

第 53 回

大分県畜産職域業績発表会

集 録

2004

大分県農林水産部畜産振興課
衛 生 飼 料 室

はじめに

本集録は、平成16年11月25日、大分市において開催された第53回大分県畜産職域業績発表会の内容を集録したものです。

本発表会は、県下における畜産関係技術者が日常業務の中で行った指導、調査研究の成果を発表し、技術の向上を図り、畜産の発展に資するために開催されたものです。

今回は、第1部家畜保健衛生の企画、推進に関することと、第2部家畜保健衛生所及び病性鑑定施設における保健衛生に関する試験、研究、調査成績、第3部家畜保健衛生所以外の機関等における畜産に関する試験、研究調査成績について21題の発表がありました。

本集録が関係者各位のご参考になれば幸いです。

- 第1部 家畜保健衛生所の企画・推進に関する業績
- 第2部 家畜保健衛生所及び病性鑑定施設における保健衛生に関する試験、研究、調査成績
- 題3部 家畜保健衛生所長以外の機関及び団体における畜産に関する試験研究、調査成績

【第1部】

1. 大規模酪農場における初乳・移行乳給与法の改善
玖珠家畜保健衛生所 木本 裕嗣・・・ 1
2. 『採血管マガジン』を用いた、フリーストール牛舎での採血方法の効率化
玖珠家畜保健衛生所 長岡 健朗・・・ 5
3. プロバイオティクス主体による牛サルモネラ症の対策
宇佐家畜保健衛生所 森 学・・・ 11
4. 豊州牛群検定組合における2年目の取り組み
宇佐家畜保健衛生所 河野 宣彦・・・ 16
5. 大規模肉用牛繁殖経営における定時授精法による生産率向上への取り組み
大分家畜保健衛生所 久々宮仁三・・・ 21
6. 高病原性鳥インフルエンザの発生に係る現地防疫対策本部の対応
玖珠家畜保健衛生所 菅 正和・・・ 27
7. 高病原性鳥インフルエンザ発生時の対応
三重家畜保健衛生所 平川 素子・・・ 31
8. 大分県で発生した高病原性鳥インフルエンザの蔓延防止へ向けた防疫対応
大分家畜保健衛生所 堀 浩司・・・ 37
9. 食鳥検査データを活用したブロイラー養鶏場への衛生指導
三重家畜保健衛生所 鈴木 秀幸・・・ 44

【第2部】

10. ヨーネ病発生農家における菌検索とVNTR型別を用いた疫学的考察
大分家畜保健衛生所 佐藤 亘・・・ 49
11. 管内一酪農家における脂肪肝の発生事例
宇佐家畜保健衛生所 足立 雅之・・・ 54
12. 大分県で過去4年間に発生した牛の腫瘍性疾患29例の病理
大分家畜保健衛生所 甲斐 貴憲・・・ 59
13. 牛のウイルス性呼吸器病の発生状況について
大分家畜保健衛生所 矢崎 竜・・・ 66
14. PRRSエライザ検査における非特異反応事例について
三重家畜保健衛生所 宇都宮公平・・・ 71
15. 大分県で発生した高病原性鳥インフルエンザの病性鑑定対応
大分家畜保健衛生所 人見 徹・・・ 78

【第3部】

16. 酪農経営をサポートする営農支援システムの確立を目指して
—別杵速見地域の酪農振興—
別杵速見地方振興局農業振興普及センター 白根 英治・・・85
17. 木くずチップを副資材とした乳用牛ふんの堆肥処理技術
畜産試験場 吉田 周司・・・93
18. スキャニングスコープを利用した種雄牛選抜法の検討
畜産試験場 安部 行倫・・・96
19. 少数胚培養におけるコンディションド・メEDIUM活用による
ウシ胚生産改善効果
畜産試験場 梅木 英伸・・・102
20. 耕畜連携による飼料用イネ増産のための取り組み
東国東地方振興局農業振興普及センター 宮木 隆裕・・・111
21. 飼料用トウモロコシの生態的雑草防除試験
(飼料カブの雑草防除効果について)
畜産試験場 吉田 穰治・・・116

※ No.9の演題について、九州ブロック業績発表会では第2部で発表。

1. 大規模酪農場における初乳・移行乳給与法の改善

玖珠家畜保健衛生所

○ 木本裕嗣・菅 正和

出川藍子・内田雅春

はじめに

管内の大規模酪農場に於いて、子牛下痢が多発すると臨床獣医からの依頼を受け病性鑑定を行ったところ、下痢に関与すると考えられる細菌、寄生虫等は検出されなかった。このため、子牛の飼養管理状況等の確認を行いその結果若干の知見を得たので報告する。

【下痢発生状況と病性鑑定結果】

当該農場は、搾乳牛を1600頭飼養する大規模酪農場で、ドナー用の黒毛和種繁殖牛も140頭飼養している。ET産子である、黒毛和種並びにF1、ホルスタインとも、子牛はハッチで飼養されている。黒毛和種については、原則2週間乾乳牛舎横に設置されたハッチで飼養され、隣接する育成枠で哺乳ロボットにより3か月飼養された後、和牛舎へ移動する。F1とホルスタイン子牛は原則1週間、成牛舎と乾乳牛舎の通路に設置されたハッチで飼養され、2ヶ月間別棟の育成舎で哺乳ロボットにて育成される。また、ハッチ飼養後哺乳ロボットに移され、調子の悪くなった個体についてはハッチに戻され、個別管理が実施されていた。

当初検査依頼個体の状況について表1に示した。検体番号1から7については4頭が和牛、3頭がF1で、生後4～9日で水様の下痢を呈し、若干の発熱を認めるものもあった。検体番号8～11については、哺乳ロボットに移された後、発育が悪く、ハッチに戻され個別管理されていた。和牛2頭とホルスタイン・F1がそれぞれ1頭、発症日は不明で発育が著しく悪かった。検体番号に※印を付けている6頭について、糞便検査を実施した。

糞便検査は、ロタウイルス、サルモネラ、線虫、コクシジウム、クリプトスポリジウムについては、全て陰性だった。また、大腸菌数は $2 \times 10^6 \sim 5 \times 10^8$ で、この分離大腸菌に対してK99、987p、F41、eae、LT、STの検査を実施し、全て検出されなかった（表2）。そこで、飼養管理に問題がないか調査を行った。

表1 当初検査依頼個体状況

検体番号	牛種	種別	生年月日	採材時年齢	発症日	発症時年齢	糞便の状態	その他
1	S423	和牛	9. 3	11	9. 10	7	黄色粘液含む	
※2	S425	和牛	9. 5	9	9. 11	6	黄土色水様	
※3	S426	和牛	9. 5	9	9. 12	7	黄白色水様	発酵臭
※4	S427	和牛	9. 10	4	9. 14	4	黄白色水様	
※5	8488	F1	9. 6	8	不明		黄土色水様	少量鮮血含む
6	3612	F1	9. 5	9	不明		黄白色水様	食欲低下
7	3615	F1	9. 5	9	9. 14	9	黄白色水様	
8	S404	和牛	8. 12	33	不明		正常	元気あり・剛瘦
9	8399	F1	8. 11	34	不明		未消化飼料	剛瘦
※10	G189	H	7. 25	51	不明		黄白色水様	剛瘦
※11	S399	和牛	4. 29	139	不明		緑色水様	食欲なし

※糞便検査実施

表2 糞便検査結果

検査項目	検査方法	結果
ロタウイルス	ラテックス凝集反応	陰性
サルモネラ	ハーナー・トラチオン培地 /ホビオン加DHL	陰性
線虫・コクシジウム	浮遊法	陰性
クリプトスポリジウム	シヨ腫液浮遊法	陰性
分離大腸菌		
K99, 987p	凝集反応	陰性
F41・eAe・LT・ST	PCR	陰性
大腸菌数	2 5×10^8 3 2×10^8 4 1×10^8	5 1×10^8 10 8×10^7 11 4×10^8

【飼養管理状況】

出生子牛は、すぐに親から離し、和牛・ホルスタイン・F1ともに初乳3L～4Lを胃カテーテルで強制的に給与する。その1日半後から 1.5Lを、日に2回、生後1週間目まで給与し、乳牛については哺乳ロボットへ移動、和牛については続く1週間を1日3回哺乳し、生後2週間目に、哺乳ロボットへ移動する。ハッチでの保育には、分娩後2回目以降に搾乳された出荷できない乳汁(以下、移行乳)が与えられていた。移行乳は朝・夕2回バケットにて搾乳され、2～3頭分が 18L 入りのポリタンクへ移され一旦冷蔵される。そして夕方搾乳されたものは翌朝、朝搾乳されたものはその夕方に図1に示す手順で給与される。

この移行乳の、給与前の細菌検査を実施したところ、検査を実施した3検体全てに 10^6 オーダーの大腸菌を検出し、総菌数については 10^9 に達していた。容器は使用後お湯ですすぎ次亜塩素酸ソーダ液で洗浄し、アストップに1時間浸漬されるため、保存中の増菌を疑った。そこで、搾乳された移行乳の保存中の温度変化と大腸菌数を測定したところ、搾乳後約13時間までに、温度は 35°C から 16°C 前後に徐々に低下し、その間に大腸菌数が増加し最終で $9 \times 10^5 \sim 4 \times 10^6$ 乗にまで増菌されていた(図2)。冷蔵庫によるゆっくりとした冷却では増菌抑制に効果がないため、移行乳の冷却方法の改善を試みた。

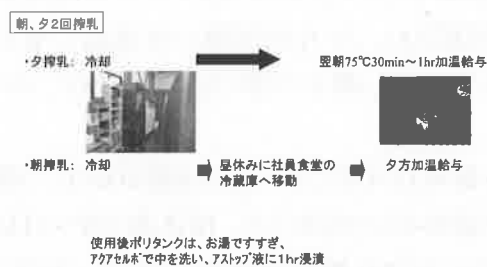


図1 子牛に給与する初乳・移行乳の給与手順

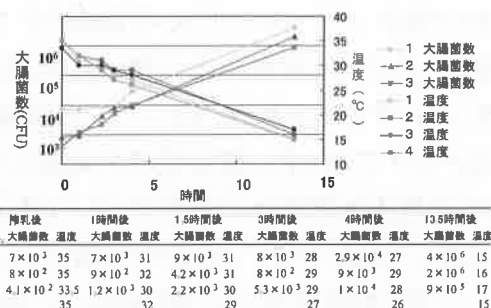


図2 時間経過に伴う移行乳の保管中の温度と大腸菌数の変化

【移行乳採取手順の改善と初乳中 IgG 濃度の確認】

移行乳搾乳の際も、通常の搾乳と同様パイプラインを通しチラーで前冷却、パイプラインの途中をはずして採取、冷蔵庫で保管するよう変更した(図3)。その結果、採取時の温度は 10°C まで冷却され、約半日経った給与前も、大腸菌数は 1×10^2 前後に抑えることができた(表3)。

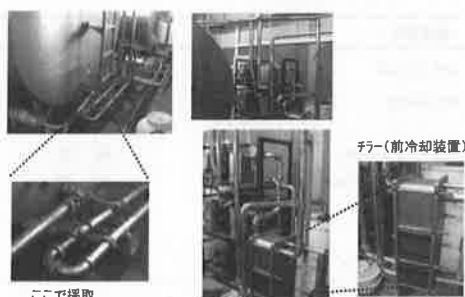


図3 移行乳搾乳後の前冷却の実施

表3 前冷却実施後の大腸菌数と温度

採材日時	大腸菌数(CFU)	温度($^{\circ}\text{C}$)
10/23 16:50 (前冷却後)	50	11
10/24 6:40 (給与前)	1×10^2	8
10/25 16:00 (給与前)	1.2×10^2	7

次に、新生子牛の疾病感染予防に重要な免疫グロブリンが、給与初乳中に十分含まれている

か確認を行った。IgG測定は、ウシIgG定量キットを用いた。その結果、初産牛12頭で平均 71.23 mg/ml、経産牛で 68.89mg/ml と産歴に関わらずそのIgG濃度は良好であると思われた(表4)。ただし、5.6 mg/ml と極端に少ないものを認めたため、そのスクリーニング法として屈折糖度計を用いた測定の検討を行った。

IgG測定は、従来比重計で測定されているが、折れやすく取り扱いが困難であり、非常に粘稠な初乳を測定した後の洗浄は注意を要する。屈折糖度計は、数滴の乳汁を測定面に滴下するだけで数秒で測定することができる(図4)。そこで、初乳40検体の IgG 濃度と屈折糖度計の測定値(以下 Brix 値)を比較した。その結果、IgG 濃度と Brix 値は良好な正の相関を示した。Fleenor,W.A らは給与初乳の適正基準として、IgG 濃度 21.8mg/ml 以下を不良、21.9 ~ 49.7mg/ml を普通、49.8mg/ml 以上を良好としており、この基準と今回の測定結果から、Brix 値18%未満を不良、18%~22%を普通、22%以上を良好とした(図5)。Brix 値によって、普通以上の初乳を給与する場合、適正であるにもかかわらず3検体が不良とされたが、不適正である初乳のスクリーニング法としては簡易で適すと思われた。

表4 初乳中IgG濃度

		初産牛 (n=12)	経産牛 (n=28)
IgG濃度 (mg/ml)	測定値	30.8	5.6
	～	135.2	133.6
	平均値	71.23	68.89
	SD	±28.86	±29.24

IgG濃度測定:

一元放射免疫拡散法(SRID法)
ウシIgGプレート(株式会社 妙ネリックエコシステム研究所)
生食にて40倍希釈して測定

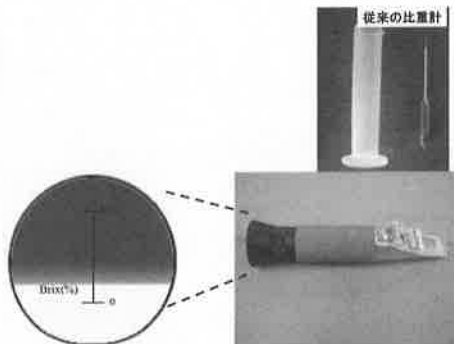


図4 屈折糖度計によるIgG測定

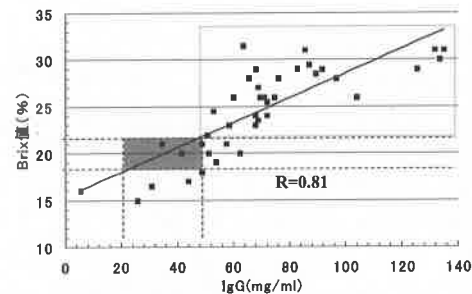


図5 屈折糖度計によるIgG測定値

担当者の記録ノートのデータから、ハッチにおける下痢発生率の推移を示した。検査依頼時には20%前後で推移していた下痢発生率は、前冷却実施後は、10%前後で推移していたが、10月終わりにはロタウイルスによる下痢が発生したため、再び20%台の発生率を認めその後低下している。

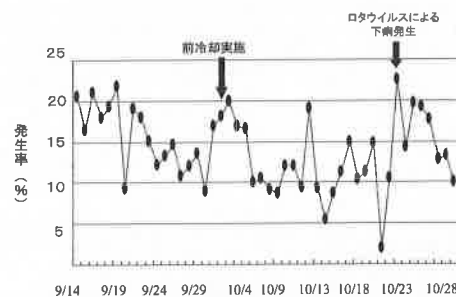


図6 ハッチにおける下痢発生率

【まとめ】

当該農場において、下痢発生の原因解明の依頼を受けたが、ウイルス・細菌・寄生虫の関与は認められなかった。移行乳を含めた廃棄乳を子牛育成に利用する場合、保存中の乳汁中細菌の増殖、それに伴う事故の発生が指摘されている。当該農場においてもこれを下痢の一因として疑い、移行乳もチラーを通して前冷却してから冷蔵保存するよう変更した。これにより給与時の移行乳の大腸菌数は減少し、子牛の下痢も減少傾向にあるが、現在も発生が継続している。ただ

し、今回データは示すことができなかったが、下痢がこじれたことが原因と思われる発育不良個体が現在ほとんど認められなくなっている。また、屈折糖度計による初乳中IgG濃度の測定は簡易であり、農場での良質な初乳給与に有効であると思われた。現在 F1・ホルスタインについては下痢は発生しても、元気よく毛つやもあり状態は改善されている。ただし、黒毛和種については継続する下痢を認める個体があり、給餌法について検討をしている。今後も継続的に衛生検査を実施し、同時に給餌法の改善を含め、下痢発生率の低下を目指す。

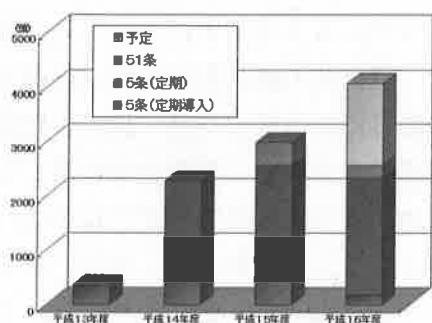
2. 『採血管マガジン』を用いた、フリーストール牛舎での採血方法の効率化

玖珠家畜保健衛生所

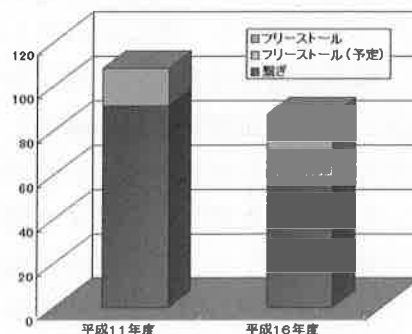
○長岡 健朗、渡邊 直人、神田 浩

【はじめに】

近年、県内外で、ヨーネ病の発生が増えており、そのため、その予防、蔓延化防止、さらに清浄化のための検査の必要性が高まって来ている。当家保でのヨーネ病血清検査の検査頭数も、平成13年度には362頭だったものが、平成16年度では2568頭（9月末現在）と著しく増加している（グラフ1）。一方、乳牛の飼養形態も変化して来っており、フリーストール型の飼養形態が増加している。平成11年度では管内酪農108農場の内、フリーストール型の飼養形態は17農場だけ（15.6%）だったが、平成16年度では87農場中23農場（26.4%）と増加しており、さらに5件がフリーストール型の飼養形態に変更の予定である（グラフ2）。フリーストール型農場での採血は、敷き料の敷かれた牛舎内で作業するため、採血管等を置いた台（一輪車等）を容易に移動できない、牛を一度開放すると牛の番号等を確認できないと言った特徴がある。図1には、従来行っていた、フリーストール牛舎での、一般的な採血作業の概略を示した。スタンションで繋いだ牛の頭側では、耳票番号記入者が、耳票の読み取りを行い、また、牛が嫌がり、採血が困難であるときに備え、農場関係者がその近くで待機している。牛舎内には、一輪車等の上に採血管置き場を設け、1から2名の採血者がそこで自ら採血管を準備して、採血を行う。さらに一輪車の側には離れた牛による台の転倒等を防ぐため、器材管理のための補助者が一人必要である。この方法では、採血者が長い距離移動しなくてはならず、それが時間のロスの大きな要因になっていた。また、このように移動距離が長い場合、どこに戻れば良いかが分からなくなることがしばしばあり、そのために番号の確認をする必要があった。特に、2名以上で採血する際は、動線が交差するため、しばしばそのような問題が生じ、そのたびに番号の確認が必要となっていた。そのため、採血者と耳票番号記入者は常に、一緒にいる必要があった（図2）。今回、我々は、ここにまとめたような従来法の問題点をふまえ、いかにすれば、採血者が最大限に有効に動けるようになるかを視野に、採血方法の改善を行った。また、改善に当たっては、せつかく、効率的に採血ができるようになっても、正確性が低下したのでは意味がないので、その点も十分に考慮した。



グラフ1 当家保におけるヨーネ病検査頭数(抗体検査)の推移



グラフ2 当家保管内酪農農場の使用形態の推移

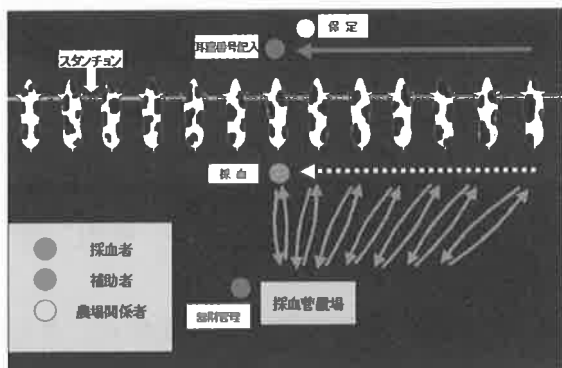


図 1 従来の検査法 I

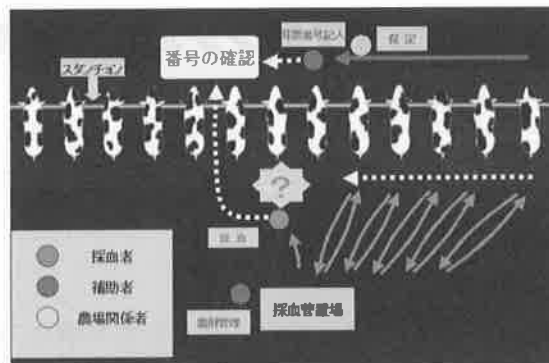


図 2 従来の検査法 II

【採血法の改善】

まず、採血者がいちいち採血管を取りに採血管置き場に行かなくても良いように、採血管を腰に巻き付ける『採血管マガジン』を作成した。『マガジン』という言葉は銃やカメラに取り付ける銃弾やフィルムを貯めておく容器のことであり、それらとの機能的類似性から採血管マガジンと名付けた。これは、従来用いていたウエストポーチに10本の50mlの遠心管を固定したもので、写真のように、針をつけた採血管を逆さにして、各遠心管の中に入れ、移動するようにしたものである(図3)。図4に、この、『採血管マガジン』による、新しい採血時の動きを示した。最初に、スタンションに並んだ牛に対して10頭ごとにスプレーによるマーキングを行う。『採血管マガジン』により採血管を10本ずつ持った各採血者は、マーキングのある牛から順に10頭の採血を行う。このことにより、1頭を採血して、次に移動するのは、ほんの少しの距離となり、移動による時間のロスもなく、また、移動時に牛が分からなくなるといった問題も生じなくなった。従って、耳票番号記入者も、常に採血者の近くにいる必要がなくなり、採血の進行状況に関わりなく、記入作業を進めていくことができるようになった(図4)。この方法では、採血者は、採血が終わると、自分で採血管の交換や針の付け替えを行う必要がある。採血自体に要する時間に対して、針の付け替え等に要するを調べるため、実際の現場で10頭ずつの採血および針の付け替えを行いそれぞれに要する時間を測定した。3回の試行での平均値は採血が2分13秒(範囲:2分4秒~2分25秒)針の付け替えが2分14秒(範囲:2分1秒~2分19秒)であった。このことから、採血者が自ら採血管の交換や針の付け替えを行っていても、約半分の時間しか採血に利用できていないということが分かった。この問題を解決するため、着脱式マガジンを試作した。図5はそのプロトタイプで、遠心管10本を布製ガムテープで固定し、そこから出した針金製のフックでウエストポーチに引っかけて固定している。図6にはこの着脱式マガジンを利用したときの、採血時の動きを示した。以前と変わった点は、単に採血管置き場の番をしてもらっていた補助者に採血管の交換・針の付け替えをしてもらうようにしたこと、これにより、採血者は採血に専念でき、作業効率が著しく向上した。しかし、このプロトタイプは、ウエスト・ポーチに引っかけているだけなので、写真1のようにずれやすく、そのため採血管が脱落しやすいという欠点があった。また、材質も布製ガムテープなので、耐久性に問題があり、洗濯もできず、体裁も今ひとつであった。そこで、改良型の着脱式マガジンを作成した。遠心管は、ナイロン繊維性ベルトをリベットで止めて作った輪の中に入れて固定するようにした。そして、そのナイロン繊維性ベルトの両端にバックルを付けて、腰に巻いた太いベルトのバックルと固定するようにした。この新マガジンで

は、遠心管をつけたベルトは、両端から引っ張られる形になるので、緩むことがなくなり、採血管は落ちるといったような問題もほとんどなくなった。また、耐久性にも問題はなく、洗濯・消毒も可能となり、体裁も改善された。また、着脱もバックルでワンタッチできるので、ベルトの交換がスムーズになった（図7）。

図8にはこれらの改善による採血時間の短縮時間を先の試行のデータをもとにしてモデル化してグラフに表したもので、改善前と比べて1/3程度に時間が短縮されていることがわかる。

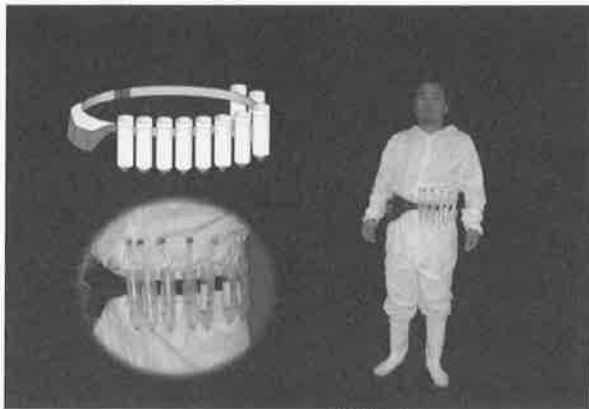


図 3 固定式採血管マガジン

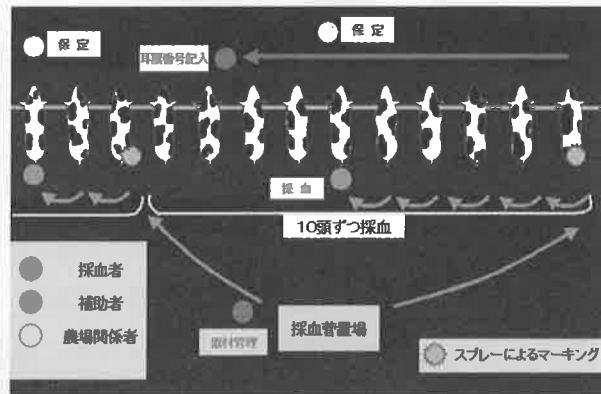


図 4 固定式採血管マガジンを用いた改善検査法

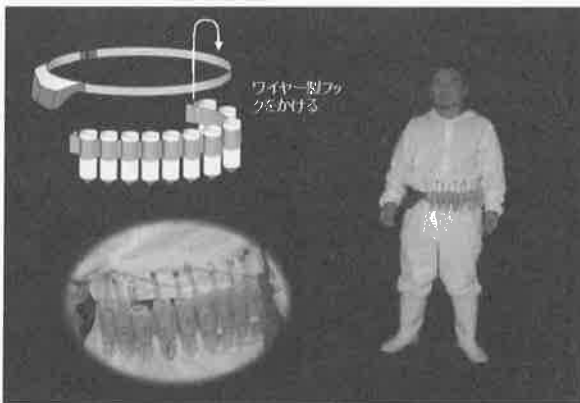


図 5 着脱式採血管マガジン(プロトタイプ)

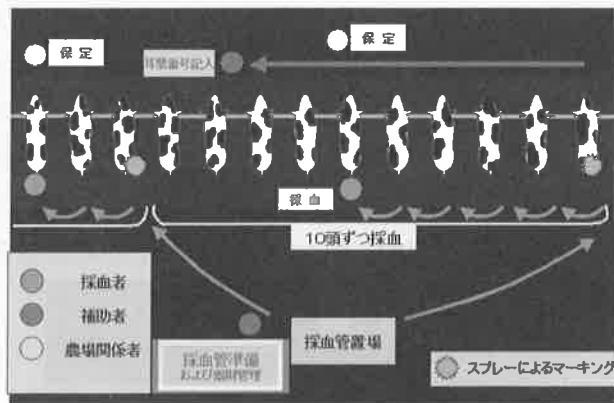


図 6 脱着式採血管マガジンを用いた改善検査法



写真 1 プロトタイプ欠点

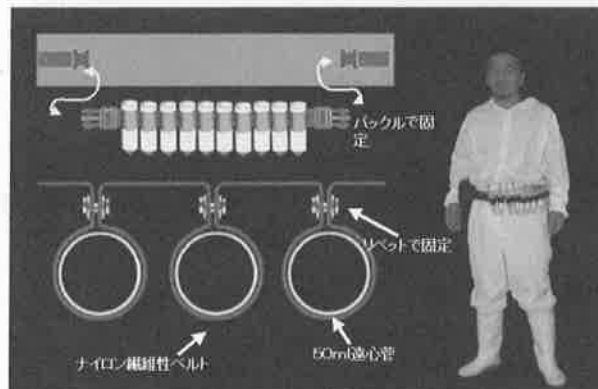
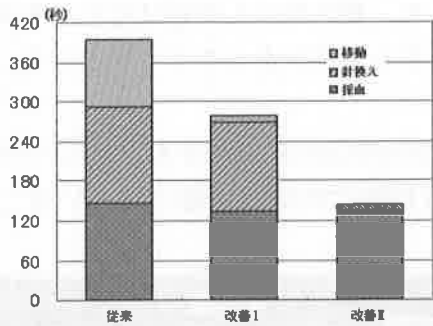


図 7 着脱式採血管マガジン



・針換え、採血時間は30回試行した平均値を用いた。
 ただし、従来法では連続して行われず、不効率になる分、1割増とした。
 ・移動時間は採血管置き場から牛まで、片道6秒とした。

図 8 改善による時間短縮(モデル)

【牛体マーキングの改善】

採血管マガジンを用いて採血を行う際、当初は10頭毎にスプレーによるマーキングを行っていた。しかし、この方法では、耳票記入後、採血前に牛がスタンションから離れた場合や、空いたスタンションに新たに牛が入った場合、問題が生じた。単に、牛が抜けた場合や、新たに入った場合では、採血者が10頭採血を終えた時点で気づくが、もし、途中で牛が入れ替わったりしていたら、台帳に記録された牛と異なった牛を採血する可能性もある。このような問題を解決するために、牛1頭1頭にマーカー・スティックで検体番号の下2桁を記入することにした。マーカー・スティックを使用するにあたって、5色(デラバル社製緑、LA-CO社TWIST-STIK黄色、橙色、蛍光緑、蛍光ピンク)を牛の白および黒い部分に塗って、その視認性を比較したところ、LA-CO社TWIST-STIK橙色が最も優れていたため、これを採用することとした。写真2に示したように左臀部に番号を記入した。この部位に記入すると、番号記入者側からも番号がよく見え、検体番号を確認しながら耳票番号を記入することができた(写真3)。

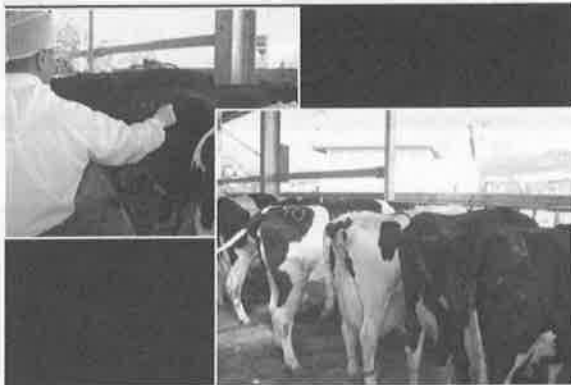


写真 2 TWIST-STIKによる番号付け



写真 3 耳票記入者側から見た番号

【採血管ラベルの改善】

着脱式採血管マガジンを用いた採血では、採血管の交換・針の付け替えを家保職員以外の補助者にやってもらうため、採血管の取り間違い等のチェックは家保職員が責任を持って行う必要がある。これを容易に行うため、採血管の番号をカラー化した。写真4に検体番号を打ち出すエクセルの画面を示した。検査当日の最初の検体番号を入力すると、自動的に連番になるので、以前の手書きの時と違って、番号とばしのようなミスもなくなった。これを紙ラベル用紙に印

刷し、写真5に示したようにカッターナイフで縦線に軽く切れ目を入れ、横線をディスクカッターで裁断し、短冊状にしたものを採血管に貼り付ける。この方法だと、手書きと比較して、2～30%作業時間が増えるが、手書きのような、個人による差がなく、視認性が向上した(図9)。ラベルの色は白に始まり、虹のような、波長の短い順に紫から赤、さらに、黒の8色とした。このようにイメージしやすい順に色づけすることで、採血管の準備を行う補助者が誤って、採血管を逆順にマガジン内に入れるといった間違いがあっても、すぐに発見できるようになった。

採血後、検査室に持ち帰られた採血管は遠心分離され、血清は保存用の96ウェルのマイクロプレートに移し替えられる。その際、採血管の取り違いを防ぐため、マイクロプレートの配列にあわせて採血管を8列に並び替えている。今回カラー化した検体番号のラベルは8色なので、並び替えたとき、列ごとにラベルの色が同じになる。従って、遠心分離時に、試験管の順序が入れ替わるようなことがあっても容易に発見できるようになった(図10)。

着脱式マガジンの作成法を利用して、採糞チューブマガジンも作成した。ただし、採糞用のチューブをスタンドにたてる作業はあまり時間がかからないので、採糞者自らが行うため、着脱式にはしていない。その代わりに、ポリテホルダー、手指潤滑用スプレー、使用済みポリテ入れを装着した(図11)。



写真 4 番号ラベル打ち出し用パソコン画面

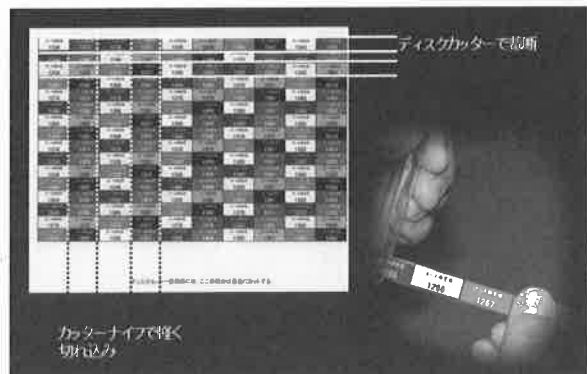


図 9 カラー検体番号ラベルの添付

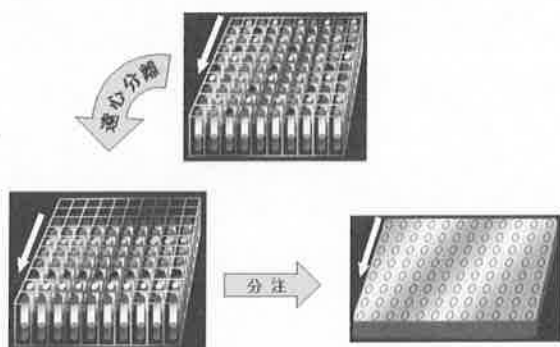


図 10 採血後の血清の並び替え

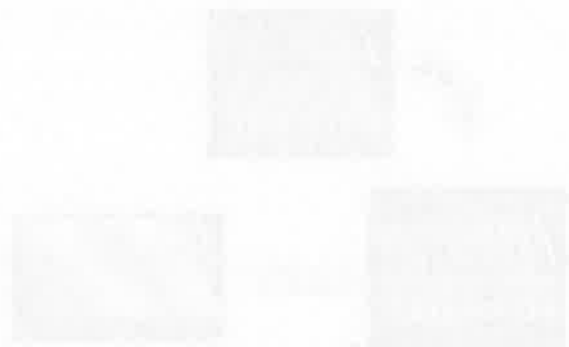
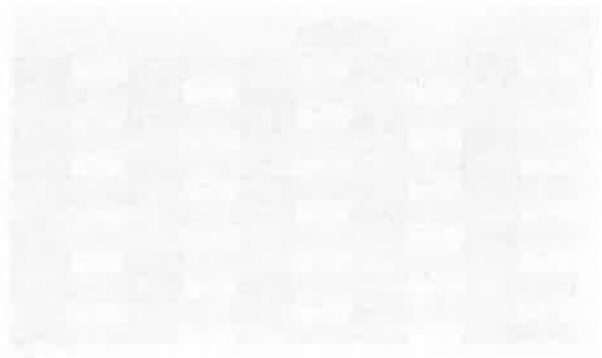


図 11 着脱式採血管マガジン(プロトタイプ)

【まとめ】

今回の一連の改善により、採血作業、特にフリースタイル牛舎での採血作業が非常に効率的に行えるようになり、また、検体取り違い等の、ミスも最小限にできたものと考えられた。

本年度のヨーネ病定期検査（検査頭数 2,123 頭）も、関係者の協力と今回の改善により、他課の援助を借りることなしに、延べ18日で終了することができた。農家の都合等で、急な予定変更が会った日を除いた一般的な検査日での、1日あたり平均検査頭数は163頭であり、ほとんどの日で午前中のみで作業を終了することができた。



3. プロバイオティクス主体による牛サルモネラ症の対策

宇佐家畜保健衛生所

○森 学 河野宣彦 吉田秀幸

中西年治 吉森治平太

【はじめに】

プロバイオティクスとはアンチバイオティクスつまり抗生物質に対比される用語で、腸内細菌叢のコントロールをとおして宿主に有益な影響をもたらす生きた菌、つまり善玉菌のことを意味する。耐性菌の出現に伴い抗生物質の適正使用が叫ばれているなか、プロバイオティクスは疾病予防の面において期待が高まっている。

著者らは平成15年度の当集録において、「牛サルモネラ症に対するプロバイオティクスを主体とした衛生対策の有用性」について報告した。当該農家において、その後も対策や検査を継続して、良好な成績を得たので報告する。

【発生状況】

当該農家は超早期母子分離を実施している成牛58頭規模の肉用牛繁殖経営である。2003年7月、子牛舎の子牛が軟便や下痢そして血便を呈し、23頭中10頭（43.5%）より *Salmonella* Dublin（以下SD）が分離され、鑑定殺の結果とあわせSDによる牛サルモネラ症と診断した（表1）。

表1. 発生状況

農場の概要	
超早期母子分離(3日齢で離乳)	
成牛58頭・子牛24頭(2003年7月)	
肉用牛繁殖経営	
発生経過	
2003年7月、子牛舎の子牛が軟便・下痢・血便を呈する	
病性鑑定	} <i>Salmonella</i> Dublin(SD)を分離
23頭中10頭(43.5%)	
鑑定殺した子牛1頭	
⇒ SDによる牛サルモネラ症と診断	

【衛生対策】

発生を受け、各種検査の実施、出生子牛の子牛舎への移動禁止、抗菌性物質の子牛全頭投与、対策会議、畜舎消毒等、まず従来型の衛生対策を実施した（表2）。

表2. 衛生対策

発生以降	
各種検査の実施	
出生子牛の子牛舎への移動禁止	
7月24日～28日	
抗菌性物質の子牛全頭投与	
8月1日	
対策会議の開催	
8月7日	
畜舎消毒の実施	
→ まず従来型の衛生対策を実施	

【プロバイオティクス主体による衛生対策】

従来型の対策に加え、牛群としての状態改善をはかるため、図1に示すとおり土壌微生物・混合飼料いわゆるプロバイオティクスを主体とした予防的な衛生対策を実施することとした。まず、子牛だけでなく成牛全頭にも、また一時的でなく一生涯プロバイオティクスを投与することとした。牛サルモネラ症だけでなく、子牛にとって重要な損耗性疾病で

ある寄生虫感染症の対策として、コクシジウムおよび乳頭糞線虫の予防的駆虫もあわせて実施した。なお予防的駆虫は平成12年度から14年度に県単事業として実施した寄生虫性疾病発生予防緊急対策事業で策定した寄生虫駆除マニュアルに基づいている（図2）。

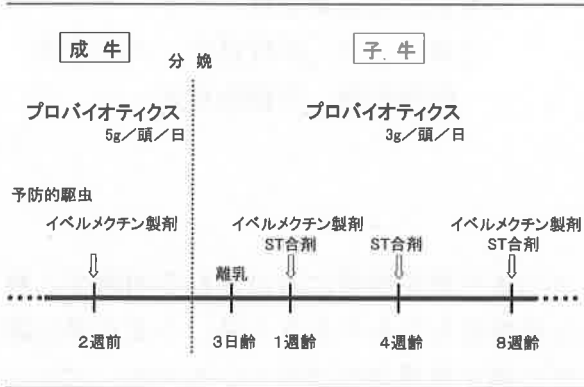


図1. プロバイオティクス主体による対策

寄生虫性疾病発生予防緊急対策事業(H12~14年度・県単)
「寄生虫駆除マニュアル」



図2. 予防的駆虫

【材料および方法】

対策以降の子牛舎全頭の糞便検査は、2003年7月から2004年3月の8回、合計246検体について実施した。市場出荷子牛は、2003年8月から2004年4月の市場まで、出荷前4週連続で、26頭延べ104検体について実施した（表3）。

そして、SD分離、コクシジウム・オーシストおよび線虫卵の検出、糞便性状の肉眼的検査を表4に示す方法のとおり実施した。

表3. 糞便検査

子牛舎全頭の検査(対策以降)		市場出荷子牛の検査	
2003年	7月31日 22頭 ①	2003年	8月 4頭
	8月11日 22頭 ②		10月 4頭
	8月18日 22頭 ③		12月 5頭
	9月 1日 22頭 ④	2004年	2月 5頭
	9月24日 33頭 ⑤		4月 8頭
	11月10日 37頭 ⑥		
2004年	1月13日 43頭 ⑦		
	3月 9日 45頭 ⑧		
	246検体		市場出荷前・4週連続
			26頭×4回= 104検体

表4. 方法

SD分離
増菌: ハーナテトラチオン酸塩培地
37°C24時間培養、遅延二次培養
分離: ノボピオシン加DHL寒天培地、XLT4寒天培地
37°C24時間培養
同定: 血清型別
コクシジウム・オーシストおよび線虫卵の検出
ウイスコンシン変法
糞便性状の肉眼的検査
糞便性状のスコア化
1: 正常便 2: 軟便 3: 水様便 スコア=合計/頭数

【結果】

SDは発生時に43.5%で分離されていたが、対策以降8回の全頭検査においては一度も分離されていない。（図3）

寄生虫の検査は対策後3回目から6回目について実施した。コクシジウム・オーシストは、検出率、OPGともに低下した。線虫卵は、検出率、EPGともに低下したが、5回目の検査においては全頭から検出されていない。正確な

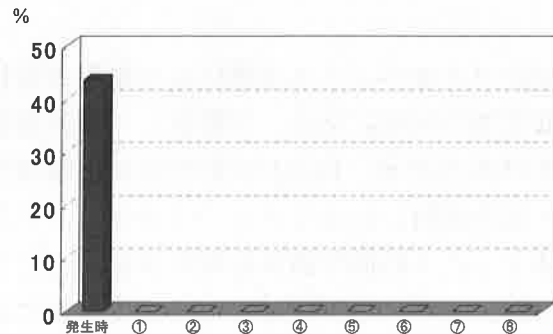


図3. 結果(1): SD分離

データは取っていないが、発生時と対策直後はコクシジウム・オーシストおよび線虫卵の検出率、OPG、EPGいずれも高値であったが、先に述べたとおり問題のない程度まで低下した。(図4、図5)

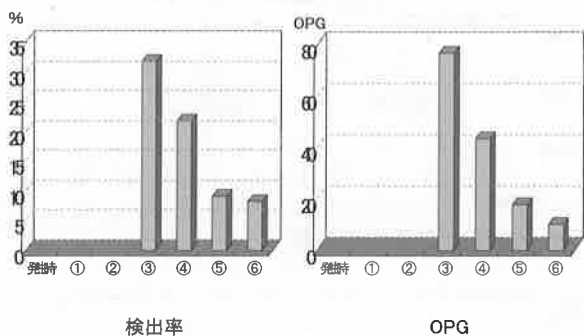


図4. 結果(2):コクシジウム・オーシスト

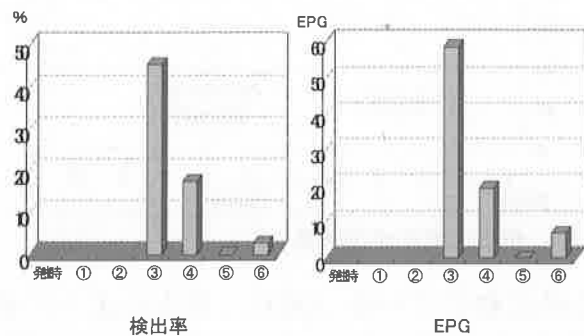


図5. 結果(3):線虫卵

途中で対策を投げ出さないよう、効果を目に見えるかたちで確実に農家へ説明するため、糞便性状をスコア化してデータをとった。スコアが1に近づけば正常に向いつつある。約半年の期間をかけて改善されており、徐々に効果が認められた点においてはプロバイオティクスの特徴がよく現れた結果と思われる。(図6)

市場出荷子牛は、全ての検査でSD陰性であり、この結果を受けて出荷を行った。なお2004年4月市場において、発生時に子牛舎にいた子牛全頭が出荷されたので、この時点においてSD蔓延防止のための検査を終了することとした。なお検査終了後も各種対策は引き続き実施中である。

以上が昨年に報告した検査結果の継続分である。

【子牛市場成績】

子牛市場成績は繁殖農家において通信簿的な位置づけでもあり、飼養管理等の客観的な評価をみることができる。そこで、こちらの面において対策の効果を確認するため、2003年から2004年までの子牛市場の各種データの解析を試みた。

横軸は年月、縦軸は各種データを示している。各市場ごとの平均値をプロットし、それをもとに近似曲線を求めた。左側の縦の点線は2003年の発生時を示しており、これよりプロバイオティクス主体による対策を実施している。右側の縦の点線は発生時子牛の最終出荷となった2004年4月市場を示している。

体重は、発生以降は減少したが、約半年後からは上昇に転じている(図7)。出荷日齢は、徐々に延長したが、一年以上経過した2004年の10月頃より短縮へと転じている(図8)。以上ふたつのデータより1日当たりの増体量(DG)を求めた。なお、出生時の体重を去勢30Kg、雌25Kgとしている。低下傾向を示していたが、約一年後つまり発生時子牛の最終出荷以降、

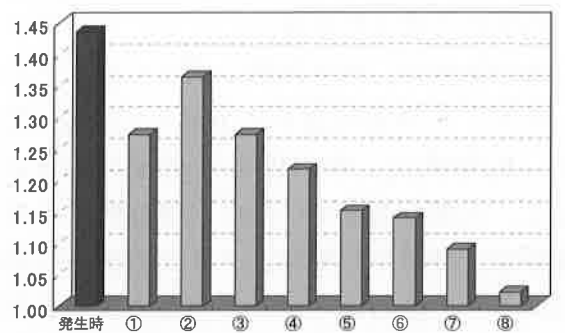


図6. 結果(4):糞便性状スコア

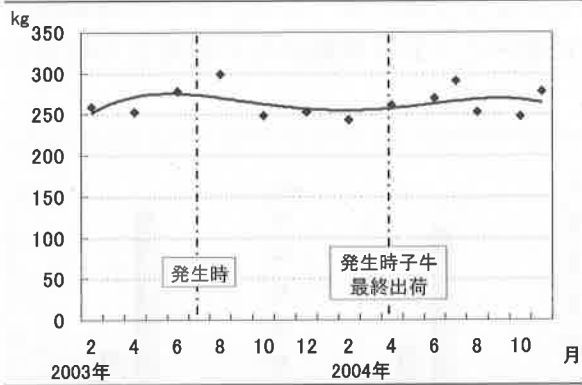


図7. 市場出荷子牛の体重

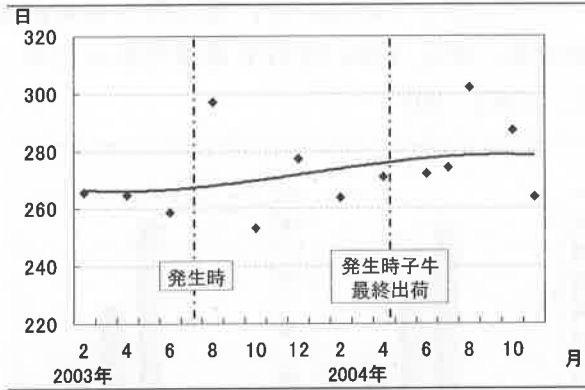


図8. 市場出荷子牛の日齢

上昇に転じている（図9）。以上のように発育面においては約半年から1年をかけて改善が見受けられている。先に示した糞便性状と同様に長い期間をかけて改善されおり、ともにプロバイオティクスの効果が徐々に現れているものと考えられる。

取引価格は、発生以降しばらくは低下していたが、その後は徐々に上昇している（図10）。Kg単価は、取引価格と同様の傾向を示した。去勢と雌子牛の割合、優良雌子牛の自家保留、種雄牛の種類、アメリカからの牛肉の輸入停止など、複数の因子が複雑に絡んでいるが、価格面においても改善傾向が見受けられた（図11）。

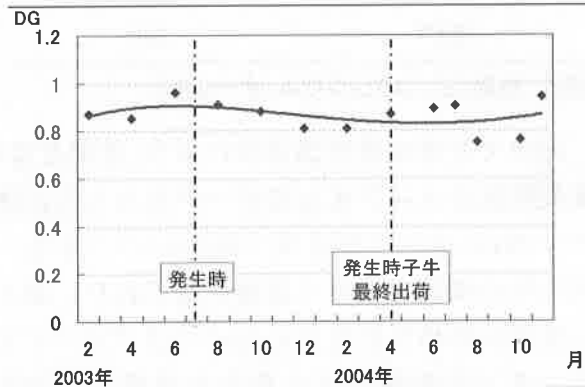


図9. 市場出荷子牛の1日当たり増体量(DG)

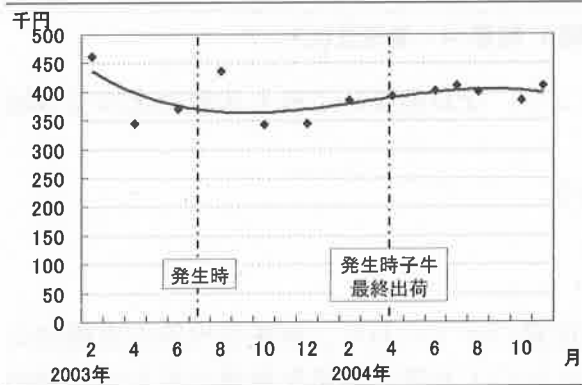


図10. 市場出荷子牛の価格

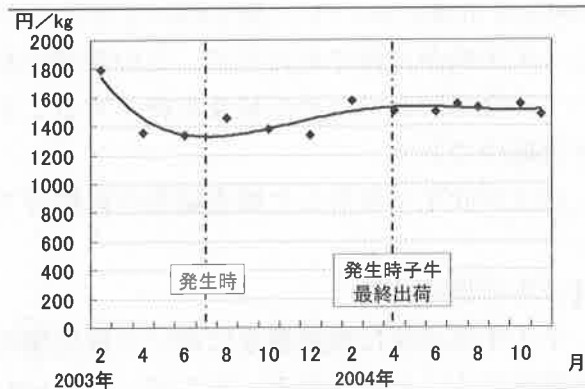


図11. 市場出荷子牛のkg単価

【年間衛生費】

年間衛生費を試算してみた。計算上、当該農家の常時飼養頭数を成牛60頭、子牛45頭、年間生産子牛を55頭としている。まずプロバイオティクスは、1日1頭あたり成牛は11.9円、子牛は7.1円であり、全頭について365日間投与すると、約37万円となる。子牛1頭の市場

価格よりやや安いコストとなっている。予防的駆虫は、約12万円となっている。両方あわせても約49万円のコストで、子牛1頭の市場価格よりやや高い程度である。当該農家では、牛サルモネラ症の集団発生時、回復の見込みのない子牛1頭を鑑定殺している。しかし、それ以降SDによる死亡事例はなく、また下痢を主調とした事故死も発生しておらず、子牛45頭規模から考えれば、この金額は決して高いものではないと思われる。

表5. 年間衛生費

常時飼養頭数:成牛60頭・子牛45頭		年間生産子牛:55頭
プロバイオティクス		
成牛	11.9円/日/頭 × 60頭 × 365日	≒ 260,600円
子牛	7.1円/日/頭 × 45頭 × 365日	≒ 116,600円
		合計 377,200円
予防的駆虫		
成牛	1,000円/頭 × 60頭	= 60,000円
子牛	1,100円/頭 × 55頭	= 60,500円
		合計 120,500円
		総計 497,700円

【考察】

牛サルモネラ症の従来型の対策に加え、プロバイオティクス投与および寄生虫の予防的駆虫といった牛群や他の疾病にも目を向けた対策を実施した。結果に示したとおり、各種改善が図られ早期にSD桿菌を抑え、また維持することができ、それにともない子牛の発育も改善傾向が見受けられた。また、プロバイオティクスの効果が現れるまで約数ヶ月から1年を要するため、早期に投げ出さず根気強い対策が重要と思われる。

【今後へ向けて】

現在、当該農家は県北地域において最も大規模な肉用牛繁殖農家である。また、増頭、「豊後牛飼い塾」への入塾、家畜人工授精師の免許取得、哺乳ロボットの導入、放牧地の造成、県内外からの視察の受け入れなど、非常に活気がある。今回、牛サルモネラ症の集団発生を経験し、当該農家の衛生意識、経営意識がさらに向上している。

今後、牛サルモネラ症対策という枠にとらわれず、衛生課の繁殖検診による生産性の向上、疾病予防のための飼養管理の徹底、企画課の育種改良の指導をさらに強化し、また本年度より実施している企画課の市場出荷子牛のビタミン検査による育成の指導、また農業振興普及センターと連携をとった経営面の指導など、多方面から指導を実施していきたいと思う。そして地域の中核農家へと導き、今後の畜産振興の見本になってもらうよう願っている。

4. 豊州牛群検定組合における2年目の取り組み

宇佐家畜保健衛生所

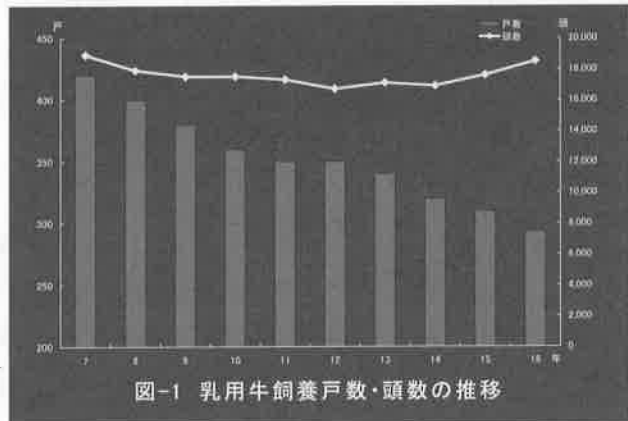
○河野宣彦 中西年治

【はじめに】

昨今の国内における相次ぐ家畜伝染病の発生に伴い、防疫の重要性が改めて認識されたところである。しかしながら、家畜保健衛生所の業務は動物薬事、飼料の安全性の確保、家畜排泄物法における指導勧告等多岐に渡っている。

このような情勢の中、本県の家畜保健衛生所は家畜改良、品評会などを通じた畜産振興にも取り組んでおり、また、当所では特に本年度の重点取り組み事項の一つである酪農の管理・指導について、全所的に取り組んでいる。

図-1 は本県の乳用牛における飼養戸数・頭数の推移を示したもので、棒グラフは戸数、折線は頭数を示している。高齢化等の影響で戸数は減少し続けているが、頭数はほぼ横ばいで推移している。このことは1戸当たりの頭数規模が拡大していることを意味しており、平成7年に1戸当たり45頭であったものが、平成16年には63頭まで拡大し、伝染病の発生

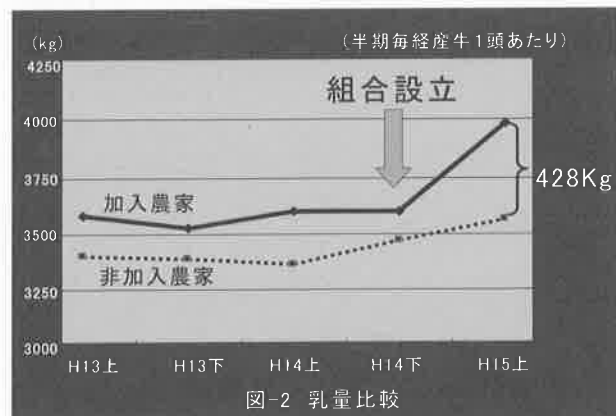


や蔓延防止の強化を徹底することがますます重要になってきている。この傾向は、他の畜種においても認められており、飼養戸数の減少に歯止めをかけるためには、生産性の向上による経営安定を図ることが緊急の課題となっている。

そこで、儲かる酪農経営を念頭においた取り組みを前年度から豊州牛群検定組合において行っているため、その概要を報告する。

【昨年度の取り組み】

図-2 は大分県酪宇佐支所管内の乳量を比較したグラフで、昨年度は、乳量のアップと体細胞数の減少を目標とした勉強会等を通じて搾乳方法の見直し等を行ったところ、加入農家と非加入農家の平均格差は、平成15年上半期で428kg認められ



るようになった。

図-3 は検定組合の 15 年 1 月以降の総乳量と 1 頭当たりの乳量をグラフにしたもので、棒グラフは月毎の総乳量、折線は 1 日 1 頭当たりの乳量を示している。総乳量 7,000kg 以上、個体乳 1 日 20kg を越えて推移している。

【本年度の取り組み】

また、平成 16 年度の新たな取り組みとして繁殖障害を軽減させ受胎率の向上、平均空胎日数の短縮を図ることを目標とした勉強会を開催し、組合員の意識改革を行っており、表-1 はその勉強会の内容の一部を示したものである。

検定組合員のなかで平成 16 年 4 月から新たに毎月巡回を開始した B 牧場の様子を示したもので、熱心に助言を聞いている姿が見られた。

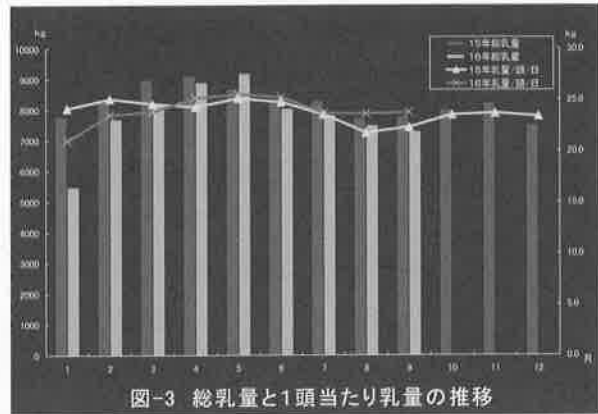


図-3 総乳量と1頭当たり乳量の推移

表-1 繁殖障害

発情がこない	主な原因	対策
1.発情の見落とし	大規模化 離乳の遅延 微弱発情	発情発見器による発見 早期の離乳 適切な運動・日光浴・削蹄
2.黄体遺残	餌の不足 飼料の急変	PGの注射 飼料の調整
3.弱胎確率	ビタミンA不足 木りすぎ・やせすぎ	ホルモン剤注射 ビタミンA投与 飼養管理の見直し

表-2 B牧場個体毎精密検査結果

No.	耳番号	種別	分娩日数	産次	母体体数	産次100%	産次100%	産次100%	産次100%	産次100%	産次100%	産次100%	産次100%	産次100%	産次100%	産次100%	産次100%	産次100%	検査 平成16年4月1日	
																			検査結果	検査結果
1	0001	010101	1	100	産期	010101	+	200	200	7.4	4.0	1.28	23.0	282	66	7.8				
2	0002	010101	1	400	産期	010101	+	200	200	7.7	3.7	2.83	18.7	176	66	8.1				
3	0010	010101	2	270	産期	010101	+	270	270	7.8	4.5	1.14	18.7	248	109	9.3				
4	0012	010101	4	341	産期	010101	+	341	341	7.6	3.7	1.88	18.4	234	75	8.8				
5	0018	010101	3	273	産期	010101	+	273	273	7.5	3.5	1.09	17.2	220	66	8.4				
6	0019	010101	4	11	産期	010101	+	11	11	8.2	3.1	1.73	9.1	66	125	8.2				
7	0016	010101	3	236	産期	010101	+	236	236	8.1	3.8	1.12	18.1	175	32	8.9				
8	0027	010101	2	228	産期	010101	+	228	228	7.6	3.1	1.90	17.6	237	59	8.7				
9	0023	010101	4	818	産期	010101	+	818	818	8.0	3.5	1.06	17.2	238	36	8.8				
10	0014	010101	3	70	産期	010101	+	70	70	7.0	3.3	1.26	23.0	260	81	9.0				
11	0025	010101	3	17	産期	010101	+	17	17	7.0	3.9	1.22	18.4	231	66	9.2				
12	0026	010101	4	772	産期	010101	+	772	772	8.5	3.8	1.23	22.5	202	118	8.8				
13	0022	010101	1	110	産期	010101	+	110	110	7.3	3.9	1.26	22.4	201	71	9.0				
14	0041	010101	1	110	産期	010101	+	110	110	8.5	3.7	1.22	18.0	16	59	8.4				
15	0042	010101	1	110	産期	010101	+	110	110	8.8	3.8	1.29	22.6	108	52	8.2				

表-2 はその B 牧場を 4 月に巡回した際に経産牛 15 頭の精密検査を行った結果を示したものであり、空胎期間が 200 日を越えた個体が鑑定待ち 1 頭を加えて 6 頭認められていた。

図-4 は平成 15 年 4 月以降の B 牧場の空胎日数の推移を示したもので、棒グラフは空胎日数が 60 日を越えている頭数を、折線は未受胎頭数を示している。本年 11 月の巡回時には 9 月時点で空胎であった 5 頭すべての受精を確認している。

また、7 月から 1 戸、11 月からは 2 戸と巡回する農家が順調に増えてきており、検定組合員の半数が定期的な巡回対象となった。

【濃密指導農家での取り組み】

次に検定組合員のうち 1 戸を選定し、プロバイオティクス投与による乳房炎対策の効果を検討したのでその概要を報告する。

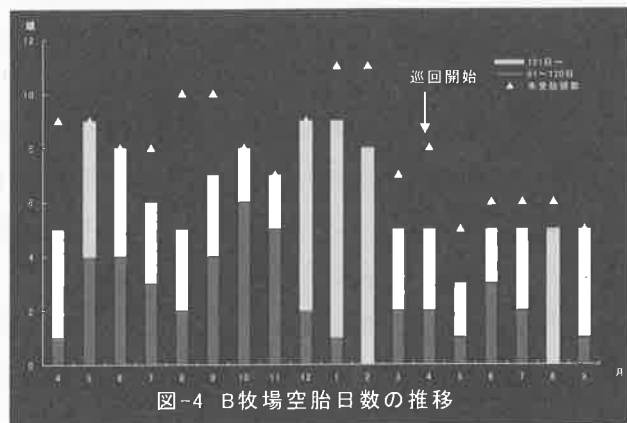


図-4 B牧場空胎日数の推移

対象とした A 牧場は、つなぎ飼いで経産牛 88 頭を兄弟 2 人で経営しており、搾乳手順については表-3 のとおりで、プレッティングや前絞り等は行っていない。また、個体乳検査で黄色ブドウ球菌が検出されても絞れるときは絞り、基本的に乾乳中も軟膏等の治療は行わないという方針であった。平成 15 年 9 月からこの牧場の牛全頭にプロバイオティクスを毎日投与してもらい、その効果を検討した。ただ、投与から 4 ヶ月後の平成 16 年 1 ~ 2 月において 1 ヶ月間ほど都合により投与休止期間があった。

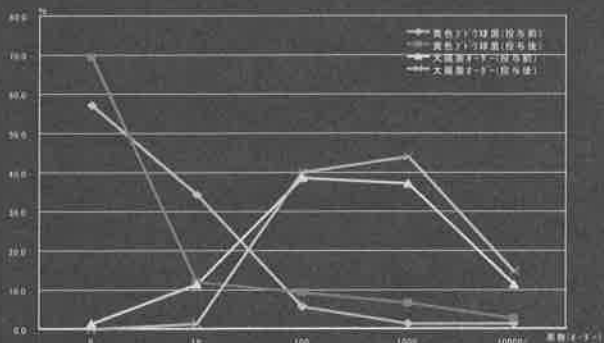
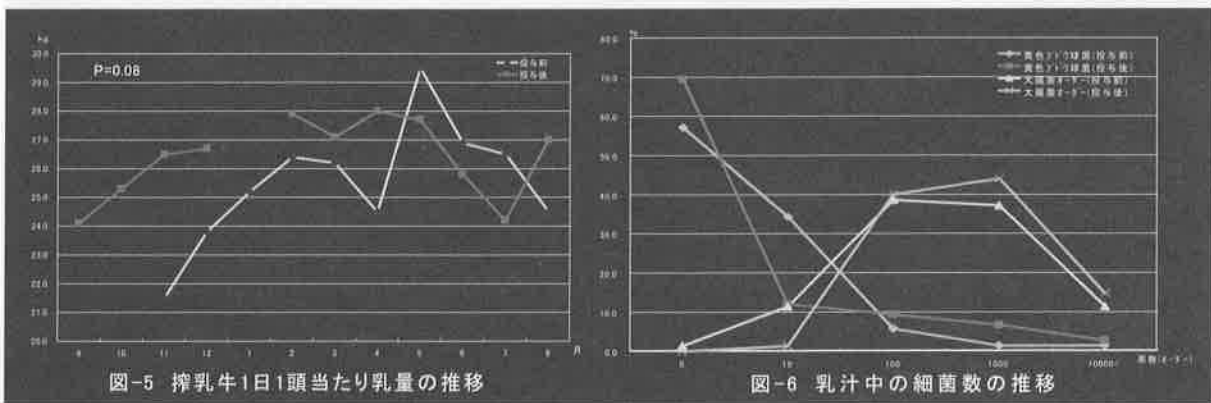
表-3 A牧場の概要

農場規模	経産牛 88 頭 搾乳牛 78 頭
作業従事者	2 名 (兄弟)
飼養形態	つなぎ飼い
搾乳手順	使い捨てタオルで前拭き ↓ ミルク装着 ~ 解脱 ↓ プレッシング

平成 15 年 9 月からプロバイオティクス投与

図-5 は投与前後の 1 頭当たりの乳量を月毎に比較したもので、黄色の折線は投与前の 1 年間、ピンクの折線は投与後の推移を示している。投与後の方が乳量が多い傾向にあった。

図-6 は個体毎の大腸菌数、黄色ブドウ球菌数を投与直前の平成 15 年 9 月と投与後 1 年を経過した平成 16 年 10 月で比較したもので、縦軸は割合を横軸は菌のオーダーを示している。



大腸菌については投与前後で差は認められなかったが、黄色ブドウ球菌は投与前に検出されなかった菌数 0 の個体が全体の 57.1%であったものが 69.3%まで増加しており、その中には投与前には検出されていたものが検出されなかった個体が 10 頭認められた。逆に投与前検出されなかった個体で投与後に検出された個体は 3 頭であった。

図-7 は A 牧場におけるプロバイオティクス投与後の子牛の微生物叢の経時的変化を比較したもので、縦軸は菌量を横軸は投与後から経過した月を示している。前述したとおり 4 ヶ月後の検査の直後から 1 ヶ月間ほど投与を休止していた期間があったわけであるが全体的に菌量が減少している傾向が認められた。

図-8 は搾乳牛における経時的変化を示したもので、子牛と違い、4 ヶ月、9 ヶ月で上昇する菌が多く認められた。

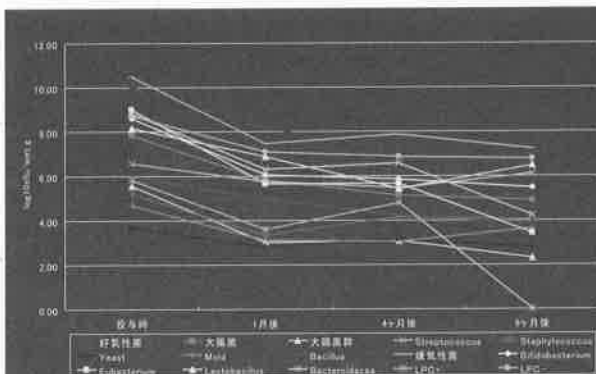


図-7 微生物叢の経時的変化(子牛)

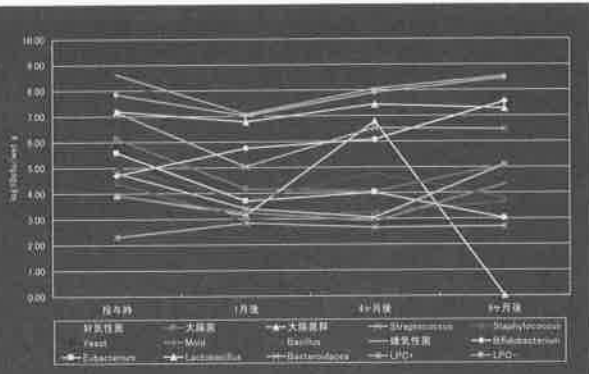


図-8 微生物叢の経時的変化(搾乳牛)

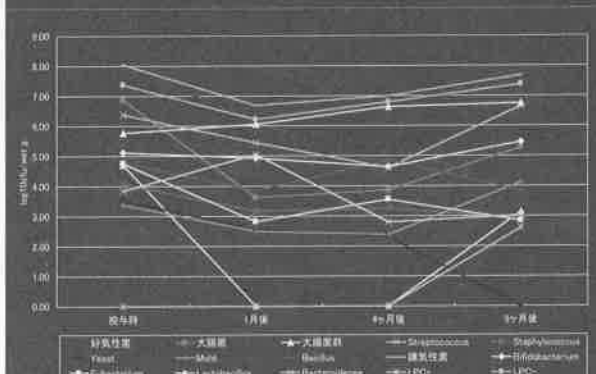


図-9 微生物叢の経時的変化(乾乳牛)

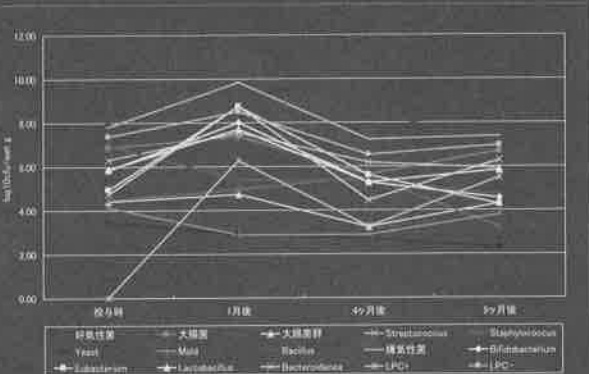


図-10 微生物叢の経時的変化(育成牛)

図-9 は乾乳牛の経時的変化を示したもので、搾乳牛と同様な傾向が認められた。

図-10 は育成牛の経時的変化を示したもので、投与 1 ヶ月後にほとんどの菌が増加しているが、その後は減少傾向にあった。

図-11 はすべてのステージにおける大腸菌の経時的変化を示したもので、投与を中断した期間がある 9 ヶ月後に子牛以外は菌量が増加した。

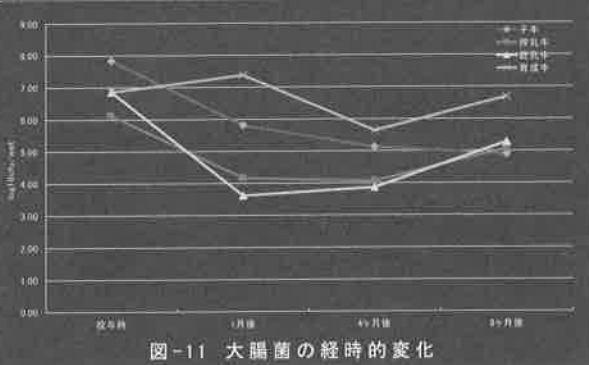


図-11 大腸菌の経時的変化

【まとめ及び考察】

平成 15 年度から検定組合の勉強会に農業振興普及センターと参画し少しづつ指導を重ねてきた結果、乳量は一定量まで増加した。しかし、その後は横ばいで推移していたため、常時 30kg を維持できるよう今後も引き続き指導を行っていきたいと思っている。

また、16 年度の繁殖障害の取り組みでは、巡回指導農家が 1 戸から 5 戸に増加しており、今後も繁殖障害の定期的検査の重要性を勉強会等を通じ指導することで、組合全体の繁殖成績の向上を図っていきたいと考えている。

次に、A 牧場におけるプロバイオティクス投与試験では、 10^3 オーダー黄色ブドウ球菌を排菌していた個体が排菌しなくなるなど、改善された面も認められたが、大腸菌数では効果は得られなかった。このことは投与休止の影響があったのかは定かではないが、改善が認められなかったこの結果をもとにプレッピンが等見直すよう指導をしています。

微生物細菌叢の変化については、子牛では菌が減少する傾向が認められたが、そのほかは有効な結果は得ることができなかった。

大腸菌の経時的変化では、投与を中断した期間がある 9 ヶ月後に子牛以外は菌量が増加した。このことは腸管出血性大腸菌試験においてすでに確認されており、今回の結果もその試験と同様な傾向が認められた。

牛の入れ替え等も行われているため一概に比較はできないが、投与前後で 1 日 1 頭当たり 0.9kg 乳量が増加しており、搾乳牛 70 頭で換算し、106 頭全頭にプロハイトイクスを投与した金額を差し引いても 1 日 3,859 円の収入増となった。

プロハイトイクスは効果が出始めるまでに数ヶ月要するといわれている。今後は、連続投与による採卵鶏における寄生虫への影響やライオン夜間収容棟におけるアンモニア濃度の測定などの試験を計画しており、検査の幅を広げて効果を検証することで生産者の経営安定の一助になればと思っている。

5. 大規模肉用牛繁殖経営における定時授精法による生産率向上への取り組み

大分家畜保健衛生所

○久々宮仁三 山岡達也 広永潔

【はじめに】

肉用牛繁殖経営にとって1年1産をさせることが経営を安定させるために重要であり、それを専業とする大規模肉用牛繁殖経営にとってはまさに死活に関わる課題と言える。今回、管内大規模肉用牛繁殖経営で分娩後2ヶ月以内の初回授精の徹底並びに受胎率の向上を目指し、分娩後40日頃より臍内留置型プロジェステロン製剤（以下CIDR）およびホルモン処置を行い、定時授精を試み一定の成果が得られたので報告する。

【対象農家】

対象農家は管内山間部に位置するY町において1995年より、現在地に畜舎を建設・移転して肉用牛繁殖の専業経営を始めたM農家である。労働力は経営主と最近、人工授精師の免許を取得した夫人の2名で、繁殖母牛約70頭を飼養している。（表1）

図1は、M農家のあるY町の肉用牛繁殖農家の指導体制を示したものである。Y町においては町・JAにより設立された町畜産開発センターを中心に日頃より、家保、地方振興局農業振興普及センター等と連携をとりながら農家の各種指導を行っている。肉用牛の繁殖検診についても月1回、家保、畜産開発センター、農業振興普及センター3者共同で、妊娠鑑定・空胎牛検査および血液検査等、要望のあった農家すべてについて巡回を行っている。巡回の中で確認された繁殖障害牛等は開業獣医師に直ちに状況を連絡し、早期治療に努めている。

表2にM農家の母牛の飼料給与状況を示した。管内の大半の大規模農家と同様に、粗飼料が決して潤沢ではないため、濃厚飼料を適宜給与しながら管理している。なお、ビタミンについてはAD3E注射剤を分娩前後並びに妊娠するまで1月おきに5ml投与している。

表1 対象農家の概要

- ・ 管内山間部のY町
- ・ 1995年より現在地に畜舎建設・移転、肉用牛繁殖の専業経営開始
- ・ 労働力2名（経営主と人工授精師の夫人）
- ・ 繁殖母牛約70頭飼養
- ・ 採草地20ha（3人共同）
- ・ 早期離乳（30日）



図1 Y町の肉用牛繁殖農家指導体制

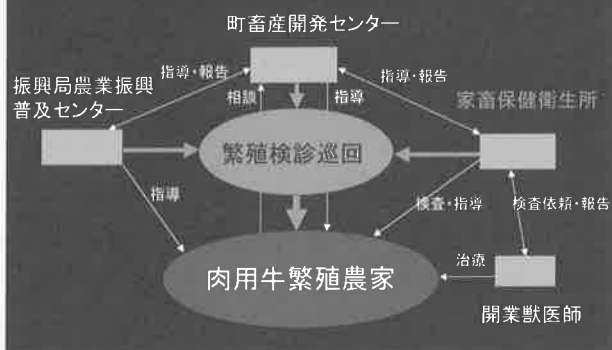


表2 繁殖母牛の飼料給与状況(ノ頭)

	分娩～ 分娩後1ヶ月	分娩後1ヶ月～ 分娩前3ヶ月	分娩前3ヶ月 ～分娩
粗飼料 牧草(乾草ロール) イナワラまたは 野草乾草	3kg 2kg		
濃厚飼料			
ふすま(一般)	2kg	2kg	2kg
トウモロコシ圧パン	1.5kg	0.5kg	1.5kg
ふすま(増産)	1.0kg		0.5kg
ビタミン AD ₃ E注射剤	分娩後5ml 妊娠するまで5ml/月		分娩前2月 5ml

表3 平均分娩間隔

	平成14年度	平成15年度
M農家	14.5ヶ月	14.0ヶ月
Y町*	13.7ヶ月 (n=246)	13.9ヶ月 (n=376)

*家保の繁殖検診データより

表3は、M農家の平均分娩間隔についてY町平均と比較したものである。M農家の平均分娩間隔は14年度の14.5ヶ月から15年度は14.0ヶ月と0.5ヶ月短縮されたものの、ようやくY町平均と同程度になったということで、専業農家としてはなお一層の分娩間隔の短縮による生産率の向上が求められている。

図2は、M農家の現在飼養されている経産牛の最終分娩時の分娩間隔月齢ごとの頭数分布を示した。ピークは11ヶ月にあるもの、12ヶ月から20ヶ月までなだらかな山が続いており、1年1産ラインにM農家の平均を少しでも近づけるため、11ヶ月、12ヶ月により高い山を築く必要がある。

分娩間隔短縮の1つのアプローチとして、我々は大規模経営で多大の労力を要する発情発見という要因に左右されずに、加えて、授精業務も効率的に実施できる、発情・排卵を同期化し、一定の日時に授精するという定時授精法について検討した。

【方法】

図3は米国ウイスコンシン大学のPursleyらにより開発されたその代表的な方法のオブシンク法とそれを改良したオブシンクCIDR併用法を示した。

表4は定時授精法で必ず用いられる高価な医薬品の1つ、プロスタグランジンF₂α(以下PG)の投与量の検討について示した。15mg投与群でも25mg投与群と、同等の受胎率が得られている。医薬品の用法・用量においても、1回1頭あたり15～25mgとされており、1回1頭あたり15mgとするのが妥当と思われた。ここで先に述べたオブシンク法をAとし、オブシンク法とCIDRを併用する方法をBとし、さらにBの性腺刺

図2 最終分娩時の分娩間隔(M農家)

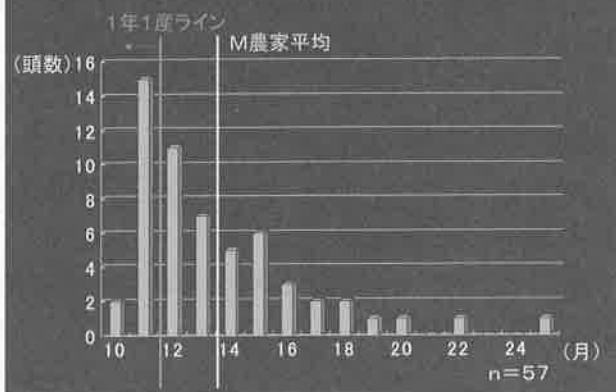
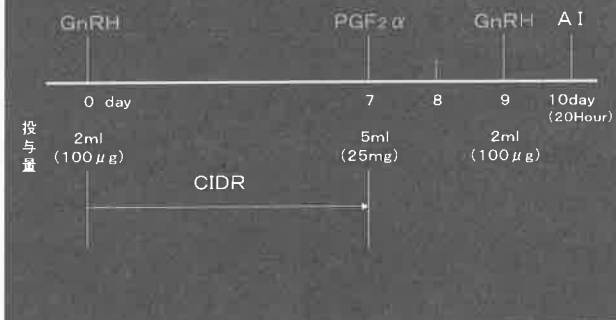


図3 オブシンク法とそのCIDR併用法の概要



激ホルモン放出ホルモン（以下G n R H）をより安価な安息香酸エストラジオール（以下E 2）に置き換えた方法をCとして3者の比較検討を行った。

薬価について表5に示した。CはBの半額以下の2, 332円と最も安価になった。なおCではPG投与量を先に述べたとおり15mg、BおよびCでは現在一般的になっているCIDRの2回使用で計算した。

作業性について表6に示した。A、B、Cとも保定回数は同じだが、作業手順から見るとはBおよびCではCIDRの挿入・除去という手順が増え、Aにくらべやや煩雑になっている。

表4 PGF2α投与量の検討(ノ頭)

投与量	ジノプロスト製剤 (1ml中5mg含有)	
	5ml(成分としては25mg) n=42	3ml(成分としては15mg) n=227
授精頭数 ノ投与頭数	70	67
受胎頭数 ノ授精頭数	28	31
受胎頭数 ノ授精頭数	40	47

(単位: % 1997岡村らの報告)

表5 比較1(薬価)(ノ頭)

	GnRH(A・B) E2(C)	PGF2α	CIDR	計
A オブシク法	2,100 (100μg×2)	1,680 (25mg×1)		3,780
B オブシク法 +CIDR	2,100 (100μg×2)	1,680 (25mg×1)	1,250 (1本2回使用)	5,030
C 今回 (BのGnRHのかわりにE2を用いる)	74	1,008 (15mg×1)	1,250 (1本2回使用)	2,332

(単位: 円 CIDR以外は共済薬価を用いた)

表6 比較2(作業性)(ノ頭)

	作業手順 (授精を含む)	保定回数
A オブシク法	4 筋注3授精1	4
B オブシク法 +CIDR	6 筋注3挿入1 除去1授精1	4
C 今回 (BのGnRHのかわりにE2を用いる)	6 筋注3挿入1 除去1授精1	4

表7 比較3(有効性)

	定時授精 受胎率*	回帰発情までの 累積受胎率*
A オブシク法	○ 52.4%	○ 81.0%
B オブシク法 +CIDR	○ 63.6%	◎ 86.4%
C 今回 (BのGnRHのかわりにE2を用いる)	◎ 68.2%	○ 81.8%

(2002齋藤らの報告)

表8 各定時授精法の比較

	薬価	作業性	有効性 (特に肉用牛の受胎率)	判定
A オブシク法	○	○	○	○
B オブシク法 +CIDR	△	△	◎	○
C 今回 (BのGnRHのかわりにE2を用いる)	◎	△	◎	◎

最後に肉用牛での有効性について表7に示した。定時授精の受胎率ではC、回帰発情までの累積受胎率ではBが若干高率になっていた。

以上3定時授精法の比較を表8にまとめた。薬価ではC、作業性ではA、有効性では、B、Cがそれぞれ有利、ということで全体としてはCがやや有利と判定された。

図4にこれらの比較検討の結果、今回実施したCの定時授精法を示した。実施に当たってはホルモン処置および人工授精を効率的に行うため、分娩後40～50日経過して未授精の母牛に一部空胎牛を加え数頭ごとのグループとして、一括ホルモンおよびCIDR処

置を行った。

【結果と考察】

2004年7月から開始して現在までの結果を表9に示した。26頭の定時授精の結果、12頭受胎で受胎率46.2%となった。さらに定時授精後20日前後で回帰した発情までの累積受胎頭数は13頭で受胎率50%となった。

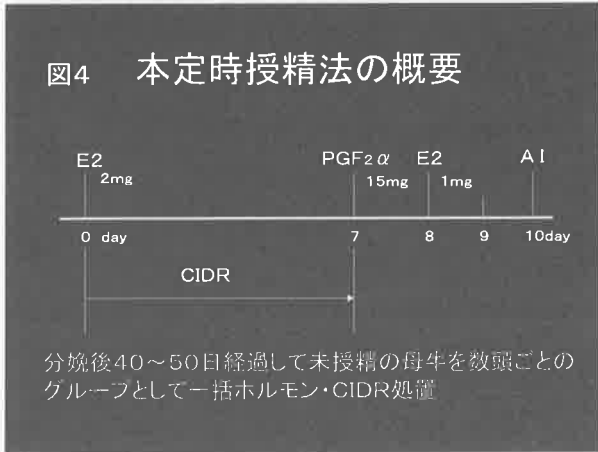
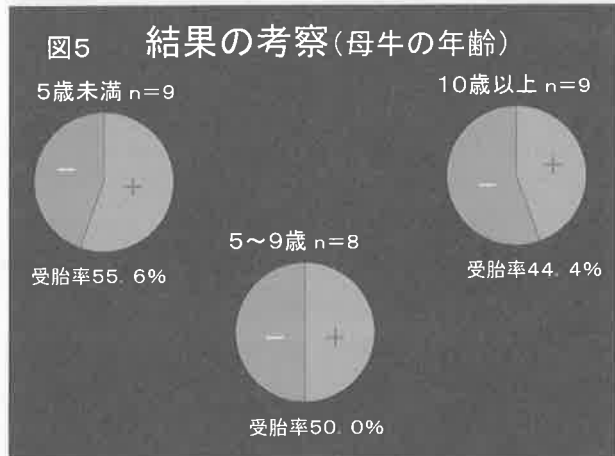


表9 結果

定時授精総数	26
受胎頭数 (受胎率)	12 (46.2%)
回帰発情までの 累積受胎頭数 (受胎率)	13 (50.0%)

表10 結果の考察(分娩間隔)

受胎牛群の平均 分娩間隔(推定) n=13	11.8ヶ月
受胎牛群の平均 最終分娩間隔 n=12	14.7ヶ月
M農家の平均 最終分娩間隔 n=57	14.2ヶ月
平成15年度のM農家 の平均分娩間隔 n=72	14.0ヶ月



結果に若干の考察を加えた。まず分娩間隔を表10に示した。今回の受胎牛群の分娩予定日から推定した平均分娩間隔は11.8ヶ月となり、受胎牛群の最終分娩間隔の平均、M農家全体の分娩間隔の平均よりそれぞれ2ヶ月以上短縮された。

母牛の年齢から見ると、年齢が若いほど受胎率がよい傾向は見られるものの、10歳以上でも受胎率44.4%と高齢牛でも一定の効果が認められた。(図5)

我々は人工授精時の卵巣所見について、直腸検査およびエコーの所見で表11に示したスコア1・2・3に分類した。スコア1は10mm以上の明瞭な卵胞ないし排卵直後と診断されたもの。スコア2は10mm未満の卵胞が認められたもの。スコア3はスコア1・2の所見が見られなかったものである。授精時の卵巣所見で受胎率を見ると、スコア1・

表11 授精時の卵巣所見

スコア1	エコー所見等で明瞭な卵胞を確認または排卵直後と診断されたもの
スコア2	エコー所見等で卵胞が確認されたもの
スコア3	エコー所見等で卵胞が確認できず、また排卵した形跡も見られなかったもの

2・3に大きな差はなく、一番悪いであろうと予測されたスコア3が若干ではあるが、よい結果となった。(図6) これは、スコア3に我々が判定できなかったものの排卵直後の牛がかなり含まれていたと推察された。このことより、定時授精時の卵巢所見にこだわることは無意味で、ひとたび処置を開始したならプログラム通り人工授精まで確実に行うことが大切であると痛感させられた。

今回の処置には、農家の強い要望もあり、分娩後数ヶ月経過した空胎牛7頭も、加えて処置した。分娩後処置群に比べ空胎牛処置群では明らかに受胎率が低くなっており、(図7)、卵巢萎縮、子宮内膜炎等の定時授精に適さない母牛側の要因の洗い出し、それに対する治療・増飼い等の個々の牛の対策が重要と思われた。

最後に、経済性について、表12に示した。繁殖牛1頭あたり空胎1日延長で約900円、空胎1ヶ月延長で約28,000円の損失が見込まれ、かりに獣医師に定時授精のすべての処置を行ってもらっても、1万円程度の費用で、11日間分娩間隔が短縮されることにより、また農家が自ら処置し薬品のみ購入した場合、わずか3日間短縮されるだけで、それぞれ1回分の処置費用がペイできる計算になった。

【まとめと今後の課題】

以上報告したとおり、本定時授精法の結果、回帰発情の授精を含め50%の受胎率が得られた。また受胎牛群の推定の平均分娩間隔は11.8ヶ月となり、受胎牛群の最終分娩間隔及び平成15年度のM農家の平均分娩間隔よりも約2ヶ月短縮された。コスト(薬価)は約2,300円でオブシンク法並びにCIDR併用オブシンク法に比べ安価であった。これらの結果から、本法は、生産率の向上、人工授精作業の効率化等から肉用牛繁殖農家、中でも大規模経営にとって大きなメリットがあり、今後普及していきたいと考える。(表13)

今後の課題を表14に示した。今回のM農家での取り組みは一定の成果が得られたが、肉用牛における本法の過去の報告等と比べるとやや低い受胎率であった。受胎率を低下させた母牛側の要因(たとえば、低栄養による卵巢萎縮、子宮内膜炎等)の存在が考えられるが、今後、本法実施にあたっては、これらマイナス要因の検討と、飼養管理の改善、治

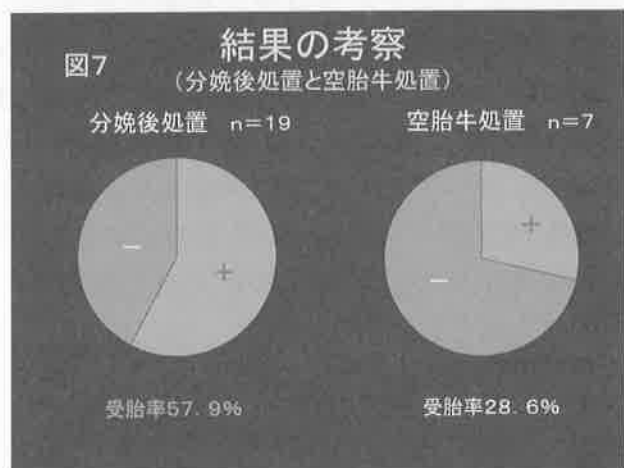
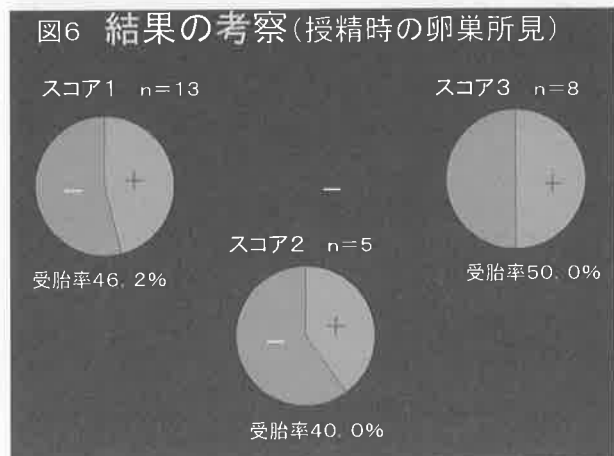


表12 経済性
空胎延長に伴う損失額(ノ頭:円)
(M農家における試算)

	空胎1日延長による	空胎1ヶ月延長による
収入(子牛販売)の減少額	784.5	23,927.3
母牛に給与する飼料代の損失額	150.6	4,593.3
合計	935.1	28,520.6

処置費用 獣医師処置 分娩間隔11日間短縮でペイ
農家処置(薬品購入) " 3日間短縮 "

表13 まとめ

1. 26頭の本定時授精法の結果、回帰発情の授精を含め13頭受胎(50%)。
2. 受胎牛群の推定の平均分娩間隔は11.8ヶ月となり、受胎牛群の平均の最終分娩間隔14.7ヶ月、平成15年度のM農家の平均分娩間隔14.0ヶ月と比べ、約2ヶ月短縮された。
3. 分娩後処置牛の受胎率についてみると、57.9%で、空胎牛処置牛28.6%より明らかに高率であった。
4. 本定時授精法のコスト(薬価)は約2,300円で、オブシンク法(約3,800円)ならびにCIDR併用オブシンク法(約5,000円)に比べ安価であった。
5. 本法は、生産率の向上(分娩間隔の短縮)、人工授精作業の効率化等から肉用牛繁殖農家、中でも大規模経営にとって大きなメリットがある。

表14 今後の課題

1. 飼養管理(特に飼料給与)の検討・対策

当該農家としては分娩間隔の短縮等、一定の成果が得られたが、肉用牛における本法の過去の報告等に比べると、やや低い受胎率と思われ、母牛側のマイナス要因(低栄養による卵巢機能減退等)の検討・対策が重要である。

2. 指示書の発行

本法に用いる医薬品はすべて要指示であり、使用目的は治療的なものでないため、現行の農業共済制度の中では、認められていない(共済で請求できない)。大規模農家等で円滑に本法を実施するためには獣医師の十分な理解に基づく指示書の発行が必要である。

療等のそれらに対する対策が重要であり、これらの対策を常に念頭に置き実施することにより、定時授精法の最大限の効果が得られるものと考える。

最後に、本法に用いる医薬品はすべて要指示であり、また使用目的(発情・排卵の同期化)・治療間隔等から、現行の農業共済制度の中では、本法にかかる費用は共済金支払いの対象になっていない(卵巢静止・排卵障害等の治療として本法を用いる場合は、往診料・検査料は認められる)。農家のこれらの薬品代等の全額支払いが前提となる。そのため大規模農家等で円滑に本法を実施するためには獣医師の十分な理解に基づく指示書の発行が必要であると考えられる。

6. 高病原性鳥インフルエンザの発生に係る現地防疫対策本部の対応

玖珠家畜保健衛生所

○菅正和 木本裕嗣 出川藍子 内田雅春

山口県での発生の約1カ月後に、大分県の一般家庭で飼育されていた愛玩鶏で鳥インフルエンザが発生、現地対策本部の対応の概要を、早期終息の3つのポイントを中心に報ずる。

1. 発生の概要

発生は製材業をしている家庭で飼養していたオビキという品種の矮鶏で、おびきチャボ13羽、アヒル1羽を飼養、2月14日（土）朝1羽、昼2羽死亡し、飼養者は役場へ通報、2月16日朝にも更に4羽が死亡した。なお、死亡はC鶏舎のみであった。（図1）

初動防疫として、2月14日は土曜日であったが、役場職員は通報を受け、直ちに家保職員へ連絡、いっしょに立ち入り検査を実施した。死亡鶏のうち2羽を大分家保へ持ち込み、発生状況や剖検所見より、当初からHPAIを疑い病性鑑定が行われた。2月16日：ウイルスが分離され、HA（+）かつNDが否定された。このことから、2月17日：動衛研へ材料を持ち込むことになったが、11:30には早くもテレビで報道され、大混乱の中でのスタートとなった。

2. 初動防疫

まず、現地の立ち入りを禁止し、午後、HPAI確定を受け、周辺道路等の通行制限を実施し、引治駅に消毒槽を設置した。なお、17日午前中に、熊本県阿蘇家保管内は、30km範囲に入ることが確実なため、阿蘇家保へ、所長から概要と発生場所を通知した。（表1）

周辺道路の消毒と通行制限の状況、マスクミ殺到の様子、踏み込み消毒の様子。（図2）

発生現地の防疫対応で、発生鶏舎は、小規



図1 発生農場概要(状況)

日	内容	対応
2004. 2. 14 (土)	九重町役場へ通報より、チャボの死亡した旨の通報あり	役場職員は家保職員に通報 急いで立ち入り検査(家保、畜場) 【第1回現地活動】
2. 16 (日)	鶏、卵に4羽死亡との連絡あり	大分家保 14羽飼育鶏からウイルス分離 【第2回現地活動】
2. 17 (月)	大分家保→(株)動物衛生研究所へ材料送付	熊本動物衛生研究所へ依頼(所長) 現場立ち入り禁止 周辺道路(国道、市道)の通行制限 引治駅に踏み込み消毒機設置
2. 18 (火)	発生場所の消毒機開始	周辺道路、引治駅第一乗降場外一帯に消毒機稼働 現場対応完了 完了 19:00



図2

模であり、また、必要資材や重機の手配を予め行っていたため、2月18日の1日で現地防疫対応を終えることができた。(図3)

今回の発生に関して、チャボ飼養者の早期通報が、のちに賞賛されたが、家保と役場の対応が、その要因の一つであると思われた。家保は、韓国での発生、山口県での発生について、月1回の担当者会議等で周知を図ってきた。また、九重役場は、それを受けて1月には小規模養鶏や観光牧場等の鶏使用実態の調査を開始していた。更に、山口県の発生情報については、大規模に加え、把握していた小規模農場や行政区の区長にも通知していた。これらの対応が、早期通報に繋がったと考えられた。(図4)

2月17日、現地対策本部を表2の体制で立ち上げた。予防課が、当初より現地対応に従事していたことから、検診・追跡班長が、衛生課長となっている。現地対応が早期に終了したので、病性鑑定班、殺処分班は、主に検診・追跡班のサポートに廻った。(表2)

3. 移動制限区域の設定・解除

2月17日の移動制限区域の設定は、当家家保管内の全市町村が、「全域」或いは「ほぼ全域」が制限区域内となった。(図5)

移動制限等の規制の設定と解除、清浄化までの防疫対応として、ウイルス分離検査が、抗原検出キットの採用で検査日数の短縮が図られたことに加え、早期また、短期間で清浄性確認検査に取り組み終了したことにより、初動防疫終了後21日間で終息した。(図6)

4. 清浄性の確認

清浄性確認のための立ち入り検査は、今回、想定外の愛玩鶏での発生であり、全戸を調査するためには、飼養実態の予備調査から行う必要があった。その結果、管内で2,000戸以上にもものぼり、加えて短期間での実施を課せられ、困難を極めたが、市町村の万難を排しての全庁的取り組みと、部を超えた獣医師の動員など家畜防疫員の大量動員により、目標とした期限内に終了することができた。なお、

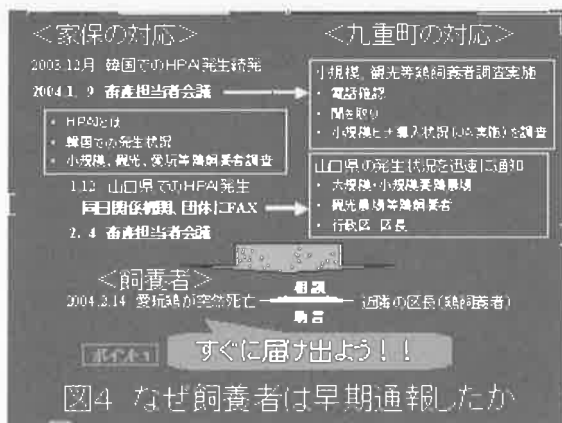


表2 現地防疫対策本部事務分掌

〇現地防疫対策本部	本部長 県家畜畜産衛生部長 副本部長 県庄元里地方振興局長 日田地方振興局長 日田県庄畜産指導士
広域移動制限	部長 企画部長 部長 企画課 主任管理課 ・関係機関、現場との連絡調整 ・広域ならびに出発事務 ・現地立ち入り禁止、通行制限措置および移動制限区域設定
検診・追跡	部長 衛生課長 ・飼養者以外への立ち入り検査、戻り性確認検査
調査班	部長 衛生課 主任管理課 ・養分分析、汚染物品の検出・評価・処分処理
病性鑑定	部長 予防課 主任管理課 ・検体材料整理・鑑定 ・戻り性等調査があった場合の病性鑑定
殺処分班	部長 予防課長 課長 予防課 技師 ・発生地の初動防疫措置(現地消毒・汚染物品等処理)
消毒班	部長 衛生課 主任 ・予防消毒ポイントの設定・巡回・維持管理 ・消毒保管庫(ストックポイント)の管理



2回目、3回目は、大規模経営の全戸、小規模・愛玩は抽出にて実施した。(表3)

清浄性確認検査のウイルス分離・抗体検査のための採材は、大規模全戸、小規模と愛玩鶏は発生地近くの近くを多く配分し、抽出条件に従って選定した。ウイルス分離材料の検体は5~10羽プール、採血は、1鶏舎または1戸に1羽実施した。2回とも、9班の防疫員18名体制で実施した。(表4)

図7の写真左は立ち入り時の服装。鶏に近づく時は、ゴーグルをした。右は、採血と気管スワブを採取している様子。(図7)

5. 車両消毒ポイント

車両消毒ポイントは、2月18日に関係機関、地元と協議し、図8の3カ所に決定、30kmの移動制限、搬出制限の期間、車両消毒が実施された。なお、2月23日に業者に引き継がれたが、それまでの間は、振興局を中心に運営された。移動制限区域縮小に伴い、4カ所に変更された。防疫員は毎日巡回し、必要資材の補給など、スムーズな運営に努めた。(図8)

6. 鶏卵保管場所(ストックポイント)

鶏卵の一時保管場所、いわゆるストックポイントについては、移動禁止等の規制に伴い、大規模経営で農場内に保管できないものについて保管するもので、玖珠町の2カ所に指定され、計3戸が利用した。農家の移動申請から搬入までの流れを図9の左下に示した。2カ所の最終保管量は約76tにもなり、ストックポイントや車両の消毒、積み降ろし作業など、雇用者の賃金が補助金の対象になるかどうか不明だったため、動員者の手作業で行われた。(図9)

7. まとめ

今回の発生への対応をまとめると、

1. 山口県に次いで2例目の発生のため、検査体制を整える期間があった。
2. 発生前に、防疫服、マスク、帽子等の装備と消毒薬が備蓄されていた。

2.16 分離ウイルスは、H7N1 簡易検査(+) → 簡易検査決定
 17 1F検査(+)の鶏舎2戸 → 移動制限30km解除決定
 18 鶏舎立ち入り開始
 17~23 第1次清浄性確認検査(全戸立ち入り検査)
 24 第1次清浄性確認検査(採材) 27日 初夜(-)
 28 移動制限30km解除に備え、搬出制限区域30km解除
 29 第2次清浄性確認検査(立ち入り検査)
 3.1 第2次清浄性確認検査(採材) 3日 初夜(-)
 3 搬出制限区域の解除(移動制限区域2kmの解除)
 8~9 第3次清浄性確認検査(30km内立ち入り検査) 県独自
 11 移動制限区域30km解除 終息(安全)宣言

ウイルス分離の迅速化 + 短期間での清浄性確認
 (別添付図表27日(予定)可也)

移動制限等の設定・解除の経緯

図6 移動制限区域等の設定と解除の経緯

表3 清浄性確認検査
 臨床検査(立ち入り検査) 第1回(全戸対象):2.17~23

	九都府	玖珠町	天瀬町	豊後江村	大山町	上津江村	中津江村	日田市	計
戸数	366	307	250	81	103	79	77	711	2,074
羽数	6,177	17,121	3,801	753	1,891	603	78,866	262,815	534,177
防疫員計	16	20	10	5	5	5	4	26	81
区域単位	6	2	2	2	1	1	1	4	18
鶏舎数	-	2	4	-	3	4	1	7	21
正羽数	10	16	4	3	1	-	2	5	41
全羽数	-	-	-	-	-	-	-	10	10

戸数が狭い、2,074戸は全戸(30~400戸)の48%
 立ち入り検査を短期に変更 当初27日→23日終了

市町村等の全庁的対応
 市町村との連絡調整 計画策定(追加・調整・変更)
 必要資材の確保 防疫服等の準備
 市町村の対応 案内・要領の確保、関係者への通知

表4 清浄性確認検査(ウイルス分離・抗体検査)

1 採材対象
 大規模経営(鶏舎1,000羽以上)全戸
 小規模経営・愛玩(30羽程度)抽出
 (抽出条件(以下該当箇所は○印で表示))
 ① 屋外開放の飼舎
 ② 鶏舎の隣接の飼舎
 ③ 敷地内に野鳥が飛来するような水場がある
 ④ 周辺に野鳥が飛来するような水場がある
 ⑤ 飼舎からの飛出

2 検査材料
 ウイルス分離: 気管と加齢加齢(5~10羽プール)
 抗体検査: 血液

3 採材実施 第1回:2.24 第2回:2.29 (各0班、防疫員18名体制)

	九都府	玖珠町	天瀬町	豊後江村	大山町	上津江村	中津江村	日田市	計
第1回 戸数	15	8	3	2	2	2	2	8	44
第1回 羽数	85	100	30	10	10	10	10	155	410
第2回 戸数	12	8	3	2	2	2	2	8	41
第2回 羽数	70	105	30	10	10	10	10	155	400

* 発生地近くの戸数も多く、小規模は、全市町村同等に採材



3. 飼養者の早期通報は、早期終息の大きなカギといえると思われる。特に京都での届出違反による本病のまん延以降は絶賛され、大臣の感謝状が贈られた。

4. 発生が小規模であったことに加え、あらかじめ準備していたので、1日で発生地の防疫措置を終了することができた。

5. プレス発表はHPA I 確定後と想定していたのに、17日の午前中にテレビ報道され、大混乱の中での対応を余儀なくされた。

6. また、想定外の愛玩鶏での発生で、飼養実態の調査からの取り組みであり、検査対象が管内だけで2,000戸以上にものぼった。

7. 小規模発生であり、他の養鶏場へのまん延がなく、迅速な病性鑑定、人用抗原検出キットを利用したウイルス分離検査の日数短縮および

8. 関係者の万難を排しての取り組みによる、短期間での立ち入り検査の完了により

9. 早期の移動制限等の解除につながったと思われた。以下については今回ふれなかったが、

10. マスコミ対応については、町と県の記者会見のあり方などについて反省点すべき点があり、このことは県のマニュアル策定につながったと思われた。

11. また過剰な住民等の反応により、発生後の数日間は昼間は仕事に電話が使えない状態であり、日田市の小学校の死亡鶏の対応などは反省すべき点多かったと思われた。

12. 更に、スタッフは、目の前の業務をこなすのがやつの状態で、職員の作業記録や写真が少ないなど、後日の分析ができない。発生場所が、県内全家保が制限区域に関与する位置であったこともあるが、現地への応援態勢が望まれた。

13. 更に、徹夜など睡眠不足での連日の対応となり、職員の健康維持についても更に検討されるべきと考える。現地作業に従事した職員へのタミフル配布などは、関係者に温度差が感じられた。



図8 車両消毒ポイント

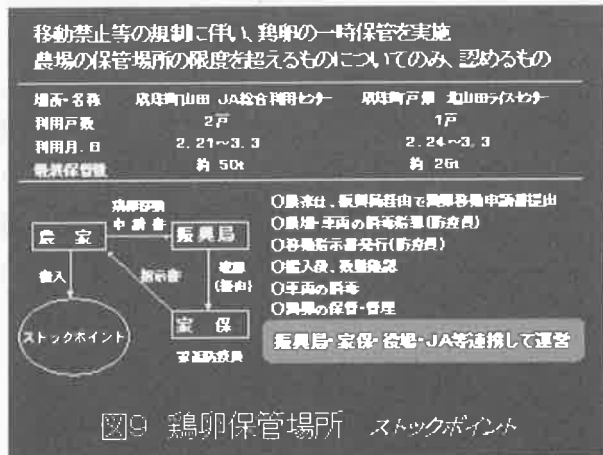


図9 鶏卵保管場所 ストックポイント

7. 高病原性鳥インフルエンザ発生時の対応

三重家畜保健衛生所

○平川素子、伊藤雅之、中野雅功¹⁾、芦刈美穂

1) 農山漁村支援課

【はじめに】

2004年2月17日、玖珠郡九重町において高病原性鳥インフルエンザが発生した。三重家畜保健衛生所は発生地の隣接家保として防疫対応を行った。管内は全域移動制限区域に入ったのが2町、一部移動制限区域に入ったのが1市1町あった(図1)。三重家保では表1に示すように所長を本部長、管轄内の3つの地方振興局長を副本部長とする県南地域鳥インフルエンザ防疫対策本部を設置するとともに、さらに管内の移動規制の対象に入っていない町村も含めすべての町村にも防疫対策本部を設置した。さらに、家保職員を総務広報班、移動規制班、検診追跡班の3班に配置し防疫措置にあたった。防疫対応は多岐にわたったが、今回は主に移動規制班の対応について報告する。

【防疫対応実績】

図1: 高病原性鳥インフルエンザ発生に伴う



表1: 各班の対応項目

総務広報班	移動規制班	検診追跡班
防疫会議の開催	移動制限区域の設定	立ち入り検査の実施
情報の伝達	告示案作成	農家巡回計画作成
消毒の徹底措置	消毒ポイント設置	検査資材の準備
パンフレット作成	車両消毒の実施	清浄性確認巡回
連絡調整報告	家きん豚の移動、保管	調査結果の集計
住民対応、問い合わせ	および出荷指示	

①飼養状況の把握：大型養鶏農家については市町村担当者や家保でも把握していたため問題なく推移した。しかしながら、愛玩鶏飼養者の情報はほぼ皆無だったため、発生してから市町村に情報収集を依頼した。鳥インフルエンザ終息後、管内市町村における飼養状況の把握方法を調査し、その回答を集計した。その結果、各市町村の調査方法としては地区の区長に依頼したのが8町村、防災無線による呼びかけが8町村、以下表2の通りであった。

表2: 飼養状況の把握

大型養鶏農家・・・市町村担当者・家保も把握していたため問題なし

愛玩鶏飼養者の把握・・・発生後に市町村に情報収集を依頼

調査方法	市町村数
区長に調査依頼	8
防災無線による呼びかけ	8
市広報誌	2
CATV	2
町職員による全戸調査	1

これらの集計をもとに実施した、緊急立ち入り検査実績は、延べ 11 日間、17 班防疫員 19 名、市町村担当者 18 名で、346 戸 48 万羽あまりであった。

②移動制限区域の境界設定：移動制限区域の境界設定のために、消毒ポイントの設置と、告示のための境界線の設定を併行して行った（図 2）。消毒ポイントの設置では、畜産関係車両の運行ルート把握および道路利用許可を得るための警察署、土木事務所、地権者との協議を行うとともに、機材の確保にも奔走した。告示のための境界線の設定では、当初、道路、鉄道等を用いて設定する方針であったため、市町村畜産担当者のみの対応では難しく、道路担当者にも協力を仰いで境界設定を行った。しかし、最終的には行政地域による境界線で支障なしと方針転換されるなど情報が錯綜した。そのため、最終的に告示（案）ができたのは発生から 2 日後の 19 日であった。

移動制限区域の半径 30km の境界設定には、5 万分の 1 の地図を貼り合わせ、細ヒモを用いて発生地を中心として境界線を描いた。

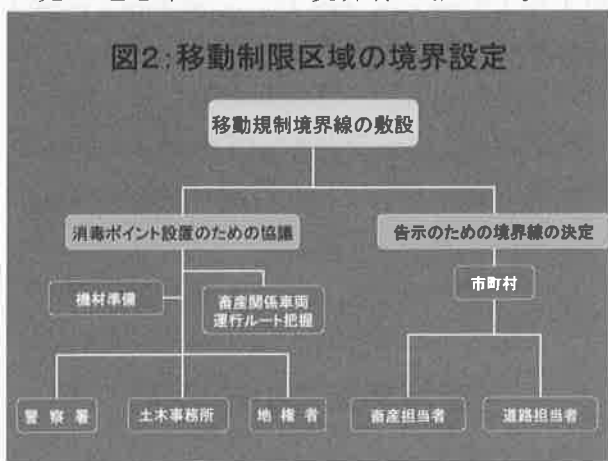


表3: 車両消毒ポイント

2月18日	消毒ポイントの決定。 午後6時より竹田市菅生、高伏の2ポイントで消毒開始。
2月19日	残り2ポイント朝地町栗栖、竹田市城原で消毒開始。
2月20日	竹田市菅生の消毒ポイントは24時間体制へ。
2月23日	竹田市城原、朝地町栗栖は午前10時に消毒業者へ引継（ベストコントロール協会） 竹田市高伏は、午後11時30分、 竹田市菅生は午後12時に消毒業者へ引継。
3月 3日	午後7時 半径5kmから30kmまでの搬出制限区域解除。
3月 5日	車両消毒ポイント撤収

③車両消毒ポイント：振興局、普及センター等の協力を仰いで 発生翌 18 日に 2 カ所、19 日に残り 2 カ所の消毒ポイントを設置し車両消毒業務を開始し、20 日には内 1 カ所を 24 時間体制とした。23 日には大分県ベストコントロール協会へ業務委託した。3月3日、搬出制限の解除により 3月5日には車両消毒ポイントを撤収した（表 3）。車両消毒実施ポイントは竹田市に 3 カ所、朝地町に 1 カ所の計 4 カ所に設置した（図 3）。

図3: 消毒ポイントの設置

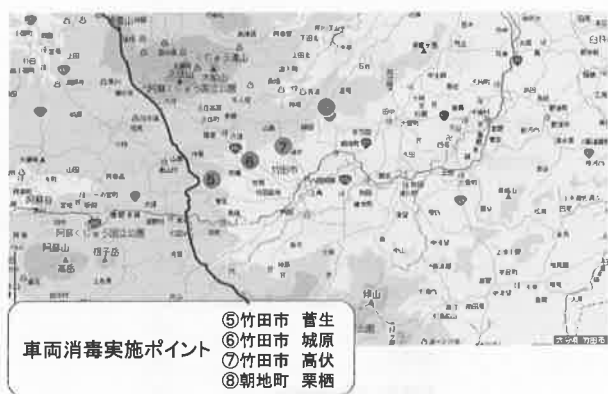


図4: 車両消毒実施フロー



図 4 に車両消毒実施のフローを示した。各消毒ポイントに於いて、移動制限区域内に搬入、及び移動制限区域内で移動する車両には車両消毒終了後、消毒済みの証明書を発行した。

また、移動制限区域内から搬出する場合には区域内搬入・移動用証明書を回収し区域外搬出用の証明書を発行した。管内 4 カ所の車両消毒実績は、17 日間で延べ 597 台であった（表 4）。図 5 は車両消毒ポイントの風景である。

表 4：車両消毒実績

ポイント名	2月														3月					場所別合計
	18日	19日	20日	21日	22日	23日	24日	25日	26日	27日	28日	29日	30日	1日	2日	3日	4日	5日		
竹田市	5 菅生	0	19	11	22	1	12	18	18	20	19	23	5	29	48	42	40	11	332	
	6 城原		0	6	2	4	2	2	1	6	2	1	3	1	3	0	2	0	36	
	7 高伏	0	8	7	2	2	4	10	1	8	5	7	3	6	14	6	6	8	87	
新地町	8 栗栖	3	7	8	5	10	15	5	11	9	8	4	11	7	16	6	6	133		
合計	0	30	31	34	12	28	43	23	45	35	39	15	47	70	66	64	25	597		

図5:車両消毒ポイント

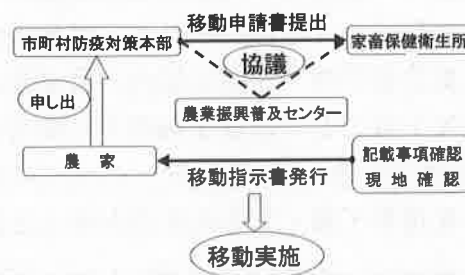


④生産物の保管および移動：移動制限区域内での家きん卵の保管のための移動では、2月21日に移動が認められたことから、23日に農家、市町村担当者と移動のための協議を行い、26日、家畜防疫員6名動員者8人で移動および車両の消毒を実施した。28日には制限区域が縮小され、三重家保管内は搬出制限区域となり、家きん及び家きん卵について一定の条件下で区域外への移動が認められた。それを受けて3月1日から3日までに、移動申請のあった、ワクチン卵、ブロイラー、家きん卵について区域外への移動を許可した。3月3日には搬出制限区域も解除された（表5）。

表5:生産物の保管および移動

- 2月21日 移動制限区域内の家きん卵の移動を認める。
- 2月23日 久住町において移動希望する農家と協議。
家きん及び家きん卵について一定の条件下で移動制限区域内の通過を認める。
- 2月26日 第1回家きん卵の移動(久住町2件)。農場より保管倉庫に移動
家畜防疫員6名 動員者8名
- 2月28日 午前0時、移動制限区域の縮小、5kmから30kmは搬出制限区域へ家きん及び家きん卵について一定の条件下で搬出制限区域外への移動を認める。
- 3月1～3日 移動申請分について区域外への移動指示書の発行。
2町24戸 家畜防疫員6名
- 3月3日 午後7時 半径5kmから30kmまでの搬出制限区域解除。

図6:制限区域内での卵の移動



制限区域内での卵の移動の流れは図6に示したとおりである。①農家が各市町村防疫対策本部に移動の申し出をし、②申し出を受けた市町村防疫対策本部は普及センターと協議し家保に移動申請書を提出。③受理した家保は記載事項や現地を確認後、移動指示書を農家に発行した。その後、農家、市町村防疫対策本部、普及センターと家保が移動を実施した。このとき家保職員は、家畜防疫員として移動の確認と車両消毒を行った。生産物移動の実績は、保管のための移動は2戸 23,800 kg、搬出制限区域外への移動は、ワクチン卵 16戸 221,400 個、ブロイラー 4戸 47,000 羽、家きん卵 4戸 5,180 kgであった。

【課題と対応策】

今回の発生では庭先養鶏や愛玩鶏等の小規模養鶏農家も防疫対象に含まれたため、全体の飼養状況把握には長時間を要した。これを反省点として、全家畜を対象として、家畜飼

養状況と農家位置情報とを網羅した、防疫マップ作成システムを構築することとした。

表6:防疫措置終了後の対応

- 家畜飼養農家データベースの作成
 - 飼養農家台帳の作成
 - 農家名簿を25,000分の1地形図へのマッピング
 - 緯度、経度の読み取り
- 防疫マップ作成システムの開発
 - 制限区域内農家集計表
 - 制限区域内農家一覧表
 - 地図座標
 - クロス集計表

表7:データベース登録戸数一覧表

	肉用牛	乳用牛	豚	家きん	合計
佐伯市	24	10	6	225	265
上浦町				7	7
弥生町	5			150	155
本匠村	5			42	47
宇目町	15		4	95	114
直川村	1			51	52
鶴見町				12	12
米水津村				21	21
清江町			10	100	110
野津町	9	7	3	148	167
三重町	46	5	4	248	303
清川村	49		1	70	120
橋方町	137	4		155	297
胡地町	111	5		89	205
大野町	75	8		209	292
千歳村	35	3		41	79
犬飼町	34		1	92	127
竹田市	241	4	3	199	447
荻町	44	4	3	28	79
久住町	218	11	11	152	392
直入町	132	2	1	128	263
合計	1181	63	47	2263	3554

家畜飼養農家データベースの構築のために、まず、飼養農家台帳を作成した。鶏については愛玩鶏飼養者の把握は家畜保健衛生所では難しいため、市町村に台帳作成を依頼した。牛、豚については平成16年2月1日付の頭数調査結果を利用した。次に、作成した農家台帳を基に国土地理院発行の25,000分の1地形図に農家位置をポイントした。このマッピング作業は市町村担当者に依頼した。地形図からはマップポインターを用いて緯度経度を1秒単位で読み取った。このようにして収集した家畜飼養状況と農家位置の情報をMs Excelを用いてデータベースとした。

家畜飼養農家データベースを利用して移動制限地域設定用プログラムを作成した。本プログラムはMs Accessを用いて作成し、伝染病発生位置情報入力画面および以下の4つの集計出力システムで構成した。①制限区域内農家集計表出力：入力画面で求めた2点間の距離から移動制限地域の値以下の条件で抽出した制限区域内農家の集計表の作成②制限区域内農家一覧表出力：制限区域内農家の一覧表の作成③地図座標作成：防疫境界線設定のために地形図の4辺のいずれかと境界線が交差する場合にその地形図上の座標の一覧表④クロス集計表作成：制限区域内の農家数と家畜頭羽数の分布状況を確認、表示するために緯度経度1分ごと（ほぼ2km四方に相当する）のクロス集計表。なお、これらの帳票はMs Excelに出力した（表6）。データベースに登録した管内の戸数一覧表を表7に示した。肉用牛・乳用牛・豚・家きんを合わせると管内合計3554戸となった。

表8:防疫マップシステムを用いた机上演習

発生農家:久住町有氏 プロイラー農家
移動制限区域:半径10kmに設定
防疫対象農家の早期抽出

制限区域内対象農家数

種	形態	農家数	成畜の合計	子畜の合計	肉畜の合計	その他の合計
家禽	プロイラー	16			364600	
家禽	鶏元	264	2637			
家禽	規卵	15	50103			
合計		295	52740	0	364600	0

立ち入り検査 対象農家:4町
30軒/班/日:延べ10班

表9:防疫対象農家名簿一覧表

住所	品名	種別	形態	頭数	性別	年齢	検疫	検疫	検疫	検疫	距離		
動物園中庭	鶏	肉用	成	3	雄	36	136	24	11	8208			
動物園中庭	鶏	肉用	成	25	雄	2	42	136	24	21	9391.5		
動物園中庭	鶏	肉用	成	15	雄	4	7	136	24	25	9361.4		
動物園中庭	鶏	肉用	成	4	雄	4	47	136	24	36	8369		
動物園中庭	鶏	肉用	成	11	雄	4	33	136	24	37	8379.4		
動物園中庭	鶏	肉用	成	20	雄	4	29	136	24	53	8779.1		
動物園中庭	鶏	肉用	成	5	雄	4	46	136	24	46	8683.1		
管内市立中庭	鶏	肉用	成	20000	雄	59	30	136	16	37	831.6		
管内市立中庭	鶏	肉用	成	25000	雄	59	44	136	18	45	8349.4		
管内市立中庭	鶏	肉用	成	1	雄	1	30	0	59	136	23	3	8160.1
管内市立中庭	鶏	肉用	成	29	雄	0	54	136	23	16	9336.6		
管内市立中庭	鶏	肉用	成	3	雄	0	25	136	21	25	8322.4		
管内市立中庭	鶏	肉用	成	1	雄	59	52	136	21	21	9154.1		
管内市立中庭	鶏	肉用	成	7	雄	59	51	136	21	42	8447.4		
管内市立中庭	鶏	肉用	成	3	雄	0	0	136	21	53	9362.4		
管内市立中庭	鶏	肉用	成	3	雄	0	4	136	21	54	9273.0		
管内市立中庭	鶏	肉用	成	3	雄	0	36	136	22	8	8594.5		
管内市立中庭	鶏	肉用	成	2	雄	0	2	136	21	8	8225.5		
管内市立中庭	鶏	肉用	成	5	雄	59	36	136	21	16	8558.5		
管内市立中庭	鶏	肉用	成	6	雄	59	51	136	18	27	8135.4		
管内市立中庭	鶏	肉用	成	1	雄	59	45	136	18	30	8316		
管内市立中庭	鶏	肉用	成	2	雄	59	2	136	17	5	9952.7		
管内市立中庭	鶏	肉用	成	2	雄	59	3	136	17	6	9996.6		
管内市立中庭	鶏	肉用	成	7	雄	89	24	136	16	27	8994.6		
管内市立中庭	鶏	肉用	成	1	雄	59	38	136	18	6	8549.9		
管内市立中庭	鶏	肉用	成	8	雄	28	45	136	18	43	8917.5		
管内市立中庭	鶏	肉用	成	5	雄	59	47	136	19	46	8584.4		
管内市立中庭	鶏	肉用	成	37	雄	59	51	136	18	59	8151.3		
管内市立中庭	鶏	肉用	成	13	雄	59	27	136	18	31	8871.8		

防疫マップ作成システムを用いて机上演習を行った。その概要は表8のとおりで、発生農家を久住町有氏のプロイラー農家とし、移動制限区域を新しいマニュアルに基づき半径

10 kmに設定した。抽出の結果、制限区域内対象農家は 295 戸、1 日 1 班あたり 30 戸の立ち入り検査を実施すると設定した場合、延べ 10 班の編成が必要となることが解る。防疫対象農家の一覧表は表 9 のとおりである。住所、氏名、頭羽数や、場所を示す緯度経度、右端には発生地からの距離が出力されている。移動制限区域の設定は、システムは地図の 4 辺のいずれかが移動制限区域境界線と交わる座標を導き出すように設定してある。求めた地図座標を該当する 25,000 分の 1 地形図にプロットし (○で示す)、半径 10km の場合、半径 40cm の弧を描いた専用定規を用いて円弧を描いた (図 7)。制限区域内の農家数と飼養頭羽数の分布状況のクロス集計表を図 8 に示した。マスの中の上段が農家数、下段が飼養頭羽数を示している。これを透明シートに印刷し、150,000 分の 1 地図と重ねることによって、実際の分布状況の確認ができる (図 9)。今回の机上演習では、発生の通報から移動制限区域設定までの作業の所要時間は、おおよそ 1 時間であり、初動防疫の迅速化につながった。

図7: 移動制限区域の設定

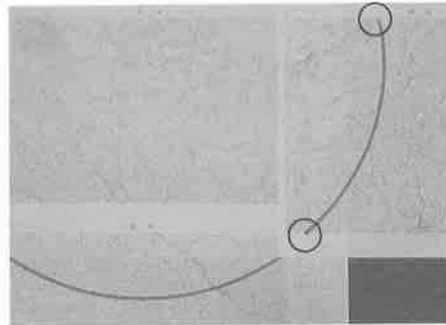


図8: クロス集計表

町	村	農家数	飼養頭羽数	距離
1	2	3	4	5
6	7	8	9	10
11	12	13	14	15
16	17	18	19	20
21	22	23	24	25
26	27	28	29	30
31	32	33	34	35
36	37	38	39	40
41	42	43	44	45
46	47	48	49	50
51	52	53	54	55
56	57	58	59	60
61	62	63	64	65
66	67	68	69	70
71	72	73	74	75
76	77	78	79	80
81	82	83	84	85
86	87	88	89	90
91	92	93	94	95
96	97	98	99	100

図9: クロス集計表の活用



本システムを使用することにより、①防疫対象農家の早期抽出が可能となることから、立ち入り調査巡回計画の策定ができ、人員・資材の確保がスムーズに行うことが可能となる。②移動規制境界線の敷設が的確に行えるため、畜産関係車両の運行ルートの把握や消毒ポイントの設置のための、警察署、土木事務所、地権者との協議が迅速にできる。③地図座標を作成し円弧を描けるので市町村や警察などに地図をつなぎ合わせた大きいものを持っていく必要がなく、また、同じ地図を数枚準備しておけば同じ円弧を作成できるので、複数の市町村での効率よく告示案作成作業も可能である。しかしな

表10: 防疫マップ作成システムの利用と今後の活用方法

- ・防疫対象農家の早期抽出
 - 立ち入り調査巡回計画の策定
 - 班編成、日程調整
- ・移動規制境界線の敷設
 - 消毒ポイント設置のための協議
 - 畜産関係車両の運行ルートの把握
 - 道路利用許可→警察署、土木事務所、地権者
 - 告示のための境界線の決定
 - 市町村担当者との協議

1年に1回程度のデータの更新が必要

がら、飼養農家、特に小規模の家きん農家の把握や飼養頭羽数の確認のため1年に1回程度のデータの更新が必要である。今後は本システムのグレードアップを行うと共に、尚一層の危機管理意識の高揚を図っていきたい。



飼養頭数管理画面のスクリーンショット



（以下は元の画像中の非常に薄い文字による内容であり、正確な読み取りは困難です。概略として）
 このシステムは、飼養農家の飼養頭数や飼養頭羽数を把握するためのツールとして開発された。現在は、基本的なデータの登録と確認が可能であるが、より高度な分析やレポート生成機能の追加が今後の課題である。また、ユーザーインターフェースの改善も検討されている。

飼養頭数管理画面のスクリーンショット



（以下は元の画像中の非常に薄い文字による内容であり、正確な読み取りは困難です。概略として）
 本システムの今後の発展に向けて、以下の方向性を検討している。
 1. データの連携機能の追加
 2. レポート生成機能の強化
 3. ユーザー権限の細分化
 4. モバイル端末での利用可能にする
 5. 外部システムとの連携

8. 大分県で発生した高病原性鳥インフルエンザの蔓延防止へ向けた防疫対応

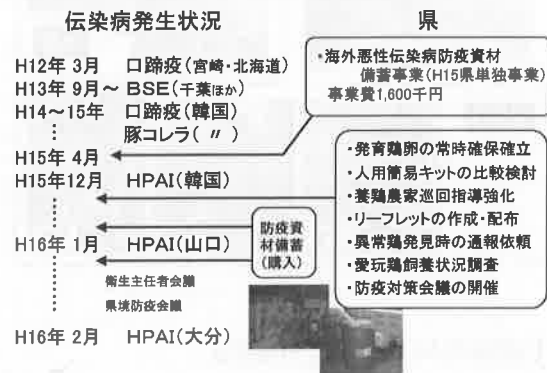
大分家畜保健衛生所

○病鑑 堀浩司・病鑑 山田倫史・病鑑 甲斐貴憲・病鑑 矢崎竜
病鑑 人見徹・病鑑 利光昭彦・病鑑 大竹孝一

【はじめに】

近年、平成12年の宮崎で発生した口蹄疫の発生を皮切りに、平成13年には千葉でのBSE、平成14年からは韓国での口蹄疫や豚コレラ等の悪性伝染病が発生している。大分県ではそれらの発生をふまえ、悪性伝染病対策のために平成15年度新規県単独事業として海外悪性伝染病防疫資材備蓄事業（事業費1,600千円）を新設した。平成15年12月に韓国で高病原性鳥インフルエンザ（以下HPAIとする）の発生があったため、HPAI対策として備蓄資材の購入を開始し、その他にも発育鶏卵の常時確保の確立や人用簡易キットの比較検討（抗体検査用抗原を活用）、養鶏農家巡回の指導強化、リーフレットの作成・配布、異常鶏発見時の通報依頼、愛玩鶏飼養状況調査、防疫対策会議の開催等も実施してきた。翌年の平成16年1月12日に国内では79年ぶりに山口県の大規模養鶏農場からHPAIが確認され、さらに同年2月に一般家庭の愛玩用チャボから国内2例目となるHPAI（H5N1型）が大分県で確認され、蔓延防止へ向けた迅速な防疫対応を実施したのでその概要を報告する（図-1）。

図-1 HPAI発生前対応



【発生概況】

発生地は大分県のヘソともいえる、ほぼ中心地のK町の一般家庭で、愛玩用尾曳チャボ13羽、アヒル1羽の合計14羽を開放ゲージにて飼養していた（図-2）。平成16年2月14日、チャボ3羽が急死し、1羽が顔面腫脹だったことから、飼養者がK町役場へ通報し、役場職員から連絡を受けた現地家保が立入を実施した。死亡チャボ2羽の解剖及びウイルス検査を大分家保・病性鑑定課にて通報当日に開始した。また、初発から2日後には同一ケージのチャボが4羽死亡した。

図-2 発生の概況

発生地 大分県K町・一般家庭
(県内ほぼ中心に位置)
飼養状況 14羽・愛玩用
(尾曳チャボ13羽、あひる1羽)
鶏舎構造 開放・ゲージ



H16.2.14 チャボ3羽死亡、1羽顔面腫脹
2羽病性鑑定

H16.2.16 チャボ4羽死亡
(同一ケージ)



【病性鑑定】

2月14日に実施した死亡チャボの解剖では、頸部および下顎皮下に水腫が確認され、気管や盲腸における充血や食道での点状出血が認められた（図-3）。また、2月14日～16日にはウイルス検査も実施した。気管、直腸、脳、脾臓の各臓器乳剤を鶏卵接種し、2日後（1継代後）の尿膜腔液のHA価は64倍～最高256倍であった。HI試験でニューカッスルウイルスは全ての乳剤で否定され、ヒトインフルエンザ簡易キットでは全て陽性であった。RT-PCRでも全ての乳剤においてH5亜型インフルエンザに特異的な遺伝子の増幅が認められ、さらに発育鶏卵の出血死亡胎仔も確認された（図-4）。国の高病原性鳥インフルエンザ防疫マニュアルの検査方法では鶏卵接種後、2継代実施し最終判定を行うとあったが、1継代でこれだけの結果が出たため、国と綿密な協議後、2継代の実施をせず防疫マニュアルを2日短縮し疑陽性と判断した。以上から大分県では発生へ向けた防疫対策を緊急に準備した。

図-3 病性鑑定(解剖)2月14日

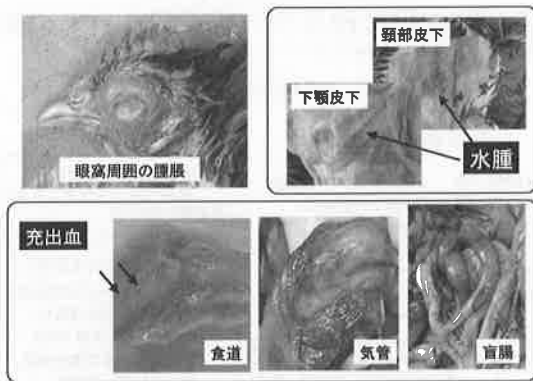
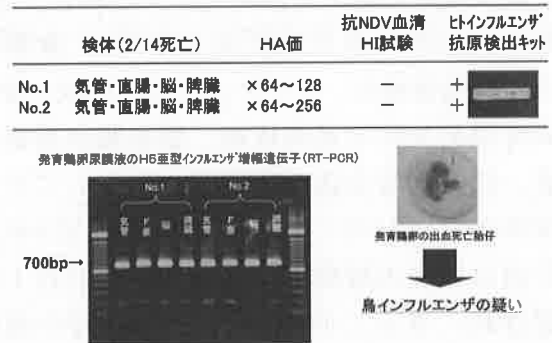


図-4 病性鑑定 2月14日～16日(1継代)



【疑陽性防疫対応～確定】

H P A I 疑陽性における防疫体制整備については、防疫対策本部立上げの準備や国、隣県への疑陽性発生報告、茨城県つくば市にある動物衛生研究所での確定のための検体輸送ルートの検討、H P A I 発生報告の準備、検査結果から判断して管轄家保に対しての早急な残りのチャボ6羽とアヒル1羽の殺処分及び埋却の指示、移動制限区域（告示方法）の設定準備や区域内の農場把握、防疫資材追加のための県財政課との予算協議、知事以下県関係機関による防疫会議等を実施した。

疑陽性と判断した次の日の2月17日に確定診断のため臓器乳剤や尿膜腔液、同居鶏血清を国連規格の資材で梱包後、大分家畜保健衛生所・病性鑑定課職員1名が動物衛生研究所へ搬送した。公共交通機関を使用した場合、マスコミ報道等で問題になる可能性があるかと判断し、羽田空港から動衛研までは県東京事務所の公用車を利用した。大分家保公用車→航空機→東京事務所公用車を利用して17日昼には動衛研へ到着し、同日夕方にはH5亜型鳥インフルエンザと

図-5 検体輸送・血清亜型決定 2月17日



確定された。大分家保から動衛研まで合計4.5時間という迅速な搬送であるとともに通報から4日で確定に至った（図－5）。

【確定後防疫対応－全庁体制－】

確定当日に全庁緊急対応体制が敷かれ、大分県危機管理委員会の緊急設立を行い、知事以下県庁内9部局それぞれが出来る体制を整え、副知事を本部長とする食の安全確保推進本部、農政部の県HPAI防疫対策本部、福祉保健部の県HPAI健康危機管理対策本部を設置した（図－6）。県HPAI防疫対策本部では、緊急防疫対策会議や国、隣県との情報交換、防疫資材費の追加協議、マスコミ対応室や県民の不安解消のための相談窓口設置等を実施した。

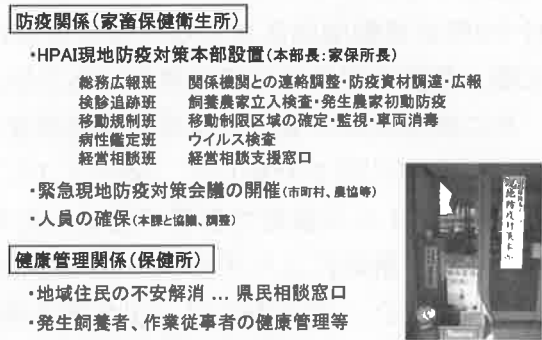
図－6 全庁緊急対応体制（HPAI確定）2月17日



【確定後防疫対応－家保－】

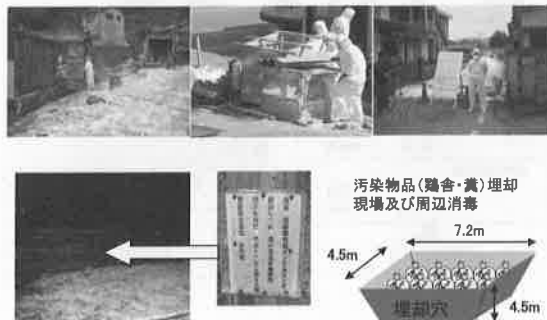
各家保では現地防疫対策本部を設置し、発生現場の初動防疫や養鶏農家への立入検査の実施、鶏や鶏卵、鶏肉などの移動制限区域（半径30km）の確定、消毒ポイントの確定及び消毒の開始、市町村、農協、関係団体を含んだ緊急防疫対策会議の開催等を実施した（図－7）。また、各保健所では、地域住民の不安解消のための相談窓口設置や発生家庭の飼養者及び作業従事者に対して健康管理のケアを実施した。

図－7 現場対応（HPAI確定）2月17日



現地防疫対策本部の主要な防疫対応は、発生現場の初動防疫、半径30kmの移動制限区域の設定、関係車両からのHPAI蔓延を防止するための消毒ポイントの設置及び3回実施した清浄性確認検査である。清浄性確認検査は制限区域内の養鶏農家や愛玩鶏を飼養している一般家庭等を家畜防疫員が立入巡回し、異常鶏の有無を確認する臨床検査と採材した気管やクロアカスワブからのウイルス分離検査、血清での抗体検査を実施した。

図－8 初動防疫 2月18日



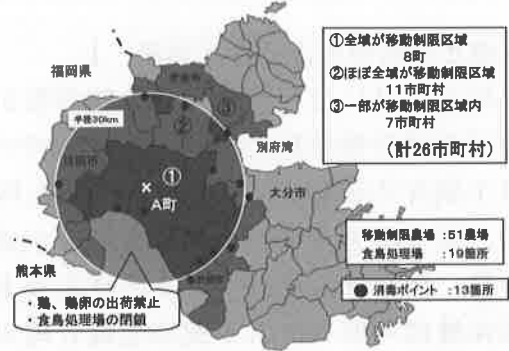
【初動防疫】

初動防疫については、HPAIと確定された次の日の2月18日に発生現場の汚染物品（鶏舎、糞）の埋却や消毒を実施し、1日で初動防疫措置が完了した（図－8）。

【移動制限設定】

確定後の半径30kmの移動制限区域は図-9のとおりで、8町については町の全域が制限にかかり、11市町村がほぼ全域、一部が7市町村で合計26市町村が含まれた。移動制限区域では鶏、鶏卵の出荷禁止や食鳥処理場の閉鎖を実施した。移動制限農場数は51農場、小規模を含めた食鳥処理施設数は19箇所あり、鶏卵選別包装施設（GPセンター）は区域内には無かった。区域外へ蔓延防止するための消毒ポイントは国道等で13箇所に設置し、畜産関係車両の消毒を開始した。

図-9 移動制限区域(半径30km)設定



【清浄性確認検査】

第1回目の清浄性確認検査は、2月17日から28日までの10日間で実施した（図-10）。異常鶏の有無を確認した臨床検査は合計4,319戸、1,408,325羽、ウイルス検査は大規模養鶏場が51農場、小規模113農場からスワブを1,305羽、血清を1,345羽採材した。臨床検査及びウイルス検査で異常が無かったため、2月28日に移動制限区域を半径30kmから半径5kmへ縮小するとともに半径5kmから半径30kmを搬出制限区域と設定した。これにより26市町村中2町が移動制限区域で残りの24市町村が搬出制限区域へと変更された。搬出制限区域は鶏、鶏卵の域外の出荷は禁止であるが、食鳥処理場やGPセンターは再開された。

次に搬出制限区域内の清浄性確認検査のための第2次清浄性確認検査を2月29日から3月3日までの4日間で実施した（図-11）。473戸の臨床検査、大規模養鶏51農場、小規模74農場のウイルス検査で異常が無かったため、3月4日に半径30kmの搬出制限を解除した。搬出制限の解除により半径5kmの移動制限区域だけとなり消毒ポイントも13ヶ所から4ヶ所へと縮小した。大分県では、引き続き県独自で第3次清浄性確認検査を実施した（図-12）。3月8日、9日の2日間で合計132戸、1,112,000羽の臨床検査を実施し、大量死や異常等の感染拡大が無かったため、最後に残った半径5kmの移動制限を解除し、清浄化宣言をするために国との協議に入った。

図-10 清浄性確認検査(第1次) 2月17日~27日

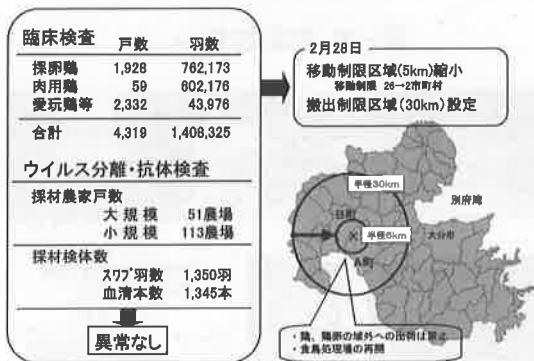


図-11 清浄性確認検査(第2次) 2月29日~3月3日

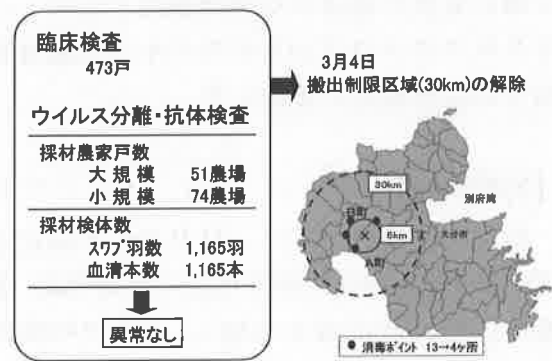


図-12 清浄性確認検査(第3次:県独自) 3月8日~9日

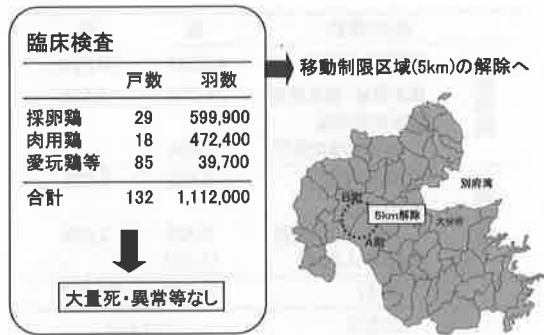
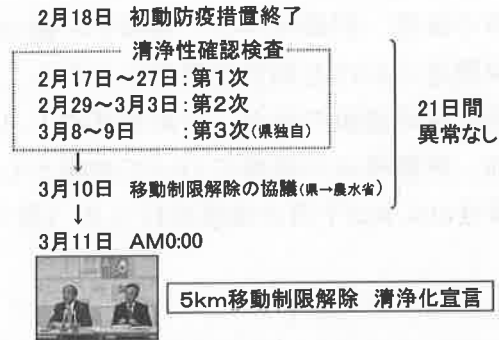


図-13 清浄化宣言



【清浄化宣言】

2月18日の初動防疫措置終了後、3回の清浄性確認検査で異常が無かったため、3月10日に移動制限区域半径5kmの解除について農水省と協議を行った。3月11日に初動防疫措置終了から21日間異常が無かった旨を県から農水省に報告後、大分県知事による清浄化宣言を行い、全ての移動制限を解除した(図-13)。

【防疫結果】

防疫経費は、備蓄事業や追加備蓄(消毒液、防疫服、採血資材、動力噴霧器等)、各家保での防疫資材やウイルス検査費、消毒ポイントにおける経費で合計38,482千円であった。消毒ポイントは作業を業者へ委託したため最も経費がかかった(表-1)。防疫に係る動員人数は、初動防疫、立入検査等の家畜防疫関係に701人、消毒ポイントは464人、鶏卵等の保管は267人、防疫対策本部は151人、ウイルス・抗体検査は70人で合計延べ1,653人であった。そのうち家畜保健衛生所の動員人数は686人であった(表-2)。

表-1 HPAI防疫経費

項目	金額
防疫資材 備蓄(事業)	1,600 消毒液、防疫服等
追加備蓄	6,000 消毒液、防疫服、採血管等
	1,000 動力噴霧器
家保	2,257 防疫資材、事務費等
検査関係 ウイルス検査	2,447 発育鶏卵、抗原検出キット等
消毒ポイント	25,678 委託業者
	38,482 千円

表-2 防疫に係る動員人数

	()は家保動員数
家畜防疫関係 (初動防疫・立入検査等)	701 (381)
消毒ポイント関係	464 (71)
鶏卵等の保管関係	267 (47)
防疫対策本部関係	151 (117)
ウイルス・抗体検査関係	70 (70)
計	1,653 (686)

消毒ポイントでの車両消毒は、HPAI確定日から終息宣言の前日まで延べ1,387台実施した。県庁、保健所の総合窓口における県民等からの相談内容は、家畜防疫に関するものが170件、食品安全220件、人への感染等の健康相談105件、商工関係43件、特に動物愛護関係が最も多く、その他を含め合計1,643件であった。

被害のあった養鶏農家に対しての損失補填は、採卵鶏が鶏卵価値減少や移動制限にかかる鶏卵の保管、別場所への一時保管の輸送、育雛出荷遅延における飼料代増加にかかること、肉用鶏は鶏肉価値の減少、出荷遅延による飼料代増加、育雛導入の経費について対象とし、国、県併せ101,822千円の補填を行った（表-3）。

【まとめ及び考察】

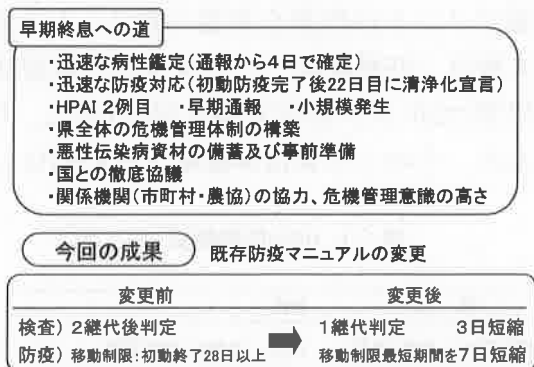
今回の大分県での防疫対応の特徴は既存する防疫マニュアルを短縮し、より早期に終息できたという点と悪性伝染病発生対策への事前準備徹底の2点である。防疫マニュアルでは2継代培養後判定であったが、人用抗原検出キットを利用した検査状況から国との協議の上、1継代培養で判定をし、2日間の短縮を行い通報から4日で確定という迅速な病性鑑定が出来た。また、移動制限区域の解除については、防疫マニュアルの中で初動防疫完了後28日以上を有するとあったが、清浄性確認検査での検出キットを用いた検査期間の短縮や県独自の第3次確認検査を実施することにより、初動防疫措置終了後から21日間異常が無く、国との協議の上7日間短縮することが出来、清浄化宣言に至った。また、海外悪性伝染病に対しての備蓄事業の新規設立をしたことや韓国でのHPAI発生後、常にウイルス分離可能な発育鶏卵を準備したり、巡回による異常鶏発見時の早期通報の徹底指導等の対策を実施したことも早期終息を可能にした点である。その他、国内2例目の発生で検査や防疫体制を整える期間があったことや小規模発生であったこと、県全体の危機管理体制の構築、行政側からの国との徹底協議、県、市町村、農協等の関係機関の協力及び関係者の危機管理意識が高かったこと等が上げられる（図-14）。

今回の防疫における問題点は、愛玩鳥飼養者の把握が韓国の発生以来、市町村の協力で把握している部分もあったが、実際に立ち入りを行なっていくとあちらこちらで飼養されており大変だったこと、放置鶏や死亡野鳥の通報が増えそれらの対応に家畜防疫員がさかれ清浄化検査に差し障る場合があり、県のOBが家保に常駐して対応したこと、過剰なマスコミ報道が過熱気味で、本課や現場の担当者の執務環境確保に困ったこと、風評被害として、スーパーなどで大分県産鶏肉、卵の締め出しがありそれらの移動禁止等による県内養鶏農家の経営圧迫や反発があったこと、補填事業の鶏卵や鶏肉の算定の仕方の課題も残った。しかし、早期に終息できたことや損失補填により養鶏農家の被害は少しでも軽減されたと推察される。

表-3 養鶏農家への損失補填額

		(千円)	
助成項目		県	国
採卵鶏	鶏卵価値減少	42,864	16,255
	鶏卵保管・輸送経費	5,054	3,534
	育雛出荷遅延		
	飼料代増加経費	2,258	
肉用鶏	鶏肉価値減少	6,430	6,430
	鶏出荷遅延		
	飼料代増加経費	2,828	2,828
	素雛導入経費	13,341	
合計		72,775	29,047
総合計		101,822	

図-14 まとめ



【終息後の危機管理体制再整備】

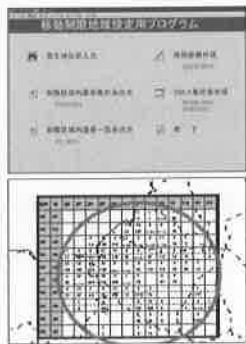
HPA I 終息後の3月には平成15年度補正で防疫資材の再備蓄を行った。4月には最終チェックとして移動制限区域内の養鶏農家を対象とした清浄性確認検査を実施したが異常鶏は確認されなかった。その後、大分県内の畜産飼養状況を把握した防疫（電子）マップの完成や県内畜産関係職員を対象とした机上演習、県の危機管理委員会の発足、県防疫マニュアルの作成等を行った。12月には九州、山口各県の畜産関係職員を参集し大規模な机上演習も実施した（図-15）。

海外悪性伝染病については今後も発生が予測されるため、常に事前準備や体制作りを実施、または検討しておく必要がある。我々の任務は畜産振興だけでなく、家畜衛生対策がヒトへの公衆衛生対策に様々な形で影響を及ぼしていることを忘れず、共通感染症に対する最新知識の習得や危機管理対応とその準備を常日頃から怠ることはできない。

図-15 終息後の危機管理体制再整備

平成16年

- 3月 ・防疫資材再備蓄(3,000千円補正)
- 4月 ・移動制限区域内養鶏巡回
(最終チェック)
- ・防疫(電子)マップの作成
- 6月 ・机上演習(県内)
- 7月 ・県危機管理委員会発足
- 8月 ・県防疫マニュアル作成
- 12月 ・大規模机上演習
(九州・山口各県)



9. 食鳥検査データを活用したブロイラー養鶏場への衛生指導

三重家畜保健衛生所
 ○鈴木秀幸・宇都宮公平
 芦刈美穂・松岡恭二

【はじめに】

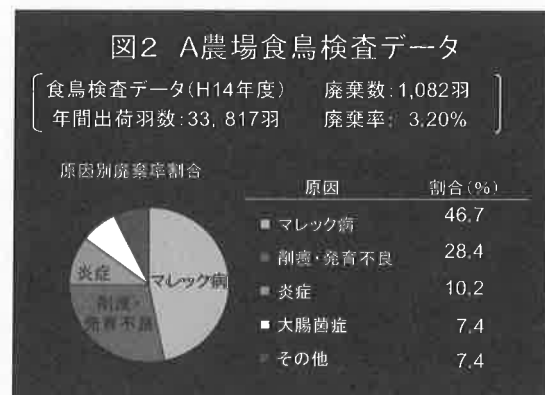
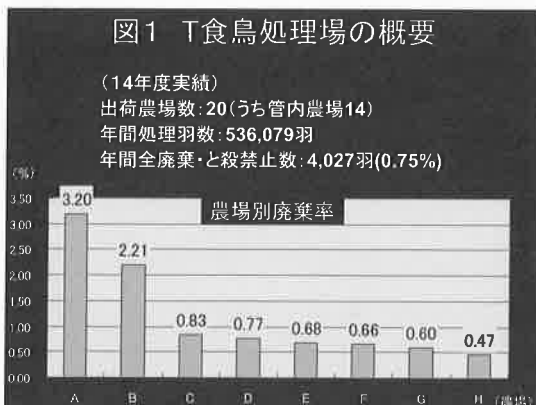
現在、消費者の「食の安全」に対する意識が高まり生産農場でも適切な衛生環境で健康な鳥を飼養することが望まれている。当家保管内では、平成15年5月に家保、保健所、T食鳥処理場等7機関よりなる食鳥肉安全確保検討会が発足し、生産現場から食卓までの総合的な衛生管理を検討することとなった。当家保では、生産現場における健康な鶏の出荷を目的に、食鳥検査データをもとに重点指導農家を選定、衛生指導を行い、一定の成果を得たので報告する。

【食鳥検査データの調査】

平成14年度実績では、年間536,079羽が処理され、うち、全部廃棄およびと殺禁止（以下、廃棄）は4027羽、0.75%となっている。これを農場別で見ると、A農場が廃棄率3.20%となっており、他農場にくらべて著しく検査成績が悪い状態だった。したがって、我々はA農場を重点指導農場と選定し、立ち入り検査・指導を行うこととした。（図1）

【A農場食鳥検査データの調査】

原因別に見てみると、マレック病が全体のおよそ半数、削瘦・発育不良が1/4と、2つで3/4を占めていた。したがって、以上の2点を重点指導項目と設定した。（図2）



【マレック病検査】

畜産飼料会社指導員とともに現地対策班を構成して、平成15年6月から平成16年9月にわたって合計34回現地立ち入り検査を行った。マレック病の検査について、現地での淘汰鶏や食鳥処理場での廃棄鶏を剖検したところ、36羽中7羽でマレック病が確認された。（図3）

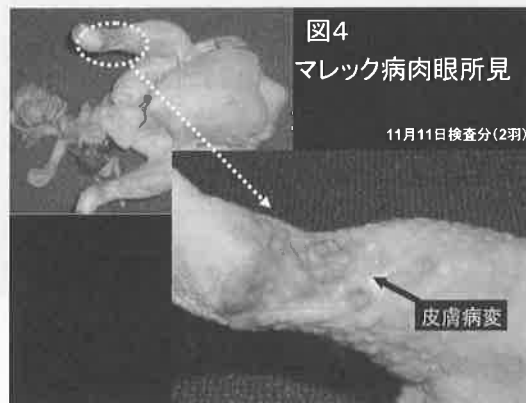
肉眼所見では皮膚毛根部に結節状の病変が認められ(図4)、組織所見では皮膚、脳、坐骨神経、肺、心臓でリンパ様細胞の浸潤が認められた。(図5、6)

図3 マレック病剖検所見

淘汰・廃棄鶏剖検(36羽中7羽マレック病) (H15.6.18日~12月22日)

剖検日	所見	診断名
H15年 6月18日	肝臓白色結節	マレック病
#	肝臓白色結節	マレック病
#	脾臓白色結節	マレック病
7月11日	肝臓白色結節、線維素析出	マレック病、大腸菌症
8月6日	脾臓白色結節	マレック病
11月11日	足部発赤・腫脹、脾臓腫大	マレック病
	足部発赤・腫脹、脾臓腫大	マレック病

図4
マレック病肉眼所見



11月11日検査分(2羽)

図5 マレック病(病理組織学的検査)

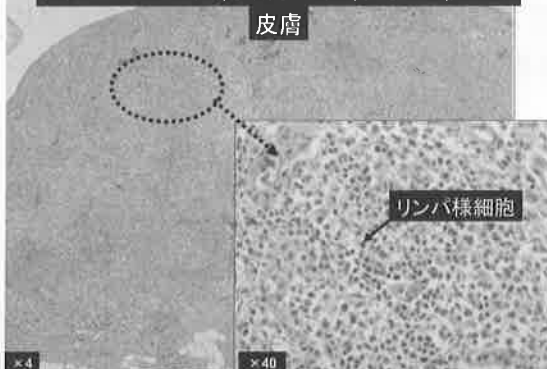


図6 マレック病組織所見一覧

	No.1	No.2
心臓:リンパ様細胞浸潤	+	+
肺:リンパ様細胞浸潤	++	NT
肝臓:リンパ様細胞浸潤	-	-
腎臓:リンパ様細胞浸潤	-	-
脾臓:リンパ様細胞浸潤	-	-
脳:リンパ様細胞浸潤	NT	+
坐骨神経:リンパ様細胞浸潤	+	+
皮膚:リンパ様細胞浸潤	+++	+++

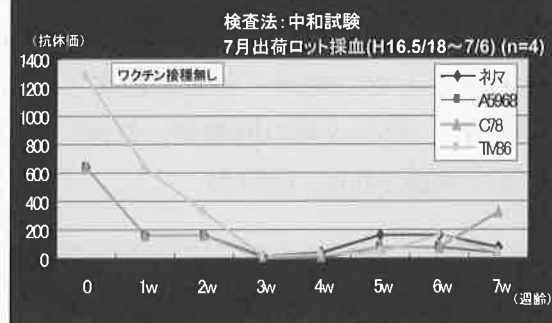
血清抗体価検査では、マレック病ウイルス抗体価が1週齢~4週齢で野外株の感染が否定できないような抗体価の上昇が認められた。(図7)

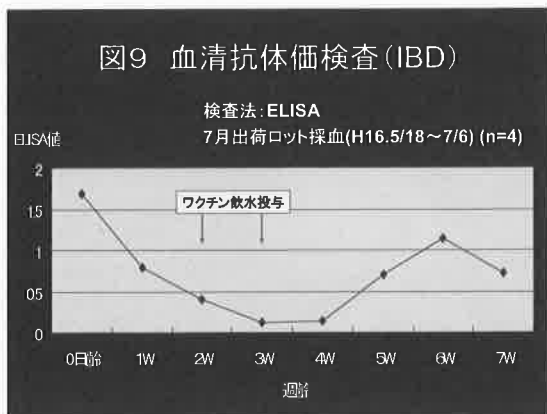
IB、IBDの野外株抗体価の上昇はほとんど見られず、マレック病の大量発症はIB、IBDによって惹起されている可能性は低いと判断した。(図8、9)

図7 血清抗体価検査(MD)



図8 血清抗体価検査(IB)





【削瘦・発育不良鶏検査】

削瘦・発育不良の見られた淘汰鶏を剖検したところ、15羽中7羽で小腸及び盲腸からコクシジウムオーシストが確認された。(図10)

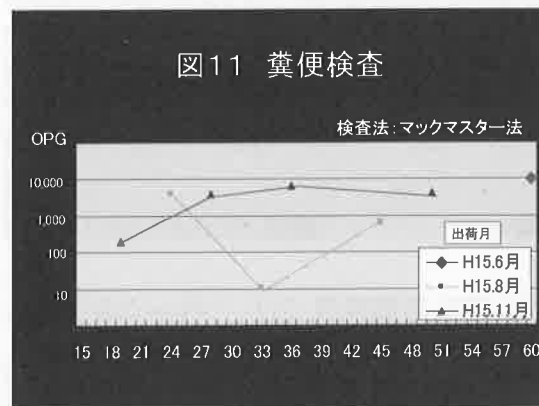
糞便検査を実施したところ、多くの日齢で 1000OPG 以上のコクシジウムオーシストが確認された。また、血便などの発症鶏が確認されたため、削瘦・発育不良の原因がコクシジウム症によるものと考えた。(図11)

図10 削瘦・発育不良鶏検査

淘汰鶏剖検 (15羽中7羽コクシジウム症) (H15.6月18日~12月22日)

剖検日	所見	盲腸 OPG	小腸 OPG	診断名
H15年 7月22日	所見無し	11	416	コクシジウム症
	所見無し	2100	200	コクシジウム症
	腹腔内癒着	2000	1388	コクシジウム症、大腸菌症
	所見無し	4000	125	コクシジウム症
	所見無し	750	367	コクシジウム症
	腹腔内癒着	0	227	コクシジウム症、大腸菌症
9月1日	所見無し	319	NT	コクシジウム症

NT: 未検査

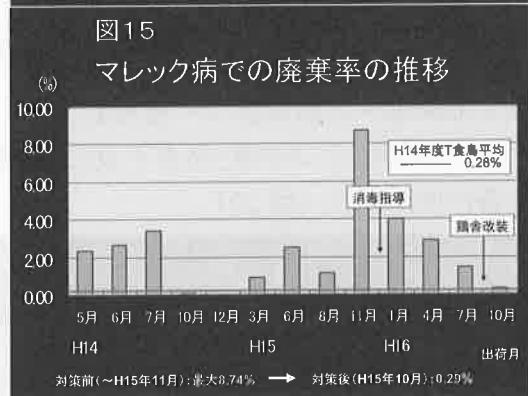
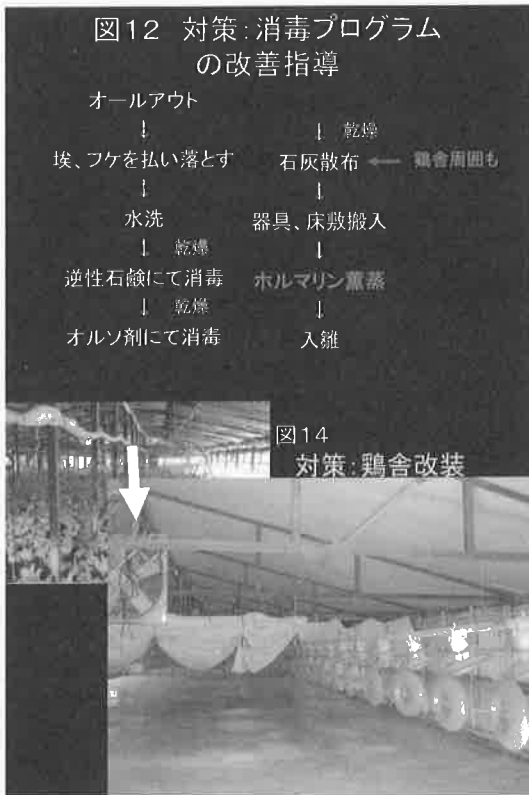


【マレック病対策と結果】

鶏舎周囲の石灰散布および、器具床敷搬入後のホルマリン薫蒸により、消毒の徹底を指導した。(図12)

また鶏舎の改装を指導し、鶏舎周囲がコンクリート舗装に、鶏舎天井が断熱ボードに変更されたことで、洗浄・消毒が徹底されるようになった。(図13、14)

その結果、マレック病の廃棄率は低減し、直近の出荷データでは T 食鳥処理場での平均値程度にまで改善された。(図15)



【コクシジウム対策と結果】

投薬プログラムは従来、抗原虫剤ナイカルバジンとイミダゾン、またはナイカルバジンとサルファ剤合剤シノラルの 2 回または 3 回投与であったが、当農場においてはなかなか期待された効果が得られなかったため、最終的にサルファ剤合剤エクテシンの単回または 2 回投与に変更した。(図16)

また、経時的なオーシストの推移を把握するために、農場主に糞便を毎日遠心管に採取してもらい経時的にコクシジウムオーシスト数を計測することで、必要に応じて投薬を指導した。その結果、一時的にコクシジウムが増加した場合でも、出荷直前の休薬期間中にはコクシジウムを抑制することができるようになった。(図17)

この結果、消毒プログラム変更後の削瘦・発育不良による廃棄率は低減し、T 食鳥処理場での平均値とおおよそ同様にまで近づくようになった。(図18)

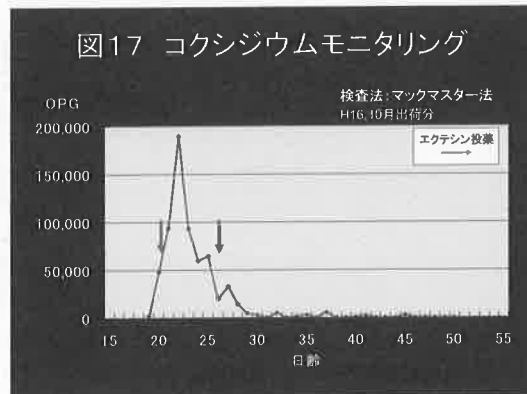
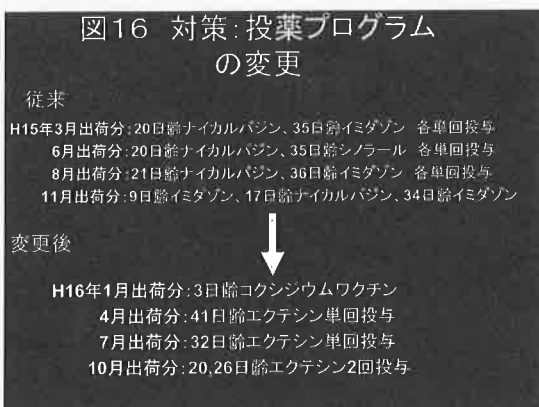
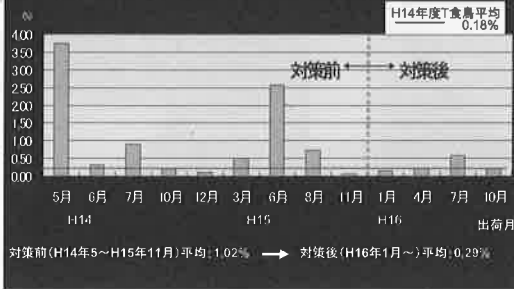


図18

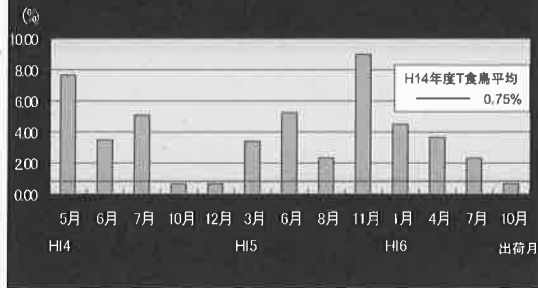
削瘦・発育不良での廃棄率の推移



【全部廃棄・と殺禁止率の推移】

マレック病および削瘦・発育不良による廃棄率が低減したことに伴って、A農場全体の廃棄率も改善に向かった。(図19)

図19
全部廃棄・と殺禁止率推移



【まとめ】

食鳥検査データの使用により、農家別廃棄率の検討が容易になったことで、消毒プログラムの見直し、鶏舎改装、経時的コキシジウムモニタリングによる効果的な投薬を行うことができ、廃棄率を大幅に低減することができた。

今後も、食鳥検査データをより活用し、迅速な農場へのデータフィードバックおよび、指導を行っていきたいと思う。

10. ヨーネ病発生農家における菌検索とVNTR型別を用いた疫学的考察

大分家畜家畜衛生所

○佐藤 亘 山田 倫史 足立 高士 広瀬 英明

[背景・目的]

2003年度、大分県では6戸13頭のヨーネ病が発生し、2002年度以前に比較して発生が急増した。現在、発生農場における清浄化対策としては、農場の消毒と併せて定期検査による患畜やハイリスク牛の早期摘発が一般的に行われているが、原因となるヨーネ菌は培養に長期間要することや感染牛の抗体産生も弱いことから発生後の防疫が長期にわたる傾向が強く、迅速且つ確実な本病の診断技術と疫学調査法の確立が急務とされている。そこで今回、患畜5頭および自主淘汰9頭の殺処分を行った管内1酪農家の発生例について、ヨーネ菌の分離培養法の比較と疫学的考察法の検討を試みたので報告する。

[発生の概要]

2003年7月にホルスタイン種47頭を飼養する管内酪農家において、搾乳牛2頭（P1、P2）が削瘦と難治性の下痢を呈することから病性鑑定を行ったところ、2頭共に糞便の直接塗抹標本から抗酸菌が検出され、ヨーネ病と診断された。

その後、当農場で清浄化対策と併せて継続的に検査を行ったところ、2003年10月に糞便からのヨーネ菌分離により1頭（P3）、2003年11月および2004年3月にELISA検査により各々1頭（P4、P5）を摘発し、これらの患畜5頭の殺処分を行った。

[清浄化対策]

本農場において患畜の殺処分と消毒による清浄化対策を実施するとともに、飼養牛の系統図と同居歴を調査する疫学調査、全飼養牛の糞便からのヨーネ菌検索、殺処分および自主淘汰牛の病性鑑定成績から検討し、感染の危険度の高い個体の選定と自主淘汰を行った。

1. 疫学調査

1) 調査方法

(1) 系統図の作成

登録台帳などをもとに飼養牛の系統図を作成し、血統や導入、同居歴について調査した。

(2) 糞便からのヨーネ菌分離および遺伝子の検索

マイコバクチン加ハロルド培地（ハロルド培地）を用いて定法による糞便からのヨーネ菌分離を行い、併せてヨーネプレップ（共立製薬）を用いて糞便からヨーネ菌DNAを抽出し、IS900領域のNested-PCRによる遺伝子検索を行った。

2) 成績

ELISA検査および培養による糞便からの菌分離は、全ての飼養牛について陰性であったが、8頭（S1～S8）の糞便からヨーネ菌遺伝子が検出された。（表1）

またこれらの牛について血統や同居歴を調査すると、患畜と直接の血統的関連が認められたことや、生後から育成期までの感染の危険性が高い時期に患畜との同居歴を持つこと

から、畜主と協議のうえS1～S8を自主淘汰牛として選定した。S9についてはP5が発症した際に同居していたことから淘汰対象とした。(図1)

表1 自主淘汰牛選定時の検査成績

自主淘汰候補牛	ELISA値	ADH1培地	糞便のNested-PCR		系統図
			1st	2nd	
S1 (H15.6.10生)	0.26	-	-	+	P3と同居
S2 (H14.2.18生)	0.24	-	-	+	S7, 8と同居
S3 (H10.6.11生)	0.21	-	-	+	P3との同居
S4 (H7.7.20生)	0.02	-	-	+	P3の親
S5 (H7.9.28生)	0.10	-	-	+	P4と同居
S6 (H14.2.21生)	0.14	-	-	+	S7, 8と同居
S7 (H14.2.20生)	0.04	-	-	+	P3の子
S8 (H14.2.20生)	0.16	-	-	+	P3の子
S9 (H15.10.28生)	NT	-	-	-	P5の子

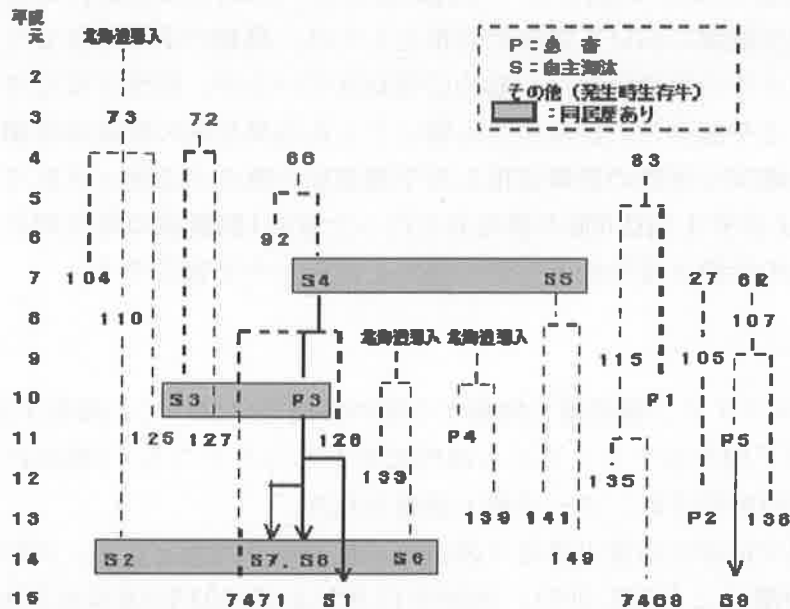


図1 発生農場における同居歴と系統図

2. 病性鑑定

1) 方法

殺処分および自主淘汰を行った14頭について、臨床症状、ヨーネライザ（共立製薬）を用いたELISA法による血清学的検査、糞便の直接塗抹鏡検、ハロルド培地を用いた糞便培養、病理解剖（肉眼、組織所見）を実施した。

2) 成績

自主淘汰牛は全て臨床症状、血清学的検査、糞便検査とも陰性であったが、病理解剖で小腸粘膜の肥厚や類上皮細胞の形成などヨーネ病が疑われる病変が軽度に認められたため、潜在的感染牛の疑いが示唆された。(表2)

表2 病性鑑定成績

個体No	臨床 症状 x1	チール染色 糞便 組織 x1		ELISA値 x2	糞便培養 ADH1培地 直腸(回腸)	消化管病変 肉眼 組織 x1		
		+	+			+	+	
P1	+++	+++	+++	1.01(I)	+	(+)	+++	+++
P2	+++	+++	+++	1.21(I)	+	(+)	+++	+++
P3	-	-	++	0.96(I)	+	(+)	+++	+++
P4	-	-	+	0.79(II)	-	(-)	+++	+
P5	-	-	+	0.92(II)	-	(-)	+++	+
S1	-	-	-	-0.01(II)	-	(-)	+	+
S2	-	-	-	0.01(II)	-	(-)	+	+
S3	-	-	-	0.04(II)	-	(-)	+	+
S4	-	-	-	-0.04(II)	-	(-)	+	-
S5	-	-	-	0.06(II)	-	(-)	+	-
S6	-	-	-	-0.01(II)	-	(-)	+	+
S7	-	-	-	0.04(II)	-	(-)	-	-
S8	-	-	-	0.16(II)	-	(-)	+	+
S9	-	-	-	ネグ(-)	-	(-)	+++	+

※1: + 軽度, ++ 中程度, +++ 重症

※2: (I)ヨーネライザI, (II)ヨーネライザII

以上の計画的な淘汰を加えた清浄化対策によって、本農場における飼養牛のELISA検査成績は、初発生時にELISA値が高いものが数頭見られたのに対し、2004年7月にはすべて0.15未満の値となった。(図2)

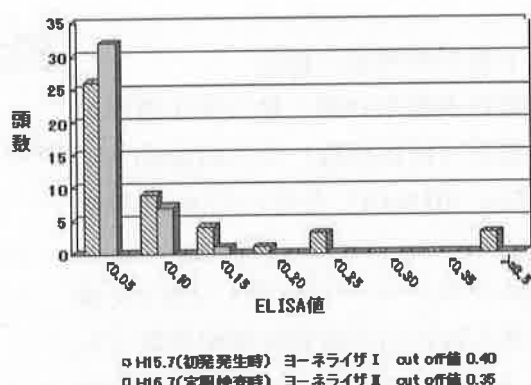


図2 ELISA値の推移

[本事例の問題点と検討事項]

本事例の清浄化を推進していくうえで、ヨーネ菌培養法と疫学的考察に関する問題点を検討した。

診断法では、ヨーネ菌の培養期間が長いことによる摘発の遅延が考えられ、またELISA検査および菌分離とも陰性の自主淘汰牛でヨーネ病を疑う病変を確認したことから、ハロルド培地とBacT-ALERT MP液体培地（液体培地）を用いて、より確実なヨーネ菌培養法の比較検討を行った。また併せて、糞便およびパラフィン切片からヨーネ菌遺伝子を検索し、組織内へ侵入したヨーネ菌の検索を行った。

疫学的考察としては、本農場は導入牛が少数であったために、系統や同居歴から淘汰対象を絞り込みやすい事例だったと考えられるが、導入が多い場合には系統図から考察すると対象が広範囲におよぶと考えられ、新たな分子疫学的考察の一助とするため、菌の由来調査へのVariable Number of Tandem Repeat (VNTR型別) の応用について検討した。

[材料および方法]

1. 糞便培養法の検討

病性鑑定を行った14頭の回腸および直腸の内容物を用いた。培養は診断予防技術向上対策事業に準じた形で行い、ハロルド培地を用いて3ヵ月間培養したものと、液体培地を用いて2ヵ月間培養してコロニー確認のために更にハロルド培地へ10 μ 1接種し、3ヵ月間培養したものを比較した。また液体培地で2ヵ月間培養したものについては、IS900領域のNested-PCRによるヨーネ菌遺伝子の検索も併せて行った。

2. 糞便およびパラフィン切片からのヨーネ菌遺伝子の検索

病性鑑定を行った14頭の回腸および直腸の内容物、回腸および回腸リンパ節のパラフィン切片を用いて、糞便からはヨーネプレップ（共立製薬）パラフィン切片からはTAKARA D EXPATを用いてDNAを抽出し、それらについてIS900領域のNested-PCRを行うことにより、糞便中および組織中からのヨーネ菌遺伝子の検索を行った。

3. 分子疫学的考察の検討

病性鑑定実施牛14頭と他の発生農家の患畜の糞便（液体培地）からQIAamp DNA Mini Kit (QIAGEN) を用いてDNAを抽出し、Ready-To-Go PCR Beads (Amersham) と14種のプライマーを使用してPCRを実施して得られた14の縦列反復配列数 (Variable Numbers of Tandem Repeats) の組み合わせからアシルプロファイルを作成して菌の由来を調査し、他の発生農場のものと比較検討した。(図3、図4)

ジアラートDNA PCR 患畜の糞便（液体培地）よりDNAを抽出
Ready-To-Go PCR Beads (Amersham) primer 各1μl
ジアラートDNA 2μl
DYE 21μl

95度 5分
98度 10秒
68度 30秒
72度 1分
×36回

プライマー (14プライマーのセットでVNTR型別)

MATR-0	5'-TGCGGAGGTTGATGTTGTC-3'	5'-TGGTAAGCGGATGTTGCA-3'
MATR-1	5'-GAAGTGGGGGAAATGCGA-3'	5'-GTGAGGCGGCTGGGTAA-3'
MATR-2	5'-TTGAGGAGTGTAAAGCGT-3'	5'-CGCGTCAAGGAAATGTTG-3'
MATR-3	5'-GGATGAGAAAGGCGGATG-3'	5'-TGGTGAAGAAAGGAGAGT-3'
MATR-4	5'-GAGATGGGATGGGATGCT-3'	5'-GCGTACGGGCTTGTGATGT-3'
MATR-5	5'-CTTGAGGAGGAGGATGAG-3'	5'-GTGGTGAAGTGGCTTTGG-3'
MATR-6	5'-TGGAGGAAAGGAAAGTGA-3'	5'-GCGTATGAGCTGAAAGG-3'
MATR-7	5'-GGAGGAAAGGAGGAAAGG-3'	5'-TGTGAGGAGGAAAGTGA-3'
MATR-8	5'-CTGTGGAGGAGGAGGTTT-3'	5'-AGCGAGGAGGAGGAGGTTT-3'
MATR-10	5'-TGGTGTGTTGAAATGGATG-3'	5'-TGTGCGTGAATGAGGCTT-3'
MATR-12	5'-TGTGAGGAGGAGGAGGAG-3'	5'-TGGATGGGAGGAGGAGG-3'
MATR-13	5'-GCTGGAGGAGGAGGAGTGG-3'	5'-AGGAGGAGGAGGAGGAGG-3'
MATR-14	5'-TGGTGGGAGGAGGAGTGT-3'	5'-GGGTTAGTGGGAGGAGTGT-3'
MATR-15	5'-GGAGGAGGAGGAGGAGG-3'	5'-TGAAGGAGGAGGAGGAGG-3'

図3 VNTR型別と使用プライマー

VNTR領域 (プライマー)	MATR-0	MATR-1	MATR-2	MATR-3	MATR-4	MATR-5	MATR-6	MATR-7	MATR-8	MATR-10	MATR-12	MATR-13	MATR-14	MATR-15
サイズ	105	53	53	53	53	58	58	57	57	55	57	58	58	57
反復回数	0	228	104	105	100	133	210	220	106	176	371	235	215	104
	1	335	281	247	248	221	191	208	277	183	231	428	201	273
	2	530	334	300	301	274	240	326	334	220	286	495	347	331
	3		397	353	354	327	307	384	391	277	341	542	403	390
	4		440	408	407	380	385	442	448	334	396	590	459	447
	5		493	450	440	433	423	500	505	391	451	656	515	505
	6		544	512	513	489	481	558	562	449	506	713	571	563
	7		599	585	586	539	530	616	619	505	581	770	627	621
	8		652	618	619	592	597	674	678	582	616	827	683	679
アシルプロファイル	1	0	2	2	4	4	0	4	3				

図4 VNTR型別からのアシルプロファイルの作成

[成績]

1. 糞便培養法の検討

ハロルド培地のみによる培養と比較して、液体培地とハロルド培地を併用した方が高い分離率を示したが、液体培地で2ヶ月間培養したものからヨーネ菌遺伝子を検索したものは、さらに高率に遺伝子が検出された。(表3)

2. 糞便およびパラフィン切片からのヨーネ菌遺伝子の検索

両検体とも高率にヨーネ菌遺伝子が検索され、糞便中、組織中ともにヨーネ菌が存在するものと考えられた。

また臨床症状、糞便および組織のチール染色、ELISA検査、ハロルド培地による糞便培養の検査において全てが陰性の個体でもヨーネ病に見られる消化管病変が認められ、また糞便とパラフィン切片からヨーネ菌遺伝子が高率に検出されていることから、実際に摘発されているよりも多くの牛が潜在的な感染牛として存在することが示唆された。(表3)

表3 検査成績と糞便培養成績および遺伝子検索成績

個体No	チール染色		消化管病変		ELISA値	糞便培養		遺伝子検索	
	糞便	組織	肉肥	組織		ハロルド培地	液体培地	糞便	パラフィン切片
	※1		※1			※2 (I)	※2 (II)	※2 (I)	※2 (II)
P1	+++	+++	+++	+++	1.01(I)	+	+	+	+
P2	+++	+++	+++	+++	1.21(I)	+	+	+	+
P3	-	++	+++	+++	0.36(I)	+	+	+	+
P4	-	+	+++	+	0.79(II)	-	+	+	+
P5	-	+	+++	+	0.92(II)	-	+	+	+
S1	-	-	+	+	-0.01(II)	-	+	-	+
S2	-	-	+	+	0.01(II)	-	+	+	+
S3	-	-	+	+	0.04(II)	-	+	+	+
S4	-	-	+	+	-0.04(II)	-	+	+	+
S5	-	-	+	-	0.05(II)	-	+	+	+
S6	-	-	+	+	-0.01(II)	-	+	+	+
S7	-	-	-	-	0.04(II)	-	+	-	+
S8	-	-	+	+	0.16(II)	-	+	-	+
S9	-	-	+++	+	ネグ(-)	-	+	+	+

※1: +弱陽性, ++中程度, +++強陽性 ※2: (I)ヨーネライザI, (II)ヨーネライザII

3. 分子疫学的考察の検討

VNTR型別により作成されたアリルプロファイルを比較すると、本農場で分離されたヨーネ菌は全て同一の型を示していたことから、同一由来である可能性が非常に高いと考えられた。また他の発生農場のものは本農場で分離されたものとは全て異なった型を示した。

[まとめ及び考察]

液体培地とハロルド培地を併用した場合、ハロルド培地のみと比較して高い分離率を示したが、液体培地自体についてヨーネ菌遺伝子を検索したところ、さらに高率に遺伝子が検出された。これは、接種量または検体中の菌の絶対量がハロルド培地上でのコロニー形成に足りなかったことに起因するものと考えられたが、一方でPCRが死菌のDNAを検出した可能性も考えられ、今後検討する必要があると考えられた。

糞便とパラフィン切片についてヨーネ菌遺伝子を検索したところ、双方からヨーネ菌遺伝子が高率に検出されたことから、CR法による遺伝子検索は高感度かつ迅速な検査方法として活用できるものと考えられた。また併せて、パラフィン切片はヨーネ菌遺伝子検索のためのPCR材料として有用であることが示唆され、糞便からの分離成績と比較することによって、感染と通過菌を区別することも可能であると考えられた。

本農場におけるヨーネ菌の由来をVNTR型別を利用して考察したところ、全て由来が同一である可能性が高いと考えられた。このように由来が同一であると確認が可能であれば、系統や検査成績と併せて自主淘汰牛の絞り込みに有用であり、より効率的な清浄化対策の一助となることが示唆された。

ヨーネ菌は迅速かつ確実な診断が難しい疾病の1つと考えられるが、今後これらの検査を組み合わせることで、総合的に判断することで、確実な診断や清浄化に有用であると考えられた。

11. 管内一酪農家における脂肪肝の発生事例

宇佐家畜保健衛生所

○足立雅之 安達聡
吉田秀幸 吉森治平太

【はじめに】

搾乳牛の代表的な周産期疾病である脂肪肝は、代謝病・繁殖障害・分娩後の事故にもつながる疾病である。多くの酪農家では、分娩前後における発症予防が施されているものの、牛群の潜在的な肝機能障害を把握し給与飼料改善に取り組んでいる農場は少ない。今回、民間に飼料設計を委託する管内の一酪農家において、死亡牛が多発し、病性鑑定により脂肪肝と診断したため、飼養管理状況の把握・対策の検討を試みたので、その経過を報告する。

【発生農場の概要】

当該農場の規模は搾乳牛86頭、搾乳はパーラー方式・スタンションにて飼養している。2003年度に死亡した成牛のうち、代謝病が原因と疑われるものが28頭、2004年度9月までは12頭で、いずれも2002年度の10頭と比較し大幅に増加している（図-1）。

また、代謝病が疑われる死産のうち、年齢別集計では、2～9歳まで特に偏りは無く、月別の集計においても季節的な

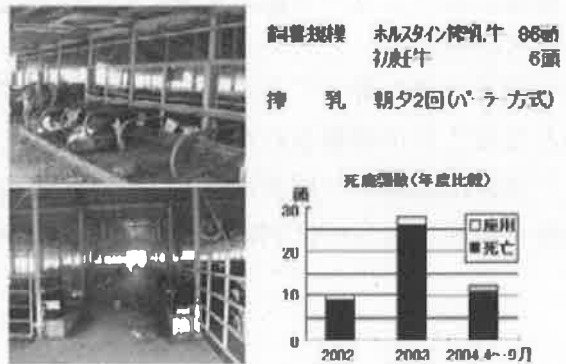


図-1 発生農場概要(1)

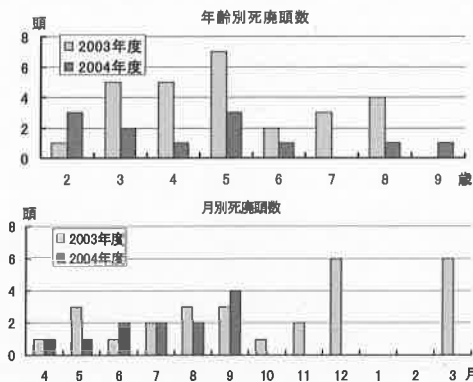


図-2 発生農場概要(2)

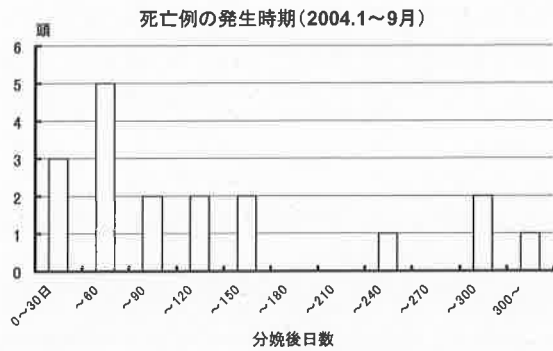


図-3 発生農場概要(3)

偏りは認められなかった（図-2）。2004年の繁殖周期で見た死亡の発生時期では、分娩後60日までが特に多く認められ、分娩やその後の泌乳が関与していることが考えられた（図-3）。

2004年6月、分娩後約2週間と1ヶ月でケ-シ・食欲不振に罹り、獣医師の治療途中に

死亡した成牛2頭について病性鑑定を実施した。

【検査内容】(表-1)

当該農場の成牛2頭について病性鑑定を実施した。剖検後、各主要臓器等を病理組織学的検査・細菌学的検査に供した。

また、飼養牛の乾乳期を含む泌乳ステージを5群に分け、各4~6頭を2004年7、10月に2回採血し、血清生化学検査結果を飼料給与状況等と比較することで対策を検討した。また、給与飼料成分と乳質の調査も行い、各検査成績との比較を行った。

【検査結果】

・死亡牛の病性鑑定

1頭目は5歳で正常分娩後、食欲不振となり治療が施されたものの改善されず死亡したため病性鑑定を行った(図-4)。

生年月日	1999.5.1生 ホルスタイン ♀
経過・臨床症状	産歴 3産 2004.5.28分娩(正常分娩) 分娩後食欲低下 外・内・シス錠投薬するも改善されず 2004.6.8 第四胃変位を疑い治療 2004.6.10 死亡



図-4 死亡牛の病性鑑定(1)

表-1 検査等内容

○死亡牛の病性鑑定
・実施時期 2004.6月(計 2頭)
・病理解剖、細菌学的検査、病理組織学的検査
○牛群の血液検査
・実施時期 2004.7月、2004.10月(計 2回)
・飼養牛を乾乳期、泌乳初期・最盛期・中期・後期の5群に分け、各4~6頭採血
・血清生化学的検査(ドライケミストリー法)
無機物 : カルシウム(Ca)、リン(P)
血中尿素窒素(BUN)、アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ(GOT)、
γ-グルタミトランスフェラーゼ(γ-GTP)、アルブミン(ALB)
総コレステロール(T-CHO)
○給与飼料成分、乳質調査

○解剖所見

重度の死後変化

- ①小腸壁が破れ、腹腔内に腸内容物を認めガス介満
- ②腹腔内の脂肪が融解
- ③脾臓の一部融解



その他所見

- 腎臓周囲に厚さ3cm程度の脂肪で覆われる
- 肝臓は褐色で脆弱

○細菌学的検査

重度の死後変化のため、検査実施不可能

図-5 死亡牛の病性鑑定(1)

剖検では、死後変化により主要臓器・消化器系の脆弱化を認めたが、死後20時間以上経過しており、細菌検査は実施不可能であった(図-5)。

2頭目は6歳で、先と同様に分娩後食欲不振となり治療が施されたものの起立不能となり死亡した症例(図-6)。剖検では、その他主要臓器には異常を認めなかったが、肝臓は退色し、断面には組織内に多量の脂肪を含んでいた(図-7)。

生年月日	1998.3.6生 ホルスタイン ♀
経過・臨床症状	2004.6.20分娩(正常分娩) 分娩後食欲低下 外・内・シス錠投薬 2004.6.17 補液等治療するが起立不能となる 2004.6.23 死亡



図-6 死亡牛の病性鑑定(2)

○解剖所見

- ・少量の腹水貯留
- ・肝臓は退色し脆弱
- ・その他肉眼所見なし



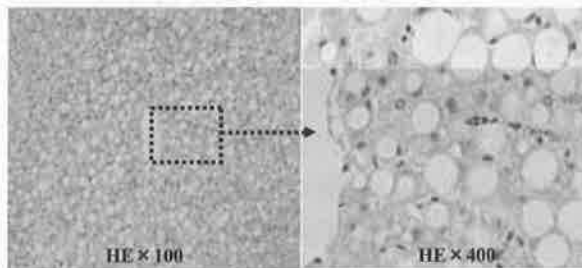
○細菌学的検査

主要臓器より有意菌分離なし

図-7 死亡牛の病性鑑定(2)

また、細菌学的検査では、主要臓器等から有意な細菌の分離は陰性であった。

病理組織所見では、2例とも脂肪肝の典型的な所見である、肝細胞の細胞質に脂肪滴と思われる大型の空胞形成を認めた(図-8)。さらに、その他主要臓器、消化器系には異常を認めなかったことから、死亡原因は重度の脂肪肝によるものと診断した。



肝細胞の細胞質内に大型の空胞形成

脂肪肝の所見

図-8 死亡牛の病性鑑定(1,2)

・飼養牛の血液検査

乳用牛の一般的な血清生化学値の平均±標準偏差を丸で示し、実際の測定値は三角で示している(図9~16)。

図-9はBUN測定値で、これは短期の蛋白質代謝を反映する。増加する場合は、分解

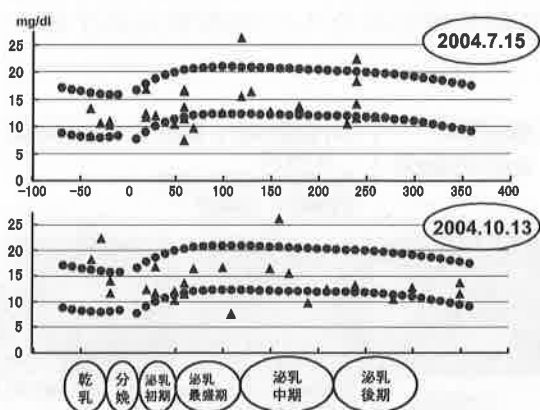


図-9 血中尿素窒素(BUN)

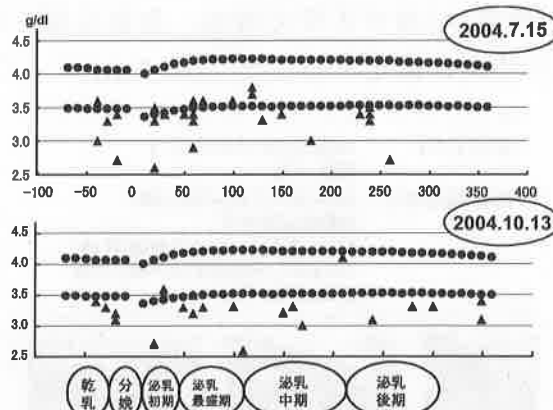


図-10 血中アルブミン(ALB)

性蛋白の過剰やルメン内微生物へのエネルギー供給不足、減少する場合には、蛋白の給与不足が疑われるが、2回の検査を通じて概ね平均前後に収まっていた。

アルブミンでは、2回の検査とも、全期間を通して低値を示した。先のBUNが低値を示さなかったことから、肝機能低下の可能性が示唆された(図-10)。

図-11はカルシウム測定値で、2回の検査ともやや低めであるが、安定して推移しており、若干の給与不足或いは低いアルブミン値の影響による可能性が考えられた。

リンは、1回目の検査時点では、分娩から泌乳最盛期にかけてやや高い値を示してい

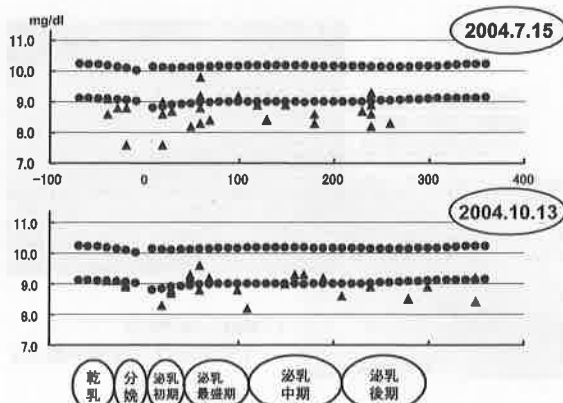


図-11 血中カルシウム(Ca)

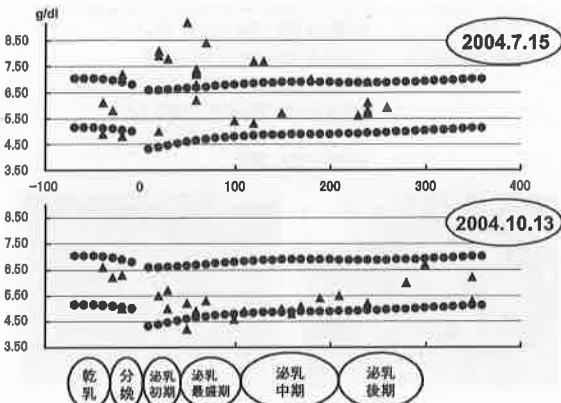


図-12 血中リン(P)

たが、その後飼料中のリンの割合を抑えたため、2回目の検査では概ね平均に近づいた値となった（図-12）。

GOTは、筋障害などの体組織の障害や肝機能の指標となるが、ほぼ全期間を通じて機能低下を示唆する高めの値となった（図-13）。

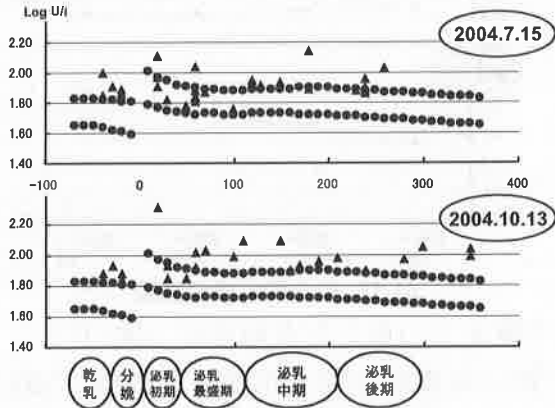


図-13 血清生化学的検査(GOT)

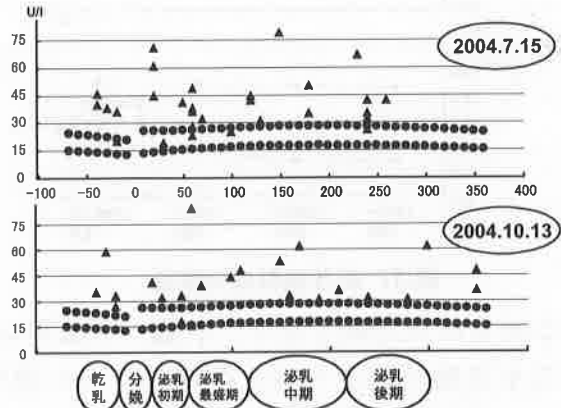


図-14 血清生化学的検査(γ-GTP)

γ GTPにおいても全期間を通じて高い値を示した。また、1回目の検査以降、肝機能対策として、ナイアシンやパントテン酸カルシウムの投与を試みたが、約3ヶ月後の2回目の検査においてもほぼ同様の結果となった（図-14）。

図-15は総コレステロール測定値。摂取エネルギーと正の相関があるため、全期間を通じて給与エネルギーが高いことが伺える。これより、牛群は食餌性の脂肪肝や過肥、肝機能低下も起こりうる状態にあることが考えられた。

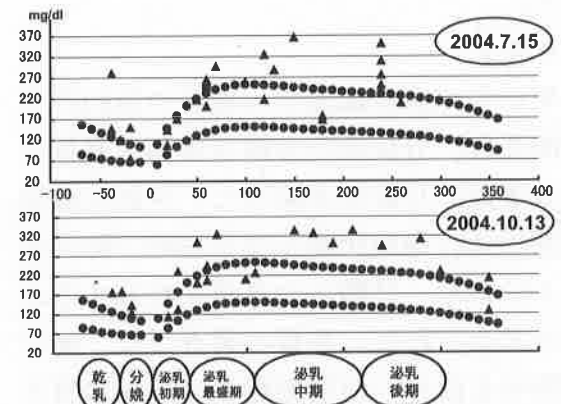


図-15 血清生化学的検査(T-CHO)

・乳質の調査（図-16）

ほとんどの月で乳脂率が4%を越えている。給与飼料が乳脂率に影響するのは約4割とされているが、血液検査と比較すると、肝機能は、乳脂率が減少するほどの低下には至っていないものの、総コレステロール値からみると肝臓への負担が伺えた。また、過肥状態の個体では、体脂肪の動員も予想された。

一方、乳蛋白については、2003年は月ごとの変動が若干認められたが、0.2%以内に留まっていた。

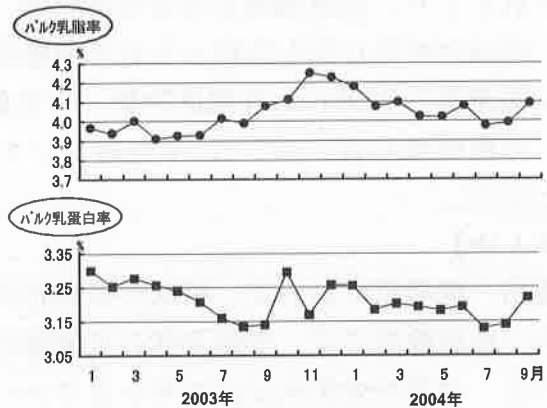


図-16 乳質調査成績

・給与飼料成分の調査（図-17, 18）

乾物中に占めるTDNの割合は過去とほぼ変動がないが、蛋白質中の分解性蛋白の占

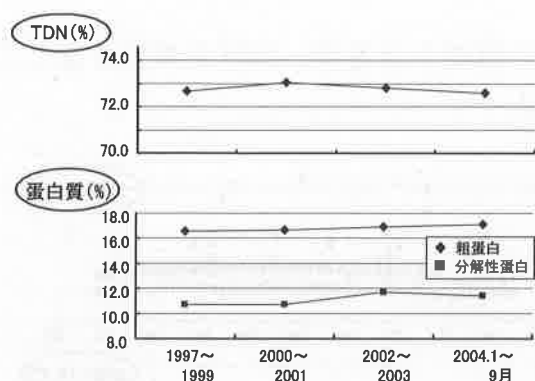


図-17 給与飼料成分調査

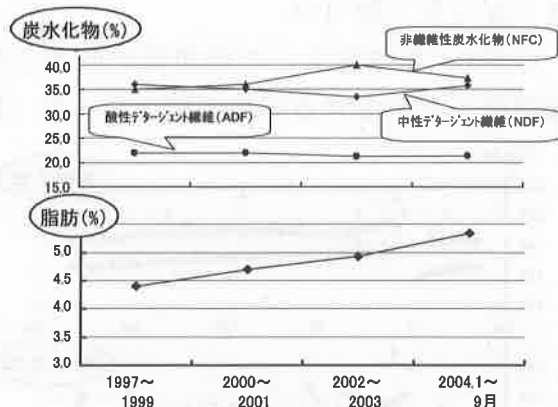


図-18 給与飼料成分調査

める割合はやや高くなり、肝臓への負担も若干増えていることが伺えた (図-17)。

炭水化物の割合では、分解性蛋白の増加に伴い非繊維性炭水化物であるNFCの割合を幾分増やしていたが、適正比率には及ばず、さらに総繊維であるNDFとの比率も7%近い差が認められた (図-18)。また、脂肪割合も5%を越えており、エネルギー過剰が疑われた。

【対策】

死亡牛の病性鑑定では重度の脂肪肝と診断され、分娩後の急激な体脂肪動員による事故の可能性を認めた。牛群の血液検査では、過肥状態となるエネルギー給与を徐々に抑え、肝臓への負担を軽減する必要が考えられた。乳質の調査では、高い乳脂率を認め、給与飼料では、蛋白質と炭水化物のバランスと脂肪割合の調整が必要と考えられた。

表-2 対策

検査等による課題	改善策
○死亡牛の病性鑑定 脂肪肝による分娩後の事故	○乾乳期に肝機能正常化 コリン、メチオン製剤の投与
○牛群の血液検査 肝機能の低下 総コレステロール値上昇	○給与飼料中の栄養バランス改善 蛋白・炭水化物バランス、脂肪割合 肝臓への負担軽減 過肥防止
○乳質の調査 高い乳脂率	
○給与飼料成分の調査 蛋白・炭水化物バランス 高い脂肪割合	

農場 ← 検査・調査 → 県酪等
対案の検討
家保

これらより、関係機関と改善案を協議

し、2004年の死亡例が分娩から泌乳最盛期にかけて多い事を踏まえ、乾乳期にコリン、メチオン製剤等を利用した肝機能対策、また飼料成分のバランス調整としてNDF・NFCの比率や、分解性蛋白質とNFCの比率を適正にすること、また、脂肪割合は4%まで抑えることとした。

【まとめ】

管内一酪農家において、搾乳牛の死亡が多発し病性鑑定により重度の脂肪肝と診断した。血液検査では、牛群全体に肝機能の低下を認め、給与飼料の検討が必要と考えられた。対策の効果判定には現在まで至っていないが、今後も、関係機関の協力のもと、各対策の評価を行うことで、当農場の損耗防止を図りたいと考えている。

12. 大分県で過去4年間に発生した牛の腫瘍性疾患29例の病理

大分家畜保健衛生所

○甲斐貴憲 山田倫史 矢崎竜 人見徹

堀浩司 利光昭彦 大竹孝一

産業動物における腫瘍性疾患では、牛白血病が重要な疾患であり、その他の腫瘍性疾患については詳細な検索が行われないことが多い。今回、大分県内で最近の過去4年間に発生した腫瘍性疾患について詳細な検索を行ったので検査成績を報告する。

【材料・方法】

大分県内の牛飼養農場で2001年度～2004年度にかけて発生した牛の腫瘍性疾患29例について、病理組織学的検査、血液生化学的検査、ウイルス学的検査、細菌学的検査を実施した。病理組織学的検査については必要に応じて、免疫組織科学的染色、透過型電子顕微鏡検索、各種特殊染色を行い検査を行った。また3例はバイオプシーによる病理組織学的検索を行った。

【結果】

29例の腫瘍性疾患の中で20例は牛白血病で、品種は黒毛和種が18例、ホルスタインが2例であった(表-1)。病理解剖学的検査ならびに病理組織学的検査で腫瘍増殖が多く認められた部位は、心臓、リンパ節、胃、腎臓、小腸であった(表-2)。白血球数の増加は多くの症例で認められたが、2002年12月以降に白血球数の増加が認められない

表-1

症例	品種	性別	検査	予定
牛白血病	黒毛和種	18例	免疫検、病理解剖	悪性→予定不良
"	ホルスタイン	2例	免疫検	悪性→予定不良
脂肪腫(脂肪腫①)	黒毛和種		免疫検	良性→予定不良
脂肪腫(脂肪腫②)	黒毛和種		免疫検	良性→予定不良
心臓中核腫	ホルスタイン		免疫検	悪性→予定不良
脂肪腫(脂肪腫③)	黒毛和種		生検	良性→予定良好
黒色腫	黒毛和種		生検	悪性の可能性
結核菌芽胞菌の腫瘍性増殖	黒毛和種		生検	悪性の可能性
痔瘻	黒毛和種		病理解剖	悪性→予定不良
肝臓腫瘍	黒毛和種		免疫検	悪性→予定不良
ユーイング肉腫腫瘍	黒毛和種		免疫検	悪性→予定不良

牛白血球 80例 黒毛和種 84例 合計 29例
 その他の腫瘍 9例 ホルスタイン 2例

表-2

例	検査項目	検査結果	検査項目	検査結果	検査項目	検査結果	検査項目	検査結果	検査項目	検査結果	検査項目	検査結果	検査項目	検査結果
1	WBC	↑	Hb	↓	PLT	↓	LDH	↑	ALT	↑	AST	↑	ALP	↑
2	WBC	↑	Hb	↓	PLT	↓	LDH	↑	ALT	↑	AST	↑	ALP	↑
3	WBC	↑	Hb	↓	PLT	↓	LDH	↑	ALT	↑	AST	↑	ALP	↑
4	WBC	↑	Hb	↓	PLT	↓	LDH	↑	ALT	↑	AST	↑	ALP	↑
5	WBC	↑	Hb	↓	PLT	↓	LDH	↑	ALT	↑	AST	↑	ALP	↑
6	WBC	↑	Hb	↓	PLT	↓	LDH	↑	ALT	↑	AST	↑	ALP	↑
7	WBC	↑	Hb	↓	PLT	↓	LDH	↑	ALT	↑	AST	↑	ALP	↑
8	WBC	↑	Hb	↓	PLT	↓	LDH	↑	ALT	↑	AST	↑	ALP	↑
9	WBC	↑	Hb	↓	PLT	↓	LDH	↑	ALT	↑	AST	↑	ALP	↑
10	WBC	↑	Hb	↓	PLT	↓	LDH	↑	ALT	↑	AST	↑	ALP	↑
11	WBC	↑	Hb	↓	PLT	↓	LDH	↑	ALT	↑	AST	↑	ALP	↑
12	WBC	↑	Hb	↓	PLT	↓	LDH	↑	ALT	↑	AST	↑	ALP	↑
13	WBC	↑	Hb	↓	PLT	↓	LDH	↑	ALT	↑	AST	↑	ALP	↑
14	WBC	↑	Hb	↓	PLT	↓	LDH	↑	ALT	↑	AST	↑	ALP	↑
15	WBC	↑	Hb	↓	PLT	↓	LDH	↑	ALT	↑	AST	↑	ALP	↑
16	WBC	↑	Hb	↓	PLT	↓	LDH	↑	ALT	↑	AST	↑	ALP	↑
17	WBC	↑	Hb	↓	PLT	↓	LDH	↑	ALT	↑	AST	↑	ALP	↑
18	WBC	↑	Hb	↓	PLT	↓	LDH	↑	ALT	↑	AST	↑	ALP	↑
19	WBC	↑	Hb	↓	PLT	↓	LDH	↑	ALT	↑	AST	↑	ALP	↑
20	WBC	↑	Hb	↓	PLT	↓	LDH	↑	ALT	↑	AST	↑	ALP	↑

表-3

例	検査項目	検査結果	検査項目	検査結果	検査項目	検査結果	検査項目	検査結果
1	WBC	↑	Hb	↓	PLT	↓	LDH	↑
2	WBC	↑	Hb	↓	PLT	↓	LDH	↑
3	WBC	↑	Hb	↓	PLT	↓	LDH	↑
4	WBC	↑	Hb	↓	PLT	↓	LDH	↑
5	WBC	↑	Hb	↓	PLT	↓	LDH	↑
6	WBC	↑	Hb	↓	PLT	↓	LDH	↑
7	WBC	↑	Hb	↓	PLT	↓	LDH	↑
8	WBC	↑	Hb	↓	PLT	↓	LDH	↑
9	WBC	↑	Hb	↓	PLT	↓	LDH	↑
10	WBC	↑	Hb	↓	PLT	↓	LDH	↑
11	WBC	↑	Hb	↓	PLT	↓	LDH	↑
12	WBC	↑	Hb	↓	PLT	↓	LDH	↑
13	WBC	↑	Hb	↓	PLT	↓	LDH	↑
14	WBC	↑	Hb	↓	PLT	↓	LDH	↑
15	WBC	↑	Hb	↓	PLT	↓	LDH	↑
16	WBC	↑	Hb	↓	PLT	↓	LDH	↑
17	WBC	↑	Hb	↓	PLT	↓	LDH	↑
18	WBC	↑	Hb	↓	PLT	↓	LDH	↑
19	WBC	↑	Hb	↓	PLT	↓	LDH	↑
20	WBC	↑	Hb	↓	PLT	↓	LDH	↑

症例が増加した。血液検査で異型リンパ球が5%以上認められた症例が半数以上を占めたが、5%未満の症例も認められた。乳酸脱水素(LDH)の上昇については多くの

症例で上昇していたが、上昇していなかった症例も認められた。白血病（BLV）の抗体検査を実施できた症例ではすべて陽性であった（表-3）。

牛白血病以外の腫瘍性疾患は 9 例あり、①脂肪腫（ハイプシーの例）、②顆粒膜細胞腫、③心膜中皮腫、④脂肪腫（鑑定殺の例）、⑤黒色腫、⑥筋線維芽細胞の腫瘍性増殖（筋線維芽細胞腫あるいは線維肉腫）、⑦腺癌、⑧肝細胞癌、⑨ユーイング肉腫様腫瘍であった（表-1）。以下に各症例の検査結果の詳細を記す。

①脂肪腫（ハイプシーの例）

子牛市場から導入した子牛が 2002 年 12 月上旬頃から下顎部が腫脹し、小児頭大に発育したため原因究明のため病性鑑定を実施した。腫瘤に熱感はなく、子牛に発熱や食欲不振といった症状は認められなかった。腫瘤は拳大でホルマリン固定液の水面下に浮かび、表面は結合組織からなり薄褐色～褐色を呈していた。剖面では、中心部は脂状のやや柔らかい白色の組織から構成されていた。中心部に出血や壊死は認められなかった。腫瘍の周囲は結合組織で囲まれ、周辺部位では結合組織が観察された。病理組織学的検査から今回の組織は高度に分化した脂肪組織から構成され、細胞分裂像、異型性、出血、壊死などは認められなかった。組織学的に悪性と思われる所見は認められず、良性の脂肪腫と診断した。（写真-1）

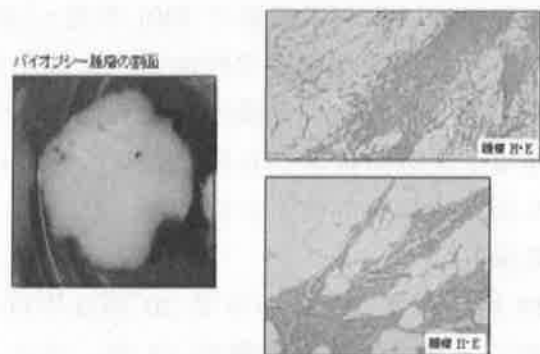


写真-1

②顆粒膜細胞腫

2002 年 9 月上旬に分娩予定であった繁殖用牛が分娩前に妊娠していないことが判明し、病性鑑定を行った。剖検所見では右卵巢が著しく腫大し、肺リンパ節も腫大していた。病理組織学的検査から卵巢に見られた腫瘍組織は、淡明でクロマチンに乏しい大型の核と染色性に乏しい多形の細胞質を有する細胞がシート状に増殖し、組織は結合組織により区分された小葉を構成していた。実質内には小型の管腔あるいは索状構造を形成する部位も認められ、その内部に好酸性の貯留物が認められた。また部位により暗調な核を有する細胞も観察された。核分裂像はあまり認められず、異型性は認められなかった。（写真-2）

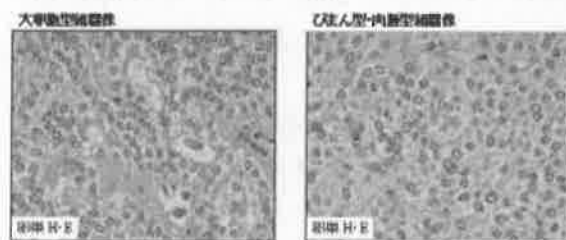


写真-2

③心膜中皮腫

1997 年生まれの搾乳牛が削瘦、乳房炎、左後肢の異常を呈し予後不良と判断されたため原因究明のため病性鑑定を実施した。剖検所見では心臓周囲に絨毛状の線維素様

物が多く認められ、一部は心嚢と癒着していた。病理組織学的検査から本例の心臓には心臓の外側には心外膜から絨毛状にのびる組織が増殖し、組織の実質は血管を有する結合組織からなり、部位によりリンパ球、好酸球、好中球の軽度～中等度浸潤を伴っていた。組織の外側は扁平～立方状の細胞（中皮細胞）に囲まれていた。心膜が原発と考えられた。血清生化学的検査からは LDH 分画に異常所見は認められませんでした。（写真-3）

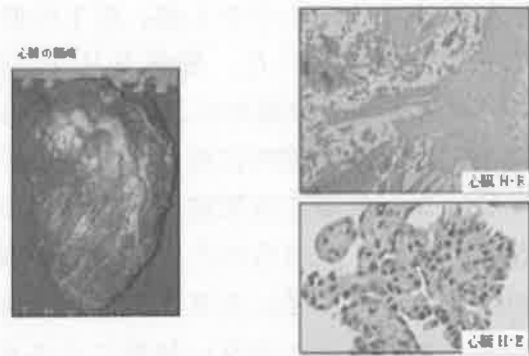


写真-3

④脂肪腫（鑑定殺の例）

2001年3月12日に分娩予定日より20日程早く生まれた黒毛和種の子牛が、出生時から右眼球に白斑がみられ、生後は順調に発育したものの、9月下旬より左目周囲に柔軟な組織が増生し、眼球が反転し失明状態に陥ったため原因究明のため病性鑑定を行いました。剖検所見では眼球周囲、眼窩、側頭窩にかけて白色柔軟な新生物の著しい増生が認められた。また心臓では心冠脂肪組織が著しく増生していた。また臍の付近には拳大の嚢胞があり内部に白色混濁した液体を約50mlほど含んでいた。病理組織学的検査から、眼の周囲に認められた組織は、異型性のみられない成熟脂肪細胞からなり、また心臓や一部の腸間膜リンパ節にみられた組織も同様の細胞から構成されていた。組織学的には良性であるが、飼育の継続は困難と考えられた。（写真-4）

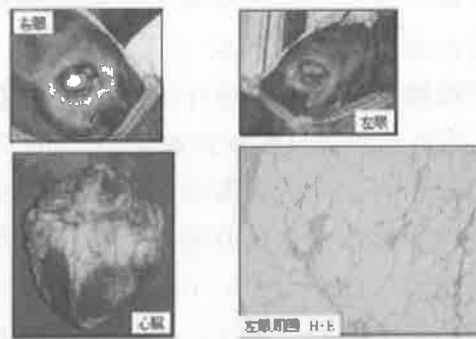


写真-4

⑤黒色腫

10ヶ月齢の黒毛和種の子牛が頬に直径4～5cm程の蕁麻疹様の腫瘍が認められたため、診療獣医師が生検により採材し、病性鑑定を行った。組織学的には組織は小型～大型で円形、多形、紡錘形の細胞質を有し、細胞質内に褐色～黒色の顆粒を種々の程度に含有する腫瘍細胞から構成されていた。結合組織は少ないと思われるが、血管の新生は多く観察された。組織学的に黒色腫と診断し、皮膚の複数箇所腫瘍が認められたため予後不良の可能性が高いため鑑定殺を行った。剖検所見は、体表では右側の腹部と頬部に直径4～5cm程度のやや隆起した内部が黒色の腫瘍が認められた。肝臓には小指頭大の黒色斑が少数認められ、脾臓はうっ血、腫大し、

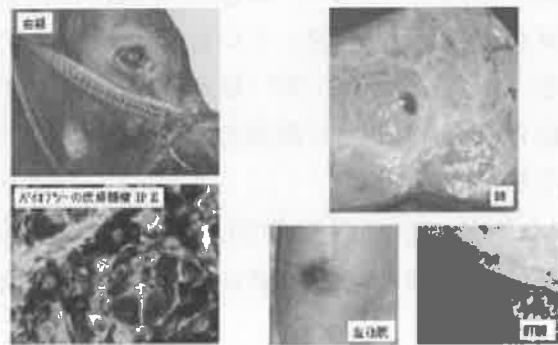


写真-5

肺には微小～小指頭大の不整形黒色斑が、主に肺胸膜に近い部分に主座して散見された。左後肢では膝のやや下部、皮下の筋肉表面に直径 2 ～ 3cm の境界明瞭な黒色腫瘍が一カ所認められた。腸骨下リンパ節には針頭大の黒色斑が認められた。（写真-5）病理組織学的検査から、皮膚の腫瘍組織は小型～大型で円形、多形、紡錘形の細胞質を有し、細胞質内に褐色～黒色の顆粒を種々の程度に含有する腫瘍細胞から構成されていた。腫瘍は血管周囲を主体に表皮～真皮にかけて浸潤増殖が認められ、リンパ管への侵入も認められた。左後肢の腫瘍組織は多くの部位で細胞質内に褐色～黒色の顆粒を種々の程度に含有する黒色腫瘍細胞からなるシート状増殖が認められ、また部位により黒色素の少ない細胞による肉腫様増殖巣も認められた。肝臓では腫瘍性黒色細胞の転移巣が認められ、病巣と正常部位の境界部ではディッセ腔や小葉間結合組織部に黒色細胞が浸潤性に増殖し、小葉間結合組織には軽度のリンパ球浸潤も認められた。肝リンパ節には転移巣は認められなかった。肺では肺胸膜～肺中隔にかけて黒色細胞の浸潤増殖巣が散見された。（写真-6）

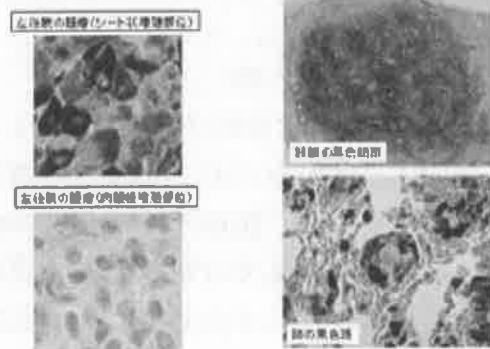


写真-6

⑥筋線維芽細胞の腫瘍性増殖（筋線維芽細胞腫あるいは線維肉腫）

6歳の黒毛和種（繁殖用雌）が2002年9月6日に分娩し、以前より下顎にあった傷が化膿し始めた。抗菌製剤にも反応がなく、2002年11月から傷の部分が腫大し、巨大腫瘍の形成により採食困難となったため切除し病性鑑定を行った。肉眼所見では腫瘍は人頭大（18 × 19 × 19cm、付着部は13 × 13cm、重さは約2Kg）で、下顎骨と連絡していた。腫瘍の表面には出血巣があり、また歯が埋没するように残存していた。腫瘍の断面、とくに下顎骨との連絡部分に多くの骨組織が筋状に認められた。

病理組織学的検査から、組織の主体は不規則に増殖する線維芽細胞様の紡錘形細胞で、培養細胞状、渦巻状、花むしろ状、索状など多彩に増殖し、細胞分裂像も散在した。間質の多くは粘液腫様を呈し、豊富に膠原線維が増生していた。組織内には多数の血管、内皮細胞の腫大した新生毛細血管があり、その多くは筋膜や結合織に対して規則正しく垂直・放射状にのびる傾向にあった。これら血管周囲にはリンパ球や形質細胞が浸潤していた。腫瘍の周囲には出血、壊死巣があり、好中球を主体とした炎症性細胞が顕著に浸潤していた。骨組織との境界部では網状骨が侵襲性に増生していた。表層には潰瘍を伴う強い壊死性肉芽腫性の炎症巣が認められた。特殊染色では、アザン染色では青染する線維性細胞質を有しており、線維芽細胞の性質を有していた。粘液腫様細胞についてはトルイジン青染色とアルシアン青染色はともに陰性であった。PAM染色では紡錘形細胞の線維性細胞質は鍍銀性を示さず、細胞成分を取り囲むような好銀線維、基底膜構造はなかった。免疫組織化学的検索では、ビメンチンは陽性、

α -平滑筋アクチンは陽性、デスミンは陰性、ケラチンは一部が陽性、S-100 は陰性、第Ⅷ因子抗原は陰性であった。以上の所見から、粘液腫、結節性筋膜炎、平滑筋腫、平滑筋肉腫、神経鞘腫、骨肉腫は否定され、筋線維芽細胞への分化を示す線維芽細胞の性質を有する腫瘍性増殖（筋線維芽細胞腫あるいは線維肉腫）と考えられた。なお本例は切除後同じ部位にほぼ同じ大きさの腫瘍が2度再発したが、肉用として出荷できた。（写真-7）

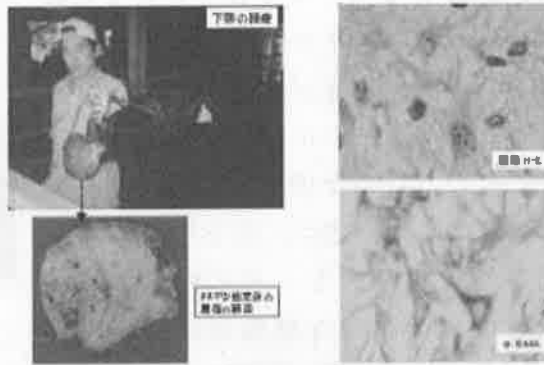


写真-7

⑦腺癌

11歳の黒毛和種が食欲不振、体表の冷感、頸静脈の怒張を呈し、強肝剤等の投与を行うも改善が認められず、A/G比の低下など栄養状態の悪化を伴い予後不良となったため病性鑑定を行った。剖検所見では胸水・腹水の貯留、臓器の癒着、臓器漿膜面に多数の新生物増生が認められた。

病理組織学的には、脾臓の漿膜面、肺胸膜、第三胃の漿膜、腸管の漿膜面に見られた腫瘍細胞は小葉構造、管腔構造を有し細胞分裂像に富んだ腺癌の組織であった。悪性度が高く予後不良と考えられた。

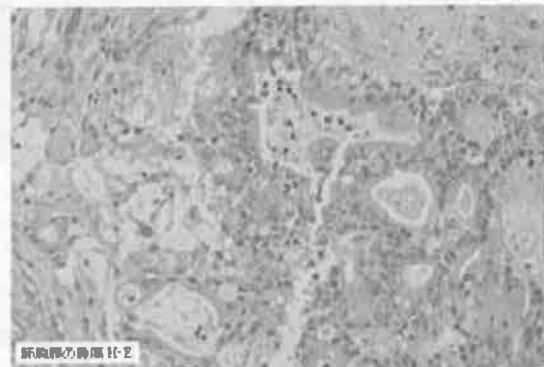


写真-8

⑧肝細胞癌

1991年生まれの繁殖用雌牛が2002年9月25日から食欲不振となり、屠場に持ち込むも肝機能障害と腎機能障害のため屠殺禁止となったため病性鑑定を行った。剖検所見では肝臓に白色小豆大～親指大の腫瘍が2～3カ所認められ、脾臓の表面に白色小豆大～親指大の腫瘍が十数個認められた。心臓は水腫様、腎臓周囲や膀胱周囲に腫瘍散見、腹膜・大網や胃～腸管漿膜面に腫瘍の密発等が認められ、胸腔には腫瘍は認められなかった。病理組織学的には、肝臓、脾臓及び腹腔内に認められた腫瘍は好酸性の豊富な細胞質を有する腫瘍組織であった。

腫瘍組織は微小な管腔構造や小葉構造を形成し、明瞭な核小体を1～少数有するものや微小なものを複数有するものまで様々であった。腫瘍細胞の中には細胞質内に好酸性円形物質を少数有する腫瘍細胞が散見された。また腫瘍組織には壊死が認められた。悪性度が高く予後不良と考えられた。

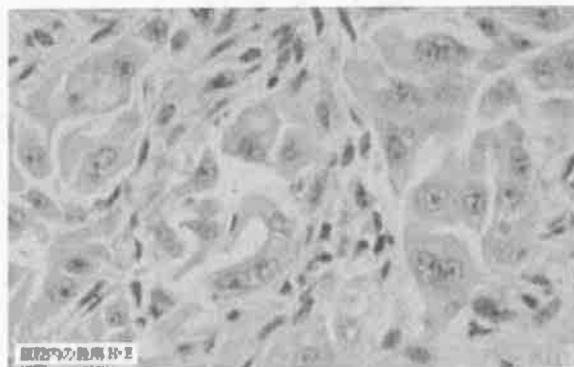


写真-9

⑨ユーイング肉腫様腫瘍

2002年3月6日に予定日より3日遅れて分娩された黒毛和種の子牛が左側の眼窩下に拳大の腫瘍が認められ、上顎骨が著しく変形しそれに伴い下顎骨もやや変形していたため原因究明のため病性鑑定を行った。剖検では、左上顎骨の眼窩下部が拳大に腫大し、その内部には暗赤色血餅様の脆弱な腫瘍様物質が充満し、腫瘍は歯槽の広範囲にも及んでいた。腫瘍周囲の上顎骨は菲薄化・脆弱化し、左眼窩の下部の一部は直径2cm程度の穴により開放していた（写真-10）。ただし皮膚に潰瘍などは認められなかった。病変部の内側の歯茎や口腔粘膜は広範囲に暗赤色化し、口腔や鼻腔内には軽度の出血が認められた。組織学的に腫瘍細胞はリンパ球様細胞が増殖し、部位により血管を中心として放射状に配列し、血管周囲性偽ロゼッタ様構造を形成していた（写真-11）。また血管周囲に壊死巣も顕著に観察され、壊死巣を取り囲むように、腫瘍細胞が柵状に配列する、pseudopalisadeのような像を呈する部位も多数観察された。特殊染色では細胞質内にPAS陽性物質が顕著に認められ、これらはジアスターゼで消化されたことからグリコーゲンであることが示唆された（写真-12）。トルイジン青染色では異染性は認められず、軟骨基質や類骨マトリックスは観察されなかった。グリメリウス染色は陰性で、神経内分泌細胞にみられるような分泌顆粒は認められなかった。Bielshowsky法では神経への分化を示唆するような陽性に染まる線維は観察されなかった。免疫組織化学的検索ではビメンチンに陽性（写真-12）を示した他は、S-100、NSE、ケラチン、第Ⅷ因子抗原、デスミン、ミオグロビン、 α -平滑筋アクチン、ニューロフィラメント、GFAPについてはすべて陰性であった。悪性度が高く予後不良と考えられた。

【まとめ・考察】

過去4年間の腫瘍性疾病で最も多かった症例は牛白血病であった。すべて悪性で予後不良であったが、2002年12月以降に白血球数の増加が認められない症例が認めら

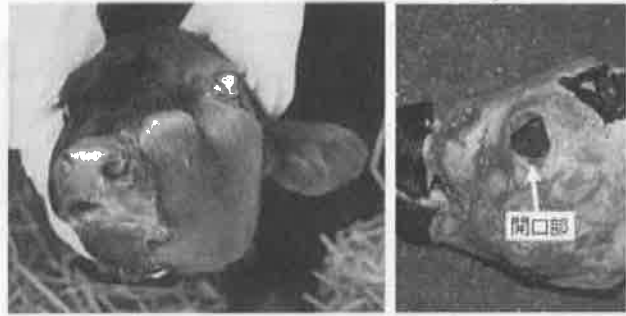


写真-10

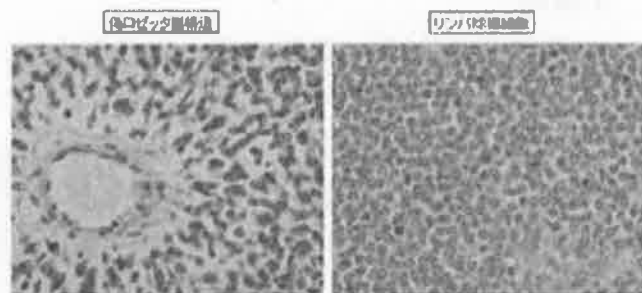


写真-11

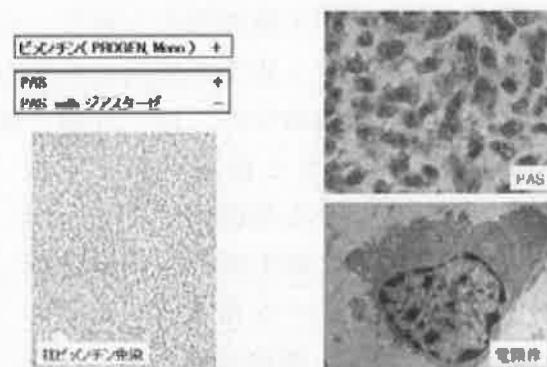


写真-12

れるようになった。白血病以外の腫瘍性疾患については、バイオプシーで検査を行った黒色腫は淘汰し、脂肪腫（バイオプシーの例）と筋線維芽細胞の腫瘍性増殖は飼育を継続することができたことから、産業動物においても腫瘍性疾患の診断意義が高いものと思われた。脂肪腫（鑑定殺の例）、心膜中皮腫、顆粒膜細胞腫は病理組織学的には良性であったが、臨床的に予後不良であり継続飼育は行えなかった。腺癌と肝細胞癌は悪性が高く予後不良であった。ユーイング肉腫様腫瘍は悪性度が高く、極めて稀な症例で、牛での発生報告としては世界初であった。以上のことから大分県で発生した過去4年間の腫瘍性疾患は、牛白血病が最も多かったが、その他に極めて稀な学術的価値の高い症例やバイオプシーによる検査で予後判定を行い継続飼育した症例など、診断的意義の高い症例などが認められた。

13. 牛のウイルス性呼吸器病の発生状況について

大分家畜保健衛生所

○病鑑 矢崎竜・病鑑 甲斐貴憲・病鑑 山田倫史・病鑑 人見徹
病鑑 堀浩司・病鑑 利光昭彦・病鑑 大竹孝一

【はじめに】

牛伝染性鼻気管炎（IBR）をはじめとした牛のウイルス性呼吸器病は、全国的に数多く発生しているが、大分県においては、市場出荷前の子牛を除けば、ワクチン接種による呼吸器病対策がほとんどなされていないのが現状である。子牛では発育期に呼吸器病に感染することにより、肺炎による死亡や発育不良をまねく場合が多い。出荷前のワクチン接種以前に移行抗体が消失するため、出生農場で感染する事例が多く発生している。また、母牛が感染することにより、流産や乳量の低下がおきるなど、経済的損失が決して少なくない。大分県でも年間を通して、ウイルス性呼吸器病の流行が認められている。今回、平成14年10月から平成16年9月までの2年間における病性鑑定で遭遇した牛のウイルス性呼吸器病の発生状況についてまとめたので報告する。

【病性鑑定依頼数】

大分県でのウイルス性呼吸器病が疑われる症例についての病性鑑定依頼数だが、平成14年度（10月～3月）は8件108頭、平成15年度は28件151頭、平成16年度（4月～9月）は8件110頭と、毎年のように呼吸器病の流行が認められ、特に、平成15年度は牛RSウイルス病（BRSV）やIBRなどの流行により、多数の病性鑑定を実施した。

【材料および方法】

各症例に応じて、必要と思われる検査項目について下記のとおり実施した。

1. ウイルス学的検査

①ウイルス分離 鼻腔スワブ、主要臓器（肝臓、脾臓、腎臓、心臓、肺、脳）、骨格筋などの

牛のウイルス性呼吸器病の発生状況について



大分家畜保健衛生所
病性鑑定課 矢崎 竜

はじめに

牛のウイルス性呼吸器病

ワクチンでの予防可能

- 牛伝染性鼻気管炎 (IBR)
- 牛のライノフルエンザ
- 牛RSウイルス病
- 牛アデノウイルス病
- 牛ウイルス性下痢・粘膜炎
- 牛コロナウイルス病
- 牛ファイロウイルス病
- 急性カタル熱
- 牛パルボウイルス病
- 牛エンテロウイルス病



前年の流行
子牛の死亡・発育不良
母牛の流産・乳量低下

早いワクチン接種

市場出荷前のワクチン接種が済
出生農場での呼吸器病多発！

病性鑑定依頼数

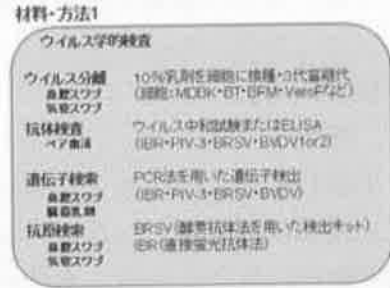
年度	件数	頭数
H14年度 (10月～3月)	8件	108頭
H15年度 (4月～3月)	28件	151頭
H16年度 (4月～9月)	8件	110頭
合計	44件	369頭

10%乳剤等の材料を用い、MDBK、VeroF、BFM、BTなどの各培養細胞に接種し、回転または静置培養で1週間培養（3代目まで盲継代）し、CPEをウイルス増殖の指標としたウイルス分離を行った。

②抗体検査 ペア血清を基本として、アカバナウイルス（AKAV）、アインウイルス（AINOV）、チュウザンウイルス（CHUV）、イバラキウイルス（IBAV）、牛ヘルペスウイルス1型（BHV-1）、牛パラインフルエンザウイルス3型（PIV-3）、牛ウイルス性下痢ウイルス1型（BVDV1）は血清希釈法（2倍段階希釈）によるウイルス中和試験、ブルータングウイルス（BTV）はゲル内沈降反応、ネオスポラ（NC）は間接蛍光抗体法によりそれぞれ抗体検査を実施した。BRSVについては、ウイルス中和試験またはELISA法により抗体検査を実施した。

③遺伝子検索 鼻腔スワブ、各臓器乳剤、母牛血漿・血球などについて、ブニヤウイルス・シンプ血清群（Simbu）IBAV、CHUV、BHV-1、PIV-3、BRSV、BVDV、NCに特異的な各プライマーペアを用いPCRまたはRT-PCRによる遺伝子検出を行った。PCRによるウイルス遺伝子検索を実施した。

④抗原検索 牛RSウイルスについては、抗原検出キットを用い、牛ヘルペスウイルス1型については直接蛍光抗体法（IBRV蛍光標識抗体京都微研 I BR-FA）によりそれぞれ抗原検索を実施した。



2. 細菌学的検査

細菌学的検査は主要臓器を用い、5%馬血液寒天培地及びDHL寒天培地を用い、好気、嫌気条件下で分離培養を行った。

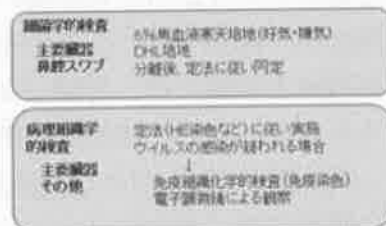
3. 病理組織学的検査

定法に従い10%中性緩衝ホルマリンで固定し、パラフィン包埋を行い組織切片を検査に供した。組織切片はヘマトキシリン・エオジン染色後、鏡検した。免疫組織学的検索は抗ウイルス血清を用い、ヒストファインSAB-PO(G)キット（ニチレイ社）を使用しSAB法により実施した。電子顕微鏡検索は10%中性緩衝ホルマリンにより固定した臓器をグルタルアルデヒドによる前固定とオスミウム酸による後固定を実施し、エポキシ樹脂による包埋後、切片を作成し透過型顕微鏡により観察した。

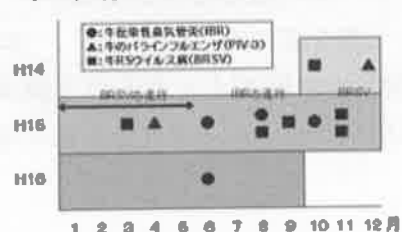
【発生状況】

過去2年間の大分県でのウイルス性呼吸器病の発生状況（確定診断したものおよび感染の疑いのある症例）であるが、IBRVは2年間で4例発生し、いずれも、夏季での発生であった。また、2年連続で冬季に牛RSウイルス病の発生があった。平成15年夏季の牛RSウイルス病の発生につ

材料・方法2



ウイルス性呼吸器病の発生状況
(H14年10月～H16年9月まで)



いては、冬季の感染が長引き発育不良となった事例である。

【検査成績】

1. 症例①

平成15年10月に発生したIBRの症例であるが、ホルスタイン種が流産を起こしたことから病性鑑定を実施した。流産胎仔は皮下に出血、水腫が認められ、血様の胸水および腹水が多量に貯留していた。抗原検索として、流産胎仔肝臓パラフィン切片を用い、直接蛍光抗体法を実施したところ、右下写真のように肝臓の巣状壊死巣に一致して特異蛍光を認めた。

さらに、流産を引き起こすといわれる各ウイルスおよびネオスポラについて遺伝子検索を実施したところ、流産胎仔の各主要臓器からBHV-1遺伝子を検出した。右写真のようにすべての臓器から陽性コントロールと同様の位置(468bp)に特異バンドが認められ、ウイルスが全身に分布していたことが確認された。

抗体検査では、母牛の流産前後の血清でBHV-1抗体のみが、8倍から32倍と有意に上昇していた。また、流産発生後に発生農場および周辺2農場についてBHV-1の抗体検査を実施したところ、周辺農場では抗体陽性の個体はほとんど認められなかったのに比べ、発生農場では、104頭中94頭が抗体陽性であり、高い抗体を保有していた。

病理検査成績では、肝臓(HE)において巣状壊死が散見され、その周囲の細胞に好酸性核内封入体が認められた。抗BHV-1抗体を用いた免疫染色では、肝細胞の細胞質内に陽性抗原が認められた。肝細胞の電子顕微鏡による観察では、核内に多くのウイルス粒子が認められ、エンベロープのあるウイルス粒子が確認された。本症例はIBRによる流産発生の典型事例であると思われた。

2. 症例②

今年6月頃、黒毛和種肥育農場において、10ヶ月齢の牛に水様性鼻汁や眼結膜炎を主徴とする呼吸器病が集団発生し、病性鑑定を実施した。ペア血清でBHV-1抗体の有意な上昇を認めたことにより、本症例をIBRと診断した。眼結膜炎はIBRでよく見られる臨床所見であり、典型的な臨床症状を伴ったIBRの発生例であると思われた。

牛伝染性鼻気管炎(IBR) 発生事例① 平成15年10月

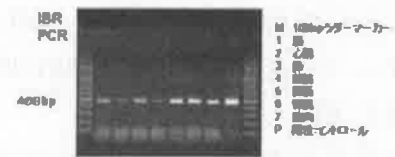
●検査施設 株式会社 検査センター
 ●検査項目 BHV-1抗体
 ●発生時期 不明(10ヶ月齢時集団発生)
 ●臨床症状 紅眼の呼吸器症状・流産1例
 ●検査材料 流産胎仔・乳頭分泌液



4. ウイルス遺伝子検索(PCR法)

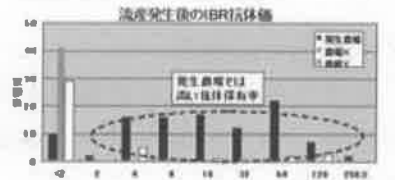
	IBAV	CHUV	Sinbu	陽性	N.C.
胎仔血液	-	-	-	陽性	陽性
胎仔肝臓	-	-	-	陽性	陽性
胎仔肺臓	-	-	-	陽性	陽性

検査項目: IBV, CHUV, Sinbu, N.C.
 検査結果: IBV: 陽性, CHUV: 陽性, Sinbu: 陽性, N.C.: 陽性

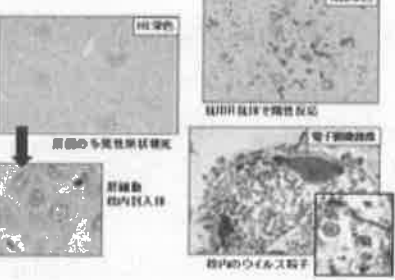


5. ウイルス抗体価

	AKAV	AROV	CHUV	IBAV	陽性	PRV-3	BT	N.C.
母牛血清	0	64	256	32	0	32	-	-
胎仔血清	4	64	256	32	64	32	-	-



6. 肝臓組織学的検査



牛伝染性鼻気管炎(IBR) 発生事例② 平成18年6月

●検査施設 株式会社 検査センター
 ●検査項目 BHV-1抗体
 ●発生時期 不明(10ヶ月齢時)
 ●臨床症状 水様性鼻汁・眼結膜炎・呼吸器症状・発熱
 ●検査材料 ペア血清

●検査成績

1. ウイルス抗体価

牛	IBR	PRV-3	BRSV	BVDV1	BVDV2
1	<2	16	0	4	0
2	<2	16	64	16	64
3	<2	64	32	4	<2
4	<2	NT	64	NT	<2

3. 症例③

平成15年3月に発生した牛RSウイルス病の発生事例。県内繁殖農場で子牛に呼吸器病が集団発生し、2頭が肺炎で死亡した。ペア血清による抗体検査で、BRSV抗体の上昇を認め、発症時の気管スワブから、BRSV抗原が検出された。また、肺炎で死亡した子牛の肺からは化膿菌が分離された。

病理組織学的検査では、肺の粘膜上皮細胞や肺胞上皮細胞の核および細胞質の腫大が認められ、好酸性細胞質内封入体が認められた。さらに、抗BRSV抗体を用いた免疫組織化学的検査を実施したところ、細胞質内にBRSV陽性抗原が認められた。本症例は、細菌の二次感染を伴った牛RSウイルス病の典型例であると思われた。

牛RSウイルス病(BRSV)発生事例③ 平成15年3月

●調査対象 某繁殖農場
●調査頭数 約100頭 (4~7ヶ月齢)
●発生頭数 発熱・発咳・発喘牛(14頭)
●検査材料 新鮮な発症時の気管スワブおよびペア血清(7頭)

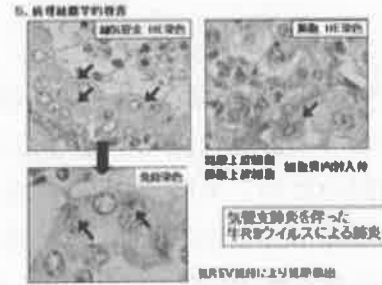
●検査成績
1. BRSV抗原検査 ELISA

No.	結果
1	++
2	++
3	+++
4	++++
5	++
6	+++
7	+++

2. 気管スワブ培養検査・・・BRSV陽性
3. ウイルス分離・・・陽性

4. 細菌学的検査
 新鮮牛頭1頭・・・Corynebacterium sp.
 新鮮牛頭2頭・・・Corynebacterium sp.
 肺炎肉のマイコプラズマPCR・・・陽性

病原1-19-3-BRSV1503検出



4. 症例④⑤

平成15年11月に発生した牛RSウイルス病を疑う2症例。A・B農場ともに、子牛において呼吸器病が集団発生し、病性鑑定を実施した。それぞれ発症牛の鼻腔スワブを用い、ウイルス分離およびPCR法によるウイルス遺伝子検索を実施したところ、鼻腔スワブから牛RSウイルス遺伝子が検出された。右写真のように、陽性対照と同様の位置(731bp)に特異バンドを検出した。本症例は、PCR法を用いた遺伝子検出による迅速診断ができた事例であった。

牛RSウイルス病(BRSV)発生事例④⑤ 平成15年11月

●調査対象 A農場 日産牛 牛乳5000頭
●調査頭数 約1000頭 牛乳5000頭
●発生頭数 約100頭 (4~7ヶ月齢) 約500頭 (4~7ヶ月齢)
●検査材料 発熱・発咳 発熱・発咳・呼吸困難スワブ

●検査成績
1. ウイルス分離・・・陽性
2. ウイルス遺伝子検索(PCR法)

No.	農場	BRSV
農場A 1	+	+
2	-	-
農場B 1	+	+
2	-	-
3	+	+

PCR法による迅速診断 731bp

5. BRSVを疑う症例(その他)

平成15年初春に発生したものと見られる、RSウイルスの関与が疑われたいくつかの症例の解剖写真を右に示した。共通所見として難治性の発熱、発咳が続き、解剖所見では、広範囲な肺炎や肺膿瘍の形成が認められた。このうち数例では高いBRSV抗体の保有を確認しており、BRSVの先行感染から細菌の二次感染を引き起こしたものであると思われた。他にも同時期に同様の所見による死亡例が数多くあり、平成15年春先において牛RSウイルスの大規模な流行があったものと思われた。写真右上は19ヶ月齢の肥育牛であるが、1歳未満程度の大きさしかなく、肺炎による発育不良の典型であると思われた。



6. 症例⑥

牛のパラインフルエンザの発生事例。黒毛和種肥育農場において平成15年4月に導入した数頭で呼吸器病が発生したため、病性鑑定を実施した。ペア血清による抗体検査で、No.1において有意な抗体価の上昇が認められたことから、牛パラインフルエンザと診断した。No.2では、最初から1024倍の高い抗体価を保持しており、採材時以前に感染していたものと思われた。

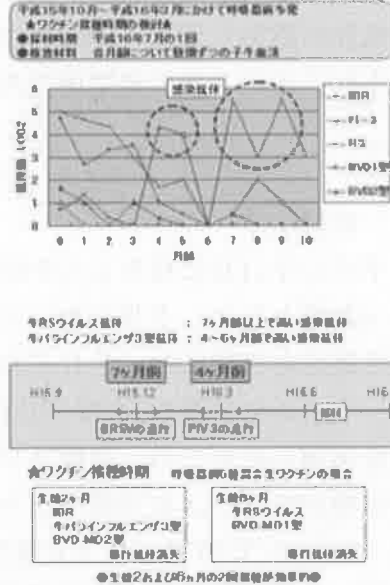
牛のパラインフルエンザ (PIV-3) 発生事例1 平成15年4月



7. 抗体保有状況調査

県内の繁殖農場で平成15年から16年にかけて冬季に子牛で呼吸器症状が発生したことから、ワクチン接種時期検討のため、平成16年7月に各月齢の子牛数頭ずつについて抗体検査を実施した。6ヶ月齢までは移行抗体と思われる抗体を保有していた。4～5ヶ月齢の子牛で高いパラインフルエンザ3型抗体、7ヶ月齢以上の子牛では、高い牛RSウイルスの抗体を保有していた。このことから、当該農場では、7月の採材から4ヶ月前にパラインフルエンザ3型、7ヶ月前に牛RSウイルスの流行があったものと考えられた。農場ごとの抗体保有状況調査は過去の流行状況の把握や今後のワクチン接種時期の検討に有効であり、この農場では、移行抗体の影響を考慮し、生後2および6ヶ月での呼吸器病5種混合ワクチンなどの呼吸器病ワクチン接種が最も効果的であると思われた。

ウイルス性呼吸器病抗体保有状況調査



【まとめ】

大分県では、夏季にIBRが多数発生しており、暑熱ストレスの影響が示唆された。また、北海道での発生事例が多いIBRによる流産が大分県でも確認されたことから、北海道導入の多い搾乳農場ではとくにワクチン接種などIBR対策が必要であると思われた。

また、毎年冬季には子牛において、牛RSウイルス病の多発が認められ、特に平成15年初春の流行では多くの子牛が死亡や発育不良となった。このことから、適切な時期にワクチン接種を実施し、呼吸器病をコントロールする必要があると思われた。

また、子牛の月齢ごとにウイルス抗体検査を実施することで、農場内でのウイルスの動きや、ワクチン接種時期の推察が可能であり、感染症対策に有効であると思われた。

PCR法を利用したウイルス遺伝子検索は迅速な診断につながり、速やかな感染症対策が可能であり、今後家保レベルでの遺伝子診断も可能になるのではないかと考える。

まとめ

- IBR移行抗体が導入後の子牛が冬季に感染
- 呼吸器病ワクチンの接種時期の検討が必要
- 大分県でも毎年IBRの流行が認められる。→夏季に多い?
- 農場でのウイルス抗体保有状況調査
- PCR法によるウイルス遺伝子の検索は迅速で、夏季に多いIBRの流行が確認可能 (今後、家保レベルでの診断可能)

14. PRRSエライザ検査における非特異反応事例について

三重家畜保健衛生所¹⁾ 大分家畜保健衛生所²⁾
○宇都宮公平¹⁾ 松岡恭二¹⁾ 病鑑 人見徹²⁾

【はじめに】

当家保では、管内の一農場から依頼を受け、年1回豚繁殖・呼吸障害症候群ウイルス（PRRSV）抗体の検査を実施している。この農場の過去2年間のエライザ検査結果は陰性であり、PRRSVの侵入を示唆する臨床症状も認められていない。

本年も4月に345頭から採血してエライザ検査を実施したところ、陽性を示す個体9頭が確認されたが、他法の検査結果等から非特異反応と判断した。

さらに、非特異反応を除去するため血清の非働化处理やカオリン処理及び検査キットのマイクロプレートのブロッキングを行い、非特異反応の除去効果について検討した。

【農場の概要及び過去の検査成績】

1. 農場の概要

当該農場の概要を図-1に示す。この農場ではPRRSワクチンの接種はしていない。

図-1. 農場の概要

- ・ 飼育頭数 種豚 約100頭
- ・ 飼養形態 一貫経営
- ・ 品種 L、W、D、LW、LWD
- ・ ワクチンプログラム
 - 母豚：パスツレラ、ボルデテラのトキソイド
日脳、バルボ
 - 子豚：マイコ 1週齢、3週齢
AR 2週齢、4週齢
A. pp 6週齢、9週齢
豚丹毒 7週齢

表-1. 過去のPRRSエライザ検査成績

(陽性検体数/検体数)

年度	飼養豚	導入豚
H14	0/523	0/10
H15	0/367	0/6

2. 過去の検査成績

平成14年度及び平成15年度のPRRSエライザ検査成績を表-1に示す。

平成14年度には飼養豚523頭、導入豚10頭を、平成15年度には飼養豚367頭、導入豚6頭を検査したが、すべて陰性であった。

【材料及び方法】

1. 材料

血清：4/26 に哺乳豚を除く全頭から採取した 345 検体。

再検査のため 5/6 に採取した 44 検体。

追跡調査のため 5/25 から 9/27 までに採取した 36 検体。

血清の非働化効果を比較するため PRRS 陽性農場の豚から採取した 9 検体。

肺組織：2 回のエライザ検査で陽性であった 1 個体からと畜場で採材し、RT-PCR に供した。

2. 検査方法

エライザ検査：アイデックスラボラトリーズ（株）の PRRS エリーザキットを使用。S/P 比 0.4 以上を陽性と判定する。

間接蛍光抗体法（IFA）：被検血清を 20 倍に希釈して実施。

中和試験：PRRSV ワクチン株（RespPRRSV 株）を使用し、血清を 2 倍から段階希釈して実施。

PRRSV 遺伝子検出（RT-PCR）：米国株及びヨーロッパ株に特異的なプライマーを使用。

【飼養豚の検査結果】

1. 4 月 26 日採材分の検査結果

(1) エライザ検査結果

本年度も当該農場から依頼があり、4 月 26 日に哺乳豚を除く全頭 345 頭から採血し、エライザ検査を実施した。その結果 9 頭が陽性（陽性率 2.61 %）であった（表-2）。陽性となった 9 頭の品種、性別、S/P 比等を表-3 に示す。S/P 比は、2.74 と高値を示すものから 0.42 と陽性のボーダーラインに近いものまでであった。

表-2. 本年度の PRRS エライザ検査成績

(陽性検体数/検体数)

年度	飼養豚	導入豚
H14	0/523	0/10
H15	0/367	0/6
H16	9/345 (2.61%)	0/2

表-3. エライザ陽性豚の品種・性別等

番号	品種	性別	月齢	豚舎	S/P 比
1	L	♀	3ヶ月	分娩舎	2.74
2	W	♀	6ヶ月	種豚舎南	1.75
3	W	♂	5ヶ月	育成舎北	1.50
4	L	♀	2ヶ月	育成舎南	1.47
5	W	♀	12ヶ月	種豚舎南	1.07
6	W	♂	47ヶ月	雄豚舎	0.55
7	W	♀	24ヶ月	種豚舎南	0.48
8	W	♀	21ヶ月	育成舎南	0.48
9	W	♀	9ヶ月	離乳舎	0.42

図-2に農場見取図と陽性豚の飼養場所を示した。発生率は種豚舎で8.2%、分娩舎で1.9%、子豚舎で3.0%であった。

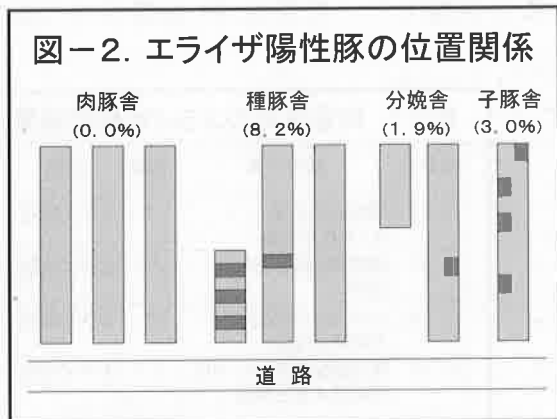


表-4. 他法による検査結果
(4/26採材分)

番号	IFA	中和試験	RT-PCR
1	<20倍	<2倍	陰性
2	<20倍	<2倍	陰性
3	<20倍	<2倍	陰性
4	<20倍	<2倍	陰性
5	<20倍	<2倍	陰性
6	<20倍	<2倍	陰性
7	<20倍	<2倍	陰性
8	<20倍	<2倍	陰性
9	<20倍	<2倍	陰性

*残り336検体もすべて陰性

(2) 間接蛍光抗体法、中和試験及びRT-PCRによる検査結果

確認のためエライザ検査に供した血清345検体を用いて間接蛍光抗体法と中和試験による抗体検査を実施した。その結果、二法とも全検体陰性となった。また、同じ血清でRT-PCRによるウイルス遺伝子の検出を試みたが、すべて陰性であった(表-4)。これらの結果から、エライザ陽性の9例は非特異反応である可能性が示唆された。

2. 5月6日採材分の検査結果

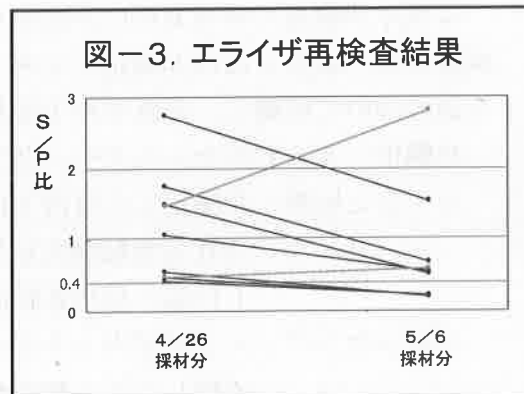
(1) エライザ検査結果

再検査のため、エライザ検査で陽性であった9頭及びS/P比が高かった35頭計44頭から、10日後の5月6日に採血し、エライザ検査を実施した。その結果、前回エライザ検査で陽性であった9頭のうち6頭が陽性となり、他の38頭はすべて陰性となった(表-5)。一回目のエライザ検査で陽性であった9頭について、一回目と二回目のS/P比の変化を図-3に示した。9頭中7頭でS/P比が低下し、そのうち3頭は陰性レベルまで下がった。

表-5. エライザ再検査結果

番号	4/26採材分		5/6採材分	
	S/P比	判定	S/P比	判定
1	2.74	+	1.54	+
2	1.75	+	0.69	+
3	1.50	+	0.52	+
4	1.47	+	2.81	+
5	1.07	+	0.55	+
6	0.55	+	0.20	-
7	0.48	+	0.21	-
8	0.48	+	0.59	+
9	0.42	+	0.22	-

*残り35検体すべて陰性



(2) 間接蛍光抗体法、中和試験及び RT-PCR による検査結果

10日後の再検査でもエライザ陽性個体が認められたことから、再度、確認のため間接蛍光抗体法、中和試験及び RT-PCR を実施した。結果は 44 検体すべて陰性であった (表-6)。

表-6. 他法による検査結果
(5/6採材分)

番号	IFA	中和試験	RT-PCR
1	<20倍	<2倍	陰性
2	<20倍	<2倍	陰性
3	<20倍	<2倍	陰性
4	<20倍	<2倍	陰性
5	<20倍	<2倍	陰性
6	<20倍	<2倍	陰性
7	<20倍	<2倍	陰性
8	<20倍	<2倍	陰性
9	<20倍	<2倍	陰性

* 残り35検体もすべて陰性

表-7. 同居豚等のエライザ検査結果

採材日	検査対象	頭数	結果
5. 25	陽性豚の近房 S/P比が高値	7	すべて陰性
5. 31	陽性豚と同居または 近房	12	すべて陰性
6. 8	S/P比が高値または その豚と同居	6	すべて陰性
9. 27	陽性豚と同居、S/P比 が高値の豚と同居	11	すべて陰性
	計	36	

二回の検査において間接蛍光抗体法、中和試験及び RT-PCR ではすべて陰性であること、並びにエライザ陽性個体が減少しており、かつ S/P 比が低下傾向にあることから、今回のエライザ陽性例は非特異反応によるものと判断した。

3. 追跡調査

当該農場でエライザ検査と臨床症状による追跡調査を継続している。9月27日までに同居豚等 36 頭のエライザ検査を実施したが、すべて陰性であった (表-7)。

また、PRRS の主要症状である流死産や子豚の死亡・発育不良は、前年と比較しても増加していなかった。

さらに、エライザ検査で二回とも陽性であった個体が廃用されたため、と畜場で肺を採材して RT-PCR を実施したが、陰性であった。

【非特異反応除去方法の検討】

1. 方法

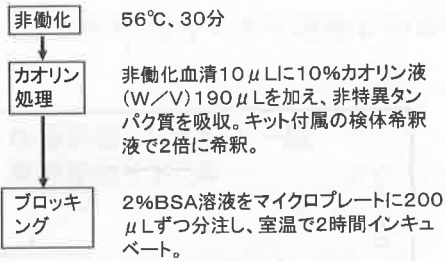
エライザ検査で非特異反応が認められた 15 検体を用いて非特異反応の除去方法を検討した。除去方法は非働化、カオリン処理及びマイクロプレートのブロッキングの三法について試験し、それぞれ下記及び図-4 に示した方法で行った。

非働化：56℃のウォーターバスで30分間行った。

カオリン処理：非働化した血清 10 μL に 10%カオリン液 (W/V) を 190 μL 加え、30分間転倒混和した後、遠心分離した。この上清をエライザキット付属の検体希釈液で2倍に希釈し、エライザ検査に用いた。

ブロッキング：エライザキットのマイクロプレートのブロッキングは2% BSA を添加したリン酸緩衝溶液を各ウェルに 200 μL ずつ分注し、室温で2時間インキュベートして行った。

図-4. 非特異反応除去方法の検討



2. 検討結果

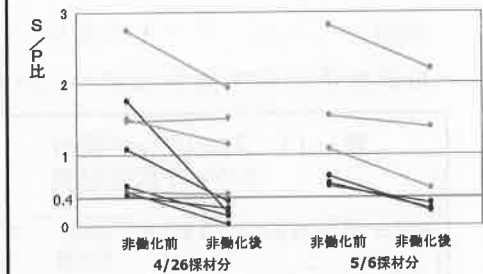
(1) 非働化の効果

非働化により、4月26日採材分の陽性9検体中8検体でS/P比が低下し、そのうち5検体は陰性レベルまで下がった。5月6日採材分の陽性6検体はすべてS/P比が低下し、3検体は陰性レベルまで下がった(表-8、図-5)。

表-8. 非働化後のエライザ検査結果

番号	4/26採材分		番号	5/6採材分	
	非働化前	非働化後		非働化前	非働化後
1	2.74	1.94	1	1.54	1.38
2	1.75	0.17	2	0.69	0.20
3	1.50	1.14	3	1.07	0.52
4	1.47	1.51	4	2.81	2.20
5	1.07	0.34	5	0.55	0.31
6	0.55	0.14	6	陰性	
7	0.48	0.02	7	陰性	
8	0.48	0.44	8	0.59	0.23
9	0.42	0.24	9	陰性	

図-5. 非働化後のエライザ検査結果

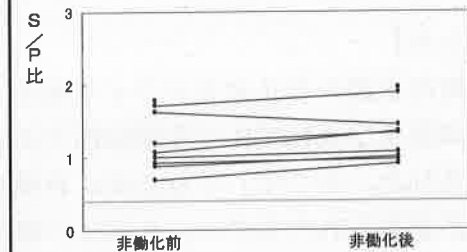


なお、陽性農場の豚から採取した血清9検体のS/P比を非働化前後で比較したところ、大きな変化は認められなかった(表-9、図-6)。

表-9. 陽性検体の非働化効果

番号	非働化前		非働化後	
	S/P比	判定	S/P比	判定
1	1.00	+	1.07	+
2	1.19	+	1.33	+
3	1.07	+	1.35	+
4	1.62	+	1.44	+
5	0.69	+	0.91	+
6	1.71	+	1.88	+
7	0.93	+	0.97	+
8	1.78	+	1.95	+
9	0.88	+	1.00	+

図-6. 陽性検体の非働化効果



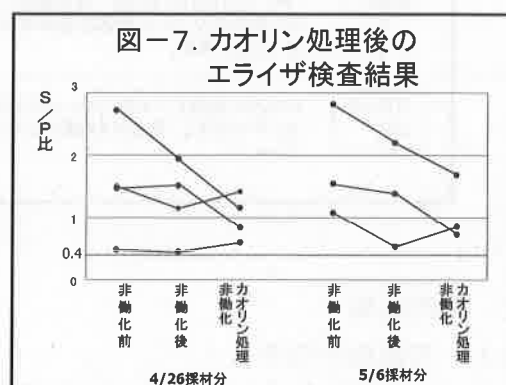
(2) カオリン処理の効果

非働化処理しても陰性とならなかった7検体について、さらにカオリン処理を追加した後、エライザ検査を実施した。7検体中4検体でS/P比が下がったが、陰性レベルまでは低下しなかった(表-10、図-7)。

**表-10. カオリン処理後の
エライザ検査結果**

S/P比

採材日	番号	非働化前	非働化後	カオリン処理後
4/26	1	2.74	1.94	1.15
	3	1.50	1.14	1.41
	4	1.47	1.51	0.83
	8	0.48	0.44	0.58
5/6	1	1.54	1.38	0.71
	3	1.07	0.52	0.84
	4	2.81	2.20	1.68



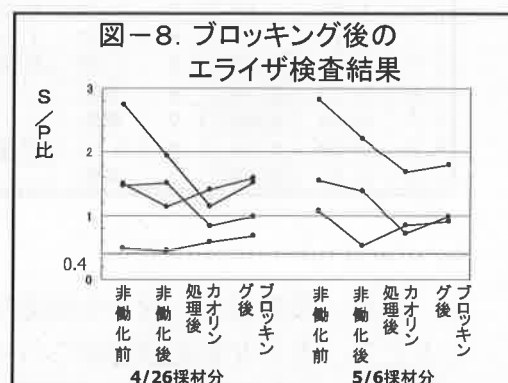
(3) ブロッキングの効果

非働化とカオリン処理を行ってもS/P比が陰性レベルまで低下しなかった検体について、エライザキットのマイクロプレートをブロッキングし、エライザ検査を実施してみた。すべての検体でブロッキング後の方がS/P比が上昇しており、非特異反応の除去効果は認められなかった(表-11、図-8)。

**表-11. ブロッキング後の
エライザ検査結果**

S/P比

採材日	番号	非働化前	非働化後	カオリン処理後	ブロッキング後
4/26	1	2.74	1.94	1.15	1.52
	3	1.50	1.14	1.41	1.59
	4	1.47	1.51	0.83	0.98
	8	0.48	0.44	0.58	0.67
5/6	1	1.54	1.38	0.71	0.98
	3	1.07	0.52	0.84	0.90
	4	2.81	2.20	1.68	1.79



【まとめ】

飼養豚全頭のPRRSエライザ検査で陽性個体9頭が確認されたが、間接蛍光抗体法、中和試験及びRT-PCRで全頭陰性であったことから、エライザ陽性は非特異反応であると推察された。そこで、10日後に再検査を実施したところ、9個体中7個体でS/P比の低下が認められたものの、6個体が陽性であった。しかし、間接蛍光抗体法、中和試験及びRT-PCRではすべて陰性であった。これらの結果から、エライザ陽性例は非特異反応によるものと判断した。

そこで、さらにエライザ検査における非特異反応を除去できないか検討した。非働化処理では15検体中14検体のS/P比が低下し、8検体が陰性レベルまで下がった。陰性レベルまで下がらなかった7検体にカオリン処理を追加し、エライザ検査を実施したところ、4検体でS/P比の低下が認められたが陰性レベルまでは下がらなかった。さらに、

エライザキットのマイクロプレートをブロッキングしたが、非特異反応の除去効果は認められなかった。

以上の結果から、PRRS の診断にはエライザ検査だけでなく間接蛍光抗体法、中和試験及び RT-PCR なども併用し、総合的に判断することが必要であると考えられた。

15. 大分県で発生した高病原性鳥インフルエンザの病性鑑定対応

大分家畜保健衛生所

○人見 徹、甲斐貴憲、矢崎 竜

山田倫史、堀 浩司、利光昭彦、大竹孝一

【はじめに】

国内で79年ぶりの高病原性鳥インフルエンザが発生し、感染拡大が危惧される中、平成16年2月14日、県内の一般家庭で愛玩用として飼育していたチャボ¹13羽、アヒル¹羽の計14羽のうち、同一の巣箱に飼育されていたチャボ¹7羽が急死した。検査の結果、高病原性鳥インフルエンザ（H5N1亜型）に感染と診断され、国内2例目の発生が確認された。以降、養鶏農家・農協・市町村・関係機関等様々な協力をうけ防疫対応を行なったところ移動制限地域内、周辺地域に感染拡大が無い事が確認され、3月11日に移動制限地域が解除された。確定診断にいたるまでの病性鑑定の詳細、清浄性確認のため移動制限地域内の農場を対象として行なわれた検査の実施状況及び野鳥等の検査概要について報告する。

【発生以前の病性鑑定準備】

東アジアでの昨年末からの流行から、大分県では国内発生に備えた病性鑑定対応の準備が行なわれていた。以前より発育鶏卵は常時病性鑑定の対応可能な状況であったが、さらに大量に入手できるよう孵卵場の確保を行い、異常鶏等からのウイルス分離材料の採材方法をマニュアル化した。また、人体用に市販されている抗原検出キットの精度について情報収集を行ない、ゲル内沈降反応抗原を用いた感度比較を行なった。

病性鑑定依頼は山口県での発生以降急増し、検体持込があった場合には即日鶏卵接種等の対応を行なう体制を構築した。

そのような状況下で、九重町で飼育されている愛玩鶏が急死したとの通報をうけ、病性鑑定が行なわれた。

【病性鑑定 材料・方法】

発生場所は製材業を営む一般家庭で、尾曳チャボ¹13羽とアヒル¹羽を飼育していたチャボ¹は3年前に、畜主が卵から孵化したもので、夏期は庭で放し飼いに、冬季は巣箱内で飼育していた。アヒルは平成15年7月に川の上流からけが流れてきたものを持ち帰り、庭の池で飼育していた。アヒルは池を中心に半径10m前後の範囲で行動をしており、チャボ¹と接触する場合もあった。発生の前日夕方、翌日死亡したチャボ¹の巣箱の水が凍っていたため、畜主は池の水を与えていた。2月14日、朝1羽チャボ¹が死亡しているのを畜主が発見し、昼過ぎに2羽が死亡した。同一巣箱内の生存していたチャボ¹のうち1羽は顔面が腫脹していた。続いて、16日の朝には、同一巣箱の残り4羽全てが死亡した。

病性鑑定は2月14日に死亡した3羽のうち、雌2羽（No.1、2）と16日に死亡した雄2

羽、雌 2 羽 (No.3、4、5、6) の計 6 羽を検体とし、それぞれ死亡当日に解剖およびウイルス分離をおこなった。

ウイルス学的検査：ウイルス分離は MEM 培地を用いて No.1、2 の脳、気管、脾臓、直腸の臓器乳剤を作成し、各検体につき 0.2ml ずつ 2 個の発育鶏卵を用いて尿膜腔内接種を行った。36℃で培養後、感染尿膜腔液を回収し、鶏赤血球を用いて血球凝集反応 (HA)、ニューカッスル病 (ND) 抗血清を用いた血球凝集抑制試験 (HI) およびエスプラインインフルエンザ A&B-N (富士レビオ社) を用いてインフルエンザ抗原検出を行なった。また、臓器乳剤および感染尿膜腔液より High Pure Viral RNA Kit (BOEHRINGER MANNHEIM 社) を用いて RNA を抽出し、A 型インフルエンザ H5 亜型に特異的なプライマーを用いて RT-PCR 法による遺伝子の増幅を試みた。分離されたウイルス株は独立行政法人動物衛生研究所 (動衛研) にて確定診断を行なった。

血清抗体検査は生存していた別の巣箱のチャボ 4 羽とアヒル 1 羽について、5 倍から 2 倍段階希釈を行い、No. 1 直腸接種感染尿膜腔液を抗原に用いて血球凝集阻止試験 (HI) を行なった。

【病性鑑定 結果】

病理解剖成績：外景検査では、3 検体で眼窩周囲に浮腫が確認され (図-1)、1 羽では緑色の下痢便が総排泄孔に付着していた。内景検査では 6 検体全ての下顎および頸部皮下に水腫が確認された。食道の充出血が 1 検体で (図-2)、気管の出血は 2 検体で確認された。腹腔臓器では盲腸先端部の充血が 3 検体で、卵管、卵巣の点状出血が 2/4 の検体で認められた (表-1)。



図-1 解剖所見

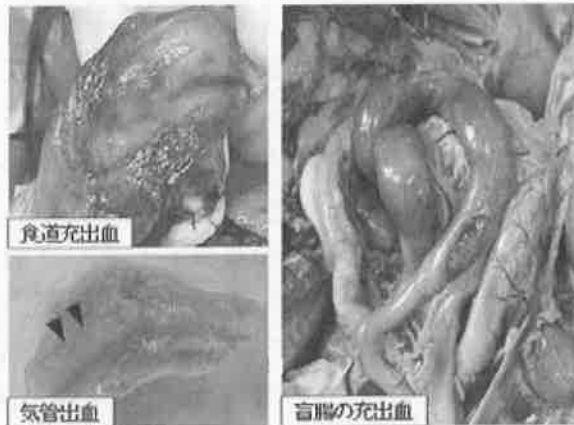


図-2 解剖所見(2)

表-1 病理解剖所見まとめ

飼育日	No.	性別	外景				内景					
			目	下顎	頸部皮下	食道	気管	盲腸	卵管	卵巣		
04/14	1	♀	充血	-	-	水腫	-	-	食道充出血	点状出血	点状出血	
	2	♀	充血	-	-	水腫	-	-	食道充出血	点状出血	点状出血	
04/16	3	♂	充血	-	-	水腫	食道充出血	-	食道充出血	-	-	
	4	♂	充血	-	-	水腫	-	-	-	-	-	
	5	♀	充血	-	-	水腫	-	-	点状出血	-	-	
	6	♀	充血	充血	充血	水腫	-	食道充出血	-	-	-	

ウイルス学的検査成績：ウイルス分離では、臓器乳剤を接種した発育鶏卵全て 36 時間以内に胚が死亡した。感染尿膜腔液の HA 価は 64 倍～256 倍を示し、抗 NDV 血清を用いた HI 試験では凝集は抑制されなかった。ヒト用インフルエンザ抗原検出キットでは全て A 型インフルエンザ陽性となった (表-2)。H5 亜型インフルエンザに特異的なプライマーを用いた RT-PCR の結果、感染尿膜腔液、臓器乳剤ともに供試した全ての材料で推測

表-2 2004.2.14解剖チャボのウイルス分離結果

	1代分離	抗NDV生ワクチン接種	インフルエンザ抗原検出キット
① No.1 気管 ×64	-	-	+
② 胆嚢 ×170	-	-	+
③ 肝 ×64	-	-	+
④ 脾臓 ×64	-	-	+
⑤ No.2 気管 ×120	-	-	+
⑥ 心臓 ×256	-	-	+
⑦ 肝 ×64	-	-	+
⑧ 脾臓 ×120	-	-	+

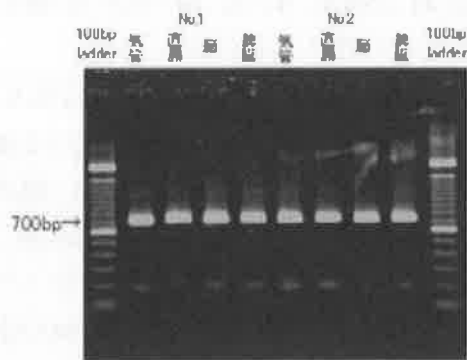


図-3 感染尿膜腔液のH5亜型インフルエンザRT-PCR

されるサイズの遺伝子断片が増幅された (図-3)。

感染尿膜腔液を抗原として行なった血清HI試験では、生存鶏等の抗体上昇は確認されなかった。

以上の検査結果から、高病原性鳥インフルエンザ感染が強く疑われ、動物衛生研究所へ検査材料を送付したところ、H5N1亜型の鳥インフルエンザと確定診断された。畜主からの通報後、4日目の確定診断で、この結果を受け発生地を中心とした防疫対応を行なった。

【清浄性確認検査】

防疫対応は高病原性鳥インフルエンザ防疫マニュアルに従い、蔓延防止のため移動制限区域を設定し、発生地での殺処分、消毒等の防疫措置を実施する。区域内の鳥に臨床症状で異常が無いこと、ならびにウイルス分離検査、抗体検査で陰性が確認された場合に順次移動制限区域の解除が行なわれる。インフルエンザでは低病原性の株が鶏群内で循環するうちに病原性を獲得すると考えられるため、周辺農場の陰性確認が疫学的にも重要な意味を持っている。そのため、移動制限区域内の農場および愛玩鶏を対象とした清浄性確認検査を行なわれた。

検査日程は発育鶏卵の入手できる最短の日に設定して準備を行ない、採材時の情報収集では、採材野帳にNDV生ワクチン接種の有無、周辺環境 (河川、ため池、野鳥の侵入の有無)、鶏種、採材者名等の項目を記載するようにした。採材方法についてもマニュアルを作成し、採材用の消耗品は統一して検査の効率化を高めるため一括購入し、各家保へ採材前日に配布した。

鶏卵接種によるウイルス分離は通常2代行なわれる。しかし、今回の株では発育鶏卵での増殖性が高く、24時間以内に胚の死亡が見られる事から1代のみでの分離を行ない、確認には抗原検出キットを併用した。これにより1検体あたりの発育鶏卵の必要数を削減し検体数を増やすことが出来た。また、培養を2代行なった場合、分離には検査日数は6日間必要となるが、1代分離後、確認に抗原検出キットを併用した場合には3日間で判定が可能となる。抗原

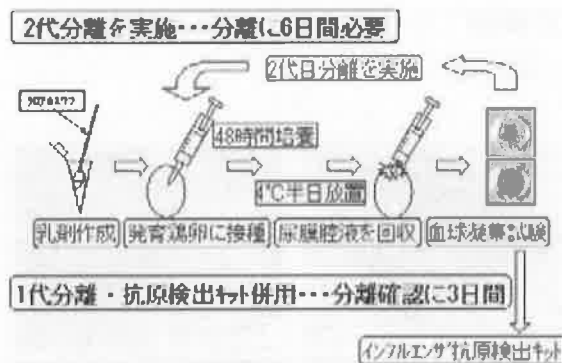


図-4 清浄性確認検査ウイルス分離

供試材料

☆検査キット

人体用のインフルエンザ抗原検出キット (5種類)
 A,C,E:モノクローナル抗体を用いたムノクローナル法
 B:モノクローナル抗体を用いた金コロト法
 D:モノクローナル抗体を用いた酵素抗体法

☆希釈液

1) MEM培地
 2) 尿膜腔液(AF): 鶏管卵を接種し回収されたものを鶏卵40個分7ml

検査法

測定は各キットの操作法に従い実施
 検査材料(0.1ml)での各キットの感度による検出感度を比較
 併せて検出時間および操作性を比較

図-5 検査キットの感度比較

検出キットの使用にあたり、緊急に入手可能であった5種類のキットについて感度比較試験を行ない検査への適応性を検討した。

キットの感度比較試験では、尿膜腔液での判定による非特異反応や反応阻害の確認を行なうためウイルス材料の希釈液として通常のMEM培地の他、尿膜腔液を用いた。検査材料はそれぞれの希釈液で10⁻¹~10⁻⁸まで段階希釈した感染尿膜腔液0.1mlで統一し比較を行なった。操作性については手技の煩雑さなど、大量のサンプル処理への適応性から判断し判定時間は反応時間の合計時間とした。

比較試験の結果、殆どのキットがHAと同等かそれ以上の感度で、106.0EID50程度から検出可能であった。また、尿膜腔液による非特異反応や検出率低下もなく安定した結果が得られた。この結果と操作性を考慮し検出キットは選定された。

清浄性確認検査の対象は、1,000羽以上飼養する養鶏場は30km圏内全て行なわれた。1,000羽未満の養鶏場や愛玩鶏については、屋外で飼養、複数の鳥種がいる、敷地内あるいは周辺に野鳥の飛来する水場があることなどを抽出条件として100戸以上を対象とした。対象農場・愛玩鶏等全ての検体採取は1日で行なわれた。

ウイルス分離の1日目: 日中に、各家保が採材した検査サンプルを20時までに持ち込み、野帳と照らし合わせて確認、並べ替えおよび通し番号の記入を行なった。確認作業の

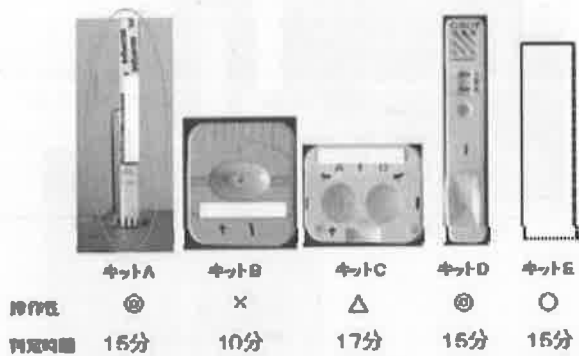


図-6 人体用インフルエンザ抗原検出キット

表-3 抗原検出キットの感度比較

希釈液	検査法	試料量	試料中のウイルス量(分離株) (EID50/0.1ml)				陰性対象
			10 ⁶	10 ⁷	10 ⁸	10 ⁹	
MEM	HA	0.05ml	64	8	-	-	-
	キットA	0.1ml	++	++	+	-	-
	キットB	0.1ml	++	++	-	-	-
	キットC	0.1ml	++	++	+	-	-
	キットD	0.1ml	++	++	+	-	-
	キットE	0.1ml	-	-	-	-	-
AF	HA	0.05ml	8	-	-	-	-
	キットA	0.1ml	++	++	+	-	-
	キットB	0.1ml	++	++	-	-	-
	キットC	0.1ml	++	++	+	-	-
	キットD	0.1ml	++	++	+	-	-
	キットE	0.1ml	-	-	-	-	-

表-4 清浄性確認検査の検査対象

飼養規模	養鶏場: 1,000羽以上飼養	
対象	30km圏内の全戸	
採材条件	農場の飼養状況	採材方法
	1飼舎のみ 2~9飼舎 10飼舎以上	10羽より採材 1/2の飼舎から5羽/飼舎 1/3の飼舎から5羽/飼舎
飼養規模	養鶏場、愛玩鶏: 1,000羽未満飼養	
対象	30km圏内から抽出し100戸以上	
抽出条件	①屋外開放で飼養 ②複数の鳥種を飼養 ③敷地内に野鳥の飛来する水場がある ④周辺に野鳥の飛来する水場がある ⑤飼養者からの希望	



図-7 検体の採材



図-8 ウイルス分離(前処理・1日目)

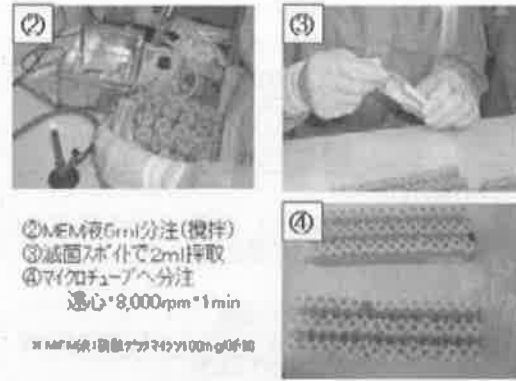


図-9 ウイルス分離(前処理・1日目)



図-10 ウイルス分離(鶏卵接種・2日目)

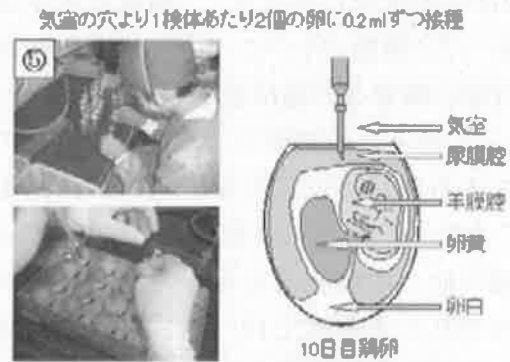


図-11 ウイルス分離(鶏卵接種・2日目)



図-12 ウイルス分離(鶏卵接種・2日目)



図-13 ウイルス分離(尿膜腔液回収・4日目)

終わったウイルス分離サンプル(5羽プール)には分注器で希釈液5mlを分注して懸濁液を作成し、使い捨ての滅菌スポンジで液を吸いとりマイクロ遠心チューブに2mlずつ分注した。この状態で4℃一晩保存し翌日鶏卵への接種を行った。

ウイルス分離2日目:スワブ懸濁液を接種する発育鶏卵は、前日に孵化場から持ち込み孵卵器で保温しておいたものを使用した。卵は油性マジックで通し番号を記入後、アルコール綿花およびヨードで清拭した。気室部分に穴を開けた後、



図-14 ウイルス分離(尿膜腔液回収・4日目)

無菌室内に持ち込み接種を行った。ナパリング、消毒、穴あけ及び無菌室への運搬には常時4名が対応した。

スワブ懸濁液は遠心分離機で8,000rpm/20分間遠心分離を行い、上清を使い捨ての注射器に吸引、鶏卵へ1検体につき2個、0.2mlずつ接種を行った。接種後、パラフィンで密栓し、37度48時間培養を行なった。

ウイルス分離4日目：培養した鶏卵は4℃で2時間放置後、尿膜腔液回収をおこなった。気室部分をピンセットで割り気室部分を広く露出させ、使い捨ての針つき注射器で尿膜腔液の採取をおこなった。HA試験およびキットでの検査用にマイクロプレートに分注し、残りは真空採血管に注射器を刺して保存用とした。HA試験では血球凝集は確認されず、インフルエンザの抗原検出キットでも全て陰性となった。

血清抗体検査：血清はスワブ材料と共に採材され、各家保で遠心分離後に大分家保へ持ち込まれた。採材野帳と併せて数量および農場の確認を行い、ゲル内沈降反応を行なった。動物衛生研究所より分与された抗原を使用し、48時間反応後に観察した。

清浄性確認検査の検査日程は、第1回目の検査は初動防疫処置後7日目に採材を行い10日目に判定、第2回目は第1回目の判定の翌々日、12日目に採材を行い15日目で判定を行なった。検査人数は1回目、2回目合わせて延べ64名でおこなわれた。

検査実績は第1次は1,000羽以上飼養の農場は51農場、未満が特用鶏、愛玩鶏飼養者等113戸で併せて1,345羽、第2次は1,000羽以上が51農場、未満が74戸で併せて1,165羽の検査を行ない、ウイルス分離、抗体検査ともに全て陰性となった。

死亡野鳥等の病性鑑定：3月10日以降は家禽とガスを家保、それ以外を林業課と保健所で検体の採取に対応した。発生から3月末までに163羽でウイルス分離等精密検査を行ない、鳥インフルエンザの感染は全て否定された。

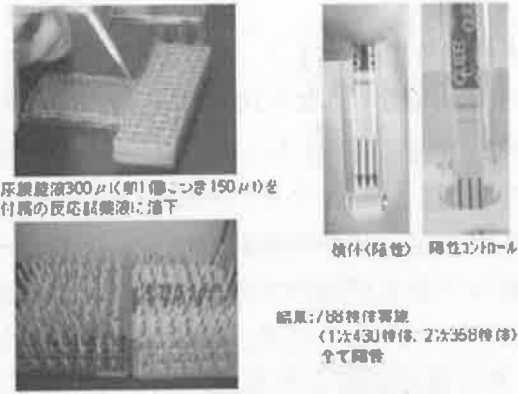


図-15 ウイルス分離（抗原検出キット判定・4日目）

表-5 清浄性確認検査 結果1

検査日程	
月日	2/23 2/24 2/25 2/26 2/27 2/28 2/29 3/1 3/2 3/3
初動防疫処置後	6日 7日 8日 9日 10日 11日 12日 13日 14日 15日
第1次	採材 採種 → 判定
第2次	採材 採種 → 判定
作業人数	
職種	ナパリング 鶏卵消毒 穴あけ 接種 パラフィン 補助
第1次	2 6 2 6 2 2
第2次	閉卵 回収 回収 検出特介
第1次	8 8 4 8
第2次	ゲル作成 血清分注 検体分注
第1次	2 10 4

表-6 清浄性確認検査 結果2

	家保名	市町村	農場数 1000羽		家禽・ガスの飼育		血清検体数	
			以上	未満	採材数	7-6検体数		
第1次	大分		5	8	30	510	30	255
	三重		4	22	15	760	100	200
	岐阜		8	14	30	820	120	410
	幸徳		6	8	30	810	120	300
	合計		23	52	115	2,700	420	1,365
第2次	大分		5	8	27	400	72	200
	三重		4	22	8	680	86	346
	岐阜		6	14	27	800	114	400
	幸徳		8	8	12	440	89	220
	合計		23	52	74	2,320	261	1,166

全て鳥インフルエンザ分離陰性、抗体検査陰性

表-7 野鳥等の病性鑑定 (2月18日～3月31日)

飼育鳥	鶏・チキン他	愛玩小鳥	ハシブ等	その他	合計
学校	22羽(8件)	5羽(3件)			27羽
個人	46羽(7件)	4羽(1件)		6羽(2件)	56羽
展示施設			10羽(1件)		10羽
生産者	9羽(1件)			10羽(1件)	19羽
合計	77羽(28件)	9羽(4件)	10羽(1件)	16羽(3件)	112羽
野鳥	水鳥	カラス	ハシブ	野山の鳥	合計
死亡	5	14	5	4	28
生存		5	2		7
合計	5	19	7	4	35

(37羽)

野鳥	鶏・チキン他
死亡	3
生存	13

(16羽)

3月10日以降は家禽・カラスを家保、それ以外の死亡鳥は地方振興局林業課および保健所対応

【まとめ及び考察】

平成16年2月14日と16日に県内の一般家庭で愛玩用として飼育していたチャボ¹13羽、あひる1羽の計14羽のうち、同一の巣箱に飼育されていたチャボ¹7羽が急死した。そのうち6羽の病性鑑定を行なったところH5N1亜型HPAIが分離され、発生地での初動防疫、30kmの移動制限地域の設定、清浄性確認検査等の防疫対応が行なわれた。

東アジアおよび国内での発生以降、病性鑑定体制および市町村との連絡体制の整備が行なわれていた。その結果、畜主からの通報当日に解剖、ウイルス分離のための鶏卵接種を行い、4日目で確定診断されるなど迅速な初動防疫に貢献できた。

解剖されたチャボ¹の肉眼的病変では強い病変は少なかったものの、国内の他の発生事例と比較すると、各個体に共通する特徴的な病変が確認された。顔面・頸部皮下の水腫、気管の充出血、食道、卵巣、卵管および盲腸漿膜面の出血が高率に認められ、海外で報告されているHPAIの特徴的な肉眼所見に一致していた。ウイルス分離では実施した全ての臓器から鳥インフルエンザウイルスが分離され、全身感染であったことが推察された。発育鶏卵接種で24時間以内に胚の死亡が確認され、雛鶏での接種試験（動衛研実施）においても24時間以内に死亡したことから、今回の分離株は高病原性であることが確認された。

清浄性確認検査では第1次は1345羽、第2次は1165羽の検査を行い全て陰性となった。ウイルス分離においては発育鶏卵でのウイルス分離を1代行い、2代目の分離の代わりにヒト用のインフルエンザ抗原検出キットを応用した。それにより2代目まで分離を行なった場合より、2回合わせて6日間の検査日数短縮となり、移動制限地域の早期解除に寄与することが出来た。

野鳥・放置鶏等の検査では3月末までに163羽のウイルス分離を行った。市民からの通報、依頼による検査が5月末まで続き、関心の高さを実感するとともに、疾病の情報提供、広報の重要性を強く感じた。

今回の発生は、畜主の速やかな通報や飼養規模が小さかったことなどから初動防疫が迅速に終了し、その後の防疫対応についても養鶏関係者、関連機関の多大な協力により、周辺地域への感染拡大も無く、最初の通報から26日という短い期間で終息することができた。

16. 酪農経営をサポートする営農支援システムの確立を目指して — 別杵速見地域の酪農振興 —

別杵速見地方振興局農業振興普及センター

○白根 英治

1. 活動のねらい

別杵速見地域は、大分県の東北部に位置し、別府湾に面する海岸線沿いの別府市、杵築市、日出町及び山香町の2市2町で構成されている。

地形は複雑で海拔0～700mの間に耕地が分布し、多種多様な農畜産物が生産されている。

主要な農畜産物は温暖な気候を利用したハウスみかんを中心とする柑橘産地や酪農、採卵鶏などの畜産物が県内有数の産地となっている。

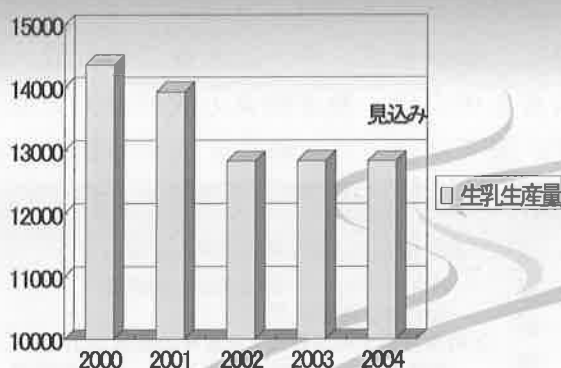
酪農については、畜産基地建設事業（国東速見第1区域・第2区域）等の国家プロジェクトで個別入植タイプの酪農専業地帯に発展している。

しかし、国際化の進展による農畜産物価格の低下傾向は続き、米国のBSE発生やアジアの家きん感染症は、我が国の食生活に大きな影響を与えており、生産性の向上はもとより、食品の安心・安全対策に向けた実践的な取り組みが求められている。

別杵速見地域酪農構造の推移

項目	単位	2000	2001	2002	2003	2004
酪農家戸数	戸	40	39	37	37	37
乳牛飼養頭数	頭	2,361	2,376	2,309	2,231	2,276
戸当飼養頭数	頭	59.0	60.9	62.4	60.3	61.5

別杵速見地域の生乳生産量
(単位:t)



このため、別杵速見地方振興局農業振興普及センター（以下、普及センターと称す）は、当地域のこれからの酪農経営を担う青年農業者に対して、より多くの仲間と共同のプロジェクトを行うことにより、経営資源の効率化に有効であると位置づけ、各個人の多様な課題を解決するための「酪農経営をサポートする営農支援システム」の構築に取り組んだ。

2. 活動の対象と経過

(1) 対象

- ①対象地域：別杵速見地域（酪農家37戸、生乳生産量12,835t／年；2003年度）
- ②対象組織：酪農青年農業者 10名（杵築市2名、日出町2名、山香町6名）

(2) 酪農担い手確保状況

山香町酪農組合の担い手育成確保の取り組みについては、次のようになっている。

山香町担い手育成研修

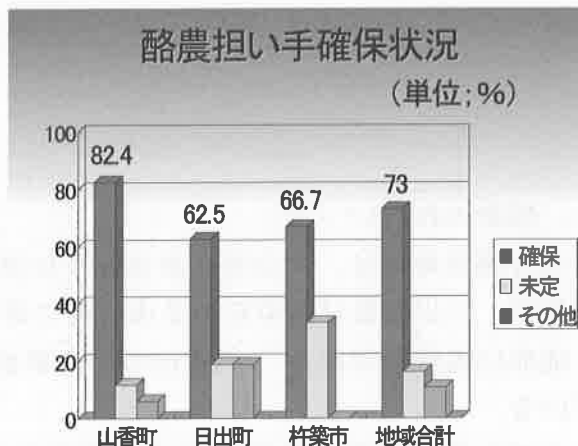
対象；町内17戸の酪農家子弟

内容；国内酪農先進地研修

経費；組合及び町より補助（1/3程度）

※2003年4名の実績

酪農先進地を小中学生時の就農誘発期に実施することで、貴重な体験を得ることができる。就農決定期にさしかかる時期に、山香町が地域を挙げて取り組みを行った結果が、83%という高い確保率にも現れている。



(3) 経過

①酪農青年農業者共同プロジェクト支援のカリキュラム

支援のカリキュラムに基づき、普及センターでは、地域酪農の将来を見据え、新たなプロジェクトが必要であると考え、2004年6月、酪農青年農業者共同プロジェクトを設立した。

プロジェクトでは、メインテーマを「飼養管理の改善」とし、「牛群検定成績を利用した個体管理」や「給水施設の位置の改善」等の検討を行うとともに、規模拡大志向者を中心に、繋ぎ飼養方式の省力化対策としての新方式（搾乳ユニット自動運搬装置）導入について、研究する共通認識を確認した。

経営開始期	①資質向上研修及び組織活動の支援
	・青年資質向上研修(学習会、研修会等) ・青年組織活動支援
経営発展期	②指導農業士の活動による青年の経営能力向上
	・指導農業士の活動支援を通して、青年の技術および経営能力の向上を図る
経営発展期	③認定農業者の育成
	・経営感覚に優れた認定農業者の育成
	④農業法人の育成
	・農業経営の法人化の推進 ・法人の力を活用して地域農業の活性化

	年齢	年齢
K牧場	27	O牧場 31
U牧場	25	T牧場 21
M牧場	28	N牧場 23
Y牧場	23	O牧場 27
T牧場	26	T牧場 23
平均年齢		25.4歳

普及センターでは、共同プロジェクトでの合意を基に、指導農業士等の先進酪農家及び青年農業者本人の牧場を毎月、持ち回りで現地研修会を開催することにした。

「飼養管理」について、問題意識を持ち、解決に向けて、自ら取り組もうとする内容となるよう、指導のカリキュラムを、組み立てた。

酪農青年農業者共同プロジェクト参加者は、就農2年目から9年目までの経営開始期の10名で、平均年齢は、25.4歳となっている。

3. 活動の内容

(1) プロジェクト実施状況

2004年7月に取り組んだことは、大規模繋ぎ飼い式牛舎の、給水施設の改善である。

取り組んだ対象は、山香町のO牧場。

対頭式の牛舎で乳用牛125頭、うち搾乳牛85頭を飼養している。

繋ぎ飼い方式では、県内最大規模となる。

O牧場では、乳牛のストレス改善に有効とされる飼槽、喚気、けい留方法、牛床の改善に取り組んでいる。

今回、取り組んだのは、特に、乳量アップに効果のあるとされる「水」(飲水)について、給水施設を改善した。

- ・主配管(75mm塩化ビニール管を使用)
- ・ウォーターカップにつなぐホースを耐圧ホースにしたこと。

(耐圧ホースは取り回しが楽であること)

- ・主配管にこう配を付け、吸排気弁でスムーズな吐水を図ったこと。

※ウォーターカップは、牛床から100cmの位置に取り付けた。

従来の給水施設では、ウォーターカップの流量は水源の流量で決定され、複数の牛が一度に飲水行動を取ると、水の出が悪くなることがあった。

これを解消するには配管を太くして、配管の中に水を貯め、飲水時に配管内に空気を流入させ、十分に水がでるように改善策を取った。

水は、最も安価で不可欠な栄養素と言われている。乳量増には、乾物摂取量が重要だが、水の摂取量との間にも、高い相関が見られることに注目し、実践した。

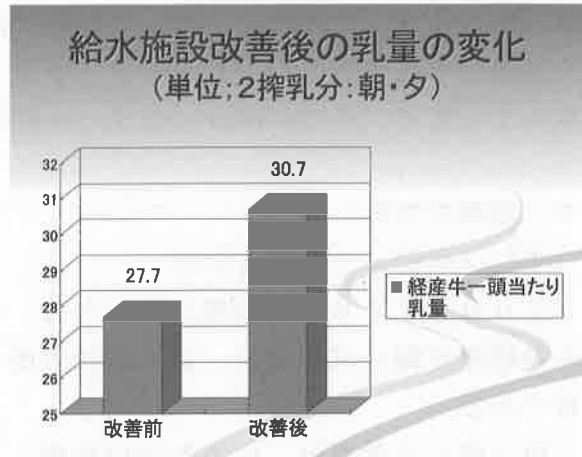
給水施設改善後の乳量の変化は、経産牛1頭当たり乳量(2搾乳分:朝・夕)で、27.7Kgより30.7Kgへと10.9%の伸びを示した。

プロジェクト実施状況

2004年 6月	酪農青年農業者共同 プロジェクトの立ち上げ
7月	給水施設の改善 (大規模繋ぎ飼い式牛舎)
8月	繋ぎ飼い方式の省力化対策 (新方式;搾乳ユニット自動運搬装置)
11月	牛群検定成績を利用した 個体管理



乳量増には、水の摂取量が重要であると改めて実感することができた。



2004年8月より、取り組んだのが、繋ぎ飼い方式の省力化対策（新方式：搾乳ユニット自動運搬装置）についてである。

別杵速見地域では、畜産主産地の総合的な再編整備を目的に、耕作放棄地、荒廃樹園地等を活用した飼料基盤の拡大や飼養管理方式の改善に必要な施設整備を一体的に実施する「杵築速見地区畜産担い手育成総合整備事業」に取り組んでいる。

搾乳ユニット自動運搬装置の特徴

- ・ユニットの自動運搬
- ・ミルクタップへのユニット自動着脱
- ・ユニットの自動離脱
- ・歩行距離の削減
- ・繋ぎ飼い牛舎を使うことで投資抑制
- ・繋ぎ飼いの経験をそのまま活用
- ・ボディーコンディションの観察可能
- ・家族経営で対応可能

搾乳ユニット自動運搬装置と従来との比較

搾乳工程	自動運搬装置	従来
ユニット搬送	自動	手動
ミルクタップ接続	自動	手動
乳房洗浄	手動	手動
ユニット装着	手動	手動
ユニット離脱	自動	手動
ディッピング	手動	手動
ミルクタップの取り外し	自動	手動
次のミルクタップへの移動	自動	手動
1度に運べるユニット数	2	1
ミルクタップでの搾乳方法	2頭同時	左右毎

2000年度～2001年度に基礎調査を実施。2002年度に、計画策定を行い、2003年度より、飼料畑等造成改良、畜舎整備及び搾乳機械整備を実施している。

搾乳ユニット自動運搬装置については、左図のようになっている。

この装置は、繋ぎ式の「省力化」を図るとともに、家族2人で70～80頭規模まで無理なく作業できる、「省人化」も達成できる画期的なものとなっている。

山香町の指導農業士であるK牧場に、2004年4月10日設置された、繋ぎ飼い方式の省力化対策（新方式：搾乳ユ



ニット自動運搬装置)について、調べたものである。頭数が9頭増えているが、夫婦二人の作業時間は、7分の減、朝夕2回の搾乳時間は、14分減少している。

頭数が増加してくるに伴って、省力化効果は高まっている。

さらに、粗飼料配合飼料自動給餌機を活用すると、夫婦2人で3時間程度かかっていた給餌作業が大幅に短縮できるなど、繋ぎ飼い式牛舎の画期的な省力システムとなっている。

搾乳ユニット自動運搬装置設置前—設置後の比較(K牧場;山香町;2004.04.10設置)		担い手総合整備事業(プロジェクト参加者)						
搾乳作業時間	朝(min)	60→53	搾乳方式	実施年度				P参加者
				04	05	06	07	
搾乳作業時間	夕(min)	60→53	K〃 杵築			○		○
ユニット台数	前	6	U〃 日出			○		○
(自動運搬装置台数)	後	8	M〃 山香				○	○
搾乳頭数	前	35	Y〃 〃		○			○
搾乳頭数	後	44	T〃 〃				○	○

杵築速見地区畜産担い手育成総合対策事業実施者のうち、プロジェクト参加者に限って、まとめてみるとこのようになる。

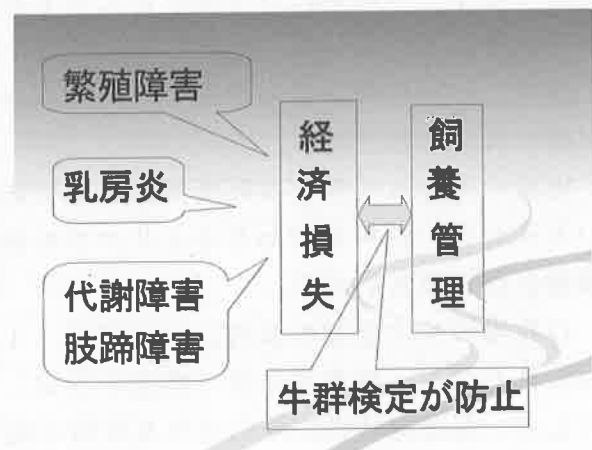
キャリロボ実施者は3戸(05年度1戸、06年度1戸、07年度1戸)の予定となっており、毎年、1戸の規模拡大者がいることになるのである。

2004年11月より、取り組んだのが、牛群検定成績を利用した個体管理についてである。研修先は、山香町のM牧場。

養蚕用の施設を牛舎に改造して、現在、47頭の経産牛を飼養している。

繁殖障害、乳房炎、代謝障害、肢蹄障害等が経済損失につながり、これを早期に発見し、予防(防止)するために活用するのが、牛群検定である。

牛群検定実施者G	未実施者G
山香町	山香町
A 牧場	T 牧場
T 牧場	N 牧場
M 牧場	Y 牧場
杵築市	杵築市
K 牧場	O 牧場
	日出町
	T 牧場
	U 牧場



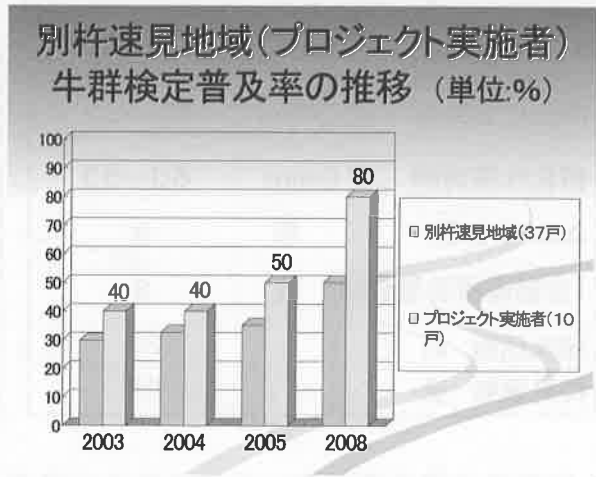
これが、成分検査モニターになる。搾乳牛1頭1頭の生乳サンプルを採取し、社団法人大分県生乳検査協会に送る。

すると、24時間以内に、成分検査モニターが、牛群検定実施者にFAXされるシステムになっているのである。

このデータがタイムリーに来るため、非常に参考になっていることが分かった。牛検実施者は、このデータの中で、特に、体細胞数の欄を重点的に、活用している。

成分検査モニター (2004年11月25日) (2004-11-25, 17:50:45)

日付	バード	名称	産期	乳量	体細胞数	全乳成分	体脂肪	乳蛋白	乳糖	水分
251	20041125	12256870431	0448(雌)	3.45	3.69	4.94	6.73	12.15	4.25	15.5
252	20041125	12256870631	0521(雌)	2.87	3.38	4.83	9.21	12.01	2.1	13.9
253	20041125	12256870431	0457(雌)	2.73	3.45	4.55	6.98	11.74	15.5	4.3
254	20041125	12256870511	0511(雌)	3.92	4.30	4.52	3.52	15.44	3.8	13.4
255	20041125	12256870431	0436(雌)	2.21	3.40	4.43	8.56	11.70	15.0	12.3
256	20041125	12256870441	0449(雌)	3.70	4.07	4.41	8.48	13.78	115.5	13.5
257	20041125	12256870511	0515(雌)	3.94	3.50	4.47	6.83	12.77	13.0	14.7
258	20041125	12256870431	0468(雌)	1.80	3.15	4.84	8.64	10.53	2.0	12.8
259	20041125	12256870431	0438(雌)	2.88	3.57	4.52	6.49	11.44	1.1	15.8
260	20041125	12256870431	0459(雌)	2.87	3.27	4.41	9.65	11.75	3.1	11.0
261	20041125	12256870431	0430(雌)	2.60	3.25	4.28	9.21	11.84	3.0	12.5
262	20041125	12256870631	0523(雌)	3.77	3.49	4.28	9.15	13.12	14.1	17.3
263	20041125	12256870431	0437(雌)	3.59	2.89	4.36	8.53	12.47	11.0	15.9



体細胞数の、この黒い星印の219.2万については、非常に重要である。通常は、30万以内に収まるもので、この数字は異常に高いと判断される。

明らかに、乳房炎を発症しており、病畜の早期発見、乳房炎の早期治療に活用している。

農業青年の牛群検定実施率は、現在40%、4戸が実施している。共同プロジェクトでは、4年後には80%、8戸が実施するように目標を掲げ、研修を重ねていきたいと思っている。

4. 活動の成果

酪農青年農業者共同プロジェクトの設立から課題の設定を行い、2004年11月まで実践活動は短期間であったが、酪農青年の関心の高さは目を見張るものがあった。

これは、青年農業者の目的意識の高さもあるが、2005年度以降に、規模拡大を控えているこの時期に立ち上げたことも非常にタイミングが良く、効果を上げられたポイントと考えている。

まず、①青年農業者の飼養管理技術の高度化・企業的経営に対応できる資質の向上が図られたことである。

地域の農林水産祭天皇杯受賞酪農家である山香町のO牧場での研修を始め、繋ぎ飼い方式の省力化対策であるキャリロボの研究検討など、今後の規模拡大者には非常に参考となる経営がある。

O牧場の給水施設の改善については、1日当たりの乳量にして10.9%の伸びがみられるなど、農業青年自ら課題を設定し、解決していく、課題解決型プロジェクトとして、企業的経営に対応できる資質の向上が図られていると考えている。

次に、②将来に向けた個々の酪農経営のあり方や地域における自らの貢献等を研究討議する環境ができたことである。

酪農青年共同プロジェクト参加者10名のうち、担い手育成総合対策事業にて規模拡大を行う5名については、目の前に迫った課題である。

別杵速見地域の特徴でもある搾乳ユニット自動運搬装置(キャリロボ)の導入は、繋ぎ飼い方式牛舎の省力化を目指したものである。

現状の家族労働力に対応しつつ、繋ぎ飼い牛舎をそのまま使うことで投資抑制を図り、また、繋ぎ飼いの経験をそのまま活用できる。

これは、従来のミルクングパーラー方式等での規模拡大とは違う別杵速見モデルを示している。

将来に向けて、飼養管理の改善により、共同プロジェクト参加者の技術水準が向上し、生産性の向上につながればと考えている。

このことは、別杵速見地域酪農の体質強化と農村の活性化が図られていくと考えている。

10戸の農業青年の平均年齢25.4歳が示すとおり、この共同プロジェクトは、酪農のみならず、柑橘青年部やキュウリ、いちごなど野菜類農業青年にも影響を与えている。

共同プロジェクトは、青年個々の持つ能力を1+1=2ではなく3にも5にもなることを証明した。

また、搾乳ユニット自動運搬装置(キャリロボ)の導入は、県内でも初めての取り組みであり、今後続くであろう県内外へのモデル事業として調査・研究していきたいと思っている。

5. 将来の方向と課題

今後、別杵速見地域では事業等により、酪農の規模拡大が進んでいく予定である。当地域の特徴として、

- ①家族労働力による規模拡大
- ②自給飼料生産により、環境に配慮した経営への転換
- そして、③繋ぎ飼い方式でゆとりある酪農の実現である。

これには、繋ぎ飼い牛舎をそのまま使うことでの投資の抑制も大きな理由の一つで

プロジェクト活動の成果

- (1) 青年農業者の資質の向上
- (2) 将来に向けた個々の酪農経営を検討する環境ができた
- (3) 地域酪農の活性化

別杵速見モデル

- ・家族労働力による規模拡大
- ・適正な堆肥の投入による自給飼料生産
- ・牛群検定を活用した効率的な個体管理

繋ぎ飼い方式でゆとりある酪農の実現

あるが、個体管理において、今までの経験をそのまま生かせることも大きいと思われる。

全国には、北海道や北関東に巨大な酪農経営体 いわゆる「メガファーム」が出現している。

県内にも経産牛200頭規模の経営が多く現れている状況にある。

このような経営体は、流通飼料に依存せざるを得ないこともあり、ふん尿処理や雇用労働力の確保等に常に弱点を抱える状況になっている。

当地域は、規模的には経産牛62頭の水準であるが、雇用労働力に頼らない、家族労働力での酪農経営を目指す経営体が多くみられる。

これは、規模拡大によるスケールメリットを追い求めるのではなく、家族経営での労働力を中心に、適切なふん尿処理による自給飼料生産により、飼料自給率の向上を図り、また、牛群検定等を活用し、ムリ・ムダ・ムラを省く効率的な個体管理による酪農経営を目指す方向もあるということを示しているのだと思われる。

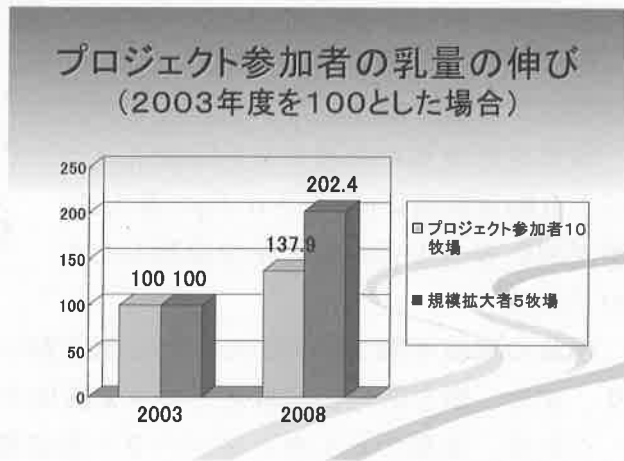
さらに経営の強化が求められる状況の中で、青年農業者の共同プロジェクトを通じて、飼養管理技術の向上に対応できる営農支援システムの確立を目指していきたい。

この写真は、2004年9月に建てられた「西鹿鳴越案内板」である。

案内板にもあるように、製作者は、三世会となっていて、6牧場（7世帯）、人数は19名となっている。

西鹿鳴越地区の開拓した初代からみて3代目4代目の農業青年及びその家族方々の名前が連なっている。

酪農を通し、地域を活性化していくモデルがここに実現されようとしているのである。



夢を持ち続けること
果てしなく

6. さいごに

地域が、活気とうるおいのある集落として発展するために、知恵と実践力を結集させた「酪農経営をサポートする営農支援システム」づくりは、重要なキーワードであり、普及センターによる総合的な支援活動の役割は一層高まっている。

普及センターは、20年30年先を見据えた、地域の担い手の育成について、今後とも努力していきたい。

17. 木くずチップを副資材とした乳用牛ふんの堆肥処理技術

畜産試験場

○吉田周司

【背景・目的】

乳用牛ふんの水分率は85%前後と高く、良好な堆肥化を行うためには副資材の添加が不可欠なものの、副資材として多用されるオガクズの単価は1立方メートル当たり2,000円以上であり、乳用牛50頭規模では年間百数十万円のオガクズ代が必要となる。一方、土木工事などで排出される産業廃棄物の木くずは、従来から焼却や埋却処分されて来たものの法改正によりこれらの処分ができなくなり、その対応に苦慮している。そこで、この木くずをチップ化し乳用牛ふんの安価な副資材として利用できないか検討を行った。

【試験方法】

試験方法の概要を表1に示した。堆肥化期間をいずれの区も88日間とし、堆積量は牛ふんと副資材を等量混合した5m³とした。試験区分は、木くずチップを副資材とした試験区とオガクズを副資材とした対照区とし、試験区のうち全期間を通して堆積発酵を行ったものを試験区1、最初に直線攪拌型発酵槽を通した後に堆積発酵をさせたものを試験区2とした。また、調査項目は、発酵温度、水分率、容積重、堆肥の成分分析及び腐熟度判定を実施した。

【結果と考察】

図1に木くずチップの製造過程を示した。副資材とした木くずは、土木工事の際に排出される木の根、枝、竹などの天然木で、建築用廃材等は一切含まれていない。これをタブグラインダーで数cmの大きさにチップ化したものを副資材とした。また、木くずチップの性状は、大きいものでも2~3cm程度で、鋭利なものもあり、敷料として用

表1 試験方法

堆肥化期間：88日間

堆積量：各区5m³（牛ふんと副資材を等量混合）

試験区1：木くずチップ+牛ふんを堆積発酵

試験区2：木くずチップ+牛ふんを直線攪拌型発酵槽を通した後、堆積発酵

対照区：オガクズ+牛ふんを堆積発酵

調査項目：発酵温度、水分率、容積重、堆肥の成分分析及び腐熟度判定



図1 木くずチップの製造過程

いるのは難しいと考えられた。(図2) 水分率は、当場で使用しているオガクズと同程度の40%台であり、容積重はオガクズよりやや大きく1m³当たり270kgであった。

図2 木くずチップの性状

	木くずチップ	オガクズ
水分率	46%	47%
容積重	270kg/m ³	220kg/m ³



次に、図3に各試験区の堆肥化時の発酵温度推移を示した。いずれの区も最高温度は65℃以上に上昇しており良好な発酵が行われていることが伺われた。この中で、試験区2の20日目までは直線攪拌型発酵槽内の温度を示し、これ以後は堆積発酵した温度変化を示しているが、直線攪拌型発酵槽投入後5日目に最高温度が75℃となり、その後低下し攪拌装置から排出される20日目には50℃台の前半まで低下した。また、堆肥化の後半は試験区1、2の方が、対照区より10℃程度高い発酵温度を示しており、切り返しによると考えられる発酵温度の上下動が確認された。

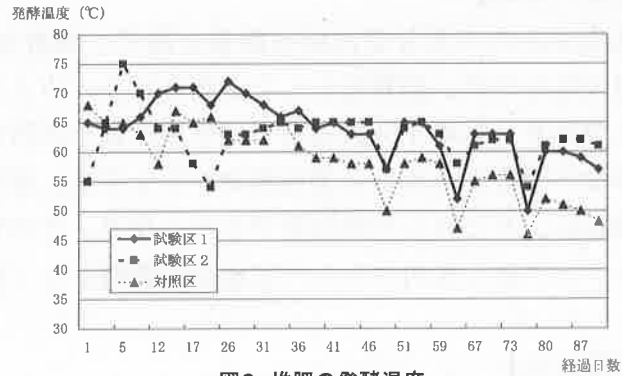
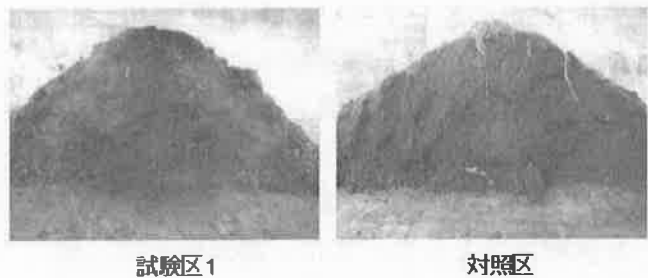


図3 堆肥の発酵温度

図4 切り返し時の断面



次に、堆積発酵時の断面を図4に示した。試験区1では好気発酵している部分が対照区に比べ明瞭で、放線菌の増殖も認められた。また、この図では示せなかったものの、堆肥化初期の試験区1では、対照区には認められなかった廃汁の排出が堆積部位周辺に認められた。この廃汁排出は強制通気装置がある場合には通気管の閉塞につながる可能性があるため、木くずチップ量を増加するか、オガクズを混入する必要があると考えられた。

また、堆肥の水分率は、堆肥化初期は73~72%であったものが、終了時には試験区1で60%、試験区2で56%、対照区では64%となり、廃汁量の多寡、及び発酵温度差により水分率に違いが出ており、発酵温度が高かった試験区2の水分率が一番低くなった。(図5)

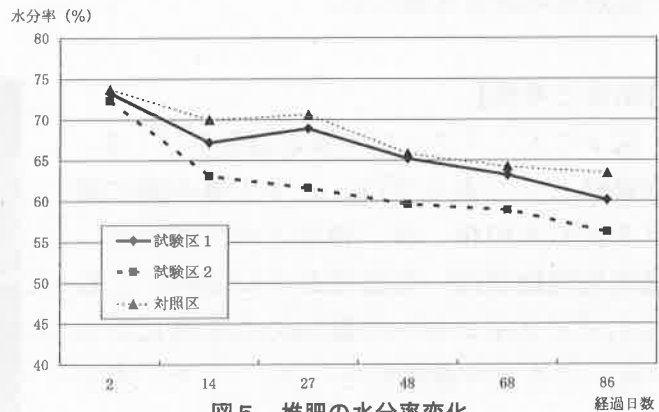


図5 堆肥の水分率変化

一方、容積重は開始時には570~600kg/m³であったものが、終了時には試験区で430~470kg/m³となり、対照区は545kg/m³までしか低下せず、対照区と比較して試験区1、2の容積重の低下が大きくなった。(図6)

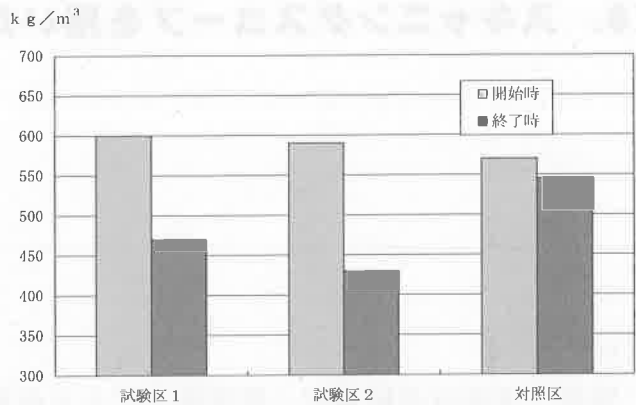


図6 容積重の変化

最後に88日間の堆肥化後、成分分析を行った結果を表2に示した。試験区と対照区の間にはEC、P₂O₅、腐熟度判定で差が認められた。ECについては、堆肥

化初期における廃汁排出が影響していると考えられ、腐熟度は木くずチップを使用することにより発酵温度が上昇し有機物の分解が促進されたためと考えられた。

表2 堆肥分析結果

	水分率 %	PH	EC	N %	P2O5 %	K2O %	CaO %	MgO %	Zn ppm	Cu ppm	C %	C/N	腐熟度 判定
試験区 1	60.1	6.7	6.2	0.93	0.76	0.77	0.81	0.31	43	7	16.7	18	57
試験区 2	56.2	7.5	6.1	0.99	0.75	0.93	0.69	0.35	42	7	17.7	17.9	77
対照区	63.4	6.7	8.3	0.93	0.44	0.87	0.73	0.31	38	4	16.2	17.5	49

次に、この木くずチップを有効利用した事例紹介を図7に示した。土木業者から排出される産業廃棄物の木くずは有料で産廃業者に引き取られ、チップ化される。この木くずチップは産廃業者のダンプにより堆肥センターに搬入され、生糞と混合、堆肥化される。各酪農家が使用する堆肥については無料で持ち

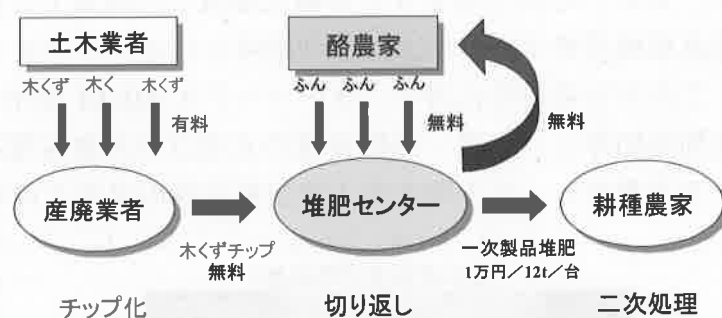


図7 木くずチップの有効利用

帰り、残った部分を耕種農家へ1万円/台で産廃業者が販売している。酪農家にとっては、副資材費用が無料で、切り返しされれば堆肥がはけていく形となっている。

【まとめ】

- (1) 木くずチップを副資材とすることにより、オガクズを用いた対照区より発酵温度が10℃高く推移した。
- (2) 木くずチップの試験区は、堆肥化初期の廃汁が多量に排出された。
- (3) 堆肥化前後の容積重の変化は、木くずチップの試験区で大きくなった。
- (4) 堆肥分析結果は、EC、P₂O₅、腐熟度の項目で差が認められ、木くずチップを使用することにより良質堆肥の生産が可能と考えられた。

18. スキャニングスコープを用いた種雄牛選抜法の検討

畜産試験場

○安部 行倫

【はじめに】

種雄牛選抜は直接検定、間接検定により候補種雄牛の持つ発育、体躯の各部位の増体能力及び産子の産肉能力、母牛の血統、過去の産子の枝肉成績等からの育種価を考慮し、優れた産肉能力を持つ種雄牛を選抜している。本試験において、これまでの選抜方法に加え、より精度の向上を図るためスキャニングスコープで、候補種雄牛のからだの内部をスキャニングし、その産肉性を示す各形質を測定することで本牛の持つ能力を診断する方法を検討したので報告する。

試験方法

2001年度以前に間接検定成績の判明した7頭と2002年度以降間接検定終了した6頭の候補種雄牛13頭の直接検定終了時スキャニングスコープ画像調査牛とした。また、そのうち24ヶ月齢に発育した時点でこれら13頭のうち2002年度以降直接検定終了の6頭24ヶ月齢時スキャニングスコープ画像診断牛とした。

これらの材料牛に対し、スーパーアイ MEAT を用い、ロース芯面積・皮下脂肪厚・筋間脂肪厚・バラ厚・脂肪交雑の5項目の画像を複写機でコピーし、面積、厚さ、ランクを測定し、その測定値と間接検定枝肉成績との相関係数を調査した。

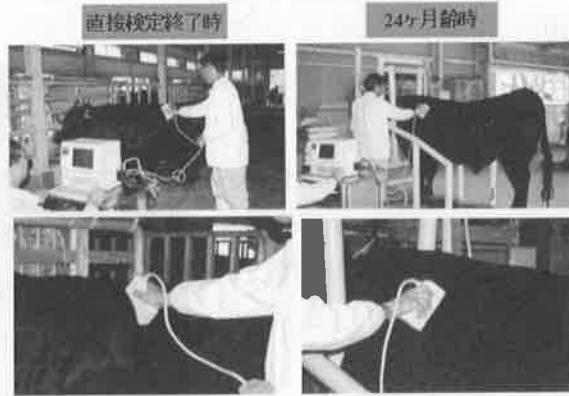
図-1 スキャニングスコープ
(超音波画像診断装置)



本試験に使用したスキャニングスコープが図-1である。中央のモニターの付いた本体と右下が牛体に接着させるプローブで、左が本体モニターに映し出された画像を複写するコピー機である。

図-2 がスキャニングスコープによる画像診断風景である。左が直接検定終了時、右が24ヶ月齢時で、プローブの接着部位は牛体左側の肩胛骨後方部に位置する第6と第7胸椎部間である。左下写真がロース芯面積、脂肪交雑測定部位で、それから少し胸底側に下がった位置の右下写真の示すところが皮下脂肪厚・筋間脂肪厚・バラ厚の測定部位である。

図-2 スキャニングスコープによる画像診断風景



スキャニングスコープ画像の測定法及び判定法を図-3に示した。

☆ロース芯面積の測定法

スキャニングスコープ画像写真をデジタイザープログラムを用い、複写機でコピーした画像上をトレースし測定する

☆皮下脂肪厚、筋間脂肪厚、バラ厚の測定法

スキャニングスコープ画像写真の各形質の幅の2点間をデジタイザープログラムで測定

☆脂肪交雑の判定法

脂肪交雑判定基準により判定

ロース芯面積はデジタイザープログラムを用い、画像写真上のロース芯部外周をデジタイザー付属器具でトレースすることで測定した。皮下脂肪厚・筋間脂肪厚・バラ厚はデジタイザープログラムで画像写真のそれぞれの形質の幅の2点間を設定することで表示される数値を用いた。

図-3 各形質の測定及び判定法

脂肪交雑の判定法を図-4に示した。脂肪交雑の判定基準を作成し、1~5の項目に示すように画像全体及びロース芯部の明るさ、ロース芯部の白い点の状態、ロース芯部の輪郭の状態、ロース芯部と他の筋層の状態を比較し、これを3段階

1. 画像全体の明暗
2. ロース芯部分の明暗
3. ロース芯部分の輝点の状態
4. ロース芯部分の輪郭の状態
5. ロース芯部分の他の筋層との比較

良 ←→ 否

明 普通 暗

明 普通 暗

良 普通 悪

不明 普通 鮮明

明 普通 暗

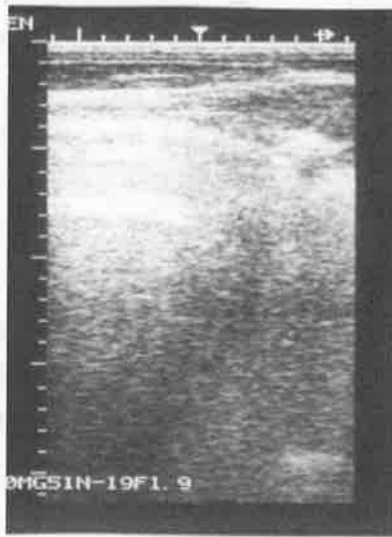
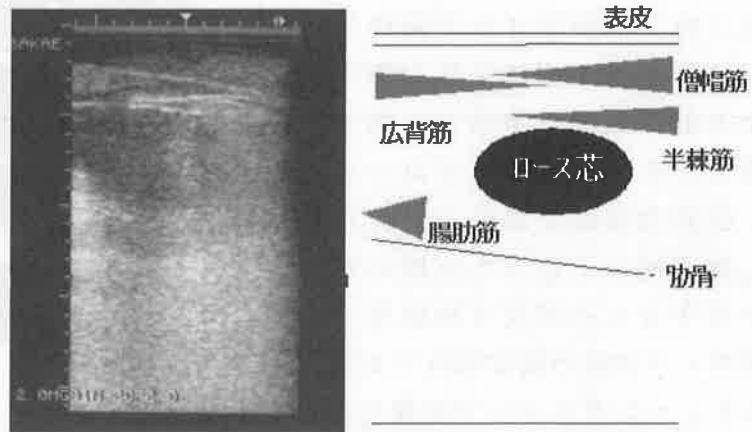
脂肪交雑 ランク	A	B	C	D	E
■ の数	4 ≤	3	2	1	0
■ の数	1 ≥	2 ≥	2 ≥	2 ≤	3 ≤
■ の数	0	1 ≥	2 ≥	3	4 ≤

図-4 脂肪交雑の判定基準

の良否にあてはめ、その良否の占める割合で ABCDE の A をトップとする 5 ランクに区分し、判定した。

図-5 はスキヤニングスコープ画像と筋層を示す模式図である。

ロース芯面積、脂肪交雑を判定する際の画像であり、表皮の下の僧帽筋、半きよく筋の下にロース芯部が確認できる。



模式図

図-6 にロース芯部より胸底側に下がった皮下脂肪厚、筋間脂肪厚、バラ厚の測定部位を示した。通常枝肉格付けを行う位置と同様で、腸肋筋の先から広背筋の下縁部の間が筋間脂肪厚、その延長線上の広背筋上

図-6 スキヤニングスコープ画像模式図No.2

縁部から表皮の下縁の間が皮下脂肪厚、バラ厚は画像左側の腹壁と皮下脂肪を除いた広背筋上縁の間とした。

【結果】

脂肪交雑の判定基準に基づいて直接検定終了時判定した良質の A と B ランクの 2 例と標準の C 及びやや質の落ちる D と E ランクの 4 例を図-7に示した。左側 2 例と右側 4 例のロース芯部の白い点の状態で明るいまたは暗いが確認できる。C から

E ランクにおいてもランクごとで明暗の違いが確認できる。

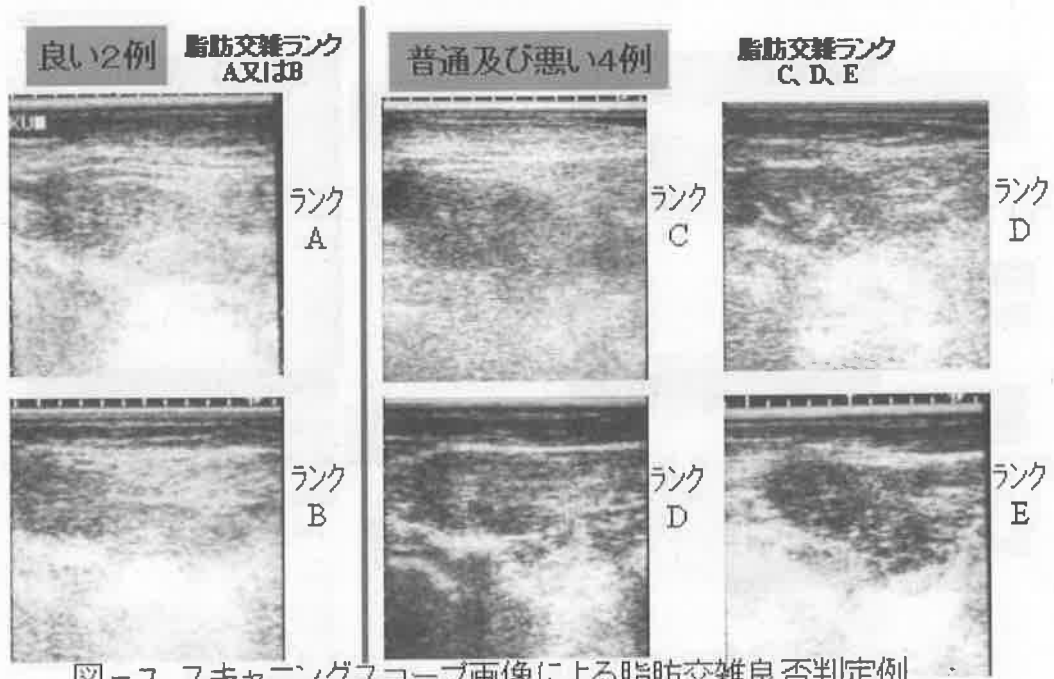


図-7 スキャニングスコープ画像による脂肪交雑良否判定例
(直接検定終了時)

同様に24ヶ月齢時のロース芯部の判定例を図-8に示した。直接検定終了時同様ランクごとで明暗の違いが確認できる。

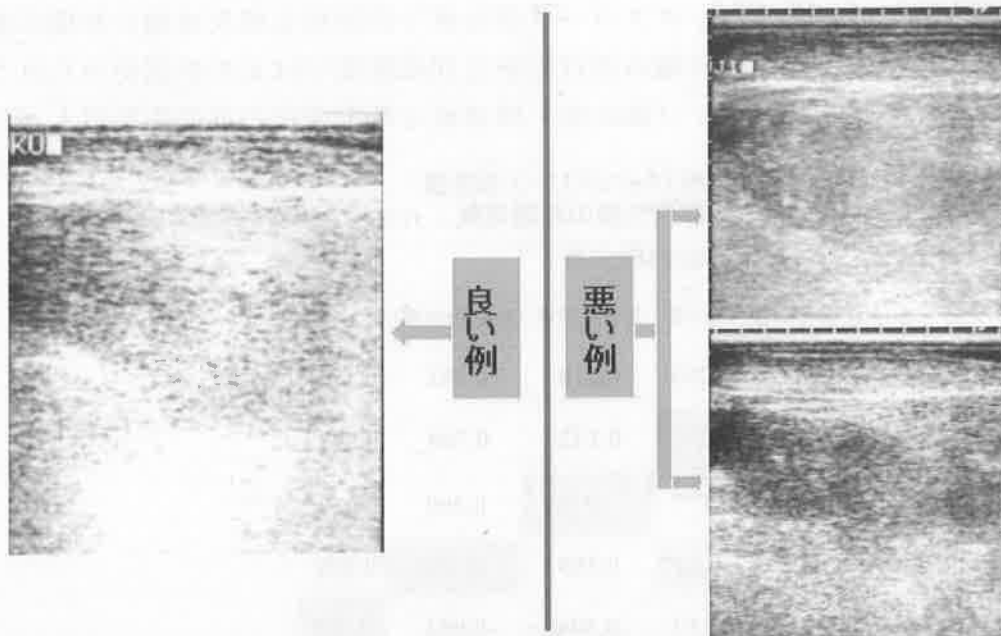


図-8 スキャニングスコープ画像の脂肪交雑良否判定例2
(24ヶ月齢時)

直接検定終了時のロース芯部の脂肪交雑画像参考例として寿恵福とその兄弟牛の画像を図-9に示した。寿恵福の間接検定の脂肪交雑成績及びその兄弟牛そのものの脂肪交雑成績は良好であり、それに比例するようにスキャニングスコープによるロース

芯部の画像も判定基準にあてはめると A ランクにあたるものであった。

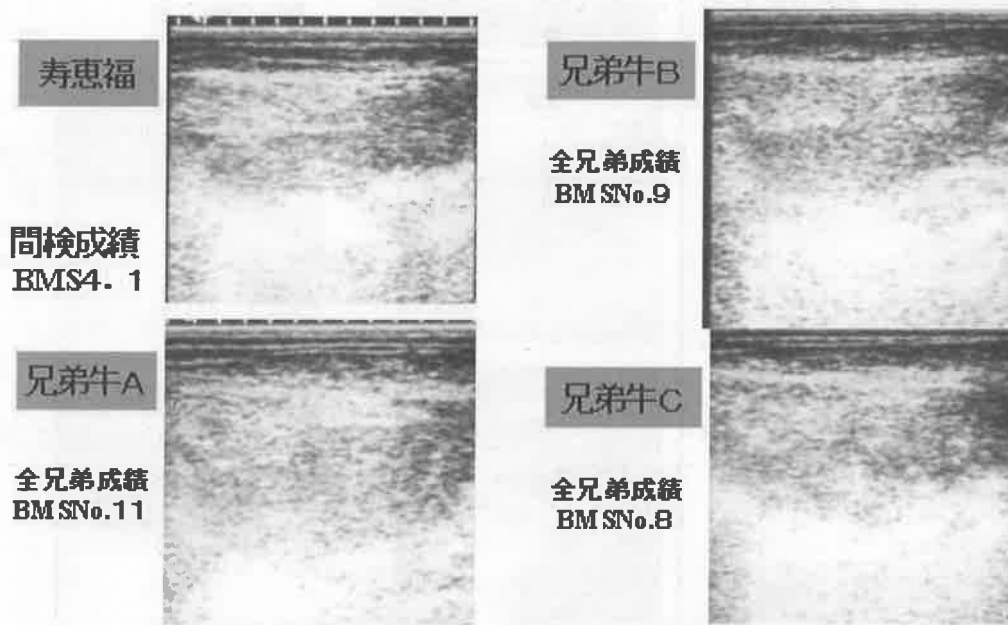


図-9 スキャニングスコープ脂肪交雑画像参考例
寿恵福とその兄弟牛(直接検定終了時)

直接検定終了時スキャニングスコープ測定値と間接検定枝肉成績の相関係数を表-1に示した。中央に階段状に編みかけのある同形質間では正の相関がみられた。異形質間ではスキャニングスコープ測定値と間接検定枝肉成績の筋間脂肪厚とバラ厚、脂肪交雑とロース芯面積に有意性がみられた。

表-1 直接検定終了時スキャニングスコープ測定値
と間接検定枝肉成績の相関係数 n=13

	間接検定枝肉成績					
	ロース芯面積	バラ厚	皮下脂肪厚	筋間脂肪厚	脂肪交雑	
直接検定終了時	ロース芯面積	0.237	0.295	0.214	0.452	0.180
	バラ厚	0.025	0.481	0.132	0.794	-0.047
	皮下脂肪厚	-0.131	0.177	0.271	0.200	0.019
	筋間脂肪厚	-0.037	*0.677	0.385	0.561	0.329
	脂肪交雑	*0.617	-0.217	-0.304	-0.052	0.469

* <0.05

24ヶ月齢時スキャニングスコープ測定値と間接検定枝肉成績の相関係数を表-2に示した。直接検定終了時同様同形質間で正の相関がみられた。さらに異形質間でロース芯面積と脂肪交雑に有意性がみられた。

表-2 種雄牛24ヶ月齢時スキャニングスコープ測定値と間接検定枝肉成績との相関係数 n=6

	間接検定枝肉成績				
	ロース芯面積	バラ厚	皮下脂肪厚	筋間脂肪厚	脂肪交雑
ロース芯面積	0.314	0.570	0.473	0.528	* 0.863
バラ厚	-0.317	0.295	0.668	0.023	0.294
皮下脂肪厚	0.638	0.229	0.175	0.240	0.136
筋間脂肪厚	0.255	0.182	-0.741	0.062	-0.140
脂肪交雑	0.401	-0.206	0.220	0.557	0.355

* <0.05

表-3 間接検定材料牛による各形質間の相関係数 (表型相関)

形質	n=121				
	ロース芯面積	バラ厚	皮下脂肪厚	筋間脂肪厚	脂肪交雑
ロース芯面積		0.3432	-0.1230	0.2134	0.2795
バラ厚			0.3769	0.6098	0.2334
皮下脂肪厚				0.3195	0.1242
筋間脂肪厚					0.1329
脂肪交雑					

2000年度から2003年度の間接検定材料牛121頭の枝肉成績により各形質間の相関係数を調査した結果を表-3に示した。バラ厚と筋間脂肪厚に高い相関係数がみられた。

【まとめ】

直接検定終了時及び24ヶ月齢時のスキャニングスコープ測定値と間接検定枝肉成績との相関係数の状況により、同形質で正の相関がみられ、異形質間で、脂肪交雑とロース芯面積又はロース芯面積と脂肪交雑で高い交換係数がみられた。また、直接検定終了時、異形質間の筋間脂肪厚とバラ厚に高い相関係数がみられたことに加え、間接検定材料牛による枝肉成績による各形質間の相関でも筋間脂肪厚とバラ厚で高い相関があったこと、さらに月齢の進んだ24ヶ月齢時の成績と比較してほぼ同傾向の調査結果であったことから直接検定終了時の種雄牛選抜の従来法にスキャニングスコープを用いた方法を加えることである程度の選抜精度の向上につながると考える。

19. 少数胚培養におけるコンディションド・メディウム活用によるウシ胚生産改善効果

畜産試験場

○梅木英伸・藤田達男・志賀一穂

要 旨

本発表は、超音波ガイドを使った経膈採卵法 (ovum pick up: 以下OPU) と体外受精 (In vitro fertilization: 以下IVF) を組み合わせた技術を用いて、優良形質を持つ雌牛の胚を安定的に生産することを目的として実施した。今回は、多数胚培養液 (Conditioned medium: 以下CdM) の作製を従来法¹⁾より簡便にするために、食肉処理場へ出向かなくても、場内においてCdM作製に必要な卵母細胞 (以下卵子) を確保する方法として、3頭の交雑種 (ホルスタイン種♀×黒毛和種♂) にOPUを実施し、採取した卵子を用いてCdMの作製を行い、少数胚培養における胚生産に活用して、OPU-IVFによる優良雌牛の産子生産の検討を行った。

1. OPUによる採取卵子が10個以下で、少数胚培養を実施した供胚牛7頭 (延8頭) のOPU成績は、1頭当たりの採取卵子数は3~22個、正常卵子数は2~10個、正常卵子割合は40.1~100%であった。
2. CdM作製のために実施した交雑種3頭のOPU回数5回分の成績において、1回当たりのOPUで採取した卵子総数は74~102個で推移し、1頭当たりの採取卵子数は15個~52個 (平均28.3個) の卵子を採取した。また、1回当たりのOPUで採取した卵子の正常卵子数は62~80個 (正常卵子割合75.6~)90.5% であった。
3. 1つの少数胚発生培養ドロップ (5 μ l/胚) に供試胚を2~10胚入れて、IVF後2日目より交雑種3頭から採取した卵子を用いて作製したCdMを、培養液の半量交換を行い胚発生の培養を実施した結果、少数胚培養を実施した供胚牛7頭のIVF成績は、卵割率は71.4~100%、胚盤胞発生率は42.9~66.7%であった。
4. 少数胚培養により生産された黒毛和種胚を、2頭の黒毛和種経産牛受胚牛に1胚または2胚の新鮮胚を移植した結果2胚移植を行った1頭が受胎、ホルスタイン種性判別雌新鮮胚を3頭のホルスタイン種経産受胚牛に1胚づつを移植した結果2頭が受胎、計60% (3/5頭) の受胎が得られた。
5. 受胎した3頭の受胚牛は、3頭ともに正常な産子を分娩した (黒毛和種雄: 生時体重30.4kg、ホルスタイン種雌: 50.0kg、ホルスタイン種雌: 生時体重49.0kg)。

以上のことから、食肉処理場由来の卵子を用いず、交雑種3頭から採取した卵子より作製したCdMを利用して少数胚培養を実施した結果、高い胚盤胞発生率を

示した。また発生したIVF胚を移植した結果3頭が受胎し、これらは正常に産子を分娩したことから、この技術は今後、優良形質を持つ雌牛の胚生産に活用できると思われた。

(キーワード：卵子吸引、体外受精、Conditioned medium、体外胚移植産子)

背景及び目的

牛の一般的なIVF技術は、低コストかつ大量の胚生産技術としてすでに実用化されているが、食肉処理場由来の卵巣・卵子を用いることから、生産された胚の経済的あるいは、遺伝的価値の評価および産子の登録取得ができなく、これを解決するためには供卵牛ごとに卵子を採取し、血統の明らかな胚を生産することが必要である。

1987年にCallsenら²⁾また1988年にはPietersら³⁾は、超音波診断装置を用い牛生体の卵巣像を観察しながら卵子を経腔的に採取し、IVFと組み合わせて胚生産に成功した。その後、欧米を中心としてOPUを応用したIVF胚生産は、商業的に利用されるようになった⁴⁾⁵⁾。一方、国内においてもOPU-IVFの現場普及への努力が成されているが、卵子吸引技術の難しさ、また食肉処理場由来の卵子によるIVFと比較して胚盤胞発生率が20~30%と低い⁶⁾ことなどから、農家段階への普及へ至らないのが現状である。しかし、OPU-IVFは優良形質を持つ雌牛に対し、過剰排卵処理を用いなくても優良雌牛の胚を年間を通して効率的・安定的に生産できる可能性が有り、また、過剰排卵処理による採胚成績の低下した供胚牛及び子宮環境の悪化などの原因で採胚ができなくなった供胚牛に対して胚の生産が可能となることから、当场または県下の農家で飼養されている優良遺伝子を保有する雌牛を用い胚の生産を行い、県下の多くの農家で利用することで、現在より効率的に優良牛の生産が可能であると思われるが、しかしこのためにはOPU-IVFにおける卵子吸引、胚培養技術の更なる向上が必要である。

これまで、連続OPUによる卵子の効率的・安定的な採取と、食肉処理場由来卵子を用い作製したCdMの活用による、少数胚培養(10個未満)時における胚盤胞発生率の向上について検討を行い、採取卵子数および胚盤胞発生率の改善効果¹⁾について報告した。

そこで本年度は、CdMの作製を従来法¹⁾より簡便にする為に、食肉処理場へ出向かなくても、場内においてCdM作製に必要な卵子の確保を図るため、3頭の交雑種にOPUを実施し、採取した卵子を用いてCdMの作製を行い、少数胚培養における胚生産に活用して、OPU-IVFによる優良雌牛の産子生産の検討を行った。

試験方法

1. 供試牛

1) 供卵牛；当场で飼養している黒毛和種またはホルスタイン種の経産牛に対

して、1回のOPU時に1または2頭の受卵牛を用いて、計5回のOPUを実施した。そのうち1頭の供卵牛からIVF可能な卵子が10個以下しか採取されなかった供卵牛7頭（延8頭）の卵子を少数胚培養に供試した。

2) CdM作製用供卵牛；当場で飼養している交雑種経産牛3頭に計5回（延15頭）のOPUを実施し、採取した卵子を多数胚培養に用いCdMを作製した（各OPU実施日は供胚牛のOPU日と同日にした）。

3) 受胚牛；発情後7または8日目に直腸検査により副生殖器に異常が認められず、また黄体はLindnerとWright⁷⁾の分類により、Excellent、GoodあるいはFairと判定した牛（黒毛和種2頭、ホルスタイン種3頭）を受胚牛とし移植を実施した。

2. OPU方法

供試牛を保定、糞を排出し、2%キシロカイン（藤沢）で尾椎硬膜外麻酔後、外陰部を洗浄消毒して膣内にコンベックス型7.5MHzの超音波プローブ（EPU-F531、日立メディコ）を挿入。直腸より手を入れ卵巢をプローブ先端に誘導し、超音波診断装置（EUB-405B、日立メディコ）のモニターに卵巢像を映し、プローブに装着した採卵針（cova needle、ミサワ医科）を、プローブ先端から膣壁を通して卵巢に刺し、卵巢像を確認しながら直径3mm以上の卵胞から卵胞液とともに卵子を吸引採取した。吸引にはフットスイッチ式吸引ポンプ（FV4、FHK）を用い、吸引圧は100mmHgとした。採卵針が詰まった場合には600mmHg程度まで上げ栓塞物の除去を行った。吸引ポンプと採卵針の間に卵胞液回収用50ml遠心管を接続し、これを38℃で保温した。凝固血液による栓塞防止のため、吸引前及び吸引中も適宜採卵針を抜いて、灌流液（4%非働化子牛血清（GIBCO）+10IU/mlヘパリン（Hoechst）添加修正ダルベッコのPBS（GIBCO））で採卵針内、接続チューブ内及び卵胞液回収用遠心管内を灌流した。採卵針、接続チューブ及び卵胞液回収用遠心管は供試牛毎に使用した。

3. 採取卵子の処理

卵胞回収液は供試牛ごとにフィルター（セルコレクター、ニプロ医工）で血液を除去し4%非働化子牛血清+10IU/mlヘパリン添加修正ダルベッコのPBSで洗浄後、フィルターのシャーレ部を鏡検し、全ての卵子を20%非働化子牛血清+0.4%血清アルブミン（SIGMA）添加修正ダルベッコのPBS（以下m-PBS）に回収した。卵子は卵丘細胞の付着状態等によって以下の6段階⁶⁾の卵子グレードに分類した。

G1：透明帯の周囲を卵丘細胞が4層以上取り囲んでいる

G2：透明帯の周囲に卵丘細胞が1～3層（放線冠細胞も含む）付着している

G3：卵丘細胞が透明帯の周りに部分的（1/3以下）に付着している

G4：完全に裸化されている

G5：卵丘細胞が膨化している

G6：卵丘細胞の付着状態に拘わらず卵細胞質が変性している

以上の卵子グレイドの分類より、G1～G4の採取卵子を正常卵子とした。

4. 卵子の成熟

卵子の成熟は0.02AU/mlFSH(アントリン、デンカ)と1 μ g/mlEstradiol-17 β (SIGMA)および0.2mMピルビン酸(SIGMA)を加えた5%非働化牛胎児血清(GIBCO)添加TCM-199(GIBCO)で3回洗浄し、ミネラルオイルでカバーした同培養液100 μ lドロップに15～20個の卵子を移し、CO₂インキュベーター(38.9 $^{\circ}$ C、5%CO₂、in air、湿潤)で20～22時間培養して卵子の成熟を促した。

5. 媒精及び前培養

37 $^{\circ}$ C温湯で凍結融解した黒毛和種精液をIVF100(機能性ペプチド研)で2回遠心洗浄後(2,000rpm、6min、38 $^{\circ}$ C)、精子濃度1 \times 10⁷/mlに調整した。50 μ lの精子浮遊液ドロップを作り、ミネラルオイルでカバーし、CO₂インキュベーター内でガス平衡した。一方、成熟を促した卵子をIVF100で洗浄後、先に準備した精子浮遊液ドロップに入れ最終精子濃度5 \times 10⁶/mlとし、CO₂インキュベーター内で6時間媒精した。媒精終了後、胚を0.2Mピルビン酸を加えた5%非働化牛胎児血清添加TCM-199に移し3回洗浄後、同培養液で前培養を24時間行った(38.9 $^{\circ}$ C、5%CO₂、in air、湿潤)。

6. 胚の培養

前培養終了後、5%非働化牛胎児血清添加mSOF[®](以下mSOF)に移し、ピペティングにより卵丘細胞の除去を行い、3回洗浄後、1胚当たり5 μ lのmSOFのドロップに移し、マルチインキュベーターで培養を行った(38.9 $^{\circ}$ C、90%N₂、5%CO₂、5%O₂、湿潤)。

7. CdMの作製(多数胚培養)

交雑種の3頭へOPUを実施し採取した卵子を用いて、前述と同様の方法により、成熟、媒精、前培養を行い、媒精後24時間経過時に2細胞以上の胚を用いて、ミネラルオイルでカバーした多数胚の(62～80胚/310～400 μ l)発生培養ドロップで培養(38.9 $^{\circ}$ C、90%N₂、5%CO₂、5%O₂、湿潤)を行い、この培養液をCdMとした。

8. 少数胚培養

1頭の供卵牛からG1～G4の卵子が、10個以下しか採取されなかった供試牛の卵子を用いて、少数胚培養をした。少数胚の発生培養ドロップは、IVF後2日目より6日目まで毎日、少数胚の発生培養液ドロップ(5 μ l/胚)の半量(2.5 μ l/胚)を抜き取り、培養日数が同じCdMを同量加え交換し、抜き取った培養液は多数胚の発生培養ドロップに入れた。

8. 性判別

胚盤胞期まで発育した胚を1ドロップ50 μ lのバイオプシー液(0.1Mショ糖添加mPBS)に入れ、マイクロマニピュレーターに装着した金属刀(FEATHER)で、栄養膜細胞の10～20%または胚変性細胞を切断・分離し、採取したものを検査用

サンプルとした。また雌雄判別は、LAMP法（栄研化学）を用いて実施した。

9. 胚の移植方法

胚の移植は、受胚牛を柵場に保定し直腸内の糞を排出し、仙骨と第1尾椎間の麻酔部位を毛刈りした後を水洗後、アルコール綿花で消毒して3mlの2%塩酸リドカイン（2%キシロカイン注、藤沢薬品）で尾椎硬膜外麻酔を行った。尾を保定し外陰部を水洗、アルコール綿花で消毒した後、消毒した腔鏡を挿入して腔部を開口し、移植器（カスー式牛移植器、CASSOU社製、フランス）を腔壁に触れないようにして外子宮口に挿入して腔鏡を除去した。移植は頸管経由法により非外科的に黄体が確認された卵巢と同側の子宮角の基部から中央部の部位に胚を移植した。

10. 妊娠診断

妊娠診断は胚移植後35日目前後に、直腸壁から超音波診断装置（日立メディコ社製ECHOPAL II ; EUB405B、リニア探触子T型7.5MHz ; EUP-033J）を用いて調査した。

11. 調査項目

- 1) 採取卵子数、卵子グレード
- 2) 媒精日を0日として2日目に卵割率、7～9日目に胚盤胞率を調べた。
- 3) 受胎性、分娩状況

結果及び考察

1. 少数胚培養を実施した供卵牛のOPU成績

OPUによる優良雌牛の胚生産の際に、採取卵子が10個以下であったため、少数胚培養を実施した供卵牛7頭（黒毛和種6頭、ホルスタイン種1頭：延8頭）のOPU成績は、供卵牛1頭から採取した卵子数は3～22個、正常卵子数は2～10個、正常卵子割合40.1～100%であった。しかし、ホルスタイン種1頭（OPU2回実施）の1回のOPUで採取した卵子数は22個、17個で採取卵子数は多かったが、正常卵子割合が40.1%、41.2%と黒毛和種6頭の平均正常割合79.2%と比較して低い傾向にあり、正常卵子数は9個、7個と少ないことから少数胚培養を実施した（表1）。

表1 少数胚培養を実施した供卵牛のOPU成績

品 種	牛 名	採取卵子グレード						計	正 常 卵子数	正 常 割合(%)	G1+G2 割合(%)	G3+G4 割合(%)	G5+G6 割合(%)
		G1	G2	G3	G4	G5	G6						
黒毛和種	A		7	2				9	9	100	77.8	22.2	0.0
	B	2	4		1		2	9	7	77.8	66.7	11.1	22.2
	C	1	5	3	1		5	15	10	66.7	40.0	26.7	33.3
	D	1	1				1	3	2	66.7	66.7	0.0	33.3
	E	1	3	2			1	7	6	85.7	57.1	28.6	14.3
	F	1		1	2			4	4	100	25.0	75.0	0.0
ホルスタイン種	G	2	3	4		6	7	22	9	40.1	22.7	18.2	59.1
	G	1	2	2	2	7	3	17	7	41.2	17.6	23.5	58.8
計		9	25	14	6	13	19	86	54	62.8	39.5	23.3	37.2

2. CdM作製の為に実施した交雑種3頭のOPU成績

既報¹⁾で、少数胚培養においてCdMの活用により胚盤胞発生率の改善効果を報告したが、CdMの作製には食肉処理場に出向き、CdM作製のために食肉処理場由来卵子の確保が必要である。またBSEの影響で食肉処理場由来の卵巣持ち出しが従来と比べて時間等の制約があり、卵子の成熟を少数胚培養を実施する卵子と揃えるのが困難であることから、食肉処理場へ出向かなくCdM作製が可能であるかを確かめる目的で、交雑牛3頭に5回のOPUを実施し（延15頭）、採取した卵子をCdM作製に用いた。

CdM作製の目的で実施した交雑種3頭のOPU成績は、交雑種3頭で5回のOPUを実施し、1回のOPUで採取した3頭の卵子総数は74~102個で推移し、1頭当たりの採取卵子数は15個~52個（平均28.3個）の卵子を採取した。特にF10号牛は、1回のOPUで最高52個の卵子が採取され、5回のOPUで計204個（平均40.3個）の卵子を採取し、他の牛2頭の約2倍の卵子が採取された（表2）。

また、1回のOPUで採取した卵子の正常卵子は62~80個で推移し、採取卵子の75.6~90.5%が正常卵子であり、この正常卵子をCdM作製用に用いた（表3）。

表2 CdM作製の目的に実施した交雑種(3頭)のOPUによる採取卵子数の推移

牛名	O P U 回数					計	1回当たりの 平均採取卵子数
	1回目	2回目	3回目	4回目	5回目		
F2	22	21	27	16	19	105	21.0
F9	28	15	19	31	22	115	23.0
F10	52	38	36	42	36	204	40.8
合計	102	74	82	89	77	424	28.3

表3 CdM作製の目的に実施した交雑種(3頭)のOPUによる卵子グレードの推移

卵子グレード	O P U 回数					計	1回当たりの 各卵子グレード の平均卵子数
	1回目	2回目	3回目	4回目	5回目		
G1+G2	61	44	22	46	43	216	43.2
G3+G4	19	23	40	29	23	134	26.8
G5+G6	22	7	20	14	11	74	14.8
G1~G4*	80(78.4%)	67(90.5%)	62(75.6%)	75(82.3%)	66(85.7%)	350	70.0

*) G1+G2+G3+G4の卵数 : ((G1~G4/採取卵子数) × 100)

3. 少数胚培養のIVF成績

OPUを実施した供卵牛のうち採取卵子数が少なく、少数胚培養を実施した7頭（延8頭）のIVF成績を表4に示した。1つの少数胚発生培養ドロップ（5μl/胚）には供試胚を2~10胚にして、交雑種3頭から採取した卵子より作製したCdMを、IVF後2日目より培養液の半量交換を行い胚発生の培養を実施した結果、卵割率は71.4~100%、胚盤胞発生率は42.9~66.7%であった。この結果は、食肉処理場由来の卵巣で作製したCdMを用い、培養液の半量交換を行い少数胚培養（1

0個未満) を実施した成績¹⁾ (胚盤胞発生率: 59.6%) と同程度の高い胚盤胞発生率を示した。

表4 少数胚培養のIVF成績

品 種	牛 名	供試卵数	卵割数 (率)	胚盤胞数 (率)	性判別♀ 胚 数	胚盤胞数/多数胚 ドロップ胚数(率)
黒毛和種	A	9	9(100)	6(66.7)	—	43/69(62.3)
	B	7	5(71.4)	4(57.1)	—	
	C	10	8(80.0)	6(60.0)	—	33/61(54.1)
	D	2	2(100)	1(50.0)	—	
	E	6	5(83.3)	4(66.7)	—	38/58(65.5)
	F	4	3(75.0)	2(50.0)	—	
	計	38	32(84.2)	23(60.5)		114/188(60.6)
ホルスタイン種	G	9	8(88.9)	5(55.6)	2	36/64(56.3)
	G	7	6(85.7)	3(42.9)	1	34/60(56.7)
	計	16	14(87.5)	8(50.0)	3	70/124(56.5)
合計	54	46(85.2)	31(57.4)		184/312(59.0)	

4. 移植成績

供卵牛から採取した卵子のうち少数胚培養により生産された胚について、黒毛和種の胚を2頭の黒毛和種経産牛に、1胚または2胚を新鮮胚移植した結果、2胚移植を行った1頭が受胎した。性判別を行い雌と判定したホルスタイン種の胚を、3頭のホルスタイン種経産牛に1胚ずつ胚を移植した結果、2頭が受胎し、合計5頭に移植を行い3頭が受胎(受胎率60%)した(表5)。

表5 移植成績

品 種	移植頭数	受胎頭数	受胎率 (%)	備 考
黒毛和種	2	1	50.0	新鮮1胚(不受胎) 新鮮2胚(受胎)
ホルスタイン種	3	2	66.7	性判別♀新鮮1胚
計	5	3	60.0	

5. 分娩状況

受胎を確認した3頭の受胎牛の分娩状況を表6、写真1-3に示した。3頭ともに正常に分娩し、No1は2004年1月20日に雄産子を分娩、生時体重30.4kg、在児日数278日(写真1)。No2は2004年2月27日に雌産子を分娩。生時体重50.0kg、在児日数275日(写真2)。No3は2004年3月19日に雌分娩、生時体重49.0kg、在児日数276日であった(写真3)。

表6 分娩状況

No	分娩年月日	性別	生時体重	在胎日数	備 考
1	2004.1.20	♂	30.4kg	278	黒毛和種
2	2004.2.27	♀	50.0kg	275	ホルスタイン種
3	2004.3.19	♀	49.0kg	276	ホルスタイン種



写真1 No1産子



写真2 No2産子



写真3 No3産子

以上の結果から、OPUの実施によって採取卵子数の少ない、また卵子数はある程度採取したが正常卵子数の少ない（10個以下）供卵牛の移植胚の生産には、CdMの活用が有効¹⁾と思われるが、従来のCdM作製法では食肉処理場由来卵子を用いることから、手間や時間等に制約があり、CdM作製が困難な場合がある。

今回、CdMの作製を従来法より簡便にするために、3頭の交雑種にOPUを実施しCdM作製の卵子を確保し、作製したCdMを少数胚培養へ用いることで、食肉処理場由来卵子で作製したCdMと同様に、発生率の高い胚の生産できることが確認できた。更に生産した胚を、黒毛和種の新鮮胚を2頭、ホルスタイン種の性判別雌新鮮胚を3頭それぞれに1胚または2胚移植を実施した結果、計5頭のうち3頭が受胎した。その後、3頭の産子（黒毛和種：雄1頭、ホルスタイン種：雌2頭）が正常に分娩されたことから、今後この技術を、当场または県下の農家で飼養されている優良遺伝子を保有する雌牛へ用いて胚の生産を行い、県下の多くの農家で移植することで、現在より効率的に優良牛の生産が可能であると思われる。

今後更に、CdMの活用を簡便にするために、CdMの交換回数・時期の解明、保存方法、または組成の解明について行っていきたい。

引用文献

- 1) 梅木英伸・藤田達男・志賀一穂
大分畜試報告, 32: 63-71, 2003
- 2) Callesen, H., et al.
Theriogenology, 27: 217(Abst), 1987
- 3) Pieterse, M. C., et al.
Theriogenology, 30: 751-762, 1988
- 4) Meintjes, M., et al.
Theriogenology, 39: 226(Abst), 1993
- 5) Looney, C. R., et al.
Theriogenology, 41: 67-72, 1995
- 6) 坂口真一・井口光国・小林直彦ほか
日本胚移植学雑誌, 17: 94-100, 1995

7) Lindner GM, Wright RW Jr.
 Theriogenology, 20 : 407-416, 1983

8) Takahashi, S., et al.
 Theriogenology, 37 : 963-978, 1992

20. 耕畜連携による飼料用イネ増産のための取り組み

東国東地方振興局農業振興普及センター

技師 宮木 隆裕

【はじめに】

現在、全国的に自給飼料の増産を推進しており、その中でも飼料用イネは耕種部門における土地利用率向上及び畜産部門における自給飼料の増産等、耕畜ともにメリットが大きいことから本県においても作付け面積は年々増加している。

東国東郡では平成13年度から利用が始まり、平成16年度では県内トップの約58haの作付けとなっている。その中でも、国東町は耕畜連携活動が深まり、県内初の飼料用イネ収穫専用機の導入及び市町村単位でトップとなる約26haの作付けが実現している。

このような状況のもと、当普及センターでは耕畜連携に関する協議や収穫作業体系の確立などに対して支援を行っており、これからの自給飼料増産のために東国東郡で飼料用イネが普及している背景と今後の課題について報告する。

【管内の肉用牛飼養状況】

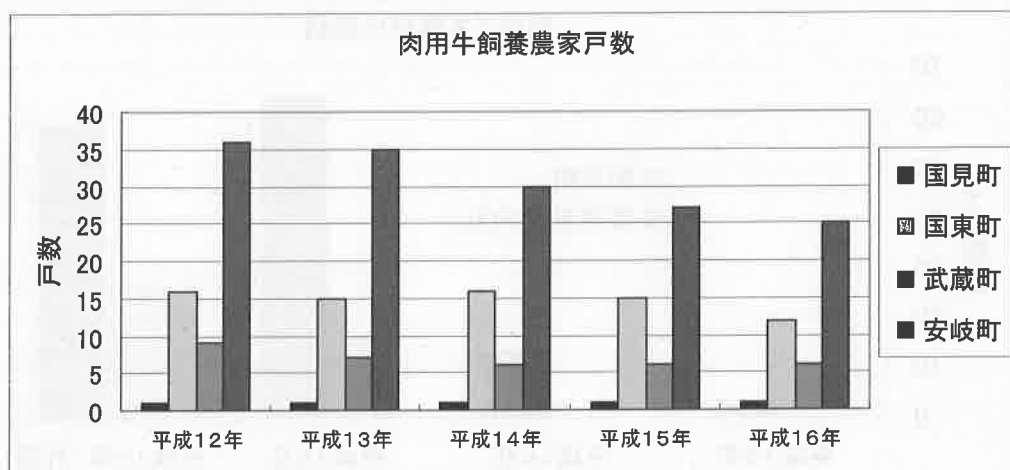


図1：東国東郡内の肉用牛飼養農家戸数

管内の肉用牛飼養農家戸数は図1のように、全体的に減少傾向にある。

【1戸あたり飼養頭数】

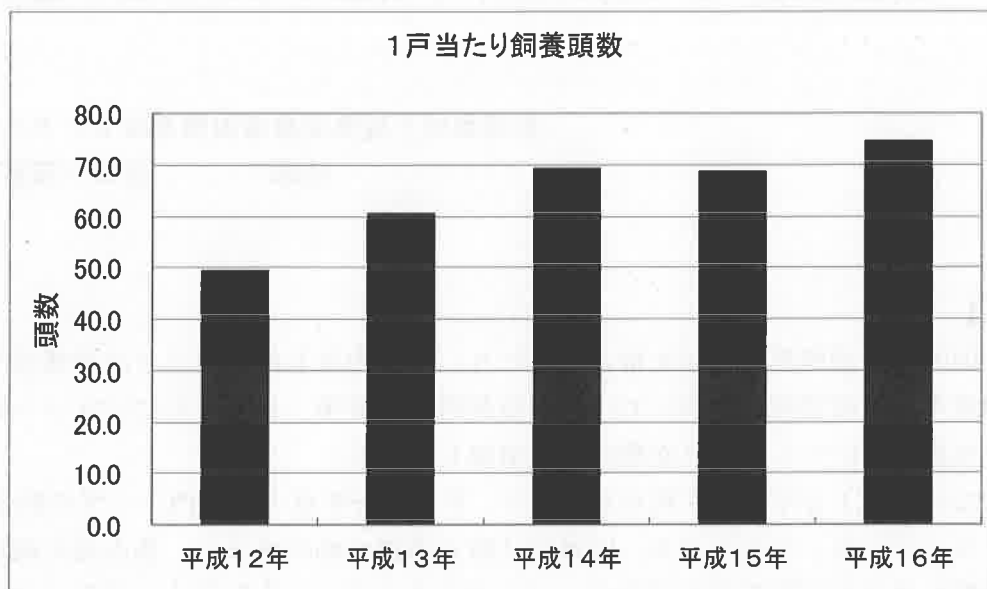


図2：1戸あたり飼養頭数

次に、一戸あたりの飼養頭数は図2のように年々増加しており、多頭化が進んでいる。そのため、自給飼料の生産が困難になっているのが現状である。

【飼料イネ作付け面積の推移】

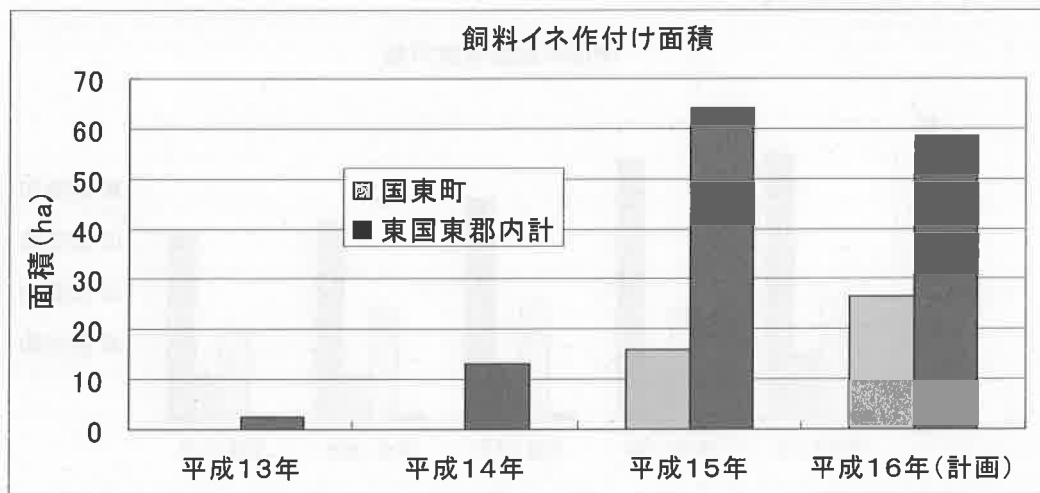


図3：東国東郡の飼料イネ作付け面積の推移

このような、状況の中、湿田でも作付けができ、転作作物としても有効な飼料用イネが注目され始め、管内では平成13年から取り組み始めた。平成15年には、安岐町で集落営農の転作として作付け面積が拡大し、県内トップの約58haを達成した。国東町では平成15年から作付けが始まり、16年では耕畜連携活動が推進された結果、市町村単位でトップとなる約26haの作付けが行われた。

【国東町の事例】

ここで、平成16年に面積が拡大した国東町の事例を紹介する。図3のとおり平成15年から取り組み始め、作付けは稲作農家が行い、収穫は安岐町のコントラクターが行った。しかし、安岐町と国東町では場所が離れているため、刈り遅れによるサイレージ品質の悪化や麦播種が遅れるなどの問題が発生した。

そこで、国東町独自で飼料イネの収穫を実施するために、稲作農家の代表で組織する国東町農地利用組合長協議会、畜産農家で組織する国東町和牛生産組合、関係機関が集まり平成15年7月から協議を行った。

協議内容は、収穫をどのように実施するかが中心となった。その結果、狭い田でも入れることができ、田がある程度柔らかくても収穫できること、さらに、国庫補助事業を活用できることから飼料用イネ収穫専用機の導入が決定した。機械の選定にあたっては刈り取り部分がコンバイン型とフレール型があったが、収穫実演研修会などに参加して検討した結果、汎用性の高いフレール型が選ばれた。

【国東町の耕畜連携体系について】

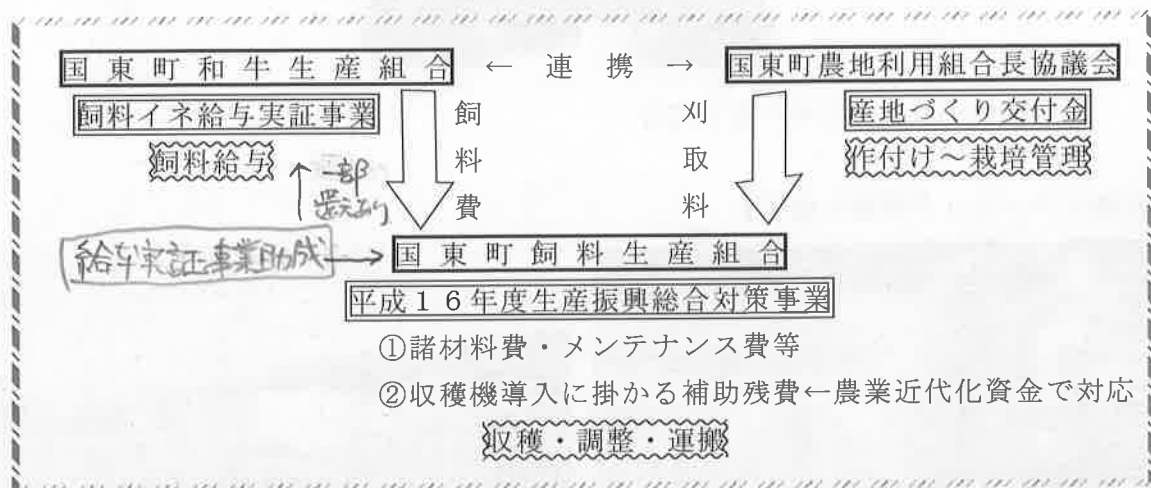


図4：国東町の耕畜連携体系図(太枠：組織名 二重線：実施事業名 波線：作業内容
 国東町農地利用組合長協議会は飼料イネの作付けから収穫までの栽培管理を行い、それに対して産地づくり交付金を受け取り、そこから刈り取り料金を支払う。国東町和牛生産組合は飼料生産組合にオペレーターを出し、飼料イネ給与に対する実証事業から助成金を受け取り、そこから飼料費を支払う。国東町飼料生産組合はこれらの収入を、諸材料費・メンテナンス費等に充て、収穫から運搬までの作業を行った。

【収穫機について】

今回、導入した収穫機の刈り取り部分は図5の様になっており、刃が回転して収穫するため、刈り取ってほ場に落ちた牧草も拾い上げて収穫できる。そのため飼料イネだけでなく、予乾作業が必要な牧草もロールにできる。

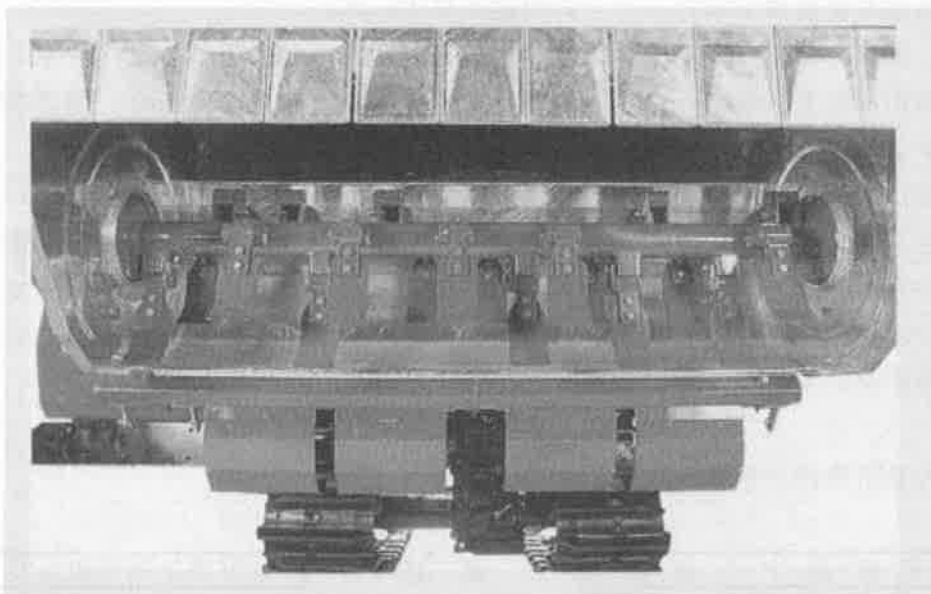


図5：収穫機の刈り取り部分

【収穫・ラッピング作業の様子】



図6：収穫

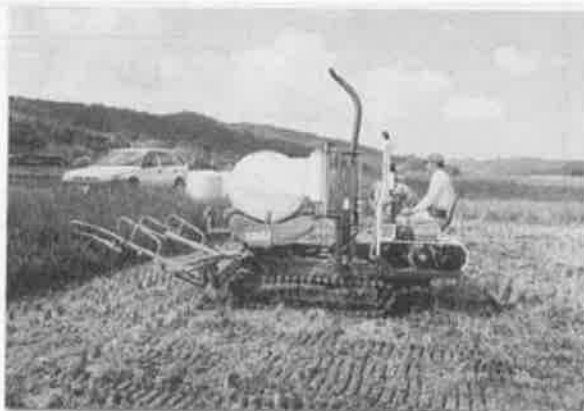


図7：ラッピング

図6・7は平成16年の作業の様子である。収穫機で刈り取りからロールまでを行い、ほ場に落とした後、ラッピングマシンで拾ってラッピングし、畦まで運び、ローングラブでトラックに積み込み運搬した。

【収量調査結果】

場 所	生草収量(kg)	水分率(%)	乾物収量(kg)	備 考
来浦地区	3,700	55.7	1,646	
見地地区	2,800	58.0	1,176	湛水直播栽培
治郎丸地区	2,720	48.8	1,377	
合 計	3,073	54.1	1,340	

図 8 : 収量調査結果

国東町の3地区で収量調査を行った。結果は、平均生草収量 10a あたり 3,073kg、平均水分率 54.1%、平均乾物収量 1,340kg だった。普通種としてはまずまずの収量であった。

【飼料用イネ増産により期待される効果】

国東町では耕畜連携により飼料コントラクターが誕生し、飼料イネの増産に取り組んでいるが、その効果としては次のことが考えられる。

- ① 耕畜連携によって、年間を通じた粗飼料の確保が可能となる。
- ② 稲作農家との新たな繋がりが出来ることにより堆肥の還元面積が拡大できる。
- ③ 自給飼料生産により飼料費の低減が期待できる。
- ④ 耕作放棄田の解消。
- ⑤ 余剰粗飼料の流通化を行えば、飼料自給率の向上に繋がる。
- ⑥ 高齢飼養農家においては粗飼料生産が外部化することにより、飼養頭数の減少を止めることが期待できる。

現在、国東町では肉用牛の新規就農者が規模拡大を図っているため、③は経営の早期算定のためにも重要である。また、隣の国見町でも16年から新規就農者が耕畜連携により飼料イネの収穫・利用を行っており、今後も拡大が期待される。

21. 飼料用トウモロコシの生態的雑草防除試験 (飼料カブの雑草防除効果について)

畜産試験場

○吉田穰治 安高康幸 吉川淳二

[はじめに]

飼料用トウモロコシ（以下トウモロコシと略称）の雑草防除には除草剤が広く普及しているが最近の環境保全型農業への関心の高まりの中で無～減農薬栽培が求められている。このような実情をふまえ当該作物畑に飼料カブ（以下カブと略称）を導入し、その生育特性を活用した雑草防除法を検討した。

背景	目的
安全、安心な食品の要求	⇒ 飼料作物の減農薬栽培
低コスト栽培	⇒ 農薬、散布機器の削減
省力栽培	⇒ 播種作業工程の簡略化
栽培方法の普及性	⇒ ロウテクニク
農薬散布効果と降雨	⇒ 天候に左右されにくい作業
土壌流亡の抑制	⇒ リビングマルチ機能

尚、本栽培法は左に示すように除草効果だけでなくカブ播種量が少量であることから来る低コスト化やトウモロコシ播種後速やかにカブが裸地を被覆し土壌流亡を抑制すること等も期待したものである。

次に、カブを何時どのように播きそれがどのように雑草を抑圧すると想定したのかについて雑草抑圧の材料及びプロセスで示した。

雑草抑圧の材料及びプロセス

1. 飼料用カブを飼料用トウモロコシ播種にあわせ播種。
2. 飼料カブは播種後速やかに発芽、旺盛に葉を広げて雑草を抑圧。
3. 一方で飼料用トウモロコシは旺盛に草高を伸ばす。
4. 飼料カブは一定時期経過後衰退。
5. その後飼料用トウモロコシは雑草に害されることなく生育。

カブは県内では初秋に播種され2～3回の間引きをすれば大きな葉を広げ根部と共に主に搾乳牛用に給与されてきた冬期の飼料作物である。

筆者らはかねて当畜試三重試験地でカブをトウモロコシの条間に播種しその生育特性を見たところこれが葉部を中心に旺盛に生育し下草となった雑草を抑圧しその後自らはトウモロコシの下で衰退したことを見

届けている。

そこでこの生育特性を活かした雑草防除効果の場所的、時期的範囲やカブの播種量の効果について2002年～2003年の2年間検討した。

[試験方法]

試験地は三重と久住の2試験地。、播種時期は1年目は4月中旬から第2期作になる7月下旬までの4時期、2年目は4月中旬と6月上旬の2時期とした。また、カブの播種量

については 100g/10a,150g/10a (以下 100g 区、150g 区と略称) の 2 水準で農薬散布区と比較した。尚、カブの品種は下総カブでトウモロコシの播種後に全面散布し鎮圧した。

1. 試験地			
三重 (標高 160m)			
久住 (標高 690m)			
2. とうもろこしの播種時期および品種			
播種時期	1年目	2年目	
4月中旬	ゆめそだち	ゆめそだち	
5月中旬	ゆめそだち	—	
6月上旬	—	ゆめそだち	
7月下旬	KD772	—	
3. 試験区分			
農薬区	ゲザノンフロアブル 播種後散布		
カブ播種区	100g/10a 区 (以下 100g 区と略称)		
	150g/10a 区 (以下 150g 区と略称)		
4. カブ播種法及び供試品種			
とうもろこし播種、覆土後によりんを增量剤として混合し散播。その後土壌の全面鎮圧			
供試品種: 下総カブ			

〔結果と考察〕

2年間の試験結果は処理により様々であった。そこで先ず当初想定した結果が得られた三重試験地2年目の4月中旬播、100g 区の結果について見ていきたい。

植物種間の競合の際、その優劣を見る目安としてその種の横への拡がり具合と高さの比較がある。前者の尺度が被度で後者が草高である。図1は同処理区のトウモロコシ、カブおよび主要雑草の生育

の推移を被度で見たものである。4月16日に播種したがその後19,20日には数ミリずつの降雨、その後は晴天に恵まれた事もあってトウモロコシ、カブ、そして雑草類は順調に発芽した。カブは播種して3週間後には被度25%に達し、5月下旬にはほぼ100%になった。5月の半ば以降例年どおり25℃を超す日が見られたがカブは混み合いの中で一時的にしおれが見られたものの、6月末までトウモロコシの条間でスタンドを維持した。

その後葉が腐り急激に被度が低下した。

その後葉が腐り急激に被度が低下した。トウモロコシはカブの衰退に取って代わり被度100%に達した。なお、メシバやイヌビエなどの雑草類は初期の生育がカブに劣りその葉陰で満足な生育をすることが出来ずカブが衰退した後も勢いを取り戻す個体は希であった。

左下の写真1は播種4週間後の生育状況で

ある。



写真1 播種4週間後の生育状況 (三重、4月16日播、100g区)

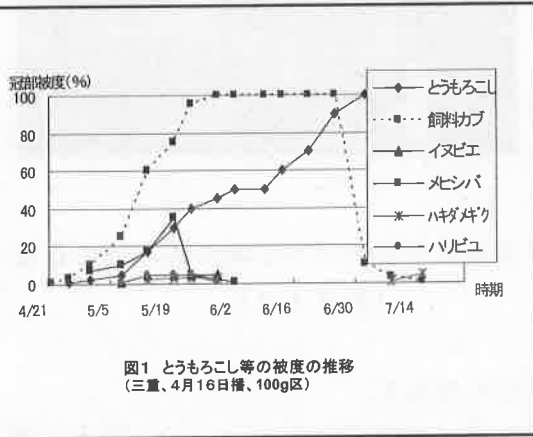


写真2 カブとイヌビエの比較 (三重、4月16日播、100g区)



写真3 トウモロコシ生等の生育
(播種後2ヶ月)

また、写真2は同日のカブとイヌビエの生育を比較したものでカブの初期生育の旺盛さがはっきり見て取れる。

写真3は同処理区の播種2ヶ月後の状況でトウモロコシの条間をカブの葉が覆い雑草を抑えていることが伺える。

写真4は更に一月後の7月16日の状況でカブの殆どが消失し雑草の姿もまばらである。

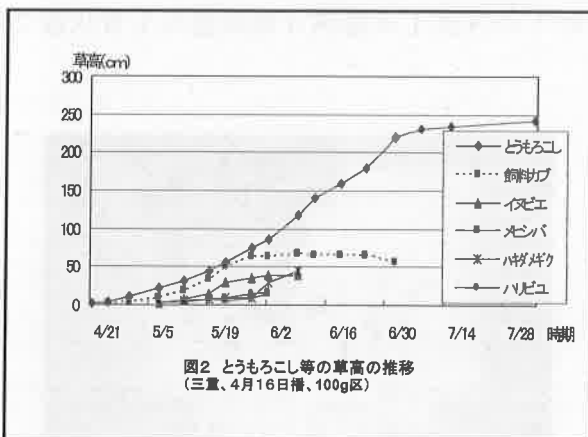


写真4 カブの生育衰退状況
(7月16日)



写真5 トウモロコシ刈り取り前の草姿
(8月4日)

写真5は刈り取り時の状況で雑草抑圧効果が見て取れる。



次に同処理区のトウモロコシ等の生育の推移を草高で見ると図2のとおりである。

カブは被度が100%に達した5月末ごろから上方への生育が停滞し、その後このままの状態で一ヶ月後には急速に衰えた。カブ同士の混み合いと梅雨時期の高温多湿、更にはトウモロコシの葉陰で生存競争に破れたことを示している。

一方、トウモロコシは写真でも示すとおり発芽当初からカブよりも草高が高く、換言すれば常に優位な受光条件におかれていたことがわかる。このような条件下で刈り取りまで一定の生育を示した。

なお、同試験地の150g区についても被度、草高共にほぼ同様な推移を示した。

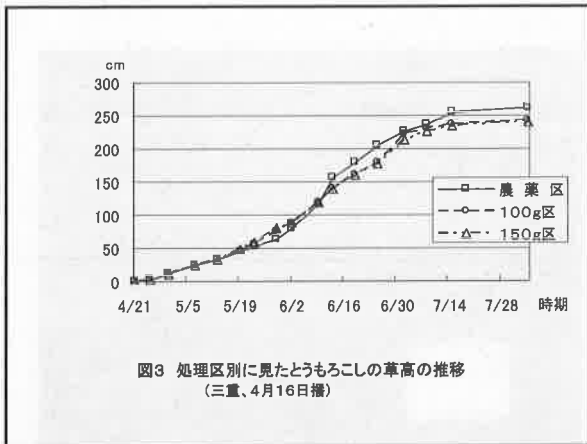


図3は100g区、150g区のトウモロコシの生育経過を農薬区のそれと草高で比較したものである。生育時期の前半はカブ播種の2区が農薬区よりも幾分高かったが、これはカブとの混み合いの中でやや徒長気味になったためと思われる。その後生育の中期には農薬区が逆転し刈り取り時まで追いつくことは出来なかった。表1はトウモロコシ刈り取り収穫時の生育性状を比較したものであるが、稈長で見てもその差が明らかである。

表1 とうもろこしの収穫時の生育性状
(三重、4月16日播)

処理区	稈径(mm)	稈長(cm)	着雌穂高(cm)
150g区	17.4	209	112
100g区	18.9	212	112
農薬区	23.7	231	114

注：稈径は地際から約15cmの高さで測定

尚、稈径についてみても農薬区のそれに劣る結果であった。生育前半のカブとの競合(混み合い)の影響からカブ衰退後になっても回復出来なかった事を示している。

表2 処理区毎のとうもろこしの乾物収量
(三重、4月16日播)

処理区	とうもろこし			雑草 (kg/10a)
	茎葉重 (kg/10a)	雌穂重 (kg/10a)	計 (kg/10a)	
150g区	629	496	1124	-
100g区	577	505	1082	-
農薬区	709	567	1276	0

表2はトウモロコシの乾物収量を比較したものであるが、農薬区の88%(150g区)、85%(100g区)とやや寂しい結果であった。

前述したように個々の株が農薬区のそれよりもカブ処理の2区で小さくこのことが収量で見劣りする結果になったものと思われる。

この結果については畜産農家だけでなく畜産物の消費者の評価を待ちたい。

尚、収穫時の雑草は写真6に示すように取りあげるほどの量ではなかった。



写真6 トウモロコシ刈り取り跡の雑草

次にカブが満足に生育せず雑草抑圧効果が得られなかった場面について幾つか報告したい。写真7は久住試験地、2003年6月3日播である。ここではカブの播種後ほぼ順調な生育をしていたが6月下旬に入りカブの根が虫に食いちぎられたためその雑草抑圧効果を見



写真7 カブの食害
(久住、2003年6月3日播)



写真8 暑熱、乾燥による枯死
(三重、2002年7月下旬播)

届けることができなかった。

写真8は三重試験地の事例であるが梅雨明け後の7月下旬播では発芽後本葉が出始める時期に暑さですべてのカブが枯死した。標高690mの高原にある久住試験地でも同様の結果であった。

〔まとめ〕

以上のように飼料用トウモロコシ畑における飼料カブはその生育が順調であれば一定の雑草防除効果を発揮することがわかった。ところがカブの生育は気象条件等により左右されるため安定した防除法としては限界があることがわかった。