



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 -----

令和元年度 日本獣医師会獣医学術学会年次大会 地区学会長賞受賞講演（九州地区選出演題）

[日本産業動物獣医学会]

産地区—7

鼻腔粘膜ワクチン（TSV-2）が牛の肺胞マクロファージに 与える影響

田中千穂¹⁾，石川真悟¹⁾，宮澤昌嵩¹⁾，地挽良典¹⁾，古賀靖啓¹⁾，
帆保誠二¹⁾，津曲圭太²⁾，濱野剛久³⁾

1) 鹿児島大学，2) 曾於農共組，3) かごしま水族館

はじめに

牛の呼吸器疾患は死亡原因のひとつに挙げられ、経済的損失が大きな疾病である。様々な対策がなされているが、発生数を抑えることができていない。近年、鼻腔粘膜ワクチンであるTSV-2が、ワクチンに含まれるウイルス抗原である牛ヘルペスウイルス1型（BoHV1）・牛パラインフルエンザウイルス（PI-3）以外が原因の呼吸器疾患にも効果があると言われており、現場での使用が増えている。これまで、我々はその現象に着目し、その科学的根拠を明らかにするために様々な試験を行ってきた。その結果、牛の呼吸器粘膜免疫の主役は肺胞マクロファージ（AM）であること、TSV-2に含まれているウイルスが気管支肺胞領域に到達していること、AMはウイルスが普遍的に所持している病原体関連分子パターン（PAMPs）のひとつであるカプシドを認識するパターン認識受容体（PRRs）のひとつであるToll-like receptor（TLR）2を発現していることが明らかとなった。以上の背景からAMのTLR2をウイルスのカプシドが直接刺激することによりTSV-2が病原体非特異的な自然免疫を活性化していることが考えられる。しかし、TSV-2がどのようにAMに影響を及ぼしているのか、その詳細な免疫学的変化は明らかになっていない。本研究では、臨床現場でのTSV-2接種を、ex vivoで再現し、TSV-2がAMに及ぼす影響を明らかにすることを目的とした。

材料と方法

条件（月齢および採材農場）を揃えた健常黒毛和種牛から気管支肺胞洗浄により採材したAMを培養し、

LPS、PolyIC、TSV-2（3段階の濃度）、IFN γ の6種類で24時間刺激した。LPSはグラム陰性菌外膜成分、PolyICはウイルスdsRNAであり、in vivoにおける細菌感染をおよびウイルス感染をex vivoで一部再現している。IFN γ はサイトカインの一種であり、すでに今までの我々の実験でAMを活性化すると分かっており、リアルタイムPCRが正しく行われている証明をするための陽性対象として使用した。TSV2の3段階の濃度は、10倍、100倍、1000倍希釈を用意し10倍希釈でAM（個数）：BoHV（コピー数）として約100：1の濃度となるようにした。刺激後、リアルタイムPCRでAMのmRNA発現量変化を定量し、AMの反応を解析した。プライマーは炎症誘導能にかかわるTNF α 、消化能や抗細菌活性にかかわるiNOSおよび抗ウイルス能にかかわるINF β を検出するプライマーセットとした。解析は内部標準遺伝子として β アクチンを用い無刺激時と比較した $\Delta\Delta$ Ct法で行い、統計はKruskal-Wallis testを行いDunn's multiple comparisons testでコントロールと多重比較を行った。

結 果

TNF α はTSV-2、IFN γ 、iNOSはLPS、TSV-2、IFN γ 、INF β はTSV-2で刺激したAMにおいて有意な発現の上昇が認められた。また、TSV-2を3段階の濃度別で定量した結果、TNF α 、iNOSおよびINF β 、全てにおいてTSV-2濃度と比例した発現の上昇が認められた。

考 察

今回の実験で、TSV-2はTNF α 、iNOSおよびINF β の発現量を上昇させたことから、炎症誘導能、抗細菌活

性および抗ウイルス作用を活性化させることが分かった。また、TSV2を3段階の濃度別で実験を行った結果、TNF α 、iNOSおよびIFN β の発現量もTSV-2の濃度と比例して増加したことから、TSV2がAMの重要な役割を担っている因子の発現に間接的ではなく直接的に関わっていることが証明できた。以上の結果から、TSV2を牛の鼻腔粘膜に接種すると、気管支肺胞領域に

到達したTSV2の抗原がAMのPRRsを刺激することでAMを活性化させ、非特異的にウイルスや細菌などの病原体が体内に侵入した際の迅速な応答を惹起していることが考えられた。さらに本研究により、これまで不明であったウイルス感染時の牛呼吸器における病原体応答機序の一部が同時に明らかとなったと言え、これからの牛呼吸器病予防研究に大いに寄与することが期待される。

産地区—8

フローサイトメトリーによる牛呼吸器粘膜免疫解析技術の確立

石川真悟¹⁾、宮澤昌嵩¹⁾、田中千穂¹⁾、地挽良典¹⁾、古賀靖啓¹⁾、
津曲圭太²⁾、濱野剛久³⁾、帆保誠二¹⁾

1) 鹿児島大学、2) 曾於農業共済組合、3) かごしま水族館

はじめに

牛の肺炎は一度発症してしまうと治りにくく、大きな経済的損失をもたらす。様々な予防対策が行われているが、農場の大規模化や、ワクチンがなく感受性抗菌薬の少ない*Mycoplasma bovis* (Mb)の蔓延によりその発症・死滅割合は増加し続けている。牛の肺炎の本態は呼吸器粘膜面における病原微生物の感染であり、原因予防・治療のためには個体の免疫が重要である。しかし、牛呼吸器粘膜免疫による排除機構については不明な点が多く、肺炎コントロールの大きな障害となっている。一般的に免疫細胞を解析するためには塗抹標本を作製し大きさや形から判断する方法が用いられるが、実際に病原体応答の現場となっている感染局所における細胞は形態が変化したり凝集したりしているため解析が困難な場合がある。フローサイトメトリー (FACS) はシース液で作った流路に細胞を1個ずつ並べて流すことができ、それにレーザーを当てることで散乱光により大きさや細胞内構造を、蛍光フィルターで解析することにより蛍光強度を「1個1個の細胞について」解析することができる実験技術である。本研究では、牛呼吸器粘膜免疫機構解明のために、FACSを用いて気管支肺胞洗浄液 (BALF) 中の免疫細胞を解析する技術を確立するとともに、様々な病態における呼吸器の免疫動態を解析することを目的とした。

材料および方法

材料には様々な呼吸器症状の黒毛和種牛から採取したBALF (n=134) を用いた。すべてのBALFについて細菌同定を行い、ウイルス感染が疑われる個体についてはPCRによりウイルス遺伝子の検出を行った結果、非感染38頭、*Pasteurella multocida* (Pm) とMbの混合感染27頭、Pm単独感染22頭、Pm以外の細菌とMbの混合感染4頭、牛RSウイルス (BRV) とMbの混合感染4頭、Mbの単独感染28頭およびBRV単独感染11頭であった。BALFからサイトスピン標本の作製お

よび細胞分離を行い、分離した細胞はFACSにより解析した。サイトスピン標本は顕微鏡下で細胞形態を観察した。FACSは、マクロファージの自家蛍光の強さを応用し、核染色を行った後に前方散乱光およびFL3フィルターで展開した細胞をゲーティングし、1. 生細胞、2. 死細胞、3. マクロファージ、4. リンパ球または顆粒球に分離し、それらをFL1およびFL2で検出される蛍光色素を標識した特異抗体で染色することにより細胞の割合を算出した。統計はOne-way ANOVAを行った後、Tukey's multiple comparisons testで多重比較を行った。

結 果

サイトスピン標本では細胞の凝集や自壊により正確な細胞分画を検出することが困難なサンプルが存在した。FACSを用いた解析では、散乱光により大きさや細胞内構造を用いた各細胞のゲーティングは困難であった。マクロファージや死細胞はリンパ球や好中球と比較してFL1~FL3の蛍光強度が未染色の状態でも強い位置に分布していた。核染色で死細胞を染色することによりFL3の蛍光強度が強い順から死細胞、マクロファージ、好中球またはリンパ球の領域に分離され、それぞれの細胞についてゲーティングすることが可能であった。また、この時マクロファージとほぼ同じ蛍光強度であるが、死細胞ほどは強くない好中球 (以下好中球2とする) が存在する検体があったが、細胞の大きさで展開することでマクロファージと好中球2を分離することができた。病原体との関係としては肺胞マクロファージの割合が非感染群で他群と比較して有意に高く、好中球の割合が非感染群で他群と比較して有意に低かった。リンパ球の割合はBRV単独感染群において他群と比較して有意に高かった。

考 察

本研究により、牛の呼吸器粘膜免疫をFACSにより解析する手段を確立した。解析結果から、牛呼吸器粘膜で

は非感染時には肺胞マクロファージが主体をなし、感染が進行するにしたがって好中球やリンパ球が浸潤し、特にBRV感染時にリンパ球の浸潤割合が多くなることが明らかとなった。このことから、牛呼吸器病の予防のためには肺胞マクロファージを中心とした自然免疫応答

が重要であることが考えられた。また、本試験より生体内で働いている好中球には異なる分画が存在することが考えられ、好中球の新規機能発見に繋がることが期待された。

産地区—11

ディアギュラウイルスの関与を疑う牛異常産の発生ならびに県内分離株の分子疫学的考察

酒井芳子, 鈴木史子

長崎県中央家畜保健衛生所

はじめに

ディアギュラウイルス (DAGV) は、レオウイルス科オルピウイルス属のウイルスで、チュウザンウイルス (CHUV) と同じパリアムウイルス群に分類される。過去には2001～2002年にかけて本県を含む九州地方で本ウイルスの流行および関与を疑う異常産が複数確認されている。今回、本県においてDAGVの関与を疑う牛異常産が複数発生し、アルボウイルス動態調査のおとり牛からDAGVが分離されたのでその概要を報告する。

材料および方法

- 1 病性鑑定：2019年2～4月に発生した3戸4例の異常産（症例1：死産，症例2～4：神経症状子牛）について、解剖，病理組織学的，細菌学およびウイルス学的検査を実施した。
- 2 アルボウイルス動態調査：県内6地域の未越夏牛75頭から2018年6，8，9および11月に採取された血清を用いて牛異常産関連ウイルスの中和試験を実施した。また，血漿および洗浄血球を用いてウイルス分離および牛異常産関連ウイルスのRT-PCRを実施した。さらに，3地域の分離株計3株について中和抗原VP2をコードするゲノム分節2の塩基配列決定および分子系統樹解析を実施した。

検査成績

- 1 病性鑑定成績：解剖所見では大脳欠損 (4/4)，脳脊髄液増量 (3/4)，眼球混濁 (2/4) が認められた。組織所見では各症例の脳において石灰沈着，囲管性細胞浸潤，グリア細胞の集簇，小脳プルキンエ細胞の変性

脱落等が認められた。ウイルス学的検査では，症例1で母子体液中にDAGVおよびCHUV抗体が検出され，症例2～4で農場内におけるDAGVの浸潤が確認された。以上の成績および感染推定時期と県内におけるDAGV流行時期が一致することを踏まえ，4症例はDAGVの関与を疑う牛異常産と診断された。

- 2 アルボウイルス動態調査：9～11月にかけて県下の広範囲でDAGVおよびCHUVに対する抗体陽転（いずれも31.9%）が認められた。また，9および11月採材の血球19検体からDAGV特異遺伝子が検出され，うち13検体からDAGVが分離された。中和抗原VP2をコードするゲノム分節2の分子系統樹解析の結果，分離株の塩基配列は2018年鹿児島分離株と最も近縁（相同性99.84%）であり，2001年鹿児島分離株との相同性は塩基配列で97.17%，アミノ酸配列で99.52%であった（動物衛生研究部門九州研究拠点へ依頼）。

まとめおよび考察

今回，大脳欠損を伴う死産症例において本ウイルスの関与が確認されたことから，既報の神経症状等を伴う出生子牛のほかに死産の病態も起こりうる事が明らかとなった。また，おとり牛2頭の血球からは42日間にわたりウイルスが分離され，抗体存在下でも長期間ウイルスを保持し続けることが確認された。分子系統樹解析の結果，分離株は2018年鹿児島分離株と同じ由来である可能性が示唆され，2001年鹿児島分離株と類似の抗原性を持つと考えられた。今後も本ウイルスの動態を注視し異常産への関連究明に努めたい。

細菌性乳房炎由来乳汁からの *Mycoplasma bovis* DNA 抽出法の検討

古賀靖啓¹⁾, 地挽良典¹⁾, 宮澤昌嵩¹⁾, 田中千穂¹⁾, 津曲圭太²⁾,
濱野剛久³⁾, 石川真悟¹⁾, 帆保誠二¹⁾

1) 鹿児島大学共同獣医学部, 2) 曾於農業共済組合, 3) かごしま水族館

はじめに

牛の細菌性乳房炎は、ブドウ球菌、大腸菌、レンサ球菌、*Mycoplasma bovis*をはじめとした病原微生物が原因となって発症するとされている。これら乳房炎の原因菌のうち、ブドウ球菌や大腸菌をはじめとした細菌は、一般的な培養法や遺伝子検査法で同定することが可能である。しかし、*M. bovis*の培養による検出には、数日を要する特殊検査が必要であるため治療方針の決定が遅延したり、検査自体が実施されていなかったりする。いっぽう、*M. bovis*の遺伝子検査では、鼻咽頭スワブ検体を用いたLAMP法(loop-mediated isothermal amplification assay; Higa et. al., *J. Vet. Med. Sci.*, 2016)による遺伝子検査法が開発されたことから、現在では乳汁中の*M. bovis*遺伝子検査にも応用されている。しかし、乳汁中には多くの夾雑物が存在するためDNAの抽出に苦慮することも少なくない。伊藤らは、PURE DNA抽出キット(PURE法; 栄研化学)による乳汁からのDNA抽出法が、他のDNA抽出法よりも優れていることを報告している(LAMP研究会, 2019)。しかし、PURE法は比較的高額な費用がかかるため多検体の検査には適さないことも多い。

いっぽう、FTA Elute Micro Card (FTA card; GE)は、様々な生物由来の核酸の採取、輸送、保存、精製を室温で行えるように設計されており、さらに病原微生物を不活化することから汎用性が高く、様々な分野で応用されている。

本研究ではFTA cardを用いた乳汁中の*M. bovis*のDNA抽出法を、PURE法をはじめとした各種DNA抽出法と比較検討した。

材料と方法

細菌性乳房炎に罹患したホルスタイン種の乳汁132検体を供試した(培養検査および遺伝子検査(PURE法でDNA抽出後、LAMP法で検査)で、*M. bovis*陽性101検体、*M. bovis*陰性31検体であった)。

供試検体をA. 熱抽出法(95°Cで10分間加熱後、遠心し、上清を検体とした)、B. Mighty法(MightyPrep reagent for DNA, TAKARA)、C. Proteinase K法(NucleoSpin Tissue, TAKARA)および以下の3手法

のFTA card法によりDNAを抽出後、LAMP法による*M. bovis*遺伝子検査を行った。FTA card法では、FTA cardを5mm角にカットし、D. 乳汁検体15 μ lをアプライ(FTA-15 μ l法)、E. 乳汁検体50 μ lをアプライ(FTA-50 μ l法)、F. 遠心分離処理(15,000rpm, 5分間)した乳汁検体の水層15 μ lをアプライ(FTA-水層15 μ l法)の3手法について検討した。

LAMP法による*M. bovis*遺伝子検査結果から、各DNA抽出法の感度(陽性を正しく陽性と判断する確率)、特異度(陰性を正しく陰性と判断する確率)および偽陰性度(1-感度)を算出した。なお、本研究ではPURE法でDNA抽出後、LAMP法での*M. bovis*遺伝子検査結果の感度および特異度を基準として、各種DNA抽出法の感度、特異度および偽陰性度を比較した。

結 果

各種DNA抽出法の感度は、PURE法=F. FTA-水層15 μ l法=E. FTA-50 μ l法(100%)、D. FTA-15 μ l法(95.0%)、C. Proteinase K法(93.5%)、B. Mighty法(41.9%)、A. 熱抽出法(12.9%)の順に高かった。なお、特異度はいずれのDNA抽出法ともに100%であった。また偽陰性度は、FTA-50 μ l法およびFTA-水層法では0%、FTA-水層15 μ l法では5.0%、Proteinase K法では6.5%、Mighty法では58.1%、熱抽出法では87.1%であった。

考 察

乳房炎由来乳汁中には多量の夾雑物が含まれていることから、LAMP法による*M. bovis*遺伝子検査は阻害されやすい。特に、簡便で安価な熱抽出法では偽陰性度が高かった(87.1%)。また、従来から応用されている熱抽出法以外の方法も、誤った結果となる可能性が高いことから、*M. bovis*のDNA抽出法としては不適であると思われた。いっぽう、PURE法と同等に*M. bovis*遺伝子を含むDNAを抽出する方法はFTA-50 μ l法およびFTA-水層15 μ l法であったが、乳汁を直接FTA cardにアプライするFTA-50 μ l法は、乳汁の性状によっては被膜を形成しFTAカードへ拡散しにくいことがあった。このことから、FTA-水層法が最も確実に*M. bovis*のDNAを安価に抽出できるものと思われた。

【参考】令和元年度 日本産業動物獣医学会（九州地区）発表演題一覧

【第Ⅰ会場】

- 1 牛毛包虫の発育環と臨床症状
立川文雄（ゆふいん動物病院・大分県）
- 2 先天性リンパ水腫と診断した黒毛和種牛の1例
土本彩花（宮崎大・獣医外科），他
- 3 乳房炎ワクチン接種後に甚急性乳房炎を発症した牛へのセフェム系とニューキノロン系抗生物質における治療効果の比較検討
検崎真司（鹿児島県かごしま中部農共組），他
- 4 導入時に鼻腔内ワクチン接種効果がみられた農場の感染動向調査事例
久保木基高（福岡県農共組家畜診），他
- 5 鼻腔粘膜ワクチン（TSV[®]-2）が牛の肺胞マクロファージに与える影響
田中千穂（鹿大・共同獣医），他
- 6 牛由来肺胞マクロファージにおける Toll-like Receptors 発現とその変動
宮澤昌嵩（鹿大・共同獣医），他
- 7 フローサイトメトリーによる牛呼吸器粘膜免疫解析技術の確立
石川真悟（鹿大・共同獣医），他
- 8 エンロフロキサシンは健全子豚の気管支肺泡領域へ高濃度に移行する
井尻 萌（鹿大・共同獣医），他
- 9 肺炎に罹患した黒毛和種牛の血液検査による予後判断
津曲圭太（曾於農共組），他
- 10 黒毛和種子牛における第四胃左方変位の1例
岡部浩一（長崎県北部農共組家畜診），他
- 11 妊娠末期における母牛の栄養状態が子牛の免疫機能に与える影響
柳田天靖（宮崎大学・獣医解剖），他
- 12 黒毛和種牛の潜在精巢摘出術が子牛市場出荷体重と肥育枝肉成績に及ぼす影響
佐藤知広（NOSAI宮崎），他
- 13 股関節脱臼に対し大腿骨頭切除術を行った黒毛和種子牛の1例
八木亨樹（宮崎大・獣医外科），他
- 14 内固定および外固定を併用して治療した踵骨骨折の黒毛和種子牛の1例
井上賀之（宮崎大・獣医外科），他
- 15 子宮体皺襞回転法により子宮捻転整復が成功した2例
中村 修（中村動物病院・鹿児島県）
- 16 泌乳期の給与飼料変更による乳牛の血清中遊離アミノ酸濃度の変化
上岡佑輔（鹿児島大学・獣医繁殖），他
- 17 代謝プロファイルテストと牛群検定成績を活用した酪農場指導の1成功例：潜在性の肝機能障害と乳質低下の同時摘発と改善
大川洋明（ふくおか県酪協），他
- 18 低セレン農場における白筋症対策の検証と対策前後の繁殖成績
山崎野枝（㈱やまさき動物病院・宮崎県），他
- 19 黒毛和種哺乳子牛におけるビタミンCの投与効果
大石祥子（鹿大・附属動物病院），他
- 20 体内成熟卵を用いた体外受精胚における受精能と発生動態の関係
井戸明子（佐賀県畜試），他

- 21 黒毛和種牛の妊娠末期における頸管粘液の炎症性変化
中嶋 董（宮崎大・産業動物繁殖），他
- 22 乾乳期乳牛に対するウルソデオキシコール酸の低用量長期間投与の効果
安藤貴朗（鹿児島大学・獣医繁殖），他
- 23 引退馬の臨床所見と血液検査上の特徴
地挽良典（鹿大・共同獣医），他

【第Ⅱ会場】

- 1 キャトルステーションで発生した牛ウイルス性下痢・粘膜病
植田大二郎（佐賀県北部家保），他
- 2 牛白血病における発症抵抗性牛の調査
仲村 望（沖縄県八重山家保），他
- 3 頭蓋内に限局してみられた若齢牛の前駆B1細胞性リンパ腫
丸田哲也（宮崎県都城家保），他
- 4 ディアギュラウイルスの関与を疑う牛異常産の発生ならびに県内分離株の分子疫学的考察
酒井芳子（長崎県中央家保），他
- 5 ディアギュラウイルスの関与を疑う異常産の発生とその浸潤
岡本 理（佐賀県中部家保），他
- 6 肉用子牛における日本脳炎発生事例
福岡 恒（熊本県中央家保），他
- 7 敗血症を呈した牛から分離された大腸菌の病原因子検索
森 美聡（熊本県中央家保），他
- 8 子牛の腸管外病原性大腸菌感染症を疑う4症例とその病原関連因子
浦川 了（長崎県中央家保），他
- 9 *Mycoplasma bovis* のマクロライド及びフルオロキノロン耐性獲得機構
磯村美乃里（大分県大分家保）
- 10 細菌性乳房炎由来乳汁からの *Mycoplasma bovis* DNA抽出法の検討
古賀靖啓（鹿大・共同獣医），他
- 11 茶殻入り焼酎粕を給与された黒毛和種繁殖雌牛においてカフェイン中毒を疑った事例
三島隆生（中村デーリークリニック・長崎県），他
- 12 宮崎県内で発生した *Histophilus somni* による子牛の胸膜炎2症例
吉田恵理苗（宮崎県宮崎家保），他
- 13 牛からの *Streptococcus ruminantium* 分離事例
濱田恭平（福岡県中央家保），他
- 14 レプトスピラの関与を疑う豚異常産事例
笥 麻友（沖縄県北部家保），他
- 15 臨床的正常豚における白血球数およびその分画の特性
北崎宏平（福岡県北部家保），他
- 16 処理精巢を利用したPRRSウイルスの農場モニタリング法に関する検討
人見 徹（大分県大分家保），他
- 17 ブロイラー種鶏におけるヒストモナス症の発生
佐藤 航（宮崎大・産業動物衛生学研究室），他
- 18 高感度遺伝子検出のためのウイルス濃縮法の開発と環境サンプルへの応用
牧野涼平（宮崎大・獣医公衆衛生），他

Bモード画像と超音波造影による犬及び猫の乳腺腫瘍の 良・悪性判定に関する研究

古川彰宏, 古川恵子, 佐々木 淳, 倉重祐介

古川動物病院

はじめに

乳腺腫瘍は1次診療獣医師にとって最も多く遭遇する腫瘍疾患の一つである。人医療では乳腺腫瘍に対し超音波検査・マンモグラフィ・MRIなどの画像診断により術前の良・悪性判定が一般的になっている。しかし、我々獣医療では一般的には、術前のFNAによる細胞診断行われていても、画像診断による術前の悪性度診断は行われていない。術前に腫瘍の良・悪性が判定できれば手術の適否やその時期、手術法の決定、予後の予測ができオーナーや我々獣医師にとって非常に重要な情報になる。

目 的

犬および猫の乳腺腫瘍に対し超音波検査を行い、Bモードおよび超音波造影の各所見が、腫瘍の悪性度に及ぼす影響について調査すること。

材料および方法

研究デザインはケースコントロール研究。術前に超音波検査を施行した犬および猫の173個の腫瘍の画像をを回顧的に検索した。Bモード画像により最大径、縦横比、形状(円形、楕円形、分葉形、複数癒合型)内部構造の均質性(均一、不均一)、境界の明瞭性(明瞭、不明瞭)境界部高エコー(あり、なし)、そして超音波像映像(均一像、欠損像)の計7項目について悪性度との関連性を調査するため統計学的な解析を行った。各項目に対し χ^2 乗検定を行い各項目と悪性度との関連を調査した。また、相互に関連する影響を排除するため多変量解析であるロジスティック回帰分析を行い、調整されたオッズ比を計算して項目ごとの悪性度との関連性の大きさを比較した。

結 果

最大径は良性・悪性の平均は2.06cm・3.02cmで両者の間に有意差($P<0.01$)が認められた。また、ROC曲線を引きカットオフ値を2.4cmに設定したときの感度、特異度、オッズ比はそれぞれ63%、75%、5.18であり、悪性腫瘍は良性腫瘍より最大径が大きいことが示唆された。同様に縦横比において良性・悪性の平均は0.52・0.59で僅差であるが両者の間には有意差($P<0.05$)が認められた。ROC曲線を引きカットオフ値を0.67に設定したときの感度、特異度、オッズ比はそれぞれ38%、

85%、3.73であった。形状においては円形/楕円形グループと分葉系/不整形/複数癒合型グループに分けて χ^2 乗検定を行った結果、分葉系/不整形/複数癒合型は悪性腫瘍との関連性が示唆された(感度65%、特異度83%、オッズ比6.2, $P<0.01$)。また同様に内部構造の均一性では、不均一性に悪性度との関連が示唆された(感度65%、特異度77%、オッズ比6.2, $P<0.01$)。腫瘍境界では不明瞭性に同様の関連があると判定された(感度57%、特異度86%、オッズ比7.9, $P<0.01$)。境界線高エコー(感度45%、特異度95%、陽性的中率84%、オッズ比17.6, $P<0.01$)。また、超音波造影を施行しその造影像が均一像か充盈欠損像かにより検定した結果、充盈欠損像と悪性腫瘍との関連が示唆された(感度94%、特異度74%、陰性的中率96%、オッズ比52, $P<0.01$)。

以上のように各項目ごとに検定を行った結果、すべての項目において悪性度との関連が認められた。しかし、各項目を重複して評価している可能性があるため、相互に関連する影響を排除するため多変量解析であるロジスティック回帰分析を行い、調整されたオッズ比を計算した。その結果、形状、境界明瞭性、境界部高エコー、超音波造影に有意な差が認められ、そのオッズ比から乳腺腫瘍の悪性度に及ぼす影響は超音波造影、形状、境界の明瞭性、境界部高エコーの順に大きいことが判明した。また、超音波造影を施行しない時のために超音波造影を除くBモード画像のみ6項目についてロジスティック回帰分析を行った。その結果、境界部高エコー、形状、境界の明瞭性のほかに、超音波造影を含めた時には認められなかった内部構造に有意な差が認められた。

考 察

本研究により、乳腺腫瘍に対するBモード画像と超音波造影検査は、良・悪性判定に有用であることが示された。特に境界部高エコーは特異度が非常に高く、陽性であれば悪性である確率が高い。また、超音波造影は感度が非常に高く、均一像が検出されれば良性である確率が高い。相互の関連排除のため多変量解析であるロジスティック回帰分析を行った結果、形状、境界の明瞭性、境界部高エコー、超音波造影は乳腺腫瘍の悪性度に対し影響を及ぼすことが判明した。また、超音波造影を施行しない時のために超音波造影を除いて多変量解析を行うと超音波造影の代わりに内部構造に有意な差が認められた。これは超音波造影と内部構造には相関があると推察

できる。超音波造影を施行しない場合は内部構造で代用できる可能性がある。

しかし、今回の研究は組織診断名が判明した上での回

顧的研究であり、画像の判断基準も曖昧な事より、画像の診断基準を厳密化した上での前向き研究による追試が必要と思われた。

小地区—12

犬における大静脈孔ヘルニアの5例

高橋雅弘¹⁾、藁戸由樹¹⁾、木下奈緒子¹⁾、久保田武¹⁾、村岡宏一¹⁾、
鍛冶伸光²⁾、加田裕二³⁾、平野博義⁴⁾、末松正弘⁵⁾

1) 高橋ベトクリニック、2) かじ動物クリニック、3) かだ動物クリニック、
4) メイプル動物病院、5) AMC末松どうぶつ病院

はじめに

横隔膜は大動脈裂孔、大静脈孔および食道裂孔を有する。食道裂孔ヘルニアは有名な疾患であるが、大動脈裂孔および大静脈孔におけるヘルニアは一般的な成書に記載されていない。しかし2008年に初めて犬の大静脈孔ヘルニアの症例が報告された。それ以降、7例をまとめた報告がみられ、診断にはCT検査が有用であったと記されているが、病態の詳細あるいは治療の必要性については、いまだ明確にされていない。今回われわれは、CT検査によって、大静脈孔ヘルニアと診断した5例に遭遇し、外科的治療が必要となった症例が存在したので、その概要について報告する。

症 例

2014年5月から2019年8月までに当院においてCT検査を実施し、大静脈孔を介して肝臓の一部が胸腔内に陥入していたため、大静脈孔ヘルニアと診断した5例である。犬種はトイプードル2例(2歳齢と11歳齢)、雑種犬1例(13歳齢)、ノーフォークテリア1例(6歳齢)、ヨークシャテリア1例(9歳齢)であった。5例全てがX線検査にて胸部尾側の腫瘤病変を認めたため、肺腫瘍を疑ってCT検査を実施した。また検査時に重篤な臨床症状を呈していた症例はいなかった。5例中4例は診断後、治療は実施せず経過観察を行ったが、本病態に関連した症状はでておらず、うち2例は数ヶ月後の再検査において、陥入した肝臓の大きさが変わっていないことを確認した。しかし陥入した肝臓の大きさが1番大きかった1例は、胸腔に陥入した肝臓に腫瘍が発生し徐々に大きくなり、重度の呼吸困難を示したため、診断後2年3ヶ月の時に、胸腔に陥入した肝臓を切除することを

試みた。術式はまず腹部正中切開を行い、横隔膜を確認したところ横隔膜の欠損は認められなかったが、大きな大静脈孔を確認した。続いて、胸骨縦切開を加えて、胸腔内に陥入した肝臓を確認した。胸腔内に陥入した肝臓は大静脈孔において可動性はなく、その形態は、後天性のものでなく先天性のものであると判断した。それから横隔膜を剣状突起から大静脈孔まで垂直に切開し、胸腔内に陥入した肝臓を持ち上げて後大静脈に付着した部分を鈍性剥離を行い、腹腔内に戻した。最終的に肝門部付近で超音波凝固切開および超音波吸引を用いて肝葉切除を実施した。切除した肝臓は病理組織検査において肝細胞癌と診断された。現在、術後335日になるが、臨床症状は認められず、肝細胞癌の再発もみられず、経過は良好である。

考 察

今回われわれが診断した一般的に認識されていない大静脈孔ヘルニアはX線検査において、全ての症例が胸部尾側の腫瘤陰影(肺腫瘍を疑う)が確認された。しかし、これに関連した臨床症状を示しておらず、ほぼ無症状であった。大静脈孔からの陥入した臓器はすべて肝臓であり、陥入した肝臓の大きさは様々であった。CT検査は、肺腫瘍との鑑別および大静脈孔からの肝臓の陥入を確認できたため、大静脈孔ヘルニアの確定診断に有用であった。外科的治療の必要性は、肝臓の胸腔内に陥入した大きさに依存すると思われるが、ほとんどの症例で治療は必要なかった。しかし、加齢と共に肝実質の変化(腫瘍化および嚢胞形成など)により肝臓が大きくなることによって、胸腔内の占拠率が高くなり、重篤な呼吸困難が出現し、外科的な治療が必要になった症例も存在したため、経過観察は継続すべきであると思われた。

犬の喉頭麻痺および喉頭虚脱合併症例 (Laryngeal Paralysis and Laryngeal Collapse : LPLC) に対して披裂軟骨側方化術 (Tie-Back) を実施した治療成績

末松正弘¹⁾, 平尾大樹¹⁾, 藤木 誠²⁾, 末松弘彰¹⁾

1) AMC 末松どうぶつ病院, 2) 鹿児島大学共同獣医学研究科外科学分野

はじめに

喉頭麻痺 (LP) は中, 大型犬で一般的に認められる上部気道閉塞疾患であり, 反回神経が麻痺することで披裂軟骨が外転不能となり症状が発現する. 小型犬や慢性経過を示す LP では時に喉頭虚脱 (LC) を合併することで喉頭口の狭小化により症状の重篤化を招く. Nelissen らは唯一, LPLC に対して治療成績を報告している. 誤嚥性肺炎など合併症は認められず良好な成績を得ることができているが, 6 例中 2 例 (33%) で反対側の Tie-Back が必要になったと報告しており, 術後の臨床症状再発が懸念される疾患である. 今回, 犬の LPLC 11 例に対して Tie-Back を実施したため, その概要を報告する.

症 例

症例はチワワ 5 例, ミニチュアダックス 1 例, トイプードル 1 例, 柴犬 1 例, ゴールデン 1 例, 雑種 2 例. 性別はオス 5 例, 去勢オス 1 例, メス 3 例, 避妊メス 2 例. 年齢中央値は 8 歳, 体重中央値は 3.4kg であった. 全例で吸気時ストライダーを聴取し, 興奮時や運動時の吸気努力もしくは吸気困難が認められた. 術前に一過性の食道拡張は 3 例, 誤嚥性肺炎は 2 例で認められていた. マロピタント, プレドニゾロン, 抗生物質投与後, プロポフォル単独で導入し, 目視および喉頭内視鏡検査にて LPLC 確認後に挿管, イソフルランで維持した. 手術は全例で Tie-Back を実施した. Tie-Back は左側アプローチとし, 甲状咽頭筋肉を可能な限り温存し, 甲状軟骨と輪状軟骨を接続する靭帯は温存して実施した. 側方化は披裂軟骨および輪状軟骨を 2 糸単純結紮にて固定した.

固定後に一度抜管し喉頭口を確認し, 側方化が適切であるかを判断し, 覚醒を行った. 手術は演者が行い, 当院含めて計 6 病院で実施した.

結 果

術後, 全例で臨床症状は消失し, 一般状態は改善した. 全例で退院可能であった. トイプードルで術後 1 日, 柴犬で術後 4 日の 2 例 (18%) で誤嚥性肺炎が認められた. 2 例は酸素室内で治療を実施し数日以内に改善した. Nelissen らが報告している反対側の Tie-Back が必要になった症例はいなかった. 術後 1 週間, 1 カ月, 3 カ月のフォローアップでは生存率 100% であった. 退院後に誤嚥性肺炎は認められていない.

ま と め

LP は犬における代表的な閉塞性上部気道疾患であるが, 時に LC を合併する症例に遭遇する. Nelissen らは体重中央値 4.8kg, 年齢中央値 9 歳, 我々の報告では体重中央値 3.4kg, 年齢中央値 8 歳と近い値を示している通り, 特に小型犬で LPLC が多く認められている. これら小型犬では喉頭軟骨の脆弱化や軟骨自体が小さいために手術の難易度は高くなるが, Nelissen らの報告と同様に我々も LPLC 全例において良好な成績を得ることができたことから, LC を合併している症例においても側方化に耐えられるだけの強度を喉頭の軟骨構造は有していると考えられた. よって, LC の合併は LP の治療成績に影響を与えないことが示唆された. しかし, 2 例で誤嚥性肺炎が認められたことから術式の改良が必要であると考えている. 今後も LPLC に対して同様の術式を実施し, 検討していきたい.

赤血球内にカボット環を認めた急性白血病の猫の 1 例

遠藤水月, 高橋 雅, 西田英理子, 畑井 仁, 遠藤泰之

鹿児島大学共同獣医学部

はじめに

カボット環 (Cabot ring) とは, 赤血球内に観察され

る輪状もしくは 8 の字状で好塩基性に染まる物質であり, 紡錘体の遺残物であると言われている. その臨床的意義はいまだに不明であるが, 赤芽球系の異形成所見で

あると考えられており医学領域では巨赤芽球性貧血、鉛中毒で主に観察され、骨髄線維症、慢性骨髄性白血病などでも認められる。獣医学領域ではリヤマが正常で保有している報告、犬において固形腫瘍の骨髄転移に伴う異形成所見として認められた報告が1例あるのみである。今回、急性骨髄性白血病と診断した猫の末梢血の赤血球においてカボット環を認めたためその概要を報告する。

症 例

スコティッシュフォールド、6歳齢、避妊メス、活動性の低下を主訴に開業動物病院を受診した。重度の貧血(HCT15.6%)を指摘され、精査のために鹿児島大学附属動物病院に来院した。初診時血液検査では、再生像を有する重度の貧血(HCT 17.5%, ヘモグロビン5.9g/dl, 網状赤血球数226,000/ μ l), 血小板減少症(137,000/ μ l)を呈していた。赤血球には自己凝集は認められず、血液塗抹では有核赤血球(正染赤芽球)、楕円赤血球、多染性赤血球、好塩基性斑点やハウエルジョリー小体が散見され一部の赤血球内にカボット環が観察された。X線検査と超音波検査では軽度の胸水貯留と顕著な脾臓の腫大を認めた。FIV抗体検査およびFeLV抗原検査はいずれも陰性であった。当初は(二次性)免疫介在性溶血性貧血を疑い、クームス試験を外注、ブレドニゾロンによる治療を開始した。後日出的クームス試験の結果は陰性であり、カボット環の存在からも造血の異常を疑いはじめたが貧血の進行など状態が悪化していったため、飼い主の意向もあり骨髄検査は行わず、治療は輸血等の対症療法のみ実施した。第21病日の再診時には末梢血中

のカボット環はほとんど認められなくなり、網状赤血球も減少していた。その後末梢血において大型で核クロマチン凝集の進んでいない幼若な赤芽球系細胞と考えられる細胞が次第に増加していき、第42病日には、末梢血の白血球数は184,000/ μ lまで増加しており、そのうち38%は幼若な赤芽球系細胞が占めていた。さらに、血液生化学検査ではBUN>140mg/dl, CRE 3.3 mg/dl, T-Bil 10.9 mg/dlまで上昇しており、全身状態も悪化していた。翌日の第43病日に自宅にて斃死し、同日病理解剖を実施した。病理解剖時の所見では、骨髄だけでなく、脾臓、肝臓、肺、心臓、腎臓、脳など全身の臓器に骨髄由来と考えられる腫瘍細胞(芽球)が浸潤していた。それらの細胞は円形から類円形の核を有し、核小体明瞭でクロマチンも粗造であり、両染色性の細胞質を有していた。それらの所見より急性骨髄性白血病(AML)と診断し、死後変化が強く白血病の細分類は困難であったが末梢血塗抹に増殖していた芽球からFAB分類より赤血病(AML M6-er)であったのではないかと考えている。

ま と め

本症例はネコの末梢血においてカボット環を観察した初めての報告であり、カボット環は末梢血にて異常な芽球が増殖する前の段階で観察された。ネコにおいてカボット環が観察された場合、ヒトと同様に赤芽球系の異形成所見の可能性があると考え、骨髄増殖性疾患を鑑別に入れる必要がある可能性が示唆された。今後その臨床的意義をさらに明らかにするためにはより多くの症例数を蓄積する必要がある。

〔参考〕令和元年度 日本小動物獣医学会(九州地区)発表演題一覧

【第I会場】

- | | |
|---|---|
| <p>1 左前大静脈遺残を併発した動脈管開存症の犬の一例
田村欣也(たむら動物病院・佐賀県)</p> <p>2 脾臓腫瘍摘出の犬39例における心室性不整脈との関連性についての検討
平尾大樹(AMC末松どうぶつ病院・大分県), 他</p> <p>3 僧帽弁弁膜症により左心不全をきたした猫の1例
平川 篤(ペットクリニックハレルヤ・福岡県), 他</p> <p>4 カテコラミン心筋症により急死した褐色細胞腫の犬の1例
平川 篤(ペットクリニックハレルヤ・福岡県), 他</p> <p>5 犬における大静脈孔ヘルニアの5例
高橋雅弘(高橋ペットクリニック・福岡県), 他</p> <p>6 外傷性横隔膜ヘルニアに乳び胸が併発した幼若猫の1例
村岡宏一(高橋ペットクリニック・福岡県), 他</p> <p>7 肺高血圧症を呈した犬9例における肺の病理組織
上村利也(かみむら動物病院・鹿児島県), 他</p> <p>8 僧帽弁閉鎖不全症の犬におけるプロポフォール単独全身麻酔導入時の血圧変動評価
藁戸由樹(高橋ペットクリニック・福岡県), 他</p> | <p>9 人工呼吸管理が必要であった陰圧性肺水腫の犬の1例
藁戸由樹(高橋ペットクリニック・福岡県), 他</p> <p>10 急性呼吸促拍症候群(ARDS)の犬に対して人工呼吸管理を行い、肺野の改善を認めた一例
ハムチョロン(福岡県福岡夜間救急動物病院・福岡県), 他</p> <p>11 犬の喉頭麻痺および喉頭虚脱合併症例(Laryngeal Paralysis and Laryngeal Collapse: LPLC)に対して披裂軟骨側方化術(Tie-Back)を実施した治療実績
末松正弘(AMC末松どうぶつ病院・大分県), 他</p> <p>12 CTガイド下にて鼻咽頭狭窄のバルーン拡張術を実施した猫の1例
横山岳生(琉球動物医療センター・沖縄県), 他</p> <p>13 菌性感染症により骨破壊を伴う炎症性腫瘍が形成された猫の2症例
高橋 香(鹿大・動物病院), 他</p> <p>14 3.0テスラMRI装置を用いた拡散強調画像の解析と参考範囲の決定
五田嘉倫(宮崎大・獣医臨床放射線学), 他</p> |
|---|---|

- 15 無麻酔CT検査の方法と診断能・適応症など有用性の検討
多々良蒼真 (鹿大・共同獣医・画像診断学教室), 他
- 16 QCT法を用いた犬の腰椎の骨密度評価
小川雅大 (鹿大・外科学分野), 他
- 17 シトシンアラビノシドの持続点滴による初期治療を行った原因不明の髄膜脳脊髄炎 (MUO) の犬における治療評価
柴田光啓 (どうぶつの総合病院), 他
神経科・埼玉県
- 18 犬の特発性脳炎とリンパ腫の鑑別における髄液リンパ球クローン性解析の有効性の検討
杉山伸樹 (海の中道動物病院・福岡県), 他
- 19 脊髄部分切除による犬の脊髄損傷モデルにおける脂肪由来幹細胞移植とその臨床的影響
藤木 誠 (鹿大・外科学分野), 他
- 20 環軸椎不安定症の固定にカスタムメイドチタンプレートを使用した1例
富永博英 (福岡中央動物病院・福岡県), 他
- 21 環椎, 軸椎の形態異常に伴う四肢不全麻痺を呈した猫1例に対する外科的治療例
井上賀之 (宮崎大・獣医外科), 他
- 22 MRIを用いた犬の胸腰部椎間板ヘルニアにおける脊髄障害の予後判定
美登加奈子 (宮崎大・獣医臨床放射線学), 他
- 23 画像診断検査にて骨融解と骨増生像を示し, 脈瘤性骨嚢胞と診断されたネコの1例
水谷真也 (宮崎大・附属動物病院), 他
- 24 飢餓状態の土佐犬に対して外科介入により良好な運動機能を獲得できた2治療例
樋口雅仁 (動物整形外科病院・大分県), 他
- 25 猫の骨盤粉碎骨折にカットプルプレートとLCPを併用して治療した2症例
磯江源太郎 (こば獣医科クリニック・熊本県), 他
- 26 ハブ咬傷による皮膚の壊死脱落欠損部へAPFによる皮膚再建術を行った猫の2症例
新里 健 (赤瓦動物病院・沖縄県)
- 27 腹腔鏡補助下にて予防的胃腹壁固定手術を実施した犬20頭の短, 中期的予後の検討
中谷圭佑 (大津動物クリニック・熊本県), 他
- 28 内視鏡および外科手術適応となった蓮根による胃内異物の犬5例
篠崎春香 (城南動物病院・福岡県), 他
- 29 長期治療中の免疫介在性網脈絡膜炎の犬の3症例
吉野信秀 (大分小動物病院・大分県), 他
- 30 虹彩毛様体嚢胞との関連を疑った緑内障の犬の1例
池田健一郎 (亀山動物医療センター・鹿児島県), 他
- 3 心膜液貯留を認めなかった心臓原発性血管肉腫の犬の一例
桑原 慶 (くろみ動物病院・福岡県)
- 4 多発性消化管ポリープを認めたジャックラッセルテリアの1例
榎田和哉 (亀山動物医療センター・鹿児島県), 他
- 5 健康診断にて発見された胆嚢カルチノイドの犬の一例
鍛冶伸光 (かじ動物クリニック・福岡県), 他
- 6 無症候性の悪性睪島腫瘍の犬の1例
猪狩和明 (ペットクリニックハレルヤ・福岡県), 他
- 7 椎孔内浸潤を示した犬のダンベル型悪性末梢神経鞘腫瘍の1例
今富美波 (宮崎大・獣医病理), 他
- 8 切除生検により生前診断した脊髄グリオーマの猫の1例
長井 新 (鳥城ペットクリニック・熊本県), 他
- 9 治療抵抗性の多発性骨髄腫の犬の1例
酒井秀夫 (諫早ペットクリニック・長崎県), 他
- 10 腰椎に発生した形質細胞腫に椎体固定とメルファランを併用し歩行可能となった犬の1例
周本剛大 (琉球動物医療センター・沖縄県), 他
- 11 猫の足根部に発生した皮膚型リンパ腫の1例
橋本砂輝 (砂輝動物病院・福岡県), 他
- 12 猫の右上腕の骨・軟部組織を主病変としたリンパ腫の1例
蔵元智英 (鹿大・動物病院), 他
- 13 赤血球内にカボット環を認めた急性白血病の猫の1例
遠藤水月 (鹿大・動物病院), 他
- 14 猫のような挙動を示した原発性内臓型肥満細胞腫の犬の1例
石川隆太 (宮崎大・獣医内科学研究室), 他
- 15 外科および化学療法の併用により長期生存している頭蓋内組織球性肉腫の犬1例
杉山慶樹 (海の中道動物病院・福岡県), 他
- 16 Bモード画像と超音波造影による犬及び猫の乳腺腫瘍の良・悪性判定に関する研究
古川彰宏 (古川動物病院・佐賀県), 他
- 17 重症熱性血小板減少症候群を発症した猫1例の病理学的検討
元山就斗 (宮崎大・獣医病理), 他
- 18 熊本県天草地域の伴侶動物における重症熱性血小板減少症候群ウイルス (SFTSV) 浸潤状況調査
奈良崎孝一郎 (奈良崎動物医療センター・熊本県), 他
- 19 色素性ウイルス性ブランクから様々な皮膚上皮性腫瘍を発症した犬の一例
古川恵子 (古川動物病院・佐賀県), 他
- 20 抗菌薬の適正使用を目指した宮崎大学動物病院の取り組みについて
中村太一 (宮崎大・動物病院研究室), 他
- 21 外科切除を実施した深在性皮膚糸状菌症の犬の1例
廣池琴美 (鳥城ペットクリニック・熊本県), 他
- 22 糞便内にみられる酵母様真菌と *Giardia* spp. との関連性
小山泰史 (ござん動物病院・熊本県), 他
- 23 嚥下障害を呈したイヌハイダニ *Pneumonyssoides caninum* 感染症の犬の1例
小嶋宗明 (阿蘇動物病院・熊本県), 他
- 24 腹膜透析におけるドレーンの選択と設置位置に苦慮

【第II会場】

- 1 胸腹水貯留を伴った卵巣のT細胞性リンパ種の犬の1例
山田友紀 (ゆうき動物病院・佐賀県)
- 2 反応性中皮細胞過形成と判断したミニチュアダックスフントの1症例
佐久間暢人 (城南さくま動物病院・熊本県), 他

- した猫の1例
今村尚睦 (福岡夜間救急動物病院・福岡県), 他
- 25 キサンチン結石症の猫の1例
生石泰久 (リード動物病院・福岡県), 他
- 26 ループス腎炎様の糸球体疾患と診断した犬の1例
矢吹 映 (鹿大・臨床獣医学講座), 他
- 27 超音波検査とCT検査で臨床診断した全身性アミロイドーシスの猫の1例
古澤 悠 (鹿大), 他

- 28 原発性上皮小体機能亢進症の犬4例におけるCT検査の検討
岩永朋子 (鹿大・附属動物病院), 他
- 29 無巨核球性血小板減少症の猫の1例
酒井秀夫 (諫早ペットクリニック・長崎県), 他
- 30 血液凝固系検査を実施した犬25例の回顧的調査
入佐重正 (入佐ペットクリニック・福岡県)

[日本獣医公衆衛生学会]

公地区—4

鶏肉由来サルモネラで拡大していたESC耐性関連プラスミドは 鶏卵生産環境由来サルモネラからも見つかるのか

重村洋明¹⁾, 前田 俊²⁾, カール由起¹⁾, 大隈英子¹⁾, 世良暢之³⁾, 村上光一⁴⁾

1) 福岡県保健環境研究所, 2) MPアグロ株式会社, 3) 帝京大学, 4) 国立感染症研究所

緒 言

市販鶏肉から分離されるサルモネラの広域スペクトラムセファロスポリン (ESC) 耐性株が占める割合は, 養鶏産業におけるセフトオフル使用自粛前年の2011年まで急増し, それら株の多くは *bla*_{CMY-2} が存在する約280kbのプラスミド (280kb プラスミド) を保有していた [1]. サルモネラの主要な媒介食品には鶏肉のほかに鶏卵があるが, 鶏卵生産環境でも280kbプラスミドを保有したサルモネラによる汚染が浸潤・拡大していたのか不明である. 本研究は, 2009年~2013年の鶏卵生産環境において280kbプラスミドを保有するESC耐性サルモネラの汚染, 浸潤・拡大があったか確認することを目的とした.

材料・方法

2009年~2013年, 国内7県の鶏卵生産環境 (農場環境ふき取り, 卵殻) 由来サルモネラ計218株を対象に, アンピシリン (ABPC), セフポドキシム等の12薬剤に対する耐性の有無をKirby-Bauer法で確認した. 続いて, ESC分解酵素の1種であるAmpC β-ラクタマーゼや基質拡張型β-ラクタマーゼの遺伝子を検索するためABPCに耐性を示した株について, *bla*_{CMY}, *bla*_{CTX-M}, *bla*_{TEM}, *bla*_{SHV} の検索と *bla* 遺伝子型別を行った. さらに, *bla*_{CMY-2} 検出された株の280kbプラスミドの保有状況を確認するため, S1 nuclease pulsed-field gel electrophoresis を実施した. また, *bla*_{CMY-2} 検出株2株を対象に, 全ゲノムシーケンスを行い, 全ゲノム配

列を決定した. その後, GenEpid-Jを利用して, 染色体及びプラスミドに存在する薬剤耐性遺伝子の探索を行うとともにプラスミドのレプリコン型別を行った.

結 果

1薬剤以上に耐性を示した菌株は47株 (21.6%) あった. ABPCに耐性を示したものは計22株で, 2009年から2012年に分離された14株から *bla*_{CMY-2} が検出された. *bla*_{CMY-2} 検出株の主要血清型はS. Ohio (n=12) で, 分離地域は限局的であった. いずれの *bla* CMY-2 検出株からも280kbプラスミドは見つからなかった. しかし, 全ゲノム配列を決定した2株のS. Ohioから, *bla*_{CMY-2} が存在する約100kbのIncA/C2プラスミドが見つかった. また, 1株については, IncA/C2プラスミドに加え, 染色体からも *bla*_{CMY-2} が見つかった.

ま と め

鶏卵生産環境では鶏肉で汚染が拡大していた280kbプラスミドを保有したサルモネラは認められなかった. しかし, 一部地域の鶏卵生産環境から *bla*_{CMY-2} が存在する100kb IncA/C2プラスミドを保有したサルモネラが見つかったことから, 一部地域の鶏卵生産環境において, それらプラスミドを保有したESC耐性サルモネラの汚染・拡大が起っていた可能性が考えられた.

【参 考 文 献】

[1] Shigemura et al., 2018, Int. J. Food microbial.

沖縄県における猫のレプトスピラ保菌状況調査

柿田徹也¹⁾, 久場由真仁¹⁾, 仁平 稔¹⁾, 長嶺 隆²⁾, 中谷裕美子²⁾,
大城菅雄²⁾, 山岸真貴²⁾, 喜屋武向子¹⁾

1) 沖縄県衛生環境研究所, 2) NPO 法人どうぶつたちの病院 沖縄

はじめに

レプトスピラ症は病原性レプトスピラによって起こる人獣共通感染症である。保菌動物は野生動物, 家畜, ペットなど多様であるが, 猫のレプトスピラ症に関する報告は少ない。国外においては, 抗レプトスピラ抗体保有猫の存在や猫の腎臓, 尿からの病原性レプトスピラ遺伝子検出が報告されており, 猫からヒトへの感染が懸念されている。一方で, 国内における猫のレプトスピラ保有状況に関する報告は少なく, 猫からヒトへの感染リスクについては評価が難しい状況にある。また, 猫のレプトスピラ症における病態についても知見はほとんどない。そこで本研究では, 沖縄県における猫のレプトスピラ感染実態を把握するとともに, 感染猫の病態について明らかにすることを目的とした。

材料と方法

沖縄県において2012年6月から2018年11月に猫253頭から血清253検体, 尿42検体を採取し, このうち133頭を解剖に供した。血清を用いて抗レプトスピラ抗体検出, 尿を用いて遺伝子検出を実施した。抗体検出は血清群 Australis, Autumnalis, Ballum, Bataviae, Canicola, Grippotyphosa, Hebdomadis, Ictero-haemorrhagiae, Javanica, Pomona, Pyrogenes, Sejroe の標準株を用いて顕微鏡下凝集試験によって実施し, 抗体価160倍以上を陽性とした。遺伝子検出は病原性レプトスピラ鞭毛遺伝子 *flaB* をターゲットとした nested PCR によって実施した。猫は, 性別, 体重, 収容地域を記録し, 解剖した場合は剖検所見を記録した。抗体検出結果別体重の統計解析には t 検定, 性別と抗体陽性率の統計解析には Z 検定を用いた。

結 果

猫における抗体検出は253頭中42頭(16.6%)が陽

性であった。推定感染血清群は Javanica 39頭(92.9%), Hebdomadis 1頭(2.4%), 複数血清群陽性2頭(4.8%)であった。収容地域別抗体検出陽性頭数は沖縄本島北部地域が173頭中26頭(15.0%), 中部地域が41頭中9頭(22.0%), 南部地域が27頭中5頭(18.5%)であり, 離島では宮古地域で2頭全頭が陽性であった。遺伝子検出では42頭中3頭(7.1%)が陽性であり, いずれも抗体検出陽性で, 収容地域は沖縄本島北部地域であり, 剖検所見に著変は認められなかった。抗体検出陽性個体の体重の平均値は2800g, 陰性個体は2280gであり, 有意差があった($P < 0.01$)。雌雄の抗体検出陽性率は, 雄が19.0%, 雌が14.2%であり, 雌雄差は認められなかった。

考 察

レプトスピラの血清群とそれが感染する動物種には関連があることが知られている。今回, 猫における抗体検出において, 推定感染血清群は Javanica が大部分を占めていたため, 沖縄県の猫と Javanica には関連があることが推察された。遺伝子検出結果より, 猫の尿から病原性レプトスピラが排菌され, 感染源となる可能性が示唆された。さらに, 剖検所見については, 抗体検出, 遺伝子検出陽性個体のいずれにおいても著変は認められなかったことから, 猫のレプトスピラ症の病態は重症化せず, 保菌, 排菌する可能性が推察された。以上より, 本県において猫はレプトスピラの保菌動物および感染源として重要な役割を担っている可能性があるため, オーナーや獣医師等の猫と高頻度に接する人々への普及啓発が重要であると考えられた。今後, 菌分離, 遺伝子学的解析を実施し, 猫とヒト, その他の保菌動物におけるレプトスピラ症の関連性を調査していく必要があると考えられる。

〔参考〕 令和元年度 日本獣医公衆衛生学会（九州地区）発表演題一覧

- 1 豚の骨髄に浸潤した白血病の一例
田中葉子（佐賀県食検），他
- 2 脾腫および骨髄暗赤色化を特徴とする高齢黒毛和種の非定型牛白血病
福家直幸（宮崎県都農食肉衛検），他
- 3 カナダから輸入された馬にみられた肝臓灰白色硬結節と多包虫感染との関連性
一二三達郎（鹿大・TADセンター），他
- 4 家畜豚の腹腔から検出されたオンコセルカ科線虫 *Setaria bernardi*
井上 健（佐賀県食検），他
- 5 *Mycoplasma hyorhinis* の関与を疑う豚の疣贅性心内膜炎の2症例
秦 温子（長崎県南保），他
- 6 *Mycoplasma* の関与した心内膜炎および腹大動脈塞栓を認めた牛の症例
篠原 光（鹿児島県阿久根食肉衛生検査所），他
- 7 白金耳を用いた採材およびDNA熱抽出法による牛白血病ウイルスの簡易PCR法について
三角加奈子（鹿児島市食肉衛検），他
- 8 地方病性牛白血病の迅速診断の試み
神田卓弥（鹿児島県志布志食肉衛検），他
- 9 *Campylobacter jejuni* および *Campylobacter coli* に特異的な抗原蛋白質の同定
古川舞香（宮崎大・獣医公衆衛生学研究室），他
- 10 食鳥処理場で検出された *Campylobacter jejuni* におけるギランバレー症候群（GBS）関連遺伝子の保有調査
栗脇良太（鹿児島県末吉食肉衛検），他
- 11 鶏病原性大腸菌の鶏の増体に対する関連因子
中山 裕（鹿児島県志布志食肉衛検），他
- 12 肉用鶏における *Escherichia albertii* 保菌状況調査と分離株の解析
岡野 祥（沖縄県地域保健課），他
- 13 豚の疣贅性心内膜炎から分離された *Streptococcus suis* の性状解析
樋渡佐知子（長崎県川棚食肉衛検）
- 14 分子疫学解析からみたE型肝炎ウイルスのリスク
吉川 亮（長大熱研・ウイルス学分野）
- 15 プロイラー由来サルモネラにおける血清型の流行とβラクタム系抗菌剤耐性の消失
宗安祥佳（鹿大・獣医公衆衛生学），他
- 16 鶏卵生産環境のサルモネラからも鶏肉由来サルモネラに拡大していたESC耐性関連プラスミドは見つかるのか
重村洋明（福岡県保健環境研究所），他
- 17 牛カット肉表面における腸管出血性大腸菌に対する既存消毒薬の殺菌効果の検証
眞鍋千穂（宮崎県高崎食肉衛検），他
- 18 Aと畜場搬入牛におけるSTEC保菌状況調査
矢野達也（宮崎県高崎食肉衛検），他
- 19 食肉衛生検査所におけるクレーム相談への対応～農場へのアプローチの仕方～
関谷亜由美（宮崎県都城食肉衛検），他
- 20 牛枝肉の拭き取り検査による衛生的取り扱いの検証
行友俊弥（大分県食肉衛検）
- 21 対米輸出認定要綱を参考とした管轄と畜場牛解体工程の評価
橋本由絹（長崎県諫早食肉衛検国見支所），他
- 22 県内と畜場のHACCP推進のための査察体制と指導の標準化の取組み
山崎省吾（長崎県諫早食肉衛検国見支所），他
- 23 対米輸出と畜場におけるHACCP検証に際し、厳密にゼロトランス検証を運用した経緯と結果
中満智史（熊本県食肉衛検），他
- 24 豚と畜検査データフィードバック事業利用促進を目的とした時系列解析を用いた豚疾病予測の構築
成田 翼（宮崎県高崎食肉衛検），他
- 25 蛍光物質を利用した吐物処理～消毒効果の見える化～
山中恒星（大分県動物愛護センター）
- 26 病院給食施設で発生した大規模食中毒事例における考察
鶴田一郎（宮崎県中央保），他
- 27 かごしま水族館におけるイルカの餌料および飼養環境の豚丹毒菌等汚染状況調査
中尾悠一郎（鹿大・共同獣医），他
- 28 沖縄県における猫のレプトスピラ保菌状況調査
喜屋武向子（沖縄県衛研），他
- 29 飼育ネコからのSFTS感染事例
松本一俊（熊本県保環研），他
- 30 飼育者失踪による多頭犬放置の解決事例
柳 美樹（宮崎県都城保），他