

Salmonella Livingstoneによる子牛のサルモネラ症発生事例

茨城県県北家畜保健衛生所

○高安真理子 栗田敬介

搾乳牛 200 頭規模の酪農家で、受精卵移植による和牛子牛の増頭をしていたが、昨年からは和牛子牛の下痢と突然死が続発。原因究明のため病性鑑定を実施。糞便検査の結果、6 頭中 2 頭から *Salmonella* Livingstone (SL) を分離。血液生化学検査の結果、GLOB、-gIb、TP、T-Cho が低値を示し、受動免疫機能低下と栄養状態不良と診断。突然死の原因は、SLと初乳を強制的に胃カテーテルで投与したことによる受動免疫機能不全の 2 要因と推察。環境検査の結果、子牛舎 6/6 箇所、哺乳ロボット牛舎 2/8 箇所からSLを分離し、子牛舎が高度に汚染されていることが判明。保菌牛検査の結果、特に子牛舎の和牛子牛からSLの分離が 1 か月間継続。子牛全頭に感受性薬剤と生菌剤の投与、環境消毒、サルモネラ陽性牛と陰性牛の区域分け、初乳給与方法の見直しを指導。これらのサルモネラ対策と初乳対策を合わせて実施し、子牛の死亡率 0 %、環境と子牛からSL分離陰性となり、対策開始から 3 か月間でサルモネラ清浄化達成。酪農家が初めて和牛子牛育成をする際、特に、初乳給与方法等、ホルスタイン子牛の飼養管理とは異なり生育に影響をきたす恐れがあるため、注意が必要。

ロボットの活用による牛検査台帳作成の効率化

茨城県県北家畜保健衛生所

○三浦達弥 根本聡実

茨城県庁では、令和元年度から ICT を活用した業務の生産性向上や働き方改革推進の一環として、RPA（Robotic Process Automation：ソフトウェアロボットによる業務の自動化）の導入を開始。家畜保健衛生所は、大規模酪農場でのヨーネ病検査や豚熱ワクチン接種等により業務量が増加。業務負荷軽減を図ることを目的に、牛検査台帳作成に RPA を導入。RPA 導入にあたって、従来の業務手順に無駄な工程がないか、ロボットが苦手とする複雑な判断を要する処理がないか等を検討し、茨城県庁改革推進グループにロボット開発を依頼。手書き野帳の電子データ化から、生年月日や名号等の情報を収集した台帳作成まで、ロボットによる自動化を実現。当家保の年間検査頭数は13,800頭で、牛検査台帳作成に要する時間は345時間であったが、RPA 導入により11.5時間となり333.5時間の削減。今後、県内全家保へ使用方法の説明やフォローをしながら普及させることで、RPA 導入効果はさらに向上する見込み。

豚熱ワクチン接種適期の検討

茨城県県北家畜保健衛生所

○鈴木雅美 栗田敬介

豚熱ワクチンの子豚への接種適期は、抗体保有母豚の産子では移行抗体消失時期の考慮が必要。管内の母豚約 40 頭の一貫経営農場で、豚熱 ELISA 高 S/P 値母豚（以下、高母豚）及びその産子 8 頭（体格別各 2～3 頭）、低 S/P 値母豚（以下、低母豚）及びその産子 9 頭（体格別各 3 頭）を用い、母豚と子豚の S/P 値、中和抗体価の推移を調査。調査子豚の豚熱ワクチン接種は 58 日齢。高母豚産子は 45 日齢で約 80%が移行抗体を保有。高母豚の平均 S/P 値は 0.854、中和抗体価（中央値）は 256 倍、低母豚は平均 0.165、中央値 16 倍。高母豚産子の接種時の中和抗体価（中央値）は 8 倍、51 日齢で全頭 16 倍。ELISA 陽性率は接種後 8 週で 60%。低母豚産子は 32 日齢で ELISA 全頭陰性。低母豚産子の接種時の中和抗体価（中央値）は <2 倍、26 日齢で全頭 < 16 倍。ELISA 陽性率は接種後 6 週で 100%。体格別では、S/P 値、中和抗体価共に体格の大きい産子で高く、接種後の抗体価上昇が緩やか、体格の小さい産子では急激に上昇する傾向。今回の結果は、子豚の接種は 50～60 日齢、接種後 45～65 日の免疫付与状況調査が適期であることを示唆。また、移行抗体消失時期は、母豚により差があること、産子の免疫付与まで一定期間を要することから、適期でのワクチン接種指導と併せて、農場内への豚熱ウイルス侵入防止対策の徹底を図るため、今後これらの情報を活用し、管内飼養者ヘリーフレット等で啓発していく。

豚熱（CSF）対策の現状と課題

茨城県県南家畜保健衛生所

石田祐貴 柏井美穂 都筑智子

豚熱（CSF）対策として、飼養豚への豚熱ワクチン接種、飼養衛生管理基準の徹底、野生イノシシ対策等がある。県内では令和2年2月17日から豚熱ワクチン全頭接種を開始し、5月21日までに計311,498頭を接種し、県内全ての農場で豚熱ワクチン接種を完了。その後、県南家保管内農場のうち、36農場が家保職員による追加ワクチン接種対象農場となる。農場における豚熱ワクチン作業は短時間であるものの、準備から処理まで約6時間要する。そして、ワクチン接種と併せて実施した豚熱免疫付与状況確認検査から、ワクチン接種に係る課題点や追加接種適期が推察された。県南家保管内で理想的なワクチン接種を実施するには、ひと月あたり約延べ80農場のワクチン接種となる。民間獣医師での接種を増やせるか実施した調査結果を基に、新制度や工夫が求められる。飼養衛生管理基準に関しては、農場ごとに構造上等の問題点は異なるため、各農場にあった方法で遵守できるように指導を継続していく。野生イノシシ対策については、県内で豚熱感染イノシシが確認されており、さらなる監視体制を強化するためには猟友会の協力が必要不可欠である。適期のワクチン接種と定期的な抗体検査、各農場での飼養衛生管理の徹底、また野生イノシシ対策を総合的に実施し、関係機関と更なる協力体制を図り、豚熱から飼養豚を守ることを進めていく。

野生イノシシの豚熱感染とリスクアナリシス

茨城県県南家畜保健衛生所

柏井美穂 石田祐貴 都筑智子

平成 30 年度に岐阜県の養豚場で豚熱 (CSF) が発生して以来、野生イノシシでも CSF 感染が確認。本県でも野生イノシシの豚熱感染状況を把握するために、市町村や猟友会等の協力のもと、死亡イノシシと捕獲イノシシで検査を実施。管内では令和 2 年 6 月 25 日に取手市、12 月 10 日に守谷市で発見された死亡イノシシから豚熱遺伝子を検出。市町村・猟友会・農林事務所と豚熱に関する打合せを実施し、特に猟友会の会員に対し、専用の長靴の履き替え、消毒の実施を念入りに説明し豚熱ウイルスの汚染を防ぐよう指導。一方、捕獲イノシシの検査では、感染を疑う抗体陽性事例が 3 検体みられた後、感染イノシシが発見されたケースがあったことから、抗体検査の重要性を示唆。一方、野生イノシシの個体数は年々増加しており、令和元年度は 507 頭の検査を実施するも、その割合は約 4.5%。このことから、実際に検査を実施しているイノシシはごく一部であり、野生イノシシの豚熱感染拡大を監視するためには検査の強化が必須。近隣県でも、豚熱感染イノシシの増加が確認しており、県内の新たな地域で豚熱感染イノシシが侵入リスクも高い。県内で豚熱感染イノシシが確認されているため、豚熱感染イノシシがまん延していることを踏まえ、想定した衛生指導を養豚場を実施していくとともに各関係機関と連携し、野生イノシシの監視体制をさらに強化し、豚熱から養豚場を守る。

管内幼稚園における兔出血病発生事例と感染症に対する実態調査結果

茨城県鹿行家畜保健衛生所

○加藤佳子 渡辺晃行

管内の幼稚園で飼育する兔 18 羽のうち 10 日間で 10 羽が突然死。病性鑑定を実施し、兔出血病ウイルスの PCR 検査で陽性、兔出血病（届出伝染病）と診断。対策として、生存兔の隔離、消毒、空舎期間を設ける、飼育担当者以外の兔との接触禁止等を実施。飼育者の意向で生存兔は淘汰せず、半年間以上経過観察し、続発なく沈静化。侵入経路や地域の兔の感染状況を把握するためアンケート調査を実施。調査対象は、当該施設利用者 180 名、小学校等兔飼育施設 67 施設、兔販売業者（ペットショップ）2 店舗。調査の結果、当該施設での侵入経路の特定に至らず。小学校等施設では兔の突然死があった 2 校で環境検査を実施し陰性を確認。ペットショップにおいても感染拡大は認められず。また、感染症に対する意識調査では、人獣共通感染症に関する知識や対策は実施している一方、兔出血病の認知度はわずか 3%であり、人が動物の病気を運ぶことに対する意識がやや低い。そこで、兔出血病に関するリーフレットを作成し周知。人の出入りが多くウイルスの侵入リスクが高いと考えられる小学校等兔飼育施設やペットショップへ地域の発生状況を情報提供する必要性あり。今後は関係各所と連携し地域の兔飼育者への情報提供を実施する必要性あり。

ウシ主要組織適合性遺伝子をマーカーにした牛伝染性リンパ腫に対する戦略

茨城県県北家畜保健衛生所

○鹿島悠幹 栗田敬介

牛伝染性リンパ腫 (BL) 対策モデル農場は、2年間吸血昆虫対策を積極的に実施したものの、抗体陽性率は低下せず。新たな対策として牛側の遺伝的な部分に着目した BLV 対策を模索。ウシ主要組織適合性遺伝子複合体 (BoLA) -DRB3 遺伝子 (アリル) は免疫応答と疾患感受性に関与。1201と1501が感受性アリル、0902と14011が抵抗性アリルとの報告あり。モデル農場の牛80頭をについてアリルを PCR-sequence-based typing で型別。アリル頻度を2003年に報告された論文と比較し、モデル農場は1501が有意に多く、1201が有意に少なかった。アリルとプロウイルス量の関係は抵抗性アリル保有牛が他のアリル保有牛よりプロウイルス量が少なかった。20copies/10ngDNAを基準に、アリルとの関連性を解析。0902及び14011保有牛は基準未満が有意に多く、1501保有牛は基準以上が多い傾向。160頭の種雄牛のうち、0902保有牛5頭についてアリルを調査し、3頭が感受性アリルを保有、1頭が14011を保有。アリルをマーカーにしたBL対策を実施するには、飼育牛及び交配する種雄牛の遺伝子型を把握し、それに基づいて交配。さらにその産子の遺伝子型を調査するサイクルを反復することで、牛群の抵抗性アリルの保有率が増加し、発症牛や水平感染が減少すると考察。アリルをマーカーにした BLV 対策は吸血昆虫対策に加え BLV 対策の新たな一手。

全ゲノム解析で明らかにした豚主要細菌疾病の再発の歴史と薬剤耐性遺伝子の獲得

茨城県県北家畜保健衛生所

○藤井勇紀 赤上正貴

豚の細菌疾病は経済的損失が大きく、重要課題。次世代シーケンサー MiSeq の全ゲノム解析で、高精度な細菌の SNP(1塩基多型) 系統樹解析・薬剤耐性分析が可能となり、試験を実施。材料は1994～2017年の豚病性鑑定由来の *Actinobacillus pleuropneumoniae* (APP) 93株、*Salmonella Choleraesuis* (SC) 90株、*Haemophilus parasuis* (HP) 58株、*Streptococcus suis* (SS) 105株を供試。培養菌株からMiSeq で全塩基配列を決定。SNP 系統樹を作成し、同一系統株をクラスタリング。併せて薬剤耐性に関わる遺伝子、染色体変異の網羅的検出も実施。SCでは再発35事例のうち、30事例(85.7%)が同一系統株(農場内残存株)による再発。同様にAPP1型は87.5%、APP2型は78.5%、HPは35.7%、SSは36%で、SCとAPPの再発の多くが農場内残存株によるものと判明。また農場残存年数の最大値はSCで12.6年、APP1型で7年、APP2型で13.7年、HPで6.8年、SSで9.1年と、10年以上農場に同一系統株が残るケースも確認。また同一系統株の追跡により、SC、APP1型において、農場内で薬剤耐性遺伝子(floR等)獲得、染色体変異(gyrA、pmrB)をする事例を確認。加えて、floR保有APP1型株が疫学的に関連のある農場間を伝播したと考えられる事例も確認。今後は、SNP 系統樹を用いた農場間伝播の地理学的解析を実施。その他解析中のデータも整理・公開することで農場の衛生対策を推進。

県内で初発生した兎出血病の病理組織学的検索と分子疫学的解析

茨城県県北家畜保健衛生所

○石塚駿 赤上正貴

ウサギ50羽を展示目的で飼養するふれあい公園で、令和元年6月中旬から1日に2～7羽の急死があり、8日間で合計37羽が死亡。死亡個体は、小屋全体にみられ、歩行困難・起立困難となり、急性経過で死亡。初発生から8日目に死亡原因究明のため、斃死例2羽の病性鑑定を実施。剖検所見は、著変なし。組織所見は、肝臓の小葉辺縁に肝細胞壊死を認め、壊死部の肝細胞の核は濃縮・崩壊・融解、また、細胞質は、空胞化あるいは消失、壊死巣内部には偽好酸球浸潤を確認。腎臓は、HE染色で腎皮質の糸球体毛細血管腔内に多数の血栓が認められ、PTAH染色により青色を呈し、線維素血栓であることを確認。また尿管腔内に好酸性漿液の貯留、集合管に尿円柱を確認。肺は、肺胞壁の肥厚、肺胞腔の出血、毛細～小型血管内の血栓を確認。小脳は、血栓が散見され、また、顆粒層細胞がやや粗鬆に変化した小脳梗塞が疑われる部位を確認。病原検索では、肝臓乳剤からウイルスRNAを抽出後、RT-PCRで兎出血病ウイルス（RHDV）の遺伝子を検出。ダイレクトシーケンス法で塩基配列を決定し、分子系統樹を作成。オランダ、ドイツで報告されているRHDV2型と高い相同性（98%）を示し、海外由来株の可能性が示唆。今後は、RNA in situハイブリダイゼーションによる病理組織上の抗原検索と、全ゲノム解析を用いた詳細な分子疫学的解析を実施予定。