

# 日本獣医公衆衛生学会(北海道)

## 講演要旨

(発表時間7分、討論3分 計10分)

地区学会長 田村 豊  
(酪農学園大学)

### 【座長】

第1日 9月6日(木)

会場：B1号館101

演題番号

1～3 横山 良秀 (東藻琴食肉衛検)

4～6 遠藤 敏郎 (岩見沢食肉衛検)

7～9 清水 俊一 (道衛研)

10～13 村松 康和 (酪農学園大学)

第2日 9月7日(金)

会場：B1号館101

14～17 黒沢 信道 (釧路地区 NOSAI)

会場 酪農学園大学

## [審査員]

田 村 豊 (酪農学園大学)

堀 内 基 広 (北海道大学)

坪 田 敏 男 (北海道大学)

門 平 睦 代 (帯広畜産大学)

山 口 敬 治 (道立衛生研究所)

佐 藤 吾 郎 (北海道保健福祉部)

## 公-1

## と畜場のけい留所における家畜の飲用水設備設置への取り組みⅡ 一生産者の意識調査と今後の方向性一

○奥野尚志 鹿島 哲 深瀧弘幸 高澤史明

帯広食肉衛検

【はじめに】昨年演者らは、と畜場のけい留所における家畜の飲用水設備の設置状況を全国調査し、道外の牛を処理すると畜場では半数以上に飲用水設備があり給水されているが、道内では牛への給水が全く行われていないことを報告した。そこで今回は、と畜場出荷牛への給水の必要性などについて、管内生産者の意識を調査した。

【調査方法】H24年1～2月、十勝総合食肉流通センターに成牛を出荷する同管内の114農場に調査用紙を送付し回答を依頼した。設問は①と畜場出荷前の給水、②同センターに出荷する日にちと時間、けい留所での給水の必要性、②道外に出荷する場合に気をつけることやと畜場到着後の給水の必要性、③道内と畜場における飲用水設備の必要性、など。

【調査結果】1) 81農場から回答を得た(回収率71.1%)。牛の種類による内訳は、ホルスタイン種肥育農場24、ホル肥主体10、黒毛・褐毛和種30、和種・交雑種肉用主体12、その他(ホル肥≡肉用種)農場4、不明1であった。2) 74農場でと畜場出荷前は給水されていた。3) 同センターへと畜前日午前に出荷するのは19、前日午後は32、当日午前は21、不定が15あった。4) 道外のと畜場に出荷したことがある農場は39で、その際に気をつけたことは、アタリが出来ないようにするが17、輸送途中の休憩・給水は10であった。39農場中、と畜場到着後の給水は、飲ませる必要があるが19、望ましいが20あり、飲ませない方がよいは1農場であった。5) 道内と畜場にも飲用水設備が必要と回答した農場は39、必要ないとしたのは10、どちらでもよいが23あった。必要だと考える理由はストレス軽減28と夏季など給水が望ましい16であり、必要ないと考える理由は道内では輸送距離・時間が短い8で最も多く、水場争いによる事故4、肉質に影響の懸念が3であった。

【考察】以上より、①道内でもと畜場のけい留所で給水設備が必要があると考える生産者が多いこと、②道内では輸送距離・時間が短いので必要ないと考える生産者もいること、③牛の水場争いによる事故や肉質への影響をおそれて飲ませない方がよいという生産者が少数いることが分かった。この結果を還元するとともに、けい留方法や飲用水設備の形態を検討するなどして、道内のと畜場関係者に飲用水設備の設置を働きかけていきたい。

## 公-2

## と畜場で処理された牛の舌の汚染状況及び処理方法の検討

○吉田千央 千葉一成 中野由佳子 藤原 稔 横山光恵 通山佳之

早来食肉衛検

【はじめに】近年、食肉による食中毒が社会問題になっている中、牛の舌には公衆衛生上重要な食中毒菌が存在するとの報告もあり、枝肉と同様に衛生的な取り扱いが重要となる。そこで、今回当所所管のと畜場で処理された牛の舌の汚染状況を調査し、衛生的な処理方法について検討・指導したので、その概要を報告する。

【材料及び方法】平成24年1～5月に当所所管のと畜場に搬入された牛65頭について、頭部から摘出後(65頭)及び洗浄消毒後(65頭中54頭)の舌表面を滅菌プースで拭き取り、生菌数、大腸菌群数、大腸菌数について検査した。洗浄消毒後54頭中19頭については洗浄消毒方法を改善し実施した。洗浄水についても同様の検査を行った。また、と殺直後(3頭)の生菌数についても検査した。摘出後25頭については、カンピロバクター属菌、サルモネラ属菌、腸管出血性大腸菌O157についても検査した。さらに、食道結紮の状況、被毛及び胃内容物の付着と細菌数との関連性についても調査し、ノンパラメトリック検定を用いて検証した。

【結果】舌摘出後、洗浄消毒後改善前、同改善後の幾何平均菌数はそれぞれ、生菌数が $1.5 \times 10^5$ 、 $1.5 \times 10^4$ 、 $1.1 \times 10^3$ 、大腸菌群数は $1.0 \times 10^2$ 、8、1、大腸菌数は23、0.4、0であった。と殺直後の生菌数の平均は $9.9 \times 10^5$ 、洗浄水は生菌数が $9.1 \times 10^3$ 、大腸菌群数が5、大腸菌数が0であった(単位はcfu/cm<sup>2</sup>)。摘出後25頭中2頭ではカンピロバクター属菌が検出された。食道結紮の状況、被毛の付着と細菌数との関連性は認められなかったが、胃内容物の付着とは関連性が認められた。

【考察】今回の調査結果から、胃内容物の付着は反芻によることが、被毛の付着は剥皮時の外皮との接触によることが原因と考えられた。目視では食道結紮状況と汚染とは直接的な関連性は認められなかったが、胃内容物の付着と細菌数とは関連性が認められた。なお、と殺直後の細菌数が高かったことから、反芻などによる生体時の舌の汚染が示唆され、解体処理の改善のみでの汚染防止は困難であり、効果的な洗浄消毒が必要と考えられた。従来の舌の洗浄消毒は、洗浄を2回実施(予備洗浄及び本洗浄)し、次亜塩素酸水(100ppm)を噴霧後再洗浄しているが、洗浄水の溜水の環流が不十分のため再汚染されていると考えられた。今回、洗浄方法をすべて流水洗浄とすることで改善が認められた。

## 公-3

## ホルスタイン種雌牛のカルチノイドの1例

○秋山貴洋<sup>1)</sup> 鈴木竹彦<sup>1)</sup> 藤原理央<sup>2)</sup> 深瀧弘幸<sup>1)</sup> 高澤史明<sup>1)</sup>

1) 帯広食肉衛検 2) 帯畜大病態病理

【はじめに】カルチノイドは神経内分泌細胞由来の腫瘍で動物では稀な腫瘍であり、家畜での報告例は少ない。今回、と畜検査で全部廃棄処分となった牛で、カルチノイドと診断された症例を報告する。【材料と方法】症例は平成23年9月26日に十勝総合食肉流通センターに搬入された108ヶ月齢のホルスタイン種経産牛であり、生体検査時に背弯姿勢が認められた。解体検査時に肝臓・肺・腎臓に多発する腫瘍性病変を認めたため全身に多発する腫瘍として全部廃棄処分とした。肝臓・肺・腎臓を採材、10%ホルマリンで固定後、定法に従いパラフィン包埋し、4 $\mu$ mに薄切した。作成切片にHE染色およびグリメリウス染色、免疫染色（ビメンチン、サイトケラチンAE1/AE3、クロモグラニンA、S-100）を実施し、組織学的検索を行なった。【結果】肝臓に胡桃大～小児頭大で緑黄色や暗赤色を呈する腫瘍が多発し、断面は壊死・自壊、胞巣状に区画されている部分など様々であった。肺には乳白色の胡麻粒大から小豆大の結節が多発し、結節断面は充実性で、一部結節内には出血がみられた。腎臓には米粒大梗塞巣が散在し、楔状に腎皮質内に侵入していた。目視でリンパ節や他臓器への転移はみられなかった。組織学的に、肝臓の腫瘍は大部分が壊死し辺縁に腫瘍組織が残存するのみであり、胞巣状・充実性に増殖していた。肺の腫瘍は境界不明瞭で胞巣状～索状構造を呈し、偽ロゼット様構造が複数認められた。肝臓・肺ともに腫瘍細胞は好酸性の乏しい細胞質と類円形でクロマチン砂粒状の核を有していた。免疫染色で腫瘍細胞はビメンチン・サイトケラチンAE1/AE3に陰性、クロモグラニンAに弱陽性、S-100陽性であった。グリメリウス染色では腫瘍細胞質内に明瞭な好銀反応が得られた。【考察】カルチノイドは肺・消化管・肝臓・膵臓を好発部位とする腫瘍である。肉眼的に腫瘍の形成が認められ、組織学的には索状構造～胞巣状構造を呈し、好酸性細胞質をもつ腫瘍細胞が特徴とされる。腫瘍細胞による偽ロゼット様構造の形成や、細胞質内に好銀顆粒を有することも診断の要点となる。本例は肉眼および組織学的所見、染色結果がこれらの特徴と一致したためカルチノイドと診断した。動物におけるカルチノイドは消化管原発がほとんどであるが、本例では最大腫瘍が肝臓に認められたため、肝原発カルチノイドであると推察された。

## 公-4

## 北海道における馬エキノコックス症（多包虫症）の発生状況調査

作井睦子<sup>1)</sup> ○結城恵美<sup>1)</sup> 大西綾衣<sup>1)</sup> 中野由佳子<sup>2)</sup> 豊岡大輔<sup>3)</sup> 清水俊彦<sup>4)</sup> 瀬沼洋二<sup>5)</sup> 迫陽子<sup>6)</sup>  
森千恵子<sup>7)</sup> 八木欣平<sup>8)</sup> 孝口裕一<sup>8)</sup>1) 東藻琴食肉衛検 2) 早来食肉衛検 3) 稚内保健所 4) 北見保健所 5) 函館市食肉衛検  
6) 旭川市食肉衛検 7) 帯広食肉衛検 8) 道衛研

【はじめに】家畜のエキノコックス症（多包虫症以下E症）は1982年に作井らが豚で発見し翌年、宮内らにより馬でも確認された。以後、道内ではE症発生状況把握のため食肉検査においても調査され、馬E症は2010年までの28年間に食肉検査された馬20,245頭で34頭の報告がある（検出率0.2%）。一方、道外では2007年10月末からの1年間に山形県食肉衛検で馬218頭中56頭に馬E症を確認し（検出率25.7%）、E症確認馬の半数以上に道内飼育歴ありと報告されている。そこで、馬を処理する道内のと畜場8施設を管轄する食肉検査機関の協力の下、馬の肝臓の結節病変の肉眼的、病理組織学および遺伝子学的（以下PCR）検査を実施し道内の馬E症発生状況を検証した。

【材料および方法】2011年度に道内のと畜場に搬入された馬158頭を検査し、肝臓に結節を認めた49頭の結節病変部を採材し10%ホルマリン固定した。必要に応じ脱灰後、常法により組織切片を作製しHE染色およびPAS染色を行い鏡検した。また、うち30頭の結節病変を80%アルコール固定しQIAamp DNA Mini Kit（Qiagen社）を用いてDNAを抽出し八木らの方法でPCR検査を実施した。

【成績】1) 肝臓の結節病変は右葉、外側左葉に多く見られ、個数は単発から密発まで、大きさは3mm前後が多く、まれに10mmの大結節もみられた。2) 病理組織学的検査によりクチクラ層等を認め馬E症と診断されたのは16頭（検出率10.1%）であった。3) PCR検査により多包虫遺伝子が検出され馬E症と診断されたのは11頭で、うち4頭は病理組織学的検査でクチクラ層等を認めなかった。4) 馬E症と診断されたのは合計20頭であった（検出率12.7%）。5) E症と診断された馬の最終飼育地は道央が最も多かった。品種はサラ系とポニー系が多かった。

【考察】馬E症は道内各地で発生を認め検出率もこれまでの報告を大幅に上回ったが馬がE症の生活環で重要な位置を占めることはない。しかし胚層の活発化やシストの多房化が認められヒトと同様の経過をたどる可能性が示唆された。馬の道内での飼育期間や移動状況からE症発生状況の把握（疫学）には豚が有効と考えるが今回の成績は公衆衛生獣医師（と畜検査員）として認識を新たにしたい。類症鑑別は肉眼的、組織学的に鑑別可能と考えるがPCR検査も有効である。

## 公-5

## 食鳥処理場および養鶏場におけるカンピロバクター汚染経路の調査

○猪子理絵<sup>1)</sup> 根本綾子<sup>1)</sup> 深瀧弘幸<sup>1)</sup> 池田徹也<sup>2)</sup> 清水俊一<sup>2)</sup>

1) 帯広食肉衛検 2) 道衛研

【はじめに】当所では、鶏肉のカンピロバクター汚染の低減化を目指して食鳥処理場の衛生管理指導を強化してきたが、鶏の保菌率が高いことなどから、処理場内での衛生管理だけでは効果が上がらないのが現状である。そこで、養鶏場のカンピロバクター汚染を防止する可能性を探るため、養鶏場の汚染経路について調査を行った。

【材料および方法】飼育途中で鶏を中抜き出荷するブロイラー養鶏場を対象に調査を行った。平成23年11月に新築された鶏舎に素雛を初導入し約25日齢で出荷された初出荷小雛、残った雛を継続飼育して約50日齢で出荷された大雛、オールアウト後に素雛を再導入して出荷された小雛と、他の鶏舎で飼育され平成24年4月に出荷された大雛について、食鳥処理場で盲腸便を採取した。また、初出荷小雛の搬出時に食鳥処理場から新築鶏舎に持ち込まれた鶏カゴについて、新築鶏舎内で拭き取り材料を採取した。これらについてカンピロバクター検査を行うとともに、検出された菌株についてパルスフィールドゲル電気泳動法(PFGE)により遺伝子解析を行った。

【成績】1) 新築鶏舎の初出荷小雛の盲腸便からカンピロバクターは検出されなかった(0/8)。2) 初出荷小雛の搬出時に持ち込まれた鶏カゴからカンピロバクターが検出され(6/6)、それらの菌株はPFGEで3つのパターンを示した。3) 新築鶏舎の大雛の盲腸便からカンピロバクターが検出され(8/8)、それらは同一のPFGEパターンを示し、鶏カゴから検出された菌株の3パターンのひとつと相同性が見られた。4) 新築鶏舎のオールアウト後の小雛の盲腸便からカンピロバクターは検出されなかった(0/5)。5) 他の鶏舎の大雛からカンピロバクターが検出され(5/5)、それらは2つのPFGEパターンを示し、鶏カゴから検出された菌株の3パターンの2つと相同性が見られた。

【考察】新築鶏舎の大雛からカンピロバクターが検出されたが、同じ鶏舎で同じ素雛から飼育された初出荷小雛およびオールアウト後の小雛からは検出されなかったことから、大雛のカンピロバクター汚染は素雛や鶏舎に由来するものでなく、初出荷小雛の搬出時以降に発生したと考えられた。新築鶏舎の大雛および他の鶏舎の大雛から検出された菌株と、鶏カゴから検出された菌株の間でPFGEパターンに相同性がみられたことから、鶏舎への汚染の持込みに鶏カゴが関与し、鶏カゴを介して食鳥処理場と養鶏場の間でカンピロバクター汚染が維持されている可能性が示唆された。

## 公-6

## めん羊におけるカンピロバクター属菌の保有率等調査

○川口彩子<sup>1)</sup> 清水俊一<sup>2)</sup> 池田徹也<sup>2)</sup> 和久野 均<sup>1)</sup> 田畑文規<sup>1)</sup> 藤吉英邦<sup>1)</sup>

1) 釧路保健所 2) 道衛研

【はじめに】カンピロバクター(以下、Camp)属菌は、近年わが国で最も発生している細菌性食中毒の病因物質である。Camp属菌は多くの動物腸管内に生息しており、本菌に汚染された食品を喫食することによってヒトに感染する。全国的に牛や鶏等のCamp属菌保有率等の調査は行われているが、めん羊についての調査報告は行われていない。そこで、めん羊由来のCamp属菌による食中毒のリスクを明らかにする為に、所轄と畜場で処理されているめん羊の直腸便及び胆汁におけるCamp属菌の保有状況並びにと体及び被毛におけるCamp属菌の汚染実態を調査した。【材料及び方法】平成23年6月から平成24年6月までに所轄と畜場で処理されためん羊70頭から直腸便70検体、胆汁70検体を採取した。直腸便は1g、胆汁は1mlをプチットカンピロ/10(日研生物医学研究所)に加え、42℃24時間培養後、CCDA平板培地(OXOID)に画線塗まつし、42℃、48時間微好気培養し菌分離を行った。分離菌は、性状試験を実施し同定した。また、一部剥皮直後のと体胸部～腹部を拭き取った滅菌木軸綿棒の綿部分及び被毛を、プチットカンピロ/10で42℃24～48時間培養後、培養液を用いてイムノクロマトテスト(関東化学：シカイムノテスト カンピロバクターⅡ)を実施し、Camp属菌の検出を行った。【結果及び考察】直腸便では70%(49/70検体)、胆汁では約21%(15/70検体)でCamp属菌が検出された。検出されたCamp属菌の内訳は、*C.jejuni*のみ検出した検体が約94%(60/64検体)、*C.coli*のみ検出した検体が約3%(2/64検体)、両方を検出した検体が約3%(2/64検体)であった。他で行った調査では、牛肝臓で約20%、胆汁で約67%が、また鶏肉等では20～60%がCamp属菌陽性であると報告されており、めん羊も消化管内容物や胆汁に高率にCamp属菌を保菌していることが明らかとなった。これらの結果から、と畜場での消化管内容物や胆汁の漏出による汚染が食中毒に結びつく可能性あることが示唆された。また、胆汁から検出されたことは、肝臓実質もCamp属菌で汚染されている可能性が高いことを示唆しており、喫食の際には十分な加熱が必要であると考えられた。2)と体表面では約14%(5/37検体)、被毛では約70%(26/37検体)でCamp属菌が検出された。と体表面からの検出に関しては、剥皮する際にCamp属菌で汚染されている被毛や生体を洗浄した水に由来するのではないかと考えられた。今後は、解体方法を見直しながらか検証作業を行い、より衛生的な解体方法を提案したい。

## 公-7

## レバー由来及び糞便由来カンピロバクターの薬剤耐性と遺伝子型の解析

○一色ゆかり<sup>1)</sup> 石原加奈子<sup>2)</sup> 白井 優<sup>1)</sup> 田村 豊<sup>1)</sup>

1) 酪農大獣医食品衛生 2) 農工大獣医公衆衛生

【背景・目的】カンピロバクターは食中毒原因菌であり、汚染畜産食品が食中毒の主な原因食品である。これまでレバーの本菌汚染率に関する報告は少なく、また糞便由来株と食品由来株の遺伝学的な比較は行われていない。そこで本研究では、牛及び豚レバーからカンピロバクターの分離及び薬剤感受性試験を行うとともに、分離株を糞便由来株と遺伝学的に比較した。

【材料・方法】2011年5月～12月に市販の牛レバー41検体及び豚レバー64検体からカンピロバクターの分離を行った。分離株は、寒天平板希釈法により最小発育阻止濃度を測定した。また分離株と糞便由来株（牛及び豚由来計30株）について、PCR-RFLPにより *flaA* 遺伝子型別を行った。

【結果】牛レバー15検体（36.6%）及び豚レバー12検体（18.8%）からカンピロバクターが分離された。EM、ERFX 及び OTC に対する薬剤耐性株は、牛由来 *C. jejuni* 19株のうち0株（0%）、10株（52.6%）及び11株（57.9%）、牛由来 *C. coli* 10株のうち0株（0%）、5株（50%）及び5株（50%）、豚由来 *C. coli* 21株のうち4株（19%）、3株（14.3%）及び21株（100%）であった。*flaA* 遺伝子の RFLP 解析では8つのクラスター（CI-1～CI-8）に分かれ、CI-1は4つのサブクラスター（CI-1a～CI-1d）に分かれた。牛糞便由来株の54.5%はCI-6、牛レバー由来株の64.0%はCI-1cに分類された。また、豚糞便由来株の36.8%はCI-1a及び31.6%はCI-1dに、豚レバー由来株の52.4%はCI-1aに分類された。

【考察】本菌による牛及び豚レバーの高率な汚染が判明した。既報の糞便由来株の耐性株の割合と比べて、牛レバー由来 *C. jejuni* はERFXの耐性株の割合が高かった。一方、豚レバー由来 *C. coli* のEM及びERFXの耐性株の割合は低かった。動物種及び分離材料によって、*flaA* の主要なクラスターや薬剤耐性の傾向が異なった。特に牛の糞便及びレバー由来株では違いが大きく、糞便由来だけでなく、食品から分離されるカンピロバクターについても、薬剤耐性の調査が必要であると考えられた。今後、*flaA* 遺伝子の short variable region の塩基配列決定により詳細な解析を行う予定である。

## 公-8

## 市販鶏肉由来薬剤耐性サルモネラ属菌における耐性遺伝子の解析

○小川 紋 佐藤豊孝 大久保寅彦 白井 優 田村 豊

酪農大獣医食品衛生

【目的】家畜への抗菌性物質の使用により薬剤耐性菌が出現し、家畜由来耐性菌が食品を介して人へ伝播することが懸念されている。特に鶏の腸管内に存在するサルモネラ属菌は、鶏肉を介して食中毒を起こす原因菌であり公衆衛生上重視されている。そこで本研究では、市販鶏肉から分離された薬剤耐性サルモネラ属菌について、耐性遺伝子の検出とその伝達性について解析した。

【方法】食品安全委員会により分与された、2006年12月～2007年1月に市販鶏肉から分離された少なくとも1薬剤に耐性を示すサルモネラ属菌10株（*S. infantis* 8株、*S. typhimurium* 1株、*S. schwarzengrund* 1株）を供試した。これらの株から耐性遺伝子とインテグロンを検出し、接合伝達試験により耐性遺伝子の伝達性を確認した。またキノロン耐性株のキノロン耐性決定領域（GyrA）の塩基配列を決定した。

【結果】β-ラクタム系薬剤に耐性を示した6株のうち、4株から *bla<sub>CMY-2</sub>*、1株から基質特異性拡張型β-ラクタマーゼ（ESBL）遺伝子である *bla<sub>TEM-20</sub>*、1株から *bla<sub>TEM-1</sub>* が検出された。KM耐性株（4株）、TMP耐性株（6株）、DSM及びOTCの耐性株（7株）からは *aphA1*、*dhfr14*、*aadA1* 及び *tetA* 遺伝子が検出された。また、*aadA1* はインテグロンの中に存在していた。*bla<sub>CMY-2</sub>*、*bla<sub>TEM-20</sub>*、*aphA1*、*dhfr14*、*aadA1* 及び *tetA* については伝達性が確認された。またキノロン耐性株（4株）のGyrAには Asp87Tyr（3株）と Asp87Asn（1株）のアミノ酸置換が認められた。

【考察】今回、複数の伝達性耐性遺伝子及びキノロン耐性株が鶏肉由来サルモネラ属菌で見つかった。国内におけるプロイラー糞便由来株においても伝達性耐性遺伝子（*bla<sub>CMY-2</sub>*、*bla<sub>TEM</sub>*、*aadA1*、*aphA1*、*tetA*）及びキノロン耐性株が報告されていることから、糞便から鶏肉への移行が示唆された。

## 公-9

## イエネズミ糞便由来大腸菌の薬剤耐性調査

○吉沢創太<sup>1)</sup> 大久保寅彦<sup>1)</sup> 佐藤豊孝<sup>1)</sup> 臼井 優<sup>1)</sup> 田中和之<sup>2)</sup> 石塚真由美<sup>2)</sup> 田村 豊<sup>1)</sup>

1) 酪農大獣医食品衛生 2) 北大獣医毒性

【目的】近年、薬剤耐性菌の出現が人及び獣医療分野における疾病治療を困難にする問題と指摘されている。今まで耐性菌の人に至る伝播経路として食物を介した経路が注目されてきたが解明されていない点も多い。そこで、人とも家畜とも接する機会のあるイエネズミ類について、その糞便由来大腸菌の薬剤耐性を調査した。

【材料と方法】全国21都道府県で捕獲されたクマネズミ195検体、ドブネズミ67検体、不明64検体の糞便、計326検体を無添加 DHL 及び6種類の薬剤添加 DHL(オキシテトラサイクリン; OTC、アンピシリン; ABPC、セフトロキム; CPDX、アミカシン; AMK、シプロフロキサシン; CFX、オラキンドックス; OQX) に直接接種し大腸菌の分離を行った。分離大腸菌について、寒天平板希釈法により最小発育阻止濃度 (MIC) を測定した。耐性を示した菌株については PCR により耐性遺伝子の検索を行った。

【結果と考察】大腸菌分離率は11.3% (37/326) であり、薬剤感受性試験により OTC 耐性だったのは16.2% (6/37) であった。動物種による分離率 (クマネズミ27/195、ドブネズミ3/67) に有意差は認められなかった。分離地域別の薬剤耐性大腸菌分離検体数/供試検体数は、鹿児島県で4/27 (14.8%)、千葉県で1/44 (2.3%)、青森県で1/1 (100%) であった。単剤耐性株は OTC 耐性株のみで *tetA* もしくは *tetB* を保有していた。多剤耐性株は鹿児島県の2検体から分離され、それぞれ ABPC-OTC 耐性、CP-OTC 耐性でそれぞれ *bla<sub>TEM</sub>* と *tetB*、*catI* と *tetB* を保有していた。

今回の結果より、イエネズミ類からも薬剤耐性大腸菌が分離されたことから、イエネズミ類が薬剤耐性菌を伝播する可能性を示唆した。

## 公-10

## 薬剤耐性大腸菌の畜舎内伝播におけるハエの役割

臼井 優 岩佐友寛 佐藤豊孝 大久保寅彦 ○田村 豊

酪農大獣医食品衛生

## 【目的】

家畜における薬剤耐性菌の出現・拡散は、食物を介して人に伝播し人の健康に影響することが示唆されている。ハエは畜舎及び人の生活環境に存在し、食物を汚染することから、薬剤耐性菌を家畜から人へ伝播するベクターとなっている可能性がある。そこで、畜舎の牛糞便及びハエから大腸菌を分離し薬剤感受性を調べた。そして、耐性菌の中でも特に拡散が懸念される第3世代セフェム系薬剤に対して耐性を示す基質特異性拡張型  $\beta$ -ラクタマーゼ産生大腸菌に注目して遺伝学的近縁性を調べた。

## 【材料及び方法】

牛舎内の糞便93検体と牛舎内ハエ (イエバエ91検体、オオイエバエ68検体及びサシバエ72検体) から大腸菌の分離を行った。微量液体希釈法による薬剤感受性試験(13薬剤)、PCR 法による  $\beta$ -ラクタマーゼ遺伝子(*bla*)の検出及びパルスフィールドゲル電気泳動 (PFGE) を行った。

## 【結果及び考察】

牛糞便、イエバエ、オオイエバエでそれぞれ74、64、54株の大腸菌が分離され、いずれの由来株においてもテトラサイクリンに対する耐性菌出現率が最も高かった (36~50%)。第3世代セフェム系薬剤に対して耐性を示したのは、牛糞便、イエバエ、オオイエバエ由来株でそれぞれ6、20、8株であり、*bla<sub>CTX-M-1group</sub>* 遺伝子保有株が多かった (6、11、5株)。これら *bla<sub>CTX-M-1group</sub>* 遺伝子保有大腸菌22株は、多剤耐性 (6薬剤) であり、PFGE 解析を行ったところ、大きく2つのクラスターに分かれ、牛糞便及びハエ由来株で同源性が80%以上と近縁な分離株が見つかった。以上の結果は、牛舎内で *bla<sub>CTX-M-1group</sub>* 遺伝子を保有する多剤耐性大腸菌が牛糞便からハエに伝播したことを示唆した。

## 公-11

## 犬由来大腸菌におけるフルオロキノロン耐性およびセファロスポリン耐性の関連

○佐藤豊孝<sup>1)</sup> 横田伸一<sup>2)</sup> 大久保寅彦<sup>1)</sup> 臼井 優<sup>1)</sup> 藤井暢弘<sup>2)</sup> 田村 豊<sup>1)</sup>

1) 酪農学園大獣医食品衛生 2) 札幌大微生物

【はじめに】伴侶動物医療において各種の細菌性感染症治療に人の医療において特に重要な抗菌薬とされるフルオロキノロン (FQ) 系と第3世代セファロスポリン (CEP) 系抗菌薬が多く使用されており、その使用に伴う FQ および CEP 耐性菌の出現が問題となっている。さらに、より高リスクな FQ および CEP の両方に耐性を示す大腸菌 (FQ-CEPRECs) の出現が人の医療現場で多く報告され、詳細な病原性および疫学的解析が行われている。一方、伴侶動物においても FQ-CEPRECs の報告があるがその詳細な解析はなされていない。今回、犬由来大腸菌を用い FQ および CEP 耐性の関連性について検討した。【材料および方法】酪農学園大学附属動物病院および江別市内の動物病院に来院した犬由来 FQ 耐性大腸菌 (FQRECs, 14株)、CEP 耐性株 (CEPRECs, 10)、FQ-CEPRECs (22株)、FQ および CEP 両感受性株 (Susceptible, 35株) を用い系統発生分類、病原遺伝子の検索を行った。さらに系統 D に属した株については O 群血清型別、PFGE および MLST 解析を行った。【成績】Susceptible group の主要な系統は B 1 (34.3%) および B 2 (40.0%) であったが、FQRECs (50.0%)、CEPRECs (40.0%) および FQ-CEPRECs (59.1%) の主要な系統は D であった。また、FQRECs と FQ-CEPRECs 間に系統発生分類の分布に有意な相関が得られた ( $r=0.98$ )。しかし、CEPRECs と FQ-CEPRECs 間に相関は認められなかった ( $r=0.58$ )。系統 B 2 (平均8.9) は最も病原遺伝子保有数が多く、次いで系統 D (平均5.3)、系統 B 1 (3.9)、系統 A (3.3) の順であった。平均耐性薬剤数は系統 D が最も多く (平均6.6剤)、次いで系統 A (5.8剤)、系統 B 1 (5.3剤)、系統 B 2 (2.5剤) の順であった。系統 D に属する株を用いた PFGE 解析では4つのクラスター (I~IV) に分類され、FQRECs および FQ-CEPRECs はクラスター I および II、CEPRECs および Susceptible はクラスター III および IV に属した。さらに、クラスター I はサブクラスター Ia、Ib および Ic に分類され、Ia に属した10株 (FQRECs、FQ-CEPRECs 共に5株) は全て血清型 O 1 および ST648であった。D-O 1-ST648は他の系統 D に属する株より *kspM*、*ompT* および PAI の保有率が有意に高かった。【考察】系統 D は最も多剤耐性を示し、病原遺伝子保有数も2番目に多いことから、系統 D は犬の臨床現場において最も注意が必要な大腸菌であると考えられた。また、系統発生分類および PFGE 解析の結果から FQ-CEPRECs の出現は FQ 耐性株に CEP 耐性が付随することによると考えられた。今回の研究で、特定のクローングループ、D-O 1-ST648が FQ または FQ と CEP の両方に耐性を示しさらに多くの病原性遺伝子を保有しながら広がっていることが明らかになった。ST648は近年人の臨床現場からも多く報告されていることから今後その動向に注意が必要である。

## 公-12

犬由来メチシリン耐性 *Staphylococcus pseudintermedius* の分子疫学解析○小泉明穂<sup>1)</sup> 石原加奈子<sup>1)2)</sup> 臼井 優<sup>1)</sup> 菊池直哉<sup>3)</sup> 田村 豊<sup>1)</sup>

1) 酪農大獣医食品衛生 2) 農工大獣医公衆衛生 3) 酪農大獣医細菌

【はじめに】近年、犬からのメチシリン耐性 *Staphylococcus pseudintermedius* (MRSP) の分離率が上昇し、人への伝播が危惧されている。犬由来 MRSP の Multilocus sequence typing による ST 型、*spa* 型及び SCCmec 型により、欧州では ST71-t02-II-III 及び、北米では ST68-t06-V が主流な遺伝子型であることが明らかにされ、地域により異なる MRSP クローンが広まっている (Perreten ら、2010)。本研究では日本で分離された MRSP の起源を明らかにするため、MRSP に加え、メチシリン感受性 *S. pseudintermedius* (MSSP) の遺伝学的解析を行った。【材料及び方法】2008年に来院犬及び供血犬の口腔スワブから分離した MRSP 44株 (SCCmec III 型29株及び V 型12株；第148回日本獣医学会発表) 並びに1999年~2009年にセラピー犬の糞便から分離した MSSP 34株を用いた。SCCmec III 型については Perreten らの方法により、III 型と II-III 型の型別を行った。また、耐性遺伝子 (*blaZ*、*aac(6')-Ie-aph(2')-Ia*、*aph(3')-III*、*ant(4')-Ia*、*aad6*、*ermA*、*ermB*、*ermC*、*tet(K)*、*tet(L)*、*tet(M)*、*tet(O)*、*tet(T)* 及び *cat<sub>pc221</sub>*) を PCR 法により検索した。【結果及び考察】MRSP のうち26株が欧州で多い SCCmec II-III 型だったが、欧州で最も優勢な耐性遺伝子保有パターンである *blaZ*、*aac(6')-Ie-aph(2')-Ia*、*aph(3')-III*、*aad6*、*ermB*、*tet(K)* 及び *cat<sub>pc221</sub>* を示したのは、3株と少なく、これらの耐性遺伝子に加え *tet(M)* を持つ株が8株と最も多かった。MSSP の *tet(M)* 保有率は50%と高く、欧州で優勢な MRSP クローンが日本で *tet(M)* を獲得した可能性が考えられた。SCCmec V 型の12株のうち、11株が *blaZ*、*aac(6')-Ie-aph(2')-Ia*、*aph(3')-III*、*aad6*、*ermB* 及び *tet(M)* を保有し、北米で最も優勢な耐性遺伝子保有パターンと一致した。このことから日本の SCCmec V 型株は北米と同じ MRSP クローンである可能性が考えられた。MSSP の最も優勢な耐性遺伝子保有パターンは、*blaZ*、*tet(K)* 及び *tet(M)* (11株) であった。MRSP 及び MSSP で認められた共通の耐性遺伝子保有パターンは *blaZ* 及び *tet(M)* (MRSP 1株及び MSSP 1株) であった。今後、*spa* 型を決定し、より詳細な解析を実施する予定である。

## 公-13

豚糞便からの *Clostridium difficile* 分離方法の比較試験○臼井 優<sup>1)</sup> 佐々木貴正<sup>2)</sup> 比企基高<sup>3)</sup> 永井英貴<sup>3)</sup> 浅井鉄夫<sup>3)</sup> 田村 豊<sup>1)</sup>

1) 酪農大学獣医食品衛生 2) 農林水産省消費安全局 3) 農林水産省動物医薬品検査所

## 【はじめに】

人の偽膜性腸炎の原因菌である *Clostridium difficile* は、牛や豚等の食用動物の消化管内容物から検出されることがある。近年、海外では人の感染と豚肉の摂食との関係が特に注目されており、WHO は、豚における分布状況の調査が必要であると指摘している。一方、日本国内でも、*C. difficile* を原因とする偽膜性腸炎が発生しているが、豚農場における *C. difficile* の分布状況は不明である。そこで、分布状況の調査に不可欠な豚の糞便を材料とした *C. difficile* の分離法を確立するため、複数の市販分離培地を用いた比較試験を実施した。

## 【材料および方法】

*C. difficile* (ATCC 9689) を豚糞便に添加して添加回収試験を行った。前処理方法（未処理、熱処理、エタノール処理）、及び分離培地（ニッスイ (N) 社、シスメックス (S) 社、オキソイド (O) 社）を組み合わせることで回収率を比較した。また、27 週齢健康豚糞便20検体から、添加回収試験と同様の前処理方法及び分離培地を用い *C. difficile* の分離を行った。分離された疑わしい株について、Kikuchi らの PCR 法で同定した。加えて分離株の病原性（toxin A 及び B の産生性）について Kato らの PCR 法で確認した。

## 【成績及び考察】

N 社分離培地での回収率は未処理検体で96%、熱処理検体で13%、エタノール処理検体で89%であり、熱処理検体で回収率が低かった。全ての処理方法において、S 社及び O 社分離培地では、N 社分離培地よりも回収率が低かった（0~65%）。*C. difficile* は、エタノール処理後に N 社分離培地を用いて豚糞便20検体中1検体から分離された。S 社及び O 社分離培地においても、疑わしい株が分離されたが、全て PCR 陰性であり、N 社分離培地に継代すると発育しなかった。分離株は toxin B 産生性を示したため、人に感染した場合は毒性を発揮する可能性が高い。以上の成績から、豚における分布状況の調査は重要であり、今後は豚糞便からの *C. difficile* の分離をエタノール処理後に N 社分離培地を用いて行う予定である。

## 公-14

## フクロウの趾骨格可動域に関する形態学的研究

○鈴木瑞穂<sup>1)</sup> 佐々木基樹<sup>1)</sup> 山田一孝<sup>2)</sup> 段 麻優子<sup>3)</sup> 小野香織<sup>3)</sup> 柳川 久<sup>4)</sup> 押田龍夫<sup>4)</sup> 北村延夫<sup>1)</sup>

1) 帯畜大獣医解剖 2) 帯畜大獣医臨床放射線 3) 野毛山動物園 4) 帯畜大野生動物

【はじめに】フクロウ目の鳥類は、メンフクロウ科とフクロウ科を合わせた26属225種が地球上に生息している。その一種であるフクロウは、日本およびユーラシア大陸北部に広く分布する定住性の強い留鳥である。鳥類の足は、第一趾が後方を、それ以外の趾が前方を向く「三前趾足」型の種が最も多い。フクロウ目の場合、第四趾が柔軟に可動する点の特徴の1つであり、フクロウ目の足は「三前趾足」型と、第一趾と第四趾が後方、第二趾と第三趾が前方を向く「対趾足」型のどちらにも動かすことができる。これまで、フクロウ目の趾の形態についての報告はあるが、皮膚、筋、腱を破壊せずに趾骨格の可動性を観察した例はない。そこで本研究では、CT 画像撮影によりフクロウの趾骨格可動域を非破壊的に観察した。

【材料および方法】解析には、帯畜産大学で冷凍保管されていた交通事故死亡個体1羽、および野毛山動物園から提供された死亡個体1羽、計2羽のフクロウの遺体を用いた。フクロウの左足の趾を様々な状態に可動させ CT 画像撮影した。得られた断層画像データを三次元立体構築し、立体画像から骨格の可動状況を観察した。

【結果】力を加えない自然状態では、第四趾は後方ではなく前方を向き、対趾足ではなく三前趾足の状態であった。しかしその時の第二趾、第三趾の掌側面は下方を向いているのに対して第四趾は回外して掌側面が内側を向いており、4本すべての趾の掌側面が下方を向く典型的な三前趾足の足とは異なった形態であった。第四趾を可動範囲の限界まで動かすと、前方へは第三趾に接着可能なまで、後方へは第三趾と成す角が約180度になるまで可動した。第一趾を可動範囲の限界まで動かすと、前方へは第二趾近くまで、後方へは限界まで後方に動かされた第四趾近くまで可動した。足根関節を屈曲させた時、腱固定効果によって第二趾、第三趾は屈曲したが、第四趾の屈曲は認められなかった。

【考察】フクロウの趾は、力を加えない状態では第四趾が前方を向き、さらに第一趾および第四趾が前方から後方まで広範囲の可動域をもつことが確認された。また、第四趾には腱固定効果が働かないことが明らかになった。

## 公-15

## 北海道における野生アライグマのサルモネラ保菌

○藤井 啓<sup>1)</sup> 佐鹿万里子<sup>2)</sup> 小林恒平<sup>3)</sup> 今井邦俊<sup>4)</sup> 山口英美<sup>4)</sup>

1) 道総研畜試 2) 北大獣医野生動物 3) 岐阜大大学院連合獣医 4) 帯畜大新興・再興感染症

【はじめに】北米原産のアライグマはペットとして日本に持ち込まれ、逃亡・遺棄によって全国的に野生化しており、農業被害や在来生態系への悪影響が社会問題となっている。北米ではアライグマのサルモネラ保菌が知られており、アライグマがサルモネラのキャリアーとして機能していることが示唆されているが、国内ではアライグマのサルモネラ保菌に関する知見は少ない。そこで、北海道のアライグマにおけるサルモネラ保菌実態を調査した。【材料および方法】2009年5月～2012年5月に十勝および道央で駆除されたアライグマ316頭から直腸糞を採取し、RV液体培地による選択増菌後にノボジオシン加DHL寒天培地およびESサルモネラ寒天培地Ⅱによる分離培養を行った。ただし冷凍保存した材料は緩衝ペプトン水による前増菌を実施した。分離された菌株は生化学性試験(TSI、LIM、ニッスイIDテスト・EB-20)による亜種同定、市販抗血清(デンカ生研)を用いた血清型同定、ディスク法(使用薬剤:ABPC、CEZ、CTX、GM、KM、SM、TC、CP、NA、CPFX、ERFX、ST、FOM)による薬剤感受性試験、PCRによる病原関連遺伝子*invA*の検出に供した。【成績】4.7%(15/316)のアライグマからサルモネラが分離された。分離菌株の80.0%(12/15)が亜種entericaであり、20.0%(3/15)は亜種arizonaeであった。亜種entericaの血清型はBraenderup、Thompson、Typhimurium、AgonaおよびO4:i:-であった。亜種arizonaeの血清型はO16:l、v、z<sub>13</sub>:z、OUT:z<sub>10</sub>:1、5、7およびOUT:l、v、z<sub>13</sub>:1、5、7であった(OUT:0型を同定出来ず)。同一個体から複数の血清型の菌が分離されることはなかった。血清型Typhimuriumの2菌株中2菌株がABPC、KM、SM、TCに耐性を示す多剤耐性であり、Braenderupの4菌株中1菌株はABPCに耐性であった。いずれの菌株からも*invA*遺伝子が検出された。【考察】亜種entericaの菌株は、いずれも家畜および人での感染が知られている血清型であり、また薬剤耐性菌を含み、病原関連遺伝子を保有していた。このことから、北海道のアライグマは家畜や人への感染源になり得ると考えられる。アライグマによる多剤耐性菌の保有は、家畜や人に対する感染源としての重要性を示すと同時に、アライグマが人為的環境で生じた多剤耐性菌を環境中への拡散させている可能性を示唆する。亜種arizonaeは主に爬虫類から分離されており、アライグマから亜種arizonaeが分離されたことは、外来種であるアライグマによる在来爬虫類の捕食の可能性を示す。加えて、アライグマが、野生爬虫類等で維持されている未知の菌株を人や家畜へ持ち込む可能性があると考えられる。

## 公-16

## 過去5年間(2007～2011年)における北海道内のワシ類収容状況

○渡辺有希子<sup>1)</sup> 亀ヶ谷千尋<sup>1)</sup> 齊藤慶輔<sup>1)</sup>

1) 猛禽類医学研究所

【はじめに】猛禽類医学研究所では、環境省の業務委託を請け釧路湿原野生生物保護センター(WLC)に収容される希少猛禽類の治療または死因究明のための剖検を行っている。収容個体の多くはオオワシ(*Haliaeetus pelagicus*)およびオジロワシ(*H. albicilla*)である。自然環境において生じている問題を明らかにすることを目的に、これらワシ類の近年の収容状況と傾向を分析する。

【材料および方法】2007～2011年にWLCに保護または死体収容されたオオワシ70羽(生体収容27羽、死体収容43羽)、オジロワシ111羽(生体収容51羽、死体収容60羽)の収容原因を検索し、骨折や損傷などの外傷性疾患、感電事故、鉛汚染、内科性疾患、網による拘束や銃撃、落水、および不明・その他の項目に大別した。外傷性疾患は収容時の状況などから、衝突対象が明らかにできたものはさらに細分した(車両/列車/風力発電施設)。なお死体の中には重度の食害を受けたものや腐敗・ミイラ化のため、原因究明ができなかったものも含まれている。

【結果】ワシ類の収容原因は外傷性疾患が最も多く占めていた(オオワシ35%、オジロワシ54%)。特にオジロワシに関しては風力発電施設内の衝突事故が20%を占め、同じ風車群で繰り返し死亡事故が発生していることが明らかとなった。また北海道では狩猟における鉛弾の使用が禁止されているにも関わらず、オオワシの収容原因のうち鉛汚染が30%と非常に高い割合を占め、オジロワシでも6%を占めていた。

【まとめ】ワシ類の収容原因として、ほとんどが人為的な要因が関連していることが明らかとなった。過去の傾向と同様に外傷性疾患が多いことは変わらないが、そのうち列車衝突の増加、またオジロワシにおける風車衝突の増加が顕著に見られた。さらに鉛による汚染も依然として継続しており、ワシ類に致命的な影響を及ぼしていることが明らかとなった。それぞれの原因に対し、予防や保全対策が試みられているが、風力発電施設の増加、エゾシカの個体数増加に伴い轢死事故が増え、それを餌とするワシ類も二次的に事故に巻き込まれるといった新たな軋轢も明らかとなり、今後も経年変化を分析し、実状に応じた保全対策を講じる必要がある。

公-17

## 2012年度酪農学園大学野生動物医学センター教育研究事例報告

浅川満彦

酪農大獣医寄生虫

2008年来、本学獣医学研究科が代表となる私立大学戦略的研究拠点形成支援事業「生産動物・野生動物への環境汚染物質影響と感染症との関連性解明による防御対策」において、野生動物医学センター（以下、WAMC）は野生・動物園水族館・特用家畜・エキゾチックペットなどの様々な動物を対象に疫学検査や傷病個体の入院・リハビリなどの責務を担っている。当事業は今年が最終年度となるために、総括と次年度申請の準備段階にある。前年度報告で対象動物を鳥類に絞り、その渡りの侵入門戸となる本道のほか南西諸島での調査を進めていることを述べた。その結果、前年度の引き続き、外来種を含む野生および園館飼育種について寄生蠕虫学的新知見を得、刊行された。特に、エゾライチョウに関しては多くの新知見を得た。この種は本道で、いまなお狩猟対象種としての指定があるが、個体数および生息域の減少が著しいものである。大変貴重なデータとなろう。哺乳類の調査としては、本学獣医学部が主体的に取り組む東日本大震災被災地・宮城県石巻でのものに参加している。WAMCとしては現地に2011年8月から2012年5月までに4回、ハツカネズミ、アカネズミなどについてその病原対保有状況を検討している。これまでのところ、住民への健康被害に直接関わる証拠は得ていない。新たな試みとしては道内の自然史系博物館あるいは園館との共同で様々な動物の蠕虫症診断や疫学について着手した。特に、札幌市円山博物館でもシカを含む大型草食獣および猛禽類の糞便の通年検査、小樽水族館の飼育鯨類の噴気（ブロー）性状のモニタリングなどである。今後は、WAMCと近接する道内園館との関係構築を重要課題として、さらに研究を教育にも積極的に還元していきたい。そのような新たな教育・啓発事例についても言及したい。