

平成28年度 日本獣医師会獣医学術学会年次大会 (石川)  
地区学会長賞受賞講演 (四国地区選出演題)

[日本産業動物獣医学会]

産地区—12

浮腫病が継続する一養豚農家由来大腸菌の  
薬剤耐性獲得状況と分子疫学解析

彦田 夕奈

愛媛県家畜病性鑑定所

はじめに

平成24年～28年7月にかけて一養豚農家において浮腫病が継続して発生している。そこで、当該農場で分離された大腸菌の傾向を把握するため、薬剤耐性獲得状況を調査するとともにパルスフィールドゲル電気泳動(PFGE)による分子疫学解析を実施した。

材料及び方法

平成24年～28年7月に浮腫病と診断された10件(疑い事例1件を含む)で、発症豚から分離された病原性大腸菌(以下、発症豚由来大腸菌)18株と、発症豚と同居していた豚7頭から分離した大腸菌(以下、同居豚由来大腸菌)14株を調査に供した。発症豚由来大腸菌については、スライド凝集法によるO群血清型別検査、PCR法による毒素遺伝子(LT, STb, Stx2e)及び定着因子遺伝子(F18, F41, eae)保有状況調査、PFGE(制限酵素XbaI)による分子疫学解析を実施した。発症豚及び同居豚由来大腸菌について、薬剤感受性試験を実施した。全国調査を参考に19薬剤を選抜した。ABPC, PIPC, CEZ, CXM, CTX, CFPM, GM, KM, SM, TC, CP, NA, CPFX, LVFX, GFLX, STはディスク拡散法により感受性、中間、耐性を判定した。CL, APM, BCMは寒天平板希釈法により最小発育阻止濃度(MIC)を測定し参考値(動物医薬品検査所, EUCASTの既報)と比較して、感受性、耐性を判定した。また、PCR法によりプラスミド性CL耐性遺伝子(*mcr-1*)保有状況を確認した。

結 果

発症豚由来大腸菌はすべてO141で、STb/Stx2e/

F18を保有していた。PFGEによるフラグメント解析では、18株中17株で同様のバンドパターンを示した。薬剤耐性保有率(%)はABPC(100.0), PIPC(0.0), CEZ(72.2), CXM(16.7), CTX(0.0), CFPM(0.0), GM(72.2), KM(55.6), SM(100.0), TC(100.0), CP(100.0), NA(100.0), CPFX(100.0), LVFX(72.2), GFLX(88.9), ST(88.9), CL(100.0), APM(83.3), BCM(16.7)で、耐性薬剤数は8～16薬剤(平均12.7薬剤)であった。また、18株すべて*mcr-1*を保有していた。同居豚由来大腸菌の薬剤耐性保有率(%)はABPC(100.0), PIPC(78.6), CEZ(35.7), CXM(0.0), CTX(0.0), CFPM(0.0), GM(21.4), KM(85.7), SM(50.0), TC(100.0), CP(92.9), NA(35.7), CPFX(28.6), LVFX(28.6), GFLX(28.6), ST(92.9), CL(100.0), APM(50.0), BCM(28.6)であった。耐性薬剤数は6～14薬剤(平均9.6薬剤)であった。*mcr-1*保有率は、92.9%(13/14株)であった。

考 察

PFGEの結果より、同一の菌株が農場内に常在し、発病に関与していることが示唆された。また、発症豚由来大腸菌は多剤耐性傾向にあり、経年的な耐性薬剤数の増加も認められた。同居豚由来大腸菌についても、多剤耐性傾向が認められた。加えて、当該農場内に常在する大腸菌は高率に*mcr-1*を保有していることが明らかとなった。

【参考】平成28年度 日本産業動物獣医学会（四国地区）発表演題一覧

- |  |  |
|--|--|
| <p>1 受精卵移植による土佐あかうしの増頭への取り組み<br/>野村泰弘（高知県中央家畜保健衛生所），他<br/>嶺北支所</p> <p>2 効率的な性選別精液利用技術の検討<br/>森川繁樹（徳島県立農林水産総合技術<br/>支援センター畜産研究課），他</p> <p>3 香川県特産小麦（「さぬきの夢2009」）ふすま給与<br/>による肉用讃岐コーチンの特徴づけに向けて<br/>萱原由美（香川県畜産試験場），他</p> <p>4 管内和牛繁殖農家の牛白血病清浄化対策<br/>山下洋治（香川県西部家畜保健衛生所），他<br/>西讃支所</p> <p>5 乳牛の <i>Klebsiella pneumoniae</i> による甚急性乳房炎<br/>における乳汁中エンドトキシン活性値および細菌数</p> | <p>と予後の関係（第2報）<br/>杉山美恵子（NOSAIえひめ松山家畜診療所），他</p> <p>6 PCR法を利用した牛ボツリヌス症簡易迅速診断法<br/>の検討 森西恵子（香川県東部家畜保健衛生所），他</p> <p>7 搾乳牛にみられた出血性腸症候群の1症例<br/>小菊洋行（愛媛県家畜病性鑑定所）</p> <p>8 乳牛に見られた横紋筋肉腫の一例<br/>藤原理史（高知県中央家畜保健衛生所），他</p> <p>9 浮腫病が持続する一養豚農家由来大腸菌の薬剤耐性<br/>獲得状況と分子疫学解析<br/>彦田夕奈（愛媛県家畜病性鑑定所）</p> <p>10 イノシシにみられた寄生虫の重複感染を伴うサルモ<br/>ネラによる敗血症<br/>西野由里絵（愛媛県南予家畜保健衛生所），他</p> |
|--|--|

【日本小動物獣医学会】

小地区—12

犬の皮膚ランゲルハンス細胞組織球症の2症例

来田千晶<sup>1)</sup>，三谷 聡<sup>2)</sup>，土居通典<sup>3)</sup>

1) (株)四国細胞病理センター，2) あけぼの動物病院，3) どい動物病院

はじめに

犬の皮膚ランゲルハンス細胞組織球症（Canine Cutaneous Langerhans Cell Histiocytosis; 以下LCH）は、2014年にMooreが提唱した、ランゲルハンス細胞由来の増殖性疾患である。この疾患では、複数の皮膚組織球腫が同部位や遠隔部位に発生し、他臓器に進展病変が形成されることがある（Moore PF. *Vet Pathol.* 51 (1):167-84, 2014）。従って、LCHと同様のランゲルハンス細胞で構成される犬の皮膚組織球腫との形態的鑑別は、困難な場合が多い。今回、初発の孤在性腫瘍を皮膚組織球腫と診断した後に、同様の腫瘍が再発し、最終的にLCHと診断した2症例の臨床経過と病理学的所見の概要を述べる。また皮膚組織球腫とLCHの増殖指数に注目して、追加検討した概要を報告する。

【症例 1】

ウェルシュコーギー・ペンブローク、7歳、去勢オス。右大腿部の皮膚腫瘍を主訴に来院。3カ月経過しても、腫瘍が増大し、直径3cmほどになったため、切除された。病理組織学的検査の結果、「皮膚組織球腫」と診断した。切除1年2カ月後に、背側皮膚に腫瘍が多発し、切除された4カ所の腫瘍の組織所見より、「LCH」と診断した。同時に、X線検査で、肺にも6×3cmの腫瘍を認めたが、同部の病理学的検査は実施していない。初診時から再発時にかけて、血液検査で異常は見られなかつ

た。再発腫瘍の診断2カ月後に、発熱、頻呼吸を呈して死亡した。

【症例 2】

ミニチュアダックスフント、7歳、オス。左前肢第二指の腫瘍を主訴に来院。初診時より4カ月後に、腫瘍が直径3cm程度に増大したため断指した。手術時の血液検査所見に異常値はなかった。病理組織学的検査の結果、「皮膚組織球腫」と診断した。切除6カ月後に、隣の指である左前肢第一指に腫瘍を認めるが、オーナーが腫瘍の切除を希望されず経過観察。再発2カ月後に、呼吸困難が見られたので、オーナーが安楽死を選択した。剖検後の組織検査の結果「LCH」と診断した。なお死因は、化膿性肺炎と考えられた。

病理組織学的所見

病理組織学的検査では、2症例の切除された全腫瘍において、異型性に乏しい組織球系細胞が表皮直下から真皮深層あるいは皮下組織にかけてシート状に増殖していた。免疫組織化学的検査では、全腫瘍の増殖細胞は、E-カドヘリン陽性、Iba-1陽性であることから、ランゲルハンス細胞由来と判断した。これらの腫瘍の増殖能に関する半定量的検討では、HE標本観察で核分裂像が20～29個/10hpf（平均22.3個/10hpf）、Ki-67陽性率は0.5～7.7%であった。対照として検討した皮膚組織球腫（n=7）の核分裂像は0～32個/10hpf（平均17.7

個/10hpf), Ki-67陽性率は5.9~44.5%であった。

## 考 察

病理学的検査において, LCHは皮膚組織球腫と同様所見を示し, 両者の鑑別は困難であった。しかし, LCHの初発の孤在性腫瘤には, 壊死巣内の血管周囲に腫瘍性細胞の増殖やリンパ球浸潤を認め, これらの組織像は皮膚組織球腫の退縮期とやや異なっていた。LCHの診断には, 臨床経過が重要である。退縮の遅い, 皮膚

組織球腫と診断された腫瘤が存在した, あるいは, 皮膚組織球腫が多発する場合は, 積極的にLCHを考慮する必要がある。LCHの予後については十分検討されていないが, 過去の少数の報告や自験例では, 病態が緩やかに進行する傾向があり, いずれも予後は不良であった。このため特に中~高齢犬の皮膚の組織球系増殖性疾患については, LCHも念頭において診断・治療にあたることが重要と考えられた。

## [参考] 平成28年度 日本小動物獣医学会 (四国地区) 発表演題一覧

- 1 拡張型心筋症であったキャバリア・キング・チャールズ・スパニエルの1例  
大林浩二 (KOKO どうぶつ病院・香川県), 他
- 2 ネコにおけるメドミジン—ミダゾラム—ケタミンおよびイソフルラン併用麻酔と外科手術時のストレス関連性神経内分泌と代謝に及ぼすアチパメゾールおよびフルマゼニルの拮抗効果  
蒲原裕和 (かもはら動物病院・高知県), 他
- 3 特発性肺線維症と診断した呼吸困難を呈した猫の一例  
久保 剛 (久保動物病院・香川県)
- 4 臨床症状がぶどう膜炎から始まり診断に苦慮したクリプトコックス症の犬の一例  
樋笠正晃 (セントラルシティ動物病院・愛媛県), 他
- 5 低分子ヘパリンによる抗凝固療法を行ったTrousseau症候群の犬の1例  
松村征爾 (しげのぶ動物病院・愛媛県), 他
- 6 巨細胞皮膚症の猫の1例  
浅井由希子 (佐野獣医科病院・高知県), 他
- 7 ハリネズミにおける疥癬症の考察  
高田有基 (アシル動物病院・香川県), 他
- 8 トラネキサム酸を用いた催吐処置による血液凝固亢進有害事象とヘパリン同時投与による凝固亢進回避法の検討  
入江充洋 (四国動物医療センター・香川県), 他
- 9 猫鼻咽頭狭窄症の1例 (2症例の比較検討)  
須崎信茂 (すぎき動物病院・香川県), 他
- 10 犬の皮膚ランゲルハンス細胞組織球症の2症例  
来田千晶 (四国細胞病理センター・香川県), 他
- 11 唾液腺症と診断した犬の2症例  
植田和也 (うえだ動物病院・徳島県)
- 12 軸椎歯突起骨折による環軸不安定症に対して外科治療を行った幼若猫の1例  
井野寛之 (にはま動物病院・愛媛県), 他
- 13 カッタープレートと岸上式プラスチックプリントで治療した小型犬の橈尺骨骨折100頭109肢  
東条吉晃 (東条動物病院・香川県)
- 14 縫合糸反応性肉芽腫による水腎症に対し尿管ステントを使用した犬の一例  
船橋めぐみ (すぎき動物病院・香川県), 他

## [日本獣医公衆衛生学会]

### 公地区—11

## 徳島県産イノシシにおける *Hepatozoon* 属の感染状況について

山本瑞希, 飛梅三喜, 坂東英明, 赤松 茂

徳島県食肉衛生検査所

### はじめに

近年, 全国的にジビエ (野生鳥獣肉) に対する認知度が向上しており, 徳島県においても野生鳥獣による被害防止対策の一環として捕獲した個体の, 有効活用に向けたブランド化 (阿波地美栄) を推進している。一方, 食中毒の原因となり得る病原体の保有状況はいまだ明らかにされておらず, ジビエを安全に活用するためには, 病原体の保有状況の把握が必須である。徳島県ではその一

端として, イノシシ及びシカにおける *Sarcocystis* 属の保有状況の調査を行ってきたが, イノシシにおいて検査対象としていなかった *Hepatozoon* 属の感染が疑われる検体が複数認められた。 *Hepatozoon* 属は孢子虫綱に属する原虫であり, 宿主域は, ほ乳類, 鳥類, は虫類と幅広く, 国内のほ乳類では, イヌ, ネコ, ラット, マウス, ウサギ, キツネ等の感染が報告されている。中でも報告例の多いイヌのヘパトゾオン症は, 発熱, 貧血, 白血球増多症など時に重篤な症状を示す感染症であることが知

られているが、イノシシにおける *Hepatozoon* 属感染の報告例は少なく、症状も知られていない。今回、*Hepatozoon* 属のスクリーニング検査法を検討し、徳島県内のイノシシ及びシカにおける感染状況について若干の知見が得られたので報告する。

### 材料と方法

平成26年5月から平成28年3月までに徳島県において捕獲されたイノシシ158頭及びシカ85頭より採取した筋肉組織について検査した。平成28年4月27日生食監発0427第4号に準じて、筋肉組織500mgをペースト状になるまで細切し、TEバッファ500 $\mu$ lを添加して激しく混和した後、上清200 $\mu$ lを回収した。その後、QIAamp DNA Mini Kitを用いてDNAの抽出を行い、*Sarcocystis* 属用のプライマーを用いた定性PCR法にてスクリーニングを行った。得られたPCR産物についてシーケンス解析を行い、配列の同定を試みた。*Hepatozoon* 属と同定された検体の配列をもとに、その遺伝子配列を特異的に認識するプライマーを新たに設計し、1st PCRに *Sarcocystis* 属用、2nd PCRに *Hepatozoon* 属用のプライマーを用いた nested-PCR法にて *Hepatozoon* 属のスクリーニング検査を行った。

### 結果

*Sarcocystis* 属の定性PCR法による結果では、イノシシ111頭、シカ75頭がPCR陽性と判定された。これらのうち、イノシシ10頭及びシカ6頭のPCR産物の配列を解析した結果、ほぼ同じサイズのPCR産物が得られたにも関わらず、イノシシ10頭中7頭からは *Sarcocystis miescheriana* が、3頭からは岐阜県で発見された新種の *Hepatozoon* 属である *Hepatozoon* sp.

IB20が検出された。シカからは全頭 *Sarcocystis hjorti* が検出された。イノシシから同定された *Sarcocystis* 属と *Hepatozoon* 属の配列を比較したところ、両者の間で80%以上の一致が見られ、*Sarcocystis* 属用のプライマー部位とそれに相当する *Hepatozoon* 属の配列は91%一致した。そこで、両者の間で比較的相同性の低い部位に新たなフォワードプライマーを設計し、*Sarcocystis* 属用のリバースプライマーを用いて2nd PCRを行った。その結果、*Hepatozoon* 属でのみ特異的なPCR産物が得られた。この新たなプライマーを用いた nested-PCR法にて、再度、全頭について *Hepatozoon* 属スクリーニングを行った結果、イノシシでは158頭中79頭が陽性であった。うち20検体についてシーケンス解析を行ったところ、20検体全てが *Hepatozoon* sp. IB20であると同定された。また、今回用いた検査法ではシカからの *Hepatozoon* 属検出はなかった。

### 考察

今回新たに考案した検査法は、新種の *Hepatozoon* 属である *Hepatozoon* sp. IB20の感染の有無をスクリーニングするにあたり、非常に有効であると考えられる。今回行った調査により、徳島県内のイノシシにおける *Hepatozoon* 属感染率は50%と高く、また県内全域に広く蔓延していることが明らかになった。今回同定された *Hepatozoon* 属のヒトに対する病原性については明らかではなく、生活環についてもいまだ知られていない。しかし、イヌにおける *Hepatozoon* 属の終宿主がマダニであることから、狩猟者等は未知の病原体を持つ可能性のあるマダニとの接触を避けるよう注意する必要があると考えられる。

### 〔参考〕平成28年度 日本獣医公衆衛生学会（四国地区）発表演題一覧

- |   |   |
|---|---|
| 1 愛媛県の患者から分離されたペニシリン耐性肺炎球菌株の血清型及び薬剤耐性遺伝子について<br>園部祥代（愛媛県立衛生環境研究所），他 | （胎盤感染）事例について<br>松山拓史（高松市保健所生活衛生課食肉衛生検査所），他  |
| 2 愛媛県の患者発生地域における住民のSFTSウイルス抗体保有調査<br>木村俊也（愛媛県立衛生環境研究所），他            | 7 馬のカナマイシン残留事例について<br>山内豊史（高知市食肉衛生検査所），他  |
| 3 徳島県において検出されたE型肝炎ウイルス（HEV）の遺伝子解析<br>佐藤 豪（徳島県食肉衛生検査所），他             | 8 大規模食鳥処理場におけるHACCP導入型基準の対応に向けて～自主管理体制の確立とHACCPプランの作成に向けて～<br>谷尻大輔（愛媛県食肉衛生検査センター），他 |
| 4 徳島県産イノシシにおける <i>Hepatozoon</i> 属の感染状況について<br>山本瑞希（徳島県食肉衛生検査所），他   | 9 徳島県動物愛護管理センターにおける犬パルボウイルス感染症の発生状況と対策について<br>古川 意（公社徳島県獣医師会，動物愛護推進事務所），他           |
| 5 HACCP導入型基準導入に向けた牛糞便中の腸管出血性大腸菌保菌状況調査の有用性<br>薦田博也（香川県食肉衛生検査所），他     | 10 愛媛県の猫の飼育に関する意識調査<br>林 愛彩（愛媛県動物愛護センター），他  |
| 6 と畜検査で発見された地方病性牛白血病の垂直感染   |   |