

学 位 論 文 要 旨

氏名 最首 信和

題 目： 食用に供する野生動物及び乳用牛の衛生管理に関する研究

論文要旨：

本研究は、地方自治体の公務員獣医師として、業務を通じて経験及び対応した事例をさらに学術的観点から検証するとともに、公衆衛生及び家畜衛生の向上に係る意義を探究することを目的とした。

近年、野生のイノシシによる農作物被害が問題となっており、その被害対策として耕作放棄地の整備や狩猟者の確保、有害鳥獣捕獲による個体数調整等が行われている。捕獲されたイノシシは、食用として販売する場合には食肉処理施設で処理されるが、販売を目的とせずに狩猟者が食用とする場合には、狩猟者自らが自宅や捕獲現場で処理を行うことが多い。そこで第 1 章では、狩猟で捕獲されたイノシシの解体処理施設における衛生管理の実態を明らかにするため、鳥取県内 2 施設の解体処理法、処理器具及び処理肉の細菌学的調査を行った。加えて、狩猟者 129 名の衛生意識についてアンケート調査を実施した。その結果、処理法は一般と畜場と類似していた。使用器具の一般細菌数と大腸菌群数は、消毒回数が多い施設で 10^2 cfu/cm² 以下で分離された。処理されたイノシシ肉の細菌数は、消毒回数が少ない施設で 10^5 cfu/g に達した。これらの施設利用者はわずか 16 名 (12%) で、捕獲現場で内臓を摘出するかしないに関わらず、自宅で解体処理する者は 113 名 (88%) であった。このうち内臓生食者は 9 名 (8%) 存在した。したがって、狩猟者に対する人獣共通感染症に関する知識の普及と施設の衛生設備の充実が必要であると考えられた。

第 1 章で調査対象とした解体処理器具やイノシシ肉から分離された大腸菌群が、イノシシの糞便に由来する可能性が示唆された。一方、野生動物における耐性菌の保菌とその要因に関する調査が近年報告されている。そこで第 2 章では、狩猟により捕獲したイノシシの糞便及び筋肉から *Escherichia coli* (大腸菌) を分離し、薬剤耐性、耐性遺伝子及び可動性因子について検討を行った。イノシシの糞便から分離された 89 株の大腸菌のうち 3 株 (3.4%) が、また、筋肉由来の 51 株のうち 2 株 (3.9%) が 1 剤以上に耐性を示した。糞便由来の 1 株が保有する *bla*_{TEM}、*tetB* 及びクラス 2 インテグロンの遺伝子カセットに存在する *dfx**A1*、*sat2* 及び *addA1* が R プラスミド上に位置し、接合伝達された。さらに糞便由来の 1 株では *tetA* が接合伝達された。このたびのインテグロンに存在する遺伝子カセットは過去にヒトや家畜由来株においても報告があったことから、イノシシにおける薬剤耐性大腸菌及び耐性遺伝子の由来を明らかにすることが重要である。

第 3 章及び第 4 章では乳用牛において飼養衛生管理上大きな課題となっている乳房炎の事例を検討した。まず、第 3 章では、重度の泌乳量低下と高い死亡率を引き起こす *Klebsiella pneumoniae* による乳房炎発症事例のうち、2 農場の牛 3 頭から基質特異性拡張型 β ラクターマーゼ (ESBL) 産生性の *K. pneumoniae* が分離されたため、分離株の詳細な性状を検討した。これら 3

(別紙様式第 3 号)

株はいずれも *bla*_{CTX-M-2} 遺伝子を保有し、異なる 2 農場の牛から分離された 2 株においては、本遺伝子が接合伝達性プラスミド上に存在することが確認された。これら 2 株の染色体 DNA の PFGE パターンは互いに異なっていたが、*bla*_{CTX-M-2} 遺伝子が存在するプラスミドの制限酵素切断パターンは酷似し、レプリコンタイプは同一であった。以上の成績から、*bla*_{CTX-M-2} 遺伝子はプラスミドを介して、農場の他の細菌にも伝播・拡散する可能性が示唆された。ESBL 産生株の農場への侵入に関わる要因や耐性に関与する遺伝子を明らかにするため、モニタリングの継続が重要であると考えられた。

第 4 章では、乳房炎を発症した牛の乳汁から *Aerococcus viridans* が分離され、敷料と戻し堆肥からも同菌種が分離されたため、これらが感染源である可能性を検討する目的で分離菌株の詳細な性状を検討した。鳥取県内の 1 農場において、2011 年 11 月から 2013 年 3 月の期間に乳房炎を発症した 478 頭の牛のうち、冬期間に乳房炎を発症した牛の乳汁より 38 株の *A. viridans* が分離された。この農場では、堆積場においておがくずと消石灰を混合した堆肥(処理後堆肥)を敷料に用いており、処理後堆肥及び牛床の敷料からも本菌種が分離された。堆肥舎及び堆積場の堆肥の温度を測定したところ、適正な堆肥化の過程で求められる温度に達していなかった。乳房炎牛の乳汁由来株、処理後堆肥由来株及び敷料由来株において、染色体 DNA の PFGE パターンが同一である株が認められた。PFGE パターンを解析した 29 株について 13 薬剤に対する感受性試験を行ったところ、26 株はクリンダマイシンに耐性、1 株はセフロキシムに耐性、その他の 2 株はすべてに感受性であった。乳汁から分離された 3 株及び処理後堆肥由来 1 株は、pH9.0 及び 50°C に調製した緩衝液中において 3 時間生残した。以上の成績から、処理後堆肥及び敷料が感染源である可能性が示唆された。したがって、農場においては敷料の衛生管理を改善する必要があると考えられた。

本研究において得られた知見は、食用に供する野生動物の衛生管理のガイドライン作成として、鳥取県における公衆衛生行政に係る施策の一部に反映されたほか、乳牛における乳房炎の原因菌の精査の重要性や、発生予防に係る新たな衛生管理の視点を指摘することにつながった。

(和文 2,000 字又は英文 800 語程度)

学位論文審査の結果の要旨

氏 名	最首 信和
審査委員	主 査：鳥取大学 教授 村瀬 敏之
	副 査：宮崎大学 教授 末吉 益雄
	副 査：鳥取大学 教授 山口 剛士
	副 査：鳥取大学 教授 伊藤 壽啓
	副 査：鳥取大学 准教授 尾崎 弘一
題 目	食用に供する野生動物及び乳用牛の衛生管理に関する研究

審査結果の要旨：

申請者は、地方自治体の公務員獣医師としての業務を通じて経験及び対応したイノシシの解体処理施設における衛生管理の実態調査及び牛の乳房炎の事例を学術的観点から検証するとともに、公衆衛生及び家畜衛生の向上に係る意義を探究することを目的に本研究を実施した。

第 1 章では、野生のイノシシによる農作物被害対策のひとつとして狩猟により捕獲されたイノシシの解体処理施設における衛生管理に関する実態調査の結果と、狩猟者の衛生意識についてアンケート調査を実施した結果を検討した。鳥取県内 2 施設におけるイノシシの処理法は一般と畜場と類似しており、使用器具の一般細菌と大腸菌群は、消毒回数が多い施設では 10^2 CFU/cm² 以下であったこと、処理されたイノシシ肉の細菌数は消毒回数が少ない施設で 10^5 CFU/g に達したことが明らかにされた。アンケートの結果から、施設利用者はわずか 16 名 (12%) で、捕獲現場で内臓を摘出するかしないに関わらず自宅で解体処理する 113 名 (88%) のうち内臓生食者は 9 名 (8%) 存在したことが明らかになった。以上の成績から、狩猟者に対する人獣共通感染症に関する知識の普及と、施設における衛生設備の充実が必要であると申請者は結論付けた。

第 1 章で調査対象とした解体処理器具やイノシシ肉から分離された大腸菌群は、イノシシの糞便に由来する可能性が示唆される。一方、野生動物における耐性菌の保菌とその要因に関する調査が近年報告されていることから、第 2 章では、狩猟により捕獲したイノシシの糞便及び筋肉から *Escherichia coli* (大腸菌) を分離し、薬剤耐性、耐性遺伝子及び可動性因子について検討を行った。その結果、イノシシの糞便から分離された 89 株の大腸菌のう

ち 3 株 (3.4%) と筋肉由来の 51 株のうち 2 株 (3.9%) が 1 剤以上に耐性を示したこと、糞便由来の 1 株が保有する *bla*_{TEM}、*tetB* 及びクラス 2 インテグロンの遺伝子カセットに存在する *dfxA1*、*sat2* 及び *addA1* が R プラスミド上に位置し、接合伝達されたこと、筋肉由来の 1 株では *tetA* が接合伝達されたことが明らかとなった。検出された遺伝子カセットは過去にヒトや家畜由来株においても報告があったことから、イノシシにおける薬剤耐性大腸菌及び耐性遺伝子の由来を明らかにすることが重要であるとの結論に至った。

第 3 章および第 4 章では乳用牛において飼養衛生管理上大きな課題となっている乳房炎の事例を検討した。第 3 章では、重度の泌乳量低下と高い死亡率を引き起こす *Klebsiella pneumoniae* による乳房炎発症事例のうち、2 農場の牛 3 頭から基質特異性拡張型 β ラクターマーゼ (ESBL) 産生性の *K. pneumoniae* が分離されたため、分離株の詳細な性状を検討した。これら 3 株はいずれも *bla*_{CTX-M-2} 遺伝子を保有し、異なる 2 農場の牛から分離された 2 株の染色体 DNA の遺伝学的性状は互いに異なっていたが、*bla*_{CTX-M-2} 遺伝子が存在する接合伝達性プラスミドの制限酵素切断パターンは酷似し、レプリコンタイプは同一であることを明らかにした。以上の成績から、*bla*_{CTX-M-2} 遺伝子はプラスミドを介して、農場の他の細菌にも伝播・拡散する可能性について申請者は言及した。

第 4 章では、西日本の 1 農場において 2011 年 11 月から 2013 年 3 月の期間に乳房炎を発症した 478 頭の牛のうち、冬期間に乳房炎を発症した牛の乳汁より 38 株の *Aerococcus viridans* が分離され、敷料として用いている堆肥に稲わらと消石灰を混合し貯蔵したもの (処理後堆肥) からも同菌種が分離されたため、これらが感染源である可能性を検討する目的で分離菌株の詳細な性状を検討した。その結果、乳汁由来株、処理後堆肥由来株及び敷料由来株が遺伝的に近縁であることが明らかとなり、薬剤感受性パターンもほぼ同じであった。堆肥舎及び堆積場の堆肥の温度を測定したところ、適正な堆肥化の過程で求められる温度に達していなかった。測定時の堆肥の状況を模した pH9.0 及び 50℃ に調製した緩衝液中において、乳汁から分離された 3 株及び処理後堆肥由来 1 株は 3 時間生残することが明らかとなった。以上の成績から、処理後堆肥及び敷料が感染源である可能性が示唆され、農場における敷料の衛生管理の改善する必要があると結論付けた。

本研究において得られた知見は、食用に供する野生動物の衛生管理のガイドライン作成として鳥取県における公衆衛生行政に係る施策の一部に反映されたほか、乳牛における乳房炎の原因菌の精査の重要性や、発生予防に係る新たな衛生管理の視点の指摘に至った。以上により、本論文は博士(獣医学)の学位を受けるにふさわしいものと判断した。