



日本獣医師会学会関係情報



日本産業動物獣医学会・日本小動物獣医学会・日本獣医公衆衛生学会

----- 日本獣医師会学会からのお知らせ -----

☆平成26年度日本獣医師会獣医学術学会年次大会（岡山）における発表演題の募集について

平成26年度日本獣医師会獣医学術学会年次大会（岡山）では、発表演題（一般口演、研究報告、地区学会長賞受賞講演）を募集します。

募集内容等は以下のとおりですので、奮ってお申し込みください。

○募集区分：

(1) 一般口演

- ・日本学術会議の協力学術研究団体が主催する学会等において発表されていない未発表の演題を募集します。
- ・発表時間…………… 10分（発表7分、質疑3分）
- ・抄録（講演要旨）本文…………… 1,000字以内

(2) 研究報告

- ・日本学術会議の協力学術研究団体が主催する学会等において既に発表された既発表の演題を募集します（各地区学会において発表された演題は研究報告となります。）
- ・発表時間…………… 10分（発表7分、質疑3分）
- ・抄録（講演要旨）本文…………… 1,000字以内

(3) 地区学会長賞受賞講演

- ・平成26年度獣医学術地区学会長賞を受賞された演題を募集します（1地区・1学会につき4題まで。）
- ・発表時間…………… 12分（発表8分、質疑4分）
- ・抄録（講演要旨）本文…………… 2,000字以内
- ※地区学会長賞受賞講演の中から学会ごとに優秀な演題1題を選考して、平成26年度の日本獣医師会獣医学術賞「獣医学術学会賞」（本賞及び副賞として研究奨励金）を授与します。

※地区学会長賞受賞講演の講演者（発表者）の参加登録料については、学術奨励の関係から免除とします（各演題発表者1名に限ります。）。

○演題申込方法：

原則としてインターネットからの申し込みとします。「平成26年度学会年次大会（岡山）演題申込用ホームページ（<http://jvma2015.umin.jp/>）」の記載に従い申し込みを行ってください。

また、インターネットを利用しない演題申し込みも可能ですので、希望される際は日本獣医師会事務局・学会担当（E-mail：jvma-gakkai@umin.net）までお問い合わせください。

(1) 演題申込用HP (<http://jvma2015.umin.jp/>) の「演題申込」を選択し、リンクしている「演題申込画面」から指示に従って入力して下さい。

(2) 演題を申し込み際には、抄録（講演要旨）の登録が必要になります。抄録本文はあらかじめワープロソフト等で作成しておき、コピー・ペーストで貼り付けることをお勧めします。申し込みが完了すると、折り返し受け付けた旨のメールが申込者に届きますので必ずご確認ください（メールが届かない場合、申し込みが完了していない恐れがあります。）。

(3) 抄録（講演要旨）に掲載可能な研究者数の上限は6名（発表者含む）です。

(4) 登録が完了した抄録は、修正受付期間内であれば登録番号とパスワードを入力することにより修正が可能です。

(5) 講演時間や講演順等のプログラムは、決定次第、演題申込用HP上に公開します（11月下旬予定）。発表申込者は、発表日時、会場等に関する情報を演題申込用HPから入手してください。

(6) 演題の申し込みと学会年次大会の参加登録とは異なります。 発表者は演題の申し込みとは別途、必ず大会への参加登録の申し込みを行ってください。また、大会参加登録の方法については、平成26年度日本獣医師会獣医学術学会年次大会（岡山）広報用パンフレット（2nd Announcement）に掲載する予定です（日本獣医師会雑誌第9号に同封予定です。）。

○募集期間：平成26年10月31日（金）17：00まで

（上記募集期間後の地区学会長賞受賞講演の申し込みについては事務局まで直接お問い合わせください。）

○発表様式等：

(1) 発表様式は、パソコンを用いた液晶プロジェクターを使用する発表とします。

(2) 動画をご使用いただけますが、パソコンを持参いただく等の条件があります（詳細が決定次第、演題申込用HPに掲載します。）。

(3) 演題発表におけるデータフォーマットについては、プログラム及び演題申込用HPに後日掲載しますので、発表者は必ず事前登録のうえご確認ください。

平成 25 年度 日本獣医師会獣医学術学会年次大会 (千葉)
地区学会長賞受賞講演 (中部地区選出演題)

[日本産業動物獣医学会]

産地区—6

PCR-RFLP 法による広範囲の BPV 遺伝子型の簡易型別法の検討

瀬戸隆弘¹⁾, 鵜飼典佳²⁾, 土屋貴幸¹⁾, 齋藤美英¹⁾

1) 静岡県畜産技術研究所, 2) 静岡県畜産課

はじめに

牛乳頭腫症の原因ウイルスである牛パピローマウイルス (BPV) は現在 13 の遺伝子型が知られ, 型によって病原性, 感染経路及び予防, 治療法が異なることが報告されている. 本ウイルスによる被害を低減するにあたって, 浸潤している遺伝子型の型別が必要となるが, 現在, これらの型別はシーケンスによる塩基配列の解読が主であり, 手技が煩雑であるという欠点がある. そこで, より簡便で多検体のスクリーニングが可能な BPV 遺伝子型の型別法として, PCR-RFLP 法を基にした型別法を検討するとともに, 県下の 1 放牧場において, 本法を用いた疫学調査を実施したので報告する.

材料及び方法

2012 年 10 ~ 12 月にかけて牛乳頭腫を発症したホルスタイン種未経産牛 26 頭を供試牛とした. 各個体から乳頭腫病変を 2 検体以上 (合計 92 検体) 採取し, 検査実施まで - 80℃ で保存した. 融解した検体から乳鉢, 乳棒を用いて 10% 乳剤 (TE buffer, pH = 8.0) を調整し, 市販のキット (MasterPure™ DNA Purification Kit for Blood Version II, エア・ブラウン(株), 東京) を用いて DNA 抽出を行った. 抽出した DNA を鋳型にして Hatama ら (Hatama et al. 2009, 2011) が作製した BPV1, 2 及び 5 を標的とするプライマーセット subAup (5'-CCAGAYTAYTTMAAAATGGC-3')/subAdw (5'-ATAAMKGCTAGCTTATATTC-3') 並びに BPV3, 4, 6, 9, 10 及び 11 を標的とする subBup (5'-TWYA ATAGGCCCTTTTGGAT-3')/subBdw (5'-TTMC GCCTACGCTTTGGCGC-3') を用いて PCR 反応を行った. ジーンバンクに登録されている BPV 各遺伝子型の塩基配列を参考にして, 制限酵素 Afa I, Sau 3AI 又は Hinf I を PCR-RFLP に使用する候補とした. PCR 産物を上記の制限酵素でそれぞれ切断し, 電気泳動のバンドパターンで各遺伝子型を型別した. また, 従来のシー

ケンスによる型別も並行して行い, 両者の結果を比較検証した.

成 績

92 検体のうち, PCR で BPV 遺伝子の増幅産物が得られたのは 84 検体であった. これらの増幅産物を 3 種類の制限酵素候補でそれぞれ切断した結果, Afa I を用いた場合 BPV6, BPV9 又は BPV10 の泳道パターンが確認された. 残りの制限酵素については予測される泳道パターンが確認されなかったため, 本法に用いる制限酵素として, Afa I を採用することとした. 今回実施した PCR-RFLP 法による遺伝子型別の結果は, BPV6 が 58 検体 (69.1%), BPV9 が 19 検体 (22.6%) 及び BPV10 が 7 検体 (8.3%) であった. 従来のシーケンスによる遺伝子型別の結果は, BPV6 が 56 検体 (66.7%), BPV9 が 19 検体 (22.6%), BPV10 が 7 検体 (8.3%), 型別不可が 2 検体 (2.4%) であり, 従来法によって型別できた検体は, PCR-RFLP 法においても同一の結果を示した.

考 察

今回構築した PCR-RFLP 法は, 従来法と同等の精度で BPV 遺伝子型の型別を行うことができることが野外で実証された. 加えて本法は従来法と比較して, シークエンサーを必要としないこと, 必要とする試薬のコストが安いことから, 従来法に替わる BPV のスクリーニング法として有用であることが示唆された. ただし, 今回検出された BPV は BPV6, BPV9 及び BPV10 の 3 種のみであったため, 今回の野外調査で検出されなかった遺伝子型に対する有用性の確認や, 複合感染に対するデータを蓄積し, 本法の適応範囲及び精度の向上を行っていく予定である. また, 今回高病原性の BPV9 が静岡県内で初めて検出されたことから, 本遺伝子型の県内浸潤が懸念されたため, 今後は県内における BPV の分布調査を行っていく予定である.

ミトコンドリア D-loop 領域の多様性に基づいた 木曽馬の遺伝的特徴

高須正規¹⁾, 石原凡子¹⁾, 梶 裕永²⁾, 前田昌美¹⁾, 村瀬哲磨¹⁾, 戸崎晃明²⁾

1) 岐阜大学応用生物科学部, 2) 競走馬理化学研究所

はじめに

中部山岳地域の在来馬である木曽馬は、戦後の機械化により不要家畜となり、現在、絶滅の危機に瀕している。木曽馬のような希少動物を保存していくためには、その遺伝的多様性を様々な視点から評価し、得られた情報を活用していくことが必要である。そこで、木曽馬の適切な保存に必要な情報を得ることを目的に、進化速度が速いミトコンドリア DNA D-ループ領域の多様性を評価した。これらを基に木曽馬母系の遺伝的特徴を明らかにし、母系からみた木曽馬の過去、現在、未来を推測した。

材料及び方法

現存する木曽馬の91%に当たる136頭から血液を採取し、DNAを抽出した。D-ループ領域をPCRで増幅し、配列を決定した。得られた配列を分類した後、ハプロタイプ多様度、塩基多様度を求め、塩基置換分析を行った。また、ネットワーク樹で集団内、近隣結合法による系統樹で品種間の系統関係を明らかにした。

結論

本研究で、木曽馬が7つのハプロタイプ (K1～K7) を持つことが確認できた。そのうち、K1, K3及びK5は木曽馬にのみ認められたハプロタイプであり、K2は蒙古馬、K4は対州馬、御崎馬、蒙古馬、K6は北海道和種、K7は蒙古馬、欧州系種にも認められるハプロタイプであった。また、ハプロタイプ多様度並びに塩基多様度は他の品種と同程度であり、塩基置換分布図は二峰性を示していた。さらに、ネットワーク樹では、K1とK2、K4とK6が類似したグループであることが示され

た。加えて、近隣結合法による系統樹では、木曽馬のハプロタイプは世界各国の馬と同じように様々なクラスターに分類された。これらのことから、母系の多様性から評価すると、現在の木曽馬は小集団ではあるものの比較的母系の多様性が保存されていることが示された。また、地域ごとに異なるハプロタイプの分布を示していたことから、今後、個人飼育者の減少と集団飼育化によって地域ごとに母系が固定され、その多様性が減少する可能性があることが示唆された。さらに、本研究からも、日本にきた様々なルーツを持つ馬が木曽地域で係留され、木曽馬となったこと、また、その木曽馬は各地からの雌馬を入れることで改良されてきたという史実を裏付ける結果が得られた。

本研究では、木曽馬の母系からみた多様性を評価できた。今後、木曽馬を効果的に残していくためには、a) 様々な角度から木曽馬の遺伝的特徴を明らかにしていくこと、b) 生殖細胞等を保存していくこと、c) 新たな利活用法を模索し、木曽馬を飼育する需要を喚起すること、d) 固有の遺伝資源保存に対する国家的な支援に向けて活動すること、を柱とした保護対策を行っていく必要があると考えられた。

生物の多様性は、生態系の多様性、種間の多様性、種内の多様性で構成されており、木曽馬のような在来家畜は種内の多様性を担っている。また、木曽馬は、人と馬が深いかわりを持つ木曽の文化を反映する生きた文化財ともいえる存在である。これらのことから、この馬を効果的に保存していくことで、生物の多様性の保全だけでなく、文化の多様性の保全にも寄与でき、豊かな社会を構築することに貢献できると考えられた。

[参考] 平成25年度 日本産業動物獣医学会 (中部地区) 発表演題一覧

- | | |
|---|--|
| 1 防疫作業従事者参加型の口蹄疫防疫演習
伊藤一智 (岐阜県東濃家保), 他 | 6 県内肉用鶏農場におけるカンピロバクター、サルモネラ調査7年間の取り組み
福留 静 (新潟県下越家保), 他 |
| 2 放射性物質汚染稲わらを給与した肉牛農家への経営継続に向けた取組み
永田浩章 (静岡県東部家保), 他 | 7 <i>Clostridium difficile</i> の関与が疑われた馬の X-大腸炎
沖 尚子 (石川県南部家保), 他 |
| 3 飼料用米の給与が「しなの鶏」の生産性に及ぼす影響
赤羽真理恵 (長野県畜試), 他 | 8 皮下腫瘤形成と眼窩内浸潤が認められた馬の悪性リンパ腫
田中知未 (福井県家保), 他 |
| 4 アイガモ農法におけるサルモネラ汚染と清浄化事例
野田基子 (富山県西部家保), 他 | 9 ミトコンドリア D-loop 領域の多様性に基づいた木曽馬の遺伝的特徴
高須正規 (岐阜大), 他 |
| 5 食鳥処理場とタイアップしたブロイラー農場の生産衛生指導
後藤新平 (岐阜アグリフーズ), 他 | 10 豚 <i>Lawsonia intracellularis</i> 感染症生ワクチン経口投与前後の子豚へのスターター給与についての検討 |

- 中島敏明 (岐阜県畜研), 他
- 11 散発的に豚丹毒が発生した養豚場のワクチン対策
小柳寿文 (静岡県中部家保), 他
- 12 県内養豚場における PRRS ウイルスの浸潤状況および遺伝子学的性状
奥村貴樹 (愛知県中央家保)
- 13 *Clostridium septicum* による豚の悪性水腫発生に係る一考察
神田 章 (長野県長野家保), 他
- 14 戻し交配による GFP ミニブタの開発
柴田昌利 (静岡県畜技研中小研セ), 他
- 15 病性鑑定および健康畜由来細菌における薬剤耐性の比較
大津桂子 (岐阜県岐阜家保), 他
- 16 *Mycoplasma bovis* のフルオロキノロン耐性株検出法の検討
安藤順一 (長野県松本家保), 他
- 17 黒毛和種子牛における群編成時のトルトラズリル製剤再投与の有効性
武田賢治 (岐阜県畜研), 他
- 18 PCR-RFLP 法による広範囲の BPV 遺伝子型の簡易型別法の検討
鶴飼典佳 (静岡県畜産課), 他
- 19 食肉衛生検査現場からみた牛白血病の現状
奥村拓矢 (岐阜県食肉衛検), 他
- 20 牛ウイルス性下痢ウイルス 1 型 2 型の同時感染による流産の発生事例
宮本剛志 (富山県東部家保)
- 21 牛ウイルス性下痢ウイルスの関与が認められた 3 症例
村田結佳 (静岡県西部家保), 他
- 22 新潟県の 3 酪農場で発生した B 群または C 群ロタウイルスによる牛ロタウイルス病
会田恒彦 (新潟県中央家保), 他
- 23 家畜共済データを活用した肉用子牛呼吸器疾病発生状況の分析
中村弘道 (NOSAI 愛知家畜メディカル), 他
- 24 乳用牛タイストール牛舎における飛節周囲炎発生状況と 1 改善事例
丹羽竜祐 (石川県北部家保), 他
- 25 リンパ節転移が認められた肉用子牛の悪性中皮腫
山崎俊雄 (福井県家保), 他
- 26 ホルスタイン種における生体内吸引卵子と性選別精液を用いた雌胚生産の検討
河合愛美 (石川県畜試), 他
- 27 体細胞クローン牛とその娘牛および孫牛の三世代にわたる発育・繁殖・産乳性調査
白石 徹 (愛知県農総試畜研), 他

[日本小動物獣医学会]

小地区—11

ELISA による イヌ NT-proANP 濃度の測定

西飯直仁¹⁾, 小島正章²⁾, 星野恵美²⁾, 蜂巢達之²⁾, 北川 均¹⁾

1) 岐阜大学応用生物科学部獣医内科学研究室, 2) ㈱シバヤギ

はじめに

心房性ナトリウム利尿ペプチド (ANP) は心房内圧の上昇に反応して分泌される生理活性物質であり, 心疾患の診断に用いられている. しかし ANP の半減期は短く, 血中濃度を安定的に測定することが難しいのが問題である. NT-proANP は ANP の前駆体である proANP の N 末端部分であり, ANP 分泌と同時に同モルが分泌される. NT-proANP は血中半減期が長い為, 安定した測定が可能であり, 正確な診断に寄与する可能性がある. これまで犬においてヒト用 NT-proANP 測定系を用いた研究はあるが, 臨床マーカーとして良い結果が得られていない.

材料と方法

イヌ NT-proANP 特異的のモノクローナル抗体 2 種類を使用し, サンドイッチ ELISA を構築した. 抗体固相化プレートを作成し, 検体及び標準溶液を反応させた. その後ビオチン標識抗体を加え, パルオキシダーゼ・アビジンと結合させた後, TMB による発色, 硫酸による反応停止を経て, 吸光度 (主波長 450nm, 副波長

620nm) を測定した. 健常犬 23 頭, 僧帽弁閉鎖不全症 (MR) の犬 27 頭, フィラリア症の犬 4 頭の血漿を採取し, NT-proANP 濃度を測定した.

結果と考察

同時再現性試験及び日差再現性試験における変動係数はそれぞれ 2.00~2.45% 及び 0.44~2.63% であり, 添加回収試験での回収率は 97.6~103% であった. 希釈により良好な直線性が得られ, 検出限界は 12.5 pg/ml であった. 血中 NT-proANP 濃度は, 僧帽弁閉鎖不全症の犬 (551 ± 116 pg/ml) 及びフィラリア症の犬 (711 ± 257 pg/ml) では, 健常犬 (73.9 ± 22.4 pg/ml) と比べて有意に高値であった. カットオフ値を 118.8 pg/ml に設定した場合, 心疾患の診断の感度は 84%, 特異度は 96% であった. 本研究ではイヌ特異的 NT-proANP の ELISA 測定系が確立され, その測定精度は良好であった. 血中 NT-proANP 濃度測定は心疾患の診断に有用である可能性が示唆された. 今後は心疾患の重症度との関連性及び治療後の変化などについて研究を進めていきたい.

静岡県大井川上流域の猫肺吸虫症の原因は宮崎肺吸虫であった

小川 高¹⁾, 杉山 広²⁾, 山田裕貴¹⁾, 小川ひとみ¹⁾

1) 小川動物病院・静岡県, 2) 国立感染症研究所

はじめに

本邦に分布する肺吸虫として、ウェステルマン肺吸虫、宮崎肺吸虫、及び大平肺吸虫の3虫種が知られており、海外と比較してその疫学的研究の進歩により、虫種の分布も徐々に明らかになってきている。ちなみに、和歌山県紀北地方では、第2中間宿主であるサワガニ体内のメタセルカリアの検出状況から宮崎肺吸虫の濃厚分布地であることが報告されているほか、他にも濃厚感染地区が知られている。

演者は2011年本学会誌で、静岡県大井川上流域に猫肺吸虫症が存在し、その臨床像の特徴を報告したが、虫種の特定には至らず、ウェステルマン肺吸虫の可能性を考察した。その後、Sugiyamaら (*J.Vet.Med.Sci.*2013) は同地域の川根地区でサワガニの捕獲調査を行い、メタセルカリア及びその実験感染動物中の成虫が、それぞれの形態学的特徴から宮崎肺吸虫であると報告した。

今回、演者の既報2症例の封入固定材料と、新たな2症例の虫卵に対するPCR検査から、宮崎肺吸虫の特異遺伝子を検出した。本地域での猫肺吸虫症の原因が宮崎肺吸虫であることが判明したため、その詳細と臨床像の特徴をあわせて報告する。

材料及び方法

検出された虫卵のサイズ、卵殻の特徴、特に無蓋端部における卵殻の肥厚などの特徴から肺吸虫症と診断された既報2症例の気管分泌物封入固定材料と新たな感染例の気管分泌物を検査材料とした。定法にてDNAを抽出し、ユニバーサルプライマー (3S及びA28) を用いて、リボソームDNAのうち肺吸虫類の種同定・種鑑別に有効実証済みで、さらに各種肺吸虫の遺伝子配列データの蓄積も多いITS2領域を標的にPCR増幅を行った。制限酵素解析 (PCR-RFLP) による切断パターンはウェステルマン肺吸虫ならば制限酵素 *Sna*BIで420bp及び100bp、宮崎肺吸虫ならば *Bss*BIで300bp及び220bpの断片に切断されることから解析を行った。さらに、得られたPCR産物の塩基配列も解読して、虫種同定を行った。また、7症例の大井川流域の住所とSugiyamaらの調査でのメタセルカリア採取地点の関連を評価した。さらに虫種同定による感染猫の臨床症状、肺X線検査像及びCT検査像、さらに治療経過の推移を評価した。

成 績

封入標本及び気管分泌物のいずれの検査材料とも塩基配列の解読から既報の宮崎肺吸虫の配列と完全に一致した。また、PCR-RFLPでは *Sna*BIでは切断されず、*Bss*BIで予想サイズに切断されたことから、検査材料は宮崎肺吸虫であり、またウェステルマン肺吸虫ではないことが証明された。メタセルカリア採取調査された川根地区の上流及び下流域で宮崎肺吸虫感染猫が存在していることから、地図上での生息域は一致した。宮崎肺吸虫感染猫の一般臨床症状は無症状から発咳で、1例以外は気管分泌物中と糞便中の一方、又は両方から肺吸虫卵が検出された。胸部X線検査では結節性、リング状、無気肺様のいずれかの陰影パターンが得られ、結節性は全例でみられ、リング状は他疾患ではみられない特徴的なものであった。CT検査では陰影サイズは後大静脈径よりやや大きく多形で、右前葉と左右後葉には大腫瘤がみられたが、明瞭な虫嚢像を推測できるものではなかった。治療経過はプラジカンテル30mg/kgの1回皮下投与によりX線肺病変の陰影度は3週間には低下し5週間には消失する良好なものであった。

結 論

静岡県大井川上流域で維持されている肺吸虫種は感染猫から採取された虫卵を出発材料に実施された異遺伝子検査から宮崎肺吸虫であることが判明した。これはSugiyamaらが報告した同地域内の川根地区で調査したサワガニ体内のメタセルカリアの検査結果と一致するもので、今回の4症例の住所は川根地区の上流と下流それぞれに分布することから、大井川上流域でみられる主たる肺吸虫は宮崎肺吸虫であると結論づけられた。宮崎肺吸虫感染猫の一般臨床症状は無症状から軽度発咳であり、胸部X線像の3パターンのうち結節性病変は、腫瘍性病変にも類似するものであることから、流行地域では鑑別疾患リストの中に宮崎肺吸虫症を含める必要があると考えられ、疑診症例では、まず糞便検査や喀痰検査で虫卵の検出を試み、場合によっては試験的駆虫治療による肺陰影の消失の有無から本疾患を暫定診断することも可能であると思われた。最後に、静岡県大井川上流域においては猫と同様、人を含む他の動物も、過熱不十分なサワガニを摂食した場合、宮崎肺吸虫感染症に罹患するリスクのあることを啓発する必要があると考えられた。

〔参考〕平成25年度 日本小動物獣医学会（中部地区）発表演題一覧

- 1 犬の口腔内悪性メラノーマに対する放射線治療の有用性
川部美史（岐阜大），他
- 2 犬口腔内メラノーマ Stage4 に対して低用量カルボプラチン療法と活性化リンパ球療法の併用を行った1例
永松航太（永松動物病院・新潟県），他
- 3 眼球内悪性黒色腫の犬1例
宮 賢次郎（カタノ動物病院・新潟県），他
- 4 塩酸ニムスチンを使用した3症例
米山信行（しろね動物病院・新潟県），他
- 5 原発性眼内骨肉腫が疑われた犬の1例
中原和人（中原動物病院・愛知県）
- 6 脳脊髄浸潤がリンパ球クローン性解析でのみ疑われた多中心型リンパ腫の犬の一例
坂大智洋（新潟画像診断センター・新潟県），他
- 7 猫の大顆粒リンパ球性リンパ腫の2例
水野 累（水野動物病院・愛知県），他
- 8 猫の肺寄生性毛細線虫の1例
後藤 浩（あい動物病院・静岡県），他
- 9 静岡県大井川上流域の猫肺吸虫症の原因は宮崎肺吸虫であった
小川 高（小川動物病院・静岡県），他
- 10 環椎軸椎不安定症の犬における dorsal compression の発症年齢および臨床経過について
國谷貴司（渡辺動物病院・静岡県），他
- 11 硬膜内へ脱出した胸部椎間板ヘルニアの犬の1例
中原公彦（なかはら動物病院・岐阜県），他
- 12 動的病変および神経根症状を示した頸部脊髄症に対する背側アプローチによる外科的治療を行った犬の2例
酒井洋一（にしかに動物病院・岐阜県），他
- 13 超小型犬の橈骨骨折にイリザロフ創外固定を用いた6例
窪田 実（ヤシの実どうぶつ病院・静岡県），他
- 14 健常犬104 順における血中アディポネクチン濃度と規定因子の検討
小島健太郎（小島獣医院・名古屋市），他
- 15 急性呼吸促迫症候群により死亡した犬の1例
三島浩享（三島動物病院・岐阜県）
- 16 イベット S[®]（タヒボ含有食品）を用いた犬2例の治療経験
山我義則（エルム動物クリニック・新潟県），他
- 17 日和見感染が疑われた黒色真菌感染症と皮膚糸状菌感染症を併発した猫の1例
松谷佳子（パインズ動物病院・新潟県），他
- 18 犬の前立腺腫大における CT 画像と病理組織診断との比較
住吉 浩（スミヨシ動物病院・新潟県），他
- 19 膀胱内側に憩室を形成した壁内性異所性尿管のラブラドールレトリバーの1例
中島彩乃（岐阜大），他
- 20 ELISA によるイヌ NT-proANP 濃度の測定
西飯直仁（岐阜大），他
- 21 心膜横隔膜ヘルニアを伴う洞不全症候群に経胸壁ペースメーカーを設置したミニチュアシュнауザーの1例
阿部広和（茶屋ヶ坂動物病院・名古屋市），他
- 22 CT 検査を用いて確定診断を下した右大動脈弓遺残症の1治験例
星 克一郎（見附動物病院・新潟県），他
- 23 画像診断において胆嚢の所在が不明瞭であった肝硬変の犬1例
寺澤義朗（寺沢動物病院・新潟県），他
- 24 ミニチュア・ダックスフンドに好発する結直腸炎症性ポリープの細胞学的特徴と多核巨細胞の診断的意義
義井上紗季（岐阜大），他
- 25 内視鏡下で除去した小型犬の閉塞性食道内異物
佐藤良彦（さとう動物病院・長野県）
- 26 軽症の原発性門脈低形成と診断した21例
酒川雄右（なりた犬猫病院・愛知県），他
- 27 長期間の経過観察を行なった副腎皮質機能亢進症に続発した筋緊張症の犬の2例
永田矩之（湯木どうぶつ病院・名古屋市），他

生食ブームに潜むリスク：食肉のトキソプラズマ汚染の実態

松尾加代子^{1),2)}, 釜井莉佳¹⁾, 後藤判友¹⁾, 高島康弘²⁾, 川原史也³⁾, 永宗喜三郎³⁾

1) 岐阜県食肉衛生検査所, 2) 岐阜大学応用生物科学部, 3) 国立感染症研究所

はじめに

トキソプラズマはネコ科動物を終宿主とし、ほとんどの温血動物を中間宿主とする人獣共通寄生虫であるが、我が国では人への感染源として、猫糞便に排出されるオーシスト及び加熱不十分な豚肉に含まれるシストのみが注視されてきた。諸外国では、その他の家畜、家禽のトキソプラズマ感染も数多く報告されており、food born diseasesとして認識されている。国内でも4千人以上の妊婦のトキソプラズマ抗体の調査から、生肉の摂取が妊婦におけるトキソプラズマ感染のリスク因子であると報告されている。実際、近年の食肉の生食ブームを受け、生肉の摂取によると思われる先天性トキソプラズマ症が発生しているが、国内の家畜、家禽のトキソプラズマ汚染の実態は明らかではない。そこで、今回、我々は豚のみならず牛、馬、鶏についてトキソプラズマの抗体調査を行った。

材料及び方法

管内と畜場及び食鳥処理場で肥育豚155頭(出荷地4県)、牛422頭(乳廃用ホルスタイン種101頭、肥育用：ホルスタイン種去勢114頭、交雑種105頭、黒毛和種102頭、出荷地11府県)、馬100頭(輸入馬、国産馬含む)、肉用鶏235羽(ブロイラー72羽：出荷地2県、地鶏163羽：県産)から採取した血清を用い、ラテックス凝集反応キット(トキソチェック-MT、栄研)によるトキソプラズマ抗体保有率を調べた。陽性判定基準は凝集抗体価64倍以上とした。統計処理はカイ二乗検定及び相関係数の算出により行った。

結 果

豚では5.2%が陽性を示し、抗体価はいずれも64倍であった。牛では全体の7.3%が陽性を示した。品種ごとでは、乳廃用ホルスタイン種7.9%、ホルスタイン種去勢3.5%、交雑種4.8%、黒毛和種13.7%で、黒毛和種とホルスタイン種去勢間($P < 0.01$)及び交雑種間($P < 0.05$)で有意差がみられた。抗体価が最も高かったのは22カ月齢のホルスタイン去勢牛と24カ月齢の黒毛和種雌の各1頭で512倍であった。その他は256倍が1頭、128倍が5頭、64倍が23頭で、抗体価と月齢や品種には有意な相関や差は認められなかった。馬と鶏では陽性を示す個体はいなかったが、地鶏163検体中27検体でラテックス粒子が沈降も凝集もしない干渉を呈するものがあつた。この干渉は、2-メルカプトエタノール処理により消失したため、IgMの関与が示唆された。

考 察

トキソプラズマは中間宿主へ感染した後、宿主の免疫応答が開始されると、抗体から逃れるように筋肉や神経に抵抗性の強いシストを作り、次の宿主に捕食される機会を待つ。今回の調査により、豚のみならず、本邦の牛においても抗体が確認されたことから、牛肉の中にも人への感染源となるシストが存在する可能性が示された。今回、512倍と最も高い抗体価を示した牛では、過去の感染ではなく現在の感染を示していると思われる。限られた検体数の中での検討であるが、陽性牛は特定農家に集中するというよりいくつかの農家に分散しており、どこで飼育された牛であっても飼育環境中に感染猫が入り込むことにより飼料や環境が汚染されるなどの条件さえそろえば感染し得ると考えられる。陽性率の高かった黒毛和種では品種による感受性や飼養管理法などが異なっている可能性もあるが、これについては今後のさらなる検討が必要である。現在、抗体陽性を示した黒毛和種の脳及び筋肉をマウスに接種し、虫体の分離を試みている。馬と鶏で陽性例が認められなかったが、海外では馬や鶏の感染例も報告されており、輸入馬も含めた今回の調査で陽性例が出ていないことは興味深い。鶏での低い陽性率は短い出荷日齢と飼育環境に関連するのかもしれない。地鶏ではブロイラーに比べ、1カ月以上長く肥育されることや平飼いで開放鶏舎であることなどから地鶏でのみIgMが干渉してきたのではないかと考えられる。IgMがトキソプラズマに対するものであれば、地鶏がトキソプラズマに初感染し、感染初期であることになる。これについて、ELISAを用いて検討したところ、IgM、IgYともにラテックス法での干渉個体とは異なる個体で高値を示すものが確認された。この問題を解決すべく、鶏への感染実験によりラテックス法及びELISAでの抗体価の推移を比較するとともに無作為に採取した地鶏の脳からの虫体検出を試みている。これら実態調査データに基づき、食肉の生食は細菌性食中毒だけでなく、寄生虫感染を引き起こすリスクがあることを周知していく必要がある。特に妊婦や免疫抑制状態の患者への食肉の安全な食し方についての啓発が急がれる。食肉の寄生虫汚染リスク評価には食肉衛生検査所は格好のフィールドであり、国立感染症研究所及び岐阜大学と共同研究を進めているところであるが、今後は食肉販売業者や家畜衛生、生産者サイドも含めた大きなフードチェーンの中で消費者へ情報を発信できるよう協働体制を築いていきたいと考えている。

鶏における ESBL 産生菌の分離状況とヒト由来株との 関連性について

渡邊朋恵¹⁾, 小田みどり²⁾, 飯田奈都子¹⁾, 佐原啓二¹⁾, 川森文彦¹⁾

1) 静岡県環境衛生科学研究所, 2) 静岡県東部健康福祉センター

はじめに

近年、ペニシリン系薬剤から第3世代セファロスポリン系薬剤まで幅広く耐性を示す基質特異性拡張型βラクタマーゼ (ESBL) 産生菌が増加傾向にあり、院内感染原因微生物として問題となっている。特に第3世代セファロスポリン系薬剤は医療分野で広く使用されるため、ESBL産生菌のヒトへの感染が増加した場合、治療に大きな影響を及ぼすと考えられている。ESBL産生菌は、ブロイラーが高率に保菌しており、ブロイラー及びヒト由来株のESBL産生遺伝子型は類似しているという報告がある。ESBL産生遺伝子は伝達性のプラスミド上に存在し、プラスミドを介して他の細菌へ容易に接合伝達することが確認されているため、食肉を介したヒトへの伝播が危惧されている。しかし、家禽に対するセファロスポリン系薬剤の使用は禁止されていることから、ブロイラーが高率に保菌している原因は不明である。今回はブロイラーがESBL産生菌を高率に保菌する原因を究明することを目的とし、雛の由来や飼育形態が異なるブロイラー、地鶏及び採卵鶏におけるESBL産生菌の分離率等の比較を行った。また、ブロイラー及びヒト由来ESBL産生菌のESBL産生遺伝子がコードされているプラスミドの制限酵素切断パターンを比較することで、ヒト由来株の伝播経路の究明を試みた。

材料及び方法

2012年11～12月に県内食鳥処理場に搬入されたブロイラー、地鶏及び採卵鶏を各10農場30検体(3検体/農場)の腸内容物を採取した。これらの腸内容物からクロモカルト コリフォーム寒天培地ES及びクロモアガーESBLで大腸菌を分離後、multiplex PCR法を用いてESBL産生遺伝子(*bla*_{CTX-M-1}, *bla*_{CTX-M-2}, *bla*_{CTX-M-9}, *bla*_{SHV}, *bla*_{TEM})の検出を行った。これらの遺伝子を保有している菌株について、CLSIの方法に従ってESBL産生確認試験を行った。ESBL産生確認試験はセフトキシム(CTX)、CTX/クラブラン酸(CVA)、セフトジジム(CAZ)及びCAZ/CVAの阻止円を計測し、単剤の阻止円よりCVA合剤のディスクの阻止円が5mm以上拡大した場合を陽性とした。また、2000～2007年に分離されたブロイラー及びヒト由来ESBL産生菌のうち、多く分離された*bla*_{CTX-M-2}及び*bla*_{CTX-M-14}がコードされたブラ

スミドをKado & Liuの変法により抽出後、制限酵素(*Eco*RI, *Sph*I, *Cla*I)で切断し、制限酵素切断パターンの比較を行った。

結果及び考察

ESBL産生菌の分離率は、ブロイラーで73.3%(22/30)、地鶏及び採卵鶏で各3.3%(1/30)であり、ブロイラーが有意に高かった。地鶏の種鶏は特定の場所で飼育されており、地鶏の雛も同様の場所から搬入されるが、ブロイラーと採卵鶏の雛は大規模孵化場から導入される。また、ブロイラーと地鶏は平飼いが多く、他個体と接触する機会があるが、採卵鶏はケージ飼いが多く、他個体と接触する機会がほとんどない。今回、雛の由来が異なるが、飼育形態が類似しているブロイラーと地鶏でESBL産生菌の分離率に明らかな差が認められたことから、ブロイラー農場にESBL産生菌を保菌している雛が導入された可能性が考えられた。また、雛の由来が類似しているが、飼育形態が異なるブロイラーと採卵鶏もその分離率に差が認められ、ブロイラーの分離率が高かった原因としては、ブロイラー農場にESBL産生菌が高率に潜在していること、採卵鶏に比べブロイラーは他個体との接触機会が多いことなどが可能性として考えられた。今回検査を行ったブロイラー10農場のうち、5農場については2007年にも調査を行っていたため、ESBL産生遺伝子型の比較を行ったところ、2007年に検出されなかったESBL産生遺伝子型が2012年に検出される等、大きく異なっていた。国内において家禽でのセファロスポリン系薬剤の使用が禁止されていることを踏まえると、農場内で新たなESBL産生遺伝子型の獲得が頻繁に起こるとは考えにくいので、ブロイラーが高率にESBL産生菌を保菌している原因としては、農場内にESBL産生菌が継続的に潜在しているのではなく、保菌雛や飼料などを介して外界から持ち込まれ、変遷している可能性が示唆された。さらにブロイラー及びヒト由来ESBL産生菌のプラスミドの制限酵素切断パターンの比較を行ったところ、*bla*_{CTX-M-2}保有のブロイラー由来株2株とヒト由来株1株で同一の切断パターンを示した株が確認された。これらの株のPFGEパターンは異なっていたことから、同一起源のプラスミドが接合伝達などにより大腸菌間を伝播し、ブロイラーとヒトに分布している可能性が高いと考えられた。

〔参考〕平成25年度 日本獣医公衆衛生学会（中部地区）発表演題一覧

- | | |
|---|---|
| <p>1 捺印標本を用いた特殊染色（PAS染色、ズダンⅢ染色）の活用 水谷健士（岐阜県食肉衛検）、他</p> <p>2 病畜牛の「と畜検査情報」提供による廃棄処分状況改善への取組み 杉本和也（静岡県東部食肉衛検）、他</p> <p>3 牛の水腫判定における生化学的検査値と筋肉水分量の有効性の検討 里麻美喜子（富山県食肉衛検）、他</p> <p>4 豚の敗血症における腎臓病変の比較検討
下司高弘（豊橋市食肉衛検）、他</p> <p>5 牛胆嚢内胆汁のカンピロバクター検出状況とその理化学的性状 佐藤容平（岐阜県食肉衛検）、他</p> <p>6 と畜場搬入牛における農場別腸管出血性大腸菌O157・O26・O111保有状況調査と分離株の性状
高木慎介（豊橋市食肉衛検）、他</p> <p>7 牛枝肉における腸内細菌科菌群の汚染実態調査
諏合克美（新潟県長岡食肉衛検）、他</p> <p>8 長野県内生産豚のE型肝炎ウイルス保有状況の調査
細江昭史（長野県長野食肉衛検）、他</p> <p>9 生食ブームに潜むリスク：食肉のトキソプラズマ汚染の実態 松尾加代子（岐阜県食肉衛検）、他</p> <p>10 牛住肉胞子虫の疫学および体内分布調査について
河合顕太郎（金沢市食肉衛検）、他</p> <p>11 と畜場におけるHACCPシステムの導入に向けた自主衛生管理向上への取り組みについて
中林ゆうこ（新潟県新発田食肉衛検）</p> <p>12 食鳥検査および食鳥処理場への衛生指導に対する</p> | <p>HACCP方式手法導入について
竹川奈穂（新潟県新発田食肉衛検）、他</p> <p>13 鶏におけるESBL産生菌の分離状況とヒト由来株との関連性について 渡邊朋恵（静岡県環衛科研）、他</p> <p>14 福井県で確認された運動性陰性のS. Enteritidis
永田暁洋（福井県衛環研セ）、他</p> <p>15 岐阜県下の入浴施設におけるレジオネラ属菌の検出状況（1998年度～2012年度）
酢谷奈津（岐阜県保環研）、他</p> <p>16 イヌとネコから採取したマダニ類とノミ類における病原体保有状況 名古屋真弓（富山県衛研）、他</p> <p>17 うなぎにおけるマラカイトグリーン試験法の検討
中村昌司（岐阜県保環研）、他</p> <p>18 生食用食肉に関する消費者意識とリスクコミュニケーションの必要性 春日井昭豊（岡崎市保）、他</p> <p>19 食品への異物混入に対する意識と毛髪除去プロジェクトの展開
田中清司（食と生活の科学研究所・長野県）</p> <p>20 静岡県御殿場市における「飼い主のいない猫対策」の試み～地域住民・ボランティア・行政の三者協働の実現～ 田中恵美（静岡県御殿場保）、他</p> <p>21 犬猫の殺処分頭数削減に向けた取り組み
高橋弘子（名古屋市動物愛護センター）、他</p> <p>22 トワイライトスクールにおいて実施した動物愛護教室について 久野勇希（名古屋市動物愛護センター）、他</p> |
|---|---|