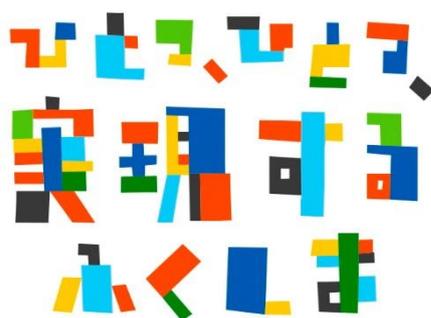


# 第 64 回福島県家畜保健衛生 業績発表会集録

期 日：令和 6 年 2 月 7 日（水）

場 所：福島県農業総合センター



福 島 県

## 第64回福島県家畜保健衛生業績発表会結果

部	演題	演者	北海道・東北 ブロック大会 出場	ページ
第1部	1 防疫演習での情報伝達ツールの運用実証	会津家畜保健衛生所 横山浩一 (ヨコヤマコウイチ)		1-4
	2 相双地方における高病原性鳥インフルエンザ (HPAI) 防疫への取り組み	相双家畜保健衛生所 金田志緒理 (カネダシオリ)		5-8
	3 昨シーズンの発生を踏まえた多角的な高病原性鳥インフルエンザ (HPAI) 対策	県北家畜保健衛生所 小川彩香 (オガワサヤカ)	○	9-12
	4 管内黒毛和種繁殖農場の牛伝染性リンパ腫清浄化に向けた取組	中央家畜保健衛生所 蛭田彩子 (ヒルタアヤコ)	○	13-17
	5 繁殖豚における尾部採血法の導入の試み	中央家畜保健衛生所 稲葉俊祐 (イナバシュンスケ)		18-21
	6 管内養鶏場の環境苦情への取組	相双家畜保健衛生所 篠田肇 (シノダハジメ)		22-24
第2部	7 県内の鶏由来大腸菌の性状と病原性評価	中央家畜保健衛生所 喜多見はるか (キタミハルカ)		25-27
	8 県内初のD型インフルエンザウイルス分離事例	中央家畜保健衛生所 西郷智貴 (サイゴウトモタカ)		28-32
	9 I型糖尿病と診断された黒毛和種子牛症例の病理組織学的考察	中央家畜保健衛生所 岩永海空也 (イワナガミクヤ)	○	33-37
	10 カラムを使用しない高速液体クロマトグラフ (HPLC) 法によるセレン測定を検討	中央家畜保健衛生所 寺本直輝 (テラモトナオキ)		38-39

# 防疫演習での情報伝達ツールの運用実証

会津家畜保健衛生所 横山浩一

## 1 背景

令和4年11月から12月に、本県で初めて高病原性鳥インフルエンザの発生が2事例あった。関係機関の方々の協力により、迅速な初動体制によりまん延防止を図ることができた。一方で、防疫対応時、地方対策本部と現場で、人員、資材、進捗状況の情報伝達には、主に携帯電話が使用されており、口頭伝達による正確性、共有性等に課題があった。(図1)

そこで、迅速かつ正確な情報伝達・共有を目的として、情報伝達ツールである Web 会議、チャット機能を活用することを計画し、毎年実施している防疫演習において、運用実証を行った。(図2)



図 1

図 2

## 2 情報伝達ツール

Web 会議は Zoom、チャット機能は LoGo チャットを使用した。

Zoom は、多くの Web 会議に利用されており、パソコン、タブレットから状況をリアルタイムで把握すること可能である。

LoGo チャットは、官公庁向けのチャットツールで、LOGWAN 環境でのパソコンで使用でき、テキスト、写真などの送受信も可能で、スマートフォンでの使用も可能である。また、グループ設定で秘匿性も確保できるのが特徴である。

## 3 防疫演習

防疫演習は、令和5年10月26日に開催され、会津管内の県関係機関、市町村、団体等の98名が参加し、集合センター班、現場作業班、消毒ポイント班の体験型の防疫演習を行った。(図3)

集合センター班では、集合センターでの動員者の受入・出発の対応、現場作業班では、農場隣接テントでの動員者の受入・演習・出発までの対応、消毒ポイント班では、消毒ポイントでの対応を実際の流れに沿って模擬演習を行った。

## 4 運用実証

### 4-1 概要

運用実証は体験型防疫演習の流れに沿って実施した。(図 4)

Zoom では、集合センター、農場隣接テント及び地方対策本部を想定した外部（以下「外部」という。）の 3ヶ所で、演習状況を共有した。

LoGo チャットでは、集合センター、農場隣接テント、消毒ポイント、外部の 4ヶ所で、各連絡員 6 名が動員者の移動及び演習状況を伝達した。

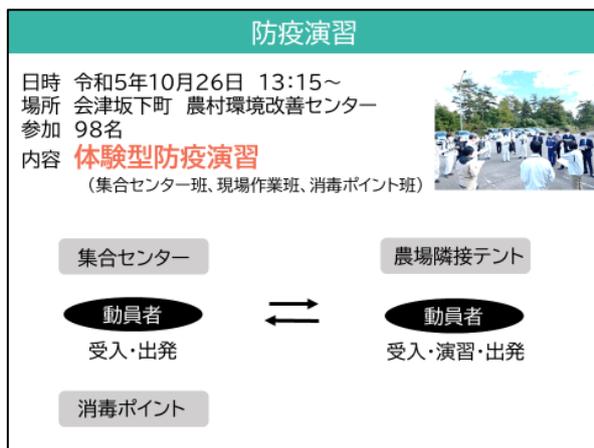


図 3

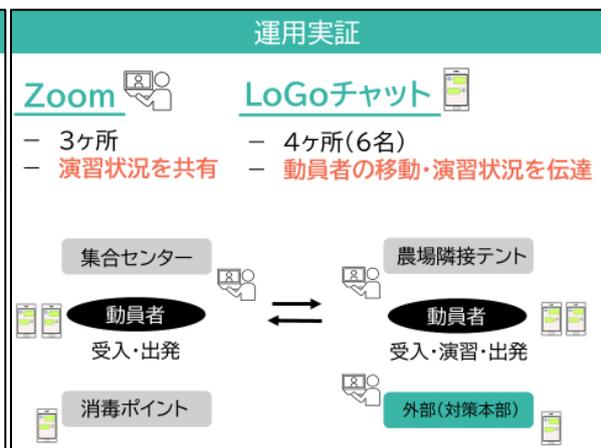


図 4

### 4-2 Zoom

集合センターにおいて、Zoom 用タブレットを設置し、スクリーンに Zoom の画面を映写することで農場隣接テントの状況を共有した。(図 5)

Zoom 用タブレットは、農場隣接テントにも同様のものを設置した。

Zoom を利用することで、集合センター、農場隣接テントでの演習状況をリアルタイムで把握することができた。(図 6)



図 5



図 6

### 4-3 LoGo チャット

6名の連絡員をLoGoチャット上でグループ化し、防疫演習の流れに沿って、各自で必要な情報を伝達した。(図7、8)

LoGoチャットを利用することで、グループ内で動員者の移動、演習状況を伝達することができた。また、必要な情報が時系列で残るという正確性があり、どの場所においても情報を共有・伝達することができた。

特に、LoGoチャットは実際に利用したほうがその利便性が実感できた

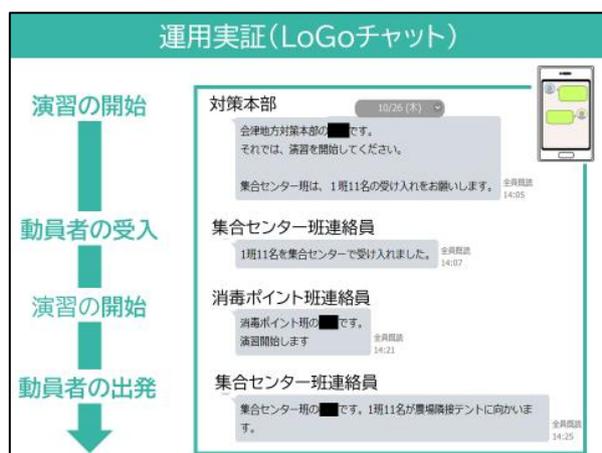


図 7

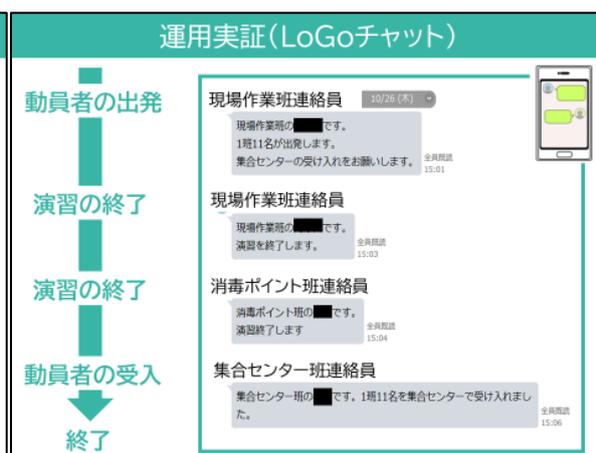


図 8

### 4-4 アンケート

運用実証の効果を図るため、LoGoチャットを使用した6名にアンケートを行った。「実際に発生した際にLoGoチャットによる情報伝達はできそうですか」との質問に、できる3名、ある程度できる3名と使用者全員から、「できる」との回答。「特に問題となりそうなのはどれですか」との質問から、グループ化の設定を含め、様々な課題があることがわかった。(図9)

### 4-5 関係機関との協議

様々な課題について、実際に地方対策本部を運営する会津農林事務所と協議を行った。LoGoチャットのチャットグループの設定として、情報を共有すべき範囲を明確にするため、地方対策本部の防疫支援班、集合センター班、現場作業班に限定し、LoGoチャットのグループを一つにした。

また、情報伝達システムの整理として、1つのグループ内のチャットのやりとりを、基本的に防疫支援班の現場係と現場作業班、集合センター係と集合センター班の2つにし、その他のグループ参加者はやりとりをみるだけにすることで、誰に対してどのような情報を伝達すべきかを明確にした。(図10)

この協議により、現場での作業が中心の家畜保健衛生所と地方対策本部の運営を担う農林事務所が様々な意見を出すことで、より効果的で効率的な運用方法として整理することができた。

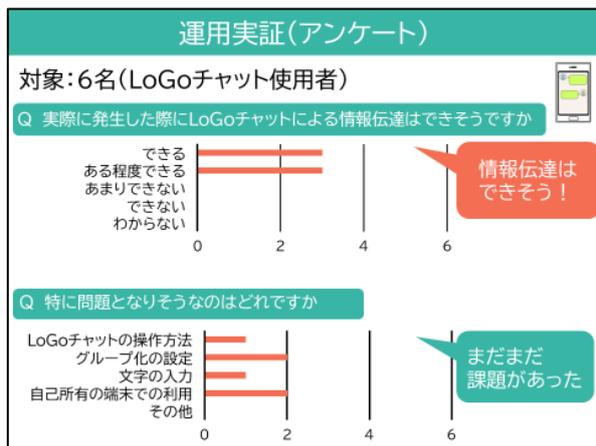


図 9

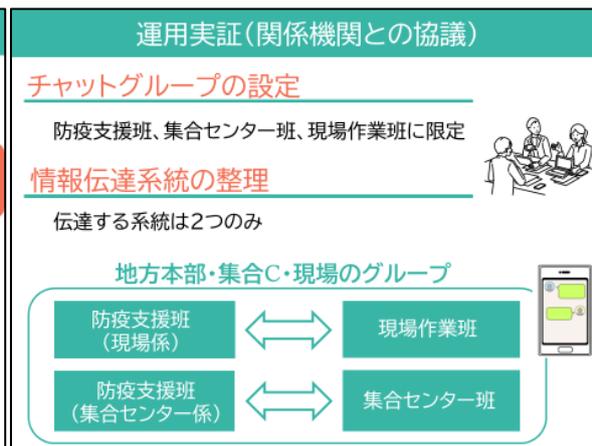


図 10

## 5 まとめ

高病原性鳥インフルエンザの発生事例から、迅速かつ正確な情報伝達・共有の方法の確立を目指し、情報伝達ツールを用いた運用実証を行った。Zoomでは、演習状況をリアルタイムで共有することができた。LoGoチャットでは、動員者の移動、演習状況が伝達でき、文字による正確性があった。アンケートでは、LoGoチャット使用者全員から防疫対応に活用できるとの回答があった。関係機関と協議し、チャットグループの設定等より効果的で効率的な運用方法に整理することができた。以上のことから、情報伝達ツールは新しい情報伝達方法として有用と考えられた。(図 11)

## 6 今後の展望

実用化に向けての課題として、ZoomやLoGoチャットの機器の準備、Zoomの接続の範囲、農場の通信状況、LoGoチャットの使用登録等があるため、実証を継続し、関係機関との協議を進め、活用できるようにマニュアル等の作成を進めていく必要がある。

福島県としてもDX デジタル変革を進めており、新しい技術を利用することで、特定家畜伝染病発生時の体制整備の一助としていきたい。(図 12)

まとめ	
<b>目的</b>	<b>迅速かつ正確な情報伝達・共有</b>
<b>運用実証</b>	
Zoom	演習状況を共有
LoGoチャット	動員者の移動・演習状況を伝達 文字での正確な伝達
アンケート	活用できるとの回答
協議	チャットグループの設定等の整理
<b>新しい情報伝達方法として有用</b>	

図 11

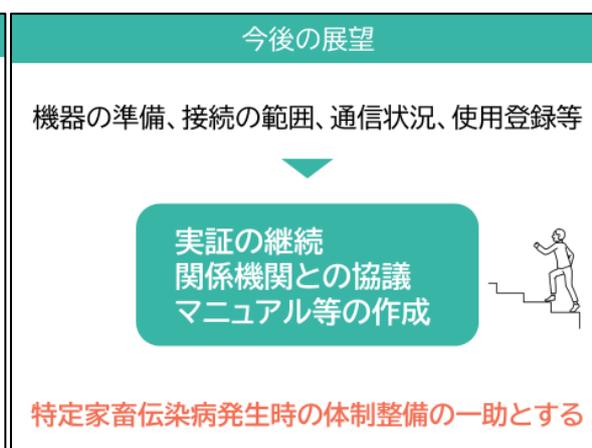


図 12

1 はじめに

昨シーズンは、令和4年10月以降、26道県で84事例のHPAI発生を確認、約1,771万羽の家きんの殺処分が実施された。

県内でも初めて2事例の発生が確認され、うち1事例は、管内で約10万羽を飼養している採卵鶏育成農場であった。

2 令和5年度 相双地方対策本部のHPAI防疫対策

(1) 動員体制の見直し

本項目の目的は、現場責任者の負担軽減及び動員調整時間の短縮である。

当初は現場責任者が現場作業班の各係を統括する形を取っていた。

しかし、昨年度管内で発生したHPAI防疫措置時に、現場責任者の負担が想定より大きくなってしまったことから、防疫措置途中から現場責任者補助という係を新設した。現場責任者補助は、現場責任者の業務で特に負担となった、現場での指示と同時に進行初動防疫時における資材管理や、防疫作業進捗状況の連絡、防疫作業員が乗車するバス発着の調整、連絡等を担うこととした。

また、毎年年度始めには相双地方対策本部が動員者の人員配置を実施する。以前までは各係を所属で指定していたが、現在では所属単位ではなく個人を割り当てることで、迅速な動員が可能となっている（図1）。

班・係名	役	0クール(事前準備)	1クール
消毒ポイント	消毒ポイント班長	班長 (農業振興普及部)	班長 (農業振興普及部)
	消毒ポイント運用係	係長	班長業務
		係員	
消毒ポイントA	係長	(相双建設事務所)	(相双建設事務所)
	係員	発生市町村	発生市町村
	係員		(JAふくしま未来) (JA福島さくら)

図1 割り当ての例

(2) 動員者の事前学習

動員者の当事者意識及び責任感の向上を目的に、実際の防疫措置の現場においても主体的に行動できるよう、連絡会議、防疫作業説明会、防疫演習と、3段階に分けた学習の機会を設けている。

連絡会議は毎年5～6月に実施している。対象は、相双地方対策本部が各係に配置した県職員や市町村職員のうち、特に人事異動直後で家畜についての理解が乏しいと思われる職員である。理解を深めてもらうため、家畜伝染病や初動防疫の基礎的な内容について伝えている。

防疫作業説明会は、毎年HPAIシーズン前である9月に実施している。各班の班長と係長を対象に、防疫措置の内容についてさらに具体的に説明した。今年度実施した際は連絡会議時よりも理解が進んできているのか、具体的な質問が増加していると実感した。

さらに、毎年10月には防疫演習を開催している。以前は家保が主体となり説明や実演をしていたが、今回は参加者主体で、班長や係長に実際に係員への指示をしても

らうなど、能動的かつ実践的な演習となるようにした。なお、今回は現場作業班、集合センター班、消毒ポイント班の演習を実施した。

現場作業班の演習内容は、農場隣接テント設営及び集合センターから農場までの行動、そして鶏の殺処分である。演習時は現場責任者補助が指示出しを行った（図2）。



図2 農場隣接テント設営及び設営完了

集合センター班は、集合センター設営、受付、そして資材管理の演習を実施した（図3）。

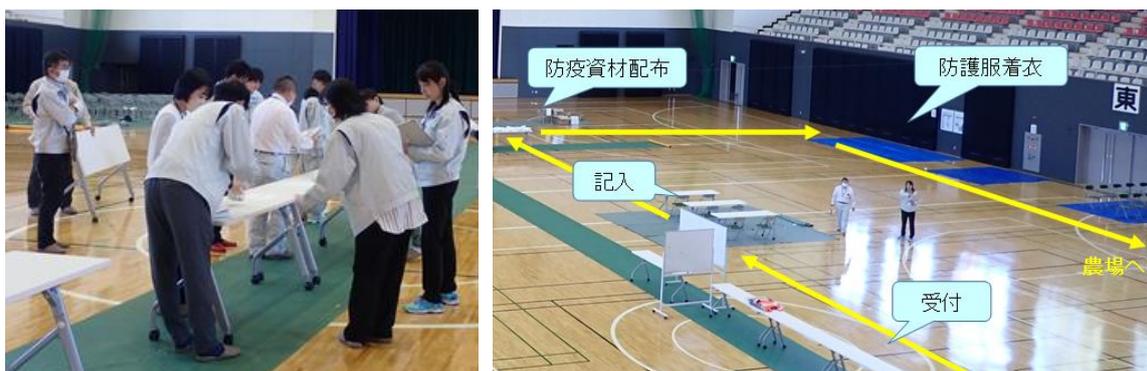


図3 集合センター設営及び設営完了

集合センター設営完了後、現場作業班が集合センターから農場における行動について演習を行った。

作業員は、図3の黄色い矢印のとおりに進んで受付を済ませて防疫資材



図4 農場隣接テントでの防疫措置準備

を受け取り、集合センター班の担当者の説明に従い防護服を着用した状態で農場隣接テントへ移動。農場隣接テントで待機していた現場補助員の補助を受けつつ残りの防疫資材を農場隣接テントで身につけた（図4）。

その後作業員は農場へ移動し、二人一組で鶏を扱った。防疫作業を担う作業員は生きた家きんに触れた経験の無いことが多いため、相双地方においては毎年管内の農家から生きた鶏を購入し、防疫演習で使用している。作業員全員に、実際に鶏をケージから取り出しペールに詰める作業（図 5）を行ってもらったが、参加者からは良い経験になったとの声をいただいた。



図 5 農場での捕鳥

殺処分時の炭酸ガス使用は危険な作業であるため、福島県一般高圧ガス協会の方を講師として招き、炭酸ガスボンベの取り扱いについて解説していただいた。

なお、生鶏ではなく鶏のぬいぐるみを入れたペールへ炭酸ガス注入を行い、殺処分の演習とした。

また、消毒ポイント班は、消毒ポイント設営及び車両消毒の演習を実施した。消毒ポイントの看板を立てた位置まで車両を誘導し、動力噴霧器を用いて実際に車両の消毒を行った（図 6）。



図 6 車両消毒

### (3) 埋却候補地調査

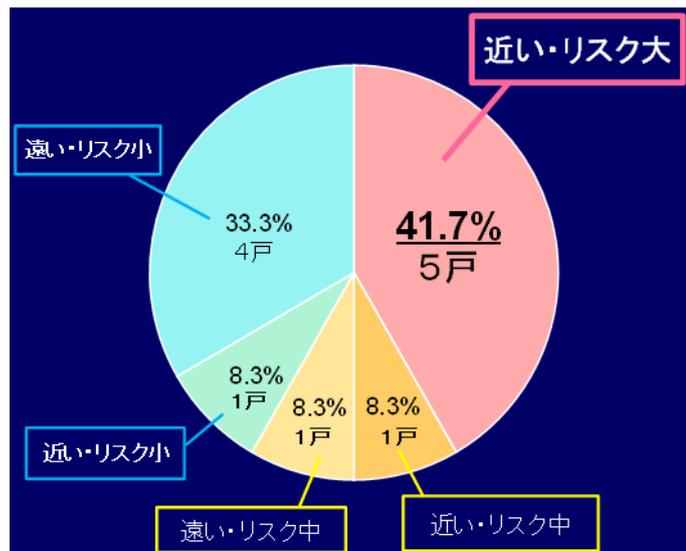
管内で家きんを 1,000 羽以上飼養している農場 12 戸を対象に、専門的見地からも埋却の可否及び作業動線や必要資機材を検討するため、農場管理者の他、一般社団法人福島県建設業協会、農林事務所同行のもと、埋却候補地の面積や様相、周辺の状況、水源との距離、地形や地質等を調査した。



図 7 埋却候補地の一例

（図 7）は実際に調査した埋却候補地の一箇所である。鶏舎より高い位置にあり、写真奥側には河川が通っている。この候補地は水源との距離が近く岩盤が出る可能性が指摘されたが、重機の進入は可能なため埋却作業自体は可能であるとのことだった。

(グラフ 1) は、埋却作業に特に影響を及ぼす水源からの距離及び地下水出現リスクについてまとめたものである。海外では埋却地を水源から 30～100メートル離しているとのことで、水源からの距離が 30メートル以下の埋却候補地を「近い」と表現した。また、地下水の利用状況や降雨時の浸水、井戸の有無等について農場管理者に聞き取りを行い、それらを考慮した上でリスクの大小を検討した。



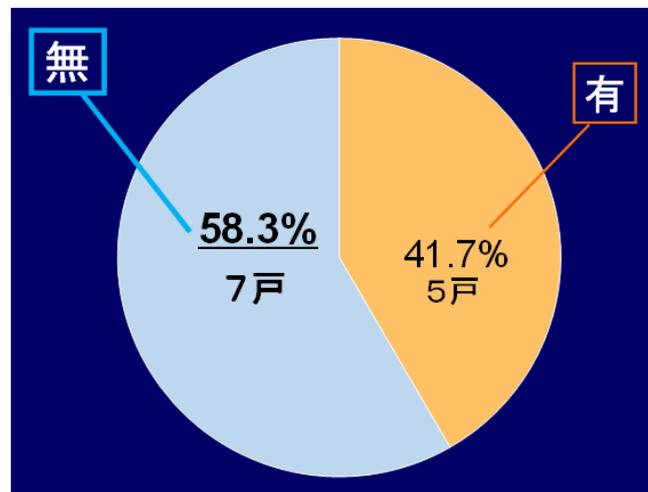
グラフ 1 水源からの距離と地下水出現リスク

上記より、12戸中5戸が水源から近く地下水出現リスクが大きいと判断された。

また、殺処分後の埋却については、12戸中7戸で、近隣住民への説明をしておらず承諾を得ていなかった(グラフ 2)。

調査の結果、全ての埋却候補地で埋却作業可能と判断した。

ただし、地下水及び岩盤が出た場合は、第2候補地や盛り土方式の利用、焼却処理等、代替法を検討する必要がある。



グラフ 2 近隣住民からの事前承諾

近隣住民への対応については、農場に事前の調整をするよう指導しており、必要に応じて家保も同席し積極的に進めていく予定である。

### 3 まとめ

相双地方で実施している HPAI 防疫対策として、動員体制の見直し、3段階の事前学習、埋却候補地調査の3点を示した。

このように、特定家畜伝染病への理解醸成、実践経験の積み上げ、埋却過程の精査により、さらに迅速な防疫措置へ繋がっていきたいと考える。

# 昨シーズンの発生を踏まえた多角的な高病原性鳥インフルエンザ（HPAI）対策

県北家畜保健衛生所 ○小川彩香、三瓶佳代子

## 1 はじめに

昨シーズンは HPAI の全国的な発生により過去最多の事例数及び殺処分羽数となり、管内でも 1 例発生した。全国的な発生を受けての消費・安全局長通知や疫学調査チームによる提言、管内での発生による課題の洗い出し等により、今年度の取組方針を検討。その結果、今年度は実効性のある飼養衛生管理の指導、埋却地対策、野鳥対策について、重点的に HPAI 対策を実施したので、その取組について紹介する（図 1）。

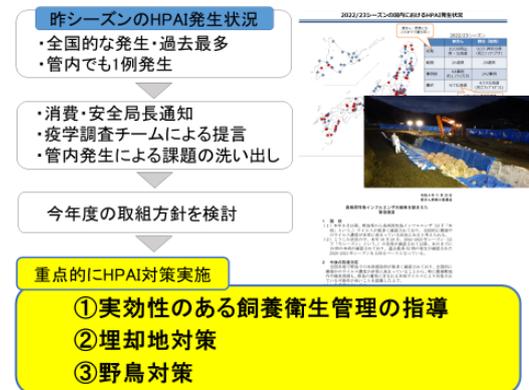


図 1

## 2 実効性のある飼養衛生管理の指導

管内発生農場の疫学調査において複数の不遵守の指摘があり、農家の認識と実効性に差があることが分かった。そこで今年度は、例年よりも早い 5 月から計画的に農場立入指導を行った。立入スケジュールは鶏舎内の不備を確認できるよう、できるだけ空舎期間に立入した。また、1 戸あたりの指導時間を十分に確保し、問題のある農場には複数回立ち入り指導を行った。立入時には、昨シーズンの HPAI 情報、交差汚染対策や野鳥対策等、写真付き資料を用いて丁寧に説明した（図 2）。

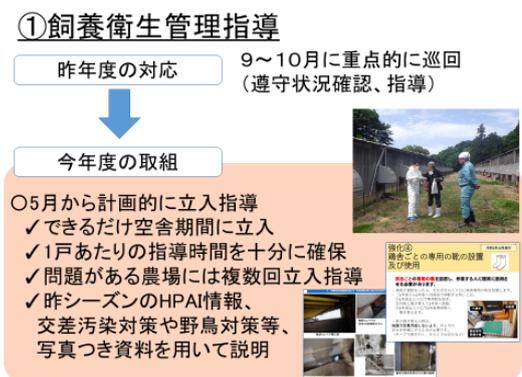


図 2

指導後に改善された事例を紹介する。1 例目は 5 月に立入した農場。ウインドウレス鶏舎の換気扇を確認すると、一部シャッターに破損が確認された。空舎期間中に修繕をするよう指導した結果、シーズン前には補修され、更に、野鳥対策を強化するため防鳥ネットも設置された。5 月という早い段階から指導した結果、時間のかかるハード面での修繕にも取り組めたと考える（図 3）。2 例目は複数回農場を訪問し指導した結果、改善された例。始めは取組に消極的な農場主だったが、継続的に指導したことで衛生意識が向上し、施設の修繕や来場者によるウイルス侵入防止等、自主的に対策を講じるようになった（図 4）。

また、立入指導の他に養鶏農家向けに 2 回、農場指導員向けに 1 回勉強会を開催し、延べ 34 農場に防疫対策について資料を用いて説明するとともに、取り組みを促す目的で衛生対策資材の紹介も行った。勉強会では活発な質疑があり、農家の不安解消にも貢献することができた

### 指導改善事例①



図 3

### 指導改善事例②



図 4

## 3 埋却地対策

昨シーズンの発生では各地で埋却をめぐるトラブルが発生し、埋却地等の確保状況を改めて確認するよう消費・安全局長通知があった。当所では、これまで、定期報告の内容しか持ち合わせておらず埋却地の実態把握が不十分だったため、改めて6月に埋却地の確保状況、土地の所有者情報、埋却に関する注意事項の説明状況等についての調査を実施し、情報を精査。調査の結果、100羽以上飼養の農場全てから埋却地確保済みの回答はあったが、一部に面積不足等の、懸念事項のある農場もあった。調査結果を踏まえ、大規模農場や面積不足が懸念される農場を優先して、7月より関係機関による埋却地現地調査を実施した(図5)。

現地調査では建設業協会、実際の防疫措置で埋却班となる県北農林事務所農村整備部職員が地下水出現のリスクや地形、重機の進入路などをチェックし、埋却地として適しているかどうか確認した。今年度は18戸の農場の現地調査を行い、7戸が埋却地として不適と判断された(図6)。

また、埋却に係る不測の事態が発生した場合に備え、代替措置の検討を同時に進めた。埋却の代替措置として、焼却施設へは、各市町村の焼却施設関係者へ有事の際の協力を依頼。現状、炉の処理能力や安全管理等の課題もあるが、一定の理解は得られており、今後も調整を継続していく。埋却可能な候補地の情報提供に

### 埋却地に係る今年度の取組

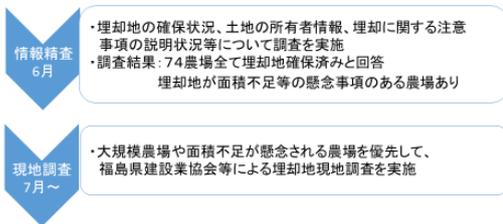


図 5

### 埋却地の現地調査



調査実施者: 福島県建設業協会、農林事務所(農村整備部、農業振興普及部)、農場、市町村、家保

#### 今年度の調査結果

調査実施農場数	利用適地 <small>※条件付き含む</small>	利用不適	急傾斜湧水
18戸	11戸	7戸	

図 6

### 代替措置検討

#### 焼却施設との調整

- 各市町村のごみ焼却施設関係者に有事の際の協力を依頼
- 施設ごとに処理能力、安全管理等の課題を整理
- 今後も調整を継続



#### 埋却候補地の情報提供

- 市町村に埋却可能な候補地の情報提供を依頼

【事例: 今年度の埋却地調査で不適と判断された農場】

- 町に候補地の選定協力依頼
- 町から候補地の紹介(民有地)、地権者との調整
- 候補地の現地調査の結果、適地と判断

町の協力により新たな埋却候補地を選定

図 7

については、市町村に協力を依頼。今年度の調査で不適と判断された農場の事例では、町に埋却地として利用可能な土地の選定の協力を依頼したところ、新たな候補地の紹介、地権者との調整をしていただいた。現地調査の結果、適地と判断し、町の協力により新たな埋却候補地を選定することができた（図7）。

#### 4 野鳥対策

疫学調査チームの提言や農場からの対策の要望を受け、地域一体となった野鳥対策が必要だと考え、今年度は取組を始めた。市町村に養鶏場周辺における野鳥対策等について協力を依頼した。具体的には農場周辺のため池等への野鳥飛来防止対策、カラス等有害鳥獣の駆除、住民への野鳥・野生動物によるウイルスの拡散防止対策の周知を依頼し、試験的に高リスク地域のため池対策を実施（図8）。

対策を実施するにあたり農林事務所はため池台帳の情報提供や市町村への説明同行、市町村は、ため池対策の調整役、広報活動、有害鳥の駆除などを担当した。ため池管理者である水利組合からは、ため池対策時の立ち会いや、設置後の見回りにご協力いただくなど、家保が中心となり、新しいネットワークを構築しながら、野鳥飛来抑制対策を推進した（図9）。取組の結果、市町村からは、広報による住民への野鳥対策の周知、猟友会によるカラスの駆除等協力が得られ。防鳥対策として、ため池に野鳥飛来抑制のための防鳥糸やカイトの設置、農場依頼による池の水抜きも実施（図10）。防鳥糸等設置後の見回りでは、ため池に飛来する野鳥の数は減っており、一定の効果は確認できた。

### ③野鳥対策

2022/23シーズンのHPAI疫学調査報告書の提言

発生事例から得られた知見	提言
<p>(3) 農場への侵入防止（地域を念めた対策）</p> <p>① 農場周辺の水場・畑等で野鳥・野生動物対策            ○多くの発生農場の近くで、水鳥類が飛来する可能性が            ある池や水場を特定。            ○発生農場とその周辺3km以内の非発生農場について電線敷設            を比較            ○距離が近く（500m）に地域が併用していることが発生と関連</p>	<p>家畜へへのウイルスの侵入防止のため、野鳥を衛生            管理区域に近づかせない            ⇒ 農場周辺の池や水場を特定            ⇒ 水鳥類が飛来しないよう対策（ネットやフェンス等）            ⇒ 野鳥・野生動物によるウイルスの拡散防止            ⇒ ① 水場の乾燥につながる変更な作りかえに類する行為            は控える            ② 野鳥や野生動物の死体等は放置せず、適切に自治体に            連絡して処理、池が乾いた際            ③ 池・水場等で複数の野鳥が同時に発生する場合は、            池畔に進入しない</p>

地域一体となった対策必要  
農場からの対策要望

今年度の取組

- 市町村に養鶏場周辺における野鳥対策等について協力依頼
- ✓農場周辺のため池等への野鳥飛来防止対策
- ✓カラス等有害鳥獣の駆除
- ✓住民への野鳥・野生動物によるウイルスの拡散防止対策の周知
- ✓試験的に高リスク地域のため池対策実施

図8

### 関係機関との連携

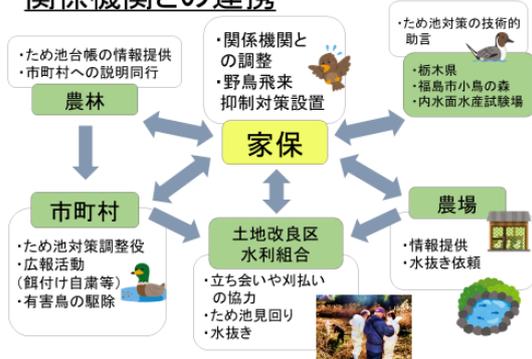


図9

### 具体的な取組

- 市町村の公報掲載
- 猟友会によるカラス駆除
- ため池の野鳥飛来抑制対策

図10

## 5 まとめ

昨シーズンの発生を踏まえ、今年度は3点について重点的に取り組んだ。

飼養衛生管理の指導については、5月から計画的に立入し、1戸あたりの指導時間を十分確保し丁寧に指導したことにより農家の衛生意識が向上した。今後も引き続き指導していく。

埋却地対策に関しては、建設業協会、農村整備部職員による現地調査の実施、市町村への埋却可能な土地の情報提供依頼、焼却施設の利用を依頼。また、調査で不適と判断された農場もあったが、市町村の協力により新たな埋却地選定に至った。

今後は、埋却地調査の継続、建設業協会などの関係機関との埋却地情報の共有を図る。焼却施設については、利用承諾は得られていないが、利用に当たっての課題や搬入条件などの情報を共有できたため、今後も調整を継続する。

野鳥対策では一部市町村で農場周辺のカラスの駆除や広報による住民への周知に協力が得られた。また、ため池対策については、地域一体となったネットワークが構築され、野鳥飛来抑制の効果も確認できたことから、今後は地域での自主的な取り組みとなるよう、指導していく。

今年度の多角的な取組により、関係機関との連携強化や新たな協力体制の構築につながった。今後も課題を関係機関と共有しながら、地域一体となった防疫対策を推進していく。

## まとめ

	今年度の取組	今後の取組
実効性のある飼養衛生管理の指導	<ul style="list-style-type: none"> <li>5月から計画的に立入</li> <li>1戸あたりの指導時間を十分確保</li> <li>勉強会、研修会の実施</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>指導継続</li> </ul>
埋却地対策	<ul style="list-style-type: none"> <li>建設業協会、農村整備部職員による現地調査</li> <li>市町村等に候補地の情報提供、焼却施設の利用を依頼</li> <li>町の協力により、埋却候補地を選定</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>現地調査継続（未実施の農場）</li> <li>関係機関との埋却地情報共有</li> <li>焼却施設の調整継続</li> </ul>
野鳥対策	<ul style="list-style-type: none"> <li>市町村へ野鳥対策について住民に周知を依頼</li> <li>関係機関と連携して高リスク地域のため池対策</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>関係機関との取組継続</li> <li>地域への普及、移行</li> </ul>

図 11

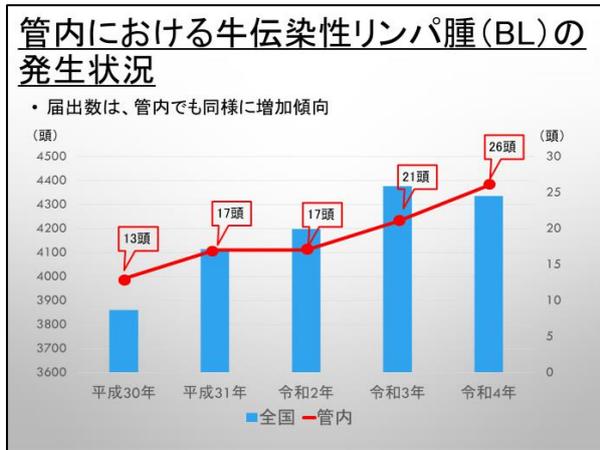
管内黒毛和種繁殖農場の牛伝染性リンパ腫清浄化に向けた取組

中央家畜保健衛生所 ○蛭田彩子 星陽子

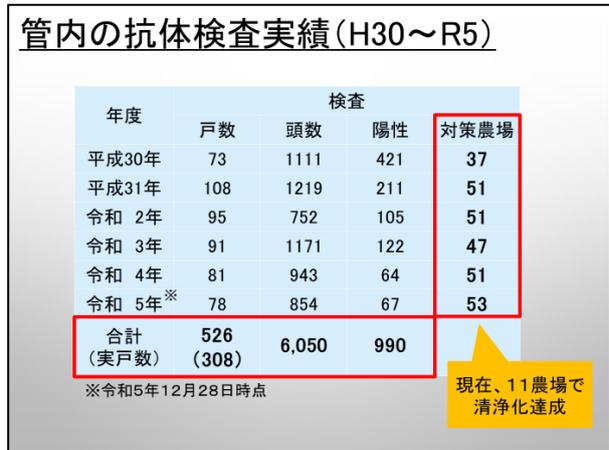
1 はじめに

管内における牛伝染性リンパ腫（以下、BL とする）の発生状況は、過去 5 年間で全国と同様に増加の傾向である一方で農場の注目度も高まっている（図 1）。

平成 30 年～令和 5 年 12 月までの管内の BLV 抗体検査実績は、検査戸数 526 戸(実戸数 308 戸)、検査頭数延べ 6,050 頭で、清浄化対策を実施している農場も増加しており、現在 53 農場で対策を実施継続中である（図 2）。その中で、平成 31 年から対策を始め、今年度清浄化見込みの A 農場について報告する。



< 図 1 >



< 図 2 >

2 農場概要及び抗体陽性率推移

A 農場は黒毛和種繁殖経営で、現在、繁殖メス牛を 65 頭飼養している。農場では、平成 30 年に BL 発症疑い牛が斃死、翌年も同疑い牛 2 頭の病性鑑定依頼があり、血液検査から 2 頭とも発症が疑われる結果であった。病性鑑定以降、畜主が農場内での BLV 蔓延を懸念し、家保の指導のもと、対策を開始した（図 3）。

平成 31 年に実施した初回の抗体検査では 60 頭中 38 頭陽性で、陽性率は 63%であった。その後、対策により徐々に陽性牛を減らしていき、令和 5 年 10 月には最後の陽性牛をと畜出荷した（図 4）。



< 図 3 >



< 図 4 >

### 3 A 農場の対策

BL 清浄化を目指すに当たり、農林水産省が策定した「牛白血病衛生対策ガイドライン」を指導の参考とし、対策の基本として農場の BLV 浸潤状況に関わらず注射針や直腸検査手袋の 1 頭毎の交換、除角・耳標装着時などの出血を伴う処置の止血や器具消毒を確実に実施し、人為的な感染を引き起こさないようにすることを徹底した上で、A 農場では主に 3 つの観点から対策を実施した（図 5）。



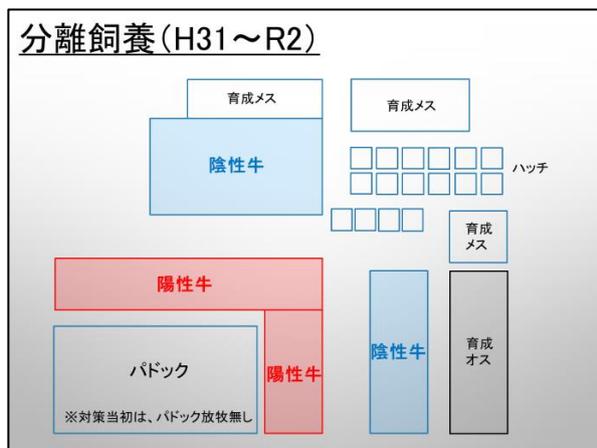
< 図 5 >

#### (1) 畜舎の対策

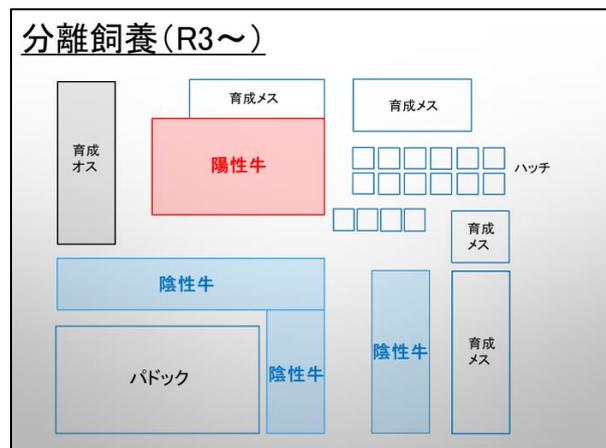
##### ア 分離飼養

家保の検査成績をもとに、陽性牛と陰性牛を畜舎毎に分離し隔離飼養を徹底した（図 6）。なお、陽性牛舎のパドックについては対策当初は水平伝搬防止のために使用しなかった。

対策を継続する中で陽性牛が減少したことから、令和 3 年以降、陽性牛を 1 畜舎にまとめて飼養した（図 7）。



< 図 6 >

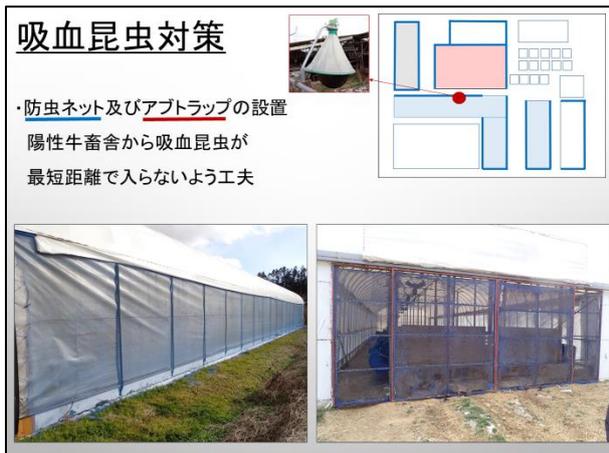


< 図 7 >

#### イ 吸血昆虫対策及び野生動物対策

BLV は血液(感染リンパ球)を介して伝播することから、吸血昆虫の発生が見られる時期に対策を講じることが重要であるため、全頭検査実施後、防虫ネット及びアブトラップを設置した（図 8）。

野生動物対策としては、防風ネットを分娩房のしきりとして活用した（図 9）。以前より、牛の分娩後、地面に落ちた胎盤を目当てにタヌキ、ネコ、カラス等が畜舎へ侵入しており、畜主は水平伝搬を懸念していた。対策後は野生動物の侵入は確認されていない。



< 図 8 >



< 図 9 >

## (2) 子牛の対策

### ア 完全人工哺育 (図 10)

子牛の出生後の BLV 感染リスクは、感染母牛との同居期間が長いほど高く、BLV 感染母牛由来の母乳の給与は、子牛への感染源となる。そのため A 農場では、分娩直後に母親から分離し、個別のハッチで飼養し、完全人工哺育とした。また、若齢期での感染リスクを下げるため、陽性牛産子と陰性牛産子が隣り合わないよう、分離を強化した。

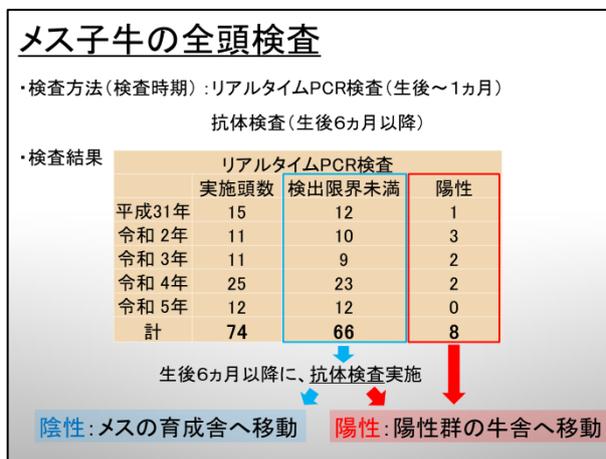
また、機械的伝搬防止対策として、子牛をハッチに入れる際は洗浄及び消毒を行い、哺乳等の給餌について給与順を配慮する他、哺乳器については1頭につき1つの器具を使用し、哺乳器の洗浄及び消毒についても徹底することで、哺乳時期の BLV 感染防止に努めた。



< 図 10 >

### イ メス子牛の全頭検査 (図 11)

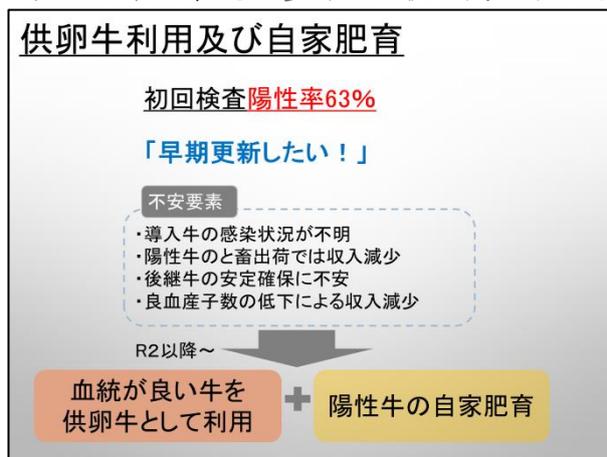
感染子牛と非感染子牛を分離するために、メス子牛の全頭検査を実施した。検査方法及び検査時期については、リアルタイム PCR 検査は生後～1 ヶ月齢まで、確認のための抗体検査は生後 6 ヶ月以降に実施した。検査結果は平成 31 年から令和 5 年にかけて、74 頭検査実施し、ウイルス量が検出限界未満の子牛は 66 頭、陽性は 8 頭であった。検出限界未満の子牛は生後 6 ヶ月以降に抗体検査を実施し、陰性であればメスの育成舎へ移動した。リアルタイム PCR 検査で陽性の子牛及び、6 ヶ月後の抗体検査で陽性の子牛は陽性群の牛舎へ移動した。



< 図 11 >

(3) 母牛の対策 (図 12)

A 農場では初回検査で繁殖牛の抗体陽性率が 63%で、その多くが血統の良い牛であった。清浄化のために畜主は早期更新に意欲的であったが、不安要素として、導入牛の感染状況が不明であること、繁殖牛を早期にと畜した場合、枝肉価格が低く収入が少ないこと、抗体陰性の後継牛の生産が難しいこと、及び良血産子数の低下による収入の減少が懸念された。これらの不安を解決するために、陽性牛がある程度減少した令和 2 年以降、血統の良い牛を供卵牛として利用すると同時に陽性牛を自家肥育する取組を開始した。

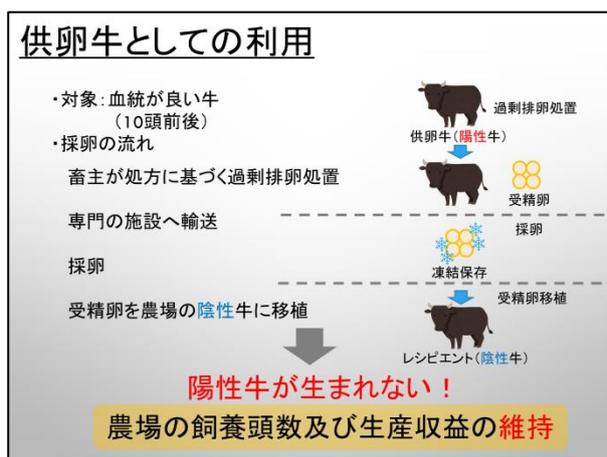


< 図 12 >

ア 供卵牛としての利用 (図 13)

「牛白血病衛生対策ガイドライン」にも記載があるように、卵子には BLV の感染は認められていないため、陽性牛から後継牛を作出する場合の検討が可能とされている。A 農場では、血統の良い陽性牛から陰性の後継牛を産出するため、この取組を開始した。

具体的には、まず畜主が処方に基づく過剰排卵処置を実施し、人工授精後に専門の施設へ牛を輸送、採卵、凍結保存の後、施設の獣医師が受精卵を当該農場の陰性牛に移植する方法であり、結果、陽性牛が生まれることなく、農場の飼養頭数及び生産収益の維持につながった。

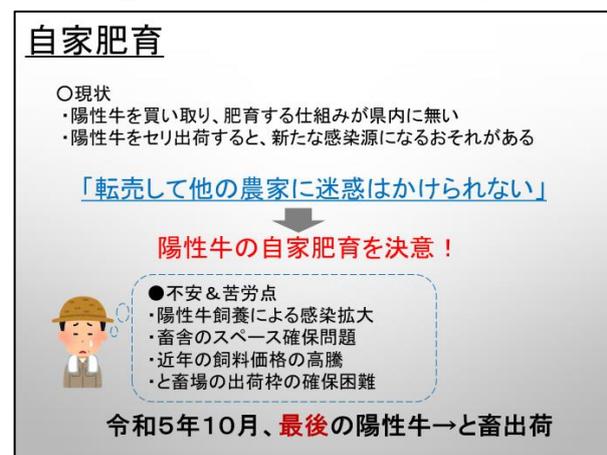


< 図 13 >

イ 自家肥育の実施 (図 14)

現状として、陽性牛を買取り、肥育する仕組みが本県には無い。そのため、行き場を失った陽性牛をセリに出荷すると、新たな感染源になるおそれがある。畜主は、

「陽性牛を転売して他の農家に迷惑をかけることはできない」という思いから、陽性牛の自家肥育を決意した。陽性牛の自家肥育実施にあたり、陽性牛を長期間飼養することによる感染拡大のリスク上昇、余分な飼養スペースの確保、近年の飼料価格の高騰、と畜場への出荷枠確保困難など多くの不安や苦勞をかかえながらも、令和 5 年 10 月、最後の陽性牛を



< 図 14 >

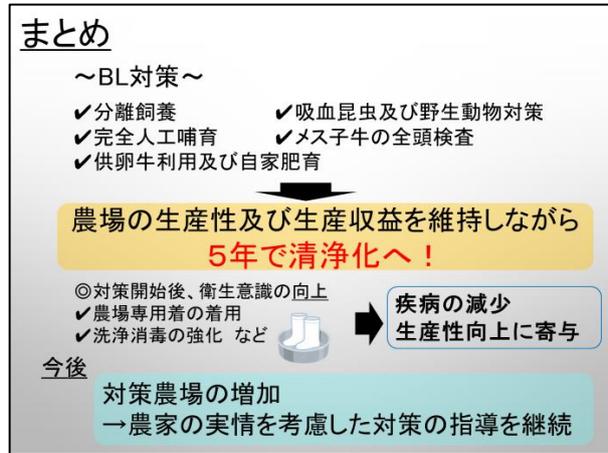
出荷した。

#### 4 まとめ (図 15)

A 農場は、BL 対策として、分離飼養、吸血昆虫および野生動物対策、完全人工哺育、メス子牛の全頭検査、陽性牛の供卵牛としての利用及び自家肥育を実施し、その結果として、農場の生産性および生産収益を維持しながら5年で陽性牛0頭を達成し、清浄化へ向けて最終段階となっている。

また、対策開始をきっかけに、畜主の衛生意識が向上し、農場専用着の着用、長靴や使用器具の頻繁な洗浄消毒を実施するようになったことで疾病の減少につながり、子牛の生産性向上に寄与した。

今後、対策農場が増えていく中で、このような取組を紹介しながら、農家の実情を考慮した対策の指導を継続したいと考える。



< 図 15 >

## 繁殖豚における尾部採血法の導入の試み

中央家畜保健衛生所 ○稲葉俊祐 稲見健司

### 1 はじめに

一般的に繁殖豚ストールでは、鼻保定による頸部採血法（以下、頸部法）で採血を行っている。この方法は保定が必要であり、複数頭採血するには保定の労力がかかる上、ストールの構造によっては前方が開かず、採血に苦慮する場合もある。また、妊娠豚へのストレスによる、流産等の危険性もあることから、胎齢を確認しながら採血可能な豚を選別する必要がある。そこで、繁殖豚における尾部採血法（以下、尾部法）の導入を試みたのでその概要について報告する。

### 2 使用道具及び採血方法

シリンジに針の太さ 21G、長さ 5/8 の翼状針を取り付けて採血に用いた（図 1）。はじめに、尾を挙上して腹側正中溝にある尾動脈の触知を行い、爪跡やマーカーで印をつけて消毒をする。尾根より 10～20cm 遠位に、尾の腹側面を基準として約 10°～20° の角度で尾根に向けて針を挿入する。針を挿入したら、シリンジの内筒を引き、陰圧の状態を維持したまま針先を動かし、血液が入ってくる位置で保持する（図 2）。

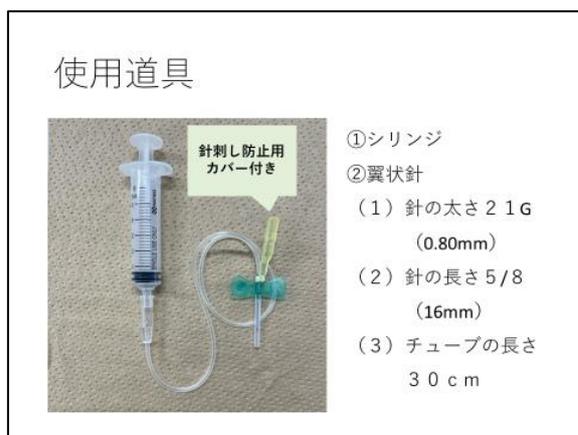


図 1 使用道具



図 2 採血方法

採血従事者に手技の紹介と習熟を目的に、採血方法について動画資料を作成して共有を行った。

### 3 血管の位置の確認

豚の解剖を行い、尾の血管走行について確認した。尾椎と筋肉により構成される腹側正中溝の皮下に尾動脈が走行しており、尾根より 10～20cm 遠位においては血管径に大きな変化はなく、採血に適していることが確認できた。一方、尾根腹側面には脂肪が多

く存在し、皮膚と尾動脈との間が離れすぎていて、採血には適していないことが判明した（図 3）。

#### 4 当初懸念された課題

##### (1) 採血量の確保

尾部法の経験数によって採血量が安定しないことがあったが、経験の浅い採血従事者であっても検査に必要な量の血液は確保することができた。

##### (2) 止血の要否

尾部法は尾動脈を穿刺するため、止血を行わないと血液が臀部や後肢へ付着したり、床への滴下が見られる。畜主に対して、採血時の出血について事前に説明を行った上で採血作業に立会い確認してもらったところ、多量の出血ではないので問題ないとの意見があり、止血は不要と判断した。

##### (3) 採血中の豚の後退への対応

採血中に豚が暴れたり後退すると針が抜けたり、ストールに手を挟みそうになったりと作業効率が低下してしまう事例があった。採血に合わせて給餌を行ったところ、豚は食餌に集中し採血中に大きく動くことがほとんど無くなった。

##### (4) 手技（個人の採血技術習得）

使い慣れていない採血道具を使用することや正中溝と尾動脈を正確に見つけスムーズな採血を行うためには、習熟が必要であった。採血技術の習得ポイントは、血管の走行を理解し、左右どちらかに湾曲している尾がまっすぐになるように挙上すること、血管が走行していない尾の側面の溝と間違えずに尾腹側正中溝を見極めることが重要である（図 4）。

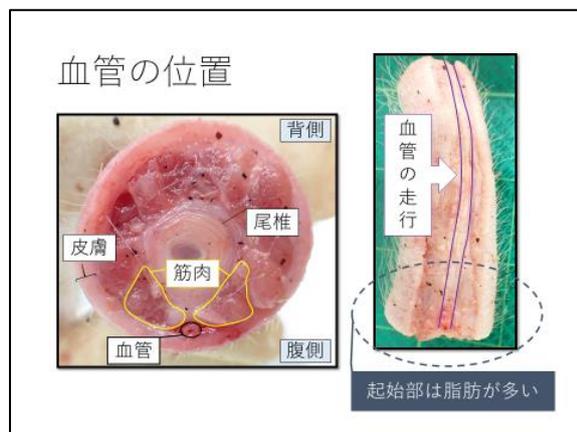


図 3 血管の位置

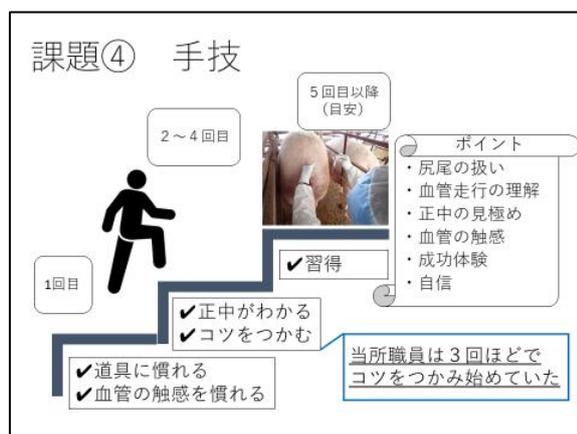


図 4 手技

#### 5 採血作業効率の検証

##### (1) 方法

飼育頭数約 700 頭の農場において豚熱の免疫付与状況確認検査のため、繁殖母豚 30 頭及び肥育豚 30 頭の計 60 頭採血し、シャワーインからアウトまでにかかった時間を記録した。頸部法と尾部法について繁殖母豚 1 頭当たりの所要時間を計算し、

作業効率について比較検討した。

## (2) 採血の所要時間

頸部法の A 班 2 名（家保獣医師 1 名、農場従事者 1 名）と尾部法の B 班 1 名（家保獣医師 1 名）に分かれて採血を実施した。A 班は肥育豚の採血終了後に着替えと消毒をしてから繁殖母豚の採血を、B 班は繁殖母豚のみの採血を実施した。A 班が繁殖母豚の採血開始時に、B 班は 13 頭の採血を終えていた。残り 17 頭について 2 班で同時進行したところ、A 班は頸部法で 10 頭、B 班は尾部法で 7 頭採血した。採血作業全体の所要時間は 1 時間 40 分であった。（図 5）

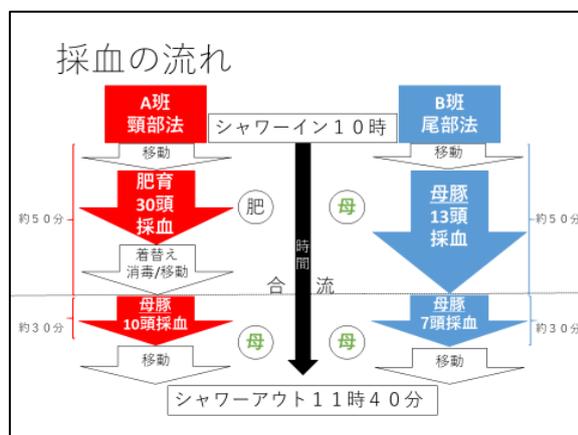


図 5 採血の流れ

## (3) 結果

シャワーや移動の時間を考慮しつつ、繁殖母豚 1 頭当たりにかかる採血所要時間を計算したところ、採血開始から終了まで、尾部法では約 4 分、頸部法では約 3 分で大差はなかった（表 1）。

## (4) 考察

同一人数での採血時間の比較を行ったところ、母豚 30 頭採血に要する時間は 1 農場あたり 30 分削減でき、帰庁後の検査時間の確保に繋がる。尾部法の技術習得者が増えれば、より一層の業務効率化を図ることができると考えられた（図 6）。

## 6 安全性の比較

尾部法はストールの前方が開かないといった豚舎構造にも左右されず、また、後方からアプローチするため無理な姿勢をとることもほとんど無くなり採血者の安全性は高い。事故の危険性は無保定

表 1 採血時間の計算

採血時間の計算		
母豚 1 頭あたりの時間（目安）：採血開始から終了まで		
	時間	必要人数
尾部法	約 4 分	1 人
頸部法	約 3 分	2 人
肥育採血（参考）	約 1 分半	2 人

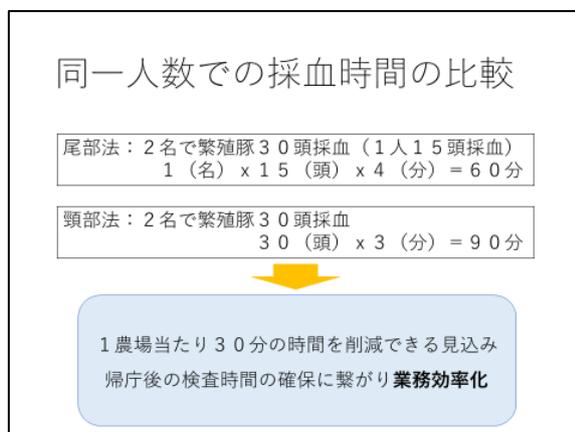


図 6 同一人数での採血時間の比較

で食餌している間に採血を行えるためほとんどないと推察する。さらに、豚の鼻保定時の悲鳴は聴覚への影響も懸念されるが、尾部法では悲鳴が無く採血従事者のストレスが少ない（図7）。

## 7 まとめ

尾部法は技術面の不安があったが、数回経験することにより習得が可能であった。頸部法と比較すると、保定の労力の大幅な削減が可能である。給餌により動きを制限することによって鼻保定の必要がなく、豚舎構造に左右されにくい。また、鼻保定がないため豚の悲鳴がなく、豚と採血作業双方のストレス軽減につながる。各項目で比較すると、総合的にメリットが大きい採血方法であることが判る（図8）。

定期的に行う豚熱等の抗体検査のための採血方法として、ストール内の繁殖母豚における尾部法はかなり有用である。尾部法の経験を重ね手技を習熟することによって採血従事者と豚のストレスを大幅に軽減できる。さらに採血者単独での採血が可能になることから、業務の効率化にもつながる。今後も尾部法を活用し、習熟者を増やし、従来の方法と併用できる選択肢にすることでより一層、業務の効率化を図りたい。

	豚への安全性		人への安全性	
	採血事故	豚へのストレス	従事者	豚舎構造
尾部法	○	○	○	○
頸部法	△	×	△	△

保定時の悲鳴は90dB以上あり長時間暴露は聴覚への影響も懸念される



図7 安全性の比較

	採血技術	採血量	所要時間	保定労力	効率	総合評価
尾部法	△	○	○	◎	○	○
頸部法	△	○	○	△	△	△

図8 まとめ

## 1 概要

令和5年7月、A市住民から養鶏場における羽毛の飛散と悪臭及び住民同意のない鶏糞処理施設増築に係る苦情を受理。

当該農場は同系列採卵鶏農場で、同地区内にコンポストのある農場とコンポストのない農場があり、自農場内で鶏糞の処理を完結するため、コンポスト装置ない農場ではコンポスト装置の設置を計画。

今回、A農場からの10数年来にわたる羽毛の飛散と、B農場からの悪臭問題を巡る、近隣住民と農場間のトラブルに係る取組について報告する。

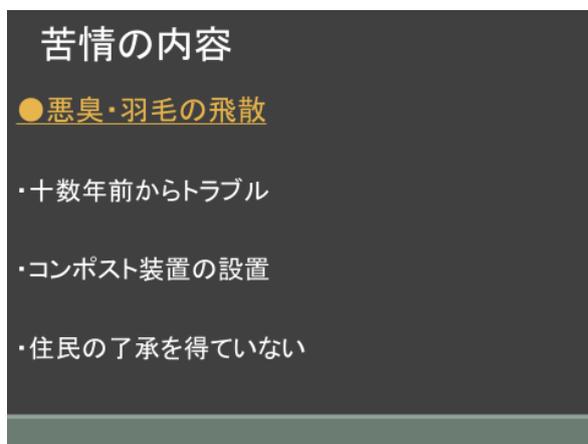


図1 概要



図2 苦情内容図解

## 2 苦情主宅聞き取り調査

A市担当者と連携し、苦情主からの聞き取り調査を実施。苦情主は、「羽毛の飛散は長年の問題」「農場が住民へ説明なしに工事を進めるのは問題であり、コンポスト装置を増築することで、さらに悪臭が発生するのは耐えがたい」「住民の苦情に対して、農場側が要望を実現していない」と主張。

苦情主は農場に対し、「羽毛飛散と悪臭の発生について、理由を説明すること」「これら問題に対して、具体的な改善策を提示すること」「これらがなされない場合は、工事を中止すること」を要望。また、行政へは「当該農場に対し、強く指導すること」を要望。

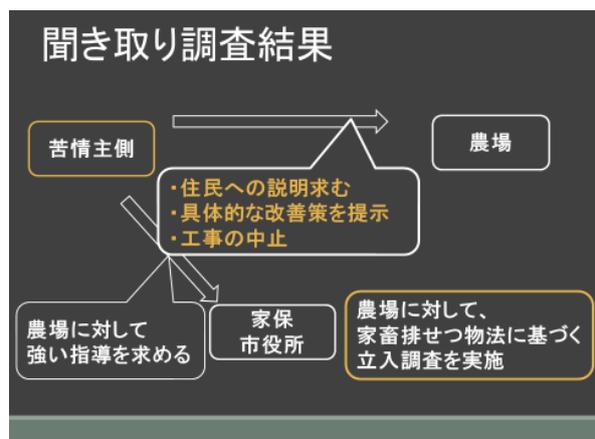


図3 聞き取り調査結果

### 3 農場立入調査

このことを踏まえ、A市担当者とともに、当該農場への家畜排せつ物法に基づく、立入調査を実施した。当日は、敷地境界部（本用語は環境関係の用語で、家保の管轄する法令には類似した用語がないため、便宜上飼養衛生管理区域と同義とみなした。）における羽毛の飛散状況と臭気センサーを用いた臭気測定、家畜排せつ物法に基づく管理基準の遵守状況を確認した。



図4 A農場立入調査



図5 B農場立入調査

立入調査の結果、敷地境界部付近での羽毛の飛散は認めず、また臭気指数も基準値以下であった。なお、コンポスト装置付近では強いニオイが測定されたが、本装置から発生する臭気は一度脱臭装置を経由してから大気中に放出される仕組みになっており、脱臭装置付近での臭気指数は基準値範囲内であった。併せて、鶏糞処理施設での管理基準違反は認めず、適切に管理されていた。

これら結果を踏まえ、農場側の聞き取り調査を併せて実施。住民からの苦情に対して、農場側はできる限りの対策は講じていると反論。一方で、説明が不足している面があることは否めないとのことであった。

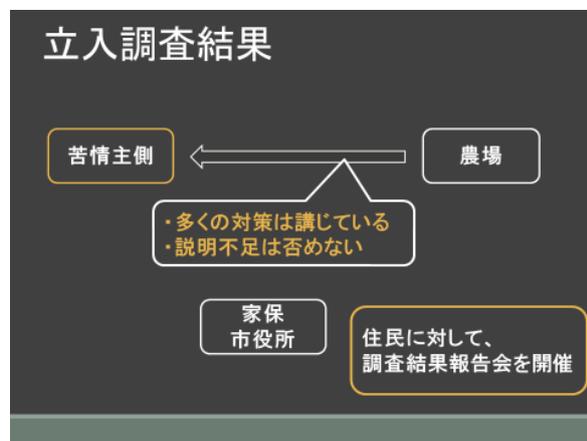


図6 立入調査結果

### 4 住民への報告

後日、苦情主等へ調査結果を報告したが、「農場側の対策が現状効果あるように思えないこと」、「臭気測定結果に対して疑問視」。今回の調査等の結果、近隣住民と農場のコミュニケーション不足、臭気データの信頼性の確保が課題であり、これら項目こそが、今後優先的に対応が必要な事項と判明した。

### 住民への報告会

令和5年11月16日  
 ・市役所担当者 2名  
 ・相双家保 2名  
 ・苦情主及び関係者 3名



図 家保より調査結果を報告

○対策実施状況の報告  
 (羽毛・悪臭防止ネットの設置、脱臭装置等)

図 7 住民への報告会

### 課題

○住民-農場間でのコミュニケーション不足

○測定・立入頻度

●現状を互いに認識することが課題解決の糸口

図 8 課題

## 5 意見交換会の開催

前項を踏まえ、近隣住民と農場のコミュニケーションの場の設置と、農場側の対策を具体的に住民へ説明するため、意見交換会の場を設けた。意見交換会では住民からの強い意見も出てくる中、農場側が「苦情相談窓口の設置」「頻回の住民宅への訪問と調査の実施」「羽毛飛散と脱臭機能の追加設置」を行うことを提案し、農場側の対策がさらに進み始めた。

### 農場側対策実施提案

○苦情相談窓口の設置

○頻回に住民宅へ訪問・調査

○羽毛飛散への対策追加

○脱臭機能等の対策追加

図 9 農場側の対策案

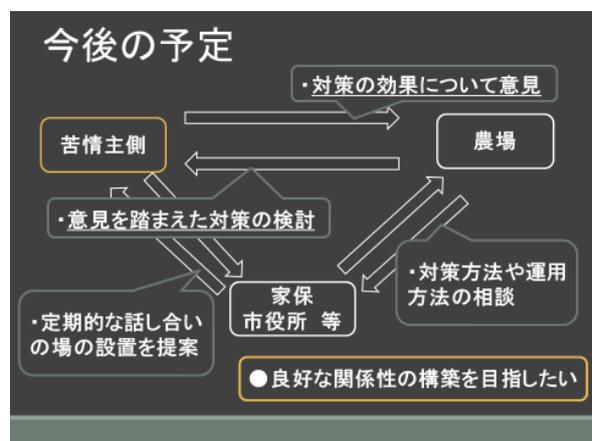


図 10 今後の課題

今回の意見交換会では農場側に強い痛みが伴う結果となったが、住民とのコミュニケーションを図る場が設置できたことで、今後も信頼関係の構築のため定期的な意見交換の機会の設定と臭気データの蓄積方法等を検討し、相互理解のもと環境問題の改善を推進していきたい。

1 鶏大腸菌症とは（図1）

鶏大腸菌症は、鶏病原性大腸菌（Avian pathogenic *Escherichia coli*: APEC）を原因とし、出荷直前の6～9週齢のブロイラーで好発する。症状としては、元気消失、呼吸器症状、羽毛逆立、死亡がある。内臓の病変は気嚢炎、心膜炎、肝被膜炎等が見られ [1]、食鳥検査ではと殺禁止及び全廃棄の対象となるため、世界で最も被害の大きい鶏疾病のひとつと言われている。

**鶏大腸菌症とは**

原因	鶏病原性大腸菌 ( <i>Avian pathogenic Escherichia coli</i> : APEC)
好発	6～9週齢のブロイラーで好発
症状	元気消失、呼吸器症状、 羽毛逆立、死亡
病変	気嚢炎、心膜炎、 肝被膜炎等
食鳥検査	と殺禁止、全廃棄



世界で最も被害の大きい鶏疾病のひとつ

図1 鶏大腸菌症とは

2 鶏病原性大腸菌（APEC）

鶏大腸菌症の原因菌であるAPECは過去の報告で、病原性関連遺伝子保有数が多い傾向にあること、血清型では01、02、078等が多いことが報告されているが、詳細な細菌学的性状は解明されていない [2]。今回、性状から病原性の評価が可能か検討するため、当所で保存している鶏由来大腸菌を調査したので、その概要を報告する。

3 材料と方法

今回の調査の対象としたのは平成21年から令和5年の間に鶏から分離され、当所で保存していた大腸菌26株。内容は、鶏大腸菌症発症鶏由来5症例15株および鶏大腸菌症非発症鶏由来7症例11株。実施した調査は病原性関連遺伝子保有数、薬剤耐性、血清型の3項目。

調査1 病原性関連遺伝子保有数

過去に病原性の高い株が保有していたという報告 [2] がある9遺伝子（鉄補足関連因子：*feoB*、*iucC*、*iutA*、*irp2*、*fyuA*、付着因子：*fimH*、*papG allele II*、血清耐性：*iss*、バクテリオシン：*cvaC*）を選定し、PCRにより検索した。鉄捕捉関連因子は腸管外環境での生存、付着因子は細胞への侵入に関与。血清耐性は血液中での生存、バクテリオシンは自身の近縁種を傷害する作用に関与している。

● 病原性関連遺伝子保有状況一覧

大腸菌株	株数	遺伝子保有数	<i>feoB</i>	<i>iucC</i>	<i>iutA</i>	<i>irp2</i>	<i>fyuA</i>	<i>fimH</i>	<i>papG allele II</i>	<i>iss</i>	<i>cvaC</i>
発症鶏由来株	4	8	○	○	○	○	○	○	○	○	○
	3	7	○	○	○	○	○	○	○	○	○
	2	9	○	○	○	○	○	○	○	○	○
	2	8	○	○	○	○	○	○	○	○	○
	1	7	○	○	○	○	○	○	○	○	○
	1	6	○	○	○	○	○	○	○	○	○
非発症鶏由来株	1	7	○	○	○	○	○	○	○	○	○
	1	2	○	○	○	○	○	○	○	○	○
	6	6	○	○	○	○	○	○	○	○	○
	2	5	○	○	○	○	○	○	○	○	○
	1	8	○	○	○	○	○	○	○	○	○
1	4	○	○	○	○	○	○	○	○	○	
1	9	○	○	○	○	○	○	○	○	○	

発症鶏由来株で遺伝子保有数が多い傾向

図2 病原関連遺伝子保有状況一覧

結果、発症鶏由来株の多くが7～9の病原性関連遺伝子を保有しているのに対し、非発症鶏由来株では5～6の遺伝子保有パターンが多く、発症鶏由来株で遺伝子保有数が多い傾向が見られた（図2）。しかし、どちらの由来株にも共通した遺伝子保有パターン

ンの存在も確認された。共通してみられたのは3パターンで、その中でも今回調査した9遺伝子すべてを保有するパターンが両由来株に見られた。遺伝子ごとの保有率に着目してみると、発症鶏と非発症鶏に共通して鉄捕捉因子の *feoB*、*incC*、*iutA*、付着因子の *fimH*、および血清耐性の *iss* が90%以上という高い確率で保有されていた。

## 調査2 薬剤耐性

薬剤耐性では、一濃度ディスク拡散法にて実施した。使用薬剤は、各系統の薬剤に加え鶏を対象に使用される薬剤を選択し、全11薬剤（アンピシリン、セファゾリン、セフォタキシム、カナマイシン、ストレプトマイシン、ナリジクス酸、ノルフロキサシン、シプロフロキサシン、テトラサイクリン、ST合剤、クロラムフェニコール）とした。また、過去に同様の試験を実施済の場合、その結果を採用した。

結果、発症鶏由来株では、最大6薬剤への耐性が見られ、耐性薬剤数が2以上の多剤耐性菌は15株中13株、率にして87%であった（図3）。同様に、非発症鶏由来株では耐性薬剤数は最大7、多剤耐性菌は11株中9株、率にして82%で、株の由来に関係なく、8割以上が多剤耐性であった（図4）。

● 発症鶏由来株の薬剤耐性率 多剤耐性率：87%

株数	耐性薬剤数	ABPC	CEZ	CTX	KM	SM	NA	NRFX	CIP	TC	ST	CP
2	6	R	I	S	R	R	S	S	S	R	R	R
2	5	R	R	I	R	R	S	S	S	R	S	S
1	3	S	S	S	R	S	R	S	R	S	S	S
1	3	R	I	S	R	R	S	S	S	S	S	S
4	2	S	S	S	S	S	R	S	S	R	S	S
2	2	S	S	S	R	S	R	S	I	S	S	S
1	2	S	S	S	S	R	S	S	S	S	R	S
2	0	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
薬剤耐性率		33%	2%	0%	53%	40%	47%	0%	7%	53%	20%	13%

図3 発症鶏由来株の薬剤耐性率

● 非発症鶏由来株の薬剤耐性率 多剤耐性率：82%

株数	耐性薬剤数	ABPC	CEZ	CTX	KM	SM	NA	NRFX	CIP	TC	ST	CP
1	7	R	R	R	S	R	R	S	I	R	R	S
1	7	R	R	S	R	R	R	S	I	R	S	R
1	5	R	S	S	S	R	R	S	S	R	R	S
1	4	S	S	S	S	R	R	S	R	S	R	S
1	4	R	I	S	R	R	S	S	S	R	S	S
1	3	S	S	S	R	R	S	S	S	R	S	S
2	2	R	I	S	R	I	S	S	S	S	S	S
1	2	R	I	S	S	I	S	S	S	R	S	S
1	1	R	I	S	S	S	I	S	S	S	S	S
1	0	S	S	S	S	I	S	S	S	S	S	S
薬剤耐性率		73%	18%	9%	45%	55%	36%	0%	9%	55%	27%	9%

図4 非発症鶏由来株の薬剤耐性率

## 調査3 血清型

血清型別はデンカ生研 病原性大腸菌免疫血清を用いて実施した。免疫血清で判定不可となった検体はPCRで血清型の型別を行うO-genotyping [3]を用いた。また、過去に同様の試験を実施済の場合、その結果を採用した。

結果、発症鶏由来株のうち5株が078と判定され、7株は分類不能となった。非発症鶏由来株では7株が分類不能となった（図5）。

調査3 血清型

大腸菌株	株数	血清型
発症鶏由来株	5	078
	2	0116
	1	018
	7	型別不能
非発症鶏由来株	2	08
	1	0119
	1	025
	7	型別不能

図5 血清型

## 4 まとめと考察

調査1 病原性関連遺伝子保有数では、発症鶏由来株で遺伝子保有数は多くみられる傾向があったが、非発症由来の1株で全9種を保有しているものも見られ、病原性

との相関は不明であった。各遺伝子に注目すると、鉄補足関連因子、血清耐性を多くの株が保有していた点が注目された。これらの因子は腸管外での生存に関与することから、今回の供試株がすべて腸管外から分離されている状況を反映しているものと推察された。

調査2 薬剤耐性では、両由来株の各薬剤に対する耐性率は一部を除き概ね同様で、両由来株で8割以上が多剤耐性であった。耐性率が高い薬剤は第一次選択薬に集中しており、この傾向も両由来株で一致していた。今回の調査で得られたデータから耐性薬剤数と病原性関連遺伝子の相関を調査したが、この2つの値には相関は無かった。

調査3 血清型調査では、発症鶏由来株の15株中5株で078を分離し、非発症鶏由来株では多くが型別不能であった。血清型と病原性関連遺伝子保有数の間の相関も調査したが、078とそれ以外で病原性関連遺伝子保有数に有意な差は見られなかった。

最後に、これら調査1～3から既報を支持する結果も得たが、病原性評価は困難であると考えられ、性状からの病原性評価のためにはさらなるデータの蓄積が必要であると考えられた。

#### 参考文献

- [1] 鶏病研究会：家禽疾病学 第一版（2015）
- [2] 風間知里ら：鶏病原性大腸菌の病原性関連遺伝子と病原性との関連性、鶏病研究会報 52、191-196（2016）
- [3] Iguchi A, et al. : Escherichia coli O-Genotyping PCR: a Comprehensive and Practical Platform for Molecular O Serogrouping, J Clin Microbiol. 53, 2427-2432（2015）

# 県内初の D 型インフルエンザウイルス分離事例

中央家畜保健衛生所 ○西郷智貴、橋本知彦

## 1 はじめに

D 型インフルエンザウイルス、(以下 IDV) は 2011 年米国で豚から初めて分離され、当初は C 型インフルエンザと近い配列が検出されていた<sup>1)</sup>が、2016 年正式に国際ウイルス分類委員会により D 型に認定された。主にウシの呼吸器病に関与し、単独感染での病原性は低いが、伝播力は強いとされている<sup>2)</sup>。国内では 2016 年に初めて検出され<sup>3)</sup>、国内に広く浸潤していると報告されているが<sup>4)</sup>、未だ不明な点も多く、福島県内ではこれまで分離された事例はない。

今回、呼吸器症状を呈した乳用牛から県内初の IDV が分離されたため、その概要について報告する。

## 2 発生概要 (図 1)

農場は約 60 頭飼養のつなぎ飼いの酪農家で、敷地の都合上、隔離牛舎等を設置できない状況であった。経過は、令和 5 年 1 月下旬、20 か月齢の牛 1 頭が県外預託から戻ってきたところ、聴診で肺雑音が確認された。2 月 4 日、搾乳牛に数日前から呼吸器症状や発熱、一部下痢を呈する個体も確認されたことから、診療獣医師が抗生剤等の治療をするも症状は回復しなかった。2 月 7 日、現地家保職員の立入時、呼吸器症状及び下痢は軽度になった

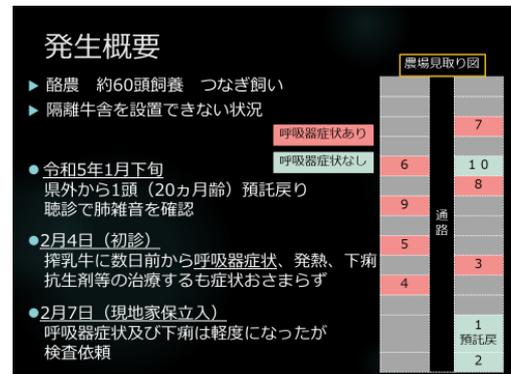


図 1 発生概要

が、呼吸器症状が広く見られたことから、預託戻り牛 1 頭及び同居牛 9 頭の計 10 頭について、呼吸器病まん延の原因究明のため病性鑑定の依頼があった。

## 3 検体概要 (表 1)

月齢は 20~58 ヶ月齢で、7 検体 (No.3~9) に呼吸器症状がみられ、4 検体 (No.3~6) に抗生剤の治療が行われた。検査材料は鼻腔スワブが 7 検体 (預託戻りの No.1、No.5~10)、プレ及びポスト血清は同居牛を含めた計 10 検体を用いた。

検体番号	月齢	呼吸器症状	抗生剤	鼻腔スワブ	プレ・ポスト血清	備考
1	20	-		○	○	預託戻り
2	45	-			○	
3	58	+	+		○	
4	39	+	+		○	
5	42	+	+	○	○	
6	26	+	+	○	○	
7	41	+		○	○	
8	52	+		○	○	
9	32	+		○	○	
10	28	-		○	○	

表 1 検体概要

## 4 材料及び検査方法

### (1) 遺伝子検査

鼻腔スワブ 7 検体を用いて、IDV についてはリアルタイム PCR<sup>5)</sup>、牛 RS ウイルス (BRSV)、牛伝染性鼻気管炎 (IBRV)、牛パラインフルエンザウイルス 3 型 (BPIV3)、

牛ウイルス性下痢ウイルス (BVDV)、牛コロナウイルス (BCV)、牛アデノウイルス 7 型 (BAV7) については PCR を実施した<sup>6)~10)</sup>。

(2) ウイルス分離

遺伝子検査で IDV を検出した検体における鼻腔スワブを用いて、ST 細胞ならびに 0.5 μg/ml トリプシンを添加した HRT-18 細胞に 37°C、7 日間、3 代盲継代を実施した。また、HRT-18 細胞に接種した初代から 3 代目までの培養上清について IDV のリアルタイム PCR を実施した。

(3) ウイルス抗体検査

プレ及びポスト血清各 10 検体を用いて、BRSV、IBRV、BPIV3、BVDV1 型、BVDV2 型、BAV7 について中和試験を実施した。IDV、BCV については HI 試験を実施した。なお、IDV の HI 試験は、HRT-18 細胞において分離された IDV を指示ウイルスとして用いて、国立感染症研究所のインフルエンザ診断マニュアル<sup>11)</sup>を参考とした。

(4) 分子系統解析

分離された IDV の HEF 遺伝子について、ダイレクトシーケンス解析、系統樹の作成を実施した。

(5) 細菌学的検査

鼻腔スワブ 7 検体を用いて、常法により実施した。

5 検査結果

(1) 遺伝子検査

IDV について、全検体から特異遺伝子が検出された。CT 値は 20.4~35.0 で、預託戻り牛である No.1 は 35.0 であり最もウイルス量は少なかった (表 2)。

BRSV、IBRV、BPIV3、BVDV、BAV7 については、全検体陰性だった。

(2) ウイルス分離及び培養上清の遺伝子検査

HRT-18 細胞を用いた盲継代の結果、いずれの検体もウイルス増殖の指標である細胞変性効果 (CPE) は確認されなかった。しかし、ST 細胞では 2 検体 (No.6、7) において CPE が確認されたこと、HRT-18 細胞に接種した培養上清の遺伝子検査の結果 3 検体 (No.6、7、9) で初代から 3 代目までいずれも IDV 遺伝子を検出したことから、ウイルス分離と判断した (表 3)。

検体番号	IDV	CT値	ウイルス量
1	+	35.0	少
5	+	29.5	
6	+	20.5	多
7	+	23.8	多
8	+	32.1	
9	+	20.4	多
10	+	32.5	

表 2 遺伝子検査結果

検体番号	IDV(CT値)		
	初代	2代目	3代目
1	-	-	-
5	-	-	-
6	+(16.1)	+(16.3)	+(18.5)
7	+(20.6)	+(15.5)	+(15.3)
8	-	-	-
9	+(32.3)	+(19.4)	+(15.6)
10	-	-	-

※いずれも明瞭なCPEは確認されず

表 3 培養上清の遺伝子検査

### (3) ウイルス抗体検査

#### ①中和試験 (表 4)

いずれのウイルスについても、プレ及びポスト血清で有意な抗体価の上昇は見られなかった。

#### ②HI 試験 (表 5)

IDV について 7 検体 (No.4~No.10) において、有意な抗体価の上昇が見られた。なお、預託戻り牛である No.1 はプレ血清の時点で 1280 倍と高い抗体価であった。また、BCV については 3 検体 (No.4、8、10) において有意な抗体価の上昇が見られた。

検体番号	BRSV		IBRV		BPIV3		BVDV1		BVDV2		BAV7	
	前	後	前	後	前	後	前	後	前	後	前	後
1	64	64	<2	<2	128	128	32	32	256	256	1024	2048
2	64	64	<2	<2	64	128	<2	<2	<2	<2	2	<2
3	32	32	<2	<2	256	128	<2	<2	<2	<2	4	4
4	128	128	<2	<2	128	64	<2	<2	<2	<2	<2	<2
5	128	128	<2	<2	64	128	<2	<2	<2	<2	1024	1024
6	8	16	<2	<2	256	256	<2	<2	<2	<2	1024	512
7	128	128	<2	<2	256	256	<2	<2	<2	<2	256	512
8	64	32	<2	<2	128	32	<2	<2	<2	<2	512	512
9	32	32	<2	<2	16	8	<2	<2	<2	<2	2	2
10	64	64	<2	<2	256	256	<2	<2	<2	<2	4096	4096

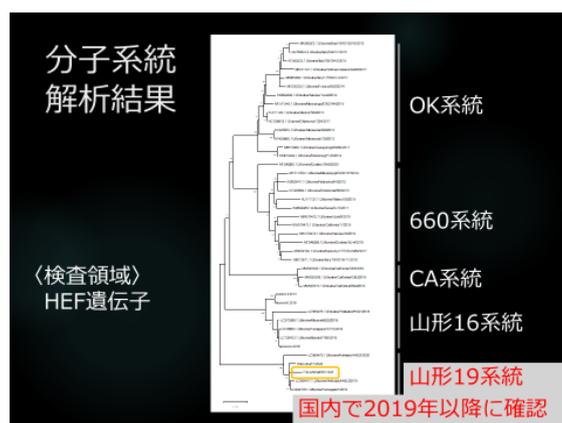
(表 4) 中和試験結果

検体番号	IDV		BCV	
	プレ	ポスト	プレ	ポスト
1	1280	1280	64	128
2	640	640	64	128
3	320	640	64	128
4	80	640	64	256
5	160	640	64	128
6	80	320	64	128
7	40	1280	64	64
8	320	2560	64	256
9	20	320	256	512
10	320	1280	256	1024

(表 5) HI 試験結果

### (4) 分子系統解析 (図 2)

HEF 遺伝子について、IDV は大きく 5 つの系統があり、今回の分離株は 2019 年以降に日本国内で確認された株と同じ山形 19 系統であった (図 6)。



(図 2) 分子系統解析結果

### (5) 細菌学的検査

鼻腔スワブ 3 検体 (No.1、6、8) から *Streptococcus* 属、1 検体 (No.7) から *Aerococcus viridans*、2 検体 (No.9、10) から *Mannheimia haemolytica*、1 検体 (No.10) から *Moraxella bovis* が分離された。

## 6 考察

BCV について、HI 試験では 10 検体中 3 検体で有意な抗体価上昇が見られたため下痢及び呼吸器症状の関与も考えられたが、遺伝子検査では全検体陰性であったため本症例への関与は不明であった。

IDV について、遺伝子検査では全検体で特異遺伝子検出、ウイルス分離では 7 検体中 3 検体分離、HI 試験では 10 検体中 7 検体で有意な抗体価の上昇が見られたこと、細菌学的検査において 7 検体中 6 検体で *Mannheimia haemolytica* など複数種の細菌が分離されたことから、既報通り IDV は強い伝播力をもつことが判明し、本症例を IDV 及び細菌が関与した呼吸器病と診断した。また、本症例は県内初の IDV 分離事例であった。

預託戻り牛がリアルタイム PCR で低いウイルス量であったこと、プレ血清では 1280 倍と他の検体と比べてすでに高い IDV 抗体価を保有していたことから、病性鑑定時は IDV 感染の初期ではなく、預託から戻る前後に発症し、農場に戻ってから同居牛に感染したと推察された。一方で、全頭のプレ血清で IDV 抗体を保有していたことから、過去にも農場に侵入の可能性が考えられた。

## 7 追加調査及び今後の展望

農場への過去の侵入時期や県内での流行があったかどうかを調べるために、追加調査を行った（表 6）。

令和 2 年 10 月に実施した家畜伝染病予防法第 5 条に基づくヨーネ病検査の余剰血清 67 検体、平成 29 年～令和 5 年の県内での呼吸器病の病性鑑定事例の血清、鼻腔スワブ及び肺乳剤など 85 検体、今回農場での症状が見られた直近の令和 4 年 11 月に実施したアルボ

追加調査					
農場の侵入時期や県内への浸潤状況調査					
対象	時期	内容	材料	検体数	IDV 遺伝子検査
農場	R2.10	5条検査	血清	67	全検体 検出されず
県内	H29 ～R5	呼吸器病 病性鑑定	血清 鼻腔スワブ	85	
	R4.11	アルボウイルス サーベイランス	血清	56	

（表 6）追加調査

ウイルス感染症サーベイランス事業の血清 56 検体を用いた結果、いずれも IDV 遺伝子検査は全検体検出されなかったため、現時点ではいつ頃から県内に浸潤していたか詳細な時期は不明であった。

IDV は現時点では有効なワクチン等は市販されていないため、飼養衛生管理を徹底することで牛呼吸器病症候群（BRDC）による経済的損失を防ぐことが重要と考える。

今後はこれらの検体を中心に IDV 抗体検査を実施し、IDV の抗体価の推移を追うことで、より詳細な農場の侵入時期や県内の浸潤状況を調査し、データを蓄積していくことで呼吸器病の診断の一助としたい。

## 8 謝辞

ST 細胞におけるウイルス分離、ダイレクトシーケンス及び分子系統解析等を実施していただいた東京大学大学院農学生命科学研究科の堀本泰介先生に深謝いたします。

9 参考文献

- 1) Hause BM, et al.: Isolation of a novel swine influenza virus from Oklahoma in 2011 which is distantly related to human influenza C viruses, *PLoS Pathog*, 9, e1003176(2013)
- 2) Luca F, et al.: Pathogenesis of Influenza D Virus in Cattle, *J Virol*, 90, 5636-5642(2016)
- 3) Murakami S, et al.: Influenza D Virus Infection in herd of cattle, Japan, *Emerg, Infect Dis*, 22(8), 1517-1519(2016)
- 4) Horimoto T, et al.: Nationwide Distribution of Bovine Influenza D Virus Infection in Japan, *Plos One*, 11(9), e0163828(2016)
- 5) Kishimoto M, et al.: Development of a one-run real-time PCR detection system for pathogens associated with bovine respiratory disease complex *J. Vet. Med. Sci.* 79(3): 517-523(2017)
- 6) Valarcher J, et al.: Evolution of bovine respiratory syncytial virus. *J Virol* · 74. 10714-10728 (2000)
- 7) Martin W, et al.: Detection of bovine herpesvirus-1 in bovine semen by a nested PCR assay, *Journal of Virological Methods* volume 44. 129-139(1993)
- 8) Kirisawa R, et al. :Detection of bovine parainfluenza virus type 3, bovine respiratory syncytial virus and bovine viral diarrhoea mucosal disease virus infections by polymerase chain reactions. *J Rakuno Gakuen Univ* 19. 225-237 (1994)
- 9) Vilcek S, et al. :Pestiviruses isolated from pigs, cattle and sheep can be allocated into at least three genogroups using polymerase chain reaction and restriction endonuclease analysis. *Arch Virol* 136. 309-323. (1994)
- 10) Tsunemitsu H, et al. :Experimental inoculation of adult cows with bovine coronavirus and detection of coronavirus in feces by RT-PCR. *Arch Virol* 144. 167-175(1999)
- 11) 国立感染症研究所インフルエンザウイルス研究センター：インフルエンザ診断マニュアル（第4版）（2019）

## 1 はじめに

糖尿病は高血糖と尿中への糖排泄（糖尿）を特徴とする病態であり、多因子が複雑に関与し、総じてインスリン作用の不足による疾患の総称である。牛での発症は稀であり、ほとんどがヒト分類における I 型糖尿病（絶対的なインスリン不足）に相当するとされている。牛ウイルス性下痢ウイルス（BVDV）や口蹄疫ウイルスによる自己免疫性リンパ球性膵島炎や膵島の空胞変性に続発すると示唆されている。今回、膵島β細胞低形成による先天性を疑った子牛の糖尿病に遭遇したので概要を報告する。

## 2 症例概要

症例は黒毛和種、雄、初診時は 49 日齢であった。第 1 病日には元気消失を呈し、血液検査で高血糖（389mg/dL）及びアシドーシス（pH:7.28）、尿検査で尿糖 3+、尿ケトン 4+が認められた。以後、重曹注投与によりアシドーシスは改善されたが血糖値に変化はなかった。第 8 病日には自立可能であるものの、時折振戦などの神経症状を呈し、予後不良と判定され、I 型糖尿病が疑われた。BVDV の関与を調査するため第 9 病日に生体搬入され、当所で病性鑑定を実施した。なお、糖負荷試験・インスリン負荷試験は実施できなかった。

## 3 材料及び方法

当該牛について、常法に沿って病理解剖を実施し臓器を採材した。組織学的検査は基本の HE に加えて、膵臓に対して特殊染色（グリメリウス染色、アルデヒドフクシン染色）及び免疫染色（抗グルカゴン抗体、抗インスリン抗体、抗ソマトスタチン抗体）を実施した。生化学的検査は、常法に沿って当該牛血清を用いて測定した。血清中のインスリン濃度は市販キット（Mercodia Bovine Insulin ELISA kit, Mercodia AB, Sweden）を用いて測定した。ウイルス学的検査では、BVDV 抗原遺伝子について PCR を実施した。細菌検査は実施しなかった。

## 4 結果

### （1）剖検肉眼所見

第 9 病日生体搬入時には起立不能で意識混濁、衰弱していた。同月齢子牛と比較して体格は同等であったが軽度に消瘦していた。膵臓に萎縮や結節、腫瘍などの病変は肉眼的にみられなかった（図 1）。膀胱尿を用いた簡易尿検査ではケトン体 3+、ブドウ糖 2+、蛋白質 2+、潜血 1+であった（図 2）。

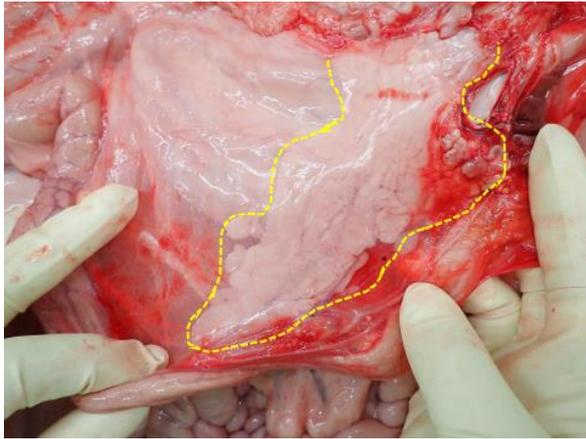


図1 肉眼所見（膵臓）



図2 簡易尿検査結果

## (2) 組織所見

膵臓の HE 染色では、同月齢子牛（以下、対照とする）と比較して膵島を構成する細胞の異常が認められ、膵島炎や膵島の空胞変性は認められなかった。膵島周囲の空隙が明瞭であり、膵島の大部分では矢印に示す、核が円形～楕円形で大きく、クロマチンが凝集し淡明、少量の弱好酸性細胞質をもつ細胞が占めていた（図 3）。それらの細胞の間隙には矢頭で示す、核が小さく強塩基性で細胞質は好酸性の強い円柱状～樹形状の細胞が一部でみられた（図 3）。膵島  $\alpha$  細胞を標的としたグリメリウス染色では、膵島の辺縁部に、褐色に染まる陽性部位が認められた（図 4）。同じく  $\alpha$  細胞を標的とした抗グルカゴン抗体を用いた免疫染色でも、グリメリウス染色で陽性を示した膵島辺縁部に一致して陽性反応が認められた（図 5）。膵島  $\beta$  細胞を標的としたアルデヒドフクシン染色では、膵島内に紫色に染まる陽性顆粒はほとんど認められなかった（図 6）。同じく  $\beta$  細胞を標的とした抗インスリン抗体を用いた免疫染色の低倍像では、膵臓のごく一部で陽性反応が認められ（図 7）、高倍像では、陽性反応は膵島内とその周辺のごく一部に限られていた（図 8）。膵島  $\delta$  細胞を標的とした抗ソマトスタチン抗体を用いた免疫染色では、膵島に一致して陽性反応が認められ、陽性を示す細胞数が対照より軽度が増数していた（図 9）。以上をまとめると、対照と比較して本症例では膵島  $\alpha$  細胞は差が認められず、 $\beta$  細胞は顕著に減数しており、 $\delta$  細胞は軽度が増数していたことが判明した。

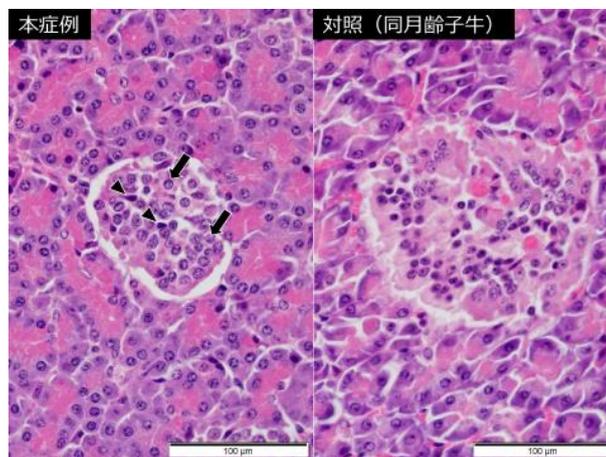


図3 膵臓 HE 染色

（左：本症例、右：対照、以下組織像は同様）

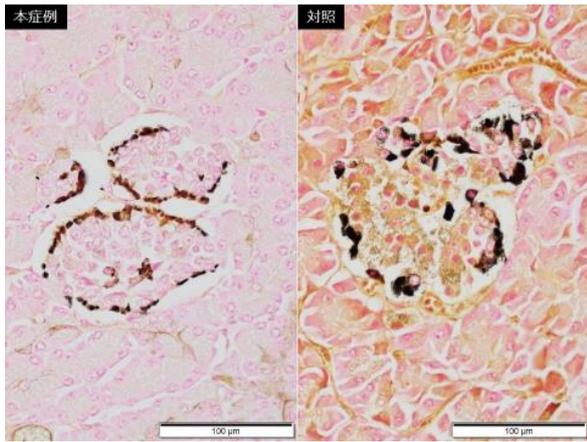


図4 膵臓 グリメリウス染色

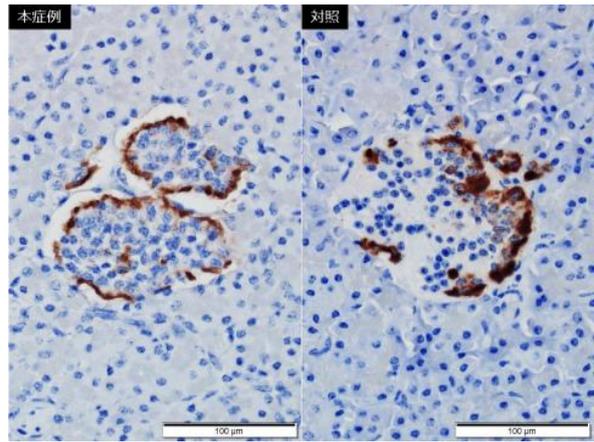


図5 膵臓 免疫染色 (抗グルカゴン抗体)

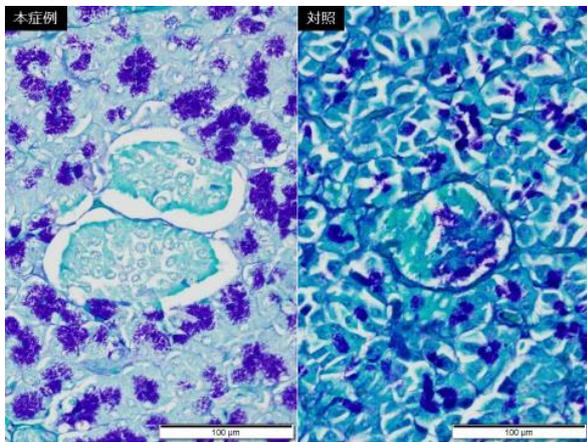


図6 膵臓 アルデヒドフクシン染色

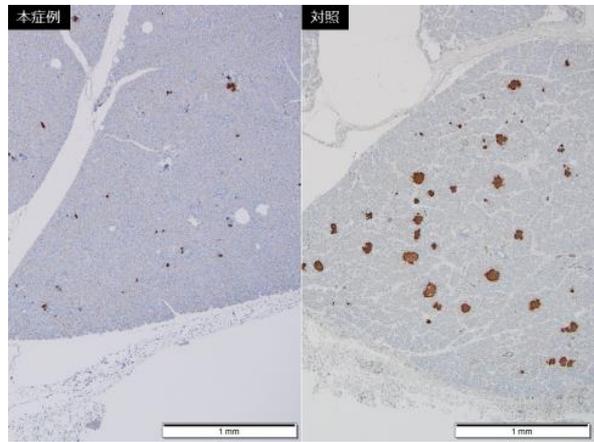


図7 膵臓 免疫染色 (抗インスリン抗体) 低倍像

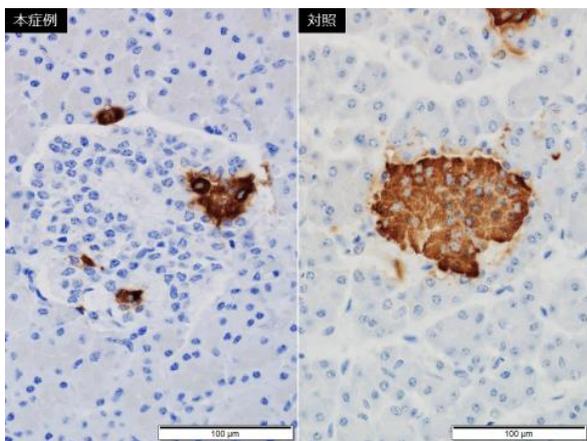


図8 膵臓 免疫染色 (抗インスリン抗体) 高倍像

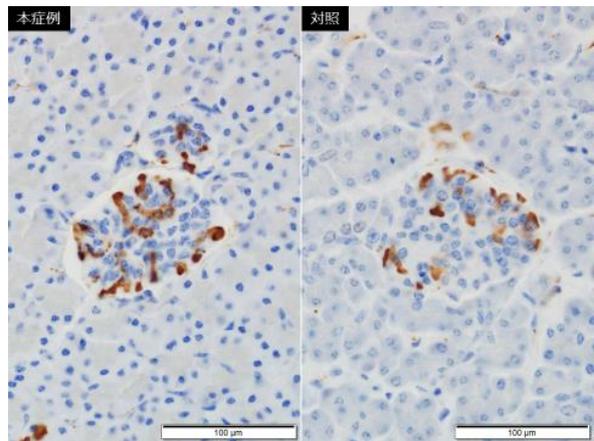


図9 膵臓 免疫染色 (抗ソマトスタチン抗体)

### (3) 生化学的検査

各項目の測定値は以下の表のとおり (表 1)。これらのうちグルコース、インスリン、NEFA、BHB 及び TG の数値より、高血糖、低インスリン血症、ケトーシス、高脂血症を示した。

表 1 生化学的検査結果

項目	測定値	項目	測定値
Glu	350 mg/dl	LDH	2696 IU/l* <sup>2</sup>
T-Cho	292 mg/dl	Ca	10.7 mg/dl
BUN	29 mg/dl	Mg	1.6 mg/dl
T-Bil	0.7 mg/dl	IP	8.3 mg/dl
GOT	184 IU/l	アミラーゼ	800 IU/l <
GPT	223 IU/l	Na	132 mEq/l
GGT	39 IU/l	K	4.1 mEq/l
Cre	0.8 mg/dl	Cl	101 mEq/l
CPK	8352 IU/l* <sup>1</sup>	NEFA	1264.4 µEq/l
TP	5.8 g/dl	BHB	7.0 mmol/l <
Alb	3.5 g/dl	インスリン	< 0.05 ng/ml
TG	307 mg/dl		(測定限界未満)

\*1 血清を生理食塩水で 16 倍希釈して測定

\*2 血清を生理食塩水で 4 倍希釈して測定

### (4) ウイルス学的検査

BVDV 抗原遺伝子は陰性であった。

## 5 診断及び考察

以上の結果から、本症例は BVDV の関与しない、インスリン依存性である I 型糖尿病と診断された。組織学的には膵島 β 細胞の低形成を示しており、大型核の不明な細胞塊はインスリン産生機能を失った β 細胞、もしくは別の細胞が物理的代償的に増数した可能性が考えられた。別の細胞として、α 細胞あるいは δ 細胞の可能性が考えられたが、免疫染色の組織像からはいずれも一致しないと示唆された。また、膵島周囲の空隙は検体処理過程で膵島細胞が収縮したことによるアーチファクトと推察された。病態として、本症例ではインスリンが不足したことにより血糖値が上昇し、それを抑制するために代償的にソマトスタチンも上昇したと考えられた。さらに、血糖値が上昇したことで体内の同化反応 (グリコーゲン合成) ができず、代謝の異化反応が亢進し、エネルギー源として脂肪を利用し、高脂血症となり、脂肪の代謝産物であるケトン体が上昇 (ケトーシス) したと考えられた。国内の既報と比較しても、2 カ月齢で発症した症例報告はなく、本症例での BVDV の関与はなかった (図 10)。膵島炎や膵島の空胞変性も認められず、先天性を疑った症例は調べた限り見つけられず、稀な症例であると考えられた。

既報の糖尿病症例との比較					
	本症例	宮崎県 (1977)	鳥取県 (2003)	岩手県 (2006)	香川県 (2009)
月齢	2カ月齢	12カ月齢	6カ月齢	16カ月齢	26カ月齢
BVDとの関連	—	N.T.	△ (抗体検査のみ)	○ (PI牛)	—
膵臓の肉眼像	著変なし	著変なし	脂肪織へ置換 膵実質の減少	著変なし	著変なし (やや硬結感)
リンパ球性膵島炎	—	○	○	○	—
空胞変性	—	—	—	○	○
膵島細胞の萎縮・消失	—	○	○	○	—
その他特記事項	先天性？ β細胞 低形成	副腎皮質機能 亢進症の合併 を疑う			
		(Hamana et al.)	(Harada et al.)	(Takahashi et al.)	(Yano et al.)

図 10 既報との比較

### 1 はじめに

セレンは必須微量元素で、主にビタミン E と補助し合いながら脂質の酸化を防御している。セレンとビタミン E のどちらかあるいは両方が欠乏することで、幼畜の白筋症、幼豚のマルベリー心臓病、成牛における繁殖障害等が発生する。当所で血清中のセレンを測定する場合、材料を定法に従い前処理後、シリカゲルカラムを使用した HPLC 法で測定するが、シリカゲルカラムは使用頻度が少なく更新の優先度が低くなっている。そこで今回、カラムの劣化や詰まり等によりカラムが使用不能な場合を想定し、カラムを使用しない HPLC 法でセレン測定が可能か検討した。

### 2 材料・方法

材料は、牛プール血清及び牛血清 36 検体、豚血清 10 検体を用いた。

材料を定法（湿式灰化後、2,3-Diaminonaphthalen と反応生成した 4,5-ピアセロールをシクロヘキサンで抽出）に従い前処理後、HPLC で測定することとし、分析精度や相関性確認のために各種試験を実施した。

### 3 試験内容

(i)同時再現性試験(牛プール血清を用い、カラムを使用しないで 20 回同時に測定)、(ii)日差再現性試験 (牛プール血清を用い、カラムを使用しないで 1 日に 4 回、5 日間測定)、(iii)添加回収試験 (牛プール血清を用い、カラムを使用しないで 10、50、100 ng/ml の標準液を添加し測定)、(iv)相関性試験 (牛及び豚血清を用い、カラムを使用した場合と使用しない場合でセレン濃度を測定し比較) の 4 種類の試験を実施した。

### 4 HPLC 測定条件 (図 1)

カラムを使用する場合、シリカゲルカラムを用い、カラムオーブンは 40℃、移動層はシクロヘキサンと酢酸エチルの混合溶媒とした。

カラムを使用しない場合、カラムを装置から取り外し、ユニオンと呼ばれる配管同士を接続する部品を代わりに接続した。カラムオーブンは室温、移動層はシクロヘキサンとした。流速、注入量、検出器については両者で同じ条件とした。

HPLC測定条件		
項目	カラム使用	カラム不使用
カラムオープン内部	 シリカゲルカラム (150mm×4.6mm, 5μm)	 ユニオン
カラムオープン温度	40℃	室温
移動層	シクロヘキサンと酢酸エチルの混合溶媒(93:7)	シクロヘキサン
流速	1.0 ml/min	
注入量	50 μl	
検出器	蛍光検出器(Ex: 380nm, Em: 525nm)	

図 1 HPLC 測定条件

## 5 標準液のクロマトグラム (図 2)

カラムを使用した場合と使用しない場合にそれぞれ同一濃度の標準液を測定すると、カラムを使用した場合、約 6 分の位置にピークが出現したが、カラムを使用しない場合、30 秒もたたない位置にピークが出現し、ピークの溶出位置がかなり早い事が分かった。また、カラムを使用しない場合でも標準液の検量線は 0~200ng/mL の範囲で良好な直線性を示した。

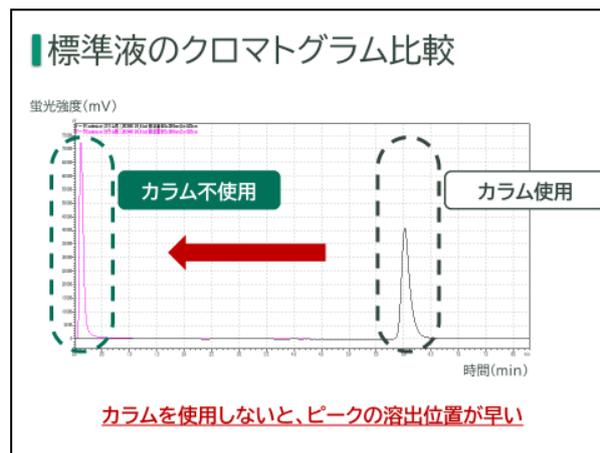


図 2 標準液のクロマトグラム

## 6 結果 (図 3、図 4)

(i)同時再現性試験 (変動係数: 1.3%)、(ii)日差再現性試験 (変動係数: 1.0%)、(iii)添加回収試験 (10、50、100ng/ml の標準液を添加した場合の回収率: 97.2~99%)、(iv)相関性試験 (カラムを使用しない場合と、使用した場合で強い相関を認めた) のいずれの試験でも良好な結果であった。



図 3 結果(i)~(iii)

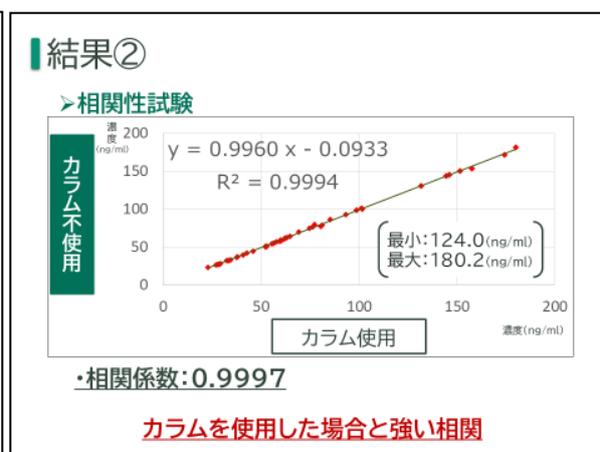


図 4 結果(iv)

## 7 まとめ・考察

カラムが使用不能な場合を想定し、カラムを使用しない HPLC 法でセレン測定が可能か検討したところ、カラムを使用しなくても標準液の検量線は良好な直線性を示し、同時再現性試験、日差再現性試験、添加回収試験、相関性試験においても分析精度、相関性に問題が認められなかったことから、今回の方法でセレン測定は可能と考えられた。

今回の方法では、①前処理が湿式灰化であること、②有機溶媒で抽出したこと、③蛍光を測定していることなどの理由により、カラムを使用しなくとも HPLC でセレン測定が可能であったと推察されるため、セレン測定以外に応用する事は難しいが、セレンを測定する際には有用な方法であると考えられた。