

平成 28 年度
第 54 回広島県畜産関係業績発表会
集 録

広島県農林水産局畜産課

平成 28 年度第 54 回広島県畜産関係業績発表会

1 目 的

県内の畜産関係者が、日常業務で取り組みを行った業績を発表することにより、技術の連携及び交換並びに研究開発意欲の高揚を図り、畜産の振興に資することを目的とする。

本冊子は、第 54 回広島県畜産関係業績発表会における発表全文を集録したものである。

2 主 催

広島県農林水産局畜産課

3 期 日

平成 29 年 1 月 27 日（金）午前 10 時 30 分から午後 3 時 55 分まで

4 場 所

広島県庁本館 6 階講堂

5 発表者

- (1) 県畜産関係職員
- (2) 県畜産関係団体職員
- (3) その他県内畜産関係技術者

6 発表内容

日常業務に基づく事業、調査、研究・開発等の業績

目 次

I 畜産事務所（家畜保健衛生所）

- 1 管内で発生した牛マイコプラズマ乳房炎の清浄化対策 …………… 1
西部畜産事務所 福原理映子
- 2 乳牛雌性判別精液の利用による和牛増産モデルの構築に向けて …………… 5
北部畜産事務所 工藤 敬幸
- 3 乳用牛の県外導入における着地検査体制改善への取組 …………… 8
北部畜産事務所 船守 足穂
- 4 肉用牛飼養農家を対象とした牛白血病清浄化への取組 …………… 11
東部畜産事務所 大道 結乃
- 5 BSE 検査(死亡牛)からみた県内死亡牛の動向 …………… 14
西部畜産事務所 田村 和穂
- 6 山羊・めん羊飼養者に対する飼養衛生管理基準の周知に向けた取組 …………… 17
東部畜産事務所 龍治 美希
- ◎ ○ 7 牛乳房炎検査時に溶血環を形成するマイコプラズマ属菌の検査方法の検討 20
西部畜産事務所 河村美登里
- 8 牛アデノウイルス(BAV) 2型が関与した肉用牛肥育農場の下痢症 …………… 25
西部畜産事務所 清水 和
- 9 過去6年間の牛の下痢症ウイルスの検出状況(平成22~27年度) …………… 31
西部畜産事務所 桑山 勝

II 総合技術研究所

- 10 県産和牛増産に向けた畜産技術センターの取組 …………… 36
畜産技術センター 山本 哲史

III 高等学校

- 11 ウシ受精卵の作製技術向上と早期雌雄判別時期の研究 …………… 39
県立西条農業高等学校 岡野 朝 外
- 12 エコフィールドが日本を救う！ …………… 43
県立西条農業高等学校 木村 雄一 外

13	西農ポークをジャパンプランドへ ～酒粕添加による肥育中の豚への影響～ ……	46
	県立西条農業高等学校	平坂 脩真 外
14	飼料イネ WCS を利用した肥育試験 ……	49
	県立庄原実業高等学校	山中 理子 外

IV 広島県農業共済組合

15	飼槽改善により乳牛の生産性が向上した自動給餌器利用農家の一例 ……	52
	家畜臨床研修所	玉川 朋治
16	広島県で発生した全身症状を伴うマイコプラズマ性乳房炎の集団発生事例 ……	55
	府中家畜診療所福山分室	秋田 真司
17	黒毛和種繁殖農家における危害分析結果に基づいた BRDC への対策 ……	61
	府中家畜診療所	堀 香織

(注)

◎：第 58 回全国家畜保健衛生業績発表会 選出演題

○：第 58 回中国・四国ブロック家畜保健衛生業績発表会 選出演題

管内で発生した牛マイコプラズマ乳房炎の清浄化対策

西部畜産事務所

○福原理映子 平松由美子

はじめに

マイコプラズマ乳房炎は伝染性が強く難治性であり、農家の経済的損失が大きい伝染病である。

今回、県内で初めて *Mycoplasma bovis* (Mb) による乳房炎が1酪農家において集団発生し、清浄化対策に取り組んだので、その概要を報告する。

発生状況

発生農場は、成牛43頭(内、搾乳牛34頭)、育成牛4頭、子牛3頭を飼養する酪農家で、成牛舎はタイストール、対頭式牛舎である。

平成27年11月29日、3年ぶりに県外から初妊牛2頭を導入、他の牛との接触を可能な限り避けるため、成牛舎の端に繋留した(図1)。

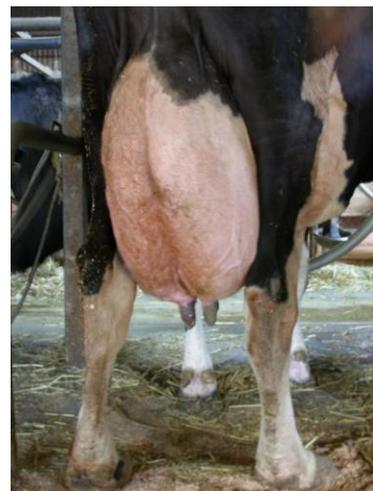
12月6日から中旬にかけて牛マンヘミア症による呼吸器病がまん延し、17頭が発症した(図1の■)。この時、Mbは分離されなかった。呼吸器病終息後の12月23日、3頭が乳房炎を発症したため、25日から発症牛の治療及び隔離と搾乳順番を変更した。しかし、翌年1月6日までに発症牛が10頭になったことから、病性鑑定を実施した。病性鑑定は、発症牛10頭中、起立不能かつ乳汁採材が不能であった1

頭(図1の×)を除く9頭で行った(図1の●)。発症と搾乳順番には関連性は認められなかった。また、乳房炎発症牛10頭の内、6頭が牛マンヘミア症の罹患牛であった。

症状は、泌乳停止(5/9頭)、乳房の硬結(8/9頭)、削瘦(3/9頭)、起立不能(1/9頭)、食欲低下(8/9頭)が認められた。発症牛は乳房が張っているにも関わらず、突然、泌乳停止となった(写真1)。



側望



後望

写真1 写真提供：東広島家畜診療所

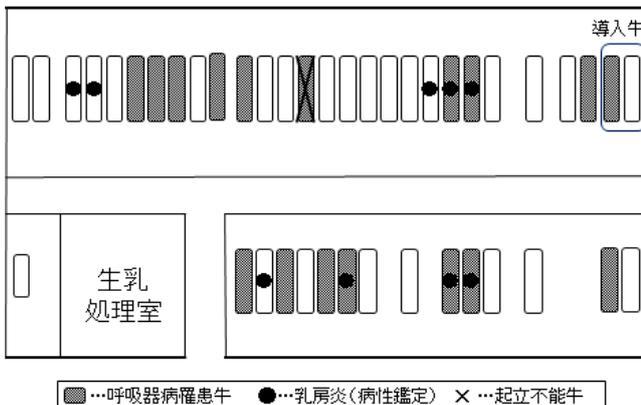


図1 発生状況

病性鑑定結果

乳汁 9 検体を材料として、DHL 寒天培地を用い 37℃、24 時間好気培養、5%羊血液寒天培地を用い 37℃、48 時間、5%炭酸ガス培養及びマイコプラズマ分離を目的とした DNA 添加変法 Hayflick 培地及び BHL 液体培地を用いて 37℃、7~14 日間好気密栓培養を行った結果、9 頭中 7 頭から $10^{4\sim5}$ ccu/ml の Mb が分離された。その他、*Mycoplasma spp* (マイコプラズマ属菌) が、9 頭中 2 頭から 10^5 ccu/ml 分離された。また、遺伝子検査では、9 頭中 6 頭が Mb 陽性であった。以上の結果から、牛マイコプラズマ乳頭炎と診断した。

Mb が分離された乳汁は、しばらく静置すると液体成分と固形成分に自然に分離した

(写真 2)。

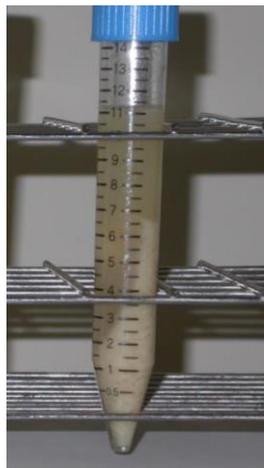
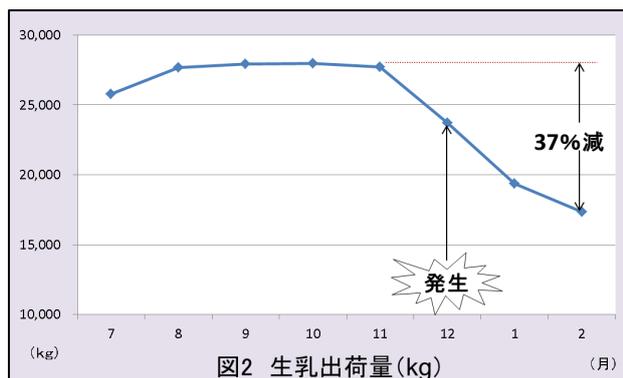


写真 2 写真提供：東広島家畜診療所

農家の経済的損失

Mb 乳房炎と診断した 7 頭と起立不能牛 1 頭の計 8 頭が廃用となった。出荷乳量は、12 月の発生以降、激減し 2 月に最低となった (図 2)。これは発生前の 11 月と比較すると 37%の減となる。乳価で換算すると、ひと月に約 120 万円の損失となった。農家の被害は大きく、清浄化対策と併せて農家支援を行う必要が生じたことから、東広島家畜診療所、当所、畜主、広島県酪農業協同組合 (広酪)、全国酪農業協同組合連合会 (全酪連) から構成されるマイコプラズマ清浄化を目的とした検討会を開催した。



材料と方法

不顕性感染牛の摘発のため、1~6 月の毎月 1 回、全 6 回、搾乳牛全頭の 4 分房の合乳または個乳を用い Mb 遺伝子検査を実施した。検査頻度及び回数は、感染牛の排菌が間欠的で、1 回の検査では感染牛が特定できない¹⁾というマイコプラズマの特性を考慮し、決定した。結果を基に関係機関と協議し、まん延防止対策として①発症牛の隔離と淘汰、②Mb 遺伝子陽性牛の並び替え、③搾乳順番を健康牛→体細胞の多い牛→乳房炎牛→Mb 遺伝子陽性牛の順に変更及び④Mb 遺伝子陽性牛のミルカーの専用化を行った。また、衛生対策として、消石灰散布による搾乳牛舎の消毒を行い、踏込消毒槽を増設した。その他、乾乳牛については、マイコプラズマを想定した治療を 3 ヶ月間実施した。対策スケジュールは図 3 のとおり。

	H28.						H29.		
	1	2	3	4	5	6	7	8	2
検討会	●	●	●	●				●	
遺伝子検査	●	●	●	●	●	●			●
まん延防止	→								
衛生対策	→								
乾乳牛の治療	●	●	●						

図3 対策スケジュール

各機関は、これらの対策について役割分担を明確にし、連携して農家に指導、支援を行った。また、農家はこれらの指導に基づき、確実に対策を実施した (図 4)。

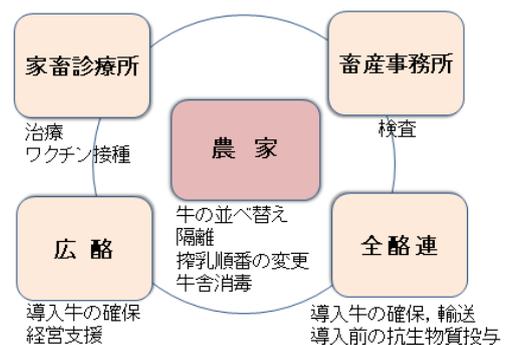


図4 農家の支援体制

成績

Mb 遺伝子検査の結果、1 回目の検査では 24 頭中 5 頭が陽性であった。このうち、2 頭が平成 27 年 11 月 29 日に導入した導入牛、3 頭が自家産であった。また、自家産の 3 頭中 1 頭は乳房炎を発症していたため、速やかに淘汰した。2 回目検査は、1 回目の検査で陽性であった牛の内、1 頭のみ陽性となった。3 回目検査以降は全頭陰性で、以降の検査で陽転した牛はいなかった（図 5）。

検体		回目	1	2	3	4	5	6
導入牛	1		+	-	-	-	-	-
	2		+	-	-	-	-	-
自家産	3		+*	淘汰				
	4		+	-	-	-	-	-
	5		+	+	-	-	-	-
検査頭数			24	15	24	26	25	28

図5 遺伝子検査結果

※：発症牛

今後の対策

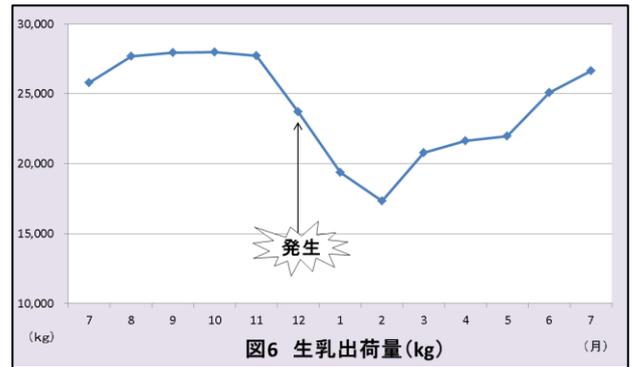
Mb 乳房炎の侵入経路として、呼吸器病などのマイコプラズマ感染症の発生や、他牛群からの個体導入が重要視されている。^{2), 3)} 今回の侵入経路は、乳房炎の直前に発生した呼吸器病では、マイコプラズマは陰性であったものの、導入牛が 2 頭とも Mb 遺伝子陽性であったこと、導入直後に呼吸器病、その後、乳房炎が発生したことから、導入牛が持ち込んだと推測された。このことから今後は、導入牛について、①導入前後の抗生物質の投与、②導入後約 1 ヶ月は別牛舎に隔離飼育、③牛マンヘミア症による呼吸器病のまん延があったことから、牛マンヘミア症を発症しなかった育成牛と新規導入牛についてワクチン接種を実施することにした。

まとめ

清浄化対策に取り組んだ結果、Mb 遺伝子検査では 3 ヶ月目に搾乳牛全頭陰性となり、その後も 6 ヶ

月目まで陰性を確認している。また、遺伝子検査により 4 頭の不顕性感染牛を摘発し、農場内の Mb 感染拡大を防止できた。この他、生乳団体を含む関係機関が連携して対策に取り組んだことは、優先的な導入牛の確保等にもつながり、清浄化だけでなく農家支援にも有効であった。

導入牛の確保や再発防止に取り組んだ結果、出荷乳量は 3 月から回復し始め、7 月には前年 7 月と同程度まで回復が見られた（図 6）。



平成 29 年 2 月、清浄性の最終確認検査として、分娩後の 1 回目陽性牛 4 頭、平成 28 年 9 月～12 月の新規導入牛 4 頭、自家育成から搾乳牛となった 2 頭、乳房炎を繰り返す牛 2 頭の乳汁及びバルク乳の 13 検体について遺伝子検査を行った結果、全検体陰性であり、また、Mb を疑う乳房炎の発生も無いことから、清浄性が維持されている。

今回の発生において、早期清浄化が達成出来た要因は、発症牛の隔離と淘汰、遺伝子検査による不顕性感染牛の迅速な摘発が可能であったことと考える。

今後も、導入牛の一定期間の隔離と適切な飼養衛生管理の徹底を指導するとともに、関係機関と連携した農家指導に努めたい。

参考文献

- 1) 安富一郎：マイコプラズマ性乳房炎発生農場に対するコントロール，臨床獣医，Vol. 28, No6, 20-24 (2010)
- 2) Donald E Jasper : Advances in Veterinary

Science and Comparative Medicine, 25, 122～

159, Academic Press, Inc. (1981)

3) Ruben NG : The Veterinary Clinics of North America, Food Animal Practice, 19(1), Vassallo

J, ed., 199～221 W.B. Saunders Company (2003)

4) 秦英司 : 牛マイコプラズマ乳房炎, 北獣会誌, 59, 87-92 (2015)

5) 草場信之ら : 北海道における牛マイコプラズマ性乳房炎の発生とその疫学的考察, 日獣会誌, 67, 43-48 (2014)

6) 草場信之 : 北海道における牛マイコプラズマ性乳房炎の現状, 臨床獣医, Vol. 28, No6, 12-15 (2010)

7) 中川亮ら : 継続的モニタリング検査による牛マイコプラズマ乳房炎の防除, 北獣会誌, 57, 201-206 (2013)

8) 佐藤香代子ら : 大規模酪農場におけるマイコプラズマ性乳房炎の清浄化対策, 平成 26 年度新潟県家畜保健衛生所業績発表会集録

9) 川畑由夏ら : マイコプラズマ性乳房炎の清浄化対策推進による大規模酪農経営体の健全経営支援, 岩獣会報, Vol. 38 (No2), 66-69 (2012)

10) 石山大ら : 千葉県で確認された牛マイコプラズマ性乳房炎の発生状況と清浄化対策, 日獣会誌, 67, 188-192 (2014)

11) 湯澤裕史ら : 管内大規模酪農家における牛マイコプラズマ乳房炎の防除指導, 平成 25 年度栃木県家畜保健衛生所業績発表会集録

12) 秋田真司ら : 管内で発生したマイコプラズマ性乳房炎の集団発生事例とその対策, 平成 28 年度獣医学術中国地区学会講演要旨

13) Maunsell FP, Woolums AR, Francoz

D, Rosenbusch RF, Step DL, Wilson Dj, Janzen

ED : *Mycoplasma bovis* infections in cattle, J Vet

Intern Med, 25, 772-783 (2011)

乳牛雌性判別精液の利用による和牛増産モデルの構築に向けて

北部畜産事務所

○工藤敬幸 栗原順三

はじめに

本県の畜産，特に肉牛における飼養状況は，平成3年に飼養戸数4,580戸，繁殖牛頭数13,100頭であったものが，平成28年には646戸，4,350頭に減少している（図1）。

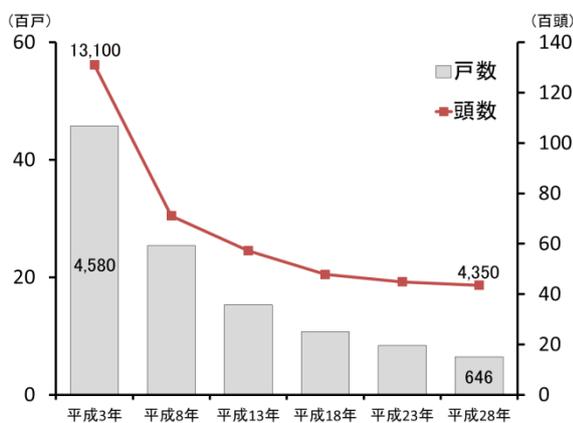


図1 肉牛飼養戸数，繁殖牛頭数推移（広島県）

また，乳牛における飼養状況は，平成3年に飼養戸数630戸，繁殖牛頭数17,700頭であったものが，平成28年には165戸，9,150頭に減少している（図2）。

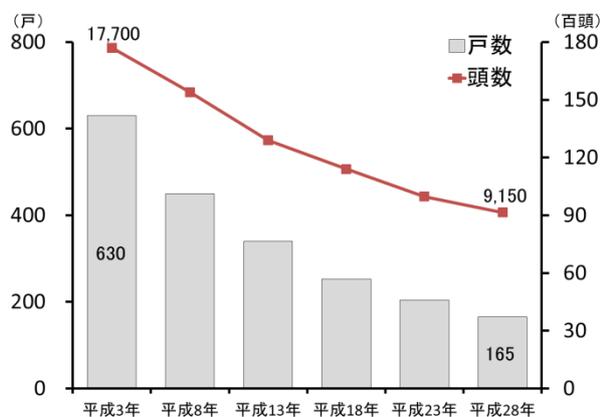


図2 乳牛飼養戸数，頭数推移（広島県）

このため，本県では，「2020 広島県農林水産業チャレンジプラン」に基づき，広島牛の生産基盤の強化・拡大に取り組むとともに，酪農経営の効率化・安定化に向けた取組を推進している。これまで，広島牛を増頭させる手段として，乳牛への和牛受精卵移植を推進し，平成24年度から平成26年度の間に，それまでの県主体の取組から民間への移行に取り組んだ（図3）。

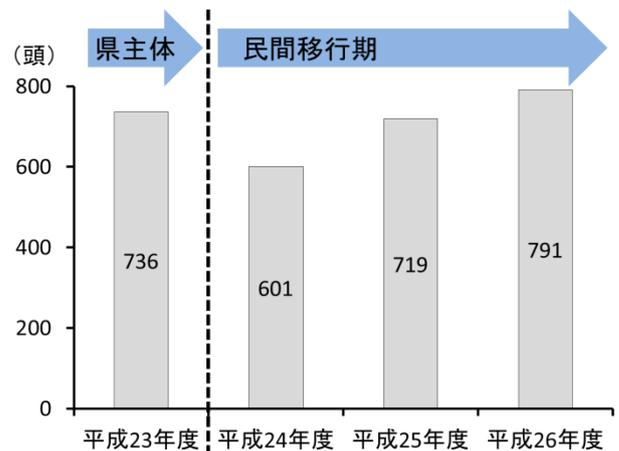


図3 和牛受精卵移植頭数の推移（広島県）

酪農経営において和牛受精卵移植を増加させるためには，後継牛を確保することと，受精卵移植頭数を増やすことを両立させる必要がある。そこで本県では，平成27年度から酪肉複合推進モデル事業を実施している。この事業によって乳牛雌性判別精液を利用して後継牛を効率的に確保し，和牛の受精卵移植頭数を拡大するモデルとなる経営体の構築に取り組んだので，その概要について報告する。

方法

1. 農場選定

経営体選定基準（表1）に基づき，庄原市のH牧

場を選定した。H 牧場は経産牛を 43 頭、未経産牛を 14 頭飼養している。年間に必要な後継牛の頭数は 10 頭（更新率約 23%）であり、人工授精及び受精卵移植は経営主が実施している。

表 1 経営体選定基準抜粋

基準項目	基準指標
後継牛の自家育成	乳用後継牛を自家生産及び育成している。 乳用牛の導入及び自家育成後継牛の預託をしないこと。 必須
広島血統和牛の取組推進	広島血統和牛受精卵を用いて和牛を生産することができる。 必須
飼養規模	広島県における中核的経営体の規模である。搾乳牛を 40頭から50頭飼養している。 1経営体当たり1点
家畜人工授精師の資格	経営者または同農場で酪農業に従事している後継者が、家畜人工授精師の資格を有している。 1経営体当たり1点
受精卵移植師の資格	経営者または同農場で酪農業に従事している後継者が、受精卵移植師の資格を有している。 1経営体当たり1点

広島血統和牛増産チャレンジ事業に係る
酪肉複合推進モデル事業実施要領(平成27年5月1日制定)第2-5

2. 現状（平成 26 年度）

1) 後継牛の生産

後継牛の確保は通常精液の使用によって行い、乳牛生産頭数は 16 頭であり、そのうち、雌が 6 頭であった。

2) 和牛の生産

和牛受精卵移植の対象は未経産牛のみであり、生産された頭数は 5 頭であった。

3. 目標

1) 乳牛雌性判別精液による人工授精

乳牛雌性判別精液によって 10 頭受胎（受胎率 30%）させることを目標とする。後継牛は畜主の牛白血病清浄化の意向を反映して牛白血病抗体陰性牛から生産することとし、人工授精回数は 2 回を限度とした。

2) 和牛受精卵移植

和牛受精卵によって 10 頭受胎（受胎率 40%）させることを目標とする。未経産牛に対しては、初回に和牛受精卵移植を実施し、経産牛に対しては、乳牛雌性判別精液の利用により、受胎頭数を確保した後実施した（図 4）。

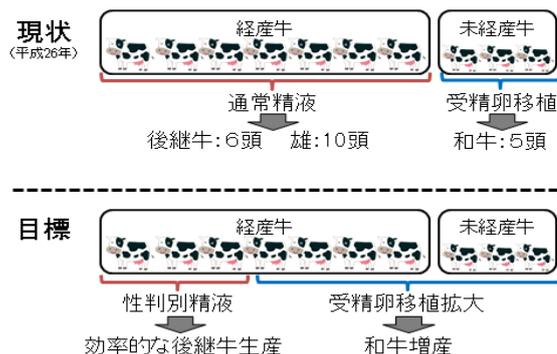


図 4 事業実施イメージ

4. 経営主への技術支援

乳牛雌性判別精液を利用する際、超音波画像診断装置によって子宮の状態や発情卵胞の有無を確認し、経営主と情報を共有した。また、次の事項に取り組んだ。

1) 発情同期化処置

発情同期化処置による定時人工授精を実施した。

2) 子宮深部注入

子宮深部注入用カテーテルを用いて発情卵胞側への子宮深部注入を実施した。乳牛雌性判別精液以外の人工授精については、一般的な手技により実施した。

成績

1. 交配成績

乳牛雌性判別精液による人工授精は、実施 34 頭に対して受胎 9 頭（受胎率 27%）であり、目標の頭数と受胎率を概ね達成した。和牛受精卵移植は、実施 20 頭に対して受胎 4 頭（受胎率 20%）であり、目標の頭数と受胎率を達成できなかった。全体の受胎率は 25%であり、目標に比べて低い傾向であった（表 2）。

表2 全体の交配成績

交配種類	実施頭数	受胎頭数	受胎率	平成26年受胎率
性判別精液	34	9	27%	-
和牛受精卵	20	4	20%	55% (未経産牛)
和牛精液	41	10	24%	28%
乳牛通常精液	14	4	29%	28%
合計	109	27	25%	30%

2. 乳牛雌性判別精液による人工授精

1) 発情同期化処置

受胎率は処置を実施した方が30%と高い値となった(図5)。

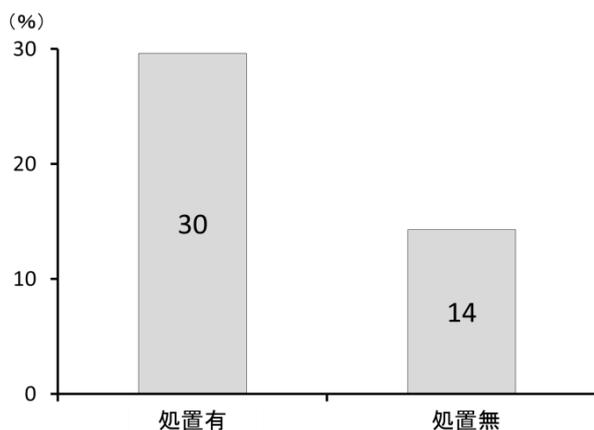


図5 発情同期化処置による受胎率

2) 子宮深部注入

子宮深部注入を実施した乳牛雌性判別精液と通常精液において、受胎率に差はなかった(図6)。

3. 和牛受精卵移植

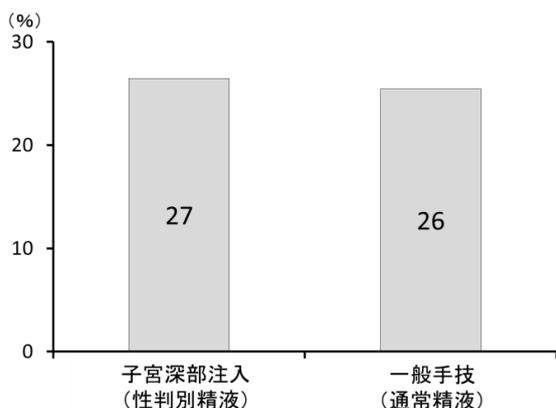


図6 手技による受胎率

経産牛は実施13頭に対して受胎が4頭であり、これまで未実施であった経産牛でも受胎させることができた。一方、未経産牛は実施7頭に対して受胎頭数0頭であった(図7)。

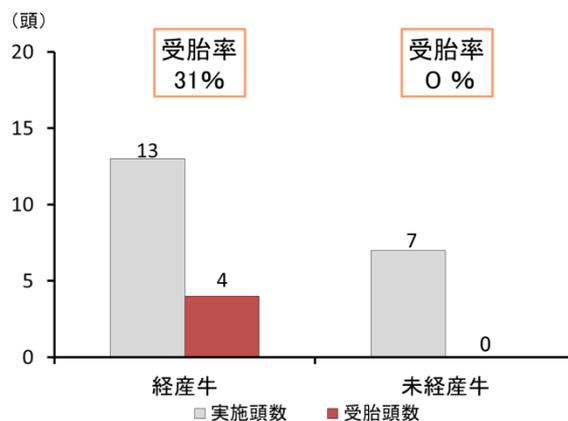


図7 和牛受精卵移植内訳

まとめ

乳牛雌性判別精液を用いて後継牛を効率的に確保し、経産牛からの和牛生産も可能となった。しかしながら、和牛増産モデル経営体構築のためには、未経産牛における和牛受精卵移植の受胎率が不十分であった。このため、不受胎の原因分析に加え、牛群全体の繁殖成績の改善が必要である。

今後は、牛群の繁殖成績改善に向けて、牛の栄養状態に着目し、定期的な飼料分析、代謝プロファイルテスト等を実施し、問題点の把握・改善に取り組んでいく。

乳用牛の県外導入における着地検査体制改善への取組

北部畜産事務所

○船守足穂 中光務

はじめに

県内酪農団体における県外導入牛事業では、県外からの初妊牛導入及び県外への育成牛預託を行っており、平成27年度は306頭の実績であった。衛生対策として、導入牛及び預託牛の着地検査（臨床検査、ヨーネ病検査及び牛白血病検査）を実施している。このうちヨーネ病検査については、従来は牛を農場に配送後、戸別実施しており、農場へのヨーネ病侵入リスク及び検査に期間と人員を要するという課題があった。

この課題について、ヨーネ病の全国的な発生状況を踏まえて防疫対策を強化する必要があること、酪農家及び関係者から改善要望があることから、酪農団体と連携し、農場へのヨーネ病侵入リスクを低減する効率的な着地検査体制を構築したので、その概要を報告する。

検討会等の開催

平成27年2月～9月、従来の課題解決に向けた検討会を開催した。はじめに、畜産課及び畜産事務所において原案を作成し、酪農団体及び畜産課において実現に向けた調整会議を行い、改善案とした。

1. 原案

県内既存の繋留施設を活用し、①農場配送前に県内既存の繋留施設へ牛を3～4日間程度隔離②その間にヨーネ病検査を実施③ヨーネ病陰性確認後、牛を農場に配送することとした。このメリットとして、次の2点が挙げられる。

1) 繋留施設においてヨーネ病を摘発した場合、農場配送前に殺処分するため、導入による農場の汚染を未然に防止可能となる（図1）。

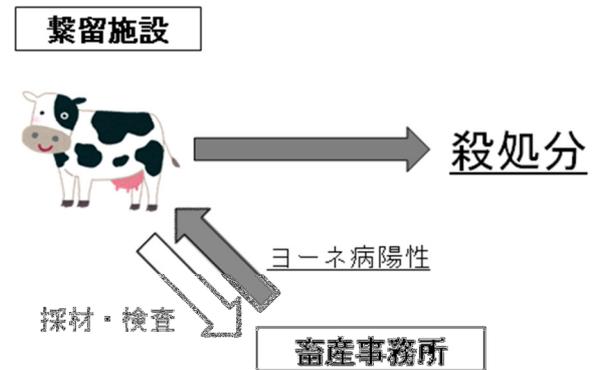


図1 導入による農場の汚染を未然に防止

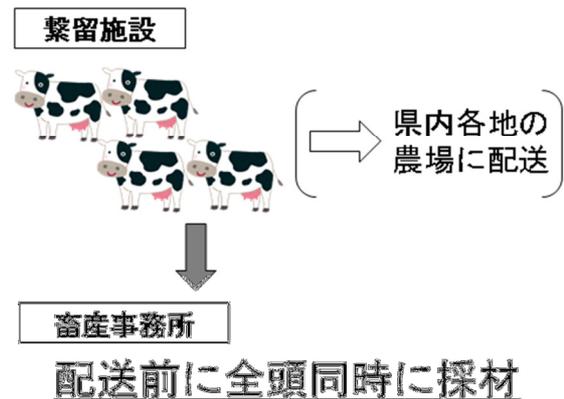


図2 少ない人員での効率的な検査

2) 県内各地の農場に配送予定の牛を全頭同時に採材するため、少ない人員での効率的な検査が可能となる（図2）。

2. 調整会議

作成した原案について、牛を一定期間繋留することにより導入コストが上昇するという課題が新たに生じたため、調整会議において解決策を検討した。その結果、繋留中の飼養管理を外部委託せず、酪

農団体が担当することで人件費を抑えること、繋留期間を原則1日間に設定し、その間にヨーネ病検査を実施することで、繋留に伴うコスト上昇を最小限にすることとした(表1)。

以上の調整会議により、原案を修正し、最終的な改善案とした(図3)。

表1 原案と改善案の比較

項目	原案	改善案
繋留中の飼養管理	外部に委託	酪農団体
繋留期間	3~4日間	原則1日間



図4 繋留施設での採材

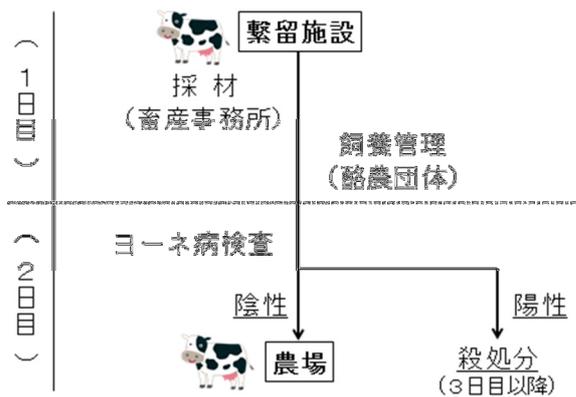


図3 ヨーネ病着地検査フロー図(改善案)

試行及び検証

1. 改善案の試行

検討会において策定した改善案を平成27年9月～平成28年3月まで試行した(図4)。繋留施設での採材は11回行い、当所管内分については延べ48戸111頭の着地検査を実施した。

2. 検証内容

改善案により従来の課題が解決されたか検証するため、試行期間における1)採材日数及びヨーネ病検査日数 2)検査戸数及び出張人数 3)管内酪農家に対するアンケート調査を行った。

3. 検証結果

1) 採材日数及びヨーネ病検査日数

当所管内においては、従来は配送後平均3.4日後に採材、5.4日後にヨーネ病検査を実施していたが、改善後は繋留施設到着当日に採材、翌日にヨーネ病検査を実施するようになった(図5)。

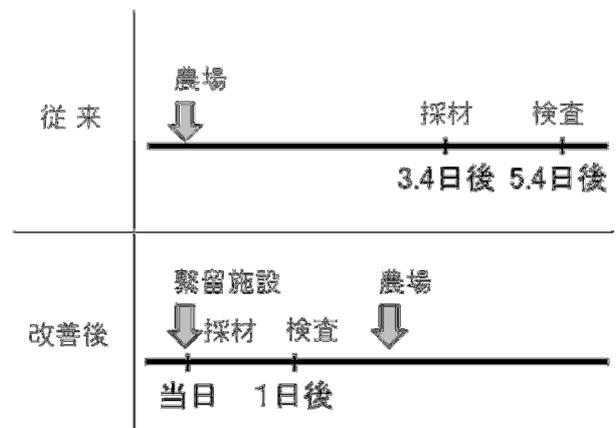


図5 採材日数及びヨーネ病検査日数

2) 検査戸数及び出張人数

当所管内においては、従来は60戸72人（平成26年度）、19戸32人（平成27年4～8月）に対し、改善後は48戸10人であった（図6-1）。農家10戸あたりの人数で示すと、従来の12人（平成26年度）、17人（平成27年4～8月）に対し、改善後は2人となり、採材に要する人数が大幅に減少した（図6-2）。

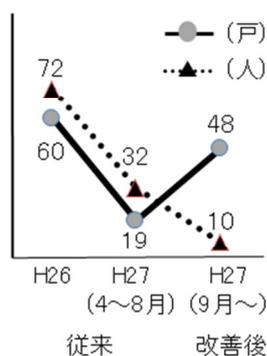


図6-1

検査戸数及び出張人数

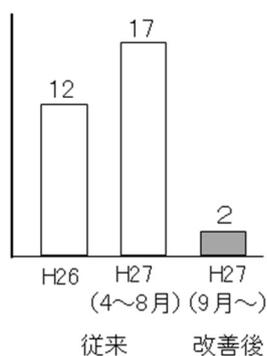


図6-2

農家10戸あたり人数

まとめ

本取組の結果、農場配送前にヨーネ病陰性を確認することで、農場へのヨーネ病侵入リスクを低減した。また、繫留施設で全頭同時に採材することで、効率的な検査体制を確立した。

これにより、平成28年4月から正式な着地検査要領を策定し、本格運用を開始した。

今後も、繫留施設を活用したその他伝染性疾病的検査体制についても検討を行い、疾病の侵入防止対策のさらなる強化が必要である。

3) アンケート調査

管内14戸の酪農家から回答が得られた。調査の中で、93%の酪農家が着地検査体制は改善されたと評価した（図7）。このことから、酪農家目線においても本取組は一定の成果があったことが考察された。

□ 検査体制は改善された？

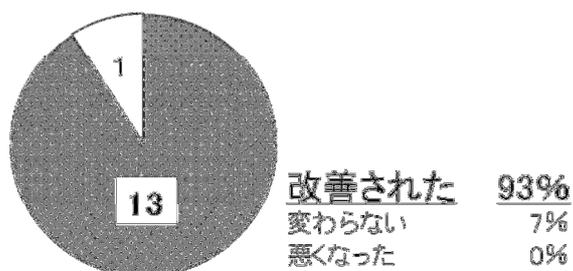


図7 アンケート調査結果

肉用牛飼養農家を対象とした牛白血病清浄化への取組

東部畜産事務所

○大道結乃 秋山昌紀

はじめに

牛白血病は、平成 10 年に届出伝染病に指定されて以降、本県を含め全国的に発生頭数の増加が問題となっている病気である。と畜場において、牛が本病と診断された場合、全部廃棄となり、農家にとっては経済的な被害となる。本病の発生防止のためには、農家、地域及び関係機関が一体となり感染予防及びまん延防止対策を実施していくことが急務であるが、農家の中には牛白血病に対して認識不足からくる不安感もあり、意識に差が認められた。そのため、対策は個々の農場での取組に留まっているのが現状であった。

平成 28 年 7 月、牛白血病清浄化に向けた取組が日本農業新聞で掲載されたことにより、本病が農家に広く知られることとなり（図 1）、さらに、同 7 月に開催された神石高原町和牛改良組合総会において、多くの質問が寄せられた。

ことから、管内肉用牛飼養農家の牛白血病に対する理解を深めることを目的とした取組を行った。



図 1 日本農業新聞記事

取組概要

農家の牛白血病についての知識と清浄化への理解醸成のため、和牛改良組合各支部及び各農協（表 1）を窓口とした説明会の開催、個々の農家立入時の説明、及び牛白血病ウイルス抗体検査（以下、抗体検査）希望の意向調査を実施した。

表 1 対象市町及び窓口

対象市町	窓口
神石高原町	改良組合支部事務局（JA）
福山市	JA 福山市
三原市	JA 三原
三原市大和町	改良組合事務局（JA）
尾道市、世羅町	改良組合事務局（JA）
府中市	JA 庄原市

1. 説明会の開催

1) 実施期間

平成 28 年 8 月から 10 月の 3 か月間にかけて計 9 回実施した。

2) 参集対象

管内 6 市町の肉用繁殖牛飼養農家 107 戸を対象とした。

3) 説明内容

農家の牛白血病に対する不安を払しょくできるよう丁寧に説明した。（図 2, 3）

まず、病気の特徴として、牛の一般的な下痢症や呼吸器病などと比較し、伝播力が弱く、発症率が低いため、感染防止対策が有効であることを説明した。全国及び本県の発生状況として、乳用牛での発生が多く確認されているが、近年 36 か月齢未満での若齢の肉用牛の発生が確認されているこ

とを説明した。感染予防及び清浄化対策として、生産の上流段階である繁殖農場で対策を行うことが重要であるなかで、対策の第一歩として、自農場の浸潤状況を把握することが必要であり、その具体的な対策として、陽性牛の隔離飼育やネットの設置などの分離飼育、アブやサシバエなどの吸血昆虫対策、初乳製剤や初乳の凍結融解による子牛への感染防止対策、導入牛の隔離及び検査、対策効果を確認するための定期的な抗体検査、牛の更新をする際は、陽性牛を優先することなどを挙げ、農場ごとの飼養状況に応じた対策を実施するよう説明を行った。陽性牛に関しては、直ちに淘汰を行う必要はなく、対策を行いながらの継続飼養を強調した。

2. 立入説明

平成28年4月から飼養衛生管理基準遵守状況確認のあめの立入に併せ、リーフレットを用い説明を行った。

3. 抗体検査意向調査

和牛改良組合各支部及び各農協(表1)に依頼し、管内全ての肉用繁殖牛飼養農家に対し、繁殖母牛を対象とした抗体検査意向調査を行った。



図2 説明会資料 抜粋

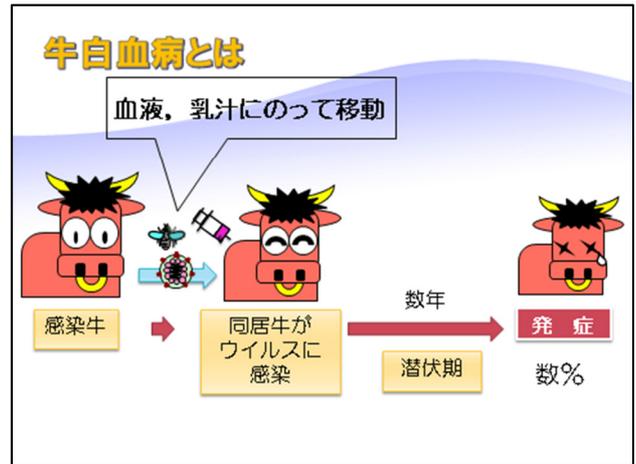


図3 説明会資料 抜粋

成果

1. 説明会出席状況

出席状況については、表2に示した。管内合計49戸(45.8%)が参加した。

表2 説明会の出席状況

説明会の出席状況		
(単位:戸)		
市町	対象戸数	参加戸数
神石高原町	59	31
福山市	7	0
三原市	12	6
世羅町	19	5
尾道市	6	5
府中市	4	2
合計	107	49

2. 質問及び意見

出席者からの意見では、「自分の農場でも対策を実施し、陰性牛を出荷したい」、「市場で陰性牛を導入したい」、「対策効果として陰性牛であることを子牛市場で公表してほしい」などの意見が挙げられた。

一方、放牧を行っている農場や群飼育農場においては、陽性牛の分離飼育や吸血昆虫対策が困難な様子であった。全体的に「陽性牛が発症しない

か不安である」との意見が多く認められた。

その他、検査料の助成や牛の更新に対する補助金についての質問もあり、当所で作成した Q&A に基づき回答した。

3. 意向調査

検査に対する意向を取りまとめた結果、新たに検査を希望した農家は72戸(67.3%),487頭(33.0%)であった。管内の検査実施状況と合わせると、これまでに検査を実施していた農家18戸を含め、90戸(84.1%)の農家が検査を行う見通しとなった。検査頭数においては、739頭(50%)から487頭増え、1,226頭(83.0%)に上ることが判明した。(表3)

このように多くの飼養者が検査を実施することにより、管内の浸潤状況の把握が可能になると思われた。

向上したと考えられた。

今後、希望者を対象に平成28年12月から平成29年6月に抗体検査を実施し、結果に応じ農家毎に侵入防止若しくはまん延防止対策を指導していく。また、検査を希望しない農家に対しても引き続き説明し、理解の醸成と検査の実施を求めていく。

検査結果で陽性牛が判明した場合、その牛が出荷され、出荷先での新たな感染源とならないよう、隔離飼育等適切な対策を実施しながらの継続飼養、家畜市場や共進会などの家畜集合施設でまん延防止体制を構築すること、市場出荷子牛の抗体保有状況を把握することなど多くの課題があり、引き続き関係者と連携していく必要がある。

表3 管内の検査実施状況

管内の検査実施状況			
	これまでの検査実施状況	新規検査希望	取組の結果
検査戸数 (計107戸)	18戸 (16.8%)	+ 72戸 (67.3%)	→ 90戸 (84.1%)
検査頭数 (計1,477頭)	739頭 (50.0%)	+ 487頭 (33.0%)	→ 1,226頭 (83.0%)

考察及びまとめ

これまで牛飼養農家において牛白血病に対する不安感があり、取組は個々の農場に留まっていたが、肉用繁殖牛農家に対し、農協や改良組合と連携し説明会を開催したことによって、本病に対し理解を深めることができた。併せて立入説明を実施したことにより、多くの農家が抗体検査を希望した。このことから個々及び地域の牛白血病に対する防疫意識が

BSE検査（死亡牛）からみた県内死亡牛の動向

西部畜産事務所 北部畜産事務所

○田村和穂 松重忠美

はじめに

牛海綿状脳症（以下 BSE）は平成 13 年 9 月に国内初の発生を認め、平成 15 年 4 月から死亡牛を対象に BSE 検査が開始された。今回、平成 23 年 4 月から、平成 28 年 3 月までの死亡牛の検査状況を、死亡牛に添付される死亡診断書等の情報から、年度、月、診断名別に集計し、傾向を調査した。

方法

平成 23 年 4 月から平成 28 年 3 月の 5 年間に BSE 検査を実施した 2,912 頭を材料として、死亡診断書から得られた情報（畜種、生年月日、死亡月日、分娩月日、死亡診断名）から次の項目について調査した。また、牛の個体識別情報検索サービスから、県内の検査対象月齢の牛飼養頭数を引用し、各項目における死亡率を求めた。気象情報は気象庁の HP から抜粋した。

1 年度別検査頭数、死亡率

検査頭数を年度別に集計し、個体識別情報データベースから求めた広島県における検査対象年齢の牛飼養頭数から各年度における死亡率を求めた。

2 年齢別検査頭数、死亡率

検査頭数を死亡時の年齢ごとに集計し、死亡率を求めた。

3 月別検査頭数

検査頭数を死亡した月別に集計した。

4 死亡診断名別検査頭数

検査頭数を死亡診断書から得られた死亡診断名別に分類し、集計した。

5 最終分娩から死亡までの日数と死亡診断名

周産期疾病の多かった乳用牛について、死亡診断

書に書かれた最終分娩日から死亡までの日数を求め、その影響を調べた。

成績

1 年度別検査頭数、死亡率

検査頭数は平成 23 年度から平成 26 年度まで概ね 600～700 頭で推移したが、検査対象月齢が 48 ヶ月齢以上に引き上げられた平成 27 年度には、337 頭に減少した。死亡率は乳用牛が概ね 7～8%，肉用牛が概ね 1～2%で推移し、全体合計においては 4.6%であった。（表 1）

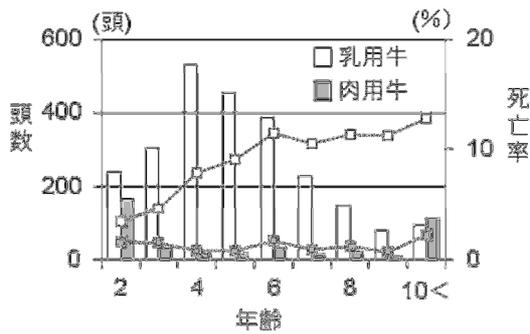
表1 年度別検査頭数及び死亡率

	H23	H24	H25	H26	H27※	計
乳用牛						
頭数	603	529	538	500	305	2475
(死亡率)	(7.8)	(7.2)	(7.4)	(6.9)	(8.0)	(7.4)
肉用牛						
頭数	88	107	78	132	32	436
(死亡率)	(1.3)	(1.6)	(1.2)	(2.0)	(1.0)	(1.5)
計						
頭数	691	636	616	632	337	2912
(死亡率)	(4.8)	(4.6)	(4.5)	(4.6)	(4.7)	(4.6)
※検査対象が48ヶ月齢以上に変更						(頭, %)

2 年齢別検査頭数

乳用牛の年齢別検査頭数は 4 歳齢が 533 頭で最も多かった。一方で、飼養頭数から見た死亡率は 6 歳齢まで上昇し、11.5%に達した後、横ばいとなった。肉用牛では、頭数は 2 歳齢が最も多かったが、死亡率には傾向を認めなかった。（図 1）

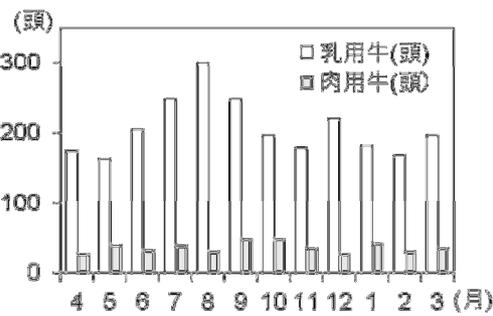
図1 年齢別検査頭数及び死亡率



3 月別検査頭数

月別検査頭数を図2に示した。乳用牛の検査頭数は、8月をピークに夏季に増加した。肉用牛については、月別では大きな変動を認めなかった。

図2 月別検査頭数



月別の変動を各年度で比較すると、夏季に7、8月を頂点とした山型を示す年度（H23～25）と、特徴の少ない年度（H26、27）の2つに分かれた。（図3）

各年度における、広島市、北広島町の8月の気候を表2に示す。検査頭数において、夏季にピークを認めた平成23～25年度と、傾向を認めなかったH26、27では、広島市、北広島町とも、日平均気温、最高気温が30度を超えた日数ともに差を認め、この2群について、夏季の気候状況が栄光を与えたことが推測された。（表2）

図3 年度毎の月別検査頭数

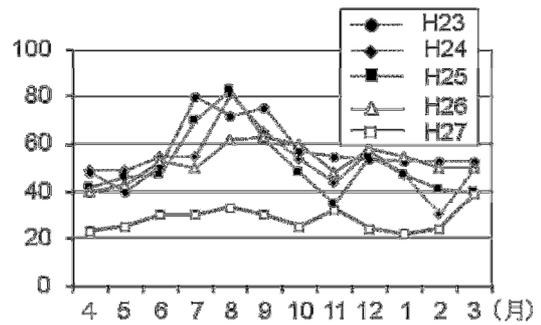


表2 8月の気候状況

	H23	H24	H25	H26	H27
広島市					
日平均気温(°C)	28.2	29.5	29.5	26.9	27.5
30°Cを超えた日数(日)	26	30	27	18	20
北広島町					
日平均気温(°C)	24.2	24.9	24.9	23.3	23.1
30°Cを超えた日数(日)	18	21	20	1	13

4 死亡診断名別検査頭数

死亡診断名別の検査頭数は、乳用牛では心不全、乳房炎、周産期疾病の3疾病が46%を占めた。（表3）肉用牛においては、急性鼓脹症が3割に及び、その後心不全、肺炎と続いた。（表4）

なお、月別検査頭数で、乳用牛について7月から9月に増加した診断名は、乳房炎と熱射病であった。

表3 診断名別検査頭数(乳用牛)

	心不全	乳房炎	疾病※	周産期	急性鼓脹症	熱射病	その他
頭数(頭)	487	390	252	189	113	1044	
割合(%)	19.7	15.8	10.2	7.6	4.6	42.1	

※周産期疾病: 乳熱, 産褥麻痺, 産褥熱

表4 診断名別検査頭数(肉用牛)

	急性鼓 脹症	心不 全	肺炎	肝疾 患	熱射 病	その 他
頭数 (頭)	133	88	36	20	8	152
割合 (%)	30.4	20.1	8.2	4.6	1.8	34.9

5 最終分娩から死亡までの日数と死亡診断名

乳用牛の内、最終分娩日からの日数別に、割合を示した。52%が分娩後30日以内に死亡し、中でも分娩後1週間以内の死亡が27%に及んだ。(図4)

死亡診断名毎に分娩後日数で割合を比較すると、周産期疾病、分娩事故等分娩が直接の原因となる疾病については、分娩後0~7日が最も多く、その後減少した。一方で、心不全、乳房炎、熱射病等の疾病も、分娩後0~7日に高い割合を示したが、その後の期間は特に差を認めなかった。(表5)

図4 分娩後日数別検査割合(乳用牛)

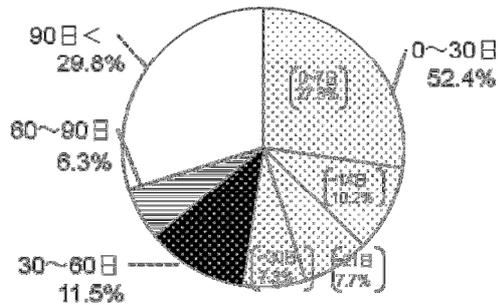


表5 分娩後日数及び診断名別検査頭数(乳用牛)

	(分娩後日数)			
	0~7	8~14	15~21	22~30
周産期疾病	140	48	25	8
分娩事故※	65	4	0	0
心不全	68	11	7	17
乳房炎	60	29	25	19
熱射病	19	9	8	6
急性鼓脹症	23	7	10	7
その他	118	74	61	73

※分娩事故: 難産, 子宮脱等 (頭)

まとめ

1 平成23年度から平成27年度の広島県内のBSE検査対象月齢の牛の死亡率は4.6%であった。

2 死亡率は乳用牛では6歳齢まで右上がりになり上昇し11.5%に達した後に安定した。肉用牛については年齢による傾向は認めず、1~2%前後であった。

3 月別の検査頭数は8月が最も多く、特に乳用牛で暑熱の影響が推測された。

4 診断名別は、乳用牛では心不全、乳房炎周産期疾病が、肉用牛では急性鼓脹症、心不全が多かった。

5 乳用牛では、分娩後30日以内の死亡が半数以上を占め、特に分娩後7日以内の死亡が多かった。

6 死亡牛検査の分析は、死亡発生の傾向を把握し、飼養衛生管理の指導に有効であった。

山羊・めん羊飼養者に対する飼養衛生管理基準の周知に向けた取組

東部畜産事務所

○龍治美希 本多俊次

はじめに

近年、草刈やふれあい、愛玩での山羊及びめん羊の飼育が全国的に注目されている。そのような山羊及びめん羊の飼養者（以下「飼養者」）は、畜産を目的としておらず、定期報告の届出も少なかったため、当所における把握が不十分だった。また、家畜伝染病予防法において、山羊及びめん羊は家畜として位置づけられているにも関わらず、飼養者に対する飼養衛生管理基準に基づく遵守指導の機会はほとんどなかった。その一方で、飼養者から当所への病性鑑定依頼及び飼育管理についての相談が増えつつあった。

こうしたことから、畜産を目的としない飼養者に対し、その把握に努め、飼養衛生管理基準の周知に向けた取り組みを実施したので報告する。

方法

1. 畜産を目的としない飼養者の把握

平成 23 年度以降、市町公報等への掲載を依頼し、定期報告の届出義務についての周知を行った。また、既知の飼養者からの情報入手並びに飼養者からの問い合わせに応じて定期報告の届出を指導し、新規飼養者の把握に努めた。

2. 立入指導

平成 27 年度から 28 年度にかけて、管内 33 戸を対象に立入指導を実施し、飼育状況調査及び飼養衛生管理基準の遵守指導を行った。また、一般的な飼育管理についての問い合わせが増えていたため、指導及び情報提供を行った。なお、飼育状況調査については、牛飼養農家である 3 戸を除外した 30 戸を対象とした。

飼育状況調査は、①家畜伝染病（主に口蹄疫）に対する飼養者の意識、②消毒実施状況、③飼育目的、④家畜移動の有無並びに人の出入り⑤疾病時の相談相手についての 5 項目について実施した。

口蹄疫の臨床症状及び海外での発生状況について説明し、①毎日家畜の健康観察をし、口蹄疫等の家畜伝染病を疑う異常を発見した場合には、速やかに当所に連絡をすること、②国内外における、山羊及びめん羊が感染する疾病の発生状況を把握し、発生場所に近づかない等の衛生管理対策に努めること、③日頃から、家畜を管理する前後には長靴等の消毒を行うこと、④ふれあい目的での飼育を除き、飼育場所及び放牧場所への部外者の立入を制限することを指導した。

一般的な飼育管理については、①腰麻痺や下痢等の寄生虫症についての説明（臨床症状や予防・治療法）、②夏季の日射病対策及び雨風避けの設置、③放牧や刈草給仕の際の農薬散布、有害植物及びビニール等の異物の放置に多雨する注意、④死亡家畜の化製場等での適正な処理について、情報提供並びに指導を行った。

結果

1. 畜産を目的としない飼養者の把握

平成 23 年度以降の取組により、平成 28 年度において、飼養者数 51 戸、飼養頭数 113 頭を把握した(図 1)。

2. 立入指導

1) 飼育状況調査

①家畜伝染病に対する飼養者の意識

口蹄疫については、「全く知らない」、「名前程

度は聞いたことがある」,「ある程度知っているが予防対策の必要性を感じていない」といった回答が多く認められた(図2)。

②消毒実施状況

消毒については、「全くしていない」、「病気発生時のみ実施」、「手指の消毒程度」という回答が多く、一方、毎日消毒を実施していた6戸からは、「畜産農家の知人や畜産事務所の職員からの指導を受けた」という回答が得られた(図3)。

③飼育目的

飼養される目的については、「草刈」、「愛玩」、「ふれあい」が大半を占めていた(図4)。

④家畜移動の有無及び人の出入り

家畜移動については、飼養目的が草刈や愛玩での飼養者を中心に、放牧や散歩等で移動する場が多く認められた(図5)。また、人の出入りについては、飼養目的がふれあいの飼養者を中心に、不特定多数または近所の人との出入りがあるとの回答が全体の1/3を占めていた(図6)。

⑤疾病時の相談相手

疾病時の相談相手については、「なし」との回答が6戸認められ、それ以外の飼養者も、「相談先の獣医を確保してはいるが、実際に相談することはほとんどない」とのことであった(図7)。

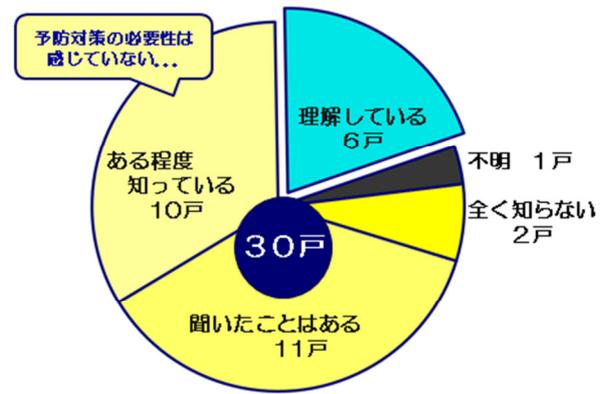


図2 家畜伝染病に対する飼養者の意識

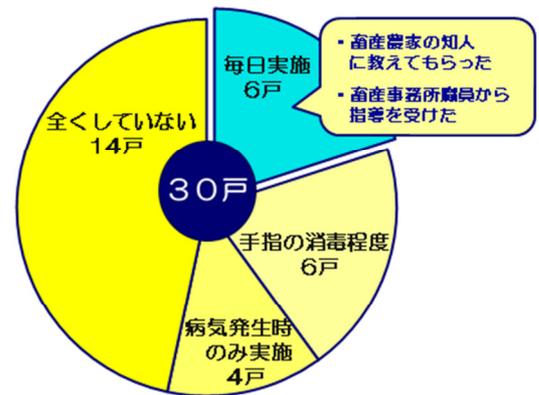


図3 消毒実施状況

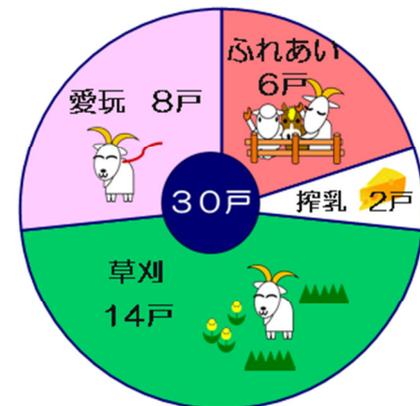


図4 飼養目的

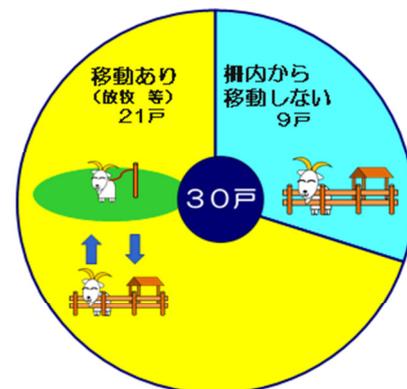


図5 家畜の移動の有無

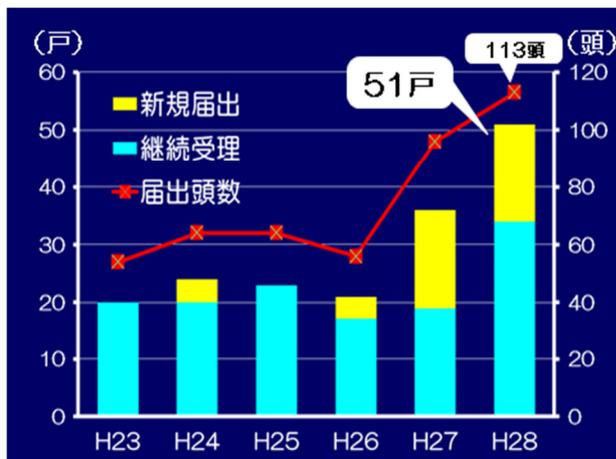


図1 定期報告届出数の推移

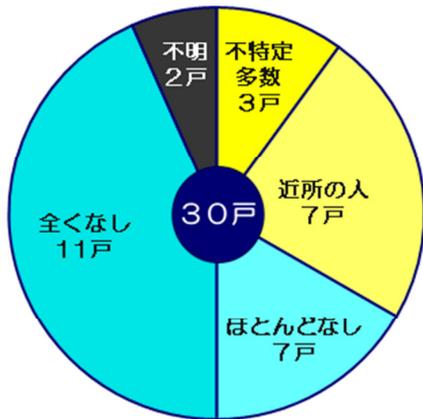


図6 人の出入り

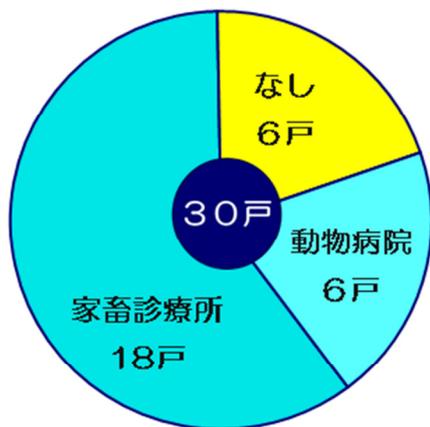


図7 疾病時の相談相手

2) 飼養衛生管理基準の遵守について

飼養者に対し、口蹄疫等の伝染病に対する知識や予防対策を周知し、飼養衛生管理基準の遵守徹底について理解を得ることができた。

3) 一般的な飼育管理について

一般的な飼育管理についても、飼育場所における日避け及び雨避けの設置や放牧場所におけるビニール等の異物等の注意喚起ができた。また、死亡家畜の適正な処理等についても言及できた。

まとめ及び考察

今回の取組で、定期報告の届出が促進でき、新規飼養者を把握することができた。これは、市町及び既知の飼養者から協力が得られたことが大きいと思われる。

また、飼育状況調査から、多くの飼養者は、家畜伝染病及び衛生管理に対する意識が低いことや、家畜としては特異的な飼育目的（草刈、愛玩及びふれあい）から、衛生管理区域の設定並びに人の出入り制限が困難である場合が多いことが分かった。飼養衛生管理基準に基づく立入指導を実施したことによって、飼養者の飼養衛生管理基準の遵守に対する理解が得られ、有事に備えた飼養者と当所の連絡体制を確保できた。

飼養者の家畜伝染病及び衛生管理に対する意識が低い要因として、獣医師に相談する機会があまりないこと及び当所からの指導の機会も少なかったことが挙げられた。知人や当所からの指導により毎日消毒を実施していた飼養者もみられたことから、更なる飼養者の意識向上は期待できると思われた。また、多くの飼養者における共通事項として、放牧地を限定することで衛生管理区域を明瞭化することや、限定した場所以外での放牧を余儀なくされた場合の対策として、刈り取った草を給与する等の方策の検討も必要と考えられた。特に、ふれあいを目的とした飼育者に対しては、入場者への消毒実施の喚起が必要と思われた。

今後も、市町の協力を得ながら、上記のような課題を解決できるよう、飼養者との信頼関係をベースとした指導を継続していきたい。

牛乳房炎検査時に溶血環を形成するマイコプラズマ属菌の検査方法の検討

西部畜産事務所

○河村美登里 平松由美子

はじめに

牛マイコプラズマ乳房炎は、*Mycoplasma bovis* や *M.bovigenitalium* 等を始めとしたマイコプラズマ属菌に起因し、突然の泌乳停止や強い伝染性及び難治性乳房炎により農家に多大な経済的損失を与える¹⁾ため、乳房炎検査においては、迅速かつ精確な診断が求められている²⁾。一方で、マイコプラズマ属菌は一般の細菌に比べて発育が極めて遅く²⁾、栄養要求性が高いため、家畜保健衛生所や診療所等(以下、現場)の乳房炎検査で一般的に使用されている血液寒天培地等には発育しない^{1,3)}とされ、現場での診断が困難であった。そのため本県では、マイコプラズマ性疾病を疑う場合、当所病性鑑定課に検体を搬入して検査を実施しているが、通常、我々が行う病性鑑定マニュアル⁴⁾に基づく検査では、DNA 添加変法 Hayflick 培地(以下、Hayflick 培地)等の専用培地を用いて 2~7 日間培養後に生化学的性状分析等で同定することと記されており、検査結果判明までに長期間を要するといった問題があった。

牛マイコプラズマ乳房炎の診断に関して、これまで我々は極めて稀なケースではあるが、何らかの条件が整った一部の検体において写真 1 のように血液

寒天培地上に一見コロニーを認めないβ溶血環を形成する場合があることを経験していた。同時に、このβ溶血環からは一般細菌のようにエーゼ等による菌の継代はできないことも確認していたため、血液寒天培地のβ溶血環からマイコプラズマ属菌分離・同定方法について、検討したことはなかった。

しかし近年、現場から“乳房炎検査の際、血液寒天培地に一般細菌のものとは明らかに異なるβ溶血環が認められるため、マイコプラズマ乳房炎を疑っている”といった相談が時折寄せられており、このうちの 1 例が牛マイコプラズマ乳房炎の集団発生事例であった。これを受け、今回改めて迅速診断を目的として、血液寒天培地のβ溶血環からの検査方法について検討したので報告する。

材料及び方法

1. 材料

現場で遭遇する牛マイコプラズマ乳房炎の溶血環を再現するため、当所が保有するマイコプラズマ属菌 3 菌種、*M.bovis* 7 株(基準株、乳房炎及び呼吸器病由来株)、*M.bovirhinis* 2 株(基準株及び呼吸器病由来株)及び *M.bovigenitalium* 5 株(基準株 1 株からクローニングで得られた株)を市販牛乳に混合後 10 段階希釈し、5% 羊血液加ミューラーヒントン寒天培地に接種後、37℃で 5 日前後好気培養し、β溶血環を呈した培地(*M.bovis* 及び *M.bovigenitalium* は $10^5 \sim 10^7$ Color-changing units (ccu) /ml, *M.bovirhinis* は 10^4 及び 10^5 ccu/ml) を供試検体とした(写真 2)。なお、試験は各菌種延べ 2 回以上実施した。

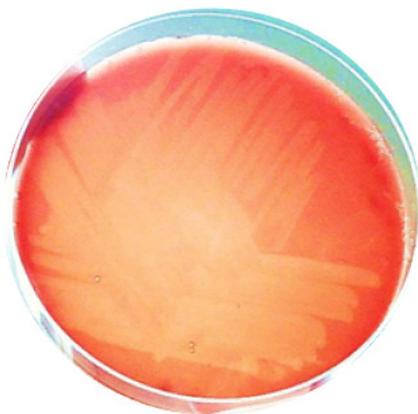


写真 1 血液寒天培地に再現した *M.bovis* のβ溶血環

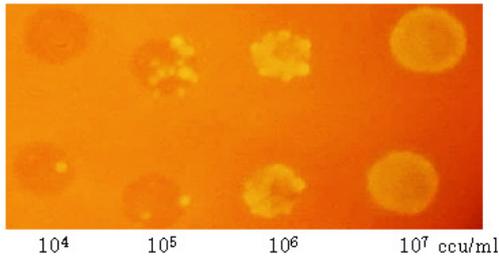


写真2 供試検体

2. 方法

1) 形態確認：各検体をスライドガラス上に 5 mm 大に切出し、直接及び Dienes 染色⁵⁾ (図 1) 後鏡検し、常法で使用の Hayflick 培地上のコロニーと形態比較した。(Dienes 染色法では、マイコプラズマ属菌と一部のヘモフィルス属菌のみ染色され、一般細菌は染色されない⁵⁾。)

2) 遺伝子検査：各検体の表面をエーゼで搔把等により集菌し、滅菌蒸留水で洗浄後 15,000rpm15 分間遠心し、InstaGene DNA 精製マトリックス (Bio-Rad 社) を用いて遺伝子抽出した。PCR 法については、*M.bovis* は Subramaniam S. らの方法⁶⁾、他 2 菌種は Kobayashi H. らの方法⁷⁾により実施した。

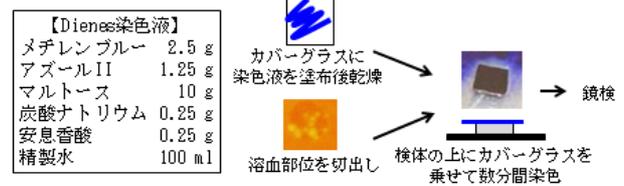
3) 分離培養：各検体の単コロニー状となった部位を切出し、Hayflick 液体培地で増菌培養後、平板培地を用いて単分離し、前述した遺伝子検査又は形態確認により分離状況を確認した。

4) 免疫学的検査：*M.bovis* 家兔免疫血清を用いて、今田らの方法³⁾に準じて酵素抗体法を実施した。標識抗体は Anti-IgG(H+L), Rabbit, Goat -Poly, HRP (Kirkegaard&Perry Laboratories), 発色は ABTS を用いた。

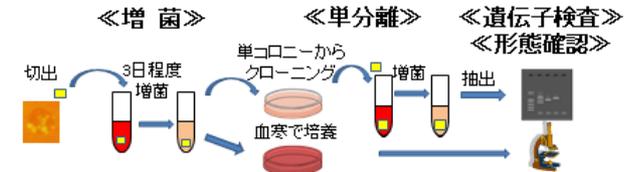
成績

1. 形態確認 (写真 3)：血液寒天培地の直接鏡検では、全菌種とも定法の Hayflick 培地上コロニーと同程度の目玉焼き状コロニー像が得られ、一般細菌との判別が可能であった。

【Dienes染色】



【分離培養】



【免疫学的検査】 (β溶血環形成部位の酵素抗体法)



図1 Dienes染色, 分離培養及び免疫学的検査法

Dienes 染色では、マイコプラズマ属菌に特徴的な目玉焼き構造が明確に認められ、菌種毎の特徴的所見、すなわち *M.bovis* は辺縁の明確な目玉焼き状を呈し、*M.bovirhinis* は目玉が比較的小さ目で辺縁が荒く、*M.bovigenitalium* は前 2 者の中間型で辺縁がコロナ状に毛羽立っている像を確認した。なお、濃厚菌液を接種した部位では、目玉の判別は困難であったものの、一面青紫色に良好に染色された。また、陰性対象とした黄色ブドウ球菌は染色されなかった。これらは β 溶血環の認められたすべての検体で確認可能であり、検査には約 30 分を要した。

2. 遺伝子検査 (表 1)：全菌種とも 9 割以上が陽性と検出されたが、一部、陰性と判定される検体も認められた。検査所要時間は約 4 時間であった。

3. 分離培養 (表 1)：全菌種すべての検体において、分離・同定が可能だった。検査には、約 7～10 日を要した。

4. 免疫学的検査 (写真 4)：検体 (*M.bovis*) は、コロニーに一致して特異的に青紫色に染色され、陰性対象として用いた *M.bovirhinis* 及び

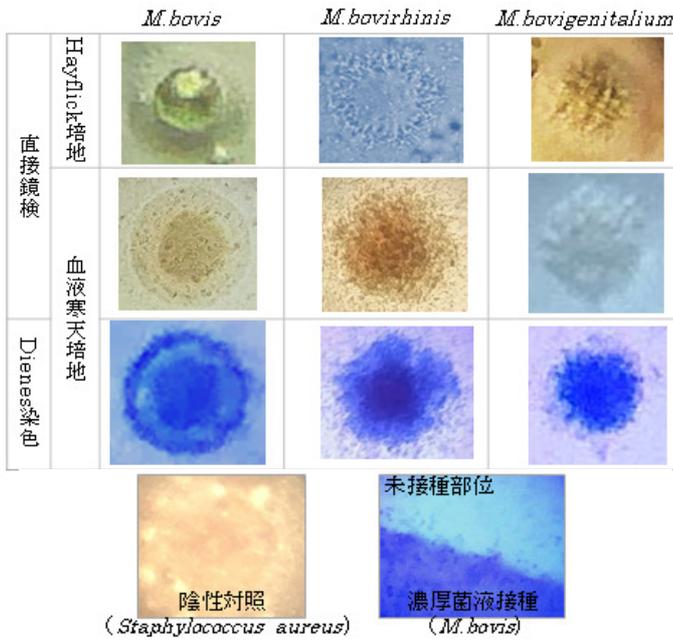


写真3 形態確認結果

M. bovigentalium は染色されなかった。検査所要時間は約4時間であった。

考察

これまで本県において、牛マイコプラズマ乳房炎の集団発生事例は認められていなかったが、平成27年度に搾乳牛約40頭飼養の1酪農家において3頭を初発としたマイコプラズマ乳房炎が集団発生し、最終的には搾乳牛群の約4分の1が淘汰に至った事例に遭遇した⁸⁾。本事例では当初、現場の検査で血液寒天培地上にコロニーを確認できないβ溶血環が認められていた。前述したように、本来、マイコプラズマ属菌は血液寒天培地等の一般的な培地に発育しないため、このようなケースは非常に稀であると考えられる。しかし、強い伝染力を持つ牛マイコプラズマ乳房炎の農家に与える経済的損害及び精神的ダメージは非常に大きく、一刻も早く対応可能な診断法を探る必要があるのではないかと考え、今回の検討を行った。

これまで、血液寒天培地からマイコプラズマ属菌検査が実施された報告はなかったが、今回の検討結

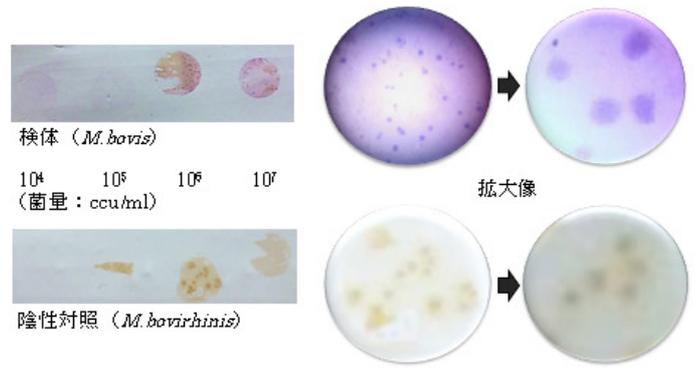


写真4 免疫学的検査結果

表1 遺伝子検査及び分離培養結果

【遺伝子検査結果】					
菌種 \ 菌量 (ccu/ml)	10 ⁴	10 ⁵	10 ⁶	10 ⁷	平均
<i>M. bovis</i>	NT	71.4	100.0	100.0	90.5
<i>M. bovirhinis</i>	100.0	100.0	NT	NT	100.0
<i>M. bovigentalium</i>	NT	100.0	83.3	100.0	94.4
(検出率:%, NT:未実施)					
【分離培養結果】					
菌種 \ 菌量 (ccu/ml)	10 ⁴	10 ⁵	10 ⁶	10 ⁷	平均
<i>M. bovis</i>	NT	100.0	100.0	100.0	100.0
<i>M. bovirhinis</i>	100.0	100.0	NT	NT	100.0
<i>M. bovigentalium</i>	NT	100.0	100.0	100.0	100.0
(検出率:%, NT:未実施)					

果から、血液寒天培地のβ溶血環からのマイコプラズマ属菌検査が可能であることが示唆された。表2に各検査方法の特性等を比較した。このうち現場では、特殊な機器等を必要としないβ溶血環の直接鏡検及びDienes染色が適していると考えられた。特に、Dienes染色は、染色性の有無によって簡易に一般細菌とマイコプラズマ属菌を判別可能で、検査所要時間も30分程度と短時間であったことから、通常マイコプラズマ属菌の検査を行わない現場における有用性が高いと考えられた。

病性鑑定施設に血液寒天培地が送付された場合は、今回実施のいずれの方法でもマイコプラズマ属菌の判別が概ね可能であると考えられた。特に、形態確認では、前述のように簡易に一般細菌との判別が可能であることに加え、検査者の熟練により菌種

表2 各検査方法の比較

検査方法	所要時間	必要な技術等	その他
形態確認 (直接及び染色)	約30分	簡易にマイコプラズマ属菌を判別可能 菌種特定には要熟練	特殊器具を要しない
遺伝子検査	約4時間	なし	夾雑物による反応阻害
分離培養	約7~10日	なし	薬剤感受性試験も可能 遺伝子検査よりも検出率が高い?
免疫学的検査 (<i>M. bovis</i>)	約4時間	やや有 (転写や洗浄等)	高い特異性 免疫血清を要する

の推定が期待できる。また、遺伝子検査と免疫学的検査は、共に約4時間程度で菌種同定が可能で、迅速診断法として適していると考えられた。一方で、遺伝子検査では夾雑物によると推定される偽陰性の検体も認められたことから、β溶血環の複数ヶ所・複数検体で検査を実施する必要があると考えられた。特に、今回は菌液を市販牛乳に浮遊させて検体を再現したが、実際には殺菌処理前の乳やバルク乳が塗抹された血液寒天培地であることから、細菌や乳のクリーム成分等が遺伝子抽出及びPCR反応を阻害する可能性を考慮する必要がある。免疫学的検査は、特異性が高く簡易に判別可能である一方、免疫血清を保有する施設でなければ実施できないことや、コロニーのメンブレン転写や洗浄時等の検査手技が結果に影響を与える可能性も考えられた。

これらのことから、マイコプラズマ属菌を疑うβ溶血環においては、各検査法の特性を考慮した検査を実施することにより、迅速かつ精確な診断及び農家対応が期待できると考えられた。

なお、今回の検討は保存株を用いて実施したため、初代分離の野外株において有用か否かは不明であり、今後、日常の病性鑑定検査を通して有用性の検証が必要と考えられる。しかしながら、形態確認については、現在、マイコプラズマ性疾病を疑う様々な病性鑑定事例においてPCR法のプライマー選択に活用しており、検査の効率化を図っているところである。

最後に、今回の報告は、非常に稀なケースである“現場が通常行う乳房炎検査で、血液寒天培地にコロニーを伴わない溶血環を認めた際の検査法を検討”したものであることを再度述べる。マイコプラズマ属菌は通常、血液寒天培地等の一般培地に発育せず^{1, 3)}発育条件は不明であるため、マイコプラズマ属菌分離を目的として血液寒天培地を使用した場合、偽陰性と判定する可能性が高いため推奨するべきではない。よって、精確な検査には、定法⁴⁾に基

づく適切な専用培地を用いることが基本である。このため、今後、本検討事項は補助的診断法として現場へも周知・活用し、より迅速かつ精確な診断による農家支援を行いたい。

参考文献

- 1) 秦英司 (2015). 牛マイコプラズマ乳房炎 北獣会誌, 59, 87-92.
- 2) 樋口豪紀 (2016). マイコプラズマ性乳房炎の現状と課題 動薬研究, No.67:12-19.
- 3) 尾形学監修 (1988). マイコプラズマとその実験法 第一版 株式会社近代出版
- 4) 農林水産省消費・安全局監修 (2016). 病性鑑定マニュアル 第四版 全国家畜衛生職員会
- 5) 赤尾信吉, 他 (1988). 月刊 MEDICAL TECHNOLOGY 別冊カラー版 染色法のすべて 医歯薬出版株式会社 302-304.
- 6) Subramaniam S, et al. (1998). Species identification of *Mycoplasma bovis* and *Mycoplasma agalactiae* based on the *uvrC* genes by PCR. Mol Cell Probes, 12, 161-169.
- 7) Kobayashi H, et al. (1998). In vitro amplification of the 16S rRNA genes from *Mycoplasma bovirhinis*, *Mycoplasma alkalescens* and *Mycoplasma bovigenitalium* by PCR. J Vet Med Sci, 60, 1299-1303.
- 8) 秋田真司, 他 (2016). 管内で発生したマイコプラズマ性乳房炎の集団発生事例とその対策 平成28年

度獸医学術中国地区学会講演要旨（未公刊）

牛アデノウイルス (BAV) 2型が関与した肉用牛肥育農場の下痢症

西部畜産事務所

○清水和 桑山勝

はじめに

牛アデノウイルス (BAV) は、アデノウイルス科 Mastadenovirus 属に属する血清型 1, 2, 3, 10 型と Atadenovirus 属に属する 4 ~ 8 型に分類される^{1, 2)}が、国内では BAV 血清型 7 型以下 BAV 7 型の被害報告が多く、分離事例としては、国内では BAV7 型袋井株が 1968 年に^{3, 4)}、広島県内では BAV 血清型 2 型以下 BAV2 型が 2006 年に⁵⁾報告されている。BAV 感染症は、臨床症状として発熱、咳、結膜炎などの呼吸器症状や下痢が単独あるいは他の病原体と合併して認められ⁶⁾、虚弱牛症候群の病原体としても知られている⁷⁾。今回、広島県内の農家で水様性下痢が流行し、下痢便から BAV2 型が分離された。BAV は病性鑑定における報告例が少ないことから、県内の浸潤状況を調査するとともに、今回、鑑定技術の向上を目的として、BAV2 型と BAV7 型の性状比較及び PCR 検査の検出条件を検討したので、その概要を報告する。

材料と方法

1 病性鑑定

(1) 発生概要

広島県内の肉用牛肥育農家 (飼養頭数: 黒毛和種 100 頭, 交雑種 400 頭) において、子牛を導入後 2 週間~1 か月後に下痢が発生、治療後、再発を繰り返すと病性鑑定依頼があった。当該農家は、2 週齢程度の濡れごを導入した後、導入 10 日目及び 30 日目に呼吸器 5 種混合不活化ワクチンを接種していた。また、当該農家は導入子牛をカーフハッチで飼育後、育成舎に移動し、徐々に群飼に移行していた。

(2) 材料

病性鑑定は、平成 27 年 5 月 27 日 (以下事例 1) に育成舎で飼育する 3 頭、6 月 5 日 (以下事例 2) にカーフハッチで飼育する 2 頭を採材し、材料は直腸便 5 検体と、発症期及び回復期に採材したペア血清 3 検体を用いた (表 1)。

表 1 採材子牛の概要

採材日	臨床症状	生年月日	直腸便	ペア血清
27. 5. 27 (事例 1)	27. 5. 1 ~ 下痢を繰り返す。黄色泥状下痢、一部に発熱 (40. 5°C)	27. 3. 8	○	○
		27. 3. 7	○	○
		27. 3. 1	○	○
27. 6. 5 (事例 2)	27. 5. 19 ~ 肺炎 5. 26 ~ 水様下痢、発熱 (39. 0°C)	27. 3. 31	○	
		27. 5. 5	○	

(3) 方法

ウイルス学的検査は、遺伝子検査として、Fukuda らの報告した⁸⁾下痢関連ウイルス RT-PCR 検査により、ロタウイルス A (GAR), B, C, 牛コロナウイルス (BCV), 牛トロウイルス (BToV) を検索し、分離検査として、直腸便を牛胎子筋肉細胞, MDBK 細胞及び Vero 細胞に接種し、37°C で 10~14 日間回転培養、3 代継代した。抗体検査は、BAV 分離株を用いた中和試験, GAR, BCV を HI 試験により実施した。分離株の同定は、物理化学的性状試験により実施し、確認検査としてラピッドテスト・アデノ (積水メディカル株式会社) を用いたイムノクロマト法による簡易試験を実施した。また、国立研究開発法人農業・食品産業技術総合研究機構動物衛生研究部門に遺伝子解析を依頼し、ウイルス培養上清

から BAV のヘキソン領域の一部を nested PCR 検査により増幅し、ダイレクトシーケンス法により 310bp の塩基配列を決定した。得られた配列データと既知の各血清型のウイルス（表 2）との間で遺伝子型別を実施した。細菌学的検査及び寄生虫検査は常法に従い実施した。

表 2 遺伝子解析に使用した BAV の塩基配列情報

Mastadenovirus 属	Accession no.
BAV-1	DQ630761
BAV-2	AF252854
BAV-3	BD133132
BAV-10	AF282774
Atadenovirus 属	Accession no.
BAV-4	AF036092
BAV-5	AF207658
BAV-6	AF207659
BAV-7	AF238232
BAV-8	AF238233

2 浸潤状況調査

平成 27 年度発生予察事業 11 月分の血清 49 検体を材料に、病性鑑定から分離された BAV2 型分離株（以下、BAV2 型分離株）を用いた中和試験により、県内の抗体保有率を調査した。対象牛の内訳は乳用牛 23 検体、肉用牛 27 検体で、月齢は 6～14 ヶ月齢であった。

3 分離株の性状の比較

BAV2 型分離株と BAV7 型袋井株の各種細胞への感受性を比較した。使用細胞は牛腎細胞, MDBK 細

胞, 牛精巢細胞, 牛胎子筋肉細胞を用いた。培養条件は 37℃, 回転培養により行い, 細胞変性効果 (CPE) により感染価を測定した。

4 PCR 検査の検出条件の比較

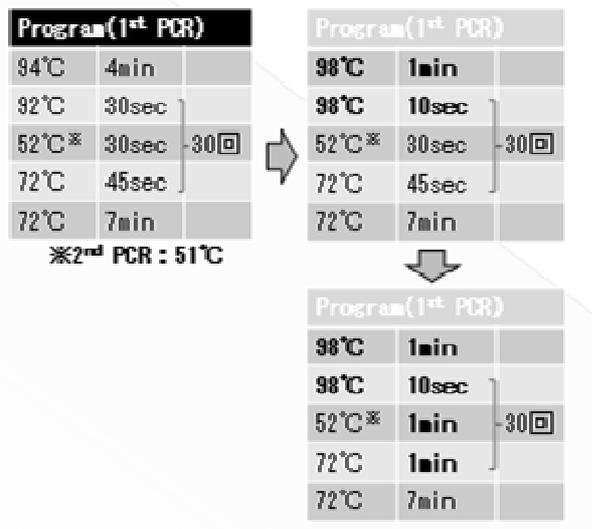
BAV2 型分離株の PCR 検査における検出条件を, BAV7 型袋井株を用いて比較検討した。材料は BAV2 型分離牛の直腸便乳剤及び細胞培養上清, BAV7 型袋井株の培養上清で, 試薬は TaKaRa Ex Taq (タカラバイオ株式会社), プライマーは Maluquer ら⁹⁾ 及び ANNIKA ら¹⁰⁾ の報告したヘキソン領域を標的とした PCR 法 (表 3), 機種はサーマルサイクラー PC-818S (株式会社アステック) 及び LightCycler96 (ロシュ・ダイアグノスティックス株式会社) を用いて, 検出条件を検討した。反応条件は, 1st PCR 反応を 94℃4 分の熱変性の後, 92℃30 秒, 52℃30 秒, 72℃45 秒を 30 サイクル, 72℃7 分の伸長反応で実施し, 2nd PCR 反応を 94℃4 分の熱変性の後, 92℃30 秒, 51℃30 秒, 72℃45 秒を 30 サイクル, 72℃7 分の伸長反応で行い, この条件を基礎とし, 反応温度及び反応時間を検討した (図 1)。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。

表 3 プライマーの塩基配列

				primer(5' -...3')							size		
M	1st	BALF	FW	<u>G</u> rT	GGT	<u>C</u> i <u>y</u>	TrG	AT <u>r</u>	Tr <u>A</u>	TGG	A	641bp	
		BARF	RV	AAG	<u>y</u> CT	<u>r</u> TC	ATC	<u>y</u> CC	<u>d</u> GG	CCA			
	2nd	BALN	FW	ATT	CA <u>r</u>	GT <u>w</u>	CC <u>w</u>	CA <u>r</u>	AA <u>r</u>	TTT	TTT	GC	430bp
		BARN	RV	CC <u>w</u>	GAA	TA <u>h</u>	<u>r</u> iA	AA <u>r</u>	TT <u>k</u>	GGA	TC		
A	hexAA1885	FW	GCC	GCA	GTG	GTC	TTA	CAT	GCA	CAT	C	308bp	
		hexAA1913	RV	CAG	CAC	GCC	GCG	GAT	GTC	AAA	GT		

M: Maluquer ら, A: ANNIKA ら, 下線: mix 塩基

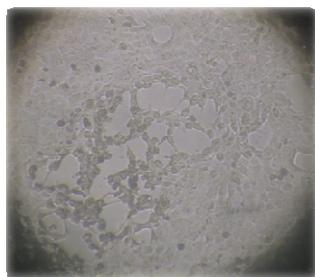
図1 反応条件



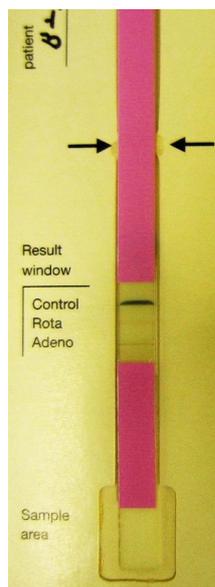
成績

1 病性鑑定

遺伝子検査では、事例1の1頭からGAR, 事例2の1頭からGAR, 2頭からBCV及びBToVの遺伝子が検出された。分離検査では事例1の1頭の直腸便からMDBK細胞の1代目で円形化のCPEを示すウイルスが分離された(写真1)(表4)。細菌検査は有意菌分離陰性で、寄生虫検査でコクシジウムが検出された。分離株は、物理化学的性状試験により、直径が100nm以下、エーテルに耐性有り、熱安定性有り、塩化マグネシウム添加で熱安定性を失ったことから、牛アデノウイルスと疑われた。



上：写真1 MDBK細胞における細胞変性効果(10×4倍、接種後6日目、10⁵ TCID₅₀/0.1ml)



右：写真2 簡易試験結果

直腸便のイムクロマト法による簡易試験では、GARとアデノウイルスで薄く陽性のラインが検出された(写真2)。遺伝子解析において、分離株はBAV2型No.19株¹¹⁾と核酸レベルで100%の相同性を示したことから分離株はBAV2型と推測された(図2)。抗体検査では、BAV分離株、GAR、BCVに対する有意な抗体価の上昇を認めた(表5)。以上のことから、事例1はBCV、GAR、BAV2型とコクシジウムの混合感染症、事例2はBCV、GAR、牛トロウイルスの混合感染症と診断した。

表4 遺伝子及び分離検査結果

採材日	遺伝子検査					分離検査
	GAR	GBR	GCR	BCV	BToV	
27.5.27 事例1	+	-	-	-	-	1代目 CPE+
	-	-	-	-	-	-
	-	-	-	-	-	-
27.6.5 事例2	-	-	-	+	+	-
	+	-	-	+	+	-

表5 抗体検査結果(事例1)

No.	BAV分離株		GAR		BCV	
	pre	post	pre	post	pre	post
1	<2	64	20	320	10	40
2	4	4	20	40	10	10
3	2	4	20	20	<10	20

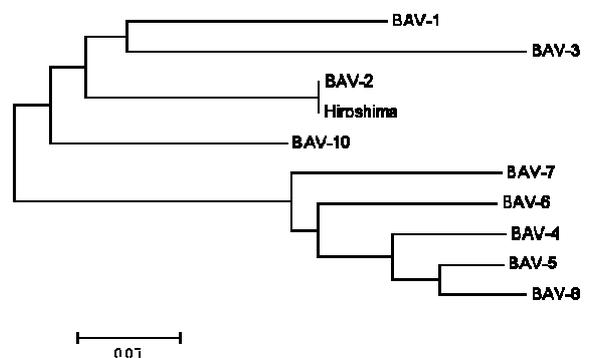


図2 系統樹解析結果

2 浸潤状況調査

BAV2 型に対する県内の抗体保有率は、県西部で 82.3%，県東部で 88.2%，県北部で 43.8%，全県下で 72.0%であった（表6）。

表6 BAV2 型浸潤状況調査結果

地域		実施頭数	陽性頭数	陽性率
西部	農家A	2	2	
	農家B	2	2	
	農家C	3	2	
	農家D	2	2	
	農家E	3	3	
	農家F	5	3	82.3(14/17)
東部	農家G	3	3	
	農家H	2	2	
	農家I	3	2	
	農家J	3	3	
	農家K	3	3	
	農家L	3	2	88.2(15/17)
北部	農家M	2	1	
	農家N	2	2	
	農家O	4	2	
	農家P	2	0	
	農家Q	4	0	
	農家R	2	2	43.8(7/16)

3 分離株の性状の比較

BAV2 型分離株は、MDBK 細胞での初代培養では $10^{6.0}$ TCID₅₀/0.1ml で、MDBK 及び牛腎細胞の両方で CPE を認め、3 代培養後で 10^8 TCID₅₀/0.1ml 及び $10^{8.5}$ TCID₅₀/0.1ml の感染価を示した。牛胎子筋肉細胞では CPE が確認されなかった。一方、BAV7 型袋井株は牛胎子筋肉細胞での初代培養では $10^{2.0}$ TCID₅₀/0.1ml であり、3 代培養後で $10^{1.0}$ TCID₅₀/0.1ml で、牛精巢細胞では感染価の上昇が認められ、

$10^{3.0}$ TCID₅₀/0.1ml であった。MDBK 細胞では CPE が確認されなかった。

4 PCR 検査の検出条件の比較

BAV2型分離株は、Maluquerらのプライマーでは分離牛の直腸便乳剤、細胞培養上清ともに未検出であったが、ANNIKAらのプライマーでは、双方から遺伝子が検出された。一方、BAV7型袋井株は、Maluquerらのプライマーでは検出されたが、ANNIKAらのプライマーでは未検出であった（図3）。病性鑑定指針^{1,2)}に記載されているMaluquerらのプライマーを用いて、BAV2型とBAV7型の両者の遺伝子を検出するために、BAV2型とBAV7型の感染価 $10^{5.75}$ ～ $10^{6.25}$ TCID₅₀/0.1mlの培養液を作成し、反応条件を検討したところ、直腸便乳剤、初代分離時の細胞培養上清と同様にBAV2型分離株は遺伝子が未検出となり、BAV7型袋井株は遺伝子が検出された（図4）。

熱変性条件の温度を94℃4分、92℃30秒から98℃1分、98℃10秒に変更し、実施したところ、BAV2型分離株でも薄く遺伝子が検出され（図5）、アニーリングと伸長反応の時間を30秒、45秒から、ともに1分に延長することで、BAV2型分離株及び7型袋井株の遺伝子を明瞭に検出することが可能となった（図6）。

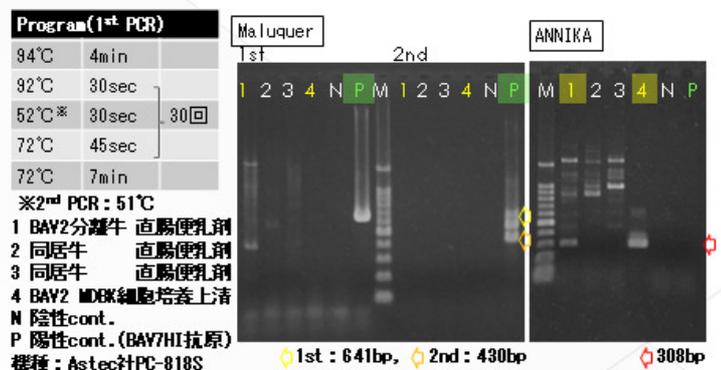


図3 プライマーの比較

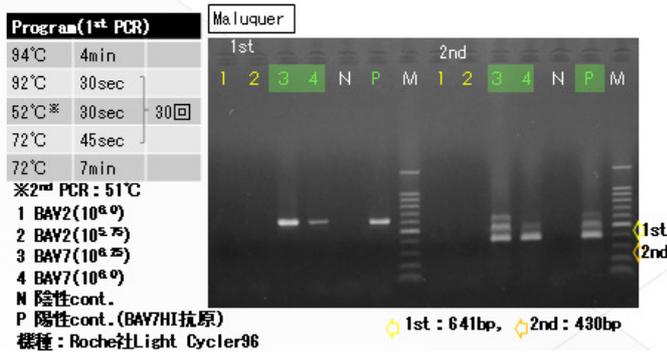


図4 反応条件の検討①

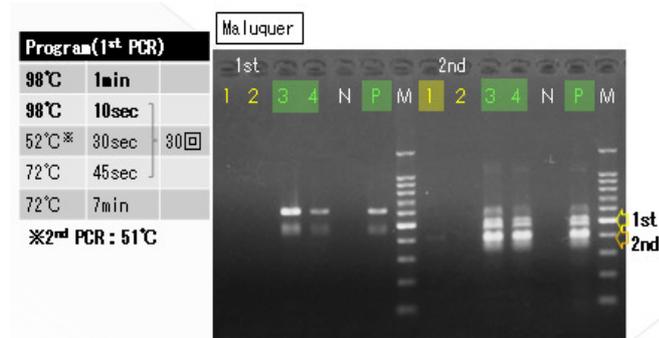


図5 反応条件の検討②

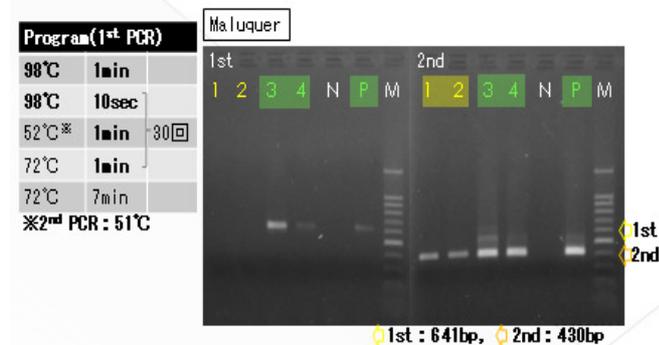


図6 反応条件の検討③

考察

今回、肉用牛肥育農場で発生した一連の下痢症には BAV を始めとした複数の病原体が関与しており、BAV は他の病原体との複合感染症により発症するという過去の報告^{3, 13)}と同様であった。また、既報においても、成牛よりも抵抗力の弱い子牛での発症率が高く、子牛での発生例が多く報告されている^{3, 14-16)}が、本事例も若齢牛からの分離例であった。県内の BAV2 型の抗体保有率は、1998 年及び 2005 年に平井らの報告においていずれも 100% であ

り⁵⁾、抗体保有率は若齢牛で高く、月齢が進むにつれ低下する傾向が見られた¹³⁾が、今回の調査では地域による差異を認め、特に北部地域では浸潤率が 0% 及び 50% の農家が各 33.3% の割合で存在し、調査対象農家における衛生管理意識の向上を反映しているものと推測された。一方で、県全体としては、依然として BAV 2 型が高率に浸潤していることを確認したが、今回の調査期間において下痢の報告は無く、一般的に BAV が健康家畜から検出される例も報告されていることから^{2, 16)}、引き続き BAV の動向に注意が必要と考えられた。

今回、BAV2 型は牛腎及び MDBK 細胞ともに良好な増殖が確認されたが、BAV7 株は牛胎子筋肉及び牛精巣細胞ともに CPE の発現に時間を要した。血清型により各種細胞での増殖性は異なったことから、BAV 野外株を分離するためには初代培養細胞を利用した適正な細胞の選択と、長期間培養できる工夫が必要と考えられた。また、PCR 検査では、当初、BAV2 型は Maluquer らのプライマーでは検出されなかったが、熱変性温度の変更及び反応時間の延長により検出することが可能となった。サイクル中の熱変性は増幅産物の解離が目的であるが、熱変性時間は GC 含有量、すなわち鋳型 DNA 中の GC 塩基対の割合が多いほど、高い温度でより時間をかける必要がある¹⁷⁾。また、今回使用した Taq 系試薬は、タカラバイオ株式会社の機種で使用する場合は、熱変性条件は 98°C, 10 秒、他社の機種を使用する場合は 94°C, 30 秒が推奨されていることから、BAV については試薬の使用説明書の記載に関わらず、機種に応じて熱変性条件を検討し、材料中の鋳型 DNA の水素結合を確実に解離させる必要があると考えられた。また、Maluquer らの方法は、プライマーの塩基対に混合塩基を多く含むことで、複数の血清型が存在する BAV の検出に適した方法となっているため、BAV の遺伝子診断には、用いる試薬や機種に適した反応条件を確認することが重要と考えられた。

大規模・集約化が進む生産現場では、常に感染症の発生と蔓延が懸念される状況にあり、特に子牛の下痢症は発育不良や死亡による経済的損失が大きい。今回、牛アデノウイルス感染症に対する防御対策の重要性が再認識されたことから、引き続き、分離検査及び遺伝子検査を有効に活用し、診断技術の向上に努めていきたい。

謝辞

最後に BAV2 型分離株の遺伝子解析と BAV 7 型袋井株を分与していただいた国立研究開発法人農業・食品産業技術総合研究機構動物衛生研究部門寒地酪農衛生研究領域の菅野徹先生に深謝します。

参考文献

- 1) Bartha, A.: Proposal for subgrouping of bovine adenovirus. *Acta Vet.* 19, 319-321 (1969)
- 2) JUBB K.V.F., et al.: Pathology of Domestic Animals, 3rd ed., Academic Press Inc., New York and London, Vol2, 116-117 (1985)
- 3) Inaba Y., et al.: Bovine adenovirus II. A Serotype, Fukuroi, Recovered from Japanese cattle, *Jpn. J. Microbiol.*, 12(2), 219-229 (1968)
- 4) Minoru M., et al.: New Serotype 7 of Bovine Adenovirus, *Jpn. J. Microbiol.*, 14(5), 430-431 (1970)
- 5) 平井潤思ら: 下痢症を呈した牛からの牛アデノウイルス2型の分離, 14, 平成18年度獣医学術中国地区学会講演要旨(2006)
- 6) 門井克幸: 牛アデノウイルス病, 獣医伝染病学, 第5版, 近代出版, 95 (2000)
- 7) 萩野弘明ら: 放牧牛にみられたアデノウイルスによる出血性腸炎, 日獣会誌, 45, 170-173
- 8) Fukuda M., Tsunemitsu H.: Development and application of one-step multiplex reverse transcription PCR for simultaneous detection of five diarrheal viruses in adult cattle, *Arch Virol.*

157(6), 1063-1069 (2012)

9) Maluquer de Motes, C., et al.: Detection of bovine and porcine adenoviruses for tracing the source of faecal contamination, *Appl. Environ. Microbiol.* 70, 1448-1454 (2004).

10) ANNIKA ALLARD, et al.: Polymerase chain reaction for detection of adenoviruses in stool samples, *J. Clin. Microbiol.*, 28(12), 2659-2667 (1990)

11) Salmon K., et al.: Subcloning and restriction enzyme mapping of bovine adenovirus type 2, *Intervirology*, 36(2), 72-78 (1993)

12) 農林水産省消費安全局監修: 病性鑑定マニュアル 第4版(2016)

13) 稲葉右二ら: 牛アデノウイルス病, 牛病学, 第2版, 近代出版, 197-200 (1988)

14) 萩谷香織ら: 牛アデノウイルス5型が分離された肉用子牛の病態と浸潤状況調査, 1, 平成二十年度全国家畜保健衛生抄録 (2009)

15) 曾地雄一郎ら: 黒毛和種牛にみられた牛アデノウイルス4型感染を伴う腸管外病原性大腸菌感染症, 2, 平成二十六年度全国家畜保健衛生抄録 (2015)

16) J.P. ORR: Necrotizing Enteritis in a Calf Infected with Adenovirus., *Can Vet J.*, 25, 72-74 (1984)

17) 中山広樹: PCRの基本プロトコール, バイオ実験イラストレイテッド3巻, 第1版, 秀潤社, 45-59 (1996)

過去6年間の牛の下痢症ウイルスの検出状況（平成22～27年度）

西部畜産事務所

○桑山勝 清水和

はじめに

牛のウイルス性の下痢症は、一般に伝播が早く、乳量の低下など経済的損失の原因となることが知られている^{4),14),11),17)}。このため、早期に発見し、拡大防止に努めることが重要である。

牛の下痢の原因となるウイルスには、成牛や子牛に下痢を起こし、冬季赤痢の原因としても知られている牛コロナウイルス（BCV）^{12),17)}、主に子牛の下痢の原因となるA群ロタウイルス（GARV）¹⁷⁾、成牛の下痢の原因となるB群及びC群ロタウイルス^{4),9),11),14),17)}、近年、分離に成功し、下痢への関与が疑われる牛トロウイルス（BToV）などが知られている^{5),3),13),15)}。

広島県では平成8年度から牛コロナウイルス（BCV）に対するPCR法を導入し、また、平成26年2月からは5種類の下痢症関連ウイルス（BDV）、すなわち、BCV、牛A群ロタウイルス（GARV）、牛B群ロタウイルス（GBRV）、牛C群ロタウイルス（GCRV）及び牛トロウイルス（BToV）検出用マルチプレックスPCR法（m-PCR）を導入し、5種類のBDVの早期検出を実施し、検査結果を各家畜保健衛生所（家保）防疫課を通じて、農家や関係団体に情報提供することにより、BDVの拡大防止に努めている。

今回、広島県で平成22年度から27年度の6年間におけるBDV検出状況を取りまとめたのでその概要を報告する。

材料と方法

材料は、BDV疑いで病性鑑定（病鑑）依頼のあった70症例の糞便を用いた。経営形態の内訳は全年度

において酪農家（酪農）が最も多く、のべ41症例、和牛繁殖農家（繁殖）は17症例、肥育農家（肥育）は12症例であった（表1）。

方法は、発生状況及び依頼家保が実施した各検査結果については、病鑑依頼書に依った。なお、GARVに対するイムノクロマト法（ディップスティック栄研ロタ 栄研化学 東京都）は主に病鑑依頼家保が実施した。

ウイルス学的検査のうち、分離はMDBK, Vero, 牛胎子筋肉の各細胞で実施した。遺伝子検査は、平成26年1月まで、ほとんどはBCVに対するPCR¹⁰⁾のみ行い、同年2月以降、m-PCR¹⁾に変更した。

細菌学的検査は、常法により好気及び嫌気培養を行った。

成績

BDVは6年間に70症例中52症例から検出されたが、BCVが25症例（36%）と最も多く、次いでGARV17症例（24%）（イムノクロマト法の結果を含む）、GBRV3症例、GCRV2症例、複数のBDVが検出されたのは全部で5症例あり、その内訳はBCVとGARVが3症例、GARVとBToVが1症例、BCV、GARV及びBToVが1症例であった。BDV未検出も18症例あった（図1）。また、m-PCR導入前後のBDVの検出状況を比較したところ、導入前がBCV、GARV、GBRVの3種類であったが、導入後はGCRV、BToVを加えた5種類全て検出され、検出率も導入前の65%から、導入後82%と高くなっていた（図1）。

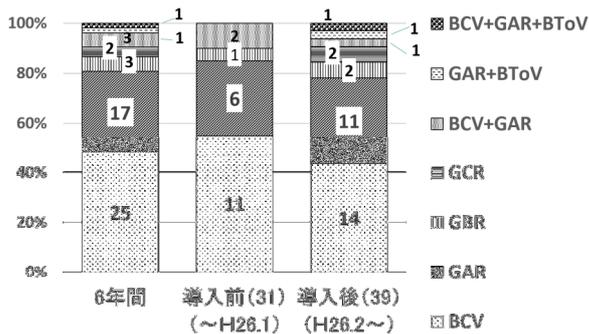


図1. 下痢症関連ウイルス(BVD)検出状況

6年間の月別のBDV検出状況を比較したところ、BDVは9月以外の11ヶ月で検出され、11月から4月までが41症例(79%)、5~10月までが11症例(21%)と、秋から春にかけて多く検出された(図2)。

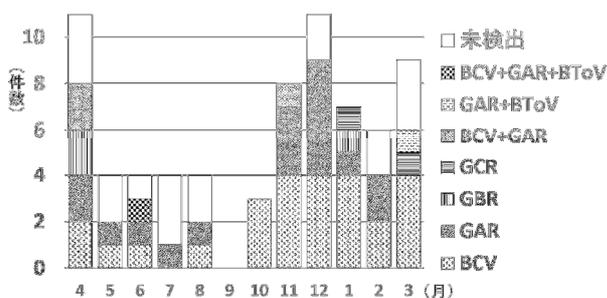


図2. BDV検出状況(月別)

また、BDV未検出であった症例数は11月から4月までが10症例、5~10月までが8症例と大きな差はなかった(図2)。また、依頼件数は11~4月が51症例(73%)、5~10月19症例(27%)であった(図2)。

発症牛別のBDV検出状況は、成牛のみの発症では、BCVが14症例と最も多く、ついでGARV5症例、GBRV3症例、GCRV2症例であった(図3)。育成牛でも、BCVが6症例と最も多かったのに対し、子牛ではGARVが10症例と最も多く検出された(図3)。また、成牛、子牛及び育成牛に発生した症例ではBCVが多く検出された(図3)。

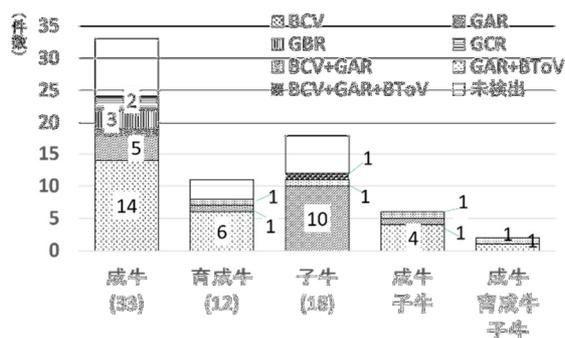


図3. BDV検出状況(発症牛別)

複数のBDVが同時期に検出された症例では、いずれも子牛又は育成牛の単独、あるいはそれらを含む症例に認められ、成牛単独の症例はなかった(表1)。BTovは肥育子牛からのみ検出され、単独での検出例はなかった(表1)。

表1. 複数の下痢症関連ウイルス検出症例

検出BDV	飼養の別	発症牛の別		
		成牛	育成牛	子牛
BCV+GAR	酪農	○		○
	繁殖	○	○	○
	肥育		○	
GAR+BTov	肥育			○
BCV+GAR+BTov	肥育			○

BDVが検出された症例別に下痢便の性状を病鑑依頼書からまとめた(1症例で複数の記載有り)ところ、BCVを含むBDV検出症例29症例(BCVのみの検出25症例、BCVを含む複数のBDV検出4症例)中18症例(62%)で血様便が認められた(図4)。また、GARVを含むBDV検出症例では子牛を含む症例の割合が多い(22症例中10症例)ため黄白色便が45%認められた。GBRV検出症例3症例では全て水様便が認められた(図4)。

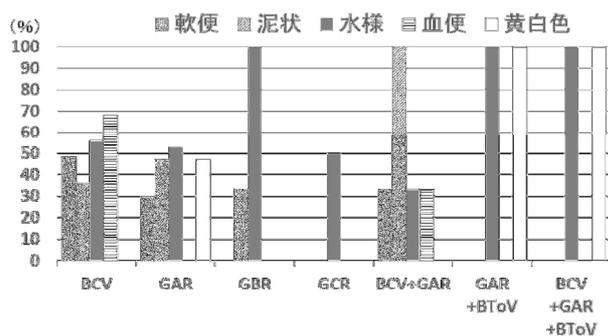


図4.下痢便の性状(BDV検出症例別)

BDV 未検出症例 18 症例中 6 症例は細菌または寄生虫の関与が疑われた (表 2)。このうちサルモネラ属菌が分離された症例が酪農家の成牛で 2 症例あり、いずれも水様及び血様便が認められた (表 2)。

表2.BDV以外の原因が推定された症例

病原体	飼養形態	発症牛別	便の性状			
			軟便	泥状	水様	血便
大腸菌	繁殖	子牛			○	
大腸菌	繁殖	子牛			○	○
コクシジウム, エンテロウイルス	肥育	子牛	○	○		
コクシジウム, クロストリジウム, 大腸菌	肥育	育成	○			○
<i>S. Typhimurium</i>	酪農	成牛			○	○
<i>S. Cremieu</i> , クロストリジウム	酪農	成牛			○	○

このほか、コクシジウムが検出され、エンテロウイルスが分離された症例と、コクシジウムとクロストリジウム及び大腸菌が有意に分離された症例があった (表 2)。

m-PCR 導入前に病原体が検出されなかった症例 12 症例のうち、発生時期が平成 26 年 3~4 月に近く、下痢便の性状も似ていた 4 症例について m-PCR を実施したところ、3 症例から GBRV が検出された (表 3)。

表3. 病原体未検出病鑑の内訳

受付年月	飼養形態	発症牛別	便の性状				備考
			軟便	泥状	水様	血便	
H28.3	酪農	成牛	○		○		
H27.5	#	#			○		
H27.2	肥育	子牛		○	○		
H26.5	#	育成		○		○	
H25.4	酪農	成牛			○	GBR検出	
H25.4	#	#		○	○	○	
H25.3	#	#	○		○		
H25.3	#	#			○	GBR検出	
H24.12	繁殖	育成		○	○		
H24.7	#	子牛			○		
H22.12	酪農	育成		○	○		
H22.8	#	#	○		○		

まとめ及び考察

これまで BCV の遺伝子検査と GARV のイムノクロマト法が中心であった BDV 検査は、m-PCR の導入に伴い 5 種類の BDV を一回の検査で検出可能となり、検査の効率化につながった。m-PCR 導入前は、BCV と GARV 以外では GBRV の検出 1 症例のみであったが、導入後は GBRV, GCRV 及び BTov の検出が併せて 7 症例あった。また、m-PCR 導入前に BDV 未検出であった 3 症例から m-PCR により GBRV が検出された。加えて、複数の BDV の同時検出も可能となったことから、m-PCR 導入前は BCV と GARV が検出された 1 症例だけであったが、導入後は BCV と GARV 2 症例、GARV と BTov 1 症例、BCV, GARV 及び BTov 1 症例の計 4 症例あった。その結果、BDV の検出率は 65% から 82% と向上が図られた。

検出された BDV のうち、成牛では BCV が最も多く、次いで GARV, GBRV, GCRV の順に検出され、子牛では BCV が最も多く検出された。

児玉らは BCV ワクチンを的確に接種することにより、HI 抗体価が感染防御可能であるとされている 160 倍以上に上昇し、48 週間以上その効果が持続したと報告している 6)。

また、子牛で最も多く検出された GARV は、成牛でも報告例があり、今回 5 症例から検出された 8)。

小沼らは成牛の場合、ワクチンによる中和抗体価が128倍以上ではGARVによる下痢は認めなかったが、64倍以下では発症の有無は個体により異なっていたと報告している⁷⁾。阿部らはロタウイルスワクチンの接種により、GARVによる下痢予防や症状の軽減が示唆されたと報告している²⁾。

このことから、両ウイルスとも的確なワクチン接種により十分な抗体を保有することが下痢予防及び症状の軽減に重要と考えられた。加えて、BCVの抗原性は単一でワクチンは既存の株には効果があるといわれているが、GARVは抗原性が多様であるため、下痢の原因となった株とワクチン株との抗原性の違いを解明することが重要と考えられた¹⁶⁾。

BToVについては、下痢の原因という報告もあるが、今回は他のBDVと同時に検出されていることから、下痢への関与は不明であった^{5), 3), 13), 15)}。本ウイルスの下痢への関与については今後もデータの蓄積が必要と考えられた。

冬季赤痢として知られるBCVだけでなく他のBDVも11月から4月に多く検出されたことから、寒い時期、あるいは寒暖の差の激しい時期には特に注意を払う必要があると考えられた。

また、今回、2例のサルモネラ症が認められたが、水様あるいは血様便を呈した場合には、BCVだけでなくサルモネラ属菌も考慮して、検査を進める必要があることを再認識した¹⁷⁾。

最後に、m-PCRの導入により、BDV検出率は向上したが、病原体未検出例が9症例あったことから、新たな病原体や検査法についての情報収集や技術の習得に努め、検出率の向上を図っていきたい。

参考文献

- 1) 葛城肅仁ら：下痢，乳量減少及び食欲不振が認められた搾乳牛の牛B群ロタウイルス感染，日獣会誌 59, 254-258 (2006)
- 2) Tsunemitsu, H., et al : Isolation,

characterization, and serial propagation of a bovine group C rotavirus in a monkey kidney cell line (MA104), J. Clin. Microbiol., Vol. 29(11), 2609-2613 (1991)

- 3) Mawatari, T., et al : Detection of a bovine group C rotavirus from adult cows with diarrhea and reduced milk production, J. Vet. Med. Sci., 66(7), 887-890 (2004)

- 4) 清水悠紀臣ら：獣医伝染病学(第4版)，近代出版，98-101, 123-124(1995)

- 5) Natsuaki, S., et al : Fatal winter dysentery with severe anemia in an adult cow, J. Vet. Med. Sci., 69(9), 957-960 (2007)

- 6) Chang, K. O., et al : Detection of group B rotaviruses in fecal samples from diarrheic calves and adult cows and characterization of their VP7 genes, J. Clin. Microbiol., Vol. 35(8), 2107-2110 (1997)

- 7) 伊藤美加ら：石川県における牛トロウイルスが関与した下痢症，日獣会誌，65, 350-354 (2012)

- 8) Kuwabara, M., et al : First isolation of cytopathogenic bovine torovirus in cell culture from a calf with diarrhea, Clin. Vaccine Immunol., Vol. 14, 998-1004 (2007)

- 9) 秦 葉奈子ら：釧路管内における牛トロウイルスの分子疫学的解析および浸潤状況調査，北獣会誌，60, 5-9 (2016)

- 10) 八重樫岳司ら：岩手県における牛トロウイルスの初分離事例と浸潤状況，岩獣会報，Vol.39 (No.1), 16-19 (2013)

- 11) 恒光 裕ら：PCR法による牛コロナウイルス遺伝子の検出，第122回日本獣医学会講演要旨集，175 (1996)

- 12) Fukuda M., et al: Development and application of one-step multiplex reverse transcription PCR for simultaneous detection of

- five diarrheal viruses in adult cattle, Arch Virol. 157(6), 1063-1069 (2012)
- 13)児玉英樹ら:牛コロナウイルス病ワクチンの経済評価と予防体制の確立, 岩獣会報, Vol.37 (No.4), 177-180 (2011)
- 14)Sato, M., et al : Isolation of serotype G8, P6[1] bovine rotavirus from adult cattle with diarrhea, J. Clin. Microbiol., Vol. 35(5), 1266-1268 (1997)
- 15)小沼成尚ら: 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)
- 16)阿部憲章ら: 主要因として牛A群ロタウイルスの関与が示唆された黒毛和種子牛の下痢症の予防対策, 岩獣会報, Vol.31 (No.3), 74-76 (2005)
- 17)石丸雅敏: 4牛ロタウイルス感染症ワクチン (3価不活化ワクチン) 及び牛コロナウイルス感染症ワクチン (不活化・混合不活化ワクチン), 日獣会誌, 63, 589-590 (2010)

県産和牛増産に向けた畜産技術センターの取組

総合技術研究所 畜産技術センター

○山本哲史 山本祐輔

目的（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」を策定し、平成 32 年の県産和牛出荷頭数 6,000 頭の実現に向け、関係機関をあげて取組んでいる。

本年度から、本県は乳用牛を借り腹とした和牛受精胚移植による肥育素牛増産に取組んでおり、当センターは、和牛からの経膈採卵・体外受精技術を活用した受精胚生産に取組んでいる。生産目標は全国的にもこれまでに例のない、年間 1,500 個の供給を計画しており、それを現在実行している。今回は、その取組み内容について紹介するとともに、体外受精胚の生産・供給の進捗状況について報告する。

取組内容

1 施設及び機器の整備

採卵、体外受精、培養及び凍結保存に必要な施設・機器を平成 28 年度に追加整備した（図 1）。



図 1 新たに整備した受精胚培養室

2 供卵牛の確保

当センターが管理する供卵牛（畜技 C 採卵）に

え、全国農業協同組合連合会広島県本部の広島系統牛保存センターで飼養されている和牛繁殖雌牛を借上げ、供卵牛として活用した（全農採卵）。

さらに今年度は農家からの申請に基づき、手数料を徴収した上で、農家所有の雌牛からも体外受精胚の生産を行った（現地採卵）。

3 生産（人員）体制の整備

効率的な受精胚生産を実現するため、当センター職員を 3 名×2 班配置し、採卵、体外受精及び凍結処理等を実施した。

成績

平成 28 年 11 月末現在の実績を示す。

1 経膈採卵頭数

経膈採卵（延べ）頭数は 129 頭で、内訳は表 1 のとおりであった。実績は昨年度同期の 1.5 倍以上であり、今年度の採卵頭数は過去最多となる見込みである（図 2）。

表 1 採卵頭数の内訳（延べ頭数、11 月末現在）

	畜技C	全農	現地	合計
頭数	50	63	16	129

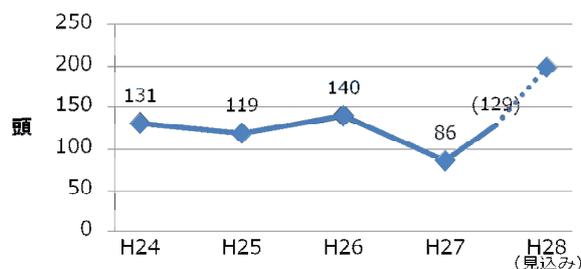


図 2 過去 5 年間の採卵頭数の推移

2 受精胚生産成績

(1) 供卵牛別の成績 (図3)

経膈採卵によって供卵牛1頭から回収される卵子の数(回収卵数)は、畜技C採卵に比べ、全農及び現地採卵で多かった。また、1頭から生産される移植可能胚数は全農採卵が畜技C採卵よりも多く、現地採卵においても多い傾向が認められた。一方で、回収卵数に占める移植可能胚の割合(移植可能胚割合)は、供卵牛による差は認められなかった。

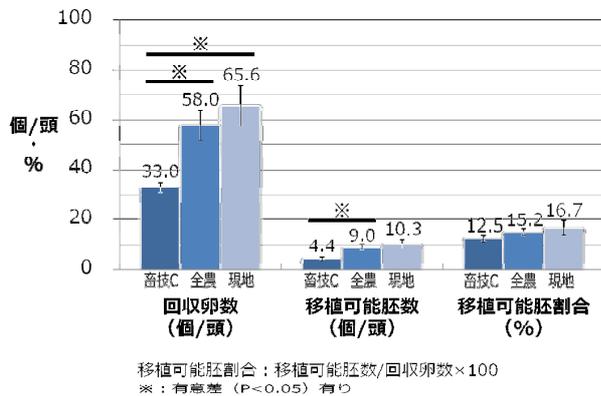


図3 供卵牛別の体外受精胚生産成績

(2) 妊娠の影響

全農採卵では、妊娠牛からも採卵を実施した。その成績を図4に示す。回収卵数、移植可能胚数及び移植可能胚割合について、非妊娠牛と妊娠牛との間で差は認められなかった。

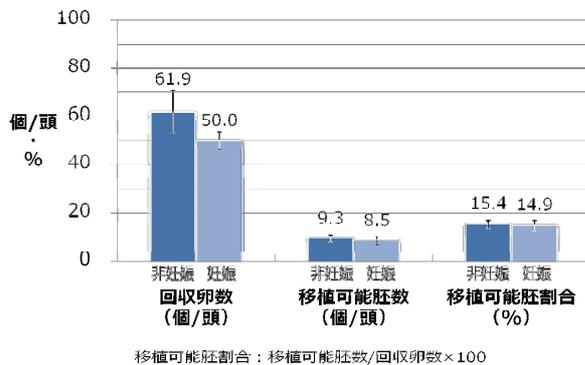


図4 妊娠の有無が体外受精胚生産に及ぼす影響

(3) 体外受精胚の生産・供給

今年度の体外受精胚の生産・供給状況は図5のとおりであった。11月末現在の実績は生産数996個、

供給数が800個と、すでに過去最多となり、今年度の生産数量目標1,500個が概ね達成可能な見込みである。

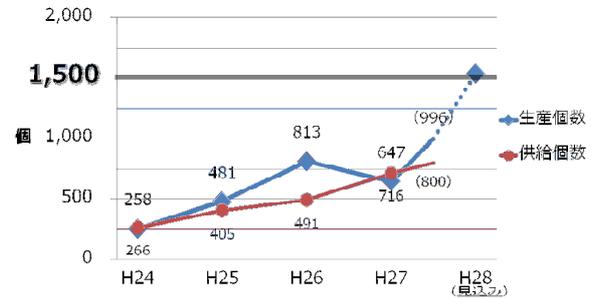


図5 過去5年間の体外受精胚生産及び供給数の推移

(4) 体外受精胚の受胎率

現地採卵では移植後の受胎率について調査が行われており、その結果を図6に示す。現地採卵で当センターが生産した受精胚(凍結胚)の受胎率は50%となり、全国平均(39%)よりも高かった。

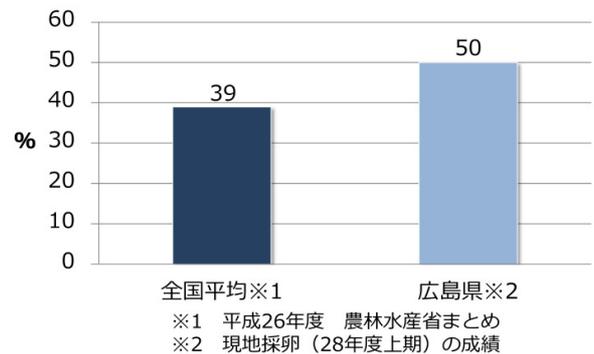


図6 現地採卵で生産した体外受精胚の受胎率

まとめ

当センターでは今年度、県産和牛増産に向け、体外受精胚の大幅な生産数増加に取り組んだ。

まず、施設・機器及び人員体制の整備により採卵頭数増加への対応を可能にした。また、全農採卵や現地採卵の実施に加え、妊娠牛の活用等によって、より効率的な供卵牛の確保を実現した。これらの取り組みによって体外受精胚の生産能力が向上し、目標としていた年間1,500個の受精胚生産が達成可能な見込みとなった。

さらに、生産した体外受精胚の受胎率は全国平均

を上回っており、生産数を増加させながら品質についても一定の水準以上を確保していることが示された。

今後は、受胎性の高い受精胚の安定的な供給を可能にする技術の確立に向けて試験研究を継続的に実施し、県産和牛増産のための受精胚移植のさらなる普及・定着を図る計画である。

ウシ受精卵の作製技術向上と早期雌雄判別時期の研究

広島県立西条農業高等学校 畜産科2年

○岡野朝 山田優太 朽木千秋

はじめに

ウシの雌雄産み分け法の一つに、受精卵の細胞の一部を採取し、DNA配列による雌雄判別後の移植によって産み分ける方法がある。その場合、残された細胞を修復するのであれば、早期に細胞の一部を採取し、修復にはある程度時間をかけた方がより質の高い受精卵に成長するのではないかと考え、検討した。また、発生率をさらに向上させる方法として、成熟培養時の処理方法や、同一種雄牛から生産された性判別精液を用いて優秀な受精卵の作製について検討し、考察した。

目的

1. 雌雄判別のための細胞剥離時期の検証
2. 卵子の成熟培養時の条件を検討
3. 雄胚、雌胚の発育スピード・発生率の違いを検証
4. 判別結果の検証

実施計画

1. 実験期日

- 4・5月 畜産技術センターとの連携・協力依頼
- 3月22日～30日 実験①・・・目的①
- 6月8日～17日 実験②③
- 6月22日～30日 実験②③ ・目的②③
- 7月6日～15日 実験②③
- 12月8日 雄判別卵受精卵牛の分娩（乳牛）
（昨年度より） ・目的④
- 12月27日 雄判別卵受精卵牛の分娩（和牛）
（昨年度より） ・目的④

2. 実施内容

- 1) 3日目胚と5日目胚を使って細胞剥離後、7日目胚までの修復程度の比較を行う。（実験①）

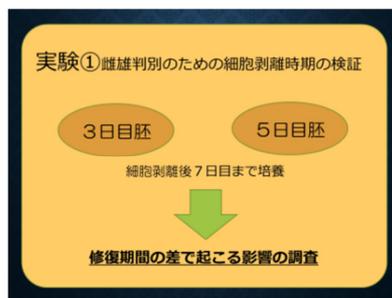


図1 胚の修復程度の差

- 2) 以下のように成熟培養時の条件を変え、体外受精卵の発生成績を調査する。a) 1分間ずつ揺らす（培地揺動区）、b) 培地を新しくする（培地交換区）、c) 静置（静置区）。（実験②）



図2 成熟培養時の条件

- 3) 同一種雄牛から生産された雌雄の性判別精液を用いて体外受精を行い、雄胚および雌胚の発育スピードや発生成績、生産胚の雌雄を調査する。（実験③）

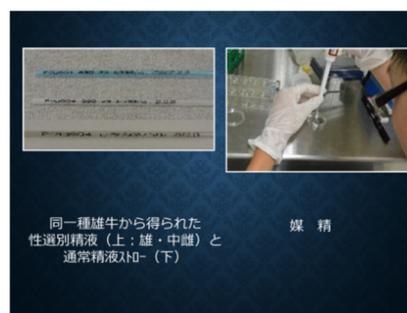


図3 雌雄の性判別・通常精液

4) 体外受精後の雌雄判別胚の移植により産み分けを実現する。(実験④)

3. 実験手順



図4 7日目までの培養手順

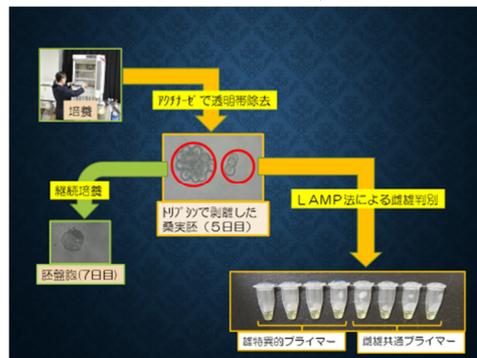


図5 細胞剥離後の雌雄判別手順

4. LAMP法による雌雄判別

雌雄判別はLAMP法で行った。牛胚性判別試薬キットを使い、サーマルサイクラーで増幅反応条件を63℃・35分、80℃・2分とし、濁度測定装置がないので目視による雌雄の判定を行った。雌雄共通プライマーによる反応で正しく反応が進んだか確認し、雄特異的プライマーによる反応で濁りが確認できれば雄、なければ雌と理解する。



図6 LAMP法による雌雄判別方法

結果

1.7日目の胚盤胞率は、3日目胚区(8細胞期胚)10%、5日目胚区(桑実胚)40%となった。

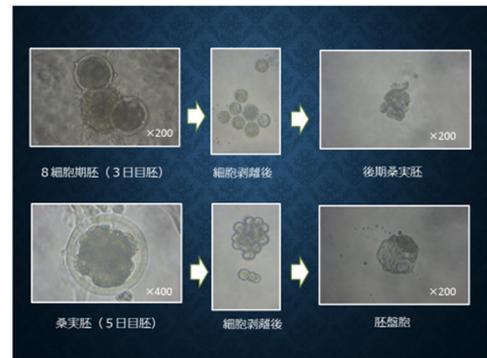


図7 発育の様子

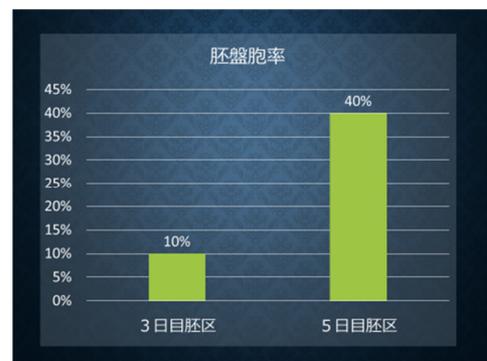


図8 胚盤胞率の比較

2. 成熟培養時の条件については、培地揺動区では、成熟培養開始の2時間後と4時間後に1分間、加温版の上で揺らした。培地交換区では、4時間後に体外成熟培養液を交換した。それによって、優良胚生産率は培地揺動区30%、培地交換区52%、静置区48%となった。

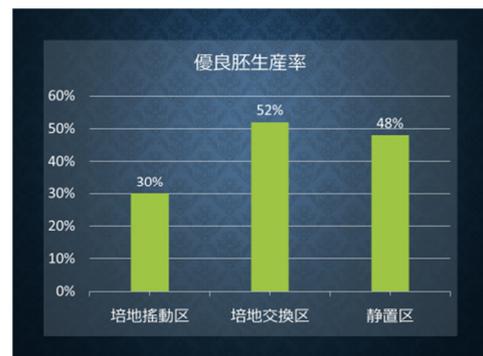


図9 成熟培養時の条件と優良胚生産率

3. 同一種雄牛から得られた雄・雌の精液、および通常精液について、それぞれ媒精した。

その結果、精液別優良胚生産率は雄精液26%、雌精液33%、通常精液53%となった。

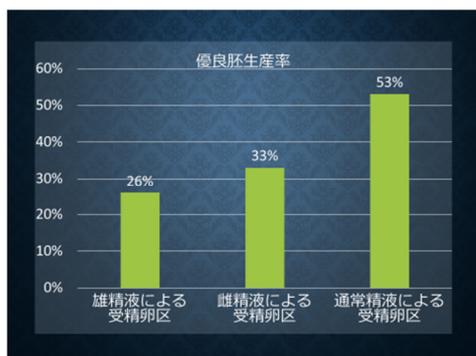


図10 性選別・通常精液と優良胚生産率

4. 一昨年の12月、SSH研究と並行して行われた第18回動物バイオテクノロジー公開講座で、本校の和牛からOPU技術で採取された体外受精卵の雌雄判別結果である。(下段：雌雄共通プライマーによる反応では3つの陰性がみられた。本来全部陽性・白濁すべきだが何らかの操作ミスと考えられる。したがって、上段の中3つは雌雄判断ができない。上段の陽性・白濁は雄4個、雄ではない=雌1個)



図11 雌雄判別結果

性判別卵の雄胚をレシピエントへ移植し、平成28年12月8日と12月27日に2頭の和牛雄子牛誕生に成功した。



図12 分娩①レシピエント：アイリス



図13 分娩②レシピエント：やよい

考察

- 実験①について、胚盤胞率は、3日目胚(8細胞期)より5日目胚(桑実胚)の方が30%高く、3日目胚区では、トリプシンによって細胞間の結合を弱めるとばらばらになるケースがみられた。分裂回数が少なく割球が少数で大きいため、性判別のために1~2個取られるとそのダメージが大きく修復が難しくなると考えられた。
- 実験②について、培地交換区が受精卵の成熟には良いことが分かった。シャーレを揺動することで、培地内のより新鮮な液に触れることができると考えたが、胚同士を刺激することの方が多いと考えられた。

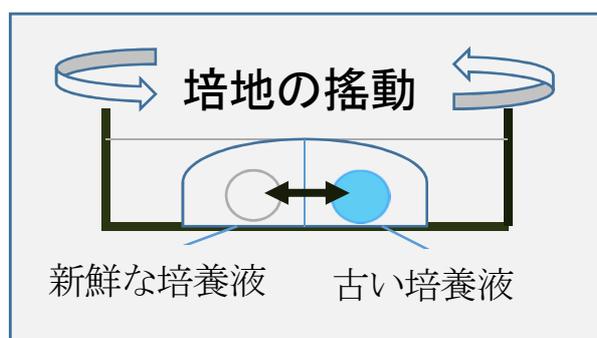


図14 培地揺動区内での胚の関わり

- 実験③について、通常精液による優良胚生産率が一番よかったが、受精卵53%の半分が雌胚だとすると、雌胚の生産率は27%となる。雌精液による受精卵では生産率が33%であるため、「雌生産」のためには雌選別精液を使う方が効率的と考えられる。

性判別精液及び通常精液による生産胚の違いを見るときに、それぞれの区で生産率が違うので正確なこと

は言えないが、雌胚の方が発育と質が良く、雄胚では発育にばらつきがあるような傾向がみられた。

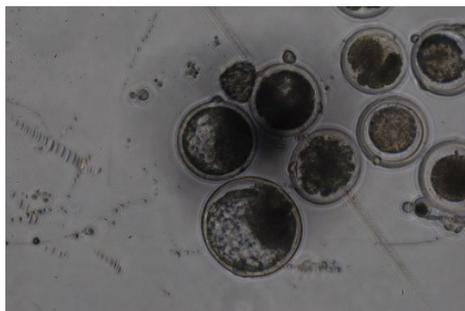


図 15 雄受精卵 (7日目)

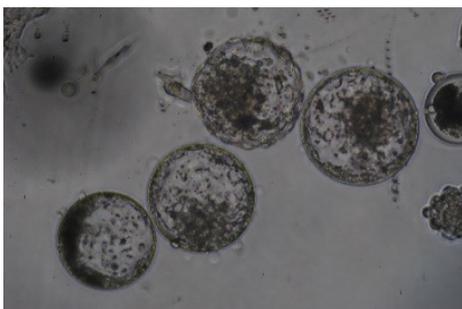


図 16 雌受精卵 (7日目)

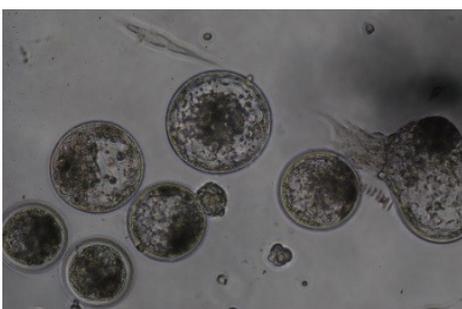
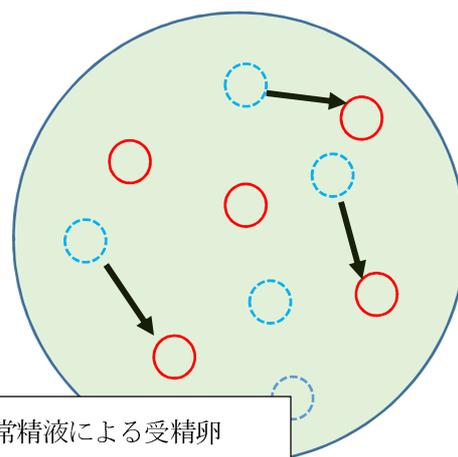
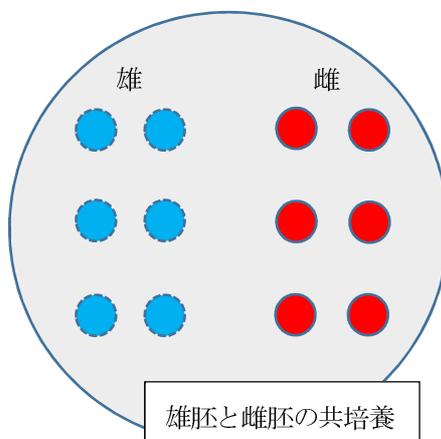


図 17 通常受精卵 (7日目)



通常精液による受精卵

図 18 通常受精卵内での関係



雄胚と雌胚の共培養

図 19 雌雄胚の共培養

今後の課題

先ほどの考察でも示したように、雌精液由来の雌胚の生産率が高かったことから、通常精液による生産胚の中では、雄胚は雌胚の発育を妨げているのかもしれない。今回は、雄胚、雌胚を別々に培養したが、これらを混ざらないように共培養することでお互いの強弱等の関係性が見えてくると思われる。また、質の高い受精卵を作製するためには、媒精後の受精率や発生率が高いことが求められるので、そのための工夫ができないか調査していく。

参考文献

1. 動物・微生物バイオテクノロジー 東京電機大学 出版局
2. 広島県総合技術研究所畜産技術センター育種繁殖研究部 体外受精操作マニュアル

エコフィードが日本を救う！

広島県立西条農業高等学校 畜産科2年

○木村雄一 山田一泉 酒井夕莉 武田佳子 畠山真実

はじめに

エコフィード（食品循環資源利用飼料）とは、食品残渣を原料として作られた家畜用の飼料のことであり、輸入依存度の高い飼料の一部を食品資源の再利用として使用することで、食品リサイクルによる資源の有効利用のみならず、飼料自給率の向上等を図る上で重要な取組として注目されている。今回私たちは、麦茶粕サイレージを株式会社伊藤園から1,200 kg提供して頂き黒毛和種肥育牛に給与おこない、飼料的価値を調査するため給与試験を開始したので概要を報告する。

4～6は毎月の体重測定を基に、飼料計算を行い配合飼料と一緒に混ぜて袋詰め後、密閉を実施している写真である。（図1）



図1 茶粕サイレージ

方法

1. 調査期間 平成28年12月6日～平成30年8月末

2. 材料

1) 供試牛

平成28年生まれ黒毛和種 去勢牛 2頭、雌2頭試験区No.1～2、対照区No.3～4とした。

試験区の生年月日が離れているが、月齢に従って給与試験を進めることとした。（表1）

表1 供試牛一覧

	No.	性別	生年月日	曾祖父	父	祖父	生産地
試験区	1	去勢	H28.1.11	安茂勝	沖茂神竜	安福久	西条農業高等学校
	2	雌	H28.5.5	勝忠平	3柴沖茂	福安照	西条農業高等学校
対照区	3	去勢	H28.5.2	勝忠平	隆之国	美津照重	西条農業高等学校
	4	雌	H28.4.9	安茂勝	沖茂神竜	田安照	西条農業高等学校

2) 麦茶粕サイレージ

供試牛頭数2頭と少なく1～3は、二次発酵防止のため、麦茶粕サイレージを小分けにする写真である。

3. 調査方法

1) 麦茶粕サイレージを濃厚飼料として給与試験を開始した。

2) 試験区No.1：生後6ヵ月齢時から麦茶粕サイレージ日量2kg/頭、体重220kg、DG1.2kg、自家配合飼料日量3kg/頭、粗飼料日量5.0kg/頭、TDN62.8%、CP13.9%で給与試験を開始した。

3) 試験区No.2：生後6ヵ月齢時から麦茶粕サイレージ日量1kg/頭、体重170kg、DG1.2kg、自家配合飼料日量3kg/頭、粗飼料日量6.0kg/頭、TDN64.0%、CP14.1%で給与試験を開始した。

4) 麦茶粕サイレージの在庫量が限られているので調査終了まで日量2kg/頭で給与していくこととした。

5) 対照区No.3：6ヵ月齢時、No.4は7ヵ月齢時より昨年度までのモミ米ソフトグレインサイレージ（以下モミ米SGS）給与を踏襲し、No.3 190.5kg、No.4 212kg、DG1.2kg、自家配合飼料日量3kg/頭、粗飼料日量6.0kg/頭、TDN64.2%、CP13.6%で

給与試験を開始した。

4. 調査項目

- 1) 飼料栄養価比較
- 2) 採食率
- 3) 増体量変化 (DG)
- 4) 血液生化学検査血中
 - ① 血中ビタミン A 濃度変化 (以下 VA)
 - ② ビタミン E 濃度変化 (以下 VE)
 - ③ 血中総コレステロール濃度変化(以下 T-Chol)

成績

1. 飼料栄養価比較

本校で使用している濃厚飼料 5 種類の飼料栄養成分を示した表である。

茶粕サイレージは水分が 70% と他の飼料と比較して高水分で、モミ米 SGS より約 28.3% 高い値を示したが、CP・TDN・NDF は高い値を示した。(表 2)

表 2 飼料栄養価比較 (日本標準飼料成分表 2001 版)

原物	項目名	単位	茶粕サイレージ	モミ米SGS	トウモロコシ	大麦	フスマ
乾物中	水分	%	70.0	41.7	14.5	11.5	13.2
	粗タンパク質 (CP)	%	15.0	7.5	7.6	10.6	15.7
	粗脂肪 (EE)	%	3.0	2.6	3.0	2.1	4.3
	粗繊維 (CF)	%	12.7	13.3	1.7	4.4	9.5
	粗灰分 (Ash)	%	3.0	4.0	1.2	2.3	5.1
	可溶性無窒素物 (NFE)	%	65.1	72.6	71.3	69.0	52.2
	TDN	%	67.3	61.9	80.0	74.4	62.7
	NFC	%	55.2	64.4	76.7	64.9	37.9
	NDF	%	23.0	21.5	10.7	20.1	37.0

(GF,NFE,PH 株式会社伊藤園)
(TDN,養 食品循環資源資源利用マニュアル)

2. 採食率

調査期間中の採食率はデータ数が現在少ないが、試験区、No.1. 81~92%, No.2. 74~86%, 対照区、No.3. 83~79%, No.4. 87~82% と両区ともによく食べていた。

(図 2)

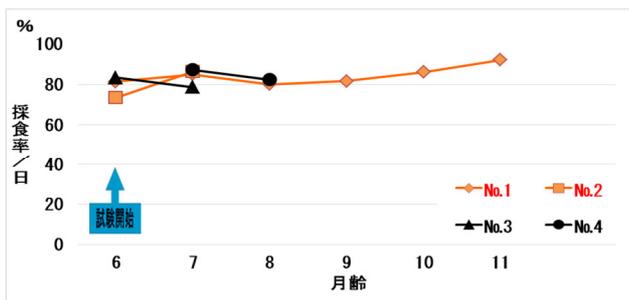


図 2 採食率

3. 増体重変化 (DG)

調査期間中の平均 DG は、試験区、No.1 1.1kg, No.2 0.8 kg 対照区、No.3 1.0 kg, No.4 0.9kg であった。

(図 3)

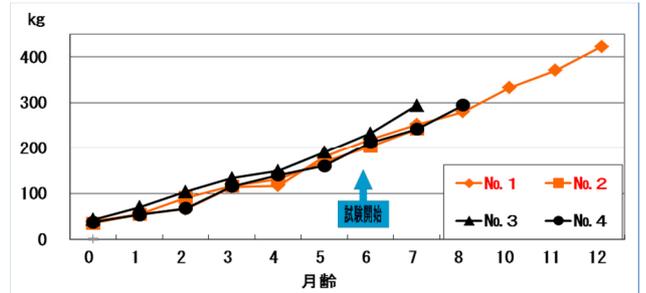


図 3 増体重変化 (DG)

4. 生化学検査

1) 血中 VA 濃度

本校では生後約 20 ヶ月齢時を目安に最少必要量 30IU/dl に近づくように飼育をしている。両区ともに約 12 ヶ月齢時、100~120IU/dl を目安に VA 制限飼料に切り替えることにしている。試験区、No.1 が 11 ヶ月齢時に 84IU/dl と 100 IU/dl を下回っていたため、20 ヶ月齢時まで 30IU/dl 以下の低値を示すと推察されることから約 12 ヶ月齢時に VA100 万 IU/dl 飲水投与をおこなった。また、対照区、No.4 が約 9 ヶ月齢時に 68IU/dl と低い値を示したことから、VA100 万 IU/dl 飲水投与をおこなった。(図 4)

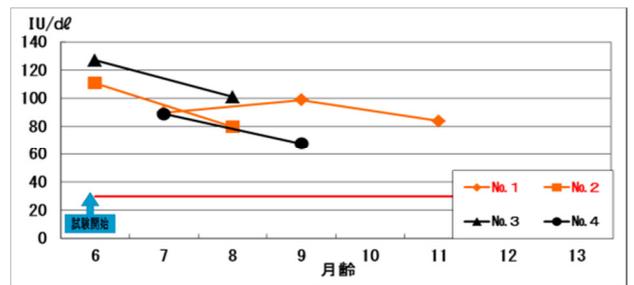


図 4 血中 VA 濃度変

2) 血中 VE 濃度変化

VE は T-Chol とよく相関して飼料の摂取状況をよく反映している。試験区、No.1. 252~300 μg/dl, No.2. 113~155 μg/dl, 対照区、No.3. 104~131 μg/dl, No.4. 124~136 μg/dl, であった。(図 5)

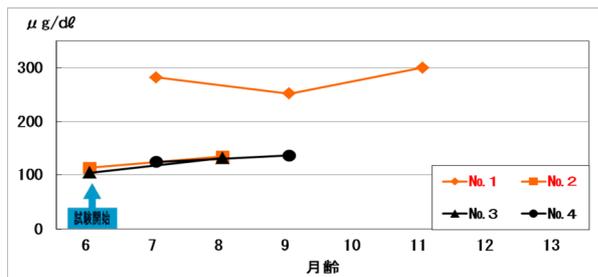


図 5 血中 VE 濃度変化

3) 血中 T-Cho 濃度変化

エネルギー摂取量をよく反映することから、本校では12ヵ月齢以降150 mg/dℓ以上を目標にしている。

試験区, No.1. 98~91~128 mg/dℓ, No.2. 69~90 mg/dℓ, 対照区, No.3. 54~83 mg/dℓ, No.4. 56~73 mg/dℓ, であった。(図 6)

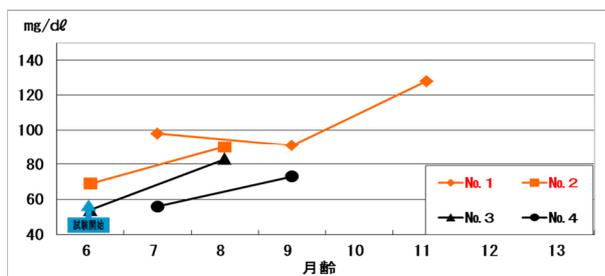


図 6 血中 T-Cho 濃度

まとめ及び考察

1. 麦茶粕サイレージの水分含量が70%と高水分のため、変敗や保存管理の検討をする必要がある。
2. 麦茶粕サイレージを単味で給与すると嗜好性が悪いが、配合飼料に混合して給与することにより試験区の採食率80%前後と嗜好性が上がると考えられた。
3. 麦茶殻はタンパク質の4割が消化しにくい熱変性タンパク質ですがデンプンが多く残っているためエネルギー飼料として利用可能と発表されていることから、肥育牛に給与出来る濃厚飼料として十分に価値があると考えられる。
4. 麦茶粕のサイレージの給与割合は、平成29年1月12日現在、試験区, No.1 配合飼料中原物で20%, 乾物中8%である。
5. 個体差はあったが、増体について試験区・対照区に大きな差を認めなかった。

6. 血液生化学検査においては、血中 VA 濃度が両区とも下降が早く B カロテン濃度も含め検討する必要がある。血中 VE 濃度及び血中 T-Cho 濃度は飼料給与量を増やすことにより上昇をしている。

7. 調査期間及び調査頭数が少ないため継続的に調査を行い麦茶粕サイレージの給与方法及び給与量。また、自給飼料の向上を目指しモミ米 SGS 等の併用も含め検討をしていく必要がある。

参考文献

- 1) 公益社団法人 配合飼料供給安定機構
第 I 編 緩衝能の高い日本の乳・肉用牛飼料構造の構築のために
(エコフィードを利用した飼料ベストミックスの考え方と普及のための条件)
第 II 編 素材の性質と飼料としての利用方法 P20 P26
(TMR 素材の特性, 給与の適正性, TMR の調整方法等)
- 2) 生産獣医システム 肉牛編 社団法人 農山漁村文化協会

西農ポークをジャパンプランドへ ～酒粕添加による肥育中の豚への影響～

広島県立西条農業高等学校 畜産科2年

平坂脩真 佐々木亮輔 中田誠人

はじめに

畜産科養豚部門では、平成19年度よりブランド豚「西農ポーク」の生産を行っている。地域のイベントでの加工品販売だけでなく、精肉として地元の飲食店に購入していただき、西農ポークを使用したメニューを提供していただけるようになった。実際に食べてみると、西農ポークの脂肪からは酒粕の風味が感じられた。そこで、酒粕の成分が豚や豚肉にどのように作用するのかを調べることにした。まず今年度は、生後2か月から出荷まで毎日酒粕を食べている豚の体にどのような影響があるのかを調査し、酒粕の効果を検証することでブランド化に近づけたと考えた。

実施計画

- (1) 試験期間 平成28年1月22日～7月11日
- (2) 供試豚 紅葉（LW・母豚）の子豚（LWD）

表1 供試豚の分類

		放牧	酒粕
対照区	3頭	×	×
試験区	3頭	×	○

実施項目および方法

- (3) 体温（直腸温）の検査

ア 必要機材

・体温計 ・記録用紙

イ 実施方法

豚が餌を食べているうちに豚の肛門に体温計を入れ、30秒待つ。体温計を抜いて、体温計の温度を記録用紙に記入する。

- (4) 糞中の臭気成分の測定

ア 必要機材

ガス検知管（アンモニア・硫化水素・メルカプタン類）・ガス採取器・ポリ袋・記録用紙

イ 実施方法

- ①排泄したばかりの糞をポリ袋に取りポリ袋を縛る。



図1 糞の採取

- ②ガス検知管の先を折り、ガス採取器にガス検知管を装着する。
- ③糞の入ったポリ袋に差し込み、空気が逃げないように握る。



図2 試験の様子

- ④ガス採取器のハンドルをゆっくりとカチッと音が鳴るまで引っ張る。
- ⑤時間がたったらガス採取器を抜き、ガス検知管の値を記録用紙に記入する。



図3 測定結果

仮説

(1) 酒粕に含まれるアルコールによって体温が上昇する。

酒粕は日本酒製造の過程において発生するためアルコールを含んでいる。公益社団法人アルコール健康医学協会によると血中アルコール濃度0.05%~0.10%のとき、体温が上がるとされているため、豚に酒粕を与えても体温が上がると考える。

表2 血中アルコール濃度とその酔いの状態

血中濃度 (%)	酔いの状態
0.02~0.04	爽やかな気分になる 皮膚が赤くなる 陽気になる 判断力が少しにぶる ほろ酔い気分になる
0.05~0.10	手の動きが活発になる 理性が失われる 体温が上がる 脈が速くなる
0.11~0.15	気が大きくなる 大声でがなり立てる

(2) 糞中の悪臭成分が抑制され環境にやさしい飼育ができる。

酒粕を与え始めた当初、糞の臭いが抑えられたという意見があったため、糞の悪臭成分が減少すると考えられる。

結果

(1) 体温（直腸温）の測定

体温は、対照区に比べて酒粕区のほうが平均体温は0.2℃低くなった。また、50日間体温を測定した結果、39日で酒粕区のほうが低くなった。仮説では、酒粕に含まれるアルコールの効果によって酒粕区の体温が上昇すると考えていたが、それとは反対の結果となった。

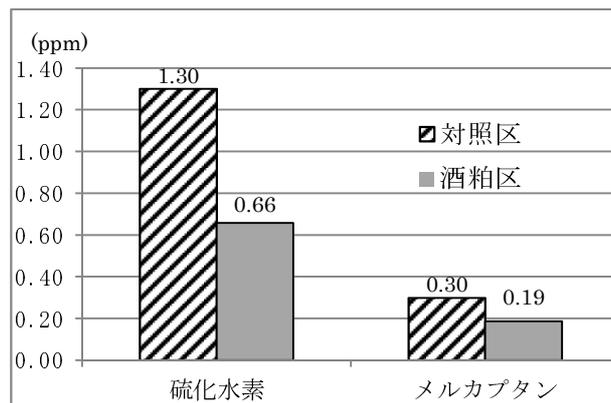


図4 硫化水素とメルカプタン類の測定結果

(2) 糞においの測定

糞の悪臭成分であるアンモニア・硫化水素・メルカプタン類の臭気を測定した。その結果、アンモニアは対照区、酒粕区においてどちらも検出されなかったが、硫化水素は酒粕区が約半分の0.66ppm、メルカプタン類は約2/3の0.19ppmしか検出されなかった。

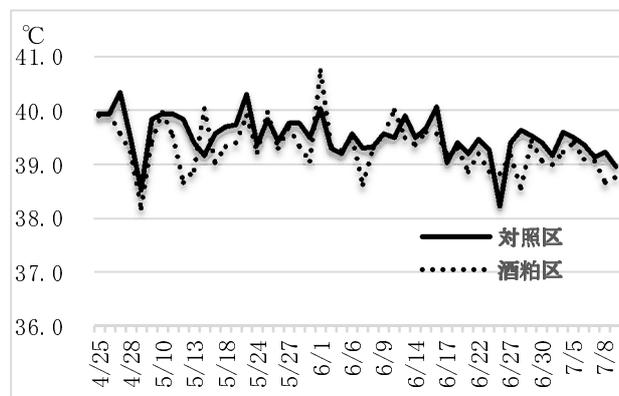


図5 体温の比較

考察

(1) 体温（直腸温）の検査

対照区に比べ酒粕区のほうが平均体温は低くなった。この結果を受けて再度調査を行うと、アルコール成分によって血管が拡張し、熱が放散されるため体温を下げ効果もあることが分かった。今回はこの効果によって体温上昇が抑えられたと考

えられる。暑さに弱い肥育豚にとっては、体温上昇を抑制する酒粕の効果は暑熱ストレスの軽減につながると考えられる。

(2) 糞のにおい

対照区に比べ酒粕区のほうが硫化水素とメルカプタン類の値が低かったことから、酒粕には糞のにおいの抑制の効果があると考えられる。悪臭成分を抑制することで生産者にとって飼育しやすく、環境にもやさしい養豚経営の実現につながると考えられる。



図6 放牧の様子

今後の課題

酒粕が、体温上昇の抑制と糞のにおいの抑制に効果があることが分かった。しかし酒粕のどの成分が結果につながったのかを調べるができなかった。また臭気検査について、今回は簡易的な機器を用いた測定であったため、今後、ガスクロマトグラフィー等を用いた測定をすることで実験の精度が上がると思われる。さらに今回は調査期間が短かったことから、今後の実験では酒粕給与開始直後から調査を開始したい。今後も継続した調査を行い、酒粕の飼料価値を検証していくことが西農ポークの普及とブランド化に近づくと考える。

飼料イネ WCS を利用した肥育試験

広島県立庄原実業高等学校 生物生産学科 2年
 肉用牛経営研究室
 ○山中理子 今原優花

はじめに

自給飼料生産を基軸にした資源循環型畜産が望まれる中、飼料イネホールクロップサイレージ（以下「飼料イネ WCS」という。）が注目されている。本校では、6年前から黒毛和種肥育牛に粗飼料として給与し、その有効性について検証してきた。この度、「庄実版飼料イネ WCS 給与マニュアル」（図1）に基づき、牛舎室温の影響に注目し、肥育試験を実施したので、その概要を報告する。

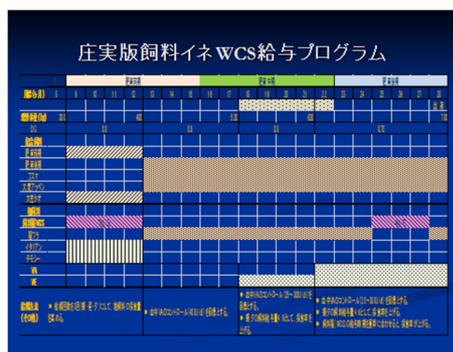


図1 庄実版飼料イネ WCS 給与プログラム

に基づき、黒毛和種去勢牛2頭（平成26年5月生まれ、平成27年1月導入）に、飼料イネ（たちすずか）WCSを肥育前期9～12か月齢の間に7kg/頭/日、23か月齢から25か月齢の間に4kg/頭/日給与した。試験期間は平成28年4月27日～6月26日の2か月間である。

対照区：黒毛和種去勢牛2頭（平成26年5月生まれ、平成27年1月導入）に肥育前期に試験区と同様に飼料イネ WCS を給与後、23か月齢から25か月齢の間は2kg/頭/日、稲わらを給与した（表1）。

表1 飼料イネ WCS 給与と試験

試験区	給与時期 肥育前期4か月間・後期2か月間				
	供試牛No.	名号	父	祖父	曾祖父
	No. 9133	新堂9133	隆之国	平茂勝	第3神竜の4
	No. 9109	美津紫音	美津照重	北国7の8	平茂勝
対照区	給与時期 肥育前期4か月間のみ				
	供試牛No.	名号	父	祖父	曾祖父
	No. 0362	寺山8	芳之国	東末博	第3神竜の4
	No. 9333	桃隆	隆之国	金幸	平茂勝

方法

調査項目：

1. 牛舎室温（7時，13時30分，17時の1日3回）
2. 飼料摂取量
3. 血液生化学的検査（血中ビタミンA値（VA値），血中ビタミンE値（VE値），総コレステロール値（T-cho値））
4. 枝肉成績（枝肉重量，ロース芯面積，BMS，BCS，BFS）
5. 粗飼料費比較

試験区：「庄実版飼料イネ WCS 給与マニュアル」

成績

1. 牛舎室温：試験期間中 25℃を超える日もあったが、夜間に温度が下がっており、7時の平均室温 16.3℃，13時30分と17時では、平均室温 23.9℃，23.7℃であった（図2）。

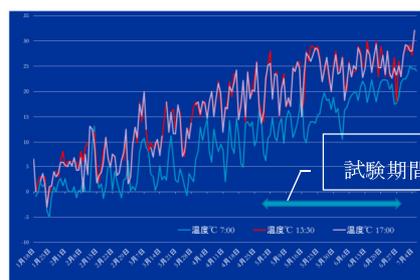


図2 牛舎室温

2. 飼料摂取量：試験期間では、試験区の採食量が多いが、乾物量では差がなかった（図3）。

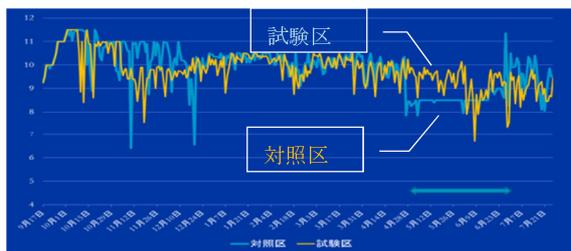


図3 飼料摂取量

3. 血液生化学検査：VA 値の推移は、試験開始時 83～144IU/dl と個体差があった。No. 9333 が低い値を示し、その後も No. 9333 は安定しなかった。対照区には、デュファゾール AD 剤でビタミンAの補給を行ったが、試験では補給をせず、コントロールすることができた（図4）。VE 値の推移では肥育牛に必要な 200IU を全期間ほとんどが越えていた（図5）。T-Chol 値は No. 9333 が低い値を示したが、他の供試牛は、15 か月齢以降 120 mg/dl 以上と高い値を保持した（図6）。

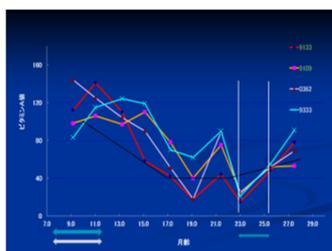


図4 VA 値の推移

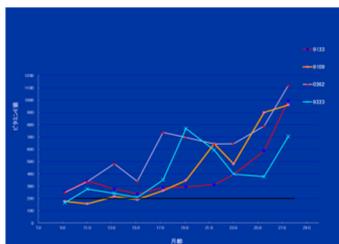


図5 VE 値の推移

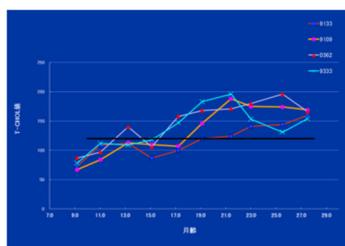


図6 T-cho 値の推移

4. 枝肉成績：試験区2頭の平均が、枝肉重量 516.6 kg、ロース芯面積 63.5 cm²、BMSNo.5.5、BCSNo.4、BFSNo.3 であった。一方、対照区2頭の平均は枝肉重量 473.3 kg、ロース芯面積 56.0 cm²、BMSNo.5.0、BCSNo.4.5、BFSNo.3 であった。脂肪の色に差はなかった（表2）。

表2 枝肉成績

区	No.	格付	枝肉重量 (kg)	ロース (c m ²)	BMS	BCS	BFS
試験区	9133	A-4	543.4	69	6	4	4
	9109	A-4	489.8	58	5	4	3
	平均		516.6	63.5	5.5	4	3
対照区	0362	A-4	476.2	61	6	4	3
	9333	B-3	470.4	51	4	5	3
	平均		473.3	56.0	5.0	4.5	3

5. 粗飼料費比較：試験区は対照区と比較し、1頭当たり 1,142 円節約できた（表3）。

表3 粗飼料費比較

	給与飼料 肥育後期	給与総量 (kg/頭)	単価 (円/kg)	粗飼料費 (円/頭)
試験区	飼料イネ WCS	245.8	13.9	3,414
対照区	稲わら	113.9	40.0	4,556
			差 額	1,142

まとめ

以上の結果から、試験期間に給与しても大きな差は認められなかった。

1. 飼料イネ WCS を肥育後期の2か月間給与することは、牛の発育及び枝肉成績への影響は少なく、ビタミンAの補給も必要ないと考えられる。
2. 飼料イネ WCS を給与することで、経費を削減することができた。

採食状況から飼料イネ WCS のし好性は高く、暑熱時の WCS 給与は増体、家畜の健康管理に有効であると思われる。今後は、夜間も室温の高い暑熱時

に飼料イネ WCS を給与し，その有効性について検証する必要がある。「庄実版飼料イネ WCS 給与マニュアル」をさらに実効性あるものにして，飼料自給率の向上と里山の環境保全に努めたいと考える。

飼槽改善により乳牛の生産性が向上した自動給餌器利用農家の一例

広島県農業共済組合 家畜臨床研修所

○玉川朋治

1. 要約

乳牛にとって採食性と生産性は密接な関係がある。カウコンフォートの観点からみて、飼槽構造は牛の採食行動を左右する大きな要因の一つである。今回の事例は、自動給餌器を使用している農家で周産期疾病の増加と生産性の低下に悩んでいた。この農家で血液代謝プロファイル(以下 MPT)実施した結果、乾物摂取量の不足が疑われた。そこで採食性の安定と乾物摂取量の増加を目的として飼槽の改善を行った。採食環境の改善により、安定した飼料摂取が可能となり採食性が増加した。飼槽改善後の MPT の結果からも栄養状態の改善と乾物摂取量の増加を認められ、牛群として乳量の増加と周産期疾病が減少した。この事例では自動給餌器を利用しており、飼料の多回給与が実施できる環境であったことが、飼養改善の効果をスムーズに発揮した要因の一つと考える。

2. はじめに

乳牛にとって「食べたいときに食べることができ、必要な栄養素が過不足なく摂取できること」は、正常な行動で、カウコンフォートの観点からも重要な要素である。飼槽は牛が出来るだけ負担なく採食できる構造にする必要があり、採食性は生産性と密接に関係している。

今回は、自動給餌器を利用している農家の飼槽改善を行った結果、乳牛の生産性が向上した事例に遭遇したので報告する。

3. 農家の概要

搾乳牛 26 頭、育成牛 5 頭を飼育する酪農家。牛舎

形態は、搾乳牛舎はタイストール、乾乳牛舎は別牛舎のフリーストールで飼育している。飼料給与は、自動給餌機を使用した分離給与で、濃厚飼料は 1 日 8 回の多回給与を行っている。牛床は厚さ 2 cm のゴムマットを使用している。飼槽については、コンクリート製で凸凹があり、決して綺麗な飼槽と言えるものでは無かった。農家は、周産期疾病が多発しており、生産性の低下に悩んでいた。

2014 年 12 月に実施した MPT より、BCS と Glu のばらつき、Ht と Alb の低下、Mg の低下、MUN の上昇、低泌乳量が認められ、乾物摂取量不足と慢性的なタンパク不足が疑われた。

そこで、採食性の安定と乾物摂取量の増加を目的として、2015 年 1 月から 2 月にかけて飼槽改善を実施した。飼槽改善状況は、凸凹していたコンクリート製の飼槽を、平らで綺麗な御影石の飼槽に変更した。

4. MPT の結果

飼槽改善後、2015 年 6 月に MPT を実施した。BCS と Glu の安定、Ht 値の改善は認められなかったが、BUN の低下、アルブミンの顕著な上昇を認めた(図 1)。

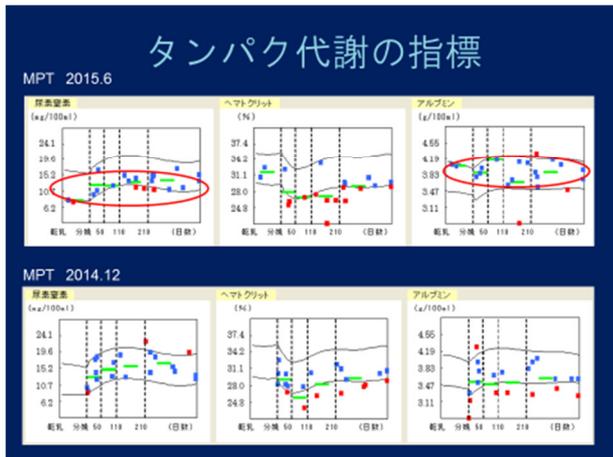


図1: 飼槽改善前後のMPTでのタンパク代謝の比較
○飼槽改善後の尿素窒素(BUN)の低下とアルブミン(Alb)上昇を認めた。Mgの値も上昇した(図2)。

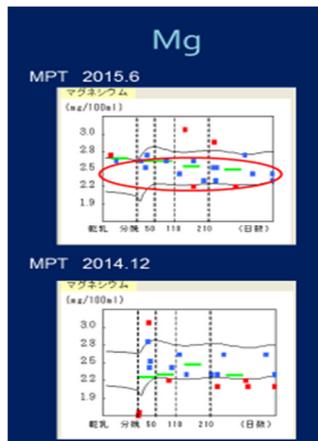


図2: 飼槽改善前後のMPTでのMgの比較
○飼槽改善後のMgの上昇を認めた

牛群検定時のMUNは飼槽改善の2ヶ月後から著しい低下を認めた(図3)。

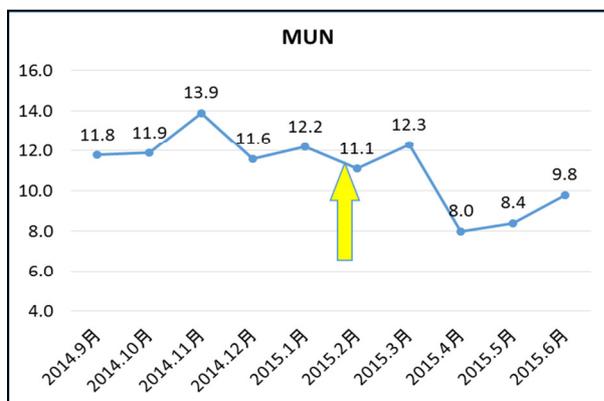


図3: 牛群検定時のMUNの推移
(矢印➡: 飼槽改善実施)

タンパク代謝の改善と乾物摂取量の増加が示唆された。乳量の推移は、2014年11月に27.8 kg/日/頭であった平均乳量は、飼槽改善後から徐々に増加して2015年6月には31.0 kg/日/頭となり乳量の上昇が認められ、現在でも平均乳量は30 kg/日を維持している(図4)。

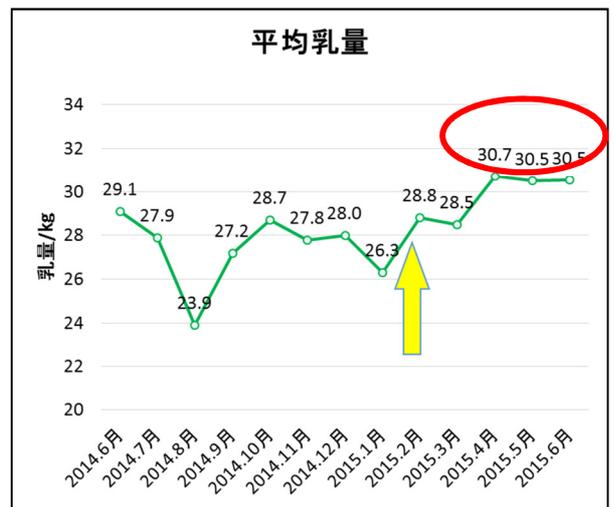


図4: 牛群検定時の平均乳量の推移
(矢印➡: 飼槽改善実施)

2014年に落ち込みが激しかった夏場の7月から10月の乳量は、飼槽改善後の2015年には、激しく落ち込むことなく回復も早い傾向があった(図5)。

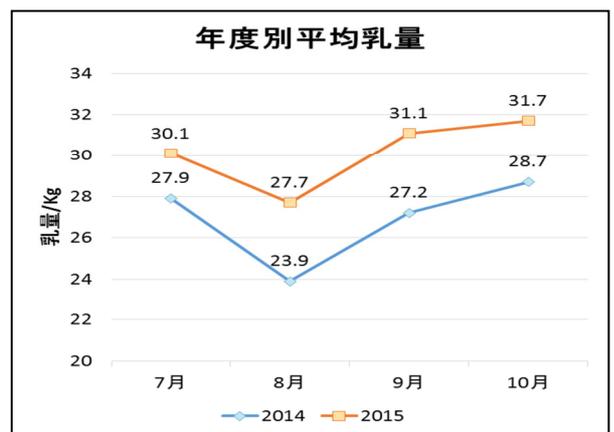


図5: 2014年と2015年の夏場の泌乳量の比較

周産期疾病は、飼槽改善前の1年間で17頭分娩して8頭が発症し罹患率47.1%と非常に高い値であったが、飼槽改善後は15頭分娩して3頭となり罹患率20.0%と低下した。飼槽改善により明らかな周産期疾病の減少を認めた。

5. 考察

飼槽改善後のMPT結果から、BUNとMUN低下とアルブミンの上昇によりタンパク代謝の改善が認められ、BCSとGlu安定とMgの上昇より乾物摂取量の増加が認められた。飼槽改善により採食環境が良化し、安定した飼料摂取が可能となった。これによりルーメンコンディションが改善して、飼料効率上がり、牛群の栄養状態が改善、乳量の増加と周産期疾病の減少につながったと考えられた。

今回の事例は、自動給餌機を利用している農家であり、濃厚飼料を効率よく消化及び吸収するための多回給与が可能な状況であったことが、飼槽改善の効果をスムーズに発揮した要因の一つと考えられた。採食しやすい飼槽と自動給餌機による多回給餌の相互作用で本事例のような生産性の向上と疾病の減少が認められた。今後も農家の生産性向上のために更なる検討を重ね、より良い牛舎環境の推進に努めたいと考えている。

広島県で発生した全身症状を伴うマイコプラズマ性乳房炎の集団発生事例

広島県農業共済組合 府中家畜診療所福山分室¹⁾

西部畜産事務所²⁾

東部厚生環境事務所福山支所³⁾

○秋田真司¹⁾ 河村美登里²⁾ 福原理映子²⁾ 兼廣愛美³⁾ 平松由美子²⁾

要約

2015年12月に西日本地域では初めてのマイコプラズマ性乳房炎の集団発生が広島県HH市の1酪農場で発生した。11月29日に北海道から初妊牛を導入、その1週間後に牛マンヘミア症が流行し始め、17頭(34%)が発症した。マンヘミア症流行の終息1週間後に *Mycoplasma bovis* による発熱などの全身症状を伴う乳房炎が10日間で10頭(27.8%)発症した。罹患乳房は発症翌日に盲乳状態となったため、臨床症状を呈したほとんどの牛は、死産淘汰された。乳房炎の集団発生初期に牛の並び替えと搾乳順序の変更を行ったところ、臨床型のマイコプラズマ性乳房炎が終息したことから、これらの措置が感染拡大阻止に寄与したと推察した。潜在化した *Mycoplasma bovis* をPCR検査により検出し、遺伝子陽性と判定された個体に対しては、培養と感受性試験結果に基づいてニューキノロン、マクロライドを用いた治療を実施し、牧場からのマイコプラズマの排除を行った。PCRは個別乳を定期的に継続実施し、2016年8月時点でマイコプラズマは陰性となっている。

序文

わが国におけるマイコプラズマ性乳房炎の集団発生は北海道が主であり、西日本では散発のみみられるが、集団発生の報告はない。^{3, 4, 10)} マイコプラズマによる乳房炎は一旦発症すると、根治は困難で、罹患乳房は盲乳となる。更に他の乳房にも感染し、泌乳停止となることが多い。¹⁾ また、牧場内で他の牛

に感染が拡大する恐れがあることから、感染牛の速やかな淘汰以外に対処法がなく、酪農家に与える損害は甚大なものになる。今回、広島県内の一酪農家においてマンヘミアの流行後に、発熱・食欲減退などの全身症状を伴うマイコプラズマ性乳房炎が集団発生したので、その経過と対策について報告する。

1. 材料と方法

1) 牧場の概要

当牧場の飼養頭数は成乳牛43頭(搾乳牛34頭)、育成牛4頭、子牛3頭で1日平均出荷乳量約900kgの広島県の平均的な酪農場である。飼養形態は対頭式、タイストール牛舎、飼料は分離給与、呼吸器系疾患に対しては牛RSウィルス病生ワクチンを毎年12月に全頭接種しており、北海道から牛の導入は2012年以来行っていない。乾乳牛舎は搾乳牛舎と同じ棟ではあるが、カーテンで仕切られていた。導入牛は導入後に乾乳牛舎に係留されていた。育成牛と子牛は搾乳牛舎内かその周囲のパドックで飼養されていた。

2) 細菌学的検査

i) 材料：乳房炎乳汁9検体

ii) 菌分離：腸内細菌(DHL寒天培地, 37°C 24時間好気培養)、一般細菌(5%羊血液寒天培地, 37°C 48時間5%炭酸ガス培養)、マイコプラズマ属菌(DNA添加変法Hayflick培地, BHL液体培地, 37°C 7~14日間好気密栓培養)

- iii) 同定: *Mycoplasma bovis* 及び *M.spp* に特異的な遺伝子を標的とした PCR 法
- iv) 薬剤感受性試験: 微量液体希釈法 (MIC)

2. 成績

1) 発生経過

i. マンヘミアの集団発生: 2015年11月29日に北海道より初妊牛2頭を導入し、乾乳牛舎に係留した。12月6日に搾乳牛舎内で食欲不振、発熱、呼吸器症状を呈した肺炎が初発した。12月8日に鼻腔スワブ検査により、*Mannheimia haemolytica* が有意に分離されたため、マンヘミア症と確定診断した。その発生状況は表1に示したとおりで、1日に1~3頭のペースで発生し、12月15日までに17頭が肺炎を発症した。これに対して、抗生物質(第1選択薬セファゾリン、第2選択薬マルボフロキサシン)を用いた治療によって各個体は治療開始から2~5日で臨床症状が軽減し、マンヘミアによる肺炎の流行が12月16日には終息した。

年月日	経過
2015/11/29	北海道から初妊牛2頭導入
2015/12/6	肺炎2頭発症
2015/12/8	ウイルス・細菌検査
2015/12/9	肺炎4頭発症
2015/12/10	肺炎1頭発症、 <i>Mannheimia haemolytica</i> を分離
2015/12/11	肺炎3頭発症
2015/12/12	肺炎2頭発症
2015/12/13	肺炎1頭発症
2015/12/14	肺炎2頭発症
2015/12/15	肺炎2頭発症、1週間で18頭発症
2015/12/19	肺炎の流行は終息

表1: マンヘミア発生経過

ii. マイコプラズマ性乳房炎集団発生: 1日あたりの出荷乳量は牛マンヘミア症初発時(12月6日)で907kg(33頭搾乳)であったが、牛マンヘミア症終息直前(12月15日)には投薬治療に伴う出荷制限の影響もあって、563kg(22頭搾乳)まで低下した。

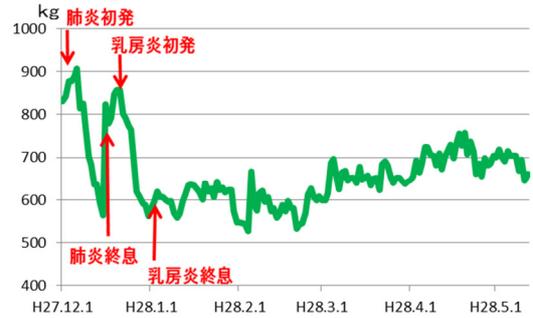


図1 出荷乳量の推移

図1: 出荷乳量の推移

その後12月21日には856kg(33頭搾乳)まで出荷乳量も回復したが、12月23日に3頭が突然の発熱、食欲不振、乳房の腫脹を伴った乳房炎を発症し、発症当日あるいは翌日に罹患乳房は泌乳停止状態となった。

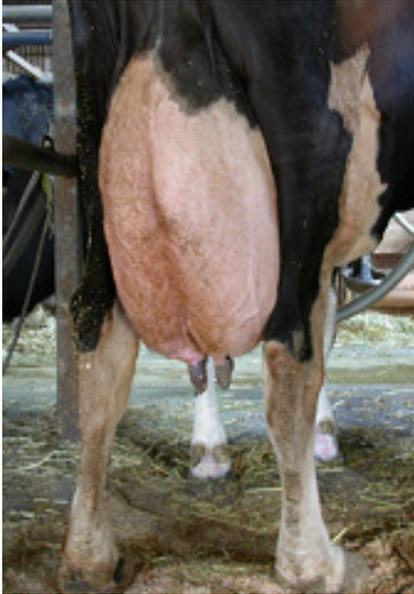
年月日	経過
2015/12/23	乳房炎3頭発症、翌日に泌乳停止
2015/12/25	乳房炎2頭発症
2015/12/25	血液寒天培地にてマイコプラズマ擬陽性、並び替え
2015/12/26	乳房炎3頭発症
2015/12/27	乳房炎1頭発症
2015/12/28	乳房炎1頭発症
2015/12/30	乳房炎1頭発症
2016/1/1	乳房炎再発2頭発症
2016/1/6	PCRにてマイコプラズマ陽性
2016/1/14	この日までに7頭が死廃・淘汰
2016/1/21	乳房炎を発症していない個体5頭がPCR陽性
2016/1/29	PCR陽性牛2頭治療
2016/2/9	治療牛の1頭がPCR陽性、血寒で擬陽性

表2: マイコプラズマ性乳房炎発生経過

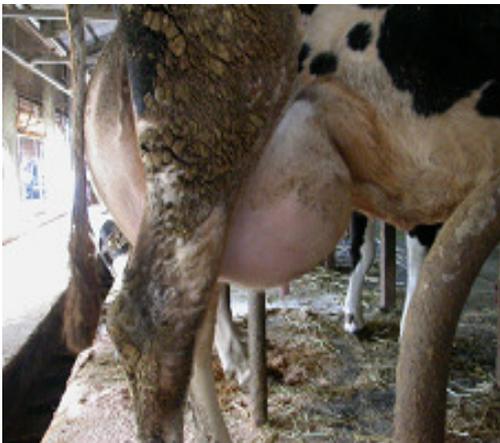
症例	第1病日	第2病日	第3病日	第4病日	第5病日	第6病日	第7病日	第8病日	第9病日
1	39.5	38.5							
活力・食欲	+	+							
2	40.1	40.2	40.1	39.6	39.7	39	39.4		
活力・食欲	-	-	-	-	-	±	±		
3	39.2	40.2	40.2	39.5	38.3				
活力・食欲	-	-	+	+					
4	40.4	39.0	40.6	38.9	38.9	39.3	39.7		
活力・食欲	-	-	+	+	+	+	+		
5	40.4	41.2	39.0						
活力・食欲	±	-	+						
6	39.4	39.5	39.7	40.1	39.7				
活力・食欲	-	-	-	±	+				
7	40.7							39.7	38.9
活力・食欲	±							±	+
8	39	38.6							
活力・食欲	+	+							
9	38.3								
活力・食欲	+								
10	40.2								
活力・食欲	-								

図2: 牛床配置と肺炎・乳房炎の発生順序

乳汁は半漿液性で凝固物を含み、分離していた。罹患乳房の外見は均一な炎症性浮腫で解熱後は発赤も軽減したため、一見すると正常な乳房に見えたが、泌乳停止していた。



写1：乳房の炎症性浮腫 後望



写2：乳房の炎症性浮腫 側望



写3：マイコプラズマ性乳房炎乳汁

12月23日に採材した乳汁を好気培養したところ羊血液寒天培地上にβ溶血のみが認められ、コロニーを肉眼的に認めなかったことと臨床所見から、マイコプラズマが原因であることを疑い、12月25日に牛の並び替え及び搾乳順序の変更を実施した。牛の並び換えは発症牛の搾乳作業を最後に行うために、牛舎南側にまとめて移動させた。

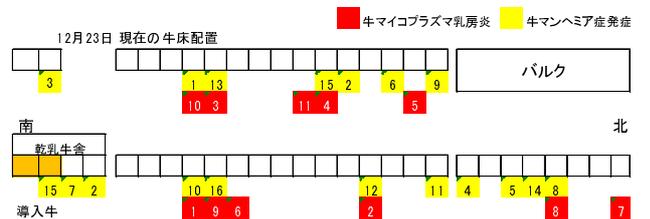


図3：牛床配置と肺炎・乳房炎の発生順序

また、発症牛に対してはマイコプラズマへの治療効果が期待できるニューキノロン製剤のマルボフロキサシンを投与した。

	No.2 Mycoplasma bovis 1.0 × 10 ⁴	No.5 Mycoplasma spp 1.0 × 10 ⁵
ストレプトマイシン	1.56	6.25
OTC	6.25	6.25
フロルフェニコール	3.12	12.5
ERFX	0.39	0.39
タイロシン	≤0.1	3.12
スピラマイシン	0.2	≤0.1
チアムリン	>100	>100
チルミコシン	12.5	12.5

表3: *Mycoplasma* の MIC 値

その結果、投与の翌日あるいは3日以内に全身症状は軽快したが、罹患乳房は泌乳停止したままであった。その後も発症は続き、1月1日までに10頭が乳房炎を発症、泌乳停止状態となったが、それ以降の発症は認められなかった。1月6日に罹患乳房の乳汁からPCRでマイコプラズマ遺伝子を検出、その後好気密栓培養にてマイコプラズマ属菌が分離され、PCRによる遺伝子同定により、本症例は *Mycoplasma bovis* による乳房炎の集団発生と鑑定された。12月23日から1月28日にかけて肺炎と乳房炎またはその影響で10頭が死亡・廃用となった。一方、潜在性のマイコプラズマ性乳房炎を摘発する目的で実施した1月21日のPCRにおいて、症状の出していない24頭中5頭が *M.bovis* 陽性と判定されたため、1頭は淘汰し、4頭は治療の方針とした。

		治療法1	治療法2
全身投与	薬剤名	マルボフロキサシン	マルボフロキサシン
	用量・用法	1,200mg i.m.	1,200mg i.m.
	投与期間	3日	3日
乳房内投与	薬剤名	エリスロマイシン	タイロシン
	用量・用法	300mg	2,000mg
	投与期間	3日	3日

表4: 潜在性マイコプラズマ性乳房炎の治療法

そのうち2頭について1月29日から3日間マルボフロキサシン 10%を12ml 筋肉内注射、エリスロマイシン 300mg を乳房内注入した。2月

9日に治療後の2頭についてPCR実施、1頭が陽性とされたが、3月7日の検査では陰性となった。残りの2頭については3日間マルボフロキサシン 10%を12ml 筋肉内注射、タイロシン 10ml の乳房内注入による加療を行い、その後3月7日の検査では陰性となった。4月26日での検査は26頭全て陰性であった。また、牛群の泌乳回復は集団発生終了後3ヶ月以上経過した2016年4月中旬であった。

3. 考察とまとめ

今回集団発生したマイコプラズマ性乳房炎の原因の *M.bovis* の侵入経路は導入牛である疑いが強いが、確証を得るには至らなかった。しかし、牛マンヘミア症は導入後7日目に初発しており、導入牛が多量の *Mannheimia haemolytica* を持ち込んだことによると推察された。*Mannheimia haemolytica* はロイコトキシンを産生し、重度の肺炎を引き起こし、牛の免疫力低下を招くとされている。¹²⁾ 本事例でもマンヘミアの最後の発生から8日後に、*Mycoplasma bovis* による乳房炎が集団発生し始め、10日間で10頭の乳房炎がみられた。このことは、牛マンヘミア症により、抵抗力が低下したことが誘因と考えられた。牛群に牛マイコプラズマ乳房炎が蔓延したが、並び換え以前に既に感染していたと考えられ、乳房炎初発の2日後には牛の繫ぎ換えと搾乳順序の変更を行ったことで、それ以上の感染拡大を防ぐことができたと考えられた。^{5, 6)} これは図2に示したように12月23日時点の牛の配置における隣あるいは近くの牛が集中して発症していたことから、有効な手段であったと考えられた。乳房炎を発症していない個体に対する今後の対策としては、牛舎内あるいは牛体に付着しているマイコプラズマを除去する目的で、牛舎の煙霧消毒を2月12日から1週間おきに3回実施した。また、牛マンヘミア症による免疫力低下を防ぐために、牛マンヘミア症を

発症しなかった育成牛と今後の導入牛にマンヘミア・ヘモリチカ I 型ワクチン接種を実施することとした。潜在化したマイコプラズマに対して検査の鋭敏性向上と時間短縮のため乳汁の PCR 検査を 2 週間ごとに実施した。しかし、マイコプラズマが死滅しても DNA が残存すると、陽性と判定されるため、潜在性マイコプラズマ感染を制御できたかどうかを確認することは困難である。

検査法	検査要日数	特徴
PCR	2~4日	鋭敏、DNAが残れば陽性で判定
マイコプラズマ専用培地	10~14日	生存しているマイコプラズマを判定
血液寒天培地	1~3日	簡易な施設で実施可能、判定困難

参考:樋口ら

表 5: マイコプラズマ判定に必要な日数

さらに、マイコプラズマは牛の体調により乳汁中に出現したり、潜在化するとされており、PCR 検査をいつまで行うべきかを検討中である。陽性牛については従来の報告と同様、抗生物質であるニューキノロンとマクロライドを用いて除菌することができた。^{2, 4, 8)} 本事例が従来のマイコプラズマ性乳房炎に関する従来の報告と異なっているのは、発熱、食欲不振の全身症状を呈したことである。^{2, 4, 7, 8, 11)} 他の発熱要因も検討したが、肺炎等の呼吸器症状が認められなかったことから、マイコプラズマ性乳房炎による臨床症状と考えられた。本事例で発熱等の全身症状がみられたのは、牛マンヘミア症による免疫低下と何らかの関連があるかもしれないと推察した。

また、牛マイコプラズマ乳房炎の感染経路は *M. bovis* が肺炎から血行性に全身へ拡散し、乳腺組織に侵入することとされている。^{7, 9)} 本事例では呼吸器疾患発生時の検査で、*M. bovis* が検出されなかったため、感染経路は不明だったが、導入牛の初産分娩後に乳汁中から *M. bovis* の遺伝子が検出されたことで、この導入牛については既に体内に存在していた *M. bovis* が血行性に移行した疑いが強いと推察された。一方で、本農場におけるマイコプラズ

マ感染は初発にも関わらず、同居していた子牛にマイコプラズマによる肺炎等がなかったのは、呼吸器感染が短期間であったのか、あるいは牛マンヘミア症発症時にマイコプラズマに感受性のあったニューキノロン系抗生物質を早期に投与し、比較的短期間でマンヘミアを制御したことと関連があるかもしれないと考えられた。いずれにしても、牛を導入する以上マイコプラズマ等の感染症侵入の危険性があると考えらるべきであり、発生が起こった場合の早期対処法を構築する必要があると考えられた。

5. 文献

- (1) Roger Blowey, Peter Edmondson: 牛の乳房炎コントロール 増補改訂版, 浜名克己監訳, 55-56, 緑書房 東京 (2012)
- (2) 安里 章 監修: MASTITIS CONTROL, 21, 十勝乳房炎協議会, 北海道 (2015)
- (3) 国安主税: マイコプラズマにどう対処するか, 臨床獣医, 6 (2), 30-31 (1988)
- (4) 草場信之: 北海道における牛マイコプラズマ性乳房炎の現状, 臨床獣医, 28 (6), 12-15 (2010)
- (5) 樋口豪紀: マイコプラズマ性乳房炎の迅速簡易検査技術とその応用, 臨床獣医, 28 (6), 16-19 (2010)
- (6) 安富一郎: マイコプラズマ性乳房炎発生農場に対するコントロール, 臨床獣医, 28 (6) 20-24 (2010)
- (7) 小岩政照ほか: 牛の内科実習「マイコプラズマ性乳房炎」, 臨床獣医, 28 (6) 44-48 (2010)
- (8) 川畑由夏ほか: マイコプラズマ性乳房炎の迅速簡易検査技術とその応用清浄化対策推進による大規模酪農経営体の健全経営支援, 岩手獣医師会報, 38 (2), 66-69 (2012)
- (9) 石山 大ほか: 千葉県で確認された牛マイコプラズマ性乳房炎の発生状況と清浄化対策, 日獣会誌, 67, (3), 188-192 (2014)
- (10) 田原和彦ほか: *M. Bovis* による牛乳房炎の発生, 日獣会誌, 50, (4), 205-208 (1997)

(11) 清水高正：牛のマイコプラズマ感染症，日獣
会誌，30，(7)，367-373 (1977)

(12) 幡谷 亮：牛の呼吸器の病理，家畜感染症学
会誌，2，(3)，85-97 (2013)

黒毛和種繁殖農家における危害分析結果に基づいた BRDC への対策

広島県農業共済組合 府中家畜診療所

○堀香織 片山孝 金子宗平

要 約

BRDC 多発黒毛和種繁殖農家において、原因究明のための危害分析を行い、予防対策を実施した。危害分析調査は、BRDC 罹患状況調査、移行抗体調査、野外感染状況調査、飼養管理状況調査を行った。調査結果の分析から、当農家では3か月齢でBRDC発症リスクがあるという問題点が明らかとなり、それに基づき、子牛へのワクチン接種時期の変更、子牛の群編成の変更、という二つの対策を実施した。対策後、BRDC 罹患率は低下し、子牛の一日増体量は増加した。BRDC の対策方法は多くあるが、BRDC の原因究明のための危害分析を行った後に、各農家に沿った対策を策定することで、無駄な経費を抑え、対策効果を得られると考えた。

牛呼吸器病症候群 (BRDC) は、ウイルス及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の複合要因により発生し、発育不良を引き起こし、死亡する場合もある経済的損失の大きな疾病である¹⁾。原因は多岐にわたり、単独の予防・治療では効果が得られない場合があるため、根拠のない対策の励行は望ましくない。今回 BRDC が多発する黒毛和種繁殖農家において、BRDC 発生率の低下と子牛の一日増体量の向上、それに伴う収益増加を目的とし、原因究明のための危害分析を行い、その結果に基づき BRDC の予防対策を実施したので、その概要を報告する。

材料および方法

○農家の概要

広島県J町で母牛91頭飼養の黒毛和種繁殖農家。年間子牛市場出荷頭数は約65頭。子牛の飼養形態

は、マス内で群飼育している。母子分離は3-7日齢で、その後人工哺乳を実施。母牛へは、分娩予定日1か月前に呼吸器6種混合ワクチン (IBR,BVD1,2,RS,PI3,AD) を接種している。子牛へは5か月齢で呼吸器5種ワクチン (IBR,BVD,RS,PI3,AD)、7か月齢でヒストフィルス (Hs) ワクチンを接種している。当農家の問題点として、子牛の発育不良、発育のばらつき、肺炎の頻発・集団発生が挙げられる。

○危害分析のための調査方法

1. BRDC 罹患状況の確認

カルテより2013年、2014年2年間の肺炎治療状況を調査し、肺炎罹患頭数、初診時日齢、治療回数などを確認した。

2. 母牛への接種ワクチンの効果の確認 (子牛の移行抗体価の測定)

2014年3月—11月に生まれた子牛7頭を、10日齢・1・2・3か月齢時で採血し、血清中の移行抗体価6種類 (IBR,BVD1,2,RS,PI3,AD) を測定した。

3. 母子分離後の野外感染状況の把握

2014年11月に、ランダムに選出した10日齢—5か月齢の子牛17頭を採血し、血清中の抗体価10種類 (IBR,BVD1,2,RS,PI3,AD,Mh,Pm,Hs,Mb) を測定した。

4. 飼養環境調査

子牛の飼養されているマスの大きさ、飼養頭数、飼養月齢、密度を調査した。

調査結果

1. BRDC 罹患状況の確認結果

2年間の肺炎発症月齢は0-6か月齢に集中しており、特に3か月齢周辺で多発している傾向であった。平均治療回数は3.6回であった。肺炎発生時期に季節的な偏りは見られなかった。



図1 調査結果1：過去2年間の肺炎発症月齢

2. 母牛への接種ワクチンの効果の確認結果

子牛の移行抗体価は、IBR,BVD1,2,RS,PI3,ADすべてにおいて10日齢で十分な抗体価があり、母牛へ接種しているワクチンは移行抗体として子牛へ移行していることを確認した。また、当農家では3か月齢で移行抗体が低下することを確認した。

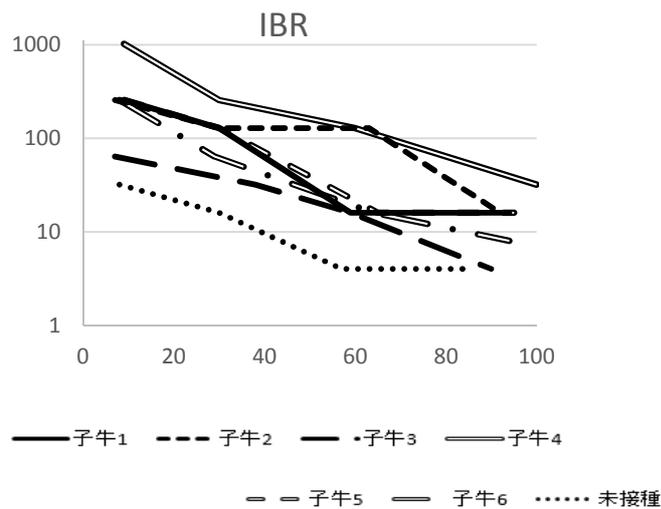
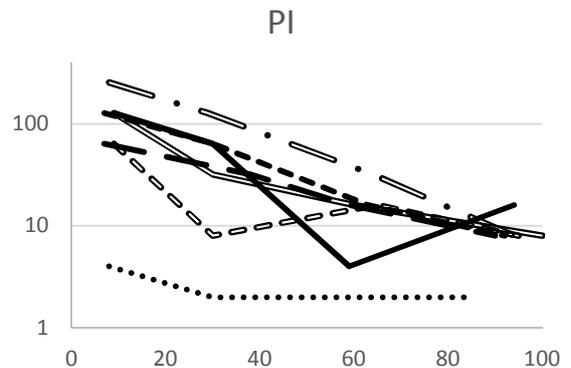
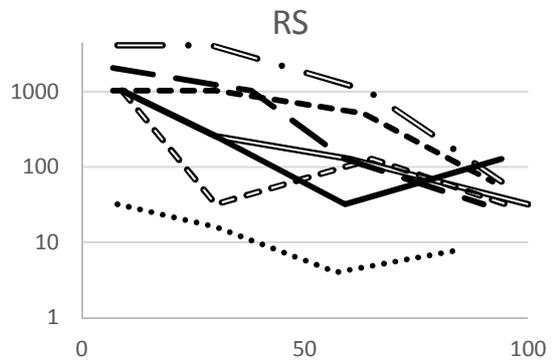
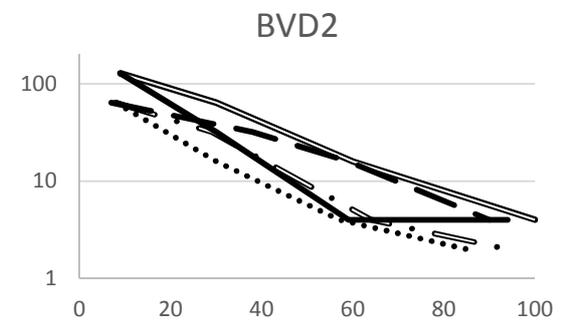
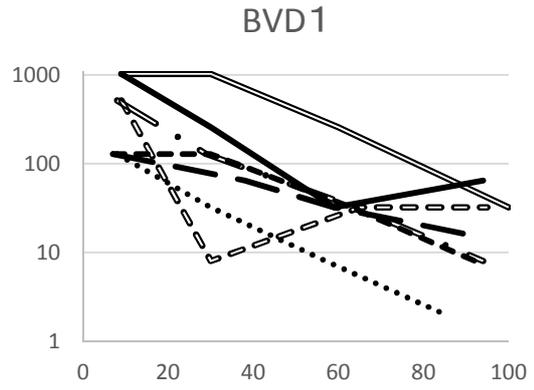


図2 調査結果2：子牛の移行抗体価の推移



3. 母子分離後の野外感染状況の把握の結果

10 種類の抗体価の測定の結果，移行抗体価が低下したと思われる 90 日齢以降を見ると，RS,Mh,Pm,Hs の抗体価が 100 日齢以降で抗体陽性と判断される値以上に上昇していた^{2) 3)}。よって，100 日齢以降に RS,Mh,Pm,Hs の野外感染の疑いがあると判断した。

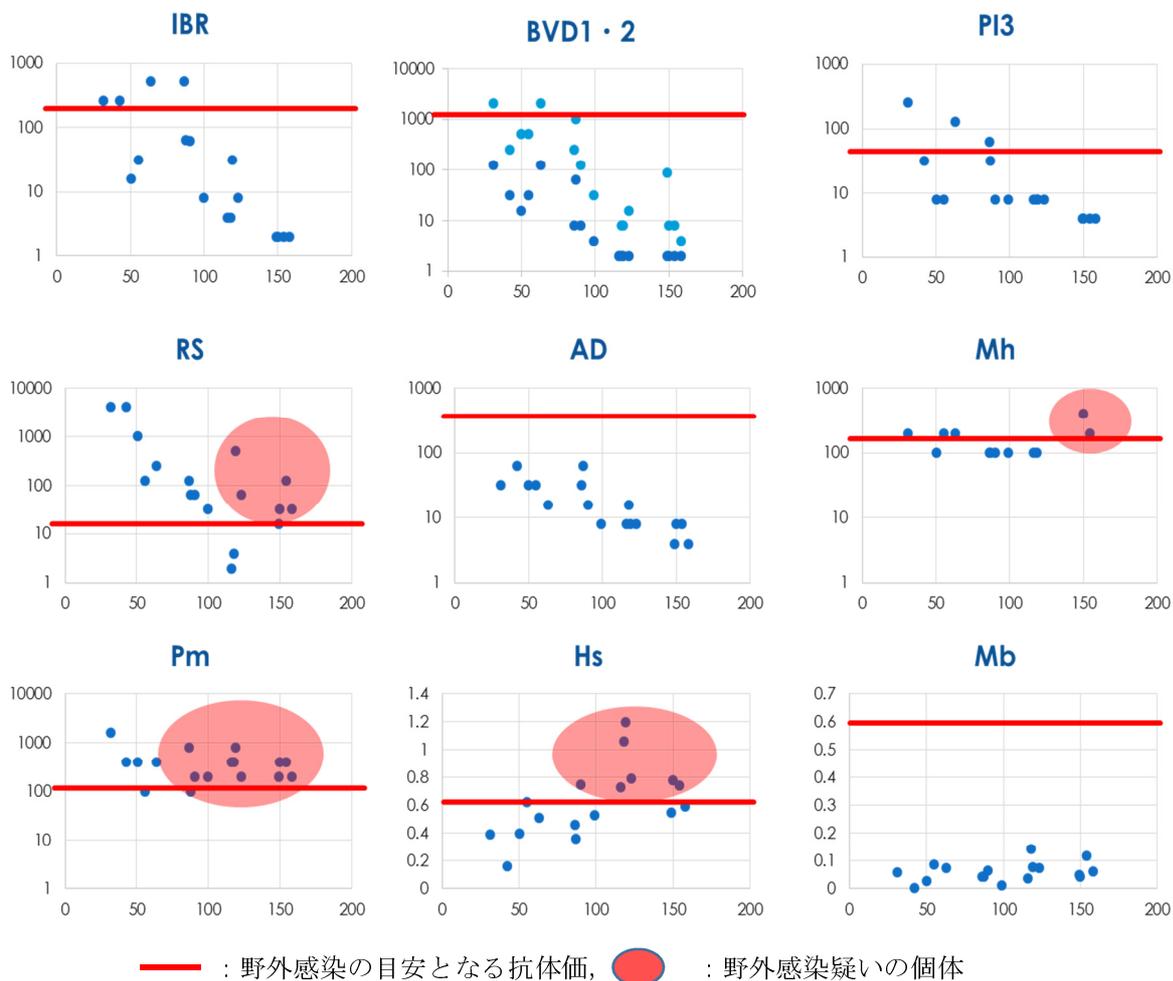


図3 調査結果：野外感染把握のための抗体価（縦軸：抗体価 or OD 値，横軸：日齢）

4. 飼養環境調査の結果

子牛の飼養されているマスは，縦9m横17.5mの牛舎で，牛舎内は二マスのみに分けられていた。一マスには母子分離後-3か月齢の子牛約15頭が，もう一マスには4-5か月齢の子牛約10頭が飼養されていた。牛舎内の1頭当たりの密度は約6.3m²であり，子牛の飼養密度としては十分であった⁴⁾。



図4 調査結果4：子牛飼育状態

対 策

危害分析の調査結果 1-4 から検出した問題点として、以下の 4 つの点が挙げられた。3 か月齢付近で BRDC が多発し、3 か月齢以降に移行抗体の減少が見られ、100 日齢以降で野外感染の疑いがあり、母子分離後-3 か月齢までの子牛が同じマス内で飼養されている、という点である。以上より、当農家での BRDC 発生を防ぐためには、3 か月齢付近での対策が必要であるということが明らかとなった。

○対策 1：子牛ワクチン接種時期の変更

今までは、5 か月齢で呼吸器 5 種混合ワクチン、7 か月齢で Hs ワクチンを接種していたのに対し、3 か月齢で呼吸器 5 種と Hs の混合ワクチンを接種することとした。

○対策 2：群編成の変更

今までは子牛のマスは二マスで、母子分離直後の子牛と、BRDC 発症リスクの高い 3 か月齢の子牛が同一マスで飼養されていたのに対し、一マスの月齢幅をそろえるため、対策後は月齢ごとにマスを分けることとした。対策前と同じ大きさの牛舎内を対策前同様金網で仕切り、一マスで同月齢の子牛約 5 頭を飼養することとした。飼養密度は対策前、対策後では変化していない。

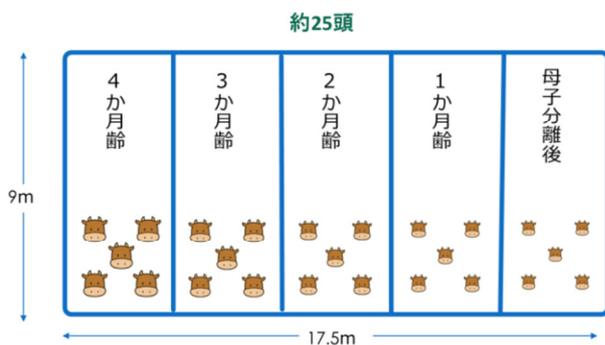


図 5 対策後の子牛飼養状況

対策後の効果判定

1. 子牛市場出荷時の増体量の比較

セリ伝票をもとに、対策前の 2014 年 1 年間に出荷

した子牛と、対策後に生まれ 2016 年 1 年間に出荷した子牛の出荷時の日齢・体重を調査し、一日増体量 (DG) を算出した。DG の算出方法は、黒毛和種標準発育値より、出生時体重を雄牛は 30 kg、雌牛は 27 kg として計算した⁵⁾。

2. BRDC 罹患状況の比較

カルテより、対策前の 2014 年 1 年間と、対策後の 2016 年 1 年間の子牛の肺炎罹患頭数、罹患率を調査・比較した。

対策後の効果判定結果

1. 子牛市場出荷時の増体量の比較結果

対策前 2014 年の平均 DG は去勢牛 0.97、雌牛 0.88 であったのに対し、対策後 2016 年の平均 DG は去勢牛 1.00、雌牛 0.90 と増加した。

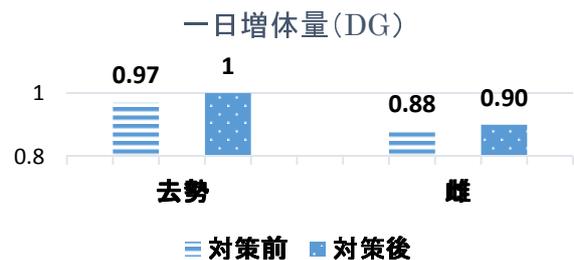


図 6 対策前と対策後の DG の比較

2. BRDC 罹患状況の比較結果

対策前の 2014 年は罹患頭数 16 頭、罹患率 26.2% であったのに対し、対策後の 2016 年は罹患頭数 8 頭、罹患率 13.1% と減少した。

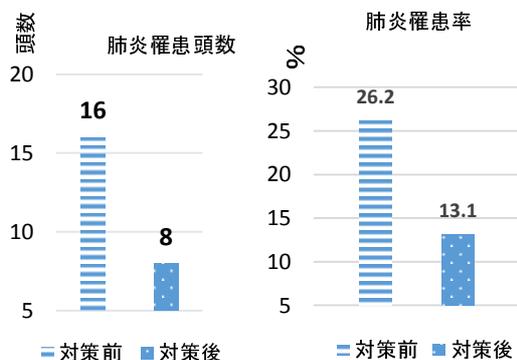


図7 対策前と対策後の肺炎罹患状況の比較

考 察

BRDCは集団発生を引き起こし、経済的損失は大きく、問題としている農家は多い。それに伴い、予防対策は多岐にわたり、母牛・子牛へのワクチン接種、子牛への飼料添加、予防薬の投与、消毒剤の使用など、様々な対策が励行されている。どの対策も実績が示されているが、各農家で飼養形態は異なり、発生要因・原因微生物も異なるため、どの対策もすべての農家で効果を得られるとは限らない。また、対策には費用が掛かり、期待した効果が得られず無駄な経費を増やす可能性もあるため、農家に対して根拠なく対策を励行することは望ましくない。

今回、当農家のBRDC発生要因の分析のため、4つの点から現行飼養管理を確認した。まず、カルテより肺炎罹患状況を調査したことで、3か月齢付近での発生が多いという点を確認した。次に、現行対策である母牛へのワクチン接種の効果確認のため、子牛の移行抗体価を測定し、対策の効果を確認した。次に原因微生物の把握のため、野外感染状況を調査し、100日齢以降で野外感染の疑いがあることが明らかとなり、さらに、野外感染微生物としてPS,Mh,Pm,Hsが疑われた。最後に飼養環境調査を行い、飼養しているマスが二マスのみであること、母子分離直後の子牛から3か月齢の子牛までが同マス内で集団飼養されている点に注目した。以上の点から、当農家の対策として3か月齢付近がBRDC発症のポイントとなっていると分析し、3か月齢での発生抑制のための対策を策定した。

まず3か月齢以降の移行抗体価の低下と、野外感染を防ぐため、ワクチンの接種時期を、5・7か月齢での接種から3か月齢での接種へ変更した。接種ワクチン(IBR,BVD,RS,PI3,AD,Hs)には、野外感染疑いの抗体価上昇が見られた細菌2種(Mh,Pm)は含まれていない。しかし、BRDCの原因微生物は複

合的であるため、一部のウイルス・細菌がワクチンによって発症抑制されたことにより、BRDCの発生が減少したと考察した⁶⁾。

飼養環境の改善としては、牛舎内のマスを月齢ごとの群に仕切りで分けることとした。よって、同じ牛舎内で飼養されてはいるが、他月齢の子牛との競合や濃厚接触が軽減され、また、群の再編成が行われなくなった。このことにより、BRDC発生要因の一つであるストレスが大幅に軽減され、BRDCの発生が抑制されたと考察した⁷⁾。

BRDC発生の抑制により、子牛の発育のばらつきが軽減され、発育・増体不良も改善されたため、去勢牛・雌牛ともにDGが向上したと考えた。

今回、原因分析のため、今までの飼養状況を確認したことで、農家とともに現行飼養管理の良い点・悪い点・現行対策の必要性の有無を多角的に把握できた。原因分析を行った結果、対策をするうえで重要なポイントとなる本農場の問題点が発見でき、3か月齢付近での対策という的を絞った対策、かつ、原因微生物・免疫状態という多方面からの対策が可能となったと考えた。結果的に、無駄な経費を抑え、収益を増加させることができたと考えた。

今回の調査を通じて、効果的なBRDC対策のポイントとして次の点が挙げられる。現状を評価・分析し問題点を明らかにし、各農場に沿った個別的対策かつ総合的対策を策定する。そして、定期的に飼養手順の確認を行い、対策を継続させ、さらにその時々状況に応じて対策を発展させていくという点である。農家も多数の情報を持っている中で、獣医師が根拠に基づいた対策を提示し指導することで、場当たりの対策で経済損失を引き起こすことなく、農家の収益増加につなげられると考える。農家の規模の大小に関わらず、対策・指導をする前の危害分析は重要であり、このような対策方法を多くの農家で行っていく必要があると考える。

謝 辞

抗体価の測定を行っていただいた、微生物化学研究所の皆様に深謝いたします。

引用文献

- 1) Cravens, R.L. : アメリカにおける牛呼吸器病症状候群の現状と対策. 臨床獣医. 22 (6) 15-19. (2004)
- 2) 加藤肇, 杉山昌継, 佐久間元希ら : *Mannheimia haemolytica* ワクチンの早期接種による子牛の抗体 応答調査, 日獣会誌, 65, 694 - 697 (2012)
- 3) 乙丸孝之介, 久保田整, 大塚浩通ら : 黒毛和種導入子牛に対する *Pasteurella multocida* , *Mannheimia haemolytica*, *Histophilus somni* 混合不活化ワクチンの呼吸器病予防効果, 日獣会誌, 65 767-770 (2012)
- 4) アニマルウェルフェアの考え方に対応した肉用牛の飼養管理指針, 平成 23 年 3 月 : 社団法人畜産技術協会, 15 (2011)
- 5) 小形芳美, 岡本全弘, 木村信熙ら : 子牛の科学, チクサン出版社, 17 (2011)
- 6) 水戸康明, 植月義友 : 黒毛和種牛繁殖農場における 牛呼吸器病症状候群 (BRDC) 対策, 家畜診療, 63 37-43 (2016)
- 7) 石崎弘宏 : 環境ストレスに対する牛の生体反応 - 免疫系への影響を中心に再考する -, 産業動物臨床医学雑誌, vol7-No2, 106-108 (2016)