

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 (中国地区選出演題)

[日本産業動物獣医学会]

産地区—9

ウシのバーター症候群1型における変異型ホモ接合体の
出生例に関する解析

長谷川清寿¹⁾, 佐々木慎二²⁾, 坂本洋一³⁾, 高野彰文⁴⁾,
東 智子⁵⁾, 杉本喜憲⁶⁾, 他

- 1) 島根県立農林大学校, 2) 獨家畜改良センター, 3) 島根県畜産技術センター,
4) 島根県農業共済組合連合会雲南家畜診療所, 5) 島根県畜産課家畜病性鑑定室,
6) (公社)畜産技術協会附属動物遺伝研究所

目 的

島根県内で2009年から2015年にかけて続発した黒毛和種牛の胎膜水腫は、特定の種雄牛を始祖とする常染色体劣性遺伝病「ウシのバーター症候群1型 (BBS1)」であり、その原因変異は *SLC12A1* 遺伝子のミスセンス変異 p.Pro372Leu であることを昨年度の本会で報告した (長谷川ら; 2016)。その後我々は、引き続き3,000頭レベルのBBS1遺伝子型検査を行った中で、母牛は妊娠中に胎膜水腫の症状を示すことなく、外見上健全に発育した変異型ホモ接合体の黒毛和種牛に遭遇し、当該劣性変異の機能等に関連する解析を行った。

方 法

供試牛は、特定1農場において *SLC12A1* 遺伝子変異のヘテロ接合体である両親の交配で生産された全きょうだい牛2頭 (変異型ホモ接合体およびヘテロ接合体)、及び別の両親由来で同時期に生産された1頭の黒毛和種牛 (野生型ホモ接合体) を用いた。生後3か月に、腎臓の超音波画像診断を行い、2週間隔で3回の血液検査 (Na^+ , K^+ , Cl^- , BUN, CRE) ならびに *SLC12A1* のトランスポーター活性阻害効果を有するフロセミドの負荷試験 (FLT) を行った。FLTは、等張リンゲル液

(25ml/min) を補液し、補液中にフロセミド (Lasix-20mg; Sanofi) 120mgを筋肉内投与、その前後に採尿して尿中 Na^+ および Cl^- 濃度を測定した。

結 果

腎臓の超音波画像では、3頭に異常は認められなかった。血液検査では、変異型ホモ接合体の電解質血中濃度 (mEq/l 平均値; Na^+ , K^+ , Cl^- : 129.3, 3.07, 84.0) が、ヘテロ接合体 (134.3, 4.13, 96.0) 及び野生型ホモ接合体 (136.0, 4.53, 99.3) と比べて有意 ($P < 0.01$) に低値であった。BUN および CRE について、3頭の測定値に差は認められなかった。また、FLTでは、ヘテロ接合体および野生型ホモ接合体ではフロセミドの投与後に尿中 Na^+ および Cl^- は有意 ($P < 0.05$) に上昇したが、変異型ホモ接合体ではほとんど変化しなかった。

考 察

以上の結果から、*SLC12A1* の変異 (g.62382825G>A, p.Pro372Leu) は *SLC12A1* の機能阻害変異であることが示唆され、この劣性変異によって惹起されるBBS1は不完全浸透 (incomplete penetrance) であることが明らかとなった。

黒毛和種牛農場における抗菌薬使用量調査と 適正・慎重利用に関する一考察

鈴木直樹, 石橋朝子

広島県農業共済組合北広島家畜診療所

はじめに

近年, 人医療に影響を与える動物由来細菌の抗菌薬耐性 (AMR) が問題となっており, 農林水産省はアクションプランとして抗菌薬の適正・慎重利用を掲げている。また, 薬剤耐性菌は抗菌薬の暴露により選択されるため, フードチェーン最上流である生産現場 (農場) での抗菌薬使用量のモニタリングは, 公衆衛生の観点から重要である。しかし, 往診を主体とした産業動物獣医療では, 微生物学的根拠に基づいた治療の徹底は難しい。さらに, 農場規模の差などにより抗菌薬の使用量が比較できず, 生産現場における抗菌薬使用量モニタリングの報告は少ない。人医療では, 診療施設ごとの抗菌薬使用量算出法として, WHO により DDD (Defined Daily Dose) を用いる方法が推奨されており, この手法を用い算出された施設単位の抗菌薬使用量と, 分離株の AMR 傾向が多く報告されている。そこで本研究では, 産業動物獣医療における抗菌薬の適正・慎重利用法を検討, 確立することを目的に, 農場ごとの抗菌薬使用量を DDD を用いる方法を参考に算出し, さらに子牛鼻腔内の日和見性細菌の薬剤感受性試験, 細菌性肺炎治療に係る抗菌薬選択を調査することで, 農場ごとの抗菌薬使用戦略について再考察した。

材料及び方法

- 1 抗菌薬使用量の調査: 北広島家畜診療所管内の黒毛和種牛農場3農場 (A, B, C農場) を対象に, 12種の抗菌薬 (PC, ABPC, CEZ, CTF, TS, TMS, OTC, SM, KM, FFC, ERFX, MBFX) について, 2016年1月から12月までの抗菌薬使用量を算出した。算出方法は, Treatment Incidence: TI (number of DDD/1000 cattle at risk/day) として, [抗菌薬総使用量(mg)]×1000/[DDD(mg/kg)]×[調査期間(days)]×[曝露牛総体重(kg)] にて求めた。本調査における DDD は国内基準 (添付文書) を用いた。
- 2 抗菌薬選択調査: 3農場を対象に, 調査期間の診療簿より細菌性肺炎治療時の選択次別抗菌薬ならびに治療までの選択次数を調査した。
- 3 鼻腔内日和見性細菌の薬剤感受性試験: 2017年年頭に3農場の子牛鼻腔内より *P. multocida* (PM), *M. haemolytica* (MH), *H. somni* (HS) の分離を試み, さらに分離株について, ディスク法により12種の抗菌薬の薬剤感受性試験を実施した。

結 果

農場ごとの年間総 TI (A農場/B農場/C農場) は 4.68/5.72/0.71 であり, C農場がA, B農場に比べ低かった。また, A, B農場においてPCのTIがそれぞれ3.21, 2.67と突出して高く, 次にSMが0.78, 0.67と続いた。抗菌薬選択調査では, B農場1次がCEZ, OTC, PCG/SM合剤, KMの順, 2次がERFX, MRFX, TSの順, 3次がERFX, KM, TSの順で多く, 4次ではERFX, KMが選択され, 最大選択次数4であった。C農場では1次ではCEZ, OTCの順, 2次ではOTC, FFC, ERFXの順に多く, 最大選択次数2であった。A農場では診療所が行った細菌性肺炎治療はなかった。鼻腔内日和見性細菌検出率 (A農場/B農場/C農場) は, PMが50%/100%/100%であり, MH, HSはいずれの検体からも分離されなかった。分離株の薬剤感受性はSMに対する耐性率 (A農場/B農場/C農場) が100%/80%/0%であり, KMに対する耐性率が0%/20%/0%であった。他の抗菌薬には全ての分離株が感受性を示した。

考 察

人医療分野で報告されているように, DDDを用いた抗菌薬使用量の調査をすることで, 農場ごとの抗菌薬使用傾向を可視化することができた。一方, TI算出時の問題点として, 本研究で用いたDDDは, 国内の基準を用いているため国際性がなく比較できないこと, 年間を通して頭数の変動が大きい農場では, 年単位のTIの計算が困難であること, などが考えられた。

また, A, B農場ではSMに対する薬剤耐性株が浸潤していると疑われ, 今後肺炎治療を目的としたSMの選択を中止した。さらに, B, C農場の1次選択で多く用いられているCEZやOTCに対し, 当該農場からの分離株が感受性を示していた。したがって, これらの抗菌薬を選択して臨床症状が改善しない理由としては, ウイルスやマイコプラズマ (CEZ選択時) の影響などが考察された。このように, 本研究により得られた情報は, 農場ごとの抗菌薬選択を主体とした治療戦略の再考に大きく寄与した。

さらに, 本調査ではSMのTIが高い農場ほど分離株のSMに対する耐性率も高くなる傾向にあったが, SM以上にTIの高かったPCには全ての分離株が感受性を示し, 抗菌薬ごとに異なる傾向を示した。細菌の薬剤耐性獲得は, 細菌ごと, 抗菌薬ごとにその獲得機序が異なるため, それぞれ個別の調査が必要であると考えられ

る。したがって、本調査の調査農場、対象疾病を増やすことで、産業動物臨床現場における抗菌薬の使用とAMRについて疫学的な情報を得られる可能性があり、

特に産業動物領域では、ESBL等が問題視されている腸内細菌科と、 β ラクタム系の乳房内注入薬が多用される酪農場における調査は重要だと考えている。

産地区—19

羊における羊ヘルペスウイルス2型 (OvHV-2) の体内動態と悪性カタル熱の蔓延防止対策についての考察

増田恒幸¹⁾、黒田萌黄²⁾、柄 裕子²⁾、中村耕太郎²⁾、岡田綾子²⁾

1) 鳥取県農業振興戦略監畜産課, 2) 鳥取県倉吉家畜保健衛生所

はじめに

悪性カタル熱 (MCF) はウシカモシカが自然宿主であるウシカモシカ媒介型と、羊が自然宿主であるヒツジ随伴型 (SA-MCF) があり、家畜伝染病予防法において届出伝染病に指定されている。SA-MCFはヒツジヘルペスウイルス2型 (OvHV-2) による感染症で、牛やしかなどの感受性動物では熱、呼吸器・消化器のカタル性炎等を主徴とした致死の経過をたどるが、自然宿主である羊は一般的に不顕性感染である。海外では豚での発生も報告されており、われわれは2016年に国内初となる豚のSA-MCFを本学会で報告した。SA-MCFは発症動物において、急死、口腔粘膜のびらん、潰瘍及び回腸のボタン状潰瘍等が認められることもあり、口蹄疫や牛ウイルス性下痢ウイルス感染症、豚コレラ等の家畜伝染病との類症鑑別が非常に重要と考えられる。SA-MCFの感染様式は、一般的に若い感染羊がウイルスを排泄し、水平感染により未感染羊や牛などの感受性動物へ伝播すると考えられている。このため本病の蔓延防止には羊群と感受性動物を接触させないことが重要である。発生が羊の周産期に関連することや、不顕性感染羊からの垂直感染も考えられているが、その詳細は不明である。今回、OvHV-2感染羊の血中ウイルス保有状況並びにウイルス排泄状況を継時的に調査した。同時に、感染羊から娩出された新生子羊についてウイルス学的検査を実施し、その結果を基に本病の感染経路及び蔓延防止対策についての考察を行った。

材料及び方法

2016年3月に豚におけるSA-MCFの発生があった農場で、同居していた2頭の雌 (13カ月齢) と1頭の雄羊 (10カ月齢) から、2016年3月から2017年5月に、血液及び鼻腔スワブを計10回採取し、OvHV-2遺伝子を検出するリアルタイムPCR (qPCR) を実施した。血液については、OvHV-2の合成DNAを作成して、ウイルス定量を実施した。2017年4月7日及び10日に2頭の雌はそれぞれ1頭ずつ子羊を出産したため、その2

頭の子羊について、2017年4月10日と5月8日に血液と鼻腔スワブを採取した。また母羊については2017年5月に乳汁を採材した。これらを用いて同様にqPCRを実施した。

結果及び考察

計10回採材した同居羊3頭全ての血液からOvHV-2遺伝子が検出され、その血中ウイルス量は1122.0から27320.5 copy/反応であった。2016年3月23日に採材した鼻腔スワブにおいて、雌1頭と雄1頭から、2016年5月2日と5月30日に採材した雄羊から、2016年6月30日には雌1頭と雄1頭からOvHV-2遺伝子が検出された。しかし、その後はいずれの羊からもOvHV-2遺伝子は検出されなかったが、2017年5月8日に採材した2頭の乳汁からOvHV-2遺伝子が検出された。しかし、2017年4月に出生した子羊2匹の血液及び鼻腔スワブ (4月10日及び5月8日採材) からはOvHV-2遺伝子は検出されなかった。これらの結果から、血中ウイルス量と鼻腔からのウイルス排泄には関連がなく、感染羊は持続的にウイルスを保有し続けるが、分娩前後においても再排泄の可能性は低いと考えられた。また不顕性感染している羊の乳汁からOvHV-2遺伝子が検出されたことから、垂直感染の可能性は完全に否定できないが、出生した子羊からはOvHV-2遺伝子が検出されず、その可能性も低いと考えられた。このため、新生羊とウイルスを排泄している感染羊の早期に隔離が実施できれば、羊群内での感染が防止でき、将来的にはOvHV-2フリーの羊群を作成出来るかもしれない。SA-MCFはその臨床症状から口蹄疫等の家畜伝染病と類症鑑別上重要であり、多くの動物を飼養する動物園等の動物集合施設においても注意しなければいけない疾病と考える。今回のように羊体内のOvHV-2動態と鼻腔からの排泄状況について長期間モニタリングを実施した報告はない。OvHV-2の感染様式は諸説あり、その実態は不明な部分が多いと考えられるため、本研究がSA-MCFの蔓延防止と感染経路究明の一助となることを期待する。

肉用牛一貫経営農場の牛白血病清浄化

秦 守男¹⁾, 守屋吉英²⁾, 平田祐介¹⁾, 中村浩三³⁾, 廣瀬友理²⁾, 別所理恵²⁾

1) 岡山県高梁家畜保健衛生所, 2) 岡山県岡山家畜保健衛生所, 3) 岡山県真庭家畜保健衛生所

はじめに

地方病性牛白血病は牛白血病ウイルス (BLV) 感染により引き起こされ、近年全国的に増加傾向にある。本病を発症すると、腫瘍形成部位に関連した臨床症状を示すこともあるが、臨床的に異常が認められないにもかかわらず、と畜検査時においてリンパ肉腫が認められ牛白血病と診断される例が多い。牛白血病と診断されれば全廃棄処分となることから、その損失はとりわけ肉用牛において多大なものとなる。本病の防除に向けて全国的に取り組みがなされているところであるが、今回、管内の肉用牛一貫経営農場で6年かけて取り組んだ結果、牛白血病の清浄化に成功したので、その経過と概要を報告する。

材料及び方法

当農場は繁殖牛約300頭、肥育牛約1,000頭の黒毛和種を飼養している。平成23年度から28年度にかけて、繁殖牛の浸潤状況把握のため年1, 2回BLV抗体検査を延べ1,906頭実施した。加えて平成26年度以降から感染繁殖牛のとう汰優先順位付け及び農場内感染時期の把握のためリアルタイムPCR法 (以下、RT-PCR) によるプロウイルス定量を94頭実施した。6カ月齢未満牛や外部導入牛の感染把握のため、定性法であるコンベンショナルPCR法 (以下、PCR) をそれぞれ277頭、86頭実施した。

成績

取組初期 (平成23年から平成25年前半) : 従来から実施している器具の交換・消毒等人為的感染リスクの排除、感染牛の隔離飼育やとう汰等の対策を講じたにもかかわらず、繁殖牛抗体陽性率は増加した (17.6%

→25.7%)。

対応策 : 検査方法に遺伝子検査を導入。RT-PCRで抗体陽性感染牛のBLV遺伝子を定量し、遺伝子量1,000copies/血液1 μ lを基準として遺伝子量の高い牛から優先的とう汰、更新を指導。また、感染牛から生まれた子の感染時期を把握するため実施したRT-PCRにて、出生直後の子牛6頭中1頭で垂直感染、育成牛19頭中12頭で水平感染が確認された。この結果をもとに農場内感染防止のため、哺乳舎から育成舎へ移動する3カ月齢子牛全頭にPCRを行い、感染牛を防虫ネットで囲った隔離牛舎で飼育した。外部導入の繁殖候補牛にも、導入後PCRを実施し、感染牛は肥育向けとした。

取組後期 (平成25年後半から平成28年) : 上記対策を講じた結果、発症牛は平成25年10月以降認められず、自家産3カ月齢子牛のPCRでBLV感染牛は平成28年度後半以降認められなくなった。加えて、平成28年11月の繁殖牛抗体検査にて全頭陰性を確認したことで牛白血病清浄化を達成した。

考察

清浄化成功の要因として、(1) 感染牛の隔離場所の確保や従業員の意識統一による人為的感染リスクの排除、生後3日目からの早期母子分離飼育等により感染機会を大幅に減らせたこと。(2) 遺伝子検査の導入により精度の高い感染確認が可能となったことで、感染繁殖牛の早期更新、育成期以降の感染牛分離飼育が徹底できたこと。(3) 国の交付金事業による継続的な費用助成が検査継続の動機付けとなったことが挙げられる。今後は、外部からのBLV侵入防止を主体とした清浄性維持に努めるとともに、当農場における取組例を参考に他農場での牛白血病防除指導に役立てていく予定である。

〔参考〕平成29年度 日本産業動物獣医学会 (中国地区) 発表演題一覧

- | | |
|--|--|
| 1 採卵養鶏場で連続発生した伝染性気管支炎
木本結貴 (山口県中部家保), 他 | 高岡亜沙子 (NOSAI岡山北部基幹家畜診), 他 |
| 2 化膿性髄膜脳脊髄炎を呈した子牛の腸管外病原性大腸菌感染症
水上智秋 (岡山県岡山家保), 他 | 5 まき牛交配を主体とした和牛繁殖農場への家畜衛生部の対応とその効果検証
大元隆夫 (島根県東部農林振興センター), 他
出雲家畜衛生部 |
| 3 管内で発生したピートンウイルスの関与が疑われる異常産の一症例
秀島遼哉 (島根県東部農林振興センター), 他
松江家畜衛生部 | 6 肉用牛一貫経営農場の牛白血病清浄化
秦 守男 (岡山県高梁家保), 他 |
| 4 管内農場で発生したピートンウイルスの関与が疑われる牛異常産4症例 | 7 羊におけるOvHV-2の体内動態と悪性カタル熱の蔓延防止対策についての考察
増田恒幸 (鳥取県畜産課), 他 |

- 8 黒毛和種牛農場における抗菌薬使用量調査と適正・慎重利用に関する一考察
鈴木直樹 (広島県農業共済組合), 他
北広島家畜診療所
- 9 子牛腸炎に対する事故低減の取り組み
高嶋実和 (広島県農業共済組合三次家畜診療所)
- 10 山羊・めん羊飼養者に対する飼養衛生管理基準の周知に向けた取組
龍治美希 (広島県東部家保), 他
- 11 採卵鶏にみられた尿酸塩沈着症
鹿島貴朗 (山口県西部家保), 他
- 12 破傷風を疑い血清療法を実施・治癒した黒毛和種子牛2症例
永見英利香 (島根県農業共済組合連合会), 他
出雲家畜診療所
- 13 黒毛和種去勢牛における播種性接合菌症の一症例
中村耕太郎 (鳥取県倉吉家保), 他
- 14 同一農家で発生した大腸菌による死産及び子牛死亡症例
佐野裕規 (山口県中部家保), 他
- 15 広島県内における平成22年から29年の牛異常産発生状況調査
青山嘉朗 (広島県西部家保), 他
- 16 肺炎罹患牛における鼻汁由来細菌の薬剤感受性及び有効性の検討
水戸康明 (NOSAI岡山西部基幹家畜診), 他
- 17 乳房炎治療に対する抗生剤使用量低減に向けた取り組み
西山 篤 (NOSAI岡山生獣センター), 他
- 18 乾乳期における徐放性ビタミン剤の効果について
石橋朝子 (広島県農業共済組合), 他
北広島家畜診療所
- 19 県内で分離されたサルモネラ血清型とその薬剤感受性
出石節子 (岡山県岡山家保), 他
- 20 黒毛和種牛の凍結精液作製過程における精子運動解析装置を用いた精子運動性の検査
松濱有孝 (鳥取大・繁殖), 他
- 21 抗ミューラー管ホルモン (AMH) と牛体内受精胚の採胚成績に関する検討 (第1報)
田中昌子 (山口県農林総合技術センター畜産技術部)
- 22 精子運動解析装置を用いた豚精子の運動性評価法の検討
西本 舞 (鳥取大・繁殖), 他
- 23 経膣採卵の野外実施実用化に関する検討
今井 昭 (広島県立総合技術研究所), 他
畜産技術センター
- 24 ウシのパーター症候群1型における変異型ホモ接合体の出生例に関する解析
長谷川清寿 (島根県畜技セ), 他
- 25 代謝プロファイルテストを用いた和牛繁殖農家の繁殖成績向上への取り組み
玉川朋治 (広島県農業共済組合), 他
家畜臨床研修所
- 26 性腺の内分泌学的及び性染色体検査により雌性仮性半陰陽と生前診断した交雑種牛
加藤圭介 (㈱益田大動物診療所・島根県), 他
- 27 雄性仮性半陰陽と診断し, 潜在精巣の摘出を行った黒毛和種牛
嶋田浩紀 (㈱益田大動物診療所・島根県), 他
- 28 *Eimeria bovis* の感染がみられた成牛の1症例
原 陽子 (島根県家畜病性鑑定室), 他
- 29 鳥取県で初めて確認された牛の核内コクシジウム症
岡田綾子 (鳥取県倉吉家保), 他
- 30 第四胃変位整復手術時の肝臓及び胆嚢における超音波検査の有用性の検討
原口麻子 (広島県農業共済組合), 他
庄原家畜診療所
- 31 持続的発熱と鼻漏を呈したサラブレッド成馬の下顎膿瘍1治験例
田浦保穂 (山口大学動物医療センター), 他
- 32 死産子牛に発生した膠様性甲状腺腫
米原尚子 (山口県北部家保), 他
- 33 全身性の不随意運動を伴った黒毛和種子牛の重複脊髄
高野彰文 (島根県農業共済組合連合会), 他
雲南家畜診療所
- 34 黒毛和種にみられた子宮における平滑筋腫の1症例
吉本侑里 (山口県西部家保), 他
- 35 重度な腸管癒着と膀胱への連絡が認められた尿管膿瘍子牛の一例
檜山雅人 (山口大学附属動物医療センター), 他
- 36 先天性屈腱短縮症4症例における浅・深指屈腱切断術の有用性
橋本綾乃 (NOSAI岡山北部基幹家畜診), 他
- 37 乳牛のヘアリーアタック病態を伴う難治性蹄病において *Treponema phagedenis* が検出された1症例
堀 香織 (広島県農業共済組合), 他
府中家畜診療所
- 38 前肢蹄深部感染症による断趾術の一症例
石田和子 (NOSAI岡山南部家畜診), 他
- 39 黒毛和種育成牛に発生した感染性屈腱鞘炎の治癒1例
杉山弘樹 (NOSAI山口西部地区下関), 他
家畜診療所

角膜病変を持つネコ41症例に対するファムシクロビルの効果

瀧本良幸, 小松紘之, 秋山紘平

ナディア動物クリニック・動物眼科・岡山県

はじめに

ファムシクロビル (FC) は抗DNAウイルス薬であるペンシクロビルのプロドラッグである。内服薬として投与された後に肝臓で代謝され、血液中から涙液中に移行してネコヘルペスウイルス-1型 (FHV-1) に対する有効性を示すことが知られている。FCは腎臓排泄であるため血中濃度が腎機能に依存するものの、腎毒性はなく、比較的安全な抗ウイルス剤と考えられている。FHV-1はネコの角膜疾患の多くに関与していると言われているが、ウイルスの増殖による潰瘍性疾患のほか、宿主の免疫反応に起因する複数の角膜疾患を併発するため、病態の理解と治療法の決定はさらに困難となっている。これまでにFHV-1に関連する諸症状に対する良好な治療効果が報告されているが、角膜疾患に対して病態ごとの治療効果を調べた報告はない。今回、FHV-1の関与が疑われる角膜疾患を病態ごとに整理し、FCの内服を中心とした治療を実施したところ、角膜疾患によって差は見られたものの良好な治療効果が得られたので、その概要を報告する。

材料及び方法

2011年1月から2016年12月の期間に、当院を受診した角膜疾患を持つネコ41症例について、症状の重い一眼のみを治療効果の判定対象に設定し、細隙灯顕微鏡を用いて得られた前眼部所見、角膜染色検査所見あるいは細胞診検査所見から角膜疾患を6種類に分類した。全ての症例にFC (ファムビル® 30~45mg/kg tid-bid) 内服とともにインターフェロン ω 点眼 (20万単位/ml) を1日3回実施した。眼脂の多い症例に対しては抗生剤点眼を適宜追加して1~2週間ごとに経過を観察した。これらの治療での効果が不十分と判断した場合には、必要に応じて外科的処置を併用した。

成績

角膜疾患は、黒褐色の壊死病変が存在するものを角膜分離症 (16例)、肉芽様組織が存在しそこから好酸球が検出されたものを好酸球性角膜炎 (4例)、好酸球が検出されなかったものを実質性角膜炎 (7例)、角膜の上皮欠損が認められ形状が点状・線状のものを樹枝状潰瘍

(2例)、より広範なものを地図状潰瘍 (6例)、周辺部に非接着性上皮が認められるものを難治性角膜上皮欠損 (6例) に分類した。樹枝状潰瘍、地図状潰瘍、実質性角膜炎及び好酸球性角結膜炎の全症例で1週間以内に改善の徴候が見られ、1~2カ月以内に表層性潰瘍の上皮化と肉芽様組織の消退が起り、わずかな癒痕を残して治癒した。難治性角膜上皮欠損の6例中4例も同様に治癒したが、2例は再生上皮の接着不全を繰り返した。そのため、外科的処置として上皮欠損部にポピドンヨード塗布と瞬膜フラップ設置を併用したところ、処置の2週間後には上皮は完全に接着し治癒した。角膜分離症の16例中12例で壊死片の周囲が速やかに上皮化し、うち4例では壊死片が自然に脱落し治癒した。16例中5例で壊死片は部分的に脱落したが、変色した病変が実質内に残ったままで上皮化が完了した。壊死片がそのまま残った7例には外科的処置として角膜表層切除術を実施して壊死組織を除去した後に、部分的な瞼板縫合あるいは瞬膜弁設置を行った。処置から2週間以内に全例で切除部位は上皮化し治癒した。

考 察

FHV-1の関与が疑われる角膜病変に対してFC内服を中心とした治療を行なったところ、表層性潰瘍の上皮化と肉芽様組織の消退が顕著に認められた。角膜分離症以外に対しては、FCは非常に高い治療効果を示したと言える。しかしながら、角膜分離症と難治性角膜上皮欠損の一部の症例には外科的処置が必要であったことから、FHV-1関連の全ての角膜疾患がFCで治癒するわけではないと考えられる。今回の薬用量は低用量に区分され、この2倍の量を用いる高用量と比較して効果が劣るとする報告もあれば、ほぼ同等とする報告もあるが、低用量でも一定の効果があることが確認された。これまでステロイド治療が推奨されていた好酸球性角膜炎に対してもFCのみで寛解を得ることが可能であり、感染症にステロイドを使用するというジレンマから脱却できる可能性が示唆された。また、これまでネコに利用可能であった抗ヘルペス薬はほとんどが点眼薬であり、眼疼痛を伴う角膜疾患のネコには点眼が強いストレスとなることも多かった。FCは内服薬であるという点からも治療への有用性が大きく期待できると考えられた。

頭蓋底下の異物除去に対してCTを用いた 診断から治療方法を決定できた猫の一例

谷浦督規, 谷浦直美

谷浦動物病院・広島県

はじめに

日常診療で異物誤飲の症例は少なくない。しかし飼主が気付かない場合は、嘔吐や下痢などの消化器症状がなければ、診断リストから除外されることがある。今回飼主が誤飲に気付かず、嘔吐もなく、食欲不振という主訴だけであったが、精査目的で無麻酔CTポジショナーを使用したCT検査により、口蓋から環椎翼にかけて2つの異物を発見した猫の一症例に遭遇し、CTでの存在診断及び摘出ルートサポートにより治療できた症例について概要を報告する。

材料及び方法

雑種猫, 3歳, 去勢オス, 6.86kg. 外出して帰宅後2日間の食欲廃絶と頻呼吸で来院した。交通事故なども疑い血液検査及びX線検査を実施したが、脱水と白血球, コレステロール, 血糖の軽度の上昇が認められ以外に特に著変は認められなかった。またX線検査も胸腹部とも特に異常は認められなかった。原因が確定できず対処療法を実施したが食欲廃絶が改善しないため、精査目的で無麻酔での全身CT検査を実施した。CT装置はOptima CT660 128 スライス (GE), 造影剤注入装置はA-300 (Nemoto) を使用し, 固定造影剤注入時間を用いた造影CT撮像プロトコルでの多時相造影検査を行った。ボーストラッキングの計測位置は頭部中央にした。ワークステーション (以下, WS) は雷神 (AZE), VAZE (ペットコミュニケーションズ) を使用した。

成績

単純CT検査では軟口蓋及び鼓室包から環椎翼にかけて周囲より高吸収の連続性のある異物が確認された。サジタル像とコロナル像で2本の異物を確認することができた。ダイナミックCTでは単純CTで確認された円柱の異物の周囲は、動脈相から門脈相にかけて増強されて検出能が低下した。平衡相では異物周囲を取り囲むように低吸収になり、その周囲は増強されていた。WSを使用した単純CTからの診断支援画像の3DCT像では口腔内から鼓室包下、さらに環椎翼にかけて2つの円柱状物を描出した。全身麻酔下で内視鏡を用いて軟口蓋のピンホール状に陥没している部位から長い円柱状物を除去した。その奥に存在する小さな破片は内視鏡では確認できず、鉗子などで探索しても不明であった。次にCT下での異物摘出を実施した。初めに摘出した開口部からカ

テテルを挿入しCT撮像した。続いてさまざまな先端の細い器具を挿入後に撮像し、3DCTで立体的な方向を確認しながら8回目のスキャンで部位が特定でき、1.5cm×3mmの断片を摘出した。検査開始から処置終了までの経過時間は無麻酔CT検査が約3分、CT下処置が約38分、内視鏡処置と各部屋の移動時間を含み約1時間半で終了した。予後は良好で翌日から自力採食が可能になった。

考 察

過去に人医療で「割りばし事件」がある。子供が転んで綿あめの割りばしで喉を突いたと母親が医師に説明したが、割り箸が発見できず翌日死亡した。死後CT検査でも検出されず、司法解剖で頭蓋底を越えて小脳まで貫通した7.6cmの割り箸の断片が確認された。割りばしは子供が引き抜いたとの情報と意識障害などの症状がなかったことから割りばしの先端が折れて断片が残っているとは疑わずCTやMRIは行われなかった。また当時のCT装置の性能・撮影技術・画像処理技術では診断できなかったものとされている。本症例は誤飲事故を飼主が気付かなかつたが、無麻酔CT検査であるため飼主も検査の承諾を得やすく、3DCTを実施することで3cmと1.5cmの箸の先端を正確に描出できた。無麻酔CTであっても全身を不動化するCTポジショナーを使用した検査であるため、診断精度の高い3DCTによって短時間で的確な部位が直感的に判断できたと思われる。摘出する処置としても外科的ではなく、その位置を正確に確認することで、貫通ルートから侵襲が低い鉗子での陥入口からの摘出が可能であった。CT検査も胸腹部だけでなく、全身をスキャンしていたため、思いがけない軟口蓋と環椎翼周囲での異物が検出できたものと思われる。異物検出には素材にも差があるが単純CTが重要で造影CTだけでは検出が難しくなる場合があり、特にこの症例では環椎翼の小さな異物の検出は炎症により筋周囲が増強されたため困難であったと思われる。また鼓室包下のカーブに沿っての異物の摘出に関しては、猫の口の開口範囲も限られ難しかったが、3次元的な位置関係を把握するために鉗子を使用してもCTでは金属でも検査が使用できるため、その先端を確認でき摘出が可能であった。本例は偶然発見された異物に対し、CT装置を診断だけでなく、治療ガイドとして活用したこれまで報告のない希な症例である。

犬の *Phialosimplex caninus* 感染症の本邦初報告例

酒井麻衣, 谷 健二, 新里さおり, 西川晋平, 原口友也, 板本和仁, 他

山口大学

はじめに

Phialosimplex caninus は2010年にGigler Lらによって *Aspergillus* 属から再分類された新種の糸状菌で、海外では犬のリンパ節などから分離されているが、本邦での報告は無い。*P. caninus* による犬の深在性真菌症は最近報告されたため、その診断・治療に関する臨床的な知見は乏しい。今回、われわれは本菌による全身性真菌症と診断された症例に遭遇したので、その概要を報告する。

症 例

柴犬、6歳、去勢雄、12.5kg。元気喪失・抑うつを主訴に近医を受診。触診にて腹腔内に腫瘤が認められ、全身の精査を目的として山口大学動物医療センターに来院した（第1病日）。症例には海外渡航歴や免疫抑制剤の投与などの既往歴が無かった。腹部超音波検査及びCT検査から、腸骨下リンパ節及び脾門部リンパ節の腫大が確認されたため、エコーガイド下で腸骨下リンパ節のツルカット生検を実施した。頭部MRI検査では著変は認められなかった。リンパ節生検材料の細胞診には細胞外に多数の酵母様構造物が認められたため、同材料をクロラムフェニコール添加サブローブドウ糖寒天培地上に接種し、32℃下で培養を行った。培養7日後に培地表面に白色から黄褐色の絨毛状の集落が多数確認され、集落を鈎菌し、ポテトデキストロース寒天培地上で純培養を行った。培養14日後に集落の顕微鏡学的観察を行ったところ、隔壁の有する分岐した菌糸の先端にフィアライドを形成し、そこから大きさ約2.2×4mmの卵円形の分生子が数珠に産生されていた。分離株の遺伝子を抽出し、リボゾームのITS領域の塩基配列を解析したところ、GenBankに登録されている *P. caninus* の同遺伝子と100%の相動性が認められた。以上の結果から、本分離株を *P. caninus* と同定し、解析した遺伝子情報をGenBankへ登録した（GenBank accession number: LC230093.1）。第9病日の血中β-Dグルカン値は2650pg/mlと高値を示し全身性真菌症が示唆された。また、第1病日に実施した病理組織学的診断は、真菌による肉芽腫性リンパ節炎であった。以上のことから、本症例は、*P. caninus* 感染による全身性真菌症であると診

断された。

治療及び経過

第10病日からフルコナゾールによる治療を開始したところ、抑うつや虚脱するような機会は減った。第24病日、E-testによる薬剤感受性検査の結果から、イトラコナゾール（ITZ）治療に変更した。第122病日の定期検査では、症例の活発さは増したものの、天候が悪い日などには抑うつになることがあるとのことであった。同日実施したX線CT検査では第1病日と比べて全身リンパ節腫大の軽減は認められなかった。また、血中β-Dグルカン値は29040pg/mlと更に高値を示した。このときの真菌培養では増菌できなかったことから、ITZは *P. caninus* の増殖抑制効果はあると判断し、ITZ治療を継続した。しかし、第185病日のCT所見に変化は無く、血中β-Dグルカン値は18620pg/mlと依然高値を示し、生検材料から同じ真菌を分離することができた。ITZの最小発育阻止濃度（MIC）は0.002mg/l未満だったものが0.012mg/lと若干抵抗性を示していることから、第233病日からボリコナゾールに変更した。

考 察

渡航歴が無く免疫抑制状態の無い症例に *P. caninus* 感染が顕在していることから、本邦においても腹部腫瘤の鑑別診断に本菌を含めた全身性真菌症が考慮されるべきかもしれない。全身性真菌症の診断には細胞診及び血中β-Dグルカン測定が有用であったが、深在性真菌新菌症の場合には分離が困難なことを認識する必要があると思われた。一方、分子生物学的検査は本菌の同定に有用であった。従来報告されている *Aspergillus* 感染症は鼻腔内や肺炎など呼吸器系での発症例が多く、本症例のような *P. caninus* の感染動態とは異なっているようである。本症例に対する治療は奏功しているとは言えず、過去の報告でも臨床症状の改善は認められるものの腫瘤の縮小や真菌陰性は確認されていないことから、症例の予後には注意が必要であると考えられた。今回、ボリコナゾールに変更したが、獣医領域での報告は少なく手探りで治療継続している。今後の結果を合わせて経過報告する予定である。

膀胱／尿道移行上皮癌に対し、膀胱尿道腔摘出術及び小腸導管尿路変更術を実施した犬の1例

村田安哲¹⁾，板本和仁¹⁾，原口友也¹⁾，西川晋平¹⁾，
檜山雅人²⁾，谷 健二²⁾，他

1) 山口大学・伴侶動物医療分野，2) 山口大学・獣医外科学分野

はじめに

犬の膀胱及び尿道における下部尿路系での悪性腫瘍は移行上皮癌が最も多く、リンパ節や肺への転移を起こすことから、侵襲性の強い腫瘍として知られている。本疾患に対する治療法としては外科的切除、化学療法、放射線治療などが挙げられるが、外科的切除には膀胱や尿道の全摘出術又は部分摘出術が実施される。全摘出術を実施した場合には排尿機能を維持するために、尿管を尿道、陰、包皮、腹壁などに吻合する尿路変更術が同時に実施されるものの、吻合部の狭窄や切除マージン不良などの技術的な問題点も報告されている。

今回、外尿道口付近まで腫瘍の浸潤が見られた膀胱尿道移行上皮癌罹患症例に対し、膀胱尿道全摘出及び陰の部分摘出を実施し、小腸を用いた小腸導管尿路変更術を実施したところ、良好な経過が得られているためその概要を報告する。

症 例

ミニチュアダックスフンド、未避妊雌、9歳齢、体重4.9kg。嘔吐と頻回尿を主訴に近医を受診し、エコー検査にて膀胱及び尿道に腫瘤とそれに伴う尿路閉塞を指摘された。膀胱穿刺にて尿を抜去したものの、翌日も不調が続いたため山口大学動物医療センターの夜間診療を受診した(第1病日)。来院時には血液一般検査の結果より脱水が認められ、血液生化学検査ではBUN、クレアチニン、無機リンの値が高値を示しており、尿路閉塞による糸球体濾過量の減少が疑われた。エコー検査では膀胱の充満と腹水の貯留が認められたため、腹水と尿を抜去した。腹水はクレアチニンが血漿中よりも高値を示していたため、貯留液は尿であり尿腹症と判断した。第3病日に全身麻酔下にてX線CT検査、膀胱鏡による精査を行った。X線CT検査では尿道、膀胱に石灰化を伴う腫瘤状病変を認め、膀胱鏡下生検による細胞診では細胞異型の強い移行上皮細胞が確認されたため、膀胱遠位から尿道近位の移行上皮癌を強く疑い、第20病日に膀胱尿道部分摘出術及び膀胱尿道吻合術を実施する治療計画をたてた。手術は恥骨と坐骨を切断し、骨盤腔内へアプローチした。尿道は肉眼的には骨盤より近位に腫瘤を形成しているのみであったが、触診を行うと外尿道口付近まで腫瘍の浸潤が疑われたため、尿道の温存を断念し、膀胱尿道全摘出術に計画を変更した。尿道は外尿道口付近で切断し、同時に外尿道口を含めた陰前庭部で卵巣子宮を全摘出した。また、膀胱側の切除断端において

も細胞診を行うと腫瘍細胞が認められたことから尿管側に切除マージンを取りつつ膀胱全摘出術を実施した。術式の変更から、尿管を尿道、陰、腹壁に吻合する尿路変更術は不可能となったため、小腸を用いて導管を作成し、腹壁への尿路変更を実施することとした。小腸導管尿路変更術として小腸の一部14cm程度を腸間膜動静脈が2組繋がっている状態で自動吻合器にて切断、小腸導管を作成した。作成後の残存した小腸の近位と遠位は端々吻合し、作成した小腸導管の一端に尿管を扇形に開口させ、反対側を腹壁に開口させた。

術中に摘出した組織の病理組織学的検査結果では、尿道では細胞異型性を示す移行上皮細胞の出現が確認され、腫瘍細胞は基底膜を超えて筋層深部まで浸潤していた。一方膀胱は粘膜に非浸潤性の腫瘍細胞が確認されたことから腫瘍は尿道を原発とする移行上皮癌で、膀胱粘膜、陰筋層に浸潤したと考えられた。摘出した膀胱から尿管への浸潤を確認したところ、腫瘍性変化は認められず、切除マージンは充分であったと判断した。

症例は術直後から導管開口部からの良好な尿流出を認め、ペット用おむつの着用で管理した。術後のX線CT検査では、作成した小腸導管に血管造影剤による造影効果が認められ、血流は良好であることが確認され、また尿管から小腸導管への尿の流出も確認された。

現在、術後334日が経過するが、腹壁に開口させた小腸導管は閉塞することなく、良好な排尿機能を維持している。また、定期的なX線CT検査においても腫瘍の転移は確認されず、全身状態は良好である。

考 察

今回の症例では小腸導管を作成し、尿管を開口させて尿路を変更したことで、十分な切除マージンを確保しても腹壁まで尿路を開口できる長さを保つことができた。また直接腹壁に尿管を開口させた場合と比べ、皮膚吻合部における狭窄／閉塞及び、皮膚開口部からの感染の確率を下げることができると考えられた。その一方でデメリットとして、手術手技の煩雑さや血流不足による小腸導管壊死の可能性が挙げられる。

小腸導管尿路変更術は人医療では頻繁に行われているが獣医学分野での報告はない。下部尿路系悪性腫瘍は小動物臨床領域では頻繁に遭遇する疾患であり、今後は症例数を重ねることで手技の向上、術後の臨床症状・治療成績を検討し、本術式の獣医療における有用性を検証したい。

〔参考〕平成29年度 日本小動物獣医学会（中国地区）発表演題一覧

- 1 画像診断で副腎原発骨髄脂肪腫と診断した犬の1例
坂井春陽（山口大・獣医外科学分野），他
- 2 膀胱炎と診断した猫8症例における腹部超音波検査所見の検討
大黒屋 勉（みさお動物病院・山口県），他
- 3 Ahmics-VMD CT ポジショナー使用経験及び導入施設現状
谷浦督規（谷浦動物病院・広島県），他
- 4 頭蓋底下の異物除去に対してCTを用いた診断から治療方法を決定できた猫の一例
谷浦督規（谷浦動物病院・広島県），他
- 5 直腸切断術後に会陰部に人工肛門を設置した犬の2症例
磯崎恒洋（山口大・獣医外科学分野），他
- 6 軟骨芽細胞型骨肉腫と診断された肋骨腫瘍の犬の1例
安部萌々子（山口大・獣医放射線学分野），他
- 7 肘関節に滑膜粘液肉腫を発生したネコの一例
新田直正（ファミリー動物病院・山口県），他
- 8 犬の舌に発生した脂肪肉腫の1例
木田諒知（山口大学・伴侶動物医療），他
- 9 リニアックによる放射線治療を実施した脈絡叢由来脳腫瘍が疑われた犬の1例
山本北斗（山口大学・伴侶動物医療分野），他
- 10 脊髄腰膨大部髄内に腎芽腫が発生した犬の1例
田村慎司（たむら動物病院・広島県），他
- 11 線維肉腫により骨盤の一部を含む断脚を行った猫の1例
河合紀人（公財動物臨床医学研究所）
- 12 骨盤領域の悪性腫瘍に対し、片側骨盤切除術を行った犬3例の術式検討
三宅龍二（岡山動物がんセンター・三宅動物病院・岡山県），他
- 13 長期生存を認めている上腕骨に発生した骨肉腫の犬の1例
諏訪晃久（山陽動物医療センター・岡山県），他
- 14 外科的に摘出した副腎腫瘍の犬18例の検討
小出美沙紀（小出動物病院・岡山県），他
- 15 S-アデノシルメチオニン／ラクトフェリン合剤の犬猫の関節疾患に対する効果
山下真路（鳥取大農学部），他
- 16 前十字靭帯断裂に対する関節外法の補綴材料としてソフトアンカーを用いた4症例
松岡清彦（山口大学・伴侶動物医療分野），他
- 17 歯科X線検査における二等分面法のX線入射角度決定法に関する考察
小川祐生（アミカペットクリニック・山口県），他
- 18 激しい攻撃行動を認めた犬3例 犬歯切断術の有効性と予後についての検討
中西 淳（なかにし動物病院・岡山県），他
- 19 抜歯窩辺縁の粘膜を利用したダブルフラップ変法による口腔鼻腔瘻の閉創
鐘ヶ江晋也（アミカペットクリニック・山口県），他
- 20 慢性偽性腸閉塞症が疑われた犬の一例
三浦京夏（山口大学動物医療センター・外科系診療科），他
- 21 多発性肝嚢胞を併発した心膜横隔膜ヘルニアの猫の1例
板本拓也（岡山動物がんセンター・三宅動物病院・岡山県），他
- 22 中年齢で診断され外科的治療を実施した肝動静脈瘻の犬の1例
山下陽平（小出動物病院・岡山県），他
- 23 ポリープ様好酸球性腸脱炎の犬の1例
木本有美（春名動物病院・岡山県），他
- 24 膀胱／尿道移行上皮癌に対し、膀胱尿道膿摘出術および小腸導管造設術を実施した犬の一例
村田安哲（山口大学・伴侶動物医療分野），他
- 25 超音波乳化吸引術を実施した犬白内障20眼における治療成績
川崎美苗（鳥取大農学部），他
- 26 口蓋に発生した悪性混合腫瘍のコザクラインコの1例
秋田征豪（はちペットクリニック・広島県），他
- 27 長期間の観察の後に外科摘出を行なった巨大腹腔内膿瘍のウサギの1例
毛利 崇（もうり動物病院・島根県）
- 28 壊死性筋膜炎（Necrotising faciitis : NF）の発症が疑われた猫の1例
伊藤健太郎（山口大・獣医外科学分野），他
- 29 犬の *Phialosimplex caninus* 感染症の本邦初報告例
酒井麻衣（山口大学・動物医療センター・外科系診療科），他
- 30 当院における過去2年間の犬の表在性膿皮症の薬剤感受性試験の回顧的研究
元山奈津美（倉敷動物医療センター・アイビー・動物クリニック・岡山県），他
- 31 オクラシチニブとシクロスポリンの併用療法が奏功しなかった肢端皮膚炎のイヌの1例
柴崎祐也（柴崎動物病院・広島県），他
- 32 IoT 接続トイレ型健康モニターを用いた正常および泌尿器疾患猫の排尿行動解析
黒田晃平（鳥取大農学部），他
- 33 奇異性前庭徴候を呈した環椎軸椎不安定症の犬の一例
若田智博（倉敷動物医療センター・アイビー・動物クリニック・岡山県），他
- 34 角膜病変を持つネコ41症例に対するファミシクロピルの効果
瀧本良幸（ナディア動物クリニック・動物眼科・岡山県），他
- 35 犬の白内障症例における網膜電図検査の比較
秋山紘平（ナディア動物クリニック・動物眼科・岡山県），他
- 36 重度の低Ca血症による症状を呈した蛋白漏出性腸症の犬の一例
黒河内陽介（山口大獣医臨床病理学研究室），他
- 37 多発性上皮小体腺腫の猫の1例
瀬戸林政宜（平野動物病院・広島県），他
- 38 犬における血漿遊離アミノ酸濃度測定の意義
東 和生（鳥取大農学部），他

- 39 イヌとネコにおける血中アルドステロン値の疾患別比較および抗アルドステロン薬使用例
甲斐みちの(やさか動物病院・岡山県), 他
- 40 長期生存が得られた大顆粒リンパ球性(LGL)リンパ腫の猫の1例
小路祐樹(山陽動物医療センター・岡山県), 他
- 41 眼球突出を認めたリンパ腫の猫の1例
野中雄一(のなか動物病院・鳥根県)
- 42 猫の内臓型(髄外性)形質細胞腫の1例
白永伸行(シラナガ動物病院・山口県), 他
- 43 真性赤血球増加症により低酸素血症を呈したイヌの1例
大石太郎(やさか動物病院・岡山県), 他
- 44 広島夜間救急動物病院における犬の誤飲・誤食症例の検討
幸 辰憲(広島夜間救急動物病院), 他
- 45 日本国内の小動物診療施設における院内暴力の発生状況調査(第一報)
湯川尚一郎(倉敷芸術科学大学生命科学部), 他
動物生命科学科
- 46 獣医療における5-ALAのセラノスティクスとしての有用性
大崎智弘(鳥取大農学部), 他
- 47 セラノスティクス用新規マイクロバブルの有用法
大崎智弘(鳥取大農学部), 他
- 48 GM2ガングリオシドーシス(サンドホフ病)の猫の1例
毛利 崇(もうり動物病院・鳥根県)
- 49 膿腎症, 膀胱内複合結石を併発した猫の1例
平井信介(ひらい動物病院・岡山県), 他
- 50 ベラプロストナトリウムの猫の慢性腎臓病に対する治療効果
高島一昭(公財動物臨床医学研究所), 他
- 51 犬の急性呼吸窮迫症候群におけるカルペリチド併用療法の改善効果
有田申二(有田総合動物病院・広島県), 他
- 52 肺動脈分岐異常により左心房の高度圧迫を呈した肺高血圧症の犬1例
小坂周平(まつかわ動物病院・岡山県), 他
- 53 犬の洞不全症候群の7例
荒蒔義隆(ベイ動物病院・広島県), 他
- 54 シロスタゾールが奏効した洞停止の犬の一例
照沼澄恵(にわせ動物クリニック・岡山県), 他

[日本獣医公衆衛生学会]

公地区—4

牛白血病ウイルスのリアルタイムPCR法の検討

佐々木真紀子¹⁾, 川瀬 遵¹⁾, 吉本佑太²⁾, 安達俊輔¹⁾, 杉橋章義¹⁾

1) 鳥根県食肉衛生検査所, 2) 鳥根県出雲保健所

はじめに

牛白血病は, リンパ節の腫大等の異常を示す疾病であり, 牛白血病ウイルス(BLV)の感染による地方病性と原因不明の散發型に分類される. と畜検査で牛白血病と診断された際は, 枝肉等は全部廃棄処分とされる. 牛白血病の診断は, 病理組織検査や補助的診断法として受け身赤血球凝集反応を利用した血清抗体価測定が行われていたが, 当該キットが販売中止となった. その他の診断法として, ELISA法, PCR法, リアルタイムPCR法が報告されている. ELISA法は, 取り扱う検体数が少ないため, コスト高となってしまう. リアルタイムPCR法やPCR法は, 通常, 血液サンプルの核酸精製とPCR反応液の調整を行った後実施するが, 当所ではより検査の簡便化が求められている. 一方, 近年のPCR試薬の開発によって, 未精製の血液からBLV遺伝子を検出するPCR法が報告されるようになったが, 未精製の血液を使用したリアルタイムPCR法の報告はなく, 今回, 未精製の血液サンプルを使用したリアルタイムPCR法の予備検討を行った.

材料と方法

(1) 模擬検体を用いたリアルタイムPCR試薬の評価: BLV非感染の牛血液にBLVの*pol*遺伝子の配列を含むプラスミドを添加し, 10^5 コピー/ μ lに調整後, DWで2~200倍に希釈した. これらをサンプルとして, 未精製のサンプルを対象とした2種類の試薬, KOD SYBR qPCR Mix (KOD法)とAmpdirect plus (Amp法)を使用してリアルタイムPCRを行い, Ct値を比較した.

(2) 模擬検体を使用したAmp法の検出下限: 上記プラスミド(10^0 - 10^6 コピー/ μ l)を含む牛血液(1~10倍希釈)をサンプルとし, Amp法を実施した. 検量線を作成し, 相関係数(r^2), 増幅効率, 検出下限を求めた.

(3) 牛血液からのBLV遺伝子の検出: 牛白血病発症牛3頭, 病畜牛4頭, 健康牛3頭の計10頭の血液をDWで2倍, 4倍希釈し, Amp法を実施した. さらに, これらの血液サンプルから核酸を精製し, BLVを検出する市販のリアルタイムPCRキットにより, BLVコピー数を定量した. Amp法と市販のキットの結果を比較した.

(4) 補助的診断法の比較: 4種類の補助的診断法につ

いて、検査コストや作業所要時間等を比較した。

結 果

(1) 模擬検体を用いた評価：KOD法において、Ct値の平均は32.5～42.3であり、血液の希釈段階が低いほどCt値は高い傾向を示した。Amp法においては、血液原液～10倍希釈液でのCt値の平均は27.7～29.2であり、20倍希釈以降において増加する傾向を示した。Ct値は、KOD法と比較してAmp法で低い傾向がみられたことから、Amp法はPCR阻害物質に対する抵抗性が高いと考えられた。

(2) 模擬検体を用いたAmp法の検出下限：血液の2倍または4倍希釈で検出下限が10コピー/μlと他の希釈段階と比較して良好な結果を示し、 r^2 は0.998～0.999、増幅効率は106.9～108.3%と適正な範囲であった。

(3) 牛血液からのBLV遺伝子の検出：Amp法と市販のキットによる結果は一致し、2法とも5検体からBLV遺伝子を検出した。また、陽性検体のBLVコピー数は

59～2198コピー/μlを示したことから、Amp法では少なくとも59コピー/μlまでは検出可能であることが確認できた。

(4) 補助的診断法の比較：Amp法は1検体あたりのコストが215円、作業所要時間が25分であり、作業所要時間は他の検査法と比較して短く、リアルタイムPCR装置があれば、比較的lowコストであると考えられた。

考 察

今回の結果から未精製血液サンプルを用いたリアルタイムPCRでは、Amp法が簡便にBLVを検出できる有用な方法となる可能性が示唆された。と畜検査においては、発症牛の発見に用いるため、Amp法の検出感度で十分であると考えられる。さらに、作業の簡便化、時間の短縮を図るため、PCR反応液の冷凍ストックについても今後検証予定である。今後のさらなる検討とデータの蓄積によって、牛白血病の精密検査の負担軽減と効率化につなげたいと考える。

公地区—12

と畜場における牛枝肉の微生物制御への取り組み

久保田早苗，魚谷正芳，正岡亮太

広島県食肉衛生検査所

はじめに

安全で衛生的な食肉を提供するためには、と畜場におけるとさつ解体時の微生物制御対策が重要である。

当所では、衛生的な解体処理の指標とするために、厚生労働省通知に基づく定例の牛枝肉の拭き取り検査を毎月実施しているが、この結果が目標値を超えることもあったため、これに加えて、設備、使用器具、処理工程毎の拭き取り検査等を実施し、汚染源の追究を行ってきた。その検査結果をもとに、と畜場管理者（以下、管理者）及びとさつ解体従事者（以下、従事者）に衛生指導、意見交換等を継続的に行い、一定の成果が得られたので、その概要を報告する。

調査方法

1. 調査対象施設：管内Aと畜場
 - 1) 年間処理頭数（H19年度：1,403頭，H28年度：630頭）
 - 2) 従事者数（H19年度：8名，H28年度：4名）
2. 調査期間：平成19年4月～平成29年3月
3. 材料及び方法：枝肉洗浄後の胸部及び肛門周囲部をそれぞれ滅菌ガーゼタンポンで100cm²（10cm×10cm）拭き取ったものを検体とし、定法により1cm²あたりの一般細菌数及び大腸菌群数を測定した。頭数は、1～2回/月，2～4頭/回のと畜牛を対象に約40頭/年度を

実施した。

結 果

1. 一般細菌数：特に胸部において目標値（1,000cfu/cm²未満）を超える検体が多く見受けられた。その要因としては、床からの飛散水・汚染した前掛けの接触・皮からの滴下水等が考えられた。肛門部については、胸部と比較し目標値を超える検体は少なかったものの、平成20年度の平均値は、胸部（1,378cfu/cm²）、肛門部（1,041cfu/cm²）ともに目標値を超える結果となった。しかし、平成28年度には、低減への継続的な取り組みの結果、胸部・肛門部ともに検査結果はすべて目標値を下回り、平均値についても、胸部16.52（全国平均値242.9）cfu/cm²、肛門周囲部15.30（同140.0）cfu/cm²となり、いずれも全国平均値を10¹オーダーcfu/cm²下回る良好な結果となった。
2. 大腸菌群数：平成20年度は10²オーダーcfu/cm²を超える検体もあったが、平成24年度以降は目標値（3cfu/cm²未満）を超える検体は0～1検体/年度のみとなった。また、平成28年度の平均値は、胸部0.20（全国平均値1.3）cfu/cm²、肛門周囲部0.17（同0.3）cfu/cm²となり、いずれも全国平均値を下回る良好な結果となった。

考 察

枝肉の衛生状況が向上した理由については、主に次の事項が考えられた。

1. 管理者・従事者等との積極的な意見交換等、連携を図ることにより、自主衛生管理の意識向上につながった。
2. と畜解体作業中の写真やビデオを用いた衛生講習会の実施により、従事者自身が普段見落としがちな汚染原因を認識させることができた（視覚的効果の高い資料の活用）。
3. 拭き取り調査、衛生講習会等を継続実施することにより、衛生状況等の検証及び衛生意識の維持を図ることができた（科学的根拠に基づく説得力のある資料の活用）。

4. 従事者、管理者等自ら衛生研修会を開催・受講するとともに自主検査を実施しており、自主衛生管理の確保に努めていた。

当と畜場では、と畜頭数の減少に伴い、施設の・人間的な制約があり、従事者の一部に汚染作業区域と非汚染作業区域を掛け持ちせざるを得ない状況がある。そのため、汚染要因となるリスクが高くなると考えられる。

基本となる衛生対策は設備、器具及び手指等の洗浄消毒というソフト面での衛生管理を重要課題とし、自主衛生管理の重要性について、これまで指導を行ってきた。と畜場における HACCP 導入のためには、(1) 根幹となる一般的衛生管理を確立させること、(2) 管理者側が主体となり課題解決していくこと等が重要であり、これまでの取り組みは (1) 及び (2) の推進に有用であったと考える。

公地区—14

ヒトへの感染が懸念されるキチマダニ由来の新種コルチウイルス

木田浩司，谷川徳行，松岡保博，野宮加代子，梶原香代子，濱野雅子，他

岡山県環境保健センター

はじめに

マダニが媒介する微生物の一部は、ヒトに対して重篤な感染症を引き起こすことが知られているが、未だ全容解明には至っていない。本邦では、2013年に重症熱性血小板減少症候群ウイルスが発見されて以降、全国各地で精力的な調査が実施されてきた。その結果、新たなマダニ媒介性脊椎動物感染性ウイルスとして、キチマダニからブニヤウイルス科ナイロウイルス属の Tofla virus、アカコッコマダニからレオウイルス科オルビウイルス属の Muko virus が分離され、公衆衛生上重要な知見となっている。今回われわれは、岡山県内で捕獲したキチマダニから分離された不明ウイルスについて詳細に解析したので報告する。

方 法

2013年9月～2014年2月に岡山県内で捕獲したキチマダニ399匹のうち4匹からVeroE6細胞を用いて微生物を分離した。分離株をそれぞれS216V、S221V、S261V及びS387Vと名付け、このうちS387Vについて解析を進めた。まず、ウイルスであることを確認するために0.2 μ mフィルター通過試験、またエンベロープの有無を確認するためにエーテル耐性試験を実施した。次に、ブラック法により凍結融解による力価への影響を検証した。ゲノム解析は、Rapid Determination System of Viral RNA Sequence ver.3.1 (RDV法)により実施したが、検出感度を改善するため、RNA抽出工程にキャリアRNAを使用した。RDV法により得られた遺伝子断片からgenome walkingを実施し、RdRpゲノム全長の

塩基配列を解読した。塩基配列から推定したRdRpアミノ酸配列について、近隣接合法による系統解析及び相同性解析を実施し、さらにゲノムのポリアクリルアミド電気泳動(PAGE)により分節数を確認することで、ウイルスの種を推定した。また、ゲノム末端を同属種と比較することでその2次構造と機能を推定した。次に、細胞指向性確認のため、3種の霊長類由来細胞(アフリカミドリザル腎由来VeroE6細胞、ヒト横紋筋由来RD-A細胞及びヒト羊膜FL細胞)における培養上清中のS387Vゲノム量を、realtimePCR法によりそれぞれ経時的に測定した。さらに、宿主推定のため、ほ乳類を想定した37 $^{\circ}$ C及び鳥類を想定した40 $^{\circ}$ CにおけるVeroE6細胞による培養上清中のS387Vゲノム量を、それぞれ同様に測定した。

結果及び考察

S387Vは0.2 μ mフィルターを通過し、エーテル耐性を示したことから、非エンベロープウイルスであると推定された。また、plaque forming unit (PFU)は、凍結融解によって約3.5オーダー低下することが確認された。RDV法により得られた2つの遺伝子断片が、レオウイルス科コルチウイルス属のColorado tick fever virus (CTFV) Florio株のRNA dependent RNA polymerase (RdRp)と60%台の相同性を示したことから、CTFVの塩基配列を参考にGenome walkingを行い、RdRpゲノム全長の4335塩基を決定した。アミノ酸配列の系統解析の結果、S387Vはコルチウイルス属のクラスターに属し、12分節ゲノムのPAGE像はこれを裏付けるものであった。また、同属種と考えられるCTFV

及びEyach virus (EYAV)との相同性が55%程度に過ぎないことから、新種と推定された。S387VのRdRpゲノムは、両末端のそれぞれ3塩基がCTFV及びEYAVと同様に逆相補配列を示したことから、パンハンドル構造をとり、転写等を促進していると考えられた。細胞指向性については、FL細胞では増殖しなかったが、VeroE6細胞及びRD-A細胞では増殖し、霊長類への感染性が疑われた。また、40℃と比較して37℃での増殖効率が高かったことから、宿主はほ乳類であると考えられた。

結 語

岡山県で捕獲されたキチマダニから分離されたS387Vは、ゲノム解析の結果、ほ乳類を宿主とするコ

ルチウイルス属の新種と推定された。また、株化細胞における指向性は、ヒトを含む霊長類への感染性を示唆するものであった。一方で、S387Vの解析を進めていた2017年9月、北海道大学の藤田らによって、キチマダニから分離されたコルチウイルス属の新種Tarumizutick virus (TarTV)が報告された。S387VのRdRpアミノ酸配列は、TarTVの13T117株と約99%の相同性を示したことから、両者は同種であると考えられた。これまで、コルチウイルス属は、北アメリカのCTFV及びヨーロッパのEYAVの2種のみとされており、TarTV及びS387Vはアジアで初めて確認された同属種である。今後、電子顕微鏡による形態確認、全ゲノム分節の塩基配列解読等により解析を進める予定であるが、宿主の特定やヒトにおける病原性の解明も重要な課題である。

〔参考〕平成29年度 日本獣医公衆衛生学会（中国地区）発表演題一覧

- | | | | |
|----|---|----|--|
| 1 | と畜場における牛・豚の基質特異性拡張型 β -ラクタマーゼ産生大腸菌の保有状況について
水谷恵子（鳥取県食肉衛生検査所），他 | 15 | 大腸菌の病原性再分類と下痢原性大腸菌検査法の検討
亀山光博（山口県環境保健センター），他
保健科学部 |
| 2 | 牛及び豚の盲腸便におけるカンピロバクター属菌保有状況調査について
平本佳織（広島市食肉衛生検査所），他 | 16 | 動物における β -ラクタマーゼ産生大腸菌の分布状況調査
増田加奈子（広島県立総合技術研究所），他
保健環境センター |
| 3 | Tと畜場における牛のカンピロバクター属菌保有実態調査
大津寄洋史（岡山県食肉衛生検査所），他 | 17 | と畜場における牛枝肉の微生物制御への取り組み
魚谷正芳（広島県食肉衛生検査所），他 |
| 4 | と畜検査において認められた非定型牛白血病の一例
西尾尚紀（鳥取県食肉衛生検査所），他 | 18 | リアルタイムPCRを用いた枝肉拭き取りの菌数推定の一考察
大谷晴彦（岡山市食肉衛生検査所） |
| 5 | 島根県における地域猫事業
吉本佑太（島根県出雲保健所），他 | 19 | 病畜における動物用医薬品残留事例について
大沼史凡里（岡山市食肉衛生検査所），他 |
| 6 | 岡山市内における地域猫の取り組みについて（第2報）
梶原則夫（岡山市保健所），他 | 20 | 食肉処理施設における衛生管理の実態調査
杉原啓介（島根県益田保健所），他 |
| 7 | 倉敷市のより良い犬の譲渡に向けた検討
上田裕喜（倉敷市保健所生活衛生課），他 | 21 | イノシシ剥皮時における枝肉の汚染防止の検討
来待幹夫（島根県浜田保健所），他 |
| 8 | 処分数減少に向けた引取数の削減
小林 牧（岡山県動物愛護センター），他 | 22 | 未加熱及び加熱不十分な食肉を提供する施設への啓発に関する考察
山崎真太郎（島根県松江保健所） |
| 9 | 熊本地震ペット救援センター派遣からの一考察
大岩本拓也（山口県宇部健福），他 | 23 | 花火大会で発生した集団食中毒
長谷川利寿（島根県松江保健所），他 |
| 10 | Rapid Determination System of Viral RNA Sequence ver.3.1の検出感度の改善
木田浩司（岡山県環境保健センター），他 | 24 | 島根県における日本紅斑熱の発生状況
藤澤直輝（島根県保健環境科学研究所），他 |
| 11 | ヒトへの感染が懸念されるキチマダニ由来の新種コルチウイルス
木田浩司（岡山県環境保健センター），他 | 25 | 牛白血病ウイルスのリアルタイムPCR法の検討
佐々木真紀子（島根県食肉衛生検査所），他 |
| 12 | 肉用鶏にみられた鶏ロイコチトゾーン病について
田中ひろみ（山口県柳井健康福祉センター），他 | 26 | 島根県内で流行している牛白血病ウイルスの遺伝子解析
三田哲朗（島根県食肉衛生検査所），他 |
| 13 | 衛生管理の高度化支援における課題等
田中ひろみ（山口県柳井健康福祉センター），他 | 27 | 野生獣肉（ジビエ）中の亜鉛（Zn）とカドミウム（Cd）の濃度
新田由美子（広島修道大学），他 |
| 14 | レジオネラ環境分離株Ofk308由来新規プラスミドの解析
渡邊健太（山口大学大学院），他
連合獣医学研究科 | 28 | 特定動物の愛がん目的における飼養について
渡邊菜摘（山口県山口健康福祉センター），他 |