

平成 18 年 度

大 分 県
家畜保健衛生並びに畜産関係
業 績 発 表 会

集 録

大分県農林水産部家畜衛生飼料室

はじめに

本集録は、平成18年11月22日、大分市において開催された平成18年度大分県家畜保健衛生並びに畜産関係業績発表会の内容を集録したものです。

本発表会は、県下における家畜保健衛生関係、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ました。

今回は、第1部：家畜保健衛生の企画、推進に関すること、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、計22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に存じます。

- 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. 家畜伝染病危機管理体制強化へ向けた取り組み
～電子防疫マップ・TV会議システム等の導入～
大分家畜保健衛生所
病性鑑定部 堀 浩司…… 1
2. 管内における防疫マップデータの整理とその利用法の検討
大分家畜保健衛生所 木本 裕嗣…… 7
3. 家畜衛生出前講座（食の安全・安心に関して）の取り組み
大分家畜保健衛生所 川部 太一…… 12
4. 呼吸器病発生防止に向けた取り組み
豊後大野家畜保健衛生所 首藤 洋三…… 18
5. 酪農現場における牛ウイルス性下痢ウイルス（BVDV）清浄化の取り組み
宇佐家畜保健衛生所 長谷部恵理…… 24
6. 肉用牛の疾病発生状況と重要疾病の分析
玖珠家畜保健衛生所 甲斐 貴憲…… 30
7. ヨーネ病防疫実施実務必携の検討
玖珠家畜保健衛生所 足立 高士…… 35
8. 管内牛肥育農場における生産性向上の取り組みについて
豊後大野家畜保健衛生所 志村 英明…… 41
9. 小規模養鶏場・愛玩鶏飼養者に対する衛生指導
豊後大野家畜保健衛生所 河野 泰三…… 46

【第2部】

10. 哺乳ロボットを活用した黒毛和種飼養農家における衛生管理手法の検討
宇佐家畜保健衛生所 羽田野 昭…… 52
11. 乳用牛で発生した牛RSウイルスが関与した*Mannheimia haemolytica* 感染症
大分家畜保健衛生所 山岡 達也…… 59
12. 管内で発生したヨーネ病の発生例について
玖珠家畜保健衛生所 三村純一郎…… 63
13. ブロイラーに発生した頭部腫脹症候群
大分家畜保健衛生所
病性鑑定部 坂田真友子…… 68
14. カルボ拭き取り検査におけるリアルタイムPCR法を用いた検出法の検討
大分家畜保健衛生所
病性鑑定部 山田 倫史…… 73
15. リアルタイムPCR法を用いた牛RSウイルス遺伝子検出法の検討
大分家畜保健衛生所
病性鑑定部 矢崎 竜…… 77

【第3部】

16. 子牛飼養管理技術の向上と新マニュアルの普及推進
南部振興局 内村 誠…… 83
17. 子牛飼養管理マニュアルを核とした売れる子牛生産にむけて
西部振興局 繁田政豊…… 88
18. おおいた型放牧の取り組みについて
北部振興局 木下達矢…… 95
19. ウシ脂肪交雑原因遺伝子の一つ「EDG1」の県内黒毛和種での分布と
脂肪交雑形成への効果
農林水産研究センター畜産試験場 渡邊直人…… 99
20. 育成期の飼養方法の違いが肥育成績に及ぼす影響
農林水産研究センター畜産試験場 木下正徳…… 103
21. 連続体温測定による乳牛の出産時期予測及び出産開始通報システムの開発
農林水産研究センター畜産試験場 武石秀一…… 108
22. ミルキングパーラー排水の簡易浄化処理施設の検討
農林水産研究センター畜産試験場 吉田周司…… 114

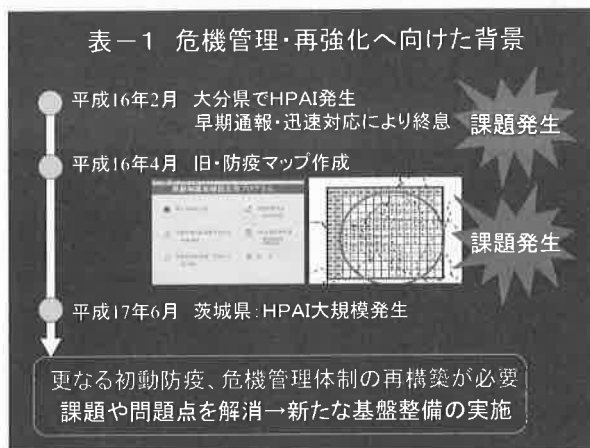
1. 家畜伝染病危機管理体制強化へ向けた取り組み ～電子防疫マップ・TV会議システム等の導入～

大分家畜保健衛生所

○病鑑 堀浩司・病鑑 山田倫史・病鑑 佐藤亘
(病鑑) 川部太一

【はじめに】

平成16年2月に大分県で発生した高病原性鳥インフルエンザ（以下HPAI）は、早期通報・迅速対応により早い段階における終息が出来たが、同年4月に作成した防疫マップを含めいくつかの課題や問題点を残す結果となった。さらに平成17年6月には茨城県の多くの農場でHPAIが発生したことを受け、更なる初動防疫、危機管理体制の再構築が必要であると考え、それらの課題や問題点を解消するため、今回、新たな防疫にかかる基盤整備を実施したので報告する（表-1）。



【課題・問題点】

- 1) 防疫関係では、移動制限に伴う区域設定において、区域内外の境界が不明瞭で区域内頭羽数や大字等での告示設定までが大変煩雑で、防疫員9名でも2日間を要した。また、茨城県でのHPAI多農場発生時の制限区域の設定の多さに難題を感じた（表-2）。
- 2) 現地での病性判断に苦慮する場合、遠隔地との協議・判断が難しく防疫指示が困難であった。また、深夜等に行う防疫対策会議の緊急的な招集や電話回線の混雑による現地と本部の連絡や情報が遅延する事による情報管理が非常に困難であった（表-2）。
- 3) 旧防疫マップについては、操作性や迅速性、農場の位置、制限区域内情報に不都合があり、農場の入力情報も少なかった（表-2）。
- 4) 初動防疫の必要資材の算定に長時間を要した（表-2）。

表-2 課題・問題点1
防疫関係

- 1) 移動制限に伴う区域の設定
 - ① 区域内外の境界が不明瞭(自治区、山、河川等)
 - ② 設定の長時間化(防疫員9名で2日間)
 - ③ 告示設定が煩雑(対象、区域、期間等)
 - ④ 多農場発生時の区域設定
- 2) 発生現場における情報管理が困難
 - ① 現地での病性判断が困難→遠隔地での協議、判断が不可能
 - ② 発生状況の確認が出来ない→防疫指示が不可能
 - ③ 即時の状況判断や緊急会議による職員の招集が困難
 - ④ 電話殺到、回線混雑により連絡体制の遅延
- 3) 旧防疫マップ 操作性、迅速性、農場管理、位置情報に乏しい
- 4) 必要資材の算定 長時間化(発生・区域内農場情報収集遅延)

表-3 課題・問題点2

県民への情報発信

- ・県民の最も知りたい制限範囲の早急な特定や関係農家、住民への早期周知が困難
- ・画像配信等、適切な情報管理やマスコミからの要請に対し体制整備が図られていない

風評被害防止対策

- ・県民へ正しい知識を啓発する風評被害対策が不十分

↓

これら課題や問題点の解消のために・・・

5) 県民・マスコミへの情報発信で、適切な情報や画像等の配信や早期周知等の体制が未整備であることや県民へ正しい知識を啓発する風評被害対策が不十分であった(表-3)。

これら課題や問題点を解消するために、新しい電子防疫マップや初動防疫資材試算システム、TV会議システムの導入により初動防疫迅速対応の強化を整備し、また、県民へのスムーズな情報発信と風評被害対策を実施した(表-4)。

表-4 整備内容と強化について

1. 防疫関係

- 1) 電子防疫マップ
- 2) 初動防疫資材試算システム
- 3) TV会議システム

2. 県民への情報発信と風評被害対策

【防疫関係の基盤整備～電子防疫マップ及びTV会議システム等の導入】

〈電子防疫マップ〉

今回整備した電子防疫マップの画面に見える画像は、一番上の1層目に農場ポイント等がプロット出来るシートがあり、2層目に簡単な白地図(ベクター地図)、3層目に等高線等が入った詳細地図(ラスター地図)、4層及び5層目に航空及び衛星オルソ画像(航空及び衛星写真)を配備しており、写真で確認でき、詳細で正確なマップ構成となっている。多くのオルソ画像を用いているため、縮尺1/50000以下の時に航空・衛星オルソ画像が画面上に出現するように設定しており、パソコン動作環境に問題の無いようにした(図-1)。

電子防疫マップ起動時の全体画面は、図-2のとおりで、中央に地図画像、左右に様々な機能を有するボタン、中央下には抽出された農場等の詳細情報が確認できるようにしている。農場の位置情報は、人工衛星による測位システム(GPS)を利用して県内の各家畜飼養農場の入り口で緯度経度を測定し、併せて農場の詳細情報の聞き取りも実施した。それらのデータは、別途作成した入力用データベースへ入力し、最終的にマップへリンク

図-1 電子防疫マップの画像構成

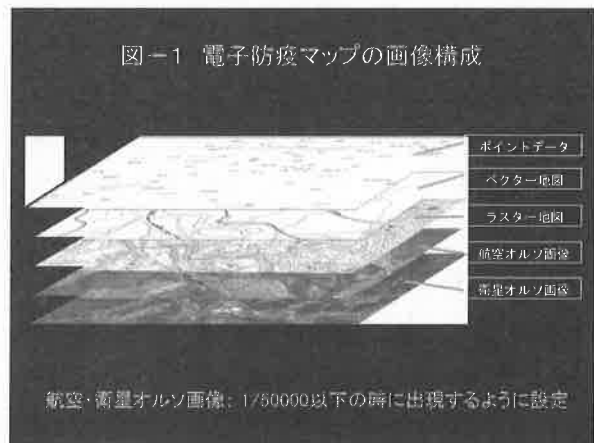


図-2 電子防疫マップ全体画面



図-3 農場の位置情報



させた。今回の防疫マップの利点は、県内のオルソ画像の利用によって、農場全体あるいは大幅な拡大も可能であるため、畜舎の配置確認ができることから、農場ポイント（位置情報）のズレが全く生ずることなく、正確である（図-3）。愛玩鶏飼養者は全戸入力が不可能なため、発生時に愛玩鶏飼養者宅の緯度経度を測定・入力し、即座にマップ上での初動対応ができるようにした。画面上の農場ポイントについては、図-4のように畜種別に表示されるように設定した。さらに消毒ポイントや、焼却施設、官公庁、農協・共済、診療施設、畜産関係施設、動物用医薬品販売所等についても表示できるようにした。凡例でも確認でき、ポイントの意味が分かりやすくなった（図-4）。また、各農場の情報は、農場名や所在地、TEL、FAX、飼養畜種、飼養頭羽数、飼養形態、導入元、出荷先、飼料購入先等と詳細に入力しており、農場毎の帳票や設定した範囲（家保別、市町村別、制限区域別、任意設定）での様々な状況下で農場詳細一覧が即座に帳票・印刷でき、入力データは、CSVデータのため、エクセルでの加工も可能である。更に、農場毎の帳票では、畜舎の配置図や画像も添付される（図-5）。

次に、今回最も重視した制限区域の設定については、発生農場確認後、制限区域の円にかかる農場数や頭羽数、大字の抽出が即座に出来るようにシステムを構築した。設定方法は、まず農場検索後、発生地点を画面（発生農場ポイント）上にプロットし、移動制限区域や搬出制限区域の半径（km）を選択する（kmは任意で何km単位でも選択できる）（図-6）。選択後、発生地点を中心とした制限区域円が即座に出る（図-7）。この時点では、円の中だけの農場や頭羽数のみの抽出が可能である。更に制限区域にかかる字界、いわゆる大字についても抽出できるようにしている（図-8）。検出された字界の帳票（図-9）もでき、大字で告示を設定するのであ



図-4 畜種別ポイント表示



図-5 農場毎及び一覧による詳細表示



図-6 制限区域の設定

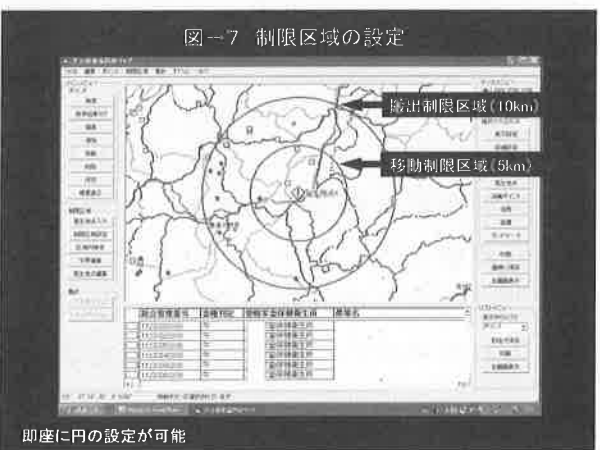
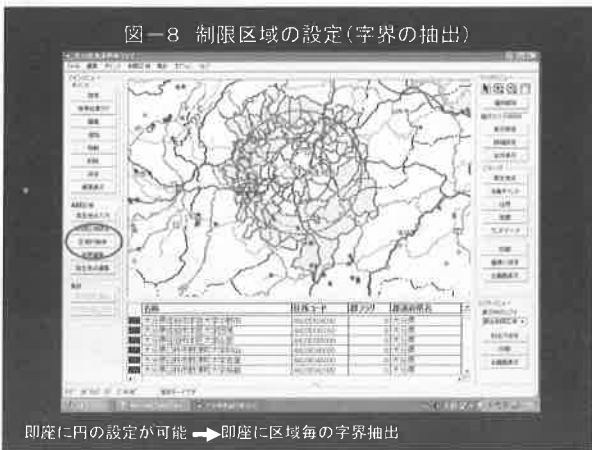


図-7 制限区域の設定

れば即座（3分程度）に対応が可能である。また、大字を抽出した時点では、その大字に含まれる農場数や頭羽数の抽出ができるようにしている。

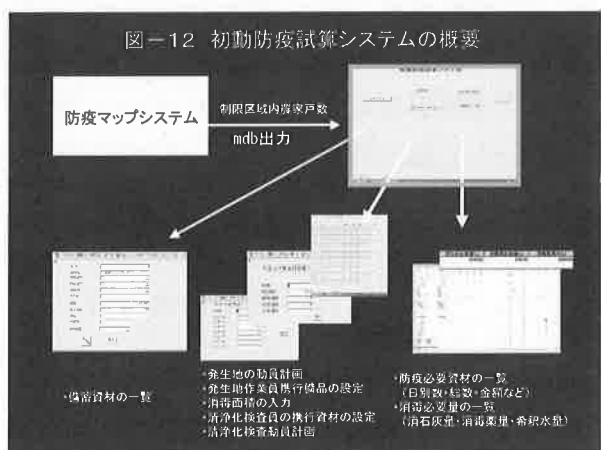


告示設定であるが、鶏や豚は戸数が少ないため、それらの家畜伝染病発生時、大字での迅速な告示対応が可能であるが、牛については戸数が多いので制限区域線上での大字設定が困難であったが、オルソ画像を活用したために山間部や河川、谷等の立体的状況も勘案して、細かい区域の判別も可能となり、正確な告示にも対応できるようになった（図-10）。また、茨城県で多くの農場が発生した時も考慮に入れ、無限に制限区域の設定ができるようにもしており、多くの円を描くことが可能で、それぞれの区域内詳細情報も即座に帳票できるようにしている（図-11）。



〈初動防疫資材試算システム〉

このシステムはアクセスで作成しており、電子防疫マップとリンクさせ、制限区域内の農家戸数が自動的に移行されるようにしている。事前に備蓄資材や単価を入力しており、発生地の動員計画や消毒面積、清浄化検査の動員計画等を入力すると、日数別、総数、金額などの防疫必要資材や消毒必要量等の一覧が出力されるため、発生時のより迅速な初動防疫対応が可能となった（図-12）。



〈TV会議システム〉

図-13は、大分家保に設置しているTV会議システムである。県内に広がる光ファイバー高速通信網（豊の国ハイパーネットワーク）を利用することによって、電話回線混雑時の伝達系の確保ができ、家畜衛生飼料室（県庁）や4つの家保を結び、職員の緊急会議への参加が24時間体制でできるようになった。更に異常家畜や現場の状況画像も家畜衛生飼料室と大分家保・病性鑑定部に送信でき、画像や、資料を見ながら状況分析や討議ができるようになり、スムーズで密な情報交換や初動防疫業務が行える情報伝達系の構築ができあがった（図-14、15）。



図-13 TV会議システム（大分家保内）

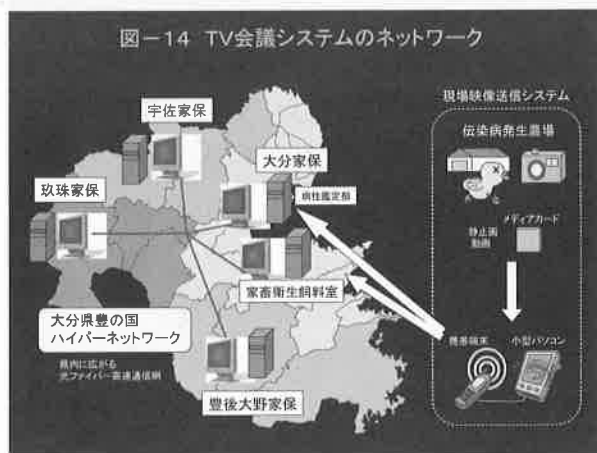


図-14 TV会議システムのネットワーク

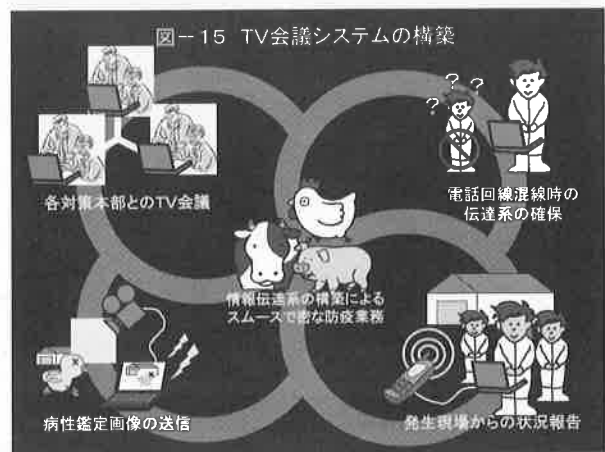


図-15 TV会議システムの構築

【県民への情報発信と風評被害対策】

電子防疫マップのデータが、発生地や制限区域内の詳細な情報を電子化したものであることから、ホームページへの掲載が容易となり、県民に対しての迅速な情報発信が可能となった。さらに、家畜伝染病が発生した際の風評被害を防止するため、県民特に学校関係者へ向けた家畜衛生出前講座制度を設け、普段からHPAIやBSE（牛海綿状脳症）、その他の疾病等、家畜衛生を通じた食の安全、安心を提供し正しい知識を普及できるようにした（図-16）。



図-16 県民への情報発信と風評被害対策

【まとめ及び成果】

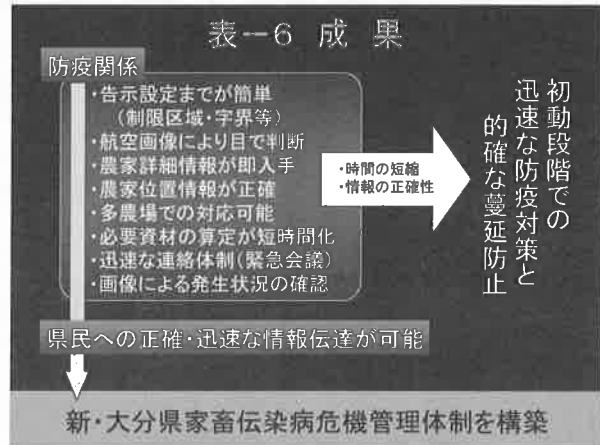
今回、経験から得たそれぞれの課題や問題点を改善するため、電子防疫マップや初動防疫試算システム、TV会議システム、出前講座制度等を整備・実施した（表-5）。これらの取り組みにより、防疫関係では主に制限区域や告示等の設定が非常に早く簡単に把握できるようになったことや、航空画像から農場近隣や制限区域上の様子が目で判断可能と

なったこと、農家詳細情報が即入手できたり位置情報が正確であること、多くの農場での発生に対応していること、必要資材の算定が短時間化されたこと、緊急会議や画像での発生状況確認が迅速になったこと等から初動段階での迅速な防疫対応が可能となった。また、県民に対する正確・迅速な情報伝達が可能となったことから、伝染病発生時の風評被害も緩和され、よりスピーディーな対応がとれる新しい大分県家畜伝染病危機管理体制を構築することができた(表-6)。

表-5 取り組み状況まとめ

課題・問題点	発覚項目			
	防疫MAP	資材試算	TV会議	出前講座
1) 移動範囲に特定区域の設置 (① 宮城内外の発生が不明瞭(市界区、山、河川等) ② 位置の長期間化(防疫員到着まで2日間) ③ 発生施設が噴霧(対象、候補、相隣等) ④ 発生農場発生時の区域設定	●			
2) 発生現場における情報管理の困難 (① 現場での発生判断が困難→速報地での協議、判断が不可能 ② 発生状況の発生が不明瞭→防疫指示が不可能 ③ 発生時の発生場所や緊急会議による職員の出発が困難 ④ 発生状況、発生原因により発生状況の確認	●		●	
3) 防疫マップ 連携性、迅速性、正確性に乏しい	●			
4) 必要資材の算定 長期間化(発生→区域発生施設収容施設)	●	●		
県民への情報発信	●		●	
風評被害防止対策	●			●

表-6 成果



2. 管内における防疫マップデータの整理とその利用法の検討

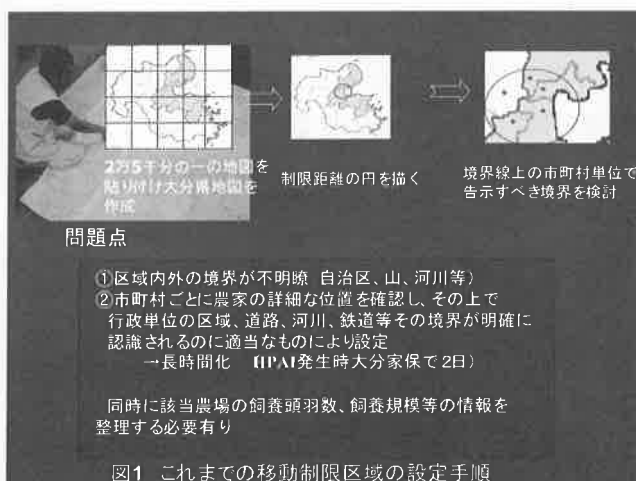
大分家畜保健衛生所
○木本裕嗣 二宮秀生

【はじめに】

口蹄疫、高病原性鳥インフルエンザ（以下HPAI）等その対応に緊急を要する伝染病の発生時に対応するため、防疫マップの整備は重要である。今年度、大分県では防疫マップの整備が事業化され、当家保も管内マップデータを収集、防疫マップの構築作業をした。その構築にかかる経過等を確認するとともに、構築されたシステムの今後の利用法を検討したのでその概要を報告する。

【管内防疫マップの構築の経過】

これまで移動制限区域の設定は、2万5千分の1の地図を、貼り合わせ作成した地図上に制限円を描き記入したものを用いていた（図1）。この際、区域内外の境界が不明瞭な上、市町村ごとに市町村担当と農家の詳細な位置を確認しながら実施する必要があった。従って迅速な対応は難しく、平成16年のHPAI発生時には、告示データを取得するまでに2日を要した。同時に該当農場の飼養頭数等の情報を整理する必要があり、防疫員は防疫にかかるかなりの時間をこの設定に割くものであった。



2004年度の大分県業績発表で、長岡らは緯度経度を利用し、制限円の農場やその飼養状況を容易に知ることの出来るシステムを作成発表し、その後、伊東らがアクセスを利用したプログラムを作成し、防疫円内の畜種別飼養頭数、防疫円内の飼養農家一覧、約1.5km四方に相当する緯度経度1分内の件数・頭数を確認できるようになった。これにより移動制限区域内の飼養状況については、大まかな状況であるが迅速に把握できることとなった。しかしながら依然として図1の①、②については改善されなかった。この経過を経て、今回の防疫マップの構築に至った。

【防疫マップの構築手順】

県段階のシステム構築については、今年1月検討委員会の立ち上げから、9月に収集した県下4家保のデータを集約、10月にシステムへ挿入、11月初旬にシステム機能・動作の最終確認を行った(図2)。ここで、県としては今年度は肉用牛以外のデータを収集・入力している。家保に於いては、現地にて飼養状況、飼料の購入先等を聞き取り、農場全景等を撮影、配置図を書き取り、持ち帰った聞き取りデータとともにマップシステムに挿入した。

聞き取り項目の詳細を図3に示す。農場情報として農場名、住所、電話・FAX番号、農場経営者情報として農場電話・FAX番号、緊急連絡先、農場経営情報として常時飼養頭羽数、最大飼養頭羽数、飼料購入元、飼養形態、畜舎構造を聞き取った。

ここで当家畜保健衛生所管内の主要家畜の飼養戸数及び飼養頭羽数を図4に示す。畜種別で乳用牛・肉用牛・豚・採卵鶏・ブロイラーそれぞれ戸数で30・21・21・40・31%を管轄し、県内18市町村の内9市町村を管轄、行政区は広範囲にわたることから、防疫マップの出来るだけ早い検証が必要であると思われた。そこで、県としては今年度は肉用牛以外のデータを収集・入力しているが、当家保に於いては、肉用牛も含めた防疫マップの構築を行った。

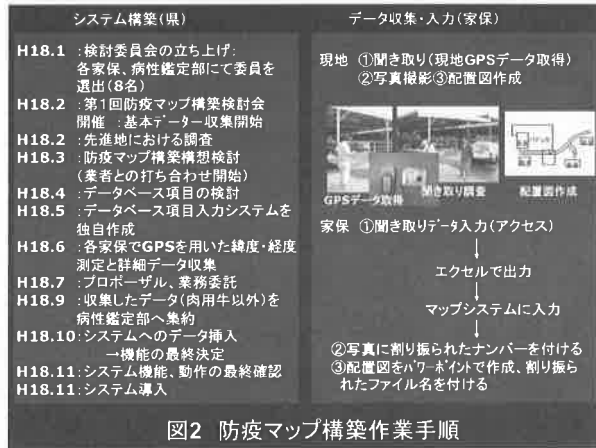


図2 防疫マップ構築作業手順

農場情報

- 農場名
- 住所
- 電話番号
- FAX番号

農場経営者情報

- 農場電話番号
- 農場FAX番号
- 緊急連絡先

農場位置情報

- 緯度・経度(実測値)

農場経営情報

- 常時飼養頭羽数
- 最大飼養頭羽数
- 飼料購入元
- 飼養形態
- 畜舎構造

図3 聞き取り項目の詳細



図4 主要家畜の飼養戸数及び飼養頭羽数

表1 聞き取り調査・農家情報取得調査期間

調査対象	対象戸数(戸)	調査期間	備考
肉用牛	526	6月の2週間	
乳用牛	80	2月~6月	ポジティブリスト説明時
豚	19	2月~9月	通常巡回時
採卵鶏	19	2月~9月	通常巡回時
ブロイラー	14	2月~9月	通常巡回時
種鶏	3	7月	

表2 肉用牛の聞き取り調査巡回所要日数・員数



No	旧市町村名	戸数	日数	平成18年6月		
				家保	市町村担当	JA
1	国東町	12	1	1	1	
2	山香町	72	3	2	2	
3	杵築市	34	1	2	2	
4	日出町	12	1	1	1	
5	由布市	55	1	2	1	
6	臼杵市	15	1	1	1	
7	大分市	15	1	1	1	
8	野津原町	50	1	2	2	
9	庄内町	127	3	2	1	
10	別府市	17	1	1	1	
11	安岐町	28	1	2	1	
12	狭間町	45	1	2	1	
13	武蔵町	5	1	1	1	
14	大田村	27	1	2	2	
15	国見町	1	1	1	1	
16	野津町	8	1	1	1	
17	佐賀間町	1	1	1	1	
合計		526	21	25	21	6

聞き取り調査・現地情報取得調査期間について表1に示す。肉用牛については6月の2週間ではほぼ全戸を巡回し、乳用牛は主に5月に実施したポジティブリスト説明のための巡回時に、養豚、養鶏農家については2月から9月の通常巡回時にデータ収集を実施した。

肉用牛についての聞き取り調査巡回の詳細を表2に示す。旧17市町村を延べ日数で21日、延べ人数は家保25人、市町村担当21人、農協担当6人で実施した。調査実施に先だって市町村農協あて内容説明も行った。

【防疫マップの検証】

構築された防疫マップの制限区域設定処理フローを図5に示す。発生地点入力の時点で農場情報を確認し、移動制限区域を設定すると移動制限円が描写され、区域内検索をすることにより域内の、農場、字界が画像で示される。同時に、制限区域内の飼養者データ、字界リストをCSVファイルとして出力することが出来る。

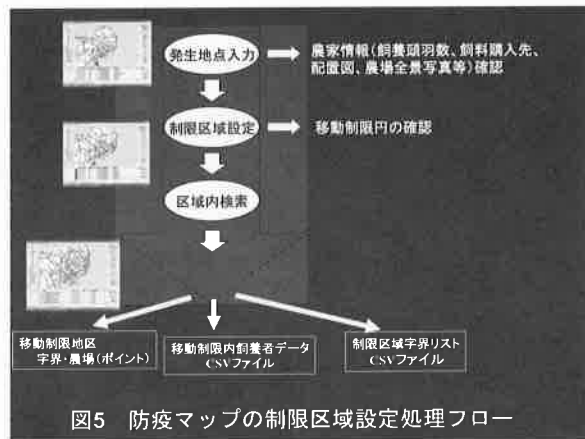


図5 防疫マップの制限区域設定処理フロー

以下実際の出力画面を示しながら、移動制限に係る字界・農場の検索の経過を説明する。

管内N市の肉用牛農家を発生地点とした出力画面を図6に示す。飼養頭数、飼料購入先、畜舎配置図等農家情報も同時に確認できた。地図上で黄色の四角が牛飼養農家を示し、! 地点が設定された発生農家の位置を示す。



図6 出力画面1(発生地点の入力、発生農場情報確認)

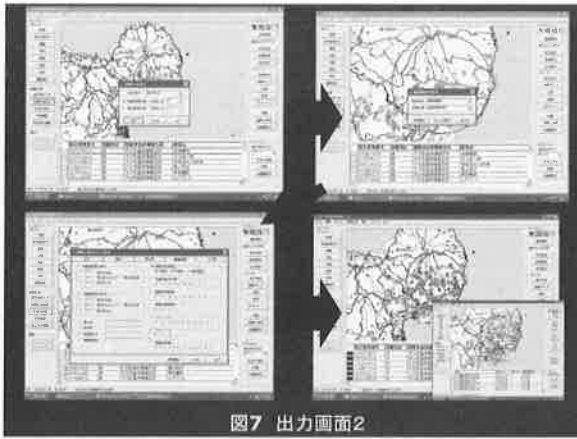


図7 出力画面2

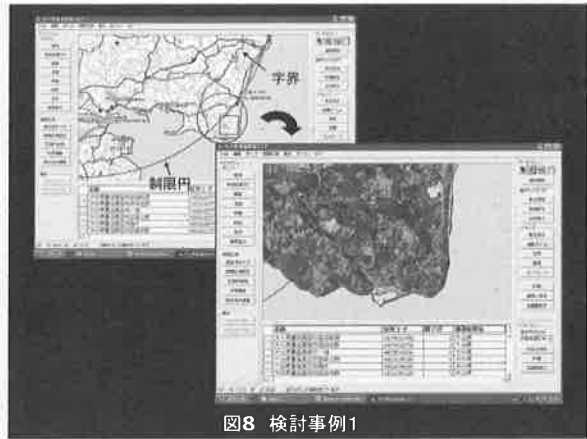


図8 検討事例1

前記農場を発生地点として10kmの制限円を入力、移動制限円内の検索条件を肉用牛、乳用牛とし検索をかけると(図7)、制限円内の農場ポイントは反転し、更に字検索をかけると図7右下図で示すとおり制限円に係る字界が示される。ここから境界線上について字界を基本に地理的条件を勘案しながら該当農場を絞っていった。以下、検討事例を示す。

図8まるで示した部分を拡大したものを図8右下図に示す。四角で囲まれた農場については制限円の外であるが隣接する農場と地理的に隔離されているとはいえ、同じ字で括って移動制限をかけるのが適当であると思われた。

図9上図円内は境界付近に農家が集中している所で、赤く反転している所は一つの字を示す。これを拡大地形図で確認したところ、図9下図のとおり河川で隔離されており、発生疾病の内容によっては除外することが可能であると思われた。

移動制限農場検討結果を図10に示す。上段に該当字界リスト、下段が移動制限の該当農場リストを示す。作業後該当字界は91字から69字に減少したが、該当農場は108戸から117戸に増加した。これは、検索をかけると初め制限円内の農場が抽出されカウントされるが、字界の検討を行った後は制限円内に含まれてはいないものの、該当する字に含まれているため抽出された農場がカウントされる結果であった。これらの作業については、事前に条件の検討を更に実施し確認しておくことが必要であると思われた。



図9 検討事例2



図10 移動制限農場検討結果

マップシステムの防疫以外の活用法として、畜産苦情への対応で対象農家周辺の住宅分布状況、地形を確認しながら指導を勧めることが出来ると思われる(図11)。また、今年度畜産試験場の所有する農家毎の子牛市場データ、育種価情報を家保で検索するシステムが構築されたので、これらデータとともに農家位置、周囲環境、現在及び最大飼養頭数、農場見取り図などのマップデータを組み合わせ衛生指導のみならず、畜産振興用務に活用することが出来るものと思われる。また、毎年実施される頭数調査のデータによってマップデータの更新も実施できるものと思われる。

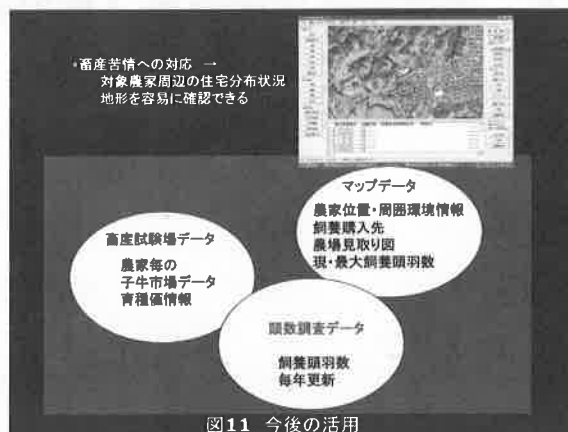


図11 今後の活用

【ま と め】

今回構築された防疫マップにより正確迅速に移動制限範囲の確定が出来、告示の迅速化が図られその結果防疫員が本来の防疫業務に専心できるものと思われた。今回検証はしなかったが、消毒ポイント、更には殺処分後の埋却場所の設置協議に於いても位置関係を確認できるシステムも組み込まれている。今後の活用法として、農場位置・周辺環境情報を活用し、他のデータと併せて衛生指導のみならず畜産振興への活用が出来るものと思われた。

3. 家畜衛生出前講座（食の安全・安心に関して）の取り組み

大分家畜保健衛生所

○川部太一 外岡小百合

河村 正 渋谷清忠

緒言

県民へ正しい知識を啓発する、「家畜衛生出前講座」について、大分家畜保健衛生所でも取り組みを報告。BSEの発生や、高病原性鳥インフルエンザの発生時、県民からの問い合わせ等の殺到、風評被害による畜産物の価格の下落等、本来の防疫業務以外に種々問題が発生。これらの事を軽減し、畜産物の安全・安心を啓発することが本講習会の目的であり、一般県民を対象としている。テーマは、家畜衛生を通じた食の安全・安心でありその内容は、「BSEとは」「鳥インフルエンザとは」「食肉の安全性について」「学校の鳥は大丈夫か」「家畜保健衛生所とは」であるが、受講担当者と事前協議し内容を構成して開催。家畜衛生を通じ県民へ「正しい知識の普及」や「食の安全・安心」について、本講習会を開催したところ、一般の消費者の安全・安心に対する関心が高く、今後の生産者への指導や、消費者への県産品の、安全性のアピールが必要である。

「はじめに」

現在、家畜保健衛生所に求められているのは、家畜伝染病発生時における迅速な初動防疫体制とまん延防止対策だけではなく、BSE、高病原性鳥インフルエンザ等の発生による、安全・安心な暮らしの確立としての「食の安全・安心の確保」や「風評被害対策」である。大分県における高病原性鳥インフルエンザ発生時において、マスコミ等に対する防疫作業、検査状況について全国及びローカルニュースで放映され、また2月17日の発生から3月10日までの終息までに、県本部総合窓口には県民、マスコミから600件を超える、の問い合わせがあり、そのため県本部及び現地は対応に追われた。そのため正しい知識・不安解消のための県民への情報発信の必要性を感じ、「家畜衛生出前講座」を開催することとなった。（表-1）

なお、受講の対象は一般県民、学校教育関係者（保育園、幼稚園、小中高学校関係者 父兄）を対象としている。

「講習会開催までの経過」

今年度は学校関係者を中心に実施し、本講習会のリーフレットの配布や、知人等を通じ申し込みを受け、その役員又は責任者等に本講習会の「目的・意図」説明し開催を決定している。その後、担当者が相手側と講習会内容の事前打ち合わせを行い、講習会内容を作成。開催終了後は講習会の内容等についてアンケート調査を行い、集計及び検討し次の開催に向けての改善を行っている。（表-2）

「講習内容」

家畜衛生つまり、病気についてメカニズムや畜産物の生産過程等を通じた食の安全・安心であり、その項目は「BSEとは?」「鳥インフルエンザとは?」「食肉の安全性についてについて」「学校の鳥は大丈夫か?」「家畜保健衛生所とは」を基本に構成しているが、事前に受講側の担当者と協議し希望する内容を追加している。(表-3)

講習会説明資料は、① BSE については、BSE とはから始まり、世界の発生国、発生頭数、日本の発生頭数、検査方法、飼料給与等を説明するが、「BSE 検査体制の整備」を強調し説明し、国産・県産牛肉の安全性をアピールしている。(表-4)

②鳥インフルエンザについては、やはり BSE と同じように世界の発生国、発生羽数、日本の発生、防疫体制等を説明するが、受講者の関心はそれだけでなく、「ウイルスの生存期間」や「学校での鳥の飼育」についても興味があり説明を加えた。

また、強調するものとして、「愛玩鶏と野鳥の放置や死亡を発見した場合の取扱いについて」は死亡鶏や、衰弱した鳥の発見時の通報、連絡についてを、やはり県民は知らないためこのフローについて説明や、「新型インフルエンザウイルスの発生」についても説明し、また発生時殺処分等ウイルスの感染の危険性の高い家畜防疫員、ワクチン接種を行って防疫作業に当たることを説明した。(表-5)

次に③家畜保健衛生所とは?については、家畜保健衛生所はどこにどれだけあるか?当家保管内の家畜の飼養頭羽数や、また簡単に業務内容を紹介した。(表-6)

「講習会実績」

現在までに3カ所講習会を実施した。

第一回目、大分市内小学校のPTAの役員を対象として実施した。

質問内容については、「国産牛と黒毛和種の違いは?」「卵のビタミン添加、インフルエンザの発生時期、小学校での鶏の飼育、自宅のベランダで野鳥が死んだ場合の処理は?、ミドリ亀の消毒は」等の質問であった。(表-7)

第二回目は大分市内保育園の保育士を対象として実施した。

質問内容については、その他疾病、人への感染、食中毒、ふれあい広場での消毒等の質問内容でPTAとは違った質問内容であった。(表-8)

第三回目については大分市内の保育園の父母を対象として実施した。

「当園は、親子遠足の出発前に育児講座を開催しており、その際に本講座を開催した。

30分から40分程度の講習会であったが第1回目、第2回目のアンケート結果をもとに簡単に、そして分かり易い様に作成し実施した。(表-9)

「講習会におけるアンケート調査」

今回の講習会開催について、講習内容、食の安全性についての関心、動物の病気についての関心、家畜保健衛生所の存在について、アンケート調査を実施し、92人より回答があり、食の安全性についての関心が高かった。

「また、家畜保健衛生所を知っている」と92人中39人の回答があり、この39人は全て父母の回答であった。(表-10)

「考察」

①出前講座についてと、②食の安全性についての2点についてアンケートを考察をした。

①「今回の出前講座について」は、92人中69人がやさしいと回答があったが、23人が難しかったとの回答があった。

そこでどんな点が難しかったかについては、表とグラフが多い、専門の言葉が多く分かりづらい、専門の言葉には説明が必要、スライドが多すぎる等の回答があり、家畜保健衛生所の業務において今まで、この様な一般の人を相手にする事が今までなかったのも、このアンケート結果を基にスライドの作成や、専門用語の解説等「理解しやすい内容」について改善を行い、次回開催に向け講習会内容の検討を考えている。(表-11)

また②「食の安全性について関心がありますか？」については92人中86人が関心があると回答があった。そこで、どんなところに関心があるか？については、

「BSE、鳥インフルエンザにおける肉、卵の安全性」

「家畜に与えている餌、抗生物質、ホルモン剤、残留農薬は大丈夫か？」

「牛肉、鶏肉、鶏卵は安心して食べらるか？」

「輸入肉、輸入食品の安全性」

「愛玩動物への対応について」「食中毒」「牛や乳製品の安全性」等のことについて関心が高く、一般の消費者の安全・安心に対する関心が高いことが分かることが出来き、今後の生産者への指導や、消費者への県産品の、安全性のアピールの必要性を感じた。

(表-12)

「まとめ」

当家畜保健衛生所においては本年度より始まった「家畜衛生出前講座」を現在までに3会場で実施した。また今年度は4回の講習会を開催予定している。

受講者の感想については、

- ・はじめての内容でよかった。
- ・直接口にする肉の話で、すんなり耳に入りやすかった。
- ・他では聞くことがないので勉強になった。
- ・肉のことなので興味深かった。
- ・正しく理解することが出来た。等の感想があった。

(表-13)

「おわりに」

今後においても地道な活動ではあるが、家畜衛生を通じ県民へ「正しい知識の普及」や「食の安全・安心」について、本講習会を開催することにより、問い合わせ等の殺到、風評被害、畜産物の価格の下落等、これらの事を少しでも軽減し、畜産物の安全・安心アピールしていきたいと考えている。

表-7 講習会第1回目内容

日時 平成18年6月24日
場所 大分市立 小学校
参加者 PTA文化交遊部
参加費 1名

- 質問内容
- 畜産牛と鶏毛和種の違い
 - 鳥インフルエンザ発生時石炭炭素としての効果は?
 - 卵の中ピタミンB1等を飼料添加しているが安全性に問題は無いのか?
 - 冬でもないのにインフルエンザが発生しているが原因はなにか?
 - 鳥インフルエンザ発生時学校で飼育している小動物が危険であるという理由で処分された。従前に関する正確で分かり易い情報提供を
 - 自宅のベランダで野鳥が死んだ場合の処置は?
 - ミドリカメの消毒は?
 - 小学校での生徒に対しての飼育動物に接する場合の対応は?



表-8 講習会第2回目内容

日時 平成18年10月23日
場所 大分市 保育園
参加者 保育士
参加費 12名

- 鳥インフルエンザとは?人に感染するから?
- 感染は?
- 人畜共通感染症について?
- 鳥インフルエンザ、BSE、豚コレラの肉の処分について
- 0-187について?
- 卵の安全性について?
- ふれあい広場の消毒について、消毒液はどのくらい?
- けいしの養鳥場について?
- けいしの産卵場について?
- けいしの産卵場について?



表-9 講習会第3回目内容

日時 平成18年11月18日
場所 大分市 保育園
参加者 PTA
参加費 70名

- 保育園での実施
- 親子遠足時に出発前に質疑講座を開催。
 - 時間は30分~40分程度。
 - 第1回目、第2回目のアンケート結果をもとに簡単にわかりやすく改善。
 - 出発前のため質疑はなし。
 - 質問があれば後日、園だよりで回答



表-10 講習会アンケート調査

今回の出前講座について	やさしかった	多少やさしかった	多少難しかった	難しかった
第1回・小学校PTA	5	6	7	0
第2回・保育園 保育士	0	1	6	1
第3回・保育園PTA	24	33	9	0
食の安全性について関心がありますか?	関心がある	まあまあある	ない	
第1回・小学校PTA	15	3	0	
第2回・保育園 保育士	5	3	0	
第3回・保育園PTA	34	26	6	
動物の病気に関心がありますか?	関心がある	まあまあある	ない	
第1回・小学校PTA	9	8	0	
第2回・保育園 保育士	2	6	0	
第3回・保育園PTA	27	31	8	
家畜保健衛生所をご存知ですか?	知っていた	知らなかった		
第1回・小学校PTA	9	9		
第2回・保育園 保育士	0	8		
第3回・保育園PTA	30	36		
今後このような講座を希望しますか?	する	機会があれば	しない	※回答不明
第1回・小学校PTA	5	13	0	
第2回・保育園 保育士	0	8	0	
第3回・保育園PTA	41	3		57

※: 保育園の講習会についての回答のみを分析した

表-11 アンケート集計結果 (今回の出前講座のについて)



どういった点が難しかったか?
(92人中23人の内容)

- 表とグラフが多い、数値の方が分かり易い
- 専門的なことが多かった。
- 専門的なことについては説明を付けてほしい。
- 専門的な名称が多かったのでわかりづらい。
- なじみのない、カタカナ言葉は難しく感じる。
- 少し専門的だった。もう少しかみ砕いた話し方の方がよかった。
- 鳥インフルエンザの感染経路や発生件数などの統計的なこと多い
- スライドをゆっくり時間をかけて説明してほしい。
- 内容が多すぎて一度に理解出来ない。

改善点

- 理解しやすい内容へ改善
- スライド
- 動画の活用
- 専門用語の解説
- ポイントをしっかりと説明

受講者全員が理解出来る講習会へ

表-12 アンケート集計結果(食品の安全性について関心がありますか?)



どういった点に関心がありますか?
(92人中86人の内容)

- BSE、鳥インフルエンザ、における肉、卵の安全性
 - 抗生物質、農薬、食品添加物、ホルモン剤等残留のある食品の流通
 - 食品の生産国、材料
 - 輸入肉、輸入食品の安全性
 - 食肉を買うとき国産のものか、外国産牛肉でも大丈夫か?
 - 子供が口にするものは国産にしている。
 - 安全に購入できる食品。
 - 表示のない外食産業の安全性。
 - 家畜に与えている餌は安全なのか?
 - 長期飼育、高強国内で飼われている添加物を摂取しても影響はないのか?
 - どのような調理の仕方がよいのか?また、加工場(生肉)での衛生管理。
 - 食中毒について感染経路や予防策。
 - 牛や乳製品の安全性。
- 消費者の安全・安心に対する関心 ↑↑
- 生産者への指導
消費者へ農産品の安全性へアピール

表-13 家畜衛生出前講座実績及びアンケート集計(今回の出前講座の感想)

・受講者数

6月21日	10月23日	11月18日	(12月5日)
小学校PTA	保育士	保育園PTA(保育園PTA)	
18名	12名	70名	(36名) (実施予定)



・今回の出前講座についての感想

はじめての肉畜でした。
 ・直接口にする肉の形、すんなり耳に入り分りやすかった。
 ・臭になることだけど、おざわど臭くはなかったので、良い講座と思う。
 ・たておんの動物のことがよくわかった。
 ・他で聞くことがないので勉強になった。
 ・壁面に貼っているお肉のお話で興味深かった。
 ・ニュースでも前は刺殺りもの、新しいこと知るといふ知らなかった肉、
 とても勉強になりました。また詳しく聞ける機会があればいいと思います。
 ・何卒例に説明して下さい、とてもよくわかりました。正しく知ることで
 大切ですね。
 ・経験者だけど良い講座となりました。このテーマについて、またそれを
 きっかけに他のお家の方と交流する事があるとうれしいです。



4. 呼吸器病発生防止に向けた取り組み

- 1) 豊後大野家畜保健衛生所 2) 大分家畜保健衛生所
 ○首藤洋三¹⁾ (病鑑) 内田雅春¹⁾ 病鑑 矢崎竜

【はじめに】

2004年から2005年にかけて、当地区内の子牛に呼吸器病を主因とする死亡事故が多発した。当家畜保健衛生所はウイルスが関与した牛呼吸器複合病(以下 BRDC) 予防が重要であると考え、現在のワクチン接種の現状を見直し、その効果を検証した。

【ワクチン接種の現状】

ワクチン接種の現状の説明として、現在市場上場前の子牛には、牛5種混合生ワクチン、イバラキ病生ワクチン、ヘモフィルス・ソムナス感染症不活化ワクチン(以下5種混、イバラキ、ヘモ)を接種している。さらに接種時期としては子牛市場のおよそ1ヵ月前に接種しているというのが現状である。したがって現在のワクチン接種は、市場上場のための接種であるということが言えるため、現在地区内で問題となっている呼吸器病とその予防を目的とした5種混ワクチンに着目した。

【ワクチン接種時期の検討】

図1は、子牛のウイルス病対策の現状を模式図にしたものであり、縦軸に抗体価、横軸に生後から市場出荷までの時間を示している。赤いラインを仮に感染防御レベルとすると、移行抗体が消失したと思われる月齢から市場出荷までの感染防御レベルは低いということが考えられる。つまりウイルス性疾患にかかりやすいという状態がかなりの期間あるのが現状の問題点であると思われた。

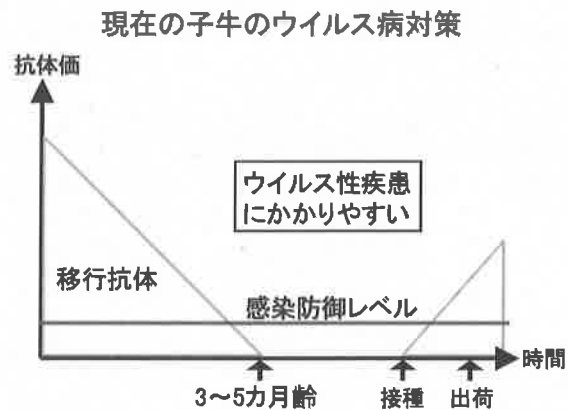


図 1

ワクチン接種適期の検討

そこで、子牛の段階での BRDC 予防を目的に、5種混ワクチンの接種時期を変更した。接種時期を生後の移行抗体の消失直後に設定するため、5種混ワクチン接種時と接種約1ヵ月後に採血を行い、ワクチン接種適期の検討を行った(図2)。

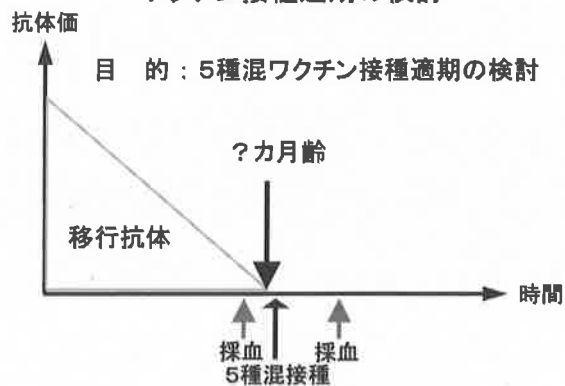


図 2

採血実施農場の選定方法は、当家保の病性鑑定で判明しているK地区の呼吸器病発生農場および家畜共済データから呼吸器病の診療件数、死廃頭数の多い農場、また直接農場よりワクチン接種要望のある農場等を対象に選定した。材料および方法としては3～6カ月齢の子牛30頭のペア血清を用い、抗体検査を図3に示す方法で実施した。

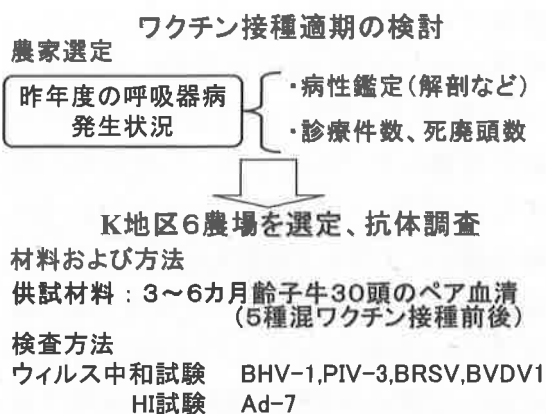


図3

図4はK地区の和牛飼育頭数番付表というもので、選定した6農場はこの色で示す農場である。昨年度の病性鑑定で判明した呼吸器病発生農場が全て40頭を超える飼養規模であったことと、診療件数等の調査からこの6農場に選定した。

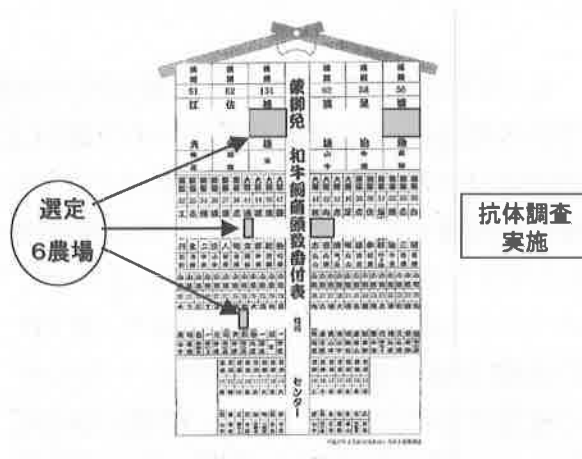


図4

抗体検査結果より、4カ月齢に満たない子牛にはワクチン効果が認められなかった個体が見られ、4カ月齢に達した子牛であればワクチン効果がほぼ認められていることが判明した。その結果をもとに K 地区自衛防疫組織の指定獣医師、推進員と共に、ワクチン接種実務に係る人的、事務的負担を最小限かつ効率的な実施方法を検討し、2005年9月より K 地区に推進を実施した(図5)。

ワクチン接種適期の検討

抗体検査結果

ワクチン効果が認められなかった頭数

接種月齢(検査頭数)	BHV1	PIV-3	BRSV	BVD1	Ad-7
3 (13)	0/13	5/13	2/13	1/13	0/13
4 (11)	0/11	0/11	0/11	0/11	0/11
5 (5)	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5
6 (1)	0/1	0/1	0/1	0/1	0/1

接種適期を4カ月齢以上とし、
2005年9月より推進実施

図5

【推進プログラム】

推進方法はまず、従来のワクチンプログラム(以下従来プログラム)では市場出荷約1カ月前に接種しているところを、今回新たに推奨するプログラム(以下新プログラム)は、4カ月齢に達した子牛に5種混を接種し、その後市場出荷前にイバラキ、ヘモを従来どおり接種するという方法である。この方法は単純に考えると、1頭につき倍の接種機会を要するという手間が生じることになる(図6)。

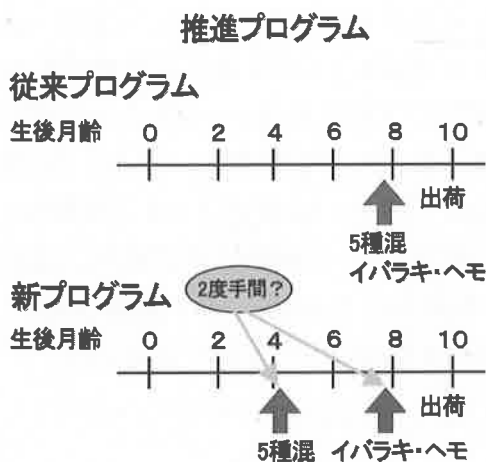


図6

そこで新プログラムでは、指定獣医師の接種に係る回数を現状と同様にするため、農家に予め市場上場予定の接種群と、4カ月齢以上の5種混接種の2群に分けるよう指示する。初回だけは市場上場予定牛には従来どおり5種混も接種することになるが、それ以降は図7に示すとおり第2群で4カ月齢以上の全ての子牛に5種混を接種しているため、第1群の市場上場予定牛にはイバラキ、ヘモのみの接種でよいということになる。接種に係る回数、つまり指定獣医師がA農場に赴いて接種する回数は従来と変わらない市場前の年6回となる。

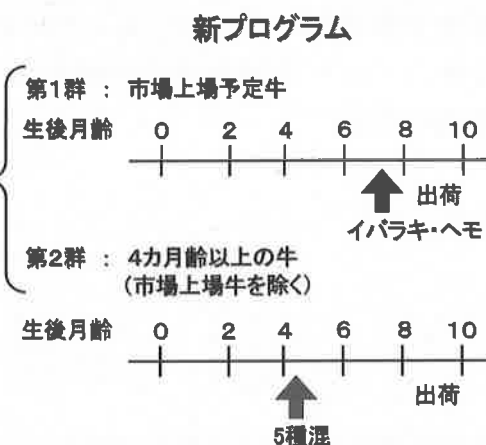


図7

つぎに新プログラムによる推進員のワクチン実施名簿作成や、料金徴収などの実務負担の変化について説明する前にまず、従来プログラムの流れは図8に示すとおりである。

新プログラムでの変更は、図9に示す2点のみである。農家が通常の市場申込書に加えて5種混接種名簿を作ることと、前述した2群を準備しておくことのみである。したがってその申込書に基づいて名簿作成、料金徴収を行う作業に変わりはないため、推進員に極端な負担にはならないと思われ、実際行った推進員からも実務負担は従来と変わらないという回答であった。

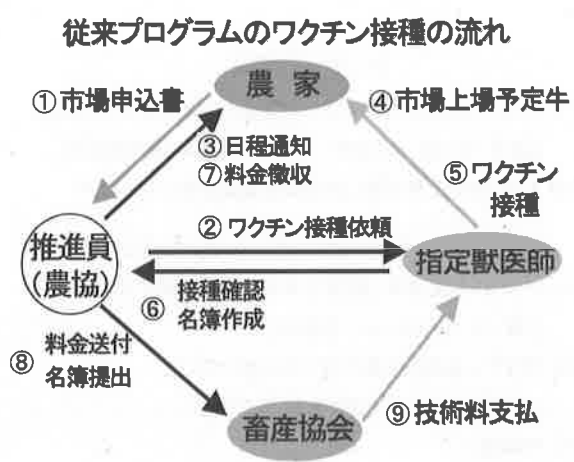


図 8

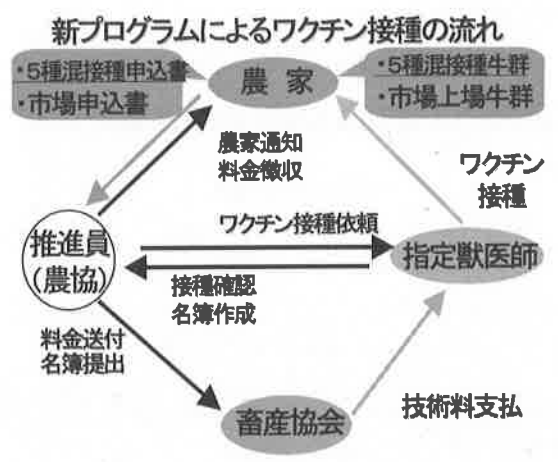


図 9

【効果の検証】

新プログラムの効果の検証として、まず今年の4月に実施を推進した40農場を対象に、接種に係る手間や呼吸器病発生等に関するアンケート調査を実施した。さらに家畜共済診療データを用い、変更前後の呼吸器病を主因とする死廃事故及び診療件数を比較した。また変更による肥育への影響を調査するため、肥育農場で K 地区からの導入牛を対象とした抗体調査及び診療状況を実施した(図10)。

新プログラムを推進した40農場は図11の色で示すとおりで、この40農場を対象にアンケート調査を実施した。

新プログラムの効果の検証

- ①アンケート調査(2006年4月)
 - 推進実施40農場を対象
- ②呼吸器病を主因とする死廃事故、診療件数の調査
 - 家畜共済診療データ
 - 期間2004年4月～2006年3月
 - NOSAI南部全体
- ③肥育農場での調査(2006年9月)
 - K地区からの導入肥育牛を対象
 - 抗体検査および診療件数調査

図 1 0

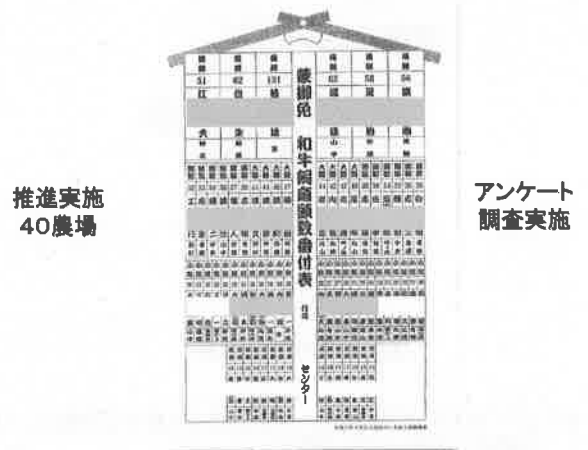


図 1 1

【アンケート調査】

アンケートの調査内容は、農家に図12のとおり5つの質問を行い、回収後集計した。

アンケート調査

- Q1. プログラムを変更する以前、一番多かった子牛の病気は？
 ①カゼ ②下痢 ③その他() ④治療を要する病気発生なし
- Q2. プログラムを変更以降、カゼの発生は以前と比較して
 ①減ったと思う ②変わらないと思う ③増えたと思う
- Q3. プログラムを変更後、獣医へカゼ治療を依頼する回数は
 ①減った ②変わらない ③増えた
- Q4. ワクチン接種時2群に分けることについて
 ①手間ではない ②手間が面倒 ③その他()
- Q5. その他

図12

調査結果（回答34/40）は、プログラム変更前農場で一番多かった病気が「呼吸器病」という回答は76%。新法で接種することに「それ程手間ではない」という回答は74%（25/34）で、推進員からは名簿作成、料金の徴収等の実務負担は従来とそれ程変わらないという回答。さらに「呼吸器病の発生が減ったと思う」は全体の65%（22/34）、「診療依頼回数は減ったと思う」は71%（24/34）であった（図13、14、15、16）。

アンケート調査結果

回収率85% (34/40)

- Q1. プログラムを変更する以前、一番多かった子牛の病気は？
 ①カゼ ②下痢 ③その他() ④治療を要する病気発生なし

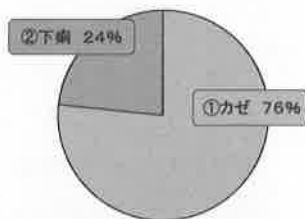


図13

アンケート調査結果

アンケート調査結果

- Q2. プログラムを変更以降、カゼの発生は以前と比較して
 ①減ったと思う ②変わらないと思う ③増えたと思う

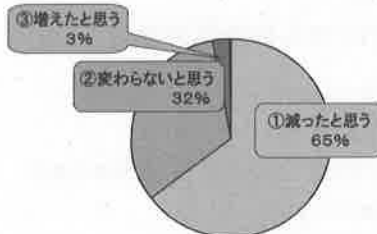


図14

アンケート調査結果

- Q3. プログラムを変更後、獣医へカゼ治療を依頼する回数は
 ①減った ②変わらない ③増えた
- Q4. ワクチン接種時2群に分けることについて
 ①手間ではない ②手間が面倒 ③その他()

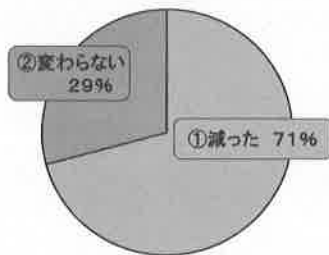


図15

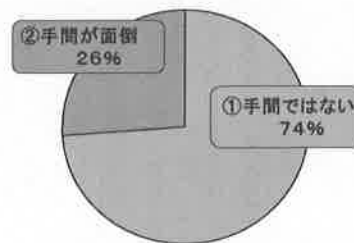


図16

【呼吸器病調査】

家畜共済診療データから、呼吸器病のデータを抽出したところ、プログラム変更前後の地区全体のおよび診療件数は2,326件から2,784件、24カ月齢未満の死廃事故頭数は74頭から90頭と増加傾向であったのに対し、その内のK地区では、診療件数1,234件から1,032件、死廃事故頭数は21頭から11頭といずれも減少という結果であった(図17)。

呼吸器病調査結果

	変更前	変更後	
地区全体			
診療件数	2,326件	2,784件	増加
死廃事故頭数	74頭	90頭	
K地区			
診療件数	1,234件	1,032件	減少
死廃事故頭数	21頭	11頭	

図17

【肥育農場調査】

図18の調査結果からプログラム変更前と後のK地区出荷牛の増体等については従来プログラムと差は認められなかった。聞き取り調査でも極端な増体不良牛はなく、呼吸器病の診療件数にも差はなかった。抗体調査では、4頭目と10頭目の子牛はワクチン接種月齢が4カ月に達していない個体であったことが判明し、ワクチン抗体を保有していないことが推察された(図19)。

肥育農場調査結果

県内市場調査結果(K地区出荷牛)

従来プログラム (2005年3月～8月平均)					新プログラム (2006年3月～8月平均)				
市場	頭数	D.G.	体重	価格(千)	市場	頭数	D.G.	体重	価格(千)
3	23	0.99	269	474	3	47	0.98	276	474
4	417	0.92	267	395	4	392	0.96	271	431
5	27	1.03	276	482	5	50	1.04	285	495
6	428	0.95	276	397	6	402	0.98	274	417
7	29	1.00	271	438	7	38	1.03	279	484
8	331	0.93	279	427	8	337	0.97	279	443
計	1,255	0.97	273	435	計	1,266	0.99	277	458

図18

肥育農場調査結果

抗体調査結果(2006年4月市場導入牛)

接種日齢	BHV-1	PIV-3	BRSV	BVDV	Ad-7
100	<2	4	8	<2	160
101	<2	32	128	<2	320
123	<2	256	2	128	320
125	2	8	8	64	640
127	<2	32	2	512	<10
138	<2	32	<2	256	320
146	<2	8	2	64	20
155	<2	<2	<2	256	160
191	<2	32	2	512	<10
219	<2	64	2	512	1280

図19

【まとめおよび考察】

以上のことから、まず抗体調査から、接種適期を4カ月齢以降としてK地区の他農場にも推進し、現在約60戸に拡大している。アンケート調査および家畜共済診療データによる農家の主観と病変データからの客観性から、ワクチン接種時期変更と呼吸器病予防効果との関連性が示唆された。肥育農場においても変更による影響はないものと推察された。今後は他の地区においても本方法が実施できるよう体制作りや啓発に努めたい。

5. 酪農現場における牛ウイルス性下痢ウイルス (BVDV) 清浄化の取り組み

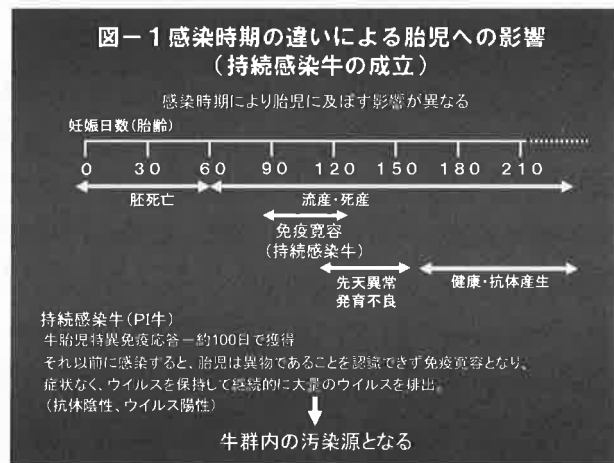
宇佐家畜保健衛生所

○長谷部恵理 中西年治 御手洗善郎
佐藤邦雄 矢崎竜¹⁾

1) 大分家畜保健衛生所

【はじめに】

牛ウイルス性下痢ウイルス(以下BVDV)は牛ウイルス性下痢粘膜病の原因ウイルスとして知られているが、妊娠牛では感染した胎齢によって胚死滅、流産、死産などの異常産を起こす。また、胎齢100日前後で感染するとその子牛は持続感染牛(以下PI牛)として生まれ、抗体を産生しないままウイルス陽性となって、ウイルスを大量に排泄し、牛群の汚染源となる。このためBVDVは農家に及ぼす被害が大きいウイルスとして認識されている。今回、管内の一酪農地帯を対象にBVDV清浄化への取り組みを実施したのでその概要を報告する。



【管内 酪農飼養状況】

管内には、3市があり合計53戸2,284頭の乳用牛が飼養されている。

今回取り組みを実施したC市のK地区は、半径2km以内に17戸が隣接し、合計746頭が集中して飼養されている。また、各農家はM、Nの2農業組合にそれぞれ加入している。



【呼吸器病発生時の4農場におけるBVDV抗体保有状況】

図-3は2006年1月に同地区で成牛の呼吸器病が流行した時の4農場の抗体検査成績である。呼吸器病の原因はパラインフルエンザⅢ型であったが、BVDV抗体に注目してみると、検査した全頭が抗体を保有している農場、一部が抗体を保有している農場、全く抗体を保有していない農場とあり、BVDVがこの地域に浸潤しつつあるのではないかと推察された。

図-3 呼吸器病発生時の4農場におけるBVDV抗体保有状況 2006年1月流行 パラインフルエンザⅢ型(PIV-3)

A 農場	PIV-3		BVDV	
	pre	post	pre	post
	128	32	<2	<2
	n.t.	64	n.t.	<2
	64	64	128	128
	128	128	512	128
	64	128	512	128

C 農場	PIV-3		BVDV	
	pre	post	pre	post
	8	32	<2	<2
<2	16	<2	<2	
<2	16	<2	<2	
<2	16	<2	<2	
32	128	<2	<2	
<2	32	<2	<2	

B 農場	PIV-3		BVDV	
	pre	post	pre	post
	<2	16	1024	512
<2	16	512	512	
<2	32	128	256	
16	16	1024	512	

D 農場	PIV-3		BVDV	
	pre	post	pre	post
	<2	64	<2	<2
<2	16	<2	<2	
<2	32	<2	<2	
<2	84	<2	<2	

【BVDVの関与が疑われた異常産の発生】

図-4は2006年6月に同地区の1農場で発生した異常産の検査成績である。異常産関連ウイルスの抗体はどれも保有せず、ウイルス分離も陰性であったが、PCR検査においてBVDV特異遺伝子が検出され、BVDVの関与が疑われた。

以上のことから、この酪農地帯を対象にBVDV清浄化対策を実施することにした。

図-4 BVDVの関与が疑われた異常産の発生

2006年6月 胎齢279日齢で死産 頭形顔面異常(顎短小)

異常産ウイルス抗体検査

	AKAV	AINOV	CHUV	IBAV	BVDV1	BTV	NC
子牛胸水	<2	<2	<2	<2	<2	-	-
子牛腹水	<2	<2	<2	<2	<2	-	-

ウイルス分離 陰性 PCR検査 子牛胸水・腹水よりBVDV特異遺伝子検出

【取り組み】

まずはじめに、BVDVの病性と対策について啓発をした。次に、BVDV浸潤状況調査を実施しウイルスの有無を確認した。その後、浸潤状況調査陽性農場を対象にPI牛の摘発を実施した。

図-5 取り組み

- (1) BVDVの病性と対策について啓蒙 (家畜衛生研修会の開催)
- (2) 浸潤状況調査
 - ① BVDVスクリーニング検査
 - ② BVDV個体確認検査(疑PI牛の摘発)
- (3) PI牛の摘発

【事前協議（打ち合わせ）】

BVDV 清浄化に取り組むに当たって、農家および関係機関の BVDV に対する認識は乏しく危機感がないため、特に BVDV の啓発が重要と思われた。

まずはじめに、各農業組合代表農家、支所長、指導員、市の家畜診療所獣医師および畜産担当者を対象に事前協議を実施した。


【家畜衛生研修会の開催】

図-7, 8 は家畜衛生研修会の概要である。まずはじめに BVDV のもたらす病態および経済的損失について啓発し、この地区で BVDV の浸潤が予測されることを説明した。BVDV 対策として、第1段階に 2005 年度ヨーネ病保存血清（以下 2005 年度保存血清）と 2006 年度バルク乳を用いた浸潤状況調査を実施すること。ウイルスの存在が示唆されれば、第2段階：浸潤状況調査陽性農場を対象に全頭採血による PI 牛の摘発をし、自主淘汰すること、さらにこの取り組みには地域全体での取り組みが必要なことを説明し、理解を得た。また、BVDV 対策実施後の研修では、結果報告をし、ワクチン接種の励行と、継続検査の必要性を説明し理解を得た。

図-6 事前協議(打ち合わせ)

時期	2006年5月～8月 延6回
対象	各農業組合代表農家 各農業組合支所長、指導員 C市家畜診療所獣医師、畜産担当者
内容	①BVDVの病態 ②家畜衛生研修会の開催要領 ③BVDVの検査方法 ④BVDV清浄化対策(PI牛の摘発・自主淘汰)

図-7 家畜衛生研修会の開催(1)




2006年 8月、9月 2回実施
参加：酪農家・臨床獣医師・農協支所長、指導員

- ・BVDVのもたらす病態および経済的損失
- ・限定したBVDVの浸潤
- ・BVDV対策
- 第1段階 浸潤状況調査
 - ①2005ヨーネ病保存血清を用いた検査
 - ②2006バルク乳を用いた検査
- ①、②共に陰性=検査終了
- 陽性
 - 第2段階 持続感染牛(PI牛)の摘発・淘汰
 - 牛群の全頭採血:1か月齢以上
 - ウイルス検出(分離、遺伝子検査)
 - 陽性:隔離し3週間後に再検査
 - 陽性:自主淘汰

* 地域全体(2組合併せて)の取り組みの必要性について説明

図-8 家畜衛生研修会の開催(2)



2006年 11月 実施

- ・検査結果
 - ①2005余剰血清BVDV遺伝子検査結果
 - ②2006バルク乳BVDV遺伝子検査結果
 - ③持続感染牛の摘発状況
- ・ワクチン接種の励行
- ・今後の検査計画
 - ①ヨーネ病に関する県内飼養牛の検査
 - ②バルク乳の検査

【浸潤状況調査 材料および方法】

材料として、スクリーニング検査では、2005 年度保存血清と 2006 年度バルク乳を用いました。保存血清は 20 頭を上限にプールしサンプルとした。個体確認検査ではスクリーニング検査陽性農場を対象に 2005 年度保存血清を用いて中和抗体価を測定し、抗体を保有していないものについて遺伝子検査を実施した。BVDV 遺伝子検査は 2 stepRT-PCR 法で、抗体検査は BVDV 1 型 (Nose 株) を用いて血清希釈による中和試験により実施した。

図-9 浸潤状況調査

—材料および方法—

〈材料〉	
(1) BVDVスクリーニング検査	
①2005保存血清(プール血清) 46検体	2005ヨーネ病保存血清 17戸746頭を農場毎に20頭を上限にプールしサンプルとした
②2006バルク乳 17検体	
(2) BVDV個体確認検査(疑PI牛の摘発)	
2005保存血清 91検体	スクリーニング検査陽性の2農場を対象とした個体確認検査、計91頭
〈方法〉	
BVDV遺伝子の検査	
サンプル、血清からRNAを抽出し、2step-RT-PCRを実施	
抗体検査	
BVDV1(Nose株)・・・血清希釈による中和試験	

【バルク乳の採材】

図-10はバルク乳の採材風景である。採材は朝の搾乳終了時間に合わせて各農場を回り均一に採材を実施した。一部の農場では夜の搾乳終了後に採材を実施した。



図-10 2006バルク乳の採材

朝の搾乳後 集乳車の回収前に採材(一部夜の搾乳後採材)
よく攪拌し3回に分けてバルク乳を均一に採取

【2005年度保存血清を用いたBVDV遺伝子検索結果】

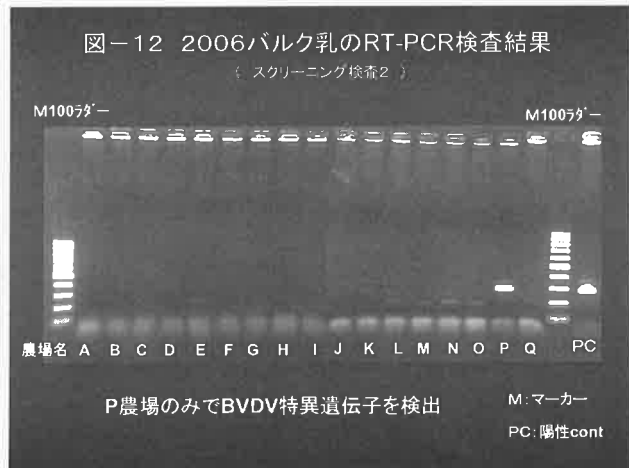
図-11は保存血清のBVDV遺伝子検索結果である。E農場、P農場で各1サンプルにおいてBVDV特異遺伝子が確認された。

【2006年度バルク乳のRT-PCR結果】

図-12はバルク乳のRT-PCR検査結果である。P農場のみでBVDV特異遺伝子が確認された。

図-11 2005保存血清BVDV遺伝子検索結果
(スクリーニング検査1)

農場名	頭数	サンプル数	陽性数	農場名	頭数	サンプル数	陽性数
A	25	2	0	J	49	3	0
B	50	3	0	K	18	1	0
C	58	3	0	L	48	3	0
D	49	3	0	M	38	2	0
E	71	4	1	N	29	2	0
F	58	3	0	O	43	3	0
G	61	4	0	P	24	2	1
H	68	4	0	Q	35	2	0
I	20	2	0				



【BVDV個体確認検査】

2005年度保存血清を用いて、BVDV個体確認検査を実施した。E農場では71頭中BVDV抗体を保有していないものが7頭確認され内1頭でBVDV遺伝子が確認された。P農場では24頭中1頭で抗体を保有しないことが確認され、その1頭でBVDV遺伝子が確認された。

図-13 BVDV個体確認検査結果

E農場 71頭		BVDV 遺伝子陽性	P農場 24頭		BVDV 遺伝子陽性
BVDV 中和抗体価	頭数		BVDV 中和抗体価	頭数	
<2	7	1 (疑PI牛)	<2	1	1 (疑PI牛)
4	3				
8	1				
16	9				
32	12				
64	9				
128	3				
256	12				
512	9				
1024	3				
2048	2				
4096 ≤	1				
<2	0		<2	0	
4	0				
8	0				
16	0				
32	0				
64	0				
128	6				
256	7				
512	5				
1024	1				
2048	1				
4096 ≤	0				

【BVDV浸潤状況調査まとめ】

図-14はBVDV浸潤状況調査のまとめである。E農場では2005年度余剰血清のみでBVDV特異遺伝子が確認され、1頭の疑PI牛が認められた。P農場では2005年度余剰血清および2006年度バルク乳でBVDV特異遺伝子が確認され、1頭の疑PI牛が認められた。残りの15農場では2005年度余剰血清、2006年度バルク乳ともにBVDV遺伝子は確認されなかった。

図-14 BVDV浸潤状況調査結果まとめ

農場	BVDV遺伝子検索		疑PI牛数	農場	BVDV遺伝子検索		疑PI牛数
	2005 余剰血清	2006 バルク乳			2005 余剰血清	2006 バルク乳	
A	-	-	0	J	-	-	0
B	-	-	0	K	-	-	0
C	-	-	0	L	-	-	0
D	-	-	0	M	-	-	0
E	+	-	1	N	-	-	0
F	-	-	0	O	-	-	0
G	-	-	0	P	+	+	1
H	-	-	0	Q	-	-	0
I	-	-	0				

【PI牛の摘発 材料および方法】

次に浸潤状況調査で陽性となった2農場を対象に全頭採血によるPI牛の摘発を行った。BVDV中和抗体価を測定し抗体を保有していないものについてBVDV遺伝子検索とウイルス分離を実施した。BVDV抗体検査、遺伝子検索は浸潤状況調査と同様にし、BVDV分離はBFM細胞で3代継代後、干渉法により判定した。

図-15 PI牛の摘発
—材料および方法—

〈材料〉
2006全頭採血血清 80検体
浸潤状況調査陽性の2農場を対象とした全頭採血、計80頭

〈方法〉
抗体検査
BVDV1 (Nose株)***血清希釈による中和試験

BVDV遺伝子の検索
サンプル、血清からRNAを抽出し、2step-RT-PCRを実施

ウイルス分離
BFM細胞で3代継代後、干渉法により判定

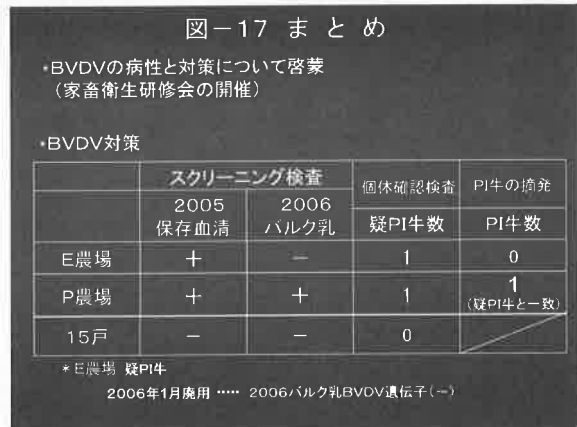
【全頭採血によるPI牛の摘発】

図-16は全頭採血によるPI牛の摘発結果である。E農場では48頭中BVDV抗体を保有していない個体が4頭いたが、4頭ともBVDV分離および遺伝子検索陰性であった。P農場では32頭中抗体を保有していない個体が3頭確認され、内1頭からBVDVが分離された。さらに、3週間後の検査でも同様の結果となりPI牛と確定された。この牛は疑PI牛と一致していた。



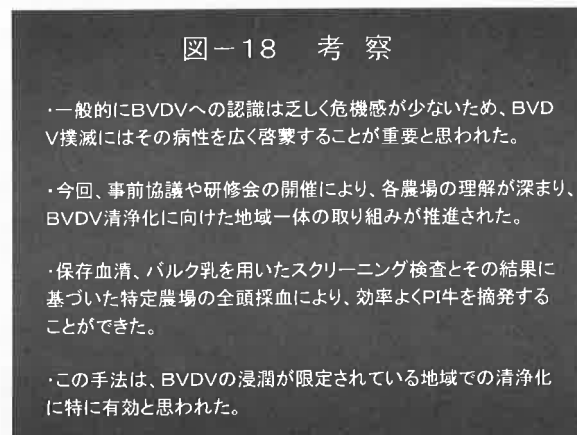
【まとめ】

今回、BVDVの浸潤が予測された官内酪農地帯、17戸を対象にBVDV清浄化対策を実施した。まずはじめに、BVDVの理解を深めてもらうために、BVDVの病性と対策について、酪農家および関係機関への啓発を行った。BVDV対策においては、2005年度保存血清および2006年度バルク乳を用いたスクリーニング検査で、17戸中2戸が陽性となった。個体確認検査では、そのE、P2農場で疑PI牛が1頭ずつ確認された。PI牛の摘発ではP農場のみでPI牛が1頭摘発され、淘汰を実施した。E農場の疑PI牛については、疑PI牛が2006年1月に廃用となっており、このため、2006年度バルク乳の遺伝子検索は陰性となったものと推察された。



【考察】

一般的にBVDVの認識は乏しく危機感が少ないため、BVDV撲滅にはその病性を広く啓蒙することが重要と思われた。今回、事前協議や研修会の開催により、各農場の理解が深まり、BVDV清浄化へ向けた地域一体となった取り組みが推進された。保存血清、バルク乳を用いたスクリーニング検査とその結果に基づいた特定農場の全頭採血により、効率よくPI牛の摘発ができた。この手法は、BVDVの病勢が限られている地域での清浄化に特に有効と思われた。



6. 肉用牛の疾病発生状況と重要疾病の分析

玖珠家畜保健衛生所

○甲斐貴憲 ・ 飯田 賢

久々宮仁三 ・ 甲斐照孝

【はじめに】管内は繁殖を主体とした県内でも屈指の肉用牛の生産地域である。今回、管内の衛生現状を把握しポイントを絞った効率的な衛生指導を行うため、最近5年間の検査状況、疾病発生状況を調査したところ、重点課題と考えられる重要疾病が明らかとなったので取り組み状況や具体的症例とともに報告する。

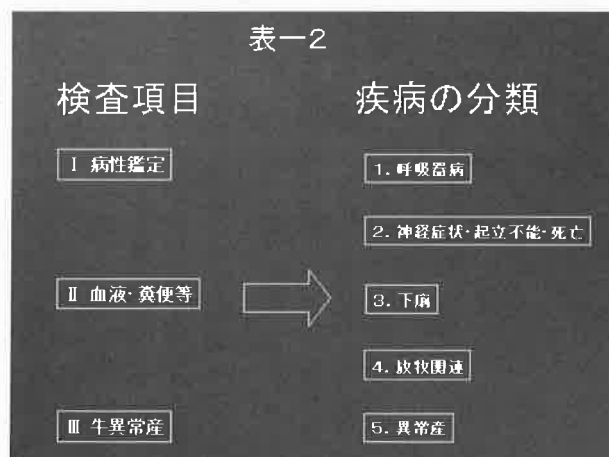
【材料・方法】検査材料は管内の1市2町における2002年4月から2006年9月(以下過去5年間)にかけて発生した肉用牛(少数の乳用牛含む)の検体。依頼は獣医師や農場からで、解剖を主体とした病性鑑定、解剖を伴わない血液と糞便を主体とした血液・糞便等検査、妊娠期や分娩時に発生した事故を調べる牛異常産病性鑑定があり、これらの検査成績を基に疾病の発生状況を分析した。

【結果】過去5年間の検査依頼件数・頭数(延頭数)は病性鑑定が170件・616頭、血液・糞便等検査が1182件・1650頭、牛異常産病性鑑定が52件・52頭で合計1404件・2318頭であった。各年度毎の検査件数・頭数は表-1のとおり。病性鑑定、血液糞便等検査、牛異常産病性鑑定から分析された疾病は大きく1.呼吸器病、2.神経症状・起立不能・死亡、3.下痢、4.放牧関連、5.異常産に分類してまとめた(表-2)。

表-1 検査実施状況

年度	Ⅰ 病性鑑定		Ⅱ 血液・糞便等		Ⅲ 牛異常産		合計	
	件数	頭数	件数	頭数	件数	頭数	件数	頭数
14	41	77	325	436	17	17	393	530
15	53	159	339	453	12	12	354	629
16	37	219	240	271	8	8	285	498
17	28	93	213	343	9	9	248	445
18	13	68	105	142	5	5	124	216
合計	170	616	1182	1650	52	52	1404	2318

(管内 1市2町)



1. 呼吸器病については過去5年間で48件あり、牛パストレルラ症6件・6頭、牛RSウイルス病2件11頭、牛アデノウイルス病2件・2頭、牛パラインフルエンザ1件・2頭、マイコプラズマ肺炎2件・2頭、誤嚥性肺炎5件・5頭、病理組織検査から肺炎やマイコプラズマ肺炎が疑われた症例16件・16頭、呼吸器病ウイルス抗体検査17件・192頭であった。年度毎の発生状況は表-3のとおり。

表-3 呼吸器病

年度	牛数 (頭数)	・牛パステラ 肺炎	・RSウイルス 肺炎	・ブドウ球菌 肺炎	・PR-3 肺炎	・マニフィ スト肺炎	・肺炎 等類々	・細菌、マコ 等類々	・抗体検査
14	6 (9)		1(2)				2(2)	2(2)	1(3)
15	19(105)	2(2)	1(9)		1(2)		1(1)	6(6)	8(85)
16	10 (13)	1(1)				1(1)	2(2)	6(6)	1(4)
17	8 (60)	2(2)				1(1)		2(2)	3(55)
18	5 (47)	1(1)		2(2)					4(45)
合計	48(234)	6(6)	2(11)	2(2)	1(2)	2(2)	5(5)	16(16)	17(192)

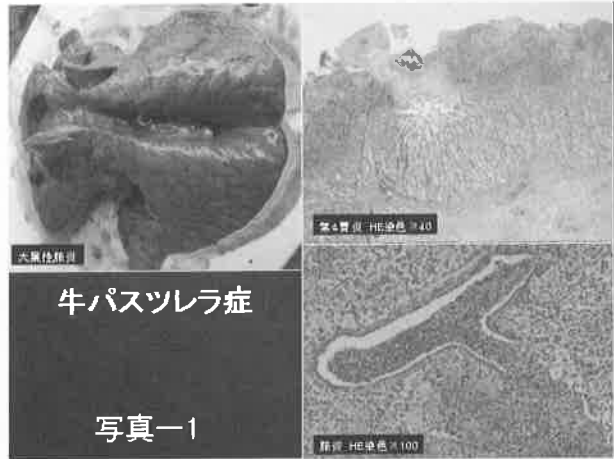


写真-1 は牛パステラ症の具体例で、剖検所見や病理組織所見において重度の肺炎が広範囲に見られ、第4胃炎も併発した症例である。写真-2 は RS ウイルス病の発生例で剖検で重度の肺炎が見られ、組織学的にも合胞体に細胞質内封入体が検出され、抗体検査においても RS ウイルス抗体の有意な上昇が見られた症例である。また写真-3 は平成 18 年度の夏期に発生した牛アデノウイルス病の症例で、死亡個体のみ牛アデノウイルス抗体の有意な上昇が見られた。

No.	IBR		PR-3		BVD-MD		RS	
	pre	post	pre	post	pre	post	pre	post
1	C2	C2	+	C2	+	+	-	++
2	C2	C2	C2	C2	C2	C2	-	++
3	C2	C2	+	C2	C2	C2	-	++
4	C2	NT	C2	NT	C2	NT	-	NT
5	C2	C2	C2	C2	C2	C2	-	+++
6	C2	C2	8	C2	C2	C2	-	++
7	C2	C2	C2	C2	C2	C2	+++	+++
8	C2	C2	C2	C2	C2	C2	-	+++
9	NT	C2	NT	C2	NT	C2	-	+++

写真-2

アデノウイルス性肺炎

検体	IBR			PR-3			BRSV			BVD-MD			Ad-7		
	6月	8月	9月	6月	8月	9月	6月	8月	9月	6月	8月	9月	6月	8月	9月
①	<2	<2	NT	32	4	NT	16	4	NT	256	8	NT	<10	320	NT
②	<2	<2	128	8	<2	8	<2	64	8	<2	320	40	10	10	10
③	4	<2	<2	128	4	2	8	4	4	512	32	8	40	20	10
④	<2	<2	1024	128	8	16	4	2	256	16	2	80	10	10	10

写真-3

2. 神経症状・起立不能・死亡の症例では敗血症 7 件、胃炎 8 件、大脳皮質壊死症 5 件、白筋症 5 件の発生があった（表-4）。敗血症と胃炎の症例を表-5 にまとめる。写真-4 は表-5 ⑥のкокシジウムと乳頭糞線虫の感染に次いで第4胃の穿孔に至った重度

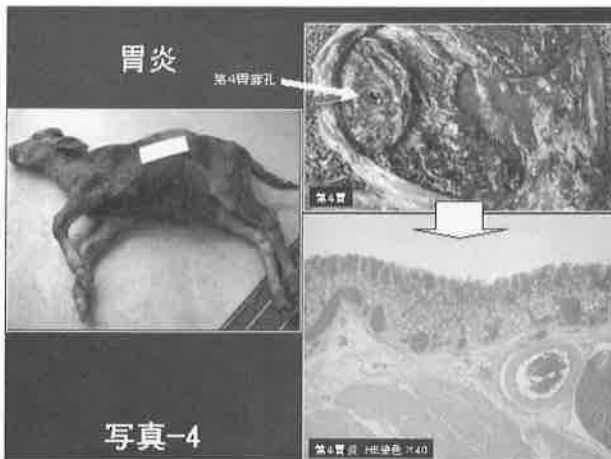
表-4 神経症状・起立不能・死亡

年度	・敗血症 (大腸菌)	・胃炎	・大脳皮質壊死症	・白筋症
14		2(2)	3(3)	3(3)
15	4(4)	3(3)	1(1)	2(2)
16	3(3)	1(1)		
17		2(2)	1(1)	
18			[検査11月に1頭発生]	
合計	7	8	5	5

表-5 敗血症・胃炎

年度	疾病	発生	市町	品種	日齢・月齢	症状・併発疾病等
14年度	①胃炎(I・IV胃)	H1410	B町	黒毛和種	11日齢	
	②胃炎(IV胃)	H1411	B町	黒毛和種	4日齢	
15年度	①胃炎+敗血症	H155	B町	黒毛和種	55日齢	(発症は10日齢~)
	②胃炎(IV胃潰瘍)	H158	C町	黒毛和種	25日齢	(白筋症併発)
	③敗血症	H1510	C町	黒毛和種	1日齢	(異常な産乳(検査))
	④胃炎(IV胃穿孔)	H161	C町	黒毛和種	23日齢	(コクシジウム、乳頭糞線虫)
	⑤敗血症	H162	C町	黒毛和種	6日齢	(B77ウイルス病が起因)
16年度	⑥敗血症	H164	C町	黒毛和種	3日齢	
	⑦敗血症	H165	C町	黒毛和種	2日齢	
	⑧敗血症	H167	A市	黒毛和種	5日齢	
	⑨胃炎(IV胃潰瘍)	H1612	B町	黒毛和種	30日齢	(下痢、腹膜炎、小腸炎)
17年度	⑩胃炎(I胃)	H1710	C町	黒毛和種	9カ月	(発症は4カ月齢~)
	⑪胃炎(IV胃びらん)	H181	C町	黒毛和種	?日齢	(パステラ肺炎)
18年度	診断例なし					

[注] 敗血症例からの分離菌は全て大腸菌



の胃炎の症例である。写真-5 は大脳皮質壊死症の症例で下段の組織写真は 4 カ月齢のジャージー種の大脳の組織像で重度の神経細胞の変性が見られた。写真-6 は白筋症の症例で、下段の組織写真には骨格筋の重度の硝子様変性、石灰沈着、筋食現象が見られる。



3. 下痢の症例では表-6 にある肝蛭症の発生が各年度で多発した。症例の多くは血液糞便等検査により臨床獣医師から食欲不振、消瘦、下痢等の臨床症状を示し検査依頼のあった症例で、ほとんどは繁殖雌牛の症例である。図-1 は肝蛭症の症例を各市町村の地区毎にまとめたものである。B 町 Mor 地区で特に発生が多い。表-7 はコクシジウム症の年度、月毎の発生状況であるが、多くは子牛の例で各年度とも発生が多い。写真-4 は 43 日齢の黒毛和種のコクシジウム症の症例で、重度の寄生により盲腸の重積をともない死亡した症例である。表-8 は

表-6 肝蛭症の年度・月別発生頭数

年度	合計	4	5	6	7	8	9	10	11	12	1	2	3 (月)
14	25	4	3	4	1	5	3	1	1			2	1
15	15	8	2	5	1		1			3			
16	9	1	3	2	2								1
17	9		1		2			1			1		4
18	20	1	10	1	2	4	2						
合計 ~17	58	8	9	7	9	1	6	4	1	4	1	5	2
合計 ~18	78	9	19	8	11	5	8	4	1	4	1	6	2

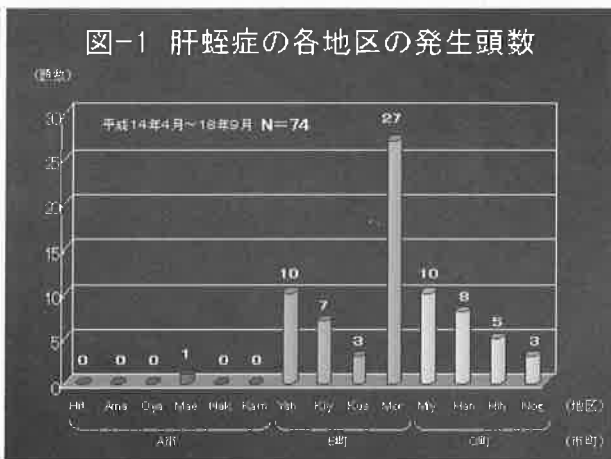


表-7 コクシジウム症の月別発生頭数

年度	合計	4	5	6	7	8	9	10	11	12	1	2	3 (月)
14	41	6	3	1	6	5	5		6	3	1		5
15	15	2	3	2	2		1				4	1	
16	15	1	1	2	4	1			2	4			
17	9	1	1	2									5
18	17		10	1	3	2	1						
	97	10	18	8	15	8	7	0	8	7	5	1	10

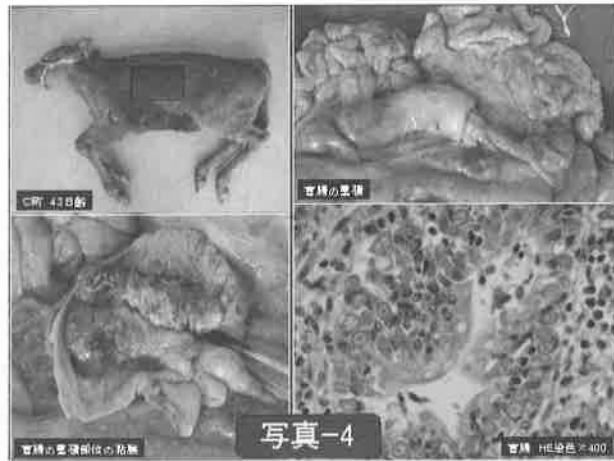


表-8 線虫感染の月別発生頭数

年度	合計	4	5	6	7	8	9	10	11	12	1	2	3 (月)
14	14	1	2				3	7					1
15	3		1				1						1
16	0												
17	0												
18	4	1	1	1		1							
	21	2	3	2	0	1	4	0	7	0	0	1	1

表-9 乳頭糞線虫感染の月別発生頭数

年度	合計	4	5	6	7	8	9	10	11	12	1	2	3 (月)
14	10		2		3	1			4				
15	3		2									1	
16	1	1											
17	0												
18	0												
	14	1	4	0	3	1	0	0	4	0	1	0	0

線虫感染、表-9 は乳頭糞線虫、表-10 はロタウイルス感染症の発生状況であるが、いずれもここ3年間は減少傾向にある。

4. 放牧関連ではピロプラズマ病とワラビ中毒の発生が多かった。両疾病とも5月～11月の放牧期に発生が多く、平成14～15年度に発生が多く、最近は減少傾向にある(図-2・3)。

表-10 ロタウイルス病の月別発生頭数

年度	合計	4	5	6	7	8	9	10	11	12	1	2	3 (月)
14	14	1			1	1		1	2	1	4	2	1
15	18		1	2	2	3			1		5	4	
16	0												
17	0												
18	0												
	32	1	1	2	3	4	0	1	3	1	9	6	1

図-2 ピロプラズマ病の発生頭数の推移

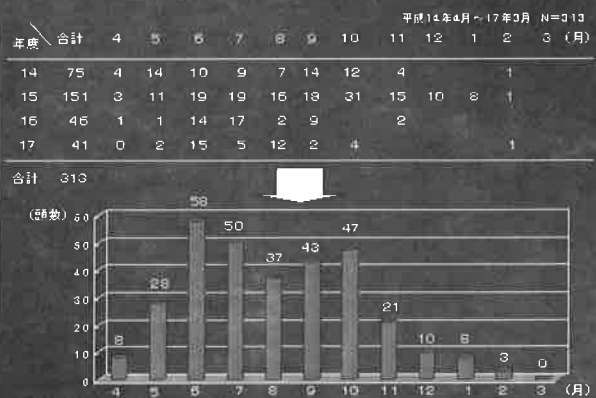
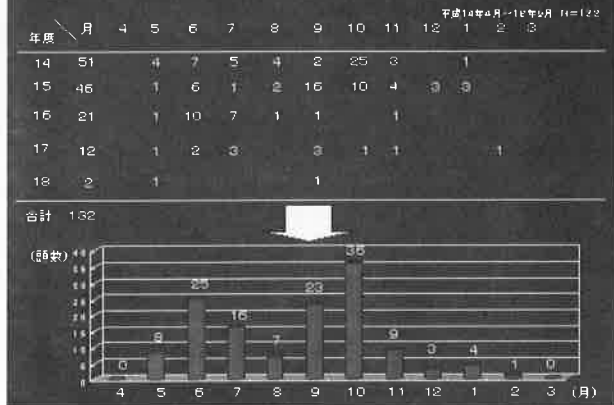


図-3 ワラビ中毒の発生頭数の推移

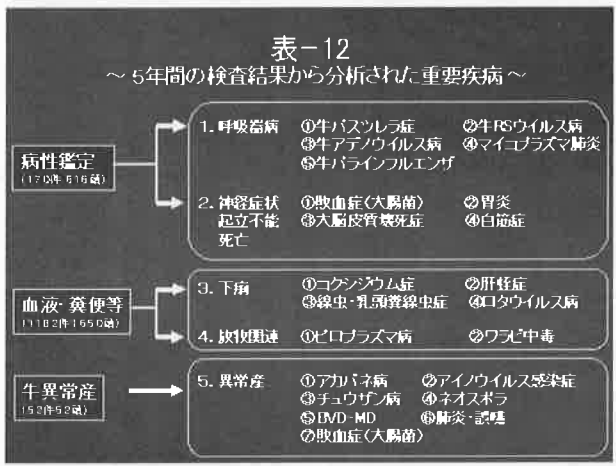


5. 牛異常産については過去5年間で52件の検査を実施した。アルボウイルス感染症やネオスポラ症の発生はなく、肺炎・誤嚥性肺炎が13件、鎖肛1件、BVD-MDによる死産1件、敗血症3件認められた(表-11)。なお平成14～15年度を中心に顔面頭形・体形・脳・眼球等のいずれかの異常を伴った原因不明の異常産が多く認められた。

表-11 牛異常産

年度	頭数	アカリネ病 アイ チュウザン ネオスポラ	BVD-MD	肺炎 誤嚥	鎖肛	敗血症 (大腸菌、IPPI)	原因不明 (比較頭形、体形、脳、眼球異常、 顔面頭形、体形、脳、眼球異常)
14	17	発 生 な し		3		2	16
15	12			3		1	8
16	8		1	3			7
17	9						9
18	6				4	1	1
合計	52	0	1	13	1	3	41

【まとめ・考察】過去5年間で1404件・2318頭の検査を実施し、診療獣医師や農家に回答・指導を実施してきた。今回、長年に渡る多くのデータを整理することにより管内での疾病の発生状況を把握することができた(表-12)。過去5年間の疾病の発生状況から今後衛生対策に取り組むべき重要疾病は、呼吸器病では牛パストツレラ症、牛RSウイルス病、牛アデノウイルス病、マイコプラズマ肺炎、牛パラインフルエンザである。また最近では飼養頭数の多い農場での呼吸器病ウイルスに関する検査依頼が増加しており、今後も多頭飼育農場での検査を実施し呼吸器病ワクチンプログラムを主体とした対策を講じる必要がある。敗血症、胃炎については、他の疾病に引き続き発生するケースが多く予防は困難だが、大脳皮質壊死症や白筋症については臨床獣医師に疾病の特徴を周知し発生予防と早期発見・治療に役立てたい。下痢症では肝蛭症、コクシジウム症、線虫感染、ロタウイルス感染症が多く、特に肝蛭症については糞便検査が行われず確定診断に至らなかった症例を含めると件数は多く、成牛での被害が大きく、今後地域全体に渡る対策が必要である。コクシジウム症、線虫感染、ロタウイルス感染症は発生の多い重要な疾病であるが、最近は減少傾向にあり、今後も予防的対策を指導し発生を抑えたい。放牧関連では最近は減少傾向ながらピロプラズマ感染、ワラビ中毒は重要な疾病であるため、放牧を行う農家への予防や対応策の指導を継続する必要がある。牛異常産は今後もワクチン接種によりアルボウイルスによる異常産を防止し、また新たな病原体や浸潤状況のモニタリングのため病性鑑定の継続が必要である。



家畜衛生の危機管理が叫ばれる中、万が一の伝染病に対する備えは重要であるが、頻繁に被害を及ぼしている重要疾病が明らかとなったので、これらの疾病に対する危機管理も重要である。今後は、明らかとなった重要疾病を主体に管内全体ないし農場個別の衛生指導を充実させ、また診療獣医師等との連絡をより密にし効率的な衛生対策を実施する。

7. ヨーネ病防疫実施実務必携の検討

玖珠家畜保健衛生所

○足立高士 三村純一郎 菅 正和 大竹孝一

【はじめに】

本県におけるヨーネ病（以下、本病）は、1997年以降今年10月末までに25件35頭の発生がみられ、当管内でも今年度3件4頭の発生がみられた。これまで本病の防疫対応については家畜伝染病予防法および大分県ヨーネ病防疫対策実施要領に基づき実施されているが、具体的な防疫作業を示す防疫手順書とされるものは存在しないため、職員の経験などにより作業は進められる。（図－1）

ヨーネ病が発生した場合、図－2に示す作業が行われ、初動防疫は可及的速やかに数日の間に完結しなければならない。

ヨーネ病の防疫対応

- ◎ 家畜伝染病予防法
家畜防疫対策要綱（平成11年4月12日 十一畜A第六十二号）
II 個別疾病対策《家畜伝染病》5 ヨーネ病
- ◎ 大分県ヨーネ病防疫対策実施要領
第2 防疫措置 I 発生予防対策
 - ・ 導入牛の検査
 - ・ 法第5条による定期検査
 - ・ 法第51条による立入検査II まん延防止対策
 - ・ 発生時の措置
 - ・ 清浄化措置
- ◎ 防疫作業手順書（ヨーネ病防疫実務必携）
具体的な防疫作業手順を示す実務的なものは存在しない

図－1 ヨーネ病の防疫対応

ヨーネ病の発生時の対応

1. 疑似患畜発生
2. 患畜発生
3. 患畜の評価
4. 患畜の殺処分
5. 発生農場の消毒作業
6. 全頭検査
7. 疫学的調査
8. 手当金交付事務

} 初動防疫
数日間で完結

図－2 ヨーネ病発生時の対応

【検討事項】

そこで、これまでの発生を踏まえ家畜保健衛生所の対応の実態等を取りまとめ、今後の本病発生時の迅速かつ的確な対応を実施するため、防疫実施実務必携の検討を行ったので報告する。

検討事項として、4点に着目し次いで防疫実務必携の作成を行った。（図－3）

ヨーネ病防疫実施実務必携

- ◎ 目的
本病発生時の対応等を取りまとめ、今後の発生時の迅速かつ的確な対応を実施するため防疫実施実務必携の検討。
- ◎ 検討事項
 1. 本病発生の仕分け
 2. 疑似患畜発生時の対応
 3. 本病発生時（患畜決定時）の対応
 4. 農場消毒の検討
- ◎ 防疫実務必携の作成
 1. 防疫事務・防疫作業のフロー作成
 2. 経時的な作業（事務）の明記
 3. 作業内容の明記
 4. 必要機材等の列挙
 5. 本病防疫実務必携の汎用版作成

図－3 ヨーネ病実施実務必携の検討

1. 本病の仕分け

家畜伝染病予防法第5条による検査（定期検査）や、臨床症状からの病性鑑定または動物検疫所からの通報などによる発生があるが、患畜決定根拠は3点に絞られ、後述の消毒作業の検討の参考とした。（図-4）

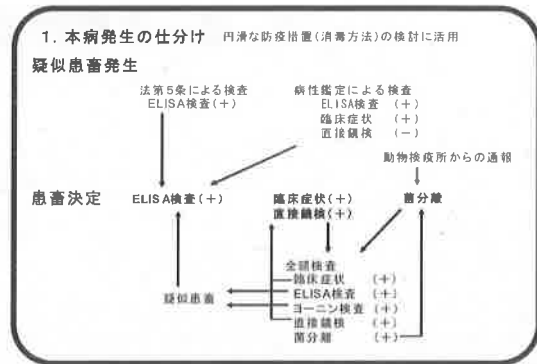


図-4 本病発生の仕分け

2. 疑似患畜発生時の対応

本病の発生のほとんどが家伝法第5条に基づく定期検査によることが多い。そのため突発的な伝染病の発生ではなく、発生が想定される時点で当該生産者・市町村・関係団体等と情報の共有を図ることで、発生時の円滑な防疫作業が行えると考えられた。

また、生産者と関係者の不安を軽減することを目的として、この時点で本病の病性や発生から清浄化への防疫対応等を十分に説明することとした。（図-5）

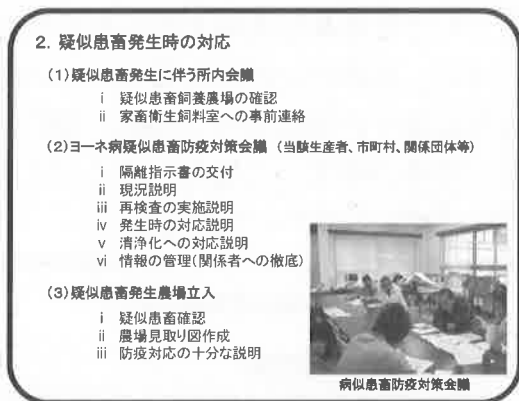


図-5 疑似患畜発生時の対応

3. 患畜発生時の対応

(1) 事務処理の経時的な作業の整理（図-6）

急がれる事務処理を発生当日・2日目以降に行うものと整理し、順を追ってまとめた。

(2) ヨーネ病患者防疫会議の開催

既に疑似患畜発生時点で説明を行っているため、この時点では具体的な日程調整（評価会、殺処分、農場消毒など）、それぞれの作業の人員確保等が中心となる。

(3) 発生農場へのケア

農場にとっては初めての家畜伝染病の発生であることが大半で、具体的な防疫措置、清浄化に向けての今後の対応等を十分に説明することで生産者の不安を和らげ、防疫に対し前向きな考えを付与することが、防疫作業の第1歩と考える。（図-7）

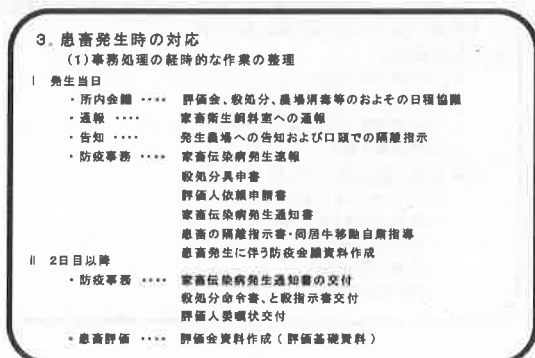


図-6 患畜発生時の対応（事務処理）

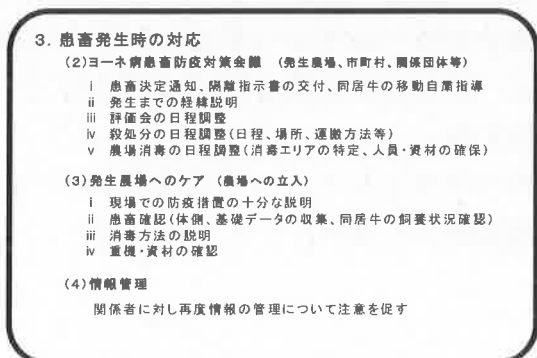


図-7 患畜発生時の対応（防疫作業）

4. 農場消毒の検討

(1) 農場消毒重点箇所の設定 (図-8)

[感染防止]

本病感染の可能性の高い分娩・哺育・育成の各牛房を重点箇所とし、すべての発生農場に適用する。

[まん延防止]

本病の原因菌を多く排菌する成牛飼養場所の消毒については、飼養形態・発生形態によって消毒方法を検討した。




4. 農場消毒の検討

(1) 農場消毒重点箇所の設定

○ 感染防止のための消毒 (すべての発生農場に適用)

本病感染の感受性の高い分娩・哺育・育成牛房の徹底消毒

- i 床、壁、柵などに付いたフンの入念な除去
- ii 牛房の水洗
- iii 石灰乳の塗布
- iv 哺育器材の消毒(熱湯などによる消毒)

○ まん延防止のための消毒

本病の病原体を排出する可能性のある成牛飼養場所の消毒
飼養形態、発生形態によって消毒方法を検討
堆肥盤および堆肥化施設の消毒

図-8 消毒重点箇所の設定

(2) 消毒方法の検討 (図-9)

農林水産省令(家畜伝染病予防法施行規則)に基づく石灰乳塗布は、繋ぎ飼養の牛床・分娩・哺育・育成の牛房では有効であるが、フリーストール・ルースバーン・パドックなどの消毒には大量の敷料を現状では処理できないため不適であると考えられるため、石灰混合敷料による重層を検討した。

4. 農場消毒の検討

(2) 消毒方法の検討

省令別表2の消毒基準に基づく石灰乳塗布

↓

繋ぎ牛舎、分娩房・哺育・育成牛房の消毒に有効

↓

フリーストール・ルースバーンの消毒には不適

↓

消石灰混合オガコの重層を検討




図-9 消毒方法の検討(1)

(3) 消毒方法の検討 (図-10)

飼養形態別、発生形態別との組み合わせで消毒方法を検討した。

繋ぎ飼養で排菌が少ないと判断される場合は、牛床とその周辺の消毒。

ルースバーンなどで排菌が多いと判断される場合は、石灰を混合した大量の敷料でコーティングするように重層することとした。

4. 農場消毒の検討

(3) 飼養形態別、発生形態別消毒方法の検討

	血液検査で検出 解剖所見(無~少)	臨床症状(+) 菌分離(+)
繋ぎ牛舎	石灰乳の塗布	石灰乳の塗布
	患者牛床とその周辺 バンクリナーの消毒 堆肥の発酵促進	すべての牛床 バンクリナーの消毒 堆肥の石灰混合 強制発酵促進
フリーストール ルースバーン	給餌通路・スタチンの消毒 敷料への石灰散布および 石灰混合敷料の重層 堆肥の発酵促進	給餌通路・スタチンの消毒 敷料の表面節理薬、石灰混 合の大量敷料の重層による コーティング 堆肥の石灰混合 強制発酵促進

図-10 消毒方法の検討(2)

(4) 作業従事者の安全確保 (図-11)

〔危害要因〕

- ・ 作業従事者に経験者が少ないこと。
- ・ 強アルカリ性の石灰を使用すること。
- ・ 夏場の作業があり得ること。

〔対応策〕

- ・ 従事者に作業内容を十分に説明。
- ・ 家畜防疫員の配置
- ・ 作業者の交代や休憩、飲料水の等の準備。

4. 農場消毒の検討

(4) 作業従事者の安全確保

危害要因： 作業従事者に経験者が少ないこと
強アルカリ性の石灰を使用すること
夏場の作業もあり得ること

対応策： 作業従事者に作業内容を十分に説明
石灰についての説明、取り扱いに防疫員を配置
作業者の交代や休憩、飲料水等の準備



図-11 作業従事者の安全確保

【防疫実務必携の作成】

これまでの検討事項を踏まえ、防疫実施実務必携の作成を行った。

1. 防疫事務・防疫作業のフロー作成

(1) 文書事務のフロー (図-12)

図は文書事務のフローである。
疑似患畜発生から手当金交付請求
までの執務の進捗状況が一目で確
認できるようにした。

◎ 防疫実務必携の作成

1. 防疫事務・防疫作業のフロー作成

文書事務のフロー作成： 疑似患畜発生から手当金交付請求まで

ヨネネ病発生に係る文書 (対応) フローチャート

発生農場 ()			
項目	年月日	文書番号	あて先
1. 発生			
(1) 事前連絡			
動検から菌分離の通知			
家保における検査陽性			
伝染病決定通知、隔離指示 (文書・口頭)			
(2) 文書通知			
(ア) 伝染病決定の通知 (伝染病決定通知)			
(イ) 隔離指示 (隔離指示書)			
(ウ) 伝染病発生報告 (伝染病発生連絡)			
(エ) 患畜殺処分具申 (患畜殺処分意見具申書)			
(オ) 汚染物品処分具申 (汚染物品処分意見具申書)			
2. 評価			
(1) 評価人入選			
(ア) 評価人推薦 (評価人依頼申請書)			
(イ) 評価人委嘱 (評価人委嘱状) 評価会通知			
(ウ) 評価 (添付資料①②③④⑤)			
3. 殺処分			

図-12 文書事務のフロー

(2) 防疫作業のフロー (図-13)

疑似患畜発生から初動防疫終了
までの作業内容をチェックリスト
とし、直面する作業、今後の作業
が一覧となっている。

◎ 防疫実務必携の作成

1. 防疫事務・防疫作業のフロー作成

作業のフロー作成： 疑似患畜発生から初動防疫終了まで

ヨネネ病発生に係る作業フロー

発生農場 ()			
項目	年月日	作業内容	チェック
1. 疑似患畜発生			
(ア) 所内会議			
(イ) 疑似患畜防疫会議開催			
(ウ) 農場立入			
(エ) 家畜衛生資料室への事前連絡			
2. 患畜発生			
(1) 事前準備			
(ア) 発生決定までの大凡のスケジュール			
(2) 発生(1日目)			
(ア) 所内会議			
(イ) 家畜衛生資料室への連絡			
(ウ) 農場への告知・関係機関への連絡			
(エ) 患畜発生防疫会議の招集			
(オ) 農場立入(可能な限り)			
(2) 発生(2日目)			
(ア) 患畜発生防疫会議開催			
(イ) 隔離指示書交付、同居牛移動自粛要請			
(ウ) 評価会資料作成準備			
農場概要 個体確認 会議資料 調査・記録用紙 体測計・カメラ等			
迅速な検査対応			
今後のスケジュール 各種文書作成 (文書事務へ)			
防疫会議資料作成 農場へのケア (防疫措置説明) 個体確認			
日程調整 処分場所決定 消毒箇所特定 調査・記録用紙 体測計・カメラ等			

図-13 防疫作業のフロー

2. マニュアル作成


項目（直面する状況）ごとに整理し、事前準備の内容・啓示的な作業内容などを明記。今後のスケジュールで次の作業の準備が可能となるよう作成した。（図－14）

（図－14）

◎患者発生時の対応	
項目 （直面する状況）	1. 再検査 (1) 事前準備：所内会議の準備（採材・移動・検査）でのタイムスケジュール (2) 事前連絡：家畜衛生科等に事前連絡 (3) 採材：個体確認 農家ケア→再度、防疫措置の説明、告知の遅れの時間を説明 (4) 再検査：前回（初回）陽性血清を同時に検査
事前準備内容 （作業内容）	2. 陰性の場合 (1) 速やかに当該農場・市町村・関係団体等への連絡 → TEL・FAX (2) 農場立入（可能な限り） → 隔離解除の指示
経時的な作業内容	3. 陽性の場合 （1日） (1) 所内会議：防疫会議・評議会、殺処分、農場閉鎖等のおおよその日程協議 (2) 通報：家畜衛生科に速あておおよその概要を通報 ○殺処分命令書および評価人委嘱状のおおよその交付月日の確認 (3) 当該農場・市町村・関係団体等へ連絡 → コーネ病患者防疫会議の出席 (4) 農場立入（可能な限り）：患者の隔離指示（口頭） 同居牛の移動自粛を指導（口頭） 当該農場への防疫措置を十分に説明
防疫事務	(5) 防疫事務：ローネ病防疫室との連携畜産生牛ホルダー ・家畜伝染病発生通報 ・患者検処分具申書 ・家畜伝染病発生通知 ・評価人依頼申請書 ・患者隔離指示書 ・患者防疫会議出席文書 ・患者防疫会議資料
今後のスケジュール	(6) スケジュールの調整：評議会、殺処分、消毒、全頭検査の日程 ・殺処分年月日、場所、患者（生体・死体）の運搬方法 ・焼却処分場所（当該家保） 宇佐家保（日産調整）焼却炉阿受承認 ・消毒エリアの設定、消毒方法、必要消毒器材の検討

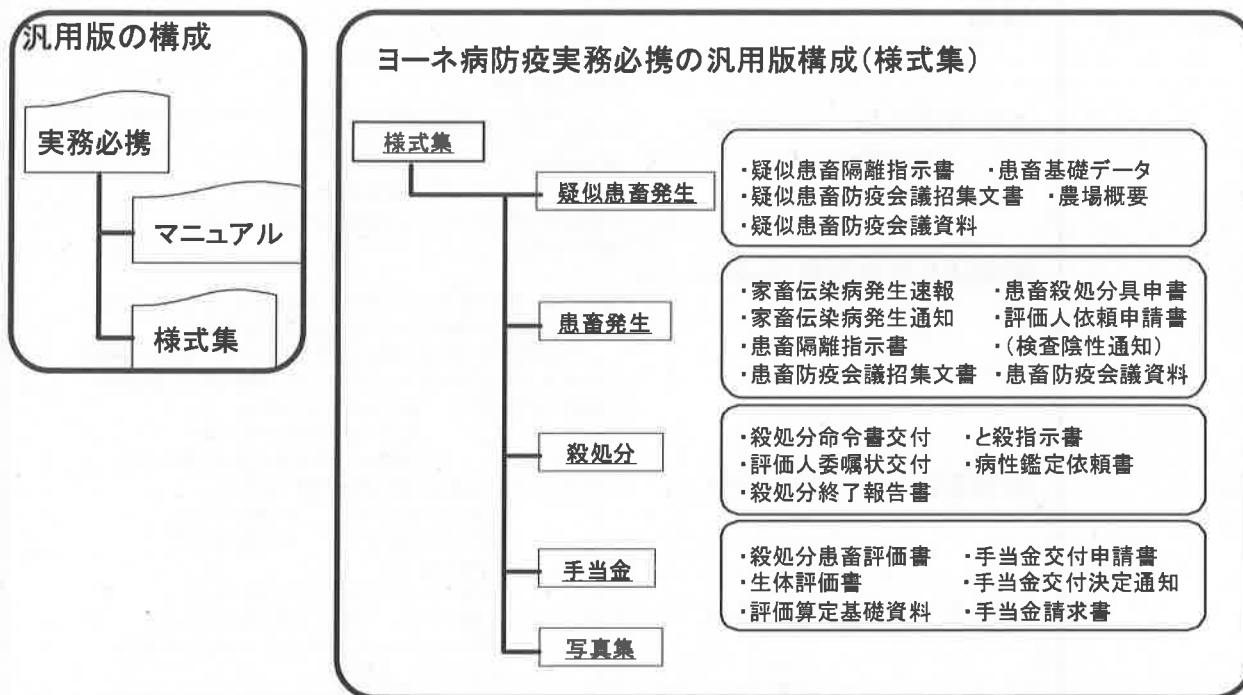
現場での対応が中心の項目では、事前に準備するもの・当日の作業・必要機材を列挙し、参考写真を添付した。（図－15）

（図－15）

◎患者発生時の対応	
事前準備内容 （事前に準備すること）	1. 前日までに準備すること (1) 農場への指示：当該農場に消毒エリアを明示し、消毒方法を説明 消毒エリアの片付けを指示 消毒に使用する道具の準備を指示 消毒薬（生石灰または消石灰）の手配指示 消毒時に使用する重機（ホイールローダー等）の手配 (2) 家保の準備：動力噴霧器（大型：大分・玖珠）の搬入 燃料の確保（ガソリン・灯油） 人員の確保 家保準備資材の点検・搬入
当日の作業内容	2. 当日 (1) 消毒従事者に消毒方法（作業手順）と消毒エリアの説明 (2) 消毒従事者の安全確保のための説明（注意事項説明） (3) 消毒エリアの牛の移動
必要機材の列記	3. 準備するもの ・農場が準備するもの 生石灰または消石灰、スクレッパー、庭ほうき、竹ほうき、布きれ 必要な重機 ・家保が準備するもの 防疫服、マスク、ゴーグル、手袋、消毒液、動力噴霧器、燃料 前掛け、厚手のゴム手袋、軍手、石灰乳用カン、記録用紙、カメラ ・各自準備するもの 作業服、着替え、帽子
参考写真	 ほうき・スクレッパー スクレッパー 動噴作業者

3. ヨーネ病防疫実務必携汎用版の作成

これらの内容をまとめたヨーネ病防疫実務必携汎用版（CD版）を作成した。構成はマニュアルと様式集から成り、様式集は防疫措置のそれぞれの場面で必要となる順にまとめた。（図－16）



図－16 ヨーネ病防疫実務必携汎用版構成

【まとめ】

今回、円滑かつ的確な防疫措置および事務処理の迅速化を目的とした包括的なマニュアルの作成を行った。

今後は本防疫実施実務必携を活用し、防疫対策の的確化かつ円滑化を図りたい。

また、新たな知見が示された場合、または防疫作業に不具合等が生じる場合などには、いつでも書き換えられることを期待し、さらに実用的に改訂されることが望ましい。

8. 管内牛肥育農場における生産性向上の取り組みについて

豊後大野家畜保健衛生所

○志村英明・渡邊春香

【はじめに】

牛肥育農場は、肉用子牛の買い支えや肥育データのフィードバックなど地域、県内一貫経営としての重要な役割を果たしている。当所では、2003年から管内 A 農協の B、C 2 肥育農場において、生産性及び肥育成績の向上を図るための取り組みを行ってきたので報告する。

【肥育農場の問題点について】

枝肉成績については、2003 年度県平均と比較して、B 農場では BMS No.、C 農場では枝肉重量及び BMS No. が低いことであった。管理面については、B 農場は牛房数が多く、導入時 1 群 6～7 頭で飼養し、肥育中期以降は 1 牛房で 2 頭を飼養するため、牛 1 頭当たりの面積は広く、各肥育ステージのエサを計量混合しコンテナに分け給与していたため労働力は大きかった。C 農場については、1 房あたり 6 頭と多頭で牛 1 頭当たりの面積は狭く、飼料給与はワゴン車から行っており労働力は B 農場に比べ小さかった（表 1）。

【肥育農場の概要について】

飼養規模および濃厚飼料給与体系については図 1 に示し、両農場とも黒毛和種の去勢、雌を飼養し、B 農場は 198 頭、C 農場は 214 頭を飼養していた。B、C 農場とも肥育前期にはビタミン A 添加 肥育前期飼料を給与し肥育中期から後期にかけてビタミン A 無添加の肥育後期飼料に切り替え、肥育中期中頃よりビタミン A 添加の肥育仕上げ飼料を肥育後期飼料と併用する、とよのくに体系であった。

表 1

肥育農場の問題点

1. 枝肉成績(去勢)

区分	枝肉重量 (kg)	BMS	ロース芯 (cm)	バラ厚 (cm)	皮下脂肪厚 (cm)
県平均 n=1022	437	4.5	49	7.3	2.6
B農場 n=41	466	3.8	50	7.7	2.6
C農場 n=48	414	3.8	46	7.1	2.4

2. 管理面

農場	牛房数	1房当たり頭数	飼料給与方法	労働力
B農場	多い	2～7頭	牛房毎コンテナに分け飼槽へ	大
C農場	少ない	6頭	ワゴン車から直接飼槽へ	小

肥育農場の概要

1. 飼養規模

(H16, 2, 1)

区分	飼養頭数	品種	性	労働力	備考
B農場	198	黒毛和種	去勢・雌	2人	♂193 ♀5
C農場	214	黒毛和種	去勢・雌	2人	♂169 ♀45

2. 濃厚飼料給与体系(B、C農場)

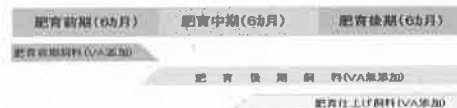


図 1

【検討会について】

生産性及び肥育成績の向上を図るため、2003 年 10 月 10 日 A 農協肥育成績向上検討会を開催し検討を行った（図 2）。構成メンバーは家畜保健衛生所、畜産試験場、振興局、D 畜産センター、A 農協、B、C 肥育農場現場管理者で行った。改善項目として B 農場は飼料給与体系の見直し、C 農場については 1 牛房当たりの頭数削減と管理マニュアルの徹

底を設定した。

【改善内容1について】

B農場の改善内容を図3に示し、BMS No.の向上と労働力軽減を目標とし給与飼料体系の変更を行い、飼料を3種類から2種類に変更した。改善前の肥育前期にはビタミンA添加肥育前期飼料を給与し、肥育中期から後期にかけてビタミンA無添加の肥育後期飼料に切り替え、肥育中期中頃よりビタミンA添加の肥育仕上げ飼料を肥育後期飼料と併用を行っていましたが、改善後は肥育前中後期一貫して肥育後期飼料を給与し、肥育中期中頃よりビタミンA添加の肥育仕上げ飼料を肥育後期飼料と併用する体系に変更した。これにより、前期、後期飼料を混合する手間が省かれ労働力の省力化が図られた。C農場の改善内容を図4に示し、給与飼料体系の変更は行わずとよのくに体系で飼養し、導入時の除角及び飼養密度の低減を行い、1牛房当たり6頭から5頭へ変更した。

A農協肥育成績向上検討会

1. 検討会開催
平成15年10月10日
2. 構成メンバー
・家畜保健衛生所 畜産試験場 振興局
・D畜産センター A農協
・B、C肥育農場現場管理者
- 3 改善項目
B農場 飼料給与体系の見直し
C農場 1牛房当たりの頭数の低減 管理マニュアルの徹底



図2

改善内容1 (B農場)

改善目標: BMSの向上、労力軽減
給与飼料の変更(3種類→2種類)

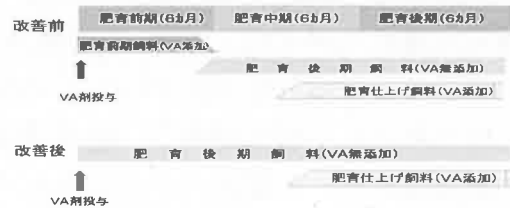


図3

【改善内容2について】

両農場の衛生、飼養管理の概要を表2に示し、衛生管理ではプログラムによる寄生虫駆除を実施し、肝蛭駆除は導入時及び肥育9ヵ月齢、内部寄生虫駆除については、導入時に行った。血液検査、体重測定、飼養管理指導については巡回する2ヵ月毎に行い、糞便検査は必要時に行った。C農場については1牛房当たりの頭数が多いことから、導入時の除角と飼養密度の低減を実施した。両農場とも、個体管理が十分ではなかったため、給与量や残飼量の記帳を行い個体管理徹底を行った。

改善内容1 (C農場)

改善目標: BMS、枝肉重量の向上

1. 飼料体系: 変更無し(とよのくに体系)



2. 除角: 導入時実施

3. 飼養密度低減

図4

表2

改善内容2

指導事項	前	検討会	後
衛生管理			
・肝蛭	未実施	検 討 会 実 施	導入時、肥育9ヵ月
・内部寄生虫	未実施		導入時
・血液検査	必要時実施		2ヵ月毎
・糞便検査	必要時実施		必要時実施
飼養管理			
・除角(B農場)	未実施	施	未実施
(C農場)	未実施		導入時
・飼養密度低減(B農場)			
(C農場)	5㎡/頭		6㎡/頭
・体重測定	未実施		2ヵ月毎
・個体管理徹底	未記帳		記帳
個体管理指導	不定期		2ヵ月毎

【調査項目について】

調査項目を表3に示し、改善後の発育並びに血中ビタミンA濃度の推移を確認するために行い、血液検査、体重測定、枝肉成績について調査を行った。

2003年10月導入牛については、B、C農場去勢牛各10頭を導入後から2ヵ月毎に採血及び体重測定を行い、VA, VE, TCHO, BUNを検査をした。

2004年4月以降は、肥育活力アップ事業対象牛について検査を行い、B農場は1,4,7ヵ

月、C農場は 1,5,8 ヲ月に採血及び体重測定を行い、VA, VE, TCHO, BUN、GOT, GGTを検査した。調査は全て去勢牛のみ行った。

表 3

調査項目		
(調査目的 : 改善後の発育並びに血中ビタミンA濃度の推移)		
項目	平成15年10月導入牛	平成16年4月以降導入牛
調査牛	B、C農場去勢牛各10頭	肥育活力アップ事業対象牛
血液検査	VA、VE、T-cho、BUN	VA、VE、T-cho、BUN、GOT、GGT
(採血時期)	導入後～2ヵ月毎	<div style="border: 1px solid black; padding: 5px; display: inline-block;"> B農場 1. 4. 7ヵ月 C農場 1. 5. 8ヵ月 </div>
体重測定	導入後～2ヵ月毎	
枝肉成績	出荷時	出荷時

【ビタミンA濃度推移について】

2003 年 10 月、改善後導入された、 B, C各農場の平均血中ビタミンA濃度の推移を図5に示し、両農場とも肥育中期まではマニュアル通り推移したが、中期にB農場は急激な上昇を見せ、C農場については中期以降マニュアルより低く推移した。B農場については現場担当者が間違って通常投与量の3倍量のビタミン剤を投与したことによります。他の血液検査項目については、異常はなかった。

2004 年度以降導入されたB, C各農場の平均血中ビタミンA濃度推移を図6に示し、B、C農場とも3回目はマニュアルよりも高めに推移していたが、ほぼマニュアル通り推移した。他の血液検査項目については、異常はみられなかった。

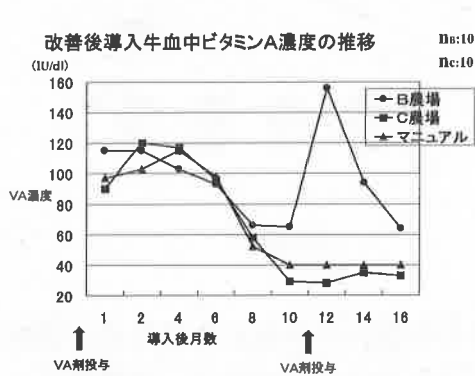


図 5

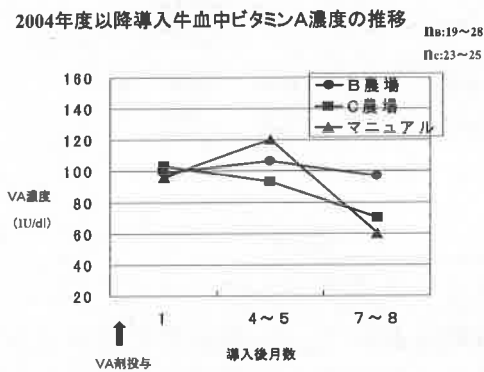


図 6

【体重推移について】

改善後、導入されたB, C農場の体重推移を示し(図7)、導入時ほぼ同じ体重でありましたが、導入後 16.7 ヲ月において 95.3 Kg C農場の方が低い結果となりました。2004 年度以降導入されたB, C農場の体重推移を示し(図8)、B、C農場ともほぼ同様の推移を示し、マニュアルよりも発育は良い傾向であった。

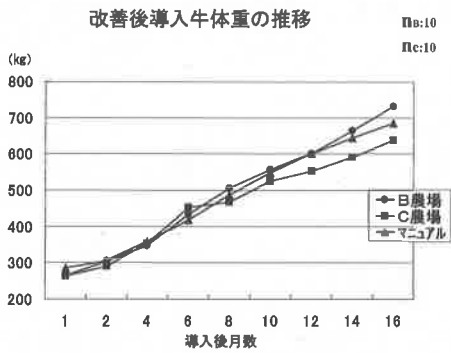


図 7

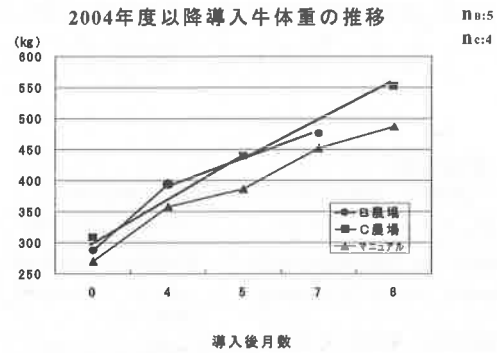


図 8

【枝肉成績について】

図 9 は、2003 年から 2006 年 8 月迄までの年度別枝肉成績において、枝肉重量をグラフで表し、縦の白い破線は、検討会後改善を行った牛の出荷が始まる時期を表します。B 農場については、2004 年に大きく低下し、2006 年度にはほぼ 2003 年度並にまで回復しております。C 農場は 2005,2006 年度より向上が見られた。

図 10 は、BMSNo.の年度別推移をグラフで表し、B 農場については毎年、C 農場についてもほぼ毎年向上がみられた。

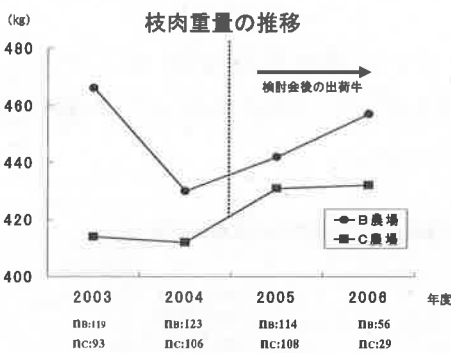


図 9

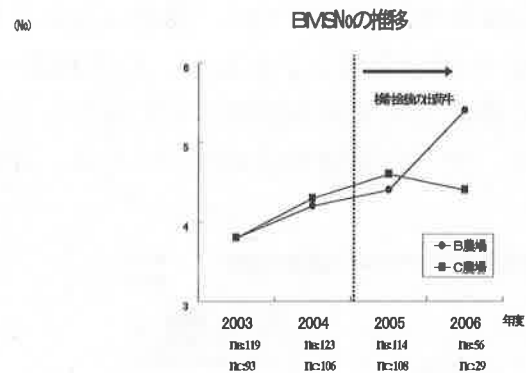


図 10

【ビタミンA濃度分布について】

肥育時において、一部の牛にビタミンA値が欠乏域近くの低い牛が見られるため、2004 年度導入された B, C 農場の血中ビタミンA濃度のばらつきを図 11 に示す。両農場とも各肥育期間において、おおきなばらつきがあることが認められ、導入後約 1 ヶ月での採血で、ビタミン剤を投与した後であっても、58.6, 45.2, 31.6 IU/d l と低い個体があり、導入前にはかなりビタミンA値の低い個体がいることが推察された。

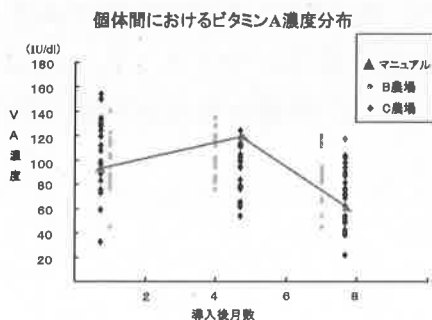


図 11

【まとめ及び考察について】

2 肥育農場問題点としては、B農場はBMSNo.、飼料調整の繁雑さがあり、検討会后給与飼料体系の改善等を行うことによりBMSNo.及び作業効率の向上が図られた。C農場は枝肉重量、BMSNo.、飼養密度に問題点があり除角や飼養密度の低減等の改善策を行うことにより枝肉重量並びにBMSNo.の向上が図られた。ビタミンA濃度については、改善後導入されたB農場の中期に管理者の間違いによる、ビタミンA剤大量投与により大幅に上昇がみられたが、それ以外は、おおむねマニュアルどおり推移した。

導入後のビタミンA濃度については、ばらつきが大きく市場出荷時においてビタミンA値が低い牛が見られたため今後は、飼養規模の大きい農家等の市場出荷前子牛のビタミンA値の把握を行い、ビタミンA値のばらつきが少なくなるよう飼養管理指導の徹底に努めたい。

9. 小規模養鶏場・愛玩鶏飼養者に対する衛生指導

豊後大野家畜保健衛生所

○(病鑑)河野泰三・(病鑑)内田雅春
丸山信明・大平英明

要約

複数の小規模養鶏場及び愛玩鶏飼養者よりニューカッスル（ND）生ワクチン投与後の急死、翼麻痺等一概に ND を否定できない症状を呈す通報を受理。病性鑑定の結果、全て ND は否定されヒストモナス症、コクシウム症、大腸菌症とそれぞれ診断。飼養管理や衛生対策について調査。結果、経験歴の浅さ、疾病に対する認識不足、ND ワクチン未投与や投与時の不備、愛玩鶏飼養者ではインターネットの掲示板を介し前歴不詳の鶏を入手後異常発生など不十分な防疫対策が判明。これを受け事例ごとに疾病対策、飼養衛生管理基準の遵守等を指導。対策終了後、小規模養鶏場には適時的確な ND ワクチンの投与、愛玩鶏飼養者には周辺農場への危険性を優先し家保が ND ワクチン投与。結果、全て感染防御するに十分な抗体価を獲得し、その後の疾病も未発生。事例は氷山の一角に過ぎず養鶏業を伝染性疾病から守る上で、小規模養鶏場・愛玩鶏飼養者への指導・対応が不可欠であることが示唆。

【はじめに】

2005年5月の福岡県内での事例をはじめとするニューカッスル病（以下 ND）は、飼養羽数 1,000羽未満の小規模農家や愛玩鶏飼養者（以下小規模愛玩飼養者）における発生が増加傾向にある。万が一 ND が発生した場合、その被害は発生農場ばかりでなく周辺農場ひいては流通面を含む養鶏産業に深刻な経済的損失をもたらすこととなる。

当家保では ND の発生を未然に防止するため、養鶏生産者に対する巡回指導の強化、パンフレットの配布によるワクチン投与の周知徹底、ファクシミリを活用した発生情報の提供等を行ってきた。また、傍ら市、JA 等関係機関に対しても注意を促すとともに、小規模愛玩飼養者をも含めた異常鶏発生時の通報体制を確立してきた。

こうした中、2006年4月以降、複数の小規模愛玩飼養者より一概に ND を否定できない臨床症状を呈す通報が寄せられ、病性鑑定を行うとともに、ND ワクチン投与を主体とする衛生指導を行ったので報告する。

【材料及び方法】

材料は 2006年4月から10月までの間に、管内3戸の飼養者宅で採取した鶏血清 40 検体、生体 7羽を供試した。

検査は剖検実施後、病理、細菌、ウイルス、寄生虫学的検査、血清抗体検査を実施した。病理学的検査は 10%中性緩衝ホルマリン固定後、常法に従い HE 染色し鏡検した。細菌学的検査は 5%羊血液加寒天培地、DHL 寒天培地、10%卵黄加 CW 寒天培地を用い好気、嫌気条

件下にて分離培養並びに定量培養を実施した。ウイルス学的検査は気管及び F 嚢乳剤を作成し発育鶏卵尿膜腔内に接種、48 時間後尿膜腔内液を採取し HA 試験を実施した。また、気管、F 嚢、クアアスワ[®] から RNA を抽出し NDV に特異的なプライマーを用いた RT-PCR を行うとともに、市販簡易キットを用いインフルエンザウイルスの抗原検出を行った。寄生虫学的検査は小腸及び盲腸内容物を用いウイソキシ[®]変法にてコクシジウムオーシストの検出を行った。血清学的検査は ND-HI 試験、AIV 抗原(動物衛生研究所分与)を用いた寒天ゲル内凝集反応、MG、MS、ひな白痢については各診断液を用い血清急速凝集反応を実施した。

【事例ごとの疾病発生状況】

A農場

飼養者は野菜を主体とする園芸農家で、副業として6年前より養鶏業を開始した。

発生は2006年5月、生後27日齢の雛が入雛5日目以降、1日あたり1～2羽程度の死亡が数日間持続した。飼養者は飼料会社の知人より、NDワクチンの投与時期の遅延、隣県におけるNDの発生からNDを疑うとの指摘を受け家保に届け出た(図-1、表-1)。

病性鑑定の結果、剖検所見では肝臓表面に菊花状の斑紋形成、盲腸内にチーズ様物の貯留を認めた。細菌、ウイルスともに関与は否定され、ヒストモナス原虫の重度寄生を認めたことからヒストモナス症と診断した(表-2、写真-1、2)。

- 所在地：T市
- 飼養目的：採卵(有精卵)
- 飼養羽数：500羽
 - 1号鶏舎：300羽 (379日齢)
 - 2号鶏舎：200羽 (27日齢)
- 飼養形態：開放・平飼
- 飼養年数：6年
- その他：野菜農家の副業




図-1 A農場の概要

表-1 A農場事例の疾病発生の概要

- 発生日：H18. 5. 22
- 品 種：もみじ
- 発症日齢：27日齢
- 臨床症状：入雛後の雛が衰弱死
- 関連情報：入雛5日目より1～2羽/日程度の割合で、雛の死亡が持続
飼料会社に相談したところ、NDワクチン接種が遅延しており「NDでは？」との助言を受ける

表-2 A農場事例の病性鑑定成績

- ◇**病理学的検査**
剖検所見：肝臓表面に菊花状の斑紋形成
盲腸内にチーズ様物の貯留
組織所見：肝臓：肝細胞壊死、ヒストモナス原虫重度寄生
盲腸：粘膜にヒストモナス原虫散見
- ◇**細菌学的検査**
有意菌の分離陰性
- ◇**ウイルス学的検査**
ND、HPA1ウイルス分離陰性
- ◇**寄生虫学的検査**
コクシジウムオーシスト検出陰性

診断名：ヒストモナス症



写真-1 A農場事例の肝臓

肝臓表面に菊花状の斑紋形成が確認された

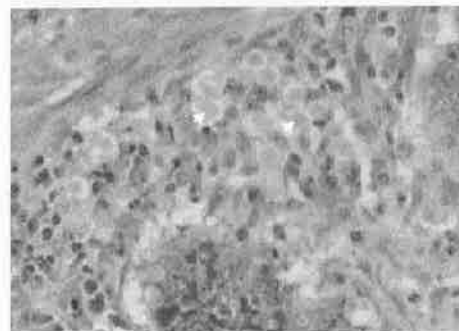


写真-2 A農場事例の肝臓(×40)

壊死巣内にヒストモナス原虫が確認された


B農場

飼養者は脱サラ後、B市に移住し新規就農し、3年間の飼養経験を有し自作の解放・平飼鶏舎で900羽の大分県特産地鶏「豊のしゃも」を飼養していた。

発生は2006年6月、生後22日齢の雛にNBワクチンを飲水投与した翌日から沈鬱、食欲不振、立毛の症状を呈し、入雛した200羽のうち90羽が2日間で死亡した(図-2、表-3)。

病性鑑定の結果、剖検所見では盲腸の著しい腫大が認められたが、主要臓器に著変は認められず、細菌、ウイルスともに関与は否定された。しかしながら、盲腸内様物に著しいコクシジウムオオシストが検出され、病理組織所見では消化管に各発育ステージのコクシジウムが重度寄生する所見が観察されたことから鶏コクシジウム症と診断した(表-4、写真-3、4)。

- 所在地: B市
- 飼養目的: 肉用(特用鶏)
- 飼養羽数: 900羽
 - 育雛舎: 200羽 (22日齢)
 - 育成舎: 700羽 (30~120日齢)
- 飼養形態: 開放・平飼
- 飼養年数: 3年
- その他: 農業に魅力を感じ、脱サラして就農



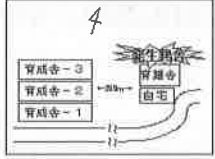


図-2 B農場の概要

表-3 B農場事例の疾病発生の概要

- 発生月日: H18. 6. 2
- 品 種: 豊のしゃも
- 発症日齢: 22日齢
- 臨床症状: 沈鬱、食欲減退、立毛
- 関連情報: NB生ワクチンを飲水投与した翌日より、雛の死亡羽数が著しく増加
入雛した200羽のうち90羽が死亡

死亡状況	
・5月31日	NB生ワクチン投与
・6月1日	60/200羽死亡
・6月2日	30/200羽死亡

表-4 B農場事例の病性鑑定成績

- 病理学的検査**
剖検所見: 盲腸の著しい肥厚
組織所見: 回腸: 粘膜上皮細胞壊死、マロガート、ミロガートを中心としたコクシジウムの重度寄生
盲腸: び慢性壊死、コクシジウムオオシスト観察
- 細菌学的検査**
有意菌の分離陰性
- ウイルス学的検査**
ND、HPAIウイルス分離陰性
- 寄生虫学的検査**
盲腸内容に著しいコクシジウムオオシスト検出

診断名: 鶏コクシジウム症

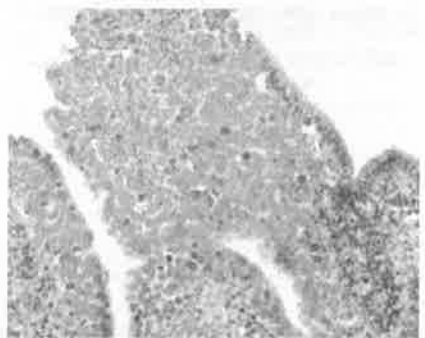


写真-3 B農場事例の回腸(×20)
粘膜腔の殆どがコクシジウムによって占められていた

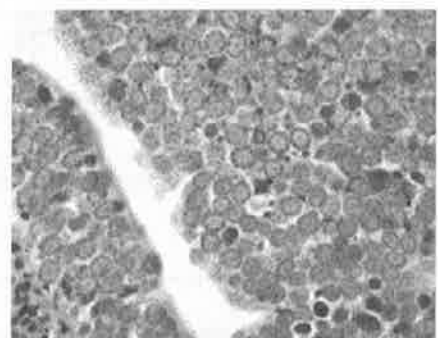


写真-4 B農場事例の回腸(×40)
マロガート、ミロガート、シトなど各発育ステージが観察される

C農場

飼養者は20代女性で1年前より愛玩目的で烏骨鶏、チャボを主体に約100羽飼養していた。飼養する品種及び入手先は多種多様で県内はもとより、インターネットの愛鶏家サイトの掲示板に記された他者の飼養出来なくなった前歴不詳の鳥を県外から入手したこともあった(図-3、表-5)。

- 所在地：T市
- 飼養目的：愛玩
- 飼養羽数：約100羽
- 飼養形態：開放・平飼
- 飼養年数：1年

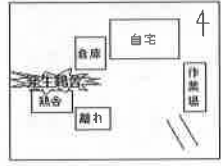


図-3 C飼養者の概要

表-5 C飼養者事例の疾病発生の概要

- 発生日日：H18. 7. 13
- 品 種：烏骨鶏、黒チャボ、ブラマー、アローカナ、ボリスブラウン、七面鳥 e t c
- 発症日齢：不明
- 臨床症状：黒チャボ：元気消失、緑色水様の嘔吐
ブラマー：元気消失、左翼麻痺
- 関連情報：インターネットの掲示板でブラマーの譲渡情報を見て県外より宅配便を介し入手
また、県内愛好家より黒チャボの譲渡を受ける
導入鶏及び同居鶏が異常を呈し、インターネット検索したところ、症状がNDIに類似していたことから届出

発生は2006年7月、1羽の黒チャボが元気消失(写真-5)、緑色水様物の嘔吐を呈し、同居するブラマーも同時期に元気消失、左翼麻痺を呈した(写真-6)。



写真-5 元気消失した黒チャボ



写真-6 左翼麻痺を呈し座り込むブラマー

病性鑑定の結果、黒チャボでは腹水貯留、繊維素析出、消化管の著しい腫大(写真-7)、ブラマーではチャボの卵大に腫大した直腸(写真-8)が観察された。2羽ともにウイルスの関与は否定されたが、コクシジウム寄生と黒チャボの腹水及び主要臓器から *E.coli* が分離されたことから、大腸菌による敗血症と診断した(表-6)

表-6 C飼養者事例の病性鑑定成績

- ◇病理学的検査
 - 剖検所見：
 - 黒チャボ：腹水貯留、繊維素析出、消化管腫大
 - ブラマー：直腸がチャボ卵大に腫大
 - 組織所見：
 - 腸胃、脾臓、消化管における結合織増殖
 - 偽好酸球浸潤・顆膜炎
- ◇細菌学的検査
 - 黒チャボ：主要臓器、腹水より *E.coli* 分離
 - ブラマー：有意菌の分離陰性
- ◇ウイルス学的検査
 - ND、HPA I ウイルス分離陰性
 - ND (RT-PCR)；NDV 特異遺伝子検出されず
- ◇寄生虫学的検査
 - 盲腸内容にコクシジウムオーシスト検出

診断名：大腸菌による敗血症



写真-7 腫大した消化管(黒チャボ)



写真-8 腫大した直腸(ブラマー)

【飼養者の疾病に対する疾病認識調査】

各飼養者に共通して飼養経験の浅さ、飼養管理面での不備不足が垣間見られたことから鶏疾病に対する認識やワクチン投与方法等について調査を行った。

その結果、飼養者に共通して ND に対する認識や漠然とした知識は有するものの、詳細な把握がなされておらず、予防する上で重要なワクチンの適時的確な投与がなされていなかった。加えて ND や HPAI 以外の鶏伝染性疾病に対する知識が、極めて乏しいことも判明した (表-7)。

表-7 各飼養者のND等鶏疾病に対する認識並びに発生予防対策

事例	NDに対する認識 (知識)	NDワクチンの投与状況	NDワクチンの投与回数 (頻度)	NDワクチン入手先	ND、HPAI以外の疾病知識
A農場	あり	あり	1~2回/年	獣医師	なし
B農場	あり	あり	導入の都度 (導入後3カ月まで)	地区鶏病対策協議会	なし
C飼養者	あり*	なし	なし	なし	なし

※: インターネットによる情報入手

【各事例に対する衛生指導】

先の疾病調査成績等を踏まえ、各農場に応じた衛生指導を表-8に示した。

A農場については、ヒストモナス症の治療終了後、直ちにNDワクチンの投与を指示するとともに、投与の遅れや投与頻度が少なかったことを受け、飼養者と協議しワクチネーションプログラムを作成した。B農場については、コクシジウム症対策の指導を行うとともに、投与する際の基本注意事項の遵守を指導した。C飼養者については、有効薬剤の投薬、コクシジウム症の治療を指示するとともに、これまでNDワクチンの投与を行っていないこと、愛玩鶏飼養者でNDワクチンの入手困難とのことから、県の手数料条例に基づき、家保が投与を行った。また、飼養衛生管理基準の遵守、無防備、無計画な入手は控えるよう指導した。

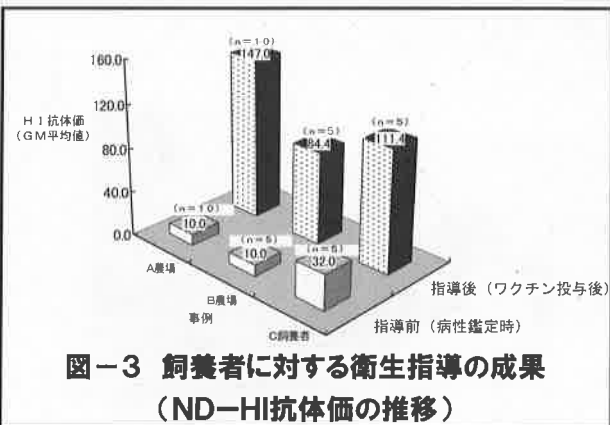
表-8 各飼養者に対する衛生指導

事例	ND予防対策	疾病防止対策
A農場	ワクチンプログラムの作成 (投与内容や時期を協議・指導)	・鶏盲腸虫の駆虫 ・鶏舎消毒の励行等
B農場	ワクチンの確実な投与方法 (投与時の注意事項を指導)	・コクシジウム対策 (オールタイムの消毒徹底)
C飼養者	NDワクチンの投与 (手数料条例に基づき家保が実施)	・コクシジウム症の治療 ・飼養衛生管理基準の遵守 ・鶏舎清掃・消毒の励行 ・無防備な導入や計画性のない繁殖を控えさせる

また、飼養衛生管理基準の遵守、無防備、無計画な入手は控えるよう指導した。

【飼養者に対する衛生指導の成果 (ND-HI抗体価の推移)】

事例毎の病性鑑定時と衛生指導後のND-HI抗体価の推移を図-3に示した。指導前に対し指導後はいずれの事例ともに、抗体価は有意に上昇し感染防御するに十分な抗体価を獲得した。また、各事例ともに指導後、疾病の発生もなく良好な経過を辿った。



【まとめ及び考察】

小規模・愛玩飼養者からの異常鶏の届出を受け病性鑑定を行った結果、ヒストモナス症、コクシ

ウム症、大腸菌症が要因であった。飼養者に共通して、飼養経験の浅さ、疾病に対する認識不足、ND に対する心得はあるものの、ワクチン投与に不備があるなど防疫対策が不十分であることが判明した。また、愛玩鶏飼養間ではインターネットと宅配便により安易な譲渡が行われている反面、前歴不詳の鳥が往航するといった防疫上の危険性も示唆された。

周辺農場への配慮を含め、ND ワクチン投与を主とする衛生指導を行った結果、各事例ともに感染防御するに十分な抗体価を獲得した。しかしながら、小規模愛玩飼養者では ND ワクチンの必要性を感じるものの、その入手や投与に際し苦慮している面があり、早急なる支援策が必要と考えられた。加えて、ND 以外の鶏疾病や人畜共通感染症に対する知識向上、生産性を含めた飼養管理面での技術向上等々の山積した課題に対し、我々が順序立てて導いていく必要性が感じられた。

今回の事例は稼業、愛玩問わず家きん類を飼養する者の氷山の一角に過ぎず、養鶏業を ND 等の伝染病から守る上で、大規模飼養者へこれまで以上の衛生指導を行う傍ら、小規模愛玩飼養者に対する継続的かつ地道な衛生指導が今後益々重要で必要不可欠なものと思われた。

10. 哺乳ロボットを活用した黒毛和種飼養農家における衛生管理手法の検討

宇佐家畜保健衛生所

○羽田野昭 安部行倫

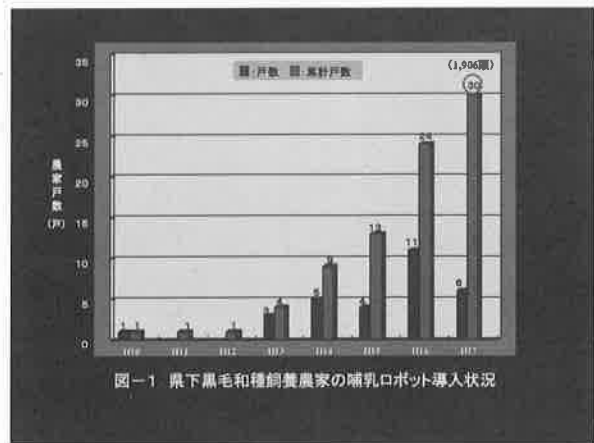
大塚高司 吉森治平太

【はじめに】

近年、肉用牛繁殖農家の規模拡大に伴い、省力化等を目的として、哺乳ロボットによる哺育牛の管理（以下 哺乳ロボット体系）が増加傾向にあり、当県では、平成10年度から導入がみられ、平成17年度末の累計戸数は30戸、母牛頭数は1,906頭に至っている（図-1）。

しかしながら、衛生管理を怠り各種疾病が蔓延した場合、若齢群飼ゆえに短期間に呼吸器病や下痢等の伝染性疾病による多大な損耗被害も想定される。

今回、当家保管内の哺乳ロボット体系農家において、哺乳ロボット牛舎内での呼吸器病の多発及び、多数の死亡が短期間に見られたことから、哺乳ロボット体系における衛生管理プログラム策定のため、調査、検査及び試験を実施し、衛生管理手法の検討を行ったので報告する。



【A農家の呼吸器病発生状況及び死亡子牛の病性鑑定結果】

今回管内において、呼吸器病が多発したA農家の概要を表-1に示す。A農家は、繁殖肥育一貫経営を行う農家で、哺乳牛は哺乳ロボットを活用していた。

次に、呼吸器病の発生状況（表-2）ですが、本年4月頃より、哺乳ロボット牛舎内の哺乳牛群に呼吸器症状が蔓延し、同年5月に2頭、6月に6頭計8頭が死亡。死亡した子牛の出生月と生産頭数との死亡率は高く、平均死亡月齢は1.6ヵ月齢であった。

A農家立入時の状況では、哺乳ロボット牛舎内の通路に、飼料袋等が散乱、ミルクを作成するミキサー内はひどく汚れ、子牛は削瘦し、数頭から咳及び白色鼻汁の排出がみられた（図-2）。

表-1 A農家概要		表-2 子牛の死亡状況																																																							
1. 飼養形態: 繁殖・肥育一貫 2. 飼養状況 繁殖部門: 52頭 黒毛和種母牛: 50頭 黒毛和種種母牛: 2頭 肥育部門: 81頭 黒毛和種: 71頭 交雑種: 47頭 ホルスタイン種: 27頭 合計: 865頭		黒毛和種子牛の死亡状況 <table border="1"> <thead> <tr> <th>項目</th> <th>11月</th> <th>12月</th> <th>1月</th> <th>2月</th> <th>3月</th> <th>4月</th> <th>5月</th> <th>6月</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>呼吸器症状</td> <td colspan="8">→</td> </tr> <tr> <td>死亡頭数(頭)</td> <td>0</td> <td>0</td> <td>2</td> <td>5</td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> </tr> <tr> <td>生産頭数(頭)</td> <td>1</td> <td>4</td> <td>7</td> <td>2</td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> </tr> <tr> <td>死亡子牛出生月(頭)</td> <td></td> <td>1</td> <td>3</td> <td>4</td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> </tr> <tr> <td>死亡率(%)</td> <td></td> <td>100</td> <td>75.0</td> <td>57.1</td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> </tr> </tbody> </table> * 平均死亡月齢: 1.6ヵ月齢		項目	11月	12月	1月	2月	3月	4月	5月	6月	呼吸器症状	→								死亡頭数(頭)	0	0	2	5					生産頭数(頭)	1	4	7	2					死亡子牛出生月(頭)		1	3	4					死亡率(%)		100	75.0	57.1				
項目	11月	12月	1月	2月	3月	4月	5月	6月																																																	
呼吸器症状	→																																																								
死亡頭数(頭)	0	0	2	5																																																					
生産頭数(頭)	1	4	7	2																																																					
死亡子牛出生月(頭)		1	3	4																																																					
死亡率(%)		100	75.0	57.1																																																					
3. 子牛の哺乳形態 自家産黒毛和種子牛及び交雑種: 哺乳ロボット ホルスタイン種導入牛: 哺乳ロボット																																																									

平成18年7月中旬に、重度の呼吸器病を呈し死亡した5ヵ月齢の黒毛和種子牛1頭について解剖を実施した。

死亡牛の剖検所見では、死亡時、当該子牛は極度に消瘦し、顔面から頸部にかけて重度の白癬菌症が見られ、肺表面には、白色腫瘍が多数散在、剖面から膿汁の排出がみられた(図-3)。

病性鑑定として、ウイルス学的検査、細菌学的検査及び病理学的検査を実施した結果、肺から*Pasteurella multocida*(以下 P. m)が分離され、牛パスツレラ症と診断、また、ウイルス学的検査では、ウイルス未分離であったが、病理組織検査より肺に多数のマクロファージや多核巨細胞が見られたことからウイルスの関与も推察された(表-3)。

また、同居牛9頭の呼吸器病検査を実施した結果、細菌学的検査では、2頭よりP. mを、他の2頭より*Mannheimia haemolytica*(以下

M. h)を通常より多くの菌量分離し、ウイルス学的検査では、3検体プール材料3グループ中2グループより牛パラインフルエンザ3型ウイルス(以下 PIV-3)遺伝子を検出、抗体検査では、1頭からPIV-3の陽転がみられ、さらに、3検体プール材料3グループ中1グループよりPIV-3が分離され、今回の呼吸器病の原因は、PIV-3、P. m及びM. hの混合感染によるものと推察された(表-4)が、A農家の呼吸器病の多発及び子牛死亡率の増加の原因として、牛舎環境の悪化が影響していると判断し、次の調査を実施した。

【哺乳ロボット体系黒毛和種農家の衛生管理等調査】

哺乳ロボット体系黒毛和種農家の衛生管理等調査として、平成13年度から平成16年度までに県補助事業を利用し、哺乳ロボットを導入した黒毛和種飼養農家24戸のうち、平成17年4月以前より稼働を開始している20戸を調査対象とし、調査内容は、表記載の13項目とした(表-5)。



図-2 哺乳ロボット牛舎内の状況(H18.6月下旬立入時)



図-3 剖検所見(H18.7月中旬)

表-3 死亡子牛の病性鑑定
材料及び方法

1. 細菌学的検査
各主要臓器、脳 細菌分離 5%馬血液寒天培地
DHL寒天培地
2. ウイルス学的検査
肺 ウイルス分離 定法
3. 病理学的検査
各主要臓器、脳、脊髄筋 組織検査 H. E染色

病性鑑定結果

1. 細菌学的検査
肺 *Pasteurella multocida*(P.m)を分離
 2. ウイルス学的検査
肺 ウイルス分離陰性
 3. 病理学的検査
特: 1) 嚥下の化膿性壊死性気管支肺炎が認められた。
2) マクロファージや多核巨細胞が多数認められた。
3) ウイルス関与を推察
- 診断: 牛パスツレラ症、ウイルス関与を疑う

表-4 呼吸器病検査
材料及び方法

・検査対象牛: 哺乳ロボット牛舎飼養子牛9頭

1. 細菌学的検査
鼻腔スワブ 細菌分離 5%馬血液寒天培地
DHL寒天培地
2. ウイルス学的検査
1) 遠転子検査 鼻腔スワブ (No.1~No.3, No.4~No.6,
No.7~No.9のプール材料)
H1N1, IBRSV, BRSV
- 2) 抗体検査 ベア血清 中和試験又はELISA
(H1N1, PIV-3, BRSV,
BVDV1, Ad-7)
- 3) ウイルス分離 鼻腔スワブ (上記のプール材料) 定法

検査結果

1. 細菌学的検査
細菌分離 No.2よりP.m分離
No.1及び*Mannheimia haemolytica*(M.h)分離
No.3分離体、通常より多量の菌を分離
 2. ウイルス学的検査
1) 遠転子検査 No.1~No.1, No.4~No.6, PIV-3遺伝子検出
2) 抗体検査 No.1~PIV-3抗体陽転
3) ウイルス分離 No.4~No.6よりPIV-3分離陰性
- 診断: PIV-3、P.m及びM.hの混合感染を疑う

表-5 哺乳ロボット体系黒毛和種農家の衛生管理等調査
(調査内容等)

- 調査対象
・H13~H16に県補助事業を利用し哺乳ロボットを導入した黒毛和種飼養農家24戸のうち、
H17.4月以前より稼働開始している農家20戸。
- 調査対象農家飼養概況
・対象農家20戸/母牛頭数 延べ1,111頭(平均56.6頭)
・哺乳ロボット牛舎内子牛平均飼養頭数 13.5頭(H18.4月調査時の頭数)
- 調査内容
1. 子牛の疾病発生状況(平成17年度)
 2. 哺乳ロボット付属器具の洗浄状況
①ミキサー洗浄
②ミルクホース洗浄
③乳首洗浄
 3. 哺乳ロボット導入牛舎内の消毒状況
 4. 飼槽の清掃状況
 5. 敷料の交換状況
 6. 踏み込み消毒槽設置状況
 7. 代用乳保管状況
 8. 哺乳ロボットによる添加剤投与状況
 9. 予防的な畜生虫駆除実施状況
 10. 暑熱及び防寒対策の状況
 11. 子牛へのワクチン接種状況
 12. 分娩~離乳の飼養状況
 13. 哺乳ロボット体系の問題点等の聴取

調査結果の詳細は、表-6及び表-7に記載のとおりだが、全般的に各農家の衛生管理状況には、ばらつきが見られ、特に、子牛の疾病発生状況では、疾病発生率10%未満が約半数と低く、哺乳ロボット付属器具の洗浄状況では、各器具毎に、かなりばらつきがみられ、踏み込み消毒槽では、半数以上が未設置という状況であった。

また、暑熱及び防寒対策では、対策を2種類実施していた農家で疾病発生率の減少傾向がみられ、哺乳ロボット体系の問題点の聴取では、ミルクホース内残留ミルクの細菌等の汚染を危惧する農家や、ミルクホース等の洗浄に苦慮する農家が多数を占めた。

調査結果を基に、各器具洗浄と疾病発生率との関連を図-4に示した。各器具の手動洗浄の有無、方法及び間隔で、○をプロットした所に、疾病発生率の減少傾向がみられたことから、洗浄方法等の差異が、疾病発生率に大きく関与していることが示唆された。

このことは、残留ミルクの細菌汚染に関するデータが皆無なことや、各農家の衛生管理に対する意識の低さが問題と推察された。

図-4を基に、疾病発生率の減少傾向が特にみられた各器具の洗浄内容をまとめた結果、洗浄内容としては、各器具共に手動洗浄を実施、洗浄方法は洗剤とブラシ等で実施、洗浄間隔は7日以内が良好であった(表-8)。

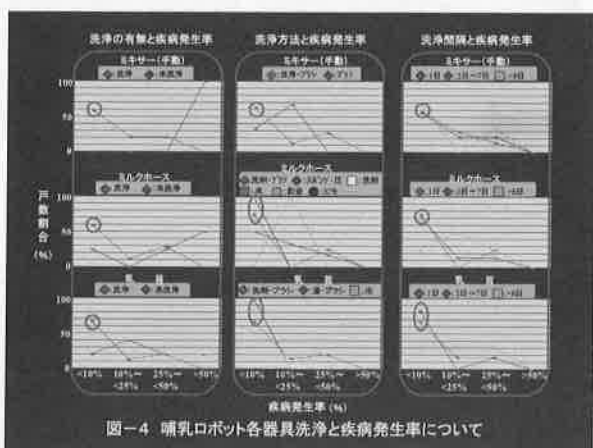


図-4 哺乳ロボット各器具洗浄と疾病発生率について

表-6 哺乳ロボット体系黒毛和種農家の衛生管理等調査 (調査結果-1)

1. 子牛の疾病発生状況(平成17年度)
子牛の疾病発生率:10%未満11戸、10%~25%未満4戸、25%~50%4戸、50%以上1戸。
2. 哺乳ロボット付属器具の洗浄状況
①ミキサー洗浄
自動+手動洗浄16戸、自動洗浄のみ1戸、平均手動洗浄間隔(10戸)5.4日(1日~10日)、洗浄方法は洗剤+ブラシ13戸、ブラシのみ1戸。
②ミルクホース洗浄
洗浄16戸、未洗浄1戸、平均洗浄間隔(16戸)18.4日(1日~180日)、洗浄方法はスポンジ+水圧6戸、洗剤+長針金+ブラシ1戸、洗剤のみ1戸、水のみ2戸、針金のみ1戸、なし1戸。
③乳首洗浄
洗浄15戸、未洗浄4戸、平均洗浄間隔(15戸)6.1日(1日~20日)、洗浄方法は、洗剤+ブラシ12戸、湯+ブラシ1戸、湯1戸、水1戸。
3. 哺乳ロボット導入牛舎内の消毒状況
消毒実施16戸、未実施2戸、平均消毒間隔(15戸)9.3日(4日~165日)、消毒方法は、消毒薬噴霧+消石灰散布4戸、消毒薬噴霧のみ11戸、消石灰のみ1戸、火炎1戸。
4. 飼槽の清掃状況
消毒実施16戸、未実施4戸、平均清掃間隔(16戸)4.1日(1日~10日)。
5. 敷料の交換状況
平均交換間隔(10戸)21.2日(1日~180日)。
6. 踏み込み消毒槽設置状況
設置8戸、未設置12戸、消毒槽の種類は、逆性石鹼薬剤2戸、消石灰6戸。

表-7 哺乳ロボット体系黒毛和種農家の衛生管理等調査 (調査結果-2)

7. 代用乳保管状況
別室専用6戸、牛舎内のボックス内1戸、哺乳ロボット保管庫内5戸、牛舎内設置4戸。
8. 哺乳ロボットによる添加剤投与状況
添加14戸、未添加1戸、添加剤種類は生菌剤又は生菌混合飼料16戸、その他定期的にサルファ剤等抗生剤添加4戸。
9. 予防的な害虫駆除実施状況
雌牛虫駆除実施17戸(平均2.2回)、コクシジウム駆除実施11戸(平均3.5回)、肝臓虫駆除2戸(平均1回)。
10. 暑熱及び防寒対策の状況
①暑熱対策
対策実施16戸、未実施1戸、対策内容は、ファン4戸、換気扇6戸、カーテン上げ5戸、遮光シート等1戸、スプリンクラー1戸、対策2種類実施農家1戸は、全て疾病発生率10%未満。
②防寒対策
対策実施16戸、未実施1戸、対策内容は、牛舎断熱11戸、ヒーター等11戸、防寒マット1戸、対策2種類実施農家4戸のうち、牛舎断熱+ヒーター等の4戸は、全て疾病発生率10%未満。
③接産19戸、接産農家19戸のワクチンの接種は全て呼吸器病ワクチン、平均接種月齢は5.36月(4~16月)。
12. 分娩~離乳の飼養状況
各ステージでの平均飼養日数は、母子飼育5.4日、単独飼育7.7日、哺乳ロボット飼育17.2日、離乳41.1日であったが、単独飼育期間は21日~23日、哺乳ロボット飼育期間は14日~111日とかなりバラつきあり。
13. 哺乳ロボット体系の問題点等の聴取
問題点としては、ミルクホース内の残留ミルクの細菌汚染や、ホースの洗浄に苦慮が4戸、呼吸器病の発生に苦慮4戸、添加剤の登録数が少ない1戸、等になし。

表-8 哺乳ロボット各器具洗浄と疾病発生率について (まとめ)

器具洗浄と疾病発生率の傾向を基に、疾病発生率の低下が見られた各器具の洗浄内容

洗浄器具種類	洗浄の有無	洗浄方法	洗浄間隔
ミキサー(手動)	実施	洗剤+ブラシ	1~7日以内
ミルクホース	実施	洗剤+長針金+ブラシ	1~7日以内
乳首	実施	洗剤+ブラシ	1~7日以内

【哺乳ロボット施設内の各種検査及び試験】

衛生管理向上を目的として、前記調査結果を基に、ミルクホース内の残留ミルク細菌検査及び哺乳ロボット洗浄試験を実施した。

1. ミルクホース内の残留ミルク細菌検査（表－9）

まず、現状把握のため、ミルクホース内の残留ミルク細菌検査を実施した。

検査方法は、洗浄方法や間隔等が異なる3戸（A～C農家）のミルクホース内残留ミルクを無菌的に採取し、DHL培地を用いて培養後、コロニー数及び菌の同定を実施した。

各農家における各器具の洗浄状況では、A農家は手動洗浄未実施、B農家は各器具の手動洗浄は実施していたが、ミルクホース及び乳首等の洗浄間隔が約1ヵ月と長く、また、ミルクホースの洗浄方法はスポンジと水圧での方法を用い、C農家は各器具の手動洗浄をほぼ毎日し、ミルクホースの洗浄方法は、ミルクホース径の長さのある長い針金に市販のブラシを装着した長針金ブラシ及び洗剤を用いていた。

検体採取時の状況は、採材時期が8月下旬～9月上旬で、平気気温は約24℃～26℃、B、C農家のミルクホース及び乳首等の最終洗浄日は検査前日に行い、各農家の授乳頭数は8～9頭であった。

検査結果では、各器具未洗浄のA農家が、 5×10^5 と最も汚染度が高く、菌種も大腸菌他4種類の腸内細菌が検出され、B農家は 1×10^3 の大腸菌を検出、C農家は 1×10^4 の緑膿菌が検出され、授乳器具手動洗浄の必要性が示唆された。

また、洗浄状況では、C農家が最も細菌の汚染度が低いと思われたが、 10^4 の緑膿菌が検出され、ミルクホースや乳首等の洗浄方法の過程に、消毒薬の漬け置き等が必要と思われた。B農家は、ミルクホース等の洗浄間隔が長く、検査結果以上の汚染度を想定していたが、ミルクホースの細菌汚染防止策として、代用乳給与時の最後に、温水投与（自動設定）を実施していたことが、汚染度の上昇を抑制したのではないかと推察された。

表－9 ミルクホース内残留ミルク細菌検査

検査方法 洗浄方法や間隔等が異なる3戸のミルクホース内残留ミルクを無菌的に約5ml採取し、DHL培地、37℃、24h定量培養後、コロニー数測定及び同定を実施。

各農家における各器具の洗浄状況等

農家名	種類	ミキサー 清掃 (手動)	乳首 清掃 (手動)	ミルクホース 清掃 方法 (手動)	乳首 接続部 清掃 方法 (手動)
A農家	自動のみ			1ヶ月 スポンジ、水圧	1ヶ月 ブラシ、洗剤
B農家	自動+手動	毎日	毎日	ブラシ、洗剤	1ヶ月 ブラシ、洗剤
C農家	自動+手動	毎日	毎日	1ヶ月 長針金ブラシ、洗剤	1～1日 ブラシ、洗剤

※B農家 代用乳給与時に20～30minの温水投与(自動設定)

検体採取時の状況

農家名	採材時期	平均気温(℃)	ミルクホース、乳首 最終洗浄日(日)	授乳頭数 (頭)
A農家	8月下旬	24.5	1日前	8
B農家	8月下旬	24.5	1日前	8
C農家	8月上旬	24.5	1日前	8

検査結果

農家名	CFU/ml	菌種
A農家	5.0×10^5	大腸菌他腸内細菌4種
B農家	1.0×10^3	大腸菌
C農家	1.0×10^4	緑膿菌

2. 哺乳ロボット洗浄試験（表－10）

次に、前記調査結果及び残留ミルク細菌検査結果を参考に、哺乳ロボット洗浄試験を実施した。

試験方法は、2戸（A、B農家）において、ミルクホース等器具の、交換後3日後及び7日後の、ミルクホース内残留ミルクを、表9同様の検査方法で実施した。

試験前日に、A農家はミルクホース及び乳首等の洗浄を長針金ブラシと洗剤で実施、B農家はA農家の洗浄方法に消毒薬の漬け置きを追加、ミキサー洗浄はA、B農家共に、試験期間中、毎日1回の手動洗浄を洗剤とブラシで実施した。

また、B農家は、代用乳給与時の温水投与（自動設定）を実施した。

表－10 哺乳ロボット洗浄試験

試験方法 管内2戸(A,B農家)において、異なる洗浄方法で洗浄したミルクホース等器具の、交換後3日後及び7日後の残留ミルクを無菌的に約5ml採取し、DHL培地、37℃、24h定量培養後、コロニー数測定及び同定を実施。

試験中及び試験前日における各器具の洗浄方法

農家名	種類	ミキサー 洗浄日 (手動)	乳首 清掃 (手動)	ミルクホース 清掃日 (手動)	方法 (手動)	洗浄日 (手動)	方法 (手動)	洗浄日 (手動)	方法 (手動)
A農家	自動+手動	毎日	毎日	前日	長針金ブラシ、洗剤	前日	ブラシ、洗剤	当日	ブラシ、洗剤
B農家	自動+手動	毎日	毎日	前日	長針金ブラシ、洗剤 +消毒薬の漬け置き	前日	ブラシ、洗剤 +消毒薬の漬け置き	当日	ブラシ、洗剤

※B農家 代用乳給与時に20～30minの温水投与(自動設定)

検体採取時の状況

農家名	採材時期	平均気温(℃)	3日後	7日後	授乳頭数 (頭)
A農家	8月中旬	24.7	24.8	24.8	8
B農家	8月中旬	24.7	24.8	24.8	8

試験結果

農家名	CFU/ml		菌種	
	3日後	7日後	3日後	7日後
A農家	2.6×10^4	2.0×10^4	大腸菌(2.4×10^3) 緑膿菌(2.4×10^3)	緑膿菌(1.6×10^4)
B農家	$<1.0 \times 10^4$	1.5×10^3	-	Providencia sp. (1.5×10^3)

検体採取時の状況は、採材時期が9月中旬、平均気温は約23℃～24℃、授乳頭数は共に8頭であった。

検査結果では、A農家が器具交換後3日後、7日後共に、 10^4 の大腸菌や緑膿菌が検出されたことに対し、B農家は3日後で 10^1 未満、7日後で 10^3 であり、B農家の洗浄方法が良好であった。

【衛生管理プログラムの検討】

哺乳ロボット体系における衛生管理プログラムとして、通常 of 自然授乳方式及び人工哺乳方式による衛生管理に基に、今回の呼吸器病の多発事例、衛生管理等調査結果、ミルクホース内残留ミルク検査結果及び洗浄試験結果を勘案し、哺乳ロボット体系の衛生管理プログラムを検討し、各ステージでの衛生管理上のポイントを作成した(表-11)。

分娩前後及び単独飼育期間中のポイントは、表に記載のとおり通常飼育及び人工哺乳時と同様の衛生管理を基本としている。

哺乳ロボット飼育期間のポイントは、7項目を列記した。1の哺乳ロボット授乳器具の効果的な洗浄については、今回の試験で効果のあった洗浄を各器具毎に取りまとめた。ミキサー洗浄は、ブラシ及び洗剤で最低1日1回の手動洗浄を、ミルクホースの洗浄は、長針金ブラシ及び洗剤を用い、さらに消毒薬の漬け置きを行い最低1日1回の洗浄を実施する。授乳時の温水投与(自動設定)を付加することにより、より効果的な洗浄が期待できる。

乳首・接続部の洗浄は、ミルクホース同様の洗浄を行い、最低1日1回の手動洗浄を実施する。

写真(図-5)は洗浄が不十分な各器具の状況で、ミキサーは、自動洗浄が行き届かない上部及び、底部で汚れが落ちにくく、ミルクホースは、ホース径が長いこと等から、ホース内に残留するミルクにより汚れやすく、乳首及び接続部も共に内部が汚れやすく、定期的かつ効果的に洗浄することが重要である。

ミキサーの手動洗浄方法案は、洗剤、ミキサー壁面洗浄用ブラシ及び底部洗浄用小ブラシを用意し、まず、ミキサーに湯水を注ぎ、ミキサー内に洗剤を数滴滴下し、30秒ほど攪拌の後、ミキサー内部、特に上部は念入りに壁面用ブラシで洗浄し、廃液を捨て、ミキサー底部の汚れを小ブラシで排除し、再度湯水を注ぎ、ミキサー内をすすぎ、廃液を捨てる。

ミルクホースの手動洗浄案については、長針金ブラシが必要なため、長針金ブラシ洗浄

表-11 衛生管理プログラムの検討

各ステージでの衛生管理上のポイント

<p>分娩前後の衛生対策</p> <ul style="list-style-type: none"> 分娩前の分娩床は必ず消毒を実施する。 分娩後の分娩床は必ず清掃し、糞尿を除去する。 <p>単独飼育期間中の衛生対策</p> <ul style="list-style-type: none"> 子牛専用食槽は、子牛導入時に必ず消毒を実施する。 哺乳時の水温管理及び授乳量を管理し、哺乳器具の消毒を徹底する。 子牛専用食槽内の飲料交換は、週1実施し、衛生的な環境を維持する。 <p>哺乳ロボット飼育期間中の衛生対策</p> <ol style="list-style-type: none"> 哺乳ロボット授乳器具の効果的な洗浄の実施。 <ul style="list-style-type: none"> ①ミキサー洗浄 自動洗浄に加え、ブラシ及び洗剤で、最低でも1日1回の手動洗浄を心がける。 ②ミルクホースの洗浄 長針金ブラシ及び洗剤を使い、さらに消毒薬の漬け置きを行う。最低でも1日1回の洗浄を行う。なお、授乳時の温水投与により、より効果的な洗浄が期待される。 ③乳首・接続部の洗浄 各器具の内部に付着する汚れを除去し、乳首は、ミルクホース同様消毒薬の漬け置きを行う。最低でも1日1回の手動洗浄を心がける。 飲料交換の実施 最低でも週間に1回は飲料交換を心がける。(牛乳交換、飲料の凍結、季節等により適時交換を検討) 牛舎消毒の実施 最低でも週間に1回は消毒薬の噴霧及び石灰撒布を行う。(牛床消毒、季節等により適時消毒時期を検討) 汚かみ汚集槽の設置 牛舎内外の出入り時は、必ず消毒槽に足を浸す。 病原微生物の予防的駆除の実施 コウジ菌、細菌等の予防的駆除を繁殖子牛飼育管理マニュアルを参考に実施する。 空気ろ過ファン接続の実施 環境の悪化やウイルスの侵入等に備え、生後1ヵ月齢及び6ヵ月齢の2回接種も必要。 暑熱対策対策の実施 暑熱対策として、ファンやカーテンの駆動等の併用により、牛舎内の室温防止及び暑熱を軽減する。効果的対策として、ヒーター等の暖房やカーテン等併用の併用により、牛舎内の温度維持を心がける。 	<p>通常飼育・人工飼育期間中の衛生管理が基本</p>
--	-----------------------------



図-5 ミキサー、ミルクホース、乳首及び接続部 (洗浄前の状況)

実施農家を参考に、ミルクホース洗浄用長針金ブラシを考案した。作成方法は、ステンレス製針金、小ブラシ、ペンチ及びミルクホースの4点を用意し、針金の先端をペンチで曲げ、小ブラシを取り付けて作成。針金の長さは、ミルクホース径より少し長めにし、ホース内を往復出来るよう作成する。(図-6)。

洗浄方法は、ホース内に洗剤をつけたミルクホース用ブラシを通し、ホース内を往復させ、水洗を行い、器具洗浄用に希釈した消毒液に1晩浸し、ホースをよくすすぎ、つるして乾燥させる(図-7)。

乳首及び接続部の洗浄方法案は、乳首や接続部の内径にあった小ブラシを用いて、ミルクホース同様消毒薬の漬け置きを実施する。



図-6 ミルクホース洗浄用ブラシの作成



図-7 ミルクホース洗浄方法案

2の敷料交換については、最低2週間に1回の実施を基本とし、牛舎面積や季節等により適時交換時期を検討する。

3の牛舎消毒については、敷料交換同様2週間に1回は消毒薬の噴霧及び石灰等の散布を基本とし、牛舎面積や季節等により適時消毒時期を検討する。

4の踏み込み消毒槽の設置については、今回の調査では、設置農家数が20戸中8戸と少なかったが、哺乳ロボット体系のような哺乳子牛の若齢群飼では、外界より病原性ウイルスや細菌等が侵入した場合、疾病の蔓延が非常に危惧されることから、必ず設置し使用することを心がける。

5の病原寄生虫の予防的駆虫の実施については、コクシジウムや線虫等の駆虫を、若齢時から定期的に実施することが望まれる。

6の呼吸器病ワクチン接種については、今回の症例でも見られたように、早期の呼吸器病の蔓延が危惧されることから、環境の悪化やウイルスの侵入等に備え、生後1及び4ヵ月齢等の2回接種も要検討と思われる。

7の暑熱・防寒対策の実施については、表-11記載のような2種類以上の対策を実施し、子牛のストレスを極力防止することが望まれる。

【まとめ及び考察】

今回管内A農場の哺乳ロボット牛舎内での一連の呼吸器病の原因は、病性鑑定等により、PIV-3及び牛パストツレラ症によるものと推察されたが、授乳器具の洗浄不足等の衛生管理の不徹底が、呼吸器病の蔓延及び重篤化に関与したものとされた。

そこで、県下哺乳ロボット導入黒毛和種農家の衛生管理等調査を実施したところ、各調査項目について、各農家毎に衛生管理にバラツキが見られた。特に各器具の洗浄や、暑熱・防寒対策で疾病発生率に差が見られ、農家からの問題点の聴取では、ミルクホース関連の問題点が多数を占めた。

また、各器具洗浄と疾病発生率との関連を調査したところ、良好な各器具の洗浄としては、各器具毎に手動洗浄を実施し、洗剤及びブラシで洗浄を行い、その間隔は7日以内で良好であった。

上記調査結果等より衛生管理向上を目的として、ミルクホース内の残留ミルク細菌検査及び哺乳ロボット洗浄試験を実施した。

残留ミルク細菌検査では、各器具未洗浄農家の細菌数が最も多く、各器具の手動洗浄の必要性が示唆された。

また、哺乳ロボット洗浄試験では、ミルクホース等の洗浄方法として、消毒薬の漬け置き洗浄の追加及び、代用乳給与時の温水投与の実施が、細菌汚染低減に有効と推察された。

今回の結果等より、統一した哺乳ロボット体系の衛生管理プログラムの作成及び普及が急務と推察され、従来の衛生管理プログラムを基に、今回の結果を勘案し、授乳器具の効果的な洗浄等を衛生管理上のポイントとして取り入れ、衛生管理プログラムを作成した。

今後は、今回作成した衛生管理プログラムを、既存の哺乳ロボット体系農家や、新規導入農家等に普及することにより、衛生的な牛舎環境のもと、安定した農家所得の向上に寄与したい。

稿を終えるにあたり、今回の衛生管理等調査の取りまとめに御尽力頂いた関係各位に感謝いたします。

【参考文献】

- ・独立行政法人 家畜改良センター、子牛の哺育・育成マニュアル改訂版（2006）
- ・大分県畜産試験場他、繁殖牛・子牛飼養管理マニュアル（2005）

11. 乳用牛で発生した牛RSウイルスが関与した *Mannheimia haemolytica*感染症

大分家畜保健衛生所

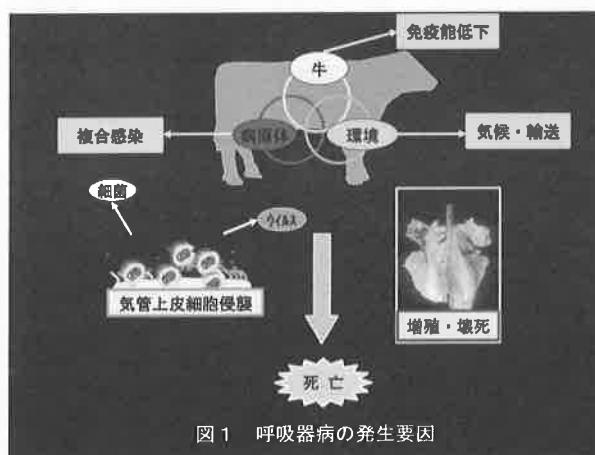
○山岡 達也 病鑑 佐藤 亘
病鑑 矢崎 竜 病鑑 山田倫史

【はじめに】

牛には、呼吸器病感染に対して弱点となる解剖学的、生理学的特徴があり、鼻孔は、大きく、肺は、身体のサイズに比べ小さく、繊維素溶解機能があまり発達していないために病変の修復が困難で、感染による炎症を伴えば、永久的な酸素供給低下をもたらします。

Mannheimia haemolytica (以下 Mh) は、輸送熱等で良く知られているが、ウイルスとの複合感染となれば、成牛であっても死亡に至る場合もある、経済的損失の大きい重要疾病として問題となっている。(図1)

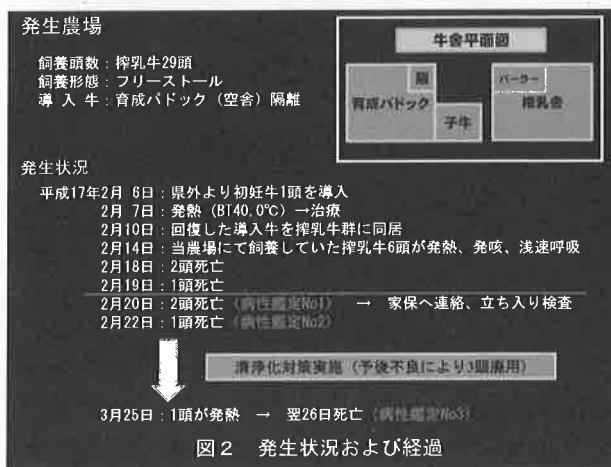
今回、管内一酪農家において、本症の多発事例に遭遇したのでその概要を報告する。



【発生状況および経過】

発生農場は搾乳牛29頭を飼養する酪農家で、導入牛は育成パドックにて約1週間の隔離飼育を行っていた。

平成18年2月6日に県外より導入した初妊牛1頭に導入翌日から発熱がみられたため治療を行い、症状が回復したので当農場で飼養していた搾乳牛と同居させたところ、同居後4日目の2月14日から搾乳牛6頭に発熱と呼吸器症状がみられるようになり、2月18日に2頭、2月19日に1頭、2月20日に2頭、2月22日に1頭、合計6頭が死亡した。このような死亡例は搾乳牛舎の個体のみでみられ、子牛ではみられなかった。その後、病性鑑定成績に基づく対策により一旦は小康状態となったが、約1ヶ月後の3月25日に1頭が発熱を呈して急性経過の後に翌日死亡した。(図2)



【病性鑑定材料及び方法】

病理解剖は 2 月 20 日死亡牛 1 頭 (No1)、2 月 22 日死亡牛 1 頭 (No2)、3 月 25 日死亡牛 1 頭 (No3) について実施し、各々について病理組織学的検査、細菌学的検査、ウイルス学的検査を行った。また、同居牛については、2 月 22 日と 3 月 17 日に採血したペア血清を用いて、ウシヘルペスウイルス 1 型 (BHV-1)、パラインフルエンザウイルス 3 型 (PIV-3)、牛RSウイルス (BRSV)、牛ウイルス性下痢・粘膜病ウイルス 1 型 (BVDV1) に対する抗体検査を行った。(表 1)

表1 病性鑑定材料及び方法

1. 死亡牛・・・3頭 (No1: 2月20日死亡・No2: 2月22日死亡・No3: 3月26日死亡)
1) 病理組織学的検査 H-E染色 免疫組織化学的染色
2) 細菌学的検査 アスコリーテスト: 血液・脾臓乳剤 菌 分 離: 主要臓器・脳 血液寒天培地 (好気・嫌気)・DHL・ファルト寒天培地 (CO ₂) 卵黄加CW寒天培地・卵黄加GAM寒天培地・DNA加Hayflick培地
3) ウイルス学的検査 遺伝子検査 : 各主要臓器・脳乳剤 BHV-1 (カヘルペスウイルス型)・PIV-3 (パラインフルエンザウイルス型)・BRSV (牛RSウイルス) BVDV (牛ウイルス性下痢・粘膜病ウイルス) についてPCRまたはRT-PCRにより検査 抗原検査: 脾臓乳剤 BRSV抗原検出キットによる抗原検査 菌 分 離: 各主要臓器・脳乳剤
2. 同居牛
1) ペア血清を用いた抗体検査: No3を含む同居牛20頭 (2月22日、3月17日採材) BHV-1 (758株)・PIV-3 (YN-1株)・BRSV (MNK-7株)・BVDV1 (Nose株) ウイルス中和試験

【病性鑑定成績 (No1、No2)】

病理解剖では、No1、No2 に共通して、胸腔内における胸水の貯留と線維素の析出、肺胸膜と肋骨胸膜の癒着、肺の肝変化などが重度に観察された。(図 3)

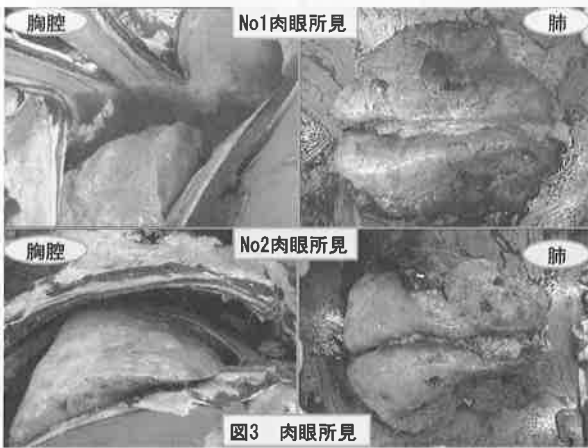
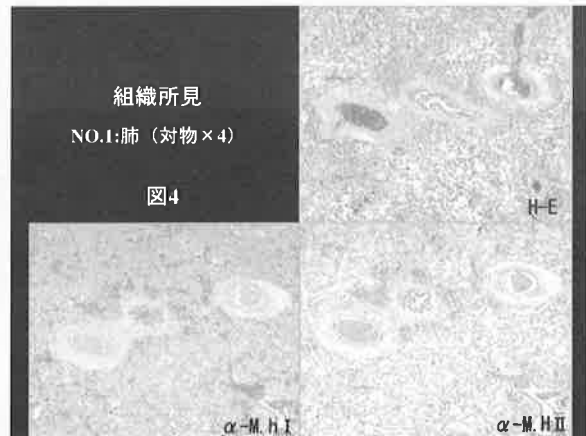


図3 肉眼所見

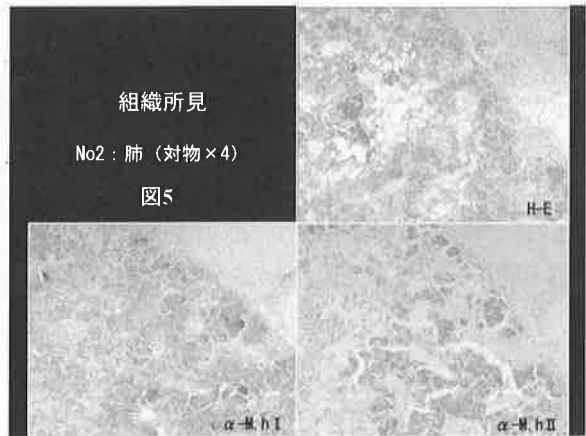


組織所見

NO.1:肺 (対物×4)

図4

病理組織学的検査では、No1、No2 ともに、広範囲にわたる充うっ血、肺胞腔内への漿液、線維素、細菌塊の充満が重度に観察され、部位によっては気管支、細気管支および肺胞腔内に変性した好中球が充満した部位も観察された。抗 M.h I 型および II 型家兎血清を用いた免疫組織化学染色では、観察された細菌塊と一致して M.h I 型に対する強い陽性像が広範囲で観察された。(図 4・図 5)



組織所見

No2:肺 (対物×4)

図5

細菌学的検査では、2 頭に共通して肺から M.h が分離され、(独)動物衛生研究所に型別を依頼したところ、血清型 I 型と型別された。

ウイルス学的検査では、No1 の肺から BRSV 特異遺伝子が検出され、同居牛 20 頭中 18

頭で BRSV 抗体の陽転が確認された。また、初発の県外導入牛では、2月22日時点で512倍と、他の個体に比較して顕著に高い値を示していた。(表2)

以上の成績から本症例は「BRSV が関与した M.h 感染症」と診断し、対策を行った。

表2 細菌学およびウイルス学的検査成績

細菌学的検査成績	NO.1	NO.2
アコリテスト	陰性	陰性
菌分離	肺: M.h	肺: M.h
分離菌の血清型別	I型	I型

ウイルス学的検査成績	NO.1	NO.2
遺伝子検索	肺: BRSV遺伝子	全て陰性
BRSV抗原検索	陰性	陰性
ウイルス分離	陰性	陰性

同居牛の抗体検査成績	陽転頭数	県外導入牛 (pre-post)
BHV-1	0/20	<2 - <2
PIV-3	0/20	2 - <2
BRSV	18/20	512-128
BVDV1	0/20	1024-1024

診断名: 牛RSウイルスが関与した *Mannheimia haemolytica* 感染症

表3 分離菌の薬剤感受性検査成績とその後の対応

薬剤名	NO.1	NO.2
ペニシリン	R	R
アンピシリン	S	R
セフトリアキソン	S	S
カナマイシン	I	R
ストレプトマイシン	S	S
チシドプラシクソン	S	S
エンロフロキサロン	S	S
ホスホマイシン	S	S
ビオグマイシン	S	S
フロムフェニコール	S	S
テトラサイクリン	I	S

S: 有効
I: 中程度有効
R: 無効

緊急対策
1. 有効抗生剤の投与
2. 農場消毒

その他の対策
1. ワクチン接種
2. 導入牛の隔離・観察・検査

病性鑑定NO.3
3月25日: 1頭が発熱・翌26日死亡

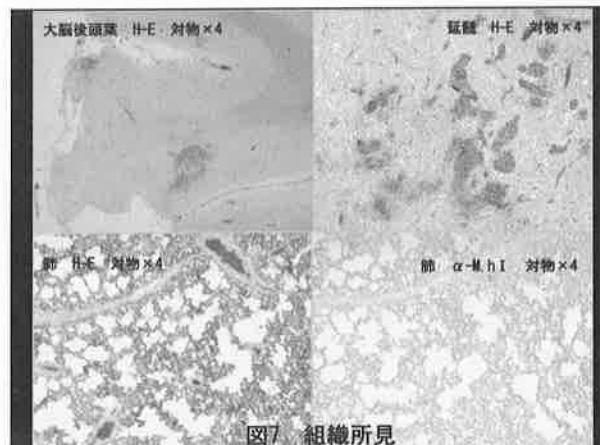
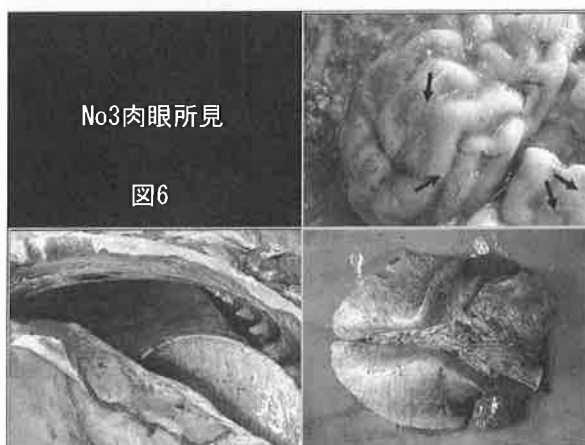
【清浄化対策】

清浄化対策として、薬剤感受性試験成績に基づく抗生剤投与による治療(表3)と農場消毒を早急に行い、その後、ワクチン接種、導入牛の隔離および観察期間の延長、定期的な検査を実施することとした。

検査期間中には予後不良と判断された3頭が廃用されたが、対策開始後には呼吸器病の発生はみられなくなった。しかし、約1ヶ月後の3月25日に発熱から急死した例が1頭発生し、これについても前2例と同様に病性鑑定を実施した。

【病性鑑定成績 (No3)】

肉眼所見では No1、No2 にみられた胸水貯留や癒着などは極軽度であったが、大脳から延髄にかけての髄膜と実質表面および断面において微小な白色斑が散見された。



病理組織学的検査では、大脳から延髄にかけて重度な化膿性髄膜脳炎が観察され、心筋の筋線維間に好中球の軽度な浸潤も観察された。肺では、中等度な充うっ血と極軽度な好中球浸潤が観察され、免疫組織化学染色では M.h I型およびII型に対する陽性像は観察されなかった。(図6・図7) 細菌学的検査では、各主要臓器および脳から有意な菌は分

表4 細菌学およびウイルス学的検査成績

細菌学的検査成績	
7スコリスト	陰性
菌分離	陰性
分離菌の血清型別	—
ウイルス学的検査成績	
遺伝子検索	肺: BRSV遺伝子
BRSV抗原検索	陰性
ウイルス分離	陰性
抗体検査成績 (pre-post)	
BHV-1	<2 - <2
PIV-3	64 - 64
BRSV	<2 - 32
BVDV1	<2 - <2

死亡原因: 大脳から延髄にかけての化膿性髄膜炎を疑う

離されず、ウイルス学的検査では、肺から BRSV 遺伝子が検出され、ペア血清を用いた抗体検査では BRSV に対する抗体の陽転が確認された。(表4)

以上の成績から本症例は BRSV の感染はあったものと考えられたが、細菌学的検査および病理組織学的検査から、死亡原因としては大脳から延髄にかけての化膿性髄膜炎が疑われた。

【考察】

今回多発した呼吸器症状を伴う死亡例は、「BRSV が関与した M.h 感染症」と診断され、その蔓延、経過とも非常に急性でなものであった。発生要因としては、抗体検査成績から県外導入牛が BRSV の感染源となって農場内に蔓延し、それが先行感染となって M.h 感染症が多発したものと推察された。

病性鑑定成績に基づく対策により、その後の発症は認められなくなったが、約1ヶ月後に急死例が発生した。これは、治療に長期間を要した個体での発生であったこと、肺病変が比較的軽度で回復後のものと考えられたこと、肺からの M.h 分離が陰性であったことから、死亡原因としては他の日和見感染症による大脳から延髄にかけての化膿性髄膜炎が疑われた。

本症例の発生状況の特徴として、初発の牛では症状が比較的軽度であったことや、農場での蔓延、経過ともに急性であったことが挙げられる。このことから、導入前に既存の牛へワクチン接種を行い免疫を賦与することによるウイルス感染防止、農場消毒などの基本的予防策に加えて、導入牛に対する十分な期間の隔離と観察、異常がみられた場合には精密検査に基づく治療を行い、治療後も継続した隔離期間を設けるなどの対策も必要であると考えられた。また、治療に長期間を要した場合には日和見感染症の危険性もあったことから、早期発見、早期治療の重要性が再確認され、泌乳期であっても出荷を停止して早急な抗生物質投与も検討する必要があると示唆された。

今後は本事例で得られた知見を農家あて周知し、衛生対策を推進していきたい。

まとめ・考察

- ・1酪農家において呼吸器症状を呈する死亡例が多発し、病性鑑定により「牛RSウイルスが関与した *Mannheimia haemolytica* 感染症」と診断した
- ・発生要因としては、県外導入牛がBRSVの感染源となり、農場内へ蔓延したことに起因するものと推察された
- ・発症後、約1週間で6頭の死亡が確認され、早急に清浄化対策を実施したが、その後3頭を廃用し、被害は合計9頭に及んだ
- ・病理組織学的所見や、同居牛の抗体検査成績などから、病状は非常に急性で、感染の拡大も早いものと考えられた
- ・清浄化対策実施後、発症例は認められなくなったが、約1ヶ月後に急死例が発生「呼吸器病と長期治療のストレスによる日和見感染」が疑われた

被害拡大防止のための対策

家畜衛生情報
牛RSウイルス病を予防しよう!!

- ① 一般的な対策
ワクチン接種や定期的な農場消毒
導入牛の隔離・観察・検査
- ② 導入牛群飼で同居牛に発生例多発
症状を呈する個体が確認された場合、
治療後も隔離・観察・検査
- ③ 急性であり感染の拡がりも早い
搾乳期間であっても早期の
抗生物質投与を行う
- ④ 治療に長期間要するケースが多い
早期治療により治療を軽減、
ストレスによる日和見感染症の発症防止

1 2. 管内で発生したヨーネ病の症例について

玖珠家畜保健衛生所

○三村純一郎・(病鑑) 菅 正和

足立 高士・(病鑑) 大竹孝一

【はじめに】

ヨーネ病はヨーネ菌の感染により難治性下痢、消瘦、泌乳停止を呈する家畜伝染病で、感染から発症までの経過が長く、発症牛が発見されたときには他の牛へ蔓延している可能性もある為、早期の検査・摘発が重要である。

県内でのヨーネ病の発生は1997年に初発が確認されて以来2001年以降毎年発生し、今年10月末までに25件35頭発生しており、今回玖珠家畜保健衛生所管内で家畜伝染病予防法第5条に基づく定期検査で摘発された3戸4頭について、その概要を報告する。

【発生状況】

図-1

管内発生状況

発生年月日	市町村	品種	年齢	根拠	産地
H15.7.24	日田市	ホルスタイン	4才	家伝法5条	北海道
H15.7.24	日田市	ホルスタイン	4才	家伝法5条	北海道
H16.4.20	九重町	ホルスタイン	4才	病性鑑定	北海道
H18.7.27	玖珠町	ホルスタイン	6才	家伝法5条	自家産
H18.8.1	玖珠町	ホルスタイン	9才	家伝法5条	自家産
H18.8.7	九重町	ホルスタイン	4才	家伝法5条	自家産
		ホルスタイン	2才	家伝法5条	自家産
管内合計					6戸 7頭
県内合計					25戸 35頭

(H18 10月末現在)

(1) 管内発生状況

図1は平成18年度10月末現在までのものです。

当管内(1市2町)では平成15年度7月24日に初発があり、今年度の発生例を加えて6戸7頭発生しています。また、県内では現在25件35頭発生が見られています。

管内の発生牛の産地は平成15年度と16年度は全て北海道導入であったが、今回報告する3戸4頭についてはすべて自家産の発生であった。

図-2

発生概要

患畜	品種	年齢	産歴	産地	農場概要
No.1	ホルスタイン	6才	3産	自家産	繋ぎ飼、 成牛51頭 A農場
No.2	ホルスタイン	9才	6産	自家産	繋ぎ飼、 成牛14頭 B農場
No.3	ホルスタイン	4才	3産	自家産	ルースバーン 成牛42頭 C農場
No.4	ホルスタイン	2才	1産	自家産	成牛42頭

(2) 発生概要

発生はA農場1頭・B農場1頭・C農場2頭の発生でした(図2)。

産地は全て自家産であり、年齢は2歳から9歳と幅広く発生しており、農場の飼養形態はA農場繋ぎ(成牛51頭飼育)・B農場は繋ぎ(成牛14頭飼育)、C農場はルースバーン(成牛42頭飼育)でした。

【材料及び方法】

図-3 材料・方法

1. 材料: 患畜生体4頭
血液、腸内容物(回腸、直腸)、空腸、回腸、腸間膜リンパ節
2. 方法
 - 1) 血液検査
 - ・ELISA法
 - 2) 病理組織学的検査
 - ・HE染色
 - ・抗酸菌染色(チールネルゼン法)
 - 3) 細菌学的検査
 - ・糞便直接鏡検
 - ・回腸、直腸内容物をマイコバクチン加ハロルド培地で培養
 - ・Nested-PCR法によりヨーネ菌特異遺伝子(1S900)を検出

ゼン法)を行った。細菌学的検査として糞便直接鏡検、回腸内容物・直腸内容物を用いてマイコバクチン加ハロルド培地に接種し細菌培養を行いました。また、パラフィン包埋切片からDNAを抽出してNested-PCR法を行い、ヨーネ菌特異遺伝子の検出を行いました。(図3)

【検査結果】

図-4 血液検査(ELISA法、患畜決定)

	平成18年度		平成16年度
	1回目	2回目	定期検査
No.1	0.55	0.49	0.15
No.2	1.07	0.83	0.19
No.3	0.96	0.78	0.03
No.4	1.17	0.94	0.01

(ELISA値 0.35以上で陽性)

全症例ともに臨床症状(下痢・消瘦・泌乳停止・下顎の冷性浮腫)は認めなかった

(1) 材料

患畜生体4頭の血液、糞便材料として回腸内容物・直腸内容物、病理材料として空腸・回腸・腸間膜リンパ節を用いました。

(2) 方法

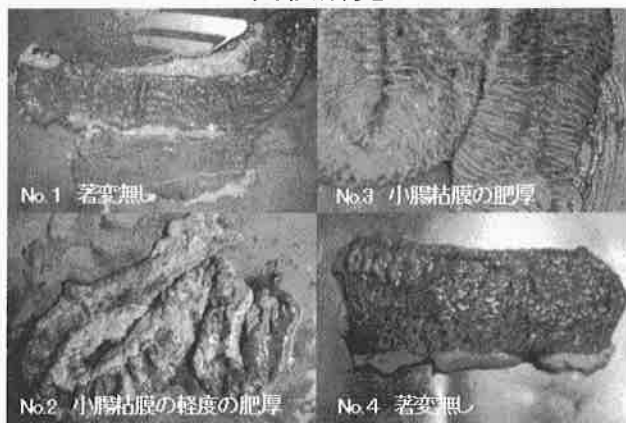
血液検査としてELISA法、次に病理組織学的検査として各検体を10%中性緩衝ホルマリンで固定後、パラフィン包埋切片を作製しHE染色ならびに抗酸菌染色(チールネルゼン法)を行った。

(1) 血液検査

平成18年度の定期検査における血液検査(ELISA法)では、1回目の値は0.55~1.17、2回目の値は0.49~0.94と高値で、この2回目の検査結果でヨーネ病患者と決定しました。なお、平成16年度は0.35未満の陰性の値でした。

また、今回の症例はすべて下痢・消瘦・泌乳停止などの臨床症状は認められませんでした。(図4)

図-5 剖検所見



(2) 剖検所見

No. 1 からNo. 4 の症例の小腸における剖検所見ではNo. 1とNo. 4の症例で著変は見られませんでした。No. 2の症例において小腸粘膜の軽度の肥厚、No. 3の症例において小腸粘膜の肥厚が見られました。(図5)

(3) 病理組織学的検査

図-6

病理組織像

No1 空腸下部

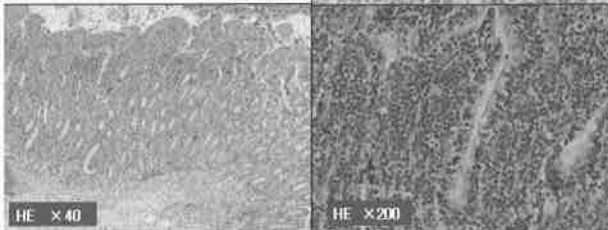


図-7

病理組織像

No2 空腸下部

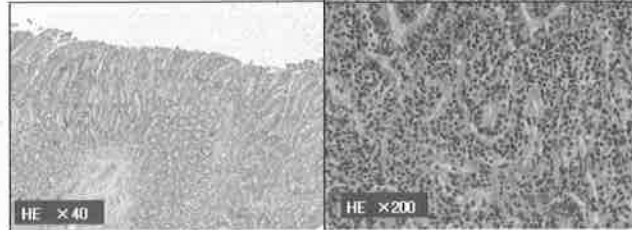


図6はNo.1の空腸下部の病理組織写真です。剖検所見では特に著変は見られなかったのですが、組織像においては、空腸から回腸にかけての広範囲において粘膜固有層へリンパ球、好酸球、形質細胞が浸潤しており、慢性腸炎像が観察されましたが、ヨーネ病特有の類上皮細胞やラングハンス型多核巨細胞は観察されず肉芽腫性腸炎は見られませんでした。また、抗酸菌染色についても菌塊は観察されませんでした。

図7はNo.2の空腸下部です。No.1と同様に広範囲の粘膜固有層へリンパ球、好酸球、形質細胞が浸潤し慢性腸炎像が観察されましたが、肉芽腫性腸炎ならびに抗酸菌染色で菌塊は観察されませんでした。

図8はNo.3の回腸下部、図9はNo.4の空腸下部の病理組織写真です。こちらもNo.1と同様に慢性腸炎像が観察されましたが、肉芽腫性腸炎ならびに抗酸菌染色で菌塊は観察されませんでした。

図-8

病理組織像

No3 回腸下部

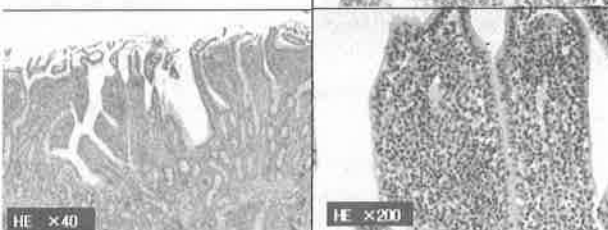
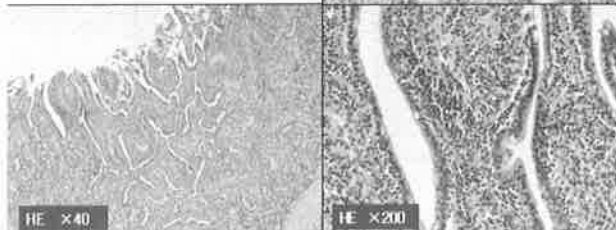


図-9

病理組織像

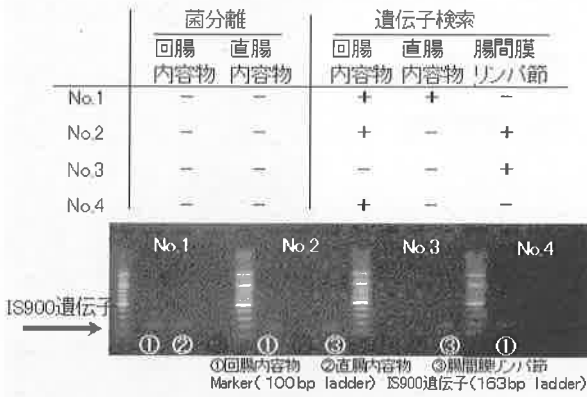
No4 空腸下部



(4) 細菌学的検査

マイコバクチン加ハロルド培地で腸内容物を培養した結果、3ヶ月以上たった現時点で菌は分離されていません。図10のPCR写真は赤い矢印が目的のヨーネ菌特異遺伝子である

図-10 細菌学的検査結果



163ベースペアIS900遺伝子、各検体左から100ベースペアのマーカ、丸①は回腸内容物、丸②は直腸内容物、丸③は腸間膜リンパ節です。

このようにNo.1は回腸・直腸内容物から、No.2は回腸内容物・腸間膜リンパ節No.3は腸間膜リンパ節、No.4は回腸内容物からIS900遺伝子のバンドが確認されました。

図-11 検査成績まとめ

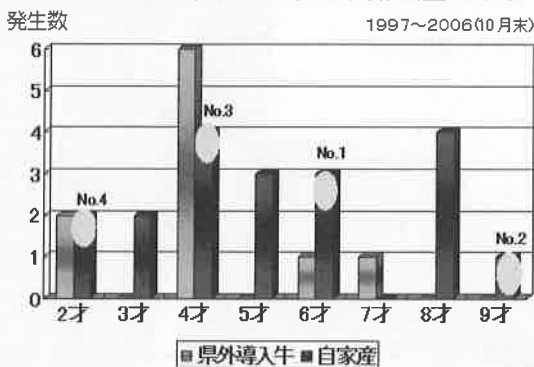
		No.1	No.2	No.3	No.4
臨床所見	特異的な臨床症状認めず				
血液検査	ELISA(1回目)	0.55	1.07	0.96	1.17
	ELISA(2回目)	0.49	0.83	0.78	0.94
剖検所見	小腸粘膜の肥厚	-	+	+	-
病理学的検査	肉芽腫性腸炎	-	-	-	-
	慢性腸炎	+	+	+	+
	肉芽腫性リンパ節炎	-	-	-	-
細菌学的検査	糞便直接塗抹	-	-	-	-
	細菌分離	-	-	-	-
	遺伝子検出	+	+	+	+

(5) 検査成績まとめ

全症例において、臨床症状が見られず、ELISA値が高値、またNo.2と3の症例において小腸粘膜の肥厚が見られましたが、ヨーネ病に特徴的な肉芽腫性所見などは見られず慢性腸炎像が見られました。糞便塗抹ならびに細菌培養ではヨーネ菌は見られませんでした。PCRによってヨーネ菌特異遺伝子が検出されました。

【疫学調査】

図-12 県内ヨーネ病発生数(年齢・産地別)



(1) 県内ヨーネ病発生数

図12は、県内における各年齢の導入牛と自家産の発生数で、丸印は今回の症例です。この図から幅広い年齢で発生しており、また導入牛だけでなく自家産からも多く発生していることが言え、今後も注意が必要であることが考えられます。

(2) 疫学調査

今回の発生は現在のところ単発であり、感染経路を特定する材料に乏しいものでした。A農場は祖母が県外導入牛、祖母・母牛はすでに廃用・他に県外導入牛があった事、ま

図-13 疫学調査

今回の発生は現在のところ単発であり
感染経路を特定する材料に乏しい

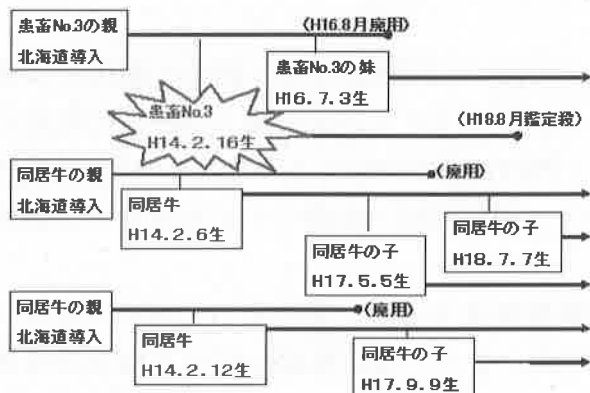
A農場	祖母が県外導入牛	子牛は通路
	祖母・母牛はすでに廃用 他に県外導入牛があった	→感染経路 初乳・環境?
B農場	県内産業農場からの導入牛の産子	子牛は外 →感染経路 初乳?
C農場	県外からの導入が多い 同時期に出生した同居牛がいる	子牛は子牛房(90%以内) →感染経路 初乳・環境?

た子牛は通路で飼育されるということから感染経路は初乳と環境が疑われます。

B農場は県内で廃業した農場からの導入牛の産子であり、子牛は外に繋がれることから感染経路は初乳が疑われます。

C農場は県外からの導入が多く、患畜と同時期に何頭もの牛が生まれています。また、子牛は子牛房に次々に入れられて飼育される為、感染経路は初乳と環境が疑われます。

図-14 疫学関連牛の調査



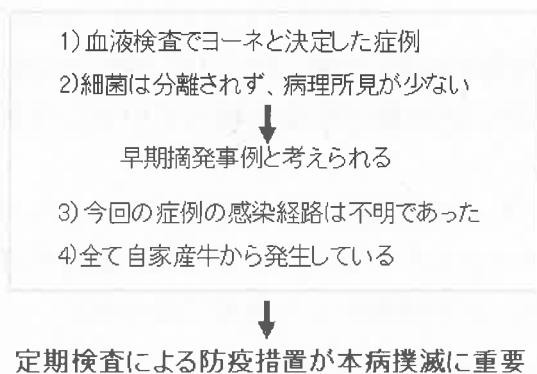
(3) 疫学関連牛の調査

No3の親が北海道導入、同時期（H14年2月）に生まれた同居牛の親も北海道導入ということから、ここからヨーネが入り込んだ可能性も考えられます。

今後追跡していく牛については、患畜No.3の妹、同時期出生同居牛の子などが挙げられます。

【まとめ及び考察】

図-15 まとめ及び考察



今回の症例はELISA検査において陽性と判定されたが、臨床症状は無認めず血液検査でヨーネと決定された症例です。

細菌学的検査では回腸内容物・直腸内容物からヨーネ菌特異遺伝子が検出されたが、病理組織学的検査結果では病理所見は少なく、糞便培養においてヨーネ菌は培養されなかった。以上のことから、糞便からの排菌はほとんど無いか極めて少ないものであると推察され、本症例は早期に摘発された

事例である。

また、感染経路は不明であり、全て自家産牛から発生していました。

現在、多くの農家は導入牛を入れており、どの農家でも発生が起こりうる状況ですので、今後も定期検査による防疫措置が本病撲滅に重要であるということが考えられます。

13. ブロイラーに発生した頭部腫脹症候群

大分家畜保健衛生所

○病鑑 坂田真友子 病鑑 佐藤 亘
外岡小百合

1. はじめに

頭部腫脹症候群（以下SHS）は特にブロイラーにおいて問題となり、死亡・淘汰率の増加、および出荷率・出荷体重の減少を引き起こし、ブロイラー農家に多大な経済的損失をもたらす。SHSは七面鳥鼻気管炎ウイルス（以下TRTV）や*Escherichia coli*など複数の病原体が関与し、ストレスや劣悪な環境下で発症し、顔面腫脹や沈鬱などを主徴とする疾病である。

今回、本県のプロイラー農場において鶏が眼瞼腫脹を呈し、元気消失して死亡する例に遭遇し、病性鑑定を実施したところSHSと診断した。また、当該農場におけるTRTV抗体価の推移を調べ野外ウイルスの動きについて調査したのでその概要を報告する。

2. 発生の概要

発生農場は20,000羽規模のプロイラー農場で、開放5鶏舎（1～5号鶏舎）で平飼いしており、A、Bの孵卵場から入雛している。ワクチンプログラムについて、孵卵場Aは初生にMD、ND、IB、TRT、Pox、Reoを接種、孵卵場Bは初生にMD、ND、IB、TRT、Poxを接種しており、入雛後当該農場にて14日齢でIB、IBD、20日齢でNDを接種している。当農場の鶏舎配置図及び年間の死亡淘汰羽数を図1に示した。

発生状況は、平成18年7月26日に入雛した4、5号鶏舎で、4週目に入った22日齢頃から死亡・淘汰率の増加が認められた。農場の立ち入りを行ったところ、図2写真のような沈鬱や顔面腫脹が4、5号鶏舎で認められ、5号鶏群がより重篤であった。

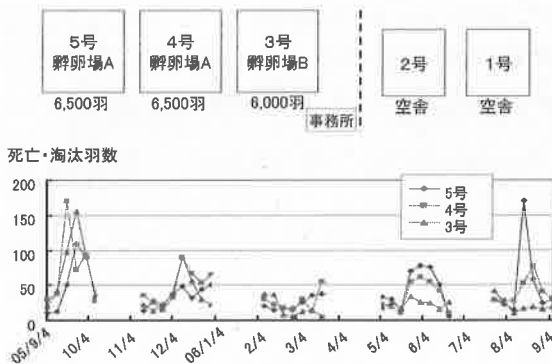


図1 農場の概要

H18.7.26 4、5号鶏舎に各6,500羽入雛
H18.7.29 3号鶏舎に6,000羽入雛
H18.8.17 農場立入
(3号19日齢、4、5号22日齢)

死亡・淘汰羽数

週齢	5号鶏舎 6,500羽	4号鶏舎 6,500羽	3号鶏舎 6,000羽
1	28	28	41
2	22	27	24
3	14	26	10
4	169 症状++	52 症状+	16 症状-
5	58	77	18
計	291	210	109



図2 発生状況

3. 病性鑑定

〔材料及び方法〕

材料として5号鶏舎の発症鶏5羽 (No. 1～5)と3, 4, 5号鶏舎各5羽、計15羽の鶏血清を用いた。

病理組織学的検査は剖検後、主要臓器、脳、気管、顔面皮膚を10%中性緩衝ホルマリンで固定し、定法に従いH.E.染色後鏡検した。

細菌学的検査は各主要臓器、脳、顔面皮下について5%羊血液寒天培地、DHL寒天培地、Frey培地、チョコレート寒天培地、鶏血清加TSA培地を用い分離培養を実施した。分離菌については薬剤感受性試験を一濃度ディスク法により19薬剤 (PCG、ABPC、MDIPC、CEZ、CXM、KM、SM、GM、EM、OTC、ST、NA、ENR、NFRX、OFLX、CL、LCM、CP、NB) について実施した。

ウイルス学的検査では気管及び直腸乳剤を用いて、発育鶏卵及びVero細胞に接種しウイルス分離を行った。発育鶏卵は乳剤接種後37℃、48時間培養し、鶏胚の確認及び漿尿膜腔液を用いたHA試験を実施、鳥インフルエンザウイルス (AIV) 及びニューカッスル病ウイルス (NDV) 分離を行った。また、気管乳剤をVero細胞に接種し、TRTVの分離を試みた。遺伝子検索では解剖鶏の気管からRNAを抽出し、TRTVに特異的なプライマーを用いてRT-PCR (Jane K. A. Cookら) を行い、サブタイプA・B識別のため、RFLP法によりPCR産物をEcoRIで切断した。血清学的検査では血清15検体を用いて、AIVについてはゲル内沈降反応、NDVについてはHI試験、TRTVについてはウイルス中和試験を行った。

〔検査成績〕

剖検所見では、5羽に共通して皮下に水腫を伴う眼瞼の腫脹が認められた。

病理組織学的検査では解剖鶏5羽に共通して、顔面皮膚に真皮への偽好酸球浸潤が認められ、化膿性炎を呈していた (写真1)。また、気管炎が観察された (写真2)。

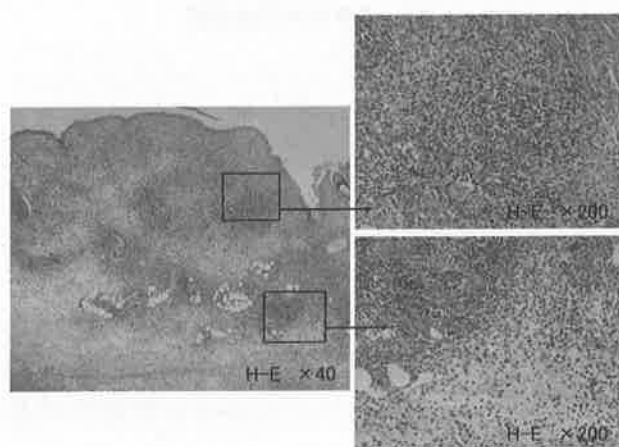


写真1 No.3顔面皮膚

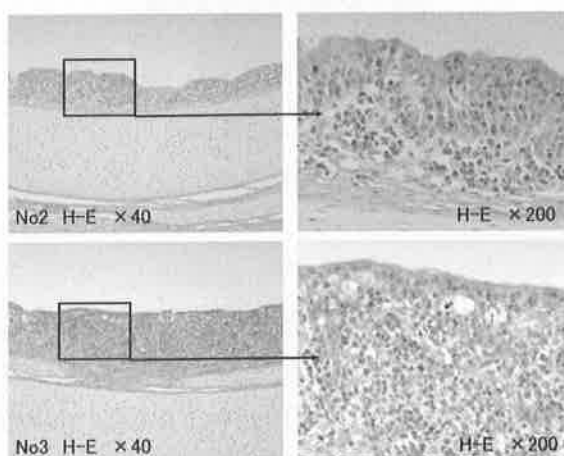


写真2 気管

細菌学的検査では、5羽に共通して顔面皮下、主要臓器、脳などから*E. coli*が分離された。薬剤感受性試験の結果については図3に示した。

ディスク名	PCG	ABPC	MDIPC	CEZ	CXM	KM	SM
結果	R	R	R	S	I	R	R
ディスク名	GM	EM	OTC	ST	NA	ENR	NFRX
結果	S	R	R	R	R	I	R
ディスク名	OFLX	CL	LCM	OP	NB		
結果	I	S	R	S	R		

R:耐性
I:中感受性
S:感受性

図3 薬剤感受性試験

気管及び直腸乳剤を用いたウイルス分離では、図4に示すとおりAIV、NDV及びTRTVについて実施したが分離陰性であった。遺伝子検索ではRT-PCR法とRFLP法により、解剖鶏No. 3及び5の気管からサブタイプBのTRTV特異遺伝子が検出された。血清学的検査結果は図5にまとめた。TRTV中和抗体価について発症鶏群（5号鶏舎）における幾何平均値（GM値）は445倍、未発症鶏群（3号鶏舎）は21倍であった。AIV抗体についてはすべて陰性、NDV抗体については20～320倍を示した。

- 1) ウイルス分離
AIV・NDV: 尿膜腔液のHA試験 陰性
鶏胚の出血、死亡等の所見は認められなかった
TRTV : CPE(-) → 分離陰性

2) 遺伝子検索

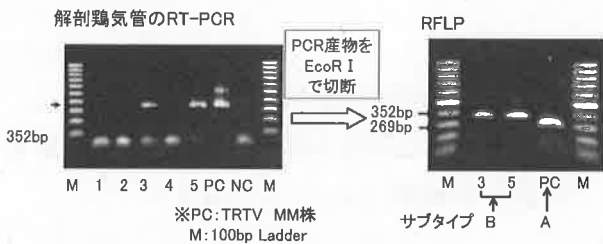


図4 ウィルス学的検査成績

No.	鶏舎	日齢	症状	TRTV	AIV	NDV
1	3号	19	-	64	-	160
2				8	-	160
3				64	-	160
4				32	-	160
5				4	-	160
6	4号	22	+	8	-	320
7				128	-	320
8				128	-	NT
9				64	-	320
10				1024	-	20
11	5号 (解剖鶏)	22	++	64	-	160
12				512	-	40
13				1024	-	320
14				256	-	320
15				2048	-	320

図5 血清学的検査成績

4. TRTV抗体価追跡調査

初生時にTRTVワクチンを接種していたにも関わらず、病性鑑定においてTRTVの関与が疑われたため、当該農場におけるTRTV抗体価の推移を調査した。

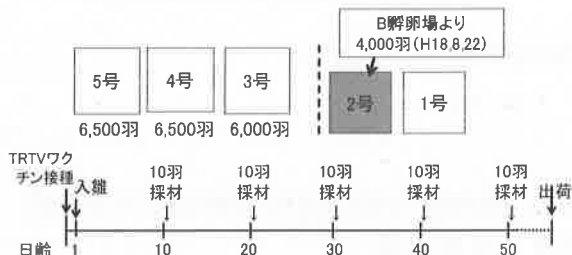
調査方法は図6のように平成18年8月22日入雛群（2号鶏舎）の10羽を無作為抽出し、1日齢から50日齢までTRTV中和抗体価を継時的に調べた。10羽はそれぞれの日齢で抽出しているため個体は異なる。

図7に示すように、抗体価は初生で16倍から1024倍までばらつきがあり、約20日齢でほぼ消失した。30日齢以降、個体によっては128倍や256倍まで上昇し、GM

値は出荷時までおよそ30倍で推移した。

目的 ・当該農場内での野外ウイルスの動態調査
 ・ワクチン接種後の抗体価の推移を観察

材料 血清60検体
 (1日齢から50日齢まで各10羽を継続的に無作為抽出)



方法 TRTV MM株を用いて、ウイルス中和試験を実施

図6 TRTV抗体価追跡調査

	1日齢	10日齢	20日齢	30日齢	40日齢	50日齢
1	16	16	4	64	16	8
2	128	4	4	32	8	64
3	128	8	8	8	64	64
4	32	8	32	64	32	16
5	32	16	2	8	128	32
6	64	4	2	64	16	8
7	32	8	4	64	8	64
8	1024	16	4	8	64	128
9	256	16	8	16	256	16
10	32	16	2	32	16	128
GM	73.5	9.6	4.6	25.9	32.0	34.3



図7 TRTV抗体価追跡調査結果

5. まとめ及び考察

約20日齢のプロイラーが顔面腫脹及び沈鬱を呈し、死亡する症例に遭遇した。

解剖した5羽ともに顔面皮下に水腫が認められ、病理組織学的検査では、顔面皮膚に化膿性炎、また気管炎が認められ、細菌学的検査で*E. coli*が分離された。

ウイルス学的検査では、ウイルスは分離されなかったが、RT-PCR法により、5羽中2羽の気管からTRTVに特異的な遺伝子が検出され、RFLP法によりサブタイプBであることが判った。また、血清学的検査では症状の認められた4, 5号鶏舎において、TRTVに対する抗体価の上昇が認められた。以上のことから、TRTVタイプBと*E. coli*が関与したSHSと診断した。

当該農場におけるTRTV抗体価追跡の結果から、初生から20日齢まで認められたTRTV抗体は移行抗体であると考えられた。移行抗体が20日齢前後でほぼ消失したことから、今回の症例は移行抗体の消失した20日齢前後で野外のTRTVに感染し、暑熱や湿気等の環境ストレスが加わりSHSが発生したのではないかと考えられた。また、抗体価追跡では、初生で接種したTRTVワクチンによる抗体価の上昇は認められなかったが、病性鑑定のTRTV遺伝子検索で実施したRFLP法で、野外ウイルスはBタイプであり、孵卵場で初生に使用したワクチンと同型であることが示されたことから、今後は、接種時期について移行抗体を加味したワクチンプログラムを検討する必要があると考えられた。発生が無かった3号鶏舎のGM値が21倍であったこと、またTRTV抗体検査で移行抗体の消失後、GM値が約30倍で推移していることから、*E. coli*等の二次感染による発症がない場合でも、野外のTRTVが動いているものと考えられた。

SHS対策としては、二次感染で重篤な症状を引き起こさないように、適切な抗生物質の使用を行い、また温度・湿度の調整や、飼養密度の改善など良好な飼養環境を維持することが重要と考える。

参考文献：

- (1) 鶏病研究会（詫間 博、高瀬公三、山口成夫、大滝与三郎、柴谷増博）
七面鳥鼻気管炎(TRT)ウイルスの性状と病原性
鶏病研報 34 卷 2 号、81-90, 1998
- (2) 山崎憲一、御領政信、岡田幸助
鶏の頭部腫脹症候群(SHS)に関する実験的研究
鶏病研報 34 卷 2 号、99-107, 1998
- (3) Jane K.A. Cook and Dave Cavanagh
Detection and differentiation of avian pneumoviruses (metapneumoviruses)
Avian Pathology 31 : 117-132, 2002
- (4) M. Mase, S. Yamaguchi, K. Tsukamoto, T. Imada, K. Imai, and K. Nakamura
Presence of Avian Pneumovirus Subtype A and B in Japan
Avian Diseases 47 : 481-484, 2003

14. サルモネラ拭き取り検査におけるリアルタイムPCR法を用いた検出法の検討

大分家畜保健衛生所

○病鑑 山田 倫史

【はじめに】

サルモネラは食中毒の原因菌とし重要であり、家畜保健衛生所では鶏舎やGP施設などの拭き取り検査を実施し、その汚染度を定期的に調査している。この拭き取り検査は、最終的な分離成績が出るまでに長期間を要するため、今回リアルタイムPCR法により早期にサルモネラの存在を確認する方法の検討を行ったので報告する。

現在の拭き取り検査における一般的な検査フローは右表1に示すように、一次の選択増菌培養にて分離される場合で約3日、遅延2次増菌を含めると最終的には分離までに10日間程度を要す行程である。そこで、今回、リアルタイムPCR法を用いて早期にサルモネラの存在を検出する系を検討した。

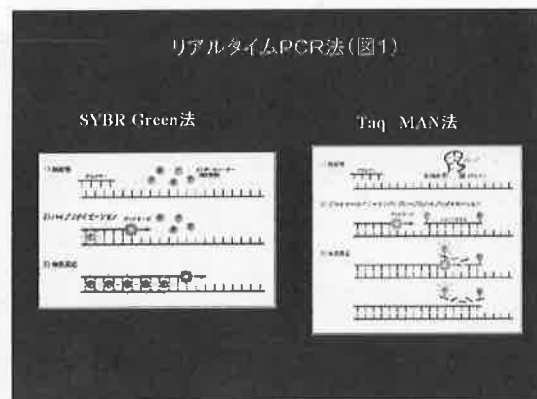
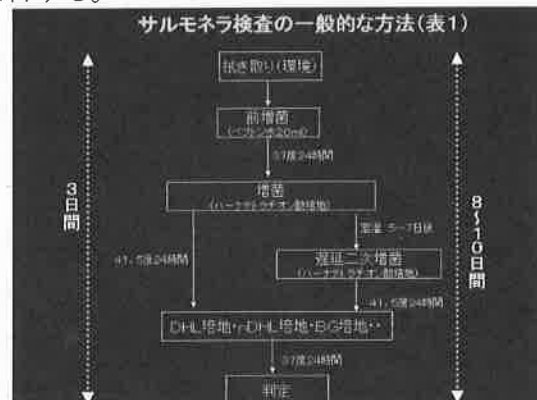
今回検討したリアルタイムPCR法とは、反応系の中の蛍光度を遺伝子の増幅とともに検出していく方法であり、この検出系には主に2つの方法がある(図1)。SYBRGreen法は、通常のPCR法と同様にペアのプライマーによって増幅された特定遺伝子の2本鎖間に蛍光色素であるサイバーグリーンがインターカレートすることで蛍光を発する。よって、増幅産物が増加すると蛍光強度が強くなる事で特異遺伝子の増幅を確認する方法である。この方法では、通常のPCRの条件を基本にして

転用できるため比較的簡単に試みる事が出来る利点がある。一方、TaqManプローブ法は、ペアのプライマー間に蛍光物質を持ったプローブを組み込み、プローブの解離とともに蛍光していく仕組みである。この方法では、プローブがある分だけ特異性が高くなる。今回はこの両方の方法で、リアルタイムPCRの方法の検討を行った。

【材料及び方法】

今回の検討したリアルタイムPCR法は、イジマらによって報告された、サルモネラ Inv Aをターゲットとした反応系で条件は図2に示すとおりである。

①確認試験:TaqMan法とSYBRGreen法にて当所々に保存されている異なる血清型13株(表2)を用いて各系の確認試験を行った。



設定条件(図2)

*Sequence (Yoshida Inoue et al.)
 Forward primer
 TTCATTACCTACCTATCTGGTTGATT
 Reverse primer
 GAACGACCCATAAACACCAA
 Probe
 T-CCTGATCGCACTGAATATCGTACTGGCG-q
rrp05:FAO, q, rpoD:q, rpoD:M(GB)

TaqMAN法	SYBERGreen法
*Reaction	*Reaction
300nM each primer 250nM Probe 2x TaqMan Universal PCR Master Mix 2ul TemplateDNA Total 20ul	300nM each primer 2x PowerSYBR Green Master Mix 2ul TemplateDNA Total 20ul
95°C2min → 95°C10min → 95°C15sec, 60°C1min(45cycle)	95°C10min → 95°C15sec, 60°C1min, 72°C45sec(45cycle)

検出確認試験(表2)

供試菌	
O4群	<i>Salmonella</i> Reading <i>Salmonella</i> Agona <i>Salmonella</i> Typhimurium <i>Salmonella</i> Abortusequi
O7群	<i>Salmonella</i> Thompson <i>Salmonella</i> Montevideo <i>Salmonella</i> Infantis <i>Salmonella</i> Choleraesuis
O8群	<i>Salmonella</i> Hader
O9群	<i>Salmonella</i> Enteritidis <i>Salmonella</i> Dubrin
O3・10群	<i>Salmonella</i> Gallinarum <i>Salmonella</i> Muenster

②検出感度の検討:比較する検出方法は、PCR法、SYBRGreen法、TaqManプローブ法の3つについて表3の条件で実施した。また、あわせてTemplateDNAの調整は多検体処理でのコンタミネーションを防ぐため、また作業工程の短縮を目的として、前増菌で使用する緩衝ペプトン水(以下BPW)にて10の8乗の菌液を希釈した菌液を、そのまま加熱による抽出系、BPWを遠心してDWにて置換した系、プロテナーゼKと濾過による抽出法によるKitを用いた系とで比較を行った。

③拭き取り検査:拭き取り検査材料を用いて、分離を行うとともにリアルタイムPCR法とPCR法との比較を行った(表4)。鶏舎内の20カ所よりふき取ったものを、定法により分離を実施した。リアルタイムPCR法の検査では、拭き取り材料をペプトン水に入れた物と、24時間培養した物を用いて実施した。また、あわせてリアルタイムPCR法により定量を実施した。

検出感度の検討(表3)

検査法
 PCR法(TAKARA)
 SYBR Green法
 TaqMANプローブ法

Template DNA抽出法
 菌液(1×10⁸CFU/ml)を10⁸までBPWにて10倍段階希釈。
 各希釈液200μlを熱抽出
 各希釈液200μlを1500rpmで遠心後、DW200μlにて置き換えて熱抽出
 各希釈液200μlを用いて、Qiagen Mini Kitを用いて抽出

供試菌
Salmonella Typhimurium

組成
 PCR法 : 全量50μl TemplateDNA 4μl
 SYBR Green法 : 全量20μl TemplateDNA 4μl
 TaqMAN Probe法 : 全量20μl TemplateDNA 4μl

拭き取り検査材料を用いた検討(表4)

拭き取り場所: 鶏舎内20カ所
 卵ベルト(No.1~6)、産床(No.7~12)、
 集卵台(No.13~18)、トイ(No.19~20)

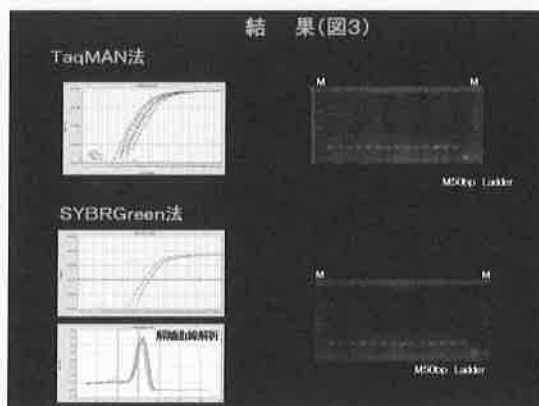
分離培養:
 前増菌(ペプトン水) → 選択増菌(HT) → 緑色化加D111培地
 → 遅延2次増菌 → 緑色化加D111培地
 (愛病研究会による方法に準拠)

リアルタイムPCR検査材料:
 ペプトン水に拭き取り材料を入れたもの(前増菌前)、ペプトン水にて24hr培養したもの(前増菌後)を熱抽出にて実施。

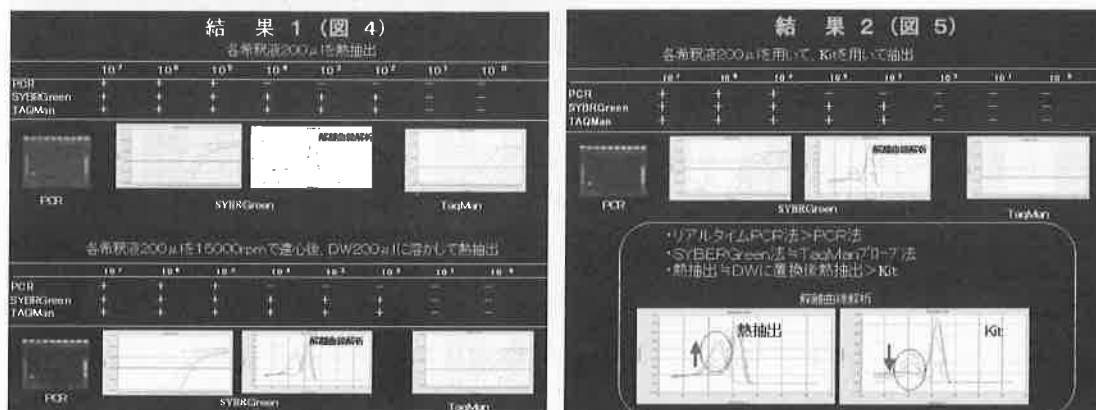
【結果】

①確認試験:TaqMan法とSYBRGreen法、ともに全ての検体で増幅が認められ、確認のため電気泳動においても、目的とした96bpの増幅産物が確認された(図3)。

②検出感度の検討:抽出方法による違いでは、熱抽出による系とDWに置換し熱抽出した系との間には差は認められず、Kitを用いた系では他の系に比べ感度が低い結果となっ



た。しかし、Kitによる抽出の系での SYBRGreen 法における解離曲線解析では非特異等で現れる部位が減少していることより、Kit を使用することで非特異を軽減する事ができると推察されました。また、検出感度では、PCR法に比べリアルタイムPCRの2つの方法は1000倍の高い感度であった(図4、5)



③拭き取り検査：拭き取り検査での分離成績は、増菌培養にて No.2 (卵ベルト由来) から、遅延 2 次増菌培養にて No.1 (卵ベルト由来)、No.11 (塵埃由来) から計3カ所より *Salmonella* Thompson が分離された。各遺伝子検査法の結果は、前増菌を行う前の検体を用いたものでは、PCR 法では陽性検体は認められなかったが、SYBRGreen法及び TaqMan プローブ法のいずれのリアルタイム PCR 法も2検体の陽性を認めた。前増菌を行った後の培養上清の検体を用いた検査では、PCR 法では1検体より特異遺伝子が検出され、リアルタイム PCR 法では TaqMan プローブ法において3検体が陽性を示し、この結果は、遅延二時増菌まで行った結果と同様であった。



また、TaqMAN 法と SYBRGreen 法による定量を実施したところ、増菌前と後とで、菌数の増加が確認されました(図6)。また、各検査法での理論上の検出限界値は、SYBRGreen 法では 129CFU / mlで、TaqMan 法は、114CFU/ml であった。

【まとめ】

リアルタイムPCR法にて拭き取り検査を行う場合、前増菌を行った後の検体にてTaqMan プローブ法を用いてリアルタイム PCR を行う系が、最も感度が高く有用であると思われた。

今回比較したリアルタイムPCR法では、血清型別が行えないため、分離を行う事は必要であるが、短時間に汚染度を把握する方法の1つとして有用であると思われた。

また、リアルタイムPCR法はProbeの作成に費用がかかるものの、多検体を検索する拭き取り検査等においては、PCR法より安価に行え検査時間も1時間程度で行える方法であるため、今後さらに例数を増やしていき、今後の検査に役立てていきたい。



15.リアルタイムPCR法を用いた牛RSウイルス遺伝子検出法の検討

大分家畜保健衛生所

○病鑑 矢崎 竜

【はじめに】

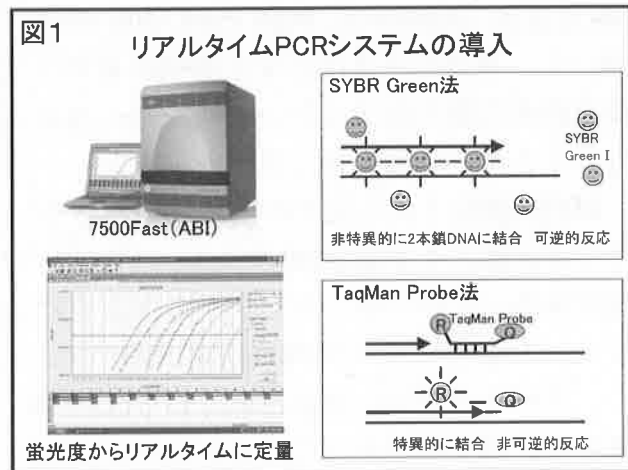
本県では毎年のように、牛RSウイルス病の流行を確認しており、本ウイルスが細菌などの二次感染を容易にさせることから子牛での損耗が問題となっている。また、平成17年には管内の成牛においても本病の発生が確認され、死亡するケースも見られた。

現在、牛RSウイルス病の診断にはウイルス分離、抗原検出キット、血清学的検査および遺伝子検索等を実施している。しか

しながら、本ウイルスは温度感作に非常に弱く、ウイルス分離は困難である。また、抗原検出キットはヒト用のものを使用しているが、検出感度が低い。ペア血清による血清学的検査は確実であるが、検査成績を得るまでに時間がかかりすぎ診断できた頃には流行が終了している場合が多い。遺伝子検索については、短時間でウイルスの関与の有無を知ることができるが、現在報告されているプライマー（2000年 Valarcher ら）では検出感度が高いとは言えず、変異株の検出ができない。本病の診断にはこれらの問題があるため、迅速診断を目的とした遺伝子検索のための新しいプライマー設計の必要性が生じていた。

当家保では、昨年度リアルタイムPCRシステム（ABI社 7500Fast）を導入した。本システムは新しい遺伝子検出システムを用いたものであり、従来法に比べて高感度、短時間でリアルタイムに遺伝子増幅をモニターできるという特徴がある。本システムには、SYBR Green法およびTaqMan Probe法という2通りの遺伝子検出系がある。SYBR Green法はSYBR Green Iという蛍光色素の2本鎖DNAに可逆的・非特異的に結合し蛍光を発するという性質を利用したものであり、増幅された2本鎖DNAを検出するものである。また、TaqMan Probe法は上流および下流プライマーの間に比較的短い配列のプローブを結合させ、DNAポリメラーゼのエキソヌクレアーゼ活性によりDNA伸長反応過程で壊されることでReporter色素が活性化しその蛍光を検出するというシステムである。（図1）

本システム導入を期に、SYBR Green法およびTaqMan Probe法で用いるプライマーおよびプローブの設計を行い、新たな牛RSウイルス（以下BRSV）遺伝子の検出法について検討し併せて従来のサーマルサイクラーを用いた方法と検出感度の比較を行なったのでその概要について報告する。



【材料・方法】

試験には感染価 $10^{3.5}TCID_{50} / 0.1ml$ の BRSV 標準株である NMK 7 株を用い、原液から 10^6 まで 10 倍段階希釈し、これをサンプルとして RSV 抗原検出キット (alfresa 社 チェック RSV) による検出感度試験を行なった。方法はキット添付の説明書に従った。さらに、これらの段階希釈列から RNA を抽出 (Roche 社 High Pure Viral RNA Kit) し、後述の各方法により BRSV 遺伝子検出感度試験を行なった。RNA 抽出の方法はキット添付の説明書に従った。

BRSV 遺伝子は全長 15140 塩基からなるマイナス鎖の 1 本鎖 RNA であり、11 の領域がある。このうち、ヌクレオプロテインをコードする領域が 1176 塩基と比較的長く、データベースに登録されている株も 35 株あり、現在報告されている I 型から VI 型までのすべての株を含んでおり、各株間の相同性も 97.26 % と保存性が高かった。これらの理由から、この領域についてプライマーおよびプローブの設計を検討した。

(表 1、図 2)

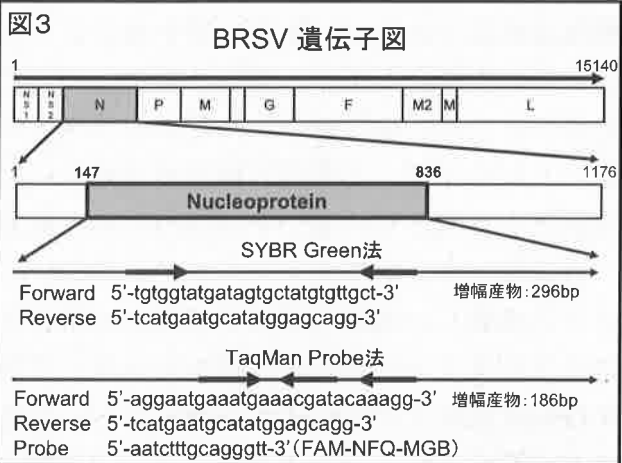
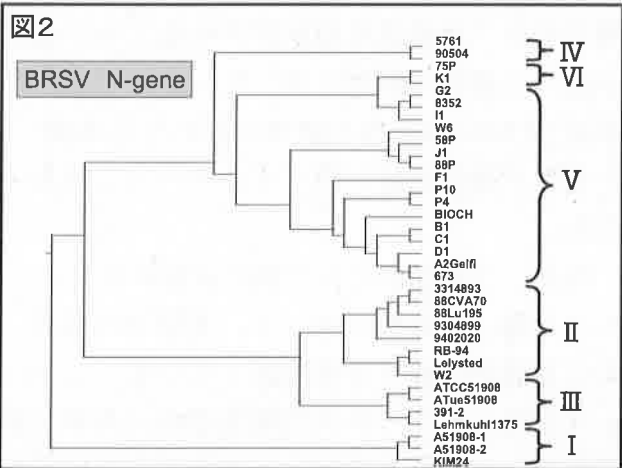
前述の BRSV35 株のヌクレオプロテインをコードする遺伝子領域のうち 147 ~ 836 塩基の間の配列を比較し、すべて共通な部位にプライマーおよびプローブの設計を行なった。設計にはリアルタイム PCR システムに付属のプライマー設計ソフト (Primer Express Software Version3.0) を使用

し、設計の諸条件については ABI 社の推奨する条件とした。その結果、SYBR Green 法用のプライマー、TaqMan Probe 法用のプライマーおよびプローブをそれぞれ図 3 のような位置に設計することができた。TaqMan Probe 法用のプローブについては、センス鎖では設計が不可能であったためアンチセンス鎖に設計した。Reporter 色素には FAM を使い、非特異的蛍光の低減とアニーリング温度を上げる目的で、Quencher に NFQ (No Fluorescent Quencher)、3'末端に MGB (Minor Groove Binder) を使用した MGB プローブとした。

RT-PCR は、すべての方法において、下流プライマーを用いた逆転写と、逆転写後の PCR を 1 チューブで連続的に行なう 1 ステップ法および短いランダム配列プライマーを用いて RNA 全長を逆転写し、逆転写した cDNA をもとに別の反応系で PCR を行なう 2 ス

表1 BRSV 遺伝子 (全長 : 15140塩基)

	領域	開始	終了	長さ	登録数	相同性
Pre	leader region	1	45	46	-	-
1	non-structural protein 1	99	509	411	9	97.57
2	non-structural protein 2	609	983	375	9	96.29
3	Nucleoprotein	1144	2319	1176	35	97.26
4	Phosphoprotein	2351	3076	726	4	96.61
5	Matrix protein	3220	3990	771	4	97.80
6	Small hydrophobic protein	4268	4513	246	27	91.06
7	Attachment glycoprotein	4705	5478	774	83	91.73
8	Fusionprotein	5570	7294	1725	21	95.97
9	Matrix M2	7523	8083	561	4	97.33
10	Matrix 22K	8076	8348	273	4	97.66
11	Polymerase	8414	14902	6489	3	99.94
End	trailer region	14980	15140	161	-	-



テップ法についてそれぞれ行なった。(図4)

通常のサーマルサイクラーによる RT-PCR は、従来行なっていた Valarcher らの報告に基づいた RT-Nested-PCR および今回 SYBR Green 法のために設計したプライマーを用い表 2 のとおりそれぞれ行なった。なお、1 ステップ RT-PCR は Ready-To-Go RT-PCR Beads (GE Healthcare 社)、PCR についてはすべて Ready-To-Go PCR Beads (GE Healthcare 社) を使用した。また、増幅反応終了後、100V・35 分のアガロースゲル電気泳動 (CAMBREX 社 1.5% SeaKem GTG Agarose) を行い、ゲルをエチジウムブロマイド染色し紫外線照射下で増幅確認を行なった。

リアルタイム PCR システムによる RT-PCR は、表 3 のとおりそれぞれ行なった。なお、SYBR Green 法は、Power SYBR Green PCR Master Mix (ABI 社)、TaqMan Probe 法については TaqMan Fast Universal PCR Master Mix (ABI 社) を使用した。

2 ステップ RT-PCR における RT には、High Capacity cDNA Archive Kit (ABI 社) を使用した。また、それぞれの方法における試薬の調整および反応温度については添付説明書に従った。

また、SYBR Green 法については、SYBR Green I が 2 本鎖 DNA に非特異的に結合する性質があるため、検出した蛍光が目的の遺伝子の増幅によるものかどうかを確認する必要があることから、増幅過程終了後、解離反応過程 (95 °C・15 秒、60 °C・1 分、60 °C から 95 °C まで温度上昇、95 °C・15 秒) を追加し、随時蛍光を測定し SYBR Green I の解離した Tm 値を求めた。

【結果】

RSV 抗原検出キットは、検出感度が弱く、ウイルス液の濃度が 10⁻¹ 以下について

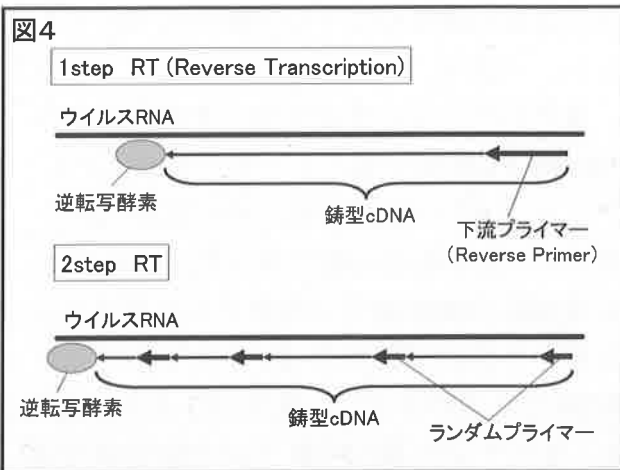
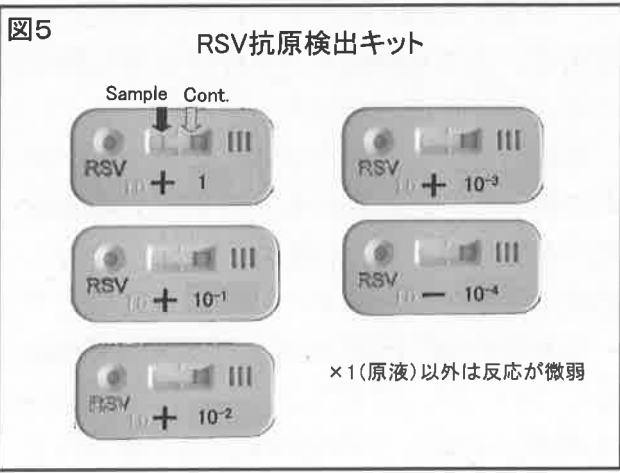


表2 通常のサーマルサイクラーによるRT-PCR

RT-Nested-PCR (2000年 Valarcherら)			増幅産物 1st: 1034bp Nested: 731bp		
1step RT			2step RT		
RT-PCR (1st)	RTG-RT-PCR Beads 900nM each primer Template DNA 4 μl Total 50 μl	95°C 5m 95°C 1m } 45 58°C 30s } 72°C 1m } cycle 72°C 7m	RT	High-Capacity cDNA Archive Kit	25°C 10m 37°C 30m
Nested-PCR	RTG-PCR Beads 500nM each primer Template DNA 4 μl Total 25 μl	95°C 5m 95°C 45s } 45 49°C 1m } 72°C 1m } cycle 72°C 7m	PCR (1st)	RTG-PCR Beads 500nM each primer Template DNA 4 μl Total 25 μl	95°C 5m 58°C 1m } 45 58°C 1m } 72°C 1m } cycle 72°C 7m
RT-PCR (SYBR Green法用に設計したprimer使用)			増幅産物 206bp		
1step RT			2step RT		
RT-PCR	RTG-RT-PCR Beads 500nM each primer Template DNA 4 μl Total 50 μl	95°C 5m 95°C 30s } 45 62°C 45s } 72°C 45s } cycle 72°C 7m	RT	High-Capacity cDNA Archive Kit	25°C 10m 37°C 30m
			PCR	RTG-PCR Beads 500nM each primer Template DNA 4 μl Total 25 μl	95°C 5m 55°C 30s } 45 72°C 45s } cycle 72°C 7m

表3 リアルタイムPCRシステムによるRT-PCR

SYBR Green法			増幅産物 296bp		
1step RT			2step RT		
RT-PCR	2*Power SYBR Green PCR Master Mix RTase 5U RNase Inhibitor 2U 250nM each primer Template DNA 2 μl Total 20 μl	95°C 10m 95°C 30s } 45 62°C 45s } 72°C 45s } cycle	RT	High-Capacity cDNA Archive Kit	25°C 10m 37°C 30m
			PCR	2*Power SYBR Green PCR Master Mix 250nM each primer Template DNA 2 μl Total 20 μl	95°C 10m 62°C 30s } 45 62°C 45s } 72°C 45s } cycle
TaqMan Probe法			増幅産物 100bp		
1step RT			2step RT		
RT-PCR	TaqMan One-step RT-PCR Master Reagents Kit 250nM TaqManProbe 500nM each primer Template DNA 2 μl Total 20 μl	49°C 30m 95°C 15m 95°C 15s } 45 60°C 1m } cycle	RT	High-Capacity cDNA Archive Kit	25°C 10m 37°C 30m
			PCR	2*TaqMan Fast Universal PCR Master Mix 500nM each primer 250nM TaqManProbe Template DNA 2 μl Total 20 μl	93°C 20s 93°C 3s } 45 60°C 30s } cycle



は、反応が微弱であり検出限界は 10^3 であった。(図 5)

通常のサーマルサイクラーを用いた RT-Nested-PCR 法では、1 ステップ RT と 2 ステップ RT の検出感度に差は認められず、 10^4 まで検出可能であった。また、今回 SYBR Green 法用に設計したプライマーを用いた RT-PCR 法では、1 ステップ RT-PCR では 10^3 までしか検出できなかったが、2 ステップ RT-PCR では 100 倍検出感度に優れ、 10^5 まで検出可能であった。

(図 6)

リアルタイム PCR システムを用いた SYBR Green 法では、1 ステップ RT-PCR は非常に検出感が悪く、 10^2 までしか検出できなかった。逆に、2 ステップ RT-PCR ではすべての希釈列で検出することができた。本法では、陰性対照でも増幅過程で蛍光を検出したが、解離過程で他の陽性希釈列とは異なる解離温度であったことから、陰性対照で検出した蛍光はプライマーダイマーによる非特異的なものであると判定した。(図 7: 増幅過程のグラフは縦軸を蛍光増加量、横軸をサイクル数で表した。解離過程のグラフは縦軸を蛍光減少率、横軸を温度で表した。)

TaqMan Probe 法においても、1 ステップ RT-PCR に比較して 2 ステップ RT-PCR の方が 10 倍感度が高く、それぞれ 10^5 および 10^6 まで検出可能であった。本法では、SYBR Green 法のように非特異反応を認めず、より短時間でリアルタイムに判定することが可能であった。

試験時間と検出感度のまとめについて表 4 に示した。抗原検出キットでは、試験時間が最も短く約 30 分程度であるが、検出感度は低かった。通常のサーマルサイクラーを用いた RT-PCR 法および SYBR Green 法については、従来行なっていた RT-Nested-PCR に比較して試験時間は 4 時間程度と

図6 通常のサーマルサイクラーによるRT-PCR

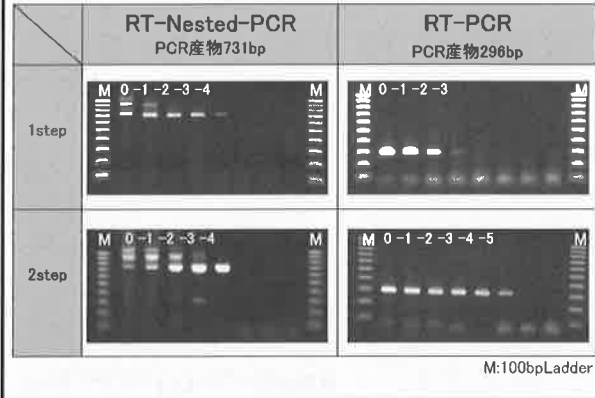


図7 リアルタイムPCRシステムによるRT-PCR SYBR Green法

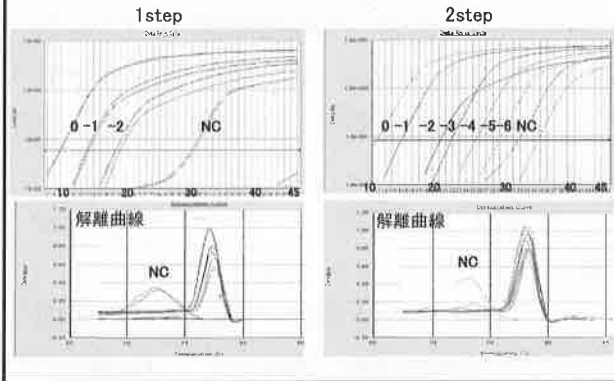
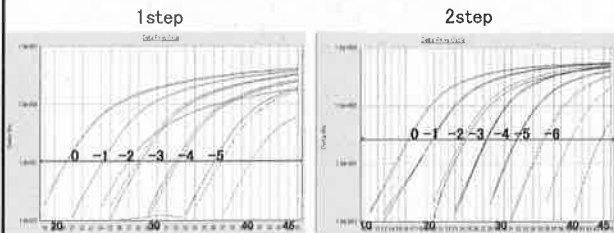


図8 リアルタイムPCRシステムによるRT-PCR TaqMan Probe法



リアルタイムに遺伝子増幅を確認
検査時間は、最短で60分程度

表4 試験時間と感度

項目	方法	抗原検出 Kit	RT-Nested-PCR		RT-PCR		SYBR Green		TaqMan Probe		
			1	2	1	2	1	2	1	2	
RNA抽出			30	30	30	30	30	30	30	30	
RT				40		40		40		40	
RT-PCR			230		170		210		120		
PCR			170	370		140		180		40	
電気泳動			40	40	40	40					
染色			30	30	30	30					
Total(分)			30	500	510	270	280	240	250	150	110
検出感度			10^{-3}	10^{-4}	10^{-4}	10^{-3}	10^{-5}	10^{-2}	10^{-6}	10^{-5}	10^{-6}

約 1/2 程度であった。両方法とも、2 ステップ RT-PCR の方が明らかに検出感度が高かった。

遺伝子検索で最も短時間かつ高感度な方法は、TaqMan Probe 法であり従来行なっていた RT-Nested-PCR に比較して試験時間は最短で 2 時間弱と、1/4 から 1/5 と大幅に試験時間の短縮を図ることができた。

【考 察】

今回設計した 2 つのプライマーセットは、リアルタイム PCR システムにおいても通常のサーマルサイクラーを用いた方法のいずれにおいても良好な成績を得ることができた。RSV 抗原検出キットや既に報告されている RT-PCR 法に較べて高感度であることを確認した。特に TaqMan Probe 法を用いたリアルタイム PCR においては非特異性増幅も認められず、高感度かつ短時間でリアルタイムに BRSV 遺伝子の増幅を確認することができた。

RT-Nested-PCR 以外のいずれの方法においても、RT を 1 ステップよりも 2 ステップで行った方が検出感度が優れていたが、1 ステップでの RT の効率が劣っていることが原因であり、逆転写の時間延長などの条件の検討が必要であると思われる。TaqMan Probe 法についても 2 ステップの方が検出感度に優れていたが、1 ステップではリアルタイム PCR システム 7500Fast において Fast モードが使用できる試薬がないため、Normal モードによる増幅過程となり試験時間が若干長くなってしまった。しかしながら、1 ステップの方が試験の手順が簡便であり、高感度で検出できることから検体数や判定までの時間の余裕を考慮して RT の方法を選択すればよいのではないかと思われた。

SYBR Green 法はプライマーダイマーを形成しにくいプライマーの設計やアニーリング温度などの条件設定が非常に難しく、陰性対照においても非特異的反応が認められるなど、通常の RT-PCR や TaqMan Probe 法に較べて信頼性にやや問題があり、諸条件の検討がさらに必要であるとともに現状では診断には不向きな方法であると思われた。今回の報告には示していないが、実際の野外での検査で試験した結果、臓器乳剤などを材料とした場合 SYBR Green 法では判定できないほどの非特異的増幅が認められており、検査成績の判定にはその他の検査成績などと総合的に行なう必要があると思われた。

今回使用したリアルタイム PCR システムは、遺伝子検査が補助的診断であるという位置づけではあるが、迅速診断に非常に有効であることが確認できた。疾病の蔓延防止のための対策を少しでも早く行なうために有用なシステムであることが認識された。

今後、多くの BRSV 野外株について試験を行い信頼性の向上を目指すと共に、同様の手法を用いリアルタイム PCR システムをその他のウイルス性疾病の補助診断に活用できるよう検討を重ねていきたい。

【参考文献】

1. Jean-Francois Valarcher et al. 1999. Evaluation of nested transcription-PCR assay based on nucleoprotein gene for diagnosis of spontaneous and experimental bovine respiratory syncytial virus infections. J. Clin. Microbiol. **37**:1858-1862.
2. Ursula J. Buchholz et al. 1999. Generation of bovine respiratory syncytial virus (BRSV) from

cDNA:BRSV NS2 is not Essential for virus replication on tissue culture, and the human RSV leader region acts as a functional BRSV promoter. *J. Clin. Microbiol.* **73**:251-259

3. S. Vilcek et al. 1992. Development of nested PCR assays for detection of bovine respiratory syncytial virus in clinical samples. *J. Clin. Microbiol.* **32**:2225-2231.

4. Jean-Francois Valarcher et al. 2000. Evaluation of bovine respiratory syncytial virus. *J. Clin. Microbiol.* **74**:10714-10728.

16. 子牛飼養管理技術の向上と新マニュアルの普及推進

南部振興局 農山漁村振興部 企画・流通・畜産班

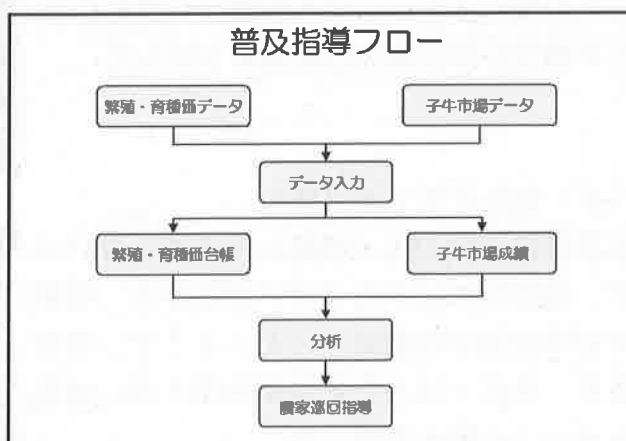
○内村 誠・高木 喜代文

【はじめに】

管内の繁殖和牛農家は50戸で、高齢化による後継者不足も深刻であり、日々の管理にも手が行き届きにくい状況である。

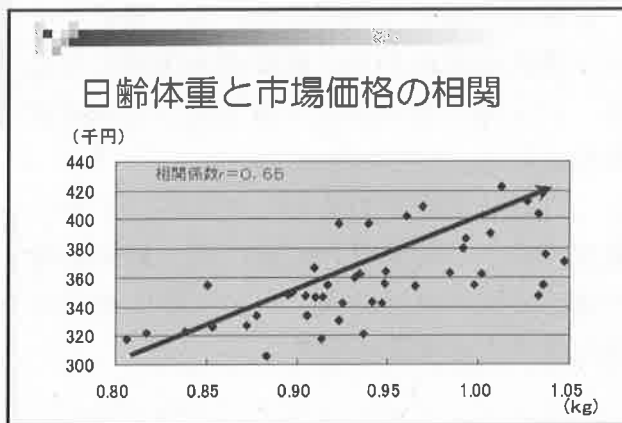
そこで南部振興局では、繁殖や市場データをパソコンで管理し、「繁殖状況」や「子牛の市場成績」等を数字で把握することによる、効率的な個体管理、および経営管理の取り組みを推進している。

それらのデータは、定期的に農家へ送付し情報提供を行うと共に、得られた結果に基づいて巡回指導を行っている。



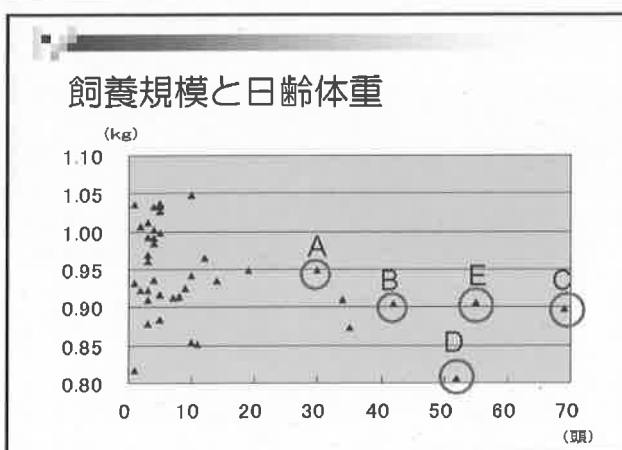
まずは、管内の過去15年間における農家ごとの「平均日齢体重」と「市場価格」について調査をしたところ、相関係数が0.65であり強い相関関係が認められた。

つまり、日齢体重が高いほど市場価格も高い傾向にあることがわかった。



さらに、過去15年間における飼養規模ごとの「平均日齢体重」の分布を調査したところ、飼養規模が大きいほど、日齢体重が低い傾向にあることがわかった。

これらのことから、市場価格の向上を目的として、日齢体重を増加させるために、規模の大きいA～Eの農家5戸（右グラフの○印）を重点農家と位置づけ、改善の取り組みを行ってきたので報告する。



【取り組み内容】

(1) 別飼育施設の導入

「子牛飼養管理マニュアル」の考え方に沿った飼養管理体系を実現するためには別飼育施設が必要である。しかし、A農家は牛舎の構造上、子牛の群分けができず発育に応じた管理が困難であることから、県単事業で子牛専用の育成舎の建設とスタンションの導入を行い、♂♀の違いや発育に応じた細やかな管理を行えるようにした。



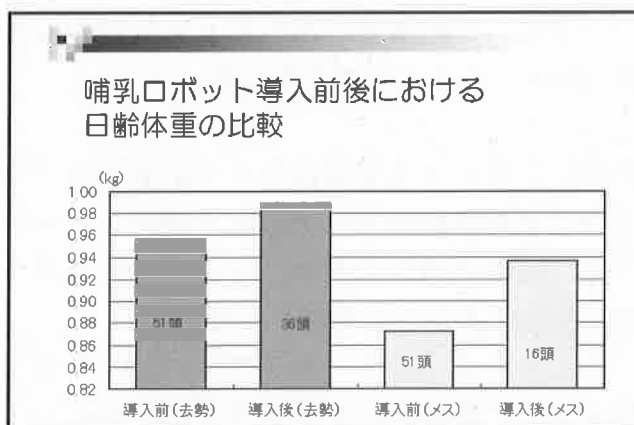
(2) 哺乳ロボットの導入

C農家は子牛の人工哺乳に取り組んでいたが、規模拡大に伴う子牛の増加から、管理や個体把握が困難になった。そこで、個体管理の徹底を図るため県単事業を使い哺乳ロボットの導入を行った。



C農家の過去5年間における、哺乳ロボット導入前後の平均日齢体重を比較した結果、♂♀共に導入前より導入後の方の成績が向上した。

これは哺乳作業の省力化が進み、子牛の観察や日々の哺乳量の把握など、個体管理の徹底が図られた結果、平均日齢体重が向上したことが考えられる。



(3) 初乳の強制投与の推進

地区の開業獣医師に協力を依頼し、初乳の強制投与の推進を行った。

初乳を強制投与し受動免疫を得ることによって、下痢等による初期の発育不良を予防することが狙いである。

関係機関が連携し推進を行った結果、現在は重点農家5戸のうち、A～Dの4戸の農家が自ら実施している。

農家からは明らかに子牛の下痢が減り、効果が見られたという声を聞くことができた。



さらに、重点農家5戸に対しては、子牛管理の考え方の基本となる「子牛飼養管理マニュアル」の徹底を図るため、研修会や現地検討会を開催すると共に、定期的な巡回で濃密指導を行った。

【改善の経過】

改善の経過を確認するために、重点農家5戸の過去5年間の平均日齢体重を比較したところ、ほとんどの農家で向上が見られた。

まず、A農家の改善理由としては、別飼い施設導入により、発育に応じた飼養管理ができるようになったことがあげられる。

就農5年目だが「豊後牛飼い塾」に入塾したり、新しい技術にも積極的に取り組むなど、本人の畜産に対する意識・技術共に年々レベルが向上している。

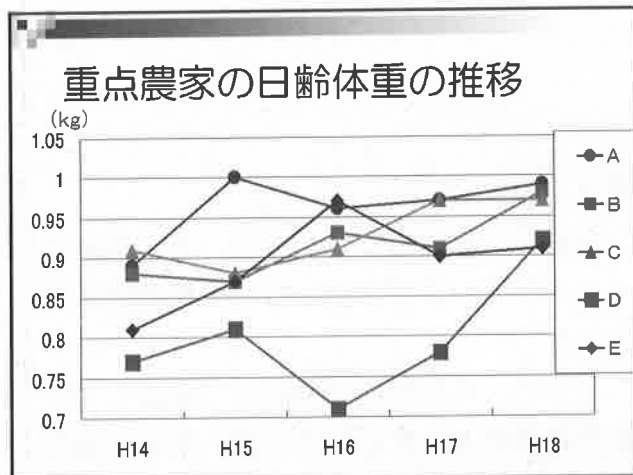
B農家の改善理由としては、子牛の給与体系を子牛飼養管理マニュアルに沿った給与体系に変更したことがあげられる。

「豊後牛飼いレディース塾」にも参加しており、さらに自ら種付けを行い平成16年度の平均分娩間隔は11.9ヶ月と1年1産を実現している。

続いてC農家は、飼養頭数70頭と管内では最大規模の農家である。前述のとおり哺乳ロボットの導入で、省力化と個体管理の徹底が図られたことが改善理由としてあげられる。

D農家は、過去15年間の平均日齢体重が管内で最下位の0.81であった。しかし、子牛飼養管理マニュアルに沿った給与体系に変更したことで、平成17年度からの平均日齢体重の大幅な改善が図られた。

農家全体としては、重点指導を受けたことで飼養管理改善に対する農家本人の意識が前向きになったことがあげられる。

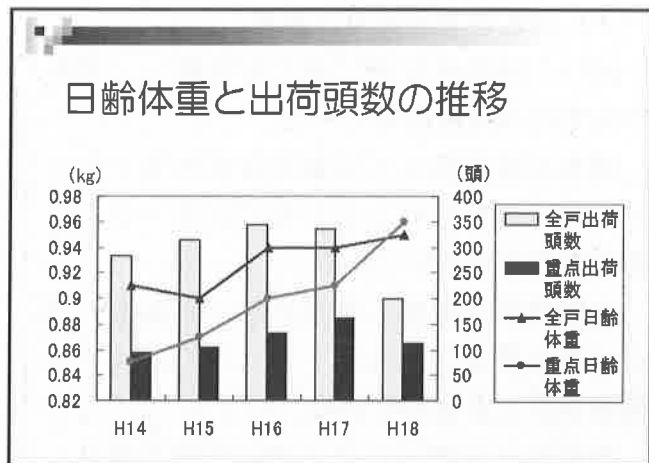


【日齢体重と出荷頭数の推移】

管内全50戸と重点農家5戸の、平均日齢体重と出荷頭数 5年間の推移を比較した。

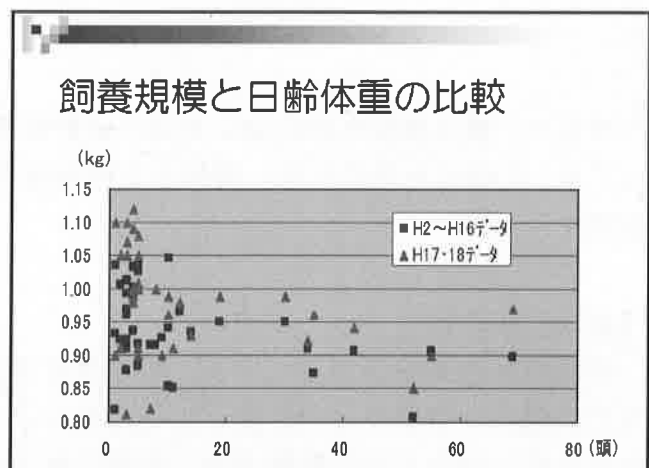
平均日齢体重に関しては順調に向上しているが、特に重点農家に顕著な向上が見られた。

さらに、重点農家は積極的に増頭を行っており、平成18年では管内出荷頭数の半数以上を、重点農家が占めている。



【飼養規模と日齢体重の比較】

過去15年間と最近2年間の平均日齢体重の比較を行ったところ、全体的に向上していることがわかった。



【まとめ】

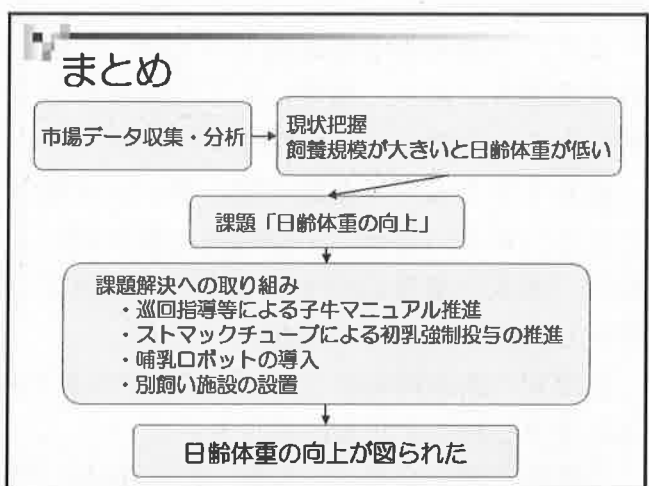
今までの流れをまとめると、まず市場データの収集および分析を行い、現状把握を行った。

そして、それを元に検討し「低迷している市場価格を上げるためには、まず日齢体重の向上を図る」という課題を設定した。

その課題に向けた取り組みとして、「研修会や巡回指導等による子牛飼養管理マニュアルの推進」「初乳の強制投与の推進」

「哺乳ロボットの導入」「別飼い施設の設置」を行った。

これらの取り組みが子牛の飼養管理の改善に結びつき、平均日齢体重の向上が図られた。



【今後の取り組み】

管内然 50 戸の子牛の飼養体系を調査したところかなりのパターンがあり、まだ子牛の給与体系が統一されていないのが現状である。

重点農家を対象とした活動で、一定の成果が見られたことから、これらのデータを活用しながら、全戸を対象にして日齢体重の向上を目標に下記について取り組んでいきたい。

今後の取り組み

- 1 「子牛飼養管理マニュアルの考え方」の徹底
- 2 子牛の別飼い施設の設置
- 3 平均日齢体重**0.99kg**の達成

- ① 研修会等による子牛飼養管理マニュアルの考え方の徹底
- ② 子牛の別飼い施設の設置
- ③ 平均日齢体重 0.99kg の達成による、市場銘柄の確立

豊後牛銘柄確立のため、今後とも肥育農家の飼いやすい牛を生産することを目指し、指導を行って行きたいと考えている。

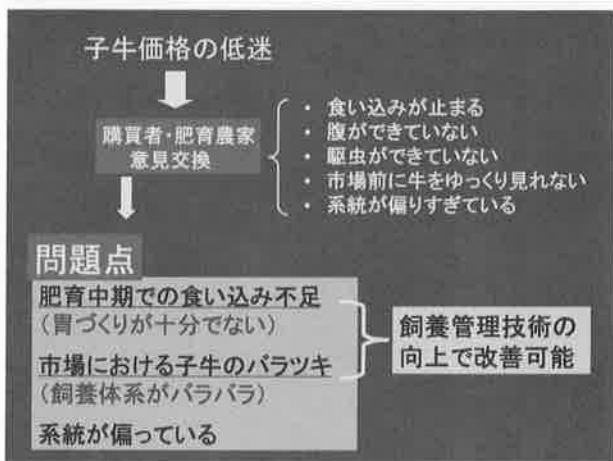
17. 子牛飼養管理マニュアルを核とした 売れる子牛生産にむけて

大分県西部振興局 生産流通部

○繁田政豊 後孝典 宗田尚子



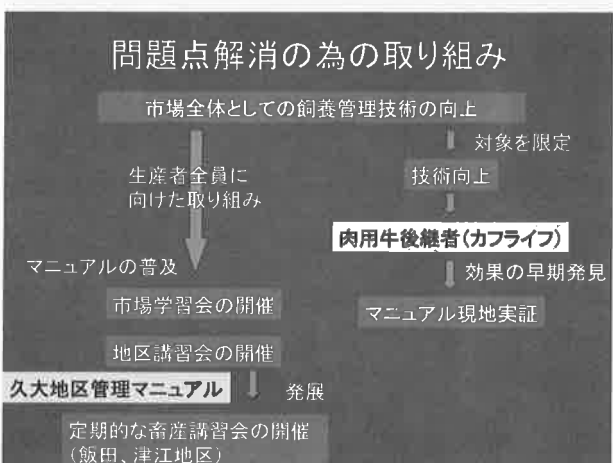
今回、子牛飼養管理マニュアルを核とし売れる子牛生産にむけた取り組みについて報告します。



管内では子牛価格の低迷を受けて、購買者、肥育農家との意見交換会を積極的に開催してきました。

その中で左記のような問題点があげられました。特に今回、肥育中期での食い込み不足、子牛のバラツキ、系統の偏りについて改善に向けた取り組みを行いました。

問題点の解消には市場全体としての飼養管理技術の向上が必要になってきます。



管内では生産者全員に向けた取り組みとして、市場開催前の空き時間を活用し基本的な技術を再度徹底するために市場学習会の開催を、マニュアルの普及を目的とした地区講習会を積極的に開催してきました。

また地区講習会が発展し現在、飯田地区、津江地区において定期的な講習会を開催しています。特に飯田地区においては講習会開催後の地区市場平均価格が開催前に比べ高値で推移し続けています。

またマニュアルの効果の早期発現のため、肉用牛後継者（カフライフ）を対象にマニュアルの現地実証及び技術講習会を開催してきました。

久大地区子牛飼養管理マニュアル

左表が久大地区の畜産関係者で作成した久大地区子牛飼養管理マニュアルです。県のマニュアルに比べ、駆虫プログラム、発育ステージ毎の行使しよう管理等を細かく記載し、これ1枚で子牛の出荷までをほぼ対応できるようになっています。

牛飼いレディーのための牛飼い講座

分焼 **2** か月前

生時 **30** 分

1.5 kg

ストップ **4.5** kg

7 日齢

3 か月齢

子牛生産に関わる様々な生産者に応じた講習会の開催、資料の作成

畜産振興会等の協力の下、作成したお母さん向けの飼養管理マニュアル解説版

左図は子牛飼養管理マニュアルの解説版です。これをマニュアルと併用することで様々な生産者に対応できるようにしました。

分焼 2 か月前

増し飼

生時 30 分

初乳

7 日齢

別飼

要点のみを細かく解説

1.5 kg

3 か月齢

ストップ 4.5 kg

このように要点のみを細かくわかりやすく解説をしています。分焼前の2ヶ月での増し飼、初乳の給与、別飼、えづけの卒業時期、離乳の注意点、濃厚飼料の給与は4.5kgを上限とするということなどをわかりやすく解説しています。

カフライフ (H16設立)

設立目的

売れる子牛生産の為の育成技術確立、増頭促進
情報交換、相互親睦

構成員

豊後玖珠市場に出荷している畜産後継者有志
玖珠町 8名 九重町 2名 日田市 3名

会員概要

平均年齢 30歳 平均飼養頭数 48頭

主な活動

市場における体測、データ分析(H16. 11月市場～)
定期的な技術講習会の開催(奇数月)

肥育農家、繁殖農家との意見交換
マニュアル現地実証(H17. 11月～)



市場での体測



宮崎市場視察研修

データの分析について

(データ提供:カフライフ)

- ・ 市場における発育比較調査を実施(H17. 5～)
(測定部位は体高、胸囲、腹囲)
- ・ 日齢体重、 σ 、腹囲と胸囲の差を重視
(宮崎、兵庫、島根の試験報告を参考)

データの比較

1. 実証農家の実証前後の発育比較
2. 実証農家とその他農家(参考)の発育比較
3. 配合の比較

ここで今回マニュアル実証において協力をしてもらったカフライフについての説明を行います。

売れる子牛生産の為の育成技術確立、増頭促進情報交換、相互親睦を目的に平成16年に豊後玖珠市場に出荷している畜産後継者有志で設立をしました。

現在、玖珠町8名、九重町2名、日田市3名の計13名の会員がいます。

平均年齢は30才、平均飼養頭数は48頭です。

現在までの活動として、市場における体側・分析、技術講習会の開催、肥育農家・購買者との意見交換会等、積極的な活動をしています。

データの分析については平成17年5月から18年9月までの体側データ、市場データを活用し日齢体重、発育、胸囲と腹囲の格差について検討をしました。

胸囲と腹囲の格差については宮崎県、島根県、兵庫県の試験報告を参考にしています。

データの比較については左記のとおり実証農家の前後、実証農家と他の農家、参考までに配合の比較を行ないました。

マニュアル現地実証

実証農家を選定しマニュアルの考えかたに基づいた給与実証をおこなった。

基本は初期の胃づくり、後半の粗飼料多給

	性	頭数	備考
実証区	去	44	実証後の市場成績 (H18. 5月～11月市場)
	雌	51	
実証前区	去	96	実証前の市場成績 (H17. 5月～18. 3月市場)
	雌	56	

(現地実証農家 5戸)

マニュアルの考えかたに基づき初期の胃づくり、後半の粗飼料多給を実施しました。

左記の表のとおりの実証区、実証前の区をわけて検討をしました。

ちなみに実証区の牛が出荷されだしたのが18年5月市場からです。

データ比較 1 実証前後

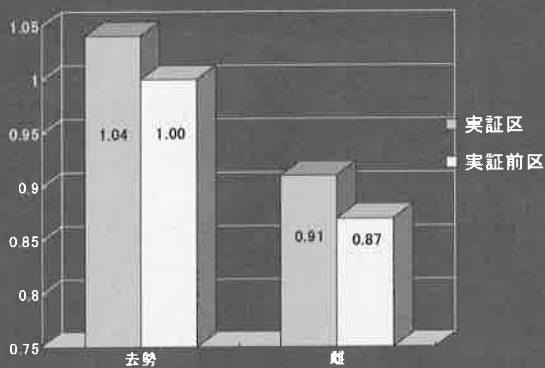
去勢	出頭数	平均日齢	平均体重	平均日齢	平均体重	体高	σ	胸囲	腹囲	腹囲/胸囲
マニュアル	44	22	271	104	1120	103	147	106	30	
実証前	96	26	24	100	112	088	120			
比較				004	(02)	004	(20)			

雌	出頭数	平均日齢	平均体重	平均日齢	平均体重	体高	σ	胸囲	腹囲	腹囲/胸囲
マニュアル	51	25	230	091	1116	099	149	161	294	
実証前	56	28	24	087	120	011	147			
比較				004	(04)	008	(17)			

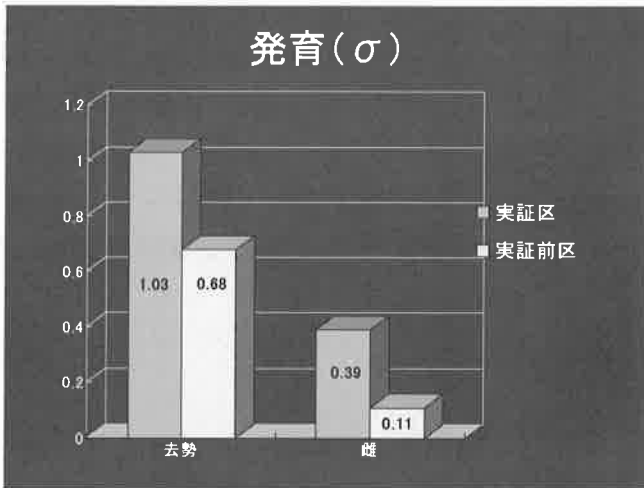
実証農家毎に発育を比較

左記の表は実証農家の実証前後の発育比較をおこなったものです。上が去勢、下が雌の比較です。

平均日齢体重



平均日齢体重の比較については去勢、雌共に実証区の方がわずかながら大きいという結果になりました。



发育曲线 (σ) においても去勢、雌共に実証区の方が実証前の区よりも大きいという結果になりました。

このことからマニュアル実証をおこなったほうがわずかながらですが发育が良いという結果になりました。

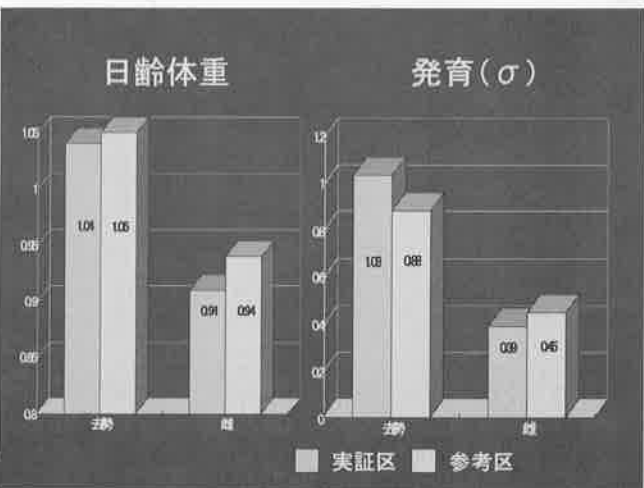
データ比較 2 マニュアル実証区と参考区

	性	出荷頭数	日齢	体重	日齢体重	体高	σ	胸囲	腹囲	体面一対比
マニュアル実証	去	44	282	271	1.04	115.0	1.03	149.7	180.6	31.0
参考区	去	49	287	280	1.06	115.1	0.88	153.2	175.3	22.7
比較					(0.02)	(0.12)	0.15	(3.52)	5.29	8.28
マニュアル実証	雌	51	275	250	0.91	111.6	0.39	148.9	176.1	28.4
参考区	雌	39	290	259	0.94	112.5	0.45	150.2	171.2	21.1
比較					(0.02)	(0.89)	(0.06)	(3.24)	4.88	8.29

参考区: その他の農家
 去勢 49頭 雌 39頭
 比較データ H18. 5~11月に出荷された子牛

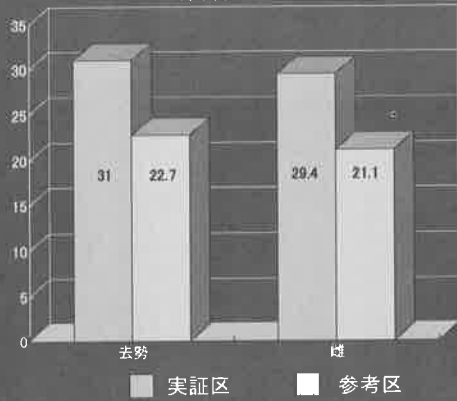
左表はマニュアル実証農家とそうでない農家(比較的濃厚飼料多給)との比較です。

データの比較については平成18年5月~11月に出荷された牛の体側、市場データを用いました。



日齢体重においては去勢、雌ともにその他農家の方が大きいという結果になりました。发育(σ)については去勢は実証区、雌はその他農家の方が大きいという結果になりました。

腹囲と胸囲の格差 (目標30cm)



腹作りの目安とした腹囲と胸囲の格差については実証区の方が去勢、雌共に大きいという結果になりました。

このことからマニュアル実証をおこなった区の方が腹作りが進んでいるということがわかりました。

データ比較 3 3元交配とそれ以外

種雄牛	性	出産頭数	平均日齢体重	平均日齢体高	平均日齢体長	体高	σ	胸囲	市場比較
三元交配	去	148	269	276	1.03	115.2	0.88	152.1	8,734
	雌	94	286	255	0.90	111.8	0.23	144.7	6,956
それ以外	去	123	275	269	0.99	115.0	0.61	151.4	-7,394
	雌	134	287	253	0.88	112.0	0.19	147.6	-1,791

総調査頭数 506頭(去勢267頭 雌229頭)

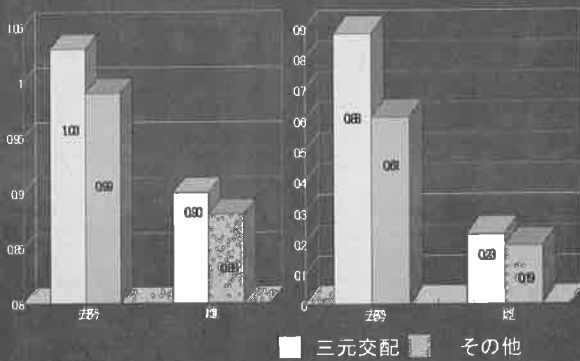
藤良(系)、気高、田尻、栄光、熊波、東豊、栄竜、etcの系統における3元交配の有無について調査をした。

* 3代祖の系統がすべて異なるものを3元交配とした

最後に3元交配ができていない牛とそうでない牛との発育、価格比較をおこないました。現在、全国的に純血種の種雄牛が少ないことから3代祖の系統がすべて異なるものを3元交配区として比較を行ないました。

日齢体重

発育(σ)



この表のように日齢体重、発育共に3元交配区が優れているという結果になりました。

データ比較 3元交配とそれ以外

種雄牛	性	出荷頭数	平均日齢体重	平均日齢体高	平均日齢体幅	体高	σ	胸囲	市場比較
三元交配	去	146	269	276	1.03	115.2	0.88	152.1	8,734
	雌	94	286	255	0.90	111.8	0.23	144.7	6,956
それ以外	去	123	275	269	0.99	115.0	0.61	151.4	-7,394
	雌	134	287	253	0.88	112.0	0.19	147.6	-1,791

出荷時に3元交配ができていない牛とそうでない牛において、平均日齢体重、σ、平均販売価格すべてにおいて3元交配ができていない牛のほうが優秀であるという結果になった。
特に販売金額において去勢で16,000円、雌で8,000円の格差がでた。

また平均販売価格においても3元交配区のほうが、そうでない区に比べ去勢、雌共に高く売れているという結果になりました。

まとめ

(売れる子牛生産に向けて)

1. 基本的な技術の再徹底
2. 初期の胃づくり、後期の粗飼料多給
3. 3元交配(肥育農家の求める交配)

今後の展開

1. 技術講習会の開催(継続)
2. マニュアルの再徹底と応用
3. マニュアル実証牛の肥育成績の追跡

まとめとして、売れる子牛生産のためには基本的な技術を再徹底すること。初期の胃づくり、後期の粗飼料多給(マニュアル)を行うこと。肥育農家の求める交配(3元交配)を行っていくこと。すべて子牛生産の基本であるが、このことを再徹底することで肥育農家の求める子牛ができるという結論に至りました。

今後は左記のように再度、マニュアル徹底を行うと共にマニュアル実証牛の肥育成績の追求を行っていきたいと考えています。

18. おおいた型放牧の取り組みについて

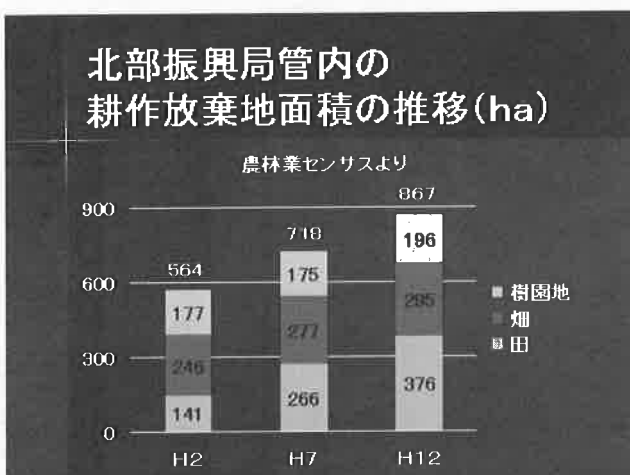
北部振興局

○木下達矢、本田文博（生産流通部経営・畜産班）

佐藤嘉彦（農山漁村振興部森林・林業第一班）

1. 背景・目的

北部振興局管内では、中山間地を中心に、耕作放棄された水田や樹園地が増加しているが（下表）、高齢化や過疎化が進んでおり、農地の荒廃は今後益々増加すると考えられる。



耕作放棄地が拡大すると、

- ①イノシシの隠れ家や通り道になる
- ②病虫害の温床になる場合がある
- ③景観が損なわれ、風通しが悪くなる
- ④ゴミ捨て場となる危険性がある
- ⑤水田の水源涵養機能（水を溜める働き）や土壌浸食防止機能が大きく低下する

等の影響が考えられるため、耕作放棄地対策は集落全体の課題であり、下流域にも影響を及ぼす問題である。

そこで、わずかな労働力で広い農地を保全管理することができる「おおいた型放牧」を推進し、荒廃農地対策とともに鳥獣害対策および林地管理対策にも効果があるかどうかを検証したので、その取り組みについて報告する。

2. 荒廃農地対策

昨年度、7名の非畜産農家で結成した「西高の農地を守る放牧の会」について、関係機関と定期的に巡回し、飼養管理技術の向上、放牧面積の拡大および増頭を図った。

入牧式



（成果）

- ①「西高の農地を守る放牧の会」会員の1人が、農地の荒廃が深刻な集落（豊後高田市田染大曲）の荒廃水田約1.4haで放牧を開始した（左写真）。
- ②放牧面積の拡大および増頭が図られた。現在は6か所の荒廃農地約20haで22頭の繁殖雌牛が放牧されており、40頭規模まで増頭したいという会員もいる。

(豊後高田市田染の荒廃水田の推移)



③「西高の農地を守る放牧の会」支援の経験を活かし、宇佐市の荒廃樹園地に放牧を推進。非畜産農家がレンタカウを利用して新たに放牧を開始した。

(宇佐市北宇佐の荒廃樹園地の推移)



3. 鳥獣害対策

森との共生推進室、家畜衛生飼料室、北部振興局森林・林業第1班と連携し、「自ら取り組む鳥獣被害対策事業」の実証放牧地を宇佐市に60a、中津市山国町に30a設置。放牧による鳥獣害軽減効果について検証した。

宇佐市の放牧地については非畜産農家がレンタカウを利用し、山国町の放牧地については畜産農家が所有牛を利用した。

(成果)

- ①実証放牧地の周囲では鳥獣害は確認されなかった。
- ②宇佐市の実証放牧地では、次のように集落が活性化した。

宇佐市の実証放牧地



(1) 放牧地が新聞・テレビ・ラジオで報道され、集落の住民の多くが参加し、話題となった

(2) 集落の子供が牛に名前を付ける等、人気者になった

(左写真)

(3) 公民館に牛の看板が立った

(4) 地区の小学生が社会科見学に来た

4. 林地管理対策

家畜衛生飼料室と連携し、「おおいた型放牧育林モデル事業」の実証放牧地を中津市耶馬溪町に3ha設置。

森林管理で最も重労働である植林地の下刈り作業の省力化と、放牧による肉用牛の低コスト生産の林畜複合経営の確立について調査中。林業と畜産の双方のメリット・デメリットについてデータ収集を行っている。

5. 結果

① 荒廃農地対策

荒廃農地を省力的に管理することができ、放牧は農地保全に有効であった。

② 鳥獣害対策

放牧が鳥獣害の軽減に有効であることが確認された。しかし、時間の経過とともにイノシシが放牧に慣れてしまい、放牧地周辺に戻ってくる可能性も考えられるため、今後も継続して検証する必要がある。

③ 林地管理対策

現在データを収集中。林業側への周知を図る必要がある。

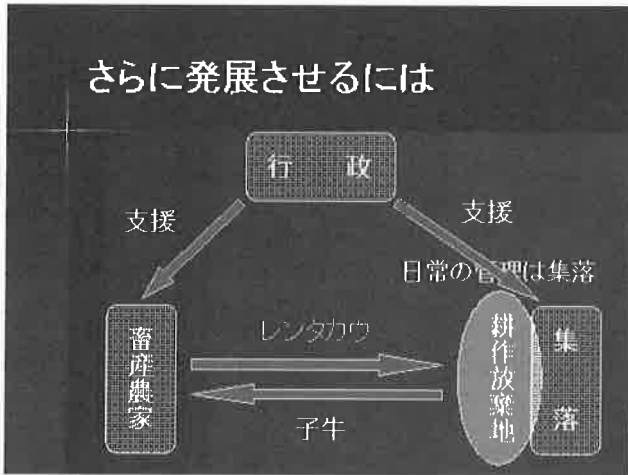
6. 課題

① 畜産試験場のレンタカウの頭数にも限度があり、放牧牛の確保が難しい。

② 畜産農家が耕作放棄地を借りて放牧する場合、地権者が放牧の意義を十分に理解していない場合が多い。そのため、地権者をお願いして放牧をさせてもらうという状況がほとんどである。このような場合、地権者はただ土地を貸すだけで、日常管理は畜産農家が行い、助成金等も地権者が受け取る場合が多いため、畜産農家のメリットが少ない。本来なら、耕作放棄地の地権者が畜産農家をお願いして放牧をしてもらうというくらい耕作放棄地問題は深刻である。

③非畜産農家が所有地で放牧する場合、牛の管理が難しい。特に繁殖雌牛を放牧し、産まれた子牛を市場に出荷して利益を得ようとする場合には、子牛管理に多くの経費や労力を使わないと、高く売れる子牛には成長しない。

7. 今後の推進



上記の課題を考慮すると、畜産農家が耕作放棄地が存在する集落に牛を貸し出すシステムが最も有効であると考えられる。

畜産農家は牛を貸すだけで、放牧場の整備や日常管理は集落が行い、生まれた子牛は畜産農家が引き取りに行く。

このような体制であれば畜産農家のメリットが大きくなる。繁殖雌牛管理の省力化や、飼料費および処理糞尿量の軽減により、増頭も図られる。また、集落にとっては耕

作放棄地が管理されるだけで非常に大きなメリットであり、集落の活性化も期待できる。

島根県や兵庫県では、既に畜産農家と集落とが結びついた放牧の事例があり、兵庫県では「集畜連携」という言葉も使われている。「おおいた型放牧」を耕作放棄地対策だけでなく、畜産振興に結びつけるためにも、「集畜連携」は重要であり、関係機関が連携して推進する必要がある。

19. ウシ脂肪交雑原因遺伝子の一つ「EDG1」の 県内黒毛和種での分布と脂肪交雑形成への効果

大分県農林水産研究センター畜産試験場

○渡邊直人、伊藤雅之、藤田達男

【目的】「霜降り」や「サシ」と称される脂肪交雑は牛肉の肉質を評価、判定する上で重要な因子であり、脂肪交雑形成能力の高い個体とそうでない個体を肥育の早期に判別し、それらの能力に合った肥育計画を立てることが出来れば牛肉生産をすすめる上で非常に効率がよい。このような背景から全国各県の研究機関では、ウシの脂肪交雑形成能力を決定づける原因遺伝子が検索されてきた。そのような中、大分県牛群における脂肪交雑の原因遺伝子の候補としてEDG1が特に有望視された。

そこでEDG1遺伝子の県内繁殖牛群内での分布を把握するとともに、遺伝的能力との関連性を解析することでこれらの遺伝子の効果を検証する。

【方法】まず、脂肪交雑原因遺伝子の検索の方法について説明する。

脂肪交雑原因遺伝子を同定するため、高能力牛としてBMSナンバーの育種価がきわめて高い種雄牛「糸福」の体細胞クローン牛「第3夢福」「第4夢福」を去勢後肥育し、対照牛としてホルスタイン種去勢牛2頭を用いた。一般に脂肪交雑は生後12ヶ月頃から開始されるといわれている。そこでその前後である8～14ヶ月齢時にロース芯部分の筋肉をバイオプシーで2ヶ月毎に採取し、ディファレンシャルディスプレイ法を用いてmRNAの発現パターンが異なる遺伝子の検索を行った(図1)。また図1の下の表は供試牛の成績である。「糸福」体細胞クローン牛はBMSナンバーが11、ホルスタイン種は3であった。



図 1

ここで使用したディファレンシャルディスプレイ法とは、対象となる細胞や臓器間での遺伝子発現量を比較する手法で、特定の機能に関与する原因遺伝子の検索に用いられる方法である。ゲノム中の発現遺伝子は生体の部位や時期によって異なり、また細胞の状態によっても刻々と変化する。つまり、脂肪交雑が現れ始める頃には最長筋組織には脂肪交雑に関与するmRNAの発現量が増加しているはずである。

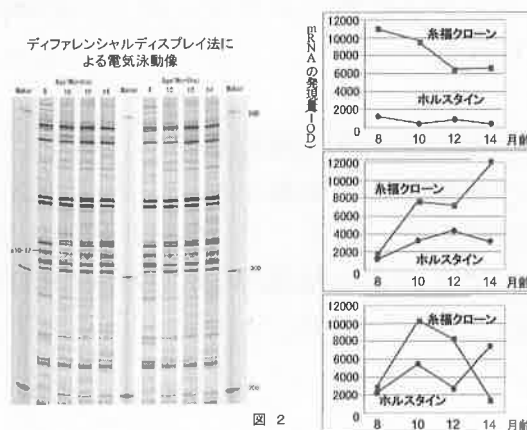


図 2

図2の左の写真は電気泳動像の一例である。この方法で解析した結果、mRNAの発

現はいろいろなパターンが見られた。糸福クローンは最初から高い値を示すが月齢が進むとやや下降するもの、糸福クローンもホルスタインも月齢が進むにつれ mRNA 発現量は増加するが糸福クローンのほうが発現量が多いもの、糸福クローンは10、12ヶ月齢で発現量が高いが14ヶ月齢で低い値を示しホルスタインは僅かながら上昇傾向を示すものなどがあつた (図2右)。

このようにしてゲル上に検出された 2114 個のバンドのうち、74 個について糸福クローンとホルスタインで発現パターンが異なつていた。ここからさらにホモロジー検索を行うことにより、人などで機能が既にわかっている 35 個の遺伝子と未知の 42 個の遺伝子を明らかにした。ここでいうホモロジーとは類縁度のことで、例えば遺伝子 A の機能が未知、遺伝子 B の機能が既知である場合、遺伝子 A が遺伝子 B と高いホモロジーをもつことがわかれば、遺伝子 A の機能が遺伝子 B の機能とよく似ていることが推測できる。この 35 個の既知遺伝子についてはリアルタイム PCR により発現パターンを確認するとともに機能面から選択することで、35 個の中から 4 つの遺伝子を脂肪交雑原因遺伝子の候補として選んだ (図3)。

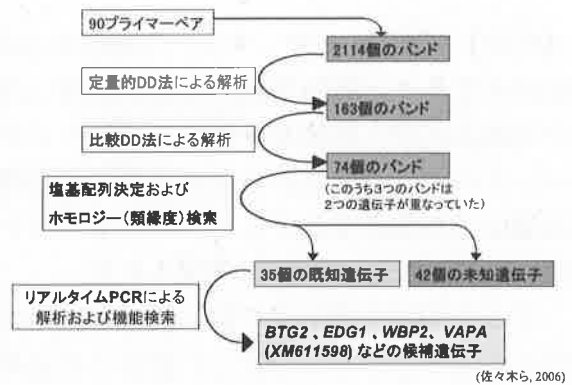


図 3

これらのうち 4 つの候補遺伝子について、クローニングおよび塩基配列の決定、ならびにデータベースの検索を行うことにより牛ゲノム構造を明らかにした。図4に4つの遺伝子について示した。上段は cDNA で下段はゲノム上での位置、オレンジの部分は翻訳領域、白い部分は非翻訳領域である。今回候補として選んだ EDG1 はゲノム上では第一エクソンおよび第二エクソンの二つの領域に分けられた。

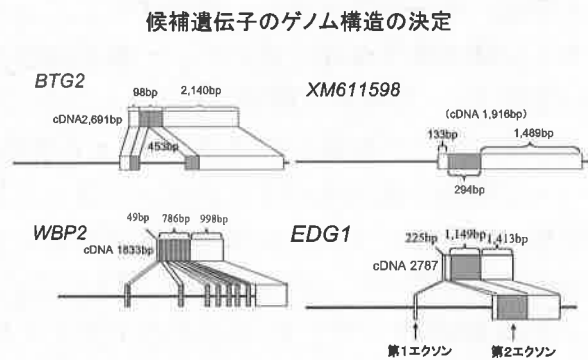


図 4

さらにゲノム構造に基づき、エクソンおよびプロモーター領域をカバーするプライマーを設計し、糸福クローンとホルスタイン間で PCR ダイレクトシーケンスによる比較を行ったところ、5' 非翻訳領域の + 166bp と 3' 非翻訳領域の + 3698bp が G または A のに一塩基多形 (以下、SNP) が検出された (図5)。+ 166bp の部位では糸福クローンは GG ホモ型、ホルスタインは AA ホモ型だった。+ 3698bp 部位では

糸福クローンは AA ホモ型、ホルスタインは GG ホモ型だった。

また、SNP とはゲノム DNA 中の一塩基のみが他の塩基に置換しているものことである。SNP のタイプにより、遺伝子を元に体内で作られる酵素などのタンパク質の働きが異なる。たとえば一对の相同染色体の塩基配列を調べてみると、塩基配列はまったく同じであるが、数百塩基～数千塩基対に一箇所の割合で違った配列が存在する。

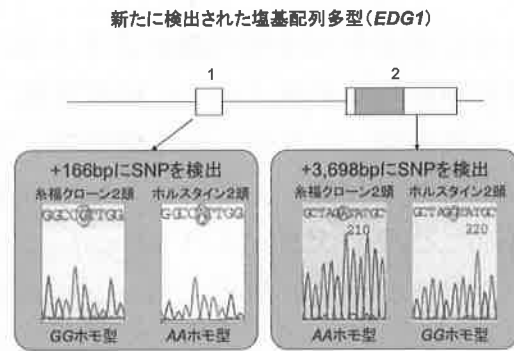


図 5

先ほど説明した 5' 非翻訳領域の + 166bp にある SNP は Msc I という制限酵素を用いることによって簡単に遺伝子型判定が可能である。この酵素は + 166bp の塩基が G の場合は切断できず、A の場合は 163bp と 164bp の間で切断できる。このように目的となる領域を PCR により増幅させた後、制限酵素処理によって遺伝子型判定する方法を PCR-RFLP 法という。

図 6 の右下の写真は SNP のタイプが GG 型、GA 型および AA 型のウシについて制限酵素 MscI で処理した場合と未処理の場合の電気泳動像である。未処理の場合、SNP のタイプに関わらず 379bp の一本のバンドが現れる。制限酵素 MscI で処理した場合、GG ホモ型だと PCR 産物は切断されないため 379bp の一本のバンドとなる。AA ホモ型の場合は MscI 酵素が PCR 産物を切断するので 2 本のバンドが検出される。GA ヘテロ型の場合は PCR 産物のうち、一方は G 型なので切断されず、もう一方は A 型なので切断されて、合計 3 本のバンドが検出される。

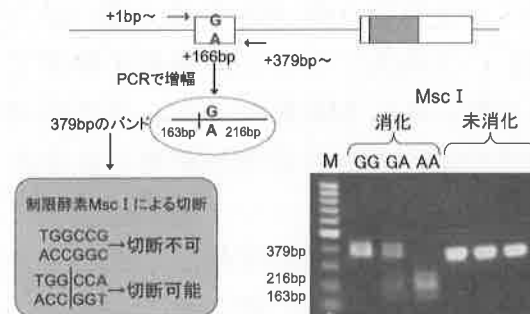


図 6

MscI を用いた PCR-RFLP 法で県内種雄牛 103 頭の遺伝子型判定を実施した。BMS ナンバーの育種価上位 30 頭を上位グループ、下位 30 頭を下位グループとした。各グループでの遺伝子型頻度は表のようになった (図 7)。このデータで上位グループでの GG 型遺伝子分布の X²検定の結果、危険率 1% 水準以下で有意な差が認められた。また、この県内種雄牛 103 頭での各遺伝子型の BMS ナンバー育種価の平均値は AA 型が 1.15、GA 型が 1.40、GG 型が 1.83 だった。各遺伝子型と BMS ナンバーとの間には有意差は認められなかったものの、増加傾向が見られた。そこでこの結果を踏まえて肥育牛でも

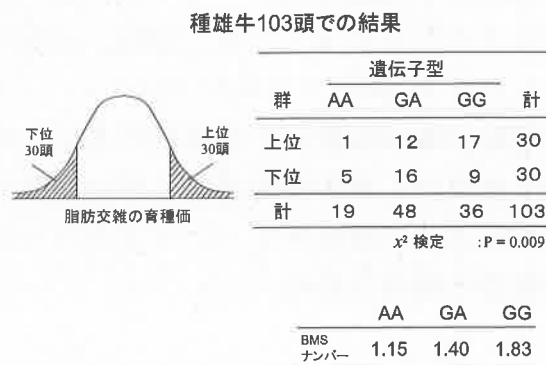


図 7

同様の方法で遺伝子型判定を行った。

図 8 は肥育牛 472 頭の遺伝子型と枝肉の各形質育種価の平均値である。枝肉重量、DG、ロース芯面積、バラ厚、皮下脂肪厚、BMS ナンバーのそれぞれの項目について T 検定を行った結果、BMS ナンバーにおいて、AA 型と GG 型の間に危険率 5 % 以下で有意に差が認められた。

肥育牛の遺伝子型と枝肉形質育種価の平均値

遺伝子型	枝肉重量	DG	ロース芯面積	バラ厚	皮下脂肪厚	BMS ナンバー	頭数
AA	-1.70	12.65	3.31	-0.23	-1.41	2.48*	99
GA	-2.40	8.84	2.92	-0.13	-0.42	2.63	235
GG	-0.50	13.74	3.19	0.19	-0.72	2.75*	138
全体	-1.70	11.07	3.08	-0.06	-0.72	2.63	472

*:有意差あり P<0.05

図 8

続いて図 9 では黒毛和種とホルスタイン種間で遺伝子型頻度と遺伝子頻度を比較した。黒毛和種はさらに産地毎についても比較した。黒毛和種とホルスタイン種の間では遺伝子型分布、遺伝子頻度ともに明らかな差が認められた。遺伝子型分布ではホルスタイン種では GG 型が 0 頭、GA 型は 2 頭、AA 型が 272 頭という結果になった。遺伝子頻度では G は 2 個、A は 546 個だった。黒毛和種の産地毎での比較では有意差は認められなかった。

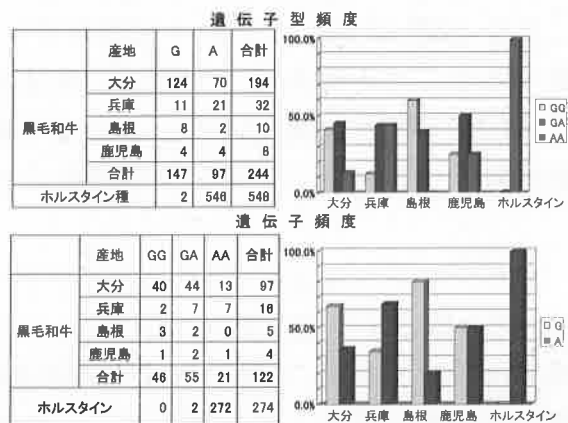


図 9

【まとめ】ウシ脂肪交雑原因遺伝子の一つとして考えられる EDG1 遺伝子は SNP のタイプにより A 型、G 型が存在することがわかった。県内種雄牛 103 頭の BMS ナンバー育種価の上位 30 頭、下位 30 頭を抽出し遺伝子型判定を行った結果、上位群 30 頭の GG 型分布について有意差が認められた。肥育牛 472 頭については AA 型と GG 型の間に BMS ナンバー育種価の有意差が見られた。ホルスタイン種と黒毛和種の遺伝子頻度、遺伝子型分布を比較した結果、明らかな差が認められた。

EDG1 の+166bp における SNP は、PCR-RFLP 分析法により簡便に遺伝子型判定を行うことができる。今後、EDG1 以外の候補遺伝子における SNP の検出、相関解析、さらには 42 個の未知遺伝子についての解析を進めることによって、第二、第三のウシ脂肪交雑原因遺伝子を同定することができると考えられる。これら脂肪交雑原因遺伝子を用いて遺伝子型判定を行い、種牛の効率的な選抜や肥育素牛の遺伝子型にあった肥育方法を選択するというような手法が確立できれば、肉用牛産業に多大な貢献ができると期待される。

20. 育成期の飼養方法の違いが肥育成績に及ぼす影響

農林水産研究センター畜産試験場

○木下正徳 藤田達男 梅木英伸

背景及び目的

黒毛和種繁殖農家と肥育農家はそれぞれの利益を目的として飼養管理するため様々な問題も発生している。特に、子牛の育成期での濃厚飼料の多給は皮下脂肪や筋間脂肪の厚さに影響を及ぼすと言われている。そこで、肥育素牛の育成期における濃厚飼料給与水準の違いが肥育期の飼料摂取量、発育並びに肥育成績に及ぼす影響について調査し、肥育素牛の育成期から肥育期にかけての適正な飼養管理体系を確立するため、初回試験では子牛育成期の濃厚飼料給与水準について検討し、体重比1.5%区が肥育期における発育及び枝肉成績が良好であるとの結果を得た。今回試験では子牛育成期の粗飼料からのTDN給与水準について検討し、子牛育成マニュアル並びに肥育マニュアルの改善に資することを目的とした。

試験方法

1. 試験期間

この試験は、肥育素牛の育成期3.3ヶ月間（100日）と肥育期16.3ヶ月間（495日）の計19.6ヶ月間（595日）で行い、2004年6月～2006年1月の間に実施した。

2. 供試牛

血統的な要因をできるだけ少なくするため、同一種雄牛（大船7）を父に持つ黒毛和種去勢牛18頭（平均6.5ヶ月齢）を購入し、この試験に供試した。

なお、試験牛は競合を避けるため、試験開始前に除角を実施した。

3. 試験区分

試験牛を6頭ずつ3区に区分し育成期（3.3ヶ月間）の粗飼料は場内産牧乾草を飼料中のTDN水準が1区：50%、2区：40%、3区：30%となるように給与し、濃厚飼料は市販育成配合飼料（TDN：68.0%、CP：16.0%）を給与した。

肥育期の飼料給与方法及び飼養管理については同一方法とした。濃厚飼料は「とよのくに体系」の飼料（前期飼料：TDN73.0%、CP13.0% 後期飼料：74.0%、CP：12.0% 仕上飼料：TDN76.5%、CP8.0%）を給与し、粗飼料は稲ワラ、場内産牧乾草及びビール粕発酵飼料を給与した。

飼料摂取量は毎日残飼を秤量し、体側は1ヶ月に1回の割合で実施した。また、2ヶ月毎に採血を実施し血中ビタミンA濃度を測定した。26ヶ月齢でと殺し、枝肉成績は日本枝肉格付協会の格付結果を用いた。

試験結果

1. 育成期間中の粗飼料からのTDN摂取割合

表1に育成期間中の粗飼料からのTDN摂取割合を示した。1区及び2区は計画をやや下回り、3区はやや上回る結果となった。

表1 育成期間中の粗飼料からのTDN摂取割合

1区	47.5%
2区	36.8%
3区	33.6%

2. 飼料摂取状況

表2は育成期、肥育期別の各区1頭1日当たりの養分摂取量を示した。乾物摂取量(DMI)は育成期では1区6.49kg、2区6.06kg、3区6.74kgであり、3区が多く摂取した。肥育期については、肥育前期では1区8.17kg、2区7.99kg、3区8.12kgであり、1区が2区、3区より多く摂取した。肥育中期については1区8.27kg、2区8.18kg、3区8.26kgで1区と3区の摂取量に差はなかった。肥育後期では1区7.53kg、2区7.41kg、3区7.42kgであり、1区が2区、3区に較べ多く摂取した。TDN、CPについても同様の傾向であった(表2、図1、2、3)。

肥育開始9か月以降各区とも飼料摂取量が急激に減少したが、血中ビタミンA濃度の低下に伴うものと推察された。そのため各試験牛の血中ビタミンA濃度に応じたビタミンA投与を行ない、その後の飼料摂取状況は各区とも同様に推移した。

表2 養分等摂取量

単位:kg

飼育期 期間	育成期				肥育期				育成期				肥育期			
	(100日)	(186日)	(176日)	(133日)	(100日)	(186日)	(176日)	(133日)	(100日)	(186日)	(176日)	(133日)	(100日)	(186日)	(176日)	(133日)
養分等	DM				TDN				CP							
1区	6.49	8.17	8.27	7.53	4.58	6.12	6.73	6.21	0.89	1.08	1.09	0.95				
2区	6.06	7.99	8.18	7.41	4.36	6.05	6.66	6.11	0.88	1.07	1.08	0.94				
3区	6.74	8.12	8.26	7.42	4.89	6.22	6.72	6.12	1	1.11	1.09	0.94				

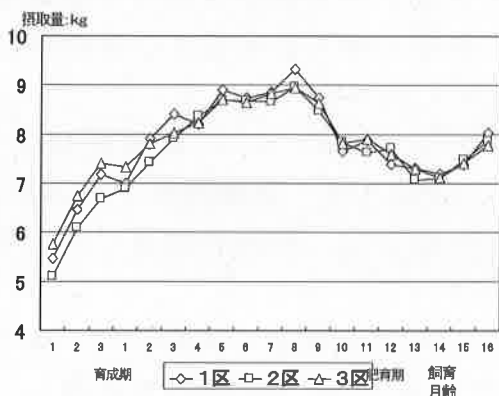


図1 乾物摂取量の推移

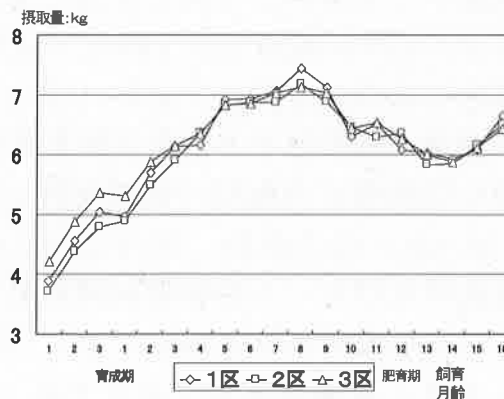


図2 TDN摂取量の推移

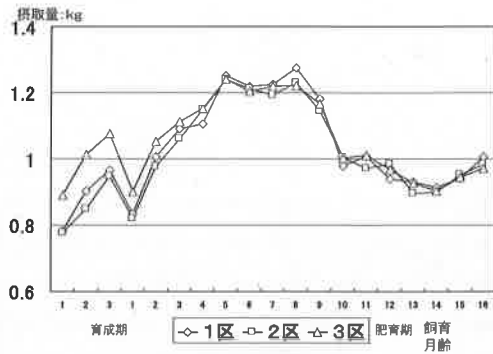


図3 CP摂取量の推移

3. 発育・増体成績

表3は発育成績を示しており、育成期の開始時体重は1区 205.3 kg、2区 201.1 kg、3区 208.5 kgであった。育成終了時は1区 299.0 kg、2区 291.2 kg、3区 309.3 kgとなり、期間内の平均 DG は1区 0.94 kg、2区 0.90 kg、3区 1.01 kgであり、3区が1区、2区より優れていた。

肥育期の終了時体重は1区 726.2 kg、2区 712.8 kg、3区 746.2 kgであり、肥育前期の平均 DG は1区 0.96 kg、2区 0.96 kg、3区 1.02 kg、肥育中期は1区 0.89 kg、2区 0.88 kg、3区 0.95 kg、肥育後期は1区 0.69 kg、2区 0.66 kg、3区 0.60 kgであり、肥育前期、中期では3区がやや1区、2区より良好であるが、肥育後期には2区、3区の DG が1区より良好であった。肥育開始時から終了時までの増体量は1区 427.2 kg、2区 421.6 kg、3区 436.9 kgとなり、3区がやや良好なもの有意な差は認められなかった（表3、図4）。

表3 発育成績

単位:kg

区	項目	育成開始時 0	育成期 (100日)	肥育前期 (186日)	肥育中期 (176日)	肥育後期 (133日)	肥育全期間 (495日)
1区(n=6)	体重	205.3	299.0	477.3	634.3	726.2	427.2
	DG		0.94	0.96	0.89	0.69	0.86
2区(n=6)	体重	201.1	291.2	469.3	625.0	712.8	421.6
	DG		0.90	0.96	0.88	0.66	0.85
3区(n=6)	体重	208.5	309.3	498.8	666.7	746.2	436.9
	DG		1.01	1.02	0.95	0.60	0.88

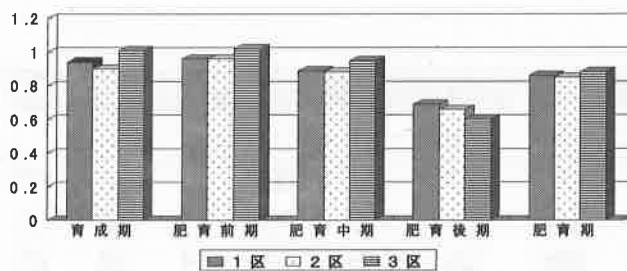


図4 期間DGの推移

4. 血中ビタミンA濃度

生後8ヶ月齢での血中ビタミンA濃度は1区114.4IU/dl、2区106.7IU/dl、3区111.9IU/dlであったが、今回の試験では肥育期になると各区とも血中ビタミンA濃度は低下傾向で推移し、生後17ヶ月齢以降必要に応じ投与を実施した。

すなわち生後17ヶ月齢で8頭に40万IU投与、18ヶ月齢に全頭30～50万IU投与、20ヶ月齢で全頭30万IU投与、21ヶ月齢で全頭50万IU投与を行った。

以上の投与にもかかわらず血中ビタミンA濃度は低下傾向を示し、生後24ヶ月齢では1区26.0IU/dl、2区25.6IU/dl、3区22.4IU/dlまで低下した。

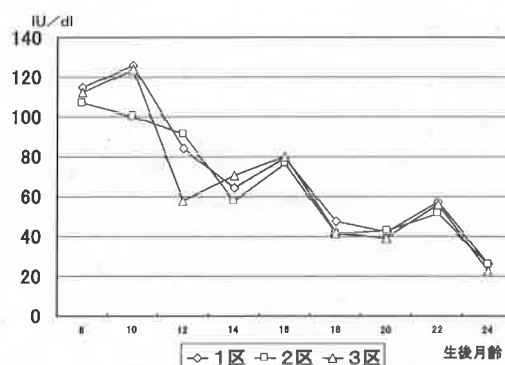


図5 血中ビタミンA濃度の推移

5. 枝肉成績

平均枝肉重量は1区が461.1kg、2区は460.6kg、3区473.5kgであり、ロース芯面積は1区55.2cm²、2区51.7cm²、3区55.3cm²であり各区に差はみられなかった。バラ厚では1区8.0cm、2区7.8cm、3区8.5cmであり2区と3区間に有意差が認められた。皮下脂肪厚は1区3.3cm、2区4.0cm、3区3.2cmであり、バラ厚と同様2区と3区間に有意差が認められた。歩留基準値は1区73.3%、2区71.9%、3区73.5%であり、1区及び3区と2区との間に有意差が認められた。BMS.NO.では1区5.0、2区4.2、3区5.2であり、1区及び3区が良好であった。4等級以上の格付けは1区66.7%、2区33.3%、3区66.7%であり、1区及び3区が良好であった(表4)。

また、A等級の割合は1区100%、2区50%、3区83.3%で1区が良好であり、ロース芯周囲の筋間脂肪厚は全体的に3区が厚い傾向が認められ、枝肉性状としては1区が良好と思われた。

表4 枝肉成績

	枝肉重量	ロース芯面積	バラ厚	皮下脂肪厚	歩留基準値	BMSNO	BCSNO	光沢	しめ	きめ	BFSNO	等級
	kg	cm ²	cm	cm								A/B/A3/B3
1区 平均	461.1	55.2	8.0	3.3	73.3a	5.0	35	38	38	38	30	4 2
2区 平均	460.6	51.7	7.8a	4.0a	71.9b	4.2	38	38	38	30	1 1 2 2	
3区 平均	473.5	55.3	8.5b	3.2b	73.5a	5.2	37	38	40	40	30	4 1 1

ab異符号間に有意差あり(p<0.05)

考 察

今回の試験は前回試験¹⁾で子牛育成期の濃厚飼料給与量の検討を行い、育成期体重比1.5%の濃厚飼料を給与した区（粗飼料は飽食）が濃厚飼料多給区に比べ肥育期の増体及び枝肉成績が良好であったため、子牛育成期の粗飼料からのTDN給与割合について検討したものである。

今回の試験では前回試験ほど試験区間に大きな違いがでなかったが、その理由は育成期間が前回試験の5ヵ月間に比べ3.3ヵ月間と短かったことと、粗飼料からのTDN給与割合を一定にするため結果的に濃厚飼料が制限給餌（概ね体重比1.8～2.3%程度）になったためと考えられた。しかしながら肥育期の発育や枝肉成績では粗飼料多給区は濃厚飼料多給区に劣るものではなく、A等級率や枝肉性状では濃厚飼料多給区より良好であり、前回試験の成績も加味すると子牛育成期の飼料給与は濃厚飼料は体重比1.5%以上粗飼料からのTDN給与水準は50%程度あれば、子牛市場出荷段階での体重は濃厚飼料を多給したものよりやや劣るものの肥育期の増体及び枝肉成績は良好であることが示された。

今回の試験では2区の発育が思わしくない結果となったが、このことについては2区の血中ビタミンA濃度の推移が影響したのではないかと推察された。木下ら²⁾は黒毛和種去勢牛の肥育において肥育前期に用いる市販濃厚飼料に添加されているビタミンAにより血中ビタミンA濃度が上昇することを報告しているが、今回試験の結果では同飼料を給与したにもかかわらず肥育期の血中ビタミンA濃度は低下傾向で推移し、特に2区は他区より低月齢から低下する傾向が見られた。日本飼養標準³⁾ではビタミンAの保健量は血漿中ビタミンAを80IU/dl以上に保つ量とされているが、今回試験で血中ビタミンA濃度が生後8ヵ月齢で各区とも100IU/dlを超える水準にあったにもかかわらずその後低下した。その理由としては導入時の各子牛の血中ビタミンA濃度が低く育成期に体内に十分な蓄積がなされなかったことも考えられる。前回試験¹⁾では生後5ヵ月齢で血中ビタミンA濃度の平均値が93.9IU/dlの群に100万IUのビタミンA剤を投与したところ生後10ヵ月齢での血中ビタミンA濃度の平均値は115.6IU/dlであった。肥育農家での肥育素牛導入月齢は通常生後9～10ヵ月齢で調査月齢は異なるものの生後15ヵ月齢までの血中ビタミンA濃度の上昇は肉質に大きな影響を及ぼさない²⁾ことから、牛群全体の血中ビタミンAレベルを上昇させるため導入時に100万IU程度のビタミンA剤を投与することがその後の肥育管理を容易にするものと考えられた。

参考文献

- 1) 久々宮ほか 大分県畜産試験場試験成績報告書 第33号.97-100,2004
- 2) 木下ほか 大分県畜産試験場試験成績報告書 第28号.7-14,1999
- 3) 中央畜産会 日本飼養標準 肉用牛（2000年版）

21. 連続体温測定による乳牛の出産時期予測及び 出産開始通報システムの開発

農林水産研究センター畜産試験場

○武石秀一・井上一之・松岡恭二・

池田哲¹⁾・小田原幸夫¹⁾・宇都宮茂夫²⁾

1) 産業科学技術センター

2) (株) リモート

背景及び目的

乳牛の妊娠期間は、平均 280 日とされるが、実際には 20 日程の幅があり、飼養者は分娩時の事故防止のため、昼夜問わず出産に備える負担がある。乳牛の分娩時刻を早期に予測できれば、分娩時の事故の予防だけでなく、分娩監視に費やす労力軽減と時間の大幅な短縮が可能となる。

従来より、家畜の体温は、病気の指標となる一方で、発情や分娩時の生理的変化を表すことが知られている。そこで、家畜体温の常時遠隔監視技術を確立し、分娩時の事故防止、飼養者の監視作業の軽減を目的とした「出産時期予測及び開始通報システム」の開発を目指し産官連携で取り組んだところ、一応の成果が出たので報告する。

方法

1. 発信機能を有する測温送信モジュール及び専用受信機の開発

家畜の体温を遠隔で監視する目的から、以下の仕様を条件として開発。

- (1) 体温領域での温度精度・分解能の高次元化
- (2) 家畜に制限を加えない小型且つ無線送信化
- (3) インターネット網を活用した温度監視システム (ASP*仕様)

※ASP: アプリケーション・サービス・プロバイダー

2. 体温測定部位の選定

牛の体温測定部位を選定するために、既存の有線温度センサ (サンヨー製、温度精度 $\pm 0.5^{\circ}\text{C}$ 、分解能 0.06°C) を用い、乳用牛成牛1頭の直腸、膣、尾付根、乳房、外耳道 (耳介奥)、耳介中、耳介溝の7カ所と環境の合計8カ所の温度測定を5分間隔、24時間行い比較検討した。

3. 膣用留置形状の検討

シンプル且つ安全で、出産を控えた牛の膣部から脱落せず、出産時には胎児の娩出に先立って脱出する膣用形状の開発を検討。

4. データの収集

出産を控えた家畜体温の基礎的データを収集する目的で、以下の供試牛を用いて温度データを収集し、「出産時期の予測と出産開始通報システム」を検討した。

供試頭数 ; 33頭

産歴；初産9頭、2産12頭、3産7頭、4産3頭、5産2頭

センサ装着時期；出産予定の10日前

データ収集期間；4～14日間

結果

1. 発信機能を有する温度センサの開発

測温送信モジュール及び受信モジュールは、改良を加えながら、以下の基本仕様を評価し、生産体制の整備を図った。

(1) 測温送信モジュール (写真1)

温度センサ ダイオード型

電池寿命 約5年間 (電池取替不可)

高精度測定範囲 34.1℃～44.0℃

送信距離 (参考値) 約30m (使用環境により減衰します)

測定精度 (分解能) ±0.2℃ (0.1℃)

ID識別番号 出荷時に弊社基準で書き込み

低精度測定範囲 -20℃～60℃

回路サイズ 5mm×47mm

測定精度 (分解能) ±1℃ (0.5℃)

写真1 側温送信モジュール

送信周波数 315MHz

送信電界強度 500μV/m以下

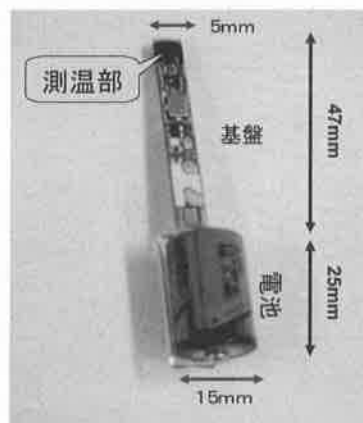
変調方式 FSK

送信速度 2.5kbps

送信データ数 5回/5分ランダム送信

電源電圧 DC 3V (TYP) リチウム電池

消費電流 測温時1mA (TYP) 送信時13mA (TYP)



(2) 受信モジュール

受信感度 50Ω入力-107dbM (TYP)

通信プロトコル TCP/IP

電源電圧 DC5V (TYP) 専用アダプタ

インターフェース 無線または有線LAN標準装備

消費電流 300mA (TYP)

外部接続端子 入力接点 (無電圧) ×4 出力接点 ×1

2. 体温測定部位の選定

(1) 有線温度センサを用いた測定部位の選定

実験データを図1に示す。どの部位も33～39℃の範囲で推移しているが、直腸等のデータのなかには、急激な温度低下を示すものがある。これは排糞行動とともに温度センサが体外に排出されたり、装着がはずれたりすることに起因しており、この部分のデータを今回のデータ処理から除外することにより、体温測定部位の一次選定に使用できると判断した。

家畜では、従来から直腸温度を基準体温としており、牛体温を常時監視するにあたって、できるだけ直腸温度に近い動きをする温度部位を選定する必要がある。そこで今回のデータ処理では、直腸に対する各部位の相関係数を求めて判断した。その結果は表1に示すとおり、直腸と膣の相関係数は0.828、直腸と外耳

道（耳介奥）の相関係数は0.512、直腸と乳房の相関係数は0.544であり、直腸と他の部位の相関係数は0.5未満であった。このことから直腸温度と腔内温度は高い相関が認められたので、腔内温度を体温として取り扱うこととした。

図1 有線温度センサによる牛体温測定結果

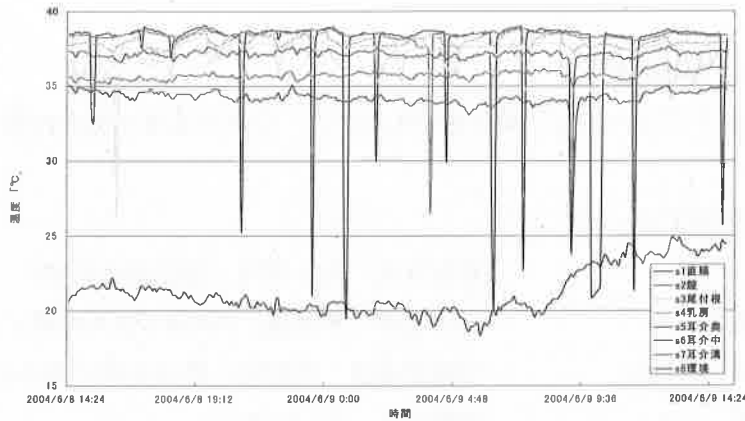


表1 有線温度センサによる牛の体温測定部位間の相関係数

	s 1 直腸	s 2 膣	s 3 尾付根	s 4 乳房	s 5 耳介奥	s 6 耳介中	s 7 耳介溝	s 8 環境
s 1 直腸	1							
s 2 膣	0.8284	1						
s 3 尾付根	0.2203	0.2928	1					
s 4 乳房	0.5438	0.5492	0.6228	1				
s 5 耳介奥	0.5121	0.5267	0.0699	0.3109	1			
s 6 耳介中	0.1432	0.0431	-0.3063	-0.1301	0.4759	1		
s 7 耳介溝	0.1465	0.0804	0.1748	0.2894	0.5290	0.2439	1	
s 8 環境	-0.2499	-0.3789	-0.4169	-0.4169	0.0838	0.5021	0.3397	1

3. 膣用留置形状の検討

温度センサは出産開始まで体温を計測しながら膣内に留置し、破水或いは娩出と同時に体外に排出されるよう、写真2のようなPP/シリコン材を用いた膣用留置形状を開発した。牛への装着例は写真3に示すように、アンテナ部が体外に出ている状態。

写真2 膣用側温送信モジュール

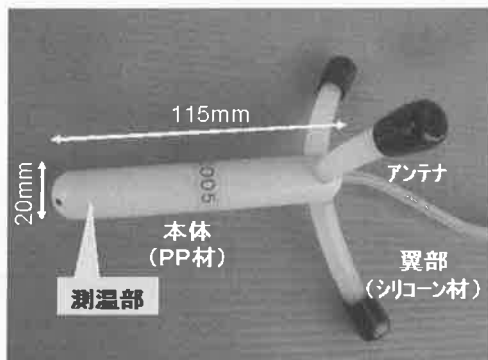
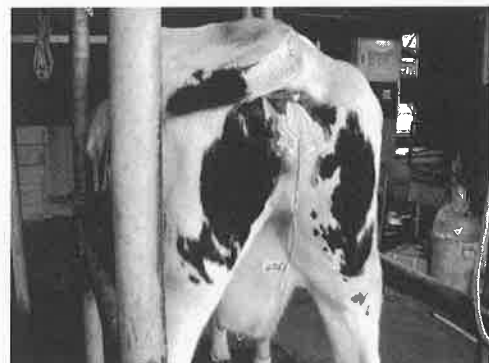


写真3 牛への装着例



4. データの収集

(1) 出産前の腔内温度

出産を控えた乳用牛成牛33頭に対し、出産予定の10~14日前頃に、膣用無線测温モジュールを膣内に

挿入・留置し、5分間に1回の体温計測を行った。そのうち、7日以上連続して膈温が測定できた11頭について、温度変化を図2に示した。図中の横軸の時間は、出産時をゼロとした時の、出産までの時間であり、横軸左から右へと流れている。グラフの推移より、出産前の約24時間前より温度が低下する傾向が認められた。さらに、無線測温モジュールが破水または出産時に胎仔に先んじて体外に排出することを確認し、排出された無線測温モジュールの測定温度は、体温レベルから一機に外気温レベルの35℃以下に低下した。

連続体温データを解析した結果、出産前に有意な体温低下を始める時間は、娩出の平均24時間56分前であり、2/3は24時間以内に娩出された。(表2、図3)。また、破水等で温度センサが体外に排出されてから娩出までの時間は平均43分であった(表3)。

このように出産前の連続体温を計測すると同時に解析しながら、ある一定の体温低下がみられたら24時間以内に出産する可能性が高いことを飼養者へ通報し、次に破水等でセンサが排出されることで出産が開始したことを通報するシステムを構築した。図4にWeb上のサンプル画像を示した。Web上では、1週間の体温データを重ね合わせできる仕様となっており、有意に体温が低下し、また、センサが排出し外気温レベルになることが一目瞭然である。

システムの概要図を図5に示した。体温データは、インターネットを經由してサーバへ蓄積し、インターネット環境下にあるパソコンでいつでも確認することができる。また、出産徴候や出産開始の通報は、電子メール、携帯電話、固定電話など複数の通信端末に同時に通報できる仕様としている。また、データは、多様な解析に活用できるようエクセルファイルとしてサーバに管理保管されている。

図2 出産前の温度変化

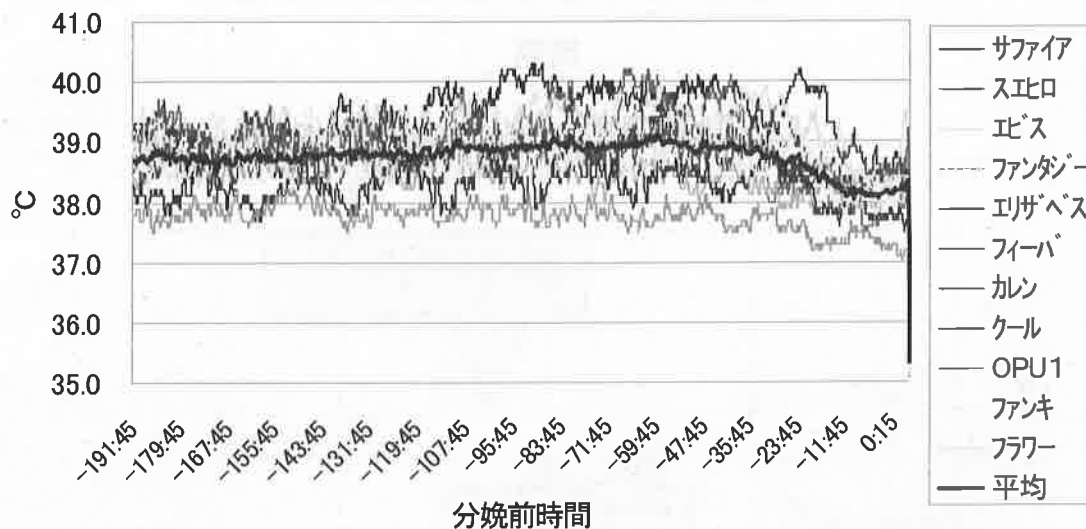


表2 出産時期の予測通報成績 n=33

出産時刻までの経過時間 (平均)	24 時間 56 分
〃 (最長)	55 時間 15 分
〃 (最短)	13 時間 25 分
標準偏差 (SD)	9 時間 59 分

表3 出産開始通報成績 n=33

娩出までの所用時間 (平均)	43 分
〃 (最長)	3 時間 45 分
〃 (最短)	0 分
標準偏差 (SD)	45 分

図3 出産時刻までの経過時間の分布表

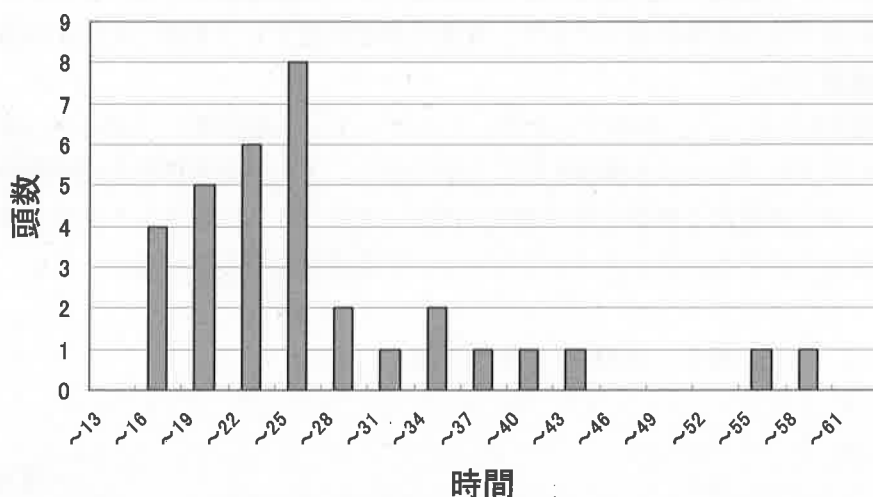


図4 Web上のサンプル画像 (出産前の体温推移 事例1)

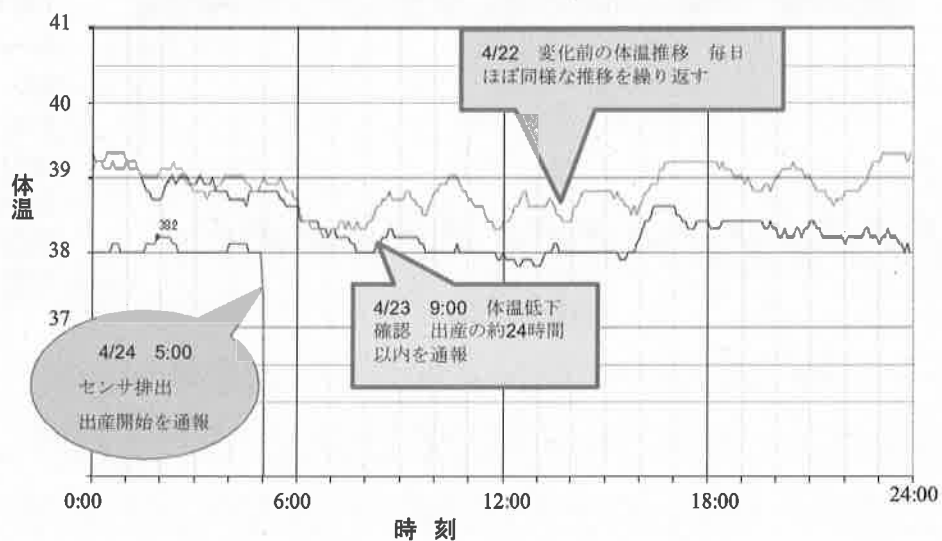
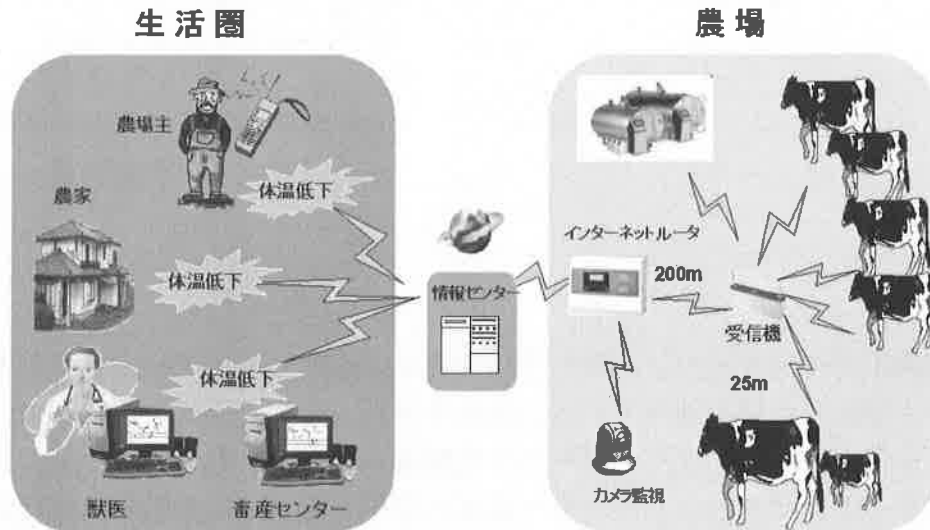


図5 システムの概要図



まとめ及び考察

牛体温の常時遠隔監視装置は、発信機能を有する高精度な測温モジュールの完成により、概ね確立できた。家畜の体温は、本来、直腸内温度を指標とするが、連続して測定する部位としては排糞行動があることから、適切ではなかった。測定部位を検討したところ、膣内が一番安定した測定部位であった。乳牛の体温には、日中低く夜間高くなる傾向（日内周期）が認められ、この日内周期を指標とすることで、発熱や分娩、発情等の兆候をいち早く関知することが期待できる。

今回多くのデータを収集した出産前の温度変化では、出産の24時間前程より体温が低下することが確認された。栗原ら²⁾は、朝夕2回の定時測定のうち、分娩予知には夕直腸温が利用価値が高く、前日との体温差が0.4℃以上低下してから24時間以内に分娩するものが57.1%と報告している。定時の体温測定では、日内周期の若干のずれを補足できないことから、発見率の低下の原因となっていた。本システムは、5分間隔の温度データを無線で送信し、サーバにて常に温度変化を解析することにより、体温低下時を正確に把握できた。発見率はほぼ100%と高い精度を示し、その有用性が確認された。

牛体温常時遠隔監視装置を用いた出産時期の予測及び出産開始通報システムの特徴は、インターネットを利用したデータ集中管理にあり、発信されたデータは、インターネット網を経由して、データ集中管理サーバに蓄積され、IDとパスワードを持ったユーザーは、インターネット環境下であれば世界中どこからでもアクセスできる仕組みになっている。また、監視ソフトは、ASP（アプリケーションサービスプロバイダー）で、個々のパソコンにソフトのインストールの必要が無く、バージョンアップ等が容易である。また、ユーザーの任意設定で、複数の携帯電話、固定電話、メールへの通報が可能となっている。

このシステムを利用することで、飼養者の分娩監視作業の軽減が図られ、負担無く出産に立ち会えることより、分娩時の事故軽減が期待できる。

参考文献

- 1) 「放牧牛のバイオテレメトリーシステムの開発に関する研究」(1992), 農林水産技術会議事務局研究成果, 264
- 2) 栗原昭博ら(1998)鳥取畜試, 27:12-15
- 3) 津田敏ら(1995)富山畜試, 12:1-8
- 4) 山田明央ら(2001)日本草地学会誌, 47(5):491-493

22. ミルキングパーラー排水の簡易化浄化処理施設の検討

大分県農林水産研究センター畜産試験場

○吉田周司 阿部正八郎

背景・目的

県内の酪農家の中でミルキングパーラー方式による搾乳方法は、平成17年度現在80戸以上を占め年々増加の一途を辿っている。ミルキングパーラー方式の排水には、バルクやライン洗浄水のほかミルキングパーラー内や待機場等の汚水が混入し、一部では苦情が発生するようになった。ミルキングパーラー排水の浄化処理のための基礎数値は、尿処理施設の様マニュアルに記載がなく、消毒薬や廃棄乳なども混入するため浄化槽の設計指導が困難であった。このため、人用の合併浄化槽を流用したり、膜処理技術などで対応しているものの水質やコスト面で課題を抱えている。

そこでミルキングパーラー排水の現状調査を行い、浄化槽設計計算の基礎数値であるBOD量とSS量を明らかにすると共に、簡易化処理施設を設置した酪農家において、その能力を検証するとともに建設コストを調査した。

調査方法

調査1として県下9農家（表1）で1回搾乳当たり排出される原水を全量貯留し、排水量と水質を調査した。これらの調査は平成16年度から17年度にかけ2回実施し、その平均値を示した。水質検査は、畜産で関係してくるpH、BOD、SS、COD、T-N、T-P、大腸菌群数の各項目を実施した。浄化槽設計の基礎数値となるBOD量とSS量は、それぞれBOD濃度×排水量、SS濃度×排水量より求めた。

調査2として簡易化処理施設を新たに設置した農家で計7回の処理水質検査とコスト調査を実施した。

表1 調査農家の概要

農家名	B	C	D	E	F	G	H	I	J
繫留方式	フリーバーン	フリーバーン	フリーバーン	フリーバーン	フリーバーン	フリーバーン	フリーバーン	フリーバーン	フリーストール
搾乳方式	パーラー 4頭シングル	パーラー 8頭ダブル	パーラー 10頭ダブル	パーラー 6頭ダブル	パーラー 6頭ダブル	パーラー 8頭ダブル	パーラー 8頭ダブル	パーラー 6頭ダブル	パーラー 6頭ダブル
搾乳牛頭数（頭）	15	104	180	70	44	65	110	60	80
1日の搾乳回数（回）	2	2	3	2	2	2	2	2	2
処理方法	膜処理	活性汚泥法	合併浄化槽	沈殿槽	沈殿槽	沈殿槽	活性汚泥法	沈殿槽	活性汚泥法
篩別分離機の有無	○	○	△※	×	×	×	○	×	○

※メッシュかごのみ有り

結果及び考察

1. 調査1：調査した9戸はフリーバーンが8戸、フリーストールが1戸の計9戸であった。搾乳頭数は15頭から180頭で平均69.8頭となった。また、1農家のみ3回搾乳を行っていた。処理方法として沈殿槽のみで対応していたのが4戸、人用の合併浄化槽を流用していたのが1戸、活性汚泥法を用いていたのが3戸、膜処理を行っていたのが1戸あった。また、篩別分離機は3戸に設置されていた。図1にそれぞれの処理施設の外観を示した。



図1 処理施設の外観

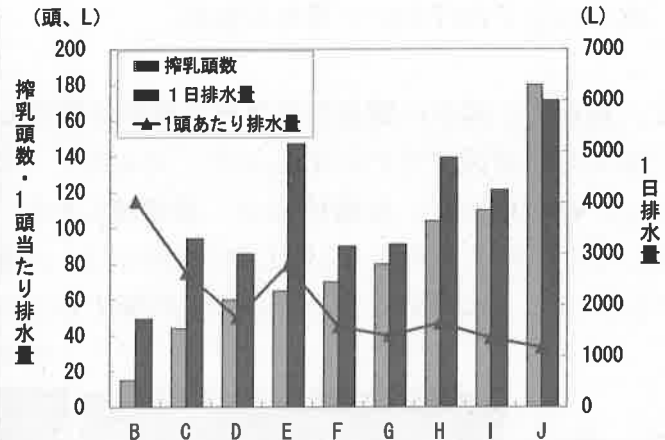


図2 搾乳頭数と1日排水量

図2に搾乳頭数と1日排水量及び1頭あたり排水量の関係を示した。1日排水量は1,725L～6,000Lで搾乳頭数が増加するにつれ1日排水量も増加したが、1頭あたりの排水量は搾乳頭数が少ないときは120L排水しているものの、頭数が増加すると40L前後に収束した。これらより60頭以上の搾乳頭数の場合、ミルキングパーラー排水量は搾乳牛1頭当たり40L程度と考えられた。なお、E農家は水道から水を一度タンクに貯留し、高圧で利用していたため排水量が増加したものと考えられた。

原水水質のうち浄化槽の設計計算に関係してくるBOD、SS濃度を図3に示した。グラフ中の赤線は水質汚濁防止法上の排水基準を示している。ほとんどの農家で排水基準値以上の数値を示したが、廃棄乳を誤って混入したE農家を除き、BOD、SS共に1,000mg/L以下で汚濁度の低い汚水であり、尿処理と異なり、無希釈で曝気処理可能な汚水濃度と考

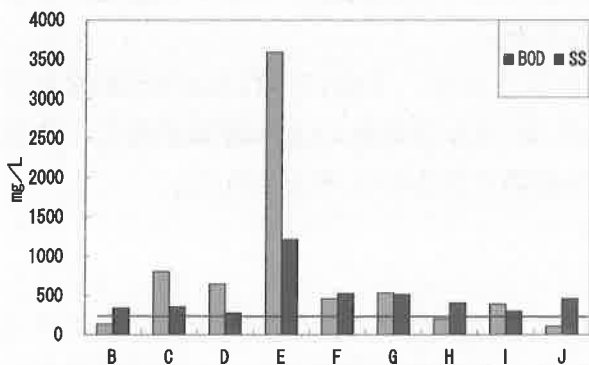


図3 原水 BOD、SS 濃度

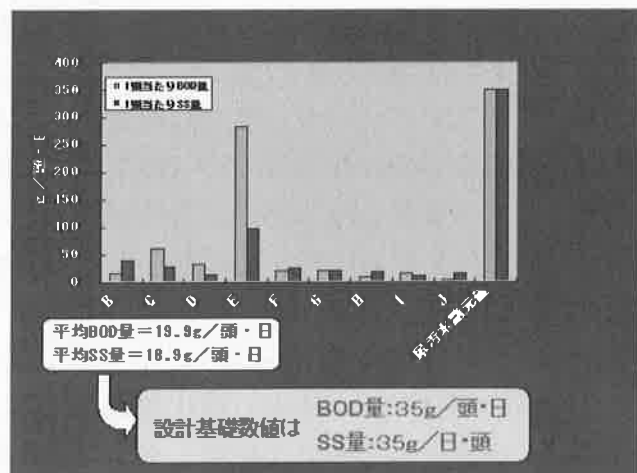


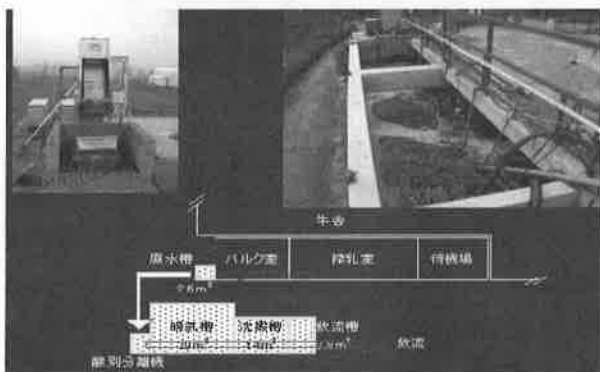
図4 1日1頭あたり BOD、SS 量

えられた。

図4は、1日1頭当たりの BOD、SS 量を示したグラフである。なお、グラフの一番右側の尿汚水諸元値とは、搾乳牛の尿処理を行うときの数値で BOD、SS 量共に350g / 頭・日としてマニュアルに示されている数値である。廃棄乳を混入した E 農家を除いた平均数値は BOD 量が19.9g / 頭・日、SS 量は18.9g / 頭・日となった。ミルクパーラー排水の場合、廃棄乳の混入がない条件では基礎数値を尿処理の諸元値の1/10である BOD35g / 頭・日とすればよいと考えられた。

2. 調査2：図5に簡易化浄化処理施設を設置した J 牧場の平面図を示した。フリーストール牛舎を新設するのにあたって、ミルクパーラー処理施設（原水槽2.6m³、スクリーン、曝気槽39m³、沈殿槽14m³、放流槽3.8m³）を設置した。要した費用は、土木工事費として500万円、機械・配管工事に200万円、初期稼働費用に30万円であった。また、ランニングコストは電気料金、消毒用薬剤等で月2万円程度となった。

表2 J 牧場設計時の原水前提条件と実測値



	排水量(A) (L/日)	BOD濃度(B) (mg/L)	SS濃度(C) (mg/L)	BOD量(A×B) (g)	SS量(A×C) (g)
前提条件	3,200	1,300	1,200	4,160	3,840
実測値	平均値※ 2,842	584	470	1,660	1,336
	最小 1,900	88	306	167	581
	最大 4,400	1,470	702	6,468	3,089
	調査より、搾乳牛の1/10で算定※※			2,800	2,800
	※7回調査の平均 ※※350g×80頭×1/10				

図5 J 牧場の平面図と外観

表2に浄化槽設計時の前提条件と完成後の実測値を示した。設計時には1日当たり排水量を3,200LとしてBOD、SS濃度をそれぞれ1,300mg / L、1,200mg / Lとして考えていたが、実測した平均値はそれぞれ2,842L / 日、584mg / L、470mg / Lといずれも前提条件を下回った。1日当たりの BOD 量、SS 量は前提条件の半分以下の数字となり、余裕率の高い浄化槽となっている。J 牧場は80頭規模なので、1/10の8頭規模の尿処理施設を設置するとすれば BOD 量と SS 量はそれぞれ2,800g となり、実測値から見ても適度に余裕のあるミルクパーラー排水処理施設と考えられた。

図6にJ牧場の浄化処理後の BOD、SS 濃度を示したが、平成17年12月の1回を除きほぼ満足できる結果となった。この時はブローアの V ベルト切れによる曝気不良により処理水質が悪化したもので、日常管理を行っていけば防げたものと考えられた。

まとめ

ミルクパーラー排水の現状調査を行い、浄化槽設計計算の基礎数値を明らかにすると共に、簡易化処理施設を設置した酪農家において、その能力調査とコスト調査を実施した。ミルクパーラー排水処理施設の基礎数値は搾乳牛1頭当たり35gで尿処理施設の

基礎数値の1/10で設計可能と考えられた。搾乳牛100頭規模のミルクングパーラー排水処理施設を設置する場合、曝気槽のBOD容積負荷を $0.11\text{kg}/\text{m}^3 \cdot \text{日}$ とすると原水槽 2.6m^3 、曝気槽 12m^3 、沈殿槽 4.5m^3 、放流槽 3.8m^3 が必要となり、イニシャルコストとして460万円、ランニングコストとして月2万円必要と考えられた。また、ミルクングパーラー排水の場合、オガクズや未消化繊維等の夾雑物が処理施設内に流入するため、篩別分離機が必要になると共に、ミルクングパーラー内排水口は夾雑物を簡単に取り除ける構造とすることが重要と考えられた。

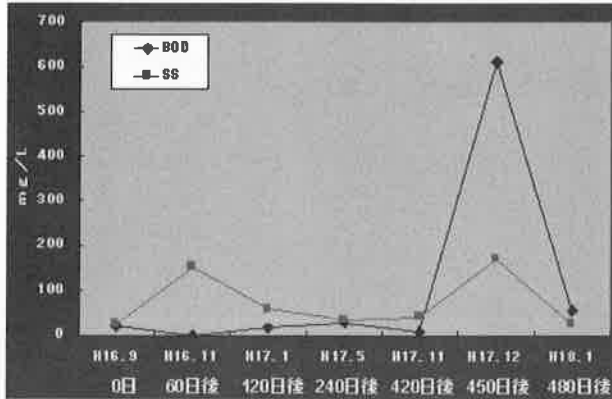


図6 J牧場の処理水性状

