# 一般口演

#### 奨励賞エントリー口演

座長:菊佳男(酪農学園大学)

- 1. 妊娠期の栄養状態が胎仔胸腺と脾臓の免疫発達関係に及ぼす影響
  - ○萩之内竹斗、後藤貴文
- 2. 母牛初乳または初乳代替品を給与した子牛の生後直後における免疫細胞動態の比較
  - ○久保田高慶、大井邑斗、菅野智裕、佐藤将伍、髙橋史昭、前田洋佑
- 3. 子牛の腸管内抗体の細菌結合特性と腸内環境との関連
  - ○五十嵐栞, 大石睦, 上田宏一郎, 新宮裕子, 鈴木裕
- 4. 家畜感染症の治療に向けた節足動物由来抗菌ペプチドと抗生物質の併用効果の評価
  - ○下田蒼、津上優作、大西恵実、長澤裕哉、戸部隆太、米山裕

座長: 土赤忍(大阪公立大学)

- 5. 牛伝染性リンパ腫ウイルス感染オンサイト検査の実用化に向けた課題解明とその検討
  - ○彌永千穂、甲斐塔子、三谷康正、趙彦杰、西澤尚文、野津昂亮、関口敏
- 6. ホルスタイン初産牛における分娩後の子宮回復と子宮内細菌叢の関連性
  - ○吉山紬、三輪雅史、菅野桂介、麻生久、芳賀聡、阪谷美樹
- 7. 牛の潜在性肺炎の確定診断法の検討
  - ○加藤大樹、帆保誠二
- 8. 離乳前子牛の胸部超音波検査による呼吸器病評価と初乳品質および品種の比較
- ○佐藤こずえ、森重大作、高橋聖大、荻野千尋、望月崇宏、瀧本悠介、渥美孝雄、前田洋佑 =ここまで=

# 座長:乙丸孝之介(鹿児島大学)

- 9. 子牛におけるワイヤレス型コンベックス超音波装置の描出能と迅速検査への応用評価 ○前田洋佑、山本凜衣子、佐藤将伍、菅野智裕、髙橋史昭
- 10. 水槽スワブによる牛鼻腔内の呼吸器病関連病原体の推定と野外応用
  - ○五嶋祐介
- 11. BRDC リスク評価のための客観的牛群、農場評価法の検討
  - ○石川真悟、坂内優以、米澤周奈、市川誠彦
- 12. ワクチネーションによる抗 LPS 抗体上昇と衛生管理の改善による大腸菌群性乳房炎の制御
  - ○赤松裕久、吉井緋花莉、加藤智也、山崎世使子、鈴木直樹、磯部直樹
- 13. 黒毛和牛雌牛における周産期リジン給与が血液性状に及ぼす影響
  - ○楢原さくら、後藤貴文

座長:石川真悟(大阪公立大学)

- 14. 抗菌剤の予防投薬が慣習化した養豚場における間欠投与法の活用
  - ○遠矢良平、 上村涼子、島本正平、谷口仁基
- 15. ブタ消化管内における Helicobacter 属の分布把握と、糞便または肛門粘膜からの検出
  - ○塚原隆充, 三浦広卓, 設樂侑希, 川﨑淨教, 井上亮
- 16. 仔牛の下痢発症に伴う周波数特性の変化と個体内比較による早期異常検知の可能性
  - ○永見秋歩

- 17. 母乳および代用乳給与がクリプトスポリジウム感染子牛の腸内細菌叢に及ぼす影響 谷地田桃子、伊藤めぐみ、〇森田康広
- 18. 母子免疫によるクロストリジウム不活化ワクチンの子牛下痢症予防効果 ○乙丸孝之介、松崎春香、松浦竜道、井尻萌、内倉翔真

#### 妊娠期の栄養状態が胎仔胸腺と脾臓の免疫発達関係に及ぼす影響

- ○萩之内竹斗1)、後藤貴文2)
- 1) 北大・環境科学、2)北大・FSC

【背景】妊娠期の母体栄養は、子孫の臓器形成や代謝システムの確立を通じて出生後の成長と密接に関連し、免疫機能も出生前の発達度に依存すると考えられる。胸腺は T 細胞の分化増殖を行う場であり、脾臓は他臓器で作られた免疫細胞を働かせる機能を持つことから、互いに免疫構築を補完する。先行研究では妊娠期低栄養が胸腺単体における代謝かく乱や脾臓単体における補償的造血を示唆した。本研究では、母体栄養変化が胎仔胸腺と脾臓の臓器間の関係性に与える影響について検討した。

【材料および方法】黒毛和種繁殖雌牛 12 頭を 6 頭ずつ 2 群に分け、受精後から妊娠 260 日齢まで日本飼養標準の 120% (HN) または 60% (LN) に相当する  $CP \cdot TDN$  を含む TMR を給餌した。妊娠 260 日齢時に帝王切開で胎仔を摘出・屠畜後、脾臓および胸腺を採取した。両臓器から  $Total\ RNA$  を抽出し RNA-seq を実施し、MixOmics の DIABLO 解析で栄養処理に関連を示す遺伝子群(VIP > 2)を抽出した。これらを基盤にエンリッチメント解析と臓器間相関解析(|r| > 0.9)を行った。

【結果および考察】抽出遺伝子は脾臓 114 個、及び胸腺 697 個であった。臓器間相関解析では 50 組の強相関遺伝子ペアが得られ、相関が特に強い 20 組では 7 組が正、13 組が負の相関であり、逆相関の遺伝子ペアが多かった。妊娠期低栄養状態における逆相関のペア因子は、胸腺で細胞分裂やストレス応答因子の発現が低下すると、脾臓では細胞接着・組織構築の活発化や免疫活性化関連因子の発現が上昇する挙動を示していた。これは胸腺での発生過程の減退に呼応し、脾臓で組織構築と免疫活性化が亢進されることを示す。以上より、胎仔の低栄養曝露は両臓器の発生プログラムの関係を変化させ、胸腺発達遅延で供給不足となる免疫細胞を補うため脾臓が補償的に応答する可能性が示唆された。これは、妊娠期の母体栄養変化が胎仔の胸腺と脾臓の関係性を変化させ、免疫システムに影響を及ぼす可能性がある。

# 母牛初乳または初乳代替品を給与した子牛の生後直後における免疫細胞動態の比較

- 〇久保田高慶 1) 2)、大井邑斗 2)、菅野智裕 2)、佐藤将伍 2)、髙橋史昭 2)、前田洋佑 2)
- 1) (有)小比類巻家畜診療サービス、2) 北里大

#### 【はじめに】

初乳は移行免疫の獲得に不可欠であるが、初乳が不足または低品質の場合には初乳代替品が用いられる。初乳代替品は免疫グロブリンを供給できる一方、母牛初乳に含まれる白血球やサイトカインなどの免疫調節因子を欠き、その違いが出生直後の免疫細胞動態に与える影響は十分に検討されていない。特に、初乳摂取後 24 時間以内に焦点を当てた報告は少ない。本研究では、母牛初乳または初乳代替品を給与した子牛の出生直後における免疫細胞動態を比較し、その特徴を明らかにすることを目的とした。

#### 【材料および方法】

黒毛和種子牛 11 頭を対象とし、出生直後に母牛初乳を自然哺乳した群(MC 群、n=5)および授乳拒否により初乳代替品を給与した群(CR 群、n=6)に分けた。出生直後から初乳摂取後 24 時間(0、1、2、3、6、12、24h)まで頸静脈血を採取し、白血球サブセットをフローサイトメトリーで解析した。また、末梢血単核球における T 細胞関連サイトカイン mRNA 発現を評価し、24時間時点で血清 Brix 値および血液生化学検査を実施した。

#### 【成績】

MC 群では初乳摂取後  $1\sim6$  時間に総白血球数、単球、顆粒球が有意に高く、 $\gamma$   $\delta$  Tem 様細胞が一過性に増加した。その他の T 細胞サブセットおよびサイトカイン mRNA 発現に群間差は認められなかった。24 時間時点では、MC 群の血清 Brix 値、総タンパク質、TP-ALB が CR 群より有意に高かった。

#### 【考察】

母牛初乳は初乳代替品と比較して免疫グロブリン吸収に優れ、単球・顆粒球の早期活性化や $\gamma$   $\delta$  T 細胞動態に影響を及ぼすことが示唆された。一方、その他の免疫指標に顕著な差はみられず、生後直後の免疫応答は自然免疫主体であると考えられた。以上より、母牛初乳は受動免疫の獲得に加えて、出生早期の自然免疫の立ち上がりを促す役割を持つと考えられた。

#### 子牛の腸管内抗体の細菌結合特性と腸内環境との関連

○五十嵐栞 1), 大石睦 2), 上田宏一郎 2), 新宮裕子 3), 鈴木裕 4) 1)北大・院・環境、2)北大・院・農、3)道総研・酪農試、4)北大・院・FSC

【はじめに】哺乳期子牛は、腸内細菌叢や免疫機能が未発達で腸内環境が不安定なため、下痢などの消化器病のリスクが大きい。腸管内抗体は細菌表面への結合を介して、有用菌の定着を促進し、また病原菌の増殖を抑制することが報告されている。しかし、子牛の腸管内抗体と腸内細菌の直接的な関係性は明らかになっていない。本研究では、子牛の腸管内抗体の細菌への結合特性、および腸内環境との関連を調査した。

【材料および方法】哺乳中のホルスタイン種メス子牛8頭から採取した糞便を検体とした。採取した糞便は生理食塩水で希釈してpHを測定した。また、セルソーターを用いてIgA/IgG結合菌を分取し、次世代シーケンサーを用いた菌叢解析を行い、各細菌群の抗体結合度を算出した。

【結果】細菌結合度は抗体クラスによって異なり、IgA は非有用菌である Veillonella や腸内常在菌である Oscillospiraceae などと高い結合性を示し、一方で IgG は、Lactobacillus といった乳酸産生菌や、非有用菌である Erysipelotrichaceae などとの結合性が高かった。

さらに、腸内環境指標となる糞便 pH と抗体の細菌結合性の関連を検討したところ、糞便 pH が低い個体では常在菌である Blautia, Oscillospiraceae 科細菌などへの IgA 結合度が上昇した。一方 IgG では、いずれの細菌でも結合度は変化しなかった。

【考察】IgA は腸内常在菌を含むさまざまな細菌に結合する一方で、IgG は、乳酸産生菌や非有用菌などの下痢発症時に増加する細菌群に選択的に結合したことから、細菌叢に対する作用・役割が抗体クラスにより異なることが示唆された。また IgA の結合性は糞便 pH により変化したことから、腸内 pH が低下するアシドーシスや下痢など、腸内環境が悪化に応じて腸内細菌叢を調節する可能性が示された。

# 家畜感染症の治療に向けた節足動物由来抗菌ペプチドと抗生物質の併用効果の評価 〇下田蒼 1,2)、津上優作 1)、大西恵実 1)、長澤裕哉 1)、戸部隆太 2)、米山裕 2)

①下田倉 1,2)、津上懐作 1)、人四忠美 1)、長澤裕成 1)、戸部隆太 2)、木田裕 2 1)農研機構・動衛研、2)東北大・農

【はじめに】近年獣医畜産領域における薬剤耐性対策アクションプランが策定され、家畜感染症の治療における抗生物質の使用量低減が求められている。抗菌ペプチド(AMP)は薬剤耐性菌に対する抗菌作用をもつことから抗生物質に代わる新たな抗菌化合物として注目されている。しかしながら AMP は製造コストや生体毒性などの問題点から臨床応用が難航しているため、安全かつ効果的な AMP の応用方法の開発は AMP の臨床応用に向けたブレイクスルーとなり得る。本研究ではグラム陽性菌に対する高い抗菌活性をもつマダニ由来抗菌ペプチド Persulcatusin(IP)を対象として、AMP の応用方法として抗菌化合物との併用による相乗効果に着目し、IP と抗生物質の併用効果の評価を試みた。

【材料および方法】被検菌として黄色ブドウ球菌 ATCC 29213 株を使用した。IP と抗生物質との併用効果の評価法として、段階希釈した 2 種類の抗菌化合物を用いて被検菌の生育を評価する Checkerboard 法を採用した。本手法を用いて、2 つの抗菌化合物をそれぞれ単独で使用したときの最小発育阻止濃度(MIC)と、併用時 MIC の数値から Fractional inhibitory concentration index(FICI)を算出し、FICI 値に基づき IP と抗生物質の併用効果を相乗的(FICI<1.0)、相加的  $(1.0 \le \text{FICI} \le 2.0)$ 、阻害的(FICI>2.0)に類別した。

【結果および考察】IP は家畜感染症の治療に使用されるアンピシリン(FICI=0.38)、セファゾリン(FICI=0.75)およびテトラサイクリン(FICI=0.75)と相乗効果を示し、IP と抗生物質の併用が家畜感染症の治療に応用できる可能性が示された。本研究で明らかとなった IP と抗生物質の併用効果は、IP の少量かつ効果的な応用に資するだけでなく、家畜感染症の治療における抗生物質の使用量の低減化にも寄与することが示唆された。

牛伝染性リンパ腫ウイルス感染オンサイト検査の実用化に向けた課題解明とその検討 ○彌永 千穂 1)、甲斐 塔子 1)、三谷 康正 2)、趙 彦杰 2)、西澤 尚文 2)、野津 昂亮 3)、 関口 敏 1,4)

1)宮崎大・農・産業動物伝染病防疫学、2)株式会社ゴーフォトン PCR グループ、3) Diagnostic Medicine/Pathobiology, College of Veterinary Medicine, Kansas State University、4)宮崎大・産業動物防疫リサーチセンター

【はじめに】牛伝染性リンパ腫ウイルス(BLV)の感染拡大を抑制するためには、感染牛の早期発見が不可欠であり、生産現場で実施可能なオンサイト検査法の確立が求められている。これまでに我々は、モバイル型リアルタイム PCR 装置を用いた BLV 検出アッセイの基本性能を報告した。本研究では、農場での初回検証による課題の抽出と、それに基づく改善策の評価を目的とした。【材料および方法】本研究ではデジタル PCR 検査で陽性の個体を BLV 陽性牛、陰性を BLV 陰性牛と定義し、試験に供した。まず、BLV 陽性牛 4 頭の農場検体を用いてオンサイト検査を行い、増幅阻害や作業上の課題を把握した(実験 1)。次に、採血量に対する抗凝固剤比率の影響を検証した(実験 2)。さらに、同時期に得られた高脂血症疑いの BLV 陽性牛の検体を用い、血中脂質の影響を検証した(実験 3)。最後に、現場の獣医師から寄せられた「検査時間の短縮」への要望に対し、新たに迅速プロトコルを作成し、その再現性を評価した(実験 4)。

【成績】実験1の結果、屋外の作業では想定外の要因が生じ、実験室内と同じ結果を得ることが困難であることが明らかとなった。その原因の一つとして、採血量が少ない(抗凝固剤比率が高い)検体では、4 頭中1 頭のみで BLV 遺伝子が検出された(実験2)。実験3の高脂血症疑い検体に対する評価では、BLV 陽性3 頭・陰性2 頭の5 検体全てについて、デジタル PCR と結果が一致した。実験4では、迅速 PCR プロトコルが従来のプロトコルと同等の性能を確認した。

【考察】採血量不足による抗凝固剤比率の上昇は増幅阻害の原因の一つと推察された。一方、今回の結果からは、血中の脂質成分の影響は認められなかった。PCR 反応時間の短縮および前処理待機工程の省略により、検査全体が迅速化され、前処理試薬希釈条件の最適化と併せて、現場適応性の向上が示唆された。

# ホルスタイン初産牛における分娩後の子宮回復と子宮内細菌叢の関連性

- ○吉山紬 1)、三輪雅史 1)、菅野桂介 2)、麻生久 2)、芳賀聡 2)、阪谷美樹 1)
- 1) 農研機構畜産研 2) 東北大院農

#### 【はじめに】

分娩後の子宮回復遅延はその後の繁殖成績や生産性を低下させる。近年、子宮内細菌叢と子宮健全性の関連が注目されているが、分娩後の回復過程との関係は不明である。本研究では分娩後の子宮回復速度の異なる2群間において子宮内細菌叢を比較した。

#### 【材料および方法】

ホルスタイン初産牛 12 頭を用い、分娩前 30 日~分娩後 60 日の期間で試験を実施した(分娩日 =D0)。D10~D60 まで 10 日間隔で直腸検査および超音波検査を行い、子宮内腔拡張と高エコー像が消失した日を回復と定義した。D-30、D-20、D0、D10、D20、D30 および D60 に採血し、βヒドロキシ酪酸(BHBA)と遊離脂肪酸(NEFA)を測定した。D30 と D50 にサイトブラシで子宮内膜を採取し、多形核白血球(PMN)率の算出と細菌叢解析(アンプリコンシーケンス解析)を行った。子宮回復が D40 未満を早期群(4 頭)、D40 以降を遅延群(8 頭)とし、子宮回復過程と子宮内細菌叢の関連を検討した。

#### 【成績】

BHBA は遅延群で D10 にピークを示し、早期群より有意に高値であった(p < 0.05)。NEFA は遅延群で D0~D20 まで 0.6~0.7 mEq/L と高値を推移した。D30 の PMN 率は早期群に比較して遅延群で高い傾向を認めた(p < 0.1)。D30 と D50 で子宮内細菌叢の  $\alpha \cdot \beta$  多様性に群間差はなかったが、D30 において  $\alpha$  多様性は PMN 率との間に負の相関を認めた(p < 0.05)。

#### 【考察】

本試験では子宮回復速度の違う 2 群間で子宮内細菌叢に差はなかったが、子宮回復遅延の要因としてエネルギー状態の影響が示唆された。遅延群では PMN 率が高い傾向を示し、さらに PMN 率は  $\alpha$  多様性との関連が確認された。この結果から、今後はエネルギー状態と子宮内細菌叢の関連も検討する必要がある。本試験は日本中央競馬会畜産振興事業の支援を受けて実施された。

# 牛の潜在性肺炎の確定診断法の検討

- ○加藤大樹1)、帆保誠二1)
- 1 鹿大共同獣医

#### 【はじめに】

呼吸器病は子牛疾病の約4割を占め、その生産性に影響を及ぼす。牛の肺炎は、急性肺炎として発見させることは少なく、潜在性肺炎の病態からの悪化で気づくことが多い。これは、牛の肺炎は臨床症状に乏しく、また日常的な検温が一般的ではないことに起因すると考えられる。本研究では、気管支肺胞洗浄液(BALF)の細菌分離結果により潜在性肺炎と診断された子牛とBALFから細菌が分離されなかった子牛において、各種検査結果を解析し、潜在性肺炎を確実に診断する方法を検証した。

#### 【材料と方法】

同一農場同一環境で飼養されている子牛 20 頭を供試し、BALF からの細菌分離がなかった牛を「健常群」、103 CFU/mL以上の病原性細菌が分離された牛を「潜在性肺炎群」とした。身体検査 (TPR、気管および肺の聴診)、血球検査、血液生化学検査、臨床呼吸器スコア(CRS)、胸部超音波検査(TUS)、気道内視鏡検査および BALF の各種検査を常法により実施した。聴診所見、内視鏡検査所見、BALF 所見(濁度、浮遊物の量)は 0~3 の 4 段階のスコア化を、TUS は B-line と Consolidation(CL)について評価した。

#### 【結果】

両群で各 5 頭が該当した。潜在性肺炎群の BALF からは、4 頭では Pasteurella multocida が、1 頭では Streptococcus ruminantium が分離された。全頭で Mycoplasma bovis は陰性であった。健常群と潜在性肺炎群ともに明確な臨床症状は認められず、CRS は陰性であった。気管聴診および肺聴診では、有意差はみられないものの潜在性肺炎群でスコアが高い傾向にあった。気道内視鏡検査では、左右気管支の内視鏡検査所見スコアで健常群と比較して潜在性肺炎群で有意にスコアが高かった。同様に BALF の浮遊物スコアで潜在性肺炎群は有意にスコアが高かった。また潜在性肺炎群では BALF 中の好中球割合が有意に高値を示した。TUS では潜在性肺炎群と健常群の両群で複数 B-line から帯状 B-line がみられ両群間に有意差はなかった。

#### 【考察】

TUS は病態が進行した肺炎や予後診断では有用であるが、潜在性肺炎牛の診断には適さず、肺炎 初期病態の診断は困難であると考えられた。

本研究の結果からは、気道内視鏡検査、BALFの肉眼所見およびBALFからの細菌分離検査が潜在性肺炎の有用な検査法であることが示された。しかし、これらの検査を一般的に実施することは困難であるので、臨床症状および気道の聴診により潜在性肺炎を疑い、気道内視鏡検査により確定診断することが最も有用であると考えられた。

#### 離乳前子牛の胸部超音波検査による呼吸器病評価と初乳品質および品種の比較

○佐藤こずえ 1)、森重大作 1)、高橋聖大 1)、荻野千尋 1)、望月崇宏 1)、瀧本悠介 1)、渥美孝雄 1)、前田洋佑 2)

1)(株)渥美牛群管理サービス、2)北里大・獣医

#### 【はじめに】

子牛の呼吸器病(BRD)は離乳前に多く発生し、その後の発育、繁殖、産乳成績など生産性に影響する。胸部超音波検査(TUS)は潜在性 BRD の早期検出に有用であり、その臨床的価値が高まっている。一方、初乳品質や品種は子牛の免疫移行や疾病感受性に影響するとの報告があり、BRD リスク要因として議論されている。しかし、同一飼養環境で TUS 所見と初乳品質・品種を同時に比較した研究は限られている。そこで本研究では、同一農場の離乳前子牛における潜在性および臨床型 BRD の発生状況を、初乳品質および品種別に比較することを目的とした。

#### 【材料および方法】

調査期間は 2025 年 3 月から 10 月とした。対象は管内 1 酪農場で出生し、28~56 日齢に TUS が実施された子牛 38 頭(黒毛和種 21 頭、ホルスタイン種 12 頭、交雑種 5 頭)とした。初乳 および子牛の全血 Brix は糖度計(PAL-1、アタゴ)を用いて測定した。 TUS スコアは、Ollivett らの方法を用い、スコア 2 以上を TUS 陽性とした。 臨床スコアは clinical respiratory scoring chart(CRS)を使用し、5 以上を CRS 陽性とした。 CRS および TUS 陽性を満たす 個体を臨床型 BRD、CRS 陰性かつ TUS 陽性を満たす個体を潜在性 BRD とした。

#### 【成績】

TUS 陽性は 38 頭中 17 頭(44.7%)であった。このうち 潜在性 BRD は 14 頭(36.8%)、臨床型 BRD は 3 頭(7.9%) であった。潜在性 BRD の発生率は、黒毛和種 7/21(33.3%)、ホルスタイン 5/12(41.7%)、交雑種 2/5(40.0%)で品種差はみられなかった。一方、臨床型 BRD の 3 頭はいずれも黒毛和種であった。初乳 Brix および全血 Brix は、潜在性 BRD の発生と有意な関連を示さなかった。

#### 【考察】

潜在性 BRD は約4割の子牛に認められ、品種間差が小さかったことから、同一農場における離乳前 BRD の発生には品種よりも飼養環境・管理要因が強く関与する可能性が示唆された。一方、臨床型 BRD は黒毛和種に限られており、黒毛和種で重症化リスクが相対的に高い可能性が考えられた。ただし症例数は少なく、品種特性と個体差を区別するためにはさらなる症例の蓄積が必要である。

# 子牛におけるワイヤレス型コンベックス超音波装置の描出能と迅速検査への応用評価

- ○前田洋佑 1)、山本凜衣子 1)、佐藤将伍 1)、菅野智裕 1)、髙橋史昭 1)
- 1) 北里大

#### 【はじめに】

牛の臨床現場では直腸検査用リニアプローブが広く普及しているが、視野幅が狭く深部臓器の描出には限界がある。これに対しコンベックスプローブは広視野と深達度に優れ、腹部臓器の包括的評価に適するものの、牛での普及は十分ではない。近年、携帯性に優れたワイヤレス型超音波装置が利用可能となっているが、牛における描出能や実用性は十分に検証されていない。本研究では、ワイヤレス型コンベックス装置の臨床的有用性を、画像描出性能と迅速スクリーニング検査への適応可能性から評価した。

#### 【材料および方法】

検討1では健康な子牛7頭を対象に、立位でワイヤレス型および有線式コンベックス装置(据置・ポータブル兼用)を用い、脾臓、第一胃・第二胃・第三胃、右腎、小腸、肝臓(門脈)、胆囊、心臓(四腔像断面)、肺など、腹部および胸部の主要臓器を走査した。各臓器について7頭×3回測定(21ペア)の計測値を取得し、Bland-Altman分析により両機器の一致性を評価した。検討2では健康な子牛5頭で、超音波経験者1名および初学者3名が同様の迅速走査を行い、2回測定の平均から検査時間を算出した。

#### 【成績】

全例で主要臓器の描出が可能であり、Bland-Altman 分析では多くの項目で両機器の良好な一致性が確認された。平均検査時間は、経験者でワイヤレス型 3 分 35 秒、有線式 4 分 00 秒、初学者では両機器とも 5~9 分台で、全員が 10 分未満で検査を完了した。初学者では反復に伴い検査時間が短縮し、習熟効果が認められた。

#### 【考察】

ワイヤレス型コンベックス装置は、立位の子牛に対する腹部および胸部の主要臓器の迅速走査に 十分対応可能であり、有線式装置と同等に臨床診断に必要な描出が得られた。携帯性と操作性に 優れることから、往診現場における迅速スクリーニング検査に特に有用であると考えられる。

#### 水槽スワブによる牛鼻腔内の呼吸器病関連病原体の推定と野外応用

○五嶋祐介

岩手県中央家保

【はじめに】牛呼吸器病(BRD)発症時の個体診断において、深部鼻腔スワブ(DNS)の採取は必須であるが、牛群における BRD 関連病原体の侵入状況の把握を目的とした調査時においては、多数の牛の保定・DNS 採取は人牛共に負担となることから、DNS に代わる材料が望まれる。そこで、様々な牛舎環境材料を検討した結果、水槽スワブ(WS)が鼻腔内病原体保有状況を反映する有力な候補と確認されたため、その概要と WS の野外応用について報告する。

【材料および方法】①DNS と WS の比較: BRD 対策に注力する黒毛和種子牛飼養 6 農場を対象に、令和 6 年 11 月から同 7 年 11 月の期間、延べ 27 回、DNS114 検体、WS62 検体を採取。WS は、タンク式の場合は複数本の綿棒にて内壁を擦り、1 本の 2ml の PBS 入り遠沈管に纏めて 1 検体とし、カップ式の場合は 1 カップを 1 本の綿棒で擦り、 $1\sim3$  カップを 1 検体とした。対象牛の DNS と同牛が利用可能な水槽の WS について、マルチプレックス RT-qPCR を用いた BRD 関連 病原体 12 種の検出状況を比較。②野外応用: 令和 7 年  $10\sim11$  月、預託施設 2 農場において全水槽の WS を採取(1 タンク 1 検体、カップは  $2\sim4$  検体をプール)し、上述の PCR に供試。

【成績】①DNS に対する WS の病原体検出率は、全病原体では 90.8%。各病原体では BCoV、BToV、BAdV7、BPIV3、BIDV、P. multocida (Pm) 及び H.somni (Hs) は 100%、M.bovis は 83.3%、M.haemolytica (Mh) は 71.4%。BVDV、BRSV 及び BHV1 の検出は無し。②1 農場において Mh、Pm 及 Hs を、他方において Pm の浸潤を確認。

【考察】WS は牛鼻腔内の BRD 病原体保有状況を推定可能であることが示唆。一部細菌の検出率は 100%に達しないが、複数検体の検査により見逃しの防止は可能。野外応用により、牛舎内の同病原体の把握が容易に行えることを確認。WS は牛にストレスを与えず、獣医師以外でも簡易に採取できる材料であるため、BRD 低減対策に活用されることを期待する。

# BRDC リスク評価のための客観的牛群、農場評価法の検討

○石川真悟、坂内優以、米澤周奈、市川誠彦 大公大・獣医

#### 【はじめに】

牛呼吸器病症候群(BRDC)は、病原体、環境、飼養管理などの要因が複合的に関与する疾病であり、その防除には農場ごとのリスク因子の特定が不可欠である。しかし、従来の現場におけるリスク評価は、管理者からの聞き取り等の主観的情報に依存する傾向があり、病原体の浸潤状況や環境要因を客観的数値に基づいて統合的に評価する手法は確立されていない。そこで本研究では、牛群の生物学的検査と農場の環境・管理情報のデジタル解析を組み合わせた、客観的かつ実践的な BRDC リスク評価法を検討し、その有用性を検証することを目的とした。

#### 【材料および方法】

牛群評価として、健常牛の鼻咽頭スワブを用いた Multiplex RT-qPCR による主要呼吸器病原体の検出、および胸囲充足率の測定による発育の評価を行った。鼻咽頭スワブの採取については、実際の農場現場で実施可能かつ遺伝子検査に適した標準的な手技を検討の上、これを採用した。農場評価としては、従来、長時間要していた飼養管理法の聞き取りを A4 用紙 1 枚の重要項目に集約した。加えて、地理空間処理サービスを活用した当該農場の気象・地形情報の解析、およびスマートフォン動画を用いた牛舎環境の客観的解析による、多角的な評価系の構築を試みた。

#### 【成績】

調査農場において、病原体保有率および胸囲充足率は農場ごとに差異、傾向が認められた。また、同一農場において飼養管理改善を実施した後、病原体保有率が著しく減少し、胸囲充足率が改善したことを確認した。

#### 【考察】

本成績より、本法は農場のBRDCリスク評価および改善効果の判定に有用であると考えられた。 現在、これらのデータに基づき農場特性のクラスター分析を進めており、将来的には各クラスターに固有のリスクを可視化し、特性に応じた標準的な飼養管理改善プログラムを確立することを目指している。そのためには、評価法のさらなる精度向上が不可欠であり、より多くの農場データの蓄積が必要である。実施法の詳細はWeb上からアクセス可能とし、申請フォームから容易に利用できる体制を整備しており、多くのご協力をお願いしたい。





甲請フォーム

# ワクチネーションによる抗 LPS 抗体上昇と衛生管理の改善による大腸菌群性乳房炎の制御

- ○赤松裕久1)、吉井緋花莉2)、加藤智也2)、山崎世使子2)、鈴木直樹3)、磯部直樹3)
- 1) 赤松ファームクリニック、2) 共立製薬、3) 広島大院統合生命

【目的】スタートバック(以下、乳房炎ワクチン)は、大腸菌群に共通の内毒素(LPS)への抗体を高め、大腸菌群性乳房炎(Coliforms Mastitis、以下 CM)の重症化を低減することが示唆されている。しかし、同ワクチン接種による抗 LPS 抗体上昇を確認した報告は見あたらない。そこで、ワクチン接種農場と非接種農場の血中抗 LPS 抗体を測定し、CM 死廃率(重症化)との関係性を検証した。また、牛床の大腸菌群数や搾乳衛生についても調査し、CM 制御の要件について検討した。

【材料および方法】乳房炎ワクチンを接種している A、B 農場、非接種の C 農場を対象に、分娩 100 日以上で CM 発症歴のない搾乳牛を各 7 頭ずつ選定し、血中の抗 LPS 抗体を ELISA 法で測定した。また、2023~2025 年の 7~8 月の CM 死廃率(死廃頭数/発生頭数)および発生率(発生頭数/搾乳頭数)を調査した。さらに、牛床の大腸菌群数、乳頭清潔スコア 3+4(不良)スコアの割合を調査し、CM 発生率との関係性を検討した。

【成績】乳房炎ワクチンを接種している A、B 農場における血中抗 LPS 抗体濃度は、非接種の C 農場と比較して高かった(P<0.05)。A、B 農場の CM 死廃率はワクチン接種の翌年から低下し、 2025 年 7~8 月における A 農場の CM 死廃率は 0%、B 農場は 7.6%で、C 農場の 31.3%より低かった(P<0.05)。しかし、乳房炎ワクチンを接種しているにもかかわらず、2025 年の CM 発生率は A 農場 3.0%、B 農場 13.0%と差がみられた(P<0.01)。A 農場における牛床の大腸菌群の平均菌数は 0 cfu/g で、B 農場の  $4.0 \times 106$  cfu/g より少なかった(P<0.05)。また、A 農場の乳頭清潔スコア 3+4 の割合は 15.0%で、B 農場の 69.2%より低かった(P<0.05)。

【考察】乳房炎ワクチン接種により血中抗 LPS 抗体が上昇し、CM 死廃率を低減することが示された。また、CM 発生率は牛床の大腸菌群数および乳頭清潔スコア(乳頭清拭のレベル)に影響されることが認められた。したがって、ワクチネーションに加えて、牛床および搾乳衛生の改善を図ることで、CM 死廃率および発生率を制御できることが示唆された。

#### 黒毛和牛雌牛における周産期リジン給与が血液性状に及ぼす影響

- ○楢原さくら1)、後藤貴文2)
- 1) 北大院、2) 北大 FSC

【はじめに】リジンは、哺乳類が体内で合成できない必須アミノ酸であり、たんぱく質合成や免疫細胞の維持に不可欠な役割を果たす。本研究では周産期のリジン給与が雌牛と産仔の血液性状に及ぼす影響について調査した。

【材料と方法】分娩予定日の60日前から分娩後28日まで、リジンを120g/頭/日給与する(LYS120区, n=32)と200g/頭/日給与する(LYS200区, n=32)を実験区とし、リジンを給与しない区を対照区(CNT区, n=64)とした。母牛は分娩予定日の61日前と分娩後28日に、子牛は分娩直後(初乳摂取前)と7日齢に血液を採取した。血清は血液生化学検査に、血漿は遊離アミノ酸検査を実施した。分娩時には生時体重、初乳中Brix濃度の測定を行った。また、3カ月齢で体重測定を行い日増体量を算出した。

【結果】生時体重は、LYS200 区において CNT 区と比較し有意に軽かった。一方、初乳中 Brix 濃度は群間で有意差は認められなかった。血液生化学検査の結果において、分娩予定日 61 日前の血液において群間差が有意に認められたが、分娩後 28 日齢の血液では有意差は認められなかった。各個体の血液性状の変化量を解析した結果、LYS120 区において総コレステロール濃度、アルブミン濃度が CNT 区と比較して有意に増加した(p<0.01)。LYS200 区においてはグルコース濃度に増加する傾向が認められ(p<0.1)、総コレステロール濃度、アルブミン濃度および IGF-1 濃度が有意に増加した (p<0.05)。一方、総タンパク質濃度は LYS200 区において有意に減少した。

【考察】初乳中Brix 濃度に群間差が認められなかった点については、母牛へのリジンの給与が初乳の免疫成分への直接的な影響がなかったと考えられた。血液生化学検査においては、周産期の代謝的な変化が大きく影響していると考えられ、特に脂質代謝指標やタンパク質指標においてリジンの給与が血液性状に影響を与えたことが示唆された。今後は長期的な生産成績との関連性を調査するとともに、他アミノ酸との相互作用について検討を進める予定である。

# 抗菌剤の予防投薬が慣習化した養豚場における間欠投与法の活用

○遠矢 良平 1)、 上村 涼子 2)、島本 正平 1)、谷口 仁基 1) 1)NOSAI 宮崎、2)宮崎大・農

【はじめに】宮崎県の養豚場では、抗菌剤使用低減のアプローチが行われている一方、一部の農場において抗菌剤の日常的な予防投薬がみられ、健康豚由来大腸菌の高い多剤耐性率が観察されている。生産者の抗菌剤使用削減の意思に影響を与える要因として、抗菌剤に対する利便性認識と従事年数が報告されており、臨床現場では、これに対応した薬剤耐性対策が必要である。今回、予防投薬が慣習化した農場において、間欠投与法の導入により使用低減に成功したので報告する。

【材料および方法】母豚 250 頭の一貫経営農場では、私たちが投薬指示を開始する以前から、4種類の抗菌剤を日常的に予防投薬していた。60 代経営者は死亡頭数増加リスクが不安で、使用低減に抵抗を示した。2017 年、農場は離乳以降のオールイン・オールアウト方式を導入した。30代後継者に薬剤耐性に関して説明し、農場の抗菌剤使用量が全国平均の約 2.4 倍であることを示した。インフォームド・コンセントを得て、2018 年、抗菌スペクトルが重複する抗菌剤を中止した。しかし、さらなる中止根拠がなかったため、2019 年から間欠投与法の導入を試みた。

【成績】2019年、ST合剤の間欠投与開始により、呼吸器症状は投薬の有無に関係しないことが判明し、抗菌剤以外の対策をとりながら、2023年に中止決定した。出血性下痢に対する抗菌剤の間欠投与は2021年に開始、2023年の集中的な剖検の結果、関連死亡の64%は細菌感染が主因ではないと判断され、抗菌剤は中止された。2019年以降、離乳後事故率は低く維持され、2024年の抗菌剤総使用量は2019年比で78%減少し、薬剤費が削減された。また、と畜前の豚における健康豚由来大腸菌のST合剤耐性率は、間欠投与期間中までは100%であったが、中止後は72%から84%の範囲となった。

【考察】日常的な予防投薬を継続する農場では、中止の判断が容易でないが、間欠投与法の導入より、生産者と獣医師が不必要な抗菌剤使用を検出することができた。したがって、間欠投与法は予防投薬の段階的な低減手法として有効であると考えられた。

# ブタ消化管内における Helicobacter 属の分布把握と、糞便または肛門粘膜からの検出

- ○塚原隆充 1), 三浦広卓 2,3), 設樂侑希 1), 川崎淨教 4), 井上亮 2)
- 1) 栄養病理研, 2) 摂南大・農, 3) 北海道大・農, 4) 香川大・農

#### 【はじめに】

ブタ胃粘膜に生息する Helicobacter 属は、ヒトでは胃がんのリスク要因として認識されている。また、ブタでは胃潰瘍を悪化させる要因として知られている。ブタ胃潰瘍発生・悪化リスクを把握するには、胃内 Helicobacter 属の検出が第一選択であるが、検査は胃粘膜を採取する必要があることから、屠殺以外での検査は現実的に難しい。一方で、近年発達した菌叢網羅解析を用いた糞便検査では、当該菌属が稀に検出されるケースがあることから、糞便もしくは肛門粘膜から Helicobacter 属が検出可能かもしれない。本研究では、Helicobacter 属特異的プライマーを用いて糞便および肛門粘膜から Helicobacter 属が検出可能かを検討した。さらに、既知の消化管各部位の内容物と粘膜菌叢のデータ(Yoshimura et al, 2025)を用いて、胃粘膜と肛門粘膜間で Helicobacter 属が同一の Amplicon Sequence Variants(ASV)を形成するかを確かめた。

#### 【材料および方法】

離乳期仔ブタ6頭から糞便を採取した。また肛門粘膜からサイトブラシを用いて腸粘膜を採取した。糞便から DNA を抽出後,Helicobacter 属特異的プライマーを用いて,Helicobacter 属の検出を試みた。既に公表した研究(https://doi.org/10.3390/microorganisms13020256)で,離乳期仔ブタ6頭の消化管各部位(胃,空腸,回腸,盲腸,近位結腸,遠位結腸,直腸)の内容物または粘膜内菌叢のデータ[Accession No. PRJNA755590]から Helicobacter 属の消化管内占有率を抽出した。

#### 【成績】

6 頭全例の糞便および肛門粘膜から Helicobacter 属が検出できた。既知のデータから,胃粘膜からは 8 種の Helicobacter ASV が確認できたが,そのうち 7 種については直腸粘膜で検出されず,直腸粘膜から検出できた 1 種に関しても 1 頭からのみの検出であり,その存在率も 0.04%と他の Helicobacter ASV と比較しても極端に低い存在率であった。なお,直腸内容物(直腸便)からは Helicobacter 属はほとんど検出されなかった。

#### 【考察】

全個体の糞便及び肛門粘膜から Helicobacter 属が検出できたものの、胃粘膜と直腸粘膜に存在する Helicobacter 属は別種である可能性が高く、胃内 Helicobacter 属の推定のために肛門粘膜または糞便を用いる方法は不適であると考えられた。

# 仔牛の下痢発症に伴う周波数特性の変化と個体内比較による早期異常検知の可能性

○永見秋歩

北海道大学環境科学院

#### 【はじめに】

仔牛の下痢は重症化や成長遅延を招くため、早期発見が重要である。近年、加速度センサを用いた行動モニタリングが普及し、成牛では反芻行動のリズムを周波数的に解析することで健康状態との関連が示唆されている。本研究では、この行動リズム変化という視点を仔牛の下痢探知に応用し、加速度データの周波数解析を用いて発症前後の変化を評価した。

#### 【材料および方法】

黒毛和種仔牛 15 頭に加速度センサ(25 Hz)を顎下に装着し、生後  $0\sim10$  日まで連続記録した。 糞便スコアは生後 2 日目から評価し、スコア 3 が 3 回連続した最初の日を下痢 0 日目とした。加速度データは前処理後、5 秒窓で FFT・STFT を行い、従来の牛の行動研究に基づき周波数帯域を 1 low (0-0.5 Hz)、1 mid (1.0-1.5 Hz)、1 high (2-5 Hz) の 1 つに分けた。これらのスペクトルから、帯域パワー、相対標準偏差、周波数ピーク、中心周波数、帯域の分散、時間方向の変化量など主な 1 22 種類の特徴量を抽出した

解析は、①特徴量比較として下痢発症前(-3~-1日)と発症後(0~2日)の22特徴量を比較し、②異常値解析としてデータ欠損のない7頭を対象に、健康期間(-4~-2日)から異常ライン(平均+3SD)を設定し、発症前後の逸脱を評価した。

#### 【結果】

特徴量比較:抽出した 22 種類の特徴量のうち下痢の発症前後で差異が認められたのは 3 つの周波数帯の相対標準偏差のみで、下痢発症後にいずれも有意に減少した (p < 0.05)。他の 19 種類の特徴量は有意差が認められなかった。

異常値解析:7頭中4頭では発症前日(-1日目)の時点で異常ラインを超えていた。残る3頭も発症0日目には上昇が確認された。

【考察】本研究では、3つの周波数帯の相対標準偏差が発症後に有意に低下し、下痢に伴い行動が 単調化することが示唆された。これは下痢発症後の行動変化を捉える指標となり得る可能性を示 す。異常値解析による個体内比較では、発症前日から基準範囲からの逸脱が確認され、個体内の リズム変化を追跡する手法が早期異常探知に有効である可能性が示された。 母乳および代用乳給与がクリプトスポリジウム感染子牛の腸内細菌叢に及ぼす影響 谷地田桃子 1)、伊藤めぐみ 2)、〇森田康広 3)

1)NOSAI 北海道 2) 帯畜大 獣医、3) 九州大 農

【はじめに】子牛の下痢は新生時期、哺乳期の主要な健康課題であり、Cryptosporidium parvum (C. parvum) は重要な病原体の一つである。クリプトスポリジウム症の症状抑制には腸内細菌 叢の管理が重要とされる。また、母乳保育と代用乳保育では腸内細菌叢の形成や病原体に対する 抵抗性が異なる可能性が指摘されている。本研究では、母乳あるいはミルク代用乳を給与された 新生子牛における C. parvum 感染時の腸内細菌叢の構成および機能的特徴を明らかにすること を目的とした。

【材料および方法】母乳由来の生乳(BM、n=29)を給与した 2022 年の子牛群と、代用乳(MR、n=27)を給与した 2024 年の子牛群において、生後 14 日以内の糞便サンプルを収集した。糞便性状を確認し、正常便と下痢便に分類した後、Cryptosporidium 抗原キットにより感染の有無を陽性・陰性として評価した。16S rRNA 遺伝子解析により腸内細菌叢を解析し、BM 群および MR 群の Cryptosporidium 抗原陽性である正常便・下痢便を対象に  $\alpha$  多様性の比較および ALDEx2 解析を実施した。また、PICRUSt2 による機能予測解析を行い、両群間の代謝経路の違いを評価した。

【結果】Cryptosporidium 陽性でありながら下痢症状を呈さない子牛では、両群において $\alpha$ 多様性が高かった。一方、 $\beta$ 多様性は両群で有意に異なり、ミルクの種類が腸内細菌叢の構造全体に影響することが示された。一方で、細菌叢の機能予測解析において、両群はいずれも下痢症状の抑制に寄与し得る代謝経路プロファイルを示した。

【考察】腸内細菌叢の多様性の高さは、給与ミルクの種類に関わらず、Cryptosporidium 感染時における臨床症状の抑制と関連する可能性が示された。また、両群で腸内細菌の構成細菌は異なるにもかかわらず、腸内での機能的役割は類似しており、特に抗炎症反応の促進や短鎖脂肪酸産生を通じ、下痢症状の軽減に寄与していると考えられた。以上より、腸内細菌叢の機能的健全性の維持が、クリプトスポリジウム症による下痢抑制において重要であることが示唆された。

# 母子免疫によるクロストリジウム不活化ワクチンの子牛下痢症予防効果

○乙丸孝之介 1) 松崎春香 1) 松浦竜道 1) 井尻萌 1) 内倉翔真 2) 1)鹿児島大・共同獣医、2)NOSAI 鹿児島

クロストリジウム感染症はクロストリジウムに起因する疾病である。特に C. perfringens は腸管内の常在菌であり下痢症や壊死性腸炎を引き起こす。また、C. Perfringens、C. Chauvoei、C. Novyi、C. Septicum および Paeniclostridium sordelli は主に突然死を引き起こす。C. perfringens による疾病報告については、これまで主に成牛、特に乳用牛では高泌乳牛、肥育牛では肥育後期においてされているが、近年、子牛における報告もされている。C. perfringens を含むワクチンは日本では1製剤(クロストリジウム5種混合不活化ワクチン)のみ市販されているが、その用法は3ヵ月齢以上の牛への投与となっている。また、クロストリジウムワクチンによる疾病予防報告については、成牛においては多数あるが、子牛においてはわずかであり、母子免疫による報告はほとんど見当たらない。そこで、母子免疫による子牛の下痢症の予防効果について検討した。

本研究は、若齢期に下痢性が多発する黒毛和種繁殖 1 農場において実施した。123 頭の繁殖牛を分娩 8 週前と 4 週前にワクチンを投与したワクチン群(n=61)と、ワクチンを投与しなかった対照群(n=62)に区分した。両群から無作為に 8 頭ずつ母牛とその子牛を選定し抗体価を測定した。また、各群における子牛の下痢症発生率、下痢症日齢および治療回数を記録した。その結果、ワクチン群の子牛の C. perfringens、C. chauvoei、C. novyi、C. septicum および P. sordelli に対する抗体価は、それぞれ 8 週齢、4 週齢、0 週齢、20 週齢および 8 週齢まで対照群の子牛と比較し有意に高値であった(p<0.05)。下痢症発生率は、ワクチン群の子牛(37.7%)では、対照群の子牛(54.8%)と比較し低い傾向が認められた(p=0.071)。また、下痢症の平均初診日齢は、ワクチン群の子牛では 29.0 日、対照群の子牛では 21.2 日であり、平均治療回数はワクチン群では 2.9 回、対照群では 3.3 回であった。

本研究では、子牛への抗体移行や下痢症の低減が一定程度認められたことから、若齢期より下痢症が多発し、クロストリジウムがリスク要因である農場においては、クロストリジウムワクチンの母牛への投与は、子牛下痢症の予防対策の1つとなる可能性が伺えた。本研究の結果が、今後、各農場における子牛の下痢性に対するワクチンプログラムの構築の一助となれば幸いである。