# 家畜衛生学雜誌

The Japanese Journal of Animal Hygiene

Vol.47 No.2 2021. SEP.

## 日本家畜衛生学会

The Japanese Society of Animal Hygiene



### 家畜衛生学雑誌

#### 日本家畜衛生学会 発行

理事長:河合一洋

副理事長:樋口豪紀

編集委員長:長井 誠

編集委員:末吉益雄・髙井伸二・羽賀清典

福士秀人・福田昌治・宮崎 茂

## The Japanese Journal of Animal Hygiene Published by the Japanese Society of Animal Hygiene

President: Kazuhiro KAWAI (Azabu Univ.)

Vice President: Hidetoshi HIGUCHI (Rakuno Gakuen Univ.)

Editor-in-Chief: Makoto NAGAI (Azabu. Univ.)

Editorial Board: Masuo SUEYOSHI (Miyazaki Univ.)

Shinji TAKAI (Kitasato Univ.)

Kiyonori HAGA (LEIO)

Hideto FUKUSHI (Gifu Univ.)

Masaharu FUKUDA (Saitama Agri. Tech. Res. Center)

Shigeru MIYAZAKI (Res. Inst. For Anim. Sci. in Biochem. and Toxicol)

#### 複写される方へ

日本家畜衛生学会は有限責任中間法人 学術著作権協会(学著協)に複写に関する権利委託をしていますので、本誌に掲載された著作物を複写したい方は、学著協より許諾を受けて複写して下さい。但し、社団法人日本複写権センター(学著協より複写に関する権利を再委託)と包括複写許諾契約を締結されている企業の社員による社内利用目的の複写はその必要はありません。(※社外頒布用の複写は許諾が必要です。)

権利委託先: 有限責任中間法人 学術著作権協会

〒107-0052 東京都港区赤坂9-6-41 乃木坂ビル3階

電話: 03-3475-5618 FAX: 03-3475-5619 E-mail: info@jaacc.jp

注意: 複写以外の許諾 (著作物の転載・翻訳等) は、学著協では扱っていませんので、直接日本家畜衛生学会へご連絡下さい。[電話: 042-367-5780]

また、アメリカ合衆国において本書を複写したい場合は、次の団体に連絡して下さい、

Copyright Clearance Center, Inc.

222 Rosewood Drive, Danvers, MA 01923 USA

Phone: 1 - 978 - 750 - 8400 FAX: 1 - 978 - 646 - 8600

#### 「家畜衛生学雑誌|第47巻第2号の送付にあたって

会員の皆様におかれましては、ますますご清栄のこととお慶び申し上げます。ここに、「家畜衛生学雑誌」第47巻 第2号を刊行する運びとなりました。本号では、総説1編、原著論文2編及び短報1編を掲載しています。

本誌では、原著論文・短報以外にも、総説、数ページ程度のミニレビュー、技術資料等の原稿を受け付けておりますので、会員の皆様の積極的なご投稿をよろしくお願い致します。ご不明な点は遠慮なく編集委員会事務局へお問い合わせください。

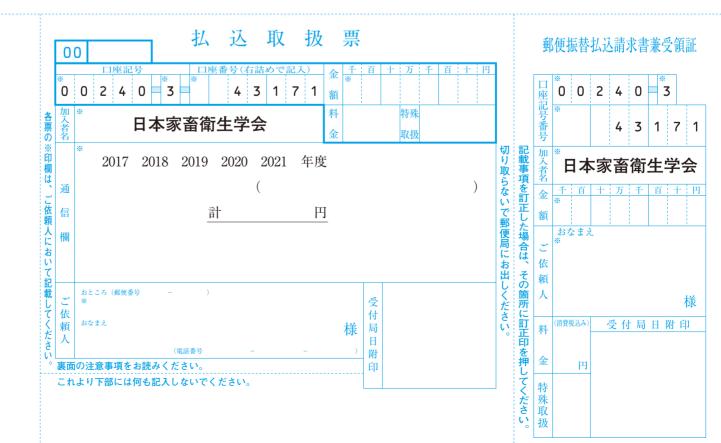
日本家畜衛生学会 理事長 河合一洋 家畜衛生学雑誌 編集委員長 長井 誠

#### 日本家畜衛生学会・学会費納入のお願い

ご承知のように、学会は会員の皆様からの会費をもって運営されております。学会の運営を円滑に運ぶために、所 定の会費を納入していただきますようお願い致します

- \*会費は、正会員5.000円、学生会員2,000円です。
- \*平成27年度までの未納分をお支払いいただく場合。正会員年会費は4,000円です。

日本家畜衛生学会 理事長 河合一洋



(ご注意) ・この用紙は、機械で処理します ので、口座番号及び金額を記入す る際は、枠内にはっきりと記入し てください。

また、本票を汚したり、折り曲 げたりしないでください。

・この払込請求書を郵便局の派遣 員にお預けになるときは、引換え に預り証を必ずお受け取りください。

この受領証は、郵便振替の払込 みの証拠となるものですから大切 に保存してください。

この払込取扱票の裏面には、何も記載しないでください。

## 家畜衛生学雜誌

## 第47卷 第2号 2021

н ж
〈総 説〉 わが国における野生動物と家畜伝染病
53~62 
〈原 著〉 養豚汚水処理施設の設計に用いる窒素負荷量原単位の策定 田中康男・竹本佳正・長谷川輝明・薬師堂謙一・長田 隆・半田裕紀・道宗直昭 63~72
The isolation, identification, and antimicrobial susceptibility of bacteria and fungi from the skin of Thoroughbred racehorses with infectious dermatitis  Shigeto Ushiya, Koji Uetsuka
〈短 報〉
Use of antimicrobial agents on a dairy farm where cefazoline-low susceptible  Mannheimia haemolytica serotype 1 was isolated
························· Misaki Akiyoshi, Minami Nouchi, Kazumi Sugiura, Ryo Murata Noritsugu Abe, Ayano Sato, Toshihide Kato ·························85~90
会員へのおしらせ

## The Japanese Journal of Animal Hygiene

## Vol. 47 No. 2 2021

#### Contents

⟨Review⟩	
Wildlife and domestic animal infectious diseases	
— Transmission of the diseases from wildlife to domestic animals in Japan —	
Shinji Takai ······	53~62
⟨Original report⟩	
Estimation of nitrogen unit load for designing swine wastewater treatment plant	
····· Yasuo Tanaka et al.	63~72
The isolation, identification, and antimicrobial susceptibility of bacteria and	
fungi from the skin of Thoroughbred racehorses with infectious dermatitis  Shigeto Ushiya and Koji Uetsuka	73~83
$\langle { m Nose}  angle$	
Use of antimicrobial agents on a dairy farm where cefazoline-low susceptible	
Mannheimia haemolytica serotype 1 was isolated	
Misaki Akiyoshi <i>et al.</i>	85~90
Information for Members ·····	91~94
Instruction for Authors ·····	95~96

#### わが国における野生動物と家畜伝染病

髙 井 伸 二1)\*

## Wildlife and domestic animal infectious diseases — Transmission of the diseases from wildlife to domestic animals in Japan —

Shinji Takai 1) \*

(1) School of Veterinary Medicine, Kitasato University, Higashi 23-35-1, Towada, Aomori 034-8628, Japan \*Correspondence: Shinji Takai (takai@vmas.kitasato-u.ac.jp)) (2021. 5. 5 受付/2021. 5. 31 受理)

#### Summary

In September 9<sup>th</sup>, 2018, classical swine fever (CSF), one of the specific domestic animal infectious diseases, reemerged in Gifu Prefecture, in the center of Japan, after 26 years' absence. The disease spread rapidly to both domestic pigs and wild boars (*Sus scrofa*) in Gifu Prefecture and the Prefectures adjacent to Gifu. In this review, the transmission risk of animal infectious diseases from wildlife to domestic animals has been discussed from the standpoint of the background of the rapid increase in wildlife population in Japan.

Key words: classical swine fever, wildlife, domestic animal infectious diseases, transmission

- 家畜衛生学雑誌 47,53~62 (2021)

#### 1. はじめに: 豚熱(豚コレラ)の26年ぶりの発生

2018年9月9日, 国内では26年ぶりに岐阜県の養豚農家において豚熱(Classical Swine Fever: CSF)が発生した. 以来, 隣接する愛知県, 三重県, 福井県と長野県, そして埼玉県, 山梨県, 沖縄県, 群馬県, 山形県, 和歌山県, 奈良県, 栃木県の13県で計67事例(養豚場等)がこれまで(2021年4月末)に発生し, 合計約24万頭の豚が殺処分されている<sup>26</sup>.

初発から4日後の2018年9月14日,発生農家から7.4km離れた用水路で死亡した野生イノシシが発見され,CSFウイルスに感染していることが確認された $^{27}$ . その後,野生イノシシにおける豚熱感染が岐阜県から隣接県へと徐々に広がり、2021年4月末時点では24都府県

我が国におけるCSFの初発は1887年にアメリカから 北海道に輸入された豚における発生とされている。その 後、豚のCSFは全国に広がり猛威を振るった。1969年 からの豚コレラ生ワクチン接種により激減し、1992年に 国内における発生が終了した<sup>32)</sup>。この間、野生イノシシ

で豚熱に感染した野生イノシシが確認されている $^{26}$ . 24 都府県には約298万頭(全国の33%)の豚が飼養され、野生イノシシからCSFの感染リスクに曝されている. 農林水産省が2019年8月8日に発表した「豚コレラの疫学調査に係る中間取りまとめ」(以下、中間とりまとめ)によると、分離されたCSFウイルスの遺伝子解析から、2018年の国内分離株はGenotype 2、Subgenotype 2.1に属しており、2017年の中国分離株等と同じSubgenotype 2.1 のうち、2.1d群に分類された. したがって、2018年の国内分離株は、中国またはその周辺国から侵入したウイルスであろうと推定されている. また、発生時期と発生場所の位置関係や発生農場の現地調査結果から、養豚場における発生事例の多くは野生イノシシを経由して感染が拡大したものと考えられた $^{27}$ .

<sup>1)</sup> 北里大学獣医学部獣医衛生学研究室 〒034-8628 青森県十和田市東23番町35-1

<sup>\*</sup> 連絡責任者: 髙井伸二 (takai@vmas.kitasato-u.ac.jp)

におけるCSFの発生が報告されているが、千葉県では1970年代中頃に豚コレラにより野生イノシシの絶滅を経験した<sup>2)</sup>. 今回の野生イノシシによる家畜伝染病の豚への伝播拡大は、我が国において起こり得なかった事象と考えられ、本論文で、それに至る背景と問題を考察したい、尚、拡散防止対策としての経口豚熱ワクチンの詳細はここでは論じない。

#### 2. 野生動物の捕獲頭数並びに 推定生息数と家畜の飼育頭数

近年、ニホンジカ、イノシシなど在来の大型野生動物の生息数の増加と分布拡大は、農林業等に大きな被害を与えている(図1). 農作物被害額は令和元年の調査では158億円で全体の約7割がシカ、イノシシ、サルによる被害であり、森林の被害面積は年間約5千haで、こ

のうちシカによる被害が約7割を占める<sup>24</sup>.被害額は ピーク時(平成22年は239億円)の66%と減少傾向にあ るが、野生鳥獣による被害は農家の営農意欲の減退、耕 作放棄・離農の増加、さらには森林の下層植生の消失等 による土壌流出、希少植物の食害、鉄道車両・自動車と の衝突事故等の被害など(図2)、被害額として数字に 表れる以上に農山漁村に深刻な影響を及ぼしている。こ れらは人口縮小・高齢化が進んだ地方における持続可能 な地域社会の存続に重大な障害となりつつある。

表1に、最新のシカ・イノシシの推定生息数・捕獲数と、比較のために家畜の飼育頭数とと畜数を示した。北海道のエゾシカは推定67万頭(中央値)が棲息し、1年間に10万頭余が、本州・四国・九州のニホンジカは推定189万頭(中央値)が棲息し、1年間に約60万頭がそれぞれ狩猟・捕獲されている<sup>12</sup> 国内のシカ生息数は推定





図1. ミカン畑に出没するイノシシ(左)とアライグマ(右) 撮影: 田辺市ふるさと自然公園センター・鈴木和男先生





図2. 八戸市内において交通事故で死亡したニホンジカ (左) とニホンカモシカ (右) 撮影: 北里大学獣医学部生物環境科学科野生動物学研究室・岡田あゆみ准教授

動物	推定生息数・中央値 家畜:飼育頭数	狩猟 (11月15日~2月15日)	捕獲 (狩猟期以外)	捕獲頭数 (と畜頭数)	引用文献
エゾシカ	670,000	27,573	79,201	106,774	9
ニホンジカ	1,890,000	137,200	465,700	602,900	12
イノシシ	800,000	132,600	507,500	640,100	12
牛 (乳用)	1,352,000			332,129	4
牛 (肉用)	2,555,000	和 459,276	交 234,263	693,539	4
豚	9,156,000			16,446,085	4

表1. シカ・イノシシの推定生息数・捕獲数と家畜の飼育頭数とと畜頭数(令和元年度)

注)和:黑毛和種,交:交雑種

256万頭と肉用牛の飼育頭数に, 更に, 処分数約70万頭 は年間と畜頭数69万頭余に匹敵する. しかし, イノシシ の推定生息数は約80万頭(中央値)と, 豚の飼育頭数 915万頭の10分の1以下で, 年間64万頭の狩猟・捕獲数 は豚のと畜数の4%にも満たない<sup>4.9</sup>).

昭和53年度から平成30年度までの40年間で、ニホンジカの分布域は約2.7倍に、イノシシの分布域は約1.9倍に拡大している。ニホンジカは森林内では3頭程度、草原などの開放的な場所では大きな群れで生活するといわれており、季節に応じて移動する。イノシシであれば1-2km時に4km四方を行動範囲とし、群れで生活している。

#### 3. 野生動物を取り巻く環境は 何が変わったのか?

明治初期の北海道では毎年10万頭以上のエゾシカを捕 獲し、北海道開拓使がエゾシカ肉の缶詰工場を作り、海 外に輸出されていた<sup>16)</sup>. 1873-78年に57万頭が乱獲さ れ、北海道開拓と人口増加の圧力で野生動物は山奥に追 い詰められた。エゾシカの捕食者であったエゾオオカミ は家畜を襲うようになったことから積極的に駆除され、 1890年頃には絶滅したと考えられる<sup>16)</sup>. 本州において は、江戸時代以前から野生動物は山奥に追い詰められて おり、明治以降、野生鳥獣は生息域や個体数が減少し、 絶滅が危惧されるようになり、「狩猟法」から「鳥獣保 護法」へとシフトした. 更に時代が移り. 少子高齢化と 中山間地域の過疎化、耕作放棄地と里山の荒廃の進行に より、野生鳥獣の生息数が回復し、1990年以降は生息域 の拡大と生息数が爆発的に増加し、農林業被害のみなら ず列車や自動車との衝突事故(図2)など社会問題が急 増した<sup>16)</sup>. 表 2 に野生動物が増加した要因と考えられる ものをリストアップした. 勿論. それぞれの地域によっ

表2. 野生動物が増加した複数の要因

- 1. 森林伐採(中山間の放牧地の増加)
- 2. 人工林の放置 (棲家の拡大)
- 3. 人工林が取り巻く放牧地 (近い餌場)
- 4. 耕作放棄地・限界集落・人の減少
- 5. 地球温暖化による暖冬(北限が北上)
- 6. 狩猟圧の低下(狩猟免許所持者の激減:1975年51.8万人→2014年19.6万人)
- 7. 頂点捕食者の消失 (ニホンオオカミの絶滅 1905年)
- 8. 野犬の減少(1974年118.7万頭→2019年3,300頭: 99.7% 減)

て事情が異なることから、複数の要因が複雑に絡み合って働いていると考えられる.

1960年代以降, 薪炭から石油への燃料革命と, 同時期 に天然林のスギ・ヒノキの木材生産の場への変化は、森 林地帯における野生動物の棲息環境に大きな影響を与え た1) 森林伐採は、一時的にシカ類の餌となる植物の増 加をもたらし、続いてシカの個体数の増加に繋がること は良く知られている。そのほかの増加要因として、1990 年以降、狩猟者の減少・高齢化(狩猟免許所持者数は 1975年51.8万人が2000年には21万人まで減少) に伴い狩 猟による捕獲圧が低下したことや、里山、森林管理の粗 放化等により、野生鳥獣の生息環境が変化したこと等が 考えられる. 同時に. 農山漁村の過疎化や高齢化が進行 し、耕作放棄地が増加したことや、里山等における住民 の活動が減少したこと等が挙げられる $^{1}$ )。表3には、狩 猟免許所持者, 耕作放棄地面積とイノシシとシカの捕 獲・狩猟頭数の推移を示した<sup>39)</sup>. 環境省の「いま、獲ら なければならない理由―共に生きるために―」のパンフ レットには、①積雪量の減少、②造林や草地造成などに よる餌となる植生の増加、③中山間地域の過疎化などにより生息適地である耕作放棄地の拡大、④狩猟者の減少、⑤生息数の回復に対応した捕獲規制の緩和の遅れが、ニホンジカの増えた要因と記載している<sup>13)</sup>.

## 4. 鳥獣保護法の改正と野生鳥獣肉の衛生管理ガイドラインとジビエ認証制度

増えすぎたシカやイノシシとの共生のために、平成26年5月、いわゆる鳥獣保護法は「鳥獣の保護及び管理並びに狩猟の適正化に関する法律」と改正され、その目的には、これまでの「鳥獣の保護」「狩猟の適正化」に加えて「鳥獣の管理」が追加されることになった。新設された「特定鳥獣保護管理計画」制度では、第一種=生息数が減少している鳥獣の保護計画、第二種=生息数が著しく増加している鳥獣(イノシシ・ニホンジカ・ニホンザル・ツキノワグマ・カモシカ)の管理計画を自治体が策定することとなった。管理計画の柱は「個体数管理、被

害防止,生息地管理」の3つである.しかし,全ての自治体では鳥獣保護に関する知識と技術を持った人員を確保できていない現状でもあり,家畜伝染性疾病の発生予防の観点から,獣医学教育においても,野生動物の保護管理に関する教育と人材養成が今後の課題と考えられる.

鳥獣保護法の改正に伴い、野生鳥獣の捕獲数が増加し、食用としての利活用が増加することが想定され、食用に供される野生鳥獣肉の安全性の確保推進のために、厚労省では「野生鳥獣肉の衛生管理に関する指針(ガイドライン)」を策定し、平成26年11月に全国の都道府県等に通知した<sup>18)</sup>. 農水省では更に、ジビエの利用拡大に当たって消費者から信頼される食品であるために、流通するジビエの安全性の向上及び透明性の確保を図る目的でジビエ認証制度を平成30年5月に制定した<sup>25)</sup>. 尚、この総説では野生鳥獣由来食肉の安全性に関する私たちの研究<sup>36)</sup> を紹介し、参考までに食中毒の原因微生物の情報を表4に纏めた.

年度	1975 (S50)	1980 (S55)	1985 (S60)	1990 (H2)	1995 (H7)	2000 (H12)	2005 (H17)	2010 (H22)	2015 (H27)
狩猟免許所持者 (万人)	51.7	46.1	32.6	28.9	24.6	21.0	20.4	19.0	19.0
耕作放棄地(万ha)	13.1	12.3	13.5	21.7	24.4	34.3	38.6	39.8	42.3
イノシシ(万頭)	7.3	8.2	6.0	7.0	8.8	14.8	21.0	47.7	55.4
ニホンジカ(万頭)	1.3	2.0	2.6	4.2	8.2	13.7	19.0	36.3	59.3

表3. 狩猟免許所持者、耕作放棄地面積とイノシシとシカの捕獲・狩猟頭数の推移

表 4. 野生イノシシ・シカが保有する可能性がある食中毒とその原因微生物

病名	原因病原体	感染経路	引用文献
E型肝炎	Hepatitis E Virus	生食・交差汚染など	19, 36
STEC感染症	Shiga-toxin producing Escherichia coli	生食・交差汚染など	3, 11, 36
サルモネラ症	Salmonella sp.	生食・交差汚染など	3, 11, 36
エルシニア症	Yersinia enterocolitica, Y. pseudotuberculosis	生食・交差汚染など	3, 11, 36
カンピロバクター症	Campylobacter sp.	生食・交差汚染など	3, 11, 36
黄色ブドウ球菌食中毒	Staphylococcus aureus	生食・交差汚染など	3, 11, 36
リステリア症	Listeria monocytogenes	生食・交差汚染など	3, 11, 36
トキソプラズマ症	Toxoplasma gondii	生食	20
住肉胞子虫	Sarcocystis fayeri	生食	33, 36
旋毛虫症(トリヒナ症)	Trichinella spiralis, T. britovi	生食	34, 36
顎口虫症	Gnathostoma doloresi	生食	31
肺吸虫症	Paragonimus westermani, Paragonimus miyazakii	生食	31, 36
肝蛭	Aspermic Fasciola sp.	生食	31, 36

#### 5. 特定外来生物(哺乳類)と家畜伝染病

わが国の生態系・農林水産業・一般社会等に甚大な被害を及ぼす恐れのある「特定外来生物による生態系等に係る被害の防止に関する法律」により、これまでに3科15属122種8交雑種(148種類)がその対象に指定され<sup>14)</sup>、哺乳動物においては、4属と17種が指定されている(表5)、農水省では特定外来生物としてアライグマ、ヌートリア、キョン、マングース、クリハラリスを野生鳥獣

被害防止マニュアルで取り上げている. 農作物の被害に加えて(図1), これらの哺乳動物は家畜伝染病・人獣 共通感染症の媒介・保菌動物としても重要である.

このうちアライグマについて各自治体のHPで目撃情報・捕獲情報等を検索したところ、2019年までに沖縄県を除く46都道府県まで生息地域が拡大していた<sup>8)</sup>. 1962年に日本で野生化したアライグマが初めて確認され、1970年代以降に全国的な広がりを見せ、2007年の環境省の調査では35都道府県に棲息が確認されていたが、現

表 5. 特定外来生物に指定されている哺乳動物

時期	和名	学名
公布:平成17年 4 月27日	フクロギツネ	Trichosurus vulpecula
施行:平成17年6月1日	タイワンザル	Macaca cyclopis
(11種)	カニクイザル	Macaca fascicularis
	アカゲザル	Macaca mulatta
	ヌートリア	Myocastor coypus
	クリハラリス	Callosciurus erythraeus
	トウブハイイロリス	Sciurus carolinensis
	カニクイアライグマ	Procyon cancrivorus
	アライグマ	Procyon lotor
	ジャワマングース	Herpestes javanicus
	キョン	Muntiacus reevesi
公布:平成17年12月14日	ハリネズミ属全種	Erinaceus 属
施行:平成18年2月1日	タイリクモモンガのうち	Pteromys volansのうち
(4属5種)	エゾモモンガ以外のもの	Pteromys volans orii以外のもの
	キタリスのうち	Sciurus vulgaris のうち
	エゾリス以外のもの	Sciurus vulgaris orientis 以外のもの
	マスクラット	Ondatra zibethicus
	アメリカミンク	Mustela vison
	アキシスシカ属全種	Axis 属
	シカ属に属する種のうち	Cervus 属に属する種のうち
	ホンシュウジカ,	Cervus nippon centralis,
	ケラマジカ,	Cervus nippon keramae,
	マゲシカ,	Cervus nippon mageshimae,
	キュウシュウジカ,	Cervus nippon nippon,
	ツシマジカ,	Cervus nippon pulchellus,
	ヤクシカ及び	Cervus nippon yakushimae 及び
	エゾシカ 以外のもの	Cervus nippon yesoensis 以外のもの
	ダマシカ属全種	Dama 属
	シフゾウ	Elaphurus davidianus
公布:平成21年12月11日 施行:平成22年2月1日 (1種)	シママングース	Mungos mungo

在,沖縄県を除いた全国に拡大した.捕獲頭数が最も多 いのは北海道であるが、1979年に恵庭市内で飼育されて いた約10頭が逃げ出したことから始まり、道央圏から全 道へと生息域が広がったとされる<sup>8)</sup>. 2006年度1.724頭の 捕獲数が、2019年度18.615頭と約11倍となり、被害額も 1億2千万となった<sup>8)</sup>. 捕獲頭数が多いのは、北海道に 次いで埼玉県30) 千葉県5) 大阪府29) 長崎県21) 茨城  $県^{10)}$ , 福島県 $^{6)}$ , 東京都 $^{38)}$ , 山梨県 $^{40)}$ , 岐阜県 $^{7)}$ の順と なっており、捕獲情報が確認された12都道府県の合計捕 獲数は38.916頭であった. 図3に示すようにアライグマ の捕獲頭数が激増している。アライグマは1歳前に性成 熟に達し、冬(1-3月)に交尾し、63-65日の妊娠期間 を経て平均3~5頭を春(ピークは4月)に出産する<sup>35)</sup>. 2歳以上の成獣の妊娠率は90%と極めて高く、ニホンジ カの繁殖率に匹敵する. 飼育されたアライグマの寿命は 10年程度といわれているが、野生では5年未満と推定さ れている. 北米においても1940年代から個体数が増え始 め、生息していなかった地域、都市部にも拡大し、1980 年代には15-20倍になったという<sup>35)</sup>. 我が国においても,近年の捕獲数の異常な増加が認められることから,早急の対応が望まれる.

その他の特定外来種として、ハクビシンは2002年の調査では27都道府県で確認され、2018年の調査では北海道・山口・九州(福岡・佐賀・熊本・大分・宮崎・鹿児島)・沖縄の10道・県を除く37都府県にまで拡大した、特に、千葉県、愛知県、埼玉県と南関東に分布拡大した、捕獲数の増加率は福井県・新潟県・埼玉県において16年間で10倍以上となった<sup>15</sup>.

ヌートリアは2002年の調査で11府県,2018年の調査では18府県と拡大した。中部以西に分布する特徴をもち、分布範囲が周辺へと拡大している。特に、中国地方での分布拡大が著しく、捕獲数の増加率は兵庫県、広島県、京都府の順に高かった<sup>15)</sup>.

表6にアライグマとハクビシンがヒト・家畜・伴侶動 物等に媒介の可能性がある感染症のリストを挙げた.

#### 

図3. アライグマの捕獲頭数の推移(各自治体のHPのデータから作図)

■福島県■東京都■山梨県■岐阜県■山口県■栃木県

表 6. アライグマ・ハクビシンがヒト・家畜・伴侶動物等に媒介の可能性がある感染症

感染経路など	感染症
ヒトに接触感染する疾病	疥癬、皮膚糸状菌症、ツツガムシ病、レプトスピラ症、アライグマ糞線虫症等
ヒトに経口感染する疾病	サルモネラ菌食中毒,カンピロバクター食中毒,エルシニア食中毒,トキソプラズマ症, アライグマ回虫による幼虫移行症,E型肝炎等
犬・猫に伝播する可能性の ある疾病	ジステンパー、パルボウイルスウイルス感染症、アデノウイルス感染症等
家畜伝染病,感染症法 2類・4類感染症等	狂犬病, エキノコックス症, 重症熱性血小板減少症候群(SFTS), 重症急性呼吸器症候群 (SARS) 等

#### 6. 野生動物と家畜伝染病

わが国において、これまで、野生動物・鳥類から家 畜・家禽への伝播を警戒する必要のある家畜伝染病は. 唯一高病原性鳥インフルエンザであった。2004年に京都 府の養鶏場での発生以降,2005年 (茨城県・埼玉県), 2007年 (宮崎県・岡山県). 2009年 (愛知県:ウズラ農 家). 2010年(島根県). 2011年(愛知県・宮崎県・鹿児 島県)、2016年(北海道)、2017年(岐阜県・佐賀県)、 2020/21年は当たり年で12県52例の養鶏場での発生があ り、数万から数十万単位の鶏が殺処分されている<sup>28)</sup> 1990年以降、シカ・イノシシなどの野生動物とアライグ マ・ハクビシンなどの外来生物の生息地域の拡大と生息 数の増加は、野生動物から家畜へ、或いは家畜から野生 動物への伝染病の蔓延リスクを高くしたと思われていた が、それが現実となるとは予想だにしなかった。2018年 に発生した豚と野生イノシシの豚熱は、正に虚を突かれ た事象であった. 同時期にアフリカ豚熱のアジア(中 国)への伝播が起こり、瞬く間に東・東南アジア諸国 (日本・台湾・タイを除く) で発生が継続している. 現 時点で、わが国に侵入の恐れが最も高い越境性家畜伝染 性疾患はアフリカ豚熱であろう (特定家畜伝染病). 既 に、動物検疫所においては違法に持ち込まれた畜産物か らアフリカ豚熱ウイルスの遺伝子或いはウイルス分離が なされており、国内への侵入リスクは極めて高い状況が 継続中である37) 野生動物を介したダニによる媒介、感 染畜等との直接的な接触により感染が拡大し、有効なり クチンや治療法がないことから、発生した場合の畜産業 界への影響は甚大となる. わが国における26年振りの豚 熱 (CSF) の発生及びアジア地域でのアフリカ豚熱 (ASF) の感染拡大を踏まえ、2020年4月3日に家畜伝 染病予防法の一部を改正する法律と「豚及びいのししに 係る飼養衛生管理基準 | が公布され、これに基づいて全 畜種の飼養衛生管理基準を改正し、水際防疫と衛生管理 体制強化を予防策とした.

表7にわが国において野生動物の媒介により発生している家畜伝染病を、表8に今後国内発生の可能性のある家畜伝染病と届出伝染病を挙げた<sup>17)</sup>.

家畜伝染病	保菌野生動物	伝播経路	対象家畜	日本での発生
高病原性 鳥インフルエンザ	野生水禽類	水系・直接	家禽	2003年79年ぶり発生. 2006, 2010, 2014, 2016, 2017, 2020年に発生
豚熱	イノシシ	直接・間接の接触・経口	豚	2018年から発生が継続

表7. わが国において野生動物の媒介により発生している家畜伝染病

表 Q	野生動物によ	ス規介	可能性のお	、ス家玄伝	九油.	屈出伝热症
衣0.	到生 別物によ	つ烁川	円 BETT.VJ &	) ②豕田口:	<i>紀別</i> 了。	油山石米州

家畜伝染病	保菌野生動物	伝播経路	対象家畜	日本での発生
狂犬病	キツネ, タヌキ, アライ グマ, アナグマ, ハクビ シン等, コウモリ?	直接・間接の接触・経 口, 咬傷	全ての家畜・ 犬等	1957年以降なし
口蹄疫	イノシシ等野生偶蹄類	直接・間接の接触・経口	牛, 豚	2000年, 2010年
アフリカ豚熱	イノシシ・ダニ類	直接・間接の接触・経 口, 咬傷	豚	なし
伝達性海綿状脳症 鹿慢性消耗病CWD	シカ等	直接・間接の接触・経口	シカ	なし
結核	ニホンアナグマ、シカ等	直接・間接の接触・経口	牛・シカ	輸入ミズジカ,梅花 鹿での発生
ブルセラ症	シカ・ニホンカモシカ, イノシシ	直接・間接の接触・経口	牛・豚	家畜以外の発生なし
届出伝染病	保菌野生動物	伝播経路	対象家畜	日本での発生
オーエスキー病	イノシシ	直接・間接の接触・経口	豚・猟犬	あり
豚繁殖・呼吸障害症 候群 PRRS	イノシシ	直接・間接の接触・経口	豚	抗体あり
豚丹毒	イノシシ	直接・間接の接触・経口	豚	あり
伝染性膿疱性皮膚炎	シカ・ニホンカモシカ	直接接触・間接の経口	緬羊・山羊	1976年以降ニホンカ モシカで散発

## 7. むすびに: 人口縮小社会における野生動物問題

人口縮小社会における野生動物問題は、福島第一原子力発電所事故により住民が退去した地域において野生化した家畜や野生動物が町中を闊歩する様子の映像が、私たちに最も分かり易く説明してくれる。国民は過疎化・無人化集落で何が起こるのかを理解したはずである。最近では、一般市民の生活空間に野生動物のみならず特定外来生物の出現とその被害が社会問題となっている。日本学術会議では、「人口縮小社会における野生動物管理のあり方」を令和元年8月1日に空)、「アフリカ豚熱対策に関する緊急提言」を令和2年4月16日に発表した<sup>23)</sup>、何れに於いても、野生動物管理を推進する高度専門職人材の教育プログラムの創設が必須であることが提言されている。獣医学・畜産学の領域の大学において、これら野生動物問題に対応可能な人材養成カリキュラムと教育組織の立ち上げが喫緊の課題である。

#### 引用文献

- 1) 揚妻直樹 (2013) シカの異常増加を考える. 生物科 学. 65. 108-116.
- 2) 浅田正彦, 直井洋司, 阿部晴恵ら (2001) 房総半島 におけるイノシシ (Sus scorfa Linnaeus, 1758) の 生息状況. 千葉県立中央博物館自然誌研究報告. 6, 201-207.
- 3) Asakura, H., Kawase, J., Ikeda, T., et al. (2017) Microbiological quality assessment of game meats at retail in Japan. J Food Prot. 80, 2119-2126.
- 4) 畜産産業振興機構(2020) 畜産の情報. 令和元年度成牛および豚のと畜頭数・令和元年食鳥処理羽数,2020年7月.
  - https://www.alic.go.jp/joho-c/joho05\_001211.html
- 5) 千葉県環境生活部自然保護課鳥獣対策班 (2021) 第 2次千葉県アライグマ防除実施計画,令和3年3 月.
  - https://www.pref.chiba.lg.jp/shizen/iken/R2/documents/araiguma2nd\_soan.pdf
- 6)福島県生活環境部自然保護課(2021)福島県アライ グマ防除実施計画,令和3年3月.
  - https://www.pref.fukushima.lg.jp/uploaded/attachment/439662.pdf
- 7) 岐阜県環境企画課生物多様性係(2021) 県内の野生 鳥獣の捕獲頭数,令和2年2月.
  - https://www.pref.gifu.lg.jp/uploaded/attachment/232986.pdf

- 8) 北海道環境生活部環境局自然環境課(2021) アライ グマ対策.
  - http://www.pref.hokkaido.lg.jp/ks/skn/alien/araiguma/araiguma\_top.htm
- 9) 北海道環境生活部環境局自然環境課エゾシカ対策 係・活用係(2021) エゾシカ捕獲頭数の推移, 2021 年4月27日.
  - http://www.pref.hokkaido.lg.jp/ks/skn/est/R2/R1hokakusuukakutei.pdf
- 10) 茨城県県民生活環境部環境政策課自然・鳥獣保護 (2021) 茨城県アライグマ防除実施方針,令和3年 3月.
  - https://www.pref.ibaraki.jp/seikatsukankyo/kansei/chojyuhogo/documents/ibaraki\_araiguma\_boujo\_plan\_20210401.pdf
- 11) 壁谷英則, 佐藤真伍, 丸山総一(2016) 野生動物の 食用利用と人獣共通感染症. 日本獣医師会雑誌. 69, 277-283.
- 12) 環境省自然環境局野生生物課鳥獣保護管理室 (2020) ニホンジカ・イノシシ捕獲数速報値(令和 元年度), 令和2年9月10日.
  - https://www.env.go.jp/nature/choju/docs/docs4/index.html
- 13) 環境省自然環境局野生生物課鳥獣保護管理室 (2021) いま, 獲らなければならない理由, 2021年 3月.
  - https://www.env.go.jp/nature/choju/docs/docs5/imatora fin.pdf
- 14) 環境省自然環境局野生生物課外来生物対策室 (2021) 日本の外来種対策.
  - https://www.env.go.jp/nature/intro/2outline/iaslist.html
- 15) 環境省自然環境局生物多様性センター (2018) 平成 29年度要注意鳥獣 (クマ等) 生息分布調査報告書ア ライグマ・ハクビシン・ヌートリア.
  - https://www.biodic.go.jp/youchui/reports/h29\_youchui\_houkoku.pdf
- 16) 環境省自然環境局野生生物課鳥獣保護管理室 (2021) 野生鳥獣の保護及び管理 ―人と野生鳥獣 の適切な関係構築に向けて― シカ保護管理の歴史 と現状.
  - https://www.env.go.jp/nature/choju/plan/plan3-2e/chpt2.pdf
- 17) 菊池栄作(2019) 関係法規の概要, 62-72頁. 明石 博臣, 内田郁夫, 大橋和彦ら編, 動物の感染症(第 四版). 近代出版, 東京.

- 18) 厚生労働省医薬・生活衛生局. 生活衛生・食品安全 部監視安全課 (2021) ジビエの安全確保について 野生鳥獣肉の衛生管理に関する指針 (ガイドライン).
  - https://www.mhlw.go.jp/file/06-Seisakujouhou-11130500-Shokuhinanzenbu/GLhonbun\_1.pdf
- 19) 前田 健 (2015) シカとイノシシにおけるE型肝炎 ウイルスの疫学調査, モダンメディア. 61, 17-18
- 20) 村田浩一 (1988) 神戸市近郊の野生イノシシのトキ ソプラズマ抗体保有状況, 日本獣医師会雑誌.41, 811-813.
- 21) 長崎県農林部農山村振興課鳥獣対策班(2021)主要 狩猟鳥獣捕獲数推移.
  - https://www.pref.nagasaki.jp/shared/uploads/ 2021/01/1610069421.pdf
- 22) 日本学術会議(2019) 人口縮小社会における野生動物管理のあり方、令和元年8月1日. http://210.149.141.38/ja/info/kohyo/pdf/kohyo-24-k280.pdf
- 23) 日本学術会議 (2020) アフリカ豚熱 (ASF, 旧名称:アフリカ豚コレラ) 対策に関する緊急提言, 令和 2 年 4 月16日.
  - http://www.scj.go.jp/ja/info/kohyo/pdf/kohyo-24-t288-2.pdf
- 24) 農水省農村振興局農村政策部鳥獣対策・農村環境課 鳥獣対策室 (2020) 全国の野生鳥獣による農作物被 害状況について (令和元年度), 令和2年12月23日. https://www.maff.go.jp/j/press/nousin/tyozyu/ 201223.html
- 25)農水省農村振興局農村政策部鳥獣対策・農村環境課 鳥獣対策室(2021)国産ジビエ認証制度. https://www.maff.go.jp/j/nousin/gibier/ninsyou. html
- 26) 農水省消費・安全局動物衛生課(2021) CSF について: 国内における豚熱の発生状況について(令和3年4月28日).
  - https://www.maff.go.jp/j/syouan/douei/csf/domestic.html
- 27) 農水省消費・安全局動物衛生課(2019) 拡大豚コレラ疫学調査チーム 豚コレラの疫学調査に係る中間 取りまとめ(令和元年8月8日).
  - https://www.maff.go.jp/j/council/seisaku/eisei/usibuta\_sippei/31/attach/pdf/index-22.pdf
- 28) 農林水産省消費・安全局動物衛生課(2021) 鳥インフィルエンザに関する情報.

- https://www.maff.go.jp/j/syouan/douei/tori/
- 29) 大阪府環境農林水産部動物愛護畜産課野生動物グループ (2021) 第4期大阪部アライグマ防除実施計画
  - http://www.pref.osaka.lg.jp/hodo/attach/hodo-39677\_4.pdf
- 30) 埼玉県環境部みどり自然課(2021) アライグマ防除 実施計画 令和3年4月.
  - https://www.pref.saitama.lg.jp/documents/4781/araigumakeikaku3jikai.pdf
- 31) 佐藤 宏, 戸田正枝, Omar, M. A.ら (2014) ニホンイノシシの内部寄生虫. 兵庫ワイルドライフモノグラフ. 6, 106-120.
- 32) 清水悠紀臣 (2013) 日本における豚コレラの撲滅. 動衛研研究報告. 119, 1-9.
- 33) 杉山 広 (2018) 野生鳥獣肉が関わる寄生虫症. モダンメディア. 64, 9-15.
- 34) 杉山 広,森嶋康之,児玉文宏 (2020) 北海道札幌市において2019年に発生した旋毛虫集団食中毒症例, Clin Parasitol. 31, 49-51.
- 35) 鈴木和男 (2003) アライグマー年生の勉強ノート Field note 79:11-15.
- 36) 高井伸二,前田 健,壁谷英則ら(2017) 厚生労働 科学研究費補助金 食品の安全性確保推進研究事業 「野生鳥獣由来食肉の安全性確保に関する研究」研 究報告書 2018年 3 月31日.
- 37) 高井伸二 (2021) 第4章 家畜等感染症の脅威,日本の食卓の将来と食料生産の強靱化について考える.97-128頁. 学術会議叢書27,令和3年3月.
- 38) 東京都環境局自然環境部計画課(2021) 都内におけるアライグマ・ハクビシンに係る状況, 令和2年5月.
  - https://www.kankyo.metro.tokyo.lg.jp/nature/animals\_plants/raccoon/raccoon.files/plan 20200526\_b2.pdf
- 39) 矢挽尚貴 (2015) 統計データによる耕作放棄地と集 落営農の関係分析. 農工研技報. 217, 75-83.
- 40) 山梨県環境・エネルギー部自然共生推進課 (2021) 第3期山梨県アライグマ防除実施計画, 令和3年4 月.
  - https://www.pref.yamanashi.jp/shizen/documents/dai3-araiguma\_1.pdf

#### 要 約

2018年9月9日、日本で26年ぶりに岐阜県の豚と野生 スクについて考察する. イノシシで特定家畜伝染病の一つである豚熱が発生し た. 野生イノシシへの感染が拡大し、野生イノシシから キーワード: 豚熱、野生動物、家畜伝染病、伝播

豚への伝播が隣接県に広がった. 本論文では, 野生動物 の急激な増加の背景による家畜伝染病の家畜への伝播リ

#### 養豚汚水処理施設の設計に用いる窒素負荷量原単位の策定

田中康男 $^{1)}$ \*·竹本佳正 $^{2)}$ ·長谷川輝明 $^{3)}$ ·薬師堂謙 $^{-4)}$ · 長田 隆 $^{5)}$ ·半田裕紀 $^{2)}$ ·道宗直昭 $^{1)}$ 

#### Estimation of nitrogen unit load for designing swine wastewater treatment plant

Yasuo Tanaka <sup>1)</sup> \*, Yoshimasa Takemoto <sup>2)</sup>, Teruaki Hasegawa <sup>3)</sup>, Kenichi Yakushido <sup>4)</sup>, Takashi Osada <sup>5)</sup>, Yuki Handa <sup>2)</sup>, Naoaki Doushu <sup>1)</sup>

 (1) Livestock Industry's Environmental Improvement Organization, Institute of Livestock Industry's Environmental Technology.
 1 Hara, Odakura, Nishishirakawagun, Fukushima, 961-8061 Japan
 2) Japan Livestock Industry Association.

2-6-12 Sotokanda, Chiyoda-ku, Tokyo, 101-0021 Japan

<sup>3)</sup> Chiba Prefectural Government, Agriculture, Forestry and Fisheries Department.

1-1 Ichiba-cho, Chuo-ku, Chiba City, Chiba, 260-8667 Japan

- <sup>4)</sup> National Agriculture and Food Research Organization, Kyushu Okinawa Agricultural Research Center. 2421 Suya, Koshi, Kumamoto 861-1192 Japan
  - <sup>5)</sup> National Agriculture and Food Research Organization, Institute of Livestock and Grassland Science.
    2 Ikenodai, Tsukuba, Ibaraki, 305-0901 Japan

\*Corresponding Author: Yasuo Tanaka (ytanaka@chikusan-kankyo.jp)) (2021. 4. 27 受付/2021. 5. 29 受理)

#### Summary

Unit load value of wastewater nitrogen is indispensable for designing swine wastewater treatment plant. Though amount of nitrogen in swine waste has been estimated by many investigators, the nitrogen unit load value for swine wastewater treatment plant design has not been estimated yet. To estimate the value, nitrogen/potassium-ion ratio in wastewater of 9 farms was surveyed. A boxplot analysis showed that 75th percentile and maximum (top of whisker) values of total nitrogen to potassium-ion ratio was estimated as 2.31-2.90 for raw wastewater and 1.86-2.23 for suspended matter reduced wastewater. Multiplying these values by widely recognized unit amount of potassium excretion in urine of 9.2 g, unit amount load of nitrogen for wastewater treatment plant was estimated as 21.3-26.7 g/fattening-pig/day for raw wastewater and 17.0-20.5 g/fattening-pig/day for suspended matter reduced wastewater.

Key words: swine wastewater, total nitrogen, potassium, wastewater treatment plant, unit amount load of nitrogen

家畜衛生学雑誌 47,63~72 (2021)

〒101-0021 東京都千代田区外神田 2-6-12

〒260-8667 千葉県千葉市中央区市場町1-1

〒861-1192 熊本県合志市須屋2421

<sup>1)</sup> 一般財団法人畜産環境整備機構 畜産環境技術研究所 〒961-8061 福島県西白河郡西郷村小田倉原 1

<sup>2)</sup> 公益社団法人中央畜産会

<sup>3)</sup> 千葉県農林水産部

<sup>4)</sup> 国立研究開発法人農業・食品産業技術総合研究機構 九州沖縄農業研究センター

<sup>5)</sup> 国立研究開発法人農業·食品産業技術総合研究機構 畜産研究部門

<sup>〒305-0901</sup> 茨城県つくば市池の台2

<sup>\*</sup> 連絡著者:田中康男 (vtanaka@chikusan-kankyo.jp)

#### 序 文

硝酸性窒素は肥料成分である一方,飲料水に混入すると人体内で還元されて生成する亜硝酸性窒素が乳幼児にメトヘモグロビン血症を発症させることがあり,有害物質としての側面もある.このため,硝酸性窒素および亜硝酸性窒素については、WHO飲用水質ガイドラインや水道水水質基準等を参考に、1999年に環境基準が設定された.これを受け2001年に水質汚濁防止法で「アンモニア、アンモニウム化合物,亜硝酸化合物及び硝酸化合物」(以下「硝酸性窒素等」と略す)の排水基準が設定された.

この規制における一般基準値は100 mg/Lであるが、 畜産農業については直ちにこれに対応をすることは困難であるとして、当初は1500 mg/Lの暫定基準が設定された。その後、3 年ごとに見直しが実施され、2021年現在では500 mg/Lの暫定基準が適用されている。今後100 mg/Lに向けてさらなる強化が予想される。

水質汚濁防止法においては、生物化学的酸素要求量 (BOD) や浮遊性物質 (SS) 等の生活環境項目は日排水量が50m³以上の農家のみに適用されるが、硝酸性窒素等は有害物質に該当するため排水量に関係なく適用される。従って、排水を放流する限りは、いかに規模の小さい農場であっても十分な窒素除去能力を有する処理施設が必要不可欠となる。

十分な窒素除去能力の汚水処理施設を設計するためには窒素負荷量原単位(gN/頭・日)が必要となる. 負荷量原単位とは、肥育豚1頭1日あたりのふん尿排せつ量(排せつ量原単位)のうち、尿にふんの一部が混入して発生する汚水に含まれる汚濁物質量をいう. 現行の養豚汚水処理施設の設計指針<sup>1)</sup> においては、易分解性有機物の指標であるBODおよび懸濁性汚濁物の指標であるSSの負荷量原単位は設計諸元数値として示されているが、窒素の負荷量原単位は示されておらず、窒素除去に対応した汚水処理施設を設計する上での支障となっている.

家畜栄養試験の分野では、カリウムを指標物質とする窒素出納試験法が開発され、実際的な飼養条件下で窒素代謝を把握できる手法として推奨されている $^{6,9)}$ . カリウムは排せつ後も不溶化、吸着、揮散等による減少は生じないと想定される。また、最近では肥育豚 1 頭 1 日当たりのカリウム排せつ量原単位がふん、尿のそれぞれにおいて報告されている $^{13)}$ . よって、カリウムを指標物質とする手法は排せつ後の窒素動態の把握にも応用可能と考えられる。

本研究では、9農場においてカリウムを指標物質とす

る算定手法により窒素負荷量原単位 (gN/頭・日) の推定を行った.

#### 材料および方法

#### (1) 調査農場の概要

KO農場:関東東部の温暖な平地に立地し,繁殖豚のみを飼養しており,肥育豚換算飼養頭数で6000~7000頭規模である.飼料は市販配合飼料を利用.汚水はふん尿混合で豚舎から排出され,前搾りを経た後に曝気槽に流入する<sup>17)</sup>.試料は前搾り後に採取した.

NA農場:関東東部の温暖な平地に立地し、肥育豚換算飼養頭数900頭規模である。飼料は、飼料会社により食品残渣を原料として製造されたリキッド飼料を利用。汚水はふん尿混合豚舎から流出後に余剰汚泥と合流し、高分子凝集剤を利用した脱水分離(以後この工程を「前搾り」と呼ぶ)で汚水中浮遊物質と余剰活性汚泥が除去された後に曝気槽に流入する<sup>7)</sup>。試料は前搾り後に採取した。

SA農場:九州中西部の温暖な中山間地に立地し、母豚200頭の一貫経営である。飼料は市販配合飼料を利用。豚舎はふん尿分離方式で、排出された汚水はウエッジワイヤースクリーン処理を経た後に曝気槽に流入する<sup>20)</sup>。試料は曝気槽への流入箇所で採取した。

SC農場:関東中央部平地に立地し、母豚150頭の一貫経営である。飼料は市販配合飼料を利用、豚舎はふん尿分離型で、汚水はバースクリーンで篩さを除去した後に井戸水で約2倍に希釈されて回分式OD法(神奈川方式)の曝気槽に流入する。試料は希釈前の汚水貯槽で採取した。

SF農場:東北地方南部の中山間地に立地し、母豚210頭の一貫経営である。飼料は市販配合飼料を利用。肥育豚舎はスノコ床式でふん尿分離方式。豚房下部にスクレーパー式除ふん機が設置されている。夏期には豚の飲水にともなうこぼれ水や遊び水が混入し汚水量が多くなる。また、山裾に位置するため、降雨時の雨水混入量が多く、また給水配管からの漏水量も多い。汚水は前搾り後に分離液貯槽を介して曝気槽に流入する。試料は前搾りの前後で採取した。

SH農場:関東東部温暖地の平地に立地し、母豚145頭の一貫経営である。飼料は自家配合飼料を利用。給餌はウエットフィーデイング方式。肥育豚の7割はおが屑豚舎で飼養しているため、浄化槽処理対象頭数は肥育豚換算で435頭である。汚水の発生する豚舎はスノコ床で、ふん尿分離方式。汚水は前搾り後に曝気槽に流入する8)。試料は前搾り後に採取した。

TY農場:関東北部中山間地に立地し、母豚80頭の一 貫経営で、市販配合飼料を利用、給餌はウエットフィー デイング方式. 1頭あたりの汚水発生量が少ない特徴を有する. 肥育豚舎はスノコ床式で, ふん尿分離方式. 床の下部にスクレーパー式除ふん機の設置されたふん尿溝が設けられている. スクレーパーは1日に2回, 8時と15時に稼働させている. 豚舎から排出された汚水は, 前搾り後に分離液貯槽を介して曝気槽に流入する. 試料は前搾りの前後で採取した.

YA農場:関東北部中山間地に立地し、母豚100頭の一貫経営であるが、他農場からの子豚導入も行っているため肥育豚換算飼養頭数は2500頭である。市販配合飼料を利用、給餌はウエットフィーデイング方式、豚舎からの排せつ物排出はふん尿分離方式で、分離はスクレーパー方式で行っている。排出された汚水は、前搾り後井戸水で希釈され曝気槽に流入する<sup>18</sup>. 試料は前搾り前、および前搾り後(希釈水投入前)に採取した.

**ZE農場**:関東地方北部の中山間地に立地する一貫経営で、調査時の飼養頭数は母豚1070頭の一貫経営である。飼料は市販配合飼料を利用. ふん尿混合とふん尿分離の二方式の豚舎が設置され、両形式の豚舎からの汚水は前搾りを行った後に貯槽経由で曝気槽に流入する<sup>5)</sup>. 試料は前搾りの前後で採取した.

#### (2) 試料採取日および採取試料

TY農場は2018年4月~2021年3月の間の119回,SF農場は2018年8月~2021年3月の間の127回,原則として週一回採水を行った。SC農場は2018年12月~2019年2月の間に3回採取した。その他6農場の試料は、公益社団法人中央畜産会の2020年度調査事業「家畜排せつ物処理に係る新技術情報等調査」で採取したものを提供いただいた。提供試料は、2020年11月~2021年2月の間の曝気槽流入汚水を4回分、および前搾り実施農場の分離前汚水1回分である。試料は、当日中に研究所に移送する場合室温で、また翌日以降になる場合は冷蔵で移送した。また、研究所に到着後は分析まで5℃の冷蔵庫に保管した。

なお、本論文においては、前搾りを行っていない汚水は「分離前汚水」、前搾り後の汚水は「分離後汚水」と呼ぶ。

#### (3) 水質分析方法

カリウムイオン  $(K^+)$  濃度は、イオンクロマトグラフィー (島津製作所製 SCL-10AVP、IC-SC1カラム (陽イオン用)) により測定した。溶離液には6.5 mM/Lメタンスルホン酸を使用した。

全窒素 (N) は、接触熱分解 – 化学発光法 (analytikjena 製 multi N/C 3100アナライザー) により測定した.

浮遊物質(SS)濃度はガラス繊維ろ紙法で測定した.

#### (4) 飼料成分の分析法

SF 農場と TY 農場で採取した配合飼料の成分分析を、十勝農業協同組合連合会農産化学研究所に委託して行った。各成分の分析法は、粗蛋白質 (CP) がケルダール法、中性デタージェント繊維 (NDF)、酸性デタージェント繊維 (ADF) および酸性デタージェントリグニン (ADL) がデタージェント法、デンプンが酵素法、粗脂肪がジエチルエーテル抽出法、リン (P)、カルシウム (Ca)、マグネシウム (Mg) およびカリウム (K) が蛍光 X 線分析法である。

#### (5) データ解析法

データの統計解析には、データ解析用アプリケーションのR(version 4.0.0(2020-04-24)) <sup>15)</sup>を使用した.このアプリケーションでは、箱ひげ図によるデータ分布の解析およびノンパラメトリック有意差検定を容易に実施できる.なお、箱ひげ図の表示において、箱の下縁は25パーセンタイル値、箱の中央太線は中央値、箱の上縁は75パーセンタイル値を示す.25パーセンタイル値と75パーセンタイル値の間を四分位範囲(IQR)と呼ぶ.また黒丸は外れ値(アウトサイド値とも呼ばれ、IQRの1.5倍の範囲に入らないデータを示す)、菱形は平均値(相加平均)、ひげの下端および上端は外れ値を除外したデータ群中での最小値および最大値を示す.

#### 結 果

#### (1) 各農場における全窒素濃度の分布

図1に農場ごとの全窒素濃度の分布を示した。およそ 1000~6000 mg/Lの範囲内で分布し、農場間で大きな差 が見られた。データ数の多い SF 農場と TY 農場で分離 前と分離後の濃度を比較すると分離後の方が低い値を示した。これは、前搾りによって懸濁態の窒素が除去されたことと、前搾り工程で添加される高分子凝集剤溶液による希釈効果も寄与したと推測される。

#### (2) 各農場におけるN/K+比分布

図2に各農場のN/K<sup>+</sup>比を示した. 農場間および分離前後で若干の差はあるものの, 比の値はすべて2前後の狭い範囲に分布していた. NA農場とKO農場はふん尿混合豚舎を利用しているが, 分離後汚水のN/K<sup>+</sup>比はふん尿分離型豚舎を利用している他の農場と大差ないことが示唆された. よって, 前搾りが導入されている場合には, ふん尿混合豚舎とふん尿分離豚舎で汚水処理への窒素負荷は大きな相異はないと推測される.

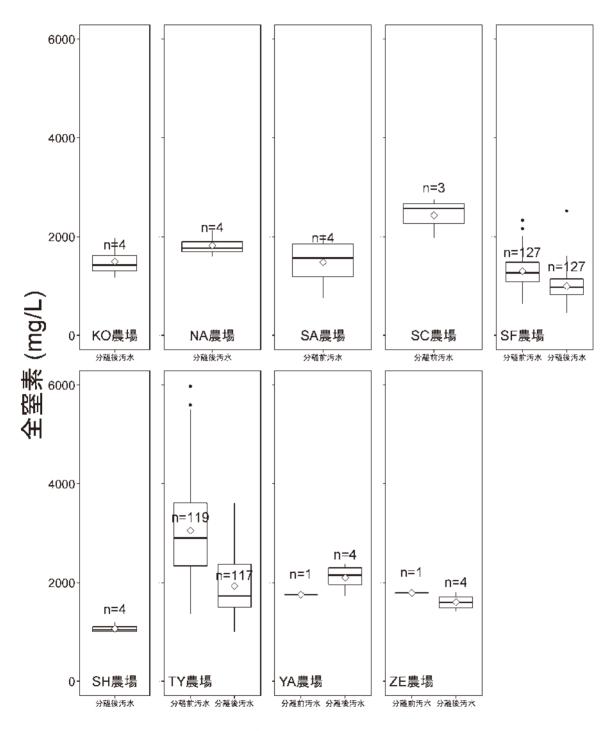


図1. 各農場の全窒素濃度の分布 (◇: 平均値)

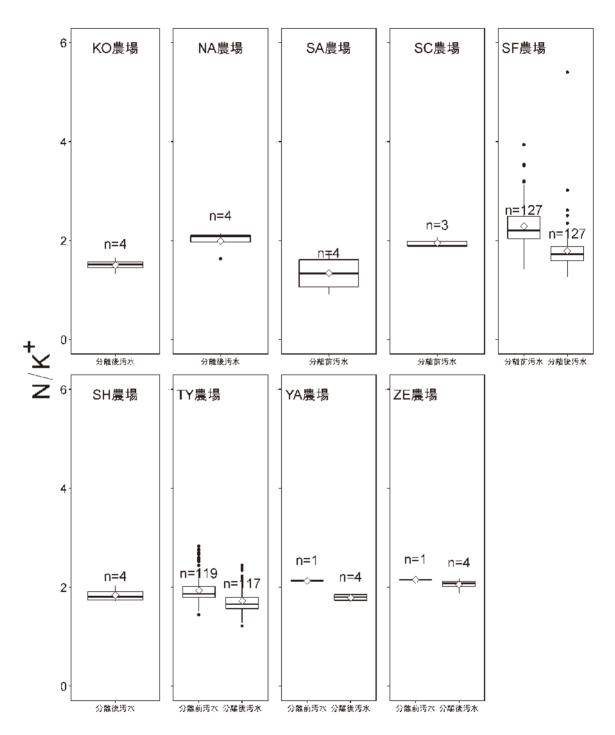


図 2 . 各農場の N/K <sup>+</sup>比の分布 (◇: 平均値)

#### (3) 分離前汚水および分離後汚水でのN/K+比分布

図3に市販配合飼料利用農場の分離前汚水、分離後汚水のそれぞれについてN/K<sup>+</sup>比分布を示した。分離前汚水は、平均値2.10、中央値2.02、75パーセンタイル値2.31、最大値(上側ひげの上端)は2.90であった。一方、分離後汚水は、平均値1.76、中央値1.70、75パーセンタイル値1.86、最大値(上側ひげの上端)は2.23で、いずれの値も分離前より低かった。分離前後の差の有意性をマン・ホイットニーのU検定法で検定したところ、p値は2.2e-16未満となり、有意水準αを0.05とするとp値は十分に小さく、有意差ありと判定された。

#### (4) SS濃度がN/K+比に及ぼす影響の検討

上記のように $N/K^+$ 比は分離前の方が分離後より有意に高かったが、これは窒素成分を含有するSS濃度が分離前の方が高いためと推測される。この推測を検証するため、 $N/K^+$ 比と $SS/K^+$ 比の関係を図4に示した。この図より、log( $SS/K^+$ )とlog( $N/K^+$ )の間には正の相関関係のあることが示唆された。よって、SSは汚水の窒素量に影響を与えていると推測された。汚水中のSSはふん由来であることから、水分混入量が増加すると汚水へのふん混入量が増加して汚水中のSSと窒素の量が上昇すると考えられる。

#### (5) N/K+比の季節変化に関する検討

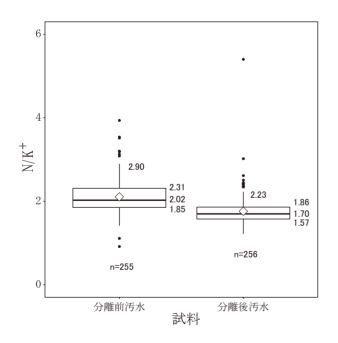
SF農場とTY農場の約3年間にわたる $N/K^+$ 比の経時変化を図5,6に示した.SF農場(図5)の分離前 $N/K^+$ 比は不規則な変動をしつつも長期的には漸減傾向を示した.この減少傾向は、飼養管理状況の変化により汚水へのふんの混入量が徐々に低下したことによると推測される.一方、分離後では不規則な変化はあるものの3年間にわたりほぼ一定の $N/K^+$ 比を示した.分離前後とも季節変化は観察されなかった.

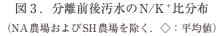
TY 農場(図 6 )では、分離前後とも2020年の第一四半期に特異的に高まる傾向が見られたものの長期的にはほぽ一定の  $N/K^+$ 比を示し、季節変化も観察されなかった

以上の結果より、 $N/K^+$ 比の季節変化は小さいと推測される.

#### (6) 飼料成分組成が N/K+比に及ぼす影響の検討

SF農場とTY農場の配合飼料の成分組成を分析したところ表1の結果が得られた. なお,各飼料の名称は農場の慣用によった. SF農場の肥育豚用の3種類について窒素含有量の指標となるCPとKの比(CP/K比)を算出すると22.7,20.6,21.1で,平均21.5となった. 一方,TY農場の肥育豚用の2種類についてはCP/K比は22.1,18.7で,平均20.4となった. これらの値と分離後汚





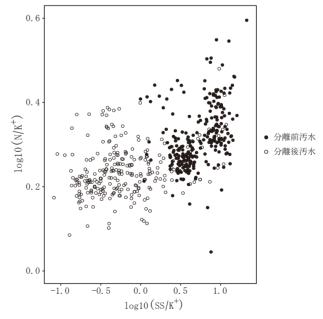
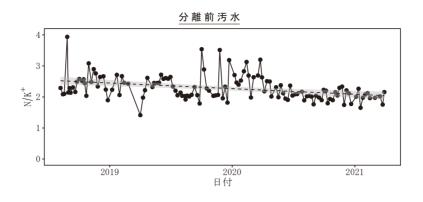


図4. 全データにおけるSS/K+比とN/K+比の関係



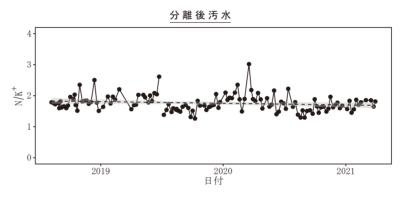
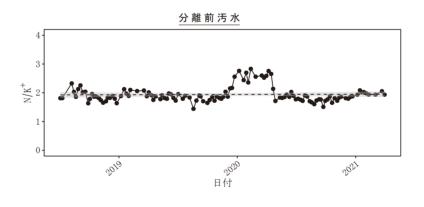


図5. SF農場におけるN/K+比の経時変化



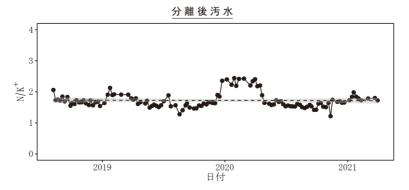


図6. TY農場におけるN/K+比の経時変化

農場 種類 水分 TDN CP ADF NDF ADL 粗脂肪 澱粉 NFC 灰分 Ca Р Mg K 種豚 (親) 用 13.6 67.7 15.3 8.5 19.4 2.2 4.7 30.9 44.3 5.9 1.03 0.95 0.39 0.90 授乳期 (親) 用 73.5 7.2 13.3 18.4 7.8 17.1 1.0 25.5 41.3 5.7 1.13 0.95 0.37 1.07 SF 肉豚1ヶ月(A)用 13.9 73.6 17.9 5.2 12.3 0.5 4.7 35.7 48.7 4.1 0.60 0.58 0.22 0.79 農場 肉豚1ヶ月(B)用 72.6 4.9 10.5 0.6 4.0 36.2 53.8 0.50 0.60 0.24 0.69 149 14.2 4.0 肉豚2ヶ月(仕上げ)用 14.5 72.4 13.3 4.8 11.9 0.9 4.2 35.8 53.8 4.2 0.52 0.62 0.30 0.63 0.20 肥育前期用 14.1 71.4 15.5 5.9 13.1 4.6 38.5 51.0 3.9 0.65 0.40 0.70 1.3 TY農場 肥育後期用 13.7 71.8 14.0 6.2 15.2 1.8 4.8 37.8 50.6 4.0 0.58 0.52 0.27 0.75

表1. SF農場とTY農場の配合飼料成分組成

(単位:現物%)

表2. SF農場とTY農場の飼料中CP/K比と汚水中N/ K<sup>+</sup>比

	肥育豚用飼料 CP/K比平均値	分離後汚水の N/K <sup>+</sup> 比平均値
SF農場	21.5	1.79
TY農場	20.4	1.69
(SF農場の比) / (TY 農場の比)	1.054	1.059

水の $N/K^+$ 比を表 2 に示した. TY 農場に対する SF 農場の倍率を算出すると、CP/K 比で1.054倍、 $N/K^+$ 比で 1.059倍と近似する値を示した.

#### 考 察

全体に全窒素濃度は1000~6000 mg/Lと農場間での差が大きかったが、N/K<sup>+</sup>比のIRQは分離前汚水で1.85~2.31、分離後汚水で1.57~1.86と狭い範囲に分布し農場間での差は小さいことが判明した。市販配合飼料以外の飼料を利用しているNA農場とSH農場を除き、さらに外れ値を除いた場合のN/K<sup>+</sup>比の最大値は、分離前汚水で2.90、分離後汚水で2.23であった。

荻野ら<sup>13)</sup> は、市販配合飼料給餌の場合、肥育豚1頭1日あたりの尿中カリウム排せつ量(排せつ原単位)を9.2 gと報告している、荻野らは排せつカリウムの形態については言及していないが、尿中カリウムは腎臓の作用によって血液から尿に移行したものであることから、大部分はイオン態と考えられる。そこで、尿中カリウム

排泄原単位は $K^+$ として9.2 gと推測される。 $K^+$ は排せ つ後も不溶化や揮散等による減少は無いと考えられるの で、豚舎から汚水処理施設への流下中での窒素量の変化 を把握するための指標物質として利用可能である. よっ て、K<sup>+</sup>の尿中排せつ原単位9.2g/頭・日に、今回得られ たN/K<sup>+</sup>比を乗ずれば窒素負荷量原単位が算出されると 考えられる。この算出に用いるN/K\*比は、処理能力に 余裕を持たせた設計を行う観点から、75パーセンタイル 値~最大値の範囲から選ぶことが妥当と考えられる. ま た、既述のようにN/K<sup>+</sup>比は分離前汚水と分離後汚水で 有意差が確認されたことから、分離前後それぞれ別個の 比を用いることが妥当と考えられる. 以上の考えのもと に、設計に利用すべき窒素負荷量原単位を算出すると、 分離前汚水で9.2× (2.31~2.90) = 21.3~26.7 gN/頭・ 日, 分離後汚水で9.2× (1.86~2.23) = 17.1~20.5 gN/ 頭・目となる.

肥育豚の尿中排せつ窒素量原単位として, 亀岡<sup>10</sup> は配合飼料給与の肥育豚 (試験開始時平均体重48.9 kg, 試験終了時平均体重54.5 kg) で10.5 g/頭・日,中央畜産会<sup>2)</sup> は成畜で18 g/頭・日,築城・原田<sup>19)</sup> は肥育豚で25.9 g/頭・日,中央畜産会<sup>3)</sup> は肥育豚 (体重30~110 kg)で25.9 g/頭・日,亀岡<sup>11)</sup> は肥育豚で24.5 g/頭・日,また获野ら<sup>13)</sup> は肥育豚で25.2~28.0 g/頭・日と推定している.今回算定した分離前汚水の窒素負荷量原単位の21.3~26.7 g/頭・日は上記尿中排せつ量原単位に近似したことから,ほぼ適切な値と考えられる.排せつ物中窒素は豚舎内での滞留中の揮散により7.4%程度低下すると報告されている<sup>14)</sup>.したがって,尿中排せつ窒素にふん中排せつ窒素の一部が加わり,そこから揮散で一部消失した残余が窒素負荷量原単位になると考えられる.

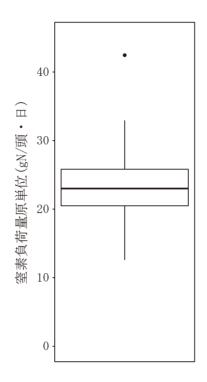


図7. 中村<sup>12)</sup> の調査報告に基づいて作成した窒素負荷量原単位値の分布 (n = 16)

中村による汚水水質調査結果<sup>12)</sup> から算出した窒素負荷量原単位値の分布を図7に示した.この分布の中央値23.0 g/頭・日は,今回求めた窒素負荷量原単位の21.3~26.7 g/頭・日の範囲内である.このことも,今回求めた数値の妥当性を支持すると考えられる.

今回見られた農場間での $N/K^+$ 比の相違については、飼料の成分組成が影響していた可能性がある。SF 農場と TY 農場で比較した場合、肥育豚用配合飼料 CP/K 平均値の 2 農場での比(SF/TY=1.054)と、分離後汚水  $N/K^+$  平均値の 2 農場間での比(SF/TY=1.059)がほぼ一致した。この結果は、汚水の $N/K^+$ 比が飼料のCP/K 比により影響されている可能性を示唆する。

市販配合飼料の場合 CP/K比に大差無いと考えられるが、食品残さ、飼料用米、アミノ酸等が配合された飼料の場合には CP/K比がかなり相違し、そのため汚水の  $N/K^+$ 比が今回求めた値とは異なる可能性もある。なお、食品残渣を原料とするリキッドフィードを給餌している NA 農場の  $N/K^+$ 比は他の市販配合飼料利用農場と差がみられなかったが。この傾向が一般的かどうかは今後の検討課題である。

飼料の組成によっては窒素排せつ量原単位が大きく変わることが知られている。例えば、独立行政法人農業・食品産業技術総合研究機構<sup>4)</sup>によると、標準的な養豚

飼料にリンゴジュース粕を約23%配合して給与すると尿中窒素排せつ量はリンゴジュース粕無添加の場合の64%に減少するとしている。さらに、ビートパルプ、ミカンジュース粕、ポテトパルプなどでも尿中窒素の低減効果が認められている。また、独立行政法人農業・食品産業技術総合研究機構 $^{4}$ )によると、アミノ酸添加低蛋白質飼料の給与により30 $^{\sim}45$ %程度の窒素排せつ量の低減が期待できるとされ、須藤ら $^{16}$ )はアミノ酸バランスを調整した飼料を利用すると肥育豚の尿中窒素量が57.6%低減したと報告している。よって、これらの飼料を利用する農場では、窒素負荷量原単位も減少することが予想される。今後は飼料の特性に応じた全窒素負荷量原単位の設定が重要になると考えられる。

今回の検討の結果、N/K<sup>+</sup>比はSS濃度に影響されることが示唆された。この結果から考えると、前搾りは窒素負荷量の削減に寄与しており、前搾りでのSS除去率を高めるほど削減効果は高くなると推察された。一般的に前搾りによるSS除去率は高分子凝集剤の添加量によって左右されるので、窒素負荷が過多であるような場合は前搾りにおける高分子凝集剤の添加量を高めることで改善できる可能性もある。ただし、前搾りによりBOD/N比が低下しすぎると窒素除去に不利になるので注意が必要である。

本研究は日本中央競馬会畜産振興事業の研究助成(畜産汚水の発生・浄化における軽労型窒素低減技術開発普及事業)によるものであることを記し謝意を表します.また、農家調査にご協力いただいたNPO法人いきいきちばサポートセンター 薫田耕平氏、公益社団法人栃木県畜産協会 佐竹遼氏、一般社団法人日本養豚協会 神長亜紀氏に感謝いたします。さらに、調査にご協力いただいた農家の方々、および水質分析を担当された畜産環境技術研究所の矢田部枝恵子さんに感謝いたします。

#### 引用文献

- 1) 畜産環境整備機構(2004) 家畜ふん尿処理施設の設計・審査技術. pp202. (財) 畜産環境整備機構, 東京.
- 中央畜産会(1989)家畜尿汚水の処理利用技術と事例.pp232.(社)中央畜産会,東京.
- 3) 中央畜産会 (2000) 堆肥化施設設計マニュアル. pp246. (社) 中央畜産会, 東京.
- 4)独立行政法人農業·食品産業技術総合研究機構編 (2013)日本飼養標準·豚(2013年版).pp143.(公 社)中央畜産会,東京.
- 5) 道宗直昭 (2021) ZE農場. 畜産経営における排水 実態状況調査分析結果. 8-16頁. (公社) 中央畜 産会. 東京.
- 6) 古谷修・長野錬太郎・梶雄次 (1985) 実際的飼養条件下における子豚の蛋白質およびアミノ酸要求量の測定法. 日畜会報. 56 (8), 628-633.
- 7) 長谷川輝明 (2021) NA農場. 畜産経営における排水実態状況調査分析結果. 39-45頁. (公社) 中央畜産会. 東京.
- 8) 長谷川輝明 (2021) SH農場. 畜産経営における排水実態状況調査分析結果. 32-38頁. (公社) 中央畜産会. 東京.
- 9)石橋晃(2001)新編動物栄養試験法. 1-642頁.(株)養賢堂,東京.
- 10) 亀岡俊則・大本邦介・小野忠義 (1982) 豚ふん尿の 性状と特質に関する研究. 日豚研誌. 19 (1), 15 -21.
- 11) 亀岡俊則(2004)家畜排泄物の適正処理技術―畜舎 汚水の適正処理技術と処理コストの低減化―. 用水 と廃水. 46(4),320-326.
- 12) 中村作二郎 (2001) 養豚汚水処理の解説. 日豚会誌. 38 (3). 143-150.

- 13) 荻野暁史・大森英之・井上寛暁ら (2020) 肥育豚に おける窒素, リン, カリウム排せつ量原単位の推 定. 日畜会報, 91 (3), 281-288.
- 14) 長田隆 (2002) 豚のふん尿処理に伴う環境負荷ガス の発生. 畜産草地研究所研究報告. 2号, 15-62.
- 15) R CORE TEAM (2020) R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria.

URL https://www.R-project.org/

- 16) 須藤立・長田隆・萩野暁史ら(2016) アミノ酸添加 低タンパク質飼料を給与した肥育豚尿の汚水処理過 程から発生する環境負荷ガスの排出量低減効果. 日 畜会報. 87(4), 373-380.
- 17) 田中康男 (2021) KO農場. 畜産経営における排水 実態状況調査分析結果. 24-31頁. (公社) 中央畜 産会. 東京.
- 18) 田中康男 (2021) YA農場. 畜産経営における排水 実態状況調査分析結果. 17-23頁. (公社) 中央畜 産会, 東京.
- 19) 築城幹典・原田靖生 (1997) 家畜の排泄物推定プログラム.システム農学.13 (1).17~23.
- 20) 薬師堂謙一(2021) SA農場. 畜産経営における排水実態状況調査分析結果. 46-54頁. (公社) 中央畜産会. 東京.

#### 要旨

養豚汚水処理施設の設計には窒素負荷量原単位の数値が必要不可欠である。窒素の排せつ量原単位値については多くの報告があるが、窒素負荷量原単位はいまだに確実な把握がなされていない。原単位値策定を目的とし、9農場において全窒素/カリウムイオン比を調査した。測定データを箱ひげ図で解析したところ、75パーセンタイル値および最大値(ひげの上端)は、前搾り前汚水でそれぞれ2.31、2.90、同じく前搾り後汚水では1.86、2.23であった。これらの数値に、公知の尿中カリウム排せつ原単位の9.2g/頭・日を乗じて汚水処理施設設計用窒素汚濁負荷量範囲を求めたところ、前搾り前の汚水で21.3~26.7 g/頭肥育豚・日、前搾り後の汚水で17.1~20.5 g/頭肥育豚・日と算定された。

キーワード:養豚汚水,全窒素,カリウム,汚水処理施 設,窒素負荷量原単位 Original report 73

The isolation, identification, and antimicrobial susceptibility of bacteria and fungi from the skin of Thoroughbred racehorses with infectious dermatitis

Shigeto Ushiya 1) \*, Koji Uetsuka 2)

## サラブレッド種競走馬の感染性皮膚炎からの 細菌・真菌の分離同定と薬剤感受性調査

牛屋重人1)\*・上塚浩司2)

(1) Ushiya Equine Clinic, Ltd., 1028 A-5, Misono, Ritto, Shiga 520-3005, Japan 2) Laboratory of Animal Health and Hygiene, Department of Biological Production Science, College of Agriculture, Ibaraki University; 3-21-1, Chuo, Amimachi, Inashikigun, Ibaraki 300-0393, Japan \* Corresponding Author: Shigeto Ushiya (uec2004@gmail.com))

(Received 14. May. 2021 / Accepted 29. Jul. 2021)

#### Summary

A total of 270 strains of aerobic bacteria and 141 strains of fungi were isolated and identified from infectious dermatitis lesions in 133 Thoroughbred racehorses, and their bacterial drug susceptibilities were determined. For the identification of bacteria and fungi, optical microscopy, matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry, and 16S rDNA or 28S rDNA analysis were performed. For bacterial drug susceptibility testing, the disk diffusion method was used. Approximately half (137 strains) of the isolated strains of bacteria were *Staphylococcus*, while 33 strains were *Corynebacterium*. Of the fungal strains, *Penicillium* strains were the most frequently isolated (26 strains), followed by *Paecilomyces* strains (15 strains). Most of the isolated strains of bacteria and fungi were suggested to be opportunistic pathogens. The skin microbiota of horses in our study was similar to that of healthy people; a possible reason for the similarity is the clean breeding environment. Regarding drug susceptibility, 71 strains (51.8%) of *Staphylococcus* were resistant to at least one of the tested antibiotics. Less than 6% of the strains were resistant to quinolones, tetracyclines, and cephems. In contrast, even though penicillin and ampicillin are not used as often in the surrounding environment, the rates of resistance to these antibiotics were high. The resistance to penicillin and ampicillin of staphylococci which natural host was human were pretty higher than that of staphylococci which natural host was another animal. The results indicated that drug-resistant *staphylococcus* strains may be transmitted from the human living environment to racehorses.

Key words: infectious dermatitis, drug resistance, Staphylococcus xylosus, Paecilomyces, horse

\_\_\_\_\_\_\_ Jpn. J. Anim. Hyg. 47, 73~83 (2021)

<sup>1)</sup> 有限会社うしや競走馬クリニック 〒520-3005 滋賀県栗東市御園1028 A-5

<sup>2)</sup> 茨城大学 農学部 食生命科学科 動物保健衛生学研究室 〒300-0393 茨城県稲敷郡阿見町中央 3-21-1

<sup>\*</sup> 連絡著者: 牛屋重人 (uec2004@gmail.com)

#### Introduction

Various grooming techniques are employed for Thoroughbred racehorses. Some wash the horses with soap, while others use only a brush and cloth. Racehorses are groomed almost every day to maintain their cleanliness. However, despite good grooming practices, dermatitis is a common problem for these animals.

In Japan, there are approximately 18,000 Thoroughbred racehorses that are registered either with the Japan Racing Association (JRA) under the control of the nation or with the National Association of Racing under the control of local authority. The former has two training centers located in rural Japan—one in the eastern and the other in the western side of the country. Each training center has approximately 2,000 Thoroughbred racehorses, and hundreds of these horses are transported every weekend to several racetracks in large cities for horseracing. The subjects of this study were all raised at the western "Ritto" training center. After running in a few races, the horses are taken to a pasture near the training center and are replaced by other horses that are deemed ready to race. In Japan, Thoroughbred racehorses are bred and raised mainly in Hokkaido, which is in northern Japan. Then, the horses are transferred to one of the training centers at the age of 2 years or older. Such frequent changes of the breeding and training environments make it difficult to identify the pathophysiology of dermatitis in racehorses.

Dermatitis is not life-threatening, does not affect athletic ability in most cases, and often resolves naturally. Even though the skin lesions present no health risks, medical treatments are usually provided to improve their appearance prior to racing activities, because the racehorses are seen by the public at races. Examinations to isolate pathogenic microorganisms and drug susceptibility tests are rarely performed. Instead, antibiotics and antifungals are often used based on empirical decisions.

Considering these circumstances, we conducted a study on the isolation and identification of bacteria and fungi from infectious dermatitis skin lesions in Thoroughbred racehorses with the purpose of identifying the pathophysiology of their conditions.

#### Materials and Methods

The study subjects consisted of 133 horses that developed suspected infectious dermatitis between August 2016 and June 2020. The selection criterion for the definition of infectious dermatitis is stated later in this section. All horses included in the study were Thoroughbreds between 2 to 7 years of age, and there were 80 males and 53 females. Eleven of the subjects were studied twice, because they developed dermatitis twice at different times and in different areas. Thus, the total number of cases studied amounted to 144.

Samples for the study were collected from the face, neck, and shoulders in 44 cases, the back and abdomen in 66 cases, the buttocks and tail in 15 cases, and the limbs in 19 cases. All subjects were in good general condition and underwent training for their upcoming races. The animals were given outdoor exercise for about 2 h a day and were kept in individual stalls in a stable for the remaining hours of the day.

To obtain skin rash samples, we initially wiped the body surface a few times with sterilized gauze to remove dust and pieces of litter, then we scraped the skin surface of the target lesion using an injection needle to collect scales and body hair. The criterion for the selection of cases with infectious dermatitis was a gradual disappearance of the skin rash over a period of at least 2 days after commencing cleaning of the lesion with disinfectants, such as chlorhexidine, acidic water, and hypochlorous acid water, or the application of antibiotic or antifungal agents. All horses that had been treated with a systemic administration of antibiotics, corticosteroids, or non-steroidal anti-inflammatory drugs within 7 days before sample collection were excluded.

Aerobic bacteria and fungi were cultured from the collected samples. For bacterial cultures, a soybean-casein digest medium was primarily used. Isolated colonies were evaluated using optical microscopy after Gram staining. Drug susceptibility testing was also performed. For fungal cultures, a dermatophyte identification medium was used.

The identification of bacteria, fungi, and yeasts was mostly outsourced to TechnoSuruga Laboratory Co., Ltd. (Shizuoka, Japan). In accordance with our request, matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry or 16S rDNA analysis was used to identify bacteria, and microscopic morphological observation or 28S rDNA analysis was used to identify yeasts and fungi. For the matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry method, either the VITEK MS TM plus (bioMérieux SA, Marcy-l'Étoile, France) or MALDI Biotyper smart (Bruker Daltonics, Bremen, Germany) instrument was used.

For bacterial drug susceptibility testing, 14 types of discs were used; different types were used for different cases, with a minimum of nine different types of discs and a maximum of 13 discs employed per case. The antibiotics used were: penicillin (PC), ampicillin (ABPC), dicloxacillin (MDIPC), gentamicin (GM), tetracycline (TC), minocycline (MINO), cephalothin, cefazolin, orbifloxacin (OBFX), enrofloxacin (ERFX),

marbofloxacin (MBFX), sulfamethoxazole-trimethoprim (ST), polymyxin B, and oxacillin. The discs were mostly produced by Eiken Chemical Co., Ltd. (Tokyo, Japan) and Nippon Becton Dickinson Company, Ltd. (Tokyo, Japan). MBFX alone was provided without charge by Meiji Seika Pharma Co., Ltd. (Tokyo, Japan). The susceptibilities of the isolates were determined in accordance with the publication standards of the Clinical & Laboratory Standards Institute <sup>7-9)</sup>.

For the detection of *mecA*, a gene that confers methicillin resistance, a multiplex polymerase chain reaction assay was used.

#### Results

In total, 270 strains of bacteria were isolated from 144 samples. The largest number of strains isolated from one sample was four. Table 1 shows the Gram staining results, genus names, species names, and the

Table 1. The Gram stainability, genus name, species name and number of strains of the isolated bacteria.

Gr	n	Genus	n	Species	n
				equorum	33
				xylosus	22
				aureus*	21
				hyicus	15
				arlettae	6
				lentus	6
				saprophyticus	5
				pseudintermedius	5
				vitulinus	4
				sciuri	3
		C 1 1	107	delphini	2
		Staphylococcus	137	gallinarum	2
				chromogenes	2
			intermedius	2	
				simulans	2
GPC	164			сартае	1
				epidermidis	1
				haemolyticus	1
				kloosii	1
				schleiferi	1
				succinus	1
				warneri	1
				flavus	8
		Micrococcus 12  Aerococcus 9	12	luteus	3
				terreus	1
			9	viridans	9
				atrinae	1
		Kocuria	2	rhizophilia	1
		Kytococcus	2	sedentarius	2
		Exiguobacterium	1	undae	1
		Streptococcus	1	dysgalactiae*	1

Gr	n	Genus	n	Species	n
			33	stationis	10
				ammoniagenes	8
				casei	5
				tapiri	2
		Corynebacterium	33	ulcerans*	2
				glutamicum	2
				freneyi	1
				sp.	3
				amyloliquefaciens	3
GPR	53	Bacillus		cereus*	2
GFK	55		8	pumilus	1
				aerophilus	1
				megaterium	1
		Brevibacterium		casei	2
			5	epidermidis	2
				linens	1
		Brachybacterium	4	paraconglomeratum	1
				sp.	3
		Kurthia	2	populi	2
		Terribacillus	1	saccharophilus	1
		Acinetobacter	8	junii	3
				lwoffii	2
				sp.	3
GNR	15	Pseudomonas	2	putida	2
GNK	15	Chryseobacterium	2	indologenes	2
		Cilian Lateri	2	hotanense	1
		Sphingobacterium		daejeonense	1
		Sphingomonas	1	adhaesiva	1
		unidenti	fied		38
				total	270

Gr: Gram stainability, n:number, GPC:Gram-positive cocci, GPR:Gram-positive rods, GNR:Gram-negative rods,

<sup>\*</sup> Biosafety level 2

number of isolated bacteria.

The identified bacteria consisted of 164 strains of Gram-positive cocci, 53 strains of Gram-positive rods, and 15 strains of Gram-negative rods. Thirty-eight strains could not be identified.

When classified by genus, 137 strains of *Staphylococcus* were identified, accounting for the largest proportion (50.7% of all identified bacteria), followed by 33 strains of *Corynebacterium*, 12 strains of *Micrococcus*, nine strains of *Aerococcus*, eight strains of *Bacillus*, and eight strains of *Acinetobacter*.

Among the commonly isolated *Staphylococcus* strains, *S. equorum* was the most common (33 strains), followed by *S. xylosus* (22 strains), *S. aureus* (21 strains), *S. hyicus* (15 strains), and *S. lentus* (six strains).

Among the isolated *Corynebacterium* strains, there were 10 *C. stationis* strains, eight *C. ammoniagenes* strains, and five *C. casei* strains.

According to the biosafety levels <sup>27)</sup> specified in the biosafety guidelines established by the Japanese Society for Bacteriology, which are used as an index of pathogenicity in humans and animals, most of the isolated strains were classified as biosafety level 1, indicating that they are opportunistic pathogens. A total of 27 strains from four genera were classified as level 2, including 21 strains of *S. aureus*, one strain of *Streptococcus dysgalactiae*, and two strains each of *Corynebacterium ulcerans* and *Bacillus cereus*. None of the isolated bacteria were classified as level 3 or higher.

Table 2 shows the types, genera, species, and numbers of isolated fungi strains. In 20 of the 144 samples, no fungal colonies were observed after a 3-week cultivation period. In the remaining 124 samples, 141 fungal strains were isolated, of which 81 were mycelial fungal strains and 36 were yeast fungal strains. Twenty-four strains could not be identified. Of the mycelial fungal strains, *Penicillium* (PEN) strains were the most frequently isolated (26 strains), followed by 15 Paecilomyces (PAE) strains, and eight strains each from the genera Scopulariopsis, Cladosporium (CL), and Aspergillus (ASP). Among the yeast fungal strains, strains of Debaryomyces, a non-pathogenic yeast, were the most frequently isolated (27 strains), followed by six Trichosporon strains, and three Candida strains.

Table 2. Genus name, species name and number of strains of the isolated fungi

Туре	n	Genus	n	Species	n
		D : :II:	26	glabrum	2
		Penicillium		sp.	24
		D	15	variotii	10
		Paecilomyces	15	sp.	5
				ochraceus	3
				niger	2
		Aspergillus	8	flavus	1
				versicolor	1
				sp.	1
		Cladosporium	8	sp.	8
		Scopulariopsis	8	sp.	8
Mycelial	81	Ерісоссит	2	nigrum	1
Mycellal				sp.	1
		Mucor	2	sp.	2
		Nigrospora	2	sp.	2
		Phoma	2	sp.	2
		Alternaria	1	sp.	1
		Arthrinium	1	sp.	1
		Curvuilaria	1	sp.	1
		Chaetomium	1	sp.	1
		Fusarium	1	sp.	1
		Geotrichum	1	sp.	1
		Microsporum	1	Canis	1
		Trichophyton	1	sp.	1
	36	Debaryomyces	27	nepalensis	23
				sp.	4
Yeast-type		Trichosporon	6	dermatis	1
				sp.	5
		Candida	3	parapsilosis	3
		unidentified			24
				total	141

n: number

Table 3 shows the drug susceptibility test results. According to the criteria for disc susceptibility testing, samples were classified as susceptible, resistant, or intermediate (indeterminable). In total, 137 Staphylococcus strains and eight Acinetobacter strains met the published criteria of the Clinical & Laboratory Standards Institute.

Seventy-one (51.8%) of 137 Staphylococcus strains and two (25.0%) of eight Acinetobacter strains were resistant to at least one of the tested antibiotics. Twenty-one (15.3%) of 137 Staphylococcus strains were resistant to three or more types of antibiotics, while none of the Acinetobacter strains showed resistance.

Staphylococcus strains showed relatively high sensitivity to tetracyclines and cephems—132 of 137

Table 3. The result of drug susceptibility tests of strains of genus Staphylococcus and genus Acinetobacter

Genus  Number of isolated strains  Number of the resistant strains			Staphylo	ococcus			Acineto	bacter				
			13	7		8						
			71	L			2 25.0% 0					
Rate of t	the resistant st	rains		51.8	5%			25.0	%	I R  1 2 25.0% 0 0 0 % 1 0 0 %		
Number of stra	ains resistant to	o 3 or more		21	l		0					
			Number	S	Ι	R	Number	S	Ι	R		
	DC	Number	80	41		39						
	PC	Rate		51.3%		48.8%						
	1.000	Number	132	70		62						
	ABPC	Rate		53.0%		47.0%						
	MDIPC	Number	91	83	3	5	_					
		Rate		91.2%		5.5%						
	CM	Number	137	115	4	18	8	5	1	2		
	GM	Rate		83.9%		13.1%		62.5%		25.09		
	TC	Number	137	125	0	12	8	8	0	0		
		Rate		91.2%		8.8%		100%		0 %		
	MINO	Number	137	132	4	1	8	7	1	0		
Antibiotic		Rate		96.4%		0.7%		87.5%		0 %		
Anubiouc	CET	Number	136	129	5	2						
		Rate		94.9%		1.5%						
	CEZ	Number	121	111	9	1						
		Rate		91.7%		0.8%						
	OBFX	Number	115	72	41	2	7	5	2	0		
	ODIA	Rate		62.6%		1.7%		71.4%		0 %		
	ERFX	Number	133	109	23	1	8	6	2	0		
		Rate		82.0%		0.8%		75.0%		0 %		
	MBFX	Number	55	55	0	0	3	0	3	0		
		Rate		100%		0 %		0 %		0 %		
	ST	Number	137	132	3	2	8	8	0	0		
		Rate		96.4%		1.5%		100%		0 %		

S: Susceptibile, I: Intermediate, R: Resistant,

PC: Penicillin, ABPC: Ampicillin, MDIPC: Dicloxacillin, GM: Gentamicin, TC: Tetracycline, MINO: Minocycline, CET: Cephalothin, CEZ: Cefazolin, OBFX: Orbifloxacin; ERFX: Enrofloxacin, MBFX: Marbofloxacin, ST: Sulfamethoxazole-Trimethoprim

strains (96.4%) were susceptible to MINO, and 129 of 136 (94.9%) were susceptible to cephalothin.

Staphylococcus strains were resistant to most penicillin antibiotics—39 of 80 strains (48.8%) were resistant to PC, and 62 of 132 (47.0%) were resistant to ABPC. However, their resistance to MDIPC, another penicillin antibiotic, was lower than their resistance to PC and ABPC, with only 5.5% (five of 91 strains) showing resistance. With regard to aminoglycoside resistance, the rate of resistance to GM was 13.1%, and that to TC was 8.8%.

With regard to susceptibility to fluoroquinolones, the results showed differences among different antibiotics—72 of 115 strains (62.6%) were susceptible to OBFX, and 109 of 133 strains (82.0%) were

susceptible to ERFX; these were lower than the 100% susceptibility seen for MBFX, although the rates of resistance were generally low—1.7% for OBFX, 0.8% for ERFX, and 0% for MBFX.

The number of samples of *Acinetobacter* strains was too small to determine any trends in susceptibility/resistance to each antibiotic agent.

Table 4 shows the number of antibiotic-resistant strains by species among the four most frequently isolated strains.

Strains that were resistant to at least one of the tested antibiotics were *S. xylosus* strains, which showed the highest proportion of resistant strains (17 of 22 strains; 77.3%), followed by *S. aureus* strains (16 of 21; 72.7%). Most *S. xylosus* strains were resistant to

		CNS		CPS	PS
		S. equorum	S. xylosus	S. aureus	S. hyicus
Number of isolated strains		33	22	21	15
Number of resistant strains		9	17	16	2
Rate of resistant strains		27.3%	77.3%	72.7%	13.3%
Number of strains resistant to 3 or more		1	1	13	0
	PC	4/23	13/13	11/13	0/9
	ABPC	6/33	15/20	15/20	2/15
Antibiotic	MDIPC	0/20	1/16	0/13	0/14
	GM	1/33	0/22	14/21	1/15
	TC	0/33	1/22	7/21	0/15

Table 4. The drug-resistance of *Staphylococcus* for 4 species

b/a; a: number of strains b: number of resistant strains CNS: coagulase negative staphylococci, CPS: coagulase positive staphylococci, PC: Penicillin, ABPC: Ampicillin, MDIPC: Dicloxacillin, GM: Gentamicin, TC: Tetracycline

PC or ABPC. *S. aureus* strains most frequently showed resistance to three or more antibiotics, with 13 of 21 strains resistant to PC, ABPC, GM, and TC. Among the four types of staphylococci, only one of the total 75 strains was resistant to MDIPC.

Oxacillin susceptibility testing was performed on 12 of the 21 strains that were identified as *S. aureus*. The zone of inhibition of only one strain showed resistance, but *mecA* was not detected.

#### Discussion

There have been a few reports about the bacterial and fungal flora on the body surface of healthy horses 1, 10, 25). Cook et al. studied healthy skin biopsy specimens from 27 horses in New York, USA, and reported the presence of cocci in 7% of the samples, and the absence of fungi 10). In contrast, according to a report by Adams et al., who cultured aerobic bacteria from skin swabs of the left chest of 20 healthy horses aged 2 to 23 years in Colorado, USA, species of the genera Bacillus, Staphylococcus, and Enterobacter were isolated from 18 horses (90% of all the horses) 1). The distinct difference in results between the two studies indicates that the microorganism flora on the body surface is significantly affected by the region in which the animals are bred, their stall environment, and the types of work they perform.

Shimozawa et al. reported on the isolation of bacteria from the hair of 87 horses with suspected infectious dermatitis and 30 healthy horses at the eastern "Miho" training center in 1997 <sup>38)</sup>. However, the types and proportions of isolated bacteria in their study differed from those of our present study. Major changes that have affected the skin condition of racehorses at our training centers in the last 20 years include improvements in grooming techniques, improvements in the method of drying horses after washing, and the change of the litter from rice straw to wood chip shavings, which help keep the body surface of the horses cleaner and drier. The differences seen in the types and proportions of isolated bacteria between this study and previous studies are thought to have resulted from these changes in the training centers.

The bacterial genera isolated in our study were, in descending order of frequency, Staphylococcus, Corynebacterium, Micrococcus, Aerococcus, Bacillus, and Acinetobacter. Kloos et al. 22) studied the bacterial flora of the skin of healthy people in North Carolina in the northern part of the United States and in New Jersey in the southern part of the United States, and reported that the bacterial flora found in the two states were generally similar. When comparing the results between their study and our study, the types and the order according to isolation frequency were mostly similar, with the exception of Aerococcus. It is possible that the aforementioned study failed to identify strains of the genus Aerococcus due to misidentification, as such strains have been reported to be prone to misidentification as staphylococci and streptococci in smear microscopic examinations 13, 30, 41).

Recent studies on skin flora using next-generation sequencing have revealed unique skin flora compositions for humans and animals that are affected by diet, geographical location, cohabitation between humans and pets, and other factors 20, 33, 37, 40). Ross et al. studied the skin microbiota of 38 mammal species and reported that human skin microbiota is undoubtedly different from that of other animals, including nonhuman primates. They concluded that the reason for this difference lies in the human lifestyle—humans live in buildings, wear clothes, and wash their bodies with soap 36). While the subjects in their study included 68 horses, no information was provided on the types of work that these horses performed or the cleanliness of their bodies. However, microflora exceptionally similar to human skin microflora have been found in two dogs that were frequently bathed, and in house cats 36. It is noteworthy that the horses in our study are washed with water every day.

Our study was conducted on dermatitis in racehorses. It is assumed that many of the horses developed dermatitis due to the increased growth of indigenous bacteria as a result of stress from training and racing, which lowered the resistance of horses to infection. For this reason, it can be considered that many of the isolated bacteria reflect the normal microbiota. A possible reason for the similarity between the skin microbiota of healthy people and that observed in our study is the clean breeding environment of our racehorses.

In our study, about half of the isolated bacteria (137 of 270 strains) were staphylococci. Staphylococci is considered to be a typical indigenous bacterium of the skin not only in horses <sup>4, 11, 25, 44)</sup>, but also in humans <sup>18)</sup>, cattle, swine, sheep, and goats <sup>15)</sup>. Factors causing staphylococci proliferation include trauma, malnutrition, stress due to childbirth, and crowded environments, in addition to other skin diseases <sup>11, 15)</sup>.

In our study, *S. equorum* was the most commonly isolated strain, followed by *S. xylosus*, *S. aureus*, *S. hyicus*, and *S. lentus*. *S. equorum*, which is one of coagulasenegative staphylococci (CNS). *S. equorum*, as its name suggests, is a commensal organism found in healthy horses and has been reported to have low pathogenicity <sup>28)</sup>. *S. xylosus* was commonly isolated bacterium in both horses with and without

dermatitis <sup>38, 44)</sup>. According to previous reports, the staphylococci most frequently isolated from horses with dermatitis are *S. aureus*, *S. hyicus*, and *S. intermedius* <sup>11, 12)</sup>. In the report of Shimozawa et al., *S. aureus* or *S. hyicus* was isolated from approximately 70% of horses with dermatitis.

Corvnebacterium, which accounted for 14% of the isolated bacteria, has been reported to be one of the indigenous bacteria on the skin of horses and humans 11, 22). Corynebacterium pseudotuberculosis has been reported to cause dermal abscesses known as pigeon fever 11, 35), but this bacterium was not isolated in our study. While Micrococcus has been reported to be one of the indigenous bacteria on the skin of horses and humans 22, 23, there have been no reports on its association with dermatitis. Additionally, while Aerococcus is known to induce serious infections, such as bacteremia and urinary tract infections, in humans 30, 41), there have been no reports on its association with dermatitis or other infections in horses. As for streptococci, one of the most common bacteria that causes dermatitis in horses 11, only one strain was isolated in our study.

Next, the fungi isolated in this study are discussed. According to previous reports, most cases of fungal infections in horses are categorized as superficial or cutaneous, and dermatophytosis (ringworm) is most commonly caused by Microsporum or Trichophyton 11, 19, 35). In Japan, epidemics of dermatophytosis were reported in military horses in 1903 17) and in racehorses in 1972 38). Takatori et al. studied reported cases of superficial dermatomycosis in horses in Japan from 1970 to 1980 and reported that the causative fungus was Microsporum canis or Trichophyton equinum 39). These fungi were frequently isolated not only from lesions, but also from the body surface of horses that were not affected by dermatomycosis. Fungi isolated from unaffected horses also included those of the genera ASP, PEN, CL, and PAE.

In the report of Shimozawa et al., there were no cases of infection by a mixture of fungi and bacteria, and among the 29 isolated fungal strains, 26 strains were *T. equinum* and three strains were *Microsporum equinum* <sup>38)</sup>. In contrast, only one strain each of *M. canis* and genus *Trychophyton* were isolated in our

study. The method of drying the horse body after grooming has been greatly improved over time, and the litter has been changed from rice straw, which gets wet easily, to wood chip shavings, which stay dryer. It was considered that the reason why the results of this study differed from those of Takatori et al. and Shimozawa et al. was that it has become harder for fungi to colonize the litter and the body surface of horses.

In studies conducted by Bourdeau et al. on the skin of healthy horses <sup>5)</sup> and by Rota et al. on preputial and penile surfaces of horses <sup>34)</sup>, the dominant isolated fungi included ASP, PEN, *Scopulariopsis*, and PAE. Wolny-Koładka et al. examined airborne microorganisms in riding stables, and reported that they found the genera ASP, PEN, and CL <sup>42)</sup>. Andersen et al. reported that the genera ASP and PEN were isolated and cultivated from hay and haylage, which make up the main diets of horses that live in stables <sup>3)</sup>.

The types and proportions of fungi identified in our study were similar to those reported previously in healthy horses <sup>5, 34, 40)</sup>. The study results also suggested the possibility that the identified fungi were derived from the stable environment, including the feed and litter. Our results also suggested that cases of fungal dermatitis are rare, and that cases of bacterial dermatitis are more common. However, Takatori et al. used two types of agar media to culture samples, and the use of improved methods for sampling and culturing may yield different results.

One result that is inconsistent with previous reports is the frequent isolation of PAE. PAE-associated dermatitis has been reported in humans, cats, and dogs <sup>14, 26)</sup>, but not in horses. PAE-associated diseases are generally caused by a weakened host immune system <sup>14, 26)</sup>. We therefore cannot rule out the possibility that racehorses develop dermatitis due to a weakened immune system as a result of fatigue from racing.

Finally, the drug resistance of the isolated bacteria was evaluated. As shown in Table 3, resistance to penicillin antibiotics was the most frequently observed antibiotic resistance in our study. In the horseracing industry, while penicillin is widely distributed in the form of procaine benzylpenicillin, the use of procaine immediately before races is prohibited. For this reason,

PC is rarely used at our training center. ABPC is also rarely used at our training center since there have been a number of cases in which ABPC affected the intestinal microflora and resulted in enteritis. On the other hand, MDIPC is commonly used in the form of topical preparations. Although we cannot rule out the possibility that the resistance rates to all penicilling antibiotics were high as a result of cross-resistance to MDIPC, the resistance rate to MDIPC was significantly lower than that to PC and ABPC. Therefore, other factors, such as co-selection of other antibiotic classes, transmission from human living environments via harnesses or other equipment used for horses, and acquisition at breeding ranches, should be considered as reasons for the high resistance rates to PC and ABPC 29, 31, 43, 44).

Table 4 shows the drug resistance rates by species in the genus *Staphylococcus*. In our study, the drug resistance rates of *S. aureus* and *S. xylosus* were over 70%, while those of *S. equorum* and *S. hyicus* were below 30%, showing a big difference. The natural hosts of *S. aureus* and *S. xylosus* are considered to be humans, while those of *S. equorum* and *S. hyicus* are other animals; the natural hosts of *S. equorum* are considered to be horses, and those of *S. hyicus* include pigs.

The results for *S. aureus* indicated that it has the propensity to acquire drug resistance, which is supported by previous reports <sup>2, 6)</sup>. In addition, *S. hyicus* causes exudative epidermitis in pigs, and the PC and ABPC resistance rates of bacteria isolated from pigs in Japan were reported to exceed 70% <sup>16)</sup>, which is much higher than our results. Both *S. aureus* and *S. hyicus* were the main bacteria isolated by Shimozawa et al. from racehorses with dermatitis; however, there was a large difference in the resistance rates between *S. aureus* and *S. hyicus* in our study.

S. equorum and S. xylosus, both of which are CNS, are similar to each other biochemically <sup>32)</sup> and genetically <sup>21)</sup>, and both have commonly been used in the fermentation of food products, such as cheese and salami. In recent years, however, an increase in their drug resistance rates has become a concern in terms of food hygiene <sup>32)</sup>. Despite this concern, there have been no reports on antibiotic resistance in these two species of bacteria isolated from horses. S. xylosus is a

common commensal bacterium found in many mammal species. Many cases of opportunistic infections associated with S. xylosus have been reported in humans 32). Although S. equorum and S. xylosus have similar properties, in our study, a big difference was seen in their rates of resistance against PC and ABPC, even though these antibiotics are less frequently used than other antibiotics in the surrounding environment. Yasuda et al. studied the mecA gene in staphylococci isolated from healthy broodmares and riding horses and reported that the expression rate of the mecA gene in CNS is dependent on the frequency of contact with humans in their work 44). They also reported that methicillin-resistant CNS cannot be easily transmitted among horses even when they are raised in the same area 43). Kuroda et al. analyzed the genotype of methicillin-resistant S. aureus isolated from the nasal cavity of veterinarians working at the horse hospital in our training center and suggested that the methicillinresistant S. aureus was not derived from horses, but from the human living environment 24. These findings indicate the possibility that drug-resistant S. aureus and S. xylosus strains are transmitted from the living environment of humans, which are their natural hosts, to racehorses.

In the present study on infectious dermatitis in Thoroughbred racehorses, we reported the types and numbers of microorganisms isolated from lesions. However, we did not discuss which isolates cause dermatitis. To determine which bacteria might cause dermatitis, we are planning to conduct a detailed, comprehensive study on the types and combinations of microorganisms concurrently isolated from a single sample, the clinical symptoms, the reactions to drugs and other events during treatment as well as the changes in microbiota. The results of the present study suggested that cohabitation with humans affects the skin microbiota of active racehorses. A more detailed study on the causative microorganisms based on this indication is required.

#### References

 Adams, M. K., Hendrickson, D. A., Rao, S., et al. (2010) The Bacteria Isolated from the Skin of 20 Horses at a Veterinary Teaching Hospital. Journal of Equine Veterinary Science, 30(12), 687–695.

- 2) Adams, R., Smith, J., Locke, S., et al. (2018) An epidemiologic study of antimicrobial resistance of *Staphylococcus* species isolated from equine samples submitted to a diagnostic laboratory. BMC veterinary research, 14(1), 42.
- Andersen, B., Phippen, C., Frisvad, J. C., et al. (2020) Fungal and chemical diversity in hay and wrapped haylage for equine feed. Mycotoxin research, 36(2), 159–172.
- 4) Beims, H., Overmann, A., Fulde, M., et al. (2016) Isolation of *Staphylococcus sciuri* from horse skin infection. Open veterinary journal, 6(3), 242–246.
- Bourdeau, Patrick & Marchand, A. & Alexandre, Faure. (2004) P-77 Skin fungal flora in horses: is Malassezia an important component. Veterinary Dermatology. 15. 66-66.
- Bourély, C., Cazeau, G., Jarrige, N., et al. (2020) Antimicrobial resistance in bacteria isolated from diseased horses in France. Equine veterinary journal, 52(1), 112–119.
- Clinical and Laboratory Standards Institute (2015) M45 Methods for Antibacterial Dilution and Disk Susceptibility Testing of Infrequently Isolated or Fatidious Bacteria, 3rd Edition.
- Clinical and Laboratory Standards Institute (2018) VET01 Performance Standards for antimicrobial disk and dilution susceptibility tests for bacteria isolated from animals, 5th edition.
- Clinical and Laboratory Standards Institute (2020) VET01S P Performance Standards for antimicrobial disk and dilution susceptibility tests for bacteria isolated from animals, 5th edition.
- 10) Cook, C.P., Scott, D.W., Erb, H.N., et al. (2005) Bacteria and fungi on the surface and within noninflamed hair follicles of skin biopsy specimens from horses with healthy skin or inflammatory dermatoses. Veterinary Dermatology, 16: 47–51.
- Derek C. Knottenbelt (2009) Pascoe's principles & practice of Equine dermatology Second edition. Elsevier Ltd.
- 12) Devriese, L.A., Vlamnick, K., Nuytten, J., et al. (1983) *Staphylococcus hyicus* in skin lesions of horses. Equine Veterinary Journal, 15(3), 263–265.
- 13) Ezechukwu, I., Singal, M., & Igbinosa, O. (2019) Aerococcus Viridans: Case Report, Microbiology, and Literature Review. The American journal of

- case reports, 20, 697-700.
- 14) Foley, J. E., Norris, C. R., & Jang, S. S. (2002) Paecilomycosis in dogs and horses and a review of the literature. Journal of veterinary internal medicine, 16(3), 238–243.
- 15) Foster, Aiden. (2012) Staphylococcal skin disease in livestock. Veterinary dermatology. 23. 342–51, e63.
- 16) Futagawa-Saito, K., Ba-Thein, W., & Fukuyasu, T. (2009) Antimicrobial susceptibilities of exfoliative toxigenic and non-toxigenic *Staphylococcus hyicus* strains in Japan. The Journal of veterinary medical science, 71(5), 681–684.
- 17) 長谷川篤彦(1980)動物の皮膚糸状菌症. Japanese Journal of Medical Mycology., 21 (4), 227 229.
- 18) Hillion, M., Mijoouin, L., Jaouen, T., et al. (2013) Comparative study of normal and sensitive skin aerobic bacterial populations. Microbiology Open, 2(6), 953–961.
- 19) Huovinen, S., Tunnela, E., Huovinen, P., et al. (1998) Human onychomycosis caused by *Trichophyton equinum* transmitted from a racehorse. The British journal of dermatology, 138(6), 1082–1084.
- 20) Kamus, L. J., Theoret, C., & Costa, M. C. (2018) Use of next generation sequencing to investigate the microbiota of experimentally induced wounds and the effect of bandaging in horses. PloS one, 13(11), e0206989.
- 21) 河村好章 (2013) ブドウ球菌とレンサ球菌の分類・この10年の変遷追補版. モダンメディア. 59巻7号 183-193
- 22) Kloos, W. E., & Musselwhite, M. S. (1975) Distribution and persistence of *Staphylococcus* and *Micrococcus* species and other aerobic bacteria on human skin. Applied microbiology, 30(3), 381–385.
- 23) Kloos, W. E., Zimmerman, R. J., & Smith, R. F. (1976) Preliminary studies on the characterization and distribution of *Staphylococcus* and *Micrococcus* species on animal skin. Applied and environmental microbiology, 31(1), 53–59.
- 24) Kuroda, T., Kinoshita, Y., Niwa, et al. (2016) Methicillin-resistant Staphylococcus aureus colonisation and infection in Thoroughbred racehorses and veterinarians in Japan. The Veterinary record, 178(19), 473.
- 25) Matsuo, E., Kawano, J., & Yasuda, R., et al. (2001)

- Species Distribution of Staphylococci in the Nares and Skin of Horses. Journal of Equine Science. 12. 127–134.
- 26) Nakagawa, Y., Mochizuki, R., Iwasaki, K., et al. (1996) A canine case of profound granulomatosis due to *Paecilomyces* fungus. The Journal of veterinary medical science, 58(2): 157–159.
- 27) 日本細菌学会 病原細菌のバイオセーフィティ指針
- 28) Nováková D, Sedláček I, Pantůček R, et al. (2006) Staphylococcus equorum and Staphylococcus succinus isolated from human clinical specimens. Journal of medical microbiology. 55(Pt 5): 523–528.
- 29) 小澤真名緒. (2016) 動物用抗菌性物質を取り巻く 現状 (IV):薬剤耐性機構,日本獣医師会雑誌,69 (12).
- 30) Parrey, A. H., Sofi, F., Ahmad, M., et al. (2016) *Aerococcus viridans* infection presenting as cutaneous vasculitis in an immunocompetent patient. Reumatologia, 54(6), 318–320.
- 31) Rendle, D. I., & Page, S. W. (2018) Antimicrobial resistance in companion animals. Equine veterinary journal, 50(2), 147-152.
- 32) Resch, M., Nagel, V., & Hertel, C. (2008) Antibiotic resistance of coagulase-negative staphylococci associated with food and used in starter cultures. International journal of food microbiology, 127(1–2), 99–104.
- 33) Rodrigues Hoffmann A. (2017) The cutaneous ecosystem: the roles of the skin microbiome in health and its association with inflammatory skin conditions in humans and animals. Veterinary dermatology, 28(1), 60–e15.
- 34) Rota A, Calicchio E, Nardoni S, et al. (2011) Presence and distribution of fungi and bacteria in the reproductive tract of healthy stallions. Theriogenology. 76(3): 464–470.
- 35) Rosanna Marsella. (2019) Manual of Equine Dermatology, CAB International.
- 36) Ross, A. A., Müller, K. M., Weese, J. S., et al. (2018) Comprehensive skin microbiome analysis reveals the uniqueness of human skin and evidence for phylosymbiosis within the class Mammalia. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 115(25), E5786– E5795.
- 37) Ross, A. A., Rodrigues Hoffmann, A., & Neufeld, J.

- D. (2019) The skin microbiome of vertebrates. Microbiome, 7(1), 79.
- 38) Shimozawa, K., Anzai, T., Kamada, M, et al. (1997) Fungal and bacterial isolation from racehorses with infectious dermatosis. J. Equine Sci, 8, 89–93.
- 39) Takatori, K. (1981) Fungal Flora of Equine Skin with or without Dermatophytosis. Journal of the Japan Veterinary Medical Association. 34, 580–584.
- 40) Torres, S., Clayton, J. B., Danzeisen, J. L., et al. (2017) Diverse bacterial communities exist on canine skin and are impacted by cohabitation and time. PeerJ, 5, e3075.
- 41) 梅田綾香, 中村造, 吉住尚子ら (2016) Aerococcus urinae と Aerococcus sanguinicola の複数感染による菌血症および腎盂腎炎の1例. 日本臨床微生物学会雑誌:26(3), 234-238.
- 42) Wolny-Koładka K. (2018) Microbiological quality of air in free-range and box-stall stable horse keeping systems. Environmental monitoring and assessment, 190(5), 269.
- 43) Yasuda, R., Kawano, J., Onda, H., et al. (2000) Methicillin-resistant coagulase-negative staphylococci isolated from healthy horses in Japan. American journal of veterinary research, 61(11), 1451-1455.
- 44) Yasuda, R., Kawano, J., Matsuo, et al. (2002) Distribution of *mecA*-harboring staphylococci in healthy mares. The Journal of veterinary medical science, 64(9), 821–827.

#### 要旨

感染性皮膚炎を発症した133頭のサラブレッド種競走 馬について、病変から好気性細菌270株、真菌141株を分 離し、これらの同定と細菌の薬剤感受性を調査した。同 定には光学顕微鏡検査, MALDI-TOF/MS法, 16S rDNA解析、もしくは28S rDNA解析を用いた、薬剤感 受性試験にはディスク拡散法を使用した. 分離細菌の半 数(137株) を Staphylococcus 属 が 占 め、 つ い で Corynebacterium 属33株であった. 真菌ではPenicillium 属26株, Paecilomyces 属15株などであった. 細菌, 真菌 ともに菌株の多くが日和見感染体であることが示唆され た. また分離細菌の内容は健康な人の皮膚細菌叢に類似 しており、これは競走馬が清潔に飼養されている故と推 察された. Staphylococcus 属の薬剤感受性を調べると、 耐性を示した検体は71株(51.8%)であり、フルオロキ ノロン, テトラサイクリン, セフェムに対する耐性割合 は総じて6%以下であった. ペニシリン (PC) とアン ピシリン(ABPC)に対する耐性率は高かったが、これ らは周辺環境でほとんど使用されていなかった. また, PC, ABPCに対する耐性において, 自然宿主がヒトで あるブドウ球菌は自然宿主が動物であるブドウ球菌より もかなり高かった. それ故. 耐性株は人間の生活環境か ら競走馬に移行している可能性があると考えられた.

キーワード: 感染性皮膚炎, 薬剤耐性, Staphylococcus xylosus, Paecilomyces, 馬

# Use of antimicrobial agents on a dairy farm where cefazoline-low susceptible *Mannheimia haemolytica* serotype 1 was isolated

Misaki Akiyoshi <sup>1)</sup>, Minami Nouchi <sup>1)</sup>, Kazumi Sugiura <sup>1)</sup>, Ryo Murata <sup>2)</sup>, Noritsugu Abe <sup>1)</sup>, Ayano Sato <sup>1)</sup> \*, Toshihide Kato <sup>1)</sup>

#### セファゾリン低感受性のMannheimia haemolytica血清型1型が分離された 1 酪農場における抗菌剤の使用状況

秋吉珠早 $^{1)}$ ・野内 南 $^{1)}$ ・杉浦加純 $^{1)}$ ・村田 亮 $^{2)}$ ・阿部紀次 $^{1)}$ ・佐藤綾乃 $^{1)}$ \*・加藤敏英 $^{1)}$ 

(¹) Division of Farm Animal Clinical Science, School of Veterinary Medicine, Rakuno Gakuen University, 582-1 Bunkyodai-midorimachi, Ebetsu, Hokkaido 069-8501, Japan
²) Division of Pathobiology, School of Veterinary Medicine, Rakuno Gakuen University, 582-1 Bunkyodai-midorimachi, Ebetsu, Hokkaido 069-8501, Japan
\* Corresponding Author: Ayano Sato (e-mail: ayanok@rakuno.ac.jp))
(Received 14. May. 2021 / Accepted 29. Jul. 2021)

#### Summary

Mannheimia haemolytica serotype 1 was isolated from a dairy farm with frequent pneumonia in adult cattle. In order to investigate the cause of M. haemolytica serotype 1 strain showing low cefazolin (CEZ) susceptibility, the occurrence of mastitis prior to pneumonia and the use of antimicrobial agents were investigated and compared with a control farm in the same series with low pneumonia incidence. In addition, M. haemolytica isolates from the control farm were examined for drug susceptibilities. The annual incidence of mastitis was 1.29 and 0.55 in the study and control farms, respectively, and the incidence ratio between the two farms was 2.35, which was significantly higher in the study farm. The antimicrobial agents used for mastitis treatment at the study farm were cephalosporin-based, and consisted of 70.2 g of CEZ intramammary infusion and 129 g of CEZ systemic injection to the intramammary for off-label use. Only intramammary infusions were used on the control farm, and CEZ was administered at a dose of 12.9 g. Per head of the study farm enrollment, the amount of CEZ intramammary infusion and intramammary injectants used (4.6 g) was more than 5 times that of the control farm (0.89 g), and approximately 2.6 times the standard dosage of CEZ intramammary infusion for lactation (0.15 g/dose per container × 4 mammary glands × 3 days = 1.8 g) for cattle with 4 affected mammary glands. Also, the MIC values for CEZ of M. haemolytica isolated from the control farm were low. Thus, it can be inferred that excessive use of CEZ was one of the factors responsible for the decreased susceptibility of M. haemolytica in the study farm. Another factor could be the external invasion of CEZ low-susceptible M. haemolytica. However, it was inferred that it was unlikely to have been introduced from this farm, as only individuals raised on the control farm were introduced.

Key words: antimicrobial usage, drug susceptibility, Mannheimia haemolytica, intramammary therapy

- Jpn. J. Anim. Hyg. 47, 85∼90 (2021)

<sup>1)</sup> 酪農学園大学 獣医学類生産動物医療学分野 生産動物外 科学ユニット

<sup>〒069-8501</sup> 北海道江別市文京台緑町582

#### Introduction

The development of drug resistance in various bacteria has been suggested to be caused by a significant increase in the use of antimicrobial agents and their continued inappropriate use. In Japan, sales of antimicrobials and internal parasiticides in 2019 accounted for more than 33% of total sales of veterinary drugs, which constitutes the greatest proportion by pharmacological class 14, suggesting that antimicrobial agents are routinely used in the field. In production animal veterinary medicine, the incidence of bacterial infections in cattle remains high <sup>13)</sup>, and the use of various antimicrobial agents are likely to increase excessively on some farms. This is thought to be due to the increasing scale of farms and the resulting expansion of herd rearing systems, and it is feared that drug resistance will increase in the future. Under these circumstances, we previously reported 1) that Mannheimia haemolytica serotype 1 strains isolated from the lungs and nasal secretions of affected cows at a dairy farm in Hokkaido, Japan, where pneumonia in adult cows was frequent, were more resistant to cefazolin (CEZ) than previously reported 5, 10, 11). We suggested that this may be due to the frequent use of CEZ intramammary infusion for the treatment of mastitis on the same farm, and that its use may have increased significantly 1). Therefore, the purpose of this study was to investigate the incidence of mastitis and the use of various antimicrobial agents in its treatment prior to the high incidence of pneumonia on this farm, and the relationship between these factors and the low susceptibility of M. haemolytica serotype 1 strains to CEZ was investigated. In addition, we suspected that M. haemolytica with low susceptibility to CEZ might have been introduced from outside, and we decided to try to isolate M. haemolytica from the same series of farm, where individuals were replaced between farms, to confirm the drug susceptibility.

#### Materials and Methods

The study farm was farm A in Hokkaido, Japan, where the minimum inhibitory concentration (MIC) of six *M. haemolytica* serotype 1 strains isolated from the lungs and nasal cavities of cattle with pneumonia and cattle that died of pneumonia in November 2017

ranged from 2 to 8 µg/mL against CEZ 1). Farm B, which is about 70 km away from farm A and has a low incidence of pneumonia in the same series, was used as the control farm. The study period was one year (November 2016-October 2017) until the occurrence of pneumonia at farm A. During this period, there were 53 Holstein milking cows enrolled at farm A and 26 at farm B. On both farms, adult cows were kept in a mooring system with paddocks, and several individuals were moved between farms annually. On farm A, a total of 10 of the 17 adult cows with pneumonia had mastitis and were treated with CEZ. In addition, until November 2017, pneumonia outbreaks in calves were rare, and florfenicol was mainly used as a treatment. The survey items were 1) incidence of clinical mastitis, 2) type and amount of mastitis intramammary infusions, 3) type and amount of antimicrobials (other than mastitis intramammary infusions) for mastitis treatment, and 4) drug susceptibility of M. haemolytica isolated from farm B in November 2018. Based on medical records data, clinical mastitis was defined as gross abnormalities in milk and udder during lactation with or without systemic symptoms 6. If there were multiple mastitis treatment records for the same individual, each was counted as one animal. The sum of the observation periods of the cows on both farms (adult dairy cows per year considering the number of months enrolled) was 43.3 cows/year on farm A and 14.4 cows/year on farm B. The incidence rate was compared between farms by calculating the incidence rate ratio (IRR) using the following formula <sup>15)</sup>.

$$IRR = (a/T_1)/(b/T_0)$$

Where, 'a' is the number of mastitis cases in farm A,  $T_1$  is the sum of 43.3 cows/year during the observation period, 'b' is the number of mastitis cases in farm B, and  $T_0$  is the sum of 14.4 cows/year during the observation period. Confidence intervals are shown as  $e^{\|\ln(IRR)\pm1.96\times SD[\ln(IRR))\|}$ .

In addition, udder-fed antimicrobials for lactation and dry lactation were investigated. In the drug susceptibility test, *M. haemolytica* strains isolated according to the usual methods <sup>8)</sup> were used to determine the MIC with a drug susceptibility kit (Etest<sup>®</sup> for drug susceptibility testing, Biomeleu Japan

K.K., Tokyo, Japan). The following drugs were tested: ampicillin (ABPC), CEZ, cefuroxime (CXM), cefotaxime (CTX), streptomycin (SM), gentamicin (GM), and norfloxacin (NFLX).

#### Results

#### Incidence of clinical mastitis

Of the milking cows enrolled during the study period, 56 cows were found to have clinical mastitis on farm A and 8 cows on farm B, with an annual incidence rate of 1.29 and 0.55, respectively. The IRR was 2.35 (95% CI: 1.27-5.57), indicating a significantly higher rate of mastitis in farm A. In farm A, *Staphylococcus aureus* (SA) was the most frequently isolated organism; it was found in 13 cows, 9 of which had recurrences, and the total number of cows treated was 22. This was followed by an outbreak of other (environmental) *Streptococcus* (OS) in 9 animals (3 of which were recurrent), for 14 as the total number of cows treated. In farm B, there was no information on the causative organism of mastitis in the medical records.

#### Type and amount of intramammary infusions

At farm A, CEZ was used for lactation and cephalonium (CEL) was used for the dry period, and no other intramammary infusions other than cephalosporins were used. The isolates were all susceptible to CEZ by the disc method (drug susceptibility kit, Japan Becton Dickinson Co., Ltd., Fukushima, Japan). The amount used was recorded as pure powder equivalent, 70.2 g of CEZ intramammary infusion for lactation and 20.0 g of CEL intramammary infusion for the dry period (Table 1). On the other hand, at farm B, dicloxacillin (MDIPC), CEZ and

pirlimycin (PLM) were used for lactation and CEZ for dry period. The total amount used was 3.2 g of MDIPC, 0.9 g and 12.0 g of CEZ for lactation and the dry period, respectively, for a total of 12.9 g, and 0.15 g of PLM. The amount of CEZ used per adult dairy cow during the study period was low at 0.89 g (0.06 g for lactation and 0.83 g for dry period) in farm B compared to 1.62 g in farm A.

# Type and amount of antimicrobial agents (other than intramammary infusions) for mastitis treatment

The antibacterial agents used other than intramammary infusions were CEZ and GM injections at farm A. Both agents were used off-label in the udder based on the drug susceptibility results of mastitiscausing bacteria. The amount of CEZ used was 48.0 g for systemic administration (intravenous or intramuscular) and 129.0 g for intramammary administration. The total amount of CEZ used per adult cow during the study period was 2.98 g. In addition, all GMs were administered intramammarily, and the amount used was 2.76 g (0.12 g × 23 times) (Table 2). On the other hand, no other drugs were used in farm B except for the intramammary infusions.

Table 1. Types and amounts of udder infusions

	Antimicrobial agents 1)						
	Lact	ation per	Dry 1	period			
	MDIPC	CEZ	PLM	CEZ	CEL		
Farm A	0	70.2	0	0	20		
Farm B	3.2	0.9	0.15	12	0		

<sup>1)</sup> MDIPC, dicloxacillin; CEZ, cefazolin; PLM, pirlimycin; CEL, cephalonium.

Figures are presented as g of pure powder equivalent.

Table 2. Amount of antimicrobial agents used by type other than udder infusions

	Antimicrobial agents 1)					
	(	CEZ	GM			
	systemic 2)	intramammary 3)	systemic	intramammary 3)		
Farm A	48.0	129.0	0.0	2.76		
Farm B	0.0	0.0	0.0	0.0		

<sup>1)</sup> CEZ, cefazolin; GM, gentamicin, 2) intravenous or intramuscular, 3) off-label use.

Figures are presented as g of pure powder equivalent.

## Drug susceptibility of *M. haemolytica* isolated from the nasal cavities of cows of farms A and B

Nine M. haemolytica isolates were obtained from farm B. Their MIC<sub>50</sub> and MIC<sub>90</sub> were 0.64 and 256 µg/mL (range: 0.047- >256) for ABPC, 0.125 and 0.25 µg/mL (0.0625-0.25) for CEZ, 0.094 and 0.19 µg/mL (0.094-0.19) for CXM, and  $\leq$ 0.016 and  $\leq$ 0.016 µg/mL ( $\leq$ 0.016) for CTX, respectively, SM was 64 and 96 µg/mL (16-96), GM was 12 and 24 µg/mL (3-24), and NFLX was 0.125 and 2 µg/mL (0.125-2) (Table 3). On the other hand, the MIC<sub>50</sub> and MIC<sub>90</sub> values for CEZ of the six isolates from farm A were 2 and 8 µg/mL, respectively <sup>1)</sup>, which was 16-32 times higher than those of the isolates from farm B. However, susceptibility to CXM and CTX, which are also cephalosporins, was about the same as that of the isolates from farm B.

#### Discussion

Regarding the relationship between bacterial drug resistance and antimicrobial use, in human medicine, Albrich et al. <sup>2)</sup> systematically examined a number of studies on total antimicrobial use and the proportion of penicillin-non-susceptible *Streptococcus pneumoniae* in 20 countries on three continents between 1994 and 2000, and found a significant correlation between the two in all countries. In veterinary medicine, Saini et al. <sup>16)</sup> examined antimicrobial use and resistance of mastitisderived Gram-negative bacteria at the group level in 89 dairy farms in Canada, and reported an association between the use of some drugs and resistance of *Escherichia coli*. In Japan, Asai et al. <sup>3)</sup> examined the resistance of *E. coli* fecal isolates from apparently healthy cattle and other animals to 11 antimicrobial

agents, and reported a significant correlation with the amount of antimicrobial agents used in the animals. In addition. Hiki et al. 7) examined the drug susceptibility of E. coli fecal isolates from healthy broilers during 2010-2013, and reported that the cause of the high CEZ resistance rate (>16%) in 2010 and 2011 was the offlabel use of the same strain of ceftiofur, such as inoculation in eggs. Thus, although there are many reports of an association between antimicrobial use and drug resistance at the national level, insufficient data are available at the farm level. Therefore, in this study, we investigated the relationship between CEZ usage and drug resistance at the farm level. In this study, two affiliated farms were surveyed, and the incidence of mastitis on the survey farm (farm A) was significantly higher than that on the control farm (farm B), and was higher than the incidence in Hokkaido in 2016-2018 (about 38%, Hokkaido NOSAI project report, not disclosed). Further, only CEZ was used for this treatment. As a result, the amount of CEZ intramammary infusion used per head enrolled (1.62 g) was 1.8 times that of the control farm. In addition, CEZ injections were administered intramammarily on the study farm, and the total amount of CEZ used per cow (4.6 g) was more than five times that of the control farm. In Japan, this amount is about 2.6 times higher than the standard dose of 1.8 g (0.15 g/dose/bottle as product × 4 mammary glands × 3 days) of lactation CEZ udder infusions for cows with 4 affected mammary glands.

On the other hand, M. haemolytica isolated from the control farm with low mastitis incidence and low CEZ use had MIC<sub>50</sub> and MIC<sub>90</sub> of 0.125 and 0.25  $\mu$ g/mL to

Table 3. Drug susceptibility (MIC) of Mannheimia haemolytica isolated from farm A and B

		Antimicrobial agents 1)						
		ABPC	CEZ	CXM	CTX	SM	GM	NFLX
T. A.	$\mathrm{MIC}_{50}$	>256	2	0.064	≤0.016	16	8	0.75
Farm A (n=6)	$\mathrm{MIC}_{90}$	>256	8	0.094	≤0.016	32	12	1.5
(11-0)	Range	>256	2-8	0.047-0.094	≤0.016	16-32	6-12	0.75-1.5
	$\mathrm{MIC}_{50}$	0.064	0.125	0.094	≤0.016	64	12	0.125
Farm B (n=9)	MIC <sub>90</sub>	>256	0.25	0.19	≤0.016	96	24	2
	Range	0.047->256	0.0625-0.25	0.094-0.19	≤0.016	16-96	3-24	0.125-2

MIC; Minimum inhibitory concentration. Units are µg/mL. The results of farm A are calculated based on reference #3.

1) ABPC, ampicillin; CEZ, cefazolin; CXM, cefuroxime; CTX, cefotaxime; SM, streptomycin; GM, gentamicin; NFLX, norfloxacin.

CEZ, respectively, which were much lower than those of 2 and 8 µg/mL in the study farm 1, although the isolation period was different from that of the study farm. Although this study was limited to a survey of medical records data for one year, considering the fact that the study farm had a previous report of frequent mastitis and use of CEZ injections, it can be inferred that the reason for the low susceptibility of M. haemolytica to CEZ in the case reported by the authors 1) was due to the previous overuse of CEZ. While the effect of antimicrobial agents administered in the udder on other tissues/organs is unknown, the pharmacokinetics of CEZ has been investigated for the purpose of veterinary drug evaluation, and it has been confirmed that CEZ administered in the udder is transferred to the blood at low concentrations 4). In addition, Maynou et al. 12) reported that Pasteurella multocida isolated from nasal swabs of calves fed waste milk on a dairy farm had a higher percentage of colistin resistance than calves fed milk replacer, suggesting that feeding waste milk containing low concentrations of antimicrobial agents contributes to the emergence of resistant bacteria, not only in the intestinal tract but also in the respiratory tract. In the context of these findings, it is possible that CEZ administered in the udder was circulated in the blood at low concentrations and affected the drug susceptibility of M. haemolytica, a commensal bacterium of the upper respiratory tract. The MIC<sub>50</sub> and MIC<sub>90</sub> of CXM, a second-generation cephalosporin, and CTX, a third-generation cephalosporin, were similarly low in isolates from farms A and B, indicating no effect of CEZ administration. On the other hand, we cannot deny the possibility that M. haemolytica with low susceptibility to CEZ was introduced from outside. However, only individuals raised in the control farm were introduced to the study farm, and it is unlikely that M. haemolytica was introduced from this farm. which had a low MIC value for CEZ. Other routes of entry could not be investigated.

As a countermeasure against drug resistance, Hiki et al.  $^{7}$  found that when the use of ceftiofur, which had been used off-label for broilers, was discontinued, the CEZ resistance rate of E. coli was greatly reduced, suggesting that limiting drug use may be useful. Kato et al.  $^{9}$  also reported that the therapeutic efficacy of

ABPC as well as the susceptibility of *P. multocida* to ABPC was recovered in a farm where penicillin antibiotics were suspended for a certain period of time. On the farm surveyed in this study, we are currently focusing on mastitis control and first-line injection agent change (narrowing of the antimicrobial spectrum) to reduce CEZ use, and we plan to investigate how this will affect the CEZ susceptibility of *M. haemolytica*.

We would like to thank Professor Yutaka Tamura of Rakuno Gakuen University for his comments and Professor Kohei Makita of the Epidemiology Unit of Rakuno Gakuen University for his guidance in calculating the incidence ratio.

#### References

- Akiyoshi, M., Kubota, T., Sato, A., et al. (2019) Respiratory disease caused by bovine respiratory syncytial virus and *Mannheimia haemolytica* in adult dairy cows in a tie-stall system. Japanese Journal of Large Animal Clinics. 10. 60-67. (in Japanese with English summary)
- Albrich, WC., Monnet, DL., Harbarth, S. (2004) Antibiotic Selection Pressure and Resistance in Streptococcus pneumoniae and Streptococcus pyogenes. Emerging Infectious Diseases. 10. 514-517. doi: 10.3201/eid1003.030252
- 3) Asai, T., Kojima, A., Harada, K., et al. (2005) Correlation between the usage volume of veterinary therapeutic antimicrobials and resistance in Escherichia coli isolated from the feces of food-producing animals in Japan. japanese Journal of Infectious Deseases. 58. 369-372.
- Cabinet Committee on Food Safety. 2013. Evaluation of medical products for animal use. Cefazolin.
  - https://www.fsc.go.jp/fsciis/evaluationDocument/show/kya20090310002 (referenced on May 4, 2021)
- deJong, A., Thomas, V., Simjee, S., et al. (2014) Antimicrobial susceptibility monitoring of respiratory tract pathogens isolated from diseased cattle and pigs across Europe: the VetPath study. Veterinary Microbiology. 172. 202-215. doi:10.1016/ j.vetmic.2014.04.008
- 6) Hayashi, T. (2013) Mastitis: Buiatrics, 3rd Ed.

- pp306-309. Akashi, H., Eguchi, M., Kamio, T., Kamomae, H., Sakai, Y., Haga, T. and Manabe, N. eds.). Kindai Shuppan, Tokyo. (in Japanese)
- 7) Hiki, M., Kawanishi, M., Ado, H., et al. (2015) Decreased resistance to broad-spectrum cephalosporin in Escherichia coli from healthy broilers at farms in Japan after voluntary withdrawal of ceftiofur. Foodborne Pathogens and Disease. 12. 639-643.

doi: 10.1089/fpd.2015.1960

- 8) Japanese Society of Antimicrobials for Animals (2013) Standards of clinical study on antimicrobials for veterinary use for treatment of bovine bacterial pneumonia, Annual Report of Japanese Society of Antimicrobials for Animals, 36, 55-62.
- 9) Kato, T., Endo, H., Aita, K., et al. (2013) Clinical effectiveness of treatment program for bovine respiratory diseases based on antimicrobial susceptibility of pathogens. Proceedings of the Society of Antimicrobials for Animals. 35. 33-40. (in Japanese with English summary)
- 10) Kato, T., Saito, M., Ishibashi, A., et al. (2004) Clinical control and drug resistance in infectious bovine respiratory diseases, Journal of Livestock Medicine. 51. 221-228. (in Japanese with English summary)
- 11) Katsuda, K., Kohmoto, M., Mikami, O., et al. (2012) Antimicrobial resistance and genetic characterization of fluoroquinolone-resistant Mannheimia haemolytica isolates from cattle with bovine pneumonia. Veterinary Microbiology. 155. 444-447.

doi:10.1016/j.vetmic.2011.033

- 12) Maynou, G., Bach, A., Terré, M. (2017) Feeding of waste milk to holstein calves affects antimicrobial resistance of Escherichia coli and Pasteurella multocida isolated from fecal and nasal swabs. Journal of Dairy Science. 100. 2682-2694. https://doi.org/10.3168/jds.2016-11891
- 13) Ministry of Agriculture, Forestry and Fisheries. Heisei 30 agricultural disaster compensation system livestock co-financing statistics. https://www.maff.go.jp/j/tokei/kouhyou/katiku\_kyosai/index.html (referenced on May 9, 2021)
- 14) Ministry of Agriculture, Forestry and Fisheries, Animal Medical Products Inspection Institute.

- Annual report on sales of medical products for animals, etc. 2019.
- https://www.maff.go.jp/nval/iyakutou/hanbaidaka/pdf/R1\_hanbaidaka.pdf (Referenced on May 9, 2021)
- Rothman, KJ., Greenland, S., Lash, TL. (2008)
   Modern epidemiology. 3rd Ed. Lippincott Williams
   Wilkins, Philadelphia.
- 16) Saini, V., McClure, JT., Scholl, DT., et al. (2013) Herd-level relationship between antimicrobial use and presence or absence of antimicrobial resistance in gram-negative bovine mastitis pathogens on Canadian dairy farms. Journal of Dairy Science. 96. 4965-4976. https://doi. org/10.3168/jds.2012-5713

#### 要旨

成牛の肺炎が多発した1酪農場から分離された Mannheimia haemolytica血清型1型株がCEZ低感受性 を示した原因を明らかにすることを目的に、肺炎多発前 の乳房炎の発生状況とそれに対する抗菌剤の使用状況を 調査し、同じ系列の肺炎発生率の低い対照農場と比較し た. また、対照農場で分離されたM. haemolyticaの薬剤 感受性を調べた. 乳房炎の年間発生率は、調査農場と対 照農場それぞれ1.29と0.55, 両農場の発生率比が2.35であ り,調査農場で有意に高かった.調査農場で治療に用い た抗菌剤はセファロスポリン系抗菌剤のみであり、純末 換算量としてCEZ乳房注入剤は70.2g, CEZ注射剤が乳 房内に適用外使用として合計129g投与されていた.対 照農場では乳房注入剤のみが使用され、投与された CEZは12.9gだった. 調査農場の在籍頭数1頭当たり の、CEZ注入剤と注射剤の使用量(4.6g)は、対照農場 (0.89g)の5倍超であり、わが国の4分房罹患牛に対す る泌乳期用CEZ乳房注入剤の標準的な投薬量である1.8g (1容器0.15g/回×4分房×3日間)の約2.6倍であっ た. また、対照農場で分離されたM. haemolyticaの CEZに対するMIC値は低かった.以上のことから、調 査農場のM. haemolyticaのCEZ感受性低下にはCEZの 過剰使用が一つの要因となったものと推察された. その 他の要因として、CEZ低感受性M. haemolyticaが外部 から侵入した可能性があるが、この農場では対照農場で 飼育された個体だけを導入しており、この農場から持ち 込まれた可能性は低いと推察された.

キーワード:抗菌剤使用量,薬剤感受性,マンヘイミア・ヘモリチカ,乳房内治療

#### 会員へのおしらせ

#### ① 「第94回大会」および「家畜衛生フォーラム2021」について

第94回大会および家畜衛生フォーラム2021を次の通り開催します。会員の皆様のご参加を賜りますようお願い申し上げます。尚,詳細につきましては学会ホームページ(https://www.kachiku-eisei.jp/)にて随時お知らせしてまいります。

#### 【開催概要】

日 時:2021年12月3日(金) 13:00~17:00

場 所:Meiji Seika ファルマ(株)本社講堂

東京都中央区京橋 2-4-16

(東京メトロ銀座線・京橋駅……徒歩1分,

JR 東京駅……......徒歩10分)

主 催:日本家畜衛生学会

共 催:(一財) 生物科学安全研究所

#### 【プログラム】

10時~ 第94回大会 (一般演題) ※一般演題募集中

13時~17時 家畜衛生フォーラム 2021

テーマ 「牛伝染性リンパ腫 (牛白血病)」



#### 【フォーラムのねらい】

牛伝染性リンパ腫は届出伝染病に指定されており、家畜伝染病に定められた牛の感染症の中で最も発生数が多い、その発生数は20年前と比較すると約40倍に増加しており、その発生件数の増加に歯止めがかかっていない、牛伝染性リンパ腫の主要な要因である牛白血病ウイルス(BLV)は、一度感染すると終生感染が持続するウイルスである。その感染率は国内で30~40%と非常に高い、さらに、本疾病は成牛型白血病とも呼ばれているように、長期の潜伏期間を経て発症すると考えられていたが、BLVに起因する若齢発症牛が全国的に散見されるようになり、さらなる経済的損失拡大が懸念される。海外での清浄化対策は摘発淘汰によるが、国内では感染率が高いため、すべての感染牛を摘発淘汰することは経済的・物理的に困難である。そのため、感染率の高い国や地域における有効な対策の確立が望まれている。本フォーラムでは、今後の牛伝染性リンパ腫対策の一助となるように、牛伝染性リンパ腫の感染および発症の制御について、全国的な対策および新たなアプローチについて講演いただく。

座長:泉對 博 先生(元 日本大学),村上 裕信 先生(麻布大学)

#### 講演:

 1. 国内および海外のBLV対策状況
 村上 賢二 先生(岩手大学)

 2. 感染伝播リスクと対策
 松田 敬一 先生(NOSAI 宮城)

 3. ベクターによる感染リスクと対策
 佐々木 均 先生(元酪農学園大学)

4. 若齢発症牛の発生とウイルスの特性 村上 裕信 先生 (麻布大学) 5. ワクチン開発に向けた取り組みと展望 今内 覚 先生 (北海道大学)

#### 総合討論

第94回大会での発表演題を募集しています. 発表をご希望の方は、まずは日本家畜衛生学会事務局(k-eisei@azabu-u.ac.jp)あて、演題名、発表者氏名、所属を以下の期日までにメールにてお申し込みください.

演題タイトルが切:2021年10月1日(金),発表要旨が切:2021年10月20日(水)

対面開催を前提として準備を進めておりますが(8月現在)、今後の新型コロナウイルス感染状況や社会情勢により開催方法を変更することがありますので予めご了承ください。尚、開催方法の変更等の最新情報は学会ホームページで随時お知らせいたします。

#### ② 第68回国際食肉科学技術会議の日本開催について(2022年夏)

68<sup>th</sup> ICoMST 2022組織委員会委員長日本食肉科学会理事長 坂田亮一

標記の国際会議(通称ICoMST: International Congress of Meat Science and Technology) 2022年8月, 神戸開催を目指し、組織委員会を3年前に立ち上げ準備を進めています.

この国際会議は、1955年に開催されたヨーロッパ食肉研究者会議を源として、その歴史が始まりました。以来60年以上にわたって、食肉および食肉製品の諸問題に関して、各国の研究者や技術者が幅広い分野にわたる研究成果を発表し、意見を交わす場として世界各国で年に1回開催されてきました。

本会議は食肉科学の発展に寄与するにとどまらず,世界の食肉産業の成長にも多大な貢献をしてきました。今後の食肉科学と食肉産業の発展においても,もはや欠かせない存在となったと言っても過言ではありません。

68<sup>th</sup> ICoMSTでは、食肉分野における世界中のトップの研究者、技術者が神戸に一堂に会し、最新の研究成果等について発表・討論することにより、我が国の畜産および食肉産業の発展に寄与することを目的としています。

2019年はドイツでの $65^{\text{th}}$  ICoMSTに日本から組織委員会メンバーを派遣し、情宣活動を実施しました。また2020年は米国での $66^{\text{th}}$  ICoMSTがコロナ感染拡大でバーチャル形式となり、派遣に至らずも大勢の組織委員会メンバーが会議にリモート参加しました。



2020年から組織委員会はほぼ2カ月ごとに会議を行い、そこで活発な意見交換を行っています。農林水産省、厚生労働省ならびに各種食肉関連団体、学会等から後援を得ております。日本家畜衛生学会も、この会議に加入いただいており、ご理解とご協力に感謝致します。

趣意書を関連企業や団体に配布し、協賛金の依頼活動を展開しています。News Letterも昨年から発行し、組織委員会活動の広報に努めています。

一方で、2022年の日本開催について、コロナウイルス感染拡大の中で、ICoMST本部(アイルランド)ならびに本年開催のポーランドの組織委員会など連携し、国際情勢も見ながら開催の様式について鋭意検討を行っています。

日本家畜衛生学会の会員の皆様にも、この国際会議がわが国で開催されることを本誌面にてお伝えし、会議主催団体である日本食肉科学会のウェブサイトにもアクセスをお願い致します.

会議ウェブ: https://jmeatsci.org/events/icomst2022-page

#### ③ 書評

#### これからの「日本のジビエ」 野牛動物の適切な利活用を考える

編著者:押田敏雄(麻布大学名誉教授)

出版社:(株) 緑書房

A5判, 232頁 定価: 2,750円(税込)



われわれが日々の活動や生活にいそしんでいる間に山野や里山は野生動物に仕切られつつあるようである。収穫物たる果樹や田畑の作物、樹木や牧草の食害、さらには耕作地の荒らしはもとよりイノシシによる豚熱病原体の伝播にみられるように飼育動物への危害に加えてヒト居住地の生活環境も脅かされてきている。札幌郊外の市街地にクマが出没しゴミ捨てに出た人の背後から襲われ複数の人が重軽傷を負う事件にも見舞われた。クマは鈴や人の気配を感ずると逃げる動物ではなかったのか? 日常的なイノシシやシカなどによる農業被害の防止には受身的な防御対策を講じてはいるが、決め手がないのが実情のようである。仕掛けた金属網や金属柵も風雨に曝され腐食が進み補修か入れ替えが必要な時を迎えている。

さて野生動物の取り扱いであるが、その利用の点からみれば飼育費のかからない天然の動物資源であり、取り扱い方によれば動物生物資源として有効に利活用することも可能である。国内でのこの取り組みは欧米に遅れつつも推進され動きつつある。「ジビエ」たる用語で表現されつつあるがまだまだ一般の人々には浸透していないのではないか。手頃な入門書も書店には見られない。そのようななかジビエの理解や取り扱いについて実践的な知識の普及を目的として、このたび(社)日本ジビエ振興協会の協力のもと狩猟ハンター、レストランシェフ、ジビエ利活用アドバイザー、調理加工流通家、野生鳥獣専門員、野生動物・環境・経営学の専門研究者、大学教員など多様な職種・職域からの実践家・専門家17名と農学、畜産そして獣医学と横断的で豊富な知識と経験を積んだ編集者である押田敏雄先生が4年の年月をかけて本書を刊行に漕ぎ着けた。本書の目的が、専門・趣味にかかわらずその正しい知識をもってもらうとともに実践的で役立つように編まれている。

本書の内容はジビエの捕獲,ジビエ動物の種類や生態,処理や加工に関する注意,流通,利活用について,また野生動物の交通事故の概要についても記述されている。食に利用できる野生動物は,正しい取り扱いのもとでの加工・流通そして販売や利用は食の安全や安心に不可欠である。農水省と厚労省からの法的な規制にも触れられている。ジビエを大きく捉えてそれらを効果的に利用し活用されることを念頭に,それぞれの立場においてジビエガイドとして座右に備え活用されることを願って本書を推薦します。

(岡山理科大学獣医学部教授 永幡 肇)

#### 「家畜衛生学雑誌」投稿規程

- 1. 本誌には原則として、家畜衛生に関する原著論文、短報、総説(刷り上がり4頁以下のミニレビューを含む)、技術資料を掲載する. なお、原稿は編集委員会事務局へ電子メール添付(PDFファイル)で提出する. 印刷原稿3部(うち2部は鮮明なコピーでもよい)の書留郵便あるいはレターパックによる提出も可とする.
- 2. 投稿にあたり、論文掲載までの対応を行う連絡著者 (コレスポンディングオーサー)は、投稿原稿が他 誌にすでに掲載あるいは投稿中ではないこと、著者 全員が投稿論文の内容及び掲載に同意していること を記載した文書(カバーレター)を提出すること.
- 3. 筆頭著者あるいは連絡著者は本学会会員であることが望ましいが、投稿の要件とはしない.
- 4. 掲載論文は原著論文,短報,総説(刷り上がり4頁以下のミニレビューを含む),技術資料とする.
- 5. 全ての投稿論文は編集委員及び複数の審査員が審査 し、編集委員長が掲載の採否を決定する。
- 6. 投稿論文は和文または英文とし、次の指示(記述順序など)に従うこと.
  - 1) 論文原稿は別に定める注意に従って作成すること. 用紙サイズは A4とし, 和文の場合は30字で25行程度, 英文の場合はダブルスペース (70字で25行程度) とする. 原稿本文の左側に行番号を表記すること.
  - 2) 和文の場合も句読点は,「,」,「.」を用いること.
  - 3)論文原稿は第1ページに表題,著者名,所属機関名およびその所在地を和文と英文で記載するとともに、連絡著者とその電子メールアドレスを記載する。また、和文の場合は20字、英文の場合は40字以内の略表題(running head)を記載する。
  - 4) 原著論文の構成は原則として、Summary (本文が和文の場合も英語)、序文 (Introduction)、材料および方法 (Materials and Methods)、結果 (Results)、考察 (Discussion)、引用文献 (References)、要旨 (本文が和文であっても英文であっても、和文の要旨)とする。ただし、謝辞は、別項目を設けず、本文の最後に1行の空白をとった後に記載する。
  - 5) 英文Summary は250語以内, 和文要旨は600字 以内とし, それぞれの最後の行に5つ以内の

- Key words (+-7-1) をつける.
- 6) 英語論文および和文論文の英文 Summary は、 投稿前にしかるべき校閲を受けること.
- 7) 原著論文で刷り上り8頁(30文字×25行=750 文字で、図表を含めて16枚程度)までは、印刷 費を本学会で負担する。ただし、超過ページに ついては、その費用を著者の負担とする。な お、総説についてはこの限りではない。また、 カラーや特殊な用紙での印刷は、その費用を著 者の負担とする。
- 8) 使用する動植物・微生物などの学名はイタリック体で表記する.
- 9) 度量衡の単位, 略記はSI単位系を基本とし, 以下の例に従う.
- [例] m, cm, mm, µm, nm, kg, g, mg, µg, ng, L, mL, µL, nL, M, mM, µM, %, cm², m³, hr, min, sec, °C, pH, Pa (血圧はmmHg, 生体内圧力はTorr) など.
- 10) 表および図(写真を含む) は用紙1枚に1つとし、個々に番号と表題を記入し、投稿原稿の最後に添付する.
- 11) 引用文献は下記の例にならって、アルファベット順にならべ、本文中では1)、3-6) のように上付き (superscript) で記入する. ただし、著者名は3名までとし、4人目以降は省略し、「ら」、「et al」で示す.

#### [例]

#### 雑誌

- 1) 内田孝治・藤井武・高山公一ら(1991) ブロイラーにおける実験的大腸菌症に対するラノフロキサシンの治療効果および用量設定試験. 家畜衛生研究会報. 33, 19-24.
- 2) Oshida, T., Fukuyasu, T., Kohzaki, K., et al. (1993) A new treatment system for animal waste water using microorganism, soil and vagetation. Asian-Australasian Journal of Animal Sciences. 6, 205-209.

#### 電子ジャーナル

3) Wilson, D.J., Rood, K.A., Bunnel, J., et al. (2014) Johne's disease, mycoplasma and BVD in Utah-Bulk tank milk testing and comparison to previous regional prevalence and individual herd results over time. Journal of Veterinary Science and Technology. 5:182. doi: 10.4172/2157-7579.1000182.

#### 単行書

- 4) 伊予部志津子 (1980) 薬剤耐性因子 (R) の 検出法,薬剤感受性測定法. 22-48頁. 三橋 進編. 講談社. 東京.
- 5) McDonrd, P. (1976) Trends in silage making, Microbiology in Agriculture, Fisheries and Food. pp109-121. Shinner, F.A and Carr, J.G. eds. Acad. Press. London. NY.
- 12) 図はグラフィックソフトウェアで作成することが望ましい. 手書きで作成する場合は, そのまま製版できるよう, 白色紙または青色方眼紙にタイプやレタリングなどにより作成する.
- 13) 投稿原稿が受理(掲載決定)されたならば、著者はすみやかに最終原稿のMicrosoft Wordファイルを電子メールで提出すること. 図については、グラフィックソフトウェアで作成したファイルも併せて提出する.
- 7. 短報は、その内容を成績および考察(Results and Discussion)としてまとめ、要旨(Summary)は 英文では200字以内の和文、和文では100語以内の英文をつける。原稿の長さは刷り上りで、2頁以内と

- する、その他の規定については原著の場合に準じる。
- 8. 総説及び技術資料の構成については特に規定を設けないが、引用論文の記載法は原著論文の場合に準じることとする.
- 9. 別刷り費用は著者の負担とするが,筆頭著者あるいは連絡著者が本学会会員の場合は,50部に限り無料とする.
- 10. 本誌の発行は原則として, 年4回(4月,7月,10 月および1月)とする.
- 11. 編集委員会事務局を下記に置く.

**∓**252 − 5201

神奈川県相模原市中央区淵野辺 1-17-71 麻布大学獣医学部伝染病学研究室内 日本家畜衛生学会編集委員会 Tel 042 (769) 1643

E-mail: ijah@azabu-u.ac.jp

12. 本誌に掲載された論文の著作権は、日本家畜衛生学会に帰属する.

#### 附則

本規程は、2015年1月1日以降の投稿論文に適用する。 本規程は、2015年7月12日以降の投稿論文に適用する。 本規程は、2016年11月5日以降の投稿論文に適用する。 本規程は、2019年7月20日以降の投稿論文に適用する。

#### 論文原稿を作成する上での注意

- 1) 執筆にあたり、投稿規定をもう一度、熟読すること.
- 2) 各行の行末での強制改行をしないこと.
- 3) 投稿論文が和文, 英文のいずれの場合も数字, 欧文は全て1バイト文字(いわゆる半角)で入力すること. ただし和文ではかっこ()は2バイト文字(いわゆる全角)とする. 「μ」(マイクロ)は半角立体で入力すること.
- 4) 投稿論文原稿はPDFファイルとして事務局まで電子メールで提出すること. その際には必ずパスワードロックし, パスワードは別メールで事務局まで連絡すること. 特段の理由がある場合は, 印刷原稿3部(うち2部は鮮明なコピーでも可)を事務局まで書留郵便あるいはレターパックで送付すること.

- 5) 写真は印刷に耐えうる鮮明なものを使用すること.
- 図は、Microsoft PowerPoint、Excel、Adobe Photoshop、 Illustrator等のソフトウェアで作成するのが望ましい。
- 7) 論文受理後の最終原稿は、Microsoft Word(あるいはMicrosoft Word 互換ソフトウェア)ファイルとして提出する。ただし、Microsoft Word 互換ソフトウェアを使用した場合は、Microsoft Wordで正しく表示されることを確認すること。グラフィックソフトウェアで作成した図データは、jpeg、tiff等の汎用フォーマットで提出する。

日本家畜衛生学会 編集委員会

#### 名誉会員・理事名簿 (2021~2023)

#### 名誉会員

飯塚	三喜	前東京農工大学	倉田	一明	前日本生物科学研究所
柿市	徳英	前日本獣医生命科学大学	山城	富男	前科学飼料研究所

#### 理事・監事

伊藤	博哉	農研機構動物衛生研究部門	髙橋	俊彦	酪農学園大学
岩田	祐之	山口大学	*竹中	昭雄	(一社) 日本科学飼料協会
上塚	浩司	茨城大学	田中	良和	日本獣医生命科学大学
大角	貴幸	全農家畜衛生研究所	千葉	裕代	北海道渡島家畜保健衛生所
大滝	忠利	日本大学	長井	誠	麻布大学
*押田	敏雄	前麻布大学	永幡	肇	岡山理科大学
金子	明誉	農水省動物衛生課	西口	明子	農水省動物検疫所
◎河合	一洋	麻布大学	羽賀	清典	(一財) 畜産環境整備機構
菊	佳男	酪農学園大学	英	俊征	神奈川県県央家畜保健衛生所
北崎	宏平	福岡県農林総合試験場	林	智人	農研機構動物衛生研究部門
桑原	正貴	東京大学	○樋口	豪紀	酪農学園大学
齋藤	康倫	日本全薬工業 (株)	平山	紀夫	岡山理科大学
坂田	亮一	明治大学	廣瀬	和彦	Meiji Seikaファルマ(株)
迫田	義博	北海道大学	福士	秀人	岐阜大学
△篠塚	康典	麻布大学	福田	昌治	埼玉県農業技術研究センター
嶋崎	智章	農水省動物医薬品検査所	藤井	武	ゾエティス・ジャパン (株)
白井	淳資	前東京農工大学	藤井	勇紀	茨城県県北家畜保健衛生所
末吉	益雄	宮崎大学	牧江	弘孝	(公社) 日本動物用医薬品協会
杉浦	勝明	(一財) 日本生物科学研究所	宮﨑	茂	(一財) 生物科学安全研究所
須藤	慶子	群馬県西部農業事務所家畜保健衛生課	村上	裕信	麻布大学
髙井	伸二	前北里大学	守野	繁	農水省動物検疫所

〔五十音順〕

◎:理事長 ○:副理事長 \*:監事 △:事務局長

〔2021年9月現在〕

#### 協賛企業一覧

日本家畜衛生学会は以下の企業からの協賛を受けております. ここに記して謝意を表します (五十音順).

MSDアニマルヘルス (株)

エランコジャパン (株)

(株) 科学飼料研究所

共立製薬 (株)

KMバイオロジクス (株)

十別三協(株)

住化エンバイロメンタルサイエンス (株)

ゾエティス・ジャパン (株)

田村製薬 (株)

東亜薬品工業 (株)

(一財) 日本生物科学研究所

日本ハム (株)

日本全薬工業(株)

(株) 微生物化学研究所

フジタ製薬 (株)

プリマハム (株)

ベーリンガーインゲルハイムアニマルヘルス (株)

Meiji Seikaファルマ (株)

(株) メディプラス製薬

[2021年9月現在]

# 日本家畜衛生学会入会のすすめ 🐸 🕽 🎊



日本家畜衛生学会は家畜衛生とその関連領域における学術の交流を図り、畜産の進歩発展に寄与することを目的とした学会です。

#### <主な活動>

- 年2回(7月、12月)の研究発表会
- 年1回のフォーラム(12月ごろ)の開催 これまでの主なテーマ「狂犬病」、「口蹄疫」、 「鳥インフルエンザ」、「BSE」、「家畜ふん尿」など
- ・ 年 4 冊の機関誌「家畜衛生学雑誌」の発行
- 学会賞の授与

年会費5,000円(但し、学生は2,000円) 御請求戴ければ、見本誌を贈呈します!!

#### The Japanese Society of Animal Hygiene

#### 日本家畜衛生学会

〒252-5201 神奈川県相模原市中央区淵野辺1-17-71 麻布大学獣医学部獣医学科衛生学第一研究室内

> TEL / FAX: 042-850-2508 http://www.kachiku-eisei.jp/ e-mail: k-eisei@azabu-u.ac.jp

Hpで活動内容がご覧になれます!! (日本家畜衛生で検索)

#### 家畜衛生学雑誌 第47巻第2号

令和3年9月10日発行(会員配布)

発 行 日本家畜衛生学会 理事長 河合一洋

〒252-5201 神奈川県相模原市中央区淵野辺 1-17-71 麻布大学獣医学部獣医学科衛生学第一研究室内

**☎** / FAX : 042 − 850 − 2508

ホームページ:http://www.kachiku-eisei.jp/

e-mail: k-eisei@azabu-u.ac.jp

振替口座:00240-3-43171

印刷 所 明誠企画株式会社

日本家畜衛生学会 御中

## 入会申込書

貴会への入会を下記の通り申込ます.

記

フリカ	<i>i</i> †		_
氏	名:		_
所属名	3称:		
部	署:	役 職	
所属伯	i所:〒		
	TEL:	FAX:	
	e-mail:		
自宅住	上所:〒		
	TEL:		
	e-mail:		
会員の	0種類 : ○正 会 員 ・ ○学生会員 ・ ○名誉会員		
会報送	会付先:○自 宅・○勤務先		
	○内にチェックを付して下さい.		

- 1. 入会申込書は必要事項をすべて正確に記入し、郵便またはFAX (042-850-2508) にてご送付下さい.
- 2. 年会費は個人会員 5,000円, 賛助会員 50,000円/口 (1口以上) を郵便振替口座 (加入者名:日本家畜衛生学会, No. 00240-3-43171) へお振込下さい.
- 3. 申込先は 〒252-5201 神奈川県相模原市中央区淵野辺 1-17-71 麻布大学獣医学部獣医学科衛生学第一研究室内 日本家畜衛生学会事務局宛 TEL/FAX:042-850-2508
- 4. ホームページからも申し込めます: http://www.kachiku-eisei.jp/

# 変 更 届

変更手続きを下記の通り致します.

記

	フリガナ						
0	氏 名:						
0	所属名称:						
$\bigcirc$	部署:	役 職					
$\circ$	所属住所:〒						
0	TEL: FAX:		e-mail:				
$\bigcirc$	自宅住所:〒						
$\bigcirc$	TEL:	e-mail:					
<b>○</b> \$	☆員の種類:○正会員 ・ ○学生会員 ・ ○名誉:	会員					
<b>○</b> \$	○会報送付先:○自 宅 · ○勤務先						
全で	こご記入の上,上記変更部位の○内にチェックを	:付して下さい. 					

- 1. 変更届出書は必要事項を正確に記入し、郵便またはFAX(042-850-2508)にてご送付下さい.
- 2. 届け先は 〒252-5201 神奈川県相模原市中央区淵野辺1-17-71 麻布大学獣医学部獣医学科衛生学第一研究室内 日本家畜衛生学会事務局宛 TEL/FAX:042-850-2508
- 3. ホームページからも手続きできます:http://www.kachiku-eisei.jp/

### 家畜衛生学雑誌 団体購読 申込書

記

貴会へ学会誌の団体購読を下記の通り申し込みます.

iie
(フリガナ)
団体名
【連絡先】
<b>T</b>
TEL:
E-mail:
【学会誌送付先】
₹
TEL:
E-mail:

- 1. 申込書は必要事項をすべて正確に記入し、E-mail (または郵便、FAX) にてご送付下さい、 家畜衛生学雑誌 年間 4 冊  $(1\sim4$  号) の購読ができます.
- 2. 団体購読料 8,000円/年 を下記にお振込み下さい.

ゆうちょ銀行

店名:○○八(ゼロゼロハチ) / 店番:008

普通預金 口座番号 1416730

口座名義:ニホンカチクエイセイガッカイ

3. 申し込み先

〒252-5201 神奈川県相模原市中央区淵野辺1-17-71

麻布大学獣医学部獣医学科衛生学第一研究室内

日本家畜衛生学会



鳥インフルエンザをはじめ 細菌・ウイルス・カビに優れた殺菌・殺滅力を発揮!!

# R

逆性石鹸製剤で、塩化ジデシルジメチルアンモニウムを有効成分とする消毒薬



低毒性であり、安全で使い易い消毒薬です

安定性、浸透性に優れ、防サビ効果を有しています

硬水による影響が少なく、効力の低下の心配がありません

より殺菌・消毒効果を発揮できる発砲消毒にも使用できます

鳥インフルエンザ対策にも効果的です



包装 1L×10、 18LBIB, 180L



製造販売元



http://www.kashiken.co.jp/

動薬部

TEL: 027-347-3223

FAX: 027-347-4577

関東事業所

北九州事業所 TEL: 096-294-8322

南九州事業所 TEL: 099-482-3044

札幌事業所 東北事業所

TEL: 011-214-3656 TEL: 019-637-6050

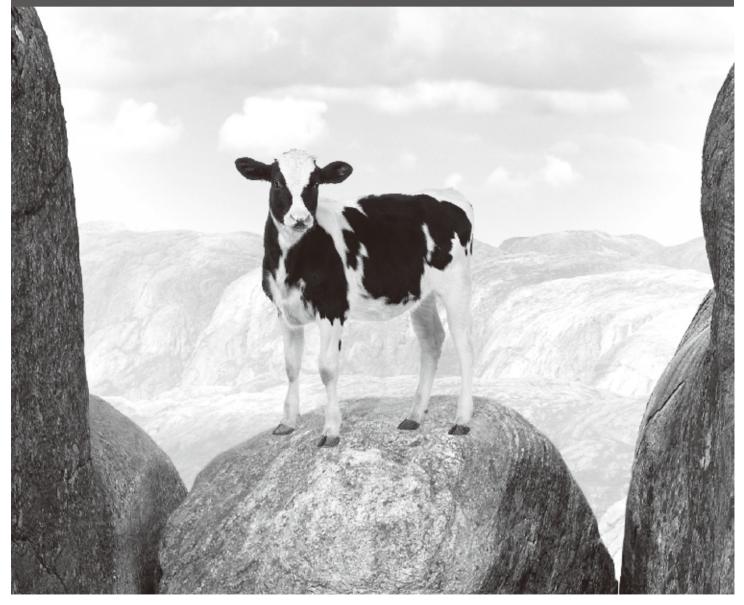
動物用医薬品 要指示 指定 使用基準 ジクラズリル製剤

# ペコクサン®

2.5mg/ml 経口投与剤

牛コクシジウム症、予防も治療も 「ベコクサン」を





製造販売元(輸入)
MSDアニマルヘルス株式会社
東京都千代田区九段北 1-13-12 〒102-8667
TEL (03) 6272-1099 (代表)





# リスクを減らす



輸入・販売元

エランコジャパン株式会社 〒107-0052 東京都港区赤坂四丁目15番1号

# 〈乳房炎にもマルボシル〉

# meiji





100mL



- ●静脈内投与(牛)及び筋肉内投与(牛・豚)が可能
- - ●牛のマイコプラズマ性肺炎に対しても有効

※1 大腸菌、クレブシエラ・ニューモニエによる甚急性及び急性乳房炎(第一次選択薬が無効の場合)※2 静脈内投与のみ

動物用医薬品 要指示医薬品 指定 第二次選択薬

製造販売元 **Meiji Seika ファルマ株式会社** (輸入) 東京都中央区京橋 2 - 4 - 16

※効能・効果、用法・用量、使用禁止期間、その他 で使用の際は製品の添付文書をよくお読みください。

# Meiji Seika ファルマの 殺虫剤・消毒剤シリーズ

清浄な環境をバックアップ!

ネオニコチノイド系ハエ成虫駆除剤

フラッシュベイト。-WP

包装:10g×10、25g×10

ピレスロイド系殺虫剤

ラピタ

包装:1kg、5kg

殺虫剤シリ

ス

有機リン系・ピレスロイド系配合殺虫剤

エスミック

包装:1kg、5kg、10kg

カーバメイト系吸血害虫駆除剤

バリソン®乳剤

リニアC10・カチオン系消毒薬

アストッフ゜®

包装:1L、18L、180L

*アストッ*プ゚200

包装:18L、50L、180L

殺ウイルス・殺菌消毒薬

パコマ®

毒剤シリ

包装:1L、18L、180L

パコマ<sup>®</sup>L <sup>包装:11,51,181</sup>

パコマ『200

包装:18L、180L

塩素系殺ウイルス殺菌消毒薬

クレンテ

包装:1kg、50kg

スミクロー/L®

包装:2.5kg(発泡性錠剤)

殺オーシスト消毒薬

ゼクトン®

包装:20kg、200kg

動物用医薬品

使用の際は製品のラベルをよくお読みください

**Meiji Seika ファルマ株式会社** 東京都中央区京橋 2 - 4 - 16