

平成 29 年度

(第 62 回)

宮城県家畜保健衛生業績発表会集録

宮城県農林水産部畜産課

平成 29 年度宮城県家畜保健衛生業績発表会

開催月日 平成30年1月19日（金）
開催場所 宮城県庁 みやぎ広報室
宮城県仙台市青葉区本町3丁目8番1号

審査員

国立研究開発法人農業・食品産業技術総合研究機構
動物衛生研究部門病態研究領域病理ユニット 三上 修

東北大学大学院農学研究科 教授 麻生 久

宮城県農業共済組合家畜診療研修所 所長 鈴木 利行

宮城県畜産試験場 場長 松田 悦子

宮城県農林水産部畜産課 監視伝染病対策専門監 齋藤 裕

目 次

【第1部】

- 1 第11回全国和牛能力共進会宮城大会を基軸とした仙南地域の肉用牛振興対策 1
○大河原家畜保健衛生所 齊藤隼人, 橋本佳奈, 遠藤潤, 半沢康弘
- 2 第11回全国和牛能力共進会に向けた地域の取り組み 3
東部家畜保健衛生所 渡部祐未, 阿部玲佳, 阿部忠宏, 武田正寛, 早坂駿哉, 伊藤敦
- 3 「全国和牛能力共進会 日本一」を目指した栗原地域の取り組み 7
◎北部地方振興事務所栗原地域事務所 佐藤元道, 山田治, 齋藤拓海
- 4 ICT機器を利用した和牛繁殖経営への新規就農事例 11
北部家畜保健衛生所 松原敦子, 鶴田昇
- 5 大規模肉用牛繁殖農場における地方病性牛白血病清浄化にむけた20年間の実績 14
大河原家畜保健衛生所 後藤庸, 柴田千尋, 西川彰子, 小寺文う
- 6 高病原性鳥インフルエンザ発生時の初動防疫体制整備に向けた取り組み 18
仙台家畜保健衛生所 中村健太郎, 大越啓司, 加藤伸悦, 西清志, 大場実
- 7 埋蔵文化財包蔵地に所在する一養鶏場の埋却地確保に向けた取り組み 21
東部家畜保健衛生所 狩野将輝, 佐々木春香, 網代隆
- 8 県内初の高病原性鳥インフルエンザ発生事例を踏まえた実践的な防疫演習の取り組み 24
北部家畜保健衛生所 矢田絢子, 小川修平
- 9 高病原性鳥インフルエンザ発生農場の早期業務再開に向けた支援体制とその取り組み 27
◎◎北部地方振興事務所栗原地域事務所畜産振興部 齋藤拓海, 山田治, 大久範幸,
嶋田俊治, 佐藤元道

【第2部】

- 10 乳酸脱水素酵素(LDH)及びリアルタイムPCRによる牛白血病診断への精度評価 31
◎仙台家畜保健衛生所 高森広典, 佐久間晶子, 松尾賢吾, 高橋幸治
- 11 黒毛和種成牛の角基部にみられたケラトアカントーマの一症例 35
○仙台家畜保健衛生所 板橋知子, 高森広典, 高橋幸治
- 12 過去9年間に分離された豚由来病原性大腸菌O116及びO139の比較解析 39
○仙台家畜保健衛生所 江頭宏之, 高森広典, 高橋幸治
- 13 高病原性鳥インフルエンザのコンベンショナルPCR法の比較検討 43
仙台家畜保健衛生所 松尾賢吾, 佐伯悠季, 高森広典, 高橋幸治

【第3部】

- 14 胚発生率の低い種雄牛における体外受精成績の改善 47
◎宮城県畜産試験場 伊藤愛, 矢島りさ, 及川俊徳

15 合堆肥複合肥料の試作と肥効 50

宮城県畜産試験場 日野義彦

- ◎◎ 全国家畜保健衛生業績発表会選出
- ◎ 宮城県農林水産部畜産課長賞（1部, 2部演題はブロック大会選出）
- 宮城県獣医師会会長賞

1 第11回全国和牛能力共進会宮城大会を基軸とした仙南地域の肉用牛振興対策

大河原家畜保健衛生所

斉藤隼人, 橋本佳奈, 遠藤潤, 半沢康弘

1 背景と目的

当所管内である仙南地域は2市7町で構成され、黒毛和種肉用繁殖雌牛及び子牛、肥育牛の飼養戸数231戸、飼養頭数は14,578頭（家畜伝染病予防法に基づく定期報告集計平成29年2月1日現在）と肉用牛生産の盛んな地域である。

一方、仙南地域の平成20年度の子牛市場価格は県市場平均の94.6%であり、年々低下傾向にあった。この対策として、子牛育成技術の向上を目的に骨格や腹作りに重点を置いた「仙南子牛育成マニュアル」を作成し¹⁾、優良な子牛生産づくりに取り組んできた。この取組に続き平成29年に第11回全国和牛能力共進会（以下、全共）が宮城県で開催されることに合わせ、仙南地域の和牛評価向上を最終目的に、全共上位入賞を目指し「組織づくり」、「牛づくり」及び「人づくり」の3つの取組を行った。

2 取組一組織づくり

仙南地域は、白石、角田、蔵王しばた、丸森の4つの和牛改良組合があるが本地域を包括するような組織がなく、和牛改良のさらなる推進、全共への地域一丸となった取組のためには、新たな組織づくりが求められていた。

優良雌牛の管内保留等による改良推進や斉一性の高い和牛生産体制の確立を目的としたみやぎ仙南和牛改良推進組合設立準備委員会が発足した。準備委員会は平成25年12月～平成26年7月まで5回開催された。準備委員として各改良組合、大河原家畜保健衛生所、大河原農業改良普及センター、みやぎ仙南農業協同組合、全国農業協同組合連合会宮城県本部畜産部仙南畜産事業所が構成員となり、特に改良の目標、原種基礎雌牛選定基準について検討した。準備委員会での協議を重ねた結果平成26年7月に仙

南和牛改良推進組合が設立された。また、改良目標が設定され（表1）、発育、体伸、皮膚の優点を保持し、前軀幅、腿、尻、体上線の難点を改良していくという方向性が決定された。仙南和牛改良推進組合の設立により、全共へ向けた地域一丸となった取組体制が確立され、和牛改良のさらなる推進が図られることになった。

表1 仙南地域の改良目標

形質	改良目標
体型	優点(発育、体伸、皮膚)を保持しながら、難点(前軀幅、腿、尻、体上線)の改良
肉質	BMS2+(No.8)以上

3 取組一牛づくり

牛づくりでは、子牛の飼養技術向上による地域の発育状況改善のため以下の取組を実施した。平成22～27年には、仙南地域の子牛マニュアルの作成と巡回による子牛の育成技術に関する指導を実施した。平成27～29年には本格的に全共へ出品対策を開始し、指定交配とその産子についての調査、巡回・集合指導、地域の選考会を開催した。

仙南地域では、全共出品区における1区と7区の計33頭に対し指定交配した。その他2～6区も含め候補牛の調査は、計108頭行い、そのうち24頭を選抜し、巡回・集合指導を行うこととした。

表2 指定交配、調査及び指導対象頭数

区	指定交配頭数	調査頭数	指導対象頭数
1区	3頭	3頭	—
2区	—	22頭	5頭
3区	—	24頭	6頭
5区	—	26頭	4頭
6区	—	9頭	3頭
7区(種牛)	30頭	24頭	6頭
計	33頭	108頭	24頭

巡回指導では、体高、十字部高、体長、胸囲、腹囲、胸深、尻長、腰角幅、かん幅、坐骨幅の体尺測定を行い、栄養度、飼料給与量の調査、飼養管理の改善指導を行った。

この中でも特に仙南地域は、栄養度が高い傾向にあった。栄養度は、原則として4～6の範囲を超えたものについては優等賞の中位以下とすることを基本にする²⁾とあることから適正範囲となるよう指導した。具体的には栄養度チェックシートを作成、各飼養者に配布した。チェックシートは各飼養者の牛舎へ設置し目視化することで栄養度の状況の把握と改善に向け指導するのに有効であった。全共直前の平成29年8月には4頭中3頭が栄養度6となり、残り1頭についても全共までには栄養度6となった。

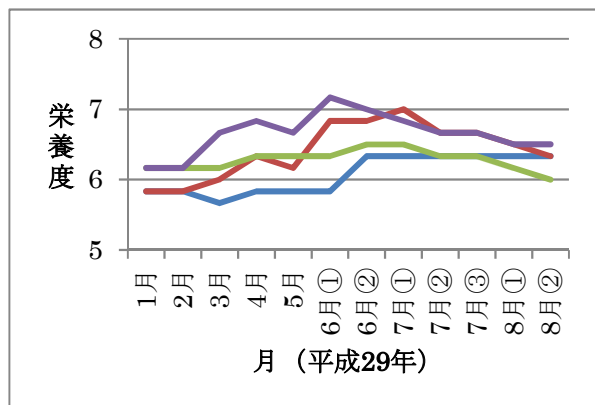


図1 栄養度の推移

4 取組一人づくり

全共へ向け牛の体型等の矯正や取扱いを容易にするための馴致を目的に繋ぎ運動を行う必要がある。仙南地域の全共候補牛飼養農家では専用の繋ぎ場を有している者はいなかったため、推進組合の役員会等で全共専用の繋ぎ場を設置した事例の紹介、現地視察等を実施した。また地域の全共候補牛飼養者が一度に集まる集合指導会の開催を通して出品者同士が交流する機会を作るなどの対策を講じた。その結果全共に対する取組への意識が変化し始め、最終的には全共候補牛全戸で専用の繋ぎ場を設けるまでに至った。

また、平成26～28年にかけては、「第11回全共宮城大会に向けて」を共通テーマにした情報

提供、育成技術向上を目的とし各テーマを設けて講演会を主催することで地域全体の子牛育成技術のレベルアップと全共に対する意識醸成を図った。

5. 成果・まとめ

①組織づくりでは仙南和牛改良推進組合が設立されたことで和牛改良の推進体制が整ったこと、また全共へ向かって地域一丸となった取組が可能となった。

②牛づくりでは、指定交配や巡回・集合指導会により、調教や飼養技術の向上、仙南地域を担う優良雌牛を生産できた。

③人づくりとして講演会や巡回、集合指導会等での交流を通じ、全共に対する意識醸成を図ることができた。

これら取組の結果、平成29年度宮城県畜産総合共進会（県共；全共宮城県最終選考会）において、8区総合評価群で最優秀賞を受賞、全共7区種牛の部における宮城県代表牛の座を獲得した。また、全共においても、7区種牛の部で優等賞4席（4位）、肉牛の部との総合評価でも優等賞6席（6位）を受賞した。また、仙南地域の子牛市場平均価格は、県共終了後の平成29年7月以降すべての月で県平均を上回って推移した（平成30年1月18日現在）。全共の上位入賞が仙南地域の和牛評価向上の一要因となったものと推察される。

今後の取組としては、これまでの取組の継続に加え遺伝的な改良をさらに推進し、育種組合への移行も視野に仙南地域の和牛振興を図っていく。

6.参考文献

1)熊田修之、千葉和義、漆山昌芳、嶋田俊治、熊谷弘明：仙南地域「子牛育成マニュアル」を活用した子牛育成改善への取り組み、宮城県家畜保健衛生業績発表会集録（2011）

2)第11回全国和牛能力共進会審査基準

2 第11回全国和牛能力共進会に向けた地域の取り組み

東部家畜保健衛生所

渡部祐未, 阿部玲佳, 阿部忠宏, 武田正寛, 早坂駿哉, 伊藤敦

1 はじめに

第11回全国和牛能力共進会(全共)は、「高めよう生産力 伝えよう和牛力 明日へつなぐ和牛生産」をテーマに、平成29年9月7日から11日までの間、夢メッセみやぎをメイン会場として開催され、全国39道府県から種牛の部330頭、肉牛の部183頭、高校の部14頭が集結した。

当所が中心となり地域の畜産関係機関と連携し、肉用牛の改良及び全共出品対策に取り組んだので、その概要を報告する。

2 登米地域の肉用牛生産

登米市は肉用牛飼養戸数815戸、頭数は25,402頭¹⁾で、市町村別では県内1位、飼養頭数は本州1位であり、県内有数の肉用牛生産地である。地域の肉用牛生産者の高齢化が進んでいる一方、「後継者部会」など若年層の活動が活発に行われており、比較的后継者が育まれていることも特徴である。

地域肉用牛改良の取り組みとして、東部家畜保健衛生所や登米和牛育種組合、JAみやぎ登米和牛改良組合協議会が中心となり、子牛保留選定会や産子検査を実施している。子牛保留選定会は、平成8年の育種組合発足当初から20年以上継続している取り組みで、優良雌子牛の地域内保留や生産者の哺育育成技術向上を目的とし、毎月1回雌子牛を集合させて審査を行っている。また、産子検査は、毎月の子牛市場に合わせて実施し、育種牛や基礎雌牛等の産子の体型審査を行っている。これらの取り組みにより優良と審査され、地域内に保留される牛には、県や市、JA、育種組合等から保留助成金が交付される。地域全体で積極的に優良雌牛の保留、増頭に取り組み、登米地域は県内肉用牛改良の拠点地域の一つとなっている。

3 肉用牛改良及び全共に向けた地域の推進体制

肉用牛改良に向けた繁殖雌牛群整備のため、平成23年2月に県畜産課を事務局とする肉用牛改良推進会議が設置された。この会議のもと、地域では平成25年2月に東部家保を事務局とする肉用牛改良推進登米本吉地域対策会議を設置した。全国和牛登録協会宮城県支部やみやぎ登米農業協同組合、南三陸農業協同組合、登米市、気仙沼市、南三陸町、登米和牛育種組合等、地域の肉用牛に係わる組織を中心として、定期的な会議や生産者への情報提供、交配および飼養管理指導、巡回調査、集合調査等を実施した。

4 地域対策会議の活動

1) 肉用牛改良に向けた活動

地域の繁殖雌牛の血統について分析し、優秀な産子を生産できるよう、血統に合わせた推奨交配パターンを検討した。地域に多く飼養されている繁殖雌牛の父牛と、その血統に合った交配種雄牛を具体的に例示した資料(図1)を作成し、巡回調査時に配付して適切な交配を推進した。

2) 全共に向けた活動

地域対策会議は、平成25年2月から全共開催までに計7回開催した。会議では、全共までのスケジュール案や出品対策基本計画の周知、巡回調査の説明を行った。

平成26年8月から巡回調査を始め、種牛の部では出品条件を満たす繁殖雌牛や指定交配可能な雌牛及びそれら雌牛から生まれた産子を対象に、肉牛の部では指定交配可能な雌牛及びそれら雌牛から生まれた産子を対象に体測や体型審査、分娩及び種付け月日を調査した。

指定交配を依頼するため、体型や能力、交配期間等の条件を満たす繁殖雌牛の所有者137名を対象に、地域を4地区に分け、地区ごとに説明会を開催した。説明会では、肉用牛を取り巻く現状や全共の概要、全共に向けた調査の報告と出品牛造成計画について説明を行った。家畜人工授精師への情報提供及び依頼も行い、その際には資料(図2)を配付し、指定交配を推進した。

図1. 推奨交配パターン配付資料

(1) 種牛の部における活動

地域では2区、3区及び7区(種牛)の候補牛を対象に、巡回調査や比較調査で2区8頭、3区及び7区(種牛)16頭を選定し、地域の生産者に受け渡しを行った。

また、集合調査会は2区・5区・6区・7区(種牛)を対象に開催し、測尺や個体調査、比較調査、つなぎ及び引き運動、牛体の手入れ、調教について指導を行った。

地区選考は第一次選抜会を平成29年4月に、地区最終選抜会を5月に開催し、県最終選考会

図2. 指定交配依頼時に配付した資料

へ出品する18頭を選定した。県最終選考会は6月に開催され、地域から5頭が全共出品牛として選定された。

その後、集合指導会を5回開催し、体測や栄養度判定、正姿勢、縦列および歩行の練習、牛体の手入れ、調教について指導を行った。

(2) 肉牛の部における活動

平成25年から2回の早期肥育試験を重ね、平成28年4月に、出品候補牛24頭が地域の肥育農家6戸に受け渡された。

平成28年7月から平成29年6月まで計7回の早期肥育牛巡回調査を実施し、体重測定や測尺、ビタミンや飼料給与量および治療歴の聞き取り、血液成分の分析、超音波肉質診断を行った。

県最終選考会は7月に開催され、地域から4頭が全共出品牛として選定された。

5 種牛の部出品者への支援体制

県最終選考会後から、地域の生産者や農協職員、和牛改良組合員、育種組合員が中心となり、

種牛の部出品者への支援が始まった。地域の生産者たちは自発的に出品者への支援を申し出た後継者等で、出品者と SNS で連絡を取り合いながら、毎日 1～3 人が引き運動や牛体の手入れ、調教を行い、出品者の精神的・身体的負担を軽減するよう努めた。

6 全共出品牛の審査結果

平成 29 年 4 月の全共申し込み時点で、県の出品候補牛の約 3 割を占める 66 頭を地域から輩出し、全共には 5 頭の種牛と 4 頭の肉牛が出品された。

出品審査の結果、地域の出品牛が第 2 区若雌の 1 で優等賞 1 席（表 1）となり、県内肉用牛関係者悲願の日本一を獲得した（図 3）。他の区においても県出品牛が上位入賞を果たしたこともあり、当県は出品団体表彰過去最高の第 4 位を獲得した。

地域で積極的に行われてきた肉用牛改良への取り組みや組織体制のもと、地域対策会議がその基盤を有効活用した結果、多数の候補牛の輩出や地域の理解・手厚い支援に繋がったと考えられた。これらが出品者の努力や経験と一体となり、地域出品牛の上位入賞という結果に繋がったものと考えられた。

表 1. 全共出品牛の審査結果（登米地域）

区分	受賞成績（順位）
第 2 区	優等賞 1 席 (1/33)
第 3 区	1 等賞 1 席 (17/32)
第 6 区	優等賞 5 席 (5/17)
第 7 区	優等賞 6 席 (6/16) (肉牛のうち 1 頭)
第 8 区	1 等賞 (-) (3 頭のうち 2 頭)
第 9 区	優等賞 25 席 (25/78)



図 3. 第 2 区で日本一を獲得した出品牛

7 日本一獲得が地域へ与えた影響

地域出品牛の日本一獲得は、生産者の増頭・更新の意欲を高めるとともに、次回全共への出品意欲を刺激し、地域の畜産が活性化した。また、登米市内の飲食店（図 4）では「全共日本一」を祝う特別メニューも提供され、生産者のみならず一般の消費者にも地域の肉用牛生産について知ってもらう良い機会になった。



図 4. 特別メニューが提供された市内飲食店

8 第 12 回全共に向けて

全共は、日々の地道な活動の成果を代表牛や候補牛として実証していくものである。

今回の全共上位入賞の要因を分析・整理し、県全体で共有し、関係機関と生産者が一体となった「オール宮城」体制を更に維持、発展させていくことが次回全共に向けて必要であると考えられる。

また、「オール宮城」体制で分娩間隔の短縮等更に改良増殖を推進することや、おいしい和牛

肉生産の推進に向けた MUFA 含有率の調査分析等に取り組んでいくことは、次回全共への成果に繋がると考えられる。

東部家保は、「オール宮城」体制の中核となり、地域の生産者・関係者の方々とともに肉用牛の改良を積極的に推進していきたい。

9 引用文献

- 1) 農林水産省：2015年農林業センサス報告書(2016)

3 「全国和牛能力共進会 日本一」を目指した栗原地域の取り組み

北部地方振興事務所栗原地域事務所
佐藤元道，山田治，齋藤拓海

1 地域の概要と和牛改良

栗原地域の繁殖と牛飼養戸数・飼養頭数は651戸，3,901頭(宮城県家畜改良頭羽数調査平成29年2月現在)で県内約18%を占める県内有数の和牛産地である。

地域の和牛改良は栗原和牛育種組合と9地区和牛改良組合を中心に進められてきた。改良の土台となる繁殖雌牛群は，①雌牛群の上位2層の基礎雌牛群に県基幹種雄牛を交配し生産され，産子検査に合格した雌子牛と②県外からの導入牛等を群に組み込むことで改良が進められてきた(図1)。

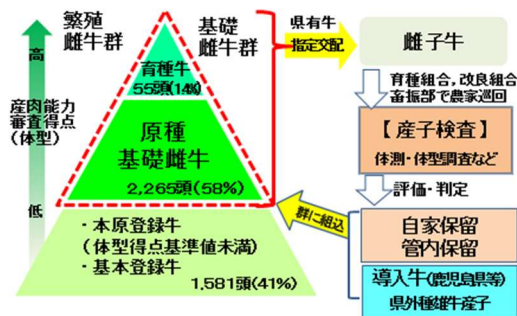


図1: 繁殖雌牛群の構成と流れ

そして，繁殖雌牛群の改良の成果を栗原地域共進会の開催や宮城県総合畜産共進会(県共進会)に出品し確認してきた。

2 全国和牛能力共進会への挑戦

全国和牛能力共進会(全共)は公益社団法人全国和牛登録協会が主催し，5年に一度開催される全国規模の和牛品評会で，雄牛，雌牛の和牛改良の成果を競う「種牛の部」と肉質を競う「肉牛の部」に約500頭が出品される。全共は肉用牛生産者や関係者の注目度が高く，審査結果が和牛のブランド化に大きく影響する重要な大会である。

栗原地域は第4回福島大会(昭和57年)から全共に挑戦してきたが，第9回鳥取大会までは改良が全国レベルにまで追いつかず，種牛の部では第9

回鳥取大会の第3区若雌の2の優等賞13席が最高位であり，上位入賞が果たせない状況であった。

そのような状況の中，平成21年宮城県知事が全国和牛能力共進会の開催誘致を表明し，翌平成22年6月に全国和牛登録協会総会にて，第10回長崎大会の次期開催県に宮城県が決定した。

そのため，栗原地域は全共宮城大会を目標に優良雌牛による基礎雌牛群の整備促進と優良和牛生産の形成を図ることにした。

3 全共日本一に向けた取り組み

(1)長崎大会を通過点とした取り組み(H22～24)

全共日本一に向けて，長崎大会では①基礎雌牛群の改良促進のため，栗原和牛育種組合の基礎雌牛選定基準を基本・本原登録審査(成牛審査)得点81.0から82.0にあげ，より良い母牛から生まれた雌子牛を保留し，②関係機関が密接な連携の下，当時産肉能力が高く基幹種雄牛に選抜された「茂洋」の雌子牛の保留を推進するため，「茂洋の里づくり協議会」を設立した。

茂洋の里づくり協議会は 畜産振興部，農協，栗原市などの関係機関10組織で構成(図2)され，畜産振興部は協議会の全体調整及び調査巡回時の技術支援，保留助成を担当した。協議会の設立当時は東日本大震災からの復興過程であり，福島第1原発事故に起因する放射性セシウムによる牛の出荷制限が行われ，繁殖雌牛の更新が困難な状況であったが，助成措置などにより茂洋等県基幹種雄牛産子の地域内保留を推進してきた。併せて，栗原和牛の知名度と品質を向上するために，全共への出品を支援してきた。

出品対策として，全共出品対策部会によるマニュアル作成や，研究会等の県全域の対策に加え，候補牛調査や集合・巡回指導等の地域対策を協議

会メンバーで実施した。

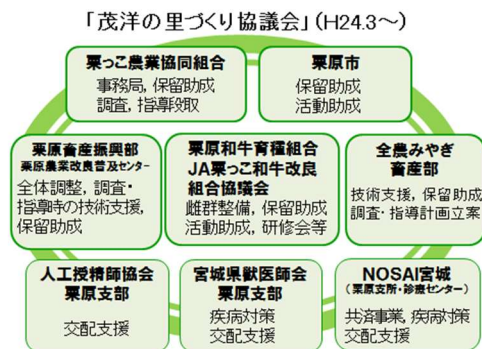


図2 茂洋の里づくり協議会

平成24年10月に開催された長崎大会には第3区若雌の2(17～20ヶ月齢:未経産)及び第5区繁殖雌牛群に出品し、優等賞5席、1等賞2席を獲得した。

長崎大会の体測結果を、上位入賞した第3区出品牛と首席牛(宮崎県)を比較すると、体長で-6.8cm、尻幅で-4.0cmと劣っていたが、胸深は+4.5cmで体高、尻長、かん幅は1.5cm以内の差であった。第5区繁殖雌牛群と首席牛群(大分県)の数値を見ると、胸囲+5.7cm、胸幅+2.0cm、体高、体長、胸深、尻長、かん幅は1cm以内の差で、首席牛と遜色なかったが、上位入賞が果たせなかった。

第10回全共長崎大会の反省点として、①出品牛全体で、肢蹄の強さや体のしまりなど測定できない審査項目の対応が不足し、「均称(釣合、姿勢)」、「品位(肩付、鮮明さ、品)」が劣っていたこと、②繁殖雌牛群では「茂勝」の欠点である前背幅や後躯の狭さが改良された「茂洋」産子を揃えられず、「体積感」「斉一性」が不足していたこと、③出品者へのサポート体制が甘く、出品者の負担が大きく、飼養管理や調教に対応しきれなかったことが上げられた。

(2) 宮城大会に向けた取り組み(H25～29)

長崎大会での取り組みや反省を踏まえ、宮城大会に向けて、雌牛調査拡充による「牛づくり」対策を全共実行委員会出品対策部会と連携して進めると共に、技術者の育成とサポート体制強化による人づくり対策を行った。

(a) 牛づくり対策

若雌牛の出品候補牛に関する調査・選抜では、長崎大会よりも均称、品位の良い若雌牛を出品するために、母牛の段階から巡回調査を関係機関とともに行った。母牛の発育、肩付、体上線などの体型に関することや分娩状況等を確認し、131頭を選定した。そして母牛の生産者に対して、候補牛生産に関する地域説明会を畜産振興部で開催し、全共の取り組み周知と交配に対する協力を呼びかけた。その後、選定条件に合う母牛を新たに加え、生産された65頭について、巡回調査を行い候補牛22頭を選抜した。

繁殖雌牛群の出品候補牛選抜では、協議会設立以降、保留を進めてきた「茂洋」産子579頭から分娩間隔400日以内など出品条件に該当した前回3.5倍にあたる145頭を、農協・全農みやぎと共に巡回調査し、20頭を一次選抜した。分娩前後での体型変化を考慮し、経時的な体型調査を行うと共に群出品で重要となる群の揃いを確認し、9頭を2次選抜した。そして、長崎全共の課題であった体積、均称、品位に優れ、群として斉一性の高い5頭を出品候補牛に選抜した。

(b) 人づくり対策

地域の人づくりとして、若手生産者を中心に出品候補者に誘導したので、その半数が県共進会や全共を未経験という状況であった。

そのため、若手生産者等に対して、全共までの県共進会を活用した技術レベル向上を協議会メンバーで支援した。また、栗原市や農協等が助成し、先進地への視察研修に若手生産者を派遣し知見を増やさせた。最終選考会に向けて地域の集合指導会に加えて、地域の集合指導会の回数を全大会より増加させて技術指導を行った。

サポート体制の強化として、農協職員を出品対策専任職員として2名配置してもらい、牛舎での飼養管理や調教の徹底を図るために巡回指導にあってもらった。

(3) 全共宮城大会最終選考会(H29県共進会)

最終選考会には、栗原地域の選考を経て、若雌牛8頭(単品区3頭、群出品5頭)、繁殖雌牛群5頭

(群出品5頭)が出品された。

審査の結果、若雌牛2頭(第2区若雌の1, 第3区若雌の2)、繁殖雌牛4頭(第5区繁殖雌牛群)が県の代表牛として選出された。

(4) 代表牛選抜後の最終比較審査に向けた取り組み

出品牛の最終調整で、長崎大会では出品者が個々で行っていたものを、出品牛を集合させて行うことにし、平日の早朝に追い運動を行い、肢蹄や体しまり等の改善を図ると主に、複数の目で牛の状況を確認し技術指導を行った。また、これまで全共出品を目指していた候補者を出品者毎の補助員に配置し、負担軽減を図った。

出品牛の変化として、平成29年1月と出品間近の平成29年8月を比較すると、体しまり、体上線、肢蹄の強さに違いが見られ、均称、品位が向上した(図3)。

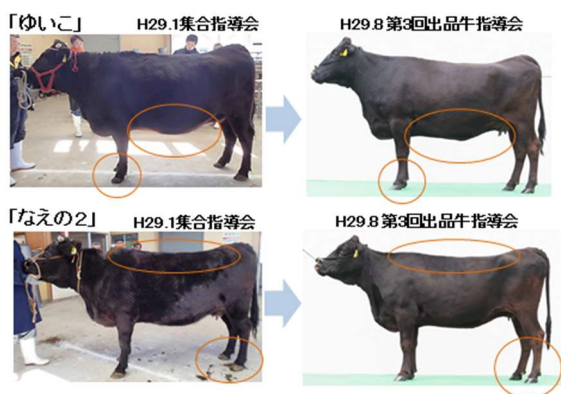


図3 出品牛の変化

(5) 全共宮城大会最終比較審査(H29.9)

宮城大会最終比較審査では、牛づくりの成果として、栗原地域から第2区、3区、5区に出品した全頭が優等賞に入賞し、第3区若雌の2と第5区繁殖雌牛群は4席と上位入賞を果たした。また、第5区繁殖雌牛群では、全共出品牛の中で最も体積・均称に優れた牛に与えられる「体積・均称賞」を受賞した。人づくりの成果として第3区出品者は就農3年目であるが、和牛審査協議後継者の部で第2位に入賞した。栗原地域はこの大会で全共日本一の常連である鹿児島県や宮崎県に、若雌牛、そして繁

殖雌牛群で肩を並べるところまで到達することができた。

(5) 第12回鹿児島大会日本一に向けて

宮城大会まで積み上げてきたものを次回鹿児島大会日本一につなげていくため、全共や生産振興に関するアンケート調査を行った。

アンケート調査は栗原地域の生産者81名に対して行い、60代の回答が37%と最も多く、20～30代の回答が22%、40代9%、50代21%、70代11%となった。栗原地域共進会に出品者や補助員として参加したことがある…54%、9月に行われた全共宮城大会の審査会場(夢メッセみやぎ)にいった…75%の回答があった。

県共進会や全共に出品者・補助員として参加することについて、宮城大会開催前後の心情変化を確認したところ(図4)、参加することへの関心は約6割から7割に増加しており、世代別に関心の度数を見ていくと、20～30代は「やや関心がある」と回答した生産者が増え、関心度数が増加したが、40～60代は関心の度数は増加していないものの「大いに関心がある」が増えていた。そのことから、共進会への参加意欲が高まっていると考えられた。生産者自身が肉用牛生産において、今後5年間を目安としてどのようなことに力を入れていきたいかについて、増頭や育成管理等の肉用牛経営に関する20項目の中から3つ選択するアンケートを行ったところ、上位には雌牛更新、子牛の育成管理、1～5頭の増頭、ICTによる分娩間隔短縮などが上位の回答となった(図5)。そのため、栗原地域には共進会に対する高い意欲があるため、これらのニーズに合わせた生産振興対策と共進会対策を組み合わせ実施していくことが効果的であると考えられた。

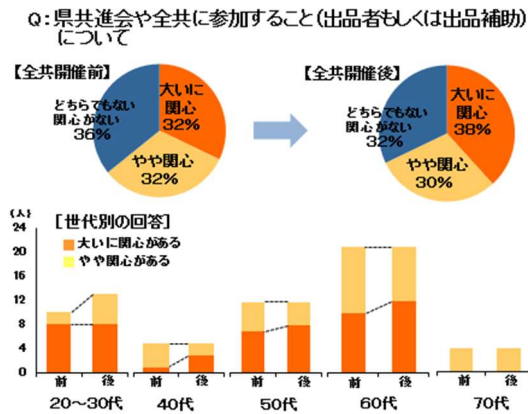


図4 アンケート調査結果①

Q: 生産者自身が、肉用牛生産において、今後5年間を目安としてどのようなことに力を入れていきたいか
(増頭や育成管理等の肉用牛経営に関する20項目の中から3つ選択)

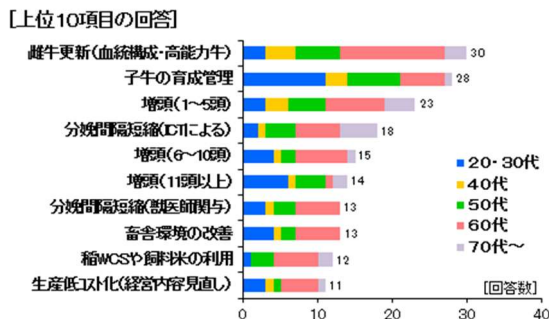


図5 アンケート調査結果②

4 まとめ

当畜産振興部は①生産振興対策として、協議会を設立し、関係機関の連携強化を図ると共に、茂洋等県基幹種雄牛産子の地域内保留による基礎雌牛群整備を行い、併せて②共進会対策として協議会メンバーで若手技術者育成や技術支援を行った。その結果、栗原地域の牛づくり、人づくりを促進することができ、全共上位入賞により「栗原和牛」を全国に発信することができた。

今後、次回全共鹿児島大会日本一を目指し、①「茂洋美」、「洋系波」、「勝忠久」など栗原産の県基幹種雄牛による雌牛改良、②増頭・施設整備による生産基盤強化、③子牛育成管理指導やICT機器等を活用した分娩間隔短縮に向けた生産振興対策に関する技術指導を推進すると共に、④地域の人づくりとして、担い手育成・若手生産者への技術支援の実施を図っていく。

5 参考文献

- 1) 公益社団法人全国和牛登録協会 ,第10回全国和牛能力共進会褒賞目録(2012)
- 2) 公益社団法人全国和牛登録協会 ,第11回全国和牛能力共進会褒賞目録(2017)
- 3) 公益社団法人全国和牛登録協会 ,和牛登録事務必携(2015)

4 ICT 機器を利用した和牛繁殖経営への新規就農事例

北部家畜保健衛生所

松原敦子，鶴田昇

1 はじめに

近年の和牛繁殖経営は、生産者の高齢化や担い手不足等により飼養戸数・頭数が減少する等、生産基盤の弱体化が課題となっている。県内の繁殖農家の飼養戸数は2,886戸、頭数は24,441頭(2017年2月1日現在)となっており、5年前と比べると戸数頭数共に約3割減少している¹⁾。

また、県内の繁殖農家における病傷事故発生状況²⁾については、卵巣静止2,936件(29%)、黄体遺残1,847件(18%)、難産1,362件(14%)等と繁殖や分娩に関わる疾病や事故が過半数を占め、子牛が主な収入源である繁殖経営にとっては、経営に大きな影響が出ることが分かる。

2 新規事業

前述した繁殖農家の現状を踏まえ、2017年度、県畜産課では、担い手による規模拡大や新たな担い手を確保するため、ICT(情報通信技術)等を活用した省力管理機器(以下、機器)の導入を支援する「みやぎの肉用牛パワーアップ事業(以下、事業)」の運用を開始した。

(1) 事業概要

事業対象1人当たりの補助率は3分の1以下で補助上限は50万円。事業実施主体は農業協同組合(以下、JA)等で、担い手もしくは担い手の確保が見込める生産者や経営規模の維持・拡大を行う生産者が対象となる。対象機器は、モバイル牛温恵(以下、牛温恵)や養牛カメラ等といった分娩発情監視装置やソーラー電牧、連動スタンション等の労力軽減機器となっている。

このような機器を導入することにより、作業の省力化が図られ、生産性の向上や規模拡大に繋がると考えられる。

(2) 事業実施状況

2017年12月末現在、事業によって機器を導入した農家は県全体で33戸となっており、うち当所管内は8戸の農家が事業を活用して機器を導入している。飼養規模別に見てみると、20～49頭規模の農家で機器の導入数が一番多く17戸となっている。これは、県営農基本計画指標³⁾で示されている、専業農家の目安となる約30頭規模での機器の利用が活発であることが伺える。また、導入機器については、1戸の農家が複数導入している場合もあるが、分娩発情監視装置である「牛温恵」が最も多い状況となっている。(表1)

表1 事業実施状況

規模別	新規就農	1-4頭	5-9頭	10-19頭	20-49頭	50-99頭	100頭-	合計	
農家戸数		1,580	665	375	183	29	15	2,850	
事業実施件数	1	2	1	8	17	2	2	33	
うち管内事業実施件数		1		3	3	1		8	
導入機器	牛温恵	1	2	1	7	11	2	1	25
	カメラ				1		4	5	
	ソーラー電牧		1			3		4	
	ソーラー電牧+スマホ		1			1		2	
	ソーラー電牧	1						1	

(3) 牛温恵のシステム概要

牛温恵⁴⁾は、雌牛の膣内の体温を温度センサーで測定し、分娩の約24時間前の体温低下や一次破水時の温度低下、発情時に見られる体温上昇等を検知し、外出先や自宅等、牛舎から離れた場所にいる生産者にメールで通知するシステムとなっており、立会い分娩による事故低減や適期授精のために活用されている。(図1)



図1 システム概略図

3 アンケートによるニーズ把握

当所では、今後の事業展開に向けたニーズ把握のため、JA加美よつば管内で今回の事業以外で既に機器を導入している12人の生産者に対して、機器の導入に関するアンケートを実施した。JA加美よつばは、県内でも登米、栗原地域に次いで機器の導入数の多い地域となっている。

(1) アンケート内容

アンケートは、①年齢、②飼養頭数、③労働人数、④導入している機器、⑤導入した理由、⑥導入して良かったこと、⑦導入後の課題・要望、⑧増頭の希望の8つの項目について、聞き取り形式で実施した。

(2) 結果

アンケートの対象者12人全員が牛温恵を導入しており、うち4人が牛温恵とカメラを併用していた。(表2)

表2 アンケート対象者機器導入状況

規模別	0頭	1-4頭	5-9頭	10-19頭	20-49頭	50-99頭	100頭-	合計
アンケート対象者			1	3	7	1		12
導入機器内訳			1	3	7	1		12
牛温恵			1	3	7	1		12
カメラ (市販のカメラ含む)					4			4

飼養規模は、20～49頭規模が7戸と最も多く、これは県内の事業実施状況と同じ傾向であることがわかった。また、機器を導入している生産者の年齢は、30～40代の方が8人と過半数を占め、本人が後継者という方がほとんどであった。労働人数については、本人と父親または本人と両親といった形態が8戸と半数以上を占めた。

導入理由については、「分娩事故0」といった商品のPR内容に引かれたという方が多かったが、実際に機器を導入してみると、分娩事故防止効果のみならず、「見回りの回数が減った」、「夜眠れるようになった」といった意見が多く、作業負担軽減の効果も大きいことがわかった。また、導入後の課題や要望については、費用や機器の不具合等、様々な意見があった。(表3)

表3 生産者の意見

導入した理由	導入して良かったこと	導入後の課題・要望
<ul style="list-style-type: none"> ・分娩事故を減らしたい ・作業負担を減らしたい ・繁殖成績を改善させたい ・後継者のため ・補助事業があった ・機器に興味をもった 	<ul style="list-style-type: none"> ・見回りの回数が減った ・気持ちが楽になった ・夜、眠れるようになった ・分娩事故が減った ・田んぼや畑など、別の仕事に出やすくなった ・自宅から牛舎まで通勤しているため、分娩兆候の通知があると安心 	<ul style="list-style-type: none"> ・通信料は「使った分だけ」になってほしい ・導入当初は使い方に戸惑った ・親世代(年配の方)は取扱が難しい ・通知が来たり来なかったり不具合もあった ・天候によっては電波の調子が悪い

(3) まとめ

アンケート結果から、30～40代の後継者世代や20～49頭規模の経営において機器の導入率が高く、増頭に対しても意欲的であることがわかった。また、機器導入による分娩事故防止効果以外にも、身体的・精神的負担の軽減を実感する農家が多く、機器の有用性を確認することができた。さらに、アンケート対象者の中には、自宅と牛舎が離れていたり、水稻や畑作との複合経営を行っている方もおり、機器の導入によって経営形態に合わせた繁殖経営を展開することが可能であることもわかった。

以上のことから、ICT機器等の省力管理機器が、担い手の就農の後押しや増頭等、生産性の向上や経営の安定化に向けた有効なツールであることが確認された。

そこで、当所では、管内の和牛繁殖新規就農者に対して、事業を活用した機器の導入を支援することとした。

4 ICT機器を利用した新規就農事例

今回は、加美町で和牛繁殖を行うH氏の事例を紹介する。

(1) 概要

H氏は、2016年3月に県農業大学校を卒業後、実家に就農した。現在、和牛繁殖雌牛10頭、5年後は20頭へ規模拡大を計画している。H氏の経営の最大の特徴は、自宅から牛舎まで車で15分の通勤をしながら和牛繁殖の他、ネギや水稻の複合経営を行っていることである。このため、分娩間近の牛がいると不安になったり、別の作業のため牛舎から離れることも多くなり、分娩や発情の見逃しに繋がるのが課題としてあげられていた。

そこで、当所で実施したアンケート結果から、H氏の経営の課題解決にICT機器の導入が有効ではないかと判断し、機器導入に向けて支援を行うこととした。

(2) 支援の流れ

まず、本人、普及センター及びJAと連携しながら、機器導入に関する打ち合わせを行った。打ち合わせの結果、導入する機器を牛温恵に選定し、デモ機の活用を提案した。デモ機によってH氏は機器の操作方法を習得し、分娩監視や発情発見等の有用性を確認することができた。その後、事業を活用し、JA担当者とも連携しながら費用計算や増頭計画等を作成し、機器の導入まで至った。

(3) 現地指導

機器メーカーと協働し、デモ機利用時の課題や疑問等を解決しながら、機器を導入した。(図2)



図2 現地指導の様子

今後の支援については、まだ機器の導入後間もないことから、分娩事故率や繁殖成績等の具体的な数値を収集し、データ分析を行っていく。また、機器導入後の課題や要望を聞き取り、関係機関と

連携したフォローアップを図っていく。さらには、このH氏の事例を、今後の管内の事業推進にも活用していきたいと考える。

5 今後の取組み

今後、当所では、以下の2つの項目について重点的に取り組むこととする。まず1つ目は、事業の積極的な周知を行うことで、具体的には、管内の畜産農家や関係団体を対象とした畜産講演会を平成30年2月16日(金)に開催し、事業の紹介やH氏の事例紹介、メーカーと協働したICT機器の説明を企画している。2つ目は、支援体制の強化で普及センターやJA、機器メーカー等と連携しながら、事業参加希望者の掘り起こしやニーズの聞き取り、機器導入後のフォローアップを行っていく。

以上の取組みを通じて担い手による規模拡大や繁殖農家の生産基盤強化に繋げていきたい。

6 参考文献

- 1) 各年2月1日現在 飼養頭羽数調査
- 2) 平成28年度家畜共済病傷事故病名実績書
- 3) 宮城県営農基本計画指標(畜産部門)
- 4) <http://www.gyuonkei.jp/>

5 大規模肉用牛繁殖農場における地方病性牛白血病清浄化にむけた20年間の実績

大河原家畜保健衛生所

後藤庸, 柴田千尋, 西川彰子, 小寺文

1 はじめに

地方病性牛白血病(EBL)は牛白血病ウイルス(BLV)の感染によって起こり、感染牛の多くは長期間症状を示さず、3割程度が持続性リンパ球増多症(PL)を呈し、発症は数%と言われている¹⁾。BLVの感染の多くが注射針、直腸検査、吸血昆虫及び接触等の水平感染で、垂直感染は10%程度と言われている¹⁾。一方でウイルス保有量が多い母牛やPL牛の産子で高いという報告もある²⁾³⁾。EBLは全国的に発生頭数が増加している。経済的損失も大きく、生産現場からは早急な対策が求められており、平成27年4月に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」が農場で清浄化対策に活用されてきている。

今回、管内大規模肉用牛繁殖農場でEBL清浄化対策を20年間にわたり行い、成果と知見を得たので、その概要を報告する。

2 背景及び清浄化対策の基本方針

当該農場は成牛200頭規模の肉用牛繁殖農場で、平成10年度にEBLが散発していた系列農場の閉鎖に伴い、BLV抗体陽性率97%(201/207頭)の牛群を受け入れたことで、平成9年度の19%(39/205頭)から55%に上昇し、EBL発生子予防対策が求められた。

平成10年度に家畜伝染病予防法が改正され、牛白血病は届出伝染病に指定されたことも契機となり、農場と家畜保健衛生所が連携してEBL清浄化対策を開始した。

当初は高浸潤状況であったため、対策は、生産性及び経営状況に配慮した中長期的計画とし、年1~2回の繁殖雌陰性牛群の抗体検査による感染牛の把握を行いながら、できる限りの「陽性牛

の隔離推進と優先的更新」及び自家保留推進等による「陰性牛の確保」を基本対策として進めた。

3 材料と方法

年1~2回の繁殖雌陰性牛群と毎月6ヵ月齢程度の子牛の抗体検査により農場の浸潤状況を把握した。なお、抗体検査法は、平成9~25年度はゲル内沈降反応(AGID、牛白血病診断用抗原;北研)で、平成11~15年度は一部受身赤血球凝集反応(PHA、牛白血病抗体アッセイキット;日生研)、平成26年度からはELISA(牛白血病エライザキット;JNC)により実施した。なお、本稿では、対策の検討や知見のため行った追跡調査や試験の記述は省略する。

平成28年度から抗体陽性牛の更新計画への活用のため、6ヶ月毎に血中ウイルス量(BLV-CoCoMo-qPCR;理研)、リンパ球数(全自動血球計算機;日本光電)、リンパ球形態(血液塗抹標本)、総LDH(FUJIFILM DRI-CHEM3500V)及びLDH分画(タイタンLDHアイソザイム試薬;ヘレナ研究所)の測定と観察を行った。

4 EBL清浄化対策全期間の浸潤状況と対策ステージ

図1に対策全期間における浸潤状況と対策ステージを示す。平成10~29年度にかけて延べ9,347頭の検査を行った。BLV抗体陽性率は平成13年度のピーク時には83%(354/428頭)まで上昇したが、対策を継続し、平成29年12月時点でBLV抗体陽性率7%(15/220頭)まで減少した。浸潤状況と対策及び管理等について検討を重ねながら進めて来たので、それらをステージ1~5に分けて以下に説明する。

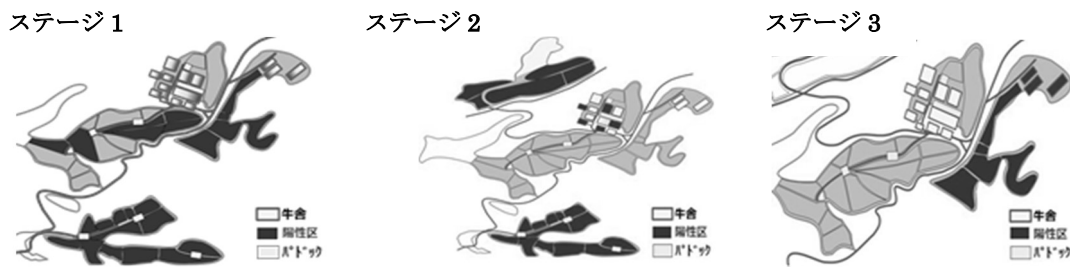


図 2. ステージ 1~3 における農場配置図

5 EBL清浄化対策

1) ステージ1(平成10年度~)

平成10年度に陽性牛と陰性牛の接触を減らすために、放牧地及び牛舎で陽性牛の部分隔離飼養を行った。当該農場は高浸潤状況であったため、放牧地及び牛舎の確保が難しく、放牧地では陽性牛と陰性牛で一部パドックの共有を認め、牛舎では陽性牛を固めて配置したが、陰性牛と陽性牛が接触する個体も認められた。(図2)。

平成13年度までBLV抗体陽性率は上昇を続け、平成11年度にはEBL発症牛が1頭確認された。これは陽性牛の隔離が不十分な状況で、パドックを中心に高浸潤系列農場由来の牛を感染源とした、BLVの新たな流行が起こったことに起因すると推察された。牛群編成の変更等に伴い作業動線が煩雑化したことや、明確な効果が見えなかったが、対策を継続することが重要であると認識し短期目標の設定を試みた。

2) ステージ2(平成14年度~)

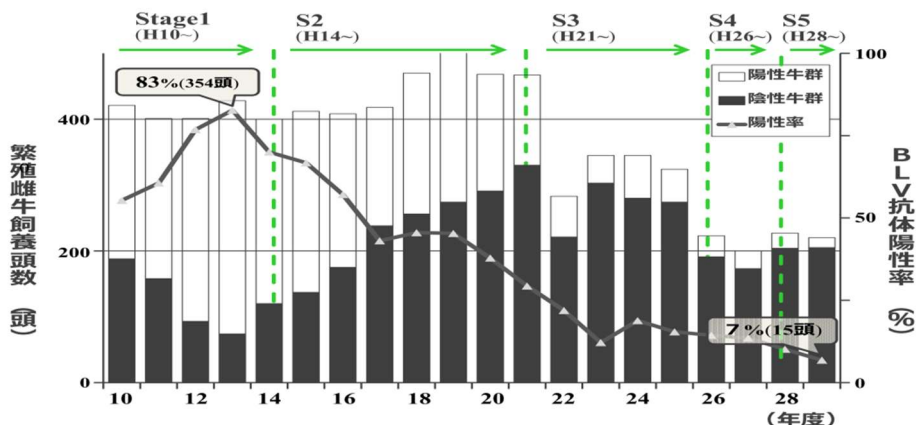
平成13年度までに約100頭までに減少した陰性牛群を対策開始時の200頭に戻すことを短期

目標に設定した。具体的には、陰性牛の自家保留を進めるとともに、陽性牛と接触がないようにパドック及び牛舎単位の隔離飼養を実施した(図2)。ただし、牛舎が不足する冬期は、牛舎単位の隔離が困難であったため、同一畜舎で飼養する場合は、単管パイプを利用して陰性牛群と4mの緩衝帯を設けた。平成14、15年度にEBL発症牛が3頭確認され、農場内のBLV汚染の高浸潤を危惧し、平成15年度からは、肥育部門をもつ関連農場を更新に活用することで清浄化を推進した。平成17年度にはステージ2の短期目標である陰性牛群200頭を達成し、清浄化に向けて着実に前進した。

3) ステージ3(平成21年度~)

農場の経営の見直し及び飼養管理の向上を図るため、平成21年度には飼養規模を320頭まで縮小した。この大幅な規模縮小に伴い放牧地及び牛舎での陽性牛完全隔離飼養が達成され(図2)、平成25年度には陽性牛50頭まで減少した。一方で、陽性牛の完全隔離飼養後も、繁殖雌陰性牛群抗体検査で陽転個体が毎年確認されてい

浸潤状況の推移と対策ステージ



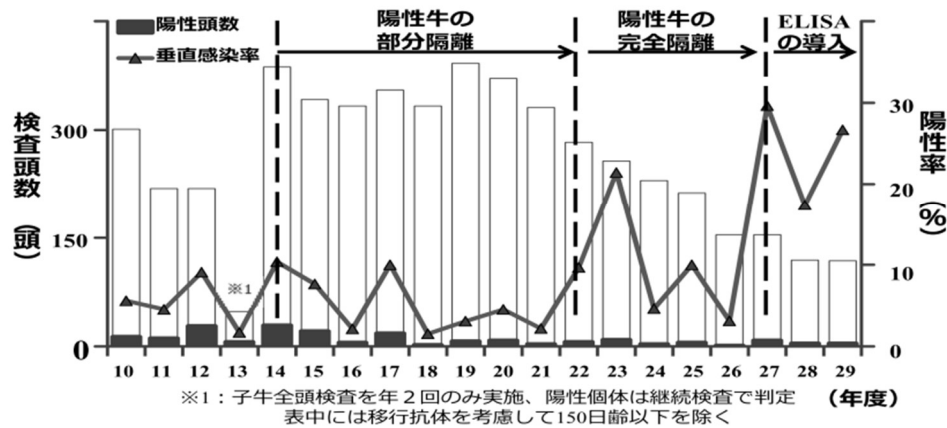


図4. 20年間の子牛の抗体検査結果と垂直感染率

た。これは、現在では、AGID法による検査の感度によるものと推察している。

4) ステージ4(平成26年度～)

平成26年度から検査方法に、より感度の高いELISAが導入された。導入直後の繁殖雌陰性牛群抗体検査で陽転牛25頭を確認した。それ以降は、新たな感染は認められていない。

5) ステージ5(平成28年度～)

平成28年度から新たに陽性牛の更新順序の検討及び病態解明のために、6ヶ月毎の精密検査によりウイルス遺伝子量、リンパ球数、リンパ球形態及び血清LDH分画の追跡調査を実施した。

図3に過去3回の精密検査で血中ウイルス量10,000コピー以上を示した7頭のリンパ球数と血中ウイルス量の推移を示す。血中ウイルス量が10,000コピー/10⁵細胞以上を示す個体では鼻汁や唾液中にウイルスが排出されていることが報告されていることから⁴⁾血中ウイルス量とECの鍵陽性判断基準を併せて、ハイリスク牛を

設定した。No.84及びNo.92の2頭に継続的な感染リンパ球の増多傾向を確認し、PL牛と判定し速やかにとう汰とした。なお、すべての期間中、リンパ球の異型化は確認されたが、臨床症状及びLDH分画に異常はなかった。BLVの感染動態について目視化することで、農場と我々に陽性牛の対応について共通理解が図れた。

20年間の子牛(5,159頭)のBLV抗体検査結果から子牛における感染リスクについて評価した。平成14年度以降、陽性子牛は全て陽性母牛からの産子であること、また、ELISA導入以降の結果(平成27年度)から、陽性牛群における垂直感染は20~30%で起こることが確認された(図4)。当該農場の垂直感染率は陽性子牛を陽性母頭数で除した値である。その母集団は複数のPL牛を含む陽性牛のみで構成されており、PL牛群の垂直感染が30%であったAgrestiらの報告³⁾とも類似する。

ステージ4までは、陽性牛産子は分娩後できるだけ早期に母子分離し、初乳製剤と人工哺育

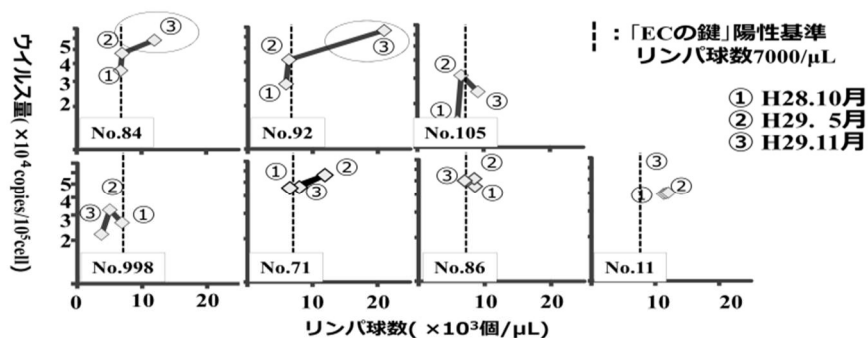


図3. 高ウイルス保有個体7頭の血中ウイルス量とリンパ球数の推移

を実施していたが陽性牛産子が減少したことで作業の効率化が課題となった。部分隔離を開始したステージ2以降、陰性牛産子に陽性子牛が確認されていないことから、子牛の水平感染リスクは高くないと考えた。そこで、陽性牛産子を従来行っていた要人工哺育陰性牛産子と同一牛舎で飼養することとした。具体的には、まん延防止のために、子牛間の接触がないように単房を強化し、陽性牛産子の出生後のBLV感染リスクのさらなる低減が必要と考え、初乳非摂取を含む分娩直後の完全分離を実施した。この結果、現在までに子牛間の感染は認められていない。なお、単房管理の強化は疾病発生予防と育成の向上につながった。

6 まとめ及び考察

対策開始当初は、BLV感染動態、伝播要因及び予防対策に不明瞭な点が多く、農場従事者及び我々は、EBL清浄化対策を農場の生産性向上に次ぐ課題として、モニタリングや追跡調査を様々な手法で取り組み、検討を重ねてきた。対策の20年間は、農場が高浸潤状況だった頃から現在の清浄化最終段階までにわたり、今後、全国で取り組まれる清浄化対策の一つの指標となり得ると考える。新たに取り組みを開始するにあたっては、飼養者に疾病特性を理解してもらい、対策を継続することが重要となる。今後とも、EBL対策の重要性について周知するとともに、各農場のBLV浸潤度にあった目標設定と、達成評価に基づく検討と問題解決を行い、陽性牛の隔離と陰性牛の確保を基本にガイドラインに基づいた清浄化の支援を進めていきたい。

本稿を終えるにあたり、本対策に御尽力頂いた多くの皆様に厚く御礼申し上げます。

7 参考文献

- 1) 近代出版 動物の感染症<第3版>
- 2) Hirohisa Mekata, Satoshi Sekiguchi , Satoru Konnai, et al Evaluation of the

natural perinatal transmission of bovine leukaemia virus. Vet Rec. 2015. 176(10):254

3) Agresti A, Ponti W, Rocchi M, et al Use of polymerase chain reaction to diagnose bovine leukemia virus infection in calves at birth. Am J Vet Res .1993.54(3)373-8

4) 竹嶋伸之輔, 綿貫園子, 間陽子 BLV-CoCoMo-qPCR法によるBLV感染伝播リスクの評価. 臨床獣医. 2016.DEC. Vol.

6 高病原性鳥インフルエンザ発生時の初動防疫体制整備に向けた取り組み

仙台家畜保健衛生所

中村健太郎, 大越啓司, 加藤伸悦, 西清志, 大場実

1 はじめに

平成29年3月、22万羽規模の採卵鶏農場で家きんの高病原性鳥インフルエンザが県内で初めて発生した。防疫対応には、自衛隊を含む延べ3,617人が動員され、72時間以内に防疫措置が完了したが、初の事例で手探りの対応であったため、非効率な動員及び引継、資機材の過不足、関係機関との連携不十分、不正確な情報伝達及び指揮系統など様々な問題が浮上したことから、各農場に適応した防疫対応計画の策定、情報伝達の方法と指揮系統の確立が最大の課題となった。

管内には100羽以上飼養する農場として、大規模農場2戸を含む14戸の採卵鶏農場及び大規模農場1戸を含む5戸の肉用鶏農場の計19戸がある。各農場は、垂直多段高層ケージで通路も狭い大規模農場、木造高床式鶏舎の農場、海拔の低い水田地帯に位置する農場など、農場毎に飼養形態、規模、鶏舎構造、立地条件等様々である。そのため、発生時には当該農場の条件に合った適確な防疫措置が求められる。

これまで、当地域では、高病原性鳥インフルエンザの発生に備え、仙台現地地方支部(以下支部とする)において、大規模3農場を優先して埋却候補地調査、飼養規模毎の大まかな動員計画、農場毎の消毒ポイントや集合施設の選定等を行ってきた。県内の発生事例での課題及び各農場の条件を踏まえ、支部の初動防疫体制強化のため、リーダー会議と防疫演習の開催、新たな県高病原性鳥インフルエンザ現地地方支部マニュアルの検証、全19農場毎の詳細な現地調査による農場別防疫対応計画書の策定を実施したので、その概要を報告する。

2 各農場毎の現地調査(殺処分鶏等の処理方法の検討)

7月から8月にかけて、全19農場毎に埋却候補地現地調査を市町、建設業協会3協会、県農業農村整備部(以下NN部とする)と協働し実施した。調査内容は埋却候補地の有無、地質、掘削作業のための面積の確保、掘削溝面積、作業動線について調査した。埋却候補地のない農場は焼却処理を検討し、殺処分鶏及び汚染物品(卵、飼料、堆肥)を封じ込める焼却用密閉容器(50リットル)の一時保管場所や搬出経路等を検討した。調査の結果、12農場は埋却対応とし、掘削溝図面の作成と資機材量の積算は建設業協会とNN部が実施した(図1)。また、7農場は焼却対応とし、市町村の広域焼却施設での対応は困難であるため、管内一般産業廃棄物処理業者と協議し、焼却処理の委託について交渉した。殺処分鶏と汚染物品量の算定及び農場での作業動線を提示し、農場毎に焼却の処理見積書を受理するとともに、密閉容器の搬出やローテーション等の処理手順を確立した。

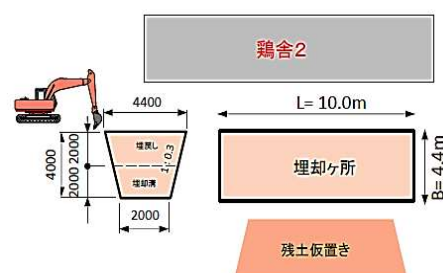


図1 埋却溝図面の1例

一方、焼却対応とした7農場のうち、1農場は敷地が極めて狭く、焼却用密閉容器(算出量:674個)を保管する場所もない状況であった。そこで、農場に隣接した国土交通省が管理する河川敷地の活用を検討するため、国土交通省東北地方整備局河川国道事務所に使用目的、防疫作業、焼却処理手順等詳細な説明を数回行い、「河川敷地の一

時占用許可」を県からの申請により許可を得た(図2)。



図2 河川敷地を活用した焼却用密閉容器の保管状況

3 家畜伝染病予防法に基づく飼養衛生管理基準の遵守・指導

県内での本病発生を受けて、各家畜保健衛生所では、防疫対策強化のため、6月から10月にかけて県内の100羽以上飼養農場143戸を対象に鶏舎の点検を含めた立入調査を行った。当管内では6月に19農場に立入調査した結果、13農場で鶏舎の破損等の修繕が必要であることが判明し、指導の結果、12月に廃業した1農場を除く全農場が改善した。

また、この立入調査に併せて、農家台帳を整理するための聞き取り調査及び発生時の殺処分作業を想定した鶏舎内構造及び配置、農場内敷地の状況把握のための現地調査を行った。調査の結果、ケージからの捕鳥に脚立を用いた高所作業が必要な垂直高層多段ケージの鶏舎(図3)、木造2階建てで通路に転落防止柵のない高床式鶏舎、防疫作業動線が取りづらい農場、作業スペースが極端に狭い農場、広大な敷地を保有し多数の鶏舎がある農場など各農場における防疫作業上の問題が明らかになったため、それぞれの農場に適応した作業動線を整備する必要があると考えられた。そこで、特に作業効率及び従事者の安全性、ウイルス拡散防止を配慮した作業動線及び従事者の配置の検討を行った。詳細な現地調査の結果に基づき、全農場の人及び資機材等の作業動線を含めた鶏

舎見取図を作成し、班編成や防疫作業の役割分担、スケジュールを整理し、防疫計画の一助とした。

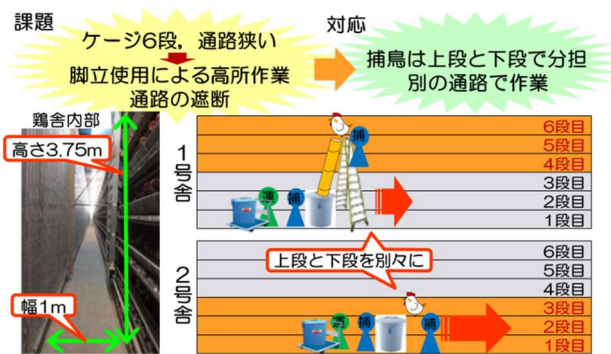


図3 高所作業が必要な鶏舎の作業動線

4 現地調査(消毒ポイント)

これまで消毒ポイントについては、ほぼ現地未調査であったため、8月～12月にかけて、仙台土木事務所と協働し、これまで選定していた全69ヶ所中、面積が狭い場所や飲食店が近い場所など現地確認が必要な31ヶ所を調査した。調査では、作業面積や寸法、畜産関係車両の引き込み動線、休憩テント設置の可否、給水方法、排水施設、近隣の状況等のチェック表を用いて確認し、使用の可否を判定した。また、事前に管理者の許可が必要な場所については説明及び交渉を行い、管内は58ヶ所、管外は11ヶ所を選定した。

5 現地調査(集合施設)

これまで、集合施設は農場毎に各市町の13施設を選定していたが、全て現地未調査であったため、10月から12月にかけて、大規模農場に該当する3施設を優先的に、市町村及び保健所、自衛隊(県内発生事例を経験した隊員を含む)等の関係機関と調査した。調査内容は、作業従事者の動線や資材置場、駐車場、自衛隊待機場所で、結果に基づき会場レイアウト図を作成した(図4)。なお、残り10施設の調査は今後継続して実施する予定である。

6 農場別防疫対応計画書の策定

これまで実施してきた農場及び消毒ポイント、集合施設における詳細な現地調査の結果を踏まえ、

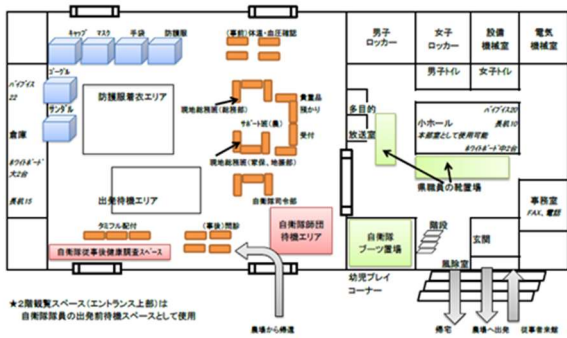


図4 集合施設レイアウト図の1例

農家台帳、緊急連絡網、動員計画、必要資機材量、鶏の処理方法(埋却・焼却)、防疫作業動線、集合施設、消毒ポイント等の項目について農場毎に取りまとめ、全農場分を1冊に集約した「農場別防疫対応計画書」を12月に策定した(図5)。また、リーダー会議で支部の各作業部所に冊子を配布し、計画書の内容を確認した。さらに、市町村や建設業協会3社に計画書の該当する項目について配布し情報共有を図った。

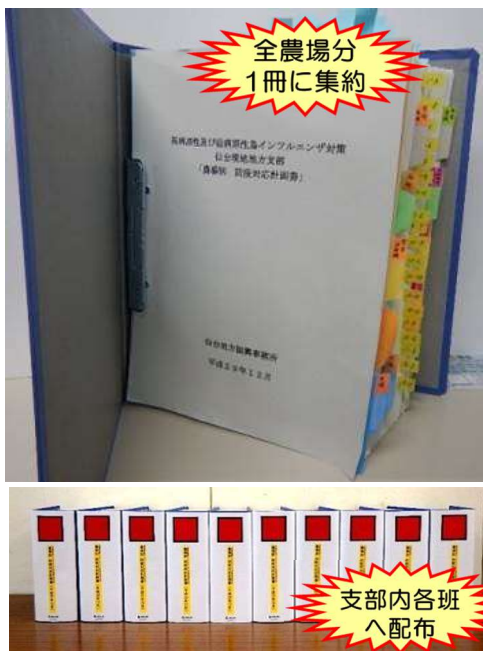


図5 農場別防疫対応計画書

7 防疫演習の実施

支部構成員の育成を目的として、11月1日、暫定オフサイトセンター隣接グラウンド及び宮城県獣医師会館(集合施設)にて県内で初めて県本部と支部による合同の防疫演習を実施した。事前に支部リーダー会議を開催し、各班の自立を目的として、

作業内容の把握、防疫演習のシミュレーションを行った。また、今回の演習では管内大規模養鶏場(20万羽)での発生を想定した、本部、支部、農場(鶏舎)、農場仮設テント、集合施設の準備と設営、応援要請及び動員訓練のための県庁からの職員派遣を演習項目とした。また、本県発生課題を受けて、適確な情報伝達法を確立するため、県高病原性鳥インフルエンザ現地地方支部マニュアルで新設された「情報分析班」を本部、集合施設、農場仮設テント、集合施設の4ヶ所に配置し、スマートフォンを用いた現場の情報伝達訓練を実施した。演習では、各班の主体的な作業役割の理解醸成、情報分析班による円滑な情報伝達法の構築を図った。

8 まとめと今後の課題

今回、関係機関と協働して実施した詳細な現地調査に基づき、管内各農場に適応した「農場別防疫対応計画書」を策定し、支部各班作業部、市町村及び建設業協会3社との農場情報共有を図った。また、支部構成員の育成のため、リーダー会議を3回の開催とともに、県内初の本部及び支部の合同防疫演習による、情報伝達の検証を実施したことで、支部の防疫体制強化につながった。

今後は、計画書の検証を重ね、リーダー会議等で更新を実施していく予定である。また、支部構成員のみでなく、他支部の作業従事者に向けた育成を図るため、県全域レベルの防疫演習をとおして実施し、体制強化を図っていきたいと考えている。

7 埋蔵文化財包蔵地に所在する一養鶏場の埋却地確保に向けた取り組み

東部家畜保健衛生所
狩野将輝, 佐々木春香, 網代隆

1 はじめに

東部家畜保健衛生所は、登米市、気仙沼市、南三陸町及び石巻市の地方公所を所管しており、これらの区域に100羽以上飼養している養鶏場が、全部で17戸所在している。当地域は、渡り鳥の飛来地(伊豆沼、内沼、蕪栗沼)を有し、高病原性及び低病原性鳥インフルエンザ(以下、HPAI等)が侵入するリスクが高い地域でもあるため、HPAIが発生した場合に備えて埋却候補地の選定を行う必要がある。今回、当管内で埋蔵文化財包蔵地に所在する養鶏場について、関係機関と連携し、敷地内での埋却地確保に向け取り組みを実施したので、その概要を報告する。

2 農場概要

本農場は、2000羽規模の養鶏場であり、採卵鶏及び肉用鶏を平飼いで飼養している。仮にHPAIが発生した場合、2000羽規模の養鶏場であるため、必要となる埋却容量は120立米と想定される。農場内鶏舎周辺には埋却に必要なスペースが十分にあるが、農場周辺一帯が埋蔵文化財包蔵地となっており、市指定史跡に指定されている(図1)。



図1 埋蔵文化財包蔵地内に農場が立地

3 埋蔵文化財包蔵地について

埋蔵文化財包蔵地とは、その土地の歴史を明らかにしてゆく上で不可欠な文化財が埋蔵されてい

る土地である。都道府県や市町村の教育委員会等が保護を目的として指定しており、今回の史跡については市教育委員会が維持管理を行っている。

史跡の現状を変更する場合は、市教育委員会に対し協議書を提出し、市教育委員会の現地確認を経た上で、了承を得られた場合は、作業に着手する60日以上前に文化庁長官に届出を行う必要がある¹⁾。実際にHPAIが発生した場合、迅速に対応しなければならないため、埋却地として使用するには非現実的であった。そのため、これまで、市有地2カ所を候補地として想定していた。

4 埋却候補地としての市有地について

1カ所目の候補地は、農場から候補地までの距離が600mほどで、山林に囲まれ搬入経路が急勾配であり、重機の搬入及び作業スペースがほとんどない状況であった。そのため、埋却を行う際には伐採の必要があった。

2カ所目の候補地は、農場からの距離が5km以上離れ、隣接して耕作地があり、その所有者から同意を得られていない状況であった。

これらの候補地を埋却地として使用するには、現実的ではないため、再び農場内での埋却地確保に向けて検討した。

5 農場内埋却地の検討

農場内における埋却地を検討するため、県文化財保護課、市教育委員会および埋却を担当している農業農村整備部とともに直接農場に赴き、現地確認を行った。農場内複数箇所の表層部をスコップで掘り、調査を実施したところ、ほとんどの区域から土器等の遺物が複数確認され、現状の変更が不可能な状況であった。しかし、農場の一部区域に、かつて沢であり、工事現場の残土等で約3メー

トルの深さを埋め立てた区域が存在し、遺物埋蔵の可能性が低い区域と推察され、埋却候補地として、試掘等の詳細な調査に進むことが可能となった(図2)。

ところが、この埋却候補地は借地であったため、土地所有者へ鳥インフルエンザ発生時の埋却地としての使用及び試掘調査について説明を行い、承諾を得た上で調査を進めた。



図2 農場内埋め立て地

6 試掘調査

試掘調査は、市教育委員会、建設業協会および埋却担当部局とともにを行った。

掘削は9箇所、それぞれ地山面まで掘削し、市教育委員会が地質及び遺物等の調査を実施した(図3)。

図4は、各掘削溝の地層毎に分けられており、Iが表層の盛り土部分で、IVが地山部分を示している。3番の掘削溝の1箇所のみから、柱穴と思われる遺構や摩滅した小さな土器が確認されたが、それ以外の箇所では、遺物遺構は確認されなかった(図5)。

試掘調査結果より、市教育委員会から、調査区域については遺物及び遺構の出土は少なく、掘削による文化財への影響は小さいとの見解が出された。また、県文化財保護課から、万一のHPAI発生時には、協議の上、埋却地としての使用はやむを得ないという見解を得た。

7 まとめ

これまでは、埋蔵文化財包蔵地にある農場内での埋却は不可能との前提で、周辺の市有地を候補



図3 市教育委員会による試掘調査

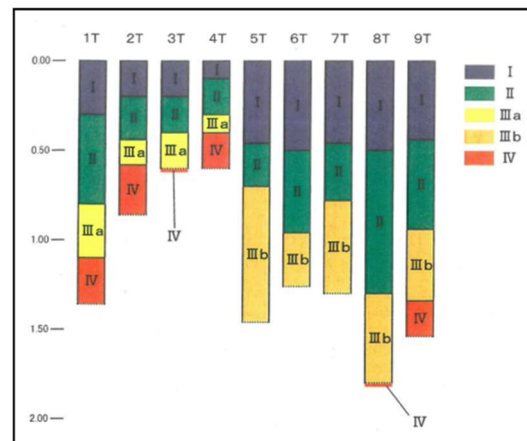


図4 各掘削溝の地層分布

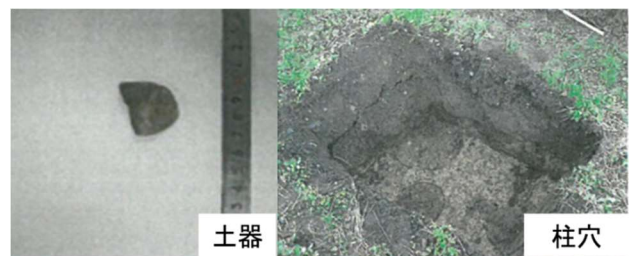


図5 出土した遺物遺構

地として想定していた。しかし、県内での鳥インフルエンザの発生を経験したことにより、県全体で危機意識が高まり、改めて農場内での埋却について検討を行った。

本来、埋却業務に携わることのない市教育委員会や県文化財保護課とも連携して、現地調査や試掘調査を行いながら、万一の際の農場内埋却に向け一定の理解を得ることができた。しかし、法的には埋蔵文化財包蔵地内での埋却には制限が加わっているのが現状であり、文化財区域外の埋却候

補地について、今後も引き続き検討してほしいとの見解も出されている。

今回、いろいろな問題を一つ一つクリアしながら、一定の前進はしたが、完全な事前確保を得られた訳ではない。県内の他の地域においても、同様の立地条件の農場が存在しており、埋却候補地確保のハードルとなっている。そのため、県レベルの調整には限界があり、このような条件の農場を想定した国レベルでの調整検討が必要だと考えられる。

引き続き、各農場の衛生指導による発生予防に努めると共に、関係機関との連携を強化し、発生に備えた防疫体制を推進していきたい。

参考文献

- 1) 宮城県文化財保護課 文化財保護の手引き

8 県内初の高病原性鳥インフルエンザ発生事例を踏まえた実践的な防疫演習の取り組み

北部家畜保健衛生所
矢田絢子, 小川修平

1 はじめに

北部家畜保健衛生所(以下, 北部家保)では, 高病原性鳥インフルエンザ(以下, HPAI)発生に備え, 平成20年度から平成26年度までは発生自治体職員による基調講演や机上演習, 家保主体の部門別の演習を実施してきた。平成27年度は各チームリーダー主導の総合演習を実施し, 更に平成28年度は, 廃業した農場を利用し, 県合同庁舎・体育館・農場の3ヶ所の会場で実施した。

このような中, 平成29年3月に栗原市の養鶏場(採卵鶏約22万羽飼養)で県内初のHPAIが発生した。HPAI防疫措置は, 作業従事者延べ3,754人を動員し, 72時間以内で作業を完了したものの, 新たな課題が浮上した。このため, 平成29年度は発生事例を踏まえた, より実践的な防疫演習を実施したので報告する。

2 HPAI 防疫措置後の課題

HPAI 防疫措置後, 従事した県職員(本庁599人, 地方機関693人)にアンケートを実施した。その結果, 全体の83%の職員が課題や改善すべき点があると回答した。各業務で共通した課題としては, リーダーの過度の負担, 情報共有不足, 引継不足, 連絡手段不足, サポート班配置の遅れ等が挙げられた。

これらの課題は, 情報伝達と支援体制の2つに集約された。

また, 今回のHPAI発生事例では, 処分鶏などの汚染物品は農場隣接地(第1埋却地)・敷地外(第2, 第3埋却地)の合計3ヶ所に埋却した(図1)。離れた埋却地への汚染物品移動や仮設テント設置, サポート班配置を想定していなかったため, 第2, 第3埋却地にテントやサポート班の配置が間に合わず, 作業効率が低下した。

以上から, 情報伝達, 支援体制, 農場敷地外への埋却の課題解決に向けた防疫演習を実施することにした。

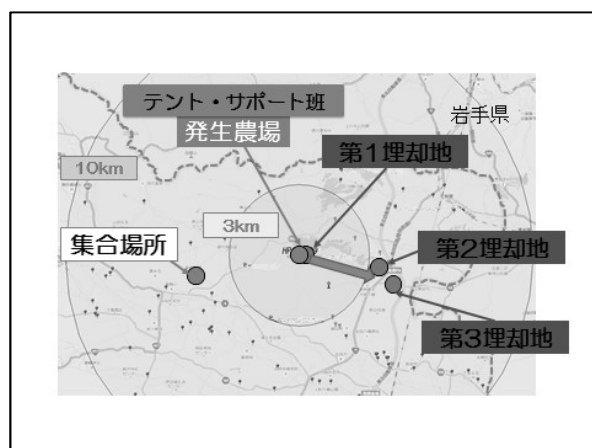


図1. HPAI 発生時の埋却地

3 平成28年度からの変更点

平成28年度の演習内容に加え, サポート班の事前研修, 携帯電話やトランシーバー等の通信機器利活用, チームリーダー交代等による引継体制導入, 更に離れた場所へ埋却地を設定することにより, 各班が交互に連絡を取り合った。

4 防疫演習の取り組み経過(図2)

防疫演習までに, 4月にリーダー会議, 演習前に2回の担当者会議を実施した。さらに, サポート班は10月に個別の事前研修を行い, 業務内容の確認と防護服の着脱支援演習を実施し, 支援体制の強化を図った。演習参加者に全体事前研修会を実施し, 当日は自律的に動けるように内容を把握してから防疫演習に臨んだ。演習後には課題共有のため, 担当者会議を実施した。

対象者	
H29 4.26	・リーダー会議 チームリーダー・サブリーダー
8.3	・第1回担当者会議 関係部署
9.26	・第2回担当者会議 関係部署
10.24	・サポート班事前研修会 サポート班
10.31	・全体事前研修会 演習参加者
11.9	・防疫演習
12.19	・第3回担当者会議 関係部署

図 2. 防疫演習の経過

5 演習の概要

今年度は、地方支部の全班(8班17チーム)112人が参加した。県職員その他、町職員と建設業協会職員が参加し、それぞれ、発生地総務チーム・経済評価チーム、埋却対策チームの業務を演習した。

会場は、①現地地方支部(県合同庁舎)②現地事務所(町体育館)③発生農場(廃業農場)④埋却地(廃業農場)の4会場設置し、同時に演習を進行した。現地事務所から発生農場は約7km、発生農場と埋却地は約1km離れており、従事者はバスで移動した。特に現地事務所、発生農場、埋却地の3ヶ所にサポート班を配置し、支援体制の強化を図った(図3)。

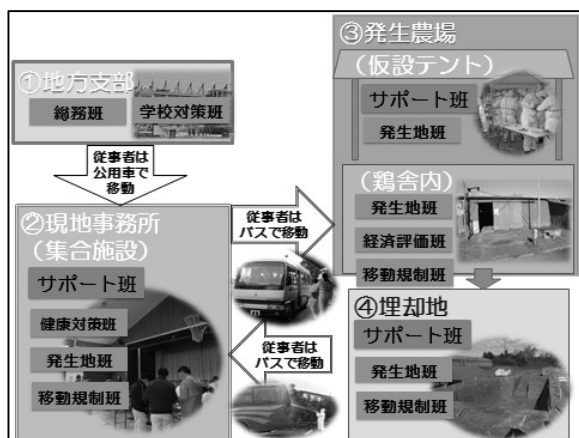


図 3. 4会場の配置

① 現地地方支部

動員名簿の作成、現地事務所からの情報収集を実施した。

② 現地事務所

防疫従事者は受付、健康調査後、防護服を着衣し、防疫作業説明を受け、農場又は埋却地にバスで移動した。従事後は再びバスで事務所に戻り、防護服脱衣後受付及び健康調査を受けた。

③ 発生農場

仮設テントを設け、防護服の着脱や防疫従事後の全身消毒などを行った。鶏舎内では、捕鳥・運搬・殺処分・搬出・鶏舎消毒までの一連の流れを演習した。さらに、従事者への防護服の着脱法や殺処分の写真付き手順表を作成し、ラミネート加工したものを鶏舎内に掲示することで、作業の可視化を図った。

発生農場では、殺処分・処理チームを2クール編成し、チームリーダー・サブリーダー交代を行った。第2クールのチームリーダーからは、従事者より先に発生農場に入り、第1クールチームリーダーからの引継に入った。前のクールの作業を確認することにより次クールの従事者への指示をスムーズに行えるようにした。また、クール内で従事者をそれぞれ2班用意し、作業と休憩を繰り返すことで従事者サポートの強化を行った(図4)。

④ 埋却地

建設業協会と協働により、発生農場から離れた埋却地へ処分鶏を輸送し埋却する演習を実施した。埋却地では、前日に建設業協会が、埋却溝の掘削を行った。演習当日は、石灰の投入後、ブルーシートを敷設、農場から輸送したフレコンバックを埋却溝へ投入し、埋却一連の作業を行った。埋却地設置した仮設テントでは、サポート班を配置し、支援作業を行った。しかし、当日は強風のため、テント設営や石灰散布などに困難が生じ、悪天候時の対応が新たな課題となった。

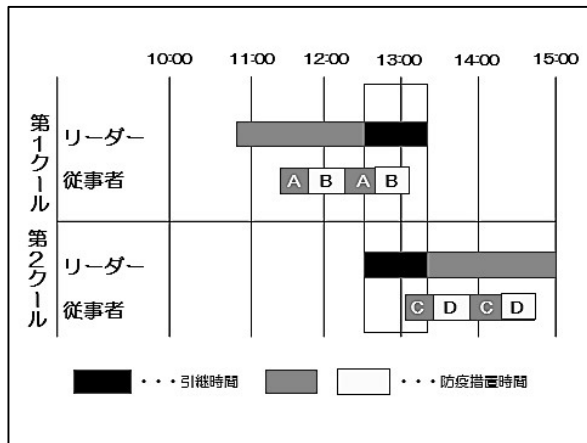


図4. チームリーダー・サブリーダーの引継・作業従事者の防疫従事時間

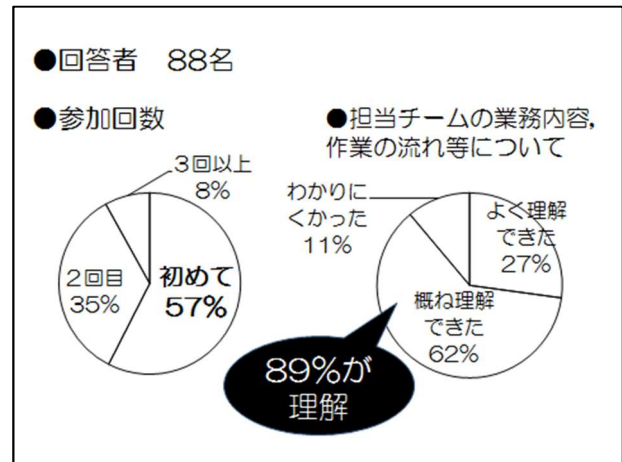


図5. 演習後アンケート

6 連絡体制の強化とアクシデントへの対応力強化
各会場内では各班のリーダー及びサブリーダーがトランシーバーで情報交換し適切な情報伝達が確保できた。4会場間は、携帯電話により情報共有を図った。特に現地事務所では、情報を集約し、進捗状況を把握した。一方で、農場や埋却地では厚手の手袋を装着しているため、携帯電話の操作が困難との意見も出た。

また、実際の防疫措置における対応力強化を目的とし、体調不良者発生や資材不足等の防疫作業で生じるアクシデント対応を演習に組み込んだ。これらのアクシデントは自律的な対応を検証するため、発生のタイミング等、詳細を周知しなかった。リーダーの連携により、体調不良者への対応等、円滑に対応出来た点もある一方、当初の演習内容に無かった資材不足等のアクシデントが生じた。

7 アンケート結果

防疫演習終了後、アンケートを実施した。家保では防疫演習を継続して実施してきたが、半数以上が防疫演習に初参加であった。担当チームの業務内容、作業の流れ等については、89%の参加者が理解したと回答した。一方で、他チームとの連携がわかりにくいという意見があった(図5)。

アンケートの結果は演習後の第3回担当者会議において情報共有した。

8 まとめ

平成20年度から、継続して防疫演習を実施してきたが、平成29年3月のHPAI発生で課題が浮上した。課題克服のために行った防疫演習では、通信機器の利用、チームリーダーの引継、作業の可視化により情報伝達の改善につながった。また、サポート班の事前研修や、防疫作業従事者の入れ替え、離れた場所への埋却地の設定を行ったことで、支援体制の強化を図った。更に建設業協会と協働し作業と連絡体制を確認することで、関係団体との連携強化が促進された。

アンケートでは業務の理解度は高かったが、参加者の半数以上が初参加であった。また、悪天候時の対応や予定外のアクシデントへの対応等新たに課題も浮上した。これらから、作業の習熟及び予期せぬアクシデントへの自主的な対応を目標とし、作業への習熟を踏まえ予期せぬアクシデントにも自主的な対応が可能となるように防疫演習を含めた継続的な取り組みの必要性を再認識した。

今後も関係団体及び関係機関と情報を共有し、発生に備えて体制を強化していく。

9 高病原性鳥インフルエンザ発生農場の早期業務再開に向けた支援体制とその取り組み

北部地方振興事務所 栗原地域事務所畜産振興部
齋藤拓海, 山田治, 大久範幸, 嶋田俊治, 佐藤元道

1 はじめに

平成29年3月24日に、栗原市の養鶏場で県内初の高病原性鳥インフルエンザが発生した。発生農場は、ウインドレス鶏舎が8棟で、採卵鶏を約22万羽飼養している大規模農場で、関連施設は、GPセンター及び堆肥処理施設であった。従業者は、農場に3名、GPセンターに25名が勤務していた。防疫措置は、延べ4,412名を動員して、3月27日に、72時間以内に完了した。殺処分鶏222,290羽、飼料166t及び鶏卵17tは全て埋却され、常時搬出されていた鶏糞は、堆肥処理施設内で封じ込め措置された。

2 早期業務再開の必要性

防疫措置終了から家きんを再導入するまでの期間は、移動制限解除までの21日間と、環境検査及びモニター家きん検査の28日間以外に、農場内の汚染物品の処理等のいくつかの再発防止措置をする期間が必要である。この再発防止のための取り組み期間の長短が、早期業務再開のポイントとなると考えられる。仮に、この期間を131日間とすると、防疫措置終了から家きんの再導入までには180日間を要し、農場の推定売上減少額は約4億円(売上額:220万円/日(2-3月実績))にも達する。よって業務再開遅延は、農場の経営や従業者の雇用に多大な影響を及ぼすことが予測される。また、栗原地域の養鶏産業は、畜産産出額の約23%を占めており¹⁾、地域の産業にも大きく影響する(図1)。

一方、「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(以下、防疫指針)」(平成27年9月9日農林水産大臣公表)によると、発生農場が業務を再開するための要件は、農場内の消毒を1週間間隔で3回以上実施、農場内の汚染物品の

処理、家きんの所有者による埋却地の確保、環境検査及びモニター家きん検査の結果が全て陰性であることとなっている。

また、今回の発生における国の疫学調査²⁾で、除糞ベルトの鶏舎外への開口部に、野生動物が侵入可能と考えられる箇所が認められたこと、また、鶏舎内でネズミや中型哺乳類の糞が確認されたことを指摘された。以上のことから、農場及び畜産振興部は、防疫指針に基づく再開要件に加え、国の指摘事項を含めた農場の補修等、農場の衛生管理体制の再構築及び関連施設の再開準備に取り組み、一刻も早い業務の再開を推進した。

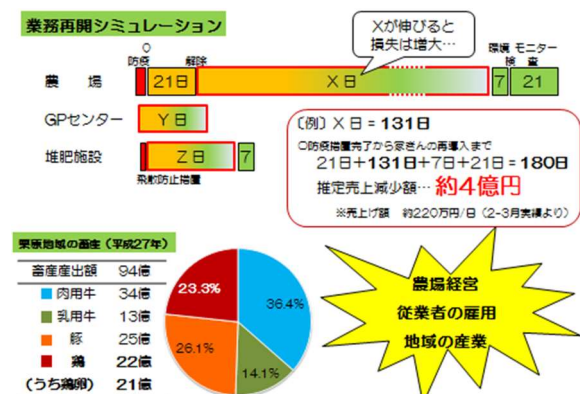


図1 早期業務再開の必要性

3 再開計画及び支援体制

畜産振興部は、農場の業務再開行程を図2で示すとおり、3段階に分けて、各段階で目標を定め推進した。支援体制では、畜産振興部は、北部家保と連携し、農場及び関連施設に直接的に指導・助言するとともに、各段階の取り組み計画の立案、進捗確認を実施した。県内部では、畜産課及び仙台家保と連携し、再開取り組みを支援した。畜産課は、再開計画の精査、動員要請、予算確保、国との協議を実施した。仙台家保は、ウイルス検査の実施、計画助言を行った。

再開に向けた取り組みを円滑に推進するため、畜産振興部は、再開要件確認表及び鶏舎構造図を作成した。再開要件確認表は、進捗状況を記録し、指導・助言等に活用するとともに、完了確認時のチェックを記入した。鶏舎構造図は、鶏舎内の構造物を平面的及び立体的に図面化したもので、消毒作業計画、環境検査及びモニター家さん検査計画の立案に活用した。

併せて、畜産振興部及び北部家保は、再開に係る要件や役割分担等を農場と共有化を図るため、移動制限解除前に打合せを行った。

月日	農場	GPセンター	雄雌施設	県			
				畜産振興部	北部家保	仙台家保	畜産課
第1段階	3/27	○移動制限及び搬出制限解除までの期間(21日間) 農場等の消毒 関連施設の再開準備					
	4/18	農場との打合せ			県内での打合せ		
第2段階		○衛生管理体制の再構築 鶏舎の補修 衛生管理区域と動線の再設定 埋却候補地の確保					
		○家さん再導入のための検査 環境検査 モニター家さん検査					
							業務再開

図2 再開行程の立案

4 取り組み状況

(1) 第1段階

第1段階は、防疫指針に基づき、農場内の消毒を、1週間間隔で2回実施した(1回目は防疫措置内で実施)。消毒は、動力噴霧機により消毒剤(逆性石けん)を散布するA班と、消石灰を散布するB、C、D班の4班体制で行った。A班が鶏舎内の壁、天井、ケージ周辺、集卵器及び除糞ピット(後室の床下)等を動力噴霧機により消毒した。B班は鶏舎の前後室、通路(ケージ下)に、C班は除糞ピットに消石灰を散布した。D班は鶏舎周囲に消石灰を散布した。2回の消毒作業で動員された県職員は延べ96名となった。

(2) 農場との打合せ

移動制限解除(平成29年4月18日)後の業務再開取り組みを迅速に始めるために、平成29年4月13日に、農場、関連施設、北部家保及び畜産振興部は打合せを実施した。疫学調査の指

摘事項や、防疫指針に基づく再開要件を共有するとともに、農場の現状や再開要件、再開に向けた取り組み、役割分担について確認した。農場の取り組みは、埋却候補地の確保、鶏舎の補修、衛生管理の再構築、飛散防止措置している生鶏糞の温度管理で、県の支援は、鶏舎の補修及び衛生管理の指導・助言、GPセンターの現地確認、ウイルス検査であることを確認した。

なお、移動制限解除当日に、畜産振興部、北部家保、仙台家保及び畜産課でも打合せを実施し、4月13日の打合せ内容を共有化するとともに、業務再開の支援内容、役割分担等を協議した。

(3) 第2段階

第2段階は、農場が主体となり、鶏舎の補修及び衛生管理体制の再構築に取り組んだ。鶏舎補修では、平成29年4月19日に、畜産振興部は、農場とともに全鶏舎を巡回し、補修が必要な箇所を確認した。補修は、軽微な補修も含めると、1鶏舎当たり10~20箇所であった。その後、農場は、補修計画に従って、外部カーテンや除糞小屋、換気システム、天井シート等の補修を進めた。疫学調査で指摘された除糞ベルトの開口部は、除糞小屋を改修した上で、ネットが張られ、野生動物が侵入しないように改善された。畜産振興部は、補修期間中に進捗状況を2回確認した。また、鶏舎内のネズミ穴等の軽微な補修は、発泡剤により埋められていた。そして、5月30日には、全鶏舎の補修完了を確認した。

衛生管理区域及び車両等の動線は、農場によって図面化され、畜産振興部がこれを指導・助言した。これまでの管理に加えて、新たに、全ての鶏舎出入口に踏込消毒槽及び更衣室が設置された。ため池には防鳥用テグスが張られ、タイヤ消毒設備は2箇所増設された。畜産振興部は、衛生管理区域には鶏舎従業者のみが出入りするよう、指導徹底し、農場は、ウイルスの侵入防止を励行した。

(4) 第3段階

第3段階は、防疫指針に基づき、環境検査及びモニター家きん検査を実施した。

環境検査の準備は、平成29年4月13日の農場との打合せ後、直ちに開始した。鶏舎の補修状況を考慮しながら調整し、平成29年5月17日に採材箇所や検体数など、検査計画を精査した。鶏舎の補修完了確認後、平成29年6月5日に環境検査を実施した。各班に配布した採材手順書を活用し、鶏舎内の壁、天井、ケージ、エサ樋、床、換気口、除糞ピット、集卵器、飲料水及びため池を計199箇所、70プール検体を4班体制で採材した。発生鶏舎である6号鶏舎は、天井、ケージ及びエサ樋の検体数を増やした。天井は、釣り竿を改造して製作した拭き取り棒を用いて、床は牽引スワブ法³⁾で実施した。

モニター家きん検査の準備は、環境検査と同様に、農場との打合せ後、直ちに開始した。鶏舎の補修状況及び環境検査の準備、日程等を考慮し、環境検査の結果判明後、モニター家きんを導入することとした。平成29年6月12日にモニター家きん(119日齢)が、1鶏舎当たり36羽、計288羽導入され、畜産振興部は、全羽の臨床検査を実施した。14日間の飼養期間中、農場は、1日2回巡回し、異常の有無を毎日畜産振興部に報告した。県は、モニター家きんが死亡した場合について、休日対応を含めた体制を準備した。その後、6月26日に、4班体制で、1班当たり2鶏舎(72羽)の採材(採血、気管及びクロアカスワブ)を実施した。

(5) 関連施設の再開

GPセンターでは、国と協議の上、平成29年3月27日以後、センター内の消毒済みの鶏卵及び資材は移出することができた。しかし、鶏卵の受入を含めた再開は、防疫指針第10の4の(2)の要件が必須である。畜産振興部及び北部家保は上記の要件を現地確認するとともに、国からの追加事項(GPセンターと農場の分離の徹底、農場及び堆肥施設の再開計画)も確認の上、GPセンターは、4月21日に再開した。

堆肥施設では、保管されていた生鶏糞は、防疫措置として、平成29年3月26日に、ブルーシートを用いた飛散防止措置が施されていた。国が指した汚染排せつ物等の処理マニュアル⁴⁾には、ウイルスの不活化には、15~20℃で2日以上、4℃で20日以上を要するとされている。これに基づき、農場では、静置期間中の間温度管理を行い、4月28日に、県が30箇所のウイルス検査を実施し、陰性を確認の上、堆肥施設は、平成29年5月2日に再開した。

(6) 農場の業務再開

農場は、平成29年4月13日以降、畜産振興部と協議を重ね、6月29日に埋却候補地を確保した。図3のとおり、農場は、防疫指針に基づく再開要件、疫学調査の指摘事項の改善及び衛生管理体制の再構築を完了した。この内容を取りまとめ、国と協議した上で、7月9日から家きんの段階的導入が始まり、農場は、業務を再開した。

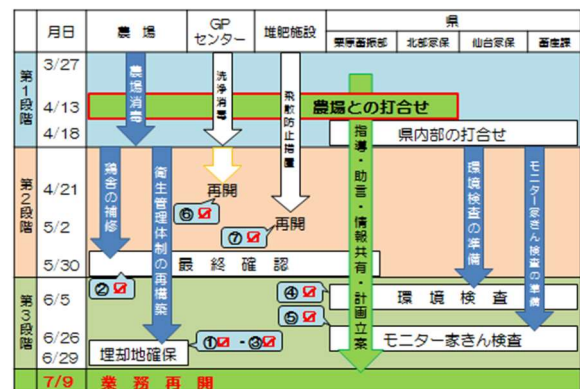


図3 発生農場の業務再開

5 まとめ

防疫措置完了後、農場は104日、GPセンターは25日、堆肥施設は36日で再開し、第2段階の日数は43日となった。推定売上減少額は、2億3千万円となり、事前シミュレーション(図1)よりも再開までの期間及び経済的被害を大幅に圧縮できた(図4)。早期に業務再開できた要因は、第1に支援体制の構築で、再開要件確認表及び鶏舎構造図を活用した再開計画の立案を行ったことにより、再開取り組みの事前準備を

円滑にすることができた。第2の要因は、農場との打合せ等による情報共有で、再開要件、取り組み及び役割分担を明確化することができた。第3の要因は、農場の精力的な取り組みで、鶏舎の補修、衛生管理体制の再構築、埋却候補地の確保が迅速に完了した。

これらに加え、再開取り組みを迅速且つ円滑に開始できたこと背景には、農場内に汚染物品等が残っていなかったことがあった。平成23年3月に発生した千葉県の事例では、農場内に封じ込めた大量の鶏糞は、業務再開の妨げとなるため、早期業務再開を考慮した発生対策として、農場の衛生管理の徹底、日常的な鶏糞処理及び汚染物品を含めた埋却地の確保が重要であると考察している⁵⁾。農場内に封じ込めた鶏糞は、堆肥化、搬出するまでに膨大な時間及び労力を要し、再開は遅れることとなる。少しでもこのようなことを軽減するため、農場の日常的な鶏糞の処理手段等を、我々が指導していく必要がある。しかし、農場の鶏舎構造、鶏糞処理及び埋却地等の事情は、農場毎に異なるため、それぞれの農場における最善な防疫措置の手段について、事前に検討しておくことが必要であると考える。

万一本病が発生した場合、迅速な防疫措置が最優先ではあるが、業務の再開を考慮した農場毎の防疫計画を準備しておくことが、養鶏振興上重要であると考えられる。

9 参考文献

- 1) 農林水産省：市町村の姿，グラフと統計でみる農林水産業.<http://www.machimura.maff.go.jp/machi/contents/04/213/details.html>
- 2) 鶏病研究会：鶏卵・鶏肉のサルモネラ全書。(1998)
- 3) 農林水産省：宮城県の高病原性鳥インフルエンザ発生農場に係る疫学調査チームの調査概要。(2017)
- 4) 農林水産省消費・安全局動物衛生課：高病原性鳥インフルエンザウイルスに汚染された排せつ物等の処理に関する防疫作業マニュアル。(2012)
- 5) 西川潤：千葉県における高病原性鳥インフルエンザ発生農場の経営再開に向けた取り組み。鶏病研究会報.48,17-22 (2012)

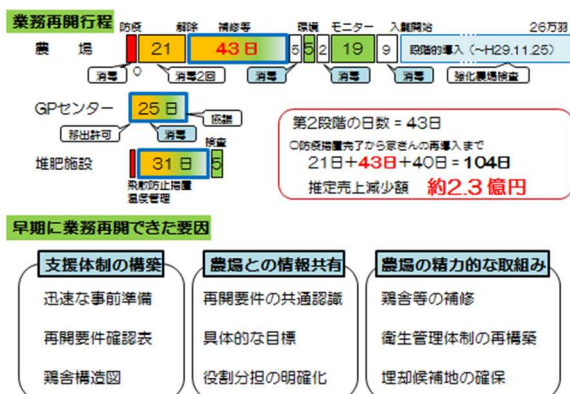


図4 早期業務再開とその要因

10 乳酸脱水素酵素(LDH)及びリアルタイム PCR による牛白血病診断への精度評価

仙台家畜保健衛生所

高森広典, 佐久間晶子, 松尾賢吾, 高橋幸治

1 はじめに

地方病性牛白血病 (EBL) は牛白血病ウイルス (BLV) の感染によりリンパ球が腫瘍化する疾病で、典型的所見として、体表リンパ節の腫大及び末梢血中におけるリンパ球数の増多が認められる⁸⁾。本県における EBL の診断は、臨床症状、BLV 抗体検査及び血液検査の結果から総合的に判断している。一方、国内では、末梢血中におけるリンパ球数の増加が認められず、解剖後初めて EBL と診断される症例 (非白血性 EBL) が報告されており⁷⁾、本県においても同様の症例が確認されている⁹⁾。非白血性 EBL は、血液検査から生前に診断することが困難であることから、これらの症例を含め EBL を簡便に診断可能な方法の開発が望まれている。

牛では、乳酸脱水素酵素(LDH)総活性値及び LDH2 分画と 3 分画が EBL 発症マーカーとして有用であることが報告されている¹⁾。また、EBL の病態が進むと BLV プロウイルス量が増加することが報告されている²⁾。しかしながら、これらの検査項目を活用した EBL 診断の精度について十分に検証した報告は少ない。そこで、本調査では、統計学的手法を用いて EBL 発症牛と非発症牛の LDH 及び BLV プロウイルス量を比較し、これら検査項目の診断精度について検証した。

2 材料及び方法

1) EBL 発症牛及び非発症牛における LDH 及び BLV プロウイルス量の比較調査

①材料

平成 28～29 年度に EBL と診断された発症牛 59 頭及び BLV 抗体検査は陽性であったが、一般症状が認められなかった EBL 非発症牛 69 頭の計 128 頭について検索した。EBL 発症の有無

及び EC の鍵¹⁰⁾により、EBL 発症牛群は、白血性 EBL 群 (37 頭) 及び非白血性 EBL 群 (22 頭) に分類し、EBL 非発症牛群は、持続性リンパ球増多症 (PL) 群 (20 頭) 及び不顕性感染群 (49 頭) に分類した。

②方法

LDH 総活性値は、ドライケミストリー法により測定した。また、LDH アイソザイムは、市販キット (タイタンジェル S-LD 試薬 (QG)、クイックジェル LD, (株)ヘレナ研究所) を用いて電気泳動法により測定し、LDH2 分画と LDH3 分画の和を算出した。BLV プロウイルス量は、BLV-CoCoMo-qPCR 法²⁾により測定した。

各群間の比較には、Kruskal-Wallis 検定及び Steel-Dwass 法による多重比較検定を用い、p 値が 0.01 以下を有意差ありと判定した。また、各検査項目について、受信者動作特性 (ROC) 解析を実施した。各検査項目の診断精度を ROC 曲線下面積 (AUC) により評価し、0.9 以上を高度、0.7 以上 0.9 未満を中等度、0.7 未満を低度とした⁶⁾。また、EBL 診断への感度と特異度の和が最大となる診断基準値を設定した。

2) 過去 15 年間の病性鑑定症例における LDH 総活性値の遡及調査

過去 15 年間 (平成 15～29 年度) に LDH 総活性値を測定済みであった 432 症例について、診断名によりリンパ腫疾患 (102 症例) 及びリンパ腫以外の疾患 (330 症例) に分類した。各疾病別に前述の調査で設定した診断基準値以上を示す症例の割合を調査した。

3 検査成績

1) EBL 発症牛及び非発症牛における LDH 及び BLV プロウイルス量の比較調査

LDH 総活性値の中央値は、白血性 EBL 群 3,326 U/L、非白血性 EBL 群 2,869 U/L、PL 群 1,033 U/L 及び不顕性感染群 1,017 U/L であった (図 1)。白血性 EBL 群及び非白血性 EBL 群は、それぞれ PL 群及び不顕性感染群と比較して有意に高値を示した。

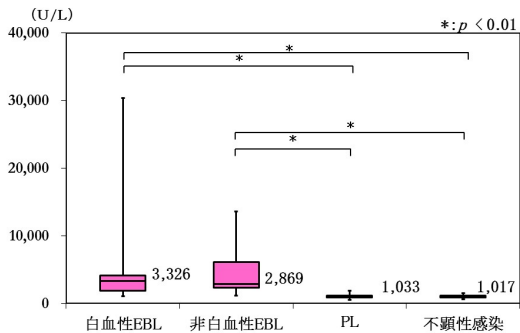


図1 EBL発症牛及び非発症牛におけるLDH総活性値の分布

LDH2 分画と 3 分画の和の中央値は、白血性 EBL 群 1,891 U/L、非白血性 EBL 群 1,653 U/L、PL 群 434 U/L 及び不顕性感染群 428 U/L であった (図 2)。LDH 総活性値と同様、白血性 EBL 群及び非白血性 EBL 群は、それぞれ PL 群及び不顕性感染群と比較して有意に高値を示した。

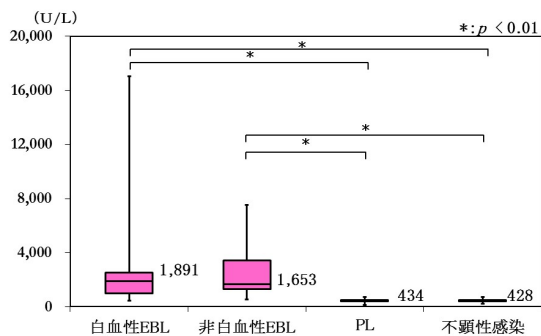


図2 EBL発症牛及び非発症牛におけるLDH2分画と3分画の和の分布

BLV プロウイルス量の中央値は、白血性 EBL 群 78,031 コピー/ 10^5 細胞、非白血性 EBL 群 27,664 コピー/ 10^5 細胞、PL 群 39,926 コピー/ 10^5 細胞及び不顕性感染群 5,646 コピー/ 10^5 細胞であった (図 3)。白血性 EBL 群は、非白血性 EBL 群、PL 群及び不顕性感染群と比較して、有意に高値を示したものの、非白血性 EBL 群では、PL 群及び不顕性感染群との間に有意差は認められなかった。

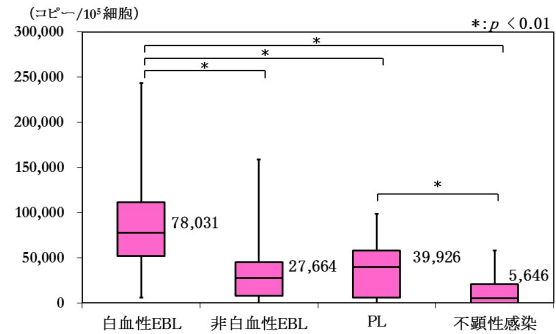


図3 EBL発症牛及び非発症牛におけるBLVプロウイルス量の分布

ROC 解析による各検査項目の診断精度及び診断基準値を表 1 に示した。LDH 総活性値及び LDH2 分画と 3 分画の和の AUC は 0.98 及び 0.99 で、両検査項目の診断精度は高度と判定された。一方、BLV プロウイルス量の AUC は 0.82 で診断精度は中等度と判定された。感度と特異度の和が最大となる診断基準値は、総 LDH 活性値では 1,600 U/L となり、感度は 92%、特異度は 99% であった。また、LDH2 分画と 3 分画の和の診断基準値は 601 U/L となり、感度は 95%、特異度は 97% であった。一方、BLV プロウイルスの診断基準値は 26,455 コピー/ 10^5 細胞となり、感度は 80%、特異度は 73% であった。

2) 過去 15 年間の病性鑑定症例における LDH 総活性値の遡及調査

各疾病別の LDH 総活性値を図 4 に示した。リンパ腫疾患では 87% (89/102) の症例が診断基準値以上を示し、その内訳は、EBL (剖検診断) 63% (5/8), EBL (生前診断) 90% (81/90), 散発性牛白血病 (SBL) 75% (3/4) であった。一方、リンパ腫以外の疾患では 14% (46/330) の症例が診断基準値以上を示した。その内訳は、異常産・虚弱 24% (14/59), 消化器系疾患 8% (15/197), 呼吸器系疾患 30% (3/10), 神経系疾患 31% (8/26), その他疾患 16% (6/38) であった。

表1 ROC解析による各検査項目の診断精度及び診断基準値

	AUC	診断精度	診断基準値	感度 (%)	特異度 (%)
LDH総活性値 (U/L)	0.98	高度	1,600	92 (54/59)	99 (68/69)
LDH2分画と3分画の和 (U/L)	0.99	高度	601	95 (56/59)	97 (67/69)
BLVプロウイルス量 (コピー/10 ⁵ 細胞)	0.82	中等度	26,455	80 (37/59)	73 (50/69)

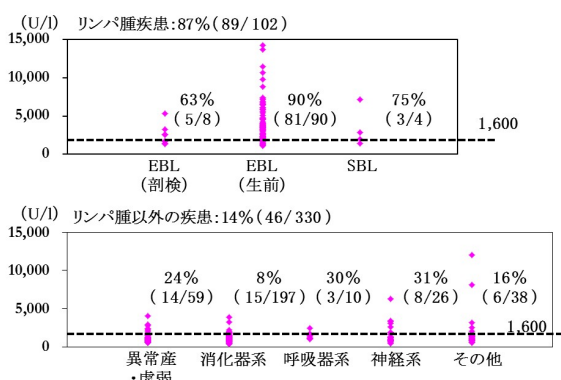


図4 過去15年間の病性鑑定症例におけるLDH総活性値の分布

4 まとめ及び考察

本県において EBL と診断された EBL 発症牛と、BLV 感染が確認されたが一般症状は認められなかった EBL 非発症牛の LDH 及び BLV プロウイルス量を比較したところ、LDH 総活性値及び LDH2 分画と 3 分画の和は、発症牛群で有意に高値を示した。また、ROC 解析の結果、LDH 総活性値及び LDH2 分画と 3 分画の和の診断精度は高度と判定され、感度と特異度の和が最大となる診断基準値 (LDH 総活性値: 1,600 U/L, LDH2 分画と 3 分画の和: 601 U/L) では、両検査項目は感度及び特異度が 90%以上を示した。これらの結果から、LDH は、感度及び特異性に優れた EBL 診断マーカーであることが確認され、EBL 生前診断に不可欠な検査項目であることが推察された。一方、BLV プロウイルス量は、非白血性 EBL 群と PL 群及び不顕性感染群との間に有意差が認められず、診断精度は中等度と判定された。BLV プロウイルス量は、末梢血中のリンパ球数と相関することが報告されている

5)。このことから、リンパ球数の増加が認められない非白血性 EBL では、BLV プロウイルス量も増加せず、BLV プロウイルス量から EBL を診断することは困難であることが推察された。BLV プロウイルス量が高い牛は、垂直感染や水平感染のリスクが高いと報告されており^{3), 11)}、本法は、EBL 診断ではなく、農場内伝播リスクの高い牛の摘発に活用することが望ましいと考えられた。

LDH 総活性値の診断基準値を 1,600 U/L と設定し、過去 15 年間の病性鑑定症例を調査したところ、リンパ腫疾患 102 症例のうち 87%の症例が診断基準値以上であった。この結果から、LDH 総活性値は高感度な EBL 診断マーカーであることが改めて確認された。一方、リンパ腫疾患の 13 症例は基準値以下であった。基準値以下を示した症例のうち、剖検で EBL と診断された 3 症例中 2 症例は、腫瘍が心臓または一部のリンパ節に限局して認められた。このことから、腫瘍に限局して認められるような症例では、腫瘍細胞の増殖が乏しく、LDH が増加しない可能性が示唆された。また、例数が少ないが、SBL の症例では、EBL と同様に LDH 総活性値が増加していたことから、LDH 総活性値から EBL と SBL を鑑別診断できないことが推察された。

リンパ腫以外の疾患では、330 症例のうち 14%の症例が診断基準値以上であった。LDH は、様々な臓器に分布しており、EBL 以外の臓器疾患でも増加することが知られている。本調査においても LDH 総活性値が増加する症例は様々な疾病で確認された。三浦らは、EBL 発症牛と炎症性疾患の鑑別診断に LDH 総活性値、LDH2 分画及び LDH3 分画の測定が有用と報告している⁴⁾。今後は、LDH 総活性値が基準値以上を示したリンパ腫以外の疾患について、LDH アイソザイム分画を測定し、これらの疾患と EBL の鑑別診断が可能か検証する必要があると考えられた。

LDH は、多くの組織から漏出し、腫瘍細胞特異性が高くないため、LDH 測定の結果だけでは EBL の確定診断には至らない。一方、本調査か

ら EBL 診断へのアイソザイム分画測定を含めた LDH 測定の重要性が改めて確認された。国内での EBL の届出件数が増加するなか、精度の高い EBL 生前診断体制を維持するためにも、臨床検査、血液検査及び抗体検査に加えて LDH 測定の活用を家保職員に向けて積極的に啓蒙する必要があると思われた。

5 引用文献

- 1) Ishihara K., Ohtani T., Onuma, M., et al. :Clinical studies on bovine leukemia in Japanese Black cattle. III. Serum lactate dehydrogenase activity and its isoenzyme pattern in groups of cattle affected by bovine leukemia and with negative or positive antibodies against bovine leukemia virus. *Jpn. J. Vet. Sci.*,42, 289-295 (1980).
- 2) Jimba M., Takeshima S., Matoba K., et al. :BLV-CoCoMo-qPCR: Quantitation of bovine leukemia virus proviral load using the CoCoMo algorithm. *Retrovirology* 7:91(2010).
- 3) Mekata, H., Sekiguchi, S., Norimine, J., et al. :Evaluation of the natural perinatal transmission of bovine leukaemia virus. *The Veterinary record*, 176(10), 254-254(2015).
- 4) 三浦沙織,猪熊 壽:地方病性牛白血病発症マーカーとしての乳酸脱水素酵素活性の評価. *産業動物臨床医誌*, 6(4), 149-153(2016).
- 5) Ohno A., Takeshima SN., Aida Y., et al. :Risk factors associated with increased bovine leukemia virus proviral load in infected cattle in Japan from 2012 to 2014. *Virus research*, 210, 283-290(2015).
- 6) Swets JA. :Measuring the accuracy of diagnostic systems. *Science*, 240(4857), 1285- 1293 (1988).
- 7) 田川道人, 下田崇, 富樫義彦ら: 非典型的牛白血病のホルスタイン種乳牛 3 症例. *日獣会誌*, 61, 936-940(2008).
- 8) 田島誉士: 白血病. 新版主要症状を基礎にした牛の臨床(前出吉光, 小岩政輝監修). 614-618, デーリィマン社, 札幌(2002).
- 9) 高森広典, 曾地雄一郎, 西清志ら: リンパ球増多を伴わない地方病性牛白血病への遺伝子検査法からの一考察. *宮城県獣医師会会報*, 66(4), 174-177 (2013).
- 10) 吉川堯: 地方病性牛白血病の臨床的診断. 牛白血病診断便覧(日本獣医師会編). 34-46, 信陽堂印刷, 東京(1986).
- 11) Yuan, Y., Kitamura-Muramatsu, Y., Aida, Y., et al. :Detection of the BLV provirus from nasal secretion and saliva samples using BLV-CoCoMo-qPCR-2: comparison with blood samples from the same cattle. *Virus research*, 210, 248-254(2015).

11 黒毛和種成牛の角基部にみられたケラトアkantオーマの一症例

仙台家畜保健衛生所

板橋知子, 高森広典, 高橋幸治

1 はじめに

牛の皮膚腫瘍は、その由来によって①扁平上皮または皮膚付属器への分化を伴わない上皮性腫瘍（基底細胞腫など）、②表皮の腫瘍（乳頭腫（パピローマ）、扁平上皮癌（SCC）など）、③皮膚付属器の腫瘍（毛包上皮腫など）、④メラノサイトの腫瘍（悪性黒色腫など）に分類され、このうち牛では、パピローマ、SCC、悪性黒色腫がよく知られている。今回、これまで牛での報告がないケラトアkantオーマ（KA）と診断した症例に遭遇したので、その概要について報告する。

2 材料と方法

(1)症例の概要

症例は、牛（黒毛和種）、雌、10歳。平成29年2月、畜主が左側角基部に円錐状の腫瘍を発見した。それまで畜主は腫瘍の存在に気づいておらず、異臭がすること初めて気づいたとのことであった。同月、臨床獣医師がこの腫瘍を基部で切断したところ（切除マージンは不十分）再び増大しはじめ、7月上旬に手拳大、11月上旬には直径約15 cm大のカリフラワー状に急速に増大した。この時、再増大した腫瘍があまり



図1 臨床経過

に大きく、切除による出血も多かったため全部切除は困難と判断し、病性鑑定のために一部のみ切除した。その後、残存した腫瘍基部をゴムバンドで結紮したところ、12月中旬、結紮部が脱落するとともに、腫瘍基部の縮小が認められた（図1）。また、12月下旬の時点では、腫瘍の再増大は認められなかった。

(2)病理組織学的検査

平成29年2月（1回目）と11月（2回目）に切除した腫瘍を10%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成した。その後、ヘマトキシリン・エオジン（HE）染色、PAS染色、および免疫組織化学的染色（免疫染色）を実施した。免疫染色は、一次抗体として抗PCNA抗体（Clone: PC10, Abcam）および抗牛パピローマウイルス（BPV）抗体（quartett）を使用し、二次抗体としてヒストファインシンプルステインMAX-PO（MULTI）（株ニチレイバイオサイエンス）を使用した。

(3)ウイルス学的検査

平成29年12月下旬に採取した残存腫瘍の一部組織から市販キット（QIAmp DNA Mini kit, QIAGEN, U.S.A）を用いてDNAを抽出した。また、(2)で作成したパラフィン切片から市販キット（DEXPAT, タカラバイオ株式会社, 滋賀）を用いてDNAを抽出した。得られたDNAについてMaedaらの報告⁹⁾に準じてBPVのPCR法を実施した。

3 結果

(1)肉眼所見

1回目の腫瘍は、基部直径約5 cm、高さ約6 cmの円錐状で、先端中央部が一部陥没し、表面は黒色均質で厚く硬い外皮に覆われていた。2回目の腫瘍は切断面直径10 cm、長さ約10 cm

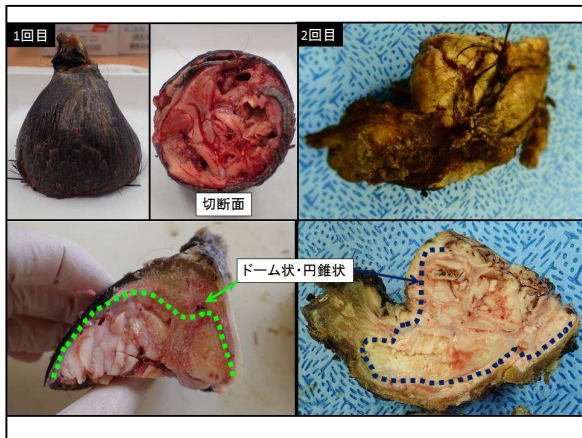


図2 腫瘍の肉眼所見

の先端が屈曲した円錐状で、灰褐色で厚く硬い外皮（角化物）で覆われていた。断面は、1回目・2回目ともに乳白色均質な物質がいくつかの塊を作って充満しており、胞巣状を呈していた。また、外皮との境界部は1回目がドーム状、2回目が円錐状であった（図2）。

(2)病理組織学的所見

1回目・2回目ともに、腫瘍内部において中型から超大型の囊胞様構造が多数認められ、囊胞様構造の中心部には多量の角化物または角化不全物が充満し、ときには漿液の貯留も認められた。囊胞様構造の最外層に位置する腫瘍細胞は基底細胞様で、その内側に有棘細胞様の腫瘍細胞が重層し、さらに内側に向かって角化する様子が観察された。腫瘍細胞の多くは、比較的大型・均一で細胞境界は明瞭、淡い好酸性・すりガラス状の細胞質を有し、まれにケラトヒアリン顆粒も認められた。細胞および核の異型性は

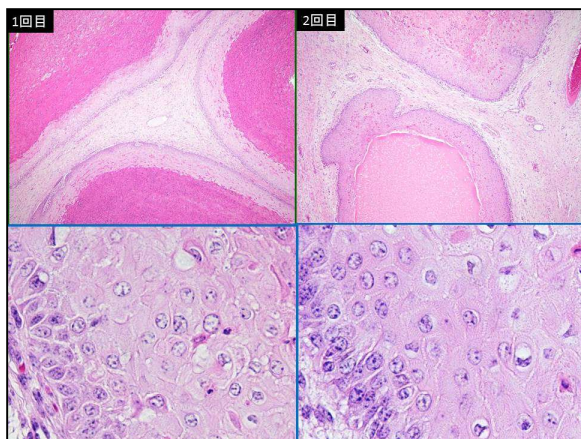


図3 HE染色（上：低倍像，下：高倍像）

低く、核分裂像はほとんど認められなかった（図3）。

腫瘍細胞はPAS染色陽性で、アミラーゼ処理で陽性反応が消失した。抗PCNA抗体による免疫染色では、囊胞壁の辺縁部の腫瘍細胞が陽性を示す、「辺縁型」の陽性反応が認められた（図4）。なお、抗BPV抗体では陰性であった。

(3)ウイルス学的検査

生検材料およびパラフィン切片ともに、BPV遺伝子は検出されなかった。

4 まとめ及び考察

本症例は病理組織学的検査において、淡い好酸性・すりガラス状の比較的豊富な細胞質を有する腫瘍細胞が増殖し、中心部に多量の角化物または角化不全物が充満した囊胞様構造を形成していた。腫瘍細胞は、囊胞中心部に向かって角化が進行し、まれに細胞質内にケラトヒアリン顆粒も認められた。これらの所見から、本症例はKA、パピローマ、SCCのいずれかが疑われた。これら3つの腫瘍は、細胞質内グリコーゲンの有無（KA：あり、SCC：なし）⁶⁾、抗PCNA抗体を用いた免疫染色における陽性細胞の分布パターン（KAおよびパピローマ：辺縁型、SCC：び漫型）^{3),5)}およびBPVの関与の有無（KA・SCC：なし、パピローマ：あり）に違いがあるとされる。本症例の腫瘍細胞はPAS染色により細胞質内にグリコーゲンを保有していることが明らかとなり、抗PCNA抗体による免疫染色で

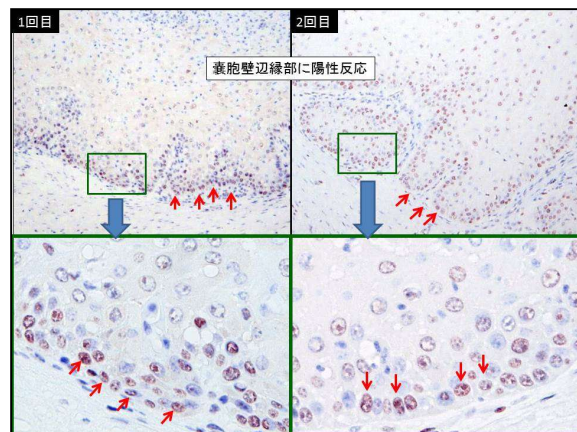


図4 免疫組織化学的染色（抗PCNA抗体）

辺縁型の陽性所見を示した。また、抗 BPV 抗体による免疫染色およびウイルス学的検査の結果から BPV の関与は否定的と考えられた。これらは KA の特徴と一致することから、本症例を KA と診断した。

KA は、毛包上皮由来の良性腫瘍と考えられており、主にヒトとイヌで見られる。まれに、ネコ²⁾、インコ¹⁰⁾、ヘビ⁴⁾での報告はあるが、ウシでは世界的に報告がなく、本症例は非常に稀な症例であると考えられた。KA は、組織学的に高分化型 SCC と酷似するため HE 染色のみでの鑑別は困難とされ、Ki-67 や p53 あるいは各種サイトケラチン等に対する抗体を用いた免疫染色が有用であると報告されている^{3),7),12)}。本症例では、抗 PCNA 抗体による免疫染色において辺縁型の染色性を示し、江上ら³⁾の報告の KA の免疫染色の結果と同様であったことから、高分化型 SCC は否定的と考えられた。

ヒトおよびイヌの典型的な KA の特徴と、本症例の所見の一覧を表 1 に示した。KA は、ヒト-イヌ間で臨床経過が異なることが報告されており、好発年齢や腫瘍の増殖速度、自然消退の有無に違いがあるとされている¹¹⁾。本症例は、10 歳とやや高齢での発症、腫瘍の急速な増殖・増大がみられたこと、現在は腫瘍基部が縮小し、沈静化に向かっていると思われることなど、ヒトの特徴と共通する点が多くみられた。一方、本症例はヒト・イヌの KA の特徴とは一致しない点も複数認められた。臨床上的特徴として、一般に KA は噴火口状またはクレーター状の陥凹をもつ腫瘍を形成し、中央部に角化性物質を

表 1 ヒト・イヌの典型的な KA の特徴と本症例との

	ヒト	イヌ	本症例(ウシ)	
臨床上的特徴	外観	噴火口状の隆起	クレーター状の陥凹のある結節	円錐状(1回目) カリフラワー状(2回目)
	大きさ	直径2~3cm まれに15cm以上	直径1~3cm	6×5cm(1回目) 15×15cm(2回目)
	好発年齢	中年以降	若齢	10歳
	増殖速度	速い	遅い	速い
	自然消退	する	しない(報告なし)	結紮後、縮小・沈静化
組織学的特徴	組織構築	カップ状	カップ状	円錐状?
	嚢胞の大きさ	小型~中型	小型~中型	中型~超大型
	扁平上皮癌への移行	まれにあり	なし	現在のところなし

容れる特徴的な外観を示すとされるが、本症例の外観は先端部が陥没した円錐状またはカリフラワー状であった。腫瘍の大きさは通常直径 1~数 cm とされるのに対し、本症例では最大で直径約 15 cm にまで増大した。ただし、ヒトでは「巨大ケラトアkantoma」と称される KA の症例がまれに報告されており⁸⁾、本症例はこのタイプに属する可能性も考えられた。また、組織学的特徴として、全体的な組織構築が左右対称のカップ状を示すとされるが、本症例は、腫瘍断面における外皮と腫瘍組織の境界部の形態からドーム状または円錐状の組織構築であったと推測された。さらに、ヒト・イヌでは本症例で見られたような超大型の嚢胞様構造についての報告はなく、これらの相違点が、本症例に特異的なものなのか、牛の KA の特徴なのかどうかは、今後症例を増やして検討する必要があると思われた。

ヒトではまれに KA から SCC へ移行することが報告されているが¹⁾、本症例は 2 回目の切除時まではそのような所見は得られていない。残存する腫瘍が今後どのように変化していくのか、今後も継続的に経過を観察するとともに、組織構造の変化を調査し、病態の解明につなげていきたい。

5 謝辞

本稿を終えるにあたり、検査にご協力いただきましたサイトウ獣医科医院の齋藤正壽先生と国立研究開発法人 農業・食品産業技術総合研究機構 動物衛生研究部門の木村久美子先生に深謝いたします。

6 参考文献

- 1) 秋山真志, AKIYAMA, M., 和泉達也ら: ケラトアkantoma から扁平上皮癌に移行した 2 症例の検討. 臨床皮膚科 46(13): 1087-1093(1992).
- 2) Baharak, A.D., Reza, G, Amin, D.: The Synchronic Occurrence of a Rare Skin Tumor Keratoacanthoma with Impetigo and Pododermatitis in a Domestic Short Hair Cat. New

Advances for a New Millennium World Small Animal Veterinary Association World Congress Proceedings (2004).

3) 江上 賀子, 増野 年彦, 今山 修平ら : Keratoacanthoma と Squamous Cell Carcinoma の免疫組織化学的検討. 西日本皮膚科 58(4): 625-628 (1996).

4) Hardon, T., Fledelius, B., & Heegaard, S. : Keratoacanthoma of the spectacle in a Boa constrictor. Veterinary ophthalmology 10(5): 320-322 (2007).

5) Hatipoglu, F., Ozdemir, O., & Kiran, M. M.: Detection of argyrophil nucleolar organizer regions (AgNORs) and proliferating cell nuclear antigen (PCNA) in epithelial skin tumours from domestic animals. Revue Méd. Vét, 160(10): 477-483 (2009).

6) KING, D. F., & BARR, R. J.: Intraepithelial elastic fibers and intracytoplasmic glycogen: diagnostic aids in differentiating keratoacanthoma from squamous cell carcinoma. Journal of cutaneous pathology 7(3): 140-148 (1980).

7) Leblebici, C., Pasaoglu, E., Kelten, C. *et al.*: Cytokeratin 17 and Ki-67: Immunohistochemical markers for the differential diagnosis of keratoacanthoma and squamous cell carcinoma. Oncology letters, 13(4): 2539-2548 (2017).

8) LeBoit, P. E. (Ed.). : Pathology and genetics of skin tumours (Vol. 10). IARC (2006).

9) Maeda, Yukiko, *et al.*: An outbreak of teat papillomatosis in cattle caused by bovine papilloma virus (BPV) type 6 and unclassified BPVs. Veterinary microbiology 121.3-4: 242-248 (2007).

10) Owen, H. C., Doneley, R. J. T., Schmidt, R. E. *et al.*: Keratoacanthoma causing beak deformity in a budgerigar (*Melopsittacus undulatus*). Avian pathology 36(6): 499-502(2007).

11) Rudolph, R., Gray, A. P., & Leipold, H. W.: Intracutaneous cornifying epithelioma ("keratoacanthoma") of dogs and keratoacanthoma of man. The Cornell veterinarian 67(2): 254-264 (1977).

12) 田沢敏男, 藤原浩, 伊藤雅章ら: 有棘細胞癌, ケラトア坎トーマ, ボーエン病, 基底細胞上皮腫のケラチンの免疫学的比較. Skin Cancer, 4(1): 152-156 (1989).

12 過去9年間に分離された豚由来病原性大腸菌 O116 及び O139 の比較解析

仙台家畜保健衛生所

江頭宏之, 高森広典, 高橋幸治

1 はじめに

大腸菌による豚の疾病には, 下痢を主徴とし, 新生豚または離乳豚で多く発生が認められる豚大腸菌症や, 眼瞼浮腫や急死を主徴とし, 離乳豚で多く発生が認められる浮腫病などがある。近年, これらの疾病の原因となる大腸菌の O 群血清型に変化がみられ, 1990 年代は O139 及び O149 が多くの割合を占めていたが, ここ 10 年ほどでは, O139, O149, O116 及び OSB9 が日本における主要な血清型であることが報告されている⁴⁾。特に, O116 は高い毒素遺伝子保有率と多剤耐性傾向を示すことが報告されているため²⁾, 今後, 全国的なまん延が危惧される。

そこで, 本県の豚由来病原性大腸菌 O116 について, 発生状況調査, 病原因子保有状況調査, 薬剤耐性状況調査及び分子疫学的解析を実施し, 以前より本県で主要な血清型である豚由来病原性大腸菌 O139 との病原因子保有率及び薬剤耐性状況の比較解析を実施したので, その概要を報告する。

2 発生状況

本県における豚大腸菌症または浮腫病から分離された大腸菌の O 群血清型は, 平成 11~19 年度までは O139(15/31 症例)及び O149(7/31 症例)が主要な血清型であったが, 平成 20~28 年度では, 以前に分離事例が認められていなかった O116(9/31 症例)による症例が増加し, O139(9/31 症例)と並び最も分離頻度の高い血清型であった。本県の O116 による症例は, 平成 20 年度に初めて確認され, 平成 28 年度までに 7 農場(A~G 農場)9 症例で確認された。症状は, 9 症例中, 眼瞼浮腫が 3 症例, 下痢が 8 症例, 死亡が全ての症例で確認された(表 1)。一方, O139 による症例は, 平成 20~28 年度に 7 農場 9 症例

で確認された。症状は, 9 症例中, 眼瞼浮腫が 2 症例, 下痢が 1 症例, 死亡が全ての症例で確認された。

表1: 発生状況(O116)

管轄 家保	農場	年度	株数	経営	症状		
					浮腫	下痢	死亡
北部	A	H20	1	繁殖		●	●
		H22	2	一貫	●	●	●
	B	H22	1	一貫		●	●
		H25	2	一貫	●		●
	C	H24	2	繁殖		●	●
D	H25	2	一貫		●	●	
東部	E	H26	2	一貫	●	●	●
	F	H27	2	一貫		●	●
	G	H28	2	一貫		●	●

※ B農場のみ3症例, その他は1症例

3 材料

平成 20~28 年度に, 7 農場(A~G 農場)9 症例から分離された豚由来病原性大腸菌 O116: 16 株(A 農場 1 症例 1 株, B 農場 3 症例 5 株, C~G 農場各 1 症例 2 株)を試験に供した。比較解析には, 平成 20~28 年度に 7 農場 9 症例から分離された豚由来病原性大腸菌 O139: 17 株を試験に供した。

4 方法

1) 病原遺伝子検査

毒素遺伝子(*LT*, *STa*, *STb*, *Stx1*, *Stx2e*)及び付着因子(*eae*, *F4*, *F5*, *F6*, *F18*, *F41*)について, PCR 法で実施した。

2) 薬剤感受性試験

ミューラー・ヒントン寒天培地 (日本ベクトンディッキンソン株式会社) を用いて, アンピシリン (ABPC), アモキシシリン (AMPC), カナマイシン (KM), ゲンタマイシン (GM), ストレプトマイシン (SM), テトラサイクリン (TC), オキシテトラサ

イクリン (OTC), ドキシサイクリン(DOXY), ST 合剤(ST), クロラムフェニコール(CP), ナリジクス酸 (NA), レボフロキサシン (LVFX), シプロフロキサシン (CPFX), ノルフロキサシン(NFLX), セファゾリン (CEZ), セフロキシム(CXM), セフォタキシム (CTX), セフェピム(CFPM), メロペネム(MEPM), イミペネム(IPM)の 20 薬剤について 1 濃度ディスク法で実施した。ディスクは, センシディスク (日本ベクトン・ディッキンソン株式会社) を用いた。

- 3) Multilocus Sequence Typing(MLST)

7つのハウスキーピング遺伝子(*adhA, fumC, gyrB, icd, mdh, purA, recA*)について塩基配列を解析し, その配列から Sequence Type(ST)を決定した。
- 4) パルスフィールドゲル電気泳動法 (PFGE)

秋庭の報告¹⁾によるプロトコールに準じて行い, 制限酵素は Xba I (タカラバイオ株式会社) を用いて, 泳動条件 6V/cm, 5-50 秒, 22 時間で実施した。結果の解析は, Tenoverらの報告⁸⁾による評価基準に基づき切断パターンの相違3本以内を近縁とした。

5 結果

1) 病原遺伝子検査(図 1)

O116 全 16 株が, 毒素遺伝子は, エンテロトキシン産生遺伝子である *LT, STa* 及び *STb*, 志賀毒素産生遺伝子である *Stx2e* を保有していた。また, 付着因子は, O116 全 16 株が *F18* を保有していた。その他の遺伝子は陰性であった。

O139 では, 毒素遺伝子のうち, エンテロトキシン産生遺伝子は, *STa* を 6% (1/17 株)が保有しており, *LT*及び *STb*は全株陰性であった。志賀毒素産生遺伝子は, *Stx2e* を全株保有していた。付着因子 *F18* は全株陽性であった。その他の遺伝子は陰性であった。

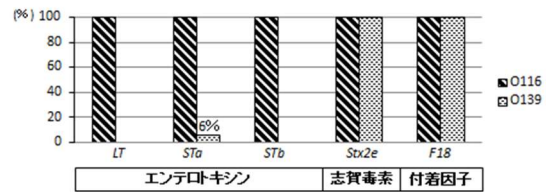


図1: 病原遺伝子陽性率 (O116とO139の比較)

2) 薬剤感受性試験

① O116 検査結果(表 2)

20 薬剤中 11 薬剤(ABPC, AMPC, GM, SM, TC, OTC, NA, LVFX, CPFX, NFLX, CEZ)に全株が耐性を示した。その他の薬剤の耐性率は, CXM63%(10/16 株), ST 及び CP25%(4/16 株), DOXY13%(2/16 株)であった。一方, 5 薬剤(KM, CTX, CFPM, MEPM, IPM)については, 耐性は確認されなかった。

表2: O116の薬剤感受性試験結果

	ペニシリン系	アミノグリコシド系	テトラサイクリン系	キノロン系	β-ラクタム系	マクロライド系	グリコペプチド系	その他				
	ABPC AMPC	KM	GM SM	TC OTC	DOXY	NA	LVFX CPFX NFLX	CEZ	CXM	CTX	CFPM MEPM IPM	ST CP
A農場 1株	R	I	R	R	R	R	R	R	R	S	I	I
B農場 5株	R	S~I	R	R	I	R	R	R	R~I	S~I	S	S
C農場 2株	R	S~I	R	R	I	R	R	R	R	I	S	S
D農場 2株	R	S	R	R	I	R	R	R	I	S	S	S
E農場 2株	R	I	R	R	I	R	R	R	R~I	S~I	R	R
F農場 2株	R	S	R	R	I	R	R	R	R	I	R	R
G農場 2株	R	S	R	R	R~I	R	R	R	R~I	S	S	S
耐性率 (%)	100	0	100	100	13	100	100	100	63	0	25	

* CFPM, MEPM, IPMについては, 全株感受性 R: 耐性 I: 中間 S: 感受性

② O139 検査結果

耐性率は, TC 及び OTC71%(12/17 株), ST47%(8/17 株), SM41%(7/17 株), KM29%(5/17 株), ABPC 及び AMPC24%(4/17 株), DOXY18%(3/17 株), CP12%(2/17 株)であった。一方, 11 薬剤(GM, NA, LVFX, CPFX, NFLX, CEZ, CXM, CTX, CFPM, MEPM, IPM)については, 耐性は確認されなかった。

③ O116 と O139 の比較解析(図 2)

3 薬剤(KM, DOXY, ST)については, O116 と比較して O139 の耐性率が高い結果となった。一方, 13 薬剤(ABPC, AMPC, GM, SM, TC, OTC, CP, NA, LVFX, CPFX,

NFLX, CEZ, CXM)については O116 の耐性率が O139 を上回る結果となった。4 薬剤 (CTX, CFPM, MEPM, IPM)については、どちらの血清型も耐性は確認されなかった。耐性薬剤数を比較すると、20 薬剤中 O139 は平均 3.4 薬剤(0~7 薬剤), O116 は平均 12.3 薬剤(11~14 薬剤)であり、耐性薬剤数に顕著な差が認められた。

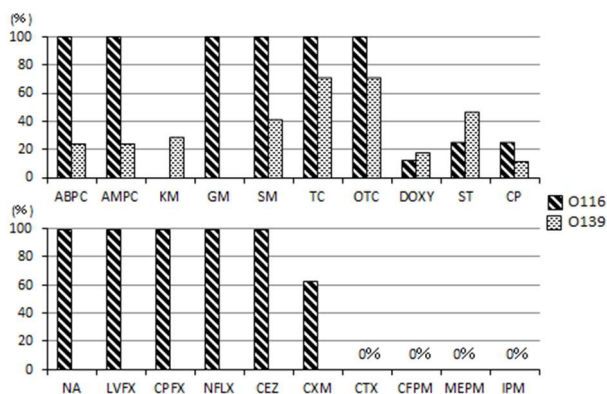


図2: 薬剤耐性率(O116とO139の比較)

3) MLST

O116 全 16 株は全て、ST88(clonal complex23)に分類された。

4) PFGE(図 3)

A~D, G 農場由来の 12 株は切断パターンの相違が 3 本以内であった。一方, A~D, G 農場由来の 12 株と E, F 農場由来 4 株では、切断パターンの相違が 4 本以上確認された。

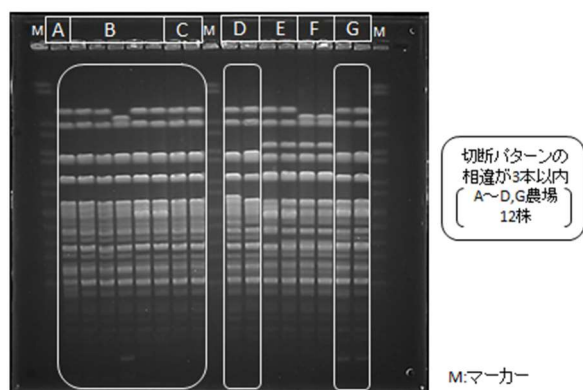


図3: PFGE結果(O116)

6 まとめ及び考察

本県で分離された O116 は、エンテロトキシン産生遺伝子である *LT*, *STa* 及び *STb* と、志賀毒素産生遺伝子である *Stx2e* を全株が保有しており、他県で分離された O116 の病原遺伝子保有状況²⁾と同様の傾向を示した。一方、O139 は *Stx2e* を全株保有していたが、エンテロトキシン産生遺伝子については、*STa* を 6%が保有しているのみで、*LT* 及び *STb* は全株陰性と、O116 と比較してエンテロトキシン産生遺伝子の保有率に顕著な差が認められた。エンテロトキシンは、細胞を障害せず、腸管内で水分や電解質の分泌促進及び吸収抑制を引き起こし⁵⁾、産生後すぐに下痢の症状がみられることが報告されている³⁾。一方、*Stx2e* は産生後腸管から吸収され、全身性の血管障害を引き起こし、産生されてから発症するまでに 7~10 日要することが報告されている³⁾。病原性大腸菌がエンテロトキシン及び志賀毒素を両方産生する場合、感染豚は下痢の後に浮腫病を発症する可能性があることが報告されている^{3,6)}。本県の O116 の症例では、9 症例中 8 症例で下痢が確認され、下痢と眼瞼浮腫どちらも確認された症例は 2 症例認められた。一方、O139 では、9 症例中、下痢が認められた症例は *STa* を保有する大腸菌が分離された 1 症例のみで確認され、下痢と眼瞼浮腫どちらも確認された症例は認められなかった。今回の調査では、死亡率の比較は実施できなかったが、O116 は O139 と比較して、下痢が多く、下痢と眼瞼浮腫のどちらも認められる症例も確認されたことから、病原性が高い可能性が考えられた。

薬剤感受性試験では、20 薬剤中 O139 は平均 3.4 薬剤、O116 は平均 12.3 薬剤に耐性を示し、O139 と比較して O116 の多剤耐性傾向が確認された。さらに、O116 は全株がフルオロキノロン系の 3 薬剤(LVFX, CFX, NFLX)に耐性を示し、第 2 世代セフェム系薬剤である CXM にも 63%が耐性を示した。また、第 3 世代セフェム系薬剤である CTX には耐性は認められず、第 4 世代セフェム系薬剤である CFPM 及びカルバペネム系の 2 薬剤(MEPM, IPM)には、O116 全株

が感受性を示した。O116 は有効な薬剤が少ないため、さらなる耐性獲得の防止のため、抗菌剤の慎重使用や、飼養衛生管理基準の遵守による農場への侵入の防止、生菌剤を用いての腸内細菌叢のコントロールが重要と思われる。

MLST の解析の結果、既報^{4,7)}のとおり、本県の O116 も ST88 に分類された。PFGE の結果では、A～D, G 農場由来の 12 株と、E, F 農場由来 4 株で、大きく分けて 2 種類の切断パターンが確認された。これらの結果から、A～D, G 農場の 7 症例は、同一由来株が農場内に侵入した可能性が考えられた。一方、E, F 農場の 2 症例については、E, F 農場由来 4 株のみ ST, CP 耐性と、他の株と薬剤耐性パターンも異なった。このことから、A～D, G 農場由来株と、E, F 農場由来株では、由来が異なる可能性が示唆された。E 農場では、O116 による疾病の発生が報告されている県から豚の導入が確認され、E, F 農場は農場間距離が直線距離で 1.3km と近隣であったため、E, F 農場は A～D, G 農場とは異なる感染経路で農場内に O116 が侵入し伝播した可能性が考えられた。

今後も、継続して本県の豚由来病原性大腸菌 O116 による豚大腸菌症及び浮腫病の発生状況を注視していく。

7 謝辞

稿を終えるにあたり、分子疫学的解析の実施、並びにご助言を賜りました、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の楠本正博先生に深謝いたします。

8 参考文献

- 1) 秋庭正人：パルスフィールドゲル電気泳動による腸管出血性大腸菌 O157:H7 の分子疫学的解析法.JVM.53,14-21
- 2) 藤井勇紀, 田邊ひとみ, 西野弘人ら:茨城県における豚由来病原性大腸菌の比較解析.日本獣医師会雑誌.70,643-649(2017)
- 3) 小林 秀 樹：豚 の 浮 腫 病 .All About Swine.28,16-22(2006)

- 4) Kusumoto M.,Hikoda Y.,Fuji Y.,et al. : Emergence of a Multidrug-Resistant Shiga Toxin-Producing Enterotoxigenic *Escherichia coli* Lineage in Diseased Swine in Japan. J Clin Microbiol.54,1074-1081(2016)
- 5) 永井英貴：豚用ワクチンの概説.日本獣医師会雑誌.64,194-202(2011)
- 6) 末吉益雄：子豚の下痢を伴う浮腫病.豚病会報.48,7-13(2006)
- 7) 田中健介,羽入さち子,篠川有理ら:新潟県で分離された豚由来病原性大腸菌の比較解析に基づく一考察.平成 26 年度新潟県家畜保健衛生業績発表会集録.61-64(2015)
- 8) Tenover FC,Arbeit RD,Goering RV et al: I n t e r p r e t i n g chromosomal DNA restriction patterns produced by pulsed-field gel electrophoresis:Criteria for bacterial strain typing.J Clin Microbiol.33,2233-2239(1995)

13 高病原性鳥インフルエンザのコンベンショナル PCR 法の比較検討

仙台家畜保健衛生所

松尾賢吾, 佐伯悠季, 高森広典, 高橋幸治

1 はじめに

高病原性鳥インフルエンザ (HPAI) の病性鑑定では、死亡や典型的症状を示す鶏の簡易検査が陽性となった場合、精密検査として遺伝子検査が実施される⁴⁾。遺伝子検査において H5 亜型又は H7 亜型の鳥インフルエンザウイルス (AIV) 遺伝子が検出されると、当該鶏は疑似患畜と判定され、農場での防疫措置が開始される。この遺伝子検査はコンベンショナル PCR (cPCR)³⁾とリアルタイム PCR^{®)}の2種類が実施され、cPCR では NP 遺伝子 (NP), H5 亜型遺伝子 (H5) 及び2種類の H7 亜型遺伝子 (H7) の計4種類の検査が実施される。

HPAI の cPCR は、逆転写反応 (RT 反応) と PCR 反応を分けて実施する 2step RT-PCR (2step) が公定法に指定されている。この 2step では、試薬の添加や反応液の調整のため、検査途中に PCR チューブを複数回開閉する必要があることから、コンタミネーションが起る可能性が存在する。一方、他の多くのウイルスでは 1step RT-PCR (1step) を用いた遺伝子検査が実施されている。1step は連続で RT 反応と PCR 反応を行うため、反応途中にチューブを開閉する必要がなく、上記のリスクが小さいことが利点である。

HPAI 発生時には、迅速かつ的確な防疫対応を行うため、正確な検査の実施が求められる。そのため、今回 2step よりコンタミネーションのリスクが低い 1step を用いた HPAI の cPCR 法を検討した。

2 材料及び方法

1) 2step と 1step の感度比較

供試 RNA は、平成 28 年度に本県で HPAI が発生した際の分離株 (H5N6) 1 株及び平成

28 年度に遺伝子検査の陽性対照として、農林水産省から配布を受けた4株 (A/duck/chiba/3/2007 株 (H3N2), A/spot-billed duck/Fukui/131811/2013 株 (H5N3), A/duck/Tsukuba/30/2007 株 (H7N7eu), A/duck/chicken/NJ/15086-3/1994 株 (H7N3am)) の計5株を用いた。

検討に用いる 1step 試薬は I 社 (①), T 社 (②), Q 社 (③) の3種類を用いた。2step は公定法指定の RT 試薬及び PCR 試薬を用いた。

各 RNA を 10 倍階段希釈 (10⁰~10⁶倍) し、これらを NP, H5 及び H7 の 1step 及び 2step に供し、バンドの有無により各検査の検出限界を測定した。1step は反応液量を 25 μ l, RNA 添加量を 1 μ l とし、公定法で使用する Lee らのプライマーを用いることで条件を統一した。その他の反応条件は各試薬の推奨条件を基に個別に設定した (表 1)。2step は公定法に従い実施した。全ての反応は同一のサーマルサイクラー (Bio-Rad 社 T100 Thermal Cycler) を使用した。得られた①~③の検出限界を 2step と比較し、差が 10 倍以内の場合を同等, 上下 100 倍以上の差を高感度, 低感度と判定した。加えて、各試薬を用いて検査を実施した場合の反応時間と、1 反応あたりの試薬の価格を計算し、2step と比較した。

表1 1step試薬①~③の反応条件

	①	②	③
プライマー 終濃度	0.2 μ M	0.4 μ M	0.6 μ M
RT反応	55°C 30分	50°C 30分	50°C 30分
	94°C 2分	94°C 2分	95°C 15分
PCR反応	94°C 15秒	94°C 30秒	94°C 30秒
	50°C 30秒	50°C 30秒	50°C 30秒
	68°C 30秒	72°C 30秒	72°C 30秒
	×40サイクル	×35サイクル	×35サイクル
	68°C 5分	72°C 10分	

2) 試薬②を用いた 1step の条件検討

H7N7eu 及び H7N3am の RNA を 10 倍階段希釈 (10⁰~10⁶ 倍) し, ②を用いた H7 の 1step に供した。PCR サイクル数は 40 回に設定し, RNA を 1μl, 2μl 及び 4μl 添加した場合の検出限界を測定した。その他の条件はこれまでと同一にした。得られた検出限界を用いて, 2step を基準とした各条件での感度を比較した。

3) 野外陽性検体に対する反応性の確認

材料には, 平成 28 年度に本県で HPAI が発生した際, 公定法で NP 及び H5 が検出された気管・クロアカスワブ RNA 各 1 検体を用いた。各 RNA を 1μl 又は 4μl 使用し, NP, H5 及び H7 の 1step に供した。1step は②を用いてサイクル数を 40 回とし, バンドの有無により反応性を確認した。

3 結果

1) 2step と 1step の感度比較

表 2 に各試薬の検出限界を示した。2step と 1step の感度を比較したところ, NP では, H5N6 及び H3N2 で①及び②が 2step と同等の感度を示したが, ③は低感度であった。H5 では, H5N6 及び H5N3 で①~③の全てが 2step と同等の感度を示した。H7 では, H7N7eu で②及び③が 2step と同等の感度を示したのに対し, ①は低感度であった。H7N3am では①~③の全てが低感度であった。

2step で供試株間の感度を比較したところ, NP では, H5N6 の検出限界が 10⁴, H3N2 が 10² となり, 供試株間で感度に 100 倍の差が認められた。また, H5 では H5N6 及び H5N3 の検出限界がともに 10⁴ であったが, H7 では H7N7eu が 10², H7N3am が 10³ であり, H5 と比較して H7 の感度が低い傾向がみられた。

表 3 に各試薬の反応時間及び 1 反応あたりの試薬の価格を示した。反応時間を 2step と 1step で比較すると, ①が 87 分, ②が 85 分となり, 2step より 60 分以上短かった。また, 1 反応あたりの試薬の価格を比較すると, ②が 440 円,

③が 430 円となり, 2step より 1,000 円以上安価であった。

表2 各試薬の検出限界

供試株	2step	1step		
		①	②	③
NP	H5N6	10 ⁴	10 ⁴	10 ¹
	H3N2	10 ²	10 ³	10 ⁰
H5	H5N6	10 ⁴	10 ⁴	10 ⁵
	H5N3	10 ⁴	10 ³	10 ³
H7	H7N7eu	10 ²	10 ⁰	10 ¹
	H7N3am	10 ³	10 ¹	10 ¹

■:2stepと比較して低感度

表3 各試薬の反応時間及び価格

	2step	1step		
		①	②	③
反応時間	154分	87分 (-67分) ^a	85分 (-69分)	108分 (-46分)
価格/1反応	1,489円	708円 (-781円)	440円 (-1,049円)	430円 (-1,059円)

a:2stepとの差

2) 試薬②を用いた 1step の条件検討

表 4 に②の条件検討の結果を示した。H7N7eu では, サイクル数が 35 回の条件で 2step と同等であった感度は, 40 回の条件においても RNA 添加量に関わらず同等の感度であった。H7N3am では, 35 回の条件では 2step より 100 倍低かった感度が, 40 回の条件では RNA 添加量に関わらず同等にまで改善した。

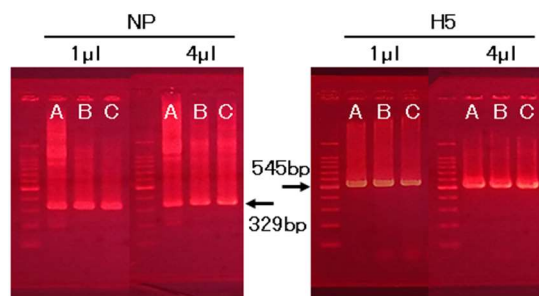
表4 試薬②の各条件での検出限界

	2step	1step			
		35回		40回	
RNA添加量		1μl	1μl	2μl	4μl
H7N7eu	10 ²	10 ¹	10 ²	10 ²	10 ²
H7N3am	10 ³	10 ¹	10 ²	10 ²	10 ³

■:2stepと比較して低感度

3) 野外陽性検体に対する反応性の確認

NP 及び H5 の 1step 結果を図 1 に示した。NP 及び H5 では、RNA 添加量に関わらず目的サイズに明瞭なバンドが確認された。また、H7 ではバンドは形成されなかった。



A: 陽性コントロール B: 気管スワブ C: クオアカスワブ

図1 野外陽性検体を用いた試薬②の1step

4 考察

今回、HPAI の遺伝子検査について、1step を用いた cPCR 法を検討した。①～③の 1step 試薬を用い、可能な限り条件を統一し、NP、H5 及び H7 の感度を公定法である 2step と比較した。加えて、反応時間や 1 反応あたりの試薬の価格についても比較を行った。

感度の比較では、NP において①及び②が 2step と同等の感度を示し、H5 において①～③がともに同等の感度を示した。H7 においては、H7N7eu では②及び③が同等の感度を示したが、H7N3am では①～③全てが低感度を示した。

今回、2step と 1step の間で感度に差が認められたが、既報においても試薬によって HPAI の遺伝子検出感度が異なることが示されている¹⁾。一般的に 1step は 2step と比較して RT 効率が劣るとされていることから、この RT 効率の差によって感度の差が生じたと推察された。また、1step 試薬間でも感度の差が認められたが、これは各試薬に含まれる RT 酵素及び PCR 酵素の反応性の差によるものと考えられた。

2step では、NP で供試株間の検出感度に 100 倍の差が認められ、H7 は H5 と比較して感度が低い傾向であった。既報において、AIV 遺伝子とプライマーの塩基配列に 3 塩基以上のミス

マッチがあった場合、検出感度が低下するとされている¹⁾。今回の検討で用いたプライマーには、NP のプライマーで 3 塩基、H5 のプライマーで 5 塩基、H7 のプライマーで 7 塩基の混合塩基が含まれており、反応液中に複数の塩基配列のプライマーが混在していた。このことから、株間の感度の差は、混合塩基を含むプライマーの中に存在する、AIV の塩基配列と結合可能な配列を持ったプライマーの濃度の差によるものと考えられた。また、今回の検討に用いた AIV 遺伝子の濃度が不明であることから、AIV 遺伝子の濃度の差によって供試株間の感度に差が認められた可能性も推察された。

反応時間の比較では、①及び②が 2step より約 1 時間短く、試薬の価格では、②及び③が 2step より約 1,000 円安価であった。

②は最も多くの株で 2step と同等の感度を示したが、H7N3am で 2step より低感度であった。そのため、H7 を 2step と同等の感度で検出するため、1 step の条件検討を実施した。説明書では感度を上げる方法として、PCR 反応のサイクル数増加を推奨していたことから、サイクル数を 5 回増やし感度の変化を検討した。併せて、添加する RNA 量を増やした場合の感度の変化も検討した。検討の結果、RNA 添加量に関わらず、PCR サイクル数を 40 回にすることで、H7 で 2step と同等の感度が得られた。

実際に HPAI の cPCR 法として本法を用いた場合を想定し、野外陽性検体への反応性を確認した。その結果、NP 及び H5 では明瞭なバンドが確認されたが、H7 ではバンドは確認されなかった。このことから、本法の野外陽性検体に対する反応性が十分であることが確認された。また、本法に用いる RNA の添加量は、1µl と 4µl で H7 の検出感度及び野外陽性検体への反応性に差が無かったことから、1µl が適当であると考えられた。

今回の検討で設計した試薬②の 1step RT-PCR 法は、サイクル数を 40 回にすることで、公定法と同等の感度を持ち、野外陽性検体に対しても十分な反応性を持つことが確認され

た。また公定法と比較して、反応時間が1時間以上短く、1反応当たりの試薬の価格が1,000円以上安価であった。これらのことから、本法はコンタミネーションのリスクが低く、短時間、安価で公定法と同等な感度を有する検査法として有用と考えられた。

一方で、インフルエンザウイルスは変異が起きやすく、同じHA亜型でも株により感度が異なる³⁾ことが知られており、遺伝子検査法の検討にはより多くの株を用いる必要がある。また、検査の条件については、アニーリング温度を下げることで検出感度を改善したという報告があることから²⁾、他の反応条件についても検討する必要があると思われた。

5 引用文献

- 1) 井上大輔, 吉野文彦, 向原要一, ほか: 鳥インフルエンザ遺伝子検査法の特性と電気泳動によるリアルタイムPCR結果の検証. 日獣会誌. 68, 569-574 (2015)
- 2) 壁村光恵, 首藤洋三, 長岡健朗: 本県における高病原性鳥インフルエンザの野外株に対する抗原検出法の比較検討. 大分県家畜保健衛生並びに畜産関係業績発表会集録. 61, 55-58 (2012)
- 3) Lee MS, Chang PC, shien JH, et al.: Identification and subtyping of avian influenza viruses by reverse transcription-PCR. J Virol Methods. 97, 13-22 (2001)
- 4) 農林水産大臣: 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病疫指針 (2015)
- 5) 新矢恭子: 高病原性鳥インフルエンザの特性. 鶏病研究会報. 47, 1-5 (2011)
- 6) Tsukamoto K, Noguchi D, Suzuki K, et al.: Broad detection of diverse H5 and H7 hemagglutinin genes of avian influenza viruses by real-time reverse transcription PCR using primer and probe sets

containing mixed bases. J Clin Microbiol. 48, 4275-4278 (2010)

- 7) 塚本健二: H5及びH7亜型の鳥インフルエンザウイルスを検出するためのリアルタイムPCR. 鶏病研究会報. 49, 59-63 (2013)

14 胚発生率の低い種雄牛における体外受精成績の改善

宮城県畜産試験場

伊藤愛・矢島りさ・及川俊徳

1 はじめに

ウシ体外受精(IVF)は、食肉処理場由来の卵巣を用いることで、卵子を比較的大量に処理することができるため生体回収胚よりも低コストでの胚生産が可能である。利用方法としては、肥育素牛の増産や種雄牛の後代検定材料の確保などが考えられる。種雄牛造成における後代検定には候補種雄牛1頭につき約20頭程度のデータが必要とされていることから多大なコストを必要とする。畜産試験場においても種雄牛造成と選抜の期間短縮およびコスト削減を図るため、IVF 技術を活用した産肉能力検定システムの実証に取り組んでいる。

一方、ウシ IVF の胚発生成績は種雄牛により大きく異なることが知られており¹⁾、実際に我々の試験では 15.3%~39.3%であった(図 1)。しかし効率的に IVF 子牛を作出するためには、種雄牛に左右されない IVF 技術が必要である。

そこで本研究では、胚発生率の低い種雄牛の IVF 成績向上を目的として、選択的に運動精子の回収が可能な Percoll および抗酸化作用のあるハイポタウリン(HT)による精子処理について検討した。

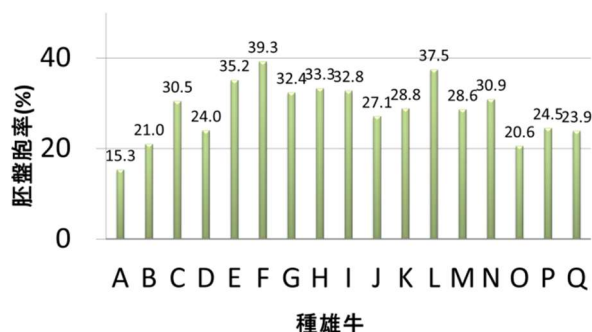


図 1 宮城県畜産試験場種雄牛別 IVF 成績

2 材料と方法

(1) 卵子の採取

食肉処理場で卵巣を採取し、37°Cのお湯で保温しながら速やかに実験室に持ち帰った。

(2) 卵子の吸引および選別

卵巣を生理食塩水で数回洗浄した後、10ml シリンジに 21G の針を装着して、卵巣表面上にある直径 2-6mm の小卵胞から卵子を吸引採取した。吸引した卵子は、卵丘細胞が 2 層以上付着して、卵細胞質が正常な卵子を実験に供した。

(3) 体外成熟

卵子の体外成熟は Medium199 に 5%FBS, 0.1IU/mlFSH, 0.1%ピルビン酸ナトリウムを添加した培地を使用し 38.5°C, 5%CO₂, 95%空気の気相条件で 22 時間成熟培養した。

(4) IVF

胚発生成績の低い宮城県畜産試験場繋養の種雄牛 1 頭の凍結精液を 38°Cの温湯で融解して使用した。融解精子は精子洗浄液である IVF100 (機能性ペプチド研究所) を加えて 1,300rpm, 5 分間の条件で 2 回遠心分離を行い、精子濃度を調整して、成熟卵子とともに 38.5°C, 5%CO₂, 95%空気の条件下で 6 時間媒精した。

(5) 受精卵の培養

媒精後は卵子を Medium199 に 5%FBS を加えた培地に移しピペッティングによって卵丘細胞を剥離除去し、実験 1 では mSOF 培地、実験 2 では CR1aa 培地にて 38.5°C, 5%CO₂, 5%O₂ の気相で 8 日間体外発生培養を行った。

(6) 胚盤胞の細胞数計測

0.1mg/ml ヨウ化プロピジウム添加トリトン X-100 溶液および 25 μg/ml ヘキスト 33342 を用いた二重染色を行い、蛍光顕微鏡により観察した。また栄養外胚葉細胞数(TE), 内細胞塊数(ICM), 総細胞数(Total)を計測した。

(7) ATP 濃度測定

IVF と同様に精子処理を行い、精子濃度 1,000 万/ml に調整した。市販キット(sigma)を使用し、調整直後から 3 時間後まで 1 時間毎にルシフェリンルシフェラーゼ法により ATP 濃度を測定した。

(8) 実験計画

【実験 1】 90%Percoll による胚発生成績の検討
 対照区は常法により実施した。試験区(90%Percoll 区)は 90%Percoll の上に融解した精子をのせ 2,100rpm, 10 分間の遠心分離後、上清を吸引除去した。次に IVF100 を使用し、1,800rpm, 5 分間の遠心分離を行い最終濃度が 1,000 万/ml になるよう精子浮遊液を調整した。

【実験 2】 媒精液へのハイポタウリン添加による胚発生成績の検討

融解精子を 90%Percoll の表面に重層し、740G, 10 分間の遠心分離後、上清を吸引除去した。次に精子洗浄液として、対照区は IVF100, 試験区はそれぞれ 5mM, 10mM の HT を加えた IVF100 を用いて 540G, 5 分間の遠心分離を行った。遠心分離後、最終精子濃度が 300 万/ml になるよう精子浮遊液を調整した。

(9) 統計処理

細胞数の測定結果は分散分析、パーセンテージのデータはカイ二乗検定により行い、有意水準 5%未満を有意差ありとした。

3 結果

【実験 1】

胚発生率の結果を表 1 に示した。卵割率は対照区 : 33.3%, 90%Percoll 区 : 58.0%, 胚盤胞率は Day7 において対照区:7.5%, 90%Percoll 区:24.4%, Day8 において対照区:14.2%, 90%Percoll 区:30.3% であり、90%Percoll 区が対照区より有意に高い成績であった(P<0.05)。

【実験 2】

胚発生成績を表 2 に示した。卵割率は対照区:78.5%, 5mMHT 区:79.0%, 10mMHT 区:90.8%,

胚盤胞率は Day7 において対照区 : 27.7%, 5mMHT 区 : 25.0%, 10mMHT 区 : 44.9%, Day8 において、対照区 : 30.8%, 5mMHT 区 : 29.0%, 10mMHT 区 50.0%であり 10mMHT 区が他処理区より有意に高い成績であった (P<0.05)。細胞数は処理区間で有意な差は認められなかった (図 2)。また ATP 濃度の結果を図 3 に示した。ATP 濃度は精子調整直後で 10mMHT 区が他処理区より高い値をとったものの、すべての測定時間において処理区間で有意な差はみられなかった。

表 1 Percoll 使用の有無が胚発生成績におよぼす影響

試験区	供試 卵子数	卵割率 (%)	胚盤胞率(%)	
			Day7	Day8
対照区	120	40 (33.3) ^a	9 (7.5) ^a	17 (14.2) ^a
90%Percoll区	119	69 (58.0) ^b	29 (24.4) ^b	36 (30.3) ^b

異符号間で有意差あり (a, b P<0.05)

表 2 媒精液への HT 添加が胚発生成績におよぼす影響

試験区	供試 卵子数	卵割率 (%)	胚盤胞率(%)	
			Day7	Day8
対照区	65	51 (78.5) ^a	18 (27.7) ^a	20 (30.8) ^a
5mM HT区	100	79 (79.0) ^a	25 (25.0) ^a	29 (29.0) ^a
10mM HT区	98	89 (90.8) ^b	44 (44.9) ^b	49 (50.0) ^b

異符号間で有意差あり (a, b P<0.05)

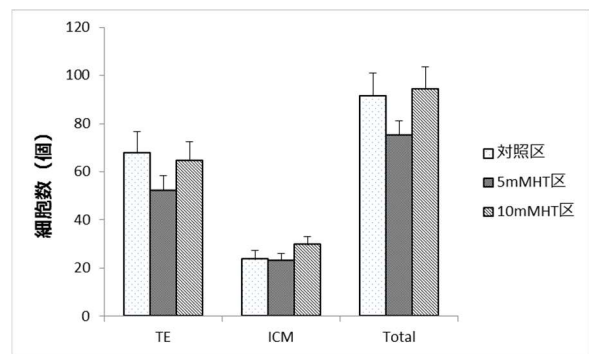


図 2 胚盤胞期胚の細胞数

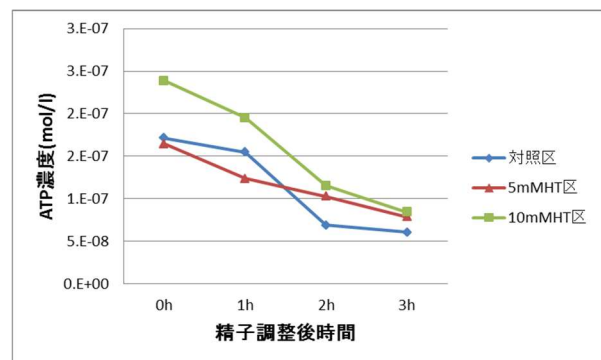


図 3 精子浮遊液の ATP 濃度測定結果

4 まとめおよび考察

実験1では胚発生成績が低い種雄牛精液を使用したIVFにおいて、90%Percollの使用の有無が胚発生成績におよぼす影響について検討した。その結果、90%Percollを使用すると胚発生率が向上することが明らかとなった。

胚発生率が低い原因として凍結精液融解後の精子運動性の低下や正常形態率が低いこと、酸化ストレス等が考えられる。これらの影響を少なくすることは、胚発生成績の向上につながるため重要である。

Percollはポリビニルピロリドンで被服したコロイド状シリカゲル粒子で密度勾配により奇形および死滅精子が除去され運動性の良好な精子の回収が可能である²⁾。実験1で90%Percoll区の胚発生成績が向上した理由として、Percollにより運動性の良い精子が効率的に選抜されたことが考えられるが、運動性の検査は今回実施していないため今後検討する必要があると思われる。

実験2では実験1で胚盤胞率が30.3%まで向上したが、さらなる成績向上を目指してHTの添加について検討した。また胚の品質調査として細胞数の計測と、HTを添加した媒精液の使用が精子にもたらす影響について調査するため精子のATP濃度測定も行った。

10mMHT区では他処理区と比較して卵割率および胚盤胞率が有意に向上することが明らかとなった。細胞数の計測結果は処理区間で有意な差は認められず、5mMまたは10mMのHT添加は胚に悪影響をおよぼさないことが確認された。

IVFにおいて精子への酸化ストレスが受精能力に悪影響をおよぼしていることが考えられており、抗酸化物質を用いた様々な取り組みが報告されている。抗酸化物質のなかでもHTは受精能獲得や活力に寄与してハムスター精子の運動性を向上させること³⁾やIVF培地へのHT添加が胚盤胞率を向上させること⁴⁾が報告されている。また西村ら⁵⁾は、抗酸化物質のひとつであるグルタチオンがブタ精子のATP濃度を上昇させ運動性を向上すると報告している。この

ことから抗酸化物質の一つであるHTにおいても同様の効果があると予想されたが、精子濃度調整直後の10mMHT区のATP濃度が他処理区より高い値をとったものの有意な差は認められなかったことから今後の検討課題である。

以上より、胚発生成績の低い種雄牛を使用したIVFにおいて90%PercollおよびHTを使用することで胚発生成績が向上することが明らかとなった。

5 引用文献

- 1) 岡田綾子ら：牛の体外受精技術－種雄牛による受精率および発生率の違い－.鳥取県畜産試験場研究報告27号1～4(1998)
- 2) J.M.Morrell et al : Biomimetic techniques for improving sperm quality in animal breeding : A Review. The Open Andrology Journal, 1, 1-9 (2009)
- 3) S.Meizel et al : Taurine and Hypotaaurine: Their effects on motility,capacitation and the acrosome reaction of hamster sperm in vitro and their presence in sperm and reproductive tract fluids of several mammals. Development growth & differentiation 22(3),483-494(1980)
- 4) Noboru Hori et al : Effect of Hypotaaurine in fertilization medium on fertilization of in vitro matured bovine oocytes and their subsequent development. Journal of Reproduction and Development,Vol.43,No.6(1997)
- 5) Kazuhiro Nishimura et al : Effect of glutathione on the motility of frozen-thawed boar spermatozoa. Animal Science Technology (Jpn) 64(5):433-439(1993)

15 混合堆肥複合肥料の試作と肥効

宮城県畜産試験場

日野 義彦

1 はじめに

化学肥料の原料は、海外からの輸入に依存しているため、原油価格や海上貨物輸送運賃などと同様高騰してきている。従来、堆肥は、土作り肥料として土壌の物理性改善を主な目的としてきたため、肥料成分については参考値程度に捉えられていた。国は、化学肥料の代替として利用する動きに対応して、平成24年9月肥料取締法を改正した。

これまで、特殊肥料である堆肥と硫安などの普通肥料を混合した肥料を製造・販売することは、禁止されていた。改正により、条件付きで堆肥と普通肥料を混合した肥料を製造・販売することが可能となった。

条件として、①原料となる家畜ふん堆肥は、窒素 2%以上、窒素+リン酸+カリの合計 5%以上、C/N比 15 以下であること。さらに、堆肥の混合割合は、50%以下で成型・乾燥したのち製品の窒素+リン酸+カリの合計が 10%以上であることが定められた（図 1）。

混合堆肥複合肥料として堆肥を活用することにより、これまで堆肥の品質上問題となっていた部分も改善された。主な改善点は、①成分値の保証、②年間を通じた成分の安定化、③加熱乾燥工程が入ることによって病原菌や雑草種子の死滅、④未熟堆肥施用による生育障害の回避などである。

試験を進めるにあたり、県内試験研究機関で共同研究体制を組み、製品の試作から栽培試験による肥効の確認までを効率的に行った。具体的には、畜産試験場で混合堆肥複合肥料の試作を行い、農業・園芸総合研究所と古川農業試験場で栽培試験を実施した。また、産業技術総合センターの技術支援により成型技術の検討も行った。

2 成型方法

成型方法として、①ペレタイザーによるペレット化、②金型を用いたマット化について検討

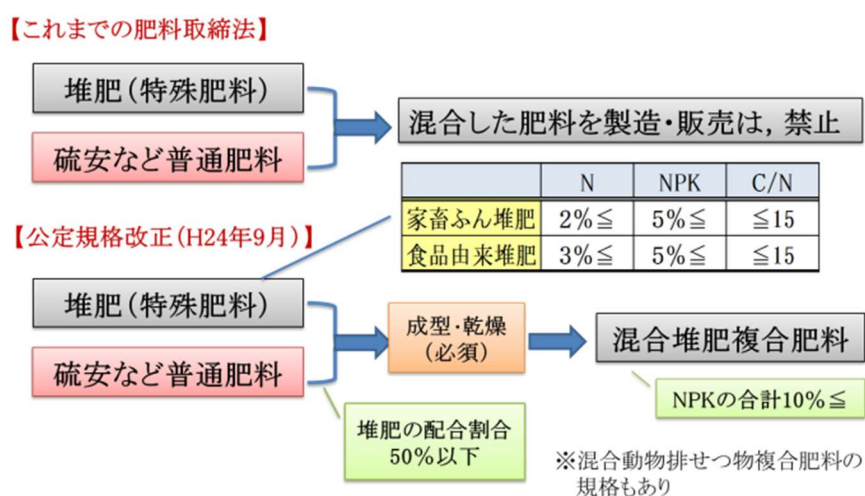


図1 公定規格改正の概要

した。

ペレット肥料は、ペレタイザー（株式会社垣内製のツイндаイス式(粒造くんミニ)）を用い、造粒径φ6mm（ダイズ形状φ206mm×50幅（造粒部）×2個/1セット）とした。ペレット化後、通風乾燥機で加熱乾燥し製品とした（図2）。

マット肥料は、通常のプレスのみでは成形できなかったため、金型を用い100℃・40t・10分の加熱圧縮（産業技術総合センターの技術支援により）を行った。成形後は、真空パックにより保存した。



図2 混合堆肥複合肥料の成型

3 試作ペレット肥料

原料として使用する堆肥については、牛ふん単体で窒素含量2%以上とする条件をクリアできなかったため、窒素成分の多い豚ふんと混合した。

混合は、乳牛ふんと豚ふんを重量比4.5:5.5の割合で行った。共同研究機関の設計に基づき、堆肥、堆肥+大豆粕、堆肥+鶏糞にそれぞれ化学肥料（硫安）を乾物重比1:1に配合した試作品を作成した。試作品は、水稻、コマツナ、ミニトマト及び牧草の追肥試験に供した。

ペレット肥料について、乾燥処理の温度と時間を変えて加熱による窒素飛散の有無を調査した。

その結果、加熱温度・時間に関係なく、窒素含有量は、安定していた（表1）。

また、保存性を確認するため、ペレット肥料の破断強度を木屋式硬度計で測定した。製造直

後と180日後に変化は無く（最大測定硬度を保持）、保存性に問題なかった。

表1 ペレット焼成条件と保存性

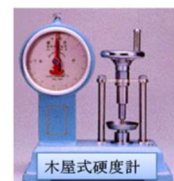
ペレット焼成条件と窒素含有率

		自然乾燥	80℃1h	80℃2h	90℃10min	90℃1h
ペレットA	水分(%)	12.9	9.7	7.1	11.9	8.2
	窒素(%)	11.0	11.5	10.9	11.7	11.3
ペレットB	水分(%)	10.1	7.5	5.7	9.1	6.1
	窒素(%)	12.0	12.0	11.6	11.5	11.9

ペレット破断強度

	自然乾燥(kgf)		90℃10min(kgf)	
	製造後	180日後	製造後	180日後
ペレットA	3.50	4.98	4.38	5.00
ペレットB	5.00	5.00	5.00	5.00
ペレットC	3.33	3.84	4.71	4.95

※最大測定硬度 5kgf



4 栽培試験

水稻栽培は、供試品種：ひとめぼれ、稚苗（草丈11.9cm、葉数2.5枚）で5月20日移植（坪60株）、基肥として窒素4kg/10a、リン酸・カリ8kg/10aとした。試験区は、化成肥料（硫安）、ペレット肥料（硫安+（堆肥、堆肥+大豆粕、堆肥+鶏糞））を窒素ベースで合わせて設定した。調査項目は、生育、収量、収量構成要素、品質、収穫時養分吸収量とした。結果、ペレット肥料は、化成肥料（硫安）の肥効と大差ない生育を示した。収量は、登熟歩合の差でペレットが僅かに劣ったが有意な差ではなかった。養分吸収量についても、差はなかった。

コマツナ栽培は、供試品種：河北、1/5,000aワグネルポットで実施した。試験区は、対照（硫安）、ペレット肥料（堆肥+硫安）、マット肥料（堆肥+硫安）、原料堆肥（堆肥+硫安）、無窒素とした。

肥料由来窒素供給率は、各肥料を不織布袋に入れてコマツナを播種しないポットに埋設または表面設置し、収穫日に回収して袋内の残存窒素量を測定した。

結果、回収したペレット肥料及びマット肥料の袋内には、アンモニア態窒素の残存が認められた（表2）。一般的な堆肥の場合、袋中のアンモニアは速やかに硝酸化成し流亡するため、回収した堆肥中には「原料堆肥」のようにアン

モニア態窒素はほとんど存在しない。しかし、ペレット肥料やマット肥料の場合、ペレットやマット内にアンモニア態窒素が局在しているため、局所的に EC（電気伝導度）が高く、微生物による硝酸化成作用を受けにくくなっていた。

コマツナより生育期間の長い品目では、速効性肥料よりも窒素利用率が高まることが期待できる。

ミニトマト栽培は、供試品種：アイコ、1/2,000 a ワグネルポットで実施した。試験区は、対照（液肥追肥）、硫安、緩効性肥料、ペレット肥料（堆肥＋硫安）、マット肥料（堆肥＋硫安）とした。収穫は、摘心した6段目までとし、糖度は2段目の個体で測定した。総収量、成形果（7g以上）収量および糖度は、全ての区で有意な差は認められなかった。

しかし、硫安、ペレット肥料及びマット肥料は、窒素の供給過多となり、成長点枯れの個体が散見した。

イネ科牧草の追肥施用試験は、供試品種：オーチャードグラス（まきばたろう）で畜産試験用内草地にて実施した。試験区は、窒素水準を25.9 kg/10a に統一し、対照（晩秋に堆肥＋早春化成肥料＋1 番草後化成肥料＋2 番草後化成肥料）、晩秋ペレット肥料、早春ペレット肥料、無

施肥とした。葉色は、SPAD-502Plus（コニカミノルタ社製）で測定した。

1 番草は、生草収量・乾物収量で無施肥区<対照区<早春ペレット区<晩秋ペレット区と有意な差が認められた。葉色も収量性が高いものほど濃い結果となった。2 番草は、無施肥区が低く、3 番草では各区に差は認められなかった（表 3）。

総収量は、対照区を 100 とした場合、晩秋ペレット区 142、早春ペレット区 104、無施肥区 64 となり、晩秋ペレット区が有意に高くなった。

結果、追肥としては、晩秋にペレット肥料の一発施肥が有効となった。

施用時期は、晩秋が適期と判断された。

5 まとめ

混合堆肥複合肥料の原料となる堆肥は、牛ふん単体で窒素含量 2%以上がクリアできないため、豚ふんの混合が必要である。ペレット肥料は、焼成により窒素が失われることなく、保存性にも問題なかった。マット肥料成型には、金型を使用し 100℃・40 t・10 分の加熱圧縮が条件となり、保存に真空パックを用いた脱気封入が必要となった。

栽培試験では、水稻・コマツナ・ミニトマト

表2 コマツナ収穫時の肥料窒素残存率と肥料由来窒素供給率

	肥料窒素残存率 (%)			窒素供給率 (%)
	有機態	NH4態	合計	
ペレット肥料	4.8	18.2	23.0	95.2
マット肥料(表面設置)	2.4	20.3	22.7	97.6
マット肥料(埋設)	2.8	21.0	23.8	97.2
原料堆肥	86.7	0.0	86.7	13.3

表3 イネ科牧草追肥施用時期と収量

(kg/10a)

	1番草			2番草		3番草		総収量		
	生草収量	乾物収量	葉色	生草収量	乾物収量	生草収量	乾物収量	生草収量	乾物収量	対照比%
対照	1,314 ^c	291 ^c	35.3 ^b	893 ^{ab}	269 ^a	1,095	264	3,302 ^b	825 ^b	100 ^b
晩秋ペレ	3,463 ^a	687 ^a	44.1 ^a	905 ^{ab}	269 ^a	908	220	5,276 ^a	1,173 ^a	142 ^a
早春ペレ	2,076 ^b	397 ^b	39.9 ^{ab}	862 ^{bc}	255 ^a	849	209	3,787 ^b	860 ^b	104 ^b
無施肥	479 ^d	113 ^d	26.8 ^c	615 ^c	174 ^b	1,018	238	2,112 ^c	525 ^c	64 ^c

※異符号間(同一行内)有意差あり P<0.05 (Tukey-Kramer)

※葉色は、SPAD-502Plus(コニカミノルタ社製)で測定

全て慣行肥料と生育・収量・品質に差がなかった。

コマツナ栽培後、ペレット肥料・マット肥料にアンモニア態窒素の残存が認められ、肥効が長く継続する結果となった。

イネ科牧草の追肥時期は、晩秋の一発施肥が有効であった。

今後、既存の有機センター堆肥を材料に成型条件、公定規格への対応の可否を検討していく。

さらに、各畜種ふんの特性を活かした肥効コントロールについても考えていく計画である。