

第3章 調査研究

令和2年度 調査研究

- 1 試行した切除法による細菌検査の結果と課題
知覧食肉衛生検査所 鳥丸 安敬
- 2 マトリックス支援レーザー脱離イオン化飛行時間型質量分析装置
(MALDI-TOF MS) を用いた敗血症分離菌の同定
大口食肉衛生検査所 城間 萌子
- 3 *Streptococcus*属菌のMultiplex-PCRによる菌種同定の検討
志布志食肉衛生検査所 富野 由通
- 4 *Streptococcus suis* が高率に発生した農場における薬剤耐性状況
鹿屋食肉衛生検査所 楠原 莉菜
- 5 管内と畜場で分離された豚のサルモネラ属菌の実態調査
阿久根食肉衛生検査所 坂口善二郎
- 6 ブロイラーの浅胸筋変性症の病態調査
串木野食肉衛生検査所 田澤 陸
- 7 黄疸の指標としての肝臓中パルミチン酸レチノール
大口食肉衛生検査所 日高遼太郎
- 8 令和元年度の保留豚における抗菌性物質残留陽性事例の調査
鹿屋食肉衛生検査所 久保田 堯
- 9 枝肉重量と内臓病変及び枝肉重量遺伝子CW-2との関連性
末吉食肉衛生検査所 干場 浩

試行した切除法による細菌検査の結果と課題

鳥丸安敬 堀豊¹⁾ 木下武 宇都浩二
知覧食肉衛生検査所 ¹⁾名瀬保健所瀬戸内町駐在

はじめに

改正食品衛生法の施行に伴い、と畜場や食鳥処理場でHACCPに沿った衛生管理が制度化される。これに伴い所管の食肉衛生検査所等は、外部検証の1つとして微生物試験による検証が求められる。これにあわせて、従来、牛枝肉等の微生物汚染実態調査で実施していた拭き取り法ではなく、国は衛生指標菌(一般細菌及び腸内細菌科菌群)を対象にした切除法による細菌検査に変更すべくプロトコール作成と検査結果に対する評価基準作りを進めており、本県でも具体的な実施方法について今後検討を行うことになっている。

昨年度、当所は厚生労働科学研究補助事業の調査研究に参加し、切除法を試行する機会を得たので、その内容について報告する。また切除法と比較するために従来の拭き取り法による細菌検査も一部実施したので、その結果についても報告する。

材料と方法

採材は枝肉洗浄を経て懸肉室に入った直後の牛枝肉を対象として、切除法(30 検体)は、左右いずれかのともばらを採材部位とし、縦横5×5 cm 厚さ2 mm になるように切除した。その後、10%リン酸緩衝生理食塩水 90 ml に浸漬し、ストマッカー処理した後、10 倍階段希釈液を調製し 3M 社のペトリフィルム (ACプレートと EBプレート) に接種し、規定の条件で培養後に一般細菌数及び腸内細菌科菌群数をカウントした。拭き取り法(5 検体)は切除法で採材した部分に隣接する部位を縦横5×5 cm で縦横各 10 回拭き取り、ストマッカー処理した後、切除法と同様に処理した。

AC 及び EB プレートの培養条件とコロニーカウントにおける適正測定範囲を表 1 に示す。

表 1

	ACプレート	EBプレート
培養条件	35 ± 1℃ 48 ± 3 時間	37 ± 1℃ 24 ± 2 時間
適正測定範囲	25~250 コロニー	15~150 コロニー

適正測定範囲の下限值未満のものはそれぞれ 0、同上限値を超えるものは 250 及び 150 とした。

一般細菌数及び腸内細菌科菌群数における切除法と拭き取り法の比較は、1 平方 cm 当たりの菌数を算出して行った。

算出データの統計解析は、標本が少数であることから等分散の検定は省き、Welch t 検定と Wilcoxon の順位和検定の両方を行った。

結果

切除重量(g)の平均値は 125 ，最小値 3.8，最大値 29.8 でバラツキがみられた (図 1)。

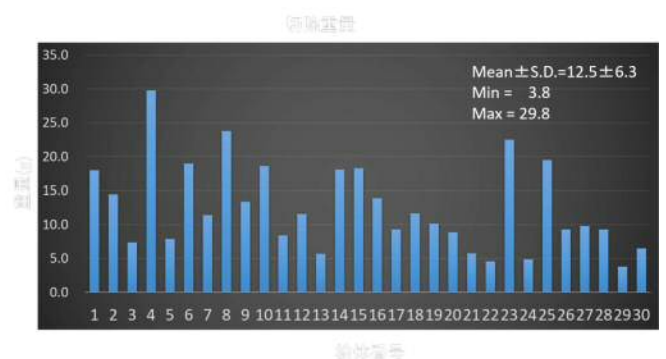


図 1 切除重量(g)

一般細菌数の実数平均は切除法 (N=30) で 951.1 CFU/cm²，拭き取り法 (N=5) で 344.8 CFU/cm² であり、切除法は拭き取り法の 2.8 倍であった (図 2)。

両者の平均値に統計学的に有意な差は認められな

かった。また標準偏差の比較において拭き取り法より切除法で大きなバラツキがみられた。

さらに切除法では、原液を接種した AC プレート上で適正測定範囲下限値未満の検体が 8 検体あった。

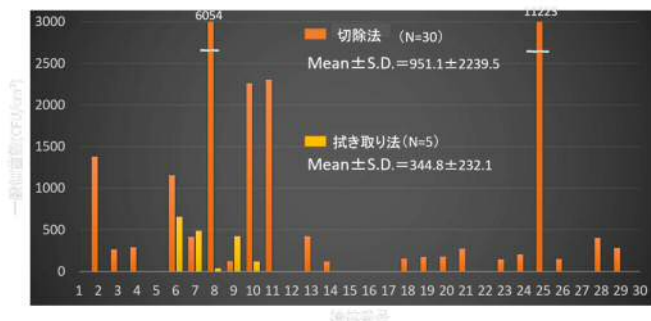


図2 一般細菌数 CFU/cm² (実測値)

一般細菌数の対数平均は切除法 (N=30) で 2.0 log CFU/cm², 拭き取り法 (N=5) で 2.4 log CFU/cm² であり, 切除法は拭き取り法の 0.8 倍であった (図3)。

両者の平均値に統計学的に有意な差は認められなかった。

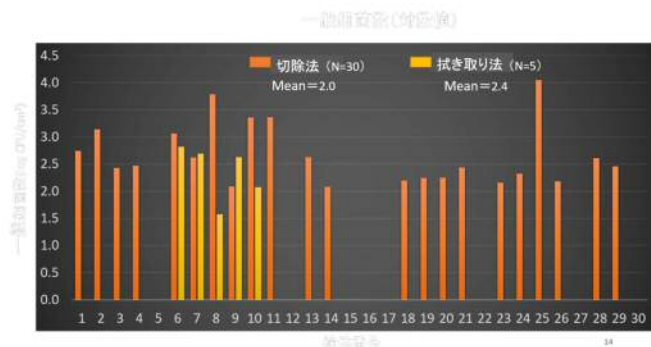


図3 一般細菌数 log CFU/cm² (対数値)

なお腸内細菌科菌群については, 切除法の 30 検体中 29 検体及び拭き取り法の 5 検体全てで適正測定範囲下限値未満となったため, 今回の発表では割愛した。

まとめ

切除重量にはバラツキがみられたが, これは脚立の使用で不安定な姿勢で両手は梓板, メス, ピンセットで塞がり危険な作業であること, そして冷却前の枝肉が柔らかく, 特に皮下脂肪の切開では梓板を外すと切開した境界を見失うため, 正確に 5 × 5cm の採材をすることは困難であり, さらにそれを一定の厚さに切除するのも困難であったため当然の結果と考えられた。そしてこのバラツキは間違いなく細菌検査結果の誤差要因になると思われた。

一般細菌数における比較では切除法で拭き取り法の 2.8 倍を示し, 平成 29 年度の国の調査研究報告書のとおり切除法の菌検出が優れていることを示したが, 同報告書の倍率 (25 ~ 1271 倍) を大きく下回っていた。また対数換算した今回のデータにおいて, 切除法は拭き取り法の 0.8 倍と下回っており, さらに原液を接種した AC プレートで適正測定範囲の下限値未満の検体が切除法では 30 検体中 8 検体あったことから, 必ずしも切除法の菌検出が優れているとは言えない結果もあった。

今回の試行及び拭き取り法の検体は, わずかであり, 引き続き切除法と拭き取り法のデータを集積し, さらなる比較分析が必要と考えた。

マトリックス支援レーザー脱離イオン化飛行時間型質量分析装置 (MALDI-TOF MS)を用いた敗血症分離菌の同定

城間萌子, 田中嘉文, 藤元英樹¹⁾, 中馬猛久²⁾, 鏡園仁

大口食肉衛生検査所, ¹⁾ 鹿屋食肉衛生検査所, ²⁾ 鹿児島大学共同獣医学部

はじめに

本県における敗血症からの分離菌同定には、主に簡易同定キットやPCRを用いて実施している。簡易同定キットは特別な機材を使わずとも生化学的プロファイリングにより同定ができるというメリットがあるが、生化学性状の非特異反応や適切でないキットの選択等が原因で、同定に苦慮する事例もある。また、PCRによる同定は高精度な同定が可能であるが、目的とする菌に対し、それぞれ特異的なプライマーを選択する必要がある。そこで、近年、臨床分野、医薬品製造及び食品製造分野において注目されている新たな微生物同定法であるマトリックス支援レーザー脱離イオン化飛行時間型質量分析装置(MALDI-TOF MS)に着目した。MALDI-TOF MSは、菌体そのものを試料とし、分離培養した菌株から直接タンパク質の質量をマススペクトルとして取得することで同定を行う。主なマススペクトルのピークはリボソーム蛋白質由来であるため、16SrRNAシーケンスを用いた同定法と近い精度を持つ手法である[1,2]。

今回、豚の敗血症の分離菌株をMALDI-TOF MSにて同定を実施し、試料採取用の純培養に適した培地及び試料の処理法について検討を行った。さらに、MALDI-TOF MSと簡易同定キットによる同定結果を比較した。

材料及び方法

試験に供した保存菌株は平成24年度及び平成29年度から令和2年度の期間に、当検査所で豚の敗血症から分離された*Streptococcus suis* (以下*S. suis*) 70株, *Trueperella pyogenes* (以下*T. pyogenes*) 3株, その他の菌17株(グラム陽性菌10株, グラム陰性菌7株)を用いた。菌株の純培養には羊血液寒天培地(日水製薬, 以下BA)を使用し、一部の菌株については、コロンビア5%BA(日本BD, 以下CBA), トリプトソイ寒天培地(栄研化学, 以下TSA), トリプトソイブイオン培地(栄研化学, 以下TSB)及びミューラーヒントンブロス(日本BD, 以下MHB)を使用して検討した。試料の処理法は、培地上で発育した新鮮コロニーをサンプルプレートに直接塗布するダイレクトスメア法を実施し、一部の菌株についてはコロニーから菌体内蛋白を抽出するエタノール・ギ酸抽出法(以下ギ酸抽出法)を実施した[3]。解析は、MALDI-TOF MSのソフトウェアであるMALDI Biotyper 3.0及びflexAnalysisを用いて行い、同定結果の信頼性の指標として、Score Valueを用いた。Score Valueによる値は2.0以上を菌種レベルの一

致、1.7~2.0を属レベルの一致、1.7以下を分類不能として評価した[2]。また、簡易同定キットによる同定は、敗血症から菌株が分離された時点での結果を使用した。

成績

BA上のコロニーをダイレクトスメア法で実施した結果は、*S. suis*株では、簡易同定キットによる判定が良好であった菌株47検体のうち、約50%でScore Value 1.7以上が得られ、属レベル以上の同定することができた。簡易同定キットによる判定が不良であった菌株23検体においても、約80%で同様の結果が得られた。*T. pyogenes*株では、ピーク検出なしやScore Valueの低値が認められ、良好な同定結果が得られなかった。MALDI-TOF MSでは一般的に新鮮な培養コロニーを釣菌したダイレクトスメア法により菌の同定ができるとされている[2]が、この2種類の菌株では同定結果のばらつきや同定不良がみられたため、良好なスコアを得るために培養で使用する培地や処理法の検討を行った。

*S. suis*における培養培地の検討の結果、BA, CBA,

考察

TSAの平板培地では、TSAで比較的高いScore Valueが得られたが、菌体内蛋白由来のピークが少ない傾向がみられた。TSB及びMHBの液体培地では、平板培地と比較して菌体内蛋白由来のピークがより明確に認められたが、液体培地で発育の認められない検体もあった。これらのことから、菌株の培養は発育が安定したBAを用いた。試料の処理法については、ダイレクトスメア法と比較してギ酸抽出法がより良好なマススペクトル及びScore Valueの改善が認められたため、この条件が*S. suis*の同定に最も適していると考えられた。

*T. pyogenes*でも同様に培養条件及び処理法の検討をしたところ、CBAで培養し、ギ酸抽出法により前処理を行う条件が最も適していると考えられた。

その他の菌17株については、汎用性の高いBAで培養し、ダイレクトスメア法で同定を実施した。グラム陽性菌10株のうち3株ではMALDI-TOF MSと簡易同定キットによる同定結果が一致した。5株でScore Value 1.7以上のMALDI-TOF MSによる同定が可能であったが、2株では、ピーク検出がみられなかった(表1)。グラム陰性菌7株のうち、3株でMALDI-TOF MSと簡易同定キットによる同定結果が一致し、4株で結果が一致しなかった(表2)。

表1 グラム陽性菌における同定結果の比較

形態	溶血	簡易同定キット同定	MALDI-TOF MS同定 (Score Value)
レンサ球菌	α	<i>S. pneumoniae</i> *1	<i>S. suis</i> (2.003)
		<i>S. salivarius</i> spp. <i>salivarius</i> *2	ピーク検出なし
	β	<i>S. group L</i> *2	<i>S. dysgalactiae</i> (2.128)
		<i>S. group L</i> *1	<i>S. dysgalactiae</i> (1.997)
		<i>S. dysgalactiae</i> spp. <i>equismilis</i> *2	<i>S. dysgalactiae</i> (2.217)
		<i>S. dysgalactiae</i> spp. <i>equismilis</i> *2	<i>S. dysgalactiae</i> (1.969)
		<i>S. dysgalactiae</i> spp. <i>dysgalactiae</i> *1	<i>S. equi_ssp_zooepidemics</i> (1.921)
<i>S. porcinus</i> *1	<i>S. porcinus</i> (1.826)		
桿菌	α	<i>Leuconostoc</i> spp *1	<i>Lactobacillus gasserii</i> (2.138)
	γ	<i>Peptoniphilus indolicus</i> *2	ピーク検出なし

*1: Low discrimination, Doubtful profile, Unacceptable profile
*2: Excellent identification, Good identification, Very good identification to the genus

表2 グラム陰性菌における同定結果の比較

形態	溶血	簡易同定キット同定	MALDI-TOF MS同定 (Score Value)
球桿菌	α	<i>Haemophilus parainfluenzae</i> *2	<i>Actinobacillus rossii</i> (1.944)
	β	<i>Pasteurella pneumotropica</i> *1	<i>Actinobacillus suis</i> (2.044)
	γ	<i>Yersinia enterocolitica</i> *1	<i>Pasteurella multocida</i> (2.256)
		<i>Plesiomonas shigelloides</i> *2	<i>Plesiomonas shigelloides</i> (2.072)
桿菌	β	<i>Bacteroides uniformis</i> *2	<i>Fusobacterium necrophorum</i> (2.049)
	γ	<i>Fusobacterium necrophorum</i> *1	<i>Fusobacterium necrophorum</i> (1.807)
		<i>Bacteroides fragilis</i> *2	<i>Bacteroides fragilis</i> (2.265)

*1: Low discrimination, Doubtful profile, Unacceptable profile
*2: Excellent identification, Good identification

今回の試験結果から、MALDI-TOF MSによる豚の敗血症分離菌の同定において、供試した菌株間で最適な培養培地や処理法に違いがあることが明らかとなった。培養培地の検討では、*S. suis*において平板培地での培養と比較して発育が一定となる液体培養により、Score Valueが改善したことから、ダイレクトスメア法の結果にばらつきが生じた原因の一つとして、菌の増殖速度に差があることが考えられた。*T. pyogenes*ではBAよりもCBAでScore Valueが改善し、培地成分の違いによる代謝産物の違いが影響する可能性が考えられた。処理法においては、今回供試したほとんどの菌種でダイレクトスメア法での同定が可能であったが、*S. suis*及び*T. pyogenes*ではギ酸抽出法がより良好な結果となり、菌種によっては抽出法の検討が必要であることが分かった。

MALDI-TOF MSと簡易同定キットによる同定結果は一部の菌において不一致であった。これらの多くは簡易同定キットによる判定が良好でない菌株で認められたため、生化学的性状のみでの判定が困難な菌株であった可能性が示唆された。生化学的なプロファイリングのできる簡易同定キットと対象とした菌の同定を簡便に行うことのできるPCRに加え、生化学的に同定の困難な菌については網羅的に同定可能なMALDI-TOF MSを併用し、それぞれの利点を生かして検査を実施することが細菌同定の精度向上のために必要であると考えられた。

まとめ

敗血症分離菌のMALDI-TOF MSによる細菌同定では、簡易同定キットやPCRのような菌種ごとのキットやプライマーの選択なしに同定が可能である。キットやプライマーの選択に迷う場合や生化学的な非特異反応により同定が困難な場合はMALDI-TOF MSによる同定が特に有効であり、判定の一助となると考えられた。簡易同定キットとMALDI-TOF MSによる同定結果が異なった例については、今後はPCRによる遺伝的同定結果とも併せて比較し、異なる結果の出た要因を考察していきたい。さらに、検体数を増やし、分離される細菌について同定結果を比較し傾向

を調査することで食肉衛生検査所での細菌検査の精度向上に役立つと考える。

参 考 文 献

- [1] 関口幸恵：MALDI-TOF MSによる微生物同定の現状と活用にあたっての留意点，腸内細菌学雑誌 29：169-176（2015）
- [2] 小松方：MALDI-TOF MSを用いた臨床微生物学

的検査の新しい潮流 原理から応用まで，日本臨床微生物学雑誌 26：1-10（2016）

- [3] 古垣内美智子ら：MALDI-TOF MS 2機種とバイテック2のnutritionally variant streptococciの同定精度の比較検討と同定に重要な生化学的性状の検討，日本臨床微生物学雑誌 26：29-39（2016）

Streptococcus属菌のMultiplex-PCRによる菌種同定の検討

富野由通 神田卓弥¹⁾ 西屋秀樹 郷原正文 福里吉文

志布志食肉衛生検査所， 1) 末吉食肉衛生検査所

はじめに

H29年(5～12月)の本県のと畜検査では、豚680頭、牛20頭が敗血症と診断され、このうち、豚で81%、牛で25%からStreptococcus属菌が分離されている[1]。本県では、分離菌の同定には、主にApi(ピオメリュ社)を使用しているが、Streptococcus属菌については、一度に同定できる方法は現在はApi以外にはない。そこで今回、と畜検査で分離度が高いStreptococcus属菌について、3菌種のMultiplex-PCR(以下、StrePCR)による同定法を検討した。

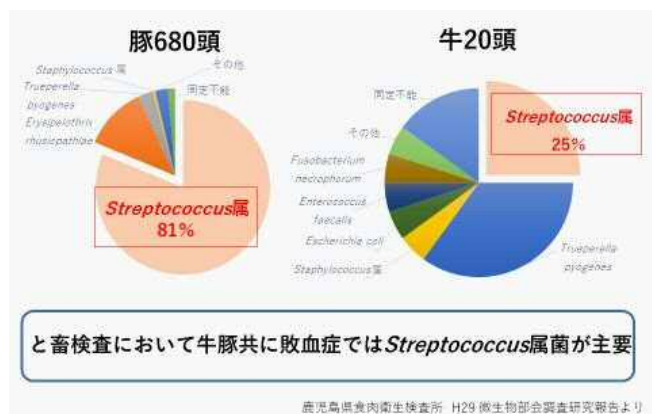


図1 牛、豚の敗血症における細菌分離状況(県計：H29. 5～12月)

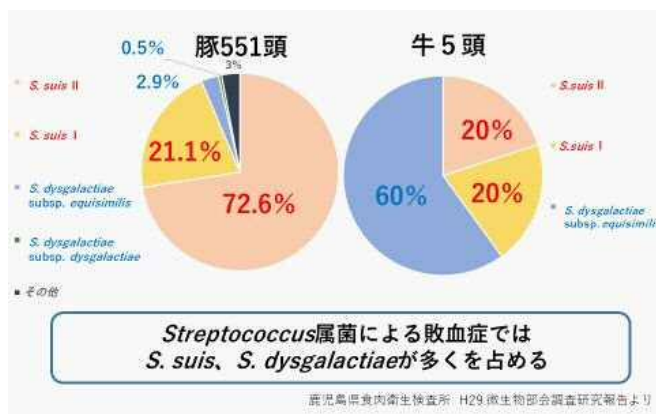


図2 牛、豚の敗血症におけるStreptococcus属菌種の内訳(県計：H29. 5～12月)

材料と方法

1) StrePCR用プライマー設計の検討

Streptococcus属菌の16S rRNA遺伝子をGenbankより参照し、塩基配列の比較を行い、各増幅産物のサイズを考慮してStreptococcus suis(以下S. suis)、Streptococcus dysgalactiae(以下S. dysgalactiae)及びStreptococcus bovis(以下S. bovis)特異的配列を検索し、プライマーを設計した。その後、遺伝子配列検索データベースであるBLASTにてプライマーの相同性、交差性を確認した。

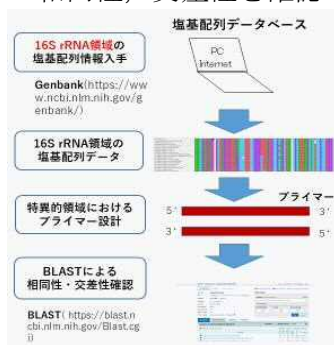


図3 StrePCR用プライマー設計方法

2) StrePCR条件の検討

StrePCR陽性対照としてS. suis、S. dysgalactiae、S. bovisの3菌種の標準株、陰性対照として15菌種(陽性対象の3菌種以外のStreptococcus属菌8菌種、その他グラム陽性菌6菌種、グラム陰性菌1菌種)を用い、StrePCRの最適条件(プライマー領域、熱変性及びアニーリング温度、DNAポリメラーゼ)を検討した。

3) StrePCRとApiの結果比較

当所にて、と畜検査時に分離されApiで同定された野外株S. suis 52株、S. dysgalactiae 8株、S. bovis 2株を用い、得られた最適条件でStrePCRを行い、Apiの結果との比較を行った。

結果

各増幅産物のサイズ及び設計したプライマーの相同性、交差性を確認した結果、S. suis、S. dysgalactiae及びS. bovisの3菌種において、表1に示す

プライマーセットを作成することができた。また、様々な条件検討の結果、StrePCRの最適条件は、高正確性ポリメラーゼの使用、熱変性温度98°C、アニーリング温度68°Cであった。最適条件でのPCRの反応を表2、反応液の組成を表3、プライマー最終濃度を表4に示した。標準株を用いたStrePCRでは、最適条件下で*S. suis*は672bp、*S. dysgalactiae*は230bp、*S. bovis*は793bpの位置に増幅を認め、陰性対照株では増幅は認められなかった(図4)。野外株を用いたStrePCRでは、*S. suis* 52株中1株を除いた51株、*S. dysgalactiae* 全18株、*S. bovis* 全2株で標的とする位置にバンドを認め、Api同定結果とも一致した(図5、表5)。StrePCRの費用は約250円/検体、試験時間は約2時間であり、Apiの約1/5の費用でより迅速に同定可能であった(表6)。

表1 *S. suis*, *S. dysgalactiae*及び
*S. bovis*を検出するプライマーセット

菌種	プライマー配列	塩基数	増幅サイズ (bp)
<i>S. suis</i>	F:5' CAGTATTTACCGCATAGATRYTTGAAA 3'	R:AorG Y:CorT	27
	R:5' CCYGGAAAGGRYCYAACACCTAGCACTCAT 3'	R:AorG Y:CorT	30
<i>S. dysgalactiae</i>	F:5'TAGTCCACGCCGTAACATGAGTG 3'		25
	R:5'AGGGAAAGYCTATCTCTAGACCGGTC3'	Y:CorT	25
<i>S. bovis</i>	F:5' TGAAGACTTTAGCTTGCTAAAGTTGGAA 3'		28
	R:5' CCYGGAAAGGRYCYAACACCTAGCACTCAT 3'	R:AorG Y:CorT	30

表2 PCR反応条件

温度	時間	サイクル
94°C	2min	1
98°C	20sec	30
68°C	20sec	
74°C	20sec	
74°C	7min	1
4°C	∞	1

表3 PCR反応液の組成

試薬	容量 (μL)
2× PCR Buffer for KOD Fx Neo	12.5
dNTP(2mM each)	5.0
Primer mix (10μM each)	2.875
KOD Fx Neo	1.0
(NH ₄) ₂ SO ₄ (25mM)	1.0
DMSO (25mM)	1.0
DNA	2.0
DW	0.375
total	25.0

表4 プライマー最終濃度

菌種	最終濃度
<i>S. suis</i>	0.25 μM
<i>S. dysgalactiae</i>	0.25 μM
<i>S. bovis</i>	0.15 μM

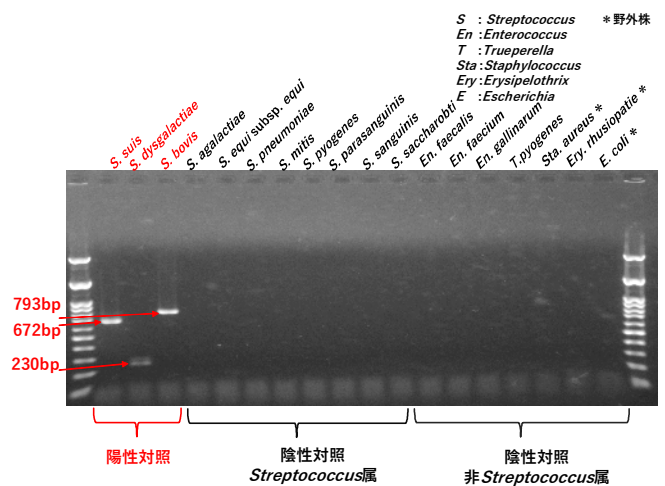


図4 標準株の電気泳動像

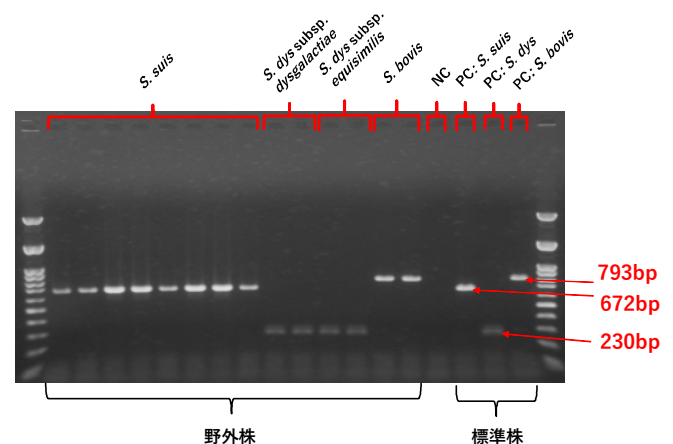


図5 野外株の電気泳動像

表5 野外株PCR結果とApi同定結果の比較

	Apiと一致	Apiと不一致	一致率 (%)
<i>S. suis</i>	51	1	98.1
<i>S. dysgalactiae</i>	18	0	100
<i>S. bovis</i>	2	0	100

表6 ApiとStrePCRの試験時間及び費用の比較

	Api	StrePCR
試験時間	24h or 4h	約2h
費用	約1200円/検体	約250円/検体

考察

本調査より *S. suis*, *S. dysgalactiae*, *S. bovis* の3菌種について、StrePCRで菌種同定可能であることが示唆された。プライマー設計では、他菌種と数塩基しか違いがない領域で設計せざるを得ない菌種があったが、増幅条件を適切に設定することで反応の特異性を高めることができ、明瞭なバンドが得られた。また、StrePCRにより、と畜検査において分離頻度が高い *Streptococcus* 属菌をより安価で迅速に同定可能とすることは、今後の敗血症の診断に有用であると考えられた。今後も、野外株を用いた特異性・感度を引き続き調査し、3菌種以外の *Streptococcus* 属菌にも適用できるようなStrePCRを確立し、検査の向上に努めたい。

参考文献

[1] 鹿児島県食肉衛生検査所協議会 H29微生物部会調査研究報告

Streptococcus suisが高率に発生した農場における薬剤耐性状況

楠原莉菜 堀郁子 川畑仁志 藤元英樹

鹿屋食肉衛生検査所

はじめに

Streptococcus suis(以下、「*S. suis*」)は豚や人に髄膜炎や敗血症を引き起こす人獣共通の病原菌である。近年、豚から分離される*S. suis*株については、各国において様々な薬剤に対する耐性が確認されており、特にテトラサイクリン系及びマクロライド系については耐性株が増加している。本所では、敗血症(心内膜炎型)(以下、「Se(Ev)」)で全部廃棄された豚からの分離菌種は*S. suis*が最も多く、多い年には8割を超えていることから、*S. suis*における薬剤耐性状況を把握することは家畜衛生のみならず公衆衛生上においても重要であると考えられる。そこで今回、本所で*S. suis*によるSe(Ev)が高率に発生したA及びB農場を対象に、分離された*S. suis*の薬剤感受性試験及び耐性遺伝子保有状況について調査を行ったので、その概要を報告する。

材料と方法

(1) 対象農場の概要

A農場、B農場ともに肥育農場であり、A農場は年間約6,000頭を、B農場は年間約7,000～8,000頭を出荷している。A農場は系列繁殖農場から系列肥育農場を経由した後、子豚が導入される。B農場はA農場とは異なる系列繁殖農場から直接子豚が導入される。使用薬剤については、A及びB農場ともにペニシリン系、フルオロキノロン系、クロラムフェニコール系及びオルトソマイシン系を使用しており、B農場についてはその他にマクロライド系の薬剤を使用している(表1)。

表1 対象農場の概要

A農場

- ・ 肥育農場(年間約6,000頭出荷)
- ・ 系列繁殖農場→系列肥育農場経由で子豚を導入
- ・ 使用薬剤:ペニシリン系、フルオロキノロン系、クロラムフェニコール系、オルトソマイシン系

B農場

- ・ 肥育農場(年間約7,000～8,000頭出荷)
- ・ 系列繁殖農場から子豚を導入
- ・ 使用薬剤:ペニシリン系、フルオロキノロン系、クロラムフェニコール系、オルトソマイシン系、マクロライド系

定された菌について、A農場15株、B農場20株の計35株を各年度より抽出し、試験に供した。

平成26年度から平成28年度については、分離株全てを試験に供したが、A及びB農場ともに、年々*S. suis*分離株が増加したため、分離株数が多い平成29年度から令和元年度については、5株前後を抽出した(図1)。

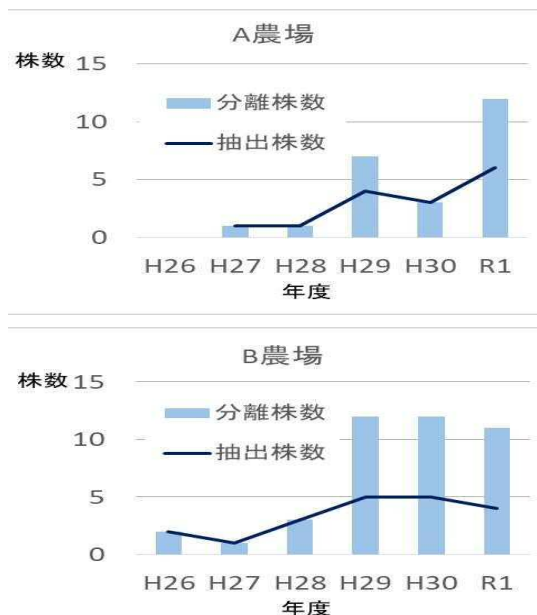


図1 A及びB農場における分離株数と抽出株数

(2) 材料

平成26年度から令和元年度に管内と畜場で、Se(Ev)と判定された豚より分離され、*S. suis*と同

同定結果を補完するため、グルタミン酸デヒドロゲナーゼを標的にしたPCRを実施し、プライマーはJP4 (5'-GCAGCGTATTCTGTCAAACG-3'), JP5 (5'

-CCATGGACAGATAAAGATGG-3') を使用した。

(3) 方法

薬剤感受性試験については、農場への聞き取り調査を基に、A及びB農場での抗生物質使用状況並びに*Streptococcus*属に対する治療選択薬を考慮し、ペニシリン系のAmoxicillin (AMPC), Ampicillin (ABPC), Benzylpenicillin (PCG), セフェム系のCefotaxime (CTX), フルオロキノロン系のOfloxacin (OFLX), クロラムフェニコール系のChloramphenicol (CP), テトラサイクリン系のTetracycline (TC), マクロライド系のErythromycin (EM), リンコマイシン系のClindamycin (CLDM) の7系統9薬剤について、Kirby-Bauer法で実施した。

薬剤耐性遺伝子については、PCRによりテトラサイクリン系2種 (*tet* (0) 及び *tet* (M)), マクロライド系2種 (*erm* (B) 及び *mef* (A/E)) の保有状況について調査した。

結果

(1) 薬剤感受性試験

薬剤感受性試験の結果、ペニシリン系及びクロラムフェニコール系は、全35株に感受性を、セフェム系及びフルオロキノロン系は34株に感受性を示し、B農場由来1株で中間を示した。テトラサイクリン系はA及びB農場それぞれ1株で感受性を示し、他は全て耐性を示した。マクロライド系及びリンコマイシン系はA農場では1株に感受性、14株に耐性、B農場では19株に感受性、1株に耐性を示し、耐性を示した全ての株で両薬剤の交差耐性が確認された(表2)。

表2 薬剤感受性試験の結果

	A農場(15株)			B農場(20株)		
	感性	中間	耐性	感性	中間	耐性
AMPC	15	0	0	20	0	0
ABPC	15	0	0	20	0	0
PCG	15	0	0	20	0	0
CTX	15	0	0	19	1	0
OFLX	15	0	0	19	1	0
CP	15	0	0	20	0	0
TC	1	0	14	1	0	19
EM	1	0	14	19	0	1
CLDM	1	0	14	19	0	1

 : 治療薬剤 : 類似薬を使用

(2) 薬剤耐性遺伝子保有状況

薬剤耐性遺伝子については、テトラサイクリン系に耐性を示した全株で *tet* (0) が、マクロライド系に耐性を示した全株で *erm* (B) が検出された。*tet* (M) 及び *mef* (A/E) においては、いずれの株においても検出されなかった(表3)。

表3 薬剤耐性遺伝子保有状況

テトラサイクリン系	A農場 (%)	B農場 (%)
<i>tet</i> (0)	14 / 14 (100%)	19 / 19 (100%)
<i>tet</i> (M)	0 / 14	0 / 19

マクロライド系	A農場 (%)	B農場 (%)
<i>erm</i> (B)	14 / 14 (100%)	1 / 1 (100%)
<i>mef</i> (A/E)	0 / 14	0 / 1

考察

A及びB農場ともにペニシリン系、フルオロキノロン系及びクロラムフェニコール系の薬剤を、B農場ではその他マクロライド系の薬剤を使用していたが、供試株ではマクロライド系を除く3薬剤について耐性は確認されなかったことから、今のところ薬剤感受性への影響はないと考えられた。テトラサイクリン系は、両農場において従来の報告と同様に高い割合で耐性を示しており、耐性遺伝子についても *tet* (0) が耐性株で100%検出されたことから、農場内で耐性が拡大していることが推察された。一方、マクロライド系の耐性については、農場毎に耐性の差が見られ、当薬剤を使用しているB農場では耐性を示したのは1株のみであったことから、今後、当該農場の他の分離株についてもさらに調査を実施し、詳細を把握していくとともに、これ以外の農場における薬剤耐性獲得状況についても注視していく必要がある。

文献

1) A. Martel, M. Baele, L. A. Devriese, H. Goossens, H. J. Wisselink, A. Decostere, F. Haesebrouck: Prevalence and mechanism of resistance against macrolides and lincosamides in *Streptococcus suis*

isolates, *Veterinary Microbiology*, 83, 287–297 (2001)

2) Changyun Ye, Xuemei Bai, Ji Zhang, Huaiqi Jing, Han Zheng, Huamao Du, Zhigang Cui, Shouying Zhang, Dong Jin, Yanmei Xu, Yanwen Xiong, Ailan Zhao, Xia Luo, Qiangzheng Sun, Marcelo Gottschalk, and Jianguo Xu: Spread of *Streptococcus suis* Sequence Type 7, China, *Emerging Infectious Diseases* 14, 787–791, 2008

3) Claudio Palmieri, Pietro E. Varaldo and Brunna Facinelli: *Streptococcus suis*, an emerging drug-resistant animal and human pathogen, *frontiers in MICROBIOLOGY* 2, 1–6, 2011

4) Takashi ICHIKAWA, Masaaki OSHIMA, Junjiro YAMAGISHI, Chieko MURAMATSU and Tetsuo ASAI: Changes in antimicrobial resistance phenotypes and genotypes in *Streptococcus suis* strains isolated from pigs in the Tokai area of Japan, *The Journal of Veterinary Medical Science* 82, 9–13, 2020

5) Ogi Okwumabua, Michael O'Connor, Eileen Shull: A polymerase chain reaction (PCR) assay specific for *Streptococcus suis* based on the gene encoding the glutamate dehydrogenase, *FEMS MICROBIOLOGY Letters*, 218, 79–84, 2003

管内と畜場で分離された豚のサルモネラ属菌の実態調査

坂口善二郎 神田裕一 山田耕一 湯之原義弘
阿久根食肉衛生検査所

はじめに

サルモネラ症の原因となるサルモネラ属菌は2000を超える多数の血清型に分類される。このうち *Salmonella enterica subsp. enterica serovar (S.) Enteritidis (SE)*, *S.Typhimurium (ST)*, *S.Dublin*, *S.Choleraesuis (SC)* によるサルモネラ症はと畜場法において廃棄すべき疾病として指定されている。また、豚からは様々な血清型のサルモネラ属菌が分離されることや、ヒトのサルモネラ症や食中毒においても上記の血清型が関与していることが知られている。近年、当所管内と畜場出荷豚においてサルモネラ症が多発していることから、今回、当所管内と畜場出荷豚におけるサルモネラ属菌の保有実態を把握し管内と畜場への指導に資するために、健康豚におけるサルモネラ属菌の保有状況を調査するとともに、過去に当所管内と畜場出荷豚から分離されたサルモネラ属菌ならびに健康豚が保有していたサルモネラ属菌について薬剤感受性試験を実施したので概要を報告する。

発生状況

県内7カ所の検査所におけるサルモネラ症による全部廃棄の発生頭数は33～113頭で推移しており(図1)、このうち当所管内における発生頭数は2014年以降他所と比べても多く、特に2018年以降は合計133頭(全部廃棄頭数の42.2%)と、近年顕著に増加している(図2)。

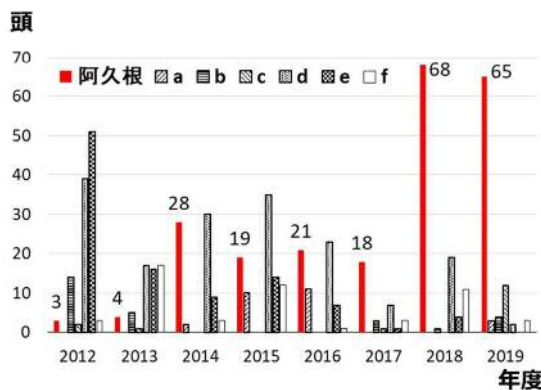


図1 サルモネラ症による全部廃棄状況(県内)



図2 サルモネラ症による全部廃棄状況(当所詳細)

材料及び方法

(1) 出荷豚のサルモネラ属菌分離検査

2020年3月に管内と畜場に出荷された11農場の健康豚115頭から盲腸内容物を115検体(3～20検体/農場)採取した。この盲腸内容物5gをラポポート・バシリディアスソーヤ(RVS) 45mLで前増菌培養し、この培養液1mLをハーナテトラチオン酸塩基礎培地(TT) 9mLで増菌培養後、MLCB培地(MLCB)及びBGS培地(BGS)で分離培養を試みた。発育したコロニーをTSI寒天培地(TSI)及びLIM培地(LIM)で確認培養し、サルモネラ属菌であることを疑うコロニーをトリプトソーヤ寒天培地(TSA)で純培養した。培養はいずれも37℃で24時間、好気条件にて実施した。

また、純培養後は市販の免疫血清(サルモネラ免疫血清「生研」, デンカ生研)を用いて血清型別試験を実施するとともに、薬剤感受性試験を試みた。

(2) サルモネラ属菌の薬剤感受性試験

2019年4月～2020年3月に当所管内と畜場出荷豚から分離されたサルモネラ属菌52株(発症株)及び健康豚由来サルモネラ属菌21株(保菌株)について、市販の感受性試験用ディスク(センシディスク, BBL)を用いて薬剤感受性試験を実施した。薬剤はアンピシリン(ABPC), セファゾリン(CEZ), セフロキシム(CXM), セフォタキシム(CTX), セフェピ

ム (CFPM), クロラムフェニコール (CP), ホスホマイシン (FOM), ストレプトマイシン (SM), ゲンタマイシン (GM), カナマイシン (KM), ナリジクス酸 (NA), シプロフロキサシン (CPFX), テトラサイクリン (TC), スルファメトキサゾール・トリメトプリム合剤 (SXT) の14種類を供試した。なお、培養及び判定は添付の説明書に従って実施した。

検査成績

(1) 保菌状況調査及び薬剤感受性試験の成績：健康豚21頭からサルモネラ属菌が21株分離された（うち11株がST, 6株が*S. Derby* (SD), 4株が*S. Rissen* (SR)) (表1)。また、発症株52株及び前述の保菌株21株について薬剤感受性試験を実施した結果及び菌種別の薬剤耐性率は、表1及び図3に示すとおりであった。

(2) 分離時期毎の薬剤耐性パターン：発症株については、2019年5月～2020年3月の間に、A農場では4種類、B農場及びE農場では2種類の薬剤耐性パターンを示す株が認められた。また、保菌株については、I農場において2020年3月に分離したSTで5種類の薬剤耐性パターンが認められた (図4)。



図3 菌種別の薬剤耐性率

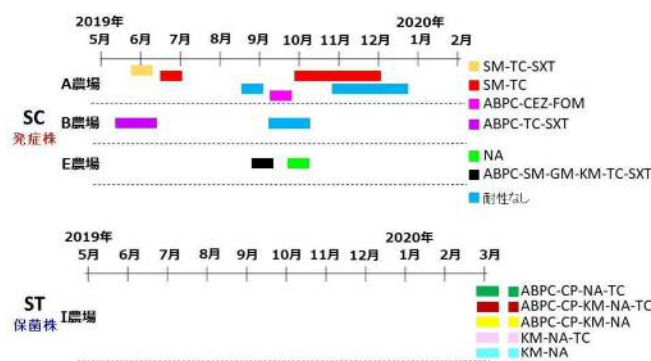


図4 SC, STの分離時期及び薬剤耐性パターン

表1 保菌状況調査成績及び薬剤感受性試験成績

	農場	検査頭数	分離株数	分離菌種	耐性薬剤	サルモネラ症の全部廃棄歴	
発症株	A	-	18	SC	ABPC-CEZ-FOM (1), SM-TC-SXT (1), SM-TC (9), 耐性なし (7)	有	
	B	-	11		ABPC-TC-SXT (5), 耐性なし (6)		
	C	-	6		SM (1), 耐性なし (5)		
	D	-	2		SM-TC (2)		
	E	-	2		ABPC-SM-GM-KM-TC-SXT (1), NA (1)		
	F	-	8		NA (8)		
	G	-	4		耐性なし (4)		
	H	-	1		ABPC-SM-SXT (1)		
保菌株	A	10	5	ST (1), SR (4)	耐性なし (1), ABPC-SM-NA (4)	有	
	B	20	1	ST (1)	ABPC-SM (1)		
	C	15	1	SD (1)	耐性なし (1)		
	D	10	5	SD (5)	耐性なし (5)		
	E	10	1	ST (1)	ABPC-SM (1)		
	G	10	0	-	-		
	I	10	8	ST (8)	ABPC-CP-KM-NA-TC (1), ABPC-CP-NA-TC (2), ABPC-CP-KM-NA (1), KM-NA (3), KM-NA-TC (1)		
	J	10	0	-	-		無
	K	10	0	-	-		
	L	7	0	-	-		
	M	3	0	-	-		

考 察

今回、管内と畜場出荷豚におけるサルモネラ症が多発したことから、衛生指導の一助とするためにサルモネラ属菌の保有実態を調査した。その結果、過去発生歴のある6農場のうち5農場（83.3%）の13頭（17.3%）、過去発生歴のない5農場のうち1農場（20.0%）の8頭（20.0%）の健康豚からST、SD及びSRが分離された。ST及びSDは健康豚における保菌報告^{5,7,8)}があり、SRも豚農場における検出事例⁹⁾がある。さらに、今回保菌していたサルモネラ属菌はいずれもヒトの下痢や食中毒の発生に関与していることが知られている^{2-4,10)}。また、保菌率は既報^{1,5-8)}（1.4～9.1%）に比べて高率であった。このことから、と畜解体工程においては、過去のサルモネラ症発生の有無に拘わらず、消化管内容物中にはサルモネラ属菌が含まれる可能性があることを考慮して、衛生管理を徹底することが重要と考えられた。また、薬剤耐性傾向については、SCで6剤耐性株が1株、SXT耐性株が8株認められ、STで4剤耐性株が4株認められた。SC及びSTの薬剤耐性傾向は、過去の報告^{9,11)}と類似していた。このことから、多剤耐性株あるいは複数の耐性パターンの株が分離された農場では、薬剤感受性を確認のうえ使用薬剤を決めるなどして薬剤を慎重に用いて、耐性株が農場内に浸潤しないように注意する必要があると考えられた。さらに、同時期に農場内で複数の薬剤耐性パターンを示す農場（A、I農場）や、出荷時期によって農場内で異なる耐性パターンが認められた農場（A、B、E農場）があった。このことから、同一農場内で複数の株が浸潤しており、健康な保菌豚がサルモネラ症を引き起こす危険性があること、発症時には耐性が不明なまま、治療時に耐性薬剤を選択し投与してしまう危険性があると考えられた。

サルモネラ属菌の常在化は、今回の様なサルモネラ症の発生増加や農場周辺の野生動物への浸潤、ヒトへの感染等に至る可能性があり、速やかな衛生対策が求められる。今回は、発生増加を受けて既に当所から管内と畜場を通じて、農場への衛生指導を含め対応を依頼しており、農場では、投薬プログラムの変更や、アウト後の空舎期間中の消毒実施等の対

策がとられた結果、現在に至るまでサルモネラ症の発生件数増加は認められていない。今後も多発農場や多剤耐性菌分離農場については薬剤感受性も調査し、適宜、検査成績を農場へ速やかにフィードバックすることで、と畜場及び農場への衛生指導に繋げていきたい。

参 考 文 献

- 1) 安藤友美, 鎌野陽, 奥平剛, 今川哲, 藤明洋和, 松井賢児: と畜場搬入豚におけるサルモネラ菌の分離状況及び抗体保有調査, 平成21年度香川県中讃保健福祉事務所調査研究
- 2) 江渕寿美, 馬場愛, 瓜生佳世, 樋脇弘: 焼肉店を原因施設としたサルモネラ (*Salmonella* Derby, *S.* Anatum) による集団食中毒2事例—福岡市, IASR, 27, 201-202 (2006)
- 3) 原田崇浩, 長島恵子, 北沢敏男, 峰岸正明: 健康者に発症した *Salmonella* Choleraesuis による胸部皮下膿瘍の1例, 医学検査, 64(4), 428-432 (2015)
- 4) 小泉光, 木村葉子, 中村久子, 小林妙子, 渡邊節: 過去10年間の宮城県におけるサルモネラの検出状況について, 宮城県保健環境センター年報, 第33号, 37-40 (2015)
- 5) 熊谷光: と畜場搬入豚からのサルモネラ分離, 平成16年度調査研究 (<https://www.pref.miyagi.jp/uploaded/attachment/638488.pdf>)
- 6) 中村耕太郎, 高橋希, 柄裕子: 鳥取県中部の養豚農場における下痢原因細菌の保有状況, 平成26年度鳥取県畜産技術業績発表会集録
- 7) 仁和岳史, 高馬洋之, 岡田峰幸, 竹田憲生, 朝原幸穂, 小野寺功, 西阪めぐみ, 岡野肇: と畜場搬入豚における *Salmonella* 保菌実態調査, 平成23年度千葉県東総食肉衛生検査所調査研究
- 8) 小野聡美, 吉岡幸信, 小野寺瑞穂, 齋藤直: と畜処理工程における豚のサルモネラ保菌状況, 平成20年度宮城県食肉衛生検査所調査研究
- 9) 小澤真名緒: 豚由来細菌における薬剤耐性菌の疫学, 豚病会報, 68, 19-23 (2016)
- 10) 社団法人 畜産技術協会: サルモネラ・ティフィムリウム, 平成21年度食品安全確保総合調査「食品により媒介される感染症等に関する文献調査報告

書」, 147-155 (2010)

11) 戸田純子, 原田誠也, 西村浩一, 大迫英夫: 熊本県で捕獲された野生の猪から分離された多剤耐性SCK, 日獣会誌, 70, 381-384 (2017)

ブロイラーの浅胸筋変性症の病態調査

田澤陸 小牟田綾 岩下香織 岩村晴美 姫木学

串木野食肉衛生検査所

はじめに

鶏の浅胸筋変性症(以下、本症)は、発育が早く歩留まりの高いブロイラーに多くみられるムネ肉の硬化・腫脹等の変性を主徴とする疾患であり、本県では食鳥検査で本症を認めた場合、特徴的所見に加え著しい炎症症状を認めるものを「炎症」、広範囲に硬化を認めるものを「変性」として全部廃棄としている。近年、管内大規模食鳥処理場において本症の発生件数が急増していることから、発生状況調査及び精密検査を実施し、令和元年度食肉及び食鳥肉衛生研究発表会において第一報を報告した〔1〕。今回、本症のさらなる病態調査を目的として年間を通した発生状況調査、生鳥の血液検査及び筋肉の理化学並びに病理組織学的検査を実施したので、その概要について報告する。

材料及び方法

(1) 発生状況調査

2019年2月から5月及び2019年8月から2020年1月の期間、食鳥検査における本症の廃棄率を調査した。

(2) 血液検査

2019年10月から2020年2月にかけて採材した。生体で本症を判別することは困難なため、本症の発生が多いとされる生体重3kg以上の鶏(大型鶏)と標準体重の鶏(標準鶏)の2群に分け、各18羽の生鳥から採血し、Vit. A、E及び一般生化学検査14項目について測定した。そのうち、各14羽について血液塗抹検査を実施した。検査結果はStudentのt検定を実施し、 $P < 0.05$ を有意差有りとして判定した。

(3) 理化学検査

2020年4月から6月に本症で全部廃棄となったと体のうち、ムネ肉の硬化腫脹・出血等の所見が重度なと体(重度)19羽、これらの所見が比較的軽度なと体(軽度)20羽、ムネ肉に病変のないと体(正常)21羽について、中抜きと体重量、ムネ肉・ササミ・モモ肉の各重量を測定した。また独立行政法人家畜改良センターの技術マニュアル〔2〕を参考に、ムネ肉及びモモ肉の水分含量、保水能力の指標であるドリップ量・遠心保水性・加熱損失、とさつ直後及び24時間後の筋肉pHを測定し、さらにM. Tienらの方法〔3〕に従いムネ肉の過酸化脂質量(TBA法)を

測定した。検査結果はSteel-Dwass法による多重検定を実施し、 $P < 0.05$ を有意差有りとして判定した。

(4) 病理組織学的検査

理化学検査に供した鶏の筋肉について、常法に従い切片を作製しHE染色及びマッソン・トリクローム染色を施し、病理組織学的検査を実施した。

成績

(1) 発生状況調査

調査期間中の食鳥検査羽数に占める本症の廃棄率は0.33%であり、2～5月で少なく、9～1月で多い傾向を認めた(図1)。全部廃棄羽数に占める本症の割合は32%であり、8～11月は40%以上と高い傾向を示した。

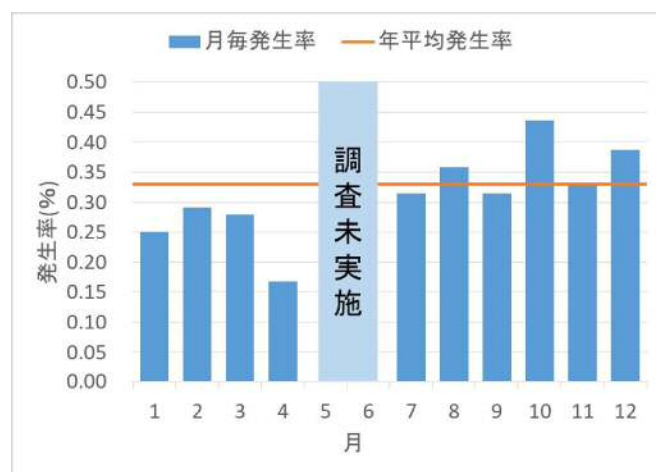


図1 発生状況調査

(2) 血液検査

一般生化学検査では標準鶏と比べ大型鶏の総コレステロールが有意に高い値となり（大型鶏150.2±11.3mg/dL、標準鶏136.2±13.8mg/dL）、それ以外の検査項目では有意差を認めなかった。また、血液塗抹検査では白血球分画の異常は認めなかった。

(3) 理化学検査

本症鶏は正常鶏に比べ、と体重量及び各部位は有意に重く、と体重量に占めるムネ肉の割合が有意に高かった（表1）。

表1 中抜きと体重量及び各部位重量測定結果

	重度	軽度	正常
と体重量(g)	3073 ± 265	2917 ± 311	2109 ± 337
ムネ肉重量(g)	437 ± 50	419 ± 55	259 ± 58
ササミ重量(g)	79 ± 8	77 ± 8	58 ± 12
モモ肉重量(g)	429 ± 48	428 ± 41	306 ± 56
ムネ肉/と体(%)	14.2 ± 0.9	14.4 ± 1.1	12.2 ± 1.2
ササミ/と体(%)	2.6 ± 0.2	2.6 ± 0.2	2.7 ± 0.3
モモ肉/と体(%)	14.0 ± 1.1	14.7 ± 1.0	14.5 ± 1.2

平均値±S.D.

理化学検査において、本症ムネ肉は正常に比べ水分含量、ドリップ量、加熱損失が有意に高く、遠心保水性が有意に低い結果となった。pHは24時間後に重度が正常に比べ有意に高い傾向にあり、過酸化脂質は個体間でばらつきが大きく有意差を認めなかったものの本症で高い傾向を示した（表2）。

表2 ムネ肉理化学検査結果

	重度	軽度	正常
水分含量(%)	82.4 ± 1.5	81.0 ± 2.2	75.3 ± 1.3
ドリップ量(%)	7.0 ± 3.2	5.8 ± 2.4	2.2 ± 1.2
遠心保水性(%)	43.3 ± 4.8	45.4 ± 3.1	31.8 ± 8.1
加熱損失(%)	39.3 ± 6.4	38.6 ± 5.3	24.4 ± 3.4
pH(直後)	6.41 ± 0.24	6.45 ± 0.19	6.40 ± 0.23
pH(24h後)	6.15 ± 0.19	6.08 ± 0.19	5.97 ± 0.17
過酸化脂質	291 ± 175	298 ± 215	190 ± 122

平均値±S.D.

また、本症モモ肉は正常に比べ遠心保水性が有意に低く、加熱損失は有意差を認めないものの高い傾向があった。水分含量、ドリップ量及びpHでは有意差を認めなかった（表3）。

表3 モモ肉理化学検査結果

	重度	軽度	正常
水分含量(%)	76.7 ± 0.8	76.3 ± 0.7	76.1 ± 1.2
ドリップ量(%)	1.8 ± 0.9	1.5 ± 0.7	1.5 ± 1.1
遠心保水性(%)	34.4 ± 5.1	32.7 ± 4.4	28.6 ± 6.0
加熱損失(%)	26.3 ± 3.6	26.8 ± 3.8	24.4 ± 5.1
pH(直後)	6.43 ± 0.22	6.50 ± 0.17	6.45 ± 0.22
pH(24h後)	6.46 ± 0.23	6.53 ± 0.18	6.47 ± 0.22

平均値±S.D.

(4) 病理組織学的検査

肉眼的に本症ムネ肉には筋肉の退色、筋膜の肥厚・水腫様変性、点状出血、白色線条病変等が認められ、同様の所見が重度及び一部の軽度症例のササミ、モモ肉においても認められた（図2）。

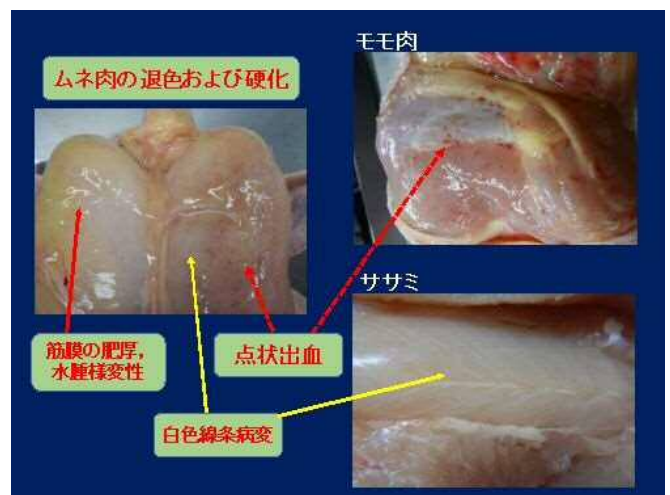


図2 肉眼所見

組織学的には本症ムネ肉で認められた筋線維の著しい大小不同、硝子様及び絮状変性、間質の水腫、膠原線維の増生、リンパ球を主体とした炎症細胞の浸潤といった所見（図3）がササミ（図4）及びモモ肉（図5）においても認められた。

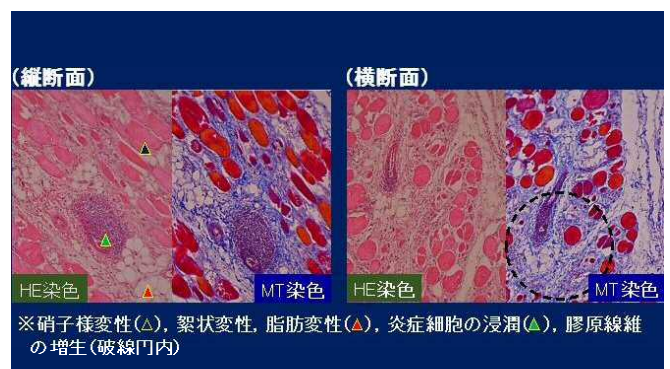


図3 ムネ肉組織所見

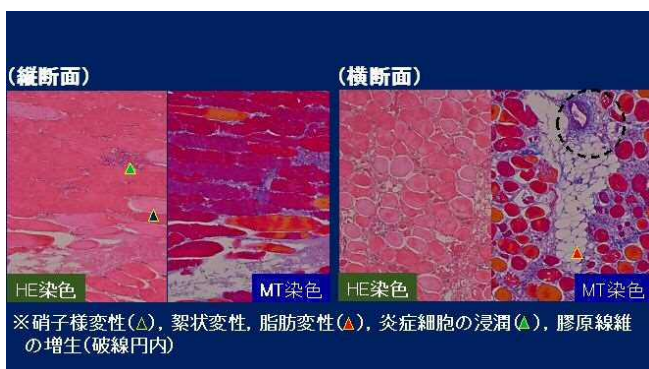


図4 ササミ組織所見

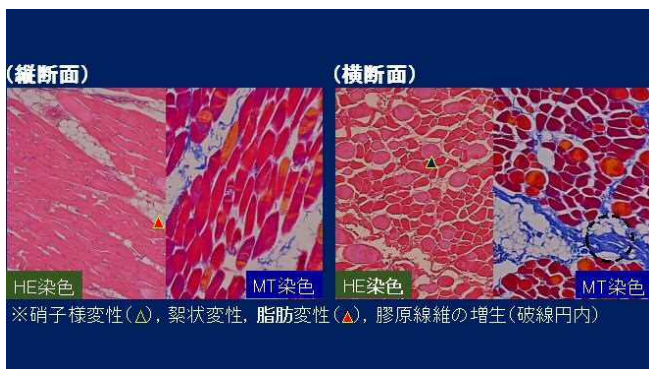


図5 モモ肉組織所見

考察

年間を通じた発生状況調査により、本症による廃棄率は若干の季節変動を認めたことから、農場における暑熱感作等が本症の発生に関与している可能性が考えられた。

浅胸筋変性症のムネ肉は木質化や白色線条病変といった特徴的な肉眼的変化のみならず、食感の硬化・ドリップ量の増加など著しい肉質の変化が問題とされる〔4〕。今回の調査結果から本症ムネ肉において顕著な水分含量の増加、保水能力の低下が認められ、過酸化脂質も高い傾向を示し、数値的にも肉質の変化が確認された。また発症鶏のモモ肉でも軽度ながら遠心保水性の低下、加熱損失の増加を認め、病理組織学的検査においてもササミ及びモモ肉にムネ肉と同様の病変を認めたことから、本症の重症例ではムネ肉のみならずササミやモモ肉の肉質にも影響を与えることが示唆された。以上のことから、食鳥検査時にはムネ肉以外の部位についても目視することで総合的な判定を行う必要があり、また食肉処理施設においても合格となったと体について解体時の異常の有無を確認する等、慎重に取り扱う必要が

あると思われた。

まとめ

ブロイラーの浅胸筋変性症は世界各国で発生が認められ、日本でも養鶏業界に大きな損失を与えている。管内大規模食鳥処理場においても近年廃棄羽数の増加が問題となっており、今回実施した本症の病態調査結果を処理場に還元し情報共有を図っている。今後も関係機関と連携し、本症の疫学的・科学的調査を継続することで、更なる病態解明及び発生低減につなげていきたい。

参考文献

- 〔1〕 是枝七奈 他：大規模食鳥処理場におけるブロイラーの浅胸筋変性症の発生状況，令和元年度食肉及び食鳥肉衛生研究発表会，（2020）
- 〔2〕 独立行政法人家畜改良センター：技術マニュアル21, 食肉の理化学分析及び官能評価マニュアル，（2010）
- 〔3〕 M.Tien&S.D.Aust：Biochimica et Biophysica Acta (BBA)，712，1（1982）
- 〔4〕 Aviagen：Breast Muscle Myopathies (BMM)，（2019）

黄疸の指標としての肝臓中パルミチン酸レチノール

日高 遼太郎, 田中 嘉文, 鏡園 仁, 中村 誠¹⁾, 松元 光春²⁾

大口食肉衛生検査所, ¹⁾鹿児島中央家畜保健衛生所, ²⁾鹿児島大学共同獣医学部

はじめに

と畜検査における黄疸の判定は、主に枝肉及び内臓の黄変度と血中総ビリルビン濃度(T-Bil)を目安に行っているが、黄変度が肉眼的所見に基づく指標であることに加え、採取した血液の溶血や希釈により正確なT-Bil測定が困難なケース又は血液の入手ができないケースがあり、科学的根拠が乏しく判定に苦慮することがある。そこで今回、採材及び検査が容易な黄疸の指標となる検査項目を模索した。正常時の肝臓はビタミンAを貯蔵しており、その大部分がパルミチン酸レチノール(RP)としてDisse腔に存在する肝臓星細胞(HSC)の脂肪滴内に貯蔵されているが、肝障害が起こるとHSCが活性化し、筋線維芽細胞に形質転換する過程でRP貯蔵能が失われるとされている[1]。このようなHSCの機能に着目し、肝臓中RPの低下が黄疸の指標となるか検討を行った。

材料及び方法

黄疸肝を呈し、全部廃棄となった黄疸症例(肥育牛3, 肥育豚7検体)の肝臓及び対照として肝包膜炎等その他の疾病で一部廃棄となった肝臓(肥育牛25, 肥育豚50検体)を採材し以下の検査に供した。肝臓中RPは動衛研生化学マニュアル[2]に準じて蛍光検出器を用いたHPLC(SHIMADZU Prominence)で測定した。さらに、HSCの活性化について形態学的にも確認するため、10%中性緩衝ホルマリン固定材料を用いて、HE染色、マッソントリクローム(MT)染色並びにHSC活性化マーカーであるdesmin及び α 平滑筋アクチン(SMA)に対する免疫染色を行い、一部検体については透過型電子顕微鏡(TEM)による観察を行った。また、豚の黄疸症例についてはMT染色を行った切片を用いて肝線維化スコアを半定量的に算出[3]し、肝臓中RPとの相関関係を調べた。

結果

HPLC測定による肝臓中RPのクロマトグラムは、約7.5分にRPのピークが出現し、牛豚ともに分離良好で妨害ピークも認められなかった(図1)。豚の黄疸症例は、対照群の平均値と比較して1検体を除き肝臓中RPが低下しており(表1)、中には極度に

低下している検体も認められた(図1)。また、両群間に有意差が認められた($p=0.03$)。一方、牛の黄疸症例では、全ての検体で対照群の平均値より低値を示し、定量限界未満の検体も認められた(症例数が少なかったため統計解析は実施していない)。なお、牛の対照群の平均値は、豚の約60分の1程度と極めて低い値であった(表1)。

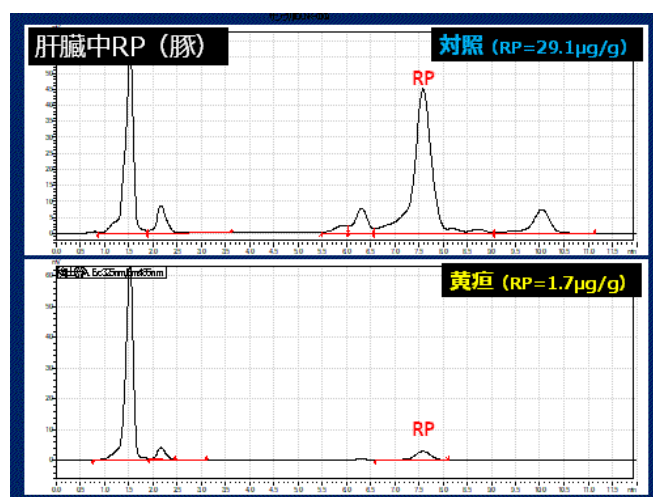


図1 豚の肝臓中RPのクロマトグラム

表1 黄疸症例の肝臓中RP測定結果

畜種	対照群 平均±SE ($\mu\text{g/g}$)	黄疸症例			
		No.	品種	肝臓中 RP ($\mu\text{g/g}$)	T-Bil (mg/dL)
豚 (F1・B)	29.24 ±2.89 (n=50)	1	B	19.4	4.8
		2	F1	1.7	2.4
		3	F1	9.3	5.1 ^H
		4	F1	12.7	3.9
		5	B	41.4	4.7 ^H
		6	F1	7.2	3
		7	F1	25.3	3.6
牛 (JB・F1)	0.46 ±0.15 (n=25)	1	F1	0.0*	2.8
		2	F1	0.1	4.5
		3	JB	0.2	1.3 ^D

* : 定量限界(0.01 $\mu\text{g/g}$)未満, H : 溶血あり, D : 希釈あり

形態学的には、肝臓中RPが豊富であった対照例のHSCは、細胞質内に大型の脂肪滴を含み、それにより核が圧排された印環状となっており、脂肪滴を縁取るように細胞質がわずかにdesmin及び α SMAに陽性反応を示した。一方、黄疸症例のHSCは、線維芽細胞様に核及び細胞質が腫大しており、細胞質がdesmin及び α SMAに強い陽性反応を示し(図2)、電顕下では脂肪滴の変形や消失が認められた(図3)。また、豚における肝臓中RPと肝線維化スコアとの間には有意な負の相関関係が認められた($r=-0.83$, $p=0.011$)。

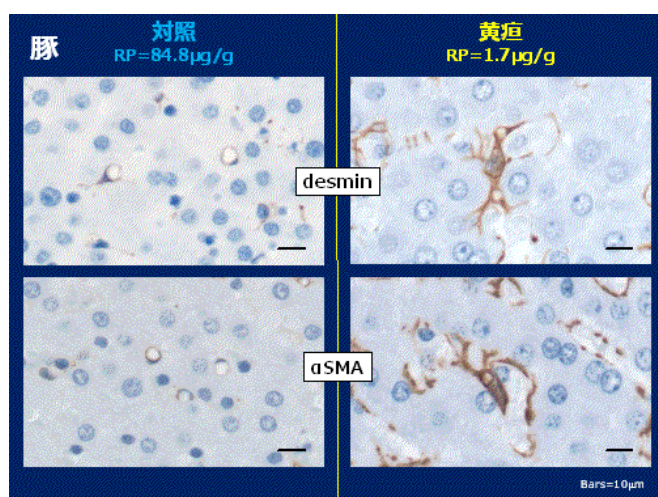


図2 豚のHSCの免疫染色結果

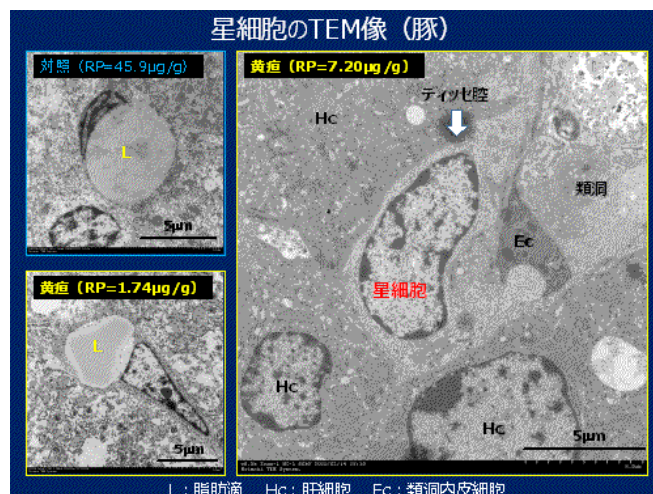


図3 豚のHSCのTEM像

考察

今回の調査結果で牛及び豚の大部分の黄疸症例で肝臓中RPの低下が認められ、形態学的にもHSCの活性化が確認されたことから、肝臓中RP低下が黄疸の指標となることが示唆された。また、豚においては肝線維化の指標としても有用であると考えられた。HPLCによる肝臓中RP測定は、肝臓の採材が容易で、前処理も短時間で済み、緩衝液等の試薬調製も不要であることから通常の検査の範囲内で実施可能だと考えられた。

しかしながら、肝臓中RPが黄疸症例でも対照群の平均より高い検体や対照群の中にも低下している検体も認められた。このことは、HSCの活性化が非特異的な反応であること [4]、肝臓のビタミンA貯蔵量が食餌による影響を受けること [5] によるものと考えられた。また、牛の黒毛和種及び交雑種では、肥育過程におけるビタミンA制限の影響だと考えられるが、対照例でも肝臓中RPが極度に低下していたため、肝障害の重度軽度を比較することは困難だと考えられた。したがって、肝臓中RPは現行のT-Bilや黄変度と同様に判断材料の一つと位置づけ、判定を行う際は全身症状の有無等を考慮し総合的に判断することが重要である。

参考文献

[1] Haaker MW, Vaandrager AB, Helms JB. : Bioch

im Biophys Acta Mol Cell Biol Lipids., 44, 1
865(6):158674(2020)

[2]農研機構：家畜における生化学病性鑑定のた
めの臨床生化学的検査マニュアルVII. 2

[3]犬山シンポジウム記録刊行会編：中外医学社,
183-188(1996)

[4]Kida Y et al. : PLoS One., 6(11):e26644(201
1)

[5]Moriwaki H et al. : J Lipid Res., 29(11), 15
23-1534(1988)

令和元年度の保留豚における 抗菌性物質残留陽性事例の調査

久保田 堯 吉野雄 佐藤史子 堀郁子 抜迫卓也 米丸実 藤元英樹

鹿屋食肉衛生検査所

はじめに

鹿児島県では、と畜検査で保留となった豚の肝臓、腎臓、筋肉について感受性培地を使用した残留抗菌性物質のスクリーニング検査(以下、「直接法」)^{1) 2)}を行い、筋肉で一定以上の阻止円が見られた場合はさらに再検査(筋肉6カ所)を行い、同様の反応が確認されたものを陽性として計上している。令和元年度における県内の保留豚4,373頭のスクリーニング検査結果を集計したところ、13頭が直接法陽性となり、そのうち9頭が本所分であった。そこで、と畜場及び生産者への指導の一助とするため、県内における豚の保留状況と本所の直接法陽性事例について検討したので報告する。

材 料 と 方 法

本県の「と畜・食鳥検査管理システム」のデータ及び本所の精密検査結果記録を用いた。データから、県内及び本所の保留豚について体格別、栄養状態別、疾病別に発生数を比較し、加えて、本所の陽性事例における解体所見の調査及び休薬期間等の聴き取り調査結果を整理した。

結 果

県内の保留豚 4,373 頭について、体格別にみると、繁殖廃用(大) 300 頭(6.8%)、通常出荷(中) 2,619 頭(60.0%)、発育不良(小) 1,454 頭(33.2%)であった。

栄養状態別にみると、良 3,077 頭(70.4%)、不良(削瘦) 1,296 頭(29.6%)であった。

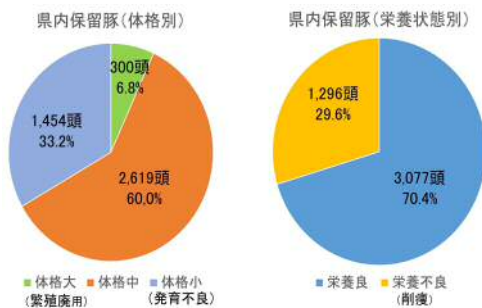


図1 県内保留豚の体格別(左)及び栄養状態別の頭数と割合

疾病別にみると、高度の水腫971頭(22.2%)、敗血症(心内膜炎型) 1,406頭(32.2%)、豚丹毒(関

節炎型)959頭(21.2%)、その他1,037頭であった。

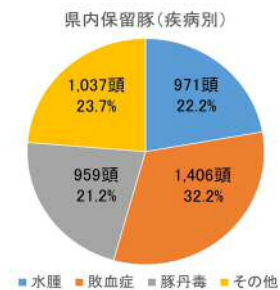


図2 県内保留豚の疾病別における頭数及び割合

本所と県全体の保留豚の割合について体格別に比較を行ったところ、本所の体格小(61.2%)が、県全体(33.2%)よりも高いことがわかった。

また、栄養状態別による比較では、本所の栄養不良(72.3%)が、県全体(29.6%)よりも高いことがわかった。

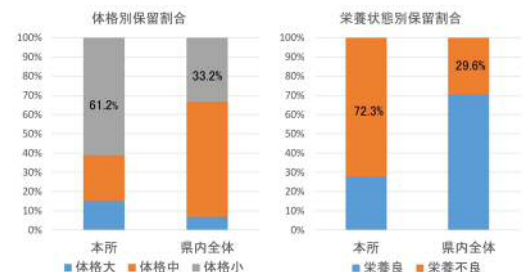


図3 本所と県全体の保留豚における体格別比較(左)及び栄養状態別(右)

疾病別による比較では、本所の高度の水腫(40.8%)が、県全体(15.2%)よりも高いことがわ

かった。

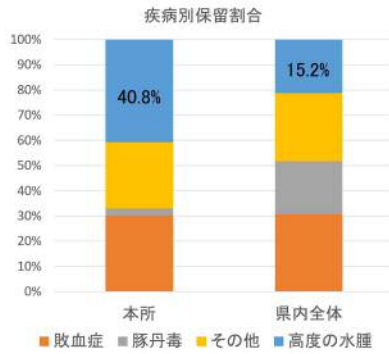


図4 疾病別の保留割合

本所における9頭の直接法陽性事例では、6頭が体格小、9頭が栄養不良、6頭が高度の水腫であった。解体所見は全頭で複数臓器に病変が見られ、全て保留疾病で廃棄となった。また、直接法陽性の場合に行う「畜水産食品中の残留抗生物質簡易検査法(改訂)」(以下、「簡易法」)^{1) 2)}でも陽性となったのは2頭で、この結果を受けた聴き取り調査では、1頭はマルボシル5%(休薬3日)による治療後7日目に出荷され、他1頭はドキシサイクリン(休薬10日)による治療後17日目に出荷されたことが分かった。

表1 当所における直接法陽性事例

体格	栄養	保留疾病	内臓所見	直接法再検査	簡易法	使用薬剤	治療後、出荷までの日数
1	小	水腫(高度)	全疾病、心冠脂肪融解、肺腫瘍、腸間膜水腫	+	-		
2	小	水腫(高度)	全疾病、心冠脂肪融解	+	-		
3	小	水腫(高度)	全疾病、心冠脂肪融解	+	-		
4	小	水腫(高度)	全疾病、心冠脂肪融解、腸間膜脂肪融解	+	+	ドキシサイクリン(休薬10日)	17日
5	小	不良	豚丹毒	SEP、小腸炎、大腸炎	+	-	
6	小		敗血症	心内膜炎、腎臓の壊死斑、SEP	+	-	
7	大	水腫(高度)	全疾病、心冠脂肪融解	+	-		
8	大	水腫(高度)	心冠脂肪融解、腸間膜水腫	+	-		
9	中	敗血症	心内膜炎、腎点状出血、壊死斑、肝うっ血	+	+	マルボシル5%(休薬3日)	7日

注) 全疾病：胸膜炎，肝包膜炎，横隔膜炎及び腹膜炎を呈する所見

考察

本所と県全体の保留豚の比較により、本所では他所に比べ、発育不良豚の搬入数が多いことが考えられた。また、本所の陽性事例より、代謝不良等により抗菌剤残留が多発した可能性が考えられた。これらのことから、簡易法陽性時、と畜場及び生産者への指導の際、出荷する豚の体格、栄養状態を十分に考慮した休薬期間を確保するよう注意喚起を行うことが、陽性事例の低減及び安全な食肉提供の推進につながると考える。

参考文献

- 1) 食肉衛生検査指針 理化学編 厚生省 生活衛生局 監修 1991
- 2) 食品安全性セミナー4 動物用医薬品・飼料添加物 初版

枝肉重量と内臓病変及び枝肉重量遺伝子CW-2との関連性

干場 浩 神田卓弥 中島亮太郎¹⁾ 岡村洋徳 山口 学
末吉食肉衛生検査所, 1) 肉用牛改良研究所

はじめに

近年、肉用牛の改良が進み、枝肉重量や脂肪交雑等の枝肉成績が年々向上している。同時に遺伝子研究が進み、肉用牛には高い枝肉成績が期待される中、個々の成績には差が認められることもある。その要因として、飼養農場が異なることによる飼養環境や飼料の違い、病歴の有無等が推察される。

鹿児島黒毛和種牛の遺伝子研究の中で発見されたCW-2は、肉用牛の枝肉重量に効果がある遺伝子である。そこで今回、枝肉成績の中でも比較しやすく経済的にも重要である枝肉重量と、食肉衛生検査所のと畜検査で認められた内臓病変及びCW-2の関連性について調査を行った。

材料と方法

枝肉重量遺伝子CW-2はcarcass weightの頭文字を取った肉用牛の枝肉重量に効果がある遺伝子で、肉用牛改良研究所が（公社）畜産技術協会附属動物遺伝研究所との共同研究において、鹿児島黒毛和種牛の遺伝子研究の中で発見し、特許を取得した。

平成29年12月11日から令和2年1月7日の期間に、県内2カ所のと畜場だと畜された黒毛和種去勢肥育牛150頭を材料とした。対象牛の内臓病変データは新と畜食鳥検査管理システムから収集され、枝肉重量及び遺伝子型データは肉用牛改良研究所から提供を受けた。

対象牛の腎周囲脂肪または血液からDNAを抽出し、CW-2遺伝子領域をPCRで増幅した（表1）。

PCRによる反応はLifeECO（Bioer Technology Co., Ltd）を用いて、熱変性（94℃）、アニーリング（60℃）、伸長（72℃）を35サイクル行った。その後、ダイレクトシーケンス法により、遺伝子型（GG, GT, TT）を決定した。シーケンサーはApplied Biosystems 3500ジェネティックアナライザ

（Thermo Fisher Scientific）を用いた。G塩基由来のタンパク質が枝肉重量増加に効果が大きいため、対象牛をG保有牛125頭（GGまたはGT：以下A群）、G非保有牛25頭（TT：以下B群）に分け、枝肉重量の

表 1

プライマー

CW-2	FW	:	TTT CAG AAT GTG AAT TTT GGC TTA
	RV	:	AGC CAA AAG CAC TGA AAA CAC

枝肉重量遺伝子及び遺伝子型

GG	TATCCCTAAT	G	TCTTTT	Gを2つ 保有	A群
	TATCCCTAAT	G	TCTTTT		
GT	TATCCCTAAT	G	TCTTTT	Gを1つ 保有	
	TATCCCTAAT	T	TCTTTT		
TT	TATCCCTAAT	T	TCTTTT	G非保有 ---- B群	
	TATCCCTAAT	T	TCTTTT		

図 1

比較を行った（図1，表2）。さらに各群内で枝肉重量の重い順に並べ、それぞれの上・下位の枝肉重量と内臓病変との関連性について検討した。

表2

遺伝子型別頭数及び枝肉重量平均値			
	遺伝子型	頭数	枝肉重量平均値(kg)
A群	GG	40	523.7
	GT	85	519.3
B群	TT	25	486.7

結果

A群, B群の枝肉重量の平均値はそれぞれ520.7kg, 486.7kgであり, *t*検定で有意差 ($P < 0.01$) が認められた (図2)。

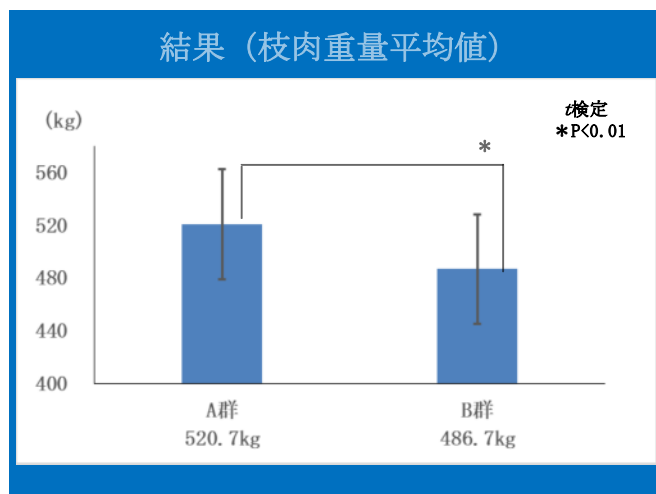


図2

内臓病変データは1頭当たり0~4所見があり, 胸膜炎, 肺炎, 肝出血斑の3病変が多く認められた (表3)。

表3

結果 (内臓病変内訳)	
頭1	頭部リンパ節膿瘍 1 (化膿性リンパ節炎)
肺92	胸膜炎56 肺炎36
心臓1	心臓・心外膜炎1
横隔膜9	横隔膜炎4 横隔膜水腫3
肝臓83	肝出血斑52 肝膿瘍7 錐層肝13 胆石2 肝包膜炎8 肝小葉間静脈炎1
小腸2	小腸炎2
腎臓5	腎周囲脂肪壊死2 腎炎1 腎嚢胞(嚢胞腎)1 腎周囲脂肪水腫(融解)1
腸間膜1	腸間膜脂肪壊死1

A群内の上位牛と下位牛の間には, 枝肉重量と内臓病変の有無について有意差は認められなかった。しかし, B群内では上位牛の病変数が少なく, 下位牛の病変数が多く認められ (表4),

表4

結果 (B群の内臓病変内訳)		
上位8頭 (病変保有率2/8=25%)		
No.	枝肉重量(kg)	病変名
1	571.7	なし
2	549.4	なし
3	544.1	横隔膜炎, 肝出血斑
4	538.2	なし
5	535.8	なし
6	535.8	なし
7	509.7	肺炎, 胸膜炎, 肝出血斑
8	509.6	なし
下位8頭 (病変保有率7/8=87.5%)		
No.	枝肉重量(kg)	病変名
18	459.2	なし
19	459.2	肝包膜炎
20	457.8	肺炎, 肝出血斑
21	456.8	肝出血斑
22	456.8	胸膜炎, 胆石
23	423.4	肺炎, 胸膜炎, 肝出血斑, 錐層肝
24	417.1	胸膜炎, 肝膿瘍
25	415.1	胸膜炎, 肝出血斑, 胆石

その両者間に有意差が認められた ($P < 0.05$: フィッシャーの正確確率検定: 図3)。

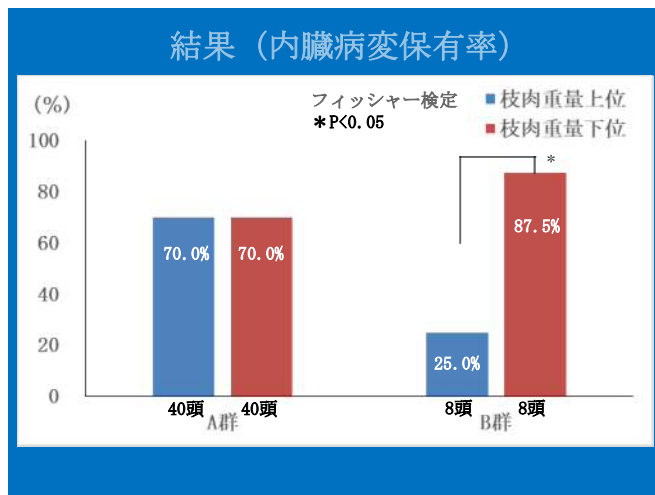


図 3

考察

文献及び今回の調査の結果から、Gを保有する牛は保有しない牛と比較して枝肉重量が増加する傾向が改めて確認できた。また、B群において、枝肉重量下位牛は上位牛と比較して内臓病変数が有意に多く認められ、内臓病変の影響により枝肉重量を有意に減少させることが示唆された。一方、A群において、枝肉重量と内臓病変間に有意差が認められなかったが、Gを含む遺伝子由来のタンパク質の効果で枝肉重量に対する内臓病変の影響は小さくなると推察した。

G保有牛は枝肉重量が増加することを再確認できたが、G非保有牛が生まれても、病気を無くすことで枝肉重量の増加が期待できることを農場に説明し、良好な枝肉の生産に役立てていきたい。

今回は内臓病変の有無のみで検討したが、内臓病変の程度、臓器の種類等、食肉衛生検査所では多くの情報を取得できる。今後、検査頭数を増加して検討していきたい。

参考文献

- [1]農林水産省生産局畜産部畜産振興課:肉用牛の改良増殖をめぐる情勢, 18(2019)
- [2]Setoguchi K *et al.*:Cross-breed comparisons identified a critical 591-kb region for bovine carcass weight QTL (*CW-2*) on chromosome

6 and the 11e-442-Met substitution in NCAPG as a positional candidate, BMC genetics(in press), 10(10)43(2009)

[3]Hoshihara H *et al.*: Comparison of the effects explained by variations in the bovine *PLAG1* and *NCAPG* genes on daily body weight gain, linear skeletal measurements and carcass traits in Japanese Black steers from a progeny testing program, Anim. Sci. J., 84(7),529-534 (2013)

[4]小松智彦:優良種雄牛造成効率向上のための枝肉重量関連遺伝子活用技術, 東北農業研究, 68, 93-94(2015)

[5]岐阜県畜産研究所:県内産黒毛和種肥育牛の枝肉成績と*CW-1*及び*CW-2*の各遺伝子型との関連, 岐阜県畜産研究所研究報告, 12, 14-20(2007-12)

[6]Takasuga A *et al.*: Identification of bovine QTL for growth and carcass traits in Japanese Black cattle by replication and identical-bay-descent mapping, 18(2)126-136(2007)

過去の業績発表及び調査研究（平成10年度以降）

年度	検査所名	発表内容及び研究内容
平成10	知覧食肉衛生検査所 串木野食肉衛生検査所 阿久根食肉衛生検査所 大口食肉衛生検査所 末吉食肉衛生検査所 志布志食肉衛生検査所	<ul style="list-style-type: none"> ・豚赤痢様病変及び大腸炎を呈した豚の結腸粘膜から分離された <i>Serpulina</i> 属菌の性状について ・と畜場で認めれた牛の悪性水腫について ・豚肺炎からの <i>Actinobacillus pleuropneumoniae</i> の分離 ・豚の敗血症（第1報） ・PCRにおけるペロ毒素産生性大腸菌検出感度の向上 ・豚におけると畜検査データの解析とフィードバックシステムへの応用 ・養豚農家へのフィードバック事業
平成11	知覧食肉衛生検査所 大口食肉衛生検査所 末吉食肉衛生検査所 志布志食肉衛生検査所 鹿屋食肉衛生検査所	<ul style="list-style-type: none"> ・精度管理の立場からみた <i>Bacillus subtilis</i>, <i>Bacillus mycoides</i>, <i>Micrococcus luteus</i> の各種抗生物質の感受性について ・牛の病畜検査状況と健康畜で検査した枝肉及び肝臓の疾病状況（誌上発表） ・豚の敗血症（第2報）－フィードバック事業の1つの成果－ ・牛の肝臓及び胆汁からの <i>Campylobacter</i> 属菌の検出 ・豚盲腸内容物におけるサルモネラ保菌調査 ・と畜場で認められた牛の嚢胞腺癌の1症例 ・豚血清中のインフルエンザウイルス抗体の継続的観察
平成12	知覧食肉衛生検査所 阿久根食肉衛生検査所 大口食肉衛生検査所 末吉食肉衛生検査所 志布志食肉衛生検査所 鹿屋食肉衛生検査所	<ul style="list-style-type: none"> ・鶏白血病について ・肝蛭による病変 ・筋間水腫における一考察 ・と畜場における牛のヨーネ病診断事例 ・豚の敗血症（第3報）－フィードバック事業の一例－ ・と畜場で認められた牛の顆粒膜細胞腫の1症例 ・HPLCによる合成抗菌剤及び寄生虫用剤の同時分析法の検討 ・末吉食肉衛生検査所における口蹄疫発生時の対応経過 ・フィードバック農家の意向調査 ・ブロイラー養鶏農場におけるサルモネラ衛生対策 ～その1～
平成13	阿久根食肉衛生検査所 大口食肉衛生検査所 末吉食肉衛生検査所 志布志食肉衛生検査所 鹿屋食肉衛生検査所	<ul style="list-style-type: none"> ・気腫疽と悪性水腫の鑑別と迅速診断 ・県下の大規模食鳥処理場における細菌汚染調査について ・豚繁殖・呼吸障害症候群ウイルス（PRRSV）の抗体保有率及び分離状況について ・豚頭肉の汚染状況 ・と畜場搬入牛・豚におけるQ熱リケッチア抗体保有ならびに <i>Coxiella burnetii</i> 遺伝子の検出状況 ・ブロイラーにおけるサルモネラおよびカンピロバクター保菌調査

年度	検査所名	発表内容及び研究内容
平成14	知覧食肉衛生検査所 阿久根食肉衛生検査所 末吉食肉衛生検査所 鹿屋食肉衛生検査所	<ul style="list-style-type: none"> ・敗血症(心内膜炎型)の培養法に関する検討 ・豚のリンパ類上皮細胞性(Lennert)リンパ腫の一例 ・DFD様筋肉変性鶏(ブロイラー)に対する伝染性気管支炎ウイルス(IBV)および腎疾患の関与について ・湯はぎ式解体ラインにおける枝肉細菌数の推移 ・と畜段階及び生産段階における発育不良豚の実態と処理方法に関する一考察
平成15	知覧食肉衛生検査所 串木野食肉衛生検査所 阿久根食肉衛生検査所 末吉食肉衛生検査所 鹿屋食肉衛生検査所	<ul style="list-style-type: none"> ・関節炎型豚丹毒の凝集反応法による診断法の検討 ・発育不良の黒毛和種牛における腎尿細管異形成の一症例 ・正常肥育豚の血液検査及び発育不良豚との比較 ・慢性貧血が疑われた高齢牛の一症例 ・豚丹毒迅速診断の比較検討 ・と畜豚の肺疾患及び豚繁殖・呼吸器障害症候群ウイルス(PRRSV), 豚サーコウイルス2型(PVC2)および豚オーエスキー病ウイルス(ADV)との関係について ・ブロイラーにおける胆管肝炎の病理 ・湯はぎ式解体ラインにおける衛生管理への取り組み
平成16	知覧食肉衛生検査所 串木野食肉衛生検査所 阿久根食肉衛生検査所 大口食肉衛生検査所 末吉食肉衛生検査所 鹿屋食肉衛生検査所	<ul style="list-style-type: none"> ・黒毛和種牛におけるクローデイン16欠損症とその類似疾患 ・豚カット室における細菌数の変動と衛生対策の効果 ・豚のアレルギー性皮膚炎について ・食鳥検査でみられたブロイラーの<i>Aspergillus flavus</i>感染症 ・牛, 豚の体表におけるリステリア属菌付着状況調査 ・と畜場で発見される豚抗酸菌症への一考察(ホルマリン固定材料からの抗酸菌検索) ・豚解体処理工程別の枝肉細菌数の推移と衛生管理の改善への試み ・PCRによる<i>Clostridium chauvoei</i>と<i>Clostridium septicum</i>の迅速鑑別診断の検討 ・DFD様筋肉変性鶏の過酸化脂質及び深胸筋と肝臓のプロテオーム解析 ・管内一と畜場におけるサルモネラ浸潤状況
平成17	知覧食肉衛生検査所 串木野食肉衛生検査所 阿久根食肉衛生検査所 大口食肉衛生検査所 末吉食肉衛生検査所 志布志食肉衛生検査所 鹿屋食肉衛生検査所	<ul style="list-style-type: none"> ・発育不良豚血漿のプロテオーム解析 ・成鶏に見られた骨外性骨肉腫の一例 ・と畜検査時にみられた牛のアクチノバチルス症 ・<i>Clostridium septicum</i>分離同定法の一考察 ・クマリン系殺鼠剤中毒を疑った豚のHPLC分析 ・豚丹毒迅速診断の比較検討(第2報) ・牛の胆汁中における<i>Campylobacter</i>汚染調査及び分離菌株の遺伝子型比較 ・大規模食鳥処理場におけるカンピロバクター汚染状況調査 ・豚赤痢のPCR法導入による迅速診断と病理組織学的診断の比較検討 ・PCR法による抗酸菌検出法の検討 ・間質性肝炎を呈する豚肝臓の細菌汚染調査(第1報) ・寄生虫用剤イベルメクチンの牛への残留状況について ・残留抗生物質簡易検査における<i>Bacillus mycoides</i>芽胞原液作成法の検討

年度	検査所名	発表内容及び研究内容
平成18	阿久根食肉衛生検査所 大口食肉衛生検査所 末吉食肉衛生検査所 志布志食肉衛生検査所 鹿屋食肉衛生検査所	<ul style="list-style-type: none"> ・異常な臭い及び黒色を呈する牛の大腸に関する調査 ・ <i>Streptococcus gallolyticus</i>が分離されたブロイラーの心内膜炎 ・ 食鳥検査データからみたと体廃棄の原因疾病 ・ 牛枝肉の脳・脊髄組織汚染状況調査及び汚染除去方針の検討 ・ 豚敗血症（心内膜炎型）からの <i>Streptococcus suis</i>分離状況調査 ・ ブロイラーの育成から出荷過程におけるカンピロバクター汚染状況調査 ・ 牛血漿のSDS-PAGE解析 ・ 食鳥処理場におけるカンピロバクター汚染状況調査（第1報） ・ 緊急搬入牛から検出されたイベルメクチンについて（症例報告） ・ 豚腸管由来の多剤耐性 <i>Salmonella Typhimurium</i>(ST)分離状況と分離株の特徴
平成19	串木野食肉衛生検査所 阿久根食肉衛生検査所 大口食肉衛生検査所 末吉食肉衛生検査所 志布志食肉衛生検査所 鹿屋食肉衛生検査所	<ul style="list-style-type: none"> ・ と畜場搬入豚由来 <i>Salmonella Choleraesuis</i>の薬剤感受性とプラスミドプロファイル ・ バイオアッセイによる抗菌性物質の感受性試験 ・ 牛の好酸球性筋炎の1症例 ・ 管内と畜場でみられた豚サルモネラ症の発生状況 ・ 食肉衛生検査所における牛の腫瘍 ・ 県下で分離された腸管出血性大腸菌0157の疫学的検討 ・ 牛，豚糞便からの0157分離状況調査 ・ 残留抗生物質簡易検査用 <i>Bacillus mycoides</i>芽胞菌液作成及び保存法の検討 ・ 一部廃棄としたブロイラーの肝炎に関する調査
平成20	知覧食肉衛生検査所 阿久根食肉衛生検査所 大口食肉衛生検査所 末吉食肉衛生検査所 志布志食肉衛生検査所 鹿屋食肉衛生検査所	<ul style="list-style-type: none"> ・ 病畜牛における血漿中ビタミンA，Eと副腎皮質ホルモン（コルチゾール）の測定 ・ ML培地における豚肝臓の抗菌作用 ・ 県内のと畜場でみられた牛白血病の基礎的調査 ・ と畜場に搬入された豚におけるサルモネラの保菌状況及び疫学的検討（第1報） ・ 豚尿毒症の調査結果について ・ と畜場でみられた牛の腫瘍と牛白血病抗体保有状況 ・ 食肉衛生検査微生物分野におけるカラーアトラスの作成（平成19年度微生物部会調査研究） ・ 家畜由来カンピロバクターの薬剤感受性成績
平成21	阿久根食肉衛生検査所 大口食肉衛生検査所 末吉食肉衛生検査所 志布志食肉衛生検査所 鹿屋食肉衛生検査所	<ul style="list-style-type: none"> ・ 食肉衛生検査所における牛白血病の鑑別 ・ と畜場に搬入される牛のレプトスピラ浸潤状況調査 ・ と畜場搬入豚の肝臓及び盲腸便から分離された <i>Salmonella Choleraesuis</i>の疫学的検討 ・ MGIT法及びPCR法を併用した抗酸菌検出法の検討（平成20年度微生物部会調査研究） ・ 管内と畜場における牛腫瘍の発生状況 ・ サルモネラ相誘導試験における簡易法の検討

年度	検査所名	発表内容及び研究内容
平成22	知覧食肉衛生検査所 串木野食肉衛生検査所 阿久根食肉衛生検査所 末吉食肉衛生検査所 志布志食肉衛生検査所 鹿屋食肉衛生検査所	<ul style="list-style-type: none"> 管内と畜場で見られた緊急搬入牛における肺炎調査 食肉衛生検査所の施設検証の取り組みについて 食肉衛生検査所のフィードバックの取り組みについて 黒毛和種にみられた転移を伴う腎臓腫瘍 大規模食鳥処理場における衛生実態調査 住肉胞子虫の寄生が認められた牛の好酸球性筋炎の一症例 豚状心内膜炎由来 β 溶血性 <i>Streptococcus dysgalactiae subsp. equisimilis</i> の薬剤感受性と遺伝学的特徴 <i>Actinobacillus pleuropneumoniae</i> による豚の症状性心内膜炎の発生実態 豚の症状性心内膜炎から分離された <i>Actinobacillus equuli subsp. equuli</i>
平成23	阿久根食肉衛生検査所 大口食肉衛生検査所 末吉食肉衛生検査所 志布志食肉衛生検査所 鹿屋食肉衛生検査所	<ul style="list-style-type: none"> 食肉・食鳥検査等カラーアトラスデータの簡易データベース化 対米輸出食肉を取り扱うと畜場等に係る認定までの衛生指導について 食鳥処理場におけるカンピロバクター汚染低減への取り組み 管内と畜場で分離された <i>Salmonella Choleraesuis</i> の性状 管内と畜場における豚丹毒の疫学的検討 管内と畜場で牛白血病が疑われた症例の検討 牛のリンパ腫におけるスタンブ標本を用いた免疫組織化学的検査の有用性 全身性腫瘍が疑われた牛2例の病理組織学的検討 食鳥処理場におけるESBL産生 <i>Escherichia Coli</i> の浸潤調査
平成24	知覧食肉衛生検査所 阿久根食肉衛生検査所 大口食肉衛生検査所 末吉食肉衛生検査所 志布志食肉衛生検査所 鹿屋食肉衛生検査所	<ul style="list-style-type: none"> 管内と畜場でみられた敗血症型豚丹毒2症例 牛胆汁及び直腸便の <i>Campylobacter jejuni/coli</i> 分離状況及び分離方法の検討 大規模食鳥処理場における施設衛生指導について 管内と畜場における豚丹毒の発生状況 豚丹毒が多発した農場の分離株における遺伝子型別と薬剤感受性 MALDI-TOF MS活用による豚丹毒菌迅速同定法の検討（第一報） LAMP法を用いた <i>Streptococcus. suis</i> の検出法の検討 T細胞性リンパ腫の病理組織学的検討 リンパ腫と中皮腫の併発が疑われた牛の病理組織学的検討 と畜場搬入豚由来 <i>Actinobacillus pleuropneumoniae</i> の薬剤感受性 PCR-RFLP法により未知の遺伝子型が確認された牛白血病の一症例

年度	検査所名	発表内容及び研究内容
平成25	知覧食肉衛生検査所 串木野食肉衛生検査所 阿久根食肉衛生検査所 末吉食肉衛生検査所 志布志食肉衛生検査所 鹿屋食肉衛生検査所	<ul style="list-style-type: none"> ・成鶏における <i>Campylobacter jejuni/coli</i> の保菌調査及び検出法の検討 ・病畜と室における牛のと畜検査概要 ・と畜検査における腸病変(牛・豚)の病理アトラス作成 ・ブロイラーのカンピロバクター保菌調査及び食鳥処理場の汚染状況(第1報) ・対米等牛肉輸出認定施設におけると畜解体工程の衛生管理に係る検証 ・と畜場で認められた牛の悪性水腫の検査と対応(事例報告) ・Propidium monoazide(PMA)を用いた豚丹毒早期診断法の検討 ・ブロイラーにおけるカンピロバクターの保菌及び製品汚染調査 ・<i>Streptococcus. suis</i> におけるST1complexの分布状況調査及び簡易識別法の検討 ・対シンガポール輸出食肉を取り扱うと畜場等の認定までの経緯と対応
平成26	知覧食肉衛生検査所 串木野食肉衛生検査所 阿久根食肉衛生検査所 大口食肉衛生検査所 末吉食肉衛生検査所 志布志食肉衛生検査所 鹿屋食肉衛生検査所	<ul style="list-style-type: none"> ・牛の真性多血症の一例について ・牛の肝臓・胆嚢及び糞便における腸管出血性大腸菌及びカンピロバクターの保菌状況調査 ・カンピロバクター保菌調査及び食鳥処理場における汚染状況調査 ・と畜検査でみられた牛の脳幹部硬膜下膿瘍 ・大規模食鳥処理場の各処理工程におけるカンピロバクター汚染実態調査 ・ワーキンググループを活用したと畜場等への衛生講習会 ・食鳥検査でみられた鶏マラリア ・県内と畜場における豚丹毒の発生状況 ・と畜場で発生したヨーネ病の検査事例 ・腸内細菌科群数を用いた牛豚枝肉の胃腸内容物汚染の検討 ・対米等及び対EU輸出牛肉認定施設におけるサルモネラ属菌の分離試験に関する一考察 ・プレミックス試薬を用いたダイレクトコロニーPCR法の検討
平成27	知覧食肉衛生検査所 阿久根食肉衛生検査所 大口食肉衛生検査所 末吉食肉衛生検査所 志布志食肉衛生検査所 鹿屋食肉衛生検査所	<ul style="list-style-type: none"> ・マルボフロキサシン残留が認められた牛の一例 ・牛のマイコプラズマ関連疾病肝臓 ・と畜検査でみられた皮膚型牛白血病および非定型型牛白血病 ・ブロイラーの多発性黒色腫 ・豚にみられた腎芽腫の1例 ・豚と畜検査データフィードバックにおけるSEPグレード分けの取り組み ・<i>Clostridium</i>属菌が分離された4症例と検査方法の検討 ・食鳥におけるサルモネラの保菌状況調査 ・枝肉検査時に認められる牛胸部石灰化病変の検討 ・豚と畜場及び食肉処理場における衛生指導の一考察 ・と畜検査において、豚骨髓性白血病を疑った事例 ・保存菌株台帳のデータベース化とその活用の検討

年度	検査所名	発表内容及び研究内容
平成28	知覧食肉衛生検査所 串木野食肉衛生検査所 阿久根食肉衛生検査所 大口食肉衛生検査所 末吉食肉衛生検査所 志布志食肉衛生検査所 鹿屋食肉衛生検査所	<ul style="list-style-type: none"> ・と畜場における牛枝肉の衛生対策 ・過去10年間のと畜検査データのまとめ及び検査所におけるフィードバック事業の取り組み ・<i>Mycoplasma bovis</i>が関与した牛の心内膜炎 ・と畜場における口蹄疫実務実践型防疫演習の概要と検証 ・鹿児島県内の大規模食鳥処理場で分離された <i>Salmonella Infantis</i>, <i>S. Schwarzengrund</i>及び <i>S. Manhattan</i>の保有プラスミドと薬剤耐性 ・BLV陰性牛でみられたB細胞性リンパ腫 ・FSIS（米国食品安全検査局）指摘事項の変遷 ・豚枝肉における微生物汚染調査（平成27年度微生物部会調査研究報告） ・牛にみられた腹腔内播種性腫瘍の1例 ・食鳥処理場で分離された大腸菌の薬剤感受性
平成29	知覧食肉衛生検査所 串木野食肉衛生検査所 阿久根食肉衛生検査所 大口食肉衛生検査所 末吉食肉衛生検査所 志布志食肉衛生検査所 鹿屋食肉衛生検査所	<ul style="list-style-type: none"> ・生食用食鳥肉加工工程における細菌汚染実態調査 ・大規模食鳥処理場におけるカンピロバクター等の微生物汚染の調査とその対策～厚生労働省「亜塩素酸水処理による微生物低減策の有効性実証事業」～ ・豚赤痢の分離培地及び検査法の検討 ・黒毛和種における <i>Mycoplasma bovis</i>の浸潤状況 ・ヨーネ病対応マニュアルの作成 ・スタンプ標本を用いた免疫組織化学的染色による牛白血病の簡易診断法 ・尿毒症に係る検査方法の調査 ・食鳥検査結果と農場生産成績の関連性 ・牛及び豚敗血症由来 <i>Trueperella pyogenes</i>の薬剤感受性と遺伝学的特徴 ・鶏大腸菌症由来 <i>Escherichia coli</i>の薬剤耐性および遺伝学的特徴 ・<i>Clostridium</i>属菌の混合感染症における菌種同定PCR法の検討 ・牛の原発不明腺癌の1例
平成30	知覧食肉衛生検査所 串木野食肉衛生検査所 阿久根食肉衛生検査所 大口食肉衛生検査所 末吉食肉衛生検査所 志布志食肉衛生検査所 鹿屋食肉衛生検査所	<ul style="list-style-type: none"> ・鶏肝臓におけるカンピロバクター汚染状況調査 ・牛の腹腔内腫瘍にみられた内分泌系腫瘍の1例 ・大規模食鳥処理場における衛生指導及び細菌汚染低減への取り組み ・豚の心臓腫瘍の1例と疣贅性心内膜炎の比較 ・豚の疣贅性心内膜炎由来 <i>Streptococcus suis</i>の疾病リスクと薬剤耐性状況調査 ・酸性電解水及び過酢酸製剤処理による微生物汚染低減効果の検証 ～平成29年度厚生労働省「食鳥肉における微生物汚染低減策の有効性実証事業」実績報告～ ・管轄食鳥処理場等への外国政府調査の概要 ・農場へい死鶏及び食鳥検査廃棄鶏における鶏病原性大腸菌の遺伝子学的比較 ・輸出認定施設におけるATP拭き取り検査を活用した衛生指導 ・<i>Lawsonia intracellularis</i>によると考えられる豚の小腸炎に関する調査 ・と畜検査データの双方向性フィードバックの一例

年度	検査所名	発表内容及び研究内容
令和元	知覧食肉衛生検査所	・食肉加工施設における食鳥肉の表面加熱の効果の検証
	串木野食肉衛生検査所	・と畜データを活用した地方病性牛白血病(EBL)の発生状況の調査
	阿久根食肉衛生検査所	・鶏病原性大腸菌の鶏の増体への関連因子
	大口食肉衛生検査所	・黒毛和種肥育牛における血液性状と枝肉成績との関連
	末吉食肉衛生検査所	・Mycoplasmaの関与した心内膜炎および腹大動脈塞栓を認めた牛の症例
	志布志食肉衛生検査所	・食鳥処理場のカンピロバクター汚染度把握と低減への取り組み
令和2	知覧食肉衛生検査所	・食鳥処理場で検出された <i>Campylobacter jejuni</i> におけるギランバレー症候群(GBS)関連遺伝子の保有調査
	串木野食肉衛生検査所	・鶏病原性大腸菌の鶏の増体への関連因子
	阿久根食肉衛生検査所	・地方病性牛白血病の迅速診断の試み
	大口食肉衛生検査所	・フィードバック対象農場における肺炎由来菌の薬剤感受性試験
	末吉食肉衛生検査所	・試行した切除法による細菌検査の結果と課題
	志布志食肉衛生検査所	・ブロイラーの浅胸筋変性症の病態調査
令和2	阿久根食肉衛生検査所	・管内と畜場で分離された豚のサルモネラ属菌の実態調査
	大口食肉衛生検査所	・マトリックス支援レーザー脱離イオン化飛行時間型質量分析装置(MALDI-TOF MS)を用いた敗血症分離菌の同定
	末吉食肉衛生検査所	・黄疸の指標としての肝臓中パルミチン酸レチノール
	志布志食肉衛生検査所	・枝肉重量と内臓病変及び枝肉重量遺伝子CW-2との関連性
令和2	鹿屋食肉衛生検査所	・Streptococcus属菌のMultiplexPCRによる菌種同定の検討
	鹿屋食肉衛生検査所	・Streptococcus suisが高率に発生した農場における薬剤耐性状況
令和2	鹿屋食肉衛生検査所	・令和元年度の保留豚における抗菌性物質残留陽性事例の調査