

平成30年度
福井県畜産技術業績発表集録
(第1部,第2部)



福井県家畜保健衛生所

目 次

第1部

- 1 一酪農家で実施した定時人工授精を中心とする繁殖管理指導
宮谷正巳・・・1
- 2 牛受精卵移植技術を活用した畜産振興～受胎3000頭達成～
小林崇之・・・3
- 3 高病原性鳥インフルエンザ発生時におけるGPセンターの
早期再開に向けての取組み
朝倉利江・・・7
- 4 26年ぶりに発生した豚コレラを踏まえた初動対応と検査方法の検討
武田佳絵・・・10

第2部

- 5 胚の生存率を下げずに発育鶏卵を自動車で運搬する方法の検討
清水誠也・・・14
- ◎6 浮腫病終息後に発生した豚の脳脊髄血管症の1例
田中知未・・・17
- 7 県内の牛ウイルス性下痢ウイルスの浸潤状況調査と対策
岡田真紀・・・21
- 8 大腸菌性乳房炎由来 *Klebsiella pneumoniae* の早期鑑別法に関する検討
武野侍那子・・・26
- 9 血清蛋白分画測定を活用した牛の疾病診断への検討
山崎昭治・・・30

- ◎ 第60回全国家畜保健衛生業績発表会選出演題
- 第60回東海北陸ブロック家畜保健衛生業績発表会選出演題

1 一酪農家で実施した定時人工授精を中心とする繁殖管理指導

嶺南家畜保健衛生センター 宮谷正巳 生水誠一

はじめに

定時人工授精（定時 AI）とは、各種ホルモン製剤を使用し排卵同期化処置を行うことにより、発情発現の有無に関係なく人工授精（AI）を行う方法である[1]。代表的なものにオブシンク法[2]や腔内留置型黄体ホルモン製剤（CIDR）を利用したショートプログラム法[3]などがある。定時 AI を行う利点として、発情発見の有無に関係なく AI が可能であることによる受胎率の向上[4, 5]に加えて、発情する日が特定されるので牛の外貌所見による発情兆候や腔鏡などを使って外子宮口の状態などを確認できることがあげられる[6]。今回、一酪農家で発情観察技術の向上を目的とした定時 AI を中心とする繁殖管理指導を試みたので、その概要を報告する。

農家の状況

飼養形態は対頭式繋ぎ牛舎（図 1）。搾乳牛 24 頭を飼養し、後継育成子牛は預託農場に預け、肉用子牛は肥育農家に販売している。

平成 29 年度の平均乳量は 1 頭当たり 23kg/日であった。



図 1 飼養形態

実施方法

分娩後 53 日から 430 日の計 14 頭に定時 AI を実施した。実施期間は平成 30 年 10 月 4 日から 11 月 15 日で、1 週間おきに 2 頭ずつ実施した。実施した定時 AI のプログラムは、図 2 に示す。

AI を行う前には、発情観察を必ず実施し、牛の外貌所見の観察や腔鏡を使った外子宮口の観察と発情粘液の確認（図 3）など発情観察技術の向上に努めるよう指導した。また、農家をはじめ当センター所員、開業獣医師や普及指導員などがプログラムの進捗状況を確認できるようにホワイトボードを利用した。定時 AI 処置が終わった牛に対しても周期的な発情発現の有無を確認するように指導した。

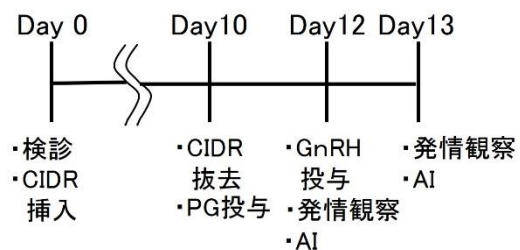


図 2 定時 AI プログラム



図 3 発情観察の様子

結果

受胎率は約 43% (6/14) となった。

これは、平成 30 年 4 月から 9 月までの AI による受胎率約 14% (3/22) を大きく上回り、受胎率が改善した (表 1)。空胎日数で比較すると 180 日未満での受胎率が高く、180 日を超えると受胎しにくい傾向が見られた (図 4)。また、平成 30 年 4 月から 9 月と平成 30 年 10 月以降で定時 AI 不受胎牛の発情観察技術を比較したところ、①本人が見つけた発情による AI が 1 回から 5 回に、②PG を使用、または繁殖検診時の発情による AI が 21 回から 3 回に、③発情を見逃して AI を行わなかったものが 11 回から 1 回になるなど大幅な改善が見られた (図 5)。農家の意見として、発情日が特定されるため、丁寧な観察を心掛けたこと、発情回帰の発情が見つけやすくなったこと、AI に対する自信や意欲が増したこと、定時 AI 不受胎となったうちの長期不受胎牛を減らしたいなど前向きな意見が聞かれた。

まとめ

定時 AI を実施したことで受胎率向上のみならず、農家の発情観察技術が向上し当初の目的を達成することができた。

不受胎牛に対しては、追い移植なども視野に入れて対応したい。今後も定時 AI を利用しながら、さらなる農家の発情観察技術の向上を促し定時 AI によらない繁殖管理ができるよう指導を行いたい。

表 1 定時 AI の結果

	AI頭数	受胎頭数	受胎率(%)
平成30年 4月～9月	22	3	13.6
試験期間	14	6	42.9

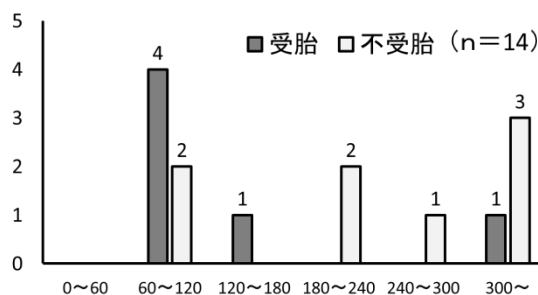


図 4 空胎日数で分けた受胎頭数

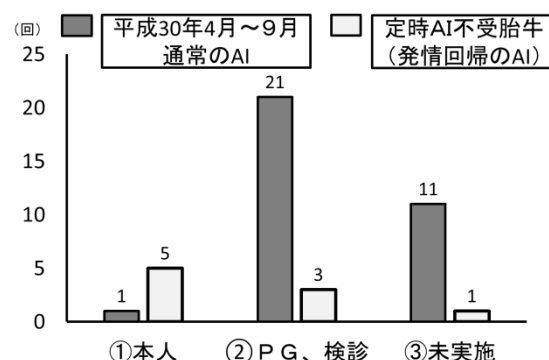


図 5 発情観察技術の比較目

引用文献

- [1] 大澤健司. 2015. LIAJ News No 155.
- [2] Pursle J R., Mee M. O., Wiltbank M. C.: Theriogenology, 44, 915~923 (1995)
- [3] 大澤健司. 2012. 日獣会誌 65 673~681
- [4] 西川晃豊. 2018. 臨床獣医臨時増刊号 1-2.
- [5] 山本広憲. 2018. 臨床獣医臨時増刊号 1-4.
- [6] 井上雅義, 米村匡人, 中津清隆, 岩下政克, 井出良一. 2004. 第 32 回家畜人工授精優良技術発表会全国大会.
- [5] 井川真一. 2015. J. Vet. Epidemiol. 19(2) : 114-118.
- [6] 矢崎竜, 木下正徳, 佐伯美穂. 平成 26 年大分県家畜保健衛生業績発表会. No4.

2 牛受精卵移植技術を活用した畜産振興～受胎 3000 頭達成～

家畜保健衛生所 小林崇之 横田昌己

はじめに

家畜保健衛生所では、昭和 63 年度から「受精卵移植技術向上対策事業」として若狭牛の生産振興を目的に、酪農家の乳用牛を借り腹とした受精卵移植（ET）を実施している。これまで ET の発展と普及にむけ様々な要因を検討してきた。その結果、県内のほとんどの畜産農家で ET を活用している。また子牛市場への県内からの出品頭数の約半数を ET 産子が占めており、畜産振興において必要不可欠な技術となっている。近年では、技術の普及に伴い畜産農家での ET 活用目的は経営形態や飼養規模などにより様々であり多様化している。

今回、畜産農家の様々なニーズに対応するため当所が関係機関と連携して取り組んだ事例について報告する。

【活用目的Ⅰ ET 産子の子牛市場に出荷したい】

事例①

A 酪農家は乳用牛を 15 頭飼養し、平成 19 年より ET を利用している。平成 26 年に、「ET 産子の子牛市場に出荷して収益を上げたい」と相談があった。そこで、診療獣医師、農林総合事務所と連携して、繁殖管理技術指導を介した受卵牛の飼養管理指導および子牛の育成技術指導を実施することとした。その結果、平成 26 年以降の移植成績は 33.3%（13/39 頭）、55.2%（16/29 頭）、42.9%

（15/35 頭）、68.2%（15/22 頭）、50%（7/14 頭）と安定した成績を維持することができた（図 1）。また ET 産子の育成成績も年々向上し、去勢で 1.1 kg/日、雌で 1.0 kg/日以上と良好な成績を得ることができた（図 2）。平成 30 年度は ET 産子の売上合計 1,000 万円を達成し、今では酪農経営における大きな収益の柱となっている。しかし、平成 26 年以降、繁殖についてすべて ET で行っていることから、空胎期間が延長している牛が数頭いることや、乳用後継牛の確

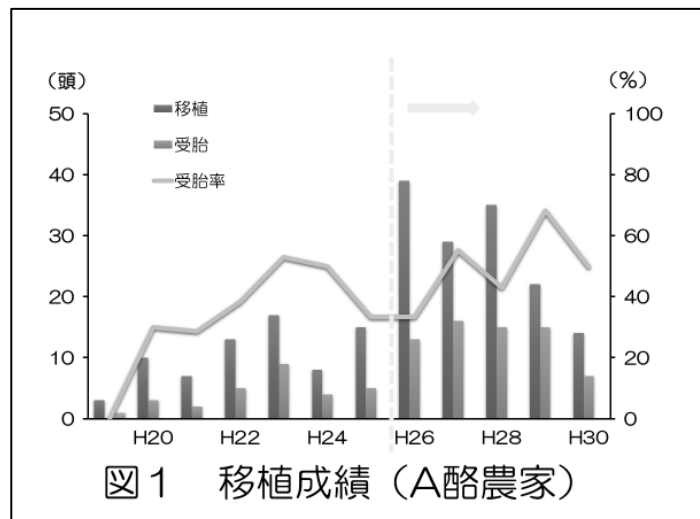


図1 移植成績（A酪農家）

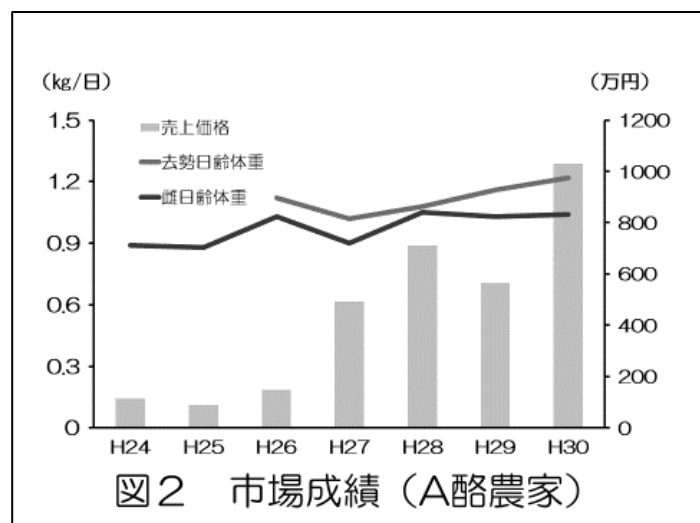


図2 市場成績（A酪農家）

保の課題がある。現在は乳用雌子牛の導入や、乳用受精卵を活用し後継牛確保に取り組んでいる。

事例②

B 酪農家は乳用牛を 40 頭飼養し、平成 17 年より ET を利用している。平成 29 年に「ここ数年受胎率が低下しているのなんとかしたい。」「子牛の販売価格を上げるため付加価値をつけたい。」との相談があった。そこで受胎率の向上および、同じ血統・同じ日齢で出荷して購買者の購買意欲が向上すると考え、診療獣医師、嶺南牧場、農林総合事務所、嶺南家畜保健衛生センターと連携し、同期化新鮮卵移植に取り組むこととした。取

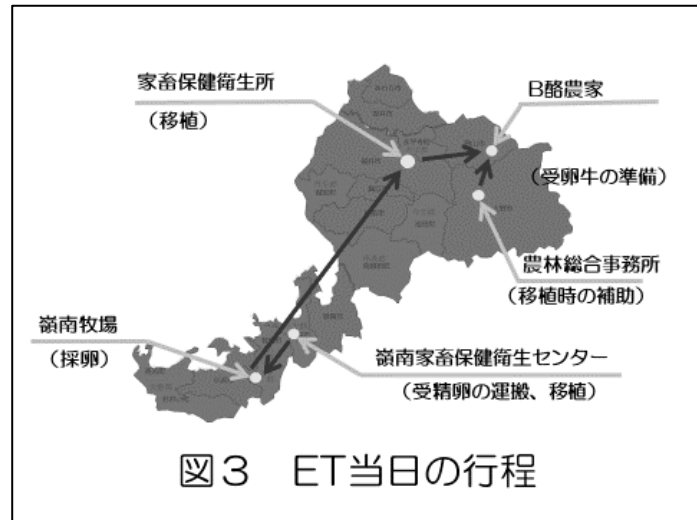


図3 ET当日の行程

組内容は、①複数産子確保にむけて同期化処理を複数頭実施し受卵牛を複数頭準備、②移植予定日の2日前に移植前検査を実施、③採卵が失敗した場合を想定し採卵牛を2頭準備し不測の事態に備えた。ET当日の行程は、図3に示した。その結果、受胎率は40%（2／5頭）と受胎率改善効果が認められた。しかし、同期化処置の方法や受精卵の運搬方法などさらなる検討が必要であると考えられた。また付加価値をつけるには受卵牛を多数確保する必要があるためB酪農家だけで頭数を確保するのは難しいため地域ぐるみでの取り組みが効果的であると考えられた。

【活用目的Ⅱ ET産子を哺乳期に販売し副収入を得たい】

事例③

C酪農家は乳用牛を40頭飼養し、D酪農家は乳用牛を20頭飼養し、ともに平成12年よりETを利用している。平成15年に「ET産子を直接肥育農家に販売し安定した収入を得たい。」と相談があった。そこで診療獣医師、農林総合事務所と連携し、繁殖管理指導を介した受卵牛の飼養管理指導、若狭牛生産衛生指導を介した飼養管理指導を実施した。C・D酪農家で生産したET産子は哺乳期にE肥育農家に販売することとした。その結果、C酪農家では、毎年5～10頭の受胎を確

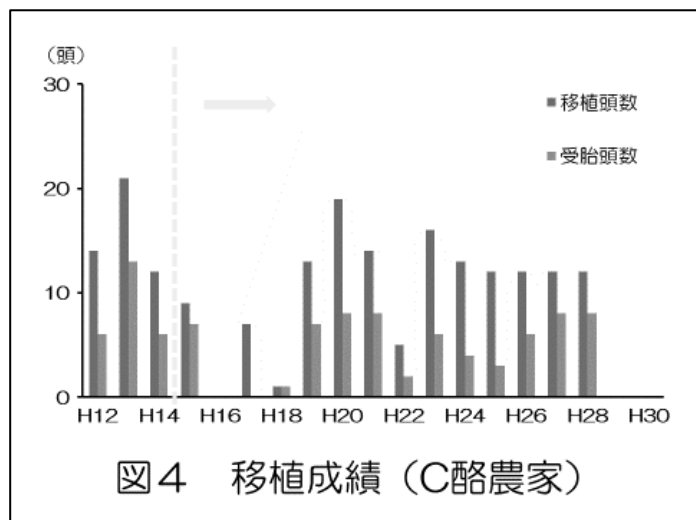
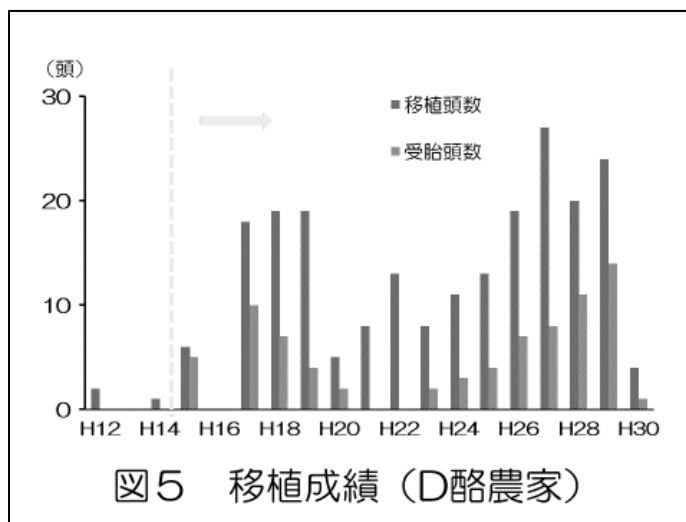


図4 移植成績（C酪農家）

保することができた（図 4）。D 酪農家では、年によるばらつきはあるものの、平成 29 年には 15 頭の受胎確保まで向上した（図 5）。これまで C・D 酪農家併せて 150 頭あまりの ET 産子を生産し E 肥育農家に譲渡しており E 肥育農家も相場に左右されない価格で購入し譲渡後は肥育し、若狭牛として販売している。この事例はお互いの信頼関係で成立している乳肉連携の優良事例であると思われる。しかし C・D 酪農家ともに現在は廃業しており E 肥育農家への ET 産子の導入が減少していることから現在新規取引農家を検討中である。



【活用目的Ⅲ 優良血統 ET 産子の後継牛として確保したい】

事例④

F 和牛繁殖農家は、繁殖和牛を 20 頭飼養し、平成 14 年より ET を利用している。平成 17 年に「成績の悪い牛に ET をして優良後継牛を確保したい。」と相談があった。そこで診療獣医師、嶺南牧場、農林総合事務所と連携し、受精卵の血統を検討し、繁殖素牛用受精卵を作成することとし、肉牛衛生指導を介した受卵牛の飼養管理指導に取り組むこととした。その結果、平成 17 年から 25 年の間、延 33 頭に移植を実施し 16 頭で受胎、雄 8 頭雌 8 頭を生産しうち 4 頭を後継牛として繋養することができた（表 2）。後継牛として選抜された 4 頭は、これまで 20 頭の子牛を生産し、平成 30 年 12 月時点で 3 頭が現役として活躍している。

表 1 移植成績 (F和牛繁殖農家)

	移植頭数	受胎頭数	受胎率 (%)	産子	
H17	1	0	0.0		
H18	4	1	25.0	♀1	
H19	5	2	40.0	♂1 ♀1	1 頭後継牛
H20	3	1	33.3	♂1	
H21	5	4	80.0	♂2 ♀2	1 頭後継牛
H22	6	3	50.0	♂1 ♀2	1 頭後継牛
H23	3	3	100	♂2 ♀1	1 頭後継牛
H24	3	1	33.3	♀1	
H25	3	1	33.3	♂1	
	33	16	48.5	♂8 ♀8	4 頭後継牛

事例⑤

G 酪農家は乳用牛を 45 頭飼育し、これまで ET を利用したことはなかったが、平成 27 年に「ET を活用して後継牛を確保したい」と相談があった。そこで診療獣医師、畜産試験場、奥越高原牧場、農林総合事務所と連携し、農家採卵の実施、優良受精卵の作成および繁殖

管理技術指導を介した受卵牛の飼養管理指導に取り組んだ。その結果、平成 27 年から平成 30 年の間、延 23 頭に移植を実施し 5 頭の受胎確保、雄 2 頭、雌 2 頭を生産し、2 頭の後継牛を確保することができた（表 3）。しかし、乳用牛受精卵の受胎率が低いことや、乳用牛採卵時の回収卵数が少ないことなど課題も多い。今後は、新鮮卵の有効活用や、採卵成績の向上などに取り組んで成績向上を図っていく必要がある。

表 2 移植成績（G酪農家）

	移植頭数	受胎頭数	受胎率 (%)	産子
H27	1	1	100	♂1
H28	9	2	22.2	♂1 ♀1
H29	7	1	14.3	♀1
H30	6	1	16.7	妊娠中
	23	5	21.7	♂2 ♀2

まとめ

ET の発展・普及とともに畜産農家での ET の活用方法は多岐にわたっている。ET 産子の子牛市場に販売して収益を得る取り組みでは、A 酪農家で子牛市場での売上げ年間 1,000 万円を達成することができ、今では収益の大きな柱になっている。他の酪農家でも同様の取り組みを行っており、副収入として経営の一助を担っているところも多い。また B 酪農家に取り組んだ同期化新鮮卵移植を地域一体で活用し、同一血統、同一日齢の ET 産子を複数頭市場に出荷できるようになれば、肥育農家からの引き合いが高くなり新たな付加価値をつけられると思われる。

ET 産子を活用して哺乳期に販売して収益を得る取り組みでは、C 酪農家・D 酪農家合わせて 150 頭以上の ET 産子を E 肥育農家に譲渡してきた。E 肥育農家も相場に左右されない価格で買い取っており、お互いの信頼関係があつての取り組みであつたと考えられる。

ET を活用した後継牛確保の取り組みでは、当初は和牛繁殖農家での後継牛取り組みの要望が多かった。しかし、近年の乳用初妊牛の価格高騰などの理由から、酪農家での乳用牛受精卵利用依頼が増加している。これからも、優良後継牛の安定確保に ET を活用していくため、乳用牛受精卵の受胎率や採卵成績の向上を図る必要があると思われる。

県内の畜産農家の ET 活用目的は、ET 産子を販売しての収益向上や牛群の改良を図るなど様々である。今回、畜産農家からの様々な要望に応えるべく関係者が一丸となって取り組んできた結果、受精卵移植事業向上対策の累計受胎頭数は、平成 12 年に 1,000 頭、平成 22 年に 2,000 頭、平成 30 年に 3,000 頭を達成することができた。ET 技術は、畜産農家の経営の安定・向上を図るうえで非常に重要な技術と考えられることから、今後もこの技術を使って畜産農家の経営安定の一助となるよう努めていきたい。

3 高病原性鳥インフルエンザ発生時における GP センターの早期再開に向けての取り組み

家畜保健衛生所 朝倉利江 武田佳絵

高病原性鳥インフルエンザ（HPAI）が発生した場合、制限区域が設定される。移動制限区域内に GP センターが立地している場合 GP センターの事業が停止となり、具体的には新たな家きん卵の受け入れができなくなる。GP センターの事業再開には、当該 GP センターが特定家畜防疫指針に定められた GP センターの再開要件および再開後の遵守事項を満たしていることが必要となる [1]。

今回、県内最大規模養鶏場の鶏卵を受け入れている A 社から HPAI 発生時に受ける影響について相談があった。そこで、GP センターおよび A 社に家きん卵を納品している農場の立地から HPAI 発生時に受ける影響を確認した。そのうえで、A 社が所有する GP センターに立入り、レイアウトおよび運営状況を確認し、指導を実施した。

(1) A 社概要

F 市内に GP センター（イ）、（ロ）二ヶ所を所有し、関連企業 B 社が所有する養鶏場 3 か所からの家きん卵をすべて受け入れている。また、食用卵不足時には他県の養鶏場から臨時に受け入れる場合もある（図 1）。鶏卵生産量は福井県全体生産量の 75%を占め、主に県内小売に卸している。従業員は各々の GP センターに専属で勤務しているが、緊急時には手伝いに入ることがある。

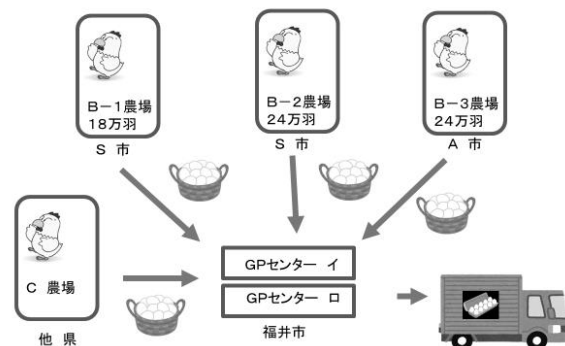


図 1 A 社の家きん卵受け入れ状況

(2) 関連会社農場および GP センター付近の養鶏場で HPAI が発生した場合に GP センター（イ）、（ロ）が受ける影響

A 社所有の GP センターと B 社農場との距離から、HPAI 発生時における GP センターが受ける影響について確認した。B 社は県内 A 市、S 市に 3 か所の養鶏場を所有している。図 2 は B-1 農場で発生した場合を想定したものであるが、いずれの農場で発生した場合においても、A 社所有の GP センターは移動制限区域内に入らない。このため、発生農場以外の養鶏場からの家きん卵受け入れは継続され、GP センターの事業運営に制限は受けないことを確認した。一方、GP センターの近隣にある農場で HPAI が発生した場合においては、GP センター（イ）、（ロ）共に移動制限区域内に入ることから、新たな家きん卵受け入れは停止となることを確認した。そこで、GP センターを速やかに再開させるためには、GP センター再開要件および再開後の遵守事項について条件を満たす準備が必要であることを経営者に説明し、現地調査を行うこととした（図 3）。

(3) GP センター再開要件および再開後の遵守事項についての現地調査

GP センターレイアウトおよび運営状況について立入りおよび調査を実施した（図 4、図 5）。

「車両消毒設備」については GP センター（イ）、（ロ）共に整備されていた。

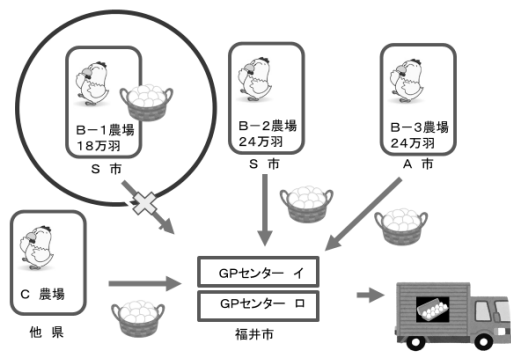


図2 関連会社農場で発生した場合

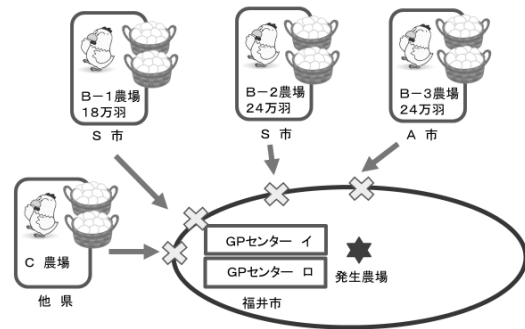


図3 GPセンター近隣農場でHPAIが発生した場合

（イ）では整備されている動力噴霧器で、運転手が自ら消毒を実施する方法で、（ロ）では自動消毒装置が設置されており、トラックはすべて消毒してから敷地内へ侵入する構造となっていた。しかし、両GPセンター共に消毒記録がつけられていなかった。

「原卵と製品が接触しない構造」については、両GPセンター共、家きん卵の動線は一方通行であり、直接の接触はない構造であった。しかし、GPセンター（イ）では製品保管場所はビニールカーテンで仕切られているが、立入り時にはビニールカーテンが開放されていた。また、原卵と製品が直接接触することはないものの、製品保管室と原卵取り扱い場所における従業員の往来が確認された。

「トレー等の扱い」については、両GPセンター共、原卵用トレーは農場ごとに分けられておらず、トレーは使用後の水洗のみで、消毒は実施していなかった。また、GPセンター（イ）では、原卵用トレーの保管場所が建屋の外であり防鳥ネットが張られていたが、野鳥等と接触する恐れがない場所とは判定できなかった。原卵保管場所では農場ごとの目印は台車ごとに置いてあったが、区分管理はされていない。

「定期的な清掃及び消毒」については、両GPセンター共、施設の清掃消毒は毎日実施しているとの聴取であったが、記録は清掃のみで、消毒についての記録がなかった。

「衛生管理マニュアルの制定と実施」については、両GPセンター共、マニュアルは作成されていたが、GPセンター再開要件および再開後の遵守事項に関する事項が反映されてお

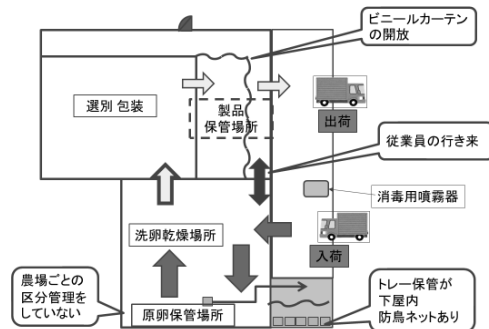


図4 GPセンター（イ）のレイアウト

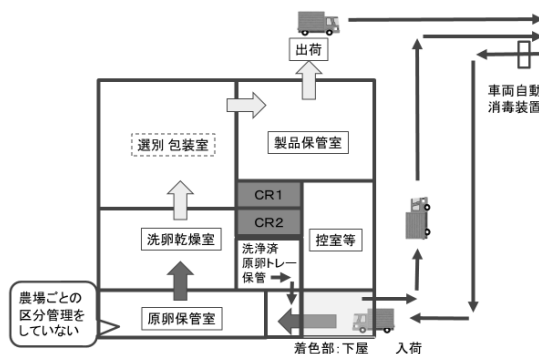


図5 GPセンター（ロ）のレイアウト

らず、不十分であった。

「家きん卵の収集状況」については両 GP センター共、農場ごとに行い、運搬車両は複数の農場には立ち寄っていないことを確認した。

「GP センター関係者の服装等」については、両 GP センター共、専用の作業服、靴、帽子、手袋を着用していることを確認した。

「家きん卵の搬出入記録」については、両 GP センター共、搬入記録はあるものの、搬出記録がなかった。

(4) 再開要件および再開後の順守事項に対する指導および今後の予定

立入り結果をもとに、再開要件については、両 GP センターに対し、定期的な清掃消毒の点について、消毒記録の実施およびマニュアルについては修正を指導した。また、GP センター（イ）については、従業員の動線の見直しを推奨した。再開後の遵守事項については、両 GP センターに対し、車両消毒の徹底を客観的に評価できるよう、車両消毒記録、トレーの消毒、家きん卵の農場ごとの区分管理、家きん卵の搬出記録を行うよう指導した。また、GP センター（イ）についてはトレーの保管場所が屋外であったことから、保管場所の見直しについても指導した。改善状況の確認は後日実施予定である。

当所では 100 羽以上の家きん飼養農家に対し年 2 回以上の立入りを実施しているが、GP センター運用状況の確認は実施していなかったことから、今後は対象となる GP センターに対し精力的に確認及び指導を実施し、HPAI 発生時に速やかに GP センター再開が行えるよう取組みを行うこととしたい。

引用文献

- [1] 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

4 26年ぶりに発生した豚コレラを踏まえた初動対応と検査方法の検討

家畜保健衛生所 武田佳絵

はじめに

豚コレラは豚コレラウイルスが原因の豚およびいのししの家畜伝染病で、伝播力が強く、急性から慢性など様々な経過で高い確率で死に至ることから恐れられている。平成4年熊本県での発生以降の国内発生事例はなく、平成12年度から豚へのワクチン接種原則中止を経て、平成19年4月1日OIEの豚コレラ清浄国となった。しかし、平成30年9月9日に国内で26年ぶりとなる養豚場での発生があり、また、発生農場周辺に生息する野生いのししが豚コレラウイルスに感染していることが確認された。昨今の情勢をふまえ当家畜保健衛生所(以下家保)における対応および検査方法について検討したので概要を報告する。

検討事項

(1) 異常畜通報後の家保の初動対応の検討

平成29年度に家保所員の誰でもが、いつでも異常家畜・家さんの農場検査に出動できる体制について検討し、鳥インフルエンザおよび口蹄疫の検査に必要な携帯品の一覧を作成した。携帯品は用途ごとに分類後、専用のボックスに収容し、指定した場所に保管した。ボックスに入れることができない大型の携帯品は一覧表に保管場所を併記し、ボックスの保管場所に掲示した。毎年9月10日を点検日【緊急(9)点(10)検の日】とし、携帯品の点検を実施することとした[1]。平成30年の点検日には、前述の点検と併せて、前日に発生した豚コレラの農場検査用携帯品も検討し、豚コレラの携帯品一覧表を追加で作成した。一覧表は他疾病と併せて掲示した。携帯品ボックスは口蹄疫と共通としてシールで明示した(図1)。



図1 携帯品一覧表掲示とボックス整理

(2) 死亡野生いのししの感染確認調査の検討

豚コレラ発生農場周辺の死亡野生いのししに感染が確認されたことを受け、農林水産省消費・安全局動物衛生課長通知に基づき、全国で感染確認調査を実施することとなった。本県では、平常時の死亡いのしし処理について所管する市町農林業所管課、県自然環境課および生産振興課の協力の元、養豚農場への交差汚染のリスク避けるため、検査用の採材はいのししを発見した場所周辺や焼却施設等で行い、家保への搬入は行わないこととした(図2)。材料は密閉容器に収容の上、使用した器具等と併せて消毒後に家保へ搬入し、室内検査に用いた。一方、いのししが豚コレラウイルスに感染していた場合、採材場所への病原体汚染が懸念される。そこで、必要な肉眼検査および採材を最小限の解剖で行う方法を試行し、動画資料を作成した。動画の構成は、口蓋扁桃の肉眼検査と採材(図3)、腎臓の肉眼検査と採材(図4)、脾臓の肉眼検査と採材(図5)とした。家保に搬入された死亡

育成豚1頭を用い、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「アフリカ豚コレラ採材部位」[2]を参考に解剖を行った。口蓋扁桃は下顎骨の下から舌を反転させることで容易に確認でき、採材も可能だった。腎臓と脾臓を採材するために、豚は左側を上にして横臥させ、最後肋骨に沿って背中から腹側に向かって3分の1ほどの長さで切開、また、最後肋骨から後ろ足に向かって切開し、窓を作る(図6)。左の腎臓は窓の直下に確認でき、肉眼検査・採材が可能だった。脾臓は最後肋骨を持ち上げることで容易に確認でき、内臓や腹水が体外に出ない窓の大きさと肉眼検査・採材が可能だった。今回作成した動画は採材マニュアルに追加した。

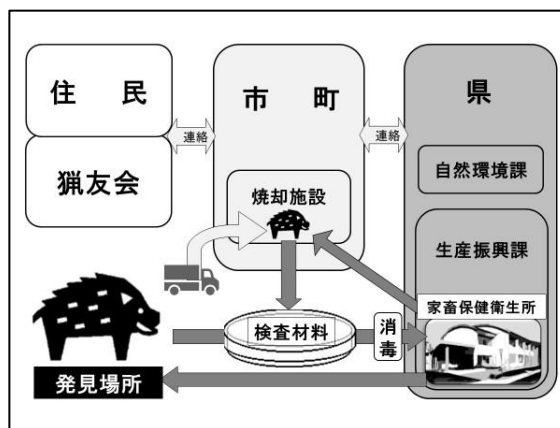


図2 県内の死亡いのしし採材体制



図3 口蓋扁桃の肉眼検査と採材



図4 腎臓の肉眼検査と採材



図5 脾臓の肉眼検査と採材

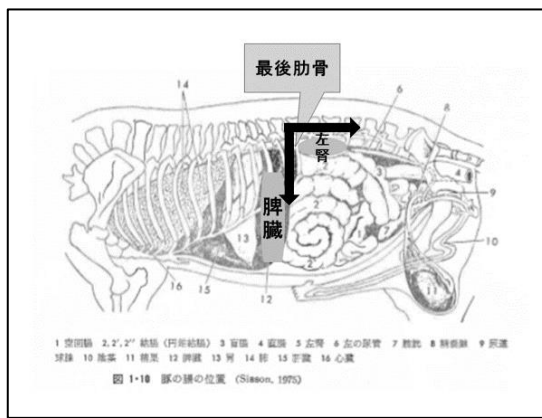


図6 左側の腹腔へのアプローチ

(3) エライザ法による血清抗体検査方法の精度管理の検討

平成 30 年 8 月 1 日に家畜保健衛生所衛生所法施行令の一部が改正され、家保は「家畜の保健衛生上必要な試験及び検査の信頼性を確保するために必要な措置がとられるものであること」となった。その必要な措置として、安定して正確な測定結果を得るための取り組みである内部精度管理を実施することになる。豚コレラが発生するまでは、牛のヨーネ病や鳥インフルエンザの検査が対象とされていたが、豚コレラについてもエライザ法による血清抗体検査（以下抗体検査）の精度管理が実施されることになった。検査試薬豚コレラエライザキットⅡ（JNC 株式会社）の使用説明書に基づき、検査実施標準作業書を作成し、これに忠実に検査を行うことが必要である。エライザ法では試薬温度が低いと陽性反応が弱くなる可能性があり [3]、使用前に室温（15～25℃）に戻す必要がある。当家保では一般的に必要とされる 1～2 時間を超えて室温で静置しているが、実際に液温が室温に戻っているか確認する方法がなかった。今回、皮膚赤外線体温計（サーモフォーカス®プロ、株式会社日本テクニメッド、以下体温計）を用いて、試薬に触れることなく簡便な方法で液温を推測可能か検討した（図 7）。

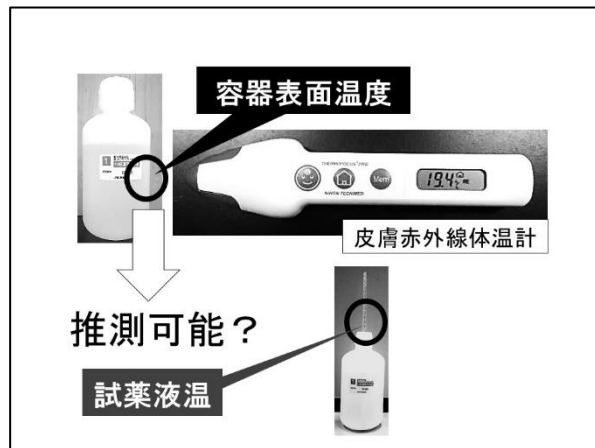


図 7 表面温度法

1) 体温計で測定した容器表面温度からの液温推測方法の検討

① 方法

キット内で一番容量の多い 10 倍濃度洗浄液（500mL）を冷蔵室（5℃）から検査室に出し、室温（18℃、20℃）で 2 時間静置した。その間 30 分毎に試薬を混和し、体温計の表面温度測定モードで容器表面温度（A）を測定し、また、試薬に浸しておいた棒温度計で液温（B）を確認し（図 7）、両者の差（A-B）の傾向を見た。

② 結果

15 回測定した結果、容器表面温度はすべて液温より高く、A-B は平均 0.47℃（標準偏差 0.29）だった（図 8）。室温の下限値である 15℃に、A-B の最大値 1.0℃加えた 16℃を容器表面温度が超えた時点で、液温が室温に達していると推測可能と考えた。この方法を「表面温度法」とした。

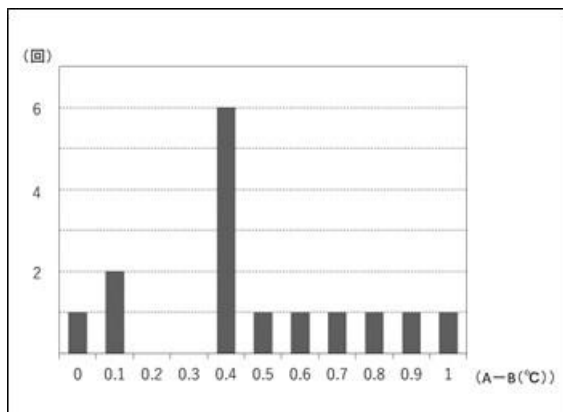


図 8 容器表面温度と液温の差

2) 表面温度法を用いた試薬が室温に戻るのに必要な静置時間の計測

① 方法

検査手順で最初に使用する試薬①抗原固相化マイクロストリップおよび試薬②血液希釈用液と、その約1時間半後に使用する試薬③10倍濃度洗浄液の3つの試薬を冷蔵庫(5℃)から検査室に出し、室温(18.5℃、20℃、21℃)で2時間静置した。その間30分毎に試薬①②③を混和し、容器表面温度を測定した。容器表面温度が16℃になった時間を計測し、2時間経過時に16℃に満たない場合は、30分毎の計測を16℃に達するまで継続した。豚コレラエライザキットⅡには試薬①②③以外に6種類の試薬があるが、最大容量の試薬③が16℃に達した時点で全て室温に戻ったとみなした。

② 結果

室温18.5℃では、試薬①②が両方16℃以上になったのは150分後で静置が2時間以上必要だった。室温20℃および21℃では、試薬①②は90分後に16℃に達し、一般的な静置時間以内となった。全ての室温で試薬③は試薬①②が16℃に達した時間の60分後には16℃に達しており、検査時間が経過する間に試薬③を含むすべての試薬が室温に戻ると考えられた(図9)。

室温18.5℃							
	0分	30分	60分	90分	120分	150分	210分
試薬①	8.6	14.7	16.9	17.9	18.3	18.8	18.6
試薬②	7.5	12.3	13.2	14.6	15.3	16.1	18.5
試薬③	7.6	11.5	12.1	13.3	14.9	15.1	16.4

室温20℃							
	0分	30分	60分	90分	120分	150分	210分
試薬①	9.6	17.6	19.4	20.0	20.0	—	—
試薬②	7.5	12.5	15.0	16.8	18.1	—	—
試薬③	7.4	11.0	13.2	14.9	16.9	—	—

室温21℃							
	0分	30分	60分	90分	120分	150分	210分
試薬①	9.5	17.1	19.8	20.7	20.9	—	—
試薬②	8.2	12.1	15.1	16.7	18.0	—	—
試薬③	8.2	11.7	14.0	15.5	16.8	—	—

図9 室温静置時間計測の結果

まとめ

異常畜通報後の家保の初動対応を検討し、異常畜の通報があった場合、家保による農場検査に速やかに向かえるように携帯品を整理し、一覧表を掲示した。

死亡野生いのししの感染確認調査の採材方法を検討し、発見現場等において採材を行うための解剖方法の動画資料を作成しマニュアルに追加した。

豚コレラの抗体検査の精度管理方法を検討し、表面温度法を用いることで簡便に試薬温度を確認することが可能となった。20℃以上の室温で2時間静置することで、試薬が室温に戻り、また、試薬②の容器表面温度が16℃を超えた時点から検査を開始することが可能と考えられた。

これらのことを踏まえ作成したマニュアル等を用い、安全で正確な検査に努め、今後も改善していきたい。

引用文献

- [1] 平成29年度福井県家畜保健衛生業績発表会集録
- [2] 平成30年度家畜衛生研修会(ウイルス部門)農研機構動物衛生研究部門「アフリカ豚コレラ採材部位」
- [3] 和光純薬時報 Vol. 85, No. 4(2017)

5 胚の生存率を下げずに発育鶏卵を自動車で運搬する方法の検討

嶺南家畜保健衛生センター 清水誠也 葛城肅仁

はじめに

農場から家畜保健衛生所（家保）に死亡羽数増加の連絡が入ると、国の指針 [1] に従い、直ちに鳥インフルエンザについての立入検査と簡易検査を実施する。簡易検査で陽性となると疑い事例発生となり、県対策本部が設置される。そして、遺伝子検査が陽性となると、疑似患者確定となり、県対策本部で疑似患者確定プレスリリースがなされ制限区域が設置される。それと同時に農場では防疫措置が開始される。

高病原性鳥インフルエンザ（HPAI）発生時には、発生農場から半径 3km 圏内の移動制限区域内の農場に対し、発生状況確認検査を 24 時間以内に開始する。その検査項目の 1 つには、発育鶏卵を用いたウイルス分離検査が義務付けられている [1]。

背景および目的

福井県内の飼養羽数 100 羽以上の農場で HPAI が発生したことを想定した結果、坂井市の A 農場で HPAI が発生した場合、移動制限区域内に 5 農場存在し、各農場の鶏舎数をもとに必要な発育鶏卵数を積算すると、予備も含めて最大 216 個の発育鶏卵が必要であることが判明した（表 1）。当家畜保健衛生所（当所）では毎週月曜日と金曜日に 50 個ずつ発育鶏卵を購入しているが、HPAI 発生農場でのウイルス分離検査にも使用するため必要最大数の卵は常備されていない。

また、福井県内には大規模なふ卵場がないため、HPAI 発生後に必要な卵を準備するには、当所から片道 2 時間 20 分を要する、155km 離れた岐阜県のみ卵場まで発育鶏卵を自動車で取に行く必要がある（図 1）。

発育鶏卵を運搬する際に胚の生存率を下げないためには、発育鶏卵周囲の温度を極力下げない必要があると考えられた。そこで、既存の発泡スチロール容器を用いて発育鶏卵を運搬する方法を「発泡スチロール法」と命名し、検討した。

表 1 HPAI 発生時に必要な発育鶏卵数

発生 農場	周辺 農場	鶏舎数	必要 卵数	総計
坂井市 A	B	2	16	216
	C	5	40	
	D	1	8	
	E	2	16	
	F	12	96	



図 1 当所とふ卵場の位置関係

材料および方法

5 個×5 個×3 段、計 75 個の発育鶏卵を 26℃の室温下で、既存の発泡スチロール容器 (325mm×400mm×265mm) に入れ (図 2)、密閉群、密閉+保温群、非密閉群、非密閉+保温群の 4 群で 6 時間の容器内の温度変化を経時的に測定した。卵は本来廃棄する 12 日齢のものを試験に供し、測定時間は HPAI が発生しやすい冬の道路事情を考慮し 6 時間に設定した。その後、図 2 において暗色で示した発育鶏卵 9 個×3 段分、計 27 個の尿膜腔内に PBS 0.2mL を接種し、37℃で 48 時間経過観察した。

温度計は隔測温度計を使用し、センサーは発泡スチロールの内壁や発育鶏卵に接触しないようにし、保温群では保温材と反対側に設置した。保温材は 56℃のお湯を入れたペットボトルにペーパータオルを二重に巻いたものを 2 本利用した (図 3)。

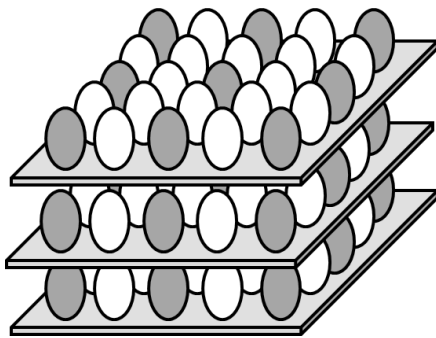


図 2 模式図



図 3 保温材を入れた状態

結果

各群の温度変化および 48 時間後の胚生存数 (率) を図 4 および表 2 にそれぞれ示した。密閉群の温度変化は開始時が 33.4℃、6 時間後が 32.4℃であった。また 48 時間後の胚生存数は 0/27 で生存率は 0%だった。密閉+保温群の温度変化は開始時が 34.1℃、6 時間後が 32.7℃であった。また 48 時間後の胚生存数は 0/27 で生存率は 0%だった。非密閉群の温度変化は開始時が 33.3℃、6 時間後が 32.1℃であった。また 48 時間後の胚生存数は 26/27 で生存率は 96%だった。非密閉+保温群の温度変化は開始時が 33.6℃、6 時間後が 32.6℃であった。また 48 時間後の胚生存数は 27/27 で生存率は 100%だった。

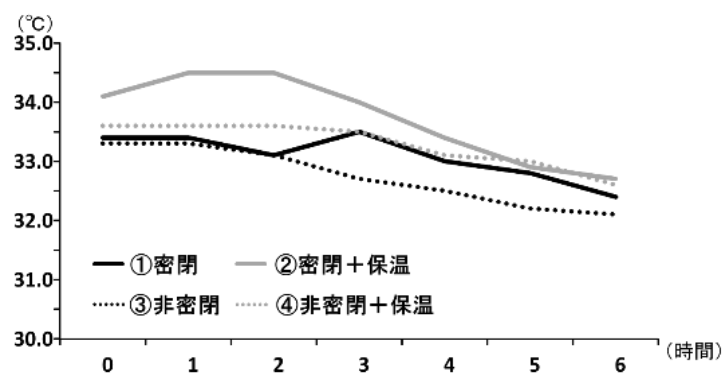


図 4 発泡スチロール内における各群の 6 時間の温度変化

表2 各群の胚生存数（生存率）

	胚生存数(生存率)
①密閉群	0 / 27 (0%)
②密閉+保温群	0 / 27 (0%)
③非密閉群	26 / 27 (96%)
④非密閉+保温群	27 / 27 (100%)

考察

発育鶏卵を運搬する際に胚の生存率を下げないためには、発育鶏卵周囲の温度を極力下げない必要があると考え、発泡スチロール法を考案し、最適な条件を検討した。その結果、温度変化に関して、開始数時間は、保温群と保温しなかった群である程度差がみられたが、6時間後の容器内温度は同等であった。密閉条件に関して、密閉群の生存率は0%で非密閉群の生存率はほぼ100%であった。このことから、容器を密閉したことにより、容器内が酸素欠乏状態となり、胚が呼吸困難に陥り死亡したと推察した。

今回の検討の結果、発泡スチロール法は保温材の有無に関わらず、6時間程度なら極端な容器内の温度低下は防ぐことが可能であることが分かった。しかし、保温材を使用することでより胚の状態を良好に保ちながら運搬できると考えられる。また、発泡スチロール法の注意点として、容器を密閉すると胚が呼吸困難になり、死滅することが推察された。

以上のことから、発泡スチロール法は、密閉しない限り胚の生存率を下げない安価で簡便な方法で、24時間否以内の発生状況確認検査に発育鶏卵を供することが可能であると推察された。

参考文献

〔1〕 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（平成27年9月9日公表）

6 浮腫病終息後に発生した豚の脳脊髄血管症の1例

家畜保健衛生所 田中知未 武野侍那子

はじめに

脳脊髄血管症は志賀毒素産生性大腸菌を原因とする大腸菌性腸管毒血症で、浮腫病の慢性例でみられる。肉眼病変は乏しく、病理組織検査における大脳および脳幹部の特徴的な血管病変が診断の主体となる。近年、病理学的診断基準の確立と診断技術の向上に伴い本症の症例報告は増加傾向にある [1]。今回、県内の養豚農家で神経症状を呈した豚1頭について病性鑑定を実施し、脳脊髄血管症と診断したので、その概要を報告する。

発生概要

繁殖母豚95頭規模の一貫経営農場にて平成30年3月14日、75日齢の子豚1頭に、沈鬱および歩様蹣跚等の神経症状がみられた。抗生剤投与による治療を施したが改善がみられず、予後不良と診断し鑑定殺を実施した。

なお、同豚群では約1ヵ月前に浮腫病が発生し、当時45日齢の子豚3頭が急死した。死亡豚の病性鑑定で3頭中2頭に眼瞼浮腫と腸間膜の水腫がみられた。そのうち1頭で十二指腸内容と腸間膜リンパ節から溶血性大腸菌が分離され、遺伝子検査にて志賀毒素2e型 (Stx2e) および定着因子F18の保有が確認された。

材料・方法

病理解剖

鑑定殺した豚（交雑種、75日齢、雄）を常法により解剖した。

ウイルス検査

病理解剖時に採材した脳および主要臓器を用い、豚テシオウイルス (PTV)、豚サペロウイルス (PSV)、豚エンテロウイルス B (PEVB)、豚サイトメガロウイルス (PCMV)、PRRS ウイルス (PRRSV)、豚サーコウイルス 2 型 (PCV2) について遺伝子検査を実施した。また、オーエスキー病ウイルス (ADV) についてウイルス培養試験を実施した。豚コレラウイルスの抗原検査として、扁桃および腎臓を用いた遺伝子検査および蛍光抗体法を実施した。

細菌検査

病理解剖時に採材した脳、主要臓器、腸間膜リンパ節および十二指腸内容を5%羊血液寒培地およびDHL寒天培地を用い、常法により培養した。

病理組織検査

病理解剖時に採材した脳、主要臓器および腸間膜リンパ節を10%中性緩衝ホルマリン液で固定後、常法により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、過ヨウ素酸シッフ (PAS) 染色、クリューバ・バレラ (KB) 染色を実施した。また、抗ビオチン化PCV2豚血清（動物衛生研究部門より分与）を用いた免疫組織化学的染色を実施した。

結果

剖検所見

外貌に著変はみられなかった。腸間膜に軽度の肥厚がみられたが、他の臓器に著変はみられなかった（図 1, 2）。



図 1 鑑定殺した豚の外貌



図 2 腸間膜の軽度肥厚

ウイルス検査

遺伝子検査の結果、脳および主要臓器から PCV2 の特異的遺伝子が検出された。PTV、PSV、PEVB、PCMV、PRRSV についてはいずれも検出されなかった。また、ADV は分離されず、豚コレラウイルスの遺伝子検査および蛍光抗体法は陰性であった。

細菌検査

脳、主要臓器および腸間膜リンパ節で有意な菌は分離されなかった。また十二指腸内容から大腸菌は分離されなかった。

病理組織検査

大脳および脳幹部に局限し血管病変がみられた（図 3, 4）。主な病変として、細動脈に血管内皮細胞の腫大と増数、中膜の硝子様変性と平滑筋細胞の壊死、中膜および外膜への炎症細胞の浸潤が認められた（図 5）。また、血管周囲に PAS 反応陽性の好酸性滴状物が多数観察され、実質の疎性化がみられた（図 6, 7）。このような血管病変は他の臓器ではみられなかった。KB 染色で広範囲な脱髄巣は確認されなかった。

肺では、気管支および血管周囲、肺胞壁にリンパ球、形質細胞およびマクロファージの浸潤がみられ、肺胞壁は軽度に肥厚していた（図 8）。

大脳および腸間膜リンパ節における PCV2 の免疫組織化学的染色で、PCV2 抗原は検出されなかった。

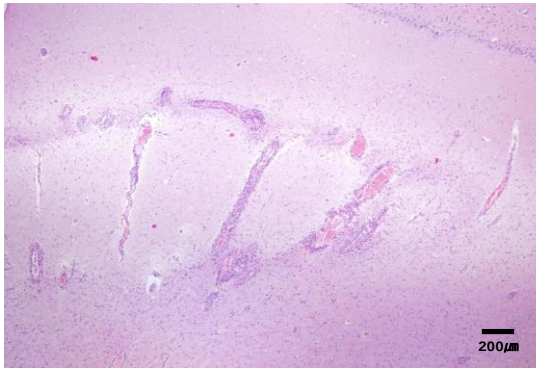


図3 大脳 (HE 染色) 皮質および髄質の血管病変

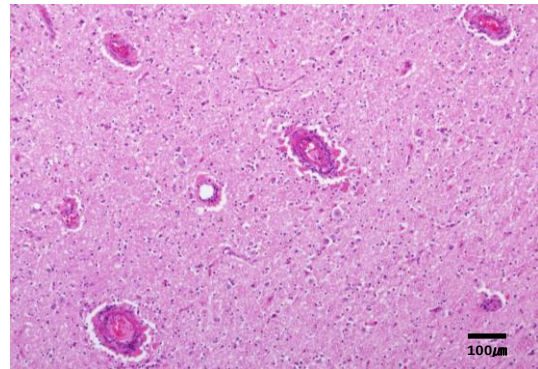


図4 中脳 (HE 染色) 細動脈の血管病変

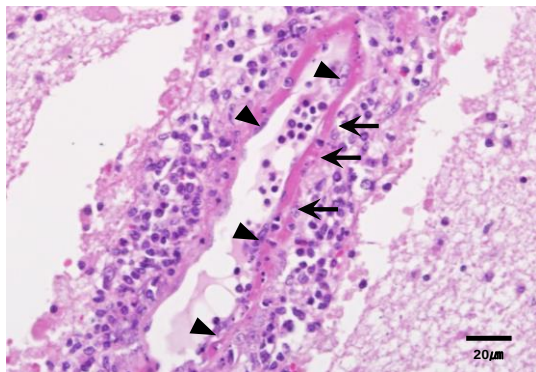


図5 中脳 (HE 染色) 血管内皮細胞の腫大 (矢頭) と中膜の硝子様変性および平滑筋細胞の壊死 (矢印)。

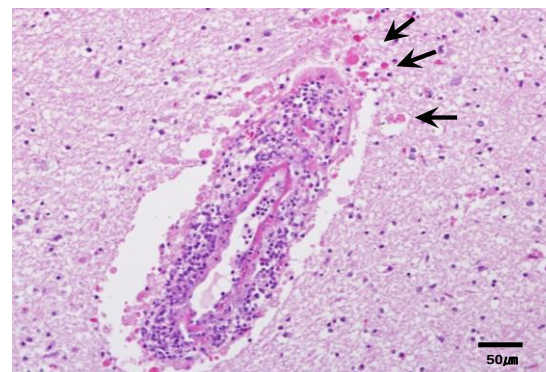


図6 中脳 (HE 染色) 血管周囲にみられる PAS 反応陽性の好酸性滴状物 (矢印)

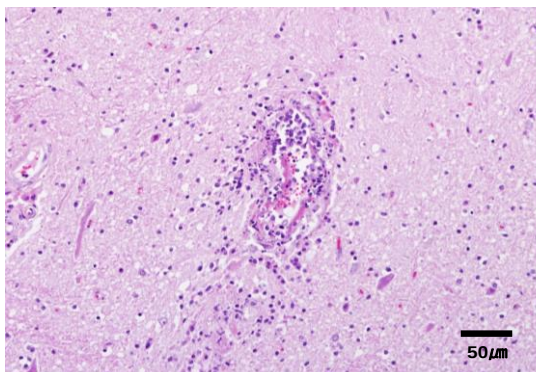


図7 中脳 (HE 染色) 血管周囲における実質の疎性化

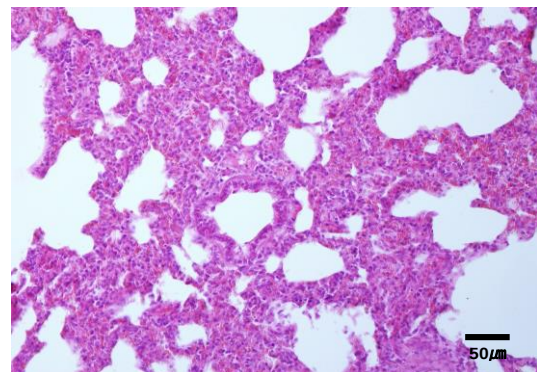


図8 肺 (HE 染色) 炎症性細胞の浸潤により肥厚した肺胞壁

考察

病原大腸菌で産生された Stx2e は、腸管から吸収されたのち、血管内皮細胞表面の糖脂質レセプターと結合し、細胞死を引き起こすことが知られている [2]。その結果、小血管の血管壁に透過性障害が生じ、全身性に水腫病変がみられるようになる [3]。脳脊髄血管症は浮腫病の慢性型であるが、浮腫病に特徴的な眼瞼浮腫等の皮下水腫や肺、腸間膜等の水腫性変化はあまりみられない [2]。また、浮腫病の症例からは病原大腸菌が分離されることが多いが、脳脊髄血管症では病原大腸菌は分離されないことが多い。その理由は、小腸粘膜に付着した病原大腸菌が粘膜とともに脱落し、能動免疫によって排除されるためだと考えられている [4]。このようなことから、脳脊髄血管症の診断では病原検索が困難となり、病理組織検査が主体となる [1]。

脳脊髄血管症では、大腦および脳幹部に、血管壁の硝子様変性および血管周囲の好酸性滴状物 (PAS 反応陽性) の出現等の特徴的な血管病変がみられる [5]。また、脱髄巣や軟化巣がみられることがある [2]。

本症例では、病原大腸菌は分離されず、病理組織検査において大腦および脳幹部に局限して、脳脊髄血管症に特徴的な血管病変が認められた。また、遺伝子検査において脳および主要臓器から PCV2 の特異遺伝子が検出された。大腦および腸間膜リンパ節の免疫組織化学的染色を実施したところ、PCV2 抗原は検出されなかった。また、リンパ節における退行性変化等もみられなかったことから、病変への PCV2 の関与はないと判断した。

脳脊髄血管症は特徴的な症状や肉眼病変がなく、病性鑑定においても病理組織検査が主体となるため、比較的診断が困難な疾病であると思われる。本症は浮腫病の慢性型であるため、病性鑑定の際には、農場における浮腫病の発生歴を確認する必要がある。また、農場に浮腫病の発生歴がある場合、神経症状を示す豚については脳脊髄血管症を疑い病性鑑定をすすめる必要があると考えられる。

参考文献

- [1] 渡辺一夫ら：養豚場における浮腫病の集団発生例－経済損失と対策効果－. 獣医疫学雑誌, 1, 25 - 29 (2001)
- [2] 文永堂出版 日本獣医病理学会編：動物病理学各論第 2 版, 176－194
- [3] 末吉益雄：子豚の下痢を伴う浮腫病 (大腸菌性腸管毒血症). 豚病会報, 48, 7 - 13 (2006)
- [4] 小林秀樹：豚の浮腫病－古くて新しい病気－, All About Swine, 28 (2006)
- [5] 吉崎剛ら：臨床的に浮腫病が疑われた豚の病理学的検索, 平成 14 年度日本産業動物獣医学会 (九州) 講演要旨集, 73 (2002)

7 県内の牛ウイルス性下痢ウイルスの浸潤状況調査と対策

家畜保健衛生所 岡田真紀 葛城肅仁

はじめに

牛ウイルス性下痢・粘膜病（BVD-MD）はフラビウイルス科ペスチウイルス属の牛ウイルス性下痢ウイルス（BVDV）が感染することによっておこる伝染性疾患である [1]。BVDV の遺伝子型は 1 型および 2 型に分類される [2]。通常、牛が BVDV に感染すると、一過性の呼吸器症状や下痢が起こり 2 週間程度で回復するが、妊娠牛が感染すると胎児日齢により多様な病原性を示し、胎児が胎齢 100 日前後で感染すると免疫寛容となり、持続感染牛（PI 牛）となる可能性がある [1、2]

（図 1）。PI 牛は生涯多量のウイルスを排泄し続け、農場の感染源となるため PI 牛の摘発淘汰が防疫対策上、最も重要となる。

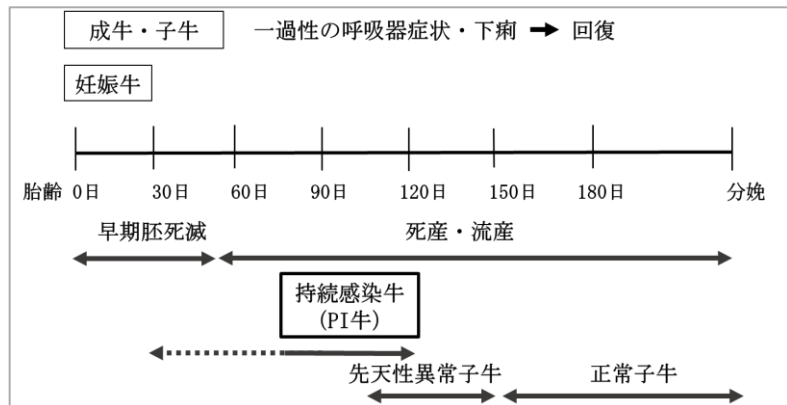


図 1 成牛・子牛および妊娠牛の BVDV 感染により認められる病態

背景

平成 28 年発行の BVD-MD に関する防疫対策ガイドラインでは、都道府県は PI 牛の摘発淘汰および必要に応じた予防接種といった防疫対策を実施するように記載されており、近年全国的に PI 牛の摘発が増加している [4-26]。当県では病性鑑定材料や県外預託前の血清を用い、PI 牛検査を実施しているが、BVDV の浸潤状況は不明である。また、ワクチン接種は農家により異なっている。今回、福井県で初めて BVDV の浸潤状況を調査し、ワクチン接種による抗体価の確認調査を実施したので、その概要を報告する。

浸潤状況調査

1. PI 牛調査

平成 26 年度から 30 年度の伝染性疾病検査の余剰血清 37 戸 1,501 頭分を、農家ごとにプールしたものを材料とし、抽出遺伝子について Vilcek らの報告 [3] に基づき、BVDV の RT-PCR を実施した。その結果、全ての検体で遺伝子は検出されず、PI 牛は摘発されなかった。

2. 抗体保有状況調査

BVDV の農家への侵入を確かめる目的で抗体保有状況調査を実施した。

(1) PI 牛調査と同じ余剰血清から農家ごとに約 10 頭を無作為抽出し、33 戸 303 頭分の血清を材料として、中和試験を実施した。中和試験では BFM 細胞と 1 型（Nose 株）および 2 型（KZ 株）を用い、中和抗体価から農家別に幾何平均（GM）値を算出した。平均抗体価 16 倍以上で PI 牛の出生率を有意に減少させるという報告 [27] に基づき、GM 値 16 倍を基

準に農家を分類した（図2、3）。その結果、酪農家ではGM値16倍以上の農家が、1型は7戸（37%）、2型は3戸（16%）であり、1型、2型ともGM値16倍以下の農家が多かった。一方で1型はGM値100倍以上の農家が3戸あった。肉牛繁殖農家ではGM値16倍以上の農家が、1型は11戸（79%）、2型は6戸（43%）だった。1型はGM値100倍以上の農家が6戸あった。

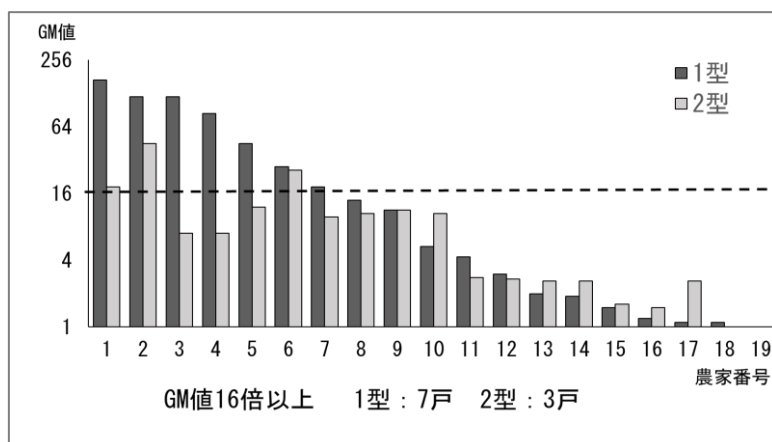


図2 酪農家の農家別 BVDV 中和抗体価の幾何平均（GM）値

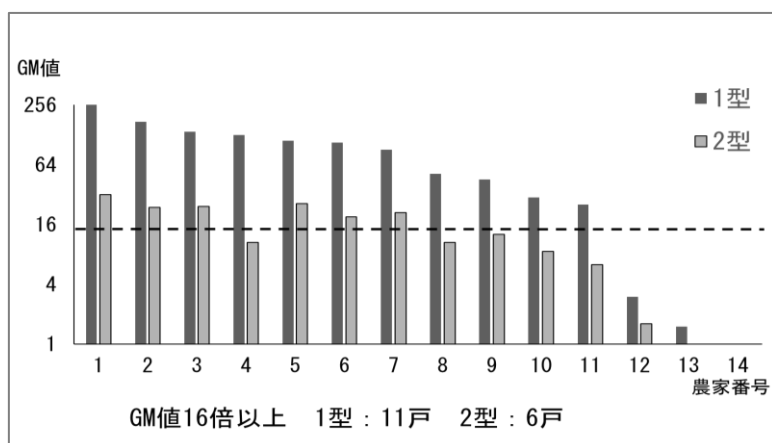


図3 肉牛繁殖農家の農家別 BVDV 中和抗体価の幾何平均（GM）値

(2) 1型でGM値が100倍を超える農家が9戸あったことから、その原因がワクチン抗体または、野外株の感染抗体かを確認する目的で、GM値上位10戸（酪農家6戸、肉牛繁殖農家4戸）の中で、過去の血清が得られた69頭について抗体の動きを調査した。材料として同一個体の着地検査時等の血清とその後の伝染性疾病検査の血清を用い、中和抗体価を比較した。また、牛には農場到着後にワクチンを接種していないことを確認した。方法は(1)と同様に中和試験を実施し、2管以上の抗体上昇の有無を判定した。その結果、抗体上昇が認められたのは1型では7戸14頭、2型では7戸12頭であり、農家ごとの検査頭数と抗体上昇頭数を示した（表1）。1型、2型とも抗体が上昇した牛は1つの農家に偏らず、複数の農家に存在しており、県内の複数の農家にBVDVが侵入していたことが明らかとなった。

表1 農家別の抗体上昇頭数 (抗体上昇頭数/検査頭数)

	酪農家		肉牛繁殖農家	
	1型	2型	1型	2型
A	1 / 5	2 / 5	G	2 / 6
B	1 / 3	0 / 3	H	2 / 10
C	1 / 7	1 / 7	I	3 / 9
D	4 / 10	2 / 10	J	0 / 10
E	0 / 4	0 / 4		
F	0 / 5	1 / 5		
合計	7 / 34	6 / 34	7 / 35	6 / 35

*1型で幾何平均値が100倍を超える農家9戸

ワクチン抗体の調査

浸潤状況調査の結果、県内へのBVDVの侵入が確認されたことから、県内農家に牛を譲渡している酪農家1戸10頭と肉牛繁殖農家1戸6頭でワクチン抗体の調査を実施した。酪農家では3か月齢で1型、2型を含む不活化ワクチンを1回接種しており、肉牛繁殖農家では2か月齢と5か月齢で1型を含む生ワクチンを2回接種していた(図4)。平成30年生まれの子牛より6月と11月に採血し、前述の調査と同様に中和試験を実施した。

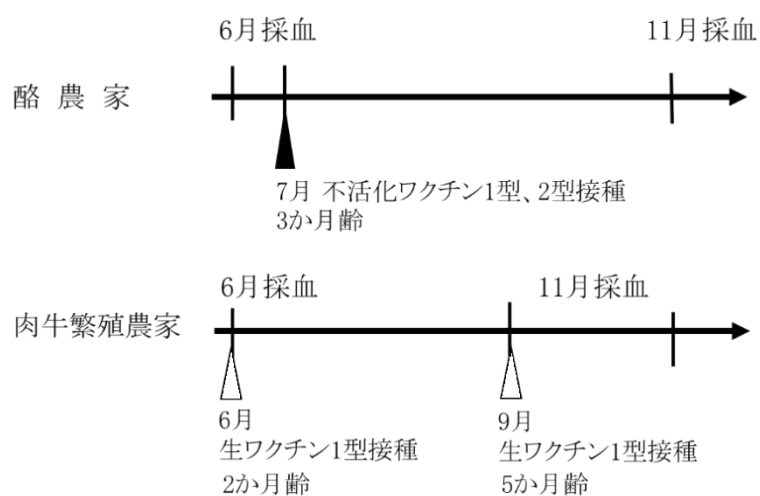


図4 2農家のBVDV ワクチン接種時期と採血時期

その結果、酪農家の10頭は1型、2型とも全ての検体でほとんど抗体を保有しておらず、ワクチン抗体が付与されていないことが明らかとなった。肉牛繁殖農家では1型で6月よりも11月のGM値が上昇しており、ワクチン抗体が付与されたと推察されたが、2型のGM値は6月、11月とも低値であった(表2)。以上のことから、酪農家にはワクチンの接種回数の見直しと混合生ワクチンへの変更を、肉牛繁殖農家には混合生ワクチンへの変更を指導した。

表2 2 農家の BVDV 抗体価の調査結果

酪農家					肉牛繁殖農家				
No.	1 型		2 型		No.	1 型		2 型	
	6 月	11 月	6 月	11 月		6 月	11 月	6 月	11 月
1	4	< 2	4	< 2	1	≥ 256	≥ 256	2	< 2
2	< 2	< 2	< 2	< 2	2	≥ 256	64	64	4
3	< 2	< 2	< 2	< 2	3	≥ 256	128	32	2
4	< 2	< 2	< 2	< 2	4	2	≥ 256	< 2	< 2
5	< 2	< 2	< 2	< 2	5	64	≥ 256	< 2	< 2
6	< 2	< 2	< 2	< 2	6	32	128	< 2	< 2
7	< 2	< 2	< 2	< 2					
8	< 2	< 2	< 2	< 2					
9	< 2	< 2	< 2	< 2					
10	< 2	< 2	< 2	< 2					
GM 値*	1.1	< 2	1.1	< 2		64	161	4	1.4

*GM 値：中和抗体価の幾何平均値

考察

今回の調査では PI 牛は摘発されなかったが、抗体保有状況調査の結果、BVDV1 型、2 型とも複数の農家に侵入していたことが確認され、感染リスクが高い状態であると考えられた。調査で用いた材料は過去 5 年間の血清であることから、引き続き毎年の伝染性疾病検査の余剰血清や導入牛の血清を用いて、PI 牛摘発調査を実施する必要がある。適切なワクチン接種により BVDV のまん延を防ぎ [1]、PI 牛産出を防ぐことが期待される [27] ため、県内農家に対し今後もワクチン接種指導を継続し、県内の PI 牛フリーを維持していく。

引用文献

- [1] 牛病学 第三版 近代出版 219-221
- [2] 坪井孝益：臨床獣医 Vol. 33, No. 7 (2015)
- [3] Vilcek S, et al. : Arch Virol 136. 309-323 (1994)
- [4] 岩手県中央家畜保健衛生所（家保）多田成克ら：平成 28 年度全国家畜業績発表会抄録
- [5] 青森県八戸家保 荻野心太郎ら：平成 28 年度全国家畜業績発表会抄録
- [6] 北海道十勝家保 信本聖子ら：平成 28 年度全国家畜業績発表会抄録
- [7] 宮城県仙台家保 佐沢公子ら：平成 28 年度全国家畜業績発表会抄録
- [8] 福島県県中家保 佐藤敦子ら：平成 28 年度全国家畜業績発表会抄録
- [9] 茨城県県西家保 古谷道栄ら：平成 28 年度全国家畜業績発表会抄録
- [10] 茨城県鹿行家保 田邊ひとみら：平成 28 年度全国家畜業績発表会抄録
- [11] 茨城県県北家保 赤上正貴ら：平成 28 年度全国家畜業績発表会抄録

- [12] 群馬県吾妻家保 小野祥平ら：平成 28 年度全国家畜業績発表会抄録
- [13] 群馬県家衛研 齋藤美香ら：平成 28 年度全国家畜業績発表会抄録
- [14] 群馬県東部家保 江原彰宏ら：平成 28 年度全国家畜業績発表会抄録
- [15] 千葉県中央家保 上林佐智子ら：平成 28 年度全国家畜業績発表会抄録
- [16] 千葉県中央家保 畑中ちひろら：平成 28 年度全国家畜業績発表会抄録
- [17] 新潟県中央家保 村山和範ら：平成 28 年度全国家畜業績発表会抄録
- [18] 石川県南部家保 大桑由佳ら：平成 28 年度全国家畜業績発表会抄録
- [19] 愛知県中央家保 奥村貴樹ら：平成 28 年度全国家畜業績発表会抄録
- [20] 兵庫県淡路家保 丸尾喜之ら：平成 28 年度全国家畜業績発表会抄録
- [21] 鳥取県西部家保 田島理子ら：平成 28 年度全国家畜業績発表会抄録
- [22] 鳥取県倉吉家保 増田恒幸ら：平成 28 年度全国家畜業績発表会抄録
- [23] 徳島県徳島家保 三宅秀隆ら：平成 28 年度全国家畜業績発表会抄録
- [24] 福岡県北部家保 大里麻衣子ら：平成 28 年度全国家畜業績発表会抄録
- [25] 福岡県両筑家保 原田美奈子ら：平成 28 年度全国家畜業績発表会抄録
- [26] 沖縄県北部家保 中尾聡子ら：平成 28 年度全国家畜業績発表会抄録
- [27] 大野 浩：臨床獣医 Vol. 33, No. 7 (2015)

8 大腸菌性乳房炎由来 *Klebsiella pneumoniae* の早期鑑別法に関する検討

家畜保健衛生所 武野侍那子

はじめに

乳牛の大腸菌性乳房炎は、主に *Escherichia coli* (Ec) や *Klebsiella pneumoniae* (Kp) の乳房への感染が原因となって起こる。本症では急性・甚急性の経過を辿ることが多く、菌の増殖と死滅に伴うエンドトキシンの放出から全身性の炎症反応へと波及すると、重篤な場合には死亡または予後不良との判断から廃用となることがある。Kp による甚急性乳房炎は Ec より症状が重篤であり、治癒率が低く死亡・廃用例が多いと報告されている [2]。細菌数やエンドトキシンが増える前に適した治療法を選択するためには、これらの早期発見・早期鑑別が重要となるが、常法では菌種同定までに 3 日要する。Kp 莢膜は Ec 莢膜保有株と比較すると厚さが約 10 倍あり [1]、この差を利用した早期鑑別法が報告されている [3]。今回、この早期鑑別法が病性鑑定に応用できないか検討した。

材料

過去に乳房炎の症状を呈した牛の乳汁および乳房から分離した Kp 5 株を用いた。

方法

(1) 模擬乳房炎乳汁の莢膜二重染色

保存菌株では莢膜の形成性が失われている可能性があるため、供試菌株を莢膜形成培地である米ぬか抽出液加生理食塩水 (RBS) で一晚培養した [6]。培養後の RBS を市販牛乳で 10 倍階段希釈して模擬乳房炎乳汁とした。同時に、普通寒天培地で定量培養を行い、菌数を測定した。模擬乳房炎乳汁をスライドガラス上に塗抹し、簡易ギムザ染色 (ディフ・クイック染色) で菌体を染めた後、血液塗抹を引く要領で上から墨汁染色を行い鏡検した (莢膜二重染色) [3, 5]。

(2) 菌懸濁液の莢膜二重染色

供試菌株を普通寒天培地で一晚培養し、3 コロニーを釣菌して滅菌精製水、市販牛乳およびレンサ球菌性乳房炎乳汁各 1mL に懸濁後、それぞれについて莢膜二重染色を行った。また、乳房炎由来の他のグラム陰性細菌について普通寒天培地で一晚培養後、3 コロニーを釣菌してレンサ球菌性乳房炎乳汁 1mL に懸濁し、莢膜二重染色を行い鏡検した。

結果

(1) 模擬乳房炎乳汁では、 10^7 CFU/ml 以上で菌体と周囲の莢膜を認めた (図 1)。

(2) 菌懸濁液では、精製水に懸濁すると簡易ギムザ染色によって染まった菌体が墨汁染色後に消失していたが (図 2, 3)、市販牛乳に懸濁すると菌体および周囲の莢膜が明瞭に観察できた (図 4)。レンサ球菌性乳房炎乳汁への懸濁では好中球や乳腺細胞とともに菌体および周囲の莢膜を認めた。また、乳房炎由来の他のグラム陰性細菌では Kp と比較して菌体が細く薄い莢膜が観察された (図 6)。

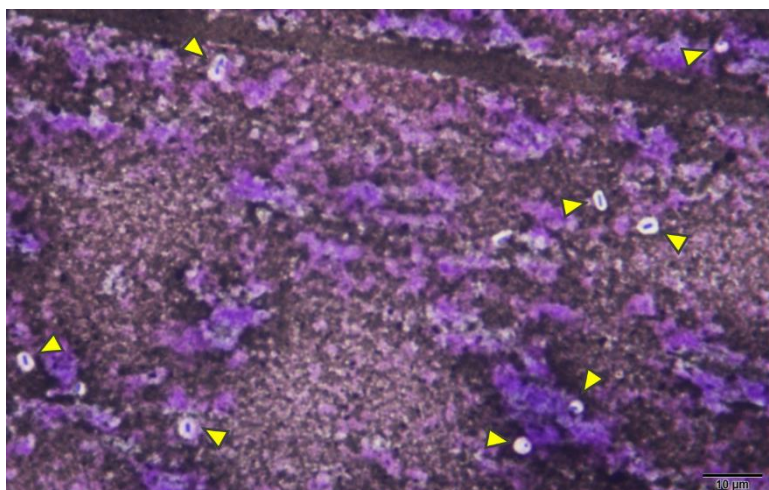


図 1 乳汁直接塗抹の莢膜二重染色像 (約 1.0×10^9 CFU/mL)

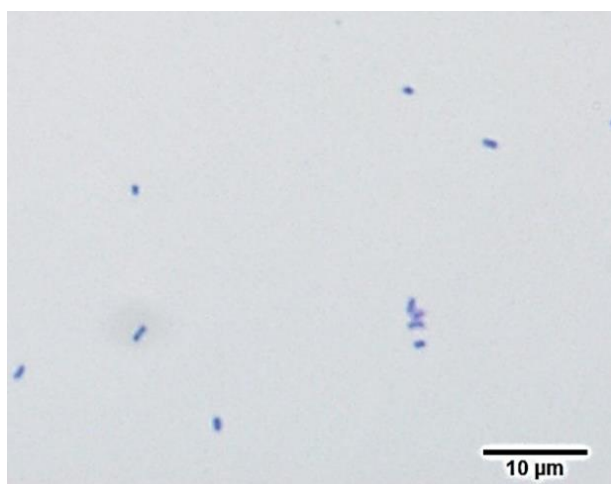


図 2 菌懸濁液 (精製水) の簡易ギムザ染色像

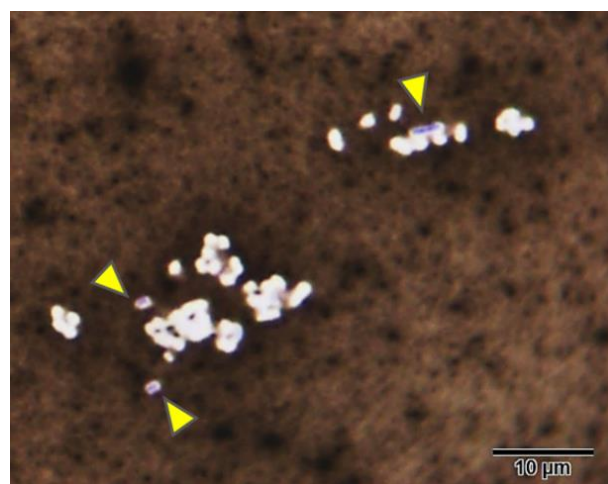


図 3 菌懸濁液 (精製水) の莢膜二重染色像

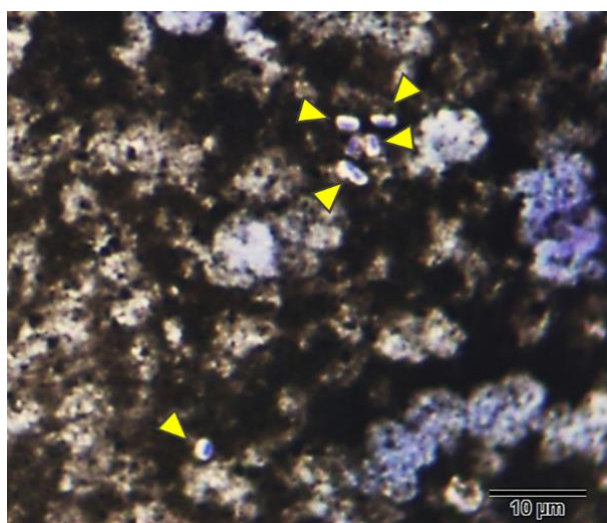


図 4 菌懸濁液 (市販牛乳) の莢膜二重染色像

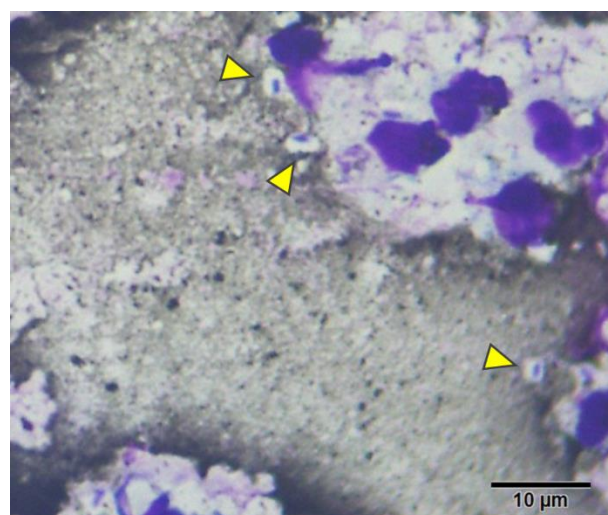


図 5 菌懸濁液 (乳房炎乳汁) の莢膜二重染色像

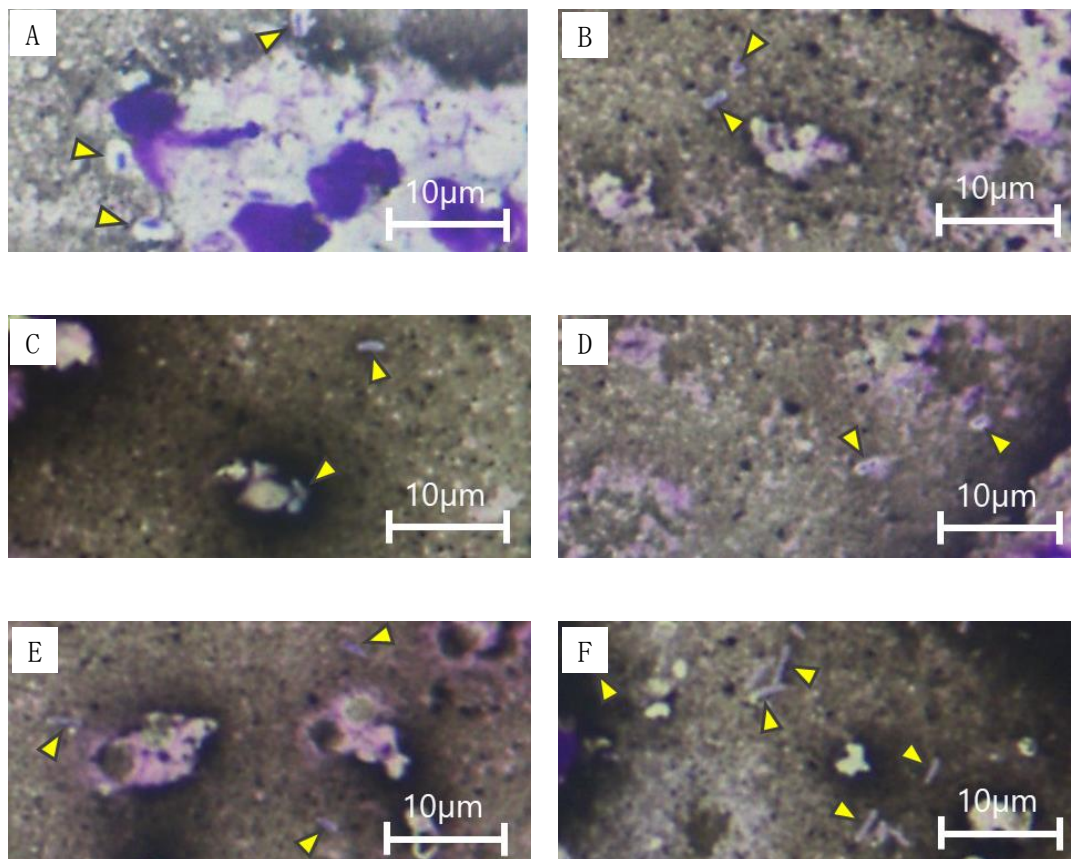


図 6 乳房炎由来グラム陰性細菌の莢膜二重染色像（矢頭：菌体）

A : Kp B : Ec C : *Enterobacter cloacae* D : *Serratia marcescens*
 E : *Citrobacter freundii* F : *Pseudomonas aeruginosa*

表 1 過去の大腸菌性乳房炎症例の検出菌数

分離年月	農家	菌種	菌数 (CFU/mL)
H28. 2	A	<i>K. pneumoniae</i>	1.68×10^4
7	A	<i>E. coli</i>	$>6.00 \times 10^5$
8	B	<i>K. pneumoniae</i>	5.84×10^5
H29. 5	C	<i>K. pneumoniae</i>	2.00×10^4
5	C	<i>K. Pneumoniae</i>	1.60×10^3
7	D	<i>K. Pneumoniae</i>	1.06×10^4
7	D	<i>K. pneumoniae</i>	1.82×10^4
8	D	<i>K. pneumoniae</i>	2.52×10^5
9	E	<i>E. coli</i>	1.02×10^5
11	D	<i>K. pneumoniae</i>	$>6.00 \times 10^5$
H30. 3	A	<i>K. pneumoniae</i>	2.00×10^3
8	A	<i>K. pneumoniae</i>	1.40×10^3
11	C	<i>E. coli</i>	4.10×10^4
11	C	<i>E. coli</i>	1.20×10^3

まとめおよび考察

今回、Kp による大腸菌性乳房炎の早期鑑別法が病性鑑定に応用できないか検討した。既報では、乳汁中細菌数が 1.0×10^5 CFU/mL を超える重篤な徴候を示す症例において、莢膜を保有する Kp が観察でき容易に菌種の鑑別が可能であるとしているが [3]、模擬的に作製した乳房炎乳汁では、乳汁中細菌数 10^7 CFU/mL 以上でようやく菌体と周囲の莢膜を観察できた。これまでに当所で実施した大腸菌性乳房炎の乳汁検査では、検出菌数が 10^5 CFU/mL 以下の症例がほとんどであるため（表 1）、乳汁直接塗抹の染色では Kp を鑑別できない場合が多いと推察された。そこで、検査依頼翌日の鑑別を想定し、培地上に生えたコロニーの懸濁液について莢膜二重染色を行った。精製水への懸濁では菌体が消失したため莢膜の厚さの評価が困難であったが、市販牛乳への懸濁では菌体および周囲の莢膜を観察できた。実際の乳汁検査では、分離したコロニーを培養に供した検査乳汁に懸濁してから莢膜二重染色を行うことで観察が可能となる。Kp の莢膜二重染色像を他の乳房炎由来グラム陰性細菌の莢膜二重染色像と比較したところ、厚い莢膜と菌体が観察されたのは Kp のみで、鑑別法として有用であることが確認できた。以上のことから、乳汁中細菌数が多い場合には検査乳汁の直接塗抹を莢膜二重染色することで検査依頼日に、少ない場合には分離後のコロニーを保存した検査乳汁に懸濁することで検査依頼翌日に Kp の鑑別が可能であり、鑑別までの日数を従来よりも 2～3 日短縮することができると考えられた。今後は、安定した染色像が得られるような手技について検討するとともに、Kp 感染乳汁を用いた検証が必要である。

参考文献

- [1] Amako, K., Meno, Y. Takade, A. (1998): Journal of Bacteriology. 170(10), 4960-4962.
- [2] 神野雅子, 今村智子, 杉山美恵子ら. (2010) : 家畜診療. 57, 259-263.
- [3] 杉山美恵子. (2016) : 動薬研究. 72(6), 11-19.
- [4] 日本乳房炎研究会. (2016) : 臨床獣医. 34(11), 4-7.
- [5] 農林水産省. (2018) : 牛乳房炎抗菌剤治療ガイドブック. 9-10.
- [6] 山田巖. (2004) : 九州大学医学部保健学科紀要. 3, 47-50

9 血清蛋白分画測定を活用した牛の疾病診断への検討

家畜保健衛生所 ○山崎昭治 葛城肅仁

はじめに

セルロースアセテート膜を使った血清蛋白分画測定は、微量の血清で短時間に多数の検体を処理できる利点があり、1950年代頃から日常検査法として用いられている。この検査法は、蛋白成分の質的・量的な変動が把握できることから、牛のアミロイドーシスの診断や急性・慢性炎症の治療効果の判定に利用されている。

血清蛋白分画測定では、血清蛋白の構成比率がわかる血清蛋白分画像（以下分画像）と、血清蛋白の質や量的変動がわかる血清蛋白分画パターン（以下分画パターン）の2項目が測定できる（図1）。

分画像では、分画像を血清総蛋白濃度（以下STP）、アルブミン（以下Alb）、 α^1 、 α^2 、 β 、 γ 分画が標準より増えたか減ったかの組合せで11の分画像基本型に分類し、分画パターンの変化と分画像基本型と併せて分析し診断に利用している（表1）

[1]。

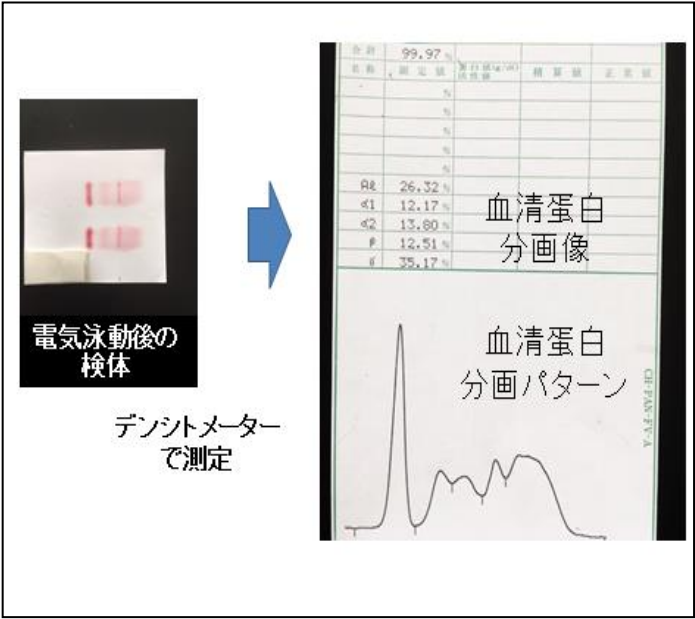


図1 血清蛋白分画測定的项目

表1 分画像基本型

血清蛋白分画像	STP	Alb	$\alpha 1$	$\alpha 2$	β	γ
I 蛋白不足型	↓↓	↓↓	N・↑	N・↓	↓	↓(N)
II ネフローゼ型	↓↓	↓↓				↓(N↑)
III 急性肝障害型	↓・N	↓↓	↓	↓	↓	↑
IV 肝硬変型	↓・N・↑	↓↓		↓	β - γ ブリッジ	
V 急性炎症・ストレス型		↓	↑	↑		
VI 慢性炎症型		↓	↑	↑		↑
VII γ 分画増加型	↑	↓				↑
VIII M蛋白血症型				ピークが $\alpha 2$, β , γ にあり区別がつかない		
IX β 分画増加型				(↑)	↑	
X 妊娠型	↓	↓			↑	
XI 蛋白欠乏型						
XI1 アルブミン欠乏型		↓↓↓				
XI2 $\alpha 1$ 分画欠乏型			↓↓			
XI3 β 分画欠乏型					↓↓	
XI4 γ 分画欠乏型						↓↓↓

* 空欄は有意の変化を示さないか、あるいは個々の症例で異なった傾向を示す。

凡例: ↑値上昇 ↓値減少 N値正常域

出典:「血清蛋白分画」より

具体的には、M蛋白血症型は γ 分画に IgMの幅の狭いピーク（Mピーク）がでており、ネフローゼ型は Alb の減少と α 分画の増加に加え、 α 分画に α^2 マクログロブリンのピークがあることで決定できる。Alb の減少と γ 分画の増加に加え、 β 、 γ 分画の境界が不明瞭な β - γ ブリッジがあることで肝硬変型と分類している（図2）。

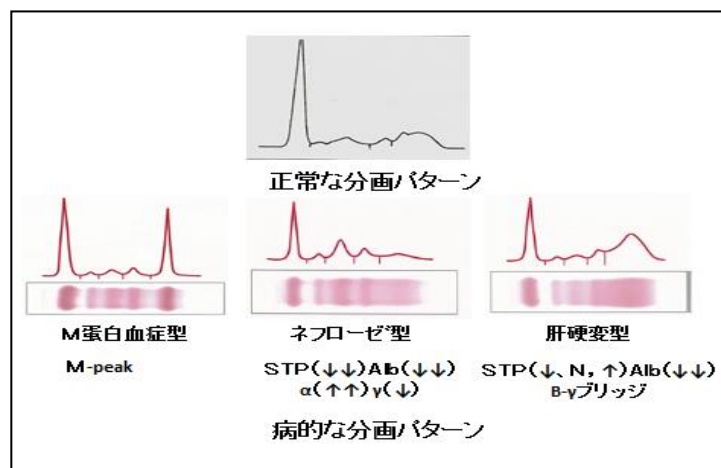


図2 血清蛋白分画パターンと分画像の関係

このように血清蛋白分画測定では、疾病や病態などにより特徴的な分画パターンや分画像があることから、牛の疾病診断にこれを応用できないか検討した。

検討した疾病は、次の3疾病である。

第1番目の疾病は、牛白血病牛である。人の白血病（骨髄性白血病）においてはリンパ球の増加によりM蛋白血症になることから、牛白血病発症牛（以下 EBL 牛）および牛白血病ウイルス抗体陽性でリンパ球増多症をおこしている牛（以下 PL 牛）でも、異常なリンパ球の増加があり、これらから何らかの血清蛋白がでていたのではないかと考えた。

第2番目の疾病は、低カルシウム血症牛（以下低 Ca 牛）である。

第3番目の疾病は、ケトーシスと診断された牛（以下ケトーシス牛）である。

材料および方法

① 牛白血病牛（EBL 牛および PL 牛）

EBL 牛の材料は、平成 29 年 3 月から平成 30 年 8 月までに臨床症状を伴い、家畜保健衛生所に搬入され病性鑑定で EBL と診断された牛血液 3 症例 3 検体。PL 牛は、平成 29 年 10 月から平成 30 年 8 月までの PL 牛 1 症例の追跡血液 6 検体

② 低カルシウム血症牛

平成 29 年度と平成 30 年 9 月までに起立困難で血液検査依頼があり、血中 Ca 値が 8.5mg/dl 未満で低 Ca 血症と診断された牛血液 11 検体

③ ケトーシス牛

平成 30 年 4 月から 8 月までに食欲不振で血液検査依頼があり、ケトン体値が 1.2mg/dl 以上を示しケトーシスと診断された牛血液 11 検体

これらを、常法に従い血液検査と血清蛋白分画測定を行い材料とした。

結果

① 牛白血病牛（EBL 牛および PL 牛）

血液検査では、表 2 に示すようにすべての EBL 牛および PL 牛では、WBC で正常値 $4,000 \times 10^3/\mu\text{L}$ から $12,000 \times 10^3/\mu\text{L}$ を上回り、最も高い値では $33,400 \times 10^3/\mu\text{L}$ であった。また、リンパ球数でもすべての EBL 牛および PL 牛で $13,300 \times 10^3/\mu\text{L}$ から $27,220 \times 10^3/\mu\text{L}$ の高い値であった。

表2 EBL牛およびPL牛の血液検査成績

* 項目	* 正常値	EBL牛			PL牛					
		1	2	3	1	2	3	4	5	6
					2017.10.16	2018.3.28	2018.4.12	2018.5.16	2018.6.13	2018.8.22
Ht	28-40	23	35	21	25	32	40	28	26	24
WBC	4,000-12,000	24,200	18,900	17,300	33,400	18,900	33,100	28,200	18,700	21,000
(Ly球数)		17,000	14,700	13,300	27,220	13,800	22,500	25,400	18,000	18,500
STP	6.2-7.8	5.4	5.6	6.2	7.8	7	7	8.2	8.2	6.8
GOT	100以下	65	62	49.5	41	39	61	52	43	35
γ-GTP	40以下	340	101	44	60	50	64	67	56	41
LDH	3000以下	3,616	1,491	4,000<	1,380	1,482	1,581	1,700	1,427	1,477
CPK	100以下	71	71	2,000<	57	58	162	49	481	51

*項目および正常値の単位

ヘマトクリット値 (Ht : %) 白血球数 (WBC : $\times 10^3/\mu\text{L}$) リンパ球数 (Ly 球数 : $\times 10^3/\mu\text{L}$)
 血清総蛋白濃度 (STP; g%) グルタミン酸オキシラアテックトランスアミナーゼ
 (GOT: IU/dl) γ グルタルミルトランスぺプチナーゼ (γ GTP: IU/dL) 乳酸脱水素酵素 (LDH:
 IU/dL) クレアチニンフォスキナーゼ (CPK: IU/dL) 血糖 (Glu: mg/dL) 血清カルシウム
 (Ca: mg/dL) 無機リン (IP: mg/dL) ケトン体 (mg/dL)

また、表3に示すように血液検査成績および分画像を解析すると、EBL牛では共通してAlbとγ分画の減少に加え、β-γブリッジの存在が認められ肝硬変型あるいは肝障害型、PL牛ではEBL牛ほどではないが、共通してAlbの減少とγ分画の上昇、β-γブリッジの存在が確認でき肝障害型、肝硬変型に分類できた。

表3 EBL牛およびPL牛の分画像

表6 EBL牛およびPL牛の分画像

EBL牛

	1	2	3	Ⅲ	Ⅳ
STP	↓↓	↓	N	↓N	↓N↑
Alb	↓↓	↓↓	↓↓	↓↓	↓↓
α分画		N	↓	↓	N↓
β分画		↓	↓	↓	
γ分画		↓↓	↓	↑	
β-γ brige	○	○	○		○
像分類	ⅢⅣ	ⅢⅣ	ⅢⅣ		

凡例 N:正常域 ↑:値上昇 ↓:値減少

血清分画像分類:Ⅲ(肝障害型)Ⅳ(肝硬変型)

PL牛

	1	2	3	4	5	6	Ⅲ	Ⅳ
STP	N	N	N	↑	↑	N	↓N	↓N↑
Alb	↓	↓	↓	↓↓	↓↓	↓↓	↓↓	↓↓
α分画	↓	↓	↓	N	N	↓	↓	N↓
β分画	↓	N	N	N	N	↓	↓	
γ分画	↑	↑	↑	↑↑	↑↑	↑	↑	
β-γ Brige	○	○	○	○	○	○		○
像分類	ⅢⅣ	ⅢⅣ	ⅢⅣ	ⅢⅣ	ⅢⅣ	ⅢⅣ		

凡例 N:正常域 ↑:値上昇 ↓:値減少

血清蛋白分画像:Ⅲ(肝障害型)Ⅳ(肝硬変型)

図3に示すように分画パターンでは、人の骨髄性白血病で認められるようなIgMピークはなく、牛白血病としての共通した分画パターンも確認できなかった。

PL牛では、リンパ球の増減と分画パターンの変化との関係性を調べたが関連性は確認できなかった。

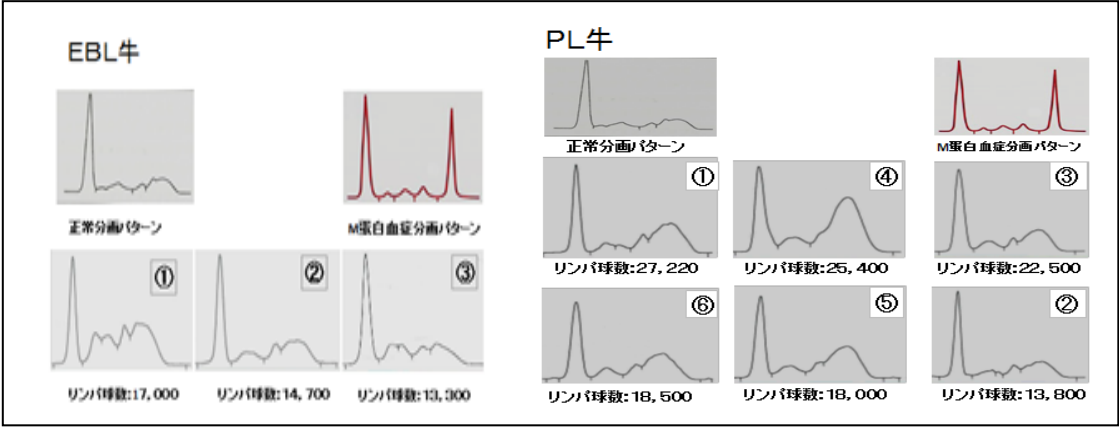


図3 EBL牛およびPL牛の分画パターン

② 低カルシウム血症牛

表4に血液検査成績を示した。

表4 低Ca牛の血液検査成績

*項目	*正常値	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
Ht	28-40	32	31	40	36	37	40	40	31	32	39	35
WBC	4,000-12,000	5,700	8,400	6,600	5,100	17,500	12,000	9,700	4,100	6,400	11,400	6,600
STP	6.2-7.8	6.5	8.2	7.2	5.4	6.6	7.0	6.4	6.7	7.2	5.0	6.5
GOT	100以下	108	78	518	99	148	49	97	70	70	174	84
γ-GTP	40以下	33	82	43	31	31	31	42	32	26	32	47
LDH	3000以下	2,197	2,037	4,000<	3,855	4,000<	2,333	3,317	1,983	1,983	2,173	1,530
CPK	100以下	490	299	2,000<	2,000<	2,000<	1096	2,000<	716	966	2,000<	57
Ca	8.5-12.0	6.8	8.3	7.6	3.9	7.5	6.4	6.6	8.5	3.8	4.4	7.8
IP	4.0-8.0	1.2	3.3	2.7	1.8	2.4	2.6	1.9	3.3	1.8	1.2	2.2

*項目および正常値の単位

ヘマトクリット値 (Ht: %) 白血球数 (WBC: $\times 10^3/\mu\text{L}$) リンパ球数 (Ly 球数: $\times 10^3/\mu\text{L}$) 血清総蛋白濃度 (STP; g%) グルタミン酸オキシラアテクトランスアミナーゼ (GOT: IU/dL) γ グルタルミルトランスぺプチナーゼ (γ GTP: IU/dL) 乳酸脱水素酵素 (LDH: IU/dL) クレアチニンフォスキナーゼ (CPK: IU/dL) 血糖 (Glu: mg/dL) 血清カルシウム (Ca: mg/dL) 無機リン (IP: mg/dL) ケトン体 (mg/dL)

また、分画像は表5に示すようにほとんどが正常であった。

しかし、症例4と10においてSTPとγ分画の著しい低下を示す分画像がみられ蛋白不

足型に分類できた。血液検査成績では極端な低Ca値を示しており、起立困難から採食不能となり栄養不足になった事例と推測された。

また、図4に示すように分画パターンでも分画像と同様に正常な分画パターンと類似しており、低Caとしての特別なパターン変化やピークの存在は確認できなかった。さらに、Ca値の高低と分画パターンの変化との関係も調べたが、関連性は不明であった。これらから、軽度の低Ca牛では血清蛋白には変化がないのではないかと考えられた。

表5 低Ca牛の分画像

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	I	VII
STP	N	↑	N	↓↓	N	N	N	N	N	↓↓	N	↓↓	↑
Alb	N	↓↓	N	↓	N	N	N	N	N	↓	N	↓↓	↓
α分画	N	N	N	↑	N	N	N	N	N	↑	N	N	↑
β分画	N	N	N	↓	N	N	N	N	N	↓	N	↓	
γ分画	↓	↑	N	↓↓	N	N	N	N	N	↓↓	N	↓(N)	↑
βγbridge													
像分類	VII			I						I			

凡例 N: 正常域 ↑: 値上昇 ↓: 値減少

血清分画像分類: I (蛋白不足型) VII (γ分画増加型)

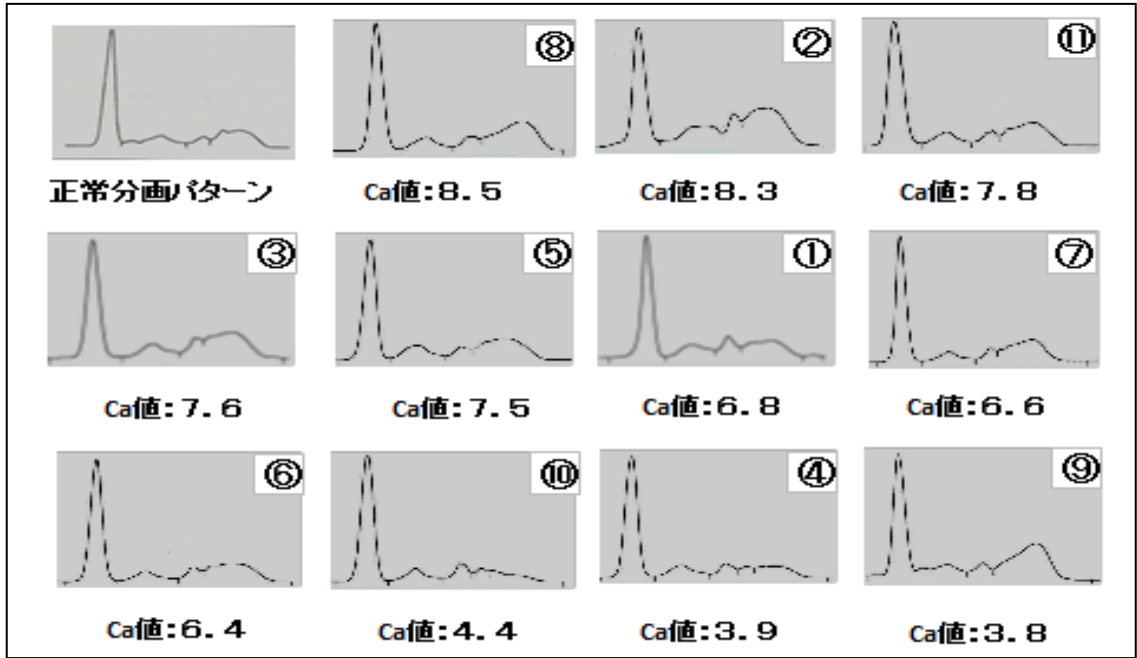


図4 低Ca牛の分画パターン

③ ケトーシス牛

血液検査成績は表6のとおりで、ケトン体値が正常値は1.2 mg/dLであるがすべての牛で1.2 mg/dL以上で7.8 mg/dLの高い値を示した。その他の項目では正常値と若干の上下値を示す牛はいたがほぼ正常であった。

また、ケトーシスの分画像では、ケトーシスとしての共通した特別な分画像は確認できず、多様で複雑な分画像が観察できた。分画像分類では、蛋白不足型、肝硬変型、急性炎症型などのいろいろのタイプに分類でき、これはケトーシスの複雑な症状とも関連していると思われた(表7)。

表6 ケトーシス牛の血液検査成績

*項目	*正常値	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
Ht	28-40	35	37	32	36	31	30	27	25	31	32	27
WBC	4,000-12,000	3,000	10,000	3,700	6,200	7,700	4,600	900	2,700	4,100	6,400	5,100
STP	6.2-7.8	5.8	5.7	6.4	6.2	5.8	6.4	6	5.6	6.7	7.2	7
GOT	100以下	166	78	246	179	170	78	232	468	70	70	146
γ-GTP	40以下	56	36	72	39	35	33	33	49	32	26	22
LDH	3000以下	2,777	2,210	3,297	3,014	2,854	2,274	2,323	3,937<	1,983	1,983	2,124
CPK	100以下	330	664	162	324	215	1,407	658	2,000<	716	966	710
Glu	4.5-7.0	43	43	26	37	115	50	<20	30	42	86	60
ケトン体	1.2未満	2.2	2.2	4.5	4.1	2.4	1.3	7.8	2.4	2.1	2.1	2.4

*項目および正常値の単位

ヘマトクリット値 (Ht: %) 白血球数 (WBC: $\times 10^3/\mu\text{L}$) リンパ球数 (Ly 球数: $\times 10^3/\mu\text{L}$)
 血清総蛋白濃度 (STP; g%) グルタミン酸オキシラアテクトランスアミナーゼ
 (GOT: IU/dl) γ グルタルミルトランスペプチナーゼ (γ GTP: IU/dL) 乳酸脱水素酵素 (LDH:
 IU/dL) クレアチニンフォスキナーゼ (CPK: IU/dL) 血糖 (Glu: mg/dL) 血清カルシウム
 (Ca: mg/dL) 無機リン (IP: mg/dL) ケトン体 (mg/dL)

表7 ケトーシス牛の分画像

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	I	III	IV	V	VI	
STP	↓↓	↓↓	N	N	↓↓	N	↓↓	↓↓	N	N	↓↓	↓↓	↓N	↓N	↑		
Alb	N	↓↓	↓	N	↓	↓	↓↓	↓↓	↓	↓	↓	↓↓	↓↓	↓↓	↓	↓	
α 分画	↓	N	↓	N	N	N	N	↑	N	N	↓	N↑	↓	N↓	↑	↑	
β 分画	↓	↓	↓	N	N	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓				
γ 分画	↑	↑	↑	N	↓↓	N	↓↓	↑	N	↑	↑	↓(N)	↑			↑	
β γ Bridge		O	O					O	O					O			
像分類	III VI	III IV	III VI		I		I	III VI	V	III VI	III VI						

凡例 N: 正常域 ↑: 値上昇 ↓: 値減少

血清蛋白像分類: I (蛋白不足型) III (肝障害型) IV (肝硬変型) V (急性炎症型)
VI (慢性炎症型)

また、表図に示すように分画パターンでもケトーシスとしての共通パターンは観察できず、さらにケトーシスの診断指標であるケトン体値の高低と分画パターンとの関連性も確認できなかった。

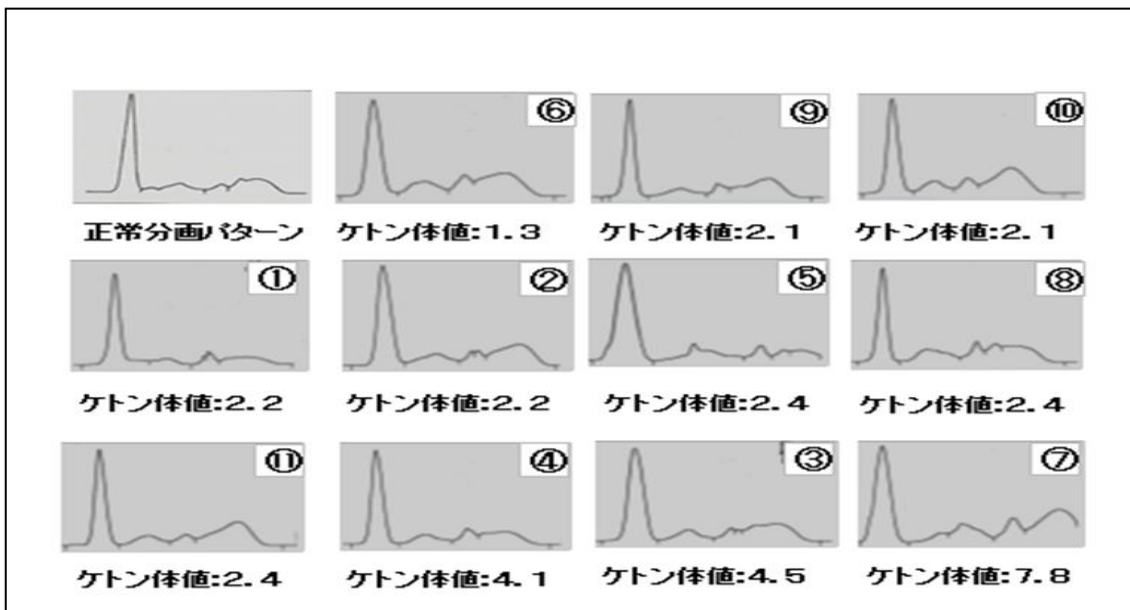


図5 ケトーシス牛の分画パターン

まとめ

① 牛白血病

γ分画で人の骨髄性白血病で認められるIgMと思われるピークは確認できなかった。さらに、リンパ球の増減と分画パターンの変化の関連性も不明であった。これらからPL牛、EBL牛とも血清蛋白分画測定だけで診断確定は難しいと思われる。

しかし、分画像の解析では肝障害や肝硬変タイプに分類でき、牛白血病の肝臓機能への浸潤をうかがわせる結果となり白血病の発症機序が推測できた。

② 低カルシウム血症

分画像、分画パターンともほとんどの牛が正常な形を示した。血中Ca値の高低と分画パターン、分画像の変化の関連性も確認できなかった。これらから血清蛋白分画測定で低Ca牛の診断を行うのは困難と思われる。

③ ケトーシス

分画像、分画パターンとも多様で複雑な成績と形態を示し、ケトーシスとしての共通性は観察できなかった。さらに、ケトーシス診断指標であるケトン体値の高低と分画パターンの変化の関連性も確認できなかった。分画像の解析からは、蛋白不足型、肝障害型、肝硬変型など複数のタイプに分類でき、これはケトーシスの複雑な発症要因や症状とも関係していると思われた。

血清蛋白分画測定でのケトーシスの診断確定は難しいが、発症要因や治療効果を判定する手段としては有効であった。

参考文献

[1] 河合 忠 ; 「血清蛋白分画法」 宇宙堂八木書店 1977

[2] 「高産乳牛のための肝機能チェック」 デーリマン・ジャパン社 1990