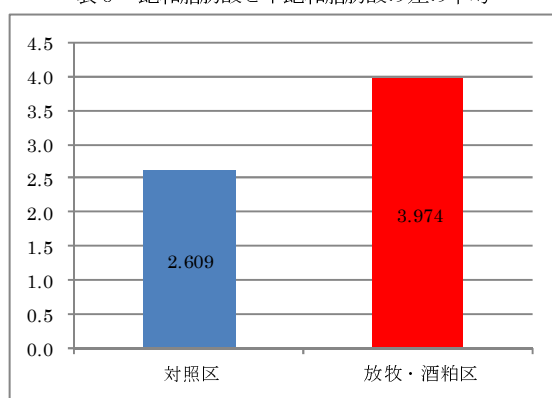


表5 放牧・酒粕区の脂肪酸組成



飽和脂肪酸と不飽和脂肪酸の差が大きいほど融点は低くなることから、今回のサンプルの分析結果から差を求めると、対照区が2.609%に対し、放牧・酒粕区が3.974%と高くなった。この結果からも、西農ポークの脂肪融点が低くなった理由を証明することができた。

表6 飽和脂肪酸と不飽和脂肪酸の差の平均



まとめ

今回の試験の結果から、対照区と放牧・酒粕区の脂肪の成分や融点に差があることがわかった。融点の測定方法については、昨年度の課題を克服するため実験方法を見直した結果、全体的に融点が下がり対照区と放牧・酒粕区の差もはっきりとした。また、その結果の裏付けとして、脂肪酸組成の分析結果でも放牧・酒粕区の不飽和脂肪酸の量も多いことを証明することもできた。

今後の課題

今年度は、対照区と放牧・酒粕区の2つの区分で分析を行った。その結果、融点や脂肪酸含量に差があることがわかったが、それが放牧によるものであるか酒粕添加によるものであるかという検証には至らなかった。そこで、来年度は再度4つの区分に分け実験を行うことで放牧飼育と酒粕添加の有効性について検証していきたい。

また、分析と合わせて官能検査も行い、人の味覚で差がわかるのかという実験も重ねていきたい。

表7 来年度の試験区分

区分	放牧飼育	酒粕添加
対照区	×	×
放牧区	○	×
酒粕区	×	○
放牧・酒粕区	○	○

鳥類の性決定メカニズムの解明 —ニワトリのミートプロダクション、エッグプロダクション化への可能性を探る—

広島県立西条農業高等学校畜産科

3年 松浦美里 2年 佐藤太紀 清水雅弘 梶山瑞穂 林茉莉香

目的

畜産において雌雄生みわけ技術はほ乳類ではほぼ完成されている。しかし鳥類は雌ヘテロ型の性染色体構成をとり、ほ乳類と異なった性決定機構を持っているため、産業的な利用や飼育下の繁殖において、各個体の雌雄判別は大きな課題となっている。そこでヒナを雌雄判別し効率的にミートプロダクション・エッグプロダクション化を行う可能性を探ることを目標とし、細胞レベルでのDNA鑑定を未受精の胚盤葉細胞から受精直後時系列的に胚盤葉細胞で実施し、鳥類の性決定メカニズムの一端を見いだすことを目的とした。

方法

受精卵が得やすく初期発生の観察が容易なニワトリ胚を使い、無精子、受精直後の胚盤葉細胞を回収しPCR法でDNA鑑定による雌雄判別を実施した。また受精3日目から細胞レベルでのDNA鑑定後、体外培養法で発生を継続させ、時系列で観察できる可能性を探った。

- (1) 受精卵（700個）について孵卵15日目胚の性比を調査した。
- (2) ニワトリ無精子の胚盤葉細胞を回収しDNA鑑定を行った。
- (3) 産卵鶏の卵胞内卵子の胚盤葉を回収しDNA鑑定を行うことが出来るか検証した。
- (4) ニワトリ受精卵、孵卵前の胚盤葉細胞を回収しDNA鑑定を行った。
- (5) 孵卵24時間～48時間後の胚盤葉細胞の一部を回収しDNA鑑定後、体外培養で孵化の可能性を検討をした。
- (6) 孵卵3日目胚から採血しDNA鑑定後、体外培養で孵化の可能性を検討した。

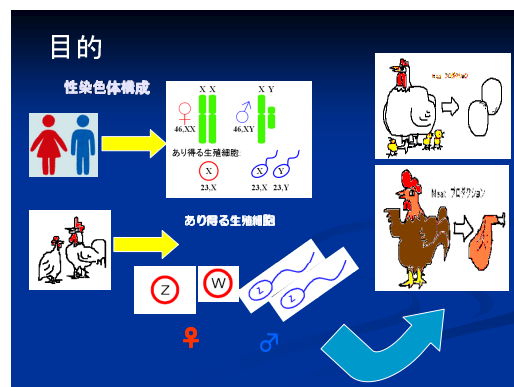


図1 性染色体構成の違い

結果



図2 解剖学的雌雄判別

1) 実験1 孵卵 10~15 日目のニワトリヒナ解剖学的所見での性比調査

700 個の受精卵を購入し孵卵 15 日目胚において解剖学的雌雄判別と遺伝子レベルでの雌雄判別による性比調査をした結果、♂279♀256 未受精卵 106 であり、性比は 1.08 : 1 であった。

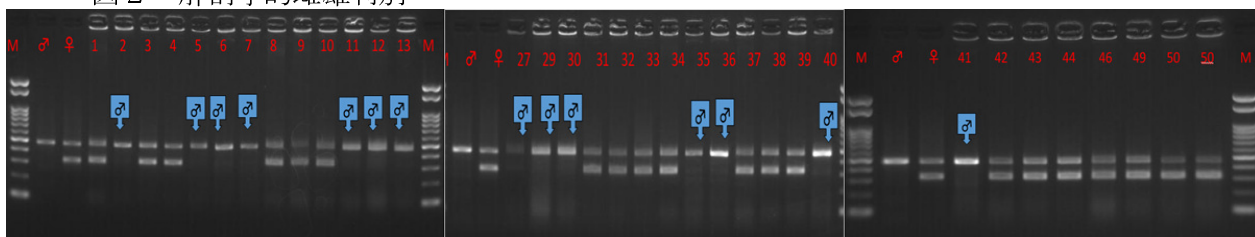


図1 遺伝子レベルでの雌雄判別

2) 無精卵の胚盤葉を採取しダイレクトPCRによる性判別

鳥類では、性染色体は雄がホモ(ZZ), 雌がヘテロ(ZW)であるため、雌の体内で生産される卵胞で性決定されることになる。仮説を立て、まず西農の鶏舎で産卵されている卵を無作為に選択し、その胚盤葉の細胞をPCRにかけることを試みた。無精卵4個から胚盤葉の細胞を切り取り、PBS溶液で保存し、凍結し後日PCRにかけた。PCRの結果1♀, 2♀, 3♂, 4不明であった。ほとんどの卵においてはZ, W染色体が出現し、♀という結果であったが、今回の実験ではZ染色体のみが出現した卵も確認できた。しかしながら性比を確認するまでには至らなかった。



図4 胚盤葉を回収

3) 卵胞内卵子の胚盤葉細胞を回収しPCR法によるDNA鑑定結果



図5 産卵鶏の解剖



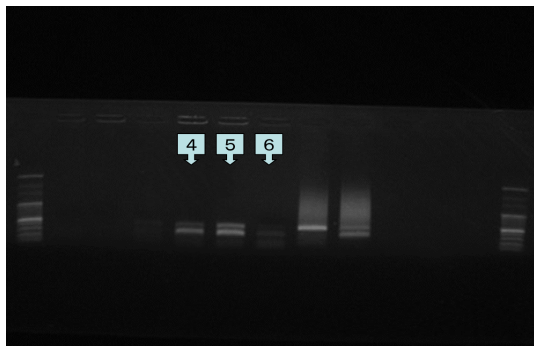
図6 卵巣と卵管



図7 腹腔内卵胞

産卵鶏を解剖し，卵巣から子宮までを取り出した。卵管内にある卵胞は第1卵胞と呼ばれ，大きさが第2，第3と続くこととなっている。この卵胞から胚盤葉を回収し，胚盤葉を回収しDNA鑑定を実施した。しかし，母親由来の卵胞膜で何重にも覆われているため確実に胚盤葉だけを回収することが難しくPCRの結果においてZW染色体がうまく出現しなかった。

4) ニワトリ受精卵， 孵卵前の胚盤葉細胞を回収しPCR法でDNA鑑定結果



有精卵から孵卵前の胚盤葉からキャピラリーグラスで吸い取りPCRにかけた。6個中3個検出できた。すべて雌という結果であった。

図8 3サンプルのみ検出できた検体

5) 24～48時間孵卵後の胚盤葉から回収した細胞のPCR法によるDNA鑑定

①24時間孵卵した有精卵から採取した胚盤葉細胞のDNA鑑定結果

6サンプル中2つのサンプルからZ，Wの染色体が検出できたが，胚の細胞だけが取れているかの判断が難しい。この体外培養法を使った胚盤葉からの採取で採取後再び孵卵することができた。3日後には心臓が発達し造血機能も僅かに観察された。

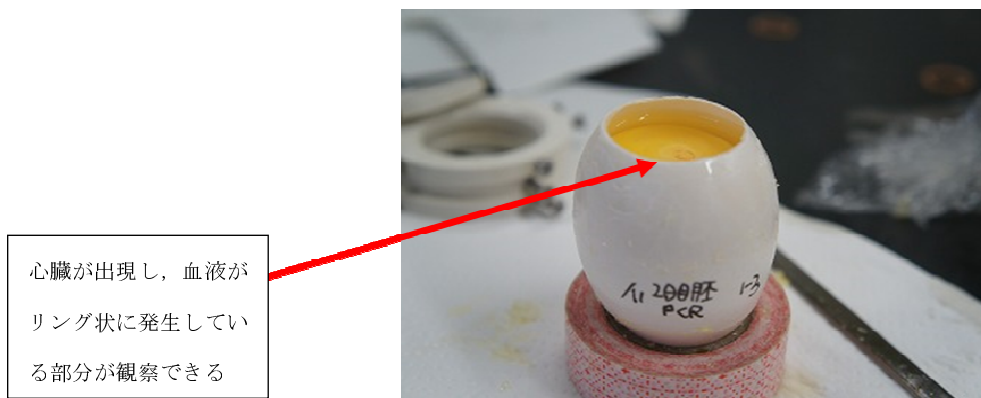
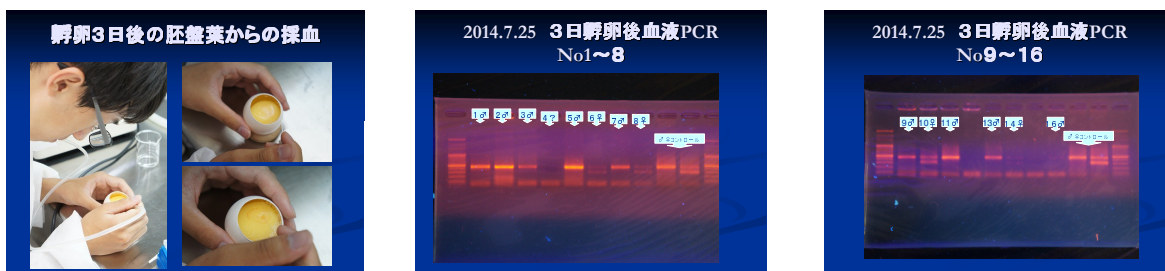


図9 孵卵3日目に発達した心臓

6) 体外培養による孵卵3日目の胚からの採血によるDNA鑑定および孵卵継続の可能性



孵卵3日目の胚から毛細血管を少しだけ回収し血液のDNA鑑定を実施し，雌雄判別することが出

来た。また体外培養法で実施すれば、継続孵卵の可能性がうかがえた。

考察

- (1) フィッシャーの性比 ($\sigma^7 : \text{♀} = 1 : 1$) を検証する目的で実施したが、体外培養法を使い孵卵 3 日目に性染色体 Z, W (特異的遺伝子: CHD 遺伝子) を確認し性判別することができた。また、購入した受精卵を孵卵し解剖し得られた性比であったため、単独の個体から得られた性比でなく、性比と言えるのかという疑問もあり、今後は単独個体に人工受精を施し、受精卵を多数回収し解剖学的雌雄判別を行うことで、ニワトリの性比を確認する。
- (2) 産卵鶏の卵胞内卵子の胚盤葉を回収し DNA 鑑定をすれば Z 卵, W 卵に分類できるという仮説で実験を行ったが、母親由来の卵胞膜が何層にもなっており、うまく胚盤葉を回収することができなかった。また、腹腔内の卵胞の成長において第二次卵母細胞に進む過程は排卵の 1 時間前であるということが文献に示されており Z, W 染色体のみがでたという結果は誤りであった。今後は無精卵から胚盤葉を回収し親鶏の DNA と混合させないように工夫し DNA 鑑定をする。そのためトリプシン等のタンパク質除去剤を使って確実に回収する方法を検討する。

今後の課題

爬虫類では温度依存性決定という孵卵温度で性が変化する性決定様式がある。鳥類は爬虫類から進化していることを考えると鳥類もこの性決定様式を持っているかもしれないという仮説を立て今後、孵卵時の温度を変化させ孵化後の性を確認する。さらに孵卵中の一定時間温度変化させるという刺激を与えることで性が変化しないかということも確認したい。

参考文献

- 1) Koopman et al. Nature, 351: 117-121 (1991); SRY 遺伝子の導入個体の作成
- 2) Mem. Institute of Advanced Technology, Kinki University No. 16: 1-6 (2011)
- 3) 総説: 鳥類における雌雄鑑別 加藤博己, 宮下 実, 入谷 明

飼料米が日本を救う—飼料米 SGS の飼料価値について—

県立西条農業高等学校 畜産科

3年 杉元美友 尾村直也 橘和一希

2年 大川麻里 松村 拓

はじめに

わが国では主食用としての米の消費が減少し、米が余剰になっている。しかし、飼料自給率は 26%と食料自給率に比べても低いため、米を飼料用に有効活用できないかについて、検討を行い、モミ米ソフトグレインサイレージ (SGS) に注目した。この方式では、穂部のモミ米を SGS 化して濃厚飼料に、茎葉部は稲わらとして粗飼料に利用できる。手順としては、平成 25 年に 6 種類の飼料用品種を試験栽培 (計 10a) し、その結果をもとに、平成 26 年はホシアオバを約 30a に作付し、SGS 化して、黒毛和種去勢牛に給与し、飼料的価値について調査を行った。以下にその概要を報告する。

材料及び方法

1. 調査期間

平成 25 年 12 月 6 日～平成 27 年末 (生後約 5～16 カ月齢) 平成 26 年 11 月末までの中間発表

2. 材料

1) 供試牛

試験区 No.1～2 平成 25 年 7 月生まれ。

表 1 供試牛の概要

平成 25 年 9 月導入 ET レース。

対照区 No.3 平成 25 年 8 月生まれ。

平成 25 年 10 月導入 ET レース。

供試牛No.	導入月齢	導入体重	父	祖父	曾祖父
1	1.7	83	美津百合	平茂勝	第3神竜の4
2	1.9	80	田安照	糸福(鹿児島)	平茂勝
3	1.8	64	美津百合	安福165の9	糸北鶴
4	8.9	303	美津百合	平茂勝	菊安

No.4 平成 26 年 4 月導入。平成 25 年 7 月生まれ。

No.3 の月齢が約 1 カ月の違いはあるが、他の供試牛 3 頭に合わせた。

供試牛の詳細は、表 1 のとおりである。

2) モミ米 SGS

平成 25 年飼料用米品種 (モミロマン, もちだわら, タカナリ, リーフスター, ホシアオバ, クサノホシ) 栽培をした。平成 26 年の飼料用米の収穫は成熟期に、イネ刈り取り機 (バインダー) で刈り取りを行い、自脱コンバインで脱穀を行ったのち、茎葉部はぜ干し後、粗飼料稲ワラとした。



写真 1 もみ殻播潰粉砕機

モミ米はフレコンバックに入れ広島県府中市にある株式会社北川鉄工所に持ち込み、もみ殻播潰 (らいかい) 粉砕機 (すりつぶし) を使用し、乳酸菌は畜草 1 号を添加したのちフレコンバックに入れモミ米 SGS が 2,629kg 出来た。調製後 40 日以降に小分けにして保存をした。

調査方法

1. モミ米 SGS 給与試験

試験区は約生後4ヵ月齢から飼料給与時にモミ米 SGS を日量 25 g /頭から給与を始めた、平成 26 年 11 月末、生後約 16 ヵ月齢時は日量 1kg/頭を現在給与中である。

対照区は 本校従来の飼養管理である。試験区、対照区共に個体管理のため単飼飼いとしました。

2. 調査項目

①栄養成分比較等 ②第1胃内分解特性 ③採食率 ④増体重変化 (DG) ⑤生化学検査

結果

1. 栄養成分等の比較

表2は本校で使用している代表的な濃厚飼料である。モミ米 SGS は CF、及び NDF が他の濃厚飼料より高い値を示し、CP 及び TDN が低い値を示した。

表2 栄養成分等の比較

項目名	単位	栄養成分比較等 日本標準飼料成分表2001年版 (乾物中)				
		モミ米SGS	トウモロコシ	大豆粕	特殊フスマ	大麦
原物						
水分	%	41.7	13.5	11.7	13.1	11.8
乾物						
粗タンパク質 (CP)	%	7.5	9.2	52.2	16.2	12.0
粗脂肪 (EE)	%	2.6	4.4	1.5	3.5	2.4
粗繊維 (CF)	%	13.3	2.0	6.3	5.2	5.0
粗灰分 (Ash)	%	4	1.5	6.7	3.5	2.6
可溶性無窒素物 (NFE)	%	72.6	82.9	33.3	71.8	78.0
TDN	%	61.9	92.3	86.8	85.1	84.1
NFC	%	64.4	74.4	25.3	58.5	66.6
NDF	%	21.5	10.5	14.3	18.3	16.4
原物						
PH		3.9				
β-カロテン	乾物中	1.012	mg/kg			
ビタミンA効力	乾物中	405	IU/kg			

2. 第1胃内分解特性

広島県立総合技術研究所畜産技術センターに依頼をして、フィステル牛3頭を用いた。図1は3頭の平均値を示した値である。0時間での消失率はトウモロコシ45%、オオムギ23%、モミ米9%、モミ米 SGS 71%。48時間後の消失率はトウモロコシ98%、オオムギ93%、モミ米12%、モミ米 SGS 79%であった。

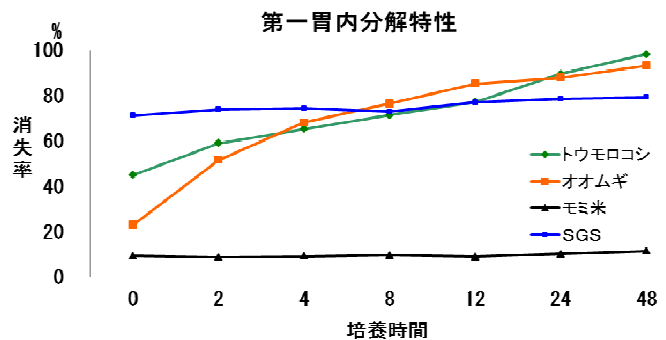


図1 第1胃内分解特性

3. 採食率

約9ヵ月齢に対照区の給与量が低くなっているのはNo.4の導入により飼料のならしを行ったためである。また、約15ヵ月齢時に試験区No.2、対照区No.3が体調不良のため低い値を示した。調査期間中の採食率は試験区 86.5~94.6% 対照区 81.4~97.3%であった。

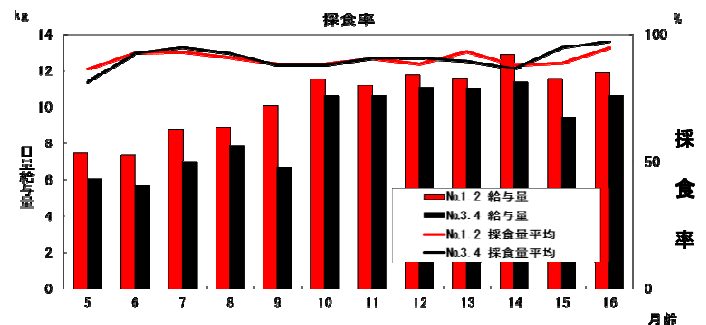


図2 採食率

4. 増体重変化

約 16 か月齢で試験区No.1, 574kg, No.2, 470kg, 対照区No.3, 453kg, No.4, 495kg であった。約 6 か月齢時からの DG 値は, No.1, 1.2kg, No.2, 1.0kg, No.3, 1.0kg, No.4 は導入が約 9 か月齢時からの DG 値は 0.9kg であった。

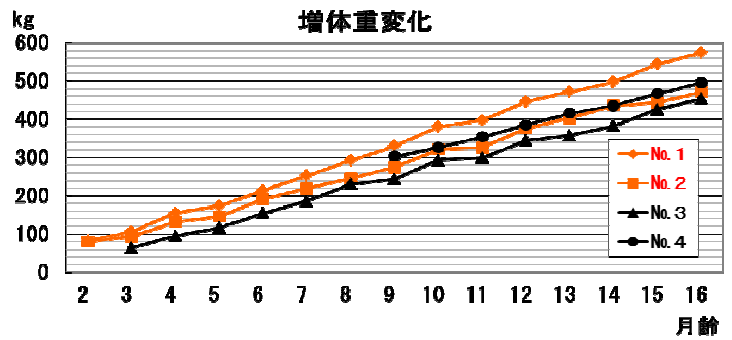


図 3 増体重変化

5. 生化学検査

1) 血中 VA 濃度変化

肥育牛は約 20 ヲ月齢時を目安に最少必要量 30 IU/dl に近づくように本校では飼育をしている。両区共に, 約 12 ヲ月齢時から VA 制限飼料に切り替えたことにより約 13 ヲ月齢時から下降し初めた。約 15 ヲ月齢時で試験区No.1 及びNo.2, 73 IU/dl, 対照区No.3, 66 IU/dl, No.4, 93 IU/dl と下降した。

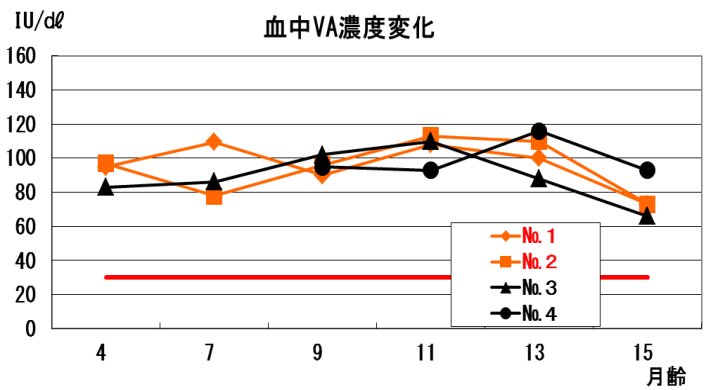


図 4 血中 VA 濃度変化

2) 血中 VE 濃度変化

約 7 ヲ月齢時に両区共に値が下降したが約 9 ヲ月齢時から値が上昇をした。約 15 ヲ月齢時に No.3 が上昇をしているが, 他の供試牛は下降した。

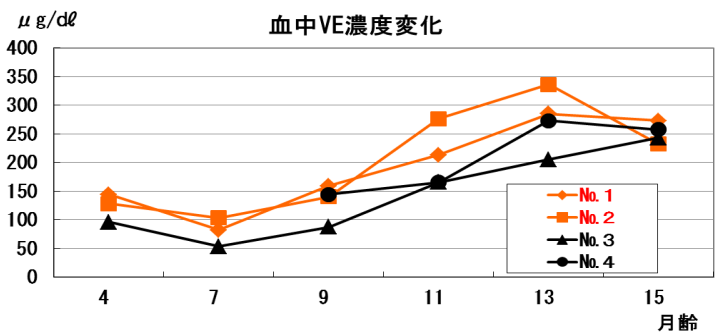


図 5 血中 VE 濃度変化

3) 血中 T-Cho 濃度変化

約 15 ヲ月齢時に両区共に値が下降をした。対照区は 100mg/dl 以下の値を示した。

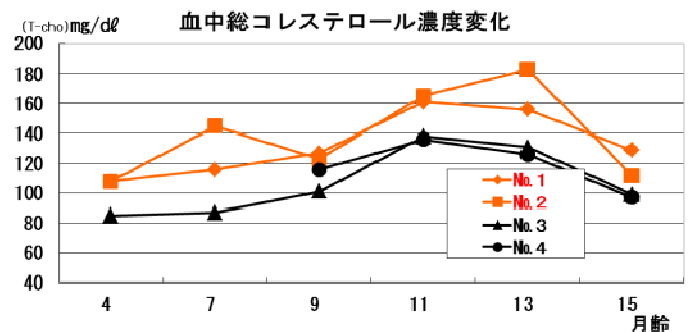


図 6 血中 T-Cho 濃度変化

考察

1. モミ米 SGS と栄養成分等を比較した結果, トウモロコシ, 大豆粕, 特殊フスマ, 大麦, 4 種類の栄養成分は, NDF, CF が高い値を示したが, CP, TDN は低い値を示した。VA 効力は β -カロテン 1.012mg/kg, 405IU/dl と低い

値を示したことから、肥育牛に給与することができる飼料であると推察される。

2. 第1胃内分解特性におけるモミ米SGSの消失率0時間で71.3%、と早く微生物等の発酵によりVFAが急速に作られることが考えられるため、粗飼料の給与量及びモミ米SGSの配合割合を慎重に検討していく必要がある。

3. 採食率は高かったが、モミ米SGSの嗜好性には個体差があり、においによるものと推察される。今後検討が必要である。

4. 生化学検査における血中VA値は約15ヵ月齢時で試験区はNo.1, 2共に73IU/dlと同じ値で下降をしたことからVAコントロールができる濃厚飼料と考えられる。血中VE値はT-Choと良く相関して飼料の摂取量の状況を反映する。約15ヵ月齢時にNo.3が上昇しているが、他の調査牛は下降した。血中T-Cho値は、VE同様に両区とも約13ヵ月齢時から下降している。このことから他の濃厚飼料より血中VA濃度変化を気にせず給与することができるかと推察された。

今後の課題

1. 第1胃内分解特性試験という消化スピードの試験から、さらに研究を深めモミ米SGSの飼料としての価値に係る試験を実施する。

2. 毎日の乳生産に関わっている乳牛（ホルスタイン種）を活用し、乳量や乳質への影響について研究することで短期的にモミ米SGSの効果を調査する。

3. トウモロコシやオオムギなどの輸入価格と、モミ米SGSの栽培における生産コストを比較する。

謝辞

本研究を進めるにあたりご指導をいただき、実験にご協力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近畿中国四国農業研究センター、西部畜産事務所、広島県立総合技術研究所畜産技術センターの皆様感謝申し上げます。

参考文献

- 1) (独) 農業・食品産業技術総合研究機構 作物研究所 農林水産省 農林水産技術会議 (農研機構) 米とワラの多収をめざして2013 飼料用米, 稲発酵粗飼料用品種
- 2) 山形県最上総合支庁産業経済部農業技術普及課 (高橋徹弥) もみがら蒸砕膨軟化装置を活用したSGS調製技術と今後の方向
- 3) 農林水産省 生産局畜産部畜産振興課 消費・安全局畜産安全管理課飼料をめぐる情勢 平成26年11月
- 4) 経営普及課専門技術指導担当 宮腰主査 飼料用米の活用について www.tokihiro-net.jp/sengi/sengi22/170622si.pdf
- 5) 全国飼料増産協議会 飼料用イネの栽培と品種特性 平成25年播種用
- 6) 農林水産省 統計部 グラフと絵で見る食料・農業 ―統計ダイジェスト―
- 7) 独立行政法人 農業・食品産業技術総合研究機構編 日本飼養標準 肉用牛 (2001年版) 今後の課題
- 8) 生産獣医システム 肉牛編 社団法人 農山漁村文化協会
- 9) 農林水産省 米穀の需給及び価格の安定に関する基本指針 平成26年11月

飼料イネホールクロップサイレージの有効利用

広島県立庄原実業高等学校 生物生産学科3年 肉用牛経営研究室

田畑光 藤岡純弥 渡拓哉

はじめに

我が国の食料自給率の向上、とりわけ飼料自給率の向上は畜産の大きな課題である。現在、国内自給できる飼料として飼料イネの利用が注目されている。また、環境保全の観点からも、国内の耕作放棄地をはじめとした未利用耕作地の活用として、飼料イネ栽培が取り組まれている。飼料イネを乳酸発酵させた飼料イネホールクロップサイレージ（以下飼料イネ WCS）の利用性を高め、課題の解決に取り組む。5年前より、本校において刈取調製した飼料イネ WCS を黒毛和種肥育牛に給与し、その有効性について検証していくとともに、飼料給与マニュアルの作成を計画している。昨年度、肥育前期3か月および肥育後期2か月の飼料イネ WCS 給与を行い調査し、今年度、肥育前期4か月および肥育後期3か月の飼料イネ WCS 給与を行い調査した。肥育後期には、飼料イネ WCS のβカロテン含量にも期待し、ビタミンA調整を行った。飼料イネ WCS を有効利用し、庄原地域で栽培した粗飼料給与による広島牛肉のブランド化を図ることを目標として、さらに研究を進めることとした。

方法

平成25年2月導入牛（平成24年5月生まれ）黒毛和種4頭を材料牛とし、肥育前期4か月（9～12か月齢）に飼料イネ WCS を給与（7kg/頭/日）したのち、出荷前3か月間2頭を試験区として飼料イネ WCS を給与（4kg/頭/日）し、2頭を対照区として稲わらを給与（2kg/頭/日）した。（図1）

調査項目は、次のとおりである。

1. 体重の推移
2. 飼料イネ WCS 成分
3. 飼料摂取量
4. 血液生化学的検査

血中ビタミンA値（VA値） βカロテン値 血中ビタミンE値（VE値） 総コレステロール値（T-cho値）

5. 枝肉成績

枝肉重量、ロース芯、バラ厚、BMS、BCS、BFS

6. 粗飼料費比較

成績

1. 体重の推移（図2）

両区とも順調に増体したが、機器の故障で試験期間に測定ができなかった。

2. 飼料イネ WCS 成分（表1）

飼料イネ WCS 成分分析（品種：タチスズカ（糊熟期））したところ

平成26年度 飼料イネWCS給与試験					
1 給与時期 肥育前期4か月間・後期3か月間					
2 供試牛 黒毛和種去勢牛					
供試牛No.	導入月齢	名号	父	祖父	曾祖父
No.4896	8.7	池崎9	信勝中	平茂勝	初代14
No.4892	9.9	俣七子	信勝中	北国7の8	紋次郎
No.5182	9.0	湯来北平	北平安	百合茂	平茂勝
No.2955	8.6	村田2	北平安	北国7の8	平茂勝

図1 実施（給与）期間及び材料

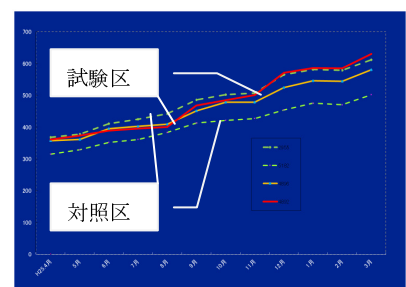


図2 体重の推移

ろ、水分が66.3%と最も多く、つづいてNDF、ADFなど粗繊維が多かった。ビタミンAが原物中1,015IU/kg測定された。

表1 飼料イネWCS成分分析結果(品種:たちすずか, 糊熟期)

一般成分	原物中%	乾物中%
水分	66.3	
乾物	33.7	
CP	1.7	5.2
NDF	19	56.5
ADF	11.5	34
ADL	0.9	2.6
デンプン	0.6	1.8
NFC	8.2	24.3
EE	0.7	2.2
粗灰分	4.4	13.0
Ca	0.14	0.42
P	0.08	0.25
ビタミンA IU/kg	1015.11	3013.10

3. 飼料摂取量(図3)

試験区が25ヶ月~28ヶ月齢で高い値を示した。試験区の採食率はほぼ100%で残飼がほとんどなかった。

4. 血液生化学的検査

VA値は、試験区で高い傾向を示した。対照区にはビタミンA(30万IU)を3回経口投与し、試験区には、25ヶ月齢時に、ビタミンA(30万IU)を1回経口投与した(図4)。

βカロテン値は、試験区において高い値を示し、飼料イネWCSの影響がみられた(図5)。VE値は、肥育牛に必要な130IUを全期間全頭が越えていた(図6)。T-cho値は、試験期間において試験区で増加傾向がみられた(図7)。

5. 枝肉成績

枝肉成績の平均は試験区・対照区で枝肉重量(kg)530・471, ロース芯面積(cm²)65・56, バラ厚(cm)8.3・7.3, BMS(No.)5.5・4.5, BCS(No.)4・3.5, BFS(No.)は両区とも3であった(表2)。

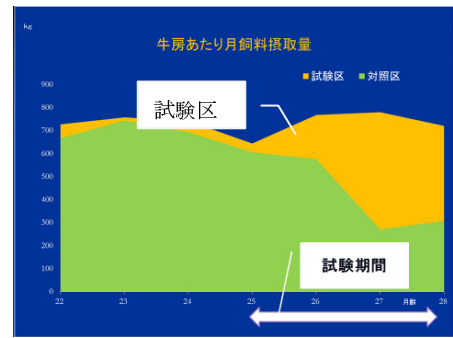


図3 飼料摂取量

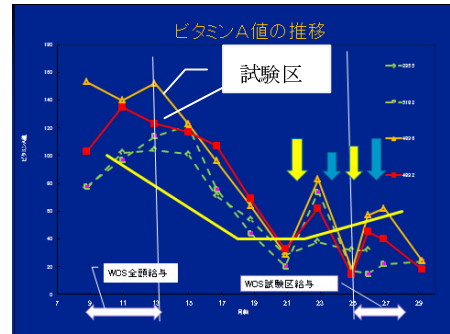


図4 VA値の推移

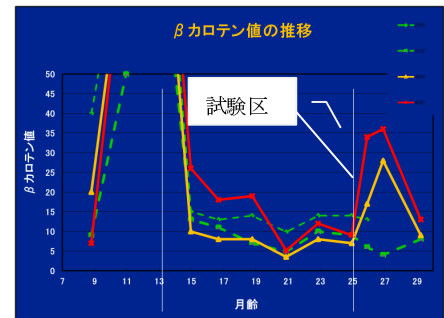


図5 βカロテン値の推移

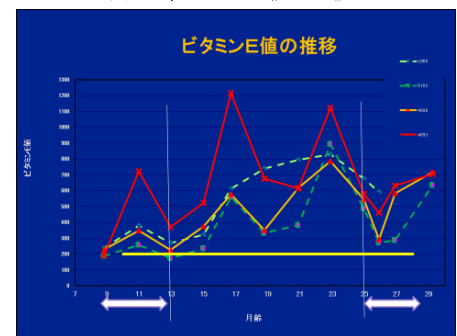


図6 VE値の推移

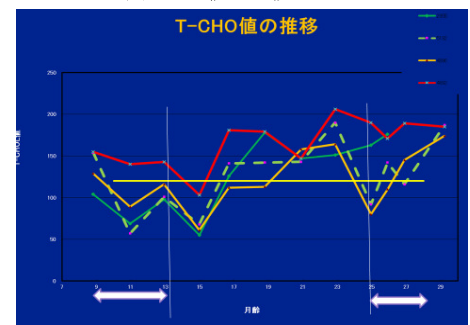


図7 T-Cho値の推移

6. 粗飼料費比較 (表3)

粗飼料費は、試験区1頭当たり9,634円、対照区12,108円となり、差額2,474円であった。全肥育期間で、飼料イネWCSを利用した場合と比べると1頭当たり12,050円費用を下げることができた。

まとめ

- 1 飼料イネWCSを出荷前3か月間給与することによる肥育成績の影響はないと考えられた。
- 2 飼料イネWCSを出荷前3か月間給与することにより、ビタミンAの補給が可能であると考えられた。
- 3 飼料イネWCS有効活用することにより、生産費の軽減のほか、耕作放棄地の増加を抑える可能性を見出すことができた。

今回の研究結果から「庄実版飼料イネWCS給与マニュアル」を作成した(図8)。今後は、飼料イネ給与期間・給与体系を再検討し、生産費を抑えることと、出荷月齢を早めることを検討し、作成したWCS給与マニュアルを実証していく。飼料の高騰が続いていることから、肥育牛への飼料イネの活用が増え、飼料費の削減、耕作放棄地の有効活用につなげていくとともに、自給飼料給与によって、さらに安全・安心な牛肉生産を目指していきたい。

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
- 4) 平成17年度研究成果情報 黒毛和種肥育牛に給与されている粗飼料のビタミンA含量
独立行政法人 農業・食品産業技術総合研究機構九州沖縄農業研究センター

表2 枝肉成績

区分	No.	格付	枝肉重量 (kg)	ロース (cm ²)	バラ (cm)	BMS	BCS	BFS
試験区	4896	A-3	513	61	7.6	3	4	3
	4892	A-5	546	69	8.9	8	4	3
	平均		530	65	8.3	5.5	4	3
対照区	5182	A-4	461	53	6.8	5	3	3
	2955	A-3	480	58	7.7	4	4	3
	平均		471	56	7.3	4.5	3.5	3

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	518	18.6	9,634
対照区	稲わら	302	40.0	12,108
差額				2,474
試験区を含む	飼料イネWCS	934	※チモシー 72.0	114,190
全期間	+チモシー	+439		
	+稲わら	+1,607		
慣行法による	チモシー	725		126,240
全期間	+稲わら	+1,851		
差額				12,050

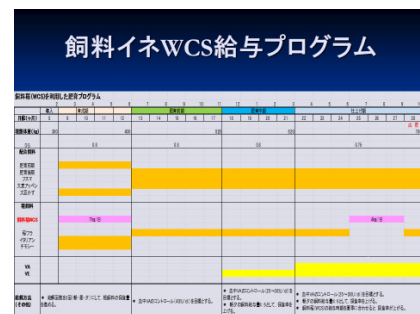


図8 庄実版飼料イネWCS給与マニュアル

蜜蜂から広がる交流，花と蜜蜂の里を目指して part II

油木高等学校 産業ビジネス科 1年

○宮本麗 村竹由梨 藤井彩

はじめに

「蜜蜂」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。蜜蜂が飛び交う環境は安全・安心の証です。私たちの住む広島県神石高原町は豊かな蜜源植物の恩恵を受け、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、蜜蜂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) 蜜蜂飼育方法の新たな提案
- (2) 里山の環境保全～蜜源植物の栽培拡大～
- (3) プロジェクト普及活動
- (4) 蜂蜜を利用した地域素材の活用
- (5) 蜜蜂を活用した被災地支援

結果

- (1) 蜜蜂飼育方法の新たな提案

飼育管理を研究し、誰でも飼育できるようマニュアルを作りました。管理の中でも特に難しい、冬場の管理を稲の育苗ハウスの中に入れることを提案しましたが、高齢者には移動そのものが負担であり、改良を考えました。移動させず、保温するために、断熱効果が高い発砲スチロールを蜜蜂にかじられないように板で覆った保温板を作り、巣枠を挟み、隙間に布をつめ冷気が中央の蜜蜂に行かないように工夫しました。巣箱の上からアルミシートで被い出入り口を少しだけ開け、外気が蜜蜂に当たらないようにしました。温度計を差し込み、巣箱内温度と外気温度を測定し、実験したところ、外気温度がマイナスでも巣箱内温度は33度前後を保っていることがわかりました。同じ条件で働き蜂の数を6,000匹、8,000匹、1万匹の実験で行いました。働き蜂が1万匹以上いないと越冬は難しいといわれますが、この方法なら、6,000匹の働き蜂でも春を迎えることができました。

- (2) 里山の環境保全～蜜源植物の栽培拡大～

町内にある耕作放棄地を活用し、蜜蜂のために花を育てることを考えました。地域の人にやって下さいでは、耕作放棄地は減らないと考え、自分たちで花畑を作っていく実践を行うことにしました。毎年、少しずつ耕作放棄地を開墾し、新たな花畑を作っています。先輩からの意思を受け継ぎ、現在6ヘクタールまで花畑が広がっています。そば、レンゲ、菜の花、ひまわりと一面に広がる里山の風景は地域の方に大変喜んでいただけました。今では地域の高齢者

の方と一緒に、トラクターでの耕うんや花の種まきも行い、交流の輪とともに花畑が広がっています。地域の方々も私たちの活動を理解し、自ら、耕作放棄地を耕し、花畑を作って下さる方も増えてきています。

(3) プロジェクト普及活動

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、依頼を受け、東京、京都、兵庫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、学校へ視察にこられる自治体が増えました。さらに、島根県では、実際に地域おこしに蜜蜂を活用したいとして、高校生の私たちに講師として来てほしいと依頼がきました。大人の方に指導することなどできるのか心配でしたが、私たちの活動を知り、ぜひ参考にしたいと強く要望され実現することになりました。当日まで、どうすればわかりやすく飼育管理方法が伝えられるか何度も練習をし、1泊2日の研修をすることになりました。21名の参加者が集まり、私たちの話を熱心に聞いてくれました。実際蜜蜂を使い、管理方法のポイントを明確に伝えることで「これなら私にもできそう」と言ってくれただけ、さらに飼育を始めることが決まり大成功でした。

(4) 蜂蜜を利用した地域素材の活用

地域素材と蜂蜜を組み合わせることで地域の産業の手助けができないかと蜂蜜とのコラボレーションを考えました。森林からでる間伐材の活用として、贈答用の木箱を作り蜂蜜を入れ、道の駅で販売しました。今まで、瓶詰めした蜂蜜の販売だけでしたので、贈答用として大変喜ばれ、テレビや新聞でも取り上げられたことから、県外の方まで足を運んでくださり、間伐材の利用だけでなく、道の駅の集客にもつながりました。

また、コメの栽培で流通できないくず米を米粉にし、蜂蜜を組み合わせシフォンケーキやパウンドケーキを作り、学園祭やイベントで販売しました。蜂蜜を入れることで焼き色が美しくなり、しっとりしたケーキになり大好評ですぐに完売しました。

蜜蜂プロジェクトの活動を町が認め、観光課と協力して蜂蜜をモチーフにした「蜂蜜姫」を考案し、絵本の制作を行い、神石高原町の観光アピールをする手助けが出来ました。

(5) 蜜蜂を活用した被災地支援

東日本大震災はテレビで見る映像からも痛ましく、農業に携わる者として、農業で何か役に立ちたいと考えたのがイチゴ農家さんへ交配用蜜蜂を送る支援でした。イチゴ栽培において花粉交配を行う蜜蜂は大切なパートナーですが、蜜蜂不足による価格の上昇のため、ハウスを新設するなど出費が多い中、問題になっていました。そこで、学校で学んだ養蜂技術を活用し、蜜蜂を増殖し送ることにしました。行動するほど多くの方が協力を申し出てくれ、町の支援50万円と、交配用蜜蜂を販売している会社から蜜蜂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下さり、私たちと共に蜜蜂を宮城県まで搬送してくれました。1,100kmの長旅を経て、直接、イチゴ農家さん15軒へ蜜蜂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。小さな蜜蜂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。

2年連続行った活動は、青少年を対象としたボランティアを支援する「ボランティア・スピリット・アワード」で、SPIRIT OF COMMUNITY 奨励賞に選ばれました。全国から特に優秀な活動に贈られる賞をいただき、活動が認められ大変うれしく、今後の活動の励みになりました。さらに、「ソロプチニスト学生ボランティア賞」にも選ばれ全国から

15 団体にしか送られない学生ボランティア賞をいただくことができました。今年の支援活動も多くの方の協力により順調に行っています。

まとめ

- (1) 蜜蜂の新しい飼育方法が提案できました。
- (2) 耕作放棄地を再生し、花畑に変え、交流の場を作り、地域活性化につながりました。
- (3) 蜂蜜と組み合わせることで地域素材の有効活用を提案できました。
- (4) 蜜蜂の可能性を地元だけでなく全国に発信できました。
- (5) 蜜蜂飼育技術を東北支援に活用でき交流の輪が広がりました。

私たちの継続的な研究が多くの研究大会で認められ、テレビ、ラジオ、新聞で活動が報道されました。その結果「油木高校」といえば「蜜蜂」と言っていただけのほど知名度を高めることができました。油木高校の活動は、広島県教育委員会でも注目を集め、生徒数が少ないため高校存続が危ぶまれる中、教育長自ら素晴らしい活動として取り上げて下さり、創立 100 周年に向け存続の可能性にもつながりました。地域の宝として高校を支援して下さる地元の方に少しでも恩返しができるかと始めた活動は、大きく実を結ぶことができました。

今後は、さらに普及活動を進めるために地元の書店と協力し、蜜蜂飼育マニュアルの出版を行う予定です。また、交配用蜜蜂支援で学んだ技術は新たなビジネスモデルの可能性をもっています。高原の立地を生かし、蜜蜂を増殖させることで交配用蜜蜂不足に悩む日本の農業を助けるとともに、販売することで地域雇用につながります。この可能性を現実化させるために神石高原町産業課と協力しながら頑張ります。

参考文献

- 1) 新特産シリーズ蜜蜂飼育・生産の実際と蜜原植物
- 2) 蜜蜂の不足と日本農業のこれから

蜜蜂の飼育状況の正確な把握と得られたデータの有効活用

東部畜産事務所

○向井利太 三木智彦

はじめに

近年の養蜂を取り巻く変化として、趣味で少群数の蜜蜂を飼育する者が増加していることが挙げられる。このような変化に対応し、蜜源の適正な管理、蜂群配置の適正な確保、迅速かつ的確な防疫措置を実施するために、平成25年1月1日から改正養蜂振興法が施行され、蜜蜂飼育の届出義務を課す対象が拡大された。改正前までは養蜂業者のみが対象となっていたが、改正後は蜜蜂を飼育するすべての者が対象となった。この他、都道府県が、蜂群配置の適正等を図るために、蜜蜂の飼育状況や蜜源の状態の把握、蜂群配置に係る調整、転飼の管理、その他必要な措置を取るよう定められた。

法改正により届出対象が拡大されたことで、届出件数が増加した。法改正前の平成24年は、管内での届出件数は約50件であったのに対し、法改正後の平成25年以降は約100件まで増加し、蜂群の配置が複雑になった(図1)。

広島県では、法律で許可制度がとられている県外転飼のみならず、県内転飼についても、条例により許可制度をとっていることから、配置状況がさらに複雑になったことで、事前の転飼調整が難しくなっている状況にある。

今回我々は、飼育届によって得られた蜂群配置データを整理し、転飼調整等に有効活用することを目的として、取組を実施したので、その概要を報告する。

方法

1. 蜂群の配置状況を示した地図の作成

各飼育者から届出のあった蜂群の、群数と整理番号を記入したシールを、地図上の該当場所へ貼り付けることで、配置状況を視覚的に整理した(図2)。これを地域転飼調整会議の際に示し、転飼調整に利用した。

2. 法改正内容に関する記事の市町広報誌への掲載

管内市町の広報誌に、養蜂振興法の改正により、すべての蜜蜂飼育者に飼育届の提出が義務付けられたことと、飼育届の提出期限及び提出方法についての記事を掲載することを依頼し、広く周知した(図3)。

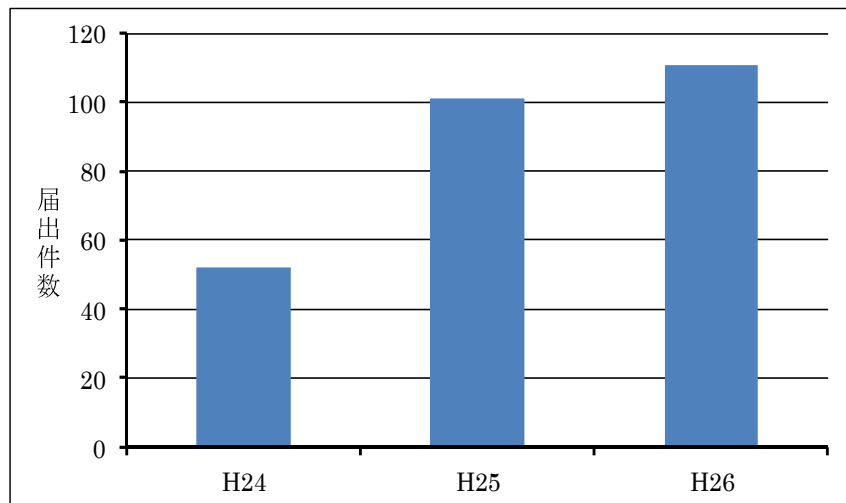


図1 管内における蜜蜂飼育届の提出件数

結果

1. 蜂群の配置状況を示した地図の作成

1) 地域転飼調整会議での活用

地域転飼調整会議の際に、作成した地図を用いることで、配置状況の他、地形等の情報が把握しやすくなり、実際の周囲の状況に基づいた効率的な転飼調整を実施することができた。

2) 蜂群配置に関するトラブルへの対応

蜜源に対して蜂群が過剰であることが原因となったトラブルが発生した際に、飼育者に対して、作成した地図から得られた、蜂群密度が低い地域を提供し、過剰な蜂群を移動させることにより、早期のトラブル解決を図ることができた。

3) 腐蛆病発生時の対応

腐蛆病が発生した際に、作成した地図を利用することにより、移動制限区域内（発生場所から半径3km以内）に存在する蜂群を的確に把握することが可能となり、迅速な防疫対応を実施することができた。

2. 法改正内容に関する記事の市町広報誌への掲載

飼育届の提出等について、広く周知することができ、平成27年の届出件数は、昨年と比較して約2割増加し、より正確な蜂群の配置状況を把握することができた。

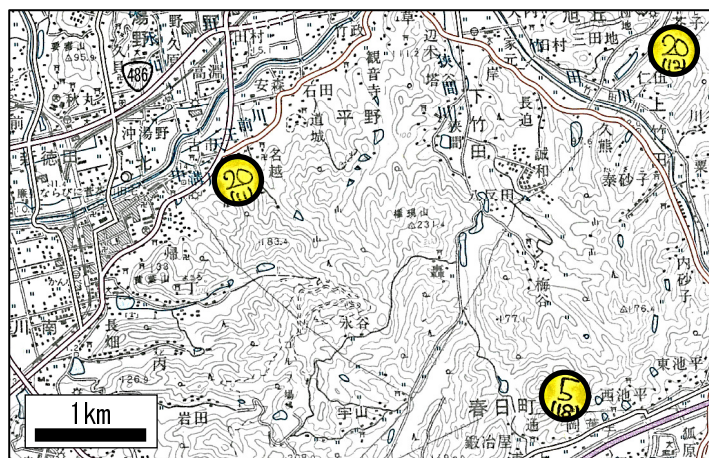


図2 蜂群の配置状況を示した地図（参考例）

まとめ

養蜂振興法が改正され、飼育届の対象が拡大されることにより、届出件数は増加し、転飼調整における蜂群の配置調整が複雑化することとなった。

今回の取組の中で、蜂群の分布図を示した地図を作成し、蜂群の配置状況及び周囲の地形等の状況を的確に把握することにより、効率的な転飼調整を実施することが可能となった。この他にも、蜂群配置に関するトラブルが発生した際に、この地図を活用することで、早期にトラブル解決を図ることができた。また、腐蛆病が発生した際に、移動制限区域内の蜂群を的確に把握することで、早期の防疫対応を実施することができた。

これらと併せて、市町の広報誌を利用し、飼育届の対象者の拡大に関する内容を主とした、養蜂振興法の改正

蜜蜂を飼育される皆様へ

～蜜蜂飼育届の提出をお忘れなく～

平成25年1月1日に改正養蜂振興法が施行され、蜜蜂の群の配置の適正化の観点から、趣味で蜜蜂を飼育される方に対しても、蜜蜂の飼育の届出が義務付けられました。蜜蜂を飼育される方は、毎年1月31日までにその年の飼育計画を広島県東部畜産事務所へ提出してください。なお、飼育届の様式は広島県のホームページからダウンロードできます。

また、蜜蜂の群を移動しながら飼育する場合（転飼）は、知事の許可が必要です。許可を受けるには、転飼を行う前年度の10月31日までに申請書の提出をお願いします。詳細については、畜産事務所までお問い合わせください。

【お問い合わせ先】

広島県東部畜産事務所
〒720-8511 福山市三吉町一丁目1番1号
☎084-921-1311（内線3906）

図3 広報誌の掲載記事（H26.9 世羅町）

内容の周知により、趣味の蜜蜂飼育届出件数が増加し、より正確な飼育状況を把握することができ、改正養蜂振興法の啓発及び適正な運用を実現することができた。

今後の課題としては、これらの取組を継続的に実施し、蜂群配置状況把握の精度を維持または向上させることや、トラブルが起きた際の、定飼飼育者に対する指導は、法令に基づかないものであるため、効果的な調整方法を検討する必要がある。

ニホンミツバチのヨーロッパ腐蛆病発生事例とその防疫対応

北部畜産事務所

○船守足穂 坂井智美

はじめに

ヨーロッパ腐蛆病は *Melissococcus plutonius* による蜜蜂の伝染病で、主に蜂児が死亡し、融解及び腐敗臭を伴うことが知られている。ニホンミツバチのヨーロッパ腐蛆病は、国内では平成 25 年 5 月に香川県で初めて発生して以来、現在までに 3 例が報告されている（表 1）。

平成 26 年 2 月、管内のニホンミツバチ飼養農家（1 群飼養）において、成蜂数の減少及び死亡蜂児の増加が見られ、病性鑑定の結果、国内で 2 例目となるニホンミツバチのヨーロッパ腐蛆病と診断した。病性確定後、防疫対応として当所で作成した防疫地図システムを活用した効率的なまん延防止対策を実施したので、概要を報告する。

表 1 国内におけるニホンミツバチのヨーロッパ腐蛆病発生事例

報告年月	地域	発生群数
平成25年5月	香川県	20群
平成26年3月	広島県	1群
平成26年6月	岡山県	1群

病性鑑定方法

1. 臨床検査

発生蜂群の巣箱、成蜂及び蜂児を材料として巣箱を内検し、成蜂数、蜂児の形状、臭気を確認した。

2. 細菌学的検査

死亡蜂児を材料として、ミルクテスト、墨汁染色及び細菌の分離培養を実施した。培養条件は、5% 羊血液寒天培地を用いて 37℃、24 時間、好気培養、DHL 寒天培地を用いて 37℃、24 時間、嫌気培養、KSBHI 培地を用いて 37℃、4 日間、嫌気培養とした。

病性鑑定成績

1. 臨床検査

成蜂数は減少しており、巣箱内に殆ど見られなかった（図 1）。蜂児は死亡数が増加しており、巣門前に捨てられていたが、臭気は認めなかった。また、現地での採材時には蜂児は融解せず原型を保っていたが、スピッツ管に採材し、冷蔵保管したところ、1~2 時間後に蜂児は融解していた（図 2）。

2. 細菌学的検査

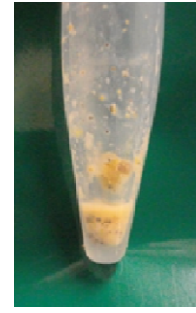
ミルクテスト陰性。墨汁染色では、アメリカ腐蛆病の原因となる芽胞菌は認めなかった。分離培養では、KSBHI 培地から有意菌が分離された。これを材料とし、PCR 法により分離菌を *Melissococcus plutonius* と同定した（表 2）。これにより、平成 26 年 3 月 4 日ヨーロッパ腐蛆病と確定した。



図1 巣箱の内検結果



現地採材時の死亡蜂児



スピッツ管に採材後融解した蜂児

図2 死亡蜂児の肉眼所見

表2 細菌分離培養結果

培地	培養条件	菌量
5%羊血液寒天培地	37°C 好気培養 24時間	—
DHL寒天培地	37°C 嫌気培養 48時間	—
KSBH1培地	37°C 嫌気培養 4日間	1.3×10^2 cfu/ml

まん延防止対策

病性鑑定開始時から、隔離措置として当該蜂群の巣門閉鎖を指示した。腐蛆病確定後、発生農家及び周辺農家に対し、まん延防止対策を実施した（図3）。

本事例では、(1) 病性鑑定開始時から発生蜂群の隔離措置を実施していること (2) 飼養群数が1群であり防疫措置を講じることで継続発生する可能性が低いこと (3) ヨーロッパ腐蛆病は消毒薬散布により容易に原因菌が死滅すること、という理由により、移動制限措置を講じずに移動自粛区域の設定による自衛防疫により対応することとした。

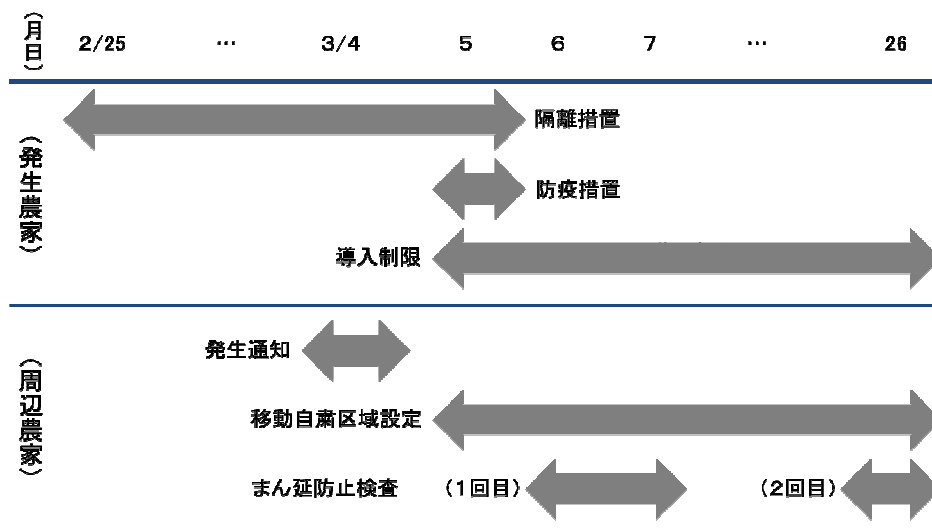


図3 まん延防止対策実施内容

1. 発生農家対応

腐蛆病確定翌日の平成 26 年 3 月 5 日、巣箱及び蜂具等の汚染物品は焼却処分し、農場内はヨーロッパ腐蛆病菌に対し有効な次亜塩素酸ナトリウムを用いて消毒した。また、畜主に対し、導入制限として 21 日間は新たに蜜蜂を飼養しないように指示した。

2. 発生通知

管内の全養蜂農家 54 戸及び関係機関に対し、リーフレットを用いて発生農家に対する防疫対応及び周辺農家に対するまん延防止検査の実施について情報提供した（図 4）。

3. 移動自粛区域の設定

当所で作成した防疫地図システムを活用した。本システムでは、基本となる地図情報は国土地理院が無償で提供するデータを利用し、農家情報は Excel で位置情報を整理した養蜂農家データを利用した。本システムで発生農場から概ね半径 3km 以内となる字丁目を検索したところ、20 の区域が該当し、これらの区域を移動自粛区域（図 5）とし、区域内に所在する農家を検索したところ、10 戸が該当した。このうち、確認時に蜜蜂を飼養している農家が 2 戸、飼養していない農家が 5 戸、区域外で蜜蜂を転飼している農家が 3 戸であった。

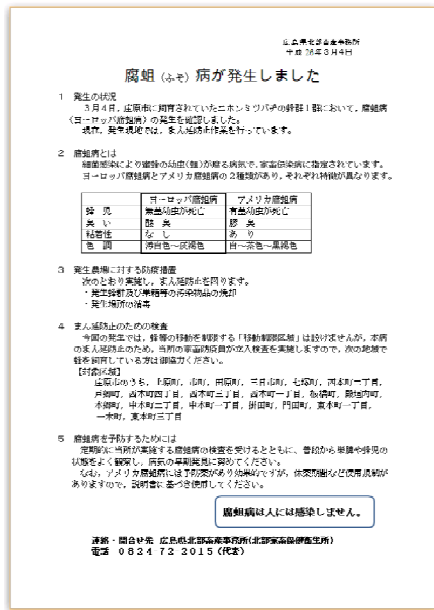


図4 発生通知リーフレット



図5 防疫地図システムによる移動自粛区域の設定

4. まん延防止検査

移動自粛区域内の農家 10 戸のうち、飼養実態のある農家 2 戸に対し、まん延防止検査を 2 回（1 回目：防疫措置完了後 1～2 日目、2 回目：防疫措置完了後 21 日目）実施するとともに、蜜蜂の移動自粛を要請した。一方、区域内に転飼予定の農家 3 戸に対し、腐蛆病終息まで蜜蜂の移入自粛を要請した（表 3）。

まん延防止検査の結果、巣脾に多数の成蜂を認め、蜂児にも異常を認めず、全群陰性を確認した（図 6）。これにより、平成 26 年 3 月 26 日、まん延防止対策は完了し、腐蛆病は終息した。

表3 移動自粛区域内での対応

飼養状況	飼養あり	飼養なし	転飼（区域外）
戸数	2戸	5戸	3戸
対応	まん延防止検査 移動自粛		移入自粛



図6 まん延防止検査(巣箱内検)

まとめ

今回、国内2例目となる *Melissococcus plutonius* によるニホンミツバチのヨーロッパ腐蛆病を摘発した。本症例では、成蜂数の減少や死亡蜂児を巣門前に捨てる行動を確認したが、一方で臭気や採材時における蜂児の融解は認めなかった。また、畜主の早期通報及び防疫地図システムを活用した効率的なまん延防止対策の実施により、腐蛆病はまん延することなく早期に終息した。

中四国地域では、ニホンミツバチのヨーロッパ腐蛆病が続発しているため、今後も本症例を念頭に置いた腐蛆病検査及び発生予防指導を継続する必要がある。また腐蛆病だけでなく、今後口蹄疫や高病原性鳥インフルエンザといった重大な動物感染症の疑い事例発生時においても、今回利用した防疫地図システムを情報共有の手段として活用し、迅速な防疫体制の確立に繋げていく必要がある。

管内採卵鶏農場におけるロイコチトゾーン病の発生事例

東部畜産事務所

○中光務 松本早織

はじめに

ロイコチトゾーン病は、ロイコチトゾーン原虫による疾病で、ニワトリヌカカの吸血によって媒介される鶏の届出伝染病である。発症鶏は、貧血や産卵率低下、軟卵、緑色便を呈し、ニワトリヌカカの発生が見られる時期、特に7月から9月にかけて多発する。平成26年9月上旬、管内の採卵鶏飼養農場1戸において、ロイコチトゾーン病の発生が確認されたため、その概要について報告する。

発生状況

管内開放式低床鶏舎で約2,200羽を飼養する採卵鶏農場において、平成26年8月末頃から産卵率が通常の6割程度に低下したと通報があった。9月2日頃から軟卵、緑色便、元気消失及び食欲不振を呈し、同月6日からは、鶏冠の蒼白化及び死亡羽数の増加が認められた。

材料

平成26年9月5日に採材した衰弱鶏4羽（240日齢以上）及び9月8日に採材した衰弱鶏4羽（日齢不明）の血液を検査材料とし、病性鑑定を実施した。

方法

1. 疫学調査

農場立入時に、発生状況及びワクチン接種歴の聞き取りを行った。

2. 病性鑑定

1) 血液検査

血液塗抹検査及びヘマトクリット（Ht）の測定を行った。

2) 病理組織学的検査

主要臓器を10%中性緩衝ホルマリンで固定し、常法に従いパラフィン包埋切片を作成し、ヘマトキシリン・エオジン染色（H・E染色）を行った。

3) 細菌学的検査

脳、肺、心臓、肝臓、脾臓及び腎臓の乳剤を5%羊血液加寒天培地及びDHL寒天培地を用いて培養を行った。培養条件は、5%羊血液加寒天培地で37℃、48時間、嫌気培養、DHL寒天培地で37℃、24時間、好気培養とした。

4) ウイルス学的検査（ウイルス分離）

脳、気管、肺、心臓、肝臓、脾臓、腎臓及び卵管は、10%乳剤を作成し初代鶏腎（CK）細胞に、また肺及び腎臓は、発育鶏卵（尿膜腔内接種）に接種してウイルス分離を行った。

結果

1. 血液検査

血液塗抹検査において、全羽にロイコチトゾーンのメロゾイト及びガメトサイトが認められた(図1)。ヘマトクリット値は16~22%を示し、正常値の40%を大きく下回り、顕著な貧血が認められた。

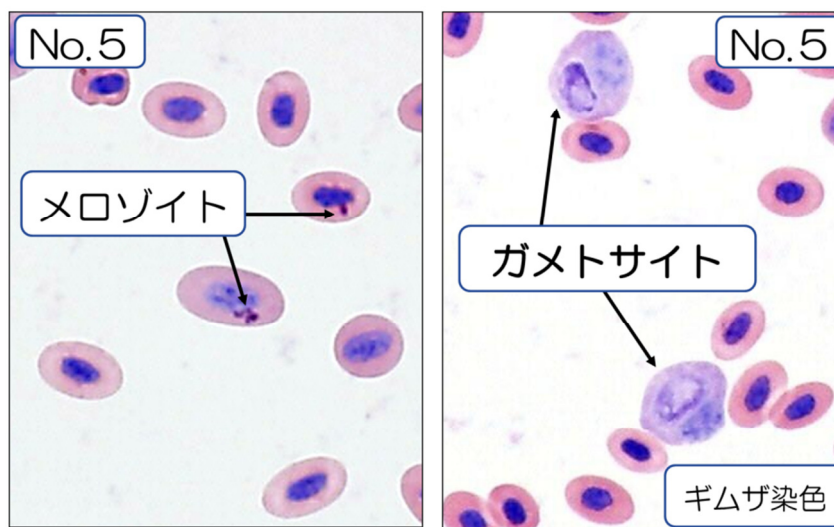


図1 血液塗抹像

2. 病理解剖学的検査

全検体の外貌所見では、鶏冠がやや退色していたものの、顕著な貧血症状は認められなかった(図2)。剖検所見では、全羽で脾臓の腫大(3×4cm)が認められた(図3)。また、1羽に卵墜が認められた。

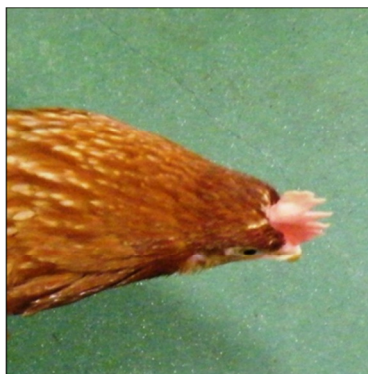
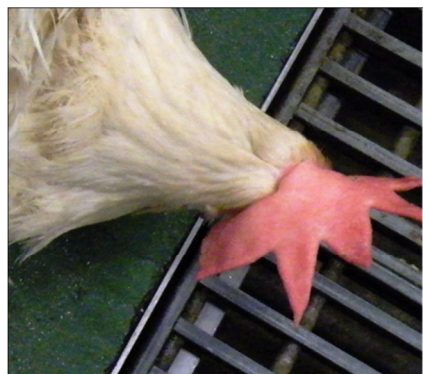


図2 外貌

図3 脾臓

3. 病理組織学的検査

腎臓、心臓、肺、胸腺、甲状腺、膵臓、腺胃、筋胃、卵巣及び卵管の諸臓器にロイコチトゾーンのシズントが認められた(表1, 図4, 5, 6)。シズント周囲には多核巨細胞やマクロファージが存在し、シズント貪食像が認められた(図5, 7)。また、肝臓では血管周囲を中心に多巣状に中等度から重度のリンパ球浸潤が認められた。脾臓では白脾髄におけるマクロファージ及びリンパ球の増殖が認められた。腎臓では間質において多巣状に軽から中等度のリンパ球浸潤が認められた(図4)。心臓では間質及び心外膜に軽度のリンパ球浸潤及び集簇が散見された(図5)。肺では肺小葉周囲の結合組織に軽度から中等度のリンパ球浸潤及び集簇が認められた。腺胃では粘膜固有層に重度のリンパ球浸潤及び一部で濾胞形成が認められた。筋胃では筋層の間質に軽度のリンパ球浸潤及び集簇が認められた。十二指腸から小腸では粘膜固有層に中等度のリンパ球及び形質細胞浸潤、軽度の偽好酸球浸潤が認められた。漿膜の一部に、泡沫状の細胞質を持つマクロファージ、偽好酸球及びリンパ球浸潤が認められた。

表1 シゾントの確認臓器

検体	No.1	No.2	No.3	No.4
腎臓	+	+	+	+
心臓	-	+	-	+
肺	+	+	+	+
胸腺	-	-	-	+
甲状腺	-	-	+	+
脾臓	-	+	+	+
腺胃	+	-	-	+
筋胃	-	+	-	+
卵巣・卵管	+	+	+	+

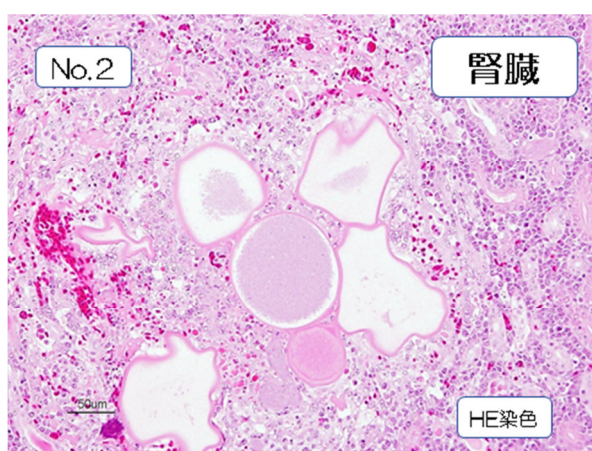


図4 腎臓

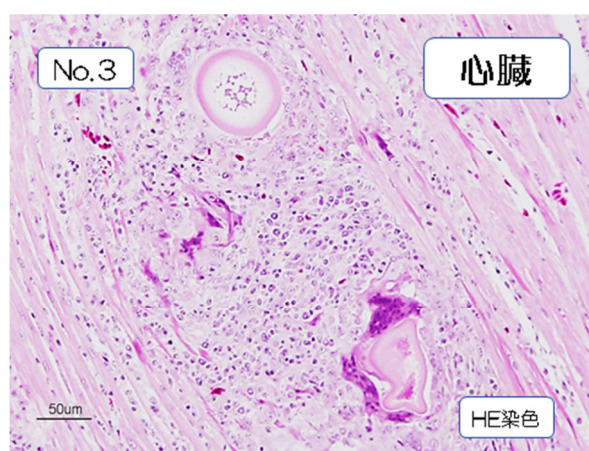


図5 心臓

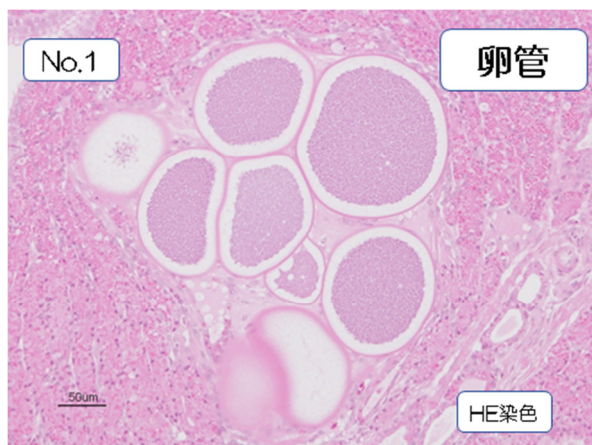


図6 卵管

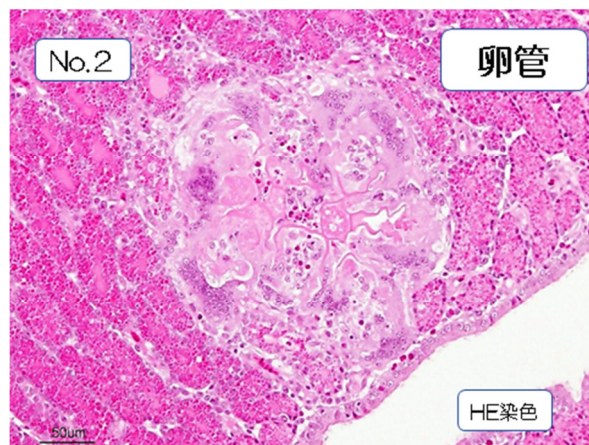


図7 卵管

4. 細菌学的検査

全羽ともに有意菌は分離されなかった。

5. ウイルス学的検査

全羽ともにウイルスは分離されなかった。

まとめ及び考察

以上の結果から、当症例をロイコトブーン病と診断した。

採卵鶏において、採卵中に抗原虫剤を使用することができないことや、ワクチンが製造中止となったことから、ニワトリヌカカ対策方法の検討が必要と考えられた。可能な対策としては、①鶏舎周辺の除草等による発生源・生息場所の排除②扇風機等の設置による鶏舎への侵入防止③侵入したニワトリヌカカの殺滅があげられるが、今回、鶏舎及び鶏体に殺虫剤を散布しニワトリヌカカを殺滅する方法を実施し、続発を防ぐことができた。

当農場では定期的に鶏舎周辺の草刈りを行っていたが、農場は山間部に位置し、周囲には水田や池が広がっていた。また、農場付近の同年8月の降水量は平年の約2.5倍であり、これらのことから、ニワトリヌカカの発生しやすい環境にあったと考えられる。

また、ニワトリヌカカは体長約1.5mmと小さいため、扇風機等での送風により活動が制限される。このため鶏舎内に換気扇等を設置することもニワトリヌカカ対策に有効であるが、当該農場には換気扇が設置されておらず、ニワトリヌカカによる病原体の伝搬が容易に起こったと考えられた。

本病の診断には、末梢血塗抹標本のギムザ染色による速やかな生前検査が有効である。今回、本病は県内で5年ぶりの発生となったが、全国的に散発している疾病であることから農家への啓発が必要であり、貧血が主症状でない場合でも立ち入り時の詳細な聞き取りと臨床症状の観察により、本病も視野に入れた病性鑑定を実施する必要がある。

参考文献

鳥の病気，鶏病研究会編，第6版（2006）

豚流行性下痢 (PED) の発生事例

西部畜産事務所

○田村和穂 横田美希

はじめに

平成 26 年 5 月に、繁殖母豚約 90 頭を飼養する一貫経営農家の飼養豚全体に嘔吐、食欲不振及び水様性下痢がまん延した。死亡哺乳豚及び同居豚糞便の病性鑑定から、県内初の豚流行性下痢 (PED) と診断したので、対応及び経過について概要を報告する。

農家概要及び稟告

繁殖母豚約 90 頭を飼養する一貫経営農家で、県内食肉市場に出荷している。畜舎は分娩・繁殖豚舎、子豚舎、肥育・繁殖豚舎の 3 棟で、自家育成の繁殖豚を 2 棟に分けて飼養している。ワクチンは繁殖豚に日本脳炎生ワクチン、肥育豚に豚丹毒生ワクチンを接種し、PED ワクチンは接種していなかった。

平成 26 年 5 月上旬に農場全体の飼養豚が食欲不振、下痢を呈すると通報があった。初発は 2 腹の哺乳豚 23 頭で、2～3 日前に嘔吐後に下痢を呈し、立入時には全頭が死亡していた。また、通報に先駆けて、畜主は食肉市場への出荷を自粛していた。

材料と方法

1. 発生状況：臨床症状及び浸潤状況について確認するとともに、農家への聞き取りにより、発生経過等の疫学情報を取りまとめた。

2. 病性鑑定：死亡豚 (3 日齢) 3 頭について、病理組織学的検査を実施するとともに、小腸中部の組織を用い、PED ウイルス (PEDV)、豚伝染性胃腸炎ウイルス (TGEV) に対する免疫組織学的検査を実施した。

また、小腸及び大腸内容物について、大腸菌、サルモネラ菌等の細菌学的検査、PEDV、TGEV 及び豚コレラウイルス (HCV) を対象とした遺伝子検査 (RT-PCR) 及びウイルス分離を実施するとともに、同日齢の哺乳豚 5 頭の糞便を採取し、細菌学的検査及びウイルス学的検査を実施した。

なお、分離された PED ウイルスについては、独立行政法人農業・食品産業技術総合研究機構 動物衛生研究所に遺伝子解析を依頼した。

3. 対策検討：発生農家においてまん延防止対策を検討する一方で、広島市食肉市場、県畜産課及び当所が会合し、出荷の再開にあたって、市場および農家を実施すべき対策を協議した。

4. 追跡調査：対策後、飼養豚の症状が消失するまで毎週定期的に立入り、発症及び死亡状況を確認した。また、発生日から 2.5 ヶ月及び 3.5 ヶ月後に、哺乳豚、離乳豚、4 か月齢、6 か月齢、繁殖母豚及び種雄豚について、各 5 頭の糞便の PCR 検査を実施しウイルス排出状況を確認するとともに、その内の離乳豚、4 か月齢、6 か月齢および繁殖母豚について、中和抗体法により抗体保有状況を追跡調査した。

成績

1. 発生状況：立入時の臨床所見を表1に示した。

繁殖豚及び肥育豚のほぼ全頭が食欲不振を呈し、1割が黄土色～灰色の水様性下痢を呈した。また、1週齢以下の初生豚は、脱水症状を呈して衰弱し、後に全頭が死亡した。

また、初発生以前の1週間で、農場関係者及び飼料運送業者等の農場立入者等に PED 発生地域との往来は認められなかった。

2. 病性鑑定：死亡豚3頭の解剖所見において、共通して小腸壁の非薄化（写真1）と、内部への黄色水溶物の貯留が認められた。組織学的検査においては、小腸絨毛が短縮し（写真2）、絨毛上皮細胞の空胞化を認めた。免疫組織学的検査においては、粘膜上皮細胞を中心に PED 抗原への強い陽性反応を認めた。

ウイルス学的検査においては死亡豚3頭の小腸及び同居豚5頭の糞便から PED 遺伝子を検出し、うち死亡豚2頭及び同居豚1頭の糞便から PEDV を分離した。TGEV 及び HCV は検出されなかった。

細菌学的検査では有意な菌は分離されなかった。

これら結果から、下痢の原因を PED と診断した。

なお、分離された PED ウイルスの遺伝子系統樹は、平成25年から全国で発生している株及び平成21年にアメリカで分離された株と同じグループに属していた（図1）。

3. 対策検討：病性決定時には感染は農場全体に及び、肥育豚、繁殖豚には既に回復傾向が認められていた。そのため、農場での対策としては、被害が続く哺乳豚と他のステージを作業者の固定、長靴、衣服及び手指の消毒により分離し、肥育豚等での再感染の防止を徹底した上で、繁殖母豚の免疫安定化により哺乳豚での発生が収束するのを待つこととした。農場への再侵入止を徹底した上で、繁殖母豚の免疫安定化により哺乳豚での発生が収束するのを待つこととした。農場への再侵入防止については、疫学調査で PED 発生地域との関連が認められず、侵入経路が不明であったため、出入り時の消毒や衣服の着替え等の衛生対策を引き続き徹底指導した。なお、発症した哺乳豚については代用乳と補液剤による対症療法で対応した。

肥育豚での症状消失後、食肉市場、県畜産課および家保で会合を開き、出荷再開に向けての方針を検討した。その結果、市場においては①全ての農家で入退場時の消毒を徹底させるとともに、②発生農場の搬入日を週の最後の曜日（金曜日）に設定し、③金曜日の作業終了後及び土曜日には、搬入車両の移動範囲に全て消毒剤（ヨード系）を噴霧することになった。また、発生農場においては、出荷を再開する条件として、出荷前に①出荷用車両の使用前消毒、②出荷豚の健康確認及び異常発見時の隔離、③肥育豚舎内の洗浄消毒の徹底及び④積込時に豚体を洗浄消

表1 臨床所見まとめ

繁殖豚 (分娩豚で顕著)	嘔吐(約4割) 食欲不振(ほぼ全頭) 黄土色水様性下痢(1割) 泌乳量低下または泌乳停止(分娩豚全頭)
離乳豚、子豚	食欲不振(9割)
肥育豚	黄土色～灰白色水様性下痢(9割)
哺乳豚	嘔吐 黄色水溶性下痢 脱水、1週齢以下では5腹33頭死亡



写真1 壁が非薄化した小腸

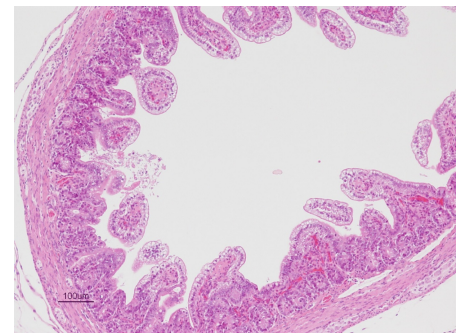


写真2 小腸絨毛の短縮

毒する事を指導した。なお、搬入時の荷台の敷料は、通常は市場内の廃棄場所へ廃棄後、専門の業者が引き取っているが、発生農場については密閉容器に自主回収し、持ち帰って農場で処理する事とした。これらの事項を実施し、3週目の金曜日から出荷が再開された。

4. 追跡調査：哺乳豚の被害状況の追跡調査結果を表2に示した。

発生後1週目に生まれた豚は、全頭が発症し、約90%の死亡率を示したが、2週目には死亡率は40%に低下した。3週目に生まれた豚では、死亡率は36%であったが、死亡した豚の母豚は全頭が肥育・分娩豚舎由来であった。

4週目以降に入ると生まれた豚は発症することもなく、死亡率は0%になった。

ウイルスの浸潤状況調査の結果を表3に示した。

糞便の遺伝子検査では、全ステージの豚で、2.5ヵ月及び3.5ヵ月目の2回ともPEDV遺伝子は検出されなかった。

中和抗体検査においては、哺乳豚、離乳豚、4ヵ月齢、6ヵ月齢で抗体価に2回目の検査時に低下傾向が認められた。

考察およびまとめ

- 飼養豚に広がった嘔吐、食欲不振及び水溶性下痢は、PEDによるものであった。その症状は、いわゆる典型的であり^{1, 2}、最近の全国での報告事例³とも異なるものではなかったため、立入当初からPEDを疑う対応をとることとなった。
- 侵入時の初生豚での死亡率は100%であった。その後耐過した母豚が分娩を開始するにつれ、死亡率は低下し、最後に死亡したのは5週目であった。
- 肥育豚については2週目には症状が消失したため、出荷先の食肉市場と方針を検討し、健康確認、消毒を徹底の上、3週目に出荷を再開した。
- 初生豚での発生終息後、遺伝子検査でもウイルスは確認されず、農家は4ヵ月目に非発生農場へ復帰した。その後、当該農家では現在まで再発は確認されていない。
- 発生農家がいち早く出荷を自粛するとともに、食肉市場側の早急なまん延防止対策の結果、県内では現在まで続発は見られていない。

表2 哺乳豚の死亡状況の追跡調査結果

	出生数	確認日					死亡率
		-1週目	1週目	2週目	3週目	4週目	
-1週目	68	33	35				100
出 1週目	31		13	14		1	90
生 2週目	35			6	6		40
日 3週目	70				15	9	36
4週目	23						0
計	227	33	48	20	21	10	3

表3 PEDウイルス浸潤状況調査結果

対象	頭数	PCR検査 (陽性率)		中和抗体価 (GM)	
		6/26	7/29	6/26	7/29
哺乳豚	5	0	0	-	-
離乳豚	5	0	0	13.9	4.6
4ヵ月齢	5	0	0	21.1	5.3
6ヵ月齢	5	0	0	24.3	3.5
繁殖雌	5	0	0	32	36.8
種雄豚	5	0	0	-	-

参考文献

- 1) 津田知幸：豚流行性下痢. 豚病学第4版. 260～266
- 2) 津田知幸：豚流行性下痢（PED）の診断と対策. 豚病会報. No. 31. 21～28(1997)
- 3) 末吉益雄：2014年パンデミックと化した豚流行性下痢（PED）. 家畜診療. 61巻7号(第613号). 395～406(2014)

豚流行性下痢における病性鑑定課の対応

西部畜産事務所

○桑山勝 伊藤直美

はじめに

豚流行性下痢（以下、「PED」という）は、平成25年9月沖縄で発生を確認して以降、11月茨城、12月鹿児島、宮崎などの主要産地において発生、一旦は沈静化を示したが、平成26年2月以降、東海・北陸そして四国へと更に拡大傾向を示し、3月末には全国規模の流行となった（図1）。

PEDの伝播力と感染哺乳豚の高い死亡率等による壊滅的な育成率低下は、養豚経営を根幹から揺るがすとともに食肉産業に甚大な影響を及ぼす。報道も含め社会的関心が高まる中、PEDは家畜伝染病予防法

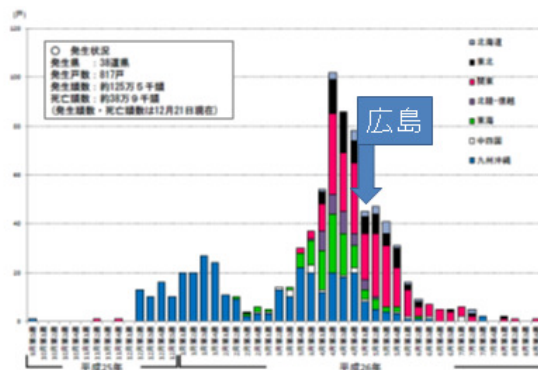


図1. 豚流行性下痢発生状況（全国）
（農林水産省ホームページより抜粋）

上、届出疾病に区分されているにもかかわらず重大な動物感染症に準じた迅速な検査対応が求められるようになった。

しかしながら、当時の当課における PED の検査体制は、遺伝子検査と病理組織検査を実施した後、確定診断である免疫組織学的検査を独立行政法人農業・食品産業技術総合研究機構動物衛生研究所（以下、「動衛研」という。）に依頼することにしており、確定診断まで1週間以上を要していた（表1）。

そこで今回我々は、広島県における PED の初発生に備え、「1週間以内に確定診断可能な検査体制の構築」という組織目標を掲げ、その達成に向けての取組みを行った。

平成26年5月、くしくも発生想定した大型連休中に県内初となる PED が発生した。今回は、事前準備、実際の発生事例対応及びその検証を行ったので、概要を報告する。

材料と方法

朝のミーティング等を通し、今回の課題「PEDの確定診断を1週間以内におこなう」の課内目標としての明確化を行い、課題解決のためのポイントを「検査資材の効率的調達」、「迅速な結果を導くための検査方法の再検討」、「職員が負担軽減とモチベーションアップ」の3つに設定した。これらを各担当レベルでの役割分担に落とし込みを行い、それぞれ立場で現状・課題を抽出し課題解決を行った。課題解決にはPDCAを活用した。現状と課題については次の通りであった。

1. 検査資材整備状況

1) ウイルス学的検査

検査内容	
6時間	遺伝子検査（疑い事例報告）
5日	組織学的検査
7日以上	動物衛生研究所に依頼 免疫組織学的検査（確定診断、報告）

疑い事例報告に必要な遺伝子検査について、病性鑑定課で保有している PEDV 検出プライマー (PEDVF, PEDVR¹⁾) では、動衛研からの情報により、流行株を検出することはできないことが判明した。

2) 病理学的検査

免疫組織学的検査 (以下、「免疫組織染色」という) には、PED ウイルス (以下、「PEDV」という) に加え、類症鑑別すべき疾病である豚伝染性胃腸炎ウイルス (以下、「TGEV」という) に対する免疫血清が必要であり、さらに染色が成立したことを示す陽性コントロール用の組織標本がそれぞれ必要であったが、当課には全て所有していなかった。

2. 確定診断までの時間

確定診断まで時間が過ぎていた主な要因は、免疫組織染色を動衛研に依頼していたことにあった。

また、当課が行うにしても各検査工程や方法についても反応条件などの効率化に向けた見直しが必要であった。

更に、平常時のタイムスケジュールは完成していたが、緊急時のタイムスケジュールについては、まだ時間短縮の余地が認められた。

3. 休日・時間外における検査対応要員

重大な動物感染症では、病性鑑定課員を3班に分け、1週間単位に担当する体制を整備していたが、PEDを含む届出疾病について明確な整備はされていなかった。

結 果

1. 検査資材等の整備

1) ウイルス学的検査

遺伝子検査に必要な PEDV 流行株検出可能なプライマーについて、検出領域の異なる2組 (P 蛋白領域 : PEDVP1, PEDVP2¹⁾, ORF-3 領域 : PEDVORF3-1, PEDVORF3-2²⁾) を12月下旬に入手した。

2) 病理学的検査

免疫組織染色に必要な免疫血清等の分与について、2月以降に PED の流行が九州地方から全国へ拡大傾向にある中、3月上旬に、動衛研に対し免疫血清等の配布について照会し、PED 未発生県にも分与可能という回答を受けて、3月中旬から動衛研に対して免疫組織染色に必要な資材の分与手続きを行い、下旬には入手を完了した。また、TGEV 陽性コントロール用組織については、動衛研から十分な量の分与ができないことから、病理検査担当の全国ネットワークを活用して、最近発生があった他県家畜保健衛生所の好意により3月下旬、譲渡を受けた。

2. 時間短縮に向けた準備

1) ウイルス学的検査

遺伝子検査の工程の中で、従来は PCR 反応後、増幅産物の電気泳動→ゲルの染色→観察→判定としていた。そこで従来染色液に使用していた発癌性の高いエチジウムブロマイドから、発癌性のない蛍光物質 (MidoriGreen Advance DNA Stain, 日本ジェネティクス) に変更した。このことは、ゲル作成時に染色液を添加することができることを意味する。これにより電気泳動と染色を同時に行うことが可能となり約30分の短縮につながり、遺伝子検査が6時間から、5時間半で判定可能となった (表2)。

表2. 検査スケジュール (検討後)

	検査内容
5.5時間	遺伝子検査 (疑い事例報告)
3日	組織学的検査 免疫組織学的検査 (確定診断, 報告)

2) 病理学的検査

まず、必要な検査資材が揃った4月上旬から、免疫組織染色の反応最適条件検討を行った。抗体の反応時間、抗血清の希釈倍率、組織切片の前処理等の反応条件検討を繰り返し、免疫組織染色時間が4時間程度で可能となった。

更に、生材料からの検査開始を想定し、臓器のホルマリン固定方法についても検討した。従来、ホルマリン固定処理は、抗原性の失活を防ぐ目的で、室温で行っていた。そこで、抗原性を保ちながら迅速に固定できる温度を文献等の情報から40℃程度とし、加温処理することにより、それまでの1日から半日程度に短縮することができた。

これら一連の病理組織学的検査工程を再検討することによりホルマリン固定、パラフィン包埋標本を用いた標本で最短、3日で判定可能となった(表2)。

3. 休日・時間外における検査対応要員

平成26年3月下旬以降、PEDの発生は中国地方を含む全国的規模に拡大し、広島県への侵入の可能性が更に高まったことから、休日・時間外対応については重大な動物感染症発生時における輪番制を準用することとした。

また、直前に迫った5月の大型連休に備え、この期間中については、検査担当となった課員の負担軽減のため、各自の都合を事前に調整した後、ウイルス及び病理検査担当を中心に2グループに分けて、各担当1名が登庁できる体制を作った。

4. PED発生時の対応

大型連休最後日の5月6日、広島県で初発となるPEDが発生した。登庁予定要員であった、病理、ウイルス検査担当者各1名を含む4名がまず登庁し、現場からの材料受付等に対応した。更に緊急連絡網により、病理、ウイルス担当者各2名が登庁可能であったことから、この2名をあわせ最終的には6名で対応した。

搬入された材料は、下痢便5検体と哺乳豚3頭。遺伝子検査用には、下痢便とPEDV感染部位の小腸を用いる必要がある。下痢便はすぐ検査に取り掛かることができるが、臓器は、解剖の後、臓器乳剤を作成する必要がある。そこで、少しでも早く遺伝子検査が実施できるように、剖検手順を遺伝子検査が効率よく実施できるように、通常とは異なる手順変更するとともに、下痢便を先行して遺伝子検査を実施し、摘出材料は後発で行うことにした。この時間差検査を有効に活用するため、ウイルス検査担当2名が各作業を補完し合あい、作業間の時間ロスを最小限にするよう工夫した。

また、テクニクエラー等不測の事態による検査時間遅延を防止するため、遺伝子検査は、2組のPEDVプライマー(P蛋白領域、ORF-3領域)による検出をそれぞれ独立した検査システムで実施した。このことにより、解剖開始から最初の結果判明まで4時間50分で実施することができた(表3)。

また、病理学的検査については、小腸病変部位だけを迅速固定し、1日前倒して標本を作成することにより、免疫組織染色を行う1日前には、病変を確認することができた。確定診断のための免疫組織染色は、10%緩衝ホルマリン液による40℃加温固定、従来当課で使用していたものとは異なる剥離防止コーティングスライド(プラチナTM マツナミガラス製)を使用した。このことにより、解剖から確定診断まで3日で実施することができた(表3)。

表3. 検査スケジュール(発生時)

	検査内容
4時間50分	遺伝子検査(疑い事例報告)
2.5日	組織学的検査 免疫組織学的検査(確定診断、報告)

考察（検証にかえて）

1. 資材確保

確定診断のための免疫血清については、動衛研からの分与を受け、検査に供することができたが、類症鑑別が必要な疾病については、対比する疾病のコントロール血清と組織標本が必要であった。今回は、病理検査担当の繋がりにより、分与して頂くことができた。日頃の病理検査担当者間のネットワークが、有効に機能したものとする。

今後は、今回のように市販していない試薬等を、組織的に配布する仕組み作りが必要と考える。

2. 検査時間短縮

今回の症例については、農家の正確な疫学情報を迅速に入手できたことから、いわば「決め打ち」の様な形で病性鑑定を行い、結果的に目標時間の大幅な時間短縮を可能とした。事前に詳細な疫学情報を入手することは、病性鑑定実施上重要ではあるが、一方で全く誤った方向に検査方針を導く可能性もある。迅速性も確保しつつ、病性鑑定方針を決定することが重要と考える。

3. 検査対応要員確保

基本的には、重大な動物感染症防疫対応要員の輪番を基本としたが、職員内には、休日対応職員に申し訳ないという心情から、中々、休日登庁不可日を申し出しにくい雰囲気がある。そこで、連休対応については、職員が何の気兼ねなく休めるような雰囲気づくりを行うとともに、課内の全員が納得した形での当番制とした。このことにより、プライベートの計画を損ねることなく、かつ休日対応に対するモチベーションを高めることに繋げることができた。

まとめ

今回は「PED 検査時間短縮」を危機管理事案の素材とし、主幹、家畜衛生専門員の立場から目標達成に向けた組織マネジメントを行った。

病性鑑定指針には、200件以上に及ぶ各家畜の疾病診断指針が記載されており、当課では、病原性、経済的影響、発生頻度等を考慮に入れ、優先順位を付け事前に検査体制を整備している。今回、我々の最大油断は、病原性の非常に高い疾病、例えば高病原性鳥インフルエンザなどの重大な動物感染症診断技術のブラッシュアップに、偏重していたことにあった。幸い、PEDについては短期間ではあったが、検査体制を再構築し、初発に対応できたことは、各検査担当の真摯な取り組みと評価できる一方で、事象の予見、その事象に関する情報収集と情報の取捨選択と言った、一連のスキルを課として有することが課題として残った。

最後に、今回の迅速対応が可能になった裏側には、現場家畜保健衛生所防疫課職員の皆さんの休日にもかかわらず、迅速な登庁、現場での聞き取り、材料の採材及び搬入があったことを申し添える。

参考文献

- 1) Kim SY et. al., Differential detection of transmissible gastroenteritis virus and porcine epidemic diarrhea virus by duplex RT-PCR., J. Vet. Invest. 13(6): 516 - 520
- 2) Park SJ et. al., Cloning and further sequence analysis of the ORF3 gene of wild- and attenuated-type porcine epidemic diarrhea viruses., Virus Genes. 36: 95 - 104

搾乳牛に発生したロタウイルス病 2 例

西部畜産事務所

○迫田菜摘 福原理映子 長澤元 植松和史

はじめに

ロタウイルスは、牛や人を含む多くの哺乳類と、鶏や七面鳥などの鳥類の糞便から検出され、いずれも主に若齢期における下痢の原因である。牛では A, B 及び C 群が検出されており、A 群では子牛（特に 5~30 日齢の哺乳期前半）、B, C 群では成牛が好発年齢とされている。A 群ロタウイルス（GAR）は日本でも全国的に発生がみとめられ、成牛のほぼ 100%が抗体を保有している¹⁾。一方、B, C 群は散発的な発生であり、広島県では平成 26 年 2 月に初めて B 群ロタウイルス（GBR）による下痢が発生した。

平成 26 年 4 月、管内の酪農家（農家 1）において GBR を、同年 11 月に別の酪農家（農家 2）において成牛での GAR の発生を確認したので、その概要について報告する。

材料

各農場立入時に、発症牛のなかでも重篤な牛を選択し、糞便、血液、血清を採材した。

農家 1：ホルスタイン種 2~7 歳の成牛雌 5 頭
(1-1~5)

農家 2：ホルスタイン種 2~3 歳の成牛雌 4 頭
(2-1~4)

表 1 検査実施状況

No.	生年月日	簡易検査	遺伝子検査 (RT-PCR 法)	ウイルス分離	遺伝子解析	血液検査	細菌学的検査	飼料検査
1-1	H19.2.18	○	—	—	○	○	○	—
1-2	H24.2.18	○	○	—	○	○	○	—
1-3	H22.4.26	○	○	—	○	○	○	—
1-4	H22.10.22	○	○	—	○	○	○	—
1-5	H22.5.4	○	○	—	○	○	○	—
2-1	H24.2.4	○	○	○	—	○	○	○
2-2	H24.8.9	○	○	○	—	○	○	○
2-3	H23.8.30	○	○	○	—	○	○	○
2-4	H24.7.13	○	○	○	—	○	○	○

○:検査実施 —:未実施

方法

1. 発生状況

農場に立入り、飼養牛の臨床症状を確認するとともに、畜主から聞き取りでまん延状況及び乳量の推移を確認した。

2. ウィルス学的検査

糞便を用い、GAR 簡易検査（ディップスティック“榮研”ロタ）と、GAR、GBR 及び牛コロナウイルス（BCV）について RT-PCR 法による遺伝子検査を行った。その後、RT-PCR 法で GBR 陽性の検体は、独立行政法人農業・食品産業技術総合研究機構に依頼して、ダイレクトシーケンス法による遺伝子解析を実施した。GAR 陽性の検体は、糞便 10%乳剤を最終トリプシン濃度が 10 μ g/ml になるよう調整したものを接種材料とし、MA104 細胞で 3 代継代し、ウイルス分離を実施した。

農家 1 は GAR 簡易検査については 5 頭全頭で、遺伝子検査は 1-2~5 の 4 頭で実施した。農家 2 はいずれの検査も採材した 4 頭全頭で実施した。

3. 血液検査

一般血液検査、及び血清生化学検査を実施した。

4.細菌学的検査

糞便を用い、5%羊血液寒天培地で嫌気培養、DHL 寒天培地で好気培養を 37°C24 時間実施し、その後グラム染色を行った。

5. 飼料検査 (農家 2 のみ)

比色試験紙法 (メルコクアント社製) による硝酸態窒素濃度測定、ローズベンガル染色によるエンドファイト菌糸の検出を行った。

検査結果

農家 1

1. 発生状況

常時 65 頭飼養, そのうち搾乳牛は 50 頭規模の酪農家で, 過去 5 年間導入はなく, 全頭自家育成を行っている。牛舎は搾乳, 育成及び子牛舎の 3 棟からなっていた。

平成 26 年 4 月 18 日に搾乳牛 1 頭が水様性下痢を呈し, 農場立入り時の 21 日には搾乳牛舎にいる 49 頭のうち, 39 頭が発症し, 牛舎全体に伝播した。症状は泥状から水様性下痢, 乳量の低下, 食欲不振が認められ, 最終的には全頭が下痢を発症した。

バルク乳量を調査したところ, 下痢発生時には 1 日当たり最大 124.3 kg 減少しており, 当時搾乳牛舎にいた 49 頭で平均すると, 1 頭当たりおよそ 2.5 kg 減少した。

2. ウイルス学的検査

GAR 簡易検査は 5 頭全頭が陰性, 遺伝子検査は 4 頭中 3 頭で GBR 遺伝子が検出された (表 2)。GBR 陽性検体では, VP7 遺伝子領域の遺伝子解析において GBR の国内代表株である Nemuro 株と核酸レベルで 95.3% の相同性を示し, 分子系統解析により G3 型に分類された。また, 広島県内で発生した GBR とは塩基配列が 100% 一致した。

3. 血液検査

一般血液検査では全頭でリンパ球の減少傾向がみられた (表 3)。血清生化学的検査では異常は認められなかった。

4. 細菌学的検査

有意菌は分離されなかった。

5. 診断

以上の結果から, 牛 B 群ロタウイルス病と診断した。

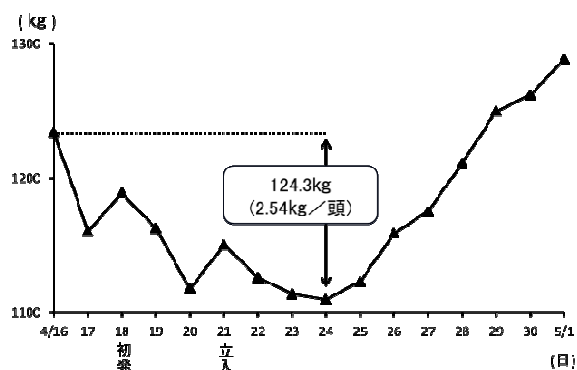


図 1 バルク乳量の推移 (農家 1)

表 2 ウイルス学的検査結果 (農家 1)

No.	簡易検査		遺伝子検査(RT-PCR 法)		
	GAR	GAR	GBR	BCV	GBR
1-1	—	ND	ND	ND	ND
1-2	—	—	+	—	+
1-3	—	—	+	—	+
1-4	—	—	—	—	ND
1-5	—	—	+	—	+

ND: 実施せず

表 3 血液検査結果 (農家 1)

No.	正常範囲	RBC ($\times 10^4$)	WBC	リンパ球	Ht (%)	TP(g/dl)	Alb(g/dl)
		600~800	5,000~10,000	3,650~6,150 (3~4歳)	28~35	6.5~7.6	3.0~4.1
1-1		571	5,500	2,497	29	7.8	4.4
1-2		ND	ND	ND	ND	7.1	4.1
1-3		579	6,700	2,546	26	6.8	3.9
1-4		568	6,000	2,262	26	7.7	4.2
1-5		599	8,000	2,992	26	7.0	3.9

ND: 実施せず

農家 2

1. 発生状況

23 頭飼養，そのうち搾乳牛は 17 頭で，全頭自家育成の酪農家である。牛舎は 1 棟のみで，同じ牛舎内に搾乳牛，育成牛，子牛が飼養されていた。

平成 26 年 11 月 4 日に搾乳牛 1 頭 (2-1) が水様性下痢を呈して起立不能となった。農場立入り時の 11 月 7 日には搾乳牛 5 頭に激しい水様性下痢が認められた。起立不能に陥ったのはこの 1 頭のみだった。

バルク乳量は 1 日当たり最大 124.6 kg 減少しており，搾乳牛 17 頭で平均すると，7.33 kg 減少した (図 2)。

2. ウイルス学的検査

GAR 簡易検査，遺伝子検査，ウイルス分離検査のいずれも，4 検体中全頭で GAR が検出された (表 4)。ウイルス分離では MA104 細胞への接種 2 代目から細胞変性効果が認められた。

3. 血液検査

一般血液検査では 4 頭中 2 頭でリンパ球の減少傾向がみられた (表 5)。血清生化学的検査については 2-1 で CPK と LDH の上昇が認められた (表 6)。

4. 細菌学的検査

有意菌は分離されなかった。

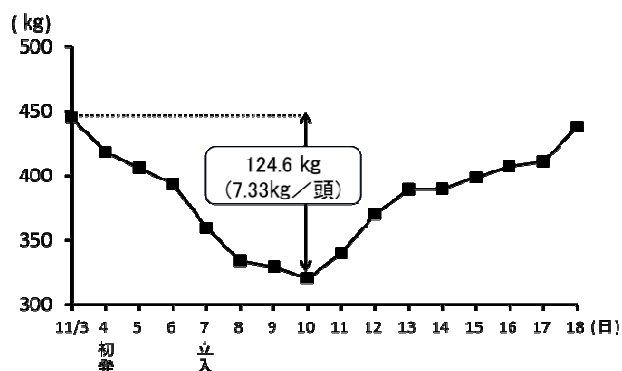


図 2 バルク乳量の推移 (農家 2)

表 4 ウイルス学的検査結果 (農家 2)

No.	簡易検査	遺伝子検査(RT-PCR 法)			ウイルス分離
	GAR	GAR	GBR	BCV	GAR
2-1	+	+	-	-	+
2-2	+	+	-	-	+
2-3	+	+	-	-	+
2-4	+	+	-	-	+

表 5 一般血液検査結果 (農家 2)

No.	正常範囲	RBC ($\times 10^4$)	WBC	リンパ球	Ht (%)
		600~800	5,000~10,000	3,650~6,150	28~35
2-1		939	8,100	2,600	43.8
2-2		637	7,600	3,100	30.5
2-3		674	7,900	2,800	29.9
2-4		704	8,600	3,900	31.9

表 6 血清生化学的検査結果 (農家 2)

No.	正常範囲	TP (g/dl)	Alb (g/dl)	GOT (IU/l)	GGT (IU/l)	T-Chol (mg/dl)	T-Bil (mg/dl)	BUN (mg/dl)	CPK (IU/l)	LDH (IU/l)	Ca (mg/dl)	P (mg/dl)
		6.5~7.6	3.0~4.1	<70	<40	120~220	<0.5	10~20	<150	<2,000	9.0~11.5	5.0~7.0
2-1		8.4	4.1	664	66	207	0.4	14	1043	3937<	12.8	7.4
2-2		7.0	4.2	62	19	112	<0.2	21	<50	1842	10.5	6.9
2-3		7.2	3.7	47	17	150	<0.2	13	60	1738	11.3	2.7
2-4		8.5	4.0	161	55	327	<0.2	9	65	2437	9.9	4.7

5. 飼料検査

農家 2 では初発牛 (2-1) が起立不能を呈したため、中毒が要因の下痢を考慮し、飼料検査を実施した。

硝酸態窒素濃度はスーダン 75ppm, チモシー75ppm, オーツ 77ppm, イタリアン 371ppm で、いずれの飼料も安全濃度内であった (表 7)。エンドファイト菌糸は検出されなかった。

6. 診断

以上の結果から、牛 A 群ロタウイルス病と診断した。

衛生対策

各発生農場に対して、衛生管理区域への部外者の立入制限の徹底とともに、消石灰による農場消毒、発生牛舎専用の長靴の設置及び長靴消毒の励行を指導した。また、集乳業者への情報提供をおこない、集乳経路の変更を図った。

まとめ及び考察

GBR は、広島県内では平成 26 年に初めて発生が認められ、本症例を含めてこれまで 3 件の報告があった。ロタウイルスの外層蛋白質をコードする遺伝子 (VP7 及び VP4 遺伝子) は変異しやすく、発生した地域間の疫学的な検討をおこなう際の情報として有用である。農場 1 では過去 5 年間導入を行っていないこと、今回の分離株が国内で流行している株との相同性は 95.3%にとどまったものの、広島県内で発生している株とは 100%の相同性を得たことから、本ウイルスがすでに県内で定着し、今後流行する可能性がある。

農家 2 で発生した起立不能は飼料による中毒も疑われたが、滑走したという農家からの聞き取り及び血液生化学的検査結果から、股関節脱臼などの外傷によるものと思われる。GAR においては、平成 21~26 年の当所管内のロタウイルス発生状況を調べてみると、管内でも農場 2 を含めた 3 件で成牛での発生が確認された (図 3)。このことから、成牛の下痢においても GAR を考慮する必要がある。一般に子牛の下痢症として知られる GAR が成牛で発生した理由として、発生農場では導入がないため、GAR に感染する機会がないまま牛が成長し、抗体を保有していなかった可能性もある。また、子牛に発生する GAR と成牛に発生するものでは遺伝子型が異なるという報告⁴⁾もあり、このような遺伝子型に対する免疫応答が不十分であったとも考えられた。今後更なる検討が必要である。

いずれの農場も早期通報と衛生対策強化で他へのまん延防止が図れた。発生農場のバルク乳量を調査したところ、いずれの農家も下痢の発生に伴って乳量が減少し、終息した 2 週間程度で乳量も回復している (図 4)。1 日の乳量は農家 1 では通常よりも最大で 1 割程度、農家 2 では 3 割程度減少し、総計として、農家 1 ではおよそ 1,010 kg, 農家 2 では 970 kgが減少した。これをそれぞれの発症月のプール乳価で計算すると、農家 1 は 108,000 円, 農家 2 は 104,000 円の損失になった。成牛においてロタウイルス病が発生した際には経済的に大きな損失になりえ、今後、侵入防止の徹底と万一発症した場合には早期診断及び対症療法による損耗防止に更なる留意が必要と思われる。

表 7 飼料中硝酸塩濃度のガイドライン

硝酸態窒素濃度 (乾物中ppm)	飼料の給与
1,000 以下	給与しても安全。
1,000~1,500	妊娠していなければ安全。
1,500~2,000	乾物量で総飼料の50%以下なら安全。
2,000~3,500	乾物量で総飼料の35%以下なら安全。
3,500~4,000	乾物量で総飼料の25%以下なら安全だが、妊娠牛には給与しない。
4,000 以上	中毒の恐れがある。

独立行政法人 農業・食品産業技術総合研究機構 HP より

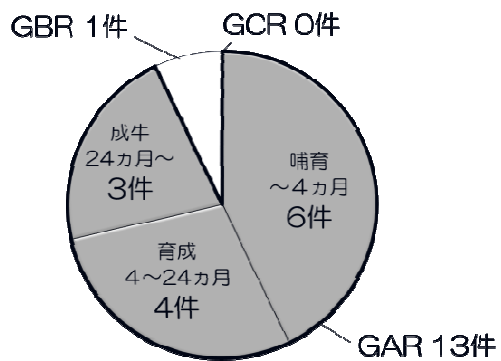


図 3 管内でのロタウイルス病発生状況

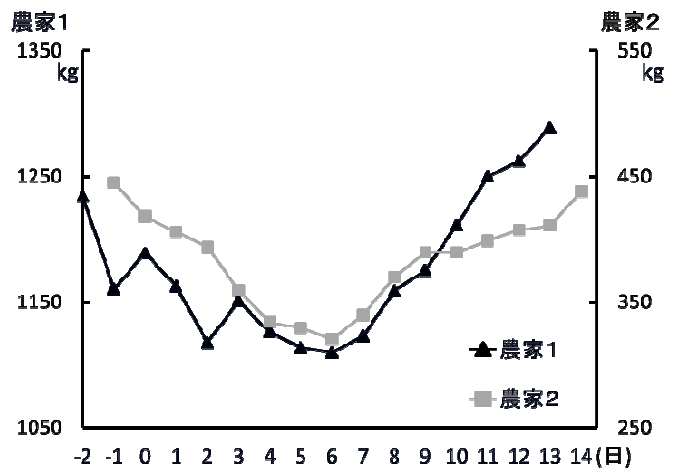


図 4 下痢発生時の乳量の推移

参考文献

- 1) 家畜感染症学会：子牛の科学，第2刷，チクサン出版（2011）
- 2) 村山和憲，県内で初確認されたB群及びC群ロタウイルスによる牛ロタウイルス病，平成24年度（第54回）家畜保健衛生業績発表会，32，（2013）
- 3) 小沼成尚：A群ロタウイルスが関与した成牛下痢症，日獣会誌56，245 - 248，（2003）
- 4) 増田恒幸：牛A群ロタウイルスによる搾乳牛の集団下痢症，平成25年度（第53回）家畜保健衛生業績発表会，68，（2012）

県内における地方病性牛白血病に関する遺伝子検査の試み

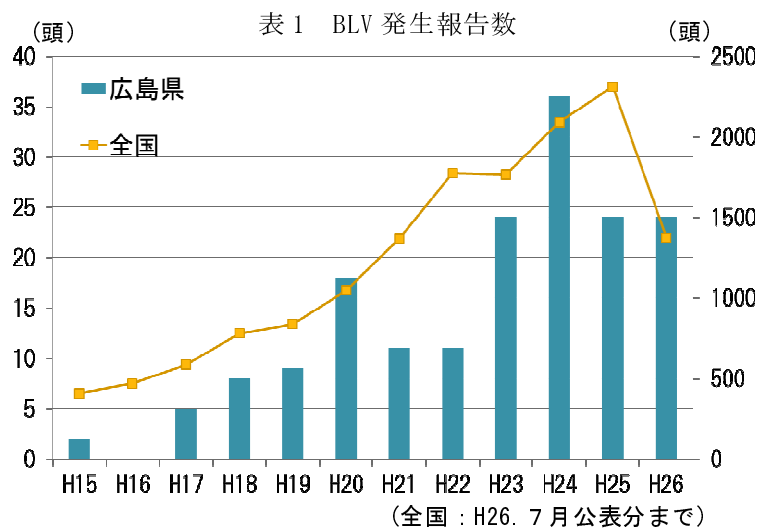
西部畜産事務所

○清水和 横山由起

はじめに

牛白血病は地方病性牛白血病 (EBL) と散発性牛白血病 (SBL) に分類され, EBL が牛白血病ウイルス (BLV) による伝染性の腫瘍性疾病である。牛白血病は, 平成 10 年より届出伝染病として発生報告が義務づけられ, 全国的に発生報告数は増加の一途をたどっており, 広島県でも増加傾向にある (表 1) が, 報告例の大半が EBL で, 近年ではと畜場での肉用牛の摘発が問題になっている。

EBL を疑う牛の病性鑑定の際には, 発症牛を確実に診断し, 速やかに発生農場における BLV まん延防止対策を実施する必要がある。今回, 腫瘍を有し牛白血病と疑われた牛の病性鑑定について, EBL の診断に病理検査を補助する検査として病原検索を活用する目的で, 遺伝子検査を実施するとともに, 遺伝子型別検査による疫学調査を試みたので, 概要を報告する。



材料と方法

材料は, 平成 23 年 4 月～平成 26 年 5 月に採材し, BLV 抗体検査で陽性であった乳用牛 3 戸 41 頭及び肉用繁殖牛 6 戸 13 頭で血液 4 戸 52 頭 (乳用牛 40 頭分, 肉用牛 11 頭分うち 1 頭分は腫瘍と重複) 及び腫瘍 4 戸 4 頭 (9 部位) (乳用牛 1 頭分, 肉用牛 3 頭分), 腫瘍は生材料 2 頭分, ホルマリン固定材料 2 頭分で, ホルマリン固定材料は浸漬後 1 日または 11 日が経過していた。月齢は, 臨床症状の無い個体は 0.5～127 ヶ月齢で, 腫瘍を有した個体は 13～170 ヶ月齢であった (表 2)。

表 2 対象個体の概要

農家	品種	臨床症状	採材時期	頭数	月齢
A	H	無	H23. 8月	31	0.5-86
B	H	無	H23. 12月	9	2-96
G	B	無	H26. 5月	3	26-127
H	B	無	H26. 5月	6	42-121
C	B	初産分娩後, 子宮に腫瘍物の確認, 死亡	H23. 4月	1	30
D	H	初産を人工授精後, 眼球突出, リンパ節の腫脹, 死亡	H26. 2月	1	23
E	B	体表リンパ節の腫脹, 鑑定殺	H25. 12月	1	13
F	B	子宮角の腫脹, 腹腔内に腫瘍物の確認, 鑑定殺	H26. 2月	1	67
I	B	食欲不振, 頸部に腫瘍の形成, 胸垂の浮腫, 破行, 死亡	H26. 5月	1	170

方法は、白血球を血液（EDTA 血）から塩化アンモニウム法により分離した後、白血球または腫瘍から QIAmp DNA Mini Kit（株式会社キアゲン）により DNA を抽出し、分光光度計により DNA 濃度を測定し、既定の DNA 濃度に希釈し、CycleavePCR BLV 検出キット（タカラバイオ株式会社）を用いリアルタイム PCR 法により BLV 遺伝子量を測定した。ホルマリン固定後 11 日が経過した腫瘍は、プロテインキナーゼの処理時間を延長して DNA を抽出した。

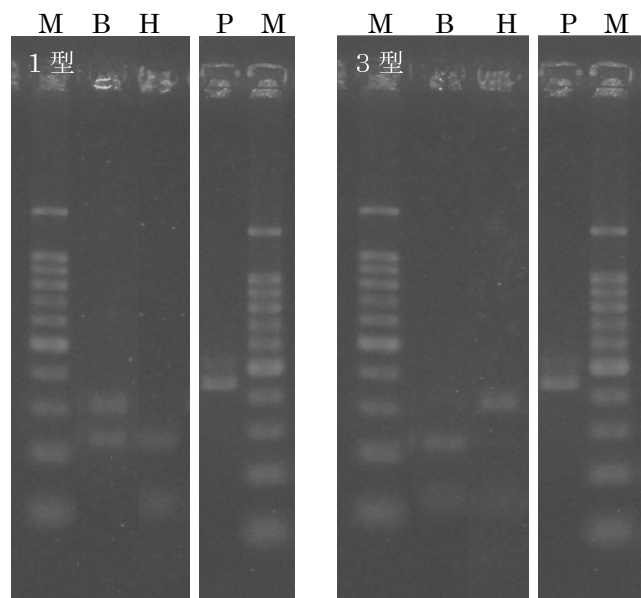
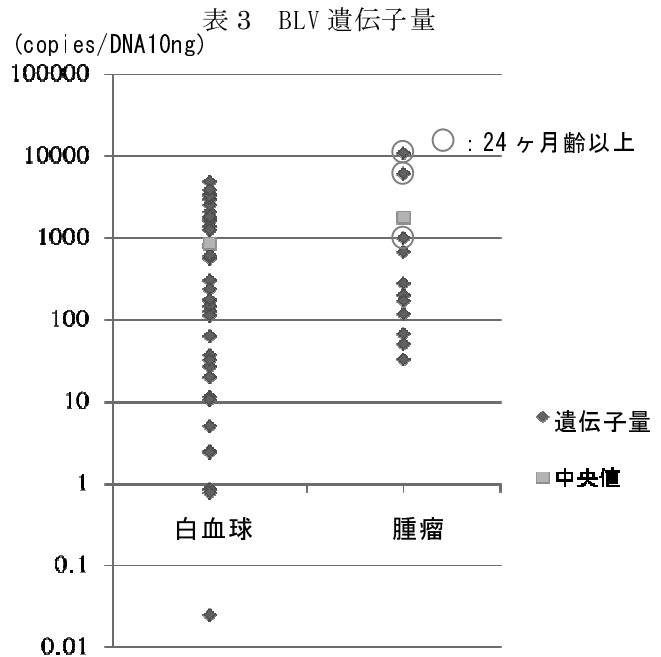
また、遺伝子型別検査は、9 戸 17 頭を選択して実施した。品種は乳用種が 8 頭、黒毛和種が 9 頭、臨床症状の無い個体が 12 頭、腫瘍を有した個体が 5 頭、月齢は 2 ヶ月から 170 ヶ月であった。方法は、Fechner らが報告したプライマーを用いた nested-PCR 法¹⁾により env 遺伝子 gp51 領域を増幅した。PCR 反応は、TaKaRa Ex Taq（タカラバイオ株式会社）を使用し、既報と同様の条件で行い、PCR 産物は 1.5%アガロースゲルで電気泳動し、エチジウムブロマイド染色の後、目的とする遺伝子の増幅の有無を確認した。増幅後、2ndPCR 産物を制限酵素 *Bcl*I、*Hae*III、*Pvu*II により切断し、既報に従い遺伝子型を決定した²⁾。

成績

BLV 遺伝子量は、白血球では乳用牛、肉用繁殖牛ともに、 $2.4 \times 10^0 \sim 1.7 \times 10^3$ copies/DNA10ng（以下、単位を省略）で、腫瘍を有した個体の白血球では 10^2 以下であった。腫瘍では $3.3 \times 10^0 \sim 1.0 \times 10^4$ で、EBL と疑われる 24 ヶ月齢以上³⁾の個体では、 1.0×10^3 以上であった（表 3）。遺伝子型別検査を実施した RT-PCR 検査では、17 検体のうち 16 検体で、1stPCR により 576bp、2ndPCR により 444bp の産物が得られたが、ホルマリンに浸漬後 11 日が経過した腫瘍からは未検出だった。

遺伝子型別検査は、対象牛 9 戸 17 検体の遺伝子量は $2.4 \sim 10^4$ copies/DNA10ng であった。制限酵素 *Bcl*I により 225bp/220bp 及び 220bp/120bp/105bp、*Hae*III により 285bp/95bp 及び 200bp/100bp/85bp、*Pvu*II により 444bp の切断パ

ターンを示した（図 1）。これらの切断パターンの組み合わせにより遺伝子型を決定したところ、乳用種



M:100bp ladder Maker; B:*Bcl*I, H:*Hae*III, P:*Pvu*II

図 1 RFLP 検査結果

で1型(7頭, 87.5%)及び未検出(1頭, 12.5%), 黒毛和種で1型(5頭, 55.6%)及び3型(4頭, 44.4%)に分類され、腫瘍から検出されたBLVは全て3型で広島県産の黒毛和種から検出された遺伝子であった(表4)。また、農家毎に検出された遺伝子型は単一であった。さらに、出生地について比較したところ、乳用種では全て1型で自家産と北海道、黒毛和種では1型は自家産と不明、3型は広島と鹿児島であった。飼養期間は、北海道については1年半から2年程度、鹿児島県については8ヶ月で、いずれも広島県に導入後1年以上が経過していた。

表4 検査結果(遺伝子型別検査を実施した17頭)

農家	品種	臨床症状	採材時期	頭数	月齢	遺伝子量 ¹ (copies/DNA10ng)				遺伝子型	産地
A	H	無	H23.8月	4	4-58	26.6	169.4	1,348	1,738	全て1型	北海道, 自家産
B	H	無	H23.12月	3	2-49	2.4	5.0	611.5		全て1型	北海道, 自家産
G	B	無	H26.5月	1	127	126.5				3型	鹿児島
H	B	無	H26.5月	4	85-121	11.5	63.0	303.3	1,587	全て1型	自家産
G	B	有	H23.4月	1	30	6,125-10,786(腫瘍)				3型	広島県
D	H	有	H26.2月	1	23	32.5-67.4(腫瘍)				未検出	自家産
E	B	有	H25.12月	1	13	116.6-276.1(腫瘍) 198.6(白血球)				3型	広島県
F	B	有	H26.2月	1	67	677.8(白血球)				1型	不明
I	B	有	H26.5月	1	170	996.4(腫瘍)				3型	広島県
計				17							

※: () の記載の無いものは、白血球中の遺伝子量

まとめ及び考察

BLV 遺伝子量は白血球より腫瘍で多く、その差は特に EBL と疑われた個体で顕著であったことから、EBL の確実な診断のために、病理検査を補助する病原検索として、腫瘍の BLV 遺伝子量の検索が有効であると考えられた。また、ホルマリンに長時間浸漬されていた材料については、遺伝子が検出できなかったことから、検査材料は生材料が最適と考えられた。

遺伝子型については、広島県に浸潤する BLV は 1 型及び 3 型で、乳用牛では全て 1 型であり、肉用牛では 1 型と 3 型が混在する結果となった。BLV の遺伝子型は地域によって異なり、1 型と 3 型が多く、次に 2 型、4 型、5 型が報告されており、複数の遺伝子型が同じ地域で混在する例も報告されている^{4,5)}。乳用種は北海道を中心とする他県からの導入が多いことから、全国的に 1 型が多いという傾向を反映していると考えられ、導入時検査の重要性が示唆された。また、地域によっては 3 型が多く検出される傾向がある⁶⁾が、今回、黒毛和種で 1 型が検出された 4 頭は、繁殖と肥育を一貫経営で行う同一農家で飼養していたことから、肉用牛飼養農家では乳用種が混在する飼養形態の農家があるため、遺伝子型も混在する結果となったと推察された。また、今回、EBL と疑われた個体は全て黒毛和種の 3 型に分類されたことから、

肉用牛飼養農家での BLV のまん延による EBL の発生の増加が危惧された。さらに、農家毎に検出された遺伝子型は単一であり、広島県内の牛飼養農家に浸潤する BLV は農家毎に単一である可能性が示唆されたことから、今後は、例数を増やすとともに、侵入経路の解明によるまん延防止が必要と考えられた。

従来、牛白血病は抗体検査による感染牛の摘発・淘汰を基本とした清浄化対策を行ってきたが、広島県におけるその発生頭数の増加から、抗体陽性牛の感染ウイルス量に基づいた伝播リスクを効果的に評価する手法として遺伝子検査が導入された。保有する BLV 遺伝子量が多い母牛の産子や生後直後に感染がみられる子牛の多くは、PL つまり持続性リンパ球増多症に進展する可能性が高い⁷⁻⁹⁾ ことから、将来的な牛群における BLV の蔓延の機会増大の可能性を考慮すると、EBL の確実な診断と合わせて、BLV 遺伝子検査を活用したハイリスク牛の選定と、それらの積極的な淘汰の推進や子牛の段階での早期判定が重要と考えられた。

参考文献

- 1) Henry Fecher, et al: Provirus Variants of the Bovine Leukemia Virus and Their Relation to the Serological Status of Naturally Infected Cattle, *Virology*, 237, 261-269 (1997)
- 2) Maria Licursi, et al: Genetic heterogeneity among bovine leukemia virus genotypes and its relation to humoral responses in hosts, *Virus Research*, 86, 101-110 (2002)
- 3) 小沼操: 牛白血病, 牛病学第二版, 211-215 (1988)
- 4) Asfaw Y, et al: Distribution and superinfection of bovine leukemia virus genotypes in Japan, *Arch Virol*, 150, 493-505 (2005)
- 5) 須藤壱寿佳ら: 山形県で流行している Bovine Leukemia Virus の遺伝子型別及び病理学的検索, *日獣会誌*, 65, 883-887 (2012)
- 6) 佐藤亘ら: 地方病型牛白血病の診断法の検討と疫学的考察, 平成 19 年度全国家畜保健衛生業績抄録, 12 (2007)
- 7) 山本祐輔ら: 牛白血病蔓延農家における感染状況の推移, 広島県獣医学会雑誌, No.26 (2011)
- 8) 千葉由純ら: 牛白血病ウイルス感染母牛における子宮内感染の発生状況, 平成 25 年度全国家畜保健衛生業績抄録, 2 (2013)
- 9) 平川素子ら: 地方病性牛白血病の若齢発症に関する一考察, 平成 25 年度全国家畜保健衛生業績抄録, 21 (2013)

赤血球増多症を伴わない先天性心奇形の一症例

NOSAI 広島 庄原家畜診療所¹⁾ 府中家畜診療所²⁾

○原口麻子¹⁾ 岡本誠¹⁾ 片山孝²⁾

はじめに

先天性心奇形は、胎生期における心臓及びそこから発生する大血管の分化発育の異常によってそれらに生じる形態異常であり、牛では0.2~0.4%の割合で発生するといわれている。種類及び程度によって臨床症状の出現は異なるが、血液検査所見では全身性低酸素血症に起因する赤血球増多症が特徴的である。今回新生子牛において赤血球増多症を示さず、上行大動脈の狭窄、動脈管開存（以下PDA）及び心室中隔欠損（以下VSD）を認めた症例に遭遇したため、その生前所見、血液検査所見及び剖検所見について報告する。

症例の概要


本症例は、黒毛和種、雌、種雄牛は花平国、H25/9/17 生れ、「突然倒れた」との稟告で、初診時（9/22）、体温 39℃、頭頸部伸張、心拍の異常亢進、心音の高音を呈した。9/23、自力にて哺乳するが、心悸亢進し呼吸速迫であり、9/24、自力にて起立・哺乳するものの活力低下、歩様蹠踉、心悸亢進を認め、採血を行った。9/25、乳を飲み活力上昇したとのことから診療は行わず、9/26 体温 40.2℃、活力なく起立不能、心悸亢進、呼吸速迫、腹式呼吸、可視粘膜の蒼白を認めた。9/27 死亡し、広島県東部家畜保健衛生所に病性鑑定を依頼した。

検査結果

1. 血液検査

RBC, Hb, Ht, Fe, TP の低下, BUN, T-Bil, AST, LDH, VE の上昇, 赤血球の大小不同, 変形赤血球を示した。

表1 血液検査所見

WBC($\times 10^2/\mu\text{l}$)	75	BUN(mg/dl)	40.0	TP(g/dl)	5.00	Zn($\mu\text{g}/\text{dl}$)	134
RBC($\times 10^4/\mu\text{l}$)	639	T-Bil(mg/dl)	1.49	Alb(g/dl)	2.50	Fe($\mu\text{g}/\text{dl}$)	26
Hb(g/dl)	7.1	NEFA($\mu\text{Eq}/\text{l}$)	385.9	α -Glb(g/dl)	0.56	Vitamin A(IU/dl)	33
Ht(%)	23.2	TCho(mg/dl)	86	β -Glb(g/dl)	0.88	Vitamin E($\mu\text{g}/\text{dl}$)	778
MCV(fL)	36	AST(U/l)	119	γ -Glb(g/dl)	1.06	β carotene($\mu\text{g}/\text{dl}$)	37
MCH(pg)	11.1	γ GTP(U/l)	502.8	A/G 比	1.00		
MCHC(g/dl)	30.6	ALP(U/l)	393.8	IP(mg/dl)	7.63		
PLT($\times 10^4/\mu\text{l}$)	35.6	CK(U/l)	67	Ca(mg/dl)	11.6		
		LDH(U/l)	2790	Mg(mg/dl)	2.0		

2. 剖検所見

外貌に異常はなく心臓は円形心を呈しており、上行大動脈の狭窄 (5×2mm)、PDA (5×5mm)、VSD (5×5mm) が認められた。上行大動脈の狭窄は腕頭動脈の分岐部から動脈管の開口部までで認められ、動脈管は大きく開存し肺動脈に連絡していた。VSD は心尖部に近い筋性肉柱部欠損だった。さらに右心内腔拡大、右心室壁肥大、右心の大乳頭筋壊死が認められた。肺では点状出血、うっ血性肺水腫が、肝臓では肝変性 (ニクズク様、退色)、慢性うっ血肝、脾臓では褐色色素沈着、小腸粘膜のうっ血、小腸内の血液貯留、血液を混じた腹水が認められた。



図1 外貌所見

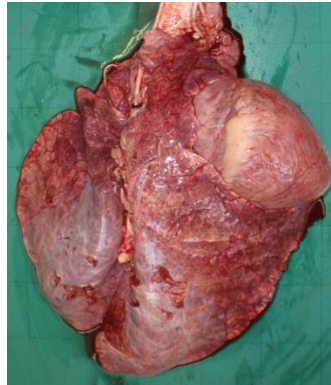


図2 心臓および肺 (外貌)

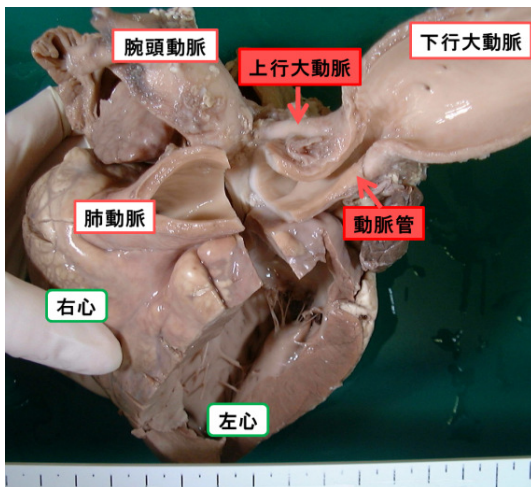


図3 上行大動脈の狭窄及び PDA

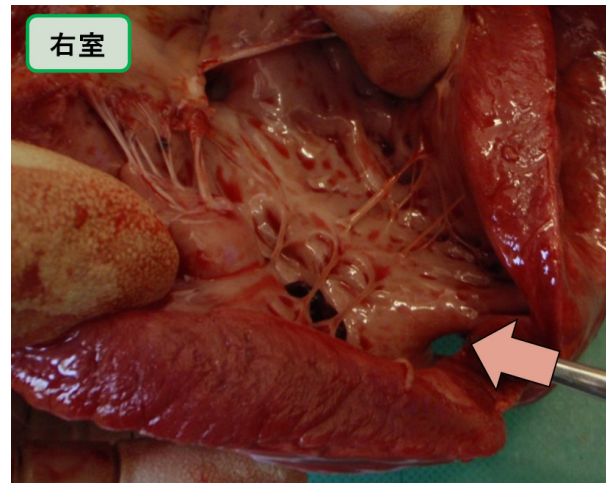


図4 右心室からみた VSD

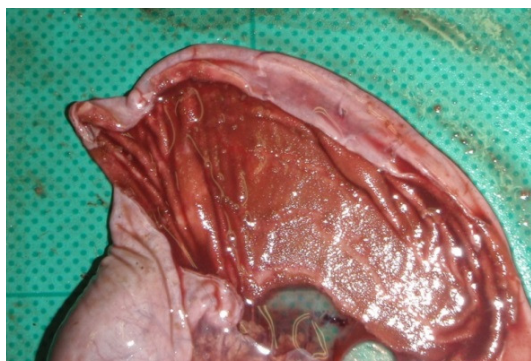


図5 小腸粘膜のうっ血

考察及びまとめ

本症例では、生後5日齢で突然重篤な症状を示しており、心拍の異常亢進、心音の高音が認められたことから何らかの先天性心疾患が疑われた。しかし、血液検査所見では、RBC、Hb、Ht、Feの低下及び変形赤血球、赤血球の大小不同を呈し赤血球増多症などの先天性心奇形に特徴的な所見は得られなかった。その理由として、生後の急激な動脈管退縮により、RBCが代償性に増加する前に死亡したため赤血球増多症を示さなかったのではないかと考えられた。BUN、T-Bilの上昇は腸管内出血との関与が疑われた。剖検所見より、上行大動脈の狭窄、PDA及びVSD中5%以下の筋性肉柱部欠損型のVSDを示す複合型先天性心奇形であり、極めて稀で貴重な症例であった。

一般に胎生期において動脈管は全身循環の一部を担っており、生後肺呼吸が始まると動脈管の退縮が始まる。本症例では上行大動脈が狭窄していることにより肺動脈から動脈管を介して下行大動脈へと流れ込む血流に全身循環が大きく依存していると考えられる。その病態については、以下のように推察された。

①出生後動脈管の退縮が始まったことにより、動脈管を介した肺動脈から大動脈への血流が減少する。②肺動脈血流が増加するとともにVSDによる左右短絡を生じる。③全身性の虚血および低酸素血症、肺高血圧を引き起こす。④右心負荷増大による右心の拡大および肥大が起こる。⑤肺、肝臓等のうっ血性病変、腹水貯留が生じる。

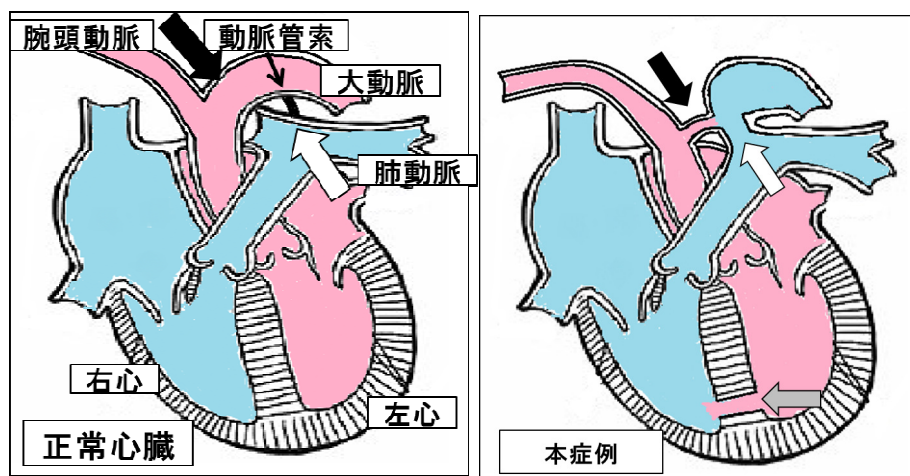


図6 正常心臓と本症例の心臓の模式図

黒矢印は上行大動脈、白矢印は動脈管、灰色矢印はVSDを示している。

参考文献

- 1) 稲葉睦・加藤敏英・小岩政照・酒井健夫・日笠喜朗・山岸則夫・和田恭則：子牛の医学，緑書房，東京，2014
- 2) 浜名克己・稲葉睦・北川均・森友靖生・村上隆之・永播肇・小川博之・杉本喜憲・津田知幸・内田和幸・渡辺大作：カラーアトラス 牛の先天異常，学窓社，東京，2006
- 3) 村上隆之ら：宮台農報，29，105-115，1982
- 4) 村上隆之ら：宮大農報，33，149-159，1986

- 5) 大和田孝二ら：日獣会誌, 53, 205-209, 2000
- 6) 吉行里衣子ら：動物の循環器, 42, 16-23, 2009

管内乳房炎多発農場における乳房炎防除への取組

NOSAI 広島 府中家畜診療所福山分室

○森本優

はじめに

乳房炎防除には、細菌学的検査、農場調査より感染経路の解明が重要であり、そこから対策を思案し結論を導き出すには『チーム・自主性・モニタリング』がカギとなるといわれている。今回、東広島家畜診療所管内乳房炎多発農場で、農家の自主性を重視し乳房炎防除に取り組み、若干の知見を得たので報告する。

方法

搾乳 132 頭 (H26.2 月時点) をフリーバーンで飼育しており、敷料には戻し堆肥を水分調整にオガクス・もみ殻をおよそ 1 : 1 : 1 で混ぜ使用し、2 日に 1 回交換する乳房炎多発農場で以下のことを行った。

1. 乳汁検査結果

H24.4 月～H26.2 月の期間に臨床研修所へ依頼のあった 148 検体 (H24 年 41 検体、H25 年 107 検体) から、原因菌・薬剤感受性、発生時期の分析

2. 農場従業員の乳房炎に対するアンケート調査 (H26.2 月)・発生原因や継続可能な対策を考える検討会 (H26.2, 5 月)

3. 農場調査 (牛床大腸菌群数の測定)

各敷料 1g を滅菌生理食塩水 9ml に混和し段階希釈する。

10 μ l ずつ四分割した DHL 培地に塗抹し、38 $^{\circ}$ C24 時間好気培養したコロニー数をカウントした。

結果

1. 乳汁検査分析結果

菌分離されないものが約 3 割あり、大腸菌群、*Listeria* 球菌といった環境性原因菌が多く分離された (図 1, 2)。薬剤感受性結果では、全ての *Listeria* 球菌が CEP (セファピリン) に感受性があり、*Streptococcus* は多剤耐性を示し、MR (マルボフロキサシン) のみに感受性があった。甚急性乳房炎の検査数は、牛床の交換回数が減少した H24 年の夏頃から増加しているのがわかった (図 3)。また、発生時期は分娩後日数に関係なく、搾乳環境手順の見直しが必要であり、さらに H25 には分娩後 1 週間以内の発生が認められ乾乳期管理が必要であることがうかがえた (図 4)。

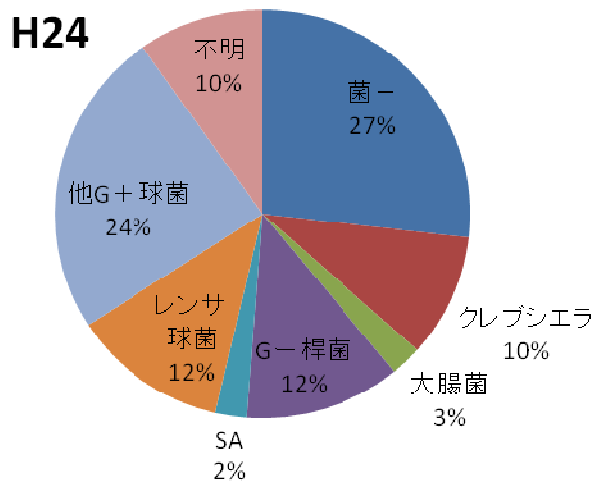


図 1

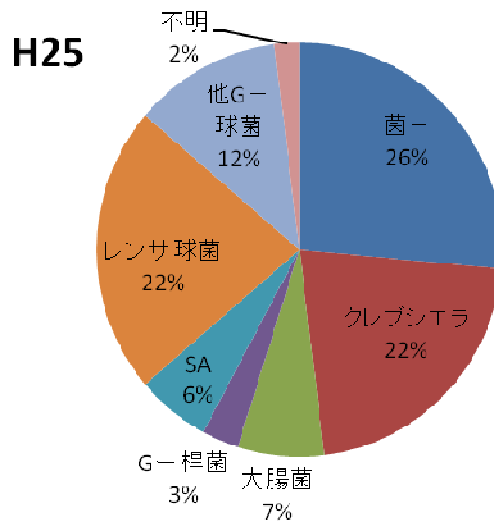


図 2

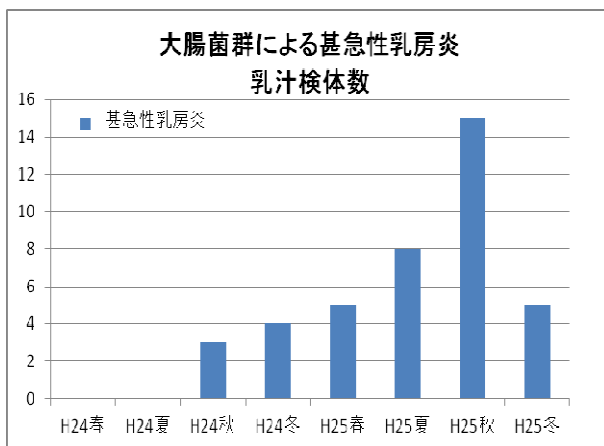


図 3

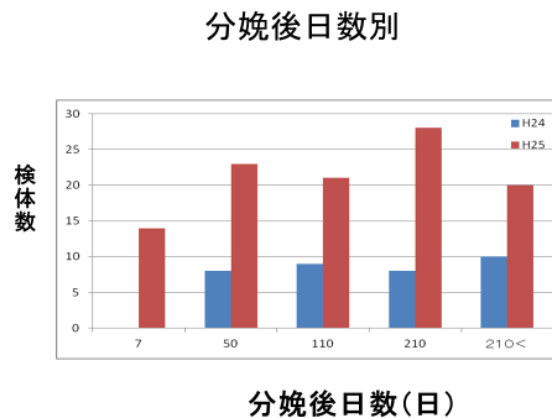


図 4

2. アンケート結果・検討会

従業員全員が搾乳衛生環境の汚染や手順の統一感が無いと感じており、治療に関しては乳汁検査を行っていても検査結果を活かせておらず、再発が多いと答えた。甚急性乳房炎の発生については牛床交換回数が減少した H24 年夏ころから発生が増えたと感じていた。

アンケートの回答を検討会にて話し合った結果、従業員が搾乳マニュアルを見直し、また場長による指摘を行うこととなった。治療に関しては、乳汁の薬剤感受性検査に基づき、獣医師による治療のプロトコルを作成し (図 5)、さらに、牛床の原因を検討するため、牛床環境の調査を行うこととした。

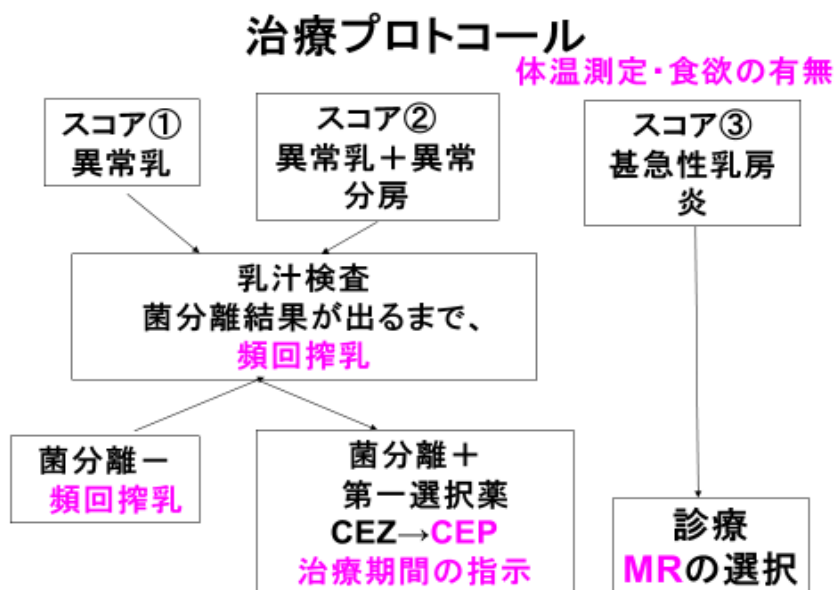


図 5

3. 牛床大腸菌群数の測定結果

新しい敷料をベットに散布した4時間後から大腸菌群数は、乳房炎が多発するといわれる 10^6 cfu/g を超えており、時間経過とともに増加していた (図6)。

交換後	1日目 (4~10時間)	2日目 (30時間)
細菌数 cfu/g	$6 \times 10^6 \sim 10^7$	$2 \times 10^7 \sim 10^8$

図 6

牛床の交換方法は、表層の除糞を行い、残ったベット部分を切り返すことで発酵熱を促し、その上に新しい敷料を被せる。これを二日に一度行っている。西部畜産事務所による以前の検査結果より新しいカクがやもみ殻からは有意な菌数は検出されていなかった。

さらなる原因追及のために、新しい敷料に用いられる戻し堆肥の細菌数を測定すると、 10^3 cfu/g 以下であり良質な発酵が行われている完熟堆肥であることがわかった。敷料を交換するまで二日間経過すると、ベット上層部は通路に流れて行ってしまい蓄積された下層が露出してしまう部分も多い。蓄積された下層の部分の大腸菌群数は $10^6 \sim 10^9$ cfu/g であり、切り返しによる発酵熱を促した殺菌では不十分であることが分かった (図7)。

牛床対策の考察として、空のペットボトルを用い敷料交換後半日使用した敷料と石灰を2%、5%混和したものと無処置のモデルを作成し、3日間室外に放置し水分を毎日含ませた。大腸菌群数は、無処置のもので 2×10^7 cfu/g であったが、石灰2%処置をしたものは 10^6 cfu/g、5%処置のものは 10^4 cfu/g と消毒の効果が示唆された (図8)。

また、牛床の交換頻度に関して、乳房炎の発生が非常に少ない管内他農場 (戻し堆肥使用フリーバーン)

と比較すると、使用した敷料（1日目）の大腸菌数は 10^6 cfu/g 以上であったが、その農場の牛床交換回数
は毎日である。

よって、牛床対策としては、下層の消毒、交換頻度を増やすことが考えられた。

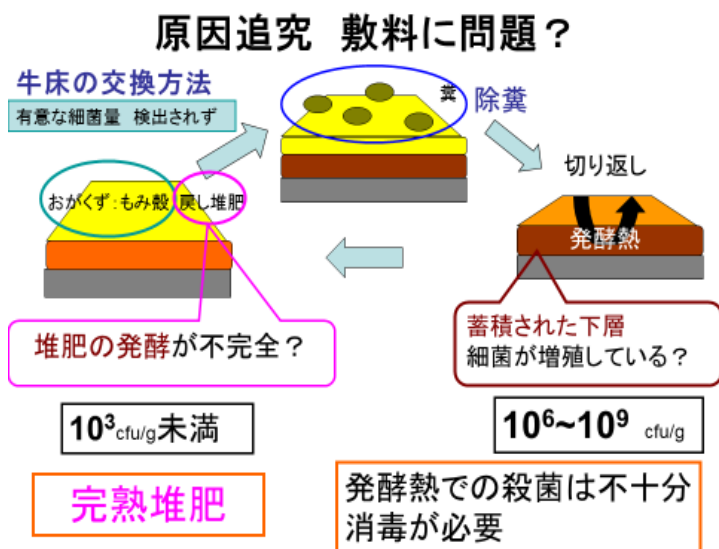


図 7

石灰消毒濃度の考察

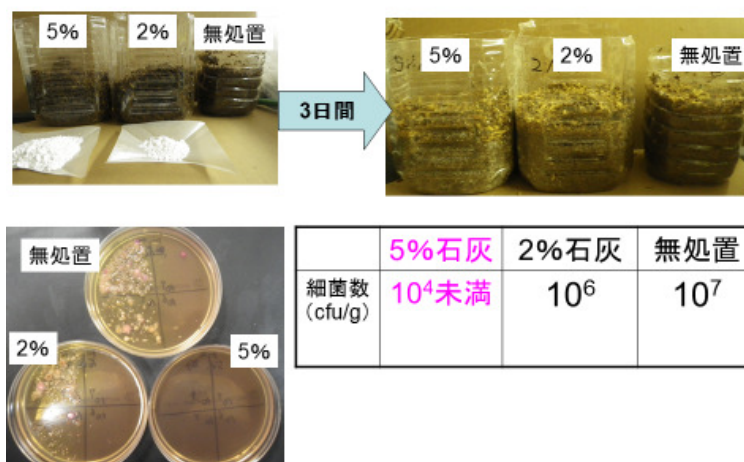


図 8

まとめ

今回は乳汁検査・アンケート・牧場調査より問題点を診断し、対策案として、搾乳環境の見直し、農家任せであった治療から獣医師がプロトコルを提案すること、牛床の石灰消毒または交換頻度を増やすことが考えられた。一方的な指導ではなく農家自身に考えさせることが重要であるため、それらの結果をもとに検討会を行い、農場サイドに自主性を持って継続可能な対策を考えるアドバイスをを行った。作業効率を考えると交換回数を変更することは難しく、牛床を全て除去し新しいものに変えてみるなど農場サイドが考えた対策を行っている。この取り組みはまだまだ始まったばかりであり、今後も、農場・獣医師・関

係機関がチームとなって継続することが必要であると考え。

参考

- 1) 草場信之：乳房炎の防除, 臨床獣医 31(2), 2013
- 2) 河合一洋：乳房炎防除を成功させるための管理プログラム, 家畜診療 59 (6) , 2012
- 3) 最首信和：クブシエラによる乳房炎の発生と対策および分離株の薬剤感受性
- 4) 平川素子：敷料に戻し堆肥を利用した場合の乳房炎対策の一考察

牛の人工授精時に投与したホルモン剤の受胎効果

NOSAI 広島 府中家畜診療所 福山分室

○竹内泰造

はじめに

黄体が退行すると血中プロゲステロン濃度が低下するため、抑制されていた LH パルス状分泌が亢進し卵胞の成熟が促進される。成熟した排卵前卵胞からエストロゲンが多量に分泌され血中エストロゲン濃度が上昇することで、視床下部への正のフィードバック作用が働き LH サージが誘発される。成熟した排卵前卵胞は直腸検査（以下直検）により内部に卵胞液を貯めた波動感のある構造物として触知できる。しかし近年人工授精(以下 AI)時、小さく硬く波動感のあまりない排卵前卵胞（直径 1 cm 以下）に遭遇することが多くなり、排卵時間の延長が起きていると思われ、発情発見にもとづく適期の AI が困難になってきている。排卵は発情開始から 20～45 時間とさればらつきが大きいため、現在は GnRH 製剤を投与して人為的に LH サージを誘導することで排卵誘起が行われている。今回、AI 依頼のあった牛（PGF 2α 投与牛を含む）の AI 時または前日に LH 作用および排卵誘起作用をもつ hCG 製剤と安息香酸エストラジオール（以下 EB）を併用した結果、受胎率が向上したので報告する。

材料および方法

平成 25 年 1 月から平成 25 年 9 月までの間、管内農家で AI 依頼のあった（PGF 2α 投与牛を含む）乳用牛および肉用牛で、直検にて排卵前卵胞の直径が 1 cm 以下の場合に、AI 時または前日に hCG 製剤 1000～1500 単位と EB2 mg を同時投与した 40 頭を試験群とした。一方平成 24 年 4 月から平成 24 年 11 月までの間、同様な条件下で GnRH 製剤 100 μ g を投与した 30 頭を対照群とした。妊娠鑑定は 40～50 日齢で直検にて実施した。受胎率の比較にはフィッシャーの直接確率検定を用いた。

結果

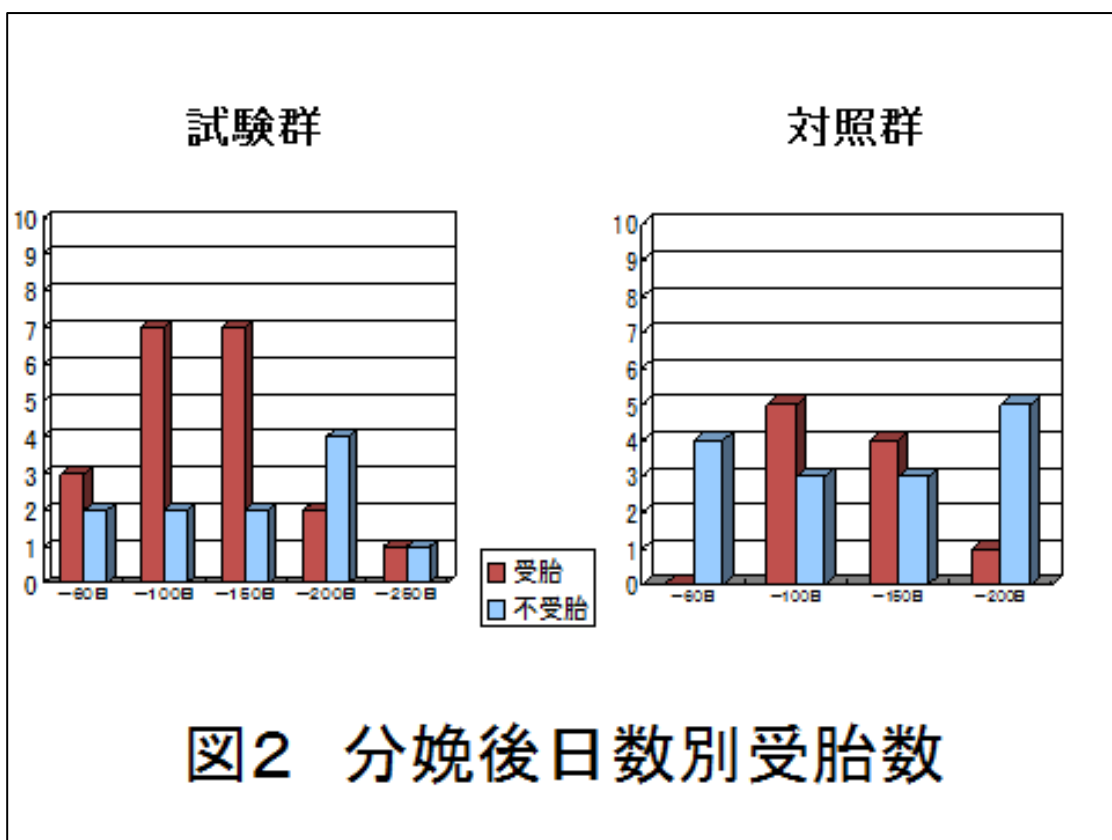
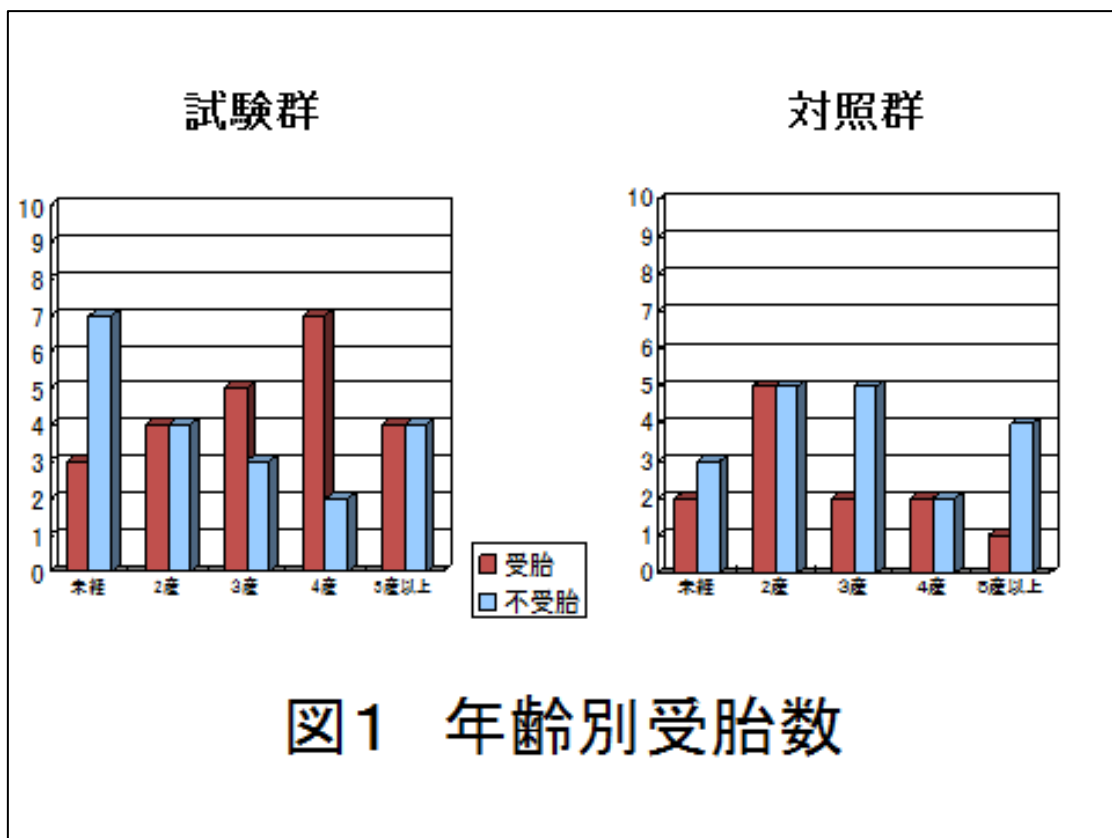
試験群は 40 頭中 23 頭が受胎し、受胎率 57%。対照群は 30 頭中 12 頭が受胎し、受胎率 40% で有意差はないものの試験群の方が高かった。試験群では翌日再 AI が 6 頭発生し 5 頭が受胎した。対照群には翌日再 AI は発生しなかった（表 1）。また両群の不受胎牛の次回発情回帰時に AI を実施した結果、試験群は 65%、対照群は 39% が受胎した。有意差はないものの試験群の方が高かった（表 2）。試験群での未経産牛は低い受胎数でその他は均一に受胎したが、対照群は年齢が増すと受胎数は低下していった（図 1）。分娩後日数での受胎数の比較では対照群は分娩後 60 日まででは受胎しなく、試験群は受胎した（図 2）。試験群は暑熱期の受胎数も他の季節同様で、対照群は暑熱期の受胎数は低かった（図 3）。試験群は授精回数にかかわらず受胎したが、対照群は授精回数が増すごとに低下した（図 4）。

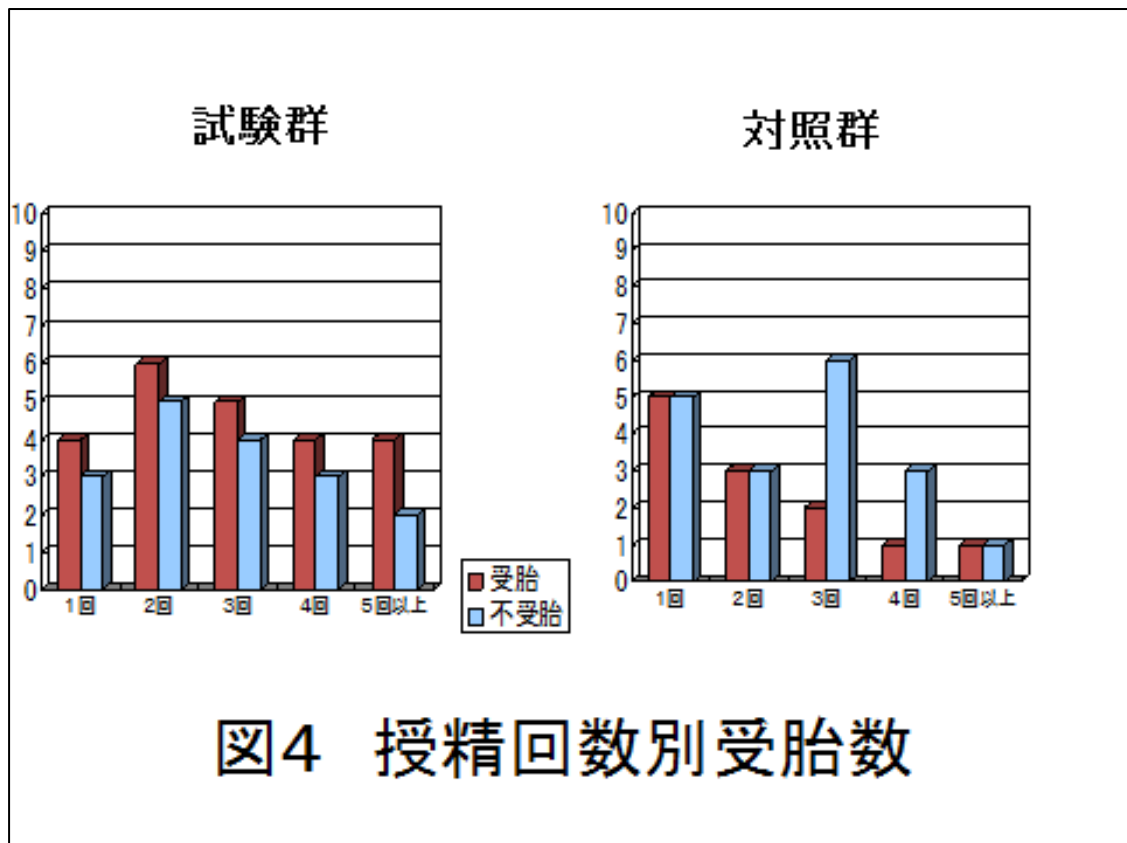
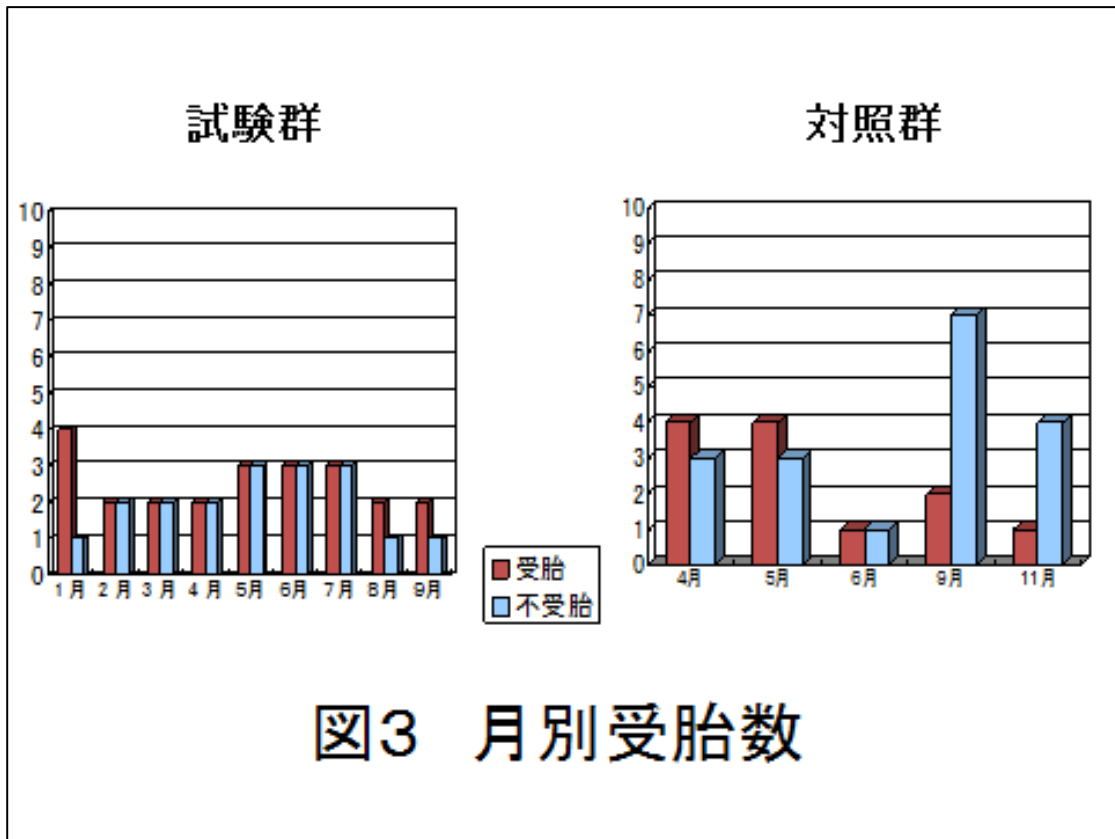
表1 試験群と対照群の受胎率

	AI頭数	受胎頭数	受胎率
試験群	40	23	57%
(翌日再AI)	6	5	83%
対照群	30	12	40%

表2 両試験の不受胎牛で発情回帰し授精した試験群と対照群の受胎率

	AI頭数	受胎頭数	受胎率
試験群	17	11	65%
対照群	18	7	39%





まとめ

hCG 製剤と EB を同時投与したところ発情開始時期が早くなったとの報告²⁾もあり今回の結果より試験群の方がより効果的に排卵誘起させたと考えられた。試験群では AI が早いと翌日も発情徴候を示す牛が 6 頭発生し、その 6 頭に再 AI したところ 5 頭が受胎した。このことは試験群では再 AI の指標にもなると思われた。今回の不受胎牛が次回発情回帰で受胎した割合は試験群の方が高かった。これは試験群のホルモン剤投与により正常なホルモンバランスに回復した牛が試験群に多かったと考えられた。試験群の未経産の受胎数が低い結果となったが、原因は不明であった。試験群でのその他の年齢では均一に受胎したが、対照群は年齢が増すにつれて受胎数は低下した。分娩後日数別の対照群では、栄養状態が低下していると思われる分娩後 60 日までの初回発情の AI では受胎しなく、その後 200 日までで受胎した。一方試験群では分娩後 60 日までの初回発情で受胎し、その後 250 日までで受胎した。このことは試験群では負のエネルギーバランス下でも受胎可能であると思われた。対照群は暑熱期の受胎が悪く、春が良い結果となったが、試験群では 1 月から 9 月まで均一な受胎となり暑熱期の受胎促進に効果があると思われた。対照群は受胎回数が増すと受胎数が下がり、試験群では受胎回数にかかわらず受胎し、多回授精牛や分娩後長期にわたる繁殖障害に効果があると思われた。

参考文献

- 1) 松井基純：牛の繁殖生理とホルモン剤による制御，臨床獣医 31 (8) 12～18 (2013)
- 2) Rensis FDe,Lopez-GatiusF,Garcia-Ispierto I,Techakumpu M Theriogenology 73, 1001～1008 (2010)