

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 門 平 睦 代
(帯広畜産大学)

【座 長】

第 1 日 9月11日(金)

会場 (B 1 号館101)

演題番号

1 ～ 4 小森 博司 (根室保健所)

5 ～ 8 臼井 優 (酪農大)

9 ～12 松村 康和 (酪農大)

13～15 古崎 洋司 (渡島保健所)

16～18 黒澤 信道 (NOSAI 道東)

会場 酪農学園大学

[審査員]

門 平 睦 代 (帯広畜産大学)
坪 田 敏 男 (北海道大学)
松 村 康 和 (酪農学園大学)
堀 内 基 広 (北海道大学)
清 水 俊 一 (道立衛生研究所)
渡 辺 健 一 (道保健福祉部)
黒 澤 信 道 (NOSAI 道東)

公-1

と畜検査員資質向上のための取り組みについて～所内向け資料集の作成～

○根本卓弥¹⁾ 吉岡えりな²⁾ 遠藤敏郎¹⁾

1) 帯広食肉衛検 2) 帯広保健所

【はじめに】平成13年のBSE発生以降、消費者の食の安全への関心が高まる中、公衆衛生獣医師が不足している現状にあり、今後の社会的ニーズに対応するために獣医師の資質向上の重要性が増しているところである。これまで、新規採用のと畜検査員への研修はOJT(On the Job Training)方式により実際の検査を実施することがほとんどである。また、当所においては、所管と畜場が複数であることや、と畜処理頭数が多いことなどから、検査員全員が一堂に会して情報を共有する場が少ないことが課題となっていた。この度、症例写真データを集積した資料を作成し、検査員同士の情報共有を図ることとと畜検査員の資質向上に役立てる取り組みを行ったので報告する。

【取り組み内容】①症例報告集の回覧：検査で見られた症例の肉眼写真を掲載した症例報告書を各検査員から提出してもらい毎月所内回覧した。報告書には疾病に関する学術的情報や廃棄に至るまでの経緯および精密検査の概要を盛り込み、他の検査員が見ても検査の一連の流れがわかるようにした。②一部廃棄の肉眼写真集の作成：日常検査で見られる一部廃棄事例を中心に臓器別疾病別にまとめ、同一疾病でも病変部の大きさや色調の違いを比較できるようにした。③衛生通信の作成：検査に携わる頻度が少ない嘱託職員を対象に重要な衛生管理方法について衛生通信としてまとめて回覧した。

【成果】資料作成により職員全員で情報を共有することができ、症例について論議する機会が増えた。また、新規採用者に対しては、検査前後における自己学習の材料として利用することができた。さらに、勤務日がそれぞれ異なる職員へも同一内容で有効に研修ができた。

【今後の対応】病理組織所見の追加や更なるデータ集積を行い、他の検査機関で活用できるよう資料の充実化を図ってみたい。

公-2

と畜場で発見された豚丹毒菌 *Erysipelothrix rhusiopathiae* に関する分子疫学調査○大野祐太¹⁾ 池田徹也²⁾ 清水俊一²⁾ 横山光恵³⁾ 古崎洋司⁴⁾

1) 早来食肉衛検 2) 道衛研 3) 名寄保健所 4) 渡島保健所

【はじめに】昨今、全国的に豚丹毒の発生が増加傾向にあるというが、早来、帯広および八雲食肉衛生検査所(以下、食検)においても同様に豚丹毒の発生件数は増加傾向にあることから、各食検で分離された豚丹毒菌について調査した。さらに、急性敗血症型豚丹毒で死亡した豚に由来する豚丹毒菌を石狩家畜保健衛生所から供与され、道内で発生している豚丹毒の毒性について比較検討した。

【材料および方法】早来食検、帯広食検、八雲食検、石狩家畜保健衛生所で分離した豚丹毒菌株全92株を用いた。*spaA*の可変領域をシーケンスし、ATCC19414株を基準に変異を検索した。また、制限酵素 *Sma* I を用いてパルスフィールドゲル電気泳動(以下、PFGE)を行った。薬剤感受性試験は5つの抗菌薬 DOXY、OTC、LCM、EM、ABPCのMICを寒天平板希釈法で測定し、耐性がみられた株について薬剤耐性遺伝子 *tet* (*M*)、*tet* (*K*)、*lsa* (*E*)の有無をリアルタイムPCRで判定した。

【結果】*spaA*の変異は急性敗血症型豚丹毒由来の5株のみT609Gの変異がみられ、他は変異のないものを含め3パターンに分けることができた。それらは概ねPFGEによる系統樹のグループ分けと一致したが、一部で例外が見られた。薬剤感受性はEMとABPCが全株で感性、DOXYとOTCは同じ8株で耐性、そのうち7株はLCMにも耐性であった。耐性があったうち5株では*tet* (*M*)が、7株では*lsa* (*E*)が増幅されたが、*tet* (*K*)は増幅されなかった。

【考察】*spaA*の変異を見る限り、と畜場で心内膜炎型として発見される豚丹毒と、急性敗血症型の豚丹毒は区別されたが、PFGEにおいては急性敗血症型由来株と80%以上の相同性を示す株が3つの食検で分離されており、95%以上を示すものもあったことから、遺伝的に遠縁であるとは言いきれない。薬剤耐性菌の分布は、急性敗血症型由来株が5株とも3種類の薬剤耐性を示した一方、心内膜炎型では86株中3株のみであったことから、深刻な状況ではないと考えられた。

公-3

乳廃牛のと畜検査における第四胃変位手術の所見

○平下俊治¹⁾ 上林亜紀子²⁾ 瀬戸萌未²⁾ 一戸佳奈²⁾ 高橋 守³⁾

1) 日高食肉衛検 2) 八雲食肉衛検 3) 岩見沢食肉衛検

【はじめに】搾乳牛の第四胃変位は古くから知られる周産期疾病であり、多くは開腹手術により治療されている。また、搾乳牛は使用価値喪失後にと畜場へ搬入されて食肉として市場に流通される。Nと畜場の搬入牛の約8割は乳廃牛で、と畜検査で腹壁と消化管の廃棄が多い傾向を認め、開腹手術との関連を疑い、と畜検査所見および第四胃変位整復手術実施状況を調査比較した。

【材料および方法】2014年9月～11月に搬入されたホルスタイン種、雌、25カ月齢以上1020頭を用いた。解体後検査で、手術牛および手術方法を推定しNOSAIへのアンケート調査により確認した。手術牛と非手術牛で、年齢、搬出地区、栄養状態、消化管廃棄率、消化管所見(①病変なしと第四胃固定部位の癒着および第二胃や第四胃漿膜面に軽度の充血があるものと、②第四胃固定部位以外に癒着が広がり第二胃、第四胃漿膜面に炎症反応物の析出、肥厚、水腫等の炎症反応、大小腸、第一胃や第三胃への炎症の波及や膿瘍形成があるもの)を比較した。アンケート項目(手術経過日数、手術環境、手術方法、第四胃変位方向)ごとに消化管所見を比較した。腹壁の縫合痕、第四胃固定痕で病理組織検査、微生物検査を実施した。

【成績】1,020頭中210頭を手術牛と判断した。生体検査で年齢と栄養状態から手術牛の判定は困難であり、解体後検査で腹壁と第四胃の手術痕により手術牛の判別は可能であり、手術法は開腹手術である傍正中切開法と右臍部切開法および非開腹手術であるピン吊り法の3種が確認できた。消化管廃棄率では手術牛は非手術牛より有意に高く、また開腹手術は非開腹手術より有意に高かった。切開部位および第四胃固定部位腹壁の病理検査で変性、萎縮、真菌を、細菌検査で環境性細菌を認めたが、腹壁の廃棄率は傍正中切開法61.2%、右臍部切開法75.9%であった。手術経過日数、手術環境、手術方法、第四胃変位方向と消化管所見には相互関係を認めた。

【考察】食肉の安全確保を図るためと畜検査では、搾乳牛の第四胃変位手術は日常化していることを念頭に置き、腹壁や第四胃の手術痕、消化管の高廃棄など第四胃変位手術牛の特徴的所見や残糸の蓋然性を把握し、適切な措置を行うことが大切であると考え。今後、乳廃牛の食品への転化効率の向上に向け、本調査結果の臨床獣医師への情報提供を考えている。

公-4

牛にみられた紡錘形細胞肉腫の1例

○秋山貴洋 館江弘明 松本斉子 通山佳之

帯広食肉衛検

【はじめに】と畜場法に基づくと畜検査において腫瘍は廃棄対象疾病であり、発生部位が局限している場合は一部廃棄、複数臓器に多発していた場合は全部廃棄処分となる。当所においては、平成26年度に牛の全身性腫瘍として58頭が全部廃棄処分されたが、50頭は牛白血病であり、その他の腫瘍の発生は少ない。今回、紡錘形細胞肉腫と診断された家畜ではまれな症例に遭遇したので、その報告をする。

【材料および方法】症例は平成27年2月にと畜された126カ月齢のホルスタイン種経産牛であった。生体検査時に軽度の削瘦が認められ、解体検査時に肺・腎臓・子宮等に多発する腫瘍が存在した。当該畜は保留処分とし、心臓・脾臓・肝臓・肺・腎臓・子宮・胸骨リンパ節・筋肉を採材し、10%ホルマリン固定後、定法に従い包埋、薄切をした。作成切片にHE染色、マッソントリクローム(MT)染色、PTAH染色を実施し、病理組織学的検索を行った。なお精密検査の結果、当該畜は全身に多発する腫瘍として全部廃棄処分された。

【結果】肺は両葉にびまん性に1～10 cm 大の大小様々な腫瘍が多発していた。腎臓には皮質に局限して5 mm～3 cm 大の腫瘍が多発。子宮では子宮角漿膜下に2 cm 大の腫瘍が2つ存在した。その他胸壁や横隔膜両脚の筋肉内などに孤立性～房状の2～10 cm 大の腫瘍が認められた。いずれの腫瘍も白色を呈し、球形～多角形で充実性、限界明瞭で弾力性を有した。また内部に黄白色の壊死巣が散見された。組織学的に、肺・腎臓・子宮・リンパ節・筋肉の腫瘍において紡錘形細胞の腫瘍性増殖が認められた。腫瘍細胞は錯綜配列を呈し、好酸性で紡錘形～類円形の細胞質と、長楕円形～類円形でクロマチン粗な核を有した。また核の大小不同や核分裂像が多数みられた。MT染色では青藍色に染まる膠原線維が腫瘍細胞間を走行し、腫瘍細胞の細胞質は赤色を呈した。PTAH染色で腫瘍細胞は一部青紫色を呈し、横紋構造は認められなかった。

【考察】紡錘形細胞は神経系・平滑筋系・線維性組織が由来とされるが、そのいずれにおいても全身転移を伴う報告は少ない。組織学的な特徴から悪性末梢神経鞘腫瘍、平滑筋肉腫、線維肉腫のいずれかが疑われたが確定できなかったため、診断名を紡錘形細胞肉腫とした。いずれの腫瘍も家畜での発生はまれである。確定には免疫組織化学等が必要となるので、今後さらなる検索を進めていきたい。

公-5

Streptococcus suis による豚の疣贅性心内膜炎多発例と分離株の解析

○小林亜由美 和田好洋

石狩家保

【はじめに】*Streptococcus suis* は豚レンサ球菌症の原因菌で、豚に髄膜炎や心内膜炎等を起こし、また、ヒトにも感染するため人獣共通感染症としても重要である。*S.suis* は、35種類の血清型に型別されるが、病豚および患者由来株の多くは2型である。近年、と畜場では豚の疣贅性心内膜炎から血清型2型の*S.suis* が高率に分離されているが、その農場には偏りがあるとの報告がある。今回、母豚35頭を飼養する一貫経営豚場（A農場）で、平成25年に4～7カ月齢の肥育豚が發育不良・チアノーゼを呈し、疣贅性心内膜炎による死産が多発したので、その概要ならびに*S.suis* による疣贅性心内膜炎の多発要因検討のため、当該農場分離株と平成22～24年にと畜場で分離された管内他農場の心内膜炎株の解析を実施したので報告する。

【材料および方法】生体2頭および死体4頭の病性鑑定で分離されたA農場心内膜炎株4株、およびと畜場分離心内膜炎株4戸9株（疣贅性心内膜炎から*S.suis* が多く検出されていたB農場6株、C～E農場各1株）を用い、各血清型特異的遺伝子を検出し血清型推定を行うマルチプレックスPCRによる莢膜形成遺伝子（*cps*）型別および上記PCRから推定される血清型の型別用抗血清を用いた共凝集反応による血清型別を実施した（動物衛生研究所で実施した）。

【結果】A農場株は、*cps* 型別では4株すべて*cps* 2型に型別されたが、血清型別では2株が2型、2株が型別不能であった。と畜場株は、B農場株は6株中5株が*cps* 2型で内3株が血清型2型、1株が1/2型、1株が型別不能で、他1株は*cps*・血清型ともに型別不能、C・D農場株は*cps*・血清型ともに2型、E農場株は*cps*・血清型ともに型別不能であった。

【考察】今回、疣贅性心内膜炎が多発したA農場およびと畜場で疣贅性心内膜炎から*S.suis* が多く検出されていたB農場では、*cps* 型別で2型に型別された株のうち血清型別不能だった株がそれぞれ4株中2株（50%）と5株中1株（20%）あった。*S.suis* は、莢膜の抗原性の違いにより血清型別されるが、莢膜欠損株では型別不能となる。*cps* 型別で血清型2型と推定される株のうち心内膜炎由来株では約3割の株で莢膜を欠損し、莢膜欠損株は莢膜発現株に比べ豚血小板に対し高い付着能を有し、心内膜炎の発症に有利に働くとの報告がある。そのため、A、B農場で分離された*cps* 2型の血清型別不能株は莢膜を欠損している可能性が示唆され、莢膜欠損株の浸潤が疣贅性心内膜炎の多発要因と推察された。

公-6

と畜検査で見られた人獣共通感染症の効果的な情報提供のための時系列分析の利用○足立泰基¹⁾ 蒔田浩平²⁾

1) 釧路保健所 2) 酪農大衛生・環境学

【はじめに】我々は、農場における衛生状態を把握するのにと畜検査データの時系列分析が有用であることをこれまで示してきた[1、2]。今回、と畜検査で見られる人獣共通感染症であるエキノコックス症の豚への感染数（率）を生産者へ効果的に情報提供するために時系列分析が有用であることを示唆する知見を得たので報告する。北海道東藻琴食肉衛生検査所では、と畜検査で肝臓にエキノコックスによる寄生虫性結節が認められた豚の生産者に対して、廃棄率が基準値を超えた場合に情報提供しているが、生産者によってはあまりにも頻繁（2カ月に1回程度）に送付されているために重要視されていない場合もある。しかし、基準値を上げるとまれにしか発生しない農場に全く情報提供されなくなってしまうという問題が起こる。そこで、時系列分析によって廃棄数の期待値を計算し、急激な廃棄数の増加時を統計的に検出してこれを情報提供のタイミングとすることにより、対策の必要性が高い時期のみに絞ることができないかを検討した。

【材料および方法】北海道東藻琴食肉衛生検査所管内と畜場においてエキノコックスによる寄生虫性結節で廃棄となった肝臓の農場ごとの月末集計数をデータとして用いた。検討したモデルは、ポアソン回帰、負の二項回帰、ゼロ過剰ポアソン回帰およびゼロ過剰負の二項回帰の4種類で、赤池情報量規準（AIC）をもとにモデル選択を行った。推定されたモデルより、期待値および70～90パーセンタイル値を計算し、各パーセンタイル値を実際の廃棄数を超えた回数をカウントして実際に情報提供した回数と比較した。

【成績】エキノコックス症多発生産者（126カ月間に63回送付）のデータを用いたモデリングでは、ゼロ過剰負の二項回帰を用いたモデルが最も低いAICを示した。ゼロ過剰負の二項回帰によって作成したモデルにより計算した70、80および90%各パーセンタイル値を超える廃棄数が認められた月度は、29、19および6回であり、対照生産者（126カ月間に9回送付）のデータを用いた場合には23、12および9回であった。

【考察】パーセンタイル値を基準として情報提供を行うことにより、一般農家への送付回数を大きく減らさずに多発農家への送付回数をコントロールできることが示された。また、送付タイミングとして示された時期は廃棄数の急増時期にあっており、本法の有用性が示された。

1. 日本獣医師会雑誌 Vol.68 (2015), No.3 p. 189-197

2. J Vet Med Sci, Vol.77 (2015), No. 9 (to be published)

公-7

犬猫業務に関する住民の理解度調査と理解向上への取組み

○藤川しのぶ¹⁾ 懸田憲二¹⁾ 保坂直美²⁾ 成澤昭徳³⁾ 渡邊昌彦⁴⁾ 中井康介⁵⁾ 横山 恵⁶⁾

1) 江別保健所 2) 千歳保健所 3) 岩見沢保健所 4) 滝川保健所 5) 深川保健所

6) 岩見沢食肉衛検

【はじめに】犬猫等の虐待・遺棄防止や終生飼養に対する動物愛護への関心が高まる中、道立保健所を含む各振興局における犬猫の引取りや殺処分を減らすための取組みにより、H24年度に譲渡が殺処分を上回った。しかし、所有者不明の犬猫の抑留や保護、所有権の放棄により、依然として年間数千頭が収容されている。また、収容された犬猫の飼い主への返還数が非常に少なく、全てを譲渡するのは困難であるため、「殺処分ゼロ」には至っていない。これらの要因として、鑑札等の装着や飼い主の責任等の知識、道が行っている譲渡事業が広く一般住民に浸透していないことが考えられた。そこで、犬猫業務に関する理解度を調査するとともにリーフレットの配布を行い、住民の理解を深めたいと考えた。

【方法】平成27年3月～6月に石狩・空知管内の一般住民を対象にアンケート調査およびリーフレットを配布した。

【結果】1) 犬の登録と狂犬病予防注射がともに飼い主の義務であることを74%の人が知っているという回答したが、犬の飼育歴のない人と40歳未満ではそれぞれ52%、53%であった。2) 犬の登録・注射を保健所で行っているという回答の割合は、年齢や犬の飼育歴に関係なく高かった。3) 飼育している犬猫が逃げた際の連絡先が「役場・保健所・警察署の全て」という回答は10%だった。4) 迷い犬猫等の発見時の対応は、「放しておく」等という回答割合も高く、犬猫飼育歴のない人でその傾向が強くみられた。5) 保健所に収容された犬猫の保管日数については、90%が規定されているよりも長く回答した。6) 犬猫の飼育が不可能となった際の対応では「自分で新しい飼い主を探す」という回答の割合が高く、その約半数は行政や動物愛護団体にも相談をすると回答した。7) 譲渡事業については75%の人が知っていたが、それらの情報を保健所等のホームページ（以下 HP）上で公開していることを43%が知らなかった。一方で犬猫に関する情報発信の方法として最も良いという回答は HP であった。8) 道からの犬猫の譲り受け希望については、74%が希望しないと回答し、理由の多くは「飼育できる状況ではない」であり、保健所等に収容される犬猫そのものに対する否定的な意見は少なかった。9) 殺処分数を減少させるには、飼い主が責任をもつことが重要という回答が多かった。

【まとめ】犬猫業務には複数の機関が関わっており、それぞれの役割に関する部分で特に住民の理解度が低かった。また、犬猫飼育歴や年齢によって理解度に差があることが判明した。これらの結果を踏まえ、わかりやすく、効果的な周知方法や利用すべき媒体を検討し、現況等を積極的に発信することにより、啓発活動のさらなる強化に役立てたい。

公-8

MALDI-TOF 質量分析システムによる犬口腔内からの *Bergeyella zoohelcum* の検出○原谷那美¹⁾ 内田玲麻¹⁾ 郡山尚紀²⁾ 鈴木章夫³⁾ 堀内基広³⁾ 村松康和¹⁾

1) 酪農大衛生・環境学 2) 酪農大獣医保健看護学 3) 北大獣医衛生学

【はじめに】近年、様々な細菌において Matrix-associated laser desorption ionization-time of flight (MALDI-TOF) 質量分析システムを用いた菌種レベルでの同定が行われている。*Bergeyella zoohelcum* は犬をはじめとする各種動物の口腔内細菌で、海外では主に咬傷によりヒトに蜂巣炎や菌血症を引き起こすことが知られている。一方、我が国では犬口腔内における本菌の存在は明らかではない。今回、飼育犬の口腔内サンプルから同システムを用いて *B. zoohelcum* を分離・同定したので報告する。

【材料および方法】犬口腔内スワブサンプルを5%馬血液加寒天培地、ならびにヘモグロビン・PolyVitex (発育促進剤) 添加 GC 培地に塗抹し、35℃で培養後に釣菌したコロニーを用いて継代培養を行い、得られた単離菌株について MALDI-TOF 質量分析システム (MALDI-Biotyper) により菌種同定を行った。*B. zoohelcum* と同定された菌株について API20 NE に基づく生化学性状検査による菌種判定を行った。加えて、これら MALDI-Biotyper による同定菌株から抽出した DNA を鋳型として *Bacteroides* 門細菌の16S rRNA 領域を標的とした PCR を行い、得られた増幅産物を用いてダイレクトシーケンシングによる菌種同定を行った。

【成績および考察】MALDI-Biotyper により、飼育犬9頭から9株が *B. zoohelcum* と同定された。これらの菌株は生化学性状検査およびシーケンシングによる同定結果から、*B. zoohelcum* であることが確認された。以上の結果から、我が国の犬口腔内における本菌の存在が明らかとなった。今回の *B. zoohelcum* 検出は偶発的なものであり、犬をはじめとする各種動物における本菌保有率などについては今後さらなる調査が必要である。本分析システムの応用により、国内で未同定の人獣共通感染症細菌の分離・検出が促進されるものと期待できる。

公-9

犬由来大腸菌における16S-RMTase 遺伝子の保有状況

○昆 道葉 臼井 優 田村 豊

酪農大衛生・環境学

【目的】アミノグリコシド (AG) 系抗菌薬はヒトおよび獣医療で広く使用されているが、近年耐性菌が増加している。16S リボソーム RNA メチラーゼ (16S-RMTase) は、複数種類の AG 系抗菌薬に対し耐性を示す酵素であり、ヒト医療において多数の産生菌の報告がある。また、16S-RMTase 遺伝子は β ラクターマーゼ (*bla*) 遺伝子と共存することが多いため、多剤耐性菌となる危険性が高く、その拡散が懸念されている。犬はヒトとの接触が密であり、容易に保有菌が伝播することがあるため、犬由来菌から16S-RMTase 遺伝子が検出された場合、ヒトでの拡散の原因となっている可能性がある。そこで今回、犬-ヒト間での耐性菌伝播の可能性を解明すべく、犬由来大腸菌における16S-RMTase 遺伝子の保有状況を調査した。

【材料および方法】2005~2007年に分離した犬直腸便由来大腸菌212株を供試菌株とした。AG 系抗菌薬 5 薬剤 (ゲンタマイシン、アミカシン、ネオマイシン、アブラマイシン、アルベカシン) の感受性試験を行い、Y.Doï ら、D.M.Livermore らの基準により16S-RMTase 遺伝子保有候補株を選定した。候補株に対し16S-RMTase 遺伝子 (*armA*、*rmtA*、*rmtB*、*rmtC*、*rmtD*、*rmtE*、*npmA*) および *bla* 遺伝子を PCR 法により検出した。検出された16S-RMTase 遺伝子の塩基配列の決定を行い、さらに *bla* 遺伝子の共存および伝達性確認のため、接合伝達試験とプラスミド解析を行った。

【結果および考察】212株中2株 (0.9%) から *rmtB* が検出された。*rmtB* の塩基配列は2株で一致したが、ヒト医療で拡散している配列とは異なった。*rmtB* は、現在最も広範に拡散している16S-RMTase のひとつであり、ヒト医療現場で拡散しているものは *bla* 遺伝子と同一のプラスミド上に存在する。今回検出された2株は、*bla*_{TEM} を保有していたが、接合伝達試験の結果、*rmtB* と *bla*_{TEM} は同時に接合伝達されなかった。これは両遺伝子が同一プラスミド上に存在せず、ヒト医療で拡散している16S-RMTase 遺伝子含有プラスミドと異なることを示唆した。以上のことから、日本で飼育されている犬は低率ながら *rmtB* 保有大腸菌を保有しているが、犬が保有する耐性プラスミドはヒト医療で広がっているプラスミドとは異なることが示された。

公-10

と畜場搬入豚より分離されたメチシリン耐性黄色ブドウ球菌 (MRSA) の分子疫学的特徴

○佐藤友美¹⁾ 臼井 優¹⁾ 本谷 匠²⁾ 杉山照美³⁾ 田村 豊¹⁾

1) 酪農大衛生・環境学 2) 茨城県衛研 3) 茨城県県北食肉衛検

【背景および目的】MRSA は院内感染の主要な原因となるだけでなく、健康なヒトへ軟部組織感染症を起こすためヒト医療現場で重要視されている。近年海外でヒト由来株と性状の異なる家畜関連型 (LA-) MRSA を健康な家畜が高率に保有していることが知られており、流通食肉や畜産従事者からも分離され LA-MRSA を原因とする院内感染事例も報告されている。一方国内の家畜における MRSA についての調査は少なく実態は明らかでない。そこで本研究ではと畜場搬入豚の MRSA の保有率とその分子疫学的特徴を調査した。

【材料および方法】2013年2月~3月に茨城県の屠畜場へ搬入された21農家、豚100頭分の鼻腔スワブを採材し MRSA の分離を行った。分離株は SCCmec 型別、*pvl* 遺伝子、薬剤耐性遺伝子の検索、寒天平板希釈法による最小発育阻止濃度の測定および PFGE 解析を行った。*spa* typing と MLST 法により *spa* 型と ST 型を決定した。

【結果】3農家 (14%)、8頭の豚 (8%) から8株の MRSA が分離され、ST97-t1236-SCCmecV が5株、ST5-t002-SCCmecNT が3株で、全て *pvl* 陰性だった。PFGE の結果、同一農家で分離された株は100%の相同性を示した。全て ABPC、MPIPC に加え TC にも耐性を示し、7株 (88%) が CLDM 耐性だった。全て2種の *tet* 遺伝子 (*tet* (38) + *tet* (M) / *tet* (L)) を保有し、5株の CLDM 耐性株で *lnu* (B) を、2株の EM、CLDM 耐性株で *erm* (T) を保有していた。

【考察】過去の調査 (0.9%) に比べ MRSA 保有率が上昇し、国内の豚で MRSA が拡大している可能性が示唆された。海外の LA-MRSA の代表的なタイプである ST97-MRSA の国内の家畜からの分離は本調査が初であるが、その由来は不明であった。保有耐性遺伝子と耐性パターンは海外の LA-MRSA と類似していたことから海外株との関連が示唆された。ヒト由来株と異なり豚 MRSA が TC、CLDM に高頻度に耐性を示したのは、豚において両薬剤が飼料添加物や治療薬に多用されるためだと推察される。

公-11

農場間における薬剤耐性大腸菌伝播の実態調査

○若尾英之¹⁾ 猪子理絵²⁾ 白井 優¹⁾ 田村 豊¹⁾

1) 酪農大衛生・環境学 2) 帯広食肉衛検

【目的】近年、農場における薬剤耐性菌の出現および農場間での拡散が問題となっており、耐性菌の拡散を阻止するため伝播経路の解明が家畜衛生上の重要な課題となっている。これまでに野生動物等を介した伝播経路が推定されているが、その実態は明らかでない。そこで、耐性菌の農場間伝播や農場内での定着およびその伝播経路を明らかにするため、農場間の距離が極めて近い地域において近接する複数の農場の家畜やネズミが保有する大腸菌の性状について比較した。

【材料および方法】検体の採材は夏と冬の2回にわたって実施し、半径約4 km 圏内の鶏農場2カ所、豚農場4カ所、食鳥処理場1カ所を対象とした。各農場の家畜糞便、ネズミ直腸糞便より分離した大腸菌をBOX-PCRにより型別を行った。その後、BOX-PCRで相同性の高い株についてパルスフィールドゲル電気泳動法(PFGE)型別を行った。加えてアンピシリン(ABPC)、シプロフロキサシン(CPFX)、セファゾリン(CFZ)、セファタキシム(CFX)、カナマイシン(KM)、ナリジクス酸(NA)、スルファメトキサゾール(SMX)、テトラサイクリン(TET)などに対する薬剤感受性試験をCLSIに準拠した寒天平板希釈法により実施した。

【結果および考察】夏と冬の2回の採材で鶏由来124株、豚由来29株、ネズミ由来26株の大腸菌が分離された。家畜とネズミ間でPFGE型が同一の大腸菌は認められなかった。一方で異なる農場の鶏盲腸糞便から、また1つの農場の異なる鶏群からPFGEの型が同一の大腸菌がそれぞれ確認された。異なる農場間で同一PFGE型が確認された大腸菌は共にABPC、CFZ、KM、SMX、TETに耐性を示した。以上のことより鶏農場間、鶏舎間での多剤耐性菌の伝播が示唆された。なお、これは一度の採材における大腸菌伝播であり、夏と冬で期間を置いて分離された大腸菌にPFGE型が同一の株は認められなかったことから、大腸菌は農場において変遷していくことが示唆された。

公-12

ブロイラーから分離したサルモネラの薬剤感受性および分子疫学的解析

○柳沢梨沙¹⁾ 大野祐太¹⁾ 横山光恵²⁾ 古崎洋司³⁾ 佐藤友美⁴⁾ 池田徹也⁵⁾ 清水俊一⁵⁾

1) 早来食肉衛検 2) 名寄保健所 3) 渡島保健所 4) 酪農大衛生・環境学 5) 道衛研

【はじめに】サルモネラによる食中毒は汚染された食肉や卵が主な原因として知られている。またサルモネラは多剤耐性化が問題となっており、食品を介する耐性菌の伝播が危惧される。当所では平成18から19年にかけて管内食鳥処理場に搬入されたブロイラーから分離されたサルモネラにおいて薬剤感受性試験を実施し、多くが4ないし5剤耐性であった。その後8年経過し、同農場における薬剤耐性動向を把握するため、今回、寒天平板希釈法によるMICの測定および、薬剤耐性遺伝子の検出、PFGE法により菌株毎の近縁性について検討を行った。

【材料および方法】平成18から19年までに盲腸便から採取・分離したサルモネラ6農場6株(以下H18-19株)および、平成27年に同様に採取・分離した6農場18株(以下H27株)を使用。薬剤感受性試験は10種類の薬剤についてMICを測定。薬剤耐性遺伝子は*aphA1*、*tetA*、*aadA1*、*bla*_{CMY-2}、*bla*_{TEM}について、リアルタイムPCR法で検出した。PFGE法は制限酵素Bln I、Xba Iを用いた。

【成績】分離されたサルモネラは全てInfantisであった。MICの結果は、H18-19株では6剤耐性が2株(33%)、5剤耐性が2株(33%)、H27株では6剤耐性が2株(11%)、5剤耐性が8株(44%)だった。耐性遺伝子としてH18-19株、H27株の順に*tetA*で5株(83%)、15株(83%)、*aadA1*で5株(83%)、11株(61%)、*aphA1*で4株(67%)、7株(39%)検出したが、*bla*_{CMY-2}、*bla*_{TEM}はいずれの株からも検出されなかった。PFGE解析では制限酵素Bln I処理で86%以上、Xba I処理で89%以上の相同性を示した。

【考察】薬剤感受性試験で耐性を認めた菌株と耐性遺伝子の検出に相関を認めた。H18-19株とH27株において各薬剤に対する耐性菌の出現率に大きな変化は見られなかった。また、PFGE解析により、6農場全てにおいて8年前の菌株と極めて高い近縁性が認められ、常在していることが示唆された。肥育農場での常在化、あるいは農場間で共通している孵卵農場や処理場で常在化しているものを持ちこんでいる可能性がある。農場の衛生管理の方法を見直すことが、食鳥肉のサルモネラ汚染率の低下およびサルモネラによる食中毒発生の予防につながると考える。今後、新しい農場への広がりや、常在化している汚染源の特定等について、関係機関と協力して継続的に調査していきたい。

公-13

外国人従事者に対する衛生講習会の効果について

○伊藤直人¹⁾ 奥野尚志¹⁾ 深瀧弘幸²⁾ 遠藤敏郎¹⁾

1) 帯広食肉衛検 2) 東藻琴食肉衛検

【はじめに】食肉衛生検査所（以下食検）にとって、所管すると畜場、食鳥処理場の従事者に対する衛生指導は、と畜検査や食鳥検査と並び重要な仕事である。食検では衛生的な食肉、食鳥肉の生産のために衛生監視や講習会を含めた衛生指導を行っている。近年、道内と畜場、食鳥処理場で外国人技能実習生（以下実習生）を受け入れ、食肉処理や食鳥処理に従事させる例が増えている。実習生は、文化や衛生知識が日本人従事者と異なり、言語の違いにより衛生指導に困難を伴う場合がある。

【実施状況】当所が所管する大規模食鳥処理場（以下A処理場）でも平成15年からタイ人実習生を受け入れ始めており、実習生に対する衛生指導について当所に相談があった。当所では、タイ語の単語を記入したポスターを作成し、食品衛生の基本である手洗いや5S（整理、整頓、清掃、清潔、習慣）、食中毒についての講習を実施していたが、昨年度はタイ語を交え、箱とあめ玉を用いた実演形式で整理整頓について講習を行った。

【効果】講習を受けたタイ人実習生からは「内容の理解ができた。」という意見があった。また、A処理場側からは「講習後、タイ人実習生が整理整頓を心がけるようになり、手やまな板などの洗浄も小まめに行うようになった。衛生意識に変化が見られたようだ。」という意見もあったことから、当所で行った講習は、タイ人実習生の衛生に対する知識や意識の向上に効果があったと考えられた。

【まとめと今後】言葉の通じない実習生に対しては、絵や実演といった「目で見てわかる」講習を行うことが非常に効果的で理解につながった。また、「目で見てわかる」講習は実習生のみではなく、一緒に受講した日本人従業員からも「衛生意識の向上につながった。」という意見もあり、処理場全体の衛生レベルが引き上げられ、より衛生的な食鳥肉の生産に寄与するものと考えられた。A処理場からは同様の講習の継続を要望されていることから、今後も続けて行うことでさらなる衛生レベルの向上を目指していきたい。

公-14

脂肪注入加工した牛ステーキ肉の実態調査および加熱方法の検証

○水野文子¹⁾ 佐藤恵子¹⁾ 松本勝則¹⁾ 前野俊幸¹⁾ 藤川しのぶ¹⁾ 田島美智代¹⁾ 青木力也¹⁾ 池田徹也²⁾

1) 江別保健所 2) 道衛研

【はじめに】平成26年に本州のステーキチェーン店で腸管出血性大腸菌（以下EHEC）の食中毒事例があり、脂肪注入加工肉（以下加工肉）を使用したステーキの加熱不良に起因することが明らかになった。本研究では、加工肉のリスクを評価し、安全においしく食べられる加熱方法を検証して加工業者および飲食店へ情報還元することを目的とした。

【材料および方法】1) 加工肉のリスク評価：加工業者が自主検査（簡易法）にてEHECおよびサルモネラ属菌陰性とした牛ステーキ肉（脂肪注入前43検体、注入後66検体）について、通知法によるEHEC検査および、NIHSJ（標準試験）法によるサルモネラ属菌検査を行った。2) 飲食店における調理実態：ステーキ提供を行っている飲食店18施設に対して調理方法の聞き取り調査を行った。3) 加熱実験による温度動態：加工肉の加熱実験について、ホットプレートを用いて行い、肉の中心温度や表面温度の動態を、温度センサーやサーモグラフィーを用いて記録した。また、加熱条件別に官能検査を行い、食味評価を行った。

【結果および考察】1) 細菌検査では、全検体でEHEC（通知法の6血清群）とサルモネラ属菌は陰性となった。しかし、一部の検体からは*stx1*, *stx2*や*eae*遺伝子を検出したことから、これらの遺伝子を保有する大腸菌の存在が示唆された。2) 加工肉を使用していたのは、3施設17%であった。ステーキを焼くときの指標は、①時間（14施設、うち測定ありは7施設）、②焼き色（13施設）、③温度（7施設、うち中心温度測定ありは1施設）があげられたが、経験や勘で調理を行う施設が多く認められた。加熱時間の平均は2分47秒、加熱時に蓋をするのは3施設17%、重しを載せて焼くのは2施設11%であった。牛肉由来の食中毒について89%の施設が知っていたが、安全な加熱温度を「75℃以上」と回答できたのは、わずか33%であった。食肉の食中毒について知識はあるが、予防方法について浸透していないことが明らかになった。3) 加熱実験では、肉の表裏を6分以上加熱しても中心温度が75℃に達しなかった。しかし、蓋をした場合は、表裏4分の加熱で75℃に達した。さらに後者は、食味も良く、柔らかいなど評価は高得点であった。

公-15

オホーツク管内で食肉処理されたエゾシカの衛生実態調査

○黒澤拓也¹⁾ 深江征雄¹⁾ 大野博士¹⁾ 塚本絢己²⁾ 村松康和²⁾

1) 東藻琴食肉衛検 2) 酪農大衛生・環境学

【はじめに】北海道では、エゾシカによる農林業等被害の拡大防止のため、捕獲による個体数管理を行い、捕獲個体の食肉利用を推進している。しかし、エゾシカ肉の衛生に関する調査は少なく、衛生管理の向上のためにデータの蓄積は重要だと考える。そこで、我々は糞便中の腸管出血性大腸菌 O157（以下 O157）保菌状況と枝肉の微生物汚染の状況について調査した。

【材料および方法】平成27年2～3月に道東地域から捕獲し、知床にある養鹿施設で一時養鹿されたエゾシカ40頭について、と殺解体時の糞便採取および枝肉の拭取り検査を実施した。1) 糞便検査：直腸便をノボジオシン加 mEC 培地で増菌培養後、免疫磁気ビーズ法により XM-EHEC 培地・CT-SMAC 培地で分離培養した。O157を疑うコロニーに対し CLIG 培地で生化学性状によるスクリーニングをした後、O157抗原に対する血清凝集試験を行った。その後ペロ毒素共通領域に対する PCR を実施し、陽性株に対し生化学性状試験による同定と O 抗原特異領域等（O157、O111、O26、stx1/stx2、eae）を標的とする PCR を実施した。2) 枝肉拭取り検査：洗浄後の枝肉胸部および肛門周囲をそれぞれ100 cm²拭き取り、標準寒天培地とトリコロール培地を用いて一般細菌数と大腸菌数・大腸菌群数を測定した。また、同様に拭き取った胸部と肛門周囲を合わせて1検体とし、ノボジオシン加 mEC 培地で増菌後にイムノクロマト法を用いて O157検査を実施した。

【結果および考察】糞便、枝肉拭取りともに O157は不検出であった。しかし、凝集試験陰性の66菌株中11菌株は *Escherichia coli* と同定され、腸管出血性大腸菌の病原性関連遺伝子である *stx1* および *eae* 遺伝子を保有していた。今後、これら菌株に対し血清型別を含めた検査を実施して食品衛生上の危害について検討したい。一般細菌数の構成割合は、胸部で10 cfu/cm²未満が72.5% (29/40)、10～10² cfu/cm²が22.5% (9/40)、10²～10³ cfu/cm²が5% (2/40) であり、肛門周囲では10 cfu/cm²未満が15.4% (6/39)、10～10² cfu/cm²が61.5% (24/39)、10²～10³ cfu/cm²が23.1% (9/39) であった。また、大腸菌数・大腸菌群数は、肛門周囲の40検体中4検体で4.8～44 cfu/cm²の範囲で検出された以外は、胸部40検体すべて、肛門周囲残りの36検体で測定限界未満 (< 3 cfu/cm²) であった。これらの結果は、一般のと畜場で解体された牛や豚と同程度かそれ以下であることから、今回調査した施設は衛生的にエゾシカをと殺解体していたと考えられた。今後も同様の調査を継続することで、年間を通じたデータを蓄積し、エゾシカ肉の衛生管理の向上に寄与していきたい。

公-16

2015年における酪農学園大学野生動物医学センター WAMC の活動報告

○浅川満彦¹⁾ 佐野忠士²⁾ 鈴木一由³⁾ 遠藤大二⁴⁾1) 酪農大感染・病理学 2) 酪農大獣医保健看護学 3) 酪農大生産動物医療学
4) 酪農大生体機能学

2004年以来、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において、野生動物医学センター 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さまざまな動物を対象に研究活動を展開し、その概要を本大会で報告してきた。本要旨作成時点（2015年5月末）で、WAMC を拠点に活動するのは5/6年学部学生計6名、大学院博士課程2年1名、大学院研究生2名および学術振興会 RONPAKU プロジェクト事業研究員1名（インドネシア国立生物科学研究所 LIPI）である。当該大学院生は神戸どうぶつ王国の動物診療室に勤務しつつ、飼育鳥類の健康管理・防疫を兼ね、国立研究開発法人国立環境研究所の大沼 学主任研究員の指導により博士論文研究「日本国内に鳥インフルエンザウイルスを持ち込んでいる鳥種」に取り組んでいる。また、学振研究員の博士論文「インドネシア産ネズミ亜科動物（齧歯目ネズミ科）の寄生線虫における分類および動物相に関する研究 ―特に蟯虫類 *Syphacia* 属の生物地理について―」が本学獣医学研究科に提出されて審査中である。さらに、昨年来の科研費研究「動物園水族館動物に密かに蔓延する多様な寄生虫病の現状把握とその保全医学的対応」も多くの動物園水族館との共同研究により結果が得られつつある。この中には研究生が所属する釧路市動物園と到津の森公園のものも含まれ、特に後者については今回の共同演者である佐野と鈴木とが中心的に支援をしている。教育・啓発面においても、第21回日本野生動物医学会江別大会の運営や本学と学術交流協定にあるベトナム・ハノイ農業大学講師を今回の共同演者である遠藤と共同で受け入れて研修指導しており、新規活動も追加されたので紹介をしたい。

公-17

アマミノクロウサギの消化管寄生蠕虫相調査

○松本亮祐¹⁾ 吉田 敦¹⁾ 福本真一郎¹⁾ 伊藤 結²⁾ 鑑 雅哉²⁾ 木元侑菜²⁾ 服部正策³⁾ 倉石 武³⁾

1) 酪農大感染・病理学 2) 環境省奄美野生生物保護センター 3) 東大奄美病害動物研究施設

【はじめに】アマミノクロウサギ *Pentalagus furnessi* (以下クロウサギ) は、奄美大島と徳之島のみ分布する希少種である。原生林開発による生息域の減少、交通事故に加え、マングース・野犬・野猫等の捕食により生息数は減少し、徳之島の個体は特に少なく絶滅が危惧されている。

クロウサギの内部寄生虫の報告は1980年代以降殆どない。我々は2007年から奄美大島クロウサギの死体の消化管寄生蠕虫や糞便検査の調査を行っており、線虫を中心に高率の感染を認めている。少数例であるが、徳之島産個体からも奄美大島産の個体と同じ2種の線虫を認めている。今回新たに2014年までに採取された奄美大島と徳之島のクロウサギの材料を用いて寄生虫学的検索を行った。特に徳之島産の個体からも初めて吸虫が認められ、両島での寄生虫相の比較を行なった。

【材料および方法】2008年から2013年の期間に奄美野生生物保護センターおよび東大医科研奄美病害動物研究施設に収容された奄美大島(23頭)と徳之島産(4頭)の計27頭分のクロウサギ冷凍保存消化管を用いた。消化管部位別に実体顕微鏡下で精査し、寄生虫体を回収した。虫体はエタノールに保存し、鏡検により形態学的に虫種の同定を行った。

【結果および考察】今回の調査では線虫3種 [*Obeliscoides pentalagi* (以下 OP)、陽性頭数19(70.1%; 胃); *Lagostrongylus leporis* (以下 LL)、24 (88.9%; 小腸); *Trichuris* sp. 1 (0.4%; 盲腸)] と徳之島の1頭(0.4%)の小腸から吸虫 (*Ogmocotyle* sp.) が検出された。OP と LL は徳之島と奄美大島ともに高い寄生率で多数寄生が再確認された。今回徳之島のクロウサギ小腸から検出された *Ogmocotyle* sp. は1986年に奄美大島のクロウサギ1頭から検出された *Ogmocotyle* sp. と同種と思われた。奄美大島と徳之島はわずか40 km しか離れていないが100万年間以上クロウサギは隔離されている。徳之島と奄美大島のクロウサギには同種の線虫(OP、LL)と吸虫が保存されていることが明らかになった。特に吸虫では中間宿主を含めた生息環境が永年両島で保持されてきたものと考えられる。

公-18

カンガルー病 (Lumpy Jaw Disease) を罹患した飼育下オオカンガルーの血漿エンドトキシン活性値

○佐々木春香¹⁾ 外平友佳理^{1,2)} 鈴木一由¹⁾ 佐藤綾乃¹⁾ 佐野忠士¹⁾ 土谷正和³⁾ 横田 博¹⁾浅川満彦¹⁾

1) 酪農大獣医学 2) 到津の森動物公園 3) Charles River Laboratories

【はじめに】カンガルー病 (LJD: Lumpy Jaw Disease) は飼育カンガルーでよくみられる下顎の腫脹や変形を伴った疾患であり、全身徴候を示すことからエンドトキシンによる全身性炎症の可能性が否定できない。しかし、エンドトキシンは実験室内機器で測定しなければならず、そして煩雑かつ時間を要するため必ずしも実用的ではない。近年、携帯用エンドトキシン測定システム (PTS) が Charles River 社より市販されている。従って、本研究では、PTS を用いて LJD 罹患カンガルーの血漿中エンドトキシン活性値の測定が可能か否かを、標準法である *Limulus Amebocyte Lysate* - カイネティック比濁法 (KTA) と比較し、相同性が得られたら PTSTM による血漿エンドトキシン活性値が LJD の診断能を有するか否かを ROC 解析により評価した。

【材料および方法】ひびき動物ワールド (福岡県) で飼育されている27頭のオオカンガルー (ハイイロカンガルー) で LJD 発症個体 (LJD 群: n=15) および健常個体 (健常群: n=12) の頸静脈から採血した。得られた血漿を20倍希釈後に80℃、10分間熱処理し、KTA を標準法として PTS 法によりエンドトキシン活性値を測定した。測定法による比較は Friedman 検定、相関性は Pearson product-moment correlation coefficient を用いて評価した。LJD 群と健常群の比較は Mann-Whitney U-test、LJD の診断能の評価は ROC 解析を用いた。

【成績】PTS 法は正確度および精度が高く、LAL-KTA ($r^2=0.915$, $p<0.001$) に対して有意な正の相関が認められた。LJD 群の血漿エンドトキシン活性値は0.326であり、対照群の0.100 EU/ml よりも有意に高値であった。また、ROC 解析により、血漿エンドトキシン活性値が0.230 EU/ml よりも高値であれば LJD と診断できることが示唆された ($p<0.05$, Se: 80.0%, Sp: 80.0%)。

【考察】20倍希釈、80℃、10分の加熱処置をして測定に用いたとき、PTS は KTA 法と測定値間で差は認められず、有意な正の相関が認められた。また、PTS により測定した LJD の血漿中エンドトキシン活性値は健常群よりも有意に高値であり、ROC 解析では診断能を有することが明らかになった。従って、LJD の病態生理学的解明においてエンドトキシンとの関連性を評価する必要性があることが示唆された。