

令和2年度
福井県家畜保健衛生業績発表集録
(第1部・第2部)



健康長寿な福井です。

令和3年10月
福井県家畜保健衛生所

目次

第1部

- 1 豚熱発生を受け改善した防疫対策
宮谷正巳・・・1
- ◎○2 受精卵移植の未来
小林崇之・・・5
- 3 肉用牛衛生指導事業および受精卵移植を活用した経営改善支援
西川清文・・・9
- 4 採卵養鶏農家の鶏舎環境におけるサルモネラ検出状況
池田千嘉子・・・15

第2部

- 5 二酪農場で発生した G8P[14] 遺伝子型ロタウイルス A による成牛の
ロタウイルス病
清水誠也・・・19
 - 6 県内1養豚場で分離された MRSA の性状と農場における今後の課題
田中知未・・・25
 - 7 ブロイラー幼数雛でのアデノウイルスによる鶏封入体肝炎の発生事例
武田佳絵・・・31
- ◎ 第62回全国家畜保健衛生業績発表会選出演題
- 第62回東海北陸ブロック家畜保健衛生業績発表会選出演

1 豚熱発生を受けて改善した防疫対策

家畜保健衛生所 宮谷正巳 朝倉利江

はじめに

令和元年7月、8月に県内で豚熱が発生した。関係機関の協力のもとに無事防疫措置作業が終了した。しかし、防疫体制および防疫措置作業（防疫作業）等についての振り返りを行うことができなかった。そこで今年度に入り、見直しを行うことにした。参考とするため防疫作業に従事した家畜防疫員と班員をまとめた畜産職の班長に対してアンケートを実施した。アンケートで浮かび上がった課題に対し、所内検討会で他の越境性疾病の対応も含めた改善点を検討し、本課をはじめ各農林総合事務所等に還元した。

アンケート結果

アンケート項目は（1）連絡体制（2）指示系統（3）防疫措置作業（4）班編成（5）拘束時間（6）自由意見で（1）～（4）については選択式と記述式の質問、（5）については家を出てから防疫作業を行い家に帰るまでの行動の詳細を記入、（6）は班員から聞いたことなどを含めて記入を依頼した。（図1）

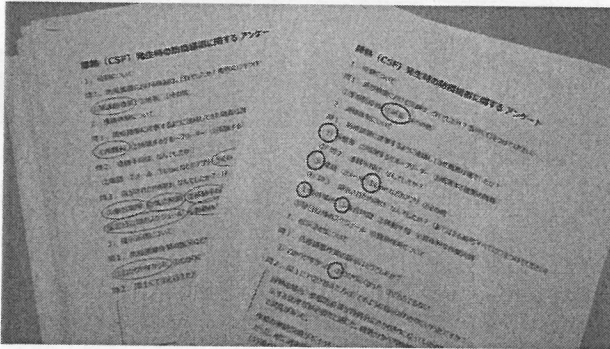


図1 アンケート結果

アンケートから得た課題として、1. 仮設テント内で、防疫作業前の者と防疫作業後の者の動線が重なっていたことで交差汚染が考えられたこと。2. 防疫作業前に農場内レイアウトや防疫作業の進捗状況が共有されなかった為、引継作業に時間を要したこと。3. 防疫作業中、指示を出す者（特に家畜保健衛生所の家畜防疫員）の居場所がわからず次の指示を仰げず混乱したこと。4. 農場に関する事前情報や防疫作業の復習をする資料などを健康検診会場や農場までの移動に使うバスの中で確認できると作業効率が上げられること。5. 評価作業に従事した者が、家畜防疫員を含め市町・農協職員とともに初めてのことで戸惑うことが多く作業時間が長くなったこと。6. 暑い時期の作業であったこともあるが、防護服を正しく着衣していない者がおり、人に感染する可能性のある高病原性鳥インフルエンザの際には健康被害を防ぐ必要があることから正しく着脱する方法を普及する必要があることなどが挙げられた。

課題への対応

1. 作業者の動線を考慮した仮設テントレイアウトの作成、併せて衛生資材の配置や作業者の全身消毒後のウイルス汚染の可能性についても検討し、ウイルス汚染の可能性のないクリーンゾーンとウイルス汚染の可能性のあるグレーゾーンを設定した。(図2、3)。作成したレイアウト図(図4、5)は、各農林総合事務所等の防疫会議で例示した。

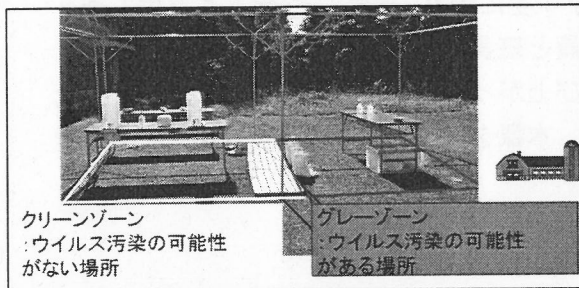


図2 小規模農場テントレイアウト

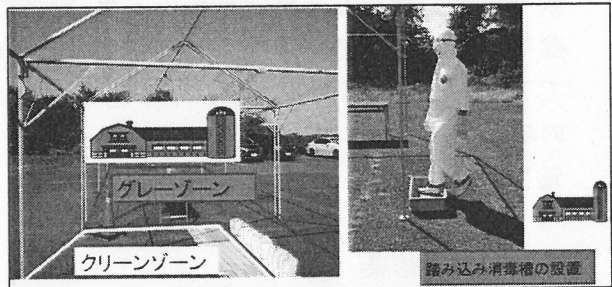


図3 大規模農場テントレイアウト

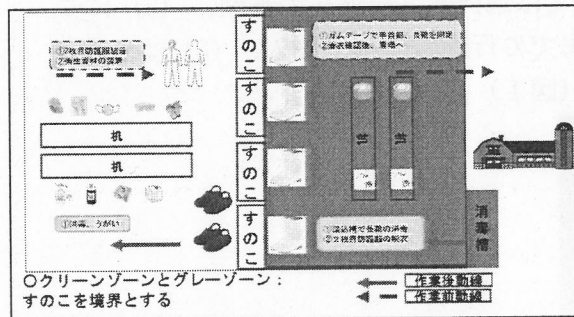


図4 小規模農場 レイアウト図

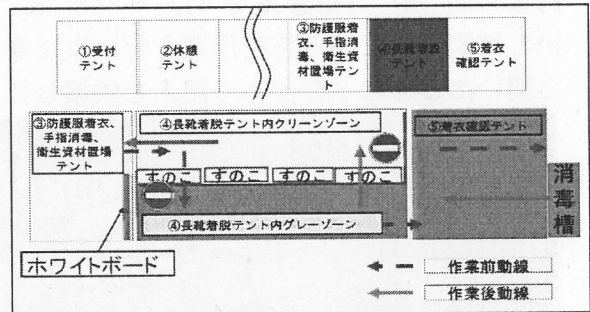


図5 大規模農場 レイアウト図

2. 指示系統を明確にするため、農場内と仮設テント内にそれぞれ1名の総括者を配置し、その総括者らが指示、連絡および情報収集を行い総括者同士が情報を共有する体制を本課へ提案し、総括者は現場作業を行わないことで防疫作業の進捗に集中できる体制とした。さらに仮設テント総括者が県対策本部と現地対策本部への連絡を担う体制とした(図6)。

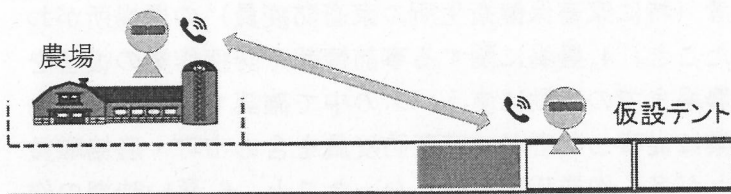


図6 総括者の配置の見直し

3. 各農場における防疫措置計画に想定する作業場所や作業動線、畜舎内の作業動線を追加記入し、写真やイラストで分かりやすく修正した（図7）。

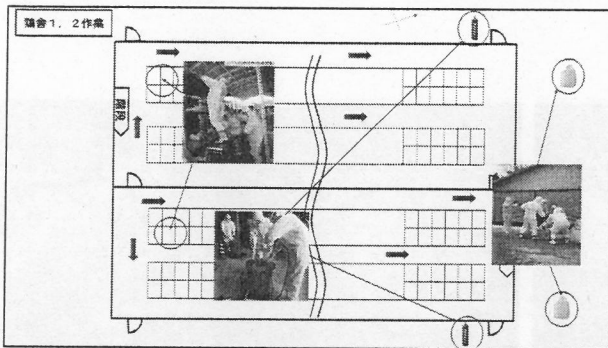


図7 殺処分の動線

4. 評価作業班マニュアルを新規作成し、携行する物品を整備した。市町職員や農協職員も評価作業に加わることから、概要説明書も作成し本課が行う各防疫会議等で使用してもらった（図8、9）。

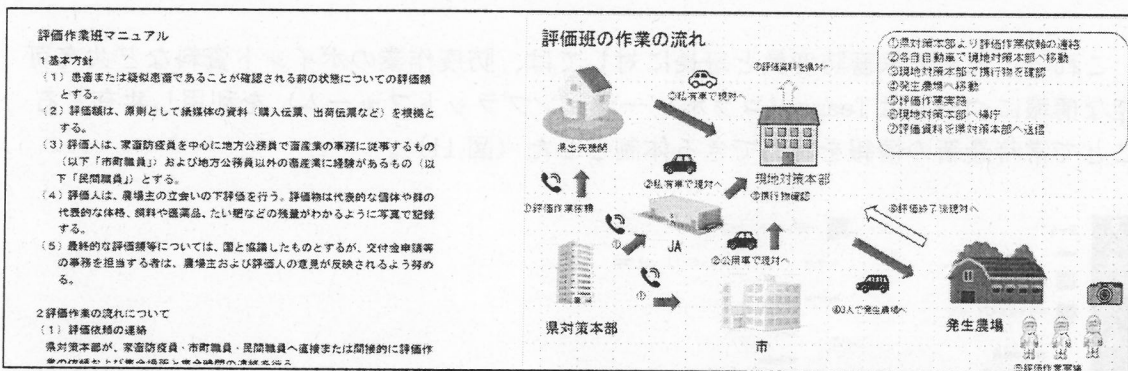
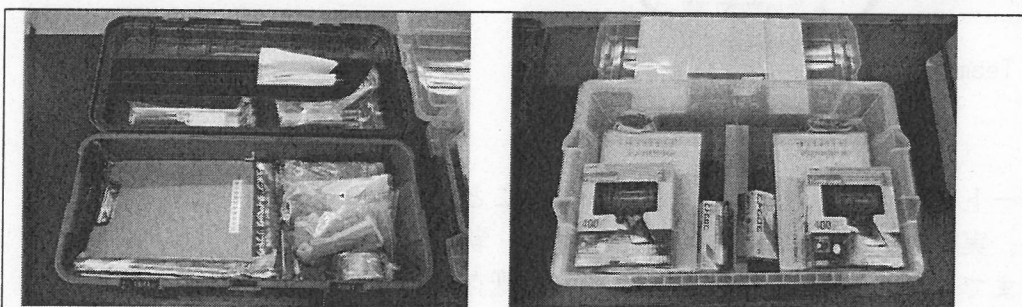


図8 家畜防疫員向けマニュアル（左）と市町、農協職員向け概要書（右）



整備した携行品：カメラ、ホワイトボード、ホワイトボード用マーカー
照明、防護服一式、記録用紙など

図9 整備した評価作業班携行品

5. 防護服2枚の正しい着脱を確認した。また、防護服を正しく着た状態で補鳥から殺処分、死亡後の鶏の処理についての確認作業を行った。捕鶏に関しては、鶏ケージと長机を並列に並べることで作業スペースが限定し、狭い通路での作業を体感してもらった(図10)。



図10 防護服の着脱演習(左) 狭い作業スペースでの防疫作業演習(右)

これらに加えて家畜防疫員と班長に対しては、防疫作業のポイント資料など共有可能な情報についてはTeams(コラボレーションプラットフォーム)を利用し共有することで常時最新の情報を確認できる体制とした(図11)。

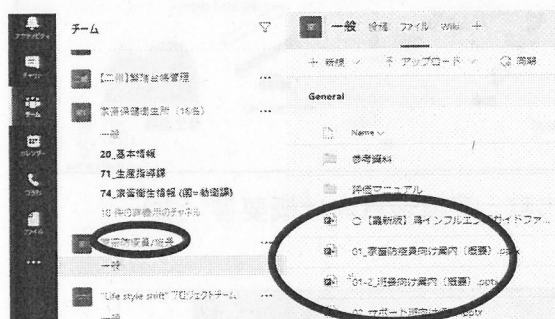


図11 Teams上の画面

まとめ

アンケートを実施し、視点の違う意見を聞くことが参考になった。指摘された意見を参考に、実際にテントを張り検証を実施した。新たなマニュアルや携行品の整備といった今までになかったことを追加し、さらに既存資料に修正を行い詳細な防疫計画を作成できたこと、作業ポイントなどの共有すべき資料についてはTeamsを使用することや家畜防疫員や班長といった対象者を絞った講習会を開催することで効率的な人材育成を行うことができた。課題は残るものの防疫体制が充実した。

2. 牛受精卵移植における技術継承

家畜保健衛生所 小林崇之 西川清文

はじめに

家畜保健衛生所（家保）では、昭和63年度から「牛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。これまでの関係者の努力により平成30年度には受胎3,000頭を達成するなど、今では畜産農家にとってなくてはならない技術として広く活用されている（図1）。

しかし近年、技術者の不足や業務の多様化により、後任の担当者への技術継承を行うことが困難な場合がある。後任の担当者の技術や経験が不足している場合、受胎率や依頼・移植頭数の減少を引き起こし、これらの改善には時間を要することが多い（図2）。

そのようななか、令和元年度、今後のET業務を担うであろう若手技術者が赴任してきたことから、ET担当者の円滑な交代に向けて若手技術者への技術継承に取り組んだ。

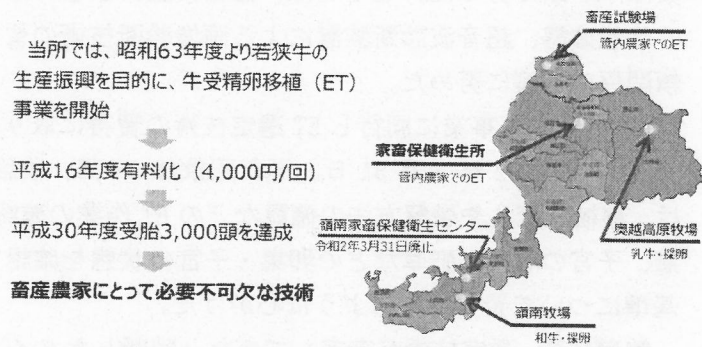


図1 はじめに

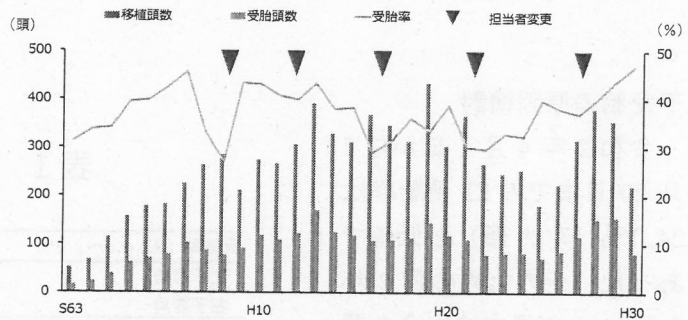


図2 ET受胎率の推移

技術継承に向けて

ETの手順として、最初に農家からETの依頼を受け、移植前検査を実施する。次に移植前検査の結果、移植可能と判断した場合のみ移植を実施。最後に移植実施後30日以降に、妊娠鑑定を実施し、受胎・不受胎を確認する手順となっている。そこで技術継承のため、移植におけ



図3 技術継承に向けて

る基本技術である、①繁殖技術、②選定技術、③移植技術の習得に向けて取り組むこととした（図3）。

まず、繁殖管理指導および肉牛衛生指導事業に同行し繁殖技術の習得に向けて取り組んだ。実施期間は、令和元年6月1日～令和2年3月31日、同行回数は45回、検診延べ頭数は705頭であった。ここでは、直腸検査による卵巣・子宮の診断技術、膣鏡による膣内の状態確認、超音波診断装置による画像診断技術の習得に取り組み、特に畜産農家との信頼関係の構築に努めた。

並行してET事業に同行しET選定技術の習得に取り組んだ。実施期間は、令和元年6月1日から令和2年3月31日、同行回数は23回、検診延べ頭数は31頭であった。ここでは、移植の流れや融解方法の確認などのET作業の確認、黄体サイズや触感、共存卵胞の有無、子宮の収弾、肥厚などの卵巣・子宮の状態を確認し、ET実施可能か、不可能かの判断基準について習得できるように心がけた。

繁殖技術、選定技術が安定してきたと判断したタイミングでETを実施し、移植技術の習得に取り組んだ。実施期間は、令和2年4月1日から7月20日、移植実施頭数は29頭であった。ここでは、凍結受精卵の融解方法の再確認、衛生意識、選定技術の再確認、移植器の操作方法、子宮の操作方法などの習得にむけて取り組んだ。

不受胎の原因検討

令和2年4月1日から7月20日までのET受胎率は24.1%（7/29頭）と低値であった。そのため令和2年7月21日に課内検討会を開催し不受胎の原因を検討することとした。

令和2年4月1日から7月20日までの若手技術者および中堅技術者の受胎率

表1 受胎率の比較

受胎率 (R2.4.1~7.20)	若手技術者	中堅技術者
		24.1% (7/29頭)
左子宮角	18.2% (2/11頭)	42.1% (8/19頭)
右子宮角	27.8% (5/18頭)	43.8% (10/23頭)
乳用種 経産牛	25.0% (4/16頭)	44.4% (12/27頭)
乳用種 未経産牛	25.0% (1/4頭)	40.0% (2/5頭)
交雑種 経産牛	33.3% (1/3頭)	20.0% (1/5頭)
交雑種 未経産牛	0.0% (0/1頭)	60.0% (3/5頭)
黒毛和種 経産牛	20.0% (1/5頭)	—

→ 全体的に受胎率が低いので技術的な問題があると判断

を示した（表1）。全体の受胎率を比較したところ、中堅技術者が42.9%であったのに対し、若手技術者は24.1%と約20%低い傾向にあった。またET部位の左右差を比較してみると、中堅技術者の左子宮角および右子宮角の受胎率は42.1%、43.8%とほぼ差がなかったのに対し、若手技術者の左子宮角および右子宮角の受胎率は18.2%、27.8%と左右で約10%差があり、子宮角への移植器の操作方法に改善の余地あると考えられた。品種差を比較したところ、主な依頼牛である乳用種経産牛の受胎率が低かったが、それ以外は例数が少ないことからはっきりとした差は認められなかった。これらのことから、不受胎の原因は、移植における技術的な問題であると推察された。そこで、技術的な問題を把握するために中堅技術者と若手技術者の技術的な違いについて検討した結果、選定技術や受精卵の融解方法、衛生意識など目に見える部分での問題は認められなかった。そこで、子宮の操作方法、受精卵の注入部位および受精卵の注入スピードと目に見えない部分の違いについ

て違いがあると推察し、臓器を用いた再確認を実施した（図4）。

臓器を用い違いを検討したところ、移植器を挿入しているときの子宮のハンドリング位置が若手技術者のほうが浅いことが判明した。またその位置で移植器の内筒を挿入するため移植器の先端が子宮角深部まで到達しておらず、中堅技術者と比較して5~6 cm浅い位置であることが判明した（図5）。次に受精卵の注入スピードを比較したところ、中堅技術者は約10秒かけてゆっくりと注入していたためストロー内への液の残留は認められなかったのに対し、若手技術者は約1秒と素早く注入していたためストロー内に多数の液が残留しており、受精卵が残留している可能性があることが考えられた（図6）。これらの結果から、移植器の挿入時の子宮ハンドリング位置を手のひら1つ分奥に修正し、それに伴い移植器の内筒注入部位を5~6 cmほど子宮角深部に修正した。また受精卵の注入スピードを液の残らない様に約10秒に設定し、移植に取り組むこととした。

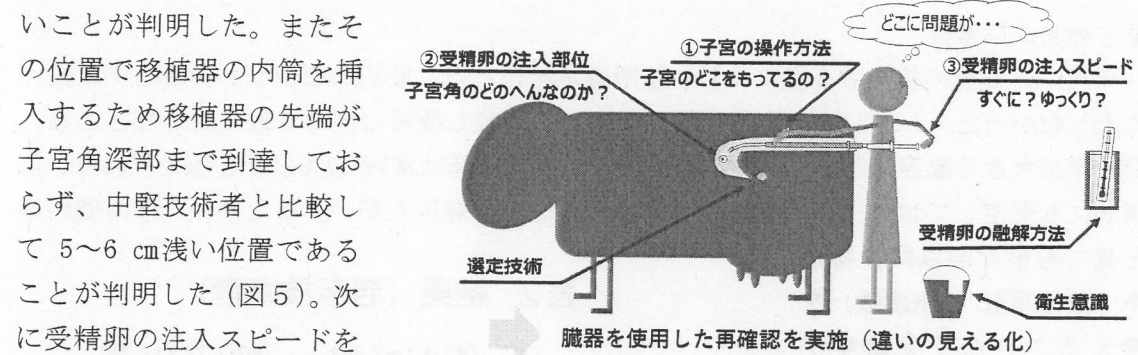


図4 技術的な問題

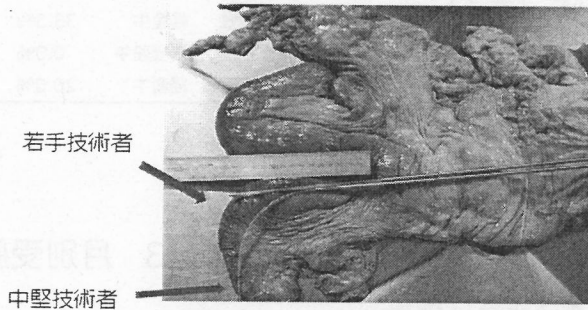


図5 再確認（受精卵の注入部位）

結果

若手技術者の ET 成績を表2に示した（表2）。移植方法の改善に取り組んだ結果、受胎率は24.1% (7/29頭) から60.0% (24/40頭) に向上した。左右差を比較したところ、左子宮角の受胎率は18.2% (2/11頭) から75.0% (9/12頭)、右子宮角は27.8% (5/18頭) から53.6% (15/28頭) に改善した。品種差を比較したところ、ほぼすべての品種で成

結果

若手技術者の ET 成績を表2に示した（表2）。移植方法の改善に取り組んだ結果、受胎率は24.1% (7/29頭) から60.0% (24/40頭) に向上した。左右差を比較したところ、左子宮角の受胎率は18.2% (2/11頭) から75.0% (9/12頭)、右子宮角は27.8% (5/18頭) から53.6% (15/28頭) に改善した。品種差を比較したところ、ほぼすべての品種で成

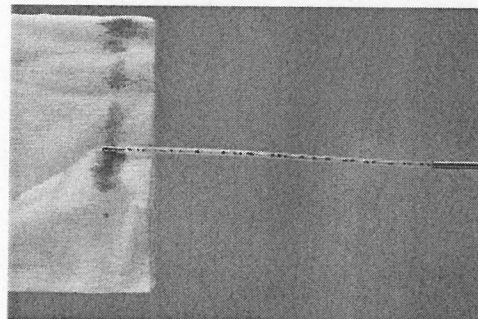


図6 再確認（受精卵の注入スピード）

績が向上した。

まとめおよび考察

今回、ET業務の担当者変更に向け、技術継承を行った。最初はなかなか受胎せず成績は向上しなかった。しかし検討会を実施し問題点を検証し改善に向けて取り組んだところ、受胎率が大きく改善した。月別受胎率を見ても8月以降は常時50%以上を超えており、技術的にも安定しており、今では畜産農家からの信頼・信用も高い。また家保全体の受胎率を見ても検討会以降、移植率（移植頭数/依頼頭数）を変えずに受胎率が35.1%から60.6%に改善したことから、若手技術者の技術改善が大きな要因であると考えられた（表3）。これらのことから臓器を用いた技術の再確認は、通常比較することができない部分を視覚的に把握できることから非常に有効であると考えられた。

技術の継承は非常に重要である。技術継承することでより発展していくと考えられる。これからもETを活用し県内の若狭牛の生産振興の一助となるよう努めていきたい。

表2 結果（若手技術者）

	(R2.4.1~7.21)	(R2.7.22~12.28)
全体	24.1% (7/29頭)	60.0% (24/40頭)
左子宮角	18.2% (2/11頭)	75.0% (9/12頭)
右子宮角	27.8% (5/18頭)	53.6% (15/28頭)
乳用種 経産牛	25.0% (4/16頭)	60.9% (14/23頭)
乳用種 未経産牛	25.0% (1/4頭)	25.0% (1/4頭)
交雑種 経産牛	33.3% (1/3頭)	100% (4/4頭)
交雑種 未経産牛	0.0% (0/1頭)	100% (1/1頭)
黒毛和種 経産牛	20.0% (1/5頭)	50.0% (4/8頭)

表3 月別受胎率および受胎率

月別受胎率（若手技術者）			受胎率（家保）		
	受胎率（%）			R2.4~7.20	7.21~12.28
8月	60.0	(3/5頭)	依頼頭数	118	106
9月	66.7	(6/9頭)	移植頭数	77	71
10月	58.3	(7/12頭)	移植率	65.3	67.0
11月	50.0	(2/4頭)	受胎頭数	27	43
12月	62.5	(5/8頭)	受胎率	35.1	60.6

3 肉用牛衛生指導事業および受精卵移植を活用した経営改善支援

家畜保健衛生所 西川清文 小林崇之

はじめに

本県では肉用牛の伝染性疾病や飼養環境による生産阻害を防止し、生産性の向上を図る目的で、家畜保健衛生所（以下、家保）が肉用牛衛生指導事業（以下、事業）を実施している。事業は、市町からの依頼に基づき計画を樹立したうえで、市町の指定する協力獣医師および関係機関と連携して定期巡回指導を実施、繁殖検査等を行い経営の改善を図っている。

また、本県では昭和 63 年より若狭牛の生産振興を目的に牛受精卵移植（以下、ET）技術を開始し、受胎率の向上と技術の普及を図る目的で受精卵移植技術向上対策事業を実施しており、本事業では ET および適正な飼養管理技術の指導を行っている。

今回、経営状況のおもわしくない肉牛農家にて事業および ET を活用による経営改善支援の取り組みについて報告する。

経緯および農家概要

令和 2 年 6 月、管内の肉用牛農家から繁殖状況について相談を受けた旨、担当普及指導員から情報提供があった。併せて当該農家から事業について要望を受けた市担当者より事業実施依頼があった。

当該農家は平成 29 年までは和牛繁殖および肉用牛肥育（主に交雑種）経営を行っていたが、平成 30 年頃より経営難となり、飼養頭数が減少していた。また同年より経営を現飼養者が父親から引継ぎ、飼養管理を行っていたが、畜産業のみで生計を立てるのは困難で、他の仕事を兼務している状態であった（表 1）。

家保は平成 29 年までは事業で繁殖管理、体重測定などを行っていたが、平成 30 年より前飼養者の意向で事業を休止していた。平成 30 年以降は、家保に年間数頭の ET 依頼がある状況であり、定期の巡回指導は実施していなかった。

表 1 農場概要

月日	農家	家保
～平成 29 年	和牛繁殖 および 肉用牛（交雑種）肥育経営	肉用牛衛生指導事業
平成 30 年	経営難 頭数減少 現飼養者（息子）に経営継承	事業休止
令和 2 年 6 月		事業再開依頼

* 平成30年以降は年間数頭のET依頼のみ

事前協議

令和 2 年 7 月 10 日、事業を始めるにあたり、事前協議を管内農林総合事務所にて行った。参集者は、家保職員、普及指導員、農場担当臨床獣医師（以下、臨床獣医師）であり、飼養頭数、飼養者の意向などを聞いた上で今後の農場の方向性について話し合った。

10日現在、飼養者は繁殖用黒毛和種2頭、繁殖用交雑種4頭、肥育用黒毛和種2頭、育成雌牛1頭、育成雄牛1頭を飼養していた。飼養者は現在、他の仕事を兼務しているが、今後は畜産業のみで生計を立てたいという意向があり、繁殖と肥育の一貫経営を希望していた。しかし、家保職員、臨床獣医師、普及員の意見では、現在の飼養者の技術では一貫経営を行うのは困難であり、繁殖経営に専念すべきだということであった。協議の結果、当面は繁殖経営に専念し、子牛が安定的に生産できる技術を飼養者が取得後に、子牛育成、肥育と段階を踏んでいくこととした。

繁殖経営を行っていくにあたり、農場の繁殖設備を確認したところ、精液、精液保存用ポンプ、授精器は所持していなかった。また、家畜人工授精師の免許も持っていなかった。そのため、最低限の設備として精液と精液保存用ポンプは購入するよう指導した。交配手法としては、臨床獣医師と調整し、黒毛和種は臨床獣医師が人工授精（以下、AI）を、交雑種は家保がETを実施する事とした。

事前調査

令和2年7月21日、家保職員、臨床獣医師、普及員が参集し、飼養者立ち合いの下、農場にて事前調査を行った（図1、2）

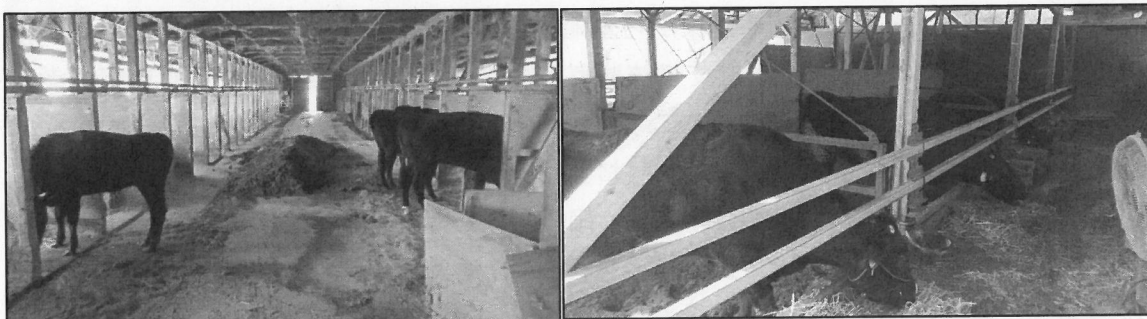


図1 牛舎内観（主に交雑種飼養）

図2 牛舎内観（黒毛和種飼養）

繁殖状況調査で繁殖牛6頭中、2頭の受胎を確認した（表2）。この2頭は令和2年3月および6月に家保がETした牛であった。空胎牛には、月齢の経った未経産牛や高齢で長期空胎の牛がいた。これらの牛は通常なら廃用・淘汰対象牛であるが、飼養者がこれらの牛で繁殖を始めたいという強い意向があった。そのため、一刻も早く受胎させる必要があった。しかし、精液や保存用ポンプを飼養者が保有していない状況であったため、臨床獣医師と相談し、今年度は家保が繁殖牛全頭をETすることとした。

表2 繁殖牛状況 (R2. 7. 21 時点)

No.	種類	生年月日	最終分娩	月齢	分娩後日数(日)	ET月日	ET回数	妊娠判定
1	交雑種	H29. 5. 30	R2. 1. 5		198	R2. 6. 30	2	?
2	交雑種	H29. 5. 22	未経産	37. 0		R2. 6. 12	1	○
3	交雑種	H29. 6. 27	未経産	36. 8				
4	交雑種	H29. 8. 19	未経産	35. 1		R2. 3. 30	1	○
5	黒毛和種	H23. 1. 9	R1. 12. 27		207		1	
6	黒毛和種	H24. 1. 15	H30. 7. 18?		714?			

肥育牛2頭(表3)は栄養状態が悪く、月齢も経っており肥育を続けるのは困難と判断し、廃用処分とした(図3)。育成牛(表3)について、飼養者は雄を肥

表3 肥育牛および育成牛飼養状況

No.	飼養区分	種類	生年月日	雌雄	月齢(ヶ月)
7	肥育	黒毛和種	H30. 4. 9	メス	26. 2
8			H30. 9. 6	オス	22. 7
9	育成	黒毛和種	R1. 12. 27	オス	7. 0
10			R2. 1. 5	メス	6. 7

育用、雌を繁殖用として飼養することを希望していたが、現状では繁殖候補牛を適正に飼養して繁殖牛とすることが困難であると推定されたことから、肥育用の牛と共に、肥育農家へと出荷した。

また今回の事前調査で、すべての牛で栄養状態が悪かったことから、現在の餌の種類および給餌量を調査したところ、粗飼料にクレイグラスを1頭あたり1日約4kg給与しており、粗飼料が不足していた。そのため、粗飼料の種類および給与量の変更を指導し、バミューダストローとスーダンを混合したものを1頭あたり1日約7kg給与することにした。

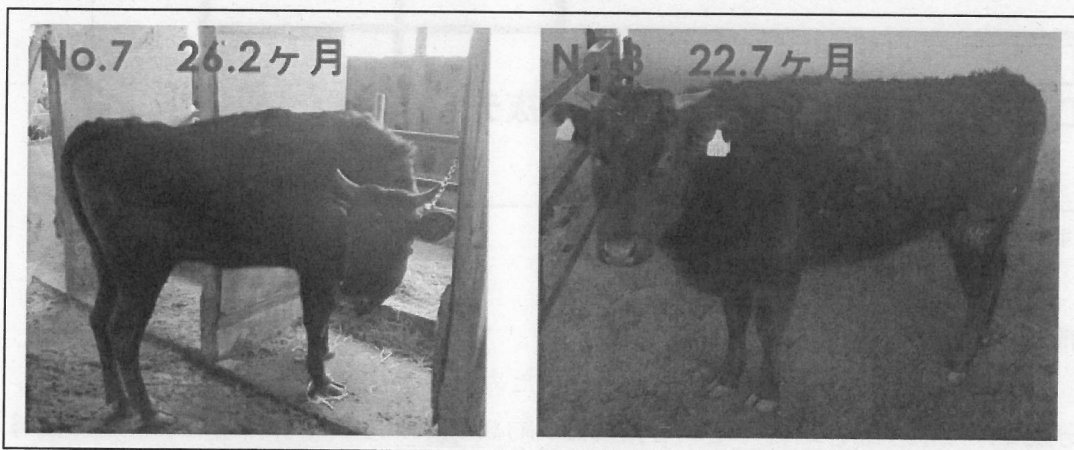


図3 肥育牛2頭写真および月齢

事業およびET実績

令和2年8月より隔月で事業を開始し、計3回実施した(8月、10月、12月)(図4)。ETは発情に応じて随時実施した。令和2年6月以降のET実績は、12回依頼があり、うち8回ETを実施した。



図4 事業での指導の様子

事業開始後の繁殖およびET結果

10月の事業で繁殖牛6頭全頭の受胎を確認した。ETでの受胎率は8月後半から向上がみられた(表4)。これは7月の事前調査での飼養管理指導によって栄養状態が回復したためと考えられた。また、黒毛和種1頭(No.5)について、発情が見つけられなと飼養者から相談があったため、臨床獣医師と相談して膈内留置型プロジェステロン製剤(CIDR)を用いた定時ETを実施し(図4)、受胎を確認した。

表4 繁殖牛月別成績

	6月	7月	8月	9月
No.1(交雑種)	×	×	×	○
No.2(交雑種)	○			
No.3(交雑種)	×	×	○	
No.5(黒毛和種)	×	—	—	○
No.6(黒毛和種)	—	○		

○ ET受胎 × ET不受胎および中止 — 依頼なし

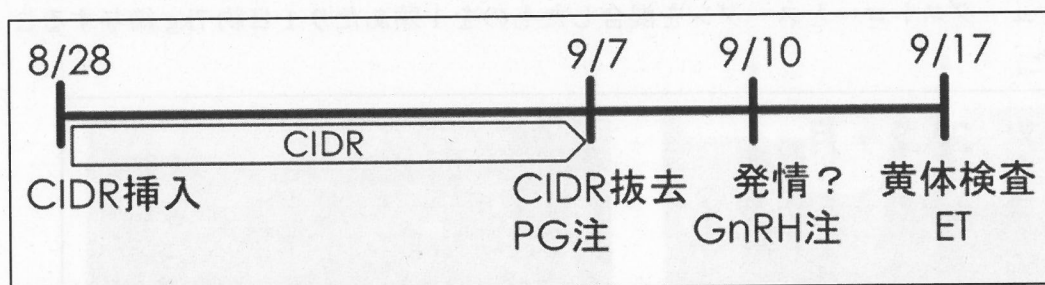


図4 定時ETプログラム

分娩前後の飼養管理指導

10月の事業で繁殖牛全頭の受胎を確認したため、分娩前後の飼養管理指導を実施した。分娩2カ月前の配合飼料の増飼を指導し、約0.7kgから2kgまで増やすように指導した。また、分娩後の子牛は、肥育農家より哺乳バケツからの哺乳が購入の条件となっていたため、親牛からすぐに離して人工哺乳を行うこととした。出生後3日までは人工初乳製剤を給与し、3日目以降は和牛用の代用乳を給与することとした。また、哺乳器具の洗浄法などの指導を行った。その結果、令和3年1月1日に子牛が安産で生まれ

た。子牛の発育は順調で、3月3日に無事に肥育農家へと出荷された。

導入牛への飼養衛生および繁殖指導

令和2年12月、当該農場に県営牧場より育成雌牛2頭導入(図5)があった。そこで、育成牛に対する指導を2月の事業にて行った。飼養衛生指導として、濃厚飼料と粗飼料の給与量を指導し、濃厚飼料は1頭当たり1日3kg、粗飼料は飽食することとした。



図5 県営牧場より導入された育成雌牛2頭

2月の事業時点で繁殖開始適齢期の育成牛に対しては、直腸検査で子宮と卵巣の状態確認を行った。また、飼養者は精液保存用ポンベを購入しており、本来黒毛和種はAIを行う予定であったことから、これら候補牛には発情時にAIを実施すべく、血統に応じた種雄牛の選定指導を実施した。

まとめと今後の予定

経営状況が悪化していた肉用牛農家において、事業およびETを活用し、繁殖農家として新たなスタートを切る支援を行った。①農家の現状を確認し、飼養継続牛と出荷対象牛を選別した。②牛の栄養状態が不良であったことから、乾草給餌量の指導を実施した。③AI実施の設備が揃わない中で、早期受胎が求められたことから、繁殖対象牛について全頭ETを実施。うち1頭は定時ETを活用するなどして、10月までに全頭受胎した。④分娩前後の母牛と生まれた子牛の飼養管理の指導を行った。その結果、1月に子牛が安産で生まれ、病気をすることなく3月に肥育農家と出荷された。⑤12月に繁殖候補育成牛2頭導入があったため、その飼養管理および繁殖管理指導を行った。

家保は事業およびETを活用して当該農家の支援を続ける予定である。分娩後の繁殖牛および導入牛に対する発情を飼養者が確認し、自らAIできるようになるのが第一段階の目標であり、当面は繁殖経営に専念してもらい、子牛が安定的に生産できるようになったら、子牛育成、肥育と進んでいき、最終的には一貫経営を目指してもらいたい。



演劇教育の発展に力を尽くす演藝各団の発展に力を尽くす演劇教育者の手記

演劇教育の発展に力を尽くす演藝各団の発展に力を尽くす演劇教育者の手記

演劇教育の発展に力を尽くす演藝各団の発展に力を尽くす演劇教育者の手記

演劇教育の発展に力を尽くす演藝各団の発展に力を尽くす演劇教育者の手記

4 採卵養鶏農家の鶏舎環境におけるサルモネラ属菌検出状況

家畜保健衛生所 池田知嘉子

はじめに

鶏舎環境中にサルモネラ属菌（サルモネラ）が存在する場合、卵の表面に付着して直接的に、またそのサルモネラに感染した鶏を介して間接的に、卵がサルモネラに汚染される可能性がある。

当所では、家きん衛生指導事業の一環として、鶏卵の安全性確保とサルモネラ汚染状況調査のために、年に2回の採卵養鶏農家立入り時に鶏舎から塵埃を採取し、サルモネラ検査を行っている。

今回、サルモネラ検査成績から、県内採卵養鶏農家におけるサルモネラの検出状況を取りまとめた。

調査方法

平成9年4月から令和2年11月までの、塵埃を検体としたサルモネラ検査成績を対象とした。総検査数は1207件、うちサルモネラが検出された検査数は51件であった。

これらから、年度ごとの検査農家戸数と、年度ごとの陽性率（サルモネラが一度でも検出された農家戸数/検査農家戸数）を調べた。

加えて、飼養規模、飼養形態、検出時期ごとの平均陽性率を調べた。飼養規模ごとでは年度ごとの検査農家を1万羽未満飼養農家と1万羽以上飼養農家に分け、飼養形態ごとでは、開放鶏舎で飼養する農家とウィンドレスまたはセミウィンドレス鶏舎（WL/SW舎）で飼養する農家に分けた。検査時期ごとでは、春夏の上半期、秋冬の下半期で検査した農家戸数から平均陽性率を算出した。

また、調査期間中に検出されたサルモネラの血清型を調べた。

調査結果

家きん衛生指導は100羽以上飼養農家へ立入りを実施するが、廃業や開業などにより、年度ごとの検査戸数は最多33戸、最少20戸であった（図1）。

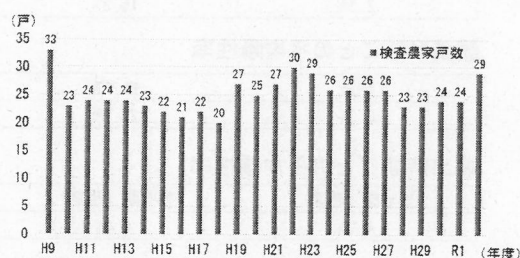


図1 年度ごとの検査農家戸数

陽性率は平成11年度で20%を超えたが、平成17年度からは0%の年度がみられ、サルモネラが検出された年度でも10%未満を示した。陽性率の平均は5.7%であった。日本養鶏協会による平成16年度の全国調査では陽性率は23.5%〔1,2〕で、県の陽性率は

全てこれを下回った（図 2）。

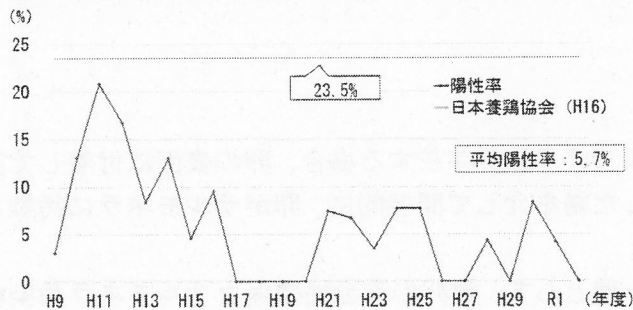


図 2 年度ごとの陽性率

飼養規模ごとの平均陽性率は、1 万羽未満飼養農家で 2.3%、1 万羽以上飼養農家で 15.3%であった。飼養形態ごとでは、開放鶏舎で飼養する農家が 3.3%、WL/SW 鶏舎で飼養する農家が 28.8%だった。検出時期ごとでは、上半期が 4%、下半期が 4.4%だった（表 1）。

調査期間中に検出されたサルモネラは、計 13 種、51 件検出されていた。内訳としては *S. Infantis* が 6 件、*S. Enteritidis* (SE) が 5 件、*S. Typhimurium* (ST)、*S. Agona*、*S. Thompson*、*S. Montevideo* が 2 件、*S. Mbandaka*、08 群、013 群、018 群が 1 件、菌名が同定されなかった 04 群、07 群、血清群不明のものを合わせた「その他」が 28 件であった（表 2）。

表 1 飼養規模、飼養形態、
検出時期ごとの平均陽性率

飼養規模ごとの平均陽性率	
1 万羽未満	1 万羽以上
2.3%	15.3%

飼養形態ごとの平均陽性率	
開放	WL/SW
3.3%	28.8%

検出時期ごとの平均陽性率	
上半期（春夏）	下半期（秋冬）
4.0%	4.4%

表 2 検出サルモネラの内訳

菌名	検出数（件）
<i>Infantis</i>	6
<i>Enteritidis</i>	5
<i>Typhimurium</i>	2
<i>Agona</i>	2
<i>Thompson</i>	2
<i>Montevideo</i>	2
<i>Mbandaka</i>	1
08 群	1
013 群	1
018 群	1
その他（04 群、07 群、血清群不明）	28
	51

飼養規模および飼養形態の平均陽性率について、比較をした中で、1 万羽以上飼養かつ WL/SW 舎の農家 2 戸が、全検査農家の中でも検出回数が多かったことから、この 2 戸を A 農家、B 農家として検出状況を調査した。

対象農家の概要として、飼養羽数は A 農家が約 20 万羽、B 農家は約 5 万羽だった。

ともに WL/SW 舎で飼養していた。サルモネラの検出回数は、A 農家では 60 回検査したうち 18 回、B 農家では 42 回検査したうち 6 回検出されていた。

A 農家では、平成 11 年から 16 年にかけて毎年サルモネラが検出されていた。検出されたサルモネラは全 9 種で、SE と ST も検出されていた。

平成 13 年度で、計 4 回の検査のうち 3 回目と 4 回目で ST が検出された。農家が洗浄、消毒を実施するにあたり、家保も積極的に関与したものの、十分な消毒効果は得られなかったと考えられた。しかし、連続して同じ血清型がみられたのはこのときのみで、以降は異なる血清型が検出された（表 3）。

B 農家では、検出されたサルモネラは全 4 種で、SE と ST の検出はなかった。同一の血清型による連続した検出はみられなかった（表 4）。

表 3 A 農家における検出状況

菌名	検出された年度
Typhimurium	H13 (計4回検査のうち3,4回目で検出)
Enteritidis	H12, H16
Montevideo	H14
Infantis	H24
Agona	H12, H13
O13群	H30
その他 (O4群、O7群、血清群不明)	H9, H11, H12, H13, H14, H15, H16

表 4 B 農家における検出状況

菌名	検出された年度
Infantis	H21, H22, H24
Mbandaka	H12
その他 (O7群、血清群不明)	H11, H14

まとめ

年度ごとの陽性率について、県の陽性率が平成 16 年における日本養鶏協会の結果を下回っていることから、福井県のサルモネラ汚染レベルは全国と比較して低いと考えられた。また、平成 17 年度以降から陽性率が低下したことについて、平成 16 年に国内で 79 年ぶりの鳥インフルエンザ発生による農家の防疫意識の向上と、飼養衛生管理基準施行に伴う指導の強化が要因と推察した。平均陽性率について、飼養規模では 1 万羽以上飼養農家で、飼養形態では WL/SW 舎による飼養で平均陽性率が高い傾向がみられた。一方で、検査時期による差はみられなかった。検出されたサルモネラのうち、SE と ST の割合は 13.7%であった。これは、愛知県の平成 4 年から 7 年までのデータ 46.1%と比較すると低値を示した [3]。

A 農家で検出されたサルモネラの種類が多いこと、平成 13 年度以降の A 農家、そして B 農家で、同じサルモネラ血清型による連続した検出がみられなかったことから、この 2 戸で、洗浄消毒の指導にも関わらず発生する原因として、洗浄消毒が不十分というより、長靴等の消毒の不十分など衛生管理の不徹底やネズミなど外部からの侵入といった要因が大きいと推察された。

今後も飼養衛生管理の遵守または改善の指導を行い、サルモネラ汚染レベルを低レベルに保ち、検出状況の調査を継続し、県内の採卵養鶏場の安全確保に取り組みたい。

参考文献

- [1] 一般社団法人日本養鶏協会. 「サルモネラ感染防止のマニュアル」.
<https://www.jpa.oa.jp/news/gyosei/18_se/03.html>, (参照 2021-3-10)
- [2] 島田英明. 「農場のサルモネラ汚染推移」. ADI, vol.18, (2020)
<<https://www.kmbiologics.com/vet/adi/>>, (参照 2021-3-10)
- [3] 兼子松義ら: 採卵養鶏場で分離されたサルモネラの薬物感受性ならびにプラスミドの保有状況についての一考察. 鶏病研究会, 32, 201-207 (1996)

5 二酪農場で発生した G8P[14] 遺伝子型ロタウイルス A による成牛のロタウイルス病
家畜保健衛生所 清水誠也

はじめに

ロタウイルス (RV) はレオウイルス科に属する 2 本鎖 RNA ウイルスで人を含む多くの哺乳類や鳥類に下痢症を引き起こす。ゲノムは 6 種の構造蛋白質 (VP1~4, VP6, VP7) と 6 種の非構造蛋白質 (NSP1~6) をコードする。抗原性は内殻蛋白質 VP6 により A~H の群に分類されており、牛では主に A, B, C の群が感染する。A 群は主に子牛の下痢症として知られており、成牛での報告は少ない。遺伝子型は血清型と相関し、外殻蛋白質の VP7 と VP4 の塩基配列によりそれぞれ G、P 遺伝子型に分類され、G 遺伝子型で 27 種 (G1~G27)、P 遺伝子型で 37 種 (P[1]~[37]) が報告されている。

今回、県内同一地域の二酪農場において、同時期に RVA による成牛下痢症が発生したのでその概要を報告する。

発生概要

【A 農場】

飼養頭数 40 頭前後の酪農場で、飼養形態は搾乳舎がタイストール、育成舎がフリーストールだった。令和 2 年 9 月 29 日、県外よりホルスタイン 3 頭を育成舎に導入した。10 月 1 日、導入牛 1 頭を搾乳舎に移動させると、10 月 3 日に移動した牛の 2 枠隣の初産牛とその隣の未経産牛、導入牛の通路を挟んだ向かいの枠の初産牛が下痢を呈した。初産牛は食欲あり、乳量の低下はみられず、未経産牛は軽度の食欲不振がみられた。10 月 6 日下痢便 1 検体で病性鑑定依頼があり検査を実施した。また、子牛で下痢は認められなかった。

【B 農場】

飼養頭数 25 頭の対頭および対尻式タイストールの酪農場。10 月 7 日、搾乳牛 1 頭が下痢を呈したが治療後に回復した。10 月 10 日、搾乳牛 1 頭で水溶性下痢、食欲不振、乳量低下を呈し、初発の牛と同様の治療を行ったが回復しなかった。10 月 12 日、搾乳牛 4 頭で同様の症状を呈し、家保に病性鑑定依頼があり検査を実施した。また、子牛で下痢は認められなかった。

材料および方法

【材料】

A 農場からは下痢症の牛 1 頭の下痢便、B 農場からは下痢症の牛 5 頭と正常牛 2 頭の糞便およびプレ・ポスト血清を材料とした。

【細菌学的検査】

B 農場のプレ血清を用いヨーネ病抗体検査をヨーネライザ・スクリーニング KS (共立製薬株式会社) で実施した。サルモネラ検査として二農場の糞便材料をハーナテトラチオン酸塩培地で 37°C24 時間培養後、DHL 寒天培地で 37°C24 時間培養しコロニーの観察を実施した。

【寄生虫検査】

二農場の糞便材料を用いて飽和食塩水によるマックマスター法を実施した。クリプトスポリジウム検査を DipFit Cryptosporidium sp (コスモ・バイオ株式会社) で実施した。

【ウイルス学的検査】

二農場の糞便を用い簡易ロタ A 検査をディップスティック ‘栄研’ ロタ(栄研化学株式会社)で実施した。遺伝子検査については、10%糞便乳剤から QIAamp Viral RNA Mini Kit(QIAGEN)で RNA を抽出し、RVA、RVB、RVC、牛コロナウイルス(BCoV)、牛トロウイルス(BToV)、牛ウイルス性下痢ウイルス(BVDV)の特異遺伝子の検出を Fukuda らの方法[1]で One-Step RT-PCR Kit(QIAGEN)を用いて実施した。

抗体検査についてはプレ・ポスト血清について、BCoV, BToV, BVDV1, BVDV2 は中和試験、RVA は Goat anti-Bovine IgG(H+L)-FITC labeled(KPL)を用いて間接蛍光抗体法にて実施した。

ウイルス分離については二農場の糞便乳剤を遠心、上清を 0.45 μ m フィルターでろ過し、10 μ g/ml トリプシンを添加後 37°C30 分感作したものを材料として、アカゲザル腎由来株化細胞(MA104 細胞)に接種し 37°C1 時間吸着、洗浄後、1 μ g/ml トリプシン添加維持培地を加え回転培養で 3 代継代した。分離の有無は細胞変性効果、RT-PCR、ポリアクリルアミドゲル電気泳動(PAGE)で確認した。

糞便および分離ウイルスから抽出した RNA について PAGE を実施した。

二農場の糞便抽出 RVA について VP4 および VP7 遺伝子のシークエンスおよび系統樹解析を農研機構動物衛生研究部門に依頼した。

結果

細菌学的検査および寄生虫検査は全て陰性だった。

簡易ロタ A 検査は下痢を呈した両農場の牛において陽性だった。遺伝子検査の結果、両農場で RVA 遺伝子が検出され、その他のウイルス遺伝子については検出できなかった。また、下痢を呈さず、簡易検査陰性でも遺伝子が検出された検体も認められた(表 1)。

表 1 ロタ A 簡易検査および遺伝子検査結果

牛No.	下痢	簡易 ロタA	RT-PCR					
			RVA	RVB	RVC	BCoV	BToV	BVDV
A 1	+	+	+	-	-	-	-	-
B 1	+	+	+	-	-	-	-	-
B 2	+	+	+	-	-	-	-	-
B 3	+	+	+	-	-	-	-	-
B 4	+	+	+	-	-	-	-	-
B 5	+	+	+	-	-	-	-	-
B 6	-	-	-	-	-	-	-	-
B 7	-	-	+	-	-	-	-	-

+ : 陽性 - : 陰性

B農場のプレ・ポスト血清を用いた抗体検査の結果、下痢の有無に関わらず、RVA に対してのみ抗体価の上昇が認められ、6/7検体でポスト血清の抗体価が1280以上だった(表2)。

表2 B農場の抗体価

牛No.	下痢	RVA		BCoV		BToV		BVDV1		BVDV2	
		pre	post	pre	post	pre	post	pre	post	pre	post
B 1	+	160	1280<	64	64	256<	256<	<2	<2	<2	<2
B 2	+	40	1280<	64	256	256	256	<2	<2	<2	<2
B 3	+	40	1280<	256	128	64	128	<2	<2	<2	<2
B 4	+	80	1280<	128	128	128	256	<2	<2	<2	<2
B 5	+	40	1280<	32	64	256<	256<	<2	<2	<2	<2
B 6	-	20	160	256	128	64	32	<2	<2	<2	<2
B 7	-	160	1280<	64	64	64	128	<2	<2	<2	<2

二農場の糞便を MA104 細胞で 3 代継代した結果、細胞変性効果 (CPE) が確認された (図 1, 2)。また、CPE が確認された細胞の上清から抽出した RNA を用い、RT-PCR, PAGE を実施した。結果、RT-PCR は陽性で、PAGE では二農場とも同一の RVA に特徴的な 4, 2, 2, 2 のパターンを示した (図 3)。VP7 および VP4 の遺伝子系統樹解析の結果、VP7 については両農場とも G8 遺伝子型で、農場間の類似性は 100% だった (図 4)。VP4 については両農場とも P[14] 遺伝子型で、農場間の類似性は 83.9% だった (図 5)。

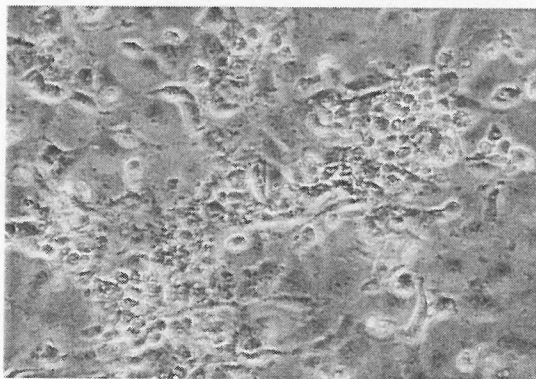


図1 A農場糞便でCPE確認

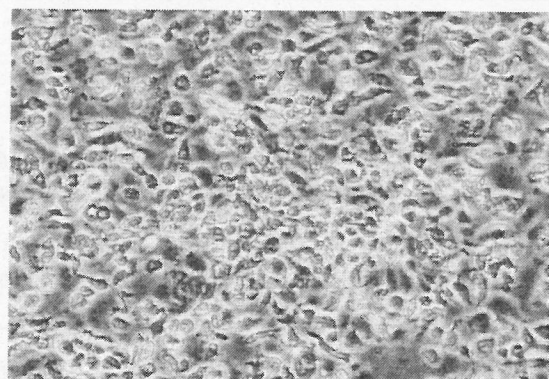


図2 B農場糞便でCPE確認

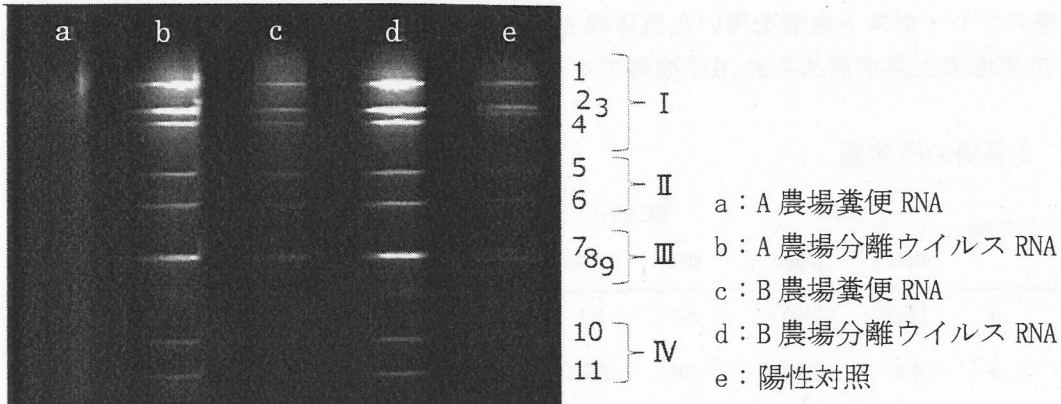


図3 PAGE

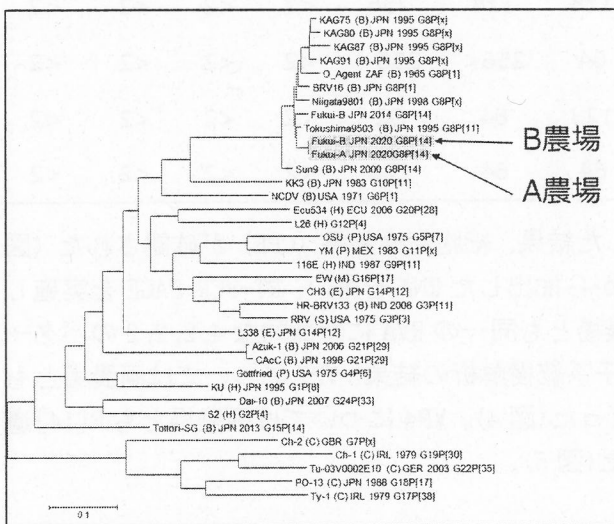


図4 VP7の遺伝子解析

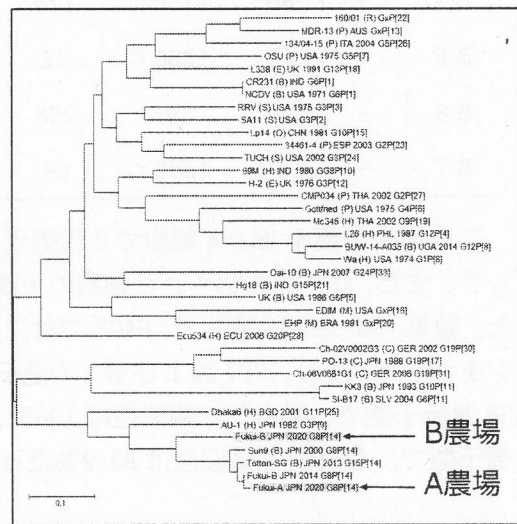


図5 VP4の遺伝子解析

まとめ・考察

今回、同地区の二農場で同時期に RVA による成牛の下痢症が発生し、遺伝子検査で RVA 遺伝子のみが検出され、B農場の抗体検査では RVA に対する抗体価のみ上昇が認められた。また分離された RVA の遺伝子型は二農場とも G8P[14] で、VP7 および VP4 遺伝子配列の類似性はそれぞれ 100% および 83.9% だった。下痢発生当初は、何らかの要因で A 農場から B 農場へ RVA が伝播し、感染が二農場に広がったと考えた。しかし、遺伝子解析の結果、二農場で確認された RVA の VP4 遺伝子配列の類似性は 83.9% で由来が異なることが示唆された。

RVA は子牛に対して病原性が強いとされており、子牛の下痢症の原因となる遺伝子型は G6P[5], G10P[11], G6P[11], G10P[5] が多いという報告がある[2]。国内での RVA による成牛下痢症の遺伝子型と子牛での下痢の有無を表3にまとめた[3-13]。今回同定された G8P[14] 遺伝子型は 2014 年にも当県で分離されており、また、全国的にも多く確認されている遺伝子型であることがわかった。過去の報告で G8P[14] 遺伝子型は子牛には病原性を示さないことが示唆されており[10]、今回も子牛の下痢は認められなかった。G8P[14] 遺伝子型 RVA と同定された羽生らの報告[12]では、子牛に軟便を認めたが、RVA との関与は明らかにされなかった。その他の遺伝子型でも成牛にのみ下痢症を引き起こすものが確認されており、

成牛に強い病原性を示す遺伝子型が存在すると推察された。

表3 国内のRVAによる成牛下痢症

年代	都道府県	飼養形態	遺伝子型	子牛下痢
1997	栃木	乳牛	G8P[1]	無
2001	秋田	乳牛	G6P[1]	無
2006	埼玉	乳牛	G8P[14]	無
2007	栃木	乳牛	G8P[14]	無
2008	富山	乳牛	G6P[11]	不明
2010	福井	乳牛	G6P[11]	有
2013	鳥取	乳牛	G15P[14]	無
2014	福井	乳牛	G8P[14]	無
2014	広島	乳牛	不明	不明
2014	新潟	乳牛,肉牛	G8P[14]	有
2015	鳥取	乳牛	G15P[14]	無
2015	新潟	乳牛	G15P[14]	無 (遺伝子+, 抗体+)
2016	新潟	乳牛	G10P[11]	有
2018	長崎	乳牛	G8P[14]	不明
2020	福井	乳牛	G8P[14]	無

今回、RVAによる成牛下痢症が同地区の二農場で同時期に発生し、原因となったRVAの由来は異なることが示唆された。二農場から検出されたRVA遺伝子のVP7領域の類似性が100%であったことから、過去B農場で成牛下痢を引き起こしたRVA[10]が農場内に常在しており、A農場から伝播したRVAと遺伝子再集合を起こした可能性も考えられる。

ウイルス性下痢に対する治療は対症療法のみで農家からの検査依頼が少ないことが考えられるため、RVAによる成牛下痢症は報告より多く発生している可能性があるかと推察された。

参考文献

- [1] Fukuda M et al : Arch. Virol, 157(6) 1063-1069.
- [2] K Fukai et al: Aust Vet J. 1998 Jun;76(6):418-22
- [3] Sato M et al. : J. Clin. Microbiol. 35, 1266-1268 (1997)
- [4] 小沼成尚ら：日獣会誌 56, 245-248 (2003)
- [5] 福田昌治ら：平成18年度埼玉県家畜衛生業績発表集録, 23-29 (2006)
- [6] Fukai et al. : Vet. Microbiol, 20, 123(1-3), (2007)
- [7] 神吉武ら：平成20年度富山県畜産関係業績発表集録, 36-38 (2008)
- [8] 三竹博道ら：平成22年度福井県畜産技術業績発表集録 (2010)
- [9] 増田恒幸：平成25年度鳥取県畜産技術業績発表集録 (2013)
- [10] 岡田真紀ら：平成27年度東海・北陸ブロック家畜保健衛生行政機発表会集録 (2016)
- [11] 桑山勝ら：広島県獣医学会雑誌, No. 31 (2016)
- [12] 羽生ら：平成27年度新潟県家畜保健衛生業績発表会集録, 37-40(2016)

6 県内1養豚場で分離されたMRSAの性状と農場における対策

家畜保健衛生所 田中知未

はじめに

メチシリン耐性黄色ブドウ球菌 (MRSA) は1960年代に院内感染型MRSA (HA-MRSA) が院内感染の原因として報告された後、1990年代に市中感染型MRSA (CA-MRSA) が、さらに2000年代には家畜に親和性が高く、ヒトにも感染する家畜関連型MRSA (LA-MRSA) が世界中で拡散し、重要視され始めた [1]。特に欧州では養豚場でLA-MRSA が蔓延しており、分離株はMLSTにてST398、*spa* typigにてt011またはt034に型別される [2] [3] [4]。また、LA-MRSAの多くの株が、メチシリンだけではなく、 β -ラクタム系、テトラサイクリン系、マクロライド系薬剤等に耐性を示し、亜鉛耐性遺伝子 (*czrC*) を保有していることが知られている [3] [5]。国内では、2009年および2013年の調査で豚からMRSAが分離されたが、いずれも欧州で流行している遺伝子型とは異なるものであった [6] [7]。しかし、2012年から2013年に50農場の豚を対象とした調査や、2017年に東北地区のと畜場で実施した調査で、ST398のMRSAが分離された [5] [8]。さらに、2016年から2017年に動物検疫所が実施した輸入豚を対象とした調査で、5ヵ国から輸入した32.8%の豚からST398が分離されたことから、国内の養豚場への浸潤が懸念されている [9]。

このような状況の中、本調査で、県内の1養豚場の豚よりMRSAが高率に分離され、農場内に広く浸潤していることが判明した。そこで、分離したMRSAについて性状検査を行うとともに、農場における対策について検討した。

材料および方法

2019年7月から2020年12月に、県内の1養豚場より搬入された病性鑑定豚49頭から採取した鼻腔スワブ49検体を材料とした。

1. 黄色ブドウ球菌の分離・同定

スワブを6.5%NaCl加ミューラーヒントンプイオンで増菌培養後、黄色ブドウ球菌選択分離用培地 (クロモアガー・スタッフアウレウス) で培養した。典型的なコロニーを5%羊血液寒天培地に接種し培養した。分離菌は、グラム染色、試験管法によるカタラーゼ試験、菌種同定PCRにて黄色ブドウ球菌の同定を行った。

2. MRSAの同定

MRSAの同定はセフォキシチン (CFX) のディスク法による薬剤感受性試験、PCR法による *mecA* 遺伝子の検出、およびMRSA-LA「生研」(デンカ株式会社) を用いたスライドラテックス凝集法によるPBP2'の検出を行った。Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) に基づき、CFXの阻止円直径が21mm以下、かつ *mecA* 遺伝子およびPBP2'が検出された株をMRSAと同定した。

3. 薬剤感受性試験

MRSAの薬剤感受性試験はドライプレート「栄研」(DP42) (栄研化学株式会社) を用いた微量液体希釈法により実施した。供試薬剤は、ベンジルペニシリン (PCG)、アンピシリン (ABPC)、セフォキシチン (CFX)、イミペネム (IPM)、バンコマイシン (VCM)、ゲンタマイシン (GM)、エリスロマイシン (EM)、ミノサイクリン (MINO)、

クリンダマイシン (CLDM)、レボフロキサシン (LVFX)、ST 合剤 (ST) とした。試験は CLSI に準拠して実施し、CLSI の規定するブレイクポイント (BP) に基づき判定した。精度管理用の参照菌株は *Staphylococcus aureus* ATCC 29213 を用いた。

4. 遺伝子型別および耐性遺伝子の検索

MRSA の Multi Locus Sequence Typing (MLST) および *spa* typing による遺伝子型別、薬剤および亜鉛耐性遺伝子の検索は農林水産省動物医薬品検査所に依頼した。

結果

鼻腔スワブ 49 検体中 24 検体より、*S. aureus* 24 株を分離した。24 株中 22 株で、CFX の阻止円直径が 21 mm 以下であり、*mecA* 遺伝子および PBP2' が検出されたことから、MRSA と同定した (表 1)。MRSA 22 株の薬剤感受性試験では、PCG、ABPC、CFX、MINO、CLDM、ST で耐性率が高く、多剤耐性であった (表 2) (表 3)。

遺伝子型別および耐性遺伝子の検索は、採材時期や検体日齢の異なる 8 株について実施した。MLST では 8 株全てが ST398、*spa* typing では 8 株中 7 株が t034、1 株が t011 と型別された。また、β-ラクタマーゼ遺伝子 (*blaZ*)、アミノグリコシド耐性遺伝子 (*ant(9)-Ia*、*aac(6')-aph(2'')*)、マクロライド耐性遺伝子 (*lnu(B)*、*lsa(E)*)、テトラサイクリン耐性遺伝子 (*tet(K)*、*tet(M)*)、トリメトプリム耐性遺伝子 (*dfrrG*)、亜鉛耐性遺伝子 (*czrC*) が検出された (表 4)。

表 1 *S. aureus* 24 株の MRSA 判定結果

検体No.	採材年月日	日齢	CFX阻止円 (mm)	<i>mecA</i>	PBP2'	
1	9366	2019/7/1	60	15.2	+	+
2	9367	2019/7/1	50	14.0	+	+
3	9368	2019/7/1	70	13.9	+	+
4	9620	2020/5/12	100	15.3	+	+
5	9621	2020/5/12	100	14.4	+	+
6	9622	2020/5/12	100	26.1	-	-
7	9654	2020/6/19	80	14.0	+	+
8	9675	2020/7/27	100	16.1	+	+
9	9695	2020/8/28	70	15.8	+	+
10	9697	2020/8/28	50	14.9	+	+
11	9698	2020/8/28	70	15.9	+	+
12	9708	2020/9/3	120	14.1	+	+
13	9712	2020/9/6	120	15.2	+	+
14	9716	2020/9/9	140	15.9	+	+
15	9717	2020/9/9	120	12.3	+	+
16	9727	2020/9/15	60	16.8	+	+
17	9728	2020/9/15	50	14.2	+	+
18	9729	2020/9/15	50	15.9	+	+
19	9747	2020/10/19	30	26.4	-	-
20	9749	2020/10/19	30	12.1	+	+
21	9764	2020/11/19	90	14.9	+	+
22	9771	2020/11/24	120	14.8	+	+
23	9774	2020/11/28	90	15.6	+	+
24	9780	2020/12/7	40	14.0	+	+

農場における抗菌薬等の使用状況

農場では、離乳期飼料や繁殖豚用飼料にアンピシリン、チアムリンを添加していた。また、離乳後下痢症や浮腫病予防として、高濃度の炭酸亜鉛を添加していた。その他、リンコマイシン、ST 合剤、オキシテトラサイクリンの使用歴があった。

表 2 MRSA 22 株の薬剤耐性状況

薬剤名	菌株数	Range(μg/ml)	MIC ₅₀ (μg/ml)	MIC ₉₀ (μg/ml)	耐性菌株数	耐性率(%)	BP(μg/ml)
PCG	22	>8	>8	>8	22	100.0	0.25
ABPC	22	>8	>8	>8	22	100.0	0.5
CFX	22	≦ 4->8	16	16	22	100.0	8
IPM	22	≦ 0.25	≦ 0.25	≦ 0.25	0	0.0	4
VCM	22	≦ 0.5-1	1	1	0	0.0	16
GM	22	≦ 1->8	1	16	5	22.7	16
EM	22	≦ 0.25-1	0.5	1	0	0.0	8
MINO	22	8->8	16	16	18	81.8	16
CLDM	22	>2	4	4	22	100.0	4
LVFX	22	≦ 0.25-0.5	≦ 0.25	0.5	0	0.0	4
ST	22	19/1->38/2	>38/2	>38/2	19	86.4	74/4

表 3 MRSA22 株の MIC 分布

薬剤名	菌株数	MIC (μg/ml)									
		0.12	0.25	0.5	1	2	4	8	16	32	64
PCG	22								22(>8)		
ABPC	22								22(>8)		
CFX	22							7	15(>8)		
IPM	22		22(≦0.25)								
VCM	22			7(≦0.5)	15						
GM	22				17(≦1)	1			5(>8)		
EM	22		3(≦0.25)	12	7						
MINO	22							4	18(>8)		
CLDM	22						22(>4)				
LVFX	22		13(≦0.25)	9							

薬剤名	菌株数	MIC (μg/ml)				
		4.75/0.25	9.5/0.5	19/1	38/2	76/4
ST	22			2	1	19(>38/2)

表 4 MRSA8 株の遺伝子型および保有耐性遺伝子

検体No.	遺伝子型		耐性遺伝子					
	MLST	<i>spa</i> typing	Aminoglycoside	β -lactam	Macrolide	Tetracycline	Trimethoprim	亜鉛
9366	398	t034	<i>ant(9)-la, aac(6)-aph(2")</i>	<i>blaZ, mecA</i>	<i>lnu(B), lsa(E)</i>	<i>tet(K), tet(M)</i>	<i>dfrG</i>	<i>czrC</i>
9621	398	t034	<i>ant(9)-la</i>	<i>blaZ, mecA</i>	<i>lnu(B), lsa(E)</i>	<i>tet(K), tet(M)</i>	<i>dfrG</i>	<i>czrC</i>
9654	398	t034	<i>ant(9)-la</i>	<i>blaZ, mecA</i>	<i>lnu(B), lsa(E)</i>	<i>tet(K), tet(M)</i>	<i>dfrG</i>	<i>czrC</i>
9675	398	t034	<i>ant(9)-la</i>	<i>blaZ, mecA</i>	<i>lnu(B), lsa(E)</i>	<i>tet(K), tet(M)</i>	<i>dfrG</i>	<i>czrC</i>
9717	398	t011	<i>ant(9)-la</i>	<i>blaZ, mecA</i>	<i>lnu(B), lsa(E)</i>	<i>tet(K), tet(M)</i>	<i>dfrG</i>	<i>czrC</i>
9727	398	t034	<i>ant(9)-la, aac(6)-aph(2")</i>	<i>blaZ, mecA</i>	<i>lnu(B), lsa(E)</i>	<i>tet(K), tet(M)</i>	<i>dfrG</i>	<i>czrC</i>
9728	398	t034	<i>ant(9)-la</i>	<i>blaZ, mecA</i>	<i>lnu(B), lsa(E)</i>	<i>tet(K), tet(M)</i>	<i>dfrG</i>	<i>czrC</i>
9749	398	t034	<i>ant(9)-la</i>	<i>blaZ, mecA</i>	<i>lnu(B), lsa(E)</i>	<i>tet(K), tet(M)</i>	<i>dfrG</i>	<i>czrC</i>

農場における対策

ヒトへの感染予防や農場外への拡散予防として、作業後の手指消毒や踏込み消毒等の基本的な衛生対策を徹底するよう指導した。

MRSA 低減化対策として、選択圧となる可能性のある抗菌薬および亜鉛の使用を削減するため、まずは、畜舎環境の改善による疾病予防に努めることとした。飼育密度および発育ステージに適した空調管理の改善、一部の豚房に空舎期間を設けることによる効果的な洗浄・消毒の方法について具体的に計画した。また、ワクチンや生菌製剤の使用による疾病予防を継続することとした。また、使用薬剤の耐性状況を把握するため、病性鑑定豚を対象とした MRSA 検出状況調査、および健常豚の糞便由来大腸菌を用いた薬剤耐性状況調査を継続的に行い、これらの結果を農家および管理獣医師と情報共有することとした。

考察

今回、県内の 1 養豚場の豚から、欧州で流行し、輸入豚からも分離された MRSA と同じ遺伝子型 (ST398/t011, t034) の MRSA が分離された。調査期間 (2019 年 7 月-2020 年 12 月) に継続して分離され、検体日齢が様々であったことから、農場全体に MRSA が拡散していると考えられた。また、当農場で飼料添加として使用している抗菌薬に

耐性がみられ、薬剤および亜鉛の耐性遺伝子が検出されたことから、これらの抗菌薬や亜鉛が選択圧となり、MRSAが増殖したものと考えられた。

豚に対する MRSA の病原性については不明であるが、ヒトに感染することや多剤耐性であることから低減化対策は必要であると考えられる。しかし、生産性への影響が少ない MRSA の低減化対策には農家の理解が必要となってくる。したがって、ヒトへの感染予防に関する指導や、MRSA に関する情報提供を行い、農家の理解を得たうえで対策を検討する必要があると思われる。MRSA 低減化には選択圧となる抗菌薬や亜鉛の使用削減が必須となるが、当農場では、離乳後下痢症や浮腫病、豚レンサ球菌症等が断続的に発生しており、抗菌薬等の使用量を変更することは困難であると考えられた。したがって、畜舎環境の見直しや改善による疾病予防対策を行ったのち、管理獣医師の指示のもと、徐々に抗菌薬等の使用量の削減を検討していくこととした。

これまでの報告にあるように、2012 年にはすでに ST398 の MRSA が国内の一部の地域に浸潤していたことは明らかであるが、その後の調査が限定的であることなどから、全国的な浸潤状況は不明である。輸入豚が国内への侵入経路の一つとなり、国内の養豚場へ浸潤している可能性もある。現在、農林水産省が実施する薬剤耐性モニタリング (JVARM) 等で全国的な調査が行われており、今後、浸潤状況が明らかにされるものと思われる。

謝辞

本調査を行うにあたり、MRSA の MLST、*spa* typing および耐性遺伝子検索を実施していただいた農林水産省動物医薬品検査所 小澤真名緒先生に深く感謝します。

参考文献

- [1] Lewis HC et al. Pigs as source of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* CC398 infections in humans, Denmark. *Emerg Infect Dis* 2008;9, 1383-9
- [2] Smith TC et al. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*(MRSA) strain ST398 is present in Midwestern U.S swine and swine workers. *PLOS ONE* 2009;4, e4258
- [3] Sieber R.N. et al. Drivers and Dynamics of Methicillin-Resistant Livestock-Associated *Staphylococcus aureus* CC398 in Pigs and Humans in Denmark. *Mbio* 2018;9(6), e02142-18
- [4] Timothy S. Fr et al. Isolation and Characterization of Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* from Pork Farm and Visiting Veterinary Students. *PLOS ONE* 2013;8, e53738
- [5] Yoshimasa SASAKI et al. Isolation of ST398 methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* from pigs at abattoirs in Tohoku region, Japan. *J. Vet. Med. Sci* 2020;82(9), 1400-1403
- [6] Kotaro Baba et al. Isolation of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*(MRSA) from swine in Japan 2010;36(4), 352-354

- [7] Tomomi Sato et al. Characterisation of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* ST97 and ST5 isolated from pigs in Japan. Journal of Global Antimicrobial Resistance 2015;3(4), 283-285
- [8] Yoshimasa Sasaki et al. Isolation of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* ST398 from pigs in Japan. JJVR 2020;68(3), 197-202
- [9] Minako Furuno et al. A Japanese trial to monitor methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*(MRSA) in imported swine during the quarantine period. Journal of Global Antimicrobial Resistance 2018;14, 182-184

Journal of the Royal Society of Medicine
1954, 47, 100-101
The Journal of the Royal Society of Medicine
1954, 47, 100-101
The Journal of the Royal Society of Medicine
1954, 47, 100-101
The Journal of the Royal Society of Medicine
1954, 47, 100-101
The Journal of the Royal Society of Medicine
1954, 47, 100-101

7 ブロイラー幼雛でのアデノウイルスによる鶏封入体肝炎の発生事例

家畜保健衛生所 武田佳絵

はじめに

鶏アデノウイルス (FAV) は Adenovirus 科 Adenovirus 属の 1 群に属するエンベロープを持たない DNA ウイルスで 12 の血清型が知られている。一般的に病原性が低い常在性ウイルスで、鶏の体内でウイルスが増殖すると糞便や気道等から排泄され、経口、空気および介卵で感染する。ほとんどが不顕性感染に終わるが、鶏封入体肝炎 (IBH)、筋胃びらん、心膜水腫症候群等を起こすことがある。IBH は突然の死亡数増加と肝細胞における核内封入体形成を伴う肝炎を特徴とする。IBH の発症には伝染性ファブリキウス嚢 (F 嚢) 病ウイルスや鶏貧血ウイルスが関与し [1]、また、肝臓に壊死が見られた場合、大腸菌の混合感染を考慮する必要があるとの記載がある [2]。3-7 週齢の肉用鶏で好発していたが、1980 年代以降は減少していた。しかし、2009 年から 2010 年に血清型 2 型の FAV 単独と考えられるブロイラー幼雛での IBH が全国で相次いで発生し [3]、その後も 2 型、8b 型および 8 型での発生が散見されている [4-7]。今回、県内で初めて FAV 単独によると考えられる IBH が発生したので、その概要を報告する。

発生概要

鶏舎 6 棟でブロイラーを最大 34,000 羽、オールインオールアウト方式で飼養している農場で、空舎期間の後、令和 2 年 11 月 8 日に 1 号舎から異なるロット約 6,000 羽ずつを順次入雛していたところ、同年 11 月 25 日に入雛した 3 号舎で、10 日齢となった雛の死亡数が急増したと農場主からの連絡があった。緊急の立入検査を行ったところ、他の鶏舎に異常はなく、3 号舎のロットのみで元気消失や脚弱が観察された。農場内において、死亡鶏 11 羽と生存鶏 2 羽の気管スワブおよびクロアスワブを用いて鳥インフルエンザ簡易検査を実施したところ陰性だった。

3 号舎の 1 日の死亡羽数の増加は 169 羽をピークに 1 週間程度で終息した (図 1)。12 月 2 日から同月 11 日の総死亡羽数は 628 羽で、ロットの 10%以上が斃死した。

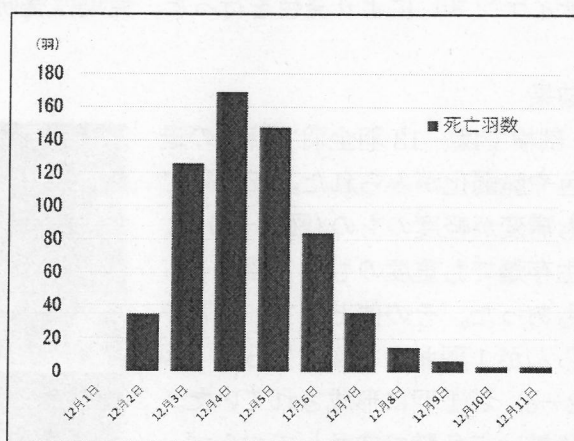


図 1 3 号舎の死亡羽数の推移

検査方法

鳥インフルエンザ簡易検査を行った 13 羽 (死亡鶏 A-K、生存鶏 L・M) について解剖を行った。検査材料の採材羽数は、スワブおよび肝臓は 13 羽分、肝臓以外の臓器および糞は 5 羽または 6 羽、血清は 2 羽分とした (表 1)。なお、肝臓以外の採材は、生材料は脾臓、腎臓、心臓、肺および大脳を、ホルマリン固定材料は、脾臓、腎臓、心臓、肺、腺胃、筋胃、十二指腸、膵臓、空回腸、盲腸、結腸、中枢神経、坐骨神経、骨格筋、皮膚および F

囊とした。

ウイルス検査では、気管およびクロアカスワブを用いて発育鶏卵接種試験を行った。FAVの検査として、肝臓から抽出したDNAを材料に真瀬らのプライマー[8]を用いてPCR

を行い、得られた遺伝子産物を制限酵素処理し、得られた切断パターンを比較するRFLP法でウイルス型別を行った[9]。

細菌検査では、生材料を用いて常法により分離培養を行い、簡易同定キットで分離菌株の同定を行った。

生化学検査では、血清を用いてドライケミストリーシステムでグルコース濃度の測定を行った。

寄生虫検査では、盲腸および直腸便を用いて、直接鏡検および浮遊法を行った。

病理組織検査では、ホルマリン固定材料を用いて、常法によりパラフィン包埋切片を作成し、ヘマトキシリンエオジン染色(HE染色)を行い鏡検した。また、免疫組織化学染色(免染)として、肝臓、脾臓および筋胃等の消化管の切片について一次抗体に兎抗トリアデノウイルス抗体(動衛研)を用いて、また、F囊および脾臓の切片については一次抗体にマウス抗伝染性F囊病ウイルス抗体(Hytest社)を用いて、シンプルステインMAX PO(MまたはR)(ニチレイバイオサイエンス)およびDAB基質キット(ニチレイバイオサイエンス)により発色を行った。免染は農研機構動物衛生研究部門に依頼した。

結果

剖検では、13羽全羽で肝臓の退色や脆弱化がみられた。死亡鶏でも病変が軽度のもの(図2-a)や、生存鶏でも重度のもの(図2-b)もあった。その他として、筋胃びらんが1羽および腺胃びらん(図2-c)が1羽に形成されていた。骨髄は赤色髄で貧血しておらず、鶏貧血ウイルスの関与は否定されたと考えられた。

ウイルス検査では、肝臓からFAVの遺伝子が検出された。また、PCR-RFLPで血清型2型のFAVと同様の切断パターンを示した(図3)。発育鶏卵接種試験でウイルスは分離されなかった。

細菌検査では、複数羽の主要臓器から大腸菌および環境中細菌(Staphylococcus属

表1 検査材料の採材羽数

	スワブ		生材料		ホルマリン固定材料		糞便	血清
	クロアカ	気管	肝臓	肝臓以外	肝臓	肝臓以外	盲腸・直腸	
死亡鶏(A-K)	11	11	11	3	11	4	3	—
生存鶏(L, M)	2	2	2	2	2	2	2	2
採材羽数	13	13	13	5	13	6	5	2

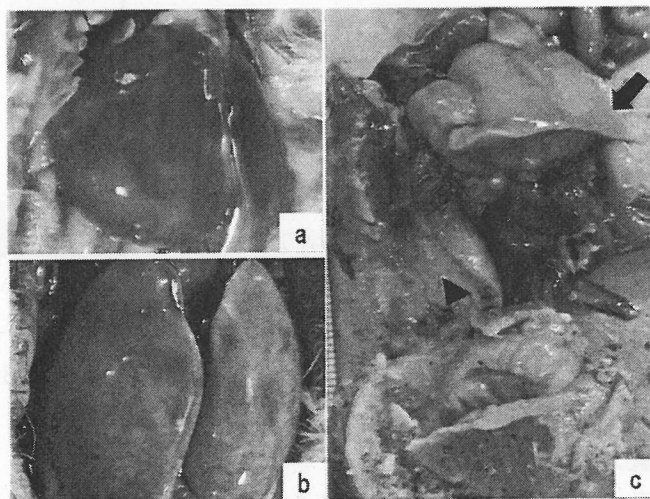


図2 肝臓病変(矢印)と腺胃びらん(矢頭)

Luconostoc 属) が分離されたが、一方で肝臓から大腸菌は分離されなかった。

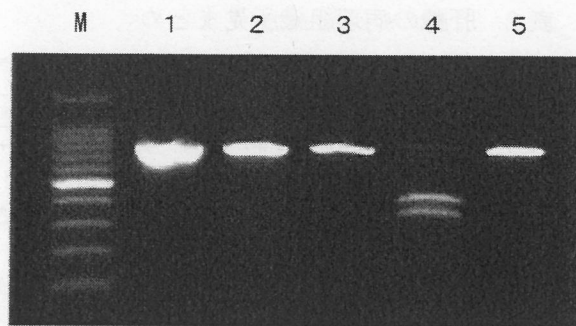
寄生虫検査では、虫卵やオーシストは確認されなかった。

生化学検査では、血清グルコース濃度が 29 mg/dl および 37 mg/dl だった。

病理組織検査では、肝細胞の細胞質の変性や壊死が混在する像が確認され、肝細胞の核内に封入体が形成されていた(図 4)。封入体のほとんどは、好塩基性フルタイプで、核の大きさが 2 倍ほどに拡大しているものが多くみられた(図 4 矢印)。肝臓の病変は生死にかかわらず程度は様々だった(表 2)。肝三つ組周囲に単核細胞が集簇しているものもあった。脾臓に壊死が巣状(図 5 矢頭)から広範囲に形成され、正常部分との境界を中心に、外分泌腺細胞の核内に好塩基性フルタイプ封入体の形成が多数確認された。

(図 6 矢印) 本症例では、死亡鶏の方が生存鶏より脾臓の壊死の程度が強いことが特徴的だった(表 3)。また、筋胃の上皮細胞、腺胃の胃腺細胞および空回腸の粘膜上皮細胞に同様の核内封入体が形成されていた。兔抗トリアデノウイルス抗体の免染で、核内封入体に一致して陽性反応が確認された(図 7)。F 囊では、リンパ球が減数し、濾胞が委縮し粘膜上皮が陥凹しているものがあった(図 8)。また、脾臓においてもリンパ球の減数が確認された。マウス抗伝染性 F 囊病ウイルス抗体の免染では陽性反応はみられなかった。心外膜への軽度単核細胞浸潤がみられた。

以上のことから、肝細胞の核内封入体形成を伴う壊死性肝炎を認め、かつ、FAV 特異遺伝子が検出されたことから、IBH と診断した。



M: 100-bpDNAラダーマーカー
1 未処理 2 *Bsi*WI 3 *Sty*I 4 *Mlu*I 5 *Bst*XI

図 3 PCR 産物の制限酵素切断パターン

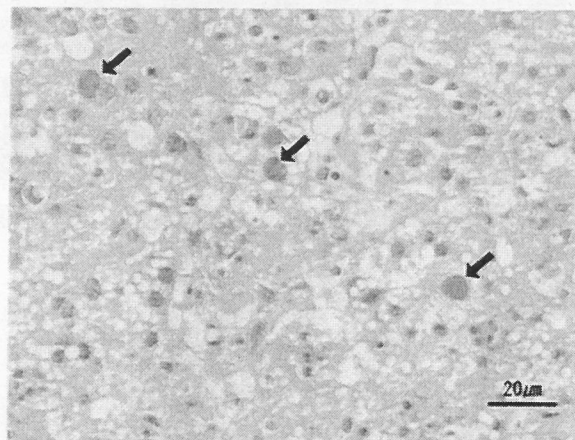


図 4 肝細胞の変性・壊死と核内封入体

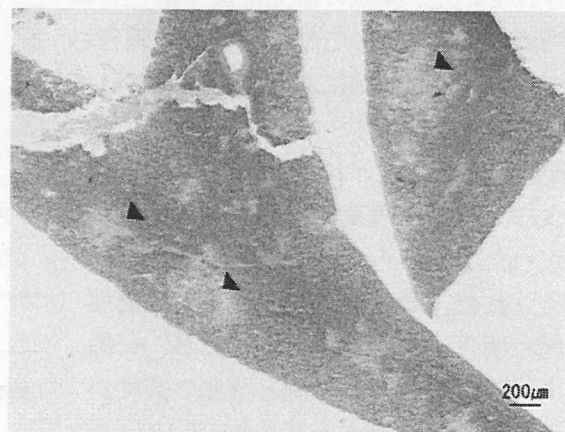


図 5 脾臓の巣状壊死

表 2 肝臓の病理組織所見まとめ

	死 亡											生 存	
	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	L	M
細胞変性	++	+++	++++	++	++	+	+	++	+	+	++	+	++
肝臓 壊死	+	+	+	++	++	++	+	+++	±	++	+	+	+++
核内封入体	++	++	+++	++	++	+	+	++	+	+	++	+	++

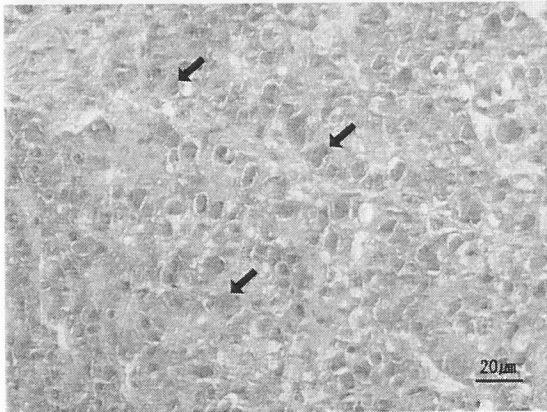


図 6 膵外分泌腺細胞の核内封入体

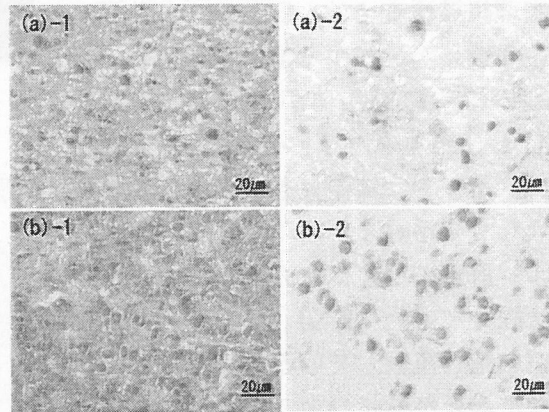


図 7 免染結果 (a)肝臓 (b)膵臓
1 HE 染色 2 FAV 免染

考察とまとめ

本事例では、FAVによる肝細胞および膵外分泌腺細胞に核内封入体形成を伴う壊死性病変がみられた。また、筋胃、腺胃および空回腸にも限局的に核内封入体が形成されていた。膵臓の壊死性炎や消化管の核内封入体形成は、これまで国内で報告されている IBH 事例においても確認されていた [7,10,11]。

伝染性 F 囊病ウイルス、鶏貧血ウイルスおよび大腸菌が病変形成に関与した所見はなかったことから FAV 単独で発症したと考えられた。今回実施した検査では発症原因は明らかにはできなかったが、一般的に IBH はウイルス側と鶏側の条件が一致したとき発症するとされる [12]。ウイルス側の主要因は感染経路と暴露されたウイルス量である。感染実験では、経口では発症しないが、非経口（筋肉内接種等）で重度病変を形成するとされ [13]、介卵感染した可能性があると考えられた。鶏側の主要因は日齢と遺伝的



図 8 F 囊のリンパ濾胞萎縮

表 3 病理組織所見まとめ

		死 亡				生 存	
		H	I	J	K	L	M
膵臓	壊死	NT	++	++	++	+	+
	核内封入体 (外分泌腺細胞)	NT	+	+	+	+	+
筋胃	核内封入体 (粘膜上皮細胞)	++	+	-	±	±	+
腺胃	核内封入体 (胃腺細胞)	+	-	-	-	-	+
空回腸	核内封入体 (粘膜上皮細胞)	NT	NT	NT	NT	+	+
F 囊	リンパ球減数	NT	++	+	++	+	+
脾臓	リンパ球減数	NT	NT	+	+	NT	+
心臓	炎症細胞浸潤 (心外膜)	NT	+	+	+	±	±

素因とされる。鶏には日齢抵抗性がある [14]。また、ブロイラーは採卵鶏より感受性が高い [15]。種鶏由来の移行抗体は 3-4 週齢頃から消失し、6-8 週齢以降になると自然感染に起因する抗体が陽性となる。また、アデノウイルスの潜伏期間は 2-5 日 [16] とされる。発症日齢が 10 日齢前後であることから、発症鶏は十分な移行抗体が得られておらず、抵抗性を獲得していない幼齢で農場内に常在する FAV に感染した可能性も考えられた。

本事例では肝臓と膵臓の壊死性炎症が主な死因と考えられた。ブロイラーの冬季における正常の血清グルコース濃度は 185-200 mg/dl であることから [17]、発症鶏は明らかな低血糖状態だった。これは肝臓や膵臓が障害されたことで、糖新生が低下したためと考えられた。脳や神経には組織でも病変はないことから、この低血糖により脳のエネルギー不足となり、脚弱が引き起こされたものと考えられた。

F 嚢や脾臓などのリンパ系組織が障害されており、免疫機能が低下していたと考えられた。FAV 感染自体が液性および細胞性免疫を抑制することが示唆されていることから [18] FAV やその他の要因でリンパ系組織が障害されたと考えられた。

治療法はなく、また、国内に承認されたワクチンがないため発生予防には、種鶏の衛生管理による介卵感染防止と雛への移行抗体付与が一般的に行われる。発生農場では、鶏舎内のウイルス量を減らすために消毒を行う必要がある。アデノウイルスはエンベロープを持たないウイルスで、乾燥、光、アルカリ、酸、各種薬剤に対して抵抗性を持ち、環境中に室温だと 6 ヶ月間生存可能とされる。オールアウト後の清掃・消毒にはアデノウイルスに有効とされる消毒薬（アルデヒド系、塩素系、ヨウ素系）を用いるよう指導を行った。

2009 年の血清型 2 型 FAV による全国的な IBH 発生報告 [19] では、発症日齢は 10 日齢前後で 1 週間前後での終息が多く、いずれの発生でも鶏種は同一だった。病理学的には肝臓における好塩基性封入体を伴う重度の肝細胞壊死があり、膵臓でも封入体を伴う腺房細胞の壊死がみられた。本事例も同じ鶏種での発生で、発生状況や病態の類似点が多くみられた。

緊急立ち入りの 1 週間後に改めて発生農場に立入をした際、3 号舎のロットを含む全ての雛に異常はみられず、発育は良好であった。

謝辞

ウイルス学的検査において御指導および御助言いただきました農研機構動物衛生研究部門の真瀬昌司先生、病理学的診断において御助言および免疫組織化学染色を実施いただきました農研機構動物衛生研究部門山本佑先生に深謝いたします。

参考文献

- [1] Toro, H. et al. : Avian Dis. 44, 51-58 (2000)
- [2] 日本獣医病理学会編, 動物病理学, 文栄堂出版
- [3] Nakamura, K. et al. : Avian Dis. 55, 719-723 (2011)
- [4] 永田麻里子 : 日獣会誌 66, 549-551 (2013)
- [5] 金森健太 : 日獣会誌 67, 914-916 (2014)
- [6] 平野慎二 : 日獣会誌 73, 653-656 (2020)

- [7] 佐藤尚人：日獣会誌 73,653-656(2020)
- [8] Mase,M.et al.:J.Vet.Med.Sci.71,1239-1242(2009)
- [9] 真瀬昌司ら：鶏病研報 56 卷 3 号,112-116 (2020)
- [10] 水城恵美ら：鶏病研究 49 卷 4 号,286-292 (2013)
- [11] 井上大輔ら：鶏病研究 48 卷 1 号,13-19 (2012)
- [12] 鶏病研究会：鶏病研報 55 卷第 1 号 1-11 (2019)
- [13] Okuda, Y. et al.:J.Vet.Med.Sci.66,1561-1566(2004)
- [14] Hess,M.:Aviadenovirus infections,In:Disease of Poultry 13th Ed.
- [15] Matos,M.et al.: Vet.Res.47,69-78(2016)
- [16] 鶏病診断 家の光協会
- [17] 澤則之ら：鶏病研報 32 卷 2 号 73-78 (1996)
- [18] Singh,A.et al:comp.immunol.microbiol.Infect.Dis.29,315-321
- [19] 中村菊保：鶏病研報 46 卷増刊号 9-14 (2010)