

平成26年度 日本獣医師会獣医学術学会年次大会（岡山）  
地区学会長賞受賞講演（関東・東京地区選出演題）

[日本産業動物獣医学会]

産地区—9

ELISA法を用いた牛ウイルス性下痢ウイルス持続感染牛  
摘発の検討

宮田希和子

群馬県東部家畜保健衛生所

はじめに

牛ウイルス性下痢ウイルス（BVDV）は、感染時期により持続感染（PI）牛を娩出させ、PI牛は農場において感染源となる。PI牛摘発のためには、抗原検索としてウイルス分離や遺伝子検査が実施されているが、多検体を効率的に検査できる検査法としてELISA法が挙げられる。

今回、PI牛の摘発を目的としたELISA法の有効性について検討したので、その概要を報告する。

材料及び方法

管内の一酪農場においてBVDVが分離された死産子牛腹水1検体、過去に県内でBVDVが分離された血清9検体及び血漿1検体の計11検体を用いて、ELISA法による抗原検出検査（抗原ELISA）及びELISA法による抗体検出検査（抗体ELISA）を実施した。これらの検体は中和抗体試験において抗体は認められず、分離されたBVDVは血清及び血漿では1型、腹水では2型だった。

当該農場流産母牛及び同居牛の血清または全血48検体について、ウイルス分離、BVDV遺伝子検査、抗原ELISA、中和抗体試験及び抗体ELISAを実施した。

また、当該地域の平成25年度定期検査時血清（15農場697検体）及び管内の平成25年度定期検査時血清（28農場1,901検体）について、抗原ELISAを実施した。

抗原及び抗体ELISAは、アイデックス社「BVDV Ag/Serum Plus test」及び「BVDV Total Ab test」を用いた。

成績

BVDVが分離された検体の抗原ELISA結果はBVDV 1型2型とも陽性、抗体ELISA結果は全て陰性と判定された。

流産母牛と同居牛血清または全血48検体のウイルス分離、BVDV遺伝子検査及び抗原ELISA結果は全て陰性、抗体ELISA結果は血清44検体中21検体が陽性だった。中和抗体試験で1型2型ともに2倍以上の検体、いずれか2倍以上の検体については、抗体ELISAで陽性と判定された。

当該地域及び管内の定期検査時血清の抗原ELISA結果については、全頭陰性だった。

考察

今回、PI牛摘発のため抗原ELISA法を実施し、ウイルス分離及び遺伝子検査結果と比較検討したところ、いずれの検査法でも結果は一致した。抗体ELISAについても中和抗体試験と一致する結果だった。

今回用いたELISA法は多検体でも3時間で検査が終了し、ウイルス分離及び遺伝子検査と比較し、省力的かつ効率的な検査であった。効率的なPI牛摘発のためには短時間で多検体処理が可能な検査方法が望まれるが、今回の成績からELISA法は有効であると考えられる。今後はELISA法を活用し、管内PI牛摘発を進めていきたい。

## 蜜蜂の麻痺病発生事例とウイルス性疾病の浸潤状況

猿山由美<sup>1)</sup>、濱谷景祐<sup>1)</sup>、矢島佳世<sup>2)</sup>、青木亜紀子<sup>1)</sup>、宇佐美佳秀<sup>2)</sup>

1) 栃木県県央家畜保健衛生所, 2) 栃木県県南家畜保健衛生所

### はじめに

蜜蜂の麻痺病は、発症蜂の腹部が脱毛、黒光りし、体や羽の痙攣などの神経症状を示して飛翔不能となる。また、成蜂が大量に死亡するため経済的損失が大きい。その原因の代表的なものに、慢性麻痺病ウイルス（以下「CBPV」）、急性麻痺病ウイルス（以下「ABPV」）、イスラエル急性麻痺病ウイルス（以下「IAPV」）及びカシミール蜂ウイルス（以下「KBV」）がある。これらの麻痺病については世界各国で発生が報告されており、日本でも発生が確認されている。今回、本県で初めて蜜蜂の麻痺病の発生を確認し、さらに前述の3種類の麻痺病のウイルス（CBPV、ABPV及びKBV）に加え、チズレバネウイルス（以下「DWV」）、サックブルードウイルス（以下「SBV」）及び黒色女王蜂児病ウイルス（以下「BQCV」）の計6種類のウイルスについて、管内における浸潤状況を調査したので、その概要を報告する。

### 発生事例

平成25年5～6月に、A養蜂場2群、B養蜂場3群の計5群において、巣門周囲で成蜂が大量に死亡しているとの通報を受け、病性鑑定を行った。立入検査を行ったところ、A及びB養蜂場とも、発症蜂は巣箱から追い出され巣門付近で地面を這い、羽や体を振るわせており、それらの腹部では脱毛や膨満を認め、黒く光っていた。また、巣門付近には大量の死亡蜂が集積していた。

### 材料及び方法

**材料：**発症群からは成蜂の死体及び症状を示し衰弱した生体を、未発症群（対照群）からは健康な生体を、各々1群あたり50匹程度採材した。なお、A養蜂場では1群から3回、B養蜂場では3群から2回採材を行った。

**ウイルス学的検査：**各群10匹の頭部及び腹部をすり潰し培養液に加えて乳剤とし、常法の処理を行った後、逆転写ポリメラーゼ連鎖反応（以下「RT-PCR」）にてCBPV及びABPVについて遺伝子の検出を行った。

**病理組織学的検査：**A及びB養蜂場とも、2回目に採材した検体を用いた。20%中性緩衝ホルマリン液及びエタノール混合ブアン液で固定後、常法によりパラフィン切片を作成しヘマトキシリン・エオジン（HE）染色を行った。

### 結果 I

**ウイルス学的検査：**発症群において、A養蜂場ではABPVの遺伝子が検出され、B養蜂場ではABPV及び

CBPVの遺伝子が検出された。なお、未発症群からはいずれのウイルス遺伝子も検出されなかった。

**病理組織学的検査：**A養蜂場において、ABPVの遺伝子が検出された個体の下咽頭腺では、腺細胞の変性、好酸性分泌物の減少及び細胞質内における好塩基性封入体の形成が認められた。B養蜂場においてCBPVの遺伝子が検出された個体の下咽頭腺では、腺細胞の変性及び好酸性分泌物の減少が認められたが、封入体の形成は認められなかった。

### 浸潤状況調査

平成25年5～11月に、発生養蜂場を含む管内7市町12戸、13養蜂場、計25群の成蜂を用い、CBPV、ABPV、KBV、DWV、SBV及びBQCVについて、発生事例の方法と同様にRT-PCRを実施した。

### 結果 II

**麻痺病発症群：**A養蜂場ではKBV及びDWVの遺伝子が、B養蜂場ではDWV及びSBVの遺伝子が検出された。

**麻痺病未発症群：**17群中11群においてABPV、KBV、DWV及びSBVのいずれかのウイルス遺伝子が検出され、ABPV及びKBVの2種の遺伝子が検出された群も認められた。また、DWVの遺伝子は調査を実施した全7市町の8群で検出された。なお、CBPV及びBQCVの遺伝子は検出されなかった。

**養蜂場ごとの浸潤状況：**13養蜂場のうち11養蜂場で何らかのウイルス遺伝子が検出され、各養蜂場に1～4種類のウイルスが浸潤していることが確認された。B養蜂場では、発症群及び未発症群の全ての群において、SBVの遺伝子が検出された。

### 考察及び課題

成蜂の大量死の原因として、ウイルス感染や農薬散布の影響が考えられてきたが、今回の発生事例では、ABPV及びCBPVの関与が強く疑われた。浸潤状況調査では、数種類のウイルスが管内に広く存在し、不顕性感染の状態にあることが示唆された。不顕性感染は、環境性のストレスや餌不足により栄養状態が悪化した際に発症の可能性が高まることから、飼養管理には特に注意が必要となる。このため、飼養者に対して注意喚起を行うとともに、感染と発症との関係について更に追跡調査を行い、実態を解明していきたい。今後の課題として、麻痺病の原因となるウイルスは数種類あり、関与するウイルスを臨床症状から判断することは不可能であるため、今回未検査のIAPV及び遅発性麻痺病ウイルスにつ

いても調査が必要であると考えられた。また、麻痺病は春から夏に好発すると言われているため、ウイルスの浸潤状況の季節的変動を確認するとともに、媒介に関わる

とされるミツバチヘギータダニからのウイルス遺伝子の検出、さらに西洋蜜蜂と日本蜜蜂のウイルスに対する感受性の違いなどについて検討を加えたいと考えている。

〔参考〕平成26年度 日本産業動物獣医学会（関東・東京地区）発表演題一覧

- |  |  |
|--|--|
| <p>1 管内酪農家における緑膿菌性乳房炎の続発例<br/>牛山市忠（山梨県農政部畜産課），他</p> <p>2 バルク乳・個体乳検査による黄色ブドウ球菌に対する取り組みと性状検査<br/>吉崎 浩（東京都家畜保健衛生所）</p> <p>3 乳牛の乳房炎原因菌別にみた体細胞数および菌量について<br/>大慈祐介（千葉県農業共済組合連合会），他<br/>東部家畜診療所</p> <p>4 酪農経営改善への取組～繁殖検診及びJMRシートからの乳量予測<br/>大町雅則（山梨県東部家畜保健衛生所），他</p> <p>5 牛の性別別精液によるIVF胚の胚盤胞率の比較と卵管移植法の検討<br/>原田宗範（磯動物病院・栃木県），他</p> <p>6 牛の乳房内への内視鏡挿入及びその撮影<br/>大島藤太（栃木県畜産酪農研究センター），他</p> <p>7 牛ロタウイルス感染症に対するプロバイオティクス製剤を用いた治療方法の検討<br/>天辰正秋（東亜薬品工業㈱），他</p> <p>8 豚用プロバイオティクスがPED感染母豚に与える影響について<br/>稲富太樹夫（稲富動物病院・東京都），他</p> <p>9 一養豚場における亜鉛充足率の低下が一要因と考えられる離乳後事故率の増加及び改善事例<br/>山口大輔（茨城県農林水産部畜産課），他</p> <p>10 牛B群ロタウイルスに関する成牛下痢症マルチプレックスRT-PCR法の再検討<br/>曾田泰史（埼玉県中央家畜保健衛生所），他</p> <p>11 繁殖和牛にみられた牛ヘルペスウイルス1型による非化膿性髄膜脳炎<br/>水野剛志（群馬県家畜衛生研究所），他</p> | <p>12 豚インフルエンザの発生と分離株を用いたHI試験の条件検討およびその活用<br/>山下 薫（茨城県県北家畜保健衛生所）</p> <p>13 ELISA法を用いた牛ウイルス性下痢ウイルス持続感染牛摘発の検討<br/>宮田希和子（群馬県東部家畜保健衛生所）</p> <p>14 管内一酪農家における牛白血病対策<br/>駒井 圭（神奈川県湘南家畜保健衛生所），他</p> <p>15 野外での牛白血病ウイルス感染予防効果の検証<br/>濱谷景祐（栃木県県央家畜保健衛生所），他</p> <p>16 県内養豚場における<i>Cryptosporidium</i>の分子生物学的手法を用いた疫学調査<br/>油井 武（埼玉県中央家畜保健衛生所）</p> <p>17 研修生を雇用している管内一酪農家における乳質改善への取り組み<br/>兼重恵理（千葉県農業共済組合連合会），他<br/>南部家畜診療所</p> <p>18 口蹄疫発生時におけるチームワーク上の問題点とその対策として考案した実習「やぐら鶴」の効果<br/>堀北哲也（千葉県農業共済組合連合会），他<br/>中央家畜診療所</p> <p>19 蜜蜂の麻痺病の発生事例とウイルス性疾病の浸潤状況<br/>猿山由美（栃木県県央家畜保健衛生所），他</p> <p>20 腸管外病原性大腸菌による新生豚の敗血症<br/>松本敦子（千葉県中央家畜保健衛生所），他</p> <p>21 早産子牛の先天性多発性血管腫<br/>萩原妙子（千葉県環境生活部自然保護課），他</p> <p>22 黒毛和種肥育育成牛で発生した鼻腔内骨腫の一症例<br/>菊池允人（千葉県農業共済組合連合会），他<br/>西部家畜診療所</p> |
|--|--|

## 前腕変形に対し3Dプリンターモデルをもとに 変形矯正を行った1例

小林 聡<sup>1)</sup>, 森 淳和<sup>1)</sup>, 安川慎二<sup>1)</sup>, 藤井康一<sup>2)</sup>, 伊澤幸甫<sup>2)</sup>

1) ONE for Animals・横浜市, 2) 藤井動物病院・横浜市

### はじめに

前腕に重度変形が生じると、患肢の機能障害が生じたり、肘関節や手根関節に関節炎が生じるため、骨切り変形矯正が必要となる。骨の変形点が一点でありその変形が骨軸上に存在する場合には比較的容易に変形矯正が可能である。しかし実際には骨の変形点が複数あり、骨軸上に存在しない場合も多い。骨軸上で変形矯正が困難な場合には、変形矯正の手技は複雑となる為、CT画像にて変形の詳細を確認し骨切り部位や矯正角度を設定する必要がある。しかし複雑に変形した骨の変形矯正では、筋肉等の周囲軟部組織によって骨のランドマーク等が設定し難くなり、CT画像での術前設定の通りに変形矯正を行うことが困難な場合があり矯正不良を招くことがある。今回、骨軸外に複数の変形点が存在する前腕変形の矯正を確実にを行う目的で3Dプリンターモデルを使用した術前計画の作成及び手術を実施した症例を報告する。

### 材料及び方法

イタリアン・グレーハウンド、1歳、4.6kg、避妊雌。3カ月齢で右側橈尺骨幹部骨折を受傷。かかりつけ病院にて、φ2.0mmプレートにて、骨折の整復固定を行った。術後8週、5カ月齢で、橈骨及び尺骨の癒合が認められたため抜プレートを実施し、この時点で右側前腕に大きな変形は認められず経過良好であった。しかし、経過観察中の術後20週、8カ月齢で右側の前腕変形と跛行を主訴に来院し右側前腕の変形を認めたため、紹介を受け診察を行った。歩様検査では右側前肢の跛行及び負重障害を認めた。画像検査では、X線・CT検査にて右側前腕の外反変形及び前屈変形を認め、変形点が複数存在し、特に遠位橈骨では円弧状の変形を認めた。その為、橈骨の骨軸での変形矯正が困難であったため、橈骨の近位と遠位の関節面で解剖軸による変形矯正を計画した。術前のCT画像解析にてFPA (frontal plane anatomic axes) は右側橈骨で36.8°、左側橈骨で0°であり、SPA (sagittal plane anatomic axes) はそれぞれ26.8°、16.6°であり、患肢の右側橈骨に36.8°の外反及び10.2°の前屈変形が認められた。今回、複数の変形点があり骨軸の一致しない橈骨に対して、骨切り後、可能な限り同一の骨軸として橈骨の矯正を行い変形矯正を行う必要があった為、手術計画を作成する目的で、術前にCT撮影時に得られたDICOMデータより3Dプリンターを用い

変形した前腕の3Dモデルを作成した。そして3Dモデルを用い模擬手術を実施し、内外反・前後屈方向での橈骨の骨切り位置の設定、骨切り後の骨接合用のφ2.4mmのロッキングプレートの形状設定を行った。3Dモデルを用いた模擬手術ではFPA3.5°とSPA17.6°となるように変形矯正の設定を行った。3Dモデルはエチレンオキサイドガス滅菌を行い手術時の骨切り部の参照テンプレートとして使用し、変形矯正手術は模擬手術と同様に実施した。

### 結 果

術後の測定では、FPAは術前の36.8°から3.6°へ矯正されており、SPAは26.8°から14.8°へ矯正されており、ほぼ計画に基づいた変形矯正が実施できていた。矯正後のFPA及びSPAは左側対側肢の値及びイヌで報告されている関節軸の参照値とほぼ同等であった。術後の経過は良好で、患肢の機能障害や術後合併症は認められず、術後8週にて橈骨の癒合が確認された。

### 考 察

複数の変形が多軸で存在する場合、術前に平面画像で骨切りラインを設定しても、筋肉等の周囲軟部組織の影響で、画像上で設定した部分が、どの部分にあたるかの判断が困難で、骨切り面の設定や接合角度等は術者の経験や主観に頼る部分が多かった。医療領域ではこのような症例に対して、3Dプリンターモデルを用い術前計画及び模擬手術を実施することで手術の精度があがるとされ変形矯正に幅広く使用されて始めているが獣医療での報告はほとんどなされていない。今回の症例では3Dモデルを使用した変形矯正の利点として、模擬手術ができ骨切りラインやプレートの設置部位などが実物大のモデルで確認が可能であること・模擬手術を行うことにより外科チーム内で手術中の手順など共通認識が深まり手術がスムーズに行えること・3Dモデルに合わせ術中に計画通りに骨切りが実施可能であること・矯正後の骨に適合するようにプレートを予め設定できるので計画通りの矯正が行いやすいことが挙げられた。今後、術前計画に対して更なる検討が必要であるが、3Dモデルで模擬手術を行うことにより計画通りの治療が可能であり、作成した3Dモデルは術中にも確認ができるため、複雑な変形矯正に対し、3Dモデルを用いた矯正は有用であると考えられた。

## 肺 吸 虫 感 染 の 犬 の 1 例

佐藤 祐<sup>1)</sup>, 白石 健<sup>2)</sup>, 山下傑夫<sup>1)</sup>, 森田達志<sup>3)</sup>, 小野憲一郎<sup>1)</sup>  
平尾秀博<sup>1)</sup>, 他1) 日本動物高度医療センター, 2) パンダ動物病院・東京都,  
3) 日本獣医生命科学大学

## はじめに

肺吸虫は、扁形動物門吸虫綱住胞吸虫科 Paragonimus 属に分類される寄生虫の一種である。犬や猫、虎、狐、狸、猪、豚そして人も終宿主になり得る。本寄生虫の感染により宿主は様々な臨床症状を呈する。本寄生虫は特に肺に虫嚢を形成するため、肺組織を破壊し発咳、血痰など呼吸器症状を引き起こす。今回、肺の結節病変の精査を目的に来院し、肺吸虫感染症と診断し治療を行った症例を経験したため、これを紹介する。

## 症 例

ブリタニー・スパニエル、去勢雄、7歳齢。

**食 事**：犬用ドライフードの他にエゾシカの生肉（冷凍したもの）も与えている。

**予 防**：フィラリア予防や混合ワクチン及び狂犬病予防ワクチンは定期的に行っている。

**生活様式**：主に家庭犬として生活しているが、オーナーの趣味である狩りに連れて行かれことがある。狩猟の場は千葉県もしくは静岡県御殿場が多い。野外に出た際は猪の糞を食べてしまうこともあり、また河辺ではサワガニを食べる現場も確認されている。

**経 過**：紹介医で健康診断を実施した際に胸部X線検査を行ったところ肺に腫瘤陰影を認めたため、精査を目的に当センターを紹介受診した。臨床症状は認められない。

## 検 査 及 び 治 療

身体検査において特異所見は認められなかった。紹介医で実施した血液検査において異常値は認められておらず、当センター初診時に追加で測定した検査項目においても軽度なフィブリノーゲンの低値が認められるのみであった。CT検査を実施したところ、右肺副葉に造影増強に乏しく石灰化を伴う境界明瞭な最大径45mm大の軟部組織性腫瘤が観察されたが、他に原発腫瘍を疑う病変は観察されなかった。同腫瘤をエコーガイド下でFNAを行ったところ、細胞成分は認められず、淡黄褐色の卵形で鈍円端に小蓋を持つ構造物を多数観察した。寄生虫疾患を考慮し糞便検査を行ったが、虫卵は認めら

れなかった。

上記所見から肺吸虫感染による肉芽腫結節が疑診されたが、病変は重度に石灰化を伴っており、駆虫薬単独での内科治療では不十分と考えられたため肺葉切除術を提案した。当センター初診日から2週間後に手術を行い、右肺副葉を切除した。術後の経過は良好で、術後3日後に退院した。

切除した組織の病理組織検査の結果、肺の腫瘤は肺吸虫感染を伴う肉芽腫と診断され、結節内には多量の虫卵が充満し、中心部には虫嚢が形成され、内部に二隻の虫体を認めた。肺の気管支は軽度の気管支炎を生じていた。

回収した虫体及び虫卵の形態学的評価を行ったところ肺吸虫種は大平肺吸虫であることが示唆されたが、虫卵のサイズについては既報の大平肺吸虫の平均サイズよりやや大きく観察されたため、種の同定には至らなかった。そこで種の同定を行うため、虫体から抽出したDNAのITS-1及びITS-2領域の配列を既報の肺吸虫のそれらと比較した。その結果、大平肺吸虫との高い相率が確認され、本症例における肺吸虫種は大平肺吸虫と同定した。なお、術後には紹介医で駆虫薬（プラジカンテル）が処方され、内科的駆虫も行った。

## 考 察

肺吸虫は宿主の肺で産卵し、気道からの喀痰もしくは糞便を経て宿主の体外へと排出されるため、感染患者の糞便中からの虫卵検出がもっとも容易であり実用的な診断法である。本症例では肺吸虫に感染しながらも糞便検査での診断には至らなかった。その原因として、腫瘤表層は重度に線維化し豊富な炎症層に覆われていたことから、診察時に病変部からは活動的に虫卵を排泄しておらず、陈旧性病変となっていたと推測された。

本症例のように、肺の結節性病変を診療する際には、鑑別診断に寄生虫感染を含めた肉芽腫性病変を考慮すべきであり、このような症例においては生活様式や食事内容などの問診の必要性が特に高いと考えられた。またその治療法には内科的な駆虫のみならず、外科療法の有用性も考慮すべきと考えられた。

〔参考〕平成26年度 日本小動物獣医学会（関東・東京地区）発表演題一覧

〔第1会場〕

- 1 犬糸状虫に感染した若齢猫の1例  
市川美佳（日本動物高度医療センター・川崎市），他
- 2 肺吸虫感染の犬の1例  
佐藤 祐（日本動物高度医療センター・川崎市），他
- 3 猫に見られた膀胱毛細線虫（*Capillaria feliscati*）における治療例のまとめ  
吉田佳子（むらた動物病院・千葉県），他
- 4 *Demodex injai*による犬のニキビダニ症の4例  
柴田久美子（DVM's どうぶつ医療センター横浜・横浜市），他
- 5 外科的治療を行った真珠腫性中耳炎の犬9例  
山下傑夫（日本動物高度医療センター・川崎市），他
- 6 慢性外耳炎の関与しない真珠腫を呈したフレンドブルドッグの1例  
馬場智成（どうぶつの総合病院），他
- 7 原疾患治療と適宜輸血により長期経過が得られた猫の血液疾患3例  
周藤行則（すとう動物病院・千葉県），他
- 8 ネコインターフェロン投与によりFeLVプロウィルスの減少が認められた猫の1例  
福永男功人（福永動物病院・千葉県）
- 9 歯科用レントゲン検査の重要性を再確認した3症例  
澤田眞弓（成城こばやし動物病院・東京都），他
- 10 脾炎による肝外胆管閉塞に対して経皮経肝胆囊穿刺吸引法を実施した犬の2例  
中島麻里（日本動物高度医療センター・川崎市），他
- 11 群馬夜間救急動物病院における誤飲症例の実際  
金谷興一（群馬夜間救急動物病院・群馬県），他
- 12 多発性骨髄腫と診断した猫の1例  
津山慎吾（つるみね通り動物病院・神奈川県），他
- 13 低血糖から診断したアジソン病の犬の2例  
三井隆行（ノア動物病院・山梨県），他
- 14 極端な偏食を問題行動として来院した下垂体腫瘍の1例  
永滝春菜（DVM's どうぶつ医療センター横浜・横浜市），他
- 15 犬の混合ワクチン接種後の有害事象の検討  
松倉克仁（蔵の街動物医療センター・栃木県），他
- 16 乳酸菌 H61 含有犬用プロバイオティクスの皮膚に対する影響  
稲富太樹夫（稲富動物病院・東京都），他

〔第2会場〕

- 1 根治不能とされた犬の口腔内扁平上皮癌でPHTを実施した2例  
犬飼祥子（ノア動物病院・山梨県），他
- 2 術中，術後PHT及びメトロニック療法を行った

口腔内悪性黒色腫の1例

- 犬飼祥子（ノア動物病院・山梨県），他
- 3 長期生存したイヌの鼻腺癌の1例  
小山一輝（小山動物病院・栃木県），他
- 4 腎臓内に発生した副副腎腺癌の1例  
山口恭寛（DVM's どうぶつ医療センター横浜・横浜市），他
- 5 脾臓原発悪性腫瘍の肝臓転移に対しソナゾイド造影超音波画像検査を実施した若齢猫の1例  
野上 英（並木動物病院・千葉県），他
- 6 イヌの原発緑内障に対する隅角インプラント術の術後成績  
風間善道（トライアングル動物眼科診療室・東京都），他
- 7 明らかな外傷を伴わない角膜上皮封入嚢胞のイヌの1例  
稲垣真央（DVM's どうぶつ医療センター横浜・横浜市），他
- 8 眼型肉芽腫性髄膜脳脊髄炎（GME）により視覚喪失した犬の1例  
福島 潮（鎌倉山動物病院・神奈川県），他
- 9 体外循環下開心術を実施した犬の心室中隔欠損症の1例  
佐野直哉（麻布大学・神奈川県），他
- 10 脾臓および大網の陥入を認めた犬の心膜横隔膜ヘルニアの1例  
田村達也（木もれ陽動物病院・東京都）
- 11 腹腔内出血に伴う緊急脾臓摘出症例の予後因子に関する回顧的研究  
杉浦洋明（DVM's どうぶつ医療センター横浜・横浜市），他
- 12 *Subcutaneous Ureteral ByPass System (SUB)*を使用した猫の尿管閉塞の1例  
福山泰広（小川犬猫病院・神奈川県），他
- 13 手術用顕微鏡下で造袋術を行った脊髄クモ膜嚢胞の犬の2例  
灰井康佑（とがさき動物病院・埼玉県），他
- 14 プレガバリンにて良好な疼痛の軽減が得られた変性性腰仙椎狭窄症の猫の1例  
北宮絵里（あさか台動物病院・埼玉県），他
- 15 大腿骨頸骨幹端骨症と診断された猫の1例  
稲川憲司（稲川動物病院・茨城県），他
- 16 前腕変形に対し3Dプリンターモデルをもとに変形矯正を行った1例  
小林 聡（DVM's どうぶつ医療センター横浜・横浜市），他
- 17 脛骨高平部水平化骨切り術後の短期及び長期経過についての報告  
税所文子（ノア動物病院・山梨県），他

## シカ肉を含む食肉動物の *Sarcocystis* 感染による食中毒の可能性

斉藤守弘, 佐藤孝志, 土井りえ, 久保忠直

埼玉県食肉衛生検査センター

### はじめに

演者らは、馬肉食中毒の病因物質が *Sarcocystis* *tisfayeri* シスト内 15kDa 蛋白質であることを解明した。わが国においては、馬以外に *Sarcocystis* が存在することから獣畜等の感染肉による食中毒の可能性について究明することが急務と考えられた。今回、演者らは、わが国の牛、豚、羊及びシカとイノシシについて *Sarcocystis* 感染状況、感染数、シスト内ブラディゾイト数、下痢性毒の有無等を調査し、食中毒の可能性について調査したので報告する。

### 材料及び方法

(1) 牛、豚、羊及びシカ由来 *Sarcocystis* 15kDa 蛋白質の調査： *S. cruzi*, *S. miescheriana*, *S. arieticanis*, *S. wapiti*, *S. sybillensis* 及び *S. hofmanni* シストから抽出したタンパク質について抗 15kDa 蛋白質家兔血清を用いてイムノプロットを実施した。

(2) 下痢性毒：各種シストから各々 150 万個のブラディゾイトを採取して抽出した粗毒蛋白質をウサギ腸管結紮ループ試験に使用した。

(3) *Sarcocystis* 感染率、寄生数、種類、シストの大きさとブラディゾイト数：各種動物の感染率（肉用牛、乳用牛、繁殖豚及び肥育豚がそれぞれ 100 頭、羊及び日本ジカがそれぞれ 30 頭、イノシシが 40 頭）と 1cm<sup>2</sup> 当たりのシスト数、シストの大きさ及びシスト 1 個中のブラディゾイト数を調べた。

(4) 有症苦情馬肉事例との比較：有症苦情馬肉における 1cm<sup>2</sup> 当たりブラディゾイト数を算出し、得られた各種動物のブラディゾイト数を比較し、食中毒の可能性を調べた。

(5) 食中毒のリスクの高いシカの調査：埼玉県を含む 4 県で捕獲されたシカ 総計 134 頭について、*Sarcocystis* 感染状況、種別感染率とブラディゾイトを算出し、さらに、有症馬肉事例ブラディゾイト数との比較により食中毒のリスクを算出した。

### 結 果

(1) 各種 *Sarcocystis* シスト抽出液における 15kDa 蛋白質に関するイムノプロットの結果：調査した

*Sarcocystis* シスト抽出液に 15kDa 蛋白質の存在が証明された。

(2) 下痢毒の試験結果：調査した *Sarcocystis* シスト抽出液を用いた腸管結紮ループ試験で、すべてに下痢毒が証明された。

(3) *Sarcocystis* 感染率、寄生数、種類、シストの大きさ、ブラディゾイト数の結果：肥育豚以外すべてから *Sarcocystis* が検出され、乳用牛及びシカでは 100% の感染であった。1cm<sup>2</sup> のシスト数はシカが最も多く、15 個で、それ以外のものは 0.3 ~ 2.1 個であった。シストの大きさは、シカ寄生種 *S. hofmanni* が 6,000 ~ 9,000 × 80 ~ 120 μm と大きく、それ以外の種はいずれも 2,000 μm 以下と微小であった。*S. hofmanni* はシスト当たりブラディゾイト数 430,000 個と馬寄生種 *S. fayeri* の 43 倍であった。

(4) 食中毒のリスクの高いシカの調査：134 頭すべてに感染が認められた。種別の内訳は、*S. wapiti* が 134 頭で 100%、*S. sybillensis* が 121 頭で 90%、*S. hofmanni* が 27 頭で 20% であった。馬肉有症苦情事例より算出した 1cm<sup>2</sup> 当たりのブラディゾイト数 100 万個以上の検体数は 16 頭で 12% にみられた。食中毒リスクの高い検体は、すべての県でみられ、検出率に差はみられなかった。

### 結 論

今回調査した家畜の *Sarcocystis* には全て 15kDa 蛋白質を有し、いずれもループ試験が陽性を示した。このことからヒトに対して、いずれも食中毒症状・下痢を誘発するが、牛、豚及び羊においては寄生数が少ないことから食中毒のリスクはほとんどないことが判明した。いっぽう、シカでは *S. hofmanni* はシストが肉眼大でしかもブラディゾイト数は馬寄生種 *S. fayeri* の 43 倍と多く、また、埼玉県を含む 4 件の調査では馬肉食中毒検体から推定した 1cm<sup>2</sup> 当たり 100 万個以上のブラディゾイトを有するものが 12% 検出された。さらに、*S. hofmanni* 感染シカ肉による有症苦情事例もすでに報告されている。以上のことから馬肉以外の食肉としてシカ肉は *Sarcocystis* による食中毒の危険性が高いと考えられた。シカ肉による *Sarcocystis* 食中毒の予防方法として、馬肉と同様に冷凍処理することが今後最も重要であると考えられた。

## 腸管系病原体の感染予防対策を想定した手洗い設備構造及び機能の検討

藤平英一，清水佑也，武藤由美子，萩野良雄，池田凡美，井上孝夫

千葉県長生健康福祉センター（長生保健所）

### はじめに

当県では，食品取扱施設等の手洗器について，肘まで洗うことを目的とし大きさの最小基準を幅36cm×奥行28cmのL-30（旧L-5）規格と定めているが，同規格の手洗器の多くに標準装備された小型単水栓は，吐水口の位置が低く肘までの洗浄は困難であり，洗浄方法によっては水はねの他，手指の一部が手洗器の内側面に接触する恐れがある。

そこで同規格の手洗器の使用に当たり，これらの問題を解消し高い洗浄効果を得るための設備構造及び機能について知見を得たので報告する。

### 目 的

平成20年6月，演者は当県の研修会で，便座式トイレの使用では両手，両手首の他，利き手の手首から上向約15cmまでの腕部も汚染される可能性があることを発表した。

今回はこの結果を基に，L-30（L-5）規格の手洗器でも腸管系病原体の感染予防に必要な手洗いができるようにすることを目的とし，その理想的な設備構造及び機能として目指す具体的目標を以下のとおり設定した上，達成の方策を追究した。

《腸管系病原体の感染予防対策として設定した具体的目標》（以下「目標」）

- （ア）両手，両手首，利き手の手首から上向15cmまでの腕部を，30秒間×2回の手洗いで洗浄できること。
- （イ）水はねによる手洗器周辺への汚染を防止できること。
- （ウ）手洗い後，蛇口ハンドルの止水操作（接触）による手の二次汚染を防止できること。

### 方 法

L-5規格の手洗器を用いて，①手洗い洗浄試験及び②水はね試験を実施した。

①手洗い洗浄試験では，吐水口高（水栓の手洗器設置面から吐水口までの高さ），吐水角度（垂直落下方向（0度）に対する吐水の射出角度），吐水口形状（角型，丸型），吐水形態（通常流水，泡沫流水）を自由に換えられる水栓（蛇口）を独自に試作して手洗器に取り付け，取付部から吐水口までの水平距離を原則的に12cmに固定したまま，吐水口高等の条件を変えて手洗い洗浄効果を比較した。

手洗いは，手洗いチェッカーを用いて同一方法で行い，毎秒300cm<sup>3</sup>の一定流量で洗浄した。また客観的データを得るため，目標（ア）の洗浄対象範囲を便宜上14分割して各々の洗浄効果が○（良好）か×（不良）かを記録し，○の数を手洗いスコア（満点は14）とした。

②水はね試験では，予め澱粉糊を塗布した和紙を手洗器周囲に取り付け，両手にコードチンキを付着させながら手洗い洗浄試験と同条件下で手洗い作業を再現し，和紙に付着した水はねをヨウ素澱粉反応で発色させてその数を比較した。

### 結 果

- ・吐水角度20度の場合，（丸型）吐水口高2～16cmでは手洗いスコアが3～13，水はね数が53～175となり，（丸型）吐水口高18cmで手洗いスコアが14となった反面，水はね数は194と増加した。（特に，（丸型）吐水口高2～12cmでは手洗いスコアが10未満で，両手首から上向部位の洗浄が著しく困難であった。）
- ・（丸型）吐水口高18cmでは，吐水角度を10度→20度→30度→40度と変えた場合，手洗いスコアは10→14→14→14，水はね数は211→194→233→∞（測定不能）となった。
- ・吐水角度20度，（丸型）吐水口高18cmで，吐水口に試作メッシュを装着し泡沫流水に近い状態にした場合，手洗いスコアは14のまま，水はね数は121に減少した。
- ・（丸型）吐水口高10cmでは，吐水角度を20度→45度→90度と変えた場合，手洗いスコアは8→8→9と大差なく，水はね数は89→96→108と増加した。
- ・吐水角度20度，吐水口高2cmでは，吐水口形状を丸型→角型と変えた場合，手洗いスコアは3→4と大差なく，水はね数は53→131と増加した。（角型では水流にねじれが見られた。）

### 考 察

水栓の取付部から吐水口までの水平距離が約12cmの場合，（1）（丸型）吐水口高約18cm以上で最も高い手洗い洗浄効果が得られること，（2）（丸型）吐水口高約18cmでは，吐水角度約20度で水はね数を最小限に抑えられること，（3）吐水に泡沫機能を付加すると水はね防止に有効であること，（4）吐水口の形状は角型より丸型の方が水はねの防止に優れていることが考えられた。

更にこの結果に適合する水栓製品をL-5規格の手洗



器に取り付け、目標（ア）及び（イ）の達成を検証した。（同製品はL-30規格にも適合する。）

また検証の際、目標（ウ）を達成するため、同製品の蛇口ハンドルを別売りの筒型タイプに付け替えた上、福祉用の蛇口ハンドルレバーを装着することで、吐水操作時と同じ部分に触れることなく止水操作が可能になり、従来懸案であった「蛇口ハンドルからの二次汚染」の問題を解消した。（水栓製品等の経費は合計5,846円であった。）以上の成果は腸管系病原体の感染予防対策として

給食施設等への指導の一助になるだけでなく、厚生労働省が推進している一般飲食店営業施設等へのHACCP導入においても、そのシステム構築の基礎データとして有用であると考えた。

#### 謝 辞

本試験研究の総括に当たり、懇切なる御指導をいただいた千葉県衛生研究所細菌研究室の横山栄二氏に感謝の意を表します。

### 〔参考〕平成26年度 日本獣医公衆衛生学会（関東・東京地区）発表演題一覧

- |  |   |
|--|---|
| 1 残留抗菌性物質スクリーニング培地の比較と感度向上の検討<br>後藤慶子（茨城県県北食肉衛生検査所），他                      | 藤田雅弘（群馬県食肉衛生検査所），他  |
| 2 LC/MS/MSを用いたドキシサイクリン試験法の検討について<br>會田雄治（茨城県県西食肉衛生検査所），他                   | 11 東京都における保護・収容犬および猫のトキソプラズマ抗体保有状況<br>大井誠明（日本大学生物資源科学部獣医学科），他                               |
| 3 山梨県内のと畜場に搬入された豚および馬の動物用医薬品の適用外使用事例<br>山田沙苗（山梨県食肉衛生検査所），他                 | 12 シカ肉を含む食肉動物の <i>Sarcocystis</i> 感染による食中毒の可能性<br>齊藤守弘（埼玉県食肉衛生検査センター），他                     |
| 4 ノロウイルス感染症予防対策を想定した手洗い設備構造及び機能の検討<br>藤平英一（千葉県長生健康福祉センター），他                | 13 山梨県内のと畜場に搬入された馬の <i>Sarcocystis fayeri</i> の検出データを活用した馬肉取扱業者への衛生指導<br>北爪美帆（山梨県食肉衛生検査所），他 |
| 5 ノロウイルス不顕性感染者の実態調査<br>水越文徳（栃木県保健環境センター），他                                 | 14 食肉センターに搬入された牛におけるアミロイド症の発生状況<br>岩田智明（神奈川県小田原保健福祉事務所），他                                   |
| 6 山梨県内におけるロタウイルス集団感染症事例の遺伝子解析<br>西潟 剛（山梨県衛生環境研究所），他                        | 15 牛の食道パピローマの発生率・好発部位と病理組織学的及び遺伝子学的検査<br>佐藤孝志（埼玉県食肉衛生検査センター），他                              |
| 7 牛肝臓におけるカンピロバクター属菌の分布状況<br>井上伸子（群馬県衛生環境研究所），他                             | 16 鶏の扁平上皮癌の発生要因および病理学的検討<br>鷹野由紀（山梨県食肉衛生検査所），他  |
| 8 山梨県内の大規模食鳥処理場に搬入された鶏のカンピロバクター保菌状況と農場での飼養状況との関連について<br>吉野恵子（山梨県食肉衛生検査所），他 | 17 台湾からのコンテナに迷入した猫対応事例について<br>龍尾幸治（茨城県動物指導センター），他   |
| 9 MPN法およびリアルタイムPCR法を併用したカンピロバクターの定量方法の一考察<br>池永由梨子（山梨県食肉衛生検査所），他           | 18 飼育環境の改善が譲渡対象子猫の成長に与える影響について<br>藤原 優（山梨県動物愛護指導センター），他                                     |
| 10 肉用鶏から分離された <i>Streptococcus gallolyticus</i> subsp. <i>gallolyticus</i> | 19 宇都宮市におけると畜検査情報還元事業について<br>奥 朋子（宇都宮市食肉衛生検査所），他  |