

令和5年度青森県家畜保健衛生業績発表会の概要

1 開催月日

令和6年1月26日（金） アピオあおもり

2 目的

家畜保健衛生所の日常業務に関連した事業、調査、研究等の業績について、発表及び検討を行い、本県畜産業の現況に即した家畜保健衛生事業の改善向上に資するとともに、北海道・東北ブロック家畜保健衛生業績発表会の発表者を選出することを目的とする。

3 発表内容

第1部 家畜保健衛生所の運営及び家畜保健衛生の企画推進に関する業務

第2部 家畜保健衛生所及び病性鑑定施設における家畜の保健衛生に関する試験、調査成績

参考発表 県内の畜産関係者が調査研究した事項であって、家畜衛生関係者の参考になるもの

目 次

- 1 管内における高病原性鳥インフルエンザ発生農場の経営再開に向けた取組
青森家畜保健衛生所 阿部 日向子 1
- 2 高病原性鳥インフルエンザが発生した大規模採卵鶏農場における分割管理を取り入れた経営再開
十和田家畜保健衛生所 武井 裕佳 5
- 3 高病原性鳥インフルエンザ防疫に関する生産者の意識向上への取組
八戸家畜保健衛生所 齋藤 豪 10
- 4 県内 HPAI 発生を踏まえた農場防疫計画の精査
むつ家畜保健衛生所 佐怒賀 香澄 14
- 5 高病原性鳥インフルエンザ発生に備えた適正な埋却地確保と焼却処理の検討
つがる家畜保健衛生所 菊地原 里菜 18
- 6 鶏脳脊髄炎発生農場におけるワクチン抗体獲得への取組
八戸家畜保健衛生所 漆山 文也 23
- 7 肉用牛繁殖農場で発生した真菌性流産
十和田家畜保健衛生所 大澤 光紗 27
- 8 県内でこれまでに確認された鶏伝染性気管支炎ウイルスの遺伝子学的解析
青森家畜保健衛生所 木村 威凱 32
- 9 鶏伝染性気管支炎ウイルスの検出傾向及び新規検査方法の検討
青森家畜保健衛生所 佐藤 宏樹 36
- 参考 ウシ体温を利用した体外受精卵の生産
(地独) 青森県産業技術センター畜産研究所 水木 若菜 41

○北海道・東北ブロック選出演題

1 管内における高病原性鳥インフルエンザ発生農場の 経営再開に向けた取組

東青地域県民局地域農林水産部青森家畜保健衛生所

○阿部 日向子 佐藤 郷子
菅原 健 森山 泰穂

1 はじめに

令和5年3月24日、管内採卵鶏農場において、高病原性鳥インフルエンザ(以下、HPAI)が発生した。発生当時、当該農場では採卵鶏約33万羽を全14鶏舎で飼養しており、3月30日に防疫措置を完了した。

今回、当該農場における防疫措置完了後の経営再開に向けた取組について取りまとめたので、その概要を報告する。

2 経営再開における課題

(1) 鶏ふんの処理

防疫措置完了後の経営再開の流れを図1に示した。経営再開に向けては各段階を踏んでいくこととなるが、立入検査を始めるためには、農場内の排せつ物等に含まれる病原体の不活化に必要な処理が完了している必要がある。

しかし、発生時、当該農場の開放鶏舎では鶏ふん攪拌機の故障により、堆肥化処理が遅延し、鶏舎1階には水分を含んだ多量の鶏ふんが堆積されていた。このため、国との協議に基づき、発酵消毒による封じ込め措置で処

理することとした。40日静置後にウイルス分離検査で陰性を確認したが、中心温度が60℃に達しなかったため、さらに50日静置して不活化処理を完了した。当初は、封じ込め及び堆肥化処理完了に半年以上の時間を要し、経営再開が遅れると見込まれた。

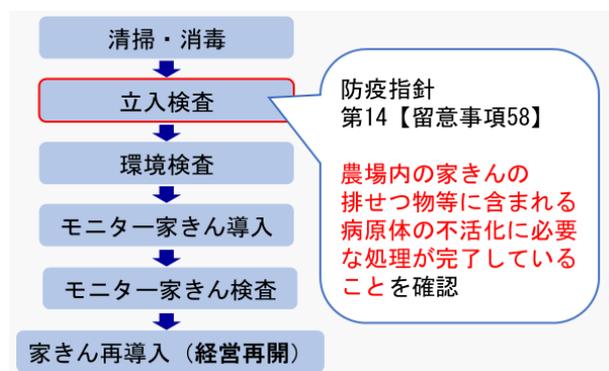


図1 経営再開の流れ

(2) 系列育成農場の雛の扱い

当該農場は、隣接する系列育成農場から定期的に雛を導入しており、本来114日齢で出荷されるが、移動制限により出荷できない状況となった。施設の構造上、出荷日齢を超えた飼育は困難で、飼料が高騰していることもあり、出荷日齢に達する前に廃用とすること

も経営上の選択肢となっていた。

3 経営再開に向けた取組

上記の課題により経営再開が困難になる恐れがあったため、国と協議し、3ブロックに分けて段階的に再開することを計画した。

(1) 段階的な経営再開

全 14 鶏舎を、まず鶏ふんの堆積がない

①西ブロックウインドレス (WL) 鶏舎、その後、鶏ふんの処理を進めながら②西ブロック開放鶏舎、③東ブロック開放鶏舎の順で再開することとした。

各ブロックでの再開に向けては、再開エリアと非再開エリアを分離する必要があったため、衛生管理区域を再設定した。鶏舎作業員を専従化し、農場専用衣類及び長靴を着用する更衣専用室を新設した (図 2)。

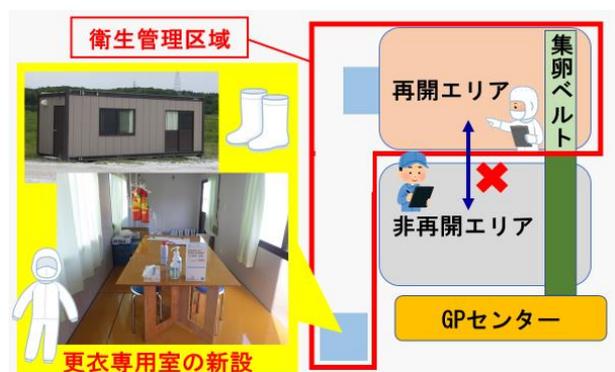


図 2 再開エリアと非再開エリアの分離

また、再開鶏舎の入口に前室を新設し、自動手指消毒機や鶏舎専用長靴を設置することで、再開エリアの交差汚染を防止した (図 3)。

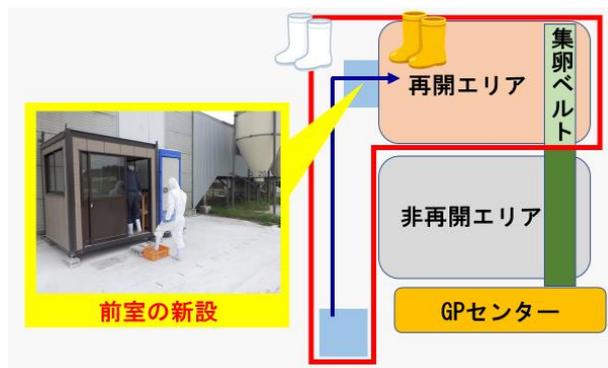


図 3 再開エリアの交差汚染防止

鶏舎を周回する集卵ベルトについては、非再開エリアの集卵ベルトをブルーシートで被覆することによって、再開エリアから出荷される卵を隔離した (図 4)。



図 4 再開エリア出荷卵の隔離

段階的に経営を再開したことで、準備が完了したブロックから家きんの再導入が可能となり、当初半年以上と見込まれた再開までの期間を3か月に短縮した。また、再開計画を調整したことで、系列育成農場の雛3群のうち2群を採卵鶏として活用することができた。

(2) 飼養衛生管理方法の見直し

経営再開にあたって、飼養衛生管理基準の遵守状況を確認したところ、発生時の疫学調査で指摘された事項を中心に改善されてい

た（図5）。



図5 飼養衛生管理方法の見直し

また、飼養衛生管理基準に係る勉強会を開催し、衛生管理の再徹底を周知した。これまでは、飼養衛生管理者への指導が中心となっていたが、全従業員を対象としたことで、農場全体で認識を統一することができた。

近隣のため池の野鳥対策が長年の課題となっていたが、改めて自治体と対策を検討した結果、冬期間の水抜きを実施することができ、野鳥の飛来防止に成功した（図6）。



図6 ため池の野鳥対策

（3）新たな埋却地の選定

経営再開に際して、新たに埋却地を確保する必要があったが、自己所有地の大半は湿地で、過去の試掘調査で不適と評価されていたため難航した。

また、全国の発生事例において、埋却後に周囲への影響が問題となっていたため、より慎重に選定する必要があった。

このため、農場、自治体、地域農村整備建

設協会と連携し、いくつかの埋却候補地の現地確認を行った（図7）。



図7 埋却候補地の現地確認

その中で「適している」と評価された埋却候補地の試掘を実施して、実際に作業する業者と埋却計画を検討した上で埋却地を選定した（図8,9）。



図8 埋却候補地の試掘



図9 埋却計画の検討

4 経営再開を支援して

前述の取組により、当該農場は経営を再開した。しかし、当所が経営再開を支援する中で、さらに検討を必要とする取組もあったため、次のとおり整理した。

(1) 埋却処理の限界

埋却処理の場合は、実際に埋却完了したその後に問題が顕在化するリスクがある。また、一度使用した埋却地は再利用できないため、新たに埋却地を確保する必要がある。このことから、埋却に限らない処理方法を想定する必要があると考え、焼却処分について検討した。

管内の2つの焼却施設を対象に、焼却処理への対応が可能かどうかを確認したところ、両施設とも、「施設の構造上、対応が難しい」との回答があった。

したがって、現状は管内に焼却処理に対応できる施設がなく、処理に時間を要する大規模農場は、埋却処理以外を選択できない状況であることが判明し、地域としての課題が顕在化した。

(2) へい殺畜等手当金の手続き

当該農場では、書類の保管が適正に行われ

ていたことから、必要な書類を滞りなく確保し、申請書の作成を開始した。その結果、手当金の交付を完了し、経営再開の一助とすることができた。

経営維持のためには、円滑な手続きが必要となる。今後は、より早い手当金交付実現のため、手続きの根拠や流れを記録に残し、過去発生事例の手続きについて、県内で情報共有することが必要である。

5 まとめ

本発表の成果を図10に示した。経営再開に向け、飼養衛生管理方法の見直しや新たな埋却地確保に取り組み、県内初となる段階的な経営再開を実現した。その結果、当初の想定より早期に経営を再開することができた。

今後は、HPAI発生リスクの低減や農場としての経営基盤強化も見据え、農場の分割管理や埋却に限らない処理方法などについて検討する。引き続き関係機関と連携し、課題を解決しながら、地域のHPAI防疫体制強化に努めていく所存である。



図10 成果

2 高病原性鳥インフルエンザが発生した

大規模採卵鶏農場における分割管理を取り入れた経営再開

上北地域県民局地域農林水産部十和田家畜保健衛生所

○武井 裕佳 方波見 将人
 二俣 雅之 折坂 つぐみ
 佐藤 美侑 太田 智恵子
 田中 慎一

1 背景

当所管内は県内の主要な養鶏地域の1つである。中でも三沢市は小川原湖と太平洋に挟まれた特定のエリアに、昨シーズン高病原性鳥インフルエンザ（以下、HPAI）が発生した県内最大規模の養鶏場を含む養鶏関連施設（養鶏場 18 箇所、GP センター 4 箇所、食鳥処理場 1 箇所）が密集した地域である。（図 1）

今回、HPAI の発生を経験した農場の再発防止対策に加え、発生時のリスク分散のため農場の分割管理に取り組んだのでその概要を報告する。

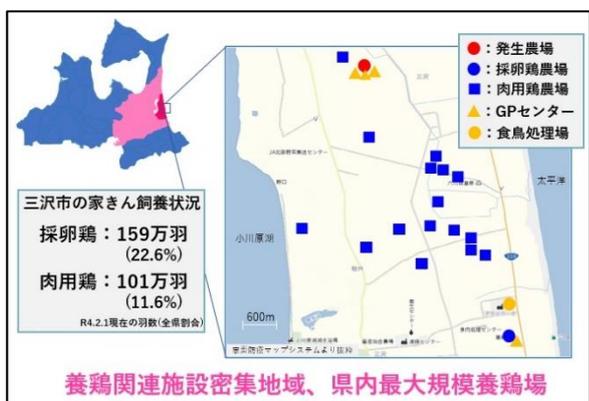


図 1 発生地域の家きん飼養状況

2 発生概要

(1) 発生農場概要

発生農場は、三沢市で採卵鶏約 139 万羽を飼育しており、昨シーズン発生した農場では国内最大規模となった。鶏舎数は、ウインドレス及び開放鶏舎、合わせて 46 鶏舎。付帯施設として、敷地内に集卵場及び GP センター等を複数か所整備している。

令和 4 年 12 月 15 日に発生が確認され、防疫措置期間は同月 30 日までの 16 日間であった。

(2) 防疫措置

防疫措置には県職員に加え、自衛隊、県内の全市町村職員、畜産及び建設関係団体、発生農場従業員を含む延べ 9,174 人を動員した。（表 1）

表 1 防疫措置動員者数

作業区分	12/15 12/15	23日 12/16	～	8日 12/22	9日 12/23	10日 12/24	11日 12/25	12日 12/26	13日 12/27	14日 12/28	15日 12/29	16日 12/30	延人数 (人)
鶏殺処分	県職員等												6,936
	自衛隊 市町村、畜産関係団体等												
卵 飼料	農場、建設業関係団体等												352
埋 却	建設業関係団体等												809
鶏糞封込 鶏舎等消毒	農場等												362
その他	県、市町村、建設業関係団体、農場等												715
発生農場の防疫作業に延べ9,174人を動員													

3 経営再開の検討と経過

(1) 分割管理の導入

当該農場の鶏卵生産による年間売上額は約 70 億円であり、HPAI の発生による経済損失は甚大であった。また、100 万羽を超える大規模農場であったことから、防疫作業には多数の人員が必要であった。

発生時の全羽殺処分を回避することによる経営負担の軽減、また防疫作業への負担の軽減を図るため、農場を複数に分けて鶏を飼養管理する「分割管理」の導入を検討した。(図 2)

(2) 分割管理開始までの経過

防疫措置終了後、今後の経営再開を進める中、令和 5 年 1 月に行われた家きん疾病小委員会以降、分割管理の考え方が示されたことから、本格的に検討を開始した。

先進事例が無かったため、国へ意見照会しながら検討を進め、6 月に家きん飼育を再開し、7 月から施設整備等の工事を開始した。その後国のマニュアルに沿って整備を進め、昨年 11 月に分割管理を開始した。



図 2 分割管理の導入

4 分割管理への取組

分割管理を行うにあたり、施設整備とそ

れらを管理・運営していく分割管理運用マニュアル作成の 2 つが重要であると考え、取組を進めた。

(1) 施設整備について

この農場は、既存施設として分割管理に必要な GP センター (3 か所)・集卵場 (3 か所) 及び堆肥舎 (8 か所) を所有している。これに加え、入退場時に必要な従業員の更衣室に活用可能な施設も所有していることから、これらを活用することとした。

また新たに整備する施設として、全ての農場出入口の消毒ゲートや、既存施設では不足する更衣室や境界柵、堆肥舎を順次追加して整備することとした。

そのため当初は、施設の整備状況に応じて、条件のそろった農場から段階的に分割管理を開始する計画とした。

(2) 分割管理運用マニュアルについて

施設の管理運営に必要なマニュアルについて、分割管理の運用・HPAI 発生時対応のルール化が必要であり、全ての従業員にそれらを周知し、正しく運用するため、研修会を行うこととした。

5 分割計画

図 3 の破線部は分割管理開始前の鶏舎配置を示し、★は発生鶏舎の位置を示している。

(1) 既存施設の利用について

図 3 に示すとおり、鶏舎群毎に集卵場もしくは GP センターが設置され、堆肥舎が西側に多く配備されていた。また、女子寮として使われていた施設は従業員用更衣室として改修し活用することとした。

(2) 新設施設の設置について

各農場入り口に消毒ゲート及び外来者用

更衣室、従業員用更衣室を設置し、堆肥舎を1棟新設することとした。また、鶏舎、GPセンター及び堆肥舎の位置関係より農場の境界を定め柵を設置した（図4）。

堆肥舎の建設には期間を要することから、まずは設備要件を満たした第三農場と第一・四農場に2分割し、堆肥舎完成後に3分割することとした。

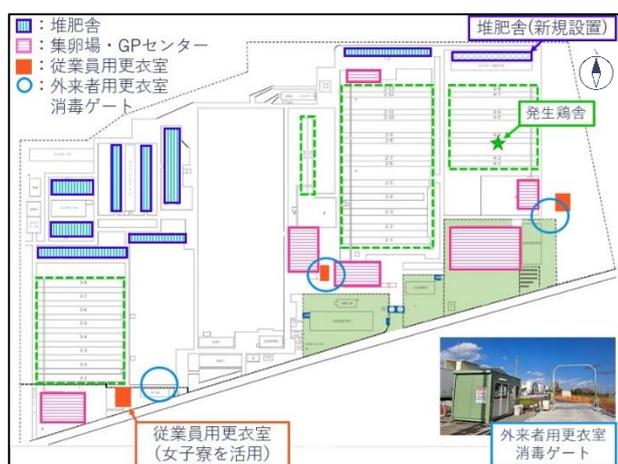


図3 農場内配置図(分割前)



図4 農場内配置図(分割後)

6 分割管理を進める上での課題と計画の変更

当初計画していた施設の整備状況に応じた分割は、その都度入退場時等のルール変更があるため従業員の混乱を招くことや、

発生鶏舎群をHPAIシーズンの11月までに分割し終えたいという農場の要望から、段階的な分割管理の開始ではなく、3区画一括での分割管理開始へ計画を変更した。

そのため、図5に示す位置に堆肥舎が整備されるまでの間、西側に位置する堆肥舎を活用することとした。また、一時的に点線の位置を衛生管理区域の境界として簡易柵を設置し、第四農場の従業員用更衣室も仮設にて設置することで施設設備体制が整い、第四農場を含む3農場一括の分割管理を開始することが可能となった。



図5 3区画一括での分割管理の開始

7 既存施設の活用

図3、4の左下に位置する女子寮を従業員用更衣室として改修した。

建物の中で衛生管理区域を設定し、境界を明確に示している。また、入場者と退場者の動線を分け、分割管理運用マニュアルにてそれらのルールを定めた。（図6）

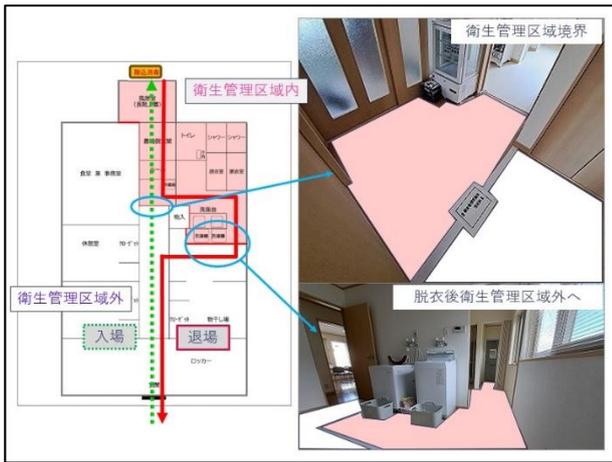


図6 女子寮を活用した従業員用更衣室

8 分割管理運用マニュアルの整備

分割管理運用マニュアルを農場ごとに整備し、分割管理のルール・HPAI 発生時対応の2つを定めた。(図7)

分割管理のルールでは農場ごとに従業員を配置すること、入退場手順や人・車両動線について定め、入退場手順について図7のような手順書を作成し更衣室に掲示した。

また、HPAI 発生時対応では発生農場従業員の防疫作業内容や隣接農場の対応について定めた。

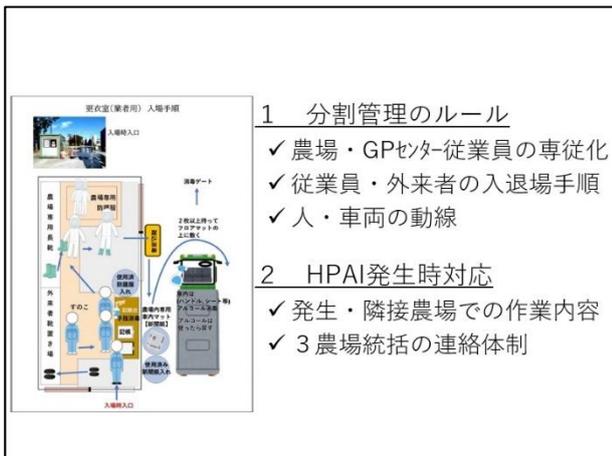


図7 分割管理運用マニュアルについて

9 研修会の開催

分割管理運用マニュアルの内容を周知す

るため、研修会を複数回実施した。農場規模が大きく従業員数が多いため、参加者全員が出席できるようにそれぞれ3回ずつ実施した。

分割管理開始後は農場が主催する勉強会に講師として参加した。対象者は従業員150人で、正社員だけでなくパート職員や技能実習生も参加している。分割管理のルールについて農場が説明を行い、各農場のHPAI発生時対応について家保が説明を行った。

研修後にアンケートを実施したところ、内容は概ね理解されており、継続して開催してほしいという声が複数寄せられた。(図8)

🐔 管理者研修会		🐔 合同勉強会	
実施月日	8月1日～3日(3回)	12月13日～15日(3回)	
対象者	衛生管理者等60名	全従業員150名	
内容	飼養衛生管理基準	分割管理における農場ルール 各農場の防疫計画・作業内容	

参加者へのアンケートでは、
内容は概ね理解、継続開催を強く要望

図8 従業員対象研修会

10 成果

農場と繰り返し打合せを行いながら(令和5年4月以降、対面18回、メール104回)研修会を実施し、農場が希望する目標期限内に3農場同時に分割管理の開始と分割管理運用マニュアル作成の二つの目的を達成することができた。

また、この成果を通じた衛生管理や防疫対応のレベルアップが、新たな顧客の獲得、販路拡大につながる等、波及効果をもたら

した。

11 まとめ

分割管理を行うには、農場の施設整備とそれを運用するためのマニュアルの整備と実践という二本の柱が重要となる。

施設整備では、農場に合わせた設備改修や設備新設のために資金を投入することで分割管理の要件を満たし、マニュアルの整備と実践では、当該農場のルールを定めたマニュアル作成や従業員教育が必要となる。

今回、農場と連携し、この取組を強く支えることで、短期間で分割管理を開始することが可能となった。しかしながら、この取組には終わりはなく、その運用には継続支援が不可欠である。

今後は、当該農場で仮設となっている設備の整備支援に加え、定期的に研修会を実施する等、農場の取組意欲を維持し衛生対策の向上、防疫対策の強化に努めていく所存である。(図9)

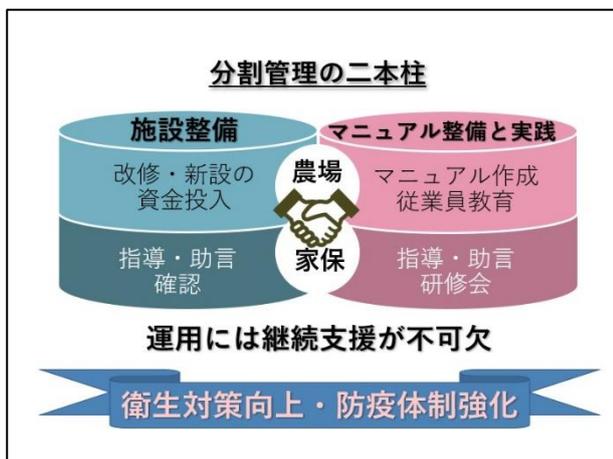


図9 分割管理の二本柱

3 高病原性鳥インフルエンザ防疫に関する

生産者の意識向上への取組

三八地域県民局地域農林水産部八戸家畜保健衛生所

○齋藤 豪 竹内 紫穂
角田 公子 藤掛 斉
中里 雅臣

1 背景

三八地域は、県内有数の養鶏地帯であり県内の約半数が飼養されていることから、管内で高病原性鳥インフルエンザ（以下、HPAI）が発生した際には影響が非常に大きいため迅速な防疫対応が求められる。そのため毎年、農場巡回による飼養衛生管理基準の遵守状況の確認やHPAIの発生に備え、防疫計画の精査をおこなっている。

しかし、令和4年度に青森県内でHPAI発生した際には、事前に発生農場の防疫計画が作成されてはいたが、防疫対応を進める中で重要なゾーニングやコンテナハウスの設置スペースなどの現場事務所の配置、発生農場内の重機・動員者の作業導線、汚染物品の処理方法や生産者が対応できる作業内容など、計画外の対応に苦慮した。

そこで、今年度は、農場巡回時に飼養衛生管理基準の遵守状況の確認とともに、昨年度の防疫対応を踏まえた詳細な現地調査と、発生時の生産者の対応についての確認を重点的に実施した。その結果、いまだに飼養衛生管理基準の不遵守事項が散見されたとともに、生産者からは発生時の対応について「そもそ

も発生時に生産者がやることはあるのか」、

「現場事務所は何をする場所なのか」、「事前に何を準備しておけばいいのか」などの質問が出されるなど、HPAI対応に関する生産者の認識不足が認められた。

このため、今回、防疫への生産者の意識向上に向けた取組を行ったので、その概要を報告する。

2 取組内容

(1) 巡回結果のフィードバック・共有

例年、農場の巡回後に不遵守事項を生産者へ通知していたが、今年度は系列会社にも通知の内容を共有したところ、鶏舎修繕等への資金面での支援が受けられたほか、会社指導員からも不遵守事項等への指導が行われたことにより、生産者だけでは改善が難しかった事項への迅速な改善に繋がった（図1）。

実際の改善例としては、家保の農場巡回に同行した指導員とともに、鶏舎の破損箇所を確認し、後日、撮影した写真を生産者と会社で共有したところ、会社からは修繕の状況が報告されるなど、迅速な改善確認へと繋がった事例があった。

また管内には、家きん所有者が異なるが、1つの農場と認識してしまうほど隣接し、管理区域の境界が不明瞭となっている2農場

(A農場、B農場)があり、以前から両農場の生産者に対しては、どちらかの農場でHPAIが発生した場合には、疫学的な関連のある農場として判断せざるを得ないと指導してきたが具体的な対応に至っていなかった。今年度は、系列会社へこの状況と指導の内容を共有したところ、会社主導で両農場間に境界線を設けフェンスを設置することとなった(図2)。

なお、その他の農場においても、この取組により不遵守事項やHPAI発生に備えた対応の改善に繋がった(表1)。



図1 巡回結果のフィードバック・共有



図2 共有による改善例

表1 改善例の一部

農場・会社	改善内容
C社	共同のたい肥場へ消毒設備を設置
D農場	山林の埋却地を整備 分割管理を始める意向
E農場	山林の埋却地を整備
F農場	分かれた管理区域ごとに消毒設備を設置
G農場 第1~3	隣接する農場ごとに車両消毒設備 農場間での従業員の移動を制限

(2) 防疫計画の精査・共有

農場の現地調査時に、生産者や系列会社から「鶏舎構造が複雑」、「農場所有の重機やオペレーターの対応が可能」、「GPセンター職員の動員が可能」、「農場内に空き倉庫がある」などの意見や情報が得られたことから、これらを反映して防疫計画を更新した。更新した防疫計画を生産者や系列会社と精査・共有し、ここで出された意見を反映して、再度更新を行った。これらの精査・共有・更新の工程を繰り返して意見をすり合わせることで、より現実的な防疫計画となり、生産者や系列会社のHPAI発生時の対応への理解が高まった。

精査した防疫計画の具体例を挙げると、現場事務所のレイアウトについては、精査前はテントやコンテナハウスのサイズを考慮しておらず、クリーンエリアの境界も不明瞭であり、この大まかなイメージを各農場の防疫計画に当てはめたものであった。これを実際のコンテナハウスのサイズ等を考慮したレイアウトに変え、発生農場におけるゾーニングも境界を明瞭化した(図3)。

この他、鶏の出荷時の作業を参考にした作業導線や、農場内の倉庫を現場事務所や動員作業員の休憩スペースとして活用するなど、

各農場の状況に合わせた防疫計画へと精査した。

また、生産者と防疫計画を共有したことで、汚染物品の処分を埋却ではなく焼却や農場外の共同施設に封じ込めして発酵処理をする方法での対応は可能なのかという問い合わせがあった。このため、焼却処分については産業廃棄物処理業者と、共同施設での発酵処理については国と協議し、有事の際にはこれらの方法で対応ができる体制を確立した（図4）。

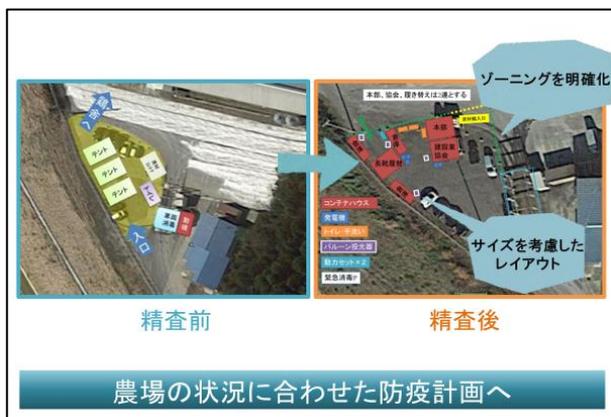


図3 精査した防疫計画の具体例



図4 汚染物品の処理についての協議

(3) 関係者に対する研修会の開催

管内全ての養鶏場を対象に発生時の発生農場及び周辺農場での対応を確認することを目

的とした研修会を実施した。研修会には、当所で平成21年度に作成した防疫ハンドブックについて用途別の内容を網羅し、指針の改正内容を反映させたものに改訂して（図5）活用した。具体的な改訂内容としては、HPAI発生農場における防疫対応の流れや、例外協議など農場に必要な対応を追加した。

なお、肉用鶏農場については、関係者全体の意識を高めるため、生産者だけでなく、系列会社内の職員や指導員に対しても、複数回の研修会を開催することで、HPAI発生時の対応を確認させた。

採卵鶏農場については、この研修に加え、HPAI発生時の対応を理解することを目的に机上演習も実施した。

机上演習では、はじめに生産者がタイムテーブルに自農場の約1か月間の作業スケジュールを記入、演習当日にHPAI発生したという想定で、疫学関連の確認事項、周辺農場となった際の自農場から移動物品や移動予定日、例外協議の内容と必要な対応等について、ハンドブックを確認しながらシミュレーションした。

これらの結果、HPAI発生時の防疫対応について関係者の理解を高めることができた。



図5 改訂した防疫対応ハンドブック

3 まとめ

今回、家保の巡回結果のフィードバックを生産者だけではなく系列会社へも共有し、改善を働きかけることで飼養衛生管理基準の不遵守事項が迅速に改善された。また、防疫計画の精査・共有も実施し、関係者と意見のすり合わせを繰り返して行うことで現実的な防疫計画へと更新され、発生時の対応に関する関係者の理解が高まった。さらに、関係者に対する研修会を開催し、ハンドブックを用いた机上演習を行うことにより発生時の必要な手続き等を確認することができ、防疫対応への理解が高まった。

これらの取組の結果、発生時の作業への人員の派遣や所有重機使用などの協力体制が確保され、生産者からは、発生時の対応を理解したことで発生防止対策やHPAI 防疫に対する当事者意識が芽生えたという声があげられた。

今後も関係者が一丸となったHPAI 発生防止対策や発生時の迅速な対応のために、取り組みを継続し、更なる生産者の意識向上と関係強化を図る所存である。

4 県内 HPAI 発生を踏まえた農場防疫計画の精査

下北地域県民局地域農林水産部むつ家畜保健衛生所

○佐怒賀香澄 木村 揚
蛭名 力斗 今井 良
安本 守宏 高橋 俊樹

1 はじめに

令和 3 年から 4 年シーズン、本県では、種鶏 1 事例、肉用鶏 3 事例、採卵鶏 2 事例、計 6 事例の高病原性鳥インフルエンザ（以下 HPAI とする）が発生した。管内では、令和 4 年 4 月と 11 月に肉用鶏農場で 3 事例発生があり、防疫対応を行った。

県内発生で防疫対応に直面し、本県は様々な場面で対応に苦慮した。そのことから鶏の用途別農場について現状の計画を精査し、情報を農場と共有・協議することにより、実行性のある防疫計画（以下計画とする）への更新が必要だと考えた。

また、防疫拠点について初動で迅速な設置が必要であることから実状にあった内容にするためこれらと合わせて精査・更新することとした。

2 管内農場の概要と課題の精査

精査をするにあたり、管内農場の概要について整理した。種鶏農場は 10 戸、全て A 企業の系列農場であり、鶏舎構造はほぼ同じものとなっている。肉用鶏農場は 15 戸で、種鶏農場と同じ A 企業系列の農場である。発生農場と同じ約 9 千羽飼養の鶏舎で構成された農場が 11 戸、約 1 万 5 千羽飼養の大型鶏舎で構成された農場が 4 戸である。採卵鶏農場は、B 企業の系列で、成鶏農場は 1 戸である。鶏舎構造は 2 階建てでケージは直立 7 段である。

以上、農場概要と発生事例を基に現状を精査した。

種鶏は、県内発生事例で産卵箱の下に鶏が入り込んだため捕鳥に時間を要し、迅速な作業の障害となっていた。そのため、産卵箱の対応策を検討することとした。

肉用鶏は、管内発生時の防疫対応を基に、作業にかかる所要時間と殺処分動線について再精査した。また、発生事例のない大型鶏舎の作業内容について再確認し、質の高い計画に見直すこととした。

県内の採卵鶏発生事例では様々な種類のケージや高床式鶏舎等の鶏舎構造に対応した殺処分作業が行われた。ボイド管の使用や階段を物品移動のスロープとして活用した事例があったため、臨機応変に対応可能な計画が必要と考えられた。

初動では、現場事務所と集合施設の迅速かつ円滑な設置がもとめられている。そのため現場事務所はコンテナ等の配置を精査し実施可能で具体的な計画が必要で、集合施設は担当職員のみで設置を行う事から誰でもわかるレイアウトでの計画が必要であると考えられた。

以上、課題が見つかったことから対応を開始した(図 1)。



図1 課題の精査結果

3 各取り組みについて

(1) 種鶏

種鶏については、産卵箱への対応策を検討するため、農場との協議を行った。

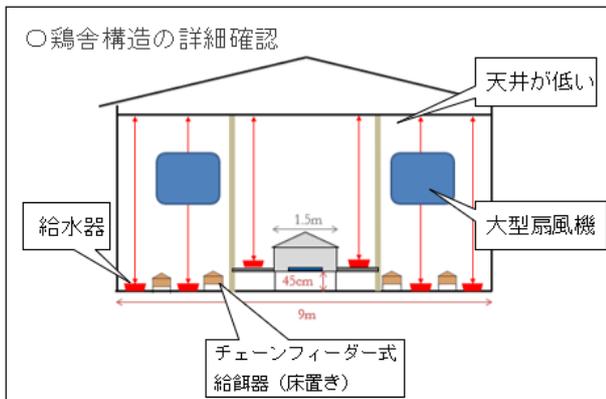


図2 種鶏舎構造

まずは鶏舎構造の詳細について上図のとおり確認した(図2)。中央には産卵箱が設置され、チェーンフィーダー式の給餌器(以下給餌器とする)が舎内を一周する形で設置されている。また給水器は吊り下げ式で上下に調節可能となっている。さらに天井は低く、大型扇風機が設置されている。

どのように捕鳥するか確認するため、廃鶏作業について農場に聞き取りを実施したところ、作業は産卵箱等の機材を全て撤去したうえ、防風ネットで鶏を出荷口まで追い込み、捕鳥するとのことだった。

また、産卵箱を撤去しない場合には、防風ネットで箱下を囲い鶏が入り込まないようにする対策が可能であること、機材撤去には人

数と時間が必要なため、状況に応じた対応が必要であることを農場と確認した。さらに、農場との打ち合わせのなかで産卵箱以外にも懸念事項が浮上した。

給餌器は床に設置されていることから捕鳥作業に支障をきたすおそれがあり、取り外しには専用の工具と技術が必要であること、低い天井に設置されている大型扇風機も作業の障害になることが懸念された。

また、消毒作業について確認したところ、貯水量が少ないため水を大量に使用すると水不足になることが懸念された。これについて、農場との協議により、給餌器は従業員が撤去すること、大型扇風機は取り外しが容易なこと、水不足の時は農場所所有の給水車で供給可能であることを確認した。

以上のことから、殺処分作業時の廃鶏作業を参考にした防風ネットの使用、産卵箱や給餌器等の機材の撤去は従業員が対応し、作業体制は状況に応じて変更すること、大型扇風機は動員者が取り外すことについて殺処分時の留意事項として計画に追加した。

また、給水について鶏舎消毒の項目に追加した。

(2) 肉用鶏

農場	鶏舎	処分時間	更新後の計画
発生農場鶏舎	 10m×55m	飼養羽数: 17万羽 処分時間: 3.5日→ 2.6日	 両側作業
大型鶏舎 立入を実施し 鶏舎構造を確認	 10m×90m×2鶏舎 = 1建屋	飼養羽数: 19万羽 処分時間: 3.5日→ 3.4日	 片側、2鶏舎同時 作業

表1

管内発生農場の防疫対応を基に処分時間や計画等を見直したところ、発生鶏舎と同じ型の鶏舎については上表のとおり(表1)で、従来の処分時間は飼養規模17万羽の農場の場合

3.5日だったが、発生事例を基に2.6日と再計算し計画を更新した。

殺処分作業は動員者を2班に分けて鶏舎の前室側出入口・出荷口の両側で実施する、発生事例での方法に変更した。

大型鶏舎については、農場の立入調査を実施し、鶏舎構造が2鶏舎で1建屋になることを確認した。殺処分作業は動員者を2班に分けて出荷口に向かって並列で作業する動線へと計画を更新した。

(3) 採卵鶏

臨機応変に対応可能な計画とするため、農場立入を行い、計測済みの通路幅に加え、作業に関わる場所について詳細に計測した。

まず通路は自動給餌機によって狭くなる箇所を計測した。次にケージについて、ケージ一個の寸法と、ケージ最上段と中段の高さを計測した。資材の確認のため、高さ74cmの踏み台使用で最上段の捕鳥が行えることも確認した(図3-1)。

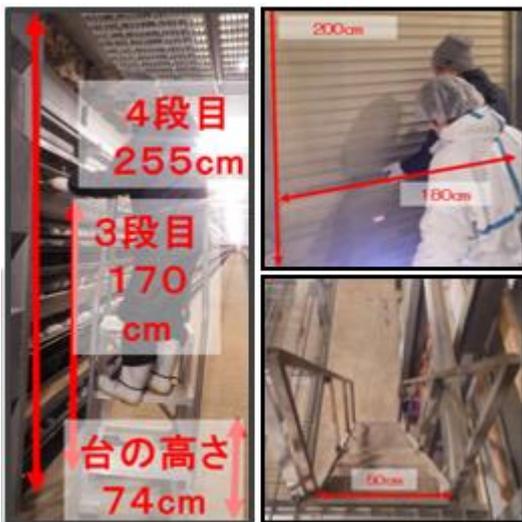


図3-1 ケージ 図3-2 出荷口と階段

さらに出荷口や階段などの幅、高さを計測し写真で記録した(図3-2)。従来の計画では、鶏舎内構造は図で表していたが、農場立入により得られた情報を鶏舎内作業がイメージしやすいように、計画に写真を追加、整理し、反映した。

(4) 現場事務所

従来の計画では、事務所設置場所の想定はしていたが、具体的なコンテナや簡易トイレ、動員者休憩場所の配置は決まっていなかったことから、計画を精査した。詳細なレイアウト案を作成し、それをもとに現地調査及び農場との協議を行い、設置可能であるか確認し、計画に反映した。その他、発生時には対策本部や各防疫拠点との連絡体制や円滑な人員の搬送が重要であることから、特に山間部にある農場10戸について携帯電話の通信状況や道路状況の調査を実施した。その結果、通信状況は10戸中8戸が圏外であることが判明し(表2)、農場所所有の電話等利用を協議し発生時の利用許可を得た。

農場	通信状況
農場1	圏外
農場2	圏外
農場3	圏外
農場4	場内一部圏内
農場5	ほぼ圏外
農場6	圏外
農場7	圏外
農場8	圏外
農場9	圏外
農場10	圏外

表2 携帯電話の通信状況

さらに10戸全ての農場において大型バスでは通行不可であることを確認した。

(5) 集合施設

管内では、集合施設を3か所設定しているが、2か所については、発生事例および実動演習により詳細なレイアウトを作成し、現地確認も実施済みだった。

残りの1か所についても、誰でも設営出来るようレイアウトを作成し、実動演習で担当職員に実践させることで設営から運営までの

実施が可能である事を確認した（図4）。



図4 作成したレイアウトと防疫演習の様子

4 まとめ

県内での HPAI の続発に伴い、防疫作業で様々な課題に直面したことから家保ではすみやかな情報の精査が必須と考え、実施した。

この取り組みを通じて農場では関係者と協議を重ねて、実行性のある計画づくりに役立てたほか、農場との連携、防疫意識向上に寄与した。

防疫拠点に関しては、状況調査を実施し、発生事例に基づく具体的な計画作りに役立て、関係機関と連携し防疫意識向上に寄与した。

今後も農場、関係機関と共に HPAI に立ち向かう防疫体制・防疫意識作りを強化していきたい。

5 高病原性鳥インフルエンザ発生に備えた 適正な埋却地確保と焼却処理の検討

西北地域県民局地域農林水産部つがる家畜保健衛生所

○菊地原里菜 奈良史子

木村祐介 阿部和馬

角田裕美 児玉能法

1 はじめに

令和4年シーズンの高病原性鳥インフルエンザの発生は、横浜町、三沢市及び蓬田村において確認された。そのうち三沢市の事例は、国内過去最多となる約139万羽を処分することとなり、県職員だけでは作業負担が大きく、県全域から市町村や建設業者等も多数動員された。このことにより、関係者の当事者意識が高まり、事前の防疫計画が重要であることを再認識し、より実行性のある防疫計画の作成に取り組んだ。

2 管内養鶏場の飼養状況及び処分方法

当所が管轄する西北及び中南地域は、稲作が盛んで地下水位が高く、埋却時に湧水の発生が懸念されることから、小規模農場においては焼却処分する方針である。

管内養鶏場は合計11戸、約37万羽が飼養されている。そのうち3戸が埋却処分、8戸が焼却処分の方針である。また、焼却施設は5施設あり、1農場につき1焼却施設で処分する計画としていた(図1)。

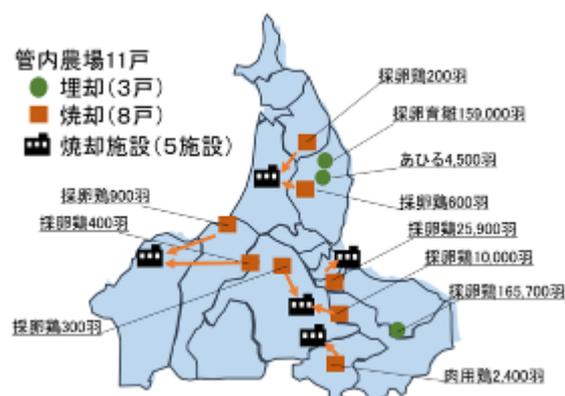


図1 管内養鶏場の飼養状況及び処分方法

3 管内における埋却・焼却の課題

管内における埋却・焼却にはそれぞれ課題がある。埋却においては、管内最大規模養鶏場の埋却候補地の適地性が不十分なこと、また、管内における発生事例がないため、建設業者の埋却作業内容の理解が不十分なことがある。焼却においては、焼却日数が最大40日と長く、悪臭の発生が懸念されること、また、県内の焼却処分の事例がなく、焼却作業への理解が不十分であることがある。

4 課題解決に向けた取組

埋却及び焼却の課題を解決するために、次の2つの取組を行った。取組1は、適正な埋却地の確保である。建設業者及び市と埋却候補地を

再選定すると共に、実地と座学の埋却研修会を開催した。取組2は、焼却処理の検討である。焼却日数を短縮すると共に焼却施設における焼却勉強会を開催した（図2）。

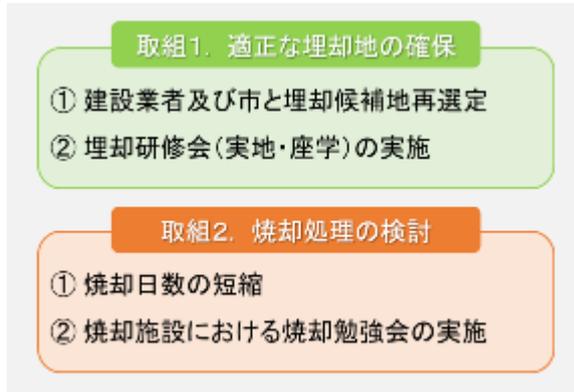


図2 課題解決に向けた取組

5 適正な埋却地の確保

(1) 建設業者及び市と埋却候補地再選定

管内最大規模養鶏場の当初の埋却予定地について、過去の試掘では湧水は確認されていなかったが、令和4年秋に農場が試掘を実施したときに湧水が確認された。また、奥側に水の配管もあり、積雪が3mにもなるなど埋却地としては不適と判断した（図3）。



図3 管内最大規模養鶏場の埋却地再選定①

そこで埋却地を再選定するため、市が管理するスキー場跡地と市が農場へ貸している農場付近の借地を現地調査した。

スキー場跡地は、積雪がなければ鉄板を敷き、低勾配の斜面での作業が可能のため、埋却候補地として適当と思われたが、イベントで使う施設であるため市の許可を得ることができなかった（図4）。



図4 管内最大規模養鶏場の埋却地再選定②

農場付近の借地は、農場が堆肥置場として使用しており、冬期は除雪が入らない。埋却地までの道幅が狭いため大型重機の運搬は難しいが、農場から近く、草地であるため埋却に適すると判断し、埋却予定地に選定した（図5）。



図5 管内最大規模養鶏場の埋却地再選定③

次に湧水等を確認するため、試掘を兼ねた埋却研修会を実施した。埋却研修会は、実地研修会と座学研修会を実施した。

(2) 埋却実地研修会

実地研修会では、中南及び北農村整備建設協会や建設業者などを参集し、業者を訓練者とした試掘により埋却地の適地性と埋却作業を確認した。

埋却地の適地性の確認では、埋却地までの狭い道路を通行できる中型のバックホウを使用することを考慮し、深さ3mの穴と溝を掘った。結果、どちらの場所も土は粘性で湧水・岩盤は確認されなかったことから、埋却地として適当と判断した(図6)。

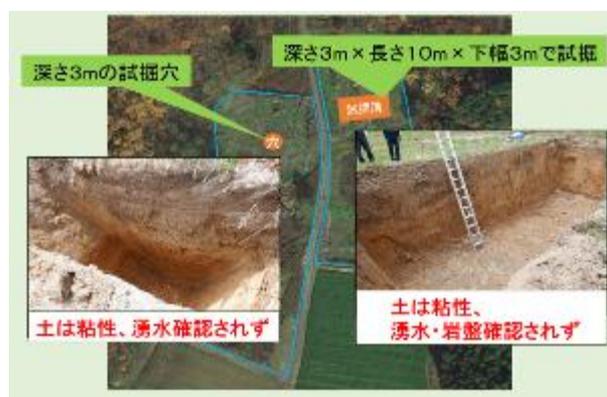


図6 適地性の確認

埋却作業の確認では、一連の作業を訓練した(図7)。



図7 実地研修会

さらに実地研修会により埋却地としての適地性が確認できたので、農場が市から埋却地としての土地使用承諾書を取得し、正式に使用で

きることとなった。

(3) 埋却座学研修会

実地研修会後に実施した座学研修会では、実地研修会を実施したことで実行性のある埋却計画を作成できたという成果と農場までの交通整理や除雪等の方法を検討しなければならないという課題を関係業者に共有した。また、講師の上北建設業者からは、委託契約の形態や埋却作業に係る留意事項など当時の対応状況について説明があり、業者目線の実行性のある研修会を開催できた。

座学研修会後に実施したアンケート結果では、「対応の流れ及び業務内容」について、ほとんどの業者から「よく分かった・概ね分かった」との回答を得られ、「業務に不明点がない」との回答は17人中12人から得られた。その他、各社の役割をもっと具体的に決めた方が良いなどの意見も得られ、担当業務への理解及び防疫意識の向上が図られた(図8)。

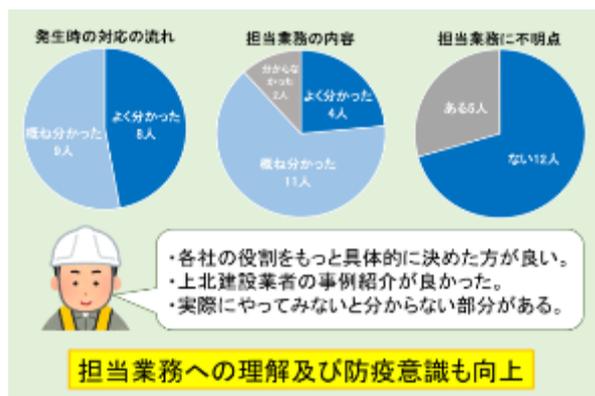


図8 座学研修会後のアンケート

6 焼却処理の検討

(1) 焼却施設調査及び協議

焼却に係る取組では、初めに施設内の動線や必要資材について再確認するため、施設の再現

地調査を実施した。また、焼却日数の短縮のため、施設利用時間を8時間から24時間に変更し、施設事務組合の管轄外で発生した場合でも複数の施設が利用できるように組合と再協議を実施した。その結果、3つの農場で焼却日数を短縮でき、うちA農場では40日から8日に短縮できた。よって早期焼却終了により悪臭の発生を防止することができた。

(2) 焼却勉強会

焼却勉強会では、県の焼却担当部署を対象に県内初となる焼却施設での実地研修を実施した。当該施設はエレベーターがないため、密閉容器をクレーンにより1階から4階まで引き上げ、密閉容器を投入する構造となっている。演習者は防護服やヘルメットを着用し、施設内におけるブルーシートの敷設、密閉容器運搬車両の消毒、密閉容器の運搬、クレーンによる密閉容器の引き上げ、密閉容器の焼却炉への投入まで一連の作業内容を確認した(図9)。



図9 焼却勉強会

焼却勉強会後に実施したアンケート結果では、「対応の流れ及び業務内容」について全員から「よく分かった・概ね分かった」との回答を得られ、「業務に不明点がない」との回答は16人中15人だった。その他、今後も勉強会を

開催して欲しいなど前向きな意見も得られ、作業内容への理解向上が図られた(図10)。

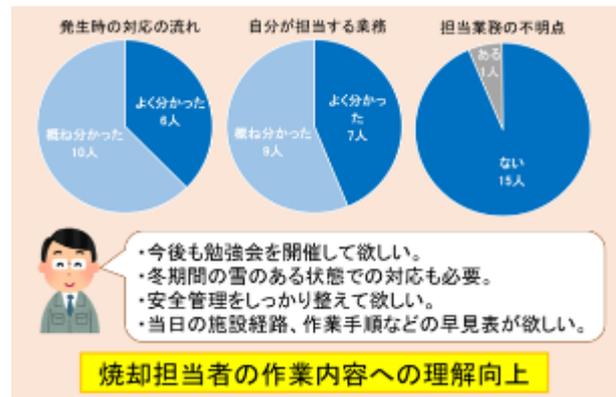


図10 焼却勉強会後のアンケート

(3) 燃焼試験結果

密閉容器には発生時と同様に10羽の死亡鶏を入れ、燃焼試験を実施した。焼却施設には焼却炉が2つあり、それぞれに密閉容器を5個、10個投入し、1時間後の炉出口温度の変化を比較した。結果、投入後の温度変化はなく、問題なく焼却できることが分かった。このことから2炉で1時間あたり20個(一般ごみとの混合率10%)以上の密閉容器が焼却可能であることが分かった(図11)。

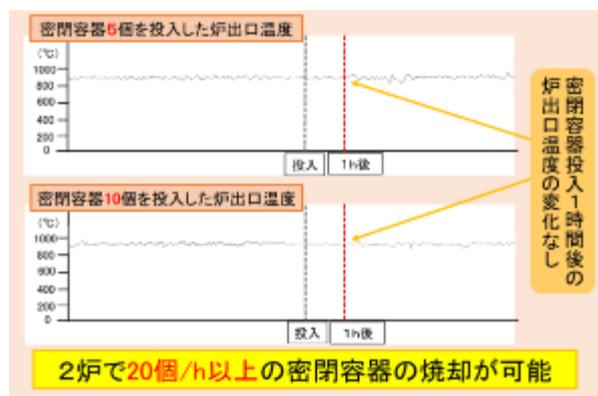


図11 燃焼試験結果

(4) 焼却勉強会で判明した課題と解決策

勉強会では、密閉容器をクレーンで引き上げる際、密閉容器をバケット内に直接配置する他、

フレコンバックに入れて引き上げたが、密閉容器が落下してしまう恐れがあった。勉強会後に施設担当者と打合せを重ね、解決策としてバケット内にシートを固定し、その中に密閉容器を配置することで、作業の安全性を確保することができた（図 12）。



図 12 焼却勉強会で判明した課題と解決策

7 まとめ

管内においては埋却と焼却それぞれ課題があったが、取組 1 の適正な埋却地の確保により、管内最大規模養鶏場の埋却候補地の適地性を確認、市から埋却地として土地使用承諾書を取得、建設業者の埋却作業内容への理解が向上した。また、取組 2 の焼却処理の検討により、複数施設 24 時間利用による焼却日数の短縮により悪臭発生を防止、焼却担当者の作業内容への理解向上、作業の安全性を確保した。これら 2 つの取組により、防疫計画の精査・向上に繋がり、防疫体制を強化することができた。

焼却について、今後は他の焼却施設においても燃焼試験を行い、一般ごみと死亡鶏の混合割合を増やし更なる焼却日数の短縮が可能か検討する所存である。

6 鶏脳脊髄炎発生農場におけるワクチン抗体獲得への取組

三八地域県民局地域農林水産部八戸家畜保健衛生所

○漆山 文也 土岐 翠
富山 美奈子 藤掛 斉
中里 雅臣

1 はじめに

鶏脳脊髄炎（以下、AE）は鶏脳脊髄炎ウイルス（以下、AEV）の感染で発症し、雛で元気消失や脚麻痺、運動失調等の神経症状を示し、採卵鶏ではV字型の産卵率低下を示す。感染経路には介卵感染と接触感染の2通りがあり¹⁾、ワクチンにより感染防御が可能で、種鶏に接種することで移行抗体により雛への感染防御も可能である。今回、令和4年度にワクチン接種農場でAEの発生があったことから、農場におけるワクチン抗体獲得に向けた取り組みを行ったので、その概要を報告する。

2 経緯

令和4年10月、11月に地鶏の肉用鶏、肉用種鶏を飼養する農場において、雛で神経症状、種鶏で産卵率低下を示すAEが発生した。この農場では84日齢の種鶏にAEワクチンを接種済みであったが、AEの発生が認められたため、ELISAを用い抗体検査を実施した（表1）。その結果、発症直後の雛では抗体陽性率が0%であった。雛の親である種鶏の抗体陽性率は80%を示したが、発症雛が移行抗体を保有していないこと、令和4年9月中旬に産卵率低下を示していたこと、令和3年に採材した種鶏で抗体陰性であることから、この種鶏の抗体は、ワクチン

による抗体ではなく、感染による抗体であると推測された²⁾。

表1 抗体検査成績

用途	日齢	抗体陽性率 (%)	備考
肉用鶏	5	0	
	19	80	発生鶏舎
	28	100	
種鶏	371	80	産卵率低下
	188	100	発生時未採卵
	281	100	産卵率低下
	133	0	R3種鶏検査で採材

そのため、令和5年度は集団免疫に必要な70%以上の抗体陽性率を目指して、ワクチン抗体獲得に向けた指導を実施した。

なお、ELISAを用いた抗体検査には各20羽ずつ、ワクチン接種から約3週間（21～25日）後に採血した血清を用いて行った。

3 接種手技の確認

ワクチン抗体陰性の原因として接種手技に問題がなかったかを確認するため、農場へ聞き取りを行った。その結果、飲水投与に使用する水は1晩汲み置きをしたが、鶏が死ぬのを恐れて、接種前の断水時間が30分から1時間と、既定の半分程度であったことが判明したため、断水時間を2～3時間にするように指導した。さらに、ワクチン接種に家

保が立ち会い、適切に接種が行われていることを確認した。

しかし、ワクチン接種後の抗体検査では、断水時間を改善したにも関わらず、検査した2群とも抗体陽性率は0%であった（表2）。

表2 接種手技確認後の抗体陽性率

接種日齢	検査日齢	抗体陽性率 (%)
84	115	0
	119	0

4 抗体陰性要因の検討

接種手技の失宜以外にも抗体陰性の要因として、飲水中の残留塩素濃度、鶏種間による免疫応答の差、免疫抑制性疾病の関与が考えられたことから、これら3点について検討した。

(1) 残留塩素濃度

農場では塩素を添加した井戸水を使用しており、採水直後の塩素濃度は0.4ppmで一般の水道水の0.1ppmに比べ高い濃度であり、検出限界の0.05ppmを下回るには96時間を要した（表3）。

表3 飲水中の残留塩素濃度

採水後	残留塩素濃度 (ppm)
0時間	0.4
5時間	0.3
18時間	0.3
24時間	0.2
48時間	0.2
96時間	<0.05

農場でワクチン接種に使用している1晩汲み置きした水でも0.3ppmと塩素が残留していることが判明し、その影響が考えられた。

(2) 鶏種間による差

当該農場が使用しているワクチンについては、他鶏種に比べ、地鶏は飼養形態等の要因から抗体が獲得されにくい可能性があるとの指摘があったことから、他農場の同鶏種、他鶏種のワクチン接種後抗体陽性率について調査を行った（表4）。

表4 鶏種毎の抗体陽性率

鶏群	AEワクチン接種方法	抗体陽性率 (%)
同鶏種	種鶏	100
	原種鶏	90
他鶏種	卵用種鶏	75
	肉用種鶏	90

その結果、ワクチン接種後の他農場の同鶏種では抗体陽性率が90~100%を示し、他鶏種の卵用種鶏では75%、肉用種鶏で90%となり、同・他鶏種において高い抗体陽性率を示したことから抗体獲得において鶏種による差は認められないと推測された。

(3) 免疫抑制性疾病の関与

免疫抑制性疾病として感染鶏にワクチン接種後AEV抗体が獲得されない事例報告³⁾⁴⁾がある鶏貧血ウイルス（以下、CAV）と伝染性ファブリキウス囊病ウイルス（以下、IBDV）の2疾病について検査を行った。

材料および検査方法は図1に示すとおりとした。

対象疾病：	(1) 鶏貧血ウイルス (CAV) (2) 伝染性ファブリキウス嚢病ウイルス (IBDV)
材 料：	(1) 白血球 126日齢種鶏 (2) ファブリキウス嚢 3～7週齢肉用鶏 } 各5羽
検査方法：	遺伝子検査 (PCR法)

図1 材料および検査方法

検査の結果、CAVは全検体陰性、IBDVでは1検体で陽性を示した。

この検査結果では肉用鶏においてIBDVの軽度感染が確認されたが、その陽性率からすると免疫抑制への影響は低いと考えられた。

5 検討結果

抗体陰性の要因について検討した結果、鶏種差、免疫抑制性疾病の関与による影響ではなく、飲水中の塩素残留の可能性が高いと推測された。このため、農場における一晩汲み置きでは脱塩素が不十分であることを農家側に説明し、ワクチン接種時の飲水へのカルキ抜き剤(以下、ハイポ)添加することを指導した。しかし、ハイポを添加したにも関わらずワクチン接種後の抗体検査では抗体が認められなかった。これらの結果を受け、梶原一洋らの報告による複数回接種⁵⁾や、ワクチンの使用説明書に記載のある経口投与による抗体獲得について再度検討を行い、接種回数を複数回に増やし、接種方法を飲水・経口投与併用とすることとした。

複数回の接種方法で行った場合、飲水投与を2回でも、抗体陽性率は20%までしか上がらず、集団免疫に必要な70%を下回った。

そこで、1回目に飲水投与、2回目に飲水・経口投与併用を行ったところ、抗体陽性率は95%まで上昇した。

しかし、飲水・経口投与併用で抗体が獲得されたため、飲水・経口投与併用を1回のみ行った場合では抗体は獲得されなかった(表5)。

これらの結果から、この農場では1回のワクチン接種では抗体が獲得されず、2回接種に加えて飲水・経口投与併用を行うことで集団免疫に必要な抗体陽性率が獲得されることが示唆された。

表5 投与方法毎の抗体陽性率

投与方法	接種日齢	抗体陽性率 (%)
飲水→飲水	84→136	0→20
飲水→飲水・経口	84→183	0→95
飲水・経口	92	0

6 農場との情報共有

今回得られた結果を県内の同鶏種飼養農家を対象に、勉強会を実施し、発生概要や接種方法毎の結果について情報共有を行った結果、飲水へのハイポ添加の重要性やAEの症状等への理解が深まった。



図2 勉強会の様子

7 まとめ

当初はAEワクチン接種農場における抗体陰性原因を残留塩素と推定し、指導を行ったが、抗体が獲得されなかった。しかし、ワクチンの接種回数、投与方法について検討を行い、飲水投与2回または飲水・経口投与併用1回のみでは抗体が獲得されなかったが、飲水投与後に、飲水・経口投与併用を行うことで抗体が獲得されることが確認できた。

今回の検討結果は、この農場で現在行われている飲水投与に加えて飲水・経口投与併用を加え、複数回のワクチン接種を行うことで集団免疫に必要な抗体陽性率が得られることが示唆された。

今後は、今回得られた結果を生かして、確実に抗体が獲得され、かつ手間の少ない、より簡便な接種方法についての検討を進めていくこととしている。

また、農場から複数回のワクチン接種はコスト的に厳しいとの要望があったため、1回接種で抗体が獲得される方法等についても検討したい。今後も農場と連携し、指導を継続していくことで、確実なワクチン接種によるAE発生防止対策に努めてゆく所存である。

参考文献

- 1) 鶏病研究会:家禽疾病学 第一版, 60-63 (2015)
- 2) 高橋ら:管内肉用鶏農場で発生した鶏脳脊髄炎, 令和4年度青森県家畜保健衛生業績発表会集録 30-34
- 3) 高井一彦ら:免疫不全鶏における鶏貧血ウイルス感染症の発生, 日本獣医師会雑誌 48 巻 6 号, 400-403 (2011)

- 4) J A Smyth et al. Avian encephalomyelitis following oral vaccination. Avian Pathol . 1994 Sep;23(3):435-45.
- 5) 梶原一洋ら:三重県内のブロイラー2農場における幼雛の鶏脳脊髄炎の発生, 鶏病研究会報 52 巻 3 号, 197-201 (2016)

7 肉用牛繁殖農場で発生した真菌性流産

上北地域県民局地域農林水産部十和田家畜保健衛生所

○大澤 光紗 小田桐千鶴恵
高橋 玲 太田 智恵子
田中 慎一

1 はじめに

牛の流産は原因不明のものが大多数を占め、その中でも真菌性の流産については報告が少なく、病原真菌の特定に至らないというのが現状である。また、胎子に病変を形成する症例も少なく、国内での報告は数少ない。

今年度、管内で流産胎子に病変を形成し、原因の特定に至った症例があったため報告する。

2 発生概要

今回発生があった農場は、肉用牛繁殖農場で、飼養頭数は400頭、うち繁殖牛を200頭飼養している。

令和5年10月1日に胎齢7ヵ月で流産。母牛は交雑種で、35ヶ月齢2産目、ETによる受胎で、流産の前後で臨床症状はなし。なお、この牛は、1産目は死産であった。

流産の翌日、当所に病性検査の依頼があり、解剖を実施した。依頼があったのが流産の翌日であったため、胎盤は農場で廃棄済のため確認ができなかったが、農場の管理獣医師からは、融解し不潔汚穢色を呈していたことから、壊死性胎盤炎を疑う所見を認めたとの稟

告があった。

3 剖検所見

胎子の体長は約60cmで、胎齢相応の発育であったが、全身に皮膚病変が見られた(図1)。病変部は灰白色で類円形、大小不同の斑状でやや隆起しており、皮膚糸状菌症の症状と類似していた(図2)。背部には皮下水腫、腹腔には血様の胸水及び腹水の貯留が見られ、その他臓器に著変は認められなかった。

流産及び皮膚病変の原因究明のため、病性鑑定を実施することとした。



図1 全身に皮膚病変が見られた流産胎子

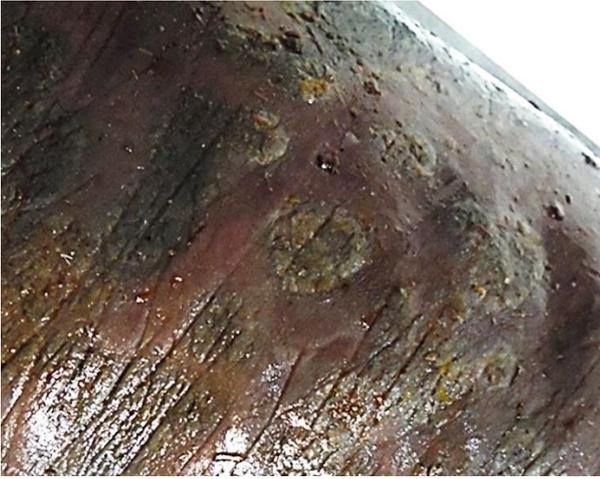


図2 流産胎子皮膚病変部

4 病性鑑定

(1) 材料と方法

ア 病理組織学的検査

流産胎子1頭の皮膚、主要臓器、腸管、臍帯の病理組織学的検査を病性鑑定課に依頼し、ヘマトキシリン・エオジン (HE) 染色、PAS 染色、グロコット染色、ファンギフローラ Y 染色を行った。

イ 細菌学的検査

細菌学的検査では、皮膚、主要臓器、胃内容物、臍帯、母牛の悪露を、血液寒天培地 37℃ で好気及び嫌気培養した。胃内容物は、CCDA 培地及びスキロー培地 37℃ で微好気培養も行った。また、ブルセラ症の抗体検査を市販の ELISA キットで実施した。

ウ ウイルス学的検査

流産胎子の主要臓器の病理組織切片を材料とし、アカバネウイルス (AKV)、アインウイルス (AIV)、チュウザンウイルス (CHV)、イバラキウイルス (IBV)、ブルータングウイルス (BTV)、牛ウイルス性下痢ウイルス (BVDV) について遺伝子検査を実施した。

エ 寄生虫学的検査

流産胎子の腎臓の病理組織切片を材料と

し、ネオスポラの遺伝子検査を実施した。

オ 生化学的検査

母牛の血清の血液生化学検査を、ドライケミストリー法で実施した。

カ 真菌学的検査

細菌培養と同様の材料をポテトデキストロース培地で培養した。真菌は種によって発育する温度が異なるため、25℃及び 37℃ で培養を行った。

分離されたものを、ラクトフェノールコットンブルー染色で鏡見した。

(2) 検査結果

ア 病理組織学的検査

皮膚の発疹部において角化亢進が見られ、角質層には完全に角化せず、核が残ったままの錯角化も認められた (図3)。角質層及び毛包内に、PAS 染色、グロコット染色陽性の菌糸が認められた (図4)。菌糸は太さが均一で隔壁がみられ、Y 字状分岐であることから、アスペルギルス属真菌であることが確認された。真菌を特異的に染めるファンギフローラ Y 染色では菌糸が見られた部位での発色を確認した (図5)。

腸管では、組織中に病変形成は認められなかったが、空腸・盲腸内容物において、皮膚病変部と同様の菌糸が認められた。

その他の臓器に著変は認めらなかった。

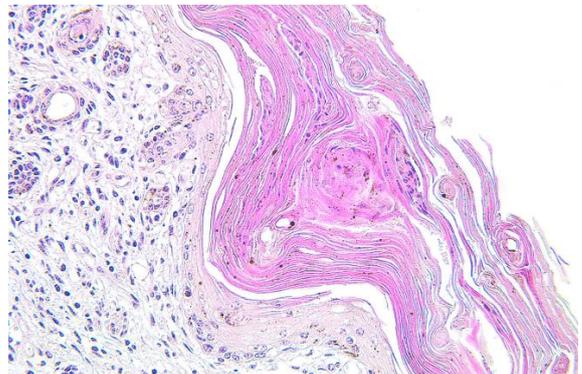


図3 皮膚の HE 染色

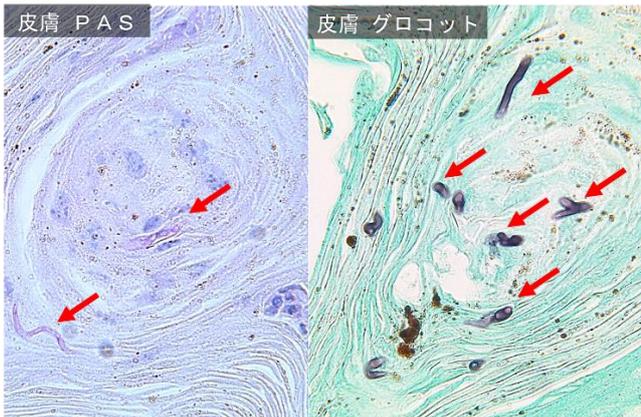


図4 皮膚のPAS染色、グロコット染色

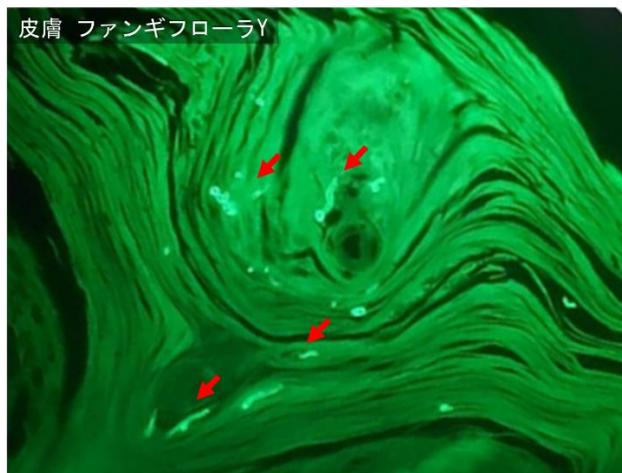


図5 皮膚のファンギフローラY染色

イ 細菌学的検査

有意菌は分離されず、ブルセラ抗体は陰性であった。

ウ ウイルス学的検査

各臓器から、AKV、AIV、CHV、IBV、BTV、BVDVの特異遺伝子は検出されなかった。

エ 寄生虫学的検査

腎臓から、ネオスポラの特異遺伝子は検出されなかった。

オ 生化学的検査

流産前後の母牛の血液検査値に大きな異常は認められなかった(表1)。

表1 母牛血清生化学的検査結果

	流産前	流産後		流産前	流産後		
TP	6.7	6.7	g/dl	GOT	47	51	U/l
Alb	3.4	3.4	g/dl	GGT	47	25	U/l
A/G	1.0	1.0		LDH	640	589	U/l
BUN	10.6	5.9	mg/dl	CPK	47	49	U/l
Cre	0.92	0.99	mg/dl	Ca	10	9.7	mg/dl
Glu	64	86	mg/dl	Mg	2.3	2	mg/dl
T-cho	111	93	mg/dl	IP	6	6.2	mg/dl
T-Bill	0.1	0.1	mg/dl				

カ 真菌学的検査

培養の結果、病理組織学的検査で著変の見られなかった臓器や、臍帯、悪露などからも真菌が分離された。真菌による感染症は、表在性真菌症と深在性真菌症があり、それぞれで発育温度が異なるが、本症例の真菌は25℃、37℃の両方で発育した(表2)。コロニーは白色から茶色で、放射粉状であり、平面的発育を示した(図6)。

コロニーから釣菌し、ラクトフェノールコットンブルー染色で鏡検したところ、分生子を持つ真菌が多数認められた。

皿球型の頂囊の上3分の2を覆うフィアライドが観察されたことから、形態学的にAspergillus属であることが推察された(図7)。

また、菌糸から球状に伸びたアレウリオ型分生子が多数認められた。アレウリオ型分生子は、アスペルギルス属菌の中ではAspergillus terreus (At)のみが形成する分生子であるため¹⁾、形態学的にAtであると推察された(図8)。

表2 真菌分離結果

	25°C	37°C
皮膚（背中）	+	+
皮膚（腿）	+	+
臍帯	+	+
悪露	+	+
心臓	-	-
肝臓	+	+
肺	+	+
脾臓	+	+
腎臓	+	+
胃内容物	+	+
腹水	+	+

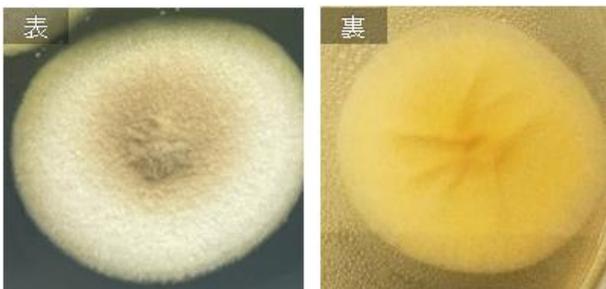


図6 発育コロニー

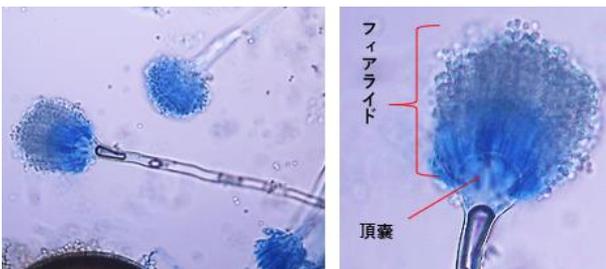


図7 フィアライド

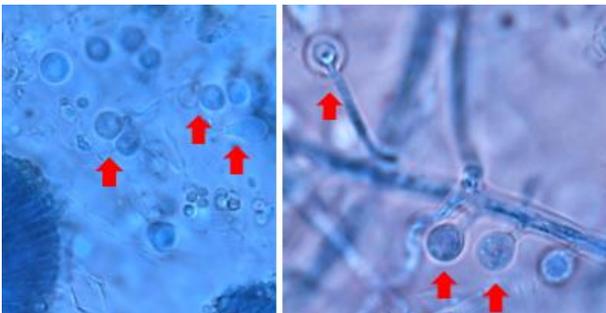


図8 アレウリオ型分生子

(3) 考察

病理組織学的検査及び真菌学的検査の結果より、本症例は真菌性の流産であることが推察された。また、臍帯で病変が見られず、胃内容物及び悪露で真菌が確認されたことから、羊水を介した胎子への感染が示唆された。

胎子の皮膚は、成牛の皮膚と比べて湿潤・軟性であり、真菌が侵入しやすいため、皮膚病変を形成したと推察された²⁾。

今回分離された At は土壌や貯蔵された穀物等、環境中に常在する真菌であることから、感染経路の検討のため、農場で検査を実施することとした。

5 感染経路の検討

(1) 材料と方法

敷料、飼料、飼槽及び水槽の拭取り、母牛の鼻腔、体表、膣のスワブの採材を行った。今回の発生農場では TMR の製造・保存ともに、農場で行っているため、飼料は TMR の原料及び完成品を採材した。それぞれの材料を、ポテトデキストロース培地 25°C で培養した。

(2) 検査結果

環境材料、牛のスワブどちらからも、複数の真菌が分離された。その中でも、水気を含む TMR 及び敷料、粘膜面である鼻腔及び膣スワブからは、At が分離された（表3）。

表3 培養結果

	1 番草	2 番草	わら	WCS	菌床	TMR
真菌	+	+	+	+	+	+
At	-	-	-	-	-	+

	敷料	飼槽	水槽	鼻腔	体表	膣
真菌	+	-	-	+	+	+
At	+	-	-	+	-	+

(3) 考察

At は牛舎の環境中にも広く存在しており、健康牛の粘膜面からも分離された。

既報では、外陰部からの上行性感染による真菌性胎盤炎が報告されている³⁾。今回も母牛の悪露から真菌が分離されているため、敷料等から外陰部が汚染され、上行性感染により起こった、既報と同様の症例であると推察された。

環境中と牛の粘膜面、それぞれから分離されているが、本症例の流産個体は1頭のみであることから、母牛の免疫状態など、個体の条件が発症に関与していると考えられた。

6 まとめ

本症例は、胎子の病変形成を伴う稀な症例であり、病性鑑定により真菌性の流産と診断し、病原真菌の種の特定に至った症例であった。

真菌は培養の際、コンタミネーションの可能性も高く、診断の際には、真菌学的検査及び病理学的検査の両方を行うことが必要とされている⁴⁾。また、発生機序の解明には、適切な採材による病性鑑定を行うことが必要である。

これらの条件に留意し、今後さらに原因の特定に至る病性鑑定へと繋げていきたい。

7 参考文献

- 1) 関口真樹：牛の *Aspergillus terreus* による壊死性胎盤炎、2016. jul. vol. 34, No. 7 臨床獣医
- 2) Gupta, Meera M.D.; Weinberger, Barry M.D.; Whitley-Williams, Patricia N. M.D. : CUTANEOUS ASPERGILLOSIS IN A

NEONATE, The Pediatric Infectious Disease Journal 15(5):p 464-465, May 1996.

3) 日高育成牧場：馬の資料室 胎盤炎、No.158 (2016年11月1日号)

4) Ali, R, and I. H. Khan: Mycotic abortion in cattle. Pakistan Veterinary Journal 26(1), 44-46(2006).

8 県内でこれまでに確認された鶏伝染性気管支炎

ウイルスの遺伝子学的解析

東青地域県民局地域農林水産部青森家畜保健衛生所

○木村 威凱 佐藤 宏樹
中野 裕子 高橋 優
菅原 健 森山 泰穂

1 背景

鶏伝染性気管支炎は鶏伝染性気管支炎ウイルス（以下、IBV）による疾患であり、呼吸器症状、下痢、腎炎、生殖器等への障害を引き起こす¹⁾。IBVはコロナウイルス科コロナウイルス属に属するウイルスで、遺伝子変異しやすいため、多様な抗原性を有する。IBVの対策には野外流行株の抗原性に適したワクチン選択が重要であり、細胞への吸着や中和抗体産生に關与するIBVのスライク蛋白S1領域の解析はIBVの抗原性を理解するために重要である²⁾。

遺伝子型別には制限酵素断片長多型解析（RFLP）や分子系統樹解析が実施され、前者はPCR産物を制限酵素の切断パターンで判定する方法であり、後者は遺伝子の塩基配列を比較する方法である。

RFLPは従来制限酵素 *Hae* II と *Eco* R I を用いた方法（従来法）³⁾ が使用されてきたが、*Eco* R I で切断されない JP-III型が出現したことで Mass 型に誤判定される事象（*Eco* R I 非認識株）が報告されたため制限酵素を *Eco* R I から *Hpa* I 及び *Fok* I に変更した方法（新規法）への切り替えが推奨された⁴⁾。また、S1

領域の全長ゲノムに基づいて IBV は 32 系列（G I -1~G I -28, G II -1~G VI -1）に分類されることが報告されている⁵⁾。一方、国内では S1 領域の部分的領域に基づいて JP- I , JP- II , JP- III , JP- IV , Mass, 4/91, Gray 型の 7 つの遺伝子型に分類され、それぞれ G I -18, G I -7, G I -19, G IV -1, G I -1, G I -13, G I -3 に相当すると報告されている⁶⁾。

分子系統樹解析は S1 遺伝子の部分的領域の解析が国内では主に実施されている。部分的領域は抗原性に關与する遺伝子領域を中心とした解析によって、抗原性の解析を目的としている。一方で、S1 遺伝子の全長領域は部分的領域よりも詳細な分子疫学的解析を目的としており、海外株との系列比較も可能である⁵⁾。

近年、当県では病性鑑定における IBV の検出が増加している。これまで当所では RFLP 従来法で実施してきたが、令和 5 年からは新規法で実施しており、令和 5 年以降の *Eco* R I 非認識株の有無については検証していない。また、分子系統樹解析はこれまで部分的領域の解析を実施し指導に用いてきたが、全長領域については言及したことがなかった。そこ

で本調査では、県内検出株を RFLP の従来法と新規法で型別するとともに、部分的領域及び全長領域についてそれぞれ分子系統樹解析を実施したため、その概要を報告する。

2 材料及び方法

材料は県内で令和 2 年から令和 5 年に気管または腎臓から検出された IBV17 株を用いた。また、Genbank から取得した国内株 60 株、海外株 32 株の計 92 株の塩基配列情報を用いた。なお、国内株には *EcoR* I 非認識株 3 株（JP/Kochi/2013, JP/Nagasaki/2013, JP/Nagasaki/2016：既報株）が含まれた。

各検体について核酸抽出後、既報のプライマーを用いて RT-PCR で S1 部分的領域及び S1 全長領域をそれぞれ遺伝子増幅した。S1 部分的領域について RFLP の従来法及び新規法で型別を実施した。また、S1 部分的及び S1 全長について塩基配列を特定後、分子系統樹解析を実施した。

また、*EcoR* I で切断されない株については、*EcoR* I の認識配列における変異の有無の比較及び全長領域の国内株との比較を実施した。

3 結果

RFLP の結果、従来法で 17 株中 4 株が JP-I 型、17 株中 8 株が JP-III 型、17 株中 5 株が Mass 型に分類された。新規法で 17 株中 4 株が JP-I 型、17 株中 13 株が JP-III 型に分類された。なお、従来法で Mass 型に分類された株は新規法ではすべて JP-III に分類された。

部分的領域の分子系統樹解析の結果を図 1 に示した。17 株中 4 株が JP-I 型、13 株が JP-III 型に分類された。全長領域の分子系統

樹解析を図 2 に示した。、17 株中 4 株が G I -18、13 株が G I -19 に分類された。

RFLP 及び分子系統樹解析を比較した結果（表 1）、全株で RFLP の新規法と部分的領域の分子系統樹解析の分類が一致した。また、従来法で Mass 型と分類された 5 株は他の型別法では JP-III 型または G I -19 に分類された。

表 1 RFLP 及び分子系統樹解析結果

検体名	採材年	臓器	RFLP		分子系統樹解析	
			従来法	新規法	部分的	全長
Aomori/2020/1/Kidney	R2	腎臓	JP-I	JP-I	JP-I	G I -18
Aomori/2020/2/Kidney	R2	腎臓	JP-I	JP-I	JP-I	G I -18
Aomori/2020/3/Kidney	R2	腎臓	JP-I	JP-I	JP-I	G I -18
Aomori/2021/1/Kidney	R3	腎臓	JP-III	JP-III	JP-III	G I -19
Aomori/2022/1/Kidney	R4	腎臓	JP-III	JP-III	JP-III	G I -19
Aomori/2022/2/Kidney	R4	腎臓	JP-III	JP-III	JP-III	G I -19
Aomori/2022/2/Trachea	R4	気管	JP-III	JP-III	JP-III	G I -19
Aomori/2022/3/Trachea	R4	気管	JP-I	JP-I	JP-I	G I -18
Aomori/2022/3/Kidney	R4	腎臓	JP-III	JP-III	JP-III	G I -19
Aomori/2022/4/Trachea	R4	気管	JP-III	JP-III	JP-III	G I -19
Aomori/2022/4/Kidney	R4	腎臓	JP-III	JP-III	JP-III	G I -19
Aomori/2023/1/Trachea	R5	気管	Mass	JP-III	JP-III	G I -19
Aomori/2023/1/Kidney	R5	腎臓	JP-III	JP-III	JP-III	G I -19
Aomori/2023/2/Trachea	R5	気管	Mass	JP-III	JP-III	G I -19
Aomori/2023/2/Kidney	R5	腎臓	Mass	JP-III	JP-III	G I -19
Aomori/2023/3/Trachea	R5	気管	Mass	JP-III	JP-III	G I -19
Aomori/2023/3/Kidney	R5	腎臓	Mass	JP-III	JP-III	G I -19

EcoR I の認識配列を比較した結果（図 3）、国内及び県内の従来法で JP-III に分類された株は *EcoR* I 認識配列である 5' -GAATTC-3' を有していたが、既報株及び県内の従来法で Mass 型に分類された株は同位置の配列に 1 塩基ないし 2 塩基の変異が生じていることが確認された。また、全長領域の国内株との比較では（図 4）、*EcoR* I 非認識株を含む県内 JP-III 型株はすべて G I -19 に分類された。一方、既報株は既存のいずれのグループにも属さず分類不能であった。

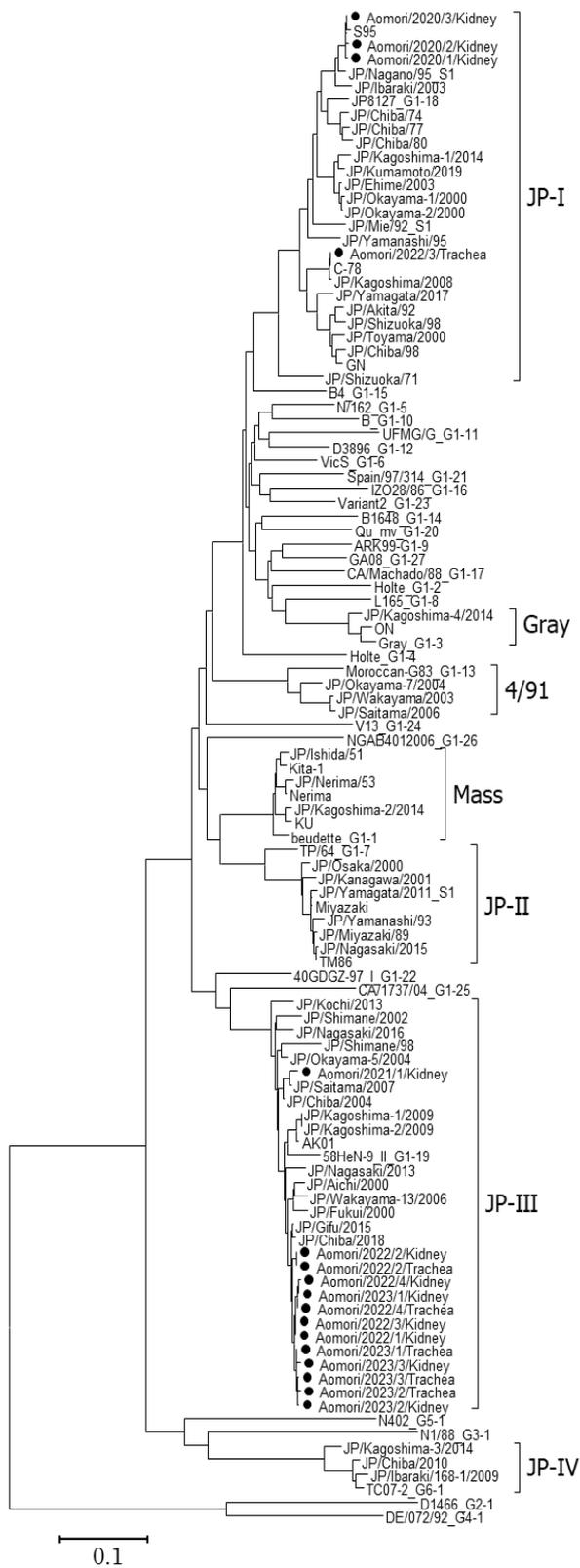


図1 部分的領域の分子系統樹解析結果

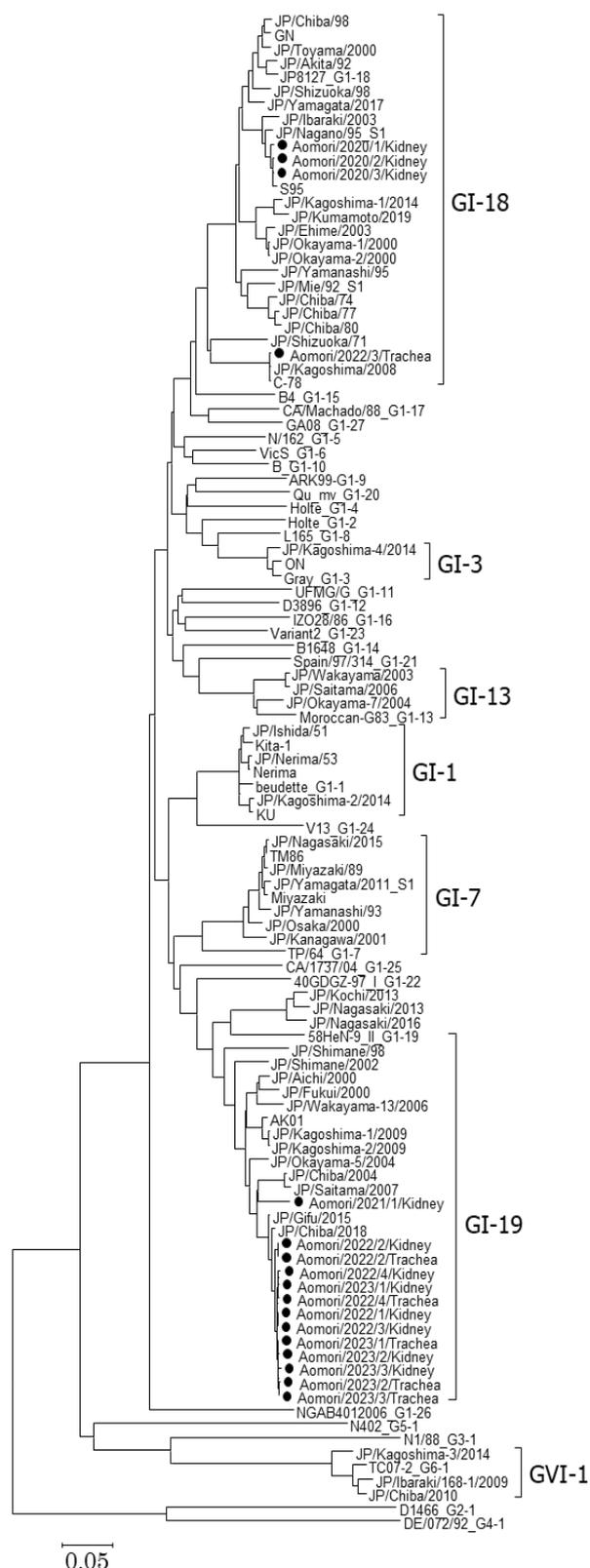


図2 全長領域の分子系統樹解析結果

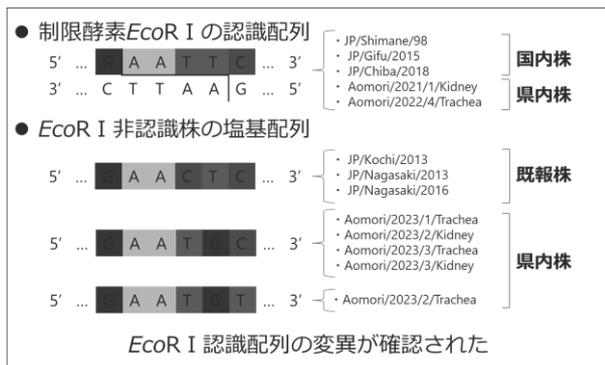


図3 制限酵素 EcoR I の認識配列の比較

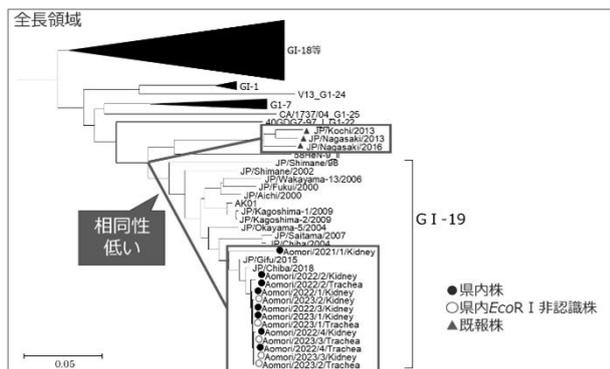


図4 全長領域の分子系統樹解析

4 考察

RFLP の従来法で Mass 型に分類された株が新規法ではすべて JP-III に分類される株が県内でも確認され、新規法による分子系統樹解析と結果が一致したことから、新規法の有用性が確認できた。しかし、今後新規法の制限酵素の認識配列にも変異が生じる可能性がある。遺伝子変異によって生じる新しい齟齬に対応していくため、最新情報の収集による検査法の更新が重要である。

また、既報株は 5' 末端側の 600bp 付近を境に GI-19 の配列と GI-13 の配列が組換えられている。一方で県内 EcoR I 非認識株では既報株のような組換えが生じておらず、相同性が低いことを確認しているため、既報株との疫学的な関連性は低いと推察される。

IBV は RFLP や部分的領域の分子系統樹解析による抗原性の評価だけでなく、全長領域の分子系統樹解析によって得られる疫学的背景の把握等の評価も重要と考えられる。今回の調査では、県内 EcoR I 非認識株の由来や発生要因は不明であった。データを蓄積し、県内の浸潤状況等を明らかにしていきたい。

5 参考文献

- 1) 嶋崎洋子：最近の鶏伝染性気管支炎の発生状況とワクチンによる対策. 鶏病研報 52 (増刊号) 21-25 (2016)
- 2) 秦祐介・寺山好美：2019～2022 年に長崎県で分離された鶏伝染性気管支炎ウイルスの分子系統樹解析. 鶏病研報 59 巻 2 号, 80～85 (2023)
- 3) Mase, M. et al.: Genetic analysis of avian infectious bronchitis virus strains isolated in Japan. Arch. Virol. 149, 2069-2078 (2004)
- 4) Mase, M. et al.: Genotyping of infectious bronchitis viruses isolated in Japan during 2008-2019 J. vet. Med. Sci. 83, 522-526 (2021)
- 5) Valastro, V. et al.: S1 gene-based phylogeny of infectious bronchitis virus: An attempt to harmonize virus classification. Infect. Genet. Evol. 39, 349-364. 11 (2016)
- 6) Mase, M. et al.: Genetic Analysis of the Complete S1 Gene in Japanese Infectious Bronchitis Virus Strains. Viruses 14, 716 (2022)

9 鶏伝染性気管支炎ウイルスの検出傾向及び

新規検査方法の検討

東青地域県民局地域農林水産部青森家畜保健衛生所

○佐藤 宏樹 木村 威凱
高橋 優 中野 裕子
菅原 健 森山 泰穂

1 緒論

伝染性気管支炎ウイルス (IBV) は鶏に感染し、呼吸症状、腎炎及び産卵低下等の症状の起因となり、生産性に著しい影響を与えることが知られている。

青森県では、令和2年度以降家きんの病性鑑定に占める IBV 関与を疑う症例の割合が増加している。また、令和3年度にはそれまで当県で確認されていなかった遺伝子型である JP-Ⅲ型に分類される IBV が関与した症例が確認され、その後は JP-Ⅲ型の IBV が散見されている。それぞれの農場では、ワクチンを用いた発生予防に注力しているところであるが、野外株関与を疑う症例が断続的に確認され、対応に苦慮している。

IBV は感染及び発症予防対策として、ウイルス蛋白のうち抗原性に関与すると知られているスパイク蛋白 S1 領域について遺伝子学的な解析を行い、抗原性を推察しワクチンコントロールの一助とすることが広く行われている³⁾⁴⁾。また、近年ではアミノ酸配列と臓器親和性に着目した報告¹⁾²⁾³⁾が増えており、特に S1 領域をコードする遺伝子の変異による S1 領域アミノ酸の一部置換と臓器

親和性の関連の報告が多く¹⁾²⁾、それらの関連を検討に加えることは病性鑑定においても重要と考えられる。しかし、当県ではこれまで IBV についてアミノ酸に配列の検討を行ったことはなかった。

また、当所では IBV の関与を疑う病性鑑定の遺伝子検査として、S1 領域遺伝子に対するコンベンショナル RT-PCR (cPCR) 及び S1 領域遺伝子増幅産物の制限酵素断片長多型解析 (RFLP) による遺伝子型別を実施している⁴⁾。一方で、国際獣疫事務局 (WOAH) が示すマニュアル⁷⁾内ではリアルタイム RT-PCR (RT-qPCR) に関する記載⁶⁾があり、臨床サンプルに対する使用が想定されている。しかし、病性鑑定における検査方法としての有用性の検討はこれまでなされていない。

そこで、本調査では次の二つの点について検討した。①IBV 県内検出株における S1 領域のアミノ酸を株間で比較して得た検出臓器との関連及び傾向及び②WOAH のマニュアルに記載の RT-qPCR が病性鑑定における検査方法としての有用性を検討したため、その概要を報告する。

2 材料及び方法

① IBV のアミノ酸置換と検出傾向の検討

材料は病性鑑定で県内において検出された 18 株とし、内訳は気管から検出された 6 株及び腎臓から検出された 12 株を用いた。また、既報¹⁾を参考に、腎病原性株として QX 株、一般的な株として M41 株の 2 株の塩基配列を GenBank から取得し基準既存株として解析に用いた。

アミノ酸の解析は、遺伝子解析ソフト MEGA7 を用い、それぞれの株の塩基配列を特定後、基準既存株を参考に DNA 配列のシーケンスアラインメントを実施し、遺伝暗号に従ってアミノ酸に変換した。その後、各株のアミノ酸についてシーケンスアラインメントを実施後、目的とするアミノ酸配列を検索した。

本調査では既報から、次の 2 つのアミノ酸置換を検索対象とした。

(1) 腎臓親和性のアミノ酸置換

110～112 番目のアミノ酸配列が“KIP(リジン-イソロイシン-プロリン)”に置換した株では腎臓親和性が高くなるとの報告¹⁾から 110～112 番目の“KIP”の配列を検索した。

(2) 腎病原性のアミノ酸置換

43 番目のアミノ酸が“H(ヒスチジン)”から“Q(グルタミン)”に置換した株は腎病原性の高いグループに含まれるとの報告²⁾から、43 番目アミノ酸の“Q”への置換を検索した。

② RT-qPCR の検討

材料は県内で検出された IBV 18 株及び IBV ワクチン株 5 株 (S95 株、TM 株、JP-Ⅲ株、H120 株及び 4/91 株) を用いた。また、その他病原体として、過去に当県で摘発されたことのある A 型鳥インフルエンザウイルス、ニ

ューカッスル病ウイルス、鶏伝染性喉頭気管炎ウイルス、伝染性ファブリキウス囊病ウイルス及び鶏脳脊髄炎ウイルスを調査に供した。

cPCR は TaKaRa PrimeScript One-step RT-PCR Ver.2 を用い、プライマーは Forward : 5' -AGGAATGGTAAGTTrCTrGTWAGAG-3'、Reverse : 5' -GCGCAGTACCrTTrAyAAAATAAGC' -3' とした。反応時間は前反応で 50°C30 分、94°C2 分反応後、増幅反応で 94°C30 秒、50°C30 秒、72°C1 分で 35 サイクル後、72°Cで 7 分伸長させた。判定は増幅産物を 1.5%アガロースで 100V、30 分間電気泳動後、UV 照射により実施した。

一方、RT-qPCR は TOYOBO THUNDERBIRD Probe One-step qRT-PCR kit を用い、プライマーは Forward : 5' - GCTTTTGAGCCTAGCGTT-3'、Reverse : 5' - GCCATGTTGTCACTGTCTATTG' -3' とし、プローブは 5' - FAM-CACCACCAGAACCTGT CACCTC-BHQ1-3' とした。反応時間は前反応で 50°C10 分、95°C1 分反応後、増幅反応で 95°C15 秒、60°C1 分で 40 サイクル反応させた。判定はパソコンのソフトウェア上で特異蛍光の検出により判定した。

本調査の検討項目は (1) 感度及び (2) 特異度とし、それぞれ方法は以下のとおり。

- (1) 感度 : 10 倍階段希釈した ($10^{-1} \sim 10^{-8}$) ワクチン株 5 株について、RT-qPCR 及び cPCR で検出限界を比較した。
- (2) 特異度 : IBV の県内検出株及びその他病原体について RT-qPCR で検出の有無を判定した。

3 結果

① IBV のアミノ酸置換と検出傾向の検討

- (1) 腎臓親和性のアミノ酸置換

有する野外株が県内に浸潤していることが確認され、本調査の結果から令和5年度に県内へ侵入したと推察された。当該置換については、既報の国内株ではこれまでに確認されていない³⁾ため、国内で初めての報告であると考えられた。

また、既報で腎病原性を有するクレードのGI-4及びGI-19に区分される株が有する43番目アミノ酸の“H”から“Q”への置換²⁾は、令和3年度以降に県内においても浸潤が確認され、高い頻度であることが判明した。

本調査では各置換をもつ株が気管及び腎臓の両方から検出されたため、分離株と臓器の関連性についてはそれ以上の言及は困難と考えられた。しかし、両方の置換を有する野外株が県内に浸潤していることが判明したため、今後の動向に注視が必要であり、今後は病理組織学的検査における病変の程度との関連も含めた総合的な検討が必要と考えられた。

② RT-qPCR の検討

IBV の検査方法として本調査で検討したRT-qPCR は従来法の cPCR に比べ、同等の検出限界を示したため、感度については同等以上であると考えられた。

また、県内検出株18株すべてを検出可能であるとともに、鳥インフルエンザを含むその他病原体を検出することがなかったため、特異度も十分であると考えられた。

RT-qPCR は陽性対照を用いたIBVの相対定量が可能な方法であるとともに、cPCRとは異なり判定のための電気泳動が不要な方法であるため、検査段階のコンタミネーションを防止できる方法である。

以上から、本調査で検討したRT-qPCRは病性鑑定におけるIBVの検査方法として、有用な方法であると考えられた。

また、既報⁵⁾で真瀬らが提唱している遺伝子型特異的PCRプライマーによる型別法と本調査のRT-qPCRを併用することで、コンタミネーションリスクの高い作業を要するRFLPを実施せずに遺伝子型別を実施することも可能となるため、検査の目的により検査手法の選択肢の充実が期待される。

本調査を受けて、今後はIBVの病性鑑定に関して、目的に応じた検査手法の選択を実施し、診断精度向上に努めるとともに、遺伝子学的検査結果を活用したアミノ酸の置換等のさらなる詳細な病性の検討を実施することで、県内におけるIBVの実態究明に努めていく所存である。

参考文献

- 1) K. M. Bouwman et al., Three Amino Acid Change in Avian Coronavirus Spike Protein Allow Binding to Kidney Tissue, "J. virol. 2020, 94, e01363-19
- 2) T. H. Lim et al., An emerging recombinant cluster of nephropathogenic strains of avian infectious bronchitis virus in Korea, Infection, Genetics and Evolution, 2011, 11, 678-685
- 3) M. Mase et al., Genetic Analysis of the Complete S1 Gene in Japanese Infectious Bronchitis Virus Strains, Viruses, 2022, 14, 716
- 4) M. Mase et al.: Phylogenetic analysis of avian infectious bronchitis virus

strains isolated in Japan, Arch Virol, 2004, 149, 2069-2078

- 5) 真瀬昌司ら, 鶏伝染性気管支炎ウイルスの遺伝子型特異的 PCR プライマーを用いた型別, 鶏病研報, 57(1), 17-21(2021)
- 6) S. A. Callison et al., Development and avaluation of a real-time Taqman RT-PCR assay for the detection of infectious bronchitis virus from infected chickens, J. Virol. Methods, 2006, 138, 60-65.
- 7) WOAH Terrestrial Manual 2018., Chapter 3.3.2-Avian Infectious Bronchitis