



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 29 年度 日本獣医師会獣医学術学会年次大会 (大分) 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—10

デュロック種における PMWS に対する 抗病性に関する遺伝的要因の探索

鈴木香澄¹⁾, 吉岡 豪¹⁾, 両角岳哉²⁾, 鈴木啓一³⁾, 上西博英⁴⁾, 酒井喜義¹⁾

1) 岐阜県畜産研究所, 2) 日本ハム(株), 3) 東北大, 4) 農研機構生物機能部門

はじめに

豚離乳後多臓器性発育不良症候群 (PMWS) は豚サーコウイルス 2 型 (PCV2) の感染により離乳から肥育初期の子豚が増体量の減少及び死亡率の上昇を呈し、甚大な経済的被害を示す疾病である。

当所では平成 18 から 25 年度に繋養していたデュロック種 (D 種) の子豚 (n=2,717) が離乳後に増体重の減少、削瘦等を示し死亡 (n=184) した。年度毎の死亡率は平成 22 年度に最大となり、29.2%であった。平成 24 年度に PCV2 ワクチンを母豚及び子豚へ接種し始めた後に死亡率が低下したと臨床症状から、子豚の死因に PMWS が関係していると推測している。本研究は、この時期に生存した子豚は PMWS に対する抗病性と関連のある遺伝的要因を有していたと考え、これを解明することを目的とした。

材料及び方法

試験は平成 18 から 25 年度まで外部から種豚を導入せずに閉鎖群で繋養していた D 種集団を用いた。血清 (n=167) を用いて PCR 法 (小池ら 2017) にて抗原の検出を行い、陽性と判定したサンプルはシーケンスを実施した。腹毎の平均体重の 75% 以下の個体を「削瘦豚」とし、発生割合を求めた。さらに出生日、体重 (出生日、7 日齢時、離乳時及び 60 日齢時)、死亡日齢及び血縁が明らかな個体 (n=1,577) を用いて THRGIBBSF90 プログラムによって生存性に係る育種価を推定した。次に育種価の高低各 332 頭からゲノミック DNA を抽出し、Porcine SNP60 BeadChip を用いて一塩基多形 (SNP) の遺伝子型判定を行った。判定結果と PMWS による死亡との関連解析により、PMWS に対する抗病性と連関

する染色体領域を探索した。

結 果

PCR 法による陽性率は平成 22 年度から段階的に上昇した。現在これらはシーケンスを実施している。PCR 法による陽性率の推移と子豚の死亡率及び削瘦豚発生率の間には相関があった。PMWS による生存性に関する遺伝率は 0.15 であった。SNP 解析の結果、PMWS による生存性と有意な連関を示す領域が第 7 染色体及び第 13 染色体上に検出され、これらの領域には抗病性に影響を与えることが推察される遺伝子が存在した。

さらに供試した D 種集団の平均血縁係数は PMWS の発生により 4.9 ポイント上昇した。

考 察

PCR 法により陽性が認められ、その推移が死亡率や削瘦豚発生率と相関を示したことから、子豚の死亡原因の多くは PMWS であったと推察している。

PCV2 感染症は豚繁殖・呼吸障害症候群 (PRRS) ウイルスとの混合感染によって重症化する。当所は PRRS の発生歴がなく、試験期間中は ELISA 法にて陰性 (n=224) であることから、PMWS に影響を与えていないと考えられる。

また、多くの個体が PMWS によって死亡し、後継種豚の選抜が制限されたために平均血縁係数が上昇したと推察される。

今回、PMWS に対する抗病性と連関する領域を 2 カ所特定し、その領域中には抗病性に影響を与えることが推測される遺伝子が存在した。現在、候補遺伝子の多型解析を実施し、PMWS の抗病性に係る責任遺伝子を特定している。加えて、PMWS の生存性に関する遺伝率

は0.15と推察され、豚の産子数等と同等の遺伝率であった。以上のことからPMWSの抗病性育種の可能性が示唆される。

特定した第13染色体上の領域の近傍にはウイルスに対する抵抗性との関連が指摘されているMX1遺伝子の多型があり、PCV2との関連が示唆される。この多型のうち機能欠損型と想定される多型を持つ豚は死亡等の自然淘汰のため現存していない。試験期間中の供試集団の後継種豚の選抜は、主に離乳時の肢蹄の状態と増体重により実施しており、SNP多型や育種価を用いていない。したがって、現在の供試集団は自然選抜によって遺伝的な抗病性能を示す個体が残存していることが考えられる。

今後さらに本集団の解析を進め、最終的には当所の種豚を抗病性型のSNPをホモ型で固定化し、感染実験等

により抗病性能と作用機序を明らかにしていく。抗病性型のSNPのホモ型及びヘテロ型において抗病性能を確認できれば、これらをホモ型で持つD種豚を父親で用いることによって、ヘテロ型となることが予測される肉豚（LWD種等）にも抗病性を付与できると考えている。

疾病の制御は発症予防としてのワクチン接種、発症後の治療薬もしくは予防的投与を行う抗菌薬、生体及び環境からの病原体除去を目的とした消毒薬を主として用いている。抗病性を付与した種豚群を開発できれば、これらに加えた疾病の制御の新たな手段となりうるだろう。

本研究は、生産システム革新のための研究開発（家畜の革新的育種・繁殖・疾病予防技術の開発）の内「DNAマーカー育種の高度化のための技術開発（動物用DNA）」の支援により実施した。

産地区—11

牛捻転胃虫による繁殖和牛死亡例

松尾加代子¹⁾、宮木乃里子¹⁾、岩野良徳¹⁾、高島康弘²⁾

1) 岐阜県飛騨家畜保健衛生所、2) 岐阜大学

はじめに

牛捻転胃虫 *Mecistocirrus digitatus* は、牛の第4胃に寄生する体長数センチの線虫で、虫体の中心を走る消化管の周りを卵巣、子宮がらせん状に捻転しながら取り巻くことから、牛捻転胃虫の和名が付けられている。外界で孵化した感染期幼虫は牧草に登り、草とともに牛に摂食されることで感染する。感染から虫卵が糞便に排出されるまでのプレパテントピリオドは60日と他の線虫に比して長い。牛の胃壁から吸血を行うため、寄生を受けた個体は貧血を起こす。臨床症状として、削瘦や下顎部の浮腫、可視粘膜の退色などが見られる。羊や山羊に重篤な被害をもたらす捻転胃虫 *Haemonchus contortus* とは異なり、子牛での大量寄生では死亡例もあるとされるが、成牛の死亡は少なくとも国内では報告されていない。今回、牛捻転胃虫による繁殖雌和牛の死亡例が発生したため、成牛における重篤な転機症例として報告する。

材料及び方法

2016年12月、管内和牛繁殖農家（繁殖・育成雌牛飼育頭数42頭）において食欲廃絶及び歩様蹠踉、可視粘膜蒼白を呈した繁殖雌牛1頭が急死した。1例目死亡当日に、同様の症状を示す繁殖雌牛1頭が認められたため、血液検査を実施したところ、極度の貧血と低アルブミン血症が観察された。これら2頭の牛は2017年1～2月に分娩予定であった。翌日には2例目の牛も死亡したため、病理解剖を実施した。また、同農場飼育の繁殖牛全頭（36頭）の糞便検査を行うとともに放牧歴等につい

て聞き取りを行った。

結 果

剖検では、貧血による諸臓器の退色、右心の拡大と低アルブミン血症によると考えられる下顎部の浮腫、腹水、胸水の貯留が認められたものの、主要臓器、胎仔に著変は無く、失血を疑わせる所見は認められなかった。しかし、第4胃から夥しい数の赤色線虫が検出された。得られた線虫は、消化管をらせん状に取り巻く卵巣や交接囊、長い交接刺、頸部の小乳頭などの形態学的特徴から牛捻転胃虫と同定された。その他の寄生虫は検出されなかった。牛捻転胃虫の寄生数は、第4胃内容10gあたり平均125隻で、全体では数万～十数万隻程度と推定された。回収した500隻について観察したところ、虫体の多くは未成熟な4期幼虫で、子宮内に虫卵が認められる成熟雌は29隻のみであった。第4胃内容中の虫卵数は平均3/gであった。農場で飼育されている牛の糞便検査では、36頭中16頭から牛捻転胃虫卵が検出された。2016年の放牧は、6～10月に管内公共牧場で行われ、36頭中19頭が上牧されていた。上牧されていた牛では、19頭中15頭から虫卵が検出された。また、下牧時期が、7～8月の牛では約半数が虫卵を排出していたが、10月まで放牧されていた牛では全ての牛から虫卵が検出され、死亡した2頭も10月まで放牧されていた。

考 察

剖検は行っていないが、同様の経過をたどった1例目の牛も牛捻転胃虫による貧血で死亡したと推察される。当地では、2016年9月に長雨が続き、牧場での草の生

育が著しく悪かったようである。このため、通常であれば、牛が口にしないような糞便が落ちている箇所の感染期子虫が多く付着している草を食べたか、あるいは雨によって生じた水流で虫卵が多く集まる場所が出来ていた可能性がある。聞き取りにより、当該農家では、通常は上牧時、下牧時に放牧する全頭に駆虫を行っていたが、長雨による農作業の遅れから、10月に下牧した牛については戻ってきてからの駆虫を失念していたことが分かった。この結果、10月に牧野で感染した牛捻転胃虫がプレパテントピリオドに向かって吸血量が増大し、12月に成牛が死亡するほどの重度の牛捻転胃虫症を引き起

こしたのではないかと考えられた。本症例では、これほどの大量寄生であっても、未成熟虫体が多いことから胃内容中のEPGが平均で3とごくわずかで、剖検を行うことなく、牛捻転胃虫症を発見することは困難であったと思われる。

繁殖牛全頭の糞便検査で虫卵が検出された牛がいたことから、この農家で飼育されている子牛を含む全ての牛について駆虫を行い、虫卵の陰転化を確認した。また、管内の農家に対し、家畜衛生情報として、上牧下牧時の駆虫の必要性について注意喚起を行った。

〔参考〕平成29年度 日本産業動物獣医学会（中部地区）発表演題一覧

- | | |
|--|---|
| 1 体外受精における多精子受精の遺伝子検査法の開発と課題
林 みち子（石川県畜試），他 | 徳武慎哉（長野県松本家保），他 |
| 2 乳用経産牛における給与飼料の改善による胚移植成績向上と受胎牛検査成績の変化
笹木教隆（福井県畜試），他 | 12 子牛にみられた <i>Fusobacterium necrophorum</i> subsp. <i>necrophorum</i> による大脳膿瘍の1例
丹羽竜祐（石川県南部家保），他 |
| 3 搾乳牛における硝酸塩中毒の発生例と圃場の硝酸塩調査
野田基子（富山県西部家保），他 | 13 管内で発生した地方病性牛白血病の病性鑑定成績
先名雅実（富山県東部家保），他 |
| 4 乳房炎牛における血中ハプトグロビン（Hp）の濃度推移
中村正明（新潟県下越家保），他 | 14 肉用牛繁殖農家で発生した若齢子牛における地方病性牛白血病
西島典子（静岡県西部家保），他 |
| 5 ショート乾乳およびタイロシン併用による乳房炎治療法の検討
古本みずき（静岡県畜技研），他 | 15 脾破裂がみられた牛の組織球肉腫
岡部知恵（富山県東部家保） |
| 6 A牧場における皮膚糸状菌症改善のための総合的取り組み
山岸健二（静岡県東部家保），他 | 16 牛捻転胃虫による繁殖和牛死亡例
松尾加代子（岐阜県飛騨家保），他 |
| 7 愛知県における過去5年間の牛ウイルス性下痢ウイルス持続感染牛の摘発状況
奥村貴樹（愛知県中央家保） | 17 管内で発生した SpaA-609G 型豚丹毒の対策
杉江建之介（愛知県中央家保），他 |
| 8 黒毛和種子牛の大腿骨骨折におけるプレート固定の1例
渡辺 南（榊空と太陽どうぶつ病院・愛知県），他 | 18 放牧養豚場での豚丹毒発生
稲畑裕子（富山県西部家保），他 |
| 9 粉碎籾米の給与割合が交雑種肥育牛の発育および枝肉成績に及ぼす影響
藤森祐紀（長野県畜試），他 | 19 脳欠損が認められた豚の流行性脳炎
岡田真紀（福井県家保），他 |
| 10 肥育後期における緑茶飲料残さの給与が肉質に及ぼす影響
小林幸恵（静岡県畜技研），他 | 20 デュロック種における PMWS の抗病性に関する遺伝的要因の探索
鈴木香澄（岐阜県畜研），他 |
| 11 家畜集合施設における防疫演習の成果と課題 | 21 肉用地鶏におけるマレック病の発生状況
後藤新平（GAF 家畜診・岐阜県） |
| | 22 シャモでみられたマレック病の病理学的解析
金森健太（静岡県中部家保），他 |

輪部黒色細胞腫瘍摘出に対して自家表層角膜移植を行った猫の1例

小野 啓

パル動物病院・静岡県

はじめに

眼球及びその付属器はメラニン細胞が豊富に分布する組織である。そのため、眼球から発生する腫瘍は、メラニン細胞由来の腫瘍が多い。メラニン細胞由来の腫瘍は黒色細胞腫瘍といい、良性腫瘍は黒色細胞腫 (Melanocytoma)、悪性腫瘍は黒色腫 (Melanoma) に分類される。角膜輪部から発生する黒色の腫瘍を輪部黒色細胞腫といい、犬では組織学的に良性の腫瘍に分類される。しかし猫ではその発生は少なく組織学的には良性、悪性ともに存在すると報告されている。輪部黒色細胞腫瘍は角膜、強膜内に局限しており、それが良性腫瘍であれば摘出することで眼球を温存できる。完全な腫瘍摘出を行うためには、病変部周辺の角膜及び強膜の全層摘出が必要である。また摘出後の欠損した部位の補填として角膜及び強膜の移植手術を必要とする。現状の獣医療では人と異なり、他家の角膜及び強膜の移植片を入手することは困難である。今回、猫の輪部黒色細胞腫瘍に対して腫瘍の摘出を行い、その欠損部の補填に同側眼の自家表層角膜移植を行ったので報告する。

症 例

症例はアメリカン・ショートヘア、8歳齢、去勢雄。左眼の背側角膜輪部に黒色斑がみられるとのことで来院した。左眼の強膜及び角膜にかけて2×2mmの黒色腫瘍が存在した。眼球内の虹彩、毛様体等に腫瘍病変が及んでいないことから輪部黒色腫瘍と診断した。腫瘍の摘出及び病理組織診断を目的として、第13病日に腫瘍摘出手術を実施した。手術は、腫瘍欠損部へ移植する角膜の採取から行った。移植片は、同側の内眼角側の角膜表層 (厚さ0.4mm) を摘出する組織より一回り大きく切

除した。腫瘍摘出は、腫瘍周囲の結膜及びテノン囊を切開及び剥離し、その後腫瘍を含めた角膜及び強膜を全層切除した。全層切除後、精製ヒアルロン酸ナトリウム (プロビスク0.85, 日本アルコン(株)) にて前房形成を行った。摘出部周辺の角膜、強膜及び虹彩に肉眼的な黒色病変の残存がないことを確認し、欠損部に角膜表層を縫合した。次いで前房洗浄をして粘弾性物質を前房から除去した後、結膜及びテノン囊を被覆し縫合した。手術後の治療は、プレドニゾロン (1mg/kg SID 10日間)、セフォベジンナトリウム (コンベニア注8mg/kg SC)、セフメノキシム点眼液 (ベストロン点眼液TID 4週間)、ヒアルロン酸点眼液 (ヒアレイン0.3点眼液2カ月) を投与した。術後1日では、前房内に軽度のフレアがみられたものの虹彩炎は軽度であり、また移植片を採取した角膜実質への上皮化がみられた。術後1週間では、移植片を採取した角膜部は角膜上皮に覆われ、潰瘍が陰性となった。病理組織診断は輪部黒色腫であった。

考 察

本症例は摘出した腫瘍に病理組織学的に悪性を示す所見がみられなかったこと、術中に周辺組織への浸潤がみられないことから眼球を温存することができた。また、摘出後の欠損した部位を補填するために自家表層角膜を移植したが、術後2年経過した現在でも移植片は生着し眼球の形状及び機能に異常はない。しかし、移植した表層角膜は従来の角膜厚の約半分であることから長期的な予後を観察する必要がある。また猫の輪部黒色細胞腫瘍は、病理組織学的に予後が不明であることから、腫瘍の再発や転移に関しても定期的な観察が必要であると考えた。

エンロフロキサシンの経口投与により生じた薬剤性尿石症の1例

廣瀬 僚, 廣瀬智子

廣瀬動物病院・富山県

はじめに

エンロフロキサシンは主に第 I 相反応により、一部がシプロフロキサシンへと代謝され、親化合物と同等の抗菌作用を示す。シプロフロキサシンは医学領域において尿中への結晶化のリスクが認識されており、添付文書にもその記載があるが、獣医学領域においてはその報告は極めて少ない。今回、先発品エンロフロキサシンの経口投与により薬剤性尿石症が発生した症例について報告する。

症 例

パピヨン、9歳、雄、体重4.8kg、BCS4.0、各種予防歴有り。他院にて肝機能障害を指摘されて以来、肝臓用治療食の給与を継続していた。数年間にわたり、排尿時に黒色丸薬状の尿石が出るとの理由で来院。レントゲン検査にて最大6mm程度の多数の膀胱結石、尿検査にてシュウ酸Ca結晶を多数認めた。一般血液検査においては、ALPのみが952IU/lと高値を示したが、エコー上では重度の胆泥症以外には画像上の異常は見られず、TBA、アンモニア、T4、ACTH刺激試験のいずれもが基準値以内であった。膀胱結石の摘出手術を薦めるもオーナーは拒絶し、内科的なアプローチを強く希望したため、食餌を尿石用治療食に変更した。さらに、二次的な膀胱炎治療のため、エンロフロキサシン錠5.9mg/kg SID及びトラネキサム酸錠11mg/kg BIDを処方した。内服にて膀胱炎症状が改善し、オーナーは内服の継続投与を希望した。上記処方を3週間程度継続した時点で、オーナーより従来の黒色結石に混じり、多数の白色の結石が出るとの稟告を受けた。持参した尿石は従来の黒色結石に加え、薄黄色を呈する砂状の結石が多数混じっていた。当日の尿pHは5.5、尿比重は1.037であった。また、尿沈渣の鏡検ではシュウ酸Ca結晶に混じり、針状結晶物が多数認められた。臨床経過より薬剤性尿石症を疑い、直ちに上記処方薬を休薬したところ、約1週間で薄黄色の結石は消失した。また、腎障害などの健康被害は生じなかった。その後の尿石分析にて、黒色結石はシュウ酸Ca一水和物100%、薄黄色の結石はフルオロキノロン代謝物100%との結果を得た。

考 察

尿中での薬剤代謝物の結石化の一般的な原因として、著しい濃縮尿、尿うっ滞、腎機能障害、薬剤の多量投与などが考えられる。本症例では、いずれにも該当せず、発生の原因は現段階では不明である。エンロフロキサシ

ンの添付文書に記載のある投与期間は7日から14日までであるため、投与期間が本症例では7日程度延長しているが、製造販売元からは期間の延長が直接的な原因とは考えにくいとの回答が得られた。そのため、過去のさまざまな文献調査の結果から以下のような考察を行った。

エンロフロキサシンからシプロフロキサシンへの主な代謝酵素としてCYP1Aの関与が知られている。CYP1A2に関して、イヌでの代謝酵素機能の違いによる薬物体内動態の個体差が報告されている。CYP1A2のEM (extensive metabolizer) の個体と比べてPM (poor metabolizer) の個体では、CYP1A2基質の代謝物が約10倍多く生成するとの報告がある [1]。一方で、シプロフロキサシンは適応外使用であるが、成書に記載されているイヌの投与量 (5~10mg/kg SID) の2~3倍程度 (500mg/body BID \div 13mg/kg BID) にて、シプロフロキサシン結晶尿の発現が報告されている [2]。したがって、CYP1A2の代謝能の違いにより、エンロフロキサシン投与時のシプロフロキサシンの血中及び尿中濃度が通常よりも大幅に増加する可能性があり、結果としてシプロフロキサシン由来の結晶尿が発現する可能性が考えられる。現時点では尿結石がフルオロキノロン代謝物100%という結果のみであり、主要成分がシプロフロキサシンか否かは判断できない。CYP1A2のPMに関しては遺伝子多型により stop codonが入ることでCYP1A2のタンパクレベルでの発現が著しく減少することに起因するが、EMに関しての遺伝子多型などの情報は現段階では乏しく、肝臓サンプルでのタンパク発現量及び代謝能の違いで説明されている。したがってこれらを検討するためには、肝臓サンプルを用いたCYP1A2の酵素能測定や遺伝子多型分析などが必要となり、侵襲的な手法が必要となることから、オーナーの希望に沿わないため、更なる解析は現状では困難である。

本症例では薬剤性尿石症を疑い、速やかな休薬することにより、薬剤性尿石は消失し、その後の健康被害に至らなかった。フルオロキノロン系薬剤は、非常に稀ではあるがイヌにおいてもヒトと同様に薬剤性尿石症の原因となることを認識し、疑わしい場合には速やかな休薬が重要である。なお、本症例を製造販売元に報告したところ、本製剤にて尿中に顕微鏡レベルで結晶が析出した事例はあるが、肉眼的に結石化した事例は本症例を除き把握をしていないとの回答が得られ、世界で初の事例であると考えられる。

[1] Mise et al., Drug Metab Dispos, 32 : 240-245 (2004)

[2] Uchiumi et al., Vet Clin Pathol, 44 : 331-332 (2015)

〔参考〕平成29年度 日本小動物獣医学会（中部地区）発表演題一覧

- | | |
|---|---|
| <p>1 敗血症を伴った腎盂腎炎の猫の1例
砂川大輝（あい動物クリニック・富山県），他</p> <p>2 膀胱脱出した猫の会陰ヘルニア
小杉和伸（あい動物クリニック・富山県），他</p> <p>3 会陰ヘルニアの猫の2例 大内智裕（岐阜大），他</p> <p>4 エンロフロキサシンの経口投与により生じた薬剤性尿石症の1例
廣瀬 僚（廣瀬動物病院・富山県），他</p> <p>5 キサンチン尿石症を呈した猫の1例
野口英亮（清泉どうぶつ病院・静岡県），他</p> <p>6 骨盤狭窄による猫の巨大結腸症の2症例
近藤 舜（岐阜大），他</p> <p>7 尿管閉塞に対し Subcutaneous Ureteral Bypass (SUB) を実施した猫26例の回顧的研究
古川敬之（日本動物高度医療センター），他
名古屋・名古屋市</p> <p>8 ウサギの原因不明骨折に関する発生状況と併存疾患に関する検討
沖田将人（アレス動物医療センター・富山県）</p> <p>9 角膜上皮幹細胞疲弊症の猫の1例
中原和人（中原動物病院・愛知県），他</p> <p>10 輪部メラノーマ摘出に対して自家表層角膜移植を行った猫の1例
小野 啓（パル動物病院・静岡県）</p> <p>11 トセラニブが著効した悪性のエナメル上皮腫の犬の1例 田村 徹（しおかぜ動物病院・新潟県），他</p> <p>12 若齢犬に発症した皮膚肥満細胞腫2例
水野 累（水野動物病院・愛知県），他</p> <p>13 結節を外科的に切除し残存する局面に Mohs ペーストを使用した表皮内有棘細胞癌の猫の1例
田中史彦（動物病院ねこのて・新潟県），他</p> <p>14 急速に増大したウサギの皮膚平滑筋肉腫
佐藤良彦（さとう動物病院・長野県），他</p> <p>15 常電圧放射線治療における2cm ツープスの有用性
坂大智洋（新潟動物画像診断センター・新潟県）</p> <p>16 犬の入院時における血清コルチゾール濃度の予後予</p> | <p>測マーカーとしての有用性
青山令奈（湯木どうぶつ病院・名古屋市），他</p> <p>17 領域リンパ節転移の認められたランゲルハンス細胞組織球症の犬の1例
塩月彰子（日本動物高度医療センター），他
名古屋・名古屋市</p> <p>18 肺水腫における肺動脈性肺高血圧症の有無による治療方針の違い
川瀬将之（静岡県西部夜間救急動物病院・静岡県）</p> <p>19 手術後に急性呼吸促進症候群に陥った犬の4例
新家俊樹（あらいえ動物病院・石川県），他</p> <p>20 結紮後発作症候群の血中アミノ酸変動を評価した猫の1例 小川 高（小川動物病院・静岡県），他</p> <p>21 インスリン抵抗性糖尿病の原因が先端肥大症であった猫の1例 古橋秀成（ふるはし動物病院・愛知県）</p> <p>22 頭蓋内疾患に起因した抗利尿ホルモン不適合分泌症候群が疑われた犬の2例
藤井 豊（日本動物高度医療センター），他
名古屋・名古屋市</p> <p>23 新潟県内での猫の犬糸状虫血症血清学調査
星 克一郎（見附動物病院・新潟県），他</p> <p>24 犬のコアワクチン抗体価に影響を与える因子の検討—症例対照研究を用いて—
小島健太郎（小島獣医院・名古屋市），他</p> <p>25 犬および猫の鼻腔内腫瘍に対する細胞診断の有用性の検討 吉岡 亮（岐阜大），他</p> <p>26 皮膚肉芽腫から中枢神経系へ播種した猫 <i>Cryptococcus neoformans</i> 感染症の1例
杉山和寿（杉山獣医科・静岡県），他</p> <p>27 犬のアレキサンダー病の1例
西村奈緒（岐阜大），他</p> <p>28 頸部および腰部の複数個所で重度の椎間板ヘルニアを発症し横臥状態になった猫にベントラルスロットを行った1例
増田和明（ますだ動物病院・富山県）</p> |
|---|---|

下痢原性大腸菌 O159 を原因物質と特定した食中毒事例について

村田学博, 鈴木秀紀, 久家力也, 水本嗣郎, 森主博貴, 長岡宏美

静岡県環境衛生科学研究所

はじめに

2016年8月, 静岡県内宿泊施設の利用客281グループ1,149人中57グループ94人に下痢, 腹痛等の症状を主徴とする食中毒事例が発生した. 患者及び従事者便について食中毒起因菌の遺伝子検索及び菌分離を実施したところ, 耐熱性エンテロトキシン遺伝子(ST)保有の病原大腸菌O159が検出され, 本事例は毒素原性大腸菌(ETEC)O159が病因物質であることが判明した. 本発表では病因物質特定のエピソードについて報告する.

材料及び方法

患者(県内)便7検体及び従事者便17検体について, QIAamp DNA Stool Mini Kit(QIAGEN)を用いてDNAを抽出し, リアルタイムPCRを用いた16種類の食中毒起因菌遺伝子の一斉検索を行うとともに, 患者(県内)便12検体及び従事者便17検体をDHL培地に塗抹し, 発育した赤色コロニーをTSI培地, LIM培地に接種し, 大腸菌様の生化学的性状を示した菌株を, 大腸菌免疫血清(デンカ生研)で血清型別試験を行った. 患者(県内, 県外)便及び従事者便から分離した病原性大腸菌O159の浮遊液を100°Cで10分間加熱してDNAを抽出し, 「Primer Set ESH-1, ESH-2」(TaKaRa)及び「毒素原性大腸菌(LT gene) One Shot PCR」(TaKaRa)を用いてPCRを行い分離菌のST及び易熱性エンテロトキシン遺伝子(LT)の保有状況を調べた. また患者便及び従事者便から分離した病原性大腸菌O159の菌株について制限酵素XbaIを用いたパルスフィールドゲル電気泳動法(PFGE)にて分離菌の疫学解析を行った. また分離されたO159の一部の菌株でSTが検出されなかったため, ST保有の大腸菌O159(O159(ST+))株を, 分離培養で使用したDHLに塗抹し, 得られたコロニー42株と, 確認培養で使用したTSIに接種後得られた菌を普通寒天培地で再度培養して得られたコロニー22株からDNAを抽出し, PCRにて継代の影響によるSTの脱落の有無を調べた.

結 果

リアルタイムPCRを用いた患者及び従事者便におけ

る食中毒起因菌遺伝子の一斉検索では, 全24検体のうち, astAが6検体(患者3, 従事者3), STが3検体(患者1, 従事者2) eaeが2検体(患者1, 従事者1)から検出され腸管凝集接着性大腸菌(EAEC)等の指標とされるastAが最も多く検出された. 一方, 菌分離では患者7人及び従事者1人から大腸菌O159が分離された. 県外地衛研においても患者29名から大腸菌O159が分離され, そのうち12株が当研究所に分与された. 大腸菌O159のSTの保有状況は, 分離菌20株中14株がO159(ST+), 残りの6株がSTを保有しないO159(O159(ST-))であった. LTはいずれの菌株からも確認されなかった. また制限酵素XbaIを用いたPFGEでは分離された病原大腸菌O159の20株全てが同一由来と判断された. O159(ST+)をDHLに塗抹し得られたコロニー及びTSI接種後, 普通寒天に再度塗抹し得られたコロニーについては, いずれもSTの脱落は見られなかった.

考 察

今回患者及び従事者便の食中毒起因菌遺伝子の一斉検索でastAが最も多く(全体の25%)検出され, 本事例の原因菌がEAECまたはETECである可能性が示唆されたためST及びLTの項目を加え精査したところ, 迅速に病原物質を特定することが出来た. さらにPFGEにより分離株がSTの保有の有無に関わらず全て同一由来であることが確認され, 保健所の疫学的調査結果とあわせて, 本事例はST遺伝子保有の病原大腸菌(ETEC)O159が原因とされる食中毒事件と判断された. 分離されたO159株にはO159(ST-)も存在していたため, 菌の分離同定作業の中で脱落が起きた可能性を考えた. しかし今回の実験ではSTの脱落は確認されず, 菌の分離同定作業の中での脱落が起きた可能性は低いと思われる. 今回の事例では, 迅速性に優れる食中毒起因菌遺伝子の一斉検索によりastAとSTが検出され, 菌分離において大腸菌O159を原因物質と確認することが出来た. 今後はより効率的な菌分離と遺伝子検査を組み合わせた迅速な同定法の確立を目指していきたい.

牛枝肉の冷却工程における管理基準 (CL) の設定 — 冷却曲線と多変量解析 —

葛岡功弥子¹⁾, 北山信二²⁾, 河辺純平³⁾, 山本浩之⁴⁾, 松井伸道⁵⁾, 山内俊平¹⁾

1) 豊橋市食肉衛検, 2) 豊橋食肉事業協同組合, 3) (株)東三河食肉流通センター,
4) 愛知県経済連畜産部東三河食肉市場, 5) 愛知県経済連食肉部豊橋営業所

はじめに

国際的に認められている食品衛生管理手法に HACCP (Hazard Analysis and Control Point) がある。これは食品製造工程で発生するおそれのある危害を分析し、重要管理点を定めて、その危害をコントロールする食品安全マネジメントシステムのことで、国連食糧農業機関 (FAO) 及び世界保健機関 (WHO) の合同機関である食品規格委員会 (CODEX) によりガイドラインが定められた [1]。HACCP では分析した危害について管理基準 (以下、CL) を定め、全製品でその基準を満たす必要がある。

しかし、微生物的危害については培養に時間を要するため、その汚染状態を直ちに把握することは困難である。そのため、微生物増殖に影響する枝肉温度の管理、すなわち冷却工程の管理が重要となる。

と畜場での枝肉の冷却工程の CL について、厚労省の手引書では作業終了後 24 時間以内に枝肉表面温度 10℃ 以下としている。一方、欧州規則 853/2004 では深部温度 7℃ 未満 [2] (英国食品基準庁の手引書では牛枝肉の場合 48 時間以内 [3]) とされ、欧州安全機関による科学的意見書も公表されている [4]。

そこで、当所所管のと畜場における牛枝肉の冷却工程の CL を設定するため、冷却室の庫内温度と牛枝肉の表面及び深部温度の関連性について検討した。

材料及び方法

1. 配置場所による深部温度の差の検討

2016 年 9 月 6 日午前にと畜し、正午までに肥育牛 50 頭 (通常運用格納容量の 100%) を入庫し終えた冷却室において、四隅及び中央の 5 群 (A~E 群) 各 3 頭計 15 頭について、右側大腿部尾側面の深さ 7cm に肉用温度計を設置し、各々正午~20:00 まで 1 時間毎に温度計測した。SAS 社の統計解析ソフト JMP5.1 (以下、JMP) を用い、各群の観測値について初めに Levene の検定で等分散性を確認し、等分散の場合は Tukey-Kramer の検定を、等分散でない場合は Kruskal-Wallis の検定を行った ($P < 0.05$)。

2. 冷却曲線のモデル式及び信頼限界の算出

2017 年 1 月 10 日午前にと畜し、正午までに肥育牛 49 頭 (同 98%) を入庫し終えた冷却室 (設定温度 -7.2℃) において 19 時間、さらに翌朝 8:00 以降の保管先である保管室 (設定温度 -1.0℃) において 29 時間の計 48 時間、庫内温度、並びに、1. で最も冷えにくいと判定した群の各 3 頭の表面及び深部温度を自動記録計にて連続計測し

た。これらについて JMP を用い、最小二乗法により最適となるモデル式を算出した。さらに庫内温度については個別についての信頼限界上限を算出した。

結 果

1. 配置場所による深部温度の差の検討

20 時間経過時で中央群 (C 群) が最も冷却状態が悪かった。

2. 冷却曲線のモデル式及び信頼限界の算出

表面温度 10℃ 以下には 8 時間後、深部温度 7℃ 以下には 36 時間後に到達した。冷却曲線として、S 次式が最も当てはまりが良かった。庫内温度の信頼限界上限は次の S 次式で示された。

$$Y = Y_{\min} + (Y_{\max} - Y_{\min}) / (1 + \exp(-b(X - X_{50})))$$

$$[Y_{\min} = -3.84, Y_{\max} = 9.42, b = -0.24, X_{50} = 7.84]$$

考 察

HACCP は国際流通上必須の手法であり、日本では平成 30 年度に食品衛生法が改正される予定で、これにより HACCP による食品衛生管理が義務化されるため、その対策は急務である。

枝肉温度の推移を調査した報告は多くあるが [5]、国内と畜場の実際の運用を考慮した場合、個々の枝肉温度を測定することは困難である。よって、庫内温度から枝肉温度を推定する必要がある。

得られた冷却曲線では、冷却開始後 7 時間で厚労省通知の表面温度 10℃ に到達し、34 時間後には欧州規則の深部温度 7℃ に到達していた。なお、観測値では霜取による庫内温度の一時的上昇がみられたが、表面及び深部温度への影響はわずかではあり冷却曲線の算出に影響はなかった。

施設管理者は 24 時間通して庫内温度の自動記録をとっているが、その確認を勤務時間終了前の 16:30 及び出庫時の翌朝 8:00 に実施している。よって、この 2 点をモニタリングの定点観測時刻とし、庫内温度の信頼限界の式にこの定点時刻における冷却経過時間を当てはめて得られた温度を、管理上限温度すなわち CL とした。

畜産物の流通拡大には畜産部局推進の農場 GAP と衛生部局推進のと畜場 HACCP が不可欠なため、今後も関係機関との協働を図りたい。

参 考 文 献

[1] Hazard analysis and critical control point (HACCP) system and guidelines for its application: Annex to

- CAC / RCP 1-1969, Rev. 4-2003, 21-31 (2003)
- [2] Regulation (EC) No 0853/2004: Official J EU, EN ed. 47, L139/55 (2004)
- [3] Food Standards Agency: Meat Industry Guide, Chap.10, 12-13 (2015)
- [4] European Food Safety Authority: EFSA J, 12 (3) 3601, 1-81 (2014)
- [5] Beef carcass chilling: Current understanding, future challenges: Research R & KM knowledge management, 1-12 (2012)

〔参考〕平成29年度 日本獣医公衆衛生学会（中部地区）発表演題一覧

- | | |
|--|---|
| <p>1 疾病による経済的影響を含めたと畜検査結果フィードバックの検討 石田 徹（富山県食肉検），他</p> <p>2 HACCP導入型と畜場への適合に向けた取り組み 泉 聡（金沢市食肉衛検），他</p> <p>3 牛枝肉の冷却工程における管理基準（CL）の設定—冷却曲線と多変量解析— 葛岡功弥子（豊橋市食肉衛検），他</p> <p>4 と畜検査における豚の悪性黒色腫の発生状況調査 高山雄司（富山県食肉検），他</p> <p>5 と畜検査における牛白血病診断法に関する一考察 奥村拓矢（岐阜県食肉衛検），他</p> <p>6 と畜場における地方病型牛白血病抗体保有状況とその遺伝子型調査 大石泰彰（長野県松本食肉衛検），他</p> <p>7 飼育犬の糞便由来病原性大腸菌の保有状況 小島健太郎（公社名古屋市獣医師会），他</p> <p>8 Aと畜場に搬入された牛の腸管出血性大腸菌保菌調査 川西 諒（長野県上田食肉衛検），他</p> | <p>9 下痢原性大腸菌 O159 を原因物質と特定した食中毒事例 村田学博（静岡県衛研），他</p> <p>10 福井県におけるヒト由来 CTX-M 型基質特異性拡張型 β-ラクタマーゼ（ESBL）産生大腸菌の傾向 外川佳奈（福井県衛環研セ），他</p> <p>11 旗振り法によるマダニの生息調査における問題点 及川陽三郎（金沢医大・医動物）</p> <p>12 富山県の植生上から採集されたマダニの紅斑熱群リケッチア保有状況 佐賀由美子（富山県衛研），他</p> <p>13 愛知県での犬エキノコックス症届出に伴う野犬等のエキノコックス感染状況調査 長谷川晶子（愛知県衛研），他</p> <p>14 動物介在教育を支える獣医師の役割 松澤淑美（長野県動物愛護セ），他</p> <p>15 致死処分数減少に向けて未馴化成猫を3段ケージ飼育で馴化させる取組 齊藤 健（新潟県動物愛護セ），他</p> |
|--|---|