

第52回茨城県家畜保健衛生業績発表会(平成22年度)

茨城県農林水産部畜産課

まえがき

- 1 家畜保健衛生業績発表会は,家畜保健衛生所及び畜産関係機関の日常業務に 関連した事業,調査及び研究の業績について発表,討議を行い畜産の現況に即 した家畜衛生事業の改善,向上に資することを目的としている。
- 2 本集録は,第52回茨城県家畜保健衛生業績発表会における発表全文を集録したものである。

第52回茨城県家畜保健衛生業績発表会開催期日 平成23年1月20日(木)会 場 茨城県畜産センター研修室 石岡市根小屋1234

目次

第一部

(座長	長 県北家畜保健衛生所 衛生指導課長 高村	喬 覚志)
1	管内酪農団地における牛白血病清浄化への 県南家畜保健衛生所 三	
2	PRRS ウイルス浸潤のリスク要因分析・・ 県西家畜保健衛生所 矢	・・・・・・・・・・・・・・ g 口 裕司
3	鶏の飼養状況調査を活用した養鶏場の衛生が 県北家畜保健衛生所 栗	
4	管内養鶏農場におけるニューカッスル病ワク 県西家畜保健衛生所 萩	• • • • • • • • 2 3
(座長	長 鹿行家畜保健衛生所 衛生指導課長 榊原	京 裕二)
5	一貫経営養豚場におけるオーエスキー病の 県北家畜保健衛生所 山	
6	オーエスキー病清浄化対策に関する一考察 鹿行家畜保健衛生所 都	
7	管内のオーエスキー病清浄化に向けた取り約 - 関南家奈保健衛生所 清	

第二部

(座長	。	
8		一酪農におけるビタミンおよび脂質の乳期別推移に関する一考察・・・・・5 県北家畜保健衛生所 山口 大輔	1
9		遺伝子検査を用いた牛白血病ウイルスの疫学調査・・・・・・・・・5 県北家畜保健衛生所 川西菜穂子	7
1	0	豚肺から分離された Bordetella bronchiseptica 相菌類似のグラム陰性桿菌・・・・・・・6	5
		県北家畜保健衛生所 西野 弘人	
1	1	急性豚丹毒発生農場における発症原因及び改善対策の検討・・・・・・・7 鹿行家畜保健衛生所 大島 暁	1
(座長	長、県西家畜保健衛生所、衛生指導課長、渡邊、晃行)	
1	2	豚繁殖呼吸障害症候群(PRRS)浸潤農場で多発した死流産の一考察・・・・・7 鹿行家畜保健衛生所 赤上 正貴	9
1	3	本県で分離された豚由来病原性大腸菌の病原因子保有状況と薬剤感受性 ・・・・・・・・8	6
		県北家畜保健衛生所 西野 弘人	
1	4	ダチョウにみられた大腸菌症の病理組織学的検索・・・・・・・・・・9 ! 県北家畜保健衛生所 村山 丹穂	3
		要領 2 回茨城県家奈保健衛生業績発表会開催要領・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・	

第 一 部

1.管内酪農団地における牛白血病清浄化への取組状況

県南家畜保健衛生所 三浦 成見 谷島 直樹 須永 静二 井野 壽麿

牛白血病は,牛白血病ウイルス(BLV)の感染により発症する地方病型(成牛型)と病因が明らかでない散発型(子牛型,胸腺型,皮膚型)に分類される。全国的にも発生が増加傾向にあり,その大部分が地方病型牛白血病で,BLV 感染の拡大が懸念されている。

平成 21 年 4 月,管内酪農団地で牛白血病の発生が確認された。そのため,当該酪農団地の本病浸潤状況を把握するため,抗体検査を実施したところ,団地全体の抗体陽性率は 48.7 %であった。また,母牛の抗体保有状況による疫学調査から,子牛が抗体陽性となるリスクは,母牛が抗体陽性の場合は,母牛が抗体陰性の場合に比べ 20.7 倍高いことがわかった。本病の清浄化には水平感染の防止対策と併せて初乳の給与方法を主眼とした垂直感染防止が重要と考え,特に初乳の凍結および加温処理,あるいは人工初乳等を応用する初乳対策を提案し,平成21 年 12 月より,各農場が取り組みやすい初乳の給与方法を選択し,開始した。

一方,これまでの対策の基本は,抗体陽性牛の淘汰,あるいは陽性牛から後継牛を作らないこととされてきたが,特に抗体陽性率が高い農場では,取り組み困難な対策であった。そこで,抗体陽性牛の中でも,より感染源となる可能性が高い牛として感染伝播高リスク牛(以下,ハイリスク牛)の基準を設けることで,淘汰・更新や交配時の判断基準とした。

清浄化対策 2 年目である今年度は、初乳対策の効果を確認し、検証を行った。 ハイリスク牛については、摘発のための検査を実施し、可能な範囲で淘汰・更新 を指導した。また、水平感染の伝播状況を把握するため、抗体陰性牛の追跡調査 を実施し検証を行ったので、その概要を報告する。

農場の選定および現在の取組状況(表1および表2)

当該酪農団地は 13 戸からなり(図 1),団地全体で清浄化対策に取り組んでいるが,清浄化対策 2 年目の今年度は,飼養形態,農場の陽性率および清浄化への取り組み状況を考慮し,5 農場を選定した。

A農場:150頭飼養のフリーストール牛舎で,抗体陽性率は59.6%であった。初乳は人工初乳を給与し,初乳給与後は代用乳を与えている。吸血昆虫対策は行っていない。

B 農場: 100 頭飼養のフリーストール牛舎で, 抗体陽性率は 60.4 %であった。過

去1年間に地方病型牛白血病を2頭発症した。県外で育成牛の放牧を行っている。 初乳は陽性母牛の産子には人工初乳を,陰性母牛はそのまま給与している。その 後は代用乳を与えている。吸血昆虫対策は,殺虫剤の散布と石灰による牛床の幼 虫対策を行っている。

C農場:80 頭飼養のタイストール牛舎で,抗体陽性率は 59.4 %であった。初乳は凍結処理して給与し,その後は凍結した陰性牛のプール乳および代用乳を与えている。吸血昆虫対策は,殺虫剤の散布や粘着シートを設置している。

D農場:80 頭飼養のタイストール牛舎で,抗体陽性率は46.3 %であった。平成20年4月県外と畜場に出荷した牛が,地方病型牛白血病で廃棄処分となった。初乳は陰性牛の凍結処理乳を給与し,その後は代用乳を与えている。抗体陽性牛の産子を後継牛としない対策を行っている。吸血昆虫対策は,殺虫剤の散布を行っている。

E農場:70 頭を飼養し,フリーバーン牛舎と 500 m離れた施設で育成牛を別飼いしており,抗体陽性率は 81.1 %であった。県外から育成牛を導入している。初乳は,加温処理して給与していたが,その後,人工初乳に変更した。人工初乳給与後は,加温処理した常乳を与えている。吸血昆虫対策は,石灰による牛床の幼虫対策を行っており,人為的感染対策としては除角時の器具消毒を1頭毎行っている。

方法

1 初乳の効果確認

(1)子牛

出生後から 6 ヵ月前後の子牛 56 頭について, ELISA 法による抗体検査を実施した。抗体検査は,すべて市販の牛白血病エライザキット(チッソ株式会社)を用いた。

このうち,加温および凍結処理した初乳を給与した子牛および移行抗体の可能性が否定できない子牛 21 頭は,遺伝子検査として PCR 検査(Nested-PCR)を実施した。

(2)母牛

検査を実施した子牛 56 頭の母牛のうち,21 頭について ELISA 法による抗体検査により,抗体保有状況を確認した。残り34 頭は昨年の抗体検査結果を参考とし,1 頭は母牛の確認ができなかった。

2 ハイリスク牛の摘発検査

抗体陽性であった牛 240 頭について検査を実施した。ハイリスク牛の基準は,EC の鍵(図 2)により「真症」であること,かつ,BLV 遺伝子量 1000 コピー/ DNA100ng (または μ 1) 以上であることを基準とした。

(1)リンパ球数の算出

血球計算機(MEK-6108,日本光電)で白血球数を測定すると同時に血液塗沫を行い,ギムザ染色後に白血球百分比を測定し,リンパ球数を算出した。

(2)遺伝子検査

塩化アンモニウム法により白血球から抽出した DNA を材料として,CycleavePCR ウシ白血病ウイルス検出キット(タカラバイオ株式会社)を用いてリアルタイム PCR を実施した。

3 抗体陰性牛の追跡調査

平成 22 年 11 月 , 抗体陰性を確認している 10 ヵ月齢以上の牛 204 頭について , ELISA 法による抗体検査を実施した。

4 農場陽性率

3 の抗体陰性牛の追跡調査の結果および昨年度の抗体検査結果に基づき,10 ヵ 月齢以上の飼養牛における陽性率を算出した。

結果

1 初乳の効果確認(表3)

(1)子牛

抗体検査では 56 頭中 12 頭が抗体陽性であった。そのうち 5 頭が PCR 検査で陽性を示した。農場別では,A 農場では 20 頭中 5 頭が抗体陽性を示したが,PCR 検査では全頭陰性であった。B 農場では,17 頭中 2 頭が抗体陽性を示し,そのうち 1 頭が PCR 検査陽性であった。C 農場では,5 頭中 2 頭が抗体陽性を示し,そのうち 1 頭が PCR 検査陽性であった。D 農場では,7 頭中 1 頭が抗体陽性,PCR 検査でも陽性であった。E 農場では,7 頭中 2 頭が抗体陽性,PCR 検査でも陽性であった。

(2)母牛

母牛の抗体保有状況を調査したところ,抗体陽性の母牛は 39 頭,抗体陰性の母牛は 16 頭が確認できた。

抗体陽性母牛の 39 頭から生まれた子牛のうち 11 頭が抗体陽性を示し,そのうち 5 頭は PCR 検査陽性であった。農場別では B , C および D 農場でそれぞれ 1 頭 , E 農場で 2 頭 , A 農場では認められなかった。

抗体陰性母牛の 16 頭からは,すべての農場で感染子牛は認められなかった。

2 ハイリスク牛の摘発検査(表4)

検査した 240 頭のうち,基準に基づき摘発したハイリスク牛は 72 頭であった (摘発率 30 %)。そのうち 14 頭を淘汰・更新した。農場別では,A 農場では 62 頭中 18 頭がハイリスク牛(摘発率 29.0%)であり,そのうち 2 頭を更新した。B 農場では 52 頭中 19 頭がハイリスク牛(摘発率 36.5%)であり,そのうち 6 頭を

更新した。C 農場では 42 頭中 16 頭がハイリスク牛(摘発率 38.1%)であり、そのうち 3 頭を更新した。D 農場では 36 頭中 11 頭がハイリスク牛(摘発率 30.6%)であり、そのうち 2 頭を更新した。E 農場では 48 頭中 8 頭がハイリスク牛(摘発率 16.7%)であり、そのうち 1 頭を更新した。

3 抗体陰性牛の追跡調査(表5)

抗体陰性牛 204 頭を検査したところ,55 頭が抗体陽性(陽転率 27.0 %)を示した。このうち,成牛は 139 頭中 50 頭が抗体陽性(陽転率 36.0 %),育成牛では 65 頭中 5 頭が抗体陽性(陽転率 7.7 %)であった。

農場別では,A農場は66頭中22頭が抗体陽性(陽転率33.3%)を示した。このうち,成牛は39頭中20頭,育成牛は27頭中2頭が抗体陽性であった。B農場は51頭中12頭が抗体陽性(陽転率23.5%)を示した。このうち,成牛は37頭中10頭,育成牛は14頭中2頭が抗体陽性であった。C農場は31頭中6頭が抗体陽性(陽転率19.4%)を示した。このうち,成牛は23頭中6頭が抗体陽性,育成牛は8頭すべて陰性であった。D農場は41頭中12頭が抗体陽性(陽転率29.3%)を示した。このうち,成牛は31頭中11頭,育成牛は10頭中1頭が抗体陽性であった。E農場は15頭中3頭が抗体陽性(陽転率20.0%)示した。このうち,成牛は9頭中3頭が抗体陽性,育成牛は6頭すべて陰性であった。

4 農場陽性率(表6)

今回調査した農場陽性率は,63.0%であった。農場毎では,A農場は63.3%,B 農場は56.7%,C農場は60.3%,D農場は60.3%およびE農場は78.9%であった。

まとめ

1年目の取り組みでは、各検査結果に基づく検討会において、牛白血病の清浄化には水平感染の防止対策と併せて初乳の給与方法を主眼とした垂直感染防止対策を提案した。垂直感染防止対策としては、分娩後は速やかに子牛と母牛を離すとともに、初乳の給与方法の検討を行い、初乳の加温、初乳の凍結および人工初乳により、それぞれの農場が取り組みやすい方法で開始した。今回、出生後から6ヵ月齢前後の子牛について抗体検査およびPCR検査を実施したところ、56頭中5頭に感染が認められた。感染が確認された子牛5頭の母牛は、いずれも抗体陽性であった。一方、抗体陰性母牛からは子牛の感染は認められなかった。抗体陽性母牛39頭における子牛の感染率は12.8%であり、昨年の調査を比較したところ、抗体陽性母牛から生まれた2歳以下の牛の抗体陽性率は46%であったことから、本病清浄化における初乳対策は、十分効果が期待できることが示唆された。

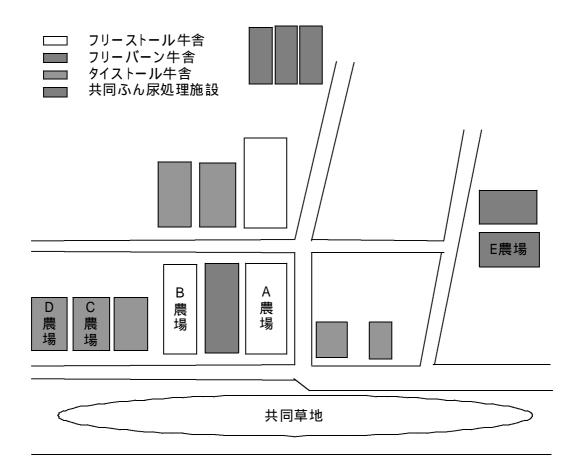
感染が認められた子牛の原因について農場毎に検証を行ったところ,D 農場では,1 頭の感染が認められ,母牛は今回の陰性牛追跡調査で陽転が確認された。 初乳は陰性母牛の凍結処理を給与しており,子宮内感染の可能性は否定できない が,凍結処理が不十分であり,ウイルスが不活化されなかった可能性が考えられる。E 農場では,子牛 2 頭に感染が認められた。農場主より,1 頭は夜半から明け方に生まれ,母牛からすでに初乳を飲んでいたとのことであり,初乳や接触によって母牛から感染した可能性が考えられる。また,感染子牛 2 頭は,同時期に生まれた子牛であり,仕切りで区切られてはいたが,接触できる環境で飼養されており,子牛同士の水平感染も考えられる。B および C 農場の感染子牛については,農場主より分娩後の管理および初乳に問題はなかったとのことで,原因は不明である。

ハイリスク牛の摘発は,検査した 240 頭のうち 72 頭が摘発され,摘発率は 30 %であった。そのうち,14 頭が淘汰・更新された。特に発症が確認された B 農場では,積極的に検査結果を受け入れ,現在までに 6 頭を淘汰・更新している。その他の農場では,交配時にハイリスク牛から後継牛を作らないようにするため,今回の調査結果を活用している。

抗体陰性牛の追跡調査では,204頭を検査したところ,55頭が抗体陽性を示し,27.0%の陽転率だった。なかでも,吸血昆虫対策を行っていない A 農場では,陽転率が高い傾向にあった。一方,他の農場に比べ C および E 農場は,やや低い値を示したのは,選定農場の内,吸血昆虫に注意を払っており,積極的に吸血昆虫対策を行っているためと考えられる。

今回,当該酪農団地の牛白血病清浄化への取り組み2年目として,各調査によりその効果を検証したところ,垂直感染防止対策としての初乳の給与方法は,十分期待できることが示唆された。しかしながら,5農場の農場陽性率を昨年と比較すると,大きな変化は見られなかった。このことは,水平感染防止対策としては,吸血昆虫対策を積極的に取り入れている農場は少なく,また,陽性牛の分離飼育や作業工程の見直しは飼養形態や飼養管理上困難とし,水平感染防止対策には限界があると考えている農場が多く,十分に対策が取られていなかったためと考えられる。

しかし,今回の調査結果において,成牛での陽転率が 36.0%であるのに対し, 育成牛では 7.7 %と低い値を示した。水平感染防止対策として,育成牛での陽性 牛の分離飼育であれば取り組み可能であるとの意見もあったことから,今後の本 病清浄化の取り組みとしては,垂直感染防止対策としての初乳の給与方法と併せ て,水平感染防止対策としての吸血昆虫対策および育成段階での陽性牛分離飼育 を提案することで,当該酪農団地の本病の清浄化をさらに一歩前進させることが できるものと考える。



河川

図1 酪農団地見取り図

年龄 -	IJ	ンパ球絶対数/	μl
<u>+</u> -困₹ -	正常	疑症	真症
0-1	<11000	11000-13000	>13000
1-2	<10000	10000-12000	>12000
2-3	<8500	8500-10500	>10500
3-4	<7500	7500-9500	>9500
4-5	<6500	6500-8500	>8500
5-6	<6000	6000-8000	>8000
>6	<5500	5500-7500	>7500

図2 ECの鍵(新版獣医内科学より)

表1 選定農場の概要

農場	頭数	形態	導入·放牧	発症歴	H21抗体陽性率
A	150	フリーストール	なし	なし	59.6
В	100	フリーストール	放牧	2頭(H21.12月, H22.3月)	60.4
C	80	タイストール	なし	なし	59.4
D	80	タイストール	なし	1頭(H20.4月 と畜場)	46.3
Е	70	フリーバーン	導入	なし	81.1

表2 選定農場の取組状況

224			
農場	初乳の給与方法	吸血昆虫対策	人為的感染対策
Α	人工初乳 代用乳	なし	針・手袋の1頭毎交換
В	母牛陽性:人工初乳 代用乳 母牛陰性:そのまま給与	殺虫剤 石灰による幼虫対策	針・手袋の1頭毎交換
С	凍結処理 陰性牛のプール乳 + 代用乳	殺虫剤 粘着シート	針・手袋の1頭毎交換
D	陰性牛初乳を凍結処理 代用乳	殺虫剤	針・手袋の1頭毎交換
Е	加温処理 (変更)人工初乳 加温処理乳	石灰による幼虫対策	針·手袋の1頭毎交換 除角器は1頭毎消毒

表3 初乳の効果確認

農場	ュ	牛 -	抗	体	PCR
辰·歾 	J		頭数	陽性	陽性
	全	体	20	5	0
Α	母牛	陽性	15	5	0
	母十	陰性	5	0	-
	全	体	17	2	1
В	母牛	陽性	10	1	1
	母十	陰性	7	1	0
	全	体	5	2	1
С	母牛	陽性	3	2	1
		陰性	2	0	-
	全	体	7	1	1
D	母牛	陽性	5	1	1
D		陰性	1	0	-
		不明	1	0	-
	全	体	7	2	2
Е	母牛	陽性	6	2	2
	97	陰性	1	0	-
	全	体	56	12	5
合計		陽性	39	11	5
	母牛	陰性	16	1	0
		不明	1	0	-

表4 感染伝播高リスク牛の摘発

農場	陽性頭数	ハイリスク牛	摘発率	更新頭数
Α	62	18	29.0	2
В	52	19	36.5	6
С	42	16	38.1	3
D	36	11	30.6	2
E	48	8	16.7	1
合計	240	72	30.0	14

表5 陰性牛の追跡調査結果

農	場	頭数	陽性	陽転率
	全 体	66	22	33.3
Α	成牛	39	20	51.3
	育成牛	27	2	7.4
	全 体	51	12	23.5
В	成牛	37	10	27.0
	育成牛	14	2	14.3
	全 体	31	6	19.4
С	成牛	23	6	26.1
	育成牛	8	0	0.0
	全 体	41	12	29.3
D	成牛	31	11	35.5
	育成牛	10	1	10.0
	全 体	15	3	20.0
Е	成牛	9	3	33.3
	育成牛	6	0	0.0
	全 体	204	55	27.0
合計	成牛	139	50	36.0
	育成牛	65	5	7.7

表6 農場陽性率

農場	飼養頭数	陽性	陽性率
Α	120	76	63.3
В	90	51	56.7
С	68	41	60.3
D	73	44	60.3
Е	57	45	78.9
合計	408	257	63.0

2 . PRRS ウイルス浸潤のリスク要因分析

県西家畜保健衛生所

矢口裕司渡辺晃行田中信明小松友一

豚繁殖・呼吸障害症候群(以下,PRRS)は母豚の繁殖障害や肉豚の呼吸器症状などを引き起こす他,免疫力を低下させて様々な二次感染を容易にするため,その経済的被害は大きい。管内においてもその浸潤率は高く,広範囲に広がっているが,陰性を保っている農場も存在する。

今回 PRRS 清浄化対策の一助とすべく, PRRS ウイルスの浸潤状況と飼養衛生管理との関連を調査し,浸潤リスクの要因を検討したのでその概要を報告する。

調査のねらい

一般に PRRS ウイルスは乾燥に弱いとされ,オールイン・オールアウト時の水洗・消毒・乾燥による対策が最も有効とされている。しかし,豚舎の構造上の問題や密飼いなどにより,管内の農場ではオールイン・オールアウトを実施できている農場は少ない。そこで,資金や人的資源が限られるなか,最も効果的に防疫対策を推進するためには,現状に合わせた対策が必要となる。そのため,特にPRRS 対策として重要と思われる飼養衛生管理のポイントを探るため調査を実施した。

調査方法

1 PRRS ウイルス浸潤状況調査

平成 21 年 4 月から平成 22 年 11 月までに採血した 114 戸 2198 頭の血清を使用し PRRS 抗体検査を実施した。検査は PRRS エリーザキット(IDEXX 社製)を用いて ELISA 検査を実施した。なお、PRRS ワクチンを接種している農場(5 戸)については、野外とワクチン抗体の区別が抗体検査では出来ないため、今回の調査の対象外とした。

2 飼養衛生管理状況調査

PRRS ウイルスの浸潤に関連が深いと思われる飼養衛生管理状況の 9 項目について,管内全戸(160 戸)に対し聞き取り調査を実施した。対象項目として,飼養規模,空舎期間,飼養密度,豚サーコウイルス 2 型(以下,PCV2)及びマイコプラズマワクチン接種の有無,肉豚へのワクチン接種回数,繁殖豚の導入の有無,車両消毒の有無,農場立入制限の有無を調査対象とした。なお,PCV2 及びマイコプラズマは PRRS の感染や発症に関係していると思われたことと,ワクチ

ン接種行為もウイルスの広がり影響していると考えられたため調査対象に加えた。

調査結果

- 1 PRRS 抗体検査結果
 - 114 戸で検査を実施したところ,33 戸で陰性,81 戸で陽性であった。
- 2 飼養衛生管理状況調査結果

PRRS 抗体検査結果が判明している 114 戸において調査結果を集計した。なお,項目すべてに回答を得られない農場が存在したため各項目の回答数は異なる。

母豚規模では,20 頭以下が30 戸,21~50 頭が24 戸,51 ~ 100 頭が29 戸,101 頭以上が31 戸であった。空舎期間では,0~1 日が19 戸,2~3 日が19 戸,4~6日が6 戸,7~13 日が19 戸,14 日以上が11 戸であった。飼養密度では,0.4m²/頭未満が14 戸,0.4~0.6m²/頭が7 戸,0.6~0.8m²/頭が21 戸,0.8m²/頭以上が14 戸であった。PCV2 ワクチン接種状況では,接種農場が65 戸,未接種農場が48 戸であった。マイコプラズマワクチン接種状況では,接種農場が53 戸,未接種農場が60 戸であった。PCV2 及びマイコプラズマ以外のワクチン接種も含めた肉豚1頭あたりのワクチン総接種回数は,0~2 回が47 戸,3~4 回が39 戸,5 回以上が25 戸であった。繁殖豚の過去1年の導入状況では,導入したが50 戸, 導入していないが17 戸であった。車両消毒実施状況では,徹底しているが21 戸,徹底していないが48 戸であった。農場立入制限実施状況では,徹底しているが34 戸,徹底していないが36 戸であった。

結果の分析

1 PRRS 抗体保有状況と飼養衛生管理の関係

各項目において戸数と陽性率(陽性戸数)を比較したところ,規模では 20 頭以下が 33% (10 戸), 21~50 頭が 56% (13 戸), 51 ~ 100 頭が 97% (28 戸), 101 頭以上が 97% (30 戸)であり,規模が小さいほど,陽性率が低い傾向がみられた(図 1)。

空舎期間では 0 ~ 1 日が 100%(19 戸),2 ~ 3 日が 79%(15 戸),4 ~ 6 日が 100%(6 戸),7 ~ 13 日が 68%(13 戸),14 日以上が 45%(5 戸)であり,空舎期間が長くなるほど陽性率が減少する傾向がみられた(図 2)。

密度では 0.4m^2 /頭未満が 93%(13 戸) ,0.4 ~ 0.6m^2 /頭が 100%(7 戸) ,0.6 ~ 0.8m^2 /頭が 81% (17 戸) , 0.8m^2 /頭以上が 67% (8 戸) であり , 1 頭あたりの豚房面積が 大きくなるほど , 陽性率が減少する傾向がみられた (図 3)。

PCV2 ワクチン接種状況では接種農場が 88% (57 戸), 未接種農場が 50% (24 戸)であり,接種農場の方が陽性率が高かった(表1)。

マイコプラズマワクチン接種状況では接種農場が 89% (47 戸), 未接種農場が 57% (34 戸)であり, PCV 2 と同様に接種農場の方が陽性率が高い結果となった(表 2)。

肉豚へのワクチン接種回数と PRRS 抗体陽性率の比較では ,0 ~ 2 回が 51%(24 戸),3 ~ 4 回が 82%(32 戸),5 回以上が 96%(24 戸)であり,接種回数が多いほど陽性率が高い傾向がみられた(図 4)。

導入の有無では導入する方が陽性率が高かったが,車両消毒実施状況及び立入制限実施状況では陽性率にはほとんど差はみられなかった(表3~5)。

2 有意差の検証

さらに、PRRS ウイルス浸潤状況と各項目との関連性について有意差を検証するため有意水準 5% (p<0.05)としてカイ 2 乗検定を行った。なお、規模、空舎期間、密度、ワクチン接種回数において各区分間の比較の際には、多重比較による誤差を無くすため、ボンフェローニ法により補正した有意水準を用いて検定を実施した。

その結果,飼養規模と抗体陽性農場との関連では,母豚 50 頭未満と 50 頭以上の間に有意に差がみられた。空舎期間と抗体陽性農場との関連では,空舎期間が 0 ~ 1 日と 14 日以上の間に有意に差がみられた。

ワクチン接種状況と抗体陽性農場との関連では,PCV2 及びマイコプラズマと もに接種農場と未接種農場では有意に差がみられた。肉豚へのワクチン接種回数 でも3回以上接種している農場群と2回以下の農場群とで有意に差がみられた。

飼養密度,導入の有無,車両消毒実施状況,立入制限実施状況では抗体陽性農場との間に,特に有意な差はみられなかった。

まとめ

PRRS は抗体陽性でも、肉豚での呼吸器症状などの臨床症状を必ずしも引き起こすことはないが、ウイルスはマクロファージで増殖し免疫系を弱め、二次感染や混合感染を容易にしてしまう家畜衛生上重要な疾病である。今回検査した中では管内の約7割の農場で陽性が確認され、広範囲に浸潤していることが明らかになった。しかし、聞き取り調査の際には明らかに PRRS の発症を疑う農場はみられなかった。そのため、PRRS に対する関心が低い農場が多く、PRRS に対する知識や意識レベルが十分でないことも感じられた。

PRRS ウイルスは乾燥に極めて弱く,室温では数時間で死滅するが,液体中では室温で $1\sim6$ 日間生存するとされている。今回の検証でも空舎期間が 2 週間以上の農場では $0\sim1$ 日間に比べて有意に陽性農場が減少していた。これは 2 週間以上空けることで,完全な乾燥が実施可能となっているため,豚舎全体でオールイン・オールアウトは実施できていなくとも,豚房単位でウイルスの感染環を断

ち切れていることが示唆された。また、母豚が 50 頭以下の農場で有意に差がみられた理由として、小規模農場では、開放豚舎が多く換気しやすい環境であり、管理が十分できている農場が多いため、ウイルスが生存しづらい環境であったと推察される。

密度では密飼い豚房ほど陽性率が高い傾向がみられたが,特に有意差はみられなかった。このことは,飼養密度は水平感染に影響するが,ウイルスそのものを排除する乾燥という行為の方が,より効果的な対策であると示唆された。

陰性農場の中から,規模が 50 頭前後で空舎期間が 1 ~ 2 日しかない農場について,詳しく聞き取りを行ったところ,空舎期間は 1 ~ 2 日でも豚舎の洗浄方法に高圧洗浄機を使用していたり,洗浄後は乾燥するよう意識するなど,要点を押さえた対策を実施していることがわかった。オールイン・オールアウトの導入が難しい農場においては,農場主にウイルスの弱点をよく理解してもらうことで,十分な対策がとれると考えられる。

また、今回の調査では肉豚へのワクチン接種回数が多いほど有意に陽性率が高くなる結果が得られた。ワクチン接種方法においても、聞き取り調査からは1頭1針はもとより1豚房1針を徹底している農場は確認できなかった。一般に PRRSの感染の広がりや発症には、マイコプラズマや PCV2 が関与しているされており、ワクチン接種している農場では PRRS の感染を多少抑える効果があると思われたが、結果は予想に反していた。このことは、一針によるワクチン接種行為は PRRSウイルスを広げるために大きく影響していると示唆され、豚房毎に針を交換し接種することで感染のリスクを下げることができると考えられた。今回は抗生物質の注射による治療は考慮にいれていないが、日常的に治療する農場では PRRSの浸潤の手助けをしている可能性も考えられた。

PRRS ウイルスはいったん侵入するとその後長くとどまることが多い。株も様々なタイプが存在し、農場によって異なる。同じ農場内でも複数の株に感染していることもあることからまずは農場内にウイルスを侵入させないことが重要となる。今回の調査では導入・車両消毒・立入制限の有無が農場陽性率と有意に関連しているデータは得られなかったが、管内における農場防疫(バイオセキュリティー)は調査結果から考えると徹底しているとはいえない。今後、PRRS 陽性農場が陰性化できたとしても、バイオセキュリティーレベルが低いままでは再び侵入を許してしまい、その他の疾病についても感染を広げてしまうことが危惧される。

今回の調査結果の分析から,ウイルス感染環を断ち切ることに意識を向けた衛生対策を最優先で指導を行っていく必要があると分かった。具体的には適正な飼養密度で無理なく管理できることや,高圧洗浄機などでしっかりと洗浄し消毒実施後,十分に乾燥させることなどが挙げられる。それに伴い,PRRS に対する知

見を深め意識レベルを向上することが早期陰性化の近道と思われた。

今後は,より具体的な要因を探るべく,豚舎構造,換気方法,洗浄・消毒方法, ピッグフローなどの詳細な項目も設定したうえ,換気や温度もしくは意識レベル についても調査し,陽性農場の早期陰性化を目指す上でのより実践的で有効な対 策をみつけていきたいと考える。

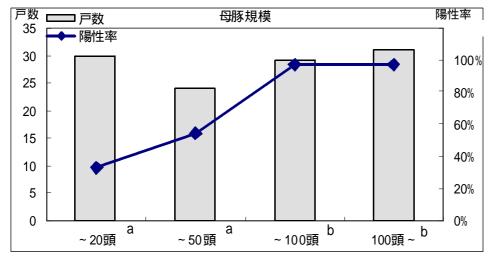


図1 母豚規模と陽性率の関係 *<u>異符号間で有意差あり</u>(P<0.05)

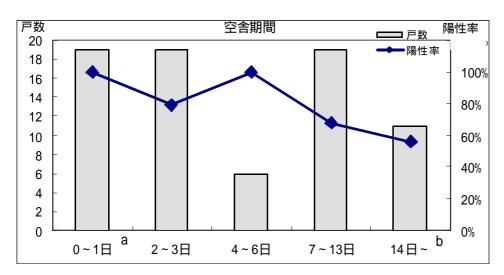


図2 空舎期間と陽性率の関係 *<u>異符号間で有意差あり</u>(P<0.05)

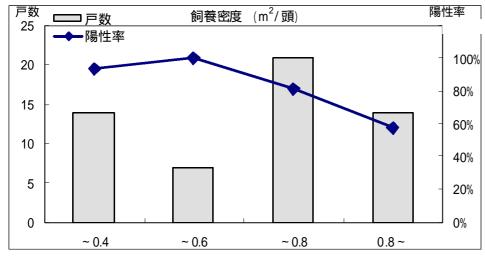


図3 飼養密度の陽性率の関係

表1 PCV2 ワクチン接種状況

PCV2 接種 a		未接種 b	計		
陽性戸数	57	24	81		
(陽性率)	88%	50%	01		
陰性戸数	8	24	32		
計	65	48	113		

* <u>異符号間で有意差あり</u> (P<0.05)

表2 マイコプラズマワクチン接種状況

₹イコプラス [*] ₹	接種 a	未接種 b	計
陽性戸数	47	34	81
(陽性率)	89%	57%	01
陰性戸数	6	26	32
計	59	67	126

* <u>異符号間で有意差あり</u> (P<0.05)

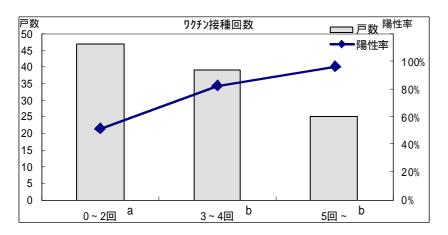


図4 ワクチン接種回数と陽性率の関係

* 異符号間で有意差あり (P<0.05)

表3 導入状況の有無

導入状況	有り	無し	計
陽性戸数	42	11	53
(陽性率)	84%	65%	3
陰性戸数	8	6	14
計	50	17	67

表4 車両消毒実施状況

車両消毒	徹底	不徹底	計
陽性戸数	16	36	52
(陽性率)	76%	75%	32
陰性戸数	5	12	17
計	21	48	69

表5 立入制限実施状況

立入制限	徹底	不徹底	計
陽性戸数	24	28	52
(陽性率)	71%	78%	52
陰性戸数	10	8	18
計	71	78	70

3.鶏の飼養状況調査を活用した養鶏場の衛生対策向上への取り組み

県北家畜保健衛生所 栗田 敬介 會田 裕香 本谷 匠 飯島 知一

茨城県では H17 年 6 月に高病原性鳥インフルエンザ(以下,HPAI)が発生して以来,茨城県 HPAI モニタリングプログラムに基づき,国の指針より厳格な内容で,発生予防対策や侵入・監視対策等を講じている。また,県独自の発生予防対策として,100 羽以上飼養する養鶏場を対象に,飼養衛生管理基準の遵守,発生予防に関する知識の普及・啓発等,指導するために飼養衛生管理基準に基づき,立入調査(以下,飼養状況調査)を実施している。

平成 22 年 4 月に宮崎県で発生した口蹄疫は,畜産業界だけでなく,地域経済にも大きな影響を及ぼした。そのため,早期発見,早期通報の連絡体制や家畜の生産段階における飼養衛生管理対策が改めて重要視されている。

そこで,管内養鶏場の衛生実態を把握し,今後の衛生対策向上の参考とするため飼養状況調査結果の分析を行ったのでその概要を報告する。

調査方法及び調査内容

管内養鶏場の農場数は 114 戸あり,採卵鶏農場は 84 戸,肉用鶏は 30 戸の 114 戸であり,飼養羽数により 2,500 羽未満の小規模農場 34 戸, 2,500 羽 ~ 50,000 羽未満の中規模農場 46 戸,50,000 羽以上の大規模農場 34 戸に分類し,比較分析を行った。

1 調査期間

飼養状況調査,死亡羽数等報告徴求については平成21年4月~平成22年3月, 野生動物等の被害状況は平成21年4月~平成22年10月の期間実施した。

2 調査内容

(1)飼養状況調査

本県では HPAI 対策の一環として,立入り検査時に飼養衛生管理状況を把握するために聞き取り調査を実施している。その際,飼養衛生管理基準のチェック表を利用し,集計,分析を行った(表 1)。

(2)死亡羽数等報告徵求

HPAI の監視体制強化の一つとして,月 1 回家禽飼養者に対して,死亡羽数や健康状態,飼養衛生管理の異常等の報告を求めているが,その結果を基に農場規模別で月毎の平均死亡率をグラフ化した(図 1)。

(3)野生動物等の被害状況

近年,環境の変化等による野生鳥獣の生息域の拡大や活動範囲の変化等により, 野鳥や野生動物の鶏舎への侵入リスクが高まっており,野生のアライグマから H5N1 亜型の HPAI ウイルス抗体検出も報告されている。このようなことから, 飼養状況調査の野生鳥獣による被害状況を調査した(表 2)。

調査結果

1 飼養状況調査

飼養衛生管理基準は 10 項目から成り, さらにその確認事項として 25 のチェック項目がある。この基準の 7 項目,「鶏舎や器具の清掃又は消毒の励行」,「飼料や水への排泄物等の流入防止」,「導入家禽の健康観察等の実施」,「出荷時における家禽の健康確認」,「異常鶏の早期発見・早期受診」,「過密な状況での家禽の飼養回避」,「家畜伝染病に関する知識の習得」については,各農場とも概ね,適切に対策が講じられていた。しかし,「畜舎出入り時の手指・作業衣等の消毒」,「人や車両の出入り制限・消毒の実施」,「野生動物や害虫の侵入防止」の項目については対策が不十分な農場が認められたため,そのチェック項目に着目し,検討した。

(1)畜舎出入り時の手指・作業衣等の消毒

踏み込み消毒槽の設置は 100 戸,88%の農場が対策を講じているが,未実施の農場も 14 戸,12%あった。農場規模別では,小規模農場の 10 戸,29%,中規模農場 3 戸,6%,大規模農場の 1 戸,3%が未設置であった。その理由としては,小・中規模農場では「有機農法で飼養管理しているため消毒は基本的に行わない」,「EM 菌が死滅するため消毒は行わない」,「長靴を交換しているため必要なし」等で,大規模農場では「すべての鶏舎に設置すると管理が不徹底になり,そこからの汚染が懸念されるため」であった。鶏舎毎の専用作業衣・作業靴の使用は 108 戸,95%の農場が実施しているが,未実施の農場も 6 戸,5%あった。その理由として,「農作業の靴と兼用のため」と鶏舎の管理を農作業の一環と捉え,鶏舎専用の靴への交換の必要性を認識していない農場がみられた。

(2)人や車両の出入り制限・消毒の実施

施設への立入り制限措置は 103 戸,90%の農場が対策を講じているが,未実施の農場も 11 戸,10%あった。農場規模別では,小規模農場の 7 戸,21%,中規模農場の 4 戸,9%が未実施であったが,大規模農場では全農場設置していた。未実施の理由としては,「農場内を立入禁止にしているため,人が入ってこない」等,立入る人はいなく必要ないと思っている農場がみられた。車両消毒は 102 戸,89%の農場が実施しており,12 戸,11%の農場が未実施であった。小規模農場の 8 戸,24%,中規模農場の 4 戸,9%が未実施であったが,大規模は全農

場実施していた。未実施の理由としては、「農場内に車両等の出入りはない」、「飼料運搬業者が消毒するため必要ない」等、農場内に入ってくる車両がないため必要ないと思っている農場や農場に出入りする飼料運搬業者が消毒を実施していること等から問題視していない農場がみられた。立入り者の衣服・靴等の交換消毒は105戸、92%の農場が実施しており、小規模農場の6戸、18%、中規模農場の3戸、7%が未実施であったが、大規模は全農場実施していた。未実施の理由としては、「関係者以外農場内に立入りさせない」であった。

(3)野生動物や衛生害虫の侵入防止

野生鳥獣及び衛生害虫対策は小規模農場 3 戸,3%が未実施であったが,その他の111戸,97%の農場は実施していた。

野生鳥獣及び衛生害虫の侵入防止は,鶏舎への防鳥ネットはあるもの,網目がや大きく,スズメ等の小さな野鳥が侵入している鶏舎も見受けられたが,野鳥が入りにくいよう天蚕糸等で補強している農場もあった。ハエやワクモ等の衛生害虫の対策は発生が増えてから防除している農家が多かった。また,ワクモによる被害が中規模・大規模農場を中心に 24 戸あり,ほとんどの農場はその対策に苦慮している。

2 死亡羽数等報告徵求

平成 21 年 4 月 ~ 22 年 3 月の平均死亡率は大規模農場では 0.6%, 中規模農場では 0.6%, 小規模農場では 0.9%であった。

報告徴求の内容から家畜伝染病を疑う死亡等の報告は見受けられなかった。淘汰を除く死亡羽数増加の要因としては,採卵鶏では強制換羽やデビークによるもの,肉用鶏では圧死等の事故やつつき行動及び,導入時における輸送や環境の変化等による死亡が報告されていた。ただし,小規模農場では,5月,9月には野生動物の鶏舎侵入による被害,12月に圧死等の事故により死亡羽数の増加が認められた。

3 野生動物等の被害状況

平成 21 年度のイタチやキツネ等の野生動物による被害は 3 農場で発生した。 平成 22 年度は 11 農場で,イタチ,キツネ,タヌキ,ハクビシン,野犬,猫の 侵入被害があった。農場規模別被害状況は大規模農場で 2 戸,中規模農場で 5 戸, 小規模で 4 戸あり,1 農場以外は全て開放鶏舎であった。

被害のあった 8 農場は鶏舎の補修・点検等の動物侵入防止対策を講じていたにもかかわらず,鶏舎に侵入されてしまった。これらの農場は,鶏舎の定期的な点検・補修や野生動物が近づかないよう犬を飼う等,対策を講じているが,野生動物等が農場付近を徘徊し,侵入機会を伺う等,一度農場に侵入された場合,対策が難しくなっているようである。

4 調査後の取組

今回の調査結果を踏まえて,養鶏農家に現状把握と問題点を認識させ,消毒の徹底,関係者以外の立入禁止,野生動物侵入防止対策を中心とした外部からの病原体侵入防止対策を徹底するよう,リーフレットにより啓発・指導を行った(図2)。これらの対策は,経済的な観点から各農場が優先順位を付けて効果的に対策を講じられるよう,費用を算出した(表4)。鶏舎の規模は 50m × 10m を想定し,施設整備費として,踏み込み消毒一式が約 2,500 円,防鳥ネットが 2m × 50m の鳥獣防護ネット(径 16mm × 16mm)を 2 枚使用するとして約 8,000 円,簡易噴霧器が約 1 万円,侵入防止の看板(カラーコーン等でも代用可能)は約 2,000 円,立入者記録簿のノートが約 100 円と合計約 22,600 円となった。さらに衛生対策費として,長靴消毒用の消毒液は 1 L(約 140 回分)で約 1,500 円,農場周辺の石灰散布 1 回 6 袋で約 3,600 円,八工やワクモ等の衛生害虫駆虫薬は 20L で約 10,000円と月平均 11,000 円の経費が必要となる。このリーフレットを全ての農場に配布し,指導を行った。

考察及びまとめ

平成 18 年度から現在の体制で飼養状況調査を開始し、21 年度まで 4 年間の継続的な指導の結果,特に,導入・出荷時の鶏の健康確認や作業従事者の衛生管理等から直接鶏の健康状態や健康被害に関与する項目については全ての農場が対策を講じていることがわかった。一方,鶏舎間の伝染病まん延防止対策である「畜舎出入り時の手指・作業衣等の消毒」は,一部対策が不十分な農場が認められたが,本対策は HPAI やニューカッスル病を始め,サルモネラ症やカンピロバクター症等の食中毒予防の観点からも重要であり,適切に実施するよう指導していかなければならない。また,外部からの病原体侵入対策である「人や車両の出入りの制限・消毒」,「野生動物や害虫の侵入防止対策」は,人・物の移動が頻繁な現状や野生動物の生息域の変化等により,病原体の鶏舎への侵入リスクが高まっている状況から,農場への訪問者記録,関係者以外の立入禁止,車両の出入制限,定期的な防鳥ネットや鶏舎の破損箇所の確認,修繕,また野鳥以外の野生動物の鶏舎侵入への危険性を念頭に置いた対策について,指導の強化を図っていく必要がある。

死亡羽数の報告徴求では、飼養者は週毎の死亡羽数や疑われる死因等をしっかり記録することで死亡率を把握することができる。また、年2回の立入検査や毎月の死亡羽数報告等、連絡を密にとっていることから、農家との信頼関係を構築し、異常を発見した際の早期通報される体制となっている。

これらの調査結果を踏まえて,消毒の徹底,野生動物の侵入防止対策,立入制限等の問題点を認識し,改善するために必要な衛生対策費を算出し,2010年 11月にリーフレットによりウイルス侵入防止対策について啓発・指導を実施した。

その後1ヶ月も経過しないうちにリーフレットを参考に衛生対策に必要な施設設備を行った農場があったことから,必要経費等を記載した具体的な対策を示すことにより指導効果が上がったものと推察される。

今後の取組として,高病原性鳥インフルエンザの発生時には当該農場だけでなく,近隣農場や住民等にも移動制限や搬出制限等の規制がとられることから,小規模~大規模農場の全農場が飼養衛生管理基準を遵守するよう,飼養規模,飼養形態,畜舎の構造等を考慮した指導を行っていく。特に,小規模農場のうち一部の農場では有機農法等の特殊な生産方式による販売を行っているため,消毒等を実施しない農場もある。このような農場に対しては消毒の必要性を根気強く説明し,鶏舎毎の衣服や長靴の交換,徹底した外部からのウイルス侵入防止対策を強化し,衛生レベルの底上げを図りたい。

また、中規模・大規模農場を中心にワクモ等の衛生害虫による被害が多く、対策に苦慮していることがわかった。中でもワクモの大量発生は鶏に対して貧血や産卵停止等の健康被害を及ぼすだけでなく、農場管理者にも不快感や作業によるストレスを与えるため、日頃の作業から注意深く鶏舎を観察し、早期発見に努め、常在化させないような対策が必要である。そのために適切な薬剤使用や効果的な駆除プログラム等についても検討し、啓発、指導していきたい。

今後も消費者の求める安全・安心な畜産物生産のため,HPAI の発生予防対策 (農家立入り調査)や侵入・監視対策(モニタリング・サーベイランス検査)を継続 的に実施し,衛生管理の向上を図るとともに,生産段階での安全・安心な茨城ブランドの畜産物生産体制の確立を推進していきたい。

参考文献

1) 堀本泰介:伴侶動物・野生動物のインフルエンザ、JVM. vol.63 No.11 2010

表1 飼養衛生管理基準

	イ ね. 古口			件数(%)				
		チェック項目					×	
	1	鶏舎の定期的な清掃・消毒	103	(90%)	8	(7%)	3	(3%)
	2	管理機器類の定期的な清掃・消毒・点検整備	108	(99%)	1	(1%)		
・毎日で辞典の肩胛太は肩母の励门	3	作業衣・作業靴の定期的な洗浄・消毒	107	(94%)	5	(4%)	2	(2%)
	4	除糞作業·適切な敷料の利用	108	(95%)	6	(5%)		
	5		88	(77%)	12	(11%)	14	(12%)
. 畜舎出入り時の手指・作業衣等の消毒	6	手洗い消毒の実施	113	(99%)			1	(1%)
	7	鶏舎毎の専用作業衣・作業靴の使用	96	(84%)	12	(11%)	6	(5%)
	8	 飼料庫、 給水施設の定期的な点検	112	(98%)	2	(2%)		
. 飼料や水への排泄物等の混入防止	9	飼料等への野生動物の排泄物の混入防止	108	(95%)	5	(4%)	1	(1%)
	10	衛生的な飲用水の確保	101	(89%)	13	(11%)		•
	11	人雛前の鶏舎の洗浄・消毒	104	(91%)	8	(7%)	2	(2%)
. 導入家禽の健康観察等の実施	12	入雛後の綿密な健康観察、衛生管理の徹底強化	114	(100%)				
	13	導入元農場の家畜衛生状況及びワクチン歴の確認	105	(92%)	6	(5%)	3	(3%)
	14		84	(73%)	19	(17%)	11	(10%)
. 人や車両の出入り制限・消毒の実施	15 16	車両消毒の実施 立ち入り者の衣服・靴等の交換・消毒	82 92	(72%) (81%)	20 13	(17%)	12 9	(11%) (8%)
						,		. ,
	17 18	施設及び周辺、設備の保守点検、補修・修繕の実施 野生鳥獣及び衛生害虫の侵入防止対策	106 92	(92%) (81%)	7 19	(6%) (17%)	2	(2%)
・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・	19	ネズミ、衛生害虫の定期的な駆除	103	(90%)	10	(8%)	1	(1%)
. 出荷時における家畜の健康確認	20	出荷鶏等の健康状態の確認	114	(100%)				
	21	毎日の臨床観察の実施・健康状態の把握	114	(100%)				
- 共市が田以十朔九兄 十朔又形	22	獣医師への早期連絡、診療記録の保管	114	(100%)				
	23	鶏舎環境(温・湿度、換気)の整備、防暑対策	111	(97%)	3	(3%)		
・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・	24	適正な飼養密度	114	(100%)	-			
0.家畜伝染病に関する知識の習得	25	家禽の伝染性疾病の発生予防に関する知識	111	(97%)	3	(3%)		

表2 野生動物による被害状況

規模	件数	野生動物	対策	課題
大規模	2(1)	猫·野犬	頭金の仮理	
中規模	5(1)	ハクビシン・イタチ・キツネ・野犬・猫	鶏舎の修理・ 犬を飼う等	その後も頻発
小規模	4	イタチ・キツネ・タヌキ	ノくで関うせ	

()肉用鶏。太字のみウインドレス鶏舎。

表3 衛生対策費

	必要資材	費用
	簡易用噴力霧器(園芸用)	10,000円
	防鳥ネット(2m×50m)×2	8,000円
 施設整備費	カラーコーン2個と立入り禁止シール	2,000円
	踏み込み消毒層・長靴・ブラシ	2,500円
	ノート	100円
	合計	22,600円

	田田	月々
	消石灰(20kg)6袋	月2回·7200円
 衛生費	消毒薬(1L)∶140回	900円
[] 上貝 	衛生害虫駆虫薬(20kg)	月1回·700円
	合計	8,800円

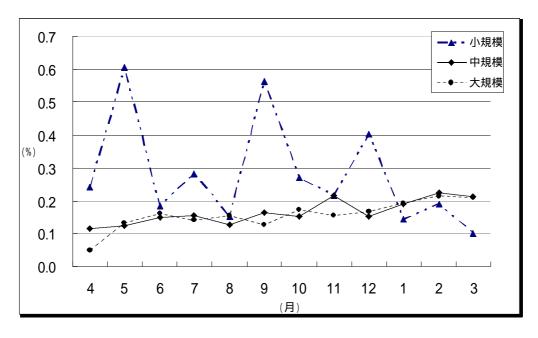


図1 月毎の平均死亡率



図2 リーフレット

異常が認められた場合は すぐ(動医等または現代する機能物と所までご動物期))ます。 実施男男主要画作器第三条: 028 - 225 - 3241 4. 管内養鶏農場におけるニューカッスル病ワクチン接種状況と抗体保有状況

県西家畜保健衛生所 萩谷 佳子 佐藤 則子 太田 土美 小松 友一

ニューカッスル病(以下,ND)は多くの鳥類に感染し,強い感染力と高い発病率,致死率を持つことが知られている。平成 22 年には,愛媛県のアイガモ農場での発生が報告されている。過去にはワクチン接種歴のある鶏群においても発生が確認されている。そこで今回,管内の養鶏農場における ND の発生防止対策の一助とするため,そのワクチン接種状況と,鶏群のワクチン抗体保有状況等について調査したので,その概要を報告する。

材料及び方法

1 聞き取り調査

平成 22 年 5 月から 11 月にかけて,管内養鶏農場において,飼養規模,雛の導入日齢,ND ワクチンの接種状況等について聞き取り調査を実施した。

2 ND 抗体保有状況調査

ND 抗体検査は各農場において,およそ 40 日齢以上の鶏を対象とし,1 鶏舎 10 羽もしくは1 農場 10 羽から採材した血液を用い,赤血球凝集抑制(以下,HI) 試験により HI 抗体価(以下,HI価)の測定を行った。平成 20 年度は 46 戸 1,280 羽,平成 21 年度は,54 戸 1,089 羽,平成 22 年度は 54 戸 1,510 羽実施した。農場や日齢で分類して HI 価の幾何平均値(以下,GM 値)を算出した。また,ND 感染防御に必要とされる HI 価を 16 倍以上とし,各農場または鶏群における感染防御抗体保有率(以下,抗体保有率)を算出した。

結果

1 管内養鶏場の飼養状況及び ND ワクチン接種状況(図1)

平成 22 年 12 月現在,管内 9 市町の養鶏農場は,採卵鶏 61 戸,肉用鶏 16 戸の計 77 戸約 4,000,000 羽で,飼養規模別にみると,100 羽以上 10,000 羽未満の小規模農場が 28 戸 36.4%,10,000 羽以上 100,000 羽未満の中規模農場が 38 戸 49.4%,100,000 羽以上の大規模農場が 11 戸 14.3%で,管内の 7 割以上の鶏が大規模農場で飼養されている。

採卵鶏を雛の導入日齢別にみると,120日齢の大雛導入が34戸55.7%であり, 農場の半数以上を占めていた。続いて初生雛導入が23戸37.7%,50~60日齢の 中雛導入は 4 戸 6.6%であった。また,小規模農場のうち,約半数の農場が初生雛導入であった。

ND ワクチン接種の有無を調査したところ,採卵鶏の初生雛導入では,23 戸すべてで導入後にワクチン接種を実施していたが,中雛導入では,4 戸のうち2 戸で導入後にワクチン接種を実施していなかった。大雛導入では,30 戸でオイルアジュバンド加不活化ワクチン(以下,オイルワクチン)接種済みの大雛を導入していた。生ワクチン,アルミニウムゲル加不活化ワクチン(以下,アルミワクチン)接種の大雛を導入する農場は同一系列の3 戸のみであった。また,小規模農場1戸は廃鶏を導入しており,ワクチン接種歴は不明であった。肉用鶏では,15 戸 93.7%で生ワクチンを飲水投与していたが,1 戸はワクチン接種をしていなかった。

2 平成22年度の検査結果

平成 22 年度は,採卵鶏 44 戸 1,410 羽,肉用鶏 10 戸 100 羽の計 54 戸 1,510 羽の検査を実施した。管内全体の抗体保有率は 83.3%,GM 値は 100.6 で,そのうち採卵鶏では抗体保有率は 86.4%,GM 値は 112.3 であり,また肉用鶏は抗体保有率は 70.0%,GM 値は 21.4 であった。GM 値が 16 倍未満だった農場は,採卵鶏で6戸,肉用鶏で3戸の計9戸であった。採卵鶏6戸のうち5戸は小規模農場で,さらにそのうち4戸は初生雛導入の生ワクチン接種農場であった。

3 過去3年間の抗体保有率とGM値(図2)

平成 20 年度の全体の抗体保有率は 76.1%, GM 値は 125.0 で, そのうち採卵鶏では抗体保有率は 86.5%, GM 値は 153.8, 肉用鶏は抗体保有率は 33.3%, GM 値は 8.0 であった。

平成 21 年度の全体の抗体保有率は 83.3%, GM 値は 102.8 で, そのうち採卵鶏では抗体保有率は 95.2%, GM 値は 138.0, 肉用鶏は抗体保有率は 41.6%, GM 値は 9.5 であった。

平成 22 年度検査結果と比較すると,平成 20 年度から 3 年間で,採卵鶏の抗体保有率はほぼ横ばいで,GM 値はやや低下した。一方,肉用鶏では抗体保有率,GM 値はともに上昇した。またこの中で,採卵鶏 1 戸,肉用鶏 2 戸は,3 年連続して GM 値が 16 倍未満であった。

4 採材日齢による抗体保有率と GM 値の推移(図3)

採卵鶏を血液採材時の日齢により、100 日ごとの日齢別に分類すると、各日齢の抗体保有率は72.2~95.2%で、このうち特に46~100 日齢は72.2%とやや低かったが、その後はほぼ横ばいであった。一方、GM 値は、46~100 日齢で59.1と最低値を示し、101~200 日齢で297.3 と最高値になり、その後201~300 日齢で131.6、301~400 日齢で124.5、401~500 日齢で80.5、501~750 日齢で89.5となり、加齢とともに GM 値は低下した。501 日齢以上の群では88.1%の鶏が強

制換羽後であったが,充分な HI 価を保有しており,検査したうちの最高日齢である 750 日齢でも GM 値は 64.0 と,高い値であった。

5 導入日齢による抗体保有率と GM 値の比較(図4)

採卵鶏を雛の導入日齢により分類すると,初生雛導入では抗体保有率は81.0%, GM 値は92.9 で,中雛導入では抗体保有率は50.0%, GM 値は461.4,大雛導入では抗体保有率は95.2%, GM 値は117.5 であった。中雛導入の2 戸のうち,1 戸はオイルワクチンを接種しており,1 戸は導入後に農場でワクチン接種をしていなかった。

6 ワクチンの種類による抗体保有率と GM 値の比較(図5)

採卵鶏を接種したワクチンの種類により分類すると,オイルワクチン接種済みでは抗体保有率は 97.1%,GM 値は 186.1,生ワクチンまたはアルミワクチンでは抗体保有率は 56.2%,GM 値は 22.9 であった。オイルワクチンを接種している鶏群はオイルワクチンを接種していない鶏群に比べ,抗体保有率は有意に高く(p<0.01),GM 値も高かった。

7 初生雛導入農場の ND ワクチン接種状況

採卵鶏の初生雛導入農場で,オイルワクチンを接種する 6 戸についてオイルワクチン接種前後で抗体保有率及び GM 値を比較した (図 6)。オイルワクチン接種前の 50 ~ 90 日齢の抗体保有率は 16.6%,GM 値は 16.5 で,オイルワクチン接種後の 110 ~ 670 日齢では抗体保有率は 100.0%,GM 値は 166.0 となり,オイルワクチン接種前は,接種後に比べ抗体保有率と GM 値は低かった。各農場におけるオイルワクチン接種前のワクチネーションプログラムは多様で,農場により 2 ~ 4 回の生ワクチン,アルミワクチン接種をしていた。

初生雛導入で生ワクチンやアルミワクチンを接種する 5 戸の抗体保有率は 40.0%, GM 値は 31.5 と低い値を示した。そのうち 4 戸は生ワクチンのみを使用 し,噴霧や飲水により投与していた。また,そのうちの 3 戸は成鶏では $3\sim6$ ヶ月間隔で生ワクチンを接種していたが,1 戸は成鶏ではワクチン接種していなかった。

8 肉用鶏の ND ワクチン接種状況

肉用鶏農場全体の GM 値は 21.4 であったが,農場により 6.1 ~ 104.0 と,ばらつきがあった。鶏病研究会編の総合ワクチネーションプログラム $^{1)}$ で推奨されている方法に準じて,生ワクチンを 14 日齢,28 日齢の 2 回投与している農場の GM 値は 16 倍以上であったが,1 回投与の農場では GM 値は 16 倍未満であった。

9 GM 値が低い農場への改善指導

管内の GM 値が低かった農場で,改善指導を行った。A 農場は,飼養羽数約 700 羽の採卵鶏の初生雛導入の小規模平飼い農場で,ND ワクチンは3ヶ月に1回,井戸水を使用して飲水投与を実施していたが,GM 値に改善がみられず,噴霧投

与に変更するよう提案した。しかし、噴霧投与でも GM 値が上がらなかったため、ワクチン保存方法や投与方法などについて聞き取り調査を実施した。その結果、農場におけるワクチン保存方法は適切であったが、適切な希釈倍率よりも 20 倍程度薄い濃度に希釈していたことが判明したので、適切な濃度で投与するように指導した。

また,B 農場は,飼養羽数約 3,000 羽の採卵鶏の初生雛導入の小規模平飼い農場で,オイルワクチン接種歴があるが,GM 値は低かった。そこで,飲水投与で追加ワクチン接種を行うように指導したところ,GM 値は適正な値に上昇した。オイルワクチンを接種しているにもかかわらず,HI 価の上昇が認められなかった原因は,農場でのオイルワクチンの保存方法に問題はなかったことから,投与技術に問題がある可能性が考えられた。また,検査した鶏群は,オイルワクチンの効果がないため,定期的な生ワクチンの追加投与をするよう指導した。

まとめ

管内養鶏農場における ND ワクチン接種率は 99%と高く,ND に対する防疫意識が高いことが示された。しかし,平成 22 年度に検査した農場の 16.7%の農場では,ワクチンを接種しているにもかかわらず,HI 価の GM 値が,感染防御に必要とされる 16 倍に満たないことが明らかとなった。GM 値が低い農場は,小規模農場で初生雛を導入後に生ワクチンを接種する農場に多くみられた。また,中雛導入で導入後にワクチン接種をしない農場でも GM 値は低かった。初生雛導入後にオイルワクチンを接種する農場でも,オイルワクチン接種前の生ワクチン接種時期には GM 値は低かった。ワクチン未接種の初生雛やワクチネーションプログラムが途中である中雛導入の農場は,導入後に適切なワクチネーションプログラムの実施が必須であるが,農場により投与日齢や方法は様々で,とくに小規模農場では独自の方法で実施している農場が多かった。今後は,これらの農場に対し,適切なワクチネーションプログラムを実施するように指導していく必要があると思われた。

管内養鶏農場では,オイルワクチン接種済みの大雛を導入する農場が半数を占めており,初生雛導入農場の7割でもオイルワクチンを接種していた。オイルワクチン接種後の鶏群では接種直後に GM 値が顕著に高くなり,強制換羽後でも高い HI 価を保有しており,オイルワクチンの有用性が示された。一方,オイルワクチンは1羽ずつ接種するため非省力的で,とくに小規模の平飼い農場では人員不足と作業の煩雑さから,やむを得ず生ワクチンを接種している農場もあった。また,オイルワクチンは高額であり,鶏にストレスがかかり増体重がよくないという理由から,使用を敬遠する農場もあった。

過去 3 年間で ,肉用鶏の抗体保有率は 33.3%から 70.0%に ,GM 値は 8.0 から 21.4

に上昇した。これは,当所で毎年検査を継続して行い,結果をフィードバックして指導してきたことが,農場主にワクチン接種の意義を再確認させ,投与方法などの改善へつながったのではないかと思われた。また本年度は,2 戸の農場で,ワクチン接種方法の指導により HI 価に改善がみられた。

今後は,ND ワクチン未接種農場に対して,ワクチン接種を実施するよう引き 続き指導していき,3 年連続して GM 値が 16 倍未満であった 3 戸や,小規模農 場や生ワクチン接種農場に対しては,各農場の問題点を把握し,個々の農場に合 った改善指導をしていく予定である。また,各養鶏場に防疫意識を持たせ,すべ ての農場で GM 値が 16 倍以上を維持できるように,管内の養鶏農場で抗体検査 を継続実施していきたい。

参考文献

1) 鶏病研究会報 第35巻4号187-196(1999年)

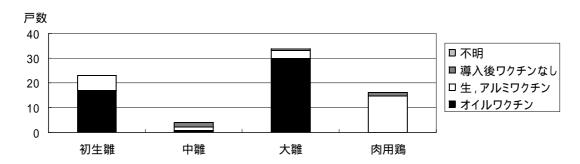


図1 管内養鶏農場における導入日齢別ワクチン接種状況

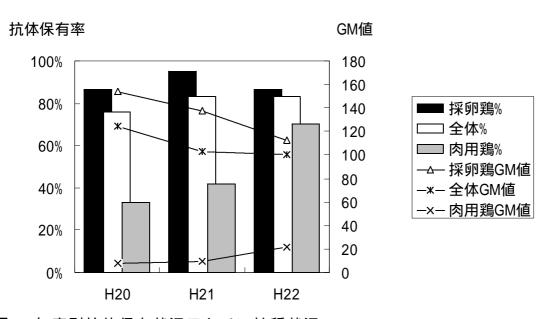


図2 年度別抗体保有状況ワクチン接種状況

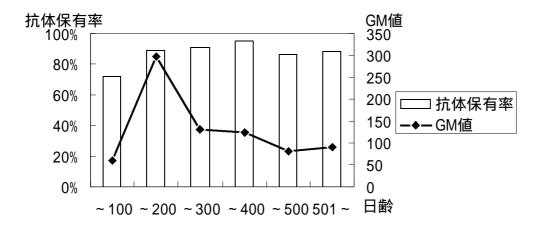


図3 採材日齡別抗体保有状況

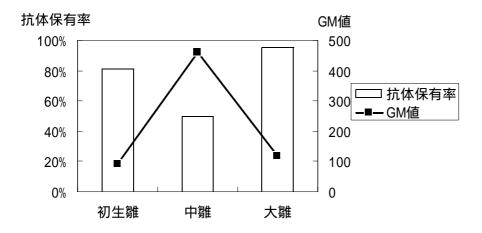


図4 導入日齡別抗体保有状況

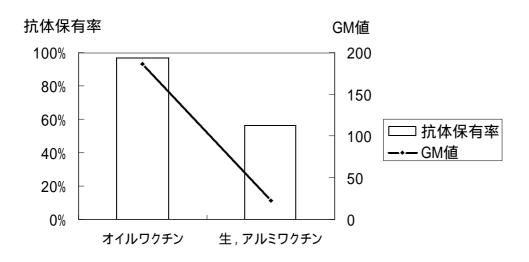


図5 ワクチン種類別抗体保有状況

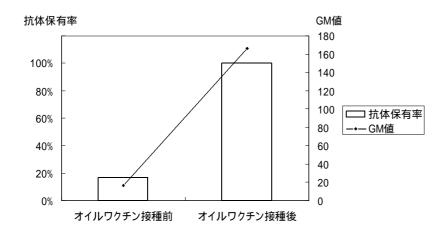


図6 オイルワクチン接種前後の抗体保有状況

5. 一貫経営養豚場におけるオーエスキー病の発生とその清浄化対策

県北家畜保健衛生所 山下 薫 藤原 謙一郎 高橋 覚志

オーエスキー病(以下,AD)は 1981 年に初発が確認され,現在も本県を含めた 13 都県に浸潤している。1991 年から AD 防疫対策要領に基づく AD 清浄化に向けた取り組みが始まった。2008 年および 2010 年の要領改正を経て,現在新体制下でAD 清浄化が進められている。本県では,AD ワクチンの効果的な使用等により AD の野外感染抗体陽性率は低下しており,AD の発生は 2007 年以降確認されていなかった。

今回,当所管内の養豚場において,死流産および子豚の神経症状を主徴とする AD の発生事例があったので,その発生状況と清浄化への取り組みの概要を報告 する。

農場の概要

発生農場は,母豚 80 頭,種雄豚 2 頭,肥育豚 600 頭を飼養する一貫経営農場だった。AD 清浄農場であり,地域のステータス区分は であった。豚舎は母豚舎,分娩豚舎,簡易型離乳子豚豚舎,肥育豚舎から構成されており,分娩豚舎には分娩房と肥育豚房が混在していた。ワクチンは,母豚には豚丹毒,萎縮性鼻炎,日本脳炎を,子豚には豚丹毒,豚胸膜肺炎,豚マイコプラズマ病,萎縮性鼻炎,サーコウイルス2型を接種していた。

発生状況

1 発生経過

平成 22 年 4 月下旬から母豚の死流産が発生し始め,5 月上旬には連続して4 腹の哺乳豚が神経症状を呈し死亡した。哺乳豚事故率は4 月には12 %だったが,5 月には53 %と著しく増加した(図1)。5 月 21 日に5 日齢の哺乳豚が運動失調や痙攣などの神経症状を呈したため,翌 22 日に病性鑑定を実施した。

病性鑑定の結果,神経症状を呈した哺乳豚の生体 3 頭から AD ウイルスを分離した。

2 病性鑑定時の抗体検査結果(表 1)

病性鑑定に供した哺乳豚 3 頭の他,20 日齢 2 頭,30 日齢 2 頭,60 日齢 3 頭,120 日齢 7 頭,150 日齢 2 頭および母豚 8 頭の計 27 頭から採血した。野外感染抗体保有状況を ADV(g)エリーザキット(IDEXX 社)を用いて調査した。

日齢別の野外感染抗体陽性率は,20日齢で50%(1/2),30日齢で100%(2/2), 120日齢で57%(4/7),母豚で50%(4/8)だった。60日齢および150日齢では野外感染抗体は検出されなかった。

豚舎別では分娩豚舎での野外感染抗体陽性率が最も高く,67%(6/9)であった。 肥育豚舎では60%(3/5),母豚舎では40%(2/5)であった。簡易型離乳子豚豚舎 では野外感染抗体は検出されなかった。なお,肥育豚舎で野外感染抗体陽性であった肥育豚3頭は,採材の直前に分娩豚舎から移動していた。

病性鑑定に供した哺乳豚 3 頭については,AD ウイルスが分離されたが野外感染抗体は陰性であった。また,当該哺乳豚の母豚も野外感染抗体陰性であり,病性鑑定時には分娩豚舎でAD ウイルスが動いていた。

ウイルス分離状況および野外感染抗体保有状況から,分娩豚舎から AD が広がったと推察された。

防疫対応およびAD清浄化対策

1 AD ワクチン接種

病性鑑定日から 2 日後の 5 月 24 日に分娩豚舎および母豚舎の母豚 80 頭全頭に,翌 25 日には肥育豚 600 頭全頭に AD ワクチンの緊急接種を行うよう指導した。母豚へのワクチン接種開始から 1 ヵ月間,野外感染の危険性がある 3 ~ 5 日齢の哺乳豚へのワクチン接種を行うよう指導した。母豚へは分娩 1 ヵ月前に,肥育豚へは 70 日齢で AD ワクチンを接種するように指導した。

2 ピッグフローの見直し

簡易型離乳子豚豚舎から分娩豚舎への子豚の移動があるなど,適切なピッグフローを保てていなかった。そのため,ピッグフローを分娩豚舎,簡易型離乳子豚豚舎,肥育豚舎の順で一定方向にするように指導した。

3 作業動線の変更

日常の作業は野外感染抗体陰性であった簡易型離乳子豚豚舎から始め、分娩豚舎で終了するように指導した。

4 消毒

従来,豚舎内および出荷用のトラックは水洗するのみであった。病性鑑定後,水洗した後に動力噴霧器を用いた逆性石けんによる消毒を追加するよう指導した。

5 侵入経路の推察および農場の防疫体制強化

畜主への聞き取りの結果,母豚の死流産が発生する約1週間前に分娩豚舎で施設工事業者(以下,業者)が給餌器の補修を行っていたことがわかった。また,業者は一日に複数の養豚場を訪問する場合があることがわかった。同時期に他に外部からの農場への立ち入りはなく,母豚の流産は業者が作業していた場所から広

がった。このような発生状況から,業者を介して AD ウイルスが農場内へ侵入した可能性が高いと思われた。

今後の防疫対策として,工具や作業員の衣服は可能な限り農場のものを使用することを指導した。また,農場外を汚染区,農場内の生産エリア外を準清浄区,農場内の生産エリア内を清浄区に明確に区分(ゾーンニング)するよう指導した。訪問者があるときは,準清浄区で訪問日時や 24 時間以内の訪問地などについて記帳をすることや農場内に持ち込む物品を消毒すること,衣類や長靴の交換を行うことを指導した。業者等,防疫に対する意識の低い訪問者とのコミュニケーションを積極的に行い,農場の防疫に対して理解を求めるよう指導した。

対策後の抗体検査結果(図2)

病性鑑定日から約半年後の 11 月 22 日に,40 日齢 3 頭,60 日齢 9 頭,80 日齢 6 頭,90 日齢 6 頭,100 日齢 6 頭,120 日齢 11 頭,160 日齢 5 頭について,同腹の豚各 3 ~ 6 頭およびその母豚 15 頭の計 61 頭から採血した。

ADV(g)エリーザキットを用いて日齢ごとの野外感染抗体陽性率を,ADV(S)エリーザキット(IDEXX 社)を用いて各日齢の AD ウイルス抗体を測定した。

肥育豚の野外感染抗体陽性率は,40日齢で100%(3/3),60日齢では33%(3/9)であり,80日齢以上では野外感染抗体は検出されなかった。野外感染抗体を保有している豚が若齢であることおよび40日齢から60日齢にかけて野外感染抗体陽性率に低下がみられることから,この野外感染抗体は移行抗体と考えられた。90日齢以上120日齢までの肥育豚は野外感染抗体,ワクチン抗体ともに保有していなかった。そのため,70日齢でのワクチン接種ではワクチンブレイクがおきていると思われた。また,子豚の移行抗体の保有状況は母豚によって異なっていた。

母豚の産次別の野外感染抗体保有率は,1産で80%(4/5),3産で100%(6/6),5 産以上では100%(5/5)であった。

野外感染抗体保有率から,母豚群においては AD ウイルスが広範囲にわたって 浸潤しているものの,肥育豚での AD ウイルスの動きは沈静化していると考えら れた。

今後の清浄化対策

1 ワクチン接種の徹底

肥育豚および母豚への AD ワクチン接種を引き続き行うよう指導した。接種時期については,移行抗体によるワクチンブレイクを防ぐため 80 日齢に遅らせるように指導した。

2 定期的な抗体検査によるモニタリング 農場内での AD ウイルスの浸潤状況の調査や適切なワクチンプログラム構築の ため, 定期的なモニタリングを行うこととした。

3 母豚の更新

本農場は母豚を自家育成していた。今後は,AD 野外感染抗体陰性の豚の中から母豚を選抜するとともに AD 陰性の繁殖豚の導入を積極的に行い,順次野外感染抗体陽性の母豚と更新していくよう指導した。

4 飼養衛生管理の徹底

子豚の免疫状態が母豚によって違うのは,初乳の摂取状況が異なるためである可能性があるため,分割授乳を行うなどして確実な初乳給与を心がけるよう指導した。また,ピッグフローや作業動線に注意するとともにゾーンニングを徹底して,交差汚染を防止するよう指導した。

まとめ

発生農場では、AD 発生後直ちにワクチンの全頭接種を行った。また、ピッグフローを一定方向にするとともに、作業動線に注意して農場内での交差汚染を防いだ。これらの対策を徹底したことにより、半年後には肥育豚で AD ウイルスの動きがみられなくなったと考えられた。哺乳豚事故率について、AD 発生前は 10%程度であったが、発生月には 53%と著しく増加した。全頭への AD ワクチン接種後、哺乳豚事故率は直ちに低下して発生の翌月には 5%となり、以後 10%以下で推移した。本発生事例において、清浄農場に AD ウイルスが侵入した際に繁殖成績に及ぼす被害は大きいことおよび AD ワクチンは適期に確実に接種すれば非常に有効であることが改めて明らかになった。

AD 清浄化を進めるにあたり,まずワクチン接種の徹底により地域全体でウイルスの動きを封じ込めることが大切である。そして,ワクチン全頭接種と抗体検査,陽性豚の淘汰と陰性豚の導入,農場の防疫体制の整備を徹底することにより地域全体で野外感染抗体陽性豚が確認されなくなれば,ワクチンの接種を継続する必要はない。しかし現時点では,ワクチン未接種農場に AD ウイルスが侵入した際のリスクが高いことから,特に養豚場密集地域ではワクチンを接種しているAD 清浄農場がみられる。AD ウイルスの農場内への侵入リスクを低下させるためには,人や物の農場内への出入りを管理することが大切である。そのため管内の生産者に対して,ゾーンニングを意識し衣類の交換や消毒,記帳等の各区域の境界での防疫措置を徹底することの重要性を示す必要がある。今後は,ワクチン接種に頼らない防疫体制を整えるよう,AD ウイルスの侵入防止や交差汚染防止を指導していきたい。同時に,管内の生産者に慢性疾病の低減による生産性向上等のAD 撲滅の意義を再認識させ,地域的な清浄化へ向けた取り組みを進めたい。

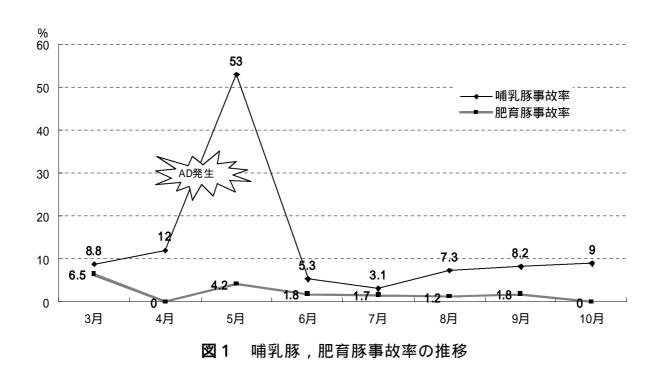


表1 病性鑑定時の野外感染抗体保有状況

	母豚舎	分娩豚舎	簡易型 離乳子豚豚舎	肥育豚舎	計
母豚	40 (2/5)	67 (2/3)			50 (4/8)
20日齢		50 (1/2)			50 (1/2)
30日齢		100 (2/2)			100 (2/2)
60日齢			0 (0/3)		0 (0/3)
120日齢		50 (1/2)	0 (0/2)	100 (3/3)	57 (4/7)
150日齢				0 (0/2)	0 (0/2)
計	40 (2/5)	67 (6/9)	0 (0/5)	60 (3/5)	

単位:% (野外感染抗体陽性頭数/検査頭数)

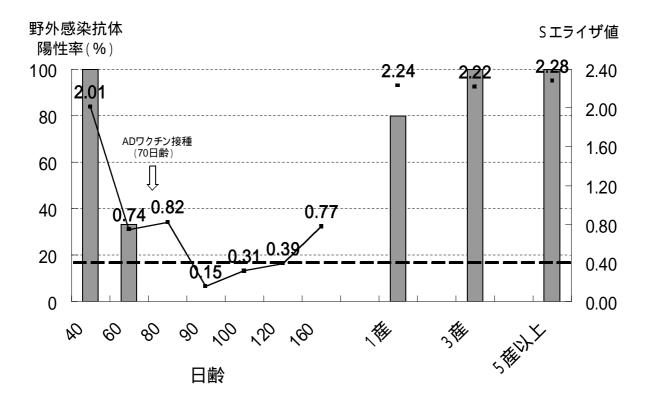


図2 病性鑑定日から約半年後の抗体検査結果

6 . オーエスキー病清浄化対策に関する一考察

鹿行家畜保健衛生所都筑 智子 榊原 裕二前田 育子 佐野 元彦

茨城県では平成 20 年 12 月以降,新体制下のオーエスキー病(以下,AD)清浄化対策を進めている。新体制後,平成 22 年 11 月末までの約 2 年間,AD の実態把握による衛生指導を行うため,農場採材中心の抗体検査を実施してきた。今回,検査結果の推移と農場個別データを整理し,AD 清浄化対策の進捗状況について検証を行ったので,その概要を報告する。

鹿行管内におけるAD浸潤状況

当所管内は,全国有数の養豚密集地域で,5市110戸156農場の養豚場が存在する。中でも2市に養豚場が集中しており,管内の豚約25万頭の約9割以上がこの2市で飼養されている。平成4年のAD発生以降,現在までAD清浄化が達成されることはなく,昨年の検査(第1期目AD清浄度確認調査)では,管内60戸でADの浸潤が認められた(表1)。

第2期目のAD清浄度確認調査

平成 20 年の AD 防疫対策要領改訂で,ステータス毎に AD 抗体検査が必要になった。管内でも平成 20 年 12 月以降,1 年間に少なくとも 1 回各養豚場の検査を実施し,今回,第 2 期目の検査結果が平成 22 年 11 月までに終了した。

1 採材及び検査方法

平成 21 年 12 月から平成 22 年 11 月に全養豚場 110 戸を対象に採材を実施した。採材は基本的に家畜保健衛生所(以下,家保)が農場で実施し,肥育豚は日齢別3~5ステージを各5頭,繁殖豚は産歴別に5~20頭を抽出した。一方,農場採材の承諾を得られなかった場合は、と畜場で出荷豚の採材を実施した。また,一部では管理獣医師の採材協力や民間検査機関のモニタリング検査結果を活用した。

抗体検査は、IDEXX 社製 ADV(g I) エリーザキット(以下 , g)、及び ADV (S) エリーザキット(以下 , S) を用いて実施した。g では、AD 野外抗体陽性(以下,AD 陽性)率と農場への AD 浸潤を,S では AD 野外抗体とワクチン抗体を含む AD 抗体保有状況から各農場の分析を行った。

また,採材時に,ワクチン接種方法,豚の導入元,肥育豚の飼養箇所,繁殖豚の自家育成の有無について,生産者に聞き取り調査を行った。

2 調査結果

養豚場 104 戸の聞き取り調査および 3,731 頭(繁殖豚 1,513 頭 ,肥育豚 2,295 頭) の抗体検査を実施した。採材場所は ,88 戸(延べ 129 戸) 3,446 頭は農場で ,16 戸(延べ 18 戸) 285 頭はと畜場で採材した(表 2)。なお ,6 戸については調査期間中の休業または廃業により実施していない。

(1)g 結果と AD 陽性率(表3)

g 陽性豚は,3,731 頭中 601 頭(16.1%)で,繁殖豚では 1,513 頭中 285 頭(18.8%),肥育豚では 2,295 頭中 316 頭(13.8%)であった。管内 5 市の頭数ベースの AD 陽性率は A 市, B 市, C 市が 0%, D 市が 14.0%, E 市が 19.0%であった。

今回の検査結果では,AD 清浄農場が 49 戸(47.1%),AD 浸潤農場が 55 戸(52.9%)で,飼養形態別では,一貫経営農場 77 戸中 51 戸,肥育経営農場 22 戸中 4 戸が AD 浸潤農場であった。なお,繁殖経営農場 5 戸はいずれも AD 清浄農場であった。また,一貫経営農場 51 戸中 28 戸では繁殖豚のみ,23 戸は繁殖豚及び肥育豚に AD の浸潤が認められた。

(2)S 結果と AD 抗体保有状況 (表 4)

AD ワクチン接種後に肥育豚で S の上昇(ワクチン抗体の保有)が確認された 農場は AD 浸潤農場 55 戸中 40 戸であった。繁殖豚のみに AD 浸潤が確認された 農場では,28 戸中 21 戸において肥育豚で S の上昇が認められた。また,いずれ の農場においても,繁殖豚の抗体保有状況は良好であった。

(3)AD 浸潤農場における聞き取り調査(表5)

AD 浸潤農場 55 戸の AD ワクチン接種状況は,全頭接種が 48 戸,繁殖豚のみ接種が 5 戸,未接種が 2 戸であった。飼養管理状況は,AD 浸潤農場から豚を導入しているが 9 戸,肥育豚を分離飼養しているが 23 戸,繁殖豚を自家育成しているが 32 戸であった。

2年間の検査結果の検証

1 管内の AD 浸潤の推移

頭数ベースの AD 陽性率は 1 期目 23.9%に対し 2 期目は 16.1%と陽性率の低下が認められた。この傾向は繁殖豚,肥育豚ともにみられ,繁殖豚は更新による AD 陽性豚の淘汰と清浄豚の導入による清浄化が進み,また,肥育豚では適期のワクチン接種で AD ウイルスの活動が沈静化したことで,農場内で水平感染が起こりにくい状況になっていることが示唆された。

各市の陽性率は,3 市は引き続き清浄地域を保ち,AD が浸潤している 2 市では,昨年と比較して陽性率の低下が認められた。このことは,地域的な対策を継続的に行うことで,農場単位ばかりではなく地域単位で AD ウイルスの潜伏場所

が減少した結果と考えられた。

戸数ベースの陽性率は昨年同様,全養豚場の半数が AD 浸潤農場であり,一貫経営農場では 77 戸中 51 戸で AD 浸潤が認められた。特に,繁殖豚のみ AD 浸潤農場が 28 戸あり,今後,戸数ベースの陽性率を下げるには AD 陽性の繁殖豚を更新することが必要不可欠であるが,繁殖豚における頭数ベースの陽性率は確実に減少していたことから,引き続きワクチン接種を徹底し,AD ウイルスの活動場所を少なくすることで,繁殖豚の更新に伴う AD 清浄化が期待できる。

一方,肥育経営農場は清浄農場が多く認められたが,導入元農場の AD 清浄化が進み,清浄豚を導入できるようになったためと考えられる

2 AD 浸潤農場の浸潤要因

AD 浸潤農場 55 戸の聞き取り調査と検査結果から, AD 浸潤要因を精査した。

AD ワクチンは 48 戸が全頭接種と回答したが,肥育豚で S の上昇がない,つまり AD ワクチン抗体を保有していない農場が7戸認められた。抗体を保有できなかった要因として,移行抗体等によるワクチンテイクを阻害する要因,若しくは,接種漏れ等の人為的な要因が考えられるが,ウイルスの感染サイクルを断つためには十分なワクチン抗体の保有が重要である。ワクチン効果を活かした AD 清浄化のためには,定期的な抗体検査による抗体保有状況確認と改善指導が必要である。

導入元農場が AD 浸潤農場と知った上で豚を導入している農場 9 戸中 4 戸は,肥育経営農場であった。肥育経営農場の AD 清浄化は,導入元農場の汚染度に左右される。一方,導入元農場が AD 浸潤農場でも,肥育農場を分離していることで農場単位の清浄化が進められるため,肥育経営農場の AD 清浄化は比較的容易に進む。つまり,肥育豚を分離飼養している一貫経営農場 23 戸では,繁殖豚清浄化には時間を要しても,肥育豚の清浄化は進み易いと期待された。

なお,繁殖豚を自家育成をしている AD 浸潤農場は 32 戸と,平成 19 年度に行った当所の調査数より増加していた。AD 浸潤農場において AD 清浄の繁殖豚を生産するには,育成段階の感染を防ぐ事が必須であるが,肥育豚で AD 浸潤がある農場が 18 戸存在し,これらの農場では肥育段階での感染環を断つことが重要となり,繁殖豚自家育成農場の清浄化の困難さを実感した。今後,AD 清浄化の大きな課題である AD 清浄豚の流通を含めて,繁殖豚自家育成農場の AD 清浄化が急務である。

3 AD 浸潤農場の個別事例から見えること

農場採材時には,gとSのデータの総合的な判断により,農場内のADウイルスの動きを分析している。農場毎の条件は様々であるが,農場個別データを整理し,ADの浸潤ケース別にAD清浄化対策の検証を試みた。

(1) 繁殖豚のみ AD 浸潤のケース

今回,繁殖豚のみの AD 浸潤農場は 28 戸あったが,繁殖豚の AD 陽性率は農場によって差がある(図1)。AD 陽性率の高い農場は繁殖豚自家育成農場が多く,第1期検査時に肥育豚の AD 浸潤が認められた農場もあり,AD 陽性豚が繁殖豚に供されたことが推定される。AD 陽性豚は感染源となるため早期淘汰が望ましいが,繁殖豚の陽性率が高い農場,例えば飼養する繁殖豚のほとんどが AD 陽性豚である農場で早期淘汰を推奨することは現実的でない。AD 浸潤農場は,基本的に AD ワクチンの抗体保有による感染防御と AD 陽性豚から排泄されるウイルス量を抑制することで AD のまん延を防いでいるが,繁殖豚の AD 抗体保有率は各農場とも良好であり,ワクチンで水平感染の防止は可能と判断できた。

また今回,繁殖豚の陽性率が低く,肥育豚へ AD の浸潤が認められていない 2 つの農場において,繁殖豚全頭検査を実施した。A 農場は管理獣医師が週1回,4ヶ月間採血を実施し,601頭中40頭の AD 陽性豚を,B 農場は家保が全頭採血を実施し,94頭中6頭の AD 陽性豚を確認した。飼養豚全体の AD 抗体保有状況は良好であったことからも,農場内で AD ウイルスが活動できる場所は最小限であったため,AD ウイルスが農場全体にまん延することは無く,過去に感染した AD 陽性の繁殖豚が確認されたと考えられる。

これらを加味すると、飼養頭数にかかわらず、陽性率の低い繁殖豚陽性農場では摘発とう汰による農場内の AD 清浄化を、陽性率の高い農場ではワクチン抗体の保有で水平感染を抑えながら、繁殖豚の更新に伴う AD 陽性豚の減少を目指すことが、農場経営においても負担のかからない実際的な清浄化の手法と思われた。(2)繁殖豚、肥育豚に AD 浸潤のケース(表 6)

肥育豚で AD の浸潤が認められた 27 戸では, AD の浸潤要因がいくつか考えられ,3 つに大別し検証を行った。

1) AD ワクチン接種の不徹底(8戸)

主に経営状態の悪化等により、衛生コストの捻出が困難な農場でワクチン接種が徹底されない事例や、接種日齢時に他疾病の治療を優先し、ワクチン接種が徹底されないケースが認められた。

一般に肥育豚に AD 浸潤がある場合,ワクチン未接種であれば容易に AD が感染すると考えられるが,C 農場の場合,同一肥育舎内で飼養されていた 90 日齢・120 日齢は抗体を全く保有せず,150 日齢のみで感染が確認された。肥育豚のワクチン接種(80 日齢時)を数ヶ月間怠っていたとの畜主の稟告から,抗体を保有しない原因は判明したが,抗体を保有しない豚と感染豚が同一豚舎に同居しても,必ずしも感染は成立していなかった(図2)。

2) AD ワクチン抗体保有率 (9戸)

第1期検査までにほとんどの農場で AD ワクチン接種適期を精査し,効果的なワクチン接種を推奨してきた。ワクチン抗体保有率が低い原因としては,接種日

齢が守られていないこともが要因の一つと考えられるが,適期にワクチン接種していても抗体保有率が低いケースもあった。

過去 3 年間モニタリングしてきた D 農場では,検査当初から肥育豚 2 回のワクチン接種を実施していたがワクチン抗体が安定せず,ワクチネーションの見直し等対策を実施してきたが肥育豚での AD 浸潤が持続していた。しかし,今回の検査では肥育豚での AD 浸潤は認められず,ワクチン抗体保有率も改善されていた。抗体保有率が上昇した理由は特定できなかったが,継続的なワクチン接種が農場内 AD ウイルス沈静化に寄与した結果と考えられる。

3) ピッグフロー(10戸)

肥育豚の移動回数や移動日齢は、農場毎に異なる。同一豚舎内に日齢の異なる豚が混在すると感染リスクは高くなり、特に、移行抗体消失前の豚と感染豚が同居する場合は感染環が成立しやすいと思われる。一方、移動回数が多くてもワクチン抗体保有後の移動であれば、ウイルスの循環を断ち切るには都合が良く、肥育豚を日齢別に分離肥育している農場は AD 清浄化が進みやすいと考えられた。

4 まとめ

各ケースでは AD ウイルスの水平感染を免れている豚が多く認められた。基本的に AD ウイルスも接触感染が主体であると考えられるが,AD ウイルスは潜伏感染するもののウイルスの排泄期間や量は限られており,また,ウイルスが残存しやすい温度や湿度等の環境要因,他の病原体の関与が感染成立に影響すると推察される。そのため,ウイルスが外界で残存し難い夏期等では AD が感染しにくい可能性がある。言い換えれば,一時的に AD ウイルスの動きが沈静化しても,季節とともに再度ウイルスが動き出す危険性があり,真の農場の AD 浸潤状況を把握するには,幾度か抗体検査を重ねて総合判断する必要がある。

個別ケースから、AD 浸潤農場がすべきことは、AD ワクチン接種の徹底、抗体検査によるワクチン抗体保有状況の確認、農場にあったピッグフローの見直しということは言うまでもない。着実に AD 清浄化を進めるために必要なことは、定期的な抗体検査による農場の現状確認であることを再認識させられた。

地域的なAD清浄化対策の必要性

AD ワクチン接種による感染防御で,農場内の AD ウイルス生息場所は確実になくなってきた。現在の地域的な AD 清浄化対策により,地域単位で AD ウイルス量が減少し,各農場外部からの AD ウイルスの侵入リスクも低くなってきたと推察される。その結果,頭数ベースの陽性率が低下し,管内のような養豚密集地域においても AD 清浄化が進んできた。AD 清浄化の兆しが見え始めた今がスタートラインであり,継続した取り組みで真の AD 清浄化を目指したい。

表1 第1期目AD清浄度確認検査(平成20年12月~平成21年11月)

		AD清浄 農場	AD浸潤 農場
	一貫	27戸	57戸
内 訳	繁殖	5戸	0戸
	肥育	19戸	3戸
ADß	場性率	0%	3.6 ~ 100%
Ę		51戸	60戸

表2 第2期目AD清浄度確認検査採材方法

採材場所	実戸数	延べ戸数	採材実頭数
農場	88戸	129戸	3,446頭
と場	16戸	18戸	285頭
合計	104戸	147戸	3,731頭

表3 第2期目AD清浄度確認検査結果(g 結果)

市	採材頭数		g 陽性頭数及び陽性率						
I JJ	才木 化/ 或其安X	繁殖豚	(%)	肥育豚	(%)	合計	(%)		
A市	85頭	0頭	Ο%	0頭	0%	0頭	0%		
B市	1	-	-	-	-	-	-		
C市	230頭	0頭	Ο%	0頭	0%	0頭	0%		
D市	928頭	59頭	25.9%	71頭	10.1%	130頭	14.0%		
E市	2,481頭	226頭	21.5%	245頭	16.2%	471頭	19.0%		
合計	3,731頭	285頭	18.8%	316頭	13.8%	601頭	16.1%		

表4 第2期目AD清浄度確認検査結果(S結果)

AD浸潤状況	実戸数	S上昇	備考
AD浸潤戸数	55戸	40戸	
一貫経営 繁殖豚のみ	28戸	21戸	
一貫経営 繁殖豚・肥育豚	27戸	15戸	
肥育経営	4戸	4戸	

表5 聞き取り調査結果(対象:AD浸潤55戸)

ワクチン接種状況

全頭接種 48戸

繁殖豚のみ 5戸

未接種 2戸

飼養管理状況

AD浸潤農場より導入している農場 9戸

(内訳)

一貫経営農場 5戸

肥育経営農場 4戸

肥育豚を分離飼育している農場 23戸

繁殖豚を自家育成している農場 32戸

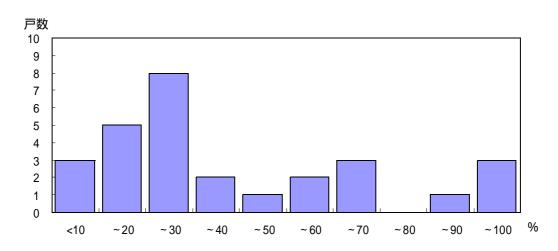


図1 繁殖豚のみAD浸潤農場(28戸)のg 陽性率と戸数の分布

ADワクチン接種の不徹底

接種漏れ

衛生コスト捻出困難

他疾病の治療と重なり,リアクションを懸念

ADウイルスが動いていないと過信

ADワクチン抗体保有率

ワクチン接種適期に接種されていない

他疾病による豚の免疫抑制の影響

ワクチン接種方法

ピッグフロー

日齢の異なる豚が同居

移動日齢がまちまち

移動豚舎の消毒が徹底されていない

オールアウトできない

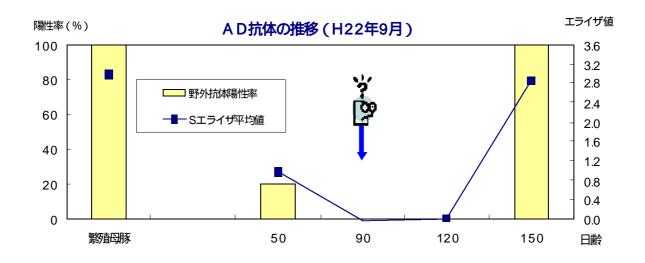


図2 AD浸潤農場(C農場)の例

7. 管内のオーエスキー病清浄化に向けた取り組みと問題点

県南家畜保健衛生所 清水 ひろみ 中村 正成 三浦 成見 菅原 徹

オーエスキー病(以下,AD)は平成20年12月のAD防疫対策要領(以下,要領)改正以降,新体制でAD清浄化を目指している。新体制前の管内における取り組み状況については,平成20年に植木らにより報告したところである。その後も新体制でAD清浄化を目指しており,検査結果等からAD浸潤状況が把握され,AD清浄化地域またはAD浸潤地域が明確化されつつある。

今回,新体制後2年間の管内の AD 清浄化に向けた取り組み状況を報告するとともに,検査結果等から AD 清浄化を推進する上での問題点が上げられ,今後の対策や指導内容について検討したので報告する。

管内の養豚飼養状況

管内では 9 市町村 108 戸,約 10 万 5 千頭が飼養されており,5 市以外は市町村に数戸のみで散在している。平成 21 年度から平成 22 年度にかけて,廃業や休業した農場は 8 戸で減少傾向にある一方,再開した農場も 2 戸あった。飼養規模は 30 ~ 7000 頭で,30 ~ 2000 頭が 9 割を占めており,中小規模経営が多い。

管内の協議会開催状況及びステータス区分

県南地域 AD 防疫協議会については,平成 20 年 12 月から平成 22 年 12 月までに計 3 回開催し,検査の状況やステータス区分の変更等について協議した。

新体制当初の要領では,ステータスは ~ の 4 区分とされていたが,平成 22 年 4 月からは要領の一部改正によりステータス が前期及び後期に区分されたことから 5 区分となった。管内では新体制当初,検査結果やワクチン接種状況からステータス とされた農場が 5 戸あったが,平成 22 年 11 月時点における農場毎のステータスでは 前期が 26 戸, 後期が 75 戸, が 7 戸となった(表 1)。

新体制後2年間の検査状況

1 検査方法

検査期間は平成 20 年 12 月から平成 21 年 11 月を第 1 期, 平成 21 年 12 月から 平成 22 年 11 月を第 2 期とした。各期間内には全農場を対象にステータス は 14 頭,ステータス は 29 頭程度の抗体検査を $1\sim4$ 回実施した。採材方法はと場または農場で,民間の検査機関で実施した結果も活用した。陰性農場ではそれぞ

れの期間内に概ね1回のみの検査であったが,一部の陽性農場については複数回の抗体検査を実施して,AD 浸潤状況の把握及びワクチン接種適期を検討するため,農場内で日齢別の採血を実施した。検査方法は IDEXX 社の ADV(g)エリーザキットを用いて野外抗体を検出,同社の ADV(s)エリーザキットでは主にワクチン抗体の把握に使用した。検査の結果,AD 野外抗体が確認された農場については,農場へ訪問して現状を把握するための聞き取り調査とあわせて今後の対策について検討した。また,陽性農場の結果については,担当の指定獣医師にも周知し,当該農場の AD 浸潤状況を把握してもらうと同時にワクチン接種の適期を再確認してもらった。

2 検査結果及び考察

(1)市町村別の検査戸数及び頭数の陽性率(表2)

第 1 期は 111 戸 3240 頭検査して 25 戸 (22.5%)601 頭陽性 (18.5%),第 2 期は 104 戸 3327 頭検査を実施して 18 戸 (17.3%)516 頭陽性 (15.5%)となり,陽性率は戸数及び頭数ともに減少傾向であった。市町村別に見ると,戸数の多い A 市,C 市及び E 市で陽性率が高い傾向がみられたが,戸数が多くても陽性率の低い B 市や D 市もみられた。

(2)採材方法別の陽性戸数(表 3)

第1期では農場採材が72戸(64.6%)で20戸陽性(27.8%),と場採材が39戸(35.1%)で5戸陽性(12.8%)であった。第2期では農場採材が67戸(64.4%)で14戸陽性(20.9%),と場採材は37戸(35.6%)で4戸陽性(10.8%)となった。第1期及び第2期とも陽性農場の検出率は農場採材に比べと場採材の方が低かった。この要因として,と場採材は主に肥育豚の検査であり,母豚のAD浸潤状況は把握出来ないことが考えられる。従って,今後は農場での母豚を中心とした採材を実施していく必要がある。また,と場採材で陽性となった4戸については,肥育豚の検査のみではAD清浄化対策を検討することが難しいため,農場飼養豚の日齢別採血により農場全体のAD浸潤状況を把握していく必要がある。

(3)飼養形態別の陽性戸数(表4)

第1期は肥育農場 15 戸中 3 戸陽性,一貫農場 91 戸中 22 戸陽性で繁殖農場等の 8 戸は陰性であった。一方,第2期では一貫農場 84 戸のうち 18 戸が陽性となった以外は全て陰性となり,特に肥育農場の AD 清浄化が目立った。これらの理由として,導入元の農場が AD 清浄化した可能性の他,肥育農場ではオールインオールアウトが実施可能な状況にあり,農場内の AD ウイルスを排除できたためと考えられる。

(4)第1期から第2期の陰転及び陽転状況

第1期に陽性であった農場が第2期に陰性となった農場は 11 戸であった。そ

の内訳をみると,肥育農場 3 戸と一貫農場 1 戸については,実際に AD 清浄化された事例であった。その他,第 1 期は母豚陽性であったが第 2 期では肥育豚のみ検査したために陰性となった農場の 4 戸が含まれていた。これらの農場については実際の AD 浸潤状況は母豚の検査が必要で,AD 清浄化が達成されたか否かの再確認が必要な農場であった。また,残りの 3 戸は廃業したために陰性となった事例であった。

また,第1期に陰性または不明であった農場が第2期に陽性となった農場は4戸であった。そのうち2戸については母豚の検査を実施して陽性となった農場で,実際のAD浸潤状況把握には農場採材による母豚検査を実施することの重要性が改めて示された。その他,検査未実施農場が検査したことでAD浸潤が把握された農場が2戸あった。

(5)陽性農場における AD 浸潤状況(表5)

陽性農場は AD 浸潤状況によって大きく 2 つに区分される。一つは母豚及び肥育豚で AD 野外抗体が検出される農場(以下,肥育豚陽性農場),もう一つは母豚のみに陽性が認められる農場(以下,母豚陽性農場)で,第 1 期は陽性農場 25 戸のうち,肥育豚陽性農場が 17 戸(68%),母豚陽性農場が 8 戸(32%)であった。第 2 期は陽性農場 18 戸のうち,肥育豚陽性農場及び母豚陽性農場の何れも 9 戸(50%)であり,肥育豚陽性農場が減少し,母豚陽性農場が増加している傾向が見られた。これらの理由として,一つは農場内での AD ウイルスが沈静化して母豚のみ陽性となった場合,もう一つは肥育豚の検査では陰性であったものの,農場採材により母豚の浸潤状況が把握されて新たに陽性農場となった場合が考えられる。しかし,一方で肥育豚陽性農場においては,全頭ワクチン接種していても農場内のウイルスが長期にわたって沈静化しない農場もある。これらの農場については定期的な農場採材によるワクチン接種の適期確認の他,ピッグフローの変更や消毒等の対策を引き続き指導していく必要性がある。

(6)陽性農場における導入状況

巡回時による導入状況の聞き取り調査で,陽性農場 18 戸のうち 6 戸については他の AD 浸潤農場からの導入が明らかであった。市場出荷では AD 陰性証明の義務付けをしているが,庭先販売においては一部の農場では出荷豚の検査を実施しているものの,全ての農場において出荷豚の検査を実施しているわけではない。現状として,陽性豚の販売または購入が行われていた実態から,販売する側及び購入する側の両面から,AD 清浄化への理解を得るための徹底した指導をしていく必要がある。

(7)ステータス区分別の陽性戸数とワクチン接種状況(表 6)

ワクチン接種戸数は第 1 期が 105 戸(94.6%),第 2 期が 91 戸(85.8%)で減少傾向であった。第 2 期では肥育豚陽性農場 9 戸のうち一部接種が 3 戸,未接種が 1

戸で、陽性農場であるにもかかわらずワクチンを未接種または母豚のみ一部接種している農場があった。これらの理由として、豚価の低迷等による経済的理由の他、農場内に AD ウイルスが浸潤していても損害の実感ないため AD 清浄化をあきらめているような農場もあった。これらの農場には地域の現状を説明しつつ、引き続き AD 清浄化への理解を求めていかなければならない。

母豚陽性農場では 9 戸全ての農場で全頭接種していた。これらの農場内には AD ウイルスが潜んでいることから,ワクチンの全頭接種は効果的な対策と考えられる。また,農場内からの AD ウイルスを排除するためには,陽性母豚の淘汰が望ましい。特に母豚の陽性率の低い農場については,淘汰補助事業等を活用し,早期の清浄化を促す必要がある。

また,陰性農場でも全頭接種農場は53戸,一部接種農場は21戸あり,AD清浄農場でもADウイルスの侵入が心配なためワクチン接種を希望する農場も多い。管内ではAD浸潤農場も混在していることから,大部分の地域ではADワクチン接種を推進している。今後は,地域のAD浸潤状況や飼育密度を勘案しながらワクチン接種を中止してステータス へ移行することへの理解を求めていくべきである。

問題点のまとめ

1 農場採材の重要性

実際の AD 浸潤状況の把握には肥育豚の検査だけでなく母豚の検査が重要である。管内では 35%の農場がと場採材のみで、母豚の AD 浸潤状況が把握されていない。一方、陽性農場については AD 清浄化をするために定期的な AD 浸潤状況の把握に加え、ワクチン接種日齢の適期確認が必要で、日齢別の採材を実施していく必要がある。一部の陽性農場では農場内の定期的な検査を実施しているものの、全ての陽性農場で実施しているわけではない。今後は AD 清浄化するためにも全戸農場採材を目指したい。

2 AD 陰性豚の流通徹底

市場へ出荷する豚や一部の庭先販売農場については検査を実施して AD 陰性豚を販売しているものの,全ての庭先販売農場で陰性豚の流通が徹底されていない現状があった。一方,購買者の中には AD 陽性豚の可能性を知りつつ,これらを導入していた農場もあった。現在までの指導の結果,購買者の中には導入元の変更をした農場もいくつかみられ,また庭先販売農場においても早期の AD 清浄化に向けた対策として,ワクチン接種の徹底に加え,新たにピッグフローの変更を実施している段階である。引き続き,AD 清浄化に対する十分な理解が得られるよう AD 陰性豚の販売及び導入について,再徹底するよう指導強化していきたい。

3 陽性農場でのワクチン未接種

陽性農場の中には AD 清浄化を半ばあきらめている農場もあり,ワクチン接種に消極的な農場もある。豚価の低迷等による経済的な理由でワクチンを接種出来ないと主張された場合には,ワクチン接種への指導が困難になってしまうものの,管内または地域の AD 浸潤状況を示しながら,AD 清浄化への理解と協力を求めていく必要がある。そのためには,当所だけでなく指定獣医師や市町村担当者と協力しながら,ワクチン接種にむけた粘り強い指導を実施していきたい。

4 陽性農場の AD ウイルス沈静化

現在,陽性農場の中には農場内で AD ウイルスが沈静化されない肥育豚陽性農場が9戸ある。全頭ワクチン接種している農場でも必ずしもそれだけではウイルスの動きを止めることが出来ないため,併せて飼養環境の改善やピッグフローの見直しが必要となってくる。しかし,農場側のやる気と実効性がないと対策が進まず,AD ウイルスが沈静化しないのが現状である。陽性農場におけるピッグフローやワクチン接種状況は様々であり,定期的な農場検査を実施しつつ,その結果をもとに農場に則した対策を農場主と指定獣医師等とともに考えていくことが重要で,現在も一部の農場で実施しているこの体制を今後は全ての陽性農場において重点的に実施していく必要がある。

5 陰性農場でのワクチン接種

現状では、AD 清浄農場でも AD ウイルスの侵入防止を理由にワクチン接種を希望する農場も多く見られる。AD 清浄地域がある一方で AD 浸潤農場も混在する管内の状況では行政側から強制的に中止を求めることは難しい。現在までの検査結果から AD 浸潤状況がある程度把握されつつある中、戸数が比較的少ない AD 清浄地域では、農場及び指定獣医師等の関係者会議を開催することで、ワクチン接種中止への十分な理解を求めていく必要がある。現在、AD 清浄地域と考えられる数戸の農場ではステータス へ変更するためにワクチン接種中止に向けた全頭母豚採血を実施している段階であり、今後も現状に則した指導をしていきたい。

今後の指導方針

新体制後,全ての農場における AD 浸潤状況が把握され,徐々にではあるが AD 清浄化に向かいつつある。本県においては, AD 清浄化に向けた検査や指導方針が具体的に明確化されており,県下統一した体制が求められている。今後もこれらに基づいて指導していくことは勿論ではあるが,今回明らかとなった管内における問題点を解決するために引き続き取り組みを強化して,農場主及び指定獣医師等とともに AD 清浄化を目指していきたい。

表1 管内の農家戸数及びステータス区分

市町村名	農家		第1期	
בר ה א נישירוי	戸数			
A市	16	1	13	2
B市	37	2	35	0
C市	30	2	28	0
D市	13	0	10	3
E市	12	0	12	0
F市	1	0	1	0
G市	2	0	2	0
H市	1	0	1	0
l村	1	0	1	0
J町	1	0	1	0
合計	114	5	104	5

市町村名	農家		第2期	
ברנף נשיקוי	戸数	前期	後期	
A市	15	3	11	1
B市	35	10	25	0
C市	29	9	20	0
D市	12	3	6	3
E市	12	1	9	2
F市	1	0	1	0
G市	2	0	2	0
H市	1	0	0	1
l村	1	0	1	0
合計	108	26	75	7

表2 市町村別の検査戸数及び頭数の陽性率

→-mT+-	#=		戸	数		頭数			
市町村名	農家 戸数	検査数	陽性数	陽性率	(%)	検査数	陽性数	陽性率	(%)
	, ,,	1大旦奴	アの「工文人	人的加工十	第1期	1大旦奴	アの「工文人	物工士	第1期
A市	15	15	4	26.7	13.3	730	61	8.4	0.6
B市	35	34	3	8.8	19.4	619	48	7.8	9.3
C市	29	27	7	25.9	31.0	606	145	23.9	21.0
D市	12	12	0	0.0	7.7	465	0	0.0	0.8
E市	12	11	3	27.3	33.3	806	253	31.4	46.8
F市	1	1	1	100.0	100.0	20	7	35.0	46.7
G市	2	2	0	0.0	50.0	47	2	4.3	5.9
h市	1	1	0	0.0	0.0	19	0	0.0	0.0
l村	1	1	0	0.0	0.0	15	0	0.0	0.0
合計(第2期)	108	104	18	17.3	22.5	3,327	516	15.5	18.5

検査未実施は4戸:2戸休業,2戸廃業予定

陽性はAD野外抗体陽性。

表3 採材方法別の陽性戸数

	農家		採材方法				
	戸数	検査戸数	陽性戸数	農場	陽性戸数	と場	陽性戸数
第1期	114	444 05	25	72	20	39	5
年 「朔	114	111	25	64.9%	27.8%	35.1%	12.8%
第2期	108	104	18	67	14	37	4
年 4期	100	104	10	64.4%	20.9%	35.6%	10.8%

表4 飼養形態別の陽性戸数

	農家						
	戸数	肥育経営	陽性戸数	一貫経営	陽性戸数	繁殖経営等	陽性戸数
第1期	114	15	3	91	22	8	0
第2期	108	16	0	84	18	8	0

表5 陽性農場におけるAD浸潤状況

	#=				
	農家 戸数	検査戸数	陽性戸数	肥育豚陽性農場	母豚陽性農場
第1期	111	14 111	25	17	8
(114		22.5%	68.0%	32.0%
第2期	109	104	18	9	9
为4别	108	108 104	17.3%	50.0%	50.0%

肥育豚陽性農場:母豚及び肥育で野外抗体陽性。 母豚陽性農場:母豚のみで野外抗体陽性。

表6 ステータス区分別の陽性戸数とワクチン接種状況

第1期	農家戸数									
为中的	辰多)奴	全頭接種	一部接種	未接種	全頭接種	一部接種	未接種			
肥育豚陽性農場	16	0	1	0	14	1	0	0		
母豚陽性農場	9	0	0	1	8	0	0	0		
陰性農場	86	0	1	0	79	1	0	5		
	111	0	2	1	101	2	0	5		

農家戸数:未検査2戸,休業1戸は除く。

第2期	農家戸数		前期		後期			
かとが	辰多厂奴	全頭接種	一部接種	未接種	全頭接種	一部接種	未接種	
肥育豚陽性農場	9	0	3	1	5	0	0	0
母豚陽性農場	9	0	0	0	9	0	0	0
陰性農場	88	0	17	5	53	4	2	7
合計	106	0	20	6	67	4	2	7

農家戸数:休業2戸は除く。

第二部

8. 一酪農におけるビタミンおよび脂質の乳期別推移に関する一考察

県北家畜保健衛生所 山口 大輔 楠原 徹

飼料由来の脂質には、ビタミン A(以下,VA)、ビタミン E(以下,VE)などの脂溶性ビタミンやプロビタミン Aであるßカロテンが含まれており、生体に必須なビタミンとして機能している。また、血液中の総コレステロール濃度は、飼料摂取量や乳量と密接な関係があり、遊離脂肪酸(以下,FFA)濃度は負のエネルギーバランス状態で増加する。これらは、乳用牛の栄養状態を把握し、欠乏症や生産病を未然に防ぐためにも重要な検査項目である。

そこで今回は、病性鑑定や代謝プロファイルテストに応用できる正常範囲を設定する一助として、乳用牛における血漿中 VA、VE、ß カロテン、総コレステロールおよび FFA 濃度の乳期別推移および各測定項目の相関関係を調査したので報告する。

検査材料

一農場の臨床症状のない乳用牛(ホルスタイン種)の血漿 83 検体(搾乳牛 42 頭,妊娠牛(未経産)26 頭,育成牛 15 頭)を用いた。乳期については,分娩日から50日を初期,51日から110日を最盛期,111日から210日を中期,211日から305日を後期,305日から分娩前日を乾乳期と分類した ¹⁾。なお,この農場の飼養形態はフリーストールで,搾乳牛にはCP 16.35 %,TDN 72.41 %の Total Mixed Ration(以下,TMR)を給与しており,平成21年度の総乳量は750,727kg (1頭あたり9,384kg)であった。また,乾乳期,育成牛および妊娠牛は濃厚飼料およびイタリアンサイレージを給与していた。

方法

1 血漿中 VA, VE および β カロテン濃度の測定

血漿からの VA, VE および β カロテンの抽出については ,定法に準じて行った。また , 高速液体クロマトグラフィー (CLASS-VP , 島津製作所) を用いて以下の条件により測定した。

移動相 エタノール:蒸留水 = 95:5

流速 1.0ml/min

波長 VA (Ex325nm, Em465nm), VE (Ex296nm, Em330nm), ß カロテン (450nm)

温度 カラム 40 , オートサンプラー 4

カラム Mightysil RP-18 150-4.6(5µm) (関東化学)

2 血漿中総コレステロール濃度の測定

コレステロール E-テストワコー(和光純薬工業)を用いて,コレステロールオキシダーゼ・DAOS 法により測定した。

3 血漿中 FFA 濃度の測定

NEFA C-テストワコー(和光純薬工業)を用いて,ACS・ACOD 法により測定した。

4 統計処理

VA, VE, ß カロテン,総コレステロールおよび FFA の相関関係について,マイクロソフトエクセル(マイクロソフト社)を用いて回帰分析を行った。相関係数(R)については,その絶対値について,0以上 0.2 未満を「相関はほとんどない」,0.2以上 0.4未満を「弱い相関関係がある」,0.4以上 0.7未満を「相関関係がある」,0.7以上 0.9未満を「強い相関関係がある」,0.9以上 1.0未満を「極めて強い相関関係がある」とした 2 。また,決定係数については,0.25未満を「精度が悪い」,0.25以上 0.5未満を「精度が非常に良い」とした 3 。

結果

1 VA, VE, ßカロテン,総コレステロールおよびFFA濃度の乳期別推移

VA, VE, β カロテン,総コレステロールおよび FFA 濃度を表 1 に示した。乳期別の比較を行ったところ, VA, VE, β カロテンおよび総コレステロール濃度において,最盛期,中期および後期と比較して初期および乾乳期で低い値を示した。FFA 濃度は,他の乳期と比較して初期が高値であった。また,育成牛および妊娠牛については,FFA 濃度以外は初期の値と類似していた。

2 各測定項目の相関関係

VA , VE , ß カロテン , 総コレステロールおよび FFA 濃度の相関関係を調査したところ (表 2), VA - 総コレステロール (R=0.85 , p<0.01), VE - 総コレステロール (R=0.83 , p<0.01), VA - VE (R=0.71 , p<0.01) において , 強い相関関係が認められた。また ,VA - ß カロテン (R=0.57 ,p<0.01) ,VE - ß カロテン (R=0.69 , p<0.01), ß カロテン - 総コレステロール (R=0.64 , p<0.01) において , 相関関係が認められた。FFA については , いずれの項目とも相関関係はほとんど認められなかった (R=0.05 ~ 0.11)。強い相関関係が認められた VA - 総コレステロールにおいては ,回帰式 y = 0.5614x + 26.212 ,決定係数 0.72 の精度の良い回帰直線が得られた (図 1)。また , VE - 総コレステロールについても ,回帰式 y = 0.0162x + 0.2946 ,決定係数 0.69 の精度の良い回帰直線が得られた (図 2)。

考察およびまとめ

VA は,正常な視力の維持,上皮組織の構造および機能の維持,正常な発育の促進などの作用があるが,欠乏すると食欲の低下,被毛粗剛,下痢,発情の不良,盲目,失神あるいは発育遅延などの症状が発生する。 β カロテンは植物性飼料に存在するプロ VA であり,腸管において VA に転換されるが, β カロテン自体が繁殖,特に黄体機能の維持という役割を持つと考えられている。 β VE は,特定の貯蔵器官がなく,全身に分布する抗酸化剤として機能している。生体膜の保護,免疫機能の正常化,内分泌機能の維持などの作用があるが,欠乏すると子牛では白筋症,成牛では胎盤停滞などの周産期疾病や繁殖障害が発生する。また,総コレステロールは,飼料として摂取されるか,あるいは肝臓で合成されるため,飼料すなわちエネルギーの摂取量および肝機能を反映しており,乳量に対しても正の相関があることが知られている。。さらに,ステロイドホルモンや胆汁酸の前駆物質でもあるため,血液中の総コレステロール濃度の低下は繁殖障害や周産期疾病の増加にもつながる可能性がある。FFA は泌乳量の急激な増加,ケトーシス,脂肪肝などの負のエネルギーバランス状態で増加し,エネルギー摂取量が維持量を下回っていることを意味している。

今回調査の結果,泌乳初期の VA,VE, β カロテンおよび総コレステロール濃度が他の乳期と比較して低い値を示した。この理由として,一般的に分娩後の乳量増加に対して飼料摂取量が不十分であることがあげられる。分娩後の乳量は 4~5 週でピークに達するが,飼料摂取量は 8~ 10 週で十分なレベルに達するため,初期においては乳量の増加に対して飼料摂取量が不足する負のエネルギーバランス状態になる δ 0。そのため,飼料中に含まれる VA,VE, δ 0 カロテンおよび総コレステロールの摂取量が不十分となり,他の乳期と比較して低い値を示したと考えられた。逆に,初期の FFA 濃度は負のエネルギーバランス状態を反映して,他の乳期より高い値を示した。最盛期から後期にかけては,飼料摂取量が乳量の増加に対して十分になるため,VA,VE, δ 0 カロテンおよび総コレステロール濃度は増加し,逆に FFA 濃度は低下した。なお,乾乳期,育成牛および妊娠牛については,過肥による周産期疾病を防止するため,TMR から濃厚飼料およびイタリアンサイレージに切り替えていることから,最盛期,中期および後期と比較して低い値を示したと考えられた。

相関関係については, VA - 総コレステロール, VE - 総コレステロールおよび VA - VE において強い相関関係が認められた。また, VA - 総コレステロールおよび VE - 総コレステロールについて,回帰分析の結果から決定係数はそれぞれ 0.72 および 0.69 と精度の良い回帰直線が得られた。総コレステロールは肝臓でも合成されるが,牛ではその合成能力はそれほど高くないため,飼料摂取量を鋭敏に反映しているといわれている。飼料摂取量が増加するとともに総コレステロー

ル濃度が増加し,脂溶性ビタミンである VA および VE 濃度も増加したと考えられた。

乳用牛において,各乳期ごとに生化学検査項目の正常範囲を設定し,栄養状態をモニタリングすることは,乳用牛の健康維持だけではなく欠乏症や生産病を未然に防ぐためにも重要であると考えられる。今回得られたデータを正常範囲設定の一助とし,今後はさらに調査農家数および測定項目数を増やし,様々な飼養形態に対応できるように設定することで,病性鑑定や代謝プロファイルテストに応用していきたい。

参考文献

- 1)高橋俊彦, 獣医輸液研究会会誌, Vol.5, No.1, 2005
- 2)小林創太, 獣医統計学, H21 年度獣医疫学特殊講習会資料
- 3)管民郎, Excel で学ぶ多変量解析入門, オーム社, 2001
- 4)日本飼養標準,乳牛(2006年版),中央畜産会
- 5) 岡田啓司, 家畜診療, 54 巻 10 号, 2007

表1 乳期別の血漿中 VA, VE, 加デン,総コレステロールおよび FFA 濃度の推移

		VA	VE	カロテン	総コレステロール	FFA
	乳期	IU/dL	μ g/ dL	μ g/mL	mg/dL	μ Eq/L
_	初期	84.6±27.4	1.74±0.88	0.27±0.19	82.2±43.2	388±235
	最盛期	155.7±46.4	3.90±1.07	0.89±0.39	205.6±50.0	188±103
搾乳牛	中期	135.9±44.2	3.23±1.25	0.77±0.17	197.7±46.8	213±145
	後期	145.2±24.6	3.91±0.75	0.94 ± 0.26	223.7±32.3	160±34
	乾乳期	88.1±37.2	3.02±1.14	0.64 ± 0.21	138.6±42.9	138±38
育成牛		84.9±25.1	1.12±0.13	0.33±0.26	87.9±18.2	166±108
妊娠牛		86.2±12.1	1.79±0.36	0.63±0.22	101.9±18.0	125±27

平均 ± 標準偏差

表2 血漿中 VA, VE, 加デン,総コレステロールおよび FFA 濃度の相関関係

項目	VA	VE	カロテン	総コレステロール	FFA
VA		0.71*	0.57*	0.85*	0.11
VE	0.71*		0.69*	0.83*	0.05
カロテン	0.57*	0.69*		0.64*	0.1
総コレステロール	0.85*	0.83*	0.64*		0.05
FFA	0.11	0.05	0.1	0.05	

* p<0.01

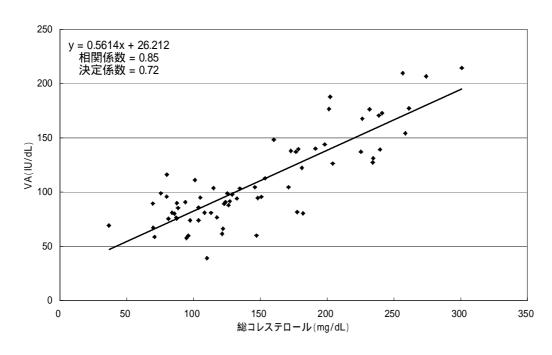


図1 血漿中 VA および総コレステロールの相関関係

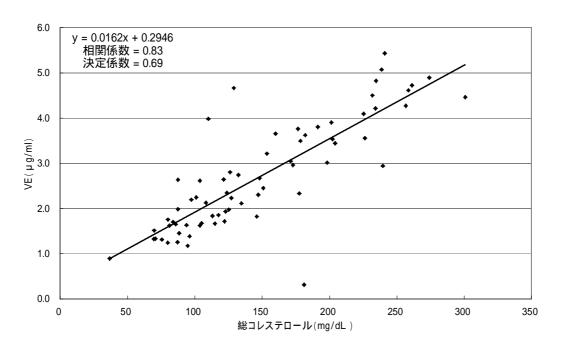


図2 血漿中 VE および総コレステロールの相関関係

9.遺伝子検査を用いた牛白血病ウイルスの疫学調査

県北家畜保健衛生所 川西菜穂子 川上 純子

地方病型(成牛型)牛白血病はレトロウイルス科に属する牛白血病ウイルス(以下,BLV)の感染により発症する腫瘍性疾患である。本病は平成 10 年より届出 伝染病に指定され,近年は発生戸数,発生頭数ともに増加傾向にある。

これまで,国内外の研究機関や家畜保健衛生所において,BLV について遺伝子検査を応用し,遺伝子型別により分類することで疫学関連を解明する疫学調査が行われてきた ^{1,2)}。しかし,本県において BLV の浸潤状況調査や遺伝子型別による疫学調査はほとんど行われておらず,実態は把握できていない。そこで,平成 20 ~ 22 年度に病性鑑定を実施した牛の余剰血液を用いて,BLV 浸潤状況調査および遺伝子型別による疫学調査を実施したので,その概要を報告する。

材料及び方法

1 抗体検査

平成 20 ~ 22 年度に病性鑑定を実施した県内 51 戸を対象に,病性鑑定および 定期検査時の余剰血清を用いて,785 頭(うち酪農家 39 戸 682 頭,肥育・繁殖 和牛農家 12 戸 103 頭)について,市販の牛白血病エライザキット(チッソ株式 会社)による ELISA を実施した。

2 遺伝子検査

抗体陽性牛の中から EDTA またはヘパリン加血液(以下,全血)を採材した 牛を選定し,遺伝子検査を実施した。

(1)白血球からの DNA 抽出

塩化アンモニウム法を用いて全血から白血球を分離し, QIAamp DNA Mini Kit (株式会社キアゲン)を用いて白血球から DNA を抽出した。

(2) Nested PCR

Fechner ら ³⁾の方法に準じて, Nested PCR により BLV の env 領域 444bp を増幅した。

(3)RFLP 法を用いた遺伝子型別による分類

特定の遺伝子部位を PCR で増幅後,制限酵素で切断し,その制限酵素断片像の違いを解析する RFLP 法を用いて遺伝子型別による分類を行った。まず,得られた 444bp の PCR 産物を 3 種類の制限酵素 Bcl ,Hae および Pvu で切断し,その切断像から Licursi ら 4)が型別した遺伝子型 (~ 型)により分類した。

(4)相同性解析および分子系統樹解析

PCR 産物についてダイレクトシーケンスを行い塩基配列を決定し、各株間の配列を比較する相同性解析を実施した。

さらに,近接接合法(以下,NJ法)による分子系統樹解析を行った。

結果

1 抗体検査結果(表1)

県内 51 戸 785 頭のうち抗体陽性となった牛は 38 戸 462 頭であり,抗体陽性率は戸数ベースで 74.5%,頭数ベースで 58.9%であった。頭数ベースの種類別抗体陽性率について,乳用牛(ホルスタイン種・ジャージー種)は 61.6%,肉用牛(黒毛和種・交雑種)は 40.8%であった。

2 遺伝子検査結果

(1)RFLP 法を用いた遺伝子型別(表2)

抗体陽性牛のうち 32 戸 93 頭 (うち酪農家 25 戸 76 頭 , 肥育・繁殖和牛農家 7 戸 17 頭) について Nested PCR を行い , RFLP 法を用いた遺伝子型別により分類 したところ , 1 型 , 3 型および 5 型の 3 種類の遺伝子型が認められた (図 1)。

1型が27戸69頭(74.2%),3型が11戸22頭(23.7%)および5型が1戸2頭(2.2%)であった。そのうち1型および3型の2種類の遺伝子型が確認された農場は7戸(酪農家6戸,繁殖和牛農家1戸)あり,また,1型および5型の2種類が確認された農場は酪農家1戸であった。

品種別に見ると,乳用牛 76 頭のうち,1 型が65 頭(85.5%),3 型が9頭(11.8%) および5 型が2頭(2.6%)であった。また,肉用牛17頭のうち,1 型が4頭(23.5%) および3 型が13頭(76.5%)であった。

また、病性鑑定時の聞き取りおよび家畜改良センターの個体識別情報により得られた各個体の情報により、同一の放牧場で放牧経験のある牛について調査したところ、X 放牧場に放牧経験のある 4 戸 12 頭は全て 3 型であり、Y 放牧場に放牧経験のある 5 戸 9 頭は全て 1 型であった。

(2)相同性解析(表3,図2)

RFLP 法により分類した遺伝子型別で 1 型であった 5 戸 (A ~ E 農場) 9 頭および 3 型であった 3 戸 (A, B, F 農場) 3 頭から検出された 12 株 (A-1, 2, B-1~3, C-1, 2, D-1, 2, E-1, 2, F-11) について, Nested PCR で得られた PCR 産物の 403 塩基を決定し,相同性解析を実施した。

 $A \sim E$ 農場の 5 戸は全て酪農家であり,同じ酪農団地内に位置しそれぞれが隣接しており,また,Z 放牧場での放牧経験があった。F 農場は和牛繁殖農家で $A \sim E$ 農場との接点はなく,X 放牧場で放牧を行っていた。

403 塩基のうち,各株間の塩基配列の相同性は 99.3% ~ 100%であった。各株間の塩基の違いは非常に少なく,最大で3塩基の違いであった。B-3,D-1,2,E-1,2

の5株については全て同一の塩基配列であった。

(3)系統樹解析

塩基配列を決定した 12 株と国内外で検出された 51 株について, NJ 法により 分子系統樹を解析した結果,全ての株が非常に近縁であった。

まとめ

これまで、本県において BLV の遺伝子解析による疫学調査はほとんど行われていなかったため、今回、過去 3 年間に病性鑑定を実施した農場の牛 785 頭について抗体検査を実施し、その中から 93 頭を選定し、RFLP 法による遺伝子型別を実施した。さらに、そのうちの 12 頭から検出された BLV について相同性解析および系統樹解析を行った。

抗体検査の結果,抗体陽性率は戸数ベースで 74.5%,頭数ベースで 58.9%であった。また,乳用牛と肉用牛の抗体陽性率を比較すると,乳用牛の方が高い値であり,これは 2007 年に村上ら 5)によって行われた全国調査と同様の傾向であった。

一方,RFLP 法を用いた遺伝子型別結果では,1 型が 74.2%,3 型が 23.7%および 5 型が 2.2%であり,1 型が最も多かった。これは Asfaw 6^{-1} が調査した全国の分布状況と類似していた。また,1 農場で 2 種類の遺伝子型が確認された農場が 8 戸あり,全体の約 3 割の農場で少なくとも 2 株の BLV の侵入があったことが分かり,1 つの農場に複数の感染経路が存在したことが推察された。

さらに、乳用牛では1型、肉用牛では3型の割合が多く、品種によって浸潤している株に違いが見られた。これは一般的に乳用牛と肉用牛を混飼している農場は少なく、乳用牛と肉用牛の接点がほとんどないため、乳用牛は1型、肉用牛は3型といった同じ遺伝子型の BLV が品種間で感染を繰り返していたためと推察される。しかし、今回、繁殖和牛農家でホルスタイン牛を代理母にした受精卵移植を実施していた農場や酪農家で繁殖和牛を飼養していた農場等、乳用牛と肉用牛の接点があった農場では、1型および3型の2種類の遺伝子型が検出された。このことから、品種による遺伝子型の違いについては、今後、検体数を増やすとともに詳細な聞き取りを行い、さらに調査していく必要があると考えられた。

今回,遺伝子型別を調査することにより,品種間で違いがあることや,1 つの 農場で複数の遺伝子型が検出された場合には,その農場に複数の感染経路があることが分かった。近年の調査においても,遺伝子型別には地域的な特徴があることや,疫学関連の調査が可能であることが報告されている ^{1,2)}。しかし,同じ遺伝子型のウイルスが同一株か否かは,遺伝子型のみでは識別できないことから,感染経路の推測を行うためにはさらに詳細な遺伝子解析の必要性があると考え,系統樹解析および相同性解析を行った。

系統樹解析の結果,今回検出された BLV 株はこれまで国内外で検出された既知の BLV 株と非常に近縁であった。変異が起こりやすい鳥インフルエンザウイルス等では,系統樹解析によって近縁関係を調べることで感染経路を推測することが可能である。しかし,Willems ら 6)の報告から BLV は遺伝子の変異が少ないことが知られており,今回の結果からも,検出された各株間の相同性は高く,系統樹から感染経路を推測することは困難であった。

相同性解析の結果 、C 農場で検出された 1 型の 2 株 (C-1 、C-2)の塩基配列は 403 塩基中 3 塩基の違いであった。BLV は感染個体の生体内で遺伝子変異を起こしにくいため,同一の農場内で検出された BLV 株の遺伝子が 1 塩基でも異なっていた場合,農場内で変異したのではなく,複数の BLV 株が侵入した(複数の感染経路が存在した)可能性が高いと考えられる。このことから,C 農場で検出された 2 株は別の BLV 株であり,2 つ以上の感染経路が存在することが示唆された。また,A,B および F 農場で検出された 3 型の 3 株 (A-2,B-2 および F-1)についても,1 ~ 2 塩基異なっていたことから,3 株とも異なる BLV 株であると考えられた。

一方,塩基配列が全て一致していた BLV5 株 (B-3, D-1, 2, E-1, 2) は農場が全て同じ酪農団地内にあり,Z 放牧場での放牧経験がある等疫学的接点があったことから,同一の BLV 株が農場内に侵入したと考えられた。また,D-2 および E-1 の株が検出された牛はいずれも自家産であり,移動歴や放牧歴はなかったことから,農場内に侵入した BLV が各々の農場内でまん延していることが示唆された。

さらに,Z 放牧場に放牧経験のある酪農家の牛から検出された1型の BLV について,相同性解析を実施した結果,同一の BLV 株が検出された。X 放牧場に放牧経験のあった3型の12頭,およびY 放牧場に放牧経験のあった1型の9頭の牛から検出された各々同じ遺伝子型の BLV も,相同性解析により全て同一の株である可能性があり,放牧場での感染も考えられた。このことから,今後,さらに放牧場における感染リスクを分析する必要があると思われた。

今回の調査結果から,導入元,牛の移動歴および放牧の有無など詳細な聞き取り調査の結果と遺伝子検査を応用した相同性解析の結果を合わせて検証することで,感染経路を推察することが可能であると考えられた。今後は,さらに詳細な聞き取り調査と相同性解析を行い,農場における BLV の侵入経路とまん延した要因を解明することで,効果的な BLV 対策を実施することが重要である。

しかし、県内全ての農場を対象に個々の BLV 浸潤状況調査を行い、具体的な BLV 感染対策を進めていくことは、家畜保健衛生所の人員不足や検査にかかる 費用の問題等、困難な現状もある。そのため、まずは意欲的な農家をモデル農家 として選定し、BLV 対策を推進していく方法が適していると考えられる。モデ

ル農家の選定には,まず詳細な聞き取り調査が可能であること,そして,地域, 飼養規模,飼養形態,品種および放牧や導入の有無等を考慮し,複数戸を調査す ることが望ましい。今回調査した遺伝子検査の手法を有効に活用し,BLV まん 延防止対策の足がかりにしたい。

稿を終えるにあたり、相同性解析・系統樹解析の実施、ご助言を頂いた独立行政法人農業・食品産業技術研究機構 動物衛生研究所 ウイルス病研究チーム 村上賢二先生に深謝致します。

参考文献

- 1) Asfaw, Y., Tsuduku, S., Konishi, M. et al. (2005): Arch Virol. 150, 493-505.
- 2) 南藤子ら(2006): 遺伝子検査を応用した牛白血病ウイルスの疫学的解析. 獣 医畜産新報 59,743-747.
- 3) Fechner, H., Blankenstein, P., Ebner, D. et al. (1997): Virology 237, 261-269.
- 4) Licursi, M., Inoshima, Y., Sentsui, H. et al. (2002): Virus Reserch. 86, 101-110.
- 5)村上賢二(2009):地方病性牛白血病の我が国における現状とその対策について.山口獣医学雑誌 36,5-29.
- 6) Willems, L., Thienpont, E., Kettmann, R. et al. (1993): J. Virol. 67, 1086-1089.

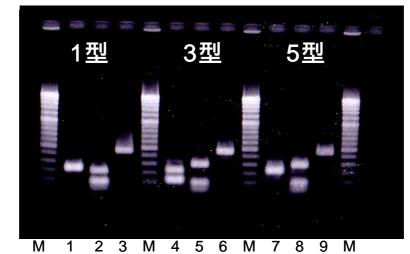
表1 戸数ベース,頭数ベースで見た品種別のBLV抗体陽性率

	戸数ベース (陽性戸数/総数)	頭数ベース (陽性頭数/総数)
乳用牛	74.4 % (29/39)	61.6 % (420/682)
肉用牛	75 % (9/12)	40.8 % (42/103)
	74.5 % (38/51)	58.9 % (462/785)

表2 RFLP法による遺伝子型別結果

		1型	3型	5型
□□□□□□□□□□□□□□□□□□□□□□□□□□□□□□□□□□□□□	頭数 n=76	65 (85.5%)	9 (11.8%)	2 (2.6%)
乳用牛	戸数 * n=25	24 (96%)	7 (28%)	1 (4%)
肉用牛	頭数 n=17	4 (23.5%)	13 (76.5%)	0
内州十	戸数 n=7	3 (42.9%)	4 (57.1%)	0
	頭数 n=93	69 (74.2%)	22 (23.7%)	2 (2.2%)
合計 	戸数 [*] n=32	27 (84.4%)	11 (34.4%)	1 (3.1%)

*:のベ戸数



1000bp 500bp 100bp

図1 PCR 産物の 3 種類の制限酵素 (Bcl , Hae , Pvu) による 切断パターン

M: 100bp 分子量マーカー 1,4,7: Bcl 2,5,8: Hae 3,6,9: Pvu

表3 相同性解析を実施した12株の遺伝子型

農場	株	遺伝子型
٨	A - 1	1
А	A - 2	3
	B - 1	1
В	B - 2	3
	B - 3	1
С	C - 1	1
C	C - 2	1
D	D - 1	1
U	D - 2	1
Е	E - 1	1
Е	E - 2	1
F	F - 1	3

```
1 ATATGATTGCGAGCCCCGATGCCCTTATGTGGGGGCAGATCGCTTCGGACTGCCCCCCACTGGGACAATGCCTCCCAGGCCGATCAAGGATCCTTTTTATGTC
A-2
                  atratgatigccagccccgatgccctitatgigggggcagatcgcticgactgcccccactgggacaatgcctcccaggc<mark>t</mark>gatcaaggatccttitatgic
                                                                                                                                                                                     100
B-1
                  ATATGATTGCGAGCCCGATGCCCTTATGTGGGGGCAGATCGCTTCGACTGCCCCCACTGGGACAATGCCTCCCAGG
                                                                                                                                                 GATCAAGGATCCTTTTATGT
                                                                                                                                                                                     100
                  ATATGATTGCGAGCCCCGATGCCCTTATGTGGGGGCAGATCGCTTCGACTGCCCCCACTGGGACAATGCCTCCCAGGCTGATCAAGGATCCTTTTATGTC
B-2
                                                                                                                                                                                     100
B-3
                  ATATGATTGCCAGCCCCGATGCCCTTATGTGGGGCCAGATCGCTTCGACTGCCCCCACTGGGACAATGCCTCCCAGGCCGATCAAGGATCCTTTTTATGTC
                                                                                                                                                                                     100
                  ATTATGATTGCGAGCCCCGATGCCCTTATGTGGGGGCAGATCGCTTCGACTGCCCCCACTGGGACAATGCCTCCCAGGCCGATCAAGGATCATTTTTTATGTT
C-1
                                                                                                                                                                                     100
                  ATATGATTGCGAGCCCCGATGCCCTTATGTGGGGGCAGATCGCTTCGACTGCCCCCACTGGGACAATGCCTCCCAGGCCGATCAAGGATCCTTTTATGTC
                                                                                                                                                                                     100
C-2
                  ATATGATTGCGAGCCCCGATGCCCTTATGTGGGGGCAGATCGCTTCGACTGCCCCCACTGGGACAATGCCTCCCAGGCCGATCAAGGATCATTTTTATGT
                                                                                                                                                                                     100
D-1
                  ATATGATTGCGAGCCCCGATGCCCTTATGTGGGGGCAGATCGCTTCGACTGCCCCCACTGGGACAATGCCTCCCAGGCGATCAAGGATCCTTTTATGTC
                                                                                                                                                                                     100
D-2
                  ATATGATTGCGAGCCCCGATGCCCTTATGTGGGGGCAGATCGCTTCGACTGCCCCCACTGGGACAATGCCTCCCAGGCCGATCAAGGATCCTTTTTATGTC
                                                                                                                                                                                     100
                  1 00
F-2
                 ATATGATTGCGAGCCCCGATGCCCTTATGTGGGGGCAGATCGCTTCGACTGCCCCCACTGGGACAATGCCTCCCAGGCTGATCAAGGATCCTTTTATGTC
                                                                                                                                                                                     100
F-1
A-1
                   ATCATCAGATITTATIOCTGCATCTCAAACAATGICATGGAATTITCACTCTAACCTGGGAGATATGGGGGATATGATCCCCTGATCACCTITITCTTIA
                                                                                                                                                                                     200
A-2
                  AATCATCAGATTTTATTCCTGCATCTCAAACAATGTCATGGAATTTTCACTCTAACCTGGGAGATATGGGGGATATGATCCCCTGATCACCTTTTTCTTTAC
                                                                                                                                                                                     200
B-1
                  AATCATCAGATTITATTCCTGCATCTCAAACAGTGTCATGGAATTTTCACTCTAACCTGGGAGATATGGGGATATGATCCCCTGATCACCTTTTCTTTA
                                                                                                                                                                                     200
B-2
                  AATCATCAGATITTATTCCTGCATCTCAAACAATGTCATGGAATTITCACTCTAACCTGGGAGATATGGGGGATATGATCCCCTGATCACCTITTTCTTTA
                                                                                                                                                                                     200
B-3
                  200
C-1
                  AATCATCAGAT<mark>I</mark>TTATTOCTIGCATCTCAAACAATGTCATGGAATTTTCACTCTAACCTGGGAGATATGGGGATATGATCCCCTGATCACCTTTTCTTTA
                                                                                                                                                                                     200
C-2
                  AATCATCAGATTTTATTOCTGCATCTCAAACAATGTCATGGAATTTTCACTCTAACCTGGGAGATATGGGGATATGATCCCCTGATCACCTTTTCTTTA
                                                                                                                                                                                     200
D-1
                  AATCATCAGATITTATTOCTGCATCTCAAACAATGTCATGGAATTITCACTCTAACCTGGGAGATATGGGGGATATGATCCCCTGATCAOCTITITCTTTA
                                                                                                                                                                                     200
D-2
                  AATC^{ATC}ATC^{ACC}ATC^{ACC}ATC^{ACC}ATC^{ACC}ATC^{ACC}ATC^{ACC}ATC^{ACC}ATC^{ACC}ATC^{ACC}ATC^{ACC}ATC^{ACC}ATC^{ACC}ATC^{ACC}ATC^{ACC}ATC^{ACC}ATC^{ACC}ATC^{ACC}ATC^{ACC}ATC^{ACC}ATC^{ACC}ATC^{ACC}ATC^{ACC}ATC^{ACC}ATC^{ACC}ATC^{ACC}ATC^{ACC}ATC^{ACC}ATC^{ACC}ATC^{ACC}ATC^{ACC}ATC^{ACC}ATC^{ACC}ATC^{ACC}ATC^{ACC}ATC^{ACC}ATC^{ACC}ATC^{ACC}ATC^{ACC}ATC^{ACC}ATC^{ACC}ATC^{ACC}ATC^{ACC}ATC^{ACC}ATC^{ACC}ATC^{ACC}ATC^{ACC}ATC^{ACC}ATC^{ACC}ATC^{ACC}ATC^{ACC}ATC^{ACC}ATC^{ACC}ATC^{ACC}ATC^{ACC}ATC^{ACC}ATC^{ACC}ATC^{ACC}ATC^{ACC}ATC^{ACC}ATC^{ACC}ATC^{ACC}ATC^{ACC}ATC^{ACC}ATC^{ACC}ATC^{ACC}ATC^{ACC}ATC^{ACC}ATC^{ACC}ATC^{ACC}ATC^{ACC}ATC^{ACC}ATC^{ACC}ATC^{ACC}ATC^{ACC}ATC^{ACC}ATC^{ACC}ATC^{ACC}ATC^{ACC}ATC^{ACC}ATC^{ACC}ATC^{ACC}ATC^{ACC}ATC^{ACC}ATC^{ACC}ATC^{ACC}ATC^{ACC}ATC^{ACC}ATC^{ACC}ATC^{ACC}ATC^{ACC}ATC^{ACC}ATC^{ACC}ATC^{ACC}ATC^{ACC}ATC^{ACC}ATC^{ACC}ATC^{ACC}ATC^{ACC}ATC^{ACC}ATC^{ACC}ATC^{ACC}ATC^{ACC}ATC^{ACC}ATC^{ACC}ATC^{ACC}ATC^{ACC}ATC^{ACC}ATC^{ACC}ATC^{ACC}ATC^{ACC}ATC^{ACC}ATC^{ACC}ATC^{ACC}ATC^{ACC}ATC^{ACC}ATC^{ACC}ATC^{ACC}ATC^{ACC}ATC^{ACC}ATC^{ACC}ATC^{ACC}ATC^{ACC}ATC^{ACC}ATC^{ACC}ATC^{ACC}ATC^{ACC}ATC^{ACC}ATC^{ACC}ATC^{ACC}ATC^{ACC}ATC^{ACC}ATC^{ACC}ATC^{ACC}ATC^{ACC}ATC^{ACC}ATC^{ACC}ATC^{ACC}ATC^{ACC}ATC^{ACC}ATC^{ACC}ATC^{ACC}ATC^{ACC}ATC^{ACC}ATC^{ACC}ATC^{ACC}ATC^{ACC}ATC^{ACC}ATC^{ACC}ATC^{ACC}ATC^{ACC}ATC^{ACC}ATC^{ACC}ATC^{ACC}ATC^{ACC}ATC^{ACC}ATC^{ACC}ATC^{ACC}ATC^{ACC}ATC^{ACC}ATC^{ACC}ATC^{ACC}ATC^{ACC}ATC^{ACC}ATC^{ACC}ATC^{ACC}ATC^{ACC}ATC^{ACC}ATC^{ACC}ATC^{ACC}ATC^{ACC}ATC^{ACC}ATC^{ACC}ATC^{ACC}ATC^{ACC}ATC^{ACC}ATC^{ACC}ATC^{ACC}ATC^{ACC}ATC^{ACC}ATC^{ACC}ATC^{ACC}ATC^{ACC}ATC^{ACC}ATC^{ACC}ATC^{ACC}ATC^{ACC}ATC^{ACC}ATC^{ACC}ATC^{ACC}ATC^{ACC}ATC^{ACC}ATC^{ACC}ATC^{ACC}ATC^{ACC}ATC^{ACC}ATC^{ACC}ATC^{ACC}ATC^{ACC}ATC^{ACC}ATC^{ACC}ATC^{ACC}ATC^{ACC}ATC^{ACC}ATC^{ACC}ATC^{ACC}ATC^{ACC}ATC^{ACC}ATC^{ACC}ATC^{ACC}ATC^{ACC}ATC^{ACC}ATC^{ACC}ATC^{ACC}ATC^{ACC}ATC^{ACC}ATC^{ACC}ATC^{ACC}ATC^{ACC}ATC^{ACC}ATC^{ACC}ATC^{ACC}ATC^{ACC}ATC^{ACC}ATC^{ACC}ATC^{ACC}ATC^{ACC}
                                                                                                                                                                                     200
E-1
                  AATCATCAGATTTTATTCCTGCATCTCAAACAATGTCATGGAATTTTCACTCTAACCTGGGAGATATGGGGGATATGATCCCTTGATCACCTTTTTCTTTA
                                                                                                                                                                                     200
                  ABTC'ATC'AGATTTTTCC'TGC'ATCTC'AAAC'AATCTTC'ATCC'AGC'AATTTTTC'ACTC'TAAAC'ATTCAGATC'AGC'ATATCAGATC'C'TGATC'AGC'ATATC'AGC'ATC'AGATC'AGC'ATATC'AGC'ATC'AGATC'AGC'AGATC'AGC'AGATC'AGC'AGATC'AGC'AGATC'AGC'AGATC'AGC'AGATC'AGC'AGATC'AGC'AGATC'AGC'AGATC'AGC'AGATC'AGC'AGATC'AGC'AGATC'AGC'AGATC'AGC'AGATC'AGC'AGATC'AGC'AGATC'AGC'AGATC'AGC'AGATC'AGC'AGATC'AGC'AGATC'AGC'AGATC'AGC'AGATC'AGC'AGATC'AGC'AGATC'AGC'AGATC'AGC'AGATC'AGC'AGATC'AGC'AGC'AGATC'AGC'AGC'AGC'AGATC'AGC'AGC'AGATC'AGC'AGATC'AGC'AGC'AGATC'AGC'AGATC'AGC'AGC'AGATC'AGC'AGATC'AGC'AGATC'AGC'AGATC'AGC'AGATC'AGC'AGATC'AGC'AGATC'AGC'AGATC'AGC'AGATC'AGATC'AGATC'AGATC'AGATC'AGATC'AGATC'AGATC'AGATC'AGATC'AGATC'AGATC'AGATC'AGATC'AGATC'AGATC'AGATC'AGATC'AGATC'AGATC'AGATC'AGATC'AGATC'AGATC'AGATC'AGATC'AGATC'AGATC'AGATC'AGATC'AGATC'AGATC'AGATC'AGATC'AGATC'AGATC'AGATC'AGATC'AGATC'AGATC'AGATC'AGATC'AGATC'AGATC'AGATC'AGATC'AGATC'AGATC'AGATC'AGATC'AGATC'AGATC'AGATC'AGATC'AGATC'AGATC'AGATC'AGATC'AGATC'AGATC'AGATC'AGATC'AGATC'AGATC'AGATC'AGATC'AGATC'AGATC'AGATC'AGATC'AGATC'AGATC'AGATC'AGATC'AGATC'AGATC'AGATC'AGATC'AGATC'AGATC'AGATC'AGATC'AGATC'AGATC'AGATC'AGATC'AGATC'AGATC'AGATC'AGATC'AGATC'AGATC'AGATC'AGATC'AGATC'AGATC'AGATC'AGATC'AGATC'AGATC'AGATC'AGATC'AGATC'AGATC'AGATC'AGATC'AGATC'AGATC'AGATC'AGATC'AGATC'AGATC'AGATC'AGATC'AGATC'AGATC'AGATC'AGATC'AGATC'AGATC'AGATC'AGATC'AGATC'AGATC'AGATC'AGATC'AGATC'AGATC'AGATC'AGATC'AGATC'AGATC'AGATC'AGATC'AGATC'AGATC'AGATC'AGATC'AGATC'AGATC'AGATC'AGATC'AGATC'AGATC'AGATC'AGATC'AGATC'AGATC'AGATC'AGATC'AGATC'AGATC'AGATC'AGATC'AGATC'AGATC'AGATC'AGATC'AGATC'AGATC'AGATC'AGATC'AGATC'AGATC'AGATC'AGATC'AGATC'AGATC'AGATC'AGATC'AGATC'AGATC'AGATC'AGATC'AGATC'AGATC'AGATC'AGATC'AGATC'AGATC'AGATC'AGATC'AGATC'AGATC'AGATC'AGATC'AGATC'AGATC'AGATC'AGATC'AGATC'AGATC'AGATC'AGATC'AGATC'AGATC'AGATC'AGATC'AGATC'AGATC'AGATC'AGATC'AGATC'AGATC'AGATC'AGATC'AGATC'AGATC'AGATC'AGATC'AGATC'AGATC'AGATC'AGATC'AGATC'AGATC'AGATC'AGATC'AGATC'AGATC'AGATC'AGATC'AGATC'AGATC'AGATC'AGATC'AGATC'AGATC'AGATC'AGATC'AGATC'AGATC'AGATC'AGATC'AGATC'AGATC'AGATC'AGATC'AGATC'AGATC'AGATC'AGATC'A
E-2
                                                                                                                                                                                     200
                  AATCATCAGATITTATTCCTGCATCTCAAACAATGTCATAGAATTTTCACTCTAACCTGGGAGATATGGGGATATGATCCCCTGATCACCTTITTCTTTA
                                                                                                                                                                                     200
                   ATAAGATOOOTGATOOOOTOAAOOOGACTTTTOOOCAGTTGAACAGTGACTGGGTTOOOTOTGTCAGATCATGGGCCCTGCTTTTAAATCAAACAGCAO
A-1
                  ATAAGATCCCTGATCCCCCTCAACCCGACTTTCCCCAGTTGAACAGTGACTGGGTTCCCTCTGTCAGATCATGGGCCCTGCTTTTAAATCAGACAGCAC
                                                                                                                                                                                     300
A-2
                  ATRAGATOCOTGATOCOCTCAACOCGACTITICCCCAGTIGAACAGTGACTGGGTTCCCTCTGTCAGATCATGGGCCCTGGTITTTAAATCAACAGCAC
B-1
                                                                                                                                                                                     300
                  ATPAGATOCCTGATOCCCCTCAACCCGACTTTTCCCCAGTTGAACAGTGACTAGCTTCCCTCTGTCAGATCATGGCCCTGCTTTTAAATCAAACAGCAC
                                                                                                                                                                                     300
B-2
                  ATAAGATOOCTGATOOCOOTOAACOOGACTTTOOCOAGTTGAACAGTGACTGAGTTOOCTTOTCTAGATCATGGCOOTGCTTTTTAAATCAAACAGCAOC
                                                                                                                                                                                     300
B-3
                  ATRAGATOCCTGATCCCCTCAACCCGACTITTCCCCAGTTGAACAGTGACTGGGTTCCCTCTGTCAGATCATGGGCCCTGCTTTTTAAATCAAACAGCAC
                                                                                                                                                                                     300
C-1
                  ATAAGATCCCTGATCCCCTCAACCCGACTTTCCCCAGTTGAACAG<mark>G</mark>ACTGGGTTCCCTCTGTCAGATCATGGGCCCTGCTTTTAAATCAAACAGCAC
                                                                                                                                                                                     300
C-2
                  ATAAGAT<mark>CCCTGATCCCCT</mark>CAA<mark>CCCGACTTTCCCCAGTTGA</mark>ACA<mark>GTGACTGGGTTCCCTCTGTCAGATCATGGGCCCTGCTTTT</mark>AAATCAAACAGCAC
                                                                                                                                                                                     300
D-1
                  ATRAGATOCCTGATCCCCTCAACCCGACTITTCCCCAGTTGAACAGTGACTGGGTTCCCTCTGTCAGATCATGGGCCCTGCTTTTTAAATCAAACAGCAC
                                                                                                                                                                                     300
D-2
                  ATAAGATCCCTGATCCCCTCAACCCGACTTTCCCCAGTTGAACAGTGACTGGGTTCCCTCTGTCAGATCATGGGCCCTGCTTTTAAATCAAACAGCAC
                                                                                                                                                                                     300
F-1
                  ATRAGATOOCTGATCOCCTCAACCOGACTITTCCCCAGTTGAACAGTGACTGGGTTCCCTCTGTCAGATCAGGCCCTGCTTTTAAACAGCACA
                                                                                                                                                                                     300
E-2
                  ATAAGATCOCTGATCCCCCTCAACCCGACTITTCCCCAGTTGAACAGTGACTGGGTTCCCTCTGTCAGATCATGGGCCCTGCTTTTAAATCAGACAC
                                                                                                                                                                                     300
F-1
                    GCCTTCCCAGACTIGTGCTATIATIGTTIGGGAACCTTCCCCCTCGGCTTCCCGAAATATTAGTATATAACAAAACCATCTCCAGCTCTGGA
                                                                                                                                                                                     399
A-2
                  400
                  B-1
                                                                                                                                                                                     399
B-2
                   400
B-3
                   GCCTTCCCAGACTGTGCTATATGTTGGGAACCTTCCCCTGGGCTCCCGAAATATTTAGTATAACAAAACCATCTCCAGCTCTGGACCCGGGCC
                                                                                                                                                                                     400
                   (CCC)^{-1}
                                                                                                                                                                                     400
C-1
                   GCCTTCCCAGACTGTGCTATATGTTGGGAACCTTCCCCTCCTGGGCTCCCGAAATATTAGTATAACAAAACCATCTCCAGCTCTGGACCGGGCC
                                                                                                                                                                                     400
C-2
                   400
D-1
                   400
D-2
                   GCCTTCCCAGACTGTGCTATATGTTGGGAACCTTCCCCTGGGCTCCCGAAATATTTAGTATAACAAAACCATCTCCAGCTCTGGACCCGGGCC
                                                                                                                                                                                     400
E-1
                  GCCTTCCCAGACTGTGCTATATGTTGGGAACCTTCCCCTCCTGGGCTCCCGAAATATTAGTATATAACAAAACCATCTCCAGCTCTGGACCGGGCC
                                                                                                                                                                                     400
E-2
                  400
F-1
A-1
                                                                                                                                                                                     402
           400
A-2
           401
                                                                                                                                                                                     403
B-1
           400
                                                                                                                                                                                     402
B-2
           401
                                                                                                                                                                                     403
B-3
           401
                                                                                                                                                                                     403
C-1
                                                                                                                                                                                     403
C-2
           401
                                                                                                                                                                                     403
D-1
           401
                                                                                                                                                                                     403
D-2
           401
                                                                                                                                                                                     403
           401
                                                                                                                                                                                     403
F-1
           401
                                                                                                                                                                                     403
E-2
           401
                                                                                                                                                                                     403
```

図2 相同性解析結果

10.豚肺から分離された <u>Bordetella bronchiseptica</u> 相菌類似のグラム陰性 桿菌

> 県北家畜保健衛生所 西野 弘人 田邊ひとみ 川上 純子

平成 19 年度から平成 21 度までの 3 年間に病性鑑定を実施した豚の肺から,Bordetella bronchiseptica (以下,B.b) 相菌を疑うグラム陰性桿菌を分離した事例が 7 例 7 頭あった。形態学的,生化学的性状検査では B.b と同定はできなかったが,グラム陰性の好気性桿菌で血液寒天培地上で溶血性はなく,ウレアーゼの反応が早く,糖分解能に乏しい等の B.b と類似した性状から B.b 相類似菌として保存していた。今回,これらの菌株を再度詳細に検査したところ同定に至り,豚由来株として始めてデータバンクに登録することができたのでその概要を報告する。

材料

平成 19 年度から平成 21 年度に病性鑑定を実施した豚の肺から分離した 7 例 7 頭由来の B.b 様菌 7 株を検査材料とした。

分離状況 (表1)

全ての供試菌株は初代分離培養では血液寒天培地で 48 時間培養後に明瞭なコロニーとなり,7株のうち 5株は <u>Pasteurella multocida</u>, <u>Actinobacillus</u> <u>pleuropneumoniae</u> や <u>Streptococcus suis</u> などの病原細菌も同時に分離された。また,分離された農場数は実戸数 6戸で県内の 4 管轄地域全てで分離された。

方法

1 形態学的検査及び生化学的性状検査及び酵素活性検査

供試菌株に対し,グラム染色,カタラーゼテスト,オキシダーゼテスト,ブドウ糖 OF テスト,SIM 培地での性状検査,日水製薬 ID テスト NF-18(以下,NF18),日水製薬 ID テスト HN-20 ラピッド(以下,HN ラピッド),シスメックス社製アピ 20NE 及びシスメックス社製アピザイムを用いた生化学的性状検査及び酵素活性検査を実施した。

2 遺伝子検査

供試菌株に対してバイオラッド社製インスタジーンマトリックスを用いて DNA 抽出し既報に基づきボルデテラ属菌及び B.b の PCR 検査を実施した。 1) ま た, 16S リボソーム RNA (以下, 16SrRNA) 遺伝子の塩基配列を決定し解析を行った。

結果

1 形態学的検査,生化学的性状検査及び酵素活性検査結果(表2,3)

供試菌株は 7 株全て同じ結果となり、好気性のグラム陰性桿菌でカタラーゼ、オキシダーゼは陽性、ブドウ糖 OF テストは陰性であった。SIM 培地ではインドールが 72 時間培養後に弱陽性反応を示した。

NF-18 ではウレアーゼが陽性 , ゼラチン分解は弱陽性となり , その他の項目は陰性であった。判定表から推定された菌種は絶対確立の高い順に <u>Moraxella</u> phenylpyruvica , <u>Methylobacterium mesophilicum</u> , <u>Pseudomonas alcaligenes</u> となった。

HN ラピッドではアラニンアミノペプチターゼ,ホスファターゼ,ウレアーゼ,インドールが陽性となり,判定表での該当菌種は無かった。

アピ 20NE ではウレアーゼ,ゼラチン分解が陽性となりインドールは 48 時間 培養で陽性になった。判定表では ID%が高い順に Myroides spp および Bergeyella zoohelcum となった。ウレアーゼについては,これら 3 つの簡易同定キット全てで1時間以内に陽性反応が確認された。

アピザイムではアルカリフォスファターゼ,エステラーゼ,エステラーゼリパーゼ,リパーゼ,ロイシンアリルアミダーゼ,バリンアリルアミダーゼ,シスチンアリルアミダーゼ,トリプシン,α キモトリプシン,酸性フォスファターゼ,ナフトール - AS - BI - フォスフォヒドラーゼが陽性となった。

2 遺伝子検査結果

供試菌株からボルデテラ属及び B.b の特異遺伝子は検出されなかった。また,16SrRNA の 1298bp の塩基配列を決定し,7 株間での相同性を調べた結果,相同性は 99.5 %~ 100 %であった。さらに,これらの塩基配列をデータベースに登録されている配列と BLAST 検索で比較した結果,Bergeyella zoohelcum(以下,Bz)の基準株および野外株 5 株との相同性が 97.2 %~ 99.7 %と最も高く,次に Rimerella anatipestifer(以下,Ra)の基準株と 96.0 %~ 96.3 %の相同性であった。(表 4)

考察

今回詳細に検査した 7 株は形態学的検査,生化学的性状検査及び酵素活性検査で菌種同定はできず,遺伝子検査により B.b は否定されたが,生化学的性状や酵素活性は一致していた。そこで実施した 16SrRNA 塩基配列の解析では,7 株の相同性は高く,同一菌種であると考えられ Bergeyella zoohelcum を強く疑う結果となった。しかし,菌種の同定は遺伝型と表現型の双方の成績から総合的に判断す

べきものであるため,遺伝子学的に相同性の高かった Bz と Ra の一般的な生化学的性状を比較すると,Bz の多くはインドールを産生し Ra はインドールを産生しないという相違点がある。 2)しかし,Bz にはインドールを産生しない株やインドール試薬の種類によって陽性率が異なる報告 3)もあるので,本菌を簡易同定キットで判定する場合には注意が必要である。これらのことを踏まえ,インドールの産生性を確認したが,今回の詳細検査ではインドールの産生性を確認するのに苦慮した。本来の検査対象キット(ブドウ糖非発酵性グラム陰性桿菌同定用)である NF18 とアピ 20NE では,前者はインドールの産生性が確認できず,後者では検査マニュアル上では 24 時間で判定するべきものを 48 時間まで培養延長しインドール産生を確認できる程度であった。また,Bz の検査対象外である HN ラピッドではインドールの産生性を確認できたが,SIM 培地では 72 時間まで培養して弱反応で確認できる程度であった。HN ラピッドは今回供試した他のキットよりも設定菌濃度が濃いことがインドール反応を確認できた要因と考えられた。これらの結果より,今回分離された Bz はインドールの産生性が低い株であったと考えられた。

供試菌 7 株はいずれもインドールの産生が微弱ではあるが確認され,その他ウレアーゼやゼラチン分解も既報の Bz の性状²⁾と一致しているため,供試菌株は全て Bz と同定した。

Bz はヒトでは動物による咬創,敗血症,髄膜炎の症例から分離される他,犬や猫からも分離される等宿主域は広く,人獣共通感染症である。豚では日和見感染するため健康豚では通常症状は示さないが,ノトバイオート豚では Bz 筋肉内接種で心外膜炎,胸膜炎,肺炎,髄膜炎などを引きおこすことが両角らの研究でわかっている。4)5) Bz は以前は Weeksella zoohelcum と呼ばれていた菌種でWeeksella 属はインドール産生,炭水化物非分解性 Flavobacterium 様菌に対してHolmes ら(1986)によって提案された菌属であり3),その後 Vandamme ら(1994)の提案によって現在の菌名になっている。6)そのため,本菌について検索する場合は,旧名称と現名称のどちらも知っておく必要がある。

本県での Bz 分離事例においても,PCVAD や App 等の病原体が検出されている事例が7事例中6例あり,病原性の高い菌やウイルスによる傷害があった後にBz が日和見的に増殖したものと考えられた。また,分離された農場は県内に偏り無く分布しているため,豚では広く浸潤していると考えられた。しかし,Bz が分離された農場であっても日和見的に増殖する Bz の特徴を考慮すると,免疫を下げている他因子に対して対応することが重要で Bz に対する治療をする必要はないものと考えられた。

今回, Bz を同定する際に 16SrRNA の塩基配列を決定したが, 今までデータバンクに豚由来 Bz の 16SrRNA 塩基配列の登録が無かったことから, 決定した塩

基配列を日本 DNA データバンクに登録することにした。豚由来の塩基配列を登録することで,今後 Bz を豚から分離した検査者がデータバンク上で豚由来の塩基配列と照合し,同定の判断材料に活用することができる。

Bz は豚に対する病原性が高いわけではない菌株であるが,コロニー形状や生化学性状からパスツレラ属菌や B.b との識別に苦慮する可能性がある。Bz と同定できればその特徴を理解して衛生指導ができるため,Bz が豚から分離される可能性があることを細菌検査担当者に周知していくことは,効率的な検査業務の遂行や分離後の対応に役立つものと思われる。今後とも本菌の存在や特徴を周知していくことで,家畜衛生や公衆衛生分野等の幅広い分野での知識・技術の普及に努めていきたい。

稿を終えるにあたり,16SrRNA遺伝子の決定,解析,データバンクへの登録並びに御指導御助言いただいた独立行政法人農業・食品産業技術総合研究機構動物衛生研究所 伊藤博哉先生に深謝いたします。

参考文献

- 1) Daniela Hozbor Francoise Fouque and Nicole Guiso:Detection of Bordetella bronchiseptica by the polymetase chain reaction.Res.Microbiol,150,333-341 (1999)
- 2) Shukla 5: Isolation of Fastidious Bergeyella species associated with cellulitis after a cat bite and phylogenetic companion with Bergeyella zoohelcum strains. J. Clin. Microbiol, 42, 290-293 (2004)
- 3) Holms 5: Weeksella zoohelcum sp.nov. (Formerly Group j), from Human Clinical Specimens. System. Appl. Microbiol. 8,191-196 (1986)
- 4) 両角ら:第121回日本獣医学会講演要旨集(1996)
- 5) 両角ら:第125回日本獣医学会講演要旨集(1998)
- 6) Vandamme 5:New perspectives in the classification of the Flavobacteria:Description of Chryseobacterium gen.nov.,Bergeyella gen.nov.,and Empedobacter nom.rev.Int.J.Syst.Bacteriol.44:827-831(1994)

表1 Bz 分離状況

菌株番号	農家名	管轄	肺の病変	診断名
茨19 -253 -2	KK	県北	化膿性気管支肺炎	化膿性気管支肺炎
茨19 462 -2	RSK	鹿行	軽度の化膿性気管支肺炎 Haemophilus parasuisを分離	グレーサー病 封入体鼻炎
茨20 -204 -2	RSG	鹿行	化膿性気管支肺炎 一部App様病変有り	化膿性肺炎 壊死性化膿性肺炎,腎膿瘍
茨20 -331 -3	MF	県南	化膿性気管支肺炎,間質性肺炎 Streptococcus suisを分離	PCVAD (レンサ球菌症, PCV2)
茨21 -154	RO	鹿行	軽度の慢性化膿性気管支肺炎 Streptococcus suis, Pasteurella multocidaを分離	肺気腫
茨21 -190 -2	KK	県北	壊死性化膿性肺炎 Actinobacillus pleuropneumoniae1型を分離	豚胸膜肺炎
茨21 -357 -3	NS	県西	化膿性気管支肺炎,間質性肺炎 Pasteurella multocidaを分離	PCVAD (PCV2, PRRS, サルモネラ症)

表2 簡易同定キット検査条件および結果

キット名	規定菌濃度 (マックファ ーランド)	設定温度	反応時間	陽性項目
IDテスト NF18	0.5	37	24 h r	ウレアーゼ ゼラチン分解 (非常に弱い)
IDテスト HN20ラピッド	3	37	4 h r	アラニンアミノペプチターゼ ホスファターゼ ウレアーゼ インドール(弱反応)
アピ20NE	0.5	30	24~48hr	ウレアーゼ ゼラチン分解 インドール(48hr)

表3 アピザイム試験結果

検査項目	判定
アルカリフォスファターゼ	+
エステラーゼ	+
エステラーゼリパーゼ	+
リパーゼ	+
ロイシンアリルアミダーゼ	+
バリンアリルアミダーゼ	+
シスチンアリルアミダーゼ	+
トリプシン	+
キモトリプシン	+
酸性フォスファターゼ	+
ナフトール AS BI -フォスフォヒドラーゼ	+
-ガラクトシダーゼ	-
-ガラクトシダーゼ	-
グルクロニダーゼ	-
グルコシダーゼ	-
グルコシダーゼ	-
N-アセチル - グルコサミニダーゼ	-
-マンノシダーゼ	-
-フコシダーゼ	-

表4 BLAST 検索の結果(数値は相同性(%))

菌種名 株名	茨19 -253 -2 , 茨20 -331 -3 茨21 -154	茨19 -462 -2	茨20 -204 -2	茨21 -190 -2	茨21 -357 -3
B. zoohelcum h1890	99 . 5	99 . 5	99 . 5	99 . 3	99 . 2
B. zoohelcum g8498	99 . 5	99 . 7	99 . 5	99 . 5	99 . 4
B. zoohelcum g6669	99 . 5	99 . 7	99 . 5	99 . 5	99 . 4
B. zoohelcum h1971d	99 . 5	99 . 3	99 . 4	99 . 3	99 . 2
B. zoohelcum B1 ₩C	98 . 9	99 . 0	98 . 9	98 . 9	98 . 8
B. zoohelcum ATCC437678(基準株)	97 . 4	97 . 5	97 . 3	97 . 3	97 . 2
R.anatipestifer ATCC11845(基準株)	96 . 2	96 . 3	96 . 1	96 . 1	96 . 0

11.急性豚丹毒発生農場における発症原因及び改善対策の検討

鹿行家畜保健衛生所大島 暁 赤上 正貴吉岡 圭輔 佐野 元彦

豚丹毒(以下, SE)は豚丹毒菌(Erysipelothrix rhusiopathiae)の感染によって起こる届出伝染病で,敗血症や蕁麻疹を主徴とする急性型と心内膜炎・関節炎を主徴とする慢性型に区分される。近年,SE の発生頭数は全国的に増加傾向にある。当所管内では,10年ぶりに養豚場3戸で急性敗血症型SEの発生があり,食肉処理場で発見される慢性型SEも昨年の3倍に増加している(図1)。

今回,管内の養豚場において SE ワクチンを接種していた出荷直前の肥育豚で 急性敗血症型 SE が発生し,発症原因を究明するために行った SE 抗体検査の成績から,ワクチンの使用方法を中心に衛生指導を行ったところ改善がみられたのでその概要を報告する。

発生までの経緯

当該農場は母豚 70 頭規模の一貫経営で、分娩舎 2 棟、繁殖豚舎 2 棟、交配舎 1 棟、子豚舎 1 棟、育成舎 1 棟、オガ粉肥育舎 1 棟、平床肥育舎 1 棟、スノコ肥育舎()3 棟からなる(図 2)。SE ワクチンは、90 日齢の育成豚に 1 回、ならびに繁殖豚に年 3 回生ワクチンを接種していた。また、育成舎では呼吸器病対策として、オキシテトラサイクリン及びドキシサイクリンの飼料添加を行っていた。

当該農場は ,5 月中旬にスノコ肥育舎の肥育豚約4頭の死亡が認められていた。

病性鑑定成績

1 材料

6月30日の朝,スノコ肥育舎で飼養されていた肥育豚(約180日齢)約30頭中3頭の死亡が発見され,うち2頭(1,2)を病性鑑定に供した。

2 結果

外貌所見では 2 の体表及び耳翼にチアノーゼがみられた(写真 1)。解剖所見では 2 頭ともに気管内の泡沫物の貯留,肺の退縮不良,結腸内容は泥状を呈していた。また, 1 の腹腔内には軽度の線維素析出がみられた。

ウイルス検査では脳,脾臓,腎臓,扁桃及び副腎からウイルスは分離されなかった。また,豚コレラについては陰性を確認した。

細菌検査では脳,肝臓,脾臓,腎臓,心臓及び肺から豚丹毒菌が分離された。 また,薬剤感受性試験ではベンジルペニシリン,アンピシリン,アモキシシリン, ストレプトマイシン,エリスロマイシン,オキシテトラサイクリン,ドキシサイクリン,ノルフロキサシン,エンロフロキサシンに高感受性を示した。

病理組織検査では,2頭に共通して,肝臓,脾臓,腎臓及び心臓で単核食細胞系細胞の活性化がみられた。

以上の結果から急性敗血症型 SE と診断した。

SE抗体保有状況調査

当該農場では,従来より SE 生ワクチンを接種しており,発症前にワクチネーションや接種方法の変更は行っていない。また,当該農場では定期的に薬品メーカーの自主検査を実施しており,平成 22 年 2 月の検査結果では抗体の保有が認められていた。そこで,今回の SE 発症と発症時のワクチン抗体保有を精査するために抗体検査を実施した。

1 SE 発症直後の SE 抗体保有状況

病性鑑定直後の7月,30日齢(分娩舎),60日齢(子豚舎),110日齢及び130日齢(育成舎),70日齢,130日齢及び170日齢(スノコ肥育舎3棟),150日齢(オガ粉肥育舎)及び165日齢(平床肥育舎)から合計43頭を採血し,抗体検査を実施した。検査は過去の検査結果と比較できるよう,薬品メーカーの協力を得て従来より自主検査で実施していた生菌凝集反応により行った。

2 結果(図3)

SE 生ワクチン未接種の $30 \sim 60$ 日齢の子豚(分娩舎,子豚舎)の抗体価は $2 \sim 4$ 倍,70 日齢(スノコ肥育舎)は 5 頭中 4 頭が 2 倍以下であった。SE 生ワクチン接種の 110 日齢,130 日齢(育成舎)は,10 頭中 6 頭が 2 倍以下で抗体を保有していなかった。150 日齢(オガ粉肥育舎)では $2 \sim 16$ 倍,165 日齢(平床肥育舎)は 5 頭中 3 頭が $2 \sim 8$ 倍の抗体価だった。130 日齢(スノコ肥育舎)及び病性鑑定を実施した 170 日齢(スノコ肥育舎)の肥育豚は抗体価のバラツキが大きく,3 頭が 2 倍,2 頭が 2 6 倍,3 頭が 2 6 倍,2 頭が 2 6 倍,3 頭が 2 6 倍,3 可が 2 6 倍,3 可が 3 6 6 6 月 3 可が 3 6 6 月 3 可が 4 6 月 4 回 4 可が 4 6 月 4 回 4

70 日齢のほとんどの豚で 2 倍以下の抗体価を示したことから,この時期に移行抗体はほぼ消失していたと考えられる。オガ粉肥育舎及び平床肥育舎の豚では 2 ~ 16 倍の抗体を保有しており,ワクチン接種後であることからこの抗体はワクチン抗体と思われる。しかし,スノコ肥育舎では,感染抗体と考えられる 64 ~ 256 倍という高い抗体価を示した豚が認められた。

改善対策とSE抗体保有状況

1 改善対策(図 4)

病性鑑定実施後も肥育豚の急死が続いており、特にスノコ肥育舎での発症が多

くみられた。そのため,スノコ肥育舎では逆性石鹸製剤を使用して毎日洗浄消毒を行った。また,SE 抗体検査から,スノコ肥育舎で飼養されている豚で抗体を保有していない豚がいたことから,生ワクチンの追加接種を行った。

当該農場では,生ワクチン接種日齢付近で,抗生物質の飼料添加を行っており, その影響を懸念したことから,病性鑑定後に生まれた子豚から,ワクチネーショ ンプログラムを見直し,生ワクチン 1 回接種(90 日齢)から不活化ワクチンの 2 回接種(35 日齢,60 日齢)に変更した。

2 改善対策後の抗体保有状況調査

10 月に 26 日齢及び繁殖豚(分娩舎),52 日齢(子豚舎),76 日齢(育成舎),149 日齢及び 170 日齢(スノコ肥育舎),106 日齢(オガ粉肥育舎),119 日齢(平床肥育舎)から計45 頭を採血し生菌凝集反応で SE 抗体検査を実施した。

不活化ワクチンは 52 日齢,76 日齢,106 日齢及び 119 日齢の豚群に接種しており,スノコ肥育舎の 149 日齢,170 日齢及び繁殖豚には生ワクチンを追加接種していた。

3 結果(図5)

26 日齢のワクチン未接種豚は 2 倍の抗体価を示したことから移行抗体を保有していると考えられた。不活化ワクチン接種豚は ,52 ~ 76 日齢は 2 ~ 8 倍 ,119 日齢は 2 ~ 4 倍 ,106 日齢は 5 頭中 3 頭が 2 倍を示し ,20 頭中 18 頭がワクチンによる抗体を保有していると考えられた。また ,生ワクチンを追加接種したスノコ肥育舎の <math>149 ~ 170 日齢の豚は 1 頭のみが感染抗体と思われる 64 倍の抗体価を示したが ,残りの 14 頭は 2 ~ 16 倍の抗体価を示した。

考察

今回, SE により急死した肥育豚はスノコ肥育舎で飼養され,前日まで特に症状は認められなかった。病性鑑定で SE と判明後,スノコ肥育舎の豚は,休薬期間を考慮しながら抗生物質による治療と消毒により発症を抑えていた。しかし,7月と9月に食肉処理場に出荷された豚では4頭が心内膜炎型 SE で摘発され,これらの豚は別豚舎であるオガ粉肥育舎で飼養されていたことから,農場全体に SE が広がっていた可能性が考えられた。

SE 抗体保有状況調査を実施したところ, SE 生ワクチン未接種の 70 日齢の豚群で移行抗体が消失していることから,90 日齢での SE 生ワクチンの接種時期に問題はなかった。しかし,110 日齢,130 日齢の生ワクチン接種豚群でワクチン抗体を保有しない豚が半数を占めており,また,発症豚舎の同居豚群は 128 ~ 256 倍の感染抗体と思われる高い抗体価を保有していた。このことから,スノコ肥育舎で抗体を保有しない豚が SE に感染し,同飼育舎で感染が広まり発症に至ったと考えられた。

畜主の聞き取り調査で、初発生はスノコ肥育舎 の豚房で認められ、その両隣の豚房で感染が広まった。結果的には、スノコ肥育舎3棟全体で死亡豚が急増し、合計 150 頭の豚が死亡したが、その後、オガ粉肥育舎でも約 30 頭の死亡豚が認められた。

これらのことから改善対策として,発症がみられたスノコ肥育舎の消毒を徹底するよう指導し,使用する SE ワクチンを生ワクチンから抗生物質の影響を受けにくい不活化ワクチンに変更した。また,ワクチン抗体の保有状況が悪い豚群については生ワクチンの追加接種を行った。対策を講じた後,SE 抗体検査を実施した結果,不活化ワクチン接種豚では 20 頭中 18 頭がワクチン抗体を保有していた。また,生ワクチンを 2 回追加接種したスノコ肥育舎の豚群でも,ほとんどが 2~16 倍のワクチン抗体を保有していたことから,感染が抑えられたと考えられる。

生ワクチンの効果が十分に得られなかった原因として様々な要因が考えられるが、今回の事例では抗生物質があげられる。当該農場では育成舎の子豚で呼吸器症状を呈する豚が多く、抗生物質の投与による治療の機会が多い。SE 生ワクチンは育成舎から肥育舎へ移動する時に接種していることから、ワクチン接種時期と抗生物質投与時期が重なることでワクチンの効果が下がり、抗体を保有できなかったことが考えられる。これらの抗体を保有しない豚群が肥育舎に移動後、肥育舎内に残っていた SE に感染し発症に至ったことが推察される。また、6 月の気温の大きな変動や高温多湿という気候条件により豚舎内の SE 菌の汚染度が高まったことも要因のひとつと考えられた。

また、当該農場では、本来は分娩舎から子豚舎、そして育成舎を経て肥育舎に移動するピッグフローになっているが、離乳子豚を育成舎に収容できない場合は、子豚舎から育成舎を経ずに肥育舎に移動する豚群が稀にある。これらの豚群は、ワクチン未接種のまま移動してくるので発症するリスクが高く、発症により、肥育舎内に SE 菌がまん延する恐れがある。複雑なピッグフローはワクチンの接種漏れを起こす原因にもなるので、飼養密度及びピッグフローを含めた飼養管理を見直す必要がある。

不活化ワクチンは抗生物質の影響や移行抗体の影響を受けにくいが,2回接種の手間がかかる上にコストも高い。その点,生ワクチンは抗生物質の時期や移行抗体の消失時期に気を付ければ,2回接種の必要はなくコストも低く,近年豚価が低迷し,飼料価格が高騰する傾向にあるため,生産者は衛生費用を念頭に考える傾向にある。しかし,農場の状況に合わせたワクチンの選択が必要であり,定期的な抗体検査でワクチン抗体の保有状況を確認し,効果的なワクチン接種を推奨していくことが重要である。

SE は,古い細菌性疾病と考えられているが,発生数は近年増加傾向にあり,

今後注意が必要な疾病のひとつと考える。SE は、ペニシリンなどの抗生物質で治療が可能であると安易に考えられているが、出荷直前の肥育豚で発生しやすいため、休薬期間の関係で抗生物質を使用できなかったり、急性経過で死亡することもあり、現実的には治療が困難で、発生が長期化するケースが多い。また、SE 生ワクチンでは、移行抗体や抗生物質により効果が抑制されることもあるため、抗生物質やワクチンについては、獣医師による診察及び指導を受け、適切に使用する必要がある。SE は、豚舎の消毒やワクチン接種による発生予防が欠かせない疾病としての認識を関係者に周知し、まん延防止に努めていきたい。

稿を終えるにあたり,抗体検査を実施して頂いた共立製薬(株)の皆様に深謝いたします。

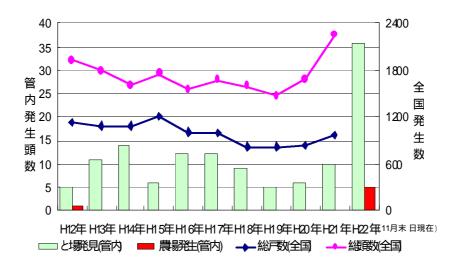


図1 過去 10 年間の発生状況

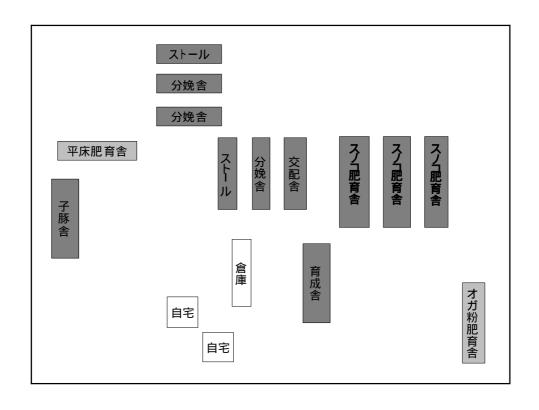


図2 農場見取り図

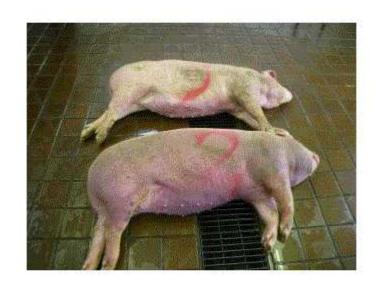


写真1 SE発症豚(上:No.1, 下:No.2)

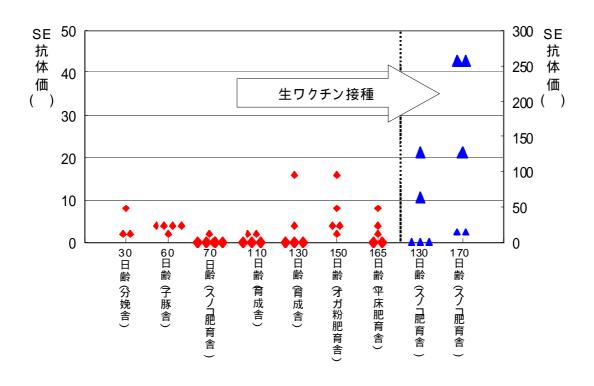


図3 発症直後の SE 抗体価

- ・ 発症肥育舎の消毒
- 同居豚への生ワクチン追加接種 (出荷直前の肥育豚対象)
- ワクチネーションの変更

生ワクチン1回接種 (90日齢) 不活化ワクチン2回接種 (35日齢・60日齢)

図4 改善対策の内容

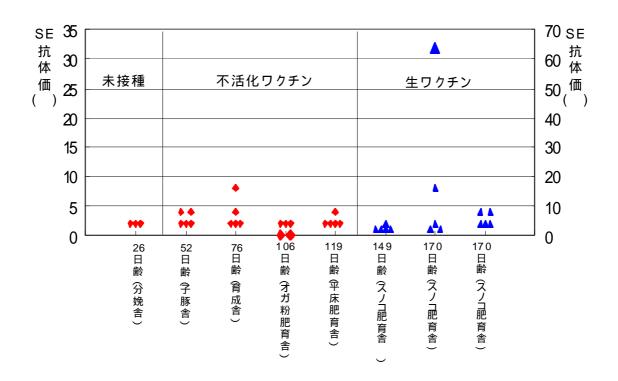


図5 不活化ワクチン接種後の SE 抗体価

1 2 . 豚繁殖呼吸障害症候群 (PRRS) 浸潤農場で多発した死流産の 一考察

鹿行家畜保健衛生所赤上 正貴 大島 暁吉岡 圭輔 佐野 元彦

PRRS ウイルス(以下,PRRSV)は母豚では死産または流産(以下,死流産)及び繁殖障害を,肥育豚では間質性肺炎による呼吸器症状を引き起こす。PRRSV が初めて侵入した農場では母豚の死流産及び子豚の損耗が急増するが,PRRSV が既に浸潤している農場ではウイルス株,免疫状態,混合感染,飼養環境及び衛生状態等の影響により流行の様相は大きく異なる。平成 22 年 4 月に PRRS 浸潤農場の母豚群において死流産が多発したため病性鑑定の依頼があった。死流産の発生時期に母豚群で PRRSV の流行が確認され,当該農場で発生した死流産へのPRRSV の関与について考察したので報告する。

当該農場の概要及び発生経過

1当該農場の概要

母豚 140 頭の一貫経営で,繁殖豚及び子豚を当該農場の繁殖豚舎 1棟及び交配豚舎 1棟で飼養し,肥育豚を別農場の肥育豚舎で飼養している(図 1)。繁殖候補豚は自家育成しており,過去 3年間導入歴はない。ワクチネーションは,母豚にはオーエスキー病及び豚丹毒ワクチンを接種し,未経産豚にのみ豚死産 3種混合生ワクチン(日本脳炎,豚パルボウイルス感染症,豚ゲタウイルス感染症)を接種している。また,子豚には豚サーコウイルス 型ワクチンを接種している。

なお,以前から繁殖候補豚には呼吸器症状や発育不良を呈して死亡 した子豚の肺やリンパ節を経口投与し,農場常在病原体に対する免疫 付与(以下,馴致)を実施していた。

2 発生経過

分娩舎の母豚で平成 22 年 2 月に 1 頭 , 3 月 13 日に 1 頭 , 4 月 4 ~ 6 日に 6 頭の死流産が発生したため , 4 月 7 日に当所へ病性鑑定の依頼 があった。その後も死流産は続き 4 月 12 ~ 21 日に 7 頭及び 4 月 22 日 ~5月7日に4頭の合計 19頭の死流産が発生した(図2)。死流産の多くは食欲不振が1週間程度続いた後に妊娠後期から分娩予定日直前に発生し,流産胎子は大きさが不揃いで,黒子が含まれるものもあった。母豚は死流産後すぐに発情は回帰したが交配しても再発情を繰り返した。また,正常に分娩した母豚でも食欲不振を示すものが認められた。死流産は高産歴の母豚に発生する傾向が認められ(表 1),初産豚での発生は認められなかった。分娩予定日直前の死産では産子の3割程度は生存していたが虚弱で特徴的な症状はなく,その後ほとんどの産子が死亡した。繁殖豚舎や交配豚舎内に同居する離乳子豚に PRRS を疑う呼吸器症状は認められなかった。

材料及び方法

1 材料(表1)

母豚血清 15 検体,流産胎子 2 腹 4 頭及び虚弱子 2 頭を病性鑑定に供した。

(1)母豚血清

死流産母豚 No.1 ~ 7及び正常分娩母豚 No.8 ~ 15

(2)流產胎子(写真 1)

母豚 No.5 の 1 腹 12 頭中 2 頭及び母豚 No.6 の 1 腹 8 頭中 2 頭

(3)虚弱子(写真 1)

母豚 No.4 が死産子豚とともに分娩した3日齢哺乳豚2頭

2 方法

(1) ウイルス検査

流産胎子及び虚弱子の脳,脾臓,腎臓及び扁桃の 10%乳剤について,CPK 細胞,Vero-ky 細胞を用いてウイルス分離を実施した。また,流産胎子の扁桃,肺,腎臓及び母豚血清について PRRSV,日本脳炎ウイルス(以下,JEV)及び豚パルボウイルス(以下,PPV)の特異遺伝子検出を PCR 法により実施した。

(2)細菌検査

流産胎子及び虚弱子の主要臓器,流産胎子の胃内容物及び虚弱子の腸内容物について,5%めん羊血液寒天培地(好気及び嫌気培養)及び DHL 寒天培地を用いて細菌培養を実施した。また,主要臓器についてレプトスピラの特異遺伝子検出を PCR 法により実施した。

(3)病理組織検査

検査材料を 10 % 中性緩衝ホルマリン液で固定後 ,定法に従って 4 μ m 厚に薄切し , ヘマトキシリン・エオジン染色を施して組織標本を作製し鏡検した。

(4)抗体検査

死流産母豚 7 頭及び正常分娩母豚 8 頭について,4 月 12 日及び 5 月 24 日に採血し,ELISA 法により PRRS 抗体検査及びオーエスキー病(以下,AD)・g 抗体検査を実施した。

結果

1 ウイルス及び細菌検査(表 2)

流産胎子等の主要臓器や胃あるいは腸内容物からウイルス及び有意菌は分離されなかった。

PCR 検査により虚弱子 No.1 の扁桃,肺及び腎臓,死流産母豚 No.7 及び正常分娩母豚 No.8 及び 9 の血清から PRRSV 特異遺伝子を検出した。 JEV,PPV 及びレプトスピラの PCR 検査では全検体から特異遺伝子は検出されなかった。

2 病理組織検査

流産胎子及び虚弱子の主要臓器組織に著変は認められなかった。

3 総合診断

以上の結果から死流産の原因となる病原体は特定できなかった。

4 抗体検査(表2及び図3)

4月 12 日に採血した死流産母豚群 (7頭) は全頭 PRRS 抗体陽性でエライザ値が 3.43 ~ 4.48 の高い値の範囲に集中していた。一方,正常分娩母豚群 (8頭) も全頭 PRRS 抗体陽性だったが,母豚 No.10 ~ 14 の 5頭は 2.55 ~ 4.22 の高いエライザ値を示し,それ以外の PRRSV 特異遺伝子が検出された母豚 No.8 及び 9 を含む 3 頭は 0.78 ~ 2.11 の低いエライザ値であった。

5月 24日に採血した死流産母豚群も全頭 PRRS 抗体陽性でエライザ値が 2.64 ~ 3.67の範囲に集中し,前回採血時よりも若干低下していた。正常分娩母豚群では前回エライザ値が 2.55 以上の母豚 No.10 ~ 14 は低下し,なかでも初産の母豚 No.10 は 2.55 から 0.83 に低下していた。それに対し, PRRSV 特異遺伝子が検出された母豚を含むエライザ値が 2.11

以下の 3 頭は 3.54 ~ 4.09 の高いエライザ値を示した。 なお, AD・g 抗体は全頭陰性であった。 以上の結果から, PRRSV による死流産と診断した。

考察

日本では平成 6年に PRRSV が初めて分離され,現在では国内にまん延し常在化している農場も多い。 PRRS 浸潤農場では,母豚群の PRRS 抗体価の低下や異なるウイルス株の侵入が原因で PRRSV の小流行が起こることは広く認識されており, PRRS 浸潤農場であっても多発性死流産の原因のひとつとして PRRSV を考える必要がある。

これまで当該農場で発生する流産は年間 1 ~ 2 頭であったが ,平成 22 年 3 ~ 5 月の 3 ヶ月間は死流産発生率が約 27 % (流産 19 腹÷分娩予定数 93 腹)に急上昇した。また,死流産を起こした母豚の発情は正常に回帰するが再発情を繰り返す繁殖障害が認められ,死流産を起こした19 頭の約半数の母豚を淘汰し大きな損害となった。分娩豚房やストール豚房の母豚が次々と死流産を起こす発生状況や産歴の高い母豚に死流産の発生が集中し,初産豚には全く死流産が認められないという疫学的特徴から免疫力の低下した母豚を主体とするウイルス性疾病の流行が疑われた。

今回の病性鑑定では,流産胎子,虚弱子及びその母豚血清の病原体検索とともに,死流産母豚だけでなく正常分娩母豚の血清を採取して抗体検査を実施した。病原体検索により,死流産の原因として JEV ,PPV ,AD 及びレプトスピラの関与は否定された。 PRRS 抗体検査では,死流産母豚は揃った高いエライザ値の抗体を保有しており,42 日後にはエライザ値は揃って減少したことから,同時期に感染したものと推測された。一方,正常分娩母豚 8 頭中 6 頭が 3 月に分娩していたが,PRRS 抗体検査で 5 頭が高いエライザ値を,3 頭が低いエライザ値を示し,低いエライザ値だった 3 頭中 2 頭から PRRSV 特異遺伝子が検出された。後者は 42 日後に有意な PRRS 抗体の上昇が認められたことから,死流産多発時期に繁殖豚舎で明らかな PRRSV の流行が認められた。

当該農場は平成 11 年に PRRSV による死亡率 25 %を超える肥育豚の死廃の被害を受けており,平成 18 年度及び 20 年度の抗体検査でもPRRSV の浸潤が確認されている。しかし, PRRS 生ワクチンは使用せず,

繁殖候補豚は馴致によって農場に常在する PRRSV を含む病原体の免疫を付与している。

馴致は農場に常在する病原体に対する免疫を付与して母豚や子豚の症状を抑えることができると言われているが,導入豚や繁殖候補豚に飼養豚,胎盤及び死亡豚等を接触させるだけでなく,飼養豚の糞便や死亡豚の内臓を経口投与する馴致方法も行われており,常在する病原体によっては感染を広め死亡させることがあるので衛生上の問題もある。

当該農場では,数年前に死亡豚が増加した時に採取して冷凍保存していたリンパ節等を繁殖候補豚に経口投与して馴致を行っていた。保存温度や保存期間によってはリンパ節等に十分な抗原性がなくなっていたことが考えられる。馴致による PRRS 抗体価は加齢に伴って減少し,産歴の高い母豚では PRRSV 感染のリスクが高い免疫状態であったことが推察され,高産歴の母豚で発生した死流産の原因として PRRSVの関与が強く疑われた。

PRRSV に経胎盤感染した胎子は抗体産生のみに終わることがあり,現実的ではないが初乳未摂取子豚の血清中 PRRS 抗体の検出によって経胎盤感染を確認することはできる。しかし,PRRSV による流産胎子には間質性肺炎のような特徴的な病理所見が認められず,胎子からPRRSV 特異遺伝子が検出されない場合があり,流産胎子の検索で PRRSによる死流産と診断することは困難で,今回の事例でも同様の結果であった。しかし,PRRS 浸潤農場でも死流産母豚だけでなく同居母豚の経時的な PRRS 抗体検査や PRRSV 遺伝子解析等を併用することによりPRRSV による死流産を総合的に判断することは可能と思われ,今後も病性鑑定に供する材料の選定を十分に検討する等,総合的な診断を心掛けていきたい。

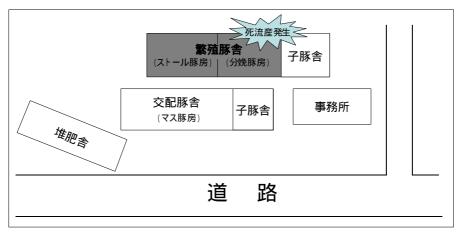


図1 発生農場の見取図

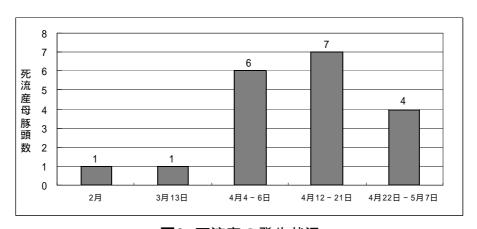


図2 死流産の発生状況

表1 病性鑑定材料

	母豚番号	産歴	 死流産·分娩日	———————— 病性鑑定材料	
		10	3月13日		一一一一
	1	10	3月13日	丏 勝皿/月	-
死	2	9	4月4日	母豚血清	_
流	3	5	4月4~5日	母豚血清	食欲不振後
産	4	11	4月4~5日	虚弱子2頭/母豚血清	- 1週間程度で - 死流産が発生
母豚	5	12	4月5日	胎子2頭/母豚血清	70加圧ガルエ
群	6	10	4月6日	胎子2頭/母豚血清	_
	7	16	4月6日	母豚血清	
	8	9	3月6日	母豚血清	食欲不振
正	9	7	3月21日	母豚血清	
常	10	1	3月24日	母豚血清	
分	11	8	3月26日	母豚血清	
娩 母	12	9	3月26日	母豚血清	
豚	13	4	3月30日	母豚血清	
群	14	4	4月7日	母豚血清	
	15	5	4月9日	母豚血清	



写真1 流産胎子及び虚弱子豚の外貌

表2 PCR検査及び抗体検査結果

1A 44 #FF			PCR検査				抗体検査			
検体番号	材料	4 -	PRRS	JEV	PPV	レプトスピラ	AD(g) F	PRRS[4月12日]	PRRSp月24日]
胎 子 No.1	扁桃·肺·腎	腎臓	-	-	-	-				
胎 子 No. 2	扁桃·肺·腎	腎臓	-	-	-	-				
胎 子 No.3	扁桃·肺·腎	腎臓	-	-	-	-			/	
胎 子 No. 4	扁桃·肺·腎	肾臓	-	-	-	-				
虚弱子 No.1	扁桃·肺·腎	肾臓	+	-	-	-		/		
虚弱子 No. 2	扁桃·肺·腎	腎臓	-	-	-	-				
母 豚 No.1	血 ;	清	-	-	-	-	-		+(4.06)	+ (3.23)
母 豚 No. 2	血	清	-	-	-	-			+(3.47)	+ (2.72)
母 豚 No.3	血	清	-	-	-	-			+(3.43)	+ (2.96)
母 豚 No. 4	血 ;	清	-	-	-	-	-		+(420)	+ (2.81)
母 豚 No.5	血 ;	清	-	-	-	-	-		+(3.60)	+ (3.25)
母 豚 No. 6	血	清	-	-	-	-			+(4.48)	+ (3.67)
母 豚 No.7	血	清	+	-	-	-			+(4.02)	+ (2.64)
母 豚 No.8	血 ;	清	+	-	-	-	-		+(211)	+ (3.87)
母 豚 No. 9	ш ;	清	+	-	-	-	-		+(1.16)	+ (3.54)
母 豚 No.10	ш ;	清	-	-	-	-	-		+(255)	+ (0.83)
母 豚 No.11	血 ;	清	-	-	-	-	-		+(422)	+ (2.80)
母 豚 No.12	血 ;	清	-	-	-	-	-		+(4.17)	+ (3.14)
母 豚 No.13	血 ;	清	-	-	-	-			+(334)	+ (2.57)
母 豚 No.14	血 ;	清	-	-	-	-	-		+(4.18)	+ (2.88)
母 豚 No.15	血 ;	清	-	-	-	-	-		+(0.78)	+ (4.09)

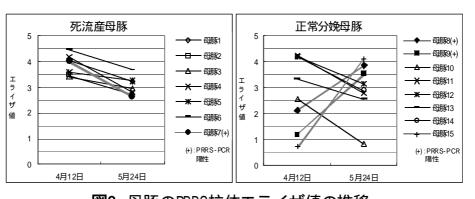


図3 母豚のPRRS抗体エライザ値の推移

13.本県で分離された豚由来病原性大腸菌の病原因子保有状況と薬剤感受性

県北家畜保健衛生所 西野 弘人 川上 純子 楠原 徹

豚の病原性大腸菌は新生期や離乳後の下痢,浮腫病,敗血症などの多様な病型を豚に対して示し,ハずれの病型も出生後から離乳期までの子豚で多発するため,養豚経営者への経済的損失も大きく,注意しなければならない疾病の一つである。本県では当所での病性鑑定実施事例のうち,毎年 10 件程度が大腸菌性下痢や浮腫病と診断されているが,再発事例も多くその対応には苦慮している。そこで,平成 18 年度から平成 21 年度までの 4 年間に分離した県内の豚由来病原性大腸菌の傾向を把握し,今後の指導の一助とするため O 群血清型別,定着および病原因子検索,薬剤感受性試験を実施したのでその概要を報告する。

材料(表1)

平成 18 年度から平成 21 年度に病性鑑定を実施した豚から分離された病原性大腸菌 28 農場 41 事例 41 頭由来 41 株。

方法

- 1 O 群血清型別 供試菌株について独立行政法人 動物衛生研究所に依頼した。
- 2 病原因子(定着および毒素因子)検査

供試菌株について定着因子 F4,F5,F6 については毒素原性大腸菌線毛抗血清 (デンカ生研)を用いたスライド凝集反応法により ,F18,F41,eae については PCR 法により検査した。毒素因子の下痢の原因となる易熱性エンテロトキシン(以下 ,LT) ,耐熱性エンテロトキシン(以下 ,ST) ,浮腫病の原因となる志賀毒素 1 , 2 型および 2 型 e (以下 ,Stx1 , 2 および 2e)については PCR 法にて検査した。

3 薬剤感受性試験

供試菌株について 1 濃度ディスク法により,アンピシリン(以下,ABPC),アモキシシリン(以下,AMPC),ストレプトマイシン(以下,SM),カナマイシン(以下,KM),オキシテトラサイクリン(以下,OTC),硫酸コリスチン(以下,CL),エンロフロキサシン(以下,ERFX),スルファメトキサゾール・トリメトプリム(以下,ST)の7薬剤について試験した。さらに,微量液体希釈法(ドライプレート栄研)によりABPC,セファゾリンナトリウム(以下,CEZ),セフォタキ

シムナトリウム(以下, CTX), 硫酸ゲンタマイシン(以下, GM), KM, 塩酸テトラサイクリン(以下, TC), ナリジクス酸(以下, NA), 塩酸シプロフロキサシン(以下, CPFX), CL, クロラムフェニコール(以下, CP), ST の 11 薬剤について試験した。耐性限界値(以下, BP)の設定については臨床検査・検査標準協会(CLSI)および農林水産省動物医薬品検査所の定める値に準拠した。

さらに,供試菌株の耐性率と動物用医薬品危機管理対策事業で実施した全国(平成 16 年~ 19 年の平均) および茨城県(平成 19 年および 21 年の平均) の健康豚由来大腸菌の薬剤耐性獲得率(以下,耐性率)と比較検討した。(本事業で実施していない AMPC, TC, CPFX, ST は比較未実施。)

結果

1 O群血清型別検査結果(表2)

最も多かったのは O116 で 15 株分離され,続いて O139 が 6 株,以下 O98 が 5 株,O149 が 4 株,O56 が 3 株,O2 が 2 株,O45 が 2 株,O35 が 1 株,O103 が 1 株,O157 が 1 株,O 群血清型別不明が 1 株分離された。

2 定着因子および毒素因子保有状況検査結果(表3,4)

最も多く分離されたのは F18,LT,ST,Stx2e で 15 株分離され,続いて F18,ST,Stx2e が 5 株,以下 F18,Stx2e が 4 株,F4,LT が 4 株,F18,ST が 3 株,定着因子不明,Stx2e が 3 株,F18,LT,ST が 2 株,eae が 2 株,eae,Stx1 が 1 株,F18,LT が 1 株,F18,LT,Stx2e が 1 株が分離された。

定着因子に着目すると,F18 が最も多く 31 株で,続いて F4 が 4 株,以下 eae が 3 株,不明が 3 株であった。

3 薬剤感受性試験結果(表5)

1 濃度ディスク法では ABPC で 58.54%の耐性率で,以下 AMPC で 58.54%, SMで 73.17%, KMで 26.83%, OTC で 85.37%, ERFXで 46.34%, CLで 14.63%, STで 63.41%となった。

また,微量液体希釈法では ABPC で 60.98 %, CEZ で 14.63 %, CTX で 4.88 %, GM で 19.51%, KM で 24.39 %, TC で 80.49 %, NA で 53.66%, CPFX で 48.78 %, CL で 0.00 %, CP で 58.54%, ST で 63.41%となった。

さらに,供試菌株の耐性率と全国および茨城県の健康豚由来大腸菌の耐性率を 比較したところ,いずれの検査方法においても供試菌株の方が高い結果となった。

考察

今回,県内で分離された豚由来病原性大腸菌の O 群血清型別および定着および病原因子保有状況,薬剤感受性を検査したところ,O 群血清型別では 11 種類に分類された。豚での病原性を示す血清型はおおむね決まっており,新生期下痢

では O8 ,O9 ,O20 ,O101 ,O149 ,O157 ,離乳後下痢では O8 ,O138 ,O141 ,O149 ,O157 等が多く ,eae による離乳後下痢では O45 や O108 が多い。また ,浮腫病では O139 が多く ,他にも O2 ,O8 ,O20 ,O45 ,O78 ,O111 ,O141 ,O147 ,O 群型別不能などが報告されている。 1)本県での分離状況で最も多かったのは O116 で ,今までに多いと報告されている血清型には属さなかった。その他にも O98 ,O56 ,O35 ,O103 と分離頻度の低い株が分離された。O116 については埼玉県でも分離報告がなされており ,近年豚で優勢な血清型になっている可能性が示唆された。 2)その他 ,分離頻度の低い血清型が複数分離された要因が ,豚で優勢な血清型が変化したためか ,本県に特徴的なものなのかを判断するためには ,今後の更なる調査が必要である。

定着および毒素因子保有状況のうち,定着因子に着目すると,F18 が 31 株と最も多かった。(表 4) F18 のレセプターは 3 週齢以降の腸管粘膜上皮に出現するため,本県での豚の病原性大腸菌による被害は離乳後に多い事が菌株の性状からも推察された。また,毒素因子であるエンテロトキシンと志賀毒素産生因子保有状況を検査した結果,供試菌株で両方の産生因子を保有する菌株が 21 株と最も多く分離された。(表 6) これらの菌株は初期症状として下痢を発症後に浮腫病を起こし浮腫の程度も典型例ほど顕著でないことが知られている。¹) 従って,症状も下痢,死亡,神経症状等病型は多様になることが推察された。さらに,本県では O116:F18,LT,ST,Stx2e が最も多く分離されており,本菌が広く浸潤している可能性も考えられることから,離乳後下痢による検診時には,臨床症状の詳細な聞き取りが必要であると考えられた。

薬剤感受性試験では1濃度ディスク法と微量液体希釈法の2種類の検査方法で試験を実施した。検査方法による耐性率の比較をおこなうと,CLについては若干差が出たもののABPC,KM,STではほぼ同様の耐性率で検査法による差はみられなかった。

いずれの検査方法においても,供試菌株全体の耐性率は全国および茨城県の健康豚由来大腸菌の耐性率よりも高い結果となった。このことは,病性鑑定豚は農場での薬剤使用頻度が高いために耐性率が高いことが推察されたが,その他にもCPの耐性率やTC系の耐性率が高い場合に,他薬剤への耐性率も上昇する報告があること³)など耐性率を上昇させる要因には複数の要因があることから,単純に農場での薬剤使用実態が反映されているものではないと考えられた。

また,ペニシリン系,TC 系,キノロン系の薬剤では同系統の最小発育阻止濃度(MIC)が同様に上昇する交差耐性が見られる事が知られているが,ABPC は60.98 %の耐性率で,AMPC は58.54%,TC は80.49 %で OTC は85.37%,CPFX は48.78%で ERFX は46.34 %と,系統が同じ薬剤ではほぼ同様の耐性率となり,異なる検査方法であっても交差耐性を確認することができた。このことから,これ

らの系統では使用薬剤を変更しても効果は変わらない可能性が高いと考えられた。一方,アミノグリコシド系は SM が 73.17 %, KM が 24.39 %, GM が 19.51 %の耐性率で同じ系統であっても耐性率に差が出たが,アミノグリコシド系の間では必ずしも交差耐性を示すわけではないことから,薬剤使用実態が強く反映されている可能性が考えられた。

健康豚との耐性率を各薬剤ごとに比較したところ,キノロン系の耐性率が著しく上昇していた。このことは,下痢の治療に ERFX 製剤を使用している頻度が高い可能性が考えられた。大腸菌においては,gyrA という遺伝子領域に1ヶ所変異が起こると NA やオキソリン酸等のオールドキノロンが耐性化し,gyrA 又は parC という遺伝子領域にもう 1ヶ所変異が起こると ERFX 等のフルオロキノロンも耐性化する事がわかっている。4)今回の検査結果からも NA の耐性率が 53.66 % (22株)で CPFX と ERFX の耐性率はそれぞれ 48.78 % (20株)と 46.34% (19株)であったため,遺伝子変異が 1ヶ所起こり NA が耐性化した 22 株のうち約 9割に 2ヶ所目の変異が起こり,CPFX や ERFX が耐性化したと考えられた。供試菌株の約半分でフルオロキノロン系の薬剤が耐性化している事から,下痢や浮腫病の所見が見られた場合において,フルオロキノロン系薬剤が第 2 選択薬としての役割は果たしておらず,フルオロキノロン系薬剤の慎重使用が叫ばれる昨今の情勢からも,診断的治療目的での本剤の使用を控える必要があると考えられた。

一方,CLの耐性率は1濃度ディスク法では14.63%で微量液体希釈法では0%であった。全国の健康豚の検査結果でも耐性率は0%であった。下痢の治療薬であるCLは経口投与で腸管で長く留まる性質があり、さらに志賀毒素の放出を抑制する作用があることから、5)病原性大腸菌には現在のところ有効な薬剤であると考えられる。

CPの耐性率は全国の健康豚由来では 19.03 %で ,茨城県の健康豚由来では 30.43 %が耐性となっており ,供試菌株では 58.54 %と高い耐性率であった。CP は広域な抗菌スペクトルを有するため ,動物用医薬品として広く使用されてきたが ,人に対して再生不良性貧血などの副作用を起こす事が明らかになったため日本では 1998 年に食用動物に対する使用が中止されている。しかしながら , CP は同系のフロルフェニコールやチアンフェニコールと交差耐性を示す報告があることから , 6) 今回の結果も同様の理由で耐性率が上昇している可能性が考えられた。

セフェム系の薬剤は CEZ が 14.63%, CTX が 4.88 %の耐性率で,他薬剤の耐性率よりも低かったが,これは豚では CEZ の承認薬がなく, CTX と同じ第 3 世代セフェムのセフチオフルナトリウム製剤は肺炎で使用する薬剤であるため,病原性大腸菌に対しての使用量が少ないことが要因として考えられた。

大腸菌の病原因子保有状況と薬剤耐性獲得状況とを比較すると,微量液体希釈法で供試した 11 薬剤に対しての耐性獲得数は 0 ~ 8 薬剤で供試菌株全体では平

均して 4.5 剤が耐性獲得していた。(表 1)特に 7 剤,8 剤耐性の多剤耐性株は今回の検査で分離数の最も多かった O116:F18,LT,ST,Stx2e のみで 6 株分離された。しかしながら,6 剤耐性以下の菌株は病原因子保有パターンと薬剤耐性獲得パターンに関連はみられず,薬剤耐性パターンは農場での薬剤使用実態による影響が大きいと考えられた。

まとめ

今回の検査結果から供試菌株は F18 やエンテロトキシンと志賀毒素の両方の産生因子を保有する菌株が多いことから、これらの菌株により離乳後に多様な症状を示す豚が多い事が推察された。また、健康豚との薬剤耐性率の比較からはフルオロキノロン系の耐性率が顕著に上昇していたため、下痢に対しての本系統薬剤の慎重な使用が一層必要であると思われた。薬剤耐性獲得状況の検査方法としては、より正確な情報を把握するためには MIC 測定をすることが望ましいが、当所で通常行っている 1 濃度ディスク法でも、ある程度の耐性率を把握できることがわかった。

今回,今までは一元的なデータとして把握されていなかった豚由来病原性大腸菌のデータをまとめ,現状を把握する事ができた。今後も O 群血清型別や病原因子等菌株の性状と薬剤感受性について比較検討し,流行株の変化や現状を把握していくとともに,これらのデータを周知し,適切な衛生指導の一助となるように努めていきたい。

稿を終えるにあたり,大腸菌の O 群血清型別を実施していただいた独立行政 法人動物衛生研究所 楠本正博先生に深謝いたします。

参考文献

- 1)中澤宗生:平成12年豚疾病特殊講習会資料
- 2) 荒井理恵:埼玉県で分離された豚離乳後下痢症由来大腸菌の薬剤感受性,動物用抗菌剤研究会報,No.30,2008
- 3)原田和記:獣医療分野における抗菌剤の使用と食用動物由来大腸菌の薬剤耐性との関連性に関する研究,動薬検年報,第45号,1-11,2008
- 4) 小澤真名緒:家畜由来細菌のフルオロキノロン耐性機構,動物用抗菌剤研究会報,No.31,2009
- 5) 末吉益雄ら: 牛と豚由来病原大腸菌の薬剤感受性と毒素産生性について,動物用抗菌剤研究会報, No.31, 2009
- 6)原田和記:抗菌剤使用による家畜由来大腸菌の交差耐性および共耐性の農場 レベルでの発現状況について,動物用抗菌剤研究会報,No.30,2008

表1 分離状況

1 2 3 4 5 6 7 8 9	H18.11 H18.11 H18.11 H19.4 H19.5 H19.5 H19.7 H19.8	MH NH NH MU NY KK MH MU	20 75 40 30 40 180 20	死亡 下痢、神経症状 下痢 下痢、死亡、発育不良 下痢、死亡	F4,LT F18,ST,Stx2e F18,ST,Stx2e F18,Stx2e F18,ST,Stx2e	0 6 5 3 5
3 4 5 6 7 8 9	H18.11 H18.11 H19.4 H19.5 H19.5 H19.7 H19.8	NH MU NY KK MH	40 30 40 180	下痢 下痢、死亡、発育不良 下痢、死亡	F18,ST,Stx2e F18,Stx2e F18,ST,Stx2e	5 3
4 5 6 7 8 9	H18.11 H19.4 H19.5 H19.5 H19.7 H19.8	MU NY KK MH	30 40 180	下痢、死亡、発育不良 下痢、死亡	F18,Stx2e F18,ST,Stx2e	3
5 6 7 8 9	H19.4 H19.5 H19.5 H19.7 H19.8	NY KK MH	40 180	下痢、死亡	F18,ST,Stx2e	
6 7 8 9	H19.5 H19.5 H19.7 H19.8	KK MH	180			E
7 8 9	H19.5 H19.7 H19.8	MH		灰亡		
8 9	H19.7 H19.8		20		Stx2e	4
9	H19.8	MII		死亡	F4,LT	0
			35	死亡、発育不良	F18,LT,ST,Stx2e	8
		NH	35	下痢、死亡、神経症状		5
10	H19.9	RH	33	元気消失·死亡	F18,LT,ST,Stx2e	4
11	H19.10	KMR	35	下痢·死亡	F18,LT,ST,Stx2e	7
12	H19.10	RY	30	下痢·嘔吐	F18,LT,ST,Stx2e	6
13	H19.11	KKM	60	下痢	F18,LT,ST	4
14	H19.11	RY	35	下痢·嘔吐	F18,LT,ST,Stx2e	8
15	H19.12	NH	60	死亡	F18,ST,Stx2e	5
16	H20.3	RS	30	下痢·死亡	F18,LT,ST,Stx2e	8
17	H20.7	MK	34	<u>下痢</u>	F18,LT,ST,Stx2e	7
18	H20.11	MO	70	呼吸器症状	eae	3
19	H20.12	KD	42	下痢:死亡	F18,LT,ST,Stx2e	8
20	H20.12	MF	40	<u>発育不良</u>	F18,Stx2e	3
21	H20.12	KS	40	<u>呼吸器·下痢</u>	F18,ST	2
22	H21.1	KW	50	<u>下痢</u>	F18,LT,ST,Stx2e	4
23	H21.1	NS	40	<u>死亡·神経症状</u>	Stx2e	3
24	H21.2	MF	80	死亡	F18,Stx2e	3
25	H21.3	KW	50	下痢:死亡	F18,LT,ST,Stx2e	4
26	H21.4	MSZ	45	<u>下痢</u>	F18,LT,ST,Stx2e	5
27	H21.5	MSK	80	呼吸器症状	Stx2e	3
28	H21.5	KKM	30	<u>下痢</u>	F18,LT,ST	4
29	H21.7	KY	40	<u>下痢</u>	F18,ST	5
30	H21.9	KN	45	死亡	F18,LT,ST,Stx2e	4
31	H21.9	KN	45	<u>死亡</u>	eae,Stx1	0
32	H21.10	KO	45	下痢・死亡	eae	2
33	H21.10	NO	40	下痢・死亡	F18,LT,Stx2e	5
34	H21.10	KM	30	下痢·死亡	F18,LT,ST,Stx2e	5
35	H21.10	KN	100	死亡	F4,LT	6
36	H22.1	KS	60	_ <u>下痢</u>	F18,LT,ST,Stx2e	6
37	H22.1	NK_	60	死亡	F18,Stx2e	3
38	H22.2	RU	90	死亡	F4,LT	4
39	H22.2	MS	90	死亡	F18,ST	2
40	H22.3	RW	60	死亡	F18,LT	4
41	H22.3	KK	45	下痢·死亡	F18,LT,ST,Stx2e 耐性薬剤数平均	6 4.5

表2 〇 群血清型別結果

O群	株数	病原因子保有状	況(株数)
O 1 1 6	15	F18,LT,ST,Stx2e	(15)
		F18,Stx2e	(4)
O 1 3 9	6	F18,LT,Stx2e	(1)
		F18,LT	(1)
O98	5	F18,ST,Stx2e	(5)
O149	4	F4,LT	(4)
O56	3	F18,LT,ST	(2)
	3	eae	(1)
02	2	Stx2e	(2)
O45	2	eae	(1)
<u> </u>		F18,ST	(1)
O35	1	F18,ST	(1)
O103	1	eae,Stx1	(1)
O157	1	F18,ST	(1)
不明	1	Stx2e	(1)
合計	41		(41)

表3 定着因子保有状况

定着因子	株数
F18	31
F4	4
eae	3
不明	3
合計	41

表4 病原因子保有状況

<u>_ 定着および病原因子_</u>	株数	O群型(株数)
F18,LT,ST,Stx2e	15	0116(15)
F18,ST,Stx2e	5	O98(5)
F18,Stx2e	4	O139(4)
F4,LT	4	O149(4)
F18,ST	3	O35(1),O45(1),O157(1)
Stx2e	3	O2(2),不明(1)
F18,LT,ST	2	O56(2)
eae	2	O45(1),O56(1)
eae,Stx1	1	O103(1)
F18,LT	1	O139(1)
F18,LT,Stx2e	1	O139(1)
合計	41	

表6 毒素因子保有状況

保有毒素因子	株数
エンテロトキシン	10
エンテロトキシン + 志賀毒素	21
志賀毒素	7
その他	3
合計	41

表5 薬剤感受性試験結果(数字は耐性率(%),耐性株数/供試株数)

	ABPC	AMPC	CEZ	CTX	GM	SM	KM
供試菌株	58.54	58.54				73.17	26.83
<u>(1濃度ディスク)</u>	(24/41)	(24/41)				(30/41)	(11/41)
供試菌株	60.98		14.63	4.88	19.51		24.39
(微量液体希釈法)	(25/41)		(6/41)	(2/41)	(8/41)		(10/41)
茨城県·健康豚(n=23)	39.13		0	0(CTF)	0	52.17	21.74
全国·健康豚(n=558)	24.08		0.38	0.6(CTF)	2.9	45.65	14

	TC	OTC	NA	CPFX	ERFX	CL	CP	ST
供試菌株		85.37			46.34	14.63		63.41
<u>(1濃度ディスク)</u>		(35/41)			(19/41)	(6/41)		(26/41)
供試菌株	80.49		53.66	48.78		0	58.54	63.41
(微量液体希釈法)	(33/41)		(22/41)	(20/41)		(0/41)	(24/41)	(26/41)
茨城県·健康豚(n=23)		65.22	13.04		0.00	0.00	30.43	
全国·健康豚(n=558)		62.53	6.2		1.25	0.00	19.03	

14.ダチョウにみられた大腸菌症の病理組織学的検索

県北家畜保健衛生所 村山 丹穂 西野 弘人 楠原 徹

ダチョウは特用家畜であり、鑑賞や採卵用、肉用を目的として飼育され、平成22年2月現在、茨城県下では8農場で約320羽が飼養されている。ダチョウの多くは屋外で飼養されているため、野生動物や見学者などとの接触により様々な病原体が持ち込まれる可能性がある。鶏に感染する病原体のほとんどはダチョウに感染することが知られているが、ダチョウに対する病原性については未だ不明な点が多い。

今回,ダチョウの病性鑑定において,鶏の大腸菌症の所見とは異なる壊死性線維素性肺炎を伴った大腸菌症がみられ,病理組織学的検索を実施したのでその概要を報告する。

発生状況

成鳥約 50 羽を飼養するダチョウ農場で 2010 年 1 月より育成もしくは成鳥の死亡が増加し,1 月に 6 羽,2 月に 10 羽,3 月に 9 羽,4 月に 12 羽の計 37 羽が死亡した。4 月 24 日から 28 日にかけては 7 羽の成鳥が死亡した。死亡前には呼吸器症状,元気消失を呈するもののほか,突然死するものもみられた。同月 30 日に病性鑑定を実施した。

材料および方法

1 検査材料

2010 年 4 月 30 日に剖検した,死後 2 日が経過した約 2 歳半の雄のダチョウ 1 羽を検査材料とした。

2 病理学的検索

剖検時に臓器を採材し,10%中性緩衝ホルマリンで固定し,定法に従いパラフィン包埋,薄切後,切片を作成し,ヘマトキシリン・エオジン(HE)染色を実施した。

また,更なる検索のため,以下の染色を実施した。

(1)特殊染色

組織内の病原体を検索するため,過ヨウ素酸シッフ(PAS)反応,チールネルゼン染色,グラム染色を実施した。また,諸臓器にみられた滲出物の検索のため,リンタングステン酸へマトキシリン(PTAH)染色を実施した。

(2)免疫組織化学的染色

組織内の細菌感染の有無を検索するため,ニチレイ社製シンプルステインキットを使用し,一次抗体に抗 Escherichia coli (O20)ウサギポリクローナル抗体(デンカ生研社製)および抗 Klebsiella pneumoniae マウスモノクローナル抗体 (Chemicon 社製)を用いて免疫組織化学的染色を実施した。なお,大腸菌症と診断した下痢を示した豚から分離した Escherichia coli 1株を用いて,抗 Escherichia coli (O20)抗体を用いた免疫組織化学的染色を実施し,交叉反応の有無を確認した。

3 病原体検索

(1)ウイルス検査

気管およびクロアカスワブについて,エスプライン インフルエンザ A&B-N キットを用いてインフルエンザの簡易検査を実施した。また,気管,直腸および 腎臓について発育鶏卵尿膜腔内接種によるウイルス分離を実施した。

(2)細菌検査

主要臓器および腸内容物について 5%めん羊血液加寒天培地, DHL 寒天培地を用いて 37 48 時間好気培養および嫌気培養を実施した。

(3)PCR 検査

細菌検査で分離した大腸菌について詳細な検索を実施するため,C.Ewers ら $^{2)}$ の方法を用い,鶏の大腸菌症の病原性との関連が示唆される遺伝子のうち,付着 因子に関する papC, tsh, 鉄獲得機構に関する iucD, irp2,血清抵抗性に関する iss, 他のフローラ制圧に関連する cva/cvi,毒素因子に関する astA, vat の 8 種の遺伝子について PCR による検索を実施した。また,EC ヌクレオチドミックス(アルフレッサファーマ社)を使用し,ST(耐熱性エンテロトキシン),LT(易熱性エンテロトキシン)および Stx(シガトキシン)について PCR による検索を実施した。

結果

1 病理解剖

外貌では著変はみられなかった。剖検では右肺の前部から後部にかけ辺縁に長 径約 20cm の凝固壊死巣が単在し、壊死部は胸壁と高度に癒着していた。壊死部 の割面は白桃色を呈し、胸膜下に膿汁の貯留が認められ、癒着部周囲の胸壁では 高度の充血がみられた(写真 1,2)。また、小腸および盲腸では多数の針金およ び釘が貯留していた。

2 病理組織検査

(1)HE 染色による組織所見

肝臓および脾臓では短桿菌の菌塊を伴う微小壊死巣が散見され,壊死部および 周囲には単核細胞浸潤を伴っていた(写真 3)。また,肝臓,脾臓,腎臓および心 臓では硝子血栓形成が散見された。

肺では右肺に短桿菌の菌塊を伴う不定形の壊死巣が多発し,壊死部および周囲に中等度の単核細胞浸潤を認め,広範囲に壊死部周囲に多核巨細胞の浸潤を伴っていた。壊死部およびその周囲の肺房および含気毛細管腔内では高度の線維素析出がみられた(写真 4,5,6)。肺胸膜下の気嚢の移行部では一部で粘膜上皮の壊死脱落が認められ,腔内および上皮下組織に中等度または高度の単核細胞を主体とする細胞浸潤が認められた。左肺ではまれに菌塊を伴う微小な偽好酸球浸潤巣がみられた。

(2)特殊染色による組織所見

壊死巣がみられた肝臓、脾臓および肺について PAS 反応およびチールネルゼン染色を実施したが、陽性に染まる病原体はみられなかった。グラム染色では、壊死巣およびその周囲にみられた菌塊はグラム陰性を示した。また、肝臓、脾臓、腎臓、心臓および肺について PTAH 染色を実施し、染色を実施した全臓器で血管内に青藍色に染まる硝子血栓がみられ、肺では旁気管支、肺房、含気毛細管に細網線維状に青藍色に染まる線維素が中等度から高度に析出していた。

(3)免疫組織化学的染色による組織所見

抗 <u>Klebsiella pneumoniae</u> を一次抗体とした免疫組織化学的染色では陰性であった。抗 <u>Escherichia coli</u> (O20)抗体を一次抗体とした免疫組織化学的染色では,病変部および一部の正常部にみられた桿菌および病変部周囲の単核細胞の細胞質に陽性反応が認められた。

なお,豚の大腸菌症由来の菌株は,抗 Escherichia coli (O20)抗体を一次抗体とした免疫組織化学的染色で陰性を示し,交叉反応はみられなかった。

3 ウイルス検査

インフルエンザの簡易検査は陰性であった。また,ウイルス分離は陰性であった。

4 細菌検査

全主要臓器から <u>Escherichia coli(O20)</u>を , 肺から <u>Klebsiella pneumoniae</u>を分離した。

5 PCR 検査

肝臓 , 腎臓 , 肺および脾臓から分離された <u>Escherichia coli</u> について PCR を実施したところ , 全ての大腸菌で <u>iss</u> , <u>irp2</u> , <u>iucD</u> , <u>cva/cvi</u> の各遺伝子が検出されたが , <u>astA</u> , <u>papC</u> , <u>tsh</u> , <u>vat</u> の各遺伝子は検出されなかった。また , ST,LT および Stx の特異遺伝子はいずれの菌からも検出されなかった。

考察

肺では右肺で広範囲に壊死性線維素性肺炎が、肝臓および脾臓では微小壊死巣

がみられ、いずれも壊死部に短桿菌の菌塊を伴い、肺では広範囲に壊死病変周囲に多核巨細胞浸潤が認められた。細菌検査では、肺から Klebsiella pneumoniae が分離され、全主要臓器から Escherichia coli(O20)が分離された。そのため、菌塊を伴う壊死病変形成がみられた組織について、抗 Escherichia coli(O20)抗体を用いた免疫組織化学的染色を実施したところ、病変部の菌塊に一致して明瞭な陽性反応が認められた。このことから壊死病変は大腸菌によるものであることが示唆された。また、全主要臓器から Escherichia coli(O20)が分離されたこと、肝臓、脾臓、腎臓、心臓および插種性血管内凝固を生じたと推察された。

また,肺から <u>Klebsiella pneumoniae</u> を分離したため,肺について抗 <u>Klebsiella pneumoniae</u> 抗体を用いた免疫組織化学的染色を実施したが陽性反応はみられず, 病変への直接的な関与はないと思われた。

鳥類における大腸菌症は,鶏,七面鳥,あひる,うずら,きじ,はと,ほろほろちょう,水禽類,エミューおよびダチョウで発生が報告されている。発生例が多く知られているのは鶏,七面鳥やあひるだが,中でもブロイラーや七面鳥での発生が多い³。

鶏における大腸菌症は,腸管内に常在する大腸菌により生じる。しかし,健康な鶏は発症せず,感染性あるいは環境性のストレスがかかった時に大腸菌を含む塵埃を吸入して呼吸器感染を起こし,肺の毛細血管内に侵入して菌血症あるいは敗血症を起こすと推測されている。病型は様々で,急性敗血症の他,心膜・心外膜炎や気嚢炎,化膿性気管支肺炎,化膿性関節炎・全眼球炎・卵管炎等がみられる。組織学的には線維素化膿性漿膜炎がみられるほか,脾臓壊死や肝臓の類洞における線維素性血栓形成等が認められる ⁴。

ダチョウでの大腸菌症の報告は少ない。初生雛での床の汚れにより臍から腹腔内に感染した臍炎の症例 [®]や,他の感染症,栄養性疾患により易感染状態となった個体に感染し,肝臓に黄白色結節形成がみられた症例 [®],食欲不振,衰弱,発熱等の症状の後に死亡し,肺炎がみられた症例 [®]があるが,いずれも雛での発生例である。成鳥(10 歳齢)での急性の大腸菌症の発生は1報のみ報告されている [®]。

一方で走鳥類の肺から大腸菌が分離されることは少なくない。走鳥類の肺 838 検体について細菌検査を行い,うち 76.5% は分離陰性であったが,大腸菌が 10.3% と最も高確率で分離されたとの報告がある 9。しかしながらダチョウにおける大腸菌症の病理組織学的所見を含めた報告は乏しく,本症例は比較的稀であると考えられた。

今回,農場では成鳥の死亡率が増加しており,大腸菌症がその一因となった可能性が示唆された。本症例では鶏でみられる化膿性気管支肺炎と異なり,壊死性線維素性肺炎が認められた。病変がみられた臓器のうち,肺にのみ肉芽腫性の病

変が認められ,これが最も時間が経過した病変であった。このことから,本症例では鶏と同様に大腸菌が呼吸器感染した後,壊死性線維素性肺炎が惹起され,その後に菌が肺から血管内に侵入し,敗血症を引き起こしたと推察された。しかしながらダチョウにおける大腸菌症の報告は少なく,その病原性については明らかに出来なかった。今回と同様のダチョウにおける大腸菌症の症例により,その病原性や感染動態,病理組織学的特徴などが明らかになることを期待する。

稿を終えるにあたり,免疫染色の実施およびご助言を頂いた,独立行政法人農業・食品産業技術研究機構 動物衛生研究所 疾病診断室 久保正法先生および家 禽病理ユニット中村菊保先生に深謝致します。

参考文献

- 1)鶏病研究会 ダチョウの感染症 鶏病研究会報第38巻20-32
- 2)C.Ewers et al. Rapid detection of virulence-associated genes in avian pathogenic Escherichia coli by multiplex polymerase chain reaction. Avian Dis. 49:269-273.2005
- 3)Y.M.Saif Disease of Poultry, 12th edition, 701
- 4) 鶏病研究会編,鳥の病気
- 5)Foggin CM. et al. Veterinary problems in ostriches. The Topaz introduction to Practical Ostrch Farming.61-96
- 6)Cooper RG. et al. Bacterial, fungal and parasitic infections in the ostrich(Strushio camelus var. domestics). An Sci J 76:97-106.2005
- 7)Knobl, T. et al. Virulence properties of Escherichia coli isolated from ostriches with respiratory disease. Vet Mcrobiol 83:71-80.2001
- 8) Sathyanarayana RM. et al. Colibacillosis in an ostrich (Struthio camelus). Indian J Comp Microbiol Immunol Infect Dis. 2:40-41.1981
- 9) Welsh, R.D. et al. Bacterial infections in ratites. Vet Med 92:992-998.1997



写真1 右胸壁の充血



写真4 肺 ルーペ拡大

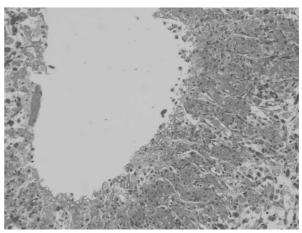
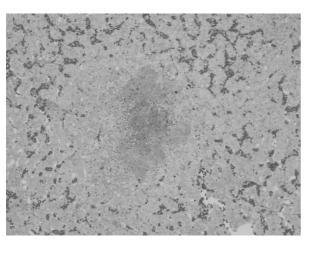


写真2 右肺にみられた凝固壊死巣 写真5 肺における線維素析出



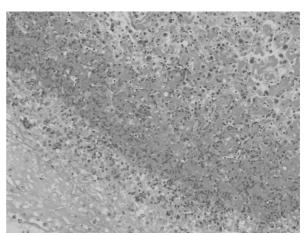


写真3 菌塊を伴う肝臓の巣状壊死 写真6 肺の凝固壊死・多核巨細胞浸 潤

第52回 茨城県家畜保健衛生業績発表会開催要領

1 目的

本県における家畜保健衛生所及び畜産関係試験研究機関,行政機関の事業 調査等における業績を全県的な規模で発表・討議を行い,畜産の現況に即し た家畜保健衛生事業等の改善向上に資することを目的とする。

2 丰催

茨城県農林水産部畜産課

3 開催期日

平成23年1月20日(木)午前9時00分~午後4時30分まで

4 開催場所

石岡市根小屋1234 畜産センター 2階研修室

5 発表会の内容

(1) 家畜保健衛生等に関する業績の発表 家畜保健衛生の事業,調査等における業績とし,次の2部に区分する。

- ①第1部 家畜保健衛生の企画推進に関する業務
- ②第2部 家畜保健衛生所及び畜産関係試験研究機関,行政機関における 家畜保健衛生及び畜産一般に関する試験,調査成績

(2)特別講演

別に畜産課長が定める。

6 発表形式

5の(1)の発表形式は,次による。

- (1)発表時間は,<u>1題10分以内</u>,<u>質疑応答5分以内</u>とし,パワーポイント による口答発表を行うものとする。
- (2)発表会の運営その他は,従前の例による。

7 助言者グループの設置

発表内容に関し助言及び指導を行うために, 畜産課長, 家畜保健衛生所

長及び畜産課長が別に委嘱する学識経験者からなる助言者グループを設置 する。

助言者グループは,発表内容に関し助言,指導を行う。

8 関東甲信越家畜保健衛生業績発表会への推薦

畜産課長は,助言者グループから審査員を委嘱し,審査員は,発表内容を審査し,家畜保健衛生所が発表した演題のうち第1部及び第2部についてそれぞれ1題以上計3題を関東甲信越家畜保健衛生業績発表会に推薦する。

9 発表原稿の作成

- (1)5の(1)の発表に関し全文集録を作成するものとし,原稿の作成は次によるものとする。
 - ア 原稿は,本文A4判<u>(1,296字)36字×36行</u>

ワープロソフトは「一太郎 2005 以下」を用い,横書き<u>5</u>枚以内とし,標題その他の標記方法は「印刷原稿作成要領及び用語等記載要領」(農林水産省家畜衛生試験場研究報告第58号1969年2月)及び原稿作成上の注意に準ずるものとする。

注)上下左右ともマージン(余白)を25mmとること。

- イ 図表は, A 4 判 2 枚以内とする。
- ウ <u>写真は, A 4 判 1 枚以内</u>とする。
- 工 提出期限 平成22年12月3日(金)
- オ 提出先 農林水産部畜産課家畜衛生・安全グループ
- (2)全ての発表者は、別添家畜保健衛生業績抄録作成要領により抄録を作成のうえ、平成23年1月28日(金)までに<u>電子メール</u>により畜産課長あて提出するものとする。

10 その他

- (1)9の原稿提出後において、その内容が事実の誤認に基づくとき、国及び 農家との関係を損なう恐れのあるときは、主催者又は助言者グループの判 断により発表から除外することがある。
- (2)この要領に定めのないことについては,主催者が決定する。

様式1号

第52回茨城県家畜保健衛生業績発表会演題等報告書

発表区分	演	題	名	発表者職氏名

第52回茨城県家畜保健衛生業績発表会出席者名簿

所属名

職	名	氏	名	備	考

【原稿作成上の注意】

注意事項:本文について

- 1 本文中の日本語フォントは、MS 明朝、12.0 ポイントを使うこと。
- 2 本文中の英数字フォントは、半角 Times New Roman を使うこと。
- 3 **見出しを使う場合は MS ゴシック** 12.0 ポイントを使うとともに、文字飾りで太文字を指定すること。また、詳細について以下のとおりとすること。
 - ・本文の書き出しの前の見出しに「はじめに」又は「緒言」等の言葉は使わ ないこと。
 - ・見出しの前に番号を付けないこと。
- 4 番号等をつける場合は、以下の順序で付けること。
 - 1 (1) 1) (ア) ア)
- 5 演題名、家保名、演者名及び共同研究者の書き方は記入例に準じること。
- 6 省略の括弧内の記載については、例のとおり(以下,)に統一して記載すること。
 - 例) ニューカッスル病(以下, ND)

<記 入 例>

	××番号(全角入力). 演題名
	×
	家畜保健衛生所××××
	畜産 花子 畜産 太郎×
	農林 一郎 農林 次郎×
	(1行あける)
	×本文・・・・・・・
	(1行あける)
	材料及び方法・
	1 検査材料 見出し:MSゴシック太文字
	×本文・・・・・・・・
	2 検査方法
	×本文・・・・・・・
	(1行あける)
	結果(又は成績)
	1 臨床症状
	×本文・・・・・・・
(2 病性鑑定
	(1) 病理検査
	×本文······
((2)
	英数字は半角

注意事項:写真の掲載について

- 1 **写真は A4 判1枚以内**とし、**図表とは別ページ**とする。ただし、図表を集録しているページの余白が十分ある場合を除く。
- 2 レイアウトは次ページ < レイアウト例 > を参考とし、 1 ページあたり 6 枚 以内を目安とする。
- 3 写真の下には「写真No.」及び説明を入れる。
 - ·「写真No.」のフォントはMSゴシック太文字 12.0 ポイントとする。
 - ・説明のフォントは MS 明朝 12.0 ポイントとする。

レイアウト例	>		
写真1		写真2	
写真3	• • • • • • •	写真4	• • • • • • •
写真5		写真6	