

平成28年度  
福井県畜産技術業績発表集録  
( 第1部, 第2部 )



福井しあわせ元気国体2018  
第73回 国民体育大会 織りなそう 力と技と美しさ

福井県家畜保健衛生所

## 目 次

### 第 1 部

- 1 “見せる” “分かる” “面白い” を心掛けた高病原性鳥インフルエンザ防疫演習  
の試み 武田佳絵・・・ 1
- 2 *Salmonella Infantis* による牛サルモネラ症が発生した酪農団地における清  
浄化対策 朝倉裕樹・・・ 6
- 3 一酪農家における繁殖成績改善への取り組み 小林崇之・・・ 12  
その移植成績
- 4 経営継承した一酪農家の夢をかなえるために 生水誠一・・・ 17

### 2 第 2 部

- ◎ 5 *Cryptosporidium parvum* が関与した子牛下痢症の発生とその対策  
武野侍那子・・・ 20
- 6 *Pasteurella multocida* が分離された牛乳房炎の発生事例  
清水誠也・・・ 28
- 7 一肉牛肥育農家で発生した牛鞭虫病と浸潤状況調査 山崎俊雄・・・ 34
- 8 豚の流行性脳炎の発生と抗体保有状況調査 岡田真紀・・・ 39

○ 第 58 回東海北陸ブロック家畜保健衛生業績発表会選出演題

◎ 第 58 回全国家畜保健衛生業績発表会（平成 29 年 4 月 18、19 日東京都にて開催）  
選出演題

1 “見せる” “分かる” “面白い” を心掛けた高病原性鳥インフルエンザ防疫演習の試み  
家畜保健衛生所 武田佳絵 朝倉裕樹

はじめに

高病原性鳥インフルエンザ（HPAI）は国際獣疫事務局の診断基準で HPAI ウイルスと判定される A 型インフルエンザウイルス感染による鳥類の疾病で、家きんで発生すると家畜伝染病予防法に規定の特定家畜伝染病防疫指針 [1] に基づく殺処分等、ウイルス封じ込めのための速やかな防疫措置を実施しなければならない。平成 16 年以降、国内で HPAI が断続的に発生しており、万が一の発生に備え、県では毎年、関係機関と連携した HPAI 防疫演習（防疫演習）を実施している。前年度までの防疫演習では防護服着脱、捕鳥・殺処分および車両消毒の個々の実演を実施してきたが、参加者から防疫措置従事者（従事者）が招集されてから解散するまでの全体の流れが分からないという意見が寄せられ課題となっていた。そこで、今年度の防疫演習を少しでも有意義なものとするべく、従事者に関する動画を作成し、その動画を活用して全体の流れを感じる防疫演習および消毒ポイント研修会を試みたので、その概要を報告する。

動画作成のポイント

動画は、①見せる：従来の静止画のスライドではなく動画で、演習全体の流れに沿って、②分かる：飽きずに集中して視聴できる 10 分程度の映像時間で、手順説明をテロップ表示し、③面白く：説明のナレーションや、場面を印象付ける BGM を入れることで退屈させない、この 3 つの観点で作成した（図 1）。

動画では複数名が同時に動いており、個人の動きだけでなく集団としての動きを見ることができる（図 2）。

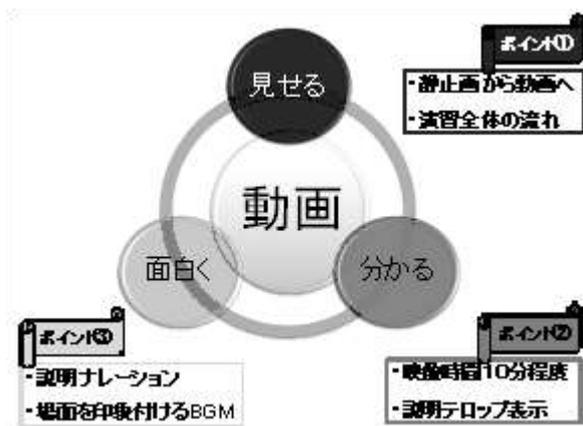


図 1 動画作成のポイント



図 2 動画の一場面と作成ポイント

動画の出演者、撮影者、編集等はすべて家畜保健衛生所（家保）職員で実施した。撮影には LUMIX DMC-G5、編集ソフトはムービーメーカーを使用した。

動画は従事者が主に作業にあたる場所となる①発生農場および②消毒ポイントの 2 種類を作成した。

従事者の動画①発生農場について

当県では、招集された従事者は指定された健康診査（健診）会場に集合し、作業前の健康診査（事前健診）を受診後、専用バスで発生農場入口まで移動し、発生農場入口テント（入口テント）で防護具を着衣後、農場内で家畜防疫員の指示の下作業を行う。規定の作業時間が過ぎると、入口テントで防護具を脱衣後に専用バスで健診会場に戻り、作業後の健康診査（事後健診）を受診後に帰宅することとなる。作成した動画①では、従事者が事前健診を終えてから、事後健診を受けるまでを作成した（図 3）。

動画は、各場面で区切りを入れ、見たい場面から再生しやすい構成とした（図 4）。動画の主な内容は、1. 健診会場での 1 枚目防護服着用・携帯品の預け、2. 入口テントでの 2 枚目の防護服や手袋等の着用、3. 発生農場での殺処分手順・作業終了後の従事者の全身消毒、4. 入口テントでの外側の防護服や手袋等の脱衣・うがい手洗い、5. 健診会場での内側の防護服脱衣・携帯品の受け取りとした。また、防護服の着脱等を補助するサポート班を配置し、その動きについても併せて作成した。

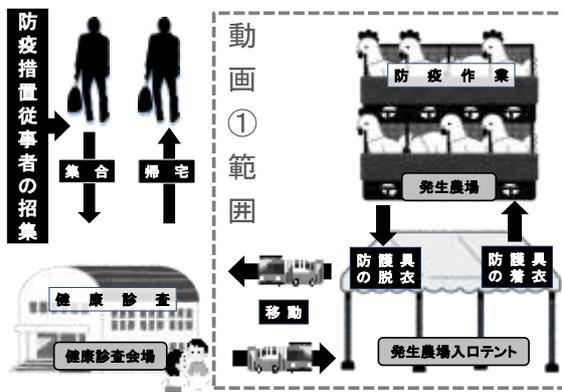


図 3 動画①発生農場の作成範囲

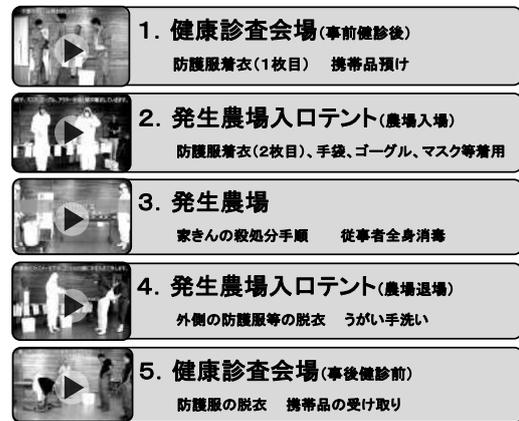


図 4 動画①発生農場の構成

動画①を活用した防疫演習について

作成した動画①を活用して防疫演習を実施した（図 5）。今年度の新たな試みとして、健康福祉部の各機関協力の下、演習参加者 123 名を従事者と想定し、健診の実演を行った。また、会場の所在地の市役所に会場手配の協力をお願いした。演習会場ではステージ付きの体育館内を、健診会場、入口テント、発生農場と想定し（図 6）演習を行った。

平成28年度鳥インフルエンザ防疫演習

1. 日時  
平成28年7月5日(火)13:00-16:45
2. 場所  
農業者トレーニングセンター(あわら市国影)
3. 開催協力機関  
県 農林水産部(生産振興課、坂井農林総合事務所、家畜保健衛生所)  
健康福祉部(健康増進課、地域福祉課、各健康福祉センター)  
あわら市
4. 参加者  
市町、畜産関係団体、県建設業協会、中日本高速道路株式会社、陸上自衛隊、県警本部、農林水産省、近隣県、県(各課所属機関の防疫措置従事者\*等)  
\*平成28年度鳥インフルエンザ防疫職員リストに掲載されている職員

図 5 防疫演習の開催状況

最初に参加者は、到着した順に受付を兼ねて健康福祉部の職員による事前健診を受け、健診が終わった人から、講習の開始時間となるまで、繰り返し何度も動画①を視聴してもらい、実演前に予備知識を付けてもらった(図7)。講習終了後、動画①各場面に合わせて、家保職員と畜産若手職員および参加者の中選出した数名が実演を行った。図8は事前健診後から発生農場での作業(殺処分方法手順)まで、図9は発生農場での作業終了後の従事者全身消毒から、事後健診を受けるまでの実演を示しており、矢印の順に移動する流れのある実演とした。また、サポート班を配置し、入口テントでの防護服着脱の補助や、作業後の従事者全身消毒作業の動きも併せて実演した。この実演を行うことで、事前に視聴した動画との相乗効果により理解が深まった。実演終了後には、参加者は事後健診を受けてもらった順に解散とし、それと並行して動画①を再度繰り返し再生することで、復習の視聴とした(図10)。



図6 演習会場のHPAI時想定配置

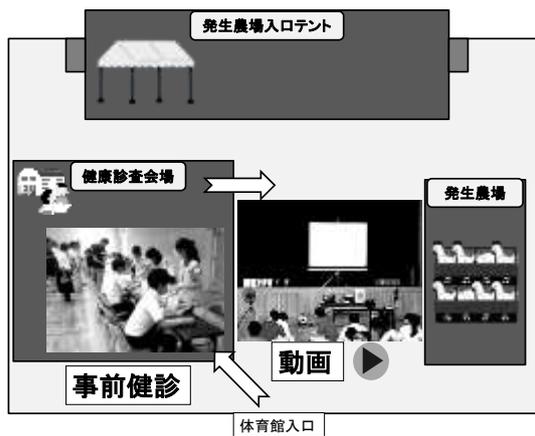


図7 防疫演習の構成①

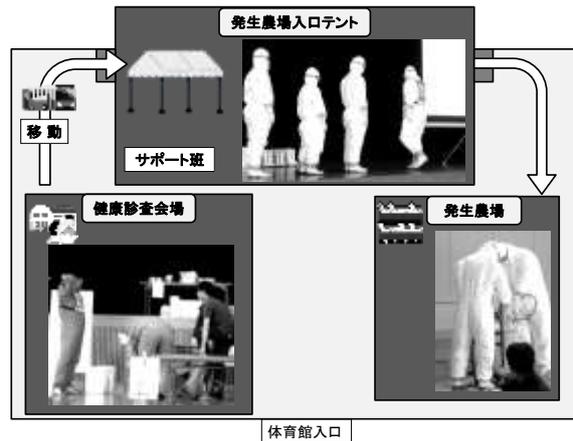


図8 防疫演習の構成②

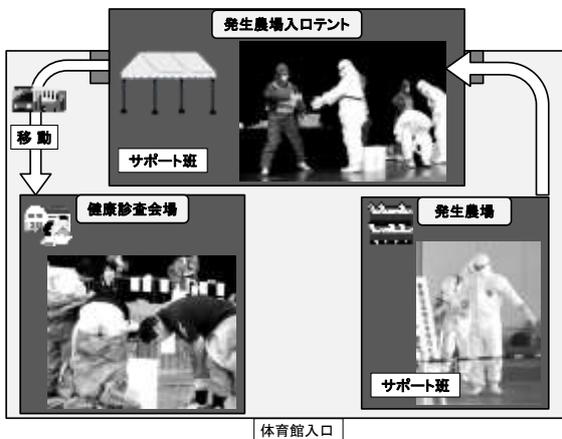


図9 防疫演習の構成③

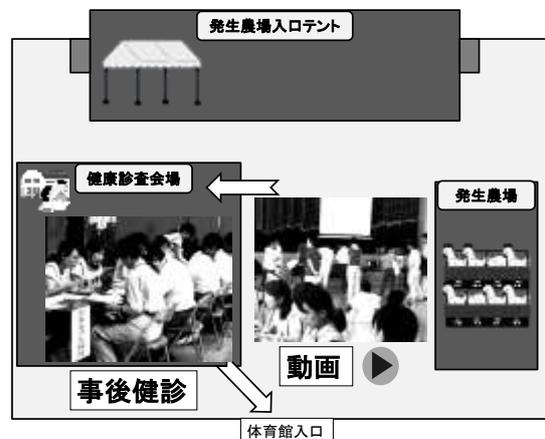


図10 防疫演習の構成④

### 消毒ポイント研修会について

畜産関係車両等の消毒のために設置される消毒ポイントの作業については、従事者として動員予定の職員から、分かりにくいという意見が特に多く寄せられていたので、平成 27 年度から消毒ポイントに特化した研修会を開催している。平成 28 度は消毒ポイントに関する動画を作成し、それを活用することで理解が深まる研修会となるよう試みた。

### 従事者の動画②消毒ポイントについて

消毒ポイントの動画では、1. 消毒ポイントの資機材の運搬や配置の例示、2. 動力噴霧器の始動・停止方法、3. 車両誘導、車両消毒、事務処理の消毒作業流れについて動画を作成した（図 11）。



図 11 動画②消毒ポイントの構成

### 消毒ポイントにおける防疫対応研修会

1. 日時  
平成28年10月28日(金)13:30-15:30
2. 場所  
県家畜保健衛生所
3. 開催協力機関  
県 農林水産部(生産振興課、家畜保健衛生所)  
土木部(土木管理課)
4. 参加者  
県(各農林総合事務所、嶺南振興局、各土木事務所)  
県ベストコントロール協会

図 12 研修会の開催状況

### 研修会の構成とアンケート結果

動画②を活用して研修会を、参加者 30 名で開催した（図 12）。講習後に動画を視聴してもらい、予備知識を付けたうえで、消毒作業の実演を行った。実演終了後には、今後の参考とするためアンケートを実施した（図 13）。アンケートでは回答者の 97%が、内容がよくまたはおおむね理解でき、有意義な研修会であったという回答が得られた。



図 13 研修会の構成

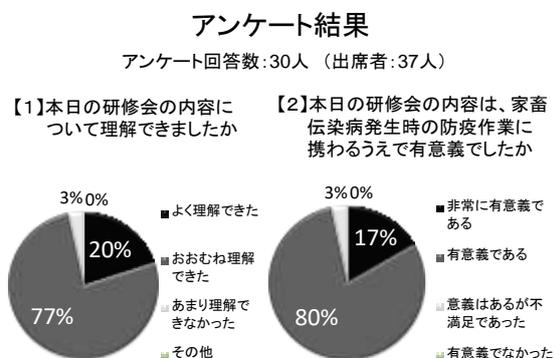


図 14 研修会のアンケート結果

また、自由意見では、「より多くの人にこの研修会をうけてもらおうとよい。」という意見もよせられた (図 14)。

#### まとめ

“見せる” “分かる” “面白く” を心掛けた動画は、事前に視聴した後に実演を行うことで、その相乗効果により従事者の理解を深めることができた。アンケートでは回答者の 97%が内容を理解でき有意義な研修会であったとの回答を得ることができた。動画のナレーションや BGM は参加者を飽きさせず、また、10 分程度の映像時間で繰り返し視聴可能なことも演習内容の理解に有効と考えられた。従事者の動画は、健康診査実施者やサポート班の動きも併せて確認することができた。動画の配布希望があり、県外（北陸農政局、岐阜県等）や県内各機関へ配布を実施している。今後も関係機関と連携して万が一の発生に備えるため防疫演習を実施するとともに、養鶏農家と協力しながら HPAI 発生防止に努めていきたい。

#### 引用文献

- [1] 高病原性鳥インフルエンザ及び低病原性鳥インフルエンザに関する特定家畜伝染病防疫指針

2 *Salmonella Infantis* による牛サルモネラ症が発生した酪農団地における  
清浄化対策

家畜保健衛生所 朝倉裕樹 武野侍那子

はじめに

*Salmonella Infantis* (以下 SI) は、人におけるサルモネラ食中毒において、近年上位を占める血清型であるとともに、畜産の飼養現場では、鶏、牛からの分離の報告がされている [1]、[2]、[3]。また、牛においては偽膜を伴う血便、水溶性下痢、流早死産等の病状を示すことが知られ、このことから家畜衛生上、食品衛生上重要な血清型となっている。

平成28年9月に管内の一酪農団地における2牧場で飼養されている牛が呈した血便から SI が分離され、浸潤調査をしたところ、2牧場において広範囲に汚染が確認されたため、その清浄化に向けた取組を実施したので、その概要を報告する。

発生概要

発生した酪農団地は、市道を挟んで A、B、C の3牧場で構成されており、牛舎の基本構造は同じで、片側20頭の対頭式タイストール牛舎となっている。また、使用する機械は個人持ちであるが、格納庫は共同で使用している。団地の給水は地下水を用いており、酪農団地内の牧場主間の往来はほとんどない状況であった。今回 SI による牛サルモネラ症が発生したのは、A、C 牧場の2牧場であった (図1)。

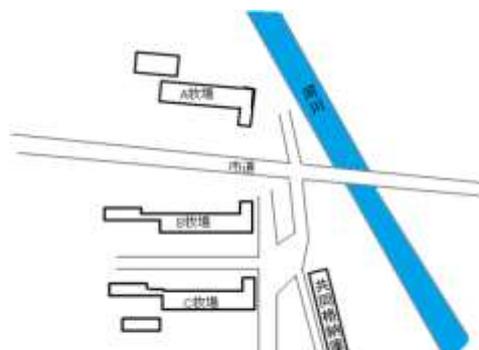


図 1 発生酪農団地配置図

表 1 A、C 牧場の概要

項目		A牧場	C牧場
浸潤状況調査時の飼養頭数	成牛	18頭	33頭
	子牛	16頭	7頭
	計	34頭	39頭
後継牛の確保		導入 自家育成	育成牧場
労働力		2名	3名

発生牧場のうちA牧場の浸潤調査時の飼養頭数は成牛18頭、子牛16頭の34頭であり、C牧場は成牛33頭の子牛7頭の39頭であった。後継牛確保については、A牧場は県外導入と自家育成を行っており、C牧場は県営育成牧場を利用していた。労働力はA牧場では夫婦2名であり、C牧場は主となる後継者である息子と父、母の3名であった (表1)。

SI の分離は A 牧場では平成28年9月7日に血便を呈した子牛の糞便から、C 牧場では同年9月9日に発熱、下痢を呈した頭の成牛の糞便からであった。分離された SI の性状は、血清型別の H 抗原第一相、第二相が A 牧場分離株と C 牧場分離株で逆の他は生化学性状、薬剤感受性ともに一致した (表2)。

表 2 A、C 牧場における SI 分離の概要と性状

		A牧場	C牧場
発症日		H2897	H2899
牛の症状		血便を呈した子牛	熱、下痢を呈した成牛2頭
分離したSIの性状			
生化学性状(ap20E)		6704752 <i>Salmonella</i> spp	
血清型別 (O抗原:H抗原第1相:第2相)		O7:1,5:r	O7:r:1,5
薬剤感受性	感性	AMP, ABPC, CEZ, OTC, DOXY, CP, ST, FOM, OXANA, OFLXの11薬剤	
	中間	KM, GM, CLの3薬剤	
	耐性	SMの1薬剤	

### 浸潤調査

牧場内の SI 浸潤状況を確認する浸潤調査は A 牧場では平成28年9月13日、C 牧場では平成28年9月14日に実施し、併せて共同格納庫におけるハトの糞便の採材を平成28年9月13日に3検体、同年9月14日に1検体分採材した。

#### (1) 材料および方法

飼養牛全頭の直腸便 A 牧場34検体、C 牧場39検体および共同格納庫に巣食っているハトの糞便4検体をハーナテトラチオン酸塩培地で37°C24時間増菌培養した後、ノボピオシン加 DHL 寒天培地で37°C24時間培養した。環境材料は、A 牧場は飼槽4か所、馬栓棒4か所、通路3か所、ウオーターカップ18か所、長靴2検体、バルク室入り口2か所について、C 牧場は飼槽4か所、馬栓棒5か所、通路3か所、ウオーターカップ20か所、長靴、靴3検体、バルク室入り口2か所、敷料3か所の拭き取り材料を緩衝ペプトン水で37°C24時間培養した後、直腸便等と同様の方法で培養した。分離した黒色コロニーについては、市販の簡易同定キットを用いた生化学性状検査とサルモネラ抗血清による血清型別で SI であることを確認した。

#### (2) 結果

A 牧場では SI による症状を示す牛は見られなかったが、直腸便34検体中17検体 (50%) から SI から分離された。環境では全ての材料種で分離され33検体中20検体 (61%) SI 分離であった (表3)。

C 牧場では下痢、血便、発熱等の症状を示す牛が散見され、直腸便39検体中25検体 (69%) から SI が分離された。環境では全ての材料種で40検体中39検体 (98%) から SI 分離され、A 牧場よりも高度に浸潤が認められた (表4)。

ハトの糞便では4検体中1検体から SI が分離した。

表 3 A 牧場における SI 浸潤調査結果

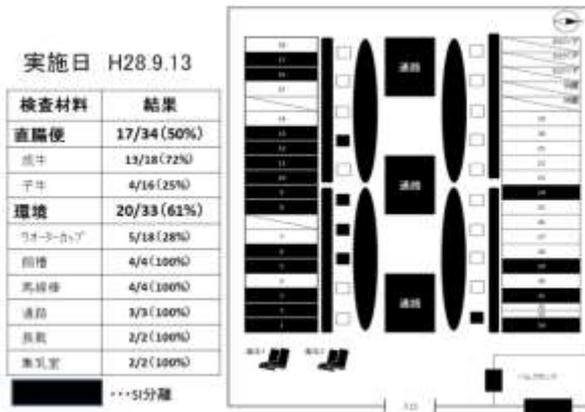
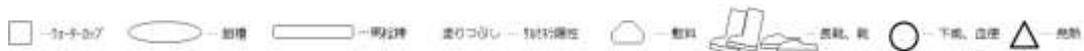
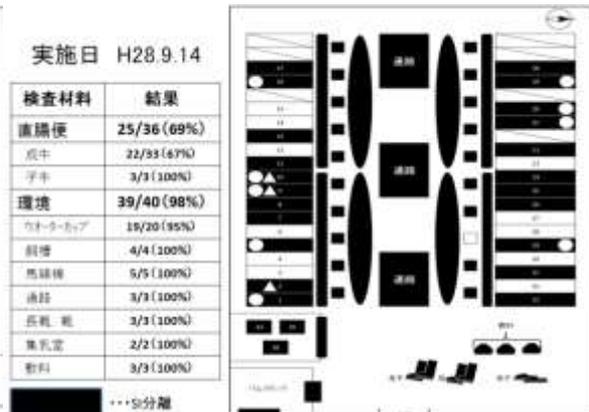


表 4 C 牧場における SI 浸潤調査結果



SI の株識別

病性鑑定、浸潤調査で得られた SI 分離株12検体 (A 牧場分離株6検体、C 牧場分離株5 検体、ハト糞便分離株1検体) をパルスフィールドゲル電気泳動法により株識別した (表 5)。その結果、供試株12検体全てが同一切断パターンを示したことにより本事例で分離された全ての SI 分離株 は同一由来と考えられた (図2)。

表 5 SI 株識別対象検体一覧

方法  
 ・パルスフィールドゲル電気泳動法 (PFGE)  
 ・使用制限酵素 : Xba I , Bln I  
 供試株  
 12株 (A牧場分離6株、C牧場分離5株、ハト糞便分離1株)

No.	牧場	由来	No.	牧場	由来
1	A	成牛直腸便	7	C	成牛直腸便
2	A	成牛直腸便	8	C	子牛直腸便
3	A	飼槽拭取	9	C	飼槽拭取
4	A	長靴拭取	10	C	敷料
5	A	子牛直腸便	11	共同	ハト糞便
6	A	子牛直腸便	12	C	子牛直腸便

実施: 農研機構動物衛生研究部門

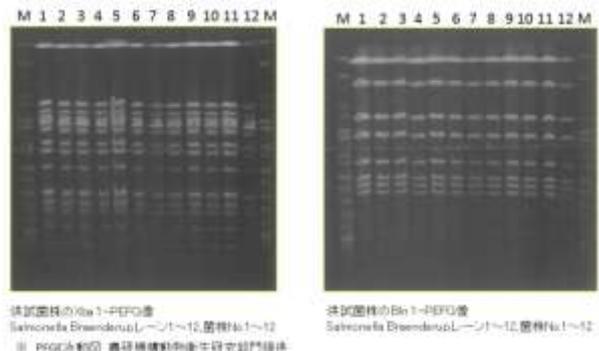


図 2 PEFG 泳動図

清浄化対策

A、C 両牧場において SI が広く浸潤していたことから、畜主、家畜保健衛生所 (家保)、普及指導員 (普及) および診療獣医師が協力し合い SI 清浄化へ向けた対策を実施した。

(1) 共同格納庫における対策

共同格納庫へ石灰乳塗布を行い消毒した後、ハトが侵入しないようにネットを用いた対策を実施した。A 牧場は格納庫の周囲をネットで囲みハトが入らないようにした一方、C 牧場はハトが侵入する格納庫の天井の梁にネットを張り、ハトの侵入を防ぐ対策を行った (図3)。



図 3 共同格納庫ハト対策



環境8検体中36検体（22%）と大幅に SI 浸潤度が下がった（図5）。

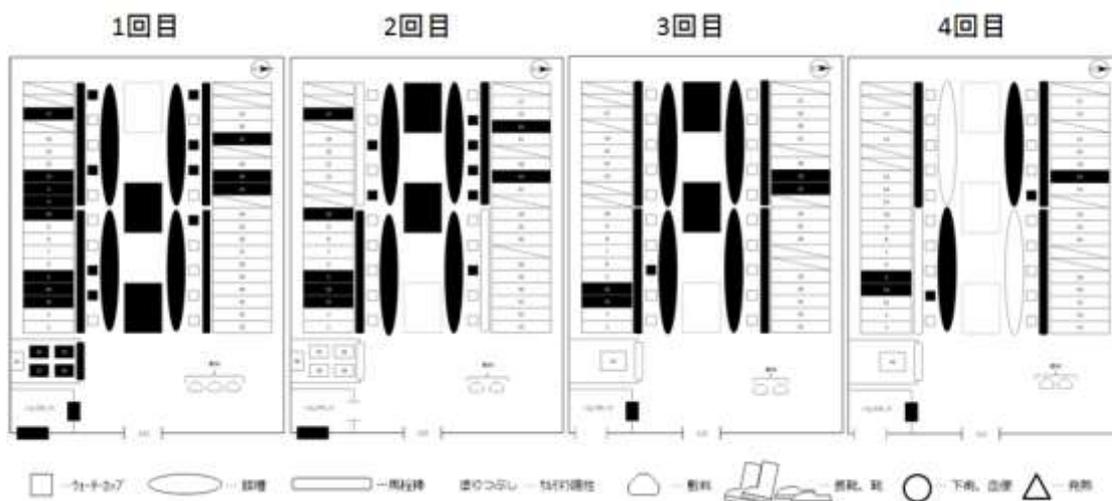


図 5 C 牧場浄化調査

### 考察

浸潤調査時の浸潤度は、A 牧場では飼養牛の排菌率50%、環境分離率62%に対し、C 牧場では飼養牛の排菌率69%、環境分離率98%といずれも C 牧場の方が高く、また症状のある牛が複数確認されたことや消石灰踏込消毒槽の設置数が A 牧場が四隅に4つに対し、C 牧場は1つという踏込消毒槽の設置の違い（図6）等が、A 牧場と C 牧場の清浄化の進展度合いの違いとして現れたと推察された。

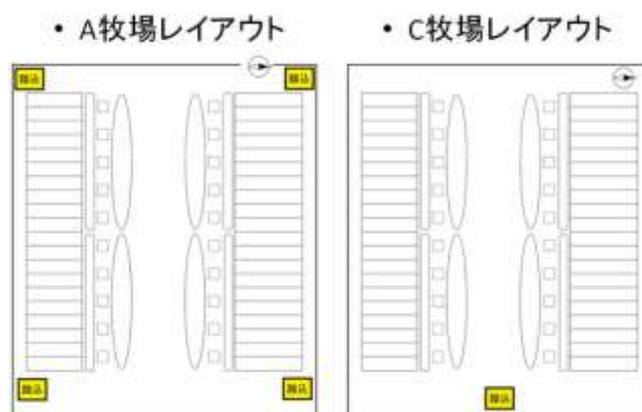


図 6 踏込消毒槽設置レイアウト

### まとめ

A、C 牧場およびハトの糞便から分離された SI は生化学性状、PFGE などから同一由来であると考えられた。

また、当該酪農団地の共同格納庫のハトの糞便から SI が分離されているため、両牧場へ伝播にはハトの糞便の関与が重要な役割を持っていると推察された。さらに、SI 清浄化の取り組みの中で、通路への消石灰踏込消毒槽を4隅に置く方が、SI の拡散を抑えるのに大きな効果があると思われた。このことは、早期の清浄化へは排菌をしている飼養牛を生菌剤で除菌するとともに、環境の消毒が重要であることを示唆された。

このことから、野生動物の侵入防止と清掃消毒を主体とした飼養衛生管理の徹底と生菌剤の投与を継続することで SI の清浄化が可能であることが推察された。

今後も畜主、家保、普及および診療獣医師の関係者で協力して SI 清浄化対策を実施していくことで当該酪農団地における SI 清浄化達成を目指したい。

**参考文献**

- [1] 国立感染症研究所 病原微生物検出情報
- [2] 鶏病研究会編 日本畜産振興会：鶏卵・鶏肉のサルモネラ全書
- [3] 佐藤博ら 日獣会誌69 475～480 (2016)
- [4] 武野侍那子ら 平成25年度福井県業績発表会抄録
- [5] 加藤信正ら 平成16年度福井県業績発表会抄録
- [6] 野元孝子ら 平成27年度静岡県業績発表会抄録

#### 4 一酪農家における繁殖成績改善への取り組み

家畜保健衛生所 小林崇之 朝倉裕樹

はじめに

家畜保健衛生所では、市町の担当者、開業獣医師および農林総合事務所と連携して、管内の酪農家に対し1回/月の繁殖管理技術指導を実施しており、酪農家の繁殖成績の安定・向上に努め経営安定を図ることを目的としている(図1)。今回、一酪農家において繁殖成績の改善依頼があり、その改善に取り組んだのでその概要を報告する。

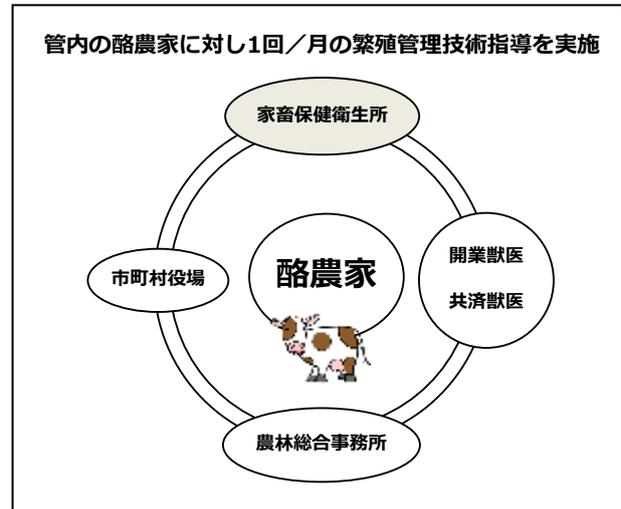


図1 繁殖管理技術指導

対象農家

依頼のあった酪農家は、繋ぎ飼い牛舎で飼養頭数33頭(平成28年6月時点)。父、母および後継者である息子の3人で管理を行っていた。牛舎作業のうち繁殖関係および飼料給与を担当している息子から「いくら種付けしても受胎しない。なんとかしてほしい」と相談があった。詳しく確認したところ、「昨年、10月ごろから受胎しない。」「発情はわかるけど・・・。」「人工授精(AI)はしているがつかない。」「タイミングがわからない。」「受精卵移植を依頼してもできないことが多い。」などであった(表1)。そこで農家、農林総合事務所とともに検討会を実施し、現状調査を行った。

表1 後継者からの相談内容

- 昨年、10月ごろから受胎しない(気がする)
- 発情はわかるけど・・・
- 人工授精(AI)はしている・・・
- AI後、陰部が緩い(タイミングがわからない)
- AIの手技は何も変えてない
- 受精卵移植を依頼してもできないことが多い。

現状及び対策

##### 1. 受胎率

平成27年1月から平成28年6月までの受胎率の推移を調査したところ、平成27年1月から9月(9ヶ月)までの受胎率は37.0%(10/27頭)、平成27年10月から平成28年6月(9か月間)までの受胎率は17.6%(12/68頭)とかなり低下していることが判明した。

しかし、受胎頭数は 10 頭から 12 頭と増加していることから、平成 27 年 10 月以前では受胎率自体は悪くないが、AI 回数は少ないこと、発情が確認できないことなどの問題があったと考えられた。しかし、10 月以降では受胎率自体は悪いが、受胎頭数は増加していることや発情は確認できていることから、AI 回数を減らすことなく受胎率を改善する必要があると考えられた (図 2)。

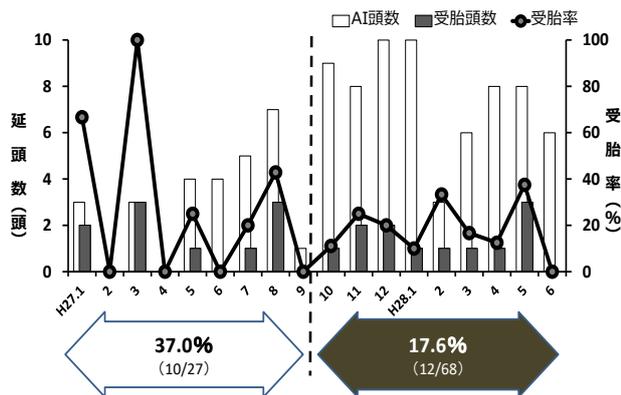


図 2 受胎率の推移 (H27.1 から H28.6 まで)

## 2. 牛群状況

牛群状況を調査した結果、飼養頭数 33 頭、平均産次数 2.55 産、受胎頭数 12 頭で妊娠牛の割合は 36.4% (12/33 頭) であった。また不受胎牛の分娩後日数は、分娩後 100 日以上で不受胎の牛が多く存在しており、1 年以上空胎である牛は 4 頭いることが判明した (表 2)。

## 3. 経産 JMR

経産 JMR (Jours Moyen Retard) とは、経産牛において受胎に要する日数の目標 (初産牛：分娩後 80 日、2 産目以降：分娩後 60 日) を設定し、その目標に対して受胎が遅れてしまった日数を平均したもので、農家の繁殖の傾向が最も早期に現れる技術指標といわれている [1]。またその数値が高いほど経済的損失が大きく、低いほど少ないとされている。当該農家の平成 28 年 6 月の経産 JMR は、91 で福井県全体の平均 51 (H28.6) より高く、牛群の繁殖遅延による経済損失 (経産 JMR × 1,500 円 [1] × 飼養頭数) は、4,500,000 円であった。

表 2 牛群個体データ

牛コード	産次数	分娩後日数	空胎日数	妊娠	分娩予定月
2215	1	26			
2118	4	30			
2192	2	35			
2191	2	37			
2212	1	41			
2146	4	48			
7020	1	88			
4095	5	132			
2209	1	143	67	+	H29.1
2206	1	155	103	+	H29.2
2207	1	165			
0303	5	182			
7025	1	205			
2143	4	208			
2160	3	227			
4770	6	249			
2198	1	275			
2150	3	279	37	+	H28.8
2196	1	280			
2165	3	286	155	+	H28.11
2173	2	290	73	+	H28.8
0307	5	302			
2203	1	308	106	+	H28.9
2202	1	312	270	+	H29.2
2015	3	327	99	+	H28.8
2179	2	327	223	+	H28.12
0304	5	333	301	+	H29.3
7519	7	366			
2171	2	374	206	+	H28.10
2189	1	453			
2134	3	456	274	+	H28.10
2181	1	586			
2157	1	1021			

#### 4. 対策

調査の結果、当該農家は、①受胎率が 17.6%と低い、②妊娠牛の割合が 36.4%と低い、③経産 JMR が 91 と高く経済損失が大きいため早急な対応が必要であったことから、関係機関および農家と対策について協議した。その結果、当初、飼料内容の変更を含めた対策を考えたが、これから夏場に向かうことから暑熱の影響がなくなってから飼料内容を変更することとし、飼料の変更はしないこととした。次に早期の不受胎牛の摘発、妊娠牛の早期把握、発情不明瞭な牛の検診などを目的に月 1 回の繁殖検診を月 3 回に変更することとした。また、受胎促進と明瞭な発情回帰を促すことを目的に AI した全ての牛に対し、AI 後 5 日目から 19 日目までに腔内留置型黄体ホルモン製剤（CIDR）を装着することとした。最後に空胎期間が 365 日以上の子牛は、優先的に淘汰していくこととした。

#### 結果

##### 1. 受胎率

対策に取り組んだ結果、平成 28 年 7 月から 12 月（6 か月）までにおける受胎率は、AI 延頭数 36 頭中 11 頭が受胎し、受胎率は 30.6%と約 20%の改善が認められた（図 4）。

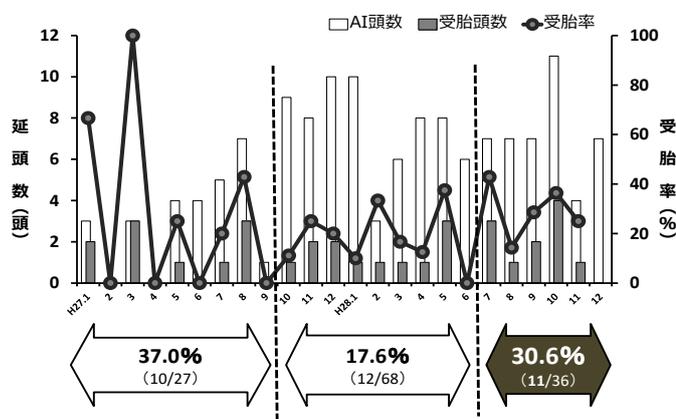


図 4 受胎率の推移（H27.1 から H28.12 まで）

##### 2. CIDR の効果

今回の試験において 1 頭における CIDR の使用回数は 1 回から 5 回までであった。CIDR 使用回数ごとの受胎率は、CIDR 1 回目 21.1%（4/19 頭）、2 回目 40.0%（4/10 頭）、3 回目 40.0%（2/5 頭）、4 回目 0%（0/1 頭）、5 回目 100%（1/1 頭）であった。1 回目の受胎率より CIDR 2 回目、3 回目の受胎率が改善する傾向にあった（表 2）。

表 2 CIDR の使用回数ごとの受胎率

CIDR 使用回数	受胎率	受胎頭数/AI 頭数
1 回	21.1%	4/19 頭
2 回	40.0%	4/10 頭
3 回	40.0%	2/5 頭
4 回	0	0/1 頭
5 回	100%	1/1 頭

### 3. 妊娠牛割合

対策前の妊娠牛割合は 36.4% (12 頭/33 頭) であったが、対策をした結果、妊娠牛の割合は 50.0% (15 頭/30 頭) に改善した (表 3)。

	H28.6時点	H28.12時点
飼養頭数 (経産牛)	33頭	30頭
受胎頭数 (経産牛)	12頭	15頭
妊娠牛割合	36.4%	50.0%

### 4. 経産 JMR

経産 JMR は、平成 28 年 7 月をピークに徐々に減少し、11 月には 38 まで減少したが 12 月には 52 に上昇した (図 5)。

### 5. 経済効果

経産 JMR が 91 から 52 に改善したことから、当該農家における繁殖遅延による経済損失は 4,500,000 円から 2,340,000 円に改善したことから、CIDR の費用約 70,000 円を差し引いても約 2,100,000 円の経済効果があったと考えられた (表 4)。

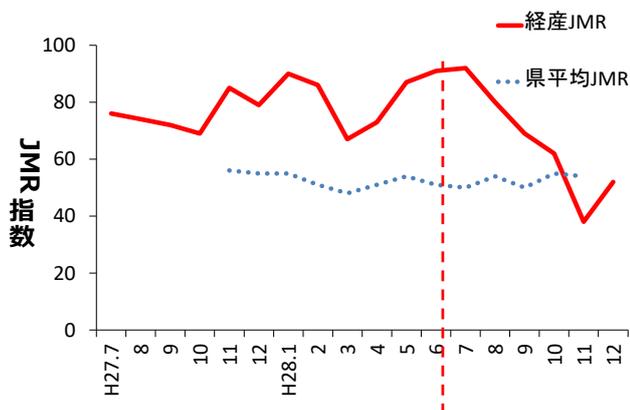


図 5 経産 JMR の推移

まとめおよび今後の対応

今回、繁殖成績改善に取り組んだことで受胎率は 17.6% から 30.6% に改善した。Mehni SB らは、定時 AI 後 5 から 19 日目までの 14 日間 CIDR の装着した結果、受胎率が改善したと報告している [2, 3]。今回も同様に AI 後早期に CIDR を用い P4 濃度を向上することで、胚の発育を促進し、受胎率改善につながったと考えられた。また CIDR の使用回数ごとの結果では、1 回目が 21.1%、2 回目 40.0%、3 回目 40.0% と 1 回目よりも 2 回目、3 回目のほうが受胎率は改善する傾向にあった。

表 4 経済効果

	H28.6	H28.12
経産 JMR	91	52
飼養頭数	33頭	30頭
1日空胎期間延長による経済損失※	1500円	1500円
繁殖遅延による経済損失	4,500,000円	2,340,000円
CIDR費用	×	約70,000円
	4,500,000	2,410,000円
		<b>2,090,000円</b>

小林らは定時 AI 後 5 から 19 日目までに CIDR の装着した結果、発情回帰率が 42.9% から 60.0% に改善したと報告している [4]。今回の取り組みでは、CIDR 2 回目・3 回目の受胎率が高い傾向にあった要因として、CIDR 除去後の発情が明瞭に表れたため、適切な時期に AI が実施できた可能性が考えられた。

今回の取り組みで受胎率が改善した結果、妊娠牛割合は 36.4% (12/33 頭) から 50.0% (15/30 頭) に、経産 JMR は 91 から 52 に改善し、経済的損失を約 2,000,000 円低減させることができた。12 月末より、分娩間隔の短縮、経産 JMR の維持や低減を図るため飼料内容を変更することとした。1 月以降は、繁殖検診を月 3 回から月 2 回に変更し継続して指導を実施していく予定である。また普及指導員と連携して、乳検データを活用するため定期的な検討会を実施し、これからも診療・共済獣医師や農林総合事務所、市町等と連携しながら指導を継続していく予定である。

#### 参考文献

- [1] 相原光夫：新しい牛群検定成績表について（その 17）、LIAJ News、NO.131、5-11
- [2] Mehni SB：The Comparison of Treating Holstein Dairy Cows with Progesterone, CIDR and GnRH After Insemination on Serum Progesterone and Pregnancy Rates. *Reproduction in Domestic animals* Feb.47. 131-134. 2012
- [3] 泉大樹：リピートブリーダー対策を活用し、正のスパイラルへ、*日本胚移植学雑誌* 2016、第 38 巻、3 号、153-160
- [4] 小林崇之：黄体ホルモン製剤を活用した牛受胎率向上技術の確立、*福井県畜産試験場研究報告*、第 27 号、7-11

## 4 経営継承した一酪農家の夢をかなえるために

嶺南家畜保健衛生センター 生水誠一 横田昌己

## はじめに

酪農家を志す新規就農希望者が、経営譲渡を希望する酪農家で実践研修の後、第三者として経営継承した。継承者は 30 代と若く、将来、自家産生乳による乳製品の加工販売を手掛けたいと夢をもっていることから、その夢の実現のために、関係機関と連携を取り協力し指導したので、その概要を報告する。

## 経営継承までの経緯

平成 25 年 4 月、酪農での新規就農の希望を受け、経営移譲者を里親農家として認定し、継承予定者を受け入れ実践的な研修を開始した（国の青年農業者給付金を 2 年間受給）。

平成 27 年 4 月、経営継承者を代表、経営移譲者を雇用する法人を設立した（町独自の就農支援事業による補助金を 3 年間受給）。

平成 28 年 3 月に経営規模拡大のため、牛舎の改修と妊娠牛 16 頭の増頭を行った。

## 農場の概要

当該農家は経営者 1 名、雇用者 1 名の 2 名で成牛 26 頭を飼養し、自給飼料として、イタリアンライグラスやスーダングラスを栽培している。糞尿などの排泄物は、地域の環境組合が 1 トン当たり 500 円で回収し堆肥化処理を行っているため、排泄物の処理といった環境対策に経費をかける必要がない恵まれた地域にある。

## 諸問題の発生

導入牛の分娩が始まると、周産期疾病による廃用、出荷乳の乳脂肪率低下および繁殖成績の悪化という問題が発生した。特に、導入した妊娠牛 16 頭のうち 5 頭が、第四胃右方変異、難産、乳房炎、起立不能および子宮脱により廃用となった（表-1）。

さらに、分娩とともに出荷乳量は順調に増えてきたが、平成 28 年 6 月から乳脂肪率が基準値 3.5%未滿へ低下し、格差金を払う問題が出てきた（図-1）。また、早期受胎促進のために繁殖管理指導回数を平成 28 年 5 月までは月 1 回の指導を、6 月から 9 月までは週 1 回に指導回数を増やし強化していたが、育成牛 1 頭のみを受胎にとどまり、繁殖候補である経産牛 11 頭に人工授精等を実施したが、9 月までに繁殖成績は改善がみられず一頭も受胎しなかった。また、分娩した 20 頭の発情回帰は、個体によるバラつきが多く、発情が分娩後 60 日以内に回帰する個体もいれば、80 日、100 日および 100 日を超えてようやく回帰する個体もいた。2 頭については、分娩後 110 日を超えても発情が回帰しない個体もみられた（図-2）。

表-1 廃用頭数

個体番号	廃用月日	廃用理由
1945	H28. 4. 16	第四胃右方変異
2008	H28. 9. 20	難産
1853	H28. 9. 21	乳房炎
1887	H28. 10. 6	起立不能
6075	H28. 10. 27	子宮脱

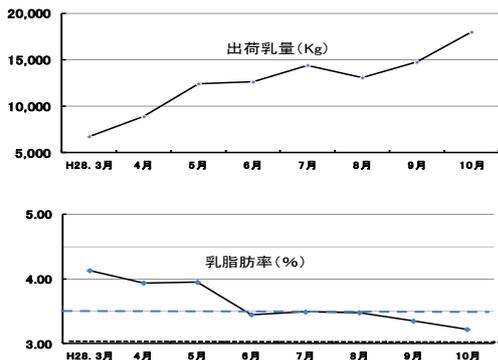


図-1 出荷乳の乳脂肪率低下

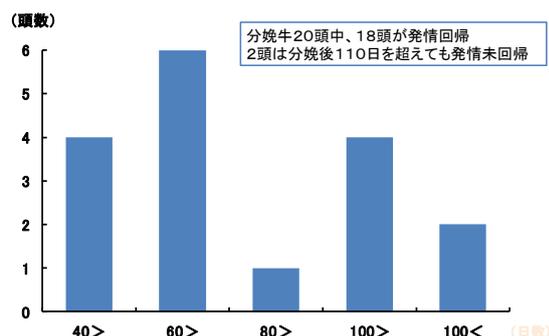


図-2 発情回帰日数

指導体制および指導内容

図-3 に示すように、指導体制として、普及指導員には経営改善を、飼料メーカーには飼料改善を、繁殖管理については当センター、診療獣医師、普及指導員および飼料メーカーと情報を共有し協力して指導に当たった。また経営改善指導では、経営状況を常に把握し、経営向上を考えて経営することを目的とした。

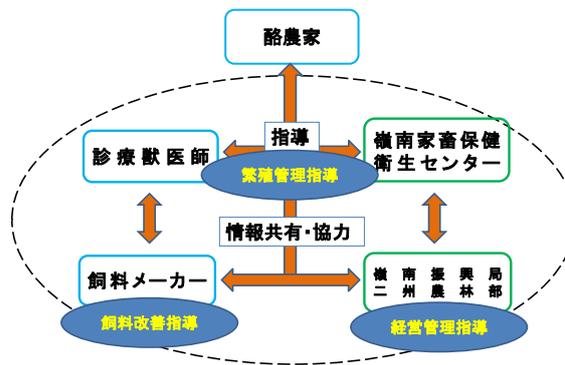


図-3 指導体制

また、周産期疾病による廃用および出荷乳の乳脂肪率低下の原因と考えられる粗飼料給与の改善にも取り組み、3月から10月まで給与されていた自給飼料とWCSは、刈り遅れやカビが発生し、明らかに品質が悪いことから、その給与量を減らし、品質の安定した購入乾草であるスーダンの給与を開始した（表-2）。

表-2 粗飼料の給与改善指導 単位:kg

	3月～10月中旬	10月下旬以降
自給飼料	5.0	3.0
WCS	3.0	
オーツヘイ	3.0	3.0
スーダン		5.0
DM(乾物量)	11.0	11.0

1日当たりの粗飼料給与設計

分娩が始まった3月から5月までの月1回の指導では、発情発見と人工授精（AI）ができない発情発見技術不足の状況であった。6月からは週1回の指導では、発情が近い個体の観察強化と発情個体でも発情発見ができず、更にはAI技術不足のため受胎が得られなかった。



図-4 繁殖管理技術指導の風景  
発情観察から人工授精まで一緒に取り組む。

結果として、繁殖候補である経産牛11頭が、9月まで全く受胎しないことから、発情観察と人工授精技術の基本を再確認することを目的に、10月から診療獣医師の協力の下、発情観察から人工授精まで、立ち会い、指導を行った。

なお、発情を観察しやすいよう発情誘起処置を実施した。発情時の膣検査では、経営者と一緒になって観察を行い、また発情時には外子宮口と頸管粘液を観察することとした。また、超音波診断画像装置を用いて、卵

巣の変化を経営者と一緒になって観察した（図-4）。

#### 結果

飼料改善と指導の結果、周産期疾病による廃用がなくなり、出荷乳の乳脂肪率については、飼料改善後基準値以上に改善した（図-4）。

発情観察により、子宮内膜炎の程度の差はあるが、ほとんどの牛が子宮内膜炎と判明した。さらに、頸管粘液中には、白い膿様物が認められ、発情にもかかわらず頸管粘液量が極めて少ない状態であった。

飼料改善することで、発情時の頸管粘液量一般的な量に回復し、しっかり観察できるほどになったが、依然として白濁した粘液がみられる個体も認められた。その後、10月以降の繁殖管理指導と飼料改善により、人工授精で5頭および受精卵移植で3頭の計8頭が受胎することができた。

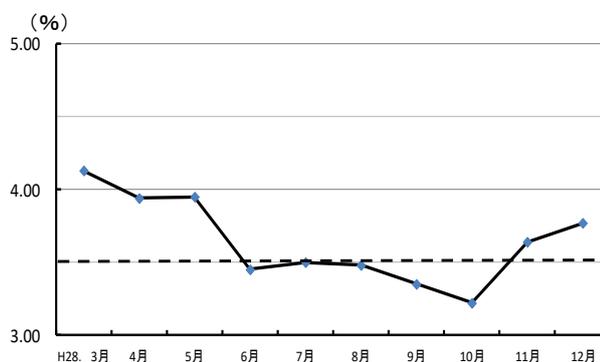


図-4 飼料改善指導後の乳脂肪率の推移

#### まとめ

経営管理、飼料改善および繁殖管理の3つの指導の結果、経営コストや繁殖管理の重要性の再確認ができ、周産期疾病による廃用牛がなくなり、出荷乳の乳脂肪率は基準値へ回復し、人工授精技術の基礎知識の習得により8頭が受胎した。

#### 今後の課題

①飼養管理としては良質粗飼料と個体乳量を測定し、乳量に見合った飼料を給与すること。②牛床マットの敷設や暑熱対策のための扇風機の増設と昼夜の運転など牛舎内環境の向上に努めること。③飼料経費の削減のため、採草地（4ヘクタール）を有効活用した自給飼料の計画的生産すること。④繁殖管理として、発情観察時に基本的な腔鏡検査を習慣化し、未受胎牛12頭の早期受胎に努めることなどを今後の課題とした。

今後も、関係機関が協力して新規就農者の夢を実現し、継続的に酪農に従事できるように指導を続けていく。

#### 引用文献

- [1] 文永堂出版：獣医繁殖学第4版 中尾敏彦ら
- [2] Dairy Japan：酪農経営者へのアプローチ 臨時増刊号第45巻第4号
- [3] （社）全国畜産物衛生指導協会生産獣医療システム 乳牛編2
- [4] 日本家畜臨床感染症研究会誌 6巻3号 2011

5 *Cryptosporidium parvum* が関与した子牛下痢症の発生とその対策

家畜保健衛生所 武野侍那子 葛城肅仁

はじめに

*Cryptosporidium parvum* (Cp) は主に離乳前の子牛に感染し、灰白色から黄色の下痢を引き起こす [1]。直接有効な治療薬がないため、適切に看護されないと重度の脱水や栄養不良により致命的となる。オーシストは通常用いられる消毒薬剤に抵抗性を示すため、一度農場内で発生すると清浄化が困難である。また、人への感染性を有し、公衆衛生上も注視される病原体である。

今回、県内ではじめて Cp が関与する子牛下痢症を摘発し、発生終息にむけた対策を実施した。

## 発生概要

平成 27 年 8 から 10 月に、ホルスタイン種 70 頭を飼養する酪農家において離乳前の子牛で下痢症が多発した。この間、診療獣医師は下痢を発症した 17 頭に治療を行っていたが、うち 8 頭が死亡した。子牛はフリーストール搾乳舎とは別の分娩舎で飼養されており、飼養場所は牛舎内複数か所にわかれていたが、すべての場所で下痢を発症あるいは死亡する個体がいた (図 1)。

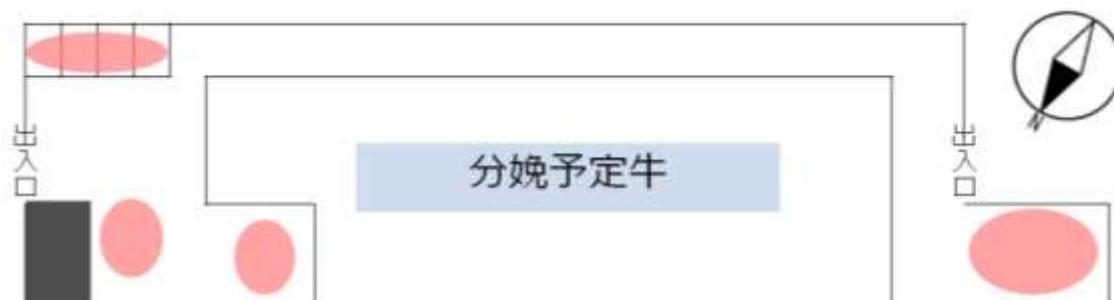


図 1 分娩舎内の配置図

● : 子牛飼養場所

## 材料および方法

下痢発症牛 5 頭および死亡牛 8 頭について病性鑑定を実施した (表 1)。

死亡牛は、常法に従い剖検後、病理組織検査 (Hematoxylin-Eosin 染色、Ziehl-Neelsen 染色) を行った。脳および主要臓器は、5%羊血液加寒天培地と DHL 寒天培地にて 5%CO<sub>2</sub> 条件下で 24 時間培養した。

下痢発症牛および死亡牛の直腸便は、市販の簡易検出キットによるロタウイルス A 抗原の検出、RT-PCR による下痢関連ウイルス (ロタウイルス A・B・C、トロウイルス、コロナウイルス、牛ウイルス性下痢・粘膜病ウイルス) の遺伝子検出を試みた。また、DHL 寒天培地にて 5%CO<sub>2</sub> 条件下で 24 時間培養した。さらに、飽和食塩水溶液を用いた McMaster 法に加え、抗酸染色、イムノクロマト法、遺伝子検査によってクリプトスポリジウムの検出を試みた。抗酸染色では、遠心沈殿法によって濃縮・精製した材料を、Kinyoun 染色後に

鏡検した [2]。免疫クロマト法では、市販の Cp 簡易検出キットを用いた。遺伝子検査では、DNA を抽出後、18S ribosomal RNA (18SrRNA) および 60-kDa glycoprotein (GP60) 遺伝子領域を標的とした PCR を行い、それぞれの増幅産物について PCR-RFLP (制限酵素 *Ssp* I、*Vsp* I) による種の同定、ダイレクトシーケンスおよび分子系統解析によるサブタイピングを行った [3, 4]。

表 1 病性鑑定に供した子牛

No.	依頼月日	内容	品種	性別	下痢発症日齢 (死亡日齢)	解剖	精密検査
1	8. 13	死因	F <sub>1</sub>	♂	8 (17)	○	○
2	19	下痢	ホル	♂	11	-	-
3	19			♂	9	-	-
4	9. 2	死因	F <sub>1</sub>	♂	8 (10)	○	○
5	14	下痢	ホル	♂	9	-	-
6	15			♀	9 (16)	○	○
7	24	死因	F <sub>1</sub>	♀	7 (22)	○	-
8	28			♂	12 (16)	○	○
9	10. 5			♂	4 (9)	○	○
10	9			♂	5 (14)	○	-
11	14			♀	不明 (13)	○	○
12	19	下痢	ホル	♂	12	-	-
13	19			F <sub>1</sub>	♂	11	-

F<sub>1</sub> : 交雑種, ホル : ホルスタイン種, ○ : 実施, - : 実施せず

## 結果

剖検では、多くの牛で外貌所見として脱水を認め (図 2)、肛門周囲には黄白色下痢便が付着しており (図 3)、小腸内に黄白色内容物が貯留していた。また、4 頭で第一胃と第二胃内に敷料のもみ殻を多量に含んでいた。病理組織検査では、小腸における病変形成が重度であり、ほとんどの牛で粘膜上皮の剥離や絨毛萎縮を認めた。

死亡牛 1 頭の心臓、肺、肝臓、腎臓、腸間膜リンパ節、十二指腸内容から *Escherichia coli* を分離した。0 群血清型別および病原因子関連遺伝子の検索を国立研究開発法人 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して実施した結果、0 血清型不明、血清抵抗性因子 *Iss*、鉄補足因子 *Irp2*、*IucD*、*IutA* が検出された。下痢発症牛 1 頭で簡易検出キットと遺伝子検査によりロタウイルス A が検出された。

McMaster 法はすべて陰性であったが、抗酸染色で抗酸性のオーシストが 4 頭で認められ (図 4)、免疫クロマト法で 7 頭が陽性、遺伝子検査で 18SrRNA および GP60 遺伝子領域

ともに7頭が陽性であった(表2)。検出された株は、18SrRNA 遺伝子領域の PCR-RFLP によって Cp (遺伝子型 II) と同定した(図5)。また、GP60 遺伝子領域におけり分子系統樹を作成した結果、IIa サブタイプファミリーと同じクラスターに分類され(図6)、増幅産物(約 870bp)の塩基配列は IIa A15G2R1 サブタイプと一致した。以上の結果より、今回の事例は Cp を主因とする下痢症と診断した。



図2 脱水(眼球陥没、皮膚弾力性低下)



図3 黄白色下痢便

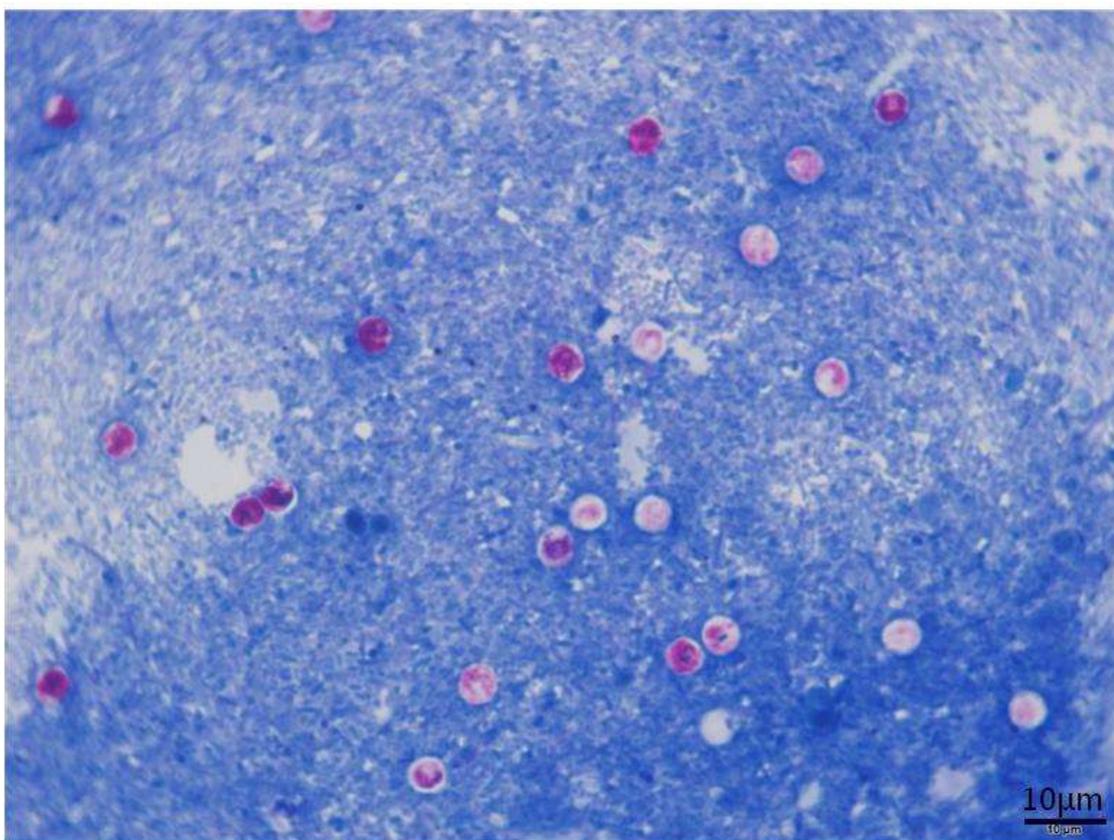


図4 クリプトスポリジウムオーシスト (Kinyoun 染色 ×100)

表 2 クリプトスポリジウムの検出結果

No.	内容	品種	抗酸染色	イムノクロマト法	18SrRNA	GP60
1	死因	F <sub>1</sub>	NT	NT	NT	NT
2	下痢	ホル	NT	NT	NT	NT
3			NT	NT	NT	NT
4	死因	F <sub>1</sub>	NT	NT	NT	NT
5	下痢	ホル	—	+	+	+
6			+	+	+	+
7	死因	F <sub>1</sub>	NT	NT	NT	NT
8			NT	+	+	+
9			+	+	NT	NT
10			NT	+	+	+
11			+	+	+	+
12	下痢	ホル	±	±	+	+
13		F <sub>1</sub>	+	+	+	+

F1：交雑種，ホル：ホルスタイン種，+：陽性，±：擬陽性，—：陰性  
 NT：検査実施せず

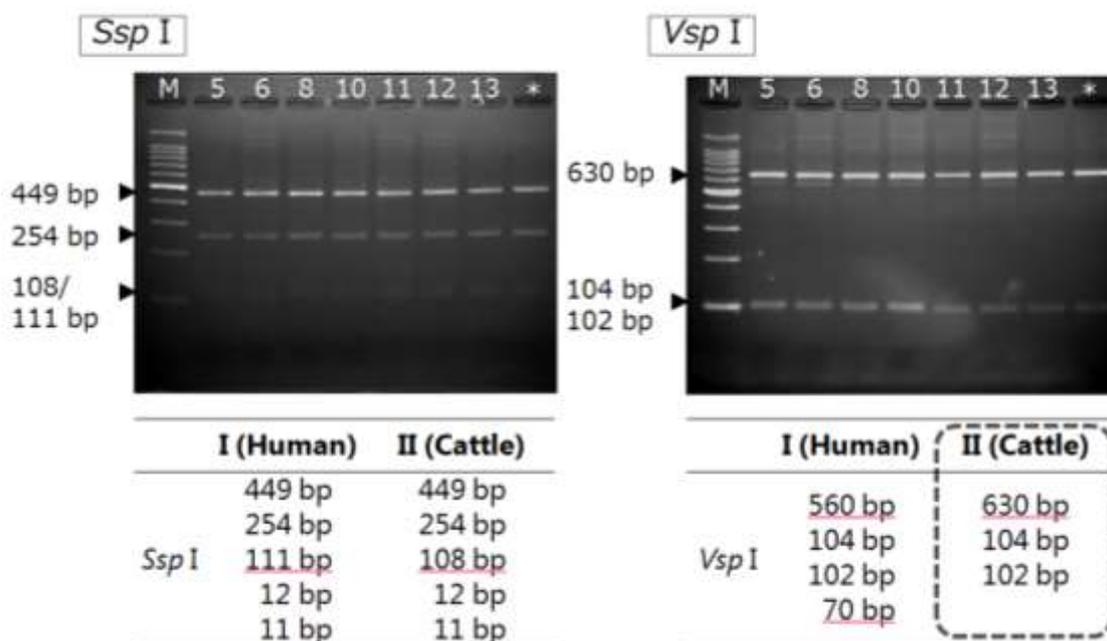


図 5 PCR-RFLP による種の同定（18SrRNA 遺伝子領域）

\*：県内他の酪農場由来株，遺伝子型 I：*C. hominis*，II：*C. parvum*

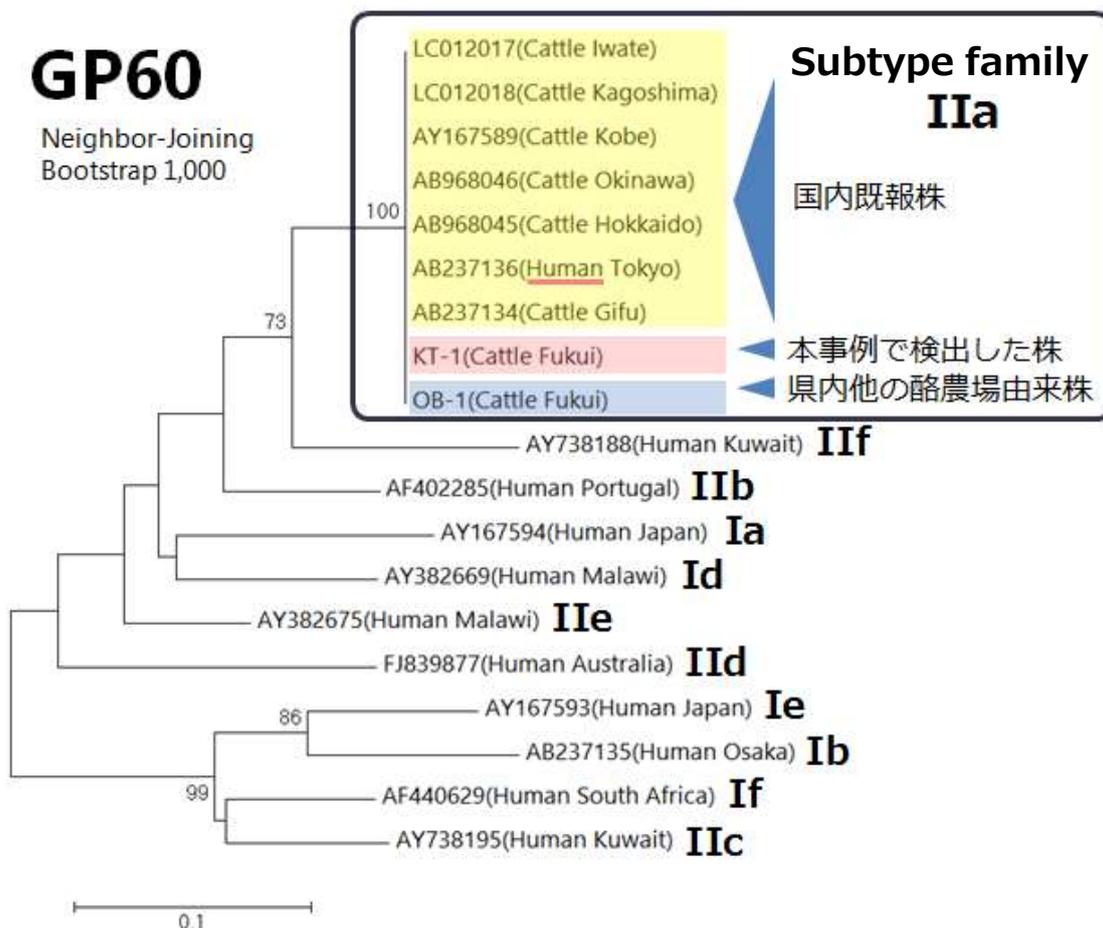


図 6 クリプトスポリジウムの GP60 遺伝子領域における分子系統樹

対策

平成 27 年 9 月 28 日、当該農場へ立入調査を行った結果、子牛同士が容易に接触できる配置となっており、敷料の交換が不十分であった。このため、感染牛から大量に排出された Cp オーシストが環境中に蓄積しており、非感染牛が敷料の悪食や感染牛との接触によって感染していると推察された。そこで、関係機関の指導により以下の対策を実施した。

飼料メーカーの指導のもと、近隣農場に倣い市販の代用初乳に切り替えて確実に給与することとした。また、管理者が変わったことで十分な哺乳量が確保された。敷料の悪食を防ぐためスターターを適切に給与し、飲水バケツを設置した。寒冷期に向かうことから、子牛全頭に保温ジャケットを着用させた。

環境中のオーシスト排除を目的に、オルソ剤および石灰乳散布による分娩舎の徹底消毒を実施し、1 か月半の空舎期間を設けた (図 7)。消毒後は、管理のしやすいよう子牛の飼養場所を一か所にまとめ、子牛同士の接触を防ぐために間隔をあけて個別飼育するよう指導した。

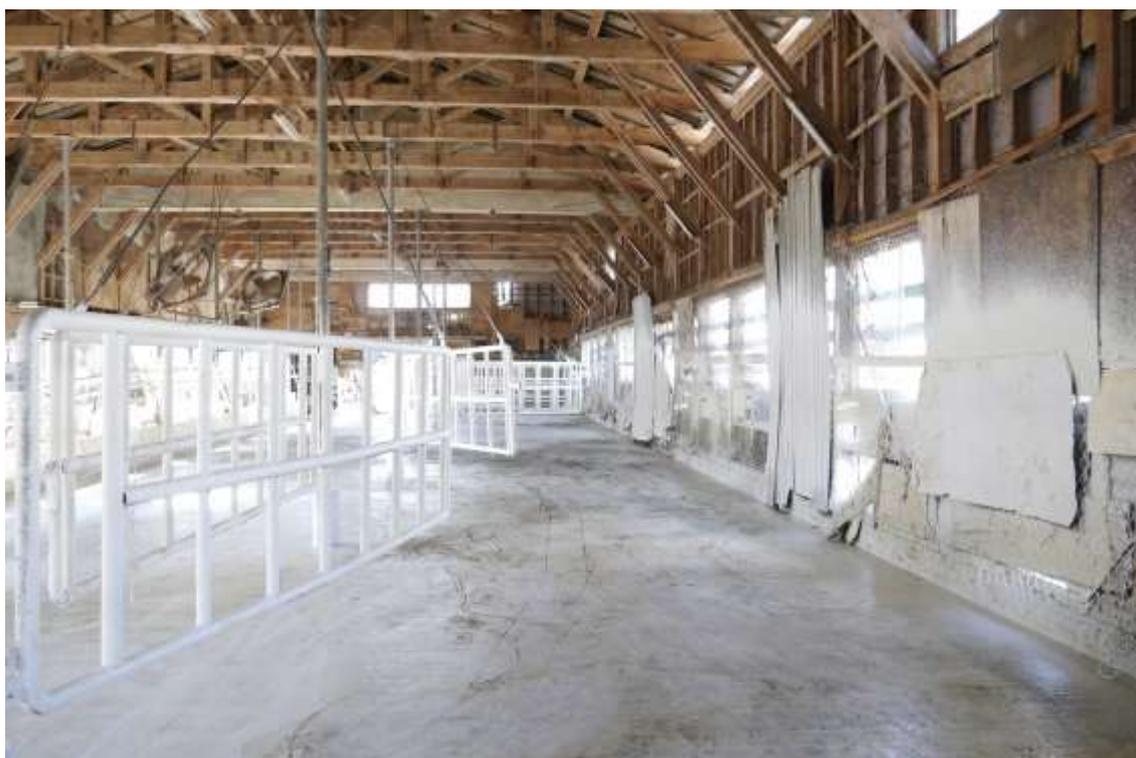


図 7 オルソ剤および石灰乳散布後の分娩舎

#### 新生子牛の検査

対策後から平成 28 年 6 月までに出生した子牛全頭（14 頭）の直腸便を材料に検査した結果、Cp が検出されず、子牛の死亡事故も発生していない。

#### まとめおよび考察

県内一酪農家において離乳前の子牛で下痢症が多発、死亡する事例が相次いだため、下痢発症牛および死亡牛の病性鑑定を実施した結果、共通して Cp のオーシストあるいは遺伝子が検出され、Cp を主因とする子牛下痢症と診断した。

国内において下痢を呈した子牛からの Cp 検出報告は多数あり [5-13]、子牛下痢症の主要な病原体であることは知られている。しかし、本県において子牛の下痢で Cp の関与が明らかとなった事例はなく、その認知度は低かった。今回の事例では、発生時期に出生した子牛はすべて下痢を呈し、治療を行った子牛の約半数が死亡したことから被害は甚大であった。現在、子牛下痢症の病性鑑定には免疫クロマト法と抗酸染色を実施し、迅速な診断と Cp の浸潤状況把握に努めている。

当該農場における下痢症の多発と症状の重篤化は、飼養者の管理失宜によるものであった。初乳給与方法の変更など飼養管理を改善したことで、症状の重篤化はなくなり発育も良好となった。また、分娩舎消毒の実施後に出生した子牛からは Cp が検出されていない。汚染された敷料を除去し、畜舎を完全に空にした状態で一斉消毒を行ったことや、石灰乳散布により乾燥状態を保ちつつ病原体を封じ込めて十分な空舎期間を設けたことが、乾燥に弱い Cp オーシストの殺滅に非常に効果的であった。さらに、完全なオーシスト殺滅効果は望めないものの、事前に実施したオルソ剤希釈液による洗浄も少なからず効力を発揮し

たと考えられる。

家畜およびヒト由来の Cp については、人獣共通のサブタイプを分類可能な GP60 遺伝子領域の解析が行われている。本事例の発生後に他の酪農場の子牛下痢便から検出された Cp もあわせて解析に供したところ、県内子牛由来株はすべて IIa A15G2R1 と同定された。海外では、子牛から IIa A15G2R1 だけでなく複数のサブタイプが報告されているが [14]、これまで国内の子牛から検出されたサブタイプはすべて IIa A15G2R1 であり [4, 15-18]、その塩基配列は今回検出した株と一致していたため、疫学的な背景を推察するには乏しい結果となった。近年、Cp に共生するウイルスの遺伝子解析により感染地推定が可能であると報告されており [19]、より詳細な解析が必要と考えられる。

ヒトのクリプトスポリジウム症は、感染症の予防及び感染症の患者に対する医療に関する法律で 5 類感染症に指定されている。海外では、都市部での集団感染事例はヒトからヒトへ伝播した *C. hominis* (以前の *C. parvum* Genotype I) 感染によるものが主であり、地方での散発事例は家畜が関与した *C. parvum* 感染が多いとの報告や、家畜の季節繁殖を行っている国では、子牛が生まれる春にヒトでの *C. parvum* 感染報告が増えるとの報告もある [20, 21]。国内においても家畜からの *C. parvum* 感染が疑われた事例が報告されている [22-27]。また、IIa A15G2R1 は、ヒトからも検出されているサブタイプである [20, 28]。本県でヒトのクリプトスポリジウム症発生報告はないが [29]、ウシ由来のものは確実にヒトへの感染性を有するため、牧場での日頃の飼養管理やふれあい体験等を通じたヒトへの感染も危惧され、十分な対策を講じる必要がある。

今後は、県内の畜産関係者にむけて Cp による家畜およびヒトへの病害や病畜の適切な取り扱いについて注意喚起し、発生予防に努めたい。

#### 参考文献

- [1] 松林誠. 2015. 臨床獣医. 33(3): 12-15.
- [2] 国立感染症研究所. クリプトスポリジウム症・ジアルジア症等の原虫性下痢症.
- [3] Xiao et al. 1999. Appl. Environ. Microbiol. 65(4): 1578-83.
- [4] Ichikawa-Seki et al. 2015. Parasitol. Int. 64: 161-165.
- [5] 検崎真司 ほか. 2016. 家畜診療. 63(12): 727-733.
- [6] 黒瀬智泰. 2012. 家畜診療. 59(8): 491-496.
- [7] 福永成己 ほか. 2003. 臨床獣医. 21(7): 20-24.
- [8] 松田智行. 2010. 家畜診療. 57(9): 557-560.
- [9] 三浦新平 ほか. 2013. 家畜診療. 60(2): 113-114.
- [10] 森山友恵 ほか. 2014. 北獣会雑誌. 58: 314.
- [11] 島田亘 ほか. 2015. 家畜感染症学会誌. 4(4): 153-159.
- [12] 末吉益雄 ほか. 2009. 平成 21 年度日本獣医師会獣医学術学会年次大会講演要旨集.
- [13] 山田倫史 ほか. 2015. 臨床獣医. 33(3): 16-20.
- [14] Z. L., Xiao. 2010. Exp. Parasitol. 124: 80-89.
- [15] N. Abe, et al. 2006. Parasitol. Res. 99: 303-305.
- [16] J. Aita, et al. 2015. J. Vet. Med. Sci. 77(8): 997-999.
- [17] F. Murakoshi, et al. 2013. J. Vet. Med. Sci. 75(7): 837-840.
- [18] Z. L., Wu, et al. Appl. Environ. Microbiol. 69: 4720-4726.

- [19] F. Murakoshi, et al. 2016. *Virus Res.* 211: 69-72.
- [20] D. C. Feltus, et al. 2006. *J. Clin. Microbiol.* 44(12): 4303-4308.
- [21] A. Lal, et al. 2015. *PLoS Negl. Trop. Dis.* 9(9): e0004078.
- [22] 檜崎昇. 1993. 畜産の研究, 47(5), 545-551.
- [23] 福嶋得忍 ほか. 2003. 千葉衛研報告, 27, 70-72.
- [24] 武沼弘子 ほか. 2014. 病原微生物検出情報 (IASR) , 35(8), 4-5.
- [25] 東京都感染症情報センター. 2015. 東京都微生物検査情報, 36(1), 1-2.
- [26] 和栗敦 ほか. 2009. 青森県環境保健センター研究報告, 20, 1-4.
- [27] 山野公明ほか. 2014. 病原微生物検出情報 (IASR) , 35(8), 5-6.
- [28] S. Amer, et al. 2010. *J. Vet. Med. Sci.* 72(12): 1647-1649.
- [29] 国立感染症研究所感染症疫学センター. 1999～2015. 感染症発生動向調査事業年報.

6 *Pasteurella multocida* が分離された牛乳房炎の発生事例

嶺南家畜保健衛生センター 清水誠也 武野侍那子

はじめに

*Pasteurella multocida* (以下 Pm) はグラム陰性、非運動性、無芽胞の通性嫌気性細菌である。Pm には 5 種の莢膜抗原 (多糖体; A、B、D、E、F 型) と、波岡らまたは Heddleston らが、それぞれ 12 種あるいは 16 種に分類した菌体抗原が存在し [1、2]、これらの組み合わせにより、多くの血清型に分類される。

Pm は一般的に上部気道に常在し、呼吸器感染症を引き起こす。また、難治性乳房炎の起因菌となるが、その報告は稀で、発生もほとんどが散発的である [3-7]。平成 21 年度から平成 27 年度までの 7 年間における県内泌乳牛の乳汁検査において Pm が分離されたものは、約 1200 頭中 1 頭のみであった (図 1)。このことから、Pm の発生は極めて稀であることがわかる。

今回、管内の 2 戸の酪農家において Pm による乳房炎が発生したので、その概要を報告する。

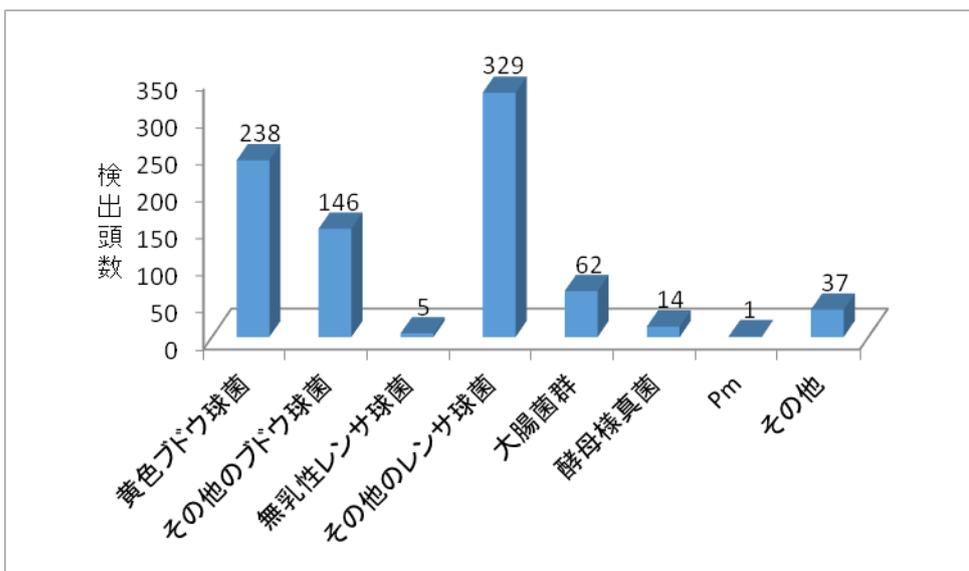


図 1 過去 7 年間に県内泌乳牛の乳汁から分離された細菌  
(平成 21 年 4 月から平成 28 年 3 月まで)

発生概要

A 農家は対頭式つなぎ牛舎でホルスタイン種を 25 頭飼養している酪農家である。発症牛は平成 24 年 8 月 16 日生まれで、平成 28 年 2 月 9 日に県内酪農家から導入され、同年 4 月 4 日に分娩した。4 月末に右前乳房から凝集物を認め、異なる日に異なる種類の抗生物質軟膏 (セファゾリン、エリスロマイシン) 注入による治療を行い、一時治癒するも再発を繰り返していた。

B 農家は対頭式つなぎ牛舎でホルスタイン種を 30 頭飼養している酪農家である。発症牛は平成 26 年 1 月 21 日生まれで、平成 28 年 3 月 4 日に県内肥育農家 (以下 C 農家) か

ら導入され、同年 3 月 12 日に分娩した。当該牛は導入時より熱感、腫脹、硬結を伴う乳房炎症状を呈しており、分娩後も症状が持続していた。6 月下旬にオキシテトラサイクリン軟膏を注入したが、症状は改善されず、畜主は盲乳も検討していた。

また、両農家とも乳房炎検査実施時に、呼吸器病を呈する同居牛は認められなかった。

A、B および C 農家間の牛の移動については、B 農家と C 農家の間では牛の往来があり、B 農家への当該牛導入時に、C 農家において Pm が関与した呼吸器病が発生していた。A 農家と C 農家については、A 農家から C 農家への移動はあるが、その逆はなかった。また、A、B 農家間は直線距離で約 16km あり、両農家間での牛の往来はなかった（図 2）。



図 2 各農家の位置関係および牛の移動状況

## 材料および方法

### 1. 細菌培養検査

乳房炎罹患牛の乳汁を、5%羊血液寒天培地、DHL 寒天培地および黄色ブドウ球菌選択培地（以下 CHSA）で 37℃、5%CO<sub>2</sub> 条件下で 24 時間培養した。分離菌の性状検査は、グラム染色、オキシダーゼ試験およびカタラーゼ試験を実施し、簡易同定キットを用い同定を行った。

### 2. 血清型別検査

莢膜抗原型別は Townsend らの報告に準じて PCR により実施した [8]。

菌体抗原型別は Harper の報告に準じて PCR により実施した [9]。

### 3. 薬剤感受性試験

アンピシリン (ABPC)、ベンジルペニシリン (PCG)、ジクロキサシン (MDIPC)、ゲンタマイシン (GM)、ストレプトマイシン (SM)、カナマイシン (KM)、エリスロマイシン (EM)、オキシテトラサイクリン (OTC)、ドキシサイクリン (DOXY)、セファゾリン (CEZ)、クロラムフェニコール (CP)、エンロフロキサシン (ERFX)、バンコマイシン (VCM)、ホスホマイシン (FOM) およびスルファジメトキサゾール・トリメトプリム (SDMX・TMP) の 15 種を用い、一濃度ディスク法で実施した。

4. 同居牛検査

A 農家および B 農家の全搾乳牛を対象とし、それぞれ 19 頭 75 分房、23 頭 89 分房の乳汁を用い、5%羊血液寒天培地、DHL 寒天培地および CHSA で 37℃、5%CO<sub>2</sub> 条件下で 24 時間培養した。

5. 疫学関連検査

乳房炎罹患牛の乳汁から分離された Pm を用いて、Multilocus sequence typing (以下 MLST) 法による 7 種の遺伝子領域 (adk、est、pmi、zwf、mdh、gdh、pgi) の遺伝子解析を農研機構動物衛生研究部門に依頼した。

結果

1. 細菌培養検査

5%羊血液寒天培地で灰白色半透明、溶血陰性のムコイド状のコロニーが、A 農家で  $3.1 \times 10^4$ CFU/ml、B 農家で  $3.5 \times 10^4$ CFU/ml 純培養的に分離された (図 3)。DHL 寒天培地および CHSA でコロニーは確認されなかった。分離菌の性状検査の結果、グラム陰性短桿菌、オキシダーゼ陽性およびカタラーゼ陽性であった。簡易同定キットにより Pm が 99%以上一致し、*Pasteurella multocida* による乳房炎と診断した。



図3 羊血液寒天培地で観察されたコロニー

2. 血清型別検査

莢膜抗原型別は A、B 農家から分離された Pm はどちらも A 型であり、菌体抗原型別はどちらも L3 型であった。

3. 薬剤感受性試験

各農家の薬剤感受性試験の結果を表 1 に示した。乳房炎検査前に A 農家で使用した CEZ および EM の感受性は、それぞれ感性および耐性であり、B 農家で使用した OTC は感性であった。

表 1 一濃度ディスク法による薬剤感受性試験結果について

	ABPC	PCG	MDIPC	GM	SM	KM	EM	OTC	DOXY
A 農家	R	R	R	R	R	I	R	S	S
B 農家	I	S	R	R	R	R	R	S	S

	CEZ	CP	ERFX	VCM	FOM	SDMX・TMP
A 農家	S	I	S	R	S	I
B 農家	I	S	S	R	S	S

S : 感性、I : 中間、R : 耐性

4. 同居牛検査

両農家とも同居牛の乳汁より Pm は分離されなかった。

5. 疫学関連検査

7種の遺伝子領域のうち、adk が A 農家は 7、B 農家は 26 であり、両農家から分離された Pm の sequence type は異なっていた (表 2)。

表 2 MLST 法による 7 領域の遺伝子解析結果について

	adk	est	pmi	zwf	mdh	gdh	pgi	Sequence type
A 農家	7	11	9	10	4	7	8	13
B 農家	26	11	9	10	4	7	8	79

対策・治療

まん延防止対策として、罹患牛の並べ替え、搾乳順序の変更および異常発生時の早期連絡の 3 つを畜主に指導した。治療に関しては、診療獣医師と協議し、乳房内と静脈内への同時投与を行う併用治療を、セファゾリンを用い 3 日間実施した。その結果、その後の検査で Pm は分離されず、乳房炎症状も認められなかった (図 4)。

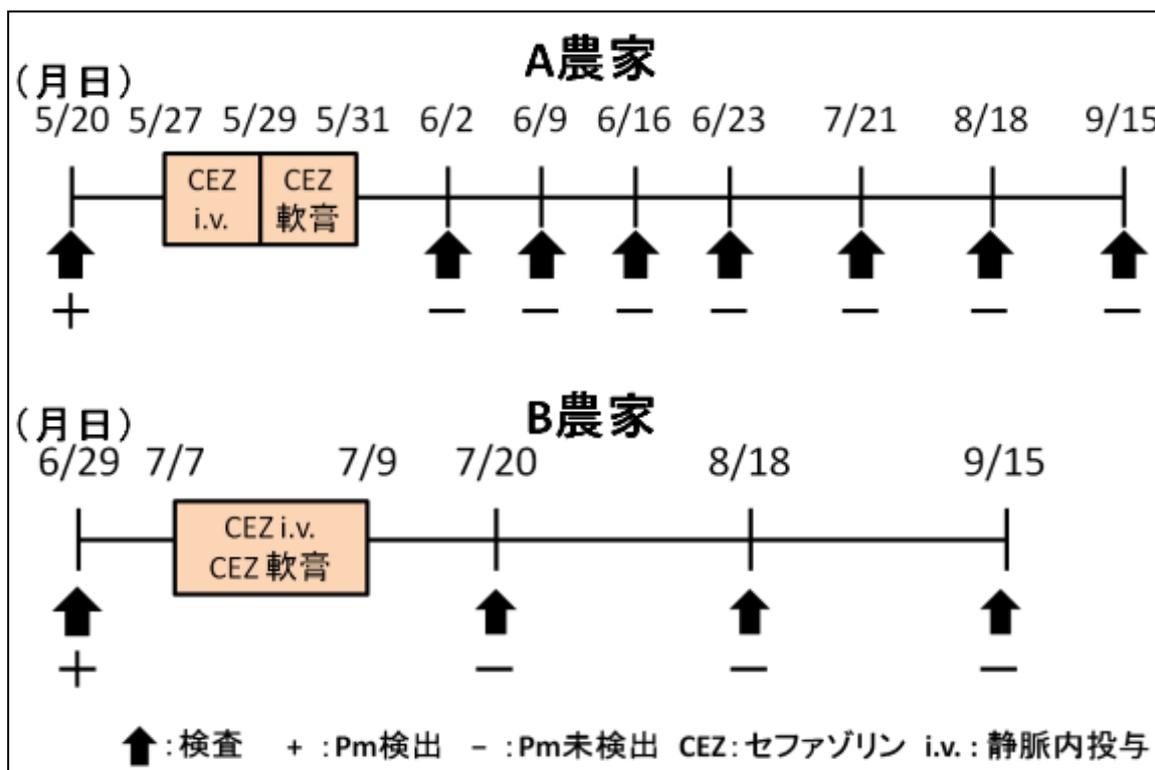


図 4 A 農家および B 農家の対策後の経過

## 考察

牛の乳房炎の原因菌としての報告は、黄色ブドウ球菌やレンサ球菌、大腸菌群が多く、Pm が分離された報告は少ない [3-6]。今回、同一管内の 2 戸の酪農家において、同時期に Pm による乳房炎が発生したことは極めて稀なことであると考えられた。疫学的関連を調べるため MLST 法による遺伝子解析を実施したが、両株の sequence type は異なっており、疫学的関連はないと推察された。

両農家から分離された Pm の莢膜抗原型別はどちらも A 型であり、菌体抗原型別はどちらも L3 型であった。今回実施した Harper らの菌体抗原型別検査は L1~L8 型の 8 つに分類され、それぞれ Heddleston の菌体抗原型別に対応し、L3 型は 3、4 型に相当する [9]。この血清型は国内での報告と同様に一般的なものであり [5、6、10]、特殊な血清型でなくとも乳房炎の起原因菌となり得ることが推察された。

Pm 起因の乳房炎は一般的に難治性とされている [7]。今回の症例も両農家とも感性的抗生物質軟膏注入による治療を行っていたが効果を示さなかった。しかし、乳房内と静脈内への同時投与による併用治療を 3 日間実施したところ、完治に成功した。このことから、Pm による乳房炎にはこの治療方法が効果的であることが示唆された。

今回の検査では感染経路を明らかにすることはできなかった。乳房炎発症より以前に、呼吸器症状を呈する同居牛は認められなかったこと、また、同居牛検査で Pm が分離されなかったことから、牛舎が Pm に高度汚染されていた可能性は低いと考えられた。又吉ら [6] は子牛の口腔内の Pm が授乳により感染したと推察しているが、今回の事例では子牛への授乳は行われていないため考えにくい。B 農家に関しては、導入時より乳房炎症状を呈しており、導入元の C 農家で Pm の呼吸器病が発生していたことから、導入元で感染した可能性が考えられた。

今回の報告は、Pm による難治性乳房炎の完治に成功した貴重な報告だと思われる。

## 謝辞

稿を終えるにあたり、Pm の MLST 解析を実施していただいた国立研究開発法人 農業・食品産業技術総合研究機構 動物衛生部門 細菌・寄生虫研究領域、上野勇一研究員に感謝いたします。

## 引用文献

- [1] Namioka S: *Pasteurella multocida*-Biochemical Characteristics and Serotypes, *Methods in microbiology*, 10, 271 - 291(1978)
- [2] Heddleston KL, Gallagher JE, Rebers PA : Fowl cholera : Gel diffusion precipitin test for serotyping *Pasteurella multocida* from avian species, *Avian Dis*, 16, 925 - 936 (1972)
- [3] Barnum DA : A herd outbreak of mastitis caused by *Pasteurella multocida* , *Can J Comp Med Vet Sci* , 18 , 113 - 119 (1954)
- [4] Malinowski E, Lassa H, Kllossowska A, Smulski S, Markiewicz H, Kaczmarowski M : Etiological agents of dairy cows' mastitis in western part of Poland , *Pol J Vet Sci* , 9 , 191 - 194 (2006)
- [5] 後藤利隆 : *Pasteurella multocida* による牛の乳房炎と補体結合反応の診断的

- 意義, 臨床獣医, 13, 66 - 71 (1995)
- [6] 又吉正直, 船倉栄, 浦江健太, 横川顕治, 河合透 : *Pasteurella multocida* が分離された黒毛和種繁殖牛の乳房炎, 日獣会誌, 63 , 524 - 526 (2010)
- [7] W. Nelson Philpot, Stephen C. Nickerson ; 竹村香里訳 : 乳房炎との戦いに打ち勝つために, 119, デーリィ・ジャパン社 (2001)
- [8] Townsend KM, Boyce JD, Chung JY, Frost AJ, Adler B : genetic organization of *Pasteurella multocida cap* loci and development of a multiplex capsular PCR typing system , J Clin Microbiol , 39 , 924 - 929 (2001)
- [9] Harper M, John M, Turni C, Edmunds M, St. Michael F, Adler B, Blackall PJ, Cox AD, Boyce JD: Development of a Rapid Multiplex PCR Assay To Genotype *Pasteurella multocida* Strains by Use of the Lipopolysaccharide Outer Core Biosynthesis Locus , J Clin Microbiol , 53 , 477 - 485 (2015)
- [10] 小池新平, 井上恭平, 米山州二, 市川優, 田島和彦 : 栃木県で過去 16 年間に分離された牛呼吸器病原菌の薬剤感受性調査, 日獣会誌, 63 , 533 - 537(2009)

## 7 一肉牛肥育農家で発生した牛鞭虫病と浸潤状況調査

家畜保健衛生所 山崎俊雄 生水誠一

## はじめに

鞭虫病とは鞭虫卵が高温多湿で発育し、感染した動物は削瘦、下痢などを引き起こす[1, 2, 3]。鞭虫の種類は豚鞭虫 (*Trichuris suis*)、羊鞭虫 (*Trichuris ovis*) などがあるが、牛鞭虫 (*Trichuris discolor*) に関する報告は少数である[1, 2, 4]。一般的に牛舎の敷料累積期間は短期間であるため、寄生虫卵の累積期間が短く、牛鞭虫卵の検出頻度は低いとされているが、敷料におが屑を使用し、敷料交換が行われていないと発酵おが屑豚舎で認められる豚鞭虫病と同様の飼養環境となる[1, 2]。

今回、肉牛肥育農家において、育成牛 1 頭に牛鞭虫病が発生したので、その概要と県内の浸潤状況について報告する。

## 発生状況

発生農場は交雑種、ホルスタイン種など肉用牛 90 頭を飼養する肥育農場である。発症牛はホルスタイン種の去勢牛、5 ヶ月齢で、2016 年 7 月 26 日県内酪農家から導入後、8 月に入ってから下痢を呈し、同年 11 月 1 日に起立不能となったことから、予後不良と判断され、11 月 4 日に鑑定殺後、病性鑑定を実施した。同居している牛に臨床症状は認められなかった。なお、この農場では敷料はおが屑を使用していたが、敷料交換は約 1 年程、実施されていなかった。

## 材料および方法

剖検後、寄生虫検査として、直腸便を用いてマックマスター法と砂糖遠心浮遊法[5]を実施し、盲腸内に認められた線虫を鏡検した。病理組織検査として、全身諸臓器を用いてヘマトキシリン・エオジン (HE) 染色を実施した。細菌検査として、主要臓器および大脳を用いて常法により培養した。ウイルス検査として、直腸便を用いて簡易検査でロタウイルス A 抗原、十二指腸内容および回腸内容、直腸便を用いて遺伝子検査でコロナウイルス、ロタウイルス B、ロタウイルス C、BVD ウイルス、トロウイルスなどの下痢関連ウイルスの検出を実施した。

## 結果

外貌は顕著な削瘦が認められ、下痢を呈していた (図 1)。剖検では、右肺および左肺前葉に、直径 0.5~1cm 大の白色膿瘍が多発性に認められた (図 2)。空腸では、腸間膜リンパ節の腫脹が認められた (図 3)。盲腸内に下痢便とともに多数の線虫寄生が認められ、線虫虫体は盲腸粘膜に深く穿入していた (図 4)。盲腸内に認められた線虫虫体は白色鞭状で、いずれも 40~45mm あり、鞭虫の特徴を有していた[6] (図 5)。鞭虫の雌の鏡検では子宮および腔内に鞭虫卵が多数確認された (図 6)。



図 1 外貌 (左下は下痢便)



図 2 肺断面 (左上から左前葉、中葉、後葉、真中は副葉、右上から右前葉、中葉、後葉 矢印は膿瘍)



図 3 空腸 (矢印は腸間膜リンパ節)



図 4 盲腸 (矢印は鞭虫)

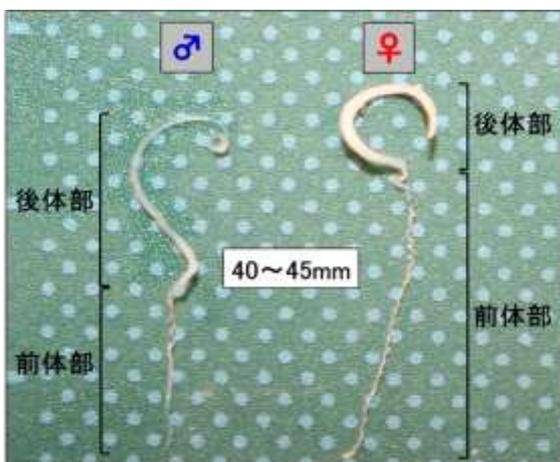


図 5 鞭虫 (後体部の後端が巻いている方が雄：左、彎曲している方が雌：右)



図 6 鞭虫・雌 (×10)

寄生虫検査ではマックマスター法では虫卵は検出されず、砂糖遠心浮遊法では直腸便 1g (近似値) から鞭虫卵 961 個が検出された (図 7)。直腸便から検出された鞭虫卵を計測した結果、長径  $67\mu\text{m}$  幅  $30\mu\text{m}$  で、牛鞭虫卵の特徴を有していた [6] (図 8)。



図 7 直腸便中の鞭虫卵 (矢印 ×10)

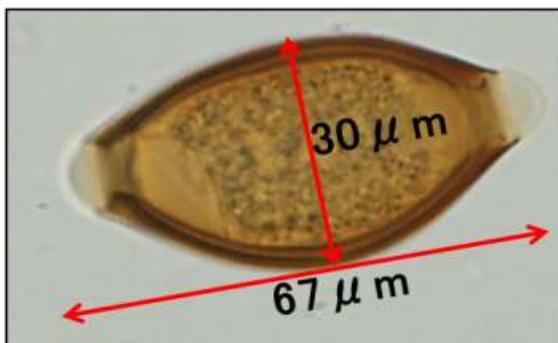


図 8 鞭虫卵 (×40)

病理組織検査では、肺胞内と細気管支内に好中球やリンパ球の浸潤およびうっ血性肺水腫、小葉間結合組織の肥厚が認められた (図 9)。盲腸の粘膜上皮に多数の鞭虫の虫体が穿入していた (図 10)。

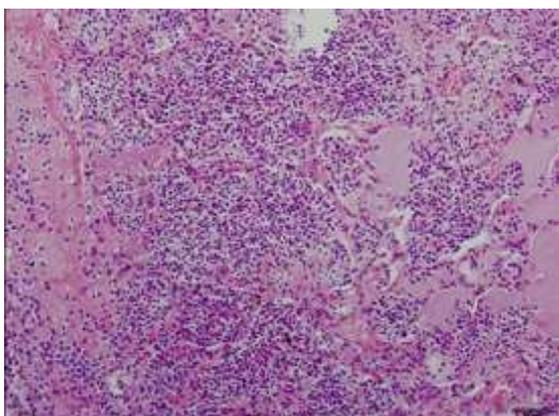


図 9 肺 (HE 染色×20) 肺胞内と細気管支内に好中球やリンパ球の浸潤が認められた

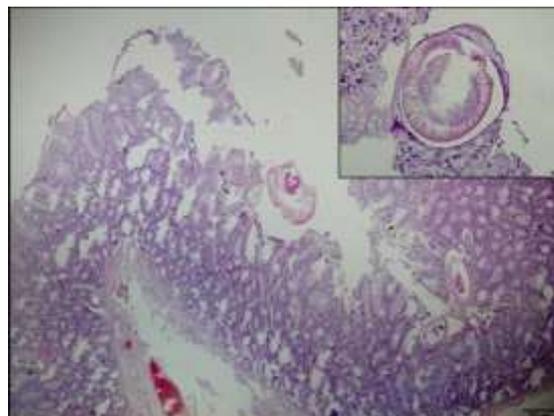


図 10 盲腸 (HE 染色×4) 右上は鞭虫虫体 (HE 染色×40)

細菌検査では、肺から *Mannheimia* sp.、*Pasteurella* sp.、*Streptococcus* sp. が分離された。ウイルス検査では、下痢関連ウイルスは検出されなかった。

#### 発生農場の寄生虫検査

##### 1 回目検査 (鞭虫病発生直後)

材料は 2016 年 11 月 8 日に表 1 に示すように、糞便 6 検体 (糞便①～⑥)、敷料 3 検体 (敷料①～③)、未使用おが屑 1 検体の合計 10 検体を採材した。発症牛が飼養されていたマスに同居していた牛から採材した糞便は糞便④と糞便⑤で、敷料③は同居マスからの採材となった (図 11)。方法は、いずれも砂糖遠心浮遊法で実施した。結果は、鞭虫卵は糞便 6 検体中 4 検体で検出され、同居牛から採材した糞便④と糞便⑤では、それぞれ鞭虫卵が 97 個と 2 個検出された。敷料からはいずれの検体からも鞭虫卵が検出され、同居マスの敷料③では、鞭虫卵が 11 個検出された (表 1)。各種線虫卵、

コクシジウムも糞便や敷料から検出された。この結果を踏まえ、敷料の交換と牛体への駆虫剤塗布を畜主へ指導した。



図 11 1 回目検査採材箇所（育成牛舎の見取り図）

表 1 1 回目の検査結果について

検体	鞭虫卵	各種線虫卵	コクシジウム	
糞便	①	0	0	11
	②	1	0	0
	③	0	0	34
	④	97	2	2
	⑤	2	11	83
	⑥	1	0	9
敷料	①	5	90	96
	②	25	71	97
	③	11	60	1
おが屑	0	2	0	

個/g(近似値)

### 2 回目検査（指導から 6 週間後）

材料は 2016 年 12 月 20 日に表 2 に示すように、1 回目検査と同一の飼養牛の直腸便 6 検体（糞便①～⑥）、敷料 7 検体（敷料①～⑦）、未使用おが屑 1 検体の合計 14 検体を採材した。1 回目検査と異なる箇所から採材した敷料は敷料④～⑦で、糞便⑥と敷料⑦は肥育牛舎からの採材となった（図 12）。方法は、いずれも砂糖遠心浮遊法で実施した。結果は、鞭虫卵と各種線虫卵は糞便からは検出されず、敷料からはそれぞれ 7 検体中 2 検体で、わずかに検出されたが、虫卵数は 1 回目と比べ、激減していた（表 2）。



図 12 2 回目検査採材箇所（育成牛舎の見取り図）

表 2 2 回目の検査結果について

検体	鞭虫卵		各種線虫卵		コクシジウム		
	1回目	2回目	1回目	2回目	1回目	2回目	
糞便	①	0	0	0	11	48	
	②	1	0	0	0	1	
	③	0	0	0	0	34	0
	④	97	0	2	0	2	1
	⑤	2	0	11	0	83	86
	⑥	1	0	0	0	9	7
敷料	①	5	1	90	0	96	59
	②	25	0	71	0	97	0
	③	11	0	60	5	1	3
	④	NT	0	NT	0	NT	41
	⑤	NT	0	NT	0	NT	0
	⑥	NT	0	NT	2	NT	1
	⑦	NT	1	NT	0	NT	2
おが屑	0	0	2	0	0	0	

NT:未検査 個/g(近似値)

### 県内肉牛飼養農場の浸潤状況調査

県内肉牛飼養 9 農場から敷料 17 検体、飼養牛の直腸便 1 検体の合計 18 検体を材料とした。敷料は農場によって様々で、おが屑、もみ殻、おが屑ともみ殻の混合を使用していた。方法は、砂糖遠心浮遊法で実施した。結果は、18 検体中 4 検体、9 農場中 3 農場で鞭虫卵が検出され、鞭虫卵数はいずれも 2～3 個であった。敷料にもみ殻を使

用している農場でも鞭虫卵が検出された（表 3）。

#### まとめおよび考察

本症例は検査の結果より、化膿性肺炎を伴う牛鞭虫病と診断した。マックマスター法では鞭虫卵は確認できず、鞭虫卵の検出には、砂糖遠心浮遊法が有効であると考えられた。発生の要因については、発生農場の敷料交換が 1 年近く実施されていなかったため、鞭虫卵が成熟しやすい高温多湿の環境となっていたと思われた。1 回目検査後、

2 回の敷料交換とイベルメクチン製剤の牛体への塗布により、2 回目検査では鞭虫卵および各種線虫卵は糞便から

は検出されず、敷料からもほとんど検出されなかったことから、定期的な敷料交換および適切な駆虫剤塗布により牛鞭虫病は予防可能と考えられた。

また、県内の浸潤状況調査により、鞭虫卵はもみ殻敷料でも検出されたことから、鞭虫卵を含め様々な寄生虫虫卵の減数のためには、敷料の種類に関わらず、飼養管理における 2 ヶ月程度の定期的な敷料交換が重要と思われた。牛鞭虫病の発生報告が少ないことから、本症例は牛鞭虫病に関する貴重な報告と考えられた。

#### 参考文献

- [1] 須藤英紀. 渡辺一博. 五雲寺真. 種市淳. 高橋馨. 塩野正志. 庄司金弥. 高野司郎. 木元俊彦. 大滝俊彦. 1995. 日獣会誌. 48 : 26-29.
- [2] 白川ひとみ. 長野正弘. 神田雅弘. 難波範之. 1990. 日獣会誌 . 43 : 789-792.
- [3] 是枝輝紀. 野尻麻里子. 堂下さつき. 松林誠. 芝原友幸. 岡野良一. 2015. 日獣会誌. 68 : 297-300.
- [4] 平詔亨. 2006. 家畜診療. 53(3) : 159-163.
- [5] 平詔亨. 2006. 家畜診療. 53(3) : 157-158.
- [6] 野田亮二. 1961. 家畜寄生虫病診療学. : 376-382.

表 3 県内の浸潤状況調査

農場	検体	敷料種類	検体数	鞭虫卵陽性検体
A		おが屑	3	1 <sup>*)</sup>
B			3	0
C		もみ殻	1	1 <sup>*)</sup>
D	敷料		1	0
E			1	0
F			2	0
G		3	0	
H		おが屑+もみ殻	3	2 <sup>*)</sup>
I	糞便	もみ殻	1	0
9			18	4

\* )陽性検体の鞭虫卵数: 2~3個/g

## 8 豚の流行性脳炎の発生と抗体保有状況調査

家畜保健衛生所 岡田真紀 山崎俊雄

はじめに

豚の流行性脳炎はフラビウイルス科、フラビウイルス属の日本脳炎ウイルス（JEV）が原因となり、蚊が媒介する人獣共通感染症である [1]。通常、豚が JEV に感染しても症状を示すことはないが、畜産経営上問題となるのは、妊娠豚に感染し、異常産を引き起こすことである [3]。感染した母豚は分娩満期に白子、黒子および神経症状を示す子豚を娩出し、胎児には肉眼的に脳軟化、脳水腫および脊髄の委縮などの所見が認められる [2]。春から夏にかけて種付けする母豚にワクチンを接種することで、予防することができる [3]。平成 28 年 10 月に一養豚農家にて豚の流行性脳炎が発生したので、その概要を報告する。

## 発生概要

発生農家は母豚 20 頭規模の繁殖肥育一貫農家である。母豚は平成 27 年 9 月 23 日生まれで、平成 28 年 3 月に県外より導入され、着地検査のため採血した。同年 5 月に JEV、パルボウイルス（PPV）、ゲタウイルスを含む混合ワクチンが接種されていた。7 月に種付けし、分娩予定日の 10 月 28 日に分娩誘起後、白子、黒子を含む 17 頭の胎児を娩出したが、16 頭が死産だった（図 1）。



図 1 死産胎児外貌

娩出された白子 3 頭、黒子 5 頭および水腫様胎児 9 頭（写真の一部）

## 材料および方法

白子 3 頭および水腫様胎児 6 頭を解剖し、胎児の主要臓器、頭蓋骨腔内の膜状構造物（脳膜）、脳脊髄液、骨格筋および胸水、腹水を採材した。母豚は 3 月着地検査時の血清と、分娩直後の血清を材料とした。

ウイルス検査は、最初に胎児の胸水、腹水および母豚血清の抗体検査を実施した。JEV および PPV は赤血球凝集抑制（HI）試験を実施した。アカバネウイルス（AKAV）JaGAr 株および Iriki 株、アイノウイルス（AINOV）、チュウザンウイルス（CHUV）、牛ウイルス性下痢ウイルス（BVDV）1 型および 2 型は中和試験を実施した。豚繁殖・呼吸障害症候群ウイルス（PRRSV）は ELISA 法、オーエスキーウイルス（ADV）はラテックス凝集法にて検査した。ウイルス分離は Vero 細胞を用いて、3 代盲継代した。遺伝子検査は、胎児 5 頭の臓器等より抽出した RNA を用いて JEV [4]、AKAV [5, 6]、AINOV [6, 7]、ピ

ートンウイルス (PEAV) [6]、BVDV [8] の RT-PCR を実施した。遺伝子解析は農研機構動物衛生研究部門 (動衛研) へ依頼し、JEV の E 領域に基づく分子系統樹解析を実施した。

病理組織検査はヘマトキシリン・エオジン (HE) 染色を実施し、動衛研へ抗 JEV 家兔血清を用いる免疫組織化学検査を依頼した。

細菌検査は細菌培養試験を実施した。

### 結果

剖検所見では、解剖を行った 9 頭全ての胎児で脳欠損、脳脊髄液の貯留および胸水、腹水の貯留が認められた。また、5 頭の胎児で四肢拘縮、脊柱彎曲が認められた (図 2)。

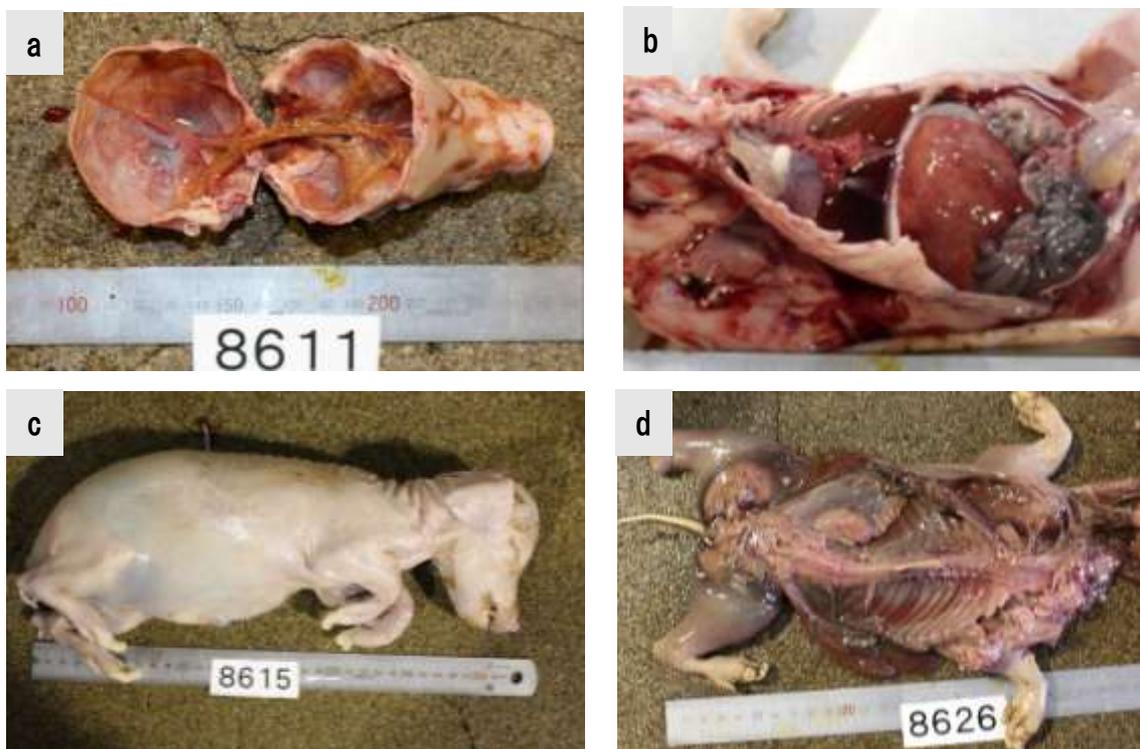


図 2 剖検所見

A では脳欠損、b では 胸水および腹水の貯留、c では四肢拘縮、d では脊柱彎曲が認められた。

ウイルス検査では、胎児 5 頭が JEV 抗体を保有しており、母豚の分娩直後の血清で 640 倍の HI 価を示した。混合ワクチンに含まれる PPV の抗体を胎児、母豚の血清ともに保有していなかった。アカバネウイルスやその他異常産関連ウイルスの抗体は胎児、母豚ともに保有していなかった (表 1)。ウイルス分離は陰性だった。

遺伝子検査では胎児 5 頭のうち 2 頭の脳膜、脳脊髄液、心臓、腎臓より JEV 特異遺伝子が検出され、その他ウイルスは検出されなかった。JEV の分子系統樹解析では、近年国内で主流となっている遺伝子型 1 に分類され、2013 年に福岡県で豚から分類された

株 (JEV/Sw/Fukuoka/1/2013) と核酸レベルの相同性が 99.5% で、最も近縁であることが判明した (図 3)。

病理組織検査では、骨格筋を採材した胎児 1 頭で筋線維矮小化が確認された (図 4)。胎児 3 頭の脳膜には神経細胞がごくわずかに認められた。免疫組織化学検査では胎児 3 頭中 1 頭の脳膜、脊髄、骨格筋において、非常に稀に不整形もしくは円形の核を持つ細胞の細胞質に一致して、抗 JEV 家兔血清に対する陽性反応が確認された。

細菌検査では、菌分離陰性であった。

表 1 抗体検査の結果について

No.	JEV	PPV	AKAV	AKAV	AINOV	CHUV	BVDV	BVDV	PRRSV	ADV	
			JaGAr 株	Iriki 株			1 型	2 型			
胎 児	①	×160	<×20	<×2	<×2	<×2	<×2	<×2	—	NT	
	②	NT	<×20	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	
	③	NT	<×20	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	
	④	NT	<×20	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	
	⑧	×640	<×20	<×2	<×2	<×2	<×2	<×2	<×2	—	NT
	⑨	×640	<×20	<×2	<×2	<×2	<×2	<×2	<×2	—	NT
	⑩	×160	<×20	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT
	⑪	×160	<×20	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT
	母 豚	①	<×20	<×20	<×2	<×2	<×2	<×2	<×2	—	—
		②	×640	<×20	<×2	<×2	<×2	<×2	<×2	—	—

胎児 5 頭が JEV 抗体を保有し、母豚の分娩直後の血清②で 640 倍の HI 価を示した。アカバネやその他異常産関連ウイルスの抗体は胎児、母豚ともに認められなかった。  
母豚血清①：着地検査時 ②：分娩直後 NT:検査実施せず

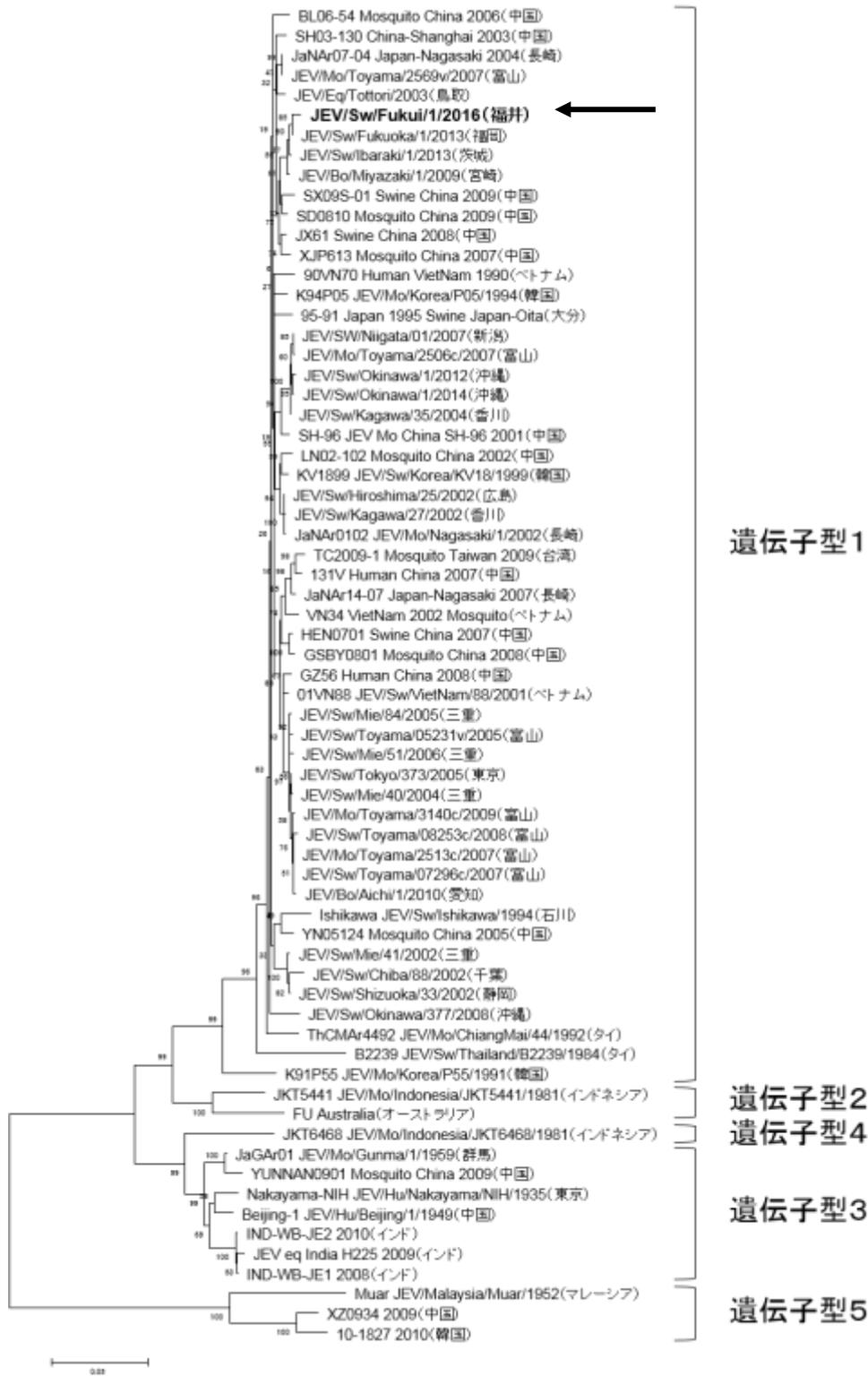


図3 日本脳炎ウイルス E 領域\* (1,500 塩基) に基づく分子系統樹 (NJ 法)  
 (\*エンベロップ糖タンパク質をコードしており抗原性に関連する)  
 ← の矢印は本症例のウイルス (JEV/Sw/Fukui/1/2016) を示す。

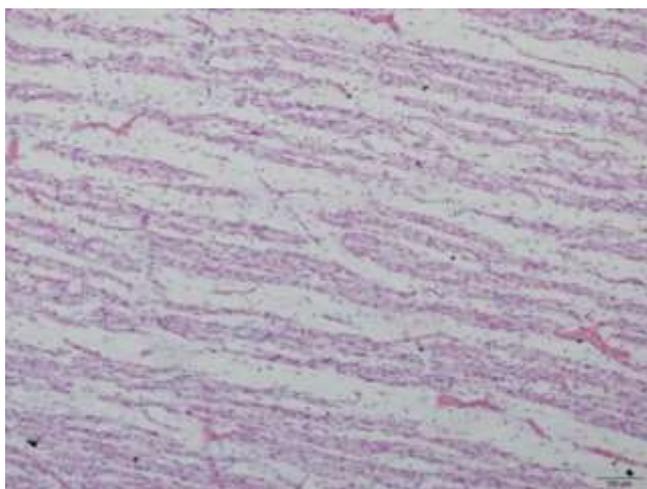


図 4 病理組織所見 (×40、HE 染色)  
骨格筋に筋線維矮小化が認められる。

#### JEV 抗体保有状況調査

県内の JEV 抗体保有状況調査を、過去 3 年間 10 月、11 月に採材した延べ 14 戸 135 頭の肥育豚の保存血清を用い、HI 試験で実施した。抗体陽性率は平成 26 年 6% (3/50 頭)、平成 27 年 46% (23/50 頭)、平成 28 年 57% (20/35 頭) であり、それぞれの年に対しカイ二乗検定により比較し、平成 26 年に対し、27 年および 28 年は有意差が認められ ( $p < 0.05$ )、県内における近年の JEV 流行したことが認められた (図 5)。

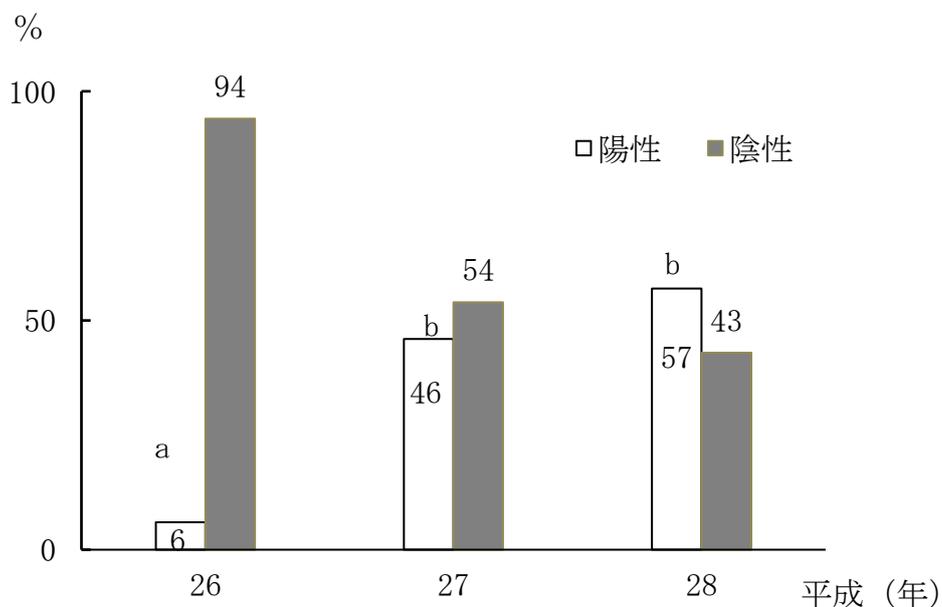


図5 平成26、27、28年のそれぞれ10月と11月に採材した県内肥育豚の保存血清における日本脳炎ウイルス抗体陽性の比較。カイ二乗検定でa,bの異符号間に有意差あり ( $p < 0.05$ )。

## まとめおよび考察

平成 28 年 10 月に県内の一養豚農家で、胎児の脳欠損や体型異常を主徴とする異常産が発生した。ウイルス検査では、JEV 抗体を胎児が保有しており、遺伝子検査では胎児臓器と脳脊髄液等から JEV 特異遺伝子が検出され、細菌検査では菌分離陰性であったことから豚の流行性脳炎と診断した。

最初は剖検所見の脳欠損や体型異常および病理組織所見の筋線維矮小化が、近年報告されている AKAV 感染による豚の異常産 [9-13] の特徴的な所見であったことから、ALAV の関与も強く疑ったが、抗体検査の結果から否定された。脳欠損が認められた流行性脳炎の報告は過去 2 例 [14, 15] と少なかった (表 2)。また、これら過去の 2 例では体型異常の報告がなく、本症例の所見は極めて稀であったと考える。

分子系統樹解析の結果から今回のウイルスは近年国内で流行している遺伝子型 1 に分類された。脳欠損の所見を認めた過去の 2 例では遺伝子解析は報告されておらず、脳欠損や体型異常の所見と、遺伝子型の関連については明らかにならなかった。今回のウイルスは 2013 年に福岡県で分離された株と最も近縁であった。このことから 2013 年に流行したウイルスが越冬し、平成 28 年も国内で活動したことが示唆された。

表 2 脳欠損を主徴とする流行性脳炎の報告

発生県	発生年	剖検所見	遺伝子型
奈良県	平成15年	脳欠損、脳腔内液貯留	不明
高知県	平成16年	水無脳症	不明
福井県	平成28年	脳欠損、脳脊髄液貯留 四肢拘縮、脊柱弯曲	遺伝子型 1

母豚には混合ワクチンが接種されていたが、母豚の分娩直後の血清で、このワクチンに含まれる PPV 抗体が上昇していなかった。このことから JEV についてもワクチンによる抗体が誘導されなかったと推察された。原因として、未越夏の母豚であったのにワクチンが単回接種であったことと、ワクチン接種時の注射針が短く、本来ならば皮下接種されるべきところが皮内接種になった可能性が考えられ、ワクチンによる抗体誘導が十分でなかったと推察された。JEV の野外感染を防止するためには 80 倍以上の HI 抗体価が必要とされているが、初めて夏を迎える繁殖豚は 2 回接種では十分な抗体価が得られず、3 回接種することにより高い抗体価を得られる [16]。このことから農家に対して改めてワクチンプログラムの見直しと、適正なワクチン接種について指導を行った。

また、県内の JEV 抗体保有状況調査から近年の JEV の流行が認められた。ワクチンの接種により豚の流行性脳炎の発生件数は減少しているが、依然 JEV が流行している状況

を踏まえ、県内養豚農家に対し吸血昆虫の駆除など衛生対策についても注意喚起を行うことが重要と思われた。

#### 謝辞

遺伝子解析を実施していただいた動衛研、白藤浩明先生および免疫組織化学検査を実施していただいた動衛研、芝原友幸先生に深謝いたします。

#### 引用文献

- [1] 医学ウイルス学 第四版 近代出版
- [2] 豚病診断カラーアトラス 久保正法 石川弘道
- [3] 豚病学 第三版 近代出版
- [4] 国立感染症研究所、地方衛生研究所全国微生物協議会編 (H15 年度)  
病原体検出マニュアル 636-654
- [5] 明石博臣(2010)アカバネウイルス S RNA の全塩基配列と異常産関連ウイルス病  
遺伝子診断のためのプライマー配列 J-STORE
- [6] Ohashi S, et al. (2004) Simultaneous detection of bovine arboviruses using  
single-tube multiples reverse transcription-polymerase chain reaction. J  
Virol Methods 120. 79-85
- [7] 山川睦(2012)牛異常産関連オルソブニヤウイルスの遺伝子を検出するマルチプ  
レックス RT-PCR 法について 家畜衛生週報 3189.
- [8] Vilcek S, et al. (1994) Pestiviruses isolated from pigs, cattle and sheep can  
be allocated into at least three genogroups using polymerase chain reaction  
and restriction analysis. Arch Virol 136. 309-323
- [9] 本田俊次ら 豚におけるアカバネウイルス感染症の発生例  
平成 24 年度全国家畜保健衛生業績抄録
- [10] 和田彬美ら 管内で発生したアカバネウイルスの関与を疑う豚異常産  
平成 26 年度全国家畜保健衛生業績抄録
- [11] 丸田哲也ら アカバネウイルスの関与が疑われた豚異常産の一例  
平成 26 年度全国家畜保健衛生業績抄録
- [12] 袈裟丸昇太ら アカバネウイルスの関与が疑われる豚の異常産  
家畜衛生週報 NO. 3420
- [13] 田中徹 佐賀県におけるアカバネウイルスの関与を疑う豚の流産事例  
平成 28 年度家畜衛生研修会
- [14] 西河真美ら 豚の日本脳炎 (JE) 発生例  
平成 15 年度全国家畜保健衛生業績抄録
- [15] 濱田康路ら 日本脳炎ウイルスによる豚の死産発生例

平成 16 年度全国家畜保健衛生業績抄録

- [16] 中川巳津英 効果的な日本脳炎ワクチン接種プログラム  
臨床獣医 2003. Aug. Vol, 21, No. 8