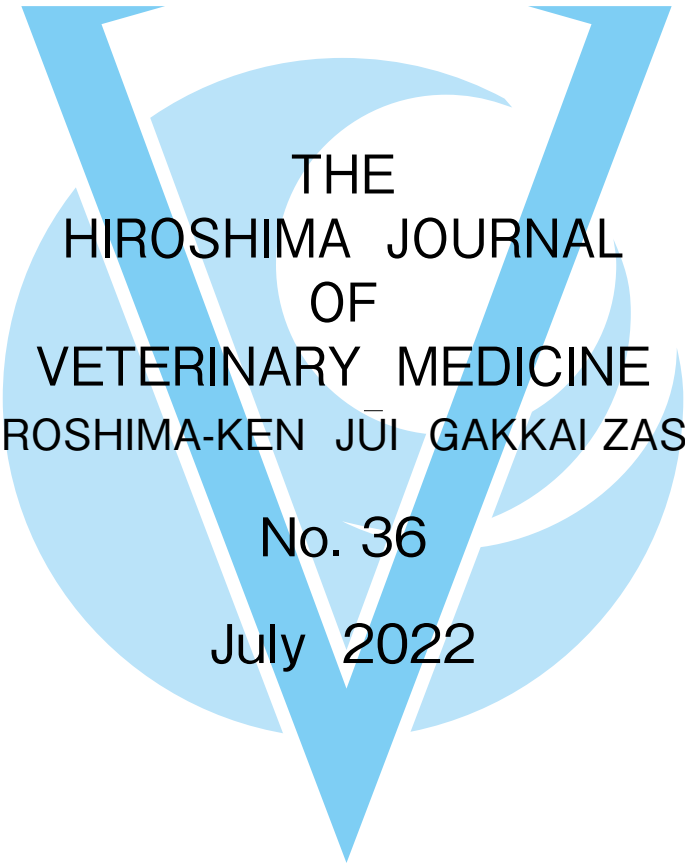


広島県獣医学会雑誌

第 36 号

令和 4 年 7 月

広島県獣医学会



THE
HIROSHIMA JOURNAL
OF
VETERINARY MEDICINE
(HIROSHIMA-KEN JŪI GAKKAI ZASSI)

No. 36

July 2022

THE
HIROSHIMA PREFECTURAL ASSOCIATION
OF
VETERINARY MEDICINE

目 次

総 説

農場 HACCP および JGAP 家畜・畜産物認証の現状と今後の方向

西貝 正彦…………… 1

産業動物

広島県における *Streptococcus ruminantium* の分離状況

船守 足穂, 細川久美子, 兼廣 愛美, 石浦 英文…………… 11

広島県内フリーストール酪農場での牛マイコプラズマ性乳房炎発生事例

高嶋 実和…………… 17

蹄背壁に発生した肉芽形成を伴った難治性縦裂蹄の1症例

大下 克史, 酒井 亮, 堀 香織…………… 23

注射器製フィステルを使用した皮下膿瘍の治療法の検討

稲場 緑, 堀 香織…………… 27

温暖地域の福山地方における牛の受胎率と妊娠期間の調査

秋田 真司…………… 33

新規開発したガラス化胚保存器具「ビトラン-7」使用によるウシ胚の生存性と受胎率および

生産現場における移植成績

工藤 敬幸, 保本 朋宏, 日高 健雅, 山本 哲史, 福本 豊,
荒木 秀美, 御澤 弘靖, 横田 文彦…………… 39

広島県に発生した乳用牛における胎膜水腫の発生事例

渡久川兼誉, 横田 美希, 朝倉ひとみ, 青山 嘉朗, 細川久美子, 尾崎 充彦…………… 45

小 動 物

全身性抗酸菌感染症と縦隔型リンパ腫を併発した猫の一例

三浦 京夏, 坂井 祐介, 砂原 央, 藤野千賀子, 一色 真之,
森本 将弘, 櫻井 優, 藤森佳寿子, 長峯 栄路, 小田まゆみ…………… 49

絹糸反応性肉芽腫による十二指腸閉塞を発症した犬の1例

黒瀬 智泰, 小田まゆみ, 三浦 京夏, 則包ゆう佳, 三宅恵津也,
山内 美彩, 黒瀬 紀子, 眞鳥美沙麻, 神野 茜…………… 57

公衆衛生

地域猫活動の普及啓発及び支援事業について

仙田 佳織, 白澤 清子…………… 63

獣害捕獲された野生タヌキ (*Nyctereutes procyonoides*) の年齢推定の試み

新田由美子, 三木由美子, 谷浦 督規, 谷浦 直美…………… 67

広島市と畜場における牛伝染性リンパ腫ウイルス遺伝子の検出状況について

岡田 有香, 国広 彩耶, 重松 紗希, 太田垣 寧, 国井 悦子,
花木 直喜, 坂本 綾…………… 75

他誌掲載論文

ライソゾーム病の犬でみられた頭位変換性捻転斜頸：回顧的観察研究

田村 慎司, 田村由美子, 中本 裕也, 長谷川大輔, 坪井 誠也,

内田 和幸, 矢吹 映, 大和 修…………… 81

5頭の健康犬におけるエブレノンの血圧と心エコー及び血液生化学変化に及ぼす効果：パイロット研究

有田 申二, 有田 昇, 日笠 喜朗…………… 83

グラム染色による乳房炎原因微生物の迅速検出

鈴木 直樹, 金子 宗平, 磯部 直樹…………… 85

ワンヘルスアプローチによる水環境中の薬剤耐性菌の存在実態調査

増田加奈子, 平塚 貴大, 秋田 裕子, 木村 淳子, 槇本 佳泰…………… 87

活動報告

動物園における高病原性鳥インフルエンザ発生時のシミュレーション訓練

阿部 勝彦 (広島市安佐動物公園) …………… 89

会 報…………… 91

関連学会案内

編集後記

投稿規程…………… 92

Hiroshima Journal Veterinary Medicine (ISSN : 0913-1418)

本学会雑誌 (年刊) の既刊号 (20 ~ 35 号) は広島県獣医師会のホームページ (<http://www.hiro-vet.or.jp/>) の「学術情報」で閲覧・印刷できます。

収録している論文については, 発行者あるいは著者に著作権が帰属します。

論文の一部または全文の転載については, 原著者の許諾が必要です。

農場 HACCP および JGAP 家畜・畜産物認証の現状と 今後の方向

西貝 正彦

(農場 HACCP 主任審査員・JGAP 家畜・畜産物審査員・ISO22000 審査員)

(受付：令和 4 年 3 月 11 日)

Present and Future of Farm HACCP and Japan Good Agriculture Practice Control Points (JGAP) for Livestock Farms

MASAHIKO NISHIGAI

Nasu ET Institute, 7-5, Shimakata, Nasushiobara City, Tochigi, 329-3152, Japan

(Farm HACCP Chief Auditor, JGAP Auditor, ISO22000 Auditor)

1. はじめに

筆者は農場 HACCP 主任審査員、JGAP 審査員のほか、外資系の ISO 審査会社で ISO22000 審査員として約 10 年間、畜産農場及び水産や食肉の加工会社で審査を行ってきた。本稿では現場での審査経験を基に、「農場 HACCP」および「JGAP 家畜・畜産物」認証の現状と今後の方向について述べたいと思う。

なお、審査基準となる「農場 HACCP 認証基準」と「JGAP 家畜・畜産物基準書」は 2022 年に改定される予定である。

2. 農場 HACCP 認証の現状

平成 23 年 12 月に公益社団法人中央畜産会が農場 HACCP 認証協議会から農場 HACCP 認証機関として認定され、農場 HACCP 認証審査業務を開始して以来、認証件数は順調に伸び、令和 3 年 12 月時点の中央畜産会の認証農場数は 339 農場（うち牛 138（乳用牛 35、肉用牛 100、乳肉牛 3）、豚 108、鶏 93（卵用 80、肉用 13））となっている。

もう一つの認証機関であるエス・エム・シー(株)における認証農場数は 86 農場（うち牛 19（乳用 8、肉用 11）、豚 56、鶏（卵用） 11）となっている¹⁾ (図 1)。

また、農場 HACCP 認証農場取得への取り組みを支援するため、飼養衛生管理などの向上を目的とし農場 HACCP に取り組み、一定の要件を満たす畜産農場を「農場 HACCP 推進農場」として中央畜産会が指定している。

さらに、中央畜産会は平成 30 年 7 月 2 日、農場 HACCP 認証マークを畜産製品に貼付できる制度を発足し、認証農場は、農場の看板、ホームページなどに農場 HACCP 認証マークを表示することが可能となった。

加えて、農場で生産された畜産製品（認証農場由来の畜産物を主体とするものに限定）についても、自己責任に基づいて農場 HACCP に取り組んで生産された畜産物であることを明示する認証マークの貼付の申請の受付を開始し、令和 3 年 12 月現在で 30 社が許諾済みである²⁾。

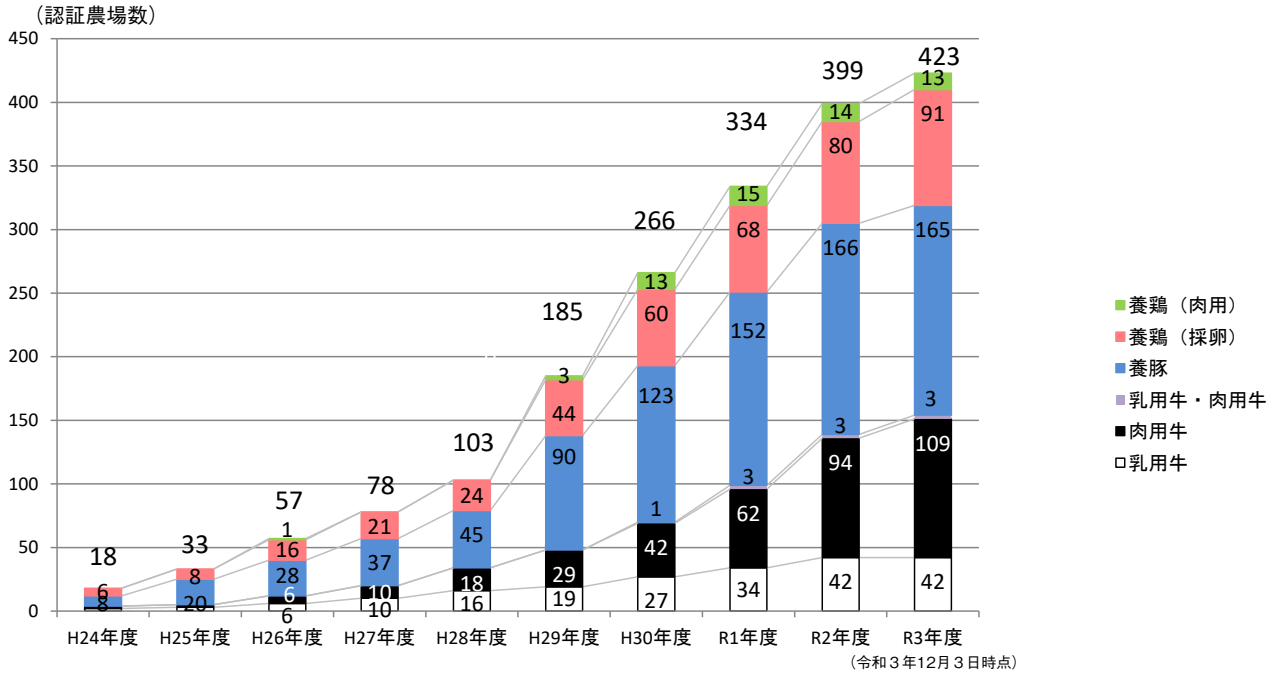


図1 農場HACCP認証取得農場数の推移

3. ISO22000 をベースにした農場 HACCP 認証基準

国際標準化機構 (ISO) は平成 17 年に HACCP と ISO9001 マネジメントシステムを融合させた「ISO 22000 食品安全マネジメントシステム (ISO22000 : 2005)」(図 2) を発行し、食品安全の国際規格として世界中で認証を開始した³⁾。平成 30 年には、建物、設備、洗浄・消毒などの食品安全のための前提条件プログラムの特定と、いくつかの用語の定義の修正及び追加を伴った改訂が行われ、ISO22000 : 2018 が発行されている⁴⁾。農場 HACCP 認証基準は ISO22000 : 2005 をベースとした農場マネジメントシステムとして平成 21 年 8 月 14 日付で農林水産省から「畜産農場における飼養衛生管理取組認証基準 (農場 HACCP 認証基準)」が公表され、統一された基準の下で農場 HACCP が推進されることになった⁵⁾。

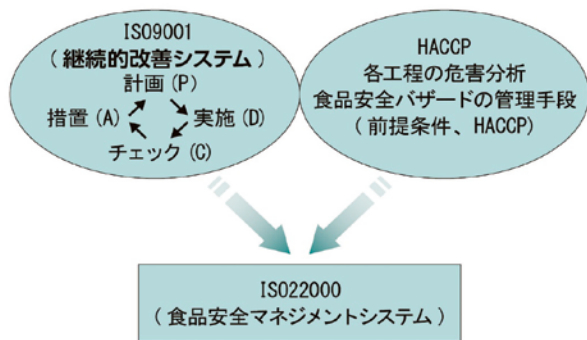


図2 ISO22000の成り立ち

農場 HACCP 認証基準は 2 部構成で、第 1 部は農場 HACCP の導入に必要な基礎的な要求事項を設定したものとなっており、経営者による HACCP チーム責任者およびチーム員の任命、HACCP 計画の作成、文書・記録に関する要求事項などについて整理している。第 II 部は各畜種 (乳用牛、肉用牛、豚、採卵鶏、肉用鶏) ごとに農場 HACCP をモデル的に示し、畜舎の要件、家畜の取扱い、従事者の衛生と安全などについて整理している⁶⁾。

以下は「畜産農場における飼養衛生管理向上の取組認証基準 (農場 HACCP 認証基準)」より、コーデックス委員会のガイドライン⁷⁾ に準拠している第 3 章・4 章を抜粋した内容である (第 1 章: 範囲, 引用文書, 用語, 第 2 章: 経営者の責任, 第 5 章: 教育・訓練, 第 6 章: 評価, 改善および衛生管理システムの更新, 第 7 章: 衛生管理文書リストおよび文書, 記録に関する要求事項は省略した)。

第 3 章 危害要因分析の準備

HACCP チームは、第 4 章で記述される危害要因分析の準備作業として、次に掲げる事項を実施しなければならない。

1. 畜畜等の原材料及び資材

HACCP チームは、次について文書化し、保持し、更新しなければならない。

- (1) 原材料・資材の特徴
- (2) 原材料・資材の予測される危害
- (3) 予測される危害の予防措置
- (4) 原材料・資材の供給者

2. 畜・畜産物の特性

HACCP チームは、次について文書化し、保持し、更新しなければならない。

- (1) 家畜・畜産物の特徴・特性：性状、安全性や安定性に関わる情報
- (2) 家畜・畜産物の出荷形態：生体、コンテナ、専用容器、包装形態等
- (3) 家畜・畜産物の保証期限及びその条件：法規制や出荷先の規定がある場合は、それに従っていること
- (4) 家畜・畜産物の出荷先：出荷先の名称、可能であれば最終消費者までの流通経路及びそれぞれの経路における取扱い
- (5) 家畜・畜産物の出荷先への情報：ワクチン接種、薬剤投与歴、出荷日、出荷量等
- (6) 家畜・畜産物の流通上の特別な管理：温度・湿度管理、取扱い等特別な管理を必要とする事項

3. 意図する用途

HACCP チームは、以下について文書化し、保持し、更新しなければならない。

- (1) 家畜・畜産物の用途
- (2) 予測される取り扱い：加工の方法、最終調理法等
- (3) 予測される誤った取扱いや使用
- (4) 最終消費者の特定：乳幼児・老人・病人などハイリスク者が最終消費者である場合はその特定

4. 工程一覧図（フローダイアグラム）及び現状作業、生産環境の明確化と現場での確認

HACCP チームは、以下に従い、工程一覧図並びに現状の工程内作業、日常作業及び生産環境を明確にし、文書化し、現場で確認し、必要に応じて更新し、保持しなければならない。

- (1) 工程一覧図の作成

HACCP チームは、すべての作業工程の順序及び相互関係並びに原材料・資材が使用される工程の段階を図式化した工程一覧図を作成しなければならない。
- (2) 現状作業（工程内及び日常定期・不定期作業）の明確化
 - ① 工程内現状作業の明確化

HACCP チームは、すべての工程内作業の現状について、作業の目的、目的を阻害する可能性のある要因、それを防ぐ注意点、使用する資機材及び作業の手順・方法を明確にしなければならない。作業の手順・方法は、準備作業、実施する作業、実施後の作業に分けて記述すること。
 - ② 現状の日常作業及び定期・不定期作業の文書化

HACCP チームは、工程内作業以外で、日常的及び定期・不定期に実施しているすべての作業について、作業を実施する時期（間隔）・頻度および作業の目的、目的を阻害する可能性のある要因、それを防ぐ注意点、使用する資機材、作業の手順・方法を明確にし

なければならない。作業の手順・方法は、準備作業、実施する作業、実施後の作業に分けて記述すること。

- (3) 生産環境の文書化
 - ① 敷地、畜舎等の施設、主な設備及び道路等周囲の状況を明確にしなければならない。
 - ② 家畜間の交差感染又は畜産物への交差汚染の予防を考慮した、清浄度区分（ゾーニング）及び人、家畜、物の流れ（動線）を検討すること。
 - ③ 敷地、道路、施設、主な設備等の配置を示した平面図上に、清浄度区分を明示し、人、家畜、物、生産物等の流れをトレースし、各種動線図を作成すること。
- (4) 工程一覧図及び現状作業、生産環境の現場確認

HACCP チームは、工程一覧図及び工程内現状作業、現状の日常作業及び定期・不定期作業、並びに生産環境は正しく現状を反映したものであることを現場で確認し、必要であれば修正しなければならない。

第4章 一般的衛生管理プログラムの確立と HACCP 計画の作成

HACCP チームは、次の手順により定める衛生管理システムの基礎となる一般的な衛生管理プログラム（以下「一般的衛生管理プログラム」という）を確立するとともに HACCP 計画を作成し、それに基づく活動を実施し、運用し、その有効性、を確実にしなければならない。

1. 一般的衛生管理プログラムの確立

HACCP チームは、次の手順により定める衛生管理システムの基礎となる一般衛生管理プログラムを確立するとともに、HACCP 計画を作成し、それに基づく活動を実施し、その有効性を確実にしなければならない。

- (1) 一般的衛生管理プログラムを確立する場合、家畜伝染病予防法第12条の3に基づく飼養衛生管理基準を基礎とし、適切な情報（法令・規則、家畜衛生管理ガイドライン、コーデックス委員会の「食品衛生の一般原則に関わる規則」及び「危害要因分析必須管理点（HACCP）システム及びその適用のためのガイドライン」等）に基づくものとする。管理方法は、作業手順書、作業マニュアル等の文書により定めること。それぞれの一般的衛生管理プログラムは、第Ⅱ部の畜種別衛生管理規範を参考にすること。
- (2) 一般的衛生管理プログラムの検証は、計画的に実施され、検証結果に基づき、必要に応じて修正すること。また、当該検証及び修正は記録し、当該記録は保持すること。
- (3) 一般的衛生管理プログラムの維持管理のための活動は、文書化すること。

2. 危害要因分析（原則1）

HACCP チームは、次により、すべての原材料及び作業

工程に存在する危害を列挙し、予防手段を文書化すること。当該文書は、保持し、必要に応じて更新しなければならない。

(1) 危害の列挙

すべての原材料及び作業工程に危害となる要因が存在するか否かを、適切なワークシートを用いて列挙すること。当該ワークシートは、保持し、更新しなければならない。

(2) 危害の特定と予防手段

危害が存在するとしてそれぞれの原材料及び作業工程について、危害に対する管理手段を一般的衛生管理プログラム又は HACCP 計画で管理するかを選択すること。管理手段の選択は、次の基準により決定しなければならない。

- ① 起こる可能性のある生物的、化学的、物理的危険がこの工程に存在するか又は入る可能性があるか
- ② 管理条件によりその危害は増大するか又は制御されるか
- ③ 発生頻度や重篤性からみてその危害は、HACCP 計画で扱うほど重要か又は一般的衛生管理プログラムで管理可能か
- ④ HACCP 計画又は一般的衛生管理プログラムで扱うとした理由は何か
- ⑤ 危害を予防、排除又は減少させる実施可能で効果的な制御手段があるか、具体的にどのような手段か
危害要因分析の過程で一般的衛生管理プログラムの修正・改善の必要性が生じた場合は、修正すること。

3. HACCP 計画の作成

HACCP チームは、HACCP 計画を作成し、文書化し、保持し、必要に応じて見直ししなければならない。HACCP 計画においては、次に掲げる事項を定めるものとする。

(1) 必須管理点 (CCP) の決定 (原則 2)

HACCP 計画によって管理しなければならない危害ごとに、必須管理点を明確にすること。また、必須管理点に対する管理手段を決定しなければならない。

(2) 許容限界の決定 (原則 3)

必須管理点において、家畜・畜産物の安全性に対する危害が起きるのを予防、排除または許容できる範囲内にするために、許容限界を決定すること。ただし、法規制で定められた値がある場合には、これに従わなければならない。

(3) 監視 (モニタリング) 方法の確立 (原則 4)

必須管理点において、許容限界が守られていることを、測定、観察、確認して記録するモニタリングの手順及び方法を確立すること。

- ① モニタリングの手順及び方法では、何を、どのような手順と方法で、どのような頻度で、誰がモニ

ターし、記録付けし、誰が確認するかを明確にすること。

- ② モニタリングを行う従事者は、適切に教育され、訓練されなければならない。
- ③ モニタリングの記録は、保持されなければならない。

(4) 是正措置の確立 (原則 5)

許容限界を逸脱した場合にとるべき措置として、以下の事項を確立すること。

- ① 逸脱した原因の究明
- ② 逸脱した状態で生産された家畜又は畜産物の分別と処理の方法 (他用途への転用、廃棄、その他)
- ③ 正常への復帰
- ④ 再発を防止するための対策 是正措置を行う際には、決裁権を有する責任者がそれに当たること。実行された一連の是正措置は、記録し、保持しなければならない。

(5) 検証方法の決定 (原則 6)

HACCP システムが HACCP 計画に従って実施されているかを確認するための検証は、検証の目的、方法、頻度もしくは間隔を定め、計画的・定期的に行うこと。

検証では、以下の事項を確認すること。

- ① 一般的衛生管理プログラム及び HACCP 計画が適正に運営されているかをモニタリング記録、是正措置の記録、現場の査察、従事者へのインタビューなどにより確かめること
- ② 危害要因分析への入力情報が更新され、危害要因分析が行われ、HACCP 計画が有効で妥当なものであるかを確かめること
- ③ モニタリングに用いる機器が定められたとおりに補正されていること

(6) 文書化及び記録方法の確立 (原則 7)

文書化及び文書の管理、並びに記録付け及び記録の管理は、第 7 章 1 及び 2 に示す要件を満たすこと。

4. JGAP 家畜・畜産物認証の現状

(1) 技術委員会における JGAP 家畜・畜産物基準開発の経緯

日本 GAP 協会に JGAP 家畜・畜産物基準書の開発を行うための「技術委員会」が設けられ、平成 28 年 10 月以降、本格的な検討が進められ、平成 29 年 3 月 31 日に日本発の畜産版の GAP である、「JGAP 家畜・畜産物」が公表された⁸⁾。

JGAP の基準書は、家畜・畜産物の生産工程全体を経営の基本、経営資源の管理、生産資材などの管理の 3 つに分類し重要な管理点を列挙している。

家畜の対象は、乳用牛、肉用牛、豚、肉用鶏および採卵鶏の 5 畜種の生体、畜産物の対象は、生乳、鶏卵となる。

なお、JGAP 認証農場で生産された認証家畜・畜産物を使った肉（牛肉，豚肉，鶏肉），牛乳，卵などの商品・加工品は、「JGAP 農畜産物使用ロゴマーク」を表示することができる。

(2) JGAP 家畜・畜産物の基準書の構造と管理点のポイント

JGAP 家畜・畜産物の基準書は農場における家畜・畜産物の管理の内容を 31 の項目に分類し，その中にさらに合計では 113 の管理点があるチェックリスト形式となる。

また管理点のレベルとその数については，次のようになっている。

- ① 100%の適合が求められる「必須」
- ② 95%の適合が求められる「重要」
- ③ 認証には影響しないが理想的な農場管理の取り組みが望まれる「努力」

実際の審査の場においては，基準書の管理点ごとに審査員が適合性を判断し，上記の基準をクリアしていれば審査に合格し，JGAP 認証書が交付される。なお，審査は審査員が農場に訪問して，農場が記録した各種の帳票類のチェックをし，農場内の管理状況を確認する。

また，管理点に示される内容が適合されていない場合は不適合が出されるが，4 週間以内に是正を行い，その是正の報告が認められれば審査に合格となる。

(3) 基準書の概要

基準書では，家畜・畜産物の生産工程全体を①経営の基本②経営資源の管理③生産資材等の管理および④自給飼料生産工程の専用項目の 4 つに分類し，重要な管理点を列挙している。

① 飼養衛生管理基準の遵守

飼養衛生に関する管理については，「4. 1 飼養衛生管理基準の遵守」において，附属書として添付した飼養衛生管理基準の全項目について不適合がないことを，年一回以上，確認することを求めている。飼養衛生管理基準は家畜伝染病予防法に基づいて定められており，家畜の伝染病の発生を予防するため，家畜の所有者に当該基準の遵守が義務づけられていることから，JGAP においてもその遵守を確認することとしている。

② 生産工程におけるリスク管理

生産工程におけるリスク管理については，「6. 1 生産工程の明確化」，「6. 2 食品安全上及び家畜衛生上の危害要因の評価」，「6. 3 対策・ルール・手順の決定」，「6. 4 対策・ルール・手順の実施」，さらに記録，検証まで，管理点の順を追って段階的に実施するように作られている。

③ アニマルウェルフェア

アニマルウェルフェアについては，「7. 1 ア

ニマルウェルフェアの考え方に対応した飼養管理指針」に基づいた対応」において，附属書として添付したチェックリストを活用して飼養管理の改善に取り組むことを求めている。なお，「アニマルウェルフェアの考え方に対応した飼養管理指針」および当該指針に基づくチェックリストは，公益社団法人畜産技術協会が，OIE（国際獣疫事務局）のアニマルウェルフェアに関するコードで各畜種の生産システムに関する規約などに準拠して，乳用牛，肉用牛，豚，採卵鶏および肉用鶏についてそれぞれ作成している。

④ 人権・福祉と労働安全

東京 2020 大会の持続可能性に配慮した調達コードにおいて重視されている人権，労働については，「14 人権・福祉と労務管理」で対応しており，また，労働安全については，「16 労働安全管理及び事故発生時の対応」で対応している。

⑤ 環境保全

環境保全については，「20 エネルギー等の管理，地球温暖化防止」，「21 廃棄物の管理及び資源の有効利用」，「22 周辺環境への配慮及び地域社会との共生」，「23 生物多様性への配慮」により，適切な管理を行うことを求めている。

(4) 農場 HACCP 認証基準と JGAP 家畜・畜産物の関係

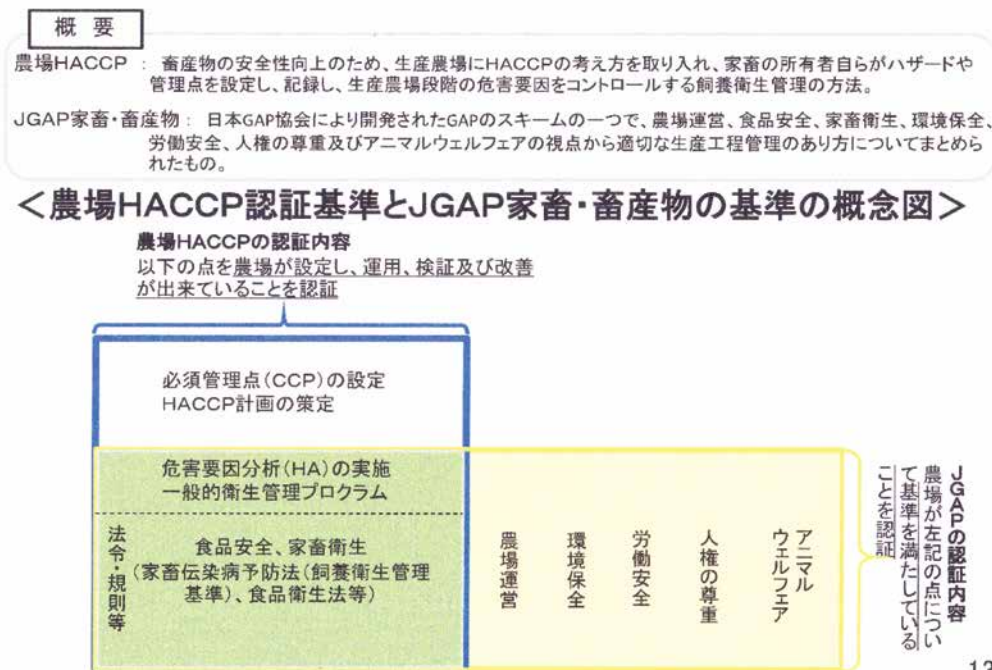
農場の飼養衛生管理に HACCP の考え方を取り入れて，生産される畜産物の安全性を向上させる農場 HACCP 認証基準と JGAP 家畜・畜産物はオリンピックの食材調達基準においては，必須の要件となる JGAP に上乘せをする形で推奨基準として位置づけられていた（図 3）。

具体的には，農場 HACCP 認証基準の認証取得農場に対しては，JGAP 家畜・畜産物と農場 HACCP 認証基準との差分に関する文書を用意し，食品安全および家畜衛生に関する審査が重複しないよう配慮した（表 1）。

表1. 通常の審査と差分審査における管理点の数の比較

審査区分	管理点の数			
	合計	必須項目	重要項目	努力項目
通常の審査	113	57	42	14
差分審査	69	32	27	10

(参考)農場HACCPとJGAP家畜・畜産物の認証について



13

図3 農場HACCP認証基準とJGAP家畜・畜産物の基準概念図

5. JGAP 家畜・畜産物認証取得の審査

認証の取得を希望する農場は、審査・認証機関（中央畜産会，エス・エム・シー(株)）に審査を申込み，認証を取得するためには基準書「JGAP 農場用 管理点と適合基準」の必須項目（57項目）に100%適合，重要項目（42項目）に95%適合が条件となる。努力項目（14項目）は認証に影響しないが，理想的な農場管理のために取り組みが望まれる。認証の有効期間は2年間で，認証を継続するためには維持審査と更新審査が必要になる。認証を取得した農場は審査・認証機関により公表される。

令和3年12月24日現在，乳用牛38経営体，肉用牛73経営体，養豚51経営体，採卵鶏52経営体，肉用鶏30経営体の合計244経営体がJGAP家畜・畜産物の認証を取得している⁹⁾。

6. 農場 HACCP の問題点と今後の方向

(1) 「事業目的達成」等を目的とした農場 HACCP マネジメントシステムの構築

中央畜産会の農場 HACCP 認証農場数は平成24年から平成30年まで順調に右肩上がり増加してきたが，令和元年からは認証を返上する農家が増え始め，全体では認証農場数は微増している(図1)。認証を返上する農場数より新たに認証を取得する農場数が上回っているため，認証数は現

状では微増に留まっている。この原因については，東京2020オリンピック・パラリンピック競技会の食材調達もあり，多くの農場がJGAP差分認証審査に合格することを目的して，農場 HACCP 認証を取得するようになり，それらの取得農場数が底上げして認証数の減少でなく，微増という結果になったと思われる。

農場 HACCP マネジメントシステムの目的は，「農場で生産する畜産物の安心・安全および家畜疾病の発生リスクを管理するための枠組み」を提供することであり，衛生管理方針が「方向」を示すものであることに対して，衛生管理目標は「方針の達成度」を判定する「指標」と考えられる。

したがって，「衛生管理目標が達成している」ということは「農場 HACCP マネジメントシステムの目的」に適切に向かっていると考えられる。

このため，今後は農場 HACCP の認知度の向上（消費者への情報提供等）を図るとともに，図4に示したように農場 HACCP 認証を取得した農場では「事業目的達成」を目的として農場 HACCP マネジメントシステムを構築していくことが望ましいと考える。

(2) リモート方式による現地審査の推進

新型コロナウイルス感染拡大及び鳥インフルエンザの全国的なまん延を受け，農場 HACCP の現地審査ができない農場では代替法として遠隔審査を令和3年から実施している。しかし，リモート

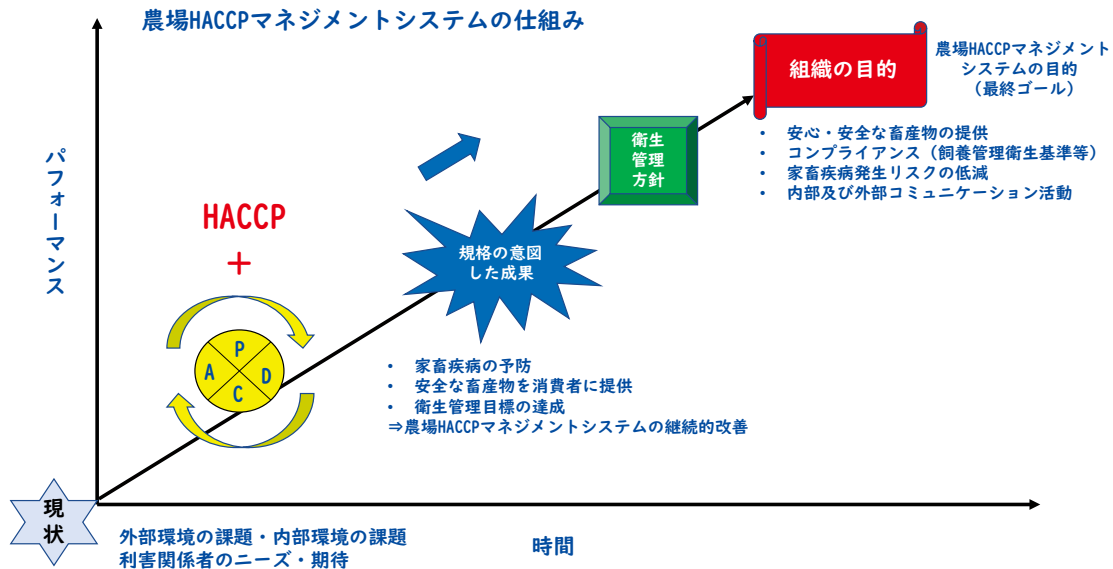


図4 農場HACCPマネジメントシステムの仕組み

農場HACCPマネジメントシステムの仕組み図の説明

1. 家畜衛生方針について外部環境の課題・内部環境の課題及び利害関係者のニーズ・期待を考慮して作成した情報を開示し、衛生管理方針達成のために、農場の全部門で目標及び組織の目的を設定し、定期的に見直しを行う
2. 規格の意図した成果（家畜疾病の予防、安全な畜産物を消費者に提供、家畜衛生管理目標の達成）により農場HACCPマネジメントシステムの継続的改善を図る
3. 関連する法令・規制要求事項（飼養管理衛生基準等）その他の法令・規則を遵守する
4. 家畜衛生意識向上のために、全社員に対して教育・訓練および内部・外部コミュニケーション活動を実施する

方式による現地審査が可能な力量を持つ審査員は限られているので、リモート審査の推進に向け、今後は対応可能な審査員の力量向上研修の実施を継続的に行う必要がある。

(3) 「課題探求型」農場 HACCP 審査への転換

認証機関の審査員は、「規格要求事項への表面上の適合」に関する審査を基本とするため、審査対象となる文書や記録を入念に準備さえしておけば、農場 HACCP 認証基準の表面上の適合について不適合が指摘される可能性は低い。しかし、農場 HACCP マネジメントシステムの「規格要求事項への表面上の適合」と「適切かつ有効な運用（プロセスの有効性）」とは別物である。「農場 HACCP マネジメントシステムが組織に浸透しているか」、「農場 HACCP マネジメントシステムで結果が出ているか」という観点からプロセス（PDCA）の有効性・実効性を評価して、農場にマネジメントシステム本来の目的を気づいていただく「課題探求型」審査に転換する必要があると思われる。

7. 最後 に

筆者は ISO22000 審査員のほかに ISO9001 と ISO 14001 審査員をマネジメントシステム審査員評価登録センター（JRCA）に登録しており、過去に審査経験もあるが、残念ながら、ISO9001 と ISO14001 の

認証件数は平成 19 年を境に減少に転じている（図 5）。

ISO が大幅に減少している理由は①対外的なアピールや他社との差異化を期待して ISO9001 と ISO14001 を取得したが、維持・更新審査費用などのコストを上回るメリットを見いだせなかったこと② ISO9001 と ISO14001 を導入しても社員が本来業務と全く別の活動として捉えているため、社員にとって余分な仕事となり、形骸化してしまったこと③「経営に役立つツール」と言いながら、ISO コンサルタントはシステム構築の定型的な指導しかしないこと④ 審査での指摘事項が規格に対する適合性のみであり、審査を受けても役に立たないこと⑤経営者の関与が薄いこと等が言われている。

これらの問題点を踏まえて、平成 27 年に ISO9001 と ISO14001 の抜本的な改正が行われたにも拘らず、その後の ISO9001 と ISO14001 の認証売上額は減少の一途をたどっている（図 6）。いっぽう、ISO14001 の審査員や主任審査員の登録者数も平成 25 年頃から減り始め、平成 31 年の登録者数はピーク時の 40% となっている。主任審査員と審査員を 100% 稼働すると、現在の ISO14001 認証件数では審査員に対して仕事量が全く足りないため、ISO 認証売り上げが増加することが期待できない状況で、平成 28 年頃から一定数の審査員に仕事を集中して稼働率を上げるため、審査員の大幅な整理が行われた結果、ISO14011 の審査員数は激減した（図 7）。

農場 HACCP 認証基準は ISO 規格ではなく ISO

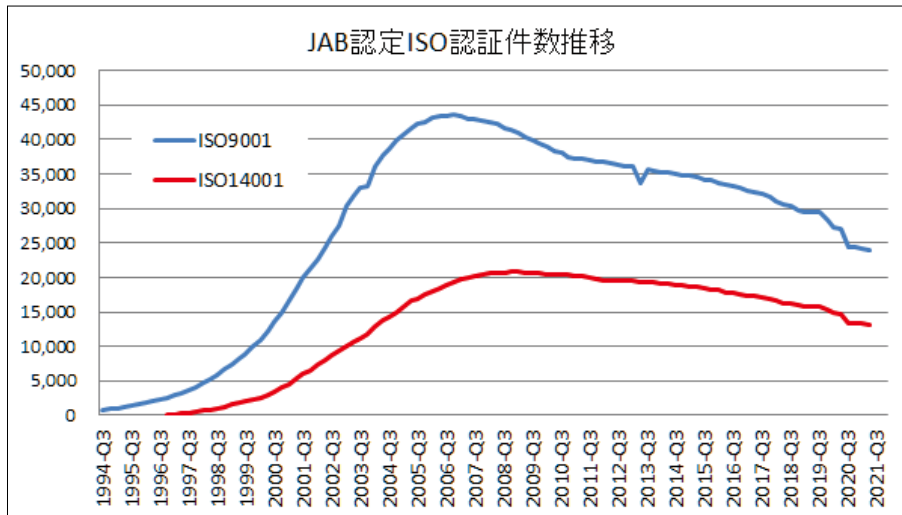


図5 ISO9001とISO14001認証登録件数の推移

ISO認証ビジネス2021

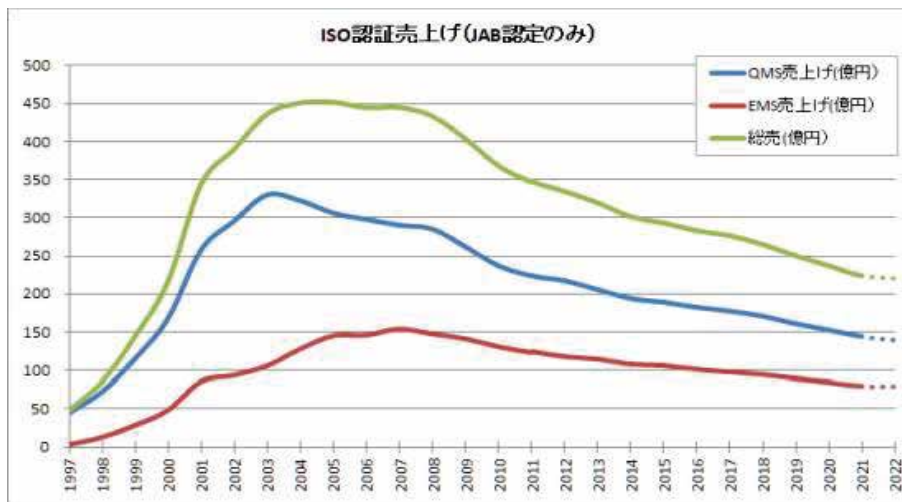


図6 ISO9001とISO14001の認証売り上の推移

ISO認証ビジネス2021

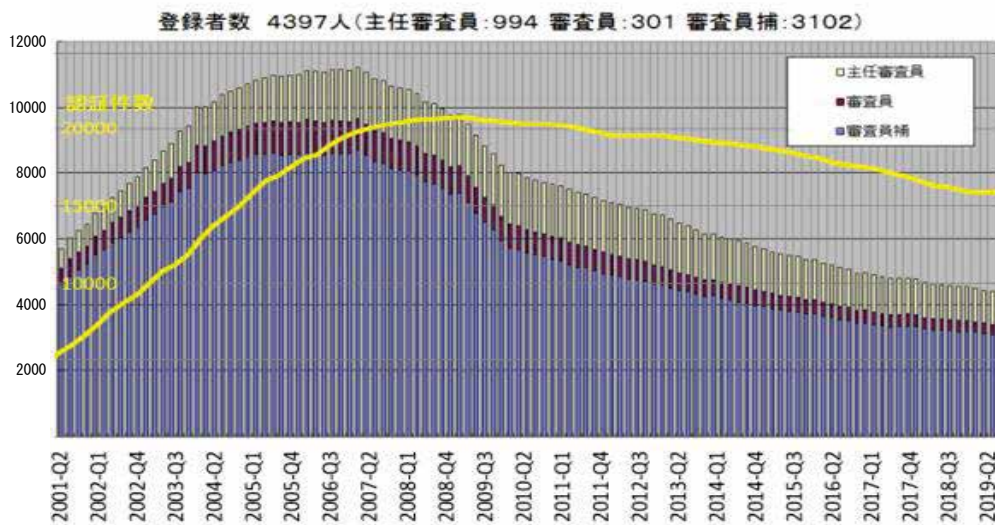


図7 CEAR登録のISO14001審査員の推移

ISO認証ビジネス2019

9001とISO14001とは別の規格なので、認証件数の減少の原因は異なると考えられるが、ISO22000:2005をベースに発行された規格であり、共通している要求事項も多いため、将来は、ISO 9001及びISO14001と同様に農場HACCP認証登録件数が減少することも考えられる。認証登録件数が減少すれば、審査件数が減るので、新たに審査員研修を受ける人も減少し、農場HACCP審査員に登録する人も少なくなることが考えられる。このため、前述の「農場HACCPの問題点と今後の方向」で述べた「事業目的達成」等を目的とした農場HACCPマネジメントシステムの構築及び「課題探求型」農場HACCP審査へ転換することが喫緊の課題だと考える。「明日の農場HACCP認証登録件数」は「ISO9001・14000認証登録件数」である。

農場HACCP認証基準の改正を契機として「表面的な規格適合性審査」から「現実的で効果的な審査」への転換を目指して、農場HACCP構築及び審査体制の抜本的な見直しを図ることを期待したい。

参考文献

- 1) 農林水産省消費・安全局動物衛生課：農場HACCP認証取得農場数の推移 https://www.maff.go.jp/j/syouan/douei/katiku_yobo/k_haccp/ (2021)
- 2) 中央畜産会：「農場HACCP認証制度について」 <https://jlia-farm-accp.jp/> (2021)
- 3) 日本規格協会：対訳 ISO22000:2005 食品安全マネジメントシステム—フードチェーンのあらゆる組織に対する要求事項 ポケット版 (2007)
- 4) ISO 22000:2018 食品安全マネジメントシステム 要求事項の解説：湯川剛一郎 (2019)
- 5) 中央畜産会：「農場HACCP認証審査のために」 (2021)
- 6) 中央畜産会：「畜産農場における飼養衛生管理向上の取組認証基準（農場HACCP認証基準）の理解と普及に向けて」 (2021)
- 7) ワイアールシーFSMS研究会：ISO22000:2005 食品安全チームのためのガイドライン—食品安全マネジメントシステム入門 (2006)
- 8) JGAP協会：「JGAP家畜・畜産物について」 <https://jgap.jp/jgap/livestock/> (2017)
- 9) 農林水産省畜産局畜産振興課：「畜産における生産工程管理（GAP）をめぐる情勢」 https://www.maff.go.jp/j/chikusan/kikaku/chikusan_gap.html (2022)

広島県における *Streptococcus ruminantium* の 分離状況

船守 足穂 細川久美子 兼廣 愛美 石浦 英文
(受付：令和4年2月13日)

Isolation cases of *Streptococcus ruminantium* in Hiroshima Prefecture

TARUHO FUNAMORI, KUMIKO HOSOKAWA, MEGUMI KANEHIRO and HIDEFUMI ISHIURA

Western Center for Livestock Hygiene Service, Hiroshima Prefecture, 1-15
Saijogojo-cho, Higashi-Hiroshima, Hiroshima, 739-0013

SUMMARY

Streptococcus ruminantium was identified by PCR in 28 *Streptococcus suis* strains detected based on their biochemical properties by pathological tests in Hiroshima Prefecture between 1993 and 2019. Of these, *S. suis* accounted for 95.4% (21/22) of pig-derived strains, while *S. ruminantium* for 83.3% (5/6) of cattle/female goat-derived strains. All of the *S. ruminantium* strains isolated in Hiroshima Prefecture were detected mainly from lung abscesses, nasal discharges, and joint abscesses in mixed infections. Presumably, one of the strains caused death due to sepsis. The bovine-derived strains were resistant to SM, EM, LCM, TC, and TMP but were susceptible to various drugs, including β -lactams. Furthermore, all of the *S. ruminantium* strains, including those reported herein and previously, were determined to be *S. suis* using API® 20 STREP. The *S. ruminantium* strains were generally negative for β GAL and ADH, while the *S. suis* strains were mostly positive. The risks of *S. ruminantium* cannot be underestimated because it is frequently isolated in cattle and female goats. However, its biochemical properties are similar to those of *S. suis*, suggesting the need for the concomitant use of PCR for accurate identification.

— Key words: *Streptococcus ruminantium*, Cattle, Sheep, Goat, *Streptococcus suis*

要 約

平成5年～令和元年に広島県内の病性鑑定事例において生化学的性状により *Streptococcus suis* と同定した28株について、PCR法により *Streptococcus ruminantium* の識別を実施した。豚由来株は95.4% (21/22株) が *S. suis*、牛・めん山羊由来株は83.3% (5/6株) が *S. ruminantium* と同定された。本県で分離された *S. ruminantium* は全例が混合感染で主に肺・鼻汁・関節膿瘍から検出され、うち1例は本菌による敗血症で死亡したと推察された。牛由来株はSM・EM・LCM・TC・TMPに耐性の株を認めたが、βラクタム系を含む多くの薬剤に対し感受性であった。また、本報告及び既報を含め *S. ruminantium* は、アピ20ストレップにおいて全て *S. suis* と判定されたが、β GAL 及び ADH については、*S. ruminantium* は陰性、*S. suis* は陽性の傾向にあった。*S. ruminantium* は特に牛・めん山羊において分離頻度が高く、必ずしもリスクを無視できない病原体であるが、*S. suis* と生化学的性状が類似しており、正確な同定にはPCR法の併用が必要と考えられた。

—キーワード：*Streptococcus ruminantium*、牛、めん羊、山羊、*Streptococcus suis*

はじめに

Streptococcus ruminantium は、グラム陽性通性嫌気性球菌で、平成29年に *Streptococcus suis* 血清型33型から再分類された菌種である¹⁾。本菌は主に反芻類の口腔・扁桃・肺に常在しており、肺炎・心内膜炎・関節炎等からの分離事例が報告されているが、病原性については明らかにされていない²⁻⁴⁾。しかし、本菌によると畜場での廃棄事例も報告³⁾されていることから、畜産農家に対し経済的被害を及ぼす感染症の1つとして近年注目されつつある。

本菌の生化学的性状は *S. suis* と極めて類似し、簡易同定キット使用時に参照するデータベース (<https://apiweb.biomerieux.com/identIndex>) 上に *S. ruminantium* のコードが存在しないことから、病性鑑定時における両者の正確な鑑別は困難であり、これまで詳細な同定は殆ど行われていなかった。しかし、令和元年大倉らがPCR法による同定手法を報告し、病性鑑定施設を有する家畜保健衛生所においても容易に鑑別が可能となった²⁾。そこで今回、平成5年度～令和元年度に本県で *S. suis* と同定された分離株について、改めてPCR法により *S. ruminantium* の同定を実施するとともに、分離状況を調査したので、その概要を報告する。

材料及び方法

1. 菌種同定

(1) 供試菌株：平成5年度～令和元年度の県内病性鑑定事例において生化学的性状により *S. suis* と同

定した28株（豚由来22株、牛由来4株、めん山羊由来2株）を供試した。

(2) 方法：石田らの方法に準拠した *S. suis* *recN* 遺伝子を標的としたPCR法⁵⁾ 及び大倉らの方法に準拠した *S. ruminantium* 16S-rRNA を標的としたPCR法²⁾ により、*S. suis* 及び *S. ruminantium* の同定を行った。

2. *S.ruminantium* 分離状況調査

1. の菌種同定において *S.ruminantium* と鑑別した5株について、以下の調査を実施した。

(1) 病性鑑定記録振り返り調査：過去の病性鑑定依頼書及び回答書により、分離年度、由来畜種及び臓器、症状、病理学的診断、混合感染として検出された病原体について調査した。

(2) 薬剤感受性試験：ペニシリン (PCG)・アンピシリン (ABPC)・セファゾリン (CEZ)・セフトキシム (CTX)・ストレプトマイシン (SM)・カナマイシン (KM)・ゲンタマイシン (GM)・エリスロマイシン (EM)・リンコマイシン (LCM)・テトラサイクリン (TC)・エンロフロキサシン (ERFX)・クロラムフェニコール (CP)・チアンフェニコール (TP)・トリメトプリム (TMP) の14種について、微量液体希釈法により最小発育阻止濃度 (MIC) を測定した。ブレイクポイントは臨床・検査標準協会指針及び既報の *S. suis* におけるデータ⁶⁾ を参考に設定した。

(3) 生化学的性状試験：レンサ球菌同定用キット (アピ20ストレップ, シスメックス・ビオメリュウ(株), 東京) により性状を確認し、得られた成績と既報の

S. ruminantium 参考株及び野外株^{3-4, 7-9)}、本県で平成29年度に分離した*S. suis* 基準株¹⁰⁾の成績と比較した。

成 績

1. 菌種同定

供試菌株28株のうち22株が*S. suis* (豚由来21株, 牛由来1株), 5株が*S. ruminantium* (牛由来3株, めん山羊由来2株)と同定され, 豚由来1株はいずれにも同定されなかった(表1)。

表1 菌種鑑別成績

畜種	<i>S. suis</i>	<i>S. ruminantium</i>	other
牛 (n=4)	1	3	
めん山羊 (n=2)		2	
豚 (n=22)	21		1

(単位: 株)

2. *S. ruminantium* 分離状況調査

(1) 平成17年度~令和元年度にかけて, 主に肺・鼻汁・関節膿瘍から分離された, 病理学的検査を実施した3例については, いずれも*S. ruminantium*が分離された部位において化膿性病変が認められたが, 全例が混合感染により検出されていた(表2)。菌株④の分離症例では, 病理組織学的検査において肺の血管領域におけるグラム陽性球菌の浸潤と血管炎及び血栓形成を伴う肺炎が認められた(図1)。

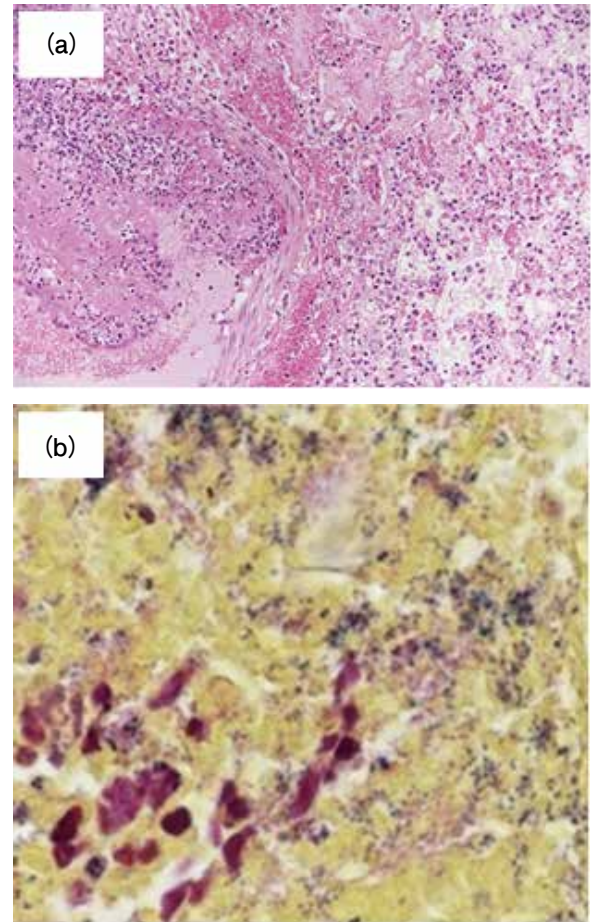


図1 肺の病理組織学的所見(菌株④)

- (a) 血管炎及び血栓形成を伴う肺炎が認められた(HE染色)
 (b) (a)の病変部に一致してグラム陽性球菌が認められた(グラム染色)

表2 病性鑑定記録振り取り調査成績

菌株	年度	畜種	<i>S. ruminantium</i> 分離組織	症状	病理診断	混合感染
①	H17	牛	鼻汁	呼吸器病	NT	<i>Pasteurella multocida</i> <i>Staphylococcus hyicus</i>
②	H28	牛	関節膿瘍	関節炎	NT	<i>Trueperella pyogenes</i>
③	H28	牛	肺	死亡	壊死性化膿性気管支肺炎 化膿性臍帯炎 等	<i>Escherichia coli</i>
④	R1	山羊	肺, 腎臓 肝臓, 脾臓	死亡	間質性肺炎 腎臓微小膿瘍形成 等	<i>Trueperella pyogenes</i>
⑤	R1	羊	肺	死亡	化膿性肺炎 小葉中心性肝細胞壊死 等	<i>Escherichia coli</i> <i>Corynebacterium</i> sp.

(NT: 未実施)

表3 薬剤感受性試験成績

菌株	PCG	ABPC	CEZ	CTX	SM	GM	KM	EM	LCM	TC	ERFX	CPFX	CP	TP	TMP	
①	牛	≤0.5	≤1	≤1	≤0.5	4	8	16	≤0.5	4	16	0.5	0.5	2	2	≤0.25
②	牛	≤0.5	≤1	≤1	≤0.5	128	8	32	16	64	32	0.5	1	2	2	≤0.25
③	牛	≤0.5	≤1	≤1	≤0.5	16	8	32	32	64	32	0.5	1	2	2	16
④	山羊	≤0.5	≤1	≤1	≤0.5	8	8	32	≤0.5	≤0.5	≤0.5	1	0.5	≤1	1	≤0.25
⑤	羊	≤0.5	≤1	≤1	≤0.5	4	8	32	≤0.5	2	≤0.5	0.5	1	2	2	≤0.25

■: 耐性と考えられる項目, 数値: MIC値(μg/ml)

表4 アピ20ストレップにおける生化学的性状

分離県 菌株名	年度	VP	HIP	ESC	PRYA	α GAL	β GUR	β GAL	PAL	LAP	ADH	RIB	ARA	MAN	SOR	LAC	TRE	INU	RAF	AMD	GLYG	β HEM	<i>S. suis</i> ID値
広島①	H17	-	-	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	-	+	+	-	96.7
広島②	H28	-	-	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	-	93.1
広島③	H28	-	-	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	-	93.1
広島④	R1	-	-	+	+	-	+	-	-	-	+	-	-	-	-	+	+	+	-	-	+	-	99.6
広島⑤	R1	-	-	+	+	-	+	-	-	-	+	-	-	-	-	+	+	+	-	+	+	-	99.9
EA1832.92 参考株	H7以前	-	-	+	+	+	+	-	-	+	+	-	-	-	-	+	+	+	-	+	+	-	99.9
埼玉	H26	-	-	+	+	+	+	-	-	+	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	-	99.2
山形	H23	-	-	+	+	+	+	-	-	+	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	-	99.2
長崎①	H25	-	-	+	-	+	+	-	-	+	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	-	97.3
長崎②	H25	-	-	+	-	-	+	-	-	+	-	-	-	-	-	+	+	+	-	+	+	-	95.8
長崎③	H25	-	-	+	+	-	+	-	-	+	-	+	-	-	-	+	+	+	-	+	+	-	57.9
長崎④	H25	-	-	+	+	+	+	-	-	+	-	-	-	+	-	+	+	+	+	+	+	-	98.4
長崎⑤	H25	-	-	+	+	-	+	-	-	+	-	-	-	-	-	+	+	+	-	+	+	-	97.3
広島 <i>S. suis</i> 血清型14型	H29	-	-	+	+	-	+	-	-	-	+	-	-	-	-	+	+	-	+	+	+	-	99.4

- (2) 牛由来株において TC の 1 剤耐性と考えられる株が 1 株, SM・EM・LCM・TC の 4 剤耐性と考えられる株が 1 株, EM・LCM・TC・TMP の 4 剤耐性と考えられる株が 1 株認められた (表 3).
- (3) 本県由来の *S. ruminantium* 5 株の生化学的性状は, 既報の *S. ruminantium* 8 株及び *S. suis* 基準株 1 株と概ね同様であり, 全株が *S. suis* (ID 値 57.9 ~ 99.9%) と判定された (表 4).

考 察

細菌の同定にあたっては, 生化学的性状が重要な指標となるが, *S. ruminantium* と *S. suis* のように生化学的性状が類似した菌株の鑑別には, 遺伝子解析や抗血清等が必要となる。

今回, PCR 法により両者を解析した結果, これまで *S. suis* と同定されていた 28 株は, 豚由来の 95.4% (21/22 株) が *S. suis* と同定され, *S. ruminantium* は含まれなかった。一方, 牛及びめん山羊においては 83.3% (5/6 株) が *S. ruminantium* と同定され, *S. suis* は 16.7% (1/6 株) であった。このことから, 反芻類において生化学的性状により *S. suis* と同定される株が分離された際, 正確な同定には PCR 法の併用が必要と考えられた。

病性鑑定記録振り返り調査の結果, *S. ruminantium* は主に肺・鼻汁・関節膿瘍から分離されており, 既報と同様であった²⁾。病理組織学的検査を実施した 3 例については, いずれも *S. ruminantium* 分離部位において化膿性病変が認められたが, 全例が *Esherichia coli*, *Trueperella pyogenes* 等他の病原体との混合感染により検出されており, *S. ruminantium* 単独による病態への関与の程度は不明であった。一方, 菌株④の症例においては, 肺・肝臓・脾臓・腎臓から *S.*

ruminantium が分離され, 病理組織学的にも肺の血管領域におけるグラム陽性球菌の浸潤と血管炎及び血栓形成を伴う肺炎を認めたことから, *S. ruminantium* による敗血症で死亡したと考えられた。既報においても, *S. ruminantium* は日和見感染症として分離される事例が多いが, 様々な感染症を引き起こす可能性が報告されていることから²⁻⁴⁾, 本菌は必ずしもリスクを無視できない病原体であると考えられた。

薬剤感受性試験では, SM・EM・LCM・TC・TMP 耐性と考えられる株が牛から分離された。しかしながら, 全株とも治療における第一選択薬とされる β ラクタム系を含む 10 種類の薬剤に対し感受性と考えられたことから, 本菌における薬剤耐性リスクは高くないと考えられた。

S. ruminantium 及び *S. suis* の生化学的性状は既報と同様に類似しており, アピ 20 ストレップにおいては両者とも全て *S. suis* と判定された。一方, 表 3 における *S. ruminantium* 13 株の陽性率を API コード表 (シスメックス・バイオメリュウ(株), 東京) に記載の *S. suis* のデータと比較したところ, β GAL 及び ADH については, *S. ruminantium* は陰性, *S. suis* は陽性と異なる傾向にあり (表 5), これらの性状が両者の鑑別の指標となる可能性が考えられた。しかしながら, 調査対象が 13 株と少ないため, より多くの株を引き続き精査する必要があると考えられた。

S. ruminantium は, 菌種再分類に伴い近年注目されつつあるが, 本菌の病態を示した症例報告は現状においては稀少である。今後の病性鑑定においても, 今回用いた手法やデータを活用することで, 診断精度の向上及び本菌に関する知見を蓄積していくことが重要である。

表5 *S. ruminantium*と*S. suis*の生化学的性状比較

菌種	VP	HIP	ESC	PYRA	α GAL	β GUR	β GAL	PAL	LAP	ADH	RIB	ARA	MAN	SOR	LAC	TRE	INU	RAF	AMD	GLY	β HEM
<i>S. ruminantium</i> (n=13)	0	0	100	85	62	100	0	0	54	23	8	0	8	0	100	100	100	46	92	100	0
<i>S. suis</i> I (APIコード表)	0	1	82	53	80	94	76	1	100	91	0	0	7	0	94	100	75	0	100	89	0
<i>S. suis</i> II (APIコード表)	0	1	70	41	91	91	52	3	100	95	0	0	3	1	99	98	63	93	99	96	2

数値：陽性率 (%)

※ *S. suis* は API コード表において RAF の性状により I 型及び II 型に区分 (生物学的な分類とは異なる)

引用文献

- Tohya M., et al: Defining the taxonomic status of *Streptococcus suis* serotype 33: the proposal for *Streptococcus ruminantium* sp. Nov., *J Syst Evol Microbiol*, 67, 3660-3665 (2017)
- Okura M., et al: Genotypic diversity of *Streptococcus suis* and the *S. suis*-like bacterium *Streptococcus ruminantium* in ruminants, *Vet Res*, 50:94 (2019)
- Sato T., et al: *Streptococcus suis* serotype 33 isolates from a case of bovine endocarditis, *J Vet Med*, 66, 195-199 (2013)
- 荒井理恵ほか：既知の種に属さないレンサ球菌属菌が分離された牛肺炎の一症例と分離株の性状, 埼玉県調査研究成績報告書 (家畜保健衛生業績発表集録, 56, 57-64 (2014)
- Ishida S., et al: Development of an appropriate PCR system for the reclassification of *Streptococcus suis*, *J Microbiol Methods*, 107, 66-70 (2014)
- Kataoka Y., et al: A 10-year survey of antimicrobial susceptibility of *Streptococcus suis* isolates from swine in Japan, *J Vet Med*, 62, 1053-1057 (2000)
- Tien LHT., et al: Reappraisal of the taxonomy of *Streptococcus suis* serotype 20, 22, 26 and 33 based on DNA-DNA homology and *sodA* and *recN* phylogenies, *Vet Microbiol*, 162, 842-849 (2013)
- Higgins R., et al: Description of six new capsular types (29-34) of *Streptococcus suis*, *J Vet Diagn Invest*, 7, 405-406 (1995)
- 木山勇介ら：既知の種に属さないレンサ球菌属菌が関与した細菌性肺炎, 長崎県平成 25 年度家畜保健衛生業績発表会集録, 45-47 (2013)
- Funamori T., et al: Streptococcal infection with Meningitis and epicarditis caused by *Streptococcus suis* serotype 14 in suckling pigs, *J Vet Med*, 72, 533-538 (2019)

広島県内フリーストール酪農場での 牛マイコプラズマ性乳房炎発生事例

高嶋 実和

(受付：令和4年2月14日)

Cases of mycoplasmal bovine mastitis in a free stall dairy farm in Hiroshima Prefecture

MIWA TAKASHIMA

Higashihiroshima Veterinary Clinical Center, Hiroshima A.M.A.A, Inaki 284-1,
Takaya-Cho , Higashi-Hiroshima, Hiroshima 7392106

SUMMARY

Mycoplasmal (Mp) bovine mastitis is mastitis characterized by a marked decrease or stoppage of lactation. Since it responds poorly to treatments, it may lead to marked economic losses. Recently, in Hiroshima Prefecture, the second case of Mp mastitis occurred, and 4 cows were confirmed to have breast infection. The cases developed in a large free stall dairy farm that had about 100 milking cows, and some of the cattle had been introduced from Hokkaido. This dairy farm had no past history of Mp mastitis. In 2017, Mp infection was detected in 2 cows (A, B) in April, 1 cow (C) in May, and 1 cow (D) in June, and all were culled. All 4 cows confirmed to be infected had been kept in the same barn. In cow A, the first case, β hemolysis suggestive of Mp infection was confirmed by the second milk testing on the 4th day of disease, and a diagnosis of Mp mastitis was made following pathological assessment by the livestock hygiene center. After the diagnosis, bulk milk testing was conducted 6 times, and bedding change and dolomite lime disinfection were performed in the sick/dry cattle barn. The *M. bovis*-positive cow was given systemic and intramammary antibiotic administration, cows that had been kept in the same barn as the positive cow were given systemic and intramammary antibiotic or antibacterial administration as drying off tests, and pre-drying off and postcalving tests were performed. The bulk milk tests and pre-drying off tests were all negative. Regarding the postcalving tests, the primary testing was performed at the veterinary clinic, and 2 cows were positive, with 1 being infected by *Acholeplasma*. In

the cases reported here, it is possible that cow B was a *M. bovis* carrier that spread the infection. The infection is considered to have spread to cows in the sick/dry cattle barn as the carrier cow could not be completely quarantined.

— Key words: Mycoplasmal bovine mastitis, free stall, introduced cattle, bulk milk testing

要 約

牛マイコプラズマ（以下 Mp）性乳房炎は牛マイコプラズマ（以下, Mp）性乳房炎は, 量の著減もしくは泌乳停止を特徴とする乳房炎で, 治療効果が乏しく甚大な経済損失を招く. このたび, 広島県では2例目となる Mp 性乳房炎が発生し4頭の乳房感染を確認した. 発生場所はフリーストールの大型酪農場で搾乳牛頭数約100頭, 育成牛の一部を北海道から導入している. 当該農場では過去に Mp 性乳房炎の発生歴はない. 2017年4月2頭（牛A, 牛B）, 5月1頭（牛C）, 6月1頭（牛D）の Mp 感染を確認しすべて淘汰された. 確認された4頭はすべて同一牛舎内で飼育されていた. 初発牛Aでは第4病日で2度目の乳汁検査により Mp 感染を疑うβ溶血を確認した後, 家畜保健衛生所の病性鑑定で Mp 性乳房炎と診断された. Mp 性乳房炎と診断後, 6回のバルク乳検査を実施, 病牛・乾乳牛舎の敷料交換及びドロマイト石灰での消毒を実施した. *M.bovis* 陽性牛には抗生剤の全身・乳房内投与を行い, 陽性牛と同居していた牛に対し抗生剤または抗菌剤の全身・乳房内投与を用いた乾乳期治療を行い, さらに乾乳前検査, 分娩後検査を実施した. バルク乳検査, 乾乳前検査は共に全て陰性であった. 分娩後検査は診療所で1次検査を行い2頭が陽性で, うち1頭は *Acholeplasma* 属菌であった. 今回の発生では牛Bが *M.bovis* 保菌牛となり感染拡大させた可能性があった. 保菌牛を完全隔離ができず病牛・乾乳牛舎の牛へ感染拡大させたと考えられた.

— キーワード: 牛マイコプラズマ性乳房炎, フリーストール, 導入牛, バルク乳検査

序 文

牛マイコプラズマ（以下, Mp）性乳房炎は, 乳量の著減もしくは泌乳停止を特徴とする乳房炎で, 治療効果が乏しく廃用率, 再発率が高いため甚大な経済損失を招くとされている. 本疾病は本州では散発的な発生が見られる.^{1, 2)} 広島県では2015年に最初の発生が報告されている.³⁾ 北海道では2015年～2017年に実施された調査で, 道内のバルク乳検査等にて1.4～6.7%の農家で発生が確認された.⁴⁾ 感染経路は乳汁による環境や搾乳器具の汚染による上向感染や, 肺炎, 関節炎からの下向感染などがある.^{5, 6)} このたび, 2017年4月～6月計4頭の全身症状を伴うマイコプラズマ・ボビス（以下, *M.bovis*）による乳房炎が発生したので概要を報告する. 本症例は広島県で2例目の報告である.

材料と方法

1 供試材料

1) 農家概要: 広島県内の酪農場で, 飼養形態はフリーストール, 搾乳牛頭数は約100頭, 3～4名で搾乳を行っており, 育成牛の一部を北海道から導入している. 搾乳牛舎, 育成牛舎, 病牛・乾乳牛舎があり, このうち搾乳牛舎は4群に分かれている. 病牛・乾乳牛舎では10頭前後の牛を飼養できる広さがある. (写真1) 子牛牛舎は搾乳牛舎から離れており (図1), 子牛担当者は搾乳に従事していない. 本農場では過去にマイコプラズマ性乳房炎の発生歴はなく, 1頭目の陽性牛を確認した時点で, 成牛・子牛ともに呼吸器疾患や関節炎による往診依頼はなかった.



写真1 病牛・乾乳牛舎



図1 農場模式図

引用元：Google社「Google マップ, Google Earth」
<https://www.google.com/intl/ja/permissions/geoguidelines/> (一部改変)

2 細菌学的検査

- i) 血液寒天培地の直接鏡検：乳汁検査にて5%羊血液寒天培地 (37°C 1～2日間好気培養) 上に認められたβ溶血部分を1cm²の格子状に切り取りDienes液で染色⁷⁾し、顕微鏡にて青紫色に染色されたコロニーを観察する。
- ii) 菌分離：M. spp. (DNA添加変法 Hayflick 培地, BHL 液体培地, 37°C 1～2日間5%炭酸ガス及び密栓培養), 腸内細菌 (DHL 寒天培地, 37°C 24時間好気培養), 一般細菌 (5%羊血液寒天培地, 37°C 48時間5%炭酸ガス培養)
- iii) 同定 (遺伝子検査)：
 - 遺伝子抽出：InstaGene DNA 精製マトリックス (バイオラッド社) による抽出
 - 遺伝子増幅：PCR法 (M.bovis 及び M. spp に特異的な遺伝子を標的とする)
- iv) 薬剤感受性試験 (牛A, 牛B)：微量液体希釈法を用いた最小発育阻止濃度 (Minimum Inhibitory Concentration, 以下MIC) の測定
- v) バルク乳検査：遺伝子検査



写真2 牛A・牛Bの罹患乳房



写真3 羊血液寒天培地上のβ溶血

成 績

1) 発生経過

4月4日病牛・乾乳牛舎の牛A (3月22日分娩) がほとんど泌乳しないとの稟告で往診した。初診時の体温は39.5°C、乳房の腫脹硬結はなく (写真2) 食欲不振、皮温冷感など低Ca血症に類似した症状を併発していたが肺炎症状は見られなかった。初診日に診療所で行った細菌学的検査では有意菌陰性であったため、4月6日再度乳汁を採材し好気培養したところ羊血液寒天培地上にβ溶血 (写真3) のみが認められ、コロニーが肉眼的に認められなかった。また、臨床症状からも、Mp感染が疑われたため、家畜保健衛生所

に詳細な検査を依頼したところ、M.bovisと診断された。牛Aは抗生剤、Ca剤などを投与したところ、解熱し活力上昇したが泌乳が回復しなかったため、4月19日に淘汰された。その間、牛Aは隔離されず、病牛・乾乳牛舎で飼養されていた。その後、4月21日牛Aと同居していた牛B (3月18日分娩) に発熱と乳房炎症状がみられた。乳房の腫脹硬結は認められなかったが、乳汁に凝固物が混入しており、細菌学的検査によりM.bovisと診断された (表1, 2)。牛Bは5月1日に育成牛舎に隔離され、泌乳停止したが全身

表1 牛A・B検査結果

	5%羊血液 寒天培地 (β溶血)	直接鏡検 (Dienes染色)	菌分離	PCR <i>M.bovis</i>	一般細菌
牛A	+	+	+	+	+
牛B	+	+	+	+	—

表2 牛A・Bから分離された*M.bovis*の薬剤感受性

薬剤名	牛A <i>M.bovis</i> ≥ 10 ⁶ (mg/ml)	牛B <i>M.bovis</i> ≥ 10 ⁶ (mg/ml)
OTC	25	25
チルミコシン	12.5	6.25
ERFX	0.2	0.1
MRFX	0.8	0.8
フロルフェニコール	6.25	3.13
タイロシン	25	25

OTC：オキシテトラサイクリン，ERFX：エンロフロキサシン，MRFX：マルボフロキサシン

症状が改善したため肥育牛となり9月7日に出荷された。牛C(5月2日分娩)は5月18日に*M.bovis*陽性となり、抗生剤による治療を実施したが効果なく6月6日に淘汰された。牛D(6月9日分娩)は6月19日に*M.bovis*陽性となり、6月30日に育成牛舎に隔離され7月3日に淘汰された。また、6月26日には乳汁検査でβ溶血を認めるMp疑い牛が発生したが即淘汰されたため家畜保健衛生所に検査を依頼していない。また、3月末に牛Bと搾乳牛舎で同居していた牛2頭が泌乳停止となり淘汰されていたが、検査には至らなかった。これら牛A～Dの詳細を表3に、発生時系列を表4に示す。

2) Mp乳房炎と診断後の対策

4月から翌年1月までに6回バルク乳検査を実施したが、全て陰性であった。本検査法は100頭～300頭(1バルク)に1頭の陽性個体を検出できるという高い感度を有しているが、バルク乳では検出できない陽性固体も存在するという報告がある⁸⁾。そのため、

表3 *M.bovis*陽性牛の詳細と予後

牛	生年月日	導入自家産	分娩月日	初診日	発生場所	体温(℃)	乳房症状	治療	治療回数	予後
A	2011年 2/8	2012年 12月導入 北海道	3/22	4/4	病牛・ 乾乳牛舎	39.5	泌乳停止	ABPC ERFX	7回	4/19 廃用
B	2015年 4/18	2016年 12月導入 北海道	3/18	4/21	搾乳牛舎	41.0	乳汁ブツ	CEZ ERFX	6回	9/7 出荷
C	2007年 7/4	自家産	5/2	5/18	病牛・ 乾乳牛舎	39.8	乳汁ブツ	CEZ CXM ERFX MRFX	9回	6/6 廃用
D	2013年 8/23	自家産	6/9	6/17	病牛・ 乾乳牛舎	40.5	乳房硬結 乳汁ブツ	ABPC ERFX	11回	6/30 廃用

CEZ：セファゾリン，CXM：セフロキシム，ERFX：エンロフロキサシン，MRFX：マルボフロキサシン，ABPC：アンピシリン

表4 Mp対策中の陽性牛発生状況と検査の経過

年月	2017 3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	2018 1
牛Bの同居牛2頭	淘汰										
牛A		M+ 淘汰									
牛B		M+	隔離					淘汰			
牛C			M+	淘汰							
牛D				M+	隔離						
Mp疑い1頭				淘汰							
バルク乳検査		—		—				—		—	—
乾乳前検査					—	—	—	—			
分娩後検査					—	—	—	2頭+	—	—	

M+：*M.bovis*陽性，—：液体培地陰性，+：液体培地陽性

M.bovis 陽性牛と同居していた牛に対して個体乳検査も並行しておこなった。搾乳牛舎で罹患牛と同居していた牛は乾乳前の乳汁検査を、また病牛・乾乳牛舎での同居牛のうち泌乳牛には乳汁検査を行い、Mp 陽性となれば治療を実施することとした。乾乳牛で陽性牛と同居していた牛は検査不可能であったため予防的治療を実施した。さらに5月～12月の期間、分娩後検査を実施した。検査は診療所でマイコプラズマ液体培地（マイコプラズマ用液体培地：ミヤリサン製薬）を使用し好気密栓培養をおこなった。培地が黄色に変化し陽性となった個体（写真4）では再度採材し、家畜保健所に詳細な検査を依頼した。

4月のMp性乳房炎発生以降、5月にドロマイド石灰による病牛・乾乳牛舎の消毒を行ったが、その後も継続して陽性牛が摘発された。一方、乾乳前検査はすべて陰性であった。分娩後検査では2頭の陽性反応が出たが、1頭は検査結果が判明する前に淘汰されたため詳細な検査ができず、もう1頭は *Acholeplasma* 属菌であった。その後、農場内でMp性乳房炎の発生は確認されていない。

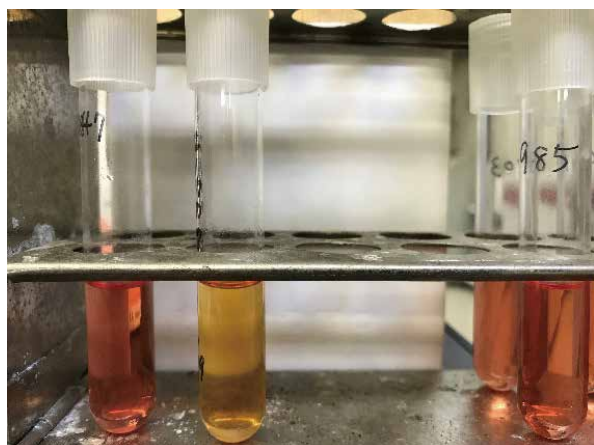


写真4 マイコプラズマ液体培地での黄色変化

考 察

この度の発生はすべて *M.bovis* による乳房炎で、病牛・乾乳牛舎内に飼養されていた分娩後2カ月以内の牛が罹患した。感染源については呼吸器からの採材や悪露の細菌検査等を行っておらず、特定にはいたらなかった。牛Bは2016年に導入された牛で、育成牛舎で3月中旬に分娩し、搾乳牛舎へ移動した。3月末に同居牛2頭が原因不明の泌乳停止で淘汰され、その後病牛・乾乳牛舎へ移動した。多くのMp感染牛は一定の無症状期間を経て発症に至り排菌を継続するとされることから⁹⁾、牛Bが感染源となり同居牛に蔓延した可能性が考えられた。

Mp感染を疑う所見は好気条件下で培養した羊血液寒天培地上に形成されたβ溶血であり、一度の検査で

は検出できず複数回必要であった。牛の臨床症状や農場の導入履歴、呼吸器疾患の発生状況等を考慮して泌乳の著減や停止を呈す原因不明の乳房炎についてはMp性乳房炎を視野に入れて再度検査をすべきである。*M.bovis*による乳房炎は他のマイコプラズマ属菌による乳房炎よりも難治性で廃用・再発率が高い。⁵⁾ 報告と同様に、抗生剤、抗菌剤による治療効果に乏しく罹患牛はすべて淘汰された。また今回、病牛・乾乳牛舎で感染が拡大した一因として、早期の隔離・淘汰ができなかったことが挙げられる。農場の隔離場所が搾乳不可能な場所であり、隔離と治療を同時に行えなかったことにより、複数の同居牛へ感染を拡大させたと考えられた。Mp性乳房炎を蔓延させないために、農場内にMp性乳房炎を持ち込んでしまった場合には、即淘汰・隔離を検討し隔離が不可能な場合にはロープ等を用いて簡易的に隔離、タイストールでは牛床を2床ほど空けるなどの対策を実施する必要がある。¹⁰⁾ また、県外からの導入牛や、Mp肺炎に罹患した育成牛は、搾乳牛群へMp性乳房炎を持ち込む可能性があるという危機意識を持ち、着地検査や分娩前後の乳汁検査を実施し、陰性を確認する必要があると考えられた。

また今回、全頭検査をせず乾乳直前から分娩1週間後までの個体乳検査、予防的治療を実施したが、農場関係者、臨床獣医師、関係機関が連携し対策を決定・実施できたことが農場内Mp性乳房炎の清浄化につながった。

謝 辞

この度のMp対策実施において対策検討会議、バルク乳検査、PCR検査等にご協力をいただきました北部、西部畜産事務所の方々に深謝いたします。

引用文献

- 1) 石山大：千葉県で確認された牛マイコプラズマ性乳房炎の発生状況と清浄化対策，日本獣医師会誌，67，188-192（2014）
- 2) 川畑由夏ほか：マイコプラズマ性乳房炎の清浄化対策推進による大規模酪農経営体の健全経営支援，岩手獣医師会報，38，（2），66-69（2012）
- 3) 秋田真司：広島県で発生した全身症状を伴うマイコプラズマ性乳房炎の集団発生事例，広島県獣医学会雑誌，32，（2017）
- 4) 樋口豪紀ほか：牛マイコプラズマ乳房炎に対する予防対策，家畜衛生対策推進協議会，31（2018）
- 5) 樋口豪紀ほか：マイコプラズマ性乳房炎の特徴，家畜感染症学会誌，41，（2015）
- 6) 樋口豪紀：牛マイコプラズマ乳房炎に対する予防対策，家畜衛生対策推進協議会，27（2018）

- 7) 堀野敦子ほか: 検体の培養と観察, 肺炎マイコプラズマ (*Mycoplasma pneumoniae*) 検査マニュアル P14 (<https://www.niid.go.jp/niid/images/lab-manual/MycoplasmaPn.pdf>) (参照 2022 年 3 月 22 日)
- 8) 樋口豪紀: 牛マイコプラズマ乳房炎に対する予防対策, 家畜衛生対策推進協議会, 15-16, 19 (2018)
- 9) 樋口豪紀: マイコプラズマ性乳房炎の対策, 臨床獣医 臨時増刊号 (2019)
- 10) 樋口豪紀: 牛マイコプラズマ乳房炎に対する予防対策, 家畜衛生対策推進協議会, 18 (2018)

蹄背壁に発生した肉芽形成を伴った難治性縦裂蹄の 1 症例

大下 克史¹⁾ 酒井 亮²⁾ 堀 香織^{3,4)}

(受付：令和 4 年 2 月 17 日)

A case of refractory vertical hoof crack accompanied by granulation in the dorsal hoof wall

KATSUFUMI OOSHITA¹⁾, RYO SAKAI²⁾ and KAORU HORI^{3,4)}

- 1) Kitahirosima Veterinary Clinic, Hiroshima P.F.A.M.A.A., 461-1, Haruki, Kitahiroshima-cho, Yamagata, Hiroshima 731-1537
- 2) Miyoshi Veterinary Clinic, Hiroshima P.F.A.M.A.A., 3-6-36, Toukaichi-higashi, Miyoshi, Hiroshima 728-0013
- 3) Fuchu Veterinary Clinic, Hiroshima P.F.A.M.A.A., 396-1 Fukae Jyounge-Cyo Fuchu, Hiroshima 729-3421
- 4) University of Miyazaki Graduate School of Medicine and Veterinary Medicine., 5200 Kihara, Kiyotake-Cyo, Miyazaki 889-1692

SUMMARY

Recently, atypical pathological features different from conventional hoof horn disorders have begun to be observed in lame cattle cared for by farriers and veterinarians. Such conditions are called non-healing claw lesion (NHCL) and are classified into toe tip necrosis, refractory white line disease, and refractory sole ulcer. They are caused by bacterial infection not cured by usual treatments, present with severe chronic lesions accompanied by proliferation of granulation tissue and inflammation spreading to the dermis that emits a characteristic bad smell, and are related to treponemal digital dermatitis (DD). The case presented here was a female Holstein (4 years old) at a dairy farm that kept 200 cows in free-stall barns. It was incapable of weight-bearing in the right hind limb, showed granulation tissue protruding from the coronal region of the medial hoof, and tunnel formation in the axial wall. The granuloma protruding from the horn was resected, and the gene obtained from this material was identified to be the same as that of *Treponema phagedenis*. In this case, DD that originated in the coronet extended along the axial furrow to the toe, being accompanied by sand-crack and

1) NOSAI 広島 北広島家畜診療所 (〒 731-1531 山県郡北広島町春木 461-1)

2) NOSAI 広島 三次家畜診療所 (〒 728-0013 三次市十日市東 3-6-36)

3) NOSAI 広島 府中家畜診療所 (〒 729-3421 府中市上下町深江 396-1)

4) 宮崎大学大学院 医学獣医学総合研究科 (〒 889-1692 宮崎県宮崎市清武町木原 5200 番地)

granulation, as infection spread from the dermis in the hoof margin to the dermis in the coronet. X-rays showed bone proliferation in the extensor process of the distal phalanx, base, and middle phalanx. In this farm, DD was prevalent, and the control of DD in cattle is considered important for the prevention of NHCL. Regarding treatment, symptoms could not be alleviated by resection of granuloma alone or insufficient horn removal, and a long time was needed until cure. This experience should be utilized for future evaluations.

— Key words: Non-healing claw lesion, *Treponema phagedenis*

要 約

近年、削蹄師や獣医師が関わる跛行牛の中に、従来見てきた蹄角質疾患とは異なる非典型的な病態のものが散見されるようになった。これらは難治性蹄角質疾患（以下 NHCL）と呼称され、蹄尖壊死、難治性白帯病、難治性蹄底潰瘍に分類される。通常の処置を行っても好転せず、重篤な病変を示す慢性の疾病で、肉芽組織の増生を伴い、特徴的な悪臭を放つ炎症が真皮に広がる細菌感染であり、趾皮膚炎（以下 DD）トレポネーマが関与している。今回の症例はフリーストール牛舎で、200頭を飼育する酪農家のホルスタイン種雌牛（4歳）で、右後肢負重不可能、内蹄蹄冠部に肉芽形成し突出、軸側壁に坑道を形成していた。角質から突出した肉芽を切除、この材料から得られた遺伝子は *Treponema phagedenis* のものと同定された。本症例は、蹄冠部に発生した DD が蹄縁真皮から蹄冠真皮へと感染が波及し、裂蹄、肉芽形成を伴いながら軸側溝に沿って蹄尖方向へ広がっていったものであり、X線検査では末節骨伸筋突起や底面、中節骨の骨増生が認められた。本農場では DD が蔓延しており、本疾病のような難治性角質疾患の予防として牛群の DD コントロールが重要であると考えられる。治療方法として、角質から突出した肉芽のみの切除や不十分な角質除去では症状を改善させることはできず、治療に長期間を要したことは今後の検討材料としたい。

— キーワード：難治性蹄角質疾患, *Treponema phagedenis*

はじめに

趾皮膚炎（以下 DD : Digital Dermatitis）は乳牛のいかなる施設体系においても発生が見られる蹄病であり、農場から駆逐することが難しく大きな問題となっている。DD は *Treponema sp.* を中心とした何種類かの細菌の混合感染症であり、足下の湿潤環境と糞尿曝露による嫌気環境がリスク因子である。近年、削蹄師や獣医師が関わる跛行牛の中に、従来見てきた蹄角質疾患とは異なる非典型的な病態のものが散見されるようになった。これらは難治性蹄角質疾患（NHCL : Non-healing claw lesion）と呼称され、いわゆるヘアリーアタックと呼ばれてきた病態である。NHCL は大きく蹄尖壊死（TN : Toe necrosis）、難治性白帯病（NHWD : Non-healing white line disease）、難治性蹄底潰瘍（NHSU : Non-healing sole ulcer）に

分類される¹⁾。これらは蹄角質疾患に対しての適切な処置を行っても好転せず重篤な病変を示す慢性の疾病で、肉芽組織の増生を伴い、特徴的な悪臭を放つ炎症が真皮に広がる細菌感染であり、DD トレポネーマが関与している。治療方法は研究者によって二分され、断趾術を選択する人達と壊死組織除去後に繰り返し包帯交換をすることによって治癒に導く人達に分かれる。今回、後肢内蹄の蹄背壁において肉芽形成を伴う難治性縦裂蹄に遭遇したので、その概要について報告する。

材料および方法

症例は AT 市でホルスタイン種乳用牛 200 頭飼育する酪農家（フリーストール牛舎）で、患者は平成 28 年 1 月 4 日生まれのホルスタイン種雌牛（令和 2

年6月4日分娩)である。X線検査は携帯型X線撮影装置(PX-20BT, 株式会社ケンコー・トキナー)を用い、60kV, 2mAsの条件下で背掌像, 側面像, 斜め像を撮影した。遺伝子検査は, PCR検査, 16SrRNAシーケンス解析による菌種同定を行った。

成 績

令和2年10月29日(第1病日):右後肢負重不可能。内蹄蹄冠部に肉芽形成し突出,そこから軸側壁にかけて坑道を形成している。削蹄,洗浄後,抗生物質塗布,包帯実施した。第8病日:遊離角質を除去,角質から突出した肉芽を切除,この材料から得られた遺伝子は*Treponema phagedenis*のものと同定された。また,疼痛が激しいため外蹄に蹄ブロックを装着した(写真1)。その他第8病日以降は毎回同様の処置を行った。処置内容は,削蹄,洗浄,消毒,殺菌(イソチオシアン酸アリル),抗生物質(リンコマイシン,OTC),包帯である。第15病日:軸側溝に沿っ

て蹄尖方向に坑道が進行するため角質を除去し排液させた(写真2)。X線検査を実施したところ,内蹄末節骨の伸筋突起に骨増生が認められた(写真3)が,蹄関節を含めた深部に達する異常や末節骨の顕著な破壊は認められなかったため,断趾術やグラインダーによる骨デブリードマンの対象ではないと判断し,周囲の角質除去や肉芽の切除により真皮にある患部を露出させて薬剤を到達させることを治療方針とした。第22病日:状況は変わらず蹄ブロックは脱落した(写真4)。第29病日:処置の邪魔になる趾間過形成を切除した(写真5)。第41病日:状況変わらないため,2.5%塩酸プロカインによる局所麻酔下で角質,真皮を含めた肉芽切除を実施した(写真6)。第49病日には病変部は肉芽増生,第61病日にはほぼ角化し疼痛消失した(写真7)。第90病日には患部全体が角化した(写真8)。第97病日:第2回目のX線検査実施。内蹄末節骨伸筋突起の骨増生に加えて,内蹄末節骨底面の骨増生,内蹄中節骨の骨増生を認めた(写真9)。



写真1 蹄背壁の縦裂蹄より増生した肉芽を切除(第8病日)



写真2 蹄尖方向へ坑道形成があるため角質除去,廃液する(第15病日)



写真3 伸筋突起における骨増生(第15病日 第1回X線検査)



写真4 肉芽形成続く(第22病日)



写真5 趾間過形成切除(第29病日)



写真6 広範囲における角質,真皮を含めた肉芽切除(第41病日 左右は処置前後)



写真7 疼痛消失 (第61病日)



写真8 患部角化 (第90病日)



写真9 伸筋突起における骨増生に加え、末節骨底面、中節骨の骨増生が認められた (第97病日 第2回X線検査)

考 察

今回遭遇した縦裂蹄は、蹄冠部に発生したDDが蹄縁真皮から蹄冠真皮へと感染が波及し、裂蹄、肉芽形成を伴いながら軸側溝に沿って蹄尖方向へ広がっていったものであった。本農場では以前悪臭と疼痛を伴った蹄縁角膜炎が発生したことがあり、このようなものが角質下の真皮層に進行すると今回のような病態へ移行するものと考えられる。X線検査では末節骨伸筋突起や底面、中節骨の骨増生が認められ、これが放置されると末節骨の壊死、融解をもたらし、広範囲の組織欠損を伴う蹄尖壊死へ進行するものと考えられる。

本農場ではDDが蔓延しており、多くの牛がこれに罹患している。また、典型的な病変に加え、難治性蹄角質疾患の発生もしばしば確認している。そのため、本疾病のような難治性角質疾患の予防として牛群のDDコントロールが重要であると考えられる。

治療方法として、角質を除去し患部へ薬剤を到達さ

せる必要があり、角質から突出した肉芽のみの切除や不十分な角質除去では症状を改善させることはできなかった。また、蹄背壁の病変なので、削蹄処置が難しく、十分な保定をする必要がある。そのため枡場で処置することが必要不可欠である。また、真皮に及ぶ処置には疼痛を伴うため、局所麻酔が必要である。

今回治療に3ヶ月という長期間を要したが、骨変化が進行していたことを考えると、速やかに治癒させる必要があると考えられた。初診から広範囲の切除等踏み込んだ処置を行えば短期間で治癒させることができたのか、それとも経過を見ながら段階的に進めていくべきか、今後の検討が必要である。

引用文献

- 1) N.J.Evans, R. W. Blowy, D. Timofte, et al: Association between bovine digital dermatitis treponemes and a range of 'non-healing' bovine hoof disorders, *Veterinary Record* 168, 214 (2011)

注射器製フイステルを使用した皮下膿瘍の治療法の検討

稲場 緑 堀 香織

(受付：令和4年1月17日)

Treatment of subcutaneous abscess using fistulas made of plastic syringes

MIDORI INABA and KAORU HORI

Fuchu Veterinary Clinical Center, Hiroshima P.F.A.M.A.A, 1-396, Fukae, Joge,
Fuchu, Hiroshima, 729-3421

SUMMARY

In the treatment of subcutaneous abscess, incision of the abscess for the purpose of drainage can eventually result in stricture that leads to pus accumulation. To address this issue, we developed a novel treatment strategy that incorporates the use of fistulas made of outer cylinders of plastic syringes following incision and drainage of the abscess. We tested the effectiveness of the treatment in two cases of subcutaneous abscess identified within the prefecture: 1) Holstein milking cattle with an abscess measuring approximately 50 cm in diameter, and 2) Holstein feedlot cattle with an abscess measuring approximately 18 cm in diameter. We demonstrated that both cases recovered well without pus accumulation following placement of the fistulas made of plastic syringes. Our findings indicate that treatment with fistulas made of plastic syringes is effective in maintaining a large incision in cases that require drainage of a large amount of pus. In order to fully elucidate the effect of treatment with the fistulas made of plastic syringes, future studies should be performed with a greater number of cases to compare the duration and cost of treatment with conventional methods.

— Key words: cattle, subcutaneous abscess, fistula

要 約

皮下膿瘍の治療において排膿のため膿瘍を切開した場合、切開後の時間経過とともに、切開創が狭窄し、再度膿汁が貯留することがある。この問題を解決するため、切開排膿後、注射器外筒で作成したフィステル（以下、注射器製フィステル）を装着する新たな治療法を考案し、県内で発生した皮下膿瘍の2症例（ホルスタイン種搾乳牛1症例 直径約50cm, ホルスタイン種肥育牛1症例 直径約18cm）に実施し、その治療法の有用性について検討した。実施した2症例とも、注射器製フィステル装着後、膿汁の再貯留は認められず、経過は良好であった。注射器製フィステルを使用した治療法は、広い切開創を維持し、多量の膿汁を排出させる必要のある症例に対して効果的であると考えられた。今後は症例数を増やして治療期間やコストについて従来法と比較検討し、注射器製フィステルによる治療効果について検証する必要があると考えられた。

——キーワード：牛，皮下膿瘍，フィステル

序 文

膿瘍とは、化膿性炎のうち組織の内部に限局性に生じ組織の融解が起こって膿が充満した空洞をつくる病変のことを指し¹⁾、皮下組織の深部に形成された皮下膿瘍は疼痛を伴う²⁾。排膿した場合は炎症巣に肉芽組織が形成され、残された崩壊産物は吸収され治癒する³⁾。大きな膿瘍で外部に破れにくい時には、膿瘍周囲に肉芽組織ができ膿瘍膜を形成する³⁾。一般的な治療法として切開排膿が選択されるが、切開後の時間経過とともに切開創が閉鎖し、再度膿汁が貯留することがある。牛の臨床現場では、排液の手段の一つとしてガーゼによるドレナージが試みられるが、粘稠性の高い膿汁が多量に貯留する場合、ガーゼが膿汁を完全に吸引することができず、逆に切開創を塞ぐ形となり、再度膿汁貯留を誘発することになる。この問題点を解決するため、新たな治療法として、切開排膿後に注射

器で作成したフィステル（以下、注射器製フィステル）を切開創に装着して膿汁の貯留防止を図る治療法を県内で発生した皮下膿瘍の2症例に対して実施し、有用性について検討したので報告する。

材料と方法

1. 注射器製フィステルの作成および装着方法

注射器製フィステルの作成方法を図1に示した。デスポシリンジの外筒の根元から約2 cm から4 cm の部位をカッターで切断した。切断部位は皮膚から膿瘍腔までの深さを考慮した。外筒翼状部の両側に目打ちで2箇所ずつ穴を開けた。装着後の軟部組織への侵襲を軽減するため切断面をバーナーで加熱し滑らかに加工した。このようにしてあらかじめ作成した注射器製フィステルを皮下膿瘍の切開創に挿入しナイロン糸で固定した（図2）。



図1 注射器製フィステルの作成方法

- (a) 注射器外筒の根元から約2～4cmをカッターで切断
- (b) 外筒翼状部の両側に目打ちで2箇所ずつ穴を開ける
- (c) 切断面をバーナーで加熱し滑らかに加工

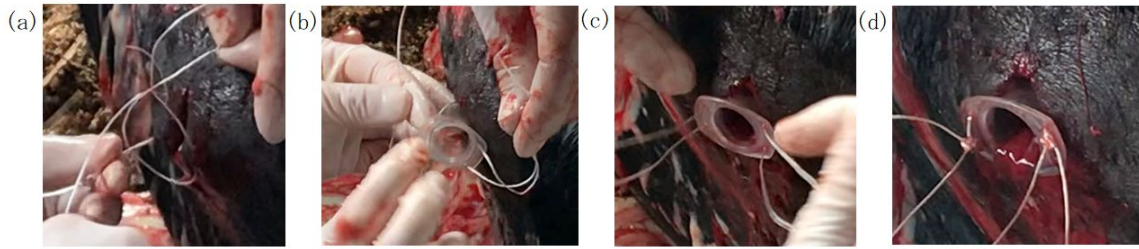


図2 注射器製フィステルの装着方法

- (a) 切開排膿後，切開創の両側皮膚に切開創と平行にナイロン糸を1本ずつかける
- (b) フィステルの穴にナイロン糸を通す
- (c) 切開創にフィステルを押し込む
- (d) ナイロン糸を外科結びで結紮しフィステルを皮膚に固定

2. 症例

症例 1

ホルスタイン種，雌，46ヶ月齢の搾乳牛。左腰角から左大腿部にかけて直径約50cmの皮下膿瘍を認め強い疼痛を示した。第1病日に上下2箇所を切開し粘稠性の高い多量の膿汁を排出，膿瘍腔を洗浄し切開創へガーゼドレーンを挿入したが，ガーゼが切開創を塞ぎ膿汁の再貯留を繰り返していた。第8病日（第3診目），患畜を立位にて保定した後，ガーゼドレーンを抜去し，内部に再貯留した多量の膿汁を排出，膿瘍腔を洗浄後，上下2箇所の切開創へ50mlシリンジで作成した注射器製フィステルを装着した。装着後，定期的を上側の注射器製フィステル開口部からカテーテルを挿入し，膿瘍腔に残留した膿瘍を下側の注射器製フィステルから排出させて洗浄した。洗浄には水道水または0.2%アクリノール水溶液を使用した。治療期間中抗菌薬の全身または局所への投与は行わなかった。

症例 2

ホルスタイン種，去勢，10ヶ月齢の肥育牛。第1病日，右後肢大腿部遠位に直径約18cmの皮下膿瘍を認めた。患畜を左側横臥位にて保定し，膿瘍の上下2箇所を切開して排膿した後，膿瘍腔を洗浄し，10mlシリンジで作成した注射器製フィステルを2箇所の切開創へ装着した。以降，症例1と同様，定期的に洗浄を行った。治療期間中，抗菌薬の全身または局所への投与は行わなかった。

成 績

症例 1

経過を図3に示した。第11病日（第4診目），注射器製フィステルの開口部から膿汁排出を認めた。第16病日（第5診目），排膿量は明らかに減少し，膿瘍腔での肉芽組織の増生と膿瘍腔の縮小が確認された。第24病日（第6診目），上側の注射器製フィステルの脱落を確認した。膿瘍腔はさらに縮小していたため，下側の注射器製フィステルを抜去した。第39病日（第

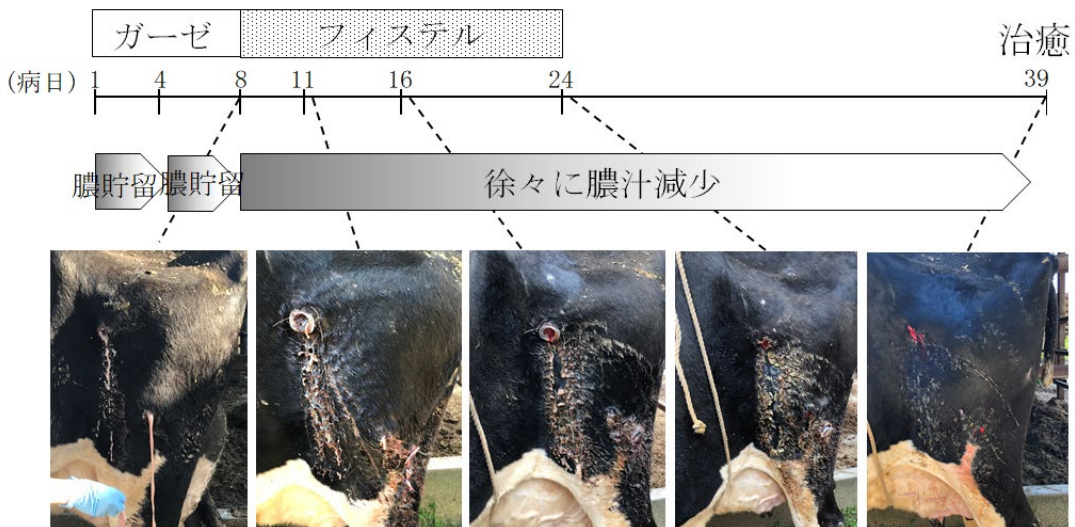


図3 症例1の経過

注射器製フィステル装着前は膿汁の再貯留を繰り返していたが，装着後は徐々に膿汁の減少が認められた。

7 診目), 膿汁の排出および膿瘍の再発を認めず, 注射器製フイステル装着部位の閉鎖を確認し治癒と判断した。

症例 2

経過を図 4 に示した。第 2 病日 (第 2 診目), 膿瘍腔で膿汁の再貯留は認めなかった。第 5 病日 (第 3 診目), 肉芽組織が増生し明らかな膿瘍腔の縮小を認めたため, 上下 2 箇所注射器製フイステルを抜去した。第 15 病日 (第 5 診目), 膿瘍の再発を認めず, 注射器製フイステル装着部位の閉鎖を確認し治癒と判断した。

まとめ及び考察

症例 1 及び 2 の多量の膿汁が貯留した皮下膿瘍に対して注射器製フイステルを使用した治療法を実施することで, 良好な成績を得ることができた。

ディスポシリンジは比較的安価であり, 臨床現場で入手が容易, かつポリプロピレン製で加工しやすいため, 注射器製フイステルの材料として最適であると考えられた。今回, 注射器製フイステルに使用したディスポシリンジのサイズは, 切開創の大きさに合わせて決定した。ディスポシリンジのサイズ及び切断部位の位置を変えることで, 様々な大きさや深さの皮下膿瘍に柔軟に対応できると考えられた。既報では, ディスポシリンジを材料にした注射器製フイステルを牛の第一胃慢性鼓脹症に対する第一胃瘻管形成術に使用した報告⁴⁾, また, 膀胱破裂の応急処置に使用した報告⁵⁾がある。皮下膿瘍の治療に用いた本症例においても, 注射器製フイステルは有用であると示唆された。

滲出液や膿汁を排出させるための手法としては, チューブドレーンも一般的に用いられる⁶⁾。また, 近

年, 牛の飛節周囲炎におけるナイロン糸ドレーンの応用が報告され, 良好な結果が認められている⁶⁾。しかしながら, 本症例のように粘性の高い多量の膿汁が貯留する場合には, 治癒までに相当の時間を要することから, 膿汁の貯留を防止することが可能な注射器製フイステルを用いた治療法は従来法に代わる有用な手段と考えられた。また, ナイロン糸で皮膚へ強固に固定するため, 途中で脱落する可能性が低いことも従来法と比較した場合の利点として考えられた。症例 1 では第 24 病日 (フイステル装着から 16 日後) に注射器製フイステルの脱落を認めたが, 既に肉芽増生により膿瘍腔は十分に縮小し, 膿瘍の治療過程に影響を及ぼさなかったものと推察された。

今回, 2 症例とも注射器製フイステル装着中, 数回にわたって膿瘍腔を洗浄することを想定し, 注射器製フイステルの上から被覆材で覆う等の処置はしなかった。その結果, 症例 2 では注射器製フイステルの筒の中に敷料のおが屑が詰まってしまう場合があった。症例 1 では同様のことが発生しなかった理由として, 直径が大きい 50ml シリンジを使用していたこと, 膿瘍が巨大であり, フイステル装着後も膿汁が持続的に内部から排出され外部からの敷料の侵入を妨げていたことが考えられた。症例 2 においても膿瘍腔までは敷料は達していなかったが, 感染により膿瘍の悪化または治癒の遅延を招く可能性があるため, 今後は被覆材の使用や敷料の工夫等, 汚染防止のための処置を検討する必要があると考えられた。

以上のことより, 注射器製フイステルの利点として ①広い切開創を維持し, 多量の膿汁を排出させる必要のある症例に対して効果的であること ②ディスポシリンジのサイズ及び切断箇所を調整することで様々な大きさと深さの皮下膿瘍に対応可能であること ③皮

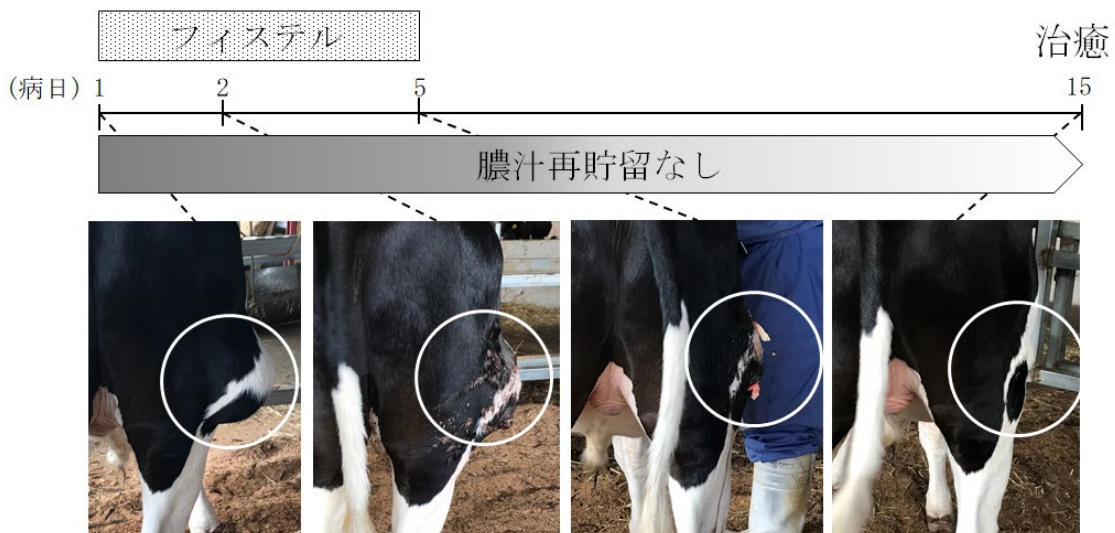


図4 症例2の経過
膿汁の再貯留はなく, 腫脹部位 (丸部分) の明らかな縮小が認められた。

膚に直接固定するため装着後脱落しにくいことが考えられた。注射器製フイステルの使用は、治療期間を短縮できる可能性があり、今後は症例数を増やし治療期間やコストについて従来法と比較検討する必要があると考えられた。

文 献

- 1) 柴田重孝：細菌による膿瘍形成（化膿性疾患），日獣会誌，16，128-131（1963）
- 2) 山手丈至：動物病理学各論，日本獣医病理学会編，第2版，445，文永堂出版，東京（2010）
- 3) 北川昌伸：標準病理学，北川昌伸・仁木利郎編，第6版，62-63，医学書院，東京（2019）
- 4) 近藤直，西川晃豊：牛の第一胃慢性鼓脹症に注射器製フイステルによる第一胃瘻管形成術を施した10症例，家畜診療，66，35-41（2019）
- 5) 田浦保穂ほか：プラスチック注射器製フイステルによる子牛の膀胱破裂の応急手術例，日獣会誌，45，933-935（1992）
- 6) 森田康広，峠田大志：ウシ飛節周囲炎におけるナイロン糸ドレーンの応用，家畜診療，65，703-710（2018）

温暖地域の福山地方における牛の受胎率と妊娠期間の調査

秋田 真司

(受付：令和4年1月25日)

Survey conception rate and gestation period of cattle in Fukuyama warm area

MASASHI AKITA

Fuchu Veterinary Clinic Center, Hiroshima P.F.A.M.A.A., 396-1, Fukae,
Joge-cho, Fuchu, Hiroshima 729-3421

SUMMARY

The decreased conception rates in dairy and beef cattle have recently posed a problem. In dairy cattle, it is mainly caused by increased lactation and decreased appetite with oxidative stress due to heat sensation in summer. Recently, climatic abnormalities, such as heavy rain and intense heat, have been observed. In the present study, we investigated the breeding statuses of cattle in the Fukuyama region, with the mildest climate in Hiroshima Prefecture. In dairy cattle, both the fertilization and conception rates decreased in summer during the hot season. However, in Japanese Black Cattle, the rate of fertilization did not vary seasonally, although the rate of conception was lower in winter. The gestation period were 277.6 ± 5.31 days for Holstein females inseminated with Holstein's sperm, 283.2 ± 5.01 days for Holstein females inseminated with Japanese Black Cattle's sperm, and 289.4 ± 6.34 days for Japanese Black Cattle inseminated with Japanese Black Cattle's sperm, showing significant differences from the standard values. Furthermore, they were shorter in summer for dairy cattle and in winter for beef cattle, suggesting that the dairy cattle were affected by heat and beef cattle were affected by cold, respectively. The shortened period of pregnancy in beef cattle was normalized by increasing the heat energy by 17% to address the cold in winter.

要 約

近年、乳用牛や肉用牛ともに受胎率の低下が問題視されてきている。乳用牛については泌乳能力の向上を要因とし、夏季における暑熱感作による酸化ストレスを伴った食欲低下が主な原因とされている。近年は異常気象とも言うべき豪雨、猛暑などの四季の乱れが観測されて

いる。広島県内で最も温暖な地域の1つである福山地方において、牛の繁殖実態を調査した。乳用牛では暑熱期に当たる夏季に授精件数、受胎率ともに低下していた。一方で黒毛和種については授精件数に季節的変動は少なく、冬期の受胎率低下の傾向がみられた。妊娠期間については、ホルスタイン雌にホルスタイン精子の掛け合わせが 277.6 ± 5.31 日、ホルスタイン雌に黒毛和種精子の掛け合わせが 283.2 ± 5.01 日、黒毛和種雌に黒毛和種精子の掛け合わせが 289.4 ± 6.34 日で一般的に設定されている妊娠期間とは明らかに変化していた。季節別では、乳用牛が夏季に短く、肉用牛で冬季に短いことが認められた。乳用牛は暑熱の影響を、肉用牛は寒冷の影響を受けていたことが示唆された。肉用牛に対する寒冷対策として、冬季にエネルギーを17%増量したところ、妊娠期間短縮が解消された。

序 文

乳量・乳質の能力向上により、乳用牛の受胎率が低下してきている。一方で、乳用牛ほどに必要な栄養量が増加していない肉用牛でも受胎率の低下が懸念されている。受胎率の向上や妊娠頭数の増頭のために timed AI や潜在性子宮内膜炎への対処法、黄体機能増強など様々な方法が試みられている^{1,3,11)}。しかし、近年、豪雨、猛暑などの異常気象が頻発しており、以前の四季とは明らかに異なってきている。このような環境変化の状況下で、気候による影響については、ホルスタインに対する暑熱感作の報告^{4,5,13,14,17)}が多くされているが、肉用牛についての報告は少ない。今回、気候が牛の繁殖性にどのような影響を与えるのかを検討するために、広島県内で最も温暖な地域である福山地方における牛の繁殖性に関する調査を行った。また、冬期における肉用牛の飼料給与について検討したので報告する。

材料と方法

調査期間は2017年1月から2020年12月。調査対象は福山地方の酪農家6戸と黒毛和種繁殖農家3戸で飼養されているホルスタインと黒毛和種。調査資料は家畜共済台帳、家畜人工授精台帳、JMR管理表、気象庁気象データを用いた⁶⁾。調査項目は雌牛品種別・精液品種別・季節別の受胎率と妊娠期間について調査した。気象データは4年間の日ごと、月ごとの平均気温、最高気温、最低気温を収集した。また、冬期における黒毛和種の飼料給与量変更が妊娠期間に及ぼす影響について調査した。統計解析は受胎率については χ^2 検定、平均値についてはt検定を用いた。

結 果

気象庁気象データを基に、1ヶ月の平均気温が5℃以下の寒冷期を冬季、20℃以上の暑熱期を夏季、そ

れぞれの間を春、秋と設定した。その結果、12月、1月、2月を冬、3月、4月、5月を春、6月、7月、8月、9月を夏、10月、11月を秋と区分けした。(図1)

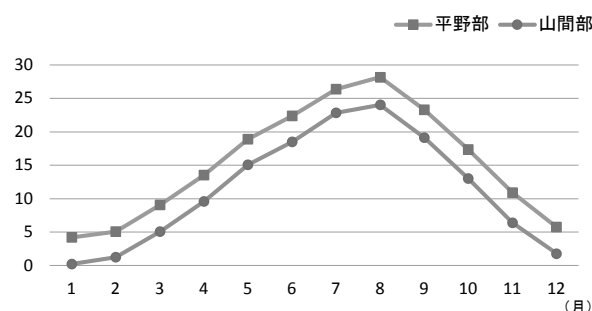


図 1 福山地方の平均温度

4年間の1ヶ月当たり季節別平均授精件数はホルスタイン群(以下Hol)で、冬が112.7件、春が91.3件、夏が71.5件、秋が95.0件であり、夏季が最も少なかった。黒毛和种群(以下JB)は冬が23.7件、春が23.3件、夏が23.3件、秋が28.5件で季節による変動は無かった。(表1)(図2)

季節別受胎率はHolで冬が42.3%、春が38.0%、夏が32.5%、秋が36.8%、JBで冬が39.4%、春が48.6%、夏が55.9%、秋が52.6%であった。Holは夏季の受胎率が冬期に比べ、有意に低かった。JBでは冬季の受胎率が夏期より低い傾向があった。(図3, 4) 4年間の平均受胎率はホルスタイン雌牛-ホルスタイン精子群(以下hol-hol(s))が36.1%、ホルスタイン雌牛-黒毛和種精子群(以下hol-JB(s))が38.5%、JBが49.3%であった。JBがhol-hol(s)とhol-JB(s)よりも有意に高かったが、hol-hol(s)とhol-JB(s)の受胎率には差が無かった。(図2)

妊娠期間はhol-hol(s)が 277.6 ± 5.31 日、hol-JB(s)が 283.2 ± 5.01 日、JBが 289.4 ± 6.34 日でそれぞれの群間で有意差が認められた。また、JBの胎子については、雄が 289.7 ± 4.74 日、雌が 289.1 ± 7.07 日で、性別による妊娠期間に差は認められなかつ

表1 対象の件数

季節別AI件数	冬	春	夏	秋	計
Hol	338	274	286	190	1088
JB	71	70	93	57	291
妊娠期間件数	冬	春	夏	秋	計
hol-hol	40	15	43	31	129
hol-JB	21	21	35	15	92
JB	16	22	30	12	80
妊娠期間性別件数					計
JB雄					56
JB雌					48

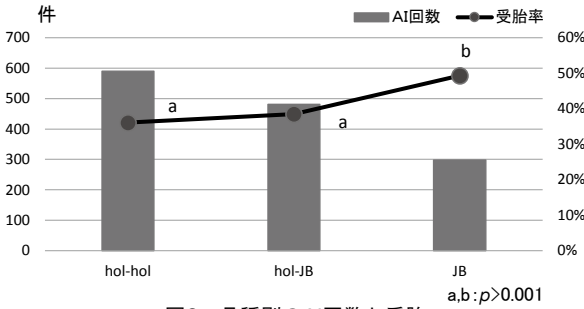


図2 品種別のAI回数と受胎

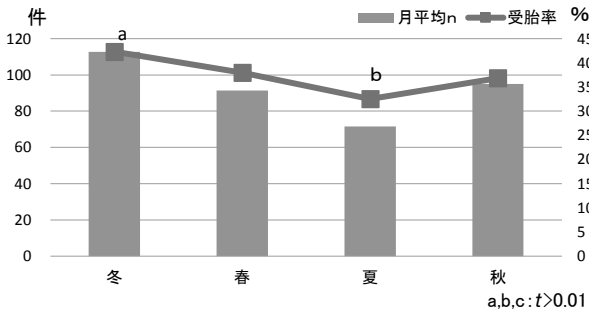


図3 乳用牛の1ヶ月当たり件数と受胎率

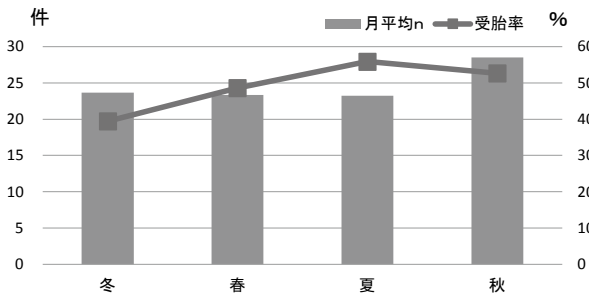


図4 肉用牛1ヶ月当たり件数と受胎率

た。(図5)季節別の妊娠期間について、hol-hol(s)は冬が278.4 ± 4.64日、春が278.6 ± 4.75日、夏が274.0 ± 8.56日、秋が277.8 ± 3.96日で、夏季は他の季節に比較して短い傾向が認められた ($t > 0.05$)。 (図6) hol-JB(s)は冬が283.3 ± 5.39日、春が283.7 ± 5.57日、夏が282.4 ± 4.68日、秋が282.6 ± 5.52日で季節的な差が無かった。JBは冬が286.1 ± 9.09日、春が290.8 ± 7.19日、夏が288.3 ± 5.88日、秋が290.9 ± 5.53日で、有意差が無いものの、冬季に短い傾向が見られた。(図7)

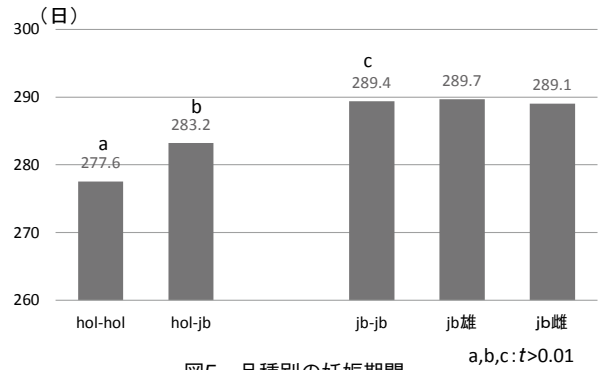


図5 品種別の妊娠期間

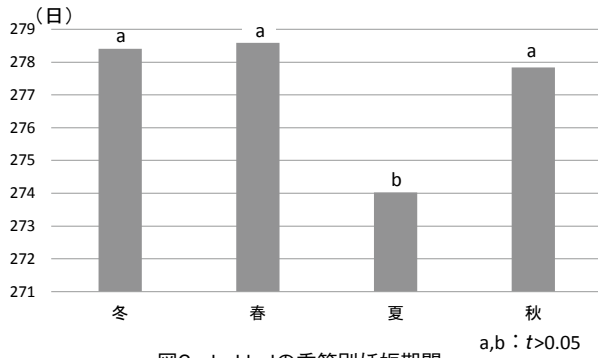


図6 hol-holの季節別妊娠期間

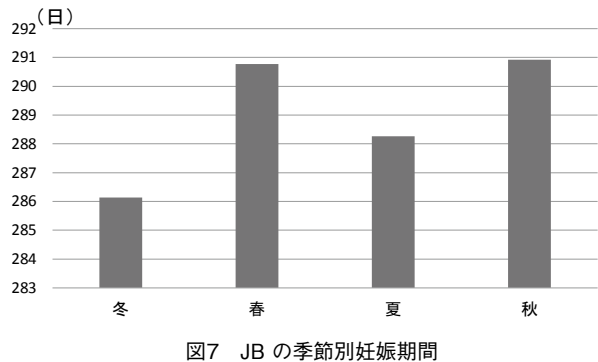


図7 JBの季節別妊娠期間

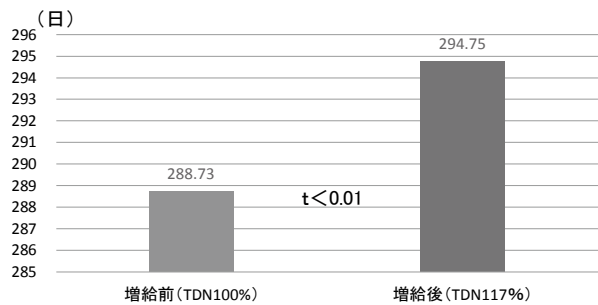


図8 冬季における飼料増給の妊娠期間への影響

冬季において、JBの妊娠期間が短い傾向があり、受胎率も低い傾向が見られた。そのため、寒冷によるエネルギーロスを疑い、2020年12月から2021年2月までの冬季に飼料増給を行い、TDN充足率を日本飼養標準の100%から117%へ増加させたところ、妊娠期間が288.7 ± 3.67日から294.8 ± 3.30日へ延長した。(図8)

考 察

Hol の受胎率は JB に比較して低い。これは Hol の能力向上のほか、温暖地域である福山地方の 4 ヶ月以上続く暑熱期が影響したと推測された⁶⁾。夏季は受胎率だけでなく、授精件数も少なかった。その理由としては、自然発情が見られることが少なく、定時授精などの処置にも反応しない乳用牛が多くなっていたことによる。これらは暑熱による DMI 減退や酸化ストレスが大きな要因と考えられた^{4, 5, 17, 18)}。hol-JB(s) は夏季における受胎率低下が顕著でなかったが、暑熱の影響を受けにくい未経産牛が半数を占めていたことが関連したと考えられた。また、夏季における hol-hol(s) の妊娠期間が短くなっており、これも暑熱による負のエネルギーバランス (以下 NEB) の影響と考えられた。

JB において、雌雄の性別による在胎期間に差がなかった。これは過去の雄胎子が長いという多くの報告^{10, 12, 15)}とは異なる。それらの報告でも、検定の結果から雄が長い、その差は 1~2 日で、臨床上問題が起こることのない数値と考えられた。むしろ、畜産農家が出産予定日を過ぎると、雄で、前だと雌だという思い込みがあること自体に問題があると考えられた。

JB の妊娠期間の延長は 1995 年頃から問題視されていたが、今回の調査でも一般に 285 日とされている妊娠期間よりも 5 日程度長くなっていた^{9, 16)}。季節別では JB において、春・秋に比べ冬季に短い傾向が見られた。そのため、妊娠期間短縮の要因を気温変動寒冷感作によるストレスを疑い、その影響を検討するために、分娩日の 1 週間前、2 週間前、3 週間前の平均気温、最高気温、最低気温、それぞれの気温変動、日内較差と妊娠期間との相関を調査した。しかし、いずれも関連を認めなかった。このことから、冬季の気温変動が牛にストレスを及ぼしたとは考えにくく、むしろ寒冷によるエネルギーロスが、妊娠期間短縮という形で発現したと推察された。そこで、寒冷によるエネルギーロスを考慮して、冬季に飼料給与量を増量、TDN 充足率を日本飼養標準の 100% から 117% に強化したところ、妊娠期間の延長が認められた。JB だけに冬季の悪影響が現れたのは、Hol に比較して、産熱量が低い JB は 1 頭あたりの飼養面積も広く、寒冷感作を受けやすいことが要因と考えられた。また、温暖であることが、返って寒冷の影響を受けやすいのかもしれない。このことは宮崎県でも、低温の影響を受けているとの報告と一致した^{2, 7)}。

温暖地域と考えられていた福山地方でも寒冷の影響が示唆されたことから、低温によるエネルギーロスを緩和する飼養管理について、より詳しい調査が必要と考えられた。

引用文献

- 1) 秋田真司：潜在性子宮内膜炎に対する低濃度ポピドンヨードの A I 後子宮内注入による治療効果, 臨床獣医, 36, 7, 62-66 (2018)
- 2) 上松瑞穂：黒毛和種繁殖雌牛の血液プロファイルテスト, 臨床獣医, 35, 7, 68-74 (2017)
- 3) 大澤健司：定時人工授精プログラムの新しい展開, 臨床獣医, 35, 7, 26-32 (2017)
- 4) 片桐成二：牛の受精卵の着床過程と早期胚死滅, 臨床獣医, 36, 7, 82-89 (2018)
- 5) 金澤明美：ウシにおける季節と酸化ストレスの関係, 家畜診療, 65, 1, 39-40 (2018)
- 6) 気象庁過去の気象データ：<https://www.data.jma.go.jp/obd/stats/etm/index.php>
- 7) 兄玉 暁：宮崎県都城北諸県地域の黒毛和種子牛における在胎機関の延長, 日獣会誌, 58, 6, 395-397 (2005)
- 8) 食品産業技術総合研究機構：寒冷時の養分要求量, 日本飼養標準肉用牛 2008, 87, 中央畜産会, 東京 (2009)
- 9) Szenci O., Abodelmegeid M.K.: Predication of stillbirth in Holstein-Friesian dairy cattle by measuring metabolic and endocrine, parameters during the peripartal period, *Reproduction in Domestic Animals*: <https://doi.org/10.1111/rda.13276> (2018)
- 10) 高橋弥生, 佐竹康明：交配種雄牛が黒毛和種産子の在胎日数や生時体重に及ぼす影響, 愛媛県畜産研報, 4, 14-18 (2017)
- 11) 伊達麻衣子, 他：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, 広島県獣医学会雑誌, 30, 39-41 (2013)
- 12) 土江 博：管内黒毛和種繁殖牛の妊娠期間に及ぼす要因について, 家畜人工授精, 309, 35-39 (2021)
- 13) Dransfield MB., Nebel RL., Pearson RE.: Comparison of three estrus detection systems during summer in a large commercial dairy herd, *Animal Reproduction Science*, 29, 12, 59-72 (2004)
- 14) Nanas L.B.: Ultrasonographic finding of the corpus luteum and gravid uterus during heat stress in dairy cows, *Reproduction in Domestic Animals*,: <https://doi.org/10.1111/rda.13996> (2021)
- 15) 波平友之, 高橋憲司, 玉城政信：沖縄における黒毛和種繁殖雌牛の妊娠期間長期化に関する調査, 日暖畜報, 54, 2, 189-194 (2011)
- 16) 萩原精一：黒毛和種における長期在胎, 家畜診

療, 64, 5, 280-284 (2017)

- 17) 真方文絵：牛卵母細胞における加齢の発生要因と胚発生能の低下のメカニズム, 家畜診療, 68, 5, 241-246 (2021)
- 18) 三浦亮太郎：発情時の排卵卵胞の左または右卵巢での発育に影響を与える要因とそのことが受胎性に与える影響, 家畜人工授精, 307, 1-7 (2020)

新規開発したガラス化胚保存器具「ビトラン-7」使用による ウシ胚の生存性と受胎率および生産現場における移植成績

工藤 敬幸¹⁾ 保本 朋宏¹⁾ 日高 健雅¹⁾ 山本 哲史¹⁾
福本 豊¹⁾ 荒木 秀美¹⁾ 御澤 弘靖²⁾ 横田 文彦¹⁾

(受付：令和4年2月4日)

Viability and conception ratio of bovine embryo preserved by “Vitran-7”: a newly developed embryo vitrification device.

TAKAYUKI KUDOU¹⁾, TOMOHIRO YASUMOTO¹⁾, TAKEMASA HIDAKA¹⁾, SATOSHI YAMAMOTO¹⁾,
YUTAKA FUKUMOTO¹⁾, HIDEEMI ARAKI¹⁾, HIROYASU MISAWA²⁾ and FUMHIKO YOKOTA¹⁾

- 1) Hiroshima Prefecture Livestock Technology Reseach Center 5584
Nanatsuka-cho, Shobara-shi, Hiroshima-ken 727-0023
- 2) Misawa Medical Industry Co., Ltd. 1320-5 Nagatoro, Kasama-shi,
Ibaraki-ken 309-1712

SUMMARY

Our center developed “Vitran-7”, an instrument for thawing and transplanting embryos preserved by vitrification at any preferred time and site, jointly with Misawa Medical Industry Co., Ltd. To evaluate the practicality of Vitran-7, embryo thawing and transplantation tests were performed, and the results of transplantation using marketed Vitran-7 preserved embryos by private transplantation technicians were investigated. In the thawing test, the embryo survival rate was 96.3% using embryos preserved in Vitran-7 and 96.8% using embryos preserved in Cryotop with no significant difference. In the transplantation test, the conception rate in nulliparous cows was 45.2% using embryos preserved in Vitran-7, 29.2% using embryos cryopreserved by slow freezing, and 72.2% using embryos preserved in Cryotop, with a significant difference between embryos cryopreserved by slow freezing and those preserved in Cryotop. In parous cows, the conception rate was 53.8% using embryos preserved in Vitran-7, 40.0% using embryos cryopreserved by slow freezing, and 33.3% using embryos preserved in Cryotop. The conception rate using marketed embryos was 52.3% after preservation in Vitran-7,

1) 広島県立総合技術研究所畜産技術センター (〒727-0023 庄原市七塚町 5584)

2) ミサワ医科工業株式会社 (〒309-1712 茨城県笠間市長兎路 1320-5)

14.1% after cryopreservation by slow freezing, 49.5% after preservation in Cryotop, and 50.3% using fresh embryos, with significant differences using embryos preserved in Vitran-7, those preserved in Cryotop, and fresh embryos compared with embryos cryopreserved by slow freezing. There was no problem in the practicality of embryos preserved in Vitran-7 with regard to the conception ability, and the conception rate was confirmed to be comparable to that using vitrified embryos or fresh embryos in embryonal transplantations performed primarily by private transplantation technicians. By the use of Vitran-7, it has become possible to thaw and transplant embryos preserved by vitrification with a high conception rate at any preferred time or site.

— Key words: Vitrification, thawing, devitrification, direct transplantation

要 約

本センターはミサワ医科工業株式会社と共同で、ガラス化保存胚を任意の日時・場所で融解し移植できる器具である「ビトラン-7」を開発した。ビトラン-7の実用性を検証するため、胚の融解試験及び移植試験を実施するとともに、販売したビトラン-7保存胚を用いた民間移植技術者による移植成績を調査した。融解試験の結果、生存胚率はビトラン-7保存胚が96.3%、Cryotop保存胚が96.8%であり、ビトラン-7保存胚とCryotop保存胚との間に有意差は認められなかった。移植試験では未経産牛の受胎率は、ビトラン-7保存胚が45.2%、緩慢凍結保存胚が29.2%、Cryotop保存胚が72.2%であり、緩慢凍結保存胚とCryotop保存胚との間に有意差が認められ、経産牛の受胎率は、ビトラン-7保存胚が53.8%、緩慢凍結保存胚が40.0%、Cryotop保存胚が33.3%であった。販売胚の受胎率は、ビトラン-7保存胚が52.3%、緩慢凍結保存胚が14.1%、Cryotop保存胚が49.5%、新鮮胚が50.3%であり、ビトラン-7保存胚、Cryotop保存胚及び新鮮胚と緩慢凍結保存胚との間に有意差が認められた。ビトラン-7保存胚の受胎性は実用性に問題無く、民間移植技術者が主体となった胚移植において受胎率がガラス化胚及び新鮮胚と同程度であると確認できた。ビトラン-7を活用することにより、任意の日時・場所で受胎率の高いガラス化保存胚を融解・移植することが可能となった。

— キーワード：ガラス化、融解、脱ガラス化、ダイレクト移植

序 文

広島県では、2025広島県農林水産業アクションプログラムに基づき、持続可能な広島和牛生産体制の構築を目的とし、和牛体外胚移植による乳牛を借り腹とした和牛生産を推進している。

胚移植を普及させるためには、任意の日時・場所で移植可能な方法を定着させることが有効な方法の一つと考えられる。現在、任意の日時・場所で融解・移植が可能な緩慢凍結法により保存した胚のダイレクト移植が広く普及しており¹⁾、広島県における平成30年

度胚移植状況調査では、全体の32.5%で緩慢凍結保存胚が用いられていた。一方で、同調査によると、受胎率はガラス化法により保存した胚が42.1%であるのに対して緩慢凍結保存胚は21.9%であり、緩慢凍結保存胚の受胎率が低い課題がある。ガラス化保存胚は高い受胎率が期待できるが、試験室内での融解が必要なため作業が煩雑であり、普及面に課題がある^{1),2)}。また、新鮮胚は凍結による細胞傷害が無く高い受胎率が期待できるが、胚の供給日が限定されるため普及面に課題がある。

本センターはミサワ医科工業株式会社と共同で、高

い受胎率が期待できるガラス化保存胚を任意の日時・場所で融解・移植できる器具である「ビトラン-7」を開発した(特許第6238186号)。今回、ビトラン-7の実用性を確認するため、胚の融解試験及び移植試験を実施するとともに、令和元年10月から販売を開始しているビトラン-7保存胚の受胎成績を調査したので、その概要を報告する。

材料と方法

1 卵子の採取

牛卵子の採取は、と体卵巢からの吸引採取及び、黒毛和種の生体卵巢からの経膈採卵(Ovum pick up: OPU)により行った。

と体卵巢からの採卵は、と体卵巢に存在する直径7mm以下の卵胞から注射器(注射針:21G)を用いて卵胞液と共に卵子を吸引することにより行った。

OPUは、全国農業協同組合連合会広島県本部又は当センターが所有する黒毛和種経産牛から行った。

2 OPU, 体外胚生産方法

OPUは、超音波画像診断装置(MyLabOne VET:メディカルタスクフォース)に卵子吸引用OPUデバイスを装着し、ディスプレイザブル採卵針(COVA Needle:ミサワ医科工業)と卵子吸引システムを用い、吸引圧100mmHgで卵胞液を吸引した。回収液には、0.3%ウシ胎児血清(FCS:Standard Fetal Bovine Serum:Hyclone), 0.1g力価/l硫酸カナマイシン(硫酸カナマイシン:明治)および1.8U/mlヘパリン(ノボヘパリン注:持田製薬)を添加した乳酸加リンゲル液(ハルゼンV注射液:日本全薬工業)を用いた。吸引した回収液は、フィルター(セルコレクター:富士平工業)でろ過洗浄した後に卵丘細胞卵子複合体(COC)を回収し、10%FCS添加M2培地(マウス胚培養培地)³⁾に移し3回以上洗浄した。

と体及びOPUにより採取したCOCは、卵丘細胞の付着程度および細胞質の状況によりグレード分けし、グレードA~C(グレードA:卵丘細胞が3層以上緊密に付着, グレードB:卵丘細胞が緊密に付着するが一部の層が薄い, グレードC:卵丘細胞が1層程度付着)までの卵子を供試卵とした³⁾。体外成熟はKani et alの報告⁴⁾に従い、TCM199培地(Medium199:Sigma)に10%FCS, 0.12mg/ml卵胞刺激ホルモン(FSH:アントリン10:共立製薬), 50ng/ml上皮成長因子(EGFE1264:Sigma)およびdbcAMP(ジブチリルアデノシン3', 5'-サイクリック-リン酸ナトリウム塩, D0260:Sigma), 平成31年4月以降は25ng/mlシステイン(L-Cysteine hydrochloride monohydrate, C7880:Sigma)を添加した体外成熟用培地に供試卵を移動させ、38.5℃, 5%CO₂, 95%airの条件下で22~24時間成熟培養

を行った。

体外受精は、当センターの定法⁵⁾に従い、凍結精液を用いて、精子濃度を6~12×10⁶/mlに調整して6時間卵子と共培養することにより行った。使用した凍結精液は広島県または家畜改良事業団が所有する黒毛和種雄牛由来であり、特定の種類に偏らずに使用した。その後、ヒアルロニダーゼ(H3506:Sigma)添加M2培地中においてピペッティングすることにより卵丘細胞を除去し、M2培地で洗浄した胚を、mSOF(修正合成卵管液)(表1)に6mg/ml牛血清アルブミン(A4378:Sigma), 0.25mg/mlリノール酸アルブミン(L8384:Sigma), 0.12mg/mlグリシン(G7126:Sigma), 0.25mg/mlタウリン(T8691:Sigma)および10μL/mlITS(I1884:Sigma)を加えた培養液(SOF-ITS)中で38.5℃, 5%CO₂, 5%O₂, 90%N₂の条件下で8日間培養した。

表1 mSOF組成

成分	含有量 (100ml中)
NaCl (191-01665:Wako)	629.4 mg
KCl (163-03545:Wako)	53.4 mg
KH ₂ PO ₄ (169-04245:Wako)	16.2 mg
CaCl ₂ (038-24985:Wako)	19.0 mg
MgCl ₂ ·6H ₂ O (135-00165:Wako)	10.0 mg
NaH ₂ PO ₄ ·H ₂ O (1.06346.500:Merck)	4.1 mg
NaHCO ₃ (191-01305:Wako)	210.6 mg
Sodium pyruvate (P2256:Sigma)	3.3 mg
DL-乳酸ナトリウム (31605-72:ナカライテスク)	50 μl
MEMアミノ酸溶液 (M7145:Sigma)	1000 μl
BMEアミノ酸溶液 (B6766:Sigma)	2000 μl
Gentamicin (G1272:Sigma)	500 μl
Glutamine (5908:日水製薬)	500 μl
Phenol red (P3532:Sigma)	50 μl

3 胚の品質調査

体外受精後6~8日目に拡張胚盤胞に発育したものについて、IETSマニュアル⁶⁾を指標に、内細胞塊の大きさ及び栄養膜細胞の色調、変性細胞の割合を判定基準とし、内細胞塊が胞胚腔に隆起し栄養膜との境界明瞭であり、栄養膜細胞は充実し菲薄化せず、変性細胞の割合15%以下の胚を移植可能胚と判定した。

4 胚の凍結・融解

1) 緩慢凍結法

緩慢凍結液は、ダルベッコPBS(-)粉末(05913:日水製薬)を用いて使用説明書に従い作成したダルベッコPBS溶液に5%エチレングリコール(054-00983:和光純薬), 6%プロピレングリコール(164-04996:和光純薬), 0.1Mシュークロース(196-00015:和光純薬), 0.4%牛血清アルブミン(A8022:Sigma), 20%FCSを添加したものを用いた。凍結液に移植可能胚を浸漬し、ストローに封

入して5分間平衡した後、 -7°C のアルコールバス式プログラムフリーザー (ET-1:富士平工業) に導入し、2分後に植氷、8分間保持した後、77分かけて -30°C (冷却速度 $-0.3^{\circ}\text{C}/\text{min}$) まで緩慢冷却した。緩慢冷却後、液体窒素中にストローを浸漬することで凍結保存した。

融解はストローを液体窒素から取り出し、空気中で10秒間保持した後、 35°C の温湯中に浸漬することにより行った。

2) ガラス化保存法

i) Cryotop 法

前処理液はTCM199培地に10%エチレングリコール、1.0M シュークロース、20% FCS を添加したものをを用い、ガラス化液はM2培地に30%エチレングリコール、20% FCS を添加したものをを用いた。前処理液に、移植可能胚を浸漬し、2分間平衡した後、ガラス化液中に移動させ60秒以内に7回以上洗浄した後、Cryotop (北里コーポレーション) の胚置載部に極少のガラス化液とともに胚を置き、液体窒素中に投入することでガラス化保存した。

融解液は、M2培地に0.3M シュークロース、20% FCS を添加したものをを用いた。融解は、 38°C に加温した融解液に胚置載部を直接投入後、複数回振盪して胚をCryotop先端から分離させた後、2分間保持し、20% FCS を添加したM2培地にて洗浄した。

ii) ビトラン-7法

前処理液に、移植可能胚を浸漬し、2分間平衡した後、ガラス化液中に移動させ60秒以内に7回以上洗浄した後、ビトラン-7スティックの胚置載部に極少のガラス化液とともに胚を置き、液体窒素中に投入することでガラス化した。ビトラン-7ストローの黒色印部位置まで融解液を充填し、液体窒素で冷却した後、液体窒素中でビトラン-7

のスティックとストローを接合し保存した (図1)。

融解は専用のストローハンガーを用いて、液体窒素から取り出したビトラン-7のストロー部分を 35°C の温湯で15秒間加温して融解液を融解後、スティックを押し込み、胚置載部を融解液中に浸漬し、その後、ビトラン-7全体を温湯に60秒間浸漬することにより行った (図2)。

5 試験区の設計

1) 融解試験

供試胚は、と体由来の胚を用いた。ビトラン-7保存胚及びCryotop保存胚を融解後、SOF-ITSで24時間培養した。培養後、形態的観察により生存胚率を調査するとともに、ヘキスト染色液 (bisBenzimide H 33342 B2261: SIGMA Ardrich) を用いて製品の手順書に従い一部の胚を染色し、蛍光顕微鏡下にて核数を計測することにより細胞数を調査した。

生存胚率の比較はカイ二乗検定により行い、平均細胞数の比較は、対応の無いt検定により行い、有意水準は5%とした。

2) 移植試験

供試胚は、OPU由来の胚を用いた。ビトラン-7保存胚及び緩慢凍結保存胚は移植現場において融解し、移植器具にセットした。Cryotop保存胚は、実験室内で融解後、20% FCS を添加したM2培地を用いてストローに封入し、 38°C に保温して移植現場に運搬した。受胚牛は、県内7戸の酪農経営体が飼養する発情後7~8日目のホルスタイン種未経産及び経産牛を用いた。移植は黄体側子宮内に頸管経由法により行った。妊娠診断は妊娠40日前後に、超音波画像診断装置を用いた胎仔心拍の確認または直腸検査による胎膜スリップの確認によって行い、受胎率を調査した。

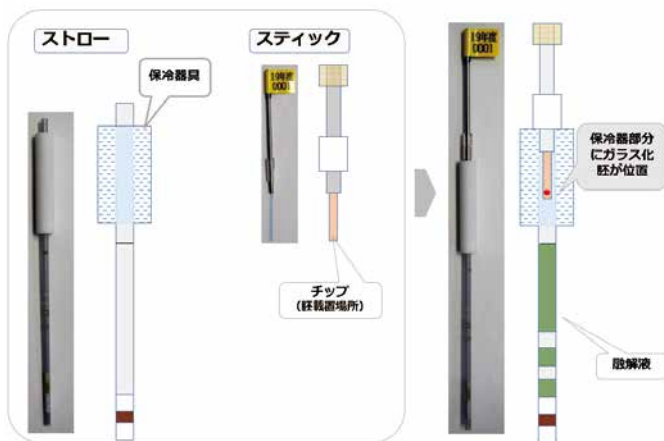


図1 ビトラン-7構造

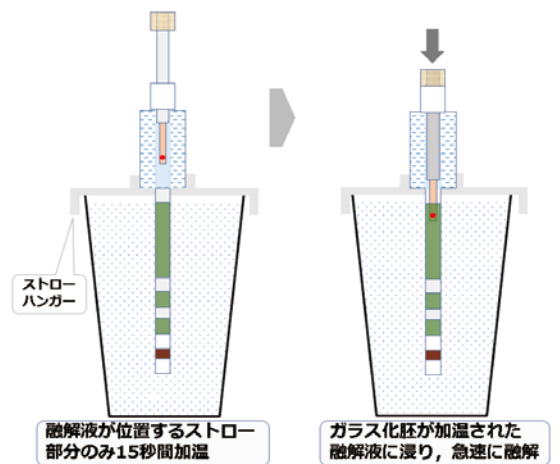


図2 ビトラン-7融解模式図

受胎率の比較は、Fisherの正確検定を実施し、水準間の比較はBonferroniの多重比較法により行い、有意水準は5%とした。統計解析はEZR (version:2.13.0)を用いて行った。

3) 販売胚受胎成績調査

本センターが生産・販売したOPU由来の黒毛和種体外胚のうち、令和元年4月から令和3年5月までに民間移植技術者が乳用種未経産牛へ移植した胚について調査した。ビトラン-7保存胚及び緩慢凍結保存胚は移植現場において融解し、移植器具にセットした。Cryotop保存胚は、実験室内で融解後、20%FCSを添加したM2培地を用いてストローに封入し、38℃に保温して移植現場に運搬した。新鮮胚は、20%FCSを添加したM2培地を用いてストローに封入し、38℃に保温して移植現場に運搬した。移植は発情後7~8日目に黄体側子宮内に頸管経由法により行った。妊娠診断は妊娠40日前後に、超音波画像診断装置を用いた胎仔心拍の確認または直腸検査による胎膜スリップの確認によって行い、受胎率を調査した。

受胎率の比較は、受胎の有無を目的変数、保存方法を説明変数としてロジスティック回帰分析を実施し、水準間の比較はTukeyの多重比較法により行い、有意水準は5%とした。統計解析はR (version:4.1.1)を用いて行った。

結 果

1 融解試験

融解24時間後の生存胚率(生存胚数/融解胚数)は、ビトラン-7保存胚が96.3%(52/54)、Cryotop保存胚が96.8%(61/63)であり、ビトラン-7保存胚とCryotop保存胚との間に有意差は認められなかった(表2)。

表2 ウシ体外胚における保存方法別の融解後生存胚数及び生存率

項目	ビトラン-7保存胚	Cryotop保存胚
供試数	54	63
生存数	52	61
生存率(%)	96.3	96.8

平均細胞数±標準偏差は、ビトラン-7保存胚が136.4±5.8、Cryotop保存胚が132.1±4.8であり、ビトラン-7保存胚とCryotop保存胚との間に有意差は認められなかった(表3)。

表3 ウシ体外胚における保存方法別の融解後細胞数(平均値±標準偏差)

項目	ビトラン-7保存胚	Cryotop保存胚
計測胚数	25	18
細胞数	136.4±5.8	132.1±4.8

2 移植試験

未経産牛の受胎率(受胎頭数/移植頭数)は、ビトラン-7保存胚が45.2%(14/31)、緩慢凍結保存胚が29.2%(7/24)、Cryotop保存胚が72.2%(13/18)であり、緩慢凍結保存胚とCryotop保存胚との間に有意差が認められた($P < 0.05$)(表4)。

表4 ウシ体外胚における保存方法別の未経産牛への受胎成績

項目	ビトラン-7保存胚	緩慢凍結保存胚	Cryotop保存胚
移植頭数	31	24	18
受胎頭数	14	7	13
受胎率(%)	45.2	29.2 ^a	72.2 ^b

a, b: 有意差有 ($p < 0.05$)

経産牛の受胎率は、ビトラン-7保存胚が53.8%(7/13)、緩慢凍結保存胚が40.0%(2/5)、Cryotop保存胚が33.3%(3/9)であり、保存区分間で有意差は認められなかった(表5)。

表5 ウシ体外胚における保存方法別の経産牛への受胎成績

項目	ビトラン-7保存胚	緩慢凍結保存胚	Cryotop保存胚
移植頭数	13	5	9
受胎頭数	7	2	3
受胎率(%)	53.8	40.0	33.3

3 販売胚受胎成績調査

受胎率(受胎頭数/移植頭数)は、ビトラン-7保存胚が52.3%(79/151)、緩慢凍結保存胚が14.1%(12/85)、Cryotop保存胚が49.5%(47/95)、新鮮胚が50.3%(91/181)であり、ビトラン-7保存胚、Cryotop保存胚及び新鮮胚と緩慢凍結保存胚との間に有意差が認められた($P < 0.05$)(表6)。

考 察

ビトラン-7は、受胎率の高いCryotop保存胚の移植時に必要な試験室内での融解作業を、ストロー内で再現することを目的に開発した。

Cryotopによるガラス化保存法の大きな特徴は、脱ガラス化による細胞傷害を防ぐことにある。脱ガラス

表6 生産現場におけるウシ体外胚の保存方法別受胎成績

項目	ビトラン-7保存胚	緩慢凍結保存胚	Cryotop保存胚	新鮮胚
移植頭数	151	12	95	181
受胎頭数	79	85	47	91
受胎率(%)	52.3 ^a	14.1 ^b	49.5 ^a	50.3 ^a

a, b: 有意差有 ($p < 0.05$)

化は、ガラス化状態の胚やその周辺の液が液体に変化する現象であり、脱ガラス化温度域（-80℃付近）を緩やかに通過した際に発生する。脱ガラス化が発生すると、細胞内に氷晶が生じ、胚は重大な傷害を受ける¹⁾。Cryotopを用いることで、加温された融解液へ、ガラス化状態の胚を直接浸漬して超急速に加温し、脱ガラス化温度域を急速に通過させることができ、脱ガラス化することなくガラス化胚を融解することが可能となる^{1), 7), 8)}。この現象をストロー内で再現するためには、温められた融解液と冷却されたガラス化胚をストロー内で同時に存在させる必要がある。

そこで、ビトラン-7には、空気中で45秒程度液体窒素を貯留することができる「保冷器具」をストローに装備するとともに、ガラス化胚を載せたスティックをストローの保冷器具部分に位置するよう接合できるようにした(図1)。

これにより、融解時に、融解液を吸引したストロー部分を加温している間、胚は保冷器具内の液体窒素によって-196℃程度に保たれるとともに、融解液加温後にスティックを押し込むことで、チップ上の胚が加温された融解液に浸かり、胚を超急速に加温することが可能となった(図2)。

このビトラン-7を用いた胚の融解試験及び移植試験において、ビトラン-7保存胚及びCryotop保存胚の生存胚率、平均細胞数及び受胎率は同程度であった。ビトラン-7を用いることにより、試験室内で実施しているCryotop保存胚の融解機序がストロー内において再現できるようになり、ビトラン-7保存胚の融解時に脱ガラス化による細胞傷害を防ぐことが可能となったと考えられた。

ビトラン-7を広く普及させるには、一般的な民間移植技術者が同一条件で簡易に融解できる方法を確立する必要があった。

融解時の誤操作としては、融解液を吸引したストロー部分を加温する際に、保冷器具が温水に浸り保冷機能が低下し、胚が脱ガラス化することがある。

そこで、保冷器具が物理的に引っ掛かり、温水に浸らないようにしたストローハンガーを用いた融解方法を考案した。

この融解方法をもとに、民間移植技術者への技術普及を図った結果、販売胚受胎成績において、ビトラン-7保存胚はCryotop保存胚及び新鮮胚と同程度の受胎率が得られた。ストローハンガーを用いることにより、誰もが脱ガラス化を防ぎつつ胚を融解できることが示唆された。また、民間移植技術者が主体となった胚移植において、ビトラン-7保存胚によるダイレ

クト移植が、新鮮胚及びCryotop保存胚を用いた移植と同程度の有効性をもつことが示唆された。

ビトラン-7を活用することにより、任意の日時・場所で高い受胎率が期待できるガラス化保存胚を融解・移植することが可能となった。今後は、ビトラン-7保存胚を普及させ、広島血統和牛の供給頭数拡大を推進していきたい。

謝 辞

試験及び胚移植事業に御協力いただいた胚移植技術者及び畜産農家の皆様、供卵牛の提供及び採卵実施に当たり御協力いただいた全国農業協同組合連合会広島県本部畜産部、卵巣採材に当たり御協力いただいた広島市食肉衛生検査所の職員の皆様に感謝いたします。

文 献

- 1) 一般社団法人日本家畜人工授精師協会：家畜人工授精講習会テキスト（家畜体内受精卵・家畜体外受精卵移植編），四刷，88-99，京和工業印刷，東京（2016）
- 2) 浜名克己，中尾敏彦，津曲茂久：獣医繁殖学，第3版，229-233，文永堂出版，東京（2007）
- 3) Yasuhiro, O., et al: Comparison of Two Biopsy Methods in Bovine Embryos. *Journal of Advances in Biology & Biotechnology*, 2 (1), 16-23 (2015)
- 4) Kani, C, et al: Effect of Dibutyryl cAMP Together with FSH and EGF during In Vitro Maturation on Sperm Aster Formation and Blastocyst Development after Intracytoplasmic Sperm Injection. *Journal of Mammalian Ova Research*, 28, 131-138 (2011)
- 5) 岩水 正ら：ウシ体外受精胚の凍結保存，広島県獣医学雑誌，13，59-62（1998）
- 6) Stringfellow, D.A, Seidel, SM: *Manual of the International Embryo Transfer Society (IETS)*, 3th ed, IETS, Champaign, IL (1998)
- 7) 関 信輔：細胞内氷晶形成メカニズムの解明と細胞内氷晶形成回避における融解速度の重要性，低温生物工学会誌，63No.2，77-84（2017）
- 8) Kuwayama, M., et al: Highly efficient vitrification method for cryopreservation of human oocytes, *Reprod Biomed Online*, 11, 300-308 (2005)

症例報告

広島県に発生した乳用牛における胎膜水腫の発生事例

渡久川兼誉¹⁾ 横田 美希¹⁾ 朝倉ひとみ²⁾
青山 嘉朗²⁾ 細川久美子²⁾ 尾崎 充彦¹⁾

(受付：令和4年2月16日)

Anecdotal report of Cow's dropsy of fetal membranes in Hiroshima Prefecture.

KANETAKA TOKUGAWA¹⁾, MIKI YOKOTA¹⁾, HITOMI ASAKURA²⁾,
YOSHIRO AOYAMA²⁾, KUMIKO HOSOKAWA²⁾ and MITSUHIKO OSAKI¹⁾

- 1) Northern Center of Livestock Hygiene Service, Prefecture of Hiroshima,
1-4-1 Higashihonmachi, Shobara, Hiroshima, 727-0011, Japan
- 2) Western Center of Livestock Hygiene Service, Prefecture of Hiroshima,
1-15 Saijo-gojo, Higashi-Hiroshima, Hiroshima, 739-0013, Japan

SUMMARY

In October 2020, a primigravid cow developed hydrops of the fetal membrane and died at a dairy farm in Hiroshima Prefecture. As a result of pathological assessment of the recovered fetus and placenta, the fetus was diagnosed with liver fibrosis and hydronephrosis.

— Key words: dropsy of fetal membranes

要 約

2020年10月、広島県内の酪農場において、初妊牛が胎膜水腫を発症し死亡した。摘出した胎子と胎盤を病性鑑定した結果、胎子は肝線維症及び水腎症と診断した。

—キーワード：胎膜水腫

1) 広島県北部家畜保健衛生所 (〒727-0011 広島県東庄原市東本町1丁目4-1)
2) 広島県西部家畜保健衛生所 (〒739-0013 広島県東広島市西条御条町1-15)

序 文

胎膜水腫は、胎膜腔内に胎水の過度な貯留による腹囲膨満等を主徴とする疾患で、尿膜水腫と羊膜水腫の2種に分けられる。牛では尿膜水腫が胎膜水腫の9割を占め、その多くは、妊娠後期で発症が確認されており、尿膜水の増量の程度は様々だが、多いもので250 l以上に達することもある。本症を発症した母牛は、子宮の異常な拡張に伴う消化器症状や呼吸促進等の症状を認め、放置しておくと同拍や脱水等の症状が悪化して死に至ることもある¹⁾。胎子は子宮内で、または出生直後に死亡することが多い。

2020年10月、広島県内の酪農場において、初妊牛が胎膜水腫を発症し死亡した。乳用牛での胎膜水腫の症例は少なく、ほとんど報告されておらず、希少な症例のため報告する。

材料と方法

1 発生概要及び材料

乳用牛約100頭飼養のフリーバーン農場において、分娩予定2カ月前の22カ月齢初産牛が腹部膨満及び呼吸促進を呈した。臨床獣医師が鼓脹症を疑うも穿刺によってガスが抜けず、腸管の膨張を疑い開腹手術を行ったところ、子宮膨満が認められた。子宮穿刺により約100 lの尿膜水を排出したが翌日、眼球陥没など著しい脱水症状を呈し、起立不能となり夕方死亡した。病性鑑定のため、死亡翌日に開腹して胎子（受精卵移植した胎齢210日、ホルスタイン種、雌）及び胎盤を摘出した。

2 方法

1) 農場調査

農家からの聞き取りにより、臨床経過及び飼養管理状況調査を実施した。

2) 病理学的検査

剖検後、採材臓器を10%中性緩衝ホルマリンで固定し、パラフィン包埋、切片を作成した。それをヘマトキシリン・エオジン（HE）染色及びアザン染色を実施した。

3) 生化学的検査

胎子の心嚢水、胸水、腹水を用いて尿素態窒素濃度（BUN）、グルタミン酸オキサロ酢酸トランスアミナーゼ活性（GOT）、総ビリルビン（T-Bil）、乳酸脱水素酵素（LDH）、クレアチンフォスホキナーゼ活性（CPK）及び電解質を生化学自動分析装置（富士ドライケム7000V、富士フィルムメディカル（株）、東京）で測定した。

成 績

1 農場調査

母牛は牛異常産4種混合不活化ワクチンを接種済みであり、これまでの治療歴は無かった。また、当該農場では今回の発症前の約1年以内に、受精卵移植牛において胎子奇形、過大子等の流死産が5例確認された。

2 外貌所見（写真1）

胎子の頭尾長は100cm、外観は腹囲膨満を呈し、背側まで波動感を認めた。全身の皮下及び筋間に浮腫を認め、皮膚は赤色を呈していた。



写真1 死亡胎子

3 病理解剖学的所見

胎子の胸腔、心嚢内には暗赤色の胸水及び心嚢水の貯留が認められた。腹腔内は胸腔と同様に暗赤色の腹水が著しく貯留していた（写真2）。心臓は心臓壁の肥大及び心筋の肥厚が認められた（写真3）。腎臓は融解し、右腎の腫大が顕著であった。また、実質に水疱が認められた（写真4）。肝臓は腫大し表面に凹凸が認められた（写真5）。



写真2 暗赤色の腹水

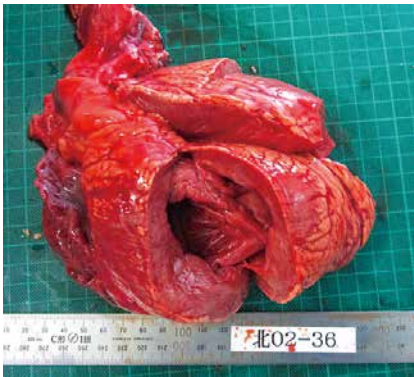


写真3 肥大した心臓

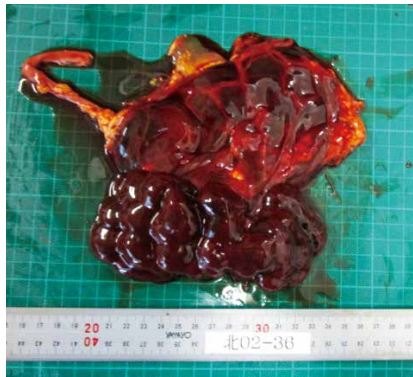


写真4 腎臓の融解及び実質の水疱

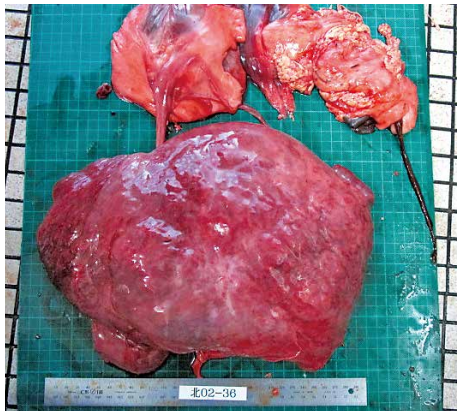


写真5 腫大し凹凸のある肝臓

4 病理組織学的所見

腎臓は腎杯の拡張とともに、皮質及び髓質の萎縮を認めた。皮質の大部分は変性、自己融解し、表層は脱落していた。髓質は集合管及び尿細管が拡張し、一部で嚢胞様を呈していた(写真6)。集合管及び尿細管上皮が多層化配列を呈し、狭窄した管腔構造が認められた(写真7)。肝臓は慢性に類洞の拡張と充うっ血、肝細胞間の剥離、変形及び空胞変性を認めた。さらに、結合組織が慢性に増殖していた(写真8)。また、胎盤には異常が認められなかった。

5 生化学的検査(表1)

胎子体液はBUN, AST, T-Bil, LDH, CPK, Kが高値であり、NaやClなど電解質の低下が認められた。

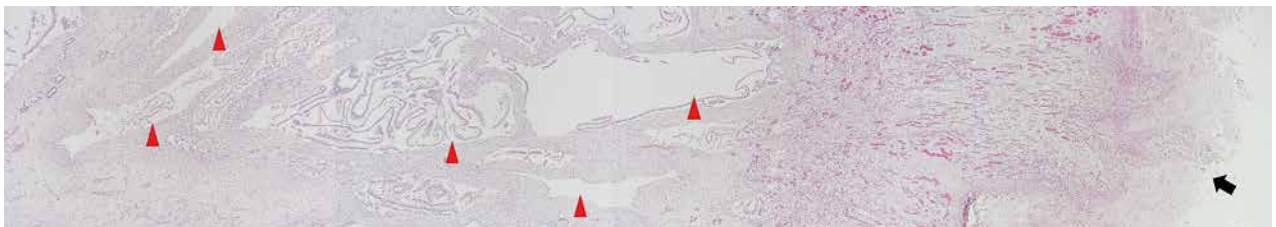


写真6 腎臓髓質の嚢胞形成(矢頭), 皮質表層の脱落(矢印), HE染色

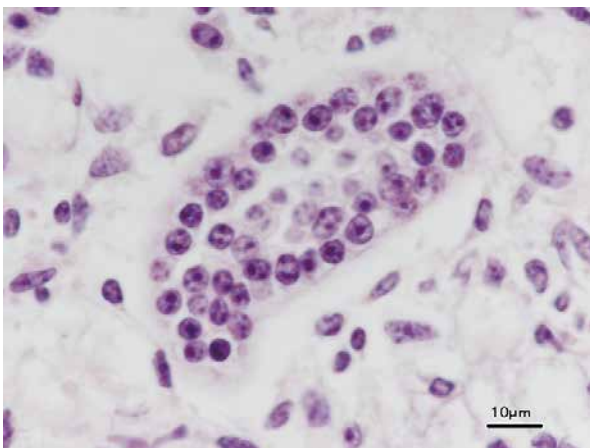


写真7 狭窄した尿細管, HE染色 (Bar=10µm)

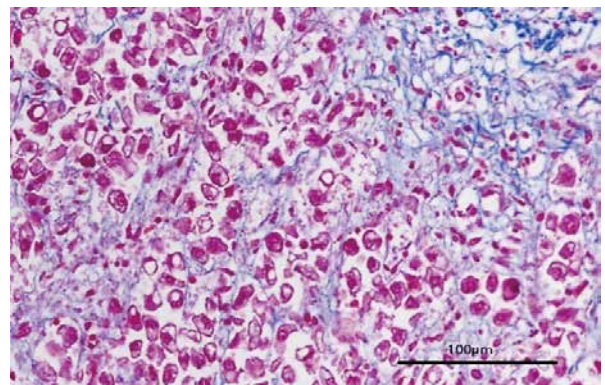


写真8 肝臓, アザン染色 (Bar=100µm)

表1 胎子体液の生化学検査結果

項目	単位	心嚢水	胸水	腹水	(※) 基準値	結果
BUN	mg/dl	70.6	70.7	67.7	4.0-8.8	↑
AST	U/L	1,401	439	73	0-37	↑
T-Bil	mg/dl	3.2	4.0	1.3	0.1-0.8	↑
LDH	U/L	>9,000	>9,000	1,978	692-1,445	↑
CPK	U/L	3,734	>20,000	4,155	4.8-12.1	↑
Na	mEq/l	80	83	100	138-148	↓
K	mEq/l	40.5	36.6	14.9	3.9-5.3	↑
Cl	mEq/l	48	52	58	96-110	↓

※胎子体液の基準値は確認できなかったため、新生牛血液の基準値を参考にした

まとめ及び考察

病理解剖学的所見及び組織学的所見，生化学的検査から，胎子は水腎症及び肝線維症と診断された。母牛の肝機能や腎機能及び胎盤に異常は認められなかった。

以上のことから，本症例の母牛は胎膜水腫に起因した内臓圧迫と重度脱水により死亡，胎子は尿排出阻害による腎不全並びに子宮内での圧迫により死亡したと推察された。

胎膜水腫の発生原因として，胎盤機能の異常や奇形胎子，遺伝性疾患等が挙げられる。また，双胎や体外受精，トランスジェニック，クローン由来胎子の妊娠の場合は，特に発生リスクが高いとされている¹⁾。本症例では母牛に異常がなく，生化学的検査において胎子体液電解質の異常が認められたことから，遺伝性疾患が原因であった可能性が示唆された。しかし，胎子

に腎機能異常を引き起こし，大量の尿を排出させ胎膜水腫を発症させる遺伝性疾患のバーター症候群1型は，黒毛和種にのみ報告があるが²⁾，本症例のようなホルスタイン種での報告は確認できなかった。当該農場では本症例の他にも受精卵移植牛において流死産が発生している。これらの流死産への胎膜水腫の関与や，その発生原因解明のために，今後も検査を継続していくことが必要と考える。

文 献

- 1) 居在家義昭ほか：獣医繁殖学，中尾敏彦編，第4版，391-394，文永堂出版，東京（2012）
- 2) Sasaki,S., et al: A missense mutation in solute carrier family 12, member 1 (*SLC12A1*) causes hydrallantois in Japanese Black cattle, *BMC Genomics*, 17,724-738 (2016)

全身性抗酸菌感染症と縦隔型リンパ腫を併発した猫の一例

三浦 京夏¹⁾ 坂井 祐介²⁾ 砂原 央³⁾ 藤野千賀子⁴⁾ 一色 真之²⁾
森本 将弘²⁾ 櫻井 優²⁾ 藤森佳寿子⁵⁾ 長峯 栄路⁵⁾ 小田まゆみ¹⁾

(受付：令和4年1月20日)

A cat with systemic *Mycobacterium avium* subsp. *hominissuis* infection and mediastinal lymphoma.

KONATSU MIURA¹⁾, YUSUKE SAKAI²⁾, HIROSHI SUNAHARA³⁾, CHIKAKO FUJINO⁴⁾, SANHEYUKI ISSHIKI²⁾,
MASAHIRO MORIMOTO²⁾, YU SAKURAI²⁾, KAZUKO FUJIMORI⁵⁾, EIJI NAGAMINE⁵⁾ and MAYUMI ODA¹⁾

- 1) Oda Animal Hospital, 3131-1, Kamura-cho, Fukuyama-shi, Hiroshima 729-0112, Japan.
- 2) Laboratory of Veterinary Pathology, Joint Faculty of Veterinary Medicine, Yamaguchi University, 1677-1 Yoshida, Yamaguchi-shi, Yamaguchi 753-0841, Japan.
- 3) Laboratory of Surgery, Joint Faculty of Veterinary Medicine, Yamaguchi University, 1677-1 Yoshida, Yamaguchi-shi, Yamaguchi 753-0841, Japan.
- 4) Matsuoka Animal Hospital, 3-22-6, Myojin, Mihara-shi, Hiroshima 723-0046, Japan.
- 5) IDEXX Laboratories, 5-8-18, Kajino-cho, Koganei-shi, Tokyo 184-8515, Japan.

SUMMARY

Mycobacterium spp. causes *Mycobacterium* infection, which rarely causes systemic acid-fast bacillus infection with systemic granuloma. Only a few reports have been published on the infection in pet animals. We encountered a case of systemic granuloma caused by severe acid-fast bacillus infection, accompanied by mediastinal lymphoma, in a cat living indoors. The animal was pathologically examined by postmortem autopsy, followed by genetic analysis. Postmortem autopsy revealed a large amount of *Mycobacterium* spp. in the macrophages of affected tissue, which was identified to be

1) おだ動物病院 (〒729-0112 広島県福山市神村町 3131-1)
2) 山口大学共同獣医学部病態制御学講座 (〒753-0841 山口県山口市吉田 1677-1)
3) 山口大学共同獣医学部臨床獣医学講座 (〒753-0841 山口県山口市吉田 1677-1)
4) 松岡動物病院 (〒723-0046 広島県三原市明神 3 丁目 22-6)
5) アイデックスラボトリーズ株式会社 (〒184-8515 東京都小金井市梶野町 5-8-18)

Mycobacterium avium subsp. *hominissuis* by genetic analysis. Lymphocyte-like tumor cells proliferated in a solid mediastinal tumor. Immunostaining revealed that, the tumor was B-cell lymphoma. Genetic analysis identified mutations in the clarithromycin resistance gene, although no mutation was found in other drug resistance genes. Furthermore, the expressions of MHC class I and II molecules were decreased. As observed in the present case, the medical treatment of systemic feline acid-fast bacillus infection may be complicated by lymphoma. The drug resistance and decreased antigen presentation should be pathologically investigated.

— Key words: systemic acid-fast bacillus infection, feline, mediastinal type

要 約

抗酸菌感染症は、*Mycobacterium* 属細菌による感染症であり、稀に全身性に肉芽腫が発生する全身性抗酸菌感染症が引き起こされるが、伴侶動物における報告は非常に少ない。今回我々は、完全室内飼育の猫において、重度の抗酸菌感染による全身性肉芽腫と、縦隔型リンパ腫を併発した一例に遭遇し、死後剖検によりその病態を明らかにすると共に、遺伝子解析を実施した。死後剖検では、病変組織のマクロファージ内に多量の *Mycobacterium* 属細菌が認められ、遺伝子解析により *Mycobacterium avium* subsp. *hominissuis* であることが判明した。また、縦隔に形成された腫瘤には、リンパ球様腫瘍細胞が充実性に増殖しており、免疫染色によりこの腫瘤はB細胞性リンパ腫であることが判明した。遺伝子解析により、クラリスロマイシン耐性遺伝子の変異が認められたが、他薬剤耐性遺伝子の変異は認められなかった。また、MHCクラスI、II分子の発現低下が観察された。本症例により、猫の全身性抗酸菌感染症において、リンパ腫を併発し治療が困窮する症例も存在することが示され、その薬剤耐性と抗原提示能の低下についての病態を明らかにすることが必要であると考察した。

— キーワード：全身性抗酸菌感染症，猫，縦隔型リンパ腫，薬剤耐性

序 文

Mycobacterium 属細菌による感染症は古くから存在し、結核を引き起こす *M. tuberculosis* の他に *M. avium*, *M. bovis*, *M. microti* など多数の亜種が存在する^{1,3)}。ヒトにおける抗酸菌感染症は、主に呼吸器を介して侵入し、全身性感染症になると多臓器に肉芽腫性病変をつくることが知られている⁴⁾。猫では、主に *M. microti* や *M. bovis*、稀に *M. tuberculosis* による感染が見られるが、全身性抗酸菌感染症は稀である^{2,3,5,6)}。全身性抗酸菌感染症は *Mycobacterium* 属細菌が全身、または付属リンパ節へ播種することにより引き起こされる⁶⁾。また、動物における抗酸菌感染症は、人獣共通感染症としても問題になることがある^{1,3,8)}。全身性抗酸菌感染症を呈した猫の例は数例存在するが、その報告数は非常に少なく、病態は明ら

かになっていない^{2,5,6,7)}。今回、我々は完全室内飼育の猫において、抗酸菌感染症による全身性肉芽腫を呈し、死後剖検により縦隔型リンパ腫を併発していた症例に遭遇したため、ここに報告する。

症 例

症例は雑種猫、9歳1ヶ月齢、避妊雌、体重3.58kg(初診時)。既往歴はなく、猫エイズウイルス抗体、猫白血病ウイルス抗原共に陰性、完全室内飼育であった。

成 績

第1病日、口が痛そうとのことで来院。食欲不振、元気消失を呈し、口腔内に重度の炎症を認め、触診に

て両側下顎リンパ節の軽度腫大を認めた。視診での口腔内の炎症所見から、重度歯周病を疑い、セフォペンナトリウム（コンベニア注[®]）8mg/kgとメチルプレドニゾロン酢酸エステル（デポ・メドロール注[®]）10mg/kgを皮下注射した。第47病日に、症状の再発が見られたためセフォペンナトリウム（コンベニア注[®]）8mg/kgを再度使用した。第73病日に口内炎、食欲不振の症状が改善されないことから、エンロフロキサシン（バイトリル[®]）5mg/kg po SIDを処方した。第80病日の再診時に、左側咽頭部と、下顎リンパ節の部位に25mm×10mmの結節を発見した。口内炎と食欲不振の症状は改善していなかった。下顎リンパ節の針生検により細菌感染が疑われたため、エンロフロキサシン（バイトリル[®]）5mg/kg po SIDを再度処方し、アイデックスラボラトリーズ株式会社（以下IDEXX）に細胞診を依頼した。第84病日、IDEXXから抗酸菌感染症である診断が下ったため、過去の報告を参考とし⁷⁾、クラリスロマイシン（クラリス[®]）14mg/kg po BID、リファンピシン（リファンピン[®]）11mg/kg po SIDの投薬を開始した（写真1）。

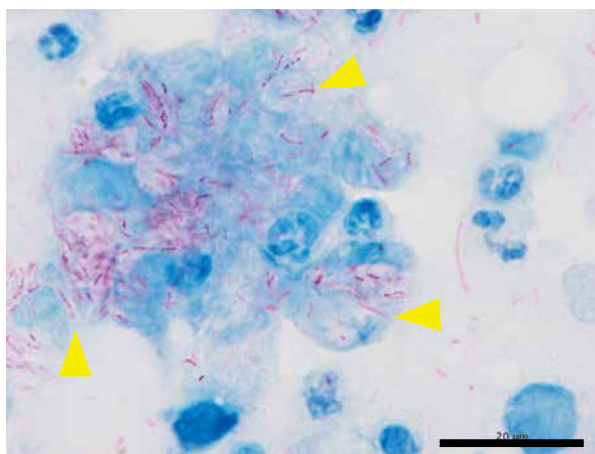


写真1 下顎リンパ節FNA チールネルゼン染色（×1000倍）
（Bar=20μm）
マクロファージと、赤色に染色される抗酸菌（矢頭）が多数観察された。提供：IDEXX ラボラトリーズ 藤森 佳寿子先生

第185病日、食欲不振は多少改善が見られたが、咽頭部と下顎の結節は小さくならないため、クラリスロマイシンとクロファジミン（ランプレン[®]）14mg/kg po SIDの内服に変更した。その後は体重が3.7kgまで増加し、良好に経過を過ごしていた。第351病日、3.7kgから3.1kgと急激な体重減少、食欲低下、嚥下困難で来院され、口腔内の視診にて咽頭部の腫脹を認めた。薬剤の組み合わせをクラリスロマイシン、リファンピシン、クロファジミンの3種併用で処方した。第359病日、体重が減少し続けており、食欲廃絶であったこと、また、猫の抗酸菌感染症でのステロイド使用報告があったことから⁶⁾、抗生剤に加えてプレドニゾロンを0.5mg/kg SIDで経口投与した。全

身麻酔を含めたリスクをオーナーに検討してもらったのち、第368病日、麻酔下でのCT検査、生検を実施した。挿管時に咽喉頭部を圧排する腫瘤が口腔内に観察された（写真2）。



写真2 挿管時にみられた口腔内腫瘤
挿管自体は可能であったが、腫瘤（矢頭）が咽喉頭部を圧排していた。

CT検査では、左軟口蓋から咽喉頭にかけて均一増強性を示す5.2cm×1.9cmの腫瘤が見られ、縦隔リンパ節と、気管気管支、空腸、下顎、内側咽喉頭リンパ節の腫大、両側腎臓結石が見つかり、左肺後葉においてはびまん性に高CT値陰影が見られた（写真3, 4, 5）。

咽頭部腫瘤と左右下顎リンパ節はパンチ生検（18G Tru-cut 針）、縦隔リンパ節は細胞診を実施し、それぞれIDEXXに提出した。また、同日に食道カテーテルを設置し、投薬と栄養補給が可能となるようにした。第378病日、咽頭部腫瘤と下顎リンパ節は炎症性肉芽腫と診断され、縦隔リンパ節はリンパ腫の可能性が高いとの所見であったが確定診断には至らなかった。第379病日、抗生剤としてクラリスロマイシン、リファンピシン、クロファジミンの3種に加えてエンロフロキサシンを再度処方した。第381病日、咽頭部腫瘤と左右下顎リンパ節のチールネルゼン染色標本にて抗酸菌が多数観察されたため、抗酸菌感染による炎症病変が考えられるという結果が返却された。第388病日、過去の治療報告⁶⁾から、イソニアジド3.5mg/kg BID、リファンピシン10mg/kg SID、エンロフロキサシン7mg/kg SID、更に嘔気予防のためメトクロプラミド（プリンペラン[®]）0.3mg/kg BID、プレドニゾロン0.5～1mg/kg SIDを経口薬として使用した。第395病日、元々えづきが間欠的であったが、頻度がかなり増えたとのことで来院。イソニアジドによる副作用も考えられたため休薬した。第402病日、イソニアジドを休薬してもえづきは変わらず、食欲は廃絶していた。左右の瞳孔径が不整なことがあるとのことであった。イソニアジドを休薬しても状態の改善が見られなかったため、やむを得ずクラリスロマイシ

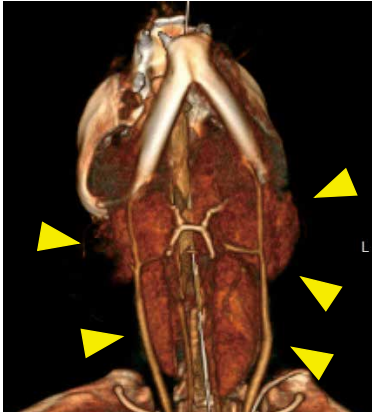


写真3 頸部腹側からのCT3D画像
左軟口蓋から咽喉頭にかけて下顎、内側咽頭後リンパ節の重度腫大が認められた。(矢頭)

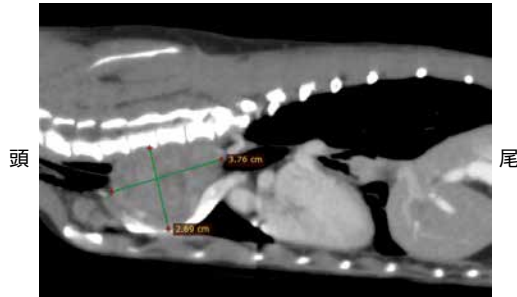


写真4 CT画像(サジタル像)
縦隔リンパ節の重度腫大が認められ、針生検を実施した。



写真5 CT画像(コロナル像)
左肺後葉においてびまん性に高CT値陰影が見られた。(矢頭)

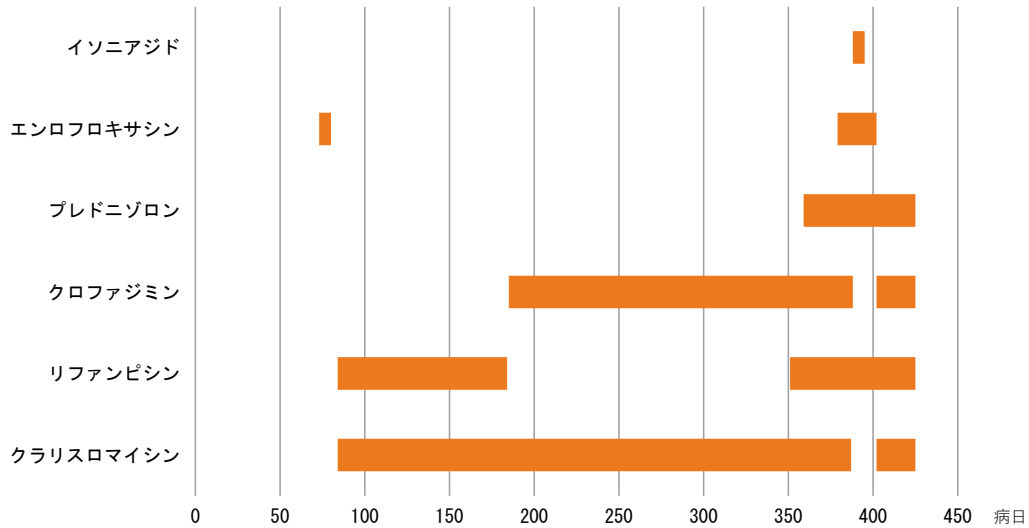


図1 各種薬剤と投与期間

ン、リファンピシン、クロファジミンの組み合わせに戻した(図1)。

しかし体重減少が改善せず、第426病日に自宅にて斃死した。

その後、山口大学病理学研究室に死後剖検を依頼した。病変の認められる各々の外観所見は、頸部リンパ節が腫大し、口腔内では口蓋扁桃より隆起した約2.5cmの腫瘤と、それに類似した1cm程度の腫瘤が咽頭扁桃部に認められた。胸腔には5cm弱の大型腫瘤が食道や気管に癒着・圧排して存在し、肺や心臓も圧排していた(写真6, 7, 8)。

左肺前葉に径2cm程の気腫が存在していた(写真9)。

腹腔内では腸間膜リンパ節が6cm程度に腫大し、空腸から回腸にかけて点状出血巣が散見された。両側の腎臓が萎縮し、梗塞病巣が複数認められた(写真10)。

それぞれ組織学的検査により、頸部リンパ節群では微細顆粒状の細胞質を有するマクロファージが重度に浸潤しており、オーラミン・ローダミン染色によりマクロファージ内に多量の *Mycobacterium* 属菌が認められ、腸間膜リンパ節、肺門リンパ節、腸管、舌でも同様の所見が得られた。口腔内腫瘤でも微細顆粒状の細胞質を有するマクロファージが重度に浸潤している像が得られたが本来の組織構築が残されておらず、由来組織の判定は困難であった(写真11, 12)。

肺野において全葉で重度の肺水腫が認められ、微細顆粒状の細胞質を有するマクロファージの集簇巣も一部で認められた。両側腎臓において皮質で広範な尿細管の壊死巣が多見され、梗塞による虚血性壊死と考えられた。胸腔内腫瘤ではリンパ球様腫瘍細胞が充実性に増殖しており、免疫染色でCD79aに弱陽性～陽性、CD20に弱陽性、CD3、Iba-1に陰性を示したため、B細胞性リンパ腫と考えられた。オーラミン・ローダ



写真6

頸部の結節状病変 (矢頭) はいずれも腫大した頸部リンパ節であった



写真7

外部から認められた口腔内腫瘍は口蓋扁桃に起始し、径2cm程度 (矢頭)。咽頭扁桃にも同様の質感で径1cm程度の病変が形成される (矢印)

提供：山口大学 坂井祐介先生



写真8

縦隔に大型腫瘍が1つ認められ (矢頭)、肺や心臓を尾側に圧排していた。

提供：山口大学 坂井祐介先生

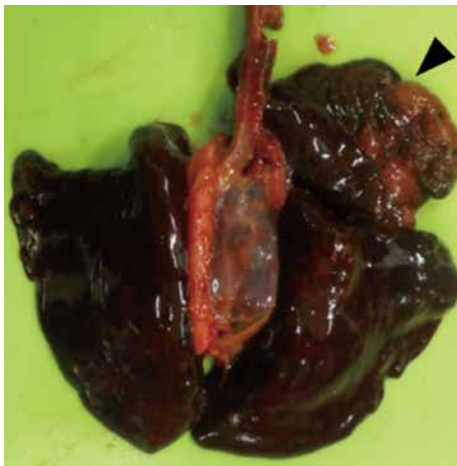


写真9

左肺前葉に径2cm程度の気腫が存在した (矢頭)。

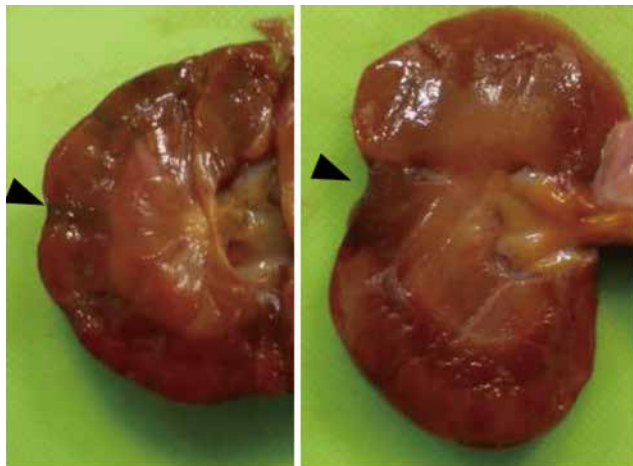


写真10

腎皮質に赤色楔形の梗塞病変が複数認められた (矢頭)。

提供：山口大学 坂井祐介先生

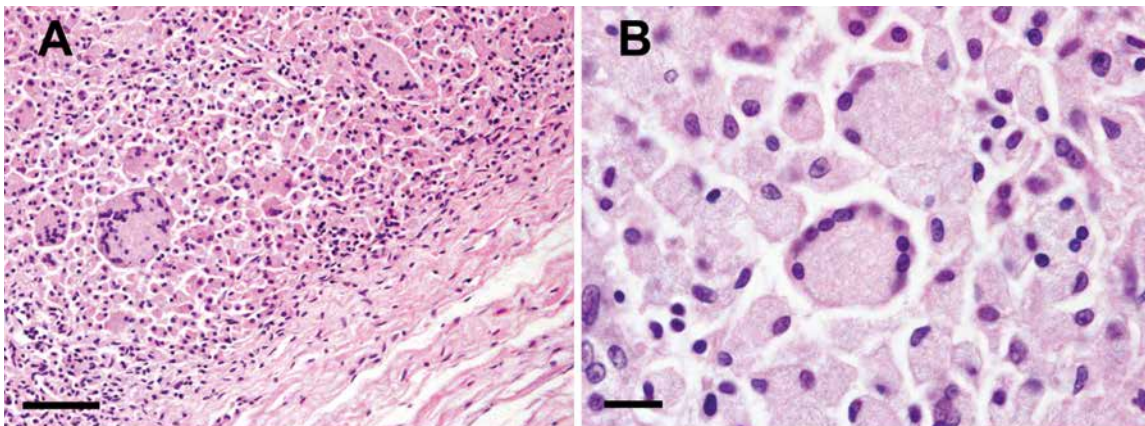


写真11 腫大した頸部リンパ節

A：組織が微細顆粒を細胞質に持つマクロファージで占められる (Bar=50 μ m)

B：多核ラングハンス氏巨細胞 (Bar=10 μ m)

提供：山口大学 坂井祐介先生

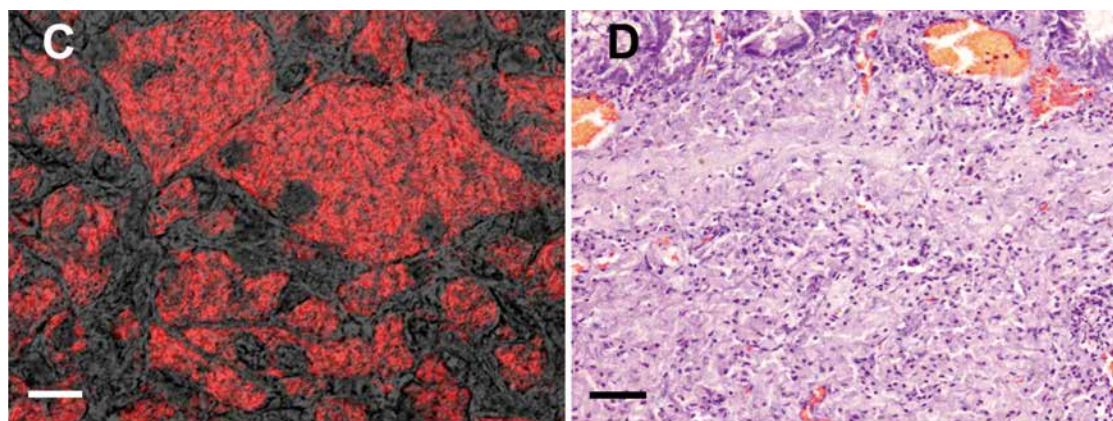


写真12

C：頸部リンパ節のオーラミン・ローダミン染色：細胞質内の多量の抗酸菌（赤）（Bar=10 μm）
 D：空腸のバイエル板でも組織がマクロファージに占拠されている像が得られた（Bar=50 μm）

提供：山口大学 坂井祐介先生

ミン染色で *Mycobacterium* 属菌は認められなかった。組織を用いた PCR 検査では、本症例が *Mycobacterium avium* subsp. *hominissuis*（以下 MAH）による感染であったことが明らかになった。また、23s ribosomal RNA の点突然変異が見られ、クラリスロマイシン耐性が示唆された。他薬剤についても同様の検査を用いたが、耐性はみられなかった。同組織において、MHC クラス I、II 分子の発現が低下していることが発見され、これは抗酸菌感染によりマクロファージの抗原提示能が減退し、リンパ球を誘導できなくなっていた可能性を示唆した。

考 察

今回の症例は、口腔内病変から始まり、リンパ節、腸管や肺にも抗酸菌感染が見られたことから、全身性抗酸菌症であったと考えられた。猫において MAH による感染例は過去にも存在するが、筆者の調べる限り 4 例と非常に少ない^{5,9-11)}。過去の報告によると、MAH が汚染された土壌や水に存在することから、幼少期の不顕性感染もしくは食物や水による感染が最も疑われるが⁵⁾、本症例において感染経路を探索することは困難であり、未だ不明である。また、本症例では、口腔内の症状から始まり、抗生剤の投薬により第 350 病日までは良好な経過をたどっていたが、第 351 病日からはえずきや、迷走神経への影響と思われる瞳孔不同など胸腔内病変による症状の方が強く出ているため、第 351 病日から病態が悪化したことは、縦隔型リンパ腫が発生し、影響を及ぼしていたタイミングであったとも考えられる。胸腔内腫瘍の細胞診の段階でリンパ腫が疑われていたが、抗がん剤治療により免疫力が低下し抗酸菌感染症が悪化する可能性を考え、治療に臨むことができなかった。ヒトでは *M. tuberculosis* による結核から気管支原発 MALT リン

パ腫が発生した報告が存在するが¹²⁾、動物において全身性抗酸菌感染症とリンパ腫の併発した症例は筆者が調べる限り存在せず、その因果関係については不明であり、検討が必要である。治療が奏功しなかった他の理由として、遺伝子解析で明らかになった薬剤耐性の獲得も挙げられるが、耐性獲得を証明できたのはクラリスロマイシンだけであり、抗酸菌感染症において薬剤耐性の獲得を調査することは意義が少ないという報告もあることから¹³⁾、薬剤耐性だけを治療が奏功しなかった理由としては考えにくい。また、抗酸菌感染における抗原提示分子の抑制は *M. bovis* や *M. avium* においても過去に報告がある¹⁴⁻¹⁷⁾。本症例においても、マクロファージの抗原提示分子の発現低下が見られたことにより、抗酸菌感染により抗原提示能が減退し、リンパ球を誘導できなくなっていた可能性が高いと推察され、これもまた本症例において抗酸菌感染症が全身に波及し、適切な免疫誘導が不可能となり、治療が奏功しなくなっていた原因の一つとして考えられる。

MAH の猫からヒトへの感染はまだ報告が見られないが、*M. bovis* が猫からヒトへ伝播した可能性があるとする報告や³⁾、逆に *M. tuberculosis* がヒトからイヌへ感染した例などが報告されている⁸⁾ ことから、今後、MAH においても、伴侶動物として存在する猫から、ヒトへ伝播する可能性も大いに考えられる。ヒトにおいても、抗酸菌感染症における薬剤耐性は問題になっていることから¹⁸⁾、今回の症例のように治療が困窮した症例のデータが今後も蓄積され、その病態が明らかになることは、人獣共通感染症予防の観点においても重要なきっかけになると考えられる。本症例では初診時に歯周病だと誤診してしまったが、最初から丁寧な触診、問診をしていれば早めに抗酸菌感染症であると気づくことができたと考えられる。猫の全身性抗酸菌感染症を長期的に追った報告はまだ少ない

め、この投稿により、類似した症例に遭遇した時、一人でも多くの獣医師に抗酸菌感染症を鑑別リストに加えていただくと幸いである。また、先述したとおり、動物で抗酸菌感染症とリンパ腫が併発した症例は筆者が調べる限り本症例が初であり、猫でもヒトと同様に抗酸菌による抗原刺激によりリンパ腫が発生したのかは不明なままであるが、治療が困窮した大きな一因であると考えられるため、今後の症例の蓄積、解明に期待する。筆者自身も、今後同様の症例に遭遇した場合は積極的に検査をすすめ、救命できるような治療法を模索していくべきであると考えている。

謝 辞

遺伝子解析及びスライドを提供していただいた坂井祐介先生、剖検に携わっていただいた砂原央先生、症例を一緒に担当して下さった藤野千賀子先生、また、剖検に症例を提供して下さった本症例の飼い主様に深謝します。

文 献

- 1) 辻本元ほか：獣医内科学，辻本元編，改訂版，592-593，文永堂出版，東京（2011）
- 2) Yesari, E., et al: Case report: systemic tuberculosis caused by *Mycobacterium bovis* in a cat, BMC Vet Res., 15:9 (2019)
- 3) Catherine, M, O., et al: Cat-to-Human Transmission of *Mycobacterium bovis*, United Kingdom, Emerg Infect Dis., 25(12)2284-2286 (2019)
- 4) Falkinham, J.O.^{3rd}, et al: Epidemiology of Infection by Nontuberculous Mycobacteria, Clin Microbiol Rev., 9: 177-215 (1996)
- 5) Kanegi, R., et al: Clinical findings and treatment of disseminated '*Mycobacterium avium* subspecies *hominissuis*' infection in a domestic cat, J. Vet. Med. Sci., 81(12), 1842-1849 (2019)
- 6) 古川修治ほか：同居猫にみられた全身性抗酸菌感染症の2例，動物臨床医学，10(2)，95-99（2001）
- 7) Petra, C., et al: Systemic *Mycobacterium kansasii* Infection in Two Related Cats, Pathogens., 9(11), 959 (2020)
- 8) Anna, P, V, M., et al: Case Report:Disseminated *Mycobacterium tuberculosis* Infection in a Dog, Am. J. trop. MedHyg., 88(3), 596-600 (2013)
- 9) Madarame, H., et al: *Mycobacterium avium* subsp. *hominissuis* meningoencephalitis in a cat, Vet. Microbiol., 204, 43-45 (2017)
- 10) Beck, A., et al: Mucocutaneous Inflammatory Pseudotumors in Simultaneous *Mycobacterium avium* subsp. *avium* and *Mycobacterium avium* subsp. *hominissuis* Infection in a Cat, J. Comp. Pathol., 153(4), 227-230 (2015)
- 11) Klang, A., et al: *Mycobacterium avium* subspecies *hominissuis* infection in a domestic European shorthair cat, Wien. Tierarztl. Monatsschr., 101, 74-78 (2014)
- 12) Tom-O, K, MD., et al: Bronchus-Associated Lymphoid Tissue Lymphoma and *Mycobacterium tuberculosis* Infection:An Unusual Case and Review of the Literature, Respir Care., 52(6), 755-758 (2007)
- 13) Bruffaerts, N., et al. Genome Sequences of Four Strains of *Mycobacterium avium* subsp. *hominissuis*, Isolated from Swine and Humans, Differing in Virulence in a Murine Intranasal Infection Model, Genome Announc., 4(3), e00533-e16 (2016)
- 14) Hussain, S., et al: *Mycobacterium avium* Infection of Mouse Macrophages Inhibits IFN- γ Janus Kinase-STAT Signaling and Gene Induction by Down-Regulation of the IFN- γ Receptor., J.Immunol.,163(4), 2041-2048 (1999)
- 15) Jha, S.S., et al:Virulence-related *Mycobacterium avium* subsp *hominissuis* MAV_2928 gene is associated with vacuole remodeling in macrophages, BMC Microbiol., 10, 100 (2010)
- 16) Weiss, D.J., et al: Regulation of Expression of Major Histocompatibility Antigens by Bovine Macrophages Infected with *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* or *Mycobacterium avium* subsp. *avium*, Infect. Immun., 69(2), 1002-1008 (2001)
- 17) Wojciechowski, W., et al: Attenuation of MHC Class II Expression in Macrophages Infected with *Mycobacterium bovis* Bacillus Calmette-Guerin Involves Class II Transactivator and Depends on the *Nramp1* Gene, J. Immunol., 163(5), 2688-2696 (1999)
- 18) 佐々木結花ほか：中高年者を中心に生じた多剤耐性結核菌による集団感染事例，Kekkaku, Vol.74, No.7, 549-553（1999）

症例報告

絹糸反応性肉芽腫による十二指腸閉塞を発症した犬の1例

黒瀬 智泰 小田まゆみ 三浦 京夏 則包ゆう佳 三宅恵津也
山内 美彩 黒瀬 紀子 眞鳥美沙麻 神野 茜

(受付：令和4年1月18日)

A case of duodenal obstruction due to silk-reactive granuloma in a dog

TOMOYASU KUROSE, MAYUMI ODA, KONATU MIURA, YUKA NORIKANE, ETSUYA MIYAKE,
MISA YAMAUTI, NORIKO KUROSE, MISAO MATORI and AKANE KANNO

Oda Animal Hospital, 3131-1 Kamura-cho, Fukuyama-shi, Hiroshima 729-0112

SUMMARY

We encountered a dog that was diagnosed with silk-reactive granuloma one year after contraceptive surgery and developed duodenal obstruction despite immunosuppressive therapy that had continued for four years after removal of the residual silk. This animal was a female mixed-breed dog aged 1 year and 7 months, which underwent contraceptive surgery at 7 months old. She was referred to our hospital with chief complaints of depression, despite a good appetite, and abdominal distention for a week. The dog was diagnosed with silk-reactive granuloma, with CRP 6.9 mg/dL, infiltrative tumors detected near the left and right kidneys by abdominal ultrasonography (the left tumor infiltrated the spleen), and silk sutures found on the left and right tumors and at the tip of the residual uterine horn by test laparotomy. As the tumors could not be excised, prednisolone and cyclosporine were continuously administered to suppress their growth. Subsequently, the animal was recovering well with dose adjustment. However, the dog was brought to our hospital at the age of 5 years and 9 months with a chief complaint of vomiting. Abdominal ultrasonography and CT revealed that the right tumor spreading to the duodenum caused obstruction and the left tumor infiltrated the left kidney with ureteral involvement. After resection of the obstructed duodenum by laparotomy, intestinal anastomosis was performed but the tumors on both sides could not be excised. Subsequently, the symptoms were improved with recovery of urination. The dog was histopathologically diagnosed with purulent granulomatous inflammation. Recently, silk-reactive granuloma has become less common because of the widespread use of vascular

sealing systems. However, it should be noted that contraceptive/castration surgery with a silk suture may cause a granuloma, which would be life-threatening if it becomes severe, as observed in this case.

— Key words: Dog, Silk-reactive granuloma, Duodenal obstruction, Suture reactive granuloma, Sterilization surgery

要 約

避妊手術の1年後に絹糸反応性肉芽腫と診断され、残存絹糸摘出後4年間に及ぶ免疫抑制療法を続けたにもかかわらず十二指腸閉塞を発症した犬に遭遇した。症例はミックス、1歳7か月、雌、避妊済(生後7か月)で、1週間前から食欲はあるが元気がなく、お腹が張っているという主訴で来院。CRP 6.9mg/dl、腹部超音波検査にて左右腎臓付近に浸潤性腫瘍があり、左側は脾臓にも浸潤を認め、試験開腹にて左右腫瘍と遺残した子宮角先端部に絹糸を確認し絹糸反応性肉芽腫と診断した。腫瘍の外科的切除は不可能と判断し、腫瘍の増大を抑制する目的でプレドニゾンおよびシクロスポリンの継続的な投薬を行った。その後、薬用量を調整することにより経過は良好であったが、5歳9か月で再び嘔吐を主訴に来院され、腹部超音波検査およびCT検査にて右腫瘍が十二指腸にまで及び閉塞、左腫瘍が左腎への浸潤と尿管の巻き込みを確認した。開腹手術にて十二指腸閉塞部を切除し腸管吻合術を行ったが、左右とも腫瘍切除は不可能であった。その後は、臨床症状および排尿の経過は良好である。病理組織検査の結果、化膿性肉芽腫性炎症と診断された。近年、血管シーリングシステムの普及に伴い遭遇する機会は減少傾向にあるが、本例のように絹糸を使用した避妊去勢手術は肉芽腫形成の要因となり重症化すると生死に係わる疾病となり得ることを留意しておくべきである。

— キーワード：犬、絹糸反応性肉芽腫、十二指腸閉塞、避妊手術、縫合糸反応性肉芽腫

序 文

犬の縫合糸反応性肉芽腫は外科手術に用いた縫合糸に対する生体の異物反応により形成され、皮下では脂肪織炎をきっかけに、縫合糸の周囲や皮下組織に肉芽腫および炎症が生じたもの¹⁾で、体腔内ではそれらが臓器への癒着により胃腸炎や腸閉塞などを引き起こすことがある。臨床症状は非特異的で、無症状あるいは嘔吐、下痢、元気消失、食欲不振、体重減少、発熱などがあり^{1), 2)}、既報^{2), 3)}では、犬種としてミニチュアダックスフントでの発症が多く、術後診断期間は1ヶ月から4年と幅広く、雌避妊後の縫合糸確認例は8割程度とされている。

近年、縫合糸を使わない手術として血管シーリングシステムの普及に伴い遭遇する機会は減少傾向にあるが、今回、犬で避妊手術の1年後に絹糸反応性肉芽腫と診断され、残存絹糸摘出後4年間に及ぶ免疫抑

制療法を続けたにもかかわらず十二指腸閉塞を発症した症例に遭遇したので報告する。

症 例

マルチーズとヨークシャーテリアのミックス、1歳7か月、雌、他院にて生後7か月で避妊済、予防は完全にされており、既往歴として避妊手術3-4ヶ月後に皮膚縫合部の縫合糸反応があり処置が行われていたが詳細は不明であった。

当院には1週間前から食欲はあるが元気がなく、お腹が張っているという主訴で来院され、初診時の臨床症状は、体温39.4℃、腹部膨満、嘔吐、空咳、鼻水であった。血液検査では好中球、好酸球が多く、TP 8.4g/dl およびグロブリン 5.7g/dl と上昇、CRP は 6.9mg/dl と高値を示した(表1)。腹部超音波検査では左右腎臓付近に浸潤性腫瘍を認め、右側は長径

表1 初診時の血液検査所見

RBC	×10 ⁴ /μl	653	TP	g/dl	8.4
HGB	g/dl	12.6	ALB	g/dl	2.7
HCT	%	38.9	GLB	g/dl	5.7
MCV	fl	59.6	A/G		0.47
MCH	pg	19.3	GLU	mg/dl	123
MCHC	g/dl	32.4	BUN	mg/dl	9.5
WBC	×10 ³ /μl	166	GPT	U/I	20
LYM	%	9.7	CRP	mg/dl	6.9
OTHR	%	79.8			
EO	%	10.5			
PLT	×10 ⁴ /μl	36.8			

23.1mm, 左側は 26.8mmで脾臓への浸潤を認めた。

第7病日に試験開腹を実施したところ、右側腫瘍は右腎尾側に位置し腹膜癒着、後腹膜腔への浸潤も疑われ、左側腫瘍は脾臓壁側面後縁、左腎尾側および腹膜に癒着しており、左右の腫瘍はともに遺残した子宮角先端に連続した。左右卵巣は存在せず、腫瘍と子宮角先端の間に絹糸を確認したため、卵巣摘出術が行われていたものと考えられた。これら肉眼的所見から絹糸反応性肉芽腫と診断した。

治療は試験開腹時に著しい腫瘍の臓器、腹膜への癒着のため外科的切除は不可能と判断し、絹糸摘出のみをした。そのため、内科的治療を選択し62日間の抗生物質（エンロフロキサシン、オルビフロキサシン）の投与と腫瘍の増大の抑制を目的として免疫抑制剤のプレドニゾン0.4～1.0mg/kg（1回/日）およびシクロスポリン4.7～7.5mg/kg（1回/日）を臨床症状およびCRP濃度の変化に合わせて継続的な投与を行った。試験開腹および内科的治療の開始後は、元氣、食欲が次第に回復し経過良好であった。

しかし、5歳9か月で再び嘔吐を主訴に来院された。前日から嘔吐が続き、茶色の水様性の液体で血液混入

を認めたとのことであった。体重 6.15 kg, 体温 39.0℃, 腹囲膨満を呈し、下痢はなかった。

検査および治療

1. 腹部超音波検査 (写真1)

胃から十二指腸の著しい拡張、液体貯留、十二指腸下行部付近に高エコー像を認め、管腔内が狭窄しており消化管閉塞が疑われた。

2. CT検査 (写真2)

左右腎臓尾側に低増強性腫瘍を認め、中心部に石灰化、子宮遺残物に連続していた。右占拠性物質は後腹膜の浸潤部位から十二指腸にまで増大しており、十二指腸下行部における閉塞が確認された。左占拠性物質は脾臓、左腎に浸潤し尿管を巻き込み造影遅延を認めた。

3. 開腹手術 (写真3)

十二指腸閉塞部を腫瘍から剥がした後、閉塞部位を切除し腸管吻合術を行った。左右ともに腹膜や腎臓へ癒着した腫瘍の切除は不可能であった。また、脾臓への物理的な影響はなかった。

術後翌日は血液の混入した茶色の液状物の嘔吐が認められたが、その後はなく、術後3日目より食事を再開し食欲の改善がみられた。また、排尿には問題はみられず、排便は退院後に確認され異常はなかった。

4. 病理組織検査 (写真4)

病理組織検査は（有）パソラボへ検査を依頼した。十二指腸漿膜から筋層にかけてマクロファージや好中球を主体とした不規則な結節構造を形成し、辺縁にリンパ球や形質細胞が浸潤しており、化膿性肉芽腫性炎症と診断された。なお、結節内に縫合糸は確認されなかった。



(A)



(B)

写真1 腹部超音波検査所見

- (A) 消化管閉塞が疑われた十二指腸下行部の高エコー像 (矢頭：閉塞部)
 (B) 十二指腸近位の著しい拡張、液体貯留 (*：液体貯留)

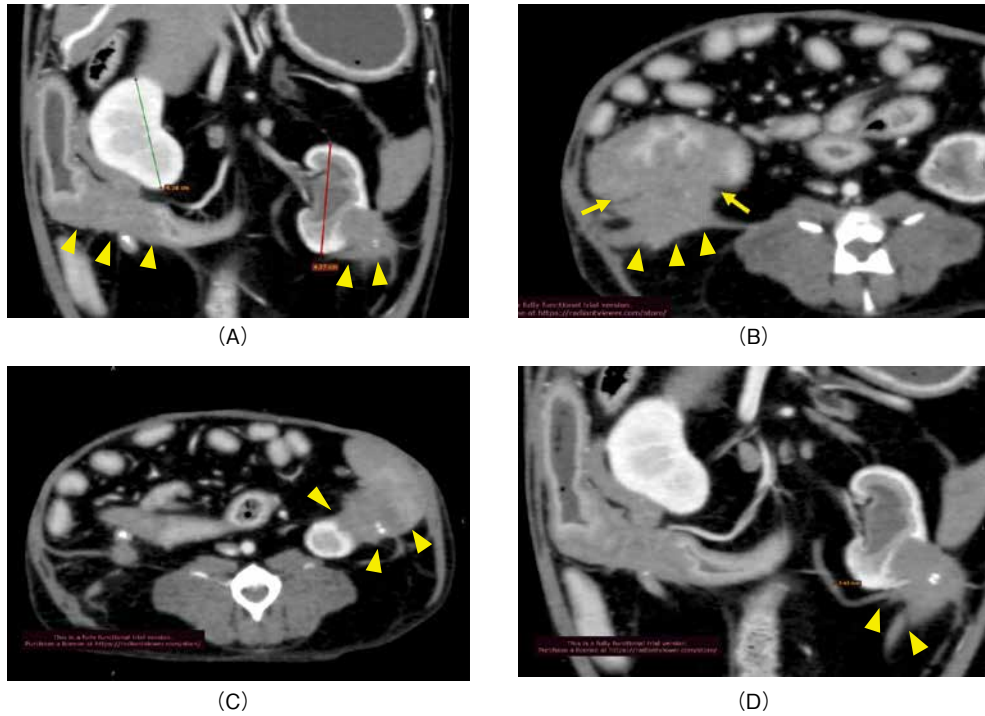


写真2 CT検査所見

- (A) 左右腎臓尾側に低増強性腫瘍，中心部に石灰化，子宮遺残物に連続（矢頭：低増強性腫瘍）
- (B) 右占拠性物質は後腹膜の浸潤部位から十二指腸にまで増大し消化管を閉塞（矢頭：後腹膜へ浸潤した腫瘍，矢印：十二指腸への連続部）
- (C) 左占拠性物質は脾臓，左腎に浸潤（矢頭）
- (D) 左占拠性物質は左尿管を巻き込み造影遅延を認めた（矢頭）



写真3 開腹手術時の十二指腸の閉塞部位

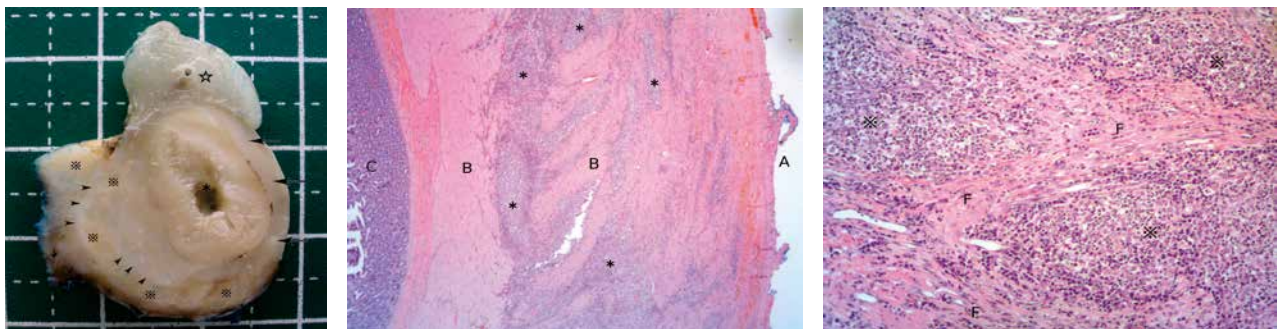


写真4 病理組織検査所見

- (左) 10%ホルマリン固定：漿膜から筋層の構造が不明瞭，線維組織の増生と境界不明瞭な黄白色の結節，結節の中に縫合糸は認められなかった
- (中) HE染色・×100：漿膜面(A)から筋層(B)にかけて線維組織の増生と結節構造(*)が形成され腸管が肥厚，粘膜(C)への波及はない
- (右) HE染色・×400：結節構造は多数の炎症細胞が集簇(*)し結節構造間には線維組織が増生(F)，結節中心部は好中球の浸潤からなり，辺縁部にはマクロファージが配列

考 察

本症例は避妊手術において絹糸が使用されたと考えられ、子宮から連続した腫瘤が形成されていたことから絹糸反応性肉芽腫と診断した。その後、化膿性肉芽腫性炎症による十二指腸閉塞にまで及んだが、その原因はCT画像において既存の腫瘤から連続した炎症が十二指腸に到達していたことと、病理組織検査では十二指腸閉塞の炎症部に縫合糸は存在しなかったことから、絹糸摘出後の炎症進行によるものと考えられた。

犬の避妊去勢手術を想定したラットを用いた縫合糸反応性肉芽腫の実験例⁴⁾では、炎症細胞浸潤は皮膚切開部に比べて避妊手術の卵巢動脈と子宮頸部の結紮部位および去勢手術の精索と精巣動脈の結紮部位で強く、どの縫合糸でも肉芽腫は形成され、縫合糸別に浸潤程度に有意な差はないが、炎症の程度はモノフィラメント吸収糸やステンレスワイヤーと比較して絹糸とマルチフィラメント吸収糸で顕著で、縫合糸が存在する限り組織反応は継続すると報告している。本症例と比較すると、重症度が高いと考えられる避妊手術と絹糸の条件は一致しているものの、縫合糸が取り除かれた後も組織反応は継続されていた点が異なった。

内科的治療については、免疫抑制剤を症状に合わせて薬用量を調整しつつ投薬を継続していたにもかかわらず、炎症の進行を抑えることができなかった。成書ではプレドニゾン2～4mg/kg(1回/日)を推奨されており¹⁾、本症例では比較的低用量で治療していたことが原因と示唆されるが、実際にこの用量を使用し続けることは副作用の面から困難と考えられる。また、シクロスポリンは最大容量まで使用していたため、緩和治療に対する奏功性はプレドニゾンの薬用

量に依存していたと考えられた。

症例個体については、元々皮膚縫合部位での縫合糸反応があったこともあり、異物に対して過敏な体質である可能性があった。そのため、今後どこに炎症が波及するかわからないので定期的な腹部超音波検査や血液検査が必要であると考ええる。また、十二指腸部の炎症は外科的切除により経過は良好だが、残存する腫瘤は左尿管を巻き込んでおり今後も腎疾患等の危険性があるため注意が必要と考えられる。

以上のことから、絹糸を使用した避妊去勢手術は肉芽腫形成の要因となり、重症化や他の組織へ影響が及んでしまうと生死に係わる疾病となり得ることを留意しておくべきである。そして、本例のような縫合糸摘出後や一般の外科手術後においても肉芽腫性炎症を特徴とする新たな疾患を発症する可能性があることも知っておく必要があると示唆された。

文 献

- 1) 赤熊美紀：犬の治療ガイド2020，辻本元ほか編，第1刷，803-804，エデュワードプレス，東京（2020）
- 2) 千々和宏作ほか：卵巢子宮摘出後に縫合糸反応性肉芽腫が疑われた犬22症例における長期予後と併発疾患の臨床的解析，獣医麻酔外科学雑誌，39（2），21-27（2008）
- 3) 土田靖彦ほか：犬の術後縫合糸肉芽腫に関する病理学的研究，日獣会誌，62（5），388-394（2009）
- 4) 土田靖彦ほか：ラットを用いた術後縫合糸肉芽腫に関する実験病理学的研究，日獣会誌，61（11），873-879（2008）

地域猫活動の普及啓発及び支援事業について

仙田 佳織 白澤 清子

(受付：令和3年12月15日)

Public awareness and Support project of Regional cat activity

KAORI SENDA and SUGAKO SHIRASAWA

Hiroshima City Animal Care Center 11-27, Fujimi-cho, Naka-ku, Hiroshima
730-0043

SUMMARY

Hiroshima City Animal Center has been helping the neighborhood associations working on regional cat activity by providing free operations of cats' infertility castration since 2014. However, many other neighborhood associations have not joined the activity yet, because it's not widely award. In 2017, we did a questionnaire survey of neighborhood associations which had not joined the activity to see whether they knew the activity. The results showed half of the associations didn't know the activity. So we promoted the information sessions for better public awareness. As a result, joining number of the associations has increased to 418(22% of neighborhood associations in Hiroshima city)

In 2021, we conducted a questionnaire survey of the associations to know how they feel about the activity. We get the results that 96.9% were well or fairly satisfied and 95.2% admitted the effects of the activity.

Assignments is how to get rid of lack of awareness and collaboration. To make the activity more lively and acceptable, people's understanding is essential. So we'll try to have more information assets and reassess the support target. Through these procedures we hope the activity could be moved ahead.

要 約

平成26年から地域猫活動に取り組む町内会等に対して、動物管理センター（以下センター）が無償で不妊去勢手術を実施する等の支援を行っているが、未参加町内会が多く、原因として周知不足が考えられた。そこで、平成29年に、未参加町内会にアンケート調査を行い、普

及啓発及び支援事業を行った。また、令和3年には、参加町内会を対象に本事業の評価についてのアンケート調査を行った。平成29年のアンケート調査から、地域猫活動について「知らなかった」という回答が約半数あり、認知不足が判明したため、説明会や広報等により、普及啓発を行った。その結果、令和3年8月末までの活動町内会数は累計418（市内全町内会に占める割合：約22%）に達し、手術数は累計4448頭となった。令和3年のアンケート調査結果から、「活動に参加してよかった・まあよい」とする回答が96.9%あり、「活動の効果があつた・少しある」とする回答が95.2%あつた。課題については、周知不足や協力者不足等が挙げられた。活動を促進するためには市民の理解を得ることが必要不可欠であり、引き続き説明会の開催や広報等普及啓発に努めていきたい。また、今後、より取り組みやすい制度となるよう支援対象の見直し等検討し、事業の推進を図っていきたい。

序 文

平成26年から地域猫活動に取り組む町内会等に対して、センターが無償で不妊去勢手術を実施する等の支援を行っている。平成29年に、未参加町内会にアンケート調査を行い、普及啓発及び支援事業を行った。また、令和3年には、参加町内会を対象に本事業の評価についてのアンケート調査を行ったので、経過を報告する。

方 法

1 アンケート調査 (H29)

平成29年、市内の地域猫活動未参加の町内会を対象に、野良猫の状況や地域猫活動の認知度等に関するアンケート調査を行った（送付数1624件、回答数1267件）。

2 普及啓発

平成30年から市内全8区にて地域猫活動についての説明会を行い、市の広報誌やテレビ等のメディアを活用し、活動の普及啓発を行った。

3 活動効果調査 (R3)

令和3年、既に活動している町内会を対象に活動の効果や課題等についてアンケート調査を行った（送付数177件、回答数130件）。

結 果

1 アンケート調査結果 (H29)

地域に野良猫がいると把握している町内会は68%で、そのうち6割が苦情などのトラブルがあると答え、多くは糞尿被害であった。

地域猫活動の認知度については、「知っている」が20%、「知らなかった」や「詳しくは知らなかった」が80%であった。「活動の取り組みに理解はできるものの、町内での取り組みは困難」との意見が過半数を

占め、その理由の多くが「地域住民の理解を得ること」や「捕獲や手術のための搬送などの協力者の確保」が困難、といった意見が挙げられた。

2 普及啓発効果 (図1)

地域猫活動の説明会後に行ったアンケートでは、「地域猫のことがよくわかった。参加してよかった。」、「良い活動なので取り組んでみたい」という意見が多数あり、さらに説明会に参加した町内会からの活動申請があつた。

また、広報紙やメディアによる広報をきっかけとして活動のことを知ったという方からの問い合わせや、実際に活動申請した町内会もあつた。

その結果、令和3年8月末までの活動町内会数は累計418（市内全町内会に占める割合：約22%）に達し、手術数は累計4448頭となった。

3 活動効果調査結果 (R3)

令和3年に行った既に地域猫活動を実施している町内会へのアンケート調査結果から、「活動に参加してよかった・まあよい」とする回答が96.9%あり、「活動の効果があつた・少しある」とする回答が95.2%あつた。また、課題については、町内への周知不足や協力者不足等が挙げられた。

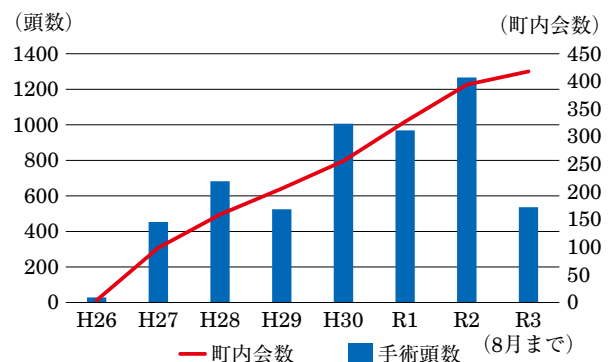


図1 参加町内会数及び手術頭数

考 察

町内会に行ったアンケート調査から、地域猫活動に関する認知不足が判明した。また、地域猫活動未参加の町内会でも68%の野良猫の生息が確認された。普及啓発の実施後、活動町内会の増加とともに手術実績も伸びたことから、効果的な啓発方法であったと思われる。

平成26年から支援事業を開始して7年が経過し^{1),2)}、何年も活動している町内会では、野良猫をほとんど見なくなったという声も多い。

一方、センターへの猫に関する苦情や相談依頼件数は依然として減少しておらず、地域猫活動だけでなく猫の適切な飼育の啓発が必要と考えられた。

また、アンケート調査結果から、活動の効果を評価

する意見が多かった一方、周知不足等の課題について指摘があったことから、対応を検討していきたい。

活動を促進するためには市民の理解を得ることが必要不可欠であり、引き続き説明会の開催や広報等普及啓発に努めていきたい。また、今後、より取り組みやすい制度となるよう支援対象の見直し等を検討し、事業の推進を図っていきたい。

文 献

- 1) 阿部勝彦ほか：地域猫活動の推進，広島県獣医学会雑誌，32，109-114（2017）
- 2) 白澤清子：地域猫活動の普及啓発及び支援事業について，全国動物管理関係事業所会議 動物愛護管理調査研究発表会資料（2017）

獣害捕獲された野生タヌキ (*Nyctereutes procyonoides*) の 年齢推定の試み

新田由美子¹⁾ 三木由美子¹⁾ 谷浦 督規²⁾ 谷浦 直美²⁾
(受付：令和3年12月8日)

Age estimation of raccoon dogs (*Nyctereutes procyonoides*)
by the morphometry of cranium

YUMIKO NITTA¹⁾, YUMIKO MIKI¹⁾, TOKUNORI TANIURA²⁾ and NAOMI TANIURA²⁾

- 1) Hiroshima Shudo University, Ozukahigashi 1-1-1, Asaminami-ward,
Hiroshima 731-3195
- 2) Taniura Animal Hospital, Kairouen 1-3-30, Saeki-ward, Hiroshima
731-5135

SUMMARY

Introduction: The Japan Veterinary Medical Association sets up the activity policy to create the society in which humans and animals coexist. Under this activity policy, wildlife is expected to play important roles especially in the field of biodiversity conservation. The wildlife in satoyama share their habitat with humans. They internalize this common environment through agricultural farm plants. Therefore, general conditions of these animals provide valuable information for us to monitor local environment. In order to confirm the age-dependent accumulation of environmentally hazardous substances in mammals, lifespan of the wild raccoon dogs (*Nyctereutes procyonoides*) was estimated with an original strategy, morphometric and computed tomography (CT) examinations on craniums.

Materials and Methods: Cranial specimens of the 16 wild raccoon dogs were used for this study (Nitta and Katoh, JEIS, 45-55, 2020). Morphometry of the cranium was performed with a digital measuring instrument and with the images of CT for investigations of each cavity of the skull as well as of bone thickness. Measures of 26 variables were standardized and provided for further multivariate analyses, principal component analyses, cluster analyses and other statistical analyses. The craniums were

1) 広島修道大学 (〒731-3195 広島市安佐南区大塚東 1-1-1)
2) 谷浦動物病院 (〒731-5135 広島市佐伯区海老園 1-3-30)

sorted by their morphometrically estimated lifespan. Correlation between the individual lifespan and the concentrations of cadmium and zinc in kidney were examined.

Results: Principal component analysis showed one case of a different cranial morphology. The variables concerning to sutures, tympanic cavities and teeth showed high contributions to the principal components. Cluster analyses could pick up the estimated ages of young and matured clearly. Accumulations of cadmium and zinc in kidney, which we had reported, of the aged cases were found high.

Conclusion: Lifespan estimation of wild raccoon dogs was challenged with an original strategy: morphometric and CT examinations on craniums. Among the 26 indices submitted for multivariable analyses in view point of the postnatal development of cranium were effective for the analyses, careful observations of the tympanic bulb in temporal bone, sutures, and mandibula contributed for estimating the lifespan of raccoon dogs.

— Key words: age estimation, cadmium, cranium, morphometry, raccoon dog

要 約

序論: 日本獣医師会は活動方針に、「ヒトと動物が共存して生きる社会」を目指すことを掲げる。生物多様性保全の分野で、野生動物の存在と社会的役割が重みを増す。里山を生息圏とする野生動物はヒトの生活圏との距離が近く、一部を共有する。両者は共通の圃場作物を介して共有環境を内在化する。従って、野生動物の健康状態は、ヒトの公衆衛生環境を監視・調査する際に貴重な情報を提供してくれる。本研究では、害獣捕獲された野生動物の年齢を推計し、それらが生物濃縮する環境汚染物質の測定結果を用いて、生物濃縮の時間依存性を検証する。

材料と方法: 野生タヌキ (*Nyctereutes procyonoides*) 16 症例を対象とした (Nitta and Katoh, JEIS, 45-55, 2020)。頭蓋の骨格標本を作製し、デジタル式計測器で形態測定し、CT 画像を観察した。全 26 変数の値を標準化し、多変量解析した。頭蓋の成熟度を示す変数により、16 症例の個体成熟度を序列化した。

成績: 1 検体に、他とは異なる頭蓋形態を認めた。縫合線、鼓室包および上顎に関する変数が、捕獲までの生存期間の長い症例の 2 例を、捕獲までの生存期間の短い症例の 3 症例を、それぞれ同定した。長期生存と推定できた 2 症例はカドミウム (Cd) を高濃度に腎に蓄積した。

考察: 野生動物の健康状態は生息環境を反映する。里山でヒトと共生する野生タヌキが腎に Cd を蓄積していた。この検体について、成熟度を骨格計測法で序列化する方法で Cd 蓄積の曝露期間依存性を示すことができた。害獣捕獲された野生の哺乳動物において、側頭骨の成長に伴う鼓室包の変化、縫合線の不明瞭化、上顎の変化を数値化することができた。頭蓋計測による序列は、環境汚染物質濃度による序列との相関関係を検証することで、一定の評価が可能であった。

— キーワード: カドミウム, 形態計測, タヌキ, 頭蓋, 年齢依存性

序 文

害獣捕獲された野生動物の年齢（捕獲時までの生存期間）を推定することは、環境汚染物質の分布を知り、それからの曝露を評価してヒトの公衆衛生へ貢献する研究の対象動物とする場合に、貴重な情報となる¹⁾。重金属のCdとZnを、広島広域都市圏の南部地域に生息するイノシシ (*Sus scrofa*) とタヌキ (*Nyctereutes procyonoides*) の腎に認め、高濃度集積する個体もあった²⁾。Cdの腎集積における年齢依存性³⁾を確認する目的で、剖検所見等の病理学的検索と骨格標本および骨格CT (Computed Tomography) 画像を用いた解剖学的検索で、タヌキの生存期間推定を行った。推定した生存期間と腎に集積するCd, Zn濃度との相関について検討した。

材料と方法

1. 頭蓋骨格標本：16例のタヌキの屍体を対象とした。これらは、2017～2019年の狩猟シーズンに圃場進入した害獣として捕獲され、研究に供された²⁾ (表1)。剖検後の屍体を-70℃で2週間以上保管した。その後室温で解凍し、頭部の表皮、筋肉、臓器

および組織を手作業で剥皮、除去し、頭蓋の骨格標本とした。

2. 生命倫理：野生動物の屍体の扱いは、「山口県野生鳥獣肉の衛生管理対策」 (<https://www.pref.yamaguchi.lg.jp/cms/a15300/syoku/yasei-chouju.html>) および「日本獣医師会・獣医師倫理綱領」 (<http://nichiju.lin.gr.jp/about/pdf/chikai.pdf>) を遵守した。

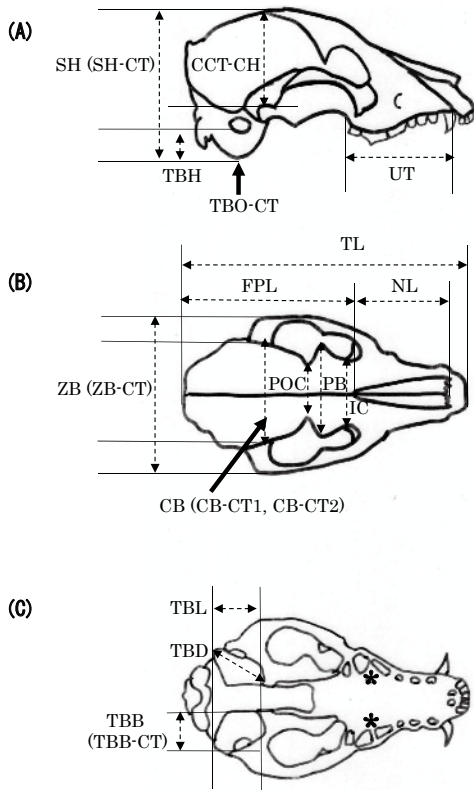
3. 形態計測：頭蓋骨格標本へ、扁平骨境界明瞭化の目的で、アルシアンブルー、アリザリンレッドおよびその二重染色を行った。頭蓋内腔および鼓室包内腔の観察に、内視鏡（直径3.7mm）(3R-VFIBER37, 3R-SOLUTION Co. Ltd., Fukuoka, Japan) を用いた。指標部位をデジタルノギスで計測し、縫合線および上顎骨と歯を観察して所見を数値化した (図1, 表2)。計測と観察は3回実施し、そのうちの1回分を解析に用いた。

4. CT検査：頭蓋骨格標本を腹側臥位とし、Optima CT660 (GE Health Care Co. Ltd., Japan) を用いて厚さ0.625mmで連続撮影した⁶⁾。撮影情報を解析ソフトウェア (OsiriX) (North Tech Co., Ltd., Sapporo, Japan) にてDICOMファイルへ変換し、CT画像を得た。頭蓋各部位を観察、計測し、TBO-CTのデータをその後の解析に供した (図1, 表2)。

表1 野生タヌキ16例の剖検時の特徴

	剖検時肉眼所見	鼓室包内眼所見	性 ^{a)}	体重 (kg) ^{a)}	腎Cd (mg/kg) ^{a)}	腎Zn (mg/kg) ^{a)}	捕獲年
1	左前腕損傷 (手掌, 橈骨・尺骨の遠位1/3喪失)	N.S.	♂	5.2	8.19	20.3	
2	N.S. ^{a)}	右側萎縮	♂	4.6	1.30	22.1	
3	寄生虫感染 (<i>Thelazia callipaeda</i>) ^{b)} , 右側眼 瞼肥厚, 子宮内着床痕	N.S.	♀	4.2	20.6	31.7	2017
4	N.S.	N.S.	♂	5.6	0.43	12.6	
5	N.S.	N.S.	♀	4.2	6.56	27.4	
6	体幹表皮の広範囲脱毛 (<i>Sarcoptes scabier</i>) ^{b)}	N.S.	♂	2.6	3.30	27.0	
7	体幹表皮の広範囲脱毛 (<i>Sarcoptes scabier</i>) ^{b)}	N.S.	♂	3.2	1.21	24.3	
8	N.S.	左側滲出液貯留	♂	4.0	2.71	18.9	2018
9	N.S.	N.S.	♀	2.9	1.36	26.8	
10	体幹表皮の広範囲脱毛 (<i>Sarcoptes scabier</i>) ^{b)}	両側滲出液貯留, 鼓膜肥厚	♂	1.9	0.04	15.9	
11	子宮内着床痕	左側滲出液貯留	♀	5.5	10.35	23.8	
12	体幹表皮の広範囲脱毛 (<i>Sarcoptes scabier</i>) ^{b)}	N.S.	♂	3.2	2.90	25.3	
13	N.S.	N.S.	♂	3.8	0.93	18.3	
14	N.S.	N.S.	♀	3.5	1.06	20.0	2019
15	N.S.	N.S.	♀	2.9	6.41	21.9	
16	N.S.	N.S.	♀	3.5	0.26	20.7	

a): 著変なし; b): 寄生虫を、光学顕微鏡下で形態学的に同定した^{4,5)}; c): 論文から転載した²⁾。
cd: カドミウム; Zn: 亜鉛。



A: 側面図。SH: Skull height; UT: Length of the upper toothrow; TBH: Tympanic bulla height; TBO-CT: Tympanic bulla ossification by computed tomography (CT).
 B: 背面図。TL: Total length; NL: Nasal length; FPL: Frontal plus parietal length; IC: Interorbital constriction; PB: Postorbital breadth; POC: Postorbital constriction; CB: Coronal breadth; ZB: Zygomatic breadth.
 C: 腹側面図。TBL: Tympanic bulla length; TBD: Tympanic bulla diagonal; TBB: Tympanic bulla breadth; *: observation point of maxilla pits.
 D: 縫合線の側面図(頬骨弓を外す)と背面図。FNS: Frontal nasal suture; CS: Coronal suture; BFS: Butterfly frontal suture; SqS: Squamosal suture; LS: Lambda suture; AFS: Anterior frontal suture; SS: Sagittal suture.

図1 頭蓋の測定指標と縫合線

表2 測定指標と測定値

計測・観察部位			計測値		
番号	略語	解説	材料	骨	全16例(平均±標準偏差)
1	Sex	-	屍体	-	7 for female, 9 for male
2	BW	Body weight (kg)	屍体	-	3.8 ± 1.1
1	CB	Coronal breadth (mm)	頭蓋骨格	前頭	33.57 ± 2.80
2	TL	Total length (mm)	頭蓋骨格	上顎, 前頭, 側頭, 後頭	110.17 ± 5.74
3	NL	Nasal length (mm)	頭蓋骨格	鼻	40.11 ± 3.15
4	FPL	Frontal plus parietal length (mm)	頭蓋骨格	前頭, 側頭	64.98 ± 3.76
5	UT	Upper toothrow length (mm)	頭蓋骨格	上顎, 前頭, 側頭, 後頭	43.45 ± 2.39
6	SH	Skull height (mm)	頭蓋骨格	後頭	42.33 ± 1.15
7	IC	Interorbital constriction (mm)	頭蓋骨格	前頭	22.13 ± 1.14
8	PB	Postorbital breadth (mm)	頭蓋骨格	前頭	35.42 ± 2.54
9	POC	Postorbital constriction (mm)	頭蓋骨格	前頭	21.86 ± 1.73
10	ZB	Zygomatic breadth (mm)	頭蓋骨格	頭頂	61.42 ± 2.58
11	TBL	Tympanic bulla length (mm)	頭蓋骨格	頭頂	
12	TBD	Tympanic bulla diagonal (mm)	頭蓋骨格	頭頂	
13	TBB	Tympanic bulla breadth (mm)	頭蓋骨格	頭頂	
14	TBH	Tympanic bulla height (mm)	頭蓋骨格	頭頂	
15	TBO-CT	Tympanic bulla ossification (CT)	CT 画像	頭頂	
16	BFS	Butterfly frontal suture	頭蓋骨格	前頭	
17	SqS	Squamosal suture	頭蓋骨格	側頭	
18	SS	Sagittal suture	頭蓋骨格	頭頂	
19	AFS	Anterior frontal suture	頭蓋骨格	前頭	
20	LS	Lambda suture	頭蓋骨格	頭頂, 後頭	
21	CS	Coronal suture	頭蓋骨格	前頭, 頭頂	
22	FNS	Frontal nasal suture	頭蓋骨格	前頭, 上顎	
23	MTN	Maxillar teeth number	頭蓋骨格	上顎	
24	MTM	Maxillar tooth mamelon	頭蓋骨格	上顎	
25	MTPu	Maxillar tooth pulp	頭蓋骨格	上顎	
26	MPi	Maxillar pit	頭蓋骨格	上顎	

表3に示す

5. 統計解析：統計解析に供した指標の総数は30で、頭蓋の26、性、体重、Cd濃度および亜鉛(Zn)濃度であった。MTN, MTM, MTPn, MPi, 縫合線およびTBO-CT指標へ、ダミー・スコアを付した。計測値とダミー・スコアを、式： $u = (Xi - \mu) / \sigma$ により標準化した⁷⁾。ここで、 u は標準化値、 Xi は測定値、 μ は平均値、 σ は標準偏差を、それぞれ表す。全指標について、相互間の統計学的有意差検定し(Student's *t*-test)、相関係数を求め、多変量解析を行った。EXCEL多変量解析 version 3 (ESUMI, Tokyo, Japan)とKaleidaGraph version 3.6 (HULYNKS, Tokyo, Japan)のソフトウェアを用いた。

成績

1. 頭蓋骨格の特徴：26指標を観察し、計測した(表2)。連続変数に関して性差はなかった。TBLがTLと相関した($p < 0.05$)。名義変数のうちのMTNが性、

と相関した($p < 0.05$)。

症例10は全症例中において、TLが最小、SHとPOCが最大であった(図2)。POC/TL, POC/ZB, CB/ZBの比が症例10以外の15症例の平均値に対し、それぞれ1.6, 1.4, 1.2倍であった。

鼓室包の所見と形態は多様であった⁸⁾。症例8, 10, 11に内視鏡観察にて中耳の滲出性炎症像を認め、鼓膜は肥厚し不透明で、耳小骨が滲出液で覆われた(表1)。症例2で、左外側は粗面を呈して萎縮し、左右鼓室包のTBH不均衡(左:6.4mm, 右:10.1mm)を認めた。TOB-CTは4症例(25%)で両側鼓室包の骨化を認めなかった(表3, 図3)。

頭蓋指標の連続変数について、16例の平均値を表2に、名義変数の値を症例ごとに表3に示す。MTM(切縁結節)を11/16(68.8%)に認め、MTPu(歯髄可視)の症例は7/16(43.7%)であった(表4)。症例3, 11では歯の磨耗が著しかった。

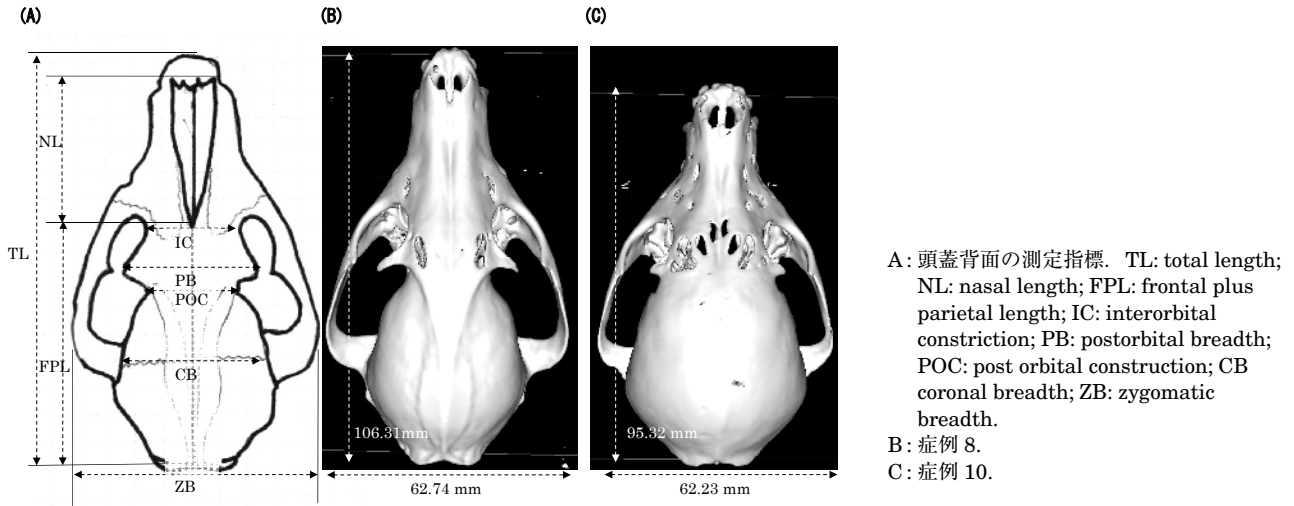
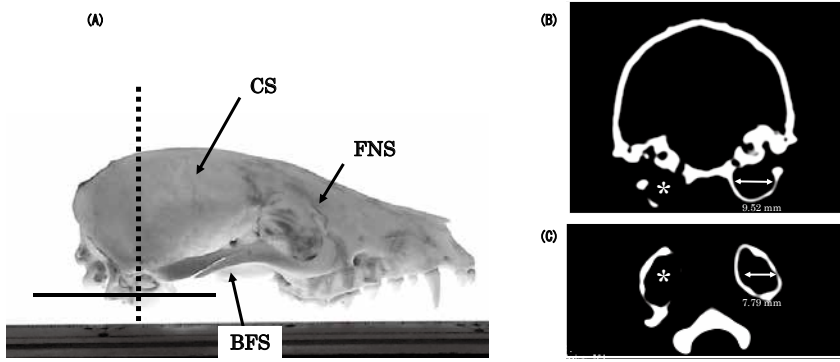


図2 頭蓋のCT画像

表3 出生後の成長に関連した頭蓋測定指標とその値

症例	上顎				縫合線							鼓室包				
	屍体		頭蓋骨格		頭蓋骨格							頭蓋骨格(mm)				CT画像
	MTN	MTM	MTPu	MPi	BFS	SqS	SS/AFS	LS	CS	FNS	TBL	TBD	TBW	TBH	TBO-CT	
1	0	1	1	1	1	1	1	0	1	1	1	17.8	10.0	7.7	9.1	-1
2	0	0	1	1	0	1	1	1	1	1	1	17.1	8.2	5.5	7.9	0
3	1	0	1	0	0	0	0	0	1	0	0	15.5	10.0	4.7	9.7	1
4	0	1	0	0	0	1	0	0	0	0	0	18.8	10.7	5.0	10.0	1
5	0	1	0	0	0	1	0	0	1	1	1	18.7	13.2	5.9	11.5	-1
6	0	1	1	0	1	1	0	0	1	1	1	16.8	9.8	6.3	8.7	-1
7	0	1	0	1	1	1	0	1	1	1	1	17.2	9.7	6.2	8.0	-1
8	0	1	0	0	1	0	1	0	0	0	0	17.6	10.3	6.2	10.0	0
9	0	1	0	0	1	0	1	0	1	1	1	17.8	9.3	7.2	9.1	1
10	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	16.2	10.9	6.1	9.0	1
11	1	1	1	1	0	1	0	1	1	1	1	17.6	7.4	5.4	8.8	1
12	0	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	16.7	10.8	6.4	11.2	1
13	0	0	1	1	0	0	0	1	1	1	1	16.4	10.0	6.2	9.2	0
14	1	1	0	0	1	0	1	1	1	1	1	17.3	12.8	5.0	11.0	1
15	0	1	1	1	0	0	1	1	1	0	0	17.5	11.8	6.0	9.9	1
16	0	1	1	0	1	1	1	1	1	1	1	15.9	10.6	6.4	10.4	1

上顎の特徴、縫合線、TBO-CTへ、ダミースコアを適用した。上顎指標では、MTN: 0を正常上顎歯数、1を正常未滿; MTM: 0を切歯・犬歯にマメロンあり、1をなし; MTPu: 0を歯髄無着色、1を着色; MPi: 0を上顎骨吸収穴(第4前臼歯と第1臼歯の間)なし、1をあり。縫合線指標では、0を不明瞭、1を明瞭。鼓室包指標では、鼓室包が完全に化骨するものを骨化と定義した。TBO-CTにおいて、-1を非骨化、0を片側性骨化、1を両側性骨化。



A: 頭蓋骨格標本代表例 (症例 12, アルシアンブルー染色) の側面画像. CS: coronal suture; FNS: frontal nasal suture; BFS: butterfly frontal suture
 B: 鼓室包片則骨化例 (症例 2) の環状面 CT 画像 (A の破線部断面) を示す. 鼓室包の厚さは均一でなく, 左側鼓室包の大部分に骨化を認めない(*).
 C: 鼓室包片則骨化例 (症例 2) の水平面 CT 画像 (症例 2). 鼓室包断面 (A の実践部断面) を示す. 左側鼓室包の大部分に骨化を認めない(*).

図3 頭蓋の骨格標本とCT画像

表4 上顎歯の所見

症例	性	上顎歯数								総歯冠数
		右列				左列				
		I	C	P	M	I	C	P	M	
1	♂	3 ^{a)}	1	4	2	3	1	4	2	17
2	♂	3	1 ^{c)}	4 ^{d)}	2 ^{c),e)}	3 ^{c)}	1 ^{d)}	4 ^{d)}	2 ^{c)}	17
3	♀	2 ^{b),e)}	1 ^{c)}	4 ^{d),e)}	2 ^{c)}	3 ^{c)}	1 ^{d)}	4 ^{d)}	2 ^{c)}	16
4	♂	3 ^{a)}	1	4	2	3	1	4	2	17
5	♀	3	1	4	2	3	1	4	2	17
6	♂	3	1	4	2	3	1	4	2	17
7	♂	3 ^{a)}	1	4	2	3	1	4	2	17
8	♂	3 ^{a)}	1	4	2	3	1	4	2	17
9	♀	3 ^{a)}	1	4	2	3	1	4	2	17
10	♂	3 ^{a)}	1	4	2	3	1	4	2	17
11	♀	2 ^{b),c)}	1 ^{c)}	4	2	3 ^{c)}	1 ^{d)}	4	2	16
12	♂	3 ^{a)}	1	4	2	3	1	4	2	17
13	♂	3 ^{a)}	1	4	2	3	1 ^{d)}	4	2	17
14	♀	3	1	4	2	3	1 ^{d)}	4	2	17
15	♀	3	1	4	2	3	1	3 ^{b)}	2	16
16	♀	3 ^{a)}	1	4	2	3	1	4	2	17

I: 切歯; C: 犬歯; P: 前臼歯; M: 臼歯; a): MTM(切縁結節); b): MTN(歯冠部喪失); c): 歯冠部摩耗; d): MTPu(歯髄可視); e): MPI(上顎骨吸収穴).

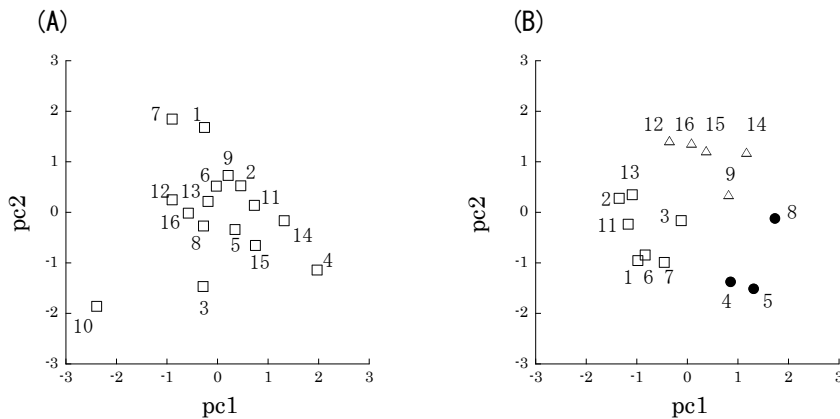


図4 タヌキ症例の26頭蓋指標による主成分分析

以上より, 症例 3, 11 は生存期間が長く, 症例 1, 5, 6, 7 は比較的短く, それ以外は両者の中間にあるとの指標値を示した.

2. 多変量解析: 頭蓋指標 26 を用いて主成分分析を行った (図 4-A). 主成分 1 へは ZB, FPL, TL が, 主成分 2 へは FNS, TBW, NL が, それぞれ上位 3

指標として貢献した, 二次元座標上で, 症例 10 が他の 15 例の分布と乖離した. 従って, これ以後は 15 例を分析対象とした.

上顎 4 指標, 縫合線 7 指標, 鼓室包 5 指標を用いて, 主成分分析とクラスター分析を行った. 症例 2, 3, 11 が, それぞれ 3/5, 5/5, 4/5 の頻度で生存期間

の長いグループに分類された。症例 4, 5 が、それぞれ 4/5, 5/5 の頻度で生存期間の短いグループに分類された。症例 9 が症例 2, 3, 11 を含むグループに属する頻度は 0/5 であった。

MTN はメスと有意に相関したので、これ以後は上顎 3 指標、縫合線 7 指標、鼓室包 5 指標を用いて、主成分分析とクラスター分析を行った (図 4-B)。症例 2, 3, 11 は引き続き生存期間の長いグループへ、症例 4, 5 は引き続き生存期間の短いグループへ、明確に分類された。

3. 腎 Cd 濃度と頭蓋指標値との関係：タヌキの腎濃度は、3>11>1>5>15>6>12>8>9>2>7>14>13>4>16>10 の降順を示した (表 1)。腎 Cd 濃度の高かった症例 3 と 11 はメスで、剖検時に子宮着床痕と上顎歯磨耗の所見を認め、CT 画像で鼓室包の両側骨化を認めた。さらに、症例 3 の CT 画像で大泉門部の骨菲薄化が著しかった。

考 察

剖検所見と頭蓋計測データとに基づき、16 例の野生タヌキの生存期間を推定した。その推定を検証するため、腎の Cd, Zn の濃度と比較した。高い腎 Cd 濃度を示した 2 症例は、頭蓋骨格標本解析においても長い生存期間の特徴を示すことを確認した。症例 10 は頭蓋骨格標本解析で他の症例と異なる値と形態を示し、生前の水頭症を推察した。頭蓋指標のうち、MTN は Sex と統計学的有意差をもって相関した。これらのことから、タヌキ頭蓋計測指標のうち、個体成長とともに変動する指標は生存期間推定へ寄与した。その寄与率を考察する際は、症例 10 を除く 15 症例での多変量解析が合理的である。

野生動物の生存期間の推定は、長骨の骨端線閉鎖⁹⁾、頭蓋の縫合線閉鎖¹⁰⁾、歯のセメント質の年輪線確認¹¹⁾、下顎の第 3 臼歯萌出をもって成熟個体とする¹²⁾、などの報告がある。

ヒトを対象とする科学捜査においては、歯のセメント質の年輪線確認が最も信頼度の高い年齢推計方法とされる¹³⁾。同様の方法は、キツネ¹⁴⁾、ニホンジカ¹⁵⁾、タヌキ¹¹⁾の年齢推計に適用されてきた。縫合線と年齢との相関は報告が少ない。タヌキとキツネにおいて、縫合線が成熟個体かどうかの判断に用いられた論文では、縫合線の特定や頭蓋あたりの閉鎖縫合線の本数記述はなかった¹⁵⁾。

頭蓋の鼓室包に関する指標は、生存期間 (年齢) 推定に有用であった。TBL は TL の一部として、オオカミ^{16,17)}、朝鮮半島南に生息するタヌキ¹²⁾、ホンダタヌキ^{9,11)}、およびフィンランドに生息するタヌキ^{11,18)}に対する頭蓋計測において扱われるものの、TBL としての報告は見当たらない。鼓室包の指標は、肉食動物の形態計測で用いられてこなかったが、その

有用性を本研究は明らかにし、TBL は TL と相関した。他方、個体レベルの中耳の炎症が鼓室包完全骨化と関連するか、明らかでない。

謝 辞

著者らは、放送大学教授加藤和弘先生に多変量解析の指導をいただきました。山口県登録ハンター佐々邊邦男さんに野生動物検体の確保でご協力をいただきました。著者一同、感謝申し上げます。

文 献

- 1) 野田隆史：群集モジュール法による汚染の間接的影響の理解：生態学的視点。日本生態学会誌, 66, 95-108 (2016)
- 2) Nitta, Y., Katoh, K.: Wildlife as a biomonitoring model of terrestrial cadmium (Cd): Kidneys of female wildlife reflecting the environmental Cd. J Environ Info Sci., 2020 (1), 45-55 (2020)
- 3) Kurata, Y., et al: Chronic cadmium treatment induces tubular nephropathy and osteomalacic osteopenia in ovariectomized cynomolgus monkeys. Vet Pathol., 51, 919-931 (2014)
- 4) Gama, A., et al: First report of *Thelazia calli-paeda* infection in wild European rabbits (*Oryctolagus cuniculus*) in Portugal. Parasites and Vectors, 9, 236 DOI: 10.1186/s13071-016-1526-1 (2016)
- 5) Saito, M.U., Sonoda, Y.: Symptomatic raccoon dogs and sarcoptic mange along an urban gradient. Ecohealth., 14(2), 318-328 (2017)
- 6) 谷浦督規 ほか：CT 検査が診断治療に有用であった腹部に発生した巨大脂肪腫の 3 症例。広島県獣医学会雑誌, 31, 76-80 (2016)
- 7) 下田和孝 ほか：北海道産カラフトマスの形態変異。日本水産学会雑誌, 76 (1), 20-25 (2010)
- 8) Wible, J.R., Spaulding, M.: A reexamination of the carnivora malleus (mammalia, placentalia), pros one, 7(11), e50485(2012), (online), (<https://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0050485>). (accessed 2022-04-17)
- 9) Hidaka, S., et al: Morphology and morphometry of skulls of raccoon dogs, *Nyctereutes procyonoides* and badgers, *Meles meles*. J Vet Med Res., 60 (2), 161-167 (1998)
- 10) Jurgelėnas, E., et al: On the skull morphology of raccoon dog (*Nyctereutes procyonoides*) and red fox (*Vulpes vulpes*). Acta Zoologica Lituani-ca, 17 (1), 41-46 (2007)
- 11) Kauhala, K., et al: Skull and tooth morphology

- of Finnish and Japanese raccoon dogs. *Annales Zoologici Fennici*, 35 (1), 1-16 (1998)
- 12) Kim, S.-I., et al: Sexual dimorphism of craniodental morphology in the raccoon dog *Nyctereutes procyonoides* from South Korea. *J Vet Med Sci.*, 74, 1609-1616 (2012)
- 13) Swetha, G., et al: Quantitative analysis of dental age estimation by incremental line of cementum. *J Oral Maxillofac Pathol.*, 22, 138-142 (2018)
- 14) Harris, S.: Age determination in the Red fox (*Vulpes vulpes*)—an evaluation of technique efficiency as applied to a sample of suburban foxes. *J Zool London*, 184, 91-117 (1978)
- 15) Iinuma, Y.: Daily Incremental Lines in Sika Deer (*Cervus nippon*) Dentine. *J Vet Med Sci.*, 64 (9), 791-795 (2002)
- 16) Endo, O., et al: Osteometrical and CT examination of the Japanese wolf skull. *J Vet Med Sci.*, 59, 531-538 (1997)
- 17) Khosravi, R., et al: Morphometric variations of the skull in the Gray Wolf (*Canis lupus*) in Iran. *Acta Theriologica*, 57, 361-369 (2012)
- 18) Helle, E., Kauhara, K.: Age structure, mortality, and sex ratio of the raccoon dog in Finland. *J Mamm.*, 74, 936-942 (1993)

広島市と畜場における牛伝染性リンパ腫ウイルス遺伝子の 検出状況について

岡田 有香 国広 彩耶 重松 紗希 太田垣 寧
国井 悦子 花木 直喜 坂本 綾

(受付：令和4年1月20日)

Detection of bovine leukemia virus genes in Hiroshima City slaughterhouse

YUKA OKADA, SAYA KUNIHIRO, SAKI SHIGEMATSU, YASUSHI OOTAGAKI,
ETSUKO KUNII, NAOKI HANAKI and AYA SAKAMOTO

Hiroshima City Meat Inspection Office, 1-11-1 Kusatsuko, Nishi-ku,
Hiroshima, 733-0832

SUMMARY

For detecting the bovine leukemia virus (BLV) gene, we used to amplify the target gene and qualitatively measure the virus gene but presently measure it quantitatively using real-time PCR. In this study, we quantitatively examined the BLV gene in cattle brought into the Hiroshima City slaughterhouse by real-time PCR and investigated the status of its detection. The BLV gene was detected from all 6 animals that developed the disease, and it was detected as markedly high levels, particularly, in the tumor tissues. Concerning asymptomatic cattle, the BLV gene was detected in 13 (37.1%) of the 35 animals aged 30 months or less and 17 (56.7%) of the 30 animals aged more than 30 months. The BLV gene was also detected in some of the asymptomatic cattle in which no abnormality was noted by in-life or postmortem tests, although at lower levels than in symptomatic animals. Among the asymptomatic cattle, the BLV gene was more often detected in those aged over 30 months than in those aged 30 months or less, and all 6 symptomatic animals were aged more than 30 months, suggesting that the BLV gene-positive rate rises with age. For the future, we will also measure the BLV gene level in the blood of asymptomatic cattle and compare the data with those in the animals that have developed the disease. In addition, we will accumulate data of real-time PCR by increasing the number of samples and evaluate the diagnostic criteria for bovine leukosis by investigating the differences in the BLV gene levels according to the age, breed,

organs, and tissues.

— Key words: Bovine leukosis, BLV, real-time PCR

要 約

牛伝染性リンパ腫ウイルス (BLV) 遺伝子の検出については、これまで当所では目的の遺伝子を増幅し定性的なウイルス遺伝子の測定を行っていたが、現在はリアルタイム PCR 法による定量的な測定を実施している。今回、広島市と畜場に搬入された牛の BLV 遺伝子をリアルタイム PCR 法によって定量的に測定し、その検出状況を調査した。発症牛では測定を行った全 6 頭から BLV 遺伝子が検出され、特に腫瘍組織からは顕著に高い値が得られた。無症牛では、30ヶ月齢以下の牛 35 頭中 13 頭 (37.1%)、30ヶ月齢超えの牛 30 頭中 17 頭 (56.7%) から BLV 遺伝子が検出された。生体検査及び解体後検査で所見がみられなかった無症牛でも、発症牛よりも低い値ではあるが BLV 遺伝子が検出される個体が見られた。無症牛の中では、30ヶ月齢超えの牛は 30ヶ月齢以下の牛と比較して BLV 遺伝子を保有している比率が高く、また発症牛 6 頭についても全頭が 30ヶ月齢を超えていることから、高齢になるにつれ BLV の保有率が上昇することが示唆された。今後は、無症牛についても血液中の BLV 遺伝子量の測定を行い、発症牛のデータと比較したいと考えている。また、検体数を増やしてリアルタイム PCR 法によるデータを蓄積し、月齢、品種や、臓器、組織等の BLV 遺伝子量の傾向を調査することで、牛伝染性リンパ腫の判定基準等を検討していきたい。

— キーワード：牛伝染性リンパ腫, BLV, リアルタイム PCR

序 文

牛伝染性リンパ腫は体表リンパ節や体腔内リンパ節の腫大等を起こす疾病で、地方病性と散発性に分けられ、地方病性牛伝染性リンパ腫 (EBL) については、牛伝染性リンパ腫ウイルス (BLV) により引き起こされる。

BLV は牛のリンパ球に感染し、抗体が産生された後も排除されないまま持続感染する¹⁾。これらの牛の多くは健康な無症状キャリアーとなり、EBL を発症することなく生涯を終える。一方、発症牛は消瘦、元氣消失、眼球突出、下痢、便秘等の症状を呈する。全身のリンパ節を中心に諸臓器 (特に心臓、胃、子宮等) に広く腫瘍を形成し、予後不良となる。

近年、牛伝染性リンパ腫は全国で発生頭数が増加傾向にあり²⁾、当所でも例年 10 頭以上の発生がみられている。当所では、生体検査所見、血液検査所見、病理組織検査所見、PCR 検査³⁾ による BLV 遺伝子の検出等により、総合的に牛伝染性リンパ腫の診断を行っている。BLV 遺伝子の検出は、これまでコンベンショナル PCR 法による定性的な測定を行っていた

が、現在はリアルタイム PCR 法により定量的に測定を行っている。

そこで、広島市と畜場に搬入された牛の BLV 遺伝子の検出状況をリアルタイム PCR 法により調査したので概要を報告する。

材料と方法

2021 年 1 月から 8 月にかけて、本市と畜場に搬入された牛のうち解体後検査において複数箇所リンパ腫または腫瘍組織が認められた牛 (発症牛) 6 頭 (ホルスタイン 4 頭、黒毛和種 2 頭) (表 1) と牛伝染性リンパ腫の症状、肉眼所見のみられない牛 (無症牛) 65 頭 (ホルスタイン 18 頭、黒毛和種 33 頭、交雑種 14 頭) (表 2) を調査対象とした。発症牛は血液、脾臓、腫瘍化したリンパ節及び臓器 (腫瘍組織部分) を検体とし、無症牛は頭部リンパ節を検体とした。採材した検体は NucleoSpin Blood Quick Pure (タカラバイオ株式会社) により、添付マニュアルに従い DNA を抽出した。その後、ウシ白血病ウイルス検出キット (タカラバイオ株式会社) を使用し、リアルタイム

PCR 装置 (CFX96 Deep well Real-Time System, Bio-Rad) を用いて BLV の遺伝子量を測定した。

表1 発症牛の個体情報

症例番号	品種	性別	月齢
1	ホルスタイン	雌	100
2	黒毛和種	雌	79
3	ホルスタイン	雌	68
4	ホルスタイン	雌	75
5	ホルスタイン	雌	78
6	黒毛和種	雌	123

表2 無症牛の個体情報

品種	性別		月齢	
	雌	去勢雄	30ヶ月以下	30ヶ月超え
黒毛和種	23	10	16	17
ホルスタイン	14	4	5	13
交雑種	13	1	14	0

成 績

発症牛では、測定を行った全ての検体から 10,000 コピーを超える BLV 遺伝子が検出された。特に腫瘍組織において顕著に高い値が得られた (表 3)。血液及び脾臓から検出された BLV 遺伝子量は、症例 6 のみ腫瘍組織と同じレベルの遺伝子量であったが、個体間のばらつきが大きく、腫瘍組織と比較して少なかった (図 1)。発症牛は 6 頭とも雌であり、月齢は 68、

表3 発症牛のBLV遺伝子コピー数

症例番号	血液	脾臓	腫瘍組織①	腫瘍組織②	腫瘍組織③
1	1,750	1,730	11,100 (内腸骨リンパ節)	10,200 (心臓)	
2	707	3,560	63,400 (内腸骨リンパ節)	108,000 (腹壁腫瘍)	
3	17.3	1,010	13,700 (内腸骨リンパ節)	988,000 (大動脈リンパ節)	
4	12,600	65.3	25,100 (乳房リンパ節)	53,600 (縦隔リンパ節)	
5	131	5,670	48,000 (大動脈リンパ節)	22,100 (第4胃)	191,000 (心臓)
6	82,300	14,000	18,900 (子宮)	30,700 (心臓)	

75、78、79、100、123ヶ月齢で、60ヶ月齢以上であった。各牛の品種や出生地、飼養農場に目立った傾向はみられなかった。

無症牛の頭部リンパ節においては、30ヶ月齢以下の牛 35 頭中 13 頭 (37.1%)、30ヶ月齢超えの牛 30 頭中 17 頭 (56.7%) から BLV 遺伝子が検出された (図 2)。30ヶ月を超えている牛の方が BLV 遺伝子を保有している割合が高かった。

発症牛と無症牛の BLV 遺伝子量を比較すると、発症牛の腫瘍組織からは無症牛の頭部リンパ節よりも顕著に多い BLV 遺伝子量が検出されていた (図 3)。一方、発症牛の血液及び脾臓からは、無症牛の頭部リンパ節と同程度の BLV 遺伝子量しか検出されない個体もあり、ばらつきがみられた。

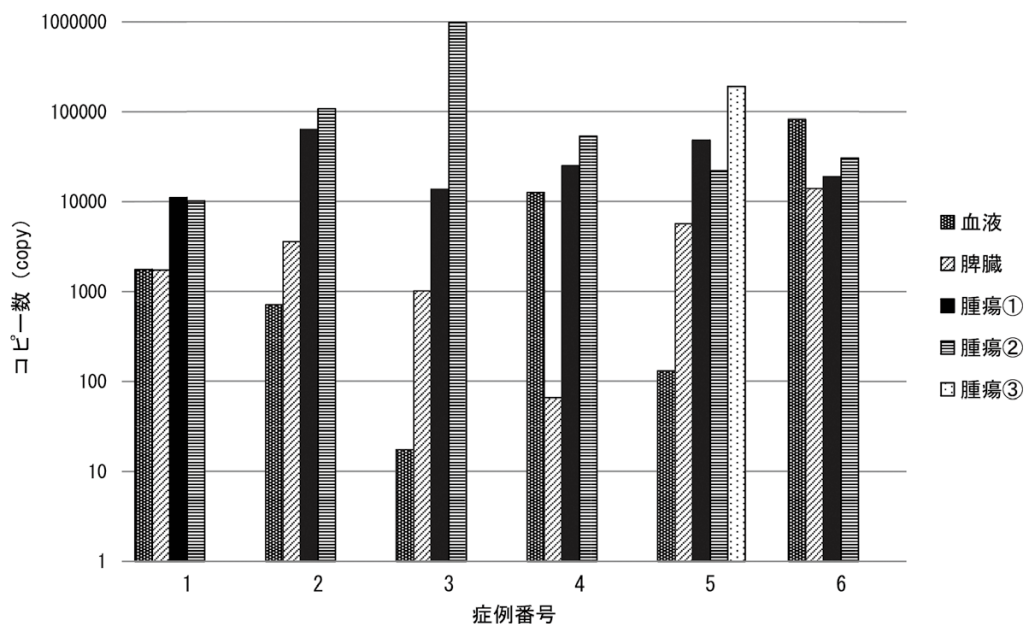


図1 発症牛の個体別BLV遺伝子コピー数

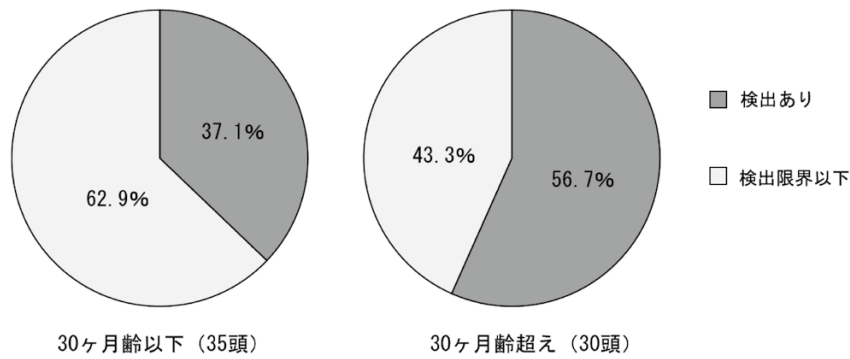


図2 無症牛のBLV遺伝子検出の有無

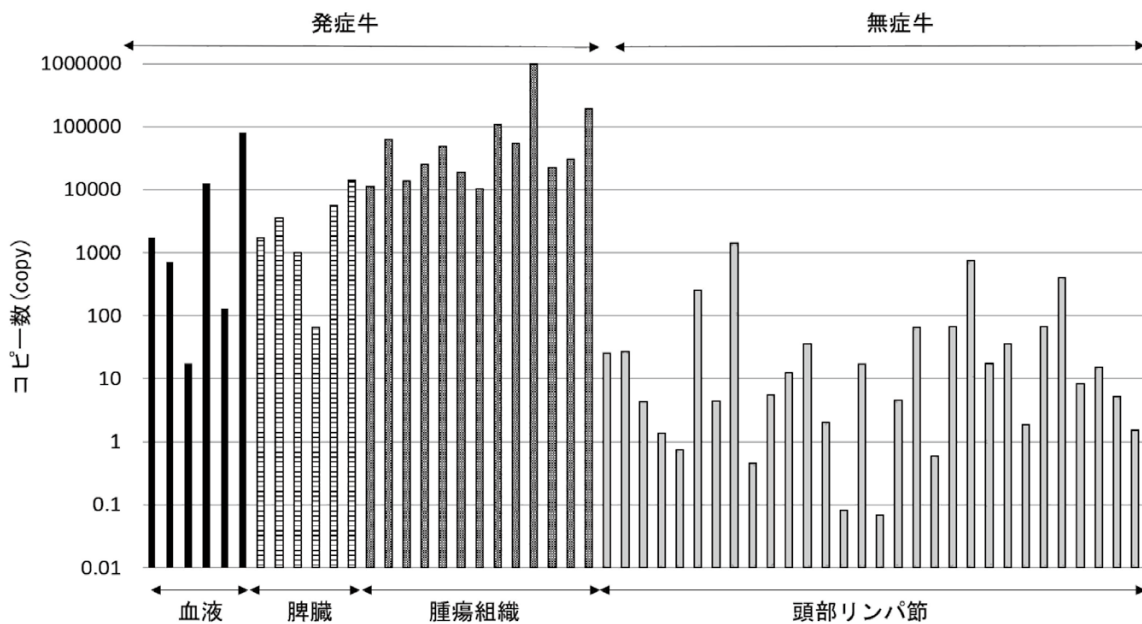


図3 発症牛と無症牛のBLV遺伝子コピー数の比較

まとめ及び考察

発症牛では、全ての検体から高い値のBLV遺伝子が検出されたことから、EBLの発症には一定量以上のBLVの存在が必要であることが示唆された。また、血液及び脾臓と比べ、腫瘍組織で値が高かったことから、BLVが感染後にBリンパ球が腫瘍化しリンパ節等の好発臓器に病変を形成して、発症に至ると考えられた。

更に、牛伝染性リンパ腫は4歳から8歳での発症が多いとされている^{4) 5) 6)}。今回の調査でも発症牛の月齢は68～123ヶ月齢であり、既報と類似した結果が得られた。

今回、生体所見及び解体後検査で牛伝染性リンパ腫の症状、肉眼所見のない無症牛でも、発症牛よりも少ない値ではあるがBLV遺伝子が確認された。これらの牛は健康な無症状キャリアーであり、牛伝染性リンパ腫の発症リスクを有していることが窺える。

30ヶ月齢超えの無症牛は30ヶ月齢以下の無症牛と比較してBLV遺伝子を保有している比率が高く、高齢になるにつれBLVの保有率が上昇している。感染牛のほとんどは無症状で経過するが、数%は発症すること⁴⁾からも、無症牛の発生リスクは高齢になるにつれて徐々に高くなることが示唆された。また、高齢牛のBLV保有率が高くなることは、BLVが感染牛の血液等を介して感染すること⁴⁾から、高齢になるにつれて吸血昆虫や、注射、直腸検査等出血を伴う獣医療行為によるウイルス曝露が増加することによるものと考えられた。

発症牛において腫瘍組織のBLV遺伝子量が無症牛よりも顕著に高いことは、先述したようにEBLの発症には一定量以上のBLVの存在が必要であるということを示していると思われた。また、発症牛の脾臓及び血液については、無症牛と同程度のものであることから、個体間での遺伝子量のばらつきが大きく、特に血液に関してはBLV遺伝子量に差が出るのが報

告されており^{7) 8)}、今回の調査でも同様の結果が得られた。このことから、現時点では血液等を EBL 判定の指標とすることは難しく、検体数を更に増やして検討する必要があると考えられた。更に、血液中の BLV 遺伝子量は発症牛でしか測定を行っていないため、今後無症牛の血中 BLV 遺伝子量の測定を実施することで、無症牛と発症牛の BLV 遺伝子量を比較検討できると考えている。

今後は、更に検体数を増やしてリアルタイム PCR 法によるデータを蓄積し、月齢、品種や、臓器、組織等の BLV 遺伝子量の傾向を調査することで、EBL の判定基準等を検討していきたい。

文 献

- 1) 農林水産省：牛白血病に関する衛生対策ガイドライン, (オンライン), (<https://www.maff.go.jp/j/syouan/douei/ebl.html>), (参照 2020-08-01)
- 2) 農林水産省：農林水産省監視伝染病発生年表 (1998 ~ 2020), (オンライン), (https://www.maff.go.jp/j/syouan/douei/kansi_densen/kansi_densen.html), (参照 2021-08-01)
- 3) 中川剛志ほか：核酸クロマト型チップを用いた地方型牛白血病 PCR 迅速診断の一考察, 広島県獣医学会雑誌, 31, 139-142 (2016)
- 4) 動物衛生研究所：家畜の監視伝染病, (オンライン), (https://www.naro.affrc.go.jp/org/niah/disease_fact/t08.html), (参照 2020-08-01)
- 5) 村上賢二ほか：我が国の地方病性白血病の発生動向と対策, 日獣会誌, 62, 499-502 (2009)
- 6) 国立研究開発法人農業・食品産業技術総合研究機構：乳用牛及び肉用繁殖牛における牛白血病ウイルスの全国浸潤状況, (オンライン), (https://www.naro.go.jp/project/results/laboratory/niah/2012/170d3_01_24.html), (参照 2020-08-01)
- 7) 宗村佳子：牛白血病ウイルス遺伝子量を指標とした地方病性牛白血病の診断法に関する研究, 岐阜大学機関リポジトリ, 甲第 446 号 (2015), (オンライン), (<http://repository.lib.gifu-u.ac.jp/handle/20.500.12099/53641>), (参照 2021-04-12)
- 8) 鈴木健太郎：リアルタイム PCR を用いた地方病性牛白血病の診断法の検討, 第 39 回全国食肉衛生検査所協議会微生物部会総会・研修会資料, 36-38 (2019)

ライソゾーム病の犬でみられた頭位変換性捻転斜頸： 回顧的観察研究

田村 慎司¹⁾ 田村由美子¹⁾ 中本 裕也^{2,3)} 長谷川大輔⁴⁾
坪井 誠也⁵⁾ 内田 和幸⁵⁾ 矢吹 映⁶⁾ 大和 修⁶⁾

Positioning head tilt in canine lysosomal storage disease:
A retrospective observational descriptive study

SHINJI TAMURA¹⁾, YUMIKO TAMURA¹⁾, YUYA NAKAMOTO^{2,3)}, DAISUKE HASEGAWA⁴⁾,
MASAYA TSUBOI⁵⁾, KAZUYUKI UCHIDA⁵⁾, AKIRA YABUKI⁶⁾ and OSAMU YAMATO⁶⁾

- 1) Tamura Animal Clinic, 7-16, Yoshimien, Saeki-ku, Hiroshima 731-5132
- 2) Neuro Vets Animal Neurology Clinic, Kyoto, 550-4, Bishamon-cho, Nakagyoku, Kyoto 604-0981
- 3) Veterinary Surgery, Graduate School of Life and Environmental Science, Osaka Prefecture University, 1-58, rinkuujuraikita, Izumisano, Japan 598-8531
- 4) Laboratory of Veterinary Radiology, Nippon Veterinary and Life Science University, 1-7-1, Kyonancho, Musashisakai, Tokyo 180-8602
- 5) Laboratory of Veterinary Pathology, Graduate School of Agriculture and Life Science, University of Tokyo, 1-1-1, Yayoi, Bunkyo-ku, Tokyo 113-8657
- 6) Laboratory of Clinical Pathology, Joint Faculty of Veterinary Medicine, Kagoshima University, 1-21-24, Korimoto, Kagoshima 890-0065

SUMMARY

Positioning head tilt is a neurological sign that has recently been described in dogs with congenital cerebellar malformations. This head tilt is triggered in response to head movement and is believed to be caused by a lack of inhibition of the vestibular nuclei by the cerebellar nodulus and ventral uvula (NU), as originally reported cases were dogs with NU hypoplasia. We hypothesized that other diseases, such as lysosomal storage

1) たむら動物病院 (〒731-5132 広島市佐伯区吉見園 7-16)
2) Neuro Vets 動物神経科クリニック (〒604-0981 京都府京都市中京区毘沙門町 550-4)
3) 大阪府立大学大学院生命環境科学部獣医学科獣医外科学教室 (〒598-8531 大阪府泉佐野市りんくう往来北 1-58)
4) 日本獣医生命科学大学獣医学科獣医放射線学研究室 (〒180-8602 東京都武蔵野市境南町 1-7-1)
5) 東京大学大学院農学生命科学研究科獣医病理学研究室 (〒113-8657 東京都文京区弥生 1-1-1)
6) 鹿児島大学共同獣医学部獣医学科臨床獣医学講座臨床病理学分野 (〒890-0065 鹿児島市郡元 1-21-24)

diseases that cause degeneration in the whole brain, including NU, may cause NU dysfunction and positioning head tilt. Videos of the clinical signs of canine lysosomal storage disease were retrospectively evaluated. In addition, postmortem NU specimens from each dog were histopathologically evaluated. Nine dogs were included, five with lysosomal storage disease, two Chihuahuas with neuronal ceroid lipofuscinosis (NCL), two Border Collies with NCL, one Shikoku Inu with NCL, two Toy Poodles with GM2 gangliosidosis, and two Shiba Inus with GM1 gangliosidosis. Twenty-eight videos recorded the clinical signs of the dogs. In these videos, positioning head tilt was observed in seven of nine dogs, two Chihuahuas with NCL, one Border Collie with NCL, one Shikoku Inu with NCL, one Toy Poodle with GM2 gangliosidosis, and two Shiba Inus with GM1 gangliosidosis. Neuronal degeneration and loss of NU were histopathologically confirmed in all diseases. As positioning head tilt had not been described until 2016, it may have been overlooked and may be a common clinical sign and pathophysiology in dogs with NU dysfunction.

— Key words: positioning head tilt, dog, lysosomal storage disease, ceroid lipofuscinosis, GM1 gangliosidosis, GM2 gangliosidosis, nodule, ventral uvula

要 約

頭位変換性捻転斜頸は、先天性小脳奇形の犬において近年我々によって報告された神経徴候である。この徴候は頭部の動きが引き金になって認められ、小脳の小節・虫部垂（NU）の低形成の犬で観察されていることから同部位による前庭神経核への抑制入力欠如が原因であると考えられている。我々は、頭位変換性捻転斜頸がNUの機能不全で生じる徴候であれば、NUを含む小脳全体が萎縮するライソゾーム病においても頭位変換性捻転斜頸が観察されるのではないかと仮説を立て、我々がこれまでに遭遇したライソゾーム病症例の臨床徴候を記録した動画を再評価した。また、剖検で得られたNUの標本を病理組織学的に再評価した。神経セロイドリポフスチノーシス（NCL）のチワワ2例、NCLのボーダーコリー2例、NCLの四国犬1例、GM2ガングリオシドーシスのトイプードル2例、GM1ガングリオシドーシスの柴犬2例の計5疾患、9症例が評価された。28の動画で臨床徴候が記録されていた。そのうち、NCLのチワワ2例、NCLのボーダーコリー1例、NCLの四国犬1例、GM2ガングリオシドーシスのトイプードル1例、GM1ガングリオシドーシスの柴犬2例の計7症例で頭位変換性捻転斜頸が観察された。NUにおける神経細胞の変性と脱落が全ての疾患で病理組織学的に確認された。頭位変換性捻転斜頸は2016年になるまで知られていなかったが、これまで見落とされていただけでNUの機能不全で生じる一般的な臨床徴候および病態の可能性はある。

— キーワード：頭位変換性捻転斜頸，犬，ライソゾーム病，セロイドリポフスチノーシス，GM1 ガングリオシドーシス，GM2 ガングリオシドーシス，小節，虫部垂

Frontiers in Veterinary Science, 8: 802668 (2021). doi: 10.3389/fvets.2021.802668
(オンラインで全文および動画が無料で閲覧可能)

5頭の健康犬におけるエプレレノンの血圧と心エコー 及び血液生化学変化に及ぼす効果：パイロット研究

有田 申二¹⁾ 有田 昇¹⁾ 日笠 喜朗²⁾

Effects of eplerenone on blood pressure, echocardiographic
and serum biochemical variables in five healthy dogs: a pilot study

SHINJI ARITA¹⁾, NOBORU ARITA¹⁾ and YOSHIAKI HIKASA²⁾

- 1) Arita Sougo Animal Hospital, 1-14-6 Nishi, Hachihonmatsu, Higashihiroshima-shi, Hiroshima 739-0147, Japan.
- 2) Laboratory of Veterinary Internal Medicine, Joint Department of Veterinary Medicine, Faculty of Agriculture, Tottori University, 4-101 Koyama-Minami, Tottori 680-8553, Japan.

SUMMARY

Eplerenone (EP), an aldosterone antagonist, is reported to produce renal and cardiac protective effects in non-canine species. However, there are no detailed reports available on cardiovascular effects of EP in dogs. This study aimed to determine effect of EP on echocardiographic parameters, blood pressures and biochemical variables in healthy dogs. Five healthy Beagle dogs were randomly divided between, and repeatedly used in each of 3 dose groups, received 2.5, 5, or 10 mg/kg BW EP orally q24 h, for 4 wks. Serum biochemical test, blood pressure, and Doppler echocardiography measurements were performed before EP administration and at 1, 2, and 4 wks after EP administration. Treatment with EP reduced mean blood pressure in a dose-dependent manner, and significantly (but in a dose-independent manner) decreased left atrium/aorta ratio, early diastolic transmitral flow, early diastolic transmitral flow/late diastolic transmitral flow, peak velocity of early diastolic transmitral flow/peak velocity of early diastolic mitral annular motion, left ventricle and right ventricle Tei indices, stroke volume, cardiac output, and mid systole myocardial velocity gradient 1 to 4 wks after administration. Deceleration time of early diastolic transmitral flow significantly increased after EP administration. No significant changes were observed in serum biochemical variables.

1) 有田総合動物病院 (〒 739-0147 広島県東広島市八本松西 1-14-6)

2) 鳥取大学農学部共同獣医学科獣医内科学 (〒 680-8553 鳥取市湖山町南 4-101)

The results indicated that EP might reduce preload, thereby decreasing left atrial size. In addition, reduction of left ventricular stiffness may have theoretically taken place but this could not be tested using the present study design. It is suggested that EP administration within the dose range used in this study is safe for administration to healthy dogs. Further studies are needed to explore both safety and efficacy, as well as to seek a recommended dose range of EP treatment in client-owned dogs with heart disease.

— Key words: eplerenone, healthy dog, echocardiographic

要 約

抗アルドステロン薬であるエプレレノン (EP) は、犬以外の動物種で腎臓及び心臓の保護効果をもたらすことが報告されている。しかしながら、犬における EP の心血管系への影響に関する詳細な報告はない。本研究は、健康犬における心エコーパラメータと血圧及び血液生化学変数に関して、EP の効果を明らかにすることを目的とした。5 頭の健康なビーグル犬はランダムに分けられて、3 つの用量群のそれぞれで繰り返し使用された。EP は 2.5, 5 もしくは 10mg/kg にて 24 時間ごとに 4 週間経口投与した。血液生化学検査、血圧測定及びドプラ心エコー検査は、EP 投与前、投与 1, 2 及び 4 週間後に実施した。EP の投与 1 から 4 週間後は、用量依存的に平均血圧を低下させ、用量に依存せず左心房大動脈径比、左室流入拡張早期波、左室流入拡張早期波と左室流入心房収縮期波の比、左室流入拡張早期波と僧帽弁輪運動速拡張早期波の比、左室と右室 Tei index, 1 回拍出量、心拍出量そして収縮中期心筋速度勾配を有意に低下させた。左室流入拡張早期波の減速時間は、EP の投与後有意に増加した。血液生化学検査では有意差は認められなかった。この結果から、EP は前負荷を減らし、それによって左心房サイズを減らす可能性があることを示した。加えて、左室スティフネスの低下が理論的に起こった可能性があるが、現在の研究デザインを使用してテストすることはできなかった。本研究で使用した用量範囲内の EP 投与は、健康犬にとって安全であることが示唆された。飼主が所有する心疾患犬において、EP 治療の推奨用量範囲だけでなく、安全性と有効性を調査する更なる研究が必要である。

— キーワード：エプレレノン, 健康犬, 心エコー検査

Vet Med Int. <https://doi.org/10.1155/2020/5193856>

グラム染色による乳房炎原因微生物の迅速検出

鈴木 直樹¹⁾ 金子 宗平²⁾ 磯部 直樹¹⁾

Rapid determination of pathogens in mastitic milk of dairy cows using Gram staining

NAOKI SUZUKI¹⁾, SOHEI KANEKO²⁾ and NAOKI ISOBE¹⁾

(accepted, 28 December 2021)

- 1) Graduate School of Integrated Sciences for Life, Hiroshima University,
Higashi-Hiroshima, Hiroshima 739-8528, Japan
- 2) Higashi-Hiroshima Veterinary Clinical Center, Hiroshima P.F.A.M.A.A,
284-1 Inaki Takaya-cyo, Higashi-Hiroshima, Hiroshima 739-2106, Japan

SUMMARY

This study aimed to determine whether causative pathogens in mastitic milk can be determined by Gram staining after the centrifugation of milk. Gram staining was performed using unconcentrated and concentrated milk cells. Using this method, we found that the background of microscopic image of unconcentrated milk cells was complex and bacteria were difficult to detect. In contrast, the background of the smears in the concentrated milk cells was translucent, and bacterial and somatic cells were clearly visible. The sensitivity and specificity of the Gram staining of concentrated milk cells were 84.4% and 86.0% and 50.0% and 94.5% for the detection of gram-positive and gram-negative bacteria, respectively. The presented method provides a simple and inexpensive means of determining mastitis-causing pathogens.

— Key words: dairy cow, diagnosis, Gram staining, mastitis

The Journal of Veterinary Medical Science, in press

(<https://doi.org/10.1292/jvms.21-0631>)

1) 広島大学 大学院統合生命科学研究科／生物生産学部 (〒739-0046 広島県東広島市鏡山 2-2965)

2) 広島県農業共済組合 東広島家畜診療所 (〒739-2106 広島県東広島市高屋町稲木 284-1)

要 約

グラム染色による乳中の乳房炎原因微生物検出を目的に、乳汁の遠心によって得られる濃縮細胞懸濁液のグラム染色性を検討した。乳房炎乳の直接塗抹と濃縮細胞懸濁液塗抹のグラム染色像を比較した結果、直接塗抹では染色像の背景が濃く不整であり微生物の検出が困難であった一方、濃縮細胞懸濁液塗抹では背景が改善され、乳中の微生物および細胞が明瞭に観察された。濃縮細胞懸濁液を用いたグラム染色の乳房炎原因微生物検出感度／特異度は、グラム陽性菌およびグラム陰性に対し、それぞれ 84.4%／86.0% および 50.0%／94.5% であった。本方法による乳房炎原因微生物の迅速診断は、簡便かつ低コストであるため普及性が高いと考えられた。

——キーワード：乳牛，診断，グラム染色，乳房炎

ワンヘルスアプローチによる水環境中の薬剤耐性菌の 存在実態調査

増田加奈子 平塚 貴大 秋田 裕子 木村 淳子 横本 佳泰
(受付：令和3年12月20日)

Survey of Antimicrobial Resistant Bacteria in the Aquatic Environment Based on the One Health Approach.

KANAKO MASUDA, TAKAHIRO HIRATSUKA, HIROKO AKITA, JUNKO KIMURA, YOSHIYASU MAKIMOTO

Public Health and Environment Center, Hiroshima Prefectural Institute of
Technology Research
1-6-29, Minamimachi, Minami-ku, Hiroshima 734-0007

SUMMARY

We clarified the state of presence of extended spectrum β -lactamase (ESBL)-producing bacteria and carbapenemase-producing Enterobacteriaceae (CPE) in aqueous environments and carried out genotype analysis of drug-resistant strains and evaluation of multi-drug resistance. *Escherichia coli* was isolated most frequently as ESBL-producing bacteria, with the CTX-M-9 group and CTX-M-1 group accounting for 77.4 and 22.6%, respectively. The percentage of ST131 was 41.9%, and the fluoroquinolone-resistance rate was 38.9% in non-ST131 but 69.2% in ST131. It was found that strains showing drug-resistance genes and drug susceptibility patterns similar to those of ESBL-producing bacteria detected in humans can also be detected in aqueous environments. Concerning CPE, GES-24 *Klebsiella pneumoniae* and *Enterobacter cloacae* and *K. pneumoniae* co-harboring IMP-11 and NDM-1 were isolated. GES-24 was susceptible to some cepheims and carbapenems, but the strains that co-harbored IMP-11 and NDM-1 were resistant to all cepheims and carbapenems. Whether the strains that co-harbored IMP-11 and NDM-11 originally existed or developed by plasmid transmission in the culturing process for bacterial isolation from environmental water is unclear, but it was established that an NDM type showing resistance to most drugs was present in aqueous environments.

— Key words: Drug-resistant bacteria, aqueous environment, ESBL, CPE

要 約

基質特異性拡張型 β -ラクタマーゼ (ESBL) 産生菌およびカルバペネマーゼ産生腸内細菌科細菌 (CPE) の水環境中の存在実態を明らかにするとともに、薬剤耐性菌の遺伝子型解析および多剤耐性の評価を行った。ESBL 産生菌は *Escherichia coli* が最も多く分離され、CTX-M-9group が 77.4%、CTX-M-1group が 22.6%であった。ST131 の割合は 41.9%であり、フルオロキノロン系薬剤耐性率は non-ST131 が 38.9%であるのに対し、ST131 は 69.2%であった。水環境中においても人から検出される ESBL 産生菌と同様の薬剤耐性遺伝子や薬剤感受性パターンを示す株が検出されることが明らかとなった。CPE は GES-24 の *Klebsiella pneumoniae* と *Enterobacter cloacae*、IMP-11 と NDM-1 を同時に保有する *K. pneumoniae* が分離された。GES-24 は一部のセフェム系薬剤とカルバペネム系薬剤に感性を示したが、IMP-11、NDM-1 同時保有株は全てのセフェム系薬剤とカルバペネム系薬剤に耐性を示した。同時保有株が元々存在していたのか、環境水からの菌分離における培養過程でプラスミドの伝達があったのか定かではないが、ほとんどの薬剤に耐性を示す NDM 型が水環境中に存在していたことが明らかとなった。

—キーワード：薬剤耐性菌，水環境，ESBL，CPE

広島県立総合技術研究所保健環境センター研究報告 第 29 号，1-6，2021

動物園における高病原性鳥インフルエンザ発生時の シミュレーション訓練

阿部 勝彦（広島市安佐動物公園）

ヒトの世界では COVID-19（新型コロナウイルス感染症）が猛威を振るい大変な状況が続いていますが、HPAI（高病原性鳥インフルエンザ感染症）も令和2年以降、2年連続、日本国内で発生し、養鶏業界に多大な損害を与えています。

これまで日本の動物公園等でも発生しており、平成22年度（2010年度）には富山県、山口県、兵庫県でH5N1亜型により、コブハクチョウ、コクチョウが確定検査陽性となり、飼養していたハクチョウ類、カモ類400羽以上を殺処分しました。また、平成28年度（2016年度）には秋田県、愛知県、京都府、兵庫県でH5N6亜型により、コクチョウ、シロフクロウ、シジュウカラガン、マガモ等が確定検査陽性となり、飼養していたハクチョウ類、カモ類50羽以上を殺処分しました。

今後、動物公園内で疑い事例が発生した際に、慌てず迅速に対応するために環境省主催のHPAI発生を想定した訓練を開催したものです。

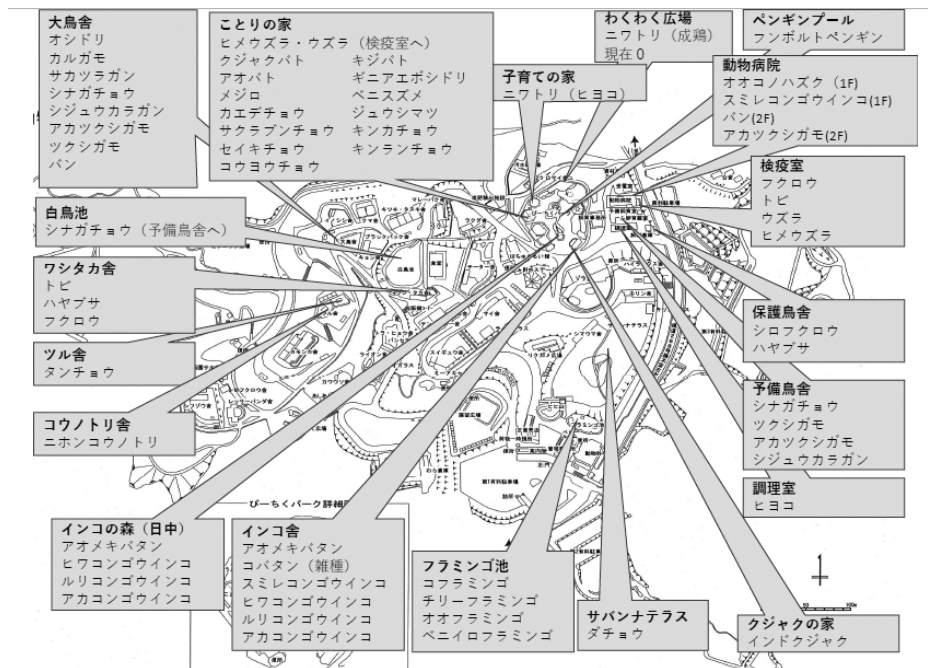
まず、令和2年12月8日にはweb講習会として、HPAIの基礎知識からこれまでの発生動物園の対応等について聴講しました。

令和3年1月21日には安佐動物公園の科学館ホールを会場に、中四国の動物園水族館関係者を対象としたシミュレーション訓練をリアル+webで開催しました。

主催者は環境省、事務局は自然環境研究センター。

プレイヤーとして実際に会場に参加したのは、安佐動物公園+協会職員12名、広島県・広島市関係5機関で、web参加は環境省関係6名、講師2名、オブザーバー4名、事務局4名でした。視聴のみの参加は全てweb参加で、中国4県の7自治体、四国3県の4自治体、中四国の動物園水族館22園館でした。

開催前準備として、事前に事務局である自然環境研究センターと当園で打合せをし、会場のレイアウトを



安佐動物公園の飼育鳥種と飼養場所

検討しました。当園の鳥類の飼養状況、飼育場所、飼育担当者とその業務の順序等を事務局に提示し、事務局主導で当園マニュアルと矛盾の無いように訓練シナリオを作成していきましました。なお、シナリオは担当職員のみしか知らされていません。

当初はプレイヤー全員が当園に集合して訓練実施の予定でしたが、COVID-19感染状況がひっ迫してきたため、急遽、広島県内の自治体のみ集合し、他機関はweb参加することとなりました。そのため、web開催のために必要な機材を事務局より送ってもらい、3台のPCは当園で準備し、開催前に事前のテストを行うという状態でした。

開催当日は、事務局がシナリオに沿ったスライド画面上で進行していき、「〇月〇日園内で死亡野鳥を発見」からイベントが始まりました。これらのイベントが発生する度に園内でどのように対応するか発言を求められます。さらに、インフル簡易検査陽性時、確定検査陽性時に、グループ①は園内対応を検討するグルー

プ、グループ②は対外的な対応を検討するグループに分かれて協議し、協議後に検討結果を発表するという形式で進められました。このシナリオでは、園内の鳥類にも感染が広がり、なかなか終息しないという困難な状況でした。

web参加者の音声が会場スピーカーから聞き取りにくい、会場の音声がマイクで拾いにくく、web参加者に協議の状況が伝わらない等の課題がありましたが、これらのハード面が改善されれば、web開催でも十分に訓練の様子を体感できると思われました。

今回、検討した訓練シナリオを受けて、発生時に臨時休園措置や感染拡大予防対策を検討しましたが、様々な部分でHPAIを念頭に入れた防疫措置の難しさを痛感しました。

特に、複数の鳥類担当者が担当の鳥舎に出入りする順序、鳥舎の網目の大きさなどの基本的な防疫対策、希少性の高い鳥類を守るための基本的な取り扱いについて検討が必要なのがわかり、大変貴重な講習会でした。



シミュレーション訓練の様子
(グループ①は園内対応、グループ②は対外的な対応を検討)

〈学会開催のご案内〉

- 1) 第62回広島県獣医学術学会
 日時：令和4年7月31日（日）10時～
 場所：ホテルグランヴィア広島
 広島市南区松原町1-5 ☎082-262-111
- 2) 令和4年度獣医学術中国地区学会
 日時：令和4年9月3日（土）～4日（日）
 場所：山口グランドホテル
 山口市小郡黄金町1-1 ☎083-972-7777
- 3) 第21回アジア獣医師会連合（FAVA）大会
 第40回日本獣医師会獣医学術学会年次大会（令和4年度）
 日時：令和4年11月11日（金）～13日（日）
 場所：ヒルトン福岡シーホーク
 福岡市中央区地行浜2-2-3 ☎092-844-8111

問い合わせ先 公益社団法人日本獣医師会事務局
 東京都港区南青山1-1-1 新青山ビル西館23階
 ☎03-3475-1601 FAX 03-3475-1604

編 集 後 記

新型コロナ発生から現在に至るこの2年半の間、各種学会や研修会がすっかり様変わりしてしまいました。それまでは、全国各地から発表者、参加者が一同に集まり、賑やかに開催されていたものが、新型コロナのパンデミックを受けて、自宅や職場からウェブを利用した発表や参加といった方式が定着しつつあります。それはそれで、わざわざ時間とお金をかけて会場に行かなくても発表・参加できるというメリットもありますが、一方で以前のように、個々の発表に対して会場での熱心な質疑応答、夜には情報交換会等でも熱く討論していたのが懐かしく感じます。

他の学会同様に、広島県獣医学会や獣医学術中国地区大会、日本獣医師会獣医学術学会年次大会も、2020年度は全面中止、2021年度はウェブ等を活用した非対面での開催となりました。

幸いにも、多くの方がワクチン接種で新型コロ

ナウイルスに対する基礎的な免疫を獲得したこと、現在流行しているウイルス株（オミクロン）が比較的病原性が強くないこともあり、日々の生活も徐々に新型コロナ流行以前に戻りつつあります。そのため、今年度（令和4年度）の、広島県獣医学会や獣医学術中国地区学会については、今のところ従来の対面での学会開催が予定されていると聞いています。

広島県の獣医師会の会員の皆様におかれましては、日ごろの成果を県獣医学会と、それに続く中国地区学会に発表頂くとともに、広島県獣医学会雑誌にもご投稿いただきますようお願い致します。なお、本誌は写真、図表ともにカラーでの対応が可能ですので、カラー写真を使って論文発表したいと思われる先生方には、特にお勧めです。

（担当：編集委員長 高尾信一）

公益社団法人広島県獣医師会

広島県獣医学術学会雑誌投稿規程

(目的)

第1条 この規程は、公益社団法人広島県獣医師会（以下「本会」という。）に所属する広島県獣医学術学会（以下「学会」という。）が発行する広島県獣医学術学会雑誌（以下「学会誌」という。）の投稿に関する事項を定める。

第2条 学会誌は、獣医学に関する領域での臨床、公衆衛生、畜産及びこれらと関連のある諸問題に関する論文、報告その他関連記事を掲載するものとする。

なお、各原稿の内容における、症例及び実験動物の取り扱い、「動物の愛護及び管理に関する法律」に照らし、動物の取り扱いに関し、倫理上の問題がある原稿は、採択しない。

(投稿)

第3条 学会誌への投稿者は、本会の会員でなければならない。ただし、会員外であっても本会編集委員会が認めたものはその限りでない。

第4条 各年学会で発表され、学会幹事会において審議決定されたもの（以下「推薦投稿」という。）を掲載するものとする。

第5条 学会規程第12条第2項による編集委員会が必要と認めるときは、特に依頼して投稿（以下「特別投稿」という。）を求めることができる。その場合には、第4条の適用を受けない。

第6条 会員で投稿（以下「一般投稿」という。）を希望する場合、その採否は、編集委員会が決定する。その場合、投稿に関する規定は、本規程の適用を受けるものとする。

(編集)

第7条 学会誌は、原則として次の区分により編集される。「総説」、「原著」、「報告」、「技術研究レポート」等推薦投稿及び一般投稿は、他誌に未発表であることが望ましい。ただし、他誌掲載論文の場合は、掲載された雑誌名、巻、号、頁と邦文、英文の要約のみを本誌に掲載する。

また、学会誌には、推薦投稿、特別投稿及び一般投稿のほか、学会案内及び編集委員会が必要とする学会会務を掲載することができる。

第8条 すべての投稿の掲載順序等は、編集委員会において決定する。また、推薦投稿、一般投稿については、編集委員から原稿の加除、変更を求めることがある。

第9条 原稿は、パーソナルコンピュータを使用して原稿を作成し、A4判用紙を使用し、1頁を25字×24行として行間をあげ横書きとする。また、やむを得ない場合は、A4判400字詰め25字×16行の原稿用紙を用いて作成する。

推薦投稿及び一般投稿についての最大制限頁数は、刷り上がり5頁以内（A4判図表を含む。）とする。ただし、特別投稿については、この限りでない。（刷り上がり1頁は、400字詰め原稿用紙の約6枚に相当する。）

(費用)

第10条 すべての投稿の掲載料及び学会誌発行に関

する費用は、本会が負担する。ただし、別刷り30部までは無料配布とし、それを越えるものは、実費を徴収する。別刷りを希望しない場合は、投稿時その旨を原稿に記載する。

第11条 特別投稿については、相当する額の謝金を支払うことが出来る。謝金の有無及び額は、編集委員会が決定し、学会幹事会の承認を受けるものとする。（執筆要領）

第12条 推薦投稿及び一般投稿の執筆要領は、次のとおりとする。

(1) 原稿用紙は、第9条による。

(2) 新かなづかいを用い、横書きで簡潔に記述する。

(3) 原稿第1枚目に標題、著者名、所属（〒住所）を邦文及び英文で書き、次いで、要約（邦文原稿で600字以内、英文要約で500語以内）、序文、材料と方法、成績、考察、結語、

和文要約及び英文要約の末尾に、5語以内でキーワードを記載するものとする。

(4) 初回原稿の提出は正副各1部をA4版用紙の印刷物で提出するものとする。受理、査読が完了後は、修正された完全原稿の印刷物（1部）と編集可能なデジタルデータ（CDなど）を添付して提出するものとする。

原稿の提出にあたっては、別紙「投稿論文チェック表」を添付するものとする。

(5) 外来語は、カタカナで書く。外国人名や適当な日本語訳のない術語あるいは地名、薬剤名等は、原綴りを用いる（なるべくタイプ）。学名は、イタリック体を用い朱のアンダーラインで示す。

(6) 特殊な、あるいは特定分野のみで用いられている単位、符号、略号及び表現等には、必ず簡単な説明を付けること。

(7) 図、表、写真には、図1、表1及び写真1などの番号を付け、本文とは別に添付し、本文原稿の欄外にそれぞれの挿入希望部位を指定（朱書）する。図、表及び写真は、明瞭なものでなければならない。カラー写真等を希望する場合は、その旨明記（朱書）する。ただし、費用については、原則として実費を徴収するものとする。

なお、編集委員会が、カラー印刷が必要と認められた写真については、学会誌発行費の予算の範囲内において本会が負担する。

(8) 章節のはじめかたは、なるべく1 2 ---, 1) 2) ---, i ii --- の順にする。

(9) 文献は、本文の引用箇所の肩に¹⁾、²⁾、³⁾などの番号で引用順に示す。

なお、末尾文献表は、本文中に引用したものに限り必要最少限に止どめる。著者名は、2名までは列記し、3名以上の場合、筆頭者のみを記し、以下は、ほか（et al）とする。

文献の記載方法は、次の例による。

[雑誌]

著者名：論文表題（原則として記述する。）、誌名、巻、頁（西暦年）

《例》

1) 清水亀平次：牛の非定型抗酸菌感染について、
日獣雑誌, 36, 507-514 (1983)

2) Yuasa, N., et al: Avian Dis., 24, 197-201 (1980)

[単行本]

著者名：書名，編集者名，版，頁，発行所，発行地
(西暦年)

《例》

1) 笹原次郎：最新家畜伝染病，越智勇一編，第1
版，209-212，南江堂書店，東京(1970)

2) Senll, E.S. and Atkins, E.: fever. In The
Inflammatory process, Grant, L. and Mc-
Cuskey, R.T.Editors, 465-506, Academic Press
Inc., New York (1965)

[インターネット資料]

著者名(全員列記)，論文のタイトル名，誌名，巻，
頁(一箇所のみ)，年次，媒体，入手先(URLカッ
コ書き)，入手日(「参照」として，年月日を記載)
とする。

《例》

1) 永田四朗：犬ブルセラ症の検出法，家庭動物の感
染症学会誌, 25, 55-65 (2010), (オンライン),
(<http://www.petzoonosis/article/25/1/1pdf/s>),
(参照 2013-04-20)

2) Williams A: Superinfection of bovine leukemia
virus genotypes in Africa, cattle doctor, 50, 215-
220 (2012), (online), ([http://www.cattledoctor/
lin/15/12/20/pdf/](http://www.cattledoctor/lin/15/12/20/pdf/)), (accessed 2013-05-05)

第13条 初校は，著者が原稿の控えを用いて行う。
ただし，校正の際の新たな加筆は，認めない。再校
以降は，筆者校に基づいて編集委員会が行う。

第14条 投稿は，封筒の表に「原稿在中」と朱書き
書留で郵送する。持参の場合は，受付証を手交する。
宛て先 〒734-0034 広島市南区丹那町4番2号
公益社団法人広島県獣医師会
TEL (082) 251-6401

(著作権)

第15条 学会誌に掲載された原稿の著作権は，本会
に帰属する。

(原稿の処理等)

第16条 学会誌に掲載した原稿は，返却しない。

(雑則)

第17条 前各条に規定するもののほか，編集委員会
に必要な事項は編集委員会の議決を経て編集委員長
がこれを処理する。

附則

1 この規程は，一般社団法人及び一般財団法人に関
する法律及び公益社団法人及び公益財団法人の認定
等に関する法律の施行に伴う関係法律の整備等に関
する法律第106条1項に定める公益法人の設立の
登記の日から施行する。

2 この規程は，平成27年8月30日に一部改正し，
平成27年8月30日から施行する。

3 この規程は，平成29年1月30日に一部改正し，
平成29年1月30日から施行する。

編 集 委 員 会

阿 部 勝 彦	荒 蒔 義 隆	上 岡 尚 民
尾 崎 充 彦	柴 崎 桃 子	高 尾 信 一*
玉 川 朋 治	田 村 慎 司	東久保 靖
森 本 和 秀	山 岡 弘 二**	

*委員長 **副委員長
(あいうえお順)

広島県獣医学会雑誌

第 36 号

2022年7月発行

発 行 所 公益社団法人 広島県獣医師会

広島市南区丹那町4番2号 (〒734-0034)

電 話 広島 (082) 251-6401

F A X 広島 (082) 255-3424

E-mail: jimmu@hiro-vet.or.jp

<http://www.hiro-vet.or.jp>

発行責任者 木原 敏博 編集責任者 高尾 信一

印 刷 所 株式会社ユニバーサルポスト

広島市南区大州5丁目1-1 (〒732-0802)

電 話 広島 (082) 281-4221

サイバー攻撃への備え、用意していますか？ サイバー保険特約のご案内

サイバー保険特約の概要

業務遂行する上で被る可能性のある、サイバーセキュリティ被害を補償する保険特約です。
獣医師賠償責任保険のオプションとしてご加入いただけます。（本特約のみのご加入はできません。）

第三者への賠償責任



サイバー攻撃、情報漏えい、システム管理などに起因して他人に経済的損害を与えた場合の賠償責任・争訟費用の補償

損害賠償金

協力費用

争訟費用

事故対応にかかる自社の費用



サイバー攻撃、情報漏えいなどの発生に起因して生じる『事故調査』から『解決/再発防止』までの諸費用の補償

原因調査費用

見舞費用

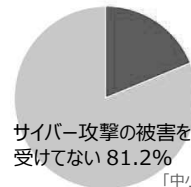
データ復旧費用

etc

他人事ではない高額サイバー事故

1. 約2割の企業がサイバー攻撃の被害に！

- 中小企業の約2割が過去にサイバー攻撃の被害を経験しており、もはや他人事ではありません。
- PCのウィルス感染による顧客情報の漏えいや取引先へのウィルス感染ファイルの送付、貴社HPの不正改ざんによる閲覧者の被害など、身近なところにサイバーリスクは潜んでいます。



過去にサイバー攻撃の被害を受けた
18.8%

出典：一般社団法人日本損害保険協会
「中小企業の経営者のサイバーリスク意識調査2019」

2. 不正アクセスにかかる調査費用は高額！

【不正アクセスにかかる調査費用例】

初動対応	約100万円	過去ログ解析	約300万円
原因・影響範囲調査	約800万円	弁護士・コンサル相談など	約100万円
合計 約1,300万円			

- ひとたび事故が発生すると、原因調査から顧客・取引先への謝罪などの各種対応や巨額な損害賠償の発生など対応範囲は広範にわたり、負担するコストも莫大となる可能性があります。

補償内容・保険料

(保険期間1年、一括払)

加入タイプ	プラン1	プラン2	プラン3
賠償責任保険金（期間中） （自己負担額10万円）	500万円	1,000万円	1億円
費用保険金（1事故・期間中） （縮小てん補割合90%）	100万円	300万円	3,000万円
年間保険料	8,000円	12,000円	24,000円

中途加入も随時受け付けております！未加入の方はぜひご検討ください！

- この広告は概要を説明したものです。詳しい内容につきましては、取扱代理店または損保ジャパンまでお問い合わせください。また、その他の補償内容につきましては、必ずパンフレットまたはご契約のしおり等をご確認ください。

<お問い合わせ先・取扱代理店>

株式会社安田システムサービス

〒163-1529 東京都新宿区西新宿1-6-1 新宿エルタワー29F
TEL：03（3340）6497 FAX：03（3340）5700
Mail：njkyousai@nichizei.com
ご不明な点がございましたら、Mailでもお問い合わせ可能です。



<引受保険会社>

 損害保険ジャパン株式会社

団体・公務開発部第二課

〒160-8338 東京都新宿区西新宿1-26-1
TEL 03（3349）5402（平日午前9時から午後5時）



[動物看護学科]
動物看護コース 3年課程

[動物管理学科]
グルーミングコース
ドッグトレーニングコース
ドッグセラピーコース

人と動物の関わる
環境の中で
より良い社会と生活の
構築が出来る人材の
育成を目指しています



学校法人 英数学館

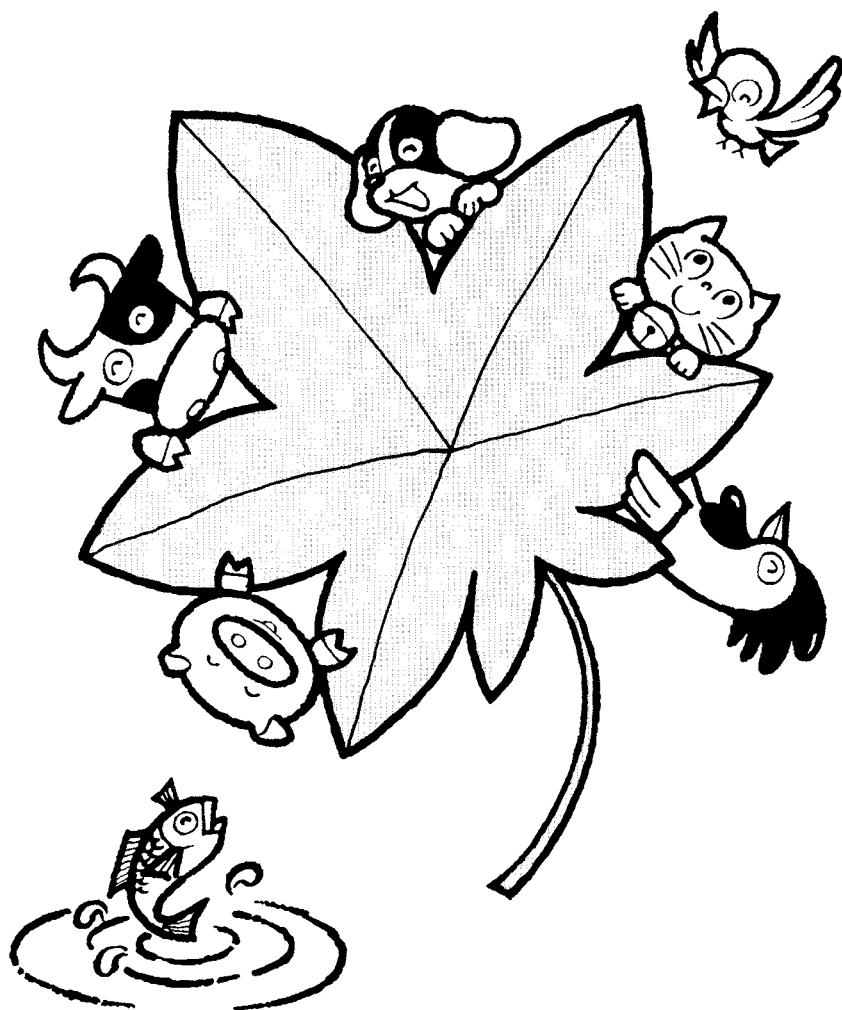
広島アニマルケア専門学校

〒730-0041 広島市中区小町 8-33

TEL 082-546-1195 FAX 082-546-1199 URL <http://animal.ac.jp>



あらゆる動物医療の お役に立つ動薬協



広島県動物用医薬品一般販売業者協議会
(略称：広島県動薬協)

株式会社 ア ス コ
M P ア グ ロ 株 式 会 社
ヒ カ リ サ カ モ ト 株 式 会 社

(アイウエオ順)



WE ARE
U-POST

一人ひとりが U-POST

会社は人。品質は人。

その原点に立ち返り、

一人ひとりのチカラを合わせて、

お客様にとっての

地域No.1を目指します。

人にココロに想いをつたえる。

U-POST

Universal POST Inc.

<https://www.u-post.co.jp> 

株式会社ユニバーサルポスト

本社 / 〒733-0833 広島市西区商工センター7丁目5-52 TEL.082-277-5588 FAX.082-277-1163

大州工場 / 〒732-0802 広島市南区大州5丁目1-1

TEL.082-281-4221 FAX.082-284-6579

オフィス / 広島オフィス・東京支店・大阪支店・松山支店

グループ / 株式会社フロンティア

【認証・認定】ISO14001 ISO9001 プライバシーマーク グリーンプリンティング工場 森林FSC 全印工連CSRスリースター



獣医師の誓い－95年宣言

人類は、地球の環境を保全し、他の生物と調和を図る責任をもっている。特に獣医師は、動物の健康に責任を有するとともに、人の健康についても密接に関わる役割を担っており、人と動物が共存できる環境を築く立場にある。

獣医師は、また、人々がうるおいのある豊かな生活を楽しむことができるよう、広範多岐にわたる専門領域において、社会の要請に積極的に応えていく必要がある。

獣医師は、このような重大な社会的使命を果たすことを誇りとし、自らの生活をも心豊かにすることができるよう、高い見識と厳正な態度で職務を遂行しなければならない。

以上の理念のもとに、私たち獣医師は、次のことを誓う。

1. 動物の生命を尊重し、その健康と福祉に指導的な役割を果たすとともに、人の健康と福祉の増進に努める。
2. ヒューマン・アニマル・ボンド 人と動物の絆を確立するとともに、平和な社会の発展と環境の保全に努める。
3. 良識ある社会人としての人格と教養を一層高めて、専門職としてふさわしい言動を心がける。
4. 獣医学の最新の知識の吸収と技術の研鑽、普及に励み、関連科学との交流を推進する。
5. 相互の連携と協調を密にし、国際交流を推進して世界の獣医界の発展に努める。



日本獣医師会・獣医師会活動指針

－ 動物と人の健康は一つ。そして、それは地球の願い。－

- 1 地球的課題としての食料・環境問題に対処する上で、生態系の保全とともに、感染症の防御、食料の安定供給などの課題解決に向け、「人と動物の健康は一つと捉え、これが地球環境の保全に、また、安全・安心な社会の実現につながる。」との考え方（One World-One Health）が提唱され、「人と動物が共存して生きる社会」を目指すことが求められている。
- 2 一方、動物が果たす役割は、食料供給源としてのほか、イヌやネコなどの家庭動物が「家族の一員・生活の伴侶」として国民生活に浸透するとともに、動物が人の医療・介護・福祉や学校教育分野に進出し、また、生物多様性保全における野生動物の存在など、その担うべき社会的役割は重みを増すとともに、一層多様化してきている。
- 3 他方、国民生活の安全・安心や社会・経済の発展を期する上で、食の安全性の確保や口蹄疫、トリインフルエンザ、狂犬病等に代表される新興・再興感染症に対する備えとともに、家庭動物の飼育が国民生活に普及する中で動物の福祉に配慮した適正飼育の推進が、更には、地球環境問題としての生物多様性の保全や野生鳥獣被害対策を推進する上での野生動物保護管理に対する関心が高まってきている。
- 4 我々、獣医師は、「日本獣医師会・獣医師倫理綱領 獣医師の誓い－95年宣言」が規定する専門職職業倫理の理念の下で、動物に関する保健衛生の向上と獣医学術の振興・普及を図ること等を通じ、食の安全性の確保、感染症の防御、動物疾病の診断・治療、更には、野生動物保護管理や動物福祉の増進に寄与するとの責務を担っている。
- 5 獣医師会は、高度専門職業人としての獣医師が組織する公益団体として、獣医師及び獣医療に対する社会的要請を踏まえ、国民生活の安全保障、動物関連産業界の発展による社会経済の安定、更には、地球環境の保全に寄与することを目的に、「動物と人の健康は一つ。そして、それは地球の願い。」を活動の理念として、国民及び地域社会の理解と信頼の下で、獣医師会活動を推進する。

【参 考】

「One World-One Health」とは、動物と人及びそれを取り巻く環境（生態系）は、相互につながっていると包括的に捉え、獣医療をはじめ関係する学術分野が「ひとつの健康」の概念を共有して課題解決に当たるべきとの考え。2004年に野生生物保全協会（WCS）が提唱した。また、国際獣疫事務局（OIE）は、2009年に「より安全な世界のための獣医学教育の新展開」に関する勧告において、動物の健康、人の健康は一つであり生態系の健全性の確保につながるとする新たな理念として「One World-One Health」を実行すべきである旨を提唱している。

福岡宣言

人類は、地球上の全ての生命に配慮し、地球環境を健全に維持する責任を担っている。医師と獣医師は、科学的知識を持ち、専門的訓練を受け、法に定められた義務を遂行するとともに、人と動物の健康と環境の維持に係る幅広い活動分野において業務に携わる機会と責任を有している。

2012年10月、世界獣医師会と世界医師会は、“Global Health” の向上のため、また、人と動物の共通感染症への対応、責任ある抗菌剤の使用、教育、臨床及び公衆衛生に係る協力体制を強化するため、両者が連携し、一体となって取り組むことを合意し、覚書を取り交わした。

2013年11月、日本医師会と日本獣医師会は、健康で安全な社会を構築するため、医療及び獣医療の発展に関する学術情報を共有し、連携・共同することを同意し、協定書を取り交わした。更に、日本医師会と日本獣医師会は、2011年3月に発生した東日本大震災における教訓を踏まえ、感染症、自然災害などの危機に対し備えることは勿論、医師と獣医師との連携の強化がいかに大切であるかという点についても意見の一致を見た。この協定書締結は、日本全国の地域医師会と地方獣医師会においても達成された。


2016年11月、世界獣医師会、世界医師会、日本医師会、日本獣医師会の4者は、2015年、スペインのマドリッドで開催された第1回“One Health” に関する国際会議に続いて、第2回目国際会議を日本で開催した。

医師と獣医師は、世界各地からこの福岡の地に集い、人と動物の共通感染症、薬剤耐性対策等を含む“One Health” に関する重要な課題について情報交換と有効な対策の検討を行い、評価すべき成果を収めた。

我々は本会議の成果を踏まえ、“One Health” の概念を検証し、認識する段階から、“One Health” の概念に基づき行動し、実践する段階に進むことを決意し、以下のとおり宣言する。

1. 医師と獣医師は、人と動物の共通感染症予防のための情報交換を促進し、協力関係を強化すると共に、その研究体制の整備に向け、一層の連携・協力を図る。
2. 医師と獣医師は、人と動物の医療において重要な抗菌剤の責任ある使用のため、協力関係を強化する。
3. 医師と獣医師は、“One Health” の概念の理解と実践を含む医学教育および獣医学教育の改善・整備を図る活動を支援する。
4. 医師と獣医師は、健康で安全な社会の構築に係る全ての課題解決のために両者の交流を促進し、協力関係を強化する。


World Veterinary Association
Representative


Johnson Chiang, President-Elect

World Medical Association
Representative


Xavier Deau, Immediate Past President

Japan Medical Association
Representative


Yoshitake Yokokura, President

Japan Veterinary Medical Association
Representative


Isao Kurauchi, President



平成28年11月11日福岡県北九州市において調印。
写真左から、藏内勇夫 日本獣医師会会長、ジョンソン・チャン 世界獣医師会次期会長、ザビエル・ドゥー 世界医師会元会長、横倉義武 日本医師会会長。

The Hiroshima Journal of Veterinary Medicine

No.36 July 2022

CONTENTS

REVIEW

- Present and Future of Farm HACCP and Japan Good Agriculture Practice Control Points (JGAP) for Livestock Farms
MASAHIKO NISHIGAI 1

FARM ANIMAL

- Isolation cases of *Streptococcus ruminantium* in Hiroshima Prefecture
TARUHO FUNAMORI 11
- Cases of mycoplasmal bovine mastitis in a free stall dairy farm in Hiroshima Prefecture
MIWA TAKASHIMA 17
- A case of refractory vertical hoof crack accompanied by granulation in the dorsal hoof wall
KATSUFUMI OOSHITA 23
- Treatment of subcutaneous abscess using fistulas made of plastic syringes
MIDORI INABA 27
- Survey conception rate and gestation period of cattle in Fukuyama warm area
MASASHI AKITA 33
- Viability and conception ratio of bovine embryo preserved by “Vitrin-7”: a newly developed embryo vitrification device.
TAKAYUKI KUDOU 39
- Anecdotal report of Cow’s dropsy of fetal membranes in Hiroshima Prefecture.
KANETAKA TOKUGAWA 45

SMALL ANIMAL

- A cat with systemic *Mycobacterium avium* subsp. *hominissuis* infection and mediastinal lymphoma.
KONATSU MIURA 49
- A case of duodenal obstruction due to silk-reactive granuloma in a dog
TOMOYASU KUROSE 57

PUBLIC HEALTH

- Public awareness and Support project of Regional cat activity
KAORI SENDA 63
- Age estimation of raccoon dogs (*Nyctereutes procyonoides*) by the morphometry of cranium
YUMIKO NITTA 67
- Detection of bovine leukemia virus genes in Hiroshima City slaughterhouse
YUKA OKADA 75

SUMMARY OF PAPER PUBLISHED IN OTHER JOURNAL

- Positioning head tilt in canine lysosomal storage disease: A retrospective observational descriptive study
SHINJI TAMURA 81
- Effects of eplerenone on blood pressure, echocardiographic and serum biochemical variables in five healthy dogs: a pilot study
SHINJI ARITA 83
- Rapid determination of pathogens in mastitic milk of dairy cows using Gram staining
NAOKI SUZUKI 85
- Survey of Antimicrobial Resistant Bacteria in the Aquatic Environment Based on the One Health Approach.
KANAKO MASUDA 87

ACTIVITY REPORT 89

ANNOUNCEMENT

- Schedule of Allied Meetings 91
- Contribution Rules 92
-