

## 産研究－1

### Bacillus subtilis DB9011株給与が乳用牛の乳成分と生産性に与える影響

○谷 拓海<sup>1)</sup>、齋喜宣孝<sup>1)</sup>、後藤友樹<sup>1)</sup>、八木 梓<sup>1)</sup>、犬間一郎<sup>1)</sup>、金盛隆志<sup>1)</sup>、数面麻子<sup>2)</sup>、菅野秀人<sup>2)</sup>、杉本康明<sup>3)</sup>、高橋俊彦<sup>4)</sup>

<sup>1)</sup>岡山県農業共済組合、<sup>2)</sup>共立製薬株式会社、<sup>3)</sup>株式会社エス・ディー・エス バイオテック、<sup>4)</sup>酪農学園大学

【はじめに】酪農経営において乳量及び乳質の向上を目指し、健康な乳牛を飼育することが重要である。特に、疾病予防と飼育管理が重要であり、健康な牛を育てる方法として生菌剤が注目されている。

【目的】今回、*Bacillus subtilis*DB9011株（以下DB9011株）の長期給与が乳用牛の乳成分と生産性に与える影響について検証した。

【方法】岡山県内の一酪農場にてジャージー種牛22頭を供試し、DB9011株を飼料添加する給与群11頭、飼料給与のみの対照群11頭に分けた。給与群にはモルッカCN（株式会社エス・ディー・エス バイオテック）を20g/頭/日、2022年11月から2023年10月まで毎日添加した。毎月の乳検データから各群の乳中体細胞数（千/mL）、乳脂肪率、乳蛋白質率、繁殖成績、乳量（kg）及び費用対効果において2群の成績を比較した。費用対効果の算出方法は、両群の平均年間乳量差に乳価を掛けたものから試験製品費用を差し引いた金額を利

益とした。

【成績】試験期間中の月平均体細胞数は、11月と5月以外は給与群が対照群より低い傾向を示し、年間平均では給与群が237.3千/mL、対照群が269.3千/mLであった。泌乳期別では、泌乳前期以外は給与群の方が低い傾向であった。乳脂肪率及び乳蛋白質率は、給与群の方が対照群に比べ年間を通して安定した数値を示した。繁殖成績においては、給与群の初回授精日数が約1ヵ月短かった。泌乳期別平均乳量では、給与群が対照群を上回り泌乳末期では有意に高かった。費用対効果では、乳価を140円/kgとした場合、給与群は乳量が789.65kg/頭多く、1頭当たり約10万5千円/年のプラスとなった。

【考察】本試験により、DB9011株長期給与は乳用牛の乳質安定、体細胞数低下、高い費用対効果を持つことが明らかとなり、BD9011株は収益向上に寄与する可能性が示唆された。

## 産研究－2

### オルビフロキサシンの薬剤耐性菌出現阻止効果と肺炎罹患黒毛和種牛の気管支肺胞領域への移行性

○河野亜紀<sup>1,2)</sup>、山下紀幸<sup>3)</sup>、Barbara Ramos<sup>3)</sup>、和田実央理<sup>3)</sup>、井上永愛<sup>3)</sup>、久保田詩渚<sup>3)</sup>、帆保誠二<sup>2,3)</sup>

<sup>1)</sup>鹿児島県農業共済組合、<sup>2)</sup>鹿児島大学共同獣医学研究科、<sup>3)</sup>鹿児島大学共同獣医学部

【はじめに】抗菌薬療法に伴う薬剤耐性菌の出現が懸念されており、抗菌薬の使用にあたっては、最小発育阻止濃度(MIC)に加え、薬剤耐性菌出現阻止濃度(MPC)を考慮することが重要である。細菌がMIC以上MPC以下の抗菌薬に暴露されると、感受性菌のみが死滅する一方で耐性菌の増殖が顕著となる。したがって、抗菌薬療法ではMPCを超えた抗菌薬の使用が重要であるが、肺炎罹患黒毛和種牛の気管支肺胞洗浄液(BALF)から分離された*Pasteurella multocida*(Pm)のMICやMPCは不明である。いっぽう、肺炎罹患黒毛和種牛におけるオルビフロキサシン(OBFX)の気管支肺胞領域(肺胞上皮被覆液(ELF)、BALF内細胞)への移行性については不明である。本研究では、試験1で肺炎罹患牛のBALFから分離されたPmにおけるOBFXのMICおよびMPCを求め、OBFXの薬剤耐性菌の出現阻止効果について検討した。試験2において、肺炎罹患黒毛和種牛におけるOBFXの気管支肺胞領域への移行性を明らかにした。

【材料と方法】試験1では、肺炎罹患牛のBALF由来Pm 100株を用いてMICおよびMPCを求めた。試験2では、肺炎罹

患黒毛和種牛10頭に対し、OBFX(5 mg/kg;ビクタス注射液5%)の静脈内投与試験および筋肉内投与試験を実施した。OBFXの投与前後において、血漿およびBALFを経時的に採取し、OBFX濃度を定量した。

【結果と考察】試験1より、Pm 100株の最大MICおよび最大MPCはそれぞれ2 µg/mLであった。試験2より、ELF中OBFX濃度は、静脈内投与では投与後1時間(8.8 µg/mL)に、筋肉内投与では投与後2時間(8.6 µg/mL)に最高値に達した。また、BALF内細胞中OBFX濃度は、静脈内投与では投与後2時間(10.1 µg/mL)に、筋肉内投与では投与後2時間(9.2 µg/mL)に最高値に達した。ELF中OBFX濃度は、静脈内投与、筋肉内投与ともに投与後17時間以上にわたりPmの最大MICおよび最大MPCを上回っていた。以上より、静脈内あるいは筋肉内投与されたOBFXは、Pmに対するMPCを長時間にわたって超えて肺炎罹患黒毛和種牛の気管支肺胞領域へ移行しており、耐性菌の出現を阻止できるものと考えられた。

## 産研究－3

### 国内で初めて分離されたリファンピシン・マクロライド系 抗菌薬耐性*Rhodococcus equi*

○澤 結子<sup>1)</sup>、久保 翠<sup>1)</sup>、丹羽秀和<sup>2)</sup>、野坂拓史<sup>3)</sup>

<sup>1)</sup>北海道日高家畜保健衛生所、<sup>2)</sup>日本中央競馬会競走馬総合研究所、<sup>3)</sup>日高軽種馬農業協同組合

【背景】ロドコッカス・エクイ感染症は、子馬に化膿性肺炎等を起こす疾病で、原因は土壌細菌の*Rhodococcus equi*である。国内最大の馬産地である日高管内では毎年多くの牧場で本症が発生している。本症の治療に最も多く使用される抗菌薬はリファンピシン及びマクロライドであるが、アメリカでは両剤に耐性のMDR-RE2287クローンがまん延し、治療成績に大きな影響を及ぼしている。更に本耐性株はアイルランドでも分離事例があり、馬の移動に伴った世界中への拡散が危惧され、輸入馬が多い管内へも侵入リスクがある。そこで、管内の分離株の薬剤耐性状況を調査した。

【方法及び結果】(1) 薬剤感受性試験：2022～2023年に当所の病性鑑定で分離された*R. equi* 207株について、CLSIガイドラインに基づき微量液体希釈法を実施した。結果、リファンピシン・マクロライド耐性株が1株（2022年分離）、リファンピシン単剤耐性株が2株（2023年分離）確認された。(2) 耐性機構解析：リファンピシンに耐性を示す株について*rpoB*遺伝子の耐性決定領域のシーケンスを行い、アミノ酸配列の変異状況を精査した。マクロライドに耐性を示す株についてリアルタイムPCRで耐性遺伝子の有無を確認した。

結果、リファンピシンに耐性を示す株では既報の高度耐性株と同様の*rpoB*遺伝子変異によるアミノ酸一塩基置換が確認された。マクロライドに耐性を示す株はマクロライド耐性遺伝子の一種である*erm* (46) 遺伝子を保有していた。(3) 系統解析：リファンピシン・マクロライド耐性株について全ゲノムシーケンスを行い、既知の*R. equi*株とともにコアゲノムSNPsを用いて解析した。結果、本耐性株はMDR-RE2287クローンに属することが判明した。

【考察】本調査で、国内で初めて海外からMDR-RE2287の侵入を確認した。本耐性株が分離された子馬は薬剤感受性試験結果に基づいて治療薬を変更し、治癒した。本事例以降現在まで管内における本耐性株の定着及びまん延は確認されていないが、今後も薬剤耐性状況の監視を継続する。リファンピシン単剤耐性株は当所による過去の調査でも散発的に確認され、今回の調査でも2株認められた。今後とも、薬剤感受性試験を推進し、薬剤耐性対策について啓発を続ける必要がある。併せて、パドックや放牧地の馬糞除去等の飼養衛生管理の徹底による疾病予防対策の重要性についても指導する。

## 産研究－4

### ソックスフィルターの衛生状況とバルク乳の衛生的乳質との関係

○榎谷雅文

北海道デーリイマネージメントサービス株式会社

【はじめに】北海道のバルク乳の衛生的乳質（体細胞数と生菌数）は向上してきていたが、ロボット搾乳酪農家の増加と共に近年悪化してきている。搾乳衛生の良否を簡単に酪農家自身が判定する方法を検討することを目的として、ソックスフィルターの衛生状況とバルク乳質との関係を調査した。

【材料および方法】ソックスフィルタースコア（以下スコア）は、1：新品同様で白い。2：僅かに薄い茶色味をおびる。3：軽度の茶色味をおびる。4：茶色の汚れが見られる。5：濃い茶色で糞が多いと定義した。各スコア別の酪農家それぞれ1戸（パイプライン搾乳2戸、パーラー搾乳3戸、ロボット搾乳1戸、ロータリーロボット搾乳1戸）にて、バルク乳質旬報を数年間に渡り調査した。他に1戸の酪農家は1年間を通じて1回/週毎にスコア判定して、年間のスコア変化を調べた。

【結果】1年間のスコアに大きな変化は見られず、スコアは日々大きく変化するものではなかった。スコア1の酪農家の生菌数0.1万/ml以下の割合は99.3%（303/305回）、体細胞数10万/ml以下の割合は99.3%（303/305回）であった。以下同様にスコア2では99.6%（284/285回）と100%（285/285回）、スコア3では11.8%（36/306回）と14.4%（44/306回）、スコア4では0.3%（1/396回）と1.3%（5/396回）、スコア5では0.8%（2/244回）と2.5%（6/244回）となった。乳頭洗浄装置のみを利用している酪農家はスコア3となり、26.1%（48/184回）と13.6%（25/184回）、ロボット搾乳酪農家ではスコア5となり、0.8%（2/244回）と2.5%（6/244回）、追加手動乳頭清拭をしているロータリーロボット酪農家の場合は、95.5%（105/110回）と59.1%（65/110回）となった。スコア2を境にしてバルク乳質は大きく異なり、スコア3以上のバルク乳質は低下していた。

ア4では0.3%（1/396回）と1.3%（5/396回）、スコア5では0.8%（2/244回）と2.5%（6/244回）となった。乳頭洗浄装置のみを利用している酪農家はスコア3となり、26.1%（48/184回）と13.6%（25/184回）、ロボット搾乳酪農家ではスコア5となり、0.8%（2/244回）と2.5%（6/244回）、追加手動乳頭清拭をしているロータリーロボット酪農家の場合は、95.5%（105/110回）と59.1%（65/110回）となった。スコア2を境にしてバルク乳質は大きく異なり、スコア3以上のバルク乳質は低下していた。

【考察】スコアには酪農家の乳頭清拭状況が反映され、その結果がバルク乳の衛生的乳質に明瞭に表れていた。ロボット搾乳は乳頭清拭が乳頭の汚れ具合に関係なく一定の時間で終了しており、糞がフィルターに付着してバルク乳質が低下したものと考える。しかし、追加乳頭清拭をした場合には乳質が改善されており、乳頭清拭状況がバルク乳質に大きく影響することが明らかになった。ロボット搾乳においては牛体衛生が殊の外重要である。スコア2を境としてバルク乳質に大きな差が出たことから、搾乳衛生良否の判定として本スコアを利用でき、スコア判定で搾乳衛生をモニターできると考える。

## 産研究－5

### 日本型選択的乾乳期治療の選択基準の構築と実用性の検証

○菊 佳男<sup>1)</sup>、北野菜奈<sup>2)</sup>、三矢あゆ香<sup>1)</sup>、渡辺雄大<sup>1)</sup>、國島梨夢<sup>1)</sup>、高橋俊彦<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup>酪農学園大学、<sup>2)</sup>酪農学園大学・現共立製薬株式会社

【はじめに】世界的な薬剤耐性（AMR）問題の高まりにより、酪農現場でも抗菌薬の慎重な使用が求められている。諸外国では、治療と予防を兼ねた全頭全乳房への乾乳軟膏使用（BDCT）がAMRの観点から再検討すべき課題とされ、治療が必要な牛や乳房に限定した選択的乾乳期治療（SDCT）の取り組みが進められている。本研究では、日本型選択的乾乳期治療法の構築を目的に、その選択基準と実用性を検証した。【材料および方法】試験（1）（乾乳軟膏不要基準の作成）：乾乳時に全頭全乳房に乾乳軟膏を処方するBDCT群（6頭、23分房）と無処置群（5頭、19分房）を無作為に作成し、乾乳前2週、乾乳直前、分娩後1、2、3、4週に乳汁を採取した。乳汁の体細胞数および生菌数の測定、菌種同定を行い、無処置群の中で分娩後に臨床型乳房炎を発症しなかった乾乳前の乳性状を乾乳軟膏不要基準とした。試験（2）（日本型選択的乾乳期治療法の構築）：BDCT群（4頭、16分房）とSDCT群（7頭、28分房）を無作為に作成し、SDCT群においては試験（1）の乾乳軟膏不要基準から乾乳軟膏使用分房と不使用分房を作出した。使用分房には通常通り乾乳軟膏を処置し、不使用分房には乾乳期処置として乾乳日以降10日間

のディッピング処置を行った。その後、分娩後の乾乳軟膏使用分房と不使用分房の乳性状ならびに臨床型乳房炎発症状況を調査し、試験（1）の基準ならびにその実用性を検討した。【結果】試験（1）：無処置群の2頭で臨床型乳房炎を発症せず、それらの分房は分娩後も体細胞数および生菌数は低値であり、BDCT群との差はなかった。無処置群のそれらの分房乳は乾乳前に体細胞数15万個/mL未満、細菌数100cfu/mL未満であったため、これを乾乳軟膏不要基準とした。試験（2）：BDCT群では臨床型乳房炎を発症する分房はなく、乳汁中体細胞数および生菌数が低値を示した。SDCT群では、基準により使用分房12分房（43%）と不使用分房16分房（57%）となった。SDCT群の乾乳軟膏使用分房1分房で分娩後に臨床型乳房炎を発症したが、不使用分房で異常は見られなかった。【考察】本基準を適用する場合、乾乳時に乾乳軟膏が不要な分房は約半数程度存在することが示された。本研究により、国内でも利用可能なSDCTの基準ならびに方法が構築されたことから、これらの技術の普及を進めることで不要な乾乳軟膏の使用を減少させ、AMR問題に対して貢献できると考えられた。

1月26日(日) ● 大会3日目午後

## 産研究－6

### 同一牛群で発生した複数の乳房炎症例から分離された *Elizabethkingia anophelis* の細菌学的特徴と感染様式の検討

○鈴木直樹<sup>1)</sup>、安岡心花<sup>2)</sup>

<sup>1)</sup>広島大学大学院統合生命科学研究科、<sup>2)</sup>広島大学生物生産学部

【背景】*Elizabethkingia anophelis* (*E. a*) は糖非発酵性のグラム陰性桿菌（NF-GNB）であり、近年ヒトにおいて多剤耐性をもつ医療関連感染症の病原体として注目されている。一方で、これまで家畜を含め動物に感染症を惹起した例は報告されていない。今回、同一牛群で同日に発生した複数の乳房炎症例から *E. a* を分離したため、その細菌学的特徴を調べるとともに、同一株による牛群内での伝播を疑い分子疫学解析を実施した。

【方法】搾乳牛25頭規模の酪農場において同日に発生した5症例の軽症乳房炎症例から得られた5株の *E. a* について、薬剤感受性およびバイオフィーム形成能を調べた。また全ゲノムを取得し菌株の遺伝学的特徴を調べるとともに、分子疫学解析を用いて牛群内における感染様式と分離株の系統発生学的特徴を検討した。

【結果】5症例全てから複数細菌種が分離され、*E. a* 以外に *Klebsiella pneumoniae*、*Streptococcus uberis* などが同時に分離された。*E. a* の感染菌量は3,280から1,520,000 CFU/mlであった。薬剤感受性試験の結果、特にβラクタム系に広く耐

性を示し、ゲノム解析からblaB-14などによる自然耐性が考えられた。バイオフィーム形成能は大腸菌や黄色ブドウ球菌と比べて高かった。分子疫学解析の結果、5株は遺伝的に均一であり同一株と考えられた。系統発生学的に、本分離株は亜種 *endophytica* であり、過去海外で出荷生乳やトウモロコシから分離された株と近縁であった一方、近年世界でヒトにアウトブレイクを起こしている亜種 *anophelis* とは相対的に遺伝的距離を認めた。

【考察】本報告は、動物の感染性疾患から *E. a* を分離した世界初報告例である。*E. a* が単独で乳房炎を惹起するかは不明だが、100万CFU/mlを超える感染菌量を示した症例もあり、亜種 *endophytica* のウシに対する宿主特異性や乳房に対する病原性について検討が急がれる。ヒトの *E. a* による新生児感染症のリスク因子として院内で使用される搾乳機が挙げられていることから、酪農において *E. a* は特に注意すべき病原体かもしれない。実際、今回は高いバイオフィーム形成能をもつ同一菌株が複数のウシから分離され、搾乳関連設備による伝染が強く疑われた。

## 産研究－7

### 酪農場におけるグラム陰性菌による搾乳関連機器の汚染と乳房炎発生との関連

○安岡心花<sup>1)</sup>、島本 敏<sup>2)</sup>、島本 整<sup>2)</sup>、鈴木直樹<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup>広島大学生物生産学部、<sup>2)</sup>広島大学大学院統合生命科学研究科

【背景】環境性乳房炎は、病原体が搾乳時以外に乳頭から侵入して起きるとされている。一方我々は、環境性乳房炎病原体であるグラム陰性菌が搾乳関連機器を介して牛群間で伝播した疑いがある例を複数報告した。本研究では、搾乳ロボットの普及などにより搾乳方法が多様化する中で、グラム陰性菌の伝播に対する搾乳関連機器の役割を見直すため、搾乳関連機器の汚染調査に加え、代表的な環境性乳房炎病原体である大腸菌に着目し乳房炎起因細菌との関連を検討した。

【方法】前年度の大規模疫学調査で、牛床等環境からは分離されなかった大腸菌phyloptypeB2の単一株による乳房炎が複数頭発生し、搾乳関連機器による伝染が疑われた農場を対象とした。併用されている搾乳ロボットとミルクパーラーを対象に、2～3週間の間隔で計7回、ロボット2台およびパーラー1機のティートカップと乳頭洗浄ブラシからグラム陰性菌を分離した。また、調査対象期間に発生した乳房炎症例から大腸菌を分離した。搾乳ロボットとパーラーの汚染程度を比較し、大腸菌分離株についてはphyloptypeを決定し、搾乳関連機器の汚染と乳房炎発生の関連を検討した。

【結果】グラム陰性菌分離頻度について、ティートカップは

搾乳ロボットの方がパーラーよりも高かった一方、ブラシはパーラーの方が高かった。本試験中に発生した大腸菌の乳房炎株のphyloptypeはAまたはB1であった。また、搾乳ロボットからはphyloptypeB2も3株分離された。大腸菌の乳房炎発生と搾乳関連機器汚染の時系列比較では、4症例全てがロボットのティートカップから分離された分房箇所において、その分離2～3週間後に同分房で発生し、そのうち2症例はphyloptypeも一致した。

【考察】搾乳ロボットのティートカップが高頻度に汚染されており、また大腸菌汚染と乳房炎発生との間に関連が疑われたことから、搾乳ロボットはパーラーと比べグラム陰性菌の牛群間の伝播に対し相対的に高いリスクをもつと考えられた。PhyloptypeB2がロボットから分離されたことについて、B2はヒト由来株であることを強く示唆するため、搾乳関連機器を通じてヒト由来株がウシ乳房炎を引き起こす可能性について追加の検討が必要である。本研究から大腸菌乳房炎の牛群内伝播に搾乳関連機器が一定の役割をもつと疑われ、菌株間の詳細な分子疫学解析を実施している。

## 産研究－8

### 牛の分割胚を用いたゲノム育種価評価法の検討および実証事例

○松田浩典<sup>1)</sup>、宮原雅明<sup>2)</sup>、片渕直人<sup>1)</sup>、一関可純<sup>3)</sup>、吉成加奈子<sup>4)</sup>、内山勝雄<sup>3)</sup>、笹子奈々恵<sup>3)</sup>、竹田将悠規<sup>3)</sup>、小島孝敏<sup>3)</sup>

<sup>1)</sup>佐賀県畜産試験場、<sup>2)</sup>佐賀県畜産課、<sup>3)</sup>家畜改良センター、<sup>4)</sup>畜産技術協会

【はじめに】ゲノム育種価 (GEBV) 評価は、対象牛のDNAを得た時点で評価することが可能である。胚由来DNAを用いることで胚移植前にGEBV評価が可能となるため、より効率的な育種改良が期待できる。いっぽう、2細胞期の胚を分割し培養することで同じDNAを持つペア胚を作成できる。移植胚のGEBV評価を行うため、ペア胚の一方をDNA材料に、もう一方を胚移植に用いる手法について検証した。

【材料と方法】と畜場由来牛卵子を用いて体外受精を行った。2細胞期胚を用い、アクチナーゼ処理により透明体を除去後、胚を分割しそれぞれ7日間培養した。(1) 分割胚の発生率およびガラス化保存後の再拡張率を調べた。(2) 市販キットを用いた全ゲノム増幅により分割培養胚から得られるDNA量を調べた。(3) 得られたDNAを用いて、胚のGEBV評価が可能か検証した。(4) 胚移植により得られた産子とそのペア胚のGEBV評価を行い比較した。

【結果】(1) 発生率は25.3% (100/396)、ガラス化胚の加温後再拡張率は90.9% (10/11) であった。(2) 61検体から得られたDNA濃度は平均167.8ng/ $\mu$ Lであり、発育不良胚を含む全

検体から解析に必要なDNA量が得られた。(3) 52検体の平均call rate (判定率) は約0.94であり、判定率が0.95以上であったのは41検体 (78.8%) であった。ペア胚両方について、和牛ゲノミック評価コンソーシアムの訓練群を用いたG-BLUP法によるGEBV評価を行い、ともに判定率が0.95以上であった12ペアにおいて、判定できたSNP型の一致率は平均約99.7%であった。同12ペアの標準化GEBV (枝肉重量、ロース芯面積、バラ厚、皮下脂肪厚、推定歩留および脂肪交雑) の相関係数は、それぞれ約0.99、1.00、1.00、0.99、1.00および1.00であった。(4) 胚移植の結果、3頭の内1頭が受胎し、産子を得た。産子とそのペア胚のGEBV評価の結果、ともに判定率は0.95以上、SNP型一致率は約100%であった。標準化GEBVの差は、順に0.05、0.63、0.09、0.21、0.64および0.32であった。

【考察】本手法により胚を用いたGEBV評価が可能であることが示された。発育不良胚をDNA材料に活用することにより分割胚の発生率が補われることが期待できる。

## 産研究－9

### マイクロミニピッグにおける過剰排卵プロトコルの構築

○Thaw Paing<sup>1)</sup>、杷野一輝<sup>2)</sup>、加藤大輝<sup>2)</sup>、宮崎正道<sup>2)</sup>、高須正規<sup>2)</sup>

<sup>1)</sup>岐阜大学大学院 共同獣医学研究科、<sup>2)</sup>岐阜大学 高等研究院

【はじめに】マイクロミニピッグは成時体重が約20kgと世界最小クラスのミニブタである。マイクロミニピッグは、いわゆる産業豚の1/10、ミニブタの1/3のサイズであることから扱いやすく、生物医学的実験における動物モデルとして有用であると考えられている。

近年の生物医学的研究において、発生工学的な技術を活用したモデル動物が作製されている。マイクロミニピッグにおいても、遺伝子改変によるモデルの作製が求められているものの、質の良い卵子・受精卵を採取する技術がないことから、これが叶わずにいる。

そこで、本研究で我々はマイクロミニピッグにおける過剰排卵誘導プロトコルを開発した。同技術の開発のため、まずホルモン処置による卵胞の変化を確認した。続いて、過剰排卵処置により得られた受精卵を卵管還流で回収し、その質を評価した。

【材料と方法】まず実験1として、規則的な発情周期を示す4頭のマイクロミニピッグを使用し、ホルモン処置による卵胞の変化を確認した。他の豚における過剰排卵プロトコルを参考にPGF2 $\alpha$ 、FSH、hCGの注射により過剰排卵を誘起した。発情日をDay 0とし、Day -6、Day -2、Day -1、Day 1にお

ける卵胞の数および面積ならびに直径を超音波診断装置により計測した。

つづいて実験2として、3頭のマイクロミニピッグを使用し、過剰排卵処置後の受精卵の質を評価するために、排卵後だと考えられるDay 1において卵管還流を実施した。鎮静後、イソフルランによる麻酔下で子宮・卵管接合部からPBSを流し、卵管采から受精卵を回収した。灌流液をシャーレに集め、受精卵を回収した。回収した受精卵を1日目から3日目まではPZM-5培養液で、その後4日目から6日目まではPBM培養液で培養し、受精卵の卵割率、胚盤胞形成率を確認した。【結果と考察】実験1において、Day -1、Day 0における処置群と対照群の卵胞直径に差は認められなかった。いっぽう、処置群における卵胞数は93.0  $\pm$  7.7であり、対照群の46.8  $\pm$  5.0よりも多かった。さらに、Day 1において、両群における卵胞数は減少し、排卵を確認できた。

実験2において、回収した受精卵数は32.9  $\pm$  15.2 個、卵割率は44.9  $\pm$  20.1 %、胚盤胞形成率は26.3  $\pm$  18.3 %であった。以上のことから、過剰排卵処置により正常な発生を示す受精卵を獲得できたと考えられた。

## 産研究－10

### ホルスタイン種未経産牛におけるプロジェステロン・エストラジオール配合剤 (PRID) 12日間留置による卵巢反応

○関 誠<sup>1)</sup>、久保田尚<sup>2)</sup>

<sup>1)</sup>あすかアニマルヘルス株式会社、<sup>2)</sup>千葉県畜産総合研究センター市原乳牛研究所

【はじめに】発情周期を営む牛に、PRIDを任意の12日間陰内留置すると、抜去後4日以内に発情が同調するが、未経産の乳用種を用いた基礎的情報が少ない。演者らは、本剤を用いて定時胚移植 (TET) 前の発情同期化処置を施した育成牛の卵巢動態をつぶさに観察し、既報との差異や、黄体の寿命に及ぼす影響を調べた。

【材料と方法】千葉県内で飼養されるホルスタイン種育成牛33頭に、本剤を挿入した (D0)。以後、超音波検査による卵巢観察を継続し、抜去時 (D12) の黄体残存牛にはPGF<sub>2</sub> $\alpha$  製剤 (PG) を投与し、D13に発情確認又はエストラジオール製剤投与を行い、D21の黄体所見によってETの可否を判断した。

【結果】1) 卵胞波及び発情の同調：D0に黄体の有る31頭及び黄体を欠く2頭中1頭 (合計32頭) が、D3-9に新規卵胞波を発現し、D5が最頻値であった。残りの1頭は、D0-14を通じて卵胞波のTurnoverが認められなかった。PRIDが自然脱離 (D8) した1頭を除く32頭が、D14又は15に排卵して

TETに供された。2) 黄体退行と黄体期短縮：上記31頭中、27頭 (87.1%) はD3-12に、4頭はPG投与後2日 (D14) に各々黄体退行を示した。D0直近の発情日が明らかで且つPG無投与の18頭について、同発情から黄体退行までの日数を集計した結果、D0が発情6～9日及び10～18日であった各9頭は平均16.4及び20.0と、発情から挿入まで日の浅い9頭が有意に短かった (P=0.0002)。

【考察】黄体期の供試牛に本剤を12日間留置すると、87%が発情同調するとみなされ、排卵剤の併用によって一層確実なTETが可能になることが改めて認められた。泌乳牛と比べて、新規卵胞波の発現率の差や発現日遅延 (既報ではD4発現が最多) の可能性は明確でなく、今後供試例数を追加の上で評価すべきであろう。また、本剤の有効成分の作用による黄体の短命化は、黄体期の早期に挿入すると生じることが示唆され、この特徴は、本剤の留置日数を周期性黄体の平均寿命より短い12日としても高精度に発情同調できることの証左であると考えられる。

## 産研究－11

### 牛ウイルス性下痢ウイルス抗体を産生する牛の慢性粘膜病例

○多田成克、福成和博

岩手県中央家畜保健衛生所

【はじめに】粘膜病（MD）は、牛ウイルス性下痢ウイルス（BVDV）の持続感染牛が発症する致死的な病態で、通常、発症後数日以内に斃死する（急性MD）。他方、経過が長引く慢性MDが知られているが、その報告は少なく詳細は不明である。今回、MDの兆候を示した牛が、32日間生存の後に剖検に供された。本牛の経時的なBVDV検査成績から、MDが慢性経過を辿った要因を検討した。

【材料および方法】2023年4月、9カ月齢の黒毛和種牛1頭が、血便および口腔内粘膜のびらんを呈した。発症時、21日後および32日後（剖検時）に、血清、白血球、糞便、口腔スワブおよび全身諸臓器を採取し、病理学的検査、BVDVの遺伝子検査、抗原ELISA、分離検査および中和試験に供した。中和試験では、非働化およびアセトン処理した血清および指示ウイルス（BVDV1a：分離株、Nose、1b：IW24520株、2a：KZ-91cp株）を用い、同一検体における各中和抗体価が4倍以上高い場合を特異抗体と判定した。

【成績】発症時に認められた口腔内のびらは、剖検時に白みを帯び、臨床的に回復していた。食道および第三胃には多

発性のびらんが認められた。組織学的にはパイエル板が消失した領域に癒痕が散見された。全検体からBVDV1aの遺伝子および抗原が検出され、剖検時の血清および糞便を除く検体からBVDVの非細胞病原性株、消化管粘膜の病変部から細胞病原性（cp）株が分離された。経過血清からBVDV1a抗体（4倍）およびBVDV1b抗体（8倍）が検出されたが、3種のBVDV1を用いた各中和抗体価に差は認められなかった。

【考察】本症例は、発症後の生存期間および回復期の所見から慢性MDであることが示唆された。9カ月齢の本牛が保有したBVDV1aおよび1bの両抗体は、移行抗体であった可能性は低く、アセトン処理後の血清においても検出されたことから、本牛が産生した抗体と考えられた。抗原刺激の詳細は不明であったが、本牛の産生したBVDV抗体によるcp株の中和が、MDを慢性化させた要因として示唆された。BVDV抗体産生牛のMD診断においては、cp株は中和され、血清や病変部スワブから分離されない可能性が高いことから、MDの病変好発部位である食道粘膜等を用いたウイルス分離が推奨される。

## 産研究－12

### 水腎症の黒毛和種牛3例における腎臓摘出後の血行動態

○佐藤礼一郎<sup>1)</sup>、和田三枝<sup>2)</sup>、山田一孝<sup>3)</sup>、平井卓哉<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup>宮崎大学、<sup>2)</sup>鹿児島県農業共済組合、<sup>3)</sup>麻布大学

【はじめに】牛の水腎症は、種々の原因により腎杯に尿がうっ滞した病態をいい、この状態が持続すると腎臓は進行性に機能不全を起こす。早期診断、治療が求められる疾患であるが、一般に先天性や両側性では予後不良である。

【目的】水腎症の診断は、臨床症状に加え直腸検査、血液検査、尿検査、腹部超音波検査で行われるが、外科的介入の適応判断や術後の予後判断については不明な点が多い。今回、水腎症を発症した牛3症例について腎臓摘出術を実施し、術後の血行動態について知見を得たので報告する。

【症例】症例1：黒毛和種、雄、2日齢、発熱、起立不能を呈し、腹部超音波検査で尿管膿瘍と右腹部に内部がフリーエコーで大小様々な嚢胞から形成されるマスを認めた。症例2：黒毛和種、雌、23日齢、臍部腫脹と下腹部の軽度膨満を呈し、腹部超音波検査で、臍静脈膿瘍と右腹部にけん部から肝臓付近まで広がる液体が貯留した巨大な単一のマスを認めた。症例3：黒毛和種、雌、3.5歳齢（2産）、削瘦、直腸検査で腫大した左腎を触知した。腹部超音波検査では左腎の腫大と、内部に液体を含み大きく拡張した腎杯を認めた。また右腎では腎杯の軽度拡張が認められた。上記より症例1およ

び2は片側性水腎症、症例3は両側性水腎症と診断し、腎臓摘出術を実施した。また、全例について摘出腎および尿の細菌学的検索、病理組織学的検査、術前から術後3ヵ月後まで経時的に採血し術後の血液動態について観察した。

【結果】摘出腎の病理組織学的検索で全例とも水腎症と診断された。また、血中尿素窒素（BUN）およびクレアチニン濃度（Cre）は全症例とも術後3～5日をピークに上昇し、その後減少に転じ、症例1および2では術後10日には基準値内に回復した。症例3は術前から基準値を大きく逸脱していたが、術後3ヵ月頃には基準値付近まで回復した。

【考察】水腎症の予後は、両側性なのか片側性なのか、閉塞の完全性、合併症の有無に影響される。3例中1例は両側性の水腎症と考えられたが、形態的により重度と考えられた罹患腎を摘出することで良好な予後が得られた。また、3例とも罹患腎を摘出すると、術後3～5日目をピークにBUNおよびCre濃度は上昇しその後減少していったことから、腎摘後の予後判断には、腎機能を反映するマーカーについて術前から少なくとも術後10日間程度はその動態について観察する必要があることが示された。

## 産研究－13

### Stryker Hoffmann II 創外固定器を用いて治療した黒毛和種子牛の肢骨折6例

中間由規<sup>1)</sup>、近藤俊介<sup>1)</sup>、日高華奈子<sup>1)</sup>、橋本岳樹<sup>1)</sup>、上松瑞穂<sup>1)</sup>、○萩尾光美<sup>1,2)</sup>

<sup>1)</sup>宮崎県農業組合組合、<sup>2)</sup>海辺の動物病院はぎお

【はじめに】人では創外固定（EF）の応用は、開放骨折、粉碎骨折、変形癒合、骨延長、関節固定など多岐にわたる。いっぽう、牛では開放骨折や閉鎖骨折など一部に限定され、専用の固定器を用いた報告は少ない。EFの術後崩壊は、刺入するピン径の不適合やピン固定具の不安定性によるピンの緩みなどが主な原因となっている。今回、Stryker社製Hoffmann II EF器を用いて黒毛和種子牛の肢骨折6例の治療を行ったので、その概要を報告する。

【症例】2023年10月～2024年9月に治療した骨折6例（開放骨折3、非開放骨折2、矯正骨切り術1）で、麻酔は全例、キシラジン鎮静下で気管挿管し、イソフルラン吸入麻酔で維持した。開放骨折1：6.5カ月齢、雌、150kg。右中手骨の2カ所で骨片が露出。創の清浄化と微酸性電解水（SAEW）による洗浄後、キャスト固定。受傷後3日目にEF実施。20日目に橈骨近位に追加ピンを刺入。SAEW創洗浄を継続し、術後59日にピン抜去。完治。開放骨折2：1日齢、雌、出生時、右中足骨骨幹近位の粉碎・開放骨折。受傷翌日にSAEW創洗浄後、EF実施。感染悪化し術後7日で再手術を試みたが死亡。開放骨折3：3カ月齢、雌、120kg、右下腿骨の斜・螺旋骨折。骨片露出。受傷後3日目にSAEW創洗浄後、EF実施。

術後48日に抜ピン。完治。非開放骨折1：2.5カ月齢、雌、推定体重80kg、左上腕骨粉碎骨折、受傷後8日目にEF実施。術後、ピン刺入部が軽度腫脹、やがて消失。術後44日に抜ピン。後遺症なく治癒。非開放骨折2：1カ月齢、雄、60kg、出生時、左上腕骨を骨折しスリング固定実施。固定除去後、再骨折。2日後にEF実施。術後44日に抜ピン。スリング固定時の関節拘縮が残ったが、リハビリにより改善し治癒。矯正骨切り術1：5.5カ月齢、雄、推定120kg、出生時、左中手骨骨折しキャスト固定するも、著しく外反し変形癒合。骨切り術後、EF実施。術後85日でピン抜去。骨は癒合したが軽度外反と両側屈腱の過伸展がみられ、現在、経過観察中。

【考察】人用のEF器は数多く市販されており、骨折の部位やタイプに合わせて適宜使い分けされている。今回試用したHoffmann IIは牛の体幹近位の粉碎骨折、関節近傍の開放骨折、変形癒合など様々な症例に適用できる可能性が示唆された。今回は体重150kg以下の子牛であったが、固定ピンの種類・径（今回は5mm径のセルフドリリングハーブピン使用）や固定方法の工夫などにより、それ以上の体重にも応用が可能か、今後検討を要する。

1月26日(日) ●大会3日目午後

## 産研究－14

### 心エコー検査で心奇形の予後判定は可能か？：黒毛和種子牛3症例での検討(予報)

○萩尾萩尾<sup>1,2)</sup>、南家夕子<sup>1)</sup>、日高華奈子<sup>1)</sup>、橋本岳樹<sup>1)</sup>、黒木睦夫<sup>1)</sup>、藤澤朋也<sup>1)</sup>、上松瑞穂<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup>宮崎県農業組合組合、<sup>2)</sup>海辺の動物病院はぎお

【はじめに】心奇形の多くは成因不明であり、発育不良や虚弱による長期治療、突然死など経過不良な例が多いが、順調に発育する個体もまれに存在する。心奇形の重症度は心雑音の聴取、チアノーゼ、呼吸促迫、運動不耐等の身体検査所見から、ある程度推測することが可能であるが、予後不良の牛を長期間飼育すれば農家経営に多大な損失を与えることから、正確な診断と予後判定がきわめて重要となる。萩尾らは牛の系統的な心臓超音波検査法（以下、心エコー検査）を考案・応用し、正確な心奇形診断が可能であることを報告（M. Hagio et al. Jpn.J.Vet.Sci.1987）している。本法により予後判定が可能か、最近遭遇した心奇形を疑う黒毛和種子牛3症例を対象に予備的検討を行った。

【材料および方法】2024年6月に宮崎県内の黒毛和種繁殖農場で飼育される3症例に対して心エコー検査（GE社製LOGIQ Book XP、2-3.6 MHzセクタ型探触子）を行い、予後不良と判定した2症例は鑑定殺または死後、剖検した。症例1：69日齢の雌で腸炎加療時に心雑音を聴取し、121日齢で開口呼吸、心雑音の増大および発育不良を認めた。加療により症状は緩解したが、予後判定のため145日齢で心エコー検査を実施し、総肺静脈還流異常症と診断し予後不良と判断

したが、151日齢で死亡した。剖検では、卵円孔開存を伴う上心臓型の総肺静脈還流異常症であった。

症例2：ET産子の雄で出生時より哺乳不良、運動不耐性を呈していた。65日齢で腸炎加療時に心雑音を聴取し、口腔粘膜チアノーゼ、活力低下を認めた。71日齢で心エコー検査を実施しファロー四徴症と診断、予後不良と判断した。剖検ではファロー四徴症であった。

症例3：同姓双子の雌で出生後、哺乳不良を呈していた。54日齢に心雑音を聴取し、70日齢より中耳炎にて加療したが哺乳量・活力低下が進行したため、96日齢で心エコー検査を実施し、膜性部心室中隔欠損と診断した。欠損孔の大きさが径約5mmであったため予後は比較的良好と判断し、中耳炎加療を続け105日齢に治癒した。

【考察】心エコー検査により3症例とも診断および予後判定を行うことが可能であった。症例1、3では心雑音聴取から心エコー検査までの日数がそれぞれ76日、42日と大幅に遅延し、その間に生産者にとって無益な治療を行っていたことから、今後は早期診断に努めるとともに、さらに症例を集積し心エコー検査を中心とした心奇形の予後判定基準の確立を目指したい。