

1 2 管内養豚場の豚熱ワクチン接種時期の検討

西部家畜保健衛生所

○田端 大也、松井 繁幸

要 約

子豚への豚熱ワクチン接種では、移行抗体の残存状況から接種時期を判断することが重要であるが、情報が整理されておらず、接種時期の判断基準が明確になっていない。そこで今回、接種時期に関する情報を整理し、農場毎の接種適期について検討を行った。既報から、接種適期は移行抗体価が 32 倍となった時であるとし、母豚抗体価 (S/P 値) から子豚の接種適期を推定するモデル【接種日齢 = $11.2 \times \log_2(\text{母豚 S/P 値から推定した中和抗体価}/32)$ 】を作成した。モデルを用いて管内農場の接種適期を推定した結果、全ての農場で従来の接種日齢の中央値である 50 日より早まり、理論上の平均ワクチンテイク率は 90.6%、移行抗体による感染防御率は 40.7%となり、従来の接種日齢より感染防御率が 17.5%向上した。当所では今回推定した接種適期を採用し、管内の 9 割以上の農場で接種日齢を早めた。適期に接種することで、豚熱感染のリスクを減少させることが期待される。

はじめに

令和元年 10 月、静岡県内において死亡野生イノシシにおける豚熱ウイルス感染が確認されたことを受け、本県は豚熱ワクチン（以下、ワクチン）接種推奨地域に指定され、令和元年 11 月から飼養豚等へのワクチン接種を開始した。以降、豚熱に関する特定家畜伝染病防疫指針[1]に基づき、ワクチン接種農場を対象に 6 か月毎の免疫付与状況確認検査を実施している。

令和元年 12 月に実施した第 1 回目の免疫付与状況確認検査では、肥育豚で抗体陽性率 97.8% (1,120/1,145 頭)であったのに対し、第 2 回目から第 4 回目においては、抗体陽性率 80%未満であり、肥育豚の免疫付与率が低い状況が続いている。第 2 回目の検査では、移行抗体によるワクチンブレイクが、肥育豚の免疫付与率低下の主な原因と考えられたため、全国的にワクチン接種日齢を遅らせたという背景がある。

その一方で、他県ではワクチン接種農場において、ワクチン接種前の子豚における豚熱の発生が散発している。これらの発生は、ワクチン接種前に移行抗体が減少し、免疫空白期間が生じることに起因すると考えられている。

そこで今回、ワクチン接種前の免疫空白期間が少なく、かつワクチンブレイクを引き起こさない適正なワクチン接種時期について、既報を整理し、農場毎に検討を行った。

材料と方法

1) 接種適期の整理と接種適期推定モデルの作成

a. 接種適期の整理

接種に適した移行抗体価を検討するために、感染防御可能な移行抗体価と、ワクチンテイクする移行抗体価について、既報[2,3]を整理した。

次に、接種適期の推定に必要な情報として、移行抗体の半減期、初期移行抗体価と母豚抗体価の相関、中和抗体価と ELISA の S/P 値（以下、S/P 値）の相関について、同様に既報[2,3]を整理した。

b. 接種適期推定モデルの作成

整理した情報を組み合わせ、母豚の S/P 値から中和抗体価を推定し、子豚の接種適期を推定するモデルを作成した。

2) 推定した農場毎接種適期について

モデルから推定した管内農場（40 農場）毎の接種適期の妥当性について検証した。

a. 従来の接種日齢との比較

モデルから管内農場毎の子豚の接種適期を算出し、従来（令和 3 年 10 月以前）の接種日齢（45～60 日、中央値：50 日）と比較した。接種適期の算出に用いた S/P 値には、令和 3 年 5～7 月に実施した第 4 回免疫付与状況確認検査における農場内の母豚 S/P 値分布の中央値を用いた。

b. ワクチンテイク率と移行抗体による感染防御率の検証

ワクチンテイク率および移行抗体による感染防御率について、それぞれ従来の接種日齢（代表値として50日齢）とモデルから推定した接種適期との比較を行い、その改善程度について検証した。

まず、農場毎のワクチンテイク率として、既報[2,3]から想定した移行抗体価毎のワクチンテイク率（表1）と、50日齢時点及びモデルから推定した接種適期時点における移行抗体価による頭数分布との積の平均値をそれぞれ算出した。各時点における頭数分布については、第4回免疫付与状況確認検査の結果を元に移行抗体の半減期から推定した。

次に、移行抗体による感染防御率として、（感染防御可能である移行抗体価16倍以上の子豚の頭数）÷ 全子豚頭数 × 100 を求めた。

これらにより算出した農場毎のワクチンテイク率と感染防御率について、40農場の平均を算出し比較に用いた。

表1 移行抗体価毎想定ワクチンテイク率

移行抗体価(倍)	~64	~128	~256	~512	~1024	1024~
想定ワクチンテイク率(%)	100	90	65	35	10	0

成績

1) 接種適期の整理と接種適期推定モデルの作成

a. 接種適期の整理

移行抗体による感染防御には16倍以上の抗体価が必要であり、64倍以下であればワクチンテイクする[2]ことから、移行抗体価が32倍まで減少した時をワクチン接種適期とした。

移行抗体の半減期は、11.2日とした[2]。出生時の移行抗体価と母豚抗体価の間には相関が認められており[3]、その値は同等と考えた。また、中和抗体価とS/P値の間には相関が認められており[3]、S/P値から中和抗体価の推定は可能だと考えられた。本県では、令和3年5~7月に実施した第4回免疫付与状況確認検査における県内農場の母豚のS/P値のデータ及び静岡県中部家畜保健衛生所で実施した中和抗体価のデータ（n=814）より次の関係式が作成されている。

[推定中和抗体価

$$= 2^{((S/P \text{ 値} + 0.1024) / 0.1198)}$$

b. 接種適期推定モデルの作成

半減期11.2日、接種に適した移行抗体価32倍、本県のS/P値と中和抗体価の関係式を半減期モデルに当てはめ、母豚のS/P値から子豚のワクチン接種適期（t）を推定するモデルを作成した。

$$t = 11.2 \times \log_2(\text{推定中和抗体価} \div 32)$$

2) 推定した農場毎接種適期について

a. 従来の接種日齢との比較

モデルから推定した農場毎の子豚の接種適期は、-36.0日~49.2日齢、平均は9.2日齢となった。推定接種適期の農場毎の分布は図1のとおりとなった。推定接種適期は、従来の接種日齢の中央値である50日齢と比較すると、全ての農場において早い日齢であった。また、接種適期が0日未満と推定された農場もあったが、これは、出生時の移行抗体価が32倍以下であったためであると考えられる。接種適期が30日以下と推定された農場については、豚熱ワクチンの用法を考慮し、30日齢を接種適期とした。

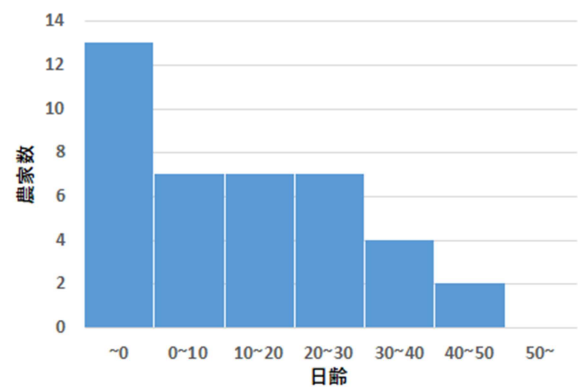


図1 管内農場の接種適期の分布

b. ワクチンテイク率と移行抗体による感染防御率の検証

従来の接種日齢の中央値である50日齢及び算出した接種適期におけるワクチンテイク率は図2のとおりとなった。50日齢におけるワクチンテイク率は95.4%、接種適期では90.6%であり、どちらも90%を超える結果となった。

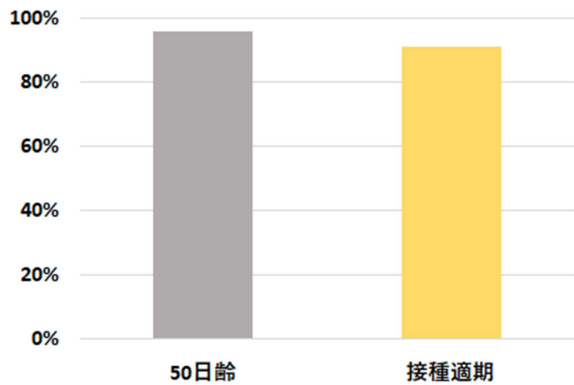


図2 50日齢及び接種適期におけるワクチンテイク率

50日齢及び接種適期における移行抗体による感染防御率は図3のとおりとなった。50日齢における移行抗体による感染防御率は23.2%であるのに対し、接種適期では40.7%であり、接種適期の方が17.5%高かった(t検定において有意差あり、 $p < 0.01$)。

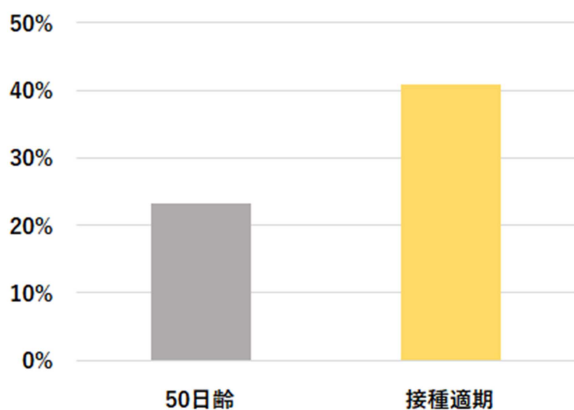


図3 50日齢及び接種適期における移行抗体による感染防御率

考 察

今回豚熱ワクチンの接種適期について整理し、接種適期推定モデルを作成することで、農場毎に接種適期を推定した。推定した接種適期における管内農場の平均ワクチンテイク率は90.6%、移行抗体による感染防御率は従来の接種日齢と比較して17.5%の改善が認められ、免疫空白期間の豚熱感染リスクを低減できたと考えられる。

一方で、今回推定した接種適期でワクチン接種をしても、移行抗体による感染防御率は40.7%にとどまった。その原因の1つとして、母豚抗体価が低かったことが考えられる。豚

熱ワクチンの用法では1か月齢以上での接種が推奨されていることから、母豚抗体価が低く、接種適期が30日齢以下と推定された農場では30日齢を接種適期として感染防御率を算出したため、移行抗体による感染防御率は低く算出されたと考えられる。接種日齢30日であってもワクチン接種前に免疫空白期間が発生する可能性が大きいため、30日未満のワクチン接種における子豚の免疫応答について、調査、検討していく必要がある。

また、農場内の母豚抗体価のバラツキが大きいこと、接種適期推定に用いたサンプル数が少なかったことも感染防御率が低く算出された原因と考えられる。今後、母豚抗体価の調査のサンプル数を増やし、農場内の母豚抗体価の分布を継続してモニタリングしていく必要がある。抗体価が上がらない母豚については、早期更新することも1つの対策であると考えられる。今回の接種適期の推定において、特定の系統の母豚で抗体価が低いという傾向も見られたため、その系統に着目した調査も実施する必要がある。いずれにせよ豚熱を発生させないためには、農場内に豚熱ウイルスを侵入させないことが前提となるため、これらの対策と並行し、農場に対して飼養衛生管理の徹底を指導していくことも重要である。

今回、接種適期の検討を行い、管内の9割以上の農場で接種日齢を30~45日に早めることとなった。接種日齢を早めたことが、免疫付与状況調査におけるELISA陽性率に影響を与えると予想されるため、ワクチン接種から採血までの期間の再検討やより正確な免疫付与状況を把握するための中和試験の併用が必要であると考えられる。

今後も最新の豚熱ワクチンの接種に関する情報を収集していくと同時に、免疫付与状況確認検査を継続して実施し、適切なワクチン接種方法について都度見直していく。

参考文献

- [1] 農林水産大臣公表：豚熱に関する特定家畜伝染病防疫指針、15-30 (2021)
- [2] 農林水産省 食料・農業・農村政策審議会 家畜衛生部会 第74回牛豚等疾病小委員会：資料1-2 飼養豚等への豚熱ワクチン接種後の免疫付与状況等について(案) (2021.3.25)

- [3] 社団法人 全国家畜畜産物衛生指導協会
社団法人 畜産技術協会:豚コレラ防疫史、
豚コレラ防疫史編集委員会、100-107、悠
書館、東京都（2009）

1 3 県内で分離された大腸菌の伝達性薬剤耐性遺伝子保有状況調査

中部家畜保健衛生所

○杉本 郁子

要 約

コリスチン (CL) 及びフルオロキノロン (FQ) 系抗菌薬について異菌種間で伝達可能なプラスミド性薬剤耐性遺伝子が報告され、水平伝播による薬剤耐性菌の増加が危惧されている。そこで、県内で分離された大腸菌の CL 及び FQ 系抗菌薬の薬剤耐性状況を確認するとともに伝達性 CL 耐性遺伝子及び FQ 耐性遺伝子の保有状況調査を実施した。

大腸菌は、①2018年～2020年に分離された健康家畜(乳牛、肉牛、豚、採卵鶏、肉用鶏)由来225株、②1998年～2021年に病性鑑定で分離された病畜(乳牛、肉牛、豚、肉用鶏)由来51株を用いた。CL耐性遺伝子保有状況調査として、寒天平板希釈法により薬剤感受性試験を行い、CL耐性遺伝子(*mcr-1*～*5*遺伝子)を標的としたPCRを実施したところ、CL耐性率は、①2.7%、②19.6%で、13/276株からCL耐性遺伝子(*mcr-1*、*mcr-5*遺伝子)が検出された。*mcr*遺伝子は2020年以降検出されず、CL飼料添加禁止によりCL耐性遺伝子の伝播リスクは低減したと推察された。FQ耐性遺伝子保有状況調査として、ナリジクス酸(NA)及びエンロフロキサシン(ERFX)又はシプロフロキサシン(CPFX)について薬剤感受性試験を実施し、ERFX又はCPFXに中間もしくは耐性を示した31株についてFQ耐性遺伝子(*qnrA*、*qnrB*、*qnrS*及び*qepA*遺伝子)を標的としたPCRを実施したところ、キノロン系抗菌薬の耐性率は豚及び肉用鶏で高く、全国調査と同様の傾向を示し、2018年以降9株から*qnrB*、*qnrS*遺伝子が検出された。検出された耐性遺伝子の分布をみると、畜種や地域的な偏りは認められず、県内に広く浸潤していると推察された。県内では特に豚でNA耐性率が高く、NA耐性株が新たにFQ耐性遺伝子を獲得し、耐性菌が増加することが危惧された。

はじめに

近年、ワンヘルスの概念が重要視されている。人、動物、環境は相互に関連しており、動物の薬剤耐性菌は畜産物などを介してヒトに感染する可能性がある。ヒトの医療分野ではコリスチン(CL)やフルオロキノロン(FQ)系抗菌薬などの薬剤耐性が問題となっている。CLは緑膿菌などの多剤耐性菌に対する治療薬として再注目されており、食品安全委員会の評価を踏まえ、農林水産省は2018年7月以降硫酸コリスチンの飼料添加を禁止した[8]。また、FQ系抗菌薬はヒト由来大腸菌で耐性菌が増加しており[17]、薬剤耐性アクションプランにおいても数値目標が設定されている[2]。

CLの薬剤耐性機構として、2015年に中国でプラスミド伝達性の*mcr-1*遺伝子が報告され[6]、現在までに*mcr-1*～*10*遺伝子が報告されている[4, 20]。

また、FQ系抗菌薬は、近年プラスミド伝達

性の*qnr*遺伝子や*qepA*遺伝子などが確認されている[7, 18]。キノロン耐性の機序には標的酵素(DNAジャイレース、トポイソメラーゼIV)の変異などが知られているが、*qnr*遺伝子がコードするQnrタンパク質は、キノロン系抗菌薬によるDNAジャイレース阻害を抑制すると報告されており[14]、*qepA*遺伝子がコードするQepAタンパク質はキノロン系抗菌薬を排出する機能に関与していると考えられている[18]。

このような状況においてプラスミド伝達性薬剤耐性遺伝子を保有する菌が存在することで、接合伝達により同一環境内にある様々な菌種間で水平伝播が起こり、薬剤耐性菌が増加することが危惧されている。国内においても、動物由来大腸菌からの*mcr*遺伝子の検出について複数の報告がある[3, 15]。また、鶏の大腸菌から*qnr*遺伝子、*aac(6')*-*Ib-cr*遺伝子及び*qepA*遺伝子が検出されたとの報告がある[1]。しかしながら、県内の薬剤耐性

遺伝子の浸潤状況は不明であった。そこで今回、県内で分離された大腸菌について CL 及び FQ 系抗菌薬の薬剤耐性状況及び耐性遺伝子の保有状況を明らかにするため、調査を実施した。

材料と方法

1) CL 耐性遺伝子保有状況調査

材料として、2018 年～2020 年に分離された健康家畜由来大腸菌 225 株（乳牛、肉牛、豚、採卵鶏、肉用鶏由来株各 45 株）及び 1998 年～2021 年に分離された病畜由来大腸菌 51 株（乳牛由来株 4 株、肉牛由来株 3 株、豚由来株 39 株、肉用鶏由来株 5 株）を用いた。

a. 薬剤感受性試験

薬剤感受性試験は臨床・検査標準協会（CLSI）に準拠した寒天平板希釈法を用いて CL の薬剤感受性を判定し、精度管理株として *Escherichia coli* ATCC 25922 を用いた。

b. CL 耐性遺伝子の検出

CL 耐性遺伝子の検出には、Rebelo らの方法 [11] に基づき *mcr-1*～*5* 遺伝子を検出する Multiplex PCR を実施した。-80℃ 保存していた大腸菌を普通寒天培地で一晚培養し、アルカリ boil 法にて DNA 抽出を行った。PCR 試薬は QIAGEN Multiplex PCR kit (QIAGEN) を用い、PCR 機器は Veriti 200 (Applied Biosystems) を使用し、95℃ 15 分の熱変性の後、94℃ 30 秒、58℃ 1 分 30 秒、72℃ 1 分の 3 ステップを 25 サイクル行い、さらに 72℃ 10 分の伸長反応を行った後、アガロースゲル電気泳動によりバンドを確認した。

2) FQ 耐性遺伝子保有状況調査

材料として、1) と同様に 2018 年～2020 年に分離された健康家畜由来大腸菌 225 株及び 1998 年～2021 年に分離された病畜由来大腸菌 51 株を用いた。

a. 薬剤感受性試験

薬剤感受性試験は CLSI に準拠した方法で実施し、健康家畜由来株には寒天平板希釈法を、病畜由来株には一濃度ディスク法を用いた。供試薬剤は、健康家畜由来株についてはナリジクス酸 (NA) 及びエンロフロキサシン (ERFX) を、病畜由来株については NA 及びシプロフロキサシン (CPF) とした。また精度管理株として *Escherichia coli* ATCC 25922 を用いた。

b. FQ 耐性遺伝子の検出

薬剤感受性試験の結果、FQ 系薬剤に中間もしくは耐性を示した 31 株に対して、Robicsek らの方法 [12] に基づき *qnrA*、*qnrB* 及び *qnrS* 遺伝子を検出する PCR を実施し、Yamane らの方法 [19] に基づき *qepA* 遺伝子を検出する PCR を実施した。*qnr* 遺伝子の検出について、DNA 抽出方法及び PCR 機器は 1) b. と同様ものを用い、PCR 試薬は KOD FX (東洋紡) を用い、反応条件は 94℃ 45 秒、53℃ 45 秒、68℃ 1 分の 3 ステップを 32 サイクル行った。*qepA* 遺伝子の検出については、DNA 抽出方法、PCR 試薬及び PCR 機器は前述と同様のものとし、反応条件は 96℃ 1 分の熱変性の後、96℃ 1 分、60℃ 1 分、68℃ 1 分の 3 ステップを 35 サイクル行い、さらに 68℃ 5 分の伸長反応を行った後、アガロースゲル電気泳動によりバンドを確認した。

成績

1) CL 耐性遺伝子保有状況調査

a. 薬剤感受性試験

各畜種における最小発育阻止濃度 (MIC) 範囲は、健康家畜由来株で乳牛：0.5–8 μ g/ml、肉牛：0.5–1 μ g/ml、豚：0.5–8 μ g/ml、採卵鶏：0.5–>512 μ g/ml、肉用鶏：0.5–8 μ g/ml、病畜由来株で乳牛：0.5–8 μ g/ml、肉牛：1 μ g/ml、豚：0.5–16 μ g/ml、肉用鶏：1–8 μ g/ml であった (図 1)。CLSI に規定されているブレイクポイント (BP) ≥ 4 μ g/ml (中等度耐性を含む) により薬剤感受性を判定した結果、耐性率は健康家畜由来株で 2.7% (乳牛：6.7%、肉牛：0.0%、豚：2.2%、採卵鶏：2.2%、肉用鶏：2.2%)、病畜由来株で 19.6% (乳牛：25%、肉牛：0.0%、豚：17.9%、肉用鶏：40%) であった。

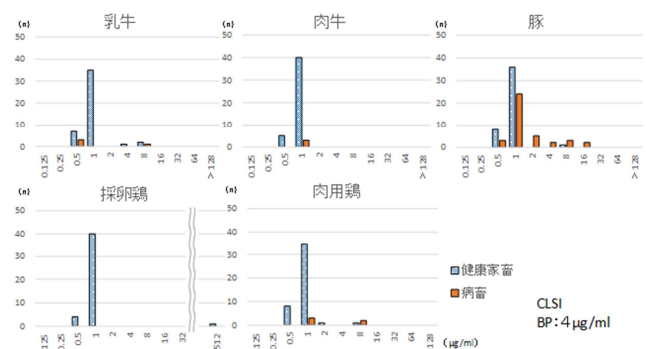


図 1 CL MIC 分布

b. CL 耐性遺伝子の検出

mcr-1 遺伝子が健康家畜及び病畜由来株 276 株のうち乳牛、豚、肉用鶏由来株の 12 株（11 農場）から検出されたが、2020 年以降は検出されなかった（表 1）。また、*mcr-5* 遺伝子が 2001 年に分離された乳牛由来株 1 株のみから検出されたが、*mcr-2*、*mcr-3* 及び *mcr-4* 遺伝子は検出されなかった。

表 1 *mcr-1* 遺伝子保有株数

	2012— 2017 (n=16)	2018 (n=83)	2019 (n=77)	2020 (n=79)	2021 (n=8)
乳牛	—	2	0	0	0
肉牛	0	0	0	0	0
豚	8	1	0	0	0
採卵鶏	—	0	0	0	0
肉用鶏	0	0	1	0	0

健康家畜由来 CL 耐性株のうち CL 耐性遺伝子の保有率は 66.7% で、病畜由来 CL 耐性株のうち CL 耐性遺伝子の保有率は 90.0% であった（図 2）。また、CL 耐性遺伝子保有株は全て耐性を示した。

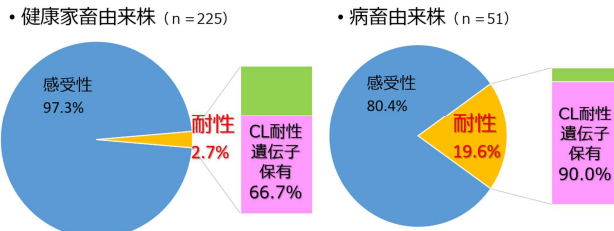


図 2 CL 耐性率と CL 耐性遺伝子保有率

2) FQ 耐性遺伝子保有状況調査

a. 薬剤感受性試験

健康家畜由来株における NA 耐性率は、乳牛：6.7%、肉牛：8.9%、豚：11.1%、採卵鶏：13.3%、肉用鶏：35.6% で、ERFX 耐性率は、乳牛：4.4%、肉牛：0.0%、豚：4.4%、採卵鶏：4.4%、肉用鶏：15.6% で、肉用鶏由来株でキノロン系薬剤の耐性率が高かった（図 3）。

病畜由来株における NA 耐性率は、乳牛：0.0%、肉牛：0.0%、豚：64.1%、肉用鶏：25.0% で、CPFX 耐性率は、乳牛：0.0%、肉

牛：0.0%、豚：28.2%、肉用鶏：0.0% で、豚由来株でキノロン系薬剤の耐性率が高かった。

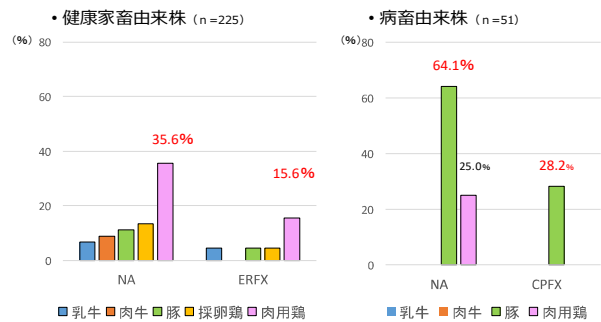


図 3 キノロン系薬剤耐性率

b. FQ 耐性遺伝子の検出

供試した 31 株のうち乳牛、豚及び採卵鶏由来株の 9 株（5 農場）から FQ 耐性遺伝子が検出された（表 2）。FQ 耐性遺伝子は 2018 年に初めて検出され、2021 年度まで検出された。FQ 耐性遺伝子は 9 株すべてで *qnrB* 遺伝子が検出され、1 株は *qnrB* 及び *qnrS* 遺伝子を保有していた。また *qnrA* 及び *qepA* 遺伝子は検出されなかった。キノロン系薬剤に対する薬剤感受性については、NA に対しては高度に耐性を示し、FQ 系薬剤に対しては中間から耐性を示した。

表 2 FQ 耐性遺伝子保有株

分離年	畜種	NA	FQ	FQ 耐性遺伝子
2018	採卵鶏	R	R	<i>qnrB</i>
	豚	R	I	<i>qnrB</i>
	豚	R	I	<i>qnrB</i>
2020	乳牛	R	R	<i>qnrB</i> 、 <i>qnrS</i>
	豚	R	R	<i>qnrB</i>
	豚	R	R	<i>qnrB</i>
2021	豚	R	I	<i>qnrB</i>
	豚	R	I	<i>qnrB</i>

R: 耐性、I: 中間

3) 伝達性薬剤耐性遺伝子の分布状況

県内の CL 及び FQ の伝達性薬剤耐性遺伝子の分布をみると、2017 年まで CL 耐性遺伝子のみが検出されており、県内の広範囲に分布していた（図 4）。

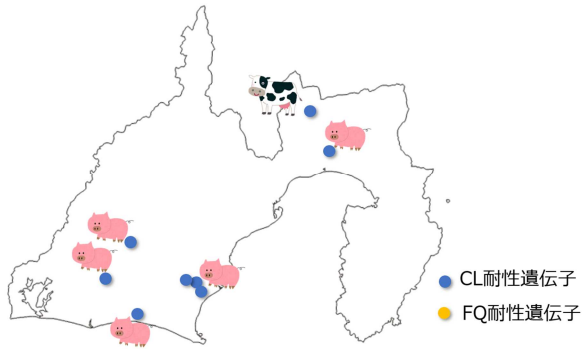


図4 2017年伝達性薬剤耐性遺伝子分布

2018年以降の伝達性薬剤耐性遺伝子の分布をみると、2019年までCL耐性遺伝子が検出されており、検出された農場は乳牛、豚及び肉用鶏飼養農場で、県内の広範囲に分布していた（図5）。また、FQ耐性遺伝子が2018年以降初めて検出され、検出された農場は乳牛、豚及び採卵鶏飼養農場で、畜種に偏りはなく、CLと同様に県内に広く分布していた。

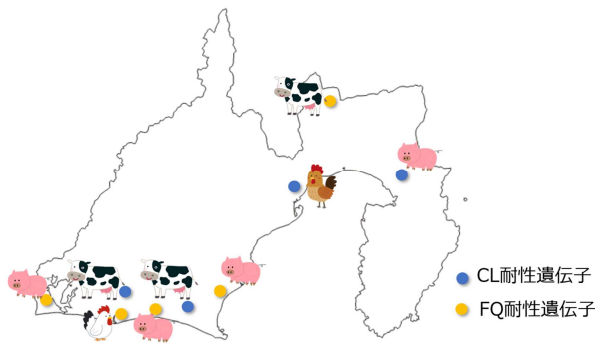


図5 2018年～伝達性薬剤耐性遺伝子分布

考 察

今回のCL耐性遺伝子保有状況調査の結果では、CL耐性遺伝子が13株から検出され、CL耐性株のCL耐性遺伝子保有率は健康家畜由来株で66.7%、病畜由来株で90.0%と非常に高いことがわかった。このことから、県内での大腸菌におけるCL耐性の獲得にはCL耐性遺伝子の保有が大きく関与していると考えられた。また、CL耐性遺伝子保有株は2001～2019年まで浸潤していたことが確認できたが、2020年以降は検出されなかった。UsuiらはCL耐性率とCL耐性遺伝子保有率はCL投与中止直後に減少したと報告している[16]ことから、県内でも2018年のCL飼料添加禁止により耐性菌が減少した可能性があると考えられた。以上のことから、CL耐性遺伝子

を潜在的に保有していることも考慮する必要はあるが、飼料添加禁止されたことによりCL耐性遺伝子の伝播リスクは低減したと考えられた。

次に、FQ耐性遺伝子保有状況調査の結果から、豚及び肉用鶏ではキノロン系薬剤の耐性率が高く、全国調査と同様の傾向を示していた[10]。また全国調査と比較しても豚ではNAの耐性率が非常に高いことが分かった。全国調査ではFQ系抗菌薬の販売量は豚及び肉用鶏で多く[9]、使用量に比例して耐性率が高くなったと考えられ、本県でも同様に耐性率が高くなったと推察された。今回調査した養豚場について病性鑑定時の治療歴を確認したところ、6/15戸でペニシリン系薬剤が、5/15戸でFQ系抗菌薬が治療として選択されており、FQ系抗菌薬はペニシリン系薬剤に次いで使用頻度が高かった。また、このうちNA耐性及びCPFX耐性を示した農場は8戸あり、4/8戸でFQ系抗菌薬が治療として選択されており、FQ耐性が確認された農場では他薬剤に比較してFQ系抗菌薬の使用頻度が高いことが関与している可能性が考えられた。次に、2018年以降*qnrB*及び*qnrS*遺伝子が9株から検出された。検出された耐性遺伝子の分布をみると、畜種や地域的な偏りは認められず、県内に広く浸潤していると考えられた。

*qnr*遺伝子を保有することでNAとCPFXのMICがそれぞれ2～8倍、8～32倍に上昇することや[14]、*qepA*遺伝子の保有によりエンロフロキサシン及びノルフロキサシンのMICが1～32倍に上昇すること[5]が報告されているが、MICの上昇に対する作用は低い。一般的にプラスミド伝達性FQ耐性遺伝子のみを保有しただけではFQ耐性菌となることはないとされる[14]。しかしながら、キノロン耐性遺伝子は互いに相加・相乗効果を持ち、DNAジャイレースやトポイソメラーゼIVの変異の程度に応じて耐性度が上昇したり、他の耐性遺伝子を獲得したりすることにより、さらに耐性度が上昇することが知られている[13]。以上のことから、県内でもNA耐性株が新たにFQ耐性遺伝子を獲得しやすい状況にあり、FQ系抗菌性物質の継続した使用により、さらなる耐性菌の増加が危惧される状況にあると考えられる。

参考文献

- [1] Kawanishi M, Ozawa M et al: J. vet. Med. Sci., 75, 1539-1542(2013)
- [2] 国際的に脅威となる感染症対策関係閣僚会議：薬剤耐性（AMR）対策アクションプラン 2016-2020
- [3] Kusumoto M, Ogura Y et al: Emerg. Infect. Dis., 22, 1315-1317(2016)
- [4] Ling Z, Yin W et al: J. Antimicrob. Chemother., 75, 3087-3095(2020)
- [5] Liu J-H, Deng Y-T et al: Antimicrob. Agents Chemother., 52, 2992-2993(2008)
- [6] Liu Y-Y, Wang Y et al: a microbiological and molecular biological study. Lancet Infect Dis., 16, 161-8(2016)
- [7] Martínez-Martínez L, Pascual A et al: Lancet, 351, 797-799(1998)
- [8] 農林水産省：飼料添加物「硫酸コリスチン」の指定取り消しについて
- [9] 農林水産省動物医薬品検査所：各種抗生物質・合成抗菌剤・駆虫剤・抗原虫剤の販売高と販売量、動物用医薬品、医薬部外品及び医療機器販売高年報（別冊）
- [10] 農林水産省動物医薬品検査所：平成 30 年度と畜場及び食鳥処理場における家畜由来細菌の薬剤耐性モニタリング結果
- [11] Rebelo AR, Bortolaia V et al: Euro Surveill., 23, 17-672(2018)
- [12] Robicsek A. et al: Antimicrob. Agents Chemother., 50, 2872-2874(2006)
- [13] 食品安全委員会 肥料・飼料等/微生物・ウイルス合同専門調査会（薬剤耐性菌に関するワーキンググループ）：鶏に使用するフルオロキノロン系抗菌性物質製剤に係る薬剤耐性菌に関する食品健康影響評価
- [14] Strahilevitz J, Jacby GA et al: Clin. Microbiol., 22, 664-689(2009)
- [15] Suzuki S, Ohnishi M et al: Lancet Infect Dis., 16, 284-5(2016)
- [16] Usui M, Nozawa Y et al: Int. J. Antimicrob. Agents, 24, 383-386(2021)
- [17] 薬剤耐性ワンヘルス動向調査検討会：薬剤耐性ワンヘルス動向調査年次報告書 2020
- [18] Yamane K, Wachino J et al: Antimicrob. Agents Chemother., 51, 3354-3360(2007)
- [19] Yamane K, Wachino J et al: Antimicrob. Agents Chemother., 52, 1564-1566(2008)
- [20] Wang C, Feng Y et al: Emerg. Microbes. Infect., 9, 508-16(2020)

1 4 介護用見守りセンサを活用したウシ分娩監視システムの開発

畜産技術研究所酪農科
○小熊 亜津子

要 約

近年、酪農経営において生産基盤強化を図るためには、作業効率の改善やコスト削減に基づいた一定の規模拡大が必要であると言われている。しかし、大規模化が進行する一方で、酪農は、他畜種や製造業に比べ労働時間が長く、担い手の高齢化や後継者不足に直面しており、労働時間の削減、労働力の確保が喫緊の課題となっている。

特に分娩は、介助の遅れが母子の生存やその後の母牛の生産性に大きく影響するため、生産者は、夜間であっても分娩を監視するなど大きな労働負担を強いられている。そのため、分娩監視にかかる負担軽減につながる正確な分娩予測技術の開発が期待されている。

そこで、人用に開発されている介護用見守りシステム（圧検知センサ）を活用し、検知方法として深層学習の手法の一つである畳み込みニューラルネットワーク（以下、CNN）を取り入れた牛に非拘束・非侵襲の分娩検知システムの開発を試みた。

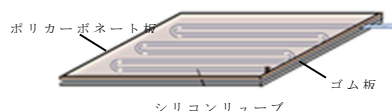
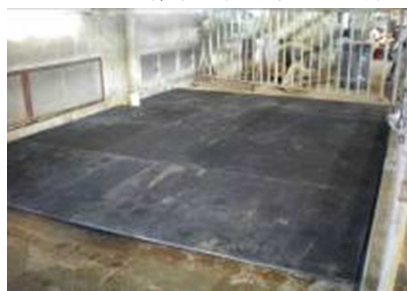
はじめに

近年、酪農の現場では大規模化に対応するため、スマート技術の導入等による低コスト化、労働力削減に向けた取組が加速している。

しかし、分娩に関しては、多頭化により、農場当たりの分娩回数が増加、分娩房や観察時間を確保するのが困難な状況に加え、牛体の大型化により難産リスクは高まる一方で、分娩予測技術の開発は進んでいない。

そこで、人用に開発された介護用見守りセンサを活用し、牛に非拘束・非侵襲の分娩監視システムの開発を試みた。

時に特徴的な“いきみ”か、“それ以外の動作”であるかを獣医師3名で照合した。



材料と方法

1) 分娩検知プログラムの確立

a. 材料

2017年1月から2020年10月に当所で飼養したホルスタイン雌牛延べ56頭を供した。

b. 試験方法

分娩房の牛床マット下に、介護用見守りセンサと同様の構造となるよう、ポリカーボネート板とゴム板の間に圧を検知するシリコンチューブを挟み込む圧検知センサ（図1、以下、センサマット）を設置し、圧波形データを取得した。同時に、上部から牛体全体を撮影可能である位置に赤外線カメラを設置、画像データを取得した。得られた圧波形データについて、画像データを確認しながら、分娩

共同研究機関である工業技術研究所富士工業技術支援センターでは、これら照合結果を動作ごとに分類し、40頭分の分娩データを使用して、CNNモデルの検証、最適化を行った。このCNNモデルを使用した分娩検知プログラムを構築し、モデル作成に使用していない16頭分の分娩データを用いて精度を検証した。

2) つなぎ飼い環境における分娩検知プログラムの適用

a. 材料

2020年3月から2020年12月に当所で飼養したホルスタイン雌牛8頭を供した。

図1 センサマット

b. 試験方法

塩化ビニル製シートとシリコンチューブが一体化したシート状の圧検知センサ（図2、以下、センサシート）を試作した。このセンサシートをストールの牛床マット下に設置し、この上で牛を分娩させ、分娩時の圧波形データ、画像データを取得し、分娩検知プログラムの確立と同様に獣医師3名による動作の照合作業を行った。

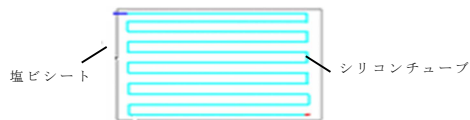


図2 センサシート

このセンサシートで取得した波形データに対し、センサマットにおける分娩データを基に確立した分娩検知プログラムが適用可能であるか検証した。

成績

1) 分娩検知プログラムの確立

分娩検知プログラムのセンサマット（分娩房）での適用結果を表1に示した。0.993と高い検知精度が得られ、全ての牛分娩データに対し検知可能であった。

表1 分娩検知プログラムの適用結果
(センサマット：分娩房)

牛番号	TP	FP	FN	牛番号	TP	FP	FN
No.1	6	0	0	No.9	21	0	0
No.2	7	0	0	No.10	3	0	1
No.3	9	0	0	No.11	3	0	1
No.4	7	0	0	No.12	8	0	15
No.5	3	0	4	No.13	13	0	0
No.6	5	0	0	No.14	10	0	1
No.7	2	0	0	No.15	8	1	2
No.8	23	0	0	No.16	8	0	1

TP: いきみを正しく検知 FP: いきみを誤検知

FN: いきみを失検知

検知精度(適合率) = $TP / (TP + FP) = 0.993$

2) つなぎ飼い環境における分娩検知プログラムの適用

分娩検知プログラムのセンサシートで得られたデータへの適用結果を表2に示した。0.976と高い検知精度が得られ、8頭全ての牛分娩データに対し検知可能であった。

表2 分娩検知プログラムの適用結果
(センサシート：つなぎ飼い)

牛番号	TP	FP	FN
No.1	4	0	3
No.2	13	0	3
No.3	4	0	0
No.4	12	1	1
No.5	15	1	0
No.6	10	0	0
No.7	9	0	13
No.8	16	0	0

TP: いきみを正しく検知 FP: いきみを誤検知

FN: いきみを失検知

検知精度(適合率) = $TP / (TP + FP) = 0.976$

考察

CNNを用いた分娩検知プログラムにより、分娩房及びつなぎ飼い環境の両方で、全ての分娩を検知でき、高い検知精度を得ることができた。また、センサ部位を軽量且つ丈夫なシート状に改良することで、センサマットに比べ、設置に要する労力や時間が大幅に削減され、飼養衛生管理上、重要とされる洗浄、消毒、乾燥を可能にした。

現在、商品化を目指し、開発した分娩検知プログラムによる陣痛検知をメールで飼育者へ報知する“分娩検知システム”を試作し、近隣酪農家において実証試験を行っている。

近年、牛体にウェアラブルセンサを装着し、体温や行動量の変化から分娩を検知するシステムが開発されている。しかし、今回開発したシステムは、牛に非拘束・非侵襲であることで、分娩監視にかかる労力低減に加え、センサ装着による牛へのストレス、生産者がセンサの装着や交換に要する作業の解消に貢献できるものと期待している。

15 フジキンカの交配方法変更による生産性の向上

畜産技術研究所中小家畜研究センター
○伊神 悠祐、寺田 圭

要 約

フジキンカは当センターで開発した金華豚とデュロック種の合成豚である。柔らかい肉質、風味の良い脂肪を持ち、一度食べれば違いが分かる最高品質の肉質を持つ。優れた肉質を持つ一方でロース芯等の赤身の産肉性が低く、市場への安定供給を行うためには発育も含め更なる生産性向上が求められている。本研究ではフジキンカの交配方法を変更することで生産性向上を図るため、新たな交配方法による肉豚(NF)の産肉性と肉質について従来のフジキンカ(F)と比較した。

調査の結果NFはFと同等の肉質を持つ一方、背脂肪が薄くなり、かつロース芯断面積が増加することで産肉性が向上した。また出荷日齢が短縮され生産性も向上した。試食会におけるアンケート調査からもNFの食味はFと同等以上であることが示唆された。新たな交配方法によりフジキンカの産肉性と生産性が向上することが示唆された。これにより更なる生産拡大と普及が期待される。

はじめに

フジキンカ(F)は、当センターで開発した合成豚であり、肉質の良い「金華豚」と、産肉性の高いデュロック種を1対7の血液割合で持つ種豚を交配して生産される[1, 2]。やわらかい肉質と風味の良い甘い脂肪を持ち、一度食べれば違いが分かる最高品質の肉質を特徴としている。フジキンカは県内の4つのグループで生産され、令和元年には約2千頭が出荷された。しかし銘柄豚として有名なトウキョウXでは年間約1万頭出荷されているなど、他の銘柄豚に比べ生産頭数が少なく、市場からの需要に対して十分な供給量を確保できていないのが現状である。生産拡大における課題としてはフジキンカ母豚の繁殖成績のバラつきが大きいことが挙げられる。これは母豚が一般的なF1母豚と比較して太りやすく管理が難しいことに起因している[5]。

そこで本研究では、フジキンカの交配方法を変更することにより生産性の向上を図ることを目的とした。金華豚とデュロック種の血液割合が1対3の種雄豚とデュロック種母豚を交配する方法に変更し、生産性の向上を図った(図1)。新たな交配方法による産子数を調査するとともに、生産した肉豚(NF)の発育性、産肉性、食味について従来のフジキンカ(F)と比較し評価を行った。

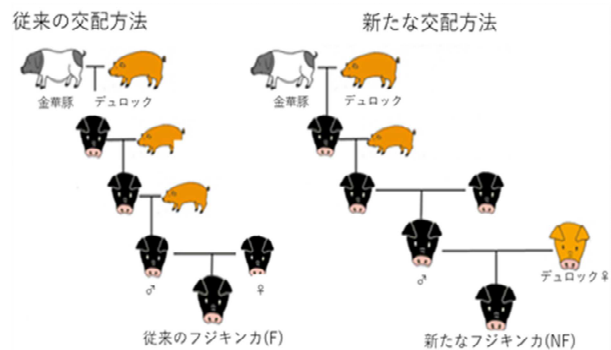


図1 フジキンカの新たな交配方法

材料と方法

1) 繁殖・発育調査

新たな交配方法による生産性を評価するため母豚の生存産子数および産子の出荷日齢を調査した。繁殖性の調査はFを生産する母豚27頭とNFを生産するデュロック種の母豚26頭を用いた。発育調査はFおよびNFを肉豚として肥育し105kgに到達した翌週に出荷した。

2) 産肉性調査

平成30年5月から令和2年6月までに出荷されたF111頭、NF85頭を用いた。両区は不断給餌、自由飲水により飼養した。産肉性について調査するため、超音波画像診断装置(本多電子HS-2200)を用い、出荷前日における背脂肪厚およびロース断面積を測定した。測定部位は、背脂肪厚測定において全身の脂

肪蓄積量と相関が強いとされる最後肋骨位の正中線から左右に6cm離れた点にあるP2部位とした。

3) 肉質検査

NF7頭、F22頭を用い、左側胸最長筋(最後肋骨から第4胸椎)及び同部位の背脂肪を肉質検査に供試した。同時に枝肉形質についても調査した。測定項目は枝肉重量、ロース断面積、背脂肪厚、クッキングロス、シェアバリュー、マーブリングスコア、筋肉内脂肪含量とした。

4) 食味に関するアンケート調査

NFとFの食味の比較を行うため、フジキンカ生産関係者を対象に試食会においてアンケート調査を行った(n=12)。調理法はしゃぶしゃぶとし、咀嚼回数および加熱時間は自由とした。本試験は官能評価試験の前段階としての位置づけで調査を行い、より実食に近い形式を想定した。アンケートの設問項目は図2のとおりとした。

新フジキンカ試食会 アンケート(試食会場)

該当する項目を○で囲んでください

1 性別 男性・女性
年齢 10代・20代・30代・40代・50代・60代以上

2 赤肉部分の食味について
Aが良い・Bが良い・どちらも変わらない

3 赤肉部分の柔らかさについて
Aが柔らかい・Bが柔らかい・どちらも変わらない

4 脂肪の風味、かおりについて
Aが良い・Bが良い・どちらも変わらない

5 赤肉・脂肪を含めた全体的な食味について
Aが良い・Bが良い・どちらも変わらない

その他、ご意見をお聞かせください。

ありがとうございました
静岡県中小家畜研究センター

図2 アンケート調査の回答用紙

成績

1) 繁殖・発育調査

試験区および対象区の生存産子数はそれぞれ8.3±2.2頭、8.3±3.6頭となり、両区に有意差は認められなかった(表1)。出荷日齢はNFとFでそれぞれ166.1±10.8日、178.7±15.2日となり、両区に有意差が認められた(表2)。

表1 産子数の比較

	n	産子数±SD(頭)
NF	26	8.3±2.2
F	27	8.3±3.6

表2 出荷日齢の比較

	n	出荷日齢±SD(日)
NF	85	166.1±10.8
F	111	178.7±15.2

(*P<0.01)

2) 産肉性調査

超音波画像診断装置による背脂肪厚およびロース断面積の測定では、背脂肪厚はNFとSでそれぞれ2.6±0.5cm、3.1±0.7cmとなり、両区に有意差が認められた。ロース断面積は30.4±4.0cm²、27.4±3.6cm²となり、両区に有意差が認められた(表3)。

表3 超音波測定による比較

	n	背脂肪±SD(cm)	ロース断面積±SD(cm ²)
NF	26	8.3±2.2	30.4±4.0
F	27	8.3±3.6	27.4±3.6

(*P<0.01)

3) 肉質検査

調査を行った項目のうち、ロース断面積、背脂肪厚、シェアバリューにおいてNFとFに有意差が認められた。背脂肪厚はNFとFでそれぞれ3.2±0.3cm、4.2±0.4cmであった。ロース断面積はそれぞれ22.4±1.5cm²、19.0±2.9cm²であった。シェアバリューはそれぞれ3.5±0.6kg/cm²、2.5±0.6kg/cm²であった。その他の調査項目に有意差は認められなかった(表4)。

表4 肉質検査による比較

n	枝肉重量(kg)	ロース断面積(cm ²)	背脂肪厚(cm)
NF 7	75.8±2.6	22.4±1.5	3.2±0.3
F 22	75.6±4.1	19.0±2.9	4.2±0.4

n	クッキングロス	シェアバリュー(kg/cm ³)
NF 7	26.0±2.3	3.5±0.6
F 22	26.3±2.1	2.5±0.6

n	マーブリングスコア	筋肉内脂肪含量(%)
NF 7	3.7±0.8	4.8±1.4
F 22	3.4±0.7	4.5±1.4

(*P<0.01)

4) 食味に関するアンケート調査

アンケート調査の結果、下記の結果が得られた(図3)。

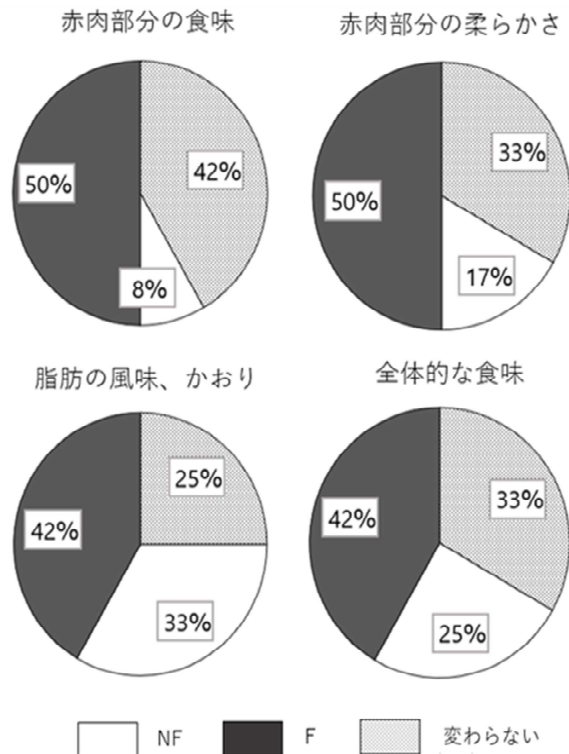


図3 食味アンケート調査結果

アンケート調査の結果、いずれの設問においても回答が分散され、Fが好ましいという回答が50%超になることはなかった。特に全体的な食味についてはFが好ましいとの回答が42%、NFが好ましいとの回答が25%、どちらも変わらないが33%となった。

考 察

フジキンカは金華豚とデュロック種の交雑種であり、特定の遺伝子のみを指標に選抜されるため、繁殖成績と産肉性のバラつき、厚脂の発生、飼養管理の難しさといった課題を抱えていた。本研究ではこれらの課題解決を目的として新たな交配方法を考案した。この交配方法を評価するため、NFとFの比較を行った。

繁殖成績についてはNFとF平均8.3頭となり、有意な差は得られなかった。NFの産子数の標準偏差(SD)は2.2頭であり、Fの産指数のSD3.6頭と比較して少なかった。Fは野外において不受胎を含む繁殖成績のばらつきが問題となっており、NFの生産方式により問題が改善すると考えられた。

超音波画像診断装置によって背脂肪厚およびロース断面積を測定したところ、NFはFに対して有意に背脂肪が薄くなり、ロース断面積が増加していることが明らかになった。肉豚を生産する際の交配方法を家系内交配からデュロック種との交配に変更したことにより、産肉性に優れたデュロック種の性質が肉豚世代により強く受け継がれた可能性が考えられた。また、出荷に要する日数についてはFに対して約12日短縮され、発育性の向上が見られた。この産肉性の改善および発育の向上により、出荷までのコストが削減されるとともに、新しい交配方法は肉豚の生産性向上に対して有効であることが示唆された。

新たな交配方法による産肉性の改善および発育の向上は肉質検査からも同様の傾向が認められた。新しい交配方法は肉豚の生産性が向上するが、Fの特徴の一つである肉の柔らかさを示すシェアバリューが有意に高い値を示した。Fは肉が柔らかくなる金華豚型のシェアバリューQTL(J型)をホモ(JJ)で持つことに対して、NFは金華豚型アレルとデュロック種型アレル(D型)をヘテロ(JD)で持つことが関係すると考えられる[3, 4]。

一方、今回行った食味に関するアンケート調査からは、脂肪の風味や赤肉の食味については食べ比べを行うと違いを感じる回答者もいたものの、全体的な食味については半数以上の回答者からNFの方が良好、またはNFはFと同等であるとの回答を得た。機器分析では両区に差が見られたが、実際に食して違いを比較した場合では両者に大きな違いは感じ

ない程度であると考えられた。引き続き官能評価試験を実施し、NFとFの食味について調査していく。

本研究において交配方法を変更することにより、肉豚生産時の母豚がデュロック種に変更され普及の課題の1つであった母豚の産子数のばらつきが改善された。

また、新たな交配方法によって作出された肉豚NFは厚脂が改善し、ロース断面積が増加することで産肉性が向上することが示唆された。一方で肉質検査において一部に有意差が見られたが、実際に豚肉を食した際にはFと同等以上の食味であることが示された。以上のことから新たな交配方法はこれまでの課題を解決し、フジキンカのさらなる生産拡大に寄与することが期待される。

参考文献

- [1] 堀内篤、知久幹夫、井手華子、金谷奈保恵、内田陽子、山口倫子、仲沢慶紀、林武司、美川智、栗田崇：静岡中小試研報、16、1-9 (2005)
- [2] 井手華子、柴田昌利、堀内篤、金谷奈保恵、林武司、栗田崇：静岡中小試研報、16、11-14 (2005)
- [3] 寒川彰久、寺田圭、柴田昌利：静岡畜技研報、7、25-27 (2014)
- [4] 寺田圭、山本千晶、柴田昌利：静岡畜技研報、10、19-22 (2017)
- [5] 山本千晶、寺田圭、梶原一洋、柴田昌利、静岡畜技研報、12、7-8 (2019)