

# 家畜衛生学雑誌

The Japanese Journal of Animal Hygiene

日本家畜衛生学会

The Japanese Society of  
Animal Hygiene

Vol.49 No.4  
2024. MAR.



# 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：高井伸二・羽賀清典・福士秀人

福田昌治・宮崎 茂・北崎宏平

---

## 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** : 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*)

Kohei KITAZAKI (*Fukuoka Agric. For. Res. Cent.*)

---

### 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49巻第4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49巻第4号を刊行する運びとなりました。本号では、原著論文4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円です。

日本家畜衛生学会 理事長 河合一洋

## 払込取扱票

00																			
口座記号		口座番号(右詰めで記入)		金額	千	百	十	万	千	百	十	円							
※	0	0	2	4	0	3			4	3	1	7	1						
加入者名	日本家畜衛生学会												料金		特殊				
通信欄	( ) 年度												計		円				
ご依頼人	おところ (郵便番号 - )												※	おなまえ		様	受付局日附印		
裏面の注意事項をお読みください。													(電話番号 - - )						
これより下部には何も記入しないでください。																			

## 郵便振替払込請求書兼受領証

口座記号番号	※	0	0	2	4	0	3	※	
加入者名	日本家畜衛生学会								
金額	千	百	十	万	千	百	十	円	
※									
ご依頼人	おなまえ							様	
料金	(消費税込み)		受付局日附印						
金額	円								
特殊取扱									

記載事項を訂正した場合は、その箇所に訂正印を押ししてください。  
切り取らないで郵便局にお出しください。

(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。

# 家畜衛生学雑誌

第49巻 第4号 2024

## 目次

〈原著〉

- Exploratory study of immunodynamic changes in sows following classical swine fever vaccination  
…………… Takehito Suzuki, Michiko Noguchi, Yosuke Sasaki, Makoto Nagai, Hiroshi Aoki …………… 165~176
- Analysis of milking preparation time based on labor efficiency on Japanese dairy farms  
…………… Masafumi Enokidani …………… 177~187
- 初産牛の乾乳期短縮が産乳と繁殖性に及ぼす影響  
…………… 大澤 玲・福井陽士・榊原裕二・眞鍋典義・岩本智恵子・高松英里奈・佐沢公子・  
森川繁樹・秋好佑紀・西村慶子・三宅 歩・佐藤 精・高橋優希・  
宮腰雄一・永墓訓明・真貝拓三・伊藤文彰・野中最子・田鎖直澄 …………… 189~198
- 埼玉県で発生したH5N1亜型高病原性鳥インフルエンザ発症鶏でみられた多発性壊死性心筋炎  
…………… 松本裕治・森谷 翠・小泉舜史郎・村田拓馬・山本 佑 …………… 199~205
- 第49巻 総目次 …………… 207~211
- 2023年度 家畜衛生学雑誌投稿論文査読者への謝辞 …………… 212
- 会員へのおしらせ …………… 213
- 家畜衛生学雑誌投稿規程 …………… 214~215
- 日本家畜衛生学会会則 …………… 216~217

# The Japanese Journal of Animal Hygiene

Vol. 49 No. 4 2024

## Contents

〈Original report〉

- Exploratory study of immunodynamic changes in sows following classical swine fever vaccination  
..... Takehito Suzuki, Michiko Noguchi, Yosuke Sasaki, Makoto Nagai, Hiroshi Aoki ..... 165~176
- Analysis of milking preparation time based on labor efficiency on Japanese dairy farms  
..... Masafumi Enokidani ..... 177~187
- Effect of dry period shortening on lactation performance and reproductive measures in primiparous  
Holstein cows  
..... Ryo Osawa, Yoji Fukui, Yuuji Sakakibara, Noriyoshi Manabe, Chieko Iwamoto,  
Erina Takamatsu, Kouko Sazawa, Shigeki Morikawa, Yuki Akiyoshi,  
Keiko Nishimura, Ayumi Miyake, Say Sato, Yuki Takahashi, Yuichi Miyakoshi,  
Noriaki Nagahaka, Takumi Shinkai, Fumiaki Itoh, Itoko Nonaka, Naozumi Tagusari ..... 189~198
- Multiple necrotizing myocarditis observed in chickens infected with H5N1 subtype highly  
pathogenic avian influenza virus in Saitama Prefecture  
..... Yuji Matsumoto, Akira Moriya, Shunjiro Koizumi,  
Takuma Murata, Yu Yamamoto ..... 199~205
- Contents of Volume 49 ..... 207~211
- Acknowledgement to the Reviewers ..... 212
- Information for Members ..... 213
- Instruction for Authors ..... 214~215
- The Regulations of The Japanese Society of Animal Hygiene ..... 216~217

# Exploratory study of immunodynamic changes in sows following classical swine fever vaccination

Takehito Suzuki<sup>1)\*</sup>, Michiko Noguchi<sup>1)</sup>, Yosuke Sasaki<sup>2)</sup>, Makoto Nagai<sup>1)</sup>, Hiroshi Aoki<sup>3)</sup>

## 豚熱ワクチン接種後の母豚における免疫動態変化の探索的研究

鈴木武人<sup>1)\*</sup>・野口倫子<sup>1)</sup>・佐々木羊介<sup>2)</sup>・長井 誠<sup>1)</sup>・青木博史<sup>3)</sup>

<sup>1)</sup> School of Veterinary Medicine, Azabu University,  
1-17-71, Fuchinobe, Chuo-ku, Sagami-hara, Kanagawa 252-5201

<sup>2)</sup> School of Agriculture, Meiji University,

1-1-1, Higashimita, Tama-ku, Kawasaki, Kanagawa 214-8571

<sup>3)</sup> Faculty of Veterinary Science, Nippon Veterinary and Life Science University,  
1-7-1, Kyonancho, Musashino-shi, Tokyo 180-8602

\* Author for Correspondence: Takehito Suzuki (suzuki-t@azabu-u.ac.jp)

(Received 14. May 2023 / Accepted 20. Nov. 2023)

### Summary

In this study, nine sows (Landrace and crossbred Landrace × Large White) with no history of classical swine fever (CSF) vaccination were used to analyze immunodynamic changes after CSF vaccination. Post-vaccination, the neutralizing antibody titers increased in a time-dependent manner, as previously reported. Two weeks post-vaccination, the neutralizing antibody titer of nine sows was  $\log_2 0.67 \pm 0.13$ . Moreover, at 2 weeks after vaccination, we identified two groups of sows based on the neutralizing antibody titers in their blood, five and four sows without and with neutralizing antibody titers ( $\log_2 1.50 \pm 0.50$ ), respectively. In the former group of late-responsive sows, the proliferation of immune cells ( $CD4^+$  and  $CD21^+$  cells) involved in adaptive immunity, especially antibody production, was delayed compared with that in the latter group of early-responsive sows. Although this difference in the immune response to the vaccine does not significantly affect vaccine efficacy or control of CSF, the discovery that individual differences in the immune response to the vaccine exist even in clinically healthy sows provides crucial insights to understanding CSF pathogenesis.

Key words : classical swine fever, vaccination, immune response

Jpn. J. Anim. Hyg. 49, 165~176 (2024)

### Introduction

Classical swine fever (CSF) is an important infectious disease owing to its high mortality and contagiousness, which can cause epidemics. CSF can cause serious damage to pig farms. Japan was free of CSF for 26

years, from 1992–2018<sup>16,19)</sup>. However, after an outbreak at a pig farm in the Chubu region of Japan in September 2018, the virus spread rapidly throughout the country. This has triggered a regionally-limited vaccination of pigs in Japan to prevent future outbreaks<sup>16)</sup>. It has been reported that neutralizing

<sup>1)</sup> 麻布大学獣医学部  
〒252-5201 神奈川県相模原市中央区淵野辺1-17-71

<sup>2)</sup> 明治大学農学部  
〒214-8571 神奈川県川崎市多摩区東三田1-1-1

<sup>3)</sup> 日本獣医生命科学大学獣医学部  
〒180-8602 東京都武蔵野市境南町1-7-1  
\* 連絡著者：鈴木武人 (suzuki-t@azabu-u.ac.jp)

antibodies increase 10–14 days after inoculation with live vaccine using attenuated classical swine fever virus (CSFV) strain GPE<sup>-</sup> <sup>5, 21)</sup>, but the time required for a sufficient increase in neutralizing antibody titer and the final antibody titer varied among individuals.

Vaccination is an effective defense against infectious diseases; however, it is not guaranteed that vaccinated humans or animals can avoid an infection. Host-related factors such as genetic factors, age, and health status are associated with immunological responses to vaccination, with 2–10% of vaccinated healthy humans failing to produce antibodies to antigens in the vaccine <sup>6, 26)</sup>. Particularly, non-responders to the hepatitis B vaccine are the most well-known and thoroughly investigated because they represent 5–10% of the vaccinated population <sup>11, 13, 25)</sup>. In addition to genetic predisposition due to differences in human leukocyte antigens (HLA) class II haplotypes, lifestyle habits such as obesity and heavy smoking have been cited as risk factors for non-responsiveness to hepatitis B vaccination <sup>1, 7, 10)</sup>. Similarly, genetic predisposition has also been reported to affect the effectiveness of the influenza vaccine <sup>9, 13)</sup>.

In terms of CSF vaccination in pigs, no reports of a high percentage of non- or low-responders are known, as is the case with the human hepatitis B vaccine. It has been reported that the CP7\_E2alf CSF vaccine protected all pigs vaccinated via intramuscular injection from potential infection of a highly virulent strain of CSF, whereas oral vaccination showed incomplete protection through varying rates of infection protection, and required a longer period to acquire protective ability compared to intramuscular vaccination <sup>4, 17)</sup>. However, it is not certain whether these reports on the CSF vaccine consider the vaccination route, differences in vaccine strains, or the health or immune status of the animals. Although the problem of non- or low-responders to vaccines does not pose a serious problem in vaccine programs or CSF

control, we believe that clarifying the rationale for identifying individual differences in vaccine responses may provide an important foundation for further understanding the pathogenesis of CSF.

Few studies have investigated the dynamics of neutralizing antibody titers post-vaccination in relation to the dynamics of immune cells in the production of such antibodies. Therefore, we decided to inoculate purebred and crossbred sows that were unvaccinated with CSF vaccine and born from sows with no history of CSF vaccine (so-called first-generation pigs) with a live vaccine of the attenuated CSF strain (GPE<sup>-</sup>) and analyzed the subsequent changes in immunoglobulin, neutralizing antibody titer, and leukocyte subclass ratio.

## Materials and Methods

### Animals

Nine non-littermate sows unvaccinated with CSF vaccine and born from sows with no history of CSF vaccine (first-generation pigs) were used in this study; the profile of each sow is shown in Table 1. All animals in this study were fed a gestational diet based on 1% BW/day and raised in the laboratory piggery of the Azabu University, Japan, which breeds pigs that have been confirmed to be free of Aujeszky's disease, porcine reproductive and respiratory syndrome, porcine circovirus type 2, and CSF through routine surveillance using PCR and antibody tests. All procedures were performed under the guidance of the Committee for Animal Experimentation at the Azabu University (Consent No. 200513-1 and 200513-2).

### Classical swine fever virus vaccination and blood collection

All sows were vaccinated with 1 mL live CSF vaccine, which was administered using the less virulent GPE<sup>-</sup> strain (Swivac c; Kyoritsu Seiyaku Corporation, Tokyo, Japan) via intramuscular injection

Table 1. Profile of each sow used in this study.

	No. 1	No. 2	No. 3	No. 4	No. 5	No. 6	No. 7	No. 8	No. 9
Breed	Landrace	Landrace	Landrace	Landrace	Landrace	Landrace	Landrace	Landrace	Landrace × Large White
Age (months)	61	44	50	58	55	39	65	65	37
Body weight (kg)	216	254	211	189.5	234	206	213	250	202
Vaccination history* (excluding CSF)	none	none	none	none	none	none	none	none	none

\* Only after introduction of the pigs to our facility.



on January 3, 2020. Blood samples were collected from the external jugular vein at the time of vaccination and every 2 weeks post-vaccination for up to 8 weeks (a total of five times). Serum was obtained after the centrifugation of blood and stored at  $-30^{\circ}\text{C}$ .

#### Determination of serum immunoglobulin G and M

Serum IgG and immunoglobulin M (IgM) were measured by enzyme immunoassays. For this, 100  $\mu\text{L}$  of each standard or diluted sample was dispensed into 96-well plates coated with primary antibodies (anti-pig IgG-H chain L-chain goat, antibody: A100-105A, and anti-pig IgM goat antibody: A100-117A from Bethyl Laboratories Inc., TX, USA), and the plates were incubated for 1 h at room temperature. After the plate was washed five times with washing buffer (0.05 M Tris, 0.14 M NaCl with 0.05% Tween 20, pH 8.0), 100  $\mu\text{L}$  of Horseradish peroxidase (HRP)-conjugated IgG antibody (SA00001-5, Proteintech Japan Co., Ltd., Tokyo, Japan) diluted 200,000-fold or HRP-conjugated IgM antibody (HRP-conjugated anti-pig IgM goat antibody: A100-117P, Bethyl Laboratories Inc.) diluted 50,000-fold was dispensed into each well, and plates were incubated for 1 h at room temperature. After washing, 100  $\mu\text{L}$  of substrate solution (BCL-TMB-01/BCL-TMB-21, Vehicle Co., Ltd., Kyoto, Japan) was dispensed into each well, and incubated under light-shielded conditions for 15 min. After which, 100  $\mu\text{L}$  of stop solution (1 M phosphoric acid, Fujifilm Wako Pure Chemicals Co., Ltd., Osaka, Japan) was added to the wells, and the absorbance at 450 nm was measured immediately using a microplate reader (Arvo-X4, Perkin-Elmer Co., Ltd., MA, USA).

#### Determination of classical swine fever virus-specific antibody in serum

The virus-neutralizing antibody titer in serum was measured as previously reported<sup>18)</sup>. The swine sera samples were first deactivated ( $56^{\circ}\text{C}$  for 30 min), then diluted 2-fold, and to each diluted serum an equal volume of viral solution containing 100 median tissue culture infectious dose ( $\text{TCID}_{50}$ ) of  $\text{GPE}^{-}$  strain (live attenuated CSF vaccine) per 0.025  $\mu\text{L}$  was added and incubated for 1 h at  $37^{\circ}\text{C}$ . Then, 0.1 mL of CPK-NS cell suspension ( $5 \times 10^4$  cells/100  $\mu\text{L}$ ) was added to the diluted serum and incubated at  $37^{\circ}\text{C}$  for 7 days. The highest serum dilution in which the cytopathic effect was not induced by the  $\text{GPE}^{-}$  strain was used as the neutralizing antibody titer. In this study, a neutralizing antibody titer of 2-fold or higher was considered

antibody-positive. In accordance with the international standard method for classical swine fever diagnostics established by the International Epizootic Office (OIE), this test was performed in duplicate wells per specimen. Neutralizing antibody titers are shown converted to logarithm ( $\log_2$ ). CSFV-specific antibodies were evaluated in the sera of the sows using a commercial enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) kit (Classical Swine Fever ELISA Kit II; Nippon Gene Co., Ltd., Tokyo, Japan). The ratio of absorbance of the test serum to that of the positive control serum (S/P ratio) was determined using the formula instructed in the ELISA kit and judged as negative if the value was less than 0.05, false positive if the value was between 0.05 and 0.10, and positive if the value was greater than 0.10.

#### Subset analysis of leukocyte

Leukocytes were collected from whole blood hemolyzed using a lysis buffer (0.899%  $\text{NH}_4\text{Cl}$ , 0.1%  $\text{KHCO}_3$ , and 0.0037%  $\text{EDTA4Na}$ ) for 3 min. The cells were washed once with phosphate-buffered saline (PBS) and stained with anti-pig cluster of differentiation (CD) antibodies for 30 min at  $22^{\circ}\text{C}$ . The following five anti-pig CD antibodies were used: PE-Cy7 conjugated anti-pig CD4 antibody, PE-conjugated anti-pig CD8a antibody (BD Biosciences, Franklin, NJ, USA), unlabeled anti-pig CD14 antibody (Bio-Rad Laboratories, Inc. Hercules, CA, USA), fluorescein isothiocyanate (FITC)-conjugated anti-pig CD21 antibody (Abcam PLC., Cambridge, UK), and unlabeled anti-pig CD335 antibody (Bio-Rad Laboratories, Inc. Hercules, CA, USA). For unlabeled primary antibodies, FITC-conjugated anti-IgG1 or IgG2b antibodies were used as secondary antibodies for 30 min at  $22^{\circ}\text{C}$  following rinsing of the cells using PBS. Antibody staining was performed using an EC800 flow cytometer (Sony Imaging Products & Solutions Inc., Tokyo, Japan) for at least 10,000 events, using the software provided by the manufacturer.

#### Statistical analyses

The blood properties, serum IgG and IgM and neutralizing antibody titers were tested with repeated measures using analysis of variance (ANOVA), with time as the main factor for the effect of vaccination. Data analyzed for leukocyte subclasses were segregated based on neutralizing antibody titers 2 weeks post-vaccination and tested using a linear mixed-effects model for the effect of time and antibody

titer on subclass proportions. The repeated measure was time, and the model was tested using sow ID as the subject term.  $P$  value  $< 0.05$  was considered statistically significant. All data are expressed as mean  $\pm$  standard error of the mean (SEM). All statistical analyses were performed using the SAS software (SAS version 9.4; SAS Institute, Cary, NC, USA).

## Results

The blood properties of sows up to 8 weeks after inoculation with the live attenuated CSF vaccine (GPE<sup>-</sup> strain) are shown in Figure 1. There was no change in the leukocyte count. Erythrocyte-related parameters were slightly lower only at 6 weeks, possibly indicating anemia, but the differences were small and not significant.

Changes in CSFV-neutralizing antibody titers and IgG and IgM concentrations in the serum after CSF vaccination are shown in Figure 2. IgG and IgM concentrations did not change post-vaccination, but the virus-neutralizing antibody titer ( $\log_2$ ) significantly increased in a time-dependent manner from  $0.67 \pm 0.31$  at 2 weeks post-vaccination to  $7.11 \pm 0.46$  at 8 weeks post-vaccination. Table 2 shows the neutralizing antibody titers, ELISA S/P ratios, and diagnostics for each individual up to 8 weeks post-vaccination. Diagnostics by ELISA showed that all pigs tested negative until 2 weeks post-vaccination and became positive from the 4<sup>th</sup> week onwards. Meanwhile, 2 weeks post-vaccination, neutralizing antibodies were detected in only four of nine pigs (Table 2 and Figure 3), but neutralizing antibody titers ( $\log_2$ ) increased by more than 4 in all pigs tested 4 weeks post-vaccination. The nine pigs were divided into two groups according to whether the neutralizing antibody titers ( $\log_2$ ) at 2 weeks post-vaccination were  $< 1$  (undetectable; late responder group;  $n=5$ ) or  $\geq 1$  (early responder group;  $n=4$ ). As a result, the neutralizing antibody titer ( $\log_2$ ) of the early responder group was  $1.50 \pm 0.50$  at 2 weeks post-vaccination, which was higher than the average value of all sows. Despite the differences, neutralizing antibody titers did not differ between the two groups 4 weeks after vaccination (late responder group:  $5.00 \pm 0.55$ ; early responder group:  $4.75 \pm 0.48$ ).

The ratio change in the major leukocyte subclass up to 8 weeks post-vaccination is shown in Figure 4 for all pigs tested, and the average values when the pigs were divided into two groups as described above are shown in Figure 5. The ratio of leukocyte subclass in CD4<sup>+</sup>, CD8<sup>+</sup>, CD21<sup>+</sup>, and CD4/8-duple positive (DP)

cells tended to be divided into two groups: those with a peak at 2 weeks post-vaccination (including pigs with almost equally high values at 2 and 4 weeks post-vaccination) and those with a peak at 4 weeks post-vaccination. CD14<sup>+</sup> cells increased in most pigs 2 weeks after inoculation, but there was no difference thereafter. CD335<sup>+</sup> cells showed no clear peak during the study period. As a result of the observed grouping, the ratio of CD4<sup>+</sup> and CD21<sup>+</sup> cells in the group with higher neutralizing antibody titers (early responder group) at 2 weeks post-inoculation was significantly higher than in the group with lower titers (late responder group) (Figure 5,  $P < 0.05$ ).

## Discussion

This study is one of the few to analyze immune cell dynamics after CSF vaccination of sows over a long period (8 weeks) and to correlate them with the dynamics of neutralizing antibody titers. Previously, there was no clear reason to assume that the post-vaccination reactivity (i.e., the rate and amount of increase in neutralizing antibodies) would vary among individuals, therefore variations in individual immunodynamics was often overlooked; however, this study showed that individuals can exhibit differences in immune cell differentiation and proliferation. Although we cannot determine whether these results apply to pigs other than sows, such as piglets, at the appropriate stage of vaccination, we suggest that the uniformity of the immune response to vaccination is ensured by the immunocompetence of the individual pig, which should be useful in developing feeding management techniques that do not reduce the immune response.

Pigs vaccinated with the GPE<sup>-</sup> strain were protected from attack by ALD, a particularly virulent strain of CSF, 3–4 days post-vaccination, and produced virus-neutralizing antibodies at 10–14 days, or at the latest 21 days, post-vaccination<sup>5,21</sup>. In this study, virus-neutralizing antibodies were detected in all pigs until 4 weeks post-vaccination, and all pigs tested positive using ELISA. The immune responses of these pigs to vaccination were normal, with no deviations from previous reports (Table 2 and Figure 2). Meanwhile, the period between vaccination and the production of virus-neutralizing antibodies showed a maximum difference of 10 days, which is usually regarded as an individual difference.

No anti-CSF antibodies were detected by ELISA at 2 weeks post-vaccination in any of the pigs (Table 2), but

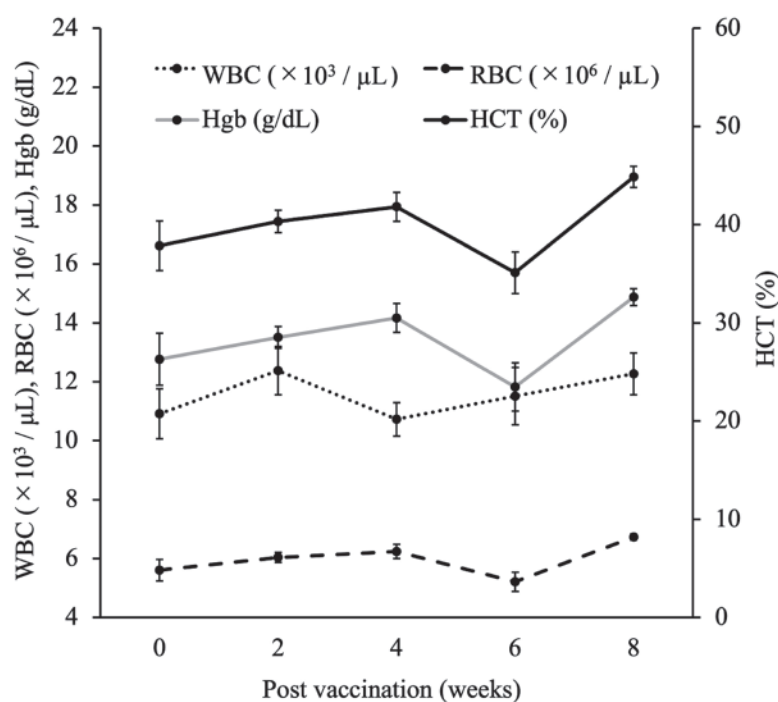


Figure 1. Changes in blood properties of inoculated sows after vaccination.

During the study period, blood properties of the sows inoculated with classic swine fever vaccine (GPE<sup>-</sup> strain) were measured every 2 weeks. Values are expressed as mean  $\pm$  SEM of nine animals. No superscripts are indicative of no statistically significant difference ( $P < 0.05$ ).

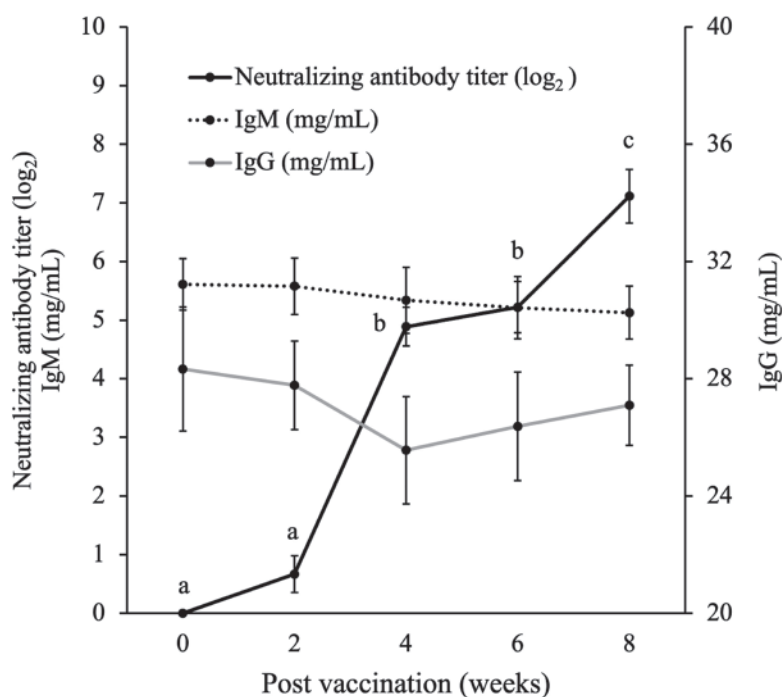


Figure 2. Changes in serum immunoglobulin (Ig) levels or neutralizing antibody titers after vaccination.

Blood samples were collected from the inoculated sows every 2 weeks throughout the study period. Ig in the blood was measured using ELISA, and the neutralizing antibody titer was measured using a classical swine fever virus (CSFV)-specific neutralization test and expressed as a  $\log_2$  index. Different superscripts indicate significant differences between the time points (a-c) ( $P < 0.05$ ). Values are expressed as mean  $\pm$  SEM of the nine test animals.

Table 2. Changes in the neutralizing antibody titers, ELISA S/P values and ELISA diagnoses for each sow post-vaccination.

Post vaccination (weeks)	No. 1			No. 2			No. 3			No. 4			No. 5		
	NAb ( $\log_2$ )	ELISA S/P	ELISA Diagnosis	NAb ( $\log_2$ )	ELISA S/P	ELISA Diagnosis	NAb ( $\log_2$ )	ELISA S/P	ELISA Diagnosis	NAb ( $\log_2$ )	ELISA S/P	ELISA Diagnosis	NAb ( $\log_2$ )	ELISA S/P	ELISA Diagnosis
0	<1	0.003	-	<1	0.004	-	<1	0.004	-	<1	0.003	-	<1	0.003	-
2	<1	0.004	-	<1	0.008	-	<1	0.024	-	<1	0.004	-	<1	0.003	-
4	4	0.307	+	5	0.365	+	5	0.233	+	4	0.202	+	7	0.377	+
6	5	0.356	+	6	0.472	+	5	0.608	+	3	0.361	+	6	0.464	+
8	7	0.600	+	8	0.609	+	5	0.625	+	8	0.558	+	8	0.440	+
Groups of immunodynamics	Late responder			Late responder			Late responder			Late responder			Late responder		

Post vaccination (weeks)	No. 6			No. 7			No. 8			No. 9		
	NAb ( $\log_2$ )	ELISA S/P	ELISA Diagnosis	NAb ( $\log_2$ )	ELISA S/P	ELISA Diagnosis	NAb ( $\log_2$ )	ELISA S/P	ELISA Diagnosis	NAb ( $\log_2$ )	ELISA S/P	ELISA Diagnosis
0	<1	0.000	-	<1	0.004	-	<1	0.000	-	<1	0.002	-
2	1	0.026	-	1	0.011	-	1	0.002	-	3	0.122	-
4	4	0.530	+	6	0.229	+	4	0.301	+	5	0.278	+
6	5	0.453	+	8	0.366	+	4	0.360	+	5	0.290	+
8	8	0.730	+	9	0.505	+	5	0.434	+	6	0.398	+
Groups of immunodynamics	Early responder			Early responder			Early responder			Early responder		

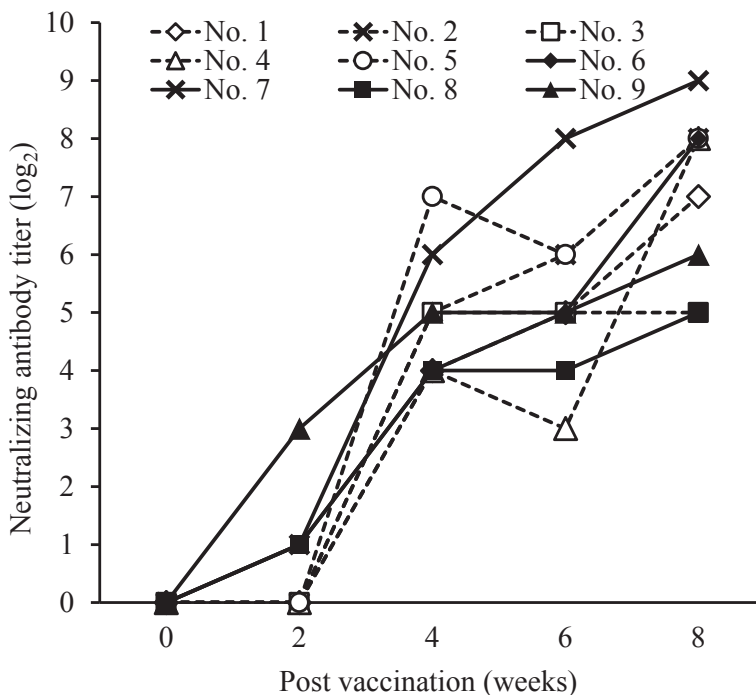


Figure 3. Changes in serum neutralizing antibody titers after vaccination of each tested sow.

Blood samples were collected from the inoculated sows every 2 weeks throughout the study period. The neutralizing antibody titer was measured using a classical swine fever virus (CSFV)-specific neutralization test and expressed as a  $\log_2$  index. No. 1-9 are individual sow numbers and the same as Table 1. Neutralizing antibody titers  $\geq \log_2 1$  (detected, n=4) at 2 weeks after vaccination are indicated by solid lines, and those  $< \log_2 1$  (undetected, n=5) by dashed lines.

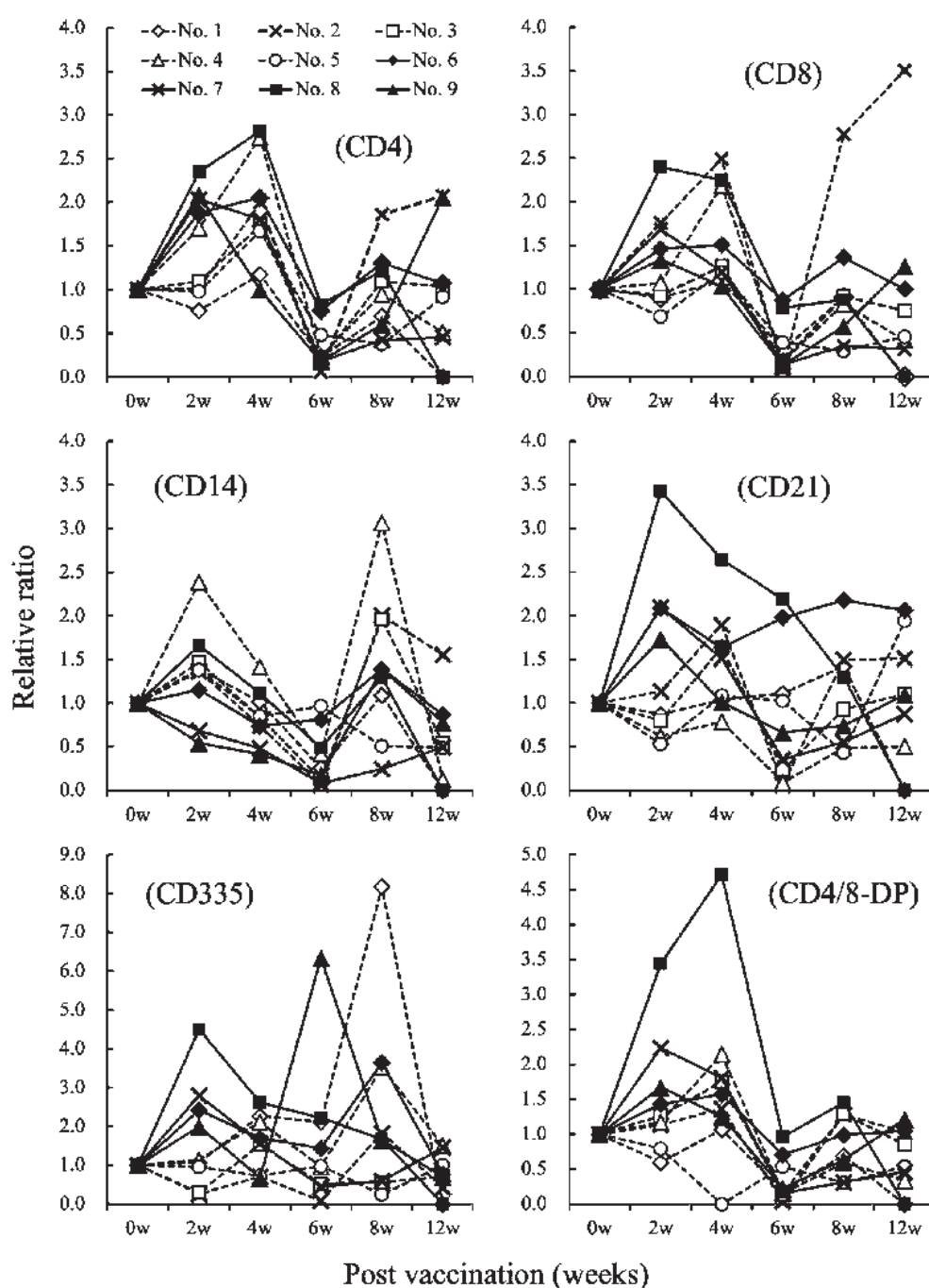


Figure 4. Changes in the relative ratio of immune cells post vaccination of each tested sow.

Leukocyte subclass (CD4, CD8, CD14, CD21, CD335, CD4/8 double positive) was analyzed by flow cytometry to examine the ratio of immune cells in both groups every 2 weeks for up to 8 weeks after vaccination. No. 1-9 are individual sow numbers and the same as Table 1. Neutralizing antibody titers  $\geq \log_2 1$  (detected, n=4) at 2 weeks after vaccination are indicated by solid lines, and those  $< \log_2 1$  (undetected, n=5) by dashed lines. The Y-axis represented the number of cells at pre-vaccination (0 week) as 1 and the relative change in cell count thereafter.

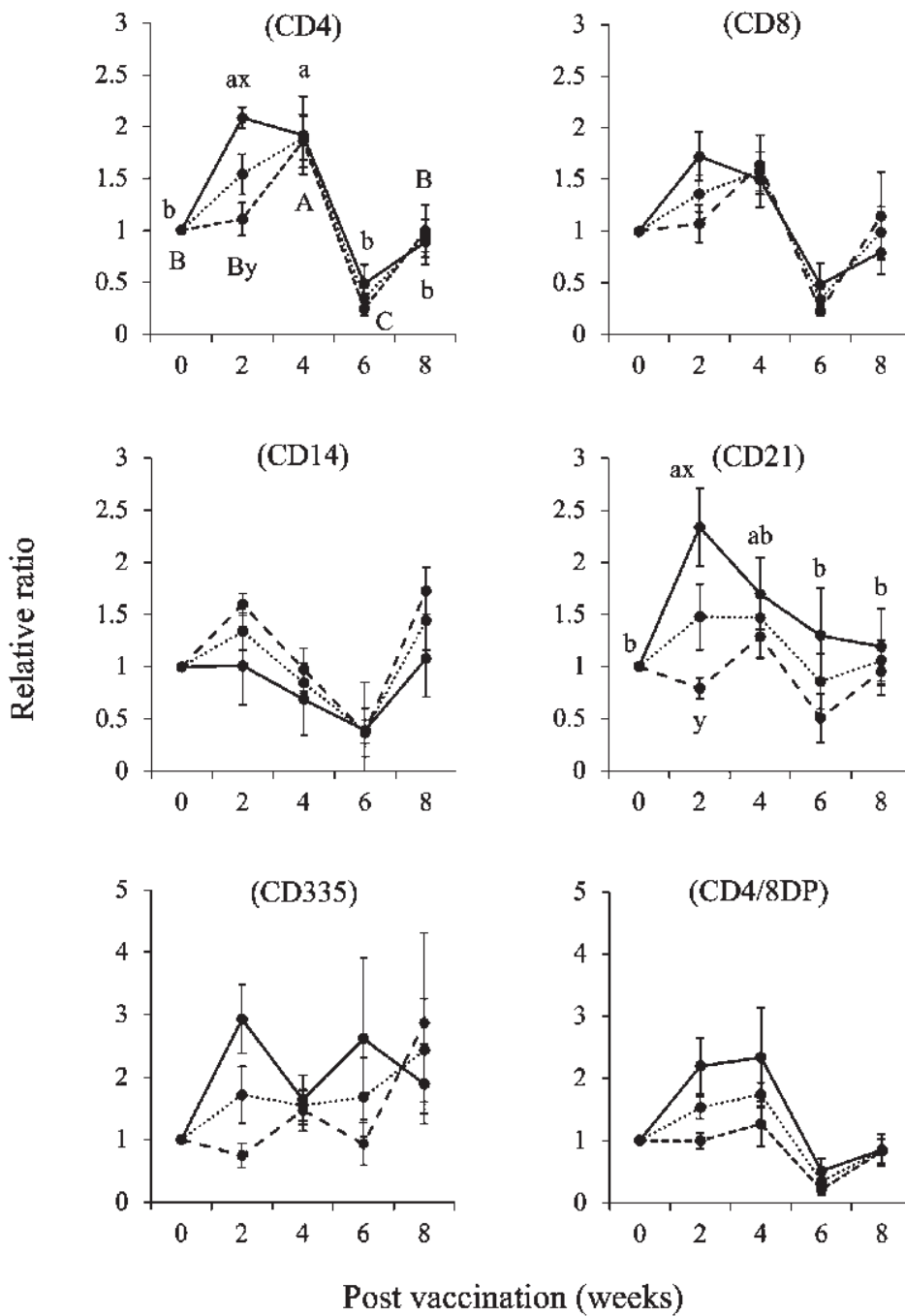


Figure 5. Changes in the relative ratio of each immune cell post vaccination.

The sows were divided into two groups based on the presence or absence of neutralizing antibodies in their blood 2 weeks after vaccination. Leukocyte subclass (CD4, CD8, CD14, CD21, CD335, CD4/8 double positive) was analyzed by flow cytometry to examine the ratio of immune cells in both groups every 2 weeks for up to 8 weeks after vaccination. The Y-axis represented the number of cells at pre-vaccination (0 week) as 1 and the relative change in cell count thereafter (solid line:  $\geq \log_2 1$ ; detectable (n=4), dashed line:  $< \log_2 1$ ; undetectable (n=5), dotted line: all animals tested (n=9)). Different superscripts indicate significant differences among the time points (A-C, a-b) within the same group and between groups (x-y) ( $P < 0.05$ ). Values are expressed as mean  $\pm$  SEM.

neutralizing antibody titers ( $\log_2$ ) were  $< 1$  in five sows and  $> 1$  in four sows (Table 2 and Figure 3). During this period, the cellular immunity defended itself against the CSFV through increased macrophages and activation of  $CD8^+$  T cells via dendritic cells in the tonsils, the initial site of infection<sup>23)</sup>. In addition, live attenuated CSF vaccines, not only the  $GPE^-$  strain, have been reported to show protective effects within a few days post-vaccination<sup>20)</sup>. Since the present study did not analyze the early days post vaccination, it did not capture in real time the enhanced ability to protect against infection by activation of cellular immunity as previously reported. The first analysis point after vaccination in our study was 2 weeks later. As mentioned above, cellular immunity and humoral immunity with neutralizing antibodies are considered to be fully functional at this time<sup>5, 21)</sup>. Although,  $CD14^+$  cells showed large individual differences in the early responder group (Figure 4), with the mean value after 2 weeks post vaccination remained on a plateau but was lower than the mean values in the late responder group (Figure 5). When CSFV infection or vaccination causes an increase in tonsil macrophages, it will not necessarily increase monocytes in the blood. Various immune cells in secondary lymphoid tissues such as tonsils are supplied from the blood, and since the balance between migration to lymphoid tissues and hematopoiesis in the bone marrow may differ depending on the time course of the infection, it would be difficult to make a correct determination without analyzing the number of macrophages in the tonsils. Meanwhile, the proportion of cells involved in adaptive immunity after 2 weeks in this study showed tendency to increase generally, although there were individual differences (Figure 5, dotted line). Considering the infection defense by cellular immunity of the innate and adaptive immune systems, both  $CD4^+$  cells involved in the differentiation and maturation of B cells and induction of antibody production and  $CD21^+$  cells responsible for antibody production are essential for antibody production against pathogens<sup>12, 22, 24)</sup>. When pigs are inoculated with a virulent wild strain rather than the attenuated strain for vaccines,  $CD4^+$ ,  $CD8^+$ , and  $CD4/8-DP$  cells increase transiently after 4 weeks and then decline<sup>27)</sup>. Even though it is an attenuated strain, infection for cells also occurs with vaccination. The ratio changes of the cells in this study were similar to those of wild strain infection, which were also higher 4 weeks after vaccination (Figure. 4). The subsequent decrease in these cells is also similar to

that of wild strain infection, whereas the transient decrease at 6 weeks observed in this study was not detected in the wild strain<sup>27)</sup>. It is not clear whether this was related to the simultaneous decrease in erythrocyte or to the vaccination.

In this study, neutralizing antibodies were detected 2 weeks after vaccination (Figure 2,  $1.50 \pm 0.50$  ( $\log_2$ )), but they were only detected in half of the pigs. Although the detected difference in the neutralizing antibody titer was only a one dilution step difference, an observation was made when the data from the leukocyte subclass analysis was reclassified based on it. In the leukocyte subclasses of each of the nine tested pigs, especially in  $CD4^+$ ,  $CD8^+$ ,  $CD4/8-DP$ , and  $CD21^+$  cells, the early responder group (Figure 4, solid line), in which antibodies were detected 2 weeks post-vaccination, showed either a peak at 2 or 4 weeks but in both cases the ratio remained sufficiently high for 2 to 4 weeks post vaccination. In contrast, the late responder group (Figure 4, dashed line) showed either a peak at 4 weeks or no clear peak. Considering this grouping, when the mean values per group (solid line: early responder group, dashed line: late responder group) and the mean values for all sows (dotted line) of the ratio of leukocyte subclasses are shown (Figure 5), the characteristics observed in Figure 4 become more apparent. An analysis of the temporal effect after vaccination showed that the ratio of  $CD4^+$  cells was significantly higher in the early responder group at 2 and 4 weeks after vaccination, whereas it was significantly higher in the late responder group at 4 weeks only ( $P < 0.05$ ). The ratio of  $CD21^+$  cells was also significantly higher ( $P < 0.05$ ) at 2 weeks in the early responder group, with the highest mean value at 4 weeks, but there were no significant differences associated with the date of sampling in the late responder group. Furthermore, an analysis of the difference in the ratio of  $CD4^+$  and  $CD21^+$  cells between both groups showed that the ratio of each cell type was significantly higher in the early responder group than in the late responder group only at 2 weeks after vaccination ( $P < 0.05$ ). This indicates that neutralizing antibodies were detected 2 weeks post-vaccination in the early responder group, in which immune cells involved in antibody production increased early, while neutralizing antibodies were not detected in the late responder group, in which the increase in immune cells involved was delayed. Thus, the subclass ratios of  $CD4^+$  and  $CD21^+$  cells suggest a temporal change in cellular dynamics between the two

groups at exactly 2 weeks; however, its effect on vaccine efficacy may be limited because neutralizing antibody titers were no different in the two groups after 4 weeks of vaccination.

Meanwhile, the CSF vaccine used in this study is a live vaccine, which allows CD8<sup>+</sup> cells to recognize viral antigens presented by MHC class I molecules of infected cells that emerge during the growth of the vaccine strain, activating cellular immunity<sup>3,15</sup>. The late responder group showed a slower increase in CD8<sup>+</sup> cells of the adaptive immunity and NK cells (CD335<sup>+</sup> cells) of the innate immune system, which are also responsible for cellular immunity<sup>2,3,8</sup>, although the difference was not significant (Figure 5). This may have a negative impact on the protection against infection by cellular immunity in the early post-vaccination period; however, further analysis of the response of these cells upon CSFV exposure is required, which was difficult to determine from the results of this study. In addition, CD4/8-DP cells have been reported to be involved in immune memory in pigs<sup>14</sup>, and although not significantly different, the higher mean values at 2–4 weeks post-vaccination in the early responder group may be important for prompt protection against future infection.

In conclusion, when the GPE<sup>-</sup> strain was used as a CSF vaccine, neutralizing antibody titers (log<sub>2</sub>) at 2 weeks post-vaccination were only less than 1 in half of the pigs, even though it is reported that virus neutralizing antibodies are produced in 10–14 days post-vaccination<sup>5,21</sup>. Individual differences were attributed to the fact that the proliferation of CD4<sup>+</sup> cells involved in adaptive immunity, particularly immunomodulation, and CD21<sup>+</sup> cells involved in antibody production occurred up to 2 weeks later in the late responder group than in the early responder groups.

This study was not conducted on a general pig farm but on a very clean piggery at Azabu University, where microbial contamination and animal housing environments are highly controlled. Therefore, the individual differences among pigs detected in this study may be masked by various external factors such as the piggery environment, breeding density, and feeding in a typical pig farm. Moreover, the experimental conditions were limited because this study was conducted at a time when vaccination requirements arose owing to the spread of swine fever infection in Japan. Nevertheless, this is a valuable study that reveals that differences in immune cell

dynamics are involved in individual differences in immune response to vaccination. The results obtained in this study may provide important basic knowledge for the effective use of vaccines. Because this study is positioned as an exploratory study and has low statistical power, future studies to confirm this phenomenon will require replication on a larger sample size as well as additional experiments to corroborate these results.

### Conflict of interest

The authors declare no conflict of interest.

### References

- 1) Averhoff F., Mahoney F., Coleman P., Schatz G., Hurwitz E., & Margolis H. (1998). Immunogenicity of hepatitis B Vaccines. Implications for persons at occupational risk of hepatitis B virus infection. *Am J Prev Med.* 15, 1–8.  
[https://doi.org/10.1016/s0749-3797\(98\)00003-8](https://doi.org/10.1016/s0749-3797(98)00003-8)
- 2) Björkström N. K., Strunz B., & Ljunggren H. G. (2022). Natural killer cells in antiviral immunity. *Nat Rev Immunol.* 22, 112–123.  
<https://doi.org/10.1038/s41577-021-00558-3>
- 3) Blander J. M. (2023). Different routes of MHC-I delivery to phagosomes and their consequences to CD8 T cell immunity. *Semin Immunol.* 66, 101713.  
<https://doi.org/10.1016/j.smim>
- 4) Blome S., Wernike K., Reimann I., König P., Moß C., & Beer M. (2017). A decade of research into classical swine fever marker vaccine CP7\_E2alf (Suvaxyn® CSF Marker): a review of vaccine properties. *Vet Res.* 48, 51.  
<https://doi.org/10.1186/s13567-017-0457-y>
- 5) Coronado L., Perera C. L., Rios L., Frías M. T., & Pérez L. J. (2021). A Critical Review about Different Vaccines against Classical Swine Fever Virus and Their Repercussions in Endemic Regions. *Vaccines (Basel).* 9, 154.  
<https://doi.org/10.3390/vaccines9020154>
- 6) Decaro N., Buonavoglia C., & Barrs V. R. (2020). Canine parvovirus vaccination and immunisation failures: are we far from disease eradication? *Vet Microbiol.* 247, 108760.  
<https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2020.108760>
- 7) Egea E., Iglesias A., Salazar M., Morimoto C., Kruskall M. S., Awdeh Z., Schlossman S. F., Alper C. A., & Yunis E. J. (1991). The cellular basis for lack of antibody response to hepatitis B vaccine in humans. *J Exp Med.* 173, 531–538.



- <https://doi.org/10.1084/jem.173.3.531>
- 8) Franzoni G., Edwards J. C., Kurkure N. V., Edgar D. S., Sanchez-Cordon P. J., Haines F. J., Salguero F. J., Everett H. E., Bodman-Smith K. B., Crooke H. R., & Graham S. P. (2014). Partial Activation of natural killer and  $\gamma\delta$  T cells by classical swine fever viruses is associated with type I interferon elicited from plasmacytoid dendritic cells. *Clin Vaccine Immunol.* 21, 1410–1420.  
<https://doi.org/10.1128/CVI.00382-14>
  - 9) Gelder C. M., Lambkin R., Hart K. W., Fleming D., Williams O. M., Bunce M., Welsh K. L., Marshall S. E., & Oxford J. (2002). Associations between human leukocyte antigens and nonresponsiveness to influenza vaccine. *J Infect Dis.* 185, 114–117.  
<https://doi.org/10.1086/338014>
  - 10) Godkin A., Davenport M., Hill AV. (2005). Molecular analysis of HLA class II associations with hepatitis B virus clearance and vaccine nonresponsiveness. *Hepatology* 41, 1383–1390.  
<https://doi.org/10.1002/hep.20716>
  - 11) Kubba A. K., Taylor P., Graneek B., & Strobel S. (2003). Non-responders to hepatitis B vaccination: a review. *Commun Dis Public Health.* 6, 106–112.
  - 12) Nayak J. L., Fitzgerald T. F., Richards K. A., Yang H., Treanor J. J., Sant A. J. (2013). CD4<sup>+</sup> T-cell expansion predicts neutralizing antibody responses to monovalent, inactivated 2009 pandemic influenza A(H1N1) virus subtype H1N1 vaccine. *J Infect Dis.* 207, 297–305.  
<https://doi.org/10.1093/infdis/jis684>
  - 13) Nicolini L. A., Orsi A., Tatarelli P., Viscoli C., Icardi G., Sticchi L. (2019). A global view to HBV chronic infection: evolving strategies for diagnosis, treatment and prevention in immunocompetent individuals. *Int J Environ Res Public Health* 16, 3307.  
<https://doi.org/10.3390/ijerph16183307>
  - 14) Okutani M., Tsukahara T., Kato Y., Fukuta K., & Inoue R. (2018). Gene expression profiles of CD 4/ CD 8 double-positive T cells in porcine peripheral blood. *Anim Sci J.* 89, 979–987.  
<https://doi.org/10.1111/asj.13021>
  - 15) Pishesha N., Harmand T. J., & Ploegh H. L. (2022). A guide to antigen processing and presentation. *Nat Rev Immunol.* 22, 751–764.  
<https://doi.org/10.1038/s41577-022-00707-2>
  - 16) Postel A., Nishi T., Kameyama K. I., Meyer D., Suckstorff O., Fukai K., & Becher P. (2019). Reemergence of classical swine fever, Japan, 2018. *Emerging Infect Dis.* 25, 1228–1231.  
<https://doi.org/10.3201/eid2506.181578>
  - 17) Renson P., Le Dimna M., Keranflech A., Cariolet R., Koenen F., Le Potier M. F. (2013). CP7\_E2alf oral vaccination confers partial protection against early classical swine fever virus challenge and interferes with pathogeny-related cytokine responses. *Vet Res.* 44, 9.  
<https://doi.org/10.1186/1297-9716-44-9>
  - 18) Sakoda Y., Hikawa M., Tamura T., & Fukusho A. (1998). Establishment of a serum-free culture cell line, CPK-NS, which is useful for assays of classical swine fever virus. *J Virol Methods* 75, 59–68.  
[https://doi.org/10.1016/S0166-0934\(98\)00098-6](https://doi.org/10.1016/S0166-0934(98)00098-6)
  - 19) Sakoda Y., Ozawa S. I., Damrongwatanapokin S., Sato M., Ishikawa K., & Fukusho A. (1999). Genetic heterogeneity of porcine and ruminant pestiviruses mainly isolated in Japan. *Vet Microbiol.* 65, 75–86.  
[https://doi.org/10.1016/S0378-1135\(98\)00284-3](https://doi.org/10.1016/S0378-1135(98)00284-3)
  - 20) Sasahara J., Kumagai T., Shimizu Y., & Furuuchi S. (1969). Field experiments of hog cholera live vaccine prepared in guinea-pig kidney cell culture. *Natl Inst Anim Health Q.* 9, 83–91.  
<https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2006.10.003>
  - 21) Shioda M., Shiokawa M., & Aoki H. (2023). Establishment of guinea pig kidney cell lines with potential application in the production of a classical swine fever live GPE vaccine. *J Vet Med Sci.* 85, 308–317.  
<https://doi.org/10.1292/jvms.22-0385>
  - 22) Sinkora M., Stepanova K., & Sinkorova J. (2013). Different anti-CD21 antibodies can be used to discriminate developmentally and functionally different subsets of B lymphocytes in circulation of pigs. *Dev Comp Immunol.* 39, 409–418.  
<https://doi.org/10.1016/j.dci.2012.10.010>
  - 23) Soldevila F., Edwards J. C., Graham S. P., Crooke H. R., Werling D., & Steinbach F. (2021). Activation of dendritic cells in tonsils is associated with CD8 T cell responses following vaccination with live attenuated classical swine fever virus. *Int J Mol Sci.* 22, 8795.  
<https://doi.org/10.3390/ijms22168795>
  - 24) Suryani S., Fulcher D. A., Santner-Nanan B., Nanan R., Wong M., Shaw P. J., Gibson J., Williams A., & Tangye S. G. (2010). Differential expression of CD21 identifies developmentally and functionally distinct subsets of human transitional B cells. *Blood.* 115, 519–29.

<https://doi.org/10.1182/blood-2009-07-234799>

- 25) Walayat S., Ahmed Z., Martin D., Puli S., Cashman M., & Dhillon S. (2015). Recent advances in vaccination of non-responders to standard dose hepatitis B virus vaccine. *World J Hepatol.* 7, 2503–2509.  
<http://doi.org/10.4254/wjh.v7.i24.2503>
- 26) Wiedermann U., Garner-Spitzer E., & Wagner A. (2016). Primary vaccine failure to routine vaccines: why and what to do? *Hum Vaccin Immunother.* 12, 239–243.  
<https://doi.org/10.1080/21645515.2015.1093263>
- 27) Huang Y. L., Pang V. F., Lin C. M., Tsai Y. C., Chia M. Y., Deng M. C., Chang C. Y., & Jeng C. R. (2011). Porcine circovirus type 2 (PCV2) infection decreases the efficacy of an attenuated classical swine fever virus (CSFV) vaccine. *Vet Res.* 42, 115.  
<https://doi.org/10.1186/1297-9716-42-115>

## 要 旨

本研究では、豚熱（CSF）ワクチン接種歴のない母豚9頭（ランドレースおよびランドレース×ラージホワイトの交雑種）を用いて、CSFワクチン接種後の免疫動態を解析した。ワクチン接種後、中和抗体価は既報同様に時間依存的に上昇した。ワクチン接種2週間後の中和抗体価は $\log_2 0.67 \pm 0.13$ であったが、この中には中和抗体が検出されなかった5頭と中和抗体価が検出された4頭（ $\log_2 1.50 \pm 0.50$ ）が混在していた。前者の免疫応答が遅かった群では、後者の免疫応答が早い群に比べ、適応免疫、特に抗体産生に参与する免疫細胞（ $CD4^+$ 細胞、 $CD21^+$ 細胞）が有意に少なく、それらの増殖が遅れていることがわかった。このようなワクチンに対する免疫応答の個体差は、ワクチン効果やCSF防除にどの程度影響を与えるか未知数であるが、臨床的に健康な母豚においてワクチンに対する免疫応答に免疫学的な個体差が存在することが明らかとなったことは、CSFの発症機序をより深く理解する上での重要な知見であると考えられる。

キーワード：豚熱，ワクチン，免疫応答

# Analysis of milking preparation time based on labor efficiency on Japanese dairy farms

Masafumi Enokidani\*

## 搾乳労働効率に基づいた搾乳作業時間の分析

榎谷 雅文\*

(Hokkaido Dairy Management Services, Tsurui, Hokkaido 085-1211, Japan

\* Author for Correspondence: Masafumi Enokidani (enoki@seagreen.ocn.ne.jp))

(Received 21. Aug. 2023 / Accepted 3. Jan. 2024)

### Summary

As farmers increase the number of milking cows, milking time increases, which increases milking labor time. This study focused on milking preparation time (MPT), and examined how milking procedures affect milking time and how milking preparation affects improvements in labor efficiency, in different milking systems. Parlor rotation time and MPT were investigated at nine dairies (A to I) with different milking procedures.

The average deviation in attached milking time (min: sec) and the total milking time per cow at Dairy A, which received milking preparation coaching, was 05:10 and 07:38, respectively. For Dairy B, a first-visit dairy, these values were significantly longer at 08:23 and 10:51, respectively, ( $P<0.01$ ,  $P<0.05$ ). Total milking times at coached Dairies A, C and D were shorter than that at Dairy B.

Dairy F had significantly shorter exiting times between before and after coaching ( $P<0.01$ ), but the time per parlor rotation was unchanged. Comparisons of milking-worker teams at Dairy G showed that total milking time was not significantly different across teams.

The longer total milking time per cow for the first-visit Dairy B was attributed to problems with milking workflow, milking procedures, and milking equipment. In the milking parlor at Dairy F, total milking time increased due to other work aside from milking, so the grouping of cows had to be reset. When milking procedures were manualized at Dairy G, each worker team could milk with the same MPT.

In terms of milking labor time, efficiency was more affected by worker-related factors than by cow-related factors.

Key words : Milking parlor, Milking preparation, Milking time, Milking worker

Jpn. J. Anim. Hyg. 49, 177~187 (2024)

### Introduction

In recent years, as dairy farmers have increased the number of milking cows<sup>1,2)</sup> and the time per milking, the working hours of milking workers have increased accordingly. As a result, it has become important for

each dairy farm to consider improving the labor efficiency of milking workers while maintaining the performance of their milking cows.

Factors that can significantly affect milking time include the milking system, number of milking clusters, number of milking workers, number of cows, milking parlor style, automatic detachment setup, milking procedures, and oxytocin release<sup>2,3)</sup>. Calvo et al.<sup>3)</sup> and Carreira et al.<sup>4)</sup> studied milking time on small dairy farms using different milking systems. Carreira et al.<sup>4)</sup>

北海道デーリイマネージメントサービス有限公司  
〒085-1211 北海道阿寒郡鶴居村下雪裡5-9  
\* 連絡著者：榎谷雅文 (enoki@seagreen.ocn.ne.jp)

concluded that the characteristics of each farm need to be considered independently in order to optimize milking parlor performance and labor efficiency. They found that in some cases, improvements in milking management necessitated increasing the number of dairy workers or resetting milking cow groups.

Nitzan et al.<sup>15)</sup> constructed a simulation model of milking parlors to predict milking parlor performance based on cow herd size, number of milking stalls, worker quality, and cow characteristics. They found that the size and style of milking parlors should be selected according to the milking management conditions at each dairy farm.

Thomas et al.<sup>20)</sup> compared the milking performance of herringbone and parallel parlors and found that the milking performance response of a parlor decreases significantly from 13.3 to 16 milking clusters per milking worker under standard-type milking conditions. They also showed that parlor performance is highly dependent on milking yield, so similar milking yields are needed to compare milking preparation time (MPT) among farms. On the other hand, Enokidani<sup>7)</sup> reported that milking system performance is important for high milk-producing cows and that milking system performance should be capable of achieving a peak milk yield of 8.0 kg/min or higher. The findings of that study showed that high-performance milking systems were capable of milking high milk-producing cows in a short time with a high peak milk yield. However, that study also showed that some cows require longer milking times.

Grant<sup>10)</sup> showed that for every additional hour that a cow rests beyond 7 h, milk yield increases by 0.7-1.0 kg/day. Thus, adequate lying rest and ruminating activity are the basis for maintaining healthy and productive dairy cows. Gomez et al.<sup>9)</sup> showed that

lameness in dairy cows has a significant impact on cow time allocation. Lameness cows take longer to get to the parlor, resulting in an increase in total milking time. They found that lame cows also had shorter lying times, which affected rest time. Thus, for cows that freely spend their daily time allocation (i.e., cow time budget)<sup>10)</sup>, not only the barn environment, but also the human influence on the cows is significant. That study concluded that the treatment of dairy cows has important economic consequences.

The present study focused on MPT in different milking systems; specifically, how milking procedures affect milking time and how milking preparation affects labor efficiency.

## Materials and Methods

### Overview of the dairies investigated in this study

The nine dairies investigated in this study consisted of four tie stall dairies using manual detachers, one tie stall dairy using a Carry Robot system (Orion Machinery Co., Nagano, Japan), three parallel parlors, and one herringbone parlor (Table 1). On inspection day, a survey of MPTs was conducted from the beginning to the end of the milking session. The average days in milk ranges were from 177 to 219 days and no lactation stage bias was observed among the herds.

Three tie stall dairies (A, C and D) and all milking parlor dairies had been consulted by the author on matters related to milking preparation and workflow. Dairy G employed a manualized milking preparation strategy and fixed milking preparation on milking teams.

As in previous studies<sup>1, 2)</sup>, MPTs were measured using videos captured during milking.

Table 1. Information about inspected dairy farms

Dairy farm	Milking system	Number of workers	Number of milking units	Number of milking cows	Milking procedure	Auto detacher	Milking times/day	Coaching	Note
A	High line	4	6	60	Individual	No	2	Yes	Hospital cluster
B	High line	2	5	30	Individual	No	2	No	
C	High line	3	4	40	Individual	No	2	Yes	
D	High line	2	4	30	Individual	No	2	Yes	
E	High line	2	12	90	Individual	Yes	2	No & Yes	Carry Robot* 4
F	D10 parallel	4	20	250	Group routine	Yes	2	Yes	
G	D16 parallel	4	32	450	Group routine	Yes	2	Yes	
H	D8 parallel	3	16	220	Group routine	Yes	2	Yes	No crowd gate
I	D8 herringbone	4	16	240	Sequential routine	Yes	3	Yes	Scrubber

\*Carry Robot system: Detaches milking cluster,, moved to next milking location, and connected the milk tube to milk line automatically.

**Comparison of MPTs in various milking systems**

Comparisons of MPTs associated with different milking systems was performed as follows:

1. Comparison of MPTs with and without milking preparation coaching (MPC) in tie stall barns (Dairies A, B, C and D) employing manual detachers
2. Comparison of MPTs for each worker in a tie stall barn (Dairy E) and when using a carry robot system
3. Comparison of MPTs on a parlor milking system (Dairy F) before and after MPC
4. Change in MPTs at Dairy F over several years
5. Comparison of MPTs by worker teams at Dairy G
6. Comparison of MPTs between milking routines at same-sized parlors

**MPC at tie stall and free stall dairies**

The coaching points in a tie stall dairy included the following:

1. Do not perform any other tasks during milking.
2. Ensure that all of the milking implements are fitted to your body.
3. Clean teats for at least 20 seconds.
4. Milking order is based on milking theory.
5. Understand oxytocin and adrenaline theory.
6. All milking preparation process must be performed in one time action at the cow side.
7. Milking preparation begins when the milking unit is brought to the next cow.
8. Understand that the liner is attached to the teats for approximately 6 min before it is detached.

The main points in free stall dairies are as follows:

1. Reduce the possible number of steps required for milking; even if it only one step.
2. Measure each milking preparation time and determine the number of milking cow setting in territory.
3. Reduce the difference in the times that the liner attached between the first and last cows.
4. Ensure that all of the milking implements are fitted to your body.
5. Follow the supervisor’s instructions.
6. Do not perform any other tasks during milking.
7. Handle cows with gentle care.

**Measurement items**

We visited nine dairy farms (A to I) at milking time and measured the MPTs for each milking procedure using video recordings<sup>1,2)</sup>. The survey time was based on parlor milking style and included the working time from the start to the end of each milking session. Work flows at milking time were monitored by the author for consulting purposes.

MPTs do not include the idle time between each preparation step, but the total milking time includes this idle time.

**Difference between parlor milking methods**

The milking routine (Figure 1) can be divided into a territorial milking routine/grouping routine and a sequential milking routine<sup>21)</sup>. The territorial milking routine is a method in which the milking preparation working area is predetermined and a single worker

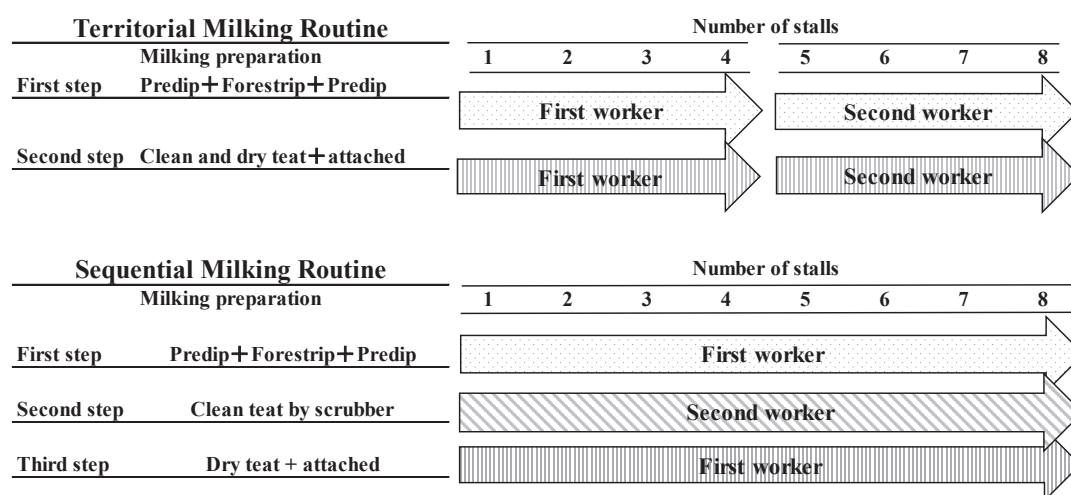


Figure 1. Comparison of territorial and sequential milking routines.

completes the milking within that milking area by themselves. The group milking routine refers to when the territorial milking routine is repeated several times. The sequential milking routine is one in which individual workers perform each milking preparation step in a workflow, with other workers performing different steps of the workflow. The effectiveness of each method depends on the milking management system employed by the dairy farm, but the sequential milking routine is recommended when using teat cleaning equipment (e.g., teat scrubbing device).

The standard total milking time<sup>15, 20)</sup> is generally considered to be four rotations per hour (about 15 min) for parlor milking systems and about 8 min per cow (about 6 min for attached milking time; i.e., duration the liner is attached to the teat) for tie stall milking<sup>9)</sup>.

**Statistical processing**

Times for measured tasks were compared by t-tests according to dairy characteristics, such as MPTs per dairy, MPTs per worker, etc. For comparisons of three or more data groups, Kruskal-Wallis' test was used.

**RESULTS**

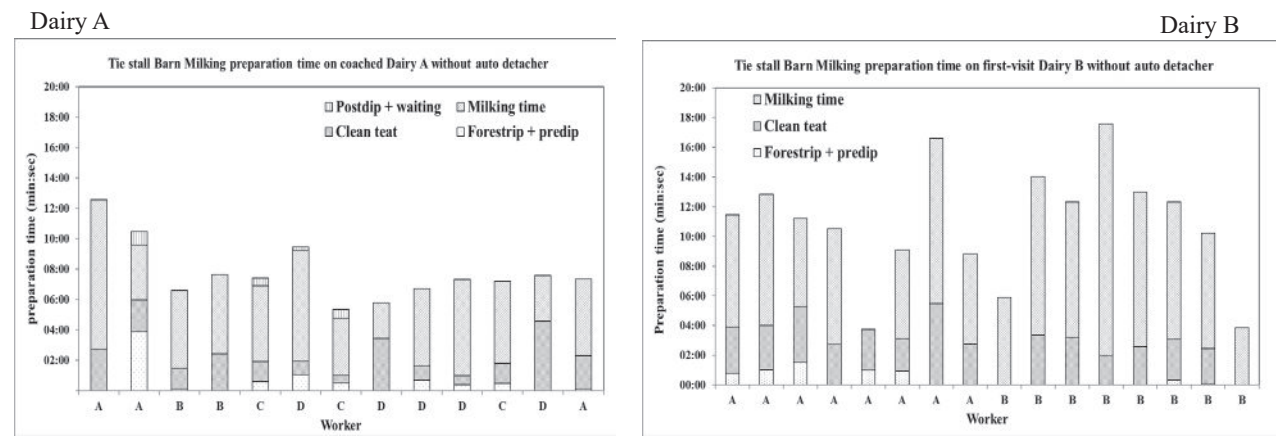
**1. Comparison of MPTs with and without MPC in tie stall barn dairies employing manual detachers**

Figure 2 shows a comparison of MPC efficiency in tie stall barn dairies using manual detachers. Dairies A

had received MPC while Dairy B was a first-visit dairy that had not received any coaching. The average teat cleaning times (min: sec ± standard deviation [SD]) for Dairies A and B were 01:52 ± 01:12 and 02:37 ± 01:18, respectively, with Dairy B taking longer, but not significantly ( $P=0.21$ ). Similarly, the average attached milking time was 05:10 ± 01:56 at Dairy A and significantly longer at 08:23 ± 02:53 at Dairy B ( $P<0.01$ ). The average total milking time per cow was 07:38 ± 01:56 at Dairy A and significantly longer at 10:51 ± 03:57 at Dairy B ( $P<0.05$ ), indicating the effectiveness of MPC for Dairy A.

Figure 3 shows a comparison of MPC efficiency without an automatic detacher device. The average teat cleaning times (min: sec ± SD) for Dairies C and D were 01:22 ± 00:23 and 01:45 ± 00:39, respectively, which was longer for Dairy D, but not significantly ( $P=0.14$ ). The times for attached milking were 05:33 ± 01:22 for Dairy C and 04:21 ± 01:12 for Dairy D, indicating that milking times were longer for Dairy C ( $P=0.07$ ). The average total milking time per cow was 08:04 ± 01:31 at Dairy C and 07:59 ± 00:44 at Dairy D, and there was no significant difference between dairies.

The average total milking time per cow was also the same at about 8 min for the three tie stall dairies where MPC was performed (Dairies A, C, and D); however, at Dairy B where no coaching was performed, the average

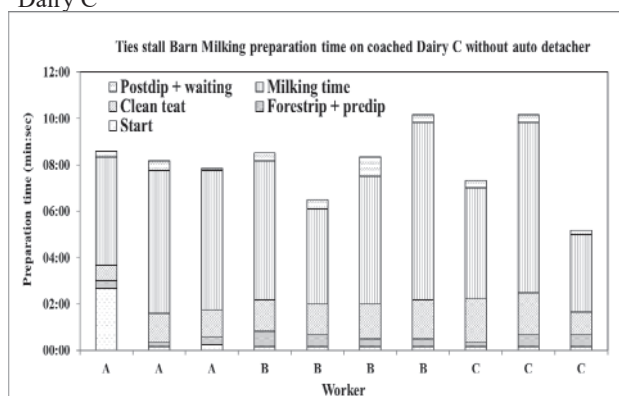


	Time of teat cleaning	Attached on time	Total milking time	Number of cows
Dairy A	01:52 ± 01:12	05:10 ± 01:56	07:38 ± 01:56	13
Dairy B	02:37 ± 01:18	08:23 ± 02:53	10:51 ± 03:57	16
<i>P</i> value	$P=0.21$	$P<0.01$	$P<0.05$	

Dairy A: Coached tie stall dairy, 4 workers, 60 milking cows and 2 milking time per day.  
 Dairy B: First-visit tie stall dairy, 2 workers, 30 milking cows and 2 milking time per day.

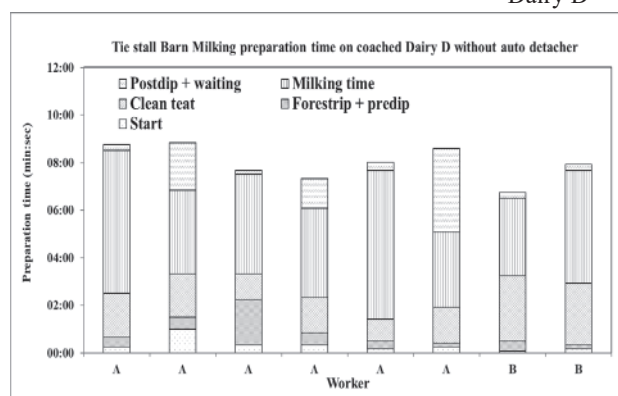
Figure 2. Comparison of total milking time between Dairy A and Dairy B.

Dairy C



4 units, 3 workers, 40 cows, no detacher and coached Dairy

Dairy D



4 units, 2 workers, 30 cows, no detacher and coached Dairy

Unit: min: sec Averages ± SD

	Time of teat cleaning	Attached on time	Total milking time	Number of cows
Dairy C	01:22 ± 00:23	05:33 ± 01:22	08:04 ± 01:31	10
Dairy D	01:45 ± 00:39	04:21 ± 01:12	07:59 ± 00:44	8
<i>P</i> value	<i>P</i> =0.1378	<i>P</i> =0.07	<i>P</i> =0.87	

Dairy C: tie stall dairy, 2 workers, 40 milking cows and 2 milking time per day.  
 Dairy D: tie stall dairy, 2 workers, 30 milking cows and 2 milking time per day.

Figure 3. Comparison of total milking time on coached small tie stall dairy without auto detacher

total milking time was approximately 3 min longer than average total milking time.

### 2. Comparison of MPTs for each worker in a tie stall barn dairy using a Carry Robot system

Figure 4 shows a comparison of MPTs for each worker using a Carry Robot system in a tie stall barn. At Dairy E, which we visited for the first time, we compared the MPTs between workers A and B. The average teat cleaning time (min: sec ± SD) for workers A and B was 01:16 ± 00:29 and 01:08 ± 00:24, respectively, with no significant difference (*P*=0.61). The average time to attach the liner to a teat was 01:48 ± 00:28 for worker A and 01:30 ± 00:25 for worker B, with no significant difference (*P*=0.13). Average milking time was 08:12 ± 03:05 for worker A and 10:05 ± 03:32 for worker B, with no significant difference (*P*=0.2). The average total milking time per cow was 10:00 ± 03:18 for worker A and 11:45 ± 03:45 for worker B, with no significant difference (*P*=0.26). Compared to the tie stall dairies after the MPC, Dairy E had an average total milking time per cow longer than 10 min.

### 3. Comparison of MPTs on a parlor milking system before and after MPC

Figure 5 shows a comparison of MPTs on a parlor milking system before and after MPC at Dairy F.

There was no significant difference in average teat cleaning time (min: sec ± SD) before (02:37 ± 01:36) and after (02:40 ± 00:48) MPC (*P*=0.917). There was no significant difference in the average time to attach the liner to the first cow teat before (02:52 ± 01:14) and after (02:32 ± 00:21) MPC (*P*=0.320). There was no significant difference in the average time to attach the liner to the last cow teat before (03:17 ± 01:53) and after (04:11 ± 01:27) MPC (*P*=0.174). The average cow exit time after milking was significantly longer before the MPC (06:09 ± 01:51) than after the MPC (05:20 ± 01:13) (*P*<0.01). No significant difference was observed in average total milking time before (22:04 ± 04:42) and after (20:54 ± 04:24) MPC (*P*=0.517). At Dairy F, the total milking time was longer than standard time. The reason for this long total milking time was because that sick cow was treated in the parlor during milking. A hospital pen had to be created, but this was not easy.

### 4. Change in MPTs at Dairy F over several years

Figure 6 shows the change in the average total milking time, the minimum total milking time, and the maximum total milking time per parlor rotation at Dairy F over several years. The average total milking time did not decrease over the years, but the

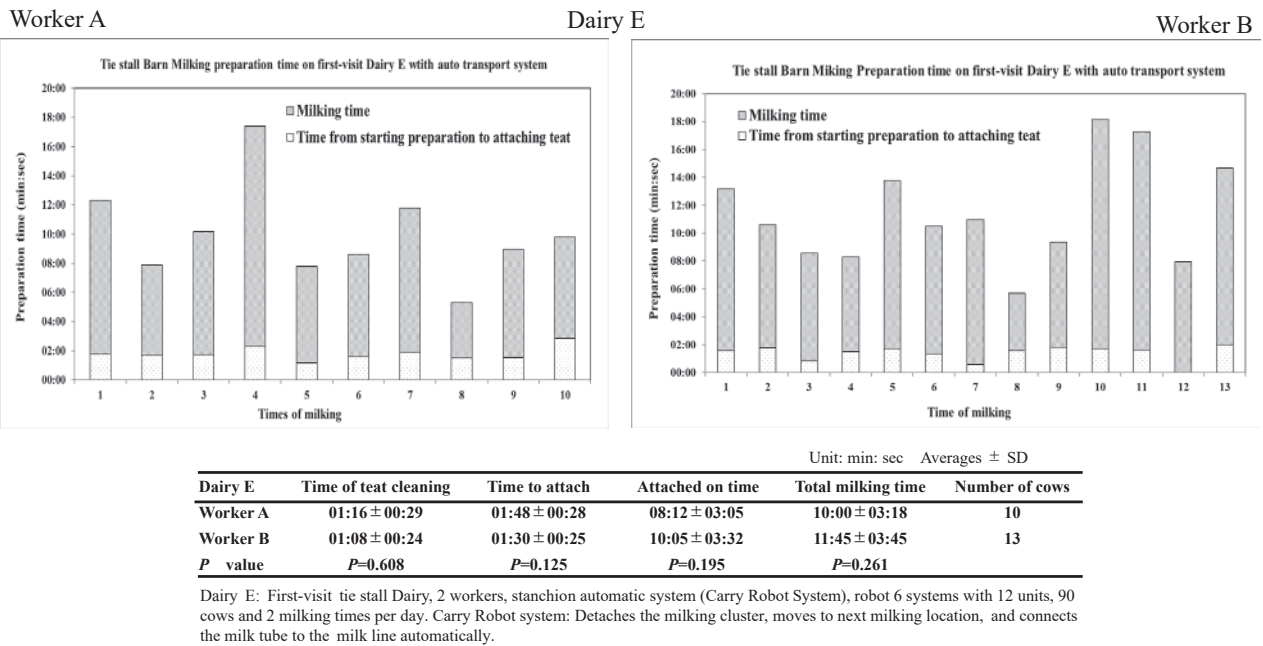


Figure 4. Comparison of total milking time between workers on first-visit tie stall dairy using a Carry Robot System

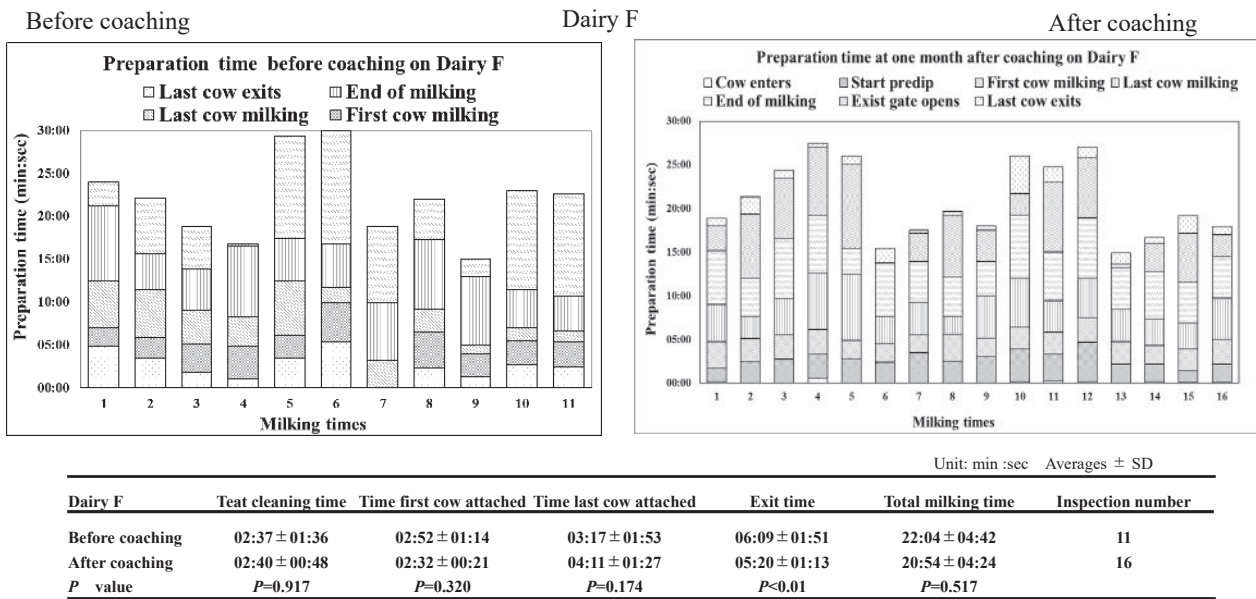


Figure 5. Change in total milking time before and after coaching at Dairy F

maximum average total milking time varied markedly, ranging from 25 to 40 min. The minimum total milking time was 15 min in January 2023.

The author pointed out that the milking time was

too long, but a reduction in this time was not realized because it involves increased investment. However, improvements in milking times were made because milking workers leaved the workforce after a short period at 2022.



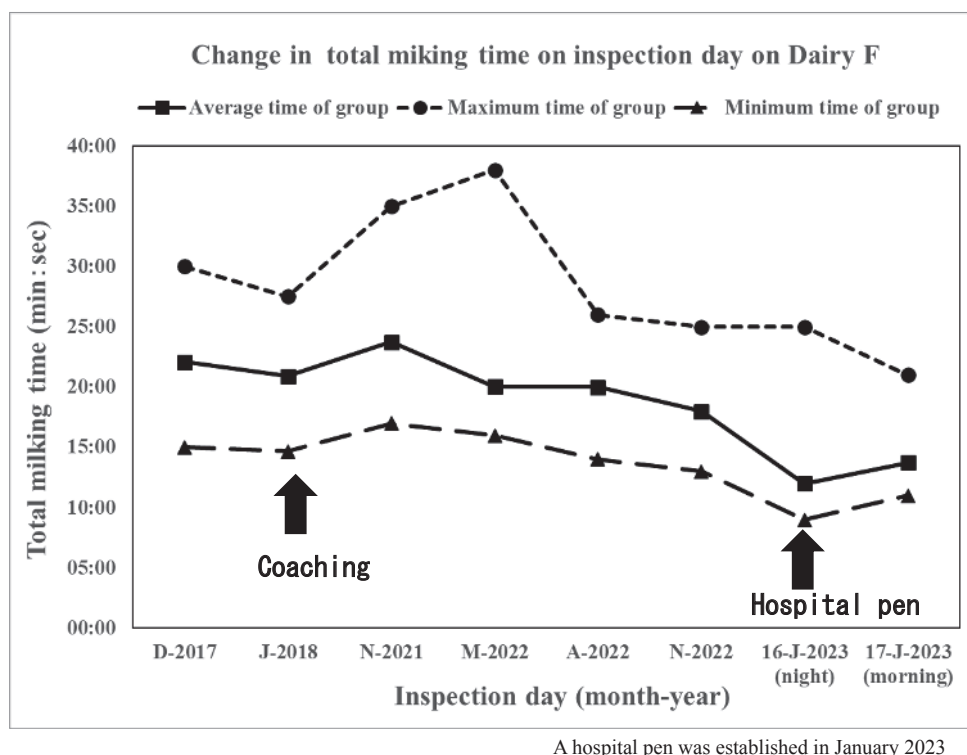


Figure 6. Change in total milking time with milking preparation coaching at Dairy F

## 5. Comparison of worker teams

A comparison of MPTs across the four milking worker teams (A–D) at Dairy G was conducted (Figure 7). No significant differences were observed in MPTs, time to start milking the first cow, time to finish milking the last cow, and exit time throughout the parlor. There was a significant difference in the time taken between teams in the average total milking time ( $P < 0.01$ ). In each team, the average total milking time was less than the standard value of 15 min.

## 6. Comparison of MPTs between milking routines at same-sized parlors

A comparison was performed between the territorial (Dairy H) and sequential (Dairy I) milking routines in same-sized double-8 parlors (Figure 8). The time taken (min: sec  $\pm$  SD) to attach the liner to the first cow teat was significantly longer for the sequential routine (02:15  $\pm$  00:31) than for the territorial routine (01:33  $\pm$  00:30) ( $P < 0.01$ ). However, no significant difference was observed in the average total milking time (time per rotation) between the territorial (12:39  $\pm$  02:35) and sequential (13:01  $\pm$  02:16) routines ( $P = 0.733$ ).

## Discussion

The standard milking time for parlor milking is four rotations per hour (about 15 min)<sup>15, 20</sup> and about 8 min per cow (about 6 min attached milking time) for tie stall milking<sup>5</sup>; these values were used as standard values in the present study.

In studies on MPTs, it has been reported that no fore-stripping during milking preparation results in lower milk yield with poor oxytocin stimulation, and that teat cleaning is not a substitute for fore-stripping stimulation<sup>18, 22, 24</sup>.

Teat cleaning and the relationship between teat cleaning methods, and somatic cell and bacterial counts in bulk tank milk have been reported previously in detail<sup>9</sup>.

Previous studies on oxytocin release<sup>18, 19</sup> have shown that oxytocin lag time is important for milking. Fernandes et al.<sup>8</sup> reported that over-milking by approximately 30 sec at the end of the milking occurs in more than 78% of milking sessions, and that bimodal lactation is due to inadequate teat stimulation and oxytocin lag time. Thus, fore-stripping, teat stimulation (oxytocin release), lag time, and teat cleaning are all essential components of milking preparation.

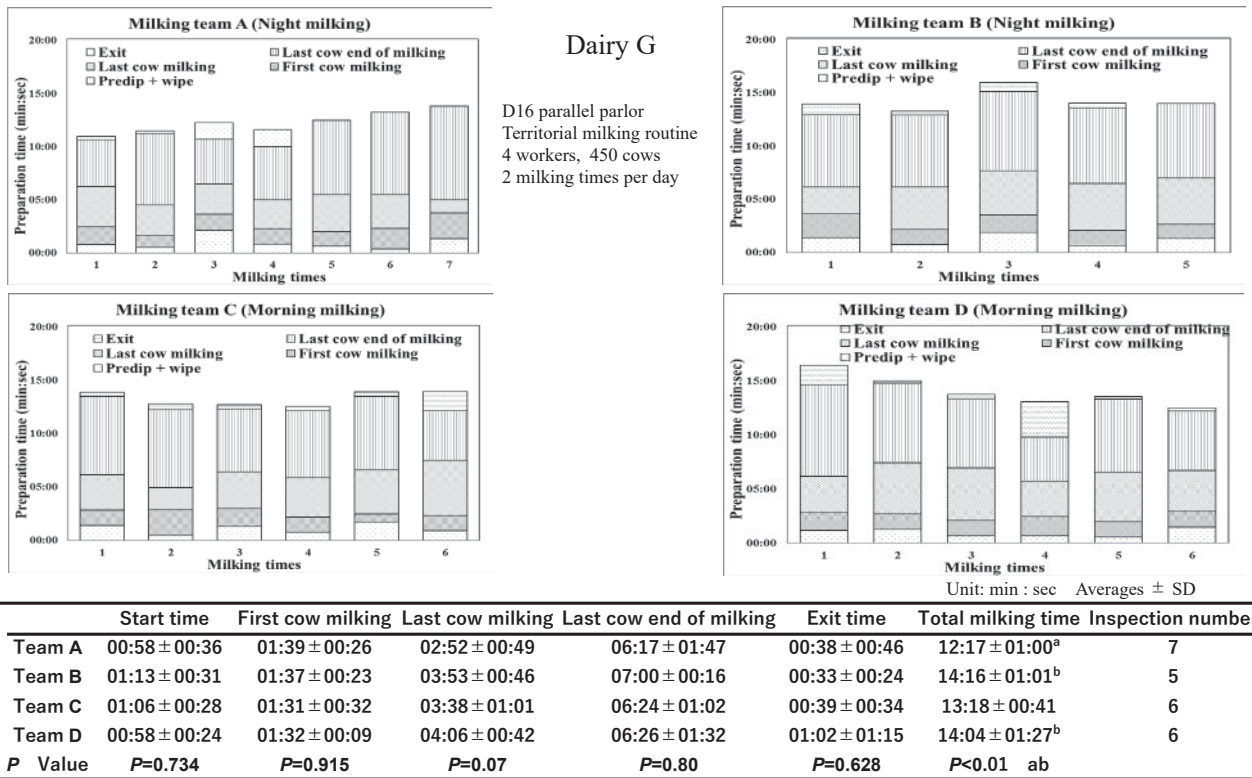
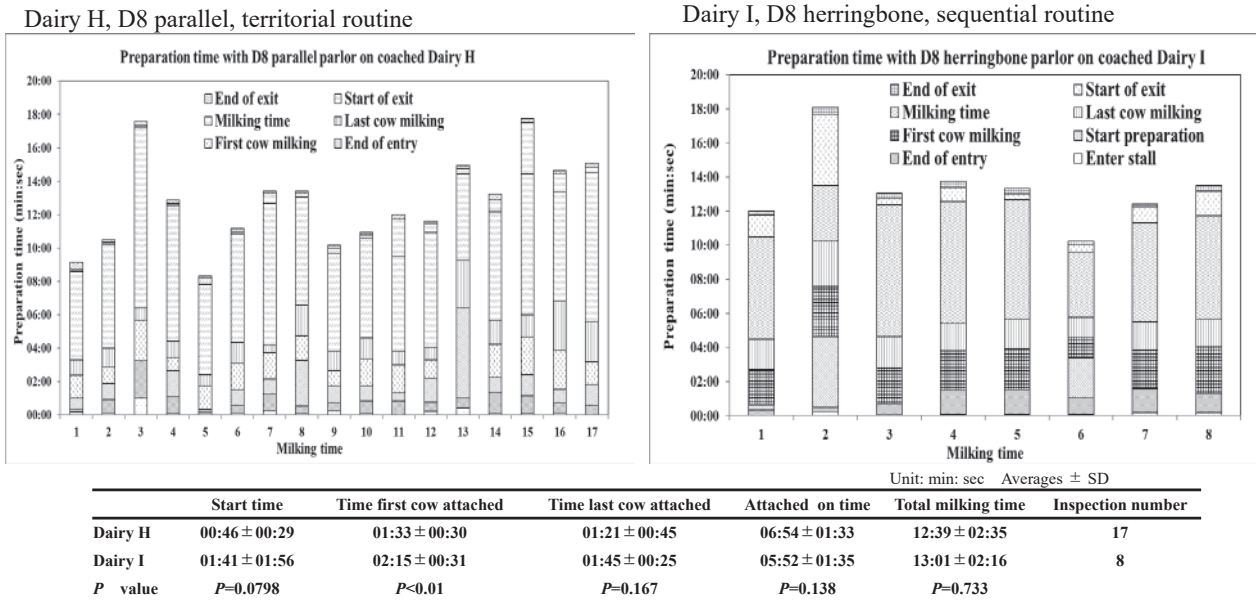


Figure 7. Comparison of total milking time between milking teams at Dairy G.



Dairy H: D8 parallel parlor, territorial routine, 3 workers, 220 cows and no crowd gate  
 Dairy I: D8 herringbone parlor, sequential routine, 3 milking time per day, 4 workers, 240 cows and using scrubber system

Figure 8. Comparison of total milking time between territorial and sequential milking methods at same-sized parlors

Enokidani<sup>7)</sup> reported the duration of attached the liner to teat time for most milking cows is in the 6 min range. However, the findings also showed that some cows have exceptionally long milking times. He also reported a case where the milking system actually improved milking system performance and contributed to improved milk yield and milk quality<sup>6)</sup>.

Proper adjustment of automatic removal cluster settings is also important, with Krawczel et al.<sup>13)</sup> reporting an adjustment milk yield of 0.48 kg/min, and Magliaro et al.<sup>14)</sup> reporting an adjustment milk yield of 0.6 kg/min using a shorter milking time without reducing milking yield. Wieland et al.<sup>23)</sup> recommended limiting manual removal milking to prevent over-milking. Xoán et al.<sup>4)</sup> stated that the relationships among milking workers is important because different farm characteristics require different responses in order to optimize parlor performance and maximize labor efficiency. They mentioned the milking system as another important factor that affects milking time.

As for recommendations regarding dairy workers, Grant<sup>10)</sup> reported that it is important to be gentle with cows and to allow them to rest in order to increase milk production. Hanna et al.<sup>11)</sup> showed the importance of dairy workers in improving milk yields and dairy cow behavior. Thus, dairy workers are also an important factor that affects milking time.

Rasmussen<sup>17)</sup> reported that standard milking preparation practices that ensure cows are treated uniformly at each milking, regardless of lactation stage or milking worker, increased milk yield and milk quality, but did not affect udder health. In addition, the importance of milking the same way irrespective of who performs the milking was highlighted.

Thus, milking time is affected by the relationship between milking system performance and oxytocin release, as well as adjustment between the milking cluster and milking cluster detachment by workers. Oxytocin release, milking cluster detachment, and adjustments are factors that can be controlled by milking workers.

The total milking time per cow at Dairy B, which was visited for the first time, was 3-4 min longer per cow than the milking times per cow at Dairies A, C, and D, which had received MPC. This difference in milking time per cow was due to walking back-and-forth to the milking cart and due to the milking order (using a hospital cluster resulted in the different milking order). These activities delayed the manual removal time of the cluster and resulted in over-

milking.

Staff at Dairy A were working with all of the necessary equipment (e.g., pre- and post-dipper, fore-strip test cup, cotton towels) on their belts and only exited the tie stall after completing all milking preparation tasks for the cows. These improvements significantly enhanced the workers' labor efficiency.

Okada<sup>16)</sup> reported that when the workflow was changed from two workers milking at the same position to separate positions, the total milking time decreased from 96 to 78 min and the number of walking steps decreased from 3239 to 2373 steps compared to conventional workflows. In addition, there was a significant decrease in crouching style, improved milk yield, and improved somatic cell count score. Observation of milking worker behavior (workflow) by others is thus considered to be important for improving labor efficiency.

In Dairies C and D where the workflow of milking preparation was established after MPC, attached on time (i.e., liner attached to teat time) was within the 5-min range and total milking time per cow was as short as 8 min. The milking preparation and workflow based on milking theory markedly reduced milking time.

Dairy E is run by a farmer who uses an automatic transport system, which automatically detaches the milking cluster, moves to the next milking location, and connects the milk tube to the milk line. However, in the actual milking preparation at Dairy E, the automatic detachment system was out of order and most of the milking required manual detachment and over-milking was the norm. As a result, the milking time per cow was over 10 min. Dairy E reported a reduction of approximately 1 hour in milking time (personal communication) when the workflow was changed to a manual detachment process, and when milking preparation, in which all the necessary equipment was on the worker's belt, was terminated in one time action at the cow side.

The fact that milking time was reduced by changing milking workflow and using manual take-off, even though the automatic detacher was out of order, is a significant improvement. It is important to understand the current situation and develop improvement methods.

Dairy F, which used a milking parlor system, was treating sick cows in the parlor in addition to milking, and the milking time per rotation varied markedly, with a standard deviation of more than 4 min for the

average total milking time. Based on records of time per milking rotation over several years at Dairy F, the minimum value was approximately 15 min, which would have been the standard value if there had not been any cows being treated in parlor. However, the maximum value varied markedly and ranged from 25 to 40 min. The maximum, minimum, and average values also decreased to near standard values when a hospital pen was created in January 2023.

In the milking team comparison after MPC, the milking rotation for each team at Dairy G was less than the standard of 15 min. It was found that when the procedures for milking preparation were manualized and fixed, the same MPTs could be achieved as a team.

A comparison of different milking procedures at double-8 milking parlors of the same size showed that there was no difference in total milking time per milking rotation between the territorial and sequential methods, indicating that it is important to follow established milking procedures. The number of scrubber-type teat cleaners was small compared to the number of milking workers, and the sequential method was best suited to using scrubber teat cleaners. In addition, it was demonstrated that the time required to start each milking preparation steps was important. It is therefore important to determine and simulate the time required for each milking preparation steps based on the video recording results.

The findings clearly showed that reductions in milking time and improvements in labor efficiency were more influenced by changes to workflows than by changes in the way that the cows were processed. It is therefore considered necessary to review the milking preparation steps and workflow based on milking theory to improve labor efficiency, reduce milking time, and improve the milking system.

### References

- 1) Armstrong D.V. and Quick A.J. (1986) Time and motion to measure milking parlor performance, *J. Dairy Sci.*, 69, 1169-1177
- 2) Burks T.F, Turner L.W and Crist W.L.(2006) Distribution Fitting and Parameterization of Individual Operator Work Routine Times for Small Dairy Parlors, *J. Dairy Sci.*, 89, 2343-2352
- 3) Calvo A., and Airoidi G.(2020) Sizing Milking Groups in Small Cow Dairies of Mediterranean Countries. *Animals*. 10, 795. doi:10.3390/ani10050795
- 4) Carreira, X.C., Marino, R.A., Perez-Cancio X., et al.(2013) Design of algorithms for evaluating the efficiency of labor and variability of some group milking parlor parameters. *Livestock. Sci.* 151, 252-263. <https://doi.org/10.1016/j.livsci.2012.11.012>
- 5) Enokidani M., Kida K., Miyamoto M. (2013) Relationship between critical control point before milking and raw milk quality on a dairy farm. *J. Jpn. Vet. Med. Assoc.*, 66, 310-316. <https://doi.org/10.12935/jvma.66.310>
- 6) Enokidani M., Kawai K., and Shinozuka Y. (2020) A case study of improving milking cow performance and milking system performance with using a flow simulator. *Anim. Sci. J.*, <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1111/asj.13389>
- 7) Enokidani. M. (2022) Analysis of milking cow performance based on milking styles. *The Japanese Journal of Animal Hygiene*. 48, 1-9.
- 8) Fernandes S., Pereira G., Bexiga R. (2023) Bimodal milk flow and overmilking in dairy cattle: risk factors and consequences. *Journal Pre-proofs*. <https://doi.org/10.1016/j.animal.2023.100716>
- 9) Gomez A, and Cook N.B.(2010) Time budgets of lactating dairy cattle in commercial freestall herds. *J. Dairy Sci.*, 93, 5772-5781, doi: 10.3168/jds.2010-3436
- 10) Grant Rick. (2015) Economic Benefits of Improved Cow Comfort, *Novus international*. <http://www.dairychallenge.org/pdfs/2015>
- 11) Hanna D, Sneddon I.A, Beattie V.E et al. (2006) Effects of the stockperson on dairy cow behavior and milk yield, *Animal Science*, 82, 791 - 797
- 12) Hokkaido Government Report.(2022) Situation of dairy and livestock farming in Hokkaido
- 13) Krawczel P., Ferneborg S., Wiking L., et al.(2017) Milking time and risk of over-milking can be decreased with early teat cup removal based on udder quarter milk flow without loss in milk yield. *J. Dairy Sci.*, 100, 6640-6647. <https://doi.org/10.3168/jds.2016-12312>
- 14) Magliaro A.L and Kensinger R.S.(2005) Automatic cluster remover setting affects milk yield and machine-on time in dairy cows, *J. Dairy Sci.*, 88, 148-153. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(05\)72672-2](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(05)72672-2)
- 15) Nitzan, R., Bruckental I., Shira, B.Z., et al.(2006) Stochastic models for simulating parallel, rotary, and side-opening milking parlors. *J. Dairy Sci.*, 89,

- 4462-4472.  
[https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(06\)72495-X](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(06)72495-X)
- 16) Okada T, (2010), Save the unnecessary working at milking time, (邦題DAROU (駄労)) *Hokkaido Youth Farmers Conference*, proceeding.
- 17) Rasmussen M.D., Horvath Z., Jensen N.E. (1990) Comparison of a Standardized and Variable Milking Routine. *J. Dairy Sci.*, 73, 3472-3480.  
[http://dx.doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(90\)79046-7](http://dx.doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(90)79046-7)
- 18) Rasmussen, M.D., Frimer, E.S., Galton, D.M., et al. (1992) The Influence of Premilking Teat Preparation and Attachment Delay on Milk Yield and Milking Performance. *J. Dairy Sci.*, 75, 2131-2141.  
[https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(92\)77973-9](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(92)77973-9)
- 19) Sagi R, Gorewit R.C, Merrill W.G, et al. (1980) Premilking Stimulation Effects on Milking Performance and Oxytocin and Prolactin Release in Cows. *J. Dairy Sci.*, 63, 800-806
- 20) THOMAS C.V., DeLORENZO M.A., BRAY D.R.,(1996) Factors Affecting the Performance of Simulated Large Herringbone and Parallel Milking Parlors. *J. Dairy Sci.*, 79, 1972-1980.  
[http://dx.doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(96\)76568-2](http://dx.doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(96)76568-2)
- 21) VanBaale M.J, Smith J.F, Armstrong D.V, et al.(2004) MAKING DECISIONS REGARDING THE BALANCE BETWEEN MILK QUALITY, UDDER HEALTH, AND PARLOR THROUGHPUT, *The University of Arizona Cooperative Extension*. 4/2004,1-9.  
<https://extension.arizona.edu/sites/extension.arizona.edu/files/pubs/az1340.pdf>
- 22) Weiss, D., Bruckmaier, R.M. (2005) Optimization of individual prestimulation in dairy cows. *J. Dairy Sci.*, 88, 137-147.  
[https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(05\)72671-0](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(05)72671-0)
- 23) Wieland, M., Nydam, D.V., Virkler, P.D, (2017) A longitudinal field study investigating the association between teat-end shape and two-minute milk yield, milking unit-on time, and time in low flow rate. *Livestock Science*, 205, 88-97.  
<https://doi.org/10.1016/j.livsci.2017.09.011>
- 24) Wieland, M., Virkler, P.D., Weld, A., et al. (2020) The effect of 2 different premilking stimulation regimens, with and without manual forestripping, on teat tissue condition and milking performance in Holstein dairy cows milked 3 times daily. *J. Dairy Sci.*, 103, 9548-9560.  
<https://doi.org/10.3168/jds.2020-18551>

## 要 旨

酪農家の規模拡大により1回毎の搾乳時間は長くなり、それに伴い労働時間と乳牛の拘束時間が長くなる傾向にある。本研究は搾乳準備作業内容毎の所要時間を調査することで、搾乳時間に悪影響を与えている要因を明らかにし、改善策を検討することを目的として行った。

9戸(酪農家AからI)の搾乳条件の異なる酪農家の乳頭清拭時間、正味搾乳時間、1頭毎の総搾乳時間、パーラー1回転毎の時間などを調査した。

搾乳指導後の酪農家Aの正味搾乳時間(分:秒)と1頭毎の総搾乳時間の平均±標準偏差は、それぞれ05:10±01:56, 07:38±01:31, 初立会酪農家Bでは08:23±02:53, 10:51±03:57となり、有意に( $P<0.01$ ,  $P<0.05$ )に酪農家Bは長かった。酪農家Fでは、搾乳指導前後で退出時間は有意に( $P<0.01$ )短くなったが、1回転毎の総搾乳時間は短くはならなかった。酪農家Gの搾乳班毎の比較では、総搾乳時間のみがA班で有意に( $P<0.01$ )短かったが、各計測項目別で有意な差はみられなかった。

初立会酪農家Bの1頭毎の総搾乳時間が長かった原因は搾乳カートまでの往復行動や搾乳手順、搾乳機器の不備にあった。パーラー搾乳では、搾乳以外の作業で搾乳時間が伸びていたため、搾乳群の再編成が望まれた。搾乳手順がマニュアル化固定された場合には、搾乳班毎に同じ搾乳準備作業時間で搾乳できることが判った。搾乳手順法の比較では、共に同じ総搾乳時間となっていた。搾乳準備作業効率には、乳牛側よりも搾乳者側の問題が大きかった。

キーワード: ミルキングパーラー, 搾乳準備作業, 搾乳時間, 搾乳者



## 初産牛の乾乳期短縮が産乳と繁殖性に及ぼす影響

大澤 玲<sup>1)\*</sup>・福井陽士<sup>2)</sup>・榊原裕三<sup>3)</sup>・眞鍋典義<sup>4)</sup>・岩本智恵子<sup>5)</sup>・高松英里奈<sup>6)</sup>・佐沢公子<sup>7)</sup>・森川繁樹<sup>8)</sup>・秋好佑紀<sup>9)</sup>・西村慶子<sup>10)</sup>・三宅 歩<sup>11)</sup>・佐藤 精<sup>12)</sup>・高橋優希<sup>13)</sup>・宮腰雄一<sup>14)</sup>・永墓訓明<sup>15)</sup>・真貝拓三<sup>16)</sup>・伊藤文彰<sup>17)</sup>・野中最子<sup>16)</sup>・田鎖直澄<sup>17)</sup>

### Effect of dry period shortening on lactation performance and reproductive measures in primiparous Holstein cows

Ryo Osawa<sup>1)\*</sup>, Yoji Fukui<sup>2)</sup>, Yuuji Sakakibara<sup>3)</sup>, Noriyoshi Manabe<sup>4)</sup>, Chieko Iwamoto<sup>5)</sup>, Erina Takamatsu<sup>6)</sup>, Kouko Sazawa<sup>7)</sup>, Shigeki Morikawa<sup>8)</sup>, Yuki Akiyoshi<sup>9)</sup>, Keiko Nishimura<sup>10)</sup>, Ayumi Miyake<sup>11)</sup>, Say Sato<sup>12)</sup>, Yuki Takahashi<sup>13)</sup>, Yuichi Miyakoshi<sup>14)</sup>, Noriaki Nagahaka<sup>15)</sup>, Takumi Shinkai<sup>16)</sup>, Fumiaki Itoh<sup>17)</sup>, Itoko Nonaka<sup>16)</sup>, Naozumi Tagusari<sup>17)</sup>

<sup>1)</sup> Saitama Agricultural Technology Research Center

<sup>2)</sup> Chiba Prefectural Livestock Research Center

<sup>3)</sup> Ibaraki Prefectural Livestock Research Center

<sup>4)</sup> Gifu Prefectural Livestock Research Institute

<sup>5)</sup> Toyama Prefectural Agricultural Technology Division

<sup>6)</sup> Fukui Prefectural Tannan Agriculture and Forestry General Office

<sup>7)</sup> Miyagi Prefectural Sendai Livestock Hygiene Service Center

<sup>8)</sup> Tokushima Agriculture, Foresutey, and Fisherles Technology Support Center

<sup>9)</sup> Kumamoto Prefectural Kamimashiki Regional Promotion Bureau

<sup>10)</sup> Miyazaki Prefectural Minaminaka Agriculture and Forestry Promotion Bureau

<sup>11)</sup> Okayama Prefectural Ikasa Livestock Hygiene Service Center

<sup>12)</sup> Aichi Agricultural Research Center

<sup>13)</sup> Iwate Kuji Agricultural Extension Center

<sup>14)</sup> Niigata Agricultural Research Institute, Livestock Research Center

<sup>15)</sup> Mie Prefectural Central Agricultural Extension Center

<sup>16)</sup> Institute of Livestock and Grassland Science, NARO

<sup>17)</sup> Hokkaido Agricultural Research Center, NARO

\* Author for Correspondence: Ryo Osawa (osawa.ryo@pref.saitama.lg.jp)

(2024. 1. 12 受付 / 2024. 2. 3 受理)

<sup>1)</sup> 埼玉県農業技術研究センター

〒360-0203 埼玉県熊谷市須賀広784

<sup>2)</sup> 千葉県畜産総合研究センター

〒289-1113 千葉県八街市八街へ16-1

<sup>3)</sup> 茨城県畜産センター

〒315-0132 茨城県石岡市根小屋1234

<sup>4)</sup> 岐阜県畜産研究所

〒506-0101 岐阜県高山市清見町牧ヶ洞4393-1

<sup>5)</sup> 富山県農林水産部農業技術課

〒930-0004 富山県富山市桜橋通り5-13 富山興銀ビル10階

<sup>6)</sup> 福井県丹南農林総合事務所

〒915-0882 福井県越前市上太田町41-5

<sup>7)</sup> 宮城県仙台家畜保健衛生所

〒983-0832 宮城県仙台市宮城野区安養寺三丁目11-22

<sup>8)</sup> 徳島県農林水産総合技術支援センター

〒771-1310 徳島県板野郡上板町泉谷字砂コウ1

<sup>9)</sup> 熊本県上益城地域振興局

〒861-3206 熊本県上益城郡御船町辺田見396-1

<sup>10)</sup> 宮崎県南那珂農林振興局

〒889-3202 宮崎県日南市南郷町中村甲1232-1

<sup>11)</sup> 岡山県井笠家畜保健衛生所

〒714-1225 岡山県小田郡矢掛町浅海345

<sup>12)</sup> 愛知県農業総合試験場

〒480-1193 愛知県長久手市岩作三ヶ峯1-1

<sup>13)</sup> 岩手県久慈農業改良普及センター

〒028-8042 岩手県久慈市八日町1-1

<sup>14)</sup> 新潟県農業総合研究所畜産研究センター

〒955-0143 新潟県三条市棚鱗178

<sup>15)</sup> 三重県中央農業改良普及センター

〒515-2316 三重県松阪市嬉野川北町530

<sup>16)</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

〒305-0901 茨城県つくば市池の台2

<sup>17)</sup> 国立研究開発法人農業・食品産業技術総合研究機構北海道農業研究センター

〒062-8555 北海道札幌市豊平区羊ヶ丘1

\* 連絡著者：大澤 玲 (osawa.ryo@pref.saitama.lg.jp)

## Summary

This study aimed at determining how dry period shortening (35 days) and daily bypass protein dietary supplementation affect subsequent milk production and reproductive traits in primiparous Holstein cows.

We assigned the cows to one treatment at each station: traditional 60-day dry period, 35-day dry period, and 35-day dry period with bypass protein dietary supplementation (“control”, “shortening”, and “shortening and strengthening” groups,  $n = 39, 32,$  and  $37,$  respectively). We registered significantly ( $P < 0.01$ ) higher milk yield in the control group, although the difference between the treatments was smaller when add extension of milking period. The negative energy balance condition during early lactation was alleviated in the “shortening” and “shortening and strengthening” groups. Milk fat, protein, and solid non-fat percentages were significantly ( $P < 0.05$ ;  $P < 0.01$ ) higher in the “shortening” and “shortening and strengthening” groups. We detected earlier first standing estrus in the “shortening” and “shortening and strengthening” groups. Finally, we observed and pregnancy rate of cumulative was earlier rise in the “shortening and strengthening” group.

In conclusion, the 35-day dry period in primiparous Holstein cows might improve health and reproductive performance through nutritional sufficiency, although it could reduce milk yield. And daily dietary supplementation with bypass protein during a 35-day dry period might enhance health and reproductive performance.

Key words : primiparous Holstein cows, dry period shortening, milk production, reproductive traits

家畜衛生学雑誌 49, 189~198 (2024)

## 序 文

乳牛の乾乳期間は、50から60日程度で最も次産時の乳生産が多いとの報告<sup>4)</sup>から、60日乾乳が慣行的に行われてきた。しかし近年、泌乳持続性の高い乳牛に改良された乳牛では、泌乳末期の乳量が向上するため、搾乳期間を延長し、乾乳期間を短縮する必要が生じている。また、60日乾乳における乾乳期管理は「乾乳前期飼料」と「乾乳後期飼料」による2群管理だが、乾乳期を短縮し「乾乳後期飼料」の1群管理ができれば飼養管理を簡素化することができる。

このような状況の中、乾乳期を30から40日程度に短縮する研究が複数報告されており、3産目を迎える経産牛では乾乳期を40日程度に短縮しても乳生産性に影響しないとの報告<sup>7)</sup>がある一方で、2産目を迎える初産牛では乾乳期を30日程度に短縮すると乳生産性が低下するとの報告<sup>1, 2)</sup>もある。しかし、これらの報告<sup>1, 2)</sup>では、対照区を101および110日乾乳としていることから、一般的な60日乾乳との比較を行うとともに、さらに生産性を高める乾乳期短縮技術の検討が必要である。

初産牛は、2産目を分娩するまでの乾乳期間も成長途上にあるため、乾乳期を短縮することで蛋白質不足が成長の制限要因となり、2産目の乳量低下に影響すると考えられる。そこで、本研究では、対照区を60日乾乳とし、試験区は乾乳期を35日に短縮し、さらに蛋白質供給を強化した乾乳後期飼料のみで管理することで乾乳期管理の省力化を図りつつ生産性を向上させること、健全性

や繁殖性に与える影響を解明することを目的とし、15県の研究機関による共同研究により飼養試験を実施した。

## 材料および方法

### 1. 供試牛および試験期間

埼玉県、千葉県、茨城県、岐阜県、富山県、福井県、宮城県、徳島県、熊本県、宮崎県、岡山県、愛知県、岩手県、新潟県、三重県の公立試験研究機関で飼養されているホルスタイン種の初産牛を用いた。試験は2回に分けて行い、1次試験に52頭、2次試験には56頭を供試した。試験は乾乳60日前または乾乳35日前から、分娩後16週まで飼養試験を行った。繁殖成績は分娩後24週まで観察記録した。

### 2. 試験区の配置および飼養管理

試験区の配置は、乾乳期を60日として、乾乳前期飼料(分娩予定日の60日前から22日前まで)と乾乳後期飼料(分娩予定日の21日前から分娩予定日まで)に分けて管理する「対照区」39頭、乾乳期を35日に短縮して、分娩予定日まで乾乳後期飼料のみで管理する「短縮区」32頭、乾乳期を35日に短縮して、分娩予定日まで乾乳後期飼料に蛋白質の摂取量を成長要求量の2倍摂取できるようにバイパス蛋白質を添加した「短縮強化区」37頭の3区を設定した。試験牛概要は表1のとおりとし、3区の初産月齢、初産の305日乳量に差はなく、個体の能力は同様に配置した。

飼料は、乾草は同一ロット、配合飼料は同一の市販品



表1. 供試牛の概要

	対照区		短縮区		短縮強化区		P	
	平均	SE	平均	SE	平均	SE		
供試頭数 (1次+2次)	18+21		16+16		18+19			
初産月齢	ヶ月	26.0	0.7	26.6	0.7	25.6	0.7	NS
初産305日乳量	kg	8140	225	7892	241	8148	227	NS

表2. 試験で給与した混合飼料 (TMR) の化学成分値 (分析値)

		対照区乾乳前期飼料	対照区乾乳後期飼料 短縮区乾乳期飼料	短縮強化区乾乳期飼料	泌乳期飼料
		TMR原物混合割合%			
	スーダン乾草	80			
	チモシー乾草		70	70	40
	乾乳期市販配合	20	30	24	
	加熱大豆豆粕			6	
	泌乳期市販配合				58.5
	大豆粕油粕				1.5
分析値DM%	可消化養分総量 (TDN)	59.0	66.5	66.5	72.1
	粗蛋白質 (CP)	10.2	12.0	13.4	16.0
	中性デタージェント繊維 (NDF)	51.4	48.7	49.2	37.1
	非繊維性炭水化物 (NFC)	25.1	31.1	29.1	36.5
	粗脂肪 (EE)	1.6	2.1	2.2	2.7

\*可消化養分総量のうち、配合飼料についてはメーカー保証値で計算

を使用した。乾乳期用配合飼料 (ドライアシスト, 全酪連, 東京), 加熱大豆豆粕 (ソイプラス, 全酪連, 東京), 泌乳期用配合飼料 (プラチナムックス, 全酪連, 東京), 大豆粕 (脱脂大豆飼料用フレーク, 昭和産業, 東京) を表2に示す割合で混合し調製した。各給与飼料の分析値は表2のとおりであり, 短縮強化区の乾乳期飼料のCP摂取量は, 対照区乾乳後期飼料および短縮区乾乳期飼料との間に約1.5ポイントの差を設けた。泌乳期飼料は一般的な泌乳期用飼料で試験を行った。

乾乳期はいずれの区も日本飼養標準乳牛 (2006年版) による維持+増体日量0.3 kg+妊娠の可消化養分総量 (TDN)・粗蛋白質 (CP) 要求量の100%を充足するように毎週の体重から算出して給与した。また飼料添加物のビタミンB群プレミックス (100 g当たりビタミンA 50,000 IU, ビタミンD<sub>3</sub> 6,000 IU, ビタミンE 1,000 mg, βカロテン200 mg, ニコチン酸アミド9.0 g, コリン23 g, チアミン1.2 g含有, ナショナル商事, 東京) を一日当たり50 g給与した。分娩後4日間は乾乳期用飼料から泌乳期飼料への切り替え期間とし, 分娩後5日目から泌乳期飼料100%を飽食させ, リン酸カルシウム配合ペレット (アルファリンカルMG50, 小野田化学工業, 東京) を200~300 g, ビタミンB群プレミックスは一日当たり100 g給与した。全期間において飼料給与回数は3回とし, 朝8:30~9:00, 昼13:00~13:30, 夕16:00~16:30とした。

### 3. 測定項目および測定方法

体重, ボディコンディションスコア (BCS) は分娩予定6週間前, 2週間前, 1週間前, 分娩日, 分娩後1週, 3週, 12週, および16週の午後1時に測定した。飼料摂取量は, 給与飼料の残量を計測し, 給与量から差し引いて測定した。養分摂取量は給与飼料の分析値 (粗飼料については全酪連分析値, 配合飼料についてはメーカー保証値) から算出した。乳量は1日2回の搾乳時に計測し, 乳質検査 (脂肪, 無脂固形分, 蛋白質, 乳糖, 尿素態窒素, 体細胞数) は毎週実施した。

繁殖成績は, 発情観察, 直腸検査, および凍結精液 (ホルスタイン種) による人工授精を行い, 分娩後の初回排卵日数, 発情回帰日数, 初回授精までの日数, 受胎の有無, 受胎までに要した日数, 授精回数, 受胎率について調査した。分娩後の初回授精までの日数は, 分娩後概ね45日間を生理的空胎期間とし, 発情が回帰しても授精を回避したため, それ以降で最初の授精までに要した日数とした。受胎の有無は分娩後24週での受胎の有無とし, 受胎率は24週までに受胎した頭数を供試頭数で除したものとした。累計受胎率は, 受胎した牛を週次ごとに累計して積み上げ, 週次ごとの受胎率を算出した値で示した。

血液は, 乾乳予定4週間前, 乾乳直前, 分娩予定5週, 2週, 1週間前, 分娩後1週, 4週, 8週, 12週, 16週の午後1時 (飼料給与の4時間後) にヘパリン入り真空採血管と19G採血針 (ともにTERUMO, 東京) を用

いて頸静脈から採取し、得られた血液サンプルは直ちに氷冷した。遠心分離 (2,000×g, 4°C, 20分) により血漿を分離し、測定まで-30°C以下で保存した。血漿の一部は生化学分析 (グルコース, 尿素窒素 (BUN), 総蛋白 (TP), アルブミン (ALB), 総コレステロール (T-Cho), トリグリセリド (TG), グルタミン酸オキサロ酢酸トランスアミラーゼ (GOT), グルタミン酸ピルビン酸トランスアミラーゼ (GPT), 乳酸脱水素酵素 (LDH), アルカリフォスファターゼ (ALP), ガンマ・グルタミルトランスぺプチダーゼ ( $\gamma$  GTP), カルシウム (Ca), 無機リン (IP)), 遊離脂肪酸 (NEFA)) に供した。分析は第一岸本臨床検査センター (札幌) への委託により血液自動分析装置 (BM-8060; 日本電子, 東京) にて行った。また, 総ケトン体, アセト酢酸, 3-ヒドロキシ酪酸はビー・エム・エル (東京) にて測定した。

ルーメン内容液は乾乳直前, 分娩予定5週, 2週, 1週前, 分娩後1週, 4週, 8週, 12週, 16週の午後1時に金属製またはゴム製のルーメンカテーテル (三紳工業, 神奈川, および富士平工業, 東京) を用いて経口で採取した。採取したルーメン液を3重ガーゼでろ過した後 pH を測定し, 化学性状分析まで-30°Cで保管し

た。アンモニア態窒素濃度は, インドフェノール法により比色定量した (アンモニア-テストワコー, 富士フィルム和光純薬, 大阪)。短鎖脂肪酸 (short-chain fatty acid, SCFA) 濃度は, クロトン酸を内部標準とし, 10%リン酸により除タンパクした試料をガスクロマトグラフ (Hewlett-Packard, 6890, アメリカ, パックドカラム: 信和化工, 5% Thermon 1000 and 0.5% H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> on 80/100 mesh Chromosorb W, 埼玉) を用いて定量した<sup>5)</sup>。

#### 4. 統計処理

統計解析は, SAS (Statistical Analysis System, SAS Institute 1988) の MIXED プロシジャを用いて行った。試験区間の検定は Tukey-kramer 法により行い, それぞれについて危険率5%水準で差があるものを有意差あり, 危険率10%水準で差があるものを傾向ありと判定した。

## 結 果

### 1. 体重, 飼料摂取量

分娩前の各区の体重, BCS, 飼料摂取量を表3に示した。体重, BCSに差はなかったが, 体重/基礎体重 (試

表3. 初産牛の乾乳期短縮が乾乳期の体重および飼料摂取量に及ぼす影響

		対照区		短縮区		短縮強化区		P
		平均	SE	平均	SE	平均	SE	
体重	kg	689	17	676	17	681	17	NS
体重/基礎体重	%	102.5a	0.93	101.7ab	0.92	100.7b	0.9	0.04
BCS	スコア	3.06	0.06	3.11	0.06	3.08	0.06	NS
DMI	kg/日	11.5	0.3	11.2	0.3	11.3	0.3	NS
DMI/BW	%	1.68	0.02	1.66	0.02	1.68	0.02	NS
TDNI	kg/日	7.55	0.22	7.48	0.22	7.52	0.21	NS
TDNI/FS	%	104.7	1.9	104.5	1.9	105.0	1.9	NS
CPI	kg/日	1.41b	0.05	1.43b	0.05	1.53a	0.05	0.01
CPI/FS	%	111.8b	3.4	114.2b	3.3	122.9a	3.3	<0.01

\* a, b: P<0.05

表4. 初産牛の乾乳期短縮が2産目の体重および飼料摂取量に及ぼす影響

		対照区		短縮区		短縮強化区		P
		平均	SE	平均	SE	平均	SE	
体重	kg	617	13	615	13	629	13	NS
体重/基礎体重	%	97.6	1.0	98.4	1.1	98.3	1.0	NS
BCS	スコア	2.80	0.05	2.87	0.05	2.87	0.05	NS
DMI	kg/日	23.9	0.7	23.0	0.7	23.6	0.7	NS
DMI/BW	%	3.89	0.10	3.75	0.10	3.77	0.10	NS
TDNI	kg/日	17.5	0.4	16.6	0.4	17.2	0.4	NS
TDNI/FS	%	98.1	2.7	100.3	2.8	101.7	2.7	NS
TDNI-TDNR	kg/日	-0.79	0.43	-0.21	0.45	0.07	0.44	NS
CPI	kg/日	3.89	0.12	3.72	0.13	3.81	0.13	NS
CPI/FS	%	107.8	4.4	112.6	4.5	112.5	4.5	NS

験開始後3日間の平均体重/乾乳期間中の平均体重)は対照区に比較し短縮強化区で有意 ( $P < 0.05$ ) に低くなった。また、乾物摂取量 (DMI)、体重当たりの乾物摂取量、TDN 摂取量 (TDNI)、TDN 充足率 (TDNI/FS) に差はなかったが、CP 摂取量 (CPI) および CP 充足率 (CPI/FS) は対照区および短縮区に比較し、短縮強化区で有意 ( $P < 0.05$ ) に高くなり、試験設計通り短縮強化区で蛋白摂取量を多く摂取することができた。

分娩後の各区の体重、BCS、飼料摂取量を表4に示した。体重、体重/基礎体重、BCSに差はなかったが、乾乳期から泌乳期にかけての体重減少は短縮強化区で最も小さくなった。また、DMI、体重当たりの乾物摂取量 (DMI/BW)、TDNI、TDNI/FS、CPI および CPI/FS に差はなかった。TDNI - TDN 要求量 (TDNR) は短縮強化区のみプラスの値となった。

分娩後の TDNI - TDNR の推移を図1に示した。短縮強化区では分娩後8週でプラスに転じ、エネルギーバランスが他の2区に比較して早期に回復した。

## 2. 産乳成績

分娩後16週間の乳量の推移について図2に、その他産乳成績について表5に示した。乳量は対照区に比較して

短縮区および短縮強化区で低く推移し、平均乳量は有意 ( $P < 0.01$ ) に低く、乳脂補正乳量および固形物補正乳量についても有意 ( $P < 0.05$ ) に低くなった。一方で、乳脂率は対照区に比較して短縮区および短縮強化区で有意 ( $P < 0.05$ ) に高く、乳蛋白質率、無脂固形分率も同様に短縮区および短縮強化区で有意 ( $P < 0.01$ ) に高くなり、乳成分が向上した。しかし、短縮区と短縮強化区とも対照区に比較して無脂固形分量が有意 ( $P < 0.05$ ) に低くなり、乳糖量も有意 ( $P < 0.01$ ) に低くなった。乳中尿素窒素 (MUN) は各区で差はなく、体細胞数も各区で差はなかった。

今回、短縮区と短縮強化区において16週間の飼養試験実施中の乳量は対照区に比較して低くなったが、試験前後の各試験場の通常管理状態での乾乳期短縮による搾乳延長分の乳量と2産目実乳量を表6に示した。同一の飼料による管理ではないため参考の値ではあるが、搾乳延長分の乳量を合計した場合においては、各区の有意差はなくなり、2産目実乳量では対照区と短縮強化区が同等 ( $P < 0.05$ ) となった。

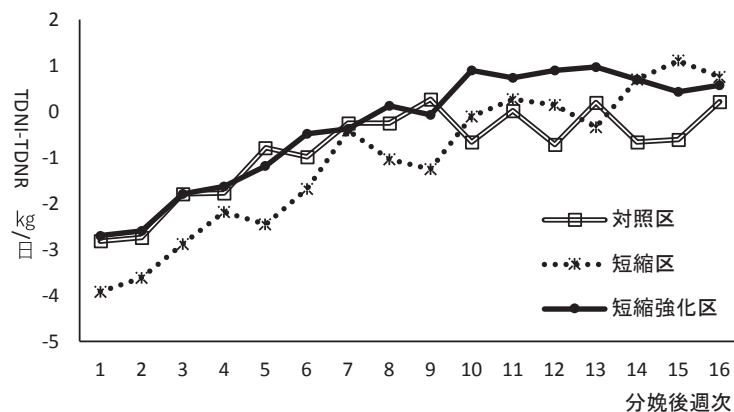


図1. TDNI-TDNRの推移

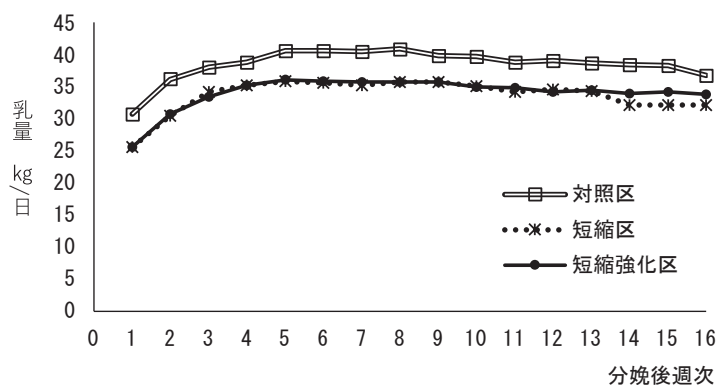


図2. 乳量の推移

表5. 初産牛の乾乳期短縮が2産目の産乳成績に及ぼす影響

		対照区		短縮区		短縮強化区		P
		平均	SE	平均	SE	平均	SE	
平均乳量	kg/day	38.6a	1.1	33.8b	1.2	34.2b	1.2	<0.01
平均FCM	kg/day	36.9a	1.3	33.4b	1.3	34.0b	1.3	0.01
平均SCM	kg/day	36.2a	1.2	33.1b	1.3	33.6ab	1.3	0.02
乳脂率	%	3.75b	0.12	4.00a	0.12	4.06a	0.12	0.02
乳脂量	kg/日	1.44	0.06	1.33	0.06	1.36	0.06	NS
乳蛋白質率	%	3.02b	0.04	3.25a	0.04	3.24a	0.04	<0.01
乳蛋白質量	kg/日	1.16	0.04	1.09	0.04	1.10	0.04	NS
無脂固形分率	%	8.46b	0.05	8.72a	0.05	8.74a	0.05	<0.01
無脂固形分量	kg/日	3.26a	0.10	2.94b	0.10	2.98b	0.10	0.01
乳糖	%	4.45	0.02	4.48	0.03	4.51	0.03	NS
乳糖量	kg/日	1.72a	0.05	1.52b	0.05	1.55b	0.05	<0.01
牛乳生産効率	%	40.1	1.1	38.3	1.2	37.9	1.1	NS
MUN含量	mg/dL	13.1	0.7	12.7	0.8	13.2	0.8	NS
体細胞数	千/mL	114.3	57.4	217.1	60.7	116.9	58.9	NS
リニアスコア		1.20	0.33	1.46	0.35	1.28	0.34	NS

\* a, b:  $P < 0.05$ 

表6. 初産次搾乳延長分を加味した乳生産量

		対照区		短縮区		短縮強化区		P
		平均	SE	平均	SE	平均	SE	
搾乳延長分乳量①	kg/25日/頭	-	-	490	30	483	29	NS
試験期乳量②	kg/16週/頭	4314a	130	3738b	141	3878b	136	<0.01
①+②		4317	136	4218	147	4360	142	NS
2産目実乳量③	kg/280~305日/頭	9666a	344	8499b	382	8931ab	359	0.02
①+③		9669	348	8989	386	9413	363	NS

\* a, b:  $P < 0.05$ 

表7. 初産牛の乾乳期短縮が2産目の繁殖成績に及ぼす影響

		対照区		短縮区		短縮強化区		P
		平均	SE	平均	SE	平均	SE	
乾乳期間	日	58.3a	1.1	33.7b	1.2	35.2b	1.1	<0.01
妊娠期間	日	277.7	1.0	279.2	1.1	280.3	1.1	NS
分娩時月齢	ヶ月	40.2	0.8	41.0	0.8	39.4	0.8	NS
分娩難易度	スコア	1.62a	0.17	1.24b	0.18	1.55ab	0.18	0.07
子牛体重	kg	43.2	1.1	41.4	1.2	42.2	1.2	NS
初回排卵日数	日	48.6++	5.8	34.8	6.2	34.3+	5.9	0.07
発情回帰日数	日	83.1a	8.2	57.4b	8.5	54.4b	8.3	<0.01
初回授精日数	日	94.7a	6.3	73.1b	6.8	74.0b	6.5	<0.01
受胎までの日数 (172日内)	日	110.9	11.0	109.2	11.0	92.5	10.1	0.21
授精回数	回	2.35	0.31	2.19	0.30	1.96	0.32	0.51
授精回数 (172日内)	回	2.06	0.31	2.04	0.32	1.77	0.28	0.613
期間内受胎牛	%	48.6		56.7		64.7		

\* a, b:  $P < 0.05$  ++, +:  $P < 0.1$ 

### 3. 繁殖成績

繁殖成績を表7に示した。初回排卵日数は対照区に比較して短縮強化区で短くなる傾向 ( $P < 0.1$ ) が認められ、発情回帰日数および初回授精日数は対照区に比較し

て短縮区および短縮強化区で有意 ( $P < 0.01$ ) に短くなった。また、短縮強化区で受胎までの日数が対照区と比較して18日程度短縮し、試験期間内の受胎率も高くなった。図3に示した累計受胎率の推移では、短縮強化

区では分娩後6週から立ち上がりはじめ、他の2区に比較して早期に受胎率が高まった。

#### 4. 血液性状

分娩後の血中の総ケトン体濃度の推移について図4に示した。血液成分では、総ケトン体は分娩4週後に短縮区で対照区に比較して有意 ( $P < 0.05$ ) に低い値を示し、3-ヒドロキシ酪酸においても分娩後4週に対照区1,267  $\mu\text{mol/L}$ に比較して短縮区で780  $\mu\text{mol/L}$ となり有

意 ( $P < 0.05$ ) に低い値となった。

分娩後の血中のグルコース濃度の推移について図5に示した。分娩4週後において、短縮区、短縮強化区で対照区と比較して有意 ( $P < 0.05$ ) に高くなった。

血中のBUN濃度を図6に示した。短縮強化区では、分娩前2週および1週において他の2区と比較して有意 ( $P < 0.05$ ) に高くなった。その他の血液生化学成分については各区間に差はなかった。

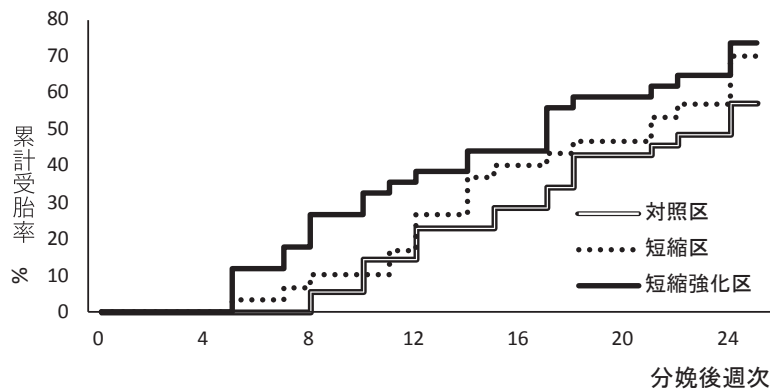


図3. 累計受胎率の推移

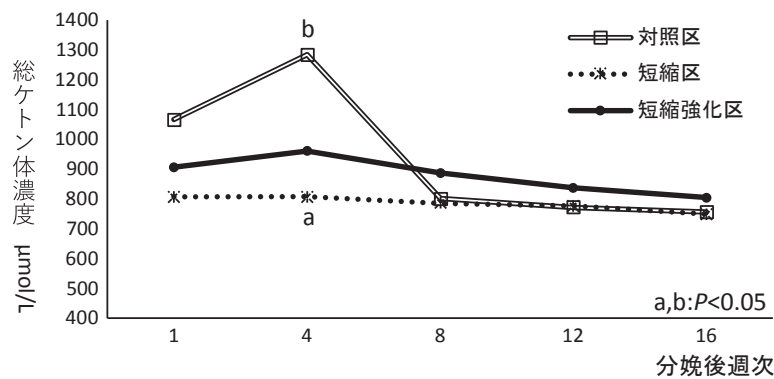


図4. 分娩後の血漿中総ケトン体濃度の推移

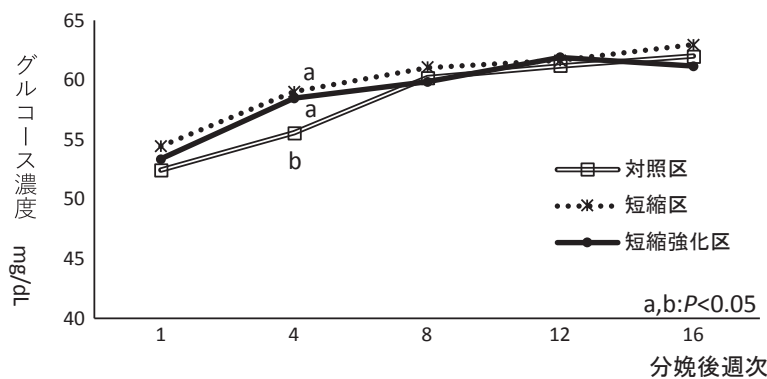


図5. 分娩後の血漿中グルコース濃度の推移

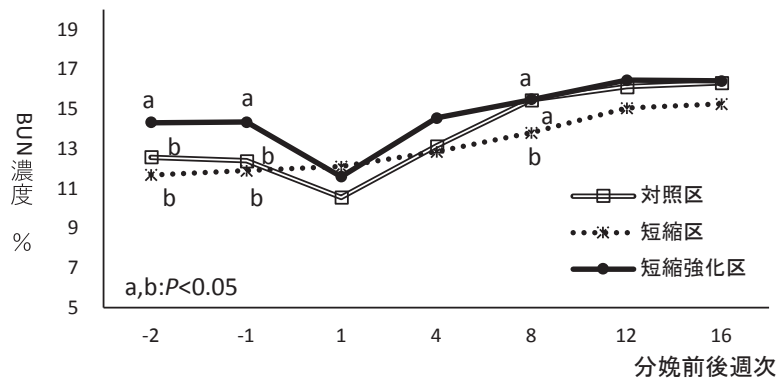


図6. 分娩後の血漿中BUN濃度の推移

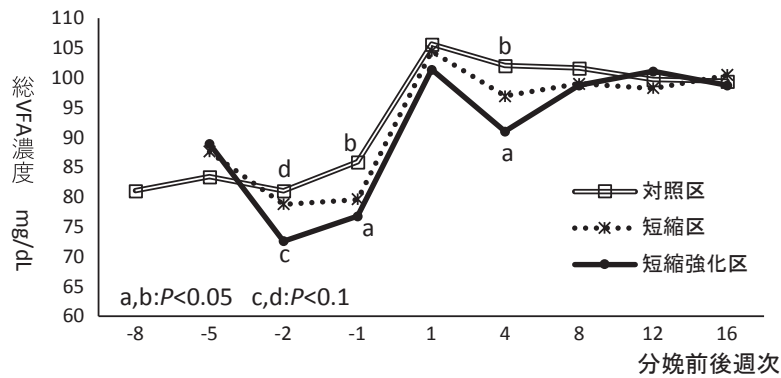


図7. 分娩後のルーメン内容液の総VFA濃度の推移

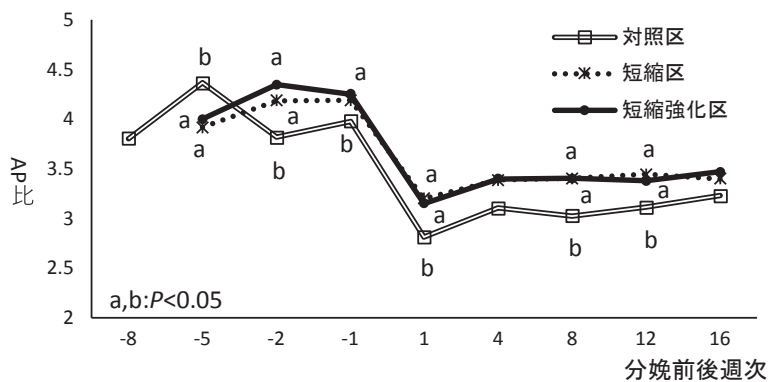


図8. 分娩前後のルーメン内容液のAP比の推移

5. ルーメン内容液性状

ルーメン内容液中の総VFA濃度を図7に示した。総VFA濃度は、分娩前1週および分娩後4週で短縮強化区が対照区に比較して有意 ( $P < 0.05$ ) に低くなった。

ルーメン内容液の酢酸：プロピオン酸比 (AP比) の推移を図8に示した。AP比は全ての区で分娩前に比較して分娩後に下がったが、分娩後1週、8週および12週

において対照区は他の2区に比較して有意 ( $P < 0.05$ ) に低く推移した。

ルーメン内容液中のアンモニア態窒素濃度の推移を図9に示した。アンモニア態窒素は分娩前1週および2週において短縮強化区で短縮区に比較して高い傾向 ( $P < 0.1$ ) が認められた。

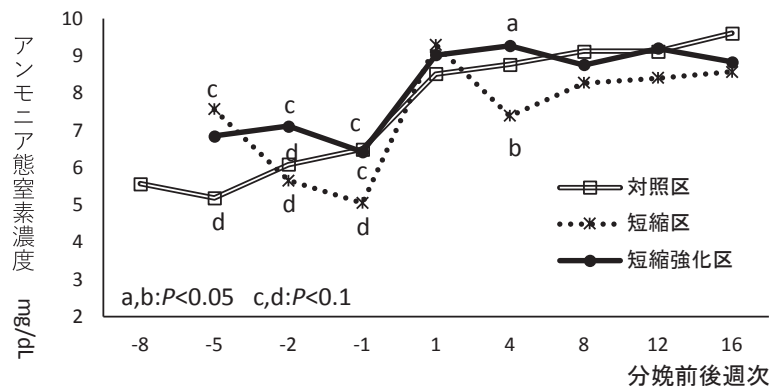


図9. 分娩前後のルーメン内容液のアンモニア態窒素濃度の推移

## 考 察

短縮区、短縮強化区では、対照区と比較して泌乳期の乾物摂取量に差はなかったが、乳量は対照区と比較して低く推移し、分娩後16週間の乳量は減少した。これは、初産～2産間の乾乳期を30日に短縮した場合に乳量が減少するとの中村らの報告<sup>1, 2)</sup>と同様だった。乳生産性の低下を最小限とするため、乾乳期を30から35日に伸ばし乾乳期に蛋白質供給を強化したが乳生産性の向上効果は認められなかった。これは、ルーメンの発酵パターンが異なっていたことが要因として考えられ、AP比が分娩後1週、8週および12週において対照区は他の2区と比較して有意 ( $P < 0.05$ ) に低く推移し、プロピオン酸型の発酵となっていた。一方で、短縮区、短縮強化区は酢酸型発酵を示し、短縮強化区では総VFAも対照区より有意 ( $P < 0.05$ ) に低くなり、このことが乳量の低下に影響したと考えられた。このことは、生産性向上の観点からは望ましい状況ではないが、乳量が低く抑えられた影響により、TDNI - TDNRが短縮区、短縮強化区ともに対照区と比較して早期にプラスに転じた。

このため、繁殖成績では、短縮区、短縮強化区ともに発情回帰日数や初回授精日数が対照区と比較して早まったが、初回排卵日数と累計受胎率の立ち上がりの早期化は短縮強化区のみで見られた。このことは、乾乳期間55日の牛群と34日の牛群を比較した場合に、初回排卵日数が34日の牛群で早まったとの報告<sup>6)</sup>と一致している。以上から、今回の試験では、短縮区、短縮強化区における良好な栄養状態が繁殖性の向上につながったと考えられた。短縮強化区の初回排卵日数および累計受胎率の立ち上がり早まった要因としては、乾乳期に蛋白質供給を強化したことにより、乾乳期からの分娩後にかけての体重低下が他の2区と比較して有意差はないものの低く抑えられたことから、給与した蛋白質の体への蓄積により牛体が良好な状態を維持できていたことによると推察された。

血液成分でも、総ケトン体、3-ヒドロキシ酪酸が分娩4週後の短縮区で有意 ( $P < 0.05$ ) に低くなったことから、分娩初期の負のエネルギーバランスからの早期回復を裏付ける結果となった。さらに、分娩後の血中のグルコース濃度が分娩4週後において、短縮区、短縮強化区で対照区と比較して有意に ( $P < 0.05$ ) 高くなり、乾乳期56日に比べ乾乳期を28日に短縮した乳牛で分娩後の血糖値が高い傾向だったとの報告<sup>3, 7)</sup>と同様の結果となったことから、両区の栄養状態が良好であったと考えられた。なお、短縮強化区では、BUNが分娩前2週および1週において他の2区と比較して有意 ( $P < 0.05$ ) に高くなり、乾乳期のバイパス蛋白質給与によるものと考えられた。値は正常の範囲ではあったものの、短縮強化区ではルーメン内容液のアンモニア態窒素濃度が高い傾向 ( $P < 0.1$ ) が認められたことから、設計通りのバイパス率が担保できていない可能性もあり、より無駄のないような飼料設計について再検討する必要があると考えられた。

乳成分では、乳脂率、乳蛋白質率、無脂固形分率が短縮区および短縮強化区で有意 ( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ ) に高まり、乳成分は全体的に向上した。乳量が減少したことから、無脂固形分量、乳糖量は有意 ( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ ) に減少したものの、乳脂量、乳蛋白質量は各区同等となった。乾乳期間を30日とした中村らの報告<sup>1, 2)</sup>では、乳成分のうち乳蛋白質率のみの向上であったことから、乾乳期間35日の設定で乳成分を全体的に向上できる可能性が示唆された。

さらに、短縮区、短縮強化区ともに乾乳期を短縮し搾乳延長した乳量を合わせると対照区と同等の乳量となり、乳量の低下が乳生産性の低下に直結する結果とはならなかった。また、乾乳期35日に設定しても体細胞数に影響がなかったことから、乾乳期の短縮が乳腺細胞の再構築には影響しないと考えられた。

今回の試験では、初産牛を対象とし、乳生産性の低下を最小限とするため、蛋白質供給を強化したが、乳生産

性の向上効果は認められなかった。35日で設定した場合、乾乳期間が20日を切るような試験牛もいたことから、分娩が1週間程度早まることを想定すると42日程度での設定が必要とも考えられた。今後、乳生産性と健全性、繁殖性の両立を目指し、乾乳期飼料の構成、乾乳期間の設定を再検討する必要がある。また、2産以上の経産牛の乾乳期を40日に短縮した試験では、蛋白質だけでなく、TDNの強化も行っている<sup>7)</sup>ことから、2産以上の牛で蛋白質供給のみを乾乳期に強化した場合の乳生産性、健全性、繁殖性への影響も検討する必要がある。

本研究の結論として、ホルスタイン種初産牛の初産から2産間において乾乳期を35日に短縮することは、泌乳初期の乳量が減少し、泌乳初期の負のエネルギーバランス状態を緩和し、健全性および繁殖性を向上させる可能性が示唆された。また、乾乳期を35日とした場合、乾乳後期のみでの1群管理とすることが可能となり、乾乳期管理の省力化が可能となる。さらに、乾乳期を35日するだけでなく、乾乳期飼料のバイパス蛋白質を増給することにより、より健全性や繁殖性が高まる可能性が示唆された。

最後に、本研究は農研機構生研支援センター「革新的技術開発・緊急展開事業（うち人工知能未来農業創造プロジェクト）」の支援を受けて行われた。本研究にご協力いただいた各位に深謝する。

## 引用文献

- 1) 中村正斗, 中島恵一, 高橋雄治 (2011) 乾乳期間短縮が泌乳前期の乳量・乳成分, 血液成分, 疾病発生および繁殖性に及ぼす影響. 日本畜産学会報. 82. 25-34.
- 2) 中村正斗, 中島恵一, 高橋雄治ら (2013) 乾乳期間短縮が次乳期の乳量・乳成分に及ぼす影響. 日本畜産学会報. 84. 349-359
- 3) Rastani,R.R., Grummer,R.R., Bertics,S.J. et al. (2005) Reducing dry period length to simplify feeding transition cows: milk production, energy balance, and metabolic profiles. Journal of Dairy Science 88, 1004-1014
- 4) Schaeffer,L.R., Henderson,C.R., (1972) Effects of

days dry and days open on Holstein milk production. Journal of Dairy Science, 55, 107-112

- 5) Shinkai,T., Enishi,O., Mitsumori,M., et al (2012) Mitigation of methane production from cattle by feeding cashew nut shell liquid. Journal of Dairy Science 95, 5308-5316
- 6) Watter,R.D., Frick,P., wiltbank,M.C., et al. (2009) Effect of dry period Length on reproduction during the subsequent lactation. Journal of Dairy Science 92, 3081-3090
- 7) 山科一樹, 吉村義久, 生田健太郎ら (2012) 乾乳期間の短縮 (40日) が乳牛の泌乳成績, 繁殖成績および健康状態に及ぼす影響. 日本畜産学会報. 83. 363-372.

## 要 旨

ホルスタイン種初産牛の乾乳期35日への短縮と、乾乳期飼料へのバイパス蛋白質添加が、次の乳期の産乳と繁殖性に及ぼす影響を明らかにすることを目的とした試験を実施した。試験区は、慣行的な乾乳期60日の「対照区」39頭、乾乳期を35日に短縮した「短縮区」32頭、乾乳期を35日に短縮し飼料にバイパス蛋白質を添加した「短縮強化区」37頭により行った。

その結果、試験期間である16週間の乳量は短縮区および短縮強化区で減少したが、乾乳期を短縮し搾乳延長した乳量を合わせると試験期間乳量は対照区と同等の乳量となった。また、泌乳初期の負のエネルギーバランス状態を緩和できた。乳成分は短縮区、短縮強化区で乳脂率、乳蛋白質率、無脂固形分率が向上した。繁殖成績は、短縮区、短縮強化区ともに発情回帰日数が早まり、短縮強化区で累計受胎率の立ち上がりが早まった。

以上から、ホルスタイン種初産牛の乾乳期を35日に短縮すると、乳生産量は低下するが、栄養の充足により健全性および繁殖性を向上させる可能性が示唆された。さらに乾乳期にバイパス蛋白質を給与することにより、より健全性や繁殖性が高まる可能性が示唆された。

キーワード：初産 乾乳期短縮 産乳 繁殖



# 埼玉県で発生したH5N1亜型高病原性鳥インフルエンザ発症鶏でみられた多発性壊死性心筋炎

松本裕治<sup>1)\*</sup>, 森谷 翠<sup>1)</sup>, 小泉舜史郎<sup>1)</sup>, 村田拓馬<sup>1)</sup>, 山本 佑<sup>2)</sup>

## Multiple necrotizing myocarditis observed in chickens infected with H5N1 subtype highly pathogenic avian influenza virus in Saitama Prefecture

Yuji Matsumoto<sup>1)\*</sup>, Akira Moriya<sup>1)</sup>, Shunjiro Koizumi<sup>1)</sup>, Takuma Murata<sup>1)</sup>, Yu Yamamoto<sup>2)</sup>

<sup>1)</sup> Saitama Prefectural Chuo Livestock Hygiene Service Center,  
107-1 Besshocho, Kitaku, Saitama, Saitama, 331-0821, Japan

<sup>2)</sup> National Institute of Animal Health, National Agriculture and Food Research Organization  
3-1-5 Kannondai, Tsukuba, Ibaraki 305-0856, Japan

\* Author for Correspondence: Yuji Matsumoto (matsumoto.yuji@pref.saitama.lg.jp)

(2024. 1. 10 受付 / 2024. 2. 4 受理)

### Summary

In December 2021, an outbreak of subtype H5N1 highly pathogenic avian influenza (HPAI) occurred in Saitama Prefecture. An immunochromatographic assay for influenza A virus (IAV) was conducted using two live chickens and eleven dead chickens. Since all the chickens tested positive, two live chickens, five dead chickens, and three cohabiting chickens were used to evaluate the pathogenicity of the disease.

Histopathological examination revealed multiple necrotizing myocarditis with mild to severe lymphocyte and macrophage infiltration in the heart in all autopsied chickens. Immunohistochemical examination using mouse anti-IAV antibodies revealed viral antigens in the nuclei and cytoplasm of cardiomyocytes consistent with necrotic foci in the heart, but no viral antigens were detected in systemic vascular endothelial cells. Genes specific to H5 IAV were detected by PCR in two live chickens and five dead chickens, and the genes were identified as H5N1 subtype HPAI virus (HPAIV) by genetic analysis.

HPAIV is known to often cause necrosis of the spleen and pancreas and rarely causes myocarditis. In this case, multiple necrotizing myocarditis was seen in all chickens. It has been reported that myocarditis appears about a week after infection, and that viral antigens are detected in vascular endothelial cells 2 to 3 days after infection, and decrease markedly 4 to 5 days after infection. Therefore, this case was considered to have been about a week after infection.

Key words : HPAI, H5N1, Chicken, Multiple necrotizing myocarditis

家畜衛生学雑誌 49, 199~205 (2024)

### 序 文

高病原性鳥インフルエンザ（以下、HPAI）は伝染力が強く高致死性を有する感染症<sup>4)</sup>であり、病理組織学的には主に脾臓や膵臓などの壊死を特徴とする。HPAIウイルス（以下、HPAIV）抗原は感染2～3日後には血管内皮細胞で認められ、4～5日後には顕著に減少<sup>6)</sup>し、その後は脾臓や膵臓等の壊死部でみられる<sup>12)</sup>。

<sup>1)</sup> 埼玉県中央家畜保健衛生所

〒331-0821 埼玉県さいたま市北区别所町107-1

<sup>2)</sup> 国立研究開発法人 農業・食品産業技術総合開発機構 動物衛生研究部門

〒305-0856 茨城県つくば観音台3-1-5

\* 連絡著者：松本裕治 (matsumoto.yuji@pref.saitama.lg.jp)

2021年12月に埼玉県で採卵鶏を飼養する養鶏場で発生したHPAIについて病性鑑定を実施した結果、報告の多い脾臓の壊死等に加えて多発性壊死性心筋炎が認められたので報告する。

## 材料および方法

### 1. 材料

2021年12月、採卵鶏（ボリスブラウン）17,000羽をケージで飼養する養鶏場で、開放鶏舎4棟のうち1棟で鶏舎入口から反対壁側のケージで飼養する鶏が約1週間前から飼料摂取量の低下がみられており、朝確認すると26羽がまとまって死亡していたと畜主から通報があった。家畜防疫員が発生鶏舎に立ち入ったところ、死亡鶏とは別にうずくまり、斜頸を呈している鶏が1羽確認された。高病原性鳥インフルエンザ及び低病原性鳥インフルエンザに関する特定家畜伝染病防疫指針<sup>9)</sup>に則り、死亡鶏11羽およびうずくまり、斜頸を呈している鶏とは別の生鶏2羽を用いたA型インフルエンザの簡易検査を実施したところ、全羽の気管スワブおよび死亡鶏4羽のクロアスワブで陽性反応が認められたため、病性鑑定を実施した。

簡易検査陽性だった178日齢の生鶏2羽（No.1およびNo.2）および死亡鶏5羽（No.3～7）を遺伝子検査、ウイルス分離および病理組織学的検査に供した。さらに、同一鶏舎内で飼養されていた生鶏（簡易検査未実施）3羽（No.8～10）の血清をELISA法による抗体検査に供した（表1）。

### 2. 方法

#### (1) 病理学的検査

No.1～7を剖検し、肝臓、脾臓、腎臓、心臓、肺、脳を採材した。採材した各臓器は10%リン酸緩衝ホルマリン液で固定した。固定した組織はパラフィンワックスに包埋し、厚さ1.5 μmで薄切し、ヘマトキシリン・エオジン（以下、HE）染色を実施した。さらに、No.2につ

いてマウス抗インフルエンザA抗体（NP）（HYB-340-05, Statens Serum Institut社）を用いたA型インフルエンザウイルス（以下、IAV）に対する免疫組織化学的検査（以下、IHC）を国立研究開発法人農業・食品産業技術総合研究機構動物衛生研究部門（以下、動衛研）に依頼した。

#### (2) ウイルス学的検査

気管スワブの乳剤を材料として、遺伝子検査（コンベンショナルPCR, リアルタイムPCR）を実施した。また、PCRが陽性となった検体については動衛研にシーケンス解析を依頼した。

気管スワブの乳剤を材料として、9～11日齢の発育鶏卵に尿膜腔内接種を行い、ウイルス分離を実施した。その他、血清を材料に市販キット（IDEXXインフルエンザAエリーザキット, アイデックスラボラトリーズ株式会社）を用いたELISA法による抗体検査を実施した。

## 結果

### 1. 病理学的検査

#### (1) 剖検所見

剖検に供した全ての鶏で肝臓の退色もしくは暗赤色化が認められた。No.3, 4, 7で脾臓の暗赤色化, No.4, 6で鶏冠先端部のチアノーゼが認められた（表2）。

#### (2) 病理組織学的検査

心臓では多発性壊死性心筋炎が認められ、心筋の壊死巣にはリンパ球やマクロファージの浸潤が認められた（図1）。心筋の壊死は全羽で認められ、特にNo.2, 4, 5で顕著であった。No.2の脳では血管周囲及び髄膜にリンパ球の軽度浸潤がみられた。また、No.5, 6, 7では大脳全体で神経細胞の巣状壊死が散発的にみられた（図2）。

肝臓では広範囲で肝細胞の淡明化がみられた。肝細胞の細胞質には空胞変性がびまん性に認められ、特にNo.3, 4, 6, 7で顕著であった。No.3, 5, 6, 7では脾臓の白脾髄に局限して巣状壊死がみられ、壊死巣は脾臓全体で散発的にみられた（表3）（図3）。

表1. 検体一覧

検体No.	生死	気管	血清	簡易検査	剖検	品種	日齢	備考
1	生	○	○	陽性	○	ボリスブラウン	178日	
2	生	○	○	陽性	○	〃	〃	
3	死	○	-	陽性	○	〃	〃	
4	死	○	-	陽性	○	〃	〃	
5	死	○	-	陽性	○	〃	〃	
6	死	○	-	陽性	○	〃	〃	
7	死	○	-	陽性	○	〃	〃	
8	生	-	○	-	-	〃	〃	同居鶏, 簡易検査未実施
9	生	-	○	-	-	〃	〃	同居鶏, 簡易検査未実施
10	生	-	○	-	-	〃	〃	同居鶏, 簡易検査未実施

- : 採材または検査を実施せず

表2. 剖検所見

	No.1	No.2	No.3	検体番号 No.4	No.5	No.6	No.7
体重	1.16kg	1.52kg	1.52kg	1.42kg	1.22kg	1.48kg	1.61kg
日齢	178日	178日	178日	178日	178日	178日	178日
死殺の別	鑑定殺	鑑定殺	斃死	斃死	斃死	斃死	斃死
外貌所見	著変なし	軽度削瘦	著変なし	鶏冠先端部 チアノーゼ 削瘦	著変なし	鶏冠先端部 チアノーゼ	著変なし
皮下組織	著変なし	著変なし	著変なし	乾燥感あり 頸部～胸部 両内股部： 暗緑色	著変なし	著変なし	著変なし
腹腔	著変なし	著変なし	著変なし	乾燥感あり 気囊： 軽度白色混濁	著変なし	著変なし	著変なし
胸腔	著変なし	著変なし	著変なし	気囊： 軽度白色混濁	著変なし	著変なし	著変なし
肝臓	脆弱，退色 腫大 1mm大 赤色斑散在	退色 赤色斑散在	軽度退色部 散在	辺縁暗赤色 脆弱	暗赤色 脆弱	軽度退色部 散在	軽度退色部 散在
脾臓	著変なし	著変なし	軽度腫大 暗赤色	漿膜面暗赤色 脆弱	著変なし	軽度退色部 散在	軽度腫大 暗赤色
腎臓	著変なし	著変なし	暗色	脆弱	軽度脆弱	著変なし	暗色
心臓	著変なし	著変なし	軽度退色	心囊： 軽度肥厚	著変なし	著変なし	軽度退色 心尖部： 結合織増生
肺	著変なし	著変なし	暗色	胸腔面灰色	著変なし	著変なし	軽度退色
中枢神経系	NT	NT	NT	脆弱	著変なし	著変なし	NT
消化器系	NT	NT	胃：著変なし 腸：軽度退色	NT	NT	NT	胃：著変なし 腸：軽度退色
その他	NT	卵巣・卵管： 未発達	卵巣・卵管： 未発達	F囊なし 卵巣・卵管： 未発達	NT	NT	卵巣・卵管： 未発達

※NT：検査せず

### (3) 免疫組織化学的検査

IHCでは、心臓の壊死巣の心筋細胞（図4）、脳の神経細胞やグリア細胞、髄膜細胞にIAV抗原が認められた（図5，6）。また、腎臓の髄質および皮質の尿細管上皮細胞，気管の気管上皮細胞，肺の気管支上皮細胞でIAV抗原が検出された。血管内皮細胞やその他の諸臓器においてIAV抗原は認められなかった。

## 2. ウイルス学的検査

遺伝子検査では、コンベンショナルPCR，リアルタイムPCRともに全羽でH5亜型のIAV特異的遺伝子が検出され，動衛研で実施されたシーケン解析の結果，H5N1亜型のHPAIVと同定された。ウイルス分離では，接種後36時間の検卵で鶏胚の死亡が確認された。尿膜腔液を用いた赤血球凝集試験をマイクロプレート法にて実施したところ，分離を実施した全ての検体で赤血球凝集性が確認され，HA価は512HA/50 μLもしくは1024HA/50 μL以上だった。ELISA法による抗体検査ではNo.1およびNo.9が陽性と判定された。

## 考 察

今回，剖検した鶏全羽で壊死性心筋炎が認められた。HPAIVによる心筋炎の報告は少ないが，心筋の壊死はHPAIV感染後3日程で出現し，心筋炎は感染後1週間程で出現したという報告がある<sup>15)</sup>。本症例では主に心臓

および脳にウイルス抗原が分布し，脾臓ではウイルス抗原が検出されなかった。過去の報告事例と抗原分布が異なった理由として，HPAIVの組織親和性やポリスブラウンのHPAIVに対する品種特異性の関与が示唆された<sup>1, 3, 7)</sup>。

また，No.2のIHCでは全身の血管内皮細胞でウイルス抗原が認められなかった。HPAIVは感染後4～5日後に血管内皮細胞で顕著に減少する<sup>6)</sup>ことから本症例の発症鶏は立ち入り時点で感染から少なくとも1週間程度経過していたと推察した。

今回分離されたHPAIVは遺伝的背景から2020-2021年欧州H5N8グループ（以下，20E）に分類される<sup>11)</sup>。同じく20Eに分類されるA/chicken/Kagoshima/21A6T/2021（H5N1）の50%鶏致死量は $10^4.5$ EID<sub>50</sub>，平均死亡日数は3.3日，死亡率は100%であり， $10^4$ ， $10^5$ および $10^6$ EID<sub>50</sub>のウイルスをそれぞれ鶏5羽に接種したところ， $10^6$ EID<sub>50</sub>では接種後6日， $10^5$ EID<sub>50</sub>では9日で全羽の死亡が確認され， $10^4$ EID<sub>50</sub>では感染が成立しなかった<sup>14)</sup>。以上のことから，感染時のウイルス暴露量が低下すると感染してから死亡までの期間が長くなる，もしくは感染が成立しないと考えられる。また，同ウイルスを用いた同居鶏への伝播試験では，同居鶏の死亡率が50%だった<sup>14)</sup>。日本で2020年から2022年に分離された他のHPAIVを用いた伝播試験での死亡率と比較しても低値<sup>10, 13, 14)</sup>だったことから，今回分離されたウイルスも感染鶏から排泄される

表3. 病理組織学的所見

部位	組織変化	検体番号						
		No.1	No.2	No.3	No.4	No.5	No.6	No.7
肝臓	うっ血・死後変化	+	+	+++	+++	+	+++	+++
	肝細胞 淡明化・空胞変性	++	+	+++	+++	-	+++	+++
	肝三つ組周囲 リンパ球浸潤	++	+	++	-	++	-	+
	偽好酸球浸潤	±	+	+	-	+	-	+
動脈・中心静脈周囲	リンパ球浸潤	+	+	++	-	+	-	++
	うっ血・死後変化	+	++	+++	++	+	++	++
脾臓	リンパ小節消失	+	+	+	+	+	++	++
	壊死	-	±	+++	±	+	++	+
肝臓	ヘモジデリン貪食マクロファージ浸潤	-	++	+	++	+++	+	±
	球菌塊 (死後増殖)	-	-	-	-	-	-	++
腎臓	うっ血・死後変化	++	+++	++	++	+++	+++	++
	間質 リンパ球浸潤	+	-	-	-	-	-	-
肝臓	球菌塊 (死後増殖)	-	-	-	-	-	-	+
	左心・右心共通 うっ血・死後変化	-	-	+	+	+	+	+
心臓	左心 巣状壊死	-	++	+	+	++	+	-
	壊死巣周囲 リンパ球・マクロファージ浸潤	-	++	+	+	++	+	-
心臓	心内膜 ムコ多糖様物沈着	-	+	+	-	-	-	-
	右心 巣状壊死	+	+++	++	+++	+++	+	+
心臓	壊死巣周囲 リンパ球・マクロファージ浸潤	+	+++	++	+++	+++	+	+
	心内膜 ムコ多糖様物沈着	-	-	++	-	+	-	-
心臓	心室中隔 巣状壊死	+	++	+	+	++	++	++
	壊死巣周囲 リンパ球・マクロファージ浸潤	+	++	+	+	++	++	+
心臓	心内膜 ムコ多糖様物沈着	-	+++	-	-	-	-	-
	うっ血・死後変化	++	++	+++	++	++	++	++
肺臓	肺泡中隔 肥厚	+	±	++	±	-	±	+
	リンパ球・マクロファージ浸潤	+	+	++	+	-	-	+
肺臓	小葉間結合織 一部壊死	+	±	-	-	-	-	+
	偽好酸球・リンパ球浸潤	+	-	++	-	+	±	+
肺臓	炎症細胞退廃物貯留 (壊死周辺部)	++	-	-	-	-	-	-
	気管支壁 リンパ球浸潤	+	-	++	+	+	-	+
肺臓	旁気管支内 異物	-	-	-	-	++	-	-
	死後変化	-	-	±	±	±	+	±
中枢神経系	髄膜 リンパ球・マクロファージ浸潤	+	+	+	+	+	+	+
	大脳 皮質 微小壊死	-	±	±	-	+	+	+
中枢神経系	乏血性変化	-	-	+	-	+	±	±
	リンパ球・偽好酸球の 囲管性細胞浸潤	-	+	-	+	-	+	-
中枢神経系	髄質 微小壊死	-	-	±	±	+	+	+
	小脳 顆粒細胞層 微小壊死	NT	NT	NT	NT	±	NT	NT
消化器系		NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT
その他	気管 うっ血	-	+	NT	NT	NT	NT	NT
	上皮層肥厚、リンパ球浸潤	+	+	NT	NT	NT	NT	NT
その他	肉冠 真皮表在層 リンパ球・偽好酸球浸潤	NT	NT	NT	+	NT	++	NT

※NT: 検査せず, -: 著変なし, ±: わずか, +: 軽度, ++: 中程度, +++: 重度

ウイルス量が少ない可能性が考えられた。以上のことから、本症例は感染鶏のウイルス排泄量が少なかったことで同居鶏のウイルス暴露量が減少したために感染から死亡までに1週間程度要したと推察された。

また、低力価のHPAIVを接種した感染実験では、死亡および病変形成は認められないが、中咽頭および総排泄腔のスワブからウイルスが検出された<sup>2)</sup>ことから、ウイルス暴露量が少ないと顕性感染が起こる可能性が示唆されている。本症例では過去の発生事例でみられなかった抗体陽性の鶏が複数羽確認されているが、これは

感染時のウイルス暴露量が少なかったことで抗体陽性となる期間まで生存していたことによると推察した。実際、抗体陽性のNo.1は抗体陰性のNo.2~7に比べ、全身の病変形成が軽度であった。

2016年~2017年に国内で分離されたH5N6亜型のHPAIVを用いた感染実験では、ウイルス接種後14日間生存した鶏の血清を用いたELISA法による抗体検査で陽性が認められている<sup>8)</sup>。H7N9亜型のIAVを用いた感染実験では感染後9日に実施したHI抗体検査で陽性が確認されている<sup>5)</sup>。ウイルスの株や病原性、検査法の違

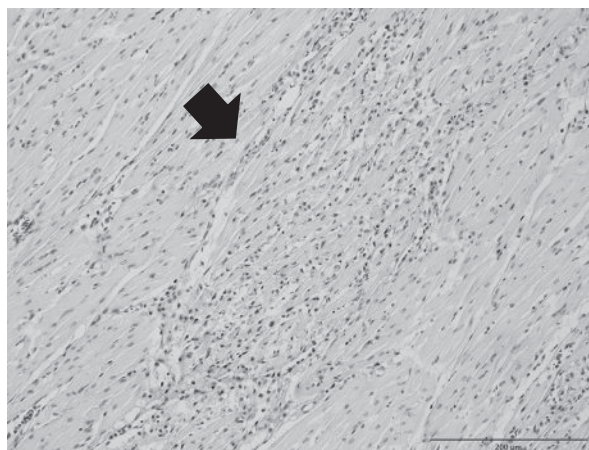


図1. 鶏No.1の心臓

心筋細胞の壊死，壊死巣にリンパ球およびマクロファージの浸潤（矢印）が認められた．HE染色，Bar = 200 μm.

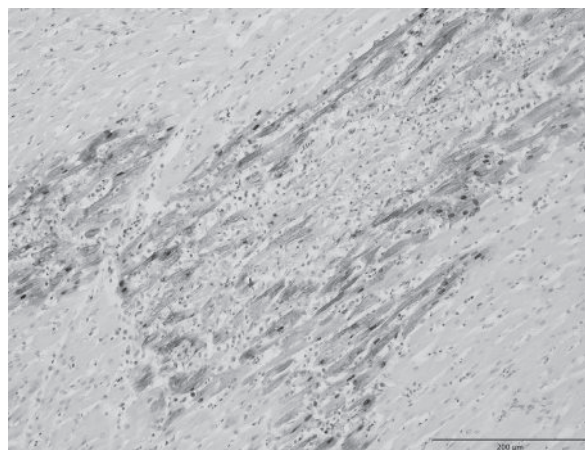


図4. 鶏No.1の心臓

心臓の壊死巣に一致して心筋細胞の核および細胞質にウイルス抗原（濃いグレー部分）が認められた．図1の連続切片．IHC，Bar = 200 μm.

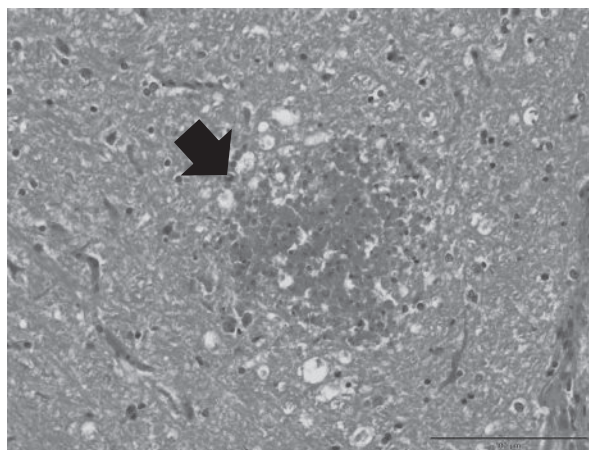


図2. 鶏No.7の脳

脳全体で神経細胞の巣状壊死（矢印）が散発的に認められた．HE染色，Bar = 100 μm.



図5. 鶏No.1の脳

脳でびまん性にウイルス抗原（濃いグレー部分）が認められた．IHC，ルーベ像．

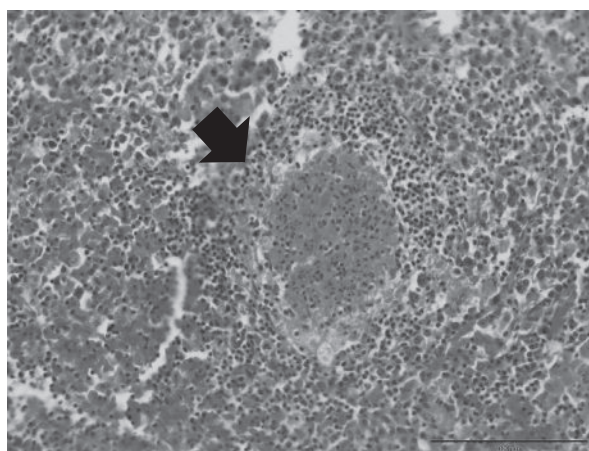


図3. 鶏No.7の脾臓

脾臓の白脾髄に局限して巣状壊死（矢印）が散発的に認められた．HE染色，Bar = 100 μm.

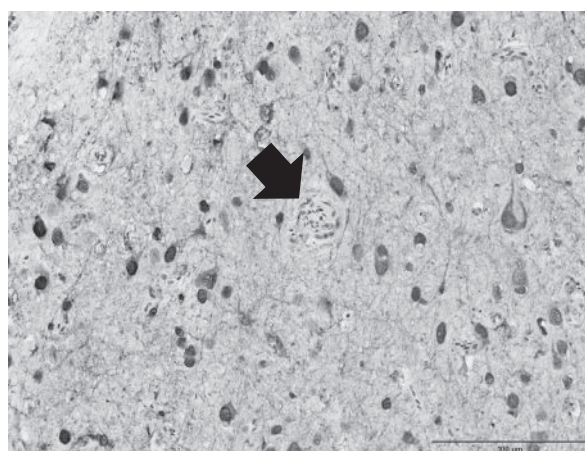


図6. 鶏No.1の脳

脳の神経細胞，グリア細胞等でウイルス抗原（濃いグレー部分）が認められた．血管内皮細胞（矢印）ではウイルス抗原が認められない．IHC，Bar = 100 μm.

いも考慮する必要があるが、これらの報告からHPAIVの感染後9日頃には抗体が認められる可能性がある。前述のとおり本症例でみられた壊死性心筋炎は感染から1週間程度で出現する<sup>15)</sup>ことから、本症例は感染から7～9日程度経過していた可能性が考えられた。実際に農場では通報の約1週間前に鶏の飼料摂取量の低下が確認されていたことから、死亡羽数増加だけでなく僅かな異常も見逃さず、速やかに通報することが必要だと考えられた。

本症例でみられた多発性壊死性心筋炎は鶏のHPAIでは稀な組織所見であり、抗体陽性の個体が複数羽認められた。HPAIの経過や病変は様々な要因で多様化する可能性があり、今後も注視していく必要がある。

### 引用文献

- 1) Acland, H.M., Silverman-Bachin, L.A., Eckroade, R.J. (1984) Lesions in Broiler and Layer Chickens in an Outbreak of Highly Pathogenic Avian Influenza Virus Infection. *Veterinary Pathology*. Volume 21, Issue 6, 564-569.
- 2) Chaves, A.J., Busquets, N., Campos, N., et al. (2011) Pathogenesis of highly pathogenic avian influenza A virus (H7N1) infection in chickens inoculated with three different doses. *Avian Pathology*, Volume 40, Issue 2 (2011), 163-72.
- 3) González, R.S., Ramis, A., Nofrarías, M., et al. (2020) Pathobiology of the highly pathogenic avian influenza viruses H7N1 and H5N8 in different chicken breeds and role of Mx 2032 G/A polymorphism in infection outcome. *Veterinary Research*. 51, 113.
- 4) 伊藤壽啓 (2011) 高病原性鳥インフルエンザ 明石博臣ら (編) 動物の感染症 (第三版), 近代出版, 203-204.
- 5) Jiao, P., Song, Y., Huang, J., et al. (2018) H7N9 Avian Influenza Virus Is Efficiently Transmissible and Induces an Antibody Response in Chickens. *Front Immunol*. 2018, 9, 789.
- 6) Kobayashi, Y., Horimoto, T., Kawaoka, Y., et al. (1996) Pathological studies of chickens experimentally infected with two highly pathogenic avian influenza viruses. *Avian Pathology*, 25: 2, 285-304.
- 7) Matsuu, A., Kobayashi, T., Patchimasiri, T., et al. (2016) Pathogenicity of Genetically Similar, H5N1 Highly Pathogenic Avian Influenza Virus Strains in Chicken and the Differences in Sensitivity among Different Chicken Breeds. *PLoS One*. 11(4), 10. 1371.
- 8) 農林水産省消費・安全局動物衛生課 (2019) 平成28年度における高病原性鳥インフルエンザの発生に係る疫学調査報告書. 34-35項.  
([https://www.maff.go.jp/j/syouan/douei/tori/H28AI/attach/pdf/h28\\_hpai\\_kokunai-46.pdf](https://www.maff.go.jp/j/syouan/douei/tori/H28AI/attach/pdf/h28_hpai_kokunai-46.pdf))
- 9) 農林水産省消費・安全局動物衛生課 (2021) 高病原性鳥インフルエンザ及び低病原性鳥インフルエンザに関する特定家畜伝染病防疫指針.  
([https://www.maff.go.jp/j/syouan/douei/katiku\\_yobo/k\\_bousi/attach/pdf/index-21.pdf](https://www.maff.go.jp/j/syouan/douei/katiku_yobo/k_bousi/attach/pdf/index-21.pdf))
- 10) 農林水産省消費・安全局動物衛生課 (2021) 令和2年度における高病原性鳥インフルエンザの発生に係る疫学調査報告書. 37項.  
([https://www.maff.go.jp/j/syouan/douei/tori/attach/pdf/r2\\_hpai\\_kokunai-270.pdf](https://www.maff.go.jp/j/syouan/douei/tori/attach/pdf/r2_hpai_kokunai-270.pdf))
- 11) 農林水産省消費・安全局動物衛生課 (2022) 2021年～2022年シーズン高病原性鳥インフルエンザの発生における係る疫学調査報告書. 31-34項.  
([https://www.maff.go.jp/j/syouan/douei/tori/attach/pdf/r3\\_hpai\\_kokunai-199.pdf](https://www.maff.go.jp/j/syouan/douei/tori/attach/pdf/r3_hpai_kokunai-199.pdf))
- 12) 中村菊保 (2015) 高病原性鳥インフルエンザ 林俊春ら (編) 動物病理学各論 (第2版), 文永堂出版, 132.
- 13) Sakuma, S., Tanikawa, T., Tsunekuni, R., et al. (2023) Experimental Infection of Chickens with H5N8 High Pathogenicity Avian Influenza Viruses Isolated in Japan in the Winter of 2020-2021. *Viruses*. Volume15, Issue12.
- 14) Takadate, Y., Tsunekuni, R., Kumagai, A., et al. (2023) Different Infectivity and Transmissibility of H5N8 and H5N1 High Pathogenicity Avian Influenza Viruses Isolated from Chickens in Japan in the 2021/2022 Season. *Viruses*. 2023, 15, 265.
- 15) 谷口稔明 (1984) 家禽ベストの病理学的変化の特徴 鶏病研究会報20巻3号.

### 要 旨

2021年12月、埼玉県でH5N1亜型の高病原性鳥インフルエンザ (HPAI) が発生した。生鶏2羽及び死亡鶏11羽を用いてA型インフルエンザウイルス (IAV) の簡易検査を実施した。全羽で陽性反応が認められたため生鶏2羽及び死亡鶏5羽、同居鶏3羽 (血清) を用いて病性鑑定を実施した。

病理組織学的検査では、剖検した全羽において心臓で軽度～重度のリンパ球及びマクロファージの浸潤を伴う多発性壊死性心筋炎が認められた。マウス抗IAV抗体を用いた免疫組織化学的検査では、心臓の壊死巣に一致して心筋細胞の核と細胞質にウイルス抗原が検出され、全身の血管内皮細胞でウイルス抗原は検出されなかった。ウイルス学的検査では、生鶏2羽及び死亡鶏5羽からH5亜型の高病原性鳥インフルエンザウイルス特異的

遺伝子が検出され、遺伝子解析によりH5N1亜型と同定された。

HPAIは脾臓の壊死等を主とした報告が多く、心筋炎の報告は少ない。本症例は軽度～重度のリンパ球及びマクロファージの浸潤を伴う多発性壊死性心筋炎が全羽で認められた。心筋炎は感染後1週間程度で出現し、ウイルス抗原は血管内皮細胞では感染後2～3日で認めら

れ、感染後4～5日で顕著に減少するという報告があることから、本症例は感染から1週間程度経過していたと考えられた。これは、ウイルス株の特性や鶏の品種に起因した可能性が考えられた。

キーワード：高病原性鳥インフルエンザ，H5N1亜型，採卵鶏，多発性壊死性心筋炎





# 第49巻 総目次

## 第49巻 第1号 2023

〈技術資料〉

NPO法人獣医系大学間獣医学教育支援機構の成り立ちとその取り組み  
—戦後78年間における獣医学教育改革と改善の歴史を振り返る—

..... 高井 伸二 ..... 1~19

### 日本家畜衛生学会第97回大会 要旨集

〈令和4年度家畜衛生学雑誌論文賞授賞講演要旨〉

「乳清を用いた *Mycoplasma bovis* の早期診断法の確立と SNP 解析による薬剤感受性試験の有用性 (原著)」の  
令和4年度家畜衛生学雑誌論文賞受賞にあたって

..... 佐藤福太郎・齋藤 亮太 ..... 23~24

〈家畜衛生シンポジウム講演要旨〉

シンポジウム趣旨説明 「高病原性鳥インフルエンザ～養鶏・渡り鳥・希少動物～」

..... 末吉 益雄 ..... 25

近年の国内外でのHPAIの発生状況 ..... 内田 裕子 ..... 27~31

養鶏場および鶏舎への野生小動物侵入状況 ..... 山口 剛士 ..... 33~36

希少種保護と家畜衛生の両立への取り組み ..... 小澤 真 ..... 37~41

渡り鳥によるウイルスの持ち込み状況を踏まえたHPAI発生リスクマップの作成について

..... 大沼 学 ..... 43~45

HPAI発生の影響による経済損失 ..... 蒔田 浩平 ..... 47~49

会員へのおしらせ ..... 51

家畜衛生学雑誌投稿規程 ..... 52~53

日本家畜衛生学会会則 ..... 54~55

## 第49巻 第2号 2023

〈原著〉

ホルスタイン種搾乳牛の乳房の深さと身体モニタリング値, 乳量および乳質との関係

..... 久枝啓一・前谷布美・後藤 聡・井上陽一 ..... 65~70

牛ルーメン内容物発電槽由来の電力で作製した微酸性次亜塩素酸水の消毒効果

..... 松澤直樹・塩原綾早・中村南斗・西森朝美・

澤田 浩・岡本真理子・高松大輔・宗田吉広 ..... 71~77

会員へのおしらせ ..... 79~93

家畜衛生学雑誌投稿規程 ..... 94~95

日本家畜衛生学会会則 ..... 96~97

第49巻 第3号 2023
---------------

## 〈家畜衛生フォーラム2023要旨集〉

企画説明 ..... 上塚浩司・末吉益雄 ..... 107

## 基調講演

JANIS (院内感染対策サーベイランス) ~新アクションプラン~ ..... 菅井基行 ..... 109~110

JVARM (動物由来薬剤耐性菌モニタリング) ~新アクションプラン~ ..... 平岡ゆかり ..... 111~114

## 分野別講演

養豚現場での薬剤耐性の現状と課題, 解決策について ..... 玉村雪乃 ..... 115~118

養鶏現場での薬剤耐性の現状と課題, 解決策について ..... 内田幸治 ..... 119~124

水産分野での薬剤耐性の現状と課題, 解決策について ..... 古下 学 ..... 125~126

畜産環境での薬剤耐性の現状と課題, 解決策について

..... 渡部真文・玉村雪乃・グルゲ キールティ シリ ..... 127~129

## 〈第98回研究発表会要旨集〉

## 牛伝染性リンパ腫ウイルスの新規スクリーニング法の確立及び応用

..... 横山優人・村山カナ・紙透伸治・石田大歩・長井 誠・村上裕信 ..... 134~135

## 牛伝染性リンパ腫ウイルス (BLV) 感染牛における臨床型乳房炎の重篤化リスクが増す

## BLV 遺伝子量の指標設定と経済損失

..... 渡邊あい子・村上裕信・柿沼清市・村尾光輝・大前佳穂里

赤松裕久・瀬戸隆弘・篠塚康典・河合一洋 ..... 136~137

## 牛伝染性リンパ腫ウイルス野生株の伝播性解析

..... 村上裕信・佐藤礼一郎・石田大歩・長井 誠 ..... 138~139

## マイコプラズマ性乳房炎における乳腺組織の炎症応答は乳腺上皮細胞と

単核球の相互作用により増強される ..... 今泉法子・権平 智・杉浦智親・樋口豪紀 ..... 140~141

## マイコプラズマ性乳房炎に対する迅速検査技術の検討

..... 権平 智・今泉法子・佐藤洋輔・丹野悠司・樋口豪紀 ..... 142~143

## アミノ酸がウシ好中球の活性酸素産生能に及ぼす影響

..... 宗片絵里・今泉法子・江口亜矢子・権平 智・樋口豪紀 ..... 144~145

## 飼料用イネとバイパスナイアシンによる泌乳牛の暑熱対策

..... 大澤 玲・福田昌治・上地さり ..... 146~147

## 酪酸菌 NT 株・納豆菌 NT 株及びフェカリス菌 NT 株含有混合飼料の給与が育成豚へ及ぼす影響

..... 久保田修一・三浦大輔・五島可祥・塚原隆充 ..... 148~149

## 食肉製品の腐敗性乳酸菌に対するフェージエンドライシンの抗菌効果

..... 小方雅也・田邊 奏・三嶋 花・内山淳平・田原口智士・水野谷 航・竹田志郎 ..... 150~151

家畜衛生学雑誌投稿規程 ..... 153~154

日本家畜衛生学会会則 ..... 155~156

第49巻 第4号 2024
---------------

〈原著〉

Exploratory study of immunodynamic changes in sows following classical swine fever vaccination  
 …………… Takehito Suzuki, Michiko Noguchi, Yosuke Sasaki, Makoto Nagai, Hiroshi Aoki …………… 165~176

Analysis of milking preparation time based on labor efficiency on Japanese dairy farms  
 …………… Masafumi Enokidani …………… 177~187

初産牛の乾乳期短縮が産乳と繁殖性に及ぼす影響  
 …………… 大澤 玲・福井陽士・榊原裕二・眞鍋典義・岩本智恵子・高松英里奈・佐沢公子・  
 森川繁樹・秋好佑紀・西村慶子・三宅 歩・佐藤 精・高橋優希・  
 宮腰雄一・永墓訓明・真貝拓三・伊藤文彰・野中最子・田鎖直澄 …………… 189~198

埼玉県で発生したH5N1亜型高病原性鳥インフルエンザ発症鶏でみられた多発性壊死性心筋炎  
 …………… 松本裕治・森谷 翠・小泉舜史郎・村田拓馬・山本 佑 …………… 199~205

第49巻 総目次 …………… 207~211

2023年 家畜衛生学雑誌投稿論文査読者への謝辞 …………… 212

会員へのおしらせ …………… 213

家畜衛生学雑誌投稿規程 …………… 214~215

日本家畜衛生学会会則 …………… 216~217

# General Contents of Vol.49

## Vol. 49 No. 1 2023

〈Technical report〉

Establishment and Initiatives of Veterinary Education Support Organization

— A review of the history of improvement of veterinary education in Japan  
for 78 years since the end of World War II —

..... Shinji Takai ..... 1~19

〈Abstracts of JJAHA award lecture on 97th academic meeting〉 ..... 23~24

〈Abstracts of the symposium on 97th academic meeting〉 ..... 25~49

Information for Members ..... 51

Instruction for Authors ..... 52~53

The Regulations of The Japanese Society of Animal Hygiene ..... 54~55

## Vol. 49 No. 2 2023

〈Original report〉

Relationship between udder depth and body monitoring values, milk yield, and milk quality  
in Holstein milking cows

..... Keiichi Hisaeda *et al.* ..... 65~70

Disinfection effect of slightly acidic hypochlorous acid water prepared by  
electricity from bovine rumen microbial fuel cells

..... Naoki Matsuzawa *et al.* ..... 71~77

Information for Members ..... 79~93

Instruction for Authors ..... 94~95

The Regulations of The Japanese Society of Animal Hygiene ..... 96~97

## Vol. 49 No. 3 2023

〈Abstracts of Animal Hygiene Forum 2023〉 ..... 103~129

〈Abstracts of oral presentations on 98th academic meeting〉 ..... 131~151

Instruction for Authors ..... 153~154

The Regulations of The Japanese Society of Animal Hygiene ..... 155~156

**Vol. 49 No. 4 2024**

〈Original report〉

Exploratory study of immunodynamic changes in sows following classical swine fever vaccination ..... Takehito Suzuki, Michiko Noguchi, Yosuke Sasaki, Makoto Nagai, Hiroshi Aoki .....	165~176
Analysis of milking preparation time based on labor efficiency on Japanese dairy farms ..... Masafumi Enokidani .....	177~187
Effect of dry period shortening on lactation performance and reproductive measures in primiparous Holstein cows ..... Ryo Osawa, Yoji Fukui, Yuuji Sakakibara, Noriyoshi Manabe, Chieko Iwamoto, Erina Takamatsu, Kouko Sazawa, Shigeki Morikawa, Yuki Akiyoshi, Keiko Nishimura, Ayumi Miyake, Say Sato, Yuki Takahashi, Yuichi Miyakoshi, Noriaki Nagahaka, Takumi Shinkai, Fumiaki Itoh, Itoko Nonaka, Naozumi Tagusari .....	189~198
Multiple necrotizing myocarditis observed in chickens infected with H5N1 subtype highly pathogenic avian influenza virus in Saitama Prefecture ..... Yuji Matsumoto, Akira Moriya, Shunjiro Koizumi, Takuma Murata, Yu Yamamoto .....	199~205
Contents of Volume 49 .....	207~211
Acknowledgement to the Reviewers .....	212
Information for Members .....	213
Instruction for Authors .....	214~215
The Regulations of The Japanese Society of Animal Hygiene .....	216~217

## 2023年度 家畜衛生学雑誌投稿論文査読者への謝辞

2023年度に家畜衛生学雑誌に投稿された論文については、投稿規程に基づき以下の方々に査読をお願いいたしました。査読をご担当いただきました皆様に深謝申し上げます。

大滝 忠利  
河合 一洋  
北崎 宏平  
桑原 正貴  
齋藤 康倫  
末吉 益雄  
林 智人  
福士 秀人  
福田 昌治  
高井 伸二  
宮崎 茂

(敬称略, 順不同)

## 会員へのおしらせ

### ① 「日本家畜衛生学会第98回大会」開催される

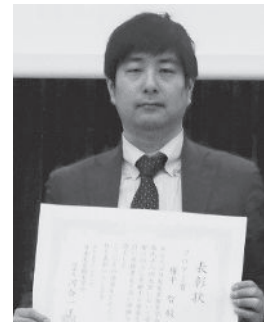
日本家畜衛生学会第98回大会が2023年12月8日（金）9：30より東京都中央区のMeiji Seikaファルマ（株）本社講堂において開催されました。今回は家畜衛生分野の9題の研究発表が行われ、活発な質疑応答がなされました。今回より優秀賞、奨励賞、フロアー賞の3賞が選考されることとなり、優秀賞には村上裕信先生（麻布大学）、奨励賞には今泉法子先生（酪農学園大学）、フロアー賞には権平智先生（酪農学園大学）が選ばれ表彰されました。9題とも優劣のつけ難い素晴らしい発表ばかりでした。研究発表の講演要旨は本誌第49巻3号（2023年12月発行）をご覧ください。



村上 裕信先生(優秀賞)



今泉 法子先生(奨励賞)



権平 智先生(フロアー賞)

### ② 「家畜衛生フォーラム2023」開催される

同日13：00より同じくMeiji Seikaファルマ（株）本社講堂において「家畜衛生フォーラム2023」が開催されました（参加者98名）。今回のフォーラムは、「薬剤耐性菌～人・畜産・水産・環境～」をテーマに共催：（一財）生物科学安全研究所、協力：動物用抗菌剤研究会、後援：農林水産省のもとで開催されました。2つの基調講演と4つの分野別の講演が行われ、薬剤耐性の現況とその課題、解決策について活発な意見交換がなされ、盛会に終了いたしました。フォーラムの講演要旨は本誌第49巻3号（2023年12月発行）をご覧ください。



総合討論の様子



座長：伊藤 貢先生（左）、小林創太先生（右）

## 「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（キーワード）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,  $\mu$ m, nm, kg, g, mg,  $\mu$ g, ng, L, mL,  $\mu$ L, nL, M, mM,  $\mu$ M, %,  $\text{cm}^2$ ,  $\text{m}^3$ , hr, min, sec,  $^{\circ}\text{C}$ , 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) 内田幸治・藤井武・高山公一ら（1991）プロイラーにおける実験的大腸菌症に対するダ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 vegetation. Asian-Australasian Journal of Animal Sciences. 6, 205-209.

電子ジャーナル

- 3) Wilson, D.J., Rood, K.A., Bunnell, 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 : jjah@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。
- 6) 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

# 日本家畜衛生学会会則

## 第一章（総則）

### 第1条

1. 本学会は、日本家畜衛生学会（英文表記：The Japanese Society of Animal Hygiene）（以下、「学会」とする。）と称する。
2. 本学会の設立年月日を2002年7月6日とする。

### 第2条

学会の事務局は、理事長の所属する機関におき、学会の住所は事務局所在地とする。  
事務局は、事務局長、事務局員で構成する。

### 第3条

学会は、家畜衛生とその関連領域における学究の向上を図り、畜産の進歩発展に寄与することを目的とする。

### 第4条

学会は、前条の目的を達成するために、次の事業を行う。

1. 研究発表会及び学術講演会等の開催
2. 学会誌「家畜衛生学雑誌」の発行
3. 学会の発展に貢献した者への表彰
4. その他学会の目的達成のために必要な事業

## 第二章（会員および会費）

### 学会の構成員

#### 第5条

学会の会員は正会員、賛助会員および名誉会員より構成する。

1. 正会員：学会の趣旨に賛同し、会費を納入した個人
2. 賛助会員：学会の趣旨に賛同し、その事業を援助するため、所定の会費を納入した個人又は団体
3. 名誉会員：学会に永年功労があり、総会において承認された個人

#### 第6条

会費は正会員にあっては年額5,000円、賛助会員にあっては1口年額50,000円とし、毎年7月末日までに納入するものとする。

### 会員資格

#### 第7条

学会の会員になろうとする者は、所定の手続を行い、定められた会費を納入すること。

### 会員の義務

#### 第8条

会員は本学会の会則に従い、本学会の運営に協力し、会費を納入する義務を負う。

### 会員の退会・除名

#### 第9条

退会を希望する会員は、理事長に退会する旨を届出ること。

#### 第10条

学会の名誉を傷つけたり、目的に反する行為があった場合、または会費を5年分以上滞納した場合は除名とする。

## 第三章（役員、役員会および委員会）

### 役員および役員会

#### 第11条

本会に次の役員をおく。

理事長	1名
副理事長	1名
理事	適当名
監事	2名

1. 理事は理事長が委嘱し、総会の承認を受ける。
2. 理事は理事会を組織し、理事長を補佐し、学会の運営に関して第4条の事項を行う。
3. 理事の任期は2年とする。但し、再任は妨げない。また任期中に異動等の理由により、理事長が理事の改選が必要と認めた場合は、理事会で協議し改選することができる。

#### 第12条

1. 理事長は、常務理事の互選により選出する。
2. 理事長は、学会を代表し、会務を総理する。
3. 監事は理事の互選により選出し、総会において承認を受ける。
4. 監事は会務と会計を監査する。

#### 第13条

1. 理事長及び副理事長は、理事の互選により選出する。
2. 理事長は、学会を代表し、会務を総理する。
3. 副理事長は理事長を補佐し、理事長に事故ある時はその職務を代行する。
4. 理事長は、理事の中から庶務・会計を担当する事務局担当者（事務局長）を委嘱する。

## 第14条

1. 理事会は理事長が随時招集する。
2. 理事会は理事の過半数の出席をもって成立し、議事は出席者の過半数をもって決定する。

## 委員会

## 第15条

1. 理事長は第4条の事業を達成するため常設の編集委員会、学術企画委員会および広報委員会を設置する。
2. 委員会の委員は、原則として理事長が理事の中から指名する。但し、理事会が必要と認めた場合には会員の中から指名することができる。
3. 委員会の委員長は、委員の互選により選出し、理事長が指名する。
4. その他学会運営企画のための運営委員会を設置する。運営委員会は理事長、副理事長、事務局および常設委員会の委員長で構成する。

## 第四章（総会）

## 第16条

通常総会は毎年1回、理事長が招集する。

## 第17条

理事長が必要と認めた場合は、臨時総会を招集することができる。

## 第18条

総会では次の事項を議決する。

1. 事業計画および事業報告に関する事項
2. 予算および決算に関する事項
3. 会則の改正に関する事項
4. その他、学会の目的を達成するために必要な事項

## 第五章（会計）

## 第19条

学会の経費は会費その他の収入をもって、これにあてる。

## 第20条

会計年度は4月1日より、翌年3月31日までとする。

## 附 則

- (1) この会則は平成14年7月6日より施行する。
- (2) 学会設立時の役員は家畜衛生研究会（以下「研究会」と略す）の役員が、暫定的に就任することとし、理事長は研究会の会長が、常務理事は研究会の幹事が、理事は研究会の評議員が、監事は研究会の監事がそれぞれ就任する。
- (3) この会則は平成15年7月5日に改正し、同日に施行する。
- (4) この会則は平成16年7月3日に改正し、同日に施行する。
- (5) この会則は平成17年7月2日に改正し、同日に施行する。
- (6) この会則は平成21年7月4日に改正し、同日に施行する。
- (7) この会則は平成23年7月2日に改正し、同日に施行する。
- (8) この会則は平成27年7月11日に改正し、同日に施行する。ただし、平成27年度の会費は4,000円とし、平成28年度から会費を5,000円とする。
- (9) この会則は平成28年7月9日に改正し、同日に施行する。
- (10) この会則は2019年7月20日に改正し、同日に施行する。
- (11) この会則は2020年6月30日に改正し、同日に施行する。
- (12) この会則は2021年6月26日に改正し、同日に施行する。
- (13) この会則は2022年6月20日に改正し、同日に施行する。
- (14) この会則は2023年7月1日に改正し、同日に施行する。

## 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）	日本ハム（株）
エランコジャパン（株）	日本全薬工業（株）
（株）科学飼料研究所	（株）微生物化学研究所
共立製薬（株）	フジタ製薬（株）
士別三協（株）	プリマハム（株）
住化エンバイロメンタルサイエンス（株）	ベーリンガーインゲルハイムアニマルヘルス（株）
ゾエティス・ジャパン（株）	明治アニマルヘルス（株）
東亜薬品工業（株）	（株）メディプラス製薬
（一財）日本生物科学研究所	

[2024年3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〉

- 7月 優秀論文賞講演・家畜衛生シンポジウム・教育講演など
- 12月 研究発表会・家畜衛生フォーラム  
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

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 獣医衛生学研究室内  
TEL / FAX : 042-850-2508  
<https://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49巻第4号

令和6年3月20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 獣医衛生学研究室内  
☎ / FAX : 042-850-2508  
ホームページ : <https://www.kachiku-eisei.jp/>  
e-mail : k-eisei@azabu-u.ac.jp

印刷所 振替口座 : 00240-3-43171  
明誠企画株式会社  
〒208-0022 東京都武蔵村山市榎2-25-5  
☎ 042-567-6233 FAX 042-567-6230

令和 年 月 日

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します。

記

フリガナ

氏名：

※賛助会員の方は団体名

所属名称：

部署・役職：

※賛助会員の方は担当者連絡先

連絡先

( 自宅 / 所属 ) 〒

TEL：

e-mail：

( 自宅 / 所属 ) 〒

TEL：

e-mail：

会員の種類： 正会員 ・  賛助会員

学会誌送付先： 自宅住所 ・  所属先住所

( 内にレ点を付して下さい)

(賛助会員の方) 賛助会費 口数： 口, 円

- 入会申込書は必要事項をすべて正確に記入し、e-mail (郵便, FAX) にてご送付下さい。
- 年会費は正会員 (個人会員) 5,000円, 賛助会員 50,000円/口 (1口以上) を下記にお振込下さい。  
ゆうちょ銀行  
店名：〇〇八 (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
- 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 獣医衛生学研究室内 日本家畜衛生学会  
TEL/FAX：042-850-2508 e-mail：k-eisei@azabu-u.ac.jp

令和 年 月 日

日本家畜衛生学会 御中

## 変 更 届

変更手続きを下記の通り致します。

記

フリガナ

○ 氏 名：  
○ 所属名称：  
○ 部 署： 役 職：  
○ 所属住所：〒  
○ TEL： FAX：  
○ e-mail：  
○ 自宅住所：〒  
○ TEL：  
○ e-mail：

○会員の種類：○ 正会員 ・ ○ 賛助会員

○会報送付先：○ 自 宅 ・ ○ 勤務先

全てご記入の上、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 獣医衛生学研究室内  
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：<https://www.kachiku-eisei.jp/>

日本家畜衛生学会 御中

## 家畜衛生学雑誌 団体購読 申込書

貴会へ学会誌の団体購読を下記の通り申し込みます。

記

(フリガナ)

団体名

---

【連絡先】

〒

---

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（1～4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：〇〇八（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ツカイ
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 獣医衛生学研究室内  
日本家畜衛生学会  
TEL/FAX：042-850-2508 e-mail：k-eisei@azabu-u.ac.jp





動物用医薬品

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!!

# ロンテクト®

逆性石鹼製剤で、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



特長

- ★ 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



株式会社 科学飼料研究所

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

動薬部

TEL : 027-347-3223

FAX : 027-347-4577

札幌事業所

TEL : 011-214-3656

東北事業所

TEL : 019-637-6050

関東事業所

TEL : 027-346-9091

北九州事業所

TEL : 096-294-8322

南九州事業所

TEL : 099-482-3044



# MAKE BVD HISTORY

始まる  
BVDコントロールの新時代



PI牛を予防する確かな効果

「胎子への垂直感染の防止」の承認取得 **国内初!**

妊娠牛にも使用できる安全なBVD生ワクチン **国内初!**

EUでのBVD清浄化に貢献した確かな実績



BOVELA

ボベラ®

NEW

動物用医薬品 (劇) 要指示 指定

牛ウイルス性下痢ウイルス  
(N<sup>pro</sup>及びE<sup>ms</sup>遺伝子欠損1型・2型)生ワクチン

Boehringer Ingelheim ペーリンゲインゲルハイム  
アニマルヘルス ジャパン(株)  
東京都品川区大崎2-1-1

ZENOAQ 日本全薬工業株式会社  
福島県郡山市安積町笹川字平ノ上1-1

フロルガンは新たな特長をもつフロルフェニコール製剤です。

meiji



動物用医薬品

要指示 指定

# 劇フロルガン®



- ✓ フロルフェニコール単剤として初の1治療1回投与を実現。
- ✓ フロルガンの製剤設計は主成分フロルフェニコールの特性を活かした、血中濃度が長時間持続する徐放性製剤。
- ✓ フロルフェニコール製剤で初めて、マイコプラズマ・ボビスの承認を取得。
- ✓ 通針性の良い水性懸濁剤。



※本剤は獣医師等の処方箋・指示により使用すべき要指示医薬品です。ご使用の際は製品の添付文書をよくお読みください。

明治アニマルヘルス株式会社  
熊本市北区大窪一丁目6番1号

## 乳房炎にもマルボシル® \*1\*2\*3

meiji

動物用医薬品 要指示医薬品 指定 第二選択薬

### マルボシル® 10%

1mL中 マルボフロキサシン100mg含有



50mL



100mL

動物用医薬品 要指示医薬品 指定 第二選択薬

### マルボシル® 2%

1mL中 マルボフロキサシン20mg含有



100mL

- 静脈内投与(牛)及び筋肉内投与(牛・豚)が可能
- 筋肉内投与部位の局所変性を低減
- 短い使用禁止期間を実現 (使用禁止期間/牛:4日、牛乳:48時間、豚:4日)
- 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(第一選択薬が無効の場合) \*2 静脈内投与のみ \*3 マルボシル10%のみ

明治アニマルヘルス株式会社  
熊本市北区大窪一丁目6番1号

※本剤は獣医師等の処方箋・指示により使用すべき要指示医薬品です。ご使用の際は製品の添付文書をよくお読みください。