

第64回秋田県獣医畜産技術研究発表会 演題一覧

部 別		演題 番号	演 題 名	所 属	発表者
家畜 保健 衛生 の 部	第 1 部	1	管内1酪農家の繁殖改善指導事例（第2報）	北部家畜保健衛生所	中村 南斗
		2	子牛市場上場前の牛呼吸器病ワクチン接種時期に関する有効性の検討	南部家畜保健衛生所	加藤真姫子
		3	遺伝子検査を併用した管内のアカリンダニ浸潤状況調査	中央家畜保健衛生所	大庭 要
		4	図上シミュレーション訓練を取り入れた高病原性鳥インフルエンザ防疫演習	北部家畜保健衛生所	村松龍ノ助
		5	高病原性鳥インフルエンザ(HPAI)発生時の初動防疫体制整備への取り組み	南部家畜保健衛生所	藤原ちさと
	第 2 部	6	黒毛和種親子からの血清中ビタミンAパルミテート検出事例	中央家畜保健衛生所	山田 典子
		7	鶏結核病発生事例と <i>Mycobacterium avium</i> の亜種鑑別	中央家畜保健衛生所	佐藤 龍
獣 医 畜 産 の 部	8	黒毛和種繁殖牛の生殖器に発生した腫瘍病変2症例	N O S A I 秋田	笠松 一夫	
	9	子牛の出荷時体重と血統構成が市場価格に及ぼす影響調査	畜産試験場	渡部 一弥	
	10	予乾体系で収穫した飼料用稲専用品種「たちあやか」の飼料特性	畜産試験場	千葉 祐子	
	11	遺伝子選抜による比内地鶏の増体性改良効果の検証	畜産試験場	力丸 宗弘	

管内1酪農家の繁殖改善指導事例（第2報）

北部家畜保健衛生所

○中村 南斗、安田 正明

管内1酪農家（以下、A農場）において、当所と開業獣医師が連携して実施した繁殖検診で、繁殖成績が向上した事例について概要を報告する。

1. 農場の概要

A農場は県事業等を活用し、平成23年度に経産牛繋ぎ40頭からフリーストール180頭に規模拡大し、現在、農事組合法人として経営しており、給餌方式はTMRで、粗飼料は自家産のイネWCSや牧草、輸入乾草を用いている。子牛は県外市場へ販売し、育成牛は県内外に預託している（図-1）。

県事業等を活用し、平成23年度に経産牛繋ぎ40頭からフリーストール180頭に規模拡大
現在、農事組合法人として経営

- ・従事者 : 9人
- ・飼養形態 : フリーストール&ミルクパーラー方式
- ・給餌方式 : TMR方式
粗飼料は自家産（イネWCS・牧草）
＋購入（輸入乾草）
- ・移出入状況 : ホル雄やF1子牛を県外市場へ販売
育成牛は県内外に預託（年間約40～50頭）
- ・施設 : フリーストール牛舎、搾乳舎、各1棟
飼料庫、堆肥舎、各1棟
※既存の繋ぎ牛舎は子牛哺育等に活用

図-1 A農場の概要

2. 現在の支援体制

A農場に対して増頭開始当初から、県、町、JA等関係機関が連携し支援が行われ、年数回の会議で各機関の支援内容や経営状況の確認が行われている。家畜保健衛生所（以下、家保）は検診・衛生指導、飼養衛生管理基準の遵守及び家畜排せつ物の適正管理に関する指導を行ってきた。また、A農場は規模拡大を計画しており、今後もこの支援体制を継続することとしている（図-2）。

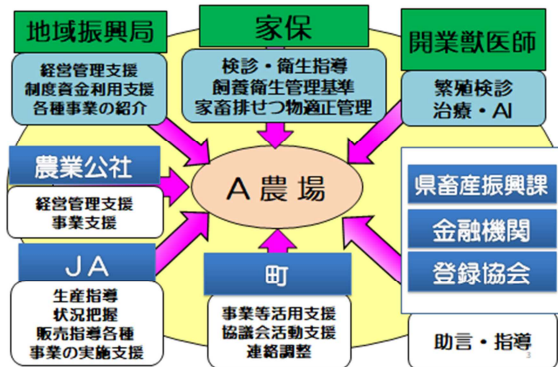


図-2 現在の支援体制

3. 繁殖検診体制

平成26年の夏に農場主から家保に繁殖成績を向上させたいと相談があり、同年9月から新たに開業獣医師と連携し、分娩後早期の繁殖検診（以下、フレッシュチェック）を行うようになった。隔週でフレッシュチェックを行うようになり、約1週間に1回の継続検診体制が可能になった。平成28年4月以降、開業獣医師が専任となり、毎週、フレッシュチェックを含む繁殖検診、治療、人工授精（以下、AI）等を行い、家保と振興局は約2週間隔で同行し、家保は検診・衛生管理指導を行い、振興局は検診牛の記録を行っている（図-3）。

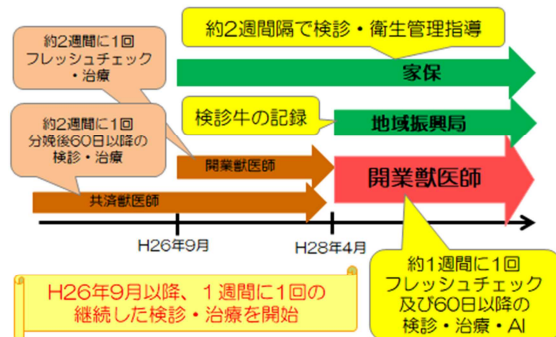


図-3 繁殖検診体制

4. 平成28年以降の改善計画

平成27年までの検診・指導により、年間AI回数が減少、平均空胎日数及び平均搾乳日数が短縮したが、まだ改善の余地があった。具体的には、平均AI回数が理想は2回未満のところ平成27年12月時点で3.8回であった。適期にAIすることで確実に受胎させ、AI回数の減少と受胎率向上を目指した。また、牛の健康状態をみるために、肝機能、腎機能及び栄養状態についての血液検査を実施した。さらに、牛群検定成績を群管理、個体管理に積極的に活用していくことを開業獣医師と協議した。繁殖成績改善のため、定時AIの活用を試みた。機能性黄体の存在を確認できた個体に対してショートシンク法を実施した。また、平成26年までは十分に活用できずにいた牛歩センサーを活用し、発情開始、AI適期を判断した。

5. 定時AIの成績

平成28年は試みとして、11回実施し5頭が受胎、受胎率は45%であった。その後、実施回数を増やしていき、平成29年は13頭受胎し、受胎率は31%、平成30年は27頭受胎し、受胎率は46%であった。

(図-4)

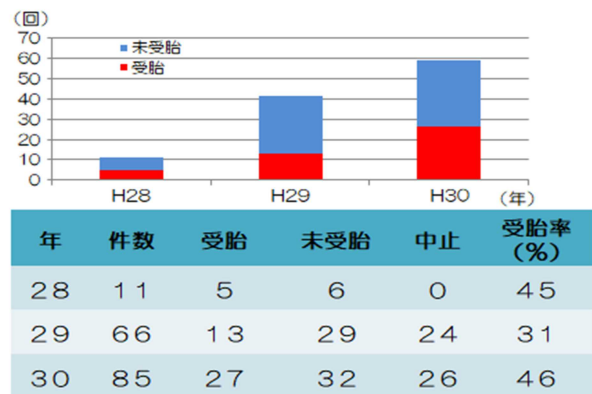


図-4 定時AIの成績

6. 平均AI回数の推移

平成27年12月時点で月平均は3.8回であったが、徐々に減少し平成30年11月の月平均は2.3回となった。青い四角は1年ごとの平均AI回数を示す。1年ごとの平均でみた場合も、平成26年に5.1回であったものが平成30年は2.5回まで減少した(図-5)。

H27.12月時点で3.8回(理想値2回未満)
→平均AI回数の減少(H30.11月2.3回)

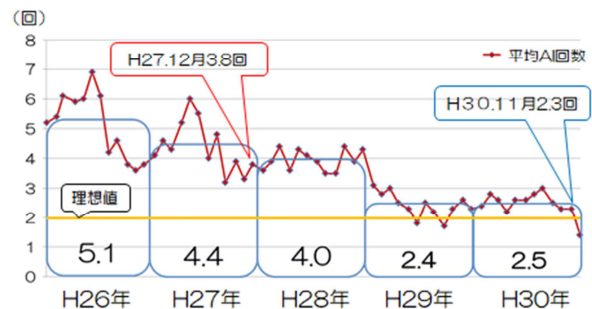


図-5 平均AI回数の推移

7. 検診回数、頭数及び血液検査成績

平成28年から30年までの検診回数は、62回、延べ1,121頭について行った。血液検査は血中酵素、無機質、電解質等について、個体の状態をみながら測定し、回数については、平成28年13回、平成30年は54回実施し、牛の健康状態の把握に役立っている(図-6)。

○個体の健康管理と栄養状態の把握
→検診及び血液検査等を実施

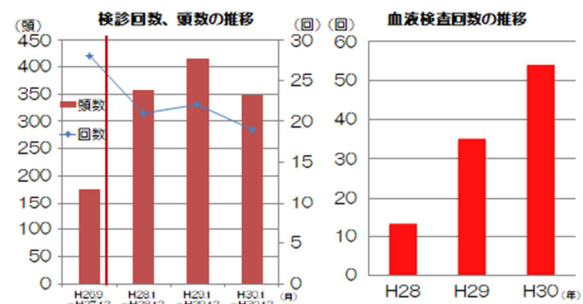


図-6 検診回数、頭数及び血液検査実績

8. 平均空胎日数、平均搾乳日数

平均空胎日数は、平成26年1月に247日であったものが、平成30年12月には166日まで減少した(図-7)。平均搾乳日数については、平成26年1月に286日であったものが、平成30年12月に190日まで減少し、両日数ともに減少した(図-7)。

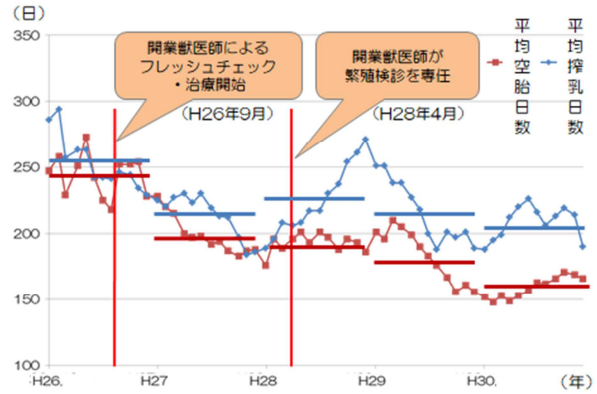


図-7 平均空胎日数、平均搾乳日数の推移

9. 経産JMR

この指標は生理的空胎日数を超えて受胎していない牛の遅延日数を平均した指標である。他の繁殖成績指標は受胎した牛や分娩した牛のみ対象だが、経産JMRは妊娠していない牛や授精を行っていない牛も加味した指標である。平成26年は100日を超える月もあったが、徐々に好転し平成29年に41日までよくなり、平成30年は50から60日の間で推移した(図-8)。

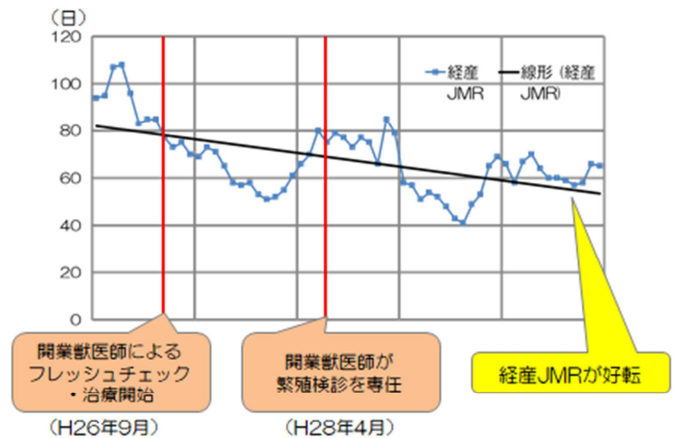


図-8 経産JMRの推移

10. まとめ及び考察

平成26年9月から平成30年12月まで約2週間隔で検診を90回、延べ1,297頭に実施した。この検診を続けてきたなかで、定時AIと牛歩センサーの活用をした。年間AI回数の減少、年間平均空胎日数及び年間平均搾乳日数の短縮、経産JMRの好転から過去3年間の検診、血液検査等の効果を確認した。また、当所若手職員の繁殖技術向上にも役立った(図-9)。

1. 平成26年9月から平成30年12月まで約2週間隔で検診実施(90回、延べ1,297頭)
2. 平成29年以降、定時AIを積極的に実施
3. 牛歩センサーのデータを発情開始、AI適期の判断に活用
4. 過去3年間の検診、血液検査等の効果を確認
 →年間AI回数 (4.0回→2.5回)
 →年間平均空胎日数(193日→159日)
 →年間平均搾乳日数(225日→208日)
 →経産JMRの好転
5. 当所若手職員の繁殖技術が向上



図-9 まとめ及び考察

11. 安定経営に向けて

A農場は規模拡大する計画があり、今後も関係機関が連携し、支援する予定である。検診体制を維持しながら、繁殖成績の改善を目指し、平均AI回数は現在の2.5回から2回未満に減少させ、平均空胎日数は159日から100日へ、平均搾乳日数は208日から160日へ短縮することを目標とする。また、牛群検定成績と血液検査成績から群管理、個体管理に活用し、プロファイルテストと併せた健康管理や乳中尿素窒素、乳蛋白、乳脂質等の指標を取り入れた栄養状態把握及び治療への活用をしたいと考える。

子牛市場上場前の牛呼吸器病ワクチン接種時期に関する有効性の検討

秋田県南部家畜保健衛生所

○加藤真姫子 鈴木人志

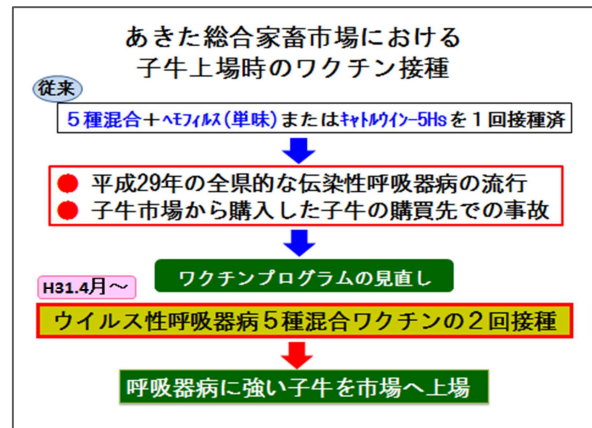
【はじめに】

秋田県内の子牛市場は、あきた総合家畜市場1市場に統合されており、これまで、子牛を上場する際には、「5種混合＋ヘモフィルスワクチンまたは、キャトルウイン5Hsを1回注射済であること」が市場名簿に明記されている。平成28年の冬から29年の春先にかけて、全国的に重篤な伝染性呼吸器病が流行した。この時期に市場を介して子牛を購入した県外の農場で、呼吸器病による事故が続発したことをきっかけに、上場前の呼吸器病ワクチンプログラムの見直しが検討され、より強い免疫力を得るために、この春から全国的にも稀な、ウイルス性呼吸器病5種混合ワクチンの2回接種に移行する予定である(図1)。

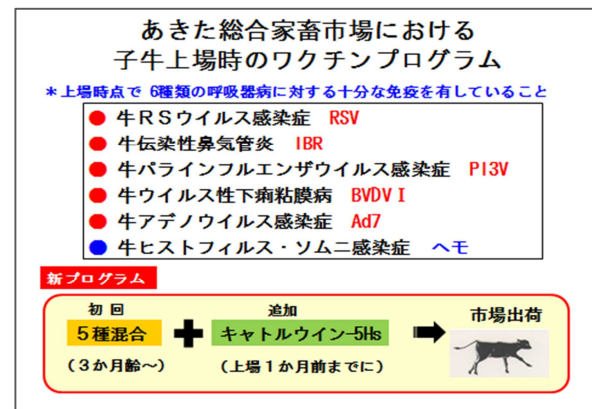
新たなワクチンプログラム(図2)は、市場上場時に、呼吸器病に関する6種類の呼吸器病に対する十分な免疫を有していることを想定しており、5種混合ワクチンを3ヶ月齢以降を目安に初回接種し、その後市場上場の1ヶ月前までにキャトルウイン5Hsを追加接種することとしている。

【調査および方法】

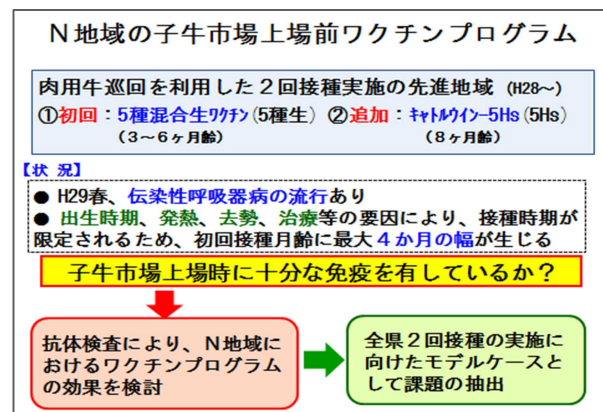
平成28年から肉用牛巡回を利用して、子牛市場上場前のウイルス性呼吸器病ワクチンの2回接種を独自に実践してきた管内N地域でのワクチンプログラムの効果を検証した(図3)。この地域は、若手後継者の増頭意欲が高く、毎月の定期巡回を利用した2回接種を



(図1)



(図2)



(図3)

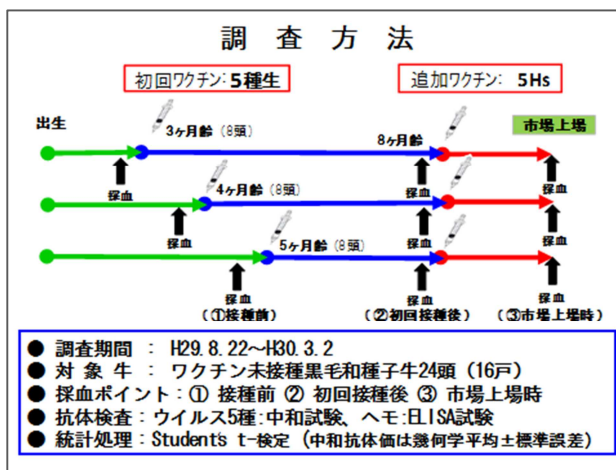
実施してきたが、平成29年当時、伝染性呼吸器病の発生があった。また、接種時の子牛の状態によっては次回巡回時へ延期となることで、タイミングが合わず、初回接種の月齢に4ヶ月ほどの幅が生じてしまうことから、子牛市場上場時に、十分な免疫が得られているかを確認し、この地域のワクチンプログラムの効果を検討した。これにより、全県2回接種の移行に向けたモデルケースとして課題を抽出することとした。

調査方法を図4に示す。調査実施期間は、H29.8.22~H30.3.2に渡った。N地域黒毛和種繁殖農家16戸からワクチン未接種の子牛24頭を供試し、初回接種月齢が3, 4, 5ヶ月齢の群に各8頭を配置し、接種前、初回接種後、市場上場時の3点で採血した。検査方法は、ワクチンに含まれるウイルス5種類については、中和試験、細菌ではヒストフィルス・ソムニについてはELISA法により抗体価を測定した。統計処理は、t-検定にて各群間で比較し、中和抗体価は幾何学平均±標準誤差で示した。

【結果】

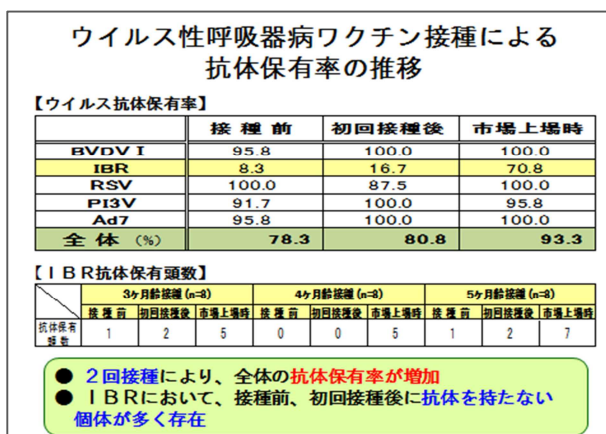
図5は、ウイルス性呼吸器病に対する抗体の有無に関する抗体保有率を示す。各ウイルスに対する採血ポイントにおける抗体保有率は表に示すとおり、全体の保有率は、接種前、初回接種後、市場上場時の順に78.3%、80.8%、93.3%となり、2回接種によって、抗体保有率が増加した。また、IBRについては抗体を持たない個体が多く存在し、2回接種による効果が最も高かった。

図6は、ウイルス性呼吸器病に対する中和抗体価を示す。5種類のウイルスに関する、接種前、初回接種後、市場上場時における、各24頭のデ



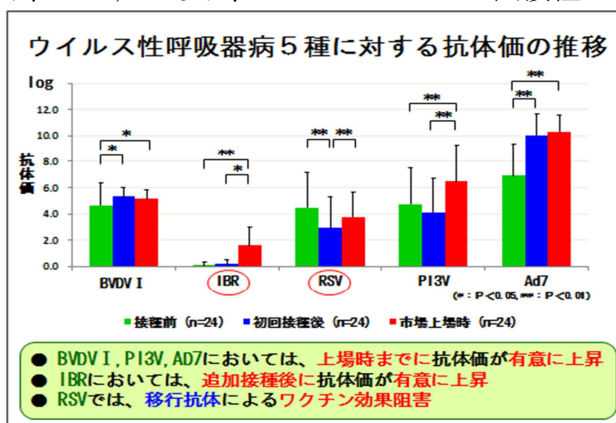
(図4)

計処



(図5)

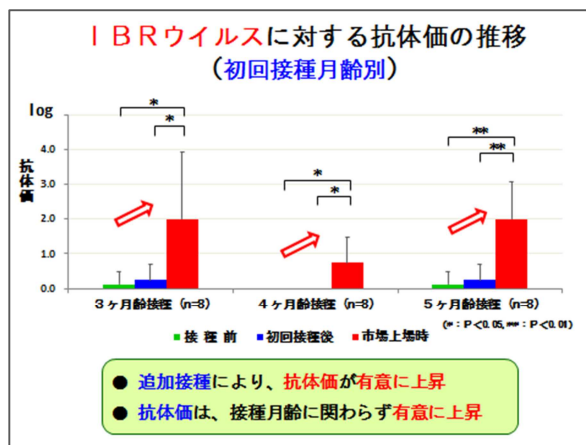
2回接種に



(図6)

一タである。ウイルスの中でも IBR と RSV に関しては、中和抗体が上がりにくいことが知られている。BVDV1, PI3V, Ad7 においては、接種月齢別に関わらず市場時まで抗体価が有意に上昇した。特に IBR に関しては、追加接種後に抗体価が有意に上昇した。一方、RSV においては、接種前の移行抗体により初回ワクチンの効果が阻害される結果となった。

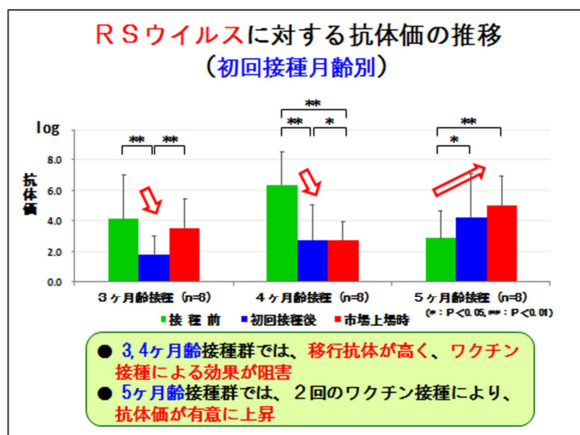
図 7 は、IBR の初回接種月齢別抗体価の推移の詳細を示す。初回接種後の抗体価は上がらず、追加接種後の市場上場時に有意な上昇を認めた。また、抗体価は初回接種月齢に関わらず、有意に上昇した。



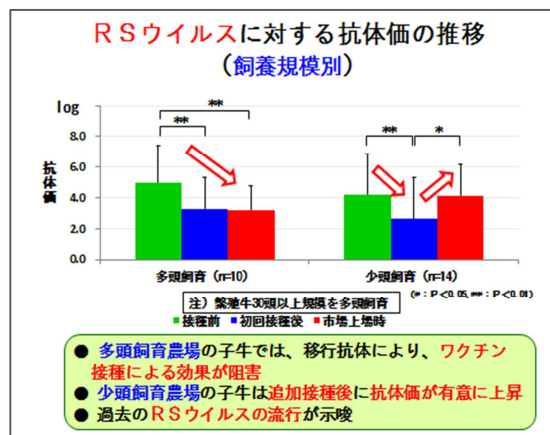
(図 7)

図 8 には、RSV の抗体価の推移の詳細を示す。グラフに示すとおり、3ヶ月齢、4ヶ月齢で初回接種した場合、移行抗体が高く、初回接種の効果が阻害された。しかし、5ヶ月齢接種では2回のワクチン接種により抗体価が段階的に増加し、それぞれ有意に上昇した。

図 9 では、RSV の抗体価について、同じデータを用い、供試牛の呼吸器病リスク要因として考えられる飼養規模について、繁殖雌牛 30 頭以上規模の多頭飼育農場と小頭飼育農場に分けて抗体価を表した。なお、多頭飼育農場には、平成 29 年当時の病性鑑定により、RSV が分離された 1 農場の子牛を含む。多頭飼育農場では、母牛初乳由来と思われる移行抗体が高く、ワクチンの接種効果が阻害された。少頭飼育農場では、移行抗体による阻害があるものの、追加接種後に抗体価が有意に上昇した。また、移行抗体の高さから、この地域における過去の R S ウイルスの流行が示唆された。

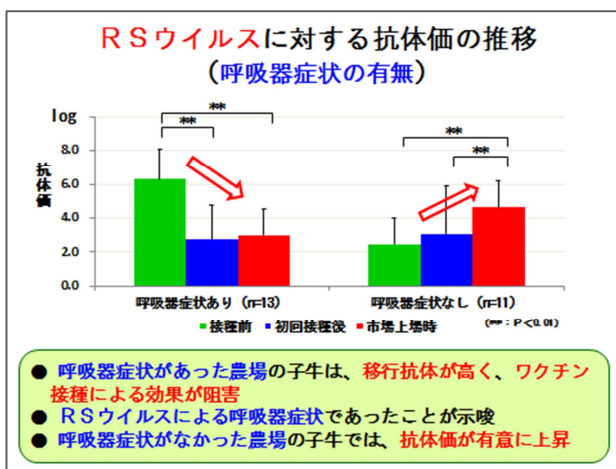


(図 8)



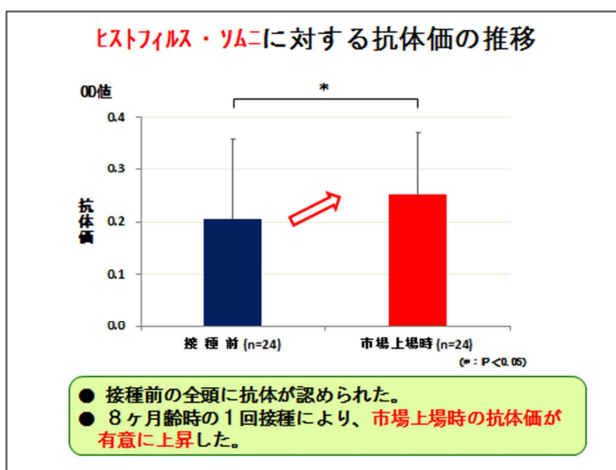
(図 9)

さらに、供試牛飼養農家に対して、平成29年当時に農場内での伝染する呼吸器症状の有無を聞き取り、牛を分けて分析したところ、結果(図10)はより鮮明になり、呼吸器症状ありの農場の子牛は接種前の抗体価は高かった。呼吸器症状の無かった農場の子牛は抗体価が低く、2回接種による抗体価が有意に上昇した。このことにより、当時のN地域における呼吸器症状の流行はRSVによる症状であったことが推察された。



(図10)

図11は、5Hs中に含まれる細菌であるヒストフィルス・ソムニの1回接種による抗体価を示す。24頭全頭にワクチン接種前の抗体が認められた。また、8ヶ月齢時に1回接種することで、市場上場時の抗体価が有意に上昇した。



(図11)

【まとめ】

本調査から、市場上場前の呼吸器病ワクチンの2回接種により、抗体保有率の増加および抗体価の有意な上昇が確認され、集団接種による呼吸器病の予防効果および感染拡大阻止効果は大きいと考えられた。

また、呼吸器病ウイルスの中でも浸潤度の低いIBRについては、抗体を持たない個体が多く、初回接種月齢に関係なく追加接種による効果大きいことが確認された。一方で、浸潤度の高かったRSVでは、初回ワクチンの若齢接種時のワクチンブレイクに留意する必要がある。

特に、平成29年当時に呼吸器症状を経験した農場や、多頭飼育の農場では、RSVに対する移行抗体が高いため、初回接種は5ヶ月齢以上が有利な結果であった。

キャトルウイン5Hs中に含まれるヒストフィルス・ソムニの抗体価は、8ヶ月齢時の1回接種において市場上場時の抗体価は有意に上昇した。

これらの結果から、N地域におけるウイルス性呼吸器病の浸潤状況とワクチネーションプログラムにおける補強すべきポイントを確認できた。

【今後の課題】

今後は、本データを元に、農場の実情に即した個別のワクチンプログラムを構築するため、RSVを経験した多頭飼育農場においては、その他の細菌性呼吸器病の浸潤状況の確認や、移行抗体の消失時期をそろえるために、母牛へのワクチネーション等も検討している。

しかし、農場内での生産性を阻害する病原体は常に同じではないため、今回のように、伝染性の呼吸器病が流行した後には、各種抗体検査を実施し、ワクチンプログラムの点検を行うことは重要であると思われる。

また、子牛市場上場前の呼吸器病ワクチネーションは、肥育農場に着地した時点での高いワクチン抗体を目的としたプログラムであるが、繁殖農家が手がける育成期は、疾病や死産率の最も高い時期でもあるため、今回の2回接種を有効に活用したプログラムの構築を支援したいと考えている。今後も、あきた総合家畜市場へ強健な子牛が安定的に供給されるよう、関係機関と連携し、継続的な支援をしていきたい。

【謝辞】

本試験において、ヒストフィルス・ソムニの抗体検査を実施とともに、有益なご助言を戴いた、株式会社 微生物科学研究所 函城 悦司先生に深謝します。

【参考文献】

1. 本川賢司. 2009. ワクチン免疫の基礎と臨床 ―ワクチン効果を上げるもの下げるもの―. 家畜感染症学会誌. 4(2):39-47.
2. 福山新一. 2008. 子牛の感染症予防ワクチンプログラム. 日本家畜臨床学会誌. 3(2):79-84.
3. 乙丸孝之助, 西丸公二, 柿内健ら. 2007. ワクチネーションによる育成牛の肺炎コントロールと実際. 日本家畜臨床学会誌. 2(2):29-34.
4. 佐野公洋, 高山直寛, 綿貫実ら. 2009. 黒毛和種子牛の受動免疫による呼吸器病ワクチネーション効果と飼養管理. 日本家畜臨床学会誌. 4(2):67-72.
5. 叶有斗. 2018. 臨床獣医師が考える子牛における牛RSウイルス病対策. 家畜感染症学会誌. 7(4):119-126.

遺伝子検査を併用した管内のアカリダニ浸潤状況検査

秋田県中央家畜保険衛生所
○大庭要、山口恭代

はじめに

平成29年度、県内で初めてのアカリダニ症がニホンミツバチにおいて発生。アカリダニ(以下ダニ)の寄生を確認するにあたり、遺伝子検査の応用が可能であることを我々は昨年報告した¹⁾。今回、直接鏡検と遺伝子検査を併用し管内養蜂場におけるダニの浸潤状況調査を行ったのでその概要について報告する。

アカリダニ症について

アカリダニ症は、気管内に寄生したダニを起因とする内部寄生虫疾患である。寄生しても多くは無症状で経過するが、重度寄生時は呼吸困難、飛翔不能及び寿命短縮等の症状を示し、蜂数の激減～蜂群が壊滅する。

アカリダニの生活環

ダニは、雌ダニのみが蜜蜂の前翅付け根にある第一気門より侵入し、気管内に寄生する。侵入した雌ダニは母ダニとなり気管内に産卵。卵は3日で孵化し幼ダニが生まれ、幼ダニは12～14日で成ダニに成長、交尾を行う。交尾後、雌ダニは気管から脱出し、新しい宿主へ移動する。一方、雄ダニと母ダニは気管から脱出することなく、交尾、産卵を続ける。ダニは幼ダニ～成ダニの全段階で気管粘膜を吸汁するため、気管は次第に黒色化する²⁾(図-1)。

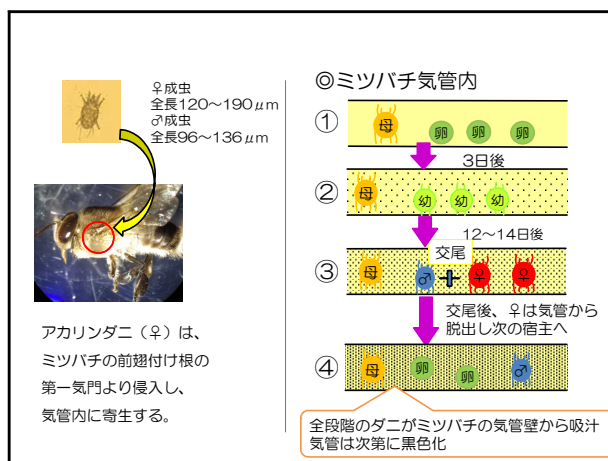


図-1:アカリダニの生活環

アカリダニ症の対策

本症に対して、国で認可された予防薬及び治療薬はない。家畜保健衛生所は蜜蜂飼養農家に対し衛生対策として器具洗浄・消毒及び巣箱の内検をしやすい巣箱を用いるよう指導するダニ対策リーフレットを配布し周知を実施した(図-2)。

図-2 : アカリダニ症対策の内容(平成29年度)

ニホンミツバチ飼養者間の実態

当所管内のニホンミツバチ飼養者は、趣味で始める人が多い。知人から蜂を譲渡されることで簡単に飼養を始められるため飼養戸数は近年増加傾向にある。ニホンミツバチの会等、会員同士の交流が盛んであることや発生農場から最も近い農場は直線距離100mと近接していることから疾病の拡大が懸念された。

浸潤状況調査

これまで日本ではニホンミツバチでのみアカリンダニ症の発生が確認されている。これに対して、海外ではセイヨウミツバチで発生が多いことから、管内のダニ浸潤状況調査を実施した。

①蜜蜂の収集

浸潤状況調査は平成30年5～11月、発生農場を除き本調査に賛同の得られた農場を対象に実施した。

検体内訳は、セイヨウミツバチ3市14戸14群、ニホンミツバチ2市4戸9群の3市18戸23群。管内の全飼養戸数57戸のうち18戸31.6%の検査を実施した(図-3)。

本調査への賛同は、日頃より腐蛆病をはじめとした疾病対策を実施しているセイヨウミツバチ飼養者から多く得られた一方で、ニホンミツバチ飼養者からの賛同は得られにくく、協力は一部の農場のみだった。蜜蜂の収集は、セイヨウミツバチは巣碑に付いたものを振り落とし、ニホンミツバチは巣の上蓋を外して収集した(写真-1)。1蜂群あたり10頭以上を収集した。

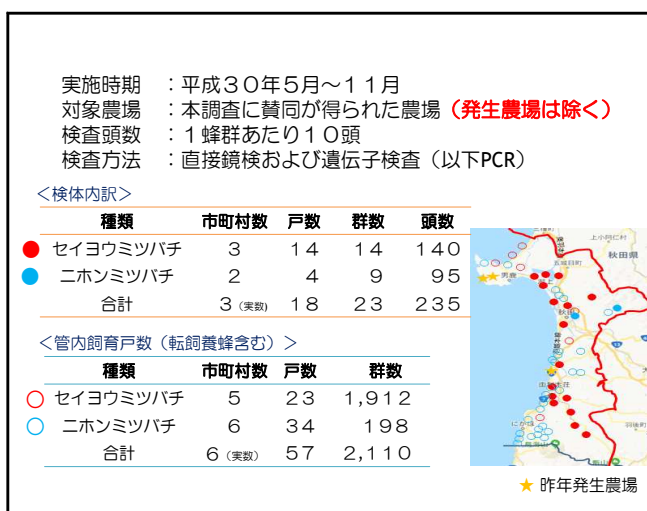


図-3：浸潤状況調査の方法



写真-1：蜜蜂の収集の様子 (左：セイヨウミツバチ、右：ニホンミツバチ)

②検査方法

検査は、直接鏡検及び遺伝子検査(以下、PCR)を併用して実施した。方法は、直接鏡検にて蜜蜂の胸部気管を観察し、ダニ寄生の有無を確認した後、鏡検結果の見落としがないか確認するため同一蜜蜂の胸部を用いてPCR検査を実施した。

(1)直接鏡検－前処理

直接鏡検は実体顕微鏡下でピンセットを用いて実施した。蜜蜂の胸部及び腹部を固定し、頭部を外し、カラーの腹側中央の境目を挟み、1周回すように外して左右に分岐した気管を露出させた(図-4)。

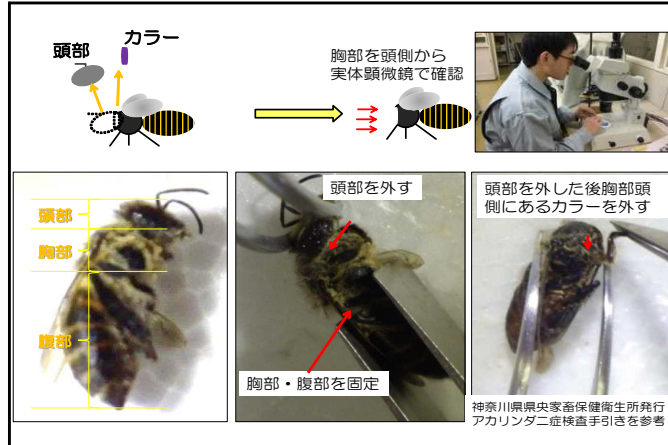


図-4：直接鏡検－前処理

(2)直接鏡検－ダニ寄生の確認

実体顕微鏡下では、正常蜂は黄色半透明～白色のきれいな気管を左右に確認出来る。一方、ダニ寄生が疑われる蜂の場合は気管の一部～全体に褐色～黒色の変色が片側又は両側に確認出来る(写真-2)。倒立顕微鏡下では、正常蜂の気管は綺麗な筋状構造を確認できるのに対し、ダニ寄生蜂では内部にダニ及びダニ卵の充満が観察され、筋状構造も失われている(写真-3)。



写真-2：直接鏡検（実体顕微鏡）

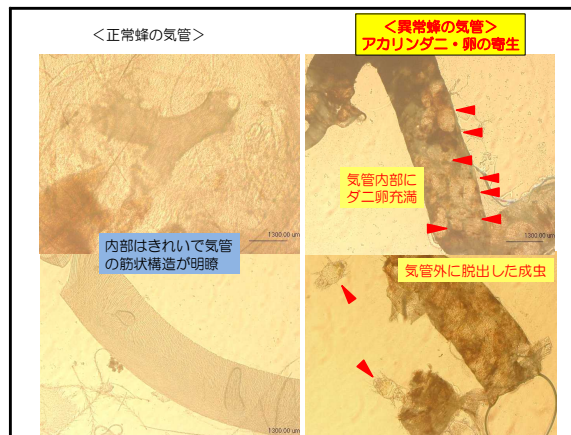


写真-3：直接鏡検（倒立顕微鏡）

(3) 遺伝子検査(PCR)

直接鏡検では見落とす可能性のあることを考慮し、寄生の有無を確認した蜜蜂胸部を用いてPCRを実施した。1蜂群あたり10頭をプールしたものを1検体としてセイヨウミツバチ11検体及びニホンミツバチ4検体をそれぞれPBS-入1.5mLチューブに入れホモジナイズした。遠心後、上清をフィルター濾過した。濾過上清から核酸を抽出し、PCRを実施した。ダニ陽性であれば、増幅産物を639bpの位置に確認できる¹⁾(図-5)。

遺伝子検査 (PCR)

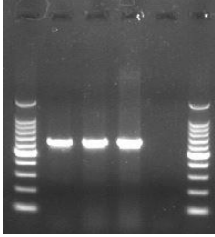
○直接鏡検では見落とす可能性のあるため、直接鏡検後のサンプルを用いてPCRを実施し、直接鏡検と比較

材料：直接鏡検の結果に基づき、
1蜂群あたり10頭の胸部を1検体とした
・セイヨウミツバチ11検体 (陰性11検体)
・ニホンミツバチ 4検体 (陽性1検体、陰性3検体)


方法：
【前処理】
・1.5mLチューブにPBS-を1mL分注
・PBS-を分注したチューブに蜂の胸部を投入
・1分間ホモジナイズ
・3,000 rpm 10min遠心分離
・上清を0.45μmフィルターにて濾過
・フィルター濾過上清に100μLより核酸抽出
(※行方 日本イシイ社)

【PCR条件】

<table style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <tr> <td style="text-align: right;">94°C</td> <td style="text-align: left;">2min</td> <td rowspan="5" style="font-size: 2em; vertical-align: middle;">} 40 Cycle</td> </tr> <tr> <td style="text-align: right;">94°C</td> <td style="text-align: left;">1min</td> </tr> <tr> <td style="text-align: right;">42°C</td> <td style="text-align: left;">30sec</td> </tr> <tr> <td style="text-align: right;">72°C</td> <td style="text-align: left;">3min</td> </tr> <tr> <td style="text-align: right;">72°C</td> <td style="text-align: left;">5min</td> </tr> </table>	94°C	2min	} 40 Cycle	94°C	1min	42°C	30sec	72°C	3min	72°C	5min	<p>【使用酵素】 AmpliTaq Gold DNA Polymerase with Buffer II and MgCl₂ (Thermo Fisher SCIENTIFIC)</p>
94°C	2min	} 40 Cycle										
94°C	1min											
42°C	30sec											
72°C	3min											
72°C	5min											



陽性の場合
639bpの位置にバンド確認



10頭分の胸部

図-5：遺伝子検査 (PCR) の材料と方法

調査結果

表-1 浸潤状況調査結果

セイヨウミツバチではダニ寄生は認められず、ニホンミツバチ農場では1戸3群においてダニ寄生を確認した。後日の聞き取り調査によりこの蜂群は、平成30年春に発生農場より

種類	市町村数	戸数	群数	頭数
セイヨウミツバチ	0/3 (0.0%)	0/14 (0.0%)	0/14 (0.0%)	0/140 (0.0%)
ニホンミツバチ	1/2 (50%)	1/4 (25%)	3/9 (33.3%)	25/95 (26.3%)
合計	1/3 (33.3%)	1/18 (5.56%)	3/23 (13.0%)	25/235 (10.06%)

譲渡されたものと判明した。よって今回の調査では管内にアカリダニは浸潤していないといえる。また、同一検体による直接鏡検とPCRの結果に違いはなく、ダニ寄生の重症度や浸潤状況調査等の調査内容や必要データにより検査方法を変えることで、作業の効率化を図ることが可能と思われた。

検査不能検体への応用

今回の調査は、新鮮な蜜蜂を収集し調査を実施した。しかし、我々が日常的に行う病性鑑定依頼時は、サンプルの多くが死亡した蜜蜂である(写真-4)。蜜蜂は腐敗すると気管が黒く変色するため鏡検には適さなくなる(写真-5)。蜜蜂は外見では腐敗を確認し辛く、その度合いは頭部を外して初めて分かる(写真-6)。このような鏡検不可能サンプルについてもPCRが応用できるか検討するため、直接鏡検にてダニ寄生を確認した蜜蜂胸部1頭分を人工的に腐敗させPCRを実施。結果、目的のバンドを確認することができ、腐敗サンプルに対してもPCRは応用可能であった。



写真-4：死亡蜂



写真-5：腐敗により筋肉が黒色化
気管確認不可能

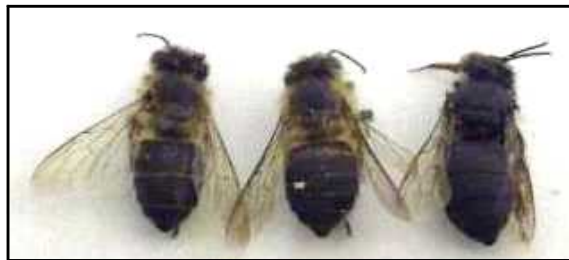


写真-6：蜜蜂の外見(左：新鮮、中央：軽度腐敗、右：腐敗)

まとめ

管内で初めてダニの浸潤状況調査を実施した。方法は病性鑑定マニュアルで定められた直接鏡検を主体にPCRを併用して調査を行い、調査に賛同を得られた養蜂場のダニ寄生の有無を確認した。結果、ニホンミツバチ飼養農家1戸で寄生を確認したが、発生農場からの譲渡群であった。また、PCRと直接鏡検の検出結果は一致していたため、調査内容により検査方法の選択が可能と思われる。

今後の検査方針として、病性鑑定時はマニュアルに則り、これまでどおり直接鏡検で診断するものの、腐敗材料等はPCRを補助的診断として活用していく。PCRは主に浸潤状況調査に使用する。また、野生蜜蜂へのダニ浸潤状況を調査するため、捕獲ニホンミツバチの検査を農場に提案しながら農場への情報提供及び清浄蜜蜂の飼育指導を行い発生予防に努めていく。

参考文献

- 1) 小原ら：県内で初めて確認されたニホンミツバチのアカリダニ症. 平成29年度秋田県業績発表会
- 2) 前田ら：ミツバチに寄生するアカリダニ-分類,生体から対策まで-,日本応用動物昆虫学会誌 第59巻 第3号: 109-126(2015)

図上シミュレーションを取り入れた高病原性鳥インフルエンザ防疫演習

秋田県北部家畜保健衛生所

○村松龍ノ助 富野里櫻子

【はじめに】

北部家保管内には、採卵鶏・肉用鶏ともに大館・北秋田地域に戸数・羽数が集中しており、当所は伝染病発生時に備えた初動防疫体制の整備に向けて、管内の振興局への指導を数年にわたって継続してきた。昨年度当所では、高病原性鳥インフルエンザ（以下 HPAI）に対する振興局主導型防疫演習の実施を目標とし、演習のための事前協議を重ね、平成29年度10月に机上及び実地演習を開催した。

【平成29年度の演習】

(図-1)

昨年度の演習では家保職員が防疫対応の流れの全てを説明していた従来とは異なり、担当部署ごとに説明者を選任し、各部職員が各々の作業内容を説明する方式へと改善した。実地演習では殺処分作業や消毒ポイントの運営についての演習が行われた。(図-1)

昨年度の演習事後検討会では、リレー形式による机上演習で防疫対応の流れが理解しやすいという声があった一方で、演習を進めるのは各部1名ずつ選出された説明者のみであり、職員全体が防疫対応について検討できる方法はないか、という意見が挙がった。

実地演習においても机上演習で確認した流れを各部で実践することでより理解を深めることができた一方で、これらの作業は円滑な初動防疫への移行が前提であり、それらを担う総務班による資材調達やサポート班による防疫拠点設営の演習も必要ではないか、という指摘も受けた。

【平成30年度の演習に向けた改善点】

前述のような指摘事項を踏まえた、平成30年度の防疫演習事前検討会では、昨年度の防疫演習の良いところは引き継ぎ、より多くの職員が模擬体験できる演習、防疫対応の補助についての演習、資材の調達や補給・運搬についての具体的な演習を行いたいという意見を受け、これらをクリアする新しい取り組みについて検討を重ねた。

検討の結果、図上シミュレーション訓練を取り入れた机上演習、総務班及びサポート班に焦点を当てた実地演習という新たな要素を取り入れた防疫演習を実施した。



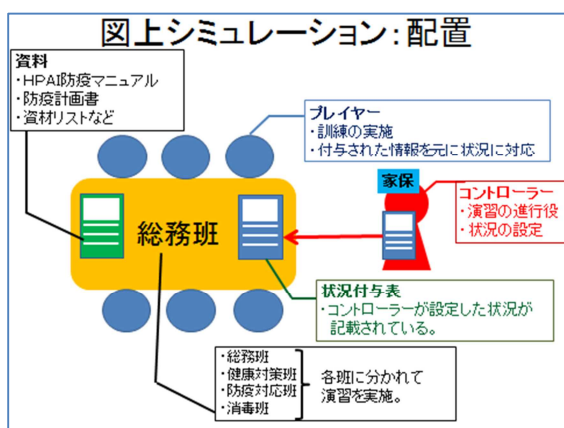
【図上シミュレーション訓練を取り入れた机上演習】

図上シミュレーションとは、危機発生時に直面すると思われる各種の問題について模擬体験を行い、より多くの職員に対して有事の備えとしてもらうことを目的とした演習方法で、災害訓練などで活用されている方法である。適切な防疫対応ができるようになるためには、経験を積み重ねることが重要だが、大規模な伝染病の発生に遭遇することは稀であり、農場における HPAI の発生事例もない本県に適した演習法といえる。

参加者はコントローラーとプレイヤーに大別され、演習の進行役であるコントローラーは家保職員が担当した。振興局の職員はプレイヤーとして参加し、担当する班ごとのテーブルに付く。(図-2) テーブルには本県の HPAI 防疫マニュアルの他、防疫計画書や必要資材リストなどの各種資料が用意され、これらを用いてコントローラーから出される状況付与票(図-3)の内容について話し合い、対応を検討していく。状況付与票には本来、指示のみ記載されているが、各班が対応する部分は全て穴埋め形式を採用し、演習のスムーズな進行と、未体験の演習に対してプレイヤーが入り込みやすいよう配慮した。

演習当日は各班のテーブルで、資料内の情報を取捨選択しながら対応について話し合いを行っていた。班の中で対応の方針が決まると、指示の発信元である総務班や、発生時に現地対策本部長となる振興局長の元へ報告を行い、有事の際の対応だけではなく、どこに何を報告するのか、ということについてもシミュレーションすることができた。

(図-2)



(図-3)

状況付与票について

状況付与票

コントローラーからの状況付与

No.			
付与先	全班		
付与時刻		想定時刻	
発信元	総務班統括	付与方法	紙
種別	指示		

班ごとに初めの1日(24時間)分の必要動員人数及び不足数、防疫対応に必要な資材数及び不足数を危機管理連絡部会議にて報告してください。

●必要動員人数及び不足数について

山本地域振興局における総務企画部職員数 名

総務班必要動員数 名

スムーズな進行のため、回答は穴埋め形式を採用

【総務班及びサポート班に焦点を当てた実地演習】

サポート班については、過去の防疫演習でも大きく取り上げたことがなかったため、現状のまま演習当日を迎えれば、非常に混乱することが予想された。そこで演習の前日にサポート班の担当になっている職員を参集し、有事の際のサポート班の重要性や演習当日の動きについて事前研修会を開催した。

演習当日のサポート班の実地演習に選んだシチュエーションは集合施設の運営、防疫拠点に見立てたテントの設営、実際に殺処分演習を行う職員の防護服着脱補助で、研修会の

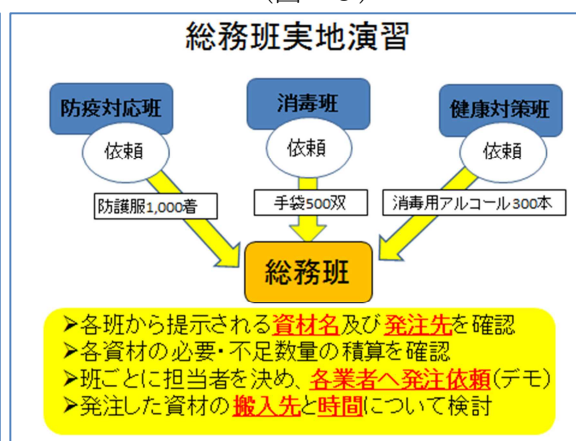
開催が功を奏し、当日は大きな混乱もなく各会場でサポート班の演習が実施できた。(図-4)

総務班を対象とした実地演習では、各班から必要な資材と数量が提示されてきたという状況設定のもと、演習が行われた。演習の目的としては、参加者が手分けして資材リストを確認しながら、各班から提示されている資材の必要数量や不足分を取りまとめて各業者へ発注を依頼することだが、今回の演習ではその際発注された資材の搬入先や時間についても各資材ごとに検討を行った(図-5)。

(図-4)



(図-5)



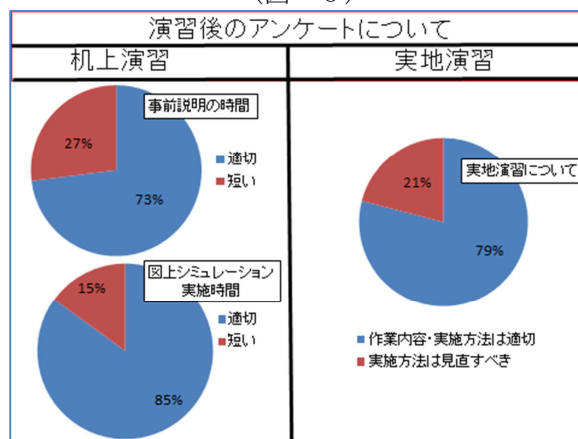
【演習事後アンケート及び検討会】

防疫演習後、振興局内で行われた事後検討会では、参加者から実践的な演習を通して作業内容の理解が深まったなどの意見があり、演習を見学していた他地域の振興局職員から当管内の演習でも取り入れたいなどの声を聞くことができた。

机上演習では開始前に演習について事前説明の時間を取ったが、3割近い参加者が短いと感じており、図上シミュレーションの実施時間についても8割以上の参加者が適切と評する一方で、短いと感じている参加者が一定数見受けられた。事後アンケートのコメントで

(図-6)

は、机上演習の時間は慌ただしく、もっと余裕をもってできれば良い理解の場になるのではという意見が挙がった。新しい取り組みとして行ったサポート班、総務班の実地演習以外にも、昨年度実施された防疫対応班、健康対策班、消毒班を対象とした実地演習も同時に実施したが、実地演習の作業内容については評価されている一方、実施方法については見直しする必要があるという意見が見受けられた。(図-6)



【まとめ】

今年度実施した机上演習では、参加者の能動的な発案や連携を促進し、参加者同士でHPAI 防疫対応について話し合う場をつくることに成功した。一方で従来の机上演習よりも時間がかかることで、演習についての説明や練習の時間が短縮されてしまうことが今回の机上演習の課題として挙がっており、実地演習に関するアンケートの中でも、実際の集合施設の使用や、生きた鶏を用いた捕鳥訓練など、実施方法についてより具体的な状況設定を求めている声が参加者の中にあることが分かった。

以上を踏まえて、今後の演習については、机上演習と実地演習の実施日を分けて防疫演習を開催する方向で検討している。事後検討会で机上演習の慌ただしさが挙げられ、各演習日を1日ずつ確保することで、時間に余裕のある演習を実現し、参加者により深く防疫対応について理解を深めてもらうことを目的とする。

また、今回の演習を見学して自分の振興局でも図上シミュレーションをはじめとした演習を取り入れたいという声が挙がり、これを機に当所管内における本演習の浸透させていく方法を模索している。参加者、見学者からも一定の評価をもらえた今年度の演習だが、事後検討会で多くの改善点・要望が上げられたことから、今後も各振興局と協力し、演習内容の改善に努め、管内全体の危機意識向上を目指す。

高病原性鳥インフルエンザ（HPAI）発生時の初動防疫体制整備への取り組み

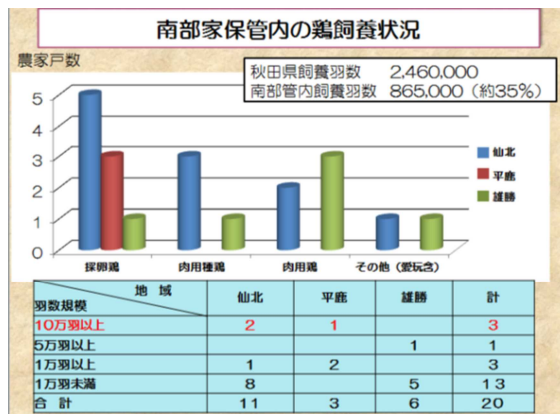
秋田県南部家畜保健衛生所

○藤原ちさと 野村真実

【はじめに】

当所管内の鶏の飼養羽数は、86万5千羽で、本県の約35%を占める。県内最大の採卵養鶏場や、畜産試験場、農業公社比内地鶏センターといった県内の種鶏供給に重要な役割を抱える公的農場も存在し、本県の養鶏業において重要なエリアとなっている。

HPAI発生時、防疫措置に時間を要すると考えられる大規模農場は、仙北地域2戸、平鹿地域1戸となっている。雄勝地域には大規模農場はないものの、農場の位置関係から対応の困難が想定される農場もあり、どの地域も万全の態勢をつくっておく必要がある。（図-1）

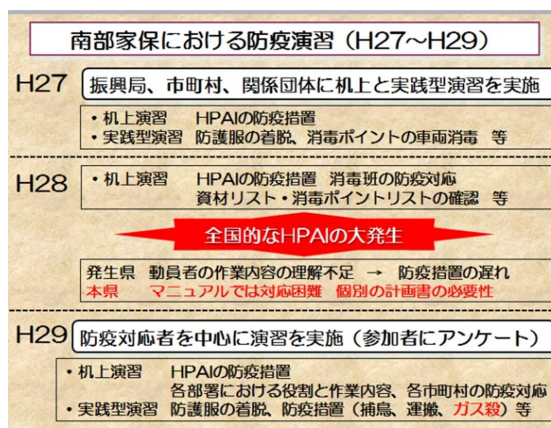


<図-1>

【当所における防疫演習（H27～H29）】

HPAI発生の際、家保職員は現場に向かうため、現地対策本部の軸となるのは振興局の職員である。また、市町村や関係団体の職員も動員依頼の対象であることから、万一の発生に備え、当所では毎年、振興局や市町村、関係団体を対象に防疫演習を実施している。

図-2は当所での最近の演習を示したものである。平成28年度は演習直前に本県動物園や隣県でのHPAI発生があり、机上演習のみの実施となった。その後、全国的にHPAIの発生が相次ぎ、緊張感が高まる年となった。発生県では、動員者が「何をするのかわからないまま呼ばれた」との後日談もあり、作業内容の理解不足が防疫措置の遅れにつながったとの見方もある。一方、本県では、現行マニュアルではいざというときに対応困難であることが想定されたため、農場ごとの個別の計画書の必要性を痛感し、農場ごとの具体的な防疫計画の作成や県のマニュアルの改正に着手した。平成29年度は防疫計画書の作成と並行して、机上演習と図-3で示すような実践型の演習を行った。また、演習終了後には参加者にアンケートも実施した。



<図-2>

【H29 演習内容】

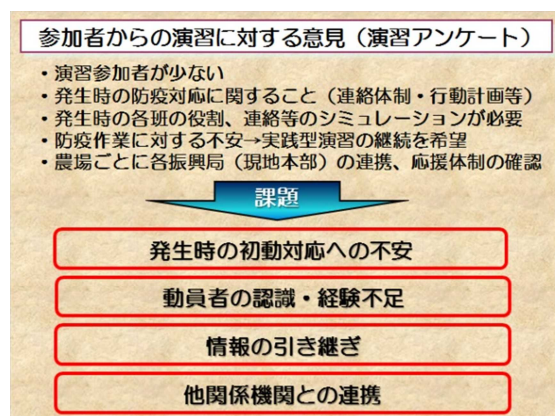
図-3は平成29年度の防疫演習の様子である。机上演習（図-3左上）に加え、防護服の着脱訓練（図-3右上）や廃鶏を利用した捕鳥訓練（図-3左中央）、水入りのペットボトルを入れたポリペールを台車に乗せ、実際の重さを体感してもらう運搬演習（図-3右中央）、ガス協会の方を招いての二酸化炭素ガスやガスボンベの扱い方の講習会（図-3左下）と、ガス殺を想定したガス噴射体験、捕鳥作業時の通路幅や高さの体感訓練（図-3右下）といった実践的な演習を実施した。



<図-3>

【参加者からの演習に対する意見（演習アンケート）】

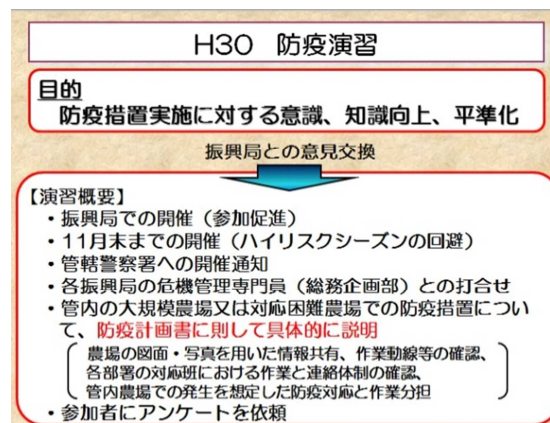
「効果判定のない講習会は意味がない」と考え、演習後には参加者にアンケートを実施した。自由記述の回答には、演習参加者が少ない、発生時の防疫対応に関する不安等の意見が寄せられた。これらから、課題として発生時の初動対応への不安、動員者の認識・経験不足、継続的な情報の引き継ぎ、他の関係機関との連携が挙げられることがわかった。



<図-4>

【H30 防疫演習】

アンケートの結果を踏まえ、平成30年度の防疫演習は、防疫措置実施に対する意識や知識の向上、平準化を目的とした。演習を開催するにあたり、事前に振興局との意見交換を実施し、参加促進のため、会場を当所から各振興局に変更し、HPAI ハイリスクシーズンを回避して11月末までに演習を開催。また、防疫計画書には農場や集合施設周辺の車両動線案を入れておくことから管轄の警察署にも演習の開催通知



<図-5>

を送付し、各地域振興局の危機管理専門員との打合せを実施した。

演習内容としては管内の大規模農場または対応困難農場での防疫措置について、図面や写真を用いた情報共有や各部署の対応班における作業と連絡体制の確認等、防疫計画書に沿った演習とした。また、演習終了後にはアンケートも実施した。（図－５）

【H30 演習内容】

図－６は今年度の演習に用いたスライドの一部である。全体的に写真や図を多用して、話の内容や現場での作業のイメージが湧きやすいよう工夫した。図－６右上のスライドの写真は当所の職員が実際に鶏舎のケージに登ったところを撮影したものである。家保職員ができないことを動員者に説明することはできないことから、可能な限り当所職員が実際の作業を体感し、注意点や感じたことなどを演習参加者に共有することで疑似体験してもらえよう配慮した。また、現場の撮影が難しいところはイラストや図を用いた。



<図－６>

図－７は農場別の防疫対応について説明するとき用いたスライドである。

図－７左上のスライドは作業動線の案を示したスライドである。農場を俯瞰的に見た写真を用いることで、おおまかな作業動線がひとめでわかるようにしている。また、図－７右上・左下のスライドのように、農場の写真や図面を用いることで、この農場に行ったことがない参加者でもイメージがわきやすいよう配慮した。図－７右下のスライドのように冬季の農場の様子も見せることにより、積雪などで想定される状況を示すこともできた。



<図－７>

【H30 防疫演習（成果）】

演習参加者は国、県、市町村、団体職員に加え、警察署の方々にも参加していただき、総勢137名と、昨年度より参加者が増加した。増えた内訳としては県職員が増加し、開催場所を振興局にしたことが功を奏したと考えている。また、昨年度同様、参加者に

アンケートを依頼したところ、約8割を回収することができた。結果については後に示すが、回答から防疫作業への不安や経験不足があることがわかった。

この結果を反映してか、演習終了後、防疫措置における追加演習の依頼や作業内容の照会があった。具体的には、警察署や総務企画部、福祉環境部、建設部から、図-8に示したような依頼や照会があった。

先方からアクションがあったことより具体的な演習の依頼があったことは各部署での理解の下地ができたことととらえ、大きな成果であったと考えられた。

H30 防疫演習 (成果)

- ・演習参加者 137名 県職員の参加増 (H29 106名)
(国、県、市町村、団体職員 **警察署**が参加)
- ・アンケート約8割回収

➡ **課題：防疫作業への不安・経験不足**

【演習終了後】

防疫措置における追加演習の依頼、作業内容の問い合わせ

- ・警察署 → 農場周辺の通行遮断の詳細の説明依頼
- ・総務企画部 → 疑い通報からの会議開催、連絡体制の確認
- ・福祉環境部 → 健康調査、防護服着脱法、措置後の流れ等の確認
- ・建設部 → 車両消毒作業演習（動噴の設置、使用法等）

< 図-8 >

【H30 南部家保主催防疫演習 アンケート】

図-9は今年度実施したアンケートであり、各項目について理解度を5段階評価で自己評価した。

図-10はアンケートの結果である。a~cは理解できた、d,eは理解できなかつたと大別すると、どの項目も大半の人が理解できたと回答している。しかし、Q3.発生時の各班の対応やQ4.管内農場の状況は、よく理解できなかつたと回答する人も回答者の5分の1ほどいることがわかった。演習後に追加演習の依頼や作業内容の照会があったこととも合致する結果となった。

H30 南部家保主催防疫演習 アンケート

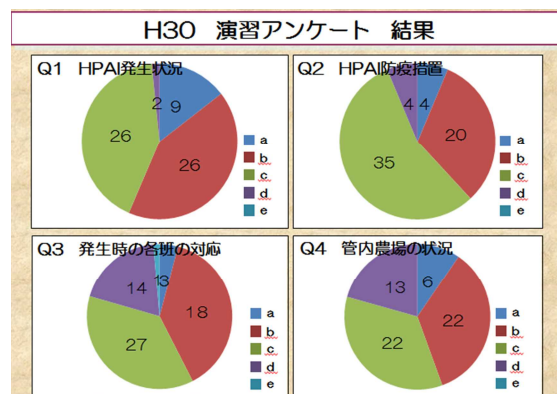
設 問

- 1 高病原性鳥インフルエンザ(HPAI)発生状況について
- 2 HPAI発生時の防疫措置の流れについて
- 3 発生時の各班、市町村、関係団体の対応について
- 4 管内農場の状況について
- 5 防疫演習で実地を希望する内容、その他確認事項について

回 答

a 大変理解できた	b よく理解できた
c まあまあ理解できた	d よく理解できなかった
e 全く理解できなかった	

< 図-9 >



< 図-10 >

【H30 振興局からの演習案提示】

平成30年度は管内のS振興局からは今年度演習案の提示があった（図-11）。振興局と家保が主催となり、管内最大規模農場での「疑い報告」から防疫作業開始までの一連の事務作業の確認を実際に行う、というもので、発生時の対応の流れと課題の洗い出しを目的としたかなり実戦的な演習案となっており、内容的に高度であるため、県のマニュアルの改正も未完成的な状況では、すぐに実施することは困難であったが、今後の開催に向けて協議中である。

H30 振興局からの演習案提示

S振興局からの演習案

- ・主催は振興局、家保
- ・管内最大規模農場での「疑い報告」から防疫作業開始までの一連の事務作業の確認を実際に行う
- ・発生時の対応の流れと、課題の洗い出し
- ・市町村、農協、国道事務所、県関係機関で実際の発生時の関係機関に協力を要請

演習の流れ

1 疑い一報	連絡体制確認
2 連絡部設置	関係機関へFAX
3 連絡部会議開催	資料作成
4 動員	動員名簿作成指示、集合時間等の指示
5 資材調達	各班で必要資材確認、不足資材の本部への発注
6 施設確保	集合施設、消毒ポイントの確保

<図-11>

【課題と今後の対応】

農場ごとの防疫計画書を念頭においた継続的な演習の開催が必要であり、防疫計画書に沿って、最初に作業班ごとに演習を行い、次に全体の演習をすることが有効と考えられた。有事の際は時間との戦いであるため、おのおのが具体的にすべきことを把握することが、実戦的であり迅速な防疫措置対応への近道になると考える。

次に、情報共有のあり方である。いくら演習を重ねて理解が定着したと思っても、適切な引き継ぎがされなければ、理解が定着しないため、今年度から各振興局と全庁共有ネットワークを活用したQ&Aを作成し、互いに随時更新を行い、過去のQ&Aや他の振興局のQ&Aも閲覧することが可能となり、求める人には与えられるシステムを作ることができた。また、随時、HPA Iの発生状況の情報提供も行っている。

3つめは未実施項目への対応である。防疫演習において、埋却や人・物資の輸送、受け入れ作業の確認といった演習は実施経験がない。これらの項目も防疫措置の一角を担う重要な項目であるため、今後演習の検討が必要である。

これらの課題はより迅速な初動防疫対応を行う上で解決していかなければならないが、あまりにも守備範囲が膨大であるため、家保がひとつひとつ演習を企画し、実施していくには人も時間も足りないのが現状である。

そこで今後は、現地対策本部の主軸となる振興局が演習を主催していくのも有効な手法かと考える。（図-12）家保主催の防疫演習に加え、S振興局からの提示のよ

課題と今後の対応

- 農場防疫計画書を念頭とした継続的な演習を開催
→まずは作業班ごとの演習 →全体の演習
- 情報共有のあり方
→共有ネットワークの活用（Q&A、情報提供）
- 未実施項目への対応
→埋却に係る演習、埋却地の確認（埋却可否）
→人・物資等の輸送、受入作業の確認
（疑い事例からの動きの確認）

↓

**現地対策本部を主導とする防疫演習の開催
（振興局主体の防疫演習）**

<図-12>

うな形で、おのおのが作業班となることを想定して何が必要かを考え演習を開催し、これに対して家保も協働で行う形であれば、より効率よく、より効果的な演習が実施できるものと考えている。

今後も振興局と連絡を密にして、有事の際の初動防疫対応の向上に努めて参りたい。

黒毛和種親子からの血清中ビタミンAパルミテート検出事例

秋田県中央家畜保健衛生所

○山田典子

1 はじめに

ビタミンAパルミテートは、体内に摂取されたビタミンAが肝臓の伊東細胞に貯蔵される際のエステル型ビタミンAで、通常は血液中にはほとんど検出されないかごく低値である。ビタミンAの大量投与により、血液中にビタミンAパルミテートが継続的かつ高濃度に検出されるため、過剰投与の指標とされている。ビタミンA過剰症には、摂取後12時間前後で脳圧亢進による運動失調や麻痺等を呈する急性中毒症と、摂取後数か月以上経過して発症する慢性中毒症がある。牛の慢性中毒症にハイエナ病があり、若齢期に上用量の100倍程度を連続投与するなどの大量投与により後肢の発達遅延が特徴とされている。また、サルで大量投与による催奇形性が認められている。^{1,2,3,4)}

平成30年5月、黒毛和種親子で血清中ビタミンAパルミテートの高値を認めた事例があり、概要を報告する。

2 農場の概要と経緯

農場は黒毛和種繁殖経営で、飼養頭数は60頭（繁殖39頭、育成16頭、子牛5頭）である。繁殖牛にはアカバネ病ワクチンを接種していた。

5月15日、4産の母牛から自然分娩で出生した雄子牛1頭が、起立や歩行困難で斜頸を示した。5月16日、当該子牛は虚弱だったとして畜主によりビタミンAD₃E製剤を製剤の用量以下である3mLを経口投与された。投与量中には、ビタミンAパルミテートが15万IU、ビタミンD₃が750IU、ビタミンEが225mg含有されている。5月17日、診療獣医師から予後不良として現地の家畜保健衛生所に病性鑑定依頼があった。

3 病性鑑定

(1)材料と方法

当該子牛は斜頸を呈し、頭頂部がやや隆起していた。剖検では脳の側脳室拡張、前肢の左右の尺骨の湾曲及び肘関節の外転が認められた。(図-1) 主要臓器その他に異常は認められなかった。

材料は、子牛の生材料（主要6臓器及び腸間膜リンパ節）、ホルマリン材料及び血清、また母牛及び同居牛6頭（親子2組及び分娩2か月前の2頭）の血清を用いた。

生化学的検査は、血液生化学検査を自動分析装置（ドライケム4000V）で実施した。また、血清中のビタミン測定（ビタミンA、ビタミンAパルミテート、βカロチン及びビタミンE濃度）及び肝臓中のビタミン測定（ビタミンAパルミテート及びビタミンE濃度）を高



速液体クロマトグラフ（HPLC）法で実施した。HPLCの条件は、カラムはODS系（C18、4.6×150mm、粒子径5μm）で、移動相はメタノール：クロロホルム（9：1）で流速は1ml/分とした。また、検出器はPDAで、吸収波長及び検出時間はβビタミンA及びβビタミンAパルミテートが325nmでそれぞれ約2分及び約10分、βカロチンが450nmで約13分、βビタミンEが292nmで約4分である。

細菌学的検査は、DHL寒天培地及び5%羊血液加寒天培地を用いて好気及び嫌気培養を実施した。

ウイルス学的検査は、アカバネウイルス、アイノウイルス、ピートンウイルス及び牛ウイルス性下痢ウイルスのRT-PCRを実施した。

病理組織学的検査は、定法によりHE染色を実施した。

(2) 検査成績

生化学的検査では、病性鑑定子牛及び母牛の血液生化学検査成績（表-1）で、子牛は血清中GGT高値及び総蛋白質や総コレステロールの低値等が認められたが、初乳摂取や若齢のためと推察された。母牛は血清中総ビリルビンと総蛋白質の高値及び尿素窒素と総コレステロールの低値等が認められ、肝機能低下、低栄養、脱水等が示唆された。病性鑑定子牛、母牛及び同居牛の血清中βビタミンA測定成績（表-2）では、血清中βビタミンAパルミテート濃度が子牛で777IU/dL、母牛で45.8IU/dLと高値だったが、同居牛からは検出されなかった。血清中βビタミンE濃度は全体的に高値だった。血清中βカロチン濃度は当該子牛を含む数頭の哺乳子牛で低値が認められた。病性鑑定子牛の肝臓中βビタミンA測定成績（表-3）では、肝臓中βビタミンAパルミテートは参考値よりもやや多い程度でβビタミンEの高値が認められた。

その他、細菌学的検査では有意菌分離陰性で、ウイルス学的検査ではアカバネ病など異常産関係疾病のRT-PCRは陰性だった。また、病理組織学的検査では脳で微小出血及び神経網の微小空胞形成、心臓で多発性巣状性心筋壊死及び変性が認められた（表-4）が、感染症による所見ではなかった。

表-1 生化学的検査成績・1

1) 血液生化学検査（病性鑑定子牛及び母牛）

個体	月齢等	GOT (U/L)	GGT (U/L)	総ビリルビン (mg/dL)	尿素窒素 (mg/dL)	総コレステロール (mg/dL)
病性鑑定子牛	2日齢♂	61	397↑	0.5	4.8↓	23↓
母牛	60月齢	71	34	1.6↑	6.6↓	91↓
参考基準値		45~100	11~25	0.1~0.8	10~25	100~180

個体	月齢等	総蛋白質 (mg/dL)	アルブミン (mg/dL)	カルシウム (mg/dL)	無機リン (mg/dL)	マグネシウム (mg/dL)	CPK (U/L)
病性鑑定子牛	2日齢♂	3.0↓	1.5↓	11.1	6.4	1.5↓	186
母牛	60月齢	8.6↑	4.1↑	9.1	5.5	2.2	68
参考基準値		6.2~7.5	3.0~3.6	8.7~12.0	3.7~7.0	1.8~3.2	4.8~12.1

表-2 生化学的検査成績・2

2) 血清中βビタミンA測定（病性鑑定子牛、母牛及び同居牛6頭）

個体	月齢等	βビタミンA (IU/dL)	βビタミンAパルミテート (IU/dL)	βカロチン (μg/dL)	βビタミンE (μg/dL)
病性鑑定子牛	2日齢♂	148.8↑	777.0↑	ND	2021.5↑
母牛	60月齢	111.7↑	45.8↑	96.7	856.1↑
同居1	30月齢	108.7↑	ND	164.7	762.8↑
同居2 (1の子)	34日齢♀	102.6↑	ND	16.0↓	329.8↑
同居3	25.1月齢	127.6↑	ND	136.7	873.1↑
同居4 (3の子)	28日齢♀	68.0	ND	ND	1491.2↑
同居5	70.8月齢 分娩前2か月	123.7↑	ND	177.9	842.0↑
同居6	113.6月齢 分娩前2か月	113.4↑	ND	149.1	968.1↑
参考基準値		33~100	通常は未検出から低値	50~200	100~300

ND：低値により測定不能

表-3 生化学的検査成績・3

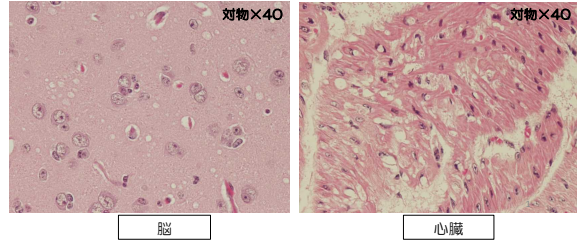
3) 肝臓中ビタミン測定 (病性鑑定子牛)

固体	月齢等	ビタミンA パルミテート ($\mu\text{g/g}$)	ビタミンE ($\mu\text{g/g}$)
病性鑑定 子牛	2日齢 ♂	63	402↑
参考基準値		10~50* (正常子牛)	2.15±0.59** (1~5か月齢の子牛)

* 獣医内科学 (大動物編)、日本獣医内科学アカデミー編
 ** 大庭ら、日獣会誌、45、476-479、1992

表-4 病理組織学的検査成績

脳 : 微小出血及び神経網の微小空胞形成
 心臓 : 多発性巣状性心筋壊死及び変性



4 聴取によるビタミンAの推定投与量 (表-5)

病性鑑定子牛と母牛について、農場主からビタミンAの投与量を聴取した。ビタミンAの1日要求量⁵⁾に対して、給与飼料以外に添加された投与量を推定し検討したが、連続又は過剰投与は示唆されなかった。

表-5 ビタミンAの1日要求量及び聴取による推定投与量

	ビタミンA [ビタミンAパルミテート] 投与時期	要求量* (IU)	推定投与量** (IU)	備考
病性鑑定 子牛	鑑定殺の前日に 1回	2,100	15万 (要求量の70倍)	AD ₃ E製剤 の経口投与
母牛 (他の繁殖牛 も同様)	発情前に1回	21,200	100万 (要求量の50倍)	AD ₃ E製剤 の経口投与
	発情2週間後に 1回	21,200	100万 (要求量の50倍)	AD ₃ E製剤 の経口投与
	分娩75~80 日前から毎日	38,000	1~2万	AD ₃ EやビタミンD ₃ 等 製剤の飼料添加

* 要求量は日本飼養標準 (肉用牛、2008) より、子牛は体重50kg及び母牛は
 体重600kgであると仮定して算出
 ** 推定投与量は給与飼料以外に添加された量

聴き取りからは過剰投与は示唆されなかった

6 ビタミンA製剤投与における血清中ビタミン濃度の推移調査

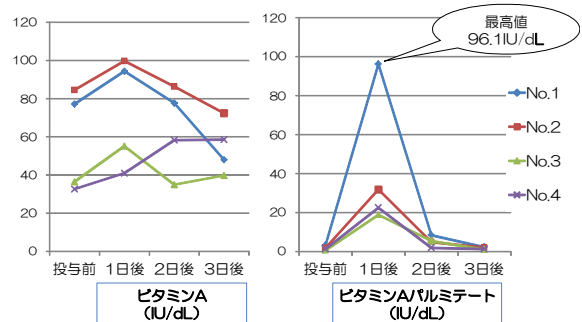
(1) 材料及び方法

ビタミンA製剤投与における血清中ビタミン濃度の推移を確認する目的で、他の黒毛和種繁殖農場の子牛4頭で調査を実施した。4頭の日齢は5~61日齢で、ビタミンAD₃E製剤の投与前、投与1日後、2日後、3日後の計4回の延べ16頭から採血を実施し、HPLC法により血清中ビタミンA、ビタミンAパルミテート、βカロチン及びビタミンE濃度の測定をHPLC法により実施した (HPLC条件は前述のとおり)。投与量は製剤の用法下限である5mLを経口投与し、投与量中には、ビタミンAパルミテートが50万IU、ビタミンD₃が5万IU、ビタミンEが200mg含有されている。

(2) 測定結果 (表-6)

血清中ビタミンA濃度は製剤投与後に増加し、その後低下した。血清中ビタミンAパルミテート濃度は全頭で1日後をピークに増加し、3日後には投与前のレベルまで低下した。増加の程度に個体差があったが、最高値は96.1IU/dLだった。なお、血清中βカロチン及びビタミンE濃度については、投与前後で一定の傾向は認められなかった。

表-6 ビタミンA製剤投与における血清中ビタミン濃度の測定結果



6 まとめと考察

今回、歩行困難、尺骨の湾曲及び斜頸を認めた2日齢の黒毛和種子牛について病性鑑定を実施した結果、感染症や疾病診断につながる所見は認められなかった。血液生化学検査では著変は確認されなかった。血清中ビタミン測定では、当該子牛及び母牛から血清中ビタミンAパルミテート濃度の高値を確認したが、同居牛からは検出されなかった。当該親子とも農場主から過剰投与を示唆する聴取は得られず、原因及び当該子牛の病態との因果関係は不明だが、子牛の血清中濃度が他農場の調査との比較で明らかに高値であることから、母牛が妊娠中に用量以上のビタミンA製剤が誤って投与され子牛に移行した可能性が示唆された。子牛の肝臓中ビタミンAパルミテート濃度は参考とした値よりもやや高い程度だったが、肝臓のビタミンA貯蔵量は胎生期や出生時は少量のため⁶⁾多くが血液中に検出されたと推察した。当該農場では飼養牛が全体的に血清中ビタミンE濃度が高めだったが、給与飼料やビタミン添加等に伴い母乳中の含量が高いためと推察された。

ビタミンA製剤投与による血中濃度の推移を確認するため他農場の子牛4頭で調査したところ、血清中ビタミンAパルミテート濃度の一過性増加を確認した。このことは、ビタミンA製剤に含まれるビタミンAパルミテートが投与により一時的に血液中出现するが速やかに肝臓に取り込まれるためと考えられ、その推移は村上らによる報告⁷⁾と似ていた。

脂溶性ビタミン製剤はA飼料として栄養補給や疾病予防、繁殖成績改善等で畜産農家が使用可能だが、その体内蓄積の危険性についてはあまり認識されていない場合がある。子牛への大量使用による中毒例ばかりでなく、妊娠牛にビタミンA製剤を長期かつ高濃度に投与された結果、新生子牛に四肢関節の異常等を認めた報告⁸⁾もあるため、今回の事例を踏まえて、特に妊娠牛にビタミンA製剤を使用する際には用法用量の厳守と個体ごとの投与履歴の記録が重要性を啓蒙したい。

【参考文献】

- 1) 松浦知和ら：肝臓の伊東細胞とビタミンA代謝, *Tiss. Cult. Res. Commun.*, 13, 147-153 (1994).
- 2) 内藤善久ら：生産獣医療における牛の生産病の実際, 102-103.
- 3) 日本獣医内科学アカデミー編：獣医内科学 [大動物編], 154-155
- 4) レチノイド実験用モデルのサルを用いたビタミンAによる催奇形成とリスク評価, *Reproductive Toxicology*, 14, 311-323 (2000).
- 5) 農業・食品産業技術総合研究機構編：日本飼養標準・肉用牛 [2008年版]: 31-34.
- 6) 円山英昭ら：肝類洞壁の伊東細胞, *日本網内系学会会誌*, 36, 3, 177-185 (1996).
- 7) 村上由紀ら：牛に対するビタミンAD₃Eプレミックス経口投与後のビタミンEとAの血中濃度の変化, *日獣会誌*, 42, 161-165 (1989).
- 8) 萱原由美ら：脂溶性ビタミン過剰が原因と疑われた牛異常産, 平成19年度香川県家畜保健衛生所業績発表会.

鶏結核病発生事例と *Mycobacterium avium* の亜種鑑別

秋田県中央家畜保健衛生所

○佐藤 龍、千葉 脩史

【はじめに】

鶏結核病は *Mycobacterium avium* の感染による慢性感染症である。家畜伝染病予防法における届出伝染病に該当し、1998 年以降国内で 4 例の発生が認められている。また、人獣共通感染症であり本菌種がヒトに感染する事例が確認されている。現在、*M. avium* は 4 つの亜種、すなわち *M. avium* subsp. *avium*(MAA)、*M. avium* subsp. *hominissuis*(MAH)、*M. avium* subsp. *silvaticum*(MAS) と *M. avium* subsp. *paratuberculosis*(MAP) に分類されている。亜種のうち、MAA は鳥類に対して強い病原性をもつことが知られている。

平成 30 年 3 月、県内の死亡鶏から *M. avium* が分離され、鶏結核病と診断した。分離菌の亜種型別を試みたところ、病性鑑定マニュアル(以下マニュアル)に記載されている PCR では全亜種が鑑別不能と判明した。今回本病の発生事例とともにリアルタイム PCR 及び生化学的性状による *M. avium* の亜種鑑別法の概要について報告する。

【発生概要】

当該農場は、県内の 5 羽を飼養する愛玩鶏農場で、県内ふ化場から譲渡された卵をふ化、飼養していた。平成 30 年 3 月、約 300 日齢の雄 1 羽が 2 ヶ月前から水様性便を呈した後、衰弱死した。剖検では肝臓及び脾臓全体に針先～粟粒大の白斑が認められた(写真 1)。



写真1 肝臓及び脾臓のホルマリン標本(左:肝臓、右:脾臓)
矢印は白斑を示す。

【材料・方法】

1. 材料

死亡鶏 1 羽の肝臓及び脾臓を用いた。

2. 方法

(1)細菌検査

肝臓について 1%NaOH 処理後に、2%小川培地(37℃、30 日、好気培養)で分離培養を実施した。分離菌について、4 種の挿入遺伝子 (IS900、IS901、IS902 及び IS1245) の PCR を実施した。また、IS901-PCR 増幅産物のシーケンス解析、MAA 及び MAS の鑑別リアルタイム PCR、MAS 特異的リアルタイム PCR を実施した。さらに、生化学的性状検査として、マイコバクチン依存性、卵黄加培地での発育、24℃/45℃での発育の確認を行った。シーケンス解析、リアルタイム PCR 及び生化学的性状検査は動物衛生研究部門に依頼した。

(2) 病理組織検査

常法により HE 染色、抗酸菌染色及びグラム染色を実施した。

【結果】

(1) 細菌検査

黄色、S 型のコロニーを分離した。4 種の挿入遺伝子の PCR (表 1) では、分離菌は IS900 陰性、IS901、IS902 及び IS1245 陽性であり、マニュアルにおける MAS のパターンと一致したが、IS902-PCR においてマニュアルでは陰性となるはずの MAA 抽出 DNA でも増幅が確認され、IS902 は MAS 特異的ではないことが示唆された。

表 1 4 種の挿入遺伝子の PCR 結果

	検査結果				マニュアル			
	IS900	IS901	IS902	IS1245	IS900	IS901	IS902	IS1245
分離菌	-	+	+	+				
MAA	-	+	+	+	-	+	-	+
MAH	NT	NT	NT	NT	-	-	-	+
MAP	+	NT	NT	NT	+	-	-	-
MAS	-	+	+	+	-	+	+	+

```

IS901      CGGTCCTGGCCACTGATTGAGATCTGACGGTACTCGATGACGCTGCTCTAAGGACCTGT 180
IS902      CGGTCCTGGCCACTGATTGAGATCTGACGGTACTCGATGACGCTGCTCTAAGGACCTGT 179
            P102
IS901      TGGCGGGTGTGCCCGGGGACTGCGACGACGAGGATGCGGTATGGCCGAACCCGACCG 240
IS902      TGGCGGGTGTGCCCGGGGACTGCGACGACGAGGATGCGGTATGGCCGAACCCGACCG 239
IS901      AGTGTGGTGGGTATCGACGTCGGTAAGTCCACTCATCATGCGTGGCGGATCGATGACAC 300
IS902      AGTGTGGTGGGTATCGACGTCGGTAAGTCCACTCATCATGCGTGGCGGATCGATGACAC 299
IS901      CGGAAAGTGGTGTGGTGAAGAAAATCCCGAACGAACAGGCCGCGATCGAAGACCTGAT 360
IS902      CGGAAAGTGGTGTGGTGAAGAAAATCCCGAACGAACAGGCCGCGATCGAAGACCTGAT 359
IS901      CGCCCAGGGCCGGGATTGCTAACACGTTGGTGGCGGATCGATTGACCTCGC-GCC 419
IS902      CGCCCAGGGCCGGGATTGCTAACACGTTGGTGGCGGATCGATTGACCTCGC-GCC 419
            P103
    
```

図1 IS901とIS902の配列(一部を抜粋)

そこで、IS901とIS902の配列を調べたところ、今回IS902-PCRで用いたプライマーP102とP103で増幅される領域はIS901と902で完全に一致していた(図1)。よって、マニュアル記載のPCRではMAAとMASの鑑別が不能と判断した。

一方で、IS901のプライマーで増幅される領域に数か所の違いが認められたため、この増幅産物のシーケンス解析を実施したが、分離菌、MAA及びMASの配列は完全に一致しており、これらの鑑別はできなかった。次にRonaiらのMAA/MAS鑑別リアルタイムPCRを実施したところ、分離菌はTm値91.45でMAAの91.43と同様のTm値を示したためMAAに型別された(図2)。さらにMAS特異的リアルタイムPCRでは分離菌はMAS陰性であった。

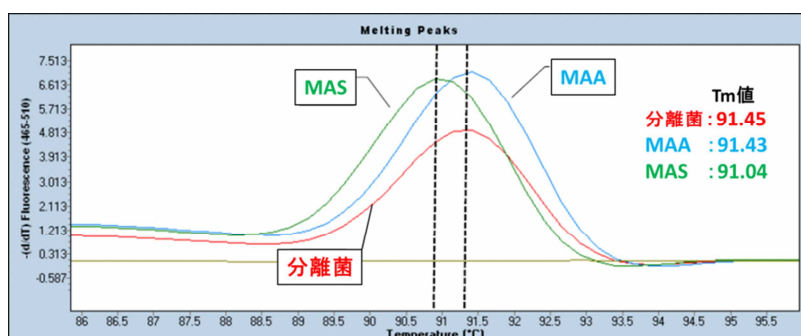


図2 MAA/MAS 鑑別リアルタイム PCR における融解曲線

生化学的性状検査では、卵黄、マイコバクチンの添加及び温度について5通りの培養条件における発育の有無を調べた。結果、分離菌はマイコバクチン非依存性、卵黄加培地で発育可能で、24℃及び45℃での発育陰性であった(表2)。鑑別ポイントとして、MASはマイコバクチン依存性に発育し、卵黄を加えた培地で発育陰性である。また、MAAはマイコバクチンや卵黄の有無によらず発育

し、培養温度 24℃および 45℃で発育陰性となる。よって、生化学的性状からも分離菌は MAA の性状と一致し、以上遺伝子検査結果もあわせ、分離菌は MAA に型別された。

(2) 病理組織検査成績

HE 染色では肝臓及び脾臓で中心に乾酪壊死巣、その周辺を類上皮細胞、線維芽細胞、多核巨細胞等が取り囲み、肉芽腫形成を認めた(写真2)。また、抗酸菌染色で乾酪壊死巣内や多核巨細胞、マクロファージ内に赤色の菌体が多数観察された(写真3)。なおグラム染色では菌体は確認されなかった。

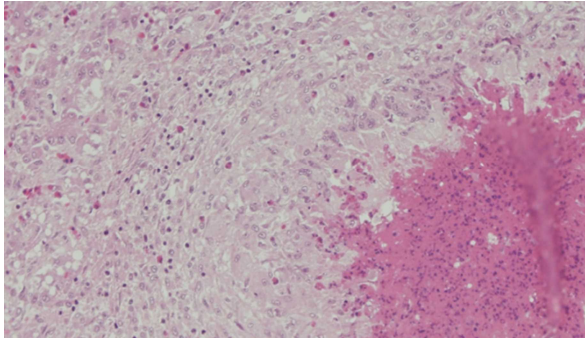


写真2 肝臓の肉芽腫形成

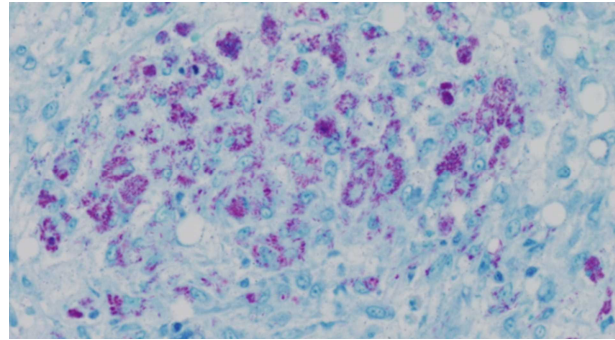


写真3 肝臓の抗酸菌染色

以上の結果から本症例を鶏結核病と診断した。

【*M. avium* 浸潤状況調査】

診断後、今後の対策及び農場指導のために、同居鶏及び畜舎環境材料の *M. avium* 検査を行った。

1. 材料

同居鶏 2 羽の糞便、飼料、水、もみ殻、敷料、堆肥、鶏舎床・壁・埃スワブ等計 13 検体を用いた。

2. 方法

検体を 4%NaOH 処理後、2%小川培地で(37℃、30 日、好気培養)分離培養を実施した。また、PCR はヨーネ菌 DNA 抽出キットにより遺伝子を抽出し、IS901 及び IS1245 の PCR を実施した。

3. 結果

全検体 *M. avium* 分離陰性、IS901 遺伝子陰性、IS1245 遺伝子陰性であった。

【畜舎環境の消毒】

本症例で分離された MAA は環境に常在しやすく、また、鳥類への病原性が強く、さらに、人獣共通感染症でもあることから、鶏舎の石灰乳塗布及び堆肥盤など農場環境への石灰散布による消毒を実施した(写真4、5及び6)。



写真4 鶏舎内消毒



写真5 堆肥盤消毒



写真6 鶏舎外消毒

【まとめ】

県内の愛玩鶏農場で1羽が衰弱死し、病性鑑定の結果、鶏結核病と診断した。本病の発生は、県内の家畜では初めてである。剖検所見では、肝臓及び脾臓に針先～粟粒大の白斑が認められ、病理組織検査では肝臓及び脾臓に多発性肉芽腫性炎を認めた。また、同部位における抗酸菌染色では、赤色の菌体が多数確認された。細菌検査では、肝臓から *M. avium* を分離し、亜種型別の結果、MAA に型別された。農場環境中の *M. avium* 検査では分離及び遺伝子陰性であり、農場内に *M. avium* は浸潤していないことが推察された。

M. avium の亜種の型別において、MAS 特異的とされ、MAA との鑑別ポイントとされていた IS902 の PCR で MAA でも陽性反応が確認された。また、IS902 は、IS901 (MAA 及び MAS 両亜種が保有) と同一との報告も 2015 年にあることから、これら挿入遺伝子の保有の有無による MAA と MAS の鑑別は不可能であり、亜種の型別にはリアルタイム PCR 及び生化学的性状検査が必要で、マニュアルの *M. avium* の分類は修正を要すると思われた。

【謝辞】

稿を終えるにあたり、シーケンス解析、リアルタイム PCR 及び生化学的性状検査を実施していただいた農研機構動物衛生研究部門細菌・寄生虫領域ヨーネ病ユニットの川治聡子先生に深謝いたします。

<参考文献>

- Miisw. et al. (2002) Molecular evidence to support a proposal to reserve the designation *Mycobacterium avium* subsp. *avium* for bird-type isolates and ‘*M. avium* subsp. *hominissuis*’ for the human/porcine type of *M. avium*. Int J Syst Evol Microbiol, 52: 1505-1518
- Marsh I. et al. (1999) PCR-restriction endonuclease analysis for identification and strain typing of *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* and *Mycobacterium avium* subsp. *avium* based on polymorphisms in IS1311. Mol Cell probes, 13: 115-126.
- M T Moss. Et al. (1992) Polymerase chain reaction detection of *Mycobacterium paratuberculosis* and *Mycobacterium avium* subsp. *silvaticum* in long term cultures from Crohn’s diseases and control tissues.

•Ro' nai. Et al.(2015)Molecular Identification of *Mycobacterium avium* subsp. *silvaticum* by Duplex High-Resolution Melt Analysis and Subspecies-Specific Real-time PCR. J Clin Microbiol, 53(5): 1582-1587.

黒毛和種繁殖牛の生殖器に発生した腫瘍病変2症例

NOSA I 秋田 県北家畜診療所 笠松 一夫

1. はじめに

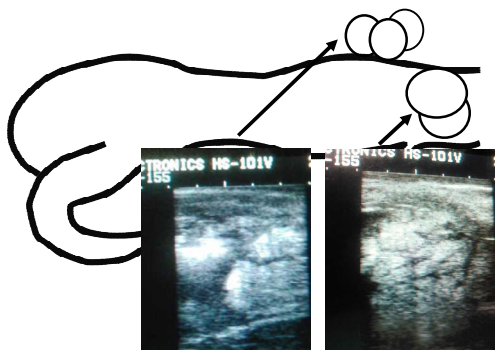
黒毛和種繁殖牛にとって生殖器に発生する疾患は、時に深刻な問題となる。今回、分娩後のフレッシュチェック時に2頭の黒毛和種繁殖牛で生殖器に腫瘍病変を確認したので、その後の経過を踏まえて報告する。

2. 現症・経過

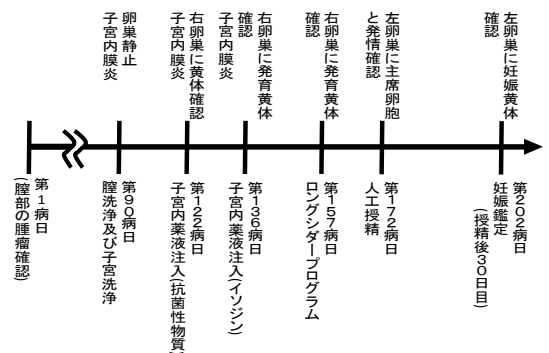
(1) 症例①

症例は平成19年2月5日生まれの黒毛和種の雌牛で、最終分娩は平成29年5月3日であった。分娩後52日(以下第1病日)でフレッシュチェックのため上診、直腸検査時に膣の内外側に複数の腫瘍を触知した。同日に血液検査を実施、結果に異常が認められなかったことから、第4病日に膣内の腫瘍の一つを外科的に摘出し、家畜保健衛生所に病理組織検査を依頼、もう一つの腫瘍は膣壁基部で結紮し経過観察とした。第18病日には膣内に残した腫瘍は退縮したため、これも外科的に切除した。その後繁殖での治療を開始、子宮洗浄等の処置後の定時人工授精プログラムにより受胎した。

腫瘍の発生位置と超音波画像



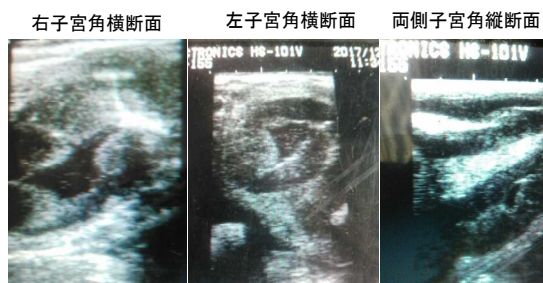
その後の治療経過



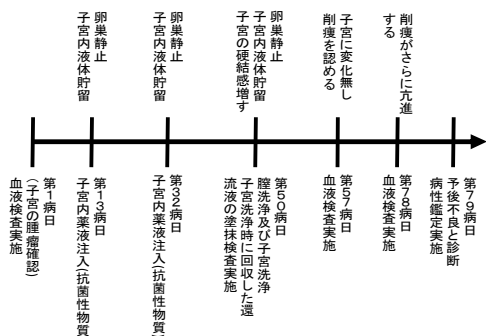
(2) 症例②

症例は平成18年5月14日生まれの黒毛和種の雌牛で、最終分娩は平成29年10月19日であった。分娩後48日(以下第1病日)でフレッシュチェックのため上診、直腸検査時に子宮頸管から子宮全体が腫大、硬結及び辺縁が粗雑となり、超音波検査で子宮角から腫瘍が疑われる画像が描出された。同日に血液検査を実施、結果に異常が認められなかったことから、第13病日から子宮内薬剤注入等の処置を行うが改善せず。第50病日に子宮洗浄を実施し、その還流液の塗抹検査にて腫瘍化が疑われる細胞が確認された。その後削瘦が目立つようになり、第57病日と第78病日で実施した血液検査でリンパ球数の増加と異型リンパ球の出現を確認、第79病日に家畜保健衛生所

子宮の超音波画像



その後の治療経過



の BLV 遺伝子陽性と血液検査での白血性白血病を確認したことから、成牛型牛白血病と診断された。

4. 結果

2つの症例は各種検査を総合して診断した結果、組織の増生と腫瘍病変であり、それぞれ異なる転帰となった。

症例①は腫瘍病変ではなく、腔内の組織増生を起因とした腔過形成と診断したが、腫瘍の一部が化膿していた。そのため子宮内膜炎を発症し、発情徴候も微弱であったことから、子宮洗浄等の処置後に定時人工授精プログラムを用いて受胎した。その間に腔壁外背側に存在した腫瘍は退縮して現在に至る。

・症例②は子宮の腫瘍化を主因とした成牛型牛白血病であり、子宮洗浄時の還流液の検査からもその可能性が示唆されたが、その他の触知できるリンパ節や血液検査での異常が末期まで認められなかったことから確定診断に至らず、白血性白血病に推移した時点で病性鑑定とした。

にて病性鑑定を実施した。

3. 検査成績

(1) 症例

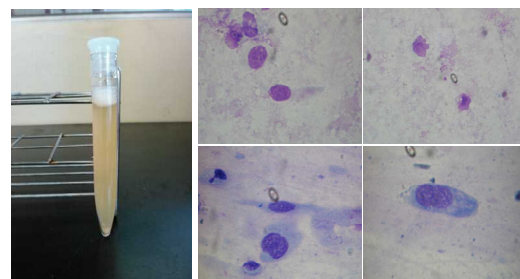
①

腫瘍の病理組織検査では脂肪細胞及び筋線維芽細胞の増生と報告され、その後の経過で腔内の腫瘍や腔壁外側の腫瘍が退縮したことから、最終的に腔過形成と診断した。

(2) 症例②

病性鑑定での剖検時には外観上異常が認められたのは子宮だけであったが、その他の諸臓器からも病理組織検査で腫瘍細胞の浸潤が認められ、PCR 検査で

子宮洗浄時に回収した還流液 (第50病日)



子牛の出荷時体重と血統構成が市場価格に及ぼす影響の調査

秋田県畜産試験場

○渡部一弥 高橋利清

1 背景及び目的

平成 24 年度に全県の家畜を取引する場として「あきた総合家畜市場（以下、家畜市場）」の取引が開始され、その後の家畜市場取引価格は高値で推移している。しかしながら、家畜市場の購買者からは、体重のバラツキなどに対する意見もあり、市場に対する評価への影響が懸念されている。このため、家畜市場では体重等の出荷目安を提示し、斉一性を重視した市場出荷を推奨しており [表 1]、本調査では適正体重の検証を行った。

一方、家畜市場では平成 30 年 4 月から 12 月までに 113 頭の多様な種雄牛の産子が取引されているが、これらに対応した種雄牛別の交配指導が求められている。そこで、技術指導に役立つため、新たな指標により家畜市場で取引評価が高い血統構成について検討した。

2 材料及び方法

調査 1:平成 24 年 4 月から 30 年 12 月までの延べ 81 ヶ月、去勢及び雌を含めた 24,332 頭分の家畜市場データを用いて、取引頭数及び取引価格を調査した。

調査 2:平成 27 年 4 月から 30 年 12 月までの延べ 45 ヶ月、去勢 8,324 頭分の家畜市場データを用いて、出荷時体重、出荷時日齢、kg 単価及び血統構成別の価格を調査した。

なお、価格は市場開催月毎に変動するため、これらの影響を除くために価格偏差値として算出した。数式は、 $\text{価格偏差値} = (\text{取引価格} - \text{月平均価格}) \div \text{標準偏差} \times 10 + 50$ とし、平均が 50 になり、標準偏差 1 が 10 となるように標準化した。

体重区分は、10kg ずつとし（例:300 から 310kg 未満を「300kg」と表記）、5 頭以上で有効数とした。

3 結果及び考察

調査 1

【取引頭数】

取引を開始した平成 24 年度以降から減少が続き、28 年度には 3,883 頭まで減少した。しかしながら、29 年度からは回復基調となり、30 年度は 12 月までに 3,030 頭の取引があり、年度末には 4,000 頭を超える見込みである [図 1]。

【平均価格（税込）】

24 年度の 440,482 円から年々上昇し、28 年度には 843,992 円で最高価格となった。その後も、750,000 円以上の高値で取引が推移している [図 2]。

調査 2

【出荷時体重】

取引子牛の出荷時体重別の割合は、年度別で 47.2 から 54.1% が 300 から 340kg 未満の子牛であり、350kg 以上の頭数割合は 27 年度の 13.0% から 30 年度の 21.7% に増加した。このことから、出荷牛の大型化と共に体重の変動幅の増加が示唆された [図 3]。

【出荷時日齢】

280 から 290 日で推移しており、年度間で差は少ないことが示唆された。このことから、現在の出荷基準は、体重よりも日齢を重視していることが推察された [図 4]。

【kg 単価】

高値で取引されている価格帯は 290 から 340kg の間であり、単価が 2,400 円以上となっている。また、頭数割合を見ると、310 から 330kg の間でそれぞれ 12% を超えることから、300 から 340kg で経済性や市場性が高いと示唆される [図 5]。

【価格偏差値】

上位 10 頭：価格偏差値が高い血統構成では、上位 10 頭中 9 頭で母の父に「安福久」号が入り、気高系の父牛との交配が良好であった [表 2]。

母の父別：「安福久」号で 58.7 と最高値であり、次いで「美国桜」号の 52.0 であった [表 3]。

県有種雄牛の産子：「義平福」号では母の父に、「勝忠平」号や「平茂勝」号、「百合茂」号で上場頭数が多く、「勝忠平」号や「百合茂」号の娘牛への交配で偏差値が高値であった [表 4]。

「松糸華」号では母の父に、「百合茂」号、「義平福」号、「平茂勝」号で上場頭数多く、「勝忠平」号や「美津照重」号で偏差値が高値であった。さらに、「義平福」娘牛との交配では、発育成績が良好であった [表 5]。

4 まとめ

今回、家畜市場の成績を基に、子牛の出荷時体重と血統構成が取引価格に及ぼす影響を調査した。

その結果、出荷時体重を意識した子牛の選定が重要であり、300 から 350kg 未満で出荷することが望ましいと示唆された。これは、家畜市場で推奨している去勢で 310 から 330kg と同様の大きさである。

また、出荷基準としては、日齢が重視されていることが示唆されたため、今後は体重も十分に考慮した出荷を行うように指導が必要と考えられる。そして、交配指導に関しては、価格偏差値も一つの指標として利用できると考えられた。

今回は体重や血統構成による検討を行ったが、市場価格の構成要素は性別や体型、哺育・育成技術、枝肉相場など多岐に渡るため、より多面的な検討が求められることから、今回

の調査結果も活用しながら、家畜市場の評価向上に向けた取り組みを進めることが必要と考えられる。

5 謝 辞

本調査を行うに当たり、情報提供やご助言を頂いたあきた総合家畜市場株式会社の方々に感謝申し上げます。

表1 家畜市場における推奨出荷目安

	去勢	雌
体重(kg)	310~330	280~310
体高(cm)	118~120	115~116

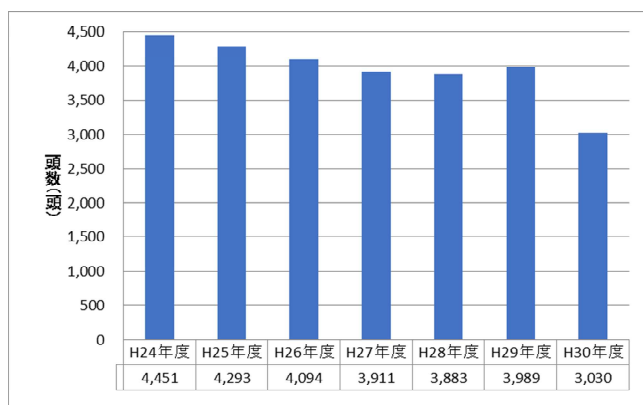


図1 家畜市場における年度別の出荷頭数の推移

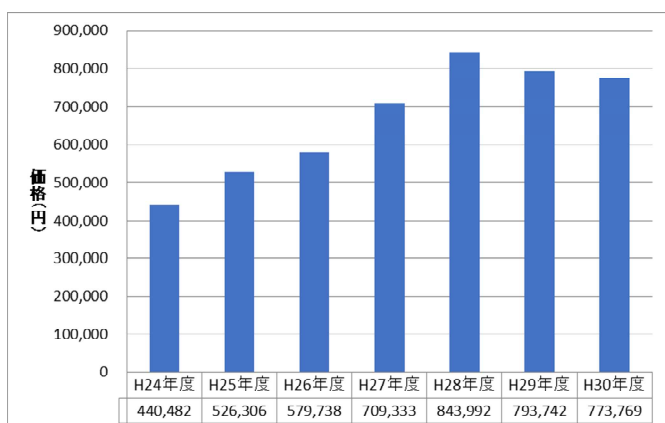


図2 家畜市場における年度別の平均価格（税込）の推移

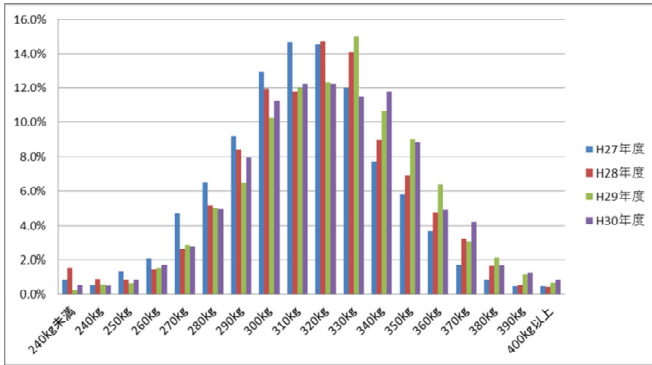


図3 家畜市場における年度別・出荷時体重別の出荷割合

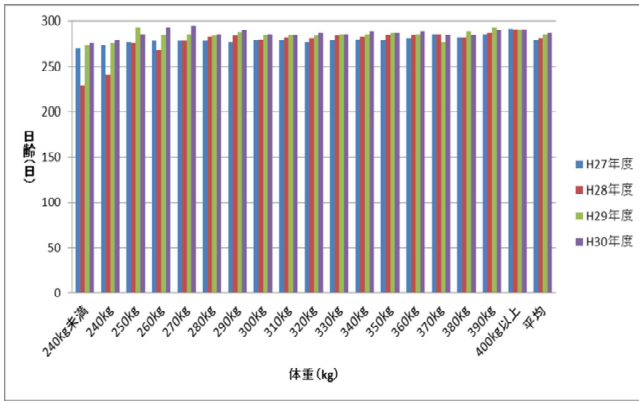


図4 家畜市場における年度別・出荷時体重別の出荷時日齢

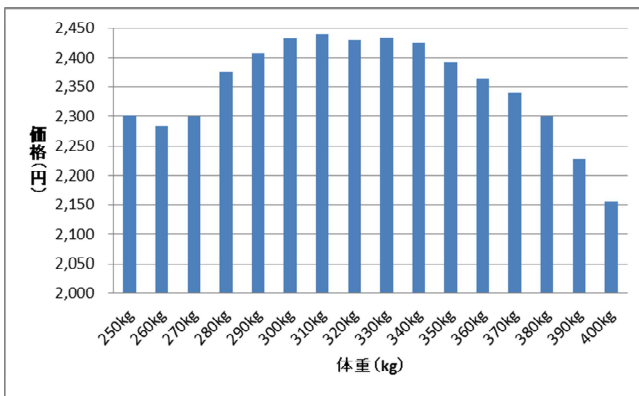


図5 家畜市場における出荷時体重別のkg単価

表2 血統構成別の価格偏差値上位10頭

順位	父	母の父	頭数(頭)	価格偏差値平均	価格平均(円、税抜)	体重平均(kg)	体高平均(cm)	日齢平均(日)
1	百合白清2	安福久	5	66.7	959,600	360.2	124.0	285.2
2	晴茂平	安福久	5	64.3	912,600	337.0	121.6	281.6
3	勝早桜5	安福久	29	63.5	933,034	334.7	119.8	281.2
4	百合茂	安福久	115	62.8	896,322	331.3	120.2	286.0
5	諒太郎	美国桜	5	62.3	877,600	349.4	124.2	284.0
6	勝忠平	安福久	23	62.3	910,957	337.2	121.0	281.5
7	諒太郎	安福久	54	61.3	927,019	338.5	119.9	285.1
8	福華1	安福久	50	60.9	882,900	325.5	119.3	282.8
9	菊福秀	安福久	19	60.8	890,158	325.3	120.3	291.7
10	茂洋	安福久	8	60.6	920,875	320.9	118.4	278.8

表3 家畜市場における母の父別の価格偏差値

母の父	頭数(頭)	価格偏差値	体重平均(kg)	体高平均(cm)	日齢平均(日)
安福久	1035	58.7	325.1	119.9	286.6
美国桜	102	52.0	325.1	120.1	285.1
百合茂	1140	51.8	325.3	120.0	282.7
勝忠平	1012	51.2	324.2	120.4	281.4
茂洋	56	51.1	327.7	119.8	283.1

表4 家畜市場における母の父別「義平福」産子の価格偏差値

父	母の父	頭数(頭)	価格偏差値	体重平均(kg)	体高平均(cm)	日齢平均(日)
義平福	勝忠平	182	53.2	335.3	121.1	275.7
義平福	平茂勝	175	48.8	330.5	120.0	274.6
義平福	百合茂	168	52.4	333.3	120.4	276.3
義平福	第1花園	92	52.5	332.7	120.2	274.8
義平福	北国7の8	80	46.5	323.1	119.4	279.5

表5 家畜市場における母の父別「松糸華」産子の価格偏差値

父	母の父	頭数(頭)	価格偏差値	体重平均(kg)	体高平均(cm)	日齢平均(日)
松糸華	百合茂	25	48.6	318.0	118.5	286.2
松糸華	義平福	23	48.0	321.3	119.2	282.7
松糸華	平茂勝	21	45.2	302.4	117.2	273.8
松糸華	勝忠平	13	51.2	322.3	119.2	288.8
松糸華	美津照重	7	50.2	319.3	120.3	289.0

遺伝子選抜による比内地鶏の増体性改良効果の検証

秋田県畜産試験場

○力丸宗弘 青谷大希

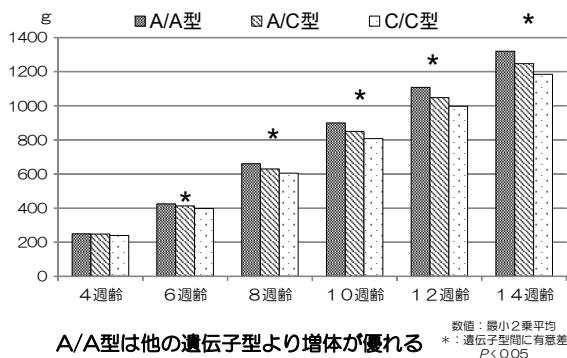
1 緒言

我々はこれまで遺伝的背景は同じで発育が異なる比内鶏2系統（畜試比内鶏、保存会比内鶏）を交配し、作出したF₂家系集団の遺伝子解析を行った結果、候補遺伝子と考えられるコレシストキニンA受容体遺伝子（以下、CCKAR遺伝子）の一塩基多型（SNP、g. 420 C>A 以下同SNP）とF₂個体の発育形質との間に有意な関連性が認められ、AアリルはCアリルより発育に対する効果が優れることを確認した（Rikimaru et al., 2012）。コレシストキニンは、食欲を抑制する神経情報伝達を担うペプチドホルモンとして知られており、コレシストキニンの受容体であるA受容体は主に腸管に分布し、満腹感を脳に伝えるシグナル伝達を担っている。

図1に発育形質が改良されていない保存会比内鶏におけるCCKAR遺伝子の同SNPと体重の関係を示した。同SNPの型にはA/A型、A/C型、C/C型の3つの型が存在する。遺伝子型別に体重を比較すると、A/A型が他の遺伝子型より体重が優れていることから、A/A型個体を選抜すれば、比内鶏の発育形質が改良されることがわかった（力丸ら, 2014）。図2に畜試と保存会の比内鶏における同SNPの遺伝子頻度を示した。同SNPのアリル頻度を比較すると、畜試系統ではAアリルがほぼ9割なのに対し、保存会系統では逆にCアリルがほぼ9割となっている。この遺伝子頻度の違いは、発育形質を目的とした長年の選抜によって生じたことを示唆している（Rikimaru et al., 2013）。このことから、CCKAR遺伝子の同SNPは比内鶏の増体性改良のための有効な遺伝子マーカーとなることが判明した。しかしながら、同SNPの効果が商業鶏である比内地鶏にも認められるかは不明である。

本研究では、CCKAR遺伝子の同SNPと比内地鶏の発育形質との関連性を調査するとともに、種鶏である比内鶏およびロードアイランドレッド種をA型の遺伝子型で選抜することによって、比内地鶏の増体性が改善されるか検証を行った。

保存会比内鶏におけるCCKAR遺伝子の同SNPと体重との関係



比内鶏における同SNPの遺伝子頻度

系統	羽数	14週齢体重 (g)	遺伝子型頻度			遺伝子頻度	
			平均値 ± SE	A/A	A/C	C/C	A
秋田畜試	507	2023.9 ± 127 ^a	0.781	0.215	0.004	0.889	0.111
保存会	178	1199.4 ± 158 ^b	0.017	0.213	0.770	0.124	0.876

異符号間に有意差 P < 0.05

○畜試系統では、同SNPのAアリルが9割
 ○保存会系統では同SNPのCアリルが9割
 ○同SNPのアリル頻度の違いは、発育形質を目的とした長年の選抜によって生じたことを示唆している

図-1 保存会比内鶏におけるCCKAR遺伝子のSNPと体重との関係

図-2 比内鶏におけるCCKAR遺伝子のSNPの遺伝子頻度

2 材料及び方法（試験1）

試験1では、当場で生産した比内地鶏を用いて、4週齢に各区20羽ずつA/A型、A/C型、C/C型に分け、23週齢までパイプハウスで飼育した。遺伝子型については、ミスマッチ増幅変異分析法により、4週齢までに各個体の遺伝子型を判定した。調査項目は体重、平均日増体重、飼料摂取量、飼料要求率とした。体重および平均日増体重の統計処理は分散分析を行い、有意差 ($P < 0.05$) の検定にはScheffeの多重比較を用いた。

3 結果（試験1）

A/A型はC/C型より23週齢体重が有意に重く、平均日増体重も優れていた（図-3）。また、A/A型は他の遺伝子型より飼料要求率が優れていた（図-4）。

比内地鶏におけるCCKAR遺伝子の同SNPと発育形質との関係

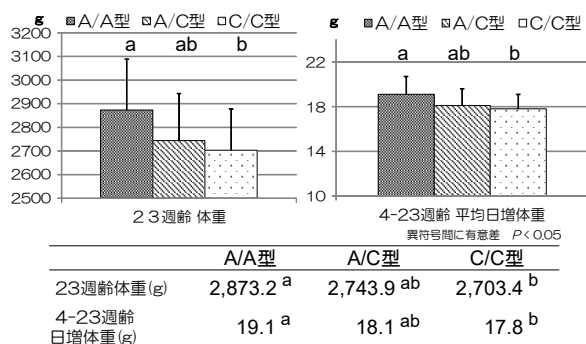


図-3 比内地鶏におけるCCKAR遺伝子の同SNPと発育形質との関係

比内地鶏におけるCCKAR遺伝子の同SNPと飼料摂取量・要求率との関係

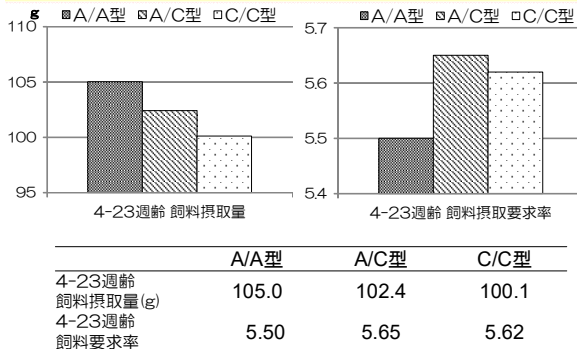


図-4 比内地鶏におけるCCKAR遺伝子の同SNPと飼料摂取量、飼料要求率との関係

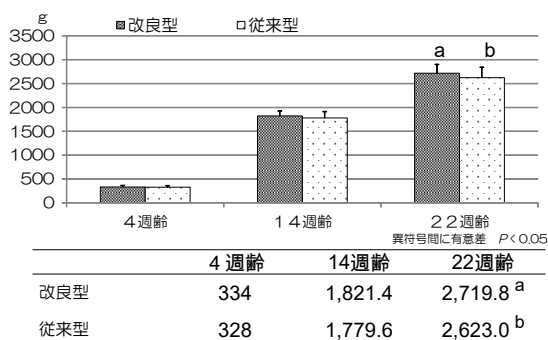
4 材料及び方法（試験2）

試験2では、試験区分を遺伝子型だけで選抜し、その種鶏から生産された比内地鶏（遺伝子型はA/A型以下「改良型」と従来型とした。環境の効果を取り除くために、改良型30羽、従来型63羽をプールして、4区画にランダムに配置し、22週齢までパイプハウスで飼育した。調査項目は体重、平均日増体重とした。有意差 ($P < 0.05$) の検定にはt-検定を用いた。各区におけるCCKAR遺伝子の同SNPの遺伝子型頻度は、改良型ではA/A型が1.0、従来型ではA/A型0.22、A/C型0.52、C/C型0.26であった。

5 結果（試験2）

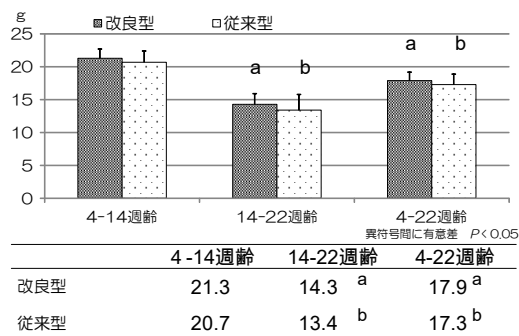
A/A型で選抜した種鶏から生産された改良型は、従来型より22週齢体重が有意に重い値を示した（図-5）。平均日増体重に関しては、4-14週齢では有意な差はなかったが、14-22週齢では改良型が従来型よりも有意に優れていた（図-6）。

改良型と従来型比内地鶏の
体重の比較



図－5 改良型と従来型比内地鶏の体重の比較

改良型と従来型比内地鶏の
平均日増体重の比較



図－6 改良型と従来型比内地鶏の平均日増体重の比較

6 考察

本研究では、CCKAR遺伝子同SNPと比内地鶏の発育形質との関連性を調査するとともに、種鶏である比内鶏およびロードアイランドレッド種をA型の遺伝子型で選抜することによって、比内地鶏の増体性が改善されるか検証を行った。試験1において、遺伝子型別に発育形質を比較した結果、A/A型はC/C型より23週齢体重が有意に重く、平均日増体重も優れていた。また、A/A型は他の遺伝子型より飼料要求率が優れていた。この結果は我々が以前に行った比内鶏の結果 (Rikimaru et al., 2013 ; 力丸ら 2014) とも一致しており、CCKAR遺伝子のSNPが比内地鶏の増体性改良のための有効な遺伝子マーカーであることが示唆された。試験2において、A/A型で選抜した種鶏から生産された改良型は従来型より22週齢体重が有意に重い値を示した。平均日増体重に関しても、14-22週齢では改良型が従来型よりも有意に優れていた。これらの結果から、CCKAR遺伝子の同SNPを指標として種鶏を選抜することによって、比内地鶏の増体性が改善されることが明らかとなった。しかしながら、なぜ同SNPによって増性体が改善されるのか、そのメカニズムは現時点では不明であるため、今後さらなる研究を必要とする。

7 まとめ

CCKAR遺伝子の同SNPは比内地鶏においてもA/A型が他の遺伝子型より発育が優れていた。また、A/A型で選抜した種鶏から生産された改良型は従来型より発育が優れていた。以上の結果から、同SNPは比内地鶏の育種改良において、有効な遺伝子マーカーとなり得る。

8 謝辞

本研究は、農研機構生研支援センター「革新的技術開発・緊急展開事業（うち地域戦略プロジェクト）」の支援を受けて行われました。

9 引用文献

Rikimaru K, Komatsu M, Suzuki K, Uemoto Y, Takeda H and Takahashi H. 2012. Association between cholecystokinin type A receptor haplotypes and growth traits in Japanese Hinai-dori crossbred

chickens. *Molecular Biology Report* **39**, 4479-4484.

Rikimaru K, Takeda H, Uemoto Y, Komatsu M, Takahashi D, Suzuki K and Takahashi H. 2013. Effect of a single-nucleotide polymorphism in the *cholecystokinin type A receptor* gene on growth traits in the Hinai-dori chicken breed. *Journal of Poultry Science* **50**, 206-211.

力丸宗弘・武田尚人・大久保武・高橋大希・小松恵・高橋秀彰. 2014. コレシストキニンA受容体遺伝子 g. 420 C>A 一塩基多型は比内鶏の発育を改善する. 日本家禽学会誌 **51**, J43-J48.