

令和5年度
第61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

令和5年度第61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61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 開催日

令和6年1月24日

4 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

5 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 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 工藤 沙弥子 … 1
- 2 管内肉用牛農家における農場HACCPの推進について
西部畜産事務所 竹本 彩香 … 5
- 3 病性鑑定を実施した少羽数養鶏場における課題
西部畜産事務所 細川 久美子 … 9
- 4 広島県産ハチミツを用いた腐蝕病菌の検出状況
西部畜産事務所 船守 足穂 … 15
- 5 短期肥育牛の血中銅及び亜鉛濃度の週及的調査
西部畜産事務所 渡久川 兼誉 … 22
- 6 重大な動物感染症発生時に備えた埋却準備への取り組み
北部畜産事務所 鍵本 沙也 … 29

II 総合技術研究所

- 7 CASAを活用した凍結精液の品質評価モデルの構築
県立総合技術研究所畜産技術センター 森政 賢二 … 34

III 広島県農業共済組合

- 8 拡張型心筋症が疑われた子牛の一症例
広島県農業共済組合府中家畜診療所 網屋 果琳 … 38
- 9 ホルスタイン種におけるBLV抗体陽性牛と血液生化学との関連について
広島県農業共済組合庄原家畜診療所 茶川 元樹 … 42

IV 高等学校

- 10 環境性乳房炎対策
広島県立西条農業高等学校 水嶋 琉海 … 46
- 11 比婆牛の新たな価値を創る
広島県立庄原実業高等学校 児玉 真梨菜
松木 紗希 … 53

(注)

○：第65回中国・四国ブロック家畜保健衛生業績発表会 選出演題

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

○工藤沙弥子 田村和穂

はじめに

牛海綿状脳症（以下 BSE）は、平成 13 年に国内初の感染牛が確認され、平成 15 年から 24 か月齢以上の死亡牛の全頭検査が開始された。平成 21 年度以降、感染牛は確認されておらず、検査対象牛の条件は緩和されてきた。現在の検査対象は、96 か月齢以上の一般的な死亡牛全頭及び 48 か月齢以上の特定症状等を示した死亡牛であり、診療獣医師から提出された死亡診断書から、検査の是非を判断している。今回、提出された死亡診断書を分析し、県内死亡牛の動向を考察した。

方法

平成 28 年度から令和 4 年度の 7 年間に、死亡診断書が提出された 48 か月齢以上の死亡牛 2,996 頭を調査対象とし、用途別、年度別、月別、年齢別及び死亡理由により調査した。また、牛の個体識別情報検索サービスの県内飼養頭数データから各項目における死亡率を求めるとともに、気象庁の HP から気象情報を調べた。

成績

1. BSE 検査頭数

平成 28 年度から平成 30 年度は、各年度 440 頭前後で推移し、検査対象が 96 か月齢以上の一般的な死亡牛及び特定症状等を示した死亡牛に変更された平成 31（令和 1）年度以降は、各年度 140 頭前後と約 1/3 に減少した。

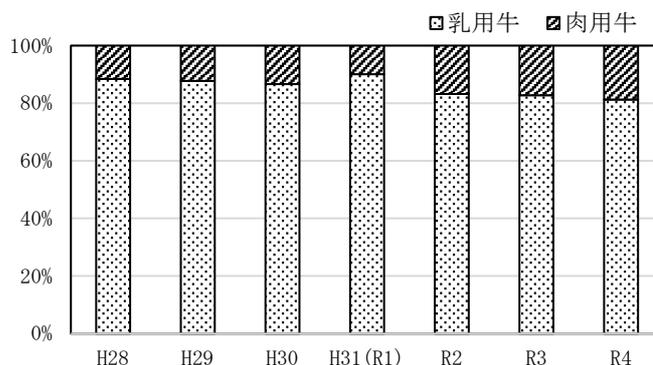


図1 用途別死亡頭数割合

2. 用途別死亡頭数割合（図1）

各年度とも乳用牛が全死亡頭数の 80%以上を占めていた。

3. 年度別死亡頭数及び死亡率（図2）

各年度の死亡頭数は、乳用牛が 288～395 頭、肉用牛が 40～89 頭で推移していた。県全体の各年度の用途別牛飼養頭数に対する死亡率は、乳用牛が 10%前後、肉用牛が 1.5%前後で推移していた。

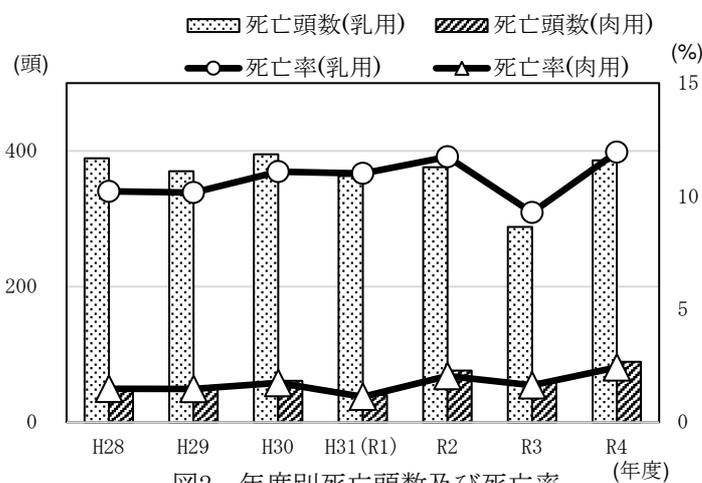


図2 年度別死亡頭数及び死亡率

4. 月別死亡頭数 (図3)

乳用牛は7月が276頭、8月が324頭と夏季に死亡が多くみられた。肉用牛は11月から2月が41頭～51頭と冬季に死亡が多い傾向であった。

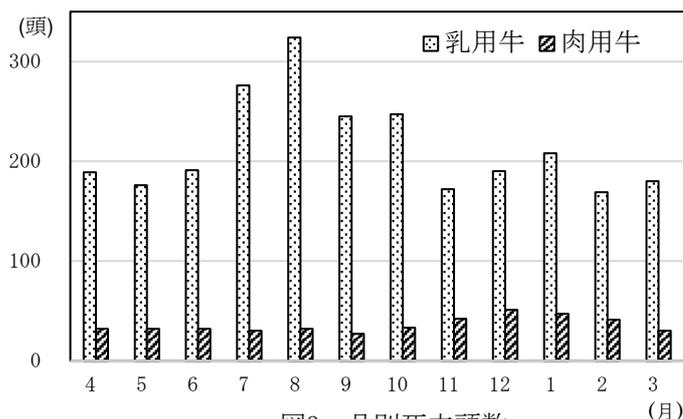


図3 月別死亡頭数

5. 年齢別死亡頭数及び死亡率 (図4、5)

死亡頭数は、乳用牛は4歳、5歳で637頭、600頭と多く、以降は年齢に従って減少していた。肉用牛は5歳、10歳でそれぞれ41頭、40頭と多かった。各年齢の飼養頭数に対する死亡率は、乳用牛は4歳から年齢に従って上昇し、8歳で14.7%と一番高くなっていた。肉用牛は4歳から8歳まで1%前後で推移し、その後は年齢に比例して増加傾向だった。

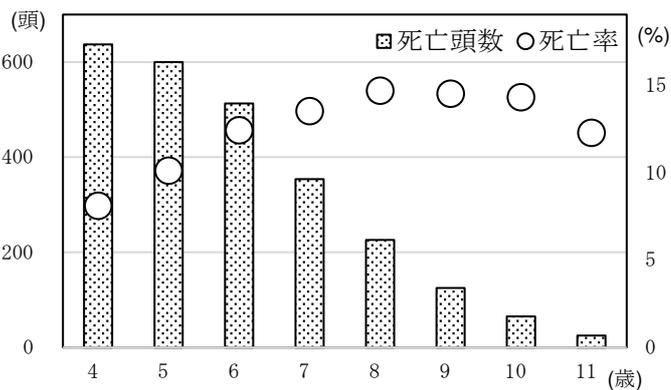


図4 年齢別死亡頭数及び死亡率 (乳用牛)

6. 死亡理由別頭数

乳用牛の死亡理由では、心不全、周産期疾患、乳房炎、鼓脹症の順で多く、肉用牛では心不全、鼓脹症、消化器疾患、周産期疾患の順で多かった (図6、7)。なお、両者において心不全についての詳細な原因は不明であった。

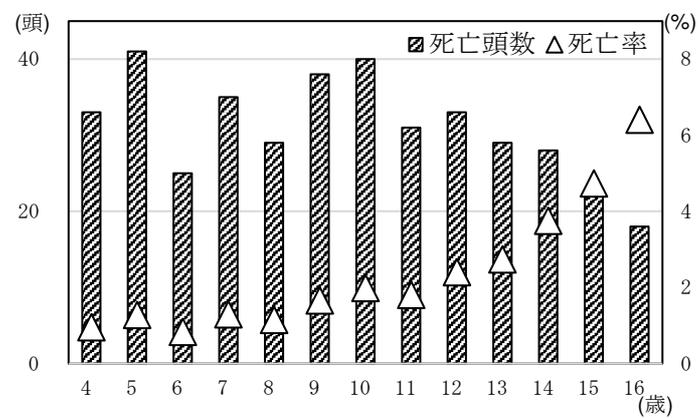


図5 年齢別死亡頭数及び死亡率 (肉用牛)

乳用牛において、死亡理由上位の周産期疾患及び乳房炎、夏季に増加し問題視される熱射病について死亡頭数の年度推移をみると、乳房炎と熱射病の推移が類似しており、平成30年度をピークに減少傾向であった。周産期疾患は平成28、29年度と比較して近年は減少していた (図8)。鼓脹症は大きな年度変化は見られなかった。肉用牛におい

ては、鼓脹症及び消化器疾患、周産期疾患、熱射病について、年度推移に特に傾向は見られなかった。

また、乳用牛について、各死亡理由を月推移でみると、乳房炎が6～9月に多く、周産期疾患が1月に多かった。熱射病は6～10月でみられ、8月がピークであった (図9)。

なお、令和3年度は、乳用牛の死亡頭数が減少し、乳房炎と熱射病による死亡頭数も減少していた。熱射病による死亡頭数が減少していたことから県内の8月の気候を調べたところ、令和3年度の最高気温、平均気温は他年度に比べ低く、30℃を超えた真夏日の日数も少なかった (表1)。一方で、気温と熱射病の推移は必ずしも一致しておらず、平成31年度以降、気温に関わらず熱射病での死亡頭数は減少傾向であった。

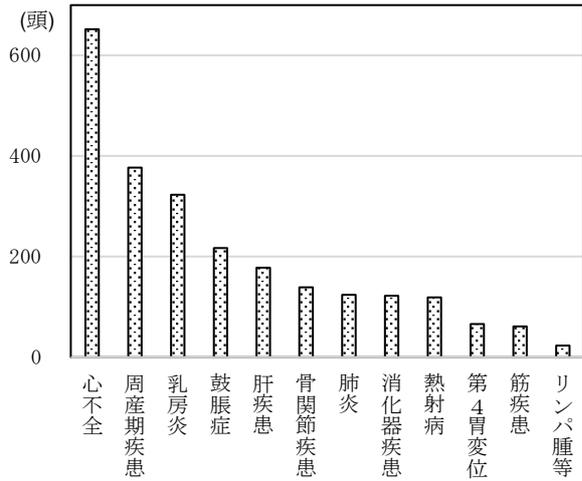


図6 死亡理由別頭数 (乳用牛)

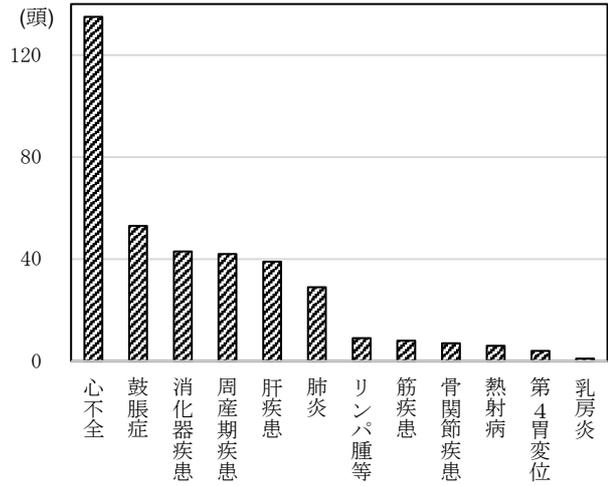


図7 死亡理由別頭数 (肉用牛)

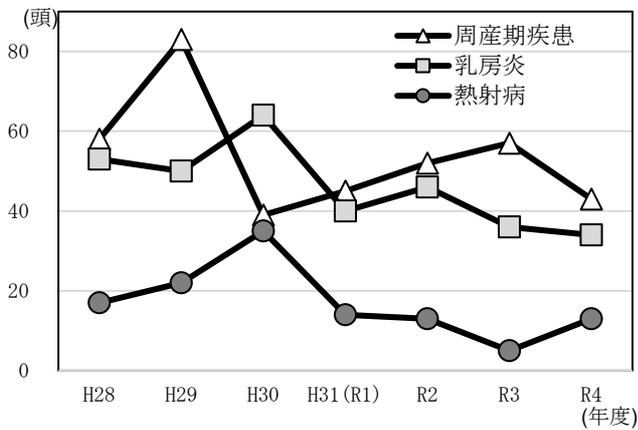


図8 死亡理由別の年度推移 (乳用牛)

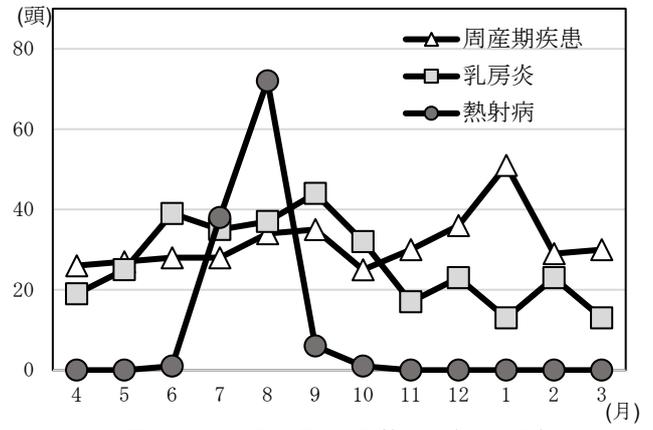


図9 死亡理由別の月推移 (乳用牛)

表1 8月の気候状況

	H28	H29	H30	H31(R1)	R2	R3	R4
庄原市							
最高気温(°C)	32.8	31.7	33.3	31.4	33.6	30.2	32.1
平均気温(°C)	25.4	25.3	26.2	25.8	26.3	24.6	25.9
30°C超日数(日)	26	27	28	18	29	17	27
広島市							
最高気温(°C)	34.3	33.3	34.7	32.1	34.5	31.1	33.1
平均気温(°C)	29.3	29.0	29.8	28.5	29.9	27.4	29.2
30°C超日数(日)	27	28	31	22	31	19	30

まとめ及び考察

1. BSE 検査頭数は、検査対象牛の条件変更に伴い減少してきた。
2. 用途別死亡頭数割合は、各年度とも乳用牛が全死亡頭数の 80%以上を占めていた。
3. 飼養頭数に対する死亡率は乳用牛の方が高く推移し、用途別死亡割合においても乳用牛が 80%以上を占めることから、乳生産による負担の大きさが影響していると推測された。
4. 月別死亡頭数は、乳用牛で 7 月、8 月の夏季が多いことから、暑熱の影響が乳用牛で大きいことが示唆された。肉用牛では 11 月～2 月の冬季が多く、乳用牛とは異なる傾向がみられた。
5. 年齢別の死亡率は、乳用牛では 4 歳から年齢に比例して上昇し、8 歳で一番高かった。肉用牛では 9 歳以降で上昇傾向にあった。これらの情報は、牛の更新時期を管理する際の一助になると考えられる。
6. 死亡理由別頭数は、乳用牛で心不全、周産期疾患、乳房炎、鼓脹症の順で多く、肉用牛で心不全、鼓脹症、消化器疾患、周産期疾患の順で多かった。乳用牛において、熱射病と乳房炎の死亡頭数の推移が類似していることから、暑熱対策が乳房炎対策の一助になる可能性が示唆された。また、近年は外気温に関わらず熱射病は減少傾向であったことから、各畜産農家における暑熱対策の有効性も推察された。乳用牛及び肉用牛の両者において、周産期疾患が死亡原因の上位にあったことから、繁殖管理の重要性が再認識された。

死亡頭数の増減、死亡原因の分析は、今後の飼養管理の改善に有効である。

参考文献

1. 牛個体情報：死亡診断書
2. 牛飼養頭数：家畜改良センターホームページ
3. 気象情報：気象庁ホームページ

管内肉用牛農家における農場 HACCP の推進について

西部畜産事務所

○竹本彩香 坂寄淳平

はじめに

広島県農林水産局では、「2025 農林水産業アクションプログラム」に基づき、畜産振興施策として、持続可能な広島和牛生産体制の構築を目指し、肥育経営体の規模拡大に取り組んでいるが、県内肥育経営体それぞれの発展ステージ（図 1）に合わせた規模拡大支援が必要である。今回、規模拡大を目指す管内の肥育農家 2 戸において、課題解決を目的として農場 HACCP の取組を支援したので、その概要を報告する。

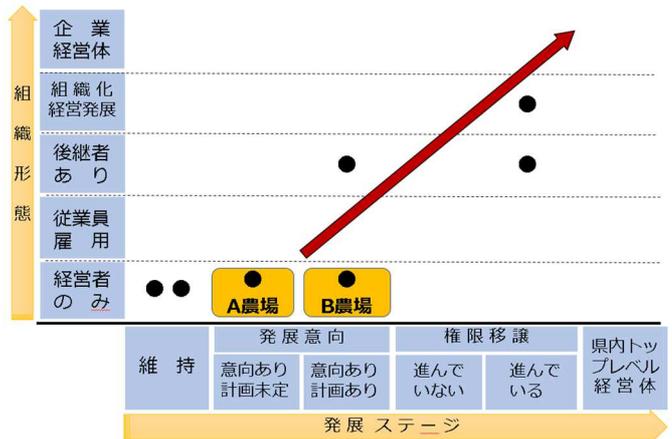


図 1 経営発展ステージ

取組内容

農場 HACCP は、危害要因の分析・評価を行い、個々の農場に応じた一般的衛生管理プログラムや必須管理点を決め、適切な飼養衛生管理に取り組むことにより、畜産物の安全性の確保と生産性の向上を図るためのものである。

西部管内の肥育農家 2 戸（A 農家、B 農家）の規模拡大支援の手法として、農場 HACCP の推進を活用した。

1. A 農家（図 2）

1) 農家概要

親からの経営継承を機に増頭と牛舎建設を行い、令和 3 年から肥育牛 300 頭に増頭した。

2) 農場 HACCP 推進経緯

飼養管理手順が共有されていないため、枝肉成績が安定していなかったこと、今後の増頭に向けた準備ができていないことが課題であった。

令和 2 年 4 月、雇用準備のために作業の見える化をしたいという農家の意向を確認し、令和 2 年 8 月から HACCP に則った生産工程管理の見える化を支援していくこととした。

3) 支援内容

ア 作業分析シートの作成

定期的に農家と会議を行い、県（畜産事務所及び農業技術指導所）が農場の作業を確認しながら作業分

飼養規模	肥育牛300頭
従事者	2名（家族経営）
経緯	親からの経営継承を機に増頭・牛舎建設
課題	1 枝肉成績が安定しない 2 雇用準備ができていない ⇒ 飼養管理技術の平準化 ⇒ 増頭に向けた生産の効率化
対応策	農家の意向 「作業の見える化をしたい」 ➡ HACCPに則った生産工程管理の文書化を支援

図 2 A 農家概要

析シートの素案を作成し、農場長に内容を確認してもらい作成した。

イ HACCP に取り組む他県の肥育農家の視察

農家から HACCP に取り組む肥育農家を視察したいという希望を受け、視察候補地を検討し、令和 4 年 6 月に他県の HACCP に取り組む肥育農家を視察した（図 3）。視察により、農家の HACCP への理解や取り組み意識が向上した。さらに、視察した農家では県や畜産関係団体等による HACCP 支援チーム体制のもと HACCP 認証取得につながったことを知り、HACCP 支援チームを組んで支援して欲しいという意見が出た。



図 3 視察の様子

ウ HACCP チームによる支援

西部畜産事務所、西部農業技術指導所及び一般社団法人広島県畜産協会をメンバーとする HACCP 支援チーム体制を構築して、毎月 HACCP チーム会議を開催し、文書の作成を支援した。チーム構成員のうち、畜産協会は文書作成指導・専門家の派遣、農業技術指導所は会議の調整及び運営・作成した文書の整理、畜産事務所は飼養衛生管理基準等に基づく指導・文書作成指導をそれぞれ担当した。

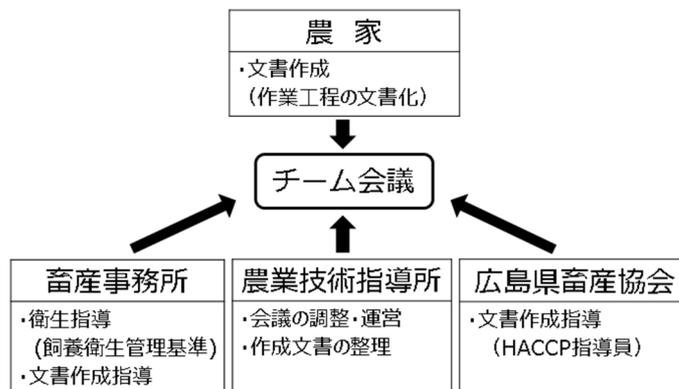


図 4 HACCP 支援チーム体制

令和 5 年 12 月、HACCP 運用に必要な文書が概ね完成し、HACCP 運用を開始しており、一定期間経過後、検証を実施し検証結果をもとに改善指導を行う予定である。

2. B 農家 (図 5)

1) 農家概要

肥育牛 220 頭を 2 名で飼養管理しており、企業とともに展開している独自の和牛肉ブランドの販売拡大のために増頭を検討していた。

2) 農場 HACCP 推進経緯

規模拡大に伴う雇用準備と生産体制の効率化と品質維持を課題としており、増頭に向けた飼養管理技術の平準化が必要だった。

そこで、農場 HACCP に則った作業マニュアルの作成を当所から提案した。農家はマニュアル作成による負担の増加を懸念していたため、作成にかかる取組スケジュール案を提示し、農家の見通しが立てられるようにしたところ、まずは 1 年間取り組んだ後に継続を検討することとなった。

3) 支援内容

事前に作業マニュアルの様式を農家に渡し、毎月の打ち合わせまでに特定の作業を書き出してもらい、当所が内容の確認と修正を行いとりまとめた (図 6)。

飼養規模	肥育牛220頭
従事者	2名
経緯	企業と展開している独自の和牛肉ブランド販売拡大のために増頭を検討
課題	1 規模拡大に伴う雇用準備 2 生産体制の効率化と品質維持 ⇒飼養管理技術の平準化
対応策	農場HACCPに則った作業マニュアルの作成を支援

図 5 B 農家概要

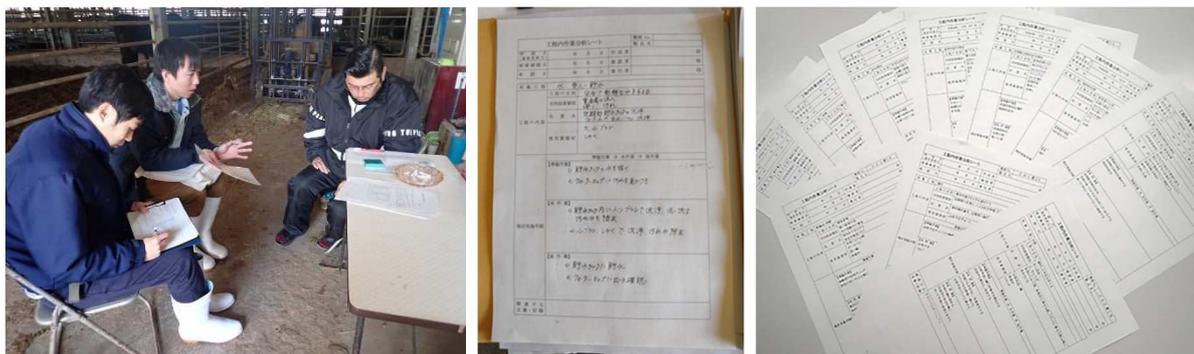


図 6 作業マニュアル作成 (左: 打ち合わせ、中央: 農家手書き、右: 修正・清書)

令和 6 年度の完成を目指し、作業マニュアル作成と危害要因分析の支援を継続している。また、HACCP 認証取得は検討中であるが、和牛肉ブランド推進のために必要になった際に対応できるように、認証取得に向けた支援方法を検討していく。

結果

今回の取組みから次の成果が得られた。

1. 作業工程の見える化

農場の従事者それぞれの感覚で行っていた作業を文書化することにより、作業工程の見直しができ、生産効率を向上させるための有効な手段となった。

また、今後雇用を行う際の作業マニュアルとしても活用できるようになった。

2. 農家の意識向上

A 農家では、HACCP に取り組む農家の視察を行ったことで、HACCP に関する理解や取り組み意識が向上し、主体的に取り組むようになった。また、畜産協会や指導所と連携しチームで支援を行うことにより、支援体制が充実し、農家のモチベーションを維持させることができた。

B 農家では、当初、取り組み開始から 1 年後に継続を検討することとしていた。令和 4 年 4 月から支援を開始し、農家も必要性を実感したことから令和 5 年 4 月に継続することとなり、現在も作業マニュアルの作成を継続することができている。

さらに、HACCP に則った生産工程管理を指導することにより、飼養衛生管理基準等の観点から消毒実施方法や衛生管理区域設定など衛生対策について個々の農家の実情に合わせた支援ができ、農家の衛生対策への理解向上を図ることができた。

3. 県の支援体制の構築

A 農家では、指導所や畜産協会と連携し支援チームを確立することができ、役割を分担することにより専門性が高く効率的な支援を提供できた。また、HACCP 運用開始に至るまでに必要な支援やスケジュールを把握することができた。

まとめ

今回、HACCP 導入支援を行うことにより、作業の見える化による作業効率の向上や農家の発展意欲の醸成を推進することができ、法人化しているもののさらなる経営発展のために課題を抱えている 2 農家に対する支援手法として有効であったと考えられる。

今後の課題として、HACCP 運用開始後も検証と改善が必要であるため、農家が主体的に継続できる支援が必要である。また、2 農家とも HACCP 認証取得には至っていないが、個々の農家に合わせた認証取得の必要性の検討と認証取得する際の支援体制の構築が必要である。さらに、県において HACCP 導入を支援できる体制を整備し、指導者研修の受講や指導方法の共有を図る必要がある。

今回の取り組みで HACCP 導入支援体制の構築や指導方法を把握することができたことを踏まえ、農場 HACCP 推進を一つの手法として活用し、県内肥育経営体の支援を行い、持続可能な広島和牛生産体制の構築に取り組んでいく。

病性鑑定を実施した少羽数養鶏場における課題

西部畜産事務所

○細川久美子

はじめに

家畜の取り扱いについては、「産業動物の飼養及び保管に関する基準（昭和 62 年総理府告示第 22 号）」の告示から現在まで、様々な基準の提案や通知がなされてきた。近年では特に、わが国はアニマルウェルフェア（AW）の国際基準を踏まえた家畜の飼養管理の普及を図っており、2023 年 7 月には、農林水産省が「畜種ごとの飼養管理等に関する技術的な指針」を公表した¹⁾。AW の指標として、「5 つの自由」（「飢え、渇き及び栄養不良からの自由」、「恐怖及び苦悩からの自由」、「身体的及び熱の不快感からの自由」、「苦痛、傷害及び疾病からの自由」及び「通常の行動様式を発現する自由」）が示されている²⁾。

近年、少羽数飼養の養鶏は、大規模養鶏と異なる飼養方法（例：平飼等の AW に配慮した飼養方法、発酵飼料を給与等）で注目されることも多く、生産された鶏卵は付加価値を付けて売られることも多い。一方で、鶏の病性鑑定の中でも、少羽数飼養の養鶏では飼養管理失宜が原因となる依頼が多い。病性鑑定を実施した小羽数飼養の採卵養鶏場において、飼養管理や AW 等に関する共通の課題が確認されたので報告する。

材料と方法

2018 年 4 月から 2023 年 7 月に実施した鶏の病性鑑定 36 件（表 1）中、飼養規模 100 から 400 羽の 4 農場 6 症例について、飼養環境及び病因の取りまとめを行った。

鑑定目的は死亡原因究明が最も多く、次いで衰弱原因究明、産卵率低下の原因究明等であった。

表 1 鶏の飼養規模と病性鑑定

飼養規模	戸数（戸）	病性鑑定数（件） （2018. 4～2023. 7）
10 万羽以上	29	21
100～10 万羽未満	45	14
100 羽未満	276	1
合計	350	36

成績

Case1 : A 農場

開放型鶏舎の平飼方式（開放平飼）で、銘柄鶏の初生を導入し、導入時からくず米、米ぬか、おからの自家配合飼料（自家配）を給与していた。雛は徐々に食欲低下、死亡数が増加し、1 カ月後には 1 日に 10 羽以上の死亡が認められたことから病性鑑定を実施した。育成中の雛は重度の削瘦（図 1）、脱水及び血便を呈しており、体重は 35 日齢で 100 g から 150 g と標準体重^{3, 4)}の 1/4 から 1/3 であった。また、胸腺及

びファブリキウス囊の萎縮が認められた。病理組織学的検査において重度のコクシジウム寄生と出血性腸炎が認められた。細菌学的検査においては *Escherichia coli* 及び *Clostridium perfringens* が分離されたが、大腸菌症及び壊死性腸炎の明確な所見が認められなかったことから、これらの細菌はコクシジウム症に伴う二次的な増殖であると考えられた。

Case2 : B 農場

開放平飼で、銘柄鶏の初生を導入し、成鶏用の飼料で育成していた。導入1カ月頃から食欲及び活力低下、1日に10羽以上の死亡が認められたことから病性鑑定を実施した。育成中の雛は重度の削瘦及び脱水を呈していた。体重は40日齢で210gから250gと標準体重^{3,4)}の1/2以下であった。病理組織学的検査において重度のコクシジウム寄生とグラム陽性桿菌を伴った壊死性腸炎が認められた。細菌学的検査において、*Clostridium perfringens* が分離されたことから、病理組織所見と併せて総合的に判断し、鶏クロストリジウム・パーフリンゲンス感染症と診断した。この他、幼雛の保温に用いる電気ストーブは季節的判断によって使用されていなかった。



図1 Case1、重度に削瘦した雛

Case3 : C 農場

開放平飼で、銘柄鶏の初生を導入し、麦、米、牡蠣殻、魚類加工品、米ぬか、おから、野菜くず等の自家配を給与していた。導入1カ月頃から食欲不振、下痢及び元気消失、1日に4から5羽の死亡が続いたことから病性鑑定を実施した。育成中の雛は35日齢で重度の削瘦、及び発育不良を呈し(図2)、発育具



図2 Case3、重度に削瘦した雛



図3 Case3、腸管の鶏回虫

合は不揃いであった。消化管に多数の鶏回虫が認められた（図3）。病理組織学的検査においてコクシジウム寄生、肝臓や脾臓の多発性巣状壊死、菌塊を伴った化膿性腎炎が認められた。

Case4～6：D農場

D農場は5年間に3件の病性鑑定を実施しており、開放平飼で銘柄鶏の初生を導入し、導入した鶏の多くが2か月齢までに衰弱死する農場であった。

Case4

初生導入から3日間は玄米のみ、その後米ぬか、くず米、魚粉、牡蠣殻の自家配で育成していた。導入直後、管理失宜により2割の雛が死亡。導入4日目から食欲低下及び下痢、1日に10羽以上が死亡するようになり、導入した雛の7割以上が死亡したことから病性鑑定を実施した。育成中の雛は著しく削痩し、脱水を呈していた。体重は25日齢で50g前後と鶏卵1個分より軽い体重となっていた。病理組織学的検査においてカンジダによるそ嚢炎、鶏回虫寄生、コクシジウム寄生、胸腺及びファブリキウス嚢の萎縮、大腸菌症を疑う肝臓の線維素血栓形成や脾臓における濾胞壊死、水不足または感染症を疑う尿細管の石灰沈着、尿細管上皮の変性・壊死が認められた。

Case5

94週齢の採卵鶏が食欲不振、産卵率低下（平常時の10%）、黒色下痢、貧血を呈したため病性鑑定を実施した。米ぬか、米粉、魚粉、くず米、くず大豆、牡蠣殻（割合は5:5:1:1:1:0.5）の自家配を給与していたが、飼料の一部が変敗していた。鶏は削痩し、1kg未満の個体も認められ、同系統の鶏と比較^{3、4}すると1/2以下の体重であった。病理組織学的検査において重度のコクシジウム寄生と鶏回虫寄生、筋胃びらん、肝臓における多発性巣状壊死、腎臓の細菌感染及び膿瘍形成が認められた。

Case6

導入した初生雛が少しずつ死亡し、5カ月後には8割が死亡していた。生存していた育成鶏は削痩し、発育不良で眼瞼周囲の浮腫（図4）、沈鬱、斜頸や起立不能等が認められたため病性鑑定を実施した。病理組織学的検査において舌から食道にかけての腺や腺を伴う組織（眼瞼や鼻腔等）に扁平上皮化生（図5）が認められ、生化学的検査⁵において血漿中のビタミンA濃度が著しく低値を示した（表2）ことからビタミンA欠乏症と考えられた。この他、鶏回虫寄生が確認された。腫脹した眼瞼から *Staphylococcus schleiferi* や *Pasteurella* sp. が分離されたが、これらは腺組織の扁平上皮化生に伴う二次感染と考えられた。



図4 Case6、沈鬱、眼瞼の腫脹

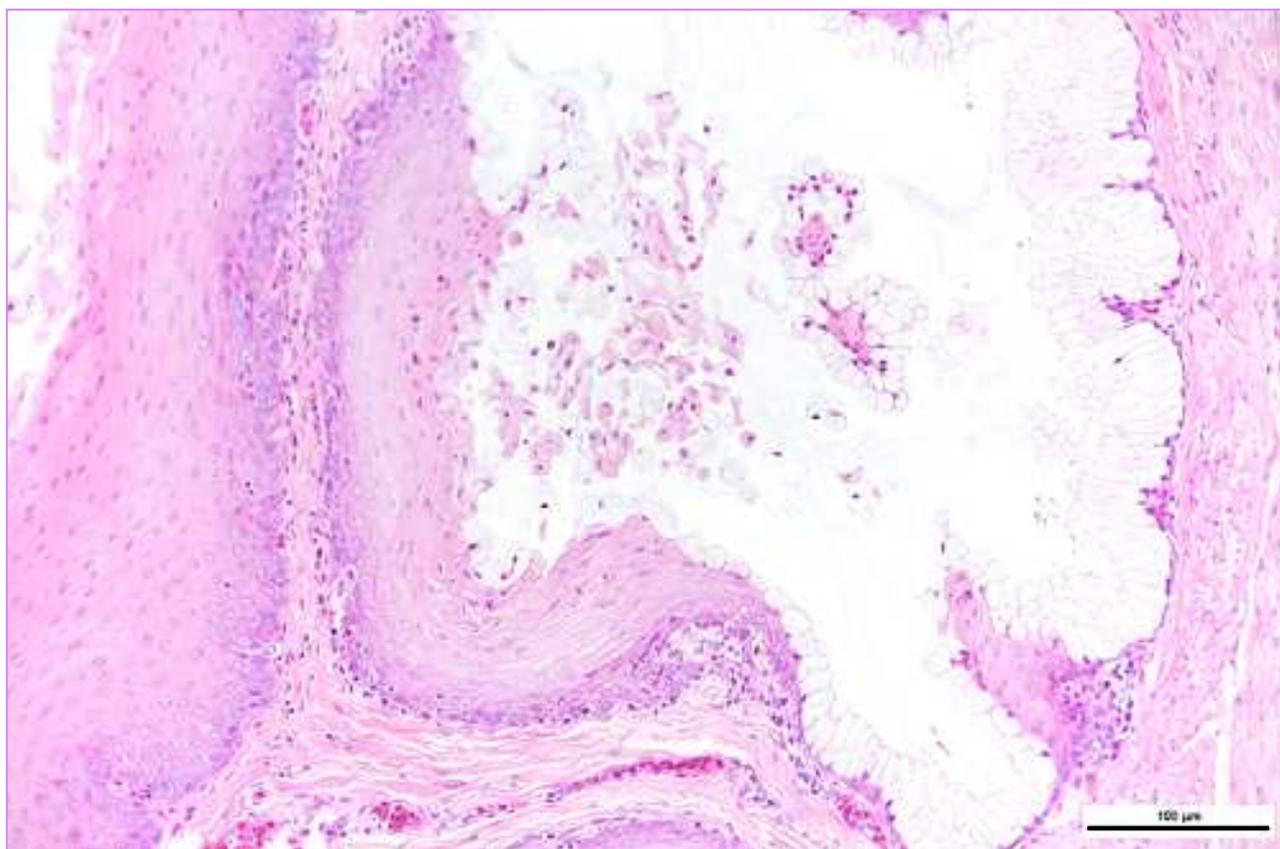


図5 Case6、食道腺の扁平上皮化生、ヘマトキシリン・エオジン染色、Bar=100 μm

表2 血漿中のビタミンA濃度

検体	ビタミンA濃度 (IU/dL)
No.1	検出限界以下
No.2 及び 3 (プール)	2.7
※ (参考値) 採卵鶏	555.4

まとめ及び考察

今回取りまとめた病性鑑定における農場の共通点として、1. 銘柄鶏の初生の導入、2. 育雛期からの自家配給与、3. 開放型鶏舎の平飼方式による飼養が確認された。病性鑑定結果の共通点として、高い死亡率（特に初生導入から育雛期に最大8割超）、飼養鶏の重度消瘦、発育不良、消化管内寄生虫、脱水、免疫器官の萎縮、感染症等が認められた。病性鑑定を実施した農場ではAWの5つの指標のうち「飢え、渇き及び栄養不良からの自由」及び「苦痛、傷害及び疾病からの自由」が満たせていなかった。

1. 初生の導入

病性鑑定事例では、温度管理失宜、日齢に適さない飼料給与、汚染された環境から早期の病原体及び寄生虫の暴露などで多くの雛が死亡し、生存しても発育不良となっていた。

鶏の一生は育成期間で決まると言われており、雛の受け入れ準備から餌付け、温度及び湿度管理、これ

らに必要な専用の設備や抵抗力の弱い雛を感染から守るための衛生管理は高いレベルが求められる⁶⁾。これらは初生を導入する上で基本的な管理事項であるが、当該農場では実施出来ておらず、育雛を失敗しているため、雛の死亡による鶏卵生産個体の減少、卵巣の発育不良、免疫器官の萎縮から免疫機能の低下が起こり、結果として農場は感染リスクが上昇し、産卵率及び生産性が低下する。

2. 自家配の給与

病性鑑定事例では、飼養鶏の重度消瘦、発育不良、産卵率の低下、欠乏症等が認められたことから、飼養者は鶏が生存、成長及び産卵するために必要な飼料の種類、量、エネルギー量及び栄養素を把握できていない可能性が考えられた。

少羽数飼養で飼料を配合する場合、飼料の性状や適切な配合割合、量の判定、品質や内容を一定に保つことは困難である。また、

初生から育雛する場合、発育ステージによって栄養の要求量は異なる⁶⁾ため、それぞれの発育期間に適した飼料を調整すべきだが、病性鑑定事例では実施されていなかった。

原料と配合割合が判明していた D 農場の自家配と、某飼料会社の成鶏用及び育雛用飼料⁷⁾を比較した(表 3)。原料が異なるため正確な比較ではないが、D 農場の自家配は、主なエネルギー供給源となる穀類、成長や生産に関わる蛋白源である植物性油かす類及び動物性飼料の割合が低くなっていた。エネルギー源と蛋白源が不足した自家配の給与が飼養鶏の重度消瘦及び死亡等の原因の一つと考えられた。また、D 農場ではそうこう類に米ぬかを使用しており、37%と高い割合になっていた。米ぬかの飼料価値は高いものの、高温期には脂肪分が酸化しやすいため、新鮮でなければ飼料に適さない⁸⁾。そして、失活処理をしていない生の米ぬかの場合にはトリプシン阻害物質や抗チアミン因子等といった抗栄養因子を含んでいるため、使用割合の増加とともに飼育成績の低下が報告されている⁸⁾。D 農場に限らず、米ぬかを多く配合する農場ではこれらの関与も考えられた。

3. 平飼開放鶏舎

全ての症例において消化管内寄生虫が認められ、これが主原因と考えられる死亡や衰弱が認められた。

平飼は床面が土壌であるため、鶏が持つ本能的な行動が可能であるといった点で AW の観点からも優良²⁾だが、消化管内寄生虫の濃厚感染リスクが高い⁹⁾。平飼で飼養するならば、敷料や床面を清浄に保つ必要がある⁹⁾。対策には、放飼場等敷地の排水・乾燥、消石灰の散布や火炎による土壌の清浄化、客土、定期的な糞便検査と駆虫等が重要である⁹⁾。しかし、病性鑑定事例ではこれらの対策を実施出来ていなかった。

以上から病性鑑定事例のような問題を抱える農場の指導の際には、はじめに飼養者の鶏飼養に関する知識がどの程度か確認し、それに対応した指導をする必要がある。

1) 家畜の飼養において、飼料を削減すると死亡率及び疾病の罹患率が上昇し生産性が低下すること、初生は清潔な環境で保温し、適切な飼料で大切に飼養しないと死亡しやすいといった初歩的、基本的な事で

表 3 飼料会社の配合飼料と少羽数飼養農場の自家配の比較

区分	成鶏用飼料 (%)	育雛用飼料 (%)	D 農場 (%)
穀類	62	62	51.8
植物性油かす類	19	25	0
動物性飼料	3	9	7.4
そうこう類	1	0	37
その他	15	4	3.7

も分かりやすく、繰り返し指導する。

2) 実際の管理失宜事例を写真や原因と共に紹介し、自農場で同様の状況が生じていないか点検させる。

3) 鶏が生存さえしていれば養鶏が成り立っているという誤解を解き、正常な日齢体重、日齢に見合った産卵率、これらが下回る場合は栄養不足等の問題が生じていると飼養者が認識するための具体的な数値を示す。

4) 畜産技術協会や農林水産省が作成している飼養管理及び AW 関連の指針を活用し、適正な鶏の管理法の理解醸成を図る。

これらは、適正な飼養管理や鶏の AW のみでなく、安全な畜産物の生産、農場の生産性向上につながる。

1) から 4) を繰り返す事で、改善を図り、飼養衛生管理指導や国が進める AW 普及及び指導の足掛かりとしていきたい。

参考文献

- 1) 畜産局畜産振興課、アニマルウェルフェアに関する飼養管理指針、農林水産省 Web サイト、<https://www.maff.go.jp/j/chikusan/sinko/230726.html>、(参照 2024. 01. 15)
- 2) 畜産局畜産振興課、全国オンライン説明会資料 (令和 5 年 7 月 28 日及び 31 日)、農林水産省 Web サイト、<https://www.maff.go.jp/j/chikusan/sinko/attach/pdf/230726-22.pdf>、(参照 2024. 02. 7)
- 3) 愛知県農業総合試験場、卵用名古屋コーチン飼養管理マニュアル(改訂版)、愛知県公式 Web サイト、<https://www.pref.aichi.jp/nososi/jouhou/kenkyuushitsudayori/nagoyakouchinmanyuaru2014.pdf>、(参照 2024. 02. 21)
- 4) 独立行政法人家畜改良センター岡崎牧場、雌の成績 4 : 体重の推移、独立行政法人家畜改良センター岡崎牧場 Web サイト、<http://www.nlbc.go.jp/okazaki/okazaki-ohan/concept/seiseki-taijyu.html>、(参照 2024. 02. 21)
- 5) 鶏病研究会、鶏の健康時および病態時の血液学的ならびに血液化学的データ、鶏病研究会報、2017 年 2 月、52 巻 4 号、242-253
- 6) 株式会社ゲン・コーポレーション、コマーシャル鶏飼養管理ガイド ボリスブラウン (第 7 版)、平成 29 年 1 月
- 7) 島根県養鶏協会、エサの種類、<http://shimane.egggood.info/>、島根県養鶏協会 Web サイト (参照 2024. 01. 15)
- 8) 佐子田ら、飼料学(74)、畜産の研究、養賢堂、2011 年 3 月、65 巻 3 号、369-375
- 9) 鶏病研究会、差別化養鶏の現状と衛生対策、鶏病研究会報、2008 年 2 月、43 巻 4 号、189-199

広島県産ハチミツを用いた腐蛆病菌の検出状況

西部畜産事務所

○船守足穂

はじめに

腐蛆病は、ミツバチ幼虫の細菌感染症であり、*Paenibacillus larvae* を原因とするアメリカ腐蛆病と、*Melissococcus plutonius* を原因とするヨーロッパ腐蛆病に分類され、いずれも家畜伝染病に指定されている。本病は国内で年間 100 件程度の発生が報告されており¹⁾、発症すると蜂児が特有の臭気を伴い死亡し、進行するとやがて蜂群が崩壊する²⁾。本病は家畜伝染病に指定されているものの、健康な蜂群にも常在し、日和見的に発症する可能性が示唆されており^{3,4)}、また系統学的分類により遺伝子多様性が確認されている^{2,5-8)}。*P. larvae* はゲノム内の繰り返し配列の違いにより ERIC I ~IV に型別され、国内ではこれまでに ERIC I 及び ERIC II が報告されている^{2,9)}。*M. plutonius* は生化学的性状等により典型株及び非典型株に分類されており、国内ではいずれも確認されている^{2,8,10)}。また、近年ハチミツ中でプラスミドを介して *P. larvae* に伝達する可能性があると考えられるタイロシン耐性遺伝子 (*ermB* 及び *ermC*) が報告され、国内唯一のアメリカ腐蛆病予防薬であるタイロシン (タイラン水溶散 (エランコジャパン(株)、東京)) に対する耐性化が懸念されており¹¹⁾、本病の動向を把握する重要性が高まっている。

本病の検査は、通常巣箱の内検により蜂児を採材する必要がある¹²⁾。そのため、特に日本ミツバチにおいては検査自体が蜂群に対してストレスとなるため、検査が難しいという課題があった。しかし 2022 年、岡本らによりハチミツからの効率的な DNA 抽出法が報告され⁴⁾、採蜜後のハチミツを活用することで、巣箱を内検せずに腐蛆病遺伝子を検索することが可能となった。そこで今回、本県での腐蛆病の発生予防対策の基礎データを得ることを目的に、広島県産ハチミツを用いた腐蛆病菌の検索と疫学調査を行い、知見を得たので報告する。

材料及び方法

市販の広島県産ハチミツ (製造者もしくは採取地が広島県と表記され、全て異なる由来のもの) 35 検体を供試し、以下の調査を行った。

1. 腐蛆病菌等の検出

1) 遺伝子解析：岡本らの報告⁴⁾に従い、ヨーネ・ピュアスピン (ファスマック(株)、神奈川) を用いてハチミツ 5ml から DNA を抽出し、*P. larvae*(ERIC I・ERIC II・16S-rRNA) 及び *M. plutonius* (典型株・非典型株) の計 5 種の遺伝子検出を目的としたマルチプレックスコンベンショナル PCR (cPCR) を実施した。なお、*P. larvae* 16S-rRNA が検出されたものを *P. larvae* 陽性、*M. plutonius* 典型株もしくは非典型株いずれかの DNA が検出されたものを *M. plutonius* 陽性とし、検索した 5 種類の遺伝子のうちいずれかが検出されたものを腐蛆病菌 DNA 陽性とした。

2) 細菌分離：WOAH マニュアル^{13,14)}を参考に、①ハチミツ原液 100 μ l、②アルミブロックで 95°C 3 分間加熱処理したハチミツ原液 100 μ l、③滅菌水 100 μ l で 50% (v/v) に希釈したハチミツ原液 100 μ l をインキュベーター内に 37°C で 2 週間程度シャーレ上に無菌的に静置して乾燥後、滅菌生理食塩水 100 μ l を加えた懸濁液の

それぞれ3種類を用いて、病性鑑定指針¹²⁾に従い、一般細菌を対象に5%羊血液加寒天培地、*P. larvae*を対象にJ寒天培地、*M. plutonius*を対象にKSBHI培地を用いて、5%炭酸ガスもしくは嫌気条件下で48時間～最大1週間培養した。

2. 疫学調査

供試した35検体について、ハチミツに貼付された製造者ラベルの情報を元に、養蜂振興法第三条に基づく飼育届に記載された以下4項目を検索し、それぞれ以下に示した区分ごとにcPCRにおける腐蛆病菌DNA陽性率を調査した。

1) ミツバチの飼養規模：飼養群数が10群未満を小規模、10群以上100群未満を中規模、100群以上を大規模に区分し、調査不能のものを不明とした。

2) 飼養形態：養蜂振興法に基づく転飼許可の状況により県外転飼、県内転飼、定飼に区分し、調査不能のものを不明とした。

3) ミツバチの品種：飼養している品種により西洋ミツバチ、日本ミツバチ、不明とした。

4) 飼養地域：飼養地域（不明の場合は製造者の住所）により、県内を1～4の4地域に区分した（図1）。

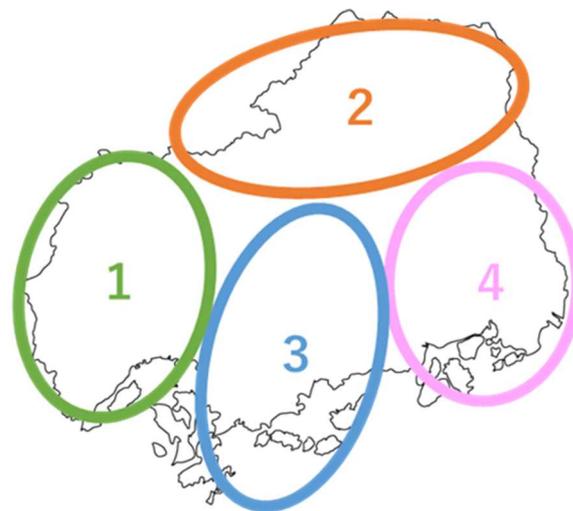


図1：ミツバチ飼養地域の区分

3. 腐蛆病菌の定量解析及びタイロシン耐性遺伝子検出

1. においてハチミツから抽出したものと同一のDNAサンプルを供試し、以下の調査を行った（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依頼）。

1) *P. larvae* 及び *M. plutonius* の定量解析：ハチミツ中の *P. larvae* 及び *M. plutonius* のDNA量を推定するため、Martínezらの報告¹⁵⁾及びRoetschiらの報告¹⁶⁾に準拠してリアルタイムPCRによる定量解析（qPCR）を行った。

2) タイロシン耐性遺伝子検出：*ermB* 及び *ermC* について、リアルタイムPCRによる検出を試みた¹⁷⁾。*ermC* のPCR産物に関しては、増幅領域の塩基配列を決定し、BLAST<<https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>>により *ermC* の配列の一部であることを確認した。

成 績

1. 腐蛆病菌等の検出

1) 遺伝子解析：35検体のうち19検体（54%）が腐蛆病菌DNA陽性であった。陽性19検体のうち10検体が *P. larvae* 陽性、18検体が *M. plutonius* 陽性であった。*P. larvae* については、ERIC I型は4検体、ERIC II型は8検体が陽性となり、*M. plutonius* については、典型株は18検体、非典型株は9検体が陽性であった（表1）。

2) 細菌分離：一般細菌は $10^1 \sim 10^4$ cfu/gの範囲で分離された。一方、*P. larvae* 及び *M. plutonius* は分離されなかった（表1）。

表 1：腐蛆病菌検出成績

検体	PCR					細菌分離 (cfu/g)
	<i>P. larvae</i>			<i>M. plutonius</i>		
	16S-rRNA	ERIC I	ERIC II	非典型株	典型株	
1	-	-	-	-	+	3.0×10 ³
2	-	-	-	-	-	<10 ¹
3	+	-	+	+	+	5.0×10 ³
4	-	-	-	-	-	<10 ¹
5	+	-	+	+	+	8.0×10 ³
6	-	-	-	-	-	<10 ¹
7	-	-	-	-	-	<10 ¹
8	-	-	-	-	-	<10 ¹
9	-	-	-	-	+	7.0×10 ³
10	+	+	+	-	+	3.0×10 ³
11	-	-	-	-	-	<10 ¹
12	-	-	-	-	-	4.0×10 ²
13	+	+	+	+	+	2.0×10 ²
14	+	-	+	-	-	3.0×10 ¹
15	-	-	-	+	+	<10 ¹
16	-	-	-	-	-	<10 ¹
17	-	-	-	-	-	<10 ¹
18	-	-	-	-	-	<10 ¹
19	-	-	-	-	-	<10 ¹
20	+	+	-	-	+	6.0×10 ¹

※ *P. larvae* 及び *M. plutonius* を対象とした培養は全検体陰性

2. 疫学調査

1) 飼養規模による分類では、不明 4 検体を除く 31 検体のうち、cPCR において大規模は 10 検体中 9 検体、中規模は 14 検体中 8 検体が腐蛆病菌 DNA 陽性で、小規模は 7 検体全て陰性であった (表 2)。

2) 飼養形態による分類では、不明 4 検体を除く 31 検体のうち、県外転飼は 7 検体全て、県内転飼は 8 検体中 5 検体、定飼は 16 検体中 5 検体で陽性であった (表 3)。

3) ミツバチの品種による分類では、不明 3 検体を除く 32 検体のうち、cPCR において西洋ミツバチは 23 検体中 16 検体、日本ミツバチは 9 検体中 1 検体で陽性であった (表 4)。

4) 飼養地域による比較では、cPCR において地域 1 は 9 検体中 7 検体、地域 2 は 8 検体中 5 検体、地域 3 は 10 検体中 5 検体、地域 4 は 8 検体中 2 検体で陽性であった (表 5)。なお、地域 1~3 は西洋ミツバチ飼養農場や大規模農場、県外転飼農場が多い傾向にあり、さらに地域 1 は沿岸地域において農場密度が高いといった特徴

検体	PCR					細菌分離 (cfu/g)
	<i>P. larvae</i>			<i>M. plutonius</i>		
	16S-rRNA	ERIC I	ERIC II	非典型株	典型株	
21	-	-	-	-	+	4.0×10 ¹
22	-	-	-	-	+	2.0×10 ¹
23	-	-	-	+	+	<10 ¹
24	-	-	-	-	+	1.0×10 ¹
25	+	-	+	+	+	6.0×10 ³
26	-	-	-	-	-	1.5×10 ²
27	-	-	-	-	-	<10 ¹
28	-	-	-	-	-	<10 ¹
29	-	-	-	-	-	<10 ¹
30	-	-	-	-	+	3.0×10 ¹
31	-	-	-	-	+	3.0×10 ¹
32	-	-	-	-	-	<10 ¹
33	+	-	+	+	+	6.0×10 ¹
34	+	-	+	+	+	2.0×10 ³
35	+	+	-	+	+	5.0×10 ³

表 2：飼養規模による陽性率比較

飼養規模		陽性率	
小規模	(<10群)	0/7	0%
中規模	(10~99群)	8/14	57%
大規模	(100群≤)	9/10	90%

表 3：飼養形態による陽性率比較

飼養形態	陽性率	
県外転飼	7/7	100%
県内転飼	5/8	63%
定飼	5/16	31%

表 4：ミツバチの品種による陽性率比較

品 種	陽性率	
西洋ミツバチ	16/23	70%
日本ミツバチ	1/9	11%

表 5：地域による陽性率比較

地 域	陽性率	
地域1	7/9	78%
地域2	5/8	63%
地域3	5/10	50%
地域4	2/8	25%

があった。一方、地域4は日本ミツバチ飼養農場や小規模農場、定飼農場が占める割合が多い傾向にあった。

3. 腐蝕病菌の定量解析及びタイロシン耐性遺伝子検出

1) qPCRでは、35検体のうち10検体から *P. larvae*、18検体から *M. plutonius* のDNAが検出された。また、*P. larvae*は7.9cells/ml以上、*M. plutonius*は4.3cells/ml以上で定量された(表6)。

2) 35検体のうち9検体から *ermB*、11検体から *ermC*が検出された(表7)。

表6：腐蝕病菌定量解析 (qPCR) 成績

検体	<i>P. larvae</i>	<i>M. plutonius</i>
1	-	1870.1
2	-	-
3	298,461.8	2535.1
4	8.1	49.8
5	21,319.3	246649.7
6	-	49.4
7	-	-
8	-	74.9
9	31.3	1090.1
10	291,763.4	4961.1
11	7.9	-
12	-	-
13	2,912.9	1804.3
14	51.5	30.7
15	-	149.4
16	-	-
17	-	-
18	-	-
19	-	-
20	77.0	620.9

表7：タイロシン耐性遺伝子検出成績

検体	<i>P. larvae</i>	<i>M. plutonius</i>	検体	<i>ermB</i>	<i>ermC</i>	検体	<i>ermB</i>	<i>ermC</i>
21	4.3	185.1	1	-	-	21	-	+
22	-	170.4	2	-	-	22	-	-
23	-	26645	3	-	+	23	+	-
24	-	85781	4	-	-	24	-	+
25	634,347.0	12851.5	5	-	-	25	-	+
26	41.9	35.9	6	-	-	26	-	-
27	-	-	7	-	-	27	-	-
28	-	-	8	-	-	28	+	-
29	5.0	-	9	+	-	29	-	-
30	-	4746.4	10	+	+	30	-	-
31	-	9002.2	11	-	-	31	+	+
32	-	-	12	+	+	32	+	-
33	1,735.0	29778.3	13	+	+	33	+	-
34	210,703.1	30184.8	14	-	+	34	-	+
35	193.1	1386.9	15	-	-	35	-	-
16	-	-	16	-	-			
17	-	-	17	-	-			
18	-	-	18	-	-			
19	-	-	19	-	-			
20	-	-	20	-	+			

(単位: cells/ml)

考 察

今回広島県産ハチミツを調査した結果、cPCRにおいて54%から腐蝕病菌DNAが検出され、本県においても既報と同様に *P. larvae*: ERIC I・ERIC II、*M. plutonius*: 典型株・非典型株全ての存在が確認された。

一方、半数以上の検体から腐蝕病菌DNAが検出されたものの、分離培養において腐蝕病菌は分離されなかった。これは、静菌作用や抗菌活性を有するハチミツ中で腐蝕病菌は増殖せず、生菌として検出されなかったためだと考えられた^{18,19)}。

また、一般細菌は $10^1 \sim 10^4$ cfu/gの範囲で分離された。上述のとおり、ハチミツは静菌作用や抗菌活性を有するものの、一定数の土壌や巣碑等に付着した環境性細菌が混入していると考えられている。そのため、乳児ボツリヌス症が懸念される1歳未満の乳児にはハチミツを与えないことが推奨されているが¹⁷⁾、通常健康なヒトがハチミツを喫食しても感染リスクは極めて低いと考えられており、ハチミツ中の細菌数については、食品衛生法や国際的な指標となるCodex規格にも定められていない。今回も、既報^{20,21)}と同様に土壌や巣碑等に付着した環境性細菌等が検出されたものと考えられ、その菌量も既報^{20,21)}と同程度であり、安全面における懸念は認められなかった。

疫学調査の結果、大規模農場、県外転飼農場、西洋ミツバチ飼養農場由来のハチミツにおいて、腐蝕病菌DNA陽性率が高い傾向にあった。この結果は、西洋ミツバチ飼養農場が多い大規模農場や転飼農場は、日本ミツバチ飼養農場が多い小規模農場や定飼農場と比較して蜂群同士の接触機会が多く、感染が伝播しやすいことが要因であると考えられた。また、今回県内を4地域に区分したが、地域により陽性率に傾向がみられ、地域1の陽性

率は78%と高く、地域4は25%と低かった。陽性率が高い地域は低い地域より県外転飼が多い傾向にあり、さらに最も陽性率が高い地域1については沿岸部で農場密度が高いといった特徴がみられ、上述のとおり、県外転飼が多い、あるいは農場密度が高い地域は蜂群同士の接触機会が多いため、陽性率に傾向がみられたものと考えられた。このように、飼養状況や地域的な要因等によりミツバチ同士の接触機会が増すと、腐蛆病菌を保菌しやすい可能性があると考えられたことから、本菌の汚染リスクを検討する際は、疫学的背景にも留意する必要があると考えられた。

以上の調査により、県内での腐蛆病菌の存在は確認されたが、当所が実施したcPCRにおける検出感度を明らかにし、本検査系の有用性を検討するため、追加検索として動物衛生研究部門においてqPCRを実施した。その結果、71%から腐蛆病菌DNAが検出され、当所で実施したcPCRよりも高い陽性率であった。両者の成績を比較すると、cPCRの検出限界は、*P. larvae*は51.5cells/ml、*M. plutonius*は149.4cells/mlであった。

一般に、qPCRはcPCRと比較して感度が優れていると考えられており、本調査においても同様の傾向であった。しかし、既報と同様にハチミツ1ml中に腐蛆病菌がおよそ100個前後存在すればcPCRでも検出可能であることから、cPCRは疾病リスクの評価に活用可能であると考えられた。さらにERIC型別や、典型・非典型的の型別をマルチプレックスで同時検索が可能といったメリットがあることから、採材が容易なハチミツを供試することと併せて、cPCRにより簡便にサーベイランスが可能であった。

タイロシン耐性遺伝子は、既報¹⁷⁾と同様に、本県においても*ermB*・*ermC*ともに検出された。これらの遺伝子と、qPCRにおける*P. larvae*のDNA検出状況との関連を調査したところ、*P. larvae*陽性検体のうち10検体が*ermB*・*ermC*いずれか陽性となり、8検体が、予防薬耐性化との関連が特に懸念される*ermC*を同時に保有していることが判明した(図2)。*P. larvae*は、*ermC*を獲得するとタイロシンに対して耐性化すると考えられている。タイラン水溶散を用法・用量に従って適正に使用した場合、ハチミツに移行したタイロシンの濃度は1μg/ml未満とされているが、*in vitro*においてプラスミドベクターにより*ermC*を導入した*P. larvae* DTK384株は、最小発育阻止濃度が0.25μg/mlから8μg/mlに上昇したと報告されている¹¹⁾。そのため、*ermC*を獲得した*P. larvae*が存在する状況で予防薬を使用すると、耐性菌を選択してしまうリスクがあると考えられている。

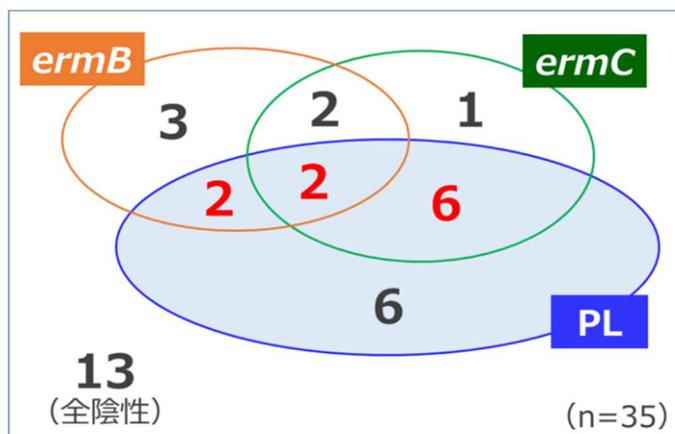


図2：ハチミツからの*P. larvae*と*ermB*・*ermC*の検出状況

今回、*P. larvae*及び*ermC*を保有するハチミツが確認されたものの、本調査結果のみでは、ハチミツ中の*P. larvae*が*ermC*を保有しているのか、また、タイロシンに対して耐性化しているかを明らかにすることはできないため、直ちにリスクがあるとは言いきれない。しかしながら、上述のとおりタイロシン耐性化の潜在的なリスクであると考えられることから、予防薬の使用には注意が必要と考えられた。

本県では、平成25年度以降腐蛆病は発生しておらず、農家・指導者ともに腐蛆病菌は身近に存在しないという認識があり、発生予防には病原体の侵入防止に重点が置かれていた。しかし今回の結果から、実際には養蜂場

に腐蛆病菌は常在化している可能性を意識し、発症させないために日常の健康管理を徹底し、強勢群を維持することが最重要であるということに関係者で共有する必要がある。また、わが国では蜜源の開花時期等に併せて全国各地にミツバチを移動させる転飼や、近年の趣味養蜂家の増加に伴うミツバチの広域な流通があり、これらにより本県は様々な地域と疫学的な繋がりを有する。そのため、本病に限らずミツバチを取り巻く疾病対策を検討する上では、全国的な動向にも注視する必要があると考えられた。

現状、家畜保健衛生所において *ermB*・*ermC* の検査は困難であり、農家に対しては予防薬の適正使用といった一般的な指導に留まっている。しかし、今後も菌分離、遺伝子型別、薬剤感受性試験等のデータの蓄積に努めるとともに、将来的にはハチミツを用いたより簡便な耐性遺伝子検出法の確立・実用化が期待される。そして、ハチミツを用いた各種検査を活用することで、農家が予防薬をより効果的に使用するための助言を行い、生産性の向上に繋げていきたい。

謝 辞

本発表にあたり、リアルタイム PCR を実施して頂くとともに、検査に関する様々なご助言を賜りました、国立研究開発法人農業・食品産業技術総合研究機構動物衛生研究部門 動物感染症研究領域 細菌グループの高松大輔先生及び岡本真理子先生に深謝いたします。

参考文献

- 1) 農林水産省消費・安全局：監視伝染病の発生状況、(https://www.maff.go.jp/j/syouan/douei/kansi_densen/kansi_densen.html)、(参照 2024-1-5)
- 2) 高松大輔：最新の家畜疾病情報 (VIII) 腐蛆病、日獣会誌、68、496-498 (2015)
- 3) Von der OW: Control of American foulbrood by using alternatively eradication method and artificial swarms, *Apiacta*, 38, 137-139 (2003)
- 4) Okamoto M, et al: A novel multiplex PCR assay to detect and distinguish between different types of *Paenibacillus larvae* and *Melissococcus plutonius*, and a survey of foulbrood pathogen contamination in Japanese honey, *J Vet Med Sci*, 84, 390-399 (2022)
- 5) Genersch E: American foulbrood in honeybees and its causative agent, *Paenibacillus larvae*, *J Invertebr Pathol*, 103, S10-S19 (2010)
- 6) Budge GE, et al: Molecular epidemiology and population structure of the honey bee brood pathogen *Melissococcus plutonius*, *The ISME J*, 8, 1588-1597 (2014)
- 7) 中井悠華ほか：埼玉県における過去5年間の腐蛆病発生動向と分離菌の遺伝子型別成績、埼玉県調査研究成績報告書(家畜保健衛生業績発表集録)、58、90-96 (2016)
- 8) Takamatsu D, et al: Typing of *Melissococcus plutonius* isolated from European and Japanese honeybees suggests spread of sequence types across borders and between different *Apis* species., *Vet Microbiol*, 171, 221-226 (2014)
- 9) Genersch E, et al: Reclassification of *Paenibacillus larvae* subsp. *pulvifaciens* and *Paenibacillus larvae* subs P. *larvae* as *Paenibacillus larvae* without subspecies differentiation, *Int J Syst*

- Evol Microbiol, 56, 501-511 (2006)
- 10) Arai R, et al: Diversity of *Melissococcus plutonius* from honeybee larvae in Japan and experimental reproduction of European foulbrood with cultured atypical isolates, PLOS ONE, 7, e33708 (2012)
 - 11) Okamoto M, et al: Antimicrobial Resistance Genes in Bacteria Isolated From Japanese honey, and Their Potential for Conferring Macrolide and Lincosamide Resistance in the American Foulbrood Pathogen *Paenibacillus larvae*, Front Microbiol, 12, 667096 (2021)
 - 12) 農林水産省消費・安全局：病性鑑定指針、(https://www.maff.go.jp/j/syouan/douei/katiku_yobo/byokan/shishin.html)、(参照 2024-1-5)
 - 13) WOH Terrestrial Manual 2023: American Foulbrood of honey bees (Infection of honey bees with *Paenibacillus larvae*), (https://www.woh.org/fileadmin/Home/fr/Health_standards/tahm/3.02.02_AMERICAN_FOULBROOD.pdf), (参照 2024-2-20)
 - 14) WOH Terrestrial Manual 2023: European foulbrood of honey bees (Infection of honey bees with *Melissococcus plutonius*), (https://www.woh.org/fileadmin/Home/fr/Health_standards/tahm/3.02.03_EUROPEAN_FOULBROOD.pdf), (参照 2024-2-20)
 - 15) Martínez J, et al: A real-time PCR-based strategy for the detection of *Paenibacillus larvae* vegetative cells and spores to improve the diagnosis and the screening of American foulbrood, Lett Appl Microbiol, 50, 603-610 (2010)
 - 16) Roetschi A, et al: Infection rate based on quantitative real-time PCR of *Melissococcus plutonius*, the causal agent of European foulbrood, in honeybee colonies before and after apiary sanitation, Apidologie, 39, 362-371 (2008)
 - 17) Okamoto M, et al: Detection of macrolide resistance genes, *ermC* and *ermB*, in Japanese honey using real-time PCR assays, J Vet Med Sci, 84, 1453-1456 (2022)
 - 18) Kwakman PH, et al: Antibacterial components of honey, IUBMB journals, 64, 48-55 (2012)
 - 19) 権東容秀ほか: Wound bed preparationとしてのハチミツの位置づけ、創傷、2、154-159 (2011)
 - 20) Snowdon JA, et al: Microorganisms in honey, Int J food Microbiol, 31, 1-26 (1996)
 - 21) 森田加奈ほか: はちみつの細菌学的調査 (平成 18 年度～平成 29 年度)、東京健安研七年報、69、123-128 (2018)

短期肥育牛の血中銅及び亜鉛濃度の遡及的調査

西部畜産事務所¹⁾ 北部畜産事務所²⁾

○渡久川兼誉¹⁾ 青山嘉朗²⁾

はじめに

我が国における畜産業は、飼料や燃料の価格高騰を受け、肥育農家を取り巻く経営環境は厳しさを増している。農林水産省は生産コストの低減を図るため、家畜改良増殖目標において、「肥育牛について一定の収支バランスが確保しうる段階で速やかに出荷するよう努めるものとする」と述べており、目標出荷月齢を26～28か月齢と掲げているが、現在の平均出荷月齢は29.5か月齢である¹⁾。このような背景から畜産業界では従来と遜色のない枝肉生産が可能な短期肥育技術が求められている。近年、慣行肥育（28か月齢～30か月齢出荷）した黒毛和種去勢牛へ15か月齢以降の亜鉛給与が、枝肉重量の増加につながるという報告がある²⁾。

今回、短期肥育（24か月齢出荷）の黒毛和種去勢牛において、血中の銅及び亜鉛濃度を含む血液性状を経時的に測定し、その結果を枝肉成績と比較することで一定の知見が得られたので、その概要を報告する。

材料及び方法

広島県内10農場の黒毛和種去勢牛を1期目（平成30年10月～令和元年11月、20頭）、2期目（令和元年5月～令和2年6月、16頭）及び3期目（令和3年7月～令和4年7月、36頭）に分け、次の調査を実施した（計72頭、平均出荷月齢23.4か月齢）。

1. 調査牛の枝肉成績と県及び全国平均との比較

公益社団法人日本食肉格付け協会による格付けデータを基に、調査牛と広島県及び全国の枝肉成績の比較を行った。MUFAは第6-7肋骨間切開面の筋間脂肪部を食肉脂質測定装置（S-7040、株式会社相馬化学）で測定された推定値を用いた。

2. 調査牛の各肥育ステージにおける血液性状の測定

生後、9、12、15、18、21か月齢で頸静脈より血清分離用真空採血管を用いて血液を採取した。採取した血液は遮光下で2～3時間静置した後、3,000rpmで10分間遠心分離した。得られた血清について、次の項目を測定した。

1) 血中の銅（Cu）及び亜鉛（Zn）濃度

既存の方法³⁾で除タンパクした血清を、ICP質量分析計（ICPE-9820、株式会社島津製作所）で測定した。

2) 総コレステロール（T-Cho）、尿素態窒素（BUN）、アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ（GOT）

生化学自動分析装置（富士ドライケム7000V、富士フイルム株式会社）で測定した。

3) ビタミンA（VA）濃度

高速液体クロマトグラフィー（EXTREMA LC-4000シリーズ、日本分光株式会社）で測定した⁴⁾。

3. 調査牛の枝肉重量と各肥育ステージにおける血液性状の比較

調査牛の枝肉重量を平均以上（444.2kg以上、36頭）と平均未満（444.2kg未満、36頭）の2群に分離し、各肥育ステージにおける血液性状と比較した。

4. 調査牛の牛脂肪交雑基準（BMS）と各肥育ステージにおける血液性状の比較

調査牛のBMSを8-12（29頭）、5-7（37頭）、3-4（6頭）の3群に分離し、各肥育ステージにおける血液性状と比較した。

5. 調査牛の一価不飽和脂肪酸（MUFA）と各肥育ステージにおける血液性状の比較

調査牛のMUFAを平均以上（54.7%以上、39頭）、平均未満（54.7%未満、33頭）の2群に分離し、各肥育ステージにおける血液性状と比較した。

6. 調査牛の枝肉成績（枝肉重量、BMS、MUFA）と各血液性状との相関関係

各肥育ステージ（9、12、15、18及び21か月齢時）の血液性状と枝肉成績の比較にはスピアマンの順位相関係数の検定を行った。相関係数の絶対値が0.2以上を相関関係あり、有意水準5%未満（ $p < 0.05$ ）を有意差あり、とした。

7. 各血液性状が枝肉成績に及ぼす影響

各血液性状が枝肉成績に及ぼす影響度合いの評価するために重回帰分析を行った。各肥育ステージの血液性状を説明変数、各枝肉成績を目的変数とし、T値及び影響割合（寄与率）を求めた。T値の絶対値が2以上を他の説明変数と比べ目的変数に対し影響度合いが強く、有意水準5%未満（ $p < 0.05$ ）を有意差あり、とした。

結果

1. 調査牛の枝肉成績と県及び全国平均との比較

調査牛の枝肉成績の平均値は、枝肉重量444.2kg、ロース芯面積61.8cm²、バラの厚さ7.3cm、皮下脂肪の厚さ2.5cm、歩留基準値74.6%、BMS7.3、MUFA含量54.7%であった（表1）。県や全国平均と比べ調査牛の枝肉重量は小さいが、皮下脂肪厚や歩留基準値は差がみられなかった。また、MUFAはまだ一般的に評価されていないため、県や全国平均は確認できなかった。

表1. 調査牛の枝肉成績と県内及び全国の枝肉成績

項目	調査牛の平均	県平均*	全国平均**	
枝肉重量 (kg)	444.2	508.9	512.9	
ロース芯面積 (cm ²)	61.8	69.9	69.0	
バラ厚 (cm)	7.3	8.1	8.4	
皮下脂肪厚 (cm)	2.5	2.4	2.3	
歩留基準値 (%)	74.6	75.4	75.5	
BMS	7.3	8.7	8.7	※公益社団法人日本食肉格付協会による2023年7月～9月格付データより抜粋
MUFA含量 (%)	54.7	-	-	

2. 調査牛の各肥育ステージにおける血液性状の測定

肥育ステージごとの血液性状を図1に示した。銅は18か月齢で低下、亜鉛は15か月齢でピークに達した。T-Choは15か月齢をピークに大きな変動はなかった。BUNは概ね12から15mg/dlの間で推移、GOTは18か月でピークに達した一方、VAは減少した。

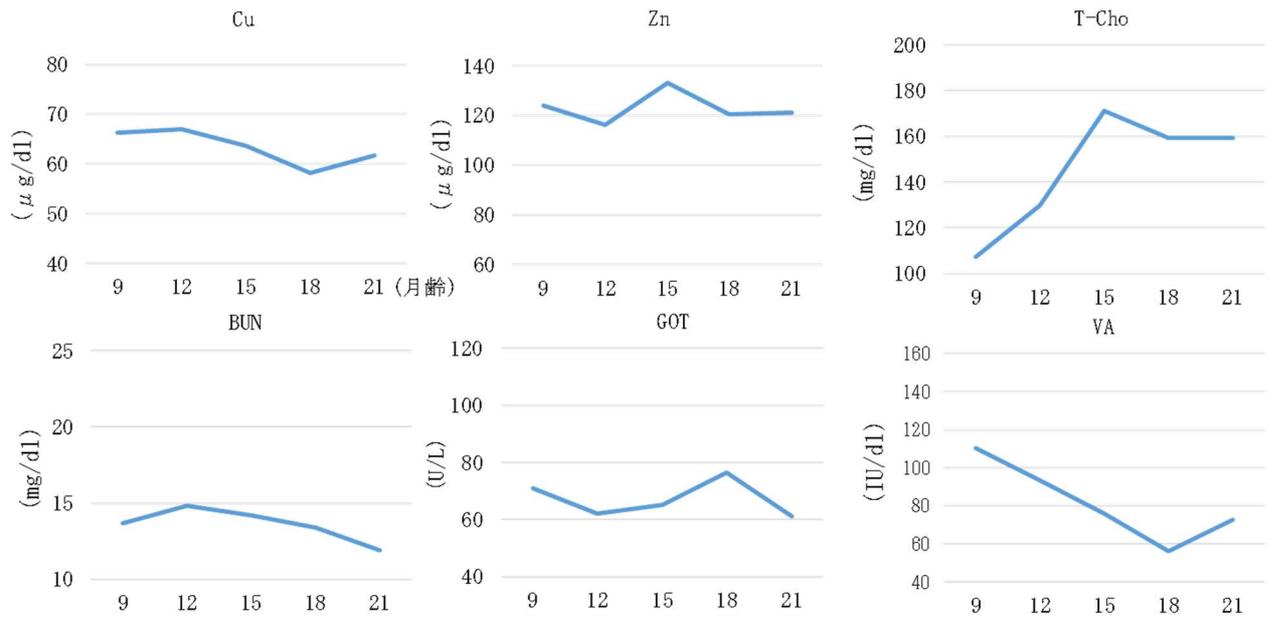


図 1. 各肥育ステージにおける血液性状

3. 調査牛の枝肉重量と各肥育ステージにおける血液性状の比較

枝肉重量を平均以上と平均未満の 2 群に分離した肥育ステージごとの各血液性状の推移を図 2 に示した。銅及び VA は概ね枝肉重量に関わらず同様の傾向を示しているが、亜鉛、T-Cho 及び BUN は枝肉重量が平均以上の群で高い傾向だった。

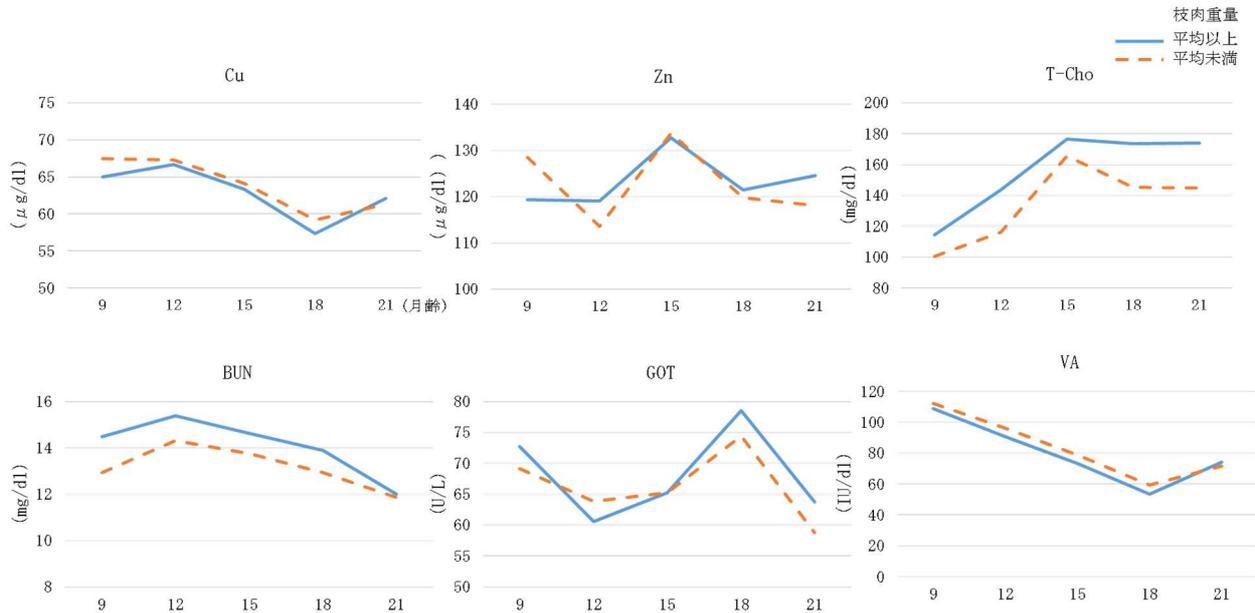


図 2. 枝肉重量別の各肥育ステージにおける血液性状

4. 調査牛の BMS と各肥育ステージにおける血液性状の比較

BMS を 8-12、5-7、3-4 の 3 群に分離した肥育ステージごとの各血液性状の推移を図 3 に示した。BMS の高い群において銅、亜鉛及び VA は低い傾向を、T-Cho や BUN は高い傾向を示した。

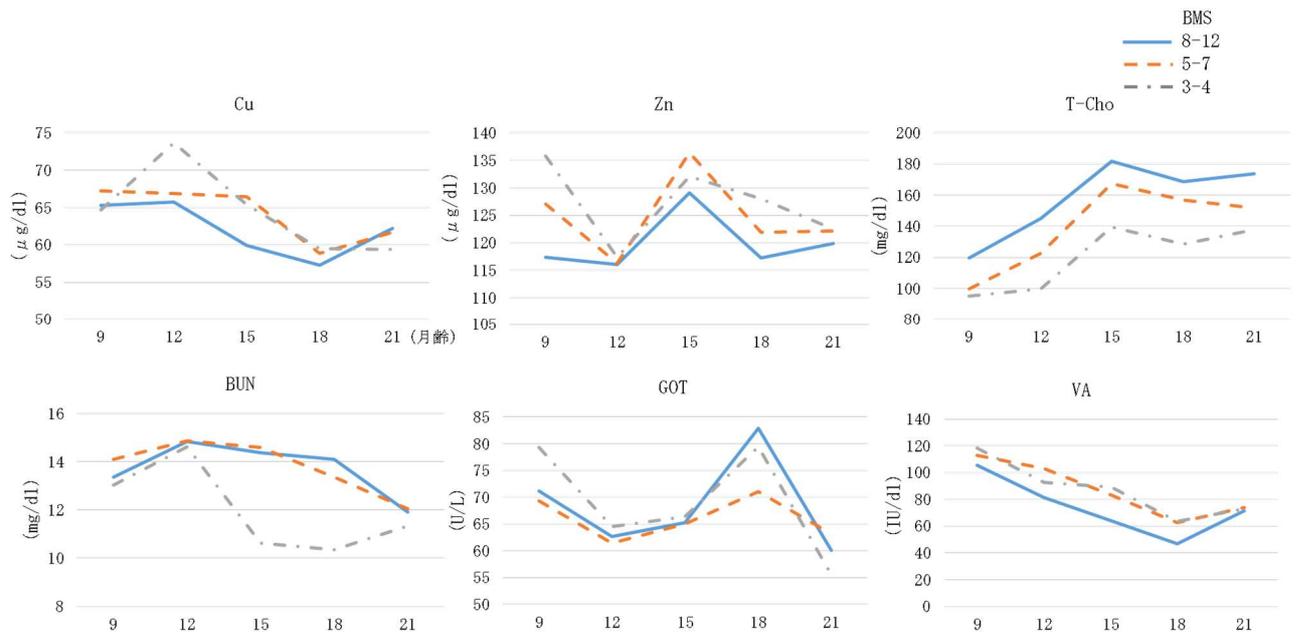


図 3. BMS 別の各肥育ステージにおける血液性状

5. 調査牛の MUFA と各肥育ステージにおける血液性状の比較

MUFA を 54.7%以上と 54.7%未満の 2 群に分離した肥育ステージごとの各血液性状の推移を図 4 に示した。MUFA の高い群では銅や BUN は比較的高い傾向を、亜鉛や GOT は低い高い傾向を示した。

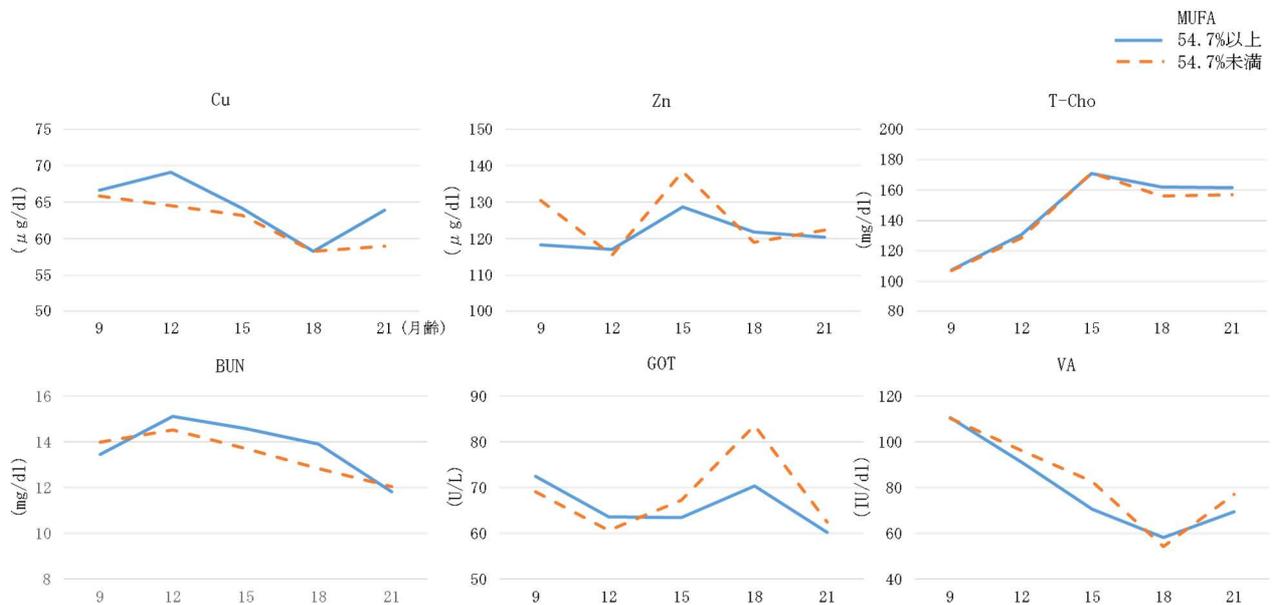


図 4. MUFA 別の各肥育ステージにおける血液性状

6. 調査牛の枝肉成績と各血液性状との相関関係

枝肉成績と、肥育ステージごとの血液成分の相関関係について分析した (表 2)。銅は MUFA に対し有意な正の相関 (21 か月齢)、亜鉛は枝肉重量に対し有意な正の相関 (12 か月齢)、T-Cho は枝肉重量 (12、18、21 か月齢)、BMS (21 か月齢) 及び MUFA (12 か月齢) に対し有意な正の相関、BUN は枝肉重量 (12 か月齢)、BMS (18 か月) に対し有意な正の相関、VA は BMS (12、15、18 か月齢)、MUFA (15 か月齢) に対し有意な負の相関が認められた。

表 2. 枝肉成績と各血液性状との相関関係

月齢	Cu			Zn			T-Cho		
	枝肉重量	BMS	MUFA	枝肉重量	BMS	MUFA	枝肉重量	BMS	MUFA
9	-0.13	-0.01	0.06	-0.09	-0.21	-0.13	0.23	0.19	0.19
12	-0.03	-0.08	0.15	0.24※	-0.09	0.10	0.42※	0.19	0.25※
15	-0.10	-0.18	-0.05	-0.01	-0.15	-0.22	0.22	0.13	0.10
18	-0.05	-0.06	-0.01	0.11	-0.20	0.01	0.34※	0.20	0.14
21	-0.01	-0.01	0.29※	0.20	-0.11	-0.15	0.34※	0.23※	0.18

月齢	BUN			GOT			VA		
	枝肉重量	BMS	MUFA	枝肉重量	BMS	MUFA	枝肉重量	BMS	MUFA
9	0.16	-0.03	-0.03	0.03	-0.15	0.17	-0.09	-0.22	0.08
12	0.36※	0.06	0.14	-0.04	-0.15	0.15	-0.03	-0.33※	-0.14
15	0.10	0.22	0.15	-0.12	-0.07	-0.16	-0.09	-0.30※	-0.24※
18	0.12	0.28※	0.16	0.23	0.06	0.04	-0.06	-0.27※	0.03
21	0.02	0.08	-0.08	0.16	0.02	-0.02	0.03	-0.10	-0.12

黄色セル：正の相関 緑セル：負の相関 ※：P<0.05

7. 各血液性状が枝肉成績に及ぼす影響

枝肉成績に対する血液性状の影響度合いを評価するために、重回帰分析を行った。枝肉重量に対しては、BUN（12 か月齢）、T-Cho（18、21 か月齢）、GOT（21 か月齢）が有意な影響が認められた（表 3）。BMS に対しては亜鉛（18 か月齢）、T-Cho（9、12、15、21 か月齢）、BUN（18 か月齢）、VA（12、15 か月齢）が有意な影響が認められた（表 4）。MUFA に対しては、銅（12、21 か月齢）、VA（15 か月齢）が有意な影響が認められた（表 5）。

表 3. 各血液性状が枝肉重量の決定に及ぼす影響

	9か月齢		12か月齢		15か月齢		18か月齢		21か月齢	
	T値	寄与率 (%)								
Cu	-1.29	18.9	-0.33	4.1	-0.62	15.7	-0.48	8.70	-1.34	16.4
Zn	-1.17	17.1	1.69	20.6	-0.38	9.50	0.93	16.6	1.46	17.8
T-Cho	0.72	10.4	1.82	22.2	1.58	40.2	2.87※	51.6	3.20※	38.9
BUN	1.92	28.1	2.07※	25.2	0.37	9.40	0.01	0.20	-0.08	0.90
GOT	0.42	6.10	-1.38	16.8	0.43	10.8	0.83	14.8	2.01※	24.5
VA	-1.33	19.4	-0.91	11.1	-0.57	14.4	-0.45	8.10	-0.13	1.50

黄色セル：正 ※：P<0.05

表 4. 各血液性状が BMS の決定に及ぼす影響

	9か月齢		12か月齢		15か月齢		18か月齢		21か月齢	
	T値	寄与率 (%)	T値	寄与率 (%)	T値	寄与率 (%)	T値	寄与率 (%)	T値	寄与率 (%)
Cu	-0.41	6.7	-1.52	16.9	-0.96	9.80	0.65	6.50	0.52	8.20
Zn	-1.23	20.1	-1.02	11.4	-0.83	8.50	-2.29※	22.9	-1.09	17.0
T-Cho	2.37※	38.5	2.26※	25.1	2.33※	23.8	1.91	19.0	2.05※	32.0
BUN	-0.05	0.80	-0.01	0.10	1.61	16.5	2.69※	26.8	0.98	15.3
GOT	-0.78	12.6	-0.92	10.2	1.15	11.8	0.51	5.10	0.85	13.2
VA	-1.31	21.3	-3.28※	36.4	-2.90※	29.7	-1.99	19.8	-0.91	14.3

黄色セル：正 緑色セル：負 ※：P<0.05

表 5. 各血液性状が MUFA の決定に及ぼす影響

	9か月齢		12か月齢		15か月齢		18か月齢		21か月齢	
	T値	寄与率 (%)	T値	寄与率 (%)	T値	寄与率 (%)	T値	寄与率 (%)	T値	寄与率 (%)
Cu	0.84	14.5	2.26※	27.0	1.98	21.5	0.86	18.5	2.58※	40.7
Zn	-0.47	8.20	0.51	6.00	-1.10	11.9	-0.08	1.70	-0.17	2.70
T-Cho	1.75	30.2	1.53	18.3	0.78	8.50	1.00	21.5	1.24	19.5
BUN	-0.56	9.60	1.42	17.0	1.39	15.1	0.76	16.4	0.07	1.10
GOT	1.06	18.2	1.73	20.7	-1.68	18.3	-0.84	18.2	-0.53	8.30
VA	1.12	19.3	-0.92	11.0	-2.28※	24.8	-1.10	23.7	-1.75	27.5

黄色セル：正 緑色セル：負 ※：P<0.05

まとめ及び考察

生体において銅は触媒機能や造血機能、亜鉛は蛋白質等の代謝に関与し必須成分である。牛では、亜鉛は慣行肥育牛への給与が枝肉重量やBMS等枝肉成績の向上につながったとの報告がある²⁾。また、銅の給与は発育および枝肉成績には影響が無かった⁵⁾等の報告がある。今回、短期肥育牛の血中銅及び亜鉛濃度と枝肉成績との関係を比較した。

まず、今回供試した調査牛の枝肉成績において、枝肉重量は県平均や全国平均より小さかった(表1)。これは調査牛の平均出荷月齢が23.4か月齢であるのに対し、県平均や全国平均は慣行肥育が大半を占めるためと推察された。一方、バラ厚、皮下脂肪厚及び歩留基準値は慣行肥育と比べ同程度であった。

枝肉成績に対する血中銅及び亜鉛濃度との相関関係、影響度合いを表6にまとめた。12か月齢の亜鉛は枝肉重量に対し有意な正の相関を示した。これは枝肉重量が平均以上の群において血中亜鉛濃度が高いことと一致した(図2)。18か月齢の亜鉛はBMSに対し負の影響を示した。これはBMSが高い群において血中亜鉛濃度が低いことと一致した(図3)。銅はMUFAに対し21か月齢において有意な正の相関、12及び21か月齢において正の影響を示した。これはMUFAの平均以上の群では血中銅濃度が高いことと一致した(図4)。これらのことから12か月齢以降の血中の銅及び亜鉛濃度が枝肉成績に影響する可能性が示唆された。

表6. 銅及び亜鉛と各枝肉成績との関係

月齢	12		18		21	
	有意な相関	強い影響	有意な相関	強い影響	有意な相関	強い影響
枝肉重量	Zn					
BMS				Zn		
MUFA		Cu			Cu	Cu

黄色セル：正 緑色セル：負

海外において、アンガス去勢牛への銅給与が不飽和脂肪酸の増加につながるという報告がある⁶⁾。今回の調査において、黒毛和種去勢牛も同様に血中銅濃度を高くすることがMUFAに対して有用と示唆された。また、亜鉛については枝肉重量と正の相関が認められ、血中亜鉛濃度を高くすることが有用と示唆された一方で、18か月齢ではBMSに対し強い負の影響を示した。飼料への亜鉛添加量の増加は、血中ビタミンA濃度が高まるとの報告がある⁷⁾。亜鉛が負の影響を示したのは、18か月齢でのVA濃度が最も低値であったためと考えられた。

今回の調査において、慣行肥育と同様に短期肥育でも亜鉛の給与が枝肉重量の増体と関与する可能性が考えられた。さらに亜鉛は枝肉重量だけでなくBMS、銅はMUFAに関与する可能性が認められ、これらの血中濃度をコントロールすることで枝肉成績が向上することが示唆された。しかし、本調査は遡及的であり、検体数や飼養環境及び飼料情報が不十分であるため、検体数を増やし、飼養状況をそろえる等の積極的な介入研究、飼料への銅や亜鉛の給与量や給与時期、適切な血中濃度の検討が必要である。また黒毛和種去勢牛へのコバルト給与により飼料摂取量と増体量が増加したとの報告がある⁸⁾ことから、銅や亜鉛と他微量ミネラルとの関係の検討も課題である。

今後は、今回の調査結果の分析及び挙げた課題を解決し、本県における短期肥育での枝肉成績向上につなげたいと考える。

参考文献

- 1) 農林水産省畜産局畜産振興課：家畜改良増殖目標、19-20（2020）、
<https://www.maff.go.jp/hokkaido/suishin/tikusan/attach/pdf/tikusan-19.pdf>、(参照2024.02.01)
- 2) 瀧澤秀明ら：亜鉛添加が黒毛和種去勢牛の産肉性及び肉質に及ぼす影響、愛知県農総試究報、39、51-59(2007)、
<https://agriknowledge.affrc.go.jp/RN/2030753187.pdf>、(参照2024.02.01)
- 3) 喜多知子ら：臨床応用を目的とした誘導結合プラズマ発光分析法による血清中微量元素の多元素同時分析、
分析化学、38、547-552(1989)、https://www.jstage.jst.go.jp/article/bunsekikagaku1952/38/11/38_11_547/_pdf、(参照2024.02.01)
- 4) 青山嘉朗：蛍光検出器の2波長同時検出を利用した牛血清中脂溶性ビタミン測定の迅速化の検討、第57回
広島県畜産関係業績発表会集録、24-27(2019)、https://www.pref.hiroshima.lg.jp/uploaded/life/911805_8435320_misc.pdf、(参照2024.02.01)
- 5) 大成清：肉用牛に対する銅の栄養問題、養賢堂、畜産の研究、69(3)、241-248(2015)、
<https://agriknowledge.affrc.go.jp/RN/2010891187.pdf>、(参照2024.02.01)
- 6) T.E.Engle et al: Dietary copper effects on lipid metabolism, performance, and ruminal
fermentation in finishing steers. J Anim Sci.78(9).2452-2458(2000)
- 7) 矢野秀雄：肥育牛の肉質および増体に及ぼすビタミンCと亜鉛の影響、日本科学飼料協会、科学飼料、50
(5)、31-39(2005)
- 8) 築谷 愛未ら：黒毛和種去勢肥育牛に対するコバルト補給が飼料摂取量、体重増加とビタミンB12バイオ
オマーカーに及ぼす効果、肉用研究会、肉用研究会報、112、5-9(2022)

重大な動物感染症発生時に備えた埋却準備への取り組み

北部畜産事務所

○鍵本沙也 部屋智子

はじめに

埋却等の事前準備は、重大な動物感染症発生時において迅速な防疫措置を行うため重要である。本県では、令和2年度から令和4年度までの3年間で8例の高病原性鳥インフルエンザ（以下HPAI）が発生し、殺処分家きんの処理作業において、令和2年度のHPAI 県内初発事例では焼却の長期化、令和4年度の管内発生事例では埋却の長期化という課題が生じた。また、令和3年度以降、野生イノシシの豚熱感染が県内で拡大しており、豚飼養農場でも豚熱発生に備えた埋却準備が課題となっている。

こうした状況の中、HPAI 発生事例の課題を踏まえ、令和3～5年度に重大な動物感染症発生時に備えた埋却準備に取り組んだので、その概要を報告する（図1）。

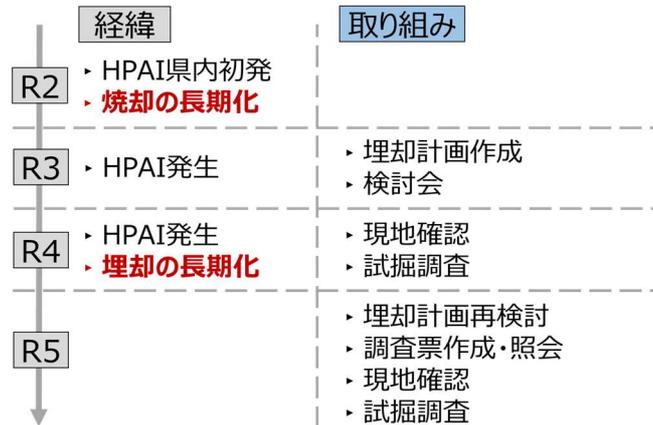


図1 取組の概要

埋却計画の見直し

1. 殺処分家きんの処理方法の変更

広島県では、令和2年度まで殺処分家きんの主たる処理方法を焼却処分としており、令和2年度の県内初発事例の際に、3市の一般焼却施設において焼却処理を行った。しかし、1日の運搬及び処分可能数が限られており、殺処分家きんの焼却処理に53日と長期間を要した。そのため、令和3年度から殺処分家きんの処理方法を、埋却を主体に検討するよう変更した。その結果、令和3年度以降の発生においては埋却処理を行い、30万羽未満の発生事例では、処理

表1 処分鶏等の処理日数

事例	飼養羽数	処分鶏等の処理方法	日数
令和2年度	13.6万	焼却、埋却	53
令和3年度	3万	埋却	4
令和4年度	① 11.3万		6
	② 18.6万		10
	③ 12.6万		8
	④ 29万		10
	⑤ 83.5万		53
⑥ 12.7万	9		

に数を10日以内に短縮することができた。一方で、令和4年度の5例目は、①大規模農場での発生、②埋却地における湧水発生のため埋却溝から盛土方式に埋却地構造を変更、③降雪による地盤の軟弱化等の理由により、埋却処理に53日と長期間を要した（表1）。

2. 埋却に関する基本計算表の作成

令和3年度に主たる処理方法を埋却に変更したため、各農場の埋却地の必要面積について見直しを行った。また、重大な動物感染症発生時に備えた防疫シミュレーション（以下、対応計画）において埋却に関する統一した資料が作成できていなかったため、令和3年度に統一様式の基本計算表をエクセルファイルで作成した。基本計算表で使用する計算式は、国内での鳥インフルエンザ発生時に汚染物品等を埋却した他県事例等を参考に課内で検討、設定した。これにより、飼養羽数及び残存飼料量の情報の入力だけで、鶏糞、鶏卵、飼料及び殺処分家きんを含めた汚染物品量、必要となるフレコンバック数及び埋却溝総延長を自動で算出できるようにした（図2）。

また、令和5年度に、令和4年度の埋却実績を参考にして再検討し、埋却溝に投入するフレコンバックの最大積上げ段数を4段までとした。これを基に、基本計算表を3段の場合と4段の場合において、それぞれの総延長を算出できるよう改良した（図3）。

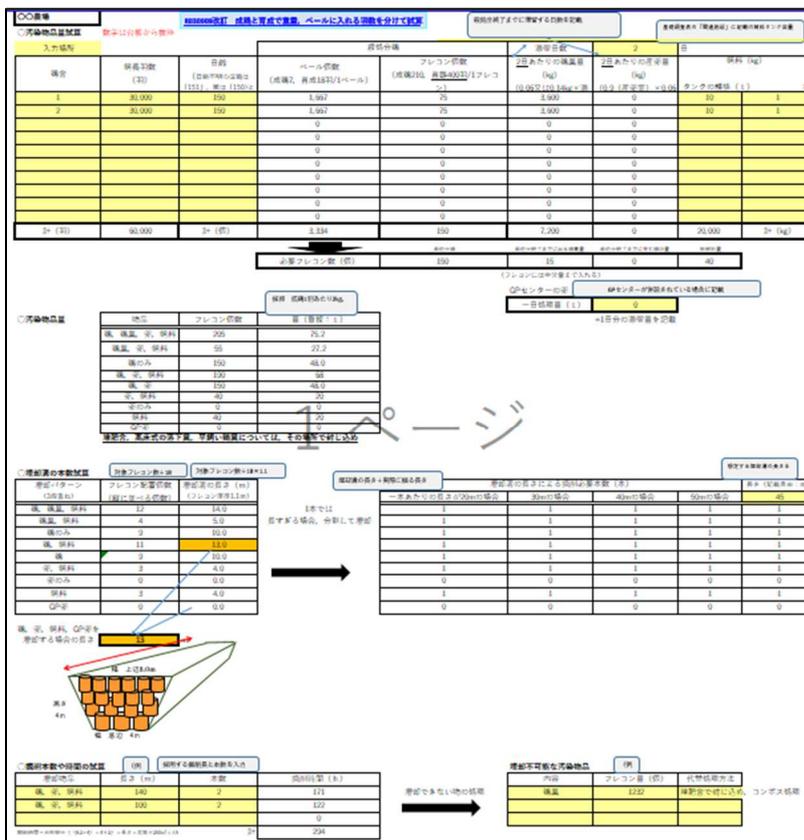


図2 基本計算表



図3 埋却溝への投入段数の変更

現地調査

1. 建設業者との現地調査

令和3年度に管内の大規模家きん4農場を対象に、農場責任者、農場統括担当者及び常日頃から施設管理等のために農場へ出入りする建設業者を参集し、①HPAI 概要、②埋却作業内容、③埋却作業委託の流れ、④埋却溝の設計案、⑤建設業者への協力要請の流れ、⑥各農場の埋却試算を議題とした検討会を開催した。当該4農場は、長らく埋却地未確保であったが、令和2年度のHPAI 県内初発生をきっかけに埋却候補地を確保、当所が埋却溝の掘削場所等の案を作成した。しかし、検討会での議論により、うち1農場で埋却地を鶏舎間と設定することについて、建設業者から重機の侵入が困難であると指摘があり、埋却地を農場近隣の雑種地に変更した。この検討会で、農場の埋却地確保への意識付け、建設業者の埋却作業への理解醸成を深める事が出来た。

また、同検討会の出席者により実際の埋却地の現地調査を行い、検討会での意見を基に、次の内容について確認を行った。⑦道路状況、⑧農場の見解、⑨建設業者の懸念点を調査した(図4)。農場からは、死亡家きんを入れたフレコンバッグの保管方法、鶏糞等の汚染物品の処理方法、農場側で対応可能な作業等について提案があった。また、建設業者からは、地形に合わせた埋却溝の向き、作業スピード、県が用意する重機の仕分け、県・農場・建設業者の役割分担の明確化等の提案があった。

現地調査の結果、1農場において使用できる埋却地の面積が想定以上に確保でき、十分な面積があることが分かった。



図4 現地調査

2. 県関係機関との現地調査

令和2~4年度の防疫対応の経験から、実際の埋却作業を進めるにあたり、土木関係の知識に精通した部署と連携してあたる必要があることが判明し、事前に関係機関と情報共有及び事前調整を行うこととした。令和5年度に家きん4農場、豚1農場を対象に、北部農林水産事務所農村整備第一課及び第二課と連携して現地調査を行うとともに、ドローンを用いて、上空から埋却地の状態及び周辺環境を確認した(図5)。調査後、農村整備第一課・第二課が地形に合わせた埋却溝の設計を行い、地積測量図と合わせた埋却地図面案を作成した(図6)。



図5 上空写真



図6 埋却地図面

試掘調査

1. 埋却に関する防疫演習（令和4年度）

一般社団法人広島県畜産協会の家畜防疫・衛生指導対策事業を活用して、養鶏及び養豚関係者、建設業者、畜産協会、市及び県関係機関を参集し、同年に現地調査を行った大規模家きん4農場のうち1農場を対象に、試掘調査及び地域防疫演習を行った（図7）。当該農場の試掘調査の結果では、湧水、掘削困難な地層等の課題は確認されなかった。防疫演習には、養鶏関係者に加え、大規模養豚農場への参加を促し、埋却地確保の必要性を啓発することが出来た。



図7 地域防疫演習

2. 実際の埋却作業における課題の解消に向けた取り組み（令和5年度）

(1) 状況の確認のための調査

令和4年度の管内HPAI発生事例において、大規模家きん農場での埋却作業を想定どおりに進めることが出来なかった反省から、実際の埋却作業で課題となった項目について、優先度の高い大規模家きん等6農場、豚2農場に対し照会し、併せて、土地の所有者及び境界線を明らかにするための公図を提出するよう依頼した。調査項目は、①所有者及び地目、②造成の必要性、③水みちの状況、④作業道の有無、⑤周囲住民への説明の有無、⑥農場従業員の重機免許保有状況、⑦農場関連建設業者の有無についてで、調査の結果、埋却地の造成が必要な農場は4農場あり、水みち状況の把握及び周囲住民への説明を実施している農場は無いことが判明した（図8）。

【調査項目】

①所有者及び地目

借地1 自己所有地7

②造成必要性

必要4

③水みち状況

不明8

④作業道有無

確保済8

⑤周囲住民への説明

未説明8

⑥農場従業員の重機免許

取得済8

⑦農場関連建設業者

無し2 有り6

図8 埋却課題調査

(2) 試掘調査

令和5年度に行った実際の埋却作業における課題の調査と併せて、北部農林水産事務所農村整備第一課及び第二課と連携し、家きん3農場、豚1農場で試掘調査を行った。その結果、埋却地の一部に湧水、岩等で試掘困難な地層が確認された他、課題照会時では作業道確保済みであった農場でも、埋却地への進入路が狭く大型重機の進入が困難である事や埋却地境界線が不明瞭である事が明らかになり(表2)、これらの課題を農場に対し通知し、共有した。今後、農場と協力し、課題の解決に向けた検討を行っていく予定である。

表2 試掘調査結果

農場名	飼養形態	頭羽数	課題
家きん-1	採卵	24万	<ul style="list-style-type: none"> ・湧水 ・岩等で試掘困難 ・大型重機進入困難 ・埋却地境界線が不明瞭 ・傾斜地
家きん-2	育成	24万	
家きん-3	採卵	175万	
豚-1	繁殖	5千	

まとめ

重大な動物感染症発生時の防疫措置を迅速に行うためには、事前の埋却地確保及び埋却計画が重要である。埋却作業が滞ると、莫大な費用及び労力が掛かる上、農場においても、経営再開までの期間が延びることで経済的な損失が生じる。

令和2年度の県内初のHPAI発生からこれまでの事例で直面した課題を積上げ、処分家きん等の処理方法を変更、埋却計画を作成、現地調査及び試掘調査を実施したことにより、より実用性の高い埋却地の確保に近づいた。取組後の埋却地確保状況は、家きんでは5から9農場に増加し、豚では4農場全てで確保されている。しかし、確保済み農場のうち、家きん4農場、豚3農場において、課題が確認されたままとなっており(表3)、課題としては、湧水、岩等で試掘困難な地層、土地の境界が不明瞭、整地困難な山林、保安林、急傾斜地等が挙げられる。

埋却準備は迅速な防疫措置に重要だが、農場のみで取り組むには技術的・資金的課題がある。そのため、所として引き続き、関係者と協力し、農場の支援に継続して取り組んでいくつもりである。

表3 取り組み前後の課題認識数

	取り組み前	取り組み後	
	確保済	確保済	うち課題有
家きん	5	9	4
豚	4	4	3

CASA を活用した凍結精液の品質評価モデルの構築

県立総合技術研究所畜産技術センター

○森政賢二 佐藤伸哉

はじめに

和牛の凍結精液を用いた人工授精による受胎率や体外受精の胚発生率は、精液ロットによって異なり、その要因の一つとして精子の運動性が影響していると考えられている。精子の運動性については従来、目視による評価を行っていたが、近年画像から精子の運動性を客観的に評価できるシステム（CASA）が開発された。

一方、近年、「機械学習」手法を用いて大量のデータについて人工知能（AI）等を用いて分析し、その結果から学習して、アルゴリズムを構築し判断や予測に活用する取組が様々な分野で広がっている。畜産分野においても同様に活用の有効性が確認され始めている。

そこで今回、CASA を活用して得た大量の精子の運動性データについて、AI を用いた機械学習を行い精液の人工授精受胎率と体外受精胚発生率を予測する評価モデルの構築と検証を行った。

材料と方法

1. 供試精液

広島県有種雄牛の1歳～3歳の若齢牛13頭21ロットと5歳以上の成熟牛1頭3ロットの凍結精液

2. 運動性解析機器

京都大学附属農場開発のCASA（Computer-Assisted Sperm Analysis）システム

3. 方法

1) 精子濃度の測定及び精子運動性解析

精子濃度は、広島県有種雄牛の凍結精液を融解後に3%食塩水で200倍に希釈し、セルカウンターを用いて顕微鏡下で精子数をカウントして計測した。

また、精子運動性解析は、凍結精液を融解後に精子濃度を5千万個/mlに調整し、6回/ロットの精子の動画を撮影した。取得した動画をCASAで解析し、VCL（曲線速度）、VAP（移動平均速度）、VSL（直線距離）などの精子運動性項目14項目のデータを取得した。

2) 人工授精受胎率の調査

県内の繁殖農家で15回以上人工授精に用いられた精液ロットについて、人工授精頭数と1発情周期における受胎状況を協力農家へ聞き取りした。

3) 体外受精胚発生率の調査

体外受精の供試卵は、食肉処理場（黒毛和種または肉用交雑種）由来の卵丘細胞-卵子複合体（COC）を用いた。COCを22時間体外成熟培養後、体外受精に供した。精子は、凍結精液を38℃の温水で15秒間加温融解後、精子洗浄液に希釈し洗浄した。遠心分離後、精子を回収して媒精に用いた。媒精5～6時間後にピペッティングにより卵丘細胞を完全に除去し、発生培地に移して8日間培養した。発生培地は当センターの慣行培地である改変SOF（SOF区）を用い、胚盤胞発生率を調査した。

4) 凍結精液品質評価モデルの構築と精度検証

1)～3)の方法でデータを取得した13種雄牛21ロット（胚発生率は11種雄牛17ロット）を用いて得られた精子濃度、14項目の精子運動性評価データ、人工授精受胎率及び体外受精胚発生率を機械学習データとして用いた。市販の機械学習ソフト「RapidMiner9」の機械学習手法の一つである「ランダムフォレスト」を用いて、精子濃度及び精子運動性評価項目14項目から人工授精受胎率及び体外受精胚発生率を予測するモデルを構築した。

構築したモデルの精度検証を行うために、今回のモデル作成に用いなかった1種雄牛3ロットの取得データについて、予測を行い予測値と実測値との比較を行った。

成績

1. 取得データ

今回取得したデータについて、平均精子濃度は、9千万±3千万個/mlであった。

精子運動性項目の主要な3項目の平均値については、VCLが133.9±13.0μm/s、VAPが61.4±6.3、VSLが44.7±6.4であり、個体間にバラつきが確認された。また、人工授精の平均受胎率は、43.9±12.3%、体外受精後の平均胚盤胞発生率は、33.6±13.1%であった。

表1 調査項目の平均値、最大値及び最小値

項目	平均±S.D	最大	最小
精子濃度 (億個/ml)	0.94±0.32	1.45	0.39
VCL (μm/s)	133.91±13.04	160.35	108.98
VAP (μm/s)	61.40±6.28	73.90	48.42
VSL (μm/s)	44.72±6.45	56.30	32.75
BCF(Hz)	7.66±0.93	9.58	5.5
LIN	0.35±0.04	0.42	0.23
WOB	0.47±0.03	0.52	0.42
STR	0.78±0.07	0.87	0.55
ALH (μm/s)	1.78±0.25	2.28	1.47
angle	64.51±13.53	110.75	48.43
diameter	49.01±6.27	58.67	36.76
D	1.33±0.05	1.48	1.26
Motility	0.18±0.04	0.24	0.08
Prog_Rate	0.11±0.03	0.15	0.03
Circle_Rate	0.05±0.01	0.09	0.01
受胎率 (%)	43.87±12.31	70.40	25.00
胚発生率 (%)	33.62±13.12	53.12	0.00

2. 人工授精受胎率予測モデル

予測モデルでの予測値と実測値との比較について、学習データでは、実測値の平均が $45.1 \pm 12.5\%$ 、予測値の平均が $45.2 \pm 9.8\%$ であり、誤差の平均は $2.6 \pm 2.4\%$ であった。検証に用いた未知のデータでは、実測値の平均が $35.5 \pm 8.5\%$ 、予測値の平均が $42.2 \pm 2.4\%$ 、誤差の平均は $7.5 \pm 9.3\%$ であり、未知のデータに対する予測は、学習に用いたデータより誤差が大きくなった。

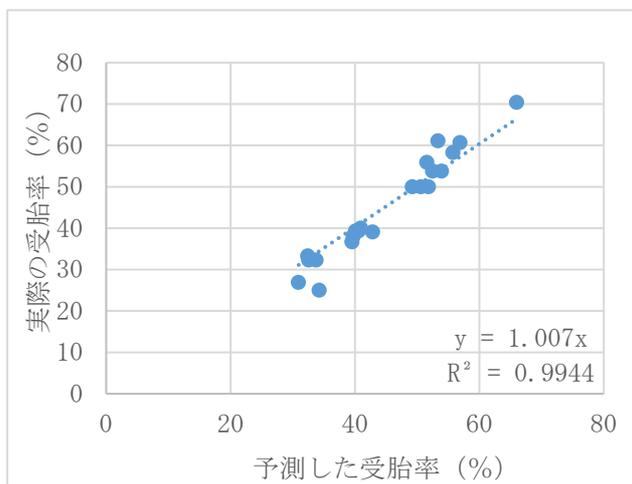


図1 学習データの人工授精受胎率予測結果

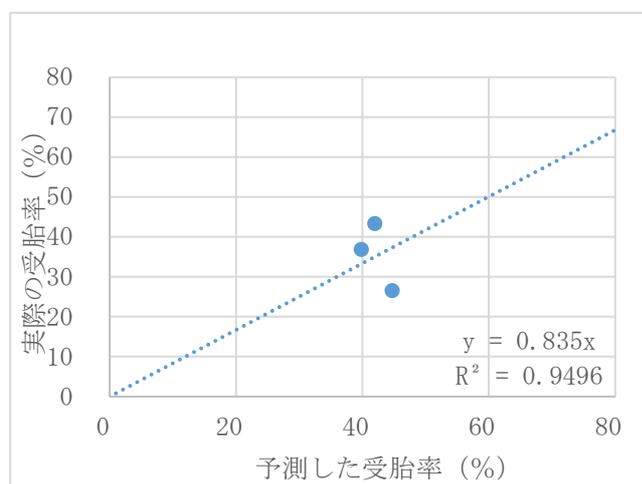


図2 未知のデータの人工授精受胎率予測結果

3. 体外受精胚発生率予測モデル

予測モデルでの予測値と実測値との比較について、学習データでは、実測値の平均が $34.9 \pm 13.5\%$ 、予測値の平均が $34.5 \pm 10.9\%$ であり、誤差の平均は $2.4 \pm 2.3\%$ であった。検証に用いた未知のデータでは、実測値の平均が $26.4 \pm 8.7\%$ 、予測値の平均が $34.6 \pm 1.7\%$ 、誤差の平均は $8.3 \pm 7.1\%$ であり、未知のデータに対する予測は、学習に用いたデータより誤差が大きくなった。

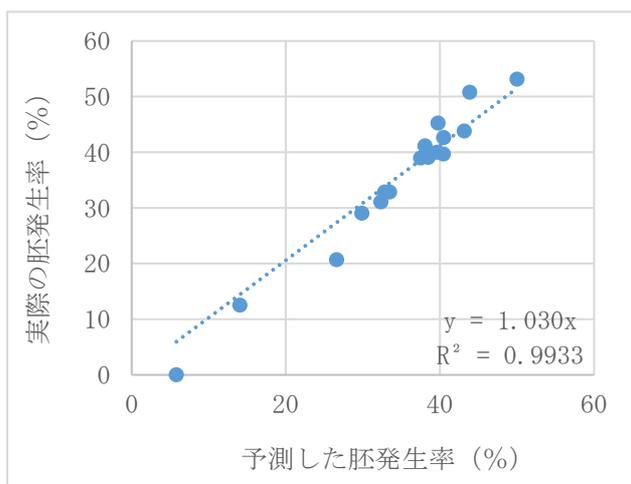


図3 学習データの体外受精胚発生率予測結果

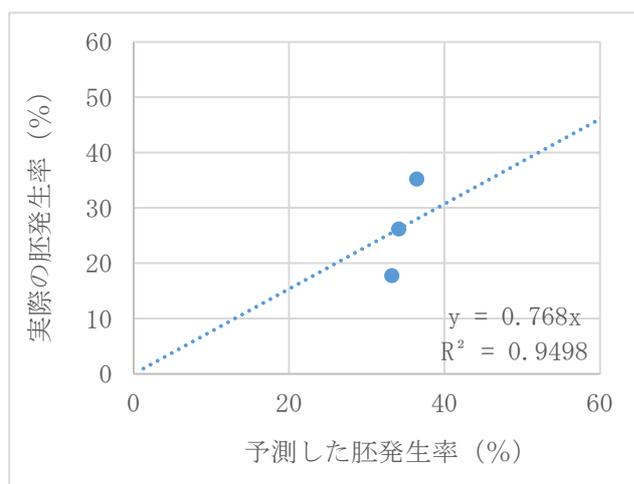


図4 未知のデータの体外受精胚発生率予測結果

考察とまとめ

今回取得した県有種雄牛の精子運動性項目の解析成績について、いずれの項目も精子運動性は種雄牛間で差が認められ、同一種雄牛でも採取ロット間でバラつきが見られた。その原因については、飼養管理や採取間隔、採取時期などが影響することが報告されており¹⁾、今後はこれらの影響を検証し、バラつきを少なくする生産体制を構築する必要がある。

また、精子運動性成績と人工授精受胎率や体外受精胚発生率との関係を比較した場合、精子運動性項目の値が高い精液ロットが受胎率や胚発生率が低くなるロットが多く、運動性の高さと受胎率や胚発生率間の相関は確認できなかった。永田らは、CASAで測定できる精子運動性項目を複数組み合わせることで精子の軌道を分析した場合、直線的な運動性の精子が多い精液より蛇行する精子が多い精液の受胎性が高いことを報告している²⁾。そのため、精子運動性項目による直接的な評価ではなく、複数の項目を組み合わせ、精子の軌道を分析し、精液の受胎性を評価する手法を検討する必要がある。

構築した予測モデルは、モデル構築に用いた学習データのロットにおいては、受胎性、胚発生能を高精度で予測できたことから、精子運動性評価により人工授精受胎率や体外受精胚発生率を予測できる可能性があると考えられた。一方で、検証に用いた未知のデータに対しては、予測精度が低かった。原因として、モデル構築に用いたデータ数が少ないことに加え、データ数に対して予測に用いる説明変数の項目が多かったことなどが影響して、過学習（特定のデータにしか精度の高い予測ができない）の状態になっていたことが考えられる。人工授精受胎率や体外受精胚発生率の予測モデルの精度向上には、更なるデータの蓄積や解析に用いる精子運動性項目の絞り込み等を検討する必要があると思われる。

また、今回構築した予測モデルにおいて、説明変数として用いた15項目のうち予測に最も大きな影響を与えたのは、精子濃度であったことから、凍結精液の品質の向上には最適な精子濃度の凍結精液の作成が有効であることが示唆された。今回構築した予測モデルは精子濃度の影響が大きいモデルとなったことで、精子運動性項目が凍結精液の品質に与える影響を評価できないモデルになった可能性が考えられたため、今後は、精子濃度が一定の凍結精液ロットについてデータを取得し、精子濃度の影響を排除した予測モデルの構築が必要であると考えられた。

参考文献

- 1) 一般社団法人 日本家畜人工授精師協会：家畜人工授精師講習会テキスト（2017）
- 2) 永田マリアポーシャ、山下健一：家畜繁殖用精液の改良技術開発、シンセシオロジー, 12(2), 75-83(2019).

拡張型心筋症が疑われた子牛の一症例

○網屋果琳¹⁾ 市場聖治¹⁾ 堀香織²⁾ 瀧奥健吾¹⁾ 伊集院潔¹⁾

1) 広島県農業共済組合 府中家畜診療所 2) 麻布大学 産業動物内科学研究室

はじめに

心筋症は、心臓機能障害を伴う心筋疾患と定義され、心室が拡張して収縮不全に陥る拡張型心筋症、心筋が肥大化して拡張不全に陥る肥大型心筋症、心筋の一部が線維化などを起こし機能不全に陥る拘束型心筋症に分類される。牛の心筋症は拡張型心筋症が一般的である。血液を全身に送り出す力が弱くなり、発症すると活力、食欲の低下、廃絶、乳量減少などの症状と、浮腫や頸静脈怒張、不整脈、頻脈といったうっ血性心不全徴候を呈すとされている^{1),2)}。

本症の発症原因は大きく遺伝性と特発性に分類される。遺伝性は6ヵ月齢迄に斃死することが多い。ホルスタイン種では赤毛と連鎖し、遺伝的閉鎖集団で発症率が3~5%になると報告されている。特発性の心筋症は2~4歳齢で発見されることが多く、ビタミンEやセレンの欠乏が原因として考えられており、分娩後の身体的に負荷が大きい時に発症することが多い。ヒトの拡張型心筋症では長期の頻脈、細菌・ウイルスなど感染症、トキソプラズマ症、有機溶媒への暴露が原因として挙げられている³⁾。しかし、本症の詳細な原因は依然として不明であり、発症には遺伝性、特発性の原因が複合的に関与していることが考えられる。

本症例の診断方法は臨床症状や血液検査に加え、超音波検査、レントゲン検査が有用である。超音波検査により拡張した心腔、菲薄化した心筋を確認でき、レントゲン検査で肥大化した心臓を確認することが可能である。治療法は、心臓の負荷軽減のため利尿剤の投与、胸水、腹水の抜去など対症療法があるが、発症すると完治することはなく、産業動物では予後不良で廃用となることが多い。予防法としては、同一系統の後継牛を残さないことや、ミネラル、ビタミンなどの飼養管理をすることが挙げられる。

今回、当診療所管内の農家で5ヵ月齢の交雑種が重度のうっ血性心不全症状を呈し、初診から20日後に死亡した。解剖して心臓を精査した結果、拡張型心筋症が疑われたため、症状の経過や解剖所見について報告する。

方法

1. 臨床症状
2. 血液検査、血液生化学的検査
3. 解剖検査

現場で解剖した後、心臓を10%ホルマリンに浸漬して固定し、後日精査した。

成績

1. 臨床症状

2023年7月22日生まれ、8月26日に当該農家へ導入。交雑種、雌、既往歴なし。管内の哺育・育成農家で飼養されており、飼養頭数は計45頭、子牛を1ヵ月齢で導入し1ヵ月間ほど個別飼育、その後パドックにて6ヵ

月齢ごろまで育成している。

第一病日、体温 40℃で食欲不振になり、畜主により抗菌薬が投与されたが症状が改善せず、第 5 病日に初診。初診時呼吸速迫、肺音粗励であり、抗菌薬と消炎剤で治療した。この時点で徐脈を呈していた。第 6 病日、起立不能に陥り苦悶していると診療依頼。診療の際は起立可能であったが活力廃絶状態であり、両側の頸静脈の怒張が見られた。輸液と抗菌薬にて治療した。第 9 病日、食欲は変わらず、心拍数 30 回/分の重度の徐脈を呈し、心雑音聴取、伏臥時間の延長が見られた。創傷性心内膜炎を疑い血液検査を実施。その後も治療を継続したが、衰弱進行、第 22 病日には起立不能で胸垂に浮腫が見られた。第 24 病日に死亡し、解剖を実施した

2. 血液検査（第 9 病日）

表 1：血液検査結果

項目	数値	単位	項目	数値	単位
WBC	53.0	× 10 ² /μL	TP	5.80	g/dL
NEUT	32.8	× 10 ² /μL	Alb	2.66	g/dL
LYMPH	14.1	× 10 ² /μL	A/G	0.85	
MONO	4.30	× 10 ² /μL	BUN	18.0	mg/dL
EO	1.50	× 10 ² /μL	T-cho	76.0	mg/dL
BASO	0.30	× 10 ² /μL	NEFA	596	μEq/L
RBC	865	× 10 ⁴ /μL	Ca	8.60	mg/dL
HGB	10.2	g/dL	IP	7.40	mg/dL
HCT	32.8	%	Mg	2.20	mg/dL
MCV	37.9	fL	T-Bil	0.30	mg/dL
MCH	11.8	pg	AST	171	IU/L
MCHC	31.1	g/dL	GGTP	69.0	IU/L
PLT	69.3	× 10 ⁴ /μL	ALP	166	IU/L
			LDH	1300	IU/L
			CK	369	IU/L

第 9 病日に実施した血液検査では、TP の減少が見られ、AST, GGTP、ALP、LDH、CK の項目が高い数値を示したことから、肝疾患、または心筋の機能障害が示唆された。しかし A/G 比は正常で γ-グロブリンの上昇が認められなかった。そのため異物性疾患等による慢性炎症は否定された。

3. 解剖検査

第 3・4 肋間から開胸すると、多量の赤色胸水の貯留が見られた。心臓は球形に肥大し、右心室壁がくぼんでいた (写真 1)。心臓をホルマリン漬けし、後日精査した。心臓のサイズは縦 23 cm、幅 20 cm

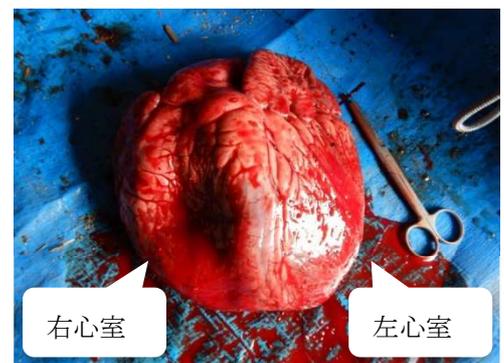


写真 1：摘出後の心臓

であった。左心房から心尖に向けて切り込みを入れた。左心室壁は薄く、厚みは約 2 cm、心室腔が拡張していた。その他弁膜、中隔などには肉眼的に異常は認められなかった（写真 2）。右心室は壁の厚みが約 1 cm であり、その他左心室と同様弁膜や構造には異常を認められなかった。今回、参考に症例と同時期に呼吸困難に陥り死亡した生後 2 日齢のホルスタイン雄牛の心臓を用意し、心臓のサイズを比較した。2 日齢子牛の心臓のサイズは縦 15 cm 幅 10 cm であった。2 つの心臓の心室壁の厚みがほぼ同じであった。また、肺に肉眼上の異常は認められなかった。

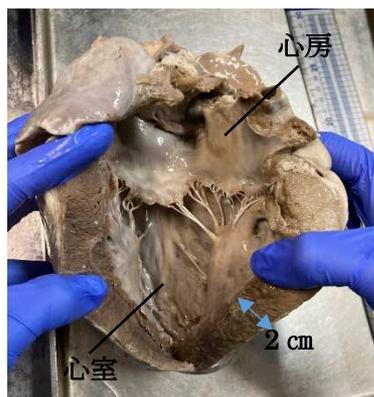


写真 2 : 左心

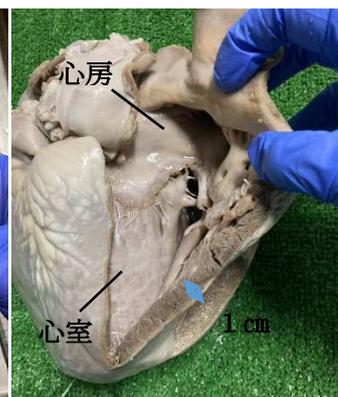


写真 3 : 右心



写真 4 : 心室壁の比較

考察

剖検の結果と血液検査にて心筋傷害が考えられたものの、炎症性疾患が否定されたことから、本症例は拡張型心筋症を発症し、うっ血性心不全に陥ったことが疑われた。

2 日齢の子牛が健康ではないので正確には不明だが、本症例は心臓の大きさに対して心室壁が菲薄であったと考えられた。拡張型心筋症では一般に頻脈になるが、本症例は初診時から徐脈であった。心機能の著しい低下が原因の一つとも考えたが、その心臓の状態から初診から 20 日生きたことは考えにくく、他の徐脈の原因として迷走神経障害が併発していた可能性が疑われた。鼓脹などの迷走神経性消化不良の明らかな症状は見られなかったため、その症状が現れる前に死亡したのではないかと考えられた。今回、拡張型心筋症を発症した原因は特定できなかったが、他の子牛と同様に給餌を受けており本症例のみビタミンやセレンが欠乏していたとは考えにくく、抗菌薬で症状が一時的に緩和したことから、ヒトで報告されているような心筋の細菌感染症が原因の可能性が考えられた。また、5 ヶ月齢で死亡し、親がホルスタイン種であったことから、遺伝性の拡張型心筋症であった可能性も考えられた。

拡張型心筋症は一般に予後不良であり、産業動物の生産性を考えると早期の診断・廃用が望ましいとされている。レントゲン検査で肥大した心臓を確認すること、超音波検査が診断に有効とされている。しかし循環器障害の症状が見られる牛に鎮静をかけることはできず、今回現場で使用しているエコーではプローブも小さく心臓を診断できるほど正確に描出することができなかった。生前に確定診断することは非常に難しく、臨床症状と検査所見から判断しなければいけないのが現状だが、今回の結果が今後の予後判断の一助になれば幸いである。

参考文献

- 1) 主要症状を基礎にした牛の臨床 3/小岩政照、田島譽士 監修/デイレーマン
- 2) うっ血性心不全の症状を呈した乳牛の 2 症例/山岸則夫/家畜臨床誌 31(3) : 148-153, 2008
- 3) 拡張型心筋症/MSD マニュアル <https://www.msmanuals.com/ja-jp/プロフェッショナル/04-心血管疾患/心筋症/拡張型心筋症?query=拡張型心筋症>

ホルスタイン種における BLV 抗体陽性牛と血液生化学との関連について

広島県農業共済組合 庄原家畜診療所○茶川元樹 家畜臨床研修所 金子宗平

はじめに

牛伝染性リンパ腫は全身性の悪性リンパ腫を主徴とする疾病で、牛伝染性リンパ腫ウイルス (Bovine Leukemia Virus : BLV) の感染が主な原因となる。国内において、2021 年には 1765 頭発生したが、2021 年には 4375 頭発生しており、近年増加傾向にある。日本国内の農場における BLV の蔓延に伴い、地方病型牛伝染性リンパ腫 (Enzootic Bovine Leukosis : EBL) の発生が年々増加している。EBL は不顕性感染であり発症まで長期間要するケースが多く、BLV 抗体陽性でも発症せず無症状の個体も多い。BLV に感染すると 20-30%の感染牛が持続性リンパ球増多症を引き起こし、2-3%が数ヶ月から数年後に EBL を発症するとされている。症状としては元気食欲低下、乳量減少、消瘦など、非特異的症状となることが多く、また全身の様々なリンパ組織で腫瘍細胞が増殖し、腫大するリンパ節の部位によっては呼吸促迫、排尿障害、眼球突出を呈することがあるが、症状から EBL と診断することは難しい。また BLV 抗体陽性牛が増えており、抗体陽性牛を全て淘汰することは難しく、抗体陽性牛の中でも特に発症に近い牛を早期発生し淘汰対象としたい。そのような背景の中、ヒト医療分野では血液生化学のうち逸脱酵素の特性を利用し、LDH/AST 比を用いることでどの臓器の障害かを推定し、その比を用いてリンパ腫や白血病を鑑別することがある (LDH /AST 比が 10 以上で白血病やリンパ腫などを疑う)¹⁾。そこで今回 EBL 発症牛の早期発見を目的に、BLV 抗体陽性牛のうち EBL 発症牛と未発症牛では、血液生化学検査結果や LDH/AST 比などに差異があるのではないかと推察し調査したので報告する。

材料および方法

令和 4 年 4 月から令和 5 年 5 月までの期間、病傷事故症例の採血した個体の中から、BLV 抗体検査 (ELISA 法) を実施し陽性であったホルスタイン種のうち、運動器疾患を除外するため CK 値 1,000IU/L 以上の個体を除いた 60 頭を対象とした。そのうち EBL と診断され廃用となった個体、または EC の鍵 (リンパ球数の正常値の幅を年齢別に定め、この基準を超えたものを異常とする方法) (表 1) の条件を満たす個体を発症群 (n=21) とし、それに当てはまらない個体を未発症群 (n=39) とした。両群間の各血液生化学項目 (TP、A/G、Alb、各 Glob、BUN、T-Cho、NEFA、Ca、IP、Mg、T-Bil、AST、GGTP、ALP、LDH、CK)、分娩からの日数 (DIM)、月齢、LDH/AST 比を比較検討した。検定には EZR にて Kolmogorov-smirnov 検定、F 検定、T 検定、Mann-Whitney U 検定、ROC 検定を用いた。

表1 【ECの鍵】(末梢血単核細胞数(リンパ球数)による判定方法)

月齢	正常	擬陽性	陽性
0~12	<10,000	10,000~12,000	>12,000
12~24	<9,000	9,000~11,000	>11,000
24~36	<7,500	7,500~9,500	>9,500
36~48	<6,500	6,500~8,500	>8,500
48~	<5,000	5,000~7,000	>7,000

成績

DIMは発症群・未発症群間で差はなかった(発症群:157.5日、未発症:126.0日(中央値))。月齢において、発症群は未発症群に比べ高い傾向があった(発症群:58ヶ月齢、未発症群:53ヶ月齢($p<0.1$))(中央値)(図1)。Caにおいて、発症群では未発症群に比べ有意に低値を示した(発症群:8.3mg/dl、未発症群:8.7mg/dl($p<0.05$))(中央値)。また、CaについてROC解析を行ったところ、カットオフ値:8.40、AUC:0.661、感度:0.667、特異度:0.641となった(図2)。LDH、AST、LDH/AST比に有意差はみられなかった(LDH:中央値1156IU/L vs 1101IU/L、AST:中央値106IU/L vs 92IU/L、LDH/AST比:中央値12.4 vs 11.2(発症群 vs 未発症群))(図3,4)。その他血液生化学検査結果にも両群間にて差はみられなかった。

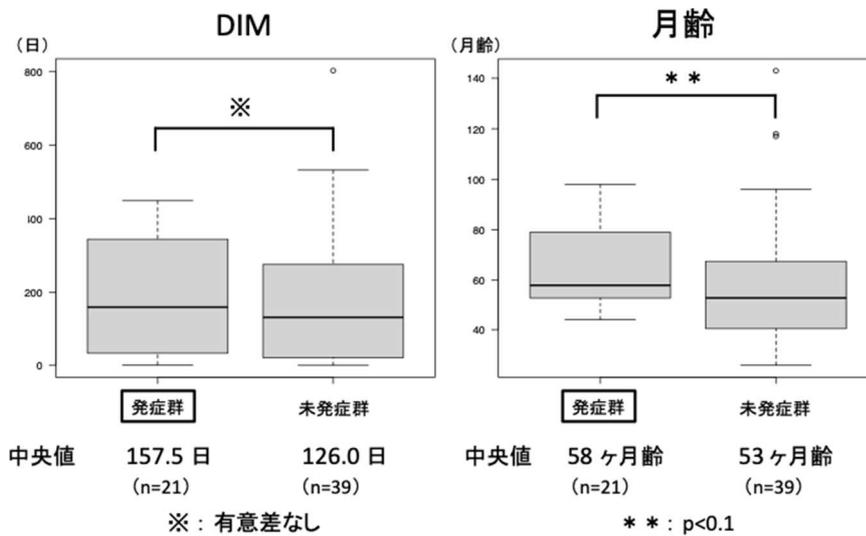


図1: DIM、月齢

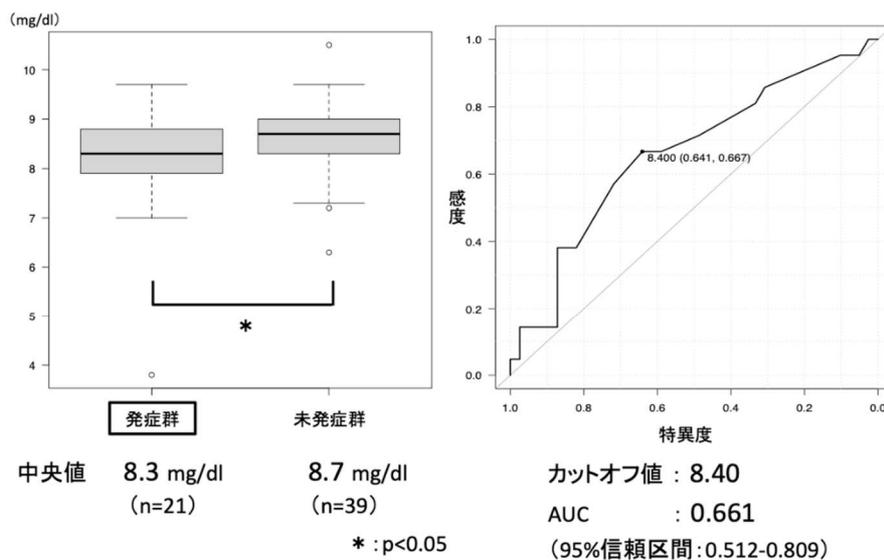


図2: Ca

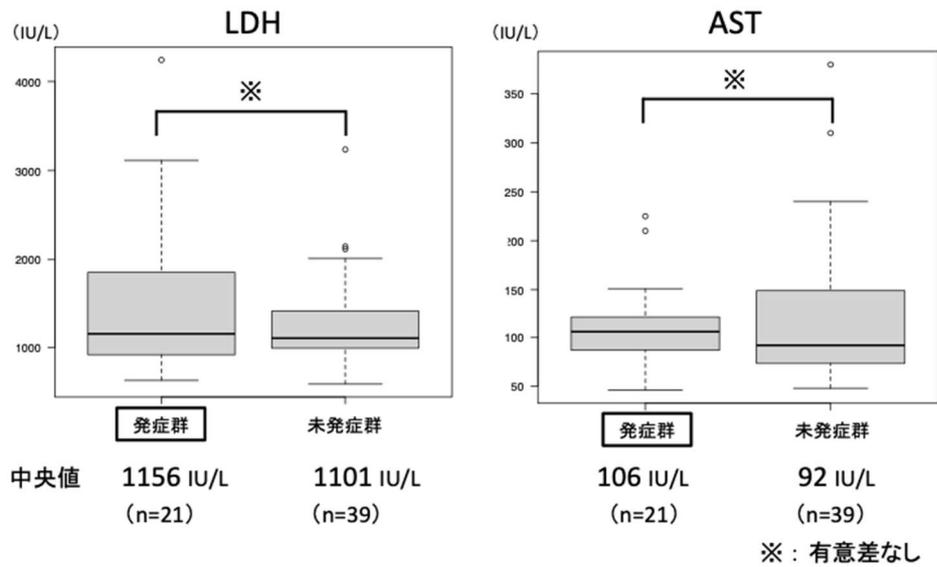


図3：LDH、AST

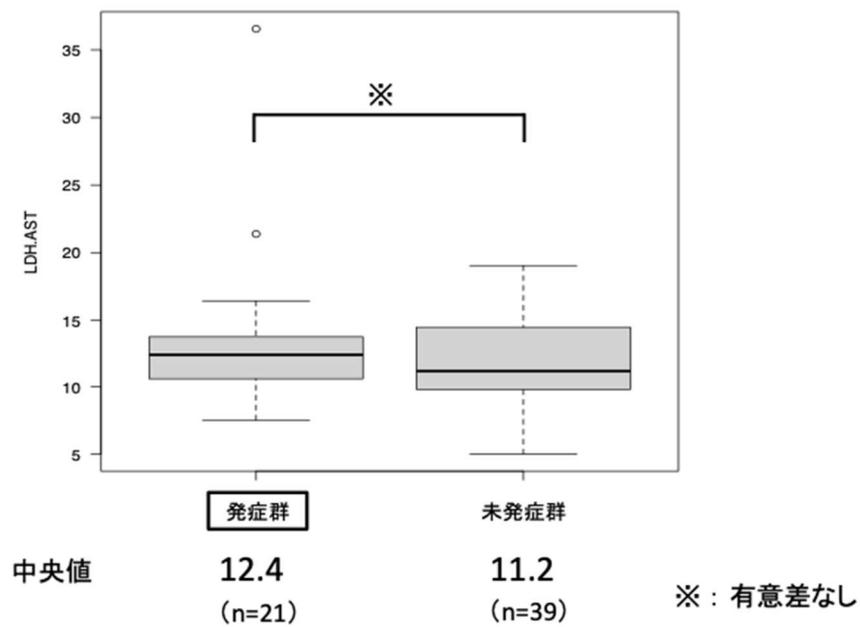


図4：LDH/AST

まとめ

今回の結果では両群とも DIM は長く差はないことから、今回用いた検体では周産期疾病が関与している可能性は低いと考えられた。月齢において、BLV 抗体陽性牛頭数は月齢が高いほど有意に増加するといった報告²⁾もあり、今回の調査では、発症群は未発症群に比べ高い傾向にあり、月齢が高いほど EBL 発症リスクも高いことが示唆された。今回の調査では EBL 発症牛では Ca の低下がみられ、同じような既報^{2),3)}もある一方で、抗体陽性牛と陰性牛では Ca に差はないといった報告⁴⁾もあり、Ca についてはさらなる検討が必要である。また

発症群での LDH 上昇について、LDH は 5 種類のアイソザイムを持ち、それぞれ血管系や筋肉、肝臓や悪性腫瘍などに分布しており、特に LDH2, 3 の増加は EBL 発症例に多いとされている。牛では糖新生の代謝が他動物種よりも盛んなため LDH 発現量が大きくなる。そのため、LDH 基準値はヒトの 10 倍以上であり、ヒト分野で用いられる LDH/AST 比をそのまま用いることは難しいと考えられた。AST について、BLV 抗体陽性牛は陰性牛に比べ AST は上昇するといった報告²⁾もある一方、陽性牛は陰性牛に比べ低下するといった既報^{3),4)}もあり、AST についてもさらなる検討が必要である。今回発症群と非発症群での LDH/AST 比は軽微な差はあったものの、顕著な違いは認められなかった。これは発症群の症例数の少なさも関与していると考えられる。今後の展望としては、より精度を上げるため症例数を増やし、月齢や DIM などによる分類方法、BLV 抗体陰性牛との血液性状の比較、さらには LDH/AST を用いたスクリーニングとしての応用できないかを検討していきたい

参考文献

- 1) 和田攻ら：臨床検査ガイド 2011～2012, Medical Practice 編集委員会, 118-121, 文光堂, 東京(2011)
- 2) Abdel-Fattah Ali, et al: Oxidative state markers and clinicopathological findings associated with bovine leukemia virus infection in cattle, Microbial Pathogenesis, 2019
- 3) Sandev Nikolay, et al: Investigation of some haematological and blood biochemical parameters in cattle spontaneously infected with bovine leucosis virus, Mac Vet Rev, 36, 107-110(2013)
- 4) Pinar Peker Akalin, et al: Selected biochemical and oxidative stress parameters and ceruloplasmin as acute phase protein associated with bovine leukaemia virus infection in dairy cows, Bull Vet Inst

環境性乳房炎対策

広島県立西条農業高等学校畜産科2年

○水嶋琉海 新家恵 三宅杏

はじめに

乳房炎は乳牛に最も多く発症する疾病である。乳房炎による年間被害額は、日本全体で800億を上回ると言われており、それにより酪農家は、乳量の低下や治療費、抗生物質投与中の乳汁廃棄による収入の減少などによって大きな経済的ダメージを受けている。乳房炎には環境性乳房炎と伝染性乳房炎がある。環境性乳房炎は感染力こそ弱い、原因菌は土壌、牛体、糞尿などに常在しているため、原因菌を農場から撲滅することはできない。原因菌としては大腸菌群（大腸菌やクレブシエラ等）や、環境性連鎖球菌、環境性ブドウ球菌等が知られており、特に、大腸菌群による乳房炎は、泌乳停止や死に至るような重度な症状を示すことが多い、問題視されている。症状として、発熱や脱水、食欲の低下などの全身症状を示し、感染乳房は強い痛みと熱、腫れを伴う。乳量は著しく減少し、乳汁が凝固し水溶化する。乳房内への病原微生物の侵入が発症の原因だが、それ以外にも畜舎環境や搾乳環境等（環境因子）と牛自身の免疫機能や乳頭の形状等の要素も加わって、発症に至る。

昨年度、本校でも4頭が乳房炎に罹患し、うち1頭は乳房炎が悪化し淘汰せざる負えなくなった。

私たちはこのような状況を何とか回避したいと思い、研究を始めることにした。昨年度先輩たちが研究している際に、牛コロナウイルスに感染した。その際、下痢止めとしてボバクチンという生菌剤を経口投与したところ、大腸菌群が減少したという結果が得られた。ボバクチンは、生菌剤の一種であり、腸内細菌叢のバランスを改善する製剤として認識されている。成長促進や消化機能改善を目的として本校でも日常的に育成牛（離乳から妊娠までの期間）に投与している。特に、若齢の牛では、腸内細菌叢が不安定で下痢を発症しやすいため、生菌剤は予防及び治療の目的で投与されることが多く、効果も報告されている。



図1 ボバクチン

そこで、私たちはボバクチンを与える前と与えた後ではどのように敷料や糞便中の大腸菌や大腸菌群が変化し、免疫機能が変化するかを搾乳牛で検証することで、ボバクチンの新たな効果を期待し、研究を始めた。

研究方法

1. 実験期間 令和5年1月12日～令和5年2月16日の木曜日（計6回）

ボバクチン投与期間 令和5年1月26日～令和5年2月1日（1週間）

表1 実施期間

ボバクチン投与期間

週	-2	-1	0	1	2	3
サンプリング	1回目	2回目	3回目	4回目	5回目	6回目

2. サンプルング場所 本校畜産農場

本校の牛舎は図2に示すとおり、牛床はフリーストール式でストールにはおが屑ともみ殻を混合したものを敷料として使用している。牛は自由にストール内で休息をとることができるようになっている。ストールの手前の通路にはバーンスクレーパーが設置されており、糞尿を定期的に除去できるしくみになっている。また、餌槽側には連動スタンションが設置されており、牛を固定することもできる。

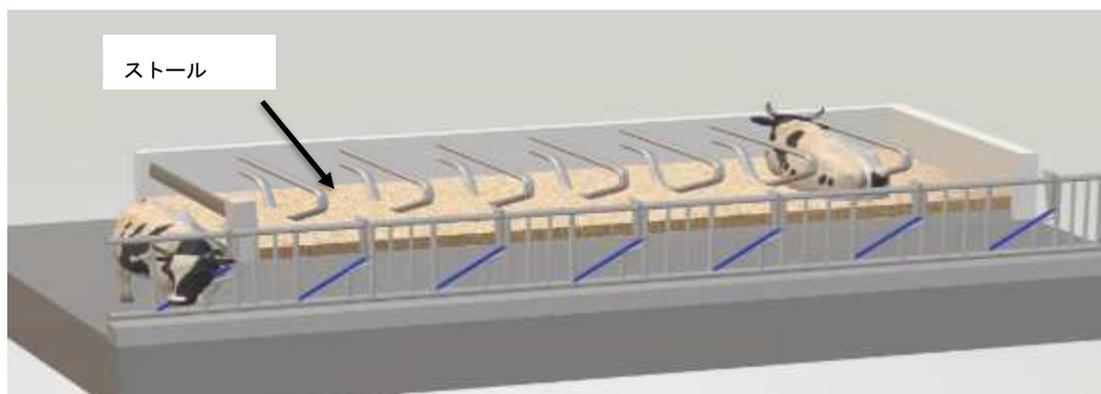


図2 牛舎の様子

3. 使用培地及び薬品

クロモアガー寒天培地、ボバクチン

4. 実験項目

- 1) 実験1 生菌数（大腸菌と大腸菌群）の計測
- 2) 実験2 乳中の体細胞数の測定
- 3) 実験3 乳中の抗菌物質（ラクトフェリン・S100A7）の測定



図3 牛床のサンプルング

実験内容

1. 実験1 生菌数（大腸菌と大腸菌群）の計測

- 1) 牛の牛床（おがくずともみ殻が混ざったもの）（図3）、通路（図4）、供試牛の直腸便（図5）を、ボバクチン投与前3回サンプルングした後、ボバクチン30gをAM11時に1週間毎日経口投与し（図6）、その後3回サンプルングする。
- 2) サンプルングした試料の質量を計測し、ストマッカー袋に入れ、質量の9倍のPBS液を添加し、よく攪拌する。（10倍希釈液）
- 3) エッペンドルフチューブにPBS液を900 μ Lずつ入れる。
- 4) 3)の中に2)を100 μ L入れ、ピペッティング及びボルテックスミキサーで攪拌する。（100倍希釈）
- 5) 4)を10,000倍希釈液ができるまで繰り返す。（段階希釈）（図7・8）
- 6) クロモアガー寒天培地培地を4等分し、希釈液を25 μ Lずつ接種、コンラージ棒で塗抹する。
- 7) 37 $^{\circ}$ C～38 $^{\circ}$ Cの恒温器で一晩培養する。



図4 通路のサンプルング



図5 直腸便のサンプルング

- 8) 目視で大腸菌コロニー数と大腸菌群コロニー数をそれぞれ計測する。
- 9) コロニー数 $\times 4 \times 10 \times$ 希釈倍率をすることにより、cfu 値を算出する。

2. 実験 2 乳汁中の体細胞数の測定

- 1) 乳頭から 1 乳頭 2mL ずつ乳汁のサンプリングを行い合乳し、計 8mL とする。
- 2) 広島大学で体細胞数を測定していただき、その後冷凍保存する。



図 6 ボバクチン投与

3. 実験 3①ラクトフェリン濃度の測定 (ELISA サンドイッチ法)

*ラクトフェリンとは

ラクトフェリン同様、乳汁中に含まれる抗菌物質。病原菌の侵入口である乳頭近辺で主に作られる物質である。病原菌の侵入を防ぐ非常に重要な因子である。特に大腸菌に対して抗菌性を持っている。

- 1) マイクロプレートに抗ラクトフェリン抗体を固相化する。
- 2) サンプルまたは既知濃度スタンダードを加える。
- 3) 反応が終わったら洗浄し、ホースラディッシュペルオキシダーゼ (HRP) を結合させた抗ラクトフェリン抗体を加える。
- 4) 反応が終わったら洗浄し、発色基質 (TMB) を加える。
- 5) 吸光度から検量線を作成し、サンプルのラクトフェリン濃度を計算する。

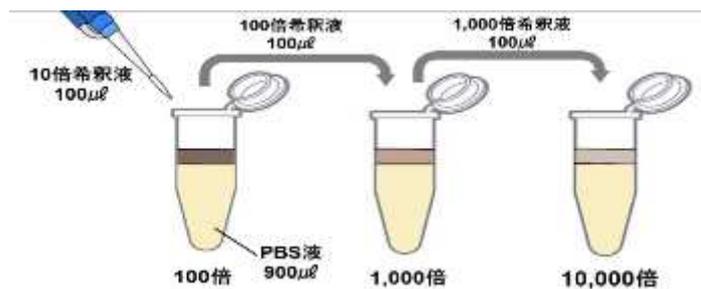


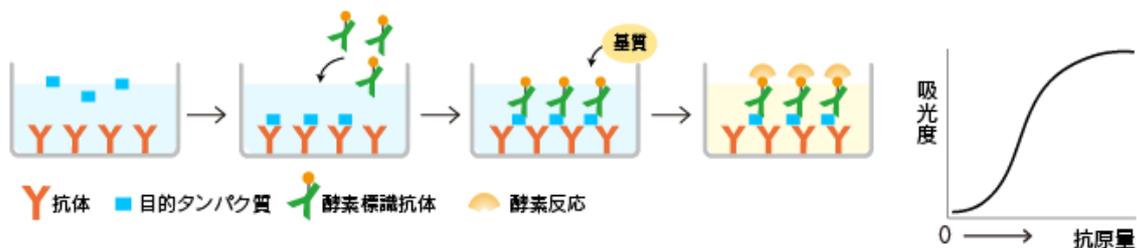
図 7 段階希釈の方法



図 8 希釈の様子



図 9 大腸菌塗布の様子



4. 実験3② S100A7 濃度の測定 (ELISA 競合法)

* S100A7 とは

ラクトフェリン同様、乳汁中に含まれる抗菌物質。病原菌の侵入口である乳頭近辺で主に作られる物質である。病原菌の侵入を防ぐ非常に重要な因子である。特に大腸菌に対して抗菌性を持っている。

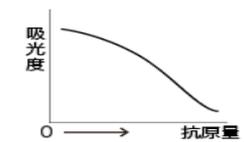
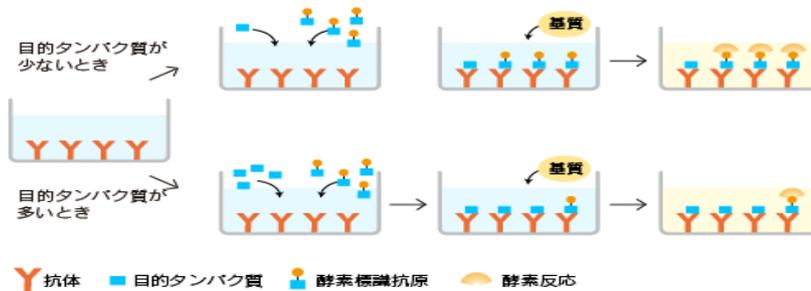
- 1) マイクロプレートに2次抗体を固相化する。
- 2) 1次抗体 (抗 S100A7 抗体) を結合させる。
- 3) サンプルまたは既知濃度スタンダードを加える。
- 4) 3)を捨てずに、HRP 結合 S100A7 を加える。
- 5) 反応が終わったら洗浄し、発色基質 (TMB) を加える。
- 6) 吸光度から検量線を作成し、サンプルのラクトフェリン濃度を計算する。(競合法)



図 10 ELISA の様子



図 11 吸光度の測定



結果

1. 実験 1 牛床と直腸便の大腸菌群と大腸菌数の測定 (6 回実施)

1) ボバクチン投与前(2 回目)

牛床と通路は大腸菌群は数えきれないほど多く、大腸菌数は少なかった。直腸便は、コロニーの数は個体によって異なったが、大腸菌群は全く見られず、大腸菌しか見られなかった。また、コロニーの数も牛床や通路に比べると圧倒的に少なかった。

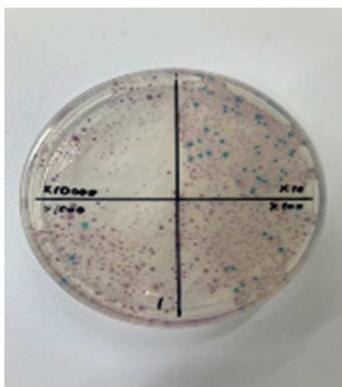
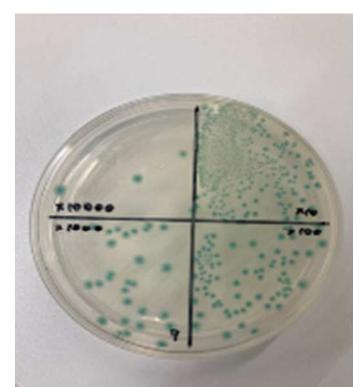


図 12 (2 回目) 牛床



通路



直腸便

2) ボバクチン投与直後(4回目)

牛床は、ボバクチン投与前よりも大腸菌数、大腸菌群数ともに減ったが、通路はボバクチン投与前と比べて、大腸菌群数は大幅に減ったが、大腸菌数は変化しなかった。直腸便は、ボバクチン投与前と比べて、個体によって大腸菌数が増加しているものも減少しているものもいた。

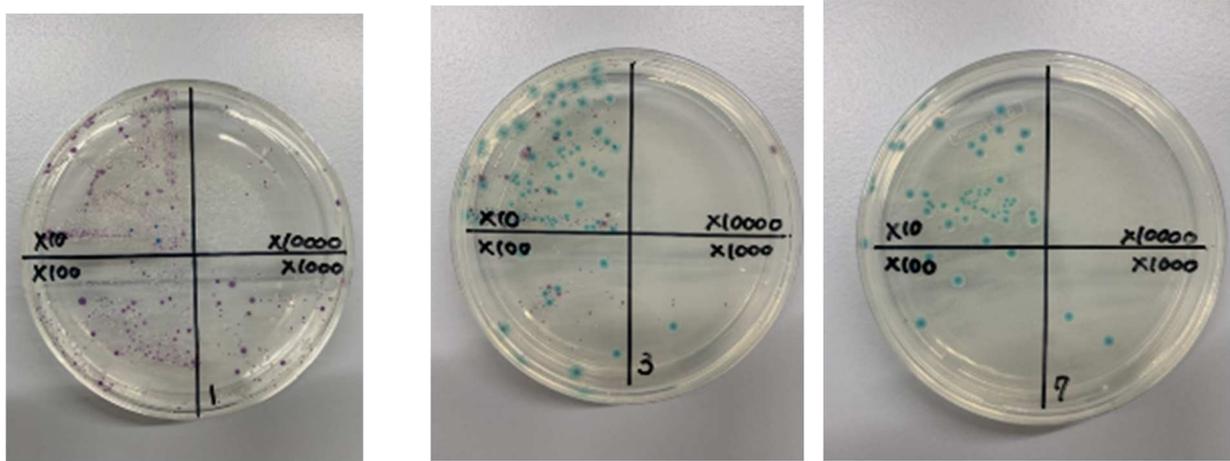


図 13 (4回目) 牛床

通路

直腸便

3) ボバクチン投与後(6回目)

牛床と通路は、ボバクチン投与前と比べて、大腸菌数、大腸菌群数は変化しなかった直腸便は個体によって大腸菌数が増えたり、減ったりした。

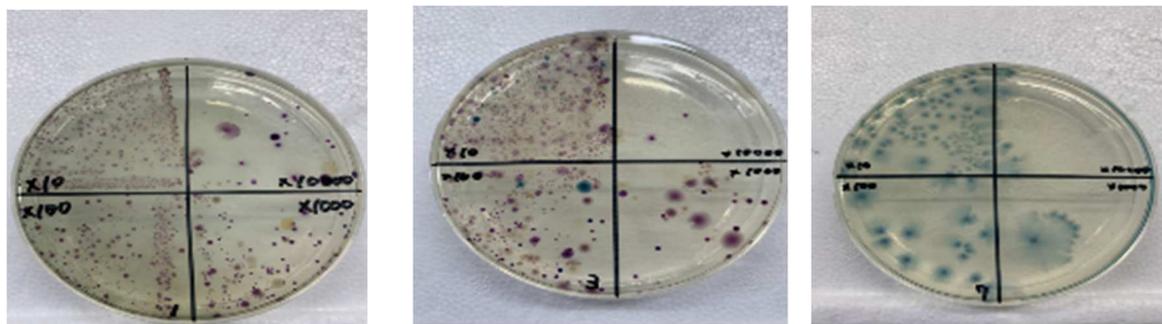


図 14 (6回目) 牛床

通路

直腸便

4) グラフは直腸便を糞便、牛床と通路を環境としてまとめて示している。ボバクチンを投与していた1月26日～2月2日の間は大腸菌群及び大腸菌共に環境及び直腸便で減少していたが、ボバクチン投与後からは再び上昇する傾向が見られた。(図 15)

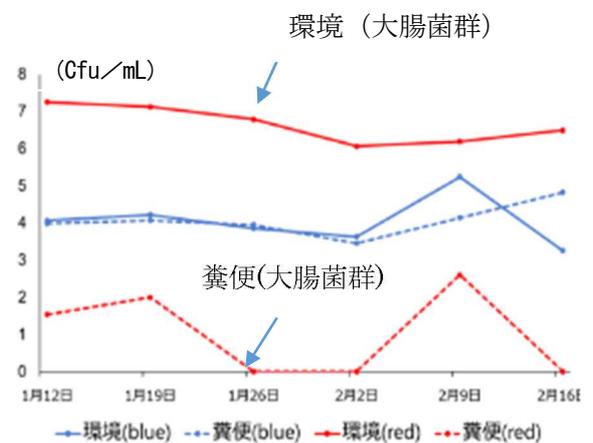


図 15 大腸菌・大腸菌群のコロニー数

2. 実験2 乳汁中の体細胞数の測定

図16より、ボバクチンを投与した週は、体細胞数が減少した。だが、ボバクチンの投与前と投与後を比べると、体細胞数の変化は見られなかった。

(図16)

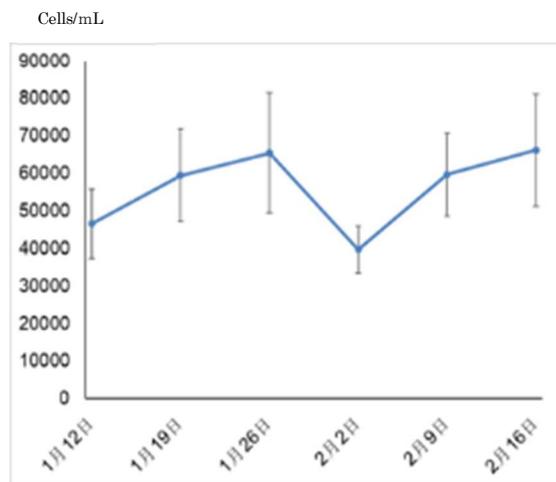


図16 体細胞数

3. 実験3① ラクトフェリン濃度の測定

ボバクチン投与前からラクトフェリン濃度は低下の傾向にあった。ボバクチンを与えると更に低下した。だが、ボバクチンを与えなくなるとラクトフェリン濃度は上昇した。ボバクチンの投与前と投与後では有意差が見られなかった。(図17)

4. 実験3② S100A7濃度の測定

ボバクチン投与後から、S100A7濃度は上昇した。異符号間で有意差が見られた。(図18)

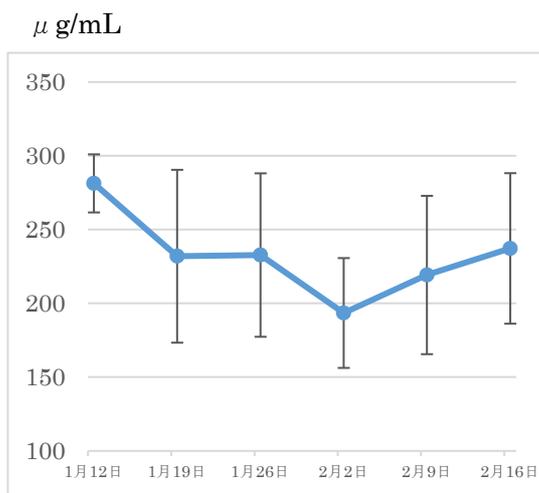


図17 ラクトフェリン濃度

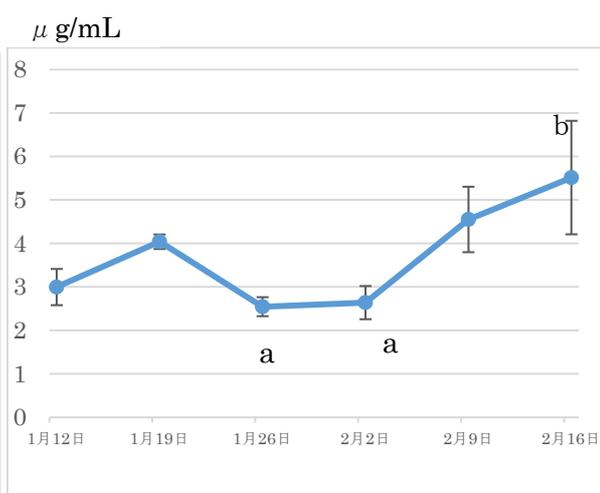


図18 S100A7濃度

考察

今回の研究から、牛床や通路には大腸菌群が多いことが分かった。しかし、牛の直腸便には大腸菌は見られたものの数量は非常に少なく、大腸菌群はいないことが分かった。このことから、直腸便には多少大腸菌が存在するものの牛床に使用されているおがくずやもみ殻に含まれている大腸菌や大腸菌群が糞便などと混ざることにより、非常に多くなるのではと考えられた。実験1より、ボバクチンの投与は一時的に大腸菌群を減らす効果があることが分かったが、実験1、2、3①より、ボバクチン投与前と投与後では大腸菌、大腸菌群、体細胞数、乳汁中のラクトフェリンいずれも統計的には有意差が見られなかった。しかし、実験3②により、乳汁

中の S100A7 は、ボバクチン投与から上昇し、有意差が見られた。このことから、今回の実験では少なくともボバクチンには免疫機能を高める機能が見られることが分かった。しかし、今回は対象牛が 4 頭しかおらず、ボバクチン投与期間も 1 週間と短かったため、他の項目では効果が得られなかったのではないかと考えられる。今後は対象牛を増やし、投与期間も増やすことでボバクチンの効果を検証できると考えている。また、乳汁には他にも抗菌成分があるため、後輩に引き続き効果を検証していただきたいと思います。

終わりに

本研究を行うにあたり多くの協力をしてくださった、広島大学大学院統合生命科学研究科 鈴木直樹助教授をはじめとする多くの方々に感謝申し上げます。

参考文献

1) 乳房炎について学ぶ【第 1 回】乳牛の乳房炎 ～日本の現状～

<https://chikusannavi.kyoritsuseiyaku.co.jp/disease/74>

2) ELISA 法の原理

<https://ruo.mbl.co.jp/bio/support/method/elisa.html#:~:text=ELISA%E6%B3%95%EF%BC%88Enzyme%2DLinker%20Immuno,%E6%A4%9C%E5%87%BA%E3%83%BB%E5%AE%9A%E9%87%8F%E3%81%99%E3%82%8B%E6%96%B9%E6%B3%95%E3%81%A7%E3%81%99%E3%80%82>

3) 光岡 知足 家畜生産における生菌剤の利用

ビフィズス 5 : 1-18. 1991

4) 磯部直樹 吉村幸則 乳房炎と自然免疫機構

産業動物臨床医学雑誌 7 巻 3 号 124-130

5) 篠塚康典 大腸菌性乳房炎にどう対峙するか The Journal of Farm Animal in Infectious

Disease Vol.4 2015

比婆牛の新たな価値を創る

広島県立庄原実業高等学校 生物生産学科

○松木 紗希 児玉 真梨菜

はじめに

庄原市の人口推移予測では 2025 年に 31,048 人から 2045 年には 21,571 人まで減少することが見込まれている。そのため、畜産業に関わる就労者数も減少することが推測できる。また、枝肉価格は継続的に下落傾向であるうえ、配合飼料価格（加重平均価格）^{*1}の変動が激しく、令和 2 年 9 月時点で 65,638 円であったが、令和 4 年 10 月には過去最高値の 101,196 円となり、令和 5 年 2 月 100,222 円（速報値）である。

このように、畜産業を取り巻く状況が混沌とする現在において、管理の省力化を図りつつ国際的な飼養管理方法を考慮したブランド和牛の生産を実現するために、庄原地域の特性を生かした和牛の新たな価値の創造の手段として、黒毛和牛の放牧肥育の技術体系の確立に取り組んだ。

方法

1. 供試牛と比較対照牛

1) 供試牛と飼養管理

供試牛 A 号名「彩美悠（あみゆ）」登録番号 15646-6453-0 生年月日：令和 4 年 6 月 24 日

父：花勝百合 祖父：諒太郎 曾祖父：安福久

供試牛 B 号名「心結（みゆ）」登録番号 15646-6454-7 生年月日：令和 4 年 6 月 24 日

父：若百合 祖父：幸紀雄 曾祖父：勝忠平

2 頭とも 11 か月齢より放牧区での放牧開始。飼料は 9 か月齢より TMR（前期）を給与した。

2) 比較対照牛と飼養管理

対照牛 A 号名「美夢有（みゆう）」登録番号 16262-6446-3 生年月日：令和 3 年 10 月 24 日

父：若百合 祖父：福の姫 曾祖父：美国桜

対照牛 B 号名「雲丹陽（うにはる）」登録番号 16262-6447-0 生年月日：令和 3 月 12 月 23 日

父：若百合 祖父：美津照重 曾祖父：幸紀雄

2 頭での牛房による飼育管理。対照牛 A は令和 5 年 12 月（26 か月齢）に出荷予定。対照牛 B は令和 6 年 2 月（26 か月）に出荷予定。

2. 放牧区の設置

1) 間伐及び刈払い

牛舎周辺の雑木林に放牧地を設置するために 12a を間伐、刈払いを実施した。

2) 支柱の設置

約 3m 間隔で高さ約 2m の支柱（木製）を設置した。

3) 有刺鉄線の設置

4 段（15～20cm 間隔、地上から 40cm）の有刺鉄線を設置した。

3. 植生調査

1m×1m コドラート法による植生調査を実施した。

4. 放牧のための防疫対策

1) 動物用金鳥 ETB 乳剤

外部寄生虫及び衛生害虫の駆除並びに忌避を目的に、200 から 400 倍液の薬剤を 5L、毎週 1 回噴霧した。

2) バイメクトピカル

牛の内部寄生虫及び外部寄生虫駆除を目的に、1 か月毎に体重 1kg 当たり 0.1mL を牛体の背線部のき甲から尾根にかけて注いだ。

5. 体側

1 か月毎に体重、体高、十字部高、胸囲、腹囲を測定した。

6. 肉格付部位の観察

2 か月毎、超音波画像診断装置による観察及び僧帽筋、ロース芯の面積を測定した。

7. 血液生化学検査

県北部畜産事務所より支援を受け、2 か月毎に血液生化学検査を実施した。検査項目はビタミン A、ビタミン E、βカロチン、T-CHOL、BUN、GOT である。



図1 放牧区（白線部）

成績

1. 飼養管理

表1 TDN給与量(日/kg)
供試牛A,B

月齢	TDN
9	3.45-4.48
10	5.175
11	5.175
12	5.175
13	5.175
14	5.175
15	5.175
16	5.175

段階的に給与

表2 TDN給与量(日/kg)
対照牛A 対照牛B

月齢	対照牛A TDN	対照牛B TDN
9		
10		5.6045
11		3.565→3.895
12		4.445→4.775→6.755→4.445
13	8.5745→10.27	6.594→6.924
14	4.445→5.93	6.594→6.924
15	7.895→8.225	5.805→7.74
16	12.399→14.664	5.805→7.74
17	5.805→7.74	5.805→7.74
18	5.805→7.74→6.7725	5.805→7.74
19	6.7725	5.805
20	6.7725	5.805
21	5.805	5.805
22	5.805	5.805
23	5.805	5.805
24	5.805	
25	5.805	

段階的に給与
段階的に給与
段階的に給与
段階的に給与
段階的に給与
段階的に給与
段階的に給与

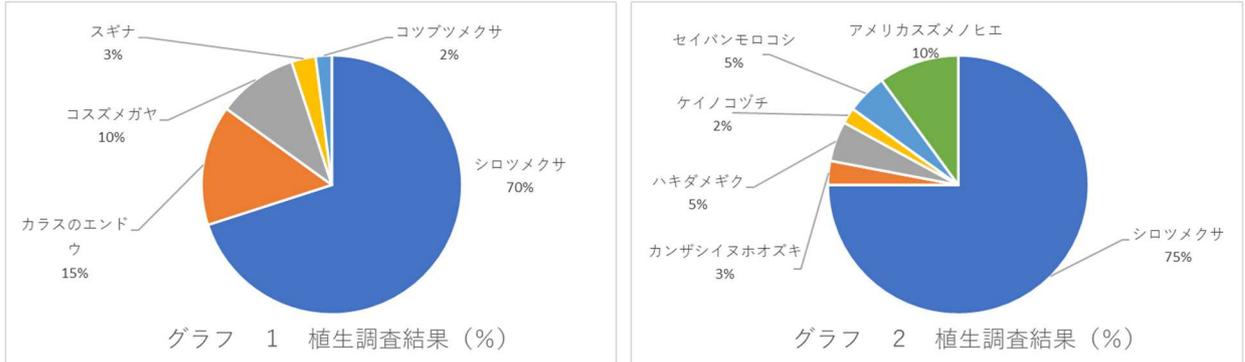
供試牛の TDN (kg/日) 摂取量を表 1 に対照牛の TDN (kg/日) 摂取量を表 2 に示す。

1. 放牧区の設置

牛舎周辺の雑木林に放牧区を設置 (図 1)。放牧面積 12a の雑木林に樹木を利用した牧柵など設置し、車両出入口を備えた放牧区の整備を行い、令和 5 年 5 月より放牧を開始した。

2. 植生調査

植生調査を令和 5 年 5 月 3 日及び令和 5 年 7 月 19 日に実施した。放牧区内の自生植物一覧と頻度はグラフ 1、2 の通りである。

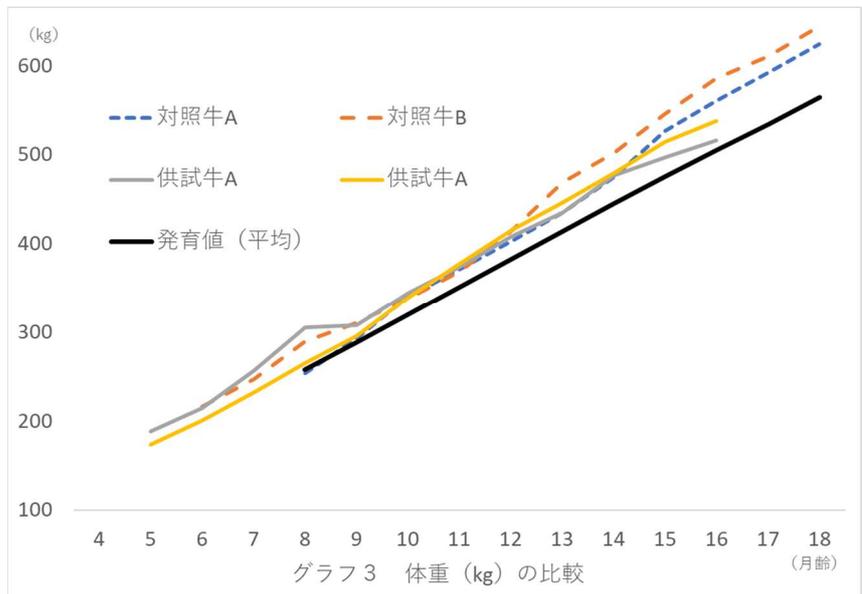


3. 防疫対策

牛伝染性リンパ腫検査のため令和 5 年 6 月 28 日にエライザ検査、令和 5 年 7 月 19 日に PCR 検査を実施した。結果は共に 2 頭とも陰性であった。

4. 体側

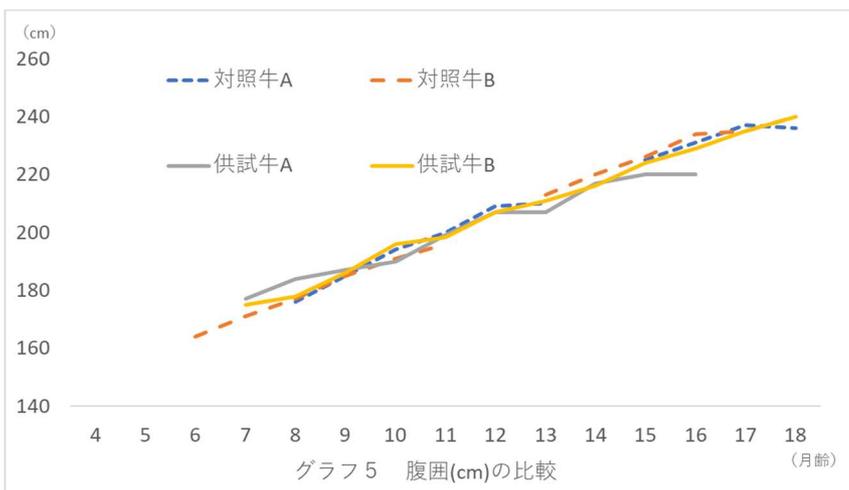
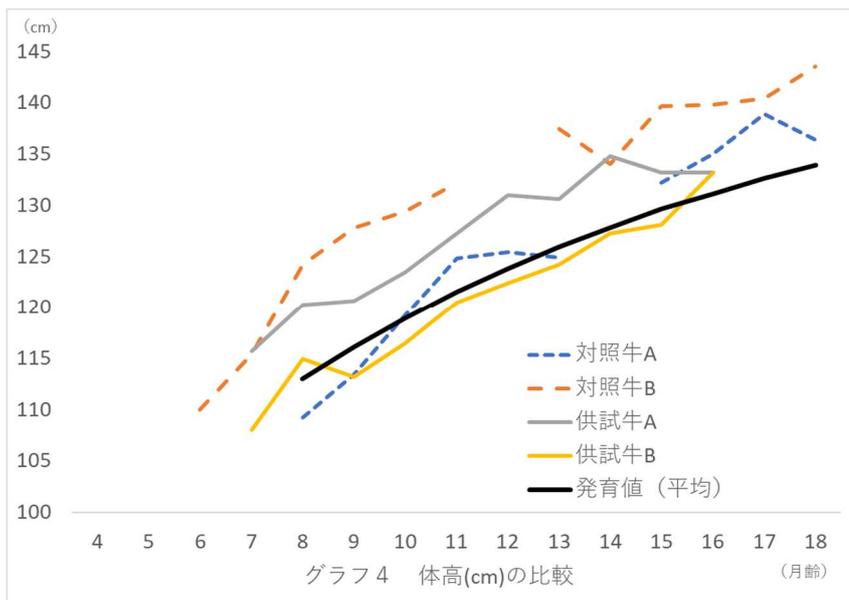
供試牛の体重 (グラフ 3) は和牛発育値の平均と同程度の発育であった。体高 (グラフ 4) は対照牛 B の発育が良好であり、供試牛 A の発育が和牛発育値の平均を少し下回る発育であった。腹囲 (グラフ 3) において、比較対照牛との差はみられない。



5. 枝肉格付部位の観察

超音波画像での、僧帽筋厚、ロース芯面積の推定は、超音波画像を取り扱う経験が浅いため、信頼性に欠けることが予想される。

15 か月齢 (写真 1, 2) での僧帽筋厚は、供試牛 A が平均 29.2cm であり、対照牛より +11.2cm であった。ロース芯面積は対照牛 B が 38.9 cm² であり供試牛 A より +5.8 cm² だった。前述の測定の未熟さを考慮すれば、発育に大きな差はみられないと推測する。今後も継続して枝肉格付部位の生育を観察することにより、放牧の影響を明らかにする。

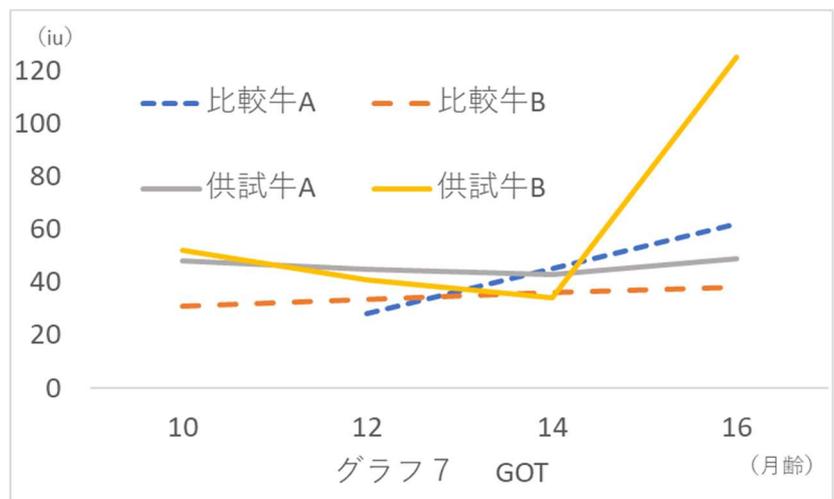
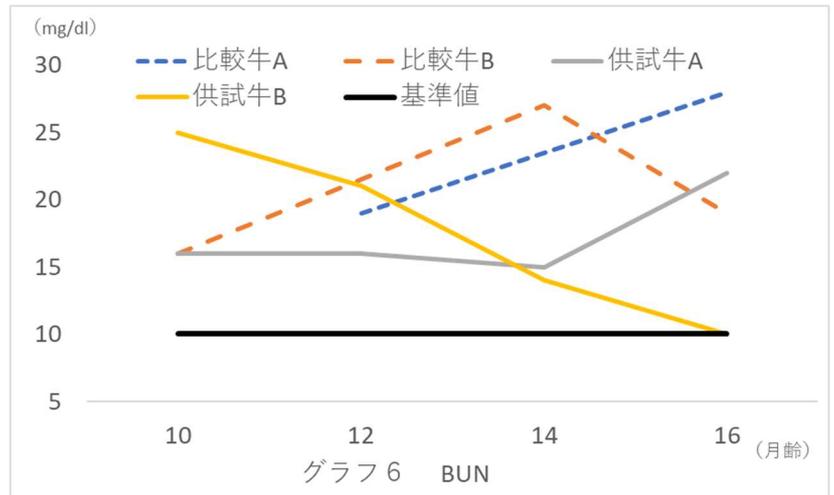


6. 血液生化学検査

供試牛 B は GOT (グラフ 7) が 16 か月齢で 120IU 以上であった。これは令和 5 年 9 月 26 日に放牧区内のポンプ屋根により左前脚及び左後脚に切傷を受けたためである。そのため、一時的な食欲不振となり、供試牛 A の飼料摂取量が増加したため、供試牛 A の BUN (グラフ 6) と T-CHOL (グラフ 8) の値が増加傾向を示したと推測する。今後も対照牛との比較を継続し、放牧が血液の各検査項目に及ぼす影響を明らかにする。

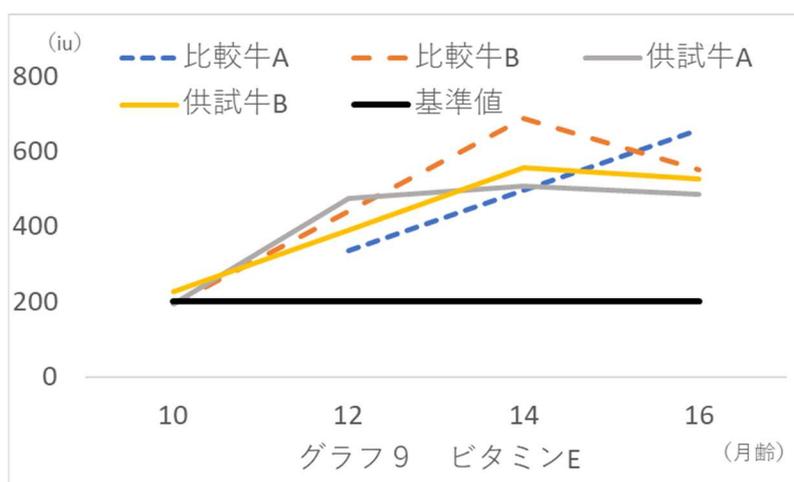
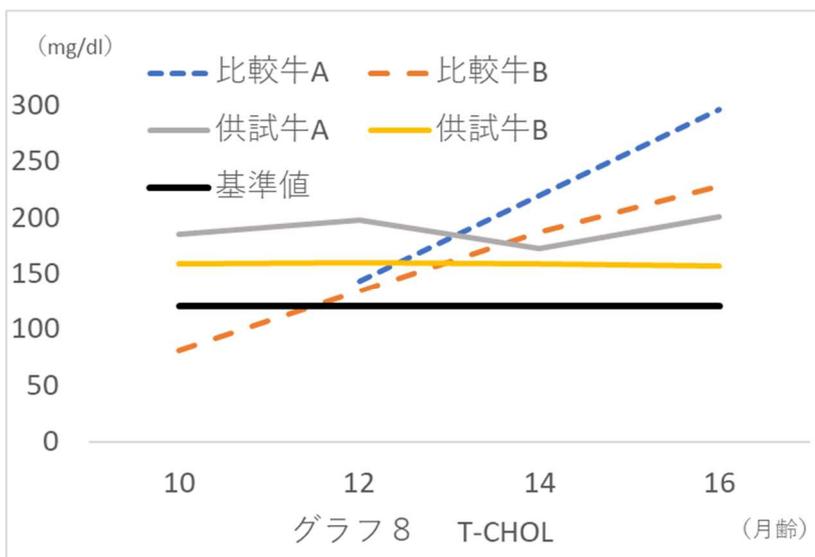
まとめ

供試牛 11 か月齢より放牧を開始後、5 か月間の体側 (体重、体高、腹囲)、枝肉格付部位 (僧帽筋厚、ロース芯面積) の観察、各血液成分のそれぞれにより評価を行った。対照牛と際立った変化が見られないが放牧することにより、ビタミンコントロールを実施しないことの影響が肉質にどのように表れるのかを注意深く、観察を継続することが大切である。また、放牧肥育による価値の創造のために、慣行的な肥育牛の飼育との差別化を図るため、ストレスを数値化する。また放牧肥育での増体を安定的に図るために、分娩牛の栄養充足向上により胎子の増体



を図る取組や、強化哺乳により育成以降の増体を促す技術について調査研究していきたい。

本試験について「やまなみの道路沿いにある比婆牛の看板のところで放牧してほしい。」や「昔の比婆の地域では山で放牧していたから、懐かしい風景です。」などの意見が一般の方からあった。牛肉を工業的に生産する一方で、中国山地の伝統的な飼養管理での生産を呼び起こす活動になるようにこれからも努めていきたい。



引用

※1 (公社) 配合飼料供給安定機構「飼料月報」

※2 日本飼養標準 肉用牛(2022年版) 公益財団法人 中央畜産会 P206-261

謝辞

- ・北海道大学 北方生物圏フィールド科学センター教育研究部：耕地圏研究領域、生物生産研究農場大学院：環境科学院・生物圏科学専攻・耕地圏科学コース 農学部・生物資源科学科 後藤 貴文 教授
- ・広島県立総合技術研究所畜産技術センター技術支援部 部長 河野幸雄 様