

令和2年度
業務年報



Gunma Livestock Health Laboratory

群馬県家畜衛生研究所

(〒371-0103 群馬県前橋市富士見町小暮2425-3)

目 次

1	沿 革 -----	3
2	所在地及び交通 -----	3
3	用地及び建物等 -----	4
4	機構及び人員 -----	4
5	業 務 -----	6
6	令和2年度病性鑑定実績 -----	7
	（1）依頼者・畜種別病性鑑定 -----	7
	（2）項目・畜種別病性鑑定 -----	8
	（3）家畜伝染病・届出伝染病等診断状況-----	9
7	令和2年度牛海綿状脳症検査実績 -----	1 1
8	職員研修 -----	1 2
9	付帯業務 -----	1 4
1 0	令和2年度群馬県家畜保健衛生業績発表 -----	1 6
	（1）県内で分離された牛ウイルス性下痢ウイルスの遺伝子解析-----	1 6
	（2）農場で再発した牛サルモネラ症の分子疫学的解析と薬剤感受性-----	2 1
1 1	令和2年度学会・研究会（研修会）発表 -----	2 7
1 2	令和2年度誌上発表 -----	2 7
1 3	令和2年度家畜衛生研修会発表症例 -----	2 7

1 沿革

- 昭和38年（1963）高崎家畜保健衛生所内に病性鑑定室を併設。
- 昭和44年（1969）群馬県勢多郡富士見村小暮2,416（畜産試験場牧草地の一角）に施設を新築し、名称を群馬県中央家畜病性鑑定所に改め、病理、細菌及び一般臨床診断部門を備えた組織に整備（畜産試験場衛生課が同居）。
- 昭和45年（1970）鶏病病性鑑定強化事業の助成を受け、ウイルス部門を整備。
- 昭和47年（1972）生化学病性鑑定強化施設整備事業および家畜衛生技術研修施設設置事業の助成を受け、生化学部門を拡充し総合的家畜疾病診断施設に整備。
- 昭和57年（1982）中央家畜病性鑑定所と畜産試験場衛生課を統合し、群馬県家畜衛生研究所と改称。
- 平成7年（1995）現在地に新庁舎を建設し全面移転。
- 平成15年（2003）BSE対策特別措置法による24か月齢以上の死亡牛BSE検査施設を整備。組織改正により、微生物グループ、病理生化学グループ、BSEグループの3グループに改編。
- 平成20年（2008）組織改正により、微生物係、病理生化学係、BSE係の3係に改編。
- 平成21年（2009）市町村合併により、住所表記が前橋市富士見町小暮に変更。
- 平成30年（2018）組織改正により、微生物係、遺伝子検査係、病理生化学係に改編。

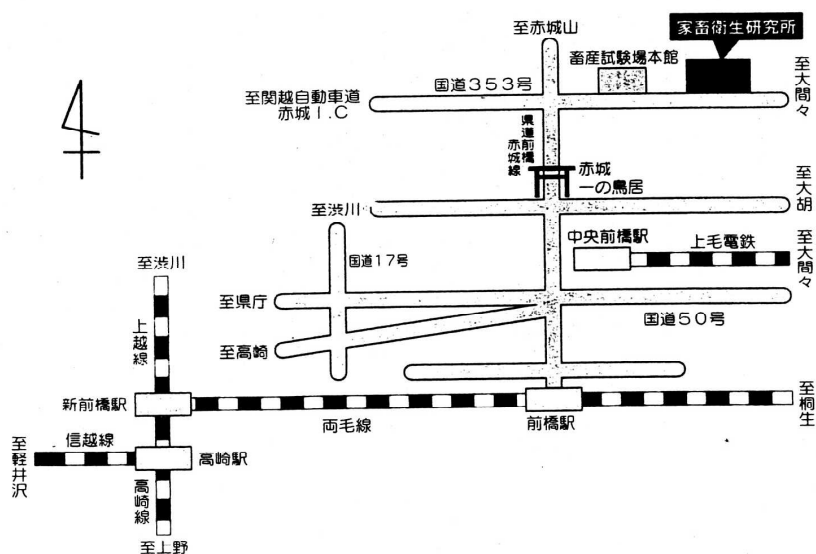
2 所在地及び交通

所在地 〒371-0103 群馬県前橋市富士見町小暮2425-3

電話番号：027-288-2106 FAX番号：027-288-2161
E-mail：kachikuken@pref.gunma.lg.jp

赤城山南麓の標高367mに位置し、国道353号線の北側、群馬県畜産試験場に隣接。

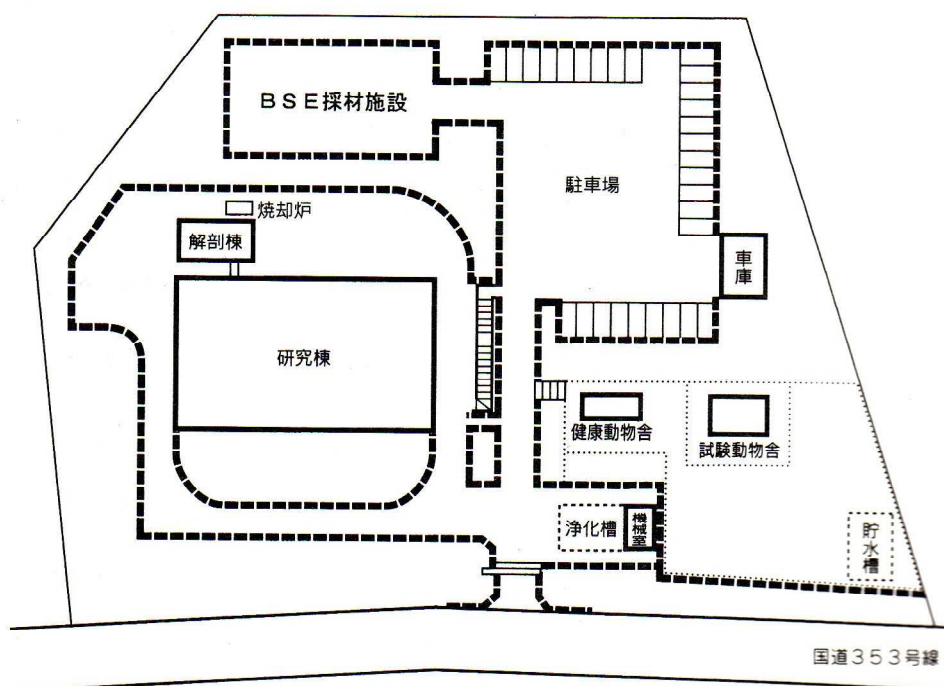
交通 JR前橋駅から『富士見温泉』または『赤城山ビジターセンター』行きバスに乗り、「畜産試験場入口」で下車。国道353号線と県道前橋・赤城線の交差点の東方約300m（徒歩約5分）。



3 用地及び建物等

(1) 用地	10,000	m ²		
(2) 建物	研究棟 (解剖棟を含む)	R C造 2階建て	1,414.0	m ²
	健康動物舎	木造	30.8	m ²
	試験動物舎	R C造+木造	50.1	m ²
	B S E採材施設	R C造・プレハブ	44.3	m ²
	車庫・物置	S造	54.0	m ²
	排水処理施設	R C造	16.7	m ²
(3) 特殊設備	水道水貯留加圧施設	1		
	焼却炉	1		
	自家発電装置	1		
	クリーンルーム	3 (ウイルス検査室：2 細菌検査室：1)		
	冷蔵保存室	2		
	冷凍保存室	1		
	死亡牛保管施設	冷凍機付コンテナ (40フィート×4)		

建物配置図

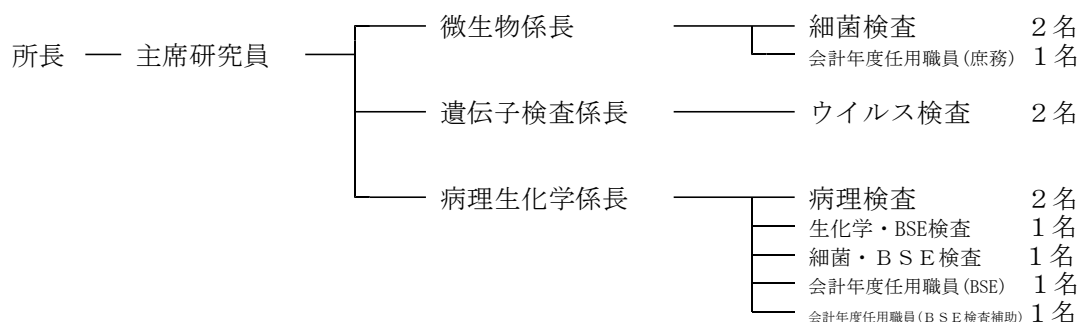


(4)重要物品

物品名称	規格 (車名)	数量
超純水製造装置	バイオタイプ	1
リアルタイムPCRシステム	MX3000P ASSEMBLY	1
リアルタイムPCRシステム	アプライドバイオシステムズ製 7500Fast	1
リアルタイムPCRシステム	ABI社 QuantStudio5	1
全自動核酸抽出装置	magLEAD 12gC	1
超微量紫外可視分光光度計	NanoDrop One UV-VIS	1
パルスフィールド電気泳動システム一式	DR-2 CHEF-DR2	1
マイクロプレートウォッシャー	MW-96FR	1
マイクロプレートリーダー	MultiskanFCベーシック	1
マイクロプレートリーダー	quant MQX200	1
多本架遠心機	トミー精工 EX-136	1
多本架冷却遠心機	トミー精工 AX-521	1
多本架冷却遠心機	久保田製作所 Model5920	1
縦型超低温フリーザー	日本フリーザー	1
超低温フリーザー	サンヨーMDF-792AT	1
超低温フリーザー	日本フリーザーCLN-50CD2	1
恒温培養器	ヒラサワ テーハー式電気孵卵器 HD-16-CP(2)	2
多検体細胞破碎機	バイオラット社製グライディングチューブ対応	1
多検体細胞破碎機	安井器械 MBJ1024YN	1
パラフィン包埋ブロック作製装置	ディスペンシングコンソール 4 型式4672	1
密閉式自動固定包埋装置	ティッシュプロセッサASP200S	1
凍結マイクローム	ライカCM1860UV	1
自動染色装置	ティシュー・テック DRS-2000-B	1
倒立型蛍光顕微鏡一式	カールツァイス Axiovert 135	1
倒立型位相差蛍光顕微鏡用蛍光観察用カメラ	AxioCam 503mono	1
蛍光顕微鏡	ニコン VED-R	1
蛍光顕微鏡	ニコン E600 E6F-FL-DIC	1
デジタルカメラ付き生物顕微鏡	6本対物レンズ同時装着 超広視野三眼	1
顕微鏡用写真撮影装置	オリンパスDP27-C	1
動物用自動血球計数装置	シスメックス製 pocH-100iV Diff	1
生化学分析装置	富士ドライケム3500	1
自記分光光度計一式	日立 U-3300	1
日立分光蛍光光度計	F-2000	1
デンシトメーター	デンシトロンCR20	1
高速液体クロマトグラフィー	並列ダブルプランジャー方式100 μ L \times 2、セミミク	1
超音波洗浄装置	シャープ製 UC-600A	1
安全キャビネット	ダルトン製 NSC-2B2-1200	1
冷凍コンテナ	40フィート型(4)、20フィート型(1)	5
冷凍コンテナローラーベルトコンベア等	40フィート型コンテナ用	4
紫外線光触媒脱臭装置	日本施設(株) 40フィートコンテナ用	4
家畜電気屠殺装置	ST-EC-2	2
小型貨物自動車	トヨタダイナ 木製 1.5t ジャストロー	1
小型貨物自動車	ニッサンADバン	1
車輻消毒装置	スタンダーアーチ SA-4540-15	1
フォークリフト		1
高温水高圧洗浄機	ジェットマン FHP-1615	1
高温水高圧洗浄機	蔵王専業(株)製 PWH2016D型	1

4 機構及び人員

(1) 組織図



(2) 職員名簿

職 名	氏 名
所長(技)	高橋 泰幸
主席研究員	林 省二
微生物係	
微生物係長	森口 充代
細菌検査(独立研究員)	高梨 資子
細菌検査(技師)	古屋 裕崇
遺伝子検査係	
遺伝子検査係長	吉田 幸代
ウイルス検査(主任)	茂木 麻奈美
ウイルス検査(技師)	久保田 碧
病理生化学係	
病理生化学係長	瀧澤 勝敏
病理・生化学・BSE検査(独立研究員)	塩原 正枝
病理検査(技師)	原田 奈美香
微生物・病理生化学・BSE検査(主幹専門員)	宮前 千史
会計年度任用職員(庶務業務)	竹内 実希
会計年度任用職員(BSE検査補助)	二瓶 忠一
会計年度任用職員(BSE検査補助)	林 京子

5 業務

- (1) 家畜保健衛生所が行う病性鑑定、検査、試験等の技術的調整に関すること。
- (2) 家畜疾病の病性鑑定に関すること。
- (3) 家畜衛生に係る試験研究および調査に関すること。
- (4) その他病性鑑定技術の研修および家畜衛生の向上に関すること。
- (5) 牛、めん羊、山羊、水牛およびしかの伝達性海綿状脳症診断に関すること。

6 令和2年度病性鑑定実績

(1) 依頼者・畜種別病性鑑定

畜種	依頼者区分	家衛研への直接依頼					家畜保健衛生所を經由									合計
		家畜衛生研究所	その他の県機関	市町村	その他	小計	その他の県機関	市町村	農協等団体・共済	民間獣医師	飼養者	流通関係業者	と畜場食鳥処理場	その他	小計	
乳用牛	件数	0	0	0	0	0	19	0	0	0	395	0	0	0	414	414
	頭数	0	0	0	0	0	48	0	0	0	10,414	0	0	0	10,462	10,462
肉用牛	件数	0	0	0	0	0	50	0	0	0	247	0	0	0	297	297
	頭数	0	0	0	0	0	176	0	0	0	1,007	0	0	0	1,183	1,183
馬	件数	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1	0	0	0	2	2
	頭数	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1	0	0	0	2	2
豚	件数	0	0	0	0	0	38	0	0	0	54	0	0	0	92	92
	頭数	0	0	0	0	0	9,267	0	0	0	1,535	0	0	0	10,802	10,802
緬山羊	件数	0	0	0	0	0	0	0	0	0	41	0	0	0	41	41
	羽数	0	0	0	0	0	0	0	0	0	92	0	0	0	92	92
鶏	件数	0	0	0	0	0	60	0	0	0	7	0	0	0	67	67
	頭数	0	0	0	0	0	1,710	0	0	0	26	0	0	0	1,736	1,736
その他	件数	0	0	0	0	0	0	2	0	0	2	0	0	17	21	21
	頭数	0	0	0	0	0	0	3	0	0	2	0	0	152	157	157
計	件数	0	0	0	0	0	168	2	0	0	747	0	0	17	934	934
	頭数	0	0	0	0	0	11,202	3	0	0	13,077	0	0	152	24,434	24,434

(2) 項目・畜種別病性鑑定

区 分		細 菌	ウイルス	寄生虫	生化学	臨床※	病 理	その他	計
乳用牛	件数	316	79	4	15	24	43	1	482
	頭数	10,035	932	79	41	25	43	1	11,156
	項目数	344	102	4	15	49	73	1	588
肉用牛	件数	132	118	11	62	13	57	3	396
	頭数	2,521	606	90	238	16	61	3	3,535
	項目数	160	144	11	65	26	97	3	506
馬	件数	0	0	1	0	0	1	0	2
	頭数	0	0	1	0	0	1	0	2
	項目数	0	0	1	0	0	1	0	2
豚	件数	16	88	0	2	17	14	0	137
	頭数	100	10,781	0	11	265	86	0	11,243
	項目数	32	120	0	2	33	27	0	214
緬山羊	件数	7	14	1	2	0	12	16	52
	頭数	43	62	1	2	0	14	18	140
	項目数	8	14	1	2	0	14	17	56
鶏	件数	5	65	0	0	0	4	0	74
	頭数	17	1,692	0	0	0	13	0	1,722
	項目数	5	66	0	0	0	8	0	79
その他	件数	5	24	0	0	0	2	1	32
	頭数	20	175	0	0	0	3	2	200
	項目数	9	24	0	0	0	2	1	36
合計	件数	481	388	17	81	54	133	21	1,175
	頭数	12,736	14,248	171	292	306	221	24	27,998
	項目数	558	470	17	84	108	222	22	1,481

※臨床：血液一般検査

(3) 家畜伝染病・届出伝染病等診断状況

疾病名	畜種	件数	頭数	備考
ヨーネ病 (定量陽性)	乳用牛		3	3 【法】
牛ウイルス性下痢ウイルス持続感染牛	乳用牛		5	9 【届】
牛伝染性リンパ腫	乳用牛	12	12	【届】
牛RSウイルス病+牛ウイルス性下痢ウイルス感染	乳用牛	1	1	【届】
<i>Salmonella</i> Typhimuriumによるサルモネラ症	乳用牛	1	7	【届】
牛パストツレラ症	乳用牛	2	2	
疣贅性心内膜炎	乳用牛	1	1	
胎膜水腫	乳用牛	1	1	
内水頭症+ <i>Streptococcus suis</i> による化膿性気管支肺炎	乳用牛	1	1	
創傷性心膜炎	乳用牛	1	1	
肉芽腫性回腸炎	乳用牛	1	1	
胎盤停滞	乳用牛	1	1	
大脳皮質壊死症	乳用牛	1	1	
第四胃左方変位	乳用牛	1	1	
腹膜炎+空腸中部の腸断裂	乳用牛	1	1	
肺水腫を伴う化膿性気管支炎	乳用牛	1	1	
大腿骨頭の骨折	乳用牛	1	1	
鞭虫の重度寄生	乳用牛	1	1	
肝膿瘍の破裂に伴う腹膜炎	乳用牛	1	1	
左後肢における膝蓋骨脱臼	乳用牛	1	1	
ヨーネ病 (定量陽性)	肉用牛	2	2	【法】
牛白血病+尿管における膿瘍形成	肉用牛	1	1	【届】
牛RSウイルス病+ヒストフィルス・ソムニ感染症、	肉用牛	1	2	
牛マイコプラズマ肺炎	肉用牛	1	2	
牛パストツレラ症+牛マイコプラズマ肺炎	肉用牛	2	2	
牛大腸菌症	肉用牛	1	1	
多発性漿膜炎	肉用牛	2	3	
牛クロストリジウム・パーフリンゲンス感染症	肉用牛	1	1	
牛RSウイルス病	肉用牛	1	1	
<i>Trueperella pyogenes</i> による多発性凝固壊死巣を伴う化膿性気管支肺炎	肉用牛	1	1	
線維素性腹膜炎	肉用牛	1	1	
真菌性肺炎	肉用牛	1	1	
結腸閉鎖	肉用牛	1	1	
重度な肺水腫+疣贅性心内膜炎	肉用牛	1	1	
肺水腫	肉用牛	2	2	
第四胃穿孔による腹膜炎	肉用牛	1	1	
臍帯周囲炎+膀胱炎+腎盂腎炎	肉用牛	1	1	
臍帯周囲炎	肉用牛	1	1	
第四胃潰瘍	肉用牛	1	1	
偽膜性壊死性盲腸炎	肉用牛	1	1	
内水頭症	肉用牛	1	1	
肺水腫+尿管における膿瘍形成	肉用牛	2	2	
豚熱	豚	1	9	【法】
豚流行性下痢+化膿性気管支炎	豚	1	3	【届】

疾病名	畜種	件数	頭数	備考
トキソプラズマ症	豚	1	5	【届】
浮腫病+壊疽性化膿性肺炎	豚	1	4	
豚大腸菌症	豚	2	19	
豚増殖性腸炎	豚	2	9	
豚胸膜肺炎	豚	1	8	
<i>Actinobacillus pleuropneumoniae</i> による化膿性線維素性心外膜炎	豚	1	5	
サルモネラ症、豚パスツレラ症	豚	1	6	
鶏封入体肝炎	鶏	1	3	
卵壁性腹膜炎	鶏	1	3	
卵壁+ワクモ寄生	鶏	1	4	
結腸捻転	馬	1	1	
小腸における条虫寄生	めん羊	1	1	
盲腸における鞭虫寄生	山羊	2	2	
盲腸における線虫寄生	山羊	1	2	
アメリカ腐蛆病	みつばち	1	1	【法】
豚熱ウイルス感染を疑う	いのしし	4	5	【法】
肺胸膜および肋骨胸膜における径2~5mmの乳白色結節の多発	いのしし	1	1	
総排泄腔と思われる部位における結石の充満	野鳥	1	1	

7 令和2年度牛海綿状脳症検査実績

(1) BSE検査実施状況

家保別	死亡牛			病性鑑定			合計		
	乳用牛	肉用牛	計	乳用牛	肉用牛	計	乳用牛	肉用牛	計
中部	150	13	163	2	3	5	152	16	168
西部	79	22	101	4	1	5	83	23	106
吾妻	48	16	64	0	1	1	48	17	65
利根沼田	28	6	34	6	2	8	34	8	42
東部	88	23	111	0	0	0	88	23	111
県内合計	393	80	473	12	7	19	405	87	492
県外	0	0	0	0	0	0	0	0	0

(2) 月別BSE検体搬入状況

	4月	5月	6月	7月	8月	9月	10月	11月	12月	1月	2月	3月	合計
頭数	32	38	40	42	78	46	35	38	37	33	38	35	492
対前年比%	68.1	131.0	102.6	68.9	89.7	74.2	85.4	90.5	72.5	60.0	100.0	68.6	81.6

令和2年度は合計492頭のBSE検査を実施した。乳用牛は405頭（82.3%）、肉用牛は87頭（17.7%）であった。

月別検体搬入状況は、例年同様7月から9月にかけて増加傾向であった。

8 職員研修

(1) 家畜衛生講習会

開催日	名称等	参加者	開催場所
7月14日～12月11日	家畜衛生講習会（病性鑑定特殊講習会）	古屋 裕崇	農研機構動物衛生研究部門

(2) 家畜衛生研修会

開催日	名称等	参加者	開催場所
中止	家畜衛生研修会（病性鑑定：ウイルス部門）	なし	農研機構動物衛生研究部門
中止	家畜衛生研修会（病性鑑定：生化学部門）	なし	農研機構動物衛生研究部門
中止	家畜衛生研修会（病性鑑定：病理部門）	なし	農研機構動物衛生研究部門
中止	家畜衛生研修会（病性鑑定：細菌部門）	なし	農研機構動物衛生研究部門

(3) 独立行政法人農業・食品産業技術総合研究機構 動物衛生研究所研修(病態研究領域事務局)

開催日	名称等	参加者	開催場所
中止	つくば病理談話会	なし	農研機構動物衛生研究部門

(4) 研修会参加

10月7日	第13回拡大CSF疫学調査チーム検討会	林 省二	農林水産省消費安全局
-------	---------------------	------	------------

(5) 中央畜産技術研修

開催日	名称等	参加者	開催場所
		なし	家畜改良センター 中央畜産研修施設

(6) その他の研修
ア 一般研修

開催日	名称等	参加者	開催場所
8月28日	行政対象暴力対策責任者研修	林 省二	群馬会館
9月2日	令和2年度新任管理職研修	林 省二	群馬会館
12月10日	令和2年度県市町村職員合同研修「マニュアル作成術」	森口 充代	群馬県庁
1月8日	令和2年度新任管理職研修	林 省二	群馬会館
1月22日・ 1月29日	令和2年度採用後3年目研修	古屋 裕崇	群馬県総合公社ビル

イ 安全管理・技能講習

開催日	名称等	参加者	開催場所
6月30日 7月1日 7月2日 7月3日	フォークリフト運転技術講習	久保田 碧	群馬県大型特殊自動車練習所（前橋市荒口町）
8月1日 8月2日 8月3日 8月4日	フォークリフト運転技術講習	林 省二	コマツ教習所群馬センター
12月1日 12月2日	クレーン運転業務特別教育講習	林 省二 吉田 幸代	高崎市産業創造館

ウ 技術研修

開催日	名称等	参加者	開催場所
9月1日	精度管理研修会	茂木 麻奈美	群馬県庁 17階 171会議室
10月29日	令和2年度野生獣衛生推進体制促進事業講習会	森口 充代	群馬会館
12月18日	令和2年度群馬県家畜保健衛生業績発表会	高梨 資子 茂木 麻奈美	群馬県庁
1月25日	特定家畜伝染病防疫演習（吾妻管内）	森口 充代	中之条合同庁舎

9 付帯業務

(1) 講習会等への講師派遣

開催日	名称等	派遣者	開催場所
9月16日	家畜商講習会	高梨 資子	群馬県市町村会館
11月10日	ASF-PCR講習	茂木 麻奈美	群馬県農業技術センター
12月8日	CSF-realtimePCR講習	茂木 麻奈美	群馬県農業技術センター

(2) 講習会開催技術指導

開催日	名称等	参加者	開催場所
4月16日	豚コレラ診断「CSFのための採材及び病理解剖」	中部2名	家畜衛生研究所
6月3日	豚コレラ診断「CSFのための採材及び病理解剖」	西部2名	
6月8日	自動核酸抽出装置使用研修	家衛研10名	
6月16日	鶏解剖・採材研修	家衛研2名	
1月28日	細菌学的検査「炭疽診断等」	中部2名、西部2名、吾妻1名、東部1名	

(3) 県外への防疫業務等の派遣

開催日	名称等	派遣者	派遣先
11月21日～ 11月24日	高病原性鳥インフルエンザ発生に伴う防疫作業	森口 充代	香川県
12月25日～ 12月27日	高病原性鳥インフルエンザ発生に伴う清浄性確認検査	古屋 裕崇	宮崎県
2月4日～ 2月5日	高病原性鳥インフルエンザ発生に伴う疫学関連農場検査	古屋 裕崇	茨城県
3月14日～3 月15日	高病原性鳥インフルエンザ発生に伴う防疫作業	森口 充代	栃木県

(4) 会議参加

開催日	名称等	参加者	開催場所
4月23日	県功労者表彰受賞記念祝賀会第4回発起人会	高橋 泰幸	㈱トマル
7月22日	地域豚疾病低減対策強化事業地域推進会議	吉田 幸代	県農協ビル
8月6日	野生獣衛生体制整備推進確立対策事業 令和2年度第1回連絡協議会	森口 充代	群馬J Aビル
9月7日	令和2年度第2回畜産関係所属長・次長等会議	高橋 泰幸 林 省二	県庁
10月13日	農政部次長会議	林 省二	県庁
12月18日	農政部長との意見交換	高橋 泰幸	県庁
12月22日	群馬県農業共済組合損害評価会家畜共催部会	高橋 泰幸	群馬県農業共済会館会議室
12月25日	群馬県鳥インフルエンザ緊急防疫対策会議	高橋 泰幸	県庁
2月8日	農政部次長会議	林 省二	県庁
2月9日	令和2年度第3回畜産関係所属長・次長等会議	高橋 泰幸 林 省二	県庁
2月18日	JD検査資材不足についての打ち合わせ	林 省二 高梨 資子	県庁
3月30日	農政部次長会議	林 省二	県庁

(5) 支援業務等の参加

開催日	名称等	参加者	派遣先
4月23日・ 5月20日・ 10月21日	浅間家畜育成牧場入退牧支援	林 省二 森口 充代 古屋 裕崇	浅間家畜育成牧場
9月27日～10 月3日	CSF発生に伴う防疫作業	森口 充代	高崎市内養豚場

(6) 視察

期間	内容等	所属	人数
10月7日	栃木県南家保・県北家保への焼却炉視察	林 省二	栃木県

(7) 研修生・学生実習受け入れ

期間	研修内容等	学校名	人数
		なし	

1 0 令和 2 年度学会・研究会（研修会）発表

令和 2 年度群馬県家畜保健衛生業績発表会

資料提出による開催

県内で分離された牛ウイルス性下痢ウイルスの遺伝子解析

遺伝子検査係 茂木 麻奈美

農場で再発した牛サルモネラ症の分子疫学的解析と薬剤感受性

微生物係 高梨 資子

第61回関東甲信越ブロック家畜保健衛生業績発表会

令和 2 年 9 月 14 日（月）から令和 2 年 9 月 25 日（金）まで 於：書面開催

豚サーコウイルス関連疾病の離乳豚におけるPCV2bによる好酸性滴状物を伴う大脳の水腫
病理生化学係 原田 奈美香

牛白血病ウイルス浸潤農場における遺伝子検査

遺伝子検査係 茂木 麻奈美

令和 2 年度関東・東京合同地区獣医師大会・三学会

新型コロナウイルス感染症のため開催が中止になった。

1 1 令和 2 年度誌上発表

臨床獣医, 1月号, p14, 2021

牛の肝臓における胆汁うっ滞を伴う小葉中心性かつ架橋性の肝細胞の空砲変性・壊死

原田 奈美香

日本獣医師会雑誌, Vol. 74, p 66, 2021

豚の豚サーコウイルス 2 b 型感染による大脳白質の広範な水腫及び血管変性が特徴的な非化膿性髄膜脳炎

原田 奈美香

1 2 令和 2 年度家畜衛生研修会発表症例

新型コロナウイルス感染症のため開催が中止になった。

1 3 令和2年度群馬県家畜保健衛生業績発表

県内で分離された牛ウイルス性下痢ウイルスの遺伝子解析

家畜衛生研究所 茂木麻奈美 吉田幸代

牛ウイルス性下痢（BVD）は牛ウイルス性下痢ウイルス（BVDV）感染による届出伝染病で、呼吸器症状や下痢、妊娠牛では死産・流産、異常産を引き起こす。母牛に感染した場合、胎齢18～125日齢の胎子は免疫寛容となり、生涯にわたってBVDVを保有し体外にウイルスを多量に排出し続ける持続感染牛（PI牛）として生まれ、牛群内の感染源となる¹⁾。BVDVは遺伝子により1型および2型に分類され、さらに1型は1a～1t亜型の20種類、2型は2a～2c亜型の3種類に分けられる。

BVDは全国的に発生しており、本県でも継続的にPI牛が摘発されている。当所では、BVDVについてPCR検査、ウイルス分離および中和試験を実施し、PI牛を診断している。2017年度から2019年度の3年間に当所で診断したPI牛は、2017年度6戸9頭、2018年度13戸27頭、2019年度8戸13頭の合計23戸49頭であった。

今回、2017年度から2019年度に分離されたBVDVについて遺伝子解析を実施し、ウイルス株の関連性および感染経路について検討したので報告する。

材料及び方法

材料は、2017年度から2019年度に当所で診断したPI牛49頭およびPI牛と疑われた14頭からの分離ウイルス株26農場63株を用いた。PI牛の判定については、3週間以上の間隔をあけた二度の検査でBVDVが分離され、かつ、ペア血清で中和抗体価の上昇が認められない個体をPI牛と確定した。

分離ウイルス株からRNAを抽出し、Vilcekら(1994)の方法でRT-PCRを実施、増幅されたBVDV 5'非翻訳（UTR）領域特異遺伝子についてダイレクトシーケンス法により塩基配列を決定した³⁾。得られた配列について、BVDVの遺伝子亜型代表株、ワクチン株、豚熱ウイルスおよびボロ病ウイルスとともにNeighbor-joining法（Bootstrap値：1000）により分子系統解析を行った。

結果及び考察

1 分離ウイルスの遺伝子型別

遺伝子解析の結果、63株中46株(73%)が1b亜型、17株(27%)が2a亜型であり（図1、2）、県内では1b亜型が流行していると推察された。北海道および本州の遺伝子型の分布は1型の割合が多く、1型では1b亜型、2型では2a亜型が多いことが報告されており^{2,4)}、今回の結果も同様であった。

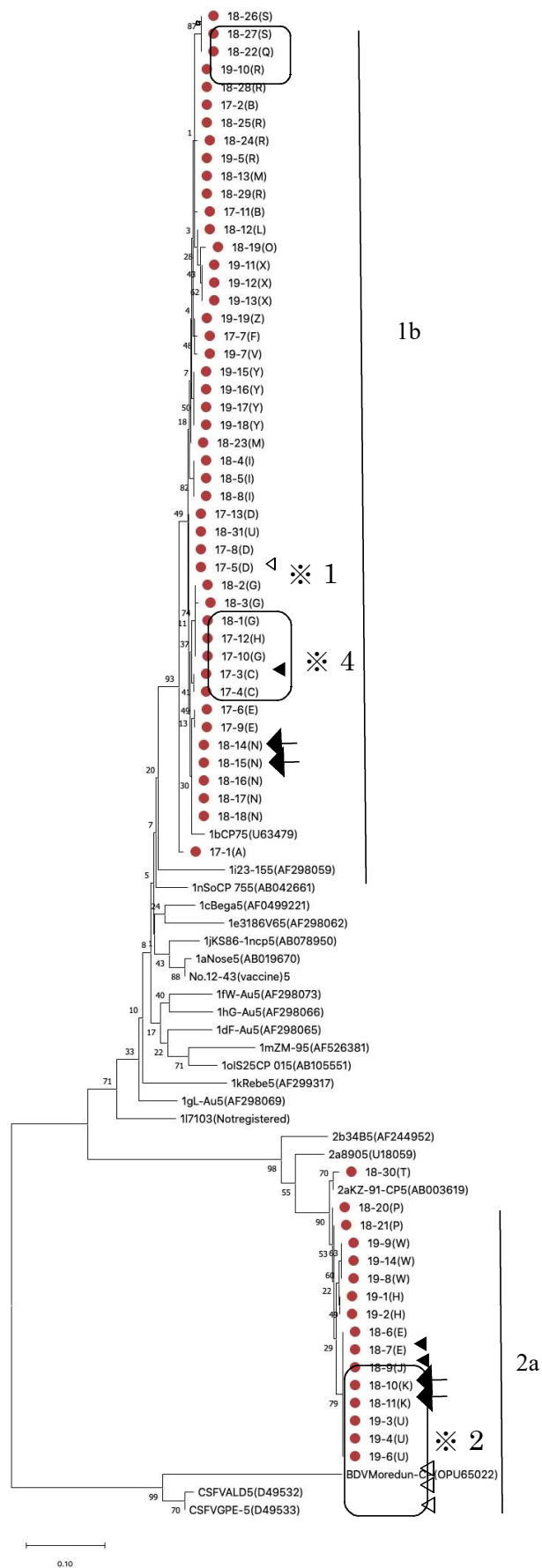


図1 分離ウイルスの分子系統樹

株名は検体名（農場）で示した。同一農場由来株は概ね近縁のクラスターに分類された。

2 複数農場の分離株が同一クラスターに分類された事例

分子系統解析の結果、複数の異なる農場の分離株が同じクラスターに分類された（図1 ※1,2）。図1の※1で示すクラスターには農場Dの3株（17-5,8,13）と農場Uの1株（18-31）が分類された。農場Uの18-31の母牛は、PI牛が作出されるとされる胎齢18～125日齢の時期（PIリスク期）に、PI牛と同居しており、18-31の母牛は自農場で感染し、18-31が生まれたと考えられた（図2）。また、当該PI牛は、預託農場aに預託されており、同時期に農場Dの17-5の母牛がPIリスク期に同居していたことから、17-5の母牛が感染し、農場Dに戻り、PI牛（17-5）を出産、17-8,13の母牛へと感染を拡げ、17-8,13がPI牛として生まれたと推察された（図2）。

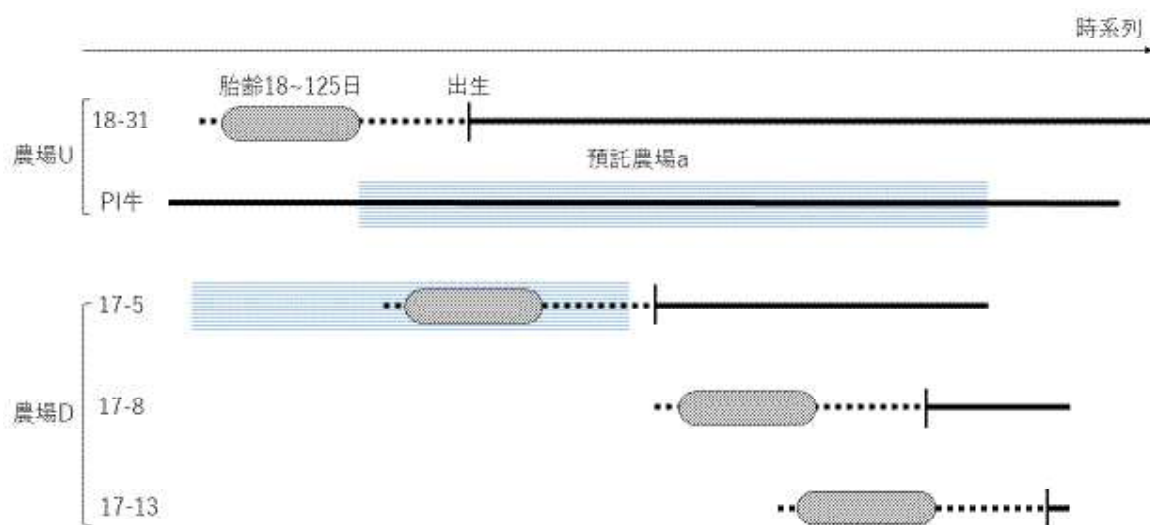


図2 農場DおよびUのPI牛の関係

図1の※2に示すクラスターには農場Eの2株（18-6,7）、農場Jの1株（18-9）、農場Kの2株（18-10,11）および農場Uの3株（19-3,4,6）が分類された。農場E、J、Kの5頭の母牛はいずれもPIリスク期に同一の預託農場bに預託されており、そこで感染し、自農場へ戻り出産したと考えられた。農場Uの3頭の母牛についても、PIリスク期に預託農場aへ預託しており、そこでの感染が推察されたが、農場E、J、Kの預託農場bとは異なり、3農場の個体との関連性は不明であった。

3 導入牛がPI牛であった事例

農場Qの18-22は農場Sからの導入牛であり、分離株の塩基配列は導入元の農場Sにおいて摘発されたPI牛（18-26,27）のものと一致した（図1 ※3）。18-22の母牛はPIリスク期に移動はしておらず、農場Sで感染し、PI牛を出産したと考えられた。

農場Hの17-12は、農場Gの4株（17-10、18-1,2,3）と近縁であった（図1 ※4）。17-12は農場Gからの導入牛であり、17-12の母牛は農場Gが他県から導入したPI牛（17-10）

であった。17-10により農場Gにウイルスが持ち込まれ、17-12がPI牛として生まれ、同時期に農場内に同居していた3頭（18-1,2,3）の母牛が感染したと考えられた。

4 1農場から異なるクラスターのウイルスが分離された事例

農場E,H,Uの3農場の分離株はそれぞれ複数の異なるクラスターに分類され、農場内に複数の株が存在していることがわかった。各個体のPIリスク期の母牛移動歴から推察される感染経路を表1に示した。

表1 PIリスク期の母牛移動歴等から推察される感染経路

農場	個体	感染経路
E	17-6	預託農場c・自農場
	17-9	
	18-6	預託農場b
	18-7	
H	17-12	導入牛（母牛はPI牛）
	19-1	自農場
	19-2	
U	18-31	自農場
	19-3	預託農場a
	19-4	
	19-6	

農場Eでは、17-6,9の2株と18-6,7の2株が別のクラスターに属し（図1矢印）、預託農場cもしくは自農場に存在した株と預託農場bから侵入した株の2種と推察された（表1）。農場Hでは、19-1,2の2株と17-12の1株の2つのクラスターに分類され（図1黒矢頭）、導入牛により農場に持ち込まれた株と自農場に存在している株の2種と考えられた（表1）。農場Uでは、19-3,4,6の3株と18-31の1株の2つのクラスターに分類され（図1白矢頭）、自農場にあった株と預託農場aから侵入した株の2種と推察された（表1）。

これら3農場の事例から、様々な経路からの複数ウイルスが侵入していることがわかった。

PI牛対策の一つとして、適切なワクチンの選択と接種が重要とされている。今回解析した63株は、1b亜型と2a亜型に分類され、その割合から県内では1b亜型が流行していることがわかった。抗原性は1型と2型で大きく異なり、亜型間でも差があるとされていることから、ワクチンを選択する際は、1b亜型および2a亜型のものを選択するとより効果的であると考えられた^{2,4)}。

分子系統解析の結果、同一農場由来株は概ね近縁のクラスターに分類され、多くの農場で自農場内での感染が起こっていると推察された。また、農場内への新たな株の侵入は、導入牛、導入および預託先から帰ってきた牛の産子であるPI牛に起因しており、導入や預託には高いリスクが伴うと考えられた。

導入牛、導入および退牧牛の産子の検査徹底による農場内へのウイルス侵入防止や、農場内のPI牛早期摘発がPI牛の対策として行われている。今回の結果で、農場内へPI牛に

よって新たなウイルスが侵入し、感染拡大を起こすことが示唆され、多くの農場での農場内感染拡大事例が認められたことから、これら対策の重要性を裏付ける結果となった。

今後、今回のデータを農家指導に活用し、さらなる PI 牛対策の徹底を図ってゆきたい。

謝辞

稿を終えるにあたり、遺伝子解析に御協力いただきました農研機構 動物衛生研究部門の安藤清彦先生に深謝いたします。

引用文献

- 1)農林水産省:牛ウイルス性下痢・粘膜病に関する防疫対策ガイドライン,2016
- 2)安部優里:北海道で流行する牛ウイルス性下痢ウイルスの遺伝子解析,北獣会誌,59,2015
- 3)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(3-4), 309-323, 1994
- 4) 亀山健一郎:牛ウイルス性下痢ウイルスの国内分布および牛ウイルス性下痢・粘膜病の迅速診断に関する研究,動衛研研究報告,第 118 号,19-22,2012

農場で再発した牛サルモネラ症の分子疫学的解析と薬剤感受性

家畜衛生研究所 高梨 資子、古屋 裕崇、宮前 千史

サルモネラ症は様々な血清型のサルモネラに起因する感染症で、下痢・敗血症を主徴とする急性または慢性の伝染性疾患である。特にサルモネラの血清型の中で、4:i:1,2 である *Salmonella* Typhimurium(ST)は家畜伝染病予防法における届出伝染病に指定されており、さらに ST の 2 相鞭毛抗原が発現しない血清型 4:i:- (非定型 ST)も病原性は従来の ST と差が無いことから、2018 年 4 月 1 日より届出対象となった。

現在、ST および非定型 ST の分子疫学的解析手法として、パルスフィールドゲル電気泳動(PFGE)および多座反復配列解析(MLVA)を用いることが多い。しかし近年、各遺伝子型に特徴的な一塩基多型(SNP)を PCR で検出する系を組み合わせた、SNP 遺伝子型別法が開発され、ST および非定型 ST が大きく 9 つの集団に分類されることが報告された¹⁾。そしてこの SNP 遺伝子型別と PFGE を併用した分子疫学的解析により、供試菌株の遺伝的背景と近縁度を評価できるようになった(表 1)。

表 1. PFGE 法と SNP 遺伝子型別法の違い²⁾

解析法	PFGE法	SNP遺伝子型別法
目的	調査する菌株が同一由来かを判断	ST流行株を遺伝学的背景により9タイプに分類
解析原理	電気泳動(フラグメント)	シーケンス(塩基配列)
解析対象	特定の制限酵素が切断する塩基配列の分布(位置・数)	特徴的な一塩基変異を検出
データの共有	・手技の影響を受けやすい ・異なる施設間での比較は困難	・再現性が高い ・異なる施設間での比較が容易
解析に適する場面	比較的近い菌株間の比較 (食中毒・院内感染など)	比較的遠い菌株間の比較 (国内外など)

そこで、本年度 ST または非定型 ST による牛サルモネラ症の再発が確認された 2 農場(A 農場、B 農場)について、過去の分離株と本年度の分離株を用いて、SNP 遺伝子型別と PFGE による型別を組み合わせた分子疫学的解析と薬剤感受性試験を実施したので、その概要を報告する。

発生概要

1 A 農場

2020 年 6 月、肉用牛約 600 頭を飼養する肥育農場において、生後 10 日齢～1 か月齢の子牛を飼養する子牛牛舎で下痢および死亡の子牛が増加したため、管轄家保に病性鑑定依頼があった。なお、A 農場では 1995 年～1997 年に ST が、2013 年以降散発的に非定型 ST が分離されていた。

2 B 農場

2020 年 8 月、搾乳牛約 60 頭を自家育成する酪農場において、バンクリーナーの工事をするため、バンクリーナー内の糞便をすべて掻き出したところ、工事 3 日後から水様性下痢を発症する牛が認められ、病性鑑定の依頼があった。管轄家保が工事 5 日後に立ち入り

した際には、半数以上の牛が水様性下痢を発症していた。B農場では2013年にSTによる下痢が集団発生したが、その後はサルモネラ症の発生はなかった。

材料及び方法

1 供試菌株：1995年以降に分離され、当所で保存されていたA農場16菌株およびB農場2菌株を用いた。それら菌株の詳細を表1に示す。

表 1. 供試菌株の詳細

No.	由来農場	分離年月日	月齢等	分離部位
1	A農場	1995/9/27	15日齢	肝臓
2		1995/10/9	1か月齢	肝臓
3		1997/10/7	2週齢	肝臓
4		2013/8/15	13日齢	糞便
5		2013/11/21	1週齢	肝臓
6		2014/12/24	3か月齢	肺
7		2015/1/28	3週齢	盲腸内容
8		2015/5/26	2週齢	心臓
9		2015/6/12	2週齢	盲腸内容
10		2015/7/6	11日齢	心臓
11		2015/9/8	1週齢	肝臓
12		2015/12/22	1か月齢	脾臓
13		2016/6/22		環境材料
14		2018/2/28	2週齢	糞便
15		2018/8/8	2週齢	糞便
16		2020/6/29	20日齢	糞便
17	B農場	2013/8/21	4才	糞便
18		2020/8/24	8才	糞便

2 サルモネラ血清型別：市販サルモネラ免疫血清（デンカ生研）を用いてO抗原およびH抗原を常法に従いKauffmann - Whiteの抗原構造表により決定した。O4群サルモネラでH抗原iが検出されるも2相H抗原が検出されなかった菌株については、「サルモネラ(4:i:-)の同定法マニュアル」（2017年10月16日動物衛生研究部門）に従いST同定用PCRと変異同定用PCRを実施した。なお、ST同定用PCRには*Salmonella* serovar Typhimurium Identification Kit(TAKARA)を用いた。

3 SNP遺伝子型別：Araiら¹⁾の方法に基づき、PCRによりSNP遺伝子型別を実施した。

4 PFGE解析：制限酵素XbaIを用い、PFGE像をApplied Math社BioNumerics解析ソフトに取り込みクラスター解析を行った。

5 薬剤感受性試験：ミューラーヒントンII寒天培地(日本BD)を用いて、アンピシリン(ABPC)、セファゾリン(CEZ)、セフトキシム(CTX)、ストレプトマイシン(SM)、カナマイシン(KM)、ゲンタマイシン(GM)、クロラムフェニコール(CP)、テトラサイクリン(TC)、オキシテトラサイクリン(OTC)、ホスホマイシン(FOM)、ナリジクス酸(NA)、エンロフロキサシン(ERFX)、ST合剤の13薬剤について、1濃度ディスク法で実施した。

6 ST definitive phage typing 104(DT104)スクリーニング検査：Pritchettらの方法³⁾に基づき、DT104関連遺伝子を検出するPCRを実施し、電気泳動によりPCR産物を確認した。

7 プラスミド性キノロン耐性(PMQR)遺伝子検査：No.4～16の菌株についてVincentらの方法⁴⁾に基づき、PMQR遺伝子である*qnrA*、*qnrB*および*qnrS*遺伝子を検出するPCR

を実施し、電気泳動により PCR 産物を確認した。

なお、3と4については動物衛生研究部門に依頼した。

成績

1 供試菌株の血清型、SNP 遺伝子型別および PFGE 解析

O4 群サルモネラで H 抗原 i が検出されるも 2 相 H 抗原が検出されなかった菌株はすべて ST 同定用 PCR 陽性であり、変異同定用 PCR はすべて陰性であった。A 農場、B 農場の血清型別、SNP 遺伝子型別および PFGE 解析の結果を図 2 と表 2 に示す。

A 農場では 1995 年～1997 年に分離された株(No.1～3)と 2013 年以降に分離された株(No.4～16)では血清型、SNP 遺伝子型、PFGE 型が異なっていた。また 2013 年以降に分離された株の PFGE プロファイルでは 3 つに分類されたものの、バンドの違いは 3 本以内であった。

B 農場において、No.17 と No.18 では同一の血清型、SNP 遺伝子型及び PFGE プロファイルを示した。また、A 農場と B 農場では異なる PFGE 型および SNP 遺伝子型であった。

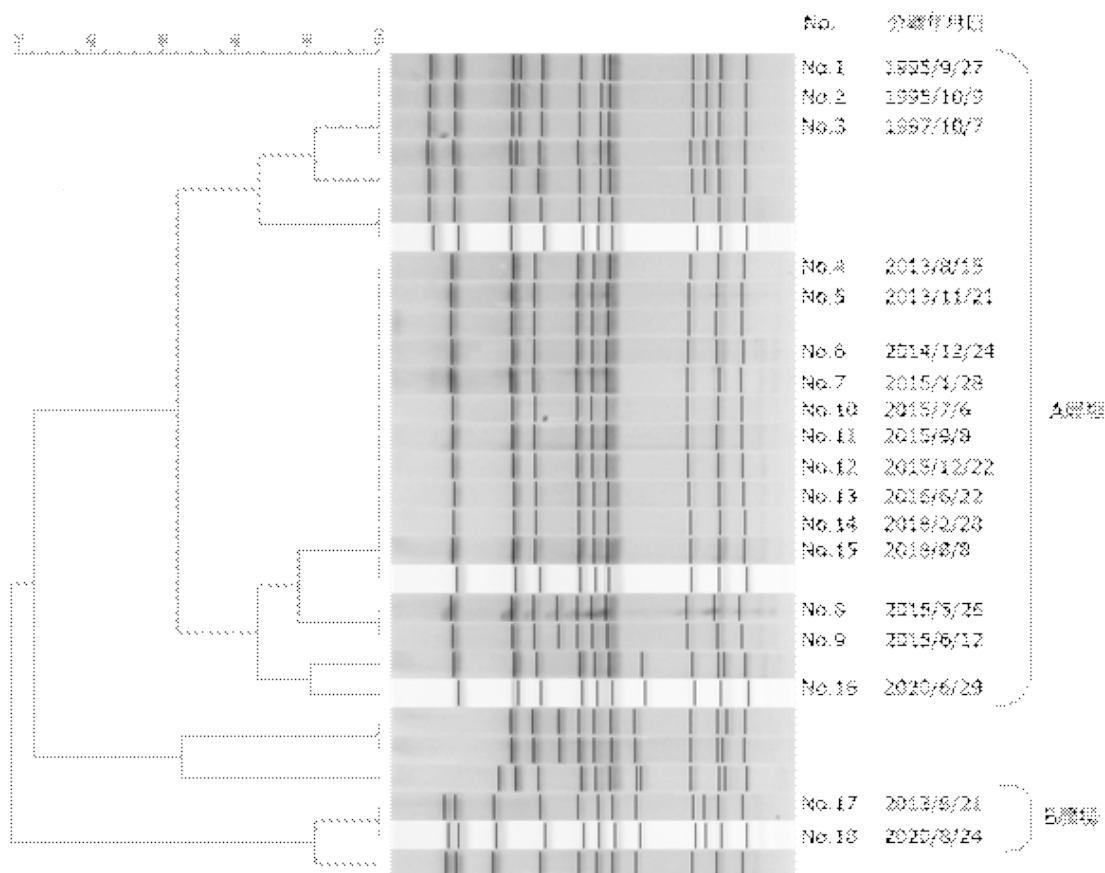


図 2. *Xba*I を用いた PFGE プロファイルの系統樹

表 2. 供試菌株の血清型および解析結果

No.	由来農場	分離年月日	血清型	PFGE型	SNP遺伝子型
1	A農場	1995/9/27	4:i:1,2	I a	1
2		1995/10/9	4:i:1,2	I a	1
3		1997/10/7	4:i:1,2	I a	1
4		2013/8/15	4:i:-	II a	9
5		2013/11/21	4:i:-	II a	9
6		2014/12/24	4:i:-	II a	9
7		2015/1/28	4:i:-	II a	9
8		2015/5/26	4:i:-	II b	9
9		2015/6/12	4:i:-	II b	9
10		2015/7/6	4:i:-	II a	9
11		2015/9/8	4:i:-	II a	9
12		2015/12/22	4:i:-	II a	9
13		2016/6/22	4:i:-	II a	9
14		2018/2/28	4:i:-	II a	9
15		2018/8/8	4:i:-	II a	9
16		2020/6/29	4:i:-	II d	9
17	B農場	2013/8/21	4:i:1,2	V a	8
18		2020/8/24	4:i:1,2	V a	8

2 薬剤感受性試験

A農場とB農場の薬剤感受性試験の成績を表3に示す。

表 3. 薬剤感受性試験の結果

No.	由来農場	分離年月日	ABPC	GEZ	CTX	SM	KM	GM	CP	TC	OTC	NA	ERFX	FOM	ST合剤
1	A農場	1995/9/27	R	R	S	R	S	S	R	R	R	S	S	S	S
2		1995/10/9	R	I	S	R	S	S	R	R	R	S	S	S	S
3		1997/10/7	R	I	S	R	R	R	R	R	R	S	S	S	S
4		2013/8/15	R	I	S	R	S	S	S	R	R	S	S	S	S
5		2013/11/21	R	I	S	R	S	S	S	R	R	S	S	S	S
6		2014/12/24	R	R	S	R	I	R	R	R	R	R	R	S	R
7		2015/1/28	R	R	S	R	I	R	R	R	R	R	I	S	R
8		2015/5/26	R	I	S	R	I	R	R	R	R	R	R	S	R
9		2015/6/12	R	R	S	R	I	R	R	R	R	R	R	S	R
10		2015/7/6	R	I	S	R	S	S	R	R	R	R	R	S	R
11		2015/9/8	R	I	S	R	S	S	R	R	R	R	I	S	R
12		2015/12/22	R	I	S	R	S	S	R	R	R	R	R	S	R
13		2016/6/22	R	R	S	R	S	S	R	R	R	R	R	S	R
14		2018/2/28	R	I	S	R	S	S	R	R	R	R	R	S	R
15		2018/8/8	R	I	S	R	S	S	R	R	R	R	R	S	R
16		2020/6/29	R	I	S	R	S	S	S	R	R	S	S	S	I
17	B農場	2013/8/21	S	S	S	I	S	S	S	S	S	S	S	S	S
18		2020/8/24	S	S	S	I	S	S	S	S	I	S	S	S	S

A 農場から分離された全菌株で ABPC、SM、TC、OTC は耐性であった。また CTX と FOM は全株感受性であった。一方、CP は 1995 年～ 1997 年に分離された株は耐性であったが、2013 年以降に分離された株では感受性の場合と耐性の場合があった。また、NA と ERFX は 2014 年から 2018 年に分離された株について、耐性あるいは中間であった。

B 農場から分離された両菌株については、検査した全薬剤の耐性は確認されなかった。

3 DT104 スクリーニング検査

18 株について実施した結果、No.1～3 について DT104 関連遺伝子を検出した。その他の菌株からは DT104 関連遺伝子は検出されなかった。

4 PMQR 遺伝子検査

SNP9 型であった No.4～16 の 13 株について実施し、NA および ERFX に耐性または中間を示した No.6～15 の 10 株から *qnrB* 遺伝子である 264bp の DNA 増幅断片を検出した(図 3)。なお、検出された DNA 増幅断片については塩基配列を決定し、既知の *qnrB* 遺伝子と配列が 100% の相同性であることを確認した。*qnrA* および *qnrS* 遺伝子は検査したすべての菌株から検出されなかった。

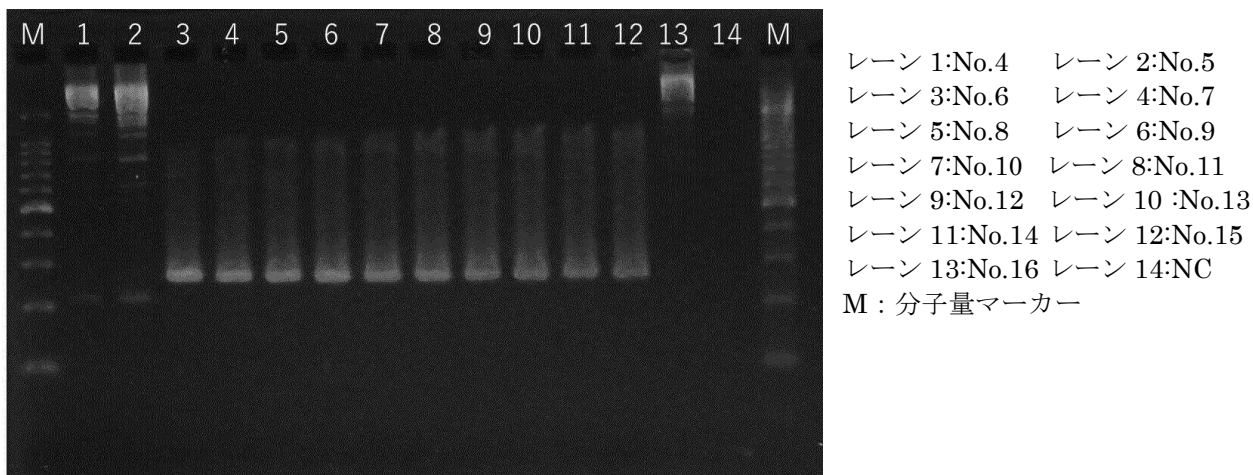


図 3. *qnrB* 遺伝子 PCR 産物の泳動像

考察

今回、ST または非 ST による牛のサルモネラ症が再発した 2 農場の分離株について、分子疫学的解析をおこなうとともに薬剤感受性のパターンを比較した。その結果、A 農場は過去の分離株と現在の分離株は血清型が ST と非定型 ST で異なるだけでなく、SNP 遺伝子型も SNP1 型と 9 型で異なっていた。A 農場において 1990 年代に分離された 3 株は SNP1 型で、DT104 関連遺伝子を保有し、ABPC、CP、SM、TC に耐性であった。これらの特徴は 1990 年代に国内で流行した株である SNP1 型の特徴と一致していた^{1), 5)}。これらは PFGE プロファイルの結果、同一由来株であることが示唆された。一方、2013 年以降に分離された株は SNP9 型であり、PFGE プロファイルでは 3 つに分類されたものの、バンドの違いは 3 本以内であることから、1990 年代とは異なる株の農場への侵入による継続発生であることが示唆された。これら SNP9 型の株は ABPC、SM、TC に耐性を持っており、2011 年以降に国内の牛由来株から分離される主流の型である SNP9 型の特徴と一致していた¹⁾。以上のことから、A 農場では各年代で全国的に流行している株が 2 回侵入し、農場内でサルモネラ症を各年代で継続的に引き起こしていることが示唆された。また、

2013年以降から分離されたSNP9型の株において、2014年から2018年の間ではNAおよびERFXで耐性を示したものの、2020年に分離された株では両薬剤に耐性を示さなかったことから、プラスミド性耐性遺伝子の獲得が示唆された。そこで、プラスミド性のキノロン系およびフルオロキノロン系薬剤耐性遺伝子である PMQR 遺伝子検査³⁾を実施した結果、NAとERFXに耐性を示した株から *qnrB* 遺伝子が検出された。サルモネラ症が終息せず、サルモネラ症治療に有効なフルオロキノロン系薬剤を継続的に使用したため、2014年から2018年の分離株は、SNP9型の多剤耐性という性質に加え、PMQR遺伝子の存在により、さらなる薬剤耐性を獲得したと考えられた。2020年に分離された菌株ではPMQR遺伝子が確認されなかったが、農場内のサルモネラ以外の細菌のキノロン耐性プラスミドの存在は不明なため、今後も薬剤耐性パターンの変化に注視が必要である。

B農場において2013年と2020年の分離株はSNP8型の同一由来株であることが示唆された。SNP8型は2000年代に流行した非DT104多剤耐性株であるSNP7型と近縁の株であり、国内分離株のみからなる遺伝子型である¹⁾。B農場では2013年のサルモネラ症発生後、管轄家保がサルモネラ症の終息を確認していた。しかし、今回、バンクリーナー工事により、牛が今まで触れなかったところで残存していた ST が牛と接触することで、サルモネラ症の集団発生が再発したと考えられた。この事例のように、サルモネラは環境中に長期間残存するため、牛の治療だけでなく、環境の消毒も重要な対策であることが再認識された。

これらの2事例からサルモネラ症対策では、薬剤耐性パターンの変化に注意しながら薬剤を適正に選択し、農場環境のより徹底した消毒が必要と考えられた。

謝辞

本稿を終えるにあたり、SNP 遺伝子型別および PFGE 解析の実施およびご助言をいただいた動物衛生研究部門腸管病原菌ユニットの玉村雪乃先生、新井暢夫先生に深謝します。

参考文献

- 1) Arai *et al.* (2018) *J.Clin.Microbiol.*56,e01758-17
- 2) 渡戸英里(2017) 平成 29 年度(第 58 回)愛知県畜産技術業績発表会集録
- 3) Pritchett L.C. *et al.* (2000) *J.Clin.Microbiol.*38,3484-3488.
- 4) Vincent *et al.* (2007)*J.Anti.Chemotherapy.*59,751-754
- 5) 玉村雪乃、内田郁夫(2012)北獣会誌.56,157-162