

家畜衛生週報

ANIMAL HYGIENE WEEKLY

No.3871 農林水産省消費・安全局 畜水産安全管理課、動物衛生課 2025. 9. 29

・第65回全国家畜保健衛生業績発表会演題（徳島県）	289
・家畜衛生レポート（熊本県）	292
・家畜衛生レポート（愛媛県）	294

☆第65回全国家畜保健衛生業績発表会演題 （徳島県）

リアルタイムPCR（qPCR）迅速診断による乳房 炎検査法の検討

徳島家畜保健衛生所
下田真暉、鈴木幹一郎

1. はじめに

乳房炎の原因菌種は数多く、その診断には手間と時間を要する。特に黄色ブドウ球菌（SA）由来乳房炎は伝播しやすく難治性で農家への経済的損失が多大である。乳房炎の継続発生がある1酪農家（A農場）にて平成30年から令和4年にかけて、延530頭、1,364検体を検査し摘発・対策、指導を行ったが潜在性SAの清浄化に至らなかった。SA撲滅にはより簡便、迅速かつ高感度な検査法が求められ、その問題の解決に期待されるリアルタイムPCR（qPCR）法を導入した。しかし、SAの検出率が低い結果となった。SAの検出率を改善するために複数のDNA抽出方法等の検討を行った。一定の改善が見られたため、再度A農場の検体を用いて、乳房炎検査におけるqPCR法の効果を検証した。

2. 方法

（1）乳房炎検査における VetMAX MastiType

Multi Kit（Kit）（Thermo Fisher Scientific 社）の活用

A農場57頭の乳汁92検体（合乳45検体、分房乳47検体）を材料とし、従来の増菌培養法とKitを用いたqPCR法（Kit qPCR法）を比較した。増菌培養法は、8%NaCl加トリプトソーヤブイヨンで増菌培養（37℃、24時間）を行い、各種選択培地（羊血液寒天培地、食塩卵培地、酵素基質系培地）で分離培養（37℃、24時間）を実施した。判定は、コアグラゼ試験やN-IDテストSP-18（ニッスイ社）を用いた。Kit qPCR法は、PureLink Genomic DNA Kits（Thermo Fisher Scientific 社）を用いて乳汁検体からDNAを抽出し、Kit qPCR法を行い、結果を判定した。Kitは、SA等のグラム陽性菌、*Escherichia coli*等のグラム陰性菌、マイコプラズマ、酵母、藻類といった乳房炎の原因となる計16種類の病原微生物を同時に検出することが可能であった。

（2）乳汁内SAのDNA抽出方法について

- ①タンパク分解酵素の比較検討
- ②カラムと磁性体ビーズの比較検討
- ③乳汁サンプル脱脂の必要性確認

DNA抽出は、メーカーが推奨するカラムを用いた手抽出キット、もしくは磁性体ビーズを用い

た自動核酸精製装置（装置）（Promega社）で行った。タンパク分解酵素は、前者でリゾチームとリゾスタフィン、後者でプロテナーゼK（PK）とリゾスタフィンを比較した。①及び②は生乳を検体とし、③は装置でDNA抽出を実施した。

(3) 検討結果から最適と判断したDNA抽出法を用いた乳房炎検査の実施

A農場2頭の乳汁8検体を材料とした。PLテストを実施し、培養法とKit qPCR法を比較した。培養法は、乳汁を直接培地に塗布して培養する直接平板培養（37℃、24時間）と、(1)で行った増菌培養を実施した。Kit qPCR法は生乳を検体とした。

3. 結果

(1) 乳房炎検査におけるKitの活用

増菌培養法では14検体（9頭）、Kit qPCR法では1検体（1頭）がSA陽性となった。また、Kit qPCR法では22検体（13頭）が測定不可であった（図1）。Kit qPCR法では、SA以外に*Enterococcus* spp.が53検体（36頭）、*Staphylococcal β-lactamase gene*が3検体（3頭）、*Streptococcus dysgalactiae*が5検体（5頭）、*E. coli*が1検体（1頭）、*Staph* spp.が2検体（2頭）から検出された（図2）。Kitの活用により、乳房炎原因菌、潜在菌を幅広く検出できた。検査時間については、増菌培養法は72時間、Kit qPCR法は6時間。検査コストは、1検体あたり、増菌培養法では210円、Kit qPCR法では3,650円。本検査によるSAの検出数は、増菌培養法では14/96検体、Kit qPCR法では1/96検体であった（表1）。Kit qPCR法において、SA検出率が低い点、及び測定不可が22検体あった点が課題となった。

(2) 乳汁内SAのDNA抽出方法について

①タンパク分解酵素の比較検討

メーカー推奨キットでDNA抽出を行った場合、リゾチーム単独使用とリゾスタフィン併用に差異は認められなかった（表2）。装置でDNA抽出を行った場合、リゾスタフィンとPKを併用するよりもそれぞれを単独で使用した方が良く、単独使用では、リゾスタフィンはPKよりも核酸

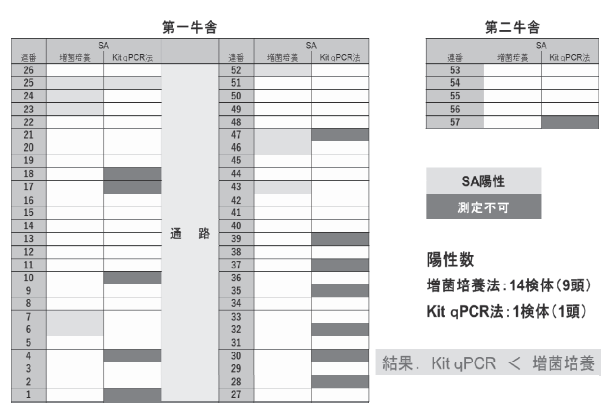


図1 増菌培養法とKit qPCR法によるSAの検査結果

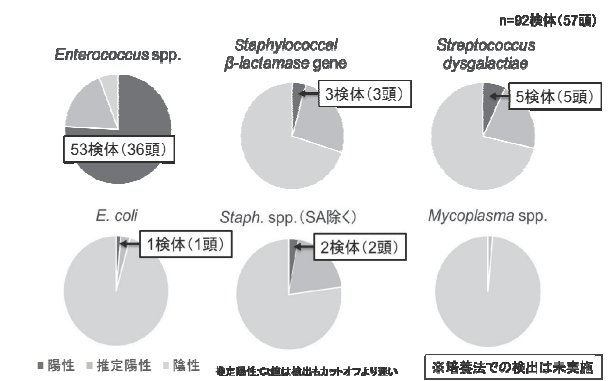


図2 Kit qPCR法によるSA以外の検出菌

表1 増菌培養法とKit qPCR法の比較

方法	検査時間	コスト/検体	SA検出数
増菌培養法	72時間	210円	14/96検体
Kit qPCR法	6時間	3,650円	1/96検体

抽出量において良好な成績を示した。（表3）。
②カラムと磁性体ビーズの比較検討
同一サンプルにおいて、メーカー推奨キットでは核酸を検出できなかったが、装置では核酸を検出した（表4）。

③乳汁サンプル脱脂の必要性確認

核酸の検出数は、脱脂乳より生乳の方が1検体多かった。Ct値は、脱脂乳より生乳の方が低値であった（表5）。

(3) 検討結果から最適と判断したDNA抽出法を用いた乳房炎検査の実施

培養法では直接平板培養、増菌培養ともにSA

表2 メーカー推奨キットでDNAを抽出した場合のタンパク分解酵素の比較検討

サンプル番号	内容	cPCR	SA qPCR	DNA量(ng/μl)	直接平板培養 (CFU/ml)	増菌培養
1	リゾチーム+リゾスタフィン	+	27.535×6.E-06	測定未実施	300	+
	リゾチーム	+	24.605×6.E-05	測定未実施	300	+
3	リゾチーム+リゾスタフィン	—	nd	0.186	<10 ²	+
	リゾチーム	—	nd	0.286	<10 ²	+

表3 装置でDNAを抽出した場合のタンパク分解酵素の比較検討

サンプル番号	内容	反応温度	cPCR	SA qPCR
3	PK	56℃ 20min	—	34.3165×2.E-08
	リゾスタフィン+PK	56℃ 20min	—	nd
	リゾスタフィン	37℃ 30min	—	24.613×4.E-05
	リゾスタフィン+PK	37℃ 30minの後PK添加後56℃ 20min	—	nd

表4 カラムと磁性体ビーズの比較検討

サンプル番号	抽出法	cPCR	SA qPCR	直接平板培養法 (CFU/ml)	増菌培養
3	手抽出(カラム)	—	nd	<10 ²	+
	装置(磁性体ビーズ)	—	24.613×4.E-05	<10 ²	+

表5 乳汁サンプル脱脂の有無の比較と必要性確認

サンプル番号	生乳 Ct値	脱脂乳 Ct値
7	32.566	36.809
11	35.535	nd

表6 改良後のDNA抽出法を用いた乳房炎検査結果

牛番号	SA 罹患歴	乳房	PLテスト		培養法					Kit qPCR法(SA)		Kit qPCR法(SA以外)		
			色調	凝集	直接平板培養(CFU/ml)			増菌培養 (SAの有無)	分離菌	判定	Ct値	判定	Ct値	菌名
					DHL	羊血液 寒天培地	SEY							
1	なし	右前	±	—	<20	2,800	3,200	—	S.warneri A	—	nd	±*	37.72	Staphylococcal β-lactamase gene
		左前	±	++	<20	200	20	—	Stapylococcus spp.	—	nd	±*	37.86	E. coli
		右後	±	—	<20	1,600	200	—	Aerococcus viridans 2	—	nd	—	nd	
		左後	±	—	<20	2,400	20	—	Aerococcus viridans 3 Stapylococcus spp.	—	nd	±*	38.73	Staphylococcal β-lactamase gene
2	あり	右前	+	+	<20	2,780	<20	—	Stapylococcus spp.	—	nd	—	nd	
		左前	++	+++	<20	<20	<20	—		+	36.66	+	33.67	E. coli
		右後	±	—	<20	<20	200	—		—	nd	±*	38.84	E. coli
		左後	++	+++	<20	<20	<20	—		—	nd	—	nd	

*:推定陽性

は未分離、Kit qPCR法では8検体中1検体からSAを検出した(表6)。また、本検査でのKit qPCR法では、測定不可の検体はなく、判定までの検査時間は3時間であった。

4. まとめおよび考察

Kitは、細菌培養及び菌種の同定に関する経験の有無に関わらず、簡便に乳房炎検査が実施でき、即日結果の回答が可能である。また、幅広く原因菌、潜在菌を検出でき、当該菌の菌分離、薬剤感受性試験の一助になると推察する。Kitの活用により、治療や搾乳順序の入替え、繋ぎ替え等の乳房炎対策指導が迅速に実施できると考えられる。

抽出方法の検討では、SAの検出率においてタンパク分解酵素による差異はなく、DNA抽出法はカラムを用いた手抽出のメーカー推奨キットよりも、磁性体ビーズを用いた装置の方が良好な結果だった。作業時間については、手抽出が約6時間、装置が約3時間と装置利用により3時間短縮された。また、装置を使用した場合、サンプルの脱脂の必要性はなかった。抽出方法を改善した結果、Kit qPCR法は抽出時間に変化なく、増菌培養法よりも高感度になり、測定不可の検体なくなった。

結論として、装置によるDNA抽出後に行うKit qPCR法が、乳房炎検査として簡便、迅速かつ高感度な検査法と考える。今後は、乳汁中の体細胞数が多い酪農家を中心にバルク乳や合乳で検査を実施し、乳房炎の早期対策に繋げる予定である。

稿を終えるに当たり、ご指導いただいた国立研究開発法人 動物衛生研究部門の秦英司先生ならびに Thermo Fisher Scientific 社の皆様、検査に協力頂いた関係諸氏に深謝する。

☆家畜衛生レポート(熊本県より)

熊本県城北家畜保健衛生所

1 熊本県の概要

本県は九州のほぼ中央に位置し、北は福岡県、東は大分県と宮崎県、南は鹿児島県に接し、西は有明海と八代海に面しています。県内には多くの一級河川が流れ、豊富な地下水と草資源にも恵まれ、変化に富んだ地形を活かして、多種多様な農産物を生産

できる農業立地条件を有しています。畜産においては、乳用牛約45,000頭、肉用牛約13万頭、豚約34万頭、肉用鶏約380万羽に加え、農用馬や蜜蜂も数多く飼養される全国でも有数の畜産県であり(表1)、さらには褐毛和種熊本系(くまもとあか牛)(図1)や日本最大級の地鶏である天草大王(図2)といった本県独自の品種の維持・造成が行われており、多様性にも富んだ経営が展開されています。

2 城北家畜保健衛生所の概要

本県は5つの家畜保健衛生所(以下、家保)を有し、このうち城北家保は県北部の5市2郡(6町)からなる県下最大の畜産地帯を管轄しています。管内の各畜種の飼養頭羽数は対県比で40~60%を占め(表1)、特に東部に位置する菊池地域に飼養が集中しています。本県では昨年度に全ての家保の施設整備を完了したところですが、城北家保は同敷地内での建て替えにより令和元年9月に新庁舎が竣工しま



図1 あか牛とくまモン部長



図2 原種天草大王

表1 県内及び城北家保管内における各畜種の飼養戸数・頭数

県	乳用牛		肉用牛		豚		採卵鶏		肉用鶏		馬	
	戸	頭	戸	頭	戸	頭	戸	千羽	戸	千羽	戸	頭
県	471	44,899	2,047	133,390	150	343,347	82	2,493	80	3,815	83	3,947
管内	245	24,517	452	50,369	69	179,375	31	1,593	21	1,451	14	1,176
対県比	52%	55%	22%	38%	46%	52%	38%	64%	26%	38%	17%	30%

した。各家保ともに新施設では一般車両と畜産関係車両の出入口が分離されるとともに、事務を行う管理棟と検査業務等を行う衛生防疫棟及び解剖棟が明確に区分され、施設内の交差汚染防止が図られています。城北家保の組織体制としては衛生課と防疫課の2課体制で、所長を含む計12名の獣医師職員（うち4名は会計年度任用職員）及び一般事務、豚熱ワクチン受払い、その他補助等を行う会計年度任用職員各1名の計15名で業務を行っています。

3 城北家保の業務概要

(1) 主要事業の規模と概要

防疫対策事業については、家伝法第5条に基づくヨーネ病検査4,500頭、臨床立入検査は牛390戸、豚53戸、鶏66戸、特定家畜伝染病防疫指針に基づく豚熱ワクチン接種豚の免疫付与状況確認検査6,480頭、同じく鳥インフルエンザモニタリング検査は定点3農場360羽、強化10農場100羽、着地検査は馬3,000頭、豚180頭、サーベイランスはアルボウイルスのべ40頭、EBL850頭、PRRS400頭等の年間計画で業務を遂行しています。また、年間約400件の病性鑑定を行い、うち半数をEBL関連の検査が占める状況です。このように、最大の畜産地帯を擁する当家保は、他の家保に比べても防疫事業の比重が大きくなりますが、衛生対策事業において牛、馬の繁殖指導（図3）、広域放牧牛の衛生指導（図4）、EBL清浄化対策など、生産性の向上や食の安全・安心に関する業務にも可能な限り取り組んでいます。これらの農家との距離感が近い業務から得られる満足感は、特に若手職員のモチベーション向上につながるといった側面もあり、獣医師職員確保の観点からも継続すべきと思われます。

(2) 豚熱対策について

令和5年6～7月にかけて県下全域でワクチン接



図3 馬の繁殖指導



図4 広域放牧牛の衛生指導

種説明会が開催され、当家保も管内農家と関係者約70名を参集し、2回の説明会を行いました。この中で、家保単独で初回接種を速やかに完了し、その後の継続接種を適期に行うことは困難であることを説明し、登録飼養衛生管理者による接種への理解と協力を求めました。その後、速やかに各農場への立入検査を行い、認定要件に関する確認と指導を行いました。このような事前準備が功を奏し、8月の九州内での農場発生により九州全域がワクチン接種推奨地域に指定されたことを受けて開催した登録飼養衛生管理者研修会（図5）には、ほぼ全ての農場からの出席が得られ、管内の大半である68農場の認定と265名もの登録飼養衛生管理者の登録を行うことが



図5 登録飼養衛生管理者研修

できました。また、管内で豚の診察を行う臨床獣医師にも協力を呼びかけ、計17名の知事認定獣医師を確保しました。以上の取り組みにより、打ち手の確保という最重要課題を解決し、12月初旬に県下全域で初回接種を完了するに至りました。

先般、初回接種に係る免疫付与状況確認検査を完了し、今回構築したワクチン接種体制が十分に機能していることが確認されましたが、安堵する間もなく、令和6年6月に九州で初めて野生いのししでの豚熱の感染が確認されました。このプレスリリース直後には農場全戸に電話連絡し、異状の有無の確認と注意喚起を行い、翌日には地域緊急防疫対策会議を開催し、関係者と危機意識の共有を図ったところです。このように予断を許さない状況が続いていますが、農家及び関係機関と緊密に連携しながら侵入防止対策のさらなる徹底を図っていきます。

(3) 高病原性鳥インフルエンザ対策について

本県では平成26、28年度及び令和3年度の計3回、高病原性鳥インフルエンザ（以下、HPAI）が発生しましたが、関係者の尽力によりいずれも封じ込めによるまん延防止に成功しています。過去最悪の被害をもたらした令和4～5年シーズンにおいても、九州で唯一農場発生を防止することが出来ました。しかし、野鳥での発生は近年、毎年確認されており、全く予断を許さない状況が続いています。このような中、令和4年12月の管内での死亡野鳥におけるHPAI確認を受け、通常の防疫対策に加えてゴルフ場の廃棄ネットを活用した周辺農場の野生動物

侵入防止対策強化に取り組み、農場での発生を防ぐことができました。また、平時においては市町や県農業普及・振興課と連携し、農場周辺のため池対策や焼却施設への使用協力依頼など、多面的な取り組みを着実に進めているところです。今後も視野を広く保ち、農家の負担にも配慮しながら防疫対策の徹底を図っていきます。

4 おわりに

家保業務の遂行には、農家や関係機関と良好な関係性を築くことが何よりも重要と思われます。今後も新しい知識と技術を採り入れながら農家等の指導にあたり、頼られる存在として家畜衛生の向上と畜産振興に貢献していく所存です。

家畜衛生レポート（愛媛県より）

愛媛県東予家畜保健衛生所

はじめに

愛媛県は四国の北西部に位置し、「瀬戸内しまなみ海道」ルート周辺から東に広がる東予地域、県庁所在地である松山市を含む中予地域、日本一細長い佐田岬半島から南の南予地域と、愛媛県の旧国名「伊予」の予を付けた3つの地域に分けられます。

県境部のほとんどは高知県に接しており、西日本最高峰である石鎚山（1,982m）を含む四国山地がそびえています。

面積は全国26位（5,676km²）ですが、南予地域の沿岸部はリアス式海岸で島しょ部も多く、海岸線の長さは全国5位となっており、南予地域や島しょ部では農林水産業が盛んで、柑橘類、キウイフルーツ、養殖真鯛、ハマチや真珠母貝の生産が日本一です。

また、今治市には日本で初めて海峡を横断できる自転車道「しまなみ海道サイクリングロード」が整備されており、世界中のサイクリストが集う大会も開催されるなど自転車文化の推進にも力を入れています。

東予家畜保健衛生所の概要

当所は西条市に設置されており、愛媛県の東予地域4市1町（四国中央市、新居浜市、西条市、今治

市、越智郡上島町)を管轄し、その面積は島しょ部も含め1,614km²になります。

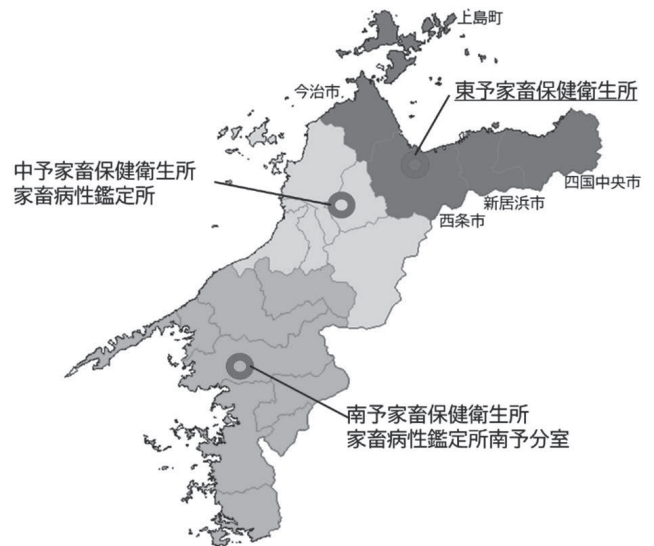
東予地域は県全体の75%の企業が立地し瀬戸内工業地域に属しており、製紙業、重工業、造船業、繊維業(今治タオル等)などの2次産業も盛んな地域です。

畜産については、肉用牛が21戸(1,788頭)、乳用牛が7戸(1,089頭)、豚が21戸(61,645頭)、採卵鶏18戸(961千羽)、ブロイラー4戸(102千羽)であり、豚の飼養頭数は県下の約29%、採卵鶏は約46%を占め、中小家畜が多く飼養されています。また、県内最大規模の乳牛、豚、採卵鶏の農場も当所管内にあります。

現在の庁舎は昭和45年、地域畜産の急激な発展に対応して、家畜衛生行政の広域化と家畜衛生技術の専門高度化を図るため、当時数か所にあった家畜保健衛生所を統合し、西条家畜保健衛生所(指導課、防疫課の2課体制)として移転したもので、建築から55年経過しています。その後、名称変更や農業改良普及組織の畜産部門の当所への移管を経て、令和7年4月に今治支所(1市1町)を統合し新たにグループ制を導入する組織再編により、現在は所長(獣医師)、指導課畜産振興グループ(課長以下6名、畜産職・農業職)、防疫課家畜防疫グループ(課長以下7名、獣医師)に会計年度任用職員1名を含め15名体制で業務を行なっています。

地域における家畜衛生対策の取組

令和3年度に高病原性鳥インフルエンザが発生したことから、本県では防疫対策マニュアル及び手順書を大幅に改正し、資材の備蓄等も進めました。また東予地方局管内での発生であったことから、実際に防疫作業に従事した関係者から指摘のあった課題について整理し、東予地方局独自の体制整備マニュアルを改正しています。その他、当所では伝染病発生に備えて毎年、防疫演習や研修会を開催しており、令和6年度は豚熱と高病原性鳥インフルエンザを対象に、研修会と実働演習をそれぞれ9月に開催しました。豚熱研修会では動画・豚模型による実演を行い、鳥インフルエンザでは、集合施設や消毒ポイントの設営・運営手順の確認を行いました。



東予家畜保健衛生所外観



模型を使った殺処分の実演(豚熱)



集合施設での演習風景(鳥インフルエンザ)

管内で発生した家畜伝染病における対応

令和6年11月に養豚場で豚熱が発生(94例目)し、全頭(61頭)殺処分後に隣接地に埋却処分を実施しました。

さらに12月には採卵鶏農場で高病原性鳥インフルエンザが発生(国内13、14例目)、最終的には疫学関連農場・隣接農場の合計4農場の殺処分鶏(約34万羽)と汚染物品(卵)を焼却しました。

発生前に開催した研修会や防疫演習を通じ関係者に手順を確認していただいたことで、初動防疫に迅速に取り組むことができました。

畜産振興に係る取組

本県では、赤身と脂肪のバランスを重視した「愛媛あかね和牛」、希少な中ヨークシャー種を活用した「愛媛甘とろ豚」、四元交配により歯ごたえと旨味を生み出した「媛っこ地鶏」の「愛媛3畜」を開発し、普及に取り組んでいます。そのうち愛媛あかね和牛では「愛媛あかね和牛産地化支援事業」により、遺伝的能力評価を活用した高品質な子牛生産支

援を行うとともに、牛肉の脂質改善にも取り組んでいます。

また畜産農家自らが実施する衛生対策(自衛防疫)に要する農家の負担を軽減するため、資機材に係る経費の一部を補助する事業も実施しています。

公務員獣医師の確保に向けた取組

公務員獣医師が慢性的に不足していることから、平成23年度から産業動物分野に従事する公務員獣医師の確保を目的として修学資金制度を創設しています。平成30年に今治市に開学した岡山理科大学獣医学部の卒業生を公務員獣医師として確保するため、県有施設や畜産農家での実習支援などを通じ、愛媛県への定着を働きかけるとともに、その他の獣医系大学についても就職説明会やインターンシップの受け入れを通して公務員獣医師の重要性や魅力を伝えています。

また、即戦力として従事できる獣医師免許所有者を対象とした「経験者枠」の採用試験を随時実施しています。

通信

昼間の暑さは残るものの、朝晩はだいぶ涼しくなり、秋を感じるようになってきましたが、北海道で渡り鳥の飛来が確認され、今年も高病原性鳥インフルエンザのシーズン入りしたところです。農林水産省の普段の会話の中でも今年の冬はどのようなことになるのかということが言葉のようにならされています。

本病については、今シーズン、現時点では、国内でのウイルスの感染事例は確認されていませんが、韓国や台湾ではすでに家きん農場での発生が確認されているとともに、アメリカやイギリスでも複数の発生が確認されるなど世界的な動向を見れば、我が国にもウイルスが野鳥等により持ち込まれることは避けられないものと考えられます。

業界内では、科学的根拠は不確かながら本病は隔

年で発生数が増減する傾向があり、今シーズンは少ないのではないかなどとの声も聞かれます。4月に公表した対策パッケージに基づく対応の具体化、その徹底等により、国内にウイルスが持ち込まれることがあっても、その声の実現が図られるよう努めていきます。

毎週月曜日発行

家 畜 衛 生 週 報

編集・発行：農林水産省消費・安全局

畜産安全管理課、動物衛生課

☎03(3502)8111 内線 4581

〒100-8950 東京都千代田区霞が関1-2-1