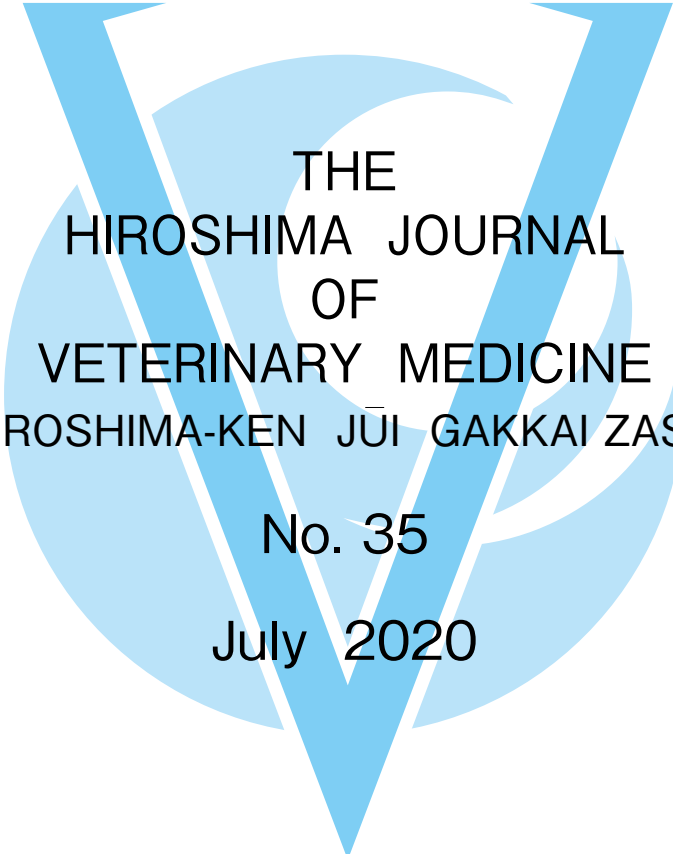


広島県獣医学会雑誌

第 35 号

令和 2 年 7 月

広島県獣医学会



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

No. 35

July 2020

THE
HIROSHIMA PREFECTURAL ASSOCIATION
OF
VETERINARY MEDICINE

目 次

総 説

第61回広島県獣医学術学会 市民公開講座

ペットズーノーシスと感染症サーベイランスシステム

山岡 弘二…………… 1

産業動物

乾乳後期のMg含有添加剤投与が周産期乳牛に与える影響

石橋 朝子…………… 7

蹄冠部挫創から波及した関節炎に対し断趾術を行った1症例

上之郷佑実, 原口 麻子, 玉川 朋治…………… 13

タイストール飼養搾乳牛に対するTMR・分離給与の併用給飼方法の検討

黒瀬 智泰…………… 17

広島県で過去12年間に分離された牛呼吸器病由来 *Mannheimia haemolytica* の性状解析

河村美登里, 船守 足穂, 石浦 英文…………… 23

黒毛和種の真菌性胎盤炎による流産事例

細川久美子, 河村美登里, 石浦 英文…………… 31

小 動 物

鎮静下での精査を実施したヨツユビハリネズミ (*Atelerix albiventris*) の32症例

大園幸志郎…………… 35

角結膜炎の血管異常所見から診断に至った犬の赤血球増加症の1例

上岡 尚民, 上岡 孝子, 吉村 和夫, 荒蒔 義隆, 谷浦 督規, 谷浦 直美…………… 39

眼瞼結膜に発生した肥満細胞腫の1例

吉村 和夫, 上岡 尚民, 上岡 孝子, 笠岡 賢作…………… 45

前房フィブリン析出に対してアルガトロバンを点眼使用したイヌの2例

柴崎 桃子, 鈴木 知行, 柴崎 祐也, 柴崎 文男…………… 49

大腸の炎症性ポリープが悪性転化した犬の1例

瀬戸林政宜, 佐野 博子, 平野 健…………… 53

犬の水晶体脱臼を伴う末期的緑内障に対してゲンタマイシン前房内注入法により

良好な眼圧降下が得られた2頭3眼

土肥 裕典…………… 57

脛骨骨折をMIPOで整復後に腫瘍が原因であったと判明した猫の1例

前田 史彦, 中須賀一樹, 神野 茜, 屋敷 奈津, 前田 茂…………… 61

重症熱性血小板減少症候群の猫の2例

中須賀一樹, 前田 茂, 神野 茜, 屋敷 奈津, 前田 史彦…………… 65

高エリスロポイエチン血症による二次性赤血球増加症を併発した腎臓T細胞性リンパ腫の犬の1例

秋田 征豪, 秋田咲樹子, 岡藤 理恵…………… 69

公衆衛生

広島広域都市圏における環境カドミウム濃度～野生動物の筋肉と腎に含まれる濃度を指標として～

新田由美子, 三木由美子, 末永 昌美, 田中ひろみ, 吉野由紀夫, 岡本 典恵…………… 75

| | |
|---|-----|
| 肥育牛における地方病性牛白血病の発症リスクに関する一考察 兼重裕美子, 吉村奈津子, 太田垣 寧, 国井 悦子, 渡邊真由美, 奥田憲一郎…………… | 85 |
| 認定小規模食鳥処理場への HACCP システムによる自主衛生管理手法の導入に向けての取り組み 魚谷 正芳, 岡 秀俊, 鈴木由莉絵, 長澤 元, 大原佳世子, 土井 章三…………… | 91 |
| 広島県で分離された腸管出血性大腸菌の病原因子保有状況調査 (2014-2018) 平塚 貴大, 増田加奈子, 秋田 裕子, 重本 直樹…………… | 97 |
| 他誌掲載論文 | |
| 乳用牛の難治性蹄病に対するグラインダーを使用した治療法の検討 堀 香織, 金本 淳也, 金子 宗平, 岡本 誠, 竹内 泰造…………… | 103 |
| 広島県におけるカルバペネム耐性腸内細菌科細菌の検出状況 増田加奈子, 平塚 貴大…………… | 105 |
| 活動報告 | |
| ジビエの衛生指導の現状について 平野 政敏…………… | 107 |
| 会 報…………… | 110 |
| 関連学会案内 | |
| 編集後記 | |
| 投稿規程…………… | 111 |

Hiroshima Journal Veterinary Medicine (ISSN : 0913-1418)

本学会雑誌 (年刊) の既刊号 (20 ~ 34 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。

ペットズーノーシスと感染症サーベイランスシステム

山岡 弘二

(受付：令和2年2月20日)

Zoonosis and Infectious Disease Surveillance System of the Pet

KOJI YAMAOKA

Hiroshima Prefectural Association of Veterinary Medicine

4-2, Tanna-cho, Minami-ku, Hiroshima 734-0033

要 旨

I ズーノーシス

- 1 感染症の分類.
- 2 感染症法の予防及び感染症の患者に対する医療に関する法律（以下感染症法）の中で，国内発生がみられるズーノーシス.
- 3 獣医師の届け出が義務付けられているズーノーシス.
- 4 ペットのズーノーシス.
- 5 最近，注目されているペットズーノーシス.

II ペットズーノーシスの感染症サーベイランスシステム.

- 1 動物由来感染症の予防体制整備事業.
- 2 ペットズーノーシスサーベイランスの現況.
- 3 広島県獣医師会のペットズーノーシスサーベイランスシステム構築.

はじめに

ズーノーシスとは、「脊椎動物と人の間を自然な条件下で伝搬する，微生物による病気又は感染症」とWHOで定義されており¹⁾，わが国では動物由来感染症とも呼ばれている。2016年北九州市で開催された，第2回の世界獣医師会—世界医師会のOne Healthに関する国際会議において，福岡宣言が採択された。医師と獣医師は，人と動物の共通感染症予防のため，情

報交換の連携と協力を図ることが確認された²⁾。

人の感染症発生動向調査は，昭和56年から開始され，平成11年からは感染症法に基づいて，感染症発生情報を把握・分析・提供し，感染症発生と蔓延防止を図っている³⁾。

動物由来感染症の中で牛・豚等の産業動物については，家畜伝染病予防法で伝染病の発生・流行の蔓延防止が図られている⁴⁾。

一方，伴侶動物として注目を浴びてきた，ペットについては未だ感染症サーベイランスシステムが確立されていないことから，発生状況が把握されていないのが現状である。今回，ペットズーノーシスと広島県獣医師会によるズーノーシスサーベイランスシステム構築の概況を紹介する。

I ズーノーシス

1 感染症の分類.

人と動物にみられる感染症は，大きく3つに区分される。

- ① 人にだけ感染する感染症としては，風疹，麻疹，コレラ等.
- ② 動物にだけ感染する感染症としては，犬ジステンパー，口蹄疫，豚コレラ等.
- ③ ズーノーシス感染症としては狂犬病，インフルエンザ等で，現在世界中で200疾病，800種を超える病原体が関与しており，新興感染症の70%がズーノーシスとされている。しかし，鳥

国のわが国では、寄生虫疾患を入れてもその数は、十数疾病程度とされている⁵⁾。

2 感染症法の中で国内発生がみられるズーノーシスを表1に示した⁶⁾。

二類感染症は鳥インフルエンザ (H5N7・H7N9)、結核の2疾病。

三類感染症は細菌性赤痢、腸管出血性大腸菌の2疾病。

四類感染症はエキノコックス症、オウム病、Bウイルス病、SFTS、ダニ媒介性脳炎、鳥インフルエンザ、ツツガムシ病、日本紅斑熱、日本脳炎、ブルセラ症、野兎病、レプトスピラ症の12疾病。

表1 国内発生がみられるズーノーシス

| | |
|-------|---|
| 二類感染症 | 鳥インフルエンザ (H5N1) 鳥インフルエンザ (H7N9)、結核 |
| 三類感染症 | 細菌性赤痢、腸管出血性大腸菌感染症 |
| 四類感染症 | エキノコックス、オウム病、Bウイルス病、SFTS、 ダニ媒介性脳炎、鳥インフルエンザ、 ツツガムシ病、 日本紅斑熱、日本脳炎、ブルセラ症、野兎病、 レプトスピラ症 |

厚生労働省：動物由来感染症改変

3 感染症法の中で、獣医師の届出が義務付けられているズーノーシスを表2に示した⁷⁾。

獣医師の都道府県知事への届出は、感染症法第13条に規定されている。

- ① 疾病の定義
- ② 対象となる動物

表2 獣医師の届出感染症と対象疾病

| 感染症 | 対症動物 |
|----------|--------------------|
| エボラ出血熱 | サル |
| マールブルグ病 | サル |
| 結核・細菌性赤痢 | サル |
| ペスト | プレーリードッグ |
| SARS | イタチアナグマ、狸、ハクビシン |
| 鳥インフルエンザ | 鳥類 |
| ウエストナイル熱 | 鳥類 |
| エキノコックス症 | 犬 |
| MERS | ヒトコブラクダ |
| 狂犬病 | 犬、猫、キツネ、スカンク、アライグマ |

表3 感染症法による獣医師の報告数 (2004年～2018年)

| 疾病名 | 対症動物 | 報告数 |
|-------|----------|------------|
| 一類感染症 | ペスト | プレーリードッグ 0 |
| 二類感染症 | SARS | イタチアナグマ 0 |
| | 結核 | サル 38 |
| | 鳥インフルエンザ | 鳥類 91 |
| | MERS | ヒトコブラクダ 0 |
| 三類感染症 | 細菌性赤痢 | サル 328 |
| 四類感染症 | エキノコックス | 犬 22 |

感染症発生動向調査改変

③ 動物における臨床的特徴等の基準が規定されている。

2004年～2018年における獣医師の届出報告状況を、表3に示した。

二類感染症の結核をサルから38件、鳥インフルエンザを鳥類から91件、三類感染症の細菌性赤痢をサルから328件、四類感染症のエキノコックス症を犬から22件報告されている⁷⁾。

4 ペットにおけるズーノーシスを表4に示した。

犬におけるパスツレラ症、エキノコックス症、狂犬病、カプノサイトファーガ・カニモルサス感染症、コリネバクテリウム・ウルセランス感染症、SFTS。

猫におけるパスツレラ症、エキノコックス症、狂犬病、カプノサイトファーガ・カニモルサス感染症、コリネバクテリウム・ウルセランス感染症、SFTS、猫ひっかき病。小鳥におけるオウム病である。

表4 ペットからの主な動物由来感染症

| | |
|---|--|
| 犬 | パスツレラ症、エキノコックス症、狂犬病、 カプノサイトファーガ・カニモルサス感染症、 コリネバクテリウム・ウルセランス感染症、 SFTS等 |
| 猫 | パスツレラ症、狂犬病、猫ひっかき病、 カプノサイトファーガ・カニモルサス感染症、 コリネバクテリウム・ウルセランス感染症、 SFTS等 |
| 鳥 | オウム病 |

厚生労働省：動物由来感染症ハンドブック改変

5 犬・猫の咬傷等によるズーノーシスを表5に示した。

表5 最近のペットからの咬傷等によるズーノーシス

| | |
|---------------------|------------------|
| 猫ひっかき病 | …………… (感染症法規定無し) |
| パスツレラ症 | …………… (感染症法規定無し) |
| 人の死亡事例がみられた感染症 | |
| SFTS | …………… (感染症法規定) |
| カプノサイトファーガ感染症 | …………… (感染症法規定無し) |
| コリネバクテリウム・ウルセランス感染症 | …………… (感染症法規定無し) |

環境省の統計によると、平成28年の犬からの咬傷届出数⁸⁾は4,341件であるが、咬傷事例の全てが届出されていないことを考慮すると、実数はその数倍に達するものと考えられる。

咬傷等によるズーノーシスは、感染症法により規定されているものもあるが、全てが獣医師の届出感染症に規定されていないことから、その実態は十分に把握されていない⁹⁾。

最近、人の死亡事例がみられる感染症の中で、SFTSは四類感染症に規定されているが、カプノサイトファーガ感染症やコリネバクテリウム・ウルセ

ランス感染症は、いずれも感染症法では規定されていない。

6 最近、注目されているペットズーノーシスの対応を表6に示した。

表6 ペットズーノーシス対応

| 疾 病 名 | 医 師 | | 獣医師 | |
|-----------------|-----|------|------|------|
| | 人症状 | 届出規定 | 動物症状 | 届出規定 |
| SFTS | 有 | 有 | 有 | 無 |
| C.ウルセランス | 有 | 無 | 有 | 無 |
| 猫ひっかき病 | 有 | 無 | 無 | 無 |
| パスツレラ症 | 有 | 無 | 無 | 無 |
| カプノサイト ファーガ症 | 有 | 無 | 無 | 無 |

① 医師による届出が義務づけられている SFTS は、身近な致死性感染症として、年々増加傾向が認められている¹⁰⁾。一方、犬・猫については、獣医師の届出が義務化されていないこともあって、その発生状況は十分に把握されていないのが現状である。また、SFTS を疑われる犬・猫を診療した動物病院スタッフへの感染の危険性も報告される等、動物病院における院内感染防止対策が求められている¹¹⁾。

② コリネバクテリウム・ウルセランス感染症は、医師及び獣医師の届出が義務付けられていない。国立感染症研究所の報告では、2001年～2017年までに25例が確認され、公表されている19例の中で犬・猫との接触が確認されているのは、17例に達している¹²⁾。

③ カプノサイトファーガ感染症も、届出が義務付けられていない疾病である。国立感染症研究所の報告では、1993年～2017年までに確認された93例中、犬・猫との接触が見られたのは、52例に達している^{13) 14)}。

これらペットズーノーシスは、ペット自身何ら症状を示さない健康保菌動物感染症が含まれることから、飼い主等がペットに咬まれたり、ひっかかれたときは、早急に洗浄・消毒、病院の受診等が求められる。

II ペットズーノーシスの感染症サーベイランスシステム。

1 動物由来感染症の予防体制整備事業。

厚生労働省は、平成21年の感染症対策特別促進事業の中で、動物由来感染症予防体制整備事業実施要綱を定め、動物由来感染症に関する情報収集・分析及び情報提供体制を整備し、その経費を国庫補助で行うものとしている¹⁵⁾。

2 ズーノーシスサーベイランス事業の現況。

京都府では、ズーノーシスサーベイランス事業を2003年から、先駆的に実施している都道府県の1つである。府内17の定点動物病院における、臨床診断情報を収集し、動物由来感染症サーベイランス合同会議において分析解析し、流行予測を行っている¹⁶⁾。

3 広島県獣医師会のペットズーノーシスサーベイランスシステム構築。

ペットズーノーシスは感染症法の中で、獣医師の届出が規定されている疾病は少なく、その発生状況が十分に解明されているとはいえない。

今回、広島県獣医師会において、広島県ズーノーシスサーベイランスシステムの構築を行なった。(図1)

本システムは、広島県獣医師会会員からのペットズーノーシスの発生状況を発生年月、属・感染症名、感染動物、発生地域、症状・経過・その他特記事項を登録し、登録したデータを集計する。事務局で月及び年集計の解析結果を入力し、会員間で解析結果の情報を共有する。また、本システムは、インターネット接続のパソコンブラウザ (Fire Fox, Chrome, Edge) からアクセスし、Basic 認証及びシステムのログイン画面認証により利用することができる。

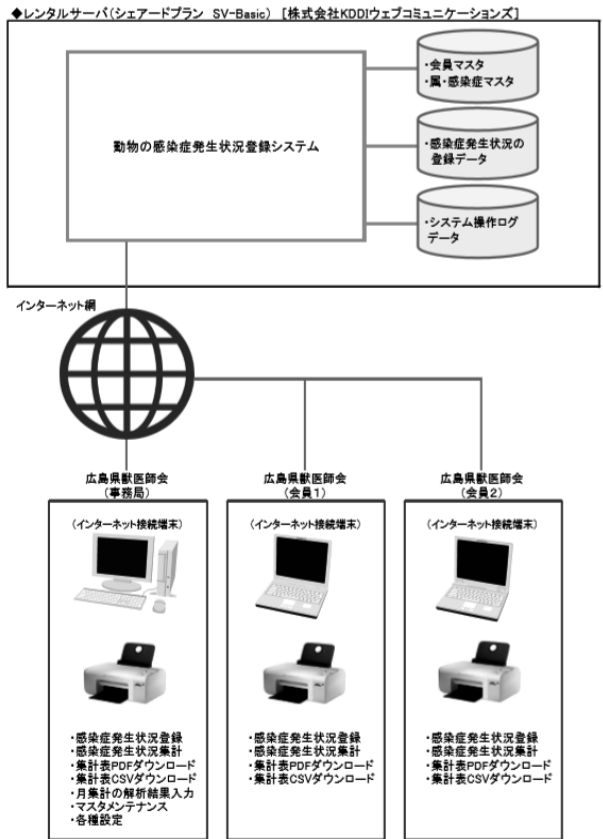


図1 ズーノーシス発生状況登録システムの環境図

本システムの各機能概要を、以下に示す。

- (1) ログイン機能。
 - 入力された認証情報（会員番号，パスワード）で，会員マスタを照合する。
- (2) メニュー機能。
 - ① 各機能ボタンのクリックにより，該当の画面を起動。
 - ア. 動物の感染症発生状況（新規登録／登録内容検索・参照・編集・削除／月集計検索・集計表 PDF ダウンロード，集計表 CSV ダウンロード／月集計の解析結果入力）。
 - イ. マスタメンテナンス（会員マスタ／属マスタ／感染症マスタ）。
 - ウ. 各種設定（ログ管理）。
 - ② 会員は利用できる各機能ボタンより，該当の画面を起動する。
 - ア. 感染症発生状況（新規登録／登録内容検索・参照・編集・削除）。
 - イ. 感染症発生状況集計（月集計検索，月集計結果表示，月集計表 PDF ダウンロード，月集計表 CSV ダウンロード）。
- (3) 感染症発生状況
 - ① 感染症発生状況（図 2）。
 - ア. 新規登録：動物の感染発生状況として，以下の情報を新規登録する。
 - 「発生年月」「属名」「感染症名」「感染動物」「発生地域」「症状・経過・その他特記事項」。
 - イ. 登録内容検索：検索条件として「発生年

月」「他会員含む（チェックボックス）」「属名」「感染症名」「感染動物」「発生地域」を指定し，登録データを検索し，該当データを一覧表示する。

ウ. 参照・登録・削除：登録内容検索の画面で検索，一覧表示された中から選択された情報・参照・更新・削除を行う。

②感染症発生状況集計（図 3）。

ア. 月集計検索：集計表 PDF ダウンロード・集計表 CSV ダウンロード。

検索条件として「発生年月」を指定し，「検索」後，該当データをもとに集計表を表示する。

イ. 月集計の解析結果入力：検索条件として「発生年月」を指定し，「検索」ボタンクリック後，該当データがあれば表示，編集，解析する。

ウ. 年間データ集計の解析結果は，広島県獣医師会ホームページに掲載する。

おわりに

現在，我が国の家族構成は多数家族構成から，核家族化へと変遷してきている。一般社団法人ペットフード協会¹⁷⁾によれば，平成 30 年犬・猫の飼育頭数は，飼育頭数の減少傾向が見られる犬では 890 万頭，飼育頭数の横ばい状態の猫では 964 万頭である。しかし，最近では以前よりも増して，愛玩動物が重要な家族構成の一員となってきている。このような中，ペット飼育者への適切なズーノーシス情報の提供が，重要性を増してきている。

国は，動物由来感染症予防体制整備事業実施要綱¹⁵⁾の中で，情報収集，分析及びその提供体制の整備を定めている。情報収集手段及び協力機関として，保健所，動物管理センター，地方衛生研究所等による情報収集方法を選定することとし，さらに各自治体における動物由来感染症対策検討会の設置も求めている。本会設置については，以前本誌¹⁸⁾において必要性を述べてきた。今日までにいくつかの都道府県において対策検討会が開催されてきているものの，依然としてその数は限られている。

特に，SFTS については，動物病院に来院する犬・猫に感染の疑いがある場合，地方自治体の公的検査機関において，迅速に検査結果を得ることが求められている。牛・豚等の産業動物の場合は，家畜保健衛生所で検査し，人の場合は地方衛生研究所での検査体制がすでに整っているが，犬・猫等のペットについては，どの公的検査機関が検査を担うのかが定まっていないのが現状である。今後，さらに感染力の強いペットズーノーシスの発生が起こった場合，人への感染を未然に防止するためにも，ペット検体を迅速に検査し，

| | | | |
|------|-------------|----|--|
| | | 登録 | |
| 登録年月 | 2019年 | 8月 | |
| 属 | ウイルス | | |
| 感染症 | SFTS | | |
| 感染動物 | 猫 | | |
| 発生地域 | OO市 | | |
| 症状 | 発熱、血小板減少、黄疸 | | |
| 経過 | 症状悪化、予後不良 | | |

図 2 新規登録画面 例示

| | | | | | | |
|------|-------|--------|----|------|---|-----|
| | | | | 検索 | | |
| 検索条件 | | | | | | |
| | 対象年月 | 2019年 | 8月 | 発生件数 | | |
| N0 | 属 | 感染症 | | 犬 | 猫 | その他 |
| 1 | ウイルス | SFTS | | | 1 | |
| 2 | クラミジア | オウム病 | | | | 1 |
| 3 | 細菌 | レプトスピラ | 1 | | | |
| 4 | 細菌 | パスツレラ症 | | | 2 | |
| . | . | . | . | . | . | . |

図 3 ○月習計検索画面 例示

流行を収束させる公的検査機関の整備が求められている。

かつて、厚生労働省は「ペット動物（犬・猫）由来人畜共通伝染病予防策について」の都道府県衛生部長宛通知¹⁹⁾の中で、動物管理センター等が地域の核となり、感染症情報の交換及び相互の検査技術の向上に努めることと明記しており、動物管理センター等の検査機器の整備、充実が望まれる。今後、ズーノーシスサーベイランスを全国的な規模で展開し、感染症情報の収集、検査、解析を行ない、One Healthの概念に基づいた獣医師と医師間の分野間連携による、迅速な情報交換が望まれる。

参考文献

- 1) WHO : 「Zoonoses」, <https://www.WHO.int/topics/zoonoses>
- 2) 2nd WVA-WMA Global Conference on One Health, : Program Abstracts and Biographies, Kitakyushu, Fukuoka, Japan(2016)
- 3) 厚生労働省 : 「感染症発生動向調査について」, <https://www.mhlw.go.jp/stf/seisakunitsuite/bunya/0000115283.htm>
- 4) 農林水産省 : 「家畜伝染病予防法」, <https://www.hopeforanimals.org/law/290/>
- 5) 動物由来感染症ハンドブック 2019 : 厚生労働省, 結核感染症課, (2019)
- 6) 厚生労働省 : 「動物由来感染症」, https://www.mhlw.go.jp/stf/seisakunitsuite/bunya/kenkou_iryuu/kenkou/kekkaku-kansenshou18/index.html
- 7) 厚生労働省 : 「感染症法に基づく獣医師が届出を行なう感染症と動物について」, https://www.mhlw.go.jp/stf/seisakunitsuite/bunya/kenkou_iryuu/kenkou/kekaku-kansenshou/kekkaku-kansenshou.html
- 8) 環境省 : 「犬による咬傷事故件数」, www.env.go.jp/nature/dobutsu/aigo/2_data/statistics/files/h29.331.pdf
- 9) 国立感染症研究所 IASR : 感染症法によって指定されていない動物由来感染症, <https://idsc.niid.go.jp/iasr/26/306/dj3066.html>
- 10) 前田 健 : SFTS ; 身近な致死性感染症, 日本獣医師会獣医学術学会年次大会—神奈川—, 講演要旨集, 236-237 (2019)
- 11) 岡林環樹 : 動物病院における人獣共通感染症対策, 日本獣医師会獣医学術学会年次大会—神奈川—, 講演要旨集, 246-247 (2019)
- 12) 厚生労働省 : 「コロナバクテリウム・ウルセランス感染症について」, <https://www.mhlw.go.jp/stf/seisakunitsuite/bunya/0000146031/html>
- 13) 厚生労働省 : 「カプノサイトファーガ感染症について」, https://www.mhlw.go.jp/bunya/kenkou/kekkaku-kansenshou18/capnocytophaga_index.html
- 14) 鈴木道雄 : 「一人と動物の共通感染症の最新情報 (X) —カプノサイトファーガ感染症について」, 日本獣医師会雑誌, 72, 256-260 (2019)
- 15) 厚生労働省 : 「感染症対策特別促進事業について」, <https://www.mhlw.go.jp/hourei/doc/tsuchi/T190606H0020.pdf>
- 16) 京都府 「動物由来感染症サーベイランス事業」, www.pref.kyoto.jp/doubutsu/saabeiransu.htm
- 17) 一般社団法人ペットフード協会 : 「平成 30 年全国犬・猫飼育実態調査」, <https://petfood.or.jp/topics/img/181225.pdf>
- 18) 山岡弘二 : 最近注目されているヒトおよび動物の共通新興感染症—ウエストナイル熱, 新型肺炎—, 広島県獣医学会雑誌, 18, 1-5 (2003)
- 19) 厚生労働省 : 「ペット動物（犬・猫）由来人畜共通伝染病予防策について」, (昭和 63 年, 衛乳第 93 号), <https://www.mhlw.go.jp/bunya/kenkou/kekkaku-kansenshou11/pdf/02-10-06.pdf>

乾乳後期の Mg 含有添加剤投与が周産期乳牛に与える影響

石橋 朝子

(受付：令和2年1月20日)

The effect of dry period Mg supplement to perinatal Holstein cow

ASAKO ISHIBASHI

Kitahirosima Veterinary Clinic Center, Hiroshima P.F.A.M.A.A.,
461-1, Haruki, Kitahirosima-cho, Yamagata, Hiroshima 731-1531

SUMMARY

Astatic diseases, such as milk fever and downer cow syndrome, are peripartum disorders that trouble dairy farmers. Mg is an important mineral involved in Ca kinetics and energy metabolism, and hypomagnesemia is considered a differential point for downer cow syndrome and milk fever. These suggest that hypomagnesemia is closely related to the development of peripartum astatic disorders in milk cows. Therefore, in this study, the Mg and Ca concentrations were examined in cows that developed peripartum astasia (study 1), and what effects the administration of an Mg-containing supplement in the close-up period exert on blood properties of peripartum dairy cows and whether they lead to a decrease in peripartum events were investigated (study 2). Study 1 demonstrated that the serum Mg concentration was significantly reduced in cows with peripartum astasia. Study 2 revealed that the serum Mg concentration was reduced in cows not administered an Mg-containing supplement (non-administered group) from immediately before parturition, but that it was not reduced in those administered an Mg-containing supplement (administered group) even immediately after parturition. In the administered group, the serum Ca concentration was slightly lower immediately after parturition and was significantly lower 1 month after parturition than those in the non-administered group. In the administered group, T-CHO was significantly higher 1 week after parturition, and HDLC was significantly higher immediately after and 1 week after parturition than those in the non-administered group. Peripartum disorders developed in 4 of the 5 cows in the non-administered group and 2 of the 4 cows in the administered group, with a decrease in peripartum disorders in the administered group. Based on these results, the administration of Mg-containing supplement in the close-up period may affect the peripartum Ca/Mg dynamics and energy metabolism, and help prevent peripartum disorders.

— Key words: Magnesium, Dry period, Perinatal disease

要 約

乳熱やダウンナー症候群などの起立不能症は、酪農家を悩ませる周産期疾患である。Mg は Ca 動態およびエネルギー代謝に関わる重要なミネラルであり、ダウンナー症候群と乳熱の鑑別点の一つに低 Mg 血症があるといわれている。このような事実から低 Mg は起立不能症などの乳牛の周産期疾患発生に強く関係している可能性があると考えられる。したがって、本研究では分娩前後の起立不能を発症した牛について、その Mg 濃度、Ca 濃度を調査（調査 1）し、また乾乳後期に Mg 含有添加剤を投与する事が周産期の乳牛の血液性状にどのような影響を与えるか、周産期の事故低減につながるかどうかを調査（調査 2）した。調査 1 では産前産後の起立不能症では血清 Mg 濃度が有意に低いことがわかった。調査 2 で Mg 添加剤非投与群（以下非投与群）では分娩直前から血清 Mg 濃度の低下を認めたが、Mg 添加剤投与群（以下投与群）では分娩直後でも低下しなかった。投与群では、血清 Ca 濃度は分娩直後において非投与群に比較して低い傾向を認め、分娩 1 ヶ月後に有意に低い値を示した。投与群では T-CHO は分娩 1 週間後、HDLC は分娩直後および分娩後 1 週間において、非投与群よりも有意に高い値を示した。周産期疾患の発生状況は、非投与群が 5 頭中 4 頭発生したのに対し、投与群は 4 頭中 2 頭であり、投与群において周産期疾病の減少が認められた。以上のことから、乾乳期における Mg 含有添加剤投与は周産期の Ca・Mg 動態およびエネルギー代謝に影響を与え、周産期疾病の低減に寄与すると思われる。

——キーワード：マグネシウム、乾乳期、周産期疾患

序 文

ビタミンやミネラルは、生体の恒常性の維持に必要な不可欠な物質である。このうち、マグネシウム（以下 Mg）はその約半数が骨に、約半数が細胞内に分布し、血漿中に含まれる Mg は生体内の 0.5% に満たないとされている^{1), 2), 3)}。細胞内において Mg は、酵素の活性化に関わる重要な役割を担っており、その重要さ故に細胞内濃度および血清濃度は、恒常性維持機構により厳密に保たれている³⁾。Mg²⁺ は主要な細胞内イオンであるため、血清 Mg 濃度による生体内の Mg 状態の評価は、困難とする文献もあるが³⁾、Mg は細胞内外の移動に調節を受けていないため、摂取過剰で容易に高 Mg 血症を起こし、吸収不全があれば低 Mg 血症を簡単に生じるとする文献²⁾ もある。いずれにせよ、血清 Mg 濃度の低下は、Mg の吸収不全や欠乏状態を示すといえる。牛においては Mg の主要な吸収部位は、第一胃であるとされている^{1), 4)}。また、暑熱期には消化管からの吸収不全等により血清 Mg 濃度は低下するといわれている^{1), 5)}。Mg は生体内において酵素の活性化や神経伝達や骨の形成等の重要な役割を担っていることがわかっており、また、Mg 欠乏性の低 Ca 血症を引き起こす^{2), 4)}。

ミネラルが大きく関わる疾患として、周産期疾患では乳熱が上げられる。また、乳熱以外の周産期の起立不能症にダウンナー症候群がある。しかしながら、乳熱

やダウンナー症候群の予防策について、Mg 投与の有無が言及されることはほとんど無い。乳熱の予防には分娩前のカルシウムやリンの制限、低カルシウム飼料の給与、DCAD の調整などがあげられている。これらの飼養管理技術の向上により、カルシウム剤の単回投与により回復する単純な乳熱は、近年減少傾向にあると感じられる。反面、産前産後の起立不能症がいったん発生すると治りにくいものが多く、多くの牛がダウンナー症候群により、死産の転帰を取っているとの印象を受けている。

ダウンナー症候群についてはその予防策はない。乳熱とダウンナー症候群の鑑別点の一つには、低 Mg 血症があるとされている⁶⁾。

また、周産期にはケトーシスや脂肪肝などの糖・脂質代謝の異常が発生する。Mg は解糖系の 10 の酵素のうち、5 つの酵素の活性化に関わる⁷⁾。また、難治性のケトーシスに硫酸マグネシウムを投与し、その治療成績が改善したとの報告もある⁸⁾。

このように Mg は、周産期に発生する乳牛の疾患に大きく関わっている可能性があり、日本飼養標準においても、クローズアップ期の乾乳牛への Mg 投与について言及されている。しかしながら、実際の現場では、乾乳期の乳牛への Mg 投与の重要性についての認識は、低いのが現状である。

したがって、本研究の目的を乾乳後期の乳牛に Mg 添加剤を投与する事で、起立不能症および周産期疾患

に与える影響を調査することとした。

調査1として、産前産後の牛の起立不能症におけるMg濃度およびCa濃度を調査し実際に起立不能症の牛では、血清Mg濃度が低いのかどうかを調査した。次に、調査2では乾乳後期に、Mg含有添加剤を投与する事が周産期の乳牛の血液性状に、どのような影響を与えるか、および周産期の事故低減につながるかどうかを調査(調査2)した。

本研究に使用した添加剤は、酸化Mgの他にセレンとビタミンEを含んでいる。セレンやビタミンEは抗酸化作用を有し、特にセレンは、産後の胎盤停滞や乳房炎の予防に効果があるとされている¹⁾。

材料と方法

調査1

分娩前2ヶ月(乾乳期)から分娩後1ヶ月の間に、初診のある起立不能発症牛を、北広島家畜診療所の患畜受付簿から検索し、血液検査をしていた68頭について、血清Mg濃度および血清Ca濃度、転帰を調査した。調査期間は、2018年1月から12月の一年間とした。また、対照群として診療受付の無い健康牛15頭を使用した。

調査2

2018年7月から同年9月に、分娩予定の乾乳牛9頭を非投与群5頭および投与群4頭に分けて使用した。使用した添加剤は、MgとビタミンEとセレンを含んでおり、一日当たりの投与量100g中に酸化Mgとして70g、ビタミンEを3g、セレンを3mg含んでいる。これらはすべて乾乳牛の要求量を満たしている(表1)。

投与群には添加剤を分娩予定日前30日から分娩後10日まで、一日100グラムを餌に混ぜて給与した(図1)。実施農家は前年度夏期に周産期疾病の発生が

多かった農家を選択した。当該農家はホルスタイン種成乳牛約30頭を、対尻式のタイストール牛舎で分離給与にて飼養しており、分娩後にCaの投与を実施する以外は、特別な低Ca対策を実施しておらず、また、乾乳牛にも泌乳期用の配合飼料を使用している。両群に対して、投与開始5日前から分娩直前、分娩直後、分娩1週間後、1ヶ月後のそれぞれ5回採血を実施した。

調査項目はMg, Ca, P, コレステロール(T-CHO), HDLコレステロール(HDLC), グルコース(Glu), β ヒドロキシ酪酸(BHBA)について調査し、得られた数値の平均値を比較した。また、検定にはWelchのt検定を実施し、有意水準5%以下を有意差有りとした。BHBA以外の項目について、血清は採血後可能な限り速やかに遠心分離し、ドライケム(富士フィルム)にて測定した。また、BHBAについてはプレジジョンエクシード(Abbot)にて、全血により現地で採血後直ちに測定した。また、両群について、分娩前後に発生した疾病について調査した。

結 果

調査1では、正常群と疾病群のMg濃度およびCa濃度を比較した(図2)。図2では縦軸にMg濃度、横軸にCa濃度をとり散布図を作成した。正常群の結果を●のドットで示し、68頭の起立不能牛(疾病群)の内治癒したものを治癒群として▲で示し、死産の転帰をとったものを◆で示した。図中の帯はそれぞれの正常範囲を示している。なお、正常範囲はMg1.9-2.4mg/dl, Ca9.0-10.0mg/dlとした⁴⁾。

図2から正常群●は、MgとCaの両方が正常範囲に近い値を取っている。疾病群はMg, Ca濃度がともに低いものが多く、疾病群のうち治癒群▲と死産群◆を比較すると、死産群ではよりMg濃度が低く、治癒群に比べて死産群がより重症であるとすれば、重症なものほど低Mg傾向が強い事がわかった。次に、正常群と疾病群のMg濃度およびCa濃度の平均値を比較すると、Mg濃度は正常群の平均2.16mg/dlに対し、疾病群では平均1.94mg/dlと低値を示しており、両群の間に有意な差を認めた(図3)。Ca濃度については、有意な差は認めなかった。以上の結果から、起立不能牛では血清Mg濃度が低下しており、治癒群と死産群の間にはMg濃度に差があることがわかった。

次に調査2において採血実施日は、分娩直前では非投与群は平均2.2日前、投与群で平均3.7日前、分娩直後は非投与群で平均1.4日後、投与群で平均1.3日後だった(表2)。

Mg濃度は両群ともに、分娩直前までは差を認めなかったが、分娩直後において非投与群では低下する傾向を認めたが、投与群では分娩直後も低下せずMg濃度を維持していた。しかしながら、両群ともに分娩1

表1 使用した添加剤の概要(調査2)

| | 一日あたりの投与量 (100g中の含有量) | 乾乳牛要求量* (g/day) |
|-----------|--------------------------|--------------------|
| 酸化Mg (Mg) | 70g (40g) | 16g |
| ビタミンE | 3g | 1.2g |
| Se | 3mg | 1mg |

*乾乳牛体重600kg, DMI10Kgとして(日本飼養標準2017)

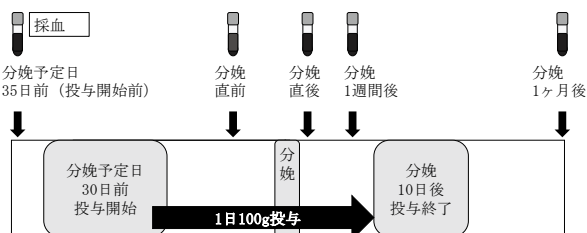


図1 採血実施方法および添加剤投与方法(調査2)

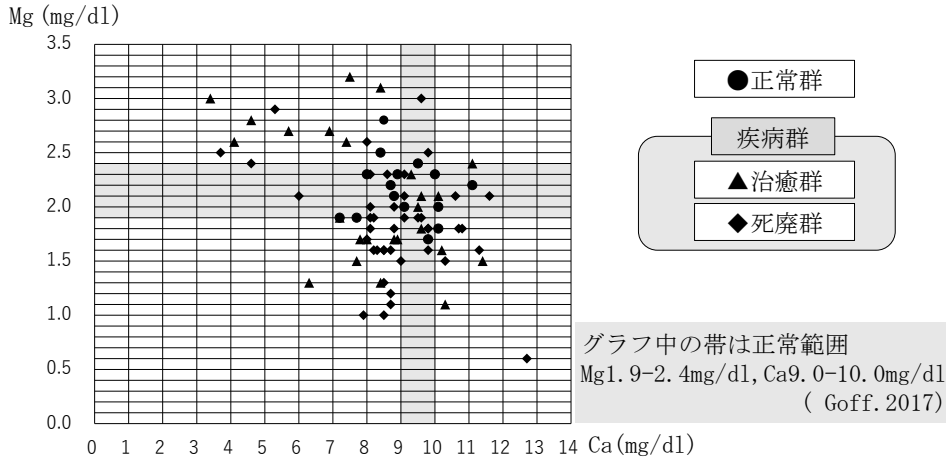


図2 正常群と疾病群のMg濃度およびCa濃度の比較(調査1)

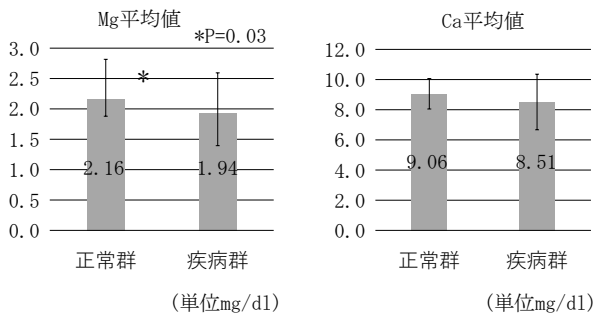


図3 正常群と疾病群のMg濃度およびCa濃度の比較(調査1)

表2 実際の分娩日と採血実施日の間隔の平均値(調査2)

| | 予定日 35日前 (投与開始前) | 分娩直前 | 分娩直後 | 1週間後 | 1ヶ月後 |
|------|------------------------|----------------|---------------|---------------|----------------|
| 非投与群 | -36日 (n=5) | -2.2日 (n=5) | 1.4日 (n=5) | 6.8日 (n=4) | 31.5日 (n=4) |
| 投与群 | -31日 (n=4) | -3.7日 (n=3) | 1.3日 (n=4) | 7.3日 (n=4) | 31.5日 (n=4) |

n = 頭数

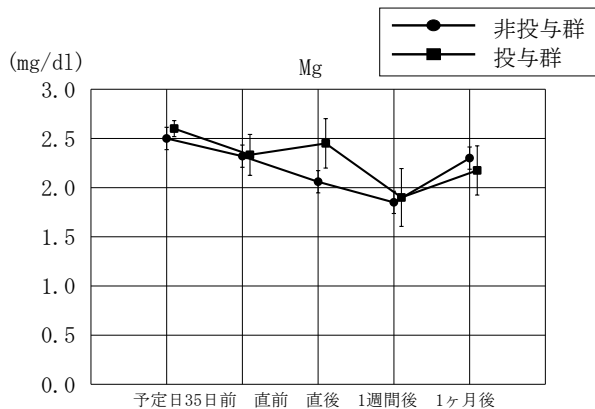


図4 Mg濃度の比較と推移(調査2)

週間後にはMg濃度が低下し、1ヶ月後には正常範囲に復した(図4)。

Ca濃度は分娩直前まで両群ともに差を認めないが、分娩直後において両群ともに低下し、特に投与群で低下傾向だった。両群ともに分娩1週間後には正常値に復したが、1ヶ月後のCa濃度は両群ともに正常範囲であるものの、投与群が非投与群よりも有意にCa濃度が低かった(図5)。リン(P)は全期間を通して有意な差は認めなかった(図6)。

総コレステロール(T-CHO)は投与群において分娩直後に有意に高値を認め(図7)、HDLコレステロール(HDLC)は、分娩直後および分娩後一週間に有意に高い値を示した(図8)。

グルコースおよびBHBAは、両群ともに有意な差を認めなかったが、投与群において分娩直後からグルコース濃度は低下し(図9)、BHBA濃度は上昇する傾向があった(図10)。

疾病発生状況は、非投与群ではダウンナー症候群(死亡)および分娩直前の乳房炎2頭、産褥熱(治癒)であり、投与群では2頭中1頭は第4胃左方変位(廃用)、もう1頭はケトーシス(治癒)だった。ケトー

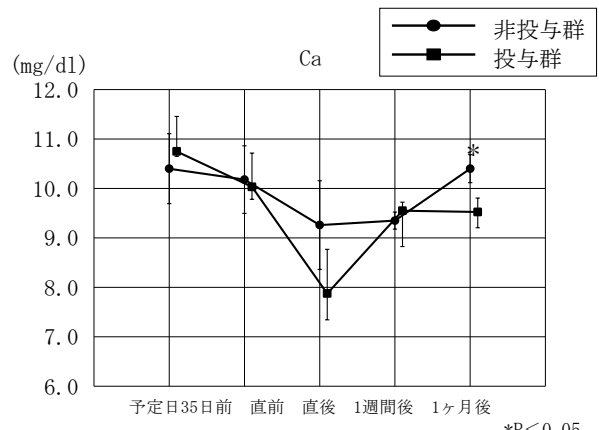


図5 Ca濃度の比較と推移(調査2)

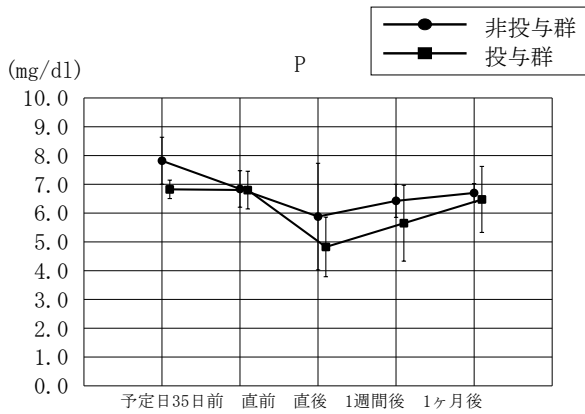


図6 P濃度の比較と推移 (調査2)

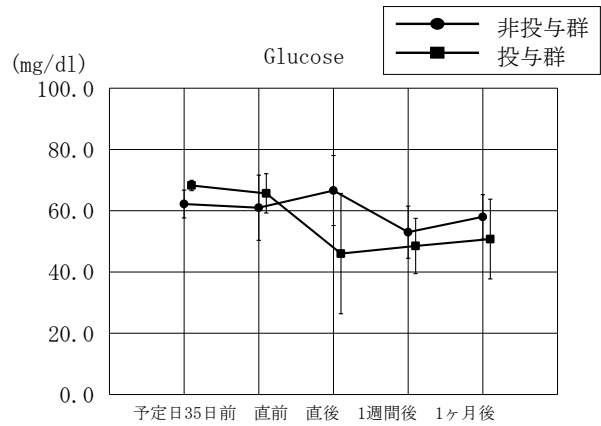


図9 グルコース濃度の比較と推移 (調査2)

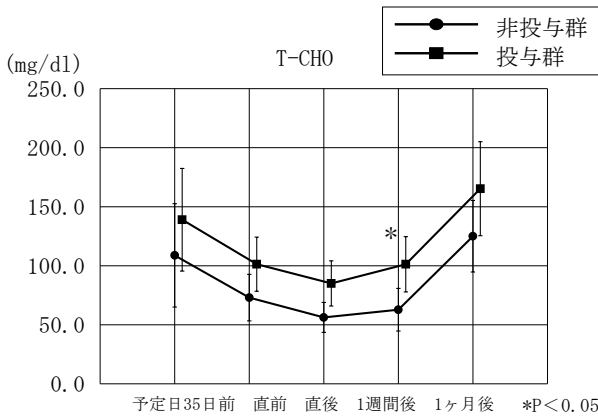


図7 総コレステロール濃度の比較と推移 (調査2)

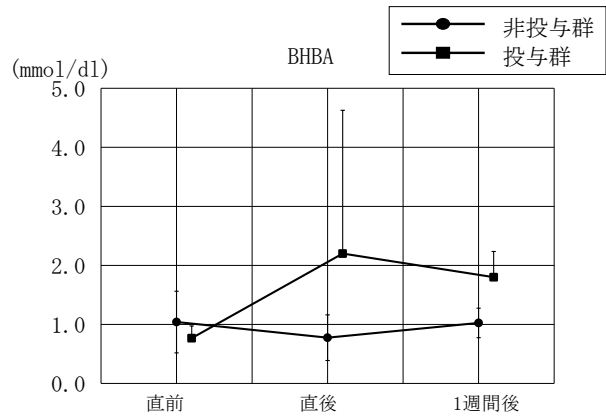


図10 BHBA濃度の比較と推移 (調査2)

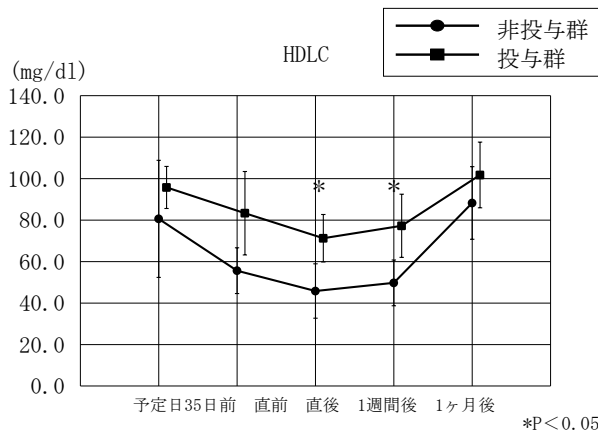


図8 HDL コレステロール濃度の比較と推移 (調査2)

表3 周産期疾病発生状況 (調査2)

| 周産期疾患 | 非投与群5頭 | 投与群4頭 |
|-----------|--|----------------------------|
| 発生あり (死産) | 4頭(1) | 2頭(1) |
| 疾病内訳 | ダウナー症候群 (死亡) 分娩直前乳房炎 分娩直前乳房炎のち 第4胃左方変位 産褥熱 | 第4胃左方変位 (廃用) ケトーシス (双胎) |

シスの牛は双胎であった (表3)。両群を比較すると、非投与群では5頭中4頭 (80%)、投与群では4頭中2頭 (50%) の疾病発生率であり、投与群における疾病発生割合は非投与群よりも低かった。

まとめ及び考察

調査1において、起立不能を発症した牛の多くは、低Mg状態であることがわかった。Mgは生体内にお

いて、酵素の活性化や神経伝達等に関わっているとされていることから、起立不能発症牛では細胞内酵素活性の低下や、神経伝達機能の低下が起こっていることが考えられ、治療に反応しにくい状態になっていると考えられた。

調査2において、Mg投与にも関わらず、分娩前の投与群のMg濃度は非投与群と大差無い。このことは、Mgは投与により容易に血清濃度が上昇するということ²⁾とは反するが、余剰のMgは直ちに尿中に

排泄される⁴⁾とのことにより、分娩直前までは両群ともにMg濃度が維持されていたものと考えられた。しかしながら、分娩直後においては非投与群ではMg濃度が低下する傾向にあった。Mgは生体内の酵素の活性化に必要な不可欠なミネラルであり、分娩や泌乳に伴う代謝系の活性化に伴って、多くのMgが消費され、血清Mg濃度が低下したのと考えられた。一方、投与群では分娩直後のMg濃度が維持されており、分娩後の代謝系の活性化に対応可能であったために、周産期疾患の減少に寄与したのではないかと考えられた。Mg濃度が維持できたのは、乾乳後期にMg含有添加剤を投与したためと考える。分娩後については、両群ともに一週間後には低下しており、Mg投与によってもMg不足は補えていない事がわかった。Ca濃度について、分娩直後では両群ともに低下する傾向を認めた。特に、投与群において低下の傾向が強かった。MgイオンとCaイオンは、ともに二価の陽イオンであるので、血液pHを保つため互いに拮抗する関係にある。したがって、Mg濃度が維持されている状況では、Ca濃度がより低下したのではないかと考えた。このことから、分娩直後において、分娩前にMgが充分摂取できている状況では、分娩後の低Ca時にMgの上昇が認められるのではないかと考えられた。実際、乳熱の際には高Mg状態が認められるという報告もあることから⁹⁾、分娩直後の低Caを認める状態で、Mgの上昇を認めないものは、乾乳期のMg摂取量が低いと判断して良いものと思われ、乾乳時の乾物摂取量の多寡を判断する材料となると思われた。この農家では、全頭について分娩後にCa剤の経口投与および皮下投与を実施しているため、乳熱の発生は認めなかったが、今後の課題としてはMg添加剤の投与により、乳熱の発生を助長する可能性があるかどうかを検討する必要があると思われた。分娩1ヶ月後に投与群におけるCa濃度は、有意に低い値を示した。このことについて、明確な理由はわからなかった。

投与群において分娩1週間後の総コレステロールおよび、分娩直後から分娩1週間後のHDLコレステロールの濃度が有意に高かった(図7, 8)。また、投与群において有意差はないものの分娩後の血糖値が低くなり、BHBAの上昇が認められた(図9, 10)。このことは、MgはATPと結合してエネルギー代謝に重要な役割を有するといわれ、解糖系の10の酵素の内5つの酵素の活性化に関わるといわれており⁷⁾、またMgは脂質代謝に必須の2酵素Lectin-cholesterol acyltransferaseとLipoprotein lipaseの共役因子として重要であり、それぞれHDLコレステロールの増加とトリグリセリドの分解を担っている³⁾とされている事から、乾乳後期のMg添加剤の投与が脂質代謝および糖代謝に対して、何らかの影響を与えた可能性があると考えられた。分娩前後には、脂肪肝やケトosisなどの代謝性疾患が多く発生する。Mgもこれらの疾

患に関わっている可能性があると考えられた。今回の結果では有意差は認めないものの、投与群においてより低血糖を示し、高BHBAを示した事から、ケトosisを引き起こす可能性も考えられた。しかしながら、難治性のケトosisに対してMgを補充し、良好な治療成績を得たとの報告があり⁸⁾、また、高ケトン血症であっても代謝が良ければケトosisを発症しない¹⁾ともいわれており、Mg添加剤の投与によりケトosisが多く発生するかは、検討の必要があると思われた。

本研究に使用した添加剤は、Mgの他にセレンとビタミンEも含有しているため、今回の結果が単純にMgの効果のみによるものとは考えられない。今後、Mg単剤のみで検討する必要があると考えられた。

MgはCa代謝に必要なPTH分泌に不可欠とされており、Mg欠乏性の低Ca血症を引き起こす事もあるといわれている。本研究において、乾乳後期のMg添加剤の投与は、周産期疾患の低減に寄与する事が示唆された。現在、乾乳後期にMg添加剤を添加することの重要性はあまり認識されていないが、事故の多い農家において、特に暑熱期には乾乳後期のMgの添加を考えるべきであると考えられた。

文 献

- 1) 日本飼養標準 乳牛(2017年度版), 国立研究開発法人 農業・食品産業技術総合研究機構編, 初版, 公益社団法人中央畜産会, 東京(2017)
- 2) 鈴木一由・山田裕 編著, 病態からみた牛の輸液, 第1刷, 株式会社緑書房, 東京(2016)
- 3) 外須美夫 編集, マグネシウムの基礎と臨床, 第1版, 真興交易株式会社 医学出版部, 東京(2005)
- 4) Jesse P. Goff: Mineral absorption mechanisms, mineral interactions that affect acid-base and antioxidant status, and diet considerations to improve mineral status., J. Dairy Sci. 101:2763-2813 (2018)
- 5) 神谷裕子ら, 暑熱環境が周産期における乳牛のP, Ca, Mgおよび骨代謝に及ぼす影響, 西日本畜産学会報, 40, 25-30 (2006)
- 6) 本好茂一, 牛の代謝性疾患, 日本獣医師会雑誌, 35, 497-503 (1982)
- 7) Robert R. Crichton, クライトン生物無機化学原著第2版, 塩谷光彦 監訳, 株式会社東京化学同人, 東京(2016)
- 8) 吉田繁 山足清, 硫酸マグネシウム投与による乳牛のケトosisの治療例と生化学的考察, 日本獣医師会雑誌, 25, 711-715 (1972)
- 9) 二本柳霞子ら, 乳牛の分娩前後における血液成分の消長について, 日本獣医師会雑誌, 20, 425-429 (1967)

蹄冠部挫創から波及した関節炎に対し断趾術を行った1症例

上之郷佑実¹⁾ 原口 麻子²⁾ 玉川 朋治²⁾

(受付：平成2年3月12日)

A case of arthritis spreading from a contusion in the coronary cushion
for which detoeing was performed

YUMI KAMINOGO¹⁾, ASAKO HARAGUCHI²⁾ and TOMOHARU TAMAGAWA²⁾

- 1) Fuchu Veterinary Clinical Center, Hiroshima P.F.A.M.A.A,
396-1, Fukae, Jyogae-cho, Fuchu, Hiroshima 729-3421
- 2) Shobara Veterinary Clinical Center, Hiroshima P.F.A.M.A.A,
2-21-20, Nishi-honmachi, Shobara, Hiroshima 727-0013

SUMMARY

Detoeing removes the affected toe with severe pain in the hoof, thereby relieving the pain and alleviating the symptoms. A Holstein cow housed in a free-stall barn developed infectious arthritis due to a contusion in the coronary cushion of the right hind limb, which caused difficulty in weight bearing and walking. As the symptoms were not improved by medical treatment, detoeing was performed. The pain was markedly relieved with restoration of the general condition, and the cow was able to return to the milking line. Thus, detoeing is effective for lesions without ascending infection proximal to the coronary joint even if the coronary cushion is affected.

— Key words: detoeing, arthritis, contusion, X-ray examination

1) 広島県農業共済組合 府中家畜診療所 (〒729-3421 広島県府中市上下町深江 396-1)
2) 広島県農業共済組合 庄原家畜診療所 (〒727-0013 広島県庄原市西本町 2-21-20)

要 約

断趾術は蹄において重度の疼痛を生じる病態に対し、患趾を切除することで疼痛を軽減し症状を改善させることが知られている。症例はフリーストールにて飼養されるホルスタイン種雌牛であり、右後肢蹄冠部における挫創から感染性関節炎を発症し、負重及び歩行困難となっていた。内科療法による改善を認めず断趾術を実施したところ、術後は疼痛を大幅に軽減させ全身状態を回復させることに成功し、生産復帰させるに至った。病変部が蹄冠部に至っていても、冠関節より近位への上行感染を起こしていない症例において、断趾術の適用は有効であった。

——キーワード：断趾術，関節炎，挫創，レントゲン検査

序 文

断趾術とは、主に蹄の疾患において患趾を切断することで症状の改善を図る手術法である。病変部を即座に除去するため、重度の疼痛を生じる病態であっても疼痛を大幅に軽減させる効果がある。適応症として、蹄関節の感染性関節炎や蹄骨の骨髓炎、蹄冠や蹄冠上の軟部組織の感染等が適応症とされているが¹⁾、実際にこれらに断趾術を行い報告された例は多くない。今回、蹄冠部の挫創から感染性関節炎を発症した症例に対し断趾術を行うことで、良好な結果が得られたので、その概要を報告する。

症例概要

症例は県内酪農家（フリーストール、搾乳牛約65頭飼養）のホルスタイン種雌牛であり、平成27年12月17日出生、平成30年9月19日に初産分娩、同年10月時点で約27kg/日泌乳していた。しかし、同年11月7日、足を痛がるとの稟告で診療依頼があった。

治療経過

初診時、食欲活力低下、右後肢外側蹄冠部に挫創を生じ腫脹及び疼痛強く重度跛行を呈すため、抗菌薬を3日間投与した。第7病日、症状の良化がみられないため抗菌薬を変更し抗炎症剤を併用、および内蹄に蹄ブロックの装着を行った。第9病日、依然患部の疼痛が強く右後肢は負重不可能であり、挫創からは排膿を認めた（図1）。泌乳量は約15kg/日まで低下した。内科療法による改善がみられないため、レントゲン検査により蹄関節炎の発症、およびそれ以上の上行感染がないことを確認後、断趾術を実施した。

手術時はキシラジンにて鎮静後、左側横臥位にて右後肢を保定した。中足静脈から塩酸プロカインにて局

所麻酔を行い、趾間から反軸側に向けて、線鋸にて第四趾中節骨近位を斜めに切断した（図2）。切断面には抗菌薬を塗布し、包帯により被覆した。術後は第10病日まで抗菌薬の全身投与を行い、第13、16、21、29病日に包帯交換を行った。術創は徐々に肉芽組織の増生を認め、次第に歩様改善し、第21病日には正常に歩行する様子が観察された。第37病日には



図1 蹄冠部の挫創（洗浄し痂皮を除去した後）

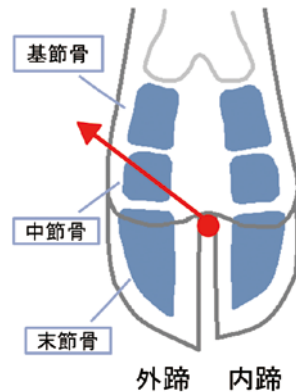


図2 断趾部位

包帯を除去し開放創とした。手術直後から食欲活力上昇し、泌乳量は約 30kg/日まで回復した。

考 察

本症例は、挫創から深部へと感染が進行しており、蹄冠部に膿瘍を形成するとともに蹄関節炎を発症していた。初診時に既に起立状態は不安定であり、早期に症状が改善しなければ起立不能となる危険性が高い状態であった。しかし、内科治療は奏功せず、関節洗浄等の従来の治療法では治療が長期化することが予測された。そのため、早期に症状を改善することを目的として断趾術を検討した。

断趾術を行う際、感染巣が断趾部より近位に残ると治癒は困難となる。そのため、断趾術を適応する際には、感染巣を完全に除去できるかどうか、あらかじめ精査する必要がある。本症例はレントゲン検査の結果から、第四趾において末節骨と中節骨の間の関節腔が広く拡大しており、挫創から感染が波及し蹄関節炎を発症したものと考えられた。その他には異常はみられず、冠関節より近位への感染を認めなかったため、断趾術適用可能と診断した(図3)。切断した患趾は、蹄冠部に広範囲に膿瘍が形成されていたが、切断面には膿瘍の存在を認めず、断趾術により病変部を完全に除去できたものと考えた。

術後は歩様改善し、食欲活力の上昇がみられた。また、本症例牛と、当牧場にて同月に同じく初産を分娩した牛の泌乳量の推移を比較したところ、症例牛は術前の泌乳量が1日当たり約15kg程度まで落ち込んで

いたものが、断趾術5日後の時点で既に対照牛と同程度にまで回復した。その後も、同様の乳量を維持しており、断趾術により全身状態が急速に改善し、生産復帰したことが示された(図4)。

従来断趾術は、蹄の病変に対する処置として行われており、蹄病以外の化膿性疾患に対して、断趾術を実施し報告した例は多くなかった。本症例では蹄冠部膿瘍と蹄関節炎を発症していたが、断趾術後の経過は良好であり、断趾術は蹄冠部にまで至る疾患においても、有効な治療法であることが示された。

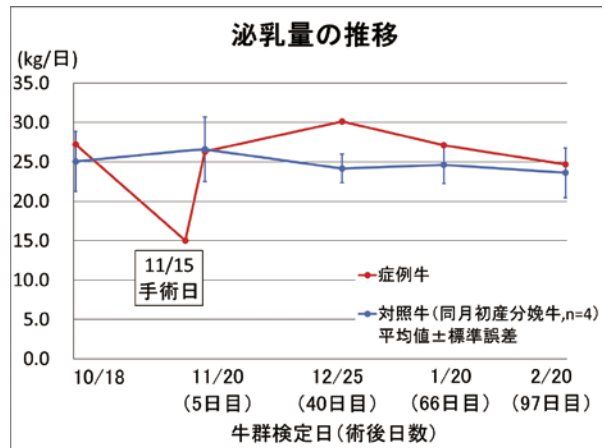


図4 泌乳量の推移

参考文献

- 1) A. David Weaver, et al: 牛の外科マニュアル第2版—手術手技と跛行—, 田口清ほか訳, 270-274, チクサン出版社, 東京(2008)



図3 レントゲン画像
患趾において末節骨と中節骨の間の関節腔の拡大を認めた

タイストール飼養搾乳牛に対する TMR・分離給与の 併用給飼方法の検討

黒瀬 智泰

(受付：令和2年1月7日)

Examination of Combined Feeding Method of TMR and Separate Feeding for Dairy Cows raised in Tie Stall Barns

TOMOYASU KUROSE

Shobara Veterinary Clinical Center, Hiroshima A.M.A.A,
2-21-20, Nishihonmachi, Shobara-shi, Hiroshima 727-0013

SUMMARY

In Hiroshima Prefecture, TMR is used in tie-stall type middle- and small-scale dairy farms, but it is a combination of restricted feeding of TMR and separate feeding of concentrated feed and coarse feed, which is different from the original concept of TMR. It may therefore disrupt the feed balance and induce selective feed intake behavior. In this study, the feeding method in which restricted feeding of TMR is combined with separate feeding of concentrated and coarse feeds (combined feeding method) was compared with the conventional separate feeding method, and its effects on feed planning, blood properties, lactation performance, and reproductive performance were evaluated. This study was carried out between January 2018 and February 2019, and 4 farms that adopted a combination of restricted feeding of fermented TMR using the same fermented rice coarse feed and separate feeding of concentrated and coarse feeds were compared with 3 farms that adopted primarily separate feeding. As the lactation yield and milk constituents were stable throughout the year, demonstrating less deterioration during summer, and as feeding was performed at low percentages of DM and concentrated feed compared with separate feeding alone, the combined feeding method was suggested to be efficient and useful. However, the reproductive performance was reduced, probably because of imbalanced nutritional intake. For the future, it is necessary to sufficiently consider the amount of concentrated feed to be added to TMR and adjustment of TMR in expectation of the addition of concentrated feed.

— Key words: TMR, tie stall housing system, milking cow, feeding method, fermented rice coarse feed

要 約

広島県ではタイストール方式の中小規模酪農場でも TMR が利用されるが、その利用方法は本来の TMR の概念とは異なる TMR の制限給飼に、濃厚飼料と粗飼料の分離給与を組み合わせた併用給飼であり、給与飼料のバランスの崩れや分離採食を招く恐れが考えられる。そこで今回、タイストール飼養搾乳牛に対する TMR の制限給飼と、濃厚飼料と粗飼料の分離給与を併用する給飼方法（併用給飼方法）について、従来通りの分離給与方法と比較し、飼料設計、血液性状、泌乳成績および繁殖成績に与える影響について検討した。調査は 2018 年 1 月～2019 年 2 月で、同一の稲発酵粗飼料を利用した発酵 TMR の制限給飼に加えて、濃厚飼料と粗飼料の分離給与を併用している 4 農場と、分離給与を主体に行っている 3 農場を比較した。TMR・分離給与の併用給飼方法は、分離給与のみに比べて泌乳量、乳成分も暑熱期の低下が少なく、年間を通じて安定しており、低 DM かつ濃厚飼料割合の低い給与状況であったことから、飼料効率良く利用価値があると示唆された。しかし、栄養バランスの崩れが要因とされる繁殖成績の低下がみられた。今後、TMR 給与量別の濃厚飼料の追加給与量や、濃厚飼料の追加給与を想定した TMR の調整などを十分考慮することが必要である。

——キーワード：TMR, タイストール, 搾乳牛, 給飼方法, 稲発酵粗飼料

序 文

TMR (Total Mixed Ration) とは、特定の栄養濃度を完全に満たすように設計され、飼料原料を牛が選り分けられないように調製した混合飼料で、連続的に 24 時間自由採食させる給飼システムと定義される¹⁾。近年、広島県では県酪 TMR センターによる稲発酵粗飼料（以下 WCS）を利用した発酵 TMR の普及が進み、供給量、利用農家戸数ともに増加傾向にあり²⁾、その利用農家の多くはタイストール方式の中小規模酪農場である。しかし、その給飼方法は本来の TMR の定義とは異なる TMR の制限給飼に濃厚飼料と粗飼料の分離給与を併用したものである。他の飼料を組み合わせる必要がないように設計された TMR に分離給与を組み合わせた併用給飼方法は、飼料の選択採食と同じ状況を作り出し、TMR の有効性を失いかねない。タイストール方式の中小規模酪農場での TMR の使用は、安定した飼料品質の確保や労働量の削減などが目的であるが、飼料コストがかかる点や二次発酵による変敗を避けるため開封後に早めに使い切る必要がある点などの問題で使用量に制限がかかり、分離給与と併用せざるを得ない状況にある。そこで今回、適切な飼料給与方法の検証と農場への飼養管理指導に役立てることを目的として、タイストール飼養搾乳牛に対する制限給飼 TMR と分離給与の併用給飼方法について、従来通りの分離給与方法と比較し、飼料設計、血液性状、泌乳成績および繁殖成績に与える影響について検討した。

材料と方法

調査期間は 2018 年 1 月～2019 年 2 月とし、供試農場は県内タイストール方式酪農場 7 戸を用い、その概要と代謝プロファイルテスト実施日を表 1 に示した。分類は TMR の制限給飼に加えて濃厚飼料と粗飼料の分離給与を併用している A～D の 4 農場を TMR 併用群、従来通り濃厚飼料と粗飼料の分離給与を主体に行っている E～G の 3 農場を対照群とした。なお、使用されている TMR は農場間で同一のもので、単独での使用を想定して設計された WCS 発酵 TMR で、飼料成分量を表 2 に示した。

調査項目として、給与飼料調査は代謝プロファイルテスト実施時の聞き取りから、泌乳量 40kg 設定の給与飼料について日本飼養標準・乳牛³⁾をもとにそれぞれの乾物 (DM) 給与量、粗たん白質 (CP) 濃度、可消化養分総量 (TDN) 濃度を計算分析した。血液性状は代謝プロファイルテスト血液データから搾乳日数 61～150 日 (各群 n=14) に該当する牛のデータを抽出した。なお、初産牛と泌乳量が 20kg 以下の異常牛⁴⁾と判断できる牛は除外した。また、血液データは暑熱期の影響を受けない時期に実施した代謝プロファイルテストのものを用い、暑熱期に実施した B 農場は除外した。血液検査は臨床化学自動分析装置 TBA-120FR ((株)東芝メディカルシステムズ)を用いて血漿中血糖濃度: Glu [HK-G-6-PDH 法 (クイックオートネオ GLU-HK: (株)シノテスト)], 血清中アルブミン濃度: Alb [BCG 法 (ラボシード II

表1 供試農場の概要と代謝プロファイルテスト実施日

| 分類 | 農場 | 経産牛頭数(頭) ※1 | 飼料給与量(現物kg) | | WCS有無 | 代謝プロファイルテスト実施日 |
|---------|----|----------------|-------------|------------------|-------|----------------|
| | | | TMR ※2 | 分離給与 濃厚飼料 粗飼料 | | |
| TMR 併用群 | A | 19 | 36 (73) | 3.5 6.5 | 有 | 2018/5/16 |
| | B | 30 | 30 (68) | 6.0 3.0 | 有 | 2018/10/3 |
| | C | 39 | 25 (50) | 8.0 10.0 | 有 | 2018/7/17 |
| | D | 48 | 22 (48) | 8.0 10.2 | 有 | 2018/6/21 |
| 対照群 | E | 46 | 10 (20) | 17.6 13.0 | 有 | 2018/12/11 |
| | F | 23 | 0 (0) | 20.0 13.5 | 有 | 2019/2/5 |
| | G | 35 | 0 (0) | 18.5 17.8 | 有 | 2019/2/5 |

※1: 2019年1月検定日時点

※2: () 内はDM中のTMRが占める割合

表2 WCS発酵TMRの飼料成分量

| 成分名 | 含量* |
|---------|---------|
| 粗たん白質 | 8.5%以上 |
| 粗繊維 | 15.0%以下 |
| 粗脂肪 | 2.0%以上 |
| 可消化養分総量 | 39%以上 |
| 粗灰分 | 5.0%以下 |
| Ca | 0.15%以上 |
| P | 0.15%以上 |

*飼料表示票の通り(原物中)

乳量が20kg以下の異常牛⁴⁾と判断できる牛は除外した。繁殖成績は牛群検定成績表から各農場の空胎日数、初回授精日数、初回受胎率および授精回数について2018年1月から1年間の平均データを用いた。なお、実空胎日数を「空胎日数-初回授精日数」として算出した。

統計処理は群間の差についてマン・ホイットニーのU検定を用いて比較した。

成 績

ALB:(株)シノテスト)], 血清中マグネシウム濃度:Mg [酵素法(MgオートTBA:(株)キャノンメディカルシステムズ)], 血清中AST濃度:AST [酵素反応速度法(クイックオートネオAST:(株)シノテスト)]を測定した。泌乳成績は牛群検定成績から乳量, 乳蛋白率, 乳脂率および乳汁中尿素窒素(MUN)を検定月毎に搾乳日数61~150日(各群n=260, 169)に該当する牛のデータを抽出した。なお, 初産牛と泌

1. 飼料計算分析の比較(表3)

両群ともに飼料全体のDM給与量, CPおよびTDN濃度は必要量を満たしていた。DM給与量は対照群に比べTMR併用群で少なく, DM中濃厚飼料給与量も対照群に比べTMR併用群が有意(p<0.05)に少なかった。TDN濃度はTMR併用群でやや低めの傾向にあった。

表3 泌乳量40kgの牛への給与量に基づく各農場における飼料計算分析値

| 分類 | 農場 | DM(kg) | DM中濃厚飼料量(kg)* | DM中粗飼料量(kg)* | CP濃度(%) | TDN濃度(%) |
|---------|-----|--------|---------------|--------------|---------|----------|
| TMR 併用群 | A | 27.0 | 13.9 (51.8) | 13.0 (48.2) | 15.9 | 72.8 |
| | B | 24.1 | 14.0 (58.1) | 10.1 (41.9) | 16.1 | 74.9 |
| | C | 27.4 | 14.3 (52.3) | 13.1 (47.7) | 14.9 | 71.8 |
| | D | 24.9 | 13.5 (54.1) | 11.4 (45.9) | 16.0 | 71.7 |
| | 平均値 | 25.8 | 13.9 (54.1) | 11.9 (45.9) | 15.7 | 72.8 |
| | 中央値 | 25.9 | 14.0 (53.2) | 12.2 (46.8) | 16.0 | 72.3 |
| 対照群 | E | 27.3 | 18.5 (67.8) | 8.8 (32.2) | 15.6 | 75.1 |
| | F | 25.9 | 17.4 (67.1) | 8.5 (32.9) | 15.7 | 75.7 |
| | G | 28.7 | 16.2 (56.6) | 12.4 (43.4) | 15.5 | 71.8 |
| | 平均値 | 27.3 | 17.4 (63.8) | 9.9 (36.2) | 15.6 | 74.2 |
| | 中央値 | 27.3 | 17.4 (67.1) | 8.8 (32.9) | 15.6 | 75.1 |
| | P | - | 0.033 | 0.157 | - | - |

* () 内はDM中の各飼料割合

2. 血液性状の比較 (図1)

TMR併用群が対照群と比べてGlu, Mgで有意 ($p<0.05$) に低値を示した。また, TMR併用群はMgとAlbは正常下限値よりもやや下回る傾向もみられた。ASTは概ね正常範囲の値を示した。

3. 泌乳成績の比較 (図2)

乳量はTMR併用群が年間を通して比較的高めに推移し, 対照群と比べて暑熱期の影響が一時的で安定していた。乳蛋白率は両群とも暑熱期にやや低下傾向を示した。乳脂率は対照群が3.5%を下回るのに対して, TMR併用群が一年を通して高く推移した。MUNも

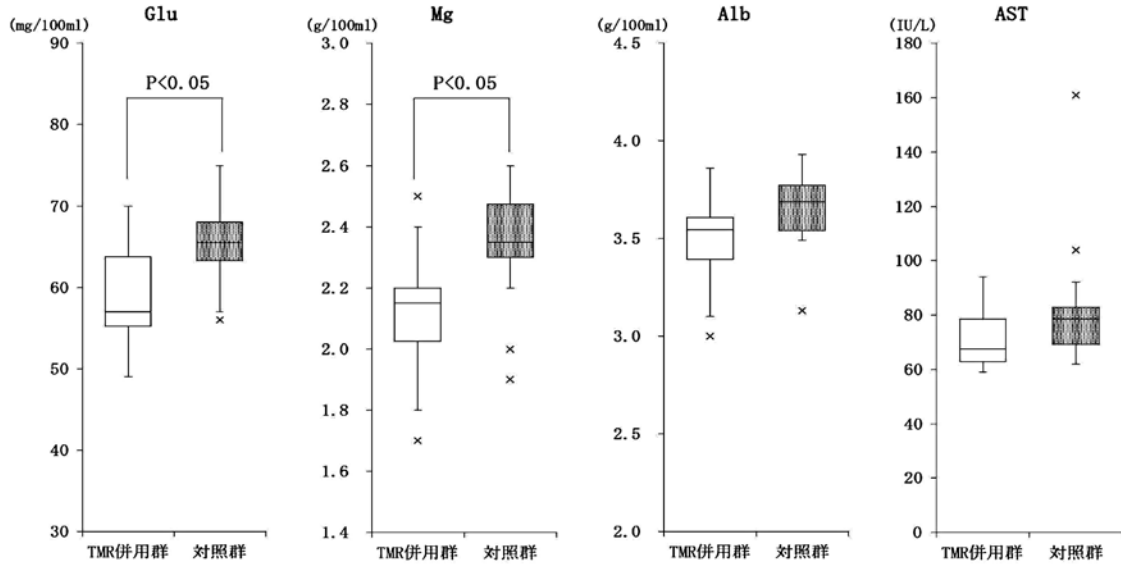


図1 各群における血液性状

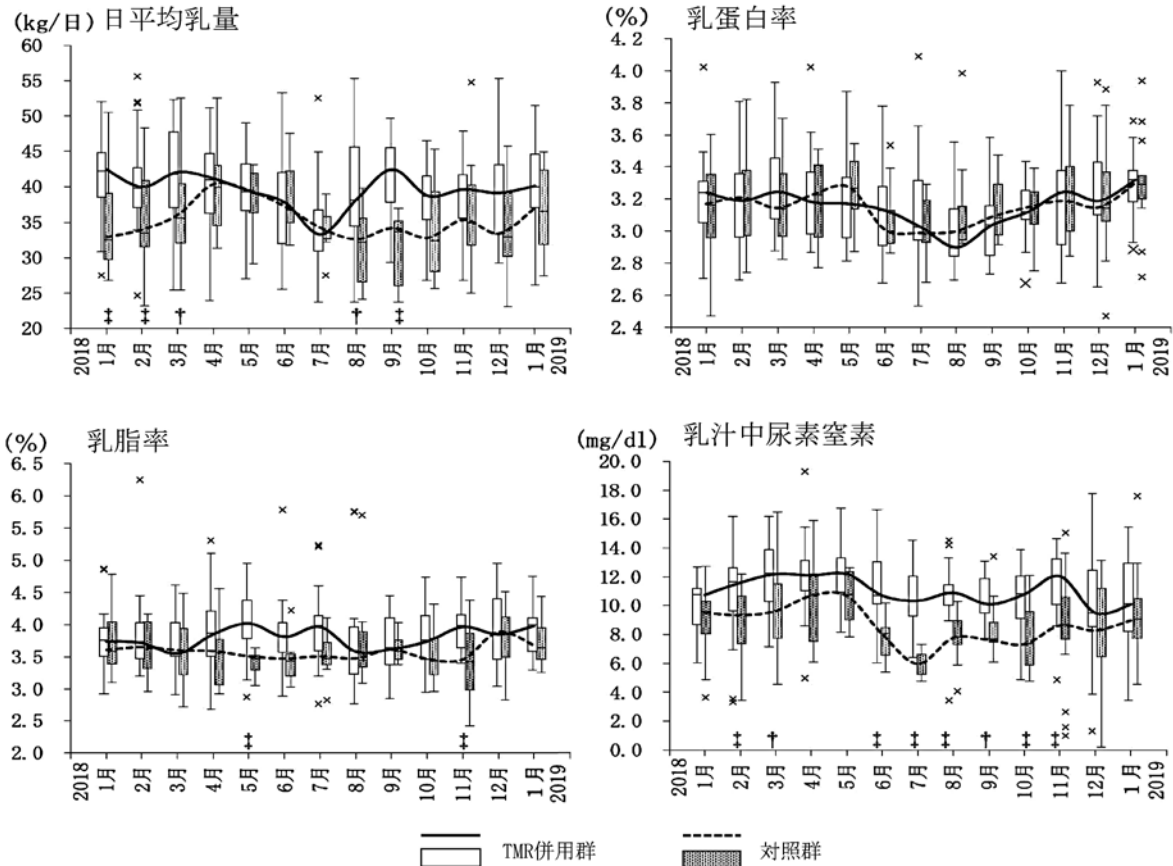


図2 各群における乳量および乳成分の推移

同様に TMR 併用群が対照群に比べて暑熱期の低下がなく、常に高めに推移した。

4. 繁殖成績の比較 (表 4)

農場間における差が大きかった。TMR 併用群は初回授精日数が短い傾向があったものの、初回受胎率は低く実空胎日数が延長する傾向がみられた。

考 察

TMR は栄養濃度を完全に満たすように設計された、飼料原料を調製した混合飼料であり¹⁾、通常そのものだけで賄えるよう設計してある。しかし、不完全な TMR 設計、飼料の不適な計量、TMR の過剰なミキシング、TMR の選び食い、TMR 以外の飼料の給与などは TMR の有効性を失う原因となり、ルーメン発酵の障害 (ルーメンアシドーシス) や繊維不足による採食低下を招く¹⁾。

本調査での TMR と分離給与の併用給飼方法は、飼料の選択採食の状況であり、TMR の有効性を失う原因となることが考えられた。しかし、従来の分離給与方法と比べて DM 給与量は、必要量を満たすものの最低限の量で、濃厚飼料割合も少ないという設計であったが、年間を通して乳生産量は比較的多く、乳脂率も安定していた。しかし、乾物摂取量 (DMI) に反映するとされる血清中 Mg 濃度⁵⁾ は、対照群に比べて TMR 併用群で低値であったことから、飼料効率が良いと考えられ、利用価値があるものと示唆された。これは、TMR に濃厚飼料だけでなく、粗飼料を追加するなど高い粗飼料割合によるルーメン pH の安定^{1,3,6)} と発酵 TMR の高い嗜好性⁷⁻⁹⁾ が要因となり、季節に影響されず、必要最低限の DMI が維持された結果であると考えられた。

繁殖成績低下の要因については、WCS 発酵 TMR の特徴として、発酵による非繊維性炭水化物 (NFC) が低いこと^{7,10)}、完全に設計された TMR への濃厚飼料の追加給与による栄養バランスの崩れ、および必要最低限の給与量が原因となり、第一胃内における飼料タンパク質に対するエネルギーのマイナスバランスによる低血糖⁵⁾、アンモニアの過剰発生による肝機能低下⁵⁾ や胚への悪影響⁴⁾ が考えられ、鈍性発情や早期胚死滅などにより、受胎率が低下し、実空胎日数が延長しているものと示唆された。

これらからタイストールでの TMR と分離給与の併用給飼方法は効率よく安定した泌乳量と乳成分が得られることが判明した。しかし、本併用給飼法の課題となる繁殖成績の向上のためには、DMI の維持とエネルギーと、飼料タンパク質とのバランスの調整が必要であると考えられた。したがって、タイストールでの TMR と分離給与の併用給飼方法を成功させるためには、①農場毎、または、TMR 使用量毎における濃厚飼料給与量の検討、②濃厚飼料の給与を想定したルーメン pH を安定させるための粗飼料の必要性と、その粗飼料の給与量の検討、③将来的には濃厚飼料の追加給与を想定したロボット搾乳牛舎や、フィードステーションで利用されるような濃厚飼料の一部を抜き取った TMR¹¹⁾ のような内容の調整などが、必要であると考えられる。

今後も、労働力削減や安定した飼料品質および必要量の確保のために、タイストールにおける TMR の利用が増加することが予想されるため、今回の結果をもとに牛群診断や管理指導に役立てたい。

表 4 各農場における繁殖成績

| 農場 | 初回授精日数 (日) | 空胎日数 (日) | 実空胎日数 (日)* | 初回受胎率 (%) | 授精回数 (回) | TDN 濃度 (%) |
|---------|---------------|-------------|---------------|--------------|-------------|---------------|
| TMR 併用群 | A | 144 | 256 | 112 | 30 | 2.0 |
| | B | 66 | 143 | 77 | 50 | 2.9 |
| | C | 106 | 237 | 131 | 20 | 3.0 |
| | D | 85 | 162 | 77 | 28 | 2.4 |
| | 平均値 | 100.3 | 199.5 | 99.3 | 32.0 | 2.6 |
| | 中央値 | 95.5 | 199.5 | 94.5 | 29.0 | 2.7 |
| 対照群 | E | 144 | 213 | 69 | 55 | 2.3 |
| | F | 136 | 191 | 55 | 33 | 2.4 |
| | G | 99 | 227 | 128 | 29 | 2.4 |
| | 平均値 | 126.3 | 210.3 | 84.0 | 39.0 | 2.4 |
| | 中央値 | 136.0 | 213.0 | 69.0 | 33.0 | 2.4 |
| P | - | - | - | - | - | - |

* [空胎日数 - 初回授精日数] から算出

文 献

- 1) 佐藤正三：もうかる酪農経営 TMR の応用と牛群管理, 第 2 刷, 23-29, 37-44, 酪農総合研究所, 札幌 (1998)
- 2) 広島県酪農協同組合：広酪発酵 TMR にかかる情報交換会会議資料, 4-6, 広島 (2018)
- 3) (独)農業・食品産業技術総合研究機構編：日本飼養標準・乳牛 (2006 年版), 初版, 4-32, 75-91, (社)中央畜産会, 東京 (2007)
- 4) 田中義春：「乳」からのモニタリング, 5-21, 67-83, (株)デーリィ・ジャパン社, 東京 (2000)
- 5) 木田克弥：もうかる酪農経営牛群検診と個体能力の向上, 第 2 刷, 28-44, 酪農総合研究所, 札幌 (1996)
- 6) 遠藤成典：生産獣医療システム 2 乳牛編 2, 第 4 刷, 140-141, (社)農山漁村文化協会, 東京 (2001)
- 7) 青木康浩：ワンポイント質問発酵 TMR のメリットと利用上の注意, 家畜診療, 62 (9), 557-559 (2015)
- 8) 塩谷繁：自給飼料を活用した TMR センターの展望, 日本草地学会誌, 54 (2), 178-181 (2008)
- 9) 山本泰也ほか：ラップサイロに調製した稲発酵粗飼料主体 TMR の乳牛における栄養価および窒素利用率, 日本草地学会誌, 51 (別), 126-127 (2005)
- 10) 増田隆晴：発酵 TMR の調製技術①細断型ロールペーラを活用した牧草・トウモロコシ主体発酵 TMR, 飼料生産・調製マニュアル, 128-132, デーリイマン社, 札幌 (2008)
- 11) 小池美登里：ロボット導入効果を最大とする給餌方法論, 北海道家畜管理研究会報, 45, 18-22 (2010)

広島県で過去 12 年間に分離された牛呼吸器病由来 *Mannheimia haemolytica* の性状解析

河村美登里 船守 足穂 石浦 英文

(受付：令和 2 年 1 月 14 日)

Analysis of *Mannheimia haemolytica* isolated from Cattle at past 12 years in Hiroshima Prefecture

MIDORI KAWAMURA, TARUHO FUNAMORI and HIDEFUMI ISHIURA

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

SUMMARY

Using *Mannheimia haemolytica* (Mh) isolated from cows that contracted respiratory disease in Hiroshima Prefecture during the 12-year period from 2007 to 2018, serotyping, drug susceptibility testing, drug resistance gene positivity study, and cluster analysis by pulsed-field gel electrophoresis (PFGE) were carried out.

The 27 strains examined were divided into 3 types, i.e., type 1, which was predominant, type 2, and type 6. The distribution of serotypes differed according to use of the animals, with type 1 accounting for 88.9% in milk cows, and types 2 and 6 accounting for 44.5% and 33.3%, respectively, in beef cows. In the 10 strains that exhibited drug resistance, phenotypes (streptomycin, tetracycline, ampicillin, and chloramphenicol resistance) generally corresponded to genotypes (drug resistance genes *strA*, *tet(H)*, *bla_{ROB-1}*, and *catAIII*), and were consistent, especially in the strains isolated in and after 2012, suggesting that recent drug resistance has been caused by specific resistance genes. In addition, these drug resistant strains were restricted to 4 particular clusters among those that were genotyped by PFGE analysis, and the serotypes of the strains resistant to multiple drugs were predominantly type 6.

— Key words: *Mannheimia haemolytica*, Antimicrobial susceptibility, Phenotype,
Genotype, serotype

要 約

平成 19～30 年度の過去 12 年間に広島県内の呼吸器病罹患牛から分離された *Mannheimia haemolytica* (Mh) の血清型別、薬剤感受性試験及び薬剤耐性遺伝子保有状況調査、パルスフィールドゲル電気泳動法 (PFGE) によるクラスター解析を実施した。

全 27 株は血清型 1 型を主体に、2 型、6 型の 3 つの型に大別されたが、牛の用途別に血清型の分布状況は異なり、乳用牛では 88.9% が 1 型、肉用牛では 44.5% が 2 型、次いで 33.3% が 6 型であった。薬剤耐性を示した 10 株の、表現型 (ストレプトマイシン、テトラサイクリン系、アンピシリン、クロラムフェニコール耐性) と遺伝子型 (薬剤耐性遺伝子 *strA*, *tet(H)*, *bla_{ROB-1}*, *catA III*) は概ね対応し、特に平成 24 年度以降の分離株では完全に一致していたことから、近年の薬剤耐性は特定の耐性遺伝子によるものと考えられた。また、これらの薬剤耐性株は、PFGE 解析で遺伝子型別したうちの特定の 4 クラスターに限局して認められ、このうち多剤耐性株は肉用牛由来の血清型 6 型が主であった。

—キーワード: *Mannheimia haemolytica* 薬剤感受性, 表現型, 遺伝子型, 血清型

序 文

牛の呼吸器疾病は、ウイルスやマイコプラズマ属菌、細菌等の病原体に加え、密飼いや長距離輸送等、様々なストレス要因が重なって発生することから、牛呼吸器症候群 (Bovine respiratory disease complex: BRDC) と呼ばれている¹⁾。原因菌の 1 つである *Mannheimia haemolytica* (Mh) は、外毒素としてロイコトキシンを産生し、好中球等の免疫系細胞に障害を与えると共に、肺組織の損傷や炎症を進行させることが知られており Ronald らの BRDC 発生原因モデルにおいて、Mh の関与した肺炎は死亡率が高いことが示されている^{1, 2)}。

Mh は莢膜抗原により 12 種の血清型に分類されるが、従来、病原性を有する主要な株は血清型 1 型とされ、2 型は非病原性株と考えられてきた¹⁻⁴⁾。近年、多剤耐性を示す血清型 6 型の増加が国内外で問題視されるようになり^{5, 6)}、我が国においても 2003 年以降の分離株では、血清型 6 型が 40% 以上を占めていることが報告⁷⁾されている。

Mh の感染様式はユニークで、生後間もなく母牛や同居牛から垂直・水平感染し、一旦上部気道で保菌されるが、この際、健康牛では血清型 1 型よりも 2 型が優勢とされ、ストレス等がトリガーとなり両者のバランスが崩れると、1 型が優勢となり、肺へ侵入・増殖して発症に至ると考えられている²⁾。

広島県内においても毎年 BRDC の発生を認め、原因菌として Mh を分離しているが、これまで県内流行株の詳細な実態は把握していなかったことから、今回改めて精査したので報告する。

材料と方法

1. 供試菌株

平成 19 年度から 30 年度の 12 年間に、広島県内の呼吸器病罹患牛の鼻汁、肺病変又は耳内膿スワブから分離された Mh27 株 (乳用牛 7 戸 9 株、肉用肥育牛 (肉用牛)15 戸 18 株) を用いた (表 1)。なお、これらの菌株は、事前に市販キット (ID テスト・HN-20 ラピッド、日水製薬、東京又は API20NE, bioMerieux, 東京) 及び Alexander⁸⁾ らの *Mannheimia* 属菌同定用 Multiplex PCR 法の両者において Mh と同定した株である。

2. 方法

1) 血清型別

Klima らの報告⁹⁾に基づく Multiplex PCR 法により、主要な血清型である 1 型、2 型及び 6 型を型別した。

2) 薬剤耐性状況調査

I 薬剤感受性試験

Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) のガイドライン¹⁰⁾に準拠した寒天平板希釈法により、最小発育阻止濃度 (MIC) を測定した。供試薬剤は、シプロフロキサシン (CPFX)、エンロフロキサシン (ENR)、マルボフロキサシン (MRB)、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)、テトラサイクリン (TC)、オキシテトラサイクリン (OTC)、アンピシリン (ABPC)、セファゾリン (CEZ)、クロラムフェニコール (CP)、フロルフエニコール (FF) 及びエリスロマイシン (EM) の 13 薬剤とした。ブレイクポイント (BP) は、CLSI のガイドラインで規定されている薬剤はその値を、それ以

表1 供試菌株及び検査成績

| 菌株 番号 | 分離 年度 | 用途 | 農場 | 由来 | 分離 日齢 | 導入元 | 同時に検出された 病原体 | 検査成績 | | | |
|----------|----------|----|----|------|----------|-----|-----------------------|------|------------------------------|--|-------------|
| | | | | | | | | 血清型 | 薬剤耐性 表現型(MIC) | 遺伝子型 | クラスター 解析 |
| 1 | 19 | 乳 | d | 鼻汁 | 40 | 自家 | - | 1 | | | 1a |
| 2 | 19 | 乳 | s | 鼻汁 | 122 | 自家 | - | 1 | | | 1b |
| 3 | 19 | 乳 | d | 肺病変 | 129 | 自家 | <i>Ureaplasma</i> sp. | 1 | | | 1a |
| 4 | 19 | 肉 | h | 鼻汁 | 142 | 不明 | Pm | 6 | SM | | 6a |
| 5 | 20 | 肉 | h | 鼻汁 | 174 | 新潟 | RS, Pm | 2 | | | 2e |
| 6 | 21 | 肉 | l | 鼻汁 | 113 | 岡山 | Ms | 1 | | | 1a |
| 7 | 21 | 乳 | e | 鼻汁 | 76 | 自家 | RS | 1 | | | 1a |
| 8 | 22 | 肉 | i | 鼻汁 | 154 | 県内 | RS, Pm | 2 | | | 2a |
| 9 | 22 | 肉 | q | 鼻汁 | 76 | 千葉 | Pm, Mb | 1 | ABPC | <i>bla_{ROB-1}</i> | 1d |
| 10 | 23 | 肉 | n | 鼻汁 | 86 | 岡山 | Mb, Ms | 6 | SM TC OTC ABPC | <i>strA, tet(H), bla_{ROB-1}</i> | 6b |
| 11 | 23 | 肉 | a | 肺病変 | 106 | 県内 | Ms | 2 | | | 2a |
| 12 | 23 | 乳 | b | 鼻汁 | 1192 | 自家 | - | 6 | SM | | 6a |
| 13 | 23 | 肉 | o | 鼻汁 | 51 | 岡山 | Pm, Mb, Ms | 2 | | | 2d |
| 14 | 23 | 肉 | f | 鼻汁 | 570 | 県内 | Pm, RS (同) | 2 | | | 2b |
| 15 | 23 | 肉 | p | 鼻汁 | 266 | 自家 | RS (同) | 2 | | | 2d |
| 16 | 24 | 肉 | o | 鼻汁 | 162 | 県内 | Pm, Ms | 6 | SM | <i>strA</i> | 6b |
| 17 | 24 | 肉 | m | 鼻汁 | 246 | 高知 | Ms | 2 | | | 2c |
| 18 | 25 | 肉 | o | 鼻汁 | 68 | 島根 | Ms | 6 | CPFX ENR MRB SM KM TC OTC CP | <i>strA, tet(H), catA III</i> | 6b |
| 19 | 27 | 乳 | u | 鼻汁 | 2825 | 自家 | - | 1 | | | 1a |
| 20 | 28 | 肉 | v | 鼻汁 | 110 | 県内 | Pm(同), Mb(同), Ms | 6 | SM KM TC OTC CP | <i>strA, tet(H), catA III</i> | 6a |
| 21 | 28 | 乳 | j | 鼻汁 | 2705 | 県内 | PIV3(同) | 1 | SM ABPC | <i>strA, bla_{ROB-1}</i> | 1e |
| 22 | 29 | 肉 | r | 鼻汁 | 52 | 岡山 | コロナ, PIV3(同) | 1 | | | 1a |
| 23 | 29 | 乳 | g | 鼻汁 | 1710 | 自家 | - | 1 | | | 1c |
| 24 | 30 | 肉 | c | 肺病変 | 131 | 自家 | - | 1 | | | 1a |
| 25 | 30 | 肉 | k | 耳内膿汁 | 256 | 秋田 | Mb | 6 | SM KM TC OTC ABPC CP | <i>strA, tet(H), bla_{ROB-1}, catA III</i> | 6a |
| 26 | 30 | 肉 | p | 鼻汁 | 140 | 島根 | RS(同) | 2 | | | 2c |
| 27 | 30 | 乳 | t | 鼻汁 | 1335 | 自家 | RS | 1 | ABPC | <i>bla_{ROB-1}</i> | 1d |

RS: 牛RSウイルス, PIV3: 牛パラインフルエンザウイルス3型, コロナ: 牛コロナウイルス,
Pm: *Pasteurella multocida*, Mb: *Mycoplasma bovis*, Ms: *Moraxella* sp., (同): 同居牛から検出

外は二峰性を示した MIC 分布の中間値とした。

II 薬剤耐性遺伝子保有状況調査

Iで耐性と判定した各菌株についてPCR法を用い、各薬剤をコードする特定の薬剤耐性遺伝子 *strA* (SM)¹¹⁾, *tet(H)* (テトラサイクリン系)¹²⁾, *bla_{ROB-1}* (ABPC)¹³⁾, *catA III* (CP)¹¹⁾ 保有状況を調査した。

3) パルスフィールドゲル電気泳動法 (PFGE) による遺伝子型別及びクラスター解析

勝田らの報告¹⁴⁾に基づき、制限酵素 Apa I により DNA を切断後、電圧 6V/cm、パルスタイム 1 - 10sec で 9 時間、その後 10 - 80sec で 11 時間泳動した。得られた DNA 像は、BioNumerics (Applied Maths, Ver.6.6) を用いて解析し、Dice 法 (最適化: 0.5%, トレランス: 1.0%) により相似係数を算出し、平均距離法 (UPGMA) により系統樹を作成した。

検査成績

供試菌株毎の検査成績を表1に示した。

1) 血清型別

全 27 株は血清型 1 型 (44.5%), 2 型 (29.6%), 6 型 (25.9%) に大別され、その他の血清型は認められなかった。全体では血清型 1 型が主であったが、牛の用途別では、乳用牛で 1 型 (88.9%) 及び 6 型

(11.1%) の 2 種の血清型、肉用牛では 1 型 (22.2%), 2 型 (44.5%) 及び 6 型 (33.3%) の 3 種の血清型を確認した (図 1)。

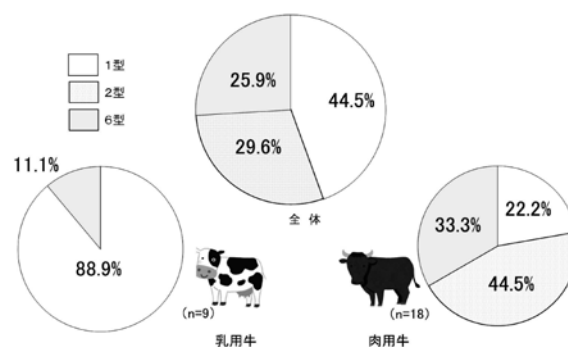


図1 血清型別 (畜種別)

呼吸器病原菌として単独に分離されたのは、血清型 1 型の 5 株及び 6 型の 1 株で、その他の株はウイルスやマイコプラズマ属菌を含む他の細菌と同時に分離、または同一牛群内において他の病原体の流行が認められた (表 2)。

2) 薬剤耐性状況調査

全株とも感受性であったのは、CEZ 及び FF の 2 薬剤のみで、CPFX, ENR, MRB, SM, KM, TC, OTC, ABPC, CP の 10 薬剤にはいずれも耐性を示す株が認められ、MIC 値が二峰性に分布した。フル

オロキノロン系薬剤の3種類に耐性を示す株を1株認め、そのMIC値は4または8 $\mu\text{g/ml}$ であった。血清型毎のMIC50及びMIC90値は、血清型2型が低く、6型で高い傾向にあった(表3, 4)。

全27株中薬剤耐性を示した株は10株で、血清型1型及び6型の株に限局した(表4)。このうち多剤耐性株は、平成23年度以降に分離された5株で、2薬剤

耐性の乳用牛由来血清型1型が1株と、4~8薬剤耐性の肉用牛由来血清型6型が4株であった(表1, 4)。

薬剤耐性遺伝子 *strA*, *tet(H)*, *bla_{ROB-1}*, *catA III* は、平成22年度以降に分離された単剤耐性株、多剤耐性株のどちらからも検出され、表現型(MIC)と概ね一致した。特に、平成24年度以降の分離株では、表現型と遺伝子型が完全に対応していた(表1, 4)。

表2 血清型別 (混合感染の有無)

| 血清型 | 単独検出 | 混合感染* | | |
|-----|------|-------|-----------|------|
| | | ウイルス | ウイルス+細菌** | 細菌** |
| 1 | 5 | 4 | | 3 |
| 2 | | 2 | 3 | 3 |
| 6 | 1 | | | 6 |
| 計 | 6 | 6 | 3 | 12 |

(株)

* 当該牛又は同居牛から検出された症例
** マイコプラズマ及びウレアプラズマ属菌を含む

表3 *M. haemolytica* の最小発育阻止濃度

| | ≤ 0.03 0.06 0.125 0.25 0.5 1 2 4 8 16 32 64 128 >128 | | | | | | | | | | | | 全体 | | 血清型1型 | | 血清型2型 | | 血清型6型 | | | |
|-------|---|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------------|-------|-------------|-------|-------------|-------------|-------------|-------------|---|
| | MIC50 | MIC90 | MIC50 | MIC90 | MIC50 | MIC90 | MIC50 | MIC90 | MIC50 | MIC90 | MIC50 | MIC90 | MIC50 | MIC90 | MIC50 | MIC90 | MIC50 | MIC90 | | | | |
| CPFX* | 23 | 3 | | | | | | 1 | | | | | | ≤ 0.03 | 0.125 | ≤ 0.03 | 0.125 | ≤ 0.03 | ≤ 0.03 | ≤ 0.03 | ≤ 0.03 | 4 |
| ENR* | 19 | 4 | 2 | 1 | | | | 1 | | | | | | ≤ 0.03 | 0.25 | ≤ 0.03 | 0.25 | ≤ 0.03 | ≤ 0.03 | 0.06 | 8 | |
| MRB* | 23 | | 2 | 1 | | | | 1 | | | | | | ≤ 0.03 | 0.25 | ≤ 0.03 | 0.125 | ≤ 0.03 | ≤ 0.03 | ≤ 0.03 | 8 | |

| | ≤ 0.125 0.25 0.5 1 2 4 8 16 32 64 128 >128 | | | | | | | | | | | | 全体 | | 血清型1型 | | 血清型2型 | | 血清型6型 | | |
|-------|---|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|--------------|-------|------|------|
| | MIC50 | MIC90 | MIC50 | MIC90 | MIC50 | MIC90 | MIC50 | MIC90 | MIC50 | MIC90 | MIC50 | MIC90 | MIC50 | MIC90 | MIC50 | MIC90 | MIC50 | MIC90 | | | |
| SM** | | | | | | | 3 | 15 | 1 | | | | 8 | 16 | >128 | 16 | 32 | 16 | 16 | >128 | >128 |
| KM* | | | | | 1 | | 18 | 5 | | | | | 3 | 8 | >128 | 8 | 16 | 8 | 8 | 8 | >128 |
| GM* | | | 3 | 10 | | 14 | | | | | | | | 4 | 4 | 4 | 4 | 2 | 2 | 4 | 4 |
| TC* | | 6 | 16 | 1 | | | | 3 | 1 | | | | | 0.5 | 16 | 0.5 | 0.5 | 0.5 | 0.5 | 16 | 32 |
| OTC** | 11 | 12 | | | | | | 1 | 2 | 1 | | | | 0.25 | 32 | 0.25 | 0.25 | ≤ 0.125 | 0.25 | 16 | 64 |
| ABPC* | 6 | 16 | | | | | | | | 3 | 1 | 1 | | 0.25 | 32 | 0.25 | 32 | 0.25 | 0.25 | 0.25 | >128 |
| CEZ* | 1 | | 14 | 12 | | | | | | | | | | 0.5 | 1 | 0.5 | 0.5 | 1 | 1 | 1 | 1 |
| CP* | | | 6 | 18 | | | | | 1 | 2 | | | | 1 | 16 | 1 | 1 | 0.5 | 1 | 1 | 32 |
| FF* | | | 7 | 19 | 1 | | | | | | | | | 1 | 1 | 1 | 1 | 0.5 | 1 | 1 | 2 |
| EM* | | | | 1 | 3 | 23 | | | | | | | | 4 | 4 | 4 | 4 | 4 | 4 | 4 | 4 |

(株) MIC ($\mu\text{g/ml}$) 太線:BP * CLSI規定 ** 2峰性を示した中間をBPとした

表4 薬剤耐性パターン

| 血清型 | 薬剤耐性 | | 由来畜種(株数) | |
|-----|------------------------------|--|----------|-----|
| | 表現型(MIC) | 遺伝子型 | 乳用牛 | 肉用牛 |
| | 感受性 | | 6 | 3 |
| 1 | ABPC | <i>bla_{ROB-1}</i> | 1 | 1 |
| | SM ABPC | <i>strA bla_{ROB-1}</i> | 1 | |
| | 感受性 | | | 8 |
| 6 | SM | | 1 | 1 |
| | SM | <i>strA</i> | | 1 |
| | SM TC OTC ABPC | <i>strA tet(H) bla_{ROB-1}</i> | | 1 |
| | SM KM TC OTC CP | <i>strA tet(H) catA III</i> | | 1 |
| | SM KM TC OTC ABPC CP | <i>strA tet(H) bla_{ROB-1}, catA III</i> | | 1 |
| | CPFX ENR MRB SM KM TC OTC CP | <i>strA tet(H) catA III</i> | | 1 |

3) パルスフィールドゲル電気泳動法 (PFGE) による遺伝子型別及びクラスター解析

PFGE の遺伝子型は全 12 型に細分されたが、系統樹解析において各血清型毎に特有のクラスター、すなわち、血清型 1 型及び 2 型は 1 (または 2) a~e の 5 クラスター、6 型は 6a 及び 6b の 2 クラスターを形成した。一番多かったのは 7 株が属したクラスター 1a で、分離年度や由来畜種及び農場に一定の傾向は認められなかった。薬剤耐性を示した 10 株は、血清型 1 型に属するクラスター 1d 及び 1e と、血清型 6 型に属するクラスター 6a 及び 6b に限局していた (図 2)。

考 察

BRDC 原因菌の中でも、ロイコトキシンを産生する Mh は、単独感染による肺炎・斃死例が多く農家にとって経済的な影響が大きいことから、予防は元より、疾病発生時の適切な抗菌薬使用による管理が重要視されている³⁾。それには、地域に流行している株の血清型や薬剤耐性状況等を把握する必要があるため、今回、改めて県内流行株の実態を精査した。

広島県内全体では、既報^{4, 7)}と同様に従来から主流血清型とされている血清型 1 型の、主にクラスター 1a に属する株が、牛の用途や分離年度を問わず散発的に検出されており、県内に広く浸潤しているものと

考えられた。一方、牛の用途毎の傾向は若干異なり、乳用牛由来株では血清型 1 型を主に 6 型が、肉用牛では血清型 2 型が半数近くを占めた。このうち乳用牛由来株については、高木ら⁵⁾の北海道における分布状況 (乳用牛由来株 血清型 1 型: 81.8%, 6 型: 18.2%) と類似しており、全国的にも乳用牛群においては、血清型 1 型が主流株として浸潤しているものと推察された。一方、肉用牛由来株では、本県のように血清型 2 型が多数を占めた報告は見当たらず、高木らの報告⁵⁾においても血清型 6 型が主流株 (50%) で、2 型の分離は 3.6% に過ぎなかった。本県の分離状況が他と異なった正確な理由は不明であるが、我々の検索が鼻汁由来株中心であったことを考慮すると、BRDC で他の病原体に付随して増菌した鼻腔内の常在株を検出した可能性が高いと考えられた。血清型 2 型は、健康牛からの分離頻度が高く、BRDC 発症牛からはあまり分離されないことから、従来非病原性株と考えられている⁶⁾。今回の我々のデータにおいても、血清型 1 型及び 6 型については単独分離例を認めたが、2 型の分離は混合感染事例のみであったことから、2 型単独での起病性は低いと考えられた。しかし、症例数は少ないが子牛の肺炎¹⁵⁾や膈帯炎¹⁶⁾等に関与した報告も散見されている。本報告においても、1 株のみであるが肺病変由来株 (菌株番号 11) を認めたことから、血清型 2 型であっても、肺胞内や組織内に侵入した際には病原性を発揮する可能性が

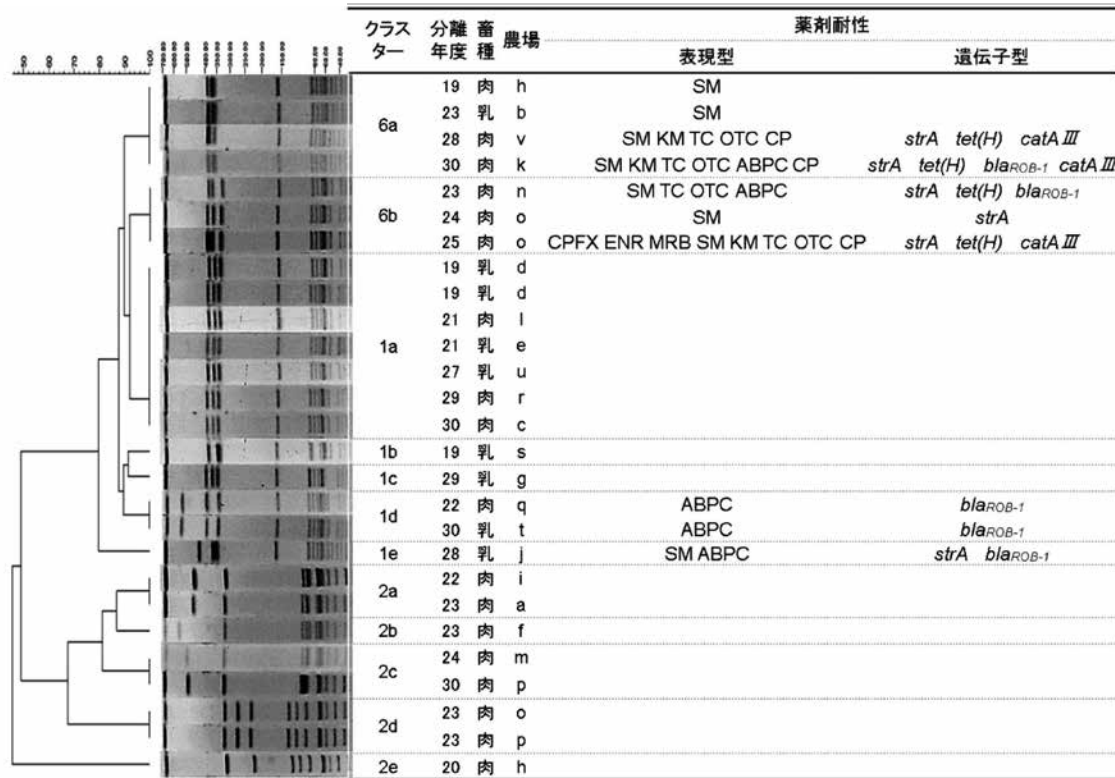


図2 系統樹及び疫学解析

示唆され、必ずしもリスクを無視できないものと考えられた。

Mh は、*Pasteurella multocida* や *Histophilus somni* 等の呼吸器病原菌に比べ、薬剤耐性率が高い傾向にあると報告されている^{11, 17, 18, 19)}。一般的に薬剤耐性は、抗菌薬に対する標的遺伝子の変異や、外部からの薬剤耐性遺伝子の導入により獲得すると考えられているが、後者に起因した薬剤耐性株は、同一環境に存在する他の菌に耐性遺伝子を拡散するリスクが高いことから、特に問題視されている。今回、我々は県内分離株の薬剤耐性の機序を確認するため、MICで耐性株と判定したうちの4種類の薬剤をコードする薬剤耐性遺伝子 *strA*, *tet(H)*, *bla_{ROB-1}*, *catA III* 保有状況を検索した。その結果、表現型 (MIC) と遺伝子型は概ね対応し、特に、平成24年度以降の分離株では完全に一致していたことから、近年本県で分離される Mh 薬剤耐性株は、これら特定の薬剤耐性遺伝子に起因し耐性獲得した株であると考えられた。また、今回ターゲットとした4種類の薬剤耐性遺伝子は、いずれも Mh のプラスミド或いは、トランスポゾン上に存在すると報告¹⁸⁾されている遺伝子であることから、前述した耐性遺伝子拡散リスクの高い株であると考えられた。薬剤耐性の表現型と遺伝子型を比較した、まとまったデータは少ないが、Klima ら⁶⁾ や Alexander ら¹²⁾ の報告において、我々と同様に、アミノグリコシド系 (*aphA*)、テトラサイクリン系 (*tet(H)*)、β-ラクタムのペニシリン系 (*bla_{ROB-1}*) の薬剤耐性に関わる表現型と遺伝子型が対応したデータが示されている。これらのことから、広島県内の株のみならず、Mh の一般的な薬剤耐性獲得に、プラスミドやトランスポゾン等の薬剤耐性遺伝子の導入が関係していると推察され、Mh 自体が耐性遺伝子獲得・拡散リスクの高い菌種であることが示唆された。Mh の薬剤耐性の機序には、プラスミド等による薬剤耐性遺伝子獲得の他にも、GyrA 或いは ParC タンパクの変異によるフルオロキノロン系薬剤耐性が Ozawa らにより報告¹⁹⁾されている。本県において認められたフルオロキノロン系薬剤に耐性の1株は、ENRのMIC値が8μg/mlとOzawaらの報告した株と耐性状況が類似していたことから、同様のタンパク変異株の可能性も考えられた。フルオロキノロン系薬剤は、臨床現場において、一次選択薬が効かなかった際の二次または三次選択薬として使用される切り札的な抗菌薬であり、分離菌が本抗菌薬に感受性株か否か、治療面からも重要視される。今後もフルオロキノロン系薬剤を含む Mh 薬剤耐性動向の把握に努めると共に、その機序について分析し、臨床現場へ情報提供していきたいと考えている。

本県の薬剤耐性株は、血清型1型及び6型のみ認められ、特定の遺伝子集団 (クラスター) に限局していたことから、血清型或いは特定の遺伝子集団にお

いて、耐性遺伝子を獲得・保持、または変異しやすい何らかの要因があるのではないかと推察された。しかし、Mh の血清型、薬剤耐性状況の表現型と遺伝子型の比較、PFGEによる遺伝子型別を包括的に実施・分析した報告^{6, 12)}は少なく、それぞれの供試菌株数も少ないことから、この裏づけには、より多くのデータ蓄積が必要と考えられた。また、本県の薬剤耐性株は、血清型1型よりも6型が、乳用牛由来株よりも肉用牛由来株の方が、より多剤耐性の傾向が強く、すなわち、血清型6型の肉用牛由来株において多剤耐性のリスクが高い状況にあると考えられた。肉用牛では牛の移動が頻繁にあるため、新たな菌の侵入・拡散リスクが高い。また、農場毎の管理方法が異なるため、牛にとって環境ストレスが強く、BRDCを発症しやすい状況にあると考えられる。さらに、移動の際にはウェルカム・ショットとして抗菌薬の予防的使用が行われることが多く、使用されている薬剤も農場毎で異なることから、意図せず肉用牛群内において薬剤の選択圧が発生していると推測される。本県を含め、国内外で血清型6型多剤耐性株が散発し問題となっているのは、このような背景によるものと考えられた。一般的に、Mh のコントロールにはワクチネーションや抗菌薬が用いられているが、国内で販売されている Mh ワクチンは基本的に血清型1型を標的¹⁾としており2型や6型への効果は不明である。また、抗菌薬に関しては、供試した全株に感受性を示したCEZ及びFFにおいて治療効果は期待できるものの、予防的な使用は薬剤の選択圧を誘導するリスクがあることから望ましくないと考える。そのため、基本的には、抗菌薬に頼らない飼養管理面での対策、例えば導入牛や病牛の一時係留場所の設置、担当者の作業動線徹底等の重要性を啓発する必要があると考えられた。やむを得ず予防的な使用が必要となる際には、地域や農場内浸潤株の薬剤耐性状況を把握した上で使用薬剤を決定し、耐性状況のモニタリングを行い、使用薬剤の効果やリスクを評価することが望ましいと考えられる。これらのことは、我々家畜保健衛生所の責務の一つと考えている。

謝 辞

Mannheimia haemolytica の菌株同定にご助言頂きました国立研究開発法人農業・食品産業技術総合研究機構 動物衛生研究部門の星野尾歌織先生、並びにクラスター解析にご助言頂きました広島県立総合技術研究所保健環境センターの増田加奈子先生に深謝いたします。

文 献

- 1) 永井英貴：—日本で使用されている動物用ワクチン（Ⅶ）—牛用ワクチンの概説 8 マンヘミア・ヘモリチカ（1型）感染症ワクチン（不活化・混合不活化ワクチン）及びパスツレラ・ムルトシダ感染症ワクチン（3種混合不活化ワクチン），日獣会誌，63，750-753（2010）
- 2) Cravens,R.L.: アメリカにおける牛呼吸器病症候群の現状と対策，臨床獣医. 22（6），15-19（2004）
- 3) 富永潔：牛呼吸器病症候群（BRDC）の概説およびわが国のBRDCにおける *Mannheimia (Pasteurella) haemolytica* の認識の重要性，臨床獣医. 22（6），10-14（2004）
- 4) 田中伸一，岩隈昭裕：牛呼吸器病症候群（BRDC）とその対策，臨床獣医. 24（9），12-18（2006）
- 5) 高木裕子ほか：北海道十勝管内の牛から分離された *Mannheimia haemolytica* の血清型別，薬剤感受性試験，パルスフィールドゲル電気泳動を用いた疫学的検討，日獣会誌 64，215-220（2011）
- 6) Klima, C. L., et al: Characterization of *Mannheimia haemolytica* isolated from feedlot cattle that were healthy or treated for bovine respiratory disease, Can J Vet Res., 78, 38-45（2014）
- 7) 勝田 賢：牛呼吸器主要原因菌 *Mananheimia haemolytica* の薬剤感受性について，日本家畜臨床感染症研究会誌，5（2），33-39（2010）
- 8) Alexander, T. W., et al: A multiplex polymerase chain reaction assay for the identification of *Mannheimia haemolytica*, *Mannheimia glucosida* and *Mannheimia ruminalis*, Vet. Microbiol. , 130, 165-175（2008）
- 9) Klima, C. L., et al: A multiplex PCR assay for molecular capsular serotyping of *Mannheimia haemolytica* serotype 1, 2, and 6, J Microbiol Methods, 139, 155-160（2017）
- 10) Watts, J. L., et al: Performance Standards for Antimicrobial Disk and Dilution Susceptibility Tests for Bacteria Isolated From Animals; Approved Standard-Third Edition, M31-A3, Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI), Wayne, USA（2008）
- 11) Kehrenberg, C. and Schwarz, S.: Occurrence and linkage of genes coding for resistance to sulfonamides, streptomycin and chloramphenicol in bacteria of the genera *Pasteurella* and *Mannheimia*, FEMS Microbiology Letters, 205, 283-290（2001）
- 12) Alexander, T. W., et al: Susceptibility to tulathromycin in *Mannheimia haemolytica*, isolated from feedlot cattle over a 3-year period, Frontiers in Microbiology, 4, 1-8（2013）
- 13) Sriver, S.R., et al: Determination of antimicrobial susceptibilities of Canadian isolates of *Haemophilus influenzae* and characterization of their β -lactamases, Antimicrobial Agents and Chemotherapy, 38, 1678-1680（1994）
- 14) Katsuda, K., et al: Molecular typing of *Mannheimia (Pasteurella) haemolytica* serotype A1 isolates from cattle in Japan, Epidemiol. Infect., 131, 939-946（2003）
- 15) 小池絵理子ほか：子牛の *Mannheimia haemolytica* 血清型 2 型による壊死性繊維索性胸膜肺炎の一症例，埼玉県調査研究成績報告書（家畜保健衛生業績発表収録），第 60 報，37-44（2018）
- 16) 原田奈美香：牛の *Mannheimia haemolytica* 血清型 2 型による化膿性繊維索性臍帯動脈周囲炎，日獣会誌，71，575（2018）
- 17) 小池新平ほか：栃木県で過去 16 年間に分離された牛呼吸器病原菌の薬剤感受性調査，日獣会誌，62，533-537（2009）
- 18) Kehrenberg, C., et al: Antimicrobial resistance in *Pasteurella* and *Mannheimia* : epidemiology and genetic basis, Vet. Res., 32, 323-339（2001）
- 19) Ozawa, M., et al: Mutations in GyrA and ParC in Fluoroquinolone-Resistant *Mannheimia haemolytica* Isolates from Cattle in Japan, J. Vet. Med. Sci., 71（4），493-494（2009）

黒毛和種の真菌性胎盤炎による流産事例

細川久美子 河村美登里 石浦 英文

(受付：令和2年1月14日)

A case of bovine abortion due to fungal placentitis in Japanese Black cattle

KUMIKO HOSOKAWA, MIDORI KAWAMURA and HIDEFUMI ISHIURA

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

SUMMARY

In July 2018, a primigravid cow introduced to a wagyu-breeding farm in Hiroshima Prefecture had abortion without signs. As a result of pathological appraisal, fungi of the genus *Saccharomyces* were isolated from the lesion, but histopathological morphological comparison and immunohistochemical staining of the fungi revealed that the majority of fungi involved in lesion formation were zygomycetes, and a diagnosis of fungal placentitis due to zygomycetes was made.

— Key words: Japanese Black cattle, fungal placentitis, abortion

要 約

2018年7月、広島県内の和牛繁殖農場において、導入した初妊牛が兆候なく流産した。病性鑑定の結果、病変部から *Saccharomyces* 属真菌が分離されたが病理組織学的検査による真菌の形態比較と免疫組織化学的染色の結果、病変形成に関与した多くの真菌は接合菌であったと判明し、接合菌による真菌性胎盤炎と診断した。

— キーワード：黒毛和種、真菌性胎盤炎、流産

序 文

真菌性胎盤炎はアスペルギルス属菌や接合菌が原因で起こる胎盤炎で、胎盤の肉眼病変は主に絨毛叢の腫大、脆弱化、尿膜絨毛膜の皮革様変化などブルセラ病に類似し、組織学的には壊死性胎盤炎や血管炎等が認められ、胎子病変は真菌による皮膚炎等、皮膚に限局することが特徴的である^{1), 2)}。診断には病原真菌の分離を伴うことが望ましいが、真菌の多くは環境中に広く存在するため、コンタミネーションとの鑑別が必要となる。2018年7月、広島県内の和牛繁殖農場で真菌性胎盤炎による流産事例に遭遇し、分離真菌と組織切片上で認められた真菌の形態比較や免疫組織化学的染色(免疫染色)によって診断した事例を報告する。

材料と方法

1 材料

和牛繁殖農場の導入牛、約28カ月齢(約22カ月齢で種付け後導入)、兆候なく流産した初妊牛の胎盤及び流産胎子(胎齢202日齢、雌)。胎盤は自然排出、胎盤及び流産胎子は室温(地域温度22.8から33.6℃:気象庁記録)で20時間以上保管されていた。

2 方法

1) 農場調査

臨床経過及び所見を聞き取り、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、常法に従いパラフィン包埋、切片を作製、ヘマトキシリン・エオジン(HE)染色、過ヨウ素酸シッフ(PAS)反応、グロコット染色及びグラム染色を実施した。

3) 細菌学的検査

胎盤、胎子の脳、心臓、肺、肝臓、脾臓、腎臓、胃内容物及び皮膚を用いて、一般細菌(5%羊血液加寒天培地、37℃、48時間、嫌気培養)、腸内細菌(DHL寒天培地、37℃、24時間、好気培養)及びカンピロバクター属菌(Skirrow培地、37℃、5日間、微好気培養)について分離培養を実施した。

4) 真菌学的検査

自家調製したサブロー・デキストロース寒天(SDA)液体培地で37℃3~4日間増菌後、同条件下でSDA寒天培地で分離培養、単分離された真菌について、スライドカルチャー法による形態学的検査及び温度による発育性の違いを確認した。菌種の同定は国立研究開発法人農業・食品産業技術総合研究機構動物衛生研究部門(動衛部門)に依頼し、形態学的検査とダイレクトシーケンシング法による、リボソームDNAのInternal Transcribed Spacer(ITS)領域遺伝子の塩

基配列の解析³⁾を実施した。

5) 原因真菌の鑑別

SDA培地に分離真菌を接種、培養した後、真菌の上から寒天を重層して封じ込め、寒天と共に真菌を切り出し、ホルマリン固定後、常法に従いパラフィン包埋、HE染色を実施し、分離された真菌と病態に関与した真菌の形態比較を行った。免疫染色は胎盤及び流産胎子の皮膚のパラフィン切片を用い、動衛部門に依頼した。一次抗体は抗*Candida albicans*ウサギポリクローナル抗体(動衛部門)、抗*Rhizomucor*マウスモノクローナル抗体(動衛部門)及び抗*Aspergillus*マウスモノクローナル抗体(動衛部門)を使用した。

6) 生化学的検査

母牛血清を用いて、血清中のアルブミン濃度(Alb)、グルタミン酸オキサロ酢酸トランスアミナーゼ活性(GOT)、血中尿素態窒素濃度(BUN)、クレアチンフォスフォキナーゼ活性(CPK)、総コレステロール濃度(T-Cho)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接種済みであり、流産前後に発熱などの異常は認められなかった。農場に飼料変更や飼料の腐敗などは認められなかった。

2 病理解剖所見(写真1)

流産胎子の頭尾長は54cm、7.2kg、き甲から臀部にかけての皮膚に辺縁不明で直径約0.5から1.5cm大の灰白色斑が多発していた。排出された胎盤の尿膜絨毛膜は水腫性で、表面は皮革様を呈していた。絨毛叢は腫大し、辺縁が隆起して中央はへこんでいた。

3 病理組織所見

胎盤の絨毛は壊死と死後変化で好酸性を増し、尿膜絨毛膜は水腫性で血管には血栓の形成、血管壁への炎



写真1 流産胎子及び胎盤

症細胞浸潤が認められた(写真2)。絨毛膜絨毛上皮は変性・壊死・剥離しており、多くの真菌が認められた(写真3)。剥離上皮と共にグラム陽性桿菌も散見された。胎盤に認められた真菌はまれに隔壁を持ち、1.5から10 μ mと様々な太さの菌糸があり、分岐の角度や菌糸の伸び方なども多様であった。

胎子の灰白色斑が認められた皮膚の角質層には変性した好中球などの炎症細胞と幅10 μ m前後の菌糸が認められた(写真4)。胎子の肺胞はやや拡張し、胎便などの吸引や軽度の好中球浸潤が認められた。グラム陽性桿菌は肺胞腔より小葉間結合組織で多く認められたが、小葉間結合組織における炎症反応は乏しく、その他の臓器に病変は認められなかった。

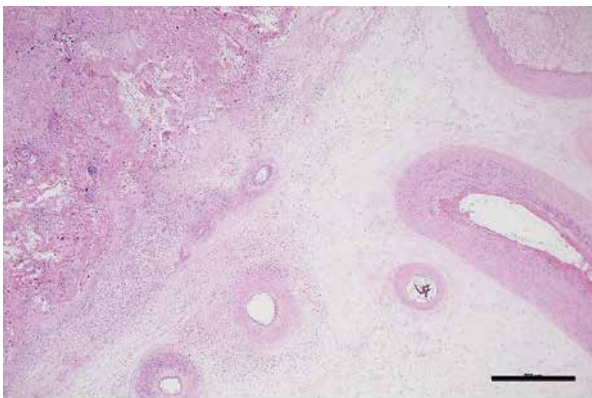


写真2 胎盤, HE染色 (Bar=500 μ m)

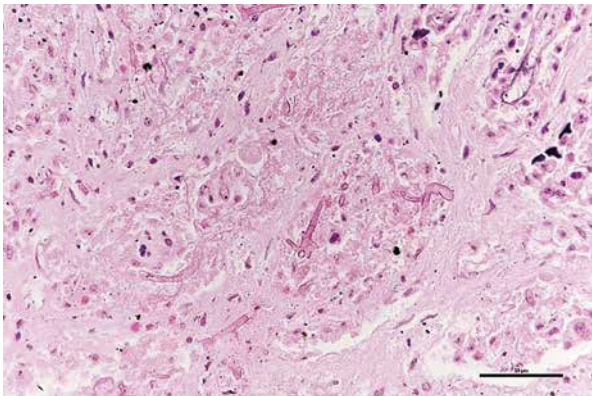


写真3 胎盤, 菌糸, HE染色 (Bar=50 μ m)

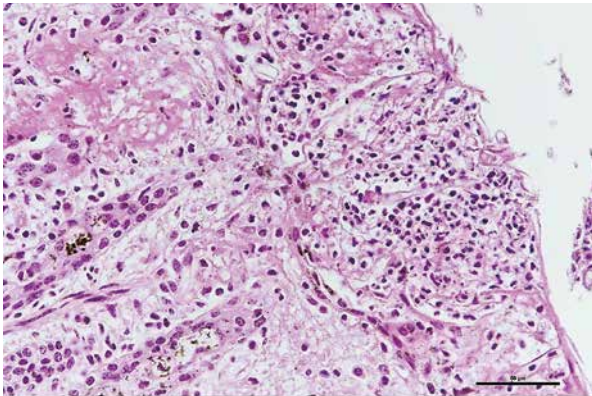


写真4 流産胎子の皮膚, HE染色 (Bar=50 μ m)

4 細菌学的検査(表1)

細菌分離では、胎子の臓器から *Paeniclostridium sordellii* が純培養状に、胎盤及び胎子皮膚からは *P. sordellii* とその他の *Clostridium* 属菌が分離された。

5 真菌学的検査

真菌分離では、胎盤及び皮膚から隔壁を持ち多形性のある真菌が分離された。培地の栄養や温度によって、酵母様、バルーン様、鹿の角状など、異なる形態を示す真菌であった(写真5)。

胎盤由来及び胎子皮膚由来株のPCR産物をダイレクトシークエンスに供した結果、解析可能な塩基配列が得られ、塩基配列を The Basic Local Alignment Search Tool (BLAST) (<https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>) により解析したが、タイプマテリアルのデータ中に該当真菌種は認められなかった。しかし、候補として挙がってくる結果は、*Saccharomycopsis* 属真菌のみであったため、*Saccharomycopsis* 属真菌の可能性が高いと考えられた。これらの結果及び形態から分離された真菌は *Saccharomycopsis* 属と同定された。

また、解析結果から胎盤由来と胎子皮膚由来株の由来は同一であると判明した。タイプマテリアルのデータ中に該当真菌種が認められなかったため、この真菌は新種である可能性が示唆された。

表1 細菌学的検査結果

| 分離部位 | 分離菌 | (菌量: cfu/g) |
|------|-----------------------------------|------------------------------|
| 脳 | <i>Paeniclostridium sordellii</i> | >10 ⁴ |
| 心臓 | " | 5.0 \times 10 ² |
| 肺 | " | 4.0 \times 10 ⁶ |
| 肝臓 | " | >10 ⁴ |
| 腎臓 | " | >10 ⁴ |
| 胎盤 | <i>Paeniclostridium sordellii</i> | 9.9 \times 10 ⁵ |
| | <i>Clostridium perfringens</i> | 1.1 \times 10 ⁶ |
| 皮膚 | <i>Clostridium glycolicum</i> | 3.6 \times 10 ⁵ |
| | <i>Paeniclostridium sordellii</i> | >10 ⁷ |
| | <i>Clostridium glycolicum</i> | 3.2 \times 10 ⁶ |

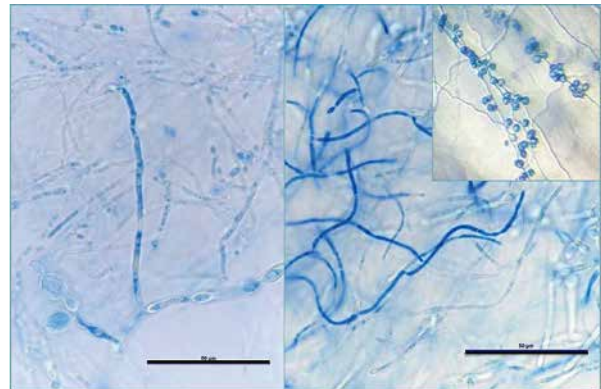


写真5 楽とフェノールコットンブルー染色 (Bar=50 μ m)

6 原因真菌の鑑別

寒天包埋を実施した分離真菌との比較では、病変部の一部で非常に形態が類似した菌糸も認められたものの、ほぼ全ての菌糸は分離された真菌より3から8μmほど太かった(写真6)。免疫染色では、胎盤や胎子皮膚に認められた真菌は、抗*Rhizomucor*抗体に陽性反応を示した。一方、分離された真菌は抗*Aspergillus*抗体、抗*Rhizomucor*抗体及び抗*Candida albicans*抗体に反応しなかった。

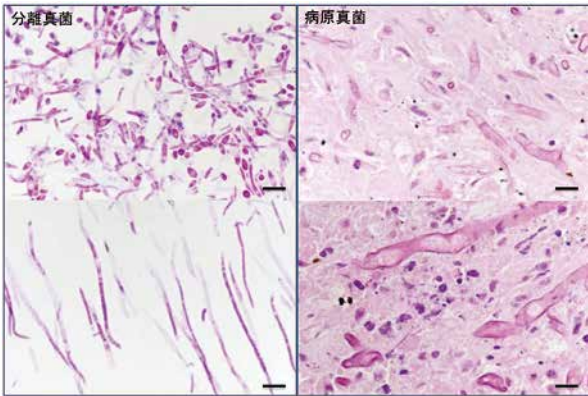


写真6 分離真菌と病原真菌の比較, HE染色 (Bar=10μm)

7 生化学的検査

T-Chol が基準値より低値であり、母牛の栄養不足が示唆された(表2)。

表2 母牛の血液生化学検査結果

| | Alb(g/dl) | GOT(U/l) | BUN(mg/dl) | CPK(U/l) | T-Chol(mg/dl) |
|-----|-----------|----------|------------|----------|---------------|
| 測定値 | 3.2 | 55 | 6.8 | 69 | 78 |
| 基準値 | 3.0~3.6 | 45~110 | 10~25 | 4.8~12.1 | 100~180 |

※ 基準値は獣医内科学大動物編第1版, 文永堂出版(株)を参照

まとめ及び考察

本症例は、肉眼及び組織所見から真菌性胎盤炎と診断し、真菌が確認された臓器から純培養状に*Saccharomycopsis*属真菌が分離されたため、当初、この真菌が病態に関与したと考えられていた。しかし、胎盤炎や胎子の皮膚炎で認められた多くの真菌は、*Saccharomycopsis*属真菌とは形態的に異なっていた。確認のための免疫染色では、病原と考えられた真菌は抗*Rhizomucor*抗体に陽性反応を示したため、接合菌であると判定した。組織標本では、わずかに*Saccharomycopsis*属真菌と形態が類似した菌糸が確認されたものの、分離された*Saccharomycopsis*属真菌は、実施した免疫染色では、どの抗体にも陽性反応を示さない真菌であったため、病態への関与は不明であった。

胎子や胎盤から分離されたクロストリジウム属菌は検査材料が夏季の常温で保管されていたことや菌に対

する炎症反応が乏しかったことから、死後増殖と考えられた。

真菌性疾患の多くは日和見感染であり、宿主の免疫機能の低下が原因となる^{4), 5)}。母牛は導入された初妊牛であり、血液検査の結果から軽度の栄養不良が認められたため、環境の変化や暑熱などのストレスから免疫力が低下していた可能性があった。真菌性胎盤炎の原因としてカビの多い乾草の給与がリスクとして報告されている²⁾が、本症例では確認されず、感染経路は不明であった。

真菌性疾患の診断は病理組織学的に病変部に真菌が確認されること、病変部からの真菌分離、分離された真菌と病変部で確認された真菌の形態的特徴の一致が診断において重要となってくるが、病性鑑定時には必ずしも適切な材料の採取、保管がなされるとは限らず、環境中に広く分布する真菌などの病原体分離は常にコンタミネーションに注意が必要となり、加えて分離真菌が疾病の原因菌であるか否かの鑑別が重要となる。今回は、分離された*Saccharomycopsis*属真菌を病性鑑定材料と同様に処理し詳細に比較した事と、免疫染色を実施したことで正確に診断することが出来た。

謝 辞

真菌の遺伝子解析及び同定を実施して頂いた動物衛生研究部門、花房先生と免疫染色を実施して頂いた芝原先生に深謝します。

文 献

- 1) 動物病理学各論第2版, 日本獣医病理学会編, 文永堂出版株式会社, 東京 (2010)
- 2) Piancastelli, C. et al.: Isolation and characterization of a strain of *Lichtheimia corymbifera* (ex *Absidia corymbifera*) from a case of bovine abortion., *Reproductive Biology and Endocrinology.*, 7:138(2009)
- 3) T. J. White, et al.: Amplification and Direct Sequencing of Fungal Ribosomal RNA Genes for Phylogenetics. I. Innis, Michael A, (eds), *PCR protocols*, London: Academic Press, 1990; 315-322.
- 4) 滝澤亮ほか: 黒毛和種若齢子牛に発生した深在性真菌症, 平成24年度大分県家畜保健衛生並びに畜産関係業績発表会集録
- 5) Nishimura, M. et al.: Zygomycotic Mediastinal Lymphadenitis in Beef Cattle with Ruminal Tympany, *J. Vet. Med. Sci.*, 76(1), 123-127(2014)

鎮静下での精査を実施したヨツユビハリネズミ
(*Atelerix albiventris*) の 32 症例

大園幸志郎

(受付：令和元年 12 月 27 日)

32 cases of *Atelerix albiventris* examined under sedation

KOUSHIRO OZONO

OZ Animal Hospital

7-13-16, Minamikanon, Nishi-ku, Hiroshima, 733-0035

SUMMARY

The *Atelerix albiventris* (hedgehog) is a small animal recently kept as a pet in increasing numbers. In veterinary medicine, not many animals are cooperative with examinations, but hedgehogs are particularly difficult to examine because they are often timid and take a unique defensive posture. Therefore, for examinations that require restriction of movement, such as blood tests and X-ray, they are usually sedated at our hospital. We investigated the chief complaints, sex, age, treatments given, definitive and tentative diagnoses, and outcomes for 32 hedgehogs brought to our hospital and examined under sedation. All hedgehogs were sedated by inhalation of isoflurane, and blood tests and X-ray examination were attempted. The animals ranged in age from 3 months to 5 years and 5 months, but the age was not documented for 6 animals. Definitive and tentative diagnoses were made for 28 of the 32 animals. The main symptom varied in males, but was most frequently genital bleeding in females (8 animals). Endometrial tumors, which frequently cause genital bleeding, are often benign, but the possibility of them gradually causing diseases, such as endometriosis and pyometra, with age was suggested. Regarding oral tumors, the disappearance of bone shadows was noted on X-ray examination in 2 animals with squamous cell carcinoma. As the history of hedgehogs kept as pets is short, it is considered necessary to accumulate cases for the future.

— Key words: *Atelerix albiventris*

要 約

ヨツユビハリネズミ（以下、ハリネズミとする）は、近年ペットとして飼育頭数が増えている小動物である。獣医療において、検査に協力的な動物は多くないが、ハリネズミは臆病な個体が多く、独特の防御姿勢をとることもあって、診察が容易でなく、血液検査やX線検査などの保定を必要とする検査を行う場合、当院では鎮静下で実施する場合はほとんどである。当院に来院し、鎮静下で検査を行なったハリネズミ 32 例について、主訴、性別、年齢、実施した治療、診断および仮診断、予後を調査した。全例においてイソフルランによる吸入麻酔で鎮静を実施し、血液検査、X線検査を試みた。年齢は3カ月齢から5歳5カ月齢までであり、6例は年齢の記載がなかった。確定診断および仮診断に至ったものは32例中28例であり、4例では診断に至らなかった。主訴は、オスでは様々であったがメスでは陰部出血が最も多く、8例であった。陰部出血の原因となる子宮内膜の腫瘍は良性であることが多いが、経年とともに子宮内膜炎や子宮蓄膿症のような病態に陥るといった可能性が示唆された。また、口腔内腫瘍では扁平上皮癌の場合、骨陰影の消失がX線検査で2例中2例で認められた。ハリネズミはペットとしての歴史が浅く、今後も症例の蓄積に努めて行く必要があると思われる。

—キーワード：ヨツユビハリネズミ

はじめに

ハリネズミは近年飼育頭数が増えつつあり、ほとんどのペットショップで見ることができる動物である。しかし、コンパニオンアニマルとしての歴史は浅く、性格は臆病で丸まって針を立てるという姿勢をとる個体が多いことなどから、診療に非常に非協力的な動物であるといえる。そのため、精密検査には鎮静などが必要になる場合が多い。

今回、当院に来院し、鎮静下で精密検査を行ったハリネズミを調査した結果、若干の知見を得たのでこれを報告する。

材料と方法

当院に来院したハリネズミ 32 症例を対象とし、主訴、性別や年齢、治療、診断および仮診断、予後を調査した。全例でイソフルランによる吸入麻酔で導入、維持を行い、血液検査、X線検査を実施した。

成 績

(1) 年齢と性別

年齢は3ヶ月令から5歳5ヶ月令で、6例は年齢の記載が無かった。年齢の中央値は2歳1ヶ月令であった。性別はオスが15例、メスが16例で、1例は性別の記載が無かった。

(2) 診断および仮診断

腫瘍が11例で、うち口腔内腫瘍が4例、血液腫瘍が4例、その他の腫瘍が3例。生殖器疾患が9例、循環器疾患が3例、呼吸器疾患、消化器疾患が1例ずつで、その他の疾患と診断に至らなかったものが合わせて7例であった。

(3) 治療と予後

生殖器疾患では9例全例で手術を行い、退院可能となった。1例は退院後腎疾患を原因として死亡した。

腫瘍性疾患は病変部により治療は異なり、口腔内腫瘍は可能な限り摘出し、摘出不可能なものは生検を実施した。血液腫瘍はステロイドの投薬が選択されることが多く、そのうち1例は頸部リンパ節に発生したリンパ腫であり、摘出後に投薬を行なった。その他の腫瘍では摘出を試みた。

10症例では死亡まで追跡することが可能であった。血液腫瘍4例では3例死亡し、そのうち2例は診断後数日で死亡した。1例は2ヶ月は良好な状態であったがその後状態悪化し、5ヶ月後に死亡した。起源不明で陰から直腸に広範に浸潤が見られた腫瘍症例も退院後数日で死亡した。口腔内腫瘍で扁平上皮癌であった症例は、2ヶ月対症治療を行ったが死亡した。

腫瘍症例は血液腫瘍が3例、起源不明の腫瘍が1例、扁平上皮癌が1例で死亡まで追跡した。

循環器疾患を疑った3例は、1例が数日で死亡、1例は全身症状の良化が見られたが、およそ1ヶ月で死亡し、残りの1例は来院がその後なく不明である。

生殖器疾患で来院した1例は、腎疾患を原因とし

て死亡した。上部呼吸器疾患と思われた1例は治療に反応がなく死亡した。起立困難を呈し診断に至らなかった1症例は半年後の死亡を確認した。

考 察

(1) 子宮疾患

ハリネズミの子宮疾患は多く、陰部出血を呈することによく知られている。子宮疾患では良性の変化である子宮内膜ポリープがもっとも多いと報告¹⁾があるが、今回の調査でも同様に、9症例中7例で子宮内膜ポリープとの結果であった。

子宮疾患は良性の変化である子宮内膜ポリープが多いため、内科的に止血剤を投与され出血が落ち着いたところで治療終了とされるケースが多かった。出血の既往歴があり、摘出までの期間が長い症例では、子宮内膜炎を呈している症例が多くみられた。このことから、陰部出血を呈している症例では内科的に止血が出来たととしても、その後食欲低下などを引き起こす可能性があると考えられた。そのため、内科的治療は姑息的治療であることのインフォームドコンセントが重要であると考えられた。

(2) 口腔内腫瘍

口腔内腫瘍は、良性のものではエプリス、慢性歯肉炎が認められた。悪性の症例は扁平上皮癌であった。そのうち2症例では、X線検査で顎骨の骨融解がみられた。このことから、ハリネズミの扁平上皮癌は、非常に浸潤性が強く、予後は非常に厳しいと推察される。良性腫瘍の場合は摂食障害を引き起こし、食欲低下が主訴となっていることが多く、切除後に食欲の改善が見られることが多かった。

(3) 循環器疾患

循環器疾患は全例で仮診断にとどまっている。通常、ハリネズミの胸部X線検査において脊椎と気道は平行にならず、尾側に向かい広がる。X線検査で脊椎と気道のラインが平行になっているものを心拡大と考えて、全身症状をふまえ、循環器疾患と仮診断した。超音波検査は重症な個体であれば有用な場合があるが、循環器疾患と仮診断された症例の予後は悪く、

今回の調査では2症例が1ヶ月以内に死亡。残り1症例は来院がなかった。

また、今回の調査にのっておらず、鎮静が不可能と考えて循環器疾患を疑った症例でも、私見ではあるが長期のコントロールは難しいと考えている。

(4) 神経疾患

ハリネズミでよく知られた疾患の1つに、WHS (ウォブリーヘジホグシンドローム)がある²⁾。突然の起立困難を主訴として来院し、その診断は除外診断により行うが、有用な治療法は確立されていない。本調査の症例では、他院でWHSと診断されセカンドオピニオンとして来院した症例で、頸椎の明らかな変形が見られている症例との遭遇があった。

突然の起立困難を呈した症例で、改善が見られた症例との遭遇もあった。3ヶ月齢の雄のハリネズミで、昨晚から突然の起立困難、四肢不全麻痺を呈して来院。鎮静下の検査で明らかな異常はなく、鑑別診断としてWHSも考えたが、静脈確保しマンニトール、ステロイドと抗生剤の投与および静脈点滴で、2日程度で起立可能となり、現在は問題なく生活している。この症例は当初WHSを疑ったが、良化が見られたためいずれかの治療に反応がある、他の脳障害があったものと推察された。

ハリネズミで血液検査、X線検査は可能であり、予後評価、とくにインフォームドコンセントに有用であった。ハリネズミでもイヌやネコと同様、可能な限り検査を充実し、多角的な診断を行なっていく必要があると考えられた。確かな診断のためにも、今後も症例の蓄積を行なっていく必要がある。

文 献

- 1) K Okada, H Kondo, et al: (2018) A retrospective study of disease incidence in African pygmy hedgehogs (*Atelerix albiventris*). *Journal of Veterinary Medical Science*. 80: 1504-1510.
- 2) Díaz-Delgado J, Whitley DB, et al: (2018) The Pathology of Wobbly Hedgehog Syndrome. *Vet Pathol*. Sep; 55(5): 711-718

角結膜炎の血管異常所見から診断に至った 犬の赤血球増加症の1例

上岡 尚民¹⁾ 上岡 孝子¹⁾ 吉村 和大¹⁾
荒蒔 義隆²⁾ 谷浦 督規³⁾ 谷浦 直美³⁾

(受付：平成31年12月31日)

A case of Polycythemia vera which presented Keratoconjunctivitis with abnormal vascular symptom in a dog

NAOTAMI UEOKA¹⁾, TAKAKO UEOKA¹⁾, KAZUHIRO YOSHIMURA¹⁾, YOSHITAKA ARAMAKI²⁾
TOKUNORI TANIURA³⁾ and NAOMI TANIURA³⁾

- 1) Ueoka Animal Clinic, 2-18-11 Yoshijimahigashi Naka-ku Hiroshima 730-0822
- 2) Bay Veterinary Hospital, 5-6-7 Ujinanishi, Minami-ku, Hiroshima, 734-0014
- 3) Taniura Animal Hospital, 1-3-30, Kairouen, Saeki-ku, Hiroshima, 731-5135

SUMMARY

A 3.6-year-old female American cocker spaniel undergoing treatment for keratoconjunctivitis was brought to our clinic because of poor improvement. The conjunctiva was congested and discolored to dark red, and the corneal blood vessels were markedly dilated and tortuous. Based on blood testing, a diagnosis of severe erythrocytosis and DIC was made. The condition was diagnosed by exclusion as primary erythrocytosis as a result of several tests, and treatment using hydroxyurea was performed. As the condition was complicated by Addison's disease, steroids were administered, but this caused an increase in erythropoetin and the red blood cell count was not normalized. However, the erythropoetin level was normalized by reducing the dose of steroids, and the subsequent course remained uneventful. The dog is being observed at present.

— Key words: dog, polycythemia vera, keratoconjunctivitis, Addison's disease

1) うえおか動物病院 (〒730-0822 広島県広島市中区吉島東 2-18-11)
2) ベイ動物病院 (〒734-0014 広島県広島市南区宇品西 5-6-7)
3) 谷浦動物病院 (〒731-5135 広島県広島市佐伯区海老園 1-3-30)

要 約

角結膜炎治療中の3.6歳、メスのアメリカン・コッカー・スパニエルが改善に乏しいために来院した。結膜は暗赤色に充血し、角膜血管は重度に膨隆、蛇行していた。血液検査の結果、重度の赤血球増加およびDICと診断した。各種検査の結果、除外診断で原発性赤血球増加症として診断し、ヒドロキシウレアの治療を行った。アジソン病を併発していたためにステロイドの投薬を行ったが、エリスロポエチンの上昇を来し、赤血球数は正常値になることが無かった。しかし、ステロイドの減薬をすることでエリスロポエチンが正常化し、以後良好に維持、経過観察中である。

—キーワード：犬、赤血球増加症、角結膜炎、アジソン病

序 文

犬の赤血球増加症（以下PV）は脱水などによる血液濃縮でみられる相対的増加と絶対的増加に分けられる。絶対的増加はさらに原発性と続発性に分けられる。原発性PVは骨髄において赤血球前駆細胞がエリスロポエチン（以下EPO）非依存的に自立的に増殖することによって発症する。続発性PVは腎臓やその他部位からEPO産生増加の結果として起きる。今回、角結膜炎の治療で来院した犬の異常な眼所見からPVに気づき、診断治療を行った症例に遭遇したので報告する。

症 例

アメリカン・コッカー・スパニエル、メス、3.6歳、体重7kg。他院にて色素性角膜炎の治療を行っていたが、改善に乏しいために来院。耳介、下眼瞼の発赤を認めるが食欲、元気は良好とのこと。眼所見は、両眼とも膿性眼脂が多く、結膜は暗赤色に充血し、角膜血管は単純な角膜炎の血管新生とは異なり、重度に怒張、蛇行していた。眼底検査は角膜の色素沈着が強いため実施できなかった。（写真1）

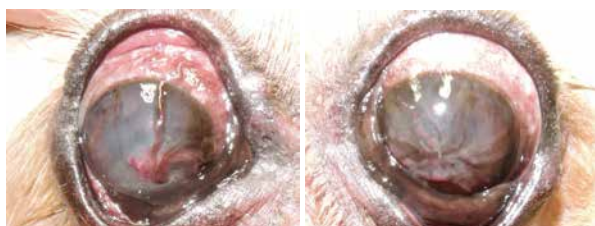


写真1 初診時角結膜所見（右眼、左眼）
両眼の結膜は暗赤色で、角膜には膨隆、蛇行した血管をみとめる。PCV：88.3%であった。

検査および治療

血液検査を実施し赤血球増加（RBC：1325万/ μ l、Hb：28.9g/dl、Ht：88.3%）を認めたため、瀉血を兼ねて採血80mlを行い追加検査を行った。生化学検査では、甲状腺ホルモンT4は2.3 μ g/dlで正常値。その他、コルチゾールの低値（<1.0 μ g/dl）、エリスロポエチンの軽度上昇（14.2mIU/ml）の他は大きな異常値無し。凝固系および線溶系検査ではPT、APTT、TAT、FDP、Dダイマーの著増、ATⅢの減少を認め、血小板数の低下もあるためDICの状態であると判断した。（表1）直ちに点滴、低分子ヘパリンでDICの治療開始と同時に画像検査を実施した。心エコー検査では血液粘度の上昇によると思われる右心負荷所見は認められるが、短絡疾患は認めず。腹部エコーでは肝静脈のうっ滞を認めたが、腎臓や脾臓の形態的異常は認めず。（写真2）骨髄検査の結果は全体に過形成性であり、芽球比率の増加は無く急性白血病は否定的であった。（写真3）治療は当初皮下補液、血栓症予防のためバイアスピリン0.5mg/kg、1回/日、およびヒドロキシカルバミド（以下HC）25mg/kg、1回/日で経口投与を開始した。しかし、赤血球増加の改善がなかったため、HCを段階的に増量していき、第37病日から70mg/kg、1回/日に増量したところ改善傾向を示した。その後、追加検査で副腎皮質機能低下症（以下アジソン）を認めたため、第64病日からヒドロコルチゾン酢酸エステル0.01mg/kg、2回/日およびヒドロコルチゾン0.7mg/kg、2回/日の投与を行った。赤血球増加はさらに改善したが、赤血球数が700万/dlより下回ることがなく、第83病日にはEPOの上昇（177mIU/ml）を認めた。EPO産生性の腫瘍の存在の確認のためCT検査を実施したが、副腎の萎縮以外の異常所見は認められなかった。最終的にACTH刺激試験でコルチゾール値は安定していたため、第300病日よりヒドロコルチゾン酢酸エステル

表1 初診時血液検査

| ・ CBC | | | |
|----------------------------|-------|-----------------------------|------|
| RBC (×10 ⁴ /μl) | 1325 | | |
| PCV(%) | 88.3 | | |
| Hb(g/dl) | 28.9 | | |
| WBC(/μl) | 10200 | | |
| band | 408 | | |
| seg | 8874 | | |
| lym | 714 | | |
| mono | 204 | | |
| eos | 0 | | |
| plat(/μl) | 83000 | | |
| ・ 血液生化学検査およびホルモン測定 | | | |
| ALT(U/L) | 64 | BUN(mg/dl) | 17.6 |
| ALP(U/L) | 160 | CRE(mg/dl) | 0.3 |
| TP(g/dl) | 6 | Ca(mg/dl) | 12.1 |
| ALB(g/dl) | 3.3 | IP(mg/dl) | 4.8 |
| GLOB(g/dl) | 2.7 | T-Cho(mg/dl) | 261 |
| GLU(mg/dl) | 103 | CRP(mg/dl) | 0.4 |
| Na (mEq/L) | 151 | COR(μg/dl) | <1.0 |
| K (mEq/L) | 5 | T4(μg/dl) | 2.3 |
| Cl (mEq/L) | 107 | エリスロポエチン (mIU/ml) | 14.2 |
| | | (CLEIA法：参考値 1.3~13.4mIU/ml) | |
| ・ 血液凝固系検査および線溶系検査 | | | |
| PT(sec) | 10.4 | 参考値：7.4~8.8 | |
| APTT(sec) | 46.9 | 参考値：12~28 | |
| FIB(mg/dl) | 158 | 参考値：150~350 | |
| TAT(ng/ml) | >120 | 参考値：0.2 | |
| Dダイマー (μg/ml) | 45.26 | 参考値：2 | |
| ATIII (%) | 64 | 参考値：100~150 | |
| FDP (μg/ml) | 124.1 | 参考値：5 | |



写真2 腹部エコー所見

肝静脈のうっ滞を認めるが、脾臓や腎臓には形態学的異常所見は認められなかった。

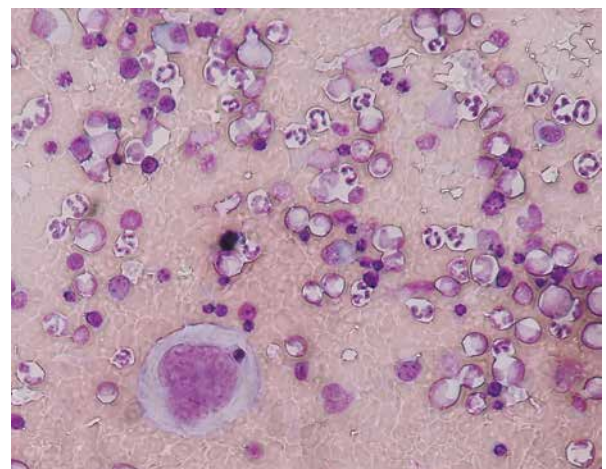


写真3 骨髄検査所見

骨髄球系：16%，赤芽球系：82.2%，リンパ球：1%，形質細胞：0.8%，その他0%，M・E比0.19：1。全体に過形成性であり、芽球比率(0.4%)の増加は無く急性白血病は否定的であった。

考 察

およびヒドロコルチゾンの投与を1回/日に減らしたところ、EPOの低下と共に赤血球数も正常に回復した。(図1) 結膜炎および角膜の異常な血管病変はPVの改善に並行して改善した。(写真4, 5)

約2年経過した現在、HCは70mg/kg, 2回/週, ヒドロコルチゾン酢酸エステルおよびヒドロコルチゾンの投与は1日1回で赤血球数およびアジソンの両疾患を良好に維持できている。



写真4 第73病日角結膜所見(右眼,左眼)
角膜には太い血管が残るが、膨隆、怒張は軽くなり、結膜の色調も改善している。PCV: 60.6%であった。



写真5 第385病日角結膜所見(右眼,左眼)
角膜は全域色素で覆われてしまったが、膨隆した角膜の血管は認められない。PCV: 61%であった。

本症例は両眼角膜の血管の重度な膨隆、蛇行から当初は過粘稠症候群を疑い各種検査を行った。重度な赤血球増加であったが、これまで報告されているようにしゃみや神経症状や多渴、多尿などの臨床症状¹⁻³⁾は認められなかった。単なる角結膜炎として点眼治療のみで経過観察をしていたら、PVおよびそれに随伴したDICを見逃していたと考えられる。角膜の病変は、以前から治療をしていた色素性角膜炎の血管に、粘稠度の高い血液が流動性の悪化を招いて血管の膨隆、蛇行を示したと考える。色素性角膜炎が悪化する前に眼底検査ができていれば、網膜血管の蛇行が確認できてPVをより早期に発見できていたかもしれない。

ヒトにおける原発性PVではJAK2遺伝子変異が診断の指標にされており、犬においてもそれが応用可能との報告もあるが、一般的に浸透している検査ではない⁴⁾。今回、血液ガス濃度の測定は設備の関係上未実施で動脈血酸素飽和度の測定は行っていないが、他の各種検査で赤血球増加を起こしうる疾患が無いことやEPOの値から除外診断で原発性PVと判断した。原発性PVの治療はDNA合成障害をする代謝拮抗薬であるHCを用いたが、投与量は過去の報告などを参考に当初25mg/kg 1日1回で開始し、反応を確認しながら段階的に増量した。最終的に第37病日から70mg/kg 1日1回まで増量すると赤血球は順調に下がった。しかし、50mg/kg以上の高容量では成熟顆粒球の減少に伴う骨髓細胞の増加、クレアチニンキナーゼ活性の増加、骨髓および肝静脈内細胞における鉄色素の増加などの副反応が起こるとされる⁵⁾。こま



図1 治療と赤血球数, エリスロポエチン濃度 (EPO) の推移

めな血液検査を行い、反応が見られた段階で隔日投与にしたことで重篤な副作用は起こらなかったが、注意深く継続的にモニタリングすることが必要と考える。

その後、第54病日からアジソンの治療を開始しており、一時赤血球数は順調に下がったようにみえたが、第83病日以降は800～900万/dlの高値を推移し、それに平行するようにEPOの高値が持続的に続いた。原発性PVであれば通常EPOの増加は認められないので⁶⁾、過去に報告があるようなEPOを産生している腫瘍の存在^{2, 3)}を疑いCT検査を含め追加検査を行ったが責任病変は見つからなかった。アジソンの治療でステロイドの投与を始めた後からEPOが上昇してHCの反応が悪くなったこと、第300病日からステロイドの投与量を減量したら赤血球数およびEPOは正常に回復したことから、ステロイドホルモンの刺激によってEPO産生が増加されたと考える。原発性PVとアジソンの併発が診断、治療を複雑化させ治療の反応停滞を招いてしまったが、現在両疾患に対する投薬の微調整を行い全身状態とともに角結膜の状態も良好に維持できている。

文 献

- 1) Diogo CC., et al: Diagnosis and Treatment of Primary Erythrocytosis in a Dog: A Case Report. *Top Companion Anim Med.* Jun; 30(2): 65-7(2015)
- 2) Sato K., et al: Secondary erythrocytosis associated with high plasma erythropoietin concentrations in a dog with cecal leiomyosarcoma. *J Am Vet Med Assoc.*, 220(4): 486-90(2002)
- 3) Yamauchi A., et al: Secondary erythrocytosis associated with schwannoma in a dog., *J Vet Med Sci.* 66(12): 1605-8(2004)
- 4) Beurlet S., et al: Identification of JAK2 mutations in canine primary polycythemia. *Exp Hematol.* 39(5): 542-545(2011)
- 5) Morton D., et al: Toxicity of hydroxyurea in rats and dogs. *Toxicol Pathol.* 2015 Jun; 43(4): 498-512.
- 6) Cook SM¹, Lothrop CD Jr. :Serum erythropoietin concentrations measured by radioimmunoassay in normal, polycythemic, and anemic dogs and cats., *J Vet Intern Med.* Jan-Feb; 8(1): 18-25(1994)

眼瞼結膜に発生した肥満細胞腫の1例

吉村 和大¹⁾ 上岡 尚民¹⁾ 上岡 孝子¹⁾ 笠岡 賢作²⁾

(受付：令和1年12月27日)

A case of mastocytoma of the eyelid conjunctiva

KAZUHIRO YOSHIMURA, NAOTAMI UEOKA, TAKAKO UEOKA and KENSAKU KASAOKA

1) Ueoka Animal Clinic, 2-18-11 Yoshijimahigashi Naka-ku Hiroshima 730-0822

2) Kasaoka Animal Clinic, 3-8-5 Inokuchimyojin Nisi-ku Hiroshima 733-0841

SUMMARY

FNA was performed on a dog presenting with swelling of the palpebral conjunctiva of the left eye as a main symptom, disclosing a large number of mast cells and leading to a diagnosis of mast cell tumor. Although indistinctly bordered swelling was noted over the entire upper palpebral conjunctiva of the left eye, no abnormalities other than swelling, congestion, and lacrimation were observed. FNA of the node was performed using a 23-G needle, revealing a large number of mast cells. As a sufficient margin for surgical resection was unable to be secured and there was a possibility of disturbance of palpebration after surgery, only internal treatment was performed. Treatment was initiated using toceranib (2.67 mg/kg) EOD, prednisolone (0.89 mg/kg) SID, diphenhydramine (1.78 mg/kg) BID, cimetidine (17.8 mg/kg) BID, and difluprednate ophthalmic solution QID. Swelling and congestion of the conjunctiva were gradually alleviated, and no mast cells were detected by FNA performed on the 110th day after disease onset. The drugs were tapered thereafter, and no lesion was observed on the 223rd day after disease onset. Toceranib and prednisolone were suggested to be effective internal treatments for mast cell tumors of the palpebral conjunctiva considered to be difficult to treat by surgical resection.

— Key words: Mast cell tumor, palpebral conjunctiva

1) うえおか動物病院 (〒730-0822 広島県広島市中区吉島東 2-18-11)

2) 笠岡動物病院 (〒733-0841 広島県広島市西区井口明神 3-8-5)

要 約

左眼の眼瞼結膜の腫脹を主訴に来院した犬において、FNA を実施したところ肥満細胞が多く認められたことより、肥満細胞腫と診断した。左眼の上眼瞼結膜全域に境界不明瞭な腫脹が認められたが、腫脹、充血、流涙以外は異常を認めなかった。結節に対して23G 針にてFNA を行ったところ肥満細胞が多く認められた。外科的切除を行うには十分なマージンが得られず、術後に瞬目に支障が出る可能性があったため、内科的治療のみを行った。トセラニブ (2.67mg/kg) EOD, プレドニゾロン (0.89mg/kg) SID, ジフェンヒドラミン (1.78mg/kg) BID, シメチジン (17.8mg/kg) BID, ジフルプレドナート点眼 4 回/日で治療を開始した。結膜の腫脹充血は徐々に改善が見られ、第 110 病日に行ったFNA では肥満細胞は検出されなかった。その後、薬を漸減していき、第 223 病日には病変が認められなくなるまで改善した。外科的切除が困難と思われる眼瞼結膜の肥満細胞腫において、トセラニブとプレドニゾロンは有効な内科的治療であることが示唆された。

—キーワード：肥満細胞腫，眼瞼結膜

序 文

犬の肥満細胞腫は皮膚組織に最も一般的に認められ、発生部位は四肢が最も多いとされている。原発性の結膜腫瘍は稀ではあるが、結膜には肥満細胞腫、メラノーマ、扁平上皮癌など様々な腫瘍が発生する。皮膚組織に発生した肥満細胞腫は、十分なマージンを確保して外科的切除を行うのが第一選択となる。また、肥満細胞腫ではステロイドとビンブラスチンを組み合わせて行う化学療法や、分子標的薬であるトセラニブを用いた内科的治療も行われている。結膜に発生する肥満細胞腫などの腫瘍は術後の瞬目に支障が出るなどの問題が起こりやすく、十分なマージンを確保して切除することが困難である。今回我々は犬の眼瞼結膜に発生した肥満細胞腫に対して、プレドニゾロン、トセラニブの内服とジフルプレドナート点眼によって良好な経過を得られたのでその概要を報告する。

方 法

症例はマルチーズ、避妊メスで 10 歳齢。腫脹している左眼結膜の結節に対し、23G 針を用いてFNA を行った。採取された細胞をスライドに乗せ、風乾、メタノール固定の後に、ヘマカラー染色にて評価した。治療は、トセラニブ (2.67mg/kg) EOD, プレドニゾロン (0.89mg/kg) SID, ジフェンヒドラミン (1.78mg/kg) BID, シメチジン (17.8mg/kg) BID, ジフルプレドナート点眼 4 回/日で開始した。その後は症状に応じて各薬剤を減薬していった。第 24 病日にプレドニゾロンを 0.44mg/kg SID に減薬。第 33 病日にトセラニブを 2.67mg/kg 2 回/week に減薬。第 51 病日にジフルプレドナート点眼 3 回/日に減薬。

第 110 病日に結節の縮小を認めた際に、再度FNA を実施。更に、トセラニブを 2.67mg/kg 1 回/week, プレドニゾロンを 0.44mg/kg EOD, ジフルプレドナート点眼 2 回/日に減薬。第 146 病日にプレドニゾロンを 0.22mg/kg EOD に減薬。第 223 病日に内服を全て休止し、ジフルプレドナート点眼 1～2 回/week に減薬した。

成 績

初診日に行った細胞診では、肥満細胞が多数検出された。治療では、初診日と第 8 病日を比較すると、明らかに病変が縮小していた。(図 1) 内科治療に反応していると判断し、上記に示す通り治療を継続した。第 24 病日には結節の軟化を認めた。第 51 病日には結膜がめくれる様子がなくなり、結節は残るものの、結膜の充血がほぼ認められなくなった。(図 2) 第 110 病日には結節は大幅に縮小し、FNA では肥満細胞を認めなくなった。(図 3) 第 223 病日には顔貌に全く違和感はなくなり、結膜の結節はほぼ消失していた。(図 4)

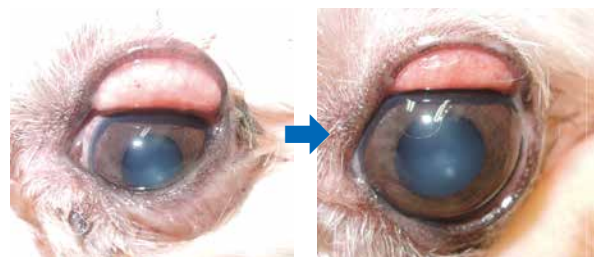


図 1 第 1 病日 (左) と第 8 病日 (右) の左眼結膜の様子

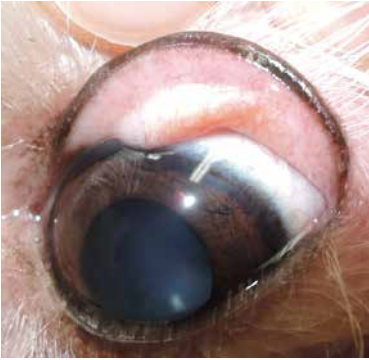


図2 第51病日の左眼結膜の様子



図3 第110病日の左眼結膜の様子
FNAでは肥満細胞は検出されなかった



図4 第223病日の左眼結膜の様子

考 察

皮膚に発生する肥満細胞腫の場合、治療の第一選択は外科的切除である。切除した腫瘍の周囲に1～10mm以上正常組織があれば、マージンが完全であるとみなされる。今回のように結膜に発生した境界不明瞭な肥満細胞腫の場合、マージンを確保して切除を行うことは極めて困難であり、術後に瞬目などに悪影響を及ぼす危険性がある。瞼結膜に発生した場合と、球結膜に発生した場合では後者のほうが切除に適しているとの報告があるが、完全切除率は1割程度と極めて低い¹⁾。球結膜に発生した肥満細胞腫を外科切除し、ビンブラスチンとプレドニゾロンにて良好な経過を得た報告はあるが²⁾、筆者が調べる限りトセラニブにて良好な経過を得た報告はない。結膜に発生する肥満細胞腫に対して有効な内科的治療の選択肢を増やすことは必須であると考え、結膜に発生する肥満細胞腫は比較的予後が良いと考えられているが¹⁾、本症例はこれらの報告と異なり外科的切除を行わずトセラニ

ブとプレドニゾロンのみで効果が認められた。これは外科切除が困難であっても一定の治療効果が見込められる可能性を示した一例となる。また、グレードに関係なく、マージンが不十分であっても転移や浸潤は少ないことから、臨床現場での治療効果の評価方法はFNAでも十分である可能性が考えられる。本症例は、肥満細胞腫が結膜に発生したとしても、院内での内科的治療と検査のみで良好な経過が得られる可能性を示した症例であった。

文 献

- 1) Matthew Fife ,Canine conjunctival mast cell tumors: a retrospective study, *Veterinary Ophthalmology*, 14, 145-214, (2011)
- 2) Giovanni Barsotti et al: Primary conjunctival mast cell tumor in a Labrador Retriever, *Veterinary Ophthalmology*, 10, 1-67, (2007)

前房フィブリン析出に対してアルガトロバン を点眼使用したイヌの2例

柴崎 桃子 鈴木 知行 柴崎 祐也 柴崎 文男
(受付：令和元年12月20日)

Argatroban instillation was administered for inhibition intraocular fibrin formation in dogs: two cases

MOMOKO SHIBASAKI, TOMOYUKI SUZUKI, YUYA SHIBASAKI and FUMIO SHIBASAKI

Shibasaki Animal Hospital
1-10-35, Ushitahonmachi, Higashi-ku, Hiroshima 732-0066

SUMMARY

Two eyes of 2 dogs that exhibited fibrin precipitation in the anterior chamber were treated using an ophthalmic solution of argatroban, which is an antithrombin agent. As this resulted in a favorable course, an outline of the case is presented.

— Key words: Anterior chamber fibrin, argatroban

要 約

前房にフィブリン析出がみられたイヌ2頭2眼において、抗トロンビン薬であるアルガトロバンを点眼で使用し、良好な経過が得られたのでその概要を報告する。

—キーワード：前房フィブリン, アルガトロバン

はじめに (序文)

前房内のフィブリン析出は、重度のぶどう膜炎発症時に付随して観察されることがある。フィブリンの存在は眼底の視認性を妨げ、続発緑内障の原因にもなるため早期の除去が望ましい¹⁾。一方、アルガトロバンは、ヒトでヘパリン起因性血小板減少 (HIT) 症例における抗血栓治療薬として比較的最近開発された薬剤であり、血液凝固反応機序においてトロンビンを不活化させることでフィブリンの生成を抑制する薬剤である²⁾。脳血栓症急性期や慢性動脈閉塞症に対して静脈点滴で全身的に投与され、点眼での使用は適応外使用である。眼科領域での使用においては、HIT 症例における増殖性糖尿病性網膜症に対して、本薬剤を元来使用していたワルファリンからアルガトロバンに切り替え、全身的に投薬使用することで良好な結果が得られたという症例報告³⁾と、穿孔性眼外傷時でのフィブリン析出に点眼で用いて、フィブリン抑制に効果的であったという症例報告⁴⁾がある。また、ウサギを用いた動物実験において、硝子体内注入によって水晶体摘出、硝子体切除術後のフィブリン抑制に濃度依存的に効果的であったと報告されている⁵⁾。アルガトロバンには点眼製剤は存在しないが、今回、前房に重度のフィブリン析出を呈した2眼に対してアルガトロバンを点眼使用し、良好な経過が得られたのでその概要を報告する。

症 例

症例1：12歳齢、避妊雌のチワワで混合ワクチンや内外寄生虫予防も定期的実施していた。全身状態は良好で、一般血液検査やレントゲン画像検査では特記すべき異常はなかった。白内障超音波乳化吸引装置 (SOVEREIGN COMPACT: AMO) を使用した水晶体乳化吸引術を実施した。また、症例は角結膜の露出が過度であったため、外眼角に眼瞼縫合一針行った。術3時間後強縮瞳が観察され、眼圧は11mmHgと正常だが、検眼鏡検査で重度の前房フレアが観察された。威嚇瞬目反応陰性、眩目反射陽性であった。眼底の観察は困難であった。術前より使用していたレボフロキサシン点眼、ジフルプレドナート、ジクロフェナク Na を各1日4回点眼し、全身的にプレドニゾロン (2mg/kg SID)、セフォベジナトリウム (8mg/kg SID)、エンロフロキサシン (5mg/kg SID) を使用した。翌日、眼圧は28mmHgと上昇したが、前房フレアは減少しており、威嚇瞬目反応も陽性となったため、全身性のプレドニゾロンは減薬し1mg/Kgで投与した。点眼、その他の薬剤は同量で継続した。術後2日目には眼圧も13mmHgと正常値に下がり、威嚇瞬目反応陽性で追視もしており経過良好であった。しかし、術後3日目前房内に重

度のフィブリン析出が観察され (図1-A)、眼圧が25mmHgに再上昇した。術後ぶどう膜炎の増強と考え、全身的なステロイドの投薬量の増量を検討し、血糖値を測定したが、218mg/dlと高値だった。医原性糖尿病の発症の可能性が高かったため、プレドニゾロンは0.5mg/kgに漸減し、フィブリンの析出が顕著であったため、アルガトロバン0.5%溶液 (アルガトロバン注射液10mg サワイ) の1日4回点眼を追加開始した。点眼開始翌日は大きな変化はなかったが、アルガトロバン点眼開始より2日目、眼圧は11mmHgに低下し、検眼鏡検査でフィブリンの減少が確認された (図1-B)。術後9日目、フィブリンはさらに減少し眼底が容易に視認できるようになった。しかし、術後17日目に外眼角の縫合糸の接触に起因すると思われる角膜糜爛を発症した。ジフルプレドナート、ジクロフェナク Na は休薬し、レボフロキサシン、アルガトロバンは継続、ヒアルロン酸ナトリウムの点眼を追加した。術後23日目角膜糜爛は改善したので、術後のぶどう膜炎の再燃防止のため、ジクロフェナク Na とジフルプレドナートを1日2回で再開した。アルガトロバン点眼は1日4回そのまま継続した。その後ジフルプレドナートは休薬し、術後45日目前房内のフィブリンはさらに減少したため (図1-C)、アルガトロバン点眼も休薬し、ジクロフェナク Na 点眼を1日2回のみ継続し、現在良好に維持で

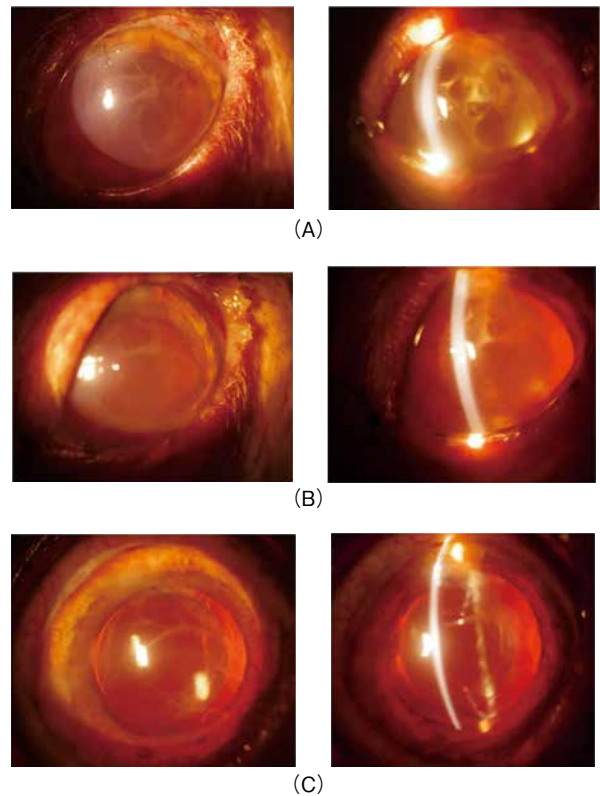


図1 症例1の前房写真
順に術後3日目アルガトロバン点眼開始時 (A)、術後6日目アルガトロバン点眼開始3日目 (B)、術後45日目アルガトロバン点眼開始42日目 (C)。

きている。

症例2：14歳齢，去勢雄のヨークシャーテリアで，混合ワクチンや内外寄生虫予防も定期的実施していた。一般状態良好で，水晶体の亜脱臼に起因すると思われる白内障の経過観察をしており，ジクロフェナクNa点眼を1日2回使用していた。この経過観察中に「眼が黒くなった」という主訴で受診した。検眼鏡検査で水晶体が後房に脱臼していることが確認された。前房の混濁もなく，眼圧も15mmHgと正常であり，炎症兆候は見られなかった。元来使用していたジクロフェナクNaの点眼回数を2回から4回に増やして経過観察とした。脱臼から1週間後，前房に強い混濁とフィブリンが観察されたため(図2-A)。1日4回のジフルプレドナート点眼を追加処方し，ジクロフェナクNa点眼の1日4回点眼と1週間併用使用したが，改善に乏しかった(図2-B)。このため0.5%アルガトロバン溶液の1日4回点眼を追加処方した。アルガトロバン点眼開始7日目にはフィブリンが減少していた(図2-C)。さらに1週間後には眼底も視認可能となったため，アルガトロバン点眼は休薬し，ジクロフェナク点眼のみで経過観察とした。その後炎症の再燃もなく良好に維持できている。

考 察

前房内フィブリンの析出に対しては，炎症の原因除去と炎症を消沈させることが治療となる。このため，局所ないし全身にステロイド投与が選択される場合が多い¹⁾が，重度の眼感染が疑われる場合や，眼外傷によりステロイドの局所もしくは全身投与が難しい場合がある。これに関して，人医療において穿孔性眼外傷に伴う前房内フィブリンに対して，アルガトロバンを点眼使用して良好な経過を得られたという症例が報告されている⁴⁾。さらに，家兎を用いた動物実験で，アルゴンレーザーを虹彩に照射する眼炎症モデルに，濃度の異なるアルガトロバン点眼を行ったところ，0.1%では抑制率50%で，0.2%では有意にフィブリン析出を抑制したと報告されている⁶⁾。今回報告した2眼に関しては，既にステロイド点眼を使用しても効果が不十分であったため，アルガトロバンを追加で使用した。両者の背景は均一でなく，厳密な定量比較はできていないが両症例ともアルガトロバンの追加使用後から急速に前房フィブリンの消退が観察された。さらに，使用中，出血や眼刺激症状などの副作用も観察されず，安全に使用できたと認識している。他の原因によると思われる角膜糜爛発症時にも使用を継続したが，治療遅延も起こさなかったと考えられた。既報より，濃度依存性に効果が確認されており，分子量の大きさから前房内への透過性が低い可能性が考えられ，また，希釈するための手法の詳細が文献からは得られなかったため，両症例において注射薬原液0.5%で使用した。しかし，高濃度での使用による弊害も起こらなかったと思われた。

薬剤の性質上，血液凝固異常の可能性が否定できず，特に，動物では全身使用の報告もなく，安全域が不明なため点眼で使用した。この点に関しては，点眼での使用においても出血などのリスクが高い，もしくは，すでに出血している症例では，止血異常をきたす可能性があるため注意が必要と思われた。

また，ラットを用いた実験で，アルガトロバンは白血球-内皮細胞反応を抑制し，網膜血管の透過性を抑制することで血管網膜バリアの破綻を抑制するとの報告がある⁷⁾。点眼投与では後眼部にまで十分な薬効量が到達するか不明であるが，薬剤の性質上，ぶどう膜炎による網膜損傷も防ぐ効果も期待できるのではないかと考えた。

今回の症例の経過や，過去の報告より，アルガトロバンの点眼使用は眼科治療において，フィブリン抑制目的だけでなく，眼における消炎治療の一助となる可能性があると考えられた。

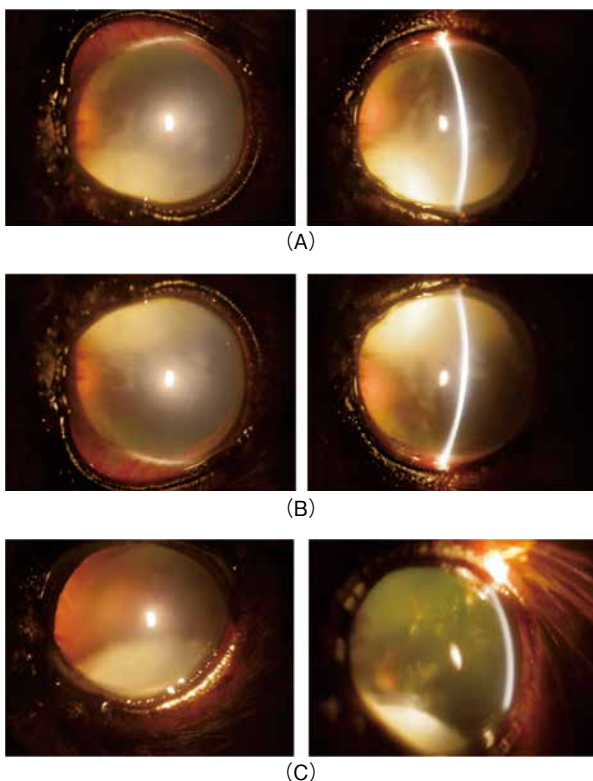


図2 症例2の前房写真

- A) レンズ脱臼より1週間後，前房にフィブリン析出が観察される。
- B) ジフルプレドナート，ジクロフェナク点眼を開始して1週間目，フィブリン析出より1週間後，アルガトロバン投与開始前。
- C) フィブリン析出より2週間後，アルガトロバン投与1週間目。

文 献

- 1) 大野重明ら：眼科学会雑誌. Volume123. Number 6 June. 2019 ぶどう膜炎診療ガイドライン. 639-650.
- 2) Pollak U., Heparin-induced thrombocytopenia complicating extracorporeal membrane oxygenation support: Review of the literature and alternative anticoagulants. *J Thromb Haemost.* Oct; 17(10): 1608-1622. (2019)
- 3) Fujii T., et al: Vitrectomy for Proliferative Diabetic Retinopathy in a Patient with Heparin-Induced Thrombocytopenia. *Case Rep Ophthalmol.* Jan 27; 7(1): 67-73. (2016)
- 4) 川崎史郎ら：「臨床報告 アルガトロバン点眼がフィブリン抑制に有効であった穿孔性眼外傷の2例」 *Instillation of argatroban inhibited fibrinous exudation in two cases of penetrating ocular injury* 医学書院 臨床眼科 57 (13), 1819-1822, 12 (2003)
- 5) Maeno T., et al: Argatroban inhibits intraocular fibrin formation after vitrectomy in rabbits. *Arch Ophthalmol.* Oct; 118(10): 1401-5. (2000)
- 6) Maeno T., et al: Inhibition of the fibrin formation by argatroban specific thrombin inhibitor, ARVO abstract, (1993)
- 7) Musashi K.: Thrombin inhibitor reduces leukocyte-endothelial cell interactions and vascular leakage after scatter laser photocoagulation. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* Jul; 46(7): 2561-6. (2005)

大腸の炎症性ポリープが悪性転化した犬の1例

瀬戸林政宜 佐野 博子 平野 健

(受付：令和元年12月6日)

Malignant transformation from an inflammatory polyp of the colon in a dog

MASANORI SETOBAYASHI, HIROKO SANO, TAKESHI HIRANO

Hirano Animal Hospital,
2-8-29, Aosaki, Minami-ku, Hiroshima, 734-0053

SUMMARY

A 8-years-8-months-old, castrated toy poodle was presented for anorexia, vomit and dyschezia. The dog had a medical history of polypoid chronic colitis. A colonic mass was identified by x-ray and ultrasound examination. The mass was removed surgically, diagnosed as an adenocarcinoma with vascular invasion and lymph node metastasis. After surgery, the dyschezia was resolved. But on Day 49, lung metastasis was revealed, and the dog died on Day 50 of illness. The colonic polyps have a possibility of a malignant transformation, if the medical treatment doesn't go well, removal of the colonic polyps is necessary as early as possible.

— Key words: chronic colitis, adenocarcinoma, malignant transformation

要 約

8歳8ヶ月齢、去勢雄のトイプードルが、食欲低下、嘔吐、排便困難を主訴に来院した。既往歴として、ポリープ状病変を伴う慢性大腸炎があった。X線検査、超音波検査にて大腸に腫瘍が確認された。外科的切除を行い、リンパ節転移、脈管浸潤を伴う大腸腺癌と診断した。術後に排便困難は改善したが、第49病日に肺転移が確認され、翌日死の転機をとった。大腸ポリープにおいて、悪性転化を起こす可能性が考えられるため、内科治療にて病変の消失が認められない以上は早期に摘出を行うことが必要と思われた。

— キーワード：慢性大腸炎、大腸腺癌、悪性転化

序 文

大腸腺癌は一般的な症状として、血便、しぶりが好発する。犬における大腸の腺癌は小腸の腺癌とは通常異なった生物学的挙動をとり、予後はより良好とされ、局所浸潤性が低い傾向にあり、転移もゆっくり起こるとされている。

ただし、病変による予後の違いがあり、単発性のポリープ様腺癌の場合平均生存期間は32ヶ月、結節状の病変の場合は12ヶ月、輪状狭窄を持つ場合は1.6ヶ月と大きく異なる¹⁾。今回我々は慢性大腸炎と診断されたのち、長期経過後に輪状狭窄を伴う大腸腺癌を発症した犬の1例に遭遇したのでその概要を報告する。

症 例

8歳8ヶ月齢、去勢オスのトイプードルが数週間前からの元気食欲低下、嘔吐、排便困難を主訴に来院した。既病歴として、約2年8ヶ月前に便潜血がみられたことから内視鏡検査ならびに生検を実施した。肛門付近に米粒大の腫瘤があり、こちらは乳頭状腺腫と診断、肛門より約10cm進んだ部分に単一なポリープ状病変が確認され、こちらは慢性大腸炎と診断された。(写真1)

プレドニゾロンの投与により一時的に症状は改善し、その後オーナーの都合により転院となった。

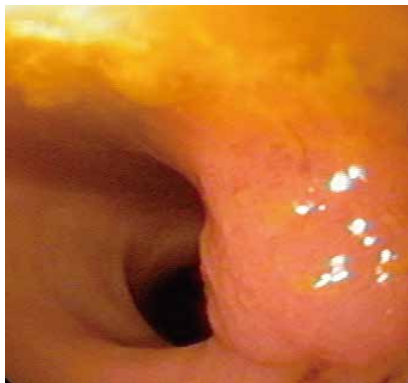


写真1 2年8ヶ月前に行った内視鏡検査所見
肛門より約10cm進んだ部分に単一なポリープ状病変が確認された。

各種検査

1. 一般臨床検査所見

体重4.9kg、腹部触診にて、骨盤腔手前の大腸の硬結が触知され、直腸検査では病変部への指の挿入は困難であった。

2. 血液検査

血液検査にて、軽度GPT、CRPの上昇がみられた。(表1)

表1 血液検査結果

| 検査項目 | 結果 | 検査項目 | 結果 |
|-----------------|--------------------|-------------|------|
| RBC (/ μ l) | 642×10^4 | TP (g/dl) | 6.7 |
| HGB (g/dl) | 15.2 | ALB (g/dl) | 2.8 |
| HCT (%) | 44.4 | GPT (U/l) | 94 |
| MCV (fL) | 69.2 | GOT (U/l) | 22 |
| MCH (pg) | 23.7 | ALP (U/l) | 207 |
| MCHC (g/dl) | 34.2 | Glu (mg/dl) | 98 |
| PLT (/ μ l) | 50.6×10^4 | BUN (mg/dl) | 9.9 |
| WBC (/ μ l) | 19900 | Cre (mg/dl) | 0.5 |
| CRP (mg/dl) | 5.3 | Ca (mg/dl) | 10.6 |
| | | Na (mmol/l) | 150 |
| | | K (mmol/l) | 4.4 |
| | | Cl (mmol/l) | 108 |

3. 胸部レントゲン検査

著変はみられなかった。(写真2)

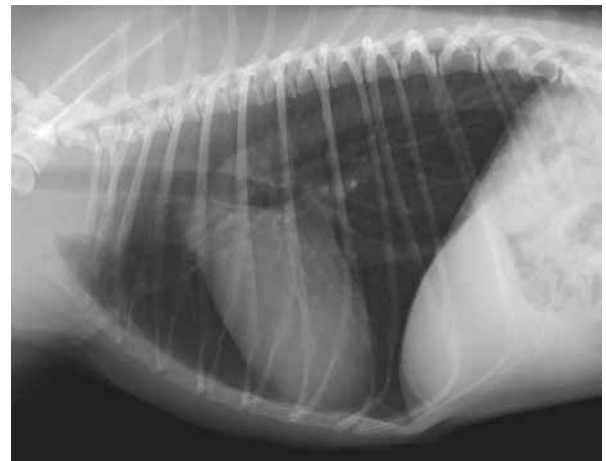


写真2 胸部X線検査所見
著変はみられなかった

4. 腹部レントゲン検査

ラテラル像、VD像にて、骨盤腔手前に宿便の貯留および腫瘤が確認された。(写真3)

5. 超音波検査

大腸壁は全周性に重度に肥厚し、同部位での5層構造は不明瞭であった。(写真4)

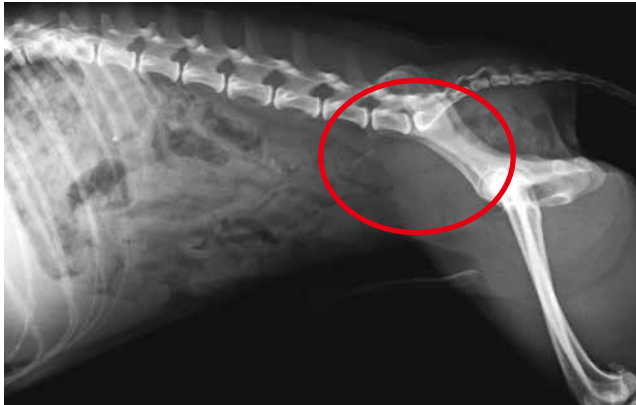


写真3 腹部X線検査所見
骨盤腔手前に宿便の貯留および腫瘤が確認された。



写真4 腹部超音波検査所見
大腸壁は全周性に重度に肥厚し、同部位での5層構造は不明瞭であった。

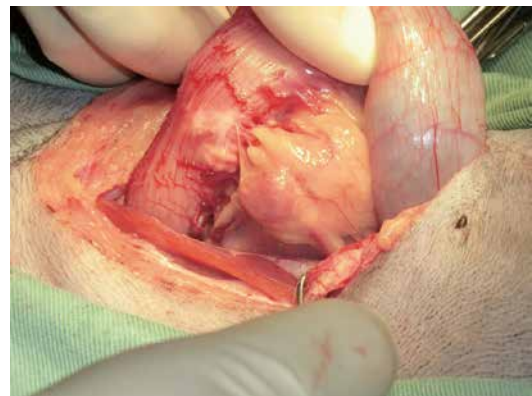


写真5 手術所見
大腸の腫瘤と左結腸リンパ節の腫大もみられた。

治療および経過

排便困難を呈しており、通過障害の解除によるQOLの改善を目的に第6病日に手術を実施した。腹部正中切開後、腹腔内を精査し、大腸の腫瘤の他に小腸に2箇所腫瘤を確認した。また、左結腸リンパ節の腫大もみられた。(写真5)それぞれの腫瘤を切除、端々吻合を実施、大腸においては縫合部頭側を尾側へ牽引した状態で結腸固定を行った。縫合部に大網を被覆し定法通りに閉腹した。

病理検査の結果、腫瘤は全て腺癌と診断された。粘膜下組織から筋層を中心に腺上皮由来の腫瘍細胞が浸潤性に増殖しており、腫瘍細胞にはやや高度な異型が認められた。漿膜を超えた増殖像も広範囲に観察され、3ヶ所の腫瘤は転移性に発生していると考えられた。断端部における組織学的マージンは確保されていたが、脈管内浸潤が認められ、切除された左結腸リンパ節に転移巣が観察された。

術後はエンロフロキサシン、ロベナコキシブ、止血

剤、胃腸薬の投薬を行った。第8病日、術後2日目より少量ずつ食事を開始したが、排便時のしぼりや血便がみられた。第10病日には血液検査でCRPの著増がみられ、腹部超音波検査では縫合部の離開や腹膜炎を疑う所見は観察されなかったため、ロベナコキシブからプレドニゾロンに投薬を変更した。その後は徐々にしぼりも改善し、CRPも低下したため第15病日に退院とした。その後時折しぼりはあるものの、排便は良好であったが、第49病日に呼吸促迫がみられ、胸部レントゲン検査にて肺転移が疑われ、翌日死の転帰をとった。(写真6)

考 察

犬の大腸ポリープにおける報告では、炎症性ポリープ内に認められる上皮細胞にはCOX-2、FGF-2の発現が腺癌や腺腫と比較し有意に高く、これらの分子が炎症性ポリープにおける上皮細胞増殖に関与していることが示されている²⁾。本症例は、約2年前に大腸に



写真6 胸部X線検査所見
肺転移が疑われた。

ポリープ状の病変が認められ、内視鏡下生検にて慢性大腸炎の診断ではあったが、最終的には同部位に脈管、リンパ管浸潤を伴い、輪状狭窄を起こした大腸腺癌となった。このことは、低悪性度大腸腺癌の長期経

過の結果発生した可能性、ポリープ病変を伴う大腸炎の慢性炎症により悪性転化を引き起こした可能性が考えられた。病変部の外科的摘出により排便が可能となり、一時的なQOLの向上はできたが、予後はこれまでの報告同様に不良であった。人では、過形成性ポリープが5mm以下の場合には経過観察とし、右側結腸に10mm以上かつ特徴的な病理学的所見を持つポリープの場合は癌の頻度が上昇するため摘出を推奨している³⁾。大腸腺腫の場合、大きさが5mmまでのものは経過観察とし、それ以上の大きさであれば癌の頻度が高くなるため摘出を推奨している⁴⁾。ポリープの大きさの拡大により悪性転化し癌化していく可能性が考えられるため、投薬治療で病変の消失が認められない場合は内視鏡検査、生検を繰り返し実施し、病変の拡大や病理学的所見に変化がみられるようであれば早期に摘出することが重要と思われた。

文 献

- 1) Church EM, et al.: Colorectal adenocarcinoma in dogs: 78cases(1973-1984). J Am Vet Med Assoc, 191, 727-730(1987)
- 2) E Uchida, et al.: Pathologic features of colorectal inflammatory polyps in Miniature Dachshunds. Vet Pathol, 53, 833-839(2016)
- 3) Laiyemo AO, et al.: Hyperplastic polyps and the risk of adenoma recurrence in the polyp prevention trial. Clin Gastroenterol Hepatol, 7, 192-197(2009)
- 4) Aldridge AJ, et al.: Histological assessment of colorectal adenomas by size: are polyps less than 10 mm in size clinically important? Eur J Surg, 167, 777-781(2001)

犬の水晶体脱臼を伴う末期的緑内障に対して
ゲンタマイシン前房内注入法により良好な眼圧降下が得られた
2頭3眼

土肥 裕典

(受付：令和元年 12 月 26 日)

Three eyes improved intraocular pressure by applying anterior chamber injections
of gentamicin for end-stage glaucoma with lens dislocation

HIRONORI DOI

Doi Animal Clinic

1896-1 Honji, Kitahiroshima-cho, Yamagata-gun, Hiroshima 731-1526

SUMMARY

In the field of veterinary medicine, terminal glaucoma in dogs with irreversible loss of vision is generally treated by eye enucleation, intrascleral silicone ball implantation, and intravitreal gentamycin injection, but these procedures all require sedation or general anesthesia. Three eyes in 2 dogs with terminal glaucoma accompanied by lens luxation were treated by gentamycin injection into the anterior chamber under local anesthesia, resulting in a satisfactory decrease in intraocular pressure. Although the indications of gentamycin injection into the anterior chamber are limited, it can be performed under local anesthesia alone and is also applicable when sedation or general anesthesia has a high risk of complications. By the appropriate selection of cases, it can be developed as a new treatment for terminal glaucoma.

— Key words: Dog, terminal glaucoma, gentamycin injection into the anterior chamber,
lens luxation

要 約

獣医学領域では不可逆的な視覚喪失を呈した犬の末期的緑内障に対し、眼球摘出術、強膜内シリコンボール挿入術、ゲンタマイシン硝子体内注入術が一般的に実施されているが、いずれも鎮静あるいは全身麻酔が必要である。今回、2頭3眼の水晶体脱臼を伴う末期的緑内障に対し、局所麻酔下で前房内へゲンタマイシンを注入し、良好な眼圧降下が得られた。適応症例が限定される治療法ではあるが、ゲンタマイシン前房内注入法は局所麻酔のみ利用するため、鎮静あるいは全身麻酔のハイリスク症例に対しても実施可能であり、適切な症例選択を行えば末期的緑内障に対する新しい治療法になり得る。

——キーワード：犬、末期的緑内障、ゲンタマイシン前房内注入、水晶体脱臼

序 文

犬の緑内障は隅角の形態的变化に伴う原発緑内障とぶどう膜炎、水晶体脱臼、眼内腫瘍などその他疾患に続発して発生する続発緑内障に大別される。いずれの場合においても50mmHgを超える眼圧上昇が数日間持続した場合には網膜神経節細胞とその軸索が障害を受けることで不可逆的な視覚喪失を呈する¹⁾。不可逆的な視覚喪失を呈した場合を末期的緑内障といい、コントロール不良な高眼圧が持続することで疼痛や、眼球拡張を呈し、眼球拡張が重度になると難治性の角膜潰瘍、角膜穿孔を合併する可能性がある¹⁾。末期的緑内障に対して、点眼のみで長期間に渡って正常眼圧を維持することは困難であり、合併症のリスク、治療の費用、飼い主の点眼の手間を考慮しても、点眼による治療を継続する意義は低い²⁾。そのため、末期的緑内障眼に対しては積極的に外科的処置を検討する必要がある²⁾。

現在、獣医学領域では不可逆的な視覚喪失を呈した犬の末期的緑内障眼に対して、眼球摘出術、強膜内シリコンボール挿入術 (ISP)、ゲンタマイシン硝子体内注入術が一般的に実施されている¹⁾。それぞれに利点、欠点があるが、いずれの手術、処置も全身麻酔あるいは鎮静が必要となる。そこで今回、水晶体脱臼を伴う末期的緑内障眼に対して点眼による局所麻酔のみを使用し、ゲンタマイシンを前房内に注入することにより良好な眼圧降下作用を得ることが可能であったため報告する。

症 例

症例 1

柴犬、避妊雌、9歳齢。既往歴としてGrade IIの気管虚脱を認めた。左眼は水晶体脱臼を伴う閉塞隅角緑内障と診断した。

症例 2

ミニチュアダックスフント、去勢雄、12歳齢。既往歴としてACVIM分類Stage B2の僧帽弁閉鎖不全症、進行性網膜萎縮を認めた。両眼ともに水晶体後方脱臼に伴う続発緑内障を呈した。

2症例とも飼い主が全身麻酔を拒否したため、点眼麻酔による前房内ゲンタマイシン注入法を実施した。

方 法

1. 処置前準備

前房内ゲンタマイシン注入の1時間前に0.1%ジクロフェナクナトリウム点眼を1滴点眼した。眼表面ならびに結膜嚢を生理食塩水で洗浄し、生理食塩水で16倍希釈したポピドンヨードで消毒した。消毒後に0.2%リドカインを1~2滴点眼し局所麻酔を行った。注入するゲンタマイシン注射液は20mg~24mg (0.5~0.7ml)を準備し、前房穿刺ならびに前房内注入には30Gインスリン皮下投与用注射器を使用した。

2. 処置

局所麻酔後に、1時方向の角膜輪部から30Gインスリン皮下投与用シリンジを用いて前房穿刺を行った。前房穿刺は針先が確認できるようにベベルアップの状態で行い、角膜内皮や虹彩と接触しない様に虹彩と平行に刺入した。針先が前房内に刺入したのを確認し、0.1ml房水を吸引した。針先を前房内に維持したまま、シリンジ内のゲンタマイシンを0.1ml前房内に注入した。ピペッティングの要領で動物が許容する限り、0.1mlずつ房水の吸引とゲンタマイシンの注入を繰り返し、前房内のゲンタマイシン濃度を上昇させた。

3. 評価方法

ゲンタマイシン前房内初回注入の日を0日目とし、7日目に細隙灯鏡検査、眼圧測定を実施し、30mmHg以上の眼圧上昇、処置後の前房出血、治療を要するぶ

どう膜炎の有無を評価した。その後は1か月毎に細隙灯鏡検査、眼圧測定を実施し、眼圧が30mmHg以上の場合、再度前房内へのゲンタマイシン注入を実施した。観察の期間、点眼や内服による治療は行わなかった。

結 果

症例1は初回投与前の眼圧は45mmHgであった。ゲンタマイシン初回投与から60日目に眼圧が37mmHg、150日目に眼圧が42mmHgに上昇したため、計3度のゲンタマイシン前房内注入を実施した。3度目の投与後、眼圧は25mmHg以下で安定した(図1, 2)。症例2の左眼は初回投与前の眼圧は55mmHg以上であった。ゲンタマイシン初回投与から60日目に眼圧が測定上限以上、210日目に36mmHgであったため、計3度のゲンタマイシン前房内注入を実施した。初回投与から270日目の検診で、眼圧は測定下限以下となり眼球癆を呈した(図1, 3)。症例2の右眼は初回投与前の眼圧は55mmHg以上であった。ゲンタマイシン初回投与から30日目に眼圧が48mmHg、60日目に44mmHgに上昇したため、計3度のゲンタマイシン前房内注入を実施した。3度の投与後、眼圧は25mmHg以下で安定した。観察期間中、3眼ともに前房出血や治療を要するぶどう膜炎は認めなかった。

考 察

緑内障に対する治療として、点眼による内科治療と外科的治療が選択肢に挙げられる。点眼による内科治療の場合、時間経過とともに眼圧降下作用は短縮し、いずれ点眼治療のみで正常眼圧を維持することは困難となる場合が多い。そのため視覚の回復、維持が可能な場合には、線維柱帯切除術、経強膜毛様体凝固術、前房シャント術などの外科的治療が行われる¹⁾。積極的な外科治療を行うことで内科治療のみよりも視覚維持率は高い^{3), 4)}。しかし、積極的な外科治療を行っても生涯に渡って視覚維持することは困難である場合

が多い。不可逆的な視覚喪失を呈した末期的緑内障の場合においても、持続的な高眼圧は眼痛や眼球拡張とそれに伴う角膜障害などの合併症を引き起こすため、疼痛緩和と合併症リスク軽減を目的に積極的に外科的治療を検討する必要がある^{1), 2)}。

末期的緑内障に対して、一般的に眼球摘出術、ISP、ゲンタマイシン硝子体内注入術が行われる¹⁾。ゲンタマイシンは、網膜と毛様体上皮への毒性があり、房水を産生している毛様体上皮細胞を死滅させることにより眼圧降下作用を発揮する¹⁾。つまり、毛様体上皮細胞が存在する毛様体体部にはゲンタマイシンが到達することで眼圧降下作用が得られるということであり、前房内ゲンタマイシン注入法の適応となる症例は、水晶体脱臼、無水晶体眼あるいは白内障術後などで前房と硝子体が交通している症例に限られる治療法と考えられる。

ゲンタマイシン前房内注入法では眼圧が30mmHg以下で安定するまでに3眼ともに計3回の前房内注入を要した。その理由として、ゲンタマイシン硝子体内注入術の際には最低25mgのゲンタマイシンが必要とされているのに対し¹⁾、1回のゲンタマイシン前房内注入では、十分な眼圧降下に必要なゲンタマイシン濃度に到達しないため、複数回の注入が必要だと考えられる。使用する注射器のサイズを大きくすることで、一度に注入可能なゲンタマイシンは増加するが、吸引・注入時に眼球に掛かる圧力が増大するため、前房出血、網膜剥離などの合併症リスクが高まることが推察されるため、インスリン皮下投与用注射器あるいは1mlシリンジが適切と考える。そのため、鎮静あるいは全身麻酔を必要としない代わりに複数回の処置が必要となる可能性を事前にインフォームしておくことが必要と考える。また、ゲンタマイシンによる眼圧降下作用が強く発現した場合には、ゲンタマイシン硝子体内注入術と同様に眼球癆を呈する可能性がある。眼球癆の発生確率はゲンタマイシン硝子体内注入術では10%程度とされているが¹⁾、前房内注入ではどの程度の発生率になるかは今後症例数を重ねて検討する必要がある。加えて、今回の観察期間では明らかな角膜障害は認めなかったが、ゲンタマイシンの細胞毒性



図1

症例1：ゲンタマイシン前房内注入前。眼圧55mmHg以上

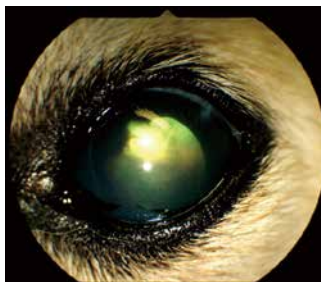


図2

症例1：初回投与から330日検診。眼圧18mmHg

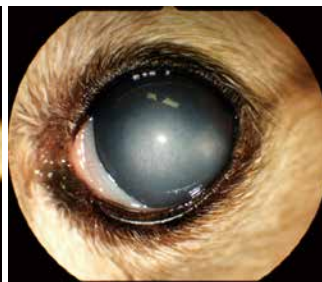


図3

症例2左眼：ゲンタマイシン初回注入前。眼圧55mmHg以上

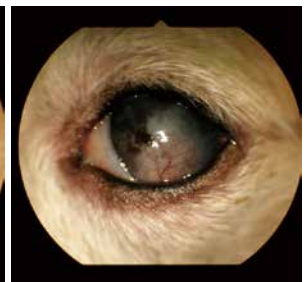


図4

症例2左眼：ゲンタマイシン初回注入から270日目。眼球癆

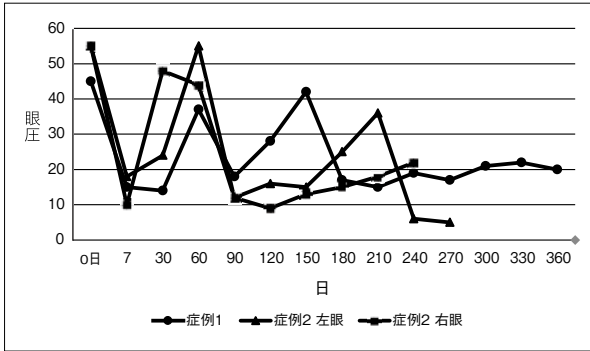


図5 観察期間における平均眼圧の推移

が前眼部，特に角膜内皮へどのような影響を与えるかは不明であり，角膜内皮障害など合併症が発生しないかどうか注意深く観察を継続していく必要がある．一方で，今回実施した2頭3眼では，ゲンタマイシン硝子体内注入術の際にたびたび問題となる前房出血，ぶどう膜炎は認めず，外科的侵襲の少ない治療である可能性が示唆される．

従来の眼球摘出術，ISP，ゲンタマイシン硝子体内注入術は外科的侵襲が大きいため，いずれの場合も鎮静あるいは全身麻酔が必要となり，今回の2症例の様に全身麻酔に対するリスク因子が存在する場合，飼い主が全身麻酔を嫌忌することがある．その結果，外科的処置が行えず眼圧の維持が困難となり，コントロール不良な疼痛，難治性角膜潰瘍や角膜穿孔など重大な合併症を引き起こす場合がある．一方，ゲンタマイシン前房内注入法は点眼による局所麻酔のみで実施可能であるため，動物に対する全身的な負担が少ない治療といえ，全身麻酔のハイリスク症例に対しても実

施可能である．また，ゲンタマイシン前房内注入法は，特別な器具，薬剤，機材，装置を使用しないため，短時間かつ診察室での処置が可能であり，安価での実施が可能であるため，飼い主の金銭的な負担も少ない．しかし，鎮静や全身麻酔による不動化が得られていない症例への前房穿刺は，一定の技術を要するため，前房穿刺に不慣れな場合や，動物の協力が得られない場合には，無理せずに軽度の鎮静をかけてから実施することが，合併症を起こさないために重要であると考えられる．

以上のように，前房内ゲンタマイシン注入法は，前房と水晶体が交通している症例に限られる方法であると考えられるが，局所的な侵襲，全身的な負担の少ない治療法であり，適切な症例選択を行えば，末期的緑内障に対する新しい治療法の一つとなり得る．

文 献

- 1) Plummer CE., et al: The Canine Glaucoma, Veterinary Ophthalmology 5th ed., 1050-1145, Wiley-Blackwell(2013)
- 2) 滝山直昭ほか: 犬猫の緑内障 診断と治療 2015, ARCH, 02, 82-94 (2014)
- 3) 上岡尚民ほか: 内科治療で眼圧維持が困難な犬の緑内障に対して線維柱帯切除術を行った31例, 広島県獣医師会雑誌, 34号, 51-54 (2019)
- 4) Westermeyer HD, Hendrix DVH, Ward DA.:Long-term evaluation of the use of Ahmed gonioimplants in dogs with primary glaucoma, J Am Vet Med Assoc, 238, 610-617(2011)

脛骨骨折を MIPO で整復後に腫瘍が原因であったと 判明した猫の 1 例

前田 史彦 中須賀一樹 神野 茜 屋敷 奈津 前田 茂
(受付：令和元年 12 月 23 日)

A case of an old cat who fell to a leg after MIPO for treatment of tibial fracture

FUMIHIKO MAEDA, KAZUKI NAKASUKA, AKANE KANNO, NATSU YASHIKI and SHIGERU MAEDA

Maeda animal hospital
352-3 Hatajiki-cho, miyoshi-shi , Hiroshima 728-0006

SUMMARY

When treating fractures, the surgical procedure differs depending on whether anatomical healing or indirect healing is intended. Minimally invasive plate osteosynthesis (MIPO), in which the fracture site is not directly incised, is considered to cause less damage to the biological environment and was recently proposed as a procedure for indirect healing.

In an old cat with tibial fracture, MIPO was performed without direct incision of the fracture site for indirect healing, but as bone resorption was observed 4 months after surgery, repeat surgery was performed. When the fracture site was exposed and visually examined in repeat surgery, a nodular lesion was noted, and as intraoperative cytological examination of the same site revealed tumor cells, the limb was eventually amputated. Although mild invasiveness is a major advantage of MIPO, the impossibility of direct observation of the affected site is a disadvantage, and careful preoperative assessment is considered to be markedly important when selecting MIPO.

— Key words: Cat, tibial fracture, MIPO

要 約

骨折治療においては、解剖学的癒合と間接的癒合のどちらを狙うかによって手術方法が変わる。MIPO (Minimally invasive plate osteosynthesis) は骨折部位を直接切開しないことから生物学的環境へのダメージが少ないと考えられ、間接的癒合の手法として近年支持されつつある。

今回、高齢猫の脛骨骨折に対し、骨折部位を直接切開せず間接的癒合を目的とした手術法である MIPO によって治療を行なったが、術後4ヶ月で骨吸収が認められたため、再手術を行った。再手術では骨折部位を露出して視認したところ、塊状病変が認められ同部位の術中細胞診にて腫瘍細胞が認められたため最終的に断脚に踏み切った。MIPO において低侵襲であることは大きなメリットだが、患部を直接視認できないということはデメリットであり、適応に際しては慎重な術前評価が極めて重要と思われた。

——キーワード：猫，脛骨骨折，MIPO

序 文

骨折治療において解剖学的な整復・強固な固定・骨片間圧迫が最重要事項とされてきた。これらを前提に治療を行うことは当然であるが、軟部組織をしっかりと剥離しワーキングスペースを広く確保する必要があるため骨折部位の生物学的環境は悪化してしまう。生物学的環境の悪化は骨折治療に悪影響を与えることや合併症につながる危険性が高まると予想される。そのため、近年では生物学的環境を可能な限り温存しながら、治療を狙う生物学的整復を支持される傾向にある^{1) 2)}。今回我々は、生物学的条件が比較的悪い高齢猫の脛骨骨折において、軟部組織の損傷が少ない MIPO を適応した。しかしながら、悪性腫瘍による骨融解を起こし、最終的に断脚に至ったためその概要を報告する。

症 例

15歳齢の雑種猫で4.46kgでBCSは3/5であった。去勢手術、各種予防実施されており、完全室内飼いで、外出はしないとのことであった。

前日にオーナーが帰宅すると、右後肢を跛行していたとのことで来院された。

各種検査

血液検査、胸部腹部の超音波検査におけるスクリーニングでは、異常が認められなかった。右後肢のレントゲン検査において、脛骨骨幹部の粉碎骨折が認められた。

手術方法

術前に、感染予防としてセファゾリン 20mg/kg 静脈内投与、疼痛管理としてロベナコキシブ 2mg/kg 皮下投与、麻酔前投薬としてアトロピン硫酸塩 0.02mg/kg 皮下投与した。麻酔導入は、ブトルファノール 0.4mg/kg・ミダゾラム塩酸塩 0.05mg/kg を静脈内投与した後、プロポフォール 6mg/kg 静脈内投与にて行い、気管挿管しイソフルレンにて維持した。まずアライメントを整復・維持するために、脛骨近位の内側を小切開し髓内ピンとして1.4mmのK-wireを順行性



写真1 初診時

に挿入した。髓内ピンだけでは回旋に対しての制御ができないことから、これに対応するプレートを設置するために、骨折部が露出しないように骨折部位の近位と遠位を3～4cm切開し、筋膜を鋭性に剥離し脛骨へアプローチした。近位切開部位から、Fixin mini カッタープレート8穴を皮下トンネルを滑らせて挿入し、近位・遠位共に3本ずつFixin mini 2.0mm スクリュー12mm長にて固定し、prate-rod法とした。この際アライメントとアポジションは、X線透視下にて整復を行い、骨折部はできるだけ触らず、生物学的環境を極力損傷させないように留意した。(写真2, 写真3)

プレートを設置した後は、定法通りMaxon 4-0にて皮下を閉鎖し、表皮はナイロン4-0にて閉鎖して終了した。

術後は1週間ほどロバート・ジョーンズ包帯を実施した。



写真2 术中写真



写真3 手術直後



写真4 術後4ヶ月

経過

術後5日後には、患肢の着地・負重を認め順調に経過していた。1ヶ月後のレントゲンでは仮骨も認められこのまま癒合してくれるものと予想された。しかし、約2ヶ月経過した時点で、仮骨反応は変わらず認められたが、患部の骨の透過性亢進が疑われた。しかし、明らかな異常と断定できなかった。術後3ヶ月の時点で、歩行に問題はないがレントゲン検査において、骨折部位の明らかな透過性の亢進が認められた。そこで仮骨を促すために、髓内ピンと遠位・近位骨片の骨折線に近いスクリューを1本ずつ抜去するdestabilization(不安定化)を実施した。しかし、その後も仮骨は進まず、骨の透過性は亢進し、軟部組織の腫脹も認められるようになった。感染や腫瘍性の鑑別に、非侵襲的にFNAを実施したが、有用な所見は得られなかった。術後4ヶ月を経過した時点で、跛行を呈すようになり、骨吸収も進行したため(写真4)、初回手術から約5ヶ月後に、インプラント抜去と原因探査・採材のために、再手術を実施した。再手術の際に骨折部位を視認したところ、骨吸収部位に塊状病変が認められ、術中細胞診にて異型性の強い紡錘形細胞を中等数認められたことから、腫瘍が強く示唆されたため(写真5, 6)、手術計画を変更し断脚に踏み切った。

病理組織検査では線維肉腫と診断された。

その後は、しばらく安定した状態が続いていたが、断脚した5ヶ月後に、反対側の大腿骨骨折が認められ、何らかの基礎疾患を疑ったが、ご家族がこれ以上の精査や治療を希望されず経過観察中である。



写真5 再手術中写真

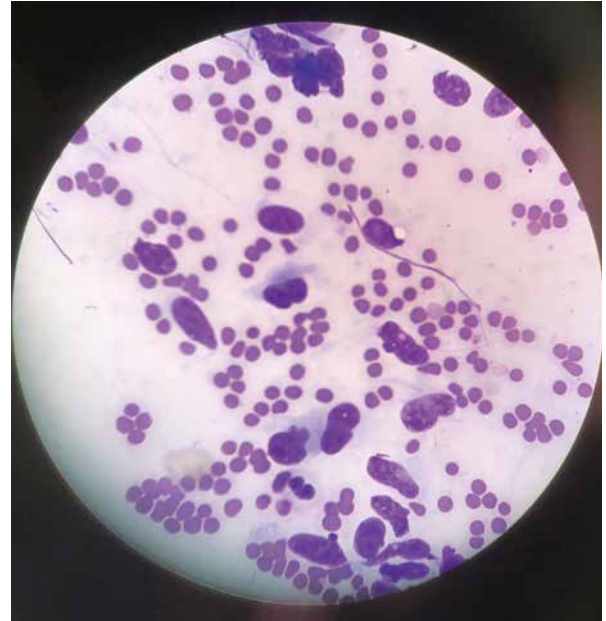


写真6 再手術中細胞診

考 察

骨折の内固定においては、安定化の程度と外科侵襲の程度の間に微妙なバランスが存在する³⁾。

また、骨折整復におけるゴールドスタンダードは、解剖学的整復と圧迫固定が最重要事項とされてきた。一方、生物学的固定は、血行の維持を優先し、治癒能力を活かす方法である。このような考えから近年の整形外科では、低侵襲な手術が推奨され、X線透視装置などを用い、様々な術式が行われている。動物が高齢であったり、基礎疾患のある患者で生物学的条件が悪い場合、外科侵襲が少ない方が感染などの合併症率や、骨癒合までの期間に対するメリットが大きい。しかし、MIPOのような低侵襲な術式は、生物学的環境を壊さないメリットがある一方で、骨折部位を視認できないデメリットも持ち合わせている。このような手術においては、アライメントやアポジションの整復が難しくなり、手術時間がむしろ長くなってしまったり、病的骨折などの病変を見落としてしまう可能性もある。これらのことから、大きく切開して行う方法とMIPOのどちらを選択するかは、骨折の状況や部位を考慮する必要がある。

今回の症例では、患者が高齢であったこと、脛骨の骨幹部骨折で適応しやすい部位であったことからMIPOを選択した。一時的に患肢の機能回復は得られたが、結果的に断脚に至ってしまった。これに関しては、『活動性が低い高齢の猫が室内で骨折していた』

という状況や、レントゲン所見から、病的骨折に関してより慎重に評価すべきであったと思われた。また、判断が困難な場合は、術前にCT検査を行うことも有用である。低侵襲のメリットを最大限に活かすために、術前の検査・評価が極めて重要であると実感させられた。

現在、人医療でも積極的にMIPOが行われている。今後、獣医療においてもさらに普及していくと考えられるが、『大きく切開して解剖学的に整復する』ことが、侵襲性が高いために全て『悪い』わけではなく、骨折部位や患者の状態によって、適切に使い分けることが重要だと思われる。

参考文献

- 1) Boero Baronceli et al: Retrospective comparison between minimally invasive plate osteosynthesis and open plating for tibial fractures in dogs. *Vet Comp Traumatol* 410-7: 25(5): 2012
- 2) Guiot LP, Dejardin LM: Prospective evaluation on minimally invasive plate osteosynthesis in 36 nonarticular tibial fractures in dogs and cats. 171-82: 40(2): *Vet Surg* 2011
- 3) 泉澤康晴：新小動物骨折内固定マニュアル～AO/ASIF テクニック～. 68, *Medical Science Inter Zoo* 2005

重症熱性血小板減少症候群の猫の2例

中須賀一樹 前田 茂 神野 茜 屋敷 奈津 前田 史彦

(受付：令和元年12月26日)

Two cases of cats of severe fever with thrombocytopenia syndrome

KAZUKI NAKASUKA, SHIGERU MAEDA, AKANE KANNO, NATSU YASHIKI and FUMIHIKO MAEDA

Maeda Animal Clinic

352-3, Hatajiki, Miyoshi, Hiroshima 728-0006

SUMMARY

Severe fever with thrombocytopenia syndrome (SFTS) is a tick-borne zoonotic disease. We encountered two cats that developed fever and severe thrombocytopenia, and were genetically diagnosed with SFTS. They underwent the same symptomatic treatment as for sepsis and had made satisfactory progress. Case 1 became negative for the virus on the 15th day of illness, and case 2 on the 18th day. At present, there is no effective treatment for SFTS. Thus, the accumulation of cases is needed for the development of therapeutic agents. In addition, infection control measures should be considered for veterinary workers because of the zoonotic potential of SFTS.

— Key words: Severe fever with thrombocytopenia syndrome, zoonotic infection, cat

要 約

重症熱性血小板減少症候群（以後 SFTS）は、マダニ媒介性の人獣共通感染症である。我々は、発熱及び重度の血小板減少症を呈し、遺伝子検査により SFTS と確定した猫 2 例に遭遇した。2 例ともに敗血症に準拠した対症療法を実施し良好な経過を辿った。症例 1 は 15 病日、症例 2 は 18 病日にウイルスの陰転を確認した。現時点では、SFTS に対する有効な治療方法は存在せず、今後の症例データの蓄積、治療薬の開発が望まれる。また、SFTS は、人獣共通感染症であることからスタッフへの感染対策を検討していく必要がある。

— キーワード：重症熱性血小板減少症候群、人獣共通感染症、猫

序 文

SFTS はブニヤウイルス目フェヌイウイルス科フレボウイルス属のウイルスによるマダニ媒介性の人獣共通感染症である。SFTS は、感染症法で第 4 類感染症に指定されており、発熱、消化器症状、白血球減少症、血小板減少症を主症状とし、人医療分野でも高い死亡率を引き起こす。獣医療分野において、猫で 2016 年、犬で 2017 年に初めて感染及び発症が報告されて以降、西日本を中心に増加傾向にある¹⁾。我々は、発熱及び重度の血小板減少症を呈し、遺伝子検査により SFTS と確定した猫 2 例に遭遇した為、その概要を報告する。

症 例

症例 1：2019/06/03 当院受診、日本猫、3 歳 1 ヶ月齢、避妊雌、混合ワクチンの予防歴無し、体重 2.95kg (BCS：3)。食欲廃絶を主訴に来院。39.4℃の発熱が認められ、解熱治療を行なったが改善しなかった為、第 4 病日に発熱の原因の精査の為検査入院となった。嘔吐症状、眼瞼結膜に黄疸が認められた。

症例 2：2019/08/18 当院受診、日本猫、6 歳齢、未去勢雄、混合ワクチン予防歴無し、体重 4.56kg (BCS：3)。外出後から元気、食欲の廃絶を主訴に来院。体温 40.1℃、眼瞼結膜に黄疸が認められた。

各 種 検 査

血液検査

症例 1：全血球計算にてリンパ球減少症、重度の血小板減少症が認められた。血液化学検査では高ビリルビン血症、低コレステロール血症が認められた。ネコエイズウイルス感染症、猫白血病ウイルス感染症は陰性であった。(表 1)

表 1 血液検査 (症例 1)

| 項目 | 測定値 | 正常範囲 | 項目 | 測定値 | 正常範囲 |
|-------|---------------------------|-------------|---------|----------|------------|
| RBC | 7.12(10 ⁶ /μL) | (6.54-12.2) | TP | 6.7g/dL | (5.7-8.9) |
| HGB | 10.5(g/dL) | (9.8-16.2) | Alb | 2.5g/dL | (2.3-3.9) |
| HCT | 32.5(%) | (30.3-52.3) | Glb | 4.2g/dL | (2.8-5.1) |
| MCV | 45.6(fL) | (35.9-53.1) | ALT | 112U/L | (12-130) |
| MCHC | 31.1(g/gL) | (28.1-35.8) | ALP | 29U/L | (14-111) |
| RETIC | 9.3(10 ⁶ /μL) | (3-50) | GGT | 0U/L | (0-4) |
| PLT | 44(10 ³ /μL) | (151-600) | Tcho | 47mg/dL | (65-225) |
| WBC | 4.35(10 ³ /μL) | (2.87-17.2) | Tbil | 4.2mg/dL | (0-0.9) |
| BAND | 0.35(10 ³ /μL) | | Glu | 138mg/dL | (71-159) |
| NEU | 3.48(10 ³ /μL) | (2.3-10.29) | BUN | 16mg/dL | (16-36) |
| LYM | 0.35(10 ³ /μL) | (0.92-6.88) | Cre | 1mg/dL | (0.9-2.4) |
| MONO | 0.17(10 ³ /μL) | (0.05-0.67) | BUN/Cre | 16 | |
| EOS | 0(10 ³ /μL) | (0.17-1.57) | Ca | 9.1mg/dL | (7.8-11.3) |
| BASO | 0(10 ³ /μL) | (0.01-0.26) | P | 3.8mg/dL | (3.1-7.5) |
| | | | FIV | 陰性 | |
| | | | FeLV | 陰性 | |

症例 2：全血球計算にて軽度の非再生貧血、リンパ球減少症、重度の好中球減少症、血小板減少症が認められた。血液化学検査では高ビリルビン血症が認められた。ネコエイズウイルス感染症は陽性で猫白血病ウイルス感染症は陰性であった。(表 2)

表 2 血液検査 (症例 2)

| 項目 | 測定値 | 正常範囲 | 項目 | 測定値 | 正常範囲 |
|-------|---------------------------|-------------|---------|----------|------------|
| RBC | 7.93(10 ⁶ /μL) | (6.54-12.2) | TP | 7.8g/dL | (5.7-8.9) |
| HGB | 9.2(g/dL) | (9.8-16.2) | Alb | 2.7g/dL | (2.3-3.9) |
| HCT | 28.1(%) | (30.3-52.3) | Glb | 5.1g/dL | (2.8-5.1) |
| MCV | 35.4(fL) | (35.9-53.1) | ALT | 39U/L | (12-130) |
| MCHC | 32.7(g/gL) | (28.1-35.8) | ALP | 16U/L | (14-111) |
| RETIC | 4.8(10 ⁶ /μL) | (3-50) | GGT | 0U/L | (0-4) |
| PLT | 46(10 ³ /μL) | (151-600) | Tcho | 70mg/dL | (65-225) |
| WBC | 1.59(10 ³ /μL) | (2.87-17.2) | Tbil | 1.7mg/dL | (0-0.9) |
| BAND | 0(10 ³ /μL) | | Glu | 145mg/dL | (71-159) |
| NEU | 1.21(10 ³ /μL) | (2.3-10.29) | BUN | 16mg/dL | (16-36) |
| LYM | 0.17(10 ³ /μL) | (0.92-6.88) | Cre | 0.9mg/dL | (0.9-2.4) |
| MONO | 0.14(10 ³ /μL) | (0.05-0.67) | BUN/Cre | 18 | |
| EOS | 0.04(10 ³ /μL) | (0.17-1.57) | Ca | 7.2mg/dL | (7.8-11.3) |
| BASO | 0.06(10 ³ /μL) | (0.01-0.26) | P | 2.9mg/dL | (3.1-7.5) |
| | | | FIV | 陽性 | |
| | | | FeLV | 陰性 | |

画像検査

症例 1：胸部、腹部レントゲン検査、腹部超音波検査では異常所見は認められなかった。

症例 2：胸部、腹部レントゲン検査、腹部超音波検査では異常所見は認められなかった。

ウイルス検査

ウイルス検査は、国立感染症研究所に検査依頼した。

1. 遺伝子検査

血清、口腔及び肛門スワブを使用し、SFTSV 特異的プライマーを用いた RT-PCR を実施した。

症例 1：血清サンプルにおいて遺伝子検査陽性が確認された (写真 1)。

症例 2：血清、口腔及び肛門サンプルで遺伝子検査陽性が確認された (写真 2)。

2. 抗体検査

SFTSV 感染細胞を使用した ELISA 法を実施。SFTSV 細胞抗原の吸光度と Mock 細胞の吸光度の差が >0.5 以上の時、陽性と判定した。

症例 1：IgM 抗体の上昇が認められた (写真 1)。

症例 2：IgM, IgG ともに上昇は認められなかった (写真 2)。

治療及び経過

症例 1：乳酸リンゲル液の静脈点滴、アンピシリン (20mg/kg TID i.v)、メトクロプラミド (0.4mg/kg SID s.c) を実施した。第 5 病日に発熱の消失、第 7 病日に白血球数 (127.1 10⁶/μL)、血小板数 (104 10³/μL) の回復、高ビリルビン血症 (0.7mg/dL) の

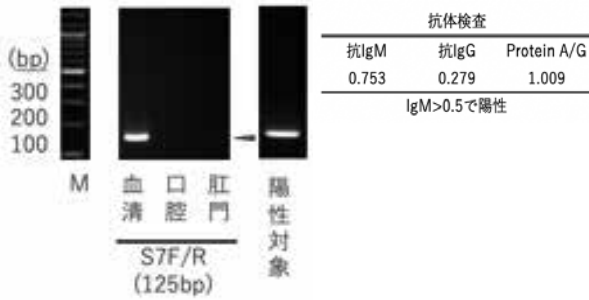


写真1 ウイルス検査 (症例1)

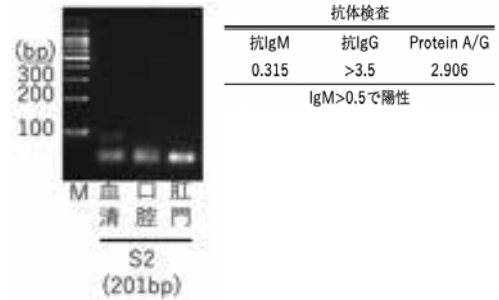


写真3 ウイルス検査 (症例1)

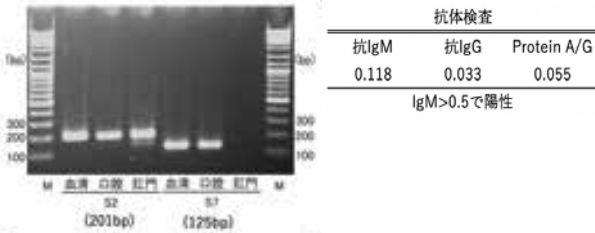


写真2 ウイルス検査 (症例2)

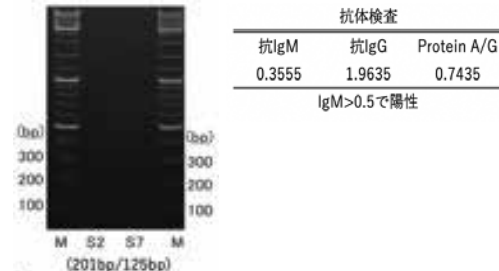


写真4 ウイルス検査 (症例2)

消失が認められた。第15病日にウイルス検査を再度実施し、遺伝子検査にてSFTSV遺伝子の陰転化、抗体検査にてIgMの減少、IgGの上昇が認められた為(写真3)、ウイルス排出の可能性は低いと考え、退院した。

症例2：乳酸リンゲル液の静脈点滴、アンピシリン(20mg/kg TID i.v)、オフロキサシン(5mg/kg SID s.c)、メトクロプラミド(0.4mg/kg SID s.c)、輸血を実施した。第3病日には発熱の回復が認められたが、血小板数の改善はなかった。食欲の回復は、1週間の時間を有した。第18病日にウイルス検査を再度実施し、遺伝子検査の陰転化、IgGの上昇が認められ(写真4)、退院とした。

考 察

現在、SFTS に対する特異的な治療薬は存在せず、敗血症に準拠した対症療法が中心となる。本症例らは幸いにも経過は良好であった。症例2で血小板数の改善が認められなかった原因として、ネコエイズウイルス感染症による骨髄抑制が考えられるが、今回、骨髄検査を行っていない為、詳細は不明である。人医療分野ではリフトバレー熱ウイルスやクリミヤコンゴ出血熱ウイルスなどの治療薬として承認されているリバビリンの *in vitro* での効果が報告されており、獣医療分野でも治療薬の開発が望まれる。また、SFTS は人獣共通感染症としての側面から、院内スタッフへの感染予防対策が重要である。当院では、国立感染症研究所のSFTS診断の手引き²⁾を参考にして、個人防護具の着用と次亜塩素酸ナトリウムによる汚物、排

泄物の消毒を徹底するようにしている。(写真5)

個人防護具の着用



症例の隔離

次亜塩素酸Naによる消毒



写真5

謝 辞

今回のSFTSウイルス検査にご協力いただきました国立感染症研究所獣医学部 前田健先生、石嶋慧多先生に深謝します。

文 献

- 1) 前田健：臨床獣医師のための犬と猫の感染症診療，第1版，57-64，262-264，緑書房，東京(2018)
- 2) 加藤康幸：重症熱性血小板減少症候群(SFTS)診療の手引き，改訂版，12-13，(2015)，(オンライン)

高エリスロポイエチン血症による二次性赤血球増加症を併発した 腎臓 T 細胞性リンパ腫の犬の 1 例

秋田 征豪 秋田咲樹子 岡藤 理恵

(受付：令和 2 年 1 月 17 日)

A case of renal T-cell lymphoma with secondary erythrocytosis due to hypererythropoietinemia in a dog

MASAHIDE AKITA, SAKIKO AKITA and RIE OKAFUJI

Hachi Pet Clinic

1-4-4, Nakayamakami, Higashi-ku, Hiroshima 732-0027

SUMMARY

A 9-year-old Bichon Frise had polycythemia with weight loss, vomiting, and anorexia. Echocardiography revealed swelling and masses in both kidneys. Lymphoma was suspected by echo-guided FNA of the right kidney. At initial diagnosis, phlebotomy and intravenous infusion were performed, resulting in a decrease in PCV from 75% to 50%. The dog was diagnosed with T cell lymphoma by lymphocyte clonality analysis. In addition, a high serum erythropoietin level was noted. Before obtaining the results of the clonality analysis of lymphoma, we prescribed prednisolone, omeprazole, and enrofloxacin and planned anticancer drug treatment. However, the animal died on the 6th day of illness before performing this treatment.

— Key words: dog, renal T-cell lymphoma, erythrocytosis, Hypererythropoietinemia

要 約

体重減少、嘔吐および食欲不振が主訴の 9 歳齢のビションフリーゼにおいて、赤血球増加症が認められた。エコー検査にて両側の腎臓腫大および腫瘤を認めたため、エコーガイド下にて右腎の FNA を行ったところリンパ腫が疑われた。初診時に対症治療として瀉血および静脈輸液を行い PCV は 75% から 50% へ低下した。リンパ球クローナリティー解析の結果、T 細胞性リンパ腫と診断された。また、血清エリスロポイエチン濃度の高値が認められた。リンパ腫のクローナリティー解析の結果を待つ間、プレドニゾロン、オメプラゾール、エン

ロフロキサシンを処方し抗癌剤治療について計画したが、投薬を行えず第6病日に死亡の報告を受けた。

——キーワード：犬、腎臓T細胞性リンパ腫、赤血球増加症、高エリスロポイエチン血症

序 文

赤血球増加症には、脱水などによる相対的赤血球増加症と絶対的赤血球増加症に大別される^{1), 2)}。さらに、絶対的赤血球増加症は、低酸素血症やエリスロポイエチン産生腫瘍による高エリスロポイエチン血症が原因の二次性赤血球増加症と、エリスロポイエチンを必要としない骨髄増殖性疾患である原発性赤血球増加症に区別される^{1), 2)}。今回、エリスロポイエチン産生性の腎臓T細胞性リンパ腫により、二次性赤血球増加症を呈した犬に遭遇したのでその概要を報告する。

症 例

ビションフリーゼ、避妊雌、9歳齢、体重3.84kg、既往歴として膀胱結石の手術歴があり、その後に腎結石を認めた。また、初診時より約2か月前に原因不明の腓骨骨折を認めたが、自然治癒した。

元気食欲の低下と最近よく嘔吐をするという主訴で来院。身体一般検査では軽度の沈鬱が認められたが、その他に明らかな異常は認められなかった。

スクリーニング検査として尿検査、血液検査、レントゲン検査、腹部超音波検査を実施した。尿検査で低比重尿(1.015)、潜血3+(1mg/dl)、尿蛋白4+(1000mg/dl)、尿蛋白クレアチニン比の高値(>500mg/gCr)が認められた(表1)。血液検査では赤血球数の増加およびCRPの上昇(6.2mg/dl)が認められた。レントゲン検査では胸部に明らかな異常はなかった(表2)。また、腎領域のディテールの低下、右腎、肝陰影の拡大が認められた(図1, 2)。腹部エコー検査では肝臓、脾臓、消化管に明らかな異常は無く、腹腔内リンパ節の腫大は認められなかった。右側腎盂に結石が存在し、頭側に直径5cm大の腫瘍を疑う腫瘍が認

められた(図3)。左側腎盂にも結石、頭側に小型の腫瘍および腎周囲に液体貯留を認めた(図4)。エコー検査および血液検査の結果から腎腫瘍による二次性赤血球増加症を疑い、追加検査としてエコーガイド下で右腎の腫瘍に対しFNAを行った。FNAの標本中には、末梢血を背景に、多数の独立した有核細胞が観察され、有核細胞の多くは中型～大型の円形細胞を主体



図1 初診時レントゲン検査 VD
両腎に結石が認められ、右腎の拡大が認められた。

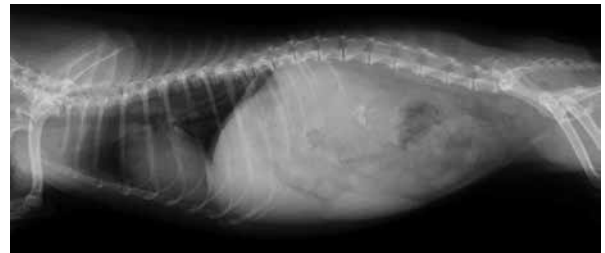


図2 初診時レントゲン検査 ラテラル
腎臓領域のディテールの低下および腎結石、右腎、肝陰影の拡大が認められた。

表1 初診時の尿検査所見

| | | | |
|--------|--------------|--------|------------------|
| 潜血 | 3+(1mg/dl) | 白血球 | - |
| 蛋白 | 4+(1000g/dl) | 硝酸 | - |
| ケトン体 | - | 尿蛋白 | } 2+(>500mg/gCr) |
| ビリルビン | - | クレアチニン | |
| ブドウ糖 | - | 尿比重 | 1.015 |
| PH | 6.5 | 沈査 | - |
| クレアチニン | 100mg/dl | | |

表2 初診時血液検査結果

| | | | | |
|------|------------------------|------|-----|------------|
| WBC | 15300 | /μl | BUN | 17.4 mg/dl |
| RBC | 1210 × 10 ⁴ | /μl | TP | 6.6 g/dl |
| HGB | 22.5 | p/g | ALB | 3.2 mg/dl |
| HCT | 75 | % | Na | 154 mEq/l |
| MCV | 63.1 | fL | K | 3.9 mEq/l |
| MCH | 20.1 | pg | Cl | 114 mEq/l |
| MCHC | 34.7 | g/dL | Ca | 11.3 mg/dl |
| PLT | 測定できず | | CRP | 6.2 mg/dl |



図3 初診時エコー検査 右腎
変形・腫大および腫瘍を疑う腫瘍を認める。



図4 初診時エコー検査 左腎
腫瘍と腎周囲に少量の液体貯留を認める。

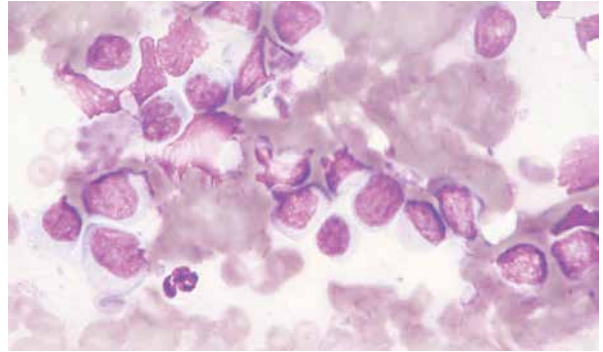


図5 FNAによる細胞診(多数の独立した有核細胞が観察され、有核細胞の多くは中型～大型の円形細胞を主体とし、標本内での赤血球の直径2～3倍程度の細胞であった)

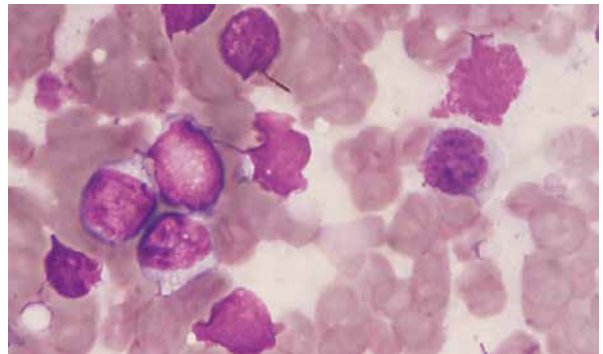


図6 FNAによる細胞診(細胞質には好酸性、好塩基性の微細な顆粒をもつ細胞も散見された)

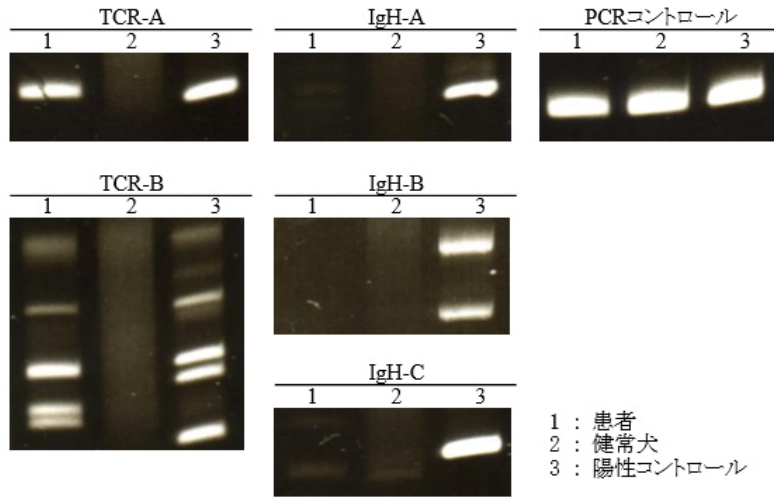


図7 リンパ系腫瘍のクローナリティー解析
TCR γ 鎖にバンドが検出し、Tリンパ球性のモノクローナルな増殖が認められた。

とし、標本内での赤血球の直径2～3倍程度の細胞であった(図5)。また、少量の好塩基性細胞質を持ち、核は類円形から切り込みを認め細胞質の辺縁に位置した。加えてしばしば、細胞質には好酸性から好塩基性の微細な顆粒が認められた。クロマチンは微細ないし均一で、核仁は1個を有するか、多くは不明瞭であった(図6)。細胞診の結果、リンパ腫を疑いク

ローナリティー解析を依頼した。

また、腎腫瘍に起因した高エリスロポイエチン血症による二次性赤血球増加症を疑い、血清エリスロポイエチン濃度の測定を依頼した。

レントゲンおよびエコー検査では、他の腫瘍性病変を認めなかったため、転移または多中心型リンパ腫のステージ進行ではなく、腎臓原発の腫瘍と考えられ

た。また、両側性に発生していることから、外科摘出は適応外と判断した。

第0病日、対症治療として50mlの瀉血および乳酸リンゲル液の静脈輸液を行った。また、リンパ腫のモノクローナル解析および血中エリスロポイエチン濃度の結果を待つ間、プレドニゾロン、エンロフロキサシン、オメプラゾールの内服を処方した。しかしながら、オーナーの意思により投薬は行われず、第6病日に死亡の報告を受けた。リンパ腫のモノクローナル解析の結果は、Tリンパ球性のモノクローナルな増殖が検出された。また、エリスロポイエチン濃度は、625mIU/ml (参考値 1.3-13.4mIU/ml) と高値を示した。以上の結果から、エリスロポイエチン産生性の腎臓T細胞性リンパ腫と診断した。

考 察

赤血球増加症は、脱水などによるPCVの上昇による相対的赤血球増加症と、絶対的赤血球増加症に大別される^{1), 2)}。絶対的赤血球増加症は、二次性赤血球増加症とエリスロポイエチンなど造血系のサイトカインに依存しない、骨髄増殖性疾患である原発性赤血球増加症に鑑別される^{1), 2)}。二次性赤血球増加症は、心疾患や呼吸器疾患に等に起因する低酸素症による赤血球増加症と、エリスロポイエチン産生腫瘍や腎疾患による高エリスロポイエチン血症に起因する赤血球増加症に鑑別され、それぞれ治療が異なるため鑑別が重要である^{1), 2)}。獣医領域では、心肺疾患以外の二次性赤血球増加症の原因は、腎臓腫瘍などの腫瘍が一般的である¹⁾⁻³⁾。本症例では血液検査で赤血球増加症が認められ、エコー検査にて両側の腎臓に腫瘍を疑う病変を有し、FNAによりリンパ腫を疑った。レントゲン検査や身体一般検査でその他に腫瘍を疑う病変が無かったことから、腎臓原発のリンパ腫と診断した。腎臓腫瘍において、FNAによるリンパ腫の診断率が高いことが報告されており^{4), 5)}、本症例のような明らかな呼吸器、循環器疾患がなく、腎臓に腫瘍性病変が認められた場合には、可能であればFNAを実施することが重要と思われた。

犬での腎臓腫瘍自体、稀な疾患であり、本症例と同様に腎リンパ腫に併発した二次性赤血球増加症の症例は、数例の報告のみである⁶⁾⁻¹²⁾。2019年、Taylorらにより腎臓のリンパ腫における詳細なデータ報告が29例なされ、そのうち、15例で赤血球増多症が認められている¹³⁾。犬においてリンパ腫は、造血器腫瘍の大部分を占めるが、その多くは多中心型であり、腎臓孤立性のリンパ腫は非常に稀で治療報告も多くない³⁾⁻¹²⁾。また、その多くがT細胞性と診断されており、死後診断症例が多く、化学療法についての予後の検討も殆どなされていないのが現状である⁴⁾⁻¹¹⁾。

本症例では、初診時に対症治療として瀉血や静脈輸

液を行ったのみで、リンパ腫に対して化学療法を実施できなかった。多中心型リンパ腫に比較して予後が悪く、T細胞型であることも、抗がん剤の反応性が悪いことが予想された。大東らが治療を行った症例では、抗がん剤治療に反応した期間中は赤血球増加症もコントロールされており、再燃するまで、5ヶ月近く生存している⁶⁾。Taylorらの29例の原発性腎性リンパ腫の報告では、9例が神経症状を伴い、死亡あるいは安楽死され、抗がん剤治療を行った23例の中央生存期間は、12日(1~212日)であった¹³⁾。

抗がん剤を行った場合には、リンパ腫の治療により赤血球増加症の改善やQOLの改善が期待された。長期的な予後が望めなかった可能性は極めて高いが、抗がん剤治療にまで至らなかったことが悔やまれた。

参考文献

- 1) E. Kelly Nitsche: Erythrocytosis in Dogs and Cats. COMPENDIUM February, 26(2): 104-118 (2004)
- 2) StePhen, JEttinger, et al.: Anemia, Erythrocytosis, Textbook of Veterinary Internal Medicine 8th, Vol1 Chap57, Saunders; p234-235
- 3) David M. Vail et al.: Withrow & Mac Ewen's small animal oncology 6th ed. chap30 tumor of urinary sytem 645-656, Elsevir (2019)
- 4) Camille A. McAloney CA, et al.: Evaluation of the diagnostic utility of cytologic examination of renal fine-needle aspirates from dogs and the use of ultrasonographic features to inform cytologic diagnosis: J Am Vet Med Assoc. May 15; 252(10; 1247-1256). (2018)
- 5) Taylor AJ, et al.: Ultrasonographic characteristics of canine renal lymphoma. Vet Radiol Ultrasound Jul-Aug; 55(4); 441-6 (2014)
- 6) 大東ほか：赤血球増加症を併発した腎臓リンパ腫の犬の1例。動物臨床医学 18 (3) 69-74, (2009)
- 7) Snead EC: A case of bilateral renal lymphosarcoma with secondary polycythaemia and paraneoplastic syndromes of hypoglycemia and uveitis in an English Springer Spaniel .Vet Comp Oncol, 3(3)139-144, (2005)
- 8) Durno AS, et al.: Polycythemia and Inappropriate Erythropoietin Concentrations in Two Dogs with Renal T-cell Lymphoma. J Am Anim Hosp Assoc. Mar/Apr, 47(2) 122-128 (2011)
- 9) Lane EP, Lobetti RG: Renal T-cell lymphoma with cerebral metastasis in a dog with chronic canine ehlichiosis, JS Afr Vet Assoc 73(2): 83-85 (2002)
- 10) Froment R, Gara-Boivin C.: Bilateral renal

- T-cell lymphoma with hepatic infiltration and secondary polycythemia in a dog: Utility of cytology slides: *Can Vet J*; 56(12), 1287-1291 (2015)
- 11) ZHAO D., et al.: Bilateral Renal Lymphosarcoma in a Dog *J Vet Med Sci* 55(4): 657-659 (1993)
- 12) Lascelles BD., et al.: Surgical treatment of right-sided renal lymphoma with invasion of the caudal vena cava, *J Small Anim Pract*, 44(3); 135-138 (2003)
- 13) Taylor A., et al.: Clinical characteristics and outcome of dogs with presumed primary renal lymphoma. *J Small Anima Pract*, Nov; 60(11); 663-670 (2019)

広島広域都市圏における環境カドミウム濃度 ～野生動物の筋肉と腎に含まれる濃度を指標として～

新田由美子¹⁾ 三木由美子¹⁾ 末永 昌美²⁾ 田中ひろみ³⁾ 吉野由紀夫⁴⁾ 岡本 典恵⁵⁾
(受付：令和元年 12 月 17 日)

Wildlife as the bioindicator of terrestrial cadmium distribution in an urban districts

YUMIKO NITTA¹⁾, YUMIKO MIKI¹⁾, MASAMI SUENAGA²⁾, HIROMI TANAKA³⁾,
YUKIO YOSHINO⁴⁾ and NORIE OKAMOTO⁵⁾

- 1) Hiroshima Shudo University, 1-1-1 Ozukahigashi, Asaminami-ward, Hiroshima 731-3195, Japan
- 2) Yamaguchi Prefectural Government, 1-1-1 Mikasacho, Iwakuni 740-0016, Japan
- 3) Kyoto City Government/Public Health, 488 Kamihonnoji, Teramachi-dori, Nakagyo-ward, Kyoto 604-857, Japan
- 4) Towa Environmental Science Co.Ltd., 6-5 Funairi-cho, Naka-ward, Hiroshima 730-0841, Japan
- 5) NIPPON TOTAL SCIENCE Co. Ltd., 399-46 Minamioka, Minoshima-cho, Fukuyama 721-0957, Japan

SUMMARY

The circulation of Cd in urban districts is informative for public health, food hygiene and the ecosystem. To visualize the concentrations of Cd and Zn in the Hiroshima wide-area urban districts, wildlife, farm plants, pteridophytes and oyster shells were prepared as the terrestrial ecological elements for 2 years from 2017 to 2019. The concentrations of Cd and Zn in the edible game meats (n=34) were 0.0019 ± 0.0887 and 34.07 ± 19.53 mg/kg, respectively. The female but not male wild boars showed concentrated Cd in their kidneys expressed linearly as a function of Zn with a strong correlation between the two metals (n=26). This difference in the concentrations between sexes was confirmed by the values in the kidneys of raccoon dogs (n=14). The pteridophytes accumulated Cd with a strong correlation to Zn depending on the geological strata (n=14). The farm plants (n=6), which were the foodstuff of the wildlife, as well as the residents, contained Cd and

1) 広島修道大学 (〒 731-3195 広島市安佐南区大塚東 1-1-1)
2) 山口県岩国市健康福祉センター (〒 740-0016 岩国市三笠町 1-1-1)
3) 京都市保健福祉局 (〒 604-8571 京都市中京区寺町通御池上る上本能寺町 488)
4) 東和環境科学株式会社 (〒 731-0841 広島市中区舟入町 6-5)
5) 株式会社日本総合科学 (〒 721-0957 福山市箕島町南丘 399-46)

Zn with the values of 0.0214 ± 0.0376 and 19.71 ± 18.82 mg/kg, respectively. The oyster shells sowed as a kind of fertilizer contained 0.110 ± 0.054 and 19.2 ± 12.0 mg/kg of Cd and Zn, respectively. In conclusion, the conditions of Cd in the Hiroshima wide-area urban districts has been in a stable state for decades, which were reflected as the high concentrations of Cd in the female wildlife associated with age.

— Key words: cadmium, pteridophyta, raccoon dog, wild boar, zinc

要 約

市街地でのカドミウム (Cd) 循環を明らかにすることは、公衆衛生、食品衛生および生態系を考える場合に有用である。広島広域都市圏の Cd と亜鉛 (Zn) の濃度を、2017～2019年に収集した野生動物、自生シダ植物、畑作物およびカキ殻について測定した。イノシシモモ肉の濃度は、Cd が 0.0019 ± 0.0887 mg/kg, Zn が 34.07 ± 19.53 mg/kg であった。Cd 濃度はメスで Zn 濃度と高い相関を示し、この性差はイノシシ腎とタヌキ腎において認められた。自生シダ植物は環境中の Cd と Zn を濃縮し、両金属相互に高い相関を認めた。野生動物によって食害を受ける畑作物の濃度は、Cd が 0.0214 ± 0.0376 mg/kg, Zn が 19.71 ± 18.82 mg/kg であった。畑へ肥料として撒くカキ殻の濃度は、Cd が 0.11 ± 0.05 mg/kg, Zn が 19.2 ± 12.0 mg/kg であった。広島広域都市圏における陸域の環境 Cd 濃度は、野生動物のメス腎と自生シダ植物の値から、長期にわたり平衡状態にあると考えられた。

— キーワード：カドミウム、シダ、タヌキ、イノシシ、亜鉛

INTRODUCTION

Anthropogenic environmental pollutants have been cleaned up for decades, yet heavy metal contamination has resulted from improper disposal, mining by-products or specific chemicals released in and around the cities. These metals include essential (ex. Zn) and possibly non-essential elements for mammalian health (ex. Cd), and the chronic exposure to Cd showed high toxicity for humans¹⁻³⁾.

Assessment of the exposure to environmental Cd was conducted with the information of Zn and other heavy metals in the aquatic and terrestrial organisms of the local area. Some piscivorous birds accumulated in their eggs⁴⁻⁶⁾, while other mammalian game showed in their muscles and other tissues^{7,8)}. These data have been extrapolated for the perspectives of public health⁹⁻¹²⁾, food hygiene¹³⁻¹⁶⁾ and the ecosystem including humans^{17,18)}.

The main pathway for Cd into mammals is through foodstuff grown in soils sowed with fertiliz-

ers containing Cd¹⁹⁾. For the reduction of human exposure to Cd from farm plants, some countries have determined the critical level of Cd in the agricultural soils²⁰⁾. Others attempted to develop new methods to remedy the Cd contaminated soil using pteridophytes, leguminous plants or rice²¹⁻²³⁾.

In the view point of landscape ecology, however, the anthropogenic environmental activities to change the original vegetation in the target districts should be performed carefully. This is because the geological status, the agricultural intensification and other resident activities compose visible, as well as invisible parts of the landscape, where the wildlife functions as one of the main elements in the local biome²⁴⁾. Such wildlife populations, furthermore, have another risk for public health to increase zoonotic diseases²⁵⁾.

The objective of this study was to make the circulation of Cd in the Hiroshima wide-area urban districts visible through the wildlife symbiotic with humans. The wild boars, raccoon dogs, farm plants,

the pteridophytes and the oyster shells were prepared for this investigation as elements composing the terrestrial ecosystem. The measurements of Cd and Zn were performed for 2 years from 2017 to 2019. The correlations of the metals in each element and between the elements were discussed.

MATERIALS AND METHODS

Wildlife: Wild boars (*Sus scrofa leucomystax*) and raccoon dogs (*Nyctereutes procynoides*) were captured during the hunting seasons from November in 2017 to February in 2019. The numbers captured were 26 for wild boar and 14 for raccoon dog. They were wire-trapped or cage-trapped by registered

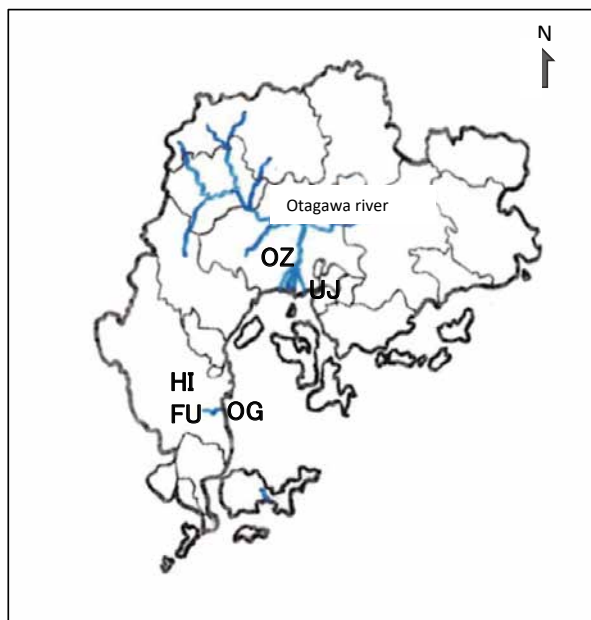


Fig.1. Schema of the Hiroshima wide-area urban districts.

A: Habitats of wildlife around the coast of Hiroshima bay. Wildlife was hunted at Hirata (HI), Fujyu (FU) and Oogi (OG) districts. Pteridophytes were collected at HI, FU, OG, Ujina (UJ) and Ozuka (OZ) districts.

hunters. The wild boars were carcassed, while the raccoon dogs were submitted to the place of autopsy, anesthetized deeply with diethyl ether until the last breath and then autopsied. The kidneys of the 40 animals were stored at -20°C until use. Macroscopically abnormal parts of the tissues and kidneys were placed in 10% phosphate-buffered formalin immediately.

The home range of the wildlife included two abandoned manganese mines surrounded by the bamboo biomes at the districts of Hirata and Fujyu, the traditional agricultural landscapes and the human habitats with vegetable farms at the district of Oogi (Table 1, Fig.1)^{26,27}.

Animal welfare and ethics: The wildlife was treated along the guideline of the health management of wild birds and beasts in Yamaguchi prefecture. The code of ethics, The Oath of Veterinarians-Declaration '95, was obeyed in all of the processes. The experiments were performed following the study regulation of ethics determined by the committee of Hiroshima Shudo University.

Pathology: The tissues fixed in the formalin were processed for the preparation of paraffin sections. The thinly sliced sections were stained with hematoxylin and eosin to observe microscopically.

Farm plants and pteridophytes: Farm plants of orange, loquat, lotus root, pumpkin and soybean were kindly provided by the residents in the Oogi district between 2017 and 2019. (Table 1, Fig. 1).

Five species of the pteridophytes dominantly grown in the five districts of the two geological ages were collected during the same hunting seasons (Table 1)²⁷. The *Athyrium yokoscense* and the *Plagiogyria euphlebia* grew up in the districts of HI and FU, where the wildlife inhabited. The *Dicranopteris linearis* grew widely in the examined districts ex-

Table1. Geological characteristics of the southern part of Hiroshima wide-area urban districts

| Districts * | Geologic age ** | Hunting area | Field area | Oyster culturing area | Self-growing pteridophytes *** | | | | |
|-------------|-------------------|--------------|------------|-----------------------|--------------------------------|------------------------------|-------------------------------|---------------------------|----------------------------|
| | | | | | <i>Athyrium yokoscense</i> | <i>Plagiogyria euphlebia</i> | <i>Dicranopteris linearis</i> | <i>Cyrtomium fortunei</i> | <i>Gleichenia japonica</i> |
| HI | Jurassic period | + | - | - | + | + | - | - | - |
| FU | | + | - | - | + | + | - | - | - |
| OG | Cretaceous period | + | + | - | - | - | + | + | + |
| UJ | | - | - | + | - | - | + | + | + |
| OZ | | - | - | - | - | - | + | + | + |

Characteristics applicable or not was shown as + or -, respectively.

*: Each district indicated HI for Hirata, FU for Fujyu, OG for Oogi, UJ for Ujina, and OZ for Ozuka on the schema of Fig. 1.

**: Referred to the geological map (27).

***: Referred to the distribution map (26).

cept Hirata. The two species, the *Cytomium fortune* and the *Gleichenia japonica*, grew alongside (Ozuka) or at the mouth (Ujina) of the Otagawa river, which flowed into the oyster culturing area of Hiroshima bay.

Edible parts of each farm plant and ground parts of each pteridophyta were used for the Cd measurements.

Game meat: The thigh meats of sika deer (*Cervus nippon*) and wild boar were purchased in the Hiroshima wide-area urban districts, the economic unit having a population of two million people, between 2017 and 2019. The numbers purchased were 10 for sika deer and 11 for wild boar.

The quadriceps of the captured wild boars were stored at -20°C after the carcassing. Thirteen cases out of the 26 captured were provided for the muscle specimen.

Cd and Zn measurements: All materials except the kidney were dried in a drying device (KM-300V, AS ONE, Osaka, Japan) overnight and then ground by a stainless ball mill and stored at -20°C until use. Drying ratios (mean ± SD) for the meats (n=34), the farm plants (n=6) and the pteridophytes (n=14) were 5.4 ± 0.8, 7.1 ± 2.5 and 2.5 ± 0.7 times, respectively.

The 70% HNO₃ solution (reagent grade) was added to each sample to process microwave digestion. The sample solution was dried on a hot plate at 180°C and then filled up to 10 ml with deionized water. The concentrations of Cd and Zn were determined by Inductively Coupled Plasma Atomic Spectrometry (ICP-OES 730-ES, Agilent, Tokyo, Japan). The limit of detection by the instrument was 0.01mg/kg. By the pretreatment of drying and the increasing levels of solubility for the materials, the final level of quantification was 0.0005 mg/kg. The average value of the duplicated measurements was

used as a representative for each sample. Values of the metals were shown per the wet weight of the samples.

Oyster shell: Cultured oysters were purchased from the 3 different market places in the Hiroshima wide-area urban districts between 2017 and 2019. Wild oysters were collected at the mouth of Otagawa river of Hiroshima bay in every winter of the same period. After removing meat, the shells were washed with running water, air-dried and ground by the stainless ball mill. The pulverized shells were sieved through a 2 mm screen to remove impurities. Their concentrations of the metals were measured by the sediment determining methods of II-5.1 and II-5.4 for Cd and Zn, respectively, with the Atomic Absorption Spectrometer (AA-6200, SHIMADZU, Kyoto, Japan). The mean value of the triplicated measurements was used as representative for each sample.

Statistical analysis: Student's *t*-test and F-test were performed to compare the concentrations of Cd and Zn in game meat, wildlife, farm plants and pteridophytes. Pearson's coefficient of correlation was used for the values between the two metals and organs. The software, EXCEL multiple regression analysis, version 3 (ESUMI, Tokyo, Japan) was used.

RESULTS

Cd contamination in game meat: Concentrations of Cd in the game meat for foodstuff of humans were in Table 2. All the meat of sika deer and wild boar purchased showed concentrations less than 0.017 and 0.007 mg/kg, respectively.

Twelve out of the 13 captured wild boars (92.3% of group 3) showed concentrations less than 0.017 mg/kg in meat. One meat showed a high concentra-

Table 2. Concentrations of Cd in game meat

| Groups | Species | n | Cd (mg/kg) a) | | | Zn (mg/kg) | | |
|--------|--------------|----|------------------|------------|--------------------|----------------|------------|--------------------|
| | | | mean ± SD | Dispersion | Range (low - high) | mean ± SD | Dispersion | Range (low - high) |
| 1 | Sika deer b) | 10 | 0.0069±0.0070 | 0.0005 | <0.001 - 0.017 | 46.96±24.57 | 603.47 | 15.9 - 83.6 |
| 2 | Wild boar b) | 11 | 0.0021±0.0029 d) | 0.0008 | <0.001 - 0.007 | 32.66±18.20 f) | 331.36 | 16.0 - 61.3 |
| 3 | Wild boar c) | 13 | 0.0445±0.1432 e) | 0.0205 | <0.001 - 0.521 | 25.35±9.87 g) | 97.44 | 12.9 - 41.3 |
| 1+2 | - | 21 | 0.0044±0.0057 | - | - | 39.47±22.15 | - | - |
| 1+2+3 | - | 34 | 0.0019±0.0087 | - | - | 34.07±19.53 | - | - |

a): Values below the lower reporting limit were calculated as 0.001 mg/kg.

b): Purchased samples.

c): Captured samples.

d): *p*=0.017 when compared to the Cd value of group 1 by F-test. *p*<0.0001 when compared to the Cd value of group 3 by F-test.

e): *p*<0.0001 when compared to the Cd value of group 1 by F-test.

f): *p*<0.004 when compared to the Zn value of group1 by F-test. *p*=0.049 when compared to the Zn value of group 3 by F-test.

g): *p*<0.0001 when compared to the Zn value of group 1 by F-test.

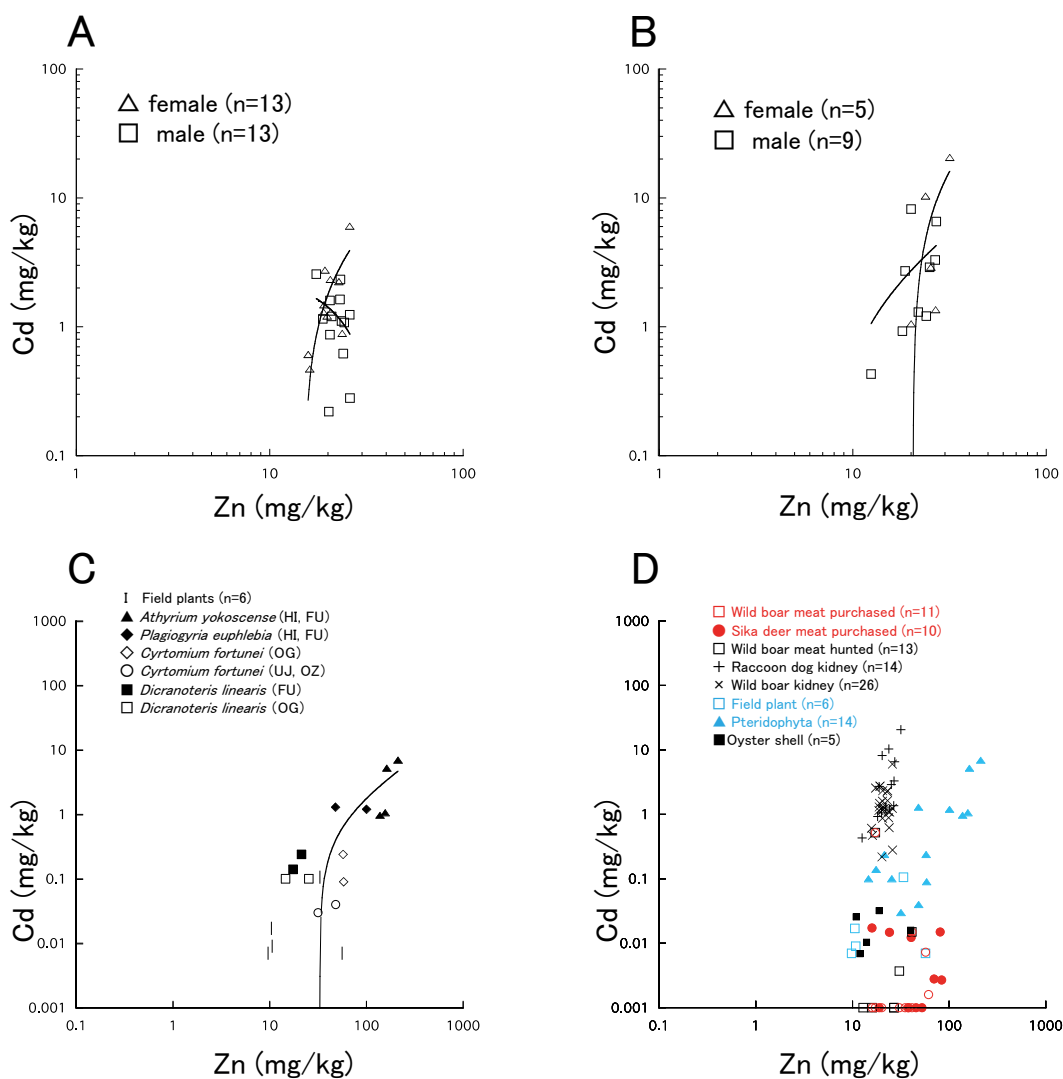


Fig.2. Concentrations of Cd in wildlife, plants and oyster shells.

- A:** Correlation coefficients between the concentrations of the two metals of the wild boar kidney. Regression curves for the female and the male were given by the equations of $y=0.36x - 5.42$ ($R=0.701$) and $y=0.09x + 3.23$ ($R=0.350$), respectively.
- B:** Correlation coefficients between the two metal concentrations of the raccoon dog kidney. Regression curves for the female and the male were $y=1.43x - 29.23$ ($R=0.732$) and $y=0.23x - 1.68$ ($R=0.392$), respectively.
- C:** Concentrations of Cd in the plants as a function of Zn. Loquat, lotus root, hassaku orange, pumpkin and soybean were the examined species of the farm plants. Five species of the pteridophytes were collected from the districts in **Table 1** and **Fig. 1**. The regression curve for the pteridophytes was given by the equation of $y=0.027x - 0.880$ ($R=0.817$, $p<0.0002$).
- D:** A comparison of the values of Cd and Zn among the game meat, the wildlife, the farm plants, the pteridophyte and the oyster shell powder. Values in **Table 2, 3** and **Fig. 2** were overlaid.

Table 3. Sex differences of the Cd concentrations in wildlife

| Groups | Species | n | Sex | Body weight (kg) | Muscle | | Kidney | |
|--------|--------------|----|-----------|------------------|-----------------------|---------------|----------------|--------------|
| | | | | | Cd (mg/kg) a) | Zn (mg/kg) | Cd (mg/kg) | Zn (mg/kg) |
| 1 | Wild boar b) | 6 | Female | 42.83 ± 10.48 | 0.0058 ± 0.0056 c, d) | 26.28 ± 10.66 | 1.59 ± 0.96 | 19.55 ± 2.43 |
| | | 7 | Male | 35.85 ± 13.87 | 0.0777 ± 0.1956 d) | 24.54 ± 9.93 | 1.59 ± 0.67 | 21.41 ± 2.24 |
| 2 | Wild boar e) | 13 | Female | 45.25 ± 14.47 | NT f) | NT | 1.12 ± 0.56 | 22.45 ± 2.30 |
| | | 13 | Male | 44.14 ± 21.49 | NT | NT | 1.99 ± 1.45 | 19.96 ± 2.88 |
| 3 | Raccoon dog | 5 | Female g) | 4.06 ± 0.97 | NT | NT | 7.25 ± 8.36 h) | 26.24 ± 4.22 |
| | | 9 | Male | 3.79 ± 1.21 | NT | NT | 3.05 ± 2.66 | 21.40 ± 4.41 |

- a): Values below the lower limit were calculated as 0.001 mg/kg.
- b): The same samples of the group 2 in Table 2 were divided into 2 groups by sex.
- c): $p<0.0001$ when compared to the male Cd in muscle by F-test.
- d): $p<0.0001$ when compared to the Cd in kidney by t-test.
- e): Including the animals of group 1.
- f): not tested.
- g): Two females (40.0%) showed multiple implantation marks in uterus, worn teeth and highly differentiated Koch curves in their skull sutures.
- h): $p=0.007$ when compared to the male Cd in group 3 by F-test. $p<0.0001$ when compared to the female Cds in groups 1 and 2 by F-test.

tion of Cd, 0.521 mg/kg, however, its Zn concentration, 17.2 mg/kg, was lower than the average value of group 3.

Cd contamination in captured wildlife: In the wild boars, the levels of Cd in muscle were lower than those in kidney for both sexes ($p < 0.0001$ by *t*-test) (Table 3). Variances of the female Cd values in the muscle and the kidney were different from those of the males ($p < 0.0001$ by F-test). The correlation coefficient between the two metals was high in the female kidney ($R = 0.672$, $p < 0.016$) (Fig. 2-A).

In the kidney of the raccoon dogs, the variance of the female Cd values was different from that of the male ($p < 0.001$ by F-test). The correlation coefficient between the two metals was high ($R = 0.731$, $p < 0.160$) in the female but not in the male (Fig. 2-B).

There was no correlation between the metal concentration and the body weight in the wild boars nor in the raccoon dogs.

Cd concentration in farm plant and pteridophyte: The average concentrations of Cd and Zn in the farm plants were 0.021 ± 0.038 and 19.71 ± 18.82 mg/kg (mean \pm SD), respectively. The soybean sample (16.7%) showed high concentrations of Cd (0.106 mg/kg) and Zn (33.80 mg/kg), while those of the other five samples (83.3%) were 0.007 ± 0.006 and 17.37 ± 19.46 mg/kg (mean \pm SD) for Cd and Zn, respectively (Fig. 2-C).

The *Athyrium yokosense* and *Plagioria euphlebica* species contained Cd and Zn by the values of 2.58 ± 2.43 and 136.5 ± 56.2 mg/kg (mean \pm SD), respectively. While, the concentrations of Cd in the *Gleichenia japonica* and *Cyrtomium falcatum* species were 0.100 ± 0.097 and 49.28 ± 12.48 mg/kg (mean \pm SD) for Cd and Zn, respectively. The correlation coefficient between the two metals in all the pteridophytes was high ($R = 0.817$, $p < 0.0002$).

Cd on the land and in the sea: Values of Cd in the edible game meats, the kidneys of wildlife, the farm plants, the pteridophytes and the oyster shell powder were put in one figure (Fig. 2-D). The Cd values in the female kidneys of the raccoon dogs were as high as those of the pteridophytes grown in the districts of Jurassic strata. While, the edible game meats and farm plants contained Cd in low levels.

The concentrations (mean \pm SD) of Cd and Zn were 0.110 ± 0.054 and 19.2 ± 12.0 mg/kg, respectively ($n = 5$). Concentrations of Cd in the oyster shells showed the intermediate values examined.

DISCUSSION

Some wildlife were heavily contaminated with Cd. This would be due to at least 3 factors: the biological characteristics of animals, their diet with some artificial involvement and the habitat geology. The Cd accumulation could be regulated by sex hormones. Experimentally, a higher accumulation of Cd was observed in the kidney, liver and thyroid gland of female mice²⁸⁾. Ovariectomy accelerated the accumulation of Cd in the kidney of monkeys (*Macaca fascicularis*)²⁹⁾. Epidemiologically, a high urinary Cd level was associated with decreased levels of testosterone and estradiol in premenopausal and postmenopausal women, respectively³⁰⁾. The Cd levels in the mandibular bone were higher in women³¹⁾. The levels of Cd in the kidney were higher in female calves³²⁾, while those in the kidney or bone were not affected by sex in red foxes^{33,34)}.

The two species of female wildlife, wild boars and raccoon dogs, accumulated Cd in kidney linearly as a function of Zn, and the correlation coefficient between the two metals was high in each species. The females were expected to be more susceptible than the males to elaborate exposures of Cd in the environment.

The values of Cd in the female raccoon dogs were as high as those of the aged people of the contaminated area^{1,3)}. The appearances of multiple implantation marks, worn teeth and interdilatation patterns of the skull indicated the female raccoon dogs had aged^{35,36)}. There was an age-dependency in the Cd accumulation in the female raccoon dogs in this study, whereas any age-dependency of the Cd accumulation was not clear in women^{1,37)}.

Since the sources of Cd in soils such as Zn mining, battery production plants or heavy metal smelters were non-existent in the districts of this study, the phosphate fertilizers were the major source of Cd in the agricultural soils³⁸⁻⁴⁰⁾. Not only the total metal content, but also other factors of pH, cation exchange capacity or clay components determined the metal bioavailability in the soils and the farm plants⁴¹⁻⁴³⁾.

The oyster shell usage could be an additional factor to modify the Cd circulation in the farms, since the oyster has a certain amount of biologically concentrated Cd from the sea water to the shell^{44,45)}. Therefore, the measurement of Cd in oyster shells was informative to speculate the additional burden

of Cd in the farms when used as a component of fertilizer. The ratio of Cd in oyster shells was 1/609 by a calculation using the average value of Cd in the oyster shells in this study (0.11 mg/kg) and that of the fertilizers available in Japan (67 mg/kg of 45% Cd)⁴⁶⁾.

The districts of the Jurassic strata in this study had abandoned manganese mines, where a few streams of natural pathways flowed²⁶⁾. The soils were covered with humus. The concentrations of the two metals represented by the values in the pteridophytes were thought to have been in equilibrium in the geological environment for decades⁴⁷⁾. The high correlation coefficient between the two metals in all the pteridophytes, no matter how the difference of their habituating districts, indicated the individual ability of every species to accumulate the two heavy metals as well as a common response to the exposure to some toxic agents from the soil.

It was worthy to autopsy the wildlife co-inhabiting alongside each other for the assessment of environmental heavy metals⁴⁸⁾. The raccoon dogs were reported to migrate within a 5 km radius during their lives and shared the same farm plants with the residents³⁵⁾. No contradiction was observed in the concentrations of Cd in the pteridophytes when considering the landscape geology^{26, 27)}. Therefore, the values of Cd in the female kidneys showed an endpoint profile of their lifelong environmental exposures to Cd. It is likely that their function must be influenced by the scattering of oyster shells onto the farms. The risk assessment of hunting in the name of vermin control should be examined not only on the underground ecosystem, but simultaneously for public health to raise the awareness of zoonotic diseases²⁵⁾.

ACKNOWLEDGEMENTS.

The authors thank Mr. K. Sasabe, a member of the Yamaguchi Prefectural Hunting Association for supplying wildlife and Mr. J. A. Niemetschek, a lecturer in Sanyo girl's school junior and senior high for proofreading.

REFERENCES

1) Horiguchi, H. et al: Age-relevant renal effects of cadmium exposure through consumption of home-harvested rice in female Japanese farmers. *Enviro. Int.* 56, 1-9 (2013)

2) Nishijo, M. et al: Causes of death in patients with Itai-itai disease suffering from severe chronic cadmium poisoning: a nested case-control analysis of a follow-up study in Japan. *BMJ Open* 7: e015694 (2017)

3) Nogawa, K. et al: The relationship between Itai-Itai disease among inhabitants of the Jinzu River basin and cadmium in rice. *Toxicol. Letter* 17, 263-266 (1983)

4) Zhang, W. W. and Ma, J. Z.: Waterbirds as bioindicators of wetland heavy metal pollution. *Procidia Environ Sci.* 10 (Part C), 2769-2774 (2011)

5) Kitowski, I. et al: Intra-clutch and inter-colony variability in element concentrations in eggshells of the black-headed gull, *Chroicocephalus ridibundus*, in northern Poland. *Environ. Sci. Pollut. Res. Int.* 24, 10341-10353 (2017)

6) Burger, J. and Elbin, S.: Metal levels in eggs of waterbirds in the New York Harbor (USA): Trophic relationships and possible risk to human consumers. *J. Toxicol. Environ. Health A.* 78, 78-91 (2015)

7) Mulero, R. et al: Lead and cadmium in wild boar (*Sus scrofa*) in the Sierra Nevada Natural Space (southern Spain). *Environ. Sci. Pollut. Res. Int.* 23, 16598-16608 (2016)

8) Chiari, M. et al: Lead, cadmium and organochlorine pesticide residues in hunted red deer and wild boar from northern Italy. *Food Addit. Contam. Part A Chem. Anal. Control Expo. Risk Assess.* 32, 1867-1874 (2015)

9) Guo, G. et al: Accumulation of As, Cd, and Pb in sixteen wheat cultivars grown in contaminated soils and associated health risk Assessment. *Int. J. Environ. Res. Public Health* doi:10.3390/ijerph15112601 (2018)

10) Ferri, M. et al: Wild game consumption habits among Italian shooters: relevance for intakes of cadmium, perfluorooctanesulfonic acid, and ¹³⁷cesium as priority contaminants. *Food Addit. Contam. Part A Chem. Anal. Control Expo. Risk Assess.* 34, 832-841 (2017)

11) Danieli, P. P. et al: Cadmium, lead, and chromium in large game: a local-scale exposure assessment for hunters consuming meat and liver of wild boar. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* 63, 612-627 (2012)

12) Hamid, A. et al: Heavy metal contamination in vegetables, soil and water and potential health risk assessment. *American-Eurasian J. Agric. & Environ. Sci.* 16, 786-794 (2016)

- 13) Food safety authority of Ireland: Mercury, lead, cadmium, tin and arsenic in food. *Toxicol. Fact-sheet Series 1*, 1-13 (2009)
- 14) Marín, S. et al: Assessment of metal levels in foodstuffs from the region of Valencia (Spain). *Toxicol. Rep.* 5, 654-670 (2018)
- 15) Filippini, T. et al: Dietary intake of cadmium, chromium, copper, manganese, selenium and zinc in a northern Italy community. *J. Trace Elem. Med. Biol.* 50, 508-517 (2018)
- 16) Kikuchi, Y. et al: Cadmium concentration in current Japanese foods and beverages. *J. Occup. Health* 44, 240-247 (2002)
- 17) Katoh, K. et al: Factors maintaining species diversity in satoyama, a traditional agricultural landscape of Japan. *Biological Conservation.* 142,1930-1936 (2009)
- 18) Sedláková, J. et al: Red fox, *Vulpes vulpes* L., as a bioindicator of environmental pollution in the countryside of Czech Republic. *Acta Universitatis Agriculturae et Silviculturae Mendelianae Brunensis* 67, 447-452 (2019)
- 19) Silva, Y. J. A. B. et al: Comparison of USEPA digestion methods to heavy metals in soil samples. *Environ. Monit. Assess.* 186, 47-53 (2014)
- 20) Fadigas, F. S., et al: Estimation of reference values for cadmium, cobalt, chromium, copper, nickel, lead, and zinc in Brazilian soils. *Communications in Soil Science and Plant Analysis* 37, 945-959 (2006)
- 21) Yoshihara, T. et al: A kinetic analysis of cadmium accumulation in a Cd hyper-accumulator fern, *Athyrium yokoscense* and tobacco plants. *Plant Cell Environ.* 3, 1086-1096 (2014)
- 22) Ike, A. et al: Bioremediation of cadmium contaminated soil using symbiosis between leguminous plant and recombinant rhizobia with the MTL4 and the PCS genes. *Chemosphere* 66,1670-1676 (2007)
- 23) Shimo H. et al: Low cadmium (LCD), a novel gene related to cadmium tolerance and accumulation in rice. *J. Exper. Botany*, 62, 5727-5734 (2011)
- 24) Saito, M. and Koike, F.: Distribution of wild mammal assemblages along an urban-rural-forest landscape gradient in warm-temperate East Asia. *PLoS One* doi: 10.1371/journal.pone.0065464 (2013)
- 25) Rabinowitz, P.M. et al: Toward proof of concept of a one health approach to disease prediction and control. *Emerg Infect Dis.* doi: 10.3201/eid1912.130265 (2013)
- 26) Matsumura, M. and Inoue, N.: Distribution of the pteridophyta in Hiroshima prefecture. *Bulletin of the Hiroshima Botanical Garden* 33: 7-135. 2016. (in Japanese)
- 27) Nishimura Y. et al: Geological map of Yamaguchi Prefecture (1:150 000) and its explanatory text, 3rd ed. Geological Society of Yamaguchi editor, 1-167. Geological Society of Yamaguchi (2012) (in Japanese).
- 28) Yamanobe, Y. et al: Sex differences in shotgun proteome analyses for chronic oral intake of cadmium in mice. *PLoS One.* doi: 10.1371/journal.pone.0121819 (2015)
- 29) Kurata, Y. et al: Chronic cadmium treatment induces tubular nephropathy and osteomalacic osteopenia in ovariectomized cynomolgus monkeys. *Vet. Pathol.* 51, 919-931 (2014)
- 30) Nagata, C. et al: Associations of urinary cadmium with circulating sex hormone levels in pre- and postmenopausal Japanese women. *Environ. Res.* 150, 82-87 (2016)
- 31) Browar, A.W. et al: Levels of Cadmium in Human Mandibular Bone. *Toxics.* doi:10.3390/toxics7020031 (2019)
- 32) Miranda, M. et al: Effect of sex on arsenic, cadmium, lead, copper and zinc accumulation in calves. *Vet. Hum. Toxicol.* 42, 265-268 (2000)
- 33) Lanocha, N. et al: Trace metals and micronutrients in bone tissues of the red fox *Vulpes vulpes* (L., 1758). *Acta Theriol (Warsz)*. 57, 233-244 (2012)
- 34) Binkowski, L. J. et al: Levels of metals in kidney, liver and muscle tissue and their relation to the occurrence of parasites in the red fox in the Lower Silesian Forest in Europe. *Chemosphere* 149, 161-167 (2016)
- 35) Helle, E. and Kauhara, K.: Age structure, mortality and sex ratio of the raccoon dog in Finland. *J. Mamm.* 74, 936-942 (1993)
- 36) Miura, T. et al: Mechanism of skull suture maintenance and interdigitation, *J. Anat.* 215, 642-655 (2009)
- 37) Długaszek, M. and Skrzeczanowski, W.: Relationships between element contents in Polish children's and adolescents' hair. *Biol Trace Elem. Res.* 180, 6-14 (2017)
- 38) Dharma-Wardana, M.W.C.: Fertilizer usage and cadmium in soils, crops and food. *Environ. Geochem. Health* doi.org/10.1007/s10653-018-0140-x (2018)
- 39) Ikeda, M. et al: Correlation among cadmium levels in river sediment, in rice, in daily foods

- and in urine of residents in 11 prefectures in Japan. *Int. Arch. Occup. Environ. Health* 79, 365-370 (2006)
- 40) Zhu, X. et al: Sorption, mobility, and bioavailability of PBDEs in the agricultural soils: Roles of co-existing metals, dissolved organic matter, and fertilizers. *Sci. Total Environ.* 619-620, 1153-1162 (2018)
- 41) Lin, W. et al: The effects of chemical and organic fertilizer usage on rhizosphere soil in tea orchards. *PLoS One.* doi: 10.1371/journal.pone.0217018 (2018)
- 42) He Z, L. et al: Trace elements in agroecosystems and impacts on the environment. *J. Trace Elem. Med. Biol.* 19, 125-140 (2005)
- 43) Argullo, D. et al: Soil properties and agronomic factors affecting cadmium concentrations in cacao beans: A nationwide survey in Ecuador. *Sci. Total Environ.* 649, 120-127 (2019)
- 44) Wang, X. et al: Oyster shell proteins originate from multiple organs and their probable transport pathway to the shell formation front. *PLoS One* doi: 10.1371/journal.pone.0066522. (2013)
- 45) Neale S.P. et al: Changes in microbial biomass and nitrogen turnover in acidic organic soils following liming. *Soil Biol. Biochem.* 29, 1463-1474 (1997)
- 46) Roberts, T. L.: Second International symposium on innovation and technology in the phosphate industry cadmium and phosphorous fertilizers. *The Issues and the Science Procedia Engineering* 83, 52-59 (2014)
- 47) Watanabe, T. et al: Evolutionary control of leaf element composition in plants. *New Phytol.* 174, 516-23 (2007)
- 48) O'Brien, D. J. et al: The use of mammals as sentinels for human exposure to toxic contaminants in the environment. *Environ. Health Perspect* 99, 351-368 (1993)

肥育牛における地方病性牛白血病の 発症リスクに関する一考察

兼重裕美子 吉村奈津子 太田垣 寧
国井 悦子 渡邊真由美 奥田憲一郎

(受付：令和元年 11 月 18 日)

One Consideration about the onset risk of enzootic bovine leukemia in the fattening Cattle

YUMIKO KANESHIGE, NATSUKO YOSHIMURA, YASUSHI OOTAGAKI,
ETSUKO KUNII, MAYUMI WATANABE and KENICHIRO OKUDA

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

SUMMARY

The frequency of fattening cattle being diagnosed with enzootic bovine leucosis (EBL) and being disposed of is recently increasing in Hiroshima City slaughterhouses. Therefore, the bovine leucosis virus (BLV) infection rate was investigated in 527 fattening cattle aged ≤ 30 months delivered to Hiroshima City slaughterhouses as healthy cattle during the period from July 2018 to February 2019, and the breeding histories of 28 fattening cattle aged ≤ 30 months diagnosed with EBL at Hiroshima City slaughterhouses during the past 10 years were reviewed. The BLV infection rate was 15.7% in crossbreds and 6.1% in black-haired wagyu, demonstrating no increase compared with the results of the BLV antibody positivity survey conducted at our institution in 2005-2006. Based on the breeding history review, there were farms with many juvenile-onset cases, suggesting that juvenile onset is likely to be induced by raising cattle for a long time in a BLV-contaminated environment. As preventive measures, feedback of information to the site of birth and fattening farms, identification, isolation, culling of mother cows at a high risk of transmitting BLV, and prevention of horizontal infection at BLV-contaminated farms are important.

— Key words: bovine leukemia, EBL, BLV, fattening Cattle

要 約

広島市と畜場で、肥育牛が地方病性牛白血病 (EBL) と判定され、全部廃棄となる事例が近年増加している。そこで、2018年7月～2019年2月にかけて、本市と畜場に健康畜として搬入された30か月齢以下の肥育牛527頭について、牛白血病ウイルス (BLV) 感染率を調査するとともに、過去10年間に本市と畜場でEBLと診断された、30か月齢以下の肥育牛28頭についての飼養履歴を調査した。BLV感染率は交雑種15.7%、黒毛和種6.1%で、2005年～2006年に当所で実施したBLV抗体保有率調査と比較して、BLVに感染率の増加は認められなかった。飼養履歴調査では、若齢発症牛が多発する農場があることが判明し、BLV汚染された環境下で長期間飼養することが、若齢発症を誘発している可能性が高いと考えられた。対策として、出生地や飼養農場までの情報還元、BLV伝播高リスク母牛の特定・隔離・淘汰、BLV汚染農場の水平感染防止対策が重要である。

——キーワード：牛白血病，EBL，BLV，肥育牛，若齢発症

序 文

地方病性牛白血病 (EBL) は好発年齢が3歳以上、特に5歳～8歳とされている¹⁾。全身のリンパ節や脾臓の腫大及び全身諸臓器にリンパ腫の形成を認める疾病であり、全国的にEBLの発生が増加している²⁾。さらに近年、発症牛の若齢化が深刻な問題となっている。本市と畜場でも、これまではEBL発生の大半をホルスタイン種 (廃用牛) が占めていたが、ここ数年は、肥育牛の発生が目立つようになっている (図1)。そこで、本市と畜場に健康畜として搬入された、30か月齢以下の交雑種 (F1) と黒毛和種 (黒毛) の牛白血病ウイルス (BLV) 感染状況を調査した。2005年～2006年に当所で実施したBLV抗体保有率調査結果と比較して、肥育牛におけるBLV感染の拡大状況について検討した。

また、出生直後に感染が見られる子牛の多くは、持続性リンパ球増多症 (PL) に進展する可能性が高

く³⁾、早期の感染が発症時期の若齢化を誘引しているとの報告⁴⁾もある。若齢発症の最大要因は、母牛からの垂直感染 (経胎盤・経膈感染) である可能性が高いと考えられる。よって、過去に当所でEBLと判定された30か月齢以下の発症牛と、その母牛について飼養履歴を調査し、BLV感染リスクやEBL対策等の検討を行った。

材料と方法

1. BLV 感染状況調査

検査材料は、2018年7月～2019年2月に、本市と畜場に健康畜として搬入された、30か月齢以下の肥育牛527頭 (F1:249頭、黒毛:278頭) の血液を用いた。DNA調整は、簡易DNA抽出キット version3 (株式会社カネカ) を使用した。DNA調整後、Gag 遺伝子と Env 遺伝子⁵⁾ を検出するプライマーを用いて Nested PCR を行った。1st PCR は

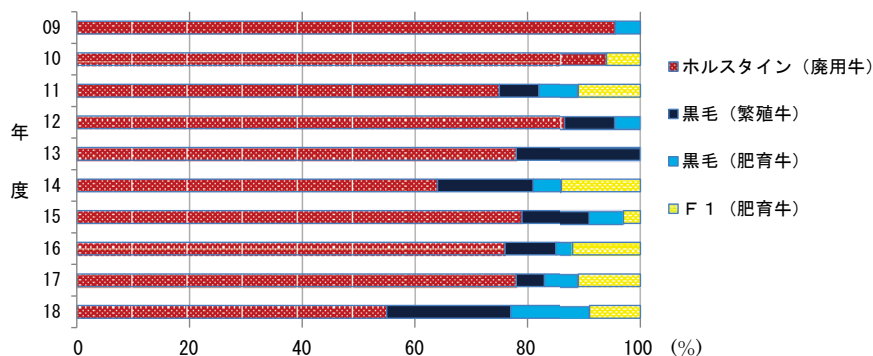
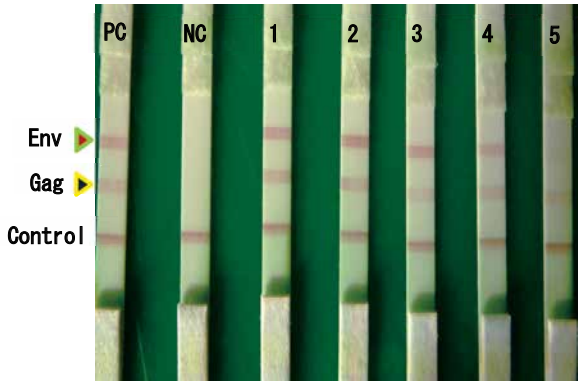


図1 広島市と畜場における EBL 発生の年度別・品種別・用途別割合

94℃で5分プレヒート後、95℃1分、45℃1分、60℃2分を25サイクル行った。2nd PCRは、1st PCRと同じ条件で実施した。増幅産物の確認は、核酸クロマト型チップ（株式会社カネカ）を使用した⁶⁾。Gag遺伝子及びEnv遺伝子の各PCR増幅産物7μlと展開バッファー70μlを混合して、核酸クロマト型チップに滴下し、5分後にバンドの検出状況を目視で確認した（写真1）。



PC：陽性対照 NC：陰性対照 1：腎臓 2：子宮
3：脾臓 4：内腸骨リンパ節 5：血液

写真1 核酸クロマト型チップ使用例

2. 飼養履歴調査

2009年～2018年度に、当所でEBLと判定した、30か月齢以下の肥育牛28頭（F1：16頭・黒毛：12頭）とその母牛、併せて上記「1. BLV感染状況調査」の対象牛527頭について、独立行政法人家畜改良センターの個体識別情報検索サービスにより、飼養履歴を調査した。なお、卵子にはBLVは感染しないとされており^{7) 8)}、受精卵移植における感染リスクは低い

表1 肥育牛（30か月齢以下）のBLV感染率

| F 1 | 黒毛 |
|---------------------|--------------------|
| 15.7% (39頭/249頭) | 6.1% (17頭/278頭) |

表2 肥育牛（24か月齢以下）のBLV抗体保有率

| F 1 | 黒毛 |
|-------------------|-------------------|
| 26.7% (8頭/30頭) | 12.5% (3頭/24頭) |

※2005年4月～2006年8月調査

ため、ここでの「母牛」とは、実際に子牛を出産した母牛で、受精卵提供牛を示すことではない。

成 績

1. BLV感染率

BLV感染率はF1：15.7%、黒毛：6.1%であった（表1）。当所で2005年4月～2006年8月に実施したBLV抗体保有率調査（24か月齢以下）⁹⁾と比較して、感染率の拡大傾向は認められなかった（表2）。

2. 飼養履歴調査

1) 若齢発症事例

I 事例①

出生地1、A牧場（育成牧場）、B牧場（肥育牧場）を経て2016年3月に19か月齢で出荷されたF1が、と畜場でEBLと判定された。このF1は、それぞれ異なる農場（出生地2～4）で生まれ、その後A・B牧場で飼養後に出荷された3頭のF1で、同年6月（20か月齢）と11月（26か月齢・24か月齢）に、と畜場でそれぞれEBLと判定された。また、本研究のBLV感染状況調査で、B牧場から出荷された牛の感染率は、16.3%であった（図2）。

II 事例②

出生から出荷まで、一貫飼育するC牧場で飼養された黒毛2頭が、2018年4月（19か月齢）と6月（26か月齢）に、と畜場でEBLと判定された。また、本研究のBLV感染状況調査で、C農場から出荷された牛の感染率は、8.0%であった（図3）。

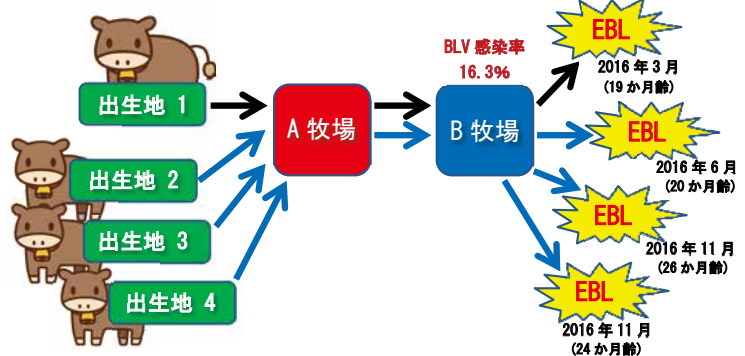


図2 発症事例①（F1）

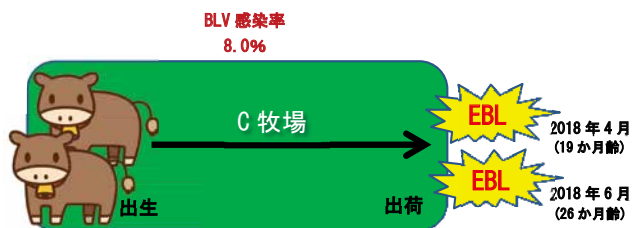


図3 発症事例②（黒毛）

2) 若齢発症牛の母牛に関する生存状況調査

2009年～2018年に当所でEBLと判定された30か月齢以下の発症牛28頭の母牛は、全て異なる牛であった。この母牛について、産子のEBL判定時と、それ以降において母牛の生存状況(2019年3月末日時点)を調査したところ、産子のEBL判定時点で14頭の母牛が農場で生存しており、それ以降も、長いケースで3年以上飼養されている母牛がいた(表3)。

まとめ及び考察

と畜検査で、EBLと判定されると、全部廃棄処分となり、特に肥育牛における経済損失は甚大である。また、当所に搬入された、若い発症牛では腫瘍が著しく巨大化しており、全身転移を認めるなど、病変の進行が早いという特徴がみられた。

本研究では、肥育牛(F1, 黒毛)のEBL発生数増加の背景に、肥育牛全体におけるBLV感染拡大を疑い、本市と畜場に搬入される30か月齢以下の肥育牛のBLV感染率調査を行った。当所で、2005年～2006年に実施したBLV抗体保有率調査結果と比べ、単純に比較は出来ないものの、BLV感染の拡大傾向は認められなかった。

一方で、EBLの若齢発症が相次ぐ特定の農場のBLV感染率が、表1に示す肥育牛(30か月齢以下)の感染率平均値より高かったことから、この農場内では恒常的にウイルスが蔓延している状態であることが

疑われた。前述の発症事例①及び②で示した若齢発症牛は、恐らく出生時点で母牛から垂直感染を受け、さらに、その後の飼育環境下において、長期間ウイルスに曝されている状態であったのではないかと考えられる。

このことから、若齢発症に至る要因として、「母牛からの垂直感染」という最大要因のほか、飼養形態、ストレス、発症感受性遺伝子¹⁰⁾などの「宿主要因」、病原性や伝播性などの「ウイルス要因」などに加え、「長期間のウイルス暴露」も若齢発症に少なからず影響を与えることが示唆された。

EBLの主な対策としては、感染牛の把握と隔離、吸血昆虫等の水平感染防止対策、優先的淘汰などが挙げられる。しかし、経済的・物理的事情により各農場がウイルスの浸潤具合を個々に把握するのは難しく、感染牛を全て隔離・淘汰するのは、非現実的である。このような事情を鑑みて、EBL対策は、感染牛の中でも特にリスクの高い個体を特定し、高リスク牛に的を絞った対策を行う必要があると考える。

農林水産省の牛白血病ガイドライン¹¹⁾においても、繁殖雌牛の衛生対策を優先的事項としており、垂直感染の原因となる高リスク母牛の特定が急務である。さらに、ウイルス量が多い母牛からの産子は、40%以上の感染が確認されており¹²⁾、PL母牛からは、約30%の感染子牛を認めた³⁾との報告もある。また、PL牛は長期間にわたりリンパ球数が高い状態を継続するとの報告¹³⁾もあることから、過去に1頭でも若齢発症牛を出産したことがある母牛は、その後もPL

表3 若齢発症牛の母牛に関する生存状況調査(2019年3月末日時点)

| 母牛種類 | 産子のEBL判定時 | その後の生存状況 | 母牛種類 | 産子のEBL判定時 | その後の生存状況 |
|-------|-----------|-------------|-------|-----------|------------|
| 1 ホル | と畜(8か月前) | — | 15 ホル | 生存 | と畜(2か月後) |
| 2 黒毛 | 生存 | と畜(1か月後) | 16 黒毛 | と畜(2年前) | — |
| 3 黒毛 | 生存 | と畜(2年10か月後) | 17 ホル | 死亡(1年前) | — |
| 4 ホル | 生存 | と畜(1年6か月後) | 18 ホル | 生存 | と畜(7か月後) |
| 5 ホル | 生存 | と畜(6か月後) | 19 ホル | と畜(4か月前) | — |
| 6 ホル | 生存 | 死亡(3か月後) | 20 ホル | と畜(1年前) | — |
| 7 ホル | と畜(2年前) | — | 21 黒毛 | と畜(9か月前) | — |
| 8 黒毛 | 生存 | と畜(6か月後) | 22 ホル | 生存 | と畜(1年2か月後) |
| 9 ホル | と畜(2年前) | — | 23 ホル | 生存 | と畜(1年1か月後) |
| 10 ホル | と畜(1年前) | — | 24 黒毛 | 生存 | と畜(2か月後) |
| 11 ホル | 生存 | と畜(1年後) | 25 ホル | と畜(1年前) | — |
| 12 黒毛 | 死亡(2年前) | — | 26 黒毛 | 生存 | 生存(9か月) |
| 13 ホル | 生存 | 生存(3年3か月) | 27 ホル | 死亡(1年前) | — |
| 14 黒毛 | と畜(2か月前) | — | 28 ホル | 死亡(1年前) | — |

※ホル：ホルスタイン種 黒毛：黒毛和種

状態が継続している可能性がある。我々の調査では、産子がEBLと判定後も、母牛が農場に数年以上生存しているケースもみられた。その間に、新たに垂直感染した子牛を出産したり、同居牛へ水平感染をおこし、ウイルス拡散リスクの高い個体、すなわち「BLV伝播高リスク母牛」として農場に居続けることとなる。よって、BLV伝播高リスク母牛を対象を絞った対策が非常に重要である。

そのためには、と畜場で若齢発症牛を認めた場合に、その情報を速やかに、出生地・飼養農場まで確実にフィードバックし、高リスク母牛を特定し、優先的に隔離・淘汰の対象とすることで、新たな垂直感染や同居牛への水平感染を防ぐことが可能となると考えられる。併せて、兄弟牛の特定や、若齢発症が多発するBLV汚染農場を特定し、水平感染防止の徹底を図ることが、出生後の長期間のウイルス曝露を防止し、若齢発症の抑制に繋がるものと期待できる。

しかし、実際には風評被害の恐れもあり、さらに、飼養農場が複数の自治体にまたがるケースも多く、関係機関の連携が取りにくいのが現状である。そして、高リスク牛を特定出来たととしても、公的な淘汰補償制度が無く、積極的な淘汰・更新が出来ないことも考えられる。解決すべき課題が山積みではあるものの、牛白血病根絶に向けて、官民一体となり、1つずつ確実な対策を推し進めていくことが重要である。

文 献

- 1) 村上賢二ほか：我が国の地方病性牛白血病の発生動向と対策, 日獣会誌, 62, 499～502 (2009)
- 2) 農林水産省：農林水産省監視伝染病発生年報 (2008-2018)
- 3) Agresti et al., Use of polymerase chain reaction to diagnose bovine leukemia virus infection in calves at birth., Am J Vet Res., 54(3), 373-378 (1993)
- 4) 目方博久ほか：牛白血病ウイルスの垂直伝播と発症リスクに関する研究, 科学研究費助成事業研究報告書, 課題番号 26850175 (2017), (オンライン), (<https://kaken.nii.ac.jp/ja/file/KAKENHI-PROJECT-26850175/26850175seika.pdf>)
- 5) Kelly, E.J, Jackson, M.K., et al.: Early detection of bovine leukemia virus in cattle by use of the polymerase chain reaction., Am J Vet Res., 54(2), 205-209(1993)
- 6) 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)
- 7) 村上健二：地方病性牛白血病の我が国における現状とその対策について, 山口県獣医学会雑誌, 36, 5-30 (2009)
- 8) 大橋比奈子ほか：食肉衛生検査における乳用牛を対象とした牛白血病ウイルス (BLV) 保有状況調査および卵巣組織からの BLV 遺伝子の検出, 獣医畜産新報, 64 (7), 569-573 (2011)
- 9) 大川育之ほか：広島市と畜場における地方病性牛白血病の抗体保有状況とその発生, 広島市食肉衛生検査所平成 18 年度事業概要, 19-20 (2006)
- 10) 間陽子：MHC をマーカーにした牛白血病抵抗牛作出に向けた育種戦略; 動物遺伝育種研 36: 9-19 (2008)
- 11) 農林水産省：牛白血病に関する衛生対策ガイドライン (2015)
- 12) Mekata H., et al.: Evaluation of the natural perinatal transmission of bovine leukaemia virus, Vet Rec., Mar 7; 176(10): 254(2015)
- 13) 赤上正貴ほか：黒毛和種における牛白血病ウイルス感染牛のリンパ球増多閾値, 第 59 回茨城県家畜保健衛生業績発表会収録, 102-108 (2018)

認定小規模食鳥処理場への HACCP システムによる 自主衛生管理手法の導入に向けての取り組み

魚谷 正芳¹⁾ 岡 秀俊¹⁾ 鈴木由莉絵²⁾ 長澤 元³⁾ 大原佳世子¹⁾ 土井 章三¹⁾
(受付：令和元年 12 月 25 日)

Efforts to introducing voluntary hygienic management by HACCP system to small-scale poultry processing plants

MASAYOSHI UOTANI¹⁾, HIDETOSHI OKA¹⁾, YURIE SUZUKI²⁾, HAJIME NAGASAWA³⁾, KAYOKO OHARA¹⁾ and SYOUSOU DOI¹⁾

- 1) Hiroshima Prefectural Meat Sanitation Inspection Station
4-6-1, Tohkaichi-higashi, Miyoshi, Hiroshima 728-0017
- 2) Hiroshima Prefectural Western Center for Public Health
2-2-68, Sakurao, Hatsukaichi, Hiroshima 738-0004
- 3) Food Sanitation section of Hiroshima prefectural healthy welfare department
10-52, Motomachi, Naka-ku, Hiroshima 730-8511

SUMMARY

To promote the introduction of hygienic management in compliance with HACCP, introduction guidance was provided to 5 certified small-scale poultry-processing firms (firms) in our jurisdiction using materials prepared at our institution. As none of the firms practiced hygienic management in compliance with HACCP at the beginning of guidance, factors that prevented the introduction were investigated individually and guidance was provided according to the findings, resulting in a positive attitude to the introduction at 4 firms and actual introduction at 3.

This suggested that the introduction to hesitant firms can be promoted efficiently by guidance catering to the needs of individual firms.

However, regardless of detailed individualized guidance, some firms had a negative attitude to the introduction. It is considered difficult to have all managers understand the necessity of hygienic management by administrative guidance alone, and it is considered important to promote the introduction of voluntary hygienic management to the entire poultry-processing industry.

— Key words: HACCP system management, Individual guidance

1) 広島県食肉衛生検査所 (〒 728-0017 三次市十日市東 4-6-1)
2) 広島県西部保健所 (〒 738-0004 廿日市市桜尾 2-2-68)
3) 広島県食品生活衛生課 (〒 730-8511 広島市中区基町 10-52)

要 約

HACCP に沿った衛生管理の導入を推進するため、管内の認定小規模食鳥処理場（以下「小規模処理場」）5 施設に対し、当所で作成した資料を用いて導入指導を行った。指導開始時、対象処理場は全て HACCP に沿った衛生管理を行っていなかったため、個別に未導入の原因を調査し、その原因に応じた指導を行ったところ、4 処理場において導入に積極的となり、内 3 処理場は導入に至った。

このことから、導入が進まない処理場に対しては、個別に各処理場に応じた指導を行うことにより、導入を効果的に進めることができることが示唆された。

しかし、詳細に個別指導をしたにもかかわらず、導入に消極的な処理場もあり、全ての営業者に導入の必要性を認識させることは行政のみでは困難であり、業界として自主衛生管理の導入を推進することが重要であると考えられた。

——キーワード：HACCP 管理、個別指導

序 文

平成 30 年 6 月 13 日付けの食品衛生法等の一部改正により、原則として、全ての食品等事業者が HACCP に沿った衛生管理の実施が求められることとなった。HACCP に沿った衛生管理は、事業者の規模や業種などに応じ、コーデックス HACCP の 7 原則に基づく「HACCP に基づく衛生管理」か、各業界団体が作成する手引書に基づき弾力的に運用する「HACCP の考え方を取り入れた衛生管理」（以下「HACCP 管理」）を行うこととされており、小規模処理場については、HACCP 管理の対象となっている。

当所においては、管内の小規模処理場に対して、法改正以前から HACCP に沿った衛生管理の導入について指導を行ってきたが、調査開始時点で導入している処理場はなく、HACCP 管理導入に向けた更なる指導及び助言が必要と考えられた。

これらのことから、小規模処理場営業者（以下「営業者」）及び HACCP 導入担当者（以下「導入担当者」）に対し、HACCP 管理導入指導を実施した結果、指導方法や、営業者または導入担当者（以下「営業者など」）の意識の変化などについて、若干の知見を得たので報告する。

材料と方法

1. 調査期間

平成 29 年 6 月～平成 31 年 2 月

2. 調査対象施設及び方法

1) 調査対象施設

管内小規模処理場 5 か所（休止中の 1 処理場を除く）

2) 方法

I 「小規模処理場のための衛生管理計画書例及び記録様式例」の作成

調査開始時には、業界団体による小規模処理場のための HACCP 管理導入手引書が未作成であったことから、指導に使用するため、営業者などにわかりやすい資料として、当所独自の「小規模処理場のための衛生管理計画書例及び記録様式例」（以下「当所手引書」）を作成した。

II 当所手引書を用いた HACCP 管理の説明及び導入指導

当所手引書を用い、平成 29 年度年末一斉監視時に、営業者などに HACCP 管理の考え方及び

表 1 調査対象施設概要

| 処理場 | 当初許可年 | 従事者数 | H30 年度処理羽数 | 導入担当者の立場（推定年齢） |
|-----|-------|------|------------|----------------|
| A | H13 | 2 名 | 550 羽 | 従業員（30 歳代） |
| B | H19 | 1 名 | 1,500 羽 | 営業者自身（70 歳代） |
| C | H12 | 2 名 | 100 羽 | 営業者自身（60 歳代） |
| D | H15※ | 13 名 | 実績なし | 従業員（30 歳代） |
| E | H30 | 1 名 | 280 羽 | 営業者自身（40 歳代） |

※H29年度に処理場移転のため新規許可

取組み方法について説明するとともに、導入を進めるよう指導した。

Ⅲ 定期的な導入状況の確認及び営業者などの意識調査

平成30年度の夏期一斉監視時及び年末一斉監視時に、営業者などにHACCP管理導入の進捗状況を確認し、必要な指導を行うとともに、HACCP管理に対する意識の変化などを調査した。なお、年末一斉監視に当たっては、夏期一斉監視の結果をふまえ、導入に向けた課題を整理するとともに、指導内容などについて検討し、方針を決定した。

結 果

1. 平成30年度夏期一斉監視結果(表2)及び以降の指導方針

1) HACCP計画書の作成状況

全処理場でHACCP計画書は未作成であった。

2) 計画書未作成の理由

計画書未作成の主な理由は次のとおりであった。

- ・平成29年度年末一斉監視時に、営業者に説明し、手交した当所手引書が、導入担当者の手元に渡っていなかった。
- ・すぐに始める必要がないと思っていた。
- ・HACCP管理が本当に有効な衛生管理手法であると思えない。
- ・事業を始めたばかりで、着手していない。(平成30年4月に食鳥処理を開始)

3) HACCP管理導入に対する積極性

2処理場については、「HACCP管理導入に関して具体的な質問をする」、「計画書の作成時期を明言する」など、積極的であったが、3処理場からは質問などの反応はなく、導入に消極的と思われた。

4) 指導内容

全処理場に対して、HACCP管理の考え方を改めて説明し、当所手引書を参考に計画書を作成する、若しくは、当所手引書の様式を用いて記録を行うこ

とを指導した。

また、営業者と導入担当者が異なる処理場については、当所の指導が適切に周知されるよう、窓口を一本化するとともに、指導内容などについて、関係者で情報共有するよう指導した。

5) 以降の指導方針

夏期一斉監視では、計画書未作成の原因を除去するために必要な指導を実施したことから、その後の各営業者などによる計画書作成期間を半年程度と考え、同年の年末一斉監視時に再度進捗状況を確認した上で、指導助言を行うこととした。

2. 平成30年度年末一斉監視結果(表3)

1) HACCP計画書の作成状況

2処理場においては、計画書を作成済であった。

3処理場は未作成であったが、このうち、1処理場については、監視時に導入担当者に対して指導したところ、1か月後には計画書を作成し、記録を開始していた。

2) 計画書未作成の理由

計画書を作成していなかった3処理場のうち、監視後に計画書を作成した1処理場は、導入担当者が危害分析が必要であると誤認し、実施に苦慮していたため導入が滞っていた。

他の2処理場において、計画書未作成の理由は次のとおりであった。

- ・日ごろ当たり前に行っていることを記録することの必要性に疑問がある。
- ・自分で作成するのが難しい。(行政で作成してもらいたい)

3) HACCP管理導入に関する積極性

3処理場については、HACCP計画書を作成し、記録を開始するなど、導入に積極的であった。このうち、1処理場において、導入担当者は積極的であるが、営業者は消極的であり、両者の間で意識に大きな差があった。

HACCP計画書未作成の2処理場のうち、1処理場の営業者は、記録の必要性に疑問を持っていたが、

表2 平成30年度夏期一斉監視結果

| 処理場 | 計画書作成状況 | 計画書未作成の理由 | 積極性 | 主な指導内容 |
|-----|---------|----------------------------------|------------|-----------------------|
| A | 未作成 | 行政で計画書を作成してほしい | 無 (営業者) | 当所手引書の様式を用い、記録を実施すること |
| B | 未作成 | すぐに始める必要を感じない 行政で計画書を作成してほしい | 無 | 当所手引書の様式を用い、記録を実施すること |
| C | 未作成 | HACCP管理が有効な衛生管理手法であると思えない | 無 | 当所手引書の様式を用い、記録を実施すること |
| D | 未作成 | 営業者と導入担当者の連絡不足 (導入担当者に資料が渡らず) | 有 | 営業者と導入担当者の情報共有を徹底すること |
| E | 未作成 | 事業を始めて間がないため着手できていない | 有 | 計画書作成に着手すること |

表3 平成30年度年末一斉監視結果

| 処理場 | 計画書作成状況 | 計画書未作成の理由 | 積極性 | 主な指導内容 |
|-----|--------------|---------------------------|--------------|---------------------------------------|
| A | 未作成 | 危害分析で悩んでいた ※監視の1か月後に作成 | 有 (導入担当者) | 計画書を作成すること ※危害分析は求められていない旨説明した上で指導 |
| B | 未作成 | 記録の必要性に疑問がある | 有 | 計画書を作成すること ※記録の必要性を説明し、理解を得た上で指導 |
| C | 未作成 | 自分で作成するのが難しい | 無 | 当所手引書の様式を用い、記録を実施すること |
| D | 作成済 | | 有 | 計画書と実際の工程を比較し、必要な修正を行うこと |
| E | 作成済 ※当所様式 | | 有 | 適正に記録を実施すること |

当所の指導助言により必要性を理解し、HACCP管理導入に対して積極的となった。

もう一方の処理場の営業者は、「導入しろというのであれば、行政で計画書や記録表を作ってほしい」といった趣旨の発言をするなど、積極的に導入しようとする姿勢は認められなかった。

4) 指導内容

計画書未作成の3処理場に対しては、計画書を作成するよう指導した。

そのうち、2処理場については、当所の指導助言により、HACCP管理導入の障壁となっていた営業者等の疑問が解消され、1処理場は監視の1か月後に計画書を作成し、もう一方の処理場からは、当所手引書を活用して記録を実施するとの意思表示があった。

計画書作成済の2処理場に対しては、計画書の内容及び記録実施状況を確認した上で、作成した計画書と実際の工程を比較し、必要な修正を行うよう指導した。

また、1処理場において、未実施項目に実施した旨の記録をしていた箇所があったため、内容を十分確認した上で、適切に記録を実施するよう指導した。

考 察

今回、管内小規模処理場5施設に対して、個別に未導入理由を聞き取り、それに応じて詳細な指導を行った結果、平成29年度年末一斉監視時には全処理場で、未作成であったHACCP計画書について、平成30年度年末一斉監視後には3処理場が作成し、また、1処理場において、計画書は未作成であったものの、営業者のHACCP管理導入に対する姿勢が積極的となった。

これは、定期的な監視指導により、各処理場への具体的な指導助言が可能となり、また、営業者などが質問などをしやすい状況を作ることができたことによ

り、指導を効果的に進めることができた結果であると考える。

特に、HACCP管理について説明したにもかかわらず、危害分析が必要であると誤認していた、また、営業者と導入担当者の認識や積極度の相違や連携不足に、より導入が滞っていた処理場については、個別に聞き取りなどを行わなければ、その状況の把握や、適切な指導ができなかったと推察される。

これらのことから、HACCP管理導入が進まない処理場に対しては、個別に原因を調査し、それに応じた指導を行うことで、導入を効果的に進めることができることが示唆された。

また、「計画書の作成は難しい」という意識を持っていた営業者などに、当所手引書を活用し、まずは記録を開始して、その後、自身の作業工程などに合わせて必要な修正を加えるよう指導することで、困難意識を払拭し、導入に至ることができた事例もあり、「HACCPは難解・困難で、自分の処理場では導入は無理である」という認識の営業者などについては、わかりやすい資料を用いて説明し、まずはできることから開始するよう指導して、意識を変えていくことが効果的であると再認識した。

しかし、同様に詳細な指導を行ったにもかかわらず、1処理場においては、HACCP管理導入に対する積極性は認められなかった。当該処理場の営業者は、「導入する」という旨の発言はするものの、導入にかかる具体的な予定の提示などはせず、当所が現在まで指導を重ね、HACCP管理は自主衛生管理であることや、その必要性を説明しても、営業者の意識を変えることはできていない。

その理由として、営業者が現在の衛生管理などの方法に自信を持っており、過去に大きな問題が発生していないことなどから、HACCP管理を導入することによる利点を感じていないということがあげられる。さらに、出荷先の大部分が個人消費者であることから、顧客からHACCP管理の導入を求められることがないであろうこと、営業者が「一方的に行政からやれと

言われている」という意識を持っていることも導入に消極的な理由となっている可能性が考えられる。

HACCP 管理導入のスタートラインは、営業者などがその必要性を認識することである。

しかし、全ての営業者に HACCP 管理による自主衛生管理が必要であることを認識させることは、行政による指導助言のみでは困難であり、業界として自主衛生管理の導入を推進し、そのことを営業者などに認識させることが重要であると考えられる。ついでには、今後、業界全体の風潮が自主衛生管理実施の方向に向かうよう、厚生労働省から業界団体に働きかけるなどの支援を期待する。

なお、今回の調査終了後の平成 31 年 3 月 21 日、一般社団法人日本食鳥協会が作成した「認定小規模食

鳥処理場のための HACCP の考え方を取り入れた衛生管理の手引書」¹⁾ が公表されたが、当所手引書と異なり、冷却槽の温度管理及び殺菌剤の濃度管理が CCP に設定されているため、今後は、このことを踏まえて各処理場における HACCP 計画書の修正又は作成及び運用について引き続き指導を進めていくこととしている。

文 献

- 1) 一般社団法人日本食鳥協会：認定小規模食鳥処理場のための HACCP の考え方を取り入れた衛生管理の手引書 (2019)

広島県で分離された腸管出血性大腸菌の病原因子保有状況調査 (2014-2018)

平塚 貴大 増田加奈子 秋田 裕子 重本 直樹
(受付：令和2年1月6日)

Detection of virulence factors in enterohemorrhagic *Escherichia coli* isolated in Hiroshima prefecture, between 2014 and 2018

TAKAHIRO HIRATSUKA, KANAKO MASUDA, HIROKO AKITA and NAOKI SHIGEMOTO

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

SUMMARY

We detected virulence factors from 105 Enterohemorrhagic *Escherichia coli* (EHEC) strains isolated in Hiroshima prefecture by using Multiplex PCR assays. As for *stx*, 56.2% of strains carried only *stx1*, 21.9% of strains carried only *stx2*, and 21.9% of strains carried both *stx1* and *stx2*. Besides, 99% of strains carried the *hlyA*, 94% of strains carried the *eaeA*, 18% of strains carried the *astA*, and 1% of strains carried the STp gene. A comparative analysis between virulence factors and symptoms showed that two virulence factors, *stx2* and *astA* had the risk of exacerbation significantly as compared to the other factors.

— Key words: Multiplex PCR Assay, Enterohemorrhagic *Escherichia coli*, *stx*, *astA*

要 約

マルチプレックス PCR 法を用いて、広島県内で分離された腸管出血性大腸菌から病原因子の検出を行った。*stx1* 保有株が 56.2%、*stx2* 保有株が 21.9%、*stx1/stx2* 保有株が 21.9%であった。その他の病原因子については、99%の株が *hlyA* を、94%の株が *eaeA* を、18%の株が *astA* を、1%の株が STp 遺伝子を保有していた。病原因子の保有状況と保菌者の症状を比較すると、*stx2* 及び *astA* の保有が病態の悪化に優位に影響していることが示唆された。

—キーワード：マルチプレックス PCR 法、腸管出血性大腸菌、*stx*、*astA*

序 文

腸管出血性大腸菌(Enterohemorrhagic *Escherichia coli*: EHEC) はベロ毒素 (Vero toxin: VT) の産生, あるいは VT 遺伝子 (*stx*) を保有する大腸菌である. 主な症状は腹痛, 発熱, 水溶性下痢, 血便であり, 嘔吐や 38 度以上の高熱を伴う場合もみられる. さらに重症化すると, 血小板減少, 溶血性貧血, 急性腎不全を伴う溶血性尿毒症症候群 (hemolytic-uremic syndrome: HUS) を引き起こし, 脳症などを併発して死に至る場合もある. EHEC 感染症は感染症の予防及び感染症の患者に対する医療に関する法律 (以下, 感染症法) において全数把握疾患の 3 類感染症に指定されている. 近年の報告数は 3000 ~ 4000 件で推移しており, 広島県内の報告数は年間 50 件前後で推移している¹⁾. 2006 年から 2018 年までに広島市を除く, 広島県内で報告された EHEC 感染者の症状について表 1 に示した. 最も多くみられた症状は水溶性下痢で 350 件, 報告者数における割合は 53.0%であった.

表 1 症状別の報告数 (2006-18 年)

| 症状 | 報告数 (%) |
|-----------|------------|
| 水様性下痢 | 350 (53.0) |
| 腹痛 | 328 (49.6) |
| 血便 | 253 (38.3) |
| 発熱 | 125 (18.9) |
| 嘔吐 | 64 (9.7) |
| 溶血性尿毒症症候群 | 4 (0.6) |
| 急性腎不全 | 2 (0.3) |
| 溶血性貧血 | 2 (0.3) |
| その他 | 39 (5.9) |
| 無症状 | 206 (31.2) |

EHEC 感染症における症状は主に VT によって引き起こされるが, VT のサブタイプである VT2 を保有する株のほうが, 症状を悪化させる傾向にある. また, EHEC は VT のほかにも多くの病原因子を保有しており, これらの病原因子の中にも, EHEC の症状の悪化にかかわっていると考えられるものも存在する²⁾. このことから, EHEC の保有する病原因子の保有状況の調査及び症状との比較は, それぞれの病原因子が EHEC 感染症における病態の中で, どの程度関与しているのかを解明する一助となるため重要である. 本研究では, 大腸菌が保有する主要な病原因子を検出するためのマルチプレックス PCR 法を開発し, 広島県内で分離された EHEC について, 病原因子の保有状況の把握及び, 保菌者の症状との比較を行った.

材料と方法

1. 検体

2014 年 ~ 2018 年に広島県内で分離され, 当所に搬入された EHEC 105 株を検体とした. 血清型の内訳を表 2 に示した.

表 2 供試菌株の血清型

| 血清型 | 株数 |
|----------|-----|
| O157:H7 | 39 |
| O157:H- | 1 |
| O26:H11 | 33 |
| O26:H- | 14 |
| O103:H2 | 11 |
| O121:H19 | 2 |
| O128:H2 | 1 |
| O110:H28 | 1 |
| OUT:H- | 3 |
| 合計 | 105 |

2. DNA の抽出

保存されていた各菌株からシングルコロニーを単離し, 1.5% TSA 培地で増菌後, 菌塊を滅菌蒸留水に懸濁して菌液を作成した. 95℃で 10 分間菌液を加熱し, マルチプレックス PCR 法のテンプレートとした.

3. マルチプレックス PCR 法

大腸菌が保有する主要な病原因子を検出するため, 4 組のプライマーセットを使用したマルチプレックス PCR の系を作成した. 検出する病原因子と使用したプライマーについて, 表 3 に示した. プライマーは平成 22 年度の新興再興感染症技術研修会で紹介されたプライマーのほか, 各遺伝子を検出するために適切なプライマーを先行の文献から引用した³⁻⁸⁾. プライマーセットは反応液中の濃度が表 3 に記載の濃度に調整した. マルチプレックス PCR のキットはマルチプレックス PCR Plus Kit (QIAGEN) を使用した. 試薬の調整は添付文書に従い, 反応液の最終量が 25 μ L に調整した. 温度条件は, 95℃ / 5 分, その後 95℃ / 30 秒, 58℃ / 30 秒, 72℃ / 90 秒を 35 サイクル, 68℃ / 10 分の反応で行った. PCR 産物を 2% のアガロースゲルで電気泳動を行い, 各病原因子に該当するバンドの有無を確認した.

なお, Set 4 については偽陽性でないことを確認するため, マルチプレックス PCR を実施後に両遺伝子についてシングル PCR を行った.

4. 病原因子の保有状況と症状の比較

各病原因子の保有の有無と保菌者の症状について比較を行った. 病原因子のうち比較の対象としたものは, 保有株と非保有株が解析に妥当な数を確保できるもののみとし, 該当する *stx1*, *stx2*, *astA* について検討を行った. なお, *stx1* 及び *stx2* については, いずれかを単独保有, あるいは両方を保有する場合の 3 パターンに分け, 比較を行った. 症状は重症度によって分類し, HUS または血便を呈している場合を「2+」, 2+ 以外の症状のみを呈している場合を「+」, 無症状であった場合を「-」とした.

成 績

1. *stx* の保有状況

stx1, *stx2* の保有率は, *stx1* 保有株が 56.2%, *stx2*

表3 使用したプライマー

| 1st set | | | | |
|--------------------------------|----------------|-------------------------------|--------------------------|--------------------|
| Target gene | Primer | Sequence (5'→3') | Final Concentration (μM) | Amplicon Size (bp) |
| <i>stx2</i> | stx2-F | TTTTCTTCGGTATCCTATTCCC | 0.2 | 655 |
| | stx2-R | ACTCCGGAAGCACATTGCTG | 0.2 | |
| <i>stx1</i> | stx1-F | GATTCGCTGAATGTCATTCCG | 0.2 | 544 |
| | stx1-R | CGTTCTTATGTAATGACTGCTGAAG | 0.2 | |
| <i>clpX</i> (internal ctrl) | clpX_28 | TGGCGTCGAGTTGGGCA | 0.1 | 403 |
| | clpX_411R | TCCTGCTGCGGATGTTTACG | 0.1 | |
| <i>stx2f</i> | stx2fk_S1 | CAAAAGAGCTATGTTGATTC | 0.3 | 296 |
| | stx2fk_A1 | ATGGAAACAGTTATCACATC | 0.3 | |
| STh gene | ST Ib-1 | CCCTCAGGATGCTAAACCAG | 0.2 | 166 |
| | ST Ib-2 | TTAATAGCACCCGGTACAAGC | 0.2 | |
| 2nd set | | | | |
| Target gene | Primer | Sequence (5'→3') | Final Concentration (μM) | Size (bp) |
| <i>ipaH</i> | primer III | GTTCCCTTGACCGCCTTTCCGATACCGTC | 0.1 | 619 |
| | primer IV | GCCGGTCAGCCACCCTCTGAGAGTAC | 0.1 | |
| <i>eaeA</i> | EA-1 | AAACAGGTGAAACTGTTGCC | 0.2 | 454 |
| | EA-2 | CTCTGCAGATTAACCTCTGC | 0.2 | |
| <i>aggR</i> | aggRk_multi_S4 | GCGATACATTAAGACGCCTA | 0.1 | 254 |
| | aggRk_multi_A4 | AAAGAAGCTTACAGCCGATA | 0.1 | |
| STp gene | ST Ia-1 | TCTGTATTATCTTTCCCTC | 0.3 | 186 |
| | ST Ia-2 | ATAACATCCAGCACAGGC | 0.3 | |
| LT gene | LT-11 | CCCACCGGATCACCA | 0.1 | 123 |
| | LT-2 | GTGCTCAGATTCTGGGTCTC | 0.1 | |
| 3rd set | | | | |
| Target gene | Primer | Sequence (5'→3') | Final Concentration (μM) | Size (bp) |
| <i>hlyA</i> | hlyAF | GCATCATCAAGCGTACGTTCC | 0.2 | 534 |
| | hlyAR | AATGAGCCAAGCTGGTTAAGCT | 0.2 | |
| <i>invE</i> | I-1 | ATATCTCTATTTCCAATCGCGT | 0.2 | 379 |
| | I-51 | GGCGAGAAATTATATCCCG | 0.2 | |
| <i>afaD</i> | afaDks1 | GGGAGTATAAGGAAGATGATGC | 0.2 | 207 |
| | afaDkas1 | GTCCACCTGACGCTCA | 0.2 | |
| 4th set | | | | |
| Target gene | Primer | Sequence (5'→3') | Final Concentration (μM) | Size (bp) |
| <i>bfpA</i> | bfpA_multi_S2 | CTAAAATCATGAATAAGAAATACGA | 0.2 | 394 |
| | bfpA_multi_A2 | GTTGCAAGACTAACACATGC | 0.2 | |
| <i>astA</i> | EAST0S1 | GCCATCAACACAGTATATCCG | 0.2 | 109 |
| | EAST0AS2 | CGCGAGTGACGGCTTTGTAG | 0.2 | |

保有株が 21.9%, *stx1/stx2* 保有株が 21.9%であった。また, *stx* サブタイプの保有状況は, 血清型によって大きく異なった (図 1)。O157 は *stx2* または *stx1/stx2* 保有株のいずれかしか検出されず, *stx1* 単独保有株はみられなかった。このことから, O157 のすべての株が *stx2* を保有していた。一方, O26, O103 は *stx1* 単独保有株が大半を占め, *stx1/stx2* 保有株が O26 に 1 株存在するのみであり, *stx2* を保有する株は少数であった。

2. *stx* 以外の病原因子の保有状況

stx 以外の病原因子の保有状況について図 2 に示した。99%の株が *hlyA* を, 94%の株が *eaeA* を, 18%

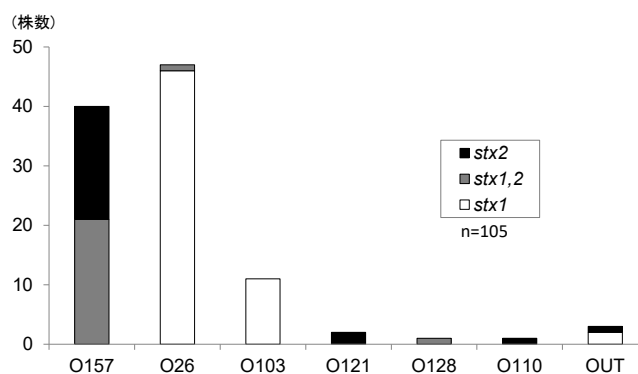


図 1 血清型別の *stx* 保有状況

表4 病原因子保有状況

| | <i>stx1</i> | | | <i>stx1/stx2</i> | | | <i>stx2</i> | | |
|-------------|-------------|--------|-------|------------------|--------|-------|-------------|--------|-------|
| <i>hlyA</i> | + | | | + | | | + | | |
| <i>eaeA</i> | + | - | - | + | - | - | + | - | - |
| <i>astA</i> | + | - | - | + | - | - | + | - | - |
| STp gene | - | - | - | - | - | - | - | - | + |
| 株数 | 3 | 53 | 3 | 11 | 11 | 1 | 5 | 16 | 1 |
| (%) | (2.9) | (50.5) | (2.9) | (10.5) | (10.5) | (1.0) | (4.8) | (15.2) | (1.0) |

の株が *astA* を、1%の株が STp gene を保有していた。保有する病原因子で最も多い組み合わせは、*stx1*, *hlyA*, *eaeA* で、この組み合わせの株は全体の50%であった (表4)。

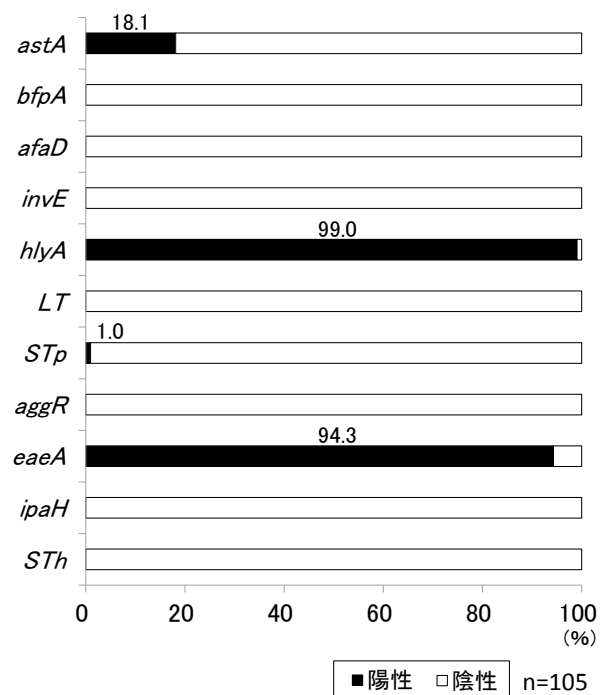
astA でみられた傾向について χ^2 検定を実施したところ、これらの傾向は統計処理上優位であった。

考 察

VTは EHEC が必ず保有している病原因子であり、サブタイプによって症状の程度が異なると考えられている。HUSの発症者から分離される EHEC は *stx2* を保有している割合が高いことが知られており、VT2を保有する株による症状のほうが重篤化しやすいことが知られている²⁾。本報告の結果からも HUS や血便を呈した患者から分離された EHEC は *stx2* を保有している割合が高いことが示唆された。また、血清型別にみると、*stx1*, *stx2* の保有状況が大きく異なった。O157のすべての株が *stx2* を保有している一方で、O26, O103 ではほぼすべての株が *stx1* 単独保有株であった。2018年の HUS 発生状況をみると、O157によるものが全体の約70%を占めている¹⁾。EHECの検査において血清型は菌株の性状鑑別において重要な要素の1つであるが、特定の血清型で *stx2* の保有割合が異なり、それにより症状の程度が変化することを考慮すると、血清型を決定することは重症化を判断する指標にもなりうると示唆された。

stx 以外の病原因子ではほぼすべての株が、*hlyA*, *eaeA* を保有していた。*hlyA* はエンテロヘモリジンの遺伝子である。EHECにおけるエンテロヘモリジンの役割についてはいまだに解明されていない点もあるが、ほぼすべての O157 が *hlyA* を保有していることが知られている²⁾。*eaeA* から産生されるインチミンは、細胞への接着に関与し、EHECの多くの株が保有している²⁾。18.1%の株が保有していた *astA* は腸管凝集性大腸菌耐熱性腸管毒素 (EAST1) の遺伝子である。EAST1は後述の耐熱性エンテロトキシンと同様の作用機序であることが確認されており、EAST1単独保有の大腸菌による有症事例についても報告されているが、人の体内において病原性を発揮するかはいまだ議論がなされている⁹⁻¹¹⁾。今回の結果からは EAST1単独の病原性についての検討は不可能であるが、少なくとも EHEC 感染症において重症化にかかわる可能性が示唆された。1株のみではあるが、STp 遺伝子を保有している株も確認された。STp は耐熱性エンテロトキシンの1つであり、腸管毒素原

図2 *stx* 以外の病原因子保有状況



3. 病原因子の保有状況と症状の比較

stx を用いた比較の結果、*stx1* 単独保有の場合は「2+」と比較して「+」, 「-」が多かった。それに対して *stx1/stx2* の同時保有、*stx2* の単独保有の場合は、「+」, 「-」と比較して「2+」が多い傾向にあった (表5)。*astA* の検討の結果、保有株では「2+」が「+」, 「-」よりも多く、非保有株では「+」, 「-」が「2+」よりも多い傾向にあった (表6)。*stx*,

表5 *stx* の保有と病原性の比較

| 重症度 | 保有遺伝子 | | |
|-----|-------------|------------------|-------------|
| | <i>stx1</i> | <i>stx1/stx2</i> | <i>stx2</i> |
| 2+ | 8 | 17 | 11 |
| + | 25 | 2 | 9 |
| - | 26 | 4 | 3 |

(p<0.01)

表6 *astA* の保有と病原性の比較

| 重症度 | 保有状況 | |
|-----|------|----|
| | 有 | 無 |
| 2+ | 13 | 23 |
| + | 3 | 33 |
| - | 3 | 30 |

(p<0.01)

性大腸菌 (Enterotoxigenic *Escherichia coli*: ETEC) の主要な病原因子である。STp が粘膜上皮細胞に吸着すると細胞内の cGMP が増加し、G キナーゼの作用を通じて腸管から体液の分泌を亢進するため、下痢を引き起こすと考えられている²⁾。

本調査によって、*stx2*, *astA* が EHEC 感染症において症状の悪化に影響していることが示唆された。いずれかを保有している割合は全体の 47% であり、EHEC の約半数は重症化に寄与する病原因子を保有していることになる。今回の調査では症状との比較を行えたのは一部の病原因子のみであったため、今後は解析に供する検体数を増やし、他の病原因子についても検討を行う予定である。

文 献

- 1) 病原微生物検出情報, 国立感染症研究所, Vol.40 No.5 (2019)
- 2) Nataro, J.P., and Kaper, J.B.: Diarrheagenic *Escherichia coli*. Clin Microbiol Rev., 142-201 (1998)
- 3) Oaks, J.L., et al.: *Escherichia albertii* in wild and domestic birds. Emerg Infect Dis., 16, 638-646 (2010)
- 4) Hyma, K.E., et al.: Evolutionary genetics of a new pathogenic *Escherichia* species: *Escherichia albertii* and related *Shigella boydii* strains. J Bacteriol., 187, 619-628 (2005)
- 5) Schultz, C., et al.: Detection of enterotoxigenic *Escherichia coli* in stool samples by using nonradioactively labeled oligonucleotide DNA probes and PCR. J Clin Microbiol., 32, 2393-2397 (1994)
- 6) Sethabutr, O., et al.: Detection of Shigellae and enteroinvasive *Escherichia coli* by amplification of the invasion plasmid antigen H DNA sequence in patients with dysentery. J Infect Dis., 167, 458-461 (1993)
- 7) Yatsuyanagi, J., et al.: Characterization of enteropathogenic and enteroaggregative *Escherichia coli* isolated from diarrheal outbreaks. J Clin Microbiol., 40, 294-297 (2002)
- 8) Paton, A.W. and Paton, J.C.: Detection and Characterization of Shiga Toxigenic *Escherichia coli* by Using Multiplex PCR Assays for *stx1*, *stx2*, *eaeA*, Enterohemorrhagic *E. coli hlyA*, *rfbO111*, and *rfbO157*. J Clin Microbiol., 36, 598-602 (1998)
- 9) Fasano, A.: Cellular microbiology: can we learn cell physiology from microorganisms? Am J Physiol., 276, C765-76 (1999)
- 10) Uzzau, S., and Fasano, A.: Cross-talk between enteric pathogens and the intestine. Cell Microbiol., 2, 83-89 (2000)
- 11) Zhou, Z., et al.: An outbreak of gastroenteritis in Osaka, Japan due to *Escherichia coli* serogroup O166: H15 that had a coding gene for enteroaggregative *E. coli* heat-stable enterotoxin 1 (EAST1). Epidemiol Infect., 128, 363-371 (2002)

乳用牛の難治性蹄病に対するグラインダーを使用した 治療法の検討

堀 香織¹⁾ 金本 淳也¹⁾ 金子 宗平²⁾ 岡本 誠²⁾ 竹内 泰造¹⁾

(受付：平成2年4月7日)

Treatment of intractable foot-and-mouth disease in dairy cattle using a grinder

KAORU HORI¹⁾, JYUNYA KANEMOTO¹⁾, SOUHEI KANEKO²⁾, MAKO OKAMOTO²⁾ and TAIZOU TAKEUCHI¹⁾

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

2) Higashi Hiroshima Veterinary Clinical Center, Hiroshima P.F.A.M.A.A,
1-284, Inaki, Takaya-cho, Higashi-hiroshima 739-2106

SUMMARY

Foot-and-mouth disease is typically treated by restraining cattle and trimming the hoofs with a sickle hoof knife. However, recent studies suggest that the number of cattle with recurrence is increasing despite multiple treatments. Furthermore, an increasing number of cattle are affected by intractable diseases with lesions extending into deeper tissue, causing necrosis of the hoof (also known as “hairy attack”). In the present study, we identified 5 cases of intractable foot-and-mouth disease in cattle with prolonged lameness despite multiple treatments. We successfully removed the lesions using a grinder. Prior to grinder treatment, all 5 cattle had prolonged lameness for 7-14 months despite multiple treatments. Grinding of the lesions improved the symptoms; there were no signs of lameness 32-38 days after the treatment, and lesions healed after only 2-3 additional treatments. Lesions had extended into the distal phalanx in 4 of 5 cattle, resulting in partial resection of the distal phalanx using the grinder. As a result, the affected hoof was shaved to approximately half of the original size in 3 of 5 cattle. However, the hoof grew back to its normal size after approximately 8 months. There has been no recurrence after the treatment.

Treatment using a grinder can be performed rapidly and results in a favorable outcome, requiring only a few additional treatments. This method does not cause any loss of the weight-bearing surface of the hoof, and rearing and milk production can be resumed soon after treatment. Therefore, treatment using a grinder is an effective

1) 広島県農業共済組合 府中家畜診療所 (〒729-3421 広島県府中市上下町深江 396-1)

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)

strategy for not only cattle, but also for farmers and veterinarians.

— Key words: intractable foot-and-mouth disease, Hairy attack, grinder, distal phalanx

要 約

蹄病治療時には、単独保定で鎌型蹄刀による削蹄処置を行うことが多いが、近年、複数回治療をしても完治せず再発を繰り返す蹄病や、病変部が深部へ波及し蹄尖壊死などを引き起こすヘアリーアタックと呼ばれる難治性蹄病が増加している。複数回治療を行っても治癒せず、跛行が長期間持続していた難治性蹄病5症例に対して、グラインダーを用いて病変部の完全除去を行った。その結果、5症例とも、処置前は複数回治療しても治癒せず7-14か月間跛行が持続していたが、グラインダー処置後は32-38日で跛行が消失し、処置後の治療は2-3回で治癒に至った。5症例中4例は病変が末節骨に波及しており、グラインダーにて末節骨の一部を切除し、5症例中3例は、処置後の罹患蹄の大きさは正常の二分の一ほどになったが、約8か月後には正常の大きさの蹄に再生し、その後は再発しなかった。

以上より、本方法は、罹患牛が速やかに生産復帰可能な点、負重面を損失せず、処置直後から通常飼養が可能な点、短時間で処置でき処置後の治療が少数回で治癒に至る点から、牛・畜主・獣医師にとって非常に有用な治療法であると考えられた。

— キーワード：難治性蹄病，ヘアリーアタック，グラインダー，末節骨

広島県におけるカルバペネム耐性腸内細菌科細菌の検出状況

増田加奈子 平塚 貴大

(受付：平成2年3月23日)

Detection of Carbapenem-resistant *Enterobacteriaceae* in Hiroshima Prefecture

KANAKO MASUDA and TAKAHIRO HIRATSUKA

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

SUMMARY

Of 118 carbapenem-resistant *Enterobacteriaceae* (CRE) strains, 15 (12.7%) were carbapenemase-producing *Enterobacteriaceae* (CPE) strains carrying a carbapenemase gene horizontally transmitted via a plasmid. Of the 15 CPE strains, the IMP type was the most common (12 strains, 80.0%), with IMP-6 and -1 detected in eight and four strains, respectively. The remaining strains were NDM (NDM-5), NDM (NDM-5) + KPC, and IMI types (one strain each). Five *Escherichia coli* and three *Klebsiella pneumoniae* strains carried an IMP-6 β -lactamase gene, and both contained an IncN-type plasmid, suggesting the spread of the IncN-type plasmid encoding an IMP-6 β -lactamase gene regardless of bacterial species in the city. Due to the low imipenem-degrading activity of IMP-6 β -lactamase, the bacterial strains may be susceptible to carbapenems and not reported as CRE when tested for carbapenem susceptibility by imipenem alone. In the present study, NDM- and KPC-type CPEs were detected. NDM- (NDM-5) + KPC-type β -lactamase gene-carrying strains were isolated from patients with a history of overseas travel, whereas NDM- (NDM-5)-type β -lactamase gene-carrying strains were isolated from those with no such history. CPE strains posing a problem overseas should be continuously monitored to prevent their spread in Japan as their high resistance to antibacterial drugs is of concern.

— Key words: carbapenem-resistant *Enterobacteriaceae*, carbapenemase,
drug resistance gene, β -lactamase, plasmid

要 約

カルバペネム耐性腸内細菌科細菌 (CRE) 118 株のうち、プラスミドを介したカルバペネマーゼ遺伝子の水平伝播が問題となるカルバペネマーゼ産生腸内細菌科細菌 (CPE) は 15 株 (12.7%) であった。15 株の CPE のうち、IMP 型が 12 株 (80.0%) と最多で、そのうち、IMP-6 が 8 株、IMP-1 が 4 株であった。残りは、NDM 型 (NDM-5)、NDM 型 (NDM-5)+KPC 型、IMI 型がそれぞれ 1 株であった。IMP-6 β -ラクタマーゼ遺伝子保有株は *Escherichia coli* が 5 株、*Klebsiella pneumoniae* が 3 株であり、菌種は異なるが共通して IncN タイプのプラスミドを保有しており、IMP-6 β -ラクタマーゼ遺伝子がコードされている IncN タイプのプラスミドが菌種を超えて市中に蔓延している可能性が示唆された。IMP-6 β -ラクタマーゼはイミペネムの分解活性が低いいため、カルバペネム系薬剤の感受性試験をイミペネム単剤で行った場合はカルバペネム感受性と判断され、CRE として届出されない危険性がある。また、今回の調査では、NDM 型と KPC 型 CPE が検出され、NDM 型 (NDM-5)+KPC 型 β -ラクタマーゼ遺伝子保有株は海外渡航歴がある患者由来であったが、NDM 型 (NDM-5) β -ラクタマーゼ遺伝子保有株は海外渡航歴のない患者から検出された。これらの海外で問題となっている CPE は抗菌薬に高度耐性を示すため、日本に定着しないよう、今後も継続的な監視が必要である。

——キーワード：カルバペネム耐性腸内細菌科細菌，カルバペネマーゼ，薬剤耐性遺伝子， β -ラクタマーゼ，プラスミド

広島県立総合技術研究所保健環境センター研究報告 第 27 号，1-6，2019

ジビエの衛生指導の現状について

平野 政敏

はじめに

野生鳥獣の肉の取り扱い、保健所の食肉処理業の許可が必要である。近年、ジビエを取り巻く環境は大きく変化し、「野生鳥獣の衛生管理に関する指針」（ガイドライン）や「国産ジビエ認証制度」の発足、さらには HACCP の施行に見られるように、衛生規範が向上している。これに対し、ジビエ食肉業者は、急激な変化に戸惑いを隠せない状況である。

今回、我々は農林水産省の委託を受け、全国 630 ケ所のジビエ食肉処理施設の中からピックアップし、「国産ジビエ認証制度」の働きかけや、自治体単位でジビエコーディネーター研修を実施した。

農林水産省からの要望は、野生鳥獣による農業被害の軽減、野生鳥獣の利活用の推進（7%～14%）、捕獲から生肉の出荷まで一連の中で、指導・助言できる人材の育成（ジビエコーディネーター）、ジビエ食肉処理施設等の衛生管理の向上や、「国産ジビエ認証制度」の普及である。

今回、2年間で衛生的な3処理施設を、国産ジビエ認証施設とすることが出来たので、その指導方法や認証経緯について、概要を説明する。

- 1 コーディネーター制度：ジビエに係る捕獲から止め刺し、運搬、肉質の向上、衛生処理、販売等に至る指導できる人材の育成。
- 2 「国産ジビエ認証制度」：チェックシート（衛生に関する80項目）、カットチャート（部分肉）、表示・トレイサビリティ等の基準。
- 3 民間認証機関：現在、国内においてはA社とB社の2社のみである。
- 4 指導内容：主として、自治体単位や個別施設での研修・衛生的な解体実習である。一般衛生管理、HACCP、肉質の向上、「野生鳥獣の衛生管理に関する指針」（ガイドライン）をベースに、指導並びに「国産ジビエ認証制度」の普及活動を行っている。

5 指導回数：（重複施設を含む）

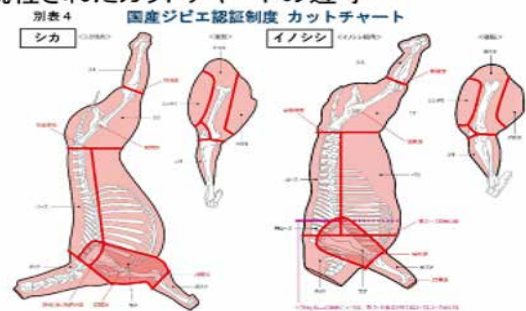
表1 ジビエ指導状況

| | 指導 | 講習会等 |
|-------|----|------|
| 2018年 | 14 | 3 |
| 2019年 | 65 | 13 |
| 2020年 | 11 | 2 |

6 国産ジビエ認証の取得

- 1 「野生鳥獣の衛生管理に関する指針」をベースに、80項目の衛生項目（チェックシート）をクリアする。
- 2 カットチャートの遵守。

規程されたカットチャートの遵守



- 3 表示義務を遵守し、トレイサビリティが可能となるようにする。

国産ジビエ認証制度【包装されたジビエに表示するラベルの記載事項】

○規定された表示ラベル記載事項の遵守
 ・部位や鳥獣肉の種類、加熱用である旨、捕獲地、賞味期限などの記載があるか
 ・QRコードなどにより、捕獲年月日や捕獲方法などの情報を確認することができるか 等

○出荷する製品のトレイサビリティの確保
 ・任意の最終製品から、全ての工程の記録を確認することが可能か
 ・出荷前に殺菌の残存について、テストピースを流した上で、金属探知機により確認し、記録しているか 等

商品名：鹿肉ロース（スライス）
 捕獲地：○○県 加熱用
 内容量：500g
 賞味期限（※）○○○○○○○○
 保存方法：-18℃以下で保存
 加工者：
 （名称）○○○○○○
 （住所）○○県○○郡○○町○○
 金属探知機・検査済み

QRコードなどで示す情報

- ① 捕獲年月日
- ② 捕獲地域
例) ○○県××町
- ③ 捕獲方法
例) 銃/くくり罠/箱罠など
- ④ 性別等
例) ♂/♀、幼獣/成獣
- ⑤ 体重(内臓除去後)
- ⑥ 解体年月日
- ⑦ 加工年月日
- ⑧ 捕獲者
- ⑨ 個体識別番号
- ⑩ 認証施設・責任者
- ⑪ 電話番号

※賞味期限又は消費期限を表示

7 国産ジビエ認証取得

「野生鳥獣の衛生管理に関する指針」を踏まえた認証規準を満たすことで、透明性の高い生産・衛生管理が可能となり、食品事故等への原因究明が容易になり、取引先からの信頼獲得につながる。

商品の差別化が図れる。認証マークを表示できる。全国的な取引に有利。年に1回以上の監査により、衛生管理が継続できる。ジビエの安心・安全が担保される。



8 衛生的な指導

- 1) 一般衛生管理について
- 2) HACCPについて
- 3) 衛生的な取り扱いや解体方法について
止め刺し後、速やかに処理場に搬送することが望ましい。

9 生体時の確認

- 1) 足取りがおぼついているか
- 2) 神経症状を疑う挙動や異常はないか

10 狩猟個体の異常確認

- 1) 顔やその他に奇形や腫瘍はないか
- 2) ダニ類等が著しく寄生していないか
- 3) 著しく脱毛していないか
- 4) 著しく痩せていないか
- 5) 大きな外傷はないか
- 6) 皮下に多数の膿瘍はないか
- 7) 口腔、口唇、舌、乳房、ひずめ等に多数の水ぶくれ(水疱)やただれ(びらん、潰瘍)等が見られないか

- 8) 下痢で尻周辺が汚れていないか
- 9) その他、外見上明らかな異常はないか
特に、肛門結紮と食道結紮は重要

11 検証:「ふき取り検査」を実施、簡易な3Mペトリフィルム培地に指導前と指導後で明らかに改善がみられ、大腸菌、大腸菌群、一般生菌数の減少が見られた。

12 認証施設・場所と特徴

A. 施設(山梨県南巨摩郡早川町)

主として、シカで稀にイノシシ・クマが捕獲される。公設民営化で、衛生的な取り扱いや解体技術では全国的にトップレベルである。また、肉質が良く、おいしいことで有名である。事業主は、銃の名人でもあり、頭部を射ることで、ストレスを与えず、肉質に良い影響を与えている。

B. 施設(広島県東広島市豊栄町)

公設民営化で、施設が新設された。常時、1日に7~9頭の処理を行い、衛生的に前向きに取り組んでいる。この特徴は、「止め刺し」が上手で、放血が良く、肉質も良い。

C. 施設(岡山県岡山市北区門前)

猟友会との連携や関係性が良い。東京への販売網もあり、順調に業績を上げている。捕獲場所は岡山市内で、イノシシによる、岡山名物の果物の被害がある。



冷蔵庫



金属検出器



施設

おわりに

今回、解体処理にあたり、手洗いの洗浄・消毒、ナイフの83℃での消毒、肛門結紮、食道結紮、トリミングの実施等により、改善が見られた。今後、積極的に指導を行うとともに、「国産ジビエ認証施設」が全国的に増えるよう努めていきたい。

〈学会開催のご案内〉

今年度は、COVID-19の影響で下記のとおり、予定されておりました学会がすべて中止となりました。

- 1) 第62回広島県獣医学術学会
広島市
- 2) 令和2年度獣医学術中国地区学会
岡山市
- 3) 2020年度日本獣医師会獣医学術学会年次大会
神戸市

尚、令和3年度獣医学術中国地区学会は広島県で開催予定です。

編 集 後 記

今般は新型コロナウイルスの世界的な感染拡大により、多くの方々が何らかの形で日常の変容を強いられています。学会を含めた様々なイベントが中止になっています。本年度以降もどのようなかたちで学会が開催されるかわかりません。個人的にも旅行やレジャーなどを楽しみたいという気持ちがありますが、今は各々が万全なウイルス対策、健康管理を行い、大切な家族を守ることに努めていきたいと思っています。

終わりに、令和元年10月19日～20日に松江テルサで開催された、獣医学術中国地区学会において、産業動物部門から「乳用牛における難治性

蹄病に対するグラインダーを使用した治療法の検討」堀 香織、小動物部門から「慢性呼吸器疾患に起因する肺高血圧症の犬に対するシルデナフィルの治療効果」荒蒔義隆、「新しい神経徴候「頭位変換性捻転斜頸」：ライソゾーム病の犬における検討」田村慎司、獣医公衆衛生部門から「広島県におけるカルバペネム耐性腸内細菌科細菌の検出状況」増田加奈子の各先生方の演題が優秀演題に選出されましたことをご報告させていただきます。

(筆耕担当：小動物部門 荒蒔義隆)

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、編集委員会で決定する。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
岡 本 誠 尾 崎 允 彦 柴 崎 桃 子
高 尾 信 一* 田 村 慎 司 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 35 号

2020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

獣医師の皆さまとご家族に 大きな安心を!!

公益社団法人日本獣医師会
獣医師福祉共済事業



獣医師の皆さまを取り巻く様々なりスクの備えに

「獣医師会のほけん」

- 獣医療業務や動物診療施設の瑕疵が原因で、万が一賠償請求を受けたら……
- 第三者からのクレーム行為で動物病院の業務に支障が出たら……
- 一家の大黒柱の獣医師ご本人が病気やケガで働けなくなったら……
- ご本人やご家族が病気やケガで入院や通院をされたら……
- ご本人やご家族が要介護状態になったら……
- 動物病院の従業員の皆さまがお仕事中にケガをされたら……
- 動物病院の什器・備品・医療機器が偶然な事故で損害を被ったら……

獣医療業務や動物診療施設の事故に対する損害賠償請求に備える

| | |
|--|---|
| <p>基本契約</p> <p>獣医師賠償責任保険 (クレーム対応サポート補償付)</p> | <ul style="list-style-type: none"> ● こんな、法律上の賠償責任を負ったときに補償します。 <ul style="list-style-type: none"> ① 獣医療業務を遂行することにより、誤って動物や他人に障害を与えたり、財物に損害を生じさせた場合 ② 治療のために預かっている動物の管理ミスにより、紛失・逃亡または盗難にあって、それが原因で他人に身体障害を与えたり財物に損害を生じさせた場合 ③ 動物診療施設の所有・使用・管理の不備により、動物や他人に障害を与えたり、財物に損害を生じさせた場合 ● 第三者からのクレーム行為に対応します。 専門の相談窓口(クレームコンシェル)へ電話相談ができ、当事者間での解決が困難な場合は弁護士による対応を実施。弁護士費用は保険金でお支払いします。 |
| <p>オプション</p> <p>トリミング・ペットホテル 危険担保特約</p> | <ul style="list-style-type: none"> ● 動物診療のほかに、「トリミング」や「ペットホテル業務」を行う動物病院のためのオプション契約です。 ● 「トリミング」または「ペットホテル業務」を遂行することにより、誤って動物や他人に障害を与えたり、他人の財物に損害を生じさせ賠償責任を負ったときに補償します。 獣医療行為に伴うトリミングや保管業務による賠償責任は「基本契約」の補償対象となります。 |
| <p>オプション</p> <p>個人情報漏えい補償保険</p> | <ul style="list-style-type: none"> ● 偶然な事由により個人情報漏えいしたこと、またはそのおそれがあることに起因して、損害賠償請求がなされ、法律上の賠償責任を負担することによって被る損害を補償します。 |

団体割引20% 病気やケガに備える

| 所得補償保険 | 団体長期障害 所得補償保険 | 新・団体 医療保険*1 | 傷害総合保険 | 介護保険*3 | 動物病院従業員補償 傷害総合保険*2 |
|--|---|---------------------------------|---|--------------------|---|
| ご本人やご家族(就業者)が病気やケガで働けなくなったときの補償 (入院は初日から最長369日 自宅療養は支払対象外期間4日 の最長1年間補償) | ご本人やご家族(就業者)が長期に渡り、病気やケガで働けなくなったときの補償 (支払対象外期間369日の後 最長70歳まで補償) | ご本人やご家族が病気やケガにより入院・通院・手術したときの補償 | ご本人やご家族がケガにより入院・通院・手術したときの補償 *1 医療保険基本特約、疾病保険特約、傷害保険特約、がん保険特約セット団体総合保険 | ご本人やご家族の介護による費用を補償 | 動物病院の従業員が仕事中にケガをしたときの補償 *2 就業中のみ危険補償特約セット傷害総合保険 *3 介護一時金支払特約セット団体総合保険 |

動物病院の「什器・備品・医療機器」の損害に備える

| | |
|---|---|
| <p>動物病院 「什器・備品・医療機器」総合補償 (テナント総合保険)</p> | <p>下記損害に関する補償がセットされています。</p> <ul style="list-style-type: none"> ① 火災・爆発・風災・盗難・破損等の「偶然な事故」による動物病院の動産(設備・什器・備品等)の損害 ② 火災・爆発・風災・水災などの事故による動物病院やユーティリティ設備の損害による動物病院の休業損害 ③ 火災・爆発・破損などが原因で建物オーナーに対して負担する賠償責任 (③は借用店舗の場合に補償対象となります。) |
|---|---|

保険契約者 公益社団法人 日本獣医師会

このご案内は概要です。詳しい内容につきましてはパンフレットをご請求いただき、取扱代理店または損保ジャパン営業店までお問い合わせください。

問い合わせ先

幹事代理店 **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
受付時間 9:00~17:30(土・日・祝休)

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 FAX:03-6388-0161
受付時間 9:00~17:00(土・日・祝休)

日本獣医師会福祉共済事業各保険の資料は下記幹事代理店までご請求ください。
なお、携帯電話からもご請求いただけます。右のQRコードからアクセスしてください。



動物看護学科

動物看護コース 3年課程
動物看護コース 2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

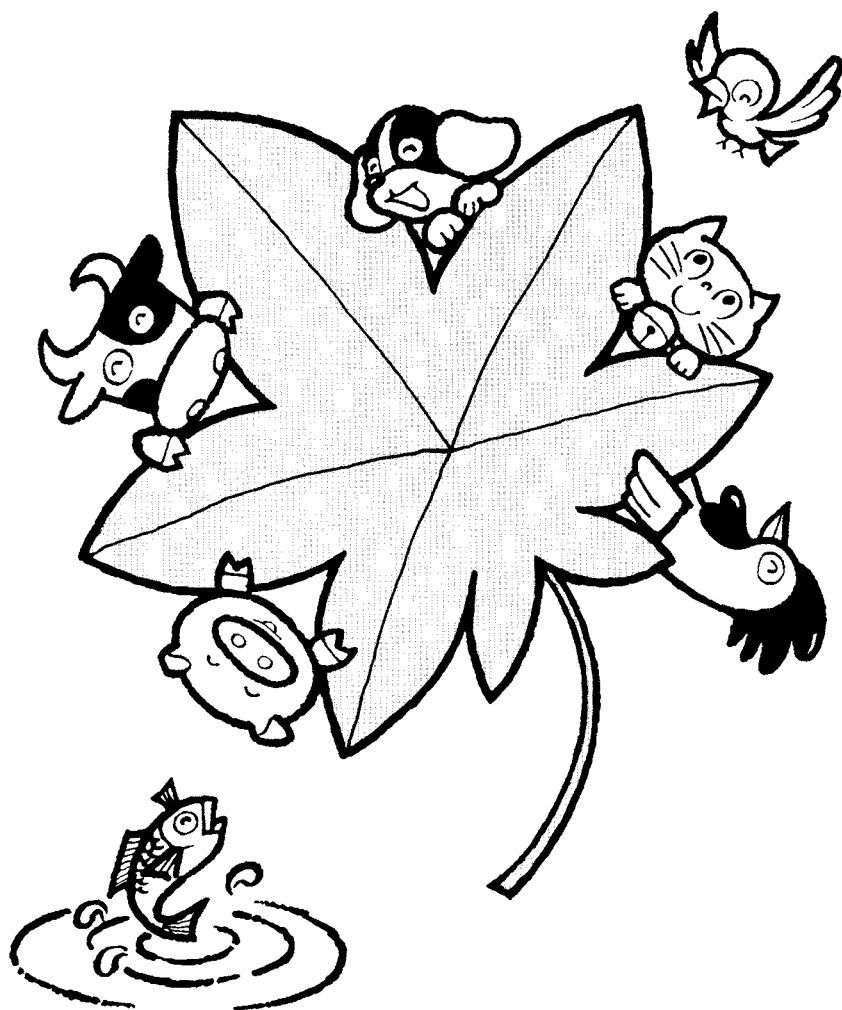
広島アニマルケア専門学校

〒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。

The Hiroshima Journal of Veterinary Medicine

No.35 July 2020

CONTENTS

REVIEW

| | |
|--|---|
| Zoonosis and Infectious Disease Surveillance System of the Pet KOJI YAMAOKA | 1 |
|--|---|

FARM ANIMAL

| | |
|--|----|
| The effect of dry period Mg supplement to perinatal Holstein cow ASAKO ISHIBASHI | 7 |
| A case of arthritis spreading from a contusion in the coronary cushion for which detoeing was performed YUMI KAMINOGO | 13 |
| Examination of Combined Feeding Method of TMR and Separate Feeding for Dairy Cows raised in Tie Stall Barns TOMOYASU KUROSE | 17 |
| Analysis of <i>Mannheimia haemolytica</i> isolated from Cattle at past 12 years in Hiroshima Prefecture MIDORI KAWAMURA | 23 |
| A case of bovine abortion due to fungal placentitis in Japanese Black cattle KUMIKO HOSOKAWA | 31 |

SMALL ANIMAL

| | |
|---|----|
| 32 cases of <i>Atelerix albiventris</i> examined under sedation KOUSHIRO OZONO | 35 |
| A case of Polycythemia vera which presented Keratoconjunctivitis with abnormal vascular symptom in a dog NAOTAMI UEOKA | 39 |
| A case of mastocytoma of the eyelid conjunctiva KAZUHIRO YOSHIMURA | 45 |
| Argatroban instillation was administered for inhibition intraocular fibrin formation in dogs: two cases MOMOKO SHIBASAKI | 49 |
| Malignant transformation from an inflammatory polyp of the colon in a dog MASANORI SETOBAYASHI | 53 |
| Three eyes improved intraocular pressure by applying anterior chamber injections of gentamicin for end-stage glaucoma with lens dislocation HIRONORI DOI | 57 |
| A case of an old cat who fell to a leg after MIPO for treatment of tibial fracture FUMIHIKO MAEDA | 61 |
| Two cases of cats of severe fiver with thrombocytopenia syndrome KAZUKI NAKASUKA | 65 |
| A case of renal T-cell lymphoma with secondary erythrocytosis due to hypererythropoietinemia in a dog MASAHIDE AKITA | 69 |

PUBLIC HEALTH

| | |
|---|----|
| Wildlife as the bioindicator of terrestrial cadmium distribution in an urban districts YUMIKO NITTA | 75 |
| One Consideration about the onset risk of enzootic bovine leukemia in the fattening Cattle YUMIKO KANESHIGE | 85 |
| Efforts to introducing voluntary hygienic management by HACCP system to small-scale poultry processing plants MASAYOSHI UOTANI | 91 |
| Detection of virulence factors in enterohemorrhagic <i>Escherichia coli</i> isolated in Hiroshima prefecture, between 2014 and 2018 TAKAHIRO HIRATSUKA | 97 |

SUMMARY OF PAPER PUBLISHED IN OTHER JOURNAL

| | |
|--|-----|
| Treatment of intractable foot-and-mouth disease in dairy cattle using a grinder KAORU HORI | 103 |
| Detection of Carbapenem-resistant <i>Enterobacteriaceae</i> in Hiroshima Prefecture KANAKO MASUDA | 105 |

ACTIVITY REPORT

| | |
|--|-----|
| The current situation of the hygiene instruction of the gibier MASATOSHI HIRANO | 107 |
|--|-----|

ANNOUNCEMENT

| | |
|-----------------------------------|-----|
| Schedule of Allied Meetings | 110 |
| Contribution Rules | 111 |