

# 業 務 概 要

平 成 2 8 年 度 版



島根県食肉衛生検査所

## 目 次

### I 当所の概要

1. 当所の沿革	1
2. 行政組織・職員構成	1
3. 所掌業務・事務分掌	2
4. 施設・設備	2
5. 主要検査備品	4

### II 業務の概要

1. と畜検査頭数	6
2. 検査に基づく措置	7
3. 病畜検査	7
4. 精密検査	7
5. B S E 検査	7
6. 放射性物質検査	7
7. 食品営業施設の監視	7
8. と畜検査業務のフローシート	8

### III 結果及び統計

1. 年度別検査頭数	9
2. 月別検査頭数	9
3. 産地別検査頭数	10
4. 疾病別と殺禁止又は廃棄処分頭数	11
5. 年度別と殺又は解体禁止及び廃棄処分頭数	12
6. 年度別全廃棄処分頭数	12
7. 臓器別病変数	13
8. 器官別病変発生率	15
9. 病畜棟におけると畜検査状況	16
10. 精密検査の実施状況	19
11. 牛海綿状脳症（B S E）スクリーニング検査	20
12. 放射性物質検査	20
13. 残留有害物質モニタリング検査	20
14. 枝肉の微生物汚染実態調査	21
15. 牛枝肉のグリア線維性酸性タンパク（G F A P）の残留量	21
16. 年度別食品営業施設監視状況	21
17. 主要事業・研修・会議	22

#### IV 調査研究

1. 調査・発表・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・24
2. 年度別調査・発表演題・・・・・・・・・・・・・・・・・・34

#### 参考資料

1. 島根県手数料条例（抜すい）・・・・・・・・・・38
2. 株式会社島根県食肉公社施設の概要・配置図・・・・・・・・38
3. 株式会社島根県食肉公社と畜場施設概要図・・・・・・・・39

## I. 当所の概要

### 1. 当所の沿革

- S 49.12 既存と畜場の再編整備と食肉流通の近代化等の必要性から、「島根県と畜場適正化協議会」より大規模と畜場建設についての意見が例出された。
- S 51.11 「島根県と畜場食肉流通専門委員会」から県内 8 カ所（隠岐・中国農試を除く）のと畜場を県下中央部に 1 カ所の食肉流通センターとして建設すべく意見が提出された。
- S 54.10 食肉流通センターの建設場所が大田市朝山町に決定された。
- S 55.7 食肉衛生検査所及び職員宿舎の設計及び見積等の検討を開始した。
- S 56.3 食肉衛生検査所職員宿舎用地（1000 m<sup>2</sup>）を大田市長久町長久高禅寺口 426-38 に取得した。
- S 56.5 食肉衛生検査所建設工事を起工した。
- S 56.7 食肉衛生検査所職員宿舎建設工事を起工した。
- S 56.11 食肉衛生検査所の定礎式を挙行了した。
- S 56.11 食肉衛生検査所職員宿舎建設工事を完工した。
- S 56.12 島根県食肉公社の竣工式が行われた。
- S 56.12 島根県行政機関等設置条例に基づいて、島根県食肉衛生検査所が設置された。
- S 59.12 大田保健所からと畜場法及び食品衛生法に係る権限の委譲を受ける。
- H13.10 牛海綿状脳症（BSE）の全頭スクリーニング検査を開始。
- H14.4 牛海綿状脳症（BSE）担当の主査が配置された。
- H16.4 島根県行政組織（フラット・グループ化）の改正により検査グループ・試験グループとなる。
- H16.4 所長補佐が廃止され、牛海綿状脳症（BSE）担当主査は食品安全管理スタッフとなる。
- H19.4 食品安全管理スタッフは主査から調整監となる。
- H21.9 食肉衛生検査所職員宿舎の用途を廃止する。
- H23.7 と畜牛肉の放射性物質（セシウム）検査を開始する。
- H25.4 島根県行政組織の改正により検査課・試験課となる。
- H25.7 牛海綿状脳症（BSE）の検査対象を 48 ヶ月齢超とする。

### 2. 行政組織・職員構成

#### 組織

健康福祉部 ————— 薬事衛生課 ————— 食肉衛生検査所



## 職員構成

	技術職員 (と畜検査員)	事務職員	嘱託職員 (と畜検査員、検査補助員等)	計
所 長	1			1
課長	2			2
企画幹 (食肉安全管理スタッフ)	1			1
総務		1	1	2
検査課員	3		2	5
試験課員	3			3
計	10	1	3	14

### 3. 所掌業務・事務分掌

当所は、と畜検査体制の整備強化を図るため、病理・細菌・理化学の3部門の各検査室を備えた充実した検査機関として昭和56年12月に設置され、と畜場法に基き厳正かつ科学的な検査業務を実施するとともに、と畜場及びと殺解体作業の衛生確保に万全を期している。

#### ○島根県行政組織規則 (食肉衛生検査所)

第45条 島根県行政機関等設置条例第4条第1項の規定により設置された食肉衛生検査所は、大田市に置き、その所管区域は、大田市朝山町仙山字中山とする。

2 食肉衛生検査所に、総務担当、検査課、試験課及び食肉安全管理スタッフを置く。

3 食肉衛生検査所の業務は、次のとおりとする。

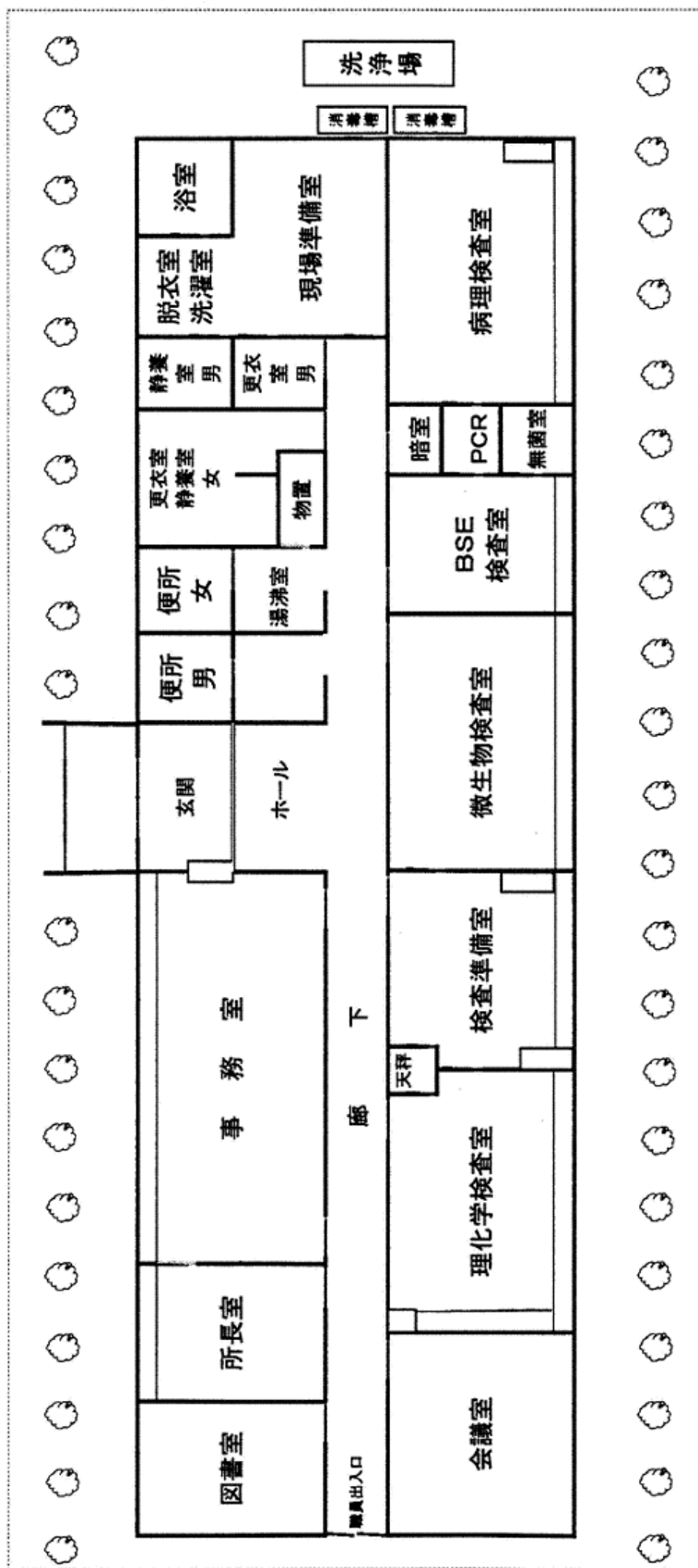
- (1) 獣畜のと殺又は解体の検査（以下「と畜検査」という。）に関する事。
- (2) と畜場及びと畜業者の衛生措置に関する事。
- (3) 食品衛生に関する事。
- (4) 保健統計に関する事。
- (5) と畜検査に係る精密検査に関する事。
- (6) と畜検査に必要な獣疫の調査研究に関する事。

### 4. 施設・設備

#### 施設概要

敷地面積		1,930 m <sup>2</sup>
建物面積	本館棟	602 m <sup>2</sup>
	附属棟	117 m <sup>2</sup>
事業費	建物建設費	124,098 千円
	設備整備費	14,889 千円
工期	起工	昭和56年5月31日
	竣工	昭和56年11月30日

施設平面図



## 5. 主要検査備品

(平成 29 年 3 月 31 日現在)

検査室	品名	規格	数量
病理検査関係	システム生物顕微鏡	OLYMPUS BX51N-33	1
	蛍光顕微鏡	ニコン YF-EFD2	1
	顕微鏡カラーテレビ装置	島津理化学器械(株)CCD-z1	1
	顕微鏡用 3CCD デジタルカメラ	OLYMPUS FX630	1
	大型滑走式マイクロトーム	大和光機工業 REM-710	1
	密閉式自動包埋装置	ティッシュテック VIP5 ジュニア	1
	パラフィン包埋ブロック作製装置	ディスペンシングコンソールIV	1
	安全キャビネット	BIO II A/M	1
	局所排気装置	ASSRE ヒュームフード <sup>®</sup> ABS-1800	1
	コーケンラミナー	興研 Mu-01	1
理化学検査関係	HPLC フォトダイオードアレイシステム	島津 SPD-M10Avp	1
	生化学分析装置 富士ドライケム	富士ドライケム 4000V	1
	ロータリーエバポレーター	東京理化 N-1110V	1
	テーブルトップ遠心機 4000	久保田商事	2
微生物検査関係	恒温培養器	ADVANTEC CV-700	2
	高圧蒸気滅菌器	平山製作所 HV-50	2
	高圧蒸気滅菌器	平山製作所 HVN-50	1
	高圧蒸気滅菌器	平山製作所 HVN-50LB	1
	乾熱滅菌器	ADVANTEC SP-650	1
	マイクロ冷却遠心機	KUBOTA 製 3700	1
	顕微鏡写真装置	OLYMPUS DP11	1
	実体顕微鏡	オリンパス SZ1145TRPT	1
	倒立顕微鏡	ニコン TMS-F12	1
	サーマルサイクラー	TP350	2
	電気泳動ゲル撮影装置	フコシ DigiDoc-It Imaging System	1
	超低温フリーザー	Panasonic MDF-DU300H-PJ1	1
	リアルタイム PCR 装置	TaKaRa PCR Thermal Cycler Dice <sup>®</sup> Real Time System III	1

検査室	品 名	規 格	数量
B S E 検 査 関 係	低 温 恒 温 器	ICB-301LM	1
	安 全 キ ャ ビ ネ ッ ト	BIO II A/M	1
	ク リ ー ン ベ ン チ	HITACHI	1
	マ イ ク ロ プ レ ー ト リ ー ダ ー	バイオラッド Model 550	2
	マ イ ク ロ プ レ ー ト リ ー ダ ー	バイオラッド iMark マイクロプレートリーダー	1
	マ イ ク ロ プ レ ー ト ウ オ ッ シ ャ ー	バイオラッド Model 1575	1
	マ イ ク ロ プ レ ー ト ウ オ ッ シ ャ ー	バイオラッド ImmunoWash1575	1
	マ イ ク ロ 冷 却 遠 心 機	久保田 3740 型	1
	マ イ ク ロ 冷 却 遠 心 機	久保田 3700 型	2
	卓 上 細 胞 破 碎 器	フナコシ Fast Prep-24	2
	超 低 温 フ リ ー ザ ー	サンヨーMFD-382AT	1
	ヒ ー ト ブ ロ ッ ク 恒 温 槽	Dry Thermo Unit DTU	4
	超 純 水 製 造 装 置	Direct-Q UV 5	1
と畜検査	乾 熱 滅 菌 器	STA420(DA)	2



## II. 業務の概要

食肉の需要は国民の嗜好の多様化、健康志向の高まり等の意識の変化により、近年横ばいに推移している。平成 13 年 9 月に国内で BSE の発生が確認され、更に、食肉の虚偽表示等消費者の不信を招く事件が続いたため、牛肉の需要が一時減少したが、その後持ち直し、ほぼ従前の水準に回復した。

と畜検査総頭数は、昭和 56 年の開所以来昭和 63 年まで概ね増加傾向にあったが、平成に入り減少に転じ、平成 7 年度には 69,406 頭となった。その後わずかではあるが増加傾向を示し、平成 18 年度は 91,213 頭で平成 7 年度に比べ約 31% の増加となったが、その後は漸減漸増を繰り返している。今年度は 96,796 頭で前年度に比べ約 1% の減少となった。本県にはと畜場として（株）島根県食肉公社（当所管内）のほか近畿中国四国農業研究センター大田研究拠点があるが、平成 14 年度以降は当検査所で県内のと畜検査の全てを実施している。

近年、グローバル化の進展によって、家畜疾病をめぐる情勢が国際化・多様化していることは、BSE や口蹄疫、鳥インフルエンザ等の発生状況からも明らかであり、このことはと畜検査にもより深い見識と広い視野が要求されるようになってきたことを示唆している。また一方で、疾病予防・治療技術の向上等に伴い、抗生物質など動物用医薬品の食肉中への残留も憂慮され、これらの問題に積極的に対応する必要も生じている。このため、当所では各種検査機器の整備と職員の研修を進め、生体検査、解体後検査はもちろんのこと、病理学的検査、微生物学的検査、理化学的検査等の精密検査に係る手技・技術ならびに診断能力を向上させるとともに、各種調査研究の成果を関係業界及び関係者に還元している。

更に、家畜保健衛生所等には、と畜検査結果を提供することにより、生産段階における疾病予防ならびに安全で衛生的な食肉供給のために活用されるよう努めている。

なお、食肉公社と畜場における衛生管理の指導や関係者の衛生教育の実施、場内許可施設の食品衛生法に基づく監視、指導も積極的に行い、食肉の衛生確保に努めている。

### 1. と畜検査頭数

平成 28 年度の検査頭数は 96,796 頭で、前年度に比較して 610 頭減少した。

畜種別にみると、牛 4,163 頭（とく 1 頭、病畜 279 頭を含む）、豚 92,632 頭、山羊 1 頭で、牛は 164 頭の増加、豚は 775 頭の減少、山羊は 1 頭の増加となった。

平成 28 年度のと畜場開場日数は 240 日であった。その内、牛のと殺が行われた日数（病畜は含めず）は 133 日であり、豚のと殺が行われた日数は 240 日であった。1 日あたりの平均検査頭数は牛 29 頭（病畜は含めず）、豚 386 頭であった。総検査頭数に占める牛と豚の割合は、牛が 4.3%、豚 95.7% であった。また、産地別にみると、牛はほとんどが県内産であり、益田市が最も多く 1,192 頭、次いで出雲市が 761 頭であった。豚は、県内産が 61,982 頭であり、浜田市が 31,430 頭で最も多く、次いで飯南町 13,631 頭、江津市が 8,416 頭であった。一方、県外産は 30,650 頭でその内訳は鳥取県 12,163 頭、広島県 18,487 頭であった。

病畜として検査したものは 279 頭（総検査頭数の 0.3%）で、畜種別では牛 278 頭、とく 1 頭であった。

## 2. 検査に基づく措置

措置した獣畜のうち、と殺又は解体禁止及び全部廃棄した総頭数は 198 頭で前年度に比較して 7 頭増加した。畜種別では牛 24 頭で前年より 24 頭減少、豚は 174 頭で 31 頭増加した。

### (1) 全部廃棄

牛の全部廃棄頭数 24 頭の疾病別の内訳は、敗血症 7 頭、高度の水腫 5 頭、牛白血病 5 頭、膿毒症 4 頭、黄疸 2 頭および尿毒症 1 頭であった。

豚の全部廃棄頭数 174 頭については、膿毒症 123 頭、敗血症 32 頭、高度の水腫 14 頭、および豚丹毒 3 頭、尿毒症 2 頭という内訳であった。

### (2) 一部廃棄

内臓、筋肉等の一部廃棄は、牛で累計 3,643 頭、豚で累計 56,850 頭であった。

## 3. 病畜検査

病畜として検査した獣畜は、牛 279 頭(とく 1 頭を含む)であった。病畜には、獣医師の診断書を添付することを家畜診療機関へ依頼しているが、特別な理由で診断書がない場合は、畜主の申立書により検査した。病畜に対応した日数は 155 日で、月平均 23 頭を検査した。

## 4. 精密検査

と畜検査において、肉眼所見で判定が困難な疾病については、病理組織学、微生物学及び理化学的検査を実施して食肉の安全を図っている。

- (1) 病理学的検査は、白血病を含む腫瘍の診断を主体に厳密な病理学的検査を実施して的確な診断を行っている。
- (2) 微生物学的検査は、敗血症、豚丹毒を主体に実施している。
- (3) 理化学検査は、尿毒症、黄疸を主体に実施している。尿毒症は血清、眼房水及び筋肉の尿素窒素値を、黄疸については血清中のビリルビン値をそれぞれ測定し、的確な診断を行っている。

## 5. BSE検査

伝達性海綿状脳症検査実施要領に基づき、平成 28 年 4 月 1 日から平成 29 年 3 月 31 日までに、検査対象となる 48 ヶ月齢超の 739 頭に対して BSE のスクリーニング検査を実施したところ、全て陰性であった。

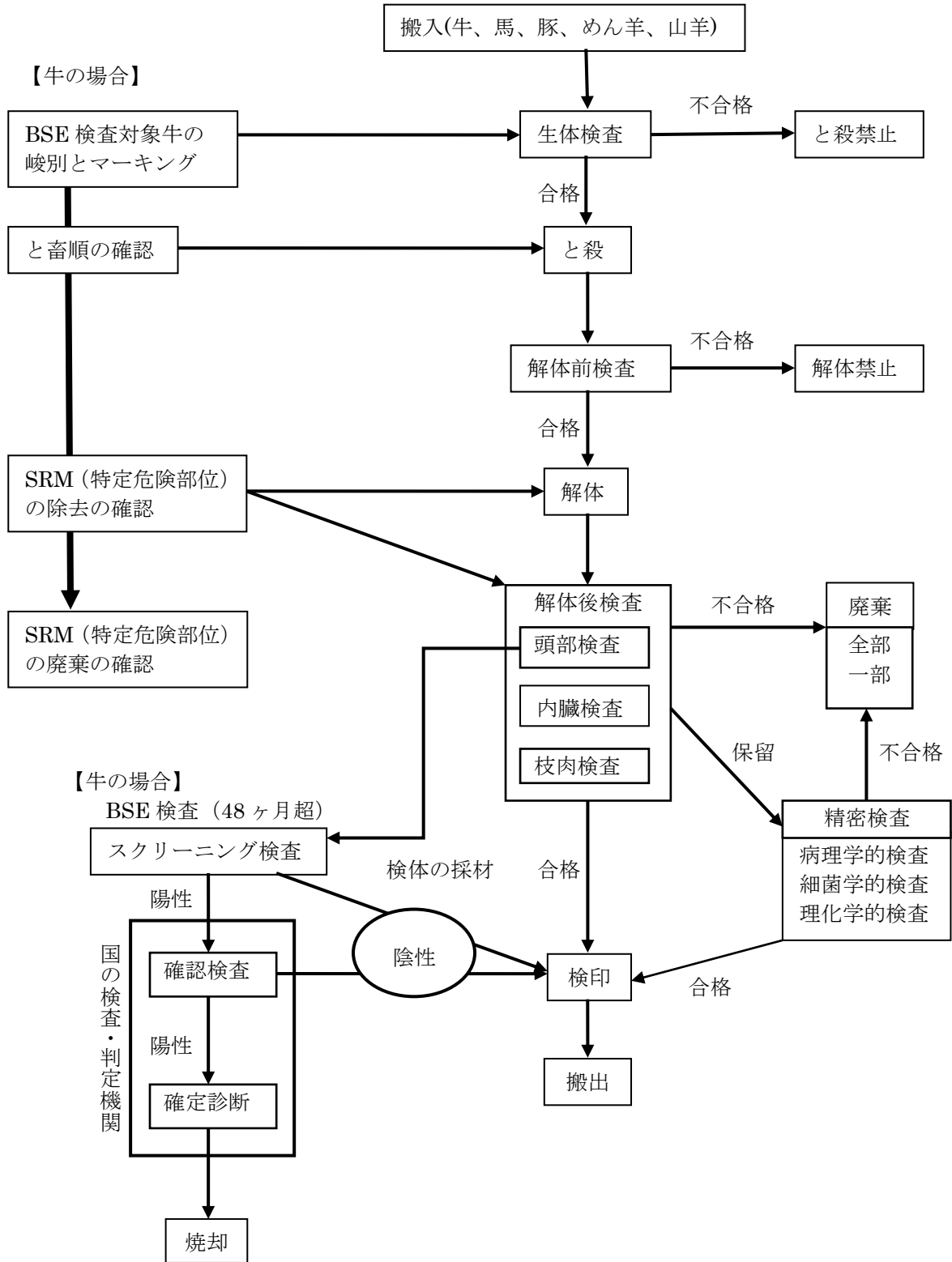
## 6. 放射性物質検査

と畜牛肉の放射性物質検査実施要領に基づき、検査対象区域・監視区域での飼育歴がある牛 11 頭を対象に収去を行い、島根県原子力環境センターにて検査を実施したところ、放射性セシウムについては全て陰性であった。

## 7. 食品営業施設の監視

食肉公社施設内の食品営業施設に対して、食品に起因する衛生上の危害の発生を未然に防止するため、処理施設の監視を実施するとともに、使用器具や食肉等の検査を実施し、拭き取り検査等科学的根拠に基づく指導を実施した。また、と畜場の衛生管理及び食肉の衛生的取扱について従事者に対する衛生教育を行い、食肉の安全確保の徹底を図った。

8. と畜検査業務のフローシート



### Ⅲ. 結果及び統計

#### 1. 年度別検査頭数

年度	牛			とく	馬	豚	めん羊	山羊	合計	開場日数
	肉用牛	乳用牛	計							
24	3,647	850	4,497	2	0	81,111	0	0	85,610	240
25	3,276	698	3,974	3	0	80,761	0	0	84,738	241
26	2,992	776	3,768	8	0	82,971	0	0	86,747	240
27	3,205	793	3,998	1	0	93,407	0	0	97,406	239
28	3,385	777	4,162	1	0	92,632	0	1	96,796	240

#### 2. 月別検査頭数

月	牛			とく	馬	豚	めん羊	山羊	合計	開場日数
	肉用牛	乳用牛	計							
4	284	60	344	0	0	8,385	0	0	8,729	20
5	224	64	288	0	0	7,435	0	0	7,723	19
6	280	65	345	0	0	6,693	0	0	7,038	21
7	320	59	379	0	0	6,912	0	0	7,291	20
8	252	57	309	0	0	8,074	0	0	8,383	21
9	275	82	357	0	0	7,881	0	0	8,238	20
10	330	80	410	0	0	8,117	0	0	8,527	20
11	341	77	418	0	0	7,999	0	0	8,417	20
12	317	60	377	0	0	7,972	0	0	8,349	18
1	261	61	322	1	0	8,027	0	1	8,351	19
2	250	49	299	0	0	6,982	0	0	7,281	20
3	251	63	314	0	0	8,155	0	0	8,469	22
計	3,385	777	4,162	1	0	92,632	0	1	96,796	240
前年	3,205	793	3,998	1	0	93,407	0	0	97,406	239
対比(%)	105.6	98.0	104.1	100.0	0	99.2	0	0	99.4	100.4

3. 畜主別産地一覧表

産 地		牛の検査頭数 (とくを含む)	豚 の 検 査 頭 数
県 内	松江市	50	
	浜田市	83	31,430
	出雲市	761	219
	益田市	1,192	
	大田市	400	
	安来市	62	
	江津市	5	8,416
	雲南市	175	
	奥出雲町	412	
	飯南町	74	13,631
	邑智郡	404	8,286
	鹿足郡	38	
	隠岐郡	32	
県 外	鳥取県	10	12,163
	岡山県	8	
	広島県	4	18,487
	山口県	372	
	愛媛県	3	
	福岡県	3	
	長崎県	9	
	熊本県	39	
	大分県	1	
	宮崎県	7	
	鹿児島県	8	
	岐阜県	3	
	群馬県	1	
	愛知県	4	
	三重県	2	
	大阪府	1	
	合 計	4,163	92,632

4. 疾病別と殺禁止又は廃棄処分頭数

と畜場内と殺頭数	処分実頭数	疾病別頭数																	計									
		細菌病							ウイルス・リケッチア病	原虫病		寄生虫病		その他の疾病														
		炭そ	豚丹毒	サルモネラ病	結核病	ブルセラ病	破傷風	放線菌病	その他	豚コレラ	その他	トキソプラズマ病	その他	のう虫病	ジストマ病	その他	膿毒症	敗血症		尿毒症	黄疽	水腫	腫瘍	中毒諸症	炎症・炎症産物	変性・萎縮	その他	
牛	4,162	禁止																										
		全部廃棄	24													4	7	1	2	5							5	24
		一部廃棄	3,643											16	6					139				3,394	1,336	466	5,357	
とく	1	禁止																										
		全部廃棄																										
		一部廃棄	1																					1		1	2	
馬	0	禁止																										
		全部廃棄																										
		一部廃棄																										
豚	92,632	禁止																										
		全部廃棄	174	3												123	32	2	14								174	
		一部廃棄	56,850						519						48				58					54,300	3,952	2,321	61,198	
めん羊	0	禁止																										
		全部廃棄																										
		一部廃棄																										
山羊	1	禁止																										
		全部廃棄																										
		一部廃棄																										

5. 年度別と殺又は解体禁止及び廃棄処分頭数

年度	牛		とく		馬		豚		めん山羊			合 計						
	禁止	全部廃棄	一部廃棄	禁止	全部廃棄	一部廃棄	禁止	全部廃棄	一部廃棄	禁止	全部廃棄	一部廃棄	禁止	全部廃棄	一部廃棄			
24	0	41	4,244	0	0	2	0	0	0	0	154	51,527	0	0	0	0	195	55,773
25	0	36	3,250	0	0	2	0	0	0	0	135	44,027	0	0	0	0	171	47,279
26	0	26	3,082	0	0	6	0	0	0	0	101	39,203	0	0	0	0	127	42,291
27	0	48	3,238	0	0	1	0	0	0	0	143	52,941	0	0	0	0	191	56,180
28	0	24	3,643	0	0	1	0	0	0	0	174	56,850	0	0	0	0	198	60,494

6. 年度別全廃棄処分頭数

牛（とく含む）

年度	膿毒症	敗血症	腫瘍	牛白血病	尿毒症	黄疸	水腫	その他	計
24	1	7	1	3			29		41
25	13	2		4			17		36
26	2	4		8			12		26
27	7	7	2	8		1	16	7	48
28	4	7		5	1	2	5		24

豚

年度	膿毒症	敗血症	腫瘍	白血病	黄疸	水腫	尿毒症	豚丹毒	豚赤痢	AR	炎症	計
24	106	27	2			2	1	14			2	154
25	62	53				4	2	14				135
26	42	47				2	2	8				101
27	84	52	1			3	2	1				143
28	123	32				14	2	3				174

## 7. 臓器別病変数

牛（とく含む）

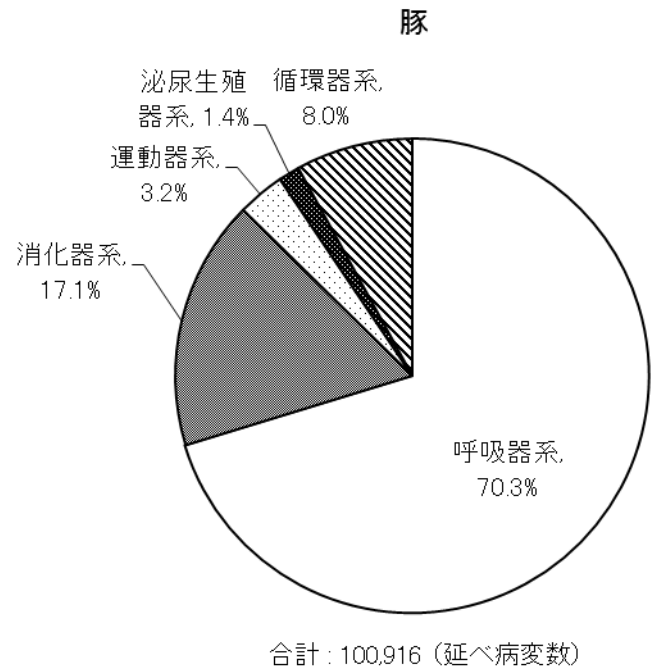
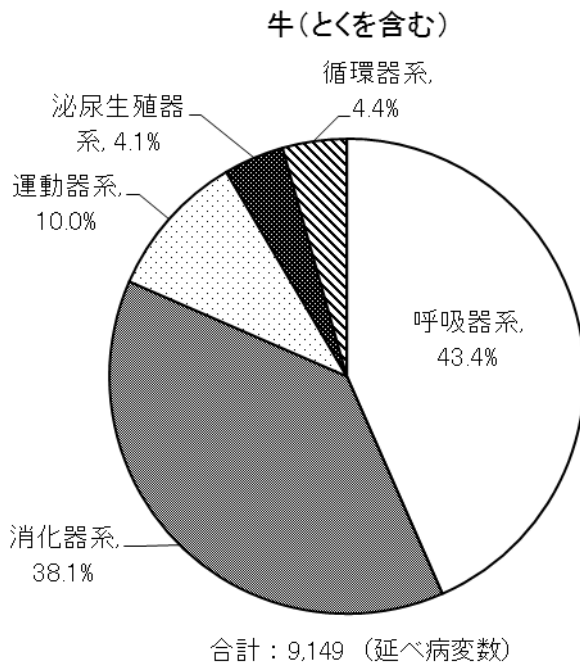
器 官	臓 器	病 変 名	病 変 数	小 計		
呼吸器系	肺	化膿性肺炎	84	3,972		
		他肺炎	1,212			
		肺膿瘍	70			
		肺気種	1,747			
		胸膜炎	609			
		吸入肺	67			
	その他	横隔膜炎	183			
循環器系	心	心外膜炎	144	144		
	脾	脾炎	28	255		
		脾包膜炎	89			
		脾うっ血	138			
消化器系	肝	肝炎出血型	599	2,204		
		肝炎塊状壊死	201			
		鋸屑肝	107			
		肝包膜炎	523			
		肝膿瘍	162			
		胆管炎	161			
		肝蛭症	16			
		肝富脈斑	184			
		肝うっ血	11			
		肝硬変	15			
		脂肪肝	225			
		膵	膵蛭		2	1,284
		胃	胃漿膜炎		174	
	胃カタル性炎		457			
	胃潰瘍		84			
	脂肪壊死		33			
	双口吸虫		6			
	腸	腸漿膜炎	42			
		腸炎	156			
脂肪壊死		309				
腹膜炎		21				
泌尿器系	腎	腎炎	40	228		
		嚢包腎	7			
		脂肪壊死	150			
	膀胱	膀胱炎	21			
		膀胱結石	10			
生殖器系	子宮	子宮内膜炎	89	149		
		子宮蓄膿症	19			
		妊娠子宮	31			
	乳房	乳房炎	10			
運動器系	頭部	リンパ節膿瘍	5	838		
	筋肉	筋肉炎症	299 (とく 1)			
		関節炎	65			
		筋肉膿瘍	62			
		筋肉出血	260			
		筋肉水腫	147			
	骨	骨折	34 (とく 1)	75		
		脱臼	41			
合 計 (延べ病変数)			9,149			



## 豚

器 官	臓 器	病 変 名	病 変 数	小 計	
呼吸器系	肺	MPS	34,259	59,053	
		ヘモフィルス型	2,679		
		胸膜炎型	16,664		
		化膿性肺炎	353		
		他の肺炎	2,856		
		肺膿瘍	2,193		
		肺虫症	49		
	その他	横隔膜炎	11,863	11,863	
循環器系	心	心外膜炎	4,983	5,043	
		心内膜炎	33		
		心その他	27		
	脾	脾うっ血	1,726	3,018	
		脾包膜炎	1,212		
		脾炎	54		
		脾その他	26		
消化器系	肝	肝炎	3,144	13,122	
		肝包膜炎	7,218		
		寄生虫肝炎	317		
		退色肝	2,226		
		壊死型	21		
		肝硬変	24		
		肝その他	172		
	膵	膵炎	46	4,097	
		腹膜炎	54		
		胃炎	139		
		小腸炎	2,405		
		胃	大腸炎		466
			腸漿膜炎		258
		腸	腸気泡症		9
			ミコバクテリウム症		518
			腸その他		202
		泌尿器系	腎		腎炎
嚢包腎	947				
腎その他	20				
膀胱	膀胱炎		5		
生殖器系	子宮	子宮内膜炎	234	265	
		妊娠子宮	31		
運動器系	頭 部	リンパ節膿瘍	383	1,105	
		AR	0		
		頭部その他	722		
	筋肉	リンパ節膿瘍	14	2,155	
		筋肉膿瘍	980		
		筋肉水腫	69		
		筋肉炎症等	703		
		骨	尾咬症		5
			関節炎		111
		骨折・脱臼	63		
		その他	210		
合 計 (延べ病変数)			100,915		

8. 器官別病変発生率



牛	呼吸器系	循環器系	消化器系	泌尿生殖器系	運動器系
平成 24 年度	47.8	4.2	35.2	4.1	8.8
25	46.8	3.6	36.1	3.9	9.6
26	42.8	3.1	38.5	4.8	10.7
27	42.0	3.4	38.5	4.6	11.5
28	43.4	4.4	38.1	4.1	10.0

(単位%)

豚	呼吸器系	循環器系	消化器系	泌尿生殖器系	運動器系
平成 24 年度	67.7	5.9	20.2	2.1	4.2
25	63.1	6.3	23.4	2.4	4.7
26	65.0	7.1	20.6	2.3	5.0
27	71.7	8.2	14.2	1.6	4.3
28	70.3	8.0	17.1	1.4	3.2

(単位%)

9. 病畜棟におけると畜検査状況

(1) 年度別病畜検査頭数

年度	牛	とく	馬	豚	めん羊	山羊	計	時間内 頭数(日数)
24	236	2	0	0	0	0	238	238 (150)
25	212	0	0	0	0	0	212	212 (131)
26	198	7	0	0	0	0	205	205 (139)
27	230	1	0	0	0	0	231	231 (144)
28	278	1	0	0	0	0	279	279 (155)

(2) 月別病畜検査頭数

月	牛	とく	馬	豚	めん羊	山羊	計	時間内頭数 (日数)
4	13	0	0	0	0	0	13	13 (9)
5	16	0	0	0	0	0	16	16 (9)
6	23	0	0	0	0	0	23	23 (14)
7	23	0	0	0	0	0	23	23 (15)
8	28	0	0	0	0	0	28	28 (14)
9	30	0	0	0	0	0	30	30 (14)
10	34	0	0	0	0	0	34	34 (17)
11	27	0	0	0	0	0	27	27 (13)
12	22	0	0	0	0	0	22	22 (12)
1	22	1	0	0	0	0	23	23 (13)
2	15	0	0	0	0	0	15	15 (12)
3	25	0	0	0	0	0	25	25 (13)

(3) 病畜棟における疾病別と殺禁止又は廃棄処分頭数

病畜棟内と殺頭数	処分実頭数	疾病別頭数																	計										
		細菌病							ウイルス・リケッチア病	原虫病	寄生虫病		その他の疾病																
		炭そ	豚丹毒	サルモネラ病	結核病	ブルセラ病	破傷風	放線菌病	その他	豚コレラ	その他	トキソプラズマ病	その他	のう虫病	ジストマ病	その他	膿毒症	敗血症		尿毒症	黄疽	水腫	腫瘍	中毒諸症	炎症・炎症産物	変性・萎縮	その他		
牛 278 (※)	禁止	0																										0	
	全部廃棄	19														4	5	1		2	4							3	19
	一部廃棄	258												3	1						93				830	260	218	1,405	
とく	禁止	0																										0	
	全部廃棄	0																										0	
	一部廃棄	1																							1	2	3	0	
馬	禁止	0																										0	
	全部廃棄	0																										0	
	一部廃棄	0																										0	
豚	禁止	0																										0	
	全部廃棄	0																										0	
	一部廃棄	0																										0	
めん羊	禁止	0																										0	
	全部廃棄	0																										0	
	一部廃棄	0																										0	
山羊	禁止	0																										0	
	全部廃棄	0																										0	
	一部廃棄	0																										0	

※ 全部廃棄及び一部廃棄に該当しない牛 1 頭を含む。

(4) 病畜の臓器別病変数  
牛

器 官	臓 器	病 変 名	病変数	小 計
呼吸器系	肺	化膿性肺炎	10	245
		他肺炎	67	
		肺膿瘍	9	
		肺気種	159	
	その他	胸膜炎	62	96
		横隔膜炎	31	
吸入肺		3		
循環器系	心	心外膜炎	34	34
	脾	脾炎	12	65
		脾包膜炎	25	
		脾うっ血	28	
消化器系	肝	肝炎出血型	62	282
		肝炎塊状壊死	17	
		鋸屑肝	4	
		肝包膜炎	67	
		肝膿瘍	11	
		胆管炎	14	
		肝蛭症	3	
		肝富脈班	36	
		肝うっ血	7	
		肝硬変	5	
		脂肪肝	56	
	膵	膵蛭	1	141
	胃	胃漿膜炎	28	
		胃カタル	20	
		胃潰瘍	5	
		脂肪壊死	5	
		双口吸虫	1	
	腸	腸漿膜炎	15	
		腸炎	45	
		腹膜炎	12	
脂肪壊死		9		
泌尿器系	腎	腎炎	22	53
		嚢包腎	2	
		脂肪壊死	13	
	膀胱	膀胱炎	12	
		膀胱結石	4	
生殖器系	子宮	子宮内膜炎	20	57
		子宮蓄膿症	10	
		妊娠子宮	17	
	乳房	乳房炎	10	
運動器系	頭部	リンパ節膿瘍	0	410
	筋肉	筋肉炎症	131	
		関節炎	54	
		筋肉膿瘍	28	
		筋肉出血	96	
		筋肉水腫	101	
	骨	骨折	30	70
		脱臼	4	
計			1,453	

10. 精密検査の実施状況

(1) 精密検査総数

		疾病名								
		敗血症	膿毒症	尿毒症	黄疸	腫瘍	牛白血病	豚丹毒	豚赤痢	AR
病理検査	牛					6	5			
	豚									
理化学検査	牛			4	4					
	豚			6	1					
細菌検査	牛	9								
	豚	12						40		

(2) 精密検査による全廃棄処分状況

		疾病名								
		敗血症	膿毒症	尿毒症	黄疸	腫瘍	牛白血病	豚丹毒	豚赤痢	AR
病理検査	牛						5			
	豚									
理化学検査	牛			1	2					
	豚			5						
細菌検査	牛	7								
	豚	7						3		

1 1. 牛海綿状脳症（BSE）スクリーニング検査

(1) 検査結果

BSE検査頭数	陰性の牛の総数	
	スクリーニング検査	確認検査
739	739 (100%)	0 (0%)

品種内訳	肉用牛（F 1 含む）	乳用牛
頭数	215 (29.1%)	524 (70.9%)

(2) 検査対象牛内訳

i) 肉用牛 215 頭

肉用牛状態内訳

平成 28 年 4 月 1 日～平成 29 年 3 月 31 日 (215 頭)

区分	一般畜	病畜
頭数	190 (88.4%)	25 (11.6%)

ii) 乳用牛 524 頭

乳用牛状態内訳

平成 28 年 4 月 1 日～平成 29 年 3 月 1 日 (524 頭)

区分	一般畜	病畜
頭数	404 (77.1%)	120 (22.9%)

1 2. 放射性物質検査

検査項目	牛
放射性セシウム	0/11

(陽性頭数/検査頭数)

注) 当所にて収去後、島根県原子力環境センターにて検査。

1 3. 残留有害物質モニタリング検査

検査項目	牛	豚	合計
テトラサイクリン類	0/10	0/10	0/20
フルベンダゾール	—	0/10	0/10
セファゾリン	0/30	—	0/30
アンピシリン	0/30	0/30	0/60
合成抗菌剤	0/10	—	0/10

(陽性頭数/検査頭数)

注) 当所にて収去後、(株) エフイーエーシーにて委託検査。

14. 枝肉の微生物汚染実態調査（厚生労働省）

一般細菌数及び大腸菌数（牛・ふきとり）	24 検体
一般細菌数及び大腸菌数（豚・ふきとり）	40 検体

15. 牛枝肉のグリア繊維性酸性タンパク（GFAP）の残留量調査（厚生労働省）

GFAP 残留量検査	48 検体
------------	-------

16. 年度別食品営業施設監視状況

業 種	許可施設	監視 計画回数	延べ監視件数				
			H24	H25	H26	H27	H28
食肉処理業 監視率（%）	2	4	4 (100.0)	5 (125.0)	4 (100.0)	4 (100.0)	4 (100.0)



17. 主要事業・研修・会議（H28年度）

月	内 容	開催地	人員
4	健康福祉部地方機関長会議	松江市	1名
	健康福祉部薬事衛生関連部課長会議	松江市	2名
5	全国食肉衛生検査所協議会病理部会	相模原市	2名
	食品衛生担当者会議	松江市	1名
6	食品適正表示研修会	松江市	2名
7	全国食肉衛生検査所協議会全国大会	仙台市	2名
	島根県獣医学会	松江市	4名
10	全国食肉衛生検査所協議会理化学部会	筑波市	1名
	獣医学術中国地区学会	岡山市	2名
	全国食肉衛生検査所協議会中国・四国ブロック会議及び技術研修会	松山市	1名
11	HACCP 導入施設現地視察研修	岩手県紫波町 宇都宮市	2名
	全国食肉衛生検査所協議会病理部会	相模原市	1名
	全国食肉衛生検査所協議会微生物部会	横浜市	2名
	食品製造者支援セミナー	松江市	2名
	HACCP・食品表示対策セミナー	松江市 浜田市	4名
	カンピロバクター研究会	三鷹市	2名
12	食品衛生監視員研修	松江市	2名

月	内 容	開催地	人員
12	牛海綿状脳症（BSE）対策の見直しに関する意見交換会	東京都	1名
1	厚生労働科学研究 （野生鳥獣由来食肉の安全確保に関する研究）班会議	東京都	1名
	H28年度全国動物管理関係事業所協議会 中国・四国ブロック会議	松江市	1名
	食肉衛生技術研修会及び食肉衛生発表会	東京都	1名
2	食品衛生監視員研究発表会	松江市	2名
	日本獣医師会獣医学術学会年次大会	金沢市	2名
3	厚生労働科学研究 （畜産食品の生物学的ハザード及びその低減手法に 関する研究）班会議	東京都	2名
	食品衛生・動物愛担当課長会議	松江市	1名
	健康福祉部地方機関長会議	松江市	1名

#### IV. 調査研究

##### 1. 調査研究発表

病理、細菌及び理化学の各検査室は通常の精密検査を実施するとともに、更に検査業務を推進するため、調査・研究を行い、データの集積に努めている。

- 1) イノシン解体処理における衛生対策のポイント
- 2) B細胞性豚白血病と診断した豚一例
- 3) 牛白血病ウイルスのリアルタイムPCR法の検討
- 4) 島根県内で流行している牛白血病ウイルスの遺伝子解析

## イノシシ解体処理における衛生対策のポイント

○佐々木真紀子<sup>1)</sup> 田原研司<sup>2)</sup> 吉本佑太<sup>1)</sup> 角森丈俊<sup>2)</sup> 和泉智美<sup>3)</sup> 古割公二<sup>4)</sup> 菅 美穂<sup>5)</sup>  
北脇由紀<sup>6)</sup> 柳楽大気<sup>7)</sup> 竹田宏樹<sup>8)</sup> 平田 克<sup>5)</sup>

1) 島根県食肉衛生検査所 2) 島根県薬事衛生課 3) 島根県松江保健所 4) 島根県雲南保健所  
5) 島根県出雲保健所 6) 島根県県央保健所 7) 島根県浜田保健所 8) 島根県益田保健所

**1. はじめに：**県内6か所のイノシシ処理施設（A～F）において、枝肉のふき取り検査を行い、枝肉洗浄までの工程における衛生対策ポイントについて検討したので報告する。

**2. 方法：**H27年10月からH28年1月に各施設に立ち入り、①と体の受け入れ、剥皮、洗浄の工程を確認した。②剥皮後及び洗浄後（実施する施設のみ）に枝肉の胸部と肛門部各100cm<sup>2</sup>をふき取り、ペトリフィルム（3M社）を用いて一般細菌数及び大腸菌群数を計測した。③Fでは、剥皮前についてもふき取り検査を実施した。④Eでは、銃による止め刺し部位についても検査した。⑤検査結果について、独自に策定した評価基準（a：Ideal value、b：Standard、c：Warning、d：Alert）を用いて評価し、衛生対策のポイントをまとめた。

**3. 結果：**（1）解体処理：と体受け入れ時には全ての施設で異常の有無を確認していた。また、全ての施設で剥皮前洗浄を行っていたが、Fでは洗浄後に床に降ろして移動させており、汚染を受ける可能性が考えられた。Aでは、洗浄にオゾン水を使用していた。と体を吊って剥皮する施設はA、B、Dで、ステンレス製の台で行う施設はCとE、Fは木製の台を使用していた。剥皮は数種の刀を用いるが、Aのみデハイダーを使用し、非常に短時間で作業を終えていた。刀の熱湯消毒はA、Eで実施され、B、C、D、Fでは実施していなかった。トリミング後の洗浄はB、C、Dで実施していた。洗浄後、水分をとるためにCでは専用冷蔵庫があり、他の施設では、キッチンペーパーやタオルで拭く、水分をとらず直ちに脱骨作業に入る、などさまざまであった。

（2）ふき取り検査：剥皮後のふき取りはBを除く5施設で行い、一般細菌数、大腸菌群数ともaまたはb評価の施設はA、C、Eであった。洗浄後のふき取りはAとEを除く4施設で行い、一般細菌数、大腸菌群数ともaまたはb評価の施設はB、C、Dの3施設であった。

**4. 考察：**衛生対策のポイントとして①受け入れ時の異常確認②と体洗浄③服装④剥皮の方法⑤器具の消毒⑥背割り⑦剥皮後の洗浄⑧水分除去⑨枝肉の消毒⑩枝肉の冷蔵保管の10点が重要であると推察され、これらのポイントについて、より衛生的な処理が行われるよう今後検討する必要がある。

## B 細胞性豚白血病と診断した豚一例

島根県食肉衛生検査所

○吉本佑太、佐々木真紀子、大森一郎、藤田葉子、杉橋章義

1. はじめに：県内と畜場に搬入された肉豚に豚白血病の発症が認められた。豚白血病は解剖学的及び免疫組織化学的にその病型が分類され、それらには関連性が認められている。しかし、本症例では従来と異なる病型の組み合わせが得られたため、その概要について報告する。

2. 材料および方法：平成27年11月2日に搬入された雌の肥育豚6ヶ月齢の肝臓、肝リンパ節、及び縦隔リンパ節を採取し、常法に従いパラフィン包埋切片を作製後、ヘマトキシリン・エオジン染色、ギムザ染色、CD3、CD79 $\alpha$ に対する抗体を用いた免疫組織化学染色を実施した。

3. 成績：(1) 肉眼所見：肝臓表面に球状白色結節(直径2~10mm)を多数認め、辺縁部ではそれらが癒合し集塊を形成しているのが確認された。白色結節は硬固で若干の弾力性を有し、断面は膨隆していた。実質にも白色結節は多数認められ、出血巣も散見された。肝リンパ節は白色を呈し、不整形に腫大しており(直径90mm)、やや柔軟で弾力性を有していた。断面はやや膨隆、胞巣状を呈し、出血巣が認められた。縦隔リンパ節も白色を呈し、不整形に腫大しており(直径50mm)、やや硬固で弾力性に富んでいた。断面は膨隆し、出血巣が認められた。(2) 組織所見：肝臓実質では固有構造が残存していたが、結節部では肝細胞が腫瘍細胞に置換されていた。肝リンパ節では固有構造が一部残存していたが、大部分は腫瘍細胞によって置換されていた。また、腫瘍細胞の浸潤領域の周辺に、壊死巣や出血巣が認められた。縦隔リンパ節では固有構造がほとんど消失しており、広範囲に亘って腫瘍細胞に置換されていた。また、肝リンパ節と同様に、腫瘍細胞の浸潤領域周辺に壊死巣や出血巣が認められた。腫瘍細胞は多辺形もしくは不定形の核を有し、核内には複数の核小体が認められた。また、細胞質に乏しく軽度から重度の異型性(大小不同、核異型、多核細胞等)、及び複数の核分裂像が認められた。これらの腫瘍細胞はCD3陰性、CD79 $\alpha$ 陽性であった。(3) 診断：B細胞性豚白血病(縦隔型)。(4) 行政処分：全廃棄。

4. 考察：縦隔型の豚白血病は通常T細胞性であるといわれているが、B細胞性を示す病型があることが本症例から示唆された。豚白血病は依然として不明な点が多く、全国の食肉衛生検査所における診断法や処分法にも統一された基準がない。よって、病態の究明のみならず行政的な措置についても更なる検討が必要であると考えられる。

# 牛白血病ウイルスのリアルタイム PCR 法の検討

食肉衛生検査所 佐々木真紀子

## 1. はじめに

牛白血病は、リンパ節の腫大などの異常を示す疾病であり、牛白血病ウイルス (BLV) の感染による地方病性と原因不明の散発型に分類され、と畜検査で牛白血病と診断された際は、枝肉等は全廃棄処分とされる。牛白血病の診断は、病理組織検査や補助的診断法として受身赤血球凝集反応を利用した血清抗体価測定が行われていたが、当該キットが販売中止となった。その他の診断法として、ELISA 法、PCR 法、リアルタイム PCR 法が報告されている。ELISA 法は、検体数が少ないとコスト高になってしまう。リアルタイム PCR 法は、通常、血液サンプルの核酸精製と PCR 反応液を調整した後、リアルタイム PCR を行うが、当所ではより簡便な検査法が求められている。一方、近年の PCR 試薬の開発によって、未精製の血液から BLV 遺伝子を検出する PCR 法が報告された (Nishimori. et al., Takeshima et al.)。しかし、未精製の血液を使用したリアルタイム PCR 法の報告はなく、今回、リアルタイム PCR 装置を用いて検査の簡便化について予備検討を行った。

## 2. 材料と方法

(1) 未精製血液サンプルを用いたリアルタイム PCR 試薬の性能評価

①BLV 未感染の牛血液 (EDTA 含む) に BLV の pol 遺伝子を含むプラスミドを添加し、スパイクサンプル原液を調整した ( $10^5$  コピー/ $\mu$ L)。スパイクサンプル原液をさらに DW で段階希釈した。

②未精製サンプル対応の試薬として、KOD SYBR qPCR Mix (東洋紡) と Ampdirect plus (島津製作所) を使用した。これら 2 種類の試薬について、取扱説明書に従い反応液を調整後、陰性コントロール、陽性コントロール、スパイクサンプル (原液および段階希釈したサンプル) を添加し、リアルタイム PCR を行った。リアルタイム PCR 終了後、cycle threshold 値 (Ct 値) を算出し、2 種類の試薬の反応を比較した。

(2) リアルタイム PCR の検出下限と検量線

牛血液に上記のプラスミドを加え、 $10^6 \sim 10^0$  コピー/ $\mu$ L の 7 段階の濃度に調整した。さらに、これらを DW で 2 倍～10 倍希釈し、Ampdirect plus を用いたリアルタイム PCR を行った (Amp 法)。BLV 遺伝子を増幅検出できた最低濃度 (検出下限)、検量線から相関係数 ( $r^2$ ) と増幅効率を算出した。

(3) 牛白血病発症牛、病畜牛、健康牛の血液からの BLV 遺伝子の検出

牛白血病発症牛 (n=3)、病畜牛 (n=4)、健康牛 (n=3) の血液 (EDTA 含む) (合計 10 検体) を DW で希釈し、Amp 法を行った。さらに、これらの血液について DNA を精製後、CycleavePCR Reaction Mix (タカラバイオ) とウシ白血病ウイルス検出用 Probe/Primer/Positive control (タカラバイオ) を用いたリアルタイム PCR を行い、2 つのリアルタイム PCR の結果を比較した。

(4) 検査コストと検査時間の比較

Amp 法を含めて 4 種類の検査法 (受身赤血球凝集反応、ELISA 法、Cycleave PCR) について、検査コストや作業所用時間などを算出した。

### 3. 結果と考察

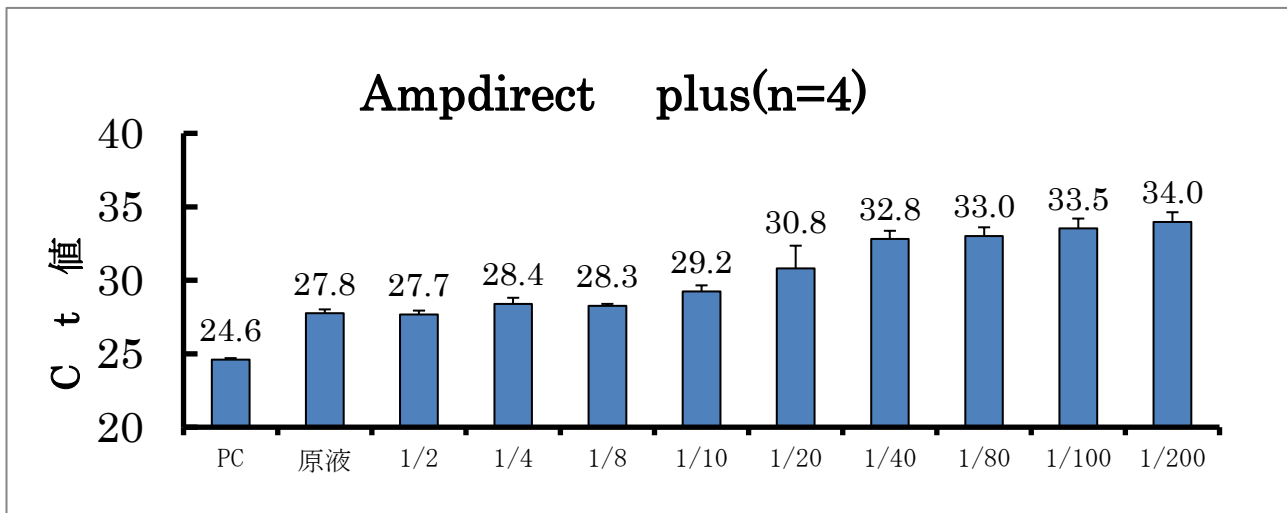
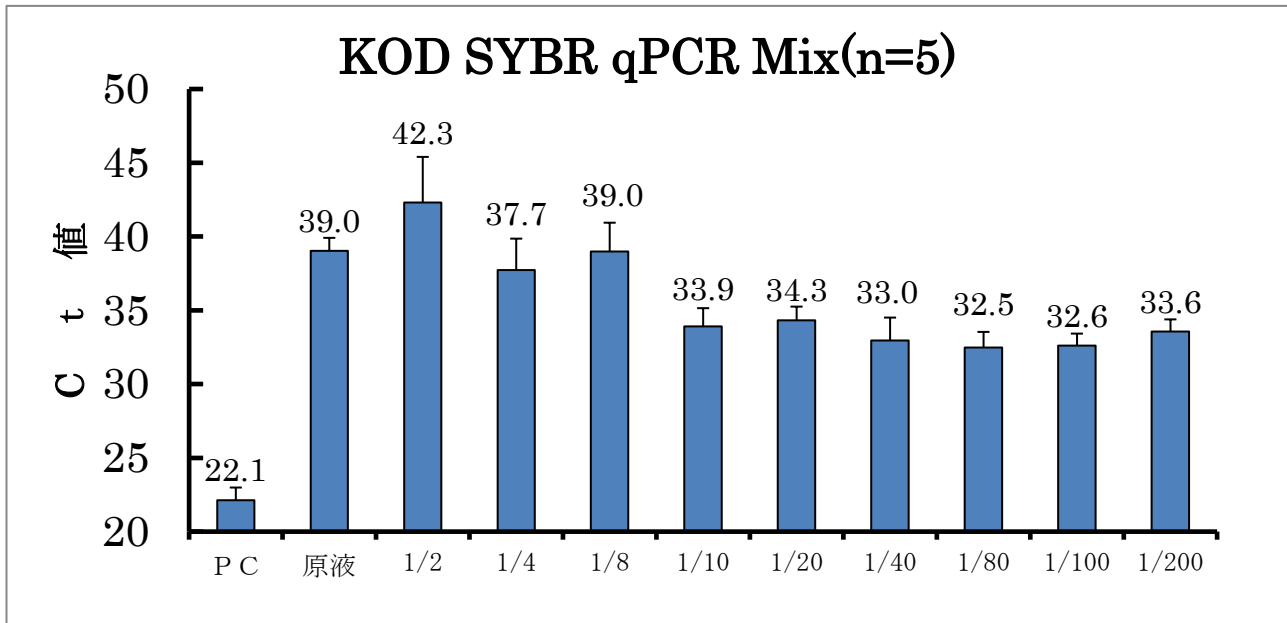


図1 2種類の反応試薬を使用したリアルタイムPCRのCt値

(1) 未精製血液サンプルを用いたリアルタイム PCR 試薬の性能評価 (図1)

KOD SYBR qPCR Mix (KOD 法) については、陽性コントロール (PC :  $10^5$  コピー/ $\mu$ L) の Ct 値の平均は 22.1 であった。血液原液~200 倍希釈の Ct 値の平均は 32.5~42.3 を示し、希釈段階が低いほど Ct 値は高い傾向が見られた。Amp 法については、陽性コントロール (PC :  $10^5$  コピー/ $\mu$ L) の Ct 値の平均は 24.6 であった。血液原液~10 倍希釈液は Ct 値の平均が 27.7~29.2 を示し、20 倍~200 倍希釈にかけて Ct 値は増加傾向にあった。Amp 法は、KOD 法と比較すると、全般的に Ct 値が低い傾向を示した。さらに血液原液~10 倍希釈液の群と PC との Ct 値の差は 3.1~4.6 であり、KOD 法と比較するとその差は小さかった。陽性コントロールとスパイクサンプル間の Ct 値の差が大きいほど標的 DNA の増幅が PCR 阻害物質によって抑制されていることを意味しているが、Amp 法は抑制の程度が小さく、PCR 阻害物質に対する抵抗性が強いと考えられた。

(2) リアルタイム PCR の検出下限と増幅効率

血液原液、2~10 倍希釈血液を使用した場合の Amp 法の検出下限、 $r^2$ 、増幅効率について、表 1 のとおり示した。血液の 2 倍または 4 倍希釈サンプルの検出下限は 10 コピー/ $\mu$ L、 $r^2$ は 0.998~0.999、増幅効率は 106.9%~108.3%であり、総合的に考えると、他のサンプルより結果が良好であった。

表 1 リアルタイム PCR の検出下限と増幅効率

	検出下限	相関係数 ( $r^2$ )	増幅効率
血液原液	$1 \times 10^2$	0.988	73.4%
2 倍希釈	$1 \times 10^1$	0.998	106.9%
4 倍希釈	$1 \times 10^1$	0.999	108.3%
8 倍希釈	$1 \times 10^2$	0.996	112.9%
10 倍希釈	$1 \times 10^3$	0.947	69.2%

(3) BLV 発症牛、病畜牛、健康牛の血液からの BLV 遺伝子の検出

Cycleave PCR と Amp 法の結果を表 2 に示した。2 法とも 5 検体から BLV 遺伝子を検出し、2 法の結果は一致した。BLV 遺伝子の定量結果については、No.8 のサンプルが 59 コピー/ $\mu$ L であった。少なくとも、実際のサンプルにおいて、Amp 法は 59 コピー/ $\mu$ L までは検出可能であることが確認できた。



表2 発症牛、病畜牛、健康牛の血液からの BLV 遺伝子の検出

検体番号	品種	性別	月齢	発症牛/ 病畜牛/健康牛	Cycleave PCR(Takara) BLV遺伝子 コピー数/μL		Ampdirect PCR (血液2倍希釈)	Ampdirect PCR (血液4倍希釈)
					+		+	
1	ホルスタイン	雌	29ヶ月齢	発症牛	+	193	+	+
2	ホルスタイン	雌	44ヶ月齢	発症牛	+	2198	+	+
3	ホルスタイン	雌	67ヶ月齢	発症牛	+	200	+	+
4	黒毛和種	去勢	24ヶ月齢	病畜牛	-	-	-	-
5	ホルスタイン	雌	36ヶ月齢	病畜牛	-	-	-	-
6	ホルスタイン	雌	38ヶ月齢	病畜牛	-	-	-	-
7	ホルスタイン	雌	33ヶ月齢	病畜牛	+	1503	+	+
8	黒毛和種	雌	25ヶ月齢	健康牛	+	59	+	+
9	黒毛和種	雌	28ヶ月齢	健康牛	-	-	-	-
10	黒毛和種	雌	25ヶ月齢	健康牛	-	-	-	-

(4) 検査コストと所要時間の比較

Amp 法は1検体あたりのコストが215円、作業所要時間が25分であり、他の検査法と比較して、低コストで作業時間が短いと考えられた(表3)。

表3 BLVの各種検査法のコストと所要時間の比較

	牛白血病抗体 アッセイキット (日生研)	牛白血病エライザキット (JNC)	Cycleave PCR法 (タカラバイオ)	Ampdirect法 (島津製作所)
使用する 主な試薬 (定価)	¥33,000 牛白血病抗体 アッセイキット  <b>販売中止</b>	¥109,900 牛白血病エライザキット	¥68,000 ●ウシ白血病ウイルス検出用 Probe/Primer/Positive control (¥31,000) ●CycleavePCR Reaction Mix SP (¥17,000) ●NucleoSpin Blood QuickPure (¥20,000)	¥109,450 ●Ampdirect plus酵素セット (¥35,000) ●サイバークリーンI (¥42,000) ●プライマー (¥3,000) ●陽性コントロール (¥29,450)
コスト(※1) (1検体あたり)	¥6,600	¥3,663	¥3,400	¥215
作業開始～判定 までの所要時間	定量:2時間30分 定性:1時間30分	定性:2時間10分	定性:1時間28分～1時間33分	定性:2時間30分
作業時間	30分	30分	45分～50分	25分 5分～10分以内(※2)

※1 消耗品費用は積算に含めていません

※2 冷凍ストックしたPCR反応液を使用した場合

4. 結論

今回の結果から未精製血液サンプルを用いたリアルタイム PCR では、Amp 法が簡便に BLV を検出できる有用な方法となる可能性が示唆された。基本的に当所では、未発症の感染牛ではなく、BLV が血液に一定量以上存在している発症牛を検査対象としていることから、Amp 法の検出感度で十分であると現時点では考えている。さらに、データ数を蓄積するとともに、Amp 法の作業の簡便化と時間の短縮化を進めるため、事前に PCR8 連チューブなどに PCR 反応液を分注したものを冷凍ストックし、検査の際には、冷凍ストック反応液を必要数とりだし、希釈血液を加えて、リアルタイム PCR 装置にセットするという3段階の工程を検討中である。

今後のさらなる検討によって、牛白血病の精密検査の負担軽減と効率化につなげたいと考えている。

## 島根県内で流行している牛白血病ウイルスの遺伝子解析

島根県食肉衛生検査所 ○吉本佑太、佐々木真紀子、大森一郎、川瀬 遼、藤田葉子、杉橋章義

### はじめに

牛白血病は体表及び体腔内リンパ節の腫大、さらに各種臓器における腫瘍形成等を呈す疾患である。牛白血病ウイルス(bovine leukemia virus:以下「BLV」)の感染により引き起こされる地方病性(成牛型)と原因不明の散発型(子牛型、胸腺型、皮膚型)に大別され、中でも地方病性牛白血病(enzootic bovine leucosis:以下「EBL」)は、近年全国的にその発生病数が増加傾向である。また、現在のところ牛白血病に対する有効なワクチンや治療法は存在せず、届け出伝染病に指定されているため、と畜場において牛白血病と診断された際には全廃棄処分となる。よって、畜産農家や酪農家にとって、経済的な損失は甚大である。EBLの全国的な発生病数増加を背景に、近年BLVの分子疫学的解析が重要視されており、各都道府県においても遺伝子型別の解析が積極的に行われ、現在のところ1~9型の存在が国内外で確認されている。

全国の傾向と同様に、当所における牛白血病を理由とした全廃棄処分牛の数は近年増加傾向にあるが、その分子疫学的な解析は十分に行われておらず、昨今島根県内で流行しているBLVの遺伝子型は不明確である。そこで、BLVのエンベロープ遺伝子の塩基配列を解析することによって、近年島根県内で流行しているBLVの遺伝子型を明らかにするとともに、遺伝子型と飼育歴等との関連性について調査を行った。よって今回、その概要について報告する。

### 材料及び方法

#### [1] 調査対象

症 例：2014年4月~2017年1月に当所所管と畜場に搬入され、牛白血病と診断した21頭(メス18頭、去勢3頭)。畜種はホルスタイン16頭、黒毛和種4頭、交雑種1頭で、月齢は19~129。搬入状況は一般畜12頭、病畜9頭。牛白血病の診断は、生体検査、解体前検査、及び解体後検査から、当所内規に従い総合的に行った。

検 体：ホルマリン固定後にパラフィン包埋された腫瘍。

#### [2] 方法

BLV抽出：上記検体からのDNA抽出は、市販のDNA抽出キット(NucleoSpin DNA FFPE XS,タカラバイオ㈱,滋賀)を用い、付属のマニュアルに従い実施した。

遺伝子解析：抽出したDNAについて、BLVのエンベロープ遺伝子を標的としたnested PCR法により、プロウイルス遺伝子の検出を行った。1st PCRは、Outer primer (env5032及びenv5608r)を用いて、95℃ 30秒,62℃ 30秒,72℃ 1分を40サイクル実施した。続いて、2nd PCRはInner primer (env5099及びenv5521r)を用いて、95℃ 30秒,70℃ 30秒,72℃ 1分を40サイクル実施した。また、1st,2ndともに、PCR酵素にはTaKaRa Ex Taq (タカラバイオ㈱,滋賀)を使用し、2%アガロースゲル電気泳動によりPCR増幅産物(1st PCR: 598塩基対、2nd PCR: 444塩基対)の有無を確認した。2nd PCR産物をタカラバイオ㈱へInner primer (env5099及びenv5521r)とともに送付し、遺伝子配列の解析を依頼した。タカラバイオ㈱から送付された塩基配列データを基に、系統解析ソフト(MEGA6)を用いて遺伝子系統解析を行った。

遺伝子型と飼育履歴：調査対象牛の飼育履歴から出生地及び飼育地を確認し、その地域で流行しているBLV遺伝子型を調査した。

遺伝子型と腫瘍形成部位：精密検査記録を基に、調査対象牛における腫瘍形成部位と遺伝子型との相関性について調査した。

遺伝子型と血清抗体価：精密検査記録を基に、調査対象牛における血清抗体価と遺伝子型との相関性について調査した。

### 成績

#### [1] BLV検出結果及び遺伝子型別

パラフィン包埋切片からDNA抽出を試みた21頭のうち、2頭では1st PCRで遺伝子の増幅が認められなかったため、これ以降の遺伝子型別検査は実施しなかった。また、遺伝子型別を実施した19頭のうち、18頭が1型に、1頭が3型に感染していたことが判明した。3型は、2014年度に牛白血病と診断した黒毛和種のメスから検出された。

1st PCRで遺伝子の増幅が認められなかった2頭のうち1頭において、後日新規に設計したprimerを用いて行ったPCRによって、エンベロープ遺伝子の増幅が認められたため、今後改めて遺伝子型の調査を行う予定である。

## [2] 遺伝子解析

遺伝子解析の結果、調査対象牛が感染していた1型のBLVはA~Hの8つ(A:7頭、B:3頭、C及びD:2頭、E~H:1頭)のサブグループに細分化された。

## [3] 遺伝子型と飼育履歴

県外での飼育歴があった調査対象牛8頭の内6頭からBLV遺伝子が検出され、遺伝子型は全て1型であり、その県外における飼育地の内訳は、北海道(4頭)、沖縄県(1頭)、及び徳島県(1頭)であった。北海道及び沖縄県では過去に1型が報告されており、今回の検出結果と一致していた。

また、県内のみで飼育された牛13頭全てからBLV遺伝子が検出され、その内訳は1型(12頭)、3型(1頭)であった。島根県内において、過去に1~4型の遺伝子型が報告されているが、今回は2及び4型は検出されなかった。

1型と判定された18頭は、地理的に近接した地域(7つの市町村:ア~キ)内において飼育期間の一部が(ア~エ市:それぞれ2頭ずつ、オ市及びカ市3頭、キ市:4頭)重なっていた。なお、エ~キ市で飼育期間が重なっていた牛の中には、遺伝子配列が完全に一致している個体もいた。

また、上記キ市内の農場(以下:Z農場)で同時期に飼育されていた3頭の牛から、いずれも1型の遺伝子型が検出され、その内2頭は遺伝子配列も完全に一致していた。

調査対象牛の産地を基にした地域ごとの遺伝子分布状況から、島根県内に広く1型が分布しており、同一の遺伝子配列をもったBLV(サブグループA~D)も同様に、県内に広く分布していることがわかった。

## [4] 遺伝子型と腫瘍形成部位

腫瘍の形成部位はリンパ節のみに限局するものから、全身諸臓器に多発するものまで様々であった。また、好発部位は1型と3型で一致しており、遺伝子型による差異は認められなかった。なお、その発生頻度は内臓リンパ節、躯幹リンパ節、心臓の順に多かった。

## [5] 遺伝子型と血清抗体価

BLV血清抗体価検査を21頭中18頭で行っており、その値は64~2048倍超(平均値:1355倍、中央値:2048倍)であった。また、3型の牛の血清抗体価は2048倍超であり、3型を除いた17頭における血清抗体価の各値(平均:1313倍、中央値:2048倍)と3型を含めた18頭における各値に差異は認められなかった。

また、1st PCRで遺伝子の増幅が認められなかった2頭の抗体価はそれぞれ、512倍、1024倍であった。

## 考察

島根県内の農場に飼育歴のある牛白血病発症牛21頭についてBLV遺伝子の検出を試みたところ、20頭が陽性であった。よって、これらの牛がEBLであった可能性が示唆されるとともに、島根県内においてBLVが広く流行していることがわかった。今年度の食肉衛生技術研修会における農林水産省動物衛生課の発表によれば、牛白血病の日本国内での発生頭数は2003年頃から急増し始め、この10年で約4倍にまで増加した。当所において牛白血病発症牛と診断した牛の数も、過去5年間で約2倍にまで増加しており、島根県でも同様に牛白血病の発生が増加傾向にあると考えられる。今回の結果から、県内で発生した牛白血病のほとんどがBLV感染に起因すると考えられるため、牛白血病発症牛を減少させるためには、県内におけるBLVの感染に対する措置が必要である。

島根県内で流行しているBLVは1型が最も多く、次いで3型であることが今回の調査で明らかとなった。また、全国的なBLVの遺伝子型分布状況は、地域によって多少の違いはあるものの、1及び3型が最も多いと報告されており、これは今回の結果とほぼ一致している。一方、島根県では過去に2及び4型の検出報告があるが、今回は検出されなかった。その理由を解明するため、今後も調査を継続し、症例数を増やす必要があると考えられる。

1型が検出された18頭の内9頭はそれぞれ1つの農場で生涯飼育されており、それらの感染場所が飼育農場以外である可能性は極めて低く、農場内においてBLVの伝播が起こったと考えられる。すなわち、感染したBLVが上記農場内において蔓延しており、ひいてはその所在地においても蔓延していた可能性が示唆された。また、遺伝子配列が一致していたエ~カ市の牛が別々の農場で飼育されていたことから、それぞれの地域で特定のBLVが蔓延していた可能性が考えられる。さらに、地理的に近接している農場間において同一ウイルスの伝播が起こっている可能性が示唆されたが、その原因は現時点において不明であるため、今後さらなる調査が必要である。一方、Z農場で同時期に飼育されていた2頭の牛で遺伝子配列が完全に一致

していたことから、Z農場内においてウイルスの蔓延及び伝播が起こっていたと考えられる。

腫瘍形成部位及び血清抗体価の結果と遺伝子型との関連については、検出された遺伝子型のほとんどが1型であったため、十分に考察することができなかった。それらの関連性を明らかにするためには、今後さらなる調査が必要である。

1st PCR が不可能であった2頭については、血清抗体価がそれぞれ、512倍、1024倍であったことや病組織学的検査結果から、2頭とも牛白血病を発症していた可能性が高いと思われる。すなわち、2頭がBLV非感染であったため1st PCR が不可能であった可能性は低いと考えられる。そこで、上記2頭において1st PCR が不可能であった理由として、次の2つのようなことが考えられる。1つ目は、プライマーの結合不全が起こった可能性である。BLV 遺伝子に変異がおこると、DNA の特定領域へのプライマーの結合が上手くいかず、遺伝子の増幅ができない。2つ目は、PCR 効率が低下していた可能性である。PCR 阻害物質の残存やホルマリン固定を原因とした組織内DNA の切断化及び化学的修飾が、PCR 効率を低下させることが知られている。今後、これらの検体については、追加の検討を行う予定である。

今回調査を行った牛21頭中19頭のBLV 遺伝子型を特定したことにより、昨今の島根県内におけるBLV の分布状況の概要が推察されたとともに、PCR による遺伝子型特定の有用性が示唆された。また、それによって県内におけるBLV 感染ルート及びBLV が蔓延している可能性のある農場等を推定することができた。今年度の食肉衛生技術研修会における農林水産省動物衛生課の発表によれば、そのような農場等におけるEBL の感染及び発症状況を把握し、感染牛の摘発淘汰を迅速に行うことで、EBL の清浄化が可能であることが県外複数の農場で実証されており、それは島根県の農場においても可能であるはずである。よって、その目標を達成すべく、当所のみならず各地の行政機関及び農業共済等との連携強化が、今後重要になってくると思われる。

2. 年度別調査・研究発表演題収録表（過去10年間）

年度	NO	演題及び発表者名	学会名
18	138	と畜場搬入豚にみられた豚赤痢について 三代 由紀	島根県獣医学会 日本獣医公衆衛生学会（中国）
	139	牛の白血病 角森 丈俊	島根県獣医学会
	140	と畜申請時における病歴及び投薬歴の申告状況と投与薬剤の残留モニタリング検査について 倉瀧 英人, 廬原 美鈴	島根県獣医学会 日本獣医公衆衛生学会（中国）
	141	牛の黒色結節 角森 丈俊	全国食肉衛生検査所協議会病理部会
	142	島根県食肉公社の踏込消毒槽汚染状況調査 三代 由紀	島根県食品衛生監視員研究発表会
	143	牛の第一胃漿膜面にできたポリープ 角森 丈俊	島根県食品衛生監視員研究発表会
	144	残留農薬等のポジティブリスト制度に対応した残留抗生物質検査体制の検討 倉瀧 英人, 廬原 美鈴	島根県食品衛生監視員研究発表会
19	145	牛の第一胃漿膜面にできたポリープ 廣江 純一郎	島根県獣医学会 日本獣医公衆衛生学会（中国）
	146	と畜場内の踏み込み消毒槽汚染調査 北脇 由紀	島根県獣医学会 日本獣医公衆衛生学会（中国）
	147	迅速スクリーニング検査キットを用いた残留抗生物質の系統推定法の検討 倉瀧 英人	島根県食品衛生監視員研究発表会
	148	敗血症と診断した牛の症例 廣江 純一郎	島根県食品衛生監視員研究発表会
20	149	迅速スクリーニング検査キットを用いた残留抗生物質の系統推定法の検討 倉瀧 英人	島根県獣医学会 日本獣医公衆衛生学会（中国）
	150	敗血症と診断した牛の症例 廣江 純一郎	島根県獣医学会 日本獣医公衆衛生学会（中国）
	151	「プレミテスト」による残留抗菌性物質の系統推定法 倉瀧 英人	島根県食品衛生監視員研究発表会
	152	豚の増殖性腸炎 昌子 暢賢	島根県食品衛生監視員研究発表会
	153	牛白血病2例 廣江 純一郎	島根県食品衛生監視員研究発表会
21	154	「プレミテスト」による残留抗菌性物質の系統推定法 古市 満, 倉瀧 英人	島根県獣医学会 日本獣医公衆衛生学会（中国） 日本獣医公衆衛生学会（全国）
	155	豚の増殖性腸炎 昌子 暢賢	島根県獣医学会 日本獣医公衆衛生学会（中国）
	156	牛白血病2例 廣江 純一郎	島根県獣医学会 日本獣医公衆衛生学会（中国）
	157	市販の迅速スクリーニングキットを用いた残留抗菌性物質の系統推定 古市 満	島根県食品衛生監視員研究発表会
	158	牛枝肉のGFAP残留調査 中村 桃子, 大森 一郎	島根県食品衛生監視員研究発表会

年度	NO	演題及び発表者名	学会名
21	159	食肉処理施設における金属異物の混入とその対策 廣江 純一郎, 昌子 暢賢	島根県食品衛生監視員研究発表会
22	160	牛枝肉のGFAP残留調査 中村 桃子, 大森 一郎	島根県獣医学会
	161	食肉処理施設における金属異物の混入とその対策 廣江 純一郎, 昌子 暢賢	島根県獣医学会 日本獣医公衆衛生学会 (中国)
	162	敗血症の判定に関する一考察 昌子 暢賢	島根県食品衛生監視員研究発表会
	163	と畜場における豚枝肉のクロストリジウム属菌汚染調査 北脇 由紀, 廣江 純一郎	島根県食品衛生監視員研究発表会
23	164	敗血症の判定に関する一考察 昌子 暢賢	島根県獣医学会 日本獣医公衆衛生学会 (中国)
	165	と畜場における豚枝肉のクロストリジウム属菌汚染調査 北脇 由紀, 廣江 純一郎	島根県獣医学会 日本獣医公衆衛生学会 (中国)
	166	豚のと畜検査における尿毒症事例 橋本 真紀子	島根県食品衛生監視員研究発表会
	167	と畜場で認められた豚のリンパ腫の一例 山本 裕子	島根県食品衛生監視員研究発表会
24	168	豚のと畜検査における尿毒症事例 橋本 真紀子	島根県獣医学会 日本獣医公衆衛生学会 (中国)
	169	と畜場で認められた豚のリンパ腫の一例 山本 裕子	島根県獣医学会 日本獣医公衆衛生学会 (中国)
	170	牛枝肉における腸内細菌科菌群汚染実態調査 中村 祥人	島根県食品衛生監視員研究発表会
	171	当所での残留抗菌性物質スクリーニング検査における試み 尾田 英之	島根県食品衛生監視員研究発表会
25	172	牛枝肉における腸内細菌科菌群汚染実態調査 中村 祥人	島根県獣医学会 日本獣医公衆衛生学会 (中国)
	173	当所での残留抗菌性物質スクリーニング検査における試み 尾田 英之	島根県獣医学会 日本獣医公衆衛生学会 (中国)
	174	牛の心臓血管筋腫 宮本 毅	島根県食品衛生監視員研究発表会
	175	牛枝肉の汚染部位の推定と菌数低減に向けた検討 藤田 葉子	島根県食品衛生監視員研究発表会
	176	プレミテストを用いたブタにおける残留抗菌性物質検査 阪脇 廣美	島根県食品衛生監視員研究発表会
26	177	牛の心臓血管筋腫 宮本 毅	島根県獣医学会 日本獣医公衆衛生学会 (中国) 全国食肉衛生検査所協議会中国・ 四国ブロック技術研修会
	178	牛枝肉の汚染部位の推定と菌数低減に向けた検討 藤田 葉子	島根県獣医学会 日本獣医公衆衛生学会 (中国)
	179	プレミテストを用いたブタにおける残留抗菌性物質検査 阪脇 廣美	島根県獣医学会 日本獣医公衆衛生学会 (中国)

年度	NO	演題及び発表者名	学会名
26	180	と畜場搬入牛における腸管出血性大腸菌（026, 0111, 0157）保有状況と分離株の疫学的解析 中村 祥人	島根県食品衛生監視員研究発表会
	181	プレミテストによる残留抗菌性物質検査—ブタおよびウシ廃棄検体に認めた陽性事例— 阪脇 廣美	島根県食品衛生監視員研究発表会
27	182	島根県内のと畜場搬入牛における腸管出血性大腸菌保有状況と分離株の分子疫学的解析 中村 祥人(前、食肉衛生検査所)	島根県獣医学会 日本獣医公衆衛生学会（中国） 全国食肉衛生検査所協議会 中国・四国ブロック技術研修会
	183	島根県内のと畜場に搬入されたウシの SFTSV に対する抗体保有状況 田原 研司	島根県獣医学会 日本獣医公衆衛生学会（中国）
	184	特殊染色を利用したヒアルロン酸同定法に関する考察 ～『牛の悪性中皮腫』診断をめぐって～ 宮本 毅	全国食肉衛生検査所協議会 中国・四国ブロック技術研修会
	185	イノシシ解体処理における衛生対策のポイント—Vol.1 と体受入から剥皮工程（脱骨工程前）まで— 佐々木 真紀子	島根県食品衛生監視員研究発表会
	186	豚白血病と診断した豚1例 食肉衛生検査所 吉本 佑太	島根県食品衛生監視員研究発表会
28	187	イノシシ解体処理における衛生対策のポイント 佐々木 真紀子	島根県獣医学会 日本獣医公衆衛生学会（中国）
	188	豚白血病と診断した豚1例 食肉衛生検査所 吉本 佑太	島根県獣医学会 日本獣医公衆衛生学会（中国）
	189	牛白血病ウイルスのリアルタイムPCR法の検討 佐々木 真紀子	島根県食品衛生監視員研究発表会
	190	島根県内で流行している牛白血病ウイルスの遺伝子解析 吉本 佑太	島根県食品衛生監視員研究発表会

# 参 考 资 料



1. 島根県手数料条例（抜すい）（平成28年4月1日現在）

（手数料の納付及び額）

第2条 別表の中欄に掲げる者は、手数料を納付しなければならない。この場合において、当該手数料の金額は、同表の右欄に特別の計算単位の定めのあるものについてはその計算単位につき、その他のものについては1件につきそれぞれ同欄に定める額とする。

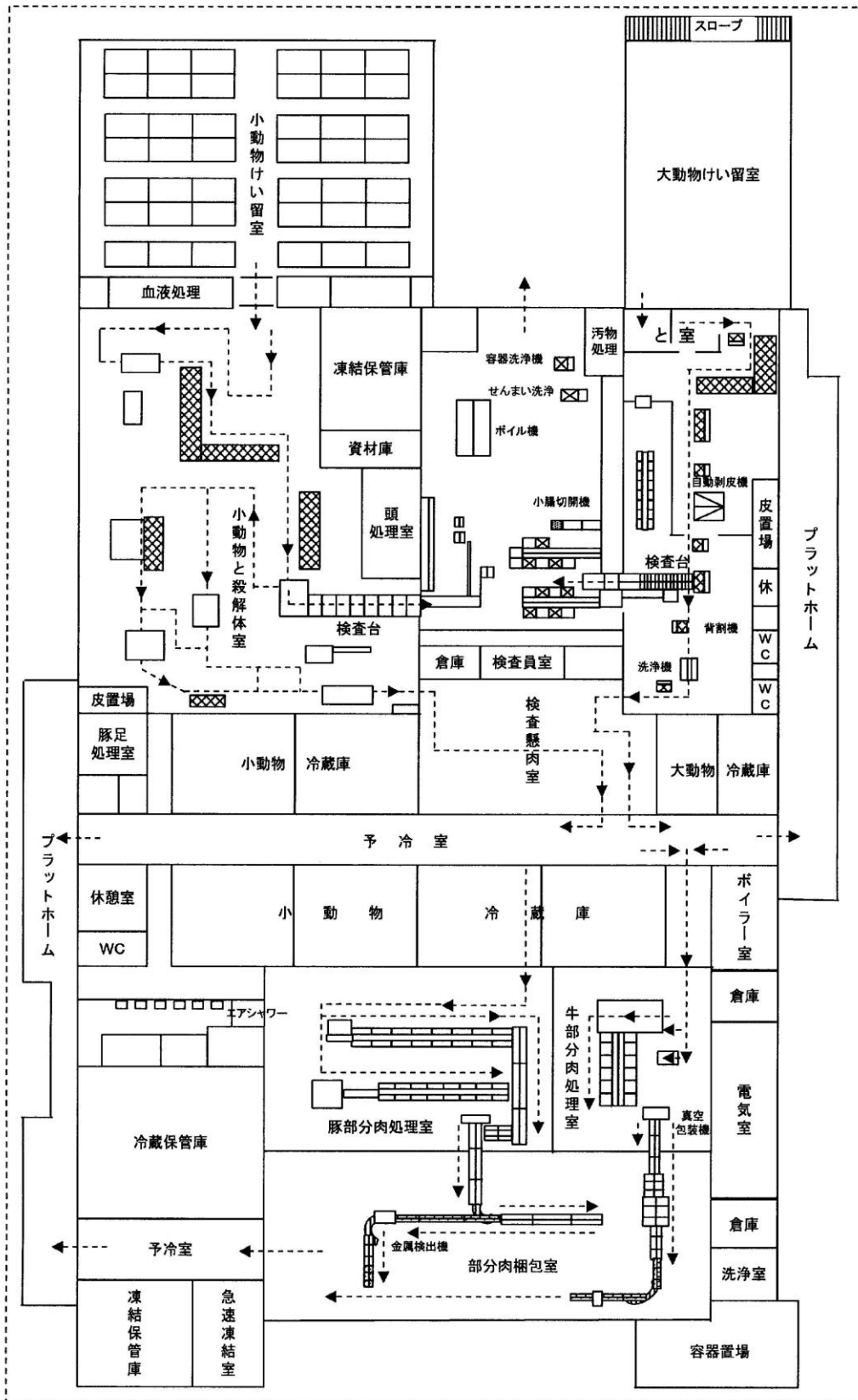
別表

手数料の種別	手数料を納めなければならない者	手数料の額
29 と畜場法関係手数料	(3)法第14条第1項から第4項までの規定に基づく獣畜のとさつ又は解体の検査を受けようとする者	
	ア 牛（犢とくを除く。）又は馬（ウを除く。）	900円
	イ その他のもの（ウを除く。）	430円
	ウ 病畜	1,570円

2. 株式会社島根県食肉公社施設の概要・配置図

施設の概要	○敷地面積	71,000㎡	
	○施設能力	①と畜能力	
		小動物のみと畜の日	
		1日豚650頭	
		大動物と直列と畜の日	
		1日豚462頭、牛47頭(BSE検査個体管理)	
		②カット能力	1日豚400頭、牛13頭
		③ 冷凍・冷蔵能力	
		枝肉	豚975頭、牛138頭
		部分肉	冷蔵73.5t、冷凍37.5t
		内臓	冷凍19.2t
	○給水量	1000t	
	○汚水処理施設	800t	
	○建築物	①本館棟	6,251㎡
		②代金精算棟	476㎡
		③厚生棟	644㎡
		④病畜棟	193㎡
		⑤汚物棟	51㎡
		⑥守衛所	37㎡
		⑦車庫	100㎡（建築面積 7,755㎡）

3. 株式会社島根県食肉公社と畜場施設概要図



アクセスと案内図



至浜田

〒699-2212

島根県大田市朝山町仙山 1677-2

**島根県食肉衛生検査所**

TEL (0854) 85-8011

FAX (0854) 85-8012

<http://www.pref.shimane.lg.jp/syokuken/>