



# 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。）。このため，本講演講演者の参加登録手続は不要です。

### ○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](mailto: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，指示に従って進んで下さい。
- (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）に掲載しています（9 号に同封しました）。

### ○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 (中国地区選出演題)

[日本産業動物獣医学会]

産地区—5

地方病性牛白血病における垂直感染状況の実態について

山本祐輔<sup>1)</sup>, 日高健雅<sup>1)</sup>, 森本和秀<sup>1)</sup>, 尾形康弘<sup>2)</sup>,  
山田博道<sup>1)</sup>, 間 陽子<sup>3)</sup>, 他

1) 広島県立総合技術研究所・畜産技術センター,

2) 広島県立総合技術研究所・西部工業技術センター生産技術アカデミー,

3) 独理化学研究所

はじめに

地方病性牛白血病 (EBL) の原因ウイルスである、牛白血病ウイルス (BLV) は、レトロウイルス科デルタレトロウイルスに属し、ヒト成人型 T 細胞白血病ウイルス (HTLV) に近縁のウイルスである。BLV は、ウイルスがリンパ球に感染し、B 細胞性のリンパ腫を発症する疾病である。感染様式としては水平感染、垂直感染と感染様式が多様であることから、蔓延防止対策が困難であり、全国的に発生頭数が増加している。

牛白血病の感染経路の一つである垂直感染は、一般的には感染率は数%と低いと言われている。そのため、アブ対策など水平感染防除に関する取り組みや技術開発が多数報告されているが、垂直感染に関する研究報告は少ない。そこで今回我々は、垂直感染の状況について実態を調査したのでその概要を報告する。

材料及び方法

牛白血病陽性の酪農経営牧場 4 戸、牛白血病に感染したホルスタイン種経産牛 18 頭の産子について調査を行った。生後 24 時間以内に採血を実施した、初乳未給与 15 頭の産子について抗体検査を実施した。そのうち 6 頭の産子は、BLV ウイルス遺伝子検査を実施した。生後 24 時間以内に採血を実施した、陽性凍結初乳給与した産子 2 頭について、抗体検査及び遺伝子検査を実施した。また、生後 24 時間以上で採血を実施した、初乳製剤を給与した 1 頭の産子について、生後 5, 19, 41, 103 日目に遺伝子検査及び抗体検査を実施した。感染母牛 4 頭については母子間でプロウイルス量を調査した。抗体検査は、牛白血病抗体アッセイキット「日生研」を用いて受身赤血球凝集反応法 PHA 及び一部牛白血病エライザキット (ライフケミカル) を用いて ELISA 法により実施した。遺伝子検査は、産子の全血を用い Wizard Genomic DNA Purification Kit (プロメガ) を用いて遺伝子を抽出し、理化学研究所が開発したりアルタイム PCR 法である BLV-CoCoMo-qPCR により BLV プロウイルスを検出した。

成績

初乳未給与の産子 15 頭中 7 頭の 46.7% で PHA もしくは ELISA で抗体検査で陽性を示した。遺伝子検査をした 6 頭中 3 頭の 50.0% で BLV ウイルス遺伝子を検出した。陽性凍結初乳を給与し生後 24 時間以内に採血した産子 2 頭は、抗体検査及び遺伝子検査ともに陽性を示した。初乳製剤を給与した産子 1 頭は、抗体検査は生後 5, 19, 41 日では、陽性を示したが、103 日目では陰性を示した。遺伝子検査では、生後 19 日目のみで、BLV 遺伝子を検出した。感染母牛 4 頭については、プロウイルス量が  $0.9 \sim 17,431/10^5 \text{cells}$  を示した。感染母牛のプロウイルス量が  $100/10^5 \text{cells}$  以下の産子 2 頭は抗体及び遺伝子検査ともに陰性を示し、感染母牛のプロウイルス量が  $10,000/10^5 \text{cells}$  以上の産子は、2 頭中 1 頭の 50.0% で抗体及び遺伝子を検出した。

考察

今回の調査結果から 18 頭中 9 頭の 50.0% の産子で抗体及び遺伝子検査において BLV の垂直感染が疑われた。また、生後 24 時間以内に採血した抗体陽性の産子 8 頭中 5 頭の 62.5% で BLV プロウイルス遺伝子を検出した。以上から、18 頭中 9 頭が垂直感染したと診断した。これは、一般的に言われている垂直感染率よりも、はるかに高い感染率であることが明らかになり、牧場の BLV 蔓延状況によっては垂直感染率が高くなることが示唆された。また、陽性初乳を給与した産子においても BLV プロウイルス遺伝子を検出することにより垂直感染と診断できたことから、早期に BLV の垂直感染を診断する場合には、移行抗体にとらわれない、BLV の遺伝子検査が有効と考えられた。しかし、出生直後では BLV 感染状況 (産道、子宮内) により、BLV 遺伝子を検出できない例もあるので、抗体検査と合わせた複数または経時的な検査による診断が必要であると考えられた。また、感染母牛のプロウイルス量が、 $10,000/10^5 \text{cells}$  以上の場合、感染母牛のプロウイルス量が  $100/10^5 \text{cells}$  以下の産子と比べ垂直感染する可能性が高いことが考えられた。以上のことから、牛白血病の清浄化対策として

は、一般的な水平感染対策とあわせて、牛白血病の垂直感染対策として、プロウイルス量が多い感染母牛からの後継牛生産の中止及び陰性母牛からの陰性後継牛の確保

などの交配計画の検討や、導入前の抗体検査等による陰性導入牛の確保などの対策が重要であることが示唆された。

## 産地区—8

# 血清型 4,5:i;- を示す *Salmonella* Typhimurium 様菌の遺伝子解析

田原 鈴子

岡山県岡山家畜保健衛生所

### はじめに

*Salmonella* Typhimurium (以下「ST」) は、家畜伝染病予防法 (以下「家伝法」) に規定するサルモネラ症の届出対象血清型であり、O 及び H 抗原の組み合わせは O:H=4,5:i;1,2 である。第 2 相 H 抗原は、第 1 相が何らかの理由で抑制された時に発現する鞭毛であるが、近年この第 2 相が発現せず、血清型不明となるサルモネラ属菌による成牛型サルモネラ症の発生が報告されている。

岡山県においても平成 22 年度以降、県内の一地域において、血清型 4,5:i;- による成牛型サルモネラ症が 4 例発生していることから、本血清型を示す菌株について、分子生物学的検討等を行ったのでその概要を報告する。

### 材料及び方法

供試菌株は、血清型 4,5:i;- を示すサルモネラ属菌で、家畜由来株 5 株及びヒト由来株 8 株、対照株 1 株の計 13 株とした。家畜由来株については、成牛型サルモネラ症と診断した牛由来株 4 株のほか、平成 17 年に豚から分離された 1 株とした。また、ヒト由来株については、平成 11 年度以降、県内で散発性下痢症の原因菌として分離された 8 株とし、対照株として牛由来の ST1 株を供した。

生化学検査については、ラピッド ID32E アピにより、血清型別は定法により実施した。

遺伝子検査については、ST 迅速診断キット (Takara)、ST 特異遺伝子 *IS200* 及び第 2 相 H 抗原遺伝子 *fljB* を標的とした PCR を行った。また、菌株間の相同性を確認するため、パルスフィールドゲル電気泳動 (以下「PFGE」) を実施した。

薬剤感受性試験については、12 薬剤 (AM, CZ, K, S,

Te, T, CL, C, G, NA, ENR, SXT) を用い、一濃度ディスク拡散法により行った。

### 結 果

生化学検査では、菌株間で性状の異なる株が認められたものの、供試した菌株は全てサルモネラ属菌と同定された。

遺伝子検査では、ST 迅速診断キットでは、供試した菌株は全て同一のバンドパターンを示し、また、ST 特異遺伝子である *IS200* の遺伝子を有していた。しかし、*fljB* については家畜由来株、ヒト由来株とも検出されなかった。PFGE では、牛、豚、ヒト由来株はそれぞれ異なる泳動パターンを示し、また、牛由来株 4 株は、相同性が 85% と高かった。

薬剤感受性は、家畜由来株で高く、ヒト由来株で低い傾向であった。

### 考 察

県内で分離された血清型 4,5:i;- の ST 様菌は、第 2 相の鞭毛が発現しない ST の単相変異型であると考えられた。また、今回供試した家畜由来株とヒト由来株の間に関連性は認められなかった。平成 22 年度以降に県内の一地域で発生した本血清型による 4 例の成牛型サルモネラ症は分子疫学的に近縁と考えられることから、起源が同一の菌株による地域的な流行と推察した。

公定法で血清型不明となる本血清型の場合、家伝法上の届出義務は生じない。しかしながら地域的な流行や病原性の強さ等を考慮すると、従来の血清型別に加えて、病性鑑定指針に遺伝子検査法を明記した上で、ST の単相変異型として届出伝染病に指定する必要があると考えられる。

## 石炭灰（クリンカアッシュ）の畜産分野での応用

遠藤 広行

岡山県岡山家畜保健衛生所

## はじめに

平成22年に宮崎県で発生した口蹄疫等により、家畜伝染病予防法に基づく飼養衛生管理基準が改正された。この基準では、病原体の侵入を防止するために衛生管理区域の出入口や畜舎周辺に消毒施設が必要となり、安価で消毒効果が持続し、取り扱いの簡単な消石灰が頻繁に使用されるようになった。

## 目 的

消石灰は手軽に使用できる利点もあるが、農場出入口や畜舎周辺に頻繁に使用することより「洗濯物に消石灰が付着した」との苦情があったり、農場周辺に白い消石灰を散布すると「口蹄疫が発生した」との風評被害に遭う農場が現れた。そのため対策として石炭火力発電所から産出されるクリンカアッシュ（以下「石炭灰」）の性状を利用して、畜産分野での消毒資材としての活用方法を検討した。

## 材料及び方法

石炭灰は、火力発電所から産出される石炭の燃え殻の一種で、中国地方の4カ所の発電所から年間約8万トン産出され、軽量盛土や埋め戻し材、土壌改良材などに使用されている。石炭灰は灰白色から黒色の粒子状で、大きさは0.1～1mm程度で、二酸化ケイ素を主成分とし、pH9～10で化学的に安定し溶出が非常に少ない性質で、比重は1.0程度で砂と同じ排水性を持つとともに、表面に多数の細孔があり、水分保有率が土壌に比べて高い性質を持っている。

この石炭灰の性質を利用して消石灰と混合し、各混合比でのpHと色調の変化を調べた。また、各混合比率による野外でのpHの持続期間や大腸菌濃度を変えた消毒効果、並びにタイヤ表面と溝の消毒効果も検討した。さらに畜産農場の出入口等に散布しpHの持続期間や消石灰との使い勝手の違いを検討した。

## 成 績

石炭灰50%：消石灰50%の混合割合を基に互いに10%ずつ増減させると、どの混合比でもpH12.5以上の

強アルカリ性を示し、色調は石炭灰の混合比が高くなるにつれて白色から黒色に変化した。

石炭灰と消石灰の各混合比率のサンプルを野外に放置し、pHの持続期間を測定すると石炭灰の比率が70%以下で25日間以上、pH12以上を持続した。

また、アスファルト上で散布して目立たないことも考慮し「石炭灰70%：消石灰30%の混合比率」（以下「70%石炭灰」）を使用して、マクファーランド比濁法を参考に濃度を変えた大腸菌を70%石炭灰液に混和しDHL寒天培地に培養した結果、菌は発育しなかった。

70%石炭灰で消毒帯を設置しタイヤでの消毒効果を消石灰と比較検討したところ、消毒帯通過後タイヤの接地面の細菌数は同じように減少し、消毒効果が認められた。

また、実際に農場の出入口で散布しpHの持続期間を測定してみると、pH12以上を28日間持続した。使用した農家の感想は「消石灰のように粉塵が舞い上がりず散布しやすかった。アスファルト、コンクリート、土の上で目立たなかった。風が吹いてもあまり埃がたたまなかった。雨でべちょべちょにならなかった。」との好意見であった。

## ま と め

石炭灰を70%以下で消石灰と混ぜることにより、pH12以上の強アルカリ性の消毒効果が比較的長く持続した。石炭灰と消石灰の混合割合によって、散布場所に応じて目立たない色調に調整できた。消毒効果の持続性や色調を考慮すると70%石炭灰が適していた。70%石炭灰は飛散しにくいので、住宅地近くでも散布しやすく、作業時には消石灰よりも吸入や付着などの危険性が少ないため取り扱いしやすいとの農家の意見もあった。安全性を考慮すると70%石炭灰が、適していると思われる。

また、石炭灰は公共事業等の軽量盛土材、排水材のリサイクル資材として活用される一方、産業廃棄物として処分されているため、畜産分野での消毒資材としての応用は、有意義であると考えられるとともに、火力発電所のコスト削減にも大きく貢献するものと思われる。

## 桑実期胚から採取した剥離細胞をドナー細胞とした核移植胚による 遺伝子胚診断とその種雄牛造成への活用

日高健雅<sup>1)</sup>、福本 豊<sup>1)</sup>、今井佳積<sup>2)</sup>、山田博道<sup>1)</sup>、尾形康弘<sup>3)</sup>

1) 広島県立総合技術研究所・畜産技術センター、2) 広島県立総合技術研究所・保健環境センター、  
3) 広島県立総合技術研究所生産アカデミー

### はじめに

当センターでは、桑実期胚から酵素反応により細胞を採取する「細胞剥離法」を開発した。「細胞剥離法」により体外受精後5日の桑実期胚から細胞を採取し、その細胞を用い遺伝子診断を試みた結果、性の判定に成功したが、複数の遺伝子項目の診断は困難である。そこで、今回桑実期胚から剥離した細胞をドナー細胞として核移植を行い、生産された核移植胚を用い、胚の遺伝子を診断するシステムを開発したので、その診断効率を報告する。また、このシステムをクローン検定による種雄牛造成にも活用したのでその概要を報告する。

### 材料及び方法

供試牛は黒毛和種経産牛8頭及びホルスタイン種経産牛2頭を用いた。体外受精卵生産には、黒毛和種経産牛から経膈採卵により採取した未成熟卵子を用いた。未成熟卵子を22時間成熟培養し、ペプチド研究所のIVF-110を用い体外受精を実施した。体外培養には、m-SOFを基礎培地とし、BSAを添加した発生培地を用い5% O<sub>2</sub>、5% CO<sub>2</sub>気相条件下で3日間培養した後、m-SOFを基礎培地とし、10% FCSを添加した発生培地を用い5% CO<sub>2</sub>気相条件下で4日間vero細胞と共培養した。細胞の採取は体外受精後5日目の桑実期胚を用い実施し、プロナーゼ溶液処理により透明帯を除去した後、0.125%トリプシン溶液中で処理し、核移植用の細胞を3個前後剥離採取した。細胞採取された桑実期胚はその後2日間発生培地で胚盤胞まで培養し移植に供した。核移植は、採取した剥離細胞をドナー細胞とし、黒毛和種牛またはホルスタイン種牛から経膈採卵により採取した未受精卵子をレシピエント卵子として、細胞剥離後直ちに核移植し、8細胞～胚盤胞まで発生した核移植胚による遺伝子診断を実施した。遺伝子の抽出は、アルカリ処理法により実施し、PCR法により遺伝子を増幅した。診断する遺伝子項目は、遺伝病であるクローニン16、脂肪酸組成に関する遺伝子SREBPとした。

システム診断効率の調査項目として、①細胞剥離した桑実期胚の遺伝子診断用核移植胚の生産率、②核移植胚による遺伝子診断率、③診断済み胚の移植受胎率、④産

子の遺伝子診断と胚診断との一致率、について調査した。

また、このシステムをクローン牛の肥育成績により種雄牛候補牛の能力を検定するクローン検定において活用し、本システムによる種雄牛候補牛生産効率を調査した。調査対象を、2細胞期に分離し片方を種雄牛候補とし一方を核移植に用いる方法(2分割区)と、桑実期に剥離した細胞を核移植に用いる方法(細胞剥離区)の両区とし、調査項目として、種雄牛候補とそのクローン牛のセット生産に必要な操作胚数を比較した。

### 成 績

細胞を採取・核移植した27個の桑実期胚のうち、25個(92.5%)で遺伝子診断用の核移植胚を確保した。その核移植胚を用いた遺伝子診断により、22個(81.5%)の遺伝子診断済み胚を生産できた。遺伝子診断済み胚22個のうち15個を移植し、8頭(53.3%)が受胎した。受胎した8頭のうち6頭が分娩し、産子の血液による遺伝子診断で全頭が胚診断結果と一致した。

種雄牛候補牛生産効率の比較では、1セットの種雄牛候補牛とそのクローン牛の生産に必要な操作胚数は、2分割区が9.2個、細胞剥離区は4.4個だった。また、生産した雄胚の受胎率は、2分割区が41.7%、細胞剥離区が55.6%だった。

### 考 察

今回開発したシステムで処理した胚のうち、81.5%が遺伝子診断済み胚として生産でき、受胎率も50%を超えた。これは、①核移植技術により剥離細胞から核移植胚を生産することにより、遺伝子診断用の細胞の増数を可能としたことと、②細胞剥離法により、桑実期胚から採取する細胞数を極力少なくすることが可能となったため、遺伝子診断済み胚の品質が向上したことによるものと考えられた。このことにより、今回構築したシステムにより遺伝子診断済み胚の生産・普及が可能と考えられた。

また、種雄牛造成において桑実期胚から採取した剥離細胞を用いた核移植胚生産により、種雄牛候補牛生産の生産効率向上が可能と考えられた。

〔参考〕平成25年度 日本産業動物獣医学会（中国地区）発表演題一覧

- 1 肉用鶏農場における伝染性喉頭気管炎の発生事例  
中光 務（広島県東部家保），他
- 2 伝染性喉頭気管炎と伝染性気管支炎の同時検出法の検討  
桑山 勝（広島県西部家保），他
- 3 ESBL産生性大腸菌が検出された黒毛和種子牛の斃死事例  
船木博史（鳥根県松江家保），他
- 4 過去に鳥根県内で分離された *Salmonella* Typhimurium の疫学解析  
坂本洋一（鳥根県家畜病性鑑定室），他
- 5 血清型 4,5:i:- を示す *Salmonella* Typhimurium 様菌の遺伝子解析  
田原鈴子（岡山県岡山家保）
- 6 出血性腸症候群（HBS）の疫学調査と *Clostridium perfringens* の関与  
下永満展（株益田大動物診療所・鳥根県），他
- 7 繋ぎ飼い牛舎の趾皮膚炎に対するドロマイト石灰乳の効果検証  
大下雄三（鳥取県西部家保）
- 8 牛の後肢蹄の超音波検査における蹄底厚の測定限界および誤差  
柄 武志（鳥取大学農学部），他
- 9 1 養蜂農場から分離された *Melissococcus plutonius* の性状検査  
大石大樹（山口県中部家保）
- 10 公共育成牧場における小型ピロプラズマ病発生事例とその対策  
小谷道子（鳥取県鳥取家保），他
- 11 尿閉を併発した *Proteus mirabilis* 感染による黒毛和種去勢牛の膀胱炎  
田村英則（山口県西部家畜診），他
- 12 発育不良を呈する甲状腺片葉欠損ホルスタイン牛の一例  
郡司庸介（鳥取県農共連），他
- 13 胆嚢摘出で改善した牛の胆汁うっ滞の一例  
田中比奈子（鳥取県農共連家畜診），他
- 14 多血症を呈した牛の病理学的解析  
入部 忠（山口県中部家保），他
- 15 乳用牛預託育成牧場で発生した育成牛の集団下痢症  
増田恒幸（鳥取県倉吉家保），他
- 16 BRDC における牛コロナウイルスの関与  
嶋田浩紀（株益田大動物診療所・鳥根県），他
- 17 山口県における牛トロウイルスの初分離事例と浸潤状況調査  
村田風夕子（山口県中部家保），他
- 18 県内で流行した牛 RS ウイルス病の有効な診断方法と遺伝学的検討  
清水 和（広島県西部家保），他
- 19 肉用牛繁殖農場で集団発生した牛呼吸器病症候群（BRDC）  
杉本大輝（山口県東部家保），他
- 20 乳用牛における牛伝染性鼻気管炎の発生  
齋藤陽之（山口県北部家保），他
- 21 地方病性牛白血病における垂直感染状況の実態について  
山本祐輔（広島総研畜技セ），他
- 22 牛丘疹性口炎の病性鑑定時における口腔スワブ採材方法の検討  
石倉洋司（鳥根県家畜病性鑑定室），他
- 23 石炭灰（クリンカアッシュ）の畜産分野での応用  
遠藤広行（岡山県岡山家保）
- 24 大規模農場で発生した豚サルモネラ症の清浄化対策  
岡田ひろみ（岡山県井笠家保），他
- 25 HPAI 所内防疫演習の成果と I 課題  
西川真琴（岡山県津山家保），他
- 26 乳量低下農家に対し代謝プロファイルテストを用いた乳量改善効果  
西川達也（岡山県農共連生獣セ），他
- 27 搾乳牛で発生した *Streptococcus dysgalactiae* による疣贅性心内膜炎を伴った敗血症  
森本一隆（鳥取県倉吉家保），他
- 28 リステリア症が疑われた 2 症例  
鈴木万祐子（鳥根県農共連東部家畜診），他
- 29 黒毛和種に発生した *Klebsiella oxytoca* による流産と思われる国内 2 例目の 1 症例  
山形光正（広島県農共連三次家畜診），他
- 30 山口県で発生した異常産子牛における *Ureaplasma diversum* 分離事例  
中谷英嗣（山口県西部家保），他
- 31 羊の仮性結核症の発生事例  
久保由美子（広島県西部家保），他
- 32 乳房炎由来 *Aerdococcus Viridans* の性状および乳房炎の発生要因  
最首信和（鳥取県倉吉家保），他
- 33 乳牛の乳房炎治療における乳汁細菌学検査の有無と予後との関連  
金子宗平（広島県農共連乳房炎グループ研究会），他
- 34 山県家畜診療所管内における第四胃変位の疫学調査についての一考察  
伊藤暢彦（広島県農共連山県家畜診）
- 35 重度膀胱炎により尿道閉塞を発生した乳用牛の一症例  
堀 香織（広島県農共連山県家畜診），他
- 36 呼吸器疾患に罹患した子牛の病態指標と発育との関係  
黒瀬智泰（広島県農共連家畜臨研）
- 37 2 カ月間褥瘡管理を行った黒毛和種育成牛の 1 例  
重本志乃（山口県西部家畜診），他
- 38 産後低蛋白血症をおこした牛の症例  
岡村真吾（山口県西部家畜診）
- 39 牛単眼症奇形の症例報告  
野田浩正（鳥根県隠岐郡知夫村役場 知夫村家畜診）
- 40 ホワイトヘッファー病 3 型を発症した黒毛和種の 1 例  
桐木謙輔（鳥根県農共連石見家畜診），他
- 41 黒毛和種の受胎に及ぼすフルニキシメグルミン投与の影響について  
伊達麻衣子（広島県農共連繁殖グループ研究会），他
- 42 乳牛の繁殖障害に対する 0.5% ポビドンヨード剤の応用  
秋田真司（広島県農共連府中家畜診）
- 43 桑実期胚から採取した剥離細胞をドナー細胞とした核移植胚による遺伝子胚診断とその種雄牛造成への活用  
日高健雅（広島総研畜技セ），他
- 44 黒毛和種供胚牛の空胎期間短縮のための胚採取後の処置方法の検討  
山本裕美（鳥根県畜技セ），他
- 45 ホルスタイン種における過剰排卵方法の検討  
有安則夫（岡山県農水総合セ畜産研），他
- 46 出血を基点とした受精卵移植の有効性  
荒木勇介（岡山県農共連生産獣医療支援セ）
- 47 簡易子宮洗浄器具の作成  
亀森泰之（岡山県農共連南部家畜診），他

※団体の名称は地区学会開催当時のまま記載

## 両側性腎門部尿管断裂に対し腎盂内尿管移設を実施した1例

板本和仁, 猪狩和明, 原口友也, 藤井祐介, 谷 健二, 仲澤 宏, 他

山 口 大 学

### はじめに

尿管断裂は主に交通事故等によって発生する稀な疾患である。尿管断裂に対する治療法として生理的機能を取り戻せることから尿管吻合術が最も好ましい術式と言えるが、端々吻合を行うためには断裂部に縫合可能な尿管が十分に残存していることが条件となる。今回、腎門に極めて近位で断裂したため、腎臓側に縫い代の得られない両側性腎門部尿管断裂に対し、腎切開後、腎盂内に尿管移設を実施するという新たな試みを行った症例について報告する。

### 症 例

シーザー、2歳10カ月齢、未避妊雌。散歩中に事故に遭い、開業医にて腎門部尿管断裂と診断され、腎瘻カテーテルを設置した状態で山口大学動物医療センターに来院した。第3病日、尿管整復術を実施した。開腹後、断裂部位を確認したところ、両側尿管が腎門部より断裂し、尿管の縫い代が腎臓側には全く認められなかった。腎盂尿管移行部での尿管吻合を手術顕微鏡下で試みたところ腎動脈/静脈、腎実質より容易に出血したため、腎門部へ縫着する整復は困難と判断し、尿管端々吻合から腎盂内尿管移設に術式を変更した。術式は腎動脈を仮遮断し、腎切開により腎盂を露出、腎実質を通して鉗子で尿道を誘導し、腎盂に尿管を開口させ縫合した。また縫合部での閉塞を防ぐ目的で4.7Fr尿管ステントを左腎盂・膀胱間に設置した。右側尿管は狭窄が認められたこ

とから、同サイズの尿管ステントを設置できず、3Fr栄養カテーテルを設置し、経過観察した。第18病日、CT検査を行ったところ、栄養カテーテルが尿管から膀胱へ脱落し、右腎盂拡張及び尿管の狭窄部位より頭側での拡張が認められたことから、腎盂内へ縫着した尿管吻合部は十分に機能していると思われた。第23病日に膀胱鏡を用いて右側腎盂尿管ステントの再挿入術を実施した。膀胱鏡を用いて、尿管開口部よりダイレーターを挿入し尿管狭窄部位を拡張し、その後、4.7Fr尿管ステントを設置した。これにより右尿管の疎通が再開した。第85病日に再度CT検査を行ったところ、左側尿管ステントが閉塞し、左腎盂の拡張が認められた。両側の尿管ステントの抜去により、左腎盂の拡張は改善傾向が見られたが、右側尿管は術中に認められた狭窄部位における再狭窄が確認されたことから狭窄部を切除し、尿管膀胱吻合術を実施した。現在、全身状態及び排尿は良好であり、継続して経過観察中である。

### 考 察

腎門周辺での整復不能な尿管断裂の場合、人医療では腎瘻留置術が適応だが、獣医療での腎瘻留置術は感染のリスクが極めて高く、長期の維持が困難であると考えられる。今回実施した腎盂内尿管移設は、腎門付近で尿管断裂した症例における新たな術式として有効である可能性が考えられ、今後、長期予後を追跡、検討する必要があると考えられた。

## *Babesia gibsoni* 感染症の犬8頭に対する アトバコン/プログアニル製剤マラロンの治療効果

井口愛子<sup>1)</sup>, 白永伸行<sup>2)</sup>, 日笠喜朗<sup>1)</sup>

1) 鳥取大学農学部・獣医内科学教室, 2) シラナガ動物病院・山口県

### はじめに

犬 *Babesia gibsoni* 感染症はマダニ媒介性赤血球内寄生原虫による感染症であり、宿主である犬に対し重篤な溶血性貧血、血色素尿、黄疸、及び脾腫を引き起こす。

治療にはジミナゼンアセチレート (DA)、ドキシサイクリン (DOXY)・クリンダマイシン・メトロニダゾールによる多剤併用療法及びアトバコン (ATV) が用いられている。DAは即効性があるものの注射部位の疼痛など重篤な副作用が起こる可能性がある。多剤併用療法

は奏功するまでに長期の投薬を必要とし、即効性に欠ける。ATVは即効性があり副作用が少ないものの単剤で用いた際、ATV感受性の低下を示し、ATV推定標的部位であるミトコンドリアチトクロームb遺伝子上にアミノ酸置換を伴う一塩基多型M121Iを有する原虫の再発が問題となっている。これまでの研究においてM121Iは他剤に対する感受性に関与しないことが明らかとなっており、ATVと他剤の併用はM121I原虫の出現を抑制する可能性が示唆された。ATVは現在国内においてプログアニル(PG)との合剤であるマラロン(グラクソ・スミスクライン株)として販売されている。これまでの研究によりATV及びPGは*B. gibsoni*に対して相乗的な増殖抑制効果を示すことが*in vitro*で明らかとなった。そこで実験感染犬3頭に対してマラロンの投与を行ったところ、M121Iを有する原虫の再発を抑制することはできなかったものの、速やかな原虫消失と臨床症状の改善が期待できることを示した。3頭中1頭において嘔吐及びALPの上昇が一過性に認められた。マラロンは臨床現場で使用可能な薬剤である可能性が示唆されたため、より多くの頭数を用いた検討を行うため臨床試験を実施した。

## 目 的

臨床例を用いて*B. gibsoni*自然感染例に対するマラロンの治療効果を検討した。さらに他剤を併用することで再発の抑制ができるかを検討するため、マラロンとDOXYの長期併用による再発予防効果の検討を行った。

## 方 法

山口県シラナガ動物病院の協力を得て、臨床試験を実施した。臨床症状及び血液塗抹標本にて原虫が確認された犬*B. gibsoni*感染症と診断した犬8頭を用いた。4頭に対しマラロン(ATV 17~25mg/kg, PG 7~10mg/kg, BID)を10日間投与した(M群)。残りの4頭に対し10日間のマラロン投与及び30日間のDOXYの投与(5mg/kg, BID)を行った(MD群)。投薬期間終了後90日目まで30日ごとに経過観察を行った。再度血液塗抹標本上に原虫が認められ、貧血を呈した際に再発と診断し、同用量同期間のマラロンまたはマラロンとDOXYを投与した。3回以上の持続的な嘔吐や食欲不振が認め

られた時は投与の中止とした。全頭に対しマラロン投薬前と投薬終了後に身体検査、血液検査、M121I発現率測定を実施した。

## 結 果

M群の4頭中1頭は1回目の投薬中に貧血の進行を認めたため投与を中止した。3頭は治療開始後速やかに改善したものの再発したため2回目の投薬を行ったところ、2頭ではその後の再発が認められず、1頭で2回目の再発を認めた。3回目のマラロン投薬中に貧血の進行を認めたため治験を中止した。MD群4頭中2頭は観察期間中に再発を認めなかった。残りの2頭では1回再発を認めたものの2回目の投薬を行ったところその後の再発は認めなかった。全ての犬においてマラロン投与による副作用を疑う所見は得られなかった。M121I発現率はマラロン投与前は1%未満であったのに対し、投与後全ての犬で上昇したが、15~96%と個体間で差が大きかった。

## 考 察

全8頭中7頭で1回目の投薬により原虫の消失及び臨床症状の改善を認めたことから、マラロンは*B. gibsoni*感染症の治療薬として有用であると考えられる。本研究の結果からマラロンにDOXYを併用することで、より長期的な再発抑制効果が期待できると考えられた。今回マラロン投薬中に副作用は認められなかったが、以前の研究では3頭中1頭で一過性の嘔吐及びALPの上昇を認めている。またマラロンをヒトマラリア症に用いた際にも15%の患者において消化器症状またはALP、T-Bilの上昇が報告されているため、本薬剤を使用する際には注意深い観察が求められる。本研究において、再発時のマラロンの投薬は5頭全てで奏効したものの、3回の投薬を行った1頭は治療中に貧血の進行が認められた。再発時の治療効果とM121I発現率に関連は認められなかった。犬及びヒトにおいてマラロンを繰り返し投与した報告はなく、M121I以外の要因や犬体内での薬物動態など更なる検討が求められる。今後も症例数を増やし、投与量または投与期間の検討を深めていきたいと考えている。

## 小地区—17

# 光干渉断層計を用いて網膜組織像解析を行った 突発性後天性網膜変性症候群の21症例

瀧本良幸, 田中和也, 保永悠介, 小松紘之

タキモト動物病院・岡山県

## はじめに

突発性後天性網膜変性症候群(sudden acquired

retinal degeneration syndrome : SARDS)は、短期間に犬の両眼に不可逆的な盲目を引き起こす恐ろしい疾患である。眼底検査では特徴的な眼底病変を検出できない



ため確定診断が難しく、除外診断が臨床の現場では行われていない。稀な疾患ではないものの、眼球摘出が適応にならないため発症直後の病理組織検査が実施されることなく、原因や発生機序の解明に至っていない。光干渉断層計 (Optical Coherence Tomography : OCT) は眼内に近赤外光を照射して得られたエコー情報を再構築して、光学顕微鏡組織切片に類似した網膜断層像を描出できる眼科検査器械である。獣医領域でも国内外でOCTの導入が始まっているが、実際の眼科症例について網膜の解析を行ったという報告は見当たらない。今回、SARDSの症例に対して無麻酔・無投薬下でOCT検査を実施し、得られた知見について報告する。

### 材料と方法

2010年9月～2013年6月までの期間に当院にて稟告、一般眼科検査及び網膜電図検査の所見からSARDSと診断した犬21頭42眼を対象に、OCT検査を実施した。SARDSの診断基準は、短期間に起こった両眼の失明、失明の原因となりうる他の眼科疾患がない、網膜電図が全く検出されない、の三つとした。麻酔薬、鎮静剤及び散瞳剤は投与せず、Optovue社製iVue-100を使用して網膜厚を測定し、正常な眼底を持つと思われる中～高齢の犬11頭22眼(対照群)と比較した。錐体細胞が高密度に存在するとされる視神経乳頭の上耳側を中心にRetinal Mapモードで全層網膜、光受容体細胞及び外顆粒層のそれぞれの厚さを計測した。併せてCloss Lineモードで得られた同じ部位の組織像から網膜各層の状態を精査した。

### 結 果

計測した全層網膜の厚さは対照群が $167.7 \pm 3.5$  (平均 $\pm$ 標準誤差 $\mu\text{m}$ )であったのに対し、SARDSでは $163.8 \pm 2.4$ 、視細胞が位置する外顆粒層から外節端までの厚さは対照群が $79.6 \pm 3.8$ であったのに対し、SARDSで

は $76.2 \pm 3.0$ であり、いずれも有意差は認められなかった。しかしながら、視細胞の核が集まった外顆粒層の厚さは対照群が $48.0 \pm 3.5$ であったのに対し、SARDSでは $41.5 \pm 2.1$ と有意に低い値を示した ( $P < 0.01$ )。網膜の各層においてSARDSと対照群の網膜断層像の比較を行ったところ、81.0%に視細胞内節/外節接合部ライン (IS/OSライン)の消失を伴う網膜外層に不明瞭化が認められた。また、33.3%に網膜内層(神経線維層～神経節細胞層)の反射性が変化して観察された。

### 考 察

過去の報告に比べて、対照群の網膜厚がやや低い値を示したが、これは薬物による影響が除かれたこと、小型犬が多いこと、平均年齢が高いことなど複数の要因が推測された。SARDSでは網膜全層あるいは神経線維層の厚さが減少するという報告もあるが、今回の測定では明らかな差が認められなかった。これは多くの症例が発症から早い段階で検査を受け、網膜萎縮などの二次的な変化が起こっていなかったためと推測される。一方、外顆粒層の厚さが明らかに減少していることや、多くの症例でIS/OSラインの消失が認められたことは、光化学反応を担う視細胞の数が減少していることと、光受容体の正常な構造が崩れていることを示唆していると考えられる。発症初期のSARDSの網膜に病理組織検査を実施して視細胞のアポトーシスや光受容体の変性を検出した報告があり、OCTで検出した網膜外層の異常所見と病理組織検査の病変部が一致していることも注目すべきことである。これまで病理組織検査以外にSARDSに特異的な所見を得ることはできなかったが、OCT検査によってSARDSの初期病変を検出できる可能性が高いと考えられた。また、今回の研究で利用したOCTは網膜疾患の病態解析に非常に有用であり、獣医臨床の現場においてさらなる応用が期待できるであろう。

## 小地区—21

# 口腔内に腫瘍のみられた犬の64症例

山岡佳代, 八村寿恵, 和田慎太郎, 大成衷子, 網本昭輝

アミカペットクリニック・山口県

### はじめに

犬の口腔内腫瘍には大きく分けて炎症性のもとの腫瘍性のもとのがある。近年、口腔内衛生が注目されてきており、口腔内の病変に飼い主が気付くことも増えてきている一方、部位によっては発見しにくいものもあり、診察時や手術時に偶然発見されることも多い。今回、当院で口腔内に腫瘍が見られ、病理検査を実施した犬の症例について調査したので報告する。

### 材料及び方法

2003年3月～2013年7月までに病理組織検査を実施した犬767頭のうち、口腔内腫瘍の検査を実施した犬64頭、87カ所について、年齢、性別、犬種、腫瘍の位置、病理組織診断等について調査した。

### 成 績

年齢は9カ月齢～16歳齢、性別は雄31頭、雌33頭、犬種は雑種15頭、ゴールデンレトリバー6頭、チワワ

5頭, トイプードル4頭, シーズー4頭, ミニチュアダックスフンド4頭, ウェルシュコーギー4頭などの21犬種であった。腫瘤が見られた部位は歯肉に発生したものが68例(上顎切歯部9例, 下顎切歯部4例, 上顎犬歯部10例, 下顎犬歯部7例, 上顎臼歯部24例, 下顎臼歯部14例), 上口蓋に発生したものが6例, 舌及びその周囲に発生したものが6例, 頬粘膜に発生したものが4例, 口唇内側面が3例であった。

これら87例の病理組織診断結果は炎症性疾患が52例(60%), 良性腫瘍が16例(18%), 悪性腫瘍が15例(17%), その他が4例(4%)であった。発生部位別では歯肉と舌・舌周囲に発生したものは炎症性疾患が多かったが, 口蓋と口唇部では悪性腫瘍の占める割合が高かった。

腫瘤全体のうち, 最も多かったのは線維性エプリスで腫瘤全体の45%, 炎症性疾患のうちの75%を占めてい

た。次いで悪性黒色腫が腫瘤全体の10%で悪性腫瘍の60%, 骨形成性エプリスが腫瘤全体の9%で良性腫瘍の50%の順であった。

## 考 察

今回の調査では口腔内にできた腫瘤のうち60%が炎症性疾患であった。炎症性疾患で最も多かった線維性エプリスは慢性の歯肉炎も原因の一つとされている。そのため歯肉炎の治療や歯磨きなどのホームケアで発生を予防することができる可能性があると思われた。また腫瘍と診断されたもののうちのおよそ半数は悪性腫瘍であり, 最も多くみられた悪性黒色腫は転移率もかなり高いことが知られている。このため, 早期発見・早期治療が重要であり, 獣医師による診察時の口腔内の観察と, 飼い主に犬の口腔内に関心をもってもらうこととで, 口腔内の異常に早く気付くことが大切であると思われた。

## 〔参考〕平成25年度 日本小動物獣医学会(中国地区) 発表演題一覧

### 〔第1会場〕

- |  |   |
|--|---|
| 1 椎骨形成異常部で椎間板ヘルニアを発症したフレンチブルの2例<br>田村慎司(だむら動物病院・広島県), 他        | 15 内科的療法にラジオ波誘導温熱化学療法を併用し長期生存している縦隔型リンパ腫の犬1例<br>大崎智弘(鳥取大学農学部), 他<br>林 将(鳥取大学農学部), 他 |
| 2 肩関節及び橈骨の脱臼の整復にスーチャーアンカーを用いた2症例<br>北浦悠大朗(山口大学共同獣医学部), 他       | 16 犬・猫の手術不適応な腫瘍に対するICG修飾リポソームを用いた光線温熱化学療法の治療効果:15例<br>松永省吾(鳥取大学農学部), 他              |
| 3 膝蓋骨内方脱臼術後の『リハビリテーションによる治療例』<br>前島さおり(やさか動物病院・岡山県), 他         | 17 犬の頸部腫瘍の4症例<br>玉岡裕子(岡山動物がん検診センター三宅動物病院・岡山県), 他                                    |
| 4 スプリントプレート法を用いて治療した小型大橈尺骨骨折25症例25肢の成績<br>櫻田 晃(さくら動物病院・広島県), 他 | 18 犬の口腔内悪性黒色腫に対するルベオールの抗腫瘍効果:43例<br>杉山むつみ(鳥取大学農学部), 他                               |
| 5 外科的矯正手術を行った気管虚脱の犬の1例<br>園田康広(そのだ動物病院・広島県), 他                 | 19 眼球突出を呈した犬の2症例<br>上岡尚民(うえおか動物病院・広島県), 他   |
| 6 気管内ステントを留置した気管虚脱の犬の3例<br>中角 航(山口大学共同獣医学部), 他                 | 20 口腔内に腫瘤のみられた犬の64症例<br>山岡佳代(アマカペットクリニック・山口県), 他                                    |
| 7 尿道移行上皮癌に尿道ステント術を行った犬の1例<br>檜垣幸次(岡山動物がん検診センター三宅動物病院・岡山県), 他   | 21 腸管に発生した肥満細胞腫のネコの1例<br>新田直正(ファミリー動物病院・山口県), 他                                     |
| 8 経尿道的尿管ステント留置術を試みた小型犬の1例<br>木村志穂(山口大学共同獣医学部), 他               | 22 精上皮腫の全身転移を認めた犬の1例<br>畑 早矢香(春名動物病院・岡山県), 他  |
| 9 両側性腎盂尿管断裂に対し腎盂内尿管移設を実施した1例<br>猪狩和明(山口大学共同獣医学部), 他            | 23 体表の自壊した腫瘍に対するMohsペーストの有効性<br>黒川大介(平野動物病院・広島県), 他                                 |
| 10 膀胱タンポナーデの猫の1例<br>伊藤晴倫(山口大学共同獣医学部), 他                        | 24 多発性に骨格筋転移をきたした犬の乳腺癌の1例<br>秋田咲樹子(はちペットクリニック・広島県), 他                               |
| 11 会陰ヘルニアの猫の1例<br>宮寄大樹(公助動物臨床医学研究所), 他                         | 25 肝細胞癌と副腎皮質腺癌を同時に手術した犬の1例<br>小出和欣(小出動物病院・岡山県), 他                                   |
| 12 鳥取大学附属動物医療センターにおける過去3年間の胆嚢摘出術:犬16例<br>吉本佑太(鳥取大学農学部), 他      | 26 経胃瘻的空腸チューブで週周期栄養管理をした腎細胞癌の犬の1例<br>西井寛之(山口大学共同獣医学部), 他                            |
| 13 広範囲な皮膚欠損を伴った好酸球性皮膚炎の猫1例<br>菱川翔平(鳥取大学農学部), 他                 | 27 線維組織球結節と診断された犬の2例<br>田村欣也(山口大学共同獣医学部), 他   |
| 14 開胸手術により改善が認められた重度の膿胸の猫1                                     | 28 副腎皮質腺癌と外分泌性腺癌を認めた犬の1例<br>矢部摩耶(小出動物病院・岡山県), 他                                     |
|  | 29 犬猫の自然発生腫瘍に対する5-ALAを用いた蛍光   |

- 診断に関する研究 益田幸枝 (鳥取大学農学部), 他
- 30 小さな髄膜腫から広範な硬膜下血腫を呈した犬の1例 土井翔子 (たむら動物病院・広島県), 他
- 31 耳道に発生した線維肉腫に対して外側耳道切除および化学療法を行った猫の1例 毛利 崇 (もうり動物病院・島根県)
- 32 人工鼻がイヌの吸入麻酔における呼吸回路内の温度および湿度に及ぼす影響 神田鉄平 (倉敷芸術科学大学), 他
- 〔第2会場〕
- 33 犬の細菌性外耳炎に対する0.3%ロメフロキサシン眼科耳科用液の治療効果 高島一昭 (公財動物臨床医学研究所), 他
- 34 当院における薬剤感受性試験の回顧的研究 橋本直幸 (アイビー動物クリニック・岡山県), 他
- 35 犬猫におけるメチシリン感受性ブドウ球菌感染症とメチシリン耐性ブドウ球菌感染症の治療成績 嶋田恵理子 (みやもと動物病院・山口県), 他
- 36 三朝温泉水のアトピー性皮膚炎症状改善効果: NC/Tndマウスを用いた科学的検証 辻野久美子 (鳥取大学農学部), 他
- 37 真菌感染により角膜黒色壊死病変がみられた犬の一例 伊藤良樹 (山口大学共同獣医学部), 他
- 38 マクログロブリン血症によって眼病変を示した犬の一例 小松紘之 (タキモト動物病院・岡山県), 他
- 39 光干渉層計を用いて網膜組織像解析を行った突発性後天性網膜変性症候群の犬の21症例 瀧本良幸 (タキモト動物病院・岡山県), 他
- 40 歯科X線検査が有用であった両側眼窩下瘻管の犬の1例 中西 淳 (なかにし動物病院・岡山県), 他
- 41 特発性髄膜脳脊髄炎の犬33例における回顧的研究 長井 新 (アイビー動物クリニック・岡山県), 他
- 42 無麻酔CT検査の検討 谷浦督規 (谷浦動物病院・広島県), 他
- 43 獣医領域でのVolume Navigationの臨床応用について 谷浦督規 (谷浦動物病院・広島県), 他
- 44 手術計画および臨床教育としての3Dプリンターの有用性 小坂知也 (鳥取大学農学部), 他
- 45 免疫介在性血球減少症の治療後に慢性リンパ球性白血病を発症した犬の1例 相津康宏 (シラナガ動物病院・山口県), 他
- 46 慢性脂漏性皮膚炎の犬で発症した上皮向性リンパ腫の1例 平井実穂 (ひらい動物病院・岡山県), 他
- 47 空腸に発生したホジキン様リンパ腫の犬の1例 白岩智美 (山口大学共同獣医学部), 他
- 48 診断に苦慮した皮膚非表皮向性B細胞性リンパ腫の犬の1例 福島 萌 (鳥取大学農学部), 他
- 49 犬のALPアイソザイム分析の応用性 丸山祐佳 (鳥取大学農学部), 他
- 50 重症筋無力症による巨大食道症の犬1例 原田和記 (鳥取大学農学部), 他
- 51 副腎疾患の併発を疑った糖尿病のフェレットの1例 塚根美穂 (アスリー動物病院・島根県), 他
- 52 この1年で診断治療した犬の急性膠炎の20例 羽迫広人 (シラナガ動物病院・山口県), 他
- 53 僧帽弁閉鎖不全症犬に対するプラバスタチン 有田申二 (有田総合動物病院・広島県), 他
- 54 僧帽弁閉鎖不全を呈する犬の各種心機能パラメータに及ぼすイマチニブの影響 宮武真梨奈 (鳥取大学農学部), 他
- 55 低用量イマチニブによる長期治療を実施している僧帽弁閉鎖不全症の犬一例 日笠喜朗 (鳥取大学農学部), 他
- 56 犬の耳血腫内インターフェロン注入療法の適応と限界に関する検討 白永伸行 (シラナガ動物病院・山口県), 他
- 57 恒久的ペースメーカーの植え込みを実施した犬と猫の2例 荒蒔義隆 (ベイ動物病院・広島県), 他
- 58 心内膜床欠損症および心室中隔欠損症に対し体外循環下で開心術を行った犬の一例 小笠原淳子 (公財動物臨床医学研究所), 他
- 59 猫のフィラリア症の2例 和田優子 (公財動物臨床医学研究所), 他
- 60 Hepatozoon canis 感染症の犬の1例 西森大洋 (山陽動物医療センター・岡山県), 他
- 61 Babesia gibsoni 感染症の犬8頭に対するアトバコン/プログアニル製剤マラロン®の治療効果 井口愛子 (鳥取大学農学部), 他
- 62 IgAによる二峰性高γグロブリン血症を呈した猫の一例 伊賀瀬雅也 (山口大学共同獣医学部), 他
- 63 去勢手術および向精神薬物療法が効果的であった自咬症を呈したフクロモモンガの1例 秋田征豪 (はちペットクリニック・広島県), 他
- 64 動物介在活動に参加する犬の気質関連遺伝子について 田丸政男 (県立広島大学保健福祉学), 他

## A 食鳥処理場における衛生管理とカンピロバクター検出状況

増田加奈子, 湯藤亜里

広島県食肉衛生検査所

### はじめに

カンピロバクターによる食中毒事件は全国的に多発しており, 原因食品が判明したものでは鶏肉が関与しているものが多い。しかし, 大規模食鳥処理場においては, 一部の汚染とたいによる鶏肉の交差汚染が避けられないのが現状である。そこで今回, 県内の大規模食鳥処理場で処理される鶏のカンピロバクター保菌状況及び処理場の衛生管理状況を調査した結果, 食鳥処理場における交差汚染を未然に防止するためには, カンピロバクターを保菌している鶏を後に処理する等の区分処理を行うことが効果的であると考えられたので, その概要を報告する。

### 調査方法

1. 調査期間: 平成 25 年 5 ~ 9 月
2. 調査対象施設: A 食鳥処理場 (中抜き方式)
3. 材料及び方法:
  - ①鶏の保菌状況については, プロイラーの盲腸内容物を検体とした。
  - ②食鳥処理場の衛生管理状況については, 処理工程ごとに調査した。湯漬け水, とたい洗浄水, 内外洗浄水, 予備チラー水及び本チラー水は, とたいが通過する時間と同時間浸漬した滅菌タンポンを検体とし, 脱羽機は機械内部の拭き取りを検体とした。チラー前後のとたいについては, 皮膚表面 ( $5 \times 5 \text{cm}^2$ ) の拭き取りを検体とした。

### 結果

1. 鶏の保菌状況: 盲腸内容物からのカンピロバクター検出率は 12.0% (13/108) で, 7 農場 15 鶏舎のうち 3 農場 6 鶏舎から検出された。
2. とたいの汚染状況 (区分処理前): 盲腸内容物からカンピロバクターが検出されなかった鶏舎の鶏 (以下「非保菌鶏群」) のみを処理した場合, チラー前後のとたいいずれからも検出されなかった。一方, 検出された鶏舎の鶏 (以下「保菌鶏群」) のみを処理した場合, チラー前のとたいから 100% (10/10), チラー後のと

たいから 80% (8/10) 検出された。また, 保菌鶏群処理後に非保菌鶏群を処理した場合, チラー前のとたいについては, 保菌鶏群及び非保菌鶏群ともに 100% (5/5) 検出され, チラー後のとたいについては, 保菌鶏群 80% (4/5), 非保菌鶏群 100% (5/5) から検出された。

3. 食鳥処理場の衛生管理状況及び汚染状況: 湯漬けの湯温は  $60 \pm 2^\circ\text{C}$ , とたい洗浄水は残留塩素濃度約 100ppm, 予備チラー水は約 50ppm, 本チラー水については約 50ppm かつ水温  $3^\circ\text{C}$  以下に管理されていた。非保菌鶏群処理時は, 処理場内のいずれからも検出されなかったが, 保菌鶏群処理時には, 脱羽機, 内外洗浄水及び本チラー水から検出された。
4. 区分処理の効果: 調査結果を A 食鳥処理場にフィードバックし, カンピロバクターが検出された保菌鶏群を非保菌鶏群の後に処理した結果, 保菌鶏群からは盲腸内容物, チラー前後のとたい, 内外洗浄水, 予備チラー水及び本チラー水いずれからも検出されたが, 非保菌鶏群からはそのいずれからも検出されなかった。
5. 菌種の同定: 検出されたカンピロバクターは, 全て *C. jejuni* であった。

### 考 察

今回の調査では, A 食鳥処理場に搬入された鶏のカンピロバクターは特定の農場・鶏舎から検出され, 農場・鶏舎によって保菌率に大きな差があることがわかった。

また, 保菌鶏群の後に処理された非保菌鶏群のとたいから検出されたことから, 非保菌鶏群は保菌鶏群から処理工程内で交差汚染を受けていることが示唆された。

現在の衛生管理では, とたいからカンピロバクターを完全に排除することは期待できないと考えられることから, A 食鳥処理場において区分処理を実践した結果, 交差汚染防止の効果が認められた。

一度汚染された農場・鶏舎でカンピロバクターを制御することがきわめて困難な現状では, 汚染農場・汚染鶏舎を特定し, 区分処理を行うことがカンピロバクター汚染を最小限にするために効果的と思われる。

## ウイルス遺伝子検査における網羅的ウイルス検出法の導入 ～RDV法について～

浅野康子<sup>1)</sup>, 古谷哲也<sup>2)</sup>, 白井僚一<sup>1),3)</sup>, 上田 豊<sup>1)</sup>, 水谷哲也<sup>2),4)</sup>

1) 鳥取県衛生環境研究所, 2) 東京農工大学農学部・附属国際家畜感染症防疫研究教育センター,  
3) 鳥取県福祉保健部健康医療局医療指導課, 4) 国立感染症研究所・ウイルス第一部

### はじめに

近年, ウイルスの同定検査に分子生物学的検査法が導入され, 食中毒検査や集団感染症検査等の主流となっている。この分子生物学的検査法では, 個々のウイルスの遺伝子配列情報に応じた特異的プライマーを使用する。そのため, これまで未検出のウイルスや, 既知のものでも当所でプライマーを持たないウイルスの検出はできない。さらに, 変異を起こしており, 既存のプライマーセットでは検出不可能となったウイルスにも対応できない。通常, このような未知の遺伝子配列の同定には, 遺伝子組換えやクローニング技術, 次世代シーケンサー等が用いられる。しかし今回, これらの方法に依存せずに未知の遺伝子配列を同定するため, 2007年に報告されたRDV法(Rapid Determination System of Viral RNA Sequence)について, 当所への導入と実施を試みた。

### 方 法

本研究では, オリジナル法から修正され, 2010年に報告されたRDV ver. 3.1法を用いた。

### 結果と考察

鳥取県では, 感染症発生動向調査事業において2003～2012年の10年間では, 平均2,459件の流行性ウイルス感染症の検体を検査している。2012年は合計2,438検体の検査を行い, そのうちの34%となる825件で何らかの病原因子が検出された。しかし, それ以外の検体は病原因子が不明であり, これらの不明検体を減らすための方法の一つとして, RDV法の導入が必要となっていた。

RD細胞及びVERO細胞でエンテロウイルスに酷似の細胞障害が観察された検体について, エンテロウイルス特異的PCRが陰性だったことから, RDV法を実施した。その結果, 複数の二次増幅産物から, パレコウイルスに相同性のある遺伝子配列が得られた。次いで, パレコウイルスの特異的プライマーを用いてRT-PCR法を行った後, 遺伝子配列の解析を行った。今回検出されたウイルスは, DDBJ (DNA Data Bank of Japan) のBLAST検索の結果, 2003年1月に福岡市で分離同定されたパレコウイルス3型の株 (Accession No.: AB427216) と97%の相同性があった。パレコウイルスは, ピコル

ナウイルス科パレコウイルス属に分類され, 10種類以上の血清型/遺伝子型の報告がある。しかし, 1998年まではエンテロウイルス属に分類されていたこともあるほど両者は近縁であり, 両者を細胞変性効果(CPE)で判別するのは難しいと考えられた。さらに, パレコウイルスは当県で初検出であり, 想定外の原因ウイルスであった。今回RDV法を用いたことで比較的早期にウイルスを同定することができたが, RDV法が無ければ症状や他県での発生動向を鑑みながら種類ずつ可能性を探らなければならず, 同定までに倍以上の時間を要したものと考えられる。このように, RDV法を用いて想定外のウイルスを検出した類似のケースとして, 群馬県はサフォード・カルディオウイルスの検出に成功している。

また, VERO細胞でムンプスウイルスに類似の細胞変性効果が観察された検体について, ムンプスウイルス特異的PCR法が陰性だったことからRDV法を実施した。その結果, RS (respiratory syncytial) ウイルスに相同性のある遺伝子配列が得られた。この株は, 2010年2月にアメリカ合衆国ウィスコンシン州ミルウォーキーで分離同定されたRS-A型の株 (Accession No.: JF920054) と99%の高い相同性があった。本事例も, RDV法が無ければ同定までに時間を要することになったと考えられる。さらにこの結果を踏まえ, 2010～2012年にかけて当所で分離されたムンプスウイルス44件のうち, 2検体はPCR検査で陰性だった。今回, この2検体についてRSウイルス特異的PCR法を行ったところ, 1件がRS-A型ウイルスであることが分かった。

### ま と め

当所にRDV法を導入し, 実施することにより, これまで想定していなかったパレコウイルスを検出することができた。このパレコウイルスは, 鳥取県内で初検出であった。特異的プライマーを用いたPCR法では, 同定までに非常に時間がかかるような事例でも, RDV法により比較的短時間で同定することができるようになった。以上のことから, 検査対象地域でこれまでに発生したことが無く, 検査実施機関が想定してあらかじめ検査法を準備していないウイルスのには, 本RDV法は大きな威力を発揮すると考えられる。

## 蛍光 RT-Multiplex PCR 法による食中毒等集団感染事例からの 下痢症ウイルスの検出

東久保 靖<sup>1)</sup>, 久常有里<sup>1)</sup>, 重本直樹<sup>1)</sup>, 田中智之<sup>2)</sup>,  
野田 衛<sup>3)</sup>, 福田伸治<sup>4)</sup>, 他

1) 広島県立総合技術研究所保健環境センター, 2) 堺市衛生研究所,  
3) 国立医薬品食品衛生研究所, 4) 広島文教女子大学

### はじめに

近年, ウイルス性胃腸炎については, 検出技術や研究が進み, ノロウイルスのみならずロタウイルスやサポウイルスなど様々な下痢症ウイルスの関与が明らかになってきている。一方で, 行政サイドからは, 食の安全・安心の高まりから健康被害の拡大防止のために原因微生物を迅速に決定して対応する必要性が強く求められている。これらのことから, 複数の下痢症ウイルスを1反応で同時に検出できる Multiplex PCR法が活用されてきているが, PCR増幅産物の大きさが近似する場合や非特異バンドが出現する場合には誤判定の可能性がある。

そこで, 当センターでは, Multiplex PCR法において PCR増幅産物の増幅サイズと蛍光色により容易に鑑別できる, 蛍光標識プライマーを用いた RT-Multiplex PCR法(蛍光 RT-M-PCR法)の開発を行い, 本法による食中毒及び感染症集団事例の有症者便からの下痢症ウイルスの検出を試みたので報告する。

### 材料及び方法

供試検体には, 2010年10月～2013年4月に発生した食中毒及び感染症集団感染事例43事例における有症者便123検体を用いた。

方法としては, 10種類の下痢症ウイルスを3つのプライマーセット(Aセット: ノロウイルス(NoV) GI, NoV GII, サポウイルス(SaV), アストロウイルス(HAStV), Bセット: アイチウイルス(AiV), ボカウイルス(HBoV), パレコウイルス(HPeV), Cセット: A群ロタウイルス(RVA), C群ロタウイルス(RVC), アデノウイルス(AdV))に分け, セット内で各ウイルスの増幅産物が蛍光色で識別できるように, ウイルスごとに既報のプライマーを異なる色のAlexa蛍光で標識した。

10%糞便乳剤からQIAamp Viral RNA mini Kit(キアゲン)を用いて核酸抽出を行い, 抽出核酸から逆転写反応を行った。これをテンプレートとして, Multiplex PCR Assay Kit(タカラバイオ)を用いて, 3つのプライマーセットによる蛍光 RT-M-PCR法を実施した。ウイルス既知検体により, 蛍光 RT-M-PCR法の有用性の検討を行うとともに, 供試検体から対象ウイルスの検出を試みた。PCR増幅産物は電気泳動後, EtBr染色することなくUV照射により増幅産物の増幅サイズ及び蛍光色を確認した。

### 結 果

ウイルス既知検体(下痢症ウイルス検索済み有症者便)を用いて蛍光 RT-M-PCR法を実施したところ, AセットではNoV GI, NoV GII, SaV, HAStVの各陽性検体に対して, それぞれ330bp(緑), 344bp(赤), 430bp(黄), 230bp(青)の増幅バンドが目視で確認された。同様に, BセットではAiV, HBoV, HPeVの各陽性検体に対して, それぞれ519bp(緑), 291bp(オレンジ), 195bp(赤), CセットではRVA, RVC, AdVの各陽性検体に対して, それぞれ145bp(緑), 351bp(赤), 300bp(オレンジ)の増幅バンドが目視で確認された。また, 検出対象ウイルス以外のウイルスとの交差反応は認められなかった。

供試検体からの下痢症ウイルスの検出状況については, 食中毒等集団感染事例43事例中, NoV GIIによるものが36事例(83.7%), NoV GI, SaV, RVA及びAdVによるものが各1事例(2.3%), 不検出が3事例(7.0%)であった。そのうち, 食中毒事例では16事例中, NoV GIIによるものが12事例(75.0%), NoV GIによるものが1事例(6.3%), 不検出が3事例(18.8%)であった。感染症事例では27事例中, NoV GIIによるものが24事例(88.9%), SaV, RVA及びAdVによるものが各1事例(3.7%)であった。また, 供試検体から下痢症ウイルスが検出された検体のうち, 7名の有症者便からは主要因ウイルス以外に1種あるいは複数のウイルスが検出された。

### 考 察

蛍光 RT-M-PCR法は, 各下痢症ウイルスの増幅産物を増幅サイズ及び蛍光色で識別することが可能であり, 視覚的に容易に判定できる方法であった。また, 10種類の下痢症ウイルスの検査が包括的に実施できることから, 食中毒等集団感染事例のスクリーニング法として有用であると考えられた。

本法により有症者便から複数のウイルスを検出したことで, 有症者の重複感染の可能性を明らかにすることができた。原因ウイルス以外の検出ウイルスについては下痢症への関与が明らかとなっていないものもあり, 今後の更なる研究が必要であるが, 有症者便の検査には重複感染の可能性も考慮して行う必要があると思われた。

## 他の共同研究者

谷澤由枝, 高尾信一 (広島県立総合技術研究所保健環境センター)

### 〔参考〕平成25年度 日本獣医公衆衛生学会 (中国地区) 発表演題一覧

- 1 動物愛護ボランティアとの協働による犬の多頭飼育者への対応について 武本晋哉 (岡山市保), 他
- 2 犬・ねこ等適正飼育啓発員の概要と課題 多田英行 (倉敷市保), 他
- 3 地域猫化に向けたTNRモデル事業の経過報告 (第1報) 三田哲朗 (鳥根県松江保), 他
- 4 犬猫の適正譲渡と譲渡率上昇に向けた取り組み 長谷川亜季 (岡山県動愛セ)
- 5 浜田保健所における成犬譲渡の取り組み 狩野綾子 (鳥根県浜田保), 他
- 6 動物愛護棟に係る事業の実施状況と今後の展開 角森丈俊 (鳥根県出雲保)
- 7 新規食鳥処理施設におけるカンピロバクター属菌の浸潤状況調査 難波泰治 (岡山県食肉衛検), 他
- 8 A食鳥処理場における衛生管理とカンピロバクター検出状況 増田加奈子 (広島県食肉衛検), 他
- 9 牛枝肉における腸内細菌科菌群汚染実態調査 中村祥人 (鳥根県食肉衛検), 他
- 10 と畜場における牛内臓肉の汚染状況調査 水谷恵子 (鳥根県食肉衛検), 他
- 11 豚の増殖性腸炎 金澤謙介 (岡山市食肉衛検), 他
- 12 広島県における犬のツツガムシ病リケッチアの浸潤状況調査について 山内英理子 (広島県動愛セ), 他
- 13 レジオネラの宿主としてのゾウリムシの役割 度会雅久 (山口大学共同獣医学部)
- 14 浅漬けの殺菌 加戸 彰 (鳥根県浜田保), 他
- 15 広島市で発生したクダア属粘液液胞子虫による食中毒事例について 鈴木康仁 (広島市衛研), 他
- 16 複数の分子疫学手法を用いた腸管出血性大腸菌O157によるdiffuse outbreakの探知 亀山光博 (山口県環保セ), 他
- 17 感染症情報収集システムにおける保育園サーベイランスの導入 来待幹夫 (鳥根県雲南保)
- 18 学校欠席者情報収集システム—新型インフルエンザ2009の地域拡大— 石田 茂 (鳥根赤十字病院・鳥根県), 他
- 19 広島湾北部地域で育成されたカキの栄養成分分析からみた養殖環境と公衆衛生 新田由美子 (鈴峯女子短期大学), 他
- 20 平成24年度東郷池覆砂効果検証調査について 木山真大 (鳥根県中部総合事務所), 他
- 21 高齢者における乗馬の効果に関する生理心理学評価について 田丸政男 (県立広島大学保健福祉学), 他
- 22 2012-13年の鳥根県内におけるサポウイルス流行状況について 浅野康子 (鳥根県衛生環研), 他
- 23 ノロウイルス検査の迅速化のためのエコーウイルス9型のReal-time RT-PCR検出法開発と核酸検出効率の評価 木田浩司 (岡山県環保セ), 他
- 24 蛍光RT-Multiplex PCR法による食中毒等集団感染事例からの下痢症ウイルスの検出 東久保 靖 (広島県立総技研環保セ), 他
- 25 網羅的ウイルス検出法 (RDV法) を用いたウイルス遺伝子検査について 浅野康子 (鳥根県衛生環研), 他
- 26 重症熱性血小板減少症候群患者から分離されたウイルスに対するイヌの抗体保有状況 (広島県) 高尾信一 (広島県立総技研環保セ), 他
- 27 簡易DNA抽出キットを用いた牛白血病ウイルスのDNA調製に関する検討 国井悦子 (広島市食肉衛検), 他
- 28 食肉の残留抗菌性物質検査に使用する*Bacillus subtilis*の芽胞形成方法に関する検討 狩屋英明 (岡山県食肉衛検), 他
- 29 当所での残留抗菌性物質スクリーニング検査における試み 尾田英之 (鳥根県食肉衛検), 他
- 30 カンピロバクターの細胞侵入とPI3キナーゼの関連 度会雅久 (山口大学共同獣医学部), 他
- 31 基質特異性拡張型 $\beta$ ラクタマーゼ(ESBL)産生大腸菌O25:H4から腸管出血性大腸菌O26へのESBL産生能の伝達 黒崎守人 (鳥根県環保科学研), 他