



# 日本獣医師会学会関係情報



日本産業動物獣医学会・日本小動物獣医学会・日本獣医公衆衛生学会

----- 日本獣医師会学会からのお知らせ -----

平成25年度 日本獣医師会獣医学術賞 産業動物部門「獣医学術学会賞」

産地区—21

## 黒毛和種子牛における離乳時の母子分離と牛房移動が 発育及びストレスに及ぼす影響

吉田恵実<sup>1)</sup>, 小浜菜美子<sup>2)</sup>, 秋山敬孝<sup>2)</sup>, 坂瀬充洋<sup>2)</sup>

- 1) 兵庫県立農林水産技術総合センター・畜産技術センター,
- 2) 兵庫県立農林水産技術総合センター・北部農業技術センター

### はじめに

子牛にとって離乳は栄養源の変化や環境の変化など様々な変化が同時に加わる時期である。変化はストレスを引き起こすと言われており、子牛は離乳時にストレスの影響を受けていると推察される。そのようなことから、ストレスを軽減することは離乳時の子牛の良好な発育にとって重要であると考えられる。離乳において栄養源の変化は不可避であることから、環境の変化に起因するストレス軽減に着目し、新たな離乳方法について検討を行った。黒毛和種繁殖農家では子牛を専用の牛房へと移動させる方法で離乳を行うことが多く、離乳時には母子分離と牛房移動という2つの環境の変化が同時に加わっていると考えられる。そこで、母子分離と牛房移動を同時にしない離乳方法が、子牛の発育とストレスに及ぼす影響を調査した。

### 材料及び方法

黒毛和種子牛48頭(雄22, 雌26)を離乳方法の違いにより2区に分け、試験を実施した。対照区は子牛を別の牛房に移動させる従来法(母子分離+牛房移動)で、試験区は子牛をそのまま母牛を別の牛房に移動させる方法(母子分離のみ)により、4カ月齢で離乳した。その後、試験区は離乳28日後に牛房移動を行った。試験は5~7頭の群飼で実施した。試験期間は、対照区は離乳7日前から離乳28日後、試験区は離乳7日前から離乳33日後(牛房移動5日後)までとした。離乳7日前から離乳28日後まで、飼料摂取量を毎日、体重を7日ごと、血液性状を7日ごとに加えコルチゾール、遊離脂肪酸は離乳1, 3日後も調査した。歩数を離乳7日前から7日後まで毎日調査した。試験区は牛房移動1日後から5日後までの歩数も調査した。また、供試牛のうち24頭(各区12頭)は、離乳前、離乳1, 3, 7日後の7~19時

に目視にて行動を観察し、伏臥時間、佇立時間、採食時間及び反芻時間の他、発声回数を計測した。

### 結 果

離乳後28日間の1日あたりの増体重(DG)は、試験区(雄1.10kg, 雌0.88kg)が対照区(雄0.89kg, 雌0.69kg)に比べ大きかった( $P < 0.05$ )。特に離乳後7日間のDGにおいては、対照区が雄0.58kg, 雌0.69kgであったのに対し、試験区では雄1.21kg, 雌1.19kgだった。血液性状に関しては、離乳1日後のコルチゾール濃度は対照区が1.2  $\mu\text{g}/\text{dl}$ と離乳前の1.7倍に増加したのに対し、試験区は0.6  $\mu\text{g}/\text{dl}$ と離乳前と同程度を維持し、試験区間で有意な差がみられた( $P < 0.01$ )。遊離脂肪酸濃度は離乳1, 3, 7日後において試験区間で有意な差がみられた( $P < 0.05$ )。好中球/リンパ球比は離乳7日後に試験区が低い値を示した。行動に関しては、歩数は対照区の離乳1日後(母子分離+牛房移動)が40,524歩だったのに対し、試験区の離乳1日後(母子分離)は12,018歩、牛房移動1日後は9,304歩であった。発声回数は対照区が2,596回、試験区が706回と試験区が有意に低い値を示した( $P < 0.01$ )。行動時間は、試験区が伏臥時間や採食時間は長く、佇立時間は少なかった。飼料摂取量及び可消化養分総量摂取量は対照区及び試験区ともに離乳後に増加したものの、試験区が常に多く推移した。

### 考 察

本試験の結果より、母子分離と牛房移動を行わない離乳方法は離乳時の子牛のストレスを軽減させ、発育改善につながる有効な離乳方法であることが分かった。離乳時に母子分離と牛房移動の2つの環境変化を同時に与えることは子牛のストレスを増幅させ、発育に悪影響を及ぼしていることが明らかになった。離乳時の過度なスト

レスは運動量を急激に増加させ、消費カロリーを増加させるだけでなく、採食時間を短縮させ、十分な採食量を確保できなくさせる。その結果、栄養が不足し、脂質の動員や発育停滞を引き起こす可能性が示唆された。また、ストレスは免疫機能に関与する好中球やリンパ球にも影響を及ぼしていることが確認され、疾病予防のためにもストレス軽減は重要であることが示唆された。多くの調査項目で離乳7日後において試験区間で差が確認されたことから、少なくとも1週間以上は離乳の影響を受

けており、飼養管理を行うにあたって十分な配慮が必要であると考えられた。また、本離乳方法により離乳後の発声回数を抑制できたことから、鳴き声等により近隣住民との騒音問題を抱えている繁殖農家に対して、問題解決の一助となると考えられる。母子分離と牛房移動を同時に行わない離乳方法は簡便でかつ子牛の発育改善に大変有効であることから、すぐに普及につながる技術である。

## 平成25年度 日本獣医師会獣医学術賞 小動物部門「獣医学術学会賞」

### 小地区—1

### 波状の洞毛を持つ猫の白血球陽性率に関する検討

森下正隆<sup>1)</sup>、横川真奈<sup>1)</sup>、迫矢博誠<sup>1)</sup>、井野寛之<sup>1)</sup>、寸田祐嗣<sup>2)</sup>、森田剛仁<sup>2)</sup>

1) にはま動物病院・愛媛県、2) 鳥取大学農学部共同獣医学科・獣医病理学教育研究分野

#### はじめに

猫白血球ウイルス (FeLV) は外因性レトロウイルスであり、猫から猫へ感染し、持続感染した猫に致死的な免疫抑制や貧血を引き起こす。これまでに、FeLV感染猫に特徴的な外見所見の報告はなく、通常、血液中のFeLV群特異的抗原p27 (以下「血中FeLV抗原」) を検出する迅速診断キットにて診断する。我々は、洞毛 (いわゆるヒゲ) が波状である猫が高率に血中FeLV抗原陽性となることを見出した。そこで波状洞毛とFeLV感染の関係を明らかにすることを目的として症例を収集し、統計的解析、洞毛及び洞毛包部の病理組織学的検索を行ったのでその概要を報告する。

#### 材料と方法

**検討1**：2006年3月19日より2013年4月30までに当院に来院した猫のうち、(株)アイデックス社のFeLV抗原・FIV抗体検出キットにて検査した364例を、1個体あたり2箇所以上の屈曲部を持つ洞毛が2本以上存在するものを波状群、それ以外を正常群と分類した。各群で血中FeLV抗原陽性個体割合、FIV抗体陽性個体割合を比較、評価した (以後陽性個体割合を陽性率と呼称する)。

**検討2-1**：364例のうち血液検査を実施した226例に対して2群間の血液検査データの有意差について検討を行った。

**検討2-2**：183例に対して数量化二類を用いたFeLVの保有判定式の作成、偏相関係数を算出した (項目：洞毛性状、FIVの有無、疾病の有無、性別、猫種)。

**検討3-1**：血中FeLV抗原陰性個体9例、陽性個体13例より洞毛を採取し、光学顕微鏡にてその形態を観察、比較した。

**検討3-2**：血中FeLV抗原陰性個体8例、陽性個体8例より毛根を含む組織を採取し、ホルマリン固定後、常法に従いパラフィン包埋、HE染色切片を作成し、病理組織学的検索を行った。

**検討3-3**：血中FeLV抗原陰性個体6例、陽性個体5例の組織切片を用いてp27に対する免疫染色を実施した。

検討1、2の検査症例はすべて当院症例、検討3では当院症例に加え、愛媛県動物愛護センターの協力を得て愛媛県下の保護猫からもサンプリングを実施した。

#### 結 果

**検討1**：FeLV陽性率は正常群で7.8%、波状群で89.3%でありFeLV保有に対する波状洞毛の特異度は97.9%、感度は67.6%であった。一方、FIV陽性個体の割合は正常群で9.74%、波状群で14.3%であり、FIVに関しての特異度は85.3%、感度は21.1%であった。なお波状群におけるFIV陽性個体はすべてFeLV陽性個体でもあった。

**検討2-1**：2群間で行った血液検査の項目比較ではPCV、HGB、TP、WBCの各平均値は波状群で有意に低下していた。Glu、BUN、GPTについて、有意差は得られなかった。

**検討2-2**：得られた偏相関係数からは波状洞毛が他の質的形質 (FIVの有無、品種、疾病の有無、性別) と比較しFeLVの保有判別への寄与率が高いと判断された。

**検討3-1**：血中FeLV抗原陽性個体の洞毛髓質において13例中10例で不規則な狭小化、粗造化、断裂が高頻度に観察された。一部の症例では、肉眼的に波状変化が認められなかったにも関わらず洞毛髓質の変化が観察された。

検討3-2：血中FeLV抗原陽性個体、陰性個体間いずれにおいても洞毛包部に病理組織学的所見は認められなかった。

検討3-3：血中FeLV抗原陽性個体5例中4例において洞毛を形成する毛根鞘細胞、洞毛包母基細胞がp27陽性を示した。なお、免疫染色陰性の1例では肉眼的波状洞毛、顕微鏡的洞毛髓質の変化は観察されなかった。陰性個体6例すべてにおいて免疫染色も陰性であった。

### 考 察 及 び 結 語

以上の成績より、波状洞毛と血中FeLV抗原保有の間に統計的に非常に強い関連が明らかになった。波状群に

て有意な低値を示した血液検査項目は、FeLV感染に起因する変化であると考えられた。また、数量化二類結果もFeLV保有判定に波状洞毛以外の要因の寄与が低いことを示唆する内容であった。さらに、洞毛包部におけるFeLVの感染が洞毛の波状化に関与することが示唆された。以上の検討より確定診断には血液検査が必要ではあるものの、波状洞毛がFeLV保有を強く疑う身体検査所見として非常に有用であると結論した。波状洞毛になるメカニズム、時期などに関しては現在のところ不明ではあるが、さらなる症例の蓄積と今後の研究にて明らかにしていきたいと考えている。

## 平成25年度 日本獣医師会獣医学術賞 公衆衛生部門「獣医学術学会賞」

### 公地区—10

### 蛍光RT-Multiplex PCR法による食中毒等集団感染事例からの 下痢症ウイルスの検出

東久保 靖<sup>1)</sup>、久常有里<sup>1)</sup>、重本直樹<sup>1)</sup>、田中智之<sup>2)</sup>、野田 衛<sup>3)</sup>、福田伸治<sup>4)</sup>、他

- 1) 広島県立総合技術研究所保健環境センター、2) 堺市衛生研究所、  
3) 国立医薬品食品衛生研究所、4) 広島文教女子大学

### はじめに

近年、ウイルス性胃腸炎については、検出技術や研究が進み、ノロウイルスのみならずロタウイルスやサポウイルスなど様々な下痢症ウイルスの関与が明らかになってきている。一方で、行政サイドからは、食の安全・安心の高まりから健康被害の拡大防止のために原因微生物を迅速に決定して対応する必要性が強く求められている。これらのことから、複数の下痢症ウイルスを1反応で同時に検出できるMultiplex PCR法が活用されてきているが、PCR増幅産物の大きさが近似する場合や非特異バンドが出現する場合には誤判定の可能性がある。

そこで、当センターでは、Multiplex PCR法においてPCR増幅産物の増幅サイズと蛍光色により容易に鑑別できる、蛍光標識プライマーを用いたRT-Multiplex PCR法（蛍光RT-M-PCR法）の開発を行い、本法による食中毒及び感染症集団感染事例の有症者便からの下痢症ウイルスの検出を試みたので報告する。

### 材料及び方法

供試検体には、2010年10月～2013年4月に発生した食中毒及び感染症集団感染事例43事例における有症者便123検体を用いた。

方法としては、10種類の下痢症ウイルスを3つのプライマーセット（Aセット：ノロウイルス（NoV）GI, NoV GII, サポウイルス（SaV）、アストロウイルス（HAstV）、Bセット：アイチウイルス（AiV）、ボカウイ

ルス（HBoV）、パレコウイルス（HPeV）、Cセット：A群ロタウイルス（RVA）、C群ロタウイルス（RVC）、アデノウイルス（AdV）に分け、セット内で各ウイルスの増幅産物が蛍光色で識別できるように、ウイルスごとに既報のプライマーを異なる色のAlexa蛍光で標識した。

10%糞便乳剤からQIAamp Viral RNA mini Kit（株キアゲン）を用いて核酸抽出を行い、抽出核酸から逆転写反応を行った。これをテンプレートとして、Multiplex PCR Assay Kit（タカラバイオ株）を用いて、3つのプライマーセットによる蛍光RT-M-PCR法を実施した。ウイルス既知検体により、蛍光RT-M-PCR法の有用性の検討を行うとともに、供試検体から対象ウイルスの検出を試みた。PCR増幅産物は電気泳動後、EtBr染色することなくUV照射により増幅産物の増幅サイズ及び蛍光色を確認した。

### 結 果

ウイルス既知検体（下痢症ウイルス検索済み有症者便）を用いて蛍光RT-M-PCR法を実施したところ、AセットではNoV GI, NoV GII, SaV, HAstVの各陽性検体に対して、それぞれ330bp（緑）、344bp（赤）、430bp（黄）、230bp（青）の増幅バンドが目視で確認された。同様に、BセットではAiV, HBoV, HPeVの各陽性検体に対して、それぞれ519bp（緑）、291bp（オレンジ）、195bp（赤）、CセットではRVA, RVC, AdVの各陽性検体に対して、それぞれ145bp（緑）、351bp

(赤), 300bp (オレンジ) の増幅バンドが目視で確認された。また, 検出対象ウイルス以外のウイルスとの交差反応は認められなかった。

供試検体からの下痢症ウイルスの検出状況については, 食中毒等集団感染事例43事例中, NoV GIIによるものが36事例 (83.7%), NoV GI, SaV, RVA及びAdVによるものが各1事例 (2.3%), 不検出が3事例 (7.0%) であった。そのうち, 食中毒事例では16事例中, NoV GIIによるものが12事例 (75.0%), NoV GIによるものが1事例 (6.3%), 不検出が3事例 (18.8%) であった。感染症事例では27事例中, NoV GIIによるものが24事例 (88.9%), SaV, RVA及びAdVによるものが各1事例 (3.7%) であった。また, 供試検体から下痢症ウイルスが検出された検体のうち, 7名の有症者便からは主要因ウイルス以外に1種あるいは複数のウイルスが検出された。

## 考 察

蛍光RT-M-PCR法は, 各下痢症ウイルスの増幅産物

を増幅サイズ及び蛍光色で識別することが可能であり, 視覚的に容易に判定できる方法であった。また, 10種類の下痢症ウイルスの検査が包括的に実施できることから, 食中毒等集団感染事例のスクリーニング法として有用であると考えられた。

本法により有症者便から複数のウイルスを検出したことで, 有症者の重複感染の可能性を明らかにすることができた。原因ウイルス以外の検出ウイルスについては下痢症への関与が明らかとなっていないものもあり, 今後の更なる研究が必要であるが, 有症者便の検査には重複感染の可能性も考慮して行う必要があると思われた。

## 他の共同研究者

谷澤由枝, 高尾信一 (広島県立総合技術研究所保健環境センター)