

平成29年3月16日

安全な農林水産物安定供給のためのレギュラトリーサイエンス研究委託事業
研究成果報告書

課題番号：2604

畜産農場における食中毒菌汚染低減に向けた野生動物の侵入防止策及び衛生
害虫まん延防止策の確立

研 究 期 間：平成26年度～平成28年度（3年間）

研 究 総 括 者 名：浅井 鉄夫

試験研究機関名：家畜衛生対策研究グループ

国立大学法人 岐阜大学

国立大学法人 東京農工大学

日本獣医生命科学大学

一般財団法人 生物科学安全研究所

1 研究目的

畜産への野生動物の侵入や衛生害虫の発生・増加は、飼育されている家畜にサルモネラ、カンピロバクター等の食中毒菌及び家畜への伝染病の原因となる家畜疾病病原体を伝播するリスクを高める要因と考えられている。野生動物及び衛生害虫から食中毒菌及び家畜疾病病原体が分離されることから、生産衛生管理ハンドブック、飼養衛生管理基準等により野生動物等からの病原体の感染防止を行うこととされ、畜産農場では野生動物の侵入防止及び衛生害虫の蔓延防止に取り組んでいる。しかし、衛生対策に要するコストや費用対効果などの経済性や、市街地から離れた地域に所在する畜産農場では、農場周囲に生息する野生動物も多様であることから、十分な効果が得られていない事例もある。

そこで、野生動物及び衛生害虫がどのような病原体をどの程度保有しているのか、また、実施している対策の効果に関する詳細データを入手し、畜産農家への野生動物の侵入防止及び衛生害虫の駆除の重要性を啓発する。また、得られたデータを基に野生動物及び昆虫のそれぞれ特性を考慮した具体的な侵入防止策及び衛生害虫蔓延防止策を確立するとともに、これらの対策を実施することで、食中毒菌だけでなく家畜伝染性疾病の原因病原体の農場への侵入及び農場内伝播が防止又はその頻度が低下することで、伝染性疾病の発生率が減少し、結果として収益向上につながる可能性をあることを示すデータを入手することを目的とする。

2 研究内容

(1) 研究課題

1) 中課題 1：野生動物及び衛生害虫の食中毒菌及び家畜疾病病原体の汚染源としての危険度の評価【岐阜大 浅井】

本研究では、農場の畜舎内外に生息する野生動物及び衛生害虫から食中毒菌及び家畜疾病病原体の検索を行う。さらに、農場周辺に生息する野生動物の病原体の保有状況と比較するため、山中で捕獲した野生動物の病原体の保有状況も調査する。

・小課題 1：農場周辺に生息する野生動物及び衛生害虫の食中毒菌の保有状況調査【岐阜大 浅井、研究協力；岐阜県家畜保健衛生所】

平成 26 年度：肉牛、豚、ブロイラーを飼育する調査協力農場敷地内の畜舎内外で捕獲した、ネズミの腸内容物及び畜舎内外で採取した野鳥の糞便ならびに衛生害虫から、サルモネラ、カンピロバクター及び腸管出血性大腸菌（STEC）の分離検査を行う。採材時に野生動物の侵入及び衛生害虫の蔓延の防止策の実施状況及び効果を聞き取り調査する。

平成 27 年度：前年度の調査で野生動物や衛生害虫等から食中毒菌が分離された農場を対象に、同様の採材を複数回実施し、各細菌の分離検査を実施する。採材時に野生動物の侵入及び衛生害虫の蔓延の防止策の実施状況及び効果をより詳細に聞き取り調査する。

平成 28 年度：平成 27 年度の調査で選定した農場で、野生動物や衛生害虫等の駆除対策を実施し、畜舎内外における野生動物や衛生害虫の捕獲・野鳥の侵入状況の調査、捕獲した野生動物等の糞便からの細菌分離検査を実施し、それら結果を踏まえて駆除対策効果を検証する。

・小課題 2：山中に生息する野生動物の食中毒菌の保有状況調査【岐阜大 浅井】

平成 26～27 年度【平成 26 年度のみに変更】：山中において捕獲したネズミ等の腸内容物と野鳥の糞便から、サルモネラ、カンピロバクター及び STEC の分離検査を実施する。

・小課題 3：肉牛及び豚農場周辺に生息する野生動物及び衛生害虫の家畜疾病病原体の保有状況調査【日獣大 青木】

平成 26 年度：中課題 1. の(1)及び(2)の調査において肉牛及び豚農場周辺で採取したサンプルを用いて、肉牛及び豚農場で慢性的に発生する重要な疾病（牛ウイルス性下痢ウイルス（BVDV）、牛コロナウイルス（BCoV）、豚繁殖・呼吸器障害症候群ウイルス（PRRSV）、豚サーコウイルス（PCV）など）の遺伝子増幅法による病原検査を実施する。陽性検体の検出遺伝子断片の塩基配列をもとに分子系統解析を行う。

平成 27 年度：中課題 1. の(1)で肉牛及び豚農場周辺で採取したサンプルを用いて、肉牛及び豚農場で慢性的に発生する重要な疾病（牛ウイルス性下痢ウイルス（BVDV）、豚繁殖・呼吸器障害症候群ウイルス（PRRSV）、豚サーコウイルス（PCV）、豚パルボウイルス（PPV）など）の遺伝子増幅法による病原検査を実施する。陽性検体の検出遺伝子断片の塩基配列をもとに分子系統解析を行う。平成 26 年度の結果と中課題 1. の（5）の検索で得られた結果を考慮して、必要に応じて病原検査対象種を新規追加又は削除を行うとともに、病原体の分離を試みる。

平成 28 年度：中課題 1.の小課題 1 で選定された農場で採取された新規検体における家畜疾病病原体の遺伝子増幅法による病原検査を継続する。特に、前年度までの調査結果を踏まえ、PCV2、PPV 及び BVDV を重点的に検査する。また、それらの病原ウイルスが検出された全ての検体について、ウイルス分離、詳細な疫学解析及び分子疫学解析を実施する。小課題 1 の細菌分離結果及び小課題 5 の網羅的 PCR の結果を比較し、各検査の特徴を整理する。

・小課題 4：ブロイラー農場周辺に生息する野生動物及び衛生害虫の家畜疾病病原体の保有状況調査【岐阜大 大屋】

平成 26 年度：中課題 1. の(1)及び(2)の調査においてブロイラー農場周辺で採取したサンプル（鶏、野鳥）を用いて、ニューカッスル病ウイルス（NDV）、伝染性ファブリキウス嚢病ウイルス（IBDV）、ヘルペスウイルス、クラミジアなど、鶏に感染する重要な病原体の遺伝子増幅法による病原検査を行う。陽性検体の検出遺伝子断片より分子系統解析を行う。必要に応じて病原体分離、抗原解析を行う。中課題 1.(1)と協力し、食中毒原因細菌の調査も行う。

平成 27 年度：ブロイラー農場周辺で採取したサンプル（鶏、野鳥）を用いて、ニューカッスル病ウイルス（NDV）、伝染性ファブリキウス嚢病ウイルス（IBDV）、ヘルペスウイルス、クラミジアなど、鶏に感染する重要な病原体の遺伝子増幅法による病原検査を行う。陽性検体の検出遺伝子断片より分子系統解析を行う。必要に応じて病原体分離、抗原解析を行う。平成 26 年度の結果と中課題 1. の（5）の検索で得られた結果を考慮して、必要に応じて検査項目を見直し、データを蓄積する。

平成 28 年度：ブロイラー農場周辺で採取したサンプル（鶏、野鳥）を用いて、伝染性ファブリキウス嚢病ウイルス（IBDV）、ヘルペスウイルス、クラミジアなど、鶏に感染する重要な病原体の遺伝子増幅法による病原検査を引き続き行う。また、豚農場周辺の野鳥よりブタクラミジアが検出されたことから、当該農場のクラミジア保有状況調査を行い、野鳥から検出されたクラミジアとの関係を考察する。

- ・小課題 5：農場周辺に生息する野生動物が保有する各種病原体のメタゲノム解析による検索【農工大 水谷】

平成 26 年度：中課題 1. の(1)及び(2)の調査で採取したネズミや野鳥のサンプルを網羅的にゲノム解析するとともに、入手次第でその他の野生動物のサンプルを同様に解析する。

平成 27 年度：中課題 1. の(1)及び(2)の調査で継続的に採材したサンプルと前年度未解析分のサンプルを前年度と同様に解析する。

平成 28 年度：網羅的検出システム（DEMBO-PCR、DEMPO-PCR）のブラッシュアップをおこないながら検体の解析をおこなう。ウイルスや細菌の分離に成功したものについては、次世代型シーケンサーを用いて全ゲノム塩基配列の決定を行う。

2) 中課題 2：農場周囲に生息する野生動物の防除法の確立【岐阜大 鈴木】

農場周辺には、山林や藪も多く野生動物の好適な生息環境となっている。そのため、農場への野生動物の侵入に伴う病原体の伝播という問題が強く懸念される。農場内に生息するネズミはドブネズミやクマネズミが主であるが、自然環境にはアカネズミ、ハタネズミなどが生息する。生息場所と深く関係するネズミの種類は、食料や病原体の保有状況に違いを生じていることが予想される。そこで、農場を中心とした環境に生息する野生げっ歯類の種類と食餌内容、さらに、食中毒菌の保有状況を調査し、ネズミ対策を実施するべき範囲を明らかにする。

また、地方都市の実習農場を保有する教育施設において予備実験として農場内に設置した自動撮影カメラでは、タヌキ、キツネ、イタチ、テン、アナグマ等の在来種のみならず、ハクビシンやアライグマ、ヌートリアなど外来種も撮影されている。農場内に各種野生動物が出現していることから、本研究では、野生動物の家畜衛生上の問題を明らかにし、それらの侵入防止策を確立することを目的とする。

- ・小課題 1：農場周囲に生息する野生げっ歯類の防除法の確立【岐阜大 森部】

平成 26 年度：野生ネズミの捕獲地点と農場間距離に基づき解析し、行動範囲と農場への侵入リスクを明らかにして、ネズミ対策の実施範囲を設定する。農場を中心に捕獲したネズミの種類の特定と、消化管内容物の食性解析ならびにサルモネラ、カンピロバクター、病原性大腸菌などの食中毒菌及び大腸菌の検出を行う。

平成 27 年度：26 年度の成果により、防除対策を検討する対象種が明らかになったことから、28 年度計画を前倒しして、防除策の有効性を検討する。農場内の営巣地や行動情報を明らかにし、営巣場所の撤去などの舎外ネズミ対策を実施して有効性を確認する。農場を中心とした成獣の捕獲（駆除）に取り組み、捕獲個体からの食中毒菌等の検査を行う。

平成 28 年度：27 年度の成果により、各種防鼠対策が一定の増加抑制に効果があることが確認できた。また自動撮影カメラを用いてネズミの出没状況を確認した上で効果的に防鼠対策を図る時期や場所を推定することができた。28 年度は、対策が不十分な畜舎を対象に防鼠対策を実施し、自動撮影カメラによる効果検証を行う。それらの結果を基に対策指針を作成する。

・小課題 2：農場周辺に生息する中型野生動物の行動様式と侵入防止策の検討【岐阜大 鈴木・浅野、研究協力；森元】

平成 26 年度：生態や行動・環境利用様式の解明を目的に、鈴木が在来種、浅野が外来種を中心に分担する。ただし外来種については、外来生物法の規制により放獣できないため、テレメトリー法は適用しない。農場内ならびにその周辺に複数の自動撮影装置を設置し、農地や畜舎における行動や環境利用の様式等を定量的に把握する。その上で罠による学術研究捕獲を行い、消化管内容物等を採取する。消化管内容物においては、食性解析ならびにサルモネラ、カンピロバクター、病原性大腸菌など食中毒関連細菌及び大腸菌の検出を行う。

平成 27 年度：「進捗状況・成果」に記したとおり、地方都市の実習農場を保有する教育施設（岐阜大学附属農場）においては、捕獲目的となる種ごとに適切な「罠がけ場所」を見出すことができた。そのため、27 年度の 4～5 月にかけて捕獲を実施し、消化管内容物や血液等の採取ならびにテレメトリー調査を実施する。さらに、小課題 1 の 26 年度研究により野生動物等から食中毒菌等が分離された農場等を対象に、岐阜大学附属農場と同様の研究（自動撮影カメラの設置と画像の解析ならびに捕獲による消化管内容物や血液等の採取）を計画・実施する。

平成 28 年度：岐阜大学農場においてはキツネの侵入に対する防除、鶏農場においてはイノシシの飼料タンクへの接触に対する防除を検討し、それらの効果を評価する。また、キツネ及びイノシシという獣種における特殊性を明確にし、他獣種においても応用可能なレベルでの「考え方」についてまとめる。

・小課題 3：家畜及び野生動物間の微生物伝播様式の検討【岐阜大 浅井】

平成 28 年度：前述の中課題 2. の(1)の(ア)及び(2)の(ア)の調査で得られた分離株

を用いて PFGE 等による分子疫学的解析により野生動物間の伝播と家畜保有株との関連を明らかにし、病原体の拡散リスクを推定する。

3) 中課題 3：農場に生息する衛生害虫の防除法の確立と経済効果【安全研 中村（平成 26 年度）、馬場（平成 27～28 年度）】

畜舎内に生息する衛生害虫として、ハエやガイマイゴミムシダマシなどがあげられる。ハエは病原体を機械的に媒介する代表的な衛生害虫である。その生態から主に糞便中に排泄される腸管感染症の病原体を機械的に伝播すると考えられるが、中腸内での細菌の定着が明らかにされ、広範な病原体の汚染源としてのリスクが注目されている。農場でのハエ対策に伴う食中毒菌及び家畜疾病病原体の保有状況への影響を明らかにするため、ブロイラー農場をモデルに検討する。

ハエとともに、ガイマイゴミムシダマシも同様に養鶏場などで鶏糞から発生する昆虫として知られている。ガイマイゴミムシダマシは、幼虫が鶏舎の断熱材に穿孔する被害も引き起こす一方で、鶏糞中での穿孔活動による鶏糞の乾燥促進やイエバエの卵や幼虫を捕食することにより、イエバエの発生を抑制するなど有益な側面も持ち合わせている。これまで、ハエとガイマイゴミムシダマシでは、殺虫剤感受性に違いがあり、ガイマイゴミムシダマシによる被害の程度により、殺虫剤の種類を選択することが提案されている。生産現場での衛生害虫への殺虫剤の使用状況と有効性を検討する。

- ・小課題 1：農場でのハエ対策による飼育動物における食中毒菌及び家畜疾病病原体の保有状況への影響【安全研 中村（平成 26 年度）、馬場（平成 27～28 年度）】

平成 26 年度：ブロイラー農場におけるサルモネラ及びカンピロバクターのベクターの解明を目的に、主としてハエを対象にサルモネラとカンピロバクターの保菌状況を検査し、農場におけるハエがベクターとなる伝播の関係を明らかにする。さらに、ブロイラーの育成成績とカンピロバクター及びサルモネラ汚染との関係を明らかにすることに重点を置いた試験を実施する。

平成 27 年度：試験対象を、26 年度にハエとソックススワブ（左右の長靴にそれぞれ長靴カバーを履き、それらの上に管状サポート包帯をはめて鶏舎内を歩き、盲腸便等を付着させたもの）からサルモネラやカンピロバクターが分離された農場に絞り込み、採取されたハエや糞便から分離された菌株の遺伝子型等を解析し、ハエのベクターとしての関与の詳細を明らかにする。また、協力農場と相談の上、試験的なハエ対策の実施を検討する。

平成 28 年度：酪農場のハエを薬剤、主に脱皮阻害剤（IGR 剤）でコントロールしながら、他の発生源を特定する。補助的に夏場に成虫対策を目的に殺虫剤を散布する。対策前のデータが少ないため、年度初めに対策前のデータを更に取得した上で、

対策後のデータ取得を行う。対策前後の比較として、ハエの数の変動、STEC の分離率、酪農経営、環境の一般的变化を比較する。また、乳房炎や子牛の下痢については、発生件数に加え、原因菌の特定も実施する。

・小課題 2：衛生害虫の駆除対策の構築【岐阜大 浅井】

平成 26 年度：農場におけるハエとガイマイゴミムシダマシ対策方法の実態調査するため、各種殺虫剤の使用状況、有効性、作業性及び経費等について、アンケート等による調査を行う。

平成 27 年度：平成 26 年度の結果を踏まえて、殺虫剤等によるハエとガイマイゴミムシダマシの防除対策を生産農場で実施し、それらの発生状況及び大腸菌症を指標に損害の発生状況を比較し、実現可能な害虫対策を構築する。損失（出荷時の死亡）に影響する温度モニターを実施する。

平成 28 年度：環境整備、IGR 剤、殺虫剤等によるハエの防除対策を生産農場で実施し、作業性、経費及び捕虫器による捕虫数を指標に、対策の効果を検証する。

4) 中課題 4：野生動物の侵入防止及び衛生害虫の駆除に関する経済分析【農工大 大松】

野生動物の侵入防止及び衛生害虫の駆除を確実に実施することにより、家畜伝染性疾病の原因病原体の農場への侵入及び農場内伝播が防止又は軽減され、伝染性疾病の発生率が減少し、収益向上につながると期待される。このため、中課題 1～3 での調査農場を対象として、売上や設備投資などの経営状況、家畜伝染性疾病的発生状況、及び野生動物や衛生害虫の発生状況などの土地特性等のデータを入手し、野生動物の侵入防止及び衛生害虫の駆除に係るコスト及び対策導入により得られる効果について経済学的に評価する。対策導入に伴う経営効果に関する具体的なデータを明らかにすることで、生産者の自発的な野生動物の侵入防止及び衛生害虫の駆除を促進する。

平成 26 年度：調査票の作成及び基礎情報の収集するため、衛生対策の経済効果を評価するために必要となる調査項目について精査し、調査票を作成する。衛生対策導入前の経営状態について、調査票を用いて情報収集を行う。

平成 27 年度：アンケート調査については、調査項目を絞り込んだ上で、養牛・養豚農家を中心に情報収集を継続して行う。また、衛生害虫等への対策に関する支出についても情報を取集し分析を行う。病原体検出状況と生産性の関連性については、協力農家に対してサルモネラ以外の病原性微生物の検出状況についても調査を依頼し、生産性に影響の大きな病原性微生物の特定を試みる。

平成 28 年度：収集したデータを用いて、感度分析など詳細な分析を進める。27 年度に認められた農場間の差について、食鳥検査成績に関する詳細な情報収集を行うとともに、飼養形態や立地条件、衛生害虫の発生状況などと合わせて分析を進める。

(2) 年次計画

項目	平成26年度	平成27年度	平成28年度
1. 野生動物及び衛生害虫の食中毒菌及び家畜疾病病原体の汚染源としての危険度の評価			
(1) 農場周辺に生息する野生動物及び衛生害虫の食中毒菌の保有状況調査	食中毒菌検査 (岐阜大学)		
(2) 山中に生息する野生動物の食中毒菌の保有状況調査	食中毒菌検査 (岐阜大学)		
(3) 肉牛及び豚農場周辺に生息する野生動物及び衛生害虫の家畜疾病病原体の保有状況調査	牛・豚病原体検査 (日本獣医生命科学大学)		
(4) ブロイラー農場周辺に生息する野生動物及び衛生害虫の家畜疾病病原体の保有状況調査	鶏病原体検査 (岐阜大学)		
(5) 農場周辺に生息する野生動物が保有する各種病原体のメタゲノム解析による検索	メタゲノム解析 (東京農工大学)		
2. 農場周囲に生息する野生動物の防除法の確立			
(1) 農場周囲に生息する野生げっ歯類の防除法の確立	ネズミ対策の確立 (岐阜大学)		
(2) 農場周辺に生息する野生小型動物の行動様式と侵入防止策の検討	野生動物対策の確立 (岐阜大学)		
(3) 家畜及び野生動物間の微生物伝播様式の検討	分子疫学解析 (岐阜大学)		
3. 農場に生息する衛生害虫の防除法の確立と経済効果			
(1) 農場でのハエ対策による飼育動物における食中毒菌及び家	食中毒菌と病原体検査 (安全研)		

畜疾病病原体の保有状況への影響			
(2) 衛生害虫の駆除対策の検討	害虫防除法の確立（岐阜大学）		
4. 野生動物の侵入防止及び衛生害虫の駆除に関する経済分析	経済効果の解析（東京農工大学）		
所要経費（合計）	11,000 千円	10,670 千円	10,250 千円

(3) 実施体制

項目	担当研究機関	研究担当者	エフォート (%)
研究総括者	岐阜大学	浅井 鉄夫	15
1. 野生動物及び衛生害虫の食中毒菌及び家畜疾病病原体の汚染源としての危険度の評価	岐阜大学	○ 浅井 鉄夫	前出
(1) 農場周辺に生息する野生動物及び衛生害虫の食中毒菌の保有状況調査	岐阜大学	△ 浅井 鉄夫	前出
(2) 山中に生息する野生動物の食中毒菌の保有状況調査	岐阜大学	△ 浅井 鉄夫	前出
(3) 肉牛及び豚農場周辺に生息する野生動物及び衛生害虫の家畜疾病病原体の保有状況調査	日本獣医生命科学大学	△ 青木 博史	10
(4) ブロイラー農場周辺に生息する野生動物及び衛生害虫の家畜疾病病原体の保有状況調査	岐阜大学	△ 大屋 賢司	15
(5) 農場周辺に生息する野生動物が保有する各種病原体のメタゲノム解析による検索	東京農工大学	△ 水谷 哲也	10
2. 農場周囲に生息する野生動物の防除法の確立	岐阜大	○ 鈴木 正嗣	15
(1) 農場周囲に生息する野生げっ歯類の防除法の確立	岐阜大	△ 森部 絢嗣	10
(2) 農場周辺に生息する野生小型動物の行動様式と侵入防止策の検討	岐阜大	△ 鈴木 正嗣	前出
(3) 家畜及び野生動物間の微生物伝播様式の検討	岐阜大学	△ 浅井 鉄夫	前出
3. 農場に生息する衛生害虫の防除法の確立と経済効果	生物科学安全研究所	○ 中村 政幸 (～27年3月) 馬場 幸太郎 (27年4月～)	10
(1) 農場でのハエ対策による飼育動物における食中毒菌及び家畜疾病病原体の保有状況への影響	生物科学安全研究所	△ 中村 政幸 (～27年3月) 馬場 幸太郎 (27年4月～)	前出
(2) 衛生害虫の駆除対策の構築	岐阜大学	△ 浅井 鉄夫	前出
4. 野生動物の侵入防止及び衛生害虫の駆除に関する経済分析	東京農工大	○ 大松 勉	10

3 研究推進会議の開催状況

別紙の(1)のとおり。

4 研究成果の概要

I 主要な成果

(1) 成果の内容（別紙の（2）参照）

1) 野生動物及び衛生害虫の食中毒菌及び家畜疾病病原体の汚染源としての危険度の評価

野生動物及び衛生害虫が食中毒菌や家畜疾病病原体を保有し、汚染源として重要な役割を果たすことが明らかとなった。特に、ネズミやハエは、飼育動物が保有する病原体を媒介し、農場内（畜舎内、畜舎間）のまん延・拡散に関与したことが示唆された（p27～28、p59～60、p66 下線部参照）。また、キツネや野鳥など自由生活する野生動物は、農場内の病原体を拡散させるとともに、病原体を農場に持ち込む危険性があることが示唆された（p27～29、p49 二重下線部参照）。このため、農場内の食中毒菌や家畜疾病病原体分布や野生動物・衛生害虫出現状況を把握して、動物種や病原体の特性に基づく衛生対策が必要である。

2) 農場周囲に生息する野生動物の防除法の確立

野生動物の侵入防止方法は野生動物の種類によって異なるため、それぞれの行動様式に基づいて策定した（p48～49 下線部参照）。また、「エサこぼし」を野生動物の出現要因として特定されたことから（p49 波線部参照）、農場に出没する野生動物は、環境整備を含め総合的に防除することが重要となる。具体的な防除方法については、別添 1 にまとめた。

3) 農場に生息する衛生害虫の防除法の確立と経済効果

農場に生息する衛生害虫は、発生場所の衛生管理と発生した成虫の捕獲を徹底することにより、ハエが減少することが明らかとなった（p65～67 下線部参照）。また、野生動物や衛生害虫の防除対策については、効果的な防除方法を提示することで、生産者が積極的に取り組むことが期待できることを示唆した（p66～67 二重下線部参照）。具体的な IGR 剤を用いたハエ防除方法については、別添 2 にまとめた。

4) 野生動物の侵入防止及び衛生害虫の駆除に関する経済分析

肉用鶏農場の解析により食中毒菌であるサルモネラ汚染（p74 下線部参照）と家畜疾病病原体である大腸菌症やマレック病の発生は、生産性の損失となることが示唆されたため、これらの発生に伴う損失を金額ベースで試算した（p75～77 下線部参照）。その他の畜種（乳牛）においても感染症の発生が農場の生産性（乳量）に影響を及ぼし（p77 二重下線部参照）、病原体を媒介する野生動物の侵入防止及び衛生害虫の駆除は、畜産業における生産性への向上に寄与する可能性を示唆した。

(2) 成果の活用（別紙の（2）参照）

1) 野生動物対策（別添1）を用いた農家指導

農場への飼養衛生管理基準の遵守を促進するため、野生動物侵入が確認された協力農場（P-D 農場）で現地検討会を実施した時に野生動物対策法に関する説明資料として使用した。今後は、野生動物の侵入が疑われた農場において、自動撮影カメラ等を利用して侵入動物を特定するとともに、具体的な対策指導に活用する。

2) IGR 剤を用いたハエ対策（別添2）を用いた農家指導。

ハエ対策を実施した農場で検査結果の報告会で説明した内容を取り纏めたもので、夏場にハエが大量発生する農場で、農場への飼養衛生管理基準の遵守を促進するために次年度以降の衛生指導する時に活用する。

II 各研究課題の成果

(1) 中課題1（野生動物及び衛生害虫の食中毒菌及び家畜疾病病原体の汚染源としての危険度の評価）の研究成果

1) 工程管理及び成果目標

工程表
① 農場の畜舎内外に生息する野生動物及び衛生害虫から食中毒菌及び家畜疾病病原体の検索と山中で捕獲した野生動物の病原体の保有状況との比較（小課題 1,2,3,4 及び 5 関連）（平成 26 年度）
↓
② 対策実施農場の選定と防除対策の検討及びメタゲノム解析を基に、検査項目の見直しを検討（小課題 1,3,4 及び 5 関連）。（平成 27 年度）
↓
③ 防除策の有効性の検討（小課題 1,3,4 及び 5 関連）。（平成 28 年度）
成果目標：農場周辺に生息する野生動物及び衛生害虫の食中毒菌及び家畜疾病病原体の保有状況を明らかにし、汚染源としての危険度を評価する。

表記上の明確化を図るため成果目標を見直した。なお、見直しにあたっては、平成 28 年度第 2 回研究推進会議（平成 28 年 12 月 7 日開催）で研究課題運営チームと合意済み。

2) 各工程の進捗状況及び成果

【工程表の①】

31 農場（牛 17 農場、豚 7 農場、鶏 7 農場）で野生動物及び衛生害虫を捕獲し、食中毒菌及び家畜疾病病原体の検索を実施（図 1 小課題 1, 3, 4 及び 5）。

- サルモネラが 3 農場（鶏 2 農場及び牛 1 農場）で捕獲したハエから分離された。STEC が牛 2 農場で捕獲したハエから分離された（図 2 小課題 1 26 年度）。
- 牛舎や豚舎のネズミの糞から牛ウイルス性下痢ウイルス（BVDV）、豚パルボウイルス（PPV）及び豚サーコウイルス 2 型（PCV2）の遺伝子が検出された。（図 3 小課題 3 26 年度）。特に、豚舎内で捕獲したネズミ糞便から検出された BVDV は、国内に古くから広く分布する BVDV-1a 亜型に分類されることが分子系統樹から判明した。このことから、ネズミの行動範囲内での牛の飼育状況を調査する必要がある（小課題 3 26 年度）。
- 豚舎内で捕獲したハエ、アブ及びネズミから検出された PCV2 は、分子疫学解析から豚農場との関連が認められ、これらが媒介することが示唆された。また、異なる農場で採取した株間での遺伝近縁性が示唆され（PCV2-1A）、地域内で流行する PCV2 の存在が示唆された（図 4-5 小課題 3 26 年度）。
- 農場周辺に生息するネズミ等から分離されたサルモネラおよび大腸菌（合計 6 株）に

について次世代型シーケンサーを用いたメタゲノム解析をおこなった。その結果、ひとつの菌株あたり 400 万以上のリード数が得られ、どの菌株についてもゲノムのほぼ全長の塩基配列を解読することに成功した。次世代型シーケンサーでは塩基配列の決定に限界のある領域（リピート配列など）については今後 PCR などを用いて補完する必要がある（図 6-7 小課題 5 26 年度）。

- 牛舎や豚舎のネズミの糞について、当センターが開発したウシ下痢症の原因病原体 20 種類（ウイルス、細菌、原虫）を同時に高感度で検出する方法（Dembo-PCR）を用いた解析により、BVDV や *Salmonella* Typhimurium が検出された（図 6-7 26 年度）。

山中（岐阜及び長野）で捕獲した小型げっ歯類 49 匹から食中毒菌の検索を実施（小課題 2）カンピロバクター、サルモネラ及び STEC は、山中で捕獲したネズミから分離されなかった（図 8 小課題 2 26 年度）。



畜舎に生息する衛生害虫（ハエ）及び野生動物（ネズミ）は食中毒菌と家畜疾病病原体を腸管に保菌もしくは付着しており、畜舎内および畜舎間の病原体の伝播に関与している可能性が明らかになった（26 年度）。

図 1

捕獲された衛生害虫およびネズミの検体数

	肉用牛		豚		肉用鶏		合計
	内	外	内	外	内	外	
ハエ ^a	17	11	7	5	2	4	46
アブ ^a	3	1	1	2		4	11
ガイマイゴミムシダマシ ^a					3	1	4
ネズミ	6 ^a		4		1	1	12 ^b

a 複数をつる

b クマネズミ 11、ハツカネズミ 1



写真：ガイマイゴミムシダマシ（農研機構 HP より）
体長 5～6 mm、穀類を食害する害虫だが、
鶏糞に大発生するとイエバエの天敵となるため、
生物学的防除に使われる。
一方、カンピロバクターを媒介するとの報告がある。

図 2

サルモネラ

農場	畜種	検体	血清型など
A	肉用鶏	ハエ(畜舎内)	<i>Salmonella enterica</i> subsp. <i>enterica</i> serovar Manhattan
B	肉用牛	ハエ(畜舎外)	<i>Salmonella enterica</i> subsp. <i>arizonae</i>
C	肉用鶏	ハエ(畜舎外)	<i>Salmonella enterica</i> subsp. <i>enterica</i> serovar Manhattan

志賀毒素産生性大腸菌(STEC)

農場	畜種	検体	血清型	stx1	stx2
B*	肉用牛	ハエ(畜舎外)	O157		+
D	肉用牛	ハエ(畜舎内)	不明	+	+

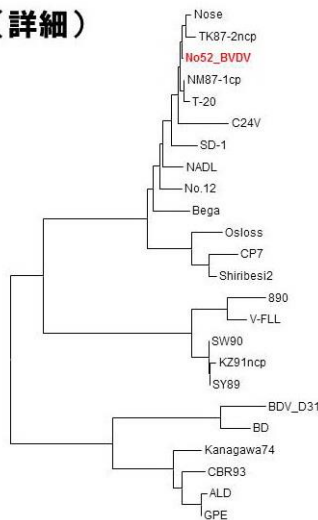
* 農場Dはサルモネラが分離された農場Bと同一

図 3

ネズミ糞便から検出された病原体遺伝子(詳細)

場所	畜種	月日	場所	病原体
農場RS-B-E	肉牛	7.25	舎内	PPV
農場RS-P-C	豚	9.18	舎内	PCV-2.1
農場RS-P-G	豚	9.19	舎内	PCV-2.1
				BVDV-1a

- 牛舎内ネズミから豚病原体
⇒ 近くで豚を飼育か？



Pestivirusの分子系統樹解析

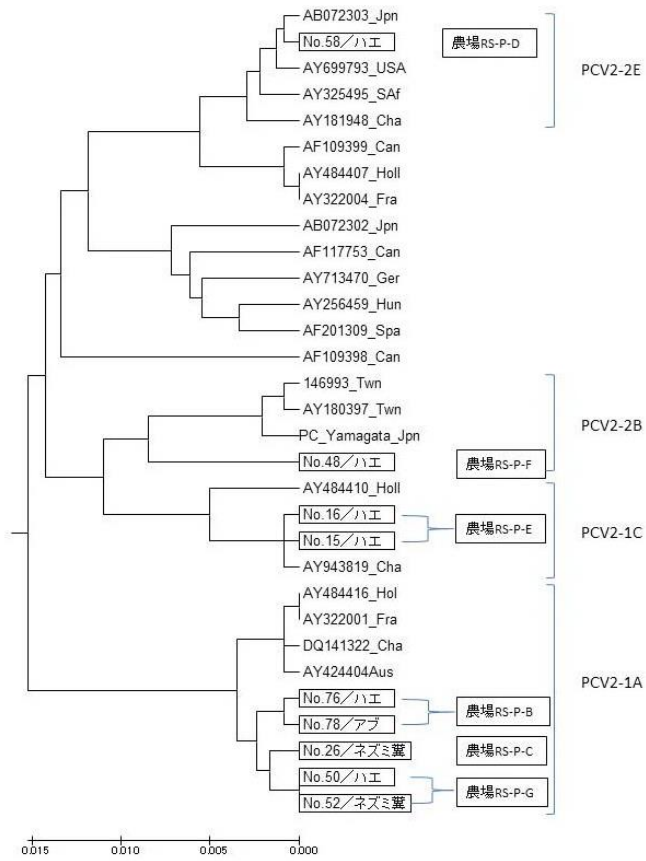
図 4

豚舎由来ネズミ糞便・昆虫からのPCV-2遺伝子検出

場所	採取日	検体番号	舎内外	検体種類	PCR増幅	遺伝子型
農場RS-P-B	11.4	76	内	ハエ	+	PCV-2.1A
		78	外	アブ	+	
		77	外	ハエ	-	
農場RS-P-C	9.18	26	内	ネズミ糞	+	PCV-2.1A
	9.18	27	内	ハエ	-	
	9.18	28	内	アブ	-	
農場RS-P-D	10.1	58	内	ハエ	+	PCV-2.2E
		59	内	ネズミ糞	-	
農場RS-P-E	8.25	15	内	ハエ	+++	PCV-2.1C
		16	外	ハエ	+	
農場RS-P-F	9.19	46	外	アブ	-	
		47	内	ハエ	-	
		48	内	ハエ	+	PCV-2.2B
		49	内	ネズミ糞	-	
農場RS-P-G	9.19	50	内	ハエ	++	PCV-2.1A
		52	内	ネズミ糞	++	
		51	外	ハエ	-	

- ほとんどが畜舎内
- 関連サンプルで検出される傾向

図 5



PCV-2の分子系統樹と分子疫学的解析

図 6

サンプル #25のリアルタイムPCR解析

Target	Ct	+
① BVDV	38.2	+
Borna disease virus		-
Coronavirus		-
Group A rotavirus		-
Group B rotavirus		-
Group C rotavirus		-
StxV		-
Mammalian coronavirus		-
SIV		-
SeMV-1		-
Adenovirus		-
S. Dublin		-
S. Enteritidis		-
② S. Typhimurium	34.1	+
Mycobacterium avium		-
subsp. paratuberculosis		-
Clostridium perfringens		-
Cryptosporidium parvum		-
Salmonella coli		-
S. aureus		-
S. bovis		-
③ ACTIN (GenA)	18.2	+
④ ACTIN (Qagen)	27.9	+
⑤ ACTIN (High pure)	31.2	+
ACTIN (Naga)		-



BVDV (+)

Salmonella Typhimurium (+)

- コンベンショナルPCRで検査項目に入れていなかったサルモネラ属菌を検出
- コンベンショナルRT-PCRで検出できなかったBVDVを検出

図 7

サンプル#52のリアルタイムPCR解析

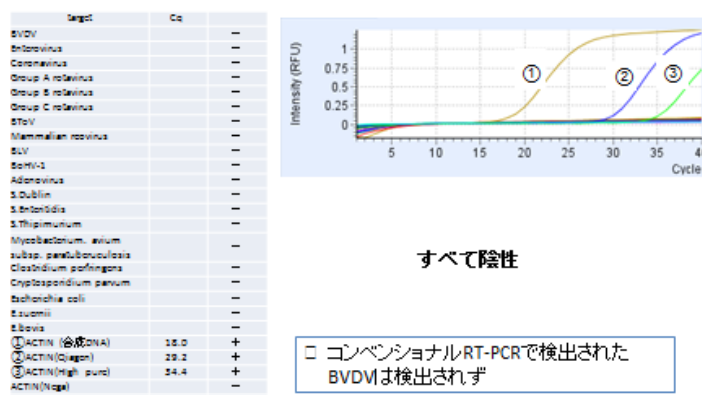


図 8：山中で捕獲された小型げっ歯類は、畜舎に生息するネズミ（クマネズミやドブネズミ）と種構成が異なる（中課題 2-1 参照）。

山中の小型げっ歯類からの食中毒菌の検索

県	採材日	検査頭数	種類(頭数)	陽性頭数		
				STEC	Salmonella	Campylobacter
長野	8/19～20	12	アカネズミ (10) ヒメズミ (2)	0	0	0
	9/19～20	21	ヒメネズミ (5) アカネズミ (4) トガリ (3) ヒメズミ (3) ハタネズミ (2) ヒメヒメズミ (2) アズミトガリ (1) ミズラモグラ (1)	0	0	0
岐阜	10/16	～	9	0	0	0
	10/17	～	9	0	0	0
長野	11/12	～	7	0	0	0
	11/14	～	7	0	0	0
計		49		0	0	0

【工程表②】

平成 26 年度の調査で食中毒菌や家畜疾病病原体遺伝子が検出された 5 農場と衛生対策を実施している 3 農場等を選定し、複数回（2～3 回）調査した。ネズミ、ハエ、アブ、ガイマイゴミムシダマシを昨年と同様に採取し、野生動物・野鳥の糞便等については、新鮮便を対象に検査した（図 9 小課題 1 27 年度）。

- 今年度の調査では、STEC は全ての検体から分離されなかったが、サルモネラとカンピロバクターは、衛生害虫、野生動物及び野鳥から分離され、この中で、野鳥の糞便からサルモネラやカンピロバクターが高率に分離された（図 10 小課題 1 27 年度）。
- 牛農場：平成 26 年 11 月、平成 27 年 5 月に *S. Typhimurium* によるサルモネラ症が発生した牛農場（B-L）で採材した野鳥の糞便から *S. Typhimurium*、*S. Infantis* 及び *C. jejuni* が分離された（小課題 1 図 10 27 年度）。その他の 2 農場では、いずれの材料からも食中毒菌は分離されなかった。B-L 農場では、設置した定点カメラにより、牛舎へのキツネ及びカラスの侵入が観察されたことから、ネットによる侵入防止を行っているため、継続的に定点カメラによる観察を行っている（図 11 小課題 1 27 年度）。
- 豚農場：野生動物が多く認められる豚農場(P-D)では、*Salmonella*(O4:i:-)がハエ、アブ、ネズミ（捕獲個体の腸内容物）、野鳥及び野生動物の糞便から分離され、*C. coli* がハエ、ネズミ（捕獲個体の腸内容物）及びネズミ（落下便）から分離され、*C. jejuni* が野鳥及び野生動物の糞便から分離された。その他の 2 農場では、いずれの材料からも食中毒菌は分離されなかった（図 13 小課題 1 27 年度）。
- 鶏農場：昨年度サルモネラ（*S. Manhattan*）が分離された C-B 農場では、食中毒菌は分離されなかった。C-F 農場では、昨年度と同じ血清型のサルモネラ（*S. Manhattan*）がハエから分離された（図 14 小課題 1 27 年度）。
- 選定された牛 3 農場及び豚 3 農場で採取された 116 検体のうち、豚農場由来のハエから豚サーコウイルス 2 型（PCV2）及びパルボウイルス（PPV）の遺伝子が増幅（一部精密検査中）された。また、豚舎周辺で採取された野鳥糞便から PPV 及び豚赤痢菌が、キツネ糞便から PPV の遺伝子が増幅された（一部精密検査中）。（図 15 小課題 2 27 年度）
- ハエから PCV2 が検出された農場は昨年度に続く検出であり、分子系統解析から遺伝的に非常に近縁であることが示され、農場内に PCV2 が維持されている可能性が疑われた。（図 16 小課題 2 27 年度）
- PPV が検出された検体（ハエ、野鳥、キツネ）は全て同一農場（P-D 農場）に由来し、増幅遺伝子の塩基配列は 100%一致した。野鳥及び野生動物による農場外からの侵入、ハエによる農場内の慢性汚染が疑われた。（図 17 小課題 2 27 年度）。
- PCV2 及び BVDV の遺伝子が検出された検体について、培養細胞を用いた活性ウイルス分離を試みたが、いずれも検出されなかった。ウイルス粒子数が少ないこと、検体処理や培養方法などの影響が考えられた（図 18 小課題 2 27 年度）
- 鶏農場に生息する衛生害虫・野鳥からは、調査対象とした鶏の病原体遺伝子は検出されなかった（小課題 3 平成 27 年度）。
- 豚農場で採材された野鳥から、ブタクラミジア（*Chlamydia suis*）遺伝子が検出された（図 19 小課題 3 平成 27 年度）。
- 牛舎や豚舎の周辺に生息する野生動物や昆虫類を対象に各種病原体を網羅的に検出で

きるリアルタイム PCR システム（ウシ用：DEMBO-PCR、ブタ用：DEMPO-PCR）を用いて解析した（図 20-21 小課題 4 平成 27 年度）。ハエ、アブ、ゴキブリ（卵）、ネズミ腸内容物および糞便、キツネ糞便、野鳥糞便（このなかには糞便の由来が不確かなものも含む）等について実施したところ、細菌ではサルモネラ・パスツレラ、ウイルスではヘルペスウイルス・A 群ロタウイルス・ブタ血球凝集性脳脊髄炎ウイルスが陽性となる結果を得た（図 22-24 小課題 4 平成 27 年度）。

↓

畜舎に生息するネズミの他、農場へ侵入する野鳥やキツネなどの野生動物や衛生害虫（ハエ、アブ）ごとに保有する病原体の傾向が認められ、それらの感染経路や定着性が関与することが示唆された（27 年度）。

図 9

平成27年度対象農場

◎対象農場：県内8農場(各家畜保健衛生所管内 2農場)

平成26年度に、本事業で食中毒菌や家畜疾病病原体遺伝子が検出された農場、その他疾病発生の対策を実施している農場等

畜種	農場	平成26年度の検査結果	その他の選定理由等
牛	B-E	PPV遺伝子検出(ネズミ)	
	B-M	未検出	過去に呼吸器病発生あり
	B-L	(調査対象外)	H26サルモネラ症発生
豚	P-B	PCV遺伝子検出(ハエ)	
	P-G	BVD遺伝子検出(ハエ)	
	P-D	未検出	周辺に野生動物が多い
鶏	C-B	S. Manhattan分離(ハエ)	
	C-F	S. Manhattan分離(ハエ)	

図 10

検査材料別の分離状況

検査材料	検体数	STEC	サルモネラ	カンピロバクター
ハエ	71	－	4 (5.6%)	7 (9.9%)
アブ	9	－	1 (11.1%)	－
ガイマイゴミ ムシダマシ	4	－	－	－
その他昆虫	4	－	－	－
ネズミ(糞便含む)	21	－	4 (19.0%)	3 (14.3%)
野鳥糞便	12	－	5 (41.7%)	3 (25.0%)
野生動物糞便	8	－	2 (25.0%)	1 (12.5%)
合計	129	0 (0%)	16 (12.4%)	14 (10.9%)

図 11

牛農場の食中毒菌分離結果

農場	採材 月	検査 材料	採取 場所	検体数	STEC	サルモネラ	カンピロ バクター
B-L	8月 10月	ハエ	畜舎内	1	－	－	－
		ハエ	畜舎外	1	－	－	－
		アブ	畜舎内	1	－	－	－
		アブ	畜舎外	1	－	－	－
		野鳥糞便	畜舎内	2	－	S.Typhimurium (2検体) S. Infantis(1検体)	C. Jejuni (1検体)
		野鳥糞便	畜舎外	2	－	－	－
		キツネ糞便	畜舎内	1	－	－	－
		キツネ糞便	畜舎外	1	－	－	－

★平成26年11月、平成27年5月にサルモネラ症が発生した農場
発症牛から分離されたサルモネラと同一血清型が野鳥から分離された。

図 12

野生動物・野鳥対策

B-L農場(牛)



図 13

豚農場の食中毒菌分離結果

農場	採材月	検査材料	採取場所	検体数	STEC	サルモネラ	カンピロバクター
P-D	9月 10月 11月	ハエ	畜舎内	41	-	<i>Salmonella</i> (O4:i:-) (3検体)	<i>C.coli</i> (7検体)
		アブ	畜舎内	1	-	<i>Salmonella</i> (O4:i:-)	-
		ネズミ	畜舎内	6	-	<i>Salmonella</i> (O4:i:-) (3検体)	<i>C.coli</i> (2検体)
		ネズミ糞便	畜舎内	2	-	-	<i>C.coli</i> (1検体)
		野鳥糞便	畜舎外	6	-	<i>Salmonella</i> (O4:i:-) (1検体) <i>S.infantis</i> (1検体) <i>S.arizonae</i> (1検体)	<i>C.Jejuni</i> (2検体)
		野生動物糞便(キツネ等)	畜舎外	5	-	<i>Salmonella</i> (O4:i:-) (2検体)	<i>C.Jejuni</i> (1検体)

★昨年度の検査では対象菌は分離されていないが、今年度は*Salmonella*(O4:i:-)、カンピロバクターが多数の検査材料から分離された。

図 14

鶏農場の食中毒菌分離結果

農場	採材月	検査材料	採取場所	検体数	STEC	サルモネラ	カンピロバクター
C-B	8月 10月	ハエ	畜舎内	3	-	-	-
		ハエ	畜舎外	1	-	-	-
		アブ	畜舎外	1	-	-	-
		ガイマイゴミ ムシダマシ	畜舎内	1	-	-	-
		ガイマイゴミ ムシダマシ	畜舎外	1	-	-	-
		ガ	畜舎内	3	-	-	-
C-F	9月 1月	ハエ	畜舎内	1	-	S. Manhattan	-
		ガイマイゴミ ムシダマシ	堆肥舎	2	-	-	-

★C-B農場は、昨年度サルモネラ(S. Manhattan)が分離されていたが、今年度は検出されず。

★C-F農場は、昨年度と同じ血清型のサルモネラが分離された。

図 15

平成27年度の継続調査(牛・豚)

◎6農場116検体

番号	農場	畜種	採付時期	付料	備考
PCV2	RS2	RS-P-B	豚	8月 畜舎外/堆肥舎/ハエ	
PPV	RS68	RS-P-D	豚	9月 畜舎外/堆肥舎D横/野鳥糞	Sal.分離
PPV	RS69	RS-P-D	豚	9月 畜舎外/堆肥舎D横/野鳥糞	Sal., C.分離
PPV	RS84	RS-P-D	豚	10月 畜舎外/産乳舎D/ハエ	C.分離
PPV	RS125	RS-P-D	豚	11月 畜舎外/堆肥舎D横/野鳥糞	
PPV	RS126	RS-P-D	豚	11月 畜舎外/飼育舎飼料タンク下/野鳥糞	Sal., E.分離
PPV	RS127	RS-P-D	豚	11月 畜舎外/肥育舎D入口/中型野生動物糞	
豚赤痢	RS124	RS-P-D	豚	11月 畜舎外/堆肥舎D付近/野鳥糞	C.分離

※Sal.:サルモネラ菌, C.:カンピロバクター属菌, E.:大腸菌

※精密検査中:シーケンスによる遺伝子配列が未確定のもの。

図 16

PCV2の分子系統樹解析（H26-27検出検体）

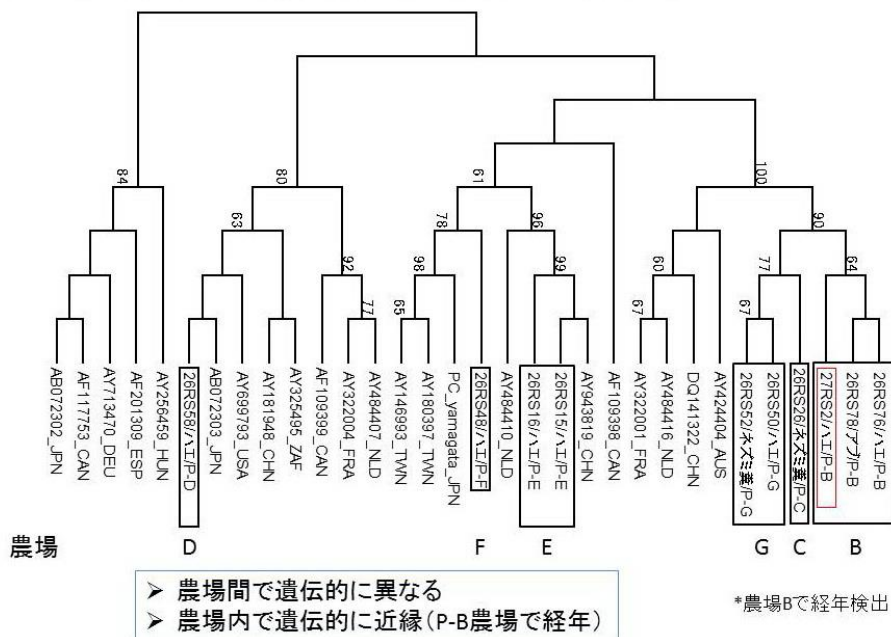


図 17

PPVの遺伝子解析（H27検出検体）

- RS-P-D農場
- いずれも野鳥糞便由来乳剤から検出

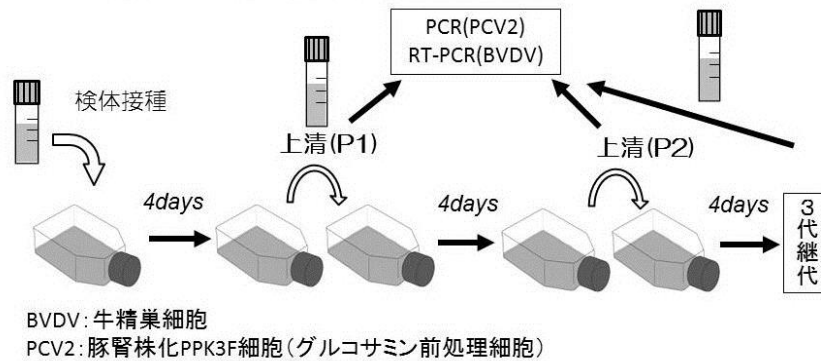
RS68	1	CACAGAAGCAACAGCAATTAGGCCAGCTCAGGTAGGATATAATACACCATACATGAATTTTGAATACTCC	70
RS69	1	CACAGAAGCAACAGCAATTAGGCCAGCTCAGGTAGGATATAATACACCATACATGAATTTTGAATACTCC	70
RS125	1	CACAGAAGCAACAGCAATTAGGCCAGCTCAGGTAGGATATAATACACCATACATGAATTTTGAATACTCC	70
RS126	1	CACAGAAGCAACAGCAATTAGGCCAGCTCAGGTAGGATATAATACACCATACATGAATTTTGAATACTCC	70
Kresse	1	CACAGAAGCAACAGCAATTAGGCCAGCTCAGGTAGGATATAATACACCATACATGAATTTTGAATACTCC	70
NADL2	1	CACAGAAGCAACAGCAATTAGGCCAGCTCAGGTAGGATATAATACACCATACATGAATTTTGAATACTCC	70
RS68	71	AATGGTGGACCATTTCTAACTCCTATAGTACCAACAGCAGACACACAATATAATGATGATGAACCAATG	140
RS69	71	AATGGTGGACCATTTCTAACTCCTATAGTACCAACAGCAGACACACAATATAATGATGATGAACCAATG	140
RS125	71	AATGGTGGACCATTTCTAACTCCTATAGTACCAACAGCAGACACACAATATAATGATGATGAACCAATG	140
RS126	71	AATGGTGGACCATTTCTAACTCCTATAGTACCAACAGCAGACACACAATATAATGATGATGAACCAATG	140
Kresse	71	AATGGTGGACCATTTCTAACTCCTATAGTACCAACAGCAGACACACAATATAATGATGATGAACCAATG	140
NADL2	71	AATGGTGGACCATTTCTAACTCCTATAGTACCAACAGCAGACACACAATATAATGATGATGAACCAATG	140
RS68	141	GTGCTATAAGATTACAAATGGGTTACCAACATGGCAATTAAACCATCTTCACAAGAGCTAG	203
RS69	141	GTGCTATAAGATTACAAATGGGTTACCAACATGGCAATTAAACCATCTTCACAAGAGCTAG	203
RS125	141	GTGCTATAAGATTACAAATGGGTTACCAACATGGCAATTAAACCATCTTCACAAGAGCTAG	203
RS126	141	GTGCTATAAGATTACAAATGGGTTACCAACATGGCAATTAAACCATCTTCACAAGAGCTAG	203
Kresse	141	GTGCTATAAGATTACAAATGGGTTACCAACATGGCAATTAAACCATCTTCACAAGAGCTAG	203
NADL2	141	GTGCTATAAGATTACAAATGGGTTACCAACATGGCAATTAAACCATCTTCACAAGAGCTAG	203

増幅遺伝子領域の塩基配列は8-9月期と11月期で完全一致

図 18

PCV2およびBVDV陽性検体からのウイルス分離

- 検体: ①PCV2遺伝子検出 10検体
 ②BVDV遺伝子検出 1検体
 ③ウイルス陰性乳剤+指示ウイルス添加(約10TCID₅₀又は100FFU)



結果: 野外検体からは活性ウイルス分離されず

図 19

カラスより検出されたクラミジアの系統樹

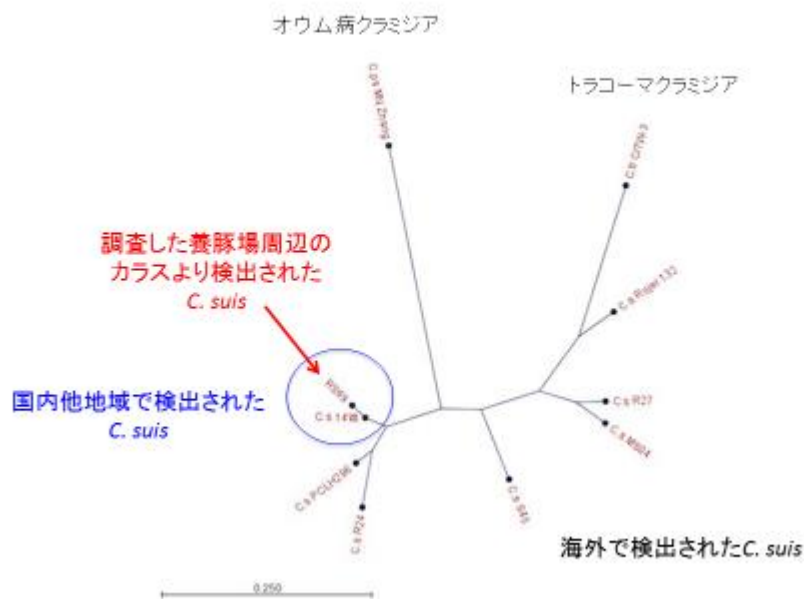


図 20

ウシ下痢症網羅的診断系のプライマー＆プローブ

✓計19種の病原体を対象

ウイルス 11種

細菌 5種

原虫 3種

Target name	
Bovine viral diarrheal virus	BVDV
Bovine enterovirus	BEV
Bovine coronavirus	BCoV
Group A rotavirus	RVA
Group B rotavirus	RVB
Group C rotavirus	RVC
Bovine torovirus	BTov
Mammalian orthoreovirus	MRV
Bovine leukemia virus	BLV
Bovine herpes virus-1	BoHV-1
Bovine adenovirus	BAV
Salmonella Dublin	S. Dublin
Salmonella Enteritidis	S. Enteritidis
Salmonella Typhimurium	S. Typhimurium
Mycobacterium avium, spp. paratuberculosis	MAP
Enterotoxigenic Escherichia coli	ETEC
Cryptosporidium Spp.	Cry. Spp.
Eimeria zuernii	E.zuernii
Eimeria bovis	E.bovis

図 21

ブタ病原体網羅的診断系のプライマー＆プローブ

✓計22種の病原体を対象

ウイルス 12種

細菌 9種

原虫 1種

Target name	
Porcine circovirus 2	PCV2
Suid herpesvirus 1 (Aujeszky's disease virus)	SuHV-1
Suid herpesvirus 2 (Porcine cytomegalovirus)	SuHV-2
Hemagglutinating encephalomyelitis virus	HEV
Influenza A virus	InfuA
Mammalian orthoreovirus	MRV
Porcine reproductive and respiratory virus US	PRRSV-US
Porcine reproductive and respiratory virus EU	PRRSV-EU
Porcine respiratory coronavirus	PRCoV
Porcine Epidemic Diarrhea Virus	PED
Porcine group A rotavirus	PorVA
Porcine deltacoronavirus	PDCoV
Actinobacillus pleuropneumoniae	A.pleuro
Bordetella bronchiseptica	B.branch
Haemophilus parasuis	H.parasuis
Pasteurella multocida	P.mult
Pasteurella multocida toxigenic	P.mult tox
Streptococcus suis	S.suis
Mycoplasma hyopneumoniae	M. hyopneumoniae
Mycoplasma hyorhinis	M. hyorhinis
Mycoplasma hyosynoviae	M. hyosynoviae
Cryptosporidium Spp.	PRuV

図 22

ウシ・ブタ病原体網羅的診断系の応用（結果）

◎平成27年10月期(20検体)

ウシ由来材料

病原体	陽性数	検体番号	農場	材料	備考
BEV	3	RS89, 92 & 93	RS-B-E	ハエ	
S.Dublin	2	RS71 & 72	RS-B-L	キツネ糞便	
	2	RS87 & 94	RS-B-E	ネズミ腸内容	

BEV:牛エンテロウイルス (ssRNA/env-)

ブタ由来材料

病原体	陽性数	検体番号	農場	材料	備考
SuHV-2	7	RS79-85	RS-P-D	ハエ	RS84: PPV, <i>C.coli</i> RS79-82: <i>C.coli</i>
PoRVA	8	RS79-86	RS-P-D	ハエ・アブ	RS84: PPV, <i>C.coli</i> RS79-82: <i>C.coli</i> RS86: <i>Sal.</i>
HEV	1	RS84	RS-P-D	ハエ	RS84: PPV, <i>C.coli</i>

SuHV-2 豚サイトメガロウイルス (dsDNA/env+), PoRVA: A群豚ロタウイルス (dsRNA/env-)

HEV: 豚赤血球凝集性脳脊髄炎ウイルス (ssRNA/env+)

図 23

ウシ・ブタ病原体網羅的診断系の応用（結果）

◎平成27年11月期(33検体)

ブタ由来材料

病原体	陽性数	検体番号	農場	材料	備考
SuHV-2	1	RS98	RS-P-B	ゴキブリ卵?	
SuHV-2	2	RS115 & 117	RS-P-D	ハエ	
PoRVA	13	RS105, 108, 111 RS114-123	RS-P-D	ハエ	RS118: <i>C.coli</i> RS122: <i>Sal.</i> RS120: <i>C.coli</i>
<i>P.multocida</i>	1	RS127	RS-P-D	キツネ糞	PPV疑

SuHV-2 豚サイトメガロウイルス (dsDNA/env+), PoRVA: A群豚ロタウイルス (dsRNA/env-)

HEV: 豚赤血球凝集性脳脊髄炎ウイルス (ssRNA/env+)

図 24

各検査の検出結果の比較

検体番号	数	PCR	DEMBO/PO	菌分離	農場	材料
RS71, 72 RS87, 94	4		S.Dublin		牛: RS-B-L 牛: RS-B-E	キツネ糞 キツネ糞
RS89, 92, 93	3		BEV		牛: RS-B-E	ハエ

検体番号	数	PCR	DEMBO/PO	菌分離	農場	材料
RS98	1		SuHV-2		豚: RS-P-B	ゴキブリ卵
RS83, 85 RS115, 117	4		SuHV-2, PoRVA		豚: RS-P-D	ハエ
RS79, 80, 81, 82	4		SuHV-2, PoRVA	C.coli	豚: RS-P-D	ハエ
RS105, 108, 111, 114, 116, 119, 121, 123	8		PoRVA		豚: RS-P-D	ハエ
RS86 RS122	2		PoRVA	Sal.	豚: RS-P-D	アブ ハエ
RS118, 120	2		PoRVA	C.coli	豚: RS-P-D	ハエ
RS102, 103, 104	3			Sal., C.coli	豚: RS-P-D	ネズミ糞内容
RS125	1	PPV			豚: RS-P-D	野鳥糞
RS126	1	PPV		Sal.	豚: RS-P-D	野鳥糞
RS127	1	PPV疑		R.multicida	豚: RS-P-D	キツネ糞
RS84	1	PPV	SuHV-2, PoRVA, HEV	C.coli	豚: RS-P-D	ハエ
RS124	1	豚赤痢		C.coli	豚: RS-P-D	カラス糞

【工程表③】

平成 27 年度の調査で選定した 8 農場のうち、野生動物と衛生害虫の対策に協力可能な 6 農場（牛 3、豚 2、鶏 1 農場）を対象に実施した（図 25 小課題 1 28 年度）。対策は捕獲（出現）状況および病原体保有状況に合わせて選択した（図 26,27 小課題 1 28 年度）。

- 防除対策前、対策 1 ヶ月後及び対策 2~3 ヶ月後に衛生害虫、野生動物等のサンプルを収集するとともに、飼育動物との関連を明らかにするため環境ふき取り（主に床スワブ）を実施した。食中毒菌の検索は、表に示した 313 検体を用いた（図 28 小課題 1 28 年度）。
- カンピロバクターは、牛 B-L 農場の対策前のふき取り材料 1 検体から *Campylobacter jejuni* が分離されたが、それ以外からは分離されなかった。一方、豚 P-D 農場の対策前及び対策後のふき取り材料及び対策前のハエ 2 検体から *C. coli* が分離された。カンピロバクターはすべて畜舎内サンプルから分離され、豚農場では対策前後で継続的に拭取り材料で認められたことから、家畜間で伝播していると考えられた（図 29 小課題 1 28 年度）
- STEC は、牛 B-L 農場では農場内に同時期に複数の毒素遺伝子型が認められた。畜舎内のネズミやアブから、環境ふき取りから同一の毒素遺伝子の STEC が分離されたことから、ネズミや昆虫が媒介する可能性も示唆された。一方、対策後は畜舎内スワブのみで分離されたことから、家畜間で伝播していると考えられた（図 30 小課題 1 28 年度）
- サルモネラは豚 P-D 農場において対策前後で環境ふき取りとネズミから、鶏 C-B 農場では継続的にふき取り材料から同一の血清型が分離された。豚 P-D 農場や牛 B-L 農場では、野生動物やハエから異なる血清型が分離された。このことから、野生動物やハエは農場内感染環を形成するだけではなく、外部からの侵入に関わる可能性が示された（図 31 小課題 1 28 年度）

選定された豚 2 農場及び牛 3 農場で採取された対策前後総数 296 検体（衛生害虫 88 検体、畜舎環境スワブ 170 検体、ネズミ糞 14 検体および野生鳥獣糞 24 検体）のうち、豚 P-D 農場のハエ及びスワブから PCV2 及び PPV の遺伝子が、豚 P-G 農場のネズミ糞及び鱗翅目昆虫から PPV の遺伝子が増幅された。うち 3 検体は PCV2 と PPV の両方が検出された。ウイルスは分離されなかった。牛 3 農場からは検査対象とした病原体は検出されなかった。（図 32、33 小課題 3 平成 28 年度）

- 豚 P-D 農場で検出された PCV2 はすべて畜舎内採材検体から検出され、1 検体は平成 26 年度に検出されたハエ由来ウイルスと同じ PCV2-2E 亜型であったが、他 11 検体は PCV2-2B 亜型であった。（図 34 小課題 3 平成 28 年度）
- 豚 P-D 農場で検出された PPV は全て畜舎内に由来し、豚 P-G 農場では 1 検体が畜舎

内、2検体が畜舎外に由来する採材検体であった。PCR増幅産物（約200塩基）の解析では、豚P-D農場ではふき取り及びハエ由来株の配列は同一であったが、使用ワクチン株の配列とは異なった。また、P-G農場ではワクチン株と同じもの

（28RS215；畜舎外）と異なるものが混在していた。（図35 小課題3 平成28年度）

- 豚P-D農場では、衛生害虫等対策によってPCV2検出数が10検体から1検体まで減少した。PPV検出数は、対策前に10検体であったが、対策後1ヶ月に6検体に減少し、対策後2ヵ月後に再び15検体に増加した。豚P-G農場では、対策後1ヵ月の1検体からPPVが検出され、対策後2ヵ月で3検体に増加した。（図36 小課題3 平成28年度）

平成28年度は、これまでと同様にブロイラー農場周辺で採取した17サンプル（床スワブ、昆虫）における、IBDV、IBV、ヘルペスウイルス、クラミジアなどの遺伝子検査を引き続き行った。これに加え、昨年度、養豚場周辺の野鳥より、ブタクラミジア（*Chlamydia suis*）を検出したため、豚農場の59サンプル（床スワブ、昆虫、野鳥・キツネ・ネズミの糞）におけるクラミジア検査も実施した。

- ブロイラー農場周辺のサンプルからは主要なウイルス遺伝子は検出されなかった（図37 小課題4 平成28年度）。
- 養豚場周辺のクラミジア調査では、床スワブ4サンプルよりクラミジア遺伝子が検出された（図38 小課題4 平成28年度）。クラミジアの遺伝子型別に用いられるompA遺伝子配列解読の結果、これらはいずれも*C. suis*であることが明らかとなった。*C. suis*は他のクラミジアと異なり、*tetC*をもつことにより薬剤耐性を獲得している株があることが欧米で報告されている。今回検出されたサンプルからは*tetC*は検出されなかった。
- 27年度に農場周辺の野鳥から検出されたものと今年度床スワブより検出されたものは、同じクレードに配置されず、野鳥から検出された株は別のクレードとの中間位置に配置された。今回、床スワブから検出された*C. suis*について、野鳥から検出されたものとの直接的な因果関係は認められなかった。（図39 小課題4 平成28年度）
- 当該農場周辺では、原因は不明であるものの秋口に流産が見られるとのことである。床スワブから*C. suis*遺伝子が検出されたことから、流産の原因候補の一つとして考える必要があるのかもしれない。培養細胞・発育鶏卵を用いて、遺伝子が検出された野鳥、床スワブから*C. suis*は分離できなかった。

牛3農場、豚2農場を対象に防除対策を行い、衛生状態の改善がみられるかどうかリアルタイムPCRを用いて評価した。防除対策前にdembo-PCR（牛舎）、dempo-PCR（豚

舎)、pan-salmonella-PCR(鶏舎)を用いて網羅解析を行い、対策1か月と2か月後には対策前に陽性であった項目について解析した(図40 小課題5 平成28年度)。

- 牛舎では対策前にBVDV、BEV、BToV、BAdV、*Salmonella*、*Cryptosporidium*が検出され、対策に効果があったと考えられる病原体はなかった(図41 小課題5 平成28年度)。農場間で検出される病原体と検出件数に差があった。
- 豚舎では対策前にP-D農場において、PCV2、PCMV、*H. parasuis*、*S. suis*、PHEV、RVA、SDVが検出されたが、対策後はどの病原体の検出件数は減少していた(ただし、減少程度の差はあった)(図42 小課題5 平成28年度)。しかし、1か月後に一旦減少しても2か月後に検出件数が増加している病原体もあった。RVAについては遺伝子型を特定できたものはG3とG9であった。G9はこの農場内で蔓延しているウイルス、G3は対策後1から2か月の間に侵入したウイルスであることが示唆された。P-G農場では対策前にはどの病原体も検出されず、対策後に*H. parasuis*が1例検出されただけであった。
- 鶏舎では*Salmonella*が検出されなかったが、一部の検体では培養で陽性になったものがあつたことから、Pan-salmonella-PCRには改良が必要かもしれない(図43,44 小課題5 平成28年度)。
- 以上の結果から、今回用いたリアルタイムPCR系は防除対策を評価できたが、ウイルス分野や細菌分離とセットで実施すべきであると考えられた。

【追】

牛B-L農場は、平成26年度に牛サルモネラ症(*S. Typhimurium*)が発生したため調査対象農場として追跡調査を実施した。平成27年度は分離されたが、28年度は分離されなかった。平成26年度と平成27年度に分離された株を用いて、反復配列多型解析(multiple-locus variable-number tandem-repeat analysis; MLVA)による分子疫学解析を実施した。

- PFGE解析(XbaI)ではH26,H27牛および野鳥由来株は同じクラスターに分類された(93%以上)。MLVAプロファイルに基づく系統樹解析ではH27牛由来3株は同一プロファイルで、H26牛由来株及び野鳥由来2株と異なるプロファイルを示した。(図45 小課題1 平成28年度)
- 以上の成績から、同一クローンではない(遺伝子型が同じではない)が、血清型やPFGE型が同一で類似した株である。野鳥が*S.Typhimurium*を媒介する可能性については注意が必要である。

図 25

平成28年度対象農場

◎対象農場：県内6農場(牛3、豚2、鶏1農場)
平成27年度対象農場の内、対策実施、採材が可能な農場

畜種	農場	平成26年度の検査結果	平成27年度の検査結果
牛	B-E	PPV N (CHN) (ネズミ糞便)	未検出
	B-M	未検出	未検出
	B-L	(調査対象外)	<i>S.Typhimurium</i> [ST]、 <i>S.Infantis</i> [SI]、 <i>C.jejuni</i> [Cj] (野鳥糞便)
豚	P-G	PCV2-1A (ハエ) PCV2-1A、BVDV-1 (ネズミ糞便)	未検出
	P-D	PCV2-2E (ハエ)	<i>Salmonella</i> [O4:i:-]、 <i>C.coli</i> [Cc] (ハエ、ネズミ) <i>Salmonella</i> [O4:i:-] (アブ) <i>Salmonella</i> [O4:i:-]、 <i>Sl. S.arizonae</i> [Sa]、 <i>Cj. PPV</i> 、 <i>C.suis</i> (野鳥糞便) <i>Salmonella</i> [O4:i:-]、 <i>Cj</i> (キツネ糞便)
鶏	C-B	<i>S. Manhattan</i> [SM] 分離 (ハエ)	未検出

※ 茶字：畜舎外、黒字：畜舎内 検査結果は分離同定またはシーケンス結果による
PPV:豚パルボウイルス、PCV:豚サーコウイルス、BVDV:牛ウイルス性下痢・粘膜病、
S.Typhimurium:*Salmonella Typhimurium*、*C.coli*:*Campylobacter coli*

図 26

防除対策(農場別)

畜種	農場 記号	対策予定 場所	環境整備	ハエ対策				ネズミ対策	野生動物対策					
			消石灰	ソール剤	IGR剤	シート	ハエ取り シート	餌乳剤	防虫ネット	シート	ネズミ捕り	殺鼠剤	防鳥ネット	ワイヤー
牛	B-E	堆肥舎など	○		○	○	○	○	○					
	B-M				○	○			○					
	B-L	子牛舎など			○								○	○
豚	P-D	離乳豚舎など	○		○	○					○	○	○	
	P-G	新豚舎			○	○			○					
鶏	C-B	堆肥舎		○	○									

図 27

対策前の畜舎内侵入野生動物とその対策例



図 28

平成28年度 検体数(農場別)

畜種	農場記号	対策前				対策1ヶ月後				対策2~3ヶ月後				計
		畜舎内		畜舎外		畜舎内		畜舎外		畜舎内		畜舎外		
		検体の数 取り	養豚 舎内、 養豚 舎外、 農場 内、 農場 外	検体の数 取り	養豚 舎内、 養豚 舎外、 農場 内、 農場 外	検体の数 取り	養豚 舎内、 養豚 舎外、 農場 内、 農場 外	検体の数 取り	養豚 舎内、 養豚 舎外、 農場 内、 農場 外	検体の数 取り	養豚 舎内、 養豚 舎外、 農場 内、 農場 外	検体の数 取り	養豚 舎内、 養豚 舎外、 農場 内、 農場 外	
牛	B-E	2	6	2	5	2	7	2	3	2	11	2	0	44
	B-M	4	0	1	3	4	0	1	3	4	0	1	2	23
	B-L	29	9	1	2	NT	14	NT	0	29	0	1	3	88
豚	P-D	23	24	0	5	24	5	0	3	24	9	0	1	118
	P-G	4	2	0	2	4	1	0	0	4	0	0	6	23
鶏	C-B	1	2	1	4	NT	1	NT	3	1	2	1	1	17
計	6農場	63	43	5	21	34	28	3	12	64	22	5	13	313

図 29

カンピロバクターの分離状況

畜種	農場 記号	対策前				対策1ヶ月後				対策2~3ヶ月後			
		畜舎内		畜舎外		畜舎内		畜舎外		畜舎内		畜舎外	
		環境 ふせ 取り	衛生 畜田、 野生 動物	環境 ふせ 取り	衛生 畜田、 野生 動物	環境 ふせ 取り	衛生 畜田、 野生 動物	環境 ふせ 取り	衛生 畜田、 野生 動物	環境 ふせ 取り	衛生 畜田、 野生 動物	環境 ふせ 取り	衛生 畜田、 野生 動物
牛 B-L	検体数	29	9	1	2	NT	14	NT	0	29	0	1	3
	<i>C. jejuni</i>	1	0	0	0	-	0	-	0	0	0	0	0
	<i>C. coli</i>	0	0	0	0	-	0	-	0	0	0	0	0
豚 P-D	検体数	23	24	0	5	24	5	0	3	24	9	0	1
	<i>C. jejuni</i>	0	0	-	0	0	0	-	0	0	0	-	0
	<i>C. coli</i>	8	2	-	0	7	0	-	0	5	0	-	0

図 30

志賀毒素産生大腸菌(STEC)の分離状況

畜種	農場 記号	対策前				対策1ヶ月後				対策2~3ヶ月後			
		畜舎内		畜舎外		畜舎内		畜舎外		畜舎内		畜舎外	
		環境 ふせ 取り	衛生 畜田、 野生 動物	環境 ふせ 取り	衛生 畜田、 野生 動物	環境 ふせ 取り	衛生 畜田、 野生 動物	環境 ふせ 取り	衛生 畜田、 野生 動物	環境 ふせ 取り	衛生 畜田、 野生 動物	環境 ふせ 取り	衛生 畜田、 野生 動物
牛 B-E	検体数	2	6	2	5	2	7	2	3	2	11	2	0
	STEC	0	1 ^{*1}	1 ^{*1}	0	0	0	0	0	0	0	0	0
牛 B-M	検体数	4	0	1	3	4	0	1	3	4	0	1	2
	STEC	0	-	0	0	0	-	0	0	1 ^{*1}	-	0	0
牛 B-L	検体数	29	9	1	2	NT	14	NT	0	29	0	1	3
	STEC	1 ^{*2}	2 ^{*2+1&2}	0	0	-	0	-	0	2 ^{*1&2}	0	0	0
豚 P-G	検体数	4	2	NT	2	4	1	NT	0	4	0	NT	6
	STEC	0	0	-	1 ^{*1&2}	0	0	-	-	0	-	-	0

*¹STX1, *²STX2, *^{1&2}STX1&2

図 31

サルモネラの分離状況

畜種	農場記号	対策前				対策1ヶ月後				対策2~3ヶ月後			
		畜舎内		畜舎外		畜舎内		畜舎外		畜舎内		畜舎外	
		環境 ふせ 取り	衛生 害虫、 野生 動物	環境 ふせ 取り	衛生 害虫、 野生 動物	環境 ふせ 取り	衛生 害虫、 野生 動物	環境 ふせ 取り	衛生 害虫、 野生 動物	環境 ふせ 取り	衛生 害虫、 野生 動物	環境 ふせ 取り	衛生 害虫、 野生 動物
牛 B-L	検体数	29	9	1	2	NT	14	NT	0	29	0	1	3
	Salmonella	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
豚 P-D	検体数	23	24	0	5	24	5	0	3	24	9	0	1
	Salmonella	4	1*1	-	1	9	0	-	1*2	9	0	-	0
鶏 C-B	検体数	1	2	1	4	NT	1	NT	3	1	2	1	1
	Salmonella	1	0	0	0	-	0	-	0	1	1	0	0

牛B-L農場: S. Nagoya

豚P-D農場: *1 (Infantis) と *2 (Nagoya) を除いて S. O4:i:-

鶏C-B農場: 全てManhattan

図 32

豚サーコウイルス2型(PCV2)検出検体					
番号	対策	農場	内外	採材物	他の検出微生物
28RS001	前	P-D	内	スワブ(床)	C.coli
28RS002	前	P-D	内	スワブ(床)	C.coli
28RS003	前	P-D	内	スワブ(床)	C.coli
28RS004	前	P-D	内	スワブ(床)	C.coli
28RS005	前	P-D	内	スワブ(床)	PPV, C.coli
28RS020	前	P-D	内	スワブ(床)	
28RS101	前	P-D	内	ハエ	
28RS102	前	P-D	内	ハエ	
28RS104	前	P-D	内	ハエ	
28RS115	前	P-D	内	ハエ	PPV
28RS158	1M	P-D	内	スワブ(床牽引)	
28RS264	2M	P-D	内	スワブ(窓拭取)	PPV, Salmonella O4i:-

図 33

豚パルボウイルス(PPV)検出検体					
番号	対策	農場	内外	採材物	他の検出微生物
28RS005	前	P-D	内	スワブ(床)	PCV2, C.coli
28RS006	前	P-D	内	スワブ(床)	SalmonellaO4i-
28RS007	前	P-D	内	スワブ(床)	C.coli
28RS010	前	P-D	内	スワブ(床)	
28RS011	前	P-D	内	スワブ(床)	SalmonellaO4i-
28RS018	前	P-D	内	スワブ(床)	
28RS103	前	P-D	内	ハエ	
28RS115	前	P-D	内	ハエ	
28RS116	前	P-D	内	ハエ	PCV2, C.coli
28RS117	前	P-D	内	ハエ	
28RS136	1M	P-G	内	鱗翅目	
28RS143	1M	P-D	内	ハエ	
28RS150	1M	P-D	内	スワブ(床牽引)	SalmonellaO4i-, C.coli
28RS156	1M	P-D	内	スワブ(床牽引)	SalmonellaO4i-
28RS161	1M	P-D	内	スワブ(床牽引)	
28RS165	1M	P-D	内	スワブ(床牽引)	
28RS166	1M	P-D	内	スワブ(床牽引)	

番号	対策	農場	内外	採材物	他の検出微生物
28RS213	2M	P-G	外	ネズミ糞	
28RS214	2M	P-G	外	ネズミ糞	
28RS215	2M	P-G	外	ネズミ糞	
28RS239	2M	P-D	内	ハエ	
28RS242	2M	P-D	内	ハエ	
28RS243	2M	P-D	内	ハエ	
28RS245	2M	P-D	内	スワブ(床牽引)	C.coli
28RS246	2M	P-D	内	スワブ(床牽引)	C.coli
28RS247	2M	P-D	内	スワブ(床牽引)	
28RS249	2M	P-D	内	スワブ(床牽引)	C.coli
28RS251	2M	P-D	内	スワブ(床牽引)	
28RS252	2M	P-D	内	スワブ(床牽引)	SalmonellaO4i-, C.coli
28RS257	2M	P-D	内	スワブ(床牽引)	SalmonellaO4i-
28RS259	2M	P-D	内	スワブ(床牽引)	SalmonellaO4i-
28RS262	2M	P-D	内	スワブ(床牽引)	
28RS263	2M	P-D	内	スワブ(床牽引)	SalmonellaO4i-
28RS264	2M	P-D	内	スワブ(窓拭取)	PCV2, SalmonellaO4i-
28RS267	2M	P-D	内	スワブ(床牽引)	

図 34

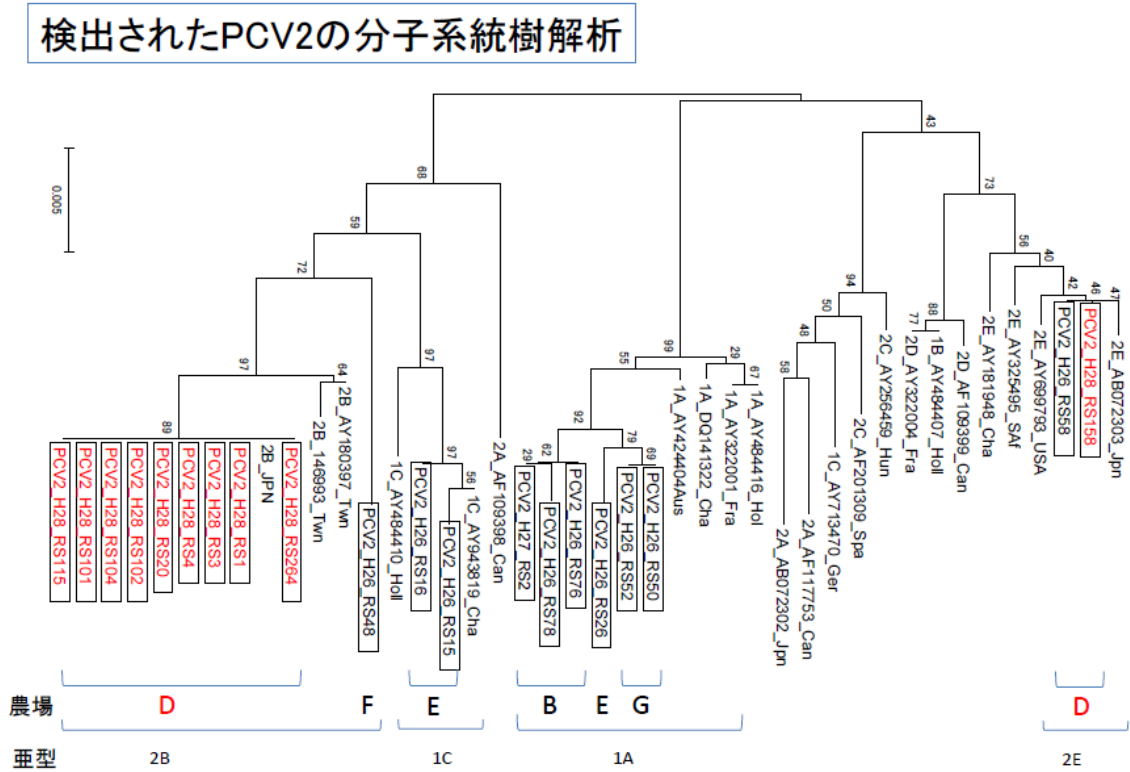


図 35

PPV検出検体の採取場所(畜舎内外の別)

P-D農場	畜舎	PPV PCR		
		陽性	陰性	
対策前	内	10	37	47
	外	0	5	5
対策後1か月	内	6	23	29
	外	0	3	3
対策後2か月	内	15	18	33
	外	0	1	1
		31	87	118

P-G農場	畜舎	PPV PCR		
		陽性	陰性	
対策前	内	0	4	4
	外	0	2	2
対策後1か月	内	1	6	7
	外	—	—	—
対策後2か月	内	0	4	4
	外	3	3	6
		4	19	23

衛生害虫・野生鳥獣対策によるPCV2・PPV検出数の変動

PCV2

P-D農場	採材物*1	PCV2 PCR		
		陽性	陰性	
対策前	スワブ	6	17	23
	昆虫	4	20	24
対策後1か月	スワブ	1	23	24
	昆虫	0	2	2
対策後2か月	スワブ	1	23	24
	昆虫	0	9	9
計		12	94	106

*1 ネズミ糞、野生鳥獣糞からは検出されず。

PPV

P-D農場	採材物*1	PPV PCR		
		陽性	陰性	
対策前	スワブ	6	17	23
	昆虫	4	20	24
対策後1か月	スワブ	5	19	24
	昆虫	1	1	2
対策後2か月	スワブ	12	12	24
	昆虫	3	6	9
		31	75	106

*1 ネズミ糞、野生鳥獣糞からは検出されず。

P-G農場	採材物*1	PPV PCR		
		陽性	陰性	
対策前	昆虫	—	—	—
	ネズミ	0	1	1
対策後1か月	昆虫	1*2	2	3
	ネズミ	—	—	—
対策後2か月	昆虫	—	—	—
	ネズミ	3	3	6
		4	6	10

*1 スワブ、ネズミ糞からは検出されず。 *2 鱗翅目昆虫から検出。

図 37

農場	採材場所	数
C-B	鶏舎内外床スワブ	4
	鶏舎内外昆虫	12
	鶏舎内ネズミ	1



いずれも、ウイルスは検出されなかった
(IBDV、Reo、ヘルペス、クラミジア)

家禽のウイルス性病原体検査

図 38

岐阜県養豚場におけるクラミジア調査

農場	採材場所	数	クラミジア陽性
P-D	豚舎内外床スワブ	23	4 (#5, 8, 10, 11; 豚舎内)
	豚舎外キツネ糞	2	0
	豚舎外野鳥糞	3	0
	豚舎内昆虫	24	0
	倉庫ネズミ腸	1	0
P-G	豚舎内床スワブ	4	0
	豚舎外ネズミ腸	1	0
	豚舎外野鳥糞	1	0

図 39

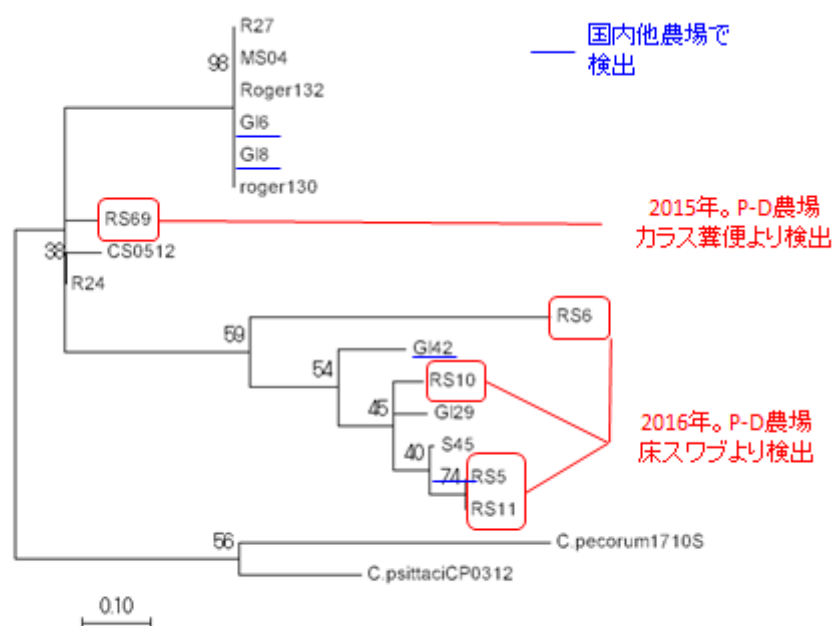


図2:検出された豚クラミジア(*C. suis*)系統解析

図 40

検査項目について

図1



図 41

表1

牛農場結果

畜種	農場名	採材時期	総検体数	陽性検体数							
				BVDV	BEV	BToV	BAdV	Cry. spp	S.Dublin	S.Typhi-murium	Pan-Salmonella
牛	B-E	対策前	15	1	4	0	0	3	1	0	0
		1ヵ月後	14	8	3	0	0	5	0	0	0
		2ヵ月後	15	3	10	0	0	7	2	0	0
	B-M	対策前	5	2	0	0	0	3	0	1	1
		1ヵ月後	11	4	0	0	0	2	0	0	0
		2ヵ月後	7	3	2	0	0	2	1	0	0
	B-L	対策前	41	7	3	1	1	13	1	2	1
		1ヵ月後	14	1	3	0	0	4	5	0	0
		2ヵ月後	33	5	4	0	0	17	0	0	0
計	3農場		155	34	29	1	1	56	10	3	2

BVDV: Bovine viral diarrheal virus, BEV: Bovine enterovirus, BToV: Bovine torovirus
 BAdV: Bovine adenovirus, S. Dublin: *Salmonella* Dublin, S. Typhimurium, *Salmonella*
 Typhimurium, *Cryptosporidium*. spp

図 42

表2

豚農場結果

畜種	農場名	採育時期	総検体数	陽性検体数							
				PCV2	PCMV	<i>H. parasuis</i>	<i>S. suis</i>	PHEV	RVA	SDCV	Pan-Salmonella
豚	P-D	対策前	52	19	6	9	2	1	18	1	1
		1ヵ月後	32	7	0	2	0	0	6	0	0
		2ヵ月後	34	1	0	6	1	1	15	0	2
	P-G	対策前	6	0	0	0	0	0	0	0	0
		1ヵ月後	7	0	0	0	0	0	0	0	0
		2ヵ月後	10	0	0	1	0	0	0	0	0
計	2農場	141	27	6	18	3	2	39	1	3	

PCV2: Porcine circovirus 2, PCMV: Porcine cytomegalovirus, *H. parasuis*: *Haemophilus parasuis*, *S. suis*: *Streptococcus suis*, PHEV: Hemagglutinating encephalomyelitis virus, RVA: Group A rotavirus, SDCV: Deltacoronavirus

図 43

表3

鶏舎由来検体結果(H27・8検体)

ID	農場名	畜種	材料	検査結果		Pan-Salmonella 検査結果
				サルモネラ		
				ハーナ	ラバポート	
RS12	RS-C-B	ブロイラー	ハエ	-	-	-
RS13	RS-C-B	ブロイラー	ガ	-	-	-
RS14	RS-C-B	ブロイラー	ガ	-	-	-
RS15	RS-C-B	ブロイラー	ハエ	-	-	-
RS16	RS-C-B	ブロイラー	ガ	-	-	-
RS26	RS-C-F	ブロイラー	ハエ	-	+	-
RS27	RS-C-F	ブロイラー	ガイマイ ゴミムシ ダマシ1	-	-	-
RS28	RS-C-F	ブロイラー	ガイマイ ゴミムシ ダマシ2	-	-	-

図 44

鶏舎由来検体結果(H28・13検体)

表4

ID	農場名	畜種	材料	検査結果 サルモネラ		Pan-Salmonella 検査結果
				ハーナ	ラバポート	
RS24	C-B	鶏	床スワブ	-	+	-
RS25	C-B	鶏	床スワブ	-	-	-
RS26	C-B	鶏	ハエ、コバエ	-	-	-
RS27	C-B	鶏	ガ、甲虫類	-	-	-
RS28	C-B	鶏	ハエ、コバエ	-	-	-
RS29	C-B	鶏	ガイマイゴミムシダマシ	-	-	-
RS30	C-B	鶏	ハチ	-	-	-
RS31	C-B	鶏	ガ	-	-	-
RS216	C-B	鶏	蚊・ガ	-	-	-
RS217	C-B	鶏	ガ、アブ、ハエ、蚊他	-	-	-
RS218	C-B	鶏	床スワブ	+	+	-
RS219	C-B	鶏	床スワブ	-	+	-
RS280	C-B	鶏	ネズミ腸内容	+	-	-

【追】図 45

サルモネラ分離株の解析(ST)

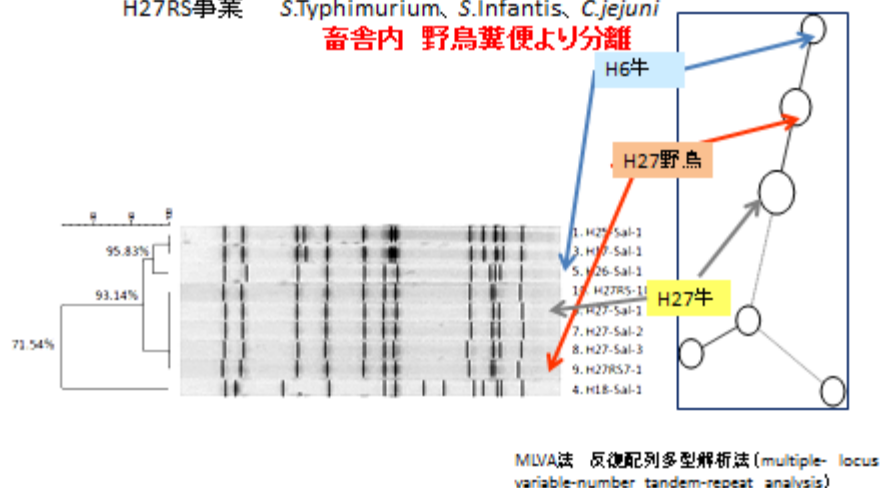
牛B-L農場:

対策前 H26 牛サルモネラ症発生(*S.Typhimurium*)

H27 牛サルモネラ症再発生(*S.Typhimurium*)

H27RS事業 *S.Typhimurium*、*S.Infantis*、*C.jejuni*

畜舎内 野鳥糞便より分離



3) 成果目標に対する達成状況

野生動物及び衛生害虫が食中毒菌や家畜疾病病原体を保有し、汚染源として重要な役割を果たすことが明らかとなった。野生動物や衛生害虫の汚染源としての危険度は、動物種、生息場所、行動様式が影響すると考えられた。特に、ネズミやハエは、飼育動物が保有する病原体を媒介し、農場内（畜舎内、畜舎間）のまん延・拡散に関与したことが示唆された。また、キツネや野鳥など自由生活する野生動物は、農場内の病原体を拡散させるとともに、サルモネラやクラミジアなど病原体を農場に持ち込む危険性があることが明らかとなった。このため、農場内の食中毒菌や家畜疾病病原体分布や野生動物・衛生害虫出現状況を把握して、動物種や病原体の特性に基づく衛生対策が必要である。

野生動物と衛生害虫の対策前後に実施したふき取りスワブからの食中毒菌や家畜疾病病原体の検索結果では、カンピロバクター、豚パルボウイルス、豚サーコウイルス、牛ウイルス性下痢ウイルス、ロタウイルス、クリプトスポロジウムなどが継続的に分離された。しかし、リアルタイム PCR を用いた検査では、一部の農場で病原体の低減効果が示唆された。以上のことから、農場内に存在する病原体を安定して低減するには、野生動物や衛生害虫の防除対策を実施するとともに、早期発見・治療・ワクチン接種など家畜への対応、畜舎消毒など飼育環境への対策を実施することが必要と考えられる。

＜成果の概要の補足＞

1) 豚農場由来材料における検査対象微生物の検出状況

	PCV2	PPV	BVDV	Salmonella			Camp	STEC
				O4i-	Infantis	Nagoya		
衛生害虫	◎	◎		◎	○		◎	
ネズミ糞	○	◎	○	◎			○	○
野生動物糞		○		◎		○	○	
野鳥糞		○		◎	○		○	
環境スワブ	○	○		○			○	

○：遺伝子又は菌検出、◎：遺伝子又は菌検出かつ環境スワブと遺伝子型が一致、Camp：カンピロバクター属菌

2) 牛農場由来材料における検査対象微生物の検出状況

	BCoV	BVDV	PPV	Salmonella			Camp	STEC
				Typhimurium	Infantis	Nagoya		
衛生害虫								◎
ネズミ糞			○					◎
野生動物糞								
野鳥糞				◎	○	○	○	
環境スワブ				○（糞便）			○	○

○：遺伝子又は菌検出、◎：遺伝子又は菌検出かつ環境スワブと遺伝子型が一致、Camp：カンピロバクター属菌

3) 鶏農場由来材料における検査対象微生物の検出状況

	IBDV	IBV	ヘルペス ウイルス	クラ ミジ ア	Salmonella		Camp	STEC
					Infantis	Manhattan		
衛生害虫					◎	○		
ネズミ糞						○		
野生動物糞								
野鳥糞				○				
環境スワブ				○	○	○		

○：遺伝子又は菌検出、◎：遺伝子又は菌検出かつ環境スワブと遺伝子型が一致、Camp：カンピロバクター属菌

(2) 中課題2 (農場周囲に生息する野生動物の防除法の確立) の研究成果

1) 工程管理及び成果目標

工程表
①野生動物の生態や行動・環境利用様式の解明及び食中毒菌の保有状況調査 (小課題1及び2関連) (平成26年度)
↓
②防除対策の検討及び食中毒菌の分子疫学解析 (小課題1及び2関連)。(平成27年度)
↓
② 防除策の有効性の検討 (小課題1及び2関連) 及び家畜及び野生動物間の微生物伝播様式の検討 (小課題3関連) (平成28年度)
成果目標: 農場周辺に生息する野生動物の行動様式を明らかにし、野生動物の種類に応じた防除策を立案する。また、その有効性について検討する。

表記上の明確化を図るため成果目標を見直した。なお、見直しにあたっては、平成28年度第2回研究推進会議(平成28年12月7日開催)で研究課題運営チームと合意済み。

2) 各工程の進捗状況及び成果

【工程表の①】

農場と自然環境で種構成が大きく異なることが確認された。農場における駆除対象種は、クマネズミ・ドブネズミ・ハツカネズミであるが、幼獣が中心に捕獲される(図1 小課題1 26年度)。

自然環境で捕獲したネズミからサルモネラ、カンピロバクター、STECは分離されなかった(図1 小課題1 26年度)。

岐阜大学附属農場におけるキツネやイタチ類の目撃情報をもとに、6台(ゴミ捨て場に1台、牛舎周辺に2台、豚舎周辺に2台、鶏舎周辺に1台)の自動撮影カメラを設置し、18,615枚の静止画像を得た。このうち、家畜(犬など)を除く中型の野生獣類(キツネ、イタチ類、ノラネコ)が撮影されていたものは1477枚であった(図2 小課題2 26年度)。

撮影された中型獣類のうち、ノラネコが最も多く、キツネ、イタチ類と続いた。また、ノラネコはゴミ箱及び牛舎周辺、キツネは豚舎周辺、イタチ類は鶏舎周辺で最も多く撮影されていた。その結果、下記の2項目が考察された。

- 各動物種が、選択的に特定の場所を利用していると推察された。
- 捕獲にあたっての罠がけは、ノラネコ目的ではゴミ箱及び牛舎周辺、キツネ目的では豚舎周辺、イタチ類目的では鶏舎周辺が最適と考えられた。

図 1

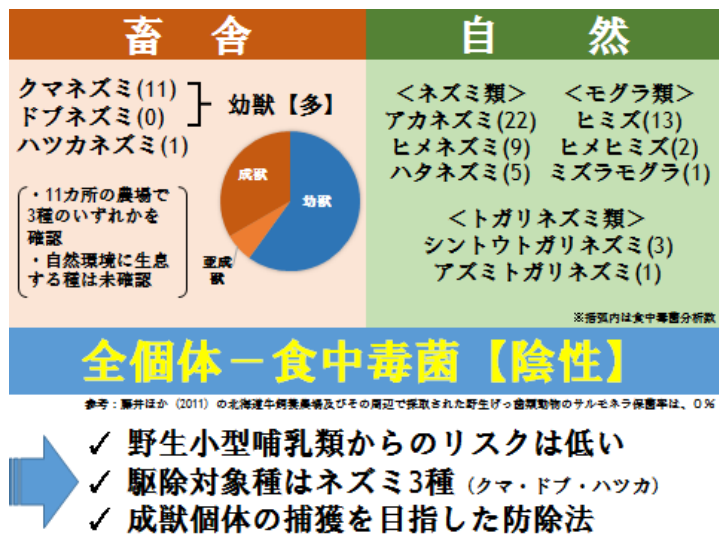


図 2 自動撮影カメラによる動物別の撮影枚数

- ・ ノラネコは生態学的には外来生物と位置づけられおり、撮影枚数が最も多かったことから、本研究では野生動物に含めて扱うこととした。
- ・ 自動撮影カメラで得られた写真のみでは、ニホンイタチとシベリアイタチとの判別は困難であった。そのため、これらについてはイタチ類として一括して扱うこととした。

	ノラネコ	キツネ	イタチ類	計
ゴミ箱	649	0	0	649
牛舎周辺	406	96	3	505
豚舎周辺	3	128	0	131
鶏舎周辺	174	0	18	192
計	1232	224	21	1477

【工程表②】

鶏舎内洗浄および殺鼠剤によって防鼠対策実施の鶏舎において、自動撮影カメラを壁上部の梁に設置し、ネズミの出没状況を調査した（図 3 小課題 1 27 年度）。

- ネズミの出没は入雛前と出荷後に観察されたが、育成中は入雛後 1 週間を除き、観察されなかった（図 3 上 小課題 1 27 年度）。
- 出荷後鶏舎（50 基×2 日）および入雛前鶏舎（40 基×1 日）に罠を設置したが捕獲できなかった（小課題 1 27 年度）。

鶏舎（対照舎・対策済の同形の 2 鶏舎）で自動撮影カメラを用いてネズミ出没状況を調査した。

- 未対策の対照舎では、撮影数が多く、その変動も大きかった。
- 対策済舎においては、撮影数が低くその変動も少なかった（図 3 下 小課題 1 27 年度）。

岐阜大学附属農場でテレメトリー調査を計画していたが、周辺を利用するキツネ等が何頭いるか不明であること、捕獲行為によって放獣個体の行動が変化し得ることから、フェンスによる防除の有用性と効果について検証する予備調査を行った。

- 防除フェンスの内側での自動撮影カメラ調査では、フェンスの内側においてキツネが確認された（図 4 小課題 2 27 年度）。
- 畜舎を取り囲むフェンスにいくつかの穴が確認された（図 4 小課題 2 27 年度）。

鶏農場における自動撮影カメラ調査により農場敷地内へのイノシシの侵入が確認され、次の点が確認された。

- イノシシが鶏農場の飼料タンクからの飼料（こぼれたもの）を誘因として出没している（図 5 小課題 2 27 年度）。
- 出没しているイノシシは複数の群れにより主に夜間に出現する（図 5 小課題 2 27 年度）。
- カメラを設置した 7 月下旬から 9 月上旬まで高頻度に観察されたが、9 月中旬以降減少した（図 5 小課題 2 27 年度）。

↓

ネズミの出没場所や頻度は、畜舎構造や環境等によって変化するため、防鼠対策の効果を評価するためには、複数台のカメラを用いて入舎前から出荷後に至る期間をモニタリングする必要がある（小課題 1 27 年度）。

野生動物対策の基本方針である「捕獲」「防除」「環境改善」のうち、動物種や出没環境を考慮した実効性のある対策を提案する必要がある（小課題 2 27 年度）。

図 3

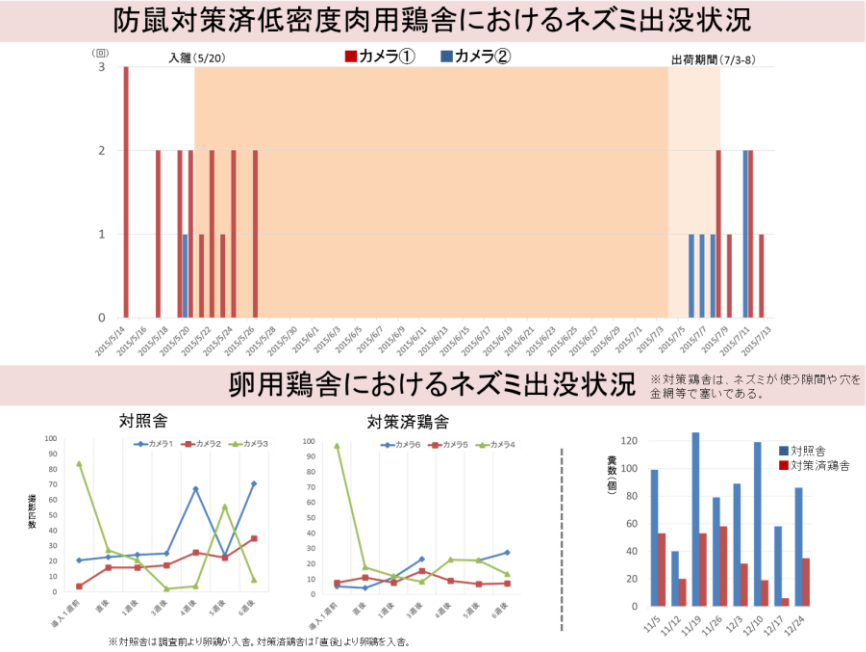


図 4 自動撮影カメラによるキツネの撮影状況

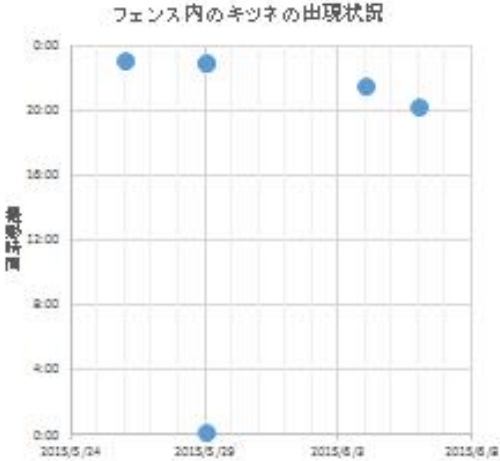
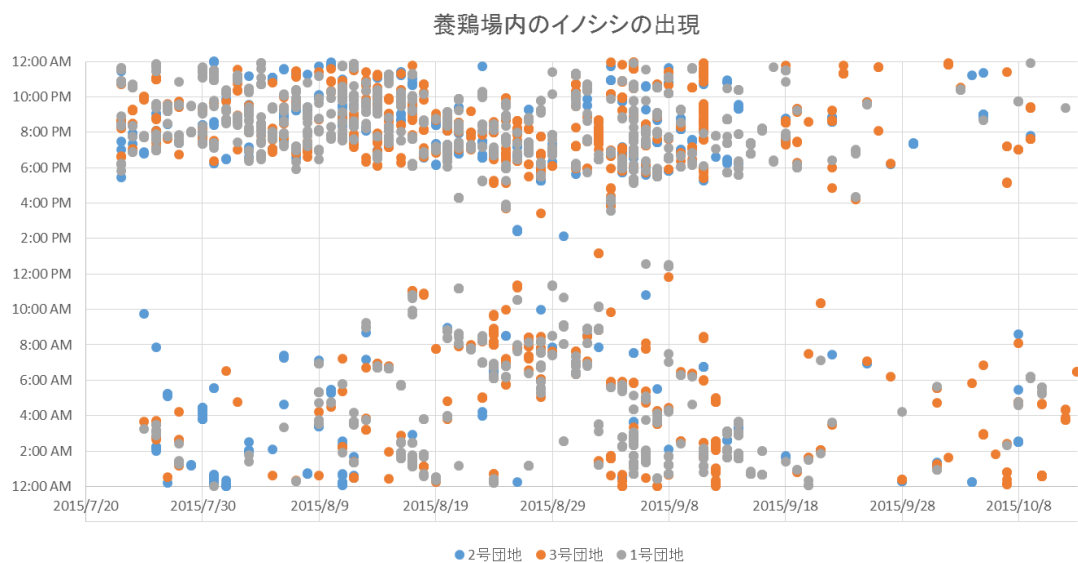


図5 自動撮影カメラによるイノシシの撮影状況



【工程表③】

ネズミの未対策鶏舎において、自動撮影カメラを壁上部の梁に設置し、ネズミの出没状況を調査した。

- 入鶏前にはネズミの出没が多く確認できたが、入鶏後、未対策であるのにも関わらず、出沒件数が減った（図6 小課題1 平成28年度）。
- 鶏の出荷後からネズミの出没が増えた（図7 小課題1 平成28年度）
- これらのことから肉用鶏舎においては、出荷前後に殺鼠剤を適切に設置することにより、防鼠対策が効率よくかつ効果的に行えることが考えられた。

豚舎においても自動撮影カメラを設置し、ネズミの出没状況を調査した。ネズミの出没に大きな変動性が確認された（図8 小課題1 平成28年度）。防鼠剤への馴致を行わなかったためか防鼠剤の効果は確認できなかったが、設置場所による出沒頻度が異なることから、カメラを通年設置することで出沒傾向を把握し、出沒が多い場所での防鼠対策で一定の効果をあげられることが予想された。

牛舎においては粘着シートにて防鼠対策を行った。既製の粘着シートをそのまま設置し

た場合、設置後 15 日間のネズミの出没は 2 地点ともに設置前より減少したが、粘着シート上およびその周辺へ農場で使用している飼料を散布したところ、2 地点共に出没が大幅に増加した（図 9 小課題 1 平成 28 年度）。A 地点では移動経路を塞ぐように設置したため、捕獲にも成功している。以上のことから、既製の粘着シートに新鮮な飼料などを散布し、誘引する捕獲が効果的だと示唆された。

岐阜大学附属農場で確認されたフェンスの破損部分を補修し、その後のキツネの出現を自動撮影カメラで観察した。補修後にキツネの再侵入が観察されるまでの期間は 4～21 日であった。実験的に電気柵（心理柵）を設置した期間はキツネの出現が見られず、物理的な策に切り替えた期間にのみフェンス内にキツネの出現が見られた。（図 10 小課題 2 平成 28 年度）

イノシシが多数確認された養鶏場においては、「エサこぼし」が誘因と考えられた一部の飼料タンクに対して電気柵による防除を実施した。電気柵設置後は防除をほどこした飼料タンクの下での探餌行動が見られなくなった。（図 10 小課題 2 平成 28 年度）

防除柵の有効性とカメラによって得られる情報から判断すると、効率的な防除のために以下の条件が考察された。

- 自動撮影カメラや痕跡等の確認により、侵入している鳥獣に関する情報を管理者側が持っていること
- 電気柵については適切に設置されていること
- 物理柵は、1 週間に 1 回程度破損状況を確認すること

物理柵は既存のものを利用する場合は非常にコストが低い、ネコ、アライグマ、ハクビシンといった木登りが可能な生物ではほとんど効果が期待できない。電気柵を設置する場合は 3 万円以上のコストがかかるが、中大型哺乳類に対して十分な効果があると考えられる。（小課題 2 平成 28 年度）

サルモネラ関係の分子疫学解析

- H28 年度の中課題 1 小課題(1)で養豚場（P-D 農場）の豚舎外野生動物（キツネ）糞便と H28 年肉牛農場（B-L 農場）の牛舎柵ふき取り材料から *Salmonella* Nagoya が分離された。両分離株の PFGE 型は異なった。（図 11 小課題 3 平成 28 年度）
- P-D 農場で採取した野生動物（キツネ、野鳥）とネズミから分離された *Salmonella* O4:i- は、飼育動物（ふき取りスワブ）由来株と同一の PFGE 型を示した。しかし、農場全体では多様な PFGE 型の株が分離されており、遺伝子型が変異した可能性と複数の汚染源による感染が示唆された。（図 12、13 小課題 3 平成 28 年度）

カンピロバクター関係の分子疫学解析

- P-D 農場で採取したネズミと飼育動物（ふき取りスワブ）から分離された *Campylobacter*

coli は、多様な PFGE 型を示した。同一の PFGE 型を示した株は、同時期に同一豚舎で採取したものであったが、ネズミと飼育動物の関連は明らかにできなかった。(図 14 小課題 3 平成 28 年度)

以上の成績から、野生動物やネズミが *Salmonella* や *Campylobacter* を保菌することが明らかとなり、特に *Salmonella* の感染環を形成する可能性が示唆されたことから、効果的な防除対策を実施する必要がある。(小課題 3 平成 28 年度)

図 6

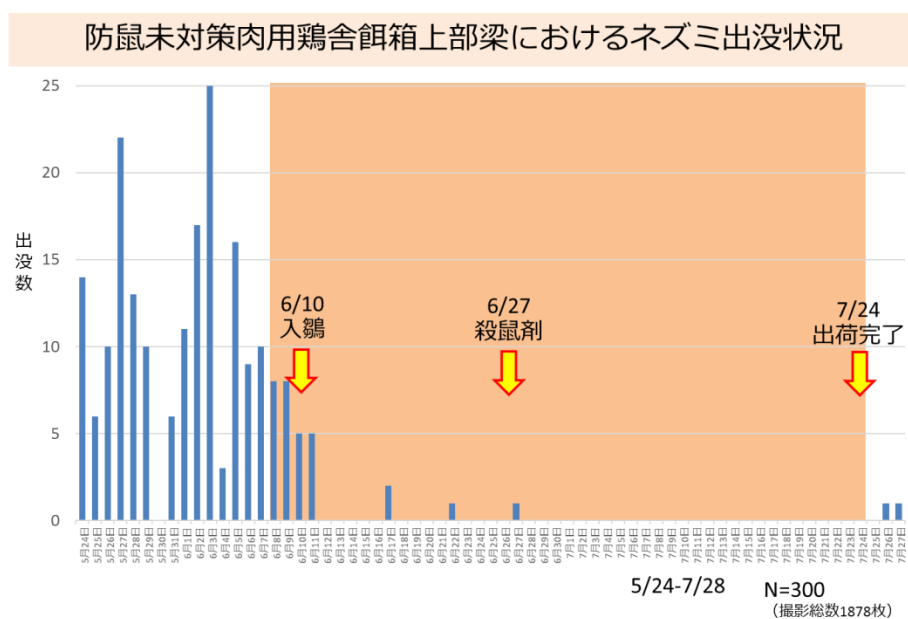


図 7

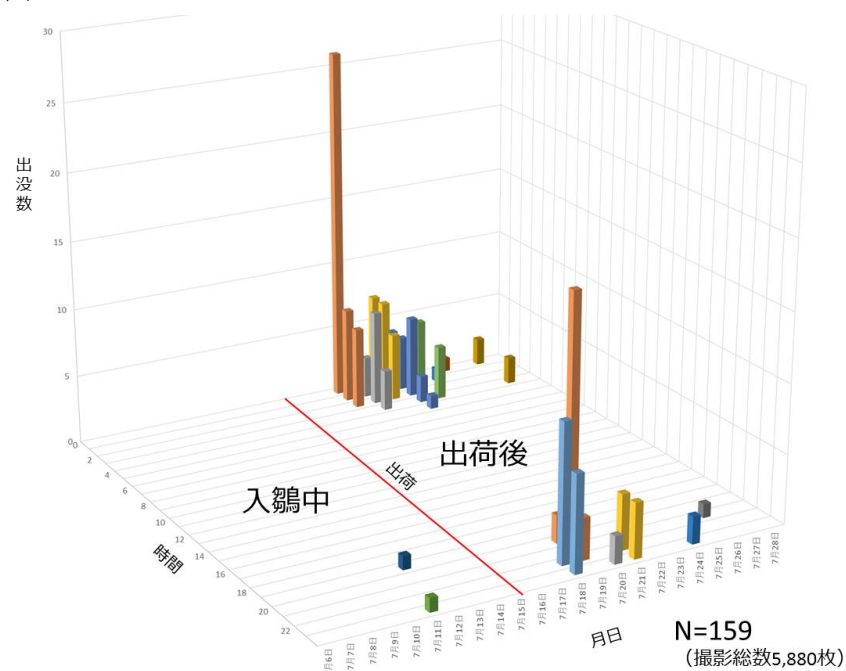


図 8

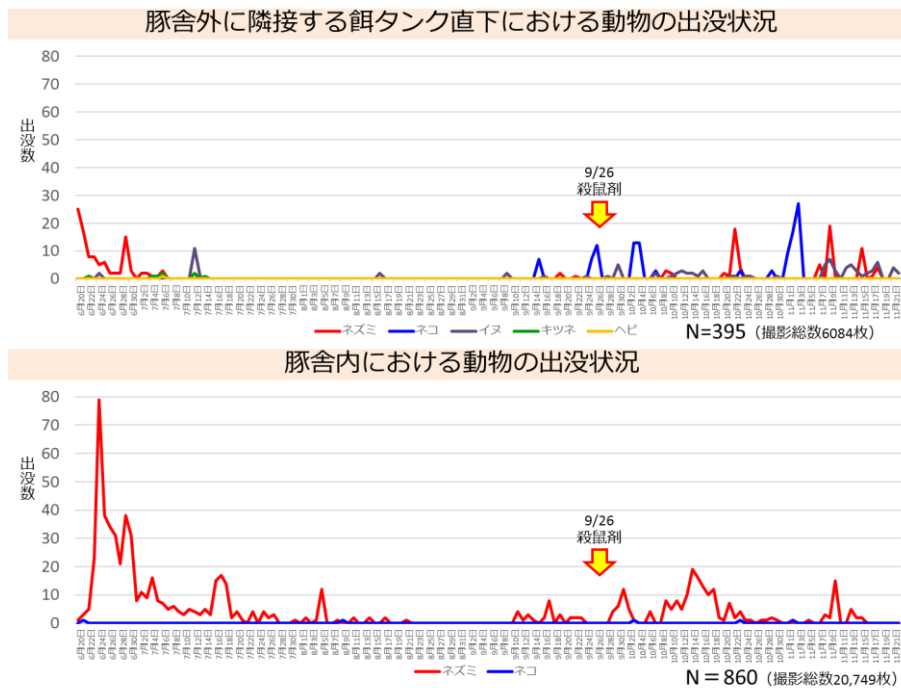


図 9

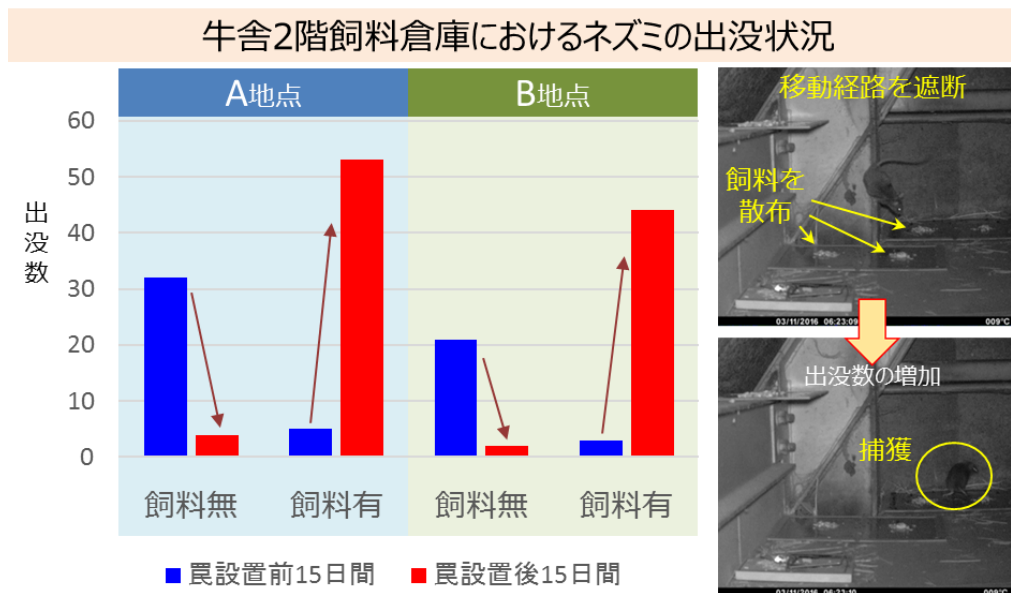


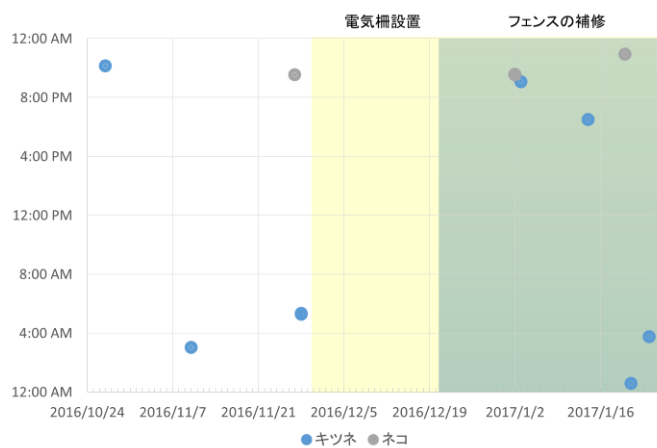
図 10 防除対策前後のキツネとイノシシの反応



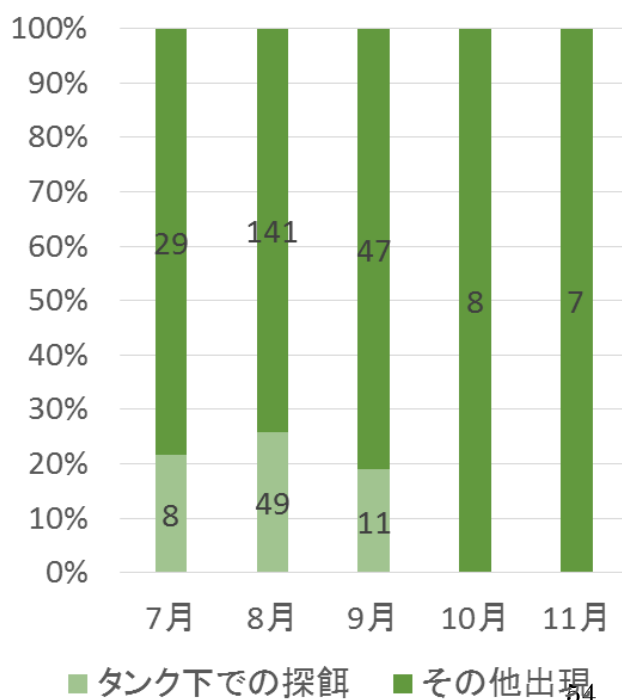
設置された電気柵



電気柵設置期間の反応



防除前(7,8,9月)と後(10,11月)の
飼料タンクでのイノシシの行動



電気柵の設置



近づかなくなるイノシシ



S. Nagoya 分子疫学解析(PFGE)

試験

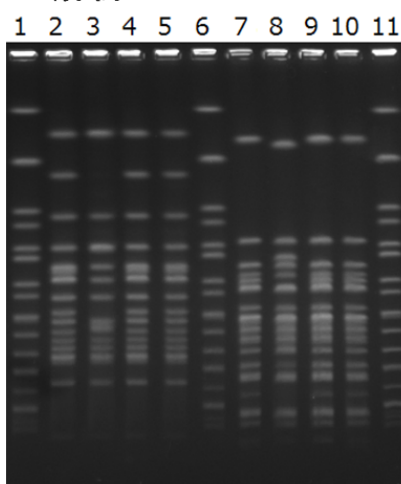
材料

- Lane 1, 6, 11: S. Braenderup H9812のXba1処理像(分子量マーカー)
- Lane 3&8: H28年P-D農場豚舎外野生動物(キツネ)糞便由来
- Lane 2&7: H28年B-L農場牛舎柵ふき取り由来
- Lane 4&9: H26年捕獲イノシシ(No. 8)糞便由来
- Lane 5&10: H26年捕獲イノシシ(No. 21)糞便由来

結果

- 牛農場(ふき取り、B-L農場)と豚農場(キツネ、P-D農場)で分離された株は異なる遺伝子型で由来が異なる。
- 豚農場(キツネ)由来株はA県内の野生動物に分布する株と類似していた。
→野生動物関連株の存在?

PFGE解析



S. Nagoya 分子疫学解析(PFGE)

試験

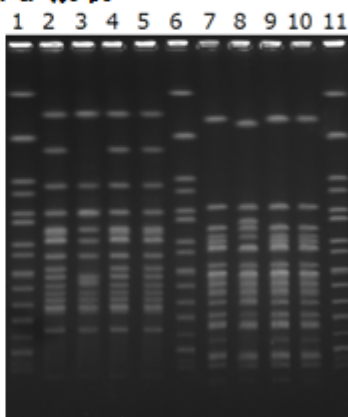
材料

- Lane 1, 6, 11: S. Braenderup H9812のXba1処理像(分子量マーカー)
- Lane 3&8: H28年中瀬P-D農場豚舎外野生動物(キツネ)糞便由来
- Lane 2&7: H28年東瀬B-L農場牛舎柵ふき取り由来
- Lane 4&9: H26年岐阜市内捕獲イノシシ(No. 8)糞便由来
- Lane 5&10: H26年岐阜市内捕獲イノシシ(No. 21)糞便由来

結果

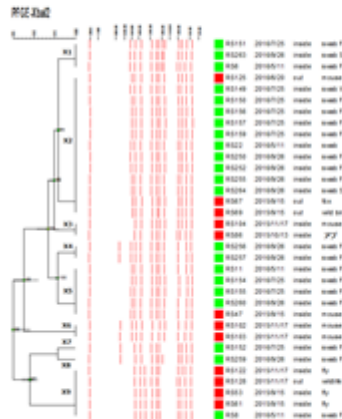
- 牛農場(ふき取り、東瀬)と豚農場(キツネ、中瀬)で分離された株は異なる遺伝子型で由来が異なる。
- 豚農場(キツネ)由来株は岐阜市内の野生動物に分布する株と類似していた。
→野生動物関連株の存在?

PFGE解析

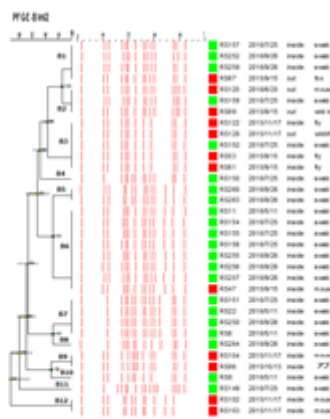


P-D農場で分離されたSalmonella O4:i-の 分子疫学解析(PFGE)

Xba1切断像



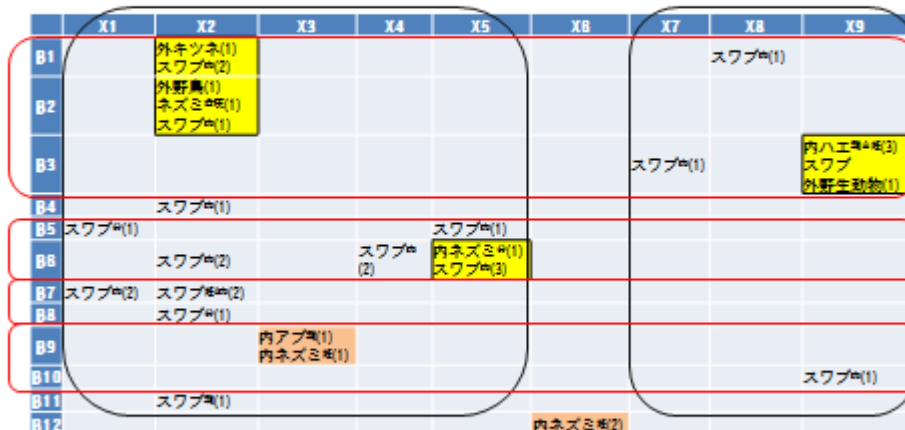
Bln1切断像



・複数の株による汚染又は2年間で遺伝子型の多形化した可能性

図 13

Xba1切断像とBln1切断像の組み合わせに よる由来サンプル別の解析

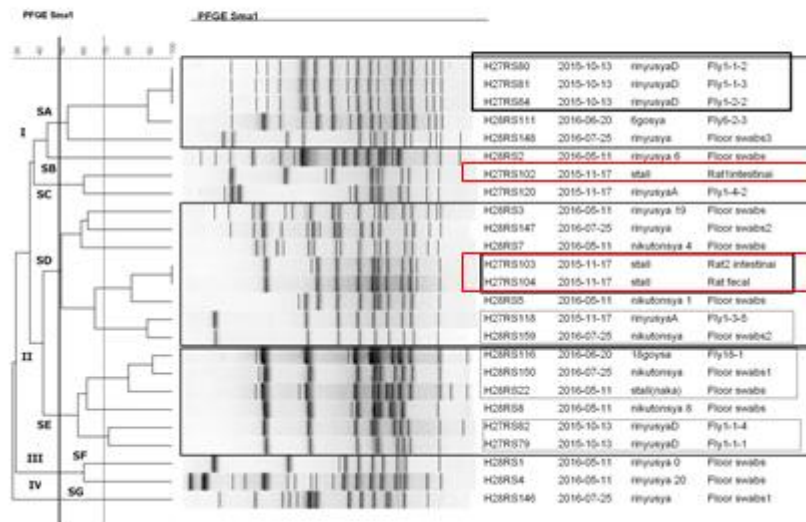


黄色枠付き: 畜舎スワブ由来株と野生動物で同じ遺伝子型の株

- ・舎外動物への汚染？
- ・畜舎外動物からの汚染？
- ・舎内昆虫と舎外動物の関連？
- ・舎内ネズミ・ハエによる畜舎間の拡散？

図 14 ネズミ由来株を赤枠で示した

P-D農場で分離された*Campylobacter coli*の分子疫学解析(PFGE)



3) 成果目標に対する達成状況

自動撮影カメラを用いて野生動物の種類別に生態や行動・環境利用様式を解明し、野生動物の種類に応じた防除対策の効果を定量的に評価した。これらの成果から、畜産農場での農場内及び周辺に出没する野生動物の種類の特定期間と、防除対策の有効性を判定する方法を確立することができた。そして、野生動物の侵入防止方法は野生動物の種類によって異なるため、それぞれの行動様式に基づいて策定し別紙 1 に示した。また、野生動物の出現要因としての「エサこぼし」を特定したことで、畜産農場での環境整備を含めた総合的な防除方法の提示まで滞りなく実施した。

(3) 中課題 3 (農場に生息する衛生害虫の防除法の確立と経済効果) の研究成果

1) 工程管理及び成果目標

工程表
① ハエを対象にサルモネラとカンピロバクターの保菌状況検査と衛生害虫の被害および対策状況の調査 (小課題 1 及び 2 関連)。(平成 26 年度)
↓
② ハエ及びガイマイゴミムシダマシ防除対策の比較 (小課題 1 及び 2 関連)。(平成 27 年度)
↓
③ 防除策の有効性の検討 (小課題 1 及び 2 関連)。(平成 28 年度)

成果目標：-農場に生息する衛生害虫の食中毒菌保有状況、衛生害虫の被害状況及び対策状況を調査し、食中毒菌汚染低減の取組が育成成績の向上や家禽疾病の予防に寄与するのか明らかにする。また、聞き取り調査から、農場で有効な汚染低減対策を立案し、その効果を検討する。

表記上の明確化を図るため成果目標を見直した。なお、見直しにあたっては、平成28年度第2回研究推進会議（平成28年12月7日開催）で研究課題運営チームと合意済み。

2) 各工程の進捗状況及び成果

【工程表の①】

食中毒菌低減の取組が、育成成績の向上や家禽疾病の予防にもつながるのか検証するため、鶏舎の育成成績を調査しサルモネラ・カンピロバクターの菌分離成績と比較したところ、相関関係は見られなかった。（図1 小課題1 26年度）

肉用鶏農場の鶏舎外の手拭と鶏舎内ソックススワブから分離されたサルモネラとカンピロバクターで遺伝子型が一致した株があり、手拭が農場内で菌を拡散している可能性があることが示唆された。（図2 小課題1 26年度）

アンケート調査を実施したところ、手拭対策は、肉用牛及び豚農場で実施されているが、肉用鶏農場では実施されていない。一方、ガイマイゴミムシダマシについて、存在がほとんど認識されていない。（図3 小課題2 26年度）

図1 鶏舎の培養結果と鶏群の成績

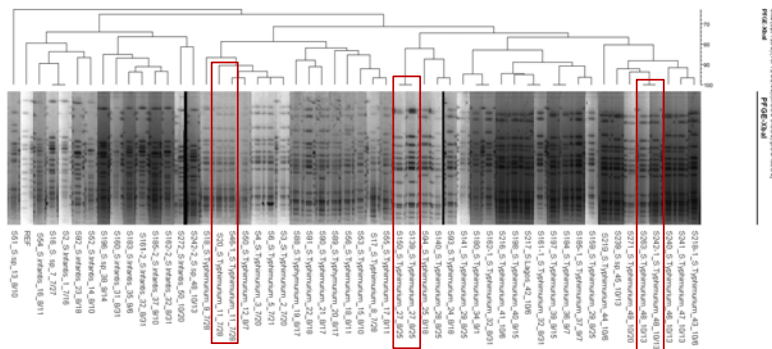
鶏舎の培養結果と鶏群の成績（鶏舎1-10までの成績）

			サルモネラ	カンピロバクター	FC	PS	総合点
鶏舎	地域	採材日	ソックス検体	ソックス検体			
1	A	7月14日	SI	CJ	1.724	372.231	550.37
2	B	7月20日	ST		1.712	360.514	539.14
3	B	7月20日	ST		1.675	380.833	564.07
4	B	7月21日			1.996	267.7	413.09
5	B	7月21日	ST		1.747	346.189	521.7
6	A	7月27日			1.891	289.65	421.11
7	A	7月27日	sp		1.869	300.89	477.36
8	B	7月28日	ST	CJ	1.883	274.727	421.52
9	B	7月28日	ST	CJ	1.686	333.955	517.04
10	B	7月28日		CJ	1.822	284.937	430.48

PS = 日増体×育成率÷FC×100 総合点=PS+坪重量
菌分離と成績は相関していない

図2 ハエとソックススワブから分離された *Salmonella* と *C.jejuni* の相同性を示す PFGE と MLST の結果

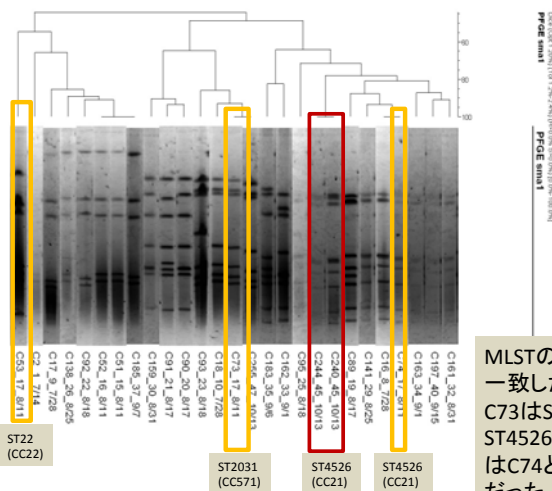
結果 PFGE とMLST *Salmonella*



同一農場の鶏舎外のアヒと鶏舎内ソックスから分離されたペアは他の株と比較し高い相同性を示した

MLSTを実施した *S. Typhimurium* 6株はすべてST328だった

MLSTの結果



MLSTの結果はPFGEの結果と一致した。C53はST22 (CC22)、C73はST2031 (CC574)、C74はST4526 (CC21)、C240とC244はC74と同じST4526 (CC21) だった

図3 アンケート調査の集計

農場におけるネズミ及び衛生害虫の 対応状況(アンケートの集計)

畜種	件数	回答数	区分	ネズミ駆除	ゴキムシダマシの発生	ハエ(駆除薬)	ハエ(捕虫器)
肉用牛	17	16	有	5	2	10	4
			無	11	10	6	11
			記載なし		4		1
豚	7	5	有	4		3	2
			無	1	4	2	3
			記載なし	0	1	0	0
肉用鶏	6	6	有	5	3	1	0
			無	1	2	4	5
			記載なし	0	1	1	1
全休			有	14	5	14	6
			無	13	16	12	19
			記載なし	0	6	1	2

ガイマイゴキムシダマシ発生有と回答した農場での聞き取りと現地調査

- ・ベニア・断熱材の劣化:動噴による洗浄の影響もある
- ・発生は鶏舎の隅:乾燥しているとゴキムシダマシの成虫を見かける
- ・発生状況:7鶏舎中1鶏舎で集団発生を確認、2鶏舎で死骸を確認

【追】経済性に影響する疾病として、大腸菌症が関与する（小課題2 図4）。その他の要因として、夏場の平均気温が影響する（図5 小課題2 26年度）。

図4 食鳥検査時の死鳥羽数を損害として、大腸菌症の影響を解析した。大腸菌症は影響したが、その他に別の要因の存在が示唆された。

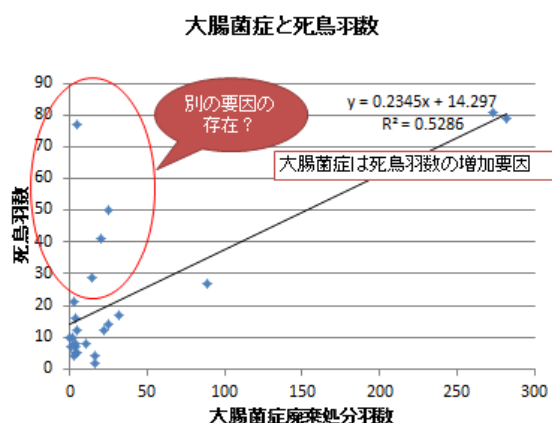
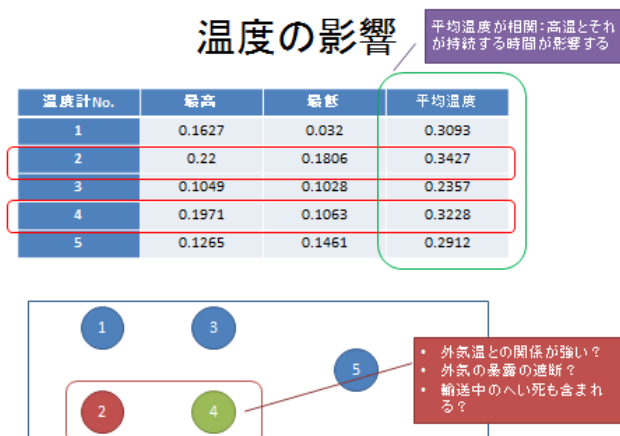


図5 食鳥検査時の死鳥羽数の増加に、温度も影響する。



【工程表②】

ハエが食中毒細菌の牛への伝播に関与しているか否か確認するとともに、関与していればその伝播を防止する方法を検討するため、牛（酪農）農場で食中毒菌の分離を行った（小課題1 27年度）。

- 成牛、育成牛、ハエから STEC が分離された（図6 小課題1 27年度）

- 農場のハエと牛から分離された STEC の関連を調べたところ、PFGE 型が 2 組で同一であった。 (図 7 小課題 1 27 年度)
農場内 8 箇所に捕虫器を設置し、農場内のハエの分布、ハエの発生源の特定を実施した (小課題 1 27 年度)。
- 農場内でハエの分布は育成舎、子牛舎周辺で多かった。ハエ幼虫の発生源は子牛舎周辺であった (図 8 小課題 1 27 年度)。
- ハエ対策として IGR 剤の散布場所を決定した。
次年度に実施するハエ対策の効果判定の指標として牛糞便中の STEC の量的変化を検出するため、培養法と定量 PCR 法の比較検討を行った。
- STEC 検出力は増菌培養後に選択培地を使用する従来法の方が高く、培養法を採用する (図 9 小課題 1 27 年度)。

鶏農場において害虫防除対策を検討するため、出荷後の糞や敷料が残ったままの鶏舎 (全長 100m×幅 15m) 及び死鳥置き場 (間口 5m×奥行 3m) に捕虫器を設置し、害虫の発生状況を調査した (図 10 小課題 2 27 年度)。

- ハエ及びガイマイゴミムシダマシの発生は鶏舎内で認められず、2 日間でハエ 1 匹を捕獲した (図 11 小課題 2 27 年度)。
- 死鳥置き場ではハエの発生が認められたが、ガイマイゴミムシダマシの発生は認められなかった。捕虫器により 1 日目にハエ 20 匹、2 日目にハエ 24 匹及びガイマイゴミムシダマシ 1 匹を捕獲した (図 11 小課題 2 27 年度)。
- 死鳥置き場で捕獲したハエからサルモネラが分離された (図 13 小課題 2 27 年度)。
薬品の使用が制限される無薬飼育ブロイラー農場でハエの発生防止策を検討した。農場で使用可能な薬剤を選定した結果、ウジの除去、洗浄、消毒 (ゾール剤、石灰塗布) を実施し、ハエの捕獲を行った (図 12 小課題 2 27 年度)。
- ハエの発生への影響は認められなかった。
- 捕獲したハエからサルモネラが分離されたが、細菌数の減少傾向が観察された (図 13 小課題 2 27 年度)。
- 対策前及び対策後にハエから分離されたサルモネラは、農場の飼育鶏から分離されるサルモネラと同一の PFGE 型を示した。 (図 14 小課題 2 27 年度)。

図6 牛、ハエ、環境から分離された STEC

9月にサルモネラ、黄色ブドウ球菌、STECの分離を行った。サルモネラ、黄色ブドウ球菌は分離されなかった。成牛（54%）、育成牛（50%）、ハエから STEC が分離された。11月にウォーターカップ、牛舎の壁などの環境材料からは STEC は分離されなかった。9月と11月の2回の採材で全く異なる血清型の STEC が分離された。

9月採材時の STEC 分離結果						
	分離数	分離率	O8 H9	O26 H11	O119 NT	O119 H11
搾乳牛	14/26	54%	0	9	4	1
育成牛	1/2	50%	0	1	0	0
クロバエ	1/1		0	1	0	0
サシバエ	1/1		0	0	1	0
イエバエ	1/17	6%	1	0	0	0
餌槽	1/2	50%	1	0	0	0

11月採材時の STEC 分離結果				
	分離数	分離率	O115 NT	
搾乳牛舎壁	0/4	0%		
育成舎	1/4	25%	1	
イエバエ	1/8	13%	1	
ウォーターカップ	0/17	0%		
餌槽	0/26	0%		

図7 牛から分離された STEC 株とハエから分離された株の PFGE 法を用いた比較

同一血清型でも異なる PFGE 型を示した。9月に採材したハエと牛の糞便から分離された O26 株で同一の PFGE 型を示した株があった。また餌槽とハエから分離された O8 株についても DNA 切断パターンは一致した。ハエが STEC を農場内で拡散している可能性があるかと推測した。

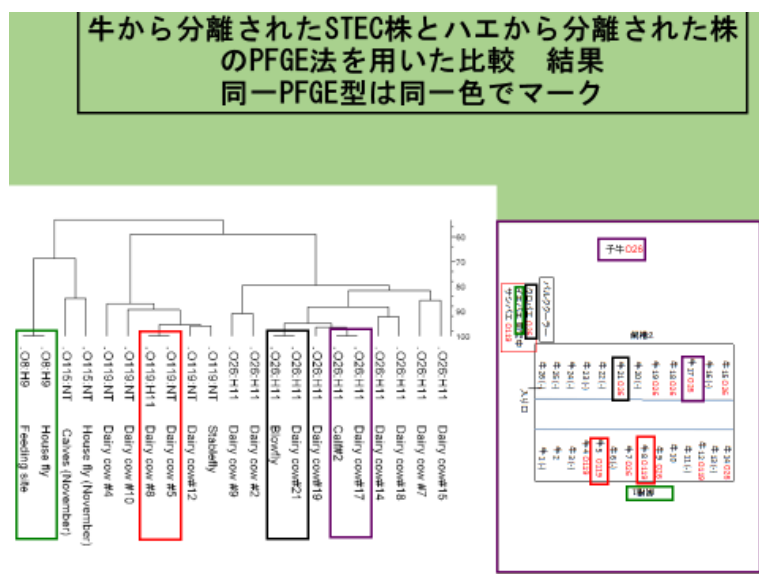


図 8 農場でのハエの捕獲とハエ発生源の特定
 育成舎でハエの発生が多く、ハエの発生源も育成舎で特定できた。



図9 搾乳牛の糞便中の STEC の定量化方法の検討

搾乳牛の糞便中のSTECの定量化方法の検討									
検体 No	定性(分離したSTECの遺伝子)					定量値(糞便200mg中)			
	O抗原	H抗原	stx1	stx2	eae	stx1 (定量値)	stx2 (定量値)	eae (定量値)	
1	-	-	-	-	-	-	-	188	増菌後選択培地からSTECを 分離した成績の方が(14/26) 定量PCRでeae検出(5/26) と比較すると検出率は高かった。
2	O26	H11	+	-	+	331	228	3690	
3	-	-	-	-	-	-	-	-	
4	O119	不明	-	-	+	-	267	-	
5	O119	不明	-	-	+	-	191	-	
6	-	-	-	-	-	-	133	-	定量PCRでeae、stx1、stx2の いずれかが検出された検体は 14/26で増菌後選択培地から 分離した成績と(14/26)同一だった。
7	O26	H11	+	-	+	-	129	-	
8	O119	H11	-	-	+	13.5	-	-	
9	O26	H11	+	-	+	44	-	-	
10	O119	不明	-	-	+	-	-	463	
11	-	-	-	-	-	-	133	-	定性PCRでeaeやstx遺伝子が 増幅されているが、定量PCRで 増幅されていない検体があった。
12	O119	不明	-	-	+	-	-	-	
13	-	-	-	-	-	-	-	47	
14	O26	H11	+	-	+	54	-	-	
15	O26	H11	+	-	+	-	-	-	
16	-	-	-	-	-	-	-	-	ハエ対策後の量的変動の指標として の可能性を検討したが、指標として 用いるのは難しく、使用しない。
17	O26	H11	+	-	+	-	-	-	
18	O26	H11	+	-	+	-	-	244	
19	O26	H11	+	-	+	-	195	-	
20	-	-	-	-	-	-	-	-	
21	O26	H11	+	-	+	-	-	-	
22	-	-	-	-	-	-	-	-	
23	-	-	-	-	-	-	-	-	
24	-	-	-	-	-	-	-	-	
25	-	-	-	-	-	-	-	-	
26	-	-	-	-	-	-	-	-	

図10 ブロイラー養鶏場でのハエの調査

鶏舎



死鳥置場



図 11 ブロイラー養鶏場でのハエの捕獲状況

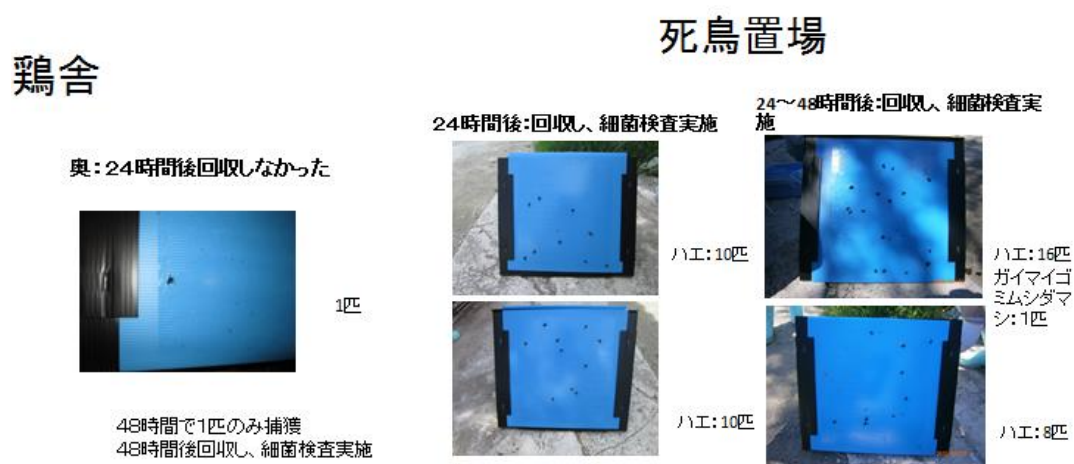


図 12 ハエの発生防止策の検討 と対策後の検査結果



写真1、死鳥小屋の中の物をすべて小屋から出す。



水洗、消毒後、消石灰乳を小屋の内外の壁面、天井、床に塗布する。



写真2、死鳥小屋の床に散乱している蛆の残骸(さなぎの殻)を水で小屋の外へ流し出す。



死鳥を入れるバツカンなどを小屋の中に入れる。

図 13 ハエ対策前後の検査結果

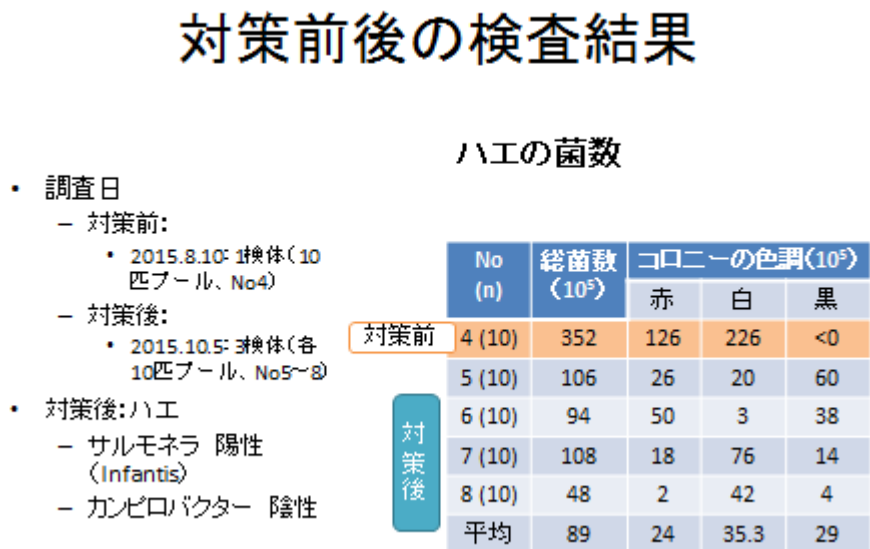
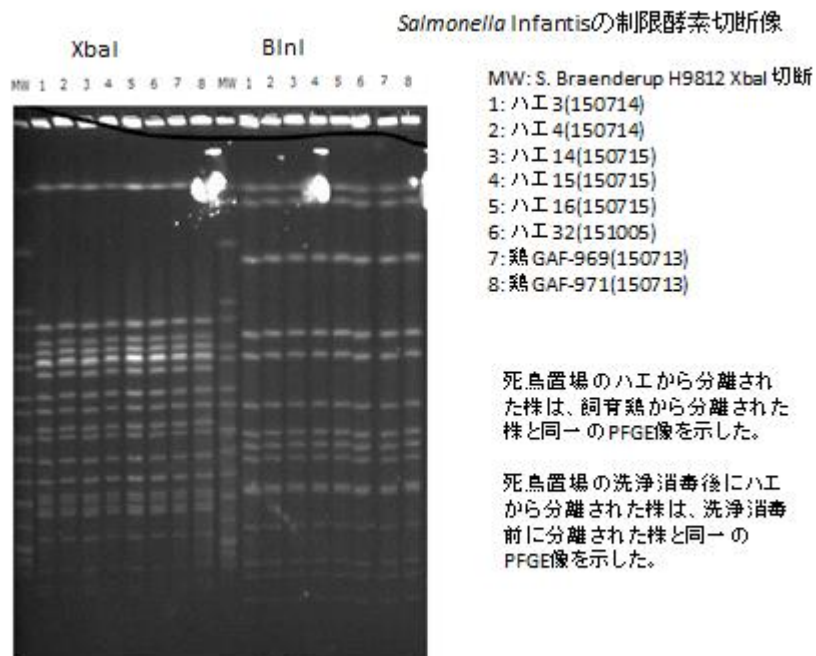


図 14 対策前と対策後にハエから分離されたサルモネラの PFGE による比較



【工程表③】

平成 27 年度本事業の酪農場でのハエ発生源特定調査の結果に基づき、3 月～5 月と 11 月に月 1 回、6 月と 10 月は月 2 回、7～9 月には毎週 20 g/m² 量の IGR 剤をハエの発生源に散布した。7～9 月は成虫殺虫剤のピレスロイド剤を適時散布した。サシバエが増加する 9 月と 10 月には補助対策として粘着シート型ハエ捕獲器を設置してハエの量的変化を観察した。

- 夏場は複数の対策を実施しているにもかかわらず、サシバエの捕獲数が増加した。薬剤だけではハエの分布が多い農場では制御に困難さを伴うことが示唆された。(図 15 小課題 1 28 年度)。
- 平成 27 年 9 月と平成 28 年 9 月のバルククーラー前でのハエの捕獲数の比較では、平成 28 年には平成 27 年度の約 1/50 しかハエは捕獲されず、ハエ対策の効果が認められた (図 16 小課題 1 28 年度)。
- 平成 27 年 11 月と平成 28 年 11 月のハエの捕獲数の比較では平成 28 年度育成舎において粘着シート型ハエ捕獲器①でハエの数は 1/400 に減少したのを初め、ほとんどの箇所
で減少し、ハエ対策の効果が顕著に認められた。搾乳牛舎と牛舎では平成 27 年度でも
ハエの捕獲数は育成舎と比較して極めて少数で、平成 28 年度では増減は観察されな
かった (図 16 小課題 1 28 年度)。

ハエ対策を実施中月に一度、搾乳牛全頭を対象として直腸便を採取し、mEC ブロスで増菌後、クロモアガー STEC を用い STEC を分離した。捕獲されたハエからも同様に STEC を分離した。分離した STEC の志賀毒素産生性を PCR で確認し、O 抗原と H 抗原を決定した。

- 搾乳牛とハエから分離されたすべての STEC 株は O26 H11 で Vtx1 遺伝子のみ保有していた。
- 搾乳牛からの O26 の毎月の分離率は 5 月に 66.7%に上昇した後減少に転じ、11 月には分離されなかった(図 17 小課題 1 28 年度)。
- ハエ対策実施前の平成 27 年 9 月と実施後の平成 28 年 9 月の搾乳牛からの STEC O26 の分離率を比較したところ、平成 27 年の 34.6% (9/26)から、平成 28 年の 4.3% (1/23)に有意 ($P<0.05$)に分離率は低下した (図 17 小課題 1 28 年度)。ハエ対策との因果関係は不明。
- 搾乳牛からの STEC O26 H11 の分離率が高い月にハエからも分離される傾向があった。牛の保菌率が高い季節に牛から排菌された STEC をハエが農場内に拡散している可能性が示唆された。(図 18 小課題 1 28 年度)

衛生害虫由来株の分子疫学解析を PFGE 法により実施した。比較対象は飼育場所のふき取り検査 (中課題 1 (1)) で分離された株を用いた(小課題 2 28 年度)。

- 衛生害虫によるサルモネラ伝播の可能性を検討するため、P-D 農場で採取したハエか

ら分離された *Salmonella* O4:i-と飼育動物（ふき取りスワブ）由来株を用いて PFGE 法により解析した。ハエ由来 3 株は、同一の遺伝子型（X9-B3）を示し、飼育動物（ふき取りスワブ）由来株の中に同一の PFGE 型を示す株が認められた。（図 19 小課題 2 28 年度）

- P-D 農場で採取したハエと飼育動物（ふき取りスワブ）から分離された *Campylobacter coli* の PFGE 像を用いて系統解析した結果、7 つの系統（SA～SG）に分けられた。ハエ由来 9 株は、SA（4 株）、SC（1 株）、SD（1 株）及び SE（3 株）に分類され、SA、SD 及び SE には飼育動物（ふき取りスワブ）由来株も存在した。（図 20 小課題 2 28 年度）
- 以上の成績から、ハエが保菌する *Salmonella* や *Campylobacter* は、飼育動物由来株と同一もしくは同系統群に分類され、食中毒菌の伝播に関与することが示唆された。

次に、環境整備、IGR 剤、殺虫剤等によるハエの防除対策を生産農場で実施し、作業性、経費及び対策の効果を検証するため、粘着シート型ハエ捕獲器による捕獲と、対策実施農場を対象に聞き取り調査を実施した(小課題 2 28 年度)。

- 実施した内容によりさまざまであるが、対策経費は、約 45000 円から 300000 円であった(図 21 小課題 2 28 年度)。
- ハエ対策は、6 農場全てで実施され、5 農場で幼虫・成虫対策が実施され、B-L 農場では IGR 剤のみ実施された。具体的には、B-E 農場では、IGR 剤、ピレスロイド系殺虫剤（ETB 剤）、ハエ取シート及び防虫ネット、C-B 農場では、IGR 剤とオルソ系殺虫剤（ゾール剤）、B-M,P-D 及び P-G 農場では IGR 剤とハエ取シートを用いた(図 21 小課題 2 28 年度)。
- 効果は、①全期間通して少量、②減少後、激増、③対策後増加の 3 パターンに分けられた。特に、対策後増加した農場（B-L）は、IGR 剤のみが実施されていた農場であった。その他の農場では幼虫・成虫対策が実施されたが、②パターン（減少後、激増）の農場では IGR 剤散布の追加散布が不足ことが要因であった。IGR 剤散布は、こまめに実施することが必要なため、労力を要するが、継続的に実施すれば効果的な方法である。①パターン（全期間通して少量）の農場は、一方は水洗式でもう一方はゾール剤消毒が継続的に実施され、ハエの発生源が極めて限られていたことが要因と考えられた(図 22 小課題 2 28 年度)。
- ネズミ対策、ハエ対策、環境整備、野生動物対策の重要性は多くの農場で理解され、過半数の農場が継続すると回答した。特に、環境整備と野生動物対策は新たに実施した全農場で継続すると回答した(図 23 小課題 2 28 年度)。
- アンケート結果を集計したところ、作業性は継続率に影響せず、対策経費は継続率に影響する部分要因であるが、対策効果が最も強く影響していた(図 24 小課題 2 28 年度)。

- 以上のことから、効果的な対策方法の確立が、生産者の継続意識を高めるために必須と考えられた。

図 15 ハエ対策後のサシバエとイエバエの毎月の捕獲数変化

ハエの捕獲数変化

イエバエ										
trap 番号	4月	5月	6月	7月	8月	9月	10月	11月		
1	0	0	1	0	0	0	0	0		
2	0	2	8	0	0	0	8	1		
3	0	2	0	0	0	0	2	0		
4	0	2	0	0	0	0	0	0		
5	0	0	3	0	11	0	0	0		
6	0	2	5	20	6	3	3	3		
7	0	4	2	1	1	0	11	0		
8	0	0	8	22	0	0	3	2		
9	0	0	0	0	0	0	0	0		
合計	0	12	27	43	18	3	27	6		

サシバエ										
trap 番号	4月	5月	6月	7月	8月	9月	10月	11月		
1	2	0	8	0	45	18	11	0		
2	0	0	0	10	32	21	22	2		
3	0	0	0	7	5	12	7	1		
4	0	0	0	9	0	22	18	3		
5	0	0	1	14	56	92	56	2		
6	0	0	0	5	9	4	9	0		
7	0	1	2	2	4	27	6	1		
8	1	5	0	10	40	17	26	7		
9	0	0	2	9	35	10	5	2		
合計	3	6	13	66	226	223	160	18		

夏場は春に比較して、複数の対策を実施しているにもかかわらず、特にサシバエの捕獲数は増加

図 16 平成 27 年度と平成 28 年度のハエの捕獲数の比較



図 17 搾乳牛からの STEC O26 の毎月の分離率とハエ対策前後の分離率の変化

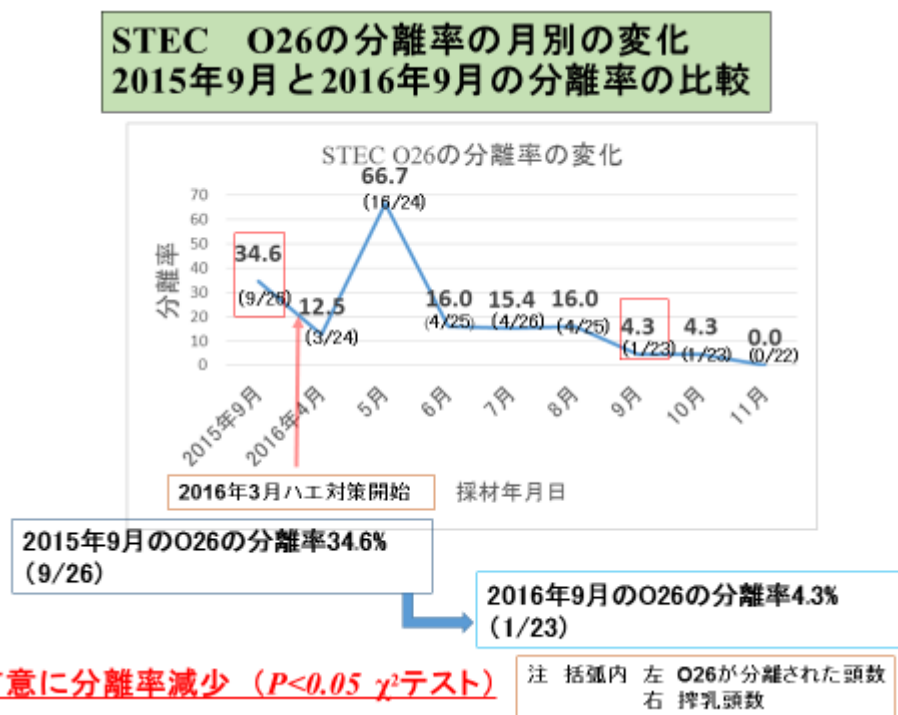


図 18 搾乳牛からの STEC O26 の毎月の分離率の変化とハエからの STEC の分離

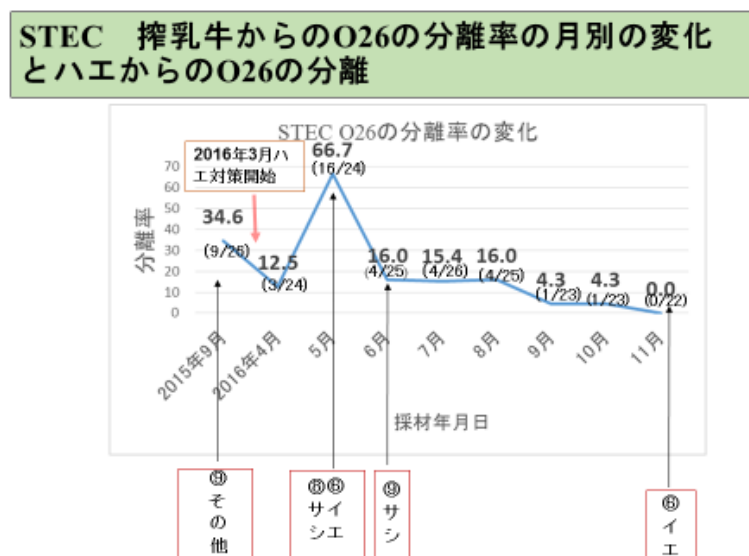


図 19

Xba1切断像とBln1切断像の組み合わせによる由来サンプル別の解析

	X1	X2	X3	X4	X5	X6	X7	X8	X9
B1		外キツネ(1) スワブ(2)						スワブ(1)	
B2		外野鳥(1) ネズミ(1)							
B3		スワブ(1)					スワブ(1)		内ハエ(1) スワブ 外野生動物(1)
B4		スワブ(1)							
B5	スワブ(1)				スワブ(1)				
B6		スワブ(2)		スワブ(2)	内ネズミ(1) スワブ(3)				
B7	スワブ(2)	スワブ(2)							
B8		スワブ(1)							
B9			内アブ(1) 内ネズミ(1)						
B10									スワブ(1)
B11		スワブ(1)							
B12						内ネズミ(2)			

黄色枠付き: 畜舎スワブ由来株と野生動物で同じ遺伝子型の株

- ・ 畜舎外動物への汚染？
- ・ 畜舎外動物からの汚染？
- ・ 畜内昆虫と畜舎外動物の関連？
- ・ 畜内ネズミ・ハエによる畜舎間の拡散？

図 20

P-D農場で分離された*Campylobacter coli*を用いたSma1切断像による由来サンプル別の解析

系統群	亜群	株番号	対策後の月数	採材日	採材場所	材料	ウイルス	S. 04i-	
								SI	Xba1
I	SA	111	0	425416	鶏舎	ハエ6-2中型-3			
	SA	148	1	42576	鶏乳舎	床スワブ			
	SB	2	0	42501	鶏乳舎 6	床スワブ			
II	SD	3	0	42501	鶏乳舎 19	床スワブ	PCV2-2B		
	SD	5	0	42501	肉豚舎 1	床スワブ			
	SD	7	0	42501	肉豚舎 4	床スワブ			
	SD	147	1	42576	鶏乳舎	床スワブ			
	SD	159	1	42576	肉豚舎	床スワブ		X2	B2
	SE	8	0	42501	肉豚舎 8	床スワブ		X9	B10
	SE	22	0	42501	(下ストール) 中	床スワブ		X2	B7
	SE	116	0	4254118	鶏舎	ハエ18-1青銀色			
	SE	150	1	42576	肉豚舎	床スワブ		X2	B4
	SE	150	1	42576	肉豚舎	床スワブ		X2	B4
III	SF	1	0	42501	鶏乳舎 0	床スワブ	PCV2-2B		
	SF	4	0	42501	鶏乳舎 20	床スワブ	PCV2-2B		
IV	SG	146	1	42576	鶏乳舎	床スワブ			

図 21

防除対策に使用した資材

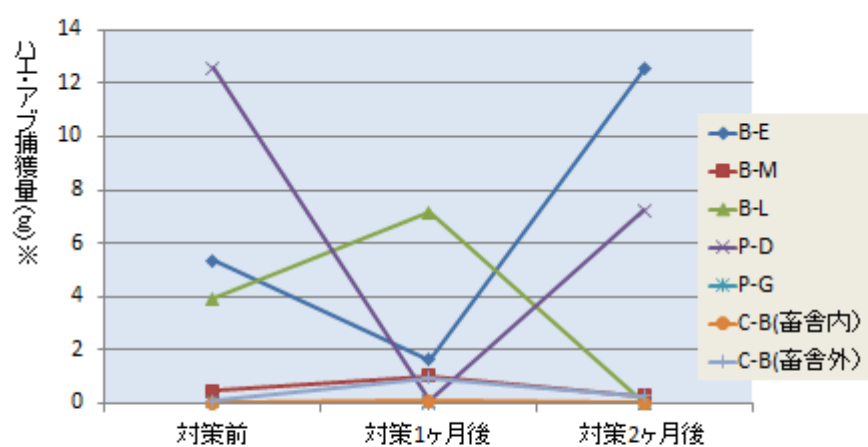
畜種	農場記号	対策費用	環境整備	ハエ対策	ネズミ対策	野生動物対策
肉用鶏	RS-C-B	167,400	ゾール剤 2缶	IGR剤 18袋		
肉用牛	RS-B-E	229,284	消石灰 10袋	IGR剤 1袋 ハエ取り紙 10セット ETB乳剤 1個 防虫ネット 1セット	ネズミ取りシート 3セット	
豚	RS-P-D	298,620	消石灰 10袋	IGR剤 5袋 ハエ取り紙 17セット	殺鼠剤A 20缶 殺鼠剤B 10袋	防鳥ネット 2セット カラス用ワイヤー 2セット
肉用牛	RS-B-L	48,600		IGR剤 10袋		
肉用牛	RS-B-M	45,252		IGR剤 2袋 ハエ取り紙 17セット	ネズミ取りシート 2.5セット	
豚	RS-P-G	45,252		IGR剤 2袋 ハエ取り紙 17セット	ネズミ取りシート 2.5セット	

防除対策に使用した資材

県保	畜種	農場記号	対策費用	環境整備	ハエ対策	ネズミ対策	野生動物対策
中央	肉用鶏	RS-C-B	167,400	ゼクトン 2缶	バイバック 18袋		
中漢	肉用牛	RS-B-E	229,284	消石灰 10袋	バイバック 1袋 スーパーキャッチ 10セット ETB乳剤 1個 防虫ネット 1セット	ネズミ取りシート 3セット	
	豚	RS-P-D	298,620	消石灰 10袋	バイバック 5袋 スーパーキャッチ 17セット	エンドックス 20缶 タングローデン 10袋	防鳥ネット 2セット カラス用ワイヤー 2セット
東漢	肉用牛	RS-B-L	48,600		バイバック 10袋		
飛騨	肉用牛	RS-B-M	45,252		バイバック 2袋 スーパーキャッチ 17セット	ネズミ取りシート 2.5セット	
	豚	RS-P-G	45,252		バイバック 2袋 スーパーキャッチ 17セット	ネズミ取りシート 2.5セット	

図 22

平成28年度 ハエ・アブ捕獲量(g)



※イエバエ1gは15m6連洗管の半分程度の体積、12gあるとトラップ2枚にすきまなくびっしり付着

- ハエ対策内容
- ・B-E: 幼虫 & 成虫対策 (IGR剤、ETB剤、ハエ取シート、防虫ネット)
 - ・C-B: 幼虫 & 成虫対策 (IGR剤、ゾール剤)
 - ・B-M, P-D, P-G: 幼虫 & 成虫対策 (IGR剤、ハエ取シート)
 - ・B-L: 幼虫対策のみ

図 23

アンケート結果の集計

区分	種類	農場数	効果	作業性	費用	継続性
ネズミ対策	殺鼠剤	2	有効2	概ね良好	普通2	100
ネズミ対策	ネズミ取りシート	3	有効1、無効2	良い	普通2、安い1	33
ネズミ対策 計						60.0
ハエ対策	IGR製剤	6	有効5、無効1	概ね良好	高い4、安い2	50
ハエ対策	殺虫剤	1	有効1	良好	安い	100
ハエ対策	捕虫シート	4	有効3、無効1	概ね良好	普通2、安い2	50.0
ハエ対策	防虫ネット	1	有効1	悪い	普通	100
ハエ対策 計						58.3
環境整備	消毒	3	有効3	良好	安い2、高い1	100
野生動物対策	ネット・ワイヤー	3	有効3	概ね悪い	安い3	100

- ・ ネズミ対策、ハエ対策、環境整備、野生動物対策の重要性は多くの農場で理解され、過半数の農場が継続すると回答した。
- ・ 特に、環境整備と野生動物対策は新たに実施した全農場で継続すると回答した。

図 24

防除対策の継続性への影響要因

	○ 有効-良い もしくは安い	継続率 (%)	△ 普通	継続率 (%)	× 無効-悪い もしくは高い	継続率 (%)
効果	19	84.2	0	-	4	0
作業性	17	64.7	2	100	3	100
コスト	11	81.8	7	71.4	5	40.0

継続率は、継続について「不明」とした回答は「しない」と判断した。

- ・ コストは継続率に影響する要因であるが、効果が最も影響する。
- ・ 作業性は、継続率に影響しない

3) 成果目標に対する達成状況

農場に生息する衛生害虫としてハエとガイマイゴミムシダマシを中心に調査を実施した。ハエが、サルモネラ、カンピロバクター及び STEC を保有することを明らかにした。そして、ハエ由来株が飼育動物由来株と同一の遺伝子型の株が分離され、感染環に関与する可能性を示した。一方、ガイマイゴミムシダマシは、調査した農場ではほとんど発生も見られず、食中毒菌の保有状況及び被害状況は不明であった。衛生害虫の対策状況については、平成 26 年度に実施したアンケートでは、約半数の農場で薬品や捕虫シートによりハエ対策が実施されていた。限られた規模のアンケート（平成 28 年度に資材を提供した農場）ではあるが、野生動物を含む防除対策については、作業性や対策経費より有効性が重要な要素であること示唆された。以上から、飼育動物での衛生害虫が媒介する食中毒菌の伝播防止を図る上で、衛生害虫が媒介する可能性と衛生害虫の効果的な防除方法を生産者に情報提供することが重要であることが示された。

最終年度に発生場所の衛生管理（消毒の実施や IGR 剤の散布）と発生した成虫の捕獲を徹底することにより、ハエが減少することが明らかとなった。また、効果的にハエ対策を行う上で、併用することが重要であることが示された。しかし、衛生害虫の対策による食中毒菌汚染低減効果については、飼育動物間の水平感染、1 農場で複数の遺伝子型の株による汚染や野生動物の保菌など、農場における食中毒菌の汚染は複雑な疫学背景があり、衛生害虫の防除のみでは十分な効果が得られないと考えられた。また、食中毒菌汚染低減及び家禽疾病の予防との関連については、協力先農場の都合により試験継続が困難で実施できなかった。

(4) 中課題 4（野生動物の侵入防止及び衛生害虫の駆除に関する経済分析）の研究成果

1) 工程管理及び成果目標

工程表
①野生動物の侵入防止及び衛生害虫の駆除に関する調査票の作成及び基礎情報の収集（小課題 1 関連）（平成 26 年度）
↓
②衛生対策実施に伴う経営情報の収集。（平成 27 年度）
↓
③調査データの解析。（平成 28 年度）
成果目標：野生動物の侵入防止及び衛生害虫の駆除に係るコストに関する調査を畜種別に実施し、対策導入によって得られる経済効果を明らかにする。

表記上の明確化を図るため成果目標を見直した。なお、見直しにあたっては、平成 28 年度第 2 回研究推進会議（平成 28 年 12 月 7 日開催）で研究課題運営チームと

合意済み。

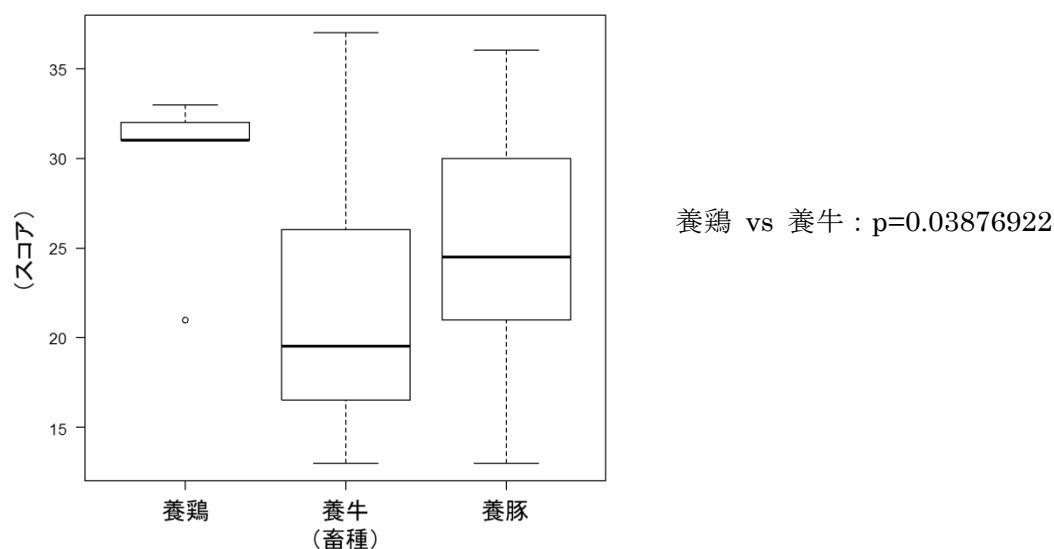
2) 各工程の進捗状況及び成果

【工程表の①】

養牛、養豚、及び養鶏農家、計 29 農家を対象に、農場内の衛生対策に関してアンケート調査を行った。その結果、衛生対策の実施は畜種ごとに異なる傾向が見られ、養鶏農家では衛生対策の導入、特に衛生害虫に対する対策の導入が他の畜種に比べ進んでいる傾向が認められた。一方で、養牛農家および養豚農家では衛生対策の導入にばらつきが大きかった（※1 26 年度）。

さらに、養鶏農家 1 農家を対象に入雛前、初生雛敷紙、鶏舎床・壁、及び鶏肉からのサルモネラ検出状況と生産性の関連性について分析を行った。その結果、有意ではないものの鶏舎からの病原体検出が生産性に影響を及ぼしている傾向が認められた（※2 26 年度）。この結果より、飼育中のサルモネラをコントロールすることの重要性が示唆された。

※1. 農場の衛生管理状況を項目ごとに数値化し集計したものを衛生対策のスコアとして畜種ごとに比較した結果



※2. 歩留率とサルモネラ検出状況

サルモネラ検出場所	p値
入雛前	0.888
初生雛敷紙	0.333
床・壁	0.0627
鶏個体	0.0703

【工程表の②】

アンケート調査については平成 26 年度のアンケート結果の解析を基に、新たに項目を再設定し、調査を 28 年度上半期までに終了した。

養鶏農家（1 戸・2 農場）から入手した歩留成績、食鳥検査記録、医薬品使用量に関するデータ 287 セットを用いて感染症による廃棄が経営に及ぼす影響について出荷時の歩留率に着目して評価した。もも及びむねの歩留率に各市場価格を乗じた値の和を目的変数、廃棄理由ごとの廃棄率を説明変数として一般化線形モデルを用いて解析した。出力時には出荷量に乗じて、1 日出荷価格への影響を算出した。市場価格には正肉の平成 25 年度平均市場価格を用いた。解析の結果、感染症による廃棄率が生産効率に影響を及ぼす可能性が示唆され、平均 1 回出荷量約 8,000 羽の出荷規模において感染症による廃棄が 1%増加することによる損失は、約 28 万円/日と推定された（※3 27 年度）。

さらに農場別にみると、A 農場（平均 1 回出荷量約 8,350 羽）における大腸菌症と B 農場（平均 1 回出荷量約 6,900 羽）におけるマレック病による廃棄が 1%増加することによる損失は、それぞれ約 16 万円と約 22 万円と推定された。このように、生産効率に影響を及ぼす疾患が異なることが示唆された（※4 27 年度）。また、農場間の差について、衛生管理状況の一つの指標として、医薬品使用状況を比較したところ、農場間で使用する種類・量が異なることが明らかになった（※5 27 年度）。



感染症の発生が農場の生産性に影響を及ぼし、それが衛生管理状況の差によってもたらされる可能性が示唆された（27 年度）。

※3 養鶏農家における廃棄理由ごとの生産効率への影響について

	推定値(円)	標準偏差(円)	t値	P値
感染症	-287079	54925	-5.227	3.38e-07 ***
腹水症	1396517	260120	5.369	1.67e-07 ***
全身性の炎症	-265153	197916	-1.340	0.181
消瘦	-699076	653125	-1.070	0.285
放血不良	500607	1302889	0.384	0.701
湯漬過度	-1322352	1189828	-1.111	0.267
全身性の出血	NA	NA	NA	NA
機械損傷	-4147511	2230582	-1.859	0.064

（感染症には、マレック病、大腸菌症、ブドウ球菌症、サルモネラ症を含む）

***: P<0.001, **: P<0.01, *:P<0.05

※4 農場別の廃棄理由ごとの生産効率への影響について

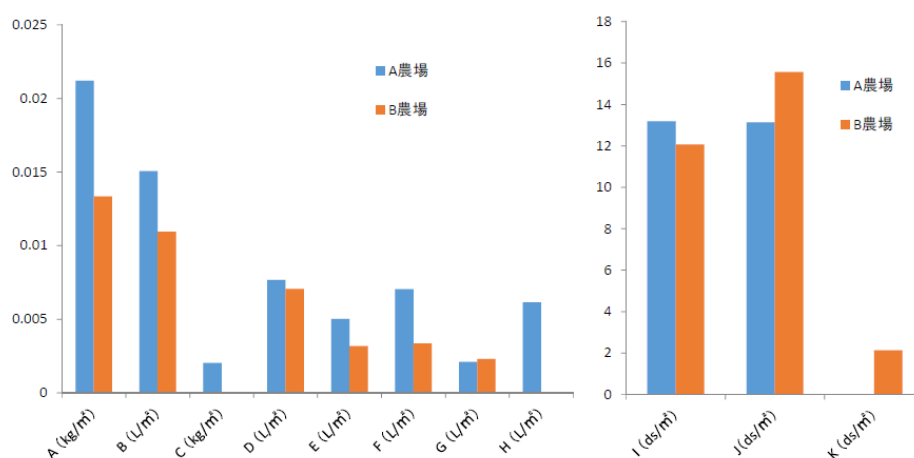
農場A(もも)	推定値(円)	標準偏差(円)	t値	P値
マレック病	-1321211	5232458	-0.253	0.80089
大腸菌症	-160498	48395	-3.316	0.00107 **
ブドウ球菌症	28673	310470	0.092	0.92650
サルモネラ症	NA	NA	NA	NA

***: P<0.001, **: P<0.01, *:P<0.05

農場B(もも)	推定値(円)	標準偏差(円)	t値	P値
マレック病	-217971	69887	-3.119	0.00283 **
大腸菌症	16929	212467	0.080	0.93677
ブドウ球菌症	-277090	578939	-0.479	0.63401
サルモネラ症	4999780	21729429	0.230	0.81883

***: P<0.001, **: P<0.01, *: P<0.05

※5 農場別の医薬品使用状況



【工程表の③】

養牛農家 21 戸、養豚農家 37 戸、及び養鶏農家 8 戸の計 66 戸を対象にアンケート調査を実施し、衛生管理として人・車両に対する対策、衛生害虫・野生動物などに対する対策、飼育動物・飼育環境に対する対策について項目を設定し、農場・経営者の背景因子と共に情報を収集した。背景因子としては規模などの農場に関する項目、年齢などの経営者に関する項目、周辺の農場の有無などの飼育環境に関する項目を設定した。解析の結果、農場規模及び経営年数が農場の衛生対策に影響を及ぼす可能性が示唆された（※6 28年度）。これらの結果は、衛生対策指導を実施する際の重点農場の選定を行う上で有用な基盤情報になると考えられた。

実際に衛生状態が経営に及ぼす影響について、養鶏農家（1 戸・2 農場）から平成 25~27 年の食鳥検査記録、生産記録、及び出荷記録、合計 488 セットを入手し解析した。食鳥検査記録のうち、マレック病、大腸菌症、ブドウ球菌症、サルモネラ症、及び全身性の炎症により廃棄となった個体数を合計し感染症による廃棄として集計した。目的変数には育成

率及び生産指数を、説明変数には感染症による廃棄数を設定して一般化線形混合モデルを用いて解析した。感染症による廃棄数は四分位数を基にカテゴリー変数とした。その結果、感染症による廃棄は育成率にのみ有意な影響を及ぼすことが示された（※7 28年度）。育成率について廃棄数の影響を解析した結果、感染症による廃棄数の「多い」農場において対策を導入し少ない状態になった場合、育成率が94.1%から96.5%となり、育成率が2.4%改善（8,000羽規模の鶏舎の場合 約7.8万円）される可能性が示唆された（※8 28年度）。これらの結果から、感染症対策に経済的なメリットがある可能性が示唆された。

さらに、乳牛農家（1戸）を対象に衛生対策としてハエ対策を導入した農場（中課題3小課題1）における生産への影響を評価した。具体的には、各個体の乳量及び乳質（乳脂率、蛋白質率、無脂固形分率、及び体細胞数）に対するハエ対策導入の影響を一般化線形混合モデルで評価した。解析には、産次の影響を排除するために、データのうち各年の6~11月（介入実施期間）に2産であった個体の各月の生産データ（計126セット）を利用した。解析の結果、乳量について介入による有意な影響を及ぼす可能性が示唆され、介入により7.2 kg/日/頭（@100円とした場合 約700円）の乳量増加が見込まれる可能性が示唆された（※9及び10 28年度）。

以上の結果より、衛生害虫への対策を含む衛生対策の導入が畜産業における生産性への向上にも寄与する可能性が示唆された。

※6 衛生管理に有意な影響を及ぼす因子について

衛生管理項目	影響因子	p値
人・車両に対する対策		
車両消毒設備	飼養規模が大きいと導入	P<0.05
衛生害虫・野生動物に対する対策		
ネズミの発生	飼養規模が大きいと発生を確認	P<0.05
ペット・野良猫の出入り	飼養規模が大きいと出入りが少ない	P<0.01
飼育動物・飼育環境に対する対策		
飼料への抗菌剤の添加	飼養規模が大きいと使用頻度上昇	P<0.05
農場入口への石灰散布	経営年数が長いと散布頻度低下	P<0.05

※7 感染症による廃棄が与える影響について

	P値
育成率	0.00724
生産指数	0.120

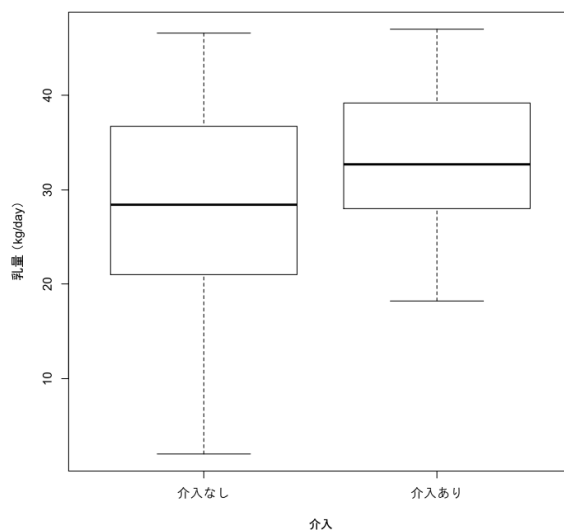
※8 感染症による廃棄が育成率に与える影響について

廃棄羽数	育成率(%)	p値
少ない(26羽以下)	96.5	
やや少ない(26-41羽)	96.3	p=0.645
やや多い(42-71羽)	95.8	p=0.127
多い(72羽以上)	94.1	p<0.01

※ 9 ハエ対策の導入が乳量及び乳質に与える影響について

	P値
乳量(kg/日)	0.0414
乳脂率(%)	0.748
蛋白質率(%)	0.864
無脂固形分率(%)	0.373
体細胞数(/1000個/mL)	0.817

※ 10 ハエ対策の導入に伴う乳量の変化



介入なしの推定乳量：27.9 kg/日、介入ありの推定乳量：35.1 kg/日

3) 成果目標に対する達成状況

中課題1より、野生動物の侵入防止及び衛生害虫の駆除は、新たな病原体の侵入を防止する上で重要な衛生対策であるが、農場内に常在する病原体の低減効果は農場ごとに異なる。また、中課題3より対策にかかるコストは、野生動物の種類やハエの発生状況が異なる家畜種により大きく影響する。本中課題での肉用鶏農場の解析により食中毒菌であるサルモネラと家畜疾病病原体である大腸菌症やマレック病の病原体の衛生対策は、利益の向上に重要であることが示唆された。その他の畜種においても感染症の発生が農場の生産性

に影響を及ぼし、衛生害虫への対策を含む衛生対策の導入が畜産業における経営力の向上に寄与する可能性が示唆された。

5 研究成果の発表（主要な論文、取得した（申請中）の特許等を記述）

別紙の（３）～（８）のとおり。

6 目的の達成に当たっての現時点での問題点等

野生動物の侵入防止策及び衛生害虫まん延防止策が普遍的に食中毒菌や家畜疾病病原体の汚染低減につながる証拠を得ることはできなかった。これは、細菌検査では増菌培養を実施し、ウイルス検査では PCR による定性的な検査を行ったため、量的変動を評価できなかったことが要因となった可能性も否定できない。しかし、食中毒菌や家畜疾病病原体の汚染低減に取り組むうえで、野生動物の侵入防止策及び衛生害虫まん延防止策とともにワクチン等を用いた総合的な衛生対策を実施する必要があること、定量的に評価できる評価系の併用が必要であることが考えられる。

今回利用したリアルタイム PCR は、コンベンショナル PCR や細菌検査との不一致があるが、多項目を多検体処理する上で有益な方法で、定量的な評価も可能な方法である。不一致の原因を究明して、今回のような衛生対策の実施による病原体の低減評価に利用できるものへ改良を加えていく必要がある。

鶏舎、畜舎における野生動物の防除

野生動物から受ける影響を
最小限にとどめるためには
三つの視点が必要です

野生動物の対策はこれらを
組み合わせて実施しましょう



環境整備（野生動物の餌資源の除去）

農場の周辺には、野生動物にとって魅力的な餌が多く存在しており
それが簡単に得られることを知ると、野生動物が頻繁に訪れます。



“農場へ鳥獣を集める力”である
餌の存在は捕獲や駆除で追い払う
際や防除によって守る際に非常に
大きな障害となります。

特に飼育動物の飼料などは少量
であっても周辺に残さないように
注意し、野生動物が接することの
ないよう適切に処分しましょう。

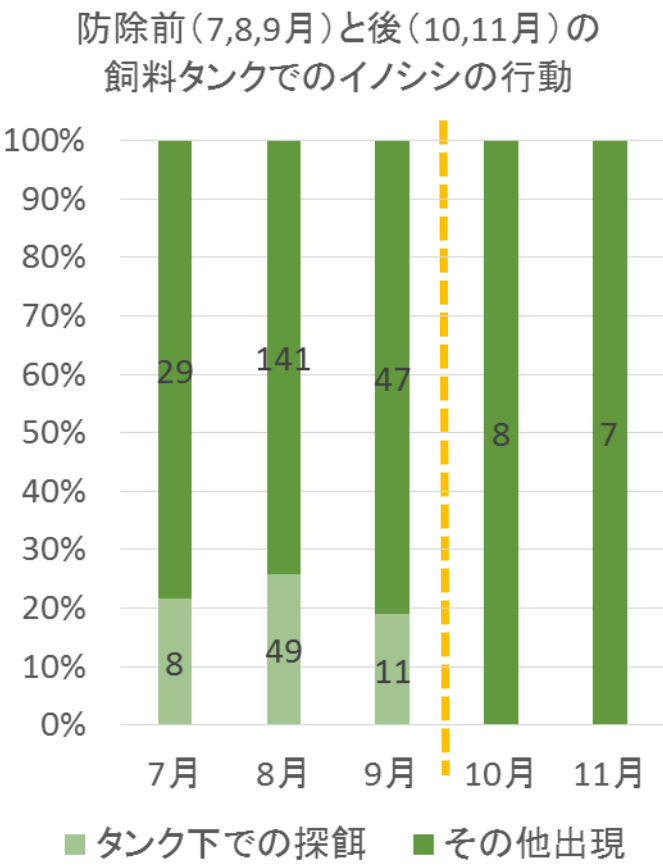


防除 <フェンスの設置・補修や電気柵>

フェンス等で施設を囲っている場合でも、定期的に点検しましょう。
特にフェンスの下部を何度も破られる場合は十分な補強が必要です。



適切に設置した電気柵は、効果的で安全に獣類の侵入を抑制できます。
ただしフェンスと同様、定期的な見回りとメンテナンスが必要です。



防除は非常に重要な対策ですが、設置して終わりではありません。
施設周辺で獣類の痕跡が見つかった場合は防除状況をよく確認し、
根気よくメンテナンスや補修を続けましょう。
畜舎内への鳥類の侵入は、テグスやネットで防除しましょう。

捕獲＜飼育舎へ侵入する可能性のある中型哺乳類について＞



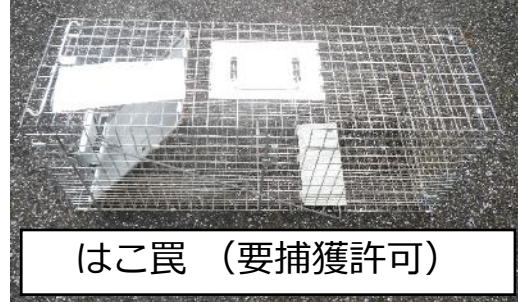
アライグマ



ハクビシン

アライグマ・ハクビシンのような獣類は木登りなどの行動が得意なため、畜舎内に侵入することが多くフェンス等も乗り越えてしまうため、リスクの高い生物です。

これらの存在を確認したら自治体へ相談し、捕獲を検討しましょう。



はこ罠（要捕獲許可）

トラップカメラによるモニタリング ＜対策の前提＞

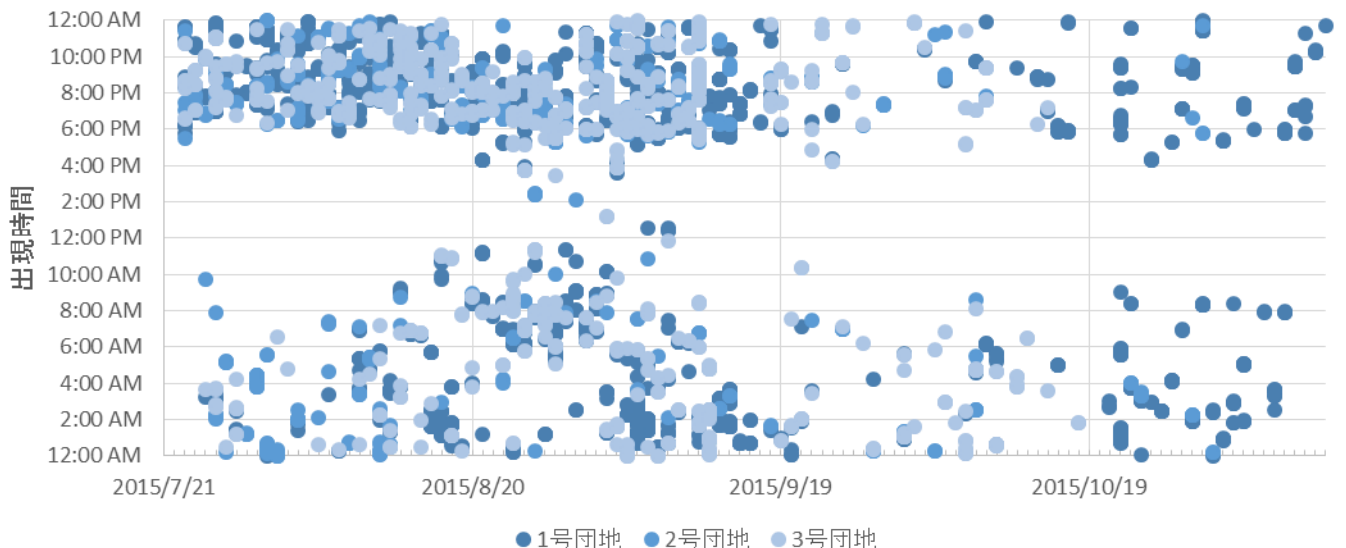
鳥獣の侵入は気付きににくく、夜間の動向は容易に確認・把握ができません。

その存在に気付いた場合、かなりの頻度で鳥獣が出没している可能性があります。

どのような鳥獣が出没するか、対策が効いているか、どの時期や場所に多いのか等を確認するために、トラップカメラの運用を検討しましょう。



ある農場での団地ごとのイノシシの出没状況の把握例



畜舎におけるネズミ対策

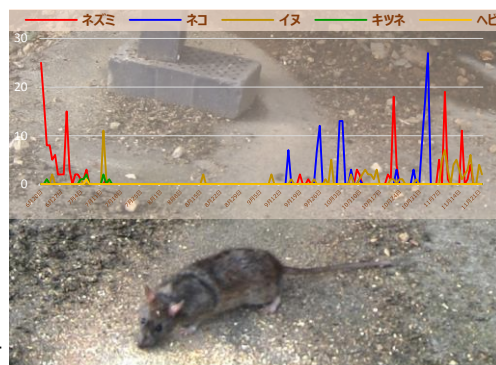
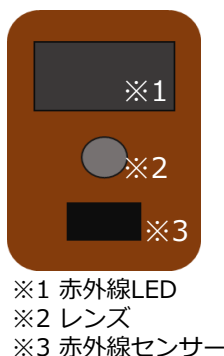
【ネズミ出没のリスク】

1. 感染症の伝搬（ネズミ⇒家畜、ネズミ⇒人）
2. 電気配線等が齧られることによる漏電で停電または火災
3. 畜舎壁内の断熱材に穴を開け畜舎環境の悪化

【対策】

① 出没状況を確認

- ☑ トレイルカメラ →
- ☑ 糞量

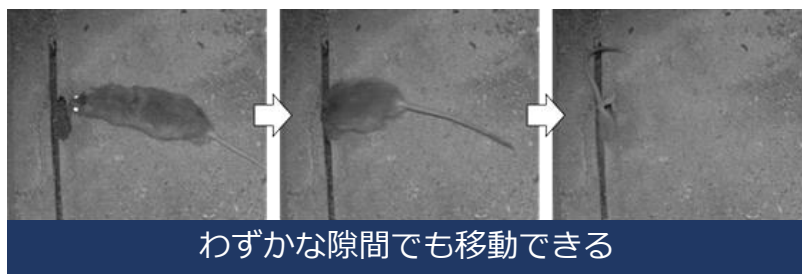


飼料タンクから漏出した飼料

② 餌の除去

- ☑ 餌箱の密封
- ☑ 飼料保管庫の密閉
- ☑ 給餌器周辺や糞尿排路等の清掃

③ 侵入・移動経路や棲み家となる隙間を塞ぐ



わずかな隙間でも移動できる



移動経路を金網で塞ぐ例

④ 殺鼠剤を適切に設置

- ☑ カメラによる出没時期や場所を把握
- ☑ 誘引飼料への馴致
- ☑ 定期的に殺鼠剤の設置



⑤ 捕獲

- ☑ 捕獲許可

ドブネズミ、クマネズミ、ハツカネズミ
および農林業の事業活動に伴いやむを得ず行われる他のネズミ類、モグラ類の
捕獲は、捕獲許可を要しません

- ☑ 捕獲方法

罠：粘着シート、かご罠

餌：家畜飼料や新鮮な誘引餌を使うことで
罠付近への出没回数を大幅に増やすこと
ができます



移動経路を遮断

飼料を
散布



出没数の増加

捕獲

脱皮阻害剤（IGR 剤）の投与方法

幼虫（ウジ）の発生場所を特定する

- 適度の水分含量の糞便
- 長期間（夏場なら一週間）糞尿がたまっているところ
- 動物が踏みつけていない場所
- 温度が 47℃以上に上がる場所は基本的にいない
- 例、堆肥場、畜舎の隅



使用時期	散布場所	散布方法
- ハエの発生する前（3 月ごろ）から実施する - 3 月～5 月と 11 月に月 1 回、6 月と 10 月は月 2 回、7～9 月には毎週実施する	- 幼虫の発生場所に散布する - 幼虫の発生源を見つけしだい、散布場所に加える	- IGR 剤は 20g/m² 散布する。20g は大人の片手一握み程度 - 手袋とマスクをつけて実施する - 動物には薬をかけない。 - 飼料、給餌器、飲水器等には散布しない

農場外からのハエの侵入について

- 成虫の移動範囲は 100-500m です。ほとんどのハエは農場内を移動します。
- 外部からのハエの侵入はほとんど無視して大丈夫です。



研究推進会議の開催状況、研究成果の発表(論文、特許等)等

試験研究課題名		畜産農場における食中毒菌汚染低減に向けた野生動物の侵入防止策及び衛生害虫まん延防止策の確立											
課題 番号	(1) 研究推 進会議 等開催 回数	(2) 行政が 活用しう る成果 の有無	(3)学術論文数		(4)口頭発表回数		(5) 出版 図書数	(6)国内特許権等数		(7)国際特許権等数		(8) 報道 件数	物品購 入の有 無
			和文	欧文	国内	国際		出願	取得	出願	取得		
2604	10	有	0	0	2	0	3	0	0	0	0	0	有

(1)研究推進会議等の開催実績

区分:①推進会議、②現地検討会、③その他

区分	推進会議の名称	年月日	開催場所	参加者 数	消費・安全局担当 官の出席有無	主な議題及び決定事項
①	平成26年度レギュラトリーサイエンス第1回研究会議	平成26年6月10日	岐阜大学連合大学院会議室	13	有	平成26年度の研究計画他を議題とし、試験内容が決定された。
①	平成26年度レギュラトリーサイエンス第2回研究会議	平成27年2月27日	岐阜大学連合大学院会議室	16	有	平成26年度の研究成果を共有し、次年度の試験計画を議論した。
①	平成27年度レギュラトリーサイエンス第1回研究会議	平成27年6月18日	岐阜大学連合大学院会議室	13	有	平成27年度の研究計画他を議題とし、試験内容が決定された。
①	平成27年度レギュラトリーサイエンス第2回研究会議	平成27年11月16日	岐阜大学サテライトキャンパス	16	有	平成27年度の研究の進捗及び成果を中間報告した。
①	平成27年度レギュラトリーサイエンス第3回研究会議	平成28年2月26日	岐阜大学サテライトキャンパス	13	有	平成27年度の研究成果の報告と次年度計画を議題とした。
②	協力農場現地検討会	平成28年3月3日	岐阜アグリフーズ本社	17	有	協力農場で一連の調査内容と成績について説明し、意見交換を行った。次年度も継続して協力してもらうことを約束した。
①	平成28年度レギュラトリーサイエンス第1回研究会議	平成28年5月26日	岐阜大学サテライトキャンパス	15	有	平成28年度の研究計画他を議題とし、試験内容が決定された。

③	平成28年度微生物検査等実務者打ち合わせ	平成28年9月27日	岐阜大学サテライトキャンパス	7	無	今年度の進捗と下半期の研究の進め方について議論した。
①	平成28年度レギュラトリーサイエンス第2回研究会議	平成28年12月7日	岐阜大学サテライトキャンパス	19	有	平成28年度の研究の進捗及び成果を中間報告した。
②	協力農場現地検討会	平成29年2月17日	兼松農場(関市)	4	無	協力農場で一連の調査内容と成績について説明し、意見交換を行った。

(2) 行政が活用しうる成果

区分; ①行政がすでに活用した成果、②行政が活用する目途がたった成果

区分	成果の内容	主な利用場面	活用状況	機関名
②	農場敷地内への野生動物の侵入防止対策	今後は、野生動物の侵入が疑われた農場において、自動撮影カメラ等を利用して侵入動物を特定するとともに、具体的な対策指導に利用する。	農場への飼養衛生管理基準の遵守を促進するため、野生動物侵入が確認された協力農場(P-D農場)で現地検討会を実施した時に野生動物対策法に関する説明資料として活用した。	岐阜県家畜保健衛生所・岐阜大学
②	農場におけるハエ発生防止対策	夏場にハエが大量発生する農場で、農場への飼養衛生管理基準の遵守を促進するために次年度以降衛生指導する時に使用する。	中課題3でハエ対策を実施した酪農農場で試験計画で説明した内容を取り纏めたもので、ハエ対策実施農場での調査結果の説明時に活用した。	岐阜県家畜保健衛生所・岐阜大学

(3) 学術論文

タイトル、著者名、学会誌名、巻、ページ、発行年月	機関名

(4)口頭発表

タイトル、発表者名、学会等名、発表年月	機関名
TaqManリアルタイムPCRを用いたブタ消耗性疾患関連病原体の網羅的診断法の開発 土赤 忍1, 2、岸本麻衣1、増田恒幸6、長井 誠1, 2, 3、大松 勉1, 3、青木博史5、浅井鉄夫3、水谷哲也1, 3(農工大国際家畜感染症防疫研究教育センター1、農工大獣医伝染病学研究室2、岐阜大学連合獣医学研究科3、日本獣医生命科学大学 微生物・感染症学研究分野5、鳥取県倉吉家畜保健衛生所6) 平成25年度 日本獣医師会獣医学術学会年次大会 平成26年2月21日(金)～23日(日)	東京農工大
農場周辺で採集した衛生害虫および野生動物糞便からの家畜伝染性疾患遺伝子検出と分子疫学 青木博史1、梅津萌子1、大津桂子2、齋藤恭子2、浅井礼子2、塩川舞1、大松勉3、水谷哲也3、浅井鉄夫4 1日本獣医生命科学大学、2岐阜県中央家畜保健衛生所、3東京農工大学、4岐阜大学大学院 第47回獣医疫学会学術集会 平成28年3月20日(日)	日本獣医生命科学大学

(5)出版図書

区分:①出版著書、②雑誌、③年報、④広報誌、⑤その他

区分	著書名、(タイトル)、著者名、出版社名、発行年月	機関名
④	日本SPF豚協会便り(ネズミによる被害を防ぐ)森部絢嗣、一般社団法人 日本SPF豚協会、2016年4月1日	岐阜大学
④	日本SPF豚協会便り(誘因餌をなくす)森部絢嗣、一般社団法人 日本SPF豚協会、2016年10月1日	岐阜大学
④	日本SPF豚協会便り(ネズミ対策～カメラによる状況把握と駆除)森部絢嗣、一般社団法人 日本SPF豚協会、2017年1月1日	岐阜大学

(6)国内特許権等

特許権等の名称	発明者	権利者 (出願人等)	特許権等の種類	番号	出願年月日	取得年月日	機関名

(7)国際特許権等

特許権等の名称	発明者	権利者 (出願人等)	特許権等の種類	番号	出願年月日	取得年月日	機関名

(8)報道件数

区分:①プレスリリース、②新聞記事、③テレビ放映

区分	記事等の名称	掲載紙・放送社名	年月日	機関名	備考