

令和2年度富山県畜産関係業績集録



富 山 県

令和2年度 富山県畜産関係業績集録目次

I 家畜保健衛生所

第一部

- | | | | |
|---|--|-------|-----|
| 1 | 肉用牛農家における牛伝染性リンパ腫清浄化への取り組み | 渡辺 健太 | … 1 |
| 2 | 受精卵移植を活用した増頭支援対策とその成果 | 田知 慶久 | … 5 |
| 3 | 石灰剤のモニタリングを活用した採卵鶏農場におけるサルモネラ清浄化への取り組み | 小林 歩 | … 9 |

第二部

- | | | | |
|---|--|--------|-----|
| 4 | 黒毛和種子牛に発生した腸管外病原性大腸菌症の一症例 | 増永 梢 | …13 |
| 5 | 免疫付与率向上に向けた豚熱ワクチン接種適期の検討 | 水木 亮史 | …18 |
| 6 | 管内養豚場で分離された <i>Salmonella</i> Typhimurium 及び 4:i:- の細菌学的解析 | 竹中 悠人 | …23 |
| 7 | 野生いのししの豚熱ウイルス遺伝子検査の効率化に関する考察 | 藤井 晃太郎 | …26 |
| 8 | 採卵鶏農場で発生した鶏の豚丹毒菌感染症 | 木全 綾 | …29 |

II 広域普及指導センター

- | | | | |
|----|--|-------|-----|
| 9 | 規模拡大する酪農経営におけるスマート農業技術の活用
～センサー&AIでGo To 省力化～ | 五箇 大成 | …34 |
| 10 | 発育良好な和子牛の生産拡大に向けた取り組み | 田所 百愛 | …36 |

III 農林水産総合技術センター畜産研究所

- | | | | |
|----|------------------|------|-----|
| 11 | 葛根湯残渣を活用した牛舎敷料利用 | 稲葉 真 | …39 |
|----|------------------|------|-----|

○ 第62回 東海・北陸ブロック家畜保健衛生業績発表会（令和3年 愛知県 書面開催）選出演題

◎ 第62回 全国家畜保健衛生業績発表会（令和3年 9月16～17日 オンライン開催）選出演題

[令和2年度富山県畜産関係業績・成果発表会（開催日：令和3年7月2日 場所：富山県民会館）]

I 家畜保健衛生所

1 肉用牛農家における牛伝染性リンパ腫清浄化への取組み

渡辺 健太、池上 良
西部家畜保健衛生所

[はじめに]

牛伝染性リンパ腫は散発型と地方病型に分類される伝染性疾病である。散発型は原因不明の疾患で、子牛型、胸腺型、皮膚型に細分される。地方病型は牛伝染性リンパ腫ウイルス（以下、BLV）により引き起こされる腫瘍性疾病である。BLV 感染牛の大部分は無症状であるが、一部が発症し死の転帰をたどる。BLV 感染牛の血液、乳汁が感染源となり、アブなどの吸血昆虫による機械伝播が主な感染経路とされている。平成 10 年に届出伝染病に指定されて以降、発生件数は年々増加している。令和元年から令和 2 年にかけて管内農場で実施した BLV 検査にて約 2 割の牛で陽性が確認され、BLV 検査陽性牛を飼養する農場は約 7 割に及ぶことが確認された（表 1）。今回、管内肉用牛農家において本病の清浄化に向けて取り組んだところ、令和 2 年に清浄化することができたので、その取組みの概要について報告する。

表 1 管内農場の BLV 検査成績（R1～R2）

	検査戸数	陽性戸数	陽性率	検査頭数	陽性頭数	陽性率
乳用牛	15	12	80.0	645	180	27.9
肉用牛	8	4	50.0	337	39	11.6
合計	23	16	69.6	982	219	22.3

[背景]

管内の A 農場は、肉用牛の一貫経営農家であり、黒毛和種の繁殖雌牛 28 頭および肥育牛 47 頭を本牛舎と分娩牛舎の二棟で飼養している。平成 27 年から繁殖雌牛 11 頭を導入し繁殖部門を開始した。導入時、BLV 検査を実施してきたところ、1 頭が BLV 検査陽性であった（以下、陽性牛 1）ので、陽性牛 1 を本牛舎の一角に隔離飼育したのちに出荷した（図 1）。しかし平成 30 年に実施した定期検査において陽転牛が 1 頭確認された（以下、陽性牛 2）。このため、平成 30 年度以降、家畜保健衛生所と農家が連携し牛伝染性リンパ腫清浄化に向けた取組みを開始した。



図 1 本牛舎見取図

[課題]

取組みを開始するにあたり、A 農場の課題が 4 つ挙げられた。1 つ目は外部から牛を導入することで BLV 感染牛が A 農場に導入されるリスクがあることであった。平成 30 年 9 月 27 日に

導入した繁殖雌牛 8 頭中 1 頭で BLV 検査陽性が確認され（以下、陽性牛 3）、今後も BLV 感染牛を導入する恐れがあった（表 2）。2 つ目は農場内の BLV 浸潤状況をモニタリングするための定期的な検査が行われていないことであった。定期検査として 2 年に 1 回繁殖雌牛の BLV 検査を実施しているが、モニタリングを行うためには検査の頻度を増やす必要があった。3 つ目は肥育牛による水平感染のリスクがあることであった。本牛舎にて繁殖雌牛とともに飼養している肥育牛は定期検査の対象外であるため、BLV の感染状況が把握できていなかった。そのため肥育牛に BLV 感染牛がいた場合に感染源となる恐れがあった。4 つ目は繁殖素牛の導入によって空房を設けることが難しくなり、本牛舎に隔離するスペースがなくなったことであった。

そこでこれらの課題を解決するために、導入牛対策と水平感染対策の二つの対策に取り組んだ。

〔方法〕

1 導入牛対策

令和元年度以降、繁殖素牛の導入元を BLV 検査陰性牛のみを扱う市場に限定した。

2 水平感染対策

BLV 感染牛は、全頭肥育牛として出荷することとし、その期間隔離飼育するため、堆肥舎に隔離用牛房を設置した。

平成 30 年度に BLV 浸潤状況の把握を目的として、肥育牛を含めた飼養牛全頭を対象に延べ 59 頭について ELISA 法による抗体検査を実施した。また、抗体検査陽性牛は、リアルタイム PCR 法による遺伝子検査を実施した。

これ以降、BLV のモニタリング検査として繁殖雌牛全頭の BLV 検査を年一回実施した。

〔結果〕

1 導入牛対策

導入元を BLV 検査陰性牛のみを扱う市場に限定した令和元年以降はこれまでに繁殖雌牛が 18 頭導入されたが、BLV 検査陽性牛は確認されなかった（表 2）。

2 水平感染対策

陽性牛 2 および 3 の 2 頭は堆肥舎に設けた牛房で隔離飼育し、平成 30 年 9 月 18 日および令和 2 年 4 月 6 日に出荷した。

検査の結果、新たに肥育牛 1 頭の BLV 検査陽性が確認された（以下、陽性牛 4）（表 3）。なお陽性牛 4 は令和元年 12 月 10 日に隔離飼育中に病死した。これらにより、令和 2 年 4 月 6 日までにすべての BLV 感染牛が淘汰された（表 4）。

モニタリング検査において令和元年度以降、BLV 感染牛が確認されなかったことから、A 農場の本病が清浄化できたと考えられた（表 5）。

表 2 導入牛の BLV 検査成績

	検査頭数	陽性頭数	導入元	備考
H27	11	1	富山県、石川県、長野県	陽性牛 1
H28	8	0	富山県、石川県、長野県	
H29	4	0	富山県、石川県、長野県	
H30	8	1	富山県、宮崎県	陽性牛 3
R1	10	0	宮崎県	
R2	8	0	宮崎県	

表 3 BLV 浸潤状況検査成績

検査日	用途	検査頭数	陽性頭数		備考
			抗体検査	遺伝子検査	
H30. 11. 22	繁殖	28	0	0	
	肥育	8	1	1	陽性牛 4
H31. 1. 28	繁殖	1	0	0	
	肥育	22	0	0	
合計		59	1	1	

表 4 BLV 感染牛の転帰

	BLV 検査日	転帰	転帰日
陽性牛 1	H27. 12. 15	出荷	H29. 9. 5
陽性牛 2	H30. 5. 14	出荷	H30. 9. 18
陽性牛 3	H30. 10. 2	出荷	R2. 4. 6
陽性牛 4	H30. 11. 22	死亡	R1. 12. 10

表 5 BLV 定期検査成績

	検査頭数	陽性頭数	備考
H30. 5	23	1	陽性牛 2
R1. 11	29	0	
R2. 5	28	0	

[まとめ]

A 農場は平成 30 年に牛伝染性リンパ腫清浄化対策を開始し、約 2 年間で清浄化を達成した。

速やかに清浄化に至った要因は二つあると考えられた。

一つ目は極めて迅速に対応できた点である。陽性牛 2 の BLV 検査陽転を確認した時点で対策を開始したことで、BLV 感染牛が増加する前に BLV 感染牛を全頭淘汰することができたと推察された。

二つ目は農家の衛生意識である。A 農場は牛伝染性リンパ腫に対する衛生意識が高く、導入元の変更や堆肥舎を利用した牛房の設置等の家畜保健衛生所からの提案に迅速かつ柔軟に取り組むことができた。加えて家畜保健衛生所と情報を共有することにより、速やかな導入時の BLV 検査や検査成績の報告によって、迅速な BLV 検査陽性牛の隔離が可能となったことも要因の一つであると考えられた。

今回の取組みによって導入牛検査と隔離飼育の重要性を再認識した。今後も A 農場の清浄性を維持するために、導入牛検査及び定期検査を継続する予定である。今回の A 農場の事例を他農場の牛伝染性リンパ腫清浄化に活用して参りたい。

2 受精卵移植を活用した増頭支援対策とその成果

田知慶久、加納直人、飯田佳代
西部家畜保健衛生所

[背景]

平成 28 年度、当農場は収益性の向上及び生産基盤の強化を図るため、新たに和牛の繁殖部門を開始し、翌年、繁殖牛舎と哺育・育成牛舎を整備した。当初の飼養目標は、令和 3 年度までに繁殖雌牛 50 頭飼養、年間子牛 26 頭生産としたが、繁殖素牛の高騰および子牛事故の多発のため飼養頭数が増加せず、平成 30 年度の繁殖雌牛は 13 頭と計画頭数 34 頭を下回った。繁殖素牛の外部導入だけでは計画頭数達成の長期化が考えられたため、県内で構築された受精卵移植（以下 ET）実施体制¹⁾を取り入れ、ET を中心とした総合的な増頭支援対策を行ったところ、繁殖雌牛及び和子牛の出荷頭数の増頭に繋がったので、その取り組みと成果について報告する。

[取り組み内容]

1 ET 実施体制の整備

平成 30 年度、当農場と関係機関による、増頭に係る経営検討会を計 3 回開催し、県内で実施されている採卵及び ET の実施体制、回収した受精卵を酪農家で ET する場合の条件および引取り後の ET 産子の哺育・育成方法について説明を行い、当農場で導入可能か検討を行い、実施に向けて体制を整備した(図 1)。また、移植頭数の増加を図るため、酪農家に対しては受精卵の無償提供と引き換えに ET 産子を一定額で買い戻す本県の仕組みの活用を提案し、酪農家から要望があった際は関係機関で情報共有を行い、マッチングさせるための採卵計画を迅速に作成・実行できるよう、当農場の繁殖状況を常に把握するよう務めた。

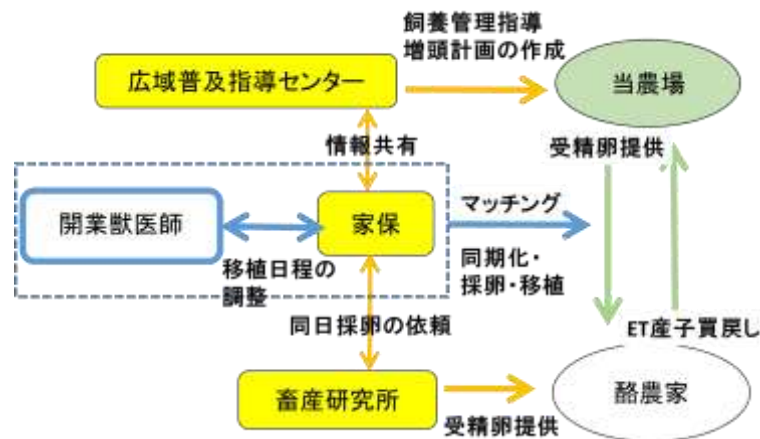


図 1 採卵・ET 実施体制

2 繁殖成績の向上

(1) 牛群の分娩間隔短縮

家保は定期的な繁殖検診と超音波診断装置を用いた授精 30 日からの早期妊娠鑑定を実施し、受胎を確認した牛は授精後 60 日頃に 2 回目の受胎確認を行い、流産の早期発見に務めた。受胎していない牛は卵巣及び子宮に異常がないことを確認後、発情周期を見極め次回の発情を見逃さないように指導を行った。

(2) 供卵牛の空胎期間延長防止

分娩後のフレッシュチェックを確実に実施することで、過剰排卵処置開始日数の早期化を図った。また、供卵牛は分娩後 40 日以降の子宮・卵巣が十分に回復した牛を活用することで採卵の確度を高めるよう務めた。

3 子牛の損耗防止対策

(1) 分娩事故の防止

子牛の分娩事故多発に対しては、分娩前の餌給与量を含めた飼養管理を確認し、適正な給与方法の指導を行うとともに、過度な介助が原因となった分娩事故を減らすため、介助方法についての指導も行った。また、分娩に確実に立ち会うことが重要であることから²⁾、分娩監視装置の活用を提案し、早急に導入した。

(2) 子牛の飼養管理指導

ET産子に対しては、県の哺育・育成マニュアルを用いて指導を行うとともに広域普及指導センターと連携し、ET産子を含む子牛の発育状況を確認するため毎月牛体測定を行った。

(3) 呼吸器病対策

肺炎による発育遅延の子牛が増加したため、細菌性の呼吸器病対策として有効とされる³⁾ワクチンプログラムを新たに作成した。

【結果】

1 ET 実施体制の整備

平成 30 年度では 4 戸、平成 31 年度から令和 2 年度では新たに 6 戸の酪農家とマッチングすることが出来た。採卵及び ET 件数は酪農家とのマッチングが増えたことで増加し、平成 30 年 7 月から令和 3 年 3 月までに、当農場で 21 頭、畜産研究所で 3 頭の採卵を行った。また、当農場の新鮮卵 94 個、凍結卵 41 個を用いて、酪農家 10 戸で ET を実施したところ、49 頭が受胎した（表 1）。

2 繁殖成績の向上

(1) 牛群の分娩間隔短縮

ET 実施体制の導入時は、空胎期間の延長がみられたが、令和 3 年 3 月時点の牛群の平均空胎日数は 81 日となり、平成 30 年 7 月時点と比較して 32 日短縮した（図 2）。

(2) 供卵牛の空胎期間延長防止

分娩後の過剰排卵処置平均開始日数を早めたことで、供卵牛の平均空胎日数は短縮した。なお、採卵を行った際の平均回収受精卵数や正常卵数の低下はみられなかった（表 2）。

3 子牛の損耗防止対策

令和 3 年度の子牛の事故率は 4.6% となり、平成 29 年度と比較して 38.4 ポイント減少した。また、和牛子牛市場出品時の子牛の 1 日当たり平均増体量は去勢、雌ともに 1.0kg 以上となり、子牛の市場価格は去勢、雌ともに市場平均価格を上回った（表 3）。

表 1 採卵成績

	H30	R1	R2	計
農家採卵	4	6	11	21
畜研採卵	3	0	0	3
移植卵数	36(26)	38(28)	61(40)	135(94)
受胎頭数	10(8)	19(13)	20(14)	49(35)

()内、新鮮卵移植

表 2 供卵牛の繁殖成績

	H30 (N=3)	R1 (N=5)	R2 (N=9)
平均分娩後処置開始日数	63.6日	57.3日	52.4日
平均空胎日数	171日	118日	90.5日
平均回収受精卵	7.3個	17.5個	19.2個
正常卵数	5個	5.3個	8.5個
正常卵率	68.4%	30.2%	44.2%

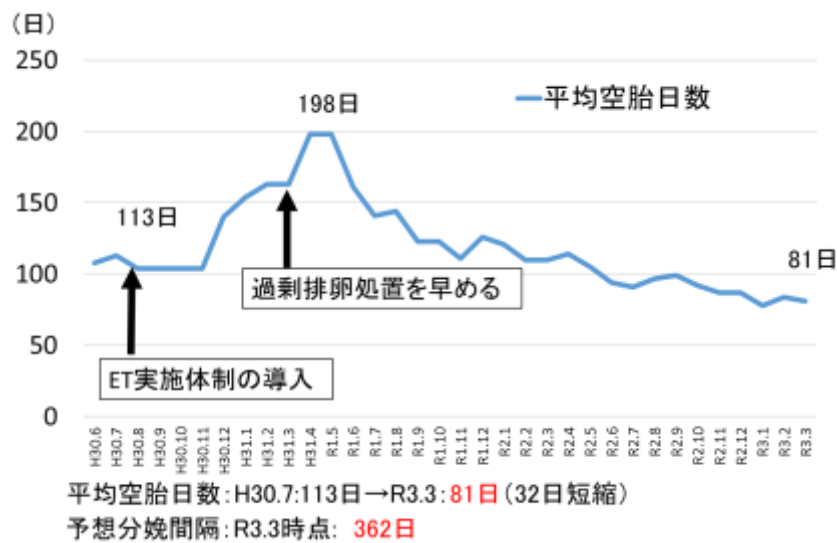


図 2 牛群の繁殖成績

表 3 和子牛市場の成績

		体重/日齢	市場価格比
去勢	ET産子	1.13kg/日	1.08
	自家産子	1.07kg/日	1.02
雌	ET産子	1.05kg/日	1.06
	自家産子	1.01kg/日	1.03

[まとめ]

ET を活用した増頭支援対策により、平成 29 年度では子牛 4 頭の生産、令和元年度から ET 産子の買い戻しが始まったことで令和 2 年度の子牛生産頭数は 41 頭まで増加し、目標頭数 26 頭を上回ることが出来た。子牛の生産頭数が増加したことで、和子牛市場の出品頭数は年々増加し、令和 2 年度は 36 頭出品した。また、繁殖雌牛は令和元年度まで繁殖素牛の外部導入に頼った増頭対策を行っていたが、その後 ET 産子を含む雌子牛が増加したことで優良な繁殖素牛を選定し自家保留することが出来た。このため、令和 3 年度の繁殖雌牛の目標頭数は外部導入を行わず達成できる見込みである(図 3, 4)。

今後の課題は、令和3年度の飼養頭数及び子牛の生産頭数が前年度より増加が見込まれることから、発情発見装置や分娩監視カメラ等のICTを活用し、作業負担の軽減を図るとともに、繁殖成績の更なる向上及び事故率の低減にも繋げる必要がある。また、ETを活用した子牛の生産を続けていくために、県内酪農家とのマッチングを継続し、受卵牛となる乳牛を確保する必要がある。これらの課題に対して関係機関一体となって支援を行い、安定的な和子牛の生産と収益の向上に繋げたい。

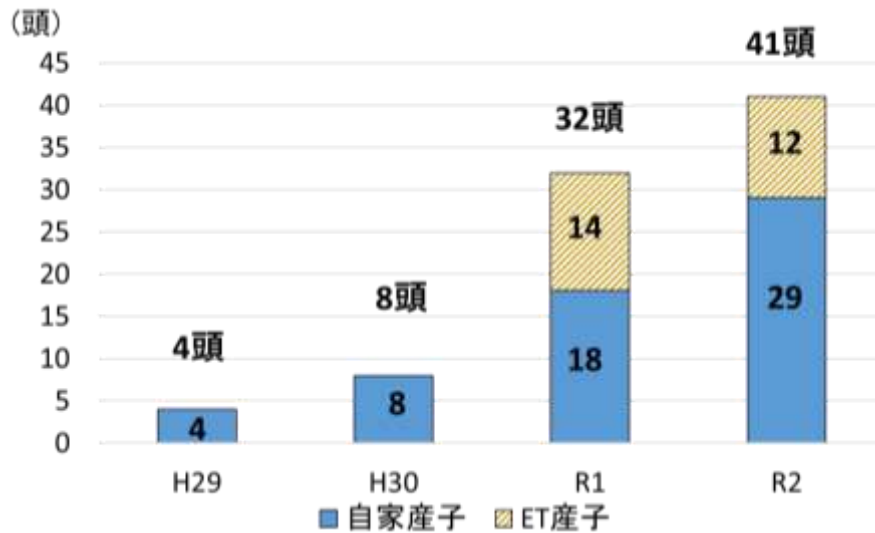


図3 子牛の生産頭数

	H29	H30	R1	R2	R3	R4
繁殖雌牛頭数	10	13	22	36	44	
(計画頭数)	18	34	43	50	50	50
繁殖素牛導入頭数	2	9	14	4	0	0

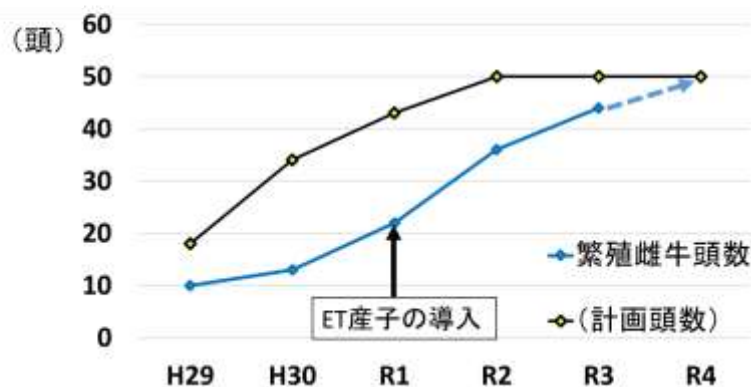


図4 増頭支援の成果

- 1) 中村吉史宏：平成29年度富山県畜産関係業績集録, 5-8
- 2) 松井寛二・山田真衣・竹田謙一・高橋友継：信州大学農学部 AFC 報告第5号, 65-69 (2007)
- 3) 乙丸孝之介・久保田整・大塚浩通・安藤貴朗・岩政照：日獣会誌, 65 767 ~ 770 (2012)

3 石灰剤のモニタリングを活用した採卵鶏農場における

サルモネラ清浄化への取組み

小林歩、池上良
西部家畜保健衛生所

[はじめに]

鶏卵に起因する人の健康障害因子としてサルモネラ属菌による食中毒があげられることから、採卵鶏農場におけるサルモネラ対策は食品衛生上重要視されている⁵⁾。環境中のサルモネラ属菌が鶏卵を直接的あるいは間接的に汚染する¹⁾ことから、管内においてもサルモネラ属菌に対する危機意識は高く、自主的にサルモネラ検査を実施している採卵鶏農場が多いのが現状である。

今回サルモネラ対策を行っていたにも関わらず、サルモネラ属菌の清浄化を達成できない採卵鶏農場において、石灰剤の消毒効果モニタリングを活用し清浄化に向けて取り組んだところ、成果をあげることができたのでその概要を報告する。

[農場の概要]

当該農場は、約34万羽飼養の採卵鶏農場で、ウインドウレス（以下WL）鶏舎4棟および開放鶏舎4棟で飼養していた。オールイン・オールアウト方式を採用しており、床全面にはドロマイト系石灰を塗布し、不定期的に石灰剤を散布していた。毎月自主的に、全てのWL鶏舎において環境ふき取りによるサルモネラ検査を行っており、令和元年10月から継続してサルモネラ属菌が検出された。

[取組み前の現状]

当該農場の令和元年度におけるサルモネラ属菌検出状況を確認したところ、汚染はWL1号鶏舎に集中していたことから、サルモネラ属菌の清浄化に向けてWL1号鶏舎の対策を重点的に実施することとした。これまでの農場の自主的な環境ふき取りによるサルモネラ検査は、鶏舎を1周した床1検体のみの検査であり、汚染箇所の特定ができていない状況であった。そこで、令和2年4月に汚染箇所特定のためWL1号鶏舎の30箇所について、サルモネラ検査を行った。

検査の結果、10箇所からサルモネラ属菌が検出され、汚染箇所は鶏舎奥側に集中していることが明らかとなった（図1）。

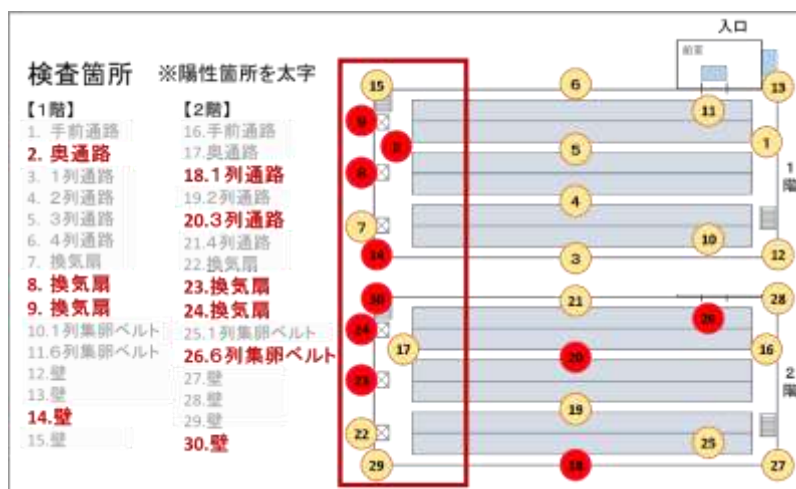


図1 WL1号鶏舎のサルモネラ検査結果

WL1号鶏舎の石灰剤塗布状況は、目視検査において鶏舎奥側に向かうほど薄くなっていることが確認された。さらに残存する石灰剤のpH値を測定したところ、鶏舎奥側ではpH8と値が低下しており消毒効果が失われていた。また、畜主への聞き取りでは入雛前に1階の床全体にドロマイト系石灰を塗布していること、動力噴霧器の詰まり防止の為、石灰剤は規定より3倍薄く希釈して使用していること、および飼養中に石灰剤を入口側から奥へと手撒きしていることが確認された。

以上のことから、当該農場がサルモネラ属菌の清浄化を達成できない要因の1つに石灰剤の消毒効果を十分に得られていないことがあると考察し、以下の検証と指導を行った。

[材料および方法]

1 石灰剤の消毒効果の持続性検証

ドロマイト系石灰を木片に塗布し、0日、1週間および2週間後に塗布した石灰剤のpH値をスティックpH試験紙で測定した。それぞれ希釈濃度、屋外環境、温度、風、および鶏糞存在下について条件を変えて消毒効果の持続性を比較した。

2 農場における定期的なモニタリング調査

令和2年5月から9か月間毎月、WL1号鶏舎のサルモネラ検査とpH値の測定による石灰剤の消毒効果モニタリングを行った。

サルモネラ検査は1回につき環境材料8~30検体を採材し、結果を速やかに農場へ還元することで、汚染箇所の情報を共有した。

サルモネラ検査の同日に、床の特定6箇所について消毒効果を確認した。床に残存する石灰剤をガーゼで採取し、約10mlの蒸留水に溶解したのちpH値を測定した。pH値の測定にはスティックpH試験紙を用いた。pH10を下回ったものを消毒効果なしと判定した。

また、鶏舎奥側には頻繁に石灰剤を散布すること、除糞作業後には石灰剤を散布すること、およびpH値が10以下となった石灰剤が確認された際には早急に石灰剤を散布することを指導した。

[結果]

1 石灰剤の消毒効果の持続性検証

石灰剤のpH値は希釈濃度、風、温度による影響を受けず、2週間後もpH12と高いpH値を維持していたが、風および熱を加えた石灰剤は物理的に剥離しやすくなった。屋外下にある石灰剤は1週間でpH8となり、鶏糞存在下にある石灰剤のpH値は1週間後にはpH10、2週間後にはpH7に低下した(図2)。

2 農場における定期的なモニタリング調査

令和2年11月以降、WL1号鶏舎において消毒効果を失っている石灰剤は確認されず、令和2年12月から2か月連続してサルモネラ属菌は検出されなかった。pH10以下となり消毒効果が失われている石灰剤の箇所が多いほど、鶏舎におけるサルモネラ属菌の検出率は増加した(図3)。

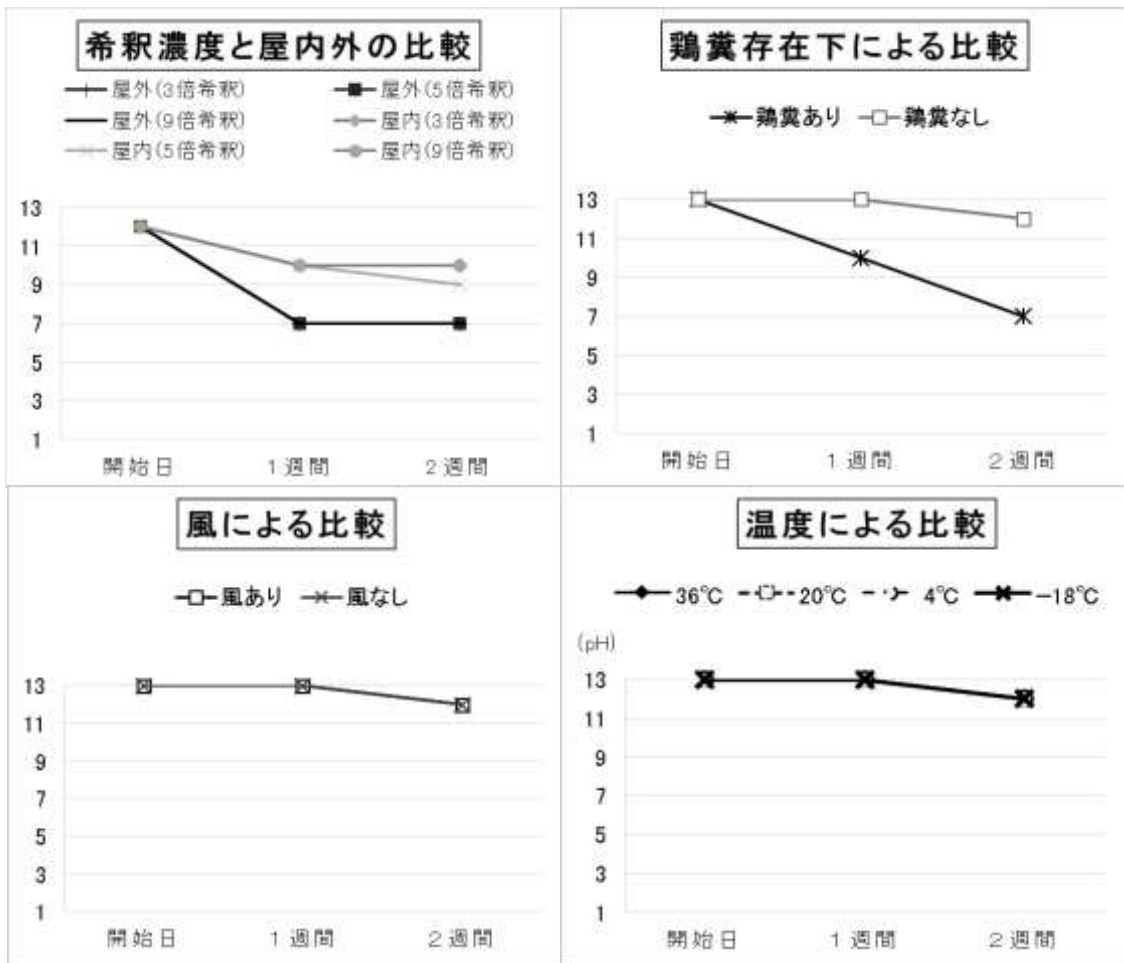


図2 条件による石灰剤 pH 値の推移

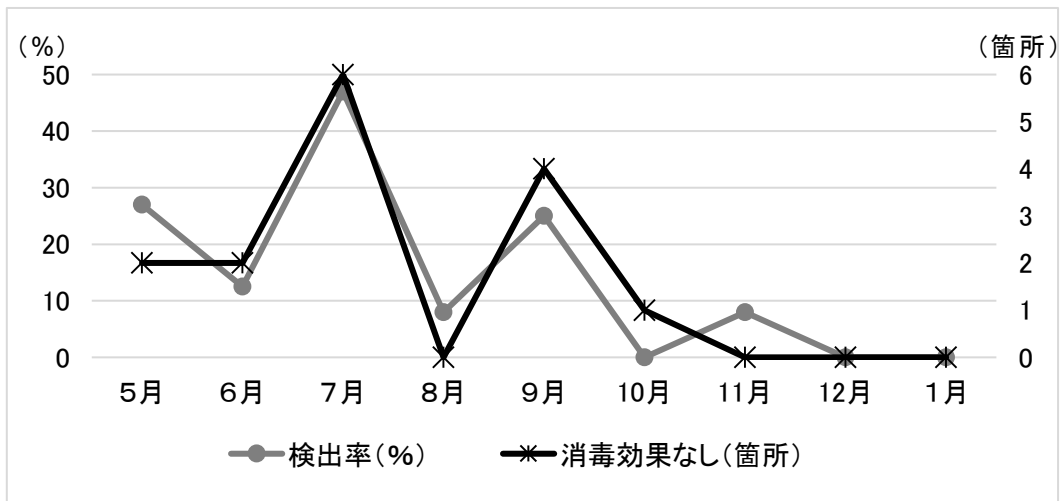


図3 WL1号鶏舎におけるサルモネラ属菌の検出率と消毒効果の推移

[まとめおよび考察]

毎月のサルモネラ検査に合わせて、石灰剤の消毒効果を検証しその結果を農家へ還元することによりサルモネラ清浄化に取り組んだところ、2か月連続してサルモネラ属菌は検出されず清浄化に向かったと考えられた。また、定期的に検査を行うことで、従業員と連絡を密にとることができ、農場全体の衛生意識が向上したことが早期に清浄化へ向かった要因であると考えられた。

消石灰は安価であり、有機物の存在下でも使用可能なことから、畜産現場で頻繁に使われている消毒薬である¹⁾。消石灰の高いアルカリ作用により消毒効果を発揮し¹⁾、サルモネラ属菌のアルカリ生育限界値はpH9.5とされている⁴⁾。消石灰が炭酸ガスを吸収して炭酸カルシウムに変化すると中性となり、著しく消毒効果が低下してしまうという特性を持っている²⁾にも関わらず、石灰剤のpH値の持続性について検証した報告は少なく、現地で石灰の消毒効果を判定する手法についての報告も少ない³⁾のが現状であり、今回スティックpH試験紙を用いることで、石灰剤の消毒効果を確認した。

換気扇や除糞ベルトの終末が位置する鶏舎奥側は、風や鶏糞の影響を受けることから石灰剤の消毒効果が早期に失われる可能性があると考えし、鶏舎奥側には頻繁に、除糞作業後には必ず石灰剤を散布することを指導したが、鶏舎での石灰剤モニタリングにおいて、鶏舎奥側でpH値の低下が複数回認められた。定期的な指導の結果、農場従業員の石灰剤の消毒効果に対する意識が高まったことで、自主的に頻繁に石灰剤を散布するようになり、11月以降には石灰剤の消毒効果を失っている箇所は確認されなくなった。これらのことから定期的に石灰剤のpH値を測定し、その結果を農家へ示すことは衛生指導に有用であると考えられた。

スティックpH試験紙を用いた石灰剤の消毒効果の確認は、素早くかつ簡単に結果を示すことができ、安価であり、さらに農家自身で行うことも可能であることから実用的であると判断した。鶏舎でのサルモネラ属菌の検出率と、消毒効果を失っている石灰剤の箇所数は同調し、鶏舎の複数箇所の石灰剤のpH値の状況は鶏舎内の汚染度の指標となり得る可能性が示唆されたことから、農家が自身の農場の汚染度を、鶏舎の石灰剤のpH値を測定することで把握できると考えられた。

今回は家畜保健衛生所が石灰剤の消毒効果を定期的に検査し指導を行ったが、当該農場が自主的に石灰剤の消毒効果をモニタリングすることは、サルモネラ対策のみならず自農場の衛生レベルを高く保つことにつながると考えられた。また今後は、採卵鶏農場への衛生指導の際に、本検証で得られた知見を用いて指導することにより、農場の衛生レベルを引き上げることが可能となると考えられた。

[引用文献]

- 1) 石倉洋司, 安部茂樹: 島根県家畜病性鑑定室報, 12, 35-38 (2008)
- 2) 大久保喜美, 東條秀徳: 鶏病研究会報, 45, 84-90 (2009)
- 3) 鈴木勇摩, 金子和華子: 鶏病研究会報, 56, 117-121 (2020)
- 4) 食品安全委員会: 食品健康影響評価のためのリスクプロファイル～鶏肉におけるサルモネラ属菌～(改訂版), 4 (2012)
- 5) 田村豊: 日本食品科学工学会誌第60巻, 7, 375-379 (2013)

4 黒毛和種子牛に発生した腸管外病原性大腸菌症の一症例

増永梢、山口香菜¹、石原未希¹
西部家畜保健衛生所、¹ 東部家畜保健衛生所

[はじめに]

牛の大腸菌症は、主に腸管内で病原性を発現する下痢病原性大腸菌(以下、DEC)と、敗血症や髄膜炎、尿路感染症など腸管外で全身症状を引き起こす腸管外病原性大腸菌(以下、ExPEC)に大別される。DECの病原因子はLT、ST、VT等の毒素やF5、F41、*eae*等の付着因子が知られている。一方ExPECの病原因子としては、毒素、付着因子、鉄取込能等の関与が報告されている。^{1, 3, 4, 5, 6)}大腸菌は特定の病原因子を保有することで大腸菌症を引き起こすため、病原因子を特定することは重要である。

ExPECによる感染症の報告^{1, 3, 4, 5, 6)}は近年増加傾向にあるが、まだ症例数が少なく、病原性や関連因子については不明な点が多い。

今回、黒毛和種子牛においてExPECによる死亡事例に遭遇したのでその概要を報告する。

[発生の概要]

令和2年3月、黒毛和種218頭(繁殖雌牛76頭、肥育142頭)を飼養する肉用牛一貫経営農家において、12日齢、雄の黒毛和種子牛1頭が死亡した。当該牛は出生時より虚弱で、1週間前より臍帯炎および乳黄色水様下痢を呈したため治療していたが、死亡したため病性鑑定を実施した。

[材料および方法]

1 病理組織学的検査

剖検後、常法に従いヘマトキシリン・エオジン染色(以下、HE染色)を実施した。また、抗*E. coli* 07家兎血清および抗*E. coli* 026家兎血清を用いた免疫組織化学染色(以下、IHC)(ポリマー法)を実施した。

2 細菌学的検査

- 1) 菌分離：主要臓器及び脳、臍帯、尿膜管、心のう水について5%馬血液加寒天培地及びDHL寒天培地に塗布し、37°C、24時間10%CO₂及び好気条件下で培養した。空腸内容についてはDHL寒天培地にて定量培養を実施した。
- 2) 分離菌株のO群血清型別：病原大腸菌免疫血清を用いた凝集反応およびO-genotyping PCRにて実施(動物衛生研究部門に依頼)した。
- 3) 病原因子の検索：大腸菌が分離された臓器1臓器につき、4~5株について検索した。ExPEC関連因子は毒素遺伝子(*cnf2*, *cdtB*)、付着因子(*tsh*, F17, *afa*, *papC*)、鉄取込能(*iutA*, *fyuA*, *irp1*, *irp2*)についてOjimaら²⁾の方法によりPCRを実施した。また、DEC関連因子は毒素遺伝子(*stx1*, *stx2*, *LT*, *STa*, *STb*)と付着因子(*eae*, F5, F41)についてVu-Khacら⁷⁾の方法によりPCRを実施した(表1)。
- 4) 薬剤感受性試験：一濃度ディスク法により18薬剤(PCG:ペニシリン、ABPC:アンピシリン、CEZ:セファゾリン、OTC:オキシテトラサイクリン、SM:ストレプトマイシン、KM:カナマイシン、EM:エリスロマイシン、LCM:リンコマイシン、GM:ゲンタマイシン、FF:フロルフェニコール、FOM:ホスホマイシン、CL:コリスチン、STX:ST合剤、ENR:エンロフロキサシン、OBFX:オルビフロキサシン、S0:スルファモノメトキシシン・オルメトプリ

ム、XNL:セフトオフル)で実施した。

表 1 病原関連遺伝子

毒素	ExPEC				DEC				
	<i>cnf2</i>	<i>cdtB</i>			<i>stx1</i>	<i>stx2</i>	LT	STa	STb
付着因子	<i>tsh</i>	F17	<i>afa</i>	<i>papC</i>	<i>eae</i>	F5	F41		
鉄取込能	<i>iutA</i>	<i>fyuA</i>	<i>irp1</i>	<i>irp2</i>					

[結果]

- 剖検：著しく消瘦し、胸腺の低形成を認め、胸腔および腹腔内には膿瘍が散発していた(図 1, 2)。また腎盂内、臍帯、尿膜管周囲にも膿瘍が散見された。肺は全体的にモザイク様を呈し、心臓には白色混濁心嚢水が貯留していた。また、小腸内容の一部では偽膜様物を認めた。

病理組織学的検査：HE 染色では、腎臓、肺、大脳、空腸、尿膜管内に好中球を中心とした炎症細胞が浸潤し化膿性病変像が認められた。IHC では腎臓、尿膜管内、大脳の病変部における、炎症細胞質内や菌塊に 07 陽性反応を示した(図 3, 4, 5)。また、空腸においては、粘膜上皮で 07 に、偽膜で 026 に陽性を示した(図 6)。



図 1 外貌



図 2 腹腔内に膿瘍が散発

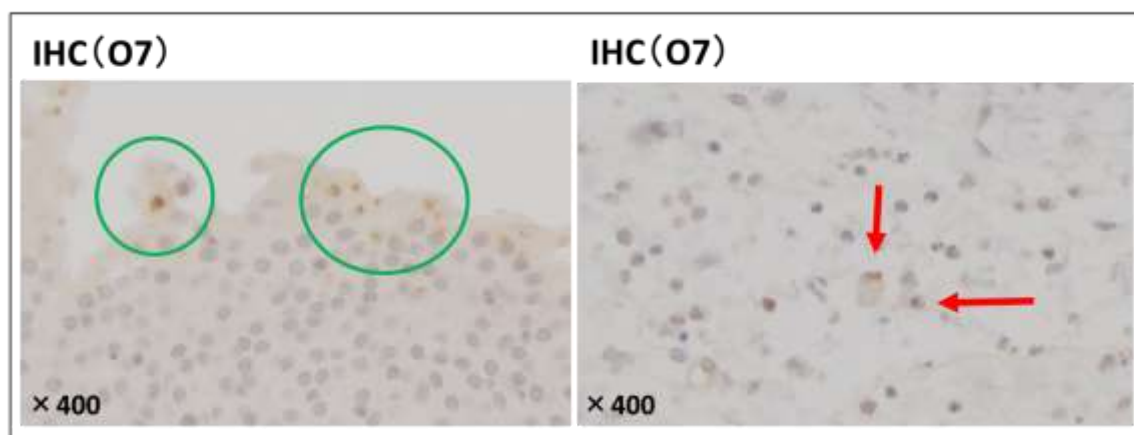


図 3 腎乳頭の炎症細胞浸潤部位に一致して認められた IHC 陽性反応(丸印、矢印)

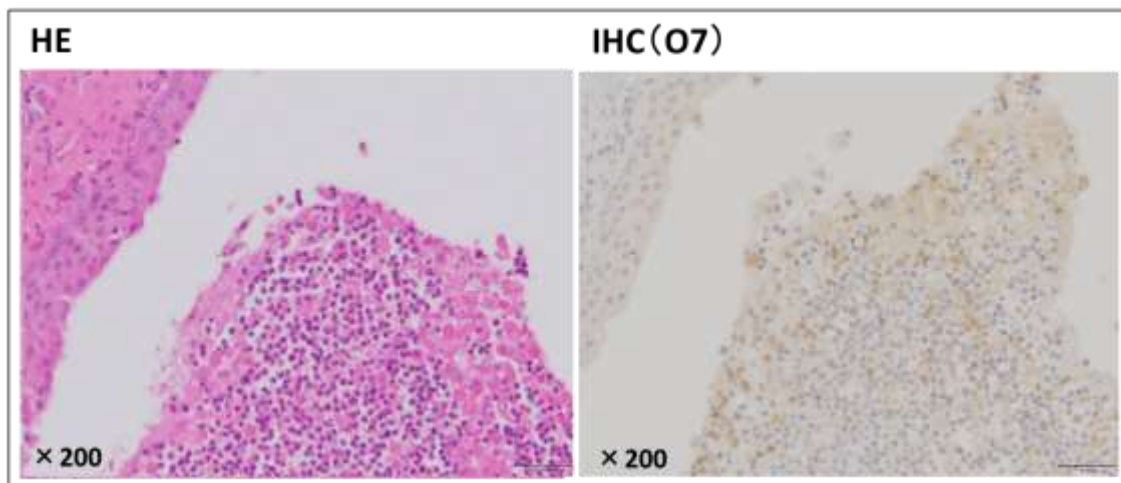


図 4 尿管管腔内の好中球浸潤(HE)に一致した 07 の陽性反応(IHC)

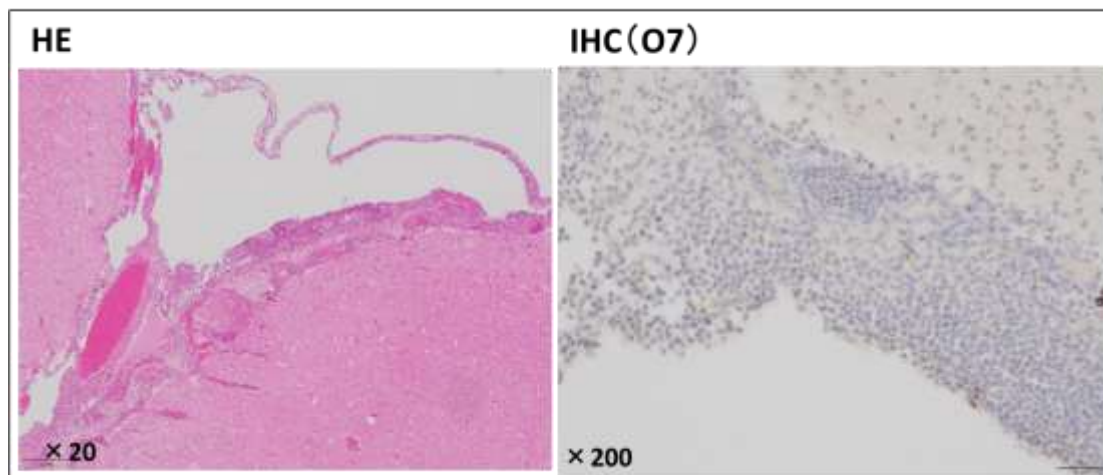


図 5 大脳髄膜の炎症細胞浸潤(HE)に一致した 07 の陽性反応(IHC)

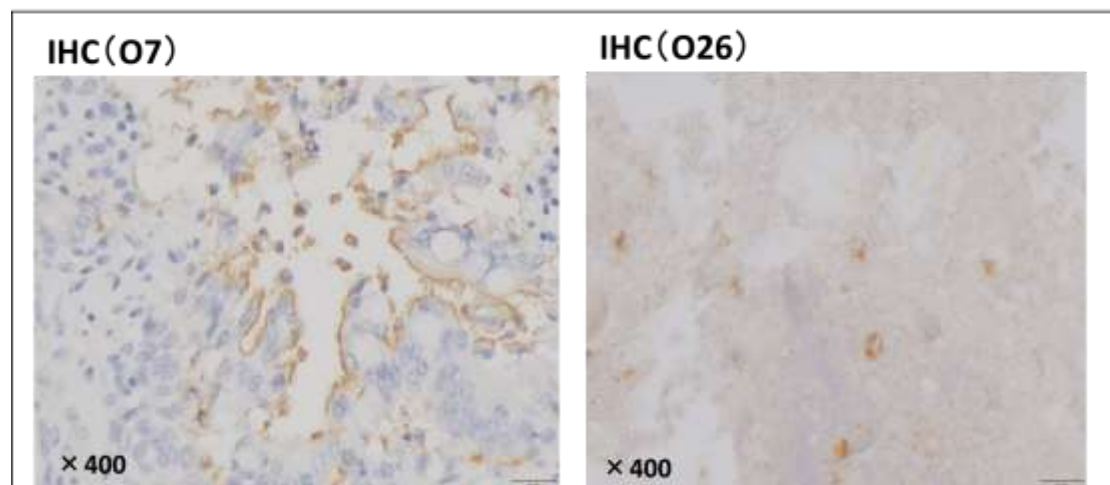


図 6 空腸に認められた IHC 陽性像 (粘膜上皮 : 07、偽膜 : 026)

2 細菌学的検査：

- 1) 5臓器、脳、臍帯、尿膜管、心のう水および空腸内容より *Escherichia coli*(大腸菌) が分離された。
- 2) 分離した菌株のO群血清型別は、主要臓器、臍帯由来株および尿膜管由来株はすべて07であり、空腸内容は07と026の2つの血清型が存在した。
- 3) 病原因子の検索では、07株はExPEC関連因子のうち2つの付着因子の遺伝子(*afa*, *papC*)と4つの鉄取込能の遺伝子(*iutA*, *fyuA*, *irp1*, *irp2*)を保有していた。一方、026株は鉄取込能の遺伝子4つとDEC関連因子(*eae*, *stx1*)を保有していた。
- 4) 薬剤感受性試験では、07株ではPCG、ABPC、CEZ、OTC、SM、KM、EM、LCM、FF、XNLの10薬剤に耐性であり、026株はPCG、ABPC、OTC、EM、LCMの5薬剤に耐性であった(表2)。

表2 薬剤感受性試験

	PCG	ABPC	CEZ	OTC	SM	KM	EM	LCM	GM	FF
07株	R	R	R	R	R	R	R	R	I	R
026株	R	R	S	R	I	I	R	R	I	I
	FOM	CL	STX	ENR	MAR	OBFX	SO	XNL		
07株	I	S	S	S	S	S	S	R		
026株	I	S	S	S	S	S	S	S		

S:感受性 I:中間 R:耐性

[まとめおよび考察]

今回死亡した子牛の細菌学的検査の結果、全身の主要臓器からは血清型07の大腸菌が分離され、関連因子の検索では付着因子及び鉄取込能を保有していたが、下痢関連因子は保有していなかった。また病理組織学的検査の結果、大腸菌が分離された臓器に化膿性病変が確認され、IHCでも炎症像に一致して07に陽性を示したため、血清型07が病変形成に関与していたことが示唆された(表3)。さらに今回の症例では臍帯に炎症があり、尿膜管および腎臓からも同じ血清型の大腸菌が分離されていることから、臍帯から上行性に感染し敗血症に至ったと思われる。一方、空腸からは07、026の2つの血清型が分離されており、IHCでも共に陽性反応を示した。しかし07は粘膜表層でのみIHC陽性を示していたのに対し、026は病変部位において陽性を示していた。026はDECで多く分離される血清型であり、下痢関連因子も保有していたことから下痢は026によるものと推察され、敗血症を引き起こした大腸菌とは別の感染だったことが示唆された。

以上の結果から、血清型07のExPECによる敗血症と診断した。

ExPECの病原遺伝子の関与については、026株と07株のExPEC関連因子の保有状況から、*afa*および*papC*の付着因子が腸管外で宿主に定着するのに必要であり、生体内での増殖に必要な鉄取込能を有していたことで、全身感染が成立したと思われる。これまでの報告^{1,3,4,5,6)}においても保有因子は様々であるが、鉄取込能の遺伝子を1つは保有していることから、生体内での生存に必要な遺伝子であることが示唆された。

また、肺において07の大腸菌が分離され、化膿性病変像も確認されたが、IHCでは陽性を示さなかったため、肺より分離された大腸菌は病変形成には関与しておらず、肺の化膿性病変像は誤嚥等によるものである可能性が示唆された。

既報^{1,3,4)}においても虚弱な子牛での報告が多く、感染には宿主側の免疫機能の低下も影

響しているものと思われる。今回治療に使用されていた薬剤はペニシリン系、オキシテトラサイクリン系、ストレプトマイシン系であったが、薬剤感受性試験の結果はいずれも耐性であったことで死亡に至った一因と考えられる。

このように ExPEC 感染症の診断には詳細な細菌学的検査と病理組織学的検査による総合的な診断が必要であるため、今後も知見を重ね、さらなる病態の詳細な検討が必要であると考えられた。

表 3 大腸菌分離臓器および病理組織学的検査結果

		肝臓	脾臓	腎臓	心臓	肺	脳	臍帯	尿管	空腸
血清型	O7	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	O26	-	-	-	-	-	-	-	-	+
組織所見	化膿性病変	-	-	+	-	+	+	NT	+	+
	IHC陽性	NT	NT	O7	NT	-	O7	NT	O7	O7 O26

【引用文献】

- 1) 浦川ら：令和元年度長崎県家畜保健衛生業績発表会集録, 60, 39-41, (2019)
- 2) Ojima, T, et al: Journal of Microbiological Methods., 128, 31-33(2016)
- 3) 菅原克ら：日獣会誌, 65, 689-693 (2012)
- 4) 丹羽ら：平成29年度石川県家畜保健衛生業績発表会集録, 27-29(2017)
- 5) 古田ら：日獣会誌, 69, 524-528 (2016)
- 6) 水谷ら：日獣会誌, 71, 307-310 (2018)
- 7) Vu-Khac, H. et al: Vet. J., 174, 176-187(2007)

【謝辞】

0 群血清型別を実施していただき、ご助言ご指導いただき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 動物衛生研究部門の楠本正博先生に深謝いたします。

5 免疫付与率向上に向けた豚熱ワクチン接種適期の検討

水木亮史、藤井晃太郎、稲垣達也
東部家畜保健衛生所

[はじめに]

豚熱の予防的ワクチン接種は、本病の野生いのししへの感染拡大を受け、令和元年10月より開始された。本県でも同月より接種を継続実施し、本病の感染リスク低減を図っている。

本ワクチンは高い安全性と有効性を有しているが、生ワクチンのため、高い移行抗体存在下で接種した場合、ワクチンブレイクによる免疫付与率低下が懸念される^{2),5),6)}。一方、移行抗体消失からワクチン抗体獲得までの、免疫的空白期間をなくすことも重要な課題である。管内養豚農場でも移行抗体存在下の肥育豚で免疫付与率の低下が認められており、移行抗体を考慮した適切な時期の接種が重要となっている。

ワクチンの免疫付与状況の確認は、現在、中和試験に代わり、短時間で多検体処理可能なELISA法で行われている。そのため、本法結果を適切に評価し、接種適期を見極めることが重要である。

そこで、ワクチン接種開始以後の抗体検査結果の分析を行い、免疫付与率向上に向けた検討を行ったので、その概要を報告する。

[材料及び方法]

豚熱の抗体検査は以下の2法により実施した。

ELISA法：豚コレラエライザキットⅡ（JNC株式会社）を使用説明書に従って使用し、SP値0.1以上を陽性、0.05以上0.1未満を疑陽性、0.05未満を陰性と判定した。

中和試験：CPK-NS細胞と豚熱ウイルスGPE-株を用いたマイクロプレート法で行った。判定は、細胞変性効果を認めない最高希釈倍数の逆数を中和抗体価とし、抗体価2倍以上を陽性、2倍未満を陰性と判定した。

(調査1)ELISA法と中和試験の相関性

両法の関連性を確認するため、ELISA法と中和試験の両法を実施した956検体の結果から、SP値と中和抗体価の相関性と陰性及び陽性の結果一致率を調査した。

(調査2)移行抗体影響下での接種後日数と抗体陽性率の関係

移行抗体影響下のワクチン効果を正確に判断するため、移行抗体影響下で30～60日齢にワクチン接種された肥育豚431検体の接種から採血までの経過日数とELISA法の判定結果の関連性を調査した。

(調査3)母豚のELISA法SP値の経時的変化

移行抗体形成に関与する母豚の血中抗体価の変動を確認するため、母豚8頭について、経時的に採血し、SP値の変化を調査した。なお、本調査期間中、補強ワクチン接種を1回実施した。

(調査4)母豚と産子の追跡調査

母豚と産子の抗体価の関係性を確認するため、豚熱ワクチン接種済みの母豚7頭の出産前とその産子6頭/腹を15日齢から15日ごとに7～8回採血し、検査した。本調査は、同母豚（内1頭は第2回調査時に不受胎のため、予備母豚に変更）について、分娩の都度2回実施し、第1回は約40日齢、第2回は早期にSP値低下した2腹を約50日齢、残り5腹を約60日齢時に豚熱ワクチン接種を行った。

得られた結果より、母豚と産子（6頭/腹の平均値）の血清 SP 値の相関と産子の SP 値の推移、接種時 SP 値によるワクチンテイク率を調査した。

[結果]

(調査 1) ELISA 法と中和試験の相関性

SP 値と中和抗体価の相関性は、R2 値が 0.7002 で、概ね相関が認められた (図 1)。また、中和試験陰性では、ELISA 法で 1 検体疑陽性と判定されたが、他 108 検体は全て陰性であり、陰性の一致率は 99%であった。陽性的一致率は、中和抗体価 16 倍以上で、ELISA 法と 90%以上の一致となった (表 1)。

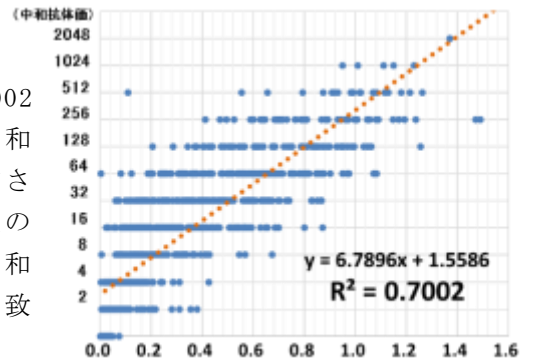


図 1 SP 値と中和抗体価の相関

表 1 ELISA 法と中和試験の結果一致率

		中和抗体価											
		<2	2	4	8	16	32	64	128	256	512	1024	2048
ELISA法	検体数	109	125	106	87	139	132	124	63	44	20	5	2
	陽性	0	17	43	70	128	128	122	63	44	20	5	2
	疑陽性	1	56	35	16	9	4	1	0	0	0	0	0
	陰性	108	52	28	1	2	0	1	0	0	0	0	0
	一致率	99%	14%	41%	80%	92%	97%	98%	100%	100%	100%	100%	100%

(調査 2) 移行抗体影響下での接種後日数と抗体陽性率の関係

疑陽性率は 21~30 日後では 46%、31~40 日後で 13%、41~50 日後で 30%と高く推移したが、50 日以降は低下を示した。一方で、陽性率は、接種 50 日後まで 30~50%であったが、51~60 日で 70%に達し、その後、次第に増加を示した (図 2)。

(調査 3) 母豚の SP 値の経時的変化

補強ワクチン接種後の検査で、全ての個体で SP 値の上昇が認められ、その後、SP 値が緩やかに低下し、多くの個体で補強接種前と同程度に下降した。また、補強接種前に陰性であった 1 個体は、接種後、陽性となったが、その後、再び陰性に転じた (図 3)。

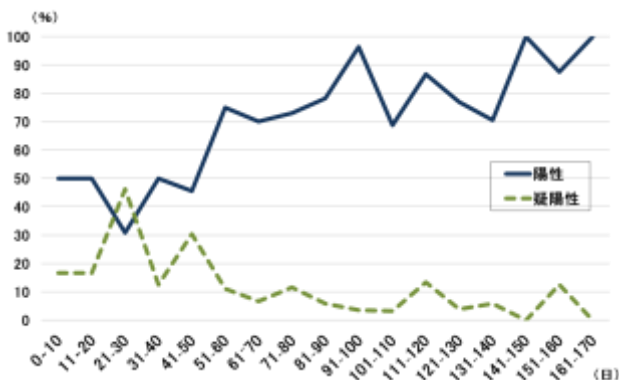


図 2 移行抗体影響下の接種後日数と抗体陽性率

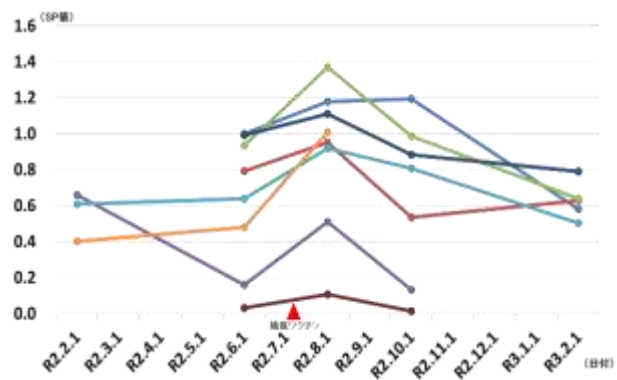


図 3 母豚の SP 値の経時的変化

(調査 4) 母豚と産子の追跡調査

母豚の SP 値は産歴を重ねても、各個体の高低は概ね変わらなかった (図 4, 5)。分娩

前の母豚血清と 15 日齢の産子血清の SP 値は R2 値 0.7992 と強い相関性が認められ、概ね同程度の SP 値を示した (図 6)。産子の移行抗体の消失を示す 15 から 60 日齢までの推移は、ELISA 法で 60~70 日齢頃に SP 値ゼロへ収束するように低下した (図 4, 5)。中和抗体価も同様のグラフを描き、半減期は平均約 15 日であった (図 7)。また、ワクチン接種後の SP 値の変化は、接種時 SP 値が低値であったものは立ち上がりも早く、比較的急な上昇を示し、高値であったものはしばらく低下し、上昇は緩やかな傾向があった (図 4, 5)。

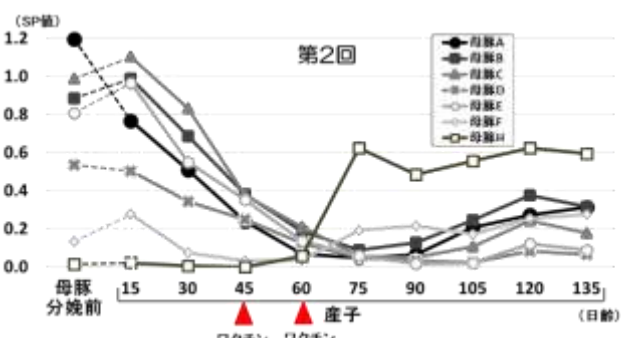
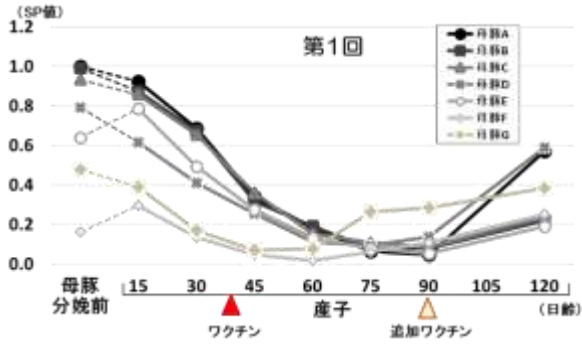


図 4 母豚分娩前と産子 SP 値の推移 (第 1 回)

図 5 母豚分娩前と産子 SP 値の推移 (第 2 回)

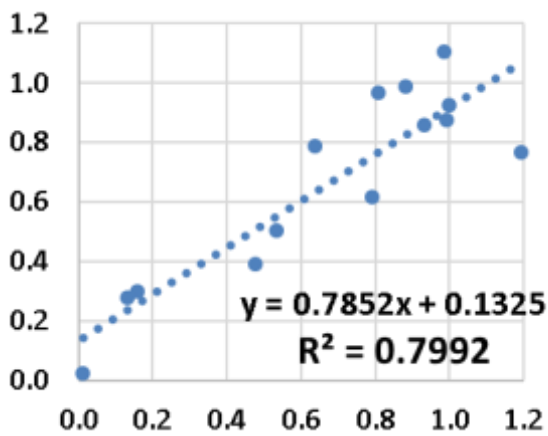


図 6 母豚分娩前と 15 日齢産子血清の相関

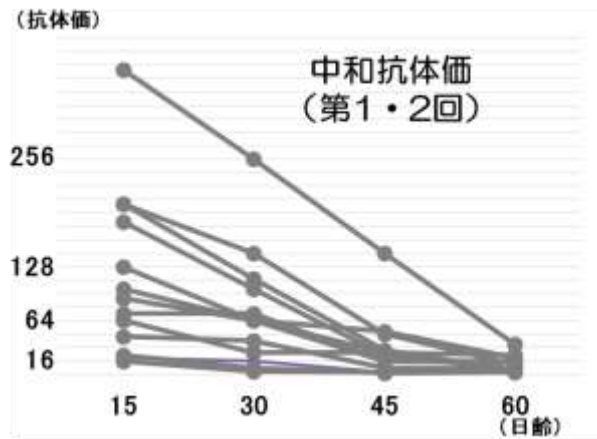


図 7 産子の中和抗体価の推移

また、ワクチン接種時の SP 値が 0.1 以下の場合にはワクチンテイク率が 100%で、SP 値が 0.3 以上になるとワクチンテイク率が著しく低下した（図 8）。ワクチンテイクした SP 値の平均は 0.104 で中和抗体価の幾何平均は 6.5 倍、ブレイクした SP 値は 0.29 で中和抗体価は 19.8 倍であった。

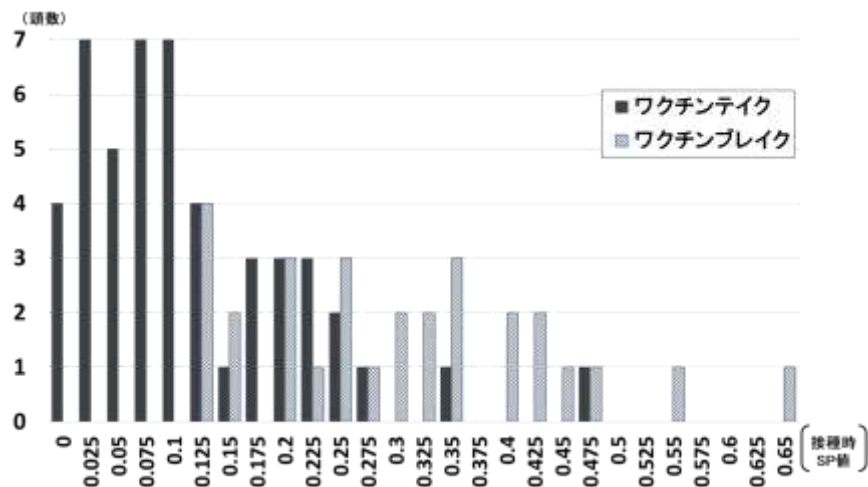


図 8 接種時 SP 値とワクチンテイクの関係

[まとめ及び考察]

ELISA 法と中和試験は概ね相関³⁾し、SP 値よりある程度の中和抗体価の推定が可能と考えられた。

また、移行抗体の存在下のワクチン接種では、抗体上昇が緩やかとなることが確認された。本病防疫指針に基づく免疫付与状況確認検査ではワクチン接種後 40 日以上経過した個体を検査対象¹⁾としているが、40~50 日経過の個体では、結果を正しく判断できない可能性があると思われた。

母豚は、補強接種により一時的に SP 値上昇を認めたが、その後、緩やかに SP 値は下降し、概ね補強接種前の水準まで下降した。本調査より母豚の抗体価は概ね一定水準で維持されていると推察された。一方、ワクチン接種に反応が低い個体が 1 頭確認されたが、他農場でもこのような個体が数頭確認されており、注意を要すると考えられた。

母豚と産子の SP 値は、強い相関関係が認められ、母豚の水準に応じた移行抗体が付与されていた。また、産歴を重ねても個々の母豚の SP 値は、同水準で維持されており、母豚の SP 値を把握することで、産子の SP 値は推定可能であると考えられた。

産子の SP 値の推移は、60~70 日齢でゼロ収束するように移行抗体が低下し、中和抗体価も同様の動きを示した。中和抗体価から導いた半減期は約 15 日であった。このことから、SP 値は中和抗体価とリンクして推移し、接種適期判断に用いることができる可能性が示唆された。また、接種時の SP 値が高いほどワクチンによる SP 値の上昇は既報の報告と同様に緩慢であることも確認された⁴⁾。

ワクチンテイク率は、接種時の SP 値で 0.1、中和抗体価 6.5 倍で概ね免疫付与を確認された。一方、ワクチン接種時の SP 値が 0.3 以上でテイク率が著しく低下した。このことは、中和抗体価が 32 倍以下で 100%の付与率となる既報^{5),7)}と乖離が生じた。これは、短い期間で採血を繰り返したことが影響している可能性が考えられた。

これら追跡調査の結果、母豚 SP 値から産子の SP 値と推移が概ね推測でき、ワクチン接種適期を見極める 1 つの判断指標となり得ること可能が示唆された。

今回の調査で、ELISA 法 SP 値の推移や母子の関係等に一定の傾向を確認でき、今後の

適期判断の一助になるものと思われました。今後更に蓄積されるデータを含め検討し、ELISA 法 SP 値を指標とした接種適期判断法を確立し、免疫付与率向上と高位安定化につなげたい。

一方で、今回の各種調査でも認められたが、適期に接種が行われていても一定程度免疫を獲得していない個体が常に存在している可能性がある。本病の発生予防には、ワクチンを効果的に使用することに加え、本病を侵入させないための飼養衛生管理基準の遵守徹底とバイオセキュリティの維持向上が重要である。

今後も農場の免疫状態を適切に評価しワクチンの適期接種を行うとともに、関係者一体となって本病の発生予防に努めたい。

[参考文献]

- 1) 豚熱に関する特定家畜伝染病防疫指針（令和 2 年 7 月 1 日農林水産大臣公表。令和 3 年 3 月 31 日一部変更。）
- 2) 北里研究所編：動物のワクチン，81-89（1974）
- 3) 中根ら：日獣会誌，55, 783-788（2002）
- 4) 農林水産省：豚コレラ防疫史，88-122，東京，社団法人 全国家畜畜産物衛生指導協会（2009）
- 5) 迫田義弘：北獣会誌，64，285-293（2020）
- 6) 清水実嗣：豚病会報，29，2-13（1996）
- 7) 清水悠紀雄：動衛研研究報告，119，1-9（2013）

6 管内養豚場で分離された *Salmonella* Typhimurium 及び 4:i:- の細菌学的解析

竹中悠人
東部家畜保健衛生所

[はじめに]

サルモネラ症は家畜や家きんに重篤な下痢、敗血症を引き起こす伝染病であり、グラム陰性通性嫌気性桿菌であるサルモネラ属菌を原因とする。本菌は O 抗原と H 抗原の組合せから約 2,600 の血清型に分けられ、中でも届出伝染病に指定されている *Salmonella* Typhimurium (以下、ST) については、近年、2 相鞭毛抗原が発現しない変異株である血清型 4:i:- (非定型 ST) の分離が全国的に上昇している²⁾。血清型 4:i:- は ST と同等の病原性を示す⁷⁾ことから、防疫上警戒が必要である。

管内の系列養豚農家 2 農場 (以下、A、B 農場) ではおよそ 10 年前より ST 及び 4:i:- が分離され、飼養豚の増体重への影響も懸念されている。なお、A 農場は繁殖肥育一貫経営、B 農場は A 農場由来子豚の肥育経営を行っている。今回、A 及び B 農場において過去 10 年間に分離された ST 及び 4:i:- について詳細な細菌学的解析を行ったのでその概要を報告する。

[材料及び方法]

1. 材料

2011 年～2020 年に A 及び B 農場の糞便、環境から分離された ST 及び 4:i:- 計 34 株

2. 方法

血清型別： O 抗原の同定はスライド凝集反応を、H 抗原の同定には試験管凝集反応を実施した。また、ST の同定としてマルチプレックス PCR¹⁾及び IS 200 PCR⁴⁾を実施した。

系統解析： 各群特異的な SNP を検出する SNP1～9 遺伝子型別 PCR³⁾を実施 (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 (以下、動衛研) に依頼) した。

分子疫学的解析： 制限酵素を用いてパルスフィールドゲル電気泳動 (以下、PFGE) を実施 (動衛研に依頼) した。電圧は 6V/cm、パルスタイムは 2.2～63.8 秒、泳動時間は 22 時間とした。なお、制限酵素は豚由来サルモネラのスクリーニング識別に有用な Xba I⁵⁾を用いた。また、泳動マーカーには国際的基準として用いられている *S. Braenderup* H9812 株⁶⁾を使用した。

薬剤感受性試験： 表 1 に示す薬剤について一濃度ディスク法を用いて実施し、スルファメトキサゾールについては寒天平板希釈法を用いて実施 (動衛研に依頼) した。

表 1 供試薬剤一覧

略号	抗菌薬	系統	略号	抗菌薬	系統
AMP	アンピシリン	ペニシリン系	STR	ストレプトマイシン	アミノグリコシド系
CFZ	セファゾリン	第1世代セファロスポリン系	TET	テトラサイクリン	テトラサイクリン系
CTX	セフォタキシム	第3世代セファロスポリン系	CHL	クロラムフェニコール	フェニコール系
FEP	セフェピム	第4世代セファロスポリン系	NAL	ナリジクス酸	キノロン系
FOX	セフォキシチン	セファロスポリン系(セファマイシン)	CIP	シプロフロキサシン	フルオロキノロン系
IPM	イミペネム	カルバペネム系	FOM	ホスホマイシン	ホスホマイシン系
MEM	メロベネム	カルバペネム系	SXT	ST合剤	サルファ剤・葉酸拮抗剤
KAN	カナマイシン	アミノグリコシド系	SUL	スルファメトキサゾール	サルファ剤
GEN	ゲンタマイシン	アミノグリコシド系			

[結果]

血清型別：O抗原、H抗原の同定から、分離された全34株のうちSTは15株、4:i:-は19株であった。5年ごとの2期間に分けて血清型の割合を比較したところ、4:i:-が全体に占める割合は2011年～2015年の29%から、2016年～2020年の75%に大幅に増加していた（図1）。また、マルチプレックスPCR及びIS 200 PCRは全株で陽性となり、分離株はすべてST特異的遺伝子を有していた。

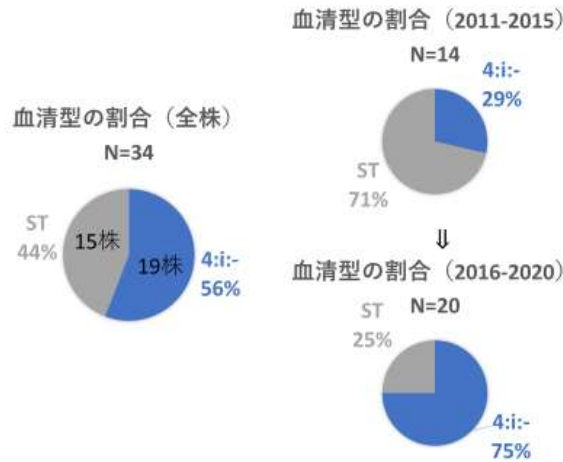


図1 血清型別 結果

系統解析：SNP 遺伝子型別の結果、分離株はすべて SNP3 型であった。

分子疫学的解析：1株を除いて同一の PFGE バンドパターンを示し（図2）、パターンの異なる1株はその他の菌株と比較してバンドの本数の相違が7本以上認められた。

薬剤感受性試験：ストレプトマイシンのみに耐性を示したのが1株、アンピシリン、ストレプトマイシン及びスルファメトキサゾールに耐性を示したのが30株、全薬剤に耐性を示さなかったのが3株であった（表2）。

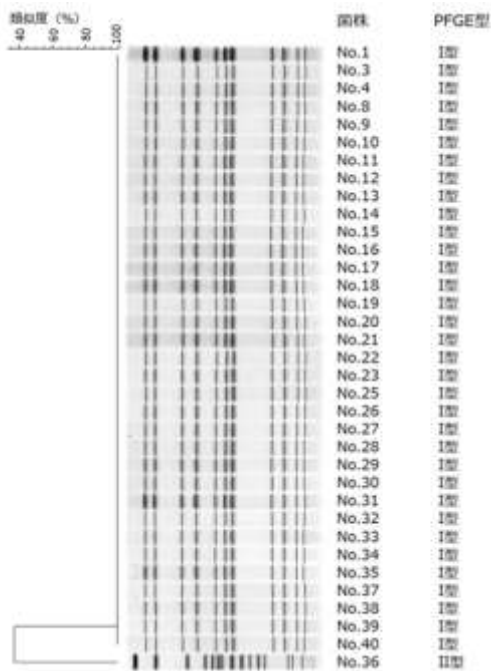


表2 薬剤感受性試験 結果

耐性パターン	株数
STR	1
AMP, STR, SUL	30
耐性なし	3
total 34株	

STR：ストレプトマイシン
AMP：アンピシリン
SUL：スルファメトキサゾール

図2 PFGE プロファイルの系統樹

[考察]

近年、全国的に 4:i:- の分離頻度が上昇しているが、A 及び B 農場でも同様の傾向がみられた。全国的に豚から分離される ST の SNP 型は 3 型と 9 型が大半で近年は 9 型が流行しており、また 3 型における 4:i:- の割合は約 7%であったとの報告³⁾があるが、A 及び B 農場で分離された ST はすべて 3 型であり、またその半数は 4:i:- で占められ、既報とは異なる傾向にあった。過去に何らかの経路で SNP3 型の ST が侵入し、以降、他 SNP 型の侵入はなく農場内で ST が独自に変異し H2 相の消失に至った可能性が示唆された。

PFGE パターンは 1 株 (II 型) を除くすべてが同一パターン (I 型) であった。Tenover らの判定基準⁸⁾に基づくと 2~3 本以内のバンドパターンの違いは近縁株と判定でき、A、B 農場ともに同一由来株が両農場内で維持されていると考えられた。II 型を示した 1 株については、バンドの相違数から他の菌株との間に疫学的な関連がある可能性は低いと思われた。また、1 株を除いてバンドパターンが同一であったことから、ST と 4:i:- は PFGE による識別が困難であると考えられた。

薬剤耐性パターンについて、全薬剤に耐性を示さなかった 3 株はすべて 2011 年に分離されたものであった。2011 年以降に分離された菌株は、1 薬剤のみに耐性を示した 1 株を除いて、すべて 3 薬剤に耐性を示し、A 及び B 農場で飼料添加しているアンピシリンが耐性化傾向にあることが示唆された。2011 年には薬剤耐性のない菌株が存在していたものの、次第に使用薬剤による薬剤耐性化傾向に向かったと思われる。また、PFGE で II 型を示した 1 株と薬剤耐性パターンで 1 薬剤のみに耐性を示した 1 株は 2019 年に A 農場で分離された同一株であり、これは何らかの経路で外部より新たに侵入した菌株であると考えられる。

解析の結果より、ST の薬剤耐性化傾向がみられたことから今後も A 及び B 農場における抗菌剤の慎重使用を徹底する必要がある。また、外部より新たに侵入したと思われる菌株の動向を注視するとともに、今後分離される菌株についても継続して調査を行いたい。

[謝辞]

解析にあたり、ご助言ご指導いただきました動衛研 腸管病原菌ユニット 楠本正博先生、玉村雪乃先生、新井暢夫先生に深謝いたします。

[参考文献]

- 1) Akiba M, et al.: J Microbiol Methods, 85(1), 9-15 (2011)
- 2) 秋庭正人: 平成 28 年度戦略的監視・診断体制整備推進事業 (病原体 (サルモネラ (4:i:-)) の収集・解析委託事業) 調査報告書 (2017)
- 3) Nobuo Arai, et al.: JCM, 56(5), e01758-17 (2018)
- 4) Echeita MA, et al.: J Clin Microbiol, 39(8), 2981-2983 (2001)
- 5) Stephen B. Gaul, et al.: JCM, 45(2), 472-476 (2007)
- 6) Susan B. Hunter, et al.: JCM, 43(3), 1045-1050 (2005)
- 7) 農研機構 動物衛生研究部門 細菌・寄生虫研究領域 腸管病原菌ユニット: サルモネラ (4:i:-) の同定法マニュアル (2017)
- 8) FRED C. TENOVER, et al.: JCM, 33(9), 2233-2239 (1995)

7 野生いのししの豚熱ウイルス遺伝子検査の効率化に関する考察

藤井晃太郎
東部家畜保健衛生所

【はじめに】

平成 30 年に国内の養豚場で 26 年ぶりに豚熱が発生し、富山県でも令和元年 7 月に野生いのししで豚熱ウイルス (CSFV) が確認されて以降、578 件の検査を実施し 80 頭の陽性が確認されている (令和 2 年 12 月末時点)。増加する野生いのしし検査に対応すべく、豚熱に関する特定家畜伝染病防疫指針 (以下、指針) において、野生いのししについてのみ電気泳動が不要で多検体処理が容易なリアルタイム PCR (以下、rPCR) が推奨されている。しかし、指針では rPCR は従来の PCR (以下、cPCR) よりも感度が落ちることや、初発事例では cPCR での再検査等を行うことが記載されており、慎重な運用が求められている。当所では rPCR キットと cPCR キットの内容を比較検討し、反応液の試薬数が少なく、操作が簡略化できることや、プライマーの標的が CSFV 固有の遺伝子配列であり、CSFV 以外のペスチウイルスを検出する恐れがないこと (表 1) などから、令和 2 年度から rPCR キットを実際使用している。このような中、複数の検体において、rPCR 反応の後半で不明瞭な増幅がみられるが、cPCR の再検査では陰性となる検体が一時期頻出し、判定に労力を費やした。

今回、rPCR の特性や実際の数値等を踏まえ、野生いのししにおける CSFV 遺伝子検査の効率的な運用について検討したので報告する。

表 1 rPCR キットと当所で使用する cPCR キットの比較内容

	rPCR キット	cPCR キット
反応液組成	試薬①プライマー、プローブ 試薬②逆転写酵素、ポリメラーゼ 等	試薬①②プライマー (F/R) (別途注文) 試薬③逆転写酵素 試薬④ポリメラーゼ 試薬⑤バッファー 試薬⑥水
プライマーの標的	CSFV 固有の遺伝子配列	ペスチウイルスの 5' 側非翻訳領域
抽出成否判定	豚の内因性遺伝子	牛ウイルス性下痢ウイルス抽出陽性対照
陽性判定	増幅曲線の検出	制限酵素処理によるバンドの切断確認
価格/検体	約 650 円	約 960 円

【当所のいのしし検査の概要】

当所では、冷凍保存した検体 1 週間分を週に 1 回の検査当日に遺伝子抽出、rPCR を実施している。令和 2 年度の捕獲いのしし血清を用いて実施した検査のうち、rPCR で CSFV 遺伝子陽性と判定した検体の Ct 値は 28.07 ± 8.10 (平均 \pm 標準偏差) ($n=22$) であった。また、当県で野生いのししの陽性事例が頻出していた時期に、複数の検体が rPCR で Ct 値 37 から 41 台の不明瞭な増幅曲線を示した (図 1、2) が、cPCR では陰性となった。

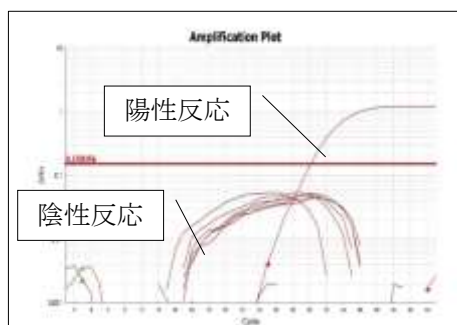


図 1 典型的な陽性・陰性時の増幅曲線

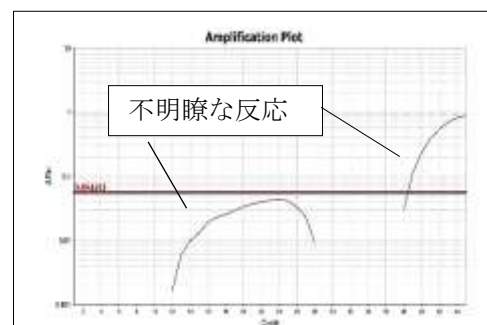


図 2 不明瞭な増幅曲線

[材料及び方法]

供試ウイルス：CSFV GPE-株 (10⁴TCID50/25ul)

野外検体：CSFV 遺伝子陽性野生いのしし血清 4 検体、
不明瞭な反応を示した野生いのしし血清 4 検体

rPCR キット：反応時間 1 時間 20 分 (45 サイクル)
(閾値、ベースラインの設定はすべて自動)

ウイルス核酸抽出キット：RNA と DNA の両方を抽出するもの

リアルタイム PCR 機種：QuantStudio® 5 リアルタイム PCR システム (サーモフィッシャー)

(1) 試験 1 rPCR キットの感度検証

当所の機器における rPCR キットの感度を検証するため、10 の 0 乗から -6 乗まで 10 倍階段希釈した CSFV GPE-株の rPCR を実施した。

(2) 試験 2 野外検体を用いた抽出前の処理方法の違いによる感度比較試験

非特異反応の低減を目的に検体量を減らせるか検証するため、野外検体とウイルス核酸抽出キットに付属しているタンパク質変性剤を用いて、通常対照を血清 200 μL、条件①を血清 100 μL 及び PBS100 μL、条件②を血清 100 μL 及び変性剤 100 μL として、凍結融解後に rPCR を実施して、血清の抽出前の処理方法の違いによる感度を比較した。

[結果]

(1) 試験 1 rPCR キットの感度検証

rPCR キットでは 10 の -5 乗までが検出可能であり、その Ct 値 36.69 まで明瞭な増幅曲線がみられた。一方、10 の -6 乗では増幅曲線は得られなかった (表 2、図 3)。また、参考として当所の cPCR で同様の検体を処理したところ、10 の -4 乗までのバンドを検出した (図 4)。

表 2 試験 1 の結果 (Ct 値)

希釈倍率	rPCR Ct 値	rPCR 検出	cPCR 検出
10 ⁰	20.94	検出	検出
10 ⁻¹	22.97	検出	検出
10 ⁻²	26.47	検出	検出
10 ⁻³	30.16	検出	検出
10 ⁻⁴	33.17	検出	検出
10 ⁻⁵	36.69	検出	非検出
10 ⁻⁶	—	非検出	非検出

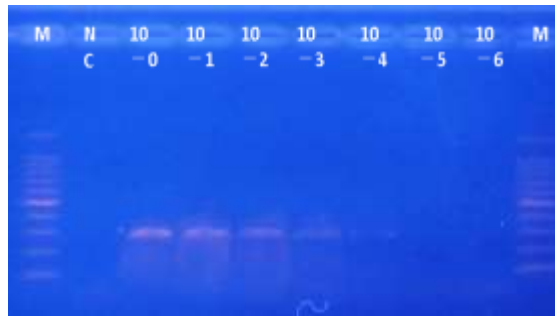


図 4 cPCR による検出結果

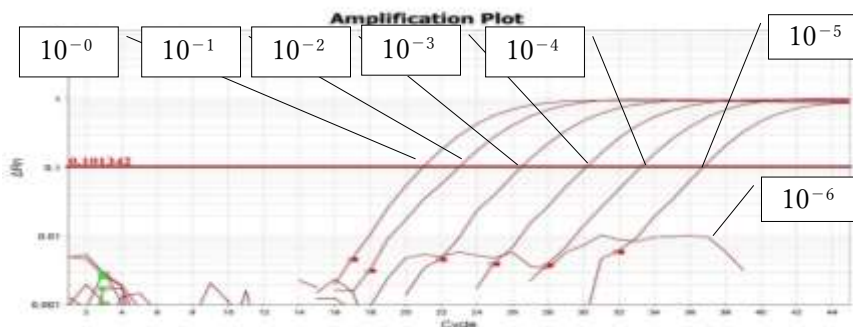


図 3 rPCR による増幅曲線

(2) 試験 2 野外検体を用いた抽出前の処理方法の違いによる感度比較試験

通常対照と比較して、条件①では 4 検体すべてがやや高い Ct 値を示した。また、条件②では 4 検体中 3 検体で通常対照よりもやや低い Ct 値となった(表 3)。

不明瞭な増幅曲線を示した血清 4 検体を条件②で rPCR を実施したところ反応はみられなかった。

表 3 試験 2 : 陽性血清における結果 (Ct 値)

	通常対照 血清 200 μ L	条件① 血清 100 μ L+PBS100 μ L	条件② 血清 100 μ L+変性剤 100 μ L
陽性血清 1	25.76	25.91	25.00
陽性血清 2	20.22	21.13	19.72
陽性血清 3	24.77	25.97	25.09
陽性血清 4	26.78	27.46	26.58

表 4 試験 2 : 不明瞭な増幅曲線を示した血清における結果 (Ct 値)

	条件② 血清 100 μ L+変性剤 100 μ L	過去反応時 血清 200 μ L
不明血清 1	非検出	37.16
不明血清 2	非検出	37.53
不明血清 3	非検出	37.68
不明血清 4	非検出	37.74

[考察]

指針では、遺伝子抽出の成否判定のため、CSFV と同じペスチウイルスである牛ウイルス性下痢ウイルスを陽性対照としておくこととされており、交差汚染に対して十分な注意が必要である。I 社の rPCR キットでは検体中の豚の特異的な遺伝子を検出することで遺伝子抽出の成否についても判断することができ、また CSFV 固有の遺伝子を標的にしており、CSFV 以外のペスチウイルスのコンタミネーションのリスクもなくなることから、手順や試薬の汚染リスクを低減することができ、cPCR の代替として、検査時間短縮以上の利点がある。

試験 1 の結果、rPCR キットで Ct 値 37 以上での検出はみられなかったことから野外検体における高 Ct 値は非特異反応の可能性が考えられ、再試験など慎重な対応が必要であると考えられる。

試験 2 の結果、通常量 200 μ L 対し、半分量の血清と PBS を混和した検体はやや高い Ct 値を示したが、変性剤を加えた検体は感度が高くなる傾向であった。これは検体が希釈されたことで検体中の PCR 阻害物質が半減したこと、変性剤により各種分解酵素が失活したことが感度向上につながったと考えられる。また、過去に rPCR で不明瞭な反応を示した検体においても条件②と同様の処理をしたところ、陽性反応はみられなかった。これは希釈により非特異反応の要因物質が半減した可能性もあるが、凍結融解により血清中に含まれるウイルスの力価が減少したことも考えられる。変性剤と混和することでウイルスは不活化されるため、生材料を扱う手順が減り、交差汚染のリスク低減も期待できる。

今後多くの野生いのししの材料を扱う中、リアルタイム PCR の活用は必須と考えられるが、Ct 値が 37 以上と高い検体では、コンタミネーション、非特異反応との区別は困難である。今回の結果をもとに再試験等の暫定値を定め、抽出前の検体処理にひと手間加えることで感度を保ちつつ、非特異反応や汚染リスクを低減し、正確かつ効率的に野生いのししにおける CSFV のリアルタイム PCR を運用できると考えられる。

8 採卵鶏農場で発生した鶏の豚丹毒菌感染症

木全綾、西村加奈、岡部知恵¹、本多秀次²
西部家畜保健衛生所、¹ 東部家畜保健衛生所、² 農業技術課

【はじめに】

豚丹毒菌感染症は豚丹毒菌 (*Erysipelothrix rhusiopathiae*: 以下 *E.r*) を起因菌とした感染症である。*E.r* の宿主域は広く様々な動物が感染し、保菌動物がいる環境中には広く分布する。鶏の豚丹毒菌感染症は敗血症による突然死を呈するとされているが⁵⁾ 国内での発生は少なく³⁾⁴⁾ ⁶⁾、病態やメカニズムについては明らかにされていない。今回、管内の採卵鶏農場にて、鶏の豚丹毒菌感染症が発生したので、その概要について報告する。

【発生概要】

令和 2 年 10 月 13 日、成鶏 76,100 羽および育成鶏 14,800 羽を飼養する採卵鶏農場の平飼鶏舎 1 棟で、356 日齢の死亡鶏が 2~3 日前から増加していると通報があり、同日立ち入り検査を行った。発生鶏舎は通路を挟んで左右で 5 区ずつ、計 10 区に分けられており、このうち、死亡および衰弱した鶏は右 4 区に限局していた (図 1)。

10 月 11 日~16 日の死亡率は 4.6% と上昇 (図 2) しており、10 月 1 日より 50 日間で発生鶏舎の鶏のうち約 20%、1,019 羽が死亡した。なお、10 月 13 日の立ち入り時に A 型インフルエンザ簡易検査を実施し、陰性を確認した。

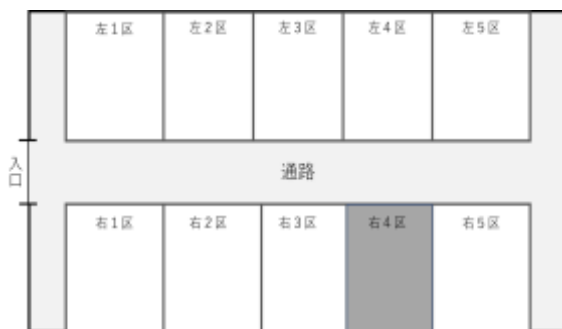


図 1 発生平飼鶏舎の見取り図

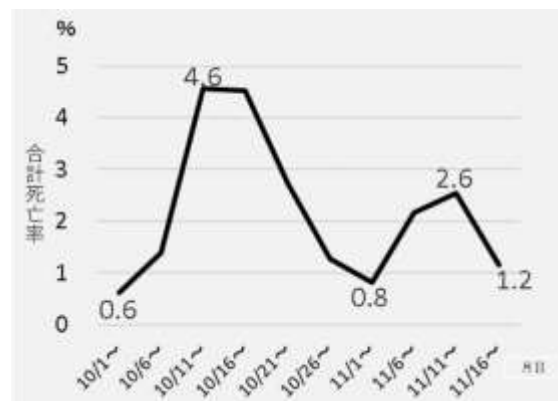


図 2 合計死亡率の推移

【材料と方法】

1 病性鑑定

1) 衰弱および死亡した鶏 12 羽 (No.1~12) について剖検し、以下の通り検査した。

2) 細菌学的検査

5 臓器、脳および卵巣を 5% 馬血液加寒天培地にて 37℃ 24 時間 5% 炭酸ガス培養を行った。分離された菌株はグラム染色を行い、簡易同定キットおよび *E.r* 同定用 PCR により菌種を同定した。さらに、白岩らの方法²⁾ に従い、血清型 1a,1b,2,5 について血清型別 PCR を実施した。

3) ウイルス学的検査

ニューカッスル病および鶏伝染性気管支炎ウイルスについて、No.1~4 の肺および腎臓に対し、発育鶏卵接種によるウイルス分離を実施した。

4) 病理組織学的検査

No.1~4 は常法に従い HE 染色を行い、特殊染色は No.1~4 の肝臓および腎臓について

PTAH 染色およびグラム染色を実施した。

5) 血液塗抹検査

No.1~3 についてライトギムザ染色によって血液塗抹標本を作製した。

2 浸潤状況検査

1) 細菌検査

発生鶏舎の鶏の血液、クロアカスワブおよび卵を Tween80 および 0.3% トリスアミノメタン加 BHI 液体培地にて 24~48 時間増菌培養後、CV アザイド培地にて分離培養を実施した。

卵およびクロアカスワブは 5 個を 1 検体にプールし、それぞれ 5 検体採取した。

2) 抗体検査

発生鶏舎の 10 月 19 日および 11 月 6 日採取の血清、未発生鶏舎で採取した血清、管内の未発生他採卵鶏農場にて採取した血清各 5 検体、計 30 検体について、標準株を用いた 2ME 処理後生菌凝集反応による抗体検査を実施し、幾何平均値で示した。

【結果】

1 病性鑑定

1) 剖検所見

肝臓、脾臓および腎臓の腫大が認められた個体が多く、下痢、卵胞出血および気嚢混濁が認められた個体も数羽いた (表 1, 図 3)。

表 1 剖検所見まとめ

No.	検体情報					菌分離	剖検所見						
	採材日	日齢	生死	品種	区画		肝臓腫大	脾臓腫大	腎臓腫大	卵胞出血	下痢	気嚢混濁	胸腔出血
1	10/13	356	生	ジュリア	右4	+	○	○	○				
2						+		○	○	○			
3						+		○	○	○			
4						+	○	○	○	○			
5	10/19	362	死	ジュリア	右1	+	○	○	○		○	○	○
6					右2	-							○
7					右3	+		○	○				○
8				右3	+		○	○				○	
9				もみじ	左2	-			○			○	○
10				もみじ	通路	+	○	○	○			○	○
11	12/22	426	死	ジュリア	左4	+	○	○	○				
12					左5	+	○	○	○				

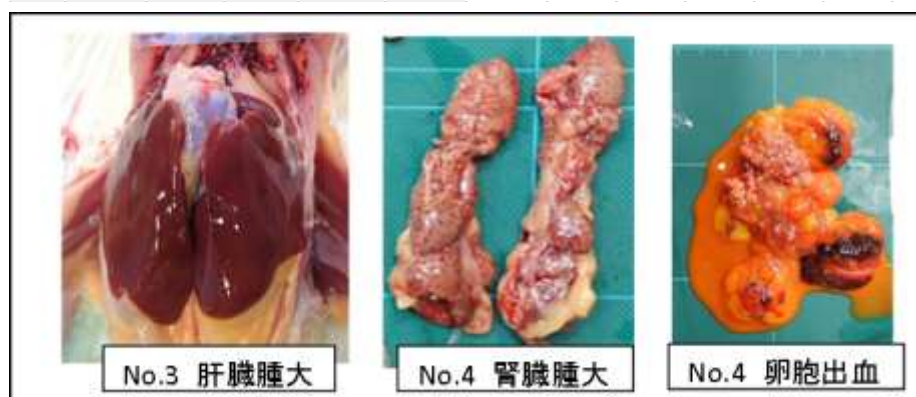


図 3 剖検所見写真

2) ウイルス学的検査

ニューカッスルウイルスおよび鶏伝染性気管支炎ウイルスは分離されなかった。

3) 細菌学的検査

12羽のうち、10羽（No.1～5,7,8,10,～12）の主要臓器等から微小透明コロニーを純培養状に分離し、グラム染色ではグラム陽性桿菌であった。分離株の同定キットおよび PCR の結果は *E.r* と一致した。また、分離された *E.r* の血清型はすべて 1b であった。

4) 病理組織学的検査

HE 染色では、No.1～4 に肝臓および脾臓において硝子様血栓が認められ、腎臓および肺の出血、化膿性心外膜炎、化膿性心筋炎、卵巣炎を呈する個体もいた（表 2）。さらに PTAH 染色では、肝臓の類洞にマクロファージの浸潤と硝子様血栓、脾臓では硝子様血栓を伴う組織球性脾炎がみられ、グラム染色では肝臓および脾臓にグラム陽性桿菌が認められた（図 4）。

5) 血液塗抹検査

血液塗抹に桿菌が認められた（図 5）。

表 2 病理組織検査結果

No.	硝子様血栓				腎臓出血	肺出血	化膿性心外膜炎	化膿性心筋炎	卵巣炎
	肝臓	脾臓	腎臓	肺					
1	○	○			○	○	○	○	
2	○	○			○	○	○		
3	○	○	○	○		○			
4	○	○			○			○	○

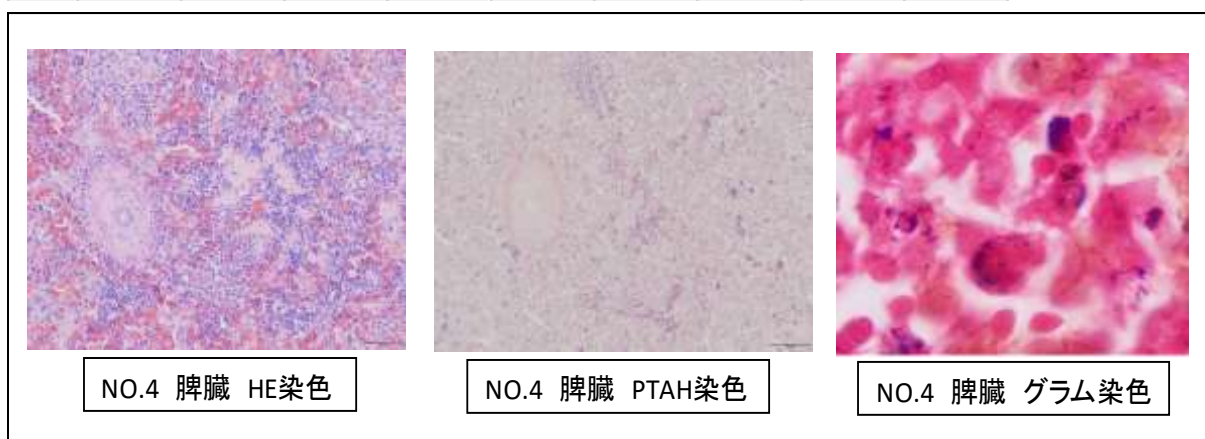


図 4 脾臓の病理組織所見および特殊染色結果

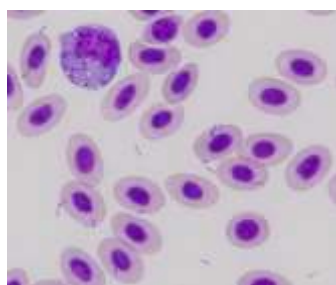


図 5 血液塗抹中に認められた桿菌

2 浸潤状況検査

1) 菌検査

死亡鶏のクロアカスワブのみ *E.r* が分離され、生体由来のクロアカスワブ、血液および卵から *E.r* は分離されなかった。また、左区からは分離されなかった (表 3)。

表 3 細菌検査結果

検体	区画	生死	検体数	24時間増菌培養	48時間増菌培養
卵	左		5	菌分離なし	菌分離なし
	右		1		
血液	左	生	3		
	右		2		
クロアカ	左	生	5		
			1		
	右	死	1	E.r分離	

2) 抗体検査

発生鶏群のみ抗体を保有する個体が存在したが、抗体価は低値だった (表 4)。

表 4 抗体検査結果

検査対象	採材日	幾何平均	検査羽数
発生鶏群(プレ)	10/19	1	各5羽
発生鶏群(ポスト)	11/6	4.6	
同居群(プレ)	10/19	1	
同居群(ポスト)	11/6	1	
未発生鶏舎	10/12	1	
未発生他農場	10/13	1	

※陽性基準:4以上

[考察]

病性鑑定結果より、*E.r* は主要臓器、脳、卵巣および血液中にも確認され、敗血症を起こしていたと言える。さらに、死亡率の上昇は顕著であり、*E.r* による症状が甚急性であったと考えられた。過去の報告では、マレック病および大腸菌症との混合感染も報告されているが²⁾、³⁾、本症例において混合感染は確認されておらず、環境等のストレスにより抵抗力が低下し、発症したと考えられた。その要因として右区では脱羽の顕著な個体が多く、ストレスで抵抗力の弱った個体が多かったことが挙げられた。

浸潤状況調査では、11月24日時点で左区からは *E.r* は分離されておらず、抗体を持った鶏も確認されなかった。しかしその後12月になると死亡鶏から *E.r* が分離されている。これらの結果から、右4区に *E.r* が侵入して感染拡大が始まり、12月に左区にも拡大したと考えられた。

今回鶏から分離された *E.r* の血清型は 1b であり、県内では過去に野生イノシシから血清型

1b の *E.r* が分離されている¹⁾。また、農場は山間部に位置しているが、農場を囲う電柵が壊れていた時期があり、野生イノシシの侵入痕があった。以上のことから、鶏舎外からの *E.r* の侵入にイノシシが関与した可能性が示唆された。さらに、今回の発生鶏舎は平飼鶏舎であり、鶏同士の接触が頻繁でエサトイ・水トイは多数の鶏が共有している。このことは感染拡大を招く一因になったと考えられた。

今回の発症には混合感染がなかったことから、環境等によるストレスが発症の要因と推測されるため、再発を防ぐためにはストレスを軽減する環境を整備する必要がある。エサトイの掃除、飲水消毒および死体の速やかな撤去を継続し、オールアウト時には鶏舎の洗浄・消毒・石灰塗布などの衛生対策を行うことが重要と考えられた。

採卵鶏で細菌性疾患が発生した場合、抗菌性物質は原則として使用できないため治療を行うことはできない。採卵鶏に限らず、感染症を蔓延させないためには病原体の畜舎内への侵入を防ぐことが重要となる。野生動物侵入防止や畜舎ごとの専用の長靴の設置などについて指導を継続し、発生予防に努めたい。

【参考文献】

- 1) 稲畑裕子ら：平成 28 年度富山県畜産関係業績集録, 9 - 1 (2017)
- 2) Shiraiwa,K.et al : Veterinary Microbiol.225, 101-104 (2008)
- 3) 渋谷増博ら：鶏病研究会報 第 17 巻、212 - 220 (1981)
- 4) 渋谷増博ら：鶏病研究会報 第 19 巻、125 - 131 (1983)
- 5) 高橋敏雄ら：鶏病研究会報、第 44 巻 37 - 45 (2008)
- 6) 別所理恵ら.: 鶏病研究会報 47 号、 229 - 235 (2012)

Ⅱ 広域普及指導センター

9 規模拡大する酪農経営におけるスマート農業技術の活用 ～ センサー & AI でGo To 省力化 ～

五箇大成、高平寧子

農業技術課広域普及指導センター、畜産振興班

[対象の概要]

『くろだ牧場株式会社（以下、くろだ牧場）』（富山市大山地区、乳牛：62頭（R2.2））は、これまで県内では中規模（県平均49.4頭/戸（R2.2））の酪農経営体であったが、令和2年10月に牛舎1棟（写真1）と堆肥舎2棟を新築し、令和3年度中には飼養頭数約220頭（R3.5現在：175頭）の北陸最大規模の酪農経営体となる予定である。*頭数は哺乳牛除く



写真1 新築した牛舎（内部）

『富山県立中央農業高等学校（以下、中央農業高校）』（富山市大山地区、肉用牛：32頭（R2.2））は、県内唯一の畜産関係の学科（動物科学コース、2年生11名、3年生7名（R2年度））を持つ農業高校で、卒業生は県内畜産の担い手となっている。（R1：1名、R2：2名が県内酪農経営体で就農）。

[普及活動の課題・目標]

くろだ牧場は、規模拡大に必要な労働力の確保のため、家族2名に加え、令和2年4月までに3名（うち1名は外国人技能実習生）を新規雇用した。加えて、令和2年春頃に外国人技能実習生2名を採用する予定であったが、新型コロナウイルス感染拡大に伴う入国規制のため雇用の目途が立たなくなり、国内での雇用も困難な状況にあった。

このため、令和2年10月以降の規模拡大に伴う労働力の不足により、牛の発情及び疾病の発見のための行動観察が十分に行えなくなることが予想された。そこで、スマート農業技術である「加速度センサーとAIによる牛の行動観察システム」を導入し、省力化に取り組むこととした。

また、スマート農業技術は、畜産経営にとって重要性を増していることから、今回の導入するシステムを活用し、中央農業高校の生徒を対象とした研修会等を実施し、県内の未来の畜産を担う人材の育成に取り組んだ。

[普及活動の内容]

(1) スマート農業技術の導入支援

ア 実証事業受託によるスマート農業技術の導入

県農業技術課が中心となり、くろだ牧場・中央農業高校・農業技術課畜産振興班・広域普及指導センターで構成するコンソーシアムを設立、『労働力不足の解消に向けたスマート農業実証（農研機構委託事業）』を受託（R2.6）し、くろだ牧場を実証農場として、牛の行動観察システム（写真2、3）を導入（R2.7～）した。



写真2 加速度センサーの装着

イ 牛の行動観察システム導入による省力化実証

毎月7日間、管理者の作業内容及び時間をタイムラプスカメラで記録し、算出した搾乳牛1頭当たりの行動観察時間とその成果指標である発情発見率から、システム導入による牛の行動観察の省力化を実証した（R2.6～R3.3）。



写真3 システムを利用した牛の行動データの把握

(2) スマート農業技術を活用できる人材の育成

ア 中央農業高校におけるスマート農業技術の試用

くろだ牧場のシステムの一部を中央農業高校に約4か月間貸し出し、同校の肉用繁殖牛（13頭）に装着し、生徒がシステムを試用し、研修に活用した。

イ スマート農業現地研修会の実施

中央農業高校動物科学コースの2、3年生を対象に、くろだ牧場において現地研修会を4回（R2.8～12、延べ29名）実施し、酪農におけるスマート農業の重要性、現場での活用状況について指導した（写真4）。



写真4 スマート農業現地研修

[普及活動の成果]

くろだ牧場では、令和2年10月の新牛舎完成後、外部からの初妊牛導入等により増頭しているところで、雇用も徐々に確保されつつある（図1）。

こうした状況の中、搾乳牛1頭あたりの行動観察時間は、増頭前の平均1.80分（6～9月）に対し、10月以降の増頭に伴い約50%減少し、平均0.90分（10～3月）となり、3月には約70%減少し、0.48分となった。一方、発情発見率は、システム稼働前の平均25.9%（4～7月）に対し、稼働後は7.5%ポイント向上し、平均33.3%（9～3月）となり、3月には51.1%となった（図2）。

この結果から、システム導入による牛の行動観察の省力化が確認できた。*8月はAIの学習期間なのでデータ除外

また、中央農業高校では、システム試用やくろだ牧場における現地研修会を通じ、畜産経営におけるスマート農業技術の重要性について、生徒の理解が深まった。

[今後の普及活動に向けて]

くろだ牧場では、今回導入したシステムにより、牛の行動観察の他、牛の個体管理（繁殖、疾病、治療、作業スケジュール、乳量・乳成分等）、牛舎環境（温湿度）データのPC、スマホによる一元管理が可能となった。今後は、クラウドを活用した管理者全員でのデータ共有と活用に取り組みたい。

農業高校生に対するスマート農業技術を活用できる人材の育成支援は継続しており、県立上市高校においても、スマート農業技術の研修会（農業関係学科2、3年生29名参加）を実施（R3.5）している。

また、新規就農者（R2.11就農）の酪農経営で、令和3年度1年間、このシステムを導入し、今回実証した省力化だけでなく、新規就農者の技術的補完と、関係機関による技術指導への活用実証にも取り組む予定である。

※ 今回紹介した活動・成果は、農林水産省「スマート農業実証プロジェクト（課題番号：【畜 wD03】、課題名：加速度センサーを用いた乳牛の行動観察の省力化の実証）」（事業主体：国立研究開発法人農業・食品産業技術総合研究機構）の支援により実施しました。



図1 管理頭数と管理者数の推移



図2 行動観察時間と発情発見率の推移

10 発育良好な和子牛の生産拡大に向けた取組み

田所百愛、蓑和誠也
農業技術課広域普及指導センター

[対象の概要]

富山県西部で約200頭規模の肉用牛（交雑種）を肥育している経営体（以下、A農場）においては、平成29年に新規就農者が加わって、新たに和牛繁殖（繁殖雌牛50頭規模）を開始することとした。この規模拡大に対応するため、畜産クラスター事業（国補事業）を活用して平成30年3月に繁殖育成牛舎1棟と哺育牛舎1棟を整備し、和子牛の安定生産を目指している。

[課題の背景とねらい]

和牛繁殖部門において和子牛を有利に販売するためには、発育を示す指標の一つである出荷時の日齢体重（体重/日齢）を大きくすることが重要である（図1）。しかし、和牛繁殖を開始した新規就農者は、和子牛生産に関する経験が少なく、市場評価の高い和子牛の発育となるか不安な状況であった。そこで、広域普及指導センターでは、A農場を広域重点プロジェクト活動計画の重点対象に位置付け、発育良好な和子牛の生産拡大に向けて飼養管理技術の向上に取り組んだ。

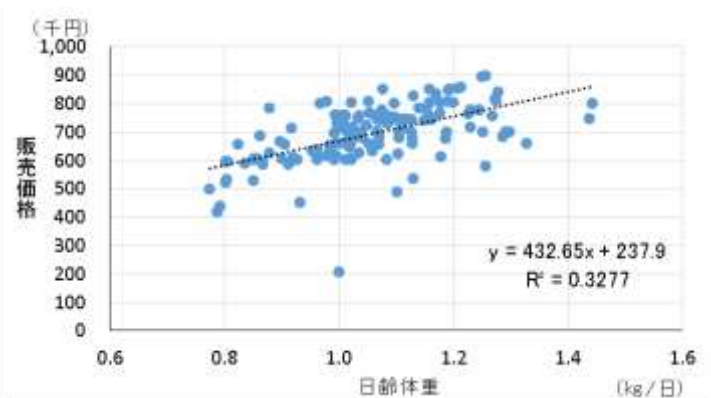


図1 出荷和子牛1頭当たりの日齢体重と販売価格の関係
(R3.4.22の北陸三県和子牛市場の出荷データを基に作成)

[普及活動の内容]

(1) 発育調査結果に基づく飼養管理改善指導

和子牛の発育が順調であるかを確認するため、平成30年6月以降毎月、西部家畜保健衛生所と連携し、和子牛の体重、体高を0か月齢から出荷月齢まで測定し、この結果を公益社団法人全国和牛登録協会による黒毛和種発育曲線（以下、発育曲線）と比較した（図2）。

加えて、体重と体高のバランスを明確にするため、個体ごとに発育状態をA～D群（A群：体重・体高ともに平均以上、B群：体高が平均未満、C群：体重が平均未満、D群：体重・体

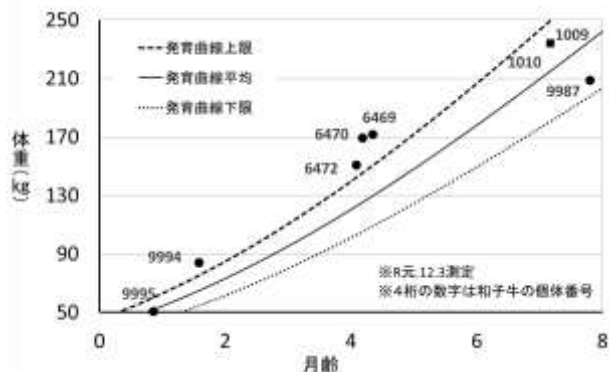


図2 黒毛和種発育曲線と体重測定値との比較

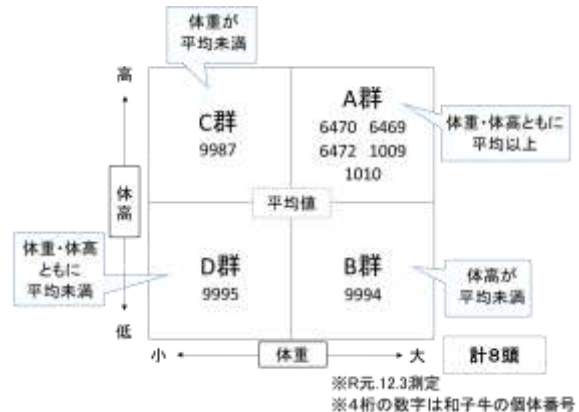


図3 体重と体高による分類

高ともに平均未満)に分類した図に加工して新規就農者に提供した(図3)。

これらを踏まえ、発育曲線の平均値を下回る和子牛については、原因として考えられることを話し合い、飼料給与や飼養環境の見直しなどを助言した。

(2) 繁殖雌牛用の自給飼料の生産と給与技術の習得支援

A農場では、自給飼料を利用して飼料コストの低減を図っているが、生産している飼料作物(スーダングラス)は、熟期が早いほど牛に有毒な硝酸態窒素の濃度が高くなる傾向があり、安全な飼料作物の生産と給与に向けた対応が必要であった。そこで、収穫前及びサイレージ調製後の飼料作物の硝酸態窒素濃度を測定し、ガイドライン(メリーランド大学)を基準に安全性を確認するとともに、ガイドラインに沿って硝酸態窒素濃度に留意した収穫時期や繁殖雌牛への給与量について助言した。

(3) 飼養頭数調査結果に基づく増頭支援

和子牛生産の基盤である繁殖雌牛の増頭程度を確認するため、飼養頭数を月1回程度調査した。その結果を基に、計画的な自家産和子牛、ET産子の選抜保留及び市場からの外部導入による増頭を働きかけた。

[普及活動の具体的な成果]

(1) 出荷和子牛1頭当たりの平均日齢体重の向上

出荷和子牛1頭当たりの平均日齢体重について、去勢は令和元年度の1.01kg/日から令和2年度には1.15kg/日に増加した。また、雌は令和元年度の0.93kg/日から令和2年度には1.03kg/日に増加した(図4)。いずれも広域普及指導センターで設定した目標値の去勢1.12kg/日、雌1.00kg/日を上回った。

(2) 出荷和子牛1頭当たりの対市場平均価格比の向上

出荷和子牛1頭当たりの対市場平均価格比について、去勢は令和元年度の105.1%から令和2年度には105.9%と0.8ポイント増加した。また、雌は令和元年度の87.6%から令和2年度には107.6%と20ポイント増加した(図5)。いずれも令和元年度に比べ令和2年度の方が向上しており、和子牛を有利に販売することができた。



図4 出荷和子牛1頭当たりの平均日齢



図5 出荷和子牛1頭当たりの対市場平均価

(3) 自給飼料の安全性の確保

収穫前の飼料作物を採材し、硝酸態窒素濃度を測定したところ、4276ppmと高濃度で「有毒であり給与してはいけない」と給与制限があるレベルだった。この結果を踏まえ、A農場では早刈りとならないよう注意し、高刈りするようした。その後、サイレージ調製後の濃度を測定

したところ、124ppm と「十分な飼料と水が給与されていれば安全」なレベルまで減少した。

(4) 和子牛の生産基盤の強化

繁殖雌牛の飼養頭数は、A農場の和子牛の中から選抜や保留したのに加え、子牛市場からの外部導入によって、令和3年3月時点では、44頭に増加し、令和3年度に繁殖雌牛を50頭規模にする目標に対し、88%まで増頭が進んだ(図6)。繁殖雌牛の飼養頭数の増加に伴い、和子牛の出荷頭数も増加し、生産が拡大しつつある。

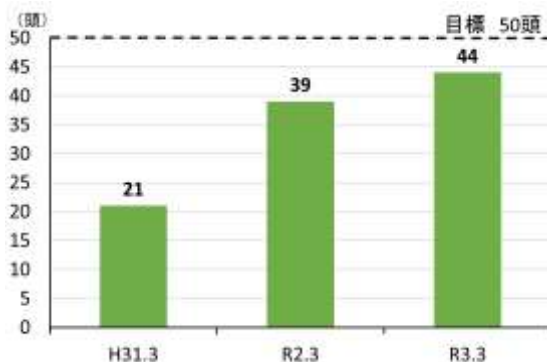


図6 繁殖雌牛の飼養頭数の推移

(5) 新規就農者の飼養管理能力の向上

新規就農者は、平成30年の和牛繁殖開始当初、広域普及指導センターなど関係機関から提示した発育改善等に向けた対応策を実施していた。しかし、現在は飼養管理の変更に伴う発育への影響を確認するためのデータ分析を広域普及指導センターに依頼するなど、自ら発育不良の原因を考え、改善策を検討するようになり、主体的な課題解決に取り組めるようになった。

[残された問題点と今後の対応]

A農場では、和子牛の安定生産を目指し、飼養管理技術の向上などに取り組んできたが、更なる和牛繁殖部門における経営基盤の強化を目指すには、繁殖雌牛群の改良を進める必要がある。今後は、繁殖雌牛の分娩間隔や血統等の経済効果を十分に検討し、加えて繁殖雌牛の育種価を活用した更新を働きかけていきたい。

[成果の波及]

新規就農者が繰り返し発育を確認することにより、自ら課題を把握・解決し、発育良好な和子牛生産が図られたことに加え、新規就農者の主体的な取り組みもみられるようになった。この普及活動の経験を基に、和子牛の出荷成績が低迷する経営体や、新規に和牛繁殖を開始する経営体に対する指導につなげたい。

今後、非接触の体型測定法が開発され、体尺測定等の労力負担が軽減されれば、発育調査結果に基づく飼養管理を改善する取り組みの波及がさらに期待できる。

Ⅲ 農林水産総合技術センター
畜産研究所

11 葛根湯残渣を活用した牛舎敷料利用

稲葉 真

農林水産総合技術センター畜産研究所

[目的]

おが粉は、敷料として吸水性や保水性に富み、畜ふんと混合した場合にその通気性が高められることから、多くの畜産農家で敷料資材として利用されている。

しかし、木材加工量の減少や取扱木材業者の廃業、バイオマス発電用燃料の需要増大などにより、おが粉の入手が年々困難になるとともに、販売価格も上昇傾向となっている。

このため、近年、飼養規模の拡大が進んでいる畜産農家にとっておが粉の必要量の確保や購入価格の上昇は、大きな負担となっており、おが粉の代替敷料資材の利用は喫緊の課題である。

そこで、これらの状況に対応するため、未利用資源である葛根湯残渣を敷料資材として活用できないか検討した。

[方法]

1. 性状性試験

供試材料は、葛根湯残渣、おが粉、もみ殻、葛根湯残渣とおが粉の容積比混合物を、1:1混合物(1+1)、1:3混合物(1+3)、1:5混合物(1+5)、1:8混合物(1+8)とした。容水量のみ乾燥葛根湯残渣を3ロット用いた。供試材料数は、供試材料1ロット当たり2反復~4反復行い、合計4ロット実施した。もみ殻のみ1ロット6反復行った。

水分量は、供試材料を、60℃で48~72時間乾燥させ、次の式から算出した。

水分量 (%) = {(乾燥前重量 - 乾燥後重量) / 乾燥前重量}

容積重は、次の様に算出した。10Lバケツを水道水で満タンにし、水道水分の重さ(kg)を容積(L)とした。また、10Lバケツに供試材料をすりきり一杯投入し、約30cmの高さから落下させ、減容した分の供試材料を追加し、この作業をもう1回行ったあと、供試材料の重量を測定した。

容積重 (g/L) = {供試材料の重量 (g) / バケツ容積 (L)} で算出した。

容水量は、次の様に算出した。洗濯ネット入れた供試材料を、バケツに貯めた水道水に24時間浸水させた後、篩の上で24時間開放し重量を測定した。

容水量 (%) = {浸水後供試材料の重量 (kg) / 浸水前供試材料 (kg)}

2. 抗菌性試験

供試材料は、葛根湯残渣と対照としてキムワイプを用いた。葛根湯残渣を、60℃で48~72時間乾燥させ、1mmに粉砕、121℃で20分滅菌し、再び60℃で一晩乾燥させたものを用いた。キムワイプは、約2.5cm×3.5cm角に切ったものを、0.4g±0.05gの重量毎に個包装し、121℃で20分滅菌し、60℃で一晩乾燥させたものを用いた。

菌吸収法は、日本工業規格の繊維製品の抗菌性試験方法を参考に、細菌数の定量は混積平板培養法で行った。使用菌株は、大腸菌(ATCC8739)と黄色ブドウ球菌(ATCC6538)の標準菌株を用いた。接種菌数は混積平板培養法で求めた。供試材料は滅菌済み50mlスクリー管に入れ、陽性コントロールには菌液のみで培養、陰性コントロールには、供試材料と滅菌蒸留水で培養した。1試験当たり3検体実施し、洗い出し液の希釈濃度は、1検体当たり2濃度2反復行い平均値を結果とした。供試材料1ロット当たり2反復行い、合計4ロット実施した。

3. アンモニア吸着試験

供試材料は、葛根湯残渣とおが粉を 60℃で 48～72 時間乾燥させ、1 mm に粉砕、121℃で 20 分滅菌し、再び 60℃で一晩乾燥させたものを用いた。気化アンモニアの調整は、20L テドラーバックに活性炭通気清浄空気を封入し、28%アンモニア水を 40 μl 注入した。このテドラーバックを 22℃の通風乾燥機の中で 18 時間以上放置した。

5L テドラーバックに供試材料を 2g±0.01g 入れて、ヒートシールを行った。気化アンモニアは 20L テドラーバックから 3L テドラーバックに移し、検知管を用いて初期濃度を測定したのち、供試材料封入テドラーバックに移し試験開始とした。陽性コントロールとして、供試材料を入れず、気化アンモニアを 3L 入れた空テドラーバックを用意した。

気化アンモニアを移してから、1 時間、3 時間、5 時間及び 24 時間後に、テドラーバック内のアンモニア濃度を検知管で測定した。アンモニア減少率 (%) は、{(空テドラーバック濃度－供試材料入りテドラーバック濃度) / 空テドラーバック濃度 × 100} で算出しアンモニア吸着能とした。1 試験当たり 3 反復行い平均値を結果とした、供試資材 1 ロット当たり 2 反復、合計 4 ロット、おが粉は、合計 3 ロット実施した。

4. 行動調査

飼養場所を 1 区画 14m²の牛房に改築し、4～5 か月齢の黒毛和種雌牛を 2 頭使用した。

供試敷料は、おが粉及び葛根湯残渣とおが粉を 1:5 (容積比) で混合 (1+5) し、各敷料を 140L 用意した。牛房の一方におが粉 (おが粉区) を他方に 1+5 (1+5 区) を投入し、1 週間毎に敷料交換を行い、敷料交換時におが粉区と 1+5 区の場所を入れ替えた。

牛の位置を 30 分毎に 4 週間監視カメラで観察し、おが粉区と 1+5 区及び窓側と通路側の 1 日毎の滞在割合を算出、4 週間で 1 調査とし、4 回調査を行った。調査毎に使用する牛は入れ替えた。

5. 供試牛の発育調査

行動調査に供試した子牛の 10 か月齢までの増体の推移は、月 1 回実施する体測結果を用いた。

[結果]

1. 性状性試験結果

水分量は、葛根湯残渣では 72.2%と高く、おが粉の混合割合を高くすることで水分量が減少していった (図 1)。一般的に敷料として用いられるおが粉やもみ殻は、9.4%と 10.2%であった。容積重は、葛根湯残渣で、602.9g/L と水分量が多いためかなり重かった (図 2)。容水量は、葛根湯残渣では 134.3%とほとんど保水性がなく、おが粉は、454.4%と保水性が高かった (図 3)。もみ殻、1+1 と 1+3 は、195.2%、186.0%と 233.2%と 1+3 でもみ殻を上回る保水量であった。

2. 抗菌性試験結果

葛根湯残渣は、大腸菌と黄色ブドウ球菌を 24 時間で不活化させ、生菌は認められなかった (表 1)。また、コントロールしてキムワイプを用いた試験結果では、24 時間後に、大腸菌で接種菌の 7,147 倍に、黄色ブドウ球菌で接種菌の 11,097 倍に増殖した。陰性コントロールの培養では、細菌は検出されなかった。

3. アンモニア吸着試験結果

葛根湯残渣及びおが粉において、気化アンモニアが 1 時間で 85.1%と 80.6%と大幅に減少し、

24 時間で 99.5%と 97.7%減少した(図 4)。このことから、アンモニア吸着能は、葛根湯残渣とおが粉ともに同程度であった。

4. 行動調査結果

滞在割合は、おが粉区 54.4%、1+5 区 45.6%とおが粉区に有意な差が、窓側 44.8%、通路側 55.2%と通路側に有意な差が認められた(図 5)。

5. 供試牛の増体調査

行動調査期間中及び調査後において、全国和牛登録協会の発育推定値の下限を下回ることはなかった(図 6)。

[考察]

葛根湯残渣単独で敷料として利用するには、水分量が高く、容水量が低いことから、おが粉と混合することで敷料として利用できる水分量及び容水量を検討した。敷料として使用するにあたり、水分量が 50%を下回り、容水量がもみ殻より大きい葛根湯残渣とおが粉の混合割合である、1+3、1+5 及び 1+8 が候補として考えられた。その中で 1+5 と 1+8 は水分量 41.2%と 32.6%と確実に 50%を下回る値であり、容水量においては、1+3 と 1+5 の有意差は、 p 値=0.009 と有意な差があり、1+5 と 1+8 の有意差は、 p 値=0.4486 と有意な差がなかったことから、容水量が多く、より多くの葛根湯残渣を使用する 1+5 が適当であると考えられた。

抗菌効果は敷料として利用する必須条件ではないものの、抗菌性試験で、24 時間後の生菌数は、グラム陰性菌である大腸菌及びグラム陽性菌である黄色ブドウ球菌ともに 0 個/vial と高い抗菌効果が認められ、敷料として利用するにあたり大きなアピールポイントとなった。

アンモニア吸着試験では、おが粉と同程度のアンモニアの吸着が認められた。おが粉にはアンモニア吸着能があり脱臭槽の資材としての利用が報告されている。葛根湯残渣によるアンモニアの減少理由は明らかではないが、乾燥滅菌していることから、水への溶解、硝化菌や酵素による分解は考えにくく、葛根湯残渣に吸着しているものと推測される。

行動調査では、1+5 区よりおが粉区を好むものの、葛根湯残渣の有無に係わらず通路側を好む結果もでた。1 頭で居るより 2 頭で寄り添ったり、寂しいため作業者が通る通路側に寄ったり、個々の子牛の性格等理由が考えられるが、本調査では、極端に葛根湯残渣を避ける行動は認められなかった。また、行動調査後の子牛の増体は、全国和牛登録協会の発育推定値と照らし合わせても、下限体重を下回る事無く、平均体重前後を推移していることから、本調査に用いた葛根湯残渣による影響は認められなかった。

このことから、葛根湯残渣を敷料に利用することは可能であると考えられる。

* 本研究はクラシエ製薬株式会社から葛根湯残渣の提供を受け実施したものである

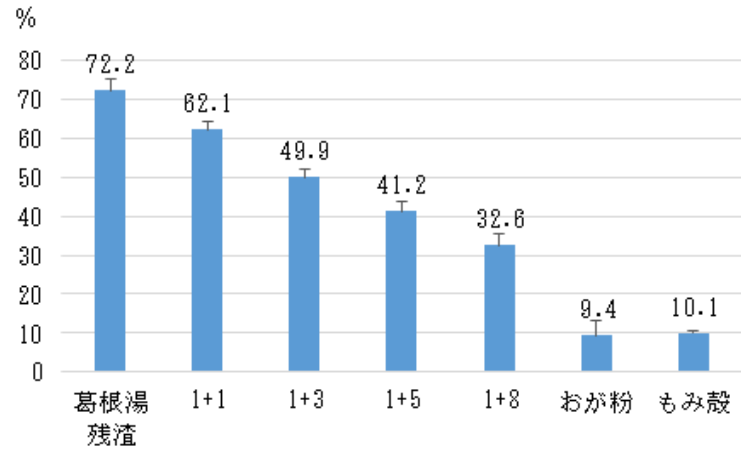


図1 各資材の水分量

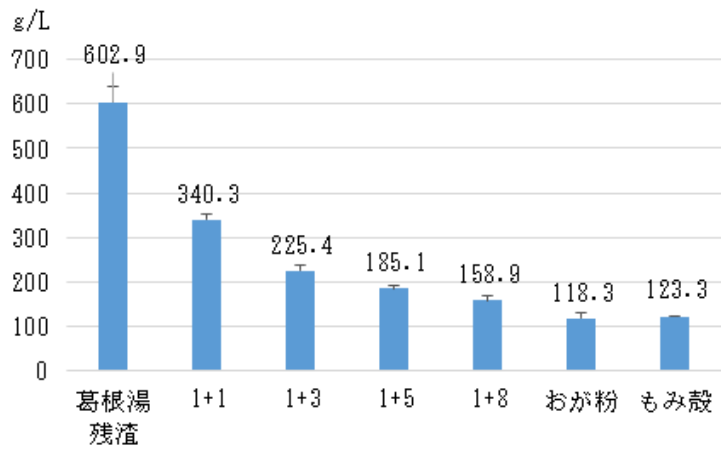


図2 各資材の容積重

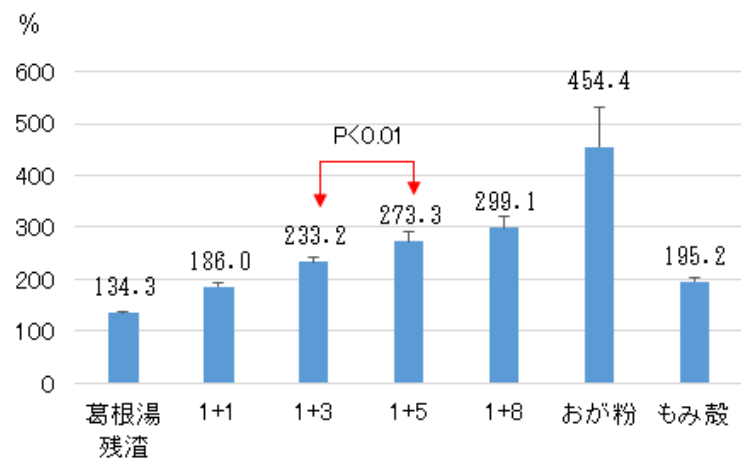


図3 各資材の容積量

表 1 抗菌性試験

乾燥粉碎滅菌葛根湯残渣		生菌数 (個/vial)	細菌増殖割合
大腸菌	接種菌数	4.15×10^4	0
	24h 培養後	0	
黄色ブドウ球菌	接種菌数	2.85×10^4	0
	24h 培養後	0	
葛根湯残渣なし (空バイアル)		生菌数 (個/vial)	細菌増殖割合
大腸菌	接種菌数	4.15×10^4	7,147
	24h 培養後	2.97×10^8	
黄色ブドウ球菌	接種菌数	2.85×10^4	11,097
	24h 培養後	3.16×10^8	
滅菌キムワイプ		生菌数 (個/vial)	細菌増殖割合
大腸菌	接種菌数	3.75×10^4	2,518
	24h 培養後	9.45×10^7	
黄色ブドウ球菌	接種菌数	3.49×10^4	952
	24h 培養後	3.32×10^7	

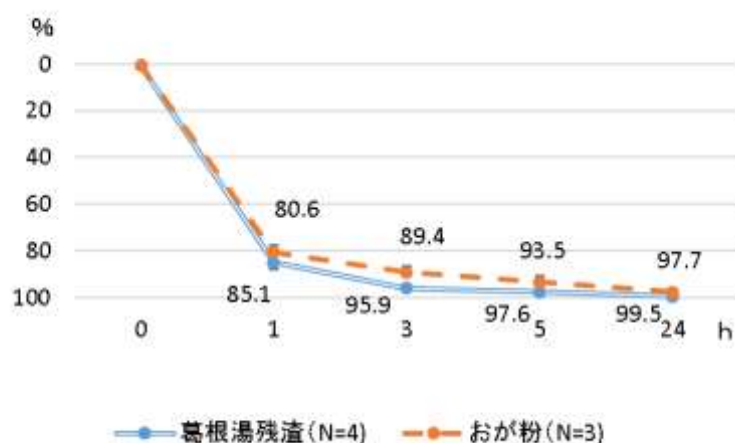


図 4 アンモニア減少率の推移

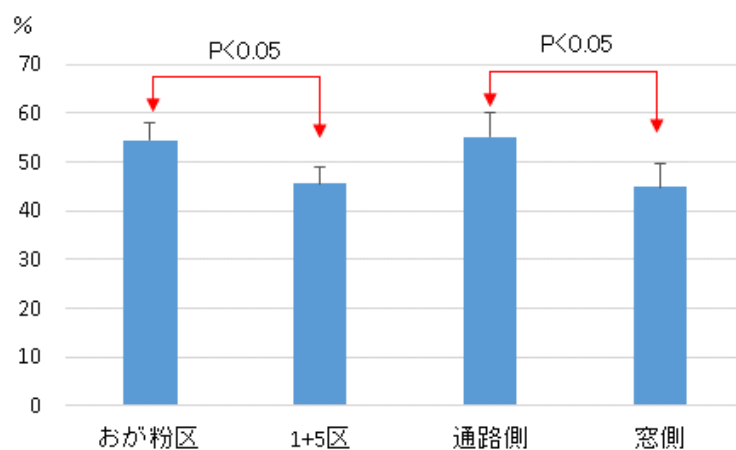


図 5 行動調査の滞在割合

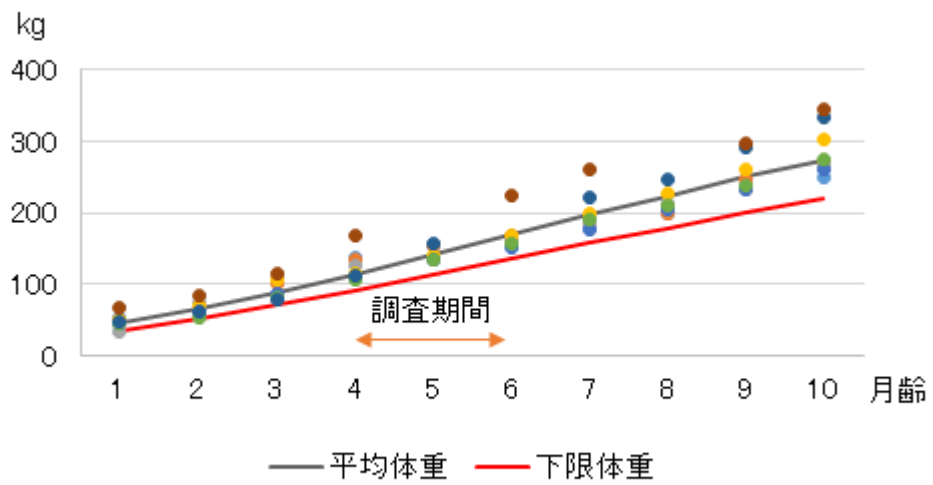


図 6 供試牛の増体の推移

令和2年度
富山県畜産関係業績集録

発行 富山県農林水産部農業技術課
〒930-8501 富山市桜橋通り5番13号
TEL 076-444-3289