

10 豚熱ワクチンの追加接種による効果検証

中部家畜保健衛生所
○和田 みなみ

要 約

2022年12月に豚熱に関する特定家畜伝染病防疫指針が一部変更され、母豚の抗体分布状況を踏まえ、母豚の免疫付与状況が変化すると考えられるまでの期間、一括協議のうえ追加接種の実施が可能となった。静岡県の一部養豚場においても追加接種が開始されたが、追加接種の有効性を検証した報告は少ない。そこで、県内で追加接種を実施している3農場（A、B、C農場）において、追加接種の開始前後で採材した母豚（4月群、10月群）、肥育豚（単回接種群、追加接種群）の抗体陽性率、抗体価の分布、中央値、幾何平均値（GM値）を比較し、追加接種の有効性を検証した。母豚の抗体陽性率は採材時期によらず90%以上を示し、中和抗体価（抗体価）のばらつきに変化は見られなかった。肥育豚については、C農場の追加接種群で抗体価1倍未満を示す頭数の減少と抗体陽性率の上昇が認められ、追加接種の効果である可能性が示唆された。一方、A、B農場では両群共に抗体陽性率が80%以上を示し、各農場において両群の抗体価に有意差は認められなかったことから、追加接種の有効性を明らかにするには至らなかった。

はじめに

2018年に国内で26年ぶりに豚熱が発生、感染が拡大し、2019年10月から豚熱ワクチン（ワクチン）の予防的接種が開始された。豚熱に対する免疫が無い状態でワクチンを接種した母豚（第一世代）は、高い抗体価を獲得する一方で、第一世代から生まれ、移行抗体存在下でワクチンを接種した母豚（第二世代）は抗体価にばらつきが生じることが報告されている[1]。その結果、第二世代以降の産子における接種適期の設定が困難となった。2022年12月に指針が一部変更され、定期的な母豚の更新等により母豚群における免疫付与状況のばらつきが解消されるまでの期間、国と一括協議の上追加接種の継続が可能になった[2]。これに伴い、静岡県においても一部農場で追加接種を開始した。追加接種はワクチンブレイクやワクチンの打ち損じの補完を目的としているが、追加接種の効果を検証した報告は少なく、不明な点が多い。そこで、追加接種を実施している3農場において単回接種群と追加接種群を比較し、追加接種の効果を検証した。

材料と方法

県内養豚農家3農場（A～C農場）を対象とし、追加接種開始前の2023年4月に採

材した母豚61頭及び肥育豚89頭の血清、追加接種開始後の2023年10月に採材した母豚45頭及び肥育豚85頭の血清を用いた（表1、2）。ELISA検査（豚熱エライザキットII, (株)ニッポンジーン）と中和試験を実施し、抗体陽性率、抗体価の分布、中央値、GM値を比較した。中和試験はCPK-NS細胞とワクチン株のGPE株を用い、1～2,048倍の範囲で抗体価を測定、1倍以上を陽性とした。なお、A農場は廃業に伴い10月時点で母豚が出荷済みであった。

表1 検体一覧（4月採材）

農場	母豚				肥育豚（単回接種群）		
	頭数（頭）	接種回数（回）	最終接種日齢（日齢）	接種後日数（日）	頭数（頭）	接種日齢（日齢）	接種後日数（日）
A	16	3~4	335~1189	42~462	30	30~45	94
B	29	2~4	41~676	30~275	29	30	62
C	16	1~3	73~805	217,301	30	32~41	98,119
計	61	-	-	-	89	-	-

表2 検体一覧 (10月採材)

農場	母豚				肥育豚 (追加接種群)			
	頭数 (頭)	接種回数 (回)	最終接種日齢 (日齢)	接種後日数 (日)	頭数 (頭)	接種日齢 (日齢)		接種後日数 (日)
						1回目	2回目	
A	-	-	-	-	25	24~30	52~59	42~84
B	30	3~4	288~955	85, 449	30	14~35	35~53	50, 99, 113
C	15	2~4	不明	476	30	21~22	63	42, 57, 70
計	45	-	-	-	85	-	-	-

※A農場は廃業準備により母豚出荷済

成績

母豚の抗体陽性率(4月群/10月群)はELISA検査の結果、A農場が100.0%/-、B農場が93.3%/96.7%、C農場が93.8%/100.0%であった。中和試験の結果、A農場が100.0%/-、B農場が100.0%/96.7%、C農場が100.0%/100.0%であった。

母豚の抗体保有状況について、A農場では、抗体価が64倍から512倍まで分布し、中央値が256倍、GM値は215.3倍であった(図1)。B農場では、4月群の抗体価が2倍から2048倍以上まで分布し、中央値は8倍、GM値は18倍、10月群の抗体価が1倍未満から1024倍まで分布し、中央値は16倍、GM値は24.8倍であった(図2)。C農場では、4月群の抗体価が1倍から512倍まで分布し、中央値は256倍、GM値は90.5倍、10月群の抗体価が4倍から1024倍まで分布し、中央値は128倍、GM値は64.0倍であった(図3)。

(単位:倍)

A農場	分布	中央値	GM値
4月	64~512	256	215.3
10月	-	-	-

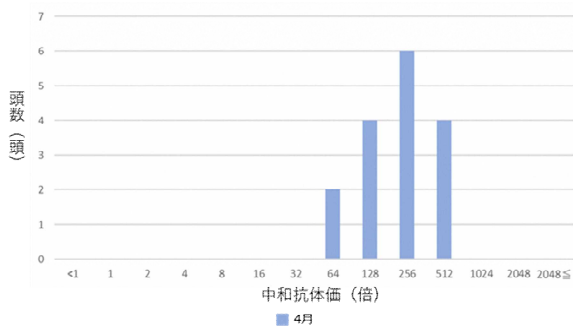


図1 母豚の抗体保有状況 (A農場)

(単位:倍)

B農場	分布	中央値	GM値
4月	2~2048≤	8	18.0
10月	<1~1024	16	24.8

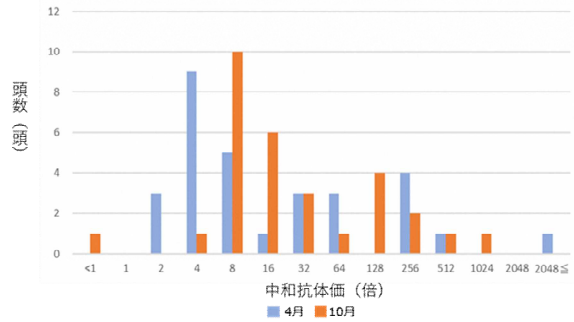


図2 母豚の抗体保有状況 (B農場)

(単位:倍)

C農場	分布	中央値	GM値
4月	1~512	256	90.5
10月	4~1024	128	64.0

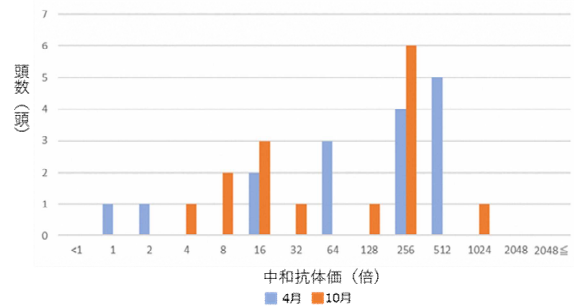


図3 母豚抗体保有状況 (C農場)

肥育豚の抗体陽性率(単回接種群/追加接種群)はELISA検査の結果、A農場が66.7%/80.0%、B農場が55.2%/56.7%、C農場が66.7%/66.7%であった。中和試験の結果、A農場が80.0%/80.0%、B農場が100.0%/93.3%、C農場が73.3%/96.7%であった。

肥育豚の抗体保有状況について、A農場では、単回接種群の抗体価が1倍未満から256倍まで分布し、中央値は8倍、GM値は8.8倍、追加接種群の抗体価が1倍未満から128倍まで分布し、中央値は4倍、GM値は3.7倍であった(図4)。B農場では、単回接種群の抗体価が1倍から512倍まで分布し、中央値は4倍、GM値は6.6倍、追加接種群の抗体価が1倍未満から512倍まで分布し、中央値は6倍、GM値は7.6倍であ

った(図5)。C農場では、単回接種群の抗体価が1倍未満から64倍まで分布し、中央値は4倍、GM値は2.7倍、追加接種群の抗体価が1倍未満から256倍まで分布し、中央値は4倍、GM値は3.6倍であった(図6)。Wilcoxonの順位と検定を用いて群間での抗体価を検定したところ、いずれの農場も有意差は認められなかった(A農場:p=0.13、B農場:p=0.79、C農場:p=0.46)。

(単位:倍)				
A農場	分布	中央値	GM値	検定結果
単回	<1~256	8	8.8	有意差無し p=0.13
追加	<1~128	4	3.7	

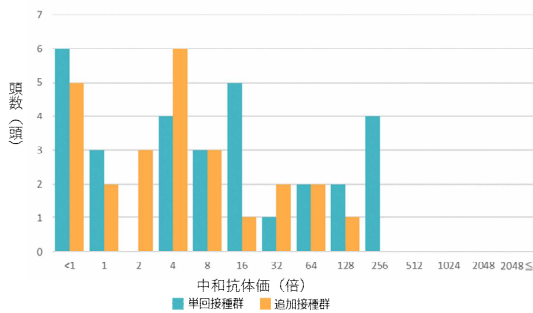


図4 肥育豚の抗体保有状況 (A農場)

(単位:倍)				
B農場	分布	中央値	GM値	検定結果
単回	1~512	4	6.6	有意差無し p=0.79
追加	<1~512	6	7.6	

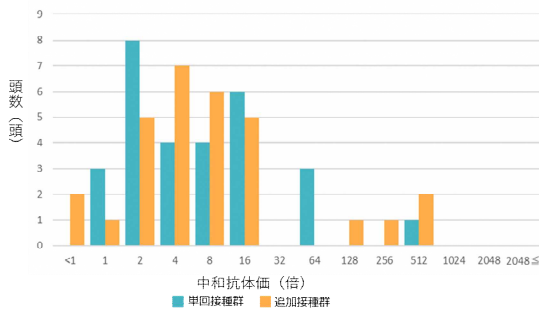


図5 肥育豚の抗体保有状況 (B農場)

(単位:倍)				
C農場	分布	中央値	GM値	検定結果
単回	<1~64	4	2.7	有意差無し p=0.46
追加	<1~256	4	3.6	

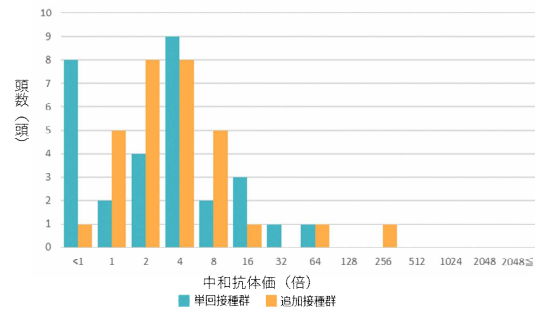


図6 肥育豚の抗体保有状況 (C農場)

考 察

肥育豚における追加接種前後の抗体価に有意差は認められなかったが、C農場では追加接種前後で抗体価1倍未満の頭数が減少し、抗体陽性率が上昇したことから、追加接種の有効性が示唆された。

ELISA検査と中和試験の結果を比較すると、A農場の追加接種群を除き、中和試験ではより高い抗体陽性率を示した。中和試験で抗体価が1~8倍と判定されても、ELISA検査では陽性にならない場合があるとされている[3]。そのため、追加接種を検討する際は、低抗体価の検出率が高い中和試験で母豚及び肥育豚の抗体陽性率を把握することが望ましいと考えられた。

今回は既報[4,5]と同様、ワクチン接種前後の抗体価だけで追加接種の有効性を評価することは困難であると考えられた。ワクチンによる免疫応答は、移行抗体や豚の健康状態、豚繁殖・呼吸障害症候群ウイルス(PRRSV)、豚サーコウイルス2型(PCV2)の感染等に影響を受けることが報告されており[6,7,8]、豚熱ウイルスに対する抗体保有状況は農場によって異なる。今後は移行抗体の推移やPRRSV及びPCV2の浸潤状況等も踏まえて調査を継続し、農場への情報提供に役立てたい。

参考文献

- [1] 食料・農業・農村政策審議会家畜衛生部会第78回(令和3年6月30日)牛豚等疾病小委員会, 配付資料5, (飼養豚

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)

- [2] 農林水産省：豚熱に関する特定家畜伝染病防疫指針
- [3] Sakoda Y, Wakamoto H, Tamura T, Nomura T, Naito M, Aoki H, Morita H, Kida H, Fukusho A: Development and evaluation of indirect enzyme-linked immunosorbent assay for a screening test to detect antibodies against classical swine fever virus, *Jpn J Vet Res*, 60, 85-94 (2012)
- [4] 小笠原悠: CSFV に対する免疫の空白期間短縮を目指した子豚へのワクチン接種方法の検証, 家畜衛生研修会 (2022)
- [5] 川島豪: 豚熱ワクチン単回及び追加接種群の抗体応答評価, 家畜衛生研修会 (2023)
- [6] 下田智彦, 入江拓也, 市川隆久, 戸塚麻喜, 迫田義博, 川島豪: 豚繁殖・呼吸障害症候群陰性の農場における豚熱ワクチン接種時の抗体応答に移行抗体が与える影響, *日獣会誌*, 77, e81-e88 (2024)
- [7] Li H, Yang H: Infection of porcine reproductive and respiratory syndrome virus suppresses the antibody response to classical swine fever virus vaccination, *Vet Microbiol*, 95, 4, 295-301 (2003)
- [8] Huang YL, Pang VF, Lin CM, Tsai YC, Chia MY, Deng MC, Chang CY, Jen g CR: Porcine circovirus type 2 (PCV2) infection decreases the efficacy of an attenuated classical swine fever virus (CSFV) vaccine, *Vet Res*, 42, 115 (2011)

11 解剖豚及び鶏の時間経過による組織の死後変化と保冷管理の及ぼす影響

中部家畜保健衛生所
○宮崎 貴生

要 約

死亡した動物は、死後変化により組織像が変化し、病理検査では組織の死後変化と病的な異常を区別する必要がある。しかし、死後変化は経時的に進行するため組織像が一定ではなく、検査者は経験によって死後変化と病変を区別しているのが現状である。そこで、豚及び鶏の死後変化を経時的に検証すると共に、死後変化を抑制する方法として臓器の保冷を検討した。健康豚3頭及び健康鶏5羽を定法に従い解剖した。解剖後、豚は肝臓、脾臓、腎臓、心臓、肺、空腸、結腸を1 cm³に細断し、採材直後に10%中性緩衝ホルマリン液で固定、もしくは放血後1、2、4、20時間後に固定するまで遠沈管に入れ、常温及び氷上で静置した。鶏は肝臓、腎臓、肺、空腸、骨格筋をそれぞれ1 cm³に細断し、採材直後に固定、もしくは放血後3、4、6、8、23時間後に固定するまで豚と同条件で静置した。固定後は、定法に従い組織標本を作成し、鏡検を行なった。常温で静置した豚の心臓は20時間後も変化はなく、肺は一部の細気管支上皮の剥離など軽度な変化がみられた。肝臓と脾臓は死後4時間までは変化がなく、20時間後に染色性の低下や核濃縮、自己融解などが顕著にみられた。消化管及び腎臓は死後4時間ですでに上皮の剥離などがみられ、20時間後には変化がより顕著になった。鶏の肺では死後23時間で軽度の染色性低下などがみられ、骨格筋では筋間結合組織の水腫がみられた。肝臓は死後6時間で肝細胞の変性がみられ始め、23時間後には大部分が自己融解した。腎臓および空腸は採材時点ですでに軽度の変化がみられており、23時間後には上皮の剥離や自己融解が顕著にみられた。一方、保冷した臓器では、鶏の腎臓を除く全ての臓器でこれらの死後変化がほぼ抑制されており、鶏の腎臓では死後変化の進行はみられたものの、常温と比べて軽度であった。豚、鶏共に腎臓、消化管の死後変化が他臓器よりも早く、解剖時には優先的に採材することが望ましいと考えられた。臓器を保冷することで死後変化を抑えることができたので、病性鑑定時に既に死亡した家畜を解剖する場合は、解剖までの間、保冷することで、病理検査の精度を向上させられる可能性があると考えられた。

はじめに

動物が死亡した後にもみられる変化を死後変化といい、経時的に自己融解、死冷、死後強直、死斑、死後凝血、腐敗、乾燥など様々な変化がみられる。このうち、自己融解とは、死後に組織及び細胞自身が有している酵素により自己の蛋白、脂質、糖質などが、無菌的、嫌氣的に分解される現象である[1]。病理検査を行なう際は、このような死後変化と病変を区別する必要がある。しかし、死後変化は経時的に進行する変化のため、組織像が一定ではなく、また、実際の病性鑑定では死後に経過した時間が不明の検体にも多く遭遇するため判断に苦慮する場合がある。そこで今回、豚及び鶏の死後変化の進行を経時的に検証した。また、自己融解は熱により促進されるとされており[2]、今回、臓器を固定するまでの間に保冷することで、死後変

化を抑制できるかを併せて検証した。

材料と方法

材料には健康豚3頭(大ヨークシャー種、デュロック種及び交雑種、約30日齢)と健康鶏5羽(駿河シャモ、約160日齢)を用いた。豚及び鶏を放血殺後、定法に従って解剖を実施した。

1) 豚

肝臓、脾臓、腎臓、心臓、肺、空腸、結腸を採材後、①直ちに(放血後1~2時間以内)10%中性緩衝ホルマリン液で固定(コントロールとして使用)、②1 cm³大にカットして遠沈管に入れ、固定まで約30℃の室温に静置(常温検体)、③1 cm³大にカットして遠沈管にいれ、固定まで氷上で静置(保冷検体)の3パターンに分け、②と③は放血殺から1、2、4、20時間後にそれぞれ固定した。

2) 鶏

肝臓、腎臓、肺、空腸、骨格筋を採材後、豚と同様に①～③のパターンに分け、②と③は放血殺から3、4、6、8、23時間後にそれぞれ固定した（表1）。

固定後の臓器は定法に従い、パラフィン包埋、薄切、ヘマトキシリン・エオジン染色を行い、組織を鏡検した。

表1 採材について

	臓器	頭数	放血殺から固定までの経過時間(時間)					
			～1	1	1～2	2	4	20
豚	肝臓、脾臓、腎臓 空腸、結腸	3	①	②③	—	②③	②③	②③
	心臓、肺		—	—	①	②③	②③	②③

	臓器	羽数	放血殺から固定までの経過時間(時間)					
			～3	3	4	6	8	23
鶏	肝臓、腎臓、肺 骨格筋、空腸	3	①	②	②	②	②	②
	2	③		③	③	③	③	③

- ①採材後直ちに固定(コントロール)
- ②固定まで常温(30℃)で静置
- ③固定まで氷上で静置

成績

1) 豚

肝臓の常温検体は死後4時間まで、コントロールと比較して組織像に大きな変化はみられなかった。一方、20時間後では、類洞及び小葉間結合組織の拡張、肝細胞の好酸性化や核濃縮、胆管上皮の変性及び剥離、小葉間動脈及び静脈の内皮の剥離がみられた。保冷検体は、死後20時間後でも、コントロールと比較して組織像に大きな変化はみられなかった(図1)。

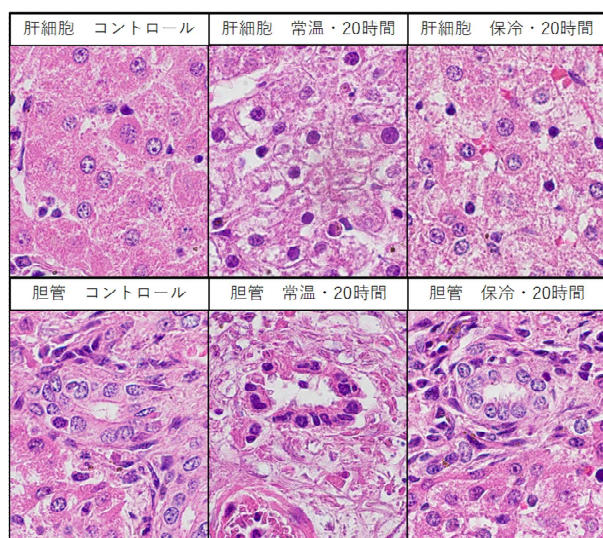


図1 豚肝臓の死後変化

脾臓の常温検体は死後4時間まで、コントロールと比較して組織像に大きな変化はみられなかった。一方、20時間後では、白脾髄におけるリンパ球の核濃縮や細胞密度の低下がみられ、一部検体では巣状の自己融解像がみられた。保冷検体は、死後20時間後でも、コントロールと比較して組織像に大きな変化はみられなかった。

腎臓の常温検体は、死後4時間で皮質の尿細管で上皮の軽度核濃縮や細胞輪郭の不明瞭化、皮質表層では尿細管上皮の脱落がみられた。髓質では集合管上皮の中等度剥離がみられた。20時間後では、これらの変化がより顕著になった。保冷検体は、死後20時間後でも、コントロールと比較して組織像に大きな変化はみられなかった(図2)。

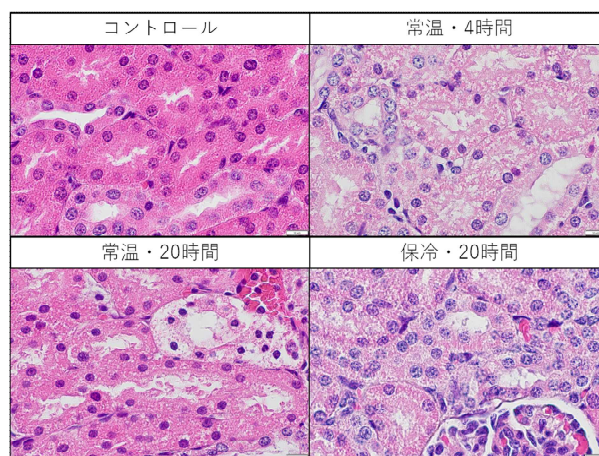


図2 豚腎臓の死後変化

心臓の常温検体及び保冷検体は、死後20時間後もコントロールと比較して組織像に大きな変化はみられなかった。

肺の常温検体は死後4時間まで、コントロールと比較して組織像に大きな変化はみられなかった。一方20時間後では、肺胞上皮の軽度核濃縮や一部の細気管支上皮の軽度剥離がみられた。保冷検体は、死後20時間後でも、コントロールと比較して組織像に大きな変化はみられなかった。

空腸はコントロールの検体で、すでに絨毛先端の上皮の剥離や一部検体では自己融解がみられ、死後4時間までそれらの変化が軽度に進行した。死後20時間では、絨毛が広範囲で自己融解し、染色性は極端に低下、上皮は重度剥離し、一部の検体では核消失もみられた。陰窩上皮も剥離し、粘膜固有層との間に空隙を形成し

ていた。保冷検体では、採材直後の変化は同様にみられたものの、その後の変化は抑えられ、コントロールと比較して組織像に大きな変化はみられなかった（図3）。

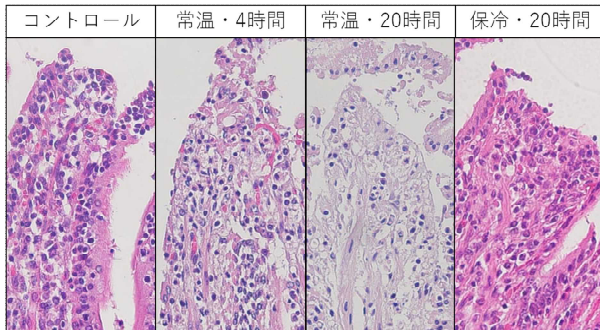


図3 豚空腸の死後変化

結腸は、コントロールの検体で、すでに表層の上皮で軽度剥離がみられており、死後4時間では、表層の上皮の一部で核消失がみられた。20時間後は腸粘膜の表層から深部にかけて広く自己融解し、大部分の陰窩上皮は核が消失し、染色性が大幅に低下していた。保冷検体では、採材直後の変化は同様にみられたものの、その後の変化は抑えられ、コントロールと比較して組織像に大きな変化はみられなかった。

2) 鶏

肝臓の常温検体は死後6時間で、肝細胞の散在性壊死がみられ、23時間後にはほとんどの肝細胞で核が消失し、高度に好酸性化していた。また、胆管上皮は死後8時間で軽度の変性がみられ、23時間後には重度に変性、剥離していた。保冷検体は、死後23時間後でも、コントロールと比較して組織像に大きな変化はみられなかった（図4）。

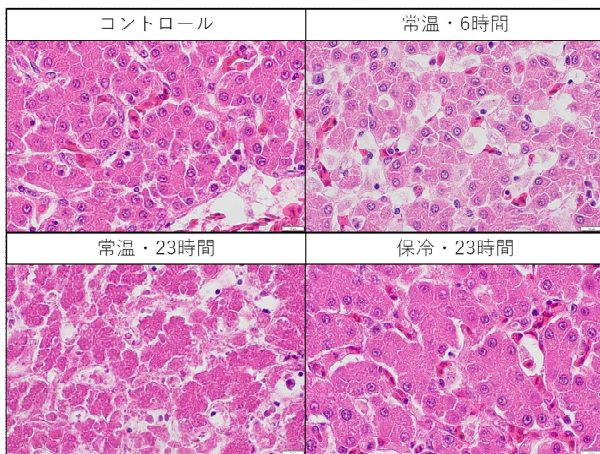


図4 鶏肝臓の死後変化

腎臓は、コントロールの検体で、すでに一部の尿細管上皮で核濃縮や剥離、一部の集合管上皮で剥離がみられた。これらの変化は死後23時間まで進行し、特に皮質の表層で顕著であった。23時間後の尿細管上皮は剥離や核濃縮が顕著であり、集合管上皮は核消失、剥離及び脱落が顕著であった。保冷検体でも死後23時間まで、尿細管上皮や集合管上皮の核濃縮や剥離が進行性にみられたが、常温検体と比較して、その進行は緩やかであり、変化も軽度であった（図5）。

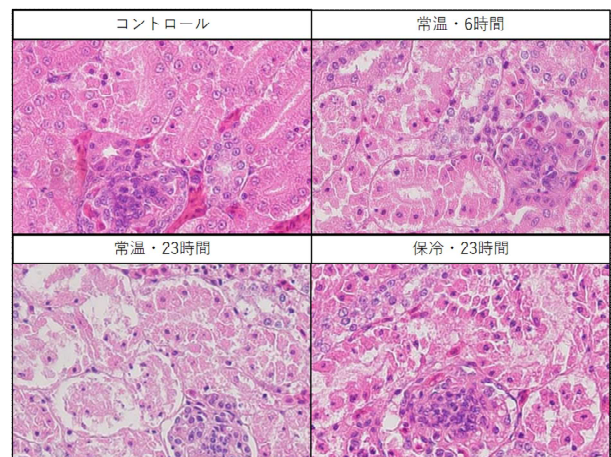


図5 鶏腎臓の死後変化

肺は、死後8時間まで、コントロールと比較して組織像に大きな変化はみられなかった。一方、23時間後では、肺小葉を構成する多くの上皮で軽度の核濃縮がみられ、全体的に染色性が軽度に低下していた。保冷検体は、死後23時間後でも、コントロールと比較して組織像に大きな変化はみられなかった。

骨格筋は、死後23時間もコントロールと比較して筋線維自体に大きな変化はみられなかったものの、死後時間の経過とともに筋間の結合組織の拡張や水腫が特徴的にみられた。保冷検体は、死後23時間後でも、コントロールと比較して組織像に大きな変化はみられなかった。

空腸はコントロールの検体で、すでに絨毛先端の上皮に剥離がみられ、死後4時間で絨毛が一部欠損しているものもみられた。死後23時間後には絨毛の大部分は自己融解し、上皮細胞の核は消失し、細胞質は好酸性化していた。保冷検体では、採材直後の変化は同様にみられたものの、その後の変化は抑えられ、コントロールと比較して組織像に大きな変化はみられなかった。

考 察

今回の検証では、豚では空・回腸、腎臓、肝臓、脾臓、肺、心臓の順、鶏では腎臓、空腸、肝臓、骨格筋、肺の順でそれぞれ死後変化の進行が早い、もしくは大きかった(図6)。

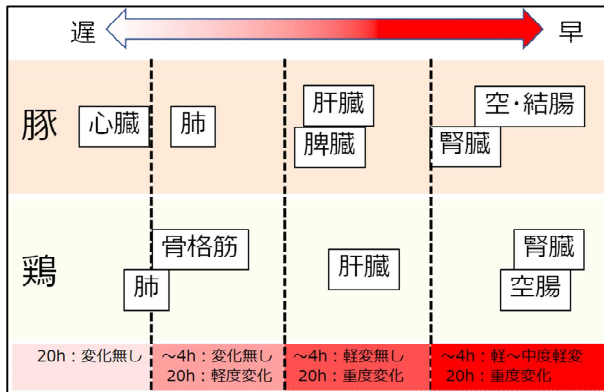


図6 臓器ごとの死後変化の進行速度

豚、鶏共に消化管と腎臓は死後4時間以内に死後変化がみられていたので、死亡した家畜に限らず、解剖を行なう際は優先的に採材を行なう必要があると考えられた。鶏の肝臓に関しても、死後6時間で肝細胞に変化がみられ、病的な肝細胞壊死と区別する必要がある、注意が必要であると考えられた。また、豚の肝臓、脾臓を含めたこれらの臓器は、死後20時間程度で非常に大きな死後変化がみられたため、正確な病理検査を行うことが難しいと考えられた。一方、筋組織や肺は死後変化が比較的小さく、死後長時間経過していても病理検査を行うことができる可能性が示唆された。

牛の消化管における死後変化を検証した過去の報告[3]では、消化管の死後変化は放血殺後直ちに始まるとされている。死後1時間で小腸絨毛上皮の1/4~1/2が剥離し、粘膜固有層が露出、結腸でも上皮が剥離し、至る所で粘膜固有層が露出し、死後2時間で変化はより顕著になるとされる。一方で、死後2時間では上皮の核濃縮や絨毛の自己融解はみられなかったと報告されている。今回の検証でも豚で同様の死後変化がみられていた。しかし、放血殺後1時間以内の検体で、絨毛先端の自己融解がみられたものもあった。自己融解がみられた部位では、その周囲に比べて上皮が剥離していた。これは、採材時の腸管の取扱により、物理的に上皮が剥離し、そのような部位では自己融解が促進された可能性が考えられた。

今回、豚・鶏共に保冷検体はほぼ全ての臓器で死後変化が抑えられていた。鶏の腎臓では死後変化の進行がみられたものの、常温検体と比較して、程度は軽減されていた。以上のことから、農場等ですでに死亡してしまった家畜を検査する場合、解剖まで可能な限り速やかに保冷することで、死後変化を抑制し、検査精度が向上すると考えられた。

参考文献

- [1] 宇根有美：死後変化、動物病理学総論，日本獣医病理学専門家協会編，第3版，58-59，文永堂出版，東京（2013）
- [2] 宇根有美：病理学のポイント，日本野生動物医学学会誌，16，5-7（2011）
- [3] 小林勝，播谷亮，成田實，森脇正：牛の腸粘膜の死後変化の形態学的変化，農林水産省家畜衛生試験場研究報告，90，17-23（1987）

12 放牧の短草管理が放牧牛の小型ピロプラズマ病に及ぼす影響

畜産技術研究所

○松田 隆誠、小林 幸恵

要 約

当所ではホルスタイン種の放牧育成事業を行っているが、近年放牧期間中における育成牛の小型ピロプラズマ病の重症化頭数が減少傾向にある。この要因の一つとして、令和3年から実施している牧区の短草管理により、放牧地のフタトゲチマダニ(以下、マダニ)の生息数が減少した可能性が考えられたため、令和6年にマダニの生息数について調査を実施し、令和元年の調査結果と比較した。

放牧草地の牧柵内周のマダニ生息数は、令和元年と同様に低値で維持されていたが、牧柵外周では増加しており、短草管理によるマダニ生息数の減少は認められなかった。牧柵内周におけるマダニ生息数の増加が抑えられた要因は、放牧牛への殺ダニ剤の塗布や、野生動物の侵入を防ぐ電気柵の設置等のマダニ対策の効果であると考えられた。

一方、令和6年は令和元年と比較して一日当たりの平均増体量(以下、DG)が増加した。これは、牧区を短草管理することで牧草の密度が増加し、さらに牛が栄養価の高い若草を採食できるようになったため、牛の栄養状態が改善されたことが原因であると考えられ、これにより小型ピロプラズマ病による貧血症状の重症化が軽減されたものと考えられた。

採取されたマダニの発育ステージを調査すると、令和6年は令和元年より約2ヶ月早い7月から幼ダニが増殖したため、マダニの出現時期の変化に合わせて小型ピロプラズマ病防除プログラムを更新する必要があると考えられる。

はじめに

小型ピロプラズマ病はタイレリア・オリエンタリスによる牛の原虫病[1]である。この原虫はマダニの体内で増殖し、吸血を介して他の牛に感染する。特に初回放牧時の育成牛に多発し、発熱、貧血、発育不良を引き起こす。当所では乳用牛の放牧育成事業を行っており、毎年多くの感染牛が認められるが、近年では重症化する頭数が減少している。この要因として、令和3年から実施している牧区の短草管理の影響が考えられるため、短草管理とマダニの生息数について調査を行った。

材料と方法

静岡県家畜共同育成場から令和6年に38頭、短草管理前の令和元年に50頭の育成牛を受託し供試牛とした。4月中旬から放牧馴致を開始し、5月上旬から10月上旬まで昼夜放牧を行った。放牧開始月齢は令和元年は13から18か月齢、令和6年は14から16か月齢である。なお、令和元年、6年ともに27頭が当所入場前に放牧経験があった。

放牧時の飼料はオーチャードグラスとトー

ルフeskの混播牧草である。放牧期間前の舎飼い時は配合飼料2kg/頭/日、エンバクの乾草2kg/頭/日を給与し、自家製混播ロールサイレージを飽食させた(充足率:粗タンパク質120%、可消化養分総量100%)。なお、令和元年は放牧時も配合飼料1kg/頭/日を給与していた。また、令和元年、6年ともに放牧開始から月に2回、フルメトリン製剤、エトキサゾール製剤、イベルメクチン製剤の三つの駆虫薬を組み合わせ、小型ピロプラズマ病防除プログラムを実施している。

1) マダニの生息数の調査

放牧期間中5月から9月まで月1回、フランネル法により放牧柵の内周、外周におけるマダニの生息数の調査を行った。フランネル法は、白い布(フランネル)を引きずり、付着したマダニを採取する方法である。採取したマダニはエタノールで固定した後、発育ステージを検査した。

2) 原虫感染度、Ht値、体重推移の調査

放牧期間中、2週間ごとに小型ピロプラズマ原虫の感染度、Ht値、体重を測定した。小型ピロプラズマ原虫の感染度は石原法(表1)

で評価した。原虫感染度+++以上を重度感染、Ht 値 24%以下の牛を貧血症状を示す重症牛とした。

表1 小型ピロプラズマ原虫の感染度

++++	各視野に10匹以上
+++	各視野に1匹以上
++	全視野*に4匹以上
+	全視野*に3匹以下

(*全視野は約133視野分)

成績

令和元年と比較して令和6年は牧柵外周でマダニの生息数が増加した。一方で、牧柵内周の採取数は令和元年の5月に13匹(成ダニ1匹、若ダニ12匹)、令和6年の8月に32匹(幼ダニのみ)であり、低値に維持されていた(図1)。

マダニの発育ステージを調査したところ、令和元年は9月に幼ダニの生息数が増加したのに対し、令和6年は7月から顕著に増加しており、幼ダニの出現時期の早期化が認められた(表2)。

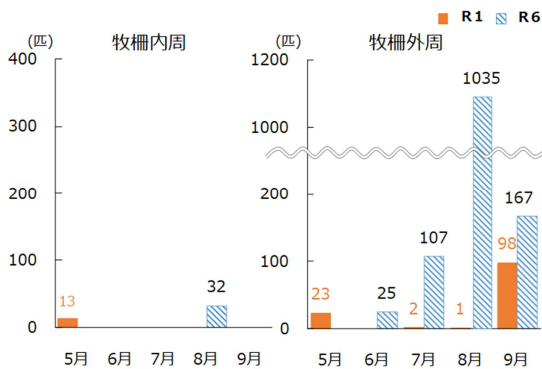


図1 マダニの採取数

表2 発育ステージごとのマダニの採取数

成ダニ	5月	6月	7月	8月	9月
R1	2	—	1	1	0
R6	—	6	11	3	0
若ダニ	5月	6月	7月	8月	9月
R1	34	—	1	0	0
R6	—	15	20	4	0
幼ダニ	5月	6月	7月	8月	9月
R1	0	—	0	0	98
R6	—	4	76	1060	167

小型ピロプラズマ原虫の重度感染牛は令和元年は全体の70%に達したのに対し、令和6年は入場時の39%を上回ることにはなかった(図2)。

令和元年は入場時にHt値24%以下の貧血症状を示す重症牛はいなかったが、8月には全体の39%に増加した。それに対して、令和6年の放牧期間中に重症牛は認められなかった(図3)。

令和元年は放牧期間中にも配合飼料を1kg/頭/日給与していたが、8月以降体重の増加率が減少し、平均体重は、順調に発育した令和6年と比較して有意に低かった(図4)。放牧期間中の一日当たりのDGは令和元年は0.54kg/日、令和6年は0.93kg/日であった。

小型ピロプラズマ病の治療に係る薬品費は、令和元年は1頭当たり6,161円であったが、令和6年は2,678円に削減された。

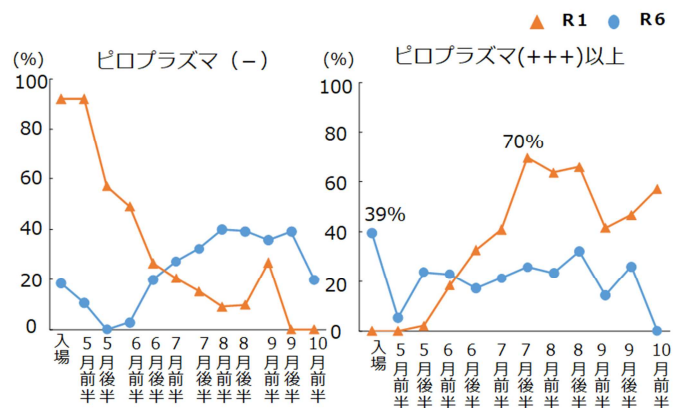


図2 小型ピロプラズマ原虫 感染度

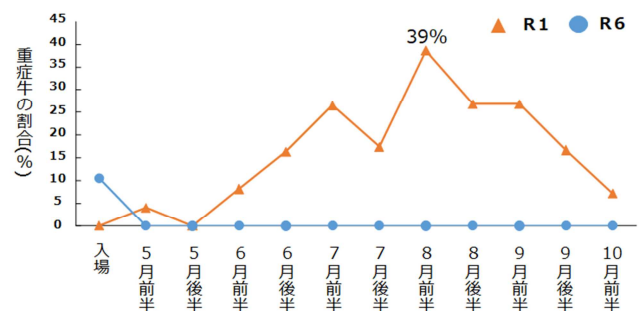


図3 重症牛の割合

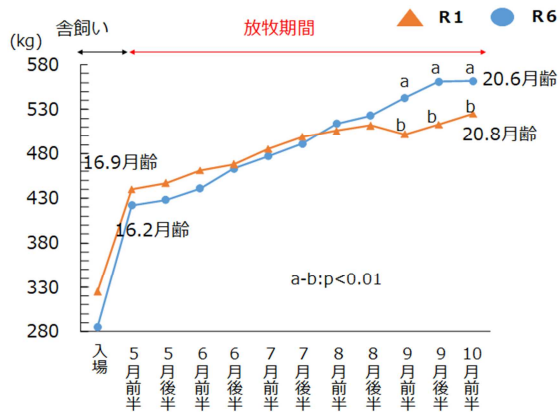


図4 育成牛の体重推移

考 察

令和6年は令和元年と同様に、牧柵内周におけるマダニの生息数を低値に維持できたが、牧柵外周では、マダニの生息数が顕著に増加しており、短草管理によるマダニの生息数の減少効果は認められなかった。

放牧区では、野生動物の侵入を防ぐ電気柵の設置や、放牧牛への殺ダニ剤の塗布などのマダニ対策を行っているため、牧柵内周のマダニの生息数が低値に維持されたと考えられたが、令和6年は令和元年より2ヶ月早い7月から幼ダニの生息数が増加したことから、今後も調査を継続し、マダニの出現時期の変化に合わせて殺ダニ剤塗布の時期を見直す。

令和6年は令和元年と比較して放牧期間中のDGが上昇した。これは、短草管理を実施することで、牧草の株化が抑えられて牧草の密度が増加し、さらに栄養価の高い若草を採食出来るようになったことで[2]、育成牛の栄養状態が改善されたためであると考えられ、これにより小型ピロプラズマ病による貧血の重症化が軽減されたと考えられる。

以上のことから、小型ピロプラズマ病の重症化を抑えるためには、マダニの増殖時期に合わせて定期的に駆虫薬を塗布するとともに、牧区の短草管理により育成牛の栄養状態を良好に保つことが重要である。

参考文献

- [1] 社団法人 中央畜産会：牛のピロプラズマ病とアナプラズマ病, 4-12, (2012)
- [2] 独立行政法人 農業・食品産業技術総合研究機構 北海道農業研究センター：集約放牧導入マニュアル, 5-56, (2008)

13 鶏群の暑熱生理反応を指標とした暑熱対策技術の開発

畜産技術研究所中小家畜研究センター
○進士 遥奈、杉山 典

要 約

鶏群の暑熱管理を効率化するため、AIを用いた暑熱生理反応の識別技術を開発した。飲水量、活動量、パンティング（開口呼吸）の発生割合と温度の相関を調査し、機械検知上パンティングが有効であることを確認した。webカメラで得た映像データ等から教師データを作成、物体検出モデル（YOLOv8）を用いて鶏の「開口」「閉口」を判別するAIを構築した。教師データを増加させることでモデル性能は向上したが、羽色による精度差が確認された。これを基に開口呼吸が一定数を超えると冷却装置を起動する自動システムを試作し、正常に動作することを確認した。今後、鶏舎での効果実証試験が求められる。

はじめに

鶏は27℃以上で暑熱を感じ始めるとされ、暑熱により飼料摂取量の減少や産卵率の低下が生じるほか、パンティング（開口呼吸）と呼ばれる体温調節行動が観察される。肉用鶏や採卵鶏では、毎年、暑熱による死亡や廃用が多数報告されており、他の畜種同様、暑熱は生産性を低下させる主要な課題である。さらに、暑熱はストレスによる疾病リスクの増大、熱中症が原因と推測される家畜伝染病の疑い事例の増加、これに伴う家畜保健衛生所の業務負担の増加、農場での出荷制限など、衛生管理や行政業務の面でも大きな課題となっている。

既存の暑熱対策としては、管理者による観察に基づく暑熱検知と、温湿度センサーを活用した機械的モニタリングの二種類が用いられており、それぞれ高精度性や省労力性といった利点を有している。本研究では、これらの既存対策をより効率的かつ効果的にすることを目指し、鶏群の暑熱状態を識別し、自動冷却を実現するシステムの開発に向けた基盤技術として、鶏の暑熱生理反応を識別する人工知能（AI）の作成に取り組んだ。

材料と方法

1) 検知可能な暑熱生理反応の検討

供試材料：中小家畜研究センターで飼育する試験開始時299日齢の鶏165羽（採卵鶏（ジュリア）26羽、駿河シャモ43羽及び駿河シャモ雑種96羽）

調査期間：令和5年8月から11月

調査項目：鶏舎内温湿度、飲水量、パンティング発生割合及び活動量を調査した。試験鶏を飼育する単飼ケージ内における温湿度を10分毎に温湿度計（TR-72nw、T&D、日本）で測定した。また、ケージ列（79羽飼育）に接続する飲水用の給水管の積算流量を1日に朝昼の2回、瞬時・積算流量計NW（OF05ZAWN、愛知時計電機株式会社、愛知）で記録し飲水量とした。採卵鶏8羽をwebカメラ（C505、ロジクール、スイス）とシングルボードコンピュータ（Raspberry Pi4 MODEL B、Raspberry Pi Foundation、イギリス）を用いて15分毎に1分間録画した。録画した映像データから特定の8羽に対し、目視で15分毎のパンティング羽数をカウントしパンティングする鶏の割合を算出した。また、映像データを連続した静止画（以下フレーム）に分割し、前フレームとの差異を映像内の動態とし算出した。自然光で鶏舎内が視認可能である日中6:00~17:00の映像内の動態を活動量とした。

ケージ内最高気温と飲水量、パンティング発生割合及び活動量との相関を分析した。

2) AIによる暑熱生理反応検出

AI学習用の教師データ作成のため、センター内の飼育鶏の画像と録画データ及びウェブ上で公開されている鶏の映像と画像データを収集した。これらのデータをVOTT（Visual Object Tagging Tool）を使用してアノテーション（検出物の画像内の位置情報を画像ファイルに添付する作業）し、その後Roboflowを用いてAI学習に適したデータセットに変換した。教師データを用いて、Google

Colaboratory 上で物体検出アルゴリズムの一つである YOLOv8 を使用して学習を実施し、鶏の「開口」と「閉口」の状態を検出する学習済みモデルを構築した。より高精度なモデルを作成するため、モデル Ver.1 (教師データ数 1,896) をベースに学習データを追加し、モデル Ver.2 (7,944) と Ver.3 (11,355) を作成した。3種類のモデルの能力を検証するため、教師データとして使用していない 20枚の画像 (被写体 16羽、内訳は白色鶏 8羽、黒色鶏 8羽) を検証用画像とした。検証用画像に対し、3種類のモデルを用いて物体検出を実施し(図1)、目視による判断を正答として各モデルの検出率及び正答率を求めた。

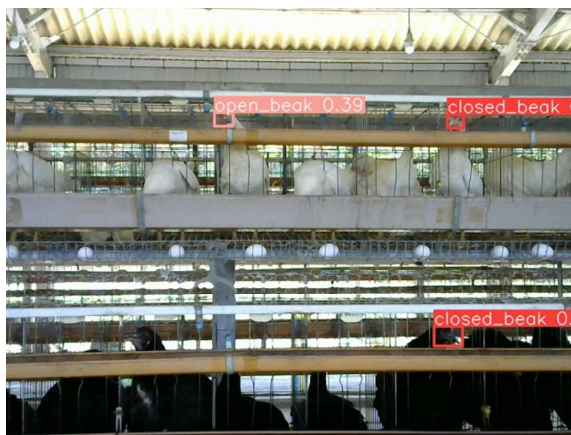


図1 検証用画像に対する物体検出 (開口/閉口の識別)

3) 暑熱生理反応を検知する超音波式気化冷却システムの開発

入力映像から検出される「開口」が継続して「閉口」の数を上回った状態を暑熱生理反応と定義し、映像から暑熱判定及び暑熱検出シグナルを出力するプログラムを作成した。また、プログラムを実行するコンピュータ (MINISFORUM Venus Series NAB MINISFORUM 中国)からの出力で 100V 電源をオンオフできるマイコン (Raspberry Pi Pico W, Raspberry Pi Foundation、イギリス) 付属電源コードを作製した。webカメラ、コンピュータ、マイコン付属電源コード、超音波式気化冷却装置を接続し、パンティング検出を行い暑熱判定することによりドライミストを自動で発生させ鶏舎を冷却する一連のシステムを構成した (図2)。

パンティングする鶏群の映像とパンティングを行っていない鶏群の映像をリアルタイム

映像の代わりに模擬的にプログラムに入力し、パンティング検出及び暑熱生理反応の有無の判定、超音波式気化冷却装置の起動と停止を確認した。

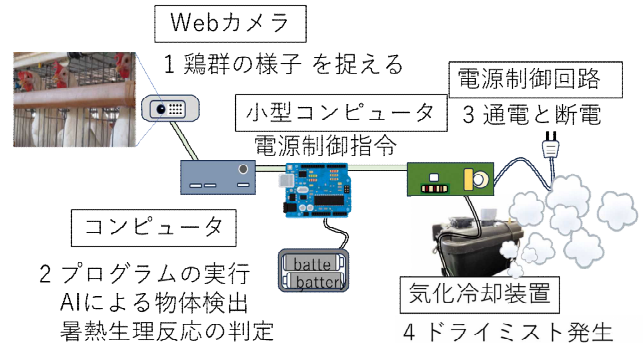


図2 画像検出する超音波式気化冷却システム

成績

1) 検知可能な暑熱生理反応の検討

最高気温とパンティング発生割合には正の相関があった。飲水量及び活動量は気温と相関が認められなかった (表1)。パンティングは正午前後で増加し、活動量は早朝、晩及び給餌等の鶏舎管理の時間帯に増加が認められた (図3)。

2) AIによる暑熱生理反応検出

総合的には、教師データが最多のモデル Ver.3の検出率 74.5%、正答率 51.0%が最も高かった。白色鶏の検出率及び正答率は Ver.2でどちらも 93.3%と最も高かったが、Ver.3では検出率 86.7%、正答率 73.3%に低下した。黒色鶏は Ver.3で Ver.2より検出率が 23.8%から 57.1%、正答率が 0%から 19%に向上した。

3) 暑熱生理反応を検知する超音波式気化冷却システムの開発

パンティングする鶏群の映像の試写により、自動冷却装置が正常に起動しドライミストが発生した (図4)。また、非パンティング状態の鶏群の映像により装置は停止した。

表1 暑熱生理反応と気温の相関

項目	平均値	相関係数
パンティング発生割合 (%)	6.4 ±0.16	0.65
飲水量 (L)	11.3 ±2.29	-0.02
活動量 (%)	1.56 ±0.18	-0.25

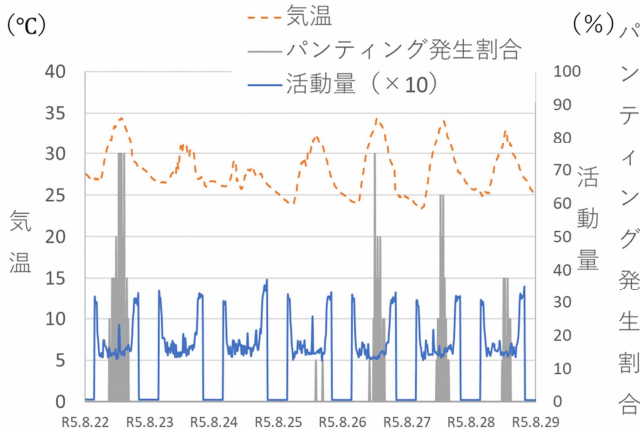


図3 パンティング発生割合、活動量及び気温の推移

表2 モデル作成のための教師データ数と主な内容

モデル 教師データ 数	検出 率 (%)	正答 率 (%)	羽色	検出 率 (%)	正答 率 (%)
Ver. 1 1,896	3.9	0	白	3.3	0
			黒	4.8	0
Ver. 2 7,944	64.7	45.1	白	93.3	93.3
			黒	23.8	0
Ver. 3 11,355	74.5	51.0	白	86.7	73.3
			黒	57.1	19.0



図4 自動冷却装置の起動

考察

飲水量と最高気温の相関係数は-0.02であり、有意な相関は認められなかった。この結果は、周囲温度の上昇に伴い鶏の飲水量が増加するという既存の報告[1][2]と一致しない。本試験鶏舎においては、給水管は鶏が給水装置をつつくことで水が流れる構造であるため、飲水行動以外のつつき行動が積算流量に影響を与えた可能性がある。また、実験室環境と異なり、鶏舎では漏水や水圧の不安定性などが存在し、正確な飲水量の測定を困難にする要因が多いと考えられる。このため、実環境において飲水量を暑熱生理反応の指標として用いることは難しいと推察される。

鶏の行動をとらえた動画に基づき、前フレームとの差異を調査した結果、早朝と夕方以降の高い数値は点灯調整に使用している蛍光灯の影響による環境要因であると推定された。そのため、6:00~17:00の自然光下における前フレームとの差異を鶏の活動と仮定し、気温との相関を検討した結果、相関係数は-0.25であり、相関が認められなかった。この結果は機械検知可能な暑熱の指標として不十分と考えられた。

パンティング発生割合と気温の相関係数は0.65と高い相関を示し、パンティングが機械的に検知可能な暑熱の指標として有効である可能性が示唆された。

パンティングを検出できるAIの開発を目的として、鶏の「開口」「閉口」を検出する3種類の学習済みモデルを比較した結果、検出率および正答率は教師データ数の増加に伴い向上した。一方で、羽色ごとに精度の差が認められた。特に、Ver. 2における白色鶏の検出率および正答率がVer. 3で低下したことに

については、Ver. 3 では黒色鶏の学習データが大量に追加されたため、白色鶏の学習データの相対的な割合が低下したことが主な要因と考えられる。この結果から、モデルの汎用性を優先するよりも、対象の羽色に特化した個別モデルを作成し、それを適切に使い分けることが、実環境での利用において有効であると考えられた。

AI による一定基準以上のパンティング検出をトリガーとして、超音波式気化冷却装置を起動するシステムの動作を検証し成功した。これにより、冷却システムの基本的な構想とその実証に成功した。ただし、実用化に向けては、実環境での運用データの蓄積が必要であり、さらにハードウェア、ソフトウェア双方の安定性及び信頼性の向上が課題であると考えられる。

参考文献

- [1] Belay T, Teeter RG: Broiler water balance and thermobalance during thermoneutral and high ambient temperature exposure, Poultry Science, 72, 116-125 (1993), (<https://doi.org/10.3382/ps.0720116>)
- [2] Dai N.V., Bessei W., Nasir Z.: The effect of sodium chloride supplementation in the drinking water on water and feed intake and egg quality of laying hens under cyclic heat stress, Arch. Geflügelk., 73(4), 217-226 (2009).