

令和 2 (2020) 年度  
事業概要

栃木県県央家畜保健衛生所

## はじめに

日頃から、当所事業の円滑な推進に格別の御理解と御協力をいただき厚く御礼申し上げます。

さて、高病原性鳥インフルエンザにつきましては、3月13日に当所管内において県内初めてとなる発生があり、1農場、約7.7万羽の殺処分を行いました。本県の事例を含めて国内では、18県52農場で発生、過去最大規模の約980万羽の殺処分となりました。

豚熱につきましては、令和元年度から養豚場へのワクチン接種や野生イノシシへの経口ワクチン散布など、まん延防止に努めてきたところですが、4月17日に県北地域の2戸3農場での発生が確認されました。約3万9千頭と国内最多の発生であり長期間の防疫対応となりましたが、5月17日に防疫措置を完了することができました。いずれの発生も防疫措置に当たっては、関係団体並びに関係機関の皆様の多大な御協力のもと、迅速に対応することができ、地域へのまん延を防止することができましたことを深く感謝申し上げます。

家畜伝染病の発生防止には農場への病原体の侵入防止強化が必須です。このため、国は令和2年10月に飼養衛生管理基準を改正、農場自体の衛生意識の向上を図る内容となりました。当所としましても、新たな飼養衛生管理の徹底を指導、侵入防止対策を最優先として再発防止に努めてまいります。併せて、まん延防止対策として、より迅速かつ確実に防疫措置がとれるよう、初動防疫対応マニュアルや防疫作業計画の見直しを進めてまいります。

一方、農場の生産性を著しく低下させる慢性疾病の対策も重要な取組であり、県では令和元年度から牛伝染性リンパ腫、牛ウイルス性下痢及び豚繁殖・呼吸障害症候群を重点疾病として抗体検査や遺伝子検査を実施するとともに、生産者に対してこれらの疾病の侵入防止並びにまん延防止を指導しているところです。牛伝染性リンパ腫については、成果が現れてきている農場もあり、対象農場を増やし更なる推進に努めることとしています。

畜産経営を取り巻く情勢は、TPP11や日欧EPAに続く日米貿易協定の締結により国際競争が一層激化する中、新型コロナウイルス感染症の流行による消費の減少や価格の低下が加わり、畜産農家の皆様には、これまでにない厳しい状況に置かれているものと思います。人の疾病も家畜の伝染病も一刻も早く収束し、通常の生活と経済活動が再開されることを願いつつ、厳しい状況にある畜産農家にしっかり寄り添い、強い信頼関係の下、家畜衛生で畜産農家・畜産経営を守り、応援していきたいと思っております。

ここに令和2年度の当所の事業実績を取りまとめましたので、御高覧いただき、令和3年度も引き続き当所事業への変わらぬ御理解と御協力をいただきますようお願いいたします。

令和3（2020）年6月

栃木県県央家畜保健衛生所長 福田 修

# 目 次

I	県央家畜保健衛生所の概要	(頁)
1	沿 革	1
2	所 在 地	1
3	管 内 図	2
4	施設概要と配置図	3
5	業 務 概 要	4
6	組 織	5
7	業 務 の 内 容	6
II	令和元年度事業実績	
1	家畜伝染病予防事業	
(1)	主な予防事業の内容	7
(2)	各家畜伝染病等検査成績	8
(3)	放牧牛衛生検査	12
(4)	病性鑑定	13
(5)	家畜自衛防疫指導	14
(6)	伝達性海綿状脳症(TSE)サーベイランス検査	14
(7)	報告徴求	14
2	家畜衛生対策事業	
(1)	監視体制整備事業	15
(2)	まん延防止円滑化対策	16
(3)	慢性疾病等生産性阻害疾病対策	16
(4)	畜産物安全性確保対策	17
3	その他の事業	
(1)	動物薬事監視業務	18
(2)	牛肉の放射性物質検査	19
(3)	種畜検査	19
(4)	牛受精卵移植技術指導	19
(5)	診療施設立入調査・指導	19
(6)	家畜人工授精師等立入調査	19
(7)	家畜衛生の啓発、情報の提供	20
(8)	血中ビタミン依頼検査	20
(9)	肉用牛繁殖基盤強化事業	20

4	家畜衛生研究部の検査・調査及び試験研究	(頁)
(1)	病性鑑定	21
(2)	家畜伝染病抗体等調査事業成績	22
(3)	牛海綿状脳症(BSE)サーベイランス成績	23
(4)	鳥インフルエンザモニタリング成績	24
(5)	野生いのししの調査成績	24
(6)	畜産物安全性向上対策成績	25
(7)	ビタミン検査成績	25
(8)	家畜衛生研究部の試験研究課題	26

### Ⅲ 第61回栃木県家畜保健衛生業績発表会演題

1	つなぎ飼い酪農家における牛伝染性リンパ腫ウイルスの清浄化事例	29
2	<i>Mycoplasma bovis</i> の迅速診断と定量分析を目的としたリアルタイムPCR法の検証	37
3	3年間の預託牧場でのBRDC発生状況と体表温センサによる発熱検知について	44
4	管内におけるめん羊のブルータンクの発生とその後の対応	50

### 参考資料

・管内の監視伝染病発生状況	58
・管内の家畜飼養頭羽数	59
・用語の解説	60

# I 県央家畜保健衛生所の概要

## 1 沿革

- 昭和 24 年 7 月 栃木県宇都宮家畜保健所として栃木県家畜衛生試験所と共に宇都宮市  
塙田町県庁構内に設置
- 昭和 26 年 3 月 栃木県宇都宮家畜保健衛生所と栃木県家畜衛生試験所を合併し、栃木  
県中央家畜保健衛生所と改称
- 昭和 39 年 4 月 栃木県中央家畜保健衛生所を宇都宮市戸祭方作に新築移転し、同時に  
地方機関として栃木県家畜衛生研究所を同一建物内に設置
- 昭和 41 年 4 月 機構改革により、七井及び鹿沼家畜保健衛生所を統合し、両所を出張  
所として再び栃木県宇都宮家畜保健衛生所と改称
- 昭和 45 年 4 月 栃木県宇都宮家畜保健衛生所を宇都宮市若草町に新築移転
- 昭和 46 年 4 月 七井及び鹿沼出張所を廃止
- 平成 11 年 1 月 栃木県宇都宮家畜保健衛生所及び栃木県家畜衛生研究所を現在地に  
新築移転
- 平成 12 年 4 月 組織改編により、栃木県宇都宮家畜保健衛生所、栃木県氏家家畜保健  
衛生所並びに栃木県家畜衛生研究所を再編整備し、家畜衛生研究所及  
び氏家家畜保健衛生所管内の一部を統合して栃木県県央家畜保健衛  
生所と改称

## 2 所在地

〒321-0905 栃木県宇都宮市平出工業団地 6-8

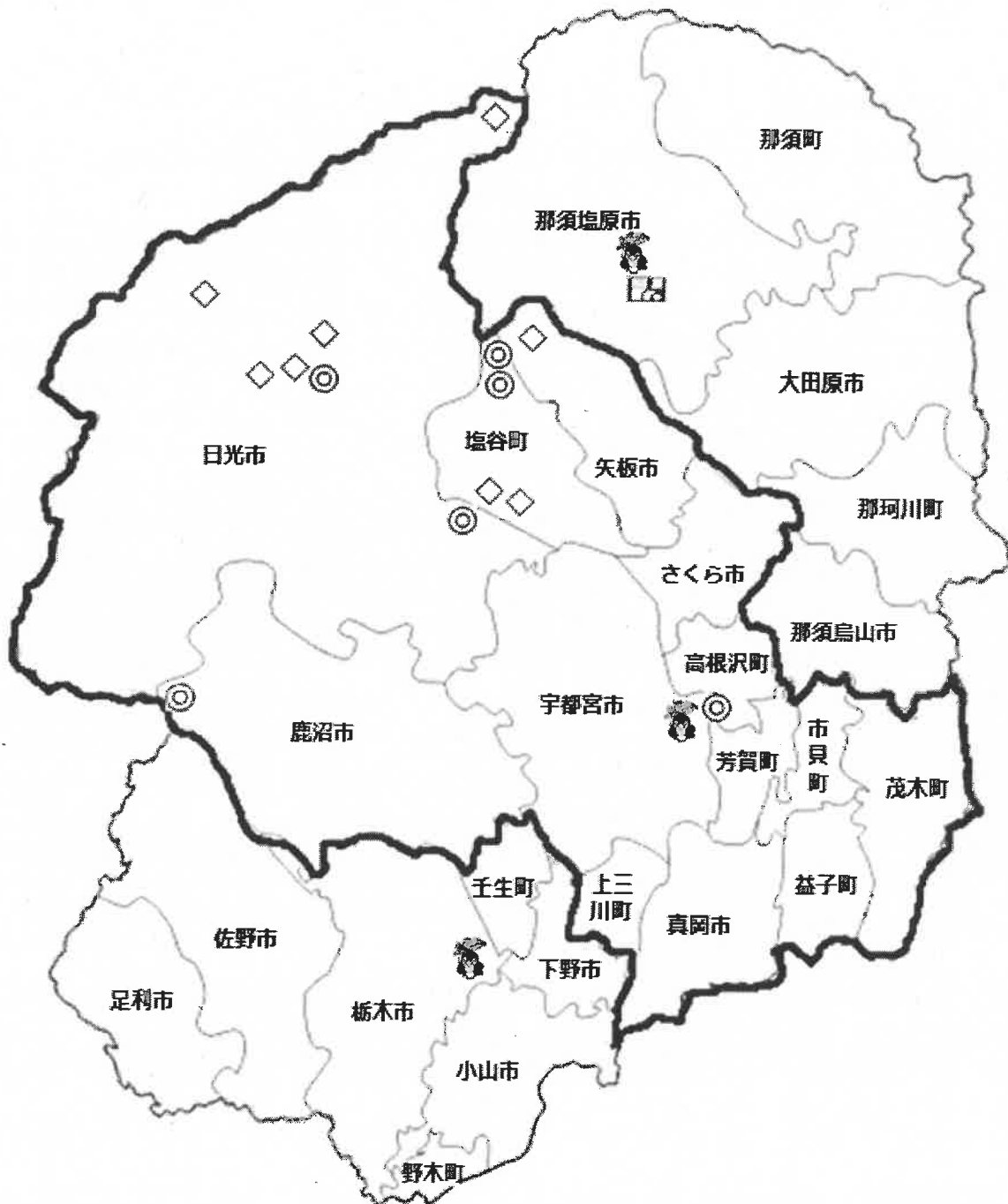
TEL 028-689-1200 (代) FAX 028-689-1279

交 通 JR 岡本駅から徒歩 15 分 JR 宇都宮駅前から関東バス（岡本、喜連川  
方面行き）「三菱製鋼」下車徒歩 5 分







### 3 管内図

令和2年3月31日



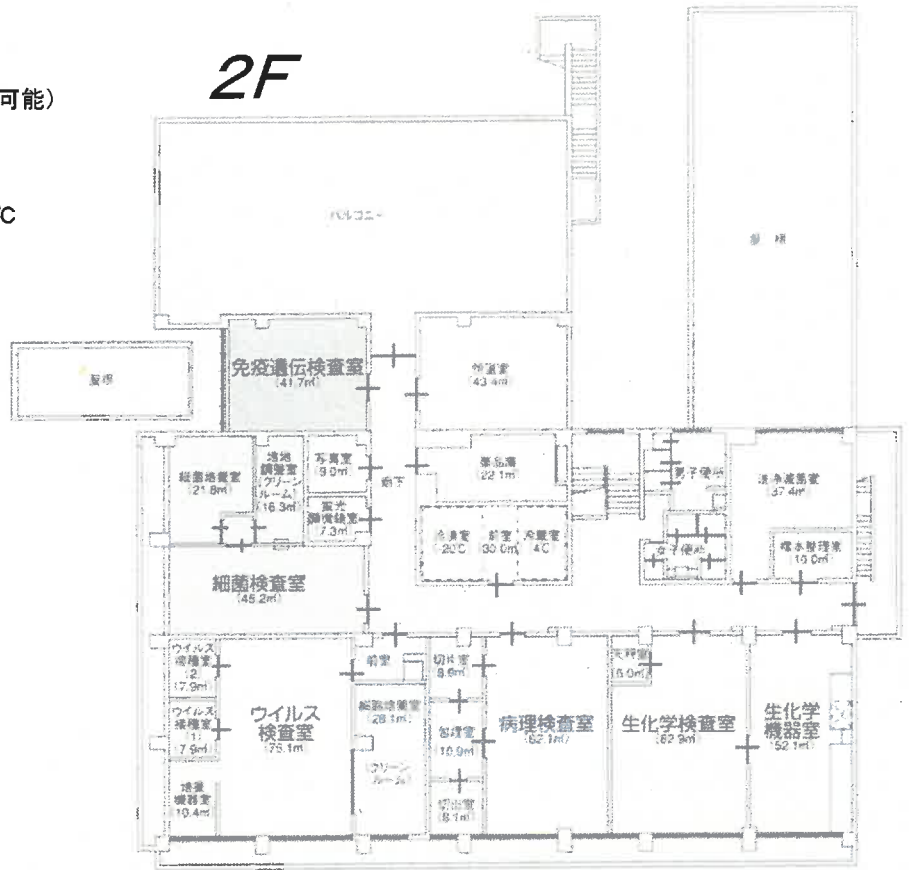
〈管轄区域〉

宇都宮市、上三川町  
 鹿沼市、日光市  
 真岡市、益子町、茂木町、市貝町、芳賀町  
 矢板市、さくら市、塩谷町、高根沢町 (6市7町)

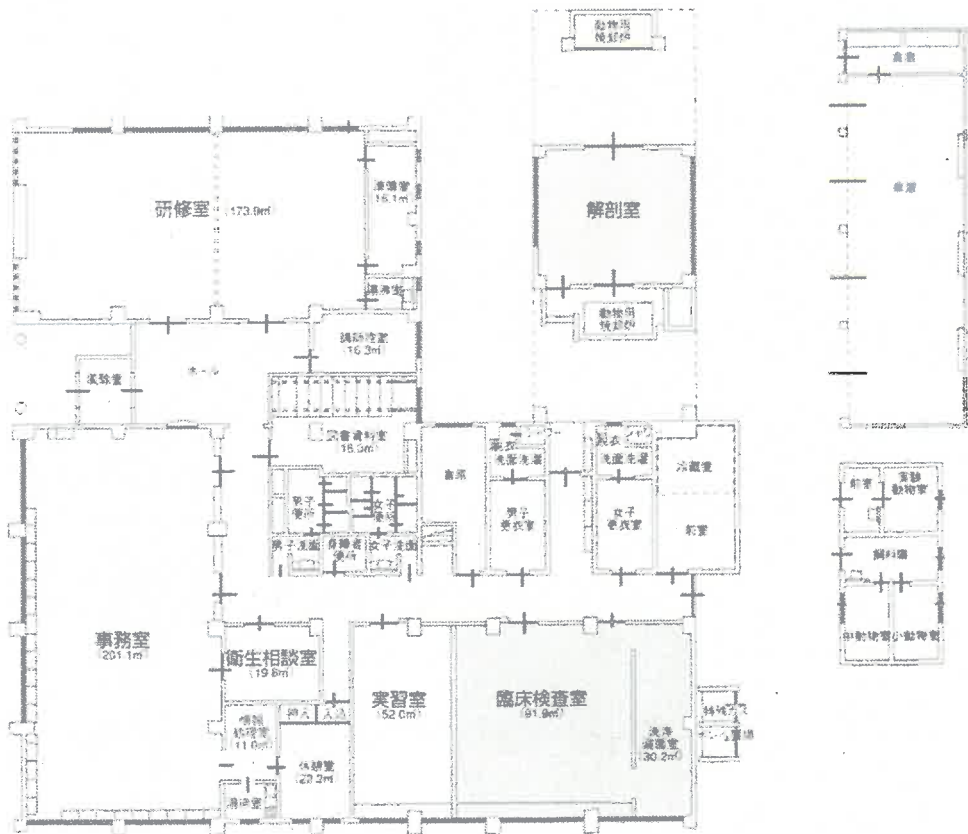
-  家畜保健衛生所  
(附属検査施設を含む)
-  畜産酪農研究センター
-  乳用牛公共放牧場
-  肉用牛公共放牧場

# 4 施設概要と配置図

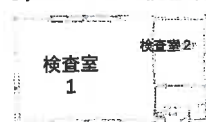
敷地面積 **5,483m<sup>2</sup>**(駐車場 56台駐車可能)  
 建物  
 本館 : **1,842m<sup>2</sup>**(RC2F)  
 解剖室 : 56m<sup>2</sup>  
 焼却炉 : 焼却能力 190kg/H 800°C  
 動物実験舎 : 50m<sup>2</sup>  
 車庫・倉庫 : 166.2m<sup>2</sup> 公用車7台  
 野生いのしし検査棟 : 55m<sup>2</sup>



**1F**



野生いのしし検査棟



## 5 業務概要

県中央家畜保健衛生所は、家畜保健衛生所法（昭和二十五年法律第十二号）に基づき、栃木県行政機関設置条例（昭和三十九年栃木県条例第一号）により設置され、県央地域における家畜衛生の向上を図り、安全・安心な畜産物の生産及び畜産の振興に寄与することを目的に、家畜伝染病予防法、獣医師法、獣医療法、医薬品医療機器等法、家畜改良増殖法等に基づく業務を行っています。

### (1) 管内の特徴

管内は、栃木県の中央部に位置し、河内、上都賀、芳賀及び塩谷の4地域（6市7町）を管轄区域とし、北は福島県、西は群馬県、東は茨城県に接し、栃木県面積の55%を占めている。

ア 酪農は、戸数、頭数とも県内の22%を占めており、戸数、頭数とも減少傾向にある。

イ 肉用牛は、戸数が県内の30%、頭数が29%を占めており、戸数、頭数とも横ばいである。繁殖和牛は、塩谷及び上都賀地域の中山間地を中心に飼養されている。また、黒毛和種肥育牛は、河内及び上都賀地域を中心に飼養され、リーディングブランド「とちぎ和牛」等の生産に取り組んでいる。なお、交雑種肥育は、塩谷地域で盛んである。

ウ 乳用牛及び肉用牛の放牧場が計14か所あり、乳用後継牛の確保に大きく貢献するとともに、夏山冬里方式による和牛繁殖の生産性向上に活用されている。

エ 養豚は、戸数は県内の43%、頭数が24%を占めており、比較的中規模な経営が多い。

オ 養鶏（採卵鶏）は、戸数は県内の50%、羽数は63%を占めている。大規模農場が多く、農場当たりの飼養羽数が多い傾向にある。

カ 馬は、乗馬クラブを中心に約390頭が飼養されている。

キ 養蜂は、96戸、約4,200群が飼養されている。その半数以上は、採蜜のほか施設園芸の授粉に利用され、イチゴ等の生産に大きく貢献している。

### (2) 管内の家畜飼養頭羽数

(R2.2.1現在)

畜種	乳用牛	肉用牛	豚	採卵鶏
戸数	145戸	237戸	58戸	122戸
頭羽数	12,243頭	23,772頭	99,349頭	4,443,313羽

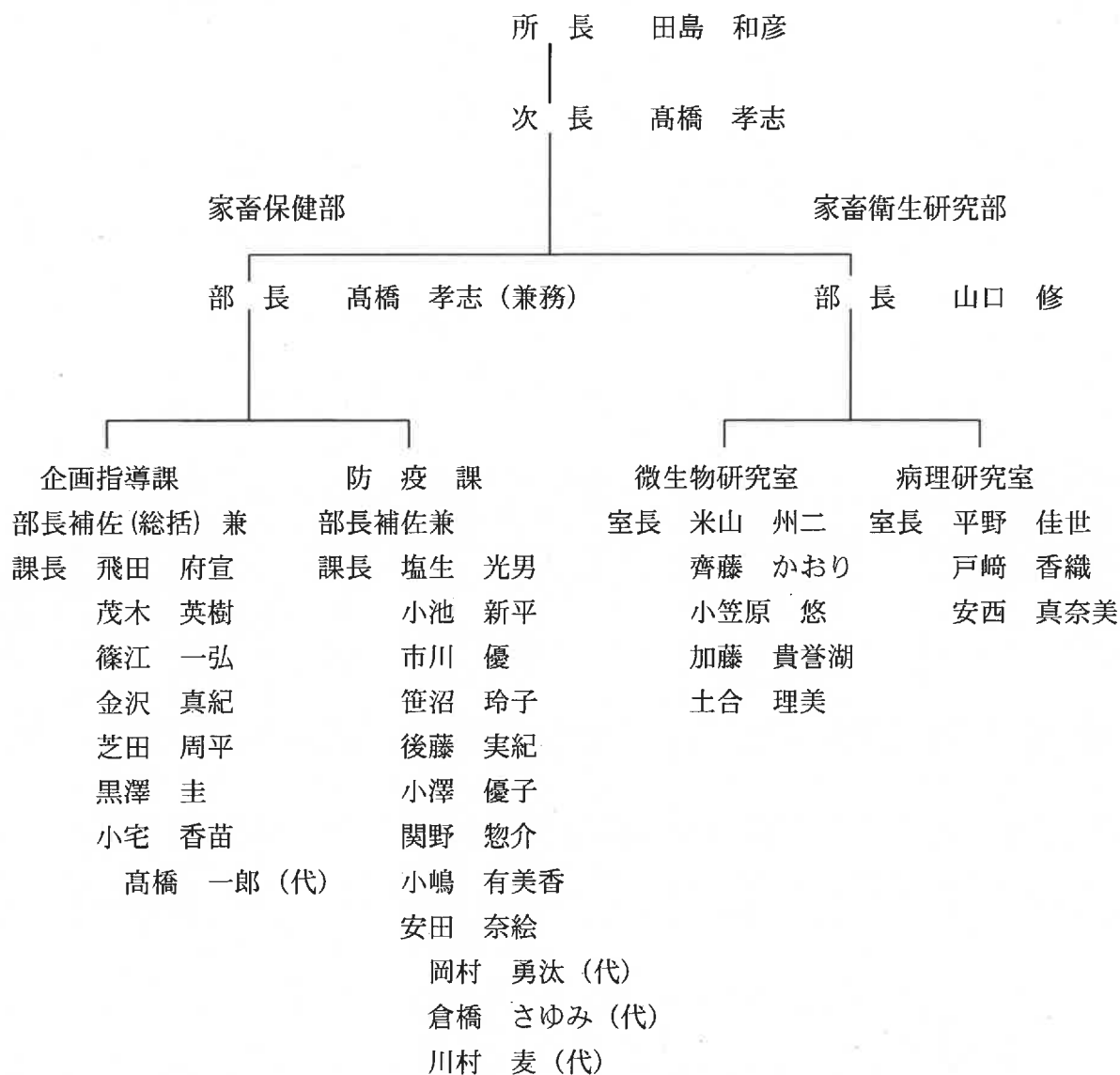


## 6 組 織

### (1) 人 員

28 名（獣医師 26 名、事務職 2 名）

### (2) 職員構成



(代)：産休・育休代替職員 3 名、欠員補充 1 名

### 会計年度任用職員

家畜臨床検査嘱託員 2 名

事務補助員 4 名

## 7 業務の内容

### (1) 家畜保健部

#### 〔企画指導課〕

- ・ 所内庶務に関する事
- ・ 予算・決算及び会計に関する事
- ・ 家畜衛生の総合的な企画調整に関する事
- ・ 家畜衛生の普及・啓発に関する事
- ・ 動物薬事、獣医師及び獣医療に関する事
- ・ 家畜人工授精師、削蹄師及び装蹄師に関する事
- ・ 牧野衛生に関する事（肉用牛）
- ・ 畜産環境対策に関する事
- ・ 畜産新技術の普及に関する事
- ・ 家畜衛生の研修及び相談に関する事
- ・ 家畜衛生情報システムの運用に関する事
- ・ 牛肉の放射性物質検査に関する事

#### 〔防疫課〕

- ・ 家畜伝染病及び家畜伝染性疾病の防疫に関する事
- ・ 牧野衛生に関する事（乳用牛）
- ・ 病性鑑定に関する事
- ・ 家畜衛生対策事業に関する事
- ・ 家畜疾病の各種検査に関する事
- ・ 家畜の輸出入検査に関する事
- ・ 家畜自衛防疫指導に関する事
- ・ 家畜の生産衛生に関する事
- ・ 家畜の保健衛生上必要な試験、研究、調査及び検査に関する事

### (2) 家畜衛生研究部

- ・ ウイルス学的・細菌学的検査及びその調査研究に関する事
- ・ 微生物の精密病性鑑定及び遺伝子診断等の高度病性鑑定に関する事
- ・ 病理の精密病性鑑定及びその調査研究並びに遺伝子診断等の高度病性鑑定に関する事
- ・ 生化学の精密病性鑑定及びその調査研究に関する事
- ・ 免疫学的・血清学的検査及びその調査研究に関する事
- ・ 原虫・寄生虫学的検査及びその調査研究に関する事
- ・ 野生イノシシのCSF・ASF検査に関する事
- ・ 家畜保健衛生所等の試験及び検査の技術指導に関する事
- ・ 死亡牛のBSE検査に関する事
- ・ 検査機器等の精度管理に関する事

## II 令和2年度事業実績

### 1 家畜伝染病予防事業

家畜伝染病予防法に基づき、県、市町、開業獣医師、各種畜産団体及び家畜飼養者を含めた総合的な防疫体制で家畜伝染病の発生予防に努めている。

主な業務内容は、家畜伝染病及び家畜伝染性疾病の発生予防（発生予察を含む）とまん延防止のための検診、検査、予防注射、病性鑑定、各種疾病の抗体検査及び家畜飼養者に対する衛生指導等である。

なお、家畜の伝染性疾病発生予防の措置については、家畜飼養者等の自主的団体である管内市町の家畜自衛防疫団体と連携して推進している。

#### (1) 主な予防事業の内容

##### ア 牛のヨーネ病検査

本病の発生予防と清浄化、更に消費者への安全な牛乳の供給を目的として、5年に1度、乳用牛及び肉用繁殖牛を対象として検査を実施

##### イ 牛海綿状脳症検査（BSE）

本病の発生予防及び清浄性の確認のため、特定症状牛、48か月齢以上の起立不能牛及び96か月齢以上の死亡牛を対象に検査を実施（検体採取は県北家畜保健衛生所が実施）

##### ウ 放牧牛衛生検査

管内公共牧場に放牧された牛について、疾病による損耗を防止するため定期的に衛生検査を実施

##### エ 放牧予定牛衛生検査

公共牧場への疾病の侵入を防止するため、入牧前の牛について、各種疾病の検査を実施

##### オ CSF 予防注射

本病の発生予防のため、県内で飼養されている全ての豚（出荷20日前及び哺乳豚を除く）及びいのししに接種

##### カ 豚熱（CSF）免疫付与状況確認検査

本病ワクチン接種による免疫付与状況の確認のため、ワクチン接種農場において検査を実施

##### キ オーエスキー病検査

本病の清浄性維持を確認するため、農場及びと畜場において検査を実施

##### ク 高病原性鳥インフルエンザ及び低病原性鳥インフルエンザ検査

本病の発生を予察するため、家きん（鶏、あひる、うずら、きじ、ほろほろ鳥、七面鳥又はだちょう）を100羽（だちょうは10羽）以上飼養する農場を対象として検査を実施

##### ケ 家きんサルモネラ症（ひな白痢に限る。）検査

本病の発生予防のため、種鶏場で飼養されている9週齢以上の鶏を対象として検査を実施

コ 腐蛆病検査

本病の発生予防のため、養蜂業者及び個人が飼養する蜂群や園芸ハウス用の蜂群を対象として検査を実施

サ 輸入家畜の着地検査

輸入家畜による監視伝染病の侵入防止のため、動物検疫所による輸入検疫終了後の家畜の飼養地において、3か月間、月1回の臨床検査等を実施

その他、家畜伝染病等の発生予防やまん延防止を図るため、各種疾病の検査及び不明疾病に対する病性鑑定等を実施

(2) 各家畜伝染病等検査成績

ア 検診・検査・予防注射

畜種	事業名		実績	検査結果			備考
				－	±	＋	
牛	ブルセラ症		2	2	0	0	告示
			1	1	0	0	告示外
	結核		2	2	0	0	告示
			1	1	0	0	告示外
	ヨーネ病		3,578	3,578	0	0	告示
			3,311	3,308	0	3	告示外
	牛海綿状脳症		162	162	0	0	告示
			2	2	0	0	告示外
豚	CSF	予防注射	218,711	－	－	－	告示
		検査	920	－	－	－	告示外
	オーエスキー病		3,307	199	65	3,043	告示外
	オーエスキー病		918	918	0	0	告示外
鶏	高病原性鳥インフルエンザ及び低病原性鳥インフルエンザ		470	470	0	0	告示
			52	39	0	13	告示外
	家きんサルモネラ症（種鶏）		590	590	0	0	告示
馬	馬伝染性貧血		3	3	0	0	告示外
蜜蜂	腐蛆病		4,219	4217	0	2	告示
			263	263	0	0	告示外
着地検査（輸入家畜）			6	6	0	0	告示外

イ 各種抗体等検査

(ア) 牛流行熱等抗体調査

畜種	疾病名	結果							
		6月		8月		9月		11月	
		<2	2≦	<2	2≦	<2	2≦	<2	2≦
牛	アカバネ病	23	4	26	1	27	0	27	0
	牛流行熱	27	0	27	0	27	0	27	0
	イバラキ病	27	0	27	0	27	0	27	0
	チュウザン病	27	0	27	0	27	0	27	0
	アイノウイルス感染症	27	0	27	0	27	0	27	0

(イ) その他各種検査

畜種	疾病名	頭羽数	結果		
			- (<4)	±	+ (4≦)
牛	牛伝染性リンパ腫 (EBL)	2,753	2,101	0	652
	牛ウイルス性下痢 (BVD)	3,854	3,854	0	0
	ピロプラズマ病	920	807	0	113
豚	豚繁殖・呼吸障害症候群 (PRRS)	4,317	2,425	0	1,892
	豚マイコプラズマ病	1,797	961	118	718
	豚胸膜肺炎	1,797	948	97	752
	豚流行性下痢 (PED)	60	48	0	12
	豚伝染性胃腸炎 (TGE)	60	45	0	15
	豚サーコウイルス	6	5	0	1
鶏	ニューカッスル病 (ND)	220	7	0	213
	鶏マイコプラズマ病 (ガリセプチカム : Mg)	202	43	18	141
	鶏マイコプラズマ病 (シノピエ : Ms)	202	30	6	166
めん山 羊・牛	ブルータング	136	120	0	16

(参考) 家畜伝染病予防法第5条に基づく検査の詳細

(7) 乳用繁殖牛のヨーネ病検査

市町名	鹿沼市	市貝町	計
検査戸数	1	4	5
検査頭数 (計)	12	2,801	2,813
乳用牛	2	2,801	2,803
肉用牛	10	0	10
結果	全頭陰性		

\* 乳用牛の定期検査農場で飼養されている肉用牛は、ヨーネ病のみ検査

(イ) 肉用繁殖牛のヨーネ病検査

市町名	宇都宮市	鹿沼市	日光市	市貝町	計
検査戸数	7	2	1	2	12
検査頭数	188	12	4	59	263
結果	全頭陰性				

(ウ) 種畜(種雄牛)のブルセラ病・結核病・ヨーネ病検査

市町名	さくら市	日光市	計
検査戸数	1	1	2
検査頭数	1	1	2
結果	全頭陰性		

(イ) 放牧予定牛のヨーネ病検査

市町名	宇都宮市	鹿沼市	日光市	真岡市	矢板市	さくら市	上三川町
検査戸数	5	10	6	16	1	2	1
検査頭数	105	83	77	136	5	19	7
市町名	茂木町	市貝町	芳賀町	塩谷町	高根沢町	計	
検査戸数	2	2	1	2	2	50	
検査頭数	13	27	12	6	10	500	
結果	全頭陰性						

(オ) 牛流行熱等抗体調査

市町名	鹿沼市	日光市	真岡市	上三川町	芳賀町	塩谷町	計
検査戸数	2	2	1	1	1	1	8
検査頭数	8	7	2	3	3	4	27
結果	各疾病とも流行は認められなかった。						

## (カ) 死亡牛の牛海綿状脳症 (BSE) 検査

市町名	宇都宮市	鹿沼市	日光市	真岡市	矢板市	さくら市	上三川町
検査頭数	16	27	9	19	22	27	3
市町名	益子町	茂木町	市貝町	芳賀町	塩谷町	高根沢町	計
検査頭数	10	1	17	4	5	4	164
結果	全頭陰性						

## (キ) 家きんサルモネラ感染症検査

( ) 内は延べ戸数

市町名	鹿沼市	さくら市	茂木町	市貝町	計
検査戸数	1	1 (3)	1	1 (3)	4 (8)
検査頭数	59	177	59	177	472
結果	全羽陰性				

## (ク) 高病原性鳥インフルエンザモニタリング検査 (定点モニタリング) ( ) 内は延べ戸数

市町名	鹿沼市	真岡市	高根沢町	計
検査戸数	1 (11)	1 (12)	1 (12)	3 (35)
検査羽数	110	120	120	350
結果	全羽陰性			

## (ケ) 高病原性鳥インフルエンザモニタリング検査 (強化モニタリング)

市町名	宇都宮市	鹿沼市	真岡市	矢板市	さくら市	益子町
検査戸数	2	2	1	1	1	1
検査羽数	20	20	10	10	10	10
市町名	日光市	市貝町	芳賀町	塩谷町	高根沢町	計
検査戸数	1	0	1	1	1	12
検査羽数	10	0	10	10	10	120
結果	全羽陰性					

## (コ) 腐蛆病検査

市町名	宇都宮市	鹿沼市	日光市	真岡市	矢板市	さくら市	上三川町
検査戸数	21	10	10	5	8	8	7
検査群数	672	950	94	524	664	492	114
市町名	益子町	茂木町	市貝町	芳賀町	塩谷町	高根沢町	計
検査戸数	2	12	6	2	3	2	96
検査群数	380	40	46	87	137	19	4,219
結果	全群陰性						

### (3) 放牧牛衛生検査

公共育成牧場に放牧された牛について、定期的に衛生検査（臨床検査、血液検査、寄生虫検査、牛体消毒等）を実施した。

#### ○乳用牛

牧場名	所在地	草地面積 (ha)	放牧頭数 (頭)	放牧期間 (日)	検査回数 (回)	備 考
前日光	鹿沼市	47	50	134	10	
大 笹	日光市	306	185	周年預託	6	
小 林	日光市	22	51	179	8	
豊月平	塩谷町	33	43	183	10	
土上平	塩谷町	119	167	180	10	

#### ○肉用牛

牧場名	所在地	草地面積 (ha)	放牧頭数 (頭)	放牧期間 (日)	検査回数 (回)	備 考
横 川	日光市	49	33	149	5	
三 沢 原	日光市	10	12	139	3	
上 栗 山	日光市	60	18	141	3	
土 呂 部	日光市	19	11	145	3	
八方ヶ原	矢板市	104	69	149	4	
上 沢	塩谷町	21	—	—	—	休止中
川 村	塩谷町	11	—	—	—	休止中
日蔭三本楯	日光市	41	—	—	—	休止中



#### (4) 病性鑑定

##### ア 市町別病性鑑定実施状況（件数）

市町名	乳用牛	肉用牛	馬	豚	鶏	その他	計
宇都宮市		5			1	2	8
上三川町		3		2			5
鹿沼市	1	1		1			3
日光市	4	1					5
真岡市	3	3		2			8
益子町							0
茂木町							0
市貝町	6				1		7
芳賀町					1		1
矢板市		2					2
塩谷町	1						1
さくら市	2	5			2		9
高根沢町	6	2				4	12
合計	23	22	0	5	5	6	61

##### イ 原因別・疾病別病性鑑定実施状況（件数）

疾病名	乳用牛	肉用牛	馬	豚	鶏	その他	計
ウイルス感染症	3	1			1	1	6
細菌感染症	6	6		1	3	3	19
寄生虫病	5	1					6
代謝障害							0
外傷不慮						1	1
その他	9	12		4	1	1	27
ウイルス細菌混合感染		2					2
計	23	22	0	5	5	6	61

##### ウ 主な診断結果

【ウイルス性感染症】牛伝染性リンパ腫(2件)、牛丘疹性口内炎(1件)、牛トロウイルス感染症(1件)、高病原性鳥インフルエンザ(1件)

【細菌性感染症】ヨーネ病(3件)、牛マイコプラズマ肺炎(3件)、マイコプラズマ乳房炎(1件)、マイコプラズマとパスツレラ複合感染症(1件)、悪性水腫(1件)、牛クロストリジウム・パーフリングェンス感染症(1件)、豚増殖性腸炎(1件)、デルマトフィルス症(1件)、仮性結核(1件)、腐蛆病(1件)

【寄生虫病】牛コクシジウム病(6件)

### (5) 家畜自衛防疫指導

家畜飼養者自らによる家畜防疫意識の啓発・向上のため、家畜自衛防疫団体に対し指導、研修会を行った。

対象	開催回数	市町	内容
自衛防疫団体	1	矢板市	口蹄疫及び高病原性鳥インフルエンザの防疫対策について、総会に併せて研修会を行った。

### (6) 伝達性海綿状脳症 (TSE) サーベイランス検査

畜種	検査頭数	検査成績
めん羊・山羊	48	全頭陰性

### (7) 報告徴求

高病原性鳥インフルエンザ及び低病原性鳥インフルエンザ（以下「本病」）発生予防のため、家畜伝染病予防法第 52 条に基づき、毎月一回、以下の内容で死亡羽数等飼養状況の報告を求めた。

対 象	内 容
鶏、あひる、うずら、きじ、だちょう、ほろほろ鳥及び七面鳥を 100 羽以上（だちょうは 10 羽以上）飼養している農場	各週の飼養羽数、死亡羽数、産卵率の推移並びに本病の可能性を否定できないような状況の有無の確認

その他、本病の可能性を否定できない事態が生じた場合には、直ちにその旨を家畜保健衛生所に報告すること。

## 2 家畜衛生対策事業

各種疾病による家畜の損耗防止と生産性の向上を図るため、会議の開催、情報収集と広報、検査・指導等を実施している。

### (1) 監視体制整備事業

#### ア 家畜伝染病防疫対応強化

飼養衛生管理の向上を図るため、会議・研修会や農場巡回により衛生管理を指導

実施内容	実施回数	出席人数/ 実施農場数	対 象
地域推進会議	2回	76名	市町、農協、獣医師
衛生管理指導	71日	347農場	畜産農家への立入検査 (乳用牛：82農場、肉用牛：123農場 豚：65農場、家きん等：71農場、 その他：6農場)

#### イ 家畜衛生関連情報整備

家畜衛生対策及び疾病発生状況等の情報を収集・分析するとともに、農家へ情報を提供

実施内容	実施件数	備考
情報の収集	61(件)	家畜衛生に関する対策及び疾病の発生状況等の情報の収集
家畜衛生情報提供	85(回)	家畜衛生に関する対策及び疾病の発生状況等の情報の提供

#### ウ 疾病検査精度管理推進

適正な精度管理体制の構築による検査技術及び検査結果への信頼性の向上を図ることを目的として、診断用検査機器の定期的な校正を推進するため、資器材の整備、精度管理に係る講習会等の開催及び検査業務管理要領、標準作業書による各種検査の実施

##### (ア) 診断用検査機器の定期的な校正

- リアルタイムPCR検査機器及びサーマルサイクラー機器のキャリブレーション  
(ヨーネ病、鳥インフルエンザ、豚熱検査)
- ビーズ式粉碎器の保守管理(ヨーネ病検査)
- 微量高速遠心機の保守管理(ヨーネ病、鳥インフルエンザ、豚熱検査)
- マイクロピペットの検定(ヨーネ病、鳥インフルエンザ、豚熱検査)

##### (イ) 研修会等

講習会名	開催日	参集範囲	人数
精度管理研修会	R2.10.9(金)	会計年度任用職員	3名

##### (ウ) 外部精度管理

(一財)生物科学安全研究所によりヨーネ病遺伝子検査、鳥インフルエンザELISA検査並びに遺伝子検査及び豚熱ELISA検査について評価

(2) まん延防止円滑化対策

特定家畜伝染病に関する連絡会議及び防疫演習の実施協力

実施内容	回数	出席人数	備考
口蹄疫・鳥インフルエンザ対策連絡会議	4	130	各農業振興事務所主催 市町、関係機関、関係団体
鳥インフルエンザ防疫演習(地域)	5	245	机上演習(情報伝達)及び実地演習(集合施設、防疫拠点及び消毒ポイント設置・運営等)

(3) 慢性疾病等生産性阻害疾病対策

生産性阻害が顕著な農場に対し、調査・検査を行い、発生動向を把握。得られた成績をもとに、対策を検討するとともに、疾病防疫マニュアル作成の基礎とした。

疾病名	畜種	調査戸数	調査頭羽数	実施内容
豚増殖性腸炎	豚	1	1,200	本病の発生農場に対して、発症豚に対しては臨床獣医師の管理の下、抗生剤治療を行い、畜舎の清掃や消毒の徹底をはじめとする飼養衛生管理基準の遵守、及び農場に出入りする人及び物の消毒の徹底を指導したところ、発生は終息し、農家の衛生意識が向上した。
牛伝染性リンパ腫	牛	1	50	牧場内に陰性及び陽性牧区を設け、接触しないように牧区間を離すとともに、各牧区にアプトラップを設置し、吸血昆虫対策を併せて実施した。また、抗体陽転牛の早期摘発のため、入牧時または入牧後及び収牧時の検査を実施した結果、牧場内での本病のまん延は認められなかった。

(4) 畜産物安全性確保対策

ア 生産衛生管理体制整備事業

畜産物の安全性の確保を図るため、生産現場に HACCP 方式に基づく飼養管理方式を導入するために必要な検査、指導を実施

区分	戸数	対象項目	実施内容
養豚農家	5	農場 HACCP 構築の指導	定期的に各農場における情報の分析及び衛生管理システムの見直し等について指導し、関係者を集めた推進会議 (20 回) を実施した。
肉用牛農家	1		

イ 動物用医薬品危機管理対策

(7) 動物用医薬品の品質検査・指導

流通段階にある不適正な動物用医薬品を排除し動物用医薬品の品質確保を図るため、動物用医薬品等販売業者への立入検査・指導、医薬品の収去・品質確保検査を実施

立入検査・指導		品質確保検査
対象店舗数	実施店舗数	
116	39	医薬品の収去：県央家保1品目 (収去品目：等張糖加リンゲル液「KS」) 検査場所：家畜衛生研究部 検査結果：規格範囲内

(イ) 動物用医薬品使用実態調査

動物用医薬品の使用の規制に関する省令に基づく動物用医薬品の畜産物への残留防止を図るため、肉用牛飼養農家 1 戸、豚飼養農家 3 戸について動物用医薬品の使用状況等の実態調査を実施した。各農家とも休業期間を遵守していた。

(ウ) 薬剤耐性菌の発現状況調査

人と動物の健康に対するリスク分析の基礎資料とするために、薬剤耐性菌の発現状況について調査

対象菌種	対象家畜	対象農家数	検体数	検査株数	実施内容	備考
サルモネラ	牛・豚 鶏	1戸 (0戸)	2検体 (0検体)	2株 (0株)	各種生化学性状検査 及び薬剤感受性試験 実施	( ) 管内分
黄色ブドウ球菌	牛・豚 鶏	8戸 (1戸)	8検体 (1検体)	8株 (1株)		

### 3 その他の事業

#### (1) 動物薬事監視業務

##### ア 動物薬事受託業務（動物用生物学的製剤国家検定業務）

動物用医薬品製造業者が製造する動物用生物学的製剤の国家検定業務について、申請の受付け、検定品の抜取り及び封印、検定合格後の解封業務を実施している。

品目数	R2 年度製造・輸入ロット数	抜取延べ回数	解封延べ回数
3	7	6	6

##### イ 動物用医薬品販売業許認可業務

動物用医薬品販売業の許可関係事務及び店舗に対する立入検査により、動物用医薬品の適正販売及び流通過程における品質、安全性の確保に努めている。

区分	許可店舗数	新規件数	廃止件数	立入検査件数 (延数)
店舗販売業	5	1	0	3
卸売販売業	11	0	0	3
特例店舗販売業	100	3	1	33
計	116	4	1	39

##### ウ 動物用高度管理医療機器等販売・貸与業許認可業務

動物の生命及び健康に重大な影響を与えるおそれがある医療機器について、許可関係事務及び店舗に対する立入検査により、販売及び貸与における安全性の確保に努めている。

区分	許可及び届出 店舗数	新規件数	廃止件数	立入検査 件数
高度管理医療機器等 販売・貸与業（※許可制）	14	2	1	5
管理医療機器販売・貸与業 （※届出制）	38	2	2	7

## (2) 牛肉の放射性物質検査

平成 23 年 8 月 2 日、栃木県産の牛肉で福島第一原子力発電所事故に起因する放射性物質汚染が確認されたことを受け、同年 8 月 29 日から本県産牛肉の放射性物質検査を全頭を対象に実施していた。平成 31 年 3 月 28 日付けで出荷制限指示が解除されたが、県産牛肉の安全性を確保し消費者の信頼を確保するため、令和 2 年度から一部の牛を検査対象として抽出し、とちぎ食肉センターにおいてと畜、検査を実施した。

検査項目	検体数	検査結果
放射性セシウム	165	全頭基準値以下

## (3) 種畜検査

適正な家畜の改良・増殖を促進するため、家畜改良増殖法に基づき、管内で飼養される種雄畜について、繁殖障害、伝染性疾病及び遺伝性疾患の有無等について検査を実施した。

市町名	種畜	頭数
さくら市	黒毛和種	1
日光市	黒毛和種	1
高根沢町	馬	3

## (4) 診療施設立入調査・指導

管内の飼養動物診療施設に対し、獣医療の適正確保を目的に獣医師法、獣医療法及び医薬品医療機器等法に基づき立入調査を実施した。

診療施設数	新規	休止	廃止	立入件数
147	12	6	7	36

## (5) 家畜人工授精師等立入調査

管内の家畜人工授精所及び家畜人工授精師に対し、家畜人工授精業務の適正な運用を確保することを目的に家畜改良増殖法に基づき立入調査を実施した。

区分	調査対象数	調査件数	指導内容
家畜人工授精所	41	33	設備・器具整備状況等
家畜人工授精師	143	15	授精記録簿・保管等

## (6) 家畜衛生の啓発、情報の提供

食品の安全性を確保するとともに、飼養規模の拡大や流通の広域化等に伴い多様化する諸問題に的確に対応し、健全な畜産の振興に資するため、獣医師、家畜人工授精師、市町、関係団体及び家保等の職員を対象とした講習会、研修会を例年開催している。しかし、2年度については、新型コロナウイルス感染症拡大防止のため、講習会・研修会の開催を中止した。

## (7) 肉用牛繁殖基盤強化対策事業

和牛繁殖雌牛の分娩間隔等の指標を改善するため、農業振興事務所と連携し支援チームを構成し、管内モデル農家を対象として、飼養管理全般について課題の抽出と改善指導を行った。

実施回数	農家戸数	実施内容
6	3	各農家を巡回し、農場の課題等をまとめた農家台帳を作成した。更にボディコンディション測定、給与飼料診断及び代謝プロファイルテストを実施し、その検査結果を基に、給与飼料や飼養衛生管理に関する指導を実施した。



## 4 家畜衛生研究部の検査・調査及び試験研究

県内の各家畜保健衛生所からの依頼に基づいて、ウイルス、細菌、病理及び生化学部門の精密検査を行っています。

### (1) 病性鑑定

#### ア 項目別実施状況

区分		ウイルス	細菌	病理	生化学	寄生虫	計
乳用牛	件数	24	5	17	1	0	47
	頭数	126	126	19	1	0	272
肉用牛	件数	40	19	51	4	0	114
	頭数	112	27	53	7	0	199
馬	件数	0	0	0	0	0	0
	頭数	0	0	0	0	0	0
豚	件数	19	7	17	1	0	44
	頭数	101	14	28	3	0	146
めん羊 山羊	件数	4	2	9	0	0	15
	頭数	13	3	10	0	0	26
鶏	件数	5	2	6	0	0	13
	羽数	42	5	18	0	0	65
その他*	件数	5	1	4	0	0	10
	頭羽数	35	3	10	0	0	48
計	件数	97	36	104	6	0	243
	頭羽数	429	178	138	11	0	756

\* 蜜蜂、兎、トナカイ

#### (イ) 診断結果

##### a 届出伝染病

牛：牛ウイルス性下痢 [PI 牛]、牛伝染性リンパ腫、牛丘疹性口内炎

鶏：鶏痘

兎：兎出血病

##### b その他の疾病

牛：牛コロナウイルス病、牛ロタウイルス病、牛トロウイルスが関与した下痢症、サルモネラ症（牛）、悪性水腫、牛大腸菌症、牛パスツレラ（マンヘミア）症、牛マイコプラズマ肺炎、牛マイコプラズマ乳房炎、*Trueperella pyogenes* 感染症、*Klebsiella oxytoca* 感染症、牛レンサ球菌症、細菌性流産、真菌性胃腸炎、牛コクシジウム症、クリプトスポリジウム症、乳頭糞線虫症、大脳皮質壊死症、誤嚥性肺炎、肝膿瘍、腎異形成

豚：豚繁殖・呼吸障害症候群、増殖性腸炎、浮腫病、豚レンサ球菌症、ヘモフィルス・パラスイス感染症（グレーサー病）

鶏：鶏大腸筋症、鶏ブドウ球菌症、白筋症

めん羊：仮性結核

山羊：コクシジウム症、誤嚥性肺炎

兎：コクシジウム症、肺膿瘍

## (2) 家畜伝染病抗体等調査事業成績

### ア 牛流行熱等抗体調査

家畜伝染病予防法第5条第1項に基づき県内20戸(14市町)の未越夏牛等について経時的に採血を行い、アカバネ病、牛流行熱、イバラキ病、アイノウイルス感染症及びチュウザン病の流行状況調査を実施

また、令和元年10月に県内でブルータンクの発生を確認したことから、当該疾病についても調査

家保名	実施地区	疾病名	抗体陽性頭数/検査頭数			
			R2年6月	8月	9月	11月
県央	鹿沼市 日光市 真岡市 上三川町 芳賀町 塩谷町	アカバネ病	4/27	1/27	0/27	0/27
		牛流行熱	0/27	0/27	0/27	0/27
		イバラキ病	0/27	0/27	0/27	0/27
		アイノウイルス感染症	0/27	0/27	0/27	0/27
		チュウザン病	0/27	0/27	0/27	0/27
		ブルータンク	0/27	0/27	3/19	9/27
県南	栃木市 佐野市 下野市	アカバネ病	0/9	0/9	0/9	0/7
		牛流行熱	0/9	0/9	0/9	0/7
		イバラキ病	0/9	0/9	0/9	0/7
		アイノウイルス感染症	0/9	0/9	0/9	0/7
		チュウザン病	0/9	0/9	0/9	0/7
		ブルータンク	0/9	0/9		0/7
県北	大田原市 那須塩原市 那須烏山市 那須町 那珂川町	アカバネ病	8/27	1/27	0/27	0/27
		牛流行熱	0/27	0/27	0/27	0/27
		イバラキ病	0/27	0/27	0/27	0/27
		アイノウイルス感染症	0/27	0/27	0/27	0/27
		チュウザン病	0/27	0/27	0/27	0/27
		ブルータンク	1/27	0/27	0/12	6/27
合計		アカバネ病	12/63	2/63	0/63	0/61
		牛流行熱	0/63	0/63	0/63	0/61
		イバラキ病	0/63	0/63	0/63	0/61
		アイノウイルス感染症	0/63	0/63	0/63	0/61
		チュウザン病	0/63	0/63	0/63	0/61
		ブルータンク	1/63	0/63	3/31	15/61

検査方法：中和試験、ただしブルータンクはゲル内沈降反応

### イ 牛ウイルス性下痢各種検査

#### (7) ウイルス分離

家保名	検査戸数	検査頭数	陽性戸数	陽性頭数
県央	4	45	0	0
県南	4	49	0	0
県北	72	502	29	39
計	80	596	29	39

## (イ) 遺伝子検査 (PCR 法)

( ) 内は預託等に係る依頼検査

家保名	検査戸数	検査頭数	陽性戸数	陽性頭数
県央	100 (78)	3,698 (162)	0 (0)	0 (0)
県南	37 (21)	693 (39)	0 (0)	0 (0)
県北	382 (167)	10,280 (431)	34 (0)	45 (0)
計	519 (266)	14,671 (549)	34 (0)	45 (0)

## ウ 豚熱 (CSF) 検査

## (ア) ELISA 法 (免疫付与状況確認検査)

家保名	検査戸数	検査頭数	陽性戸数	陽性頭数
県央	88	2,921	88	2,704
県南	44	1,418	44	1,337
県北	62	1,927	61	1,787
計	194	6,266	193	5,828

## (イ) 中和試験

家保名	検査戸数	検査頭数	陽性戸数	陽性頭数
県央	1	15	1	13
県南	18	287	18	245
県北	4	37	3	27
計	23	339	22	285

## エ 伝染性胃腸炎 (TGE) 抗体調査 (中和試験)

家保名	検査戸数	検査頭数	陽性戸数	陽性頭数
県央	6	60	2	15
県南	6	60	1	10
県北	6	60	3	25
計	18	180	6	50

## オ 豚流行性下痢 (PED) 抗体調査 (中和試験)

家保名	検査戸数	検査頭数	陽性戸数	陽性頭数
県央	6	60	2	12
県南	6	60	1	10
県北	7	64	0	0
計	19	184	3	22

## (3) 牛海綿状脳症 (BSE) サーベイランス成績

家保名	検査受入頭数						検査成績		
	96 か月 齢以上 死亡牛	48~95 か 月齢の起 立不能牛	BSE 疑似 患畜・ 関連牛	ヨーネ病 患畜牛	と畜牛 (拒否・ 死亡等)	その他	陽性 頭数	陰性 頭数	
県央	164	161	0	0	2	0	1	0	164
県南	48	47	1	0	0	0	0	0	48
県北	364	352	3	0	5	0	4	0	364
合計	576	560	4	0	7	0	5	0	576

#### (4) 鳥インフルエンザモニタリング成績

「高病原性鳥インフルエンザ及び低病原性鳥インフルエンザに関する特定家畜伝染病防疫指針」に基づき、発生予察のためのモニタリングを実施

##### ア 定点モニタリング検査

家保名	市町	検査戸数	検査羽数 (10羽/月)	ウイルス分離検査 (スワブ)		抗体検査 血清	検査成績 (羽数)	
				気管	クロアカ		陽性	陰性
県央	鹿沼市	1	110	110	110	1	0	110
	真岡市	1	120	120	120		0	120
	高根沢町	1	120	120	120		0	120
県南	栃木市	2	240	240	240	1	0	240
	佐野市	1	120	120	120		0	120
県北	大田原市	1	110	110	110	1	0	110
	那須塩原市	1	120	120	120		0	120
	那須烏山市	1	120	120	120		0	120
	那須町	1	10	10	10		0	10
合計	9	10	1,070	1,070	1,070	3	0	1,070

\* 血清は、各家保が行うスクリーニング検査で、抗体陽性を示した検体の精密検査

##### イ 強化モニタリング検査 (家きん 100羽以上を飼養する農場の抗体検査)

家畜伝染病予防法第5条第1項に基づき、各家保が行う強化モニタリングのELISA検査で、抗体陽性を示した検体の精密検査

家保名	検査戸数	検査羽数	抗体検査		検査成績 (羽数)	
			血清	陽性	陰性	
県央	0	0	0	0	0	
県南	0	0	0	0	0	
県北	0	0	0	0	0	
合計	0	0	0	0	0	

#### (5) 野生いのししの調査成績

「豚熱に関する特定家畜伝染病防疫指針」及び「アフリカ豚熱に関する特定家畜伝染病防疫指針」に基づき、県内で死亡又は捕獲された野生いのししにおける豚熱及びアフリカ豚熱の感染状況を調査 ( )内は死亡いのしし

捕獲 (発見) 市町	豚熱 (CSF)				アフリカ豚熱 (ASF)	
	遺伝子検査 (PCR法)		抗体検査 (ELISA法)		遺伝子検査 (PCR法)	
	検査頭数	陽性頭数	検査頭数	陽性頭数	検査頭数	陽性頭数
足利市、栃木市、佐野市、鹿沼市、日光市、小山市、真岡市、大田原市、矢板市、那須塩原市、那須烏山市、益子町、茂木町、市貝町、野木町、高根沢町、那須町、那珂川町	483 (39)	9 (5)	478 (34)	20 (2)	483 (39)	0 (0)

## (6) 畜産物安全性向上対策成績

○動物用医薬品危機管理対策

ア 動物用医薬品品質確保検査 (2品目)

検査品目	収去品名	検査項目	結果
ビタミン剤＋ 肝臓疾患用剤	ビタミンK1注	フィトナジオン	適合
無機質製剤＋ 糖類・血液代用剤	等張糖加リンゲル液「KS」	塩化カルシウム 塩素	適合

イ 薬剤耐性菌の発現状況検査

県内分離株の薬剤感受性成績 (Sal:サルモネラ、SA:黄色ブドウ球菌)

薬剤名	菌種	阻止円の判定基準 (mm)			耐性率 (%) ※1	
		感受性	中間	耐性	栃木県	
					Sal 2株	SA 8株
アンピシリン	Sal	≥17	14-16	≤13	0.0	37.8
ベンジルペニシリン	SA	≥29	—	≤28	0.0	—
セファゾリン	Sal	≥23	20-22	≤19	0.0	5.6
	SA	—	—	—	—	—
セフォタキシム	Sal	≥26	23-25	≤22	0.0	0.0
	SA	—	—	—	—	—
セフォキシチン	SA	≥22	—	≤21	0.0	—
ストレプトマイシン	Sal	≥15	12-14	≤11	0.0	54.5
	SA	—	—	—	—	—
ゲンタマイシン	Sal	≥15	13-14	≤12	0.0	2.8
	SA				0.0	2.4
カナマイシン	Sal	≥18	14-17	≤13	0.0	11.9
	SA	—	—	—	—	—
エリスロマイシン	SA	≥23	14-22	≤13	25.0	14.5
アジスロマイシン	SA	≥18	14-17	≤13	0.0	—
テトラサイクリン	Sal	≥15	12-14	≤11	0.0	47.6
	SA	≥19	15-18	≤14	0.0	14.9
ナリジクス酸	Sal	≥19	14-18	≤13	0.0	9.8
シプロフロキサシン	Sal	≥31	21-30	≤20	50.0	2.8
	SA	≥21	16-20	≤15	0.0	8.1
クロラムフェニコール	Sal	≥18	13-17	≤12	0.0	11.2
	SA				0.0	9.7
ST合剤	Sal	≥16	11-15	≤10	0.0	15.4
コリスチン	Sal	—	—	—	—	5.6

※1：判定基準が中間及び耐性の株を含む ※2：微量液体希釈法による検査成績

## (7) ビタミン検査成績

各所からの依頼に基づく検査ビタミン検査成績

検査項目	依頼所属名	区分	検査頭数 (延べ)	備考
ビタミンA	県中央畜保健衛生所防疫課	黒毛和種	126	
ビタミンE	県北家畜保健衛生所	黒毛和種	405	
β-カロチン	県南家畜保健衛生所	黒毛和種	0	
計			531	

## (8) 家畜衛生研究部の試験研究課題

### ア 地方病性牛伝染性リンパ腫の感染率低減を目指した清浄化プログラムの確立

(平成 29～令和 2 年度)

目的：牛伝染性リンパ腫ウイルス (BLV) 感染に誘発される地方病性牛伝染性リンパ腫 (EBL) の発生数は全国的に増加の一途をたどっている。EBL は低い発症率ながらも、と畜場で摘発されると枝肉が全部廃棄になるなど、経済的損失の大きい疾病の一つである。県内では感染率が 50% を超える牛飼養農家も多く、効果的な感染防除対策の構築が求められている。そこで、本県の EBL 対策が一層推進されるべく、農場での実証試験を通じて BLV の効果的な感染率低減対策の確立と検査方法の効率化を目指し、家保職員向けの清浄化プログラム及び指導マニュアルを作成する。

内容：BLV 感染牛を長期的 (平成 23～30 年) に追跡調査した試験にて、一生涯にわたり血中ウイルス量が低値で推移する感染牛が存在することを明らかにした。また、農場内での感染状況を長期的に調査した結果、このような感染牛は周囲の牛へウイルスを伝播させにくい低リスク牛と推定された。そこで、この低リスク牛について、感染牛から感染拡大を防ぐ防壁としての機能を有するかを検証するため、平成 29 年春から管内 2 農場 (いずれもつなぎ牛舎) にて感染牛と非感染牛の境界に低リスク牛を配置し、牛舎内での感染状況を観察した。4 年間の調査の結果、搾乳牛舎における陽転牛は A 農場、B 農場ともに 2 頭のみで、2 農場 (A、B 農場) における感染率は A 農場では 82.1% から 64.3% に低下し、B 農場では 58.6% から 0% と EBL 清浄化を達成した。これらの成績から、低リスク牛を防波堤とした感染防除は有効であることが示され、感染牛と非感染牛の境界に空房を設けることや防虫ネットを仕切りとして設置することなく、簡便かつ効率的に牛舎内の感染を防除できると考えられた。本対策に加え、感染牛の計画的な更新、子牛～育成牛への感染防除対策並びに搾乳順の変更 (感染牛を最後に搾乳) を組み合わせることで、酪農つなぎ牛舎での EBL 早期清浄化は十分に可能と考えられた。

### イ 多検体処理を可能とするウイルス性疾患の遺伝子検査法の確立 (令和元～2 年度)

目的：ウイルス遺伝子を検出する検査は、検体の前処理 (核酸の抽出等)、標的遺伝子の増幅及び電気泳動による結果判定と 3 段階の工程が必要となり、多検体処理を必要とする状況下では要する手間やコストが格段に大きくなる。そこで、現場で特に問題となっている慢性疾病 (BVD、PRRS、EBL) を対象に、簡便かつ低コストで多検体処理が可能な遺伝子検査の確立を目指し、各家畜保健衛生所への普及を図り、汎用化を目指す。

内容：豚繁殖・呼吸障害症候群ウイルス (PRRSV) を標的としたインターカレーター法リアルタイム PCR を検討した。既報の 3 種類のプライマーセット (A、B、C) を検証したところ、ORF7 領域を標的とした A セットは非特異増幅がほとんど生じず、ワクチン株を用いた検証では現行の Nested-PCR 法と感度も遜色ないことが判明した。そこで、A セットについて Nested-PCR 法を実施済みの野外検体 187 検体を用いて両法の成績を比較した結果、全体一致率 92.0%、陰性一致率 (特異度) 95.2%、陽性一致率 (感度) 66.6% となり、陽性一致率では良好な成績が得られなかったものの、Nested-PCR 法で陰性と判定されてもリアルタイム PCR では明瞭に増幅される検体も散見され、いずれの手法でも全ての PRRSV 遺伝子を検出可能ではないことが推定された。したがって、今回確立したリアルタイム PCR 法は PRRSV 遺伝子を検出するスクリーニング法として有用と考えられ、現行の Nested-PCR と比較して検査時間の大幅な短縮 (約 5 時間→約 1 時間) かつ低コスト化 (1 検体あたり 320 円→150 円) が図られ、現場での PRRS 対策が一層推進されることが期待

された。

#### イ 家畜の呼吸器系疾病に関する細菌学的研究（令和元～3年度）

**目的：**マイコプラズマ・ボピス（Mb）は、主に子牛に肺炎、中耳炎等を引き起こす病原細菌である。Mbは、感染力が強く農場内に急速にまん延しうるため、迅速診断は必須であるが、現行では分離培養により定性的に行われているため、判定までに時間を要する。また、検査材料（鼻腔スワブ）の培養のみでは、健康保菌牛と肺炎発症牛の区別がつかず、正確に病態を反映することが困難である。そこで、令和元年度に確立した、迅速に Mb の遺伝子を検出するリアルタイム定量 PCR（qPCR）により、野外材料の Mb 遺伝子量（菌数）を測定し、鼻腔スワブの Mb 遺伝子量から Mb による肺炎（Mb 肺炎）発症の有無を推定可能か検証する。

**内容：**野外材料は、呼吸器症状を呈した牛の鼻腔スワブ（農場採材材料：33 農場 110 検体）及び呼吸器症状の有無に関わらず病理解剖に供した牛の鼻腔スワブ及び肺（病理解剖材料：各 90 検体）を用いた。全 290 検体について分離培養及び qPCR を実施し、分離培養と qPCR 成績を比較した。また、Mb 遺伝子量と農場の感染状況との関連性（農場採材材料）及び肺炎発症との関連性（病理解剖材料）を検証した。qPCR については、簡便かつ短時間で DNA 抽出可能な市販のキットを用いて野外材料の DNA を抽出し、Mb を特異的に短時間で検出する qPCR 系により Mb の遺伝子量（CFU/mL）を測定した。

分離培養と qPCR 成績の比較では、分離陽性 32 検体中 31 検体が qPCR 陽性で、陽性一致率は 96.9%、分離陰性 258 検体中 234 検体が qPCR 陰性で、陰性一致率は 90.7%であり、qPCR は分離培養より感度が高いことが判明した。農場の感染状況との関連性では、Mb 遺伝子陽性率 50%以上の 4 農場は、50%未満の 4 農場より平均遺伝子量が高く、遺伝子量  $10^5$  以上の検体が必ず存在した。肺炎発症との関連性では、qPCR 陽性 18 頭のうち、肺に特徴病変があったものを Mb 肺炎牛として解析したところ、Mb 肺炎牛 11 頭は Mb 肺炎ではない 7 頭より鼻腔スワブの平均遺伝子量が有意に高く、 $10^6$  以上の場合、有意に高い確率で Mb 肺炎牛と判定された。以上から、鼻腔スワブ遺伝子量が  $10^5$  以上の牛が存在する農場では、農場内で広範に Mb が浸潤している可能性があり、 $10^6$  以上の牛は肺炎を発症している危険性があると推測された。現行法である分離培養とコンベンショナル PCR のおおよその所要時間は、それぞれ 3 日～8 日、3 時間半であるが、本検査系の場合、鼻腔スワブからの遺伝子抽出とリアルタイム PCR の所要時間は約 2 時間半であり、分離培養より迅速に、Mb 肺炎発症の有無を推定可能と思われる。

#### ウ 豚大腸菌症の診断に有用な採材部位の比較検討（令和 2～4 年度）

**目的：**豚大腸菌症は、病原性大腸菌により下痢を呈する疾病であり、新生豚及び離乳豚に好発し、新生豚では死亡率が高く、離乳豚では死亡率は低いものの回復後も発育が遅延するため経済的被害が大きい。診断は、細菌培養試験、毒素検査及び定着因子の検査が中心となるが、大腸菌は常在菌であり、腸管は死後変化の影響を受けやすい部位であるため、菌量での判断や病理組織検査での診断が困難である。また、病理検査材料や小腸内容物の詳細な採材部位が限定されていないため、一律な診断指標がない。そこで、病原性大腸菌の関与が疑われる死亡豚等を用いて病理組織検査及び細菌培養試験等に供する腸管採材部位を設定し、効率的かつ適切に診断可能な採材部位を検討し診断精度向上を図るとともに、農場へのより適切な指導へとつなげる。

**内容：**病性鑑定に供した豚 10 頭について、腸管 5 か所（十二指腸、空腸上部、空腸下部、回腸及び結腸）の腸内容物を採取し、細菌学的検査（細菌培養試験、毒素検査及び定着

因子の検査)を実施し、同部位の病理組織学的検査を実施した。部位毎に大腸菌群数を測定したところ、空腸上部、空腸下部及び回腸で菌数が多い傾向がみられ、病原性大腸菌(β溶血性を示す大腸菌)は空腸下部及び回腸で多い傾向がみられた。結腸の大腸菌群数は豚大腸菌症の診断基準値以下であったものの、病原性大腸菌が多数を占めていた。また、各部位から分離された56菌株について、遺伝子検査により毒素因子(LT、ST及びStx2e)及び定着因子(F18、F4、F5、F6、F41及びeae)の保有状況を検査した結果、Stx2e(21/56株)、F18(43/56株)であり、その他因子は保有していなかった。病理組織学的検査では、豚大腸菌症との診断には至らなかった。今後は症例数を重ねて検証するとともに、免疫組織化学的手法を活用した診断についても検討する。

## エ 牛呼吸器病バイオマーカーによる病勢評価の確立(平成30～令和2年度)

目的：牛の呼吸器病症候群(BRDC)は、様々な病原微生物の混合感染やストレスによる免疫状態の低下により発生する複合感染症で、大きな経済的損失を引き起こすことが大きな問題となっている。BRDC発生時には、被害低減のために早期発見・早期治療が重要であることから、呼吸器病の病態を迅速かつ的確に示す指標が求められている。平成26～28年度の試験成績から炎症の指標であるハプトグロビン、ウイルス感染の指標であるMxタンパク、肺特異的炎症の指標である肺サーファクタントプロテインAがBRDCの早期診断指標として有用であることを示した。早期診断後に、必要な処置を的確に判断するためには、病気に対する抗病力や免疫状態等を含めた病勢を評価することが必要であることから、新たにバイオマーカーを追加し、総合的に病勢の評価について検討し、対策の一助とする。

内容：肺材料と末梢血単核球(PBMC)から遺伝子を抽出し、バイオマーカー遺伝子(NKリシン、気管抗菌ペプチド、グラニューライシン等)の測定方法を確立。肺とPBMCの両方で検出可能で、呼吸器病に関連した病態で顕著な変動が認められたNKリシンを病勢評価用のバイオマーカーとして選定した。

病性鑑定を行った肺(68頭)の遺伝子量を測定したところ、病理組織学的に化膿性気管支肺炎と診断された肺のNKリシン遺伝子発現量( $2714.0 \pm 700.8$ )は、正常肺( $705.3 \pm 182.1$ )よりも高い遺伝子発現量を示し、胸腺低形成を示し免疫低下状態と考えられた個体の肺( $103 \pm 0.05$ )は、正常肺よりも低い遺伝子発現量を示した。また、BRDCが多発する冬季に預託牧場に導入された子牛のNKリシン遺伝子発現量の推移を経時的に測定したところ、導入時に両群に差は認められなかったが、治療群で増加が認められた。そこで、個体ごとのNKリシン遺伝子発現量の最大値を調べたところ、治療群( $2523.3 \pm 950$ )は、健康群( $1155.2 \pm 227.3$ )よりも高い遺伝子発現量を示した。また、一般農場で健康畜のNKリシン遺伝子量を測定したところ、胸腺の発達が未熟な子牛で低値( $5.3 \pm 1.3$ )を認めた。

以上、NKリシンは呼吸器病の病勢や免疫状態に応じて変動することから、要治療個体の判断に有用であり、早期に治療等の対策をとることによりBRDCによる生産性低下の抑制が期待できると考えられた。



# 1 つなぎ飼い酪農家における牛伝染性リンパ腫ウイルスの清浄化事例

県央家畜保健衛生所

米山 州二、齊藤 かおり、小笠原 悠、山口 修

## はじめに

牛伝染性リンパ腫 (BL) は、牛伝染性リンパ腫ウイルス (BLV) 感染を起因とする地方病性牛伝染性リンパ腫 (EBL) と散発性牛リンパ腫 (SBL) に大別される<sup>1)</sup>。家畜伝染病予防法において監視伝染病に指定されている BL の発生数は年々増加傾向にあり、1 年あたりの発生数は 1999 年の 169 頭から 2019 年の 4, 113 頭と、直近 20 年で 20 倍以上に増加し<sup>2)</sup>、そのほとんどが EBL によるものと考えられている。これら EBL 発生数急増の要因には BLV 感染牛の増加があげられ、過去の全国的な感染状況調査における抗体陽性率は、1980 年から 1982 年の調査では乳用牛 4.0%、肉用牛 6.7% であったのに対し、2009 年から 2011 年の調査では乳用牛 40.9%、肉用牛 28.7% まで上昇していたことが報告されている<sup>3)</sup>。本県においても家畜伝染病予防法第 5 条に基づくヨウネ病検査等の残余血清を用いて BLV の浸潤状況調査を実施しており、2016 年から 2018 年に採取した 611 戸 18, 636 検体の検査では、乳用牛 53.5%、肉用牛 29.7% が抗体陽性を示した。さらに、抗体陽性牛が確認された農場は、酪農家 94.0%、繁殖和牛農家 53.2% で、そのうち陽性率 60% を超える農場は酪農家 50.6%、繁殖和牛農家 20.6% と、特に酪農経営における浸潤度が高い傾向が認められた。このような高度汚染農場では感染牛を全て更新することは不可能で、農林水産省から示された「牛白血病に関する衛生対策ガイドライン (以下、ガイドライン)」<sup>4)</sup>に基づく感染防

除対策も多岐にわたる上、取組を長期的に継続する必要がある、清浄化達成は容易ではない。このような状況の中、県内の BLV 清浄化対策を推進させていくためには、高度汚染農場に対して経済的負担が少なく早期清浄化が可能な取組方法や清浄化モデルを提示することが重要である。そこで、今回、搾乳牛の 80% 以上が感染牛と判定されたつなぎ飼い酪農家において、約 4 年半にわたる取組の結果、BLV 清浄化を達成したのでその概要を報告する。

## 材料及び方法

### 1 農場の概要

搾乳牛 30 頭、子牛及び育成牛 20 頭程度を飼養する酪農経営で、搾乳牛は対頭式つなぎ牛舎、子牛は子牛ペン、育成牛は育成舎で飼養されていた (図 1)。また、農場内にはパドックがあり、搾乳牛は毎日夕刻に放牧していた。当該農場では 2014 年 11 月の検査で一部の搾乳牛 10 頭のうち 7 頭が抗体陽性を示したことから BLV 対策について当所に相談があり、年 2 回程度の全頭検査を行いつつ、清浄化を目指すこととなった。

### 2 検査方法及び伝播リスクの評価方法

2015 年 7 月から 2020 年 5 月にかけて、97 頭延べ 396 検体の血液を採取し、これらについて Konishi ら<sup>5)</sup>による報告に準じて血中プロウイルス遺伝子量 (PVL) を測定し、DNA100ng あたりのコピー数を算出した。また、抗体検査は市販エライザキット (牛白血病エライザキット、(株)ニッポンジーン、東京) を用い

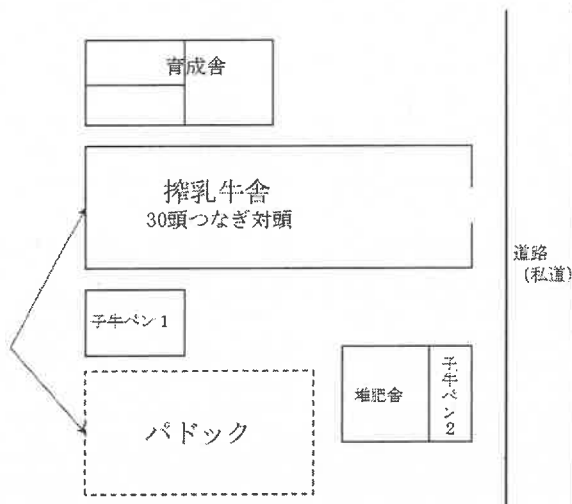


図1 農場全体図

て実施し、血球計算は全自動血球計数機 (Celltac Alpha MEK-6450、日本光電工業(株)、東京)により行った。なお、当該農場における感染牛の伝播リスクは経時的な PVL の平均値から推定し、10,000 コピー以上を高リスク、500 コピー未満を低リスク、それ以外を中リスクと評価し、畜主へ検査成績を報告する際には高リスク牛を赤、中リスク牛を黄、低リスク牛を青で示し、視覚的に判別できるよう配慮した。さらに、2017 年から飼養牛計 77 頭について PCR-Sequence based typing 法により *BoLA-DRB3* 遺伝子の対立遺伝子 (アリル) を決定し、ホルスタイン種の抵抗性アリルと推定される \*0902 又は \*14011 を保有し<sup>6)</sup>、かつ PVL が 500 コピー未満の牛をより信頼性の高い低リスク牛として抵抗性牛と定義した。

### 3 取組の概要

#### (1) 感染牛の更新

経営的に無理の生じないように、高リスク牛だけを優先せず、供用年数や生産性を考慮しながら定期的に感染牛を更新することに努めた。

#### (2) 非感染後継牛の確保

感染母牛における胎盤感染の頻度を低減させることを目的として、非感染又は高リス



図2 吸血昆虫対策

ク牛以外の牛を対象に雌の性選別精液による人工授精を実施し、多くの非感染後継牛を早期に確保することに努めた。2017 年からは非感染牛のみから後継牛を確保する方針とした。

#### (3) 子牛での感染防止対策

初乳は未処理給与から市販製剤の給与に切り替え、非感染子牛の飼養区画を新設し (図1における子牛ペン2)、さらに全ての非感染子牛は BLV 抗体陰性が入牧条件である県内公共牧場に預託した。

#### (4) 搾乳牛での感染防止対策

2017 年春から農場内パドックでの搾乳牛の放牧を完全に中止し、さらに5月からは搾乳牛舎で感染牛と非感染牛を完全分離飼育し、その境界には抵抗性牛を防壁として配置した。また、抵抗性牛を全て出荷した後の対策として、抵抗性アリルを保有した非感染牛を防壁として活用した。

#### (5) 吸血昆虫対策

夏季 (6~10 月末) に入口を除く搾乳牛舎周囲に防虫ネット (網目 2~4mm) を設置し、ネットには定期的にペルメトリン製剤希釈液を動力噴霧器で噴霧した。また、サシバエ対策として捕獲装置 (モウ安心、有限会社サンパック、鳥取) を搾乳牛舎内及びカーフペン

表1 出荷頭数と更新率及び事故率の推移

感染牛/非感染牛	出荷/死亡	年					計	
		2015*	2016	2017	2018	2019		2020
感染牛 (頭数)	出荷	1	7	9	7	8	1	33
	死亡	2	3	0	2	0	0	7
非感染牛 (頭数)	出荷	0	0	0	1	4	8	13
	死亡	0	0	1	1	1	0	3
更新率 (%)		—	22.6	31.0	29.6	41.4	39.1	—
事故率 (%)		—	9.7	3.4	11.1	3.4	0	—

\*10月から

表2 母牛のPVLとその子牛検査成績

No.	母牛の平均PVL (/100ngDNA)	子牛	
		検査日齢	感染状況
1	53,236	35	+
2	48,667	51	+
3	17,247	34	—
4	11,568	56	+
5	6,172	4	—
6	4,440	31	+
7	4,440	17	—
8	1,703	24	—
9	240	44	+
10	240	3	—
11	9	10	—

表3 感染牛のBoLA-DRB3アレル出現傾向

BoLA-DRB3アレル	出現数	出現率 (%)	平均PVL (/100ngDNA)		平均リンパ球数 (×100/μl)
			上段	下段 (最小値-最大値)	
*0902	1	3.8	9	—	38.7
*1001	6	23.1	17,381	(1,703-53,236)	61.0
*2703	4	15.4	19,028	(6,172-41,484)	50.2
*14011	6	23.1	24,542	(9-53,236)	50.3
*1101	11	42.3	26,988	(1,703-63,365)	65.6
*0101	11	42.3	36,822	(240-88,352)	71.4
*1201	2	7.7	59,589	(48,667-70,511)	79.0
*1501	5	19.2	64,980	(17,247-87,312)	93.5

\*感染牛29頭のうち、PVLを複数回測定した26頭の成績

付近に設置した(図2)。

### 結果

2015年10月から2020年5月の出荷頭数は、非感染牛13頭に対して感染牛33頭で、特に2016年から2019年の4年間に感染牛31頭が出荷された。搾乳牛の年間更新率は2017

年に30%を超え、2019年には41.4%と最高値を示した(表1)。

子牛検査では、計45頭中5頭(11.1%)が感染牛と判定された。そのうち、非感染母牛から出生した34頭は全て非感染牛であったのに対し、感染母牛から出生した11頭では5頭(45.5%)が感染牛と判定された。また、平均PVLが10,000コピーを超える高リスクの母牛から出生した子牛の感染は4頭中3頭(75.0%)で、より高頻度に認められた(表2)。なお、2018年以降に出生した子牛で胎盤感染を疑う個体は確認されなかった。

2017年から実施したBoLA-DRB3タイピングでは、感染牛29頭のアレルを決定し、そのうち、PVL測定を複数回実施した26頭における各アレルの出現傾向を表3に示したが、特に\*0902を保有する個体ではPVLは著しく低値に抑制され、リンパ球数も低い傾向となった。一方、BLV感染を受けるとPVLが高値となる傾向とされる感受性アレル\*1201及び\*1501を保有する個体は全て10,000コピー以上の高リスク牛及び持続性リンパ球増多症であった。

搾乳牛舎では、2015年夏季に3頭の陽転牛が確認され、搾乳牛の感染率は82.8%と最高値となった(図3)。陽転牛①は感染牛Aから、陽転牛②は感染牛Bから、陽転牛③は感染牛

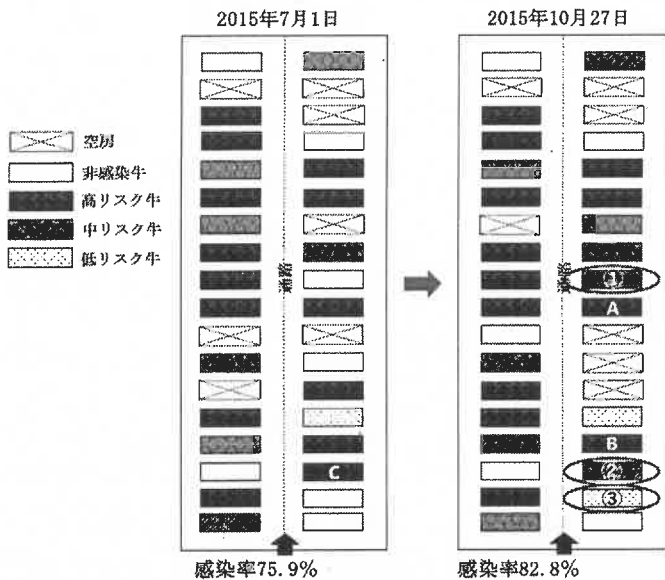


図3 2015年における搾乳牛舎の感染動態

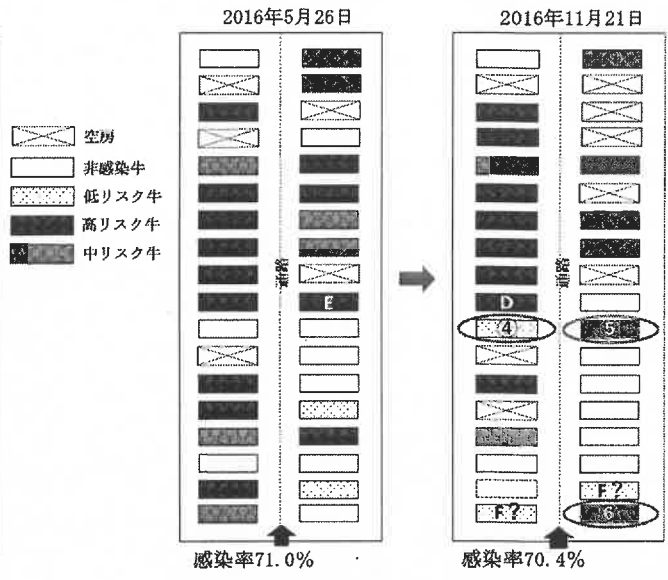


図4 2016年における搾乳牛舎の感染動態

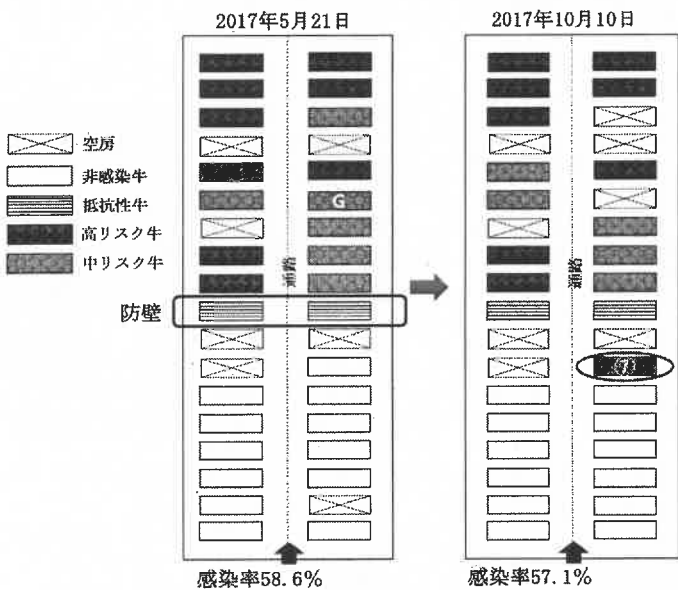


図5 2017年における搾乳牛舎の感染動態

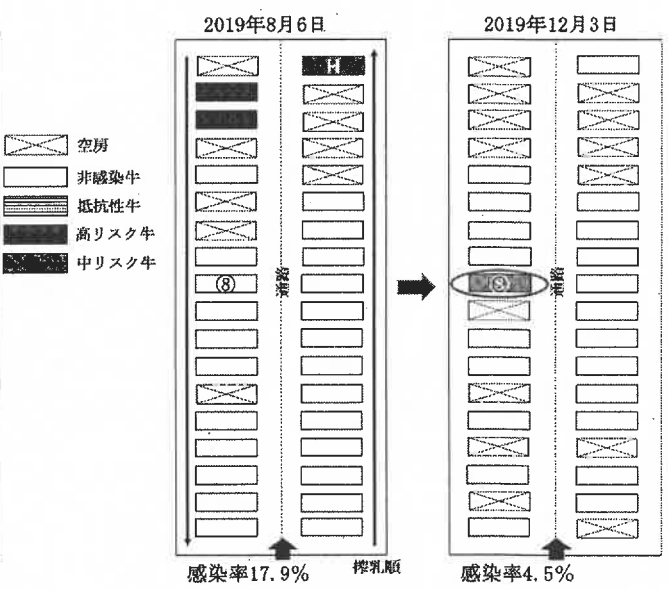


図6 2019年における搾乳牛舎の感染動態

C (2015年8月まで牛③と隣接) 又は陽転牛②から感染を受けたと考えられ、いずれも高リスク牛と隣接歴のある牛であった(図3)。

2016年夏季にも3頭の陽転牛が認められたが、感染牛の更新が進み、感染率は70.4%まで低下した(図4)。陽転牛④は感染牛D、陽転牛⑤は感染牛E(2016年9月まで牛⑤と隣接)と、いずれも高リスク牛から感染を受けたと推定されたが、陽転牛⑥は高リスク牛との隣接歴はなく、低リスクの感染牛Fから感染あるいはパドック内での感染が疑われた

(図4)。

2017年夏季は、感染牛と非感染牛を完全分離飼育し、その境界に防壁として抵抗性牛を配置したにもかかわらず、1頭の陽転牛を認めた(図5)。陽転牛⑦の10月10日時点における検査成績はPCR法陽性及びELISA法陰性であり、少なくとも1か月以内に感染を受けたことが推定された。聞き取り調査の結果、感染牛Gは起立困難を呈したことから、出荷までに完全に起立不能となることを避けるため、9月28日から10月4日にかけて牛舎内

表4 搾乳牛舎における陽転率の推移

年	分離飼育なし		完全分離飼育		
	2015	2016	2017	2018	2019
搾乳牛舎の陽転率 (%)	42.9	33.3	7.7	0	4.3

で放し飼いをしていたことが判明した。この感染牛Gは頻繁に非感染牛区画に立ち入り、陽転牛⑦に隣接した空房に侵入していたことが目撃されていた。したがって、陽転牛⑦は感染牛Gから感染を受けたものと判断し、陽転牛⑦は10月11日に感染牛区画へ移動した(図5)。2018年には陽転牛は認められず、感染率は30.8%まで低下した。

2019年12月には、これまで確認された感染牛の出荷が全て終了し、清浄化を目前にした検査にて1頭の陽転牛が確認された(図6)。当該農場はパイプラインミルクユニット5機で搾乳しており、8月から10月頃にかけて陽転牛⑧を搾乳するユニットは直前に感染牛Hを搾乳していた。さらには、当時、感染牛Hは生乳中に凝固物が生じており、乳房炎を疑う症状を呈していたことが分かった。人為的な感染は疑われず、陽転牛⑧は感染牛との隣接歴が全くないことから、陽転牛⑧はミルクを介して感染牛Hから感染を受けたものと推定した。その後、陽転牛⑧は速やかに最も奥の空房に移動させ、搾乳順を最後とした(図6)。

搾乳牛の完全分離飼育を開始した2017年以降、搾乳牛舎における陽転率は0~7.7%で推移し、分離飼育前の33.3~42.9%と比較して大きく低減された(表4)。従来からの感染牛の計画的な更新に加え、非感染牛からの後継牛確保やパドック放牧中止等の取組が強化された2017年以降、感染率は顕著に低下し続け、子牛及び育成牛では2018年11月に感染育成牛を相対取引にて売却処分して感染牛は

0頭となり、搾乳牛においても2020年5月に最後の感染牛の出荷が終了し、同月27日の全頭検査にて清浄化達成を確認した(図7)。

#### まとめ及び考察

当該農場における特徴的な取組として、早期から胎盤感染による感染子牛の出生を危惧し、雌の性選別精液を活用して可能な限り非感染牛から後継牛を確保する方針としたことがあげられる。非感染母牛の増加により2017年には非感染牛のみから後継牛を確保する体制が整い、2018年以降に出生した子牛では胎盤感染を疑う事例は認められなかった。Mekataら<sup>7)</sup>は、母牛のPVLが高いほど胎盤感染又は産道感染の頻度が増し、発生率はDNA100ngあたり4,000コピー未満の母牛で9.4%、4,000コピー以上の母牛では48.2%と報告している。当該農場でも感染母牛から出生した子牛の45.5%が感染牛と判定されたものの、子牛全体での感染率は11%程度であり、当初における母牛の感染率を考慮すると、効果的に胎内感染の発生を低減できたと考えられた。長田ら<sup>8)</sup>が2014年に実施した県内酪農家255戸に対するアンケート調査では、40.8%の農場が性選別精液の利用経験があると回答しており、現在では一般的な技術として確立されている。性選別精液の主な用途は、近年の乳用初妊牛や肉用素牛の価格高騰を受けた後継牛の導入経費削減や肉用子牛の市場出荷による高収益化であるが、BLV清浄化対策においても、高度汚染農場での少ない非感染牛から効率的に多くの非感染後継牛を生産できる有用な技術と思われた。

また、子牛への対策として、感染子牛と非感染子牛を飼養する区画を完全に分け、さらには全ての非感染子牛は6~8か月齢で県内

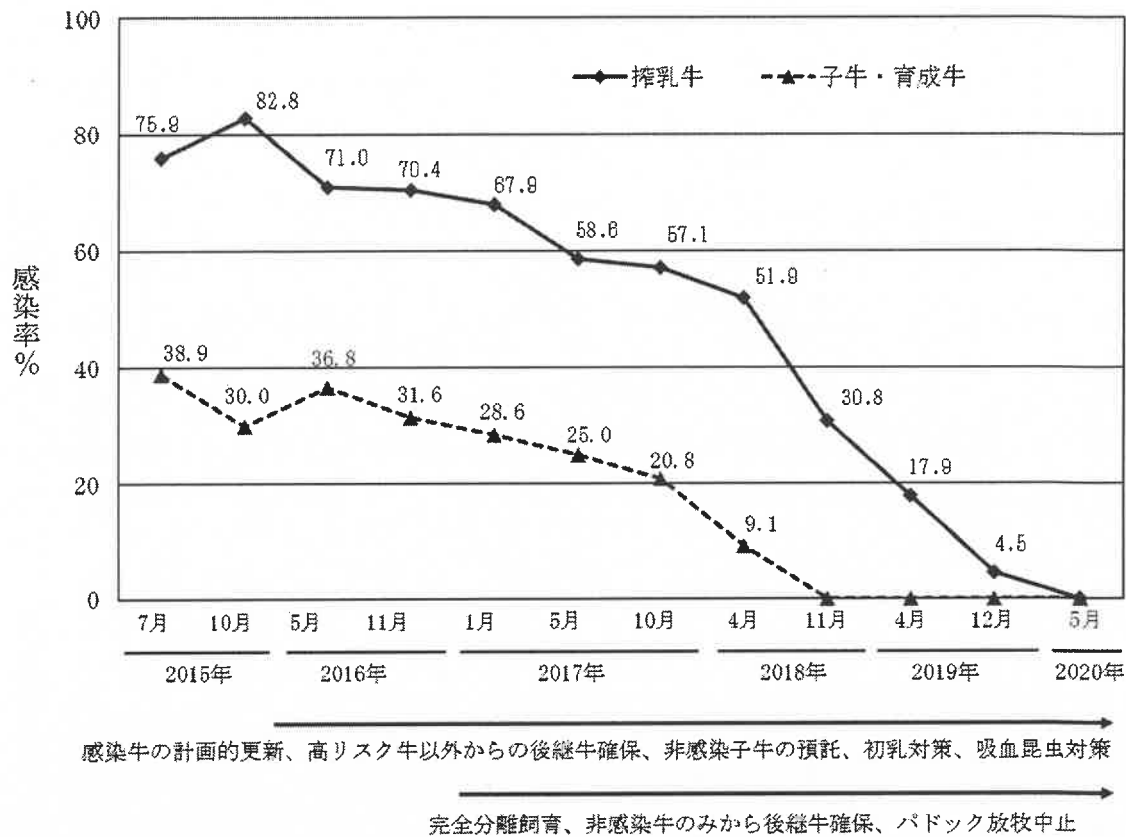


図7 搾乳牛及び子牛・育成牛における感染率の推移

公共牧場に預託することで子牛間の感染を遮断でき、搾乳牛舎における取組に集中することができた。ガイドラインでは育成パドックでも区画を分けて感染牛を分離飼育することを推奨しているが、労力や経費を考慮すると、非感染牛と感染牛の分離放牧や入牧前後にBLV検査を実施するなど、徹底した対策を講じている公共牧場等に非感染牛又は感染牛を全て預託することも選択肢の一つと考えられた。

感染牛の更新は、水平感染のみならず、胎盤感染の機会を低減させる上でも有効であったと考えられた。当該農場では2016年から積極的に感染牛の出荷を継続し、計33頭を更新したが、搾乳牛更新率は2016年の22.6%から30%以上で推移し、2019年には40%を超えた。全国的な平均更新率はおよそ24%と想

定され<sup>9)</sup>、感染牛の更新が農場経営に影響を与えていた可能性は否定できない。しかし、当該農場では、国の家畜生産農場衛生対策事業による感染牛とう汰に係る助成を計8頭で受けており、経営被害は少なからず軽減されていると思われた。

BLV感染牛のPVLレベルを制御する宿主因子として、ウシMHC (BoLA) クラスII遺伝子型の関与が提言されている。これまでにBoLA-DRB3遺伝子は136種のアリルが報告されており、中でも\*0902アリルを有する牛は、BLVに感染してもPVLが低値に抑制されることが報告されている<sup>10-14)</sup>。当該農場の感染牛で\*0902アリルの発現を認めたのは1頭のみであったが、既報のとおり極めて低いPVLで推移した。同様にTakeshimaら<sup>6)</sup>がPVLを高値に制御する感受性アリルと報告している

\*1201又は\*1501を発現した全感染牛のPVLは高値のまま推移した。感染牛の伝播リスクはPVL測定のみでも評価可能であるが、*BoLA-DRB3* タイピングの特長として非感染牛の感染後の伝播リスクを推定できることがあげられる。すなわち、非感染牛の*BoLA-DRB3* タイピングにより\*0902を有する牛は感染を受けたとしても伝播リスクは極めて低いと想定され、当該農場における対応策と同様、抵抗性牛が存在しない場合には感染牛との防壁として代替可能であり、感受性アリルを有する牛に対しては、最優先に感染防除することで高リスク牛の増加を防止することができる。また、胎盤感染を受けた出生直後の子牛のPVLは低値を示す傾向で、約1か月後にPVLが約10倍に上昇した個体が報告されており<sup>7)</sup>、新生子牛でのPVLによる伝播リスクの評価は困難である。一方で、新生子牛であっても*BoLA-DRB3* タイピングを実施することで伝播リスクを正確に推定することが可能と思われた。以上のことから、*BoLA-DRB3* タイピングはBLV清浄化対策に有用と考えられ、今後は家畜保健衛生所でも検査法の導入を検討していきたい。

吸血昆虫対策として牛舎等に防虫ネットやサシバエ捕獲装置を設置した効果については、設置前の陽転率が不明であることから言及できなかった。2015年の夏季にはガイドラインで示されているサシバエに効果のある網目2mmの防虫ネットを使用したところ、牛舎内温度が上昇し、暑熱被害の恐れもあることから翌年から網目4mmのネットに変更した。網目が大きくなったため、牛舎内へのサシバエの侵入も確認されたが、サシバエ捕獲装置を設置することで十分に対応可能であった。

搾乳牛舎における抵抗性牛を利用した完全

分離飼育については、非感染牛と感染牛の境界には空房も設けたことから、防壁としての抵抗性牛の効果判定は困難であった。しかし、感染牛の放し飼いや搾乳ミルカーを介した陽転は発生したものの、分離飼育期間中の陽転率は実施前と比較して著しく低下し、分離飼育の効果は極めて大きいことが改めて確認され、早期清浄化を達成するために必須の措置と思われた。

当該農場では2015年10月に搾乳牛の感染率が82.8%となり、約4年半にわたる取組を展開した結果、BLV清浄化を達成することができた。比較的早期に清浄化に至った要因として、農家の清浄化へのモチベーションを維持できたことが大きいと考えられた。早期から胎盤感染や子牛・育成牛の水平感染に着目したことで多くの非感染後継牛を確保でき、その結果、農場主の清浄化への自信が高まり、労力が大きく作業効率も低下する可能性がある搾乳牛の完全分離飼育やパドック利用の中止という大きな決断を引き出した。また、可能な限り陽転の原因を特定することに努めることで、失敗例から新たな対策を早急かつ円滑に展開することができた。

母牛の感染率が高い農場では、感染牛が妊娠する限り完全な防除が不可能である胎盤感染の発生が清浄化を長期化させる要因として大きいと推測される。したがって、高度汚染農場においては、胎盤感染が高頻度に発生する高リスク牛からの後継牛確保を避けることから着手し、徐々に非感染母牛のみから後継牛をとることが効果的と考えられた。また、高リスク牛の定期的な更新は水平感染のみならず、胎盤感染防止の観点からも重要であり、いずれの取組も早期から積極的に取り組むべきである。今回の報告はつなぎ飼い牛舎によ

るものであるが、これらの取組や公共牧場を活用した子牛間での感染防止対策はフリーストールやフリーバーンなどの飼養形態でも十分に応用可能と考えられた。吸血昆虫対策や搾乳牛舎での感染牛の完全分離飼育は上記の取組と同時期あるいは非感染後継牛の確保が進んだ段階で開始し、分離飼育後は可能な限り搾乳順の変更も検討するべきと考えられた。

以上のことから、つなぎ飼い酪農家では高濃度汚染農場でも早期清浄化が十分に可能であることを示すことができた。今後は本事例をモデルとしてフリーストール牛舎の酪農経営や和牛繁殖農家など様々な飼養形態における清浄化対策事例を蓄積しつつ、得られた成果を農家、臨床獣医師及び関係機関・団体と共有することが重要である。

#### 謝辞

本発表の一部は革新的技術開発・緊急展開事業（うち地域戦略プロジェクト）で得られた成果によるものです。BoLA-DRB3 タイピングの実施や御助言を賜りました国立研究開発法人理化学研究所の間陽子先生、陸拾七先生をはじめとした研究員の方々に深謝します。

#### 引用文献

- 1) Gillet N et al. *Retrovirology*. 4:18 (2007)
- 2) 農林水産省. 監視伝染病の発生状況. [cited 2021 Feb 1]. Available from [https://www.maff.go.jp/j/syouan/douei/kansi\\_densen/kansi\\_densen.html](https://www.maff.go.jp/j/syouan/douei/kansi_densen/kansi_densen.html)
- 3) Murakami K et al. *J Vet Med Sci*. 75 (8): 1123-1126 (2013)
- 4) 農林水産省. 牛白血病に関する衛生対策ガイドライン. [cited 2021 Feb 1]. Availab

le from [https://www.maff.go.jp/j/syouan/douei/pdf/ebl\\_guide.pdf](https://www.maff.go.jp/j/syouan/douei/pdf/ebl_guide.pdf)

- 5) Konishi M et al. *BMC Vet Res*. 14:419 (2018)
- 6) Takeshima S et al. *Retrovirology*. 16: 14 (2019)
- 7) Mekata H et al. *Vet Rec*. 7. 176 (10): 254
- 8) 長田雅宏ら. 農業経営研究. 54 (4):72-77
- 9) 中央畜産会. 平成30年度家畜生産性向上対策事業－生産技術成績の集計結果と指導現場での技術指導内容－. [cited 2020 Feb 2]. Available from [http://jlia.lin.gr.jp/data/2019/shien/seisansei/h30\\_zenkoku\\_chosa.pdf](http://jlia.lin.gr.jp/data/2019/shien/seisansei/h30_zenkoku_chosa.pdf)
- 10) Carignano HA et al. *Anim Genet*. 48: 420-430 (2017)
- 11) Hayashi T et al. *J Vet Med Sci*. 79:1552-1555 (2017)
- 12) Juliarena MA et al. *Anim Genet*. 39:432-438 (2008)
- 13) Juliarena MA et al. *J Dairy Sci*. 99:4586-4589 (2016)
- 14) Miyasaka T et al. *Tissue Antigens*. 81:72-82 (2013)



## 2 *Mycoplasma bovis* の迅速診断と定量分析を目的としたリアルタイム PCR 法の検証

県央家畜保健衛生所

加藤貴誉湖、戸崎香織、米山州二、小池新平  
県北家畜保健衛生所

赤間俊輔

畜産振興課

小島浩一

### はじめに

牛マイコプラズマ肺炎は、鼻腔等に常在する *Mycoplasma bovis* (以下 Mb)、*M. dispar*、*M. bovigenitalium* 等のマイコプラズマが<sup>1)</sup>、他の病原因子やストレスにより肺に移行し、カタル性炎や気管支間質性肺炎を引き起こす牛の伝染性疾患である<sup>2)</sup>。特に Mb は病原性が強く、単独感染であっても肺炎病巣を形成することから<sup>3)</sup>、Mb による肺炎を発症した場合、子牛では死亡もしくは発育不全に陥る。また、搾乳牛では回復困難な乳房炎を発症するため<sup>4)</sup>、農場内で Mb がまん延した場合の経済的損失は大きく<sup>5)</sup>、まん延防止のためには発症牛の早期隔離、テトラサイクリン系又はマクロライド系等の有効薬剤による早期治療が重要である。

農場内で Mb による呼吸器病発生を疑う場合、現行の診断法では、鼻腔スワブを材料としてマイコプラズマの分離培養を実施し Mb の関与を推定している。しかし、分離培養は菌種同定に 6~12 日間を要するため、早期に感染牛を特定できない。さらに肺炎発症牛と健康保菌牛を区別することが困難なため、適切な治療が選択できず、Mb の早期対策を妨げている。

そこで今回、Mb を標的としたリアルタイム定量 PCR 法 (qPCR) を確立し、分離培養より

も迅速に Mb 感染を判定することを目指し、加えて、鼻腔スワブ中の Mb 遺伝子量から肺炎発症の有無を推定可能かを検証したので、その概要を報告する。

### 材料と方法

#### 1 供試材料

各試験に供試した鼻腔スワブは、約 30cm の綿棒を用いて牛の鼻腔の奥まで挿入して粘膜を拭い、滅菌 PBS 2mL に浸漬した。

##### (1) 農場採材

33 農場で採取した 110 検体の鼻腔スワブを供試した。これらは、呼吸器症状を呈した牛だけでなく、農場によっては呼吸器症状を呈さない同居牛も採取対象とした。

##### (2) 病理解剖

呼吸器症状の有無に関わらず病理解剖を実施した、90 農場 90 頭の鼻腔スワブ及び肺の計 180 検体を供試した。肺については、病変部があった場合、病変部位と正常部位との境界を供試材料とした。

#### 2 方法

##### (1) 鼻腔スワブ及び肺からの DNA 抽出及び qPCR の反応条件

鼻腔スワブ及び肺からの DNA 抽出は、市販の抽出キット (DNeasy Blood&Tissue Kit, QIAGEN) を用い、キット付属のプロトコールに従い実施した。

また、遺伝子定量のための検量線に用いるスタンダード DNA は、以下のとおり作製した。

Mb(基準株 PG45)を NK 液体培地に接種し、37℃、好気条件下で培養、カラーチェンジ後に NK 寒天培地にて 72 時間、5%CO<sub>2</sub> 下で培養して Mb の菌量を測定し、培養後の NK 液体培地(菌液)が 10<sup>8</sup>CFU/mL となるよう調整した。調整した菌液について、抽出キットを用いて DNA を抽出し、抽出物をスタンダード DNA 原液(10<sup>8</sup>CFU/mL)として 10<sup>4</sup> まで階段希釈し、検量線とした。

qPCR のプライマーには、Mb の oppD 遺伝子の 3' 末端領域を標的とする既報のもの(Forward: 5' -TCAAGGAACCCCACCAGAT-3'、Reverse: 5' -AGGCAAAGTCATTTCTAGGTGCAA-3')<sup>6), 7)</sup>を用いた。qPCR の反応液は TB Green Premix Extaq II (TaKaRa) を 12.5μL、10μM のプライマー各 1μL、テンプレート DNA を 2μL、総量を 25μL とした。また、検量線と各検体は 1 穴のみの反応とした。PCR 装置には Thermal Cycler Dice® Real Time System TP800 (TaKaRa) を使用し、反応条件は Premix Extaq II のシャトル PCR 標準プロトコール(初期変性: 95℃ 30 秒、PCR 反応: 95℃ 5 秒、60℃ 30 秒 40 サイクル、融解曲線分析) どのりとした。

qPCR 成立条件は、決定係数 (R<sup>2</sup>) が 0.9 以上、PCR 効率が 80~120%、スタンダード DNA 原液のスレッシュホールド・サイクル (Ct) 値が 20±3 とし、解離温度 (T<sub>m</sub> 値) が 78.3~79.5 の範囲の検体を Mb 遺伝子検出(=qPCR 陽性) とした。遺伝子量は PCR 装置の自動解析により算出し、単位は CFU/mL とした。検体からの DNA 抽出から qPCR による遺伝子量測定までの所要時間は、2 時間 30 分であった。

また、表 1 に示した呼吸器病に関与する各

表 1 特異性を評価した細菌及びウイルス

微生物名
<i>M. bovis</i>
<i>M. bovirhinis</i>
<i>M. bovis genitalium</i>
<i>M. alkalescens</i>
<i>M. dispar</i>
<i>Acholeplasma laidlawii</i>
<i>Mannheimia haemolytica</i>
<i>Mannheimia varigena</i>
<i>Pasteurella multocida</i>
<i>Histophilus somni</i>
<i>Trueperella pyogenes</i>
<i>Escherichia coli</i>
<i>Salmonella</i> Typhimurium
ブドウ球菌
レンサ球菌
牛アデノウイルス

種細菌やウイルスを材料とした抽出 DNA について qPCR を実施し、本検査系の特異性を評価した。

## (2) 分離培養

各材料 300μL(肺は PBS10% 乳剤上清)を NK 液体培地にて好気条件下で 37℃、72~120 時間培養後、NK 寒天培地に接種して 37℃、5%CO<sub>2</sub> 下で 72~120 時間培養し、分離したマイコプラズマを NK 液体培地でカラーチェンジするまで培養した。培養液について、シカジーニアス DNA 抽出試薬(関東化学)を用いて遺伝子抽出後、コンベンショナル PCR を実施し<sup>8)</sup>、Mb 遺伝子の特異的増幅がみられた場合、分離陽性とした。

## (3) 病理組織学的検査

肺について、20%中性緩衝ホルマリンで固

定後、常法に従いパラフィン切片を作製し、ヘマトキシリン・エオジン（HE）染色を実施した。また、牛マイコプラズマ肺炎を疑う病変が存在した場合、グラム染色及び市販の免疫組織化学的検査キット（ニチレイ）を用いて抗 Mb 免疫家兎血清（動衛研）による免疫組織化学的検査を実施した。

### 3 検証内容

#### （1）qPCR と分離培養成績の比較

供試材料全 290 検体（鼻腔スワブ 200 検体、肺 90 検体）について、qPCR と分離培養を実施し、その成績を比較した。

#### （2）農場の感染状況との関連性

農場採材材料について、qPCR 陽性個体が存在した農場における qPCR 陽性率と鼻腔スワブ遺伝子量の関連性を調査した。

#### （3）肺炎発症との関連性

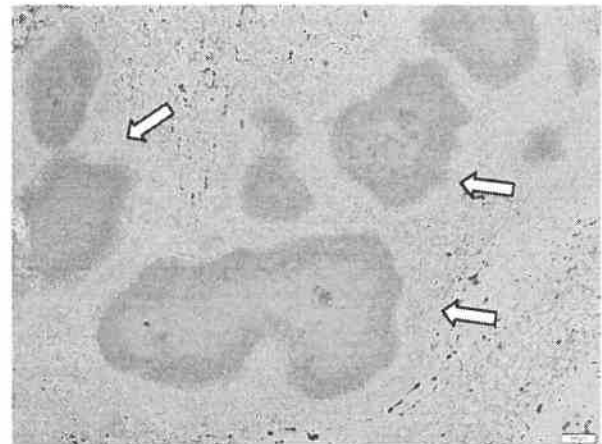
病理解剖材料について、鼻腔スワブもしくは肺において qPCR 陽性、かつ肺に Mb による牛マイコプラズマ肺炎の特徴病変（図 1）がみられた牛を、Mb による牛マイコプラズマ肺炎（Mb 肺炎）発症牛と定義し、鼻腔スワブ遺伝子量との関連性を解析した。

### 4 統計解析

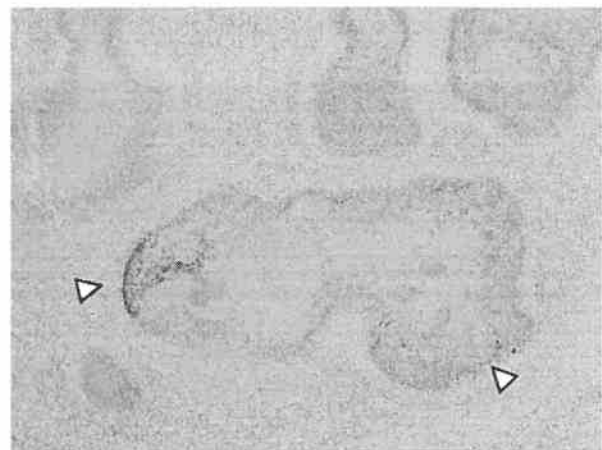
病理解剖材料の鼻腔スワブから得られた遺伝子量に関して実施した。平均遺伝子量の比較では Mann-Whitney の U 検定を行った。また、遺伝子量毎に分類した 3 群における Mb 肺炎と判定した割合の比較では、Fisher の正確検定を行い、多重比較には、Bonferroni 法を用いた。

#### 結果

qPCR の特異性の評価では、Mb について、 $T_m$  値が 79.02~79.31 の範囲で増幅が認められた。また、Mb 以外の細菌及びウイルスについては、増幅が認められなかったか、もしくは、



A



B

A: 肺 HE 染色像

(矢印：細気管支の凝固壊死巣)

B: 肺 抗 Mb 免疫染色像 (矢頭: Mb 抗原陽性)

図 1. Mb 肺炎の特徴病変例

$T_m$  値が 76.63~76.79 の範囲での増幅が認められた。

#### 1 qPCR と分離培養成績の比較

分離陽性 32 検体中 31 検体が qPCR 陽性となり、陽性一致率は 96.9%であった。また、分離陰性 258 検体中 234 検体が qPCR 陰性で、陰性一致率は 90.7%であった（表 2）。qPCR 陽性を示した 55 検体のうち、遺伝子量  $10^4$  未満では 11 検体中 10 検体（90.9%）、 $10^4$  以上では 44 検体中 14 検体（31.8%）が分離陰性となった。

表2 qPCR及び分離培養成績

qPCR/分離培養	分離培養		計
	+	-	
qPCR +	31	24	55
qPCR -	1	234	235
計	32	258	290

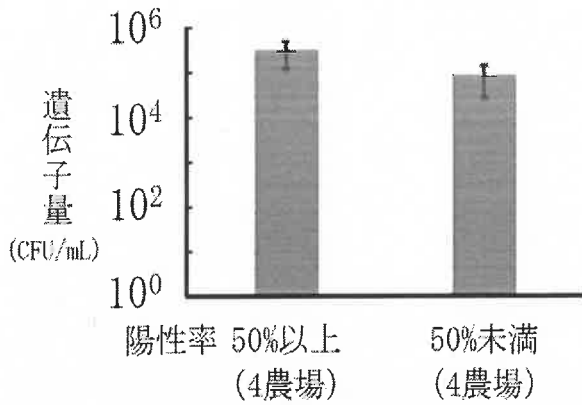


図2 複数検体検査8農場のqPCR陽性率と鼻腔スワブ平均遺伝子量

## 2 農場の感染状況との関連性

33農場110検体の鼻腔スワブのうち、qPCR陽性を示したのは13農場24検体で、その遺伝子量は $1.3 \times 10^3 \sim 1.4 \times 10^6$ に分布し、平均遺伝子量は $2.1 \times 10^5$ であった。また、qPCR陽性13農場のうち、複数検体を検査した8農場における平均遺伝子量は、陽性率50%未満の4農場の $8.6 \times 10^4$ に対し、陽性率50%以上の4農場では $3.0 \times 10^5$ と高い傾向を示した(図2)。

$10^5$ 以上の遺伝子量を示した検体は、陽性率50%未満の農場では1検体のみであったが、陽性率50%以上の農場では計6検体で確認され、各農場に1検体以上存在していた(図3)。

## 3 肺炎発症との関連性

肺もしくは鼻腔スワブでqPCR陽性を示したのは90頭中18頭であり、そのうち、Mb肺炎と判定されたのは11頭、Mb肺炎なしとさ

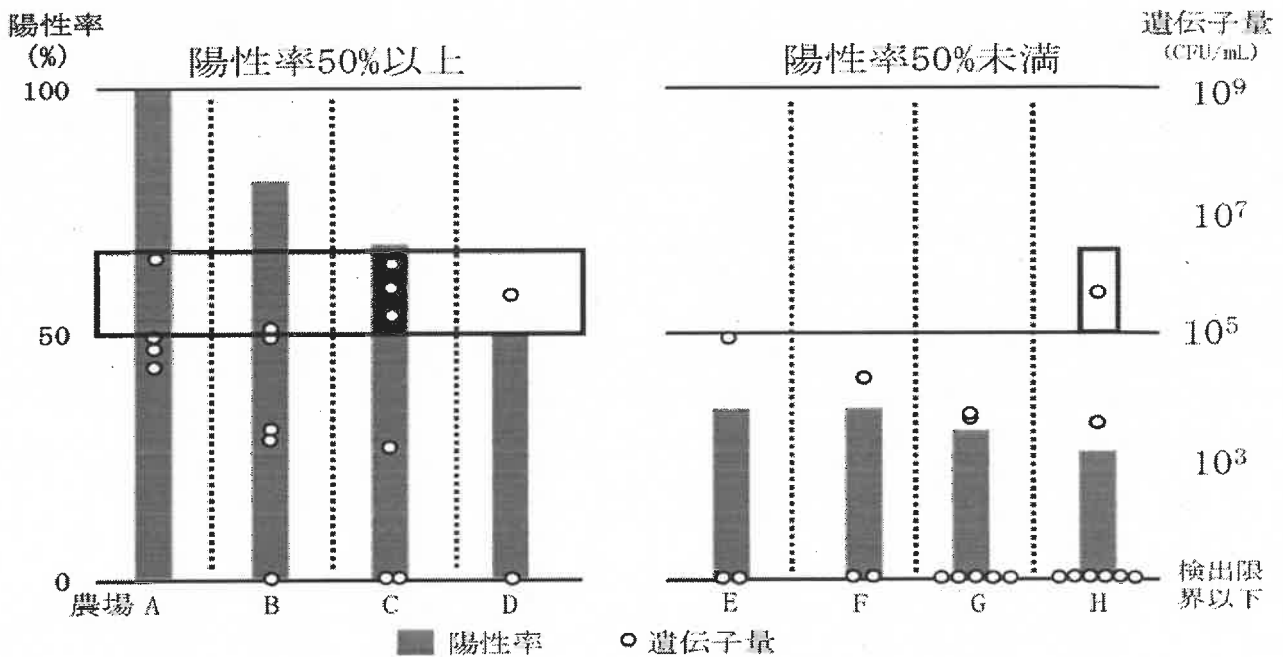


図3 複数検体検査8農場のqPCR陽性率と鼻腔スワブ遺伝子量の分布

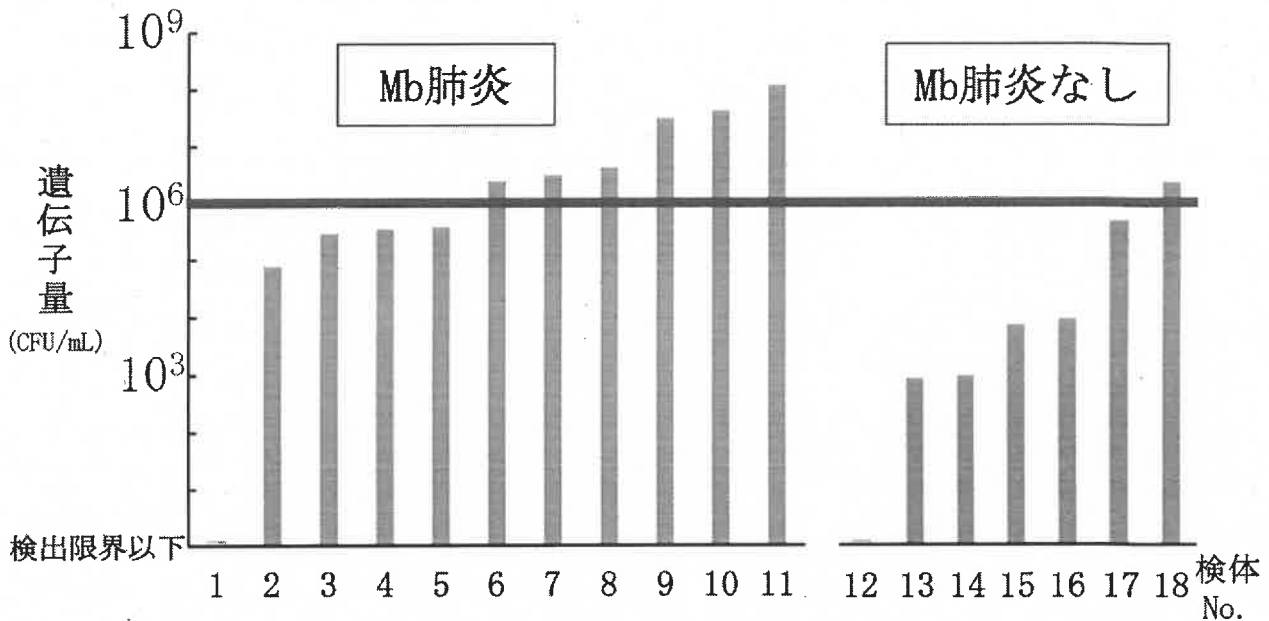


図4 Mb肺炎の有無と鼻腔スワブ遺伝子量

表3 鼻腔スワブ遺伝子量とMb肺炎の割合

鼻腔スワブ遺伝子量 (CFU/mL)	Mb肺炎 (頭数)		Mb肺炎の割合 (%)
	あり	なし	
10 <sup>4</sup> 未満	1	5	16.7
10 <sup>4</sup> 以上10 <sup>6</sup> 未満	4	1	80.0
10 <sup>6</sup> 以上	6	1	85.7

れたのは7頭で、鼻腔スワブの平均遺伝子量は、それぞれ  $1.9 \times 10^7$ 、 $3.9 \times 10^5$  となり (図4)、Mb肺炎の方が有意に高かった ( $p < 0.05$ )。また、Mb肺炎なしと判定された検体では、鼻腔スワブの遺伝子量が  $10^6$  を超えた検体が7頭中1頭のみであったことから、Mb肺炎と判定される境界は  $10^6$  付近と推定された。

そこで、qPCR陽性を示した18検体について鼻腔スワブの遺伝子量毎に、 $10^4$  未満、 $10^4$  以上  $10^6$  未満及び  $10^6$  以上の3つに分類し、Mb肺炎と判定された割合に差があるかを比較したところ (表3)、Mb肺炎と判定された割合は、 $10^4$  未満 (16.7%) と比較して、 $10^4$  以

上  $10^6$  未満は80%、 $10^6$  以上は85.7%と高く、特に  $10^6$  以上でMb肺炎と判定された割合が有意に高かった ( $p < 0.05$ )。

#### まとめ及び考察

qPCRの特異性の評価では、Mb以外の病原体について特異的な増幅がみられなかったため、本検査系はMbを特異的に検出することが可能であった。

qPCRと分離培養成績の比較では、分離陽性であれば、qPCRでほぼすべての検体からMbの遺伝子を検出可能であると推定された。また、qPCR陽性検体の半数以上が分離陰性で、特に遺伝子量  $10^4$  未満の場合、90%以上が分離陰性となったことから、qPCRは分離培養より感度が高く、遺伝子量から推定した分離培養の検出限界は  $10^3$  付近と考えられた。以上のことから、今回確立したqPCRの検査系は、分離培養より高感度かつ迅速にMb感染を判定可能であり、農場内のMb感染状況を把握するスクリーニング検査として有用と思われた。

なお、分離陽性で qPCR 陰性となった検体が 1 検体存在したこと、qPCR は死菌を検出する可能性もあることから、牛マイコプラズマ肺炎の確定診断には現行の診断法である分離培養を併用することが必要と考えられた。

農場の感染状況と鼻腔スワブ遺伝子量の関連性では、遺伝子量の分布及び平均鼻腔スワブ遺伝子量から、 $10^4$  以上の個体で Mb が呼吸器症状に関与していると思われた。したがって、 $10^4$  以上の遺伝子が検出された牛に対しては、早期に Mb に有効な薬剤による治療を実施することで、農場内でのまん延防止に寄与するものと考えられた。加えて、鼻腔スワブ遺伝子量は、陽性率が高い農場で高い傾向にあり、陽性率 50% を超える農場では遺伝子量が  $10^5$  以上を示す検体が必ず確認された。このことから、 $10^5$  以上の遺伝子量を示す個体は、農場内に Mb が広く浸潤する目安と推定され、無症状の同居牛についても qPCR を実施することで感染状況を早期に把握し、必要に応じて群単位での薬剤による治療や隔離を行うことも検討すべきと思われた。

また、肺炎発症と鼻腔スワブ遺伝子量の関連性では、Mb 肺炎と判定された牛は Mb 肺炎ではない牛よりも鼻腔スワブの遺伝子量が有意に高く、 $10^6$  以上が Mb 肺炎発症の目安と推定された。以上のことから、本検査系は鼻腔スワブの分離培養では不可能であった Mb 肺炎発症の有無を推定可能であることが期待され、鼻腔スワブから得られた遺伝子量は適切な治療方針の指標となり得るものと思われた。今後はさらに成績を蓄積していくことに加え、肺炎発症の目安以上の遺伝子量を検出する個体について、鼻腔スワブ遺伝子量の経時的な推移を調査し、臨床症状を含めた長期的な経過観察により、Mb 肺炎を発症する基準値の精

度を一層向上させていきたい。

今回確立した qPCR 検査系は、分離培養より迅速かつ高感度に Mb 感染を判定し、鼻腔スワブの遺伝子量により、呼吸器症状や肺炎発症への Mb の関与を推定することが可能と考えられた。今後の病性鑑定でも分離培養とともに本検査を実施し、早期に適切な治療を指導し、Mb による被害の軽減に努めたい。

#### 引用文献

- 1) 上村涼子ら：日本国内における牛の呼吸器感染性 *Mycoplasma* の浸潤状況調査、日獣会誌, 65, 871-875 (2012)
- 2) 明石博臣ら：動物の感染症 第三版, 近代出版, p. 133
- 3) 工藤竜大ら：*Mycoplasma alkalescens* と *Mycoplasma bovis* が分離された牛の肺炎例, 日獣会誌, 47, 311-314 (1994)
- 4) Satoshi Gondaira, et al.: Immunosuppression in Cows following Intramammary Infusion of *Mycoplasma bovis*, Inf. And Immunity, Volume 88, Issue 3 (2020)
- 5) F. P. Maunsell, et al.: *Mycoplasma bovis* Infections in Cattle, J. Vet. Intern. Med., 25, 772-783 (2011)
- 6) Mai KISHIMOTO, et al.: Development of a one-run real-time PCR detection system for pathogens associated with bovine respiratory disease complex, J. Vet. Med. Sci., 79 (3), 517-523 (2017)
- 7) Konard Sache, et al.: Use of a novel real-time PCR technique to monitor and quantitate *Mycoplasma bovis* infection in cattle herds with mastitis and respiratory disease, Vet. J., 186, 299-

303 (2010)

8) Chávez González YR, et al.: In vitro amplification of the 16S rRNA genes from *Mycoplasma bovis* and *Mycoplasma agalactiae* by PCR, Vet. Microbiol., 47. 183-190. (1995)

### 3 3年間の預託牧場でのBRDC発生状況と体表温センサによる発熱検知について

県央家畜保健衛生所

安西 真奈美、加藤 貴誉湖、米山 州二

#### はじめに

牛呼吸器複合感染症（BRDC）は、様々な病原体やストレスによる免疫低下等の複合的な要因により発生する経済損失の大きな疾病として知られている<sup>1,2)</sup>。平成29年度家畜共済統計表によると、全国の年間の呼吸器病の死傷事故頭数は17,286頭で全体の8.2%、病傷事故頭数は、518,539頭で全体の21.5%を占め、年々増加傾向にあるため対策が急務である<sup>3,4)</sup>。その対策として、種々のワクチン接種や飼養衛生管理の改善、環境対策等が行われるが、発見の遅れや治療が適切なタイミングで行われない場合は重症化する症例も少なくない。呼吸器病の早期発見のためには、呼吸器症状や発熱、呼吸促拍、心拍数増加等の初期症状を捉えることが重要であることから、これらの臨床所見をモニタリングするセンサの活用が期待されている。

国立研究開発法人 農業・食品産業技術総合研究機構 動物衛生研究部門では、体温を常時モニタリングする体表温センサの開発を進めている。我々は、この体表温センサの実証試験に参加する機会を得て、平成（H）29年から県内預託牧場で試験を実施してきた。昨年度は、体表温センサによる発熱検知回数が5回以上であると有意に個体治療実施率が高くなること、牛舎内環境の最大風速が治療頭数増加の一因になると考えられたことから、防風設備を強化するよう牧場側に提案したことを報告した。本年度は、3年間の試験の総括として、体表温センサによる発熱検知頭数の

推移と微生物感染動向との関連を精査し、本牧場に導入された子牛のBRDC感染動向を明らかにすることを試みた。また、体表温センサによる飼養管理の省力化・効率化について検証を行ったので報告する。

#### 材料及び方法

##### 1 体表温センサ

体表温センサは、ウェアラブルタイプで、子牛の尾根部腹側に専用のベルトを用いて装着した<sup>5)</sup>。センサから得られたデータは10分間隔でクラウドに転送され、クラウドからダウンロードしてPC上で解析を行い、得られた体表温データから直腸温の推定値である補正体表温を算出した。また、興奮などによる一時的な体温の上昇を除外するために、1日の発熱量を示す新たな指標として、発熱積算値（AF: accumulated fever）を算出した。AFは、発熱の基準とした39.7℃とそれを越えた補正体表温との差を24時間分積算した値とした。また、本試験では、算出したAFが1以上を示した個体を発熱検知とした。

##### 2 調査方法

試験期間は、H29年、H30年及び令和（R）元年12月の各々21～22日間で、預託牧場に導入された4～6か月齢のホルスタイン種を供試した。導入日に、H29年は40頭、H30年は39頭、R元年は25頭の子牛に体表温センサを装着し、体表温データを試験期間中24時間連続で採取した。また、体表温センサを装着した牛から、H29年に6頭、H30年に10頭、



表1 調査内容

	導入 頭数 (頭)	センサ牛 (頭)	採材 牛 (頭)	採材日																			
				0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19
H29	40	40	6	●	●						●		●			●		●					●
H30	40	39	10	●					●			●			●			●					●
R1	71	25	6	●						●								●					●

R 元年に 6 頭を選定し、群導入日を採材日を 0 日目として定期的に鼻腔スワブ及び血液を採取した (表 1)。

### 3 微生物学的検査

採取した鼻腔スワブを用いてウイルス検査、細菌検査を行った。

ウイルス検査は、牛コロナウイルス (BCV)、牛パラインフルエンザウイルス 3 型 (PIV3)、牛 RS ウイルス (BRV)、牛ウイルス性下痢ウイルス (BVDV)、牛アデノウイルス (BAV) を対象として、既報<sup>6-11)</sup>に従って PCR 及び逆転写 PCR を実施した。

細菌検査は、定法により 5%羊血液加寒天培地を用いて菌分離を行い、分離菌の同定、は生化学性状 (ID テスト・HN-20 ラピッド、日水製薬株式会社、もしくは API20E、シスメックスピオメリユー株式会社、東京) により行った。また、*Mannheimia haemolytica* (*M. haemolytica*) については PCR により菌種を同定した<sup>12)</sup>。マイコプラズマについては、定法により NK 液体及び寒天培地を用いて菌分離を行い、分離菌は PCR により菌種を同定した<sup>13, 14)</sup>。

### 4 血液学的検査

微生物感染のバイオマーカーとして、Mx1 タンパク (Mx1、ウイルス感染の指標) とハプトグロビン (炎症の指標) を定量した。

Mx1 は、ETDA 血から定法により単核球を分

離し、mRNA を抽出し、RT-PCR を行い、得られた cDNA をリアルタイム PCR 法により定量した。また、ハウスキーピング遺伝子として  $\beta$ -アクチンを用い、遺伝子量は  $\Delta \Delta Ct$  法を用いて相対定量した。

血清中ハプトグロビンは、既報の方法に従って測定した<sup>15)</sup>。

### 5 環境データの採取

環境データは、データロガー (TR-72nw、T&D、長野) を用い、気温を 24 時間連続で採取した。R 元年に新設された新牛舎と、旧牛舎との環境条件の違いについて検証した。

### 6 統計解析

群導入日と比較した BCV と Mx1 の推移は反復測定分散分析、各年度の平均 AF の比較は、クラスカルワリス検定、平均 AF で分類したハプトグロビンの平均値の比較はマンホイットニーの U 検定を用いた。また、治療回数の予測精度が最も高い発熱検知基準を調べるために、目的変数を個体ごとの治療回数、説明変数を発熱検知回数としてそれぞれ設定した基準ごとに単回帰分析を行った。

## 結果

### 1 発熱検知頭数の推移

発熱検知頭数の増加は、H29 年及び R 元年は 2~5 日目、H30 年は 4~7 日目に認められた。これを第 1 の発熱とすると、H29 年と H30

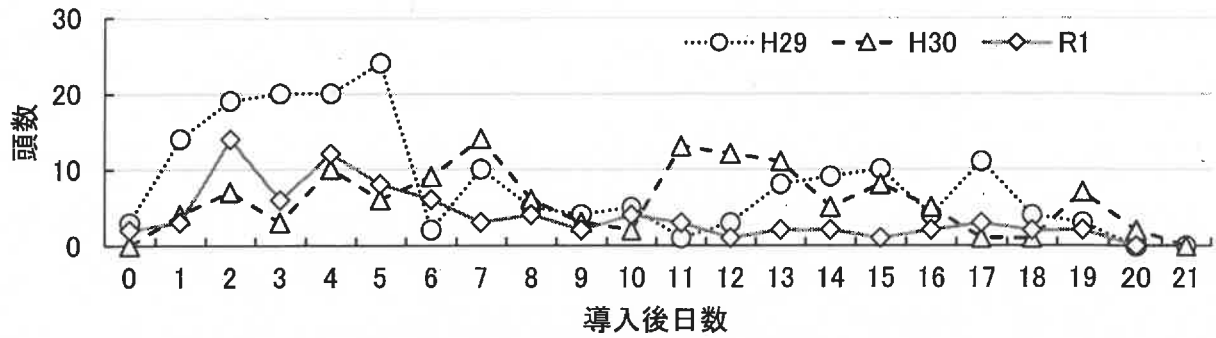


図1 発熱検知頭数の推移

表2 微生物学的検査結果(各種病原体の検出頭数)

		群導入後日数																					
H29		0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21
ウイルス検査 (n=6)	コロナウイルス	2		4					6		6			4		4							4
	<i>Mannheimia haemolytica</i>	0		0					0		0			0		0							0
細菌検査 (n=6)	<i>Pasteurella multocida</i>	5		4					4		3			4		4							4
	<i>Mycoplasma bovirhinis</i>	1		0					0		3			3		4							4
H30		0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21
ウイルス検査 (n=5)	コロナウイルス	0					4		5			4			3								2
	<i>Mannheimia haemolytica</i>	0					0		2		6			4									7
細菌検査 (n=10)	<i>Pasteurella multocida</i>	0					0		1		0			2									3
	<i>Mycoplasma bovirhinis</i>	0					3		5		5			5		6							2
R1		0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21
ウイルス検査 (n=6)	コロナウイルス	0						6							3								1
	<i>Mannheimia haemolytica</i>	0						0							2								1
細菌検査 (n=6)	<i>Pasteurella multocida</i>	1						0							1								3
	<i>Mycoplasma bovirhinis</i>	0						0							1								1

年は、第2の発熱が11~15日目にも認められたが、R元年は認められなかった(図1)。この11~15日目間のAFを年度ごとに比較したところ、R元年(0.5±0.3)は、H29年(1.4±0.5)、H30年(1.8±0.6)と比較して有意に低い平均AFを示した(P<0.05)。

## 2 微生物学的検査結果(表2)

ウイルス検査で毎年検出されたのはBCVであった。群導入日の検出頭数は、H29年は2頭、H30年及びR元年は0頭と少なかったも

の、H29年は7日目、H30年は8日目、R元年は6日目に全頭陽性が確認された。

細菌検査では、H29年は*Pasteurella multocida*(*P. multocida*)が持続的に検出され、*Mycoplasma bovirhinis*(*M. bovirhinis*)は9日目以降に検出される傾向が認められた。H30年及びR元年は、群導入日には細菌は殆ど検出されなかったものの、H30年は8日目以降に、R元年は13日目以降に*M. haemolytica*、*P. multocida*、*M. bovirhinis*が検出される傾

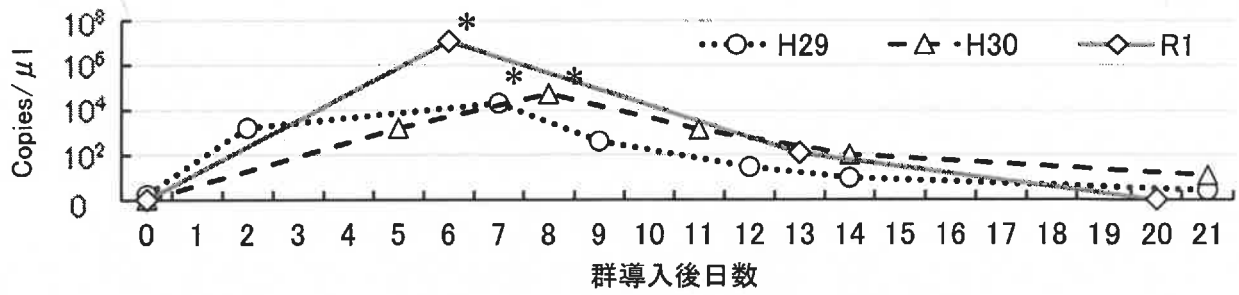


図4 鼻腔内コロナウイルス遺伝子量の推移

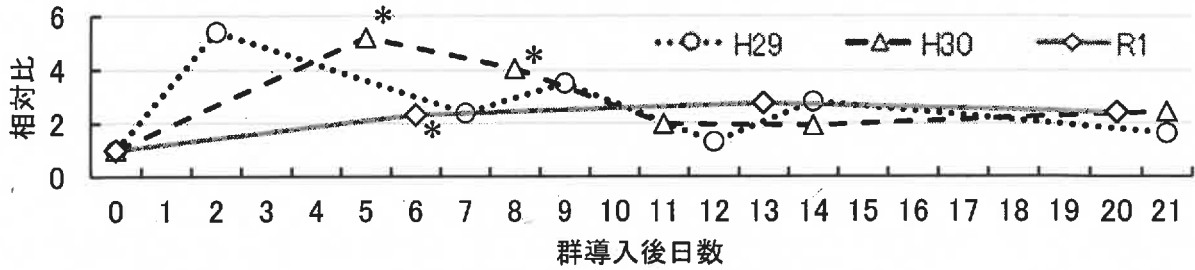


図5 Mx1 タンパク遺伝子量の変動

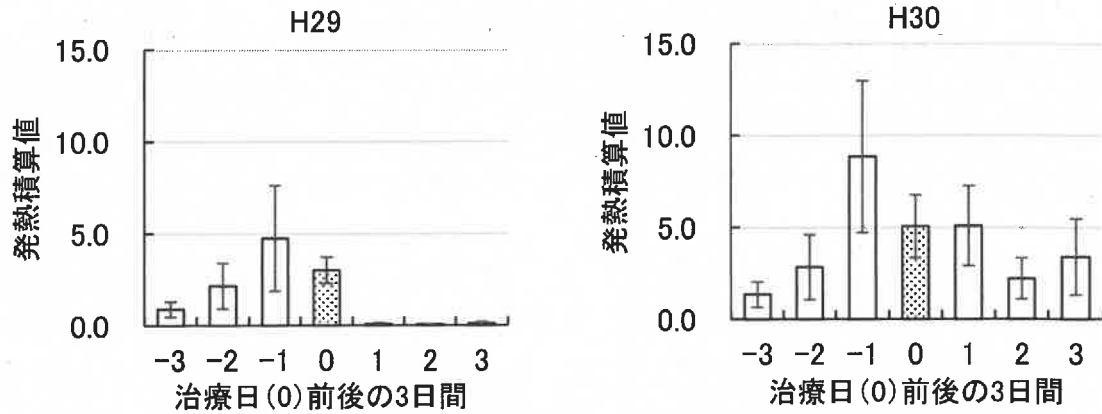


図6 治療日を基準とした発熱積算値の推移

向が認められた。

### 3 鼻腔内 BCV 遺伝子量と Mx1 の推移

鼻腔内 BCV 遺伝子量は、H29 年は 7 日目 (14,652.2±1.4copies/μl)、H30 年は 8 日目 (49,559.4±3.9copies/μl)、R 元年は 6 日目 (18,060,784±7.3copies/μl) に最大となり、群導入日と比較して有意に高いコピー数を示した (図4、P<0.05)。Mx1 は、H30 年は 5 日目 (5.2±0.4)、R 元年は 6 日目 (2.5±0.3) に群導入日と比較して有意な上昇を認めた (図5、P<0.05)。

### 4 第2の発熱期のハプトグロビン値の比較

11~15 日目の平均 AF が 1 以上の個体と 1 未満の個体に分類してハプトグロビン値を比較した。H29 年及び H30 年の AF が 1 以上を示した個体 (569.1±325.3 μg/ml、1367.8±690.1 μg/ml) は、1 未満の個体 (215.6±94.5 μg/ml、281.7±155.5 μg/ml) よりも高いハプトグロビン値を示す傾向が認められた (H29 年は P=0.067)。R 元年は、平均 AF が 1 以上の個体は認められなかった。

### 5 治療個体の AF の推移 (図6)

治療個体の治療開始日を基準として前後 3 日間の AF の推移を比較したところ、H29 年及び H30 年は、治療日の 2 日程度前から平均 AF の上昇が認められ、治療開始後は低下する傾向が認められた。R 元年は、体表温センサ装着牛に治療個体は認められなかった。

## 6 治療回数と AF の関連

発熱検知の基準として、AF を 4 以上と設定すると、重相関係数 0.8、補正重決定係数 0.64 と最も高い予測精度を示した。

## 7 環境データの比較

牛舎間の比較において平均最低気温は、新牛舎の R 元年 ( $1.0 \pm 0.6^\circ\text{C}$ ) は、旧牛舎の H29 年 ( $-2.2 \pm 0.4^\circ\text{C}$ ) 及び H30 年 ( $0.2 \pm 0.7^\circ\text{C}$ ) と比較して高い値を示す傾向が認められた。平均日較差については、新牛舎の R 元年 ( $5.5 \pm 0.5^\circ\text{C}$ ) は、旧牛舎の H29 年 ( $13.8 \pm 0.5^\circ\text{C}$ ) 及び H30 年 ( $11.3 \pm 0.7^\circ\text{C}$ ) と比較して有意に小さい値を示した ( $P < 0.05$ )。平均最高気温は、各年度に差は認められなかった (H29 年:  $11.6 \pm 0.5^\circ\text{C}$ 、H30 年:  $11.5 \pm 0.6^\circ\text{C}$ 、R 元年:  $10.8 \pm 0.6^\circ\text{C}$ )。

## 考察

当該牧場では、H29 年と H30 年の試験期間中に二峰性に発熱検知頭数の増加が認められた。最初の発熱は BCV 感染の急性感染期に一致していたこと、同時期に Mx1 が上昇したことから BCV 感染によるウイルス性の発熱と考えられた。第 2 の発熱は、11-15 日目の平均 AF が 1 以上の個体でハプトグロビンが上昇し、炎症が起こっていると推測されたことから、細菌の二次感染に起因する発熱を検知したと考えられた。BRDC は、ウイルス感染の後、細菌の二次感染により重症化することが報告されており<sup>2)</sup>、体表温センサは臨床症状の一

つである発熱を検知することで BRDC の病態の推移を把握することが可能であると考えられた。また、R 元年に 11-15 日目に発熱検知頭数の増加は認められず、この時期の平均 AF も有意に低かったことから、R 元年は第 2 の発熱が抑えられたものと考えられた。これは、H30 年に防風設備を強化するよう提案したことが新牛舎に生かされ、環境改善により牛舎内温度の日較差が小さく抑えられたためと考えられた。

また、治療個体の AF の推移を調べたところ、治療日の 2 日程度前から AF が上昇する傾向を認めたことから、要治療個体を早期に検知しているものと考えられた。そこで、発熱検知の基準とする AF ごとに治療回数の予測精度を調べたところ、AF が 4 以上を高熱の指標とすることで効率よく要治療個体を発見できると考えられた。通常の農場管理では、農場作業員の健康観察の時間は限られており、健康畜の直腸温測定はまれであることから明らかな臨床症状を示すまで異状個体を発見することはできない。しかし、体表温センサにより常時、個体ごとの体温の変動をモニタリングすることで群全体の健康状態を把握することが可能となり、異状個体を早期に発見し、重症化する前に治療等の対策を立てることができると考えられた。

以上から、体表温センサは、BRDC 感染による発熱を早期に検知可能であり、健康管理の一環として体表温センサを用いることは、飼養衛生管理の省力化及び効率化に有用であると考えられた。

## 謝辞

本試験は、革新的技術開発・緊急展開事業 (うち人工知能未来農業創造プロジェクト)

「AI を活用した呼吸器病・消化器病・周産期疾病の早期発見技術の開発」により行われた。多大なる御指導をいただいた農研機構 動物衛生研究部門 病態研究領域 生化学ユニットの山中典子先生、宗田吉広先生、尾澤知美先生、農研機構 本部の高橋雄治先生に深謝します。

#### 参考文献

- [1] Ellis JA., et al. : Vet Clin North Ame Food Anim Practice, 17, 535-550 (2001)
- [2] Earley B., et al. : immunity and respiratory disease. Animal, 11, 486-492, (2017)
- [3] 農林水産省 平成 29 年度農業災害補償制度家畜共済統計表, 2-5-1, 死産事故病名別頭数, (2017), (online), (accessed 2021-2-1)
- [4] 農林水産省 平成 29 年度農業災害補償制度家畜共済統計表, 2-5-2, 病傷事故病名別件数, (2017), (online), (accessed 2021-2-1)
- [5] Nogami H., et al. : Sensors and Materials, 26, 539-545 (2014)
- [6] Decaro N., et al. : J Cirol Methods. 151, 167-171 (2008)
- [7] Valarcher JF., et al. : J Virol. 74, 10714-28 (2000)
- [8] Kirisawa R., et al. : J Rakuno Gakuen Univ, 19, 225-237 (1994)
- [9] Vilcek S., et al. : Arch Virol, 136, 309-323 (1994)
- [10] Motes CM., et al. : Appl Environ Microbiol, 70, 1448-54 (2004)
- [11] Allard A., et al. : J Clin Microbiol, 28, 2659-67 (1990)
- [12] Katsuda K., et al. : J Farm Animal in Infectious Disease, 5, 92-97 (2016)
- [13] González YRC., et al. : Veterinary Microbiology, 47, 183-190 (1995)
- [14] Kobayashi H., et al. : J Vet Med Sci, 60, 1299-1303 (1998)
- [15] Nakamura M., et al. : J Jpn Vet Med Assoc, 65, 682-688, (2012)

## 4 管内におけるめん羊のブルータングの発生とその後の対応

県央家畜保健衛生所

安田奈絵、戸崎香織、米山州二、市川優、塩生光男

### はじめに

ブルータングは、レオウイルス科オルビウイルス属のブルータングウイルス (BTV) の感染によって起こる、めん羊、山羊、牛、水牛及び鹿等の反芻動物の疾病であり、我が国において届出伝染病に指定されている。本病はめん羊の飼育が盛んな国において重要な疾病として、国際獣疫事務局 (OIE) のリスト A 疾病に指定されており、アジア、オーストラリアを含む全世界で広く発生が確認されている。症状は発熱、元気消失、流涎及び嚥下障害等であり、特にめん羊は感受性が高く重篤となる。また、本病は吸血昆虫であるヌカカの媒介により伝播する。

国内では、全国サーベイランスの牛流行熱等抗体調査において、沖縄県及び九州から本州にかけて BTV の流行が確認されている<sup>1)</sup>。また、本病の発症事例は、平成 6 (1994) 年に本県、茨城県及び福島県、平成 13 (2001) 年に本県、平成 17 (2005) 年に福島県、平成 18 (2006) 年に広島県、平成 29 (2017) 年に熊本県及び令和元 (2019) 年に福島県で報告されている<sup>2)</sup>。

今回、管内のめん羊飼養 2 農場において、本県で 18 年ぶりに本病の発生がみられたため、その概要を報告する。

### 農場概要

発生農場は、めん羊 500 頭及び牛 25 頭を飼養する農場 (A 農場) と、めん羊 6 頭、山

羊 5 頭、牛 2 頭と複数種の動物を飼養する展示施設 (B 農場) である (表 1)。A 農場では繁殖用雌めん羊の販売、B 農場では展示用として、それぞれめん羊の移動を行うことがあった。A 農場では年 1 回程度、オーストラリアやニュージーランド等から繁殖用のめん羊の導入を行っているが、B 農場では過去数年間、反芻動物の導入は行っていなかった。

表 1 農場概要

	A 農場	B 農場(展示施設)
飼養反芻家畜	めん羊 500 頭、牛 25 頭	めん羊 6 頭、山羊 5 頭、牛 2 頭
めん羊の移動	繁殖用雌めん羊の販売	展示用として移動あり
導入状況	オーストラリア、ニュージーランド等から年 1 回程度	過去数年間なし

### 発生の経緯

A 農場では、令和元 (2019) 年 10 月 16 日に削瘦を呈すめん羊 1 頭 (No. 1、1 歳、雌) が死亡し、その後、同月 27 日に流涎及び呼吸促進を呈すめん羊 1 頭 (No. 2、8 か月齢、雄) が死亡した。B 農場では、令和元 (2019) 年 10 月 19 日から元気消失、泡沫性流涎及び嚥下障害等を呈すめん羊 1 頭 (No. 3、3 歳、雌) が同月 25 日に死亡したことから、当所に病性鑑定依頼があった。

### 材料及び方法

#### 1 病性鑑定

めん羊 No. 1~3 の剖検を行い、定法により細菌学的検査、ウイルス学的検査、病理組織学的検査及び生化学的検査を実施した。

## (1) 細菌学的検査

肝臓、脾臓、腎臓、心臓、肺及び脳を用いて、定法に従い5%羊血液加寒天培地及びDHL寒天培地にて、37℃好気下で24時間培養した。

## (2) ウイルス学的検査

### ア 遺伝子検査

No. 1の肝臓及び脾臓の乳剤上清、No. 2の腋窩残血及び胸水と食道及び脾臓の乳剤上清、No. 3の血清、バフィーコート、血球及び血漿を用い、BTV分節2及び3を標的としたPCRを実施した。

### イ 抗体検査

No. 2は胸水、No. 3は血清を用いて、寒天ゲル内沈降反応(AGP)により抗体検査を実施した。

### ウ ウイルス分離

No. 2の食道及び脾臓の乳剤上清、No. 3の血球及び血漿をHmLu-1細胞及びBHK-21細胞に接種し、37℃回転培養を行い、細胞変性効果(CPE)の有無を確認した。

また、No. 3の血球を用い、発育鶏卵静脈内接種を行い、得られた鶏胚乳剤上清をBHK-21細胞に接種後、CPEの有無を確認した。

## (3) 病理組織学的検査

主要臓器を20%中性緩衝ホルマリン液で固定、定法に従いパラフィン包埋後、切片を作成し、ヘマトキシリン・エオジン(HE)染色を実施した。

## (4) 生化学的検査

肝臓を用い、セレン及びビタミンE濃度を測定した。セレン濃度測定には蛍光分光光度計<sup>3)</sup>、ビタミンE濃度測定には高速液体クロマトグラフィー(HPLC)法<sup>4)</sup>を用いた。

## 2 追加調査

### (1) 同居畜検査

A農場及びB農場で飼養されている反芻家畜(A農場:めん羊8頭及び乳用牛4頭、B農場:めん羊3頭、山羊5頭及び牛2頭)の血液を用い、PCR及びAGPを実施した。

### (2) 県内浸潤状況調査

令和元(2019)年度の家畜伝染病予防法に基づく牛流行熱等抗体調査で9月及び11月に採取した県内13市町、19戸、延べ123頭の乳用及び肉用牛の血液を用い、PCR及びAGPを実施した。

### (3) 清浄化確認検査

本病発生1年後の令和2(2020)年11月に、A農場及びB農場で飼養される反芻家畜(農場A:めん羊6頭、山羊5頭及び牛2頭、農場B:めん羊30頭及び乳用牛25頭)の血液を採取し、PCR及びAGPを実施した。

### (4) 分子系統樹解析

病性鑑定、同居畜検査及び清浄化確認検査で検出された遺伝子について、BTV分節2及び分節3の塩基配列を決定し、近隣結合法で分子系統樹解析を行った。さらに、得られた塩基配列についてBLAST解析を行い、それぞれの相同性を比較した。

なお、清浄化確認検査においては、BTV分節3の塩基配列のみ分子系統樹解析を実施した。

## 結果

### 1 病性鑑定

#### (1) 剖検所見

3頭に共通して、肺のうっ血及び退縮不全がみられ、気管支腔内に泡沫状滲出物の充満及び食渣の付着が認められた(写真1~6)。

病変は、No. 1 では右肺、No. 2 では左右後葉でより重度であり、No. 3 では左右前葉から後葉まで広範囲に及んでいた。

その他の所見として、No. 1 では頭部から頸部にわたる中等度皮下水腫、心嚢水の中等度貯留及び第四胃胃体部粘膜面に少数の線虫寄生が認められた。No. 2 では赤色透明の胸水の多量貯留、眼瞼部及び鼻梁部皮下の軽度膠様浸潤、心嚢水の軽度貯留及び第一胃から第四胃粘膜の出血が認められた。No. 3 では皮下水腫が認められた。

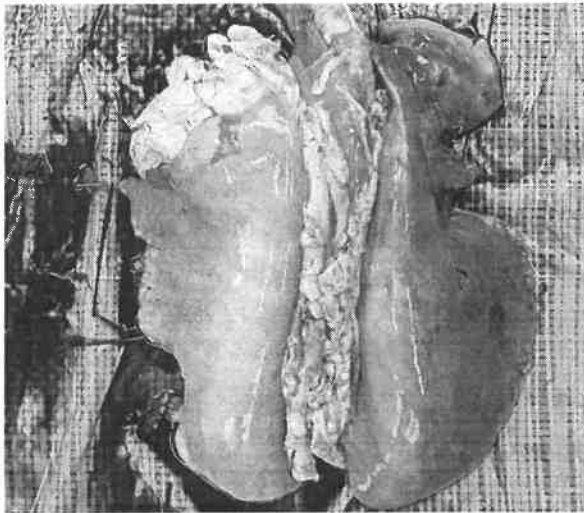


写真1 めん羊 No. 1 肺



写真2 めん羊 No. 1 気管

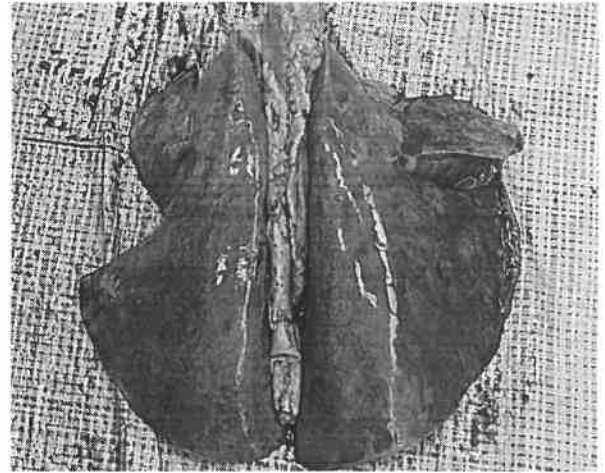


写真3 めん羊 No. 2 肺

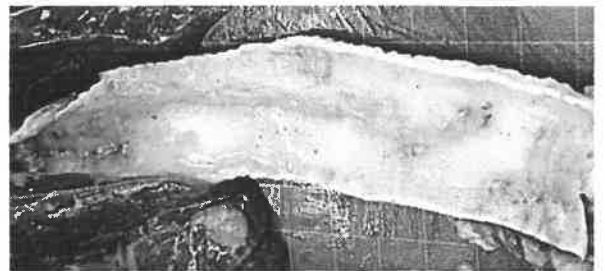


写真4 めん羊 No. 2 気管

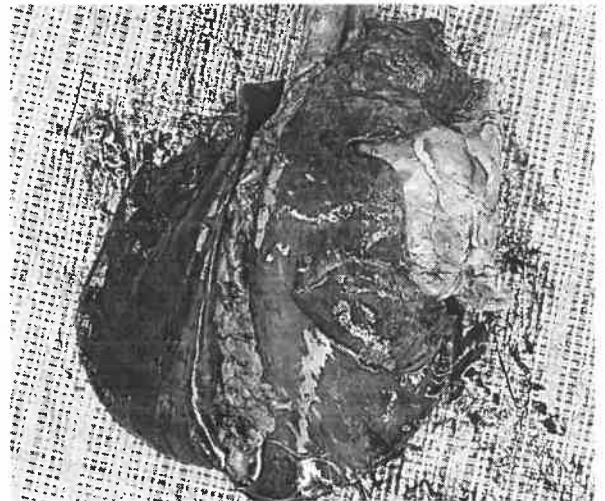


写真5 めん羊 No. 3 肺



写真6 めん羊 No. 3 気管



(2) 細菌学的検査

すべての検体から有意な細菌は分離されなかった。

(3) ウイルス学的検査

No. 1 の肝臓及び脾臓、No. 2 の腋窩残血及び食道、No. 3 のパフィーコート及び血球からそれぞれ BTV の特異遺伝子が検出された。一方、No. 2 及び No. 3 で実施した AGP で、抗体は検出されなかった。ウイルス分離では、No. 3 の発育鶏卵静脈内接種を経由した細胞でのみ CPE が確認された (表 2)。

表 2 ウイルス学的検査

検査項目	材料	No.1	No.2	No.3
PCR	血液	NT	+	+
	食道	NT	+	NT
	肝臓	+	NT	NT
	脾臓	+	+	NT
	胸水	NT	-	NT
AGP	胸水	NT	-	NT
	血清	NT	NT	-
ウイルス分離	血球	NT	NT	+
	食道	NT	-	NT
	脾臓	NT	-	NT

(4) 病理組織学的検査

No. 1~3 に共通して、中等度~重度のうっ血性肺水腫と、舌及び食道の横紋筋線維の硝子様変性、塊状崩壊及び再生像が認められた。さらに、No. 1 及び 2 では、骨格筋における横紋筋線維の変性及び壊死と、全身臓器の水腫が認められた。また、No. 3 では化膿性気管支肺炎がみられた。No. 1 については、左心内膜下筋層の乳頭筋部に筋線維の壊死及び壊死部の癒痕化がみられるとともに、虚血性急性尿細管壊死が認められた (表 3)。

表 3 病理組織学的検査で得られた所見

所見	No.1	No.2	No.3
うっ血性肺水腫	+	+	+
舌及び食道横紋筋線維の変性、壊死	+	+	+
骨格筋横紋筋線維の変性、壊死	+	+	-
化膿性気管支肺炎	-	-	+
全身臓器の水腫	+	+	-
心筋線維の壊死	+	-	-
虚血性急性尿細管壊死	+	-	-

(5) 生化学的検査

No. 1~3 の肝臓中セレン濃度 ( $\mu\text{g/g}$ ) は、それぞれ 0.26、0.27 及び 0.29 であり、肝臓中ビタミン E 濃度 ( $\mu\text{g/g}$ ) はそれぞれ定量限界以下、定量限界以下及び 6.94 であった。セレン濃度は 3 頭とも正常値の範囲内であった。ビタミン E 濃度は No. 1 及び 2 で定量限界である  $2.7 \mu\text{g/g}$  を下回り、ビタミン E 欠乏の可能性が考えられた一方、No. 3 では正常値より高値を示した (表 4)。

表 4 セレン及びビタミン E 濃度

検査項目	白筋症 (参考値)	正常値 (参考値)	No.1	No.2	No.3
セレン ( $\mu\text{g/g}$ )	0.04-0.07	0.15-0.27	0.26	0.27	0.29
ビタミン E ( $\mu\text{g/g}$ )	<0.1	0.59-3.5	定量限界以下(<2.7)	定量限界以下(<2.7)	6.94

2 追加調査

(1) 同居畜検査

PCR 及び AGP の陽性率は、A 農場では 66.6% (8/12) 及び 41.7% (5/12)、B 農場では 60% (6/10) 及び 60% (6/10) であった (表 5)。

表 5 同居畜検査の結果

農場	畜種	PCR	AGP
A	めん羊	4/8	2/8
	牛	4/4	3/4
B	めん羊	4/5	2/5
	山羊	2/3	2/3
	牛	0/2	2/2
計 (陽性率)		14/22 (63.6%)	11/22 (50%)

陽性頭数/検査頭数

(2) 県内浸潤状況調査

PCR 及び AGP の陽性率は、令和元 (2019) 年 9 月では 2.6% (1/38) 及び 0% (0/62)、11 月では 42.6% (26/61) 及び 34.4% (21/61) であった (表 6)。市町ごとでは、令和元 (2019) 9 月に 1 市町で PCR 陽性個体が確認され、11

月には 10 市町で PCR 陽性かつ AGP 陽性の個体が確認された (図 1)。

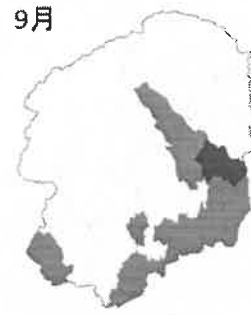
表 6 県内浸潤状況調査の結果

採材月	PCR (陽性率)	AGP (陽性率)
9月	1/38 (2.6%)	26/61 (42.6%)
11月	0/62 (0%)	21/61 (34.4%)

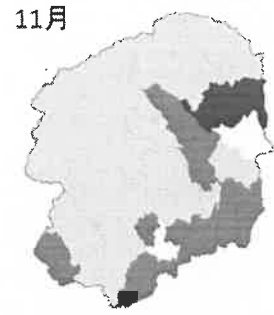
陽性頭数/検査頭数

令和元(2019)年

9月



11月



PCR+かつAGP-     PCR+かつAGP+  
 PCR-かつAGP- またはAGP-     NT

図 1 市町ごとの浸潤状況

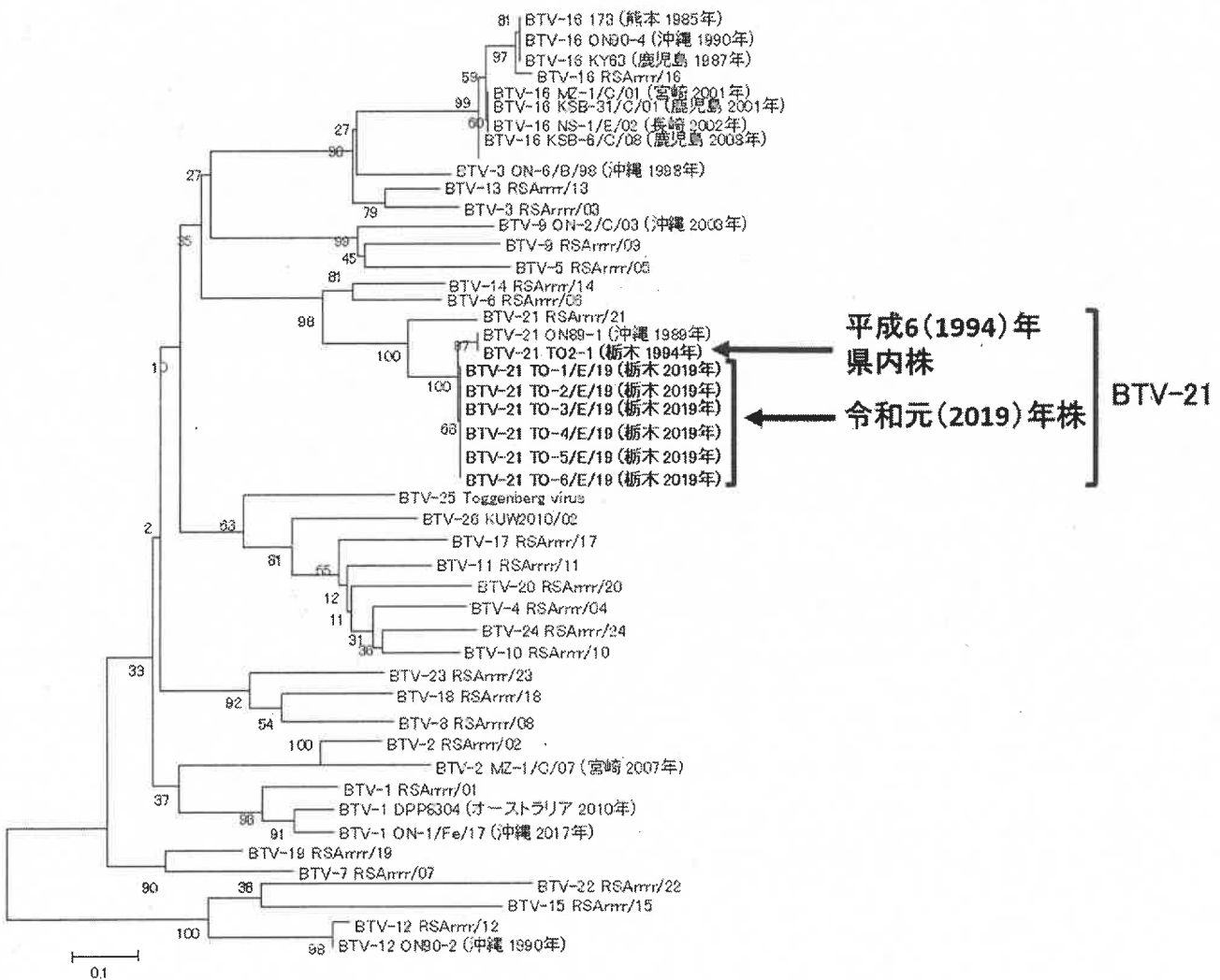


図 2 分節 2 の分子系統樹

(3) 清浄化確認検査

A 及び B 農場の PCR の陽性率は、それぞれ 9.1% (5/55) 及び 7.7% (1/13) であった。また、B 農場の 1 歳未満の個体（前年の流行以降に生まれためん羊）で実施した AGP で、抗体が検出された（表 7）。

(4) 分子系統樹解析

No. 3 及び同居畜検査における陽性 5 検体から得られた令和元（2019）年株の分節 2 の塩基配列は、それぞれ相同性が 100%一致し、平成 6（1994）年に本県で流行した T02-1 株や

表 7 清浄化確認検査の結果

農場	畜種	PCR	AGP
A	めん羊	1/30	NT
	牛	4/25	NT
B	めん羊	1/6	1/1
	山羊	0/5	NT
	牛	0/2	NT
計 (陽性率)		6/68 (8.8%)	1/1 (100%)

陽性頭数/検査頭数

平成元（1989）年に沖縄県で検出された ON89-1 株と同一のクラスターを形成し、いずれも血清型は 21 と判定された（図 2）。分節 3 の

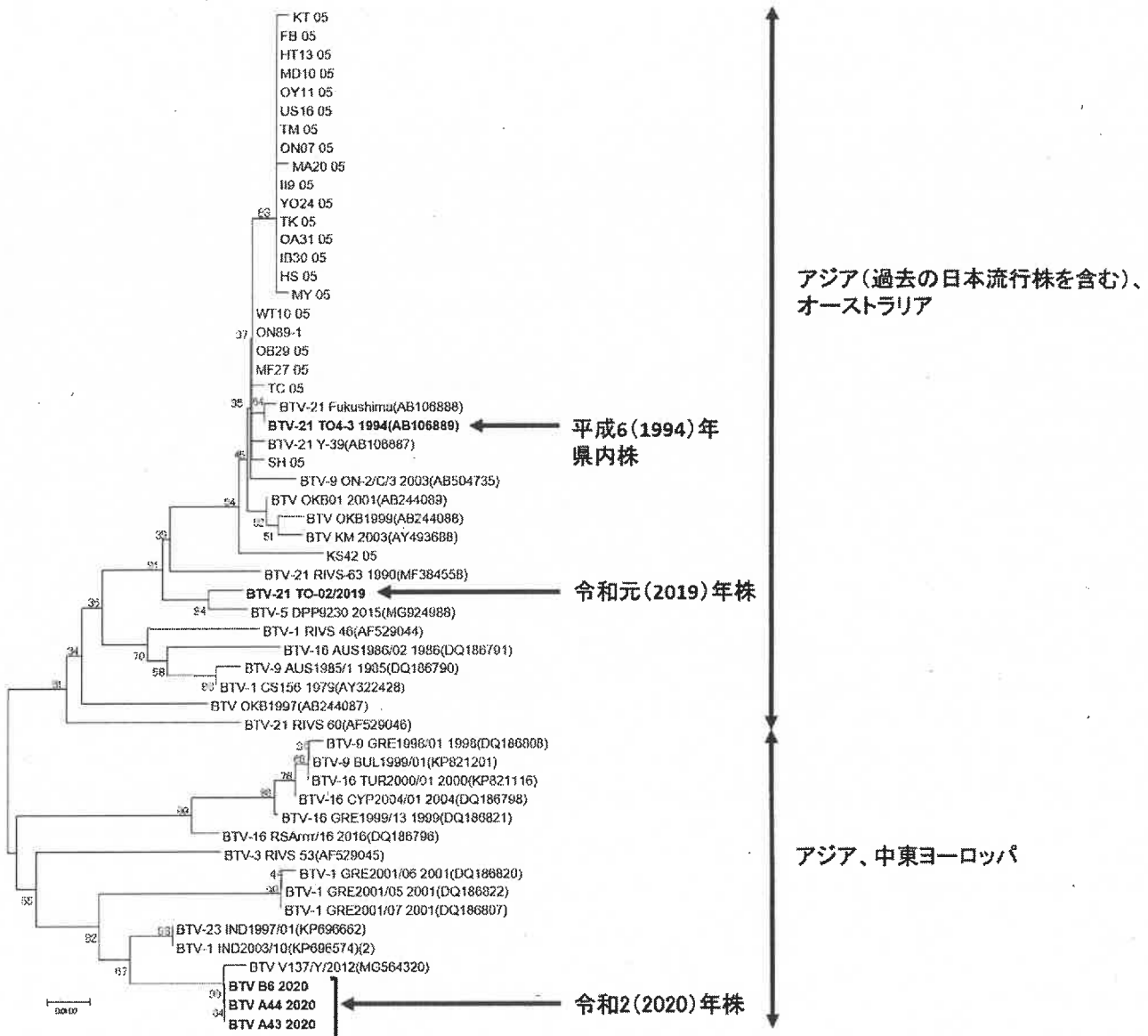


図 3 分節 3 の分子系統樹

塩基配列を用いた分子系統樹解析では、アジア及びオーストラリアの流行株と同一のクラスターに分類されたものの、これまでの国内流行株とは異なるグループを形成した。

一方、清浄化確認検査における陽性3検体から得られた令和2(2020)年株の分節3の塩基配列は、それぞれ相同性が99.8~100%であったものの、令和元(2019)年株との相同性は88.9~89.4%に留まり、アジア及び中東ヨーロッパ流行株のクラスターに分類された(図3)。

#### まとめ及び考察

今回、2農場で死亡しためん羊3頭について病性鑑定を実施したところ、全頭からBTVの特異遺伝子が検出された。また、病理組織学的検査では、本病の特徴である食道病変が3頭すべてに認められた。特にNo.3では、嚥下障害に起因する誤嚥性肺炎による化膿性気管支肺炎が認められ、これにより死亡したと考えられた。一方、A農場のNo.1及び2では骨格筋の変性壊死が認められ、白筋症の併発も疑われたため生化学的検査を実施したが、今回得られた結果からは、白筋症と断定するに至らなかった。

発生農場の同居畜検査では、BTVが2農場の反芻家畜に広くまん延している結果となった。ただし、B農場の牛2頭については、PCR陰性かつAGP陽性であったが、沈降線が微弱であったことや、他県からの導入牛であり、9歳及び11歳であったことから、過去の感染による抗体である可能性も考えられた。

BTVは10本の分節から成るゲノムを持つ二重鎖RNAウイルスであり、これらの分節がそれぞれ、7つのウイルス構造タンパク及び5

つの非構造タンパクをコードしている。そのうち、血清型特異的中和抗原である外殻蛋白をコードする分節2の分類によって、これまで27の血清型が報告されており<sup>5)</sup>、我が国では血清型2、3、9、12、16及び21が確認されている<sup>6)</sup>。

今回、本病発生1年後の清浄化確認検査の結果で、新たにPCR陽性個体が確認され、新規感染が疑われた。検出された令和元(2019)年株と令和2(2020)年株は遺伝的に明確に異なり、過去の国内流行株とも近縁でなかったことから、本県には2年続けて異なるBTVが侵入していたと推測された。県内浸潤状況調査では、令和元(2019)年9月頃にBTVが本県に侵入し、その後11月までに吸血昆虫を介して県内農場に広く伝播しまん延した可能性が示唆された。特に、令和元(2019)年は規模の大きな台風が本州へ接近していたこともあり、これにより国外から直接、あるいは国内の他地域を経由して侵入した可能性も考えられた。そのため、県内外のBTVの流行状況について、また、ヌカカやBTVの侵入経路について、継続的な調査が必要と考えられた。

令和元(2019)年、令和2(2020)年と、2年連続して異なるBTV株の侵入が確認されたが、令和2(2020)年は嚥下障害等の臨床症状を呈する反芻家畜は確認されなかった。めん羊では、BTVに感染すると嚥下障害等の臨床症状を呈するが、牛では症状が出ないことが多いとされている。しかし、近年では、隣県の福島県で嚥下障害を呈した牛の発生報告<sup>7)</sup>があることや、平成21(2009)年からBTVが牛流行熱等抗体調査の対象から外され、その流行状況が把握されていないことから、BTVの感染に注意が必要と思われる。

今後は、発生農場への衛生対策指導の継続

と清浄化確認検査を行うとともに、反芻家畜を飼養する農場に対し、巡回等によるBTVへの注意喚起を行い、防虫ネット等によるヌカカ対策を周知して発生予防に努めていきたい。

稿を終えるに当たり、御指導並びに御助言をいただいた、国立研究開発法人 農業・食品産業技術総合研究機構 動物衛生研究部門 越境性感染症研究領域 暖地疾病防除ユニット（九州研究拠点） 白藤浩明主任研究員に深謝する。

#### 参考文献

- 1) 農研機構 動物衛生研究部門ホームページ「おとり牛を用いたアカバネ病等の抗体調査」
- 2) 農林水産省ホームページ「監視伝染病の発生状況」より集計
- 3) T M Sheehan, M Gao: Simplified fluorometric assay of total selenium in plasma and urine, *Clin Chem*, 36 (12), 2124-2126 (1990)
- 4) 福田修ら: 血中脂溶性ビタミン定量法（HPLC法）におけるC8カラムの応用, 第41回栃木県家畜保健衛生所業績発表会集録（1999）
- 5) S Zientara et al.: Novel bluetongue virus in goats, Corsica, France, 2014, *Emerg. Infect. Dis.*, 20, 2123-2125 (2014)
- 6) 白藤浩明: 遺伝学的解析によるブルータングウイルス日本国内分離株の血清型の同定, 動衛研研究報告, 119, 57-63 (2013)
- 7) 山本伸治ら: 県内14年ぶりに発生したブルータング事例, 第60回福島県家畜保健

## 【参考資料】

### (管内の監視伝染病発生状況)

#### 家畜伝染病(頭群数)

年次 病名	22	23	24	25	26	27	28	29	30	R1	R2
ヨーネ病(牛)	1	6	0	1	1	6	7	5	2	2	3
腐蛆病(蜜蜂)	0	0	0	4	0	0	0	0	0	0	2

#### 届出伝染病(頭羽群数)

年次 病名	22	23	24	25	26	27	28	29	30	R1	R2
ブルータンク (めん羊)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	9	0
牛ウイルス性下痢	2	1	1	0	1(真症) 2(疑症)	2(疑症)	1	0	0	0	0
牛伝染性鼻気管炎	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0
牛丘疹性口内炎	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
破傷風(牛)	0	0	0	0	0	1	1	1	0	0	0
サルモネラ症(牛)	6	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0
ネオスポラ症(牛)	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0
牛伝染性リンパ腫	0	0	1	0	0	0	0	1	0	2	2
伝染性膿疱性 皮膚炎(めん羊)	0	0	0	0	0	0	0	0	11	2	0
レプトスピラ症(犬)	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	1
馬インフルエンザ	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
馬鼻肺炎	0	0	0	0	0	0	0	7	0	0	0
サルモネラ症(豚)	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0
オーエスキー病(豚)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
豚繁殖・呼吸障害 症候群	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0
豚流行性下痢	0	0	0	0	7	0	3	5	0	0	0
豚丹毒	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
豚赤痢	0	0	0	0	0	0	0	3(疑症)	0	0	0
鶏痘	0	1	0	0	0	0	0	0	7	3	0
伝染性気管支炎	0	0	0	0	0	0	0	0	6	0	0
マレック病(鶏)	0	0	0	0	0	0	0	2	0	0	0
チョーク病(蜜蜂)	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
バロア症(蜜蜂)	0	0	0	0	5	0	0	0	0	0	0
アカリダニ症 (蜜蜂)	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0

(管内の家畜飼養頭羽数)

令和2年2月1日現在(単位：農場・頭・千羽)

畜種 市町	乳用牛		肉用牛		豚		採卵鶏	
	農場数	飼養頭数	農場数	飼養頭数	農場数	飼養頭数	農場数	飼養羽数
宇都宮市	13	679	40	2,223	8	7,421	24	68
上三川町	3	X	15	1,353	5	5,434	5	0.030
鹿沼市	29	1,268	30	2,179	5	5,708	19	164
日光市	15	1,633	27	1,566	10	14,884	11	526
真岡市	29	1,593	9	872	13	15,654	11	15
益子町	6	404	5	117	1	X	6	45
茂木町	6	357	7	1,404	-	-	9	1,560
市貝町	10	3,832	4	4,151	1	X	10	78
芳賀町	6	765	2	X	-	-	5	406
矢板市	6	316	32	1,250	3	X	6	84
さくら市	3	X	35	5,714	7	28,504	9	1,216
塩谷町	6	183	20	1,688	3	X	1	X
高根沢町	13	949	11	735	2	X	6	28
管内計	145	12,243	237	23,772	58	99,349	122	4,443
県内計	648	54,477	798	81,454	136	406,017	244	7,018

(注1) 農場数は牛、豚、採卵鶏を1頭あるいは1羽以上飼養している農場の数

(注2) 「-」：事実のないもの、「X」：秘密保護上数値を公表しないもの

## (用語の解説)

### 【 牛 】

#### ・牛流行熱等抗体検査

カ、ヌカカ等の吸血昆虫が媒介するアカバネ病、牛流行熱、イバラキ病、チュウザン病及びアイノウイルス感染症について、家畜伝染病予防法第5条の規定に基づく発生予察のための検査を、経時的に実施する。

#### ・アカバネ病

妊娠牛が感染すると、感染時の胎齢によって流・早・死産、四肢の関節彎曲や脊柱彎曲などの体形異常、水無脳症（大脳欠損症）などの中枢神経異常を伴う先天的な奇形がみられる。

#### ・牛流行熱

発症牛では突発的な発熱がみられるが、1～2日程度で回復することが多い。また、食欲低下、呼吸促拍、流涙、流涎、四肢の関節痛による歩行困難、乳量低下ないし泌乳停止などの症状を呈するが、解熱に伴って回復することが多い。

#### ・イバラキ病

軽度の発熱とともに、食欲不振、流涙、結膜充血・浮腫、泡沫性流涎、重症例では鼻腔・口腔粘膜の充血・鬱血・潰瘍等がみられる。食道麻痺・咽喉頭麻痺・舌麻痺による嚥下障害がみられることもある。

#### ・チュウザン病

異常子牛の出産が主徴で、流・早・死産は少ない。異常子牛にみられる症状は、自力哺乳不能、起立不能などの運動障害、間欠的なてんかん様発作等の神経症状である。眼球の混濁や盲目等がみられることもある。

#### ・アイノウイルス感染症

妊娠牛が感染すると流・早・死産や異常子牛の出産が起こる。異常子牛にみられる症状は四肢の関節湾曲、斜頸、脊柱湾曲などの体形異常、起立困難、神経症状、盲目等である。

#### ・牛伝染性リンパ腫

EBL「地方病性牛白血病（成牛型）」とSBL「散発性牛白血病（胸腺型、子牛型、皮膚型）」がある。EBLの病原体は牛伝染性リンパ腫ウイルス（BLV）であり、血液や乳汁を介して感染する。発症率は低いが、長い潜伏期間を経て発症すると、体表・体内のリンパ節、各臓器にリンパ球性の腫瘍が形成され、数週間から数か月で死亡する。

#### ・牛海綿状脳症（BSE）

経口的に体内に侵入した異常プリオンが正常プリオンを異常プリオンに変えていくことにより、脳の神経細胞が死滅して空胞ができ、脳の組織がスポンジ状になる病気である。感染した牛は2～8年の潜伏期間の後、麻痺、起立不能、歩行困難などを呈し、死に至る。平成25年5月に、OIE（国際獣疫事務局）から「無視できるBSEリスクの国」に認定された。



- ・牛ウイルス性下痢 (BVD)

牛ウイルス性下痢ウイルスの感染によって、発熱、下痢、呼吸器症状、粘膜のびらん等を呈する。成牛では感染しても無症状であることが多いが、妊娠牛が感染すると、感染時期によって流産や娩出子牛に虚弱、起立困難、盲目、内水頭症、小脳低形成・欠損、免疫寛容(持続感染牛：本病に対する抗体を作らない状態の牛で、終生ウイルスを排泄し感染源となる)が認められる。

- ・ヨーネ病

ヨーネ菌の経口感染によって起こる慢性の消化器感染症であり、長い潜伏期間(半年～数年)の後、持続性の下痢、栄養状態の悪化による削瘦等を起こし、やがて死に至る。感染牛の多くは無症状に経過するが、糞便中にヨーネ菌が排菌されることもある。

## 【 豚 】

- ・豚熱 (CSF)

全身性熱性疾患で、強い伝染力と高い致死率が特徴である。感染豚は、唾液や涙、糞便中にウイルスを排泄し、感染は、感染豚や汚染物品等の接触によりよる。典型的な症状はなく、発熱、うずくまりといった一般的な症状に始まる。さらに、結膜炎、便秘後下痢、後躯麻痺や運動失調、四肢の激しい痙縮等の神経症状、皮下出血による紫斑が見られ、重症例では死亡する。

- ・アフリカ豚熱 (ASF)

発熱や全身の出血性病変を特徴とする致死率の高い伝染病である。本病は、ダニの媒介や、感染畜等との直接的な接触により感染が拡大する。なお、本病に有効なワクチンや治療法はない。

- ・オーエスキー病

新生豚が感染した場合、嘔吐、下痢、神経症状を示して死亡し、致死率はほぼ 100% である。日齢とともに抵抗性を増し、肥育豚、成豚は無症状であることが多いが、食欲不振や呼吸器症状が認められることもある。妊娠豚が感染した場合、流早死産や黒子、白子、虚弱子が娩出されることがある。一度感染すると、ウイルスは体内に保有され続け、ストレス等により発症したり、ウイルスを排泄して感染源になることがある。

本県では、平成 29 年 3 月をもって清浄化を達成した。

- ・豚流行性下痢 (PED)

黄色水様性下痢や嘔吐を主徴とするウイルス性の急性伝染病である。PED ウイルスは全ての日齢の豚に感染するが、哺乳豚では症状が重く、発病後 3～4 日で死亡することが多い。肥育豚、繁殖豚では死亡することはほとんどないが、水様性下痢や嘔吐のほかに元気消失と食欲減退を起こすこともある。

- ・豚繁殖・呼吸障害症候群 (PRRS)

繁殖雌豚では妊娠後期の流・死産が特徴的で、産子は、正常・虚弱・白子・黒子が入り混じる。弱豚や哺乳豚では発熱と呼吸困難、肺炎等の呼吸障害を示すほか、免疫機能を低下させ、他の感染症に感染しやすくなったり、重症化させる。日本では、かつて、

腹式呼吸を呈する症状から「ヘコヘコ病」と呼ばれていた。

- ・豚丹毒

敗血症型、じん麻疹型、慢性型がある。敗血症型は急性熱性疾患で致死率が高い。じん麻疹型は、体表の発疹を認める。慢性型は疣状心内膜炎や関節炎を起こす。最近は、関節炎型がと畜場で発見されることが多くなっている。

【 鶏 】

- ・高病原性鳥インフルエンザ

鶏、あひる、七面鳥、うずら等が感染し、死亡率が高く、肉冠・肉垂のチアノーゼ、首曲がり等の神経症状、元気消失、呼吸器症状、消化器症状（下痢、食欲減退等）等を呈するが、無症状のまま大量死する場合が多い。鳥から鳥へ直接感染するだけでなく、水、排泄物等を介しても感染する。

- ・ニューカッスル病

免疫状態・健康状態によって病気の程度は様々だが、緑色水様性下痢、呼吸器症状（軽度～重度）、脚・翼の麻痺及び頸部捻転などの神経症状を呈する。

病原性の違いにより、高病原性のは法定伝染病、低病原性のは届出伝染病に区分される。

【 めん羊 】

- ・伝達性海綿状脳症 (TSE)

BSE と同様、異常プリオンを病原とする。歩様異常などの運動失調、摂食行動の異常などを認める。数週間から数か月の経過で進行して、起立不能に陥り、死亡する。

VERY   
GOOD  
LOCAL

---

とちぎ

---

とちぎブランド推進のキャッチフレーズ

---

ベリー グッド ローカル とちぎ  
VERY  GOOD LOCAL

「グッドローカルなとちぎが地方のモデルになっていこう。」  
ローカルの良さが詰まったとちぎが、前向きな決意を込めて宣言します。