

演題番号：2

演題名：*Aspergillus fumigatus*による食道真菌症の子牛の1例

発表者氏名：○前田洋佑、石井美玖、増子隆康、鹿野達也、高橋史昭、渡辺大作

発表者所属：北里大

1. はじめに：食道真菌症は真菌による食道感染症で、日和見感染症として生じることが多い。真菌の一種である *Aspergillus fumigatus* はアスペルギルス症の主たる原因菌で、各種マイコトキシンを放出し、組織侵襲性が高い。牛では肉芽腫性皮膚炎、肺炎、気管支炎、消化管潰瘍、流産、乳房炎などが報告されているが、食道真菌症の報告は見当たらない。今回、食渣の吐出を主訴とした子牛で、*A. fumigatus* による食道真菌症と診断した症例を経験した。

2. 症例：牛、黒毛和種、5カ月齢、雌、主訴は食渣の吐出であった。来院1ヶ月前前に発熱および消瘦のため獣医師による治療を受け、群飼育から個別飼育に変更した。その後、1週間前から食渣の吐出を認めるようになり、北里大学附属大動物診療センターに来院した。来院後の内視鏡検査で、咽頭炎に加え、上部食道全周に融合した白苔が厚く付着しており、一部で食道内腔を狭窄していた。洗浄しても白苔は剥がれず、背景粘膜は視認できなかった。特徴的所見から真菌を疑い、内視鏡下で生検して真菌培養を実施した。培養より2種の糸状菌および酵母様真菌が分離され、遺伝子診断により、*A. fumigatus*、*Rhizomucor pusillus*、*Hyphopichia burtonii* と判定された。検出された真菌のうち、尿管浸潤が激しく潰瘍性病変の原因となる *A. fumigatus* が今回の主たる原因と考えられた。

3. 治療および経過：治療は食道真菌症に対する抗真菌剤（アムホテリシンB製剤）の静脈内投与、咽頭炎に対する抗菌剤の筋肉内投与およびポビドンヨードの咽頭部噴霧を実施した。治療開始後から吐出の量は漸減していき、治療3週間後に吐出は認められなくなった。また、内視鏡で白苔の密度と厚みは著明に減少していた。治療2カ月後の時点で臨床症状は良好であるが、内視鏡で食道に斑状の白苔を認めるため経過観察している。

4. 考察：本症例は咽頭炎に加え、食道真菌症による食道内腔の狭窄が原因で食渣を吐出していたと考えられた。牛の食道真菌症は稀であるが、吐出の原因として鑑別が必要であり、診断には内視鏡が有用であった。また、抗真菌薬を中心とした治療で臨床症状の回復がみられたが、重症化した症例では治療に時間を要することが示唆された。

演題番号：3

演題名：黒毛和種子牛における腰椎の化膿性脊椎炎の1症例

発表者氏名：○岩月照忠、高橋史昭、朴天鎬、柿崎竹彦、田邊太志、前田洋佑、
鹿野達也、渡辺大作、

発表者所属：北里大

1. はじめに：椎骨の化膿性骨髄炎・脊椎炎は、その進行に伴い病的骨折や膿瘍形成による脊髄圧迫が生じ四肢の進行性麻痺や運動障害の原因となるが、牛での発生は稀で報告は少ない。今回、突然起立不能を呈した黒毛和種子牛について病理学的検査により腰椎の化膿性脊椎炎と診断したので報告する。

2. 材料および方法：(1) 供試動物；2 カ月齢の黒毛和種雄牛、体重 86kg。(2) 生前の検査項目；X線画像検査、疼痛反応および神経学的検査、CT・MRI 検査。(3) 安楽殺後の検査；病理学的検査および細菌学的検査を行った。

3. 成績：(1) 臨床所見；症例は来院 4 日前に突然起立不能となった。入院当初は平熱で元気・食欲があったが、後躯に力が入らず起立不能が続き、介助すれば短時間の駐立が可能であった。入院 4 日目から食欲低下し駐立もできなくなった。少量頻回の排尿がみられ、排便可能で肛門反射は弱いながらも認められた。疼痛反応の検査では後躯末端まで刺激に対して反応を認めず、前肢では正常な屈曲反射、後肢の屈曲反射および膝蓋腱反射の亢進を認めた。入院 6 日目の CT・MRI 検査において第 2 腰椎(L2)に局限した骨融解と脊髄の圧迫を認めた。抗生剤、消炎剤等で治療したが改善せず、入院 10 日目に安楽殺した。(2) 病理組織検査；L2 周囲の筋肉の浮腫、黄白色化および線維化、脊髄腹側の出血壊死、硬膜外側に 2cm 大の膿瘍を認めた。組織検査において①灰白質両側の背角での充出血を伴う軟化巣、軸索の消失・膨化・断片化、②脊髄中心管内腔の狭窄および上衣細胞の変性脱落、③L2 椎体頭側成長板の波状蛇行、融解・断片化・菲薄化、④椎間板—成長板間では壊死骨を認め、内部には細菌塊と線維化を認めた。肺では化膿性胸膜肺炎像が認められた。細菌学的検査では L2 の脊椎内スワブから *Fusobacterium necrophorum* が、肺右後葉スワブからは *Trueperella pyogenes*、および尿からは *Corynebacterium urealyticum* が検出された。

4. 考察：本症例では肺病変と脊椎病変を認めたが、分離された菌がそれぞれ異なり、肺炎病巣から L2 への細菌の血行性伝播は考えにくい。L2 周囲の筋肉病変、腹側の出血壊死および椎骨の病変から、1 カ月ほど前に L2 椎体部分に圧迫・亀裂が生じるような何らかの外傷があり、そこへ *F. necrophorum* が侵入し嫌気的環境下で増殖し、骨髄炎が惹起され膿瘍を形成した結果、運動障害が発症したものと推察された。

演題番号：17

演題名：片側性潜在精巣牛の内分泌学的検査による評価

発表者氏名：有山賢一、杉山ちさと、長井太一

発表者所属：(独) 家畜改良センター奥羽牧場

1. はじめに：肉用牛生産において、雄牛は、飼養管理の容易化、肉質の改善等を期待して去勢され、肥育される。潜在精巣等で外科的に去勢が完了していない場合に、残った精巣が、どの程度機能しているかを知り、必要な処置をすることは、安全な飼養管理を行う上で重要である。今回、片側性の潜在精巣を疑う2症例について、去勢手術の実施と内分泌学的検査を行い、若干の知見を得たので報告する。

2. 材料、方法及び結果：(1) 去勢手術：(独) 家畜改良センター奥羽牧場繋養の黒毛和種雄子牛を用いた。片側性の潜在精巣を疑う症例は、観血法による去勢（セラクター鎮静下で、左右陰嚢を切皮。精巣を確認出来たものについては精索を捻転させて、精巣を除去。目視で止血を確認、創縁を合わせた後、ヨード剤を噴霧して終了。術後感染予防のため、抗生物質を3日間筋肉内に投与。）を行った。症例1では、皮下に精巣を触知できたので、陰嚢に誘導し、正常精巣と同様に切除した。症例2では、切皮後、鼠径部皮下を精査したものの精巣を発見できず、正常精巣のみを切除した。(2) 内分泌学的検査：術後27日に採血し内分泌学的検査に供した。同日に去勢済牛、去勢前牛も採血して対照とした。3000回転で10分の遠心分離によって得た血清を用いて、抗ミューラー管ホルモン(以下 AMH) とテストステロン(以下 T)を臨床検査機関に依頼して測定した。ホルモンの測定結果は表1の通り。

	去勢手術 実施日齢 (日)	採血日齢 (日)	AMH値 (ng/ml)	T値 (ng/ml)
症例1	143	170	0.03	0.043未満
症例2	154	181	108.7	0.68
去勢前	-	157	70.6	0.808
去勢済	149	178	0.02未満	0.043未満

表1 ホルモン測定値

3. 考察：AMH、Tの測定は、今回のように精巣の有無を判断する指標として、利用可能である。しかしながら、残った精巣が機能していないことを結論づけるのは困難で、現状では精巣有りと診断した場合には、腹腔内にアプローチする去勢手術が必要となる。症例2では、セラクター鎮静下で左側臍部切開により開腹し、第1胃と腹壁間で鶏卵大の潜在精巣を触知し、切除した。切除した精巣については、肉眼的に精巣皮膜で通常観察される血管群の部分的消失が認められ、精巣機能に影響を及ぼしている可能性が示唆された。

演題番号：20

演題名：効率的な牛白血病ウイルス遺伝子検査方法の検討

発表者氏名：○林 敏展、齋藤 豪、佐藤尚人、渡部 巖

発表者所属：青森県青森家保

1. はじめに：地方病性牛白血病の対策について、農場全体の感染状況を把握することが重要であるが、多検体の牛白血病ウイルス遺伝子検査には労力と時間、経費を要する。そこで、今回、当該検査について、効率的な方法を検討したので、その概要を報告する。
2. 材料および方法：(1) 抽出方法の比較；牛白血球及び全血各 35 検体を用い、QIAamp DNA Mini [Qiagen] (以下、カラム抽出キット) 及び CellEase Blood [COSMO BIO] (以下、加温抽出キット) を用いて遺伝子を抽出し、nested PCR 法[Fechner ら] (以下、nPCR 法) での陽性率、作業時間及び経費を比較した。(2) 遺伝子増幅方法の比較；牛白血球 35 検体からカラム及び加温抽出キットにより抽出した遺伝子及び陽性コントロールの希釈検体を用い、nPCR 法、リアルタイム PCR 法 [TaKaRa] (以下、rPCR 法)、LAMP 法[Komiyama ら]により遺伝子増幅を実施し、抽出法の組合せと成績について、比較した。
3. 成績：(1) 抽出方法の比較において、陽性率は、白血球とカラム抽出キットの組合せが最も高く 37.1%、白血球及び全血と加温抽出キットの組合せが最も低く 31.4%であった。35 検体当たりの作業時間は、全血と加温抽出キットの組合せが 30 分、白血球とカラム抽出キットの組合せが 150 分であった。1 検体当たりの経費は、カラム抽出キットでは 438 円、加温抽出キットでは 380 円であった。(2) 遺伝子増幅方法の比較において、陽性率は、nPCR 法と rPCR 法では 37.1%、LAMP 法では 34.3%であった。35 検体当たりの作業時間は、LAMP 法では 90 分、rPCR 法では 180 分、nPCR 法では 360 分であった。1 検体当たりの経費は、nPCR 法では 174 円、LAMP 法では 602 円、rPCR 法では 840 円であった。また、陽性コントロールは、nPCR 法及び rPCR 法では 10^2 倍、LAMP 法では 10 倍希釈まで検出された。
4. 考察：作業時間や効率を重視する場合、全血と加温抽出キットの組合せで遺伝子を抽出後に LAMP 法で検査する方法が効率的であり、スクリーニング検査に有用な方法と考えられた。また、感度を重視する場合、白血球とカラム抽出キットの組合せで遺伝子抽出後に rPCR 法で検査する方法が最適で、陰性の確認検査に適した方法と考えられた。

演題番号：30

演題名：子牛の下痢対策を契機とした大規模肉用牛農場の衛生管理改革

発表者氏名：○小田桐千鶴恵、太田智恵子

発表者所属：青森県十和田家保

1. はじめに：近年、肉用牛の飼養戸数が減少する一方、1戸あたりの飼養頭数は増加傾向。今回、大規模農場の経営転換による子牛の下痢発生を契機として、衛生管理の改善により農場の生産性が向上したので、その概要を報告する。

2. 農場概要：当該農場は管内に系列6農場1,300頭を飼養する肥育農場であったが、繁殖複合経営へ転換し、H28年3月から県内外の妊娠牛を毎月約20頭ずつ導入。導入時の衛生対策について当所に相談があり、ワクチン指導の他、ヨーネ病や牛白血病検査を実施。経営転換にあたり2畜舎を新築・分娩舎・子牛用ハッチ舎を増築したが、増頭に対し建設が間に合わず牛を収容しきれない、管理技術が未熟などの問題があった。

3. 子牛の下痢発生：H28年11月から子牛の死亡事故が相次ぎ、H29年2月、発熱、血便を呈して死亡した子牛2頭を牛サルモネラ症と診断。同居する母牛及び子牛の保菌状況及び環境の検査を行うと共に牛舎や器具の徹底消毒、抗生剤による治療を指導。これをきっかけに農場側も衛生管理の改善へ着手した。

4. 衛生管理改革：(1)従業員が多いことへの対策：子牛の育成マニュアルや牛群担当者の区別による衛生意識強化。踏込消毒槽・専用長靴の設置による消毒強化。(2)牛が多いことへの対策：子牛への初乳製剤給与及び親牛へのサルモネラワクチン接種により、免疫を均一化。カウハッチの整備や哺乳瓶の消毒により農場内の拡大を防止。(3)農場が多いことへの対策：繁殖・発育ステージ毎の牛舎移動の流れやトラック消毒の強化により農場間の伝播を防止。

5. 成果：細菌検査は飼養牛延べ332頭及び環境52か所で実施し、H29年7月以降は菌分離されず清浄化を達成。H28年とH29年を比較すると母牛1頭あたりの衛生費は月間500円減、農場全体では年間700万円超の利益増。現在は飼養管理に対する意識も向上し、育成牛の尿石症や繁殖牛の低Ca・低Mg血症対策を含めた代謝プロファイル検査及び受精卵移植のための牛白血病検査を実施。

6. まとめ：今後も企業系参入等により農場の大規模な経営転換が見込まれ、飼養管理失宜や疾病発生時には地域に与える影響と損失が懸念されることから、飼養形態の変化に対応した検査・指導が必要。

演題番号：4

演題名：コーン状メッシュを用いた猫の会陰ヘルニア整復例

発表者氏名：○竹原律郎、中田浩美、小島信子

発表者所属：ふれあい動物病院・青森県

1. はじめに：会陰ヘルニアは骨盤隔膜の脆弱化によりヘルニア孔が形成され、腹腔内や骨盤腔内臓器が逸脱して、会陰部の腫脹を示す疾患である。犬の老齢期、未去勢雄に好発するが、猫では発症が稀で、両側に発症し雄に見られることが多いと言われている。今回、片側で雌に発症した症例に遭遇し、コーン状メッシュを用いて整復手術を行ったところ、良好な経過が得られたのでその概要を報告する。
2. 材料および方法：雑種猫、避妊雌、8歳齢(推定)、体重 3.1 kg、BCS3、臆病な性格。尻尾の付け根が腫れていて、排便困難、テネスマス、軟便排出、便の臭気が強いとの主訴で受診された。左側会陰部の膨隆、直腸検査で弯曲左側変位を、検便では、マンソン裂頭条虫卵を検出した。排便困難、軟便、会陰部の膨隆はマンソン裂頭条虫寄生と左側会陰ヘルニアによると診断した。
3. 成績：第1病日、プラジクアンテル 34 mg/kg, S. C. を接種した。手術は会陰位(ジャックナイフ位)に保定し肛門部に巾着縫合を施した。切開後ヘルニア内容物を骨盤に還納し、浅殿筋、内閉鎖筋、外肛門括約筋を確認し、ポリプロピレンメッシュをコーン(円錐)状に形成して底辺部分がヘルニア輪に一致する様にし、各筋層とメッシュを縫合した。浅殿筋と外肛門括約筋が左右から寄る様に縫い、皮膚は埋没縫合をした。この後、肛門縫合を解き、直腸の直線性を確認した。術後、直腸検査でヘルニア孔が閉鎖され強度が保たれていることを確認した。マンソン裂頭条虫卵は、検出されず、手術後、通常便の自然排出が可能となった。
4. 考察：犬の会陰ヘルニアは、老齢期、未去勢雄に発症し、機序は明確ではないが、オスのホルモンの不均衡による原発性会陰ヘルニアと考えられる。しかし猫では、原発性の報告もあるが、会陰尿道造瘻術後の発症など続発性の原因によるものが多いとされ、犬と同様雄に多く、両側性がほとんどで、左側の重症度が高いといわれている。本症例では、マンソン裂頭条虫によるしぶりで発症したことが示唆され、消化管寄生虫による続発性片側会陰ヘルニアと考えられた。今回の手術法は犬に対して報告されているものだが、ヘルニア輪を強固に支持でき、手術時間の短縮も図れる術式である。本症例は手術 8 か月経過後も順調に推移しており、猫においてもこのコーン状ポリプロピレンメッシュ法は有用であると考えられた。

演題番号：17

演題名：パルボウイルスが蔓延したペットショップへの1介入事例

発表者氏名：○木村祐哉、亀島 聡、伊藤直之

発表者所属：北里大・小動物第1内科学

1. はじめに：パルボウイルスは消毒薬への抵抗性があり、また幼若動物への病原性も強いことから、繁殖施設等で発生した際の管理が重要となる。演者らはパルボウイルスが蔓延したペットショップに対し、個体の治療だけでなく、店舗内の衛生管理を含めた多面的な介入を行うことで、感染の拡大を阻止せしめたので、対応の一例として報告する。

2. 材料および方法：某ペットショップから、重度の嘔吐および下痢を繰り返すとの主訴で、13週齢のダックスフンドが紹介受診した。この施設には、同様の症状を呈した末に虚脱状態に陥っていたチワワがいるほか、それまでに既に2頭の犬が死亡していた。イムノクロマト法により糞便中のパルボウイルス陽性が確認されたため、店舗内の蔓延とみなし、発症動物の隔離治療に加えて衛生管理の指導などの介入を行った。店舗への新規個体の導入は停止させ、既に店舗にいる個体については、無症状ではあるものの感染している可能性のあったものは施設内の別室に隔離し、消化器症状を呈したものは別施設に移動して治療を施すものとした。各施設では衛生的手洗い、次亜塩素酸による消毒、使い捨てられる食器や手袋、上着の使用などを徹底した。

3. 成績：介入から4日後に8週齢のポメラニアン（パルボウイルス：+、イソスポラ：+）、5日後にビーグル（パルボウイルス：-、イソスポラ：+）が消化器症状を示したが、それ以降の新規発症はなかった。虚脱状態だったチワワは当日中に、ポメラニアンは発症9日後に死亡したが、ダックスフンドおよびビーグルは軽快したため、17日後に糞便中の病原体が陰性となったのを確認した時点で、別施設での隔離治療を終了とし、知人への譲渡を検討することとした。店舗の衛生管理は介入15日目に確認し、イソスポラの発生があったため熱湯消毒を追加する一方で、疑似症例がないことから別室隔離の解除をするなどの調整を行い、さらに5日後にあたる介入22日目から新規個体の導入を許可した。

4. 考察：本事例ではペットショップ側が協力的で、衛生管理を迅速に改善できたため、計4頭の死亡で被害を食い止められた。しかしながら、時に複雑な事情が絡み、入念な打ち合わせを行いながら態勢を整えていくことになる。感染症の蔓延に対する指導も獣医師の役割であるため、適切な介入を考える必要があるであろう。

演題番号：18

演題名：猫伝染性腹膜炎 (FIP) 治療候補薬イトラコナゾールを投与した FIP 罹患猫の 1 例

発表者氏名：○亀島 聡¹⁾、木村祐哉¹⁾、土岐朋義²⁾、高野友美²⁾、宝達 勉²⁾、
柿崎竹彦³⁾、佐藤和昭⁴⁾、金井一享⁴⁾、伊藤直之¹⁾

発表者所属：北里大・獣医 1)小動物第1内科学、2)獣医伝染病学、3)獣医放射線学、
4)小動物第2内科学

1. はじめに：猫伝染性腹膜炎 (FIP) は、猫における FIP virus (FIPV) の感染・増殖により全身性に炎症反応が惹起される致死性疾患である。FIP は 1 歳齢未満の猫に多発し、発熱、食欲低下、体重減少の他、腹/胸水の貯留 (滲出型)、多臓器における化膿性肉芽腫形成、黄疸、ぶどう膜炎、神経症状などが認められる。本学獣医伝染病学研究室において、抗真菌薬であるイトラコナゾールが FIPV の増殖を抑制する可能性が示された (秋山ら、第 161 回日本獣医学会学術集会)。そこで本薬剤による治験の許諾が得られた FIP 自然発症猫において、イトラコナゾール投与の影響を検討した。

2. 材料および方法：症例は 3 ヶ月齢、未去勢雄のスコティッシュフォールドで呼吸促迫を呈しており、エコー検査にて胸水貯留を認めたため抜去した。胸水中の猫コロナウイルス (FCoV) 遺伝子が陽性であったことから本症例を FIP と診断した。イトラコナゾール (10 mg/kg, bid) およびプレドニゾン (1-1.25 mg/kg, sid) を投与し、FIP 病態に及ぼす影響を検討した。経時的に血液を採取し CBC、生化学検査、血清 FCoV 遺伝子解析および a1-acid glycoprotein (AGP) 濃度測定を行った。また、眼科検査を行い FIP に伴う眼病変の発現を検討した。

3. 成績：症例はイトラコナゾール投与開始 (第 1 病日) 以降、第 20 病日まで FIP 関連症状を示さなかった。また抜去後に再貯留した胸水は、第 14 病日に減少傾向を示し、第 21 病日に自然消失した。しかし、第 21 病日に運動失調を呈し、それ以降元気、食欲および体重が減少した。加えてビリルビンを含む肝数値の上昇、全身性炎症反応を示唆する眼病変を認めた。第 37 病日に痙攣発作を生じ、その翌日に発作が重責したため安楽死処置とした。初診時から第 35 病日までの血中 a1-AGP 濃度は比較的高値であった (480-740 mg/ml)。また血清中の FCoV 遺伝子は検出されなかった。

4. 考察：FIP の生存期間中央値は 9 日である。それに対し本症例は治療開始から 38 日間生存し、20 日間 FIP 関連症状を示さなかった。加えて抜去後に再貯留した胸水は、増加することなく自然消失した。以上の結果から、イトラコナゾールが FIP の病態に対して抑制的に作用する可能性が示唆された。しかし、本症例の結果のみでイトラコナゾールの治療効果を推測することは困難であり、今後イトラコナゾール非投与群を設定した臨床試験を実施し、その作用を多角的に比較検討する必要がある。

演題番号：30

演題名：犬の大腸血管拡張症に対してステロイドとシクロスポリンにて奏効した1例

発表者氏名：○小山田友大¹⁾、柿崎竹彦²⁾、土田靖彦¹⁾

発表者所属：1) どり動物病院・青森県、2) 北里大

1. はじめに：犬の大腸血管拡張症 (Colonic vascular ectasia:CVE)は間欠的な消化管出血を主症状とする犬では報告が少ない疾患である。犬の CVE に対する治療としてホルモン療法、病変部の外科的切除、アルゴンプラズマ療法が報告されている。今回多量の鮮血便に伴い重度の貧血を呈したトイ・プードルに対してステロイドとシクロスポリンにて治療を行い奏効した症例に遭遇したのでこれを報告する。

2. 症例：トイ・プードル、6 歳齢、去勢雄、体重 5.3kg。以前より時折黒色～赤色便を繰り返していたが、貧血は伴わず炎症性腸疾患を疑い、抗菌薬、止血剤およびシクロスポリンにて経過観察していた。

3. 診療経過：前日からの食欲廃絶、泥状鮮血便を主訴に来院。診察時に大量の泥状鮮血便と重度貧血 (PCV 20.8%) を認めたため、入院し輸血処置、点滴処置およびプレドニゾン (1mg/kg/sid) を追加投与した。第 5 病日に北里大学にて実施した CT 検査では著変は認めなかったが、下部内視鏡検査では回盲部から横行結腸にかけて散発的かつ網状に拡張した粘膜血管や粘膜下出血像を認めた。これらの結果から本症例を CVE と診断した。ご家族に外科的治療を提示したが症状が安定していることもありメトロニダゾール、止血剤、シクロスポリン (5mg/kg/sid)、プレドニゾンによる治療を希望し経過観察とした。その後著しい鮮血便は認めなかったため、第 62 病日よりシクロスポリンのみの投与としたが、第 69 および 72 病日に血便や黒色便を認めたことから休薬していた治療を再開した。第 163 病日を経過した現在、時折出血を伴う排便を認めるも良好に推移している。

4. 考察：犬の CVE における病態や治療法については不明な点が多い。これまで、病変部の外科的切除による治療報告が主であったが、本症例のようにステロイドとシクロスポリンにより症状が改善した報告はない。犬の CVE における血管異常の原因は不明ではあるものの、これらの治療に反応したことから自己免疫疾患の可能性が示唆される。したがって、下部内視鏡検査により消化管粘膜における血管拡張像や出血斑を認めた場合、本疾患を鑑別疾患リストに入れ、ステロイドとシクロスポリンの使用による治療を選択肢の一つとして検討すべきと考える。

演題番号：33

演題名：麻酔下のネコにおいて開口が顎動脈の走行と血流に及ぼす影響

発表者氏名：○服巻冴香、野田啓介、前田賢一、岩井聡美、柿崎竹彦、岡野昇三

発表者所属：北里大

1. はじめに：全身麻酔において、開口器を用いて動物を開口させるが、ネコでは過剰に開口すると、下顎骨の角突起と鼓室胞の間隙が狭まり、その間隙を通り脳に血液を供給する顎動脈が圧迫され脳や眼球への血流が妨げられる。その結果、麻酔覚醒後に神経症状や視覚異常が現れた例が報告されており、本学でも開口器を使用したネコで、術後に原因不明の脳の浮腫を来し死亡した例を経験した。しかし、現在のところネコにおいて開口が脳血流に与える影響についての報告は少なく、不明な点が多い。そこで本研究では、麻酔下のネコにおいて開口が脳血流におよぼす影響を評価し、同時に開口による顎動脈の圧迫が頭位を変化させることで軽減するか検討した。

2. 材料および方法：雑種ネコ 8 頭を用いて全身麻酔下で仰臥位に保定し、開口器を使用しない閉口群 (n=8)、開口器を右側犬歯に装着し、最大に開口させた開口群 (n=8)、最大に開口した状態で、頭部を頸部に対し伸展した伸展群 (n=8) において造影 CT の撮像を行った。得られた画像から下顎骨と頸椎の角度 (aMC) および角突起と鼓室胞間の距離 (dCT) を評価した。また、頸動脈および眼動脈の CT 値を比較することで開口や頭位の変化が実際の血流におよぼす変化について全ての群で評価した。

3. 成績：aMC は、閉口群で右側が 92.6 ± 13.8 度、左側が 92.0 ± 13.9 度、開口群では右側が 61.9 ± 11.6 度、左側が 62.5 ± 11.8 度、伸展群では右側が 106.9 ± 6.6 度、左側が 107.6 ± 7.2 度であり、開口により下顎骨が頸椎に対し腹側に変位していることが示され、これは伸展によって改善した。dCT は閉口群で右側が 4.5 ± 1.0 mm、左側が 4.7 ± 0.9 mm、開口群で右側が 2.3 ± 1.0 mm、左側が 3.0 ± 0.9 mm、伸展群で右側が 2.2 ± 0.5 mm、左側が 2.7 ± 0.5 mm となり、開口によって角突起と鼓室胞の間隙が狭まり、頭の伸展させてもその間隙の拡張は認められなかった。なおいずれの群でも明らかな CT 値の変化を認めず、顎動脈の血流変化は観察されなかった。

4. 考察：既報と同様に、開口することで角突起と鼓室胞の間隙が狭まることが観察され、顎動脈が圧迫される可能性が示された。しかし、開口により脳への血流が低下した個体は存在せず、開口した群で覚醒後に異常を認めた動物はいなかった。また頭位を変化させても下顎骨と頸椎の角度は改善したものの、角突起と鼓室胞間の距離は変化せず、頭位によって顎動脈の圧迫は軽減できないと考えられた。今後は、実際の手術時間を想定した開口時間の延長や MRI を用いた脳血流のさらなる評価も検討すべきと考えられる。

演題番号：4

演題名：*Vibrio vulnificus* の生体内発現遺伝子の網羅的同定法の確立

発表者氏名：○田中萌子¹⁾、柏本孝茂¹⁾、山崎浩平^{1) 2)}、門 武宏^{1) 2)}、上野俊治¹⁾

発表者所属：1) 北里大・獣医公衆衛生、2) 北里大・大学院獣医系研究科

1. はじめに：*Vibrio vulnificus* (*V. v.*) 感染症は経口または創傷感染により起こる致死性的日和見感染症である。発症者は筋膜の壊死等を呈し平均 48 時間で死亡するとされる。致死率は経口感染型で 50%、創傷感染型で 30%にも上る。しかしながら、実際に生体内で発現する病原因子は、ほとんど明らかにされていない。本研究では *V. v.* の宿主体内での病原因子を解明するため、生体内で発現する遺伝子を網羅的に同定可能な *in vivo* expression technology (IVET) 法の確立を試みた。

2. 材料：*V. v.* のべん毛モーター構成タンパク質である PomA の欠損変異株 ($\Delta pomA$) を作製した。また、自殺ベクターである pYAK にプロモーターレス *pomA* 遺伝子を挿入し、その直前に *Sau3A1* で切断した *V. v.* CMCP6 株のゲノム断片をランダムに挿入して pIVET を作製した。pIVET で形質転換した大腸菌と $\Delta pomA$ を接合し、pIVET をシングルクロスオーバーにより $\Delta pomA$ の染色体に挿入した。こうして得られた様々なゲノム断片を持つ pIVET 組み換え $\Delta pomA$ を IVET ライブラリーとした。

方法；運動性を持つ *V. v.* は皮下接種すると皮下から筋肉を経て血中に侵入し脾臓に到達するが、 $\Delta pomA$ は運動性欠損株であり皮下接種しても脾臓へは到達しない。すなわち、IVET ライブラリーに含まれる変異株のうち、プロモーターレス *pomA* 遺伝子の直前に生体内で発現するプロモーターが挿入された変異株のみ *pomA* 遺伝子が発現して運動性が回復し脾臓へ到達できる。本研究では、マウスの皮下に IVET ライブラリーを接種し、脾臓から変異株を回収した後、*in vitro* では運動性が低下している株を選抜した。これら変異株における *pomA* 遺伝子の挿入部位を Arbitrarily primed polymerase chain reaction (AP-PCR) 法により同定した。

3. 成績：約 13,000 クローンを含む IVET ライブラリーを得ることができた。このライブラリーを上記 IVET 法によりスクリーニングし、36 株の変異株を得た。これらのうち、現在までにプロモーターを含むと思われる 2 つの遺伝子が同定できた。

4. 考察：同定した遺伝子のうち 1 つは転写制御に関与しており、もうひとつはグルタチオン代謝に関与するものであった。今後は明らかになった遺伝子の欠損株を作製し、感染実験を行って当該遺伝子の *V. v.* の病原性への寄与を確かめる必要がある。

演題番号：5

演題名：*Vibrio vulnificus* の MukB は生体内増殖に関与する

発表者氏名：○松田果穂¹⁾、柏本孝茂¹⁾、門 武宏^{1) 2)}、山崎浩平^{1) 2)}、上野俊治¹⁾

発表者所属：1) 北里大・獣医公衆衛生、2) 北里大・大学院獣医系研究科

1. はじめに：*Vibrio vulnificus* (*V. v.*) は、発熱等の初期症状の後、平均 40 時間という短時間内に感染者を死に至らしめる。これまでに報告されている *V. v.* の病原因子(機構)には、莢膜、リポ多糖(LPS)、プロテアーゼや鉄獲得機構があるが、これら因子のみでは本感染症の短時間内における高い致死率を説明できない。また、これらが生体内で発現し、作用を発揮している証拠にも乏しい。我々は、生体内での増殖・拡散に関連するタンパク質をコードする遺伝子を網羅的に探索できる Signature tagged mutagenesis (STM) 法を用いて、*V. v.* の感染局所からの増殖・拡散に必須となる遺伝子を探索した。その結果、遺伝子の複製に関連する遺伝子を複数同定した。これまでにこれら遺伝子と *V. v.* の生体内増殖との関連は報告されていない。そこで本研究では、同定された遺伝子のうち大腸菌において染色体分配に関与することが報告されている *mukB* に着目し、MukB が生体内で果たす役割を解析した。

2. 材料および方法：STM 法により選抜された *mukB* のトランスポゾン挿入変異株 (*mukB::Tn*)、およびこの株に野生型 *mukB* を相補した株 (*pmukB*) を作製した。これら変異株 2 株と野生型 *V. v.* (WT) を用いて、*in vitro* における増殖性を解析すると共に、マウスへ皮下接種し、その致死性に与える影響を解析した。

3. 成績：*in vitro* において 22.5 時間まで、全ての株の増殖性に差は認められなかった。しかし、*mukB::Tn* を接種したマウスの致死性は WT と比較して中央値が 4 時間延長し、生存時間の有意な延長が認められた。一方、相補株である *pmukB* を接種したマウスの致死時間は WT と同程度であった。

4. 考察：MukB は *in vitro* での増殖に関与せず、*in vivo* でのみ増殖に関与することが明らかとなった。今後は、MukB が感染過程のどの段階で必要であるのか、*in vivo* imaging system を用いた生体内での感染動態や感染局所の菌数について解析を進める。

演題番号：10

演題名：管内と畜場搬入豚における LA-MRSA (ST398) の分離について

発表者氏名：○山中麻起子¹⁾、奈良和久¹⁾、田中綾乃¹⁾、田中成子¹⁾、小野裕二¹⁾、
原田邦弘²⁾、佐々木貴正³⁾、浅井鉄夫⁴⁾、田村 豊⁵⁾

発表者所属：1) 青森県十和田食検、2) 青森県保健衛生課、3) 国立医薬品食品衛研、
4) 岐阜大、5) 酪農大

1. はじめに：海外ではヨーロッパを中心に家畜、畜産業従事者等からメチシリン耐性黄色ブドウ球菌 (MRSA) が高率に検出され、家畜関連型 MRSA (LA-MRSA) として注目されている。一方、我が国では、LA-MRSA に関する報告は少なく、家畜における浸潤状況も十分明らかにされていない。今回、当所管内のと畜場に搬入された豚について調査したところ、豚では東北で初めて LA-MRSA (ST398) が検出されたので報告する。

2. 材料および方法：(1) 2017 年 5～10 月に当所管内のと畜場に搬入された 84 農場 450 頭の豚から採取したスワブ (鼻腔スワブ、耳スワブ) を検体とした (1 ロット 5～10 検体)。(2) 検体は、前増菌、選択増菌後、2 種類の選択培地に塗抹し分離した菌株について、*mecA* 遺伝子の確認 (PCR 法)、ディスク拡散法による薬剤感受性試験、リアルタイム PCR 法による菌種同定により、MRSA を同定した。MRSA と同定された菌株を対象に、① *SCCmec* 型別、②微量液体希釈法による薬剤感受性試験、③Panton-Valentine-Leukocidin (PVL) 遺伝子の検索、④ γ -hemolysin 遺伝子の検索、⑤MLST 型別、⑥ *spa* 型別を行った。

3. 成績：(1) MRSA 保菌状況：管内と畜場に搬入された 84 農場 450 頭の豚のうち、9 農場 (10.7%)、15 頭 (3.3%) から検出された。(2) MRSA と同定された菌株は、① *SCCmec* 型別：typeIV;5 株、typeV;10 株、②薬剤感受性試験成績：15 株すべてテトラサイクリン (TC) 耐性、③PVL 遺伝子：15 株すべて陰性、④ γ -hemolysin 遺伝子：15 株すべて陽性、⑤MLST 型別：15 株すべて ST398 と同定、⑥ *spa* 型別：t034;13 株、t011;2 株の 2 種に型別された。

4. 考察：調査の結果、一部の農場の豚から東北で初めて LA-MRSA (ST398) が検出された。今回分離された MRSA は、MLST 型：ST398、*spa* 型：t011 又は t034、*SCCmec* 型：IV 又は V、TC 耐性であり、2004 年以降、ヨーロッパに広く浸潤し、最近ではアジアまで分布が確認されている LA-MRSA の特徴と一致した。LA-MRSA の国家間伝播には豚の輸出入が関係すると推測されており、今回分離された株も特徴が一致していることから、海外から侵入した可能性がある。今回の調査で LA-MRSA が 9 農場で確認されたことから、国内においても LA-MRSA が浸潤しつつあると示唆された。

演題番号：13

演題名：食鳥処理場の施設設備洗浄の指導事例

発表者氏名：○大見丈治、杉山篤弥、小野裕二

発表者所属：青森県十和田食肉衛検

1. はじめに：HACCPによる衛生管理の義務化を見据え、HACCPの前提条件である施設の清掃等の一般衛生管理の徹底が重要となっている。今回、管内の食鳥処理場に対して施設設備の洗浄状況の調査を行い、その結果をもとに洗浄方法等の改善指導を行ったところ、一定の効果が得られたので、その概要を報告する。

2. 材料および方法：管内A食鳥処理場の施設設備の洗浄状況を把握するため、平成29年12月～平成30年2月、5回にわたり以下の調査等を行った。(1)検体；脱羽後～中抜きと体出荷工程間の施設・設備36箇所を始業前に拭き取り、検体とした。(2)方法；一般生菌数及び大腸菌群数についてペトリフィルムにより菌数を、ATP拭き取り検査により清浄度を測定した。また、拭き取り箇所の汚染状況を写真により記録した。(3)事業者への指導；調査結果は、その都度、事業者に提示し、洗浄が不十分な箇所について、洗浄方法の見直し等の指導を行った。

3. 成績：調査を開始するにあたり、適切な洗浄が行われたことの見込みとする菌数及び清浄度について目標値（一般生菌数；10CFU/cm²以下、大腸菌群数；適正測定範囲未満、ATP拭き取り検査；10,000RLU/100cm²以下）を設定した。目標達成に向けて調査により特定された洗浄不十分な箇所について、当該箇所の洗浄方法等を見直した結果、始業前の施設設備の洗浄及び清浄度が改善され、目標を達成した箇所は、調査の開始当初に比べ大幅に増加した。（表1）

4. 考察：食鳥と体が直接接触する箇所を中心に、食鳥処理工程を詳細に調査したところ、洗浄が不十分と思われる箇所が認められた。これらの箇所に関する菌数、ATP拭き取り検査の数値及び外観の写真等汚れの指標の具体的なデータを事業者に提示し、改善指導することで、洗浄方法等の改善が効果的に行われた。具体的な数値目標が設定されたこと、改善すべき箇所が明確になったこと、改善の効果が速やかにデータに反映されたことが、事業者や清掃作業に従事する従業員の改善意欲の向上につながったものと考えられた。

実施月日	12/11	12/25	1/9	1/29	2/19
一般生菌数	3	16	3	21	19
大腸菌群数	31	31	28	36	35
ATP拭き取り検査	9	15	13	24	28

表1 菌数及び清浄度の目標達成箇所の推移（調査箇所：36）