

山口獣医学雑誌

第 19 号

1 9 9 2 年 11 月

山口県獣医学会

THE YAMAGUCHI JOURNAL OF VETERINARY MEDICINE

No. 19

November 1992

THE
YAMAGUCHI PREFECTURAL ASSOCIATION
OF
VETERINARY MEDICINE

山 口 県 獣 医 学 会

編 集 委 員 会

阿部 敬一 鹿江 雅光 田形 弘
牧田 登之 山縣 宏*

(A B C 順 : *編集委員長)

寄 稿 者 へ

山口獣医学雑誌は、山口県獣医学会の機関誌として、毎年1回発刊される。雑誌は、獣医学、人医学、生物学、公衆衛生学およびこれらの関連領域のすべての問題について、原著、総説、短報、記録および資料、等々を登載する。

原稿は、正確に書かれた日本文、英文、独文のいずれでも受理するが、この場合、英文と独文の原稿は、簡潔に要約した日本文抄録を添付すること。

原稿は、郵便番号 754 山口県吉敷郡小郡町下郷東蔵敷3-1080-3, 山口県獣医師会館内, 山口県獣医学会事務局あてに送付すること。

THE YAMAGUCHI PREFECTURAL ASSOCIATION OF VETERINARY MEDICINE

EDITORIAL COMMITTEE

Keiichi ABE Masamitsu KANOE Hiroshi TAGATA
Takashi MAKITA Hiroshi YAMAGATA*

(in alphabetical order : *Editor in chief)

NOTICE TO AUTHORS

The Yamaguchi Journal of Veterinary Medicine is an official publication of the Yamaguchi Prefectural Association of Veterinary Medicine.

The Journal is published annually. The Journal publishes original articles, reviews, notes, reports and materials, dealing with all aspects of veterinary medicine, human medicine, biology, public health and related fields.

Manuscripts written in correct Japanese, English or German are accepted ; those in English or German should be accompanied by Japanese summaries.

Manuscripts should be sent to the Editorial Office, *The Yamaguchi Journal of Veterinary Medicine*, The Yamaguchi Prefectural Association of Veterinary Medicine, 3 - 1080 - 3, Higashikurashiki, Shimogo, Ogori Town, Yoshiki County, Yamaguchi Prefecture, 754 Japan.

山口獣医学雑誌 第19号 1992年

The Yamaguchi Journal of Veterinary Medicine No.19 November 1992

目 次

総 説

Listeria monocytogenes とリステリア症
勝部泰次・丸山総一…………… 1～24

論 説

ヒトの腸炎患者から分離された *Salmonella typhimurium* のプラスミド プロフィールについて
富田正章・松崎静枝・片山 淳・遠藤隆二・宮村恵宣……………25～30

dBASE を基にしたパソコンソフトによる犬糸状虫症駆虫薬投与記録の管理
比留木武雄・福田好博……………31～58

米国の乳業における受精卵（胚）移植の現況〔英文〕
ハイジ山本……………59～62

インドネシアの乳牛の衛生問題〔英文〕
スプロント プロジヨハリヨノ……………63～66

オーストラリアの肉牛生産のための双仔生産について〔英文〕
J. F. ウイルキンス・D. W. ヘネシー・L. T. カミンズ
M. A. ヒラード ……………67～72

馬の胚移植〔英文〕
小栗紀彦……………73～78

空輸した受精卵による羊の胚移植〔英文〕
柏原孝夫……………79～88

附 録

投稿規定……………89

山口県獣医師会学会規則……………90

山口獣医学雑誌編集内規……………90

会関係事業・刊行物……………(奥付掲載ページ)

English contents are available in a reverse cover in this issue.

総 説

Listeria monocytogenes と リステリア症

勝 部 泰 次*・丸 山 総 一*

[受付: 1992年10月30日]

REVIEW

LISTERIA MONOCYTOGENES AND LISTERIOSIS

Yasuji KATSUBE and Souichi MARUYAMA

Laboratory of Veterinary Public Health, College of Agriculture and Veterinary Medicine,
Nihon University, 1866, Kameino, Fujisawa City, Kanagawa Prefecture, 252 Japan

[Received for publication: October 30, 1992]

Recently much attention has been given to Listeriosis as food-borne zoonoses. Between 1948 to 1990, the occurrence of 681 human cases and 279 animal cases, including 84 cattle, 135 sheep, 50 goats, 9 pigs and 1 horse, was recorded in Japan. Most of the cases were sporadic, except for 3 outbreaks in sheep (19, 21 and 26 cases) and 2 in goats (3 and 24 cases). In this article, the authors review the bacteriology of *Listeria monocytogenes* and related organisms, and their distribution in animals, man, food, and others, and the prevalence of Listeriosis in Japan.

リステリア症は通性嫌気性菌である *Listeria monocytogenes* による感染症で、人、哺乳動物、および鳥類に発生する。本症の疫学は、長年に渡って不明とされてきた。ところが、最近になって食品に起因する人のリステリア症が、米国^{8,31,57,81,87,94,171}、カナダ^{81,139}、英国⁸⁷、スイス^{81,87}などで相次いで発生したのが契機となって、食品に起因する人畜共通伝染病として本症に対する関心は世界的に高まった^{55,156,171}。しかしながら、多くの国において、リステリア症に対して報告することを義務づけていないばかりでなく、その発生について積極的な調査研究活動も行っていない^{41,171}ため本症の全貌は明かにされておらず、またその疫学も十分に解明されたとはいえない状態におかれている。このような背景に加えて、一部の専門家を除き、全体的な注目を引かない感染症でもあったため、他の疾病（犬の場合の狂犬病など）と誤診されたり、分離菌の同定に誤りを生じている事例（ β 溶血性レンサ球菌、雑菌など）もかなりあり、今までに公表されているものは氷山の一角と見なしてもさしつかえないものと思われる^{80,116}。米国においては、1986年にリステリア症は“reportable disease”とするように勧告が出され¹²⁸、同時にCenter for Disease Control (CDC) は本症の疫学を解明する目的で積極的な調査活動を開始している。

1. リステリア症の歴史

Listeria monocytogenes は、1924年に英国のケン

ブリッジ大学で飼育されていた兎とモルモットの間に流行した敗血症性疾患から初めて分離された (Murray *et al.*,¹¹²)。この敗血症性疾患から分

* 日本大学農獣医学部獣医公衆衛生学研究室

離されたグラム陽性小桿菌は、兎に単球増多症 (monocytosis) をおこすことから当初 *Bacterium monocytogenes* と命名された。1927年には南アフリカで gerbille (アレチネズミの一種) から分離された。本菌は感染実験で肝臓に病変を作るため *Listerella hepatolytica* と名づけられた。この属名 "*Listerella*" は、有名な外科医である Lister 卿に敬意を表してつけられたものである。その後、この両菌は同一のものであることが確認され、*Listerella monocytogenes* とされた。しかしながら、1939年に至り、この属名は真菌、有孔虫の学名として使用されていることが判明したため、Pirie の提案を受け入れて *Listeria monocytogenes* と属名が変更されて、現在に至っている。¹⁴²⁾

本菌が人に対して病原性を有することが確認されたのは1929年で、Nyfeldt は伝染性単核症類似の症状を示す患者から *L. monocytogenes* を分離した。¹⁴²⁾

わが国でリステリア症がはじめて発見されたのは1948年で、田島¹⁵⁸⁾ は札幌で散発的に発生した仔

山羊の脳炎2例を病理組織学的に検査し、リステリア脳炎と診断した。*L. monocytogenes* が分離されたのは、これより3年後で、旭ら⁵⁾ は1951年に青森県で発生した山羊の脳炎例より本菌を分離した。わが国における最初の人体感染例は1958年に報告された2症例で、1例は山形県の髄膜炎例、他は北海道の胎児敗血症性肉芽腫症例である。¹¹⁶⁾

Murray *et al.* によって *L. monocytogenes* が発見されて以降、本菌は人や動物の感染症の原因となるばかりでなく、人、哺乳動物、鳥類、冷血動物、自然環境、畜産物、水産物、飼料などに広く分布することが証明されている。^{4,6,18,29,30,40,41,55,76,80-82,142,170)}

II. *Listeria monocytogenes* の性状

1. *Listeria* 属と類縁菌

Bergey's Manual of Systematic Bacteriology には、*Listeria* 属に類似した性状を示すグラム陽性無芽胞桿菌として *Brochothrix*, *Erysipelothrix*, *Lactobacillus*, *Kurthia* の4属があげられている (Table 1)。

Table 1 リステリア属及び類縁属の性状

属	運動性	O ₂ 要求	35°C発育	カタラーゼ	H ₂ S産生	グルコース	エスクリン	分布・病原性
<i>Brochothrix</i>	—	通性	—	+	—	+	•	肉製品・非病原性
<i>Erysipelothrix</i>	—	通性	+	—	+	+	—	広く分布・病原性
<i>Listeria</i>	+	通性	+	+	—	+	+	広く分布・病原性
<i>Lactobacillus</i>	—/+	通性	+	—/+	—	+	+/-	広く分布・非病原性
<i>Kurthia</i>	+/-	好気	+	+	—	—	•	家畜の大・非病原性便, 肉製品

Kurthia は、偏性好気性菌であること、糖類を発酵して酸を産生しないことなどにより、*Erysipelothrix* (豚丹毒菌) はカタラーゼ陰性、エスクリン非分解であることにより、それぞれ *Listeria* と鑑別することが可能である。多くの *Lactobacillus* はカタラーゼ陰性であることで *Listeria* と区別することができる。しかし、希にカタラーゼ陽性を示す *Lactobacillus* があり、またカタラーゼ陰性の *Listeria* も見られる。このような場合には、トリプトース寒天上の集落性状 (*Listeria* の場合、斜めに光線を当てて観察すると帯青緑色を示す¹⁴²⁾)、溶血性などを検査して同定する。*Brochothrix* 属は、冷蔵保存した包装食肉、食鳥肉からしばしば分離されるので、同定

上混乱を生じ易い。*Brochothrix* 属は、37°Cで発育しないこと、運動性陰性であること、*Listeria* は、トリプトース寒天上で特徴のある集落性状を示し、Gardner 培地で発育しないなどが主要な同定上の鍵となる。

2. *Listeria* 属

L. monocytogenes を中心とする *Listeria* 属の分類にはかなり流動的な面がある。現在、本属には、*L. monocytogenes*, *L. innocua*¹⁴³⁾, *L. seeligeri*¹³⁰⁾, *L. welshimeri*¹³⁰⁾, *L. ivanovii*¹⁴⁴⁾, *L. grayi*, および *L. murrayi* の7種がある (Table 2)。後2者、*L. grayi* と *L. murrayi* に関しては Stuart and Welshimer¹⁵²⁾ は生化学性状、DNA相

同性, DNA-DNA結合率などから他の属に移すべきであると, 新しい属名として *Murraya* を提案している. これにたいし, Rocourt *et al.*¹³²⁾ は, *L. murrayi* の16S ribosomal ribonucleic acid (rRNA) oligonucleotide catalog は, *L. monocytogenes* のそれと近似することから, *L. murrayi* とそれに類縁の *L. grayi* を *Listeria* 属から分離することに反対する見解を表明している. 1986年版の Bergey's Manual of Systematic Bacteriology には, *L. denitrificans* が含まれていた. 従来より, 本菌は数値分類などの結果から, *L.*

monocytogenes とかなり異なるものであることが指摘されていた. 16S rRNA catalog にもとづく Rocourt *et al.* の提案により, 現在では *Jonesia denitrificans* へと分類が変更されている¹³³⁾. 人, 動物に病原性を示すものは *L. monocytogenes* である (Table 3). *L. ivanovii* (血清型5) はめん羊の流産の原因となることがあるが, その病原性は弱く⁹⁸⁾, また, 時として人の感染症例から分離されることがある⁷⁵⁾. 一方, きわめて希であるが *L. seeligeri* が人の感染症例から, *L. innocua* が動物の感染症例から, それぞれ分離されている.¹⁰⁴⁾

Table 2 *L. monocytogenes* 及び類縁菌の性状

性状	<i>L. monocytogenes</i>	<i>L. innocua</i>	<i>L. seeligeri</i>	<i>L. welshimeri</i>	<i>L. ivanovii</i>	<i>L. grayi</i>	<i>L. murrayi</i>
不正形・不斉染色性	-	-	-	-	-	-	-
β溶血性	+	-	+	-	+	-	-
CAMP {ブドウ球菌	+	-	+	-	-	-	-
テスト {ロドコッカス	-	-	-	-	+	-	-
運動性	+	+	+	+	+	+	+
カタラーゼ	+	+	+	+	+	+	+
グルコース	+	+	+	+	+	+	+
マンニトール	-	-	-	-	-	+	+
αメチルDマンノシド	+	+	-	+	-	+	+
ラムノース	+	d	-	d	-	-	d
VP反応	+	+	+	+	+	+	+
病原性 (マウス)	+	-	-	-	+	-	-

d: 不定

Table 3 *Listeria* の病原性と分布

種	疾病		大便		食品	飼料	植物	土壌	水	その他
	人	動物	人	動物						
<i>L. monocytogenes</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
<i>L. innocua</i>		(+)	+	+			+	+		
<i>L. seeligeri</i>	(+)			+			+	+		
<i>L. welshimeri</i>							+	+		
<i>L. ivanovii</i>	(+)	+	+	+						+
<i>L. grayi</i>				+						
<i>L. murrayi</i>							+	+		

3. *L. monocytogenes* の性状

L. monocytogenes は, グラム陽性の小桿菌ないし球桿菌である. ラフ型菌では長糸状を示す. 鞭毛 (周毛) を有し, 運動性を示すが, 37°C よりも 20~25°C でより活発な運動性を示す. 病原菌のなかでは 1.1°C のような低温で発育するという特異な性状を有し⁷¹⁾, 4°C での世代時間は 12.01 時間

~33.5 時間である^{11,124)}. この性質は, 本菌の 4°C での増菌培養に利用されるばかりでなく, 低温保存食品で本菌が増殖する可能性のあることを示している. 血液寒天上では, 37°C, 24 時間培養で微細, 48 時間培養で直径 0.2~1.5mm の灰白色, 不透明, 露滴状のコロニーを形成し, 弱い β 溶血を示す. コロニーは, Enterococcus または Streptococcus

のコロニーに類似した性状を示す。トリプトース寒天上のコロニーは、前述したように、斜めの光線を当てると青緑色を帯びる。本菌の示す生化学性状のうち、カタラーゼ産生、エクスリン水解、グルコース、ラムノース分解(酸)、キシロース非分解は同定に当たって重要な性状である。

4. *L. monocytogenes*, *L. seeligeri*,

および*L. ivanovii*の溶血性とCAMPテスト

前述したように、*L. monocytogenes*はめん羊、牛、馬、兎、あるいは人の血球を溶血し、本菌の示す性状として重要視されている。*L. seeligeri*および*L. ivanovii*も溶血性を示す。前者の溶血性は弱い、後者はめん羊血液寒天上で二重、三重の強い溶血環を示す。この三者の鑑別には、めん羊血液寒天と*Staphylococcus aureus*あるいは*Rhodococcus equi*を用いたCAMPテスト、ラムノース、キシロースの分解性が重要な鍵となる¹³⁾(Table 4)。

Table 4 *L. monocytogenes*と*L. seeligeri*
および*L. ivanovii*との鑑別点

種	β 溶血性	CAMP テスト*	ラム ノース	キシ ロース
<i>L. monocytogenes</i>	+	+	+	-
<i>L. seeligeri</i>	+	+	-	+
<i>L. ivanovii</i>	+	-	-	+

* *Staphylococcus aureus*

CAMPテストは、本来*Streptococcus agalactiae* (Lancefield B群)の簡易同定法としてChristie, Atkins and Munch-Petersonによって開発されたものである。すなわち、*Str. agalactiae*と*Staphylococcus aureus*をめん羊血液寒天上で同時に培養すると、*Staph. aureus*の β 溶血毒で変色した部分で*Str. agalactiae*は著名な溶血性を示す。*Listeria monocytogenes*は*Staph. aureus*で溶血性が增强され、*Rhodococcus equi*では非溶血性とされている。しかしながら、著者らは、17株の*L. monocytogenes*と4株の*Listeria*属の他種菌を用いて検討したところ、何れの株の場合でも、*Staphylococcus aureus*での溶血性と*Rhodococcus equi*でのそれとが同じであった。さらに、*Rhodococcus equi*の株を変えて検討したが、この点は改善されず、本菌を用いてのCAMPテストの意義を見い出せなかった。

5. *L. monocytogenes*の血清型

*Listeria*は、15種のO抗原と5種のH抗原の組合せにより4型、12亜型に血清型別されている^{22,24,142)}(Table 5)。血清型によっては、2~3の種にまたがっている(Table 6)。患者、患畜から分離される主な血清型は、4b型あるいは1型(1/2a, 1/2b)である。

Table 5 *L. monocytogenes*および類縁菌の血清型

Paterson	血清型		O 抗原	H 抗原
	Seeliger	Donker-Voet		
1	1/2a	1a	I, II, (III)	A, B
	1/2b	1b	I, II, (III)	A, B, C
2	1/2c	2	I, II, (III)	B, D
	3a		II, (III), IV	A, B
3	3b		II, (III), IV (XII, XIII)	A, B, C
	3c		II, (III), IV (XII, XIII)	B, D
4	4a		(III), (V), VII, IX	A, B, C
	4ab		(III), V, VI, VII, IX, X	A, B, C
4	4b		(III), V, VI	A, B, C
	4c		(III), V, VII	A, B, C
4	4d		(III), (V), VI, VIII	A, B, C
	4e		(III), V, VI, (VIII), (IX)	A, B, C
	7		(III), XII, XIII	A, B, C
	5		(III), (V), VI, (VIII), X	A, B, C
	6a	4f	(III), V, (VI, VII, IX), XV	A, B, C
	6b	4g	(III, V, VI, VII), IX, X, XI	A, B, C
	<i>L. grayi</i>	}	(III), VII, XIV	E
	<i>L. murrayi</i>			

Table 6 *Listeria*の分類と血清型

種	血 清 型															
	1/2a	1/2b	1/2c	3a	3b	3c	4a	4ab	4b	4c	4d	4c	7	5	6a(4f)	6b(4g)
<i>L. monocytogenes</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+		
<i>L. innocua</i>								+							+	+
<i>L. seeligeri</i>		+								+	+					+
<i>L. welshimeri</i>															+	
<i>L. ivanovii</i>																+

6. 分離培養方法

無菌操作で採取された病的材料の場合は、非選択性の液体培地（トリプトース燐酸塩培地，トリプトソイ培地，ブレインハートインフュージョン培地，チオグリコレート培地）での増菌，あるいは血液寒天平板（トリプトース燐酸塩寒天，トリプトソイ寒天，ハートインフュージョン寒天培地などに血液を5%に加えたもの）を用いた分離培養で検出可能である。培養は，通常，37°Cで48時間行なわれる。¹¹⁷⁾

汚染材料，大便，食品（食肉，乳製品）など他種菌の混在する材料には種々の選択増菌培地，選択分離培地が考案されているが，すべての検体をカバーし得る選択培地はなく，検査対象により適切な組合せの増菌培地—分離培地を選択する必要がある^{85,99)}。増菌培地として，PBSまたは前記の液体培地にナリジクス酸(40μg/ml)，テルル酸カリウム(0.01~0.05%)，グアノフラシン(0.01%)あるいはポリミキシン(6μg/ml)を選択剤として加え，低温(4°C)で増菌する方法が行なわれてきた。しかし，この増菌は，1週間ごとの検査で，約1か月行なう必要があるため時間がかかり過ぎる難点がある。最近，食品を対象として，1週間の行程で分離同定が終わるような方法が開発された。食肉を対象とした増菌方法として，UVM₁培地とUVM₂培地^{85,86)}を併用する2段階増菌法(37°C，24時間)が，一般食品を対象としたものとしてLovett *et al.*の増菌培地⁸⁵⁾による増菌方法(30°C，1~7日間)が称揚されている。また，大便，腸内容を対象とした場合にはPBS(4°C，3~6週)^{63,66,67)}または前記の増菌培地が用いられている。分離培地としては，何れの検体の場合も，斜光線で帯青緑色を示すコロニーの形成を目安と

するLPM寒天培地，変法Mc-Bride寒天培地，エスクリンを分解してコロニーの週辺が黒褐色に変色するのを指標とするOxford培地，PALCAM培地^{85,86,99)}が用いられている。これらの分離培地にも一長一短がある。前者の場合には判定に熟練を要する。後者では，エスクリン分解菌，とくにコロニー性状が類似する*Enterococcus*あるいは*Streptococcus*などとの鑑別に留意する必要がある。

7. 分離菌の同定

分離菌の同定にあたっては，著者らの経験によれば，コロニー性状，グラム陽性無芽胞の小桿菌，または球桿菌，β溶血性，運動性(25~30°C)，カタラーゼ産生，エスクリン水解，グルコース分解(酸)，血清型別などが主要な性状といえる⁶⁰⁾。また，溶血性を示す*L. seeligeri*，および*L. ivanovii*と*L. monocytogenes*との鑑別，あるいは病原性*L. monocytogenes*の判定には，*Staphylococcus aureus*の判定には，CAMPテスト，ラムノース分解性(酸)，キシロース非分解性が重視されている^{46,131)}。なお，*Rhodococcus equi*を用いたCAMPテストは，標準菌株が設定されない限り，前記の理由で分類の指標になし得ない。⁸¹⁾

なお，血清型別にあたっては，前述のごとく，4b型，1/2a型，1/2b型が検出されることが多いので，O因子血清I，II，V，VIを中心に試験管凝集反応を試みる。1型，3型の場合には，H因子血清A，C，Dを用いた試験管凝集反応を行う。O凝集反応の増発は，50°Cで4時間反応させ，さらに一夜冷蔵庫に置いてから判定する。H凝集反応の場合は50°Cで4時間反応させ，室温に30分置いた後に判定する。前者の場合には管底に微細な凝集塊が沈殿する。後者の場合には，柔らかい綿状の凝集塊を形成する。

III. リステリア症の疫学

1. 宿主域

リステリア症は、人、牛、めん羊、山羊、豚、馬、犬、猫、家兎、モルモット、チンチラ、ミンク、野生動物、鶏、七面鳥、ガチョウ、アヒル、野鳥などに発生する^{40,75,142}。保菌者を加えると、本菌の分布は哺乳動物では37種、鳥類では17種におよんでいる⁴⁰。また、本菌は温血動物に分布するのみでなく、両生類、淡水魚¹¹、海産魚介類¹⁰²、甲殻類¹⁰²、マダニ、羊蠅幼虫⁷⁹、河川水⁷⁵、汽水¹⁸、下水⁷⁵、サイレージ^{4,30,31,39,76}、野菜¹²⁸、食肉^{84,86,87,99,100}、食鳥肉^{35,84,86,87,99,100,126}、生乳^{33,52,55,86-88,99,100}、乳製品^{86,87,99,100,126}などからも分離されている。わが国においては、人、牛、めん羊、山羊、豚、および馬にリステリア症が発生することが知られているのみである。健康保菌者は人、牛、豚、鼠、野鳥に発見されている^{7,63,66,67,100,101,108,154,167}。また、豚肉、牛肉、鶏肉、ナチュラルチーズ、海産魚介類に汚染が見いだされている^{84,86,87,99,100,102,108,160}。わが国で現在までに知られている *L. monocytogenes* の宿主域は、諸外国における実状と比較してかなり狭いが、これには、調査が十分なされていないことも関係しているものと思われる。

2. 発生状況

わが国の家畜および人におけるリステリア症の発生状況はTable 7に、外国の動物および人における発生状況はTable 8～9に示す通りである。

1) 家畜など

1948年に仔山羊の2症例¹⁵⁸が発見されて以来、1990年12月までの間に総計279例の発生をみている。めん羊3件^{46,54,145}、山羊2件¹の集団発生、または流行事例を除き、いずれも散発的な発生である。散発例の年間の発生件数は、1ないし11件で、まったく発生報告の無い年も見られる。

(1) 反芻動物

牛84例、めん羊135例、山羊50例の発生がこれまでに記録されている。

文献番号

牛：2, 3, 47, 50, 54, 56, 59, 64, 68, 72, 76, 89, 113～115, 119～121, 147, 148, 155, 168, 169, 173, 175.

Table 7 わが国の家畜および人におけるリステリア症の発生状況 (1948年～1990年)

年度	家畜					計	人*
	牛	めん羊	山羊	豚	馬		
1948			2			2	
1949		3	4			7	
1950		1			1	2	
1951			2			2	
1952		23	1			24	
1953		2	2	1		5	
1954		8				8	
1955	4	3	2			9	
1956		10	5			15	
1957	2	12				14	
1958	1	6	1			8	2
1959	4	6	1			11	
1960	2	7	1			10	3
1961	1	2	25			28	3
1962**		2	1			3	4
1963							2
1964	1	19				20	3
1965	1		1			2	4
1966							6
1967							7
1968							6
1969							4
1970							3
1971	2					2	4
1972			1	2		3	12
1973	4					4	10
1974	6					6	22
1975	6					6	23
1976	11					11	30
1977	3					3	32
1978							25
1979							38
1980				1		1	47
1981		1				1	50
1982	2		1			3	62
1983	3					3	45
1984	4	2				6	45
1985	2	26		1		29	41
1986	5					5	41
1987	11	1		4		16	37
1988	4	1				5	21
1989	1					1	27
1990	4					4	22
計	84	135	50	9	1	279	681

* 永井(1982)¹¹⁶、寺尾(1989, 1990, 1991)¹⁶²⁻¹⁶⁵

** 家畜1948～1962：旭(1963, 1964)²⁻³

山羊1962：豊田(1977)¹⁶⁸

Table 8 外国の動物におけるリステリア症発生状況

国	調査年	動物種(例数)										備考				
		牛	めん羊	山羊	豚	馬	犬	猫	兎	げっ歯類	毛皮動物		その他の哺乳類	家禽	その他の鳥	
米国																
コロラド州	1946~1948 ⁶⁹⁾	177	536													牛32農場, めん羊7農場
ミシガン州	1946~1949 ⁴²⁾	23	29													10~50頭/冬/年 ⁴¹⁾
全国	1971 ¹⁰⁹⁾	231	125													牛154群, 20州, めん羊・山羊48群, 18州
オランダ ⁷⁵⁾	1958~1977	脳 内臓 血液 子宮頸管 大便 胎子	215* 56 12 71 875	75 32 1 7 2	22 4 1 8 2	18 35 1 8 1	3 2 1 1 1	1 12 3 1 1	1 70 2 2 2	5 15 360	69					*分離菌株数 他に検査機関があるので実態の一部
英国 ¹⁷²⁾	1975~1984		601 37** 85	1,179 44 269	25 1 8	17 1 3	4* 1 2	2 1 2	11 1 3	14 1 3	13 1 3	14 1 3				*馬, ロバ **頭数/年
スエーデン ⁹¹⁾	1958~1974	動物種不詳			175											3~27件/ 内臓から菌分離

Table 9 外国の人におけるリステリア症発生状況

国	調査年	例数	脳	内臓血液膿疱	子宮頸管** 胎盤, 羊水	大便*** 胎便	備考
米国	1967~1970 ¹⁶⁾ 1971 ¹⁰⁹⁾ 1980~1982 ¹⁷⁾	368 (60~113) 104 660 (214~234)					患者推定800例/年 死者推定150例/年
オランダ ⁷⁵⁾	1958~1977	男 女 小児 (1~15歳) 乳児 (0歳以下)	50* 22 15 138	26 29 3 55	97	98 249 4*** 7	*分離菌株数 **リステリア感染児出産例 ***健康者
英国 ¹⁰⁴⁻¹⁰⁶⁾	1967~1985	722	妊婦 成人と小児 (1~90歳)	248 (34%) 474 (66%)			
スエーデン ⁹¹⁾	1958~1974	110					1/100万人以下

めん羊: 2, 3, 6, 32, 54, 65, 72, 79, 83, 107, 110, 111, 136, 145, 153, 159, 175.

山羊: 1~5, 61, 110, 111, 138, 158, 168.

a) 牛

散発例では, 牛の件数が最も多い. 牛の品種が記載されている71例のうち, 乳用種は60例 (84.5

%), 和牛は11例 (15.5%) である. 乳用種では, ホルスタインが26例, ジャージーが1例, 不詳が33例である (Table 10). 品種不詳の乳牛の主体は, わが国における飼育実態からみて, おそらくホルスタインと考えられる. 肉用種は, 黒毛和種が7例, 日本短角種が2例, 褐毛和種が1例, 不詳が1例である.

Table 10 リステリア罹患牛の品種(1957~1990)

品種	例数(%)		
乳用種	60(84.5)	ホルスタイン	26
		ジャージー	1
		不詳	33
肉用種	11(15.5)	黒毛和種	7
		日本短角種	2
		褐毛和種	1
		不詳	1
計	71		

わが国における実態に反し、米国では、肉牛における発生件数の方が乳牛におけるそれよりも高いとされている⁴¹⁾。その理由として、肉牛は年間を通して戸外で飼育され、とくに冬季にきびしい寒さにさらされることがあげられている。やや古い成績であるが、米国ミシガン州では一冬に10~50頭の発生がみられている⁴¹⁾。また、米国のCDCで集計された成績によると、臨床診断にもとづく場合が多いが、1954年から1958年にいたる5年間に総計2,106例のリステリア症の発生があり、その大部分が牛であるとされている⁴¹⁾。

b) めん羊, 山羊

めん羊では135例、山羊では49例の発生が報告されている。めん羊では総件数の62%、山羊ではその93%が1962年以前の発生である。これには、めん羊、山羊の飼育頭数が最近激減していることが関係しているものと思われる⁸²⁾。前述したように、めん羊では3件(19頭, 21頭, 26頭)^{6,54,145)}、山羊では2件(3頭, 24頭)¹⁾の集団感染または流行が発生しているが、英国、オーストラリアのめん羊にもリステリア症の集団感染の発生がみられている。^{97,98,129,141)}

(2) その他

豚9例^{2,3,38,51,60,77,166)}、馬1例¹⁵⁷⁾の発生が報告されている。オランダの公衆衛生研究所の報告によると⁷⁵⁾、1958年から1977年の間に、牛、めん羊、山羊ばかりではなく、豚、馬、鶏、犬、猫、外国産の鳥類、げっ歯類、毛皮動物の脳、内臓、血液などからも本菌が検出されている。これらの事例は、由来した検体から見て何等かの病徴を示していたものと推定される。

上述したように、世界各国とも、リステリア症

の疫学上牛とめん羊が最も重要な動物種となっている。しかし、公衆衛生の立場からすると、山羊、犬、猫、鶏、鼠、その他の野生鳥獣などにも注目しておく必要がある。

2) 人

わが国においては、永井^{116,117)}、寺尾¹⁶²⁾、寺尾ら¹⁶³⁻¹⁶⁵⁾の調査によると、1958年の初発例以来1990年までに総計681症例の発生が知られている。最近の数年間における発生件数は、年当たり21~41症例で、年によって多少の増減が見られている。わが国の総人口を1億2千2百万として、人口1千万人あたりの発生件数を計算してみると、1.5~3.4人である。性別では、男性の件数(56%)が女性のそれをやや上まわっている。

米国では、1970年における人口1千万人あたりの発生件数は5.6人¹⁶⁾、1971年では5.1人¹⁰⁹⁾である。1980~1982年の間では人口100万人あたり3.6名発生し、年間800名の患者が発生するものと推定されている¹⁷⁾。一方、1991年に発表された食品微生物規格検討委員会(The National Advisory Committee on Microbiological Criteria for Foods)の勧告¹²⁸⁾の中で、Center for Disease Controlは、最近の5年間において、散発的な重症例(invasive listeriosis)の発生は年間約2,000人(0.8/100,000人)死者は450人に及ぶと発表していることが紹介されている。この他に、胃腸炎のような非侵襲性の軽症例の発生も推定されているが、その実態はよく把握されていない。人のリステリア症に対する調査システムが最も良く整備されている¹⁷¹⁾ことが関係しているためか、米国における発生件数は、わが国ばかりでなく後述する諸国におけるそれよりも遥かに多くなっている。また、性別との関係では、わが国とは逆で、女性の比率(1.2:1)が男性のそれを上回まわっている¹⁷⁾。

オランダでは⁷⁵⁾、1958~1977年に至る20年間に総計793株の*L. monocytogenes*が人から分離され、患者からの年当りの分離株数は9~33株となっている。

英国では、1967~1985年の19年間に722件の発生が見られている^{105,106)}。1981年以降にあっては発生件数が増加し、1985年には140件以上に達している。¹⁰⁴⁾人口10万人あたりの発生件数は0.3人、周産期感染は出産2万件あたり1件と推定されてい

る¹⁰⁴⁾。また、妊娠していない症例(1~97歳)では、男性の件数は女性より多くなっている。

スウェーデンでは⁹¹⁾、1958~1985年の間に110例発生し、人口100万人あたり1例以下の割合になっている。

1975年から1980年前後の間におけるその他の国での実状を見ると年当たり、スイスでは1~20例、ハンガリーでは1~7例、カナダでは4~107例の発生が記録されている。¹²⁷⁾

以上に紹介した諸外国における発生状況は、時代、人口、家畜数、野生動物数、家畜の飼育方式、疾病の調査・報告方法、検査方法の精度など、さまざまな国情の違いが関係しているものと考えられる。一般的に言って、各国とも、散発的リステリア症の発生件数が増加する傾向がみられている。このことには、本症に対する関心が高まった結果だけでなく、患者、患畜の絶対数の増加があるように思われる。^{17,104,127)}

3. 発生地域

リステリア症は、温帯地域を中心に世界各国で発生する^{40~42,142)}。わが国でも患者の発生は全国的であり^{116,117,162)}、東京都、北海道、神奈川県、大阪府、福岡県、愛知県、新潟県での発生件数が多い。家畜では、22の道、県で発生している。めん羊、山羊における集団感染例を含めると、北海道、岩手県、福島県、長野県、青森県での件数が多いが、

散発例のみに限ってみると北海道の事例が圧倒的に多い。家畜のリステリア症の発生地域は人のそれに比べて狭いが、患者の発生が全国的であることと、*L. monocytogenes*の生態学的特徴よりすると、家畜を含む動物でも全国的に発生している可能性がある。ペット、野生鳥獣などを含めて、本症についてより広範な調査の実施が望まれる。

4. 発生と季節

わが国の家畜では、Table 11に示す通り1月から6月、すなわち、冬から春にかけての発生が他の季節に比較して多い。これに対して人では4月から8月の間の発生が多い^{116,162)}。外国でも家畜は冬から春、とくに早春に発生することが多い^{41,42,172)}。人での発生は、米国^{16,17,109)}では夏から秋、とくに8月に、英国¹⁰⁶⁾では秋に多くなっている。一方、スウェーデン⁹¹⁾では、患者の発生と季節の間の関連性は見いだされていない。米国、英国では、患者数の季節的変動と妊娠、出産との関係が検討されているが、その間に特別な関係はないとされている^{17,106)}。ともあれ、家畜における発生と人におけるそれとの間に季節的なずれがあることは事実であるので、家畜あるいは家畜の周辺における*Listeria*の生態と、患者、患畜の発生の季節的変動との間にどの様な関わりがあるのか、今後の究明が待たれる興味深い問題点である。

Table 11 リステリア症の月別発生状況 (1948~1990)

動物種	計	発 生 月												不詳
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	
牛	71	5	8	6	9	9	17	1	1	3	2	1	7	2
綿羊	101	27	3	3	12	44	6	3		2				1
山羊	40	1	4	24		2			2	1	1		1	4
豚	9				2				1	1	4		1	
馬	1					1								
計	222	33	15	33	23	56	23	4	4	7	7	1	9	7
人*	629	50	37	39	60	76	71	72	64	40	44	38	38	

*寺尾 (1990)¹⁶²⁾

5. 症状、病型

宿主の動物種によって病像が異なるのがリステリア症の特徴のひとつである。

1) 動物

反芻動物では、主として脳炎、単胃の動物では

敗血症、妊娠した反芻動物では流産をおこす^{40,41,45,47,97,122,148,150)}。オランダの牛では、流産と髄膜炎は同程度の重要性を持つことが指摘されている⁷⁵⁾。一方、第一胃の機能の確立していない幼若な反芻動物の場合は敗血症の型をとる⁴⁰⁾。また、牛

では乳房炎^{21,23,36,146}、めん羊では敗血症⁹⁷、筋炎¹⁴¹の原因となることもある。わが国の家畜においても、牛では主として脳炎、希に流産、敗血症など、めん羊、山羊では脳炎の発生をみている (Table 12)。

Table 12 リステリア症罹患畜の
症状別分類 (1948~1990)

動物種 例数	症 状					
	脳炎症状	流産	敗血症	心内膜炎	発熱のみ	不詳
牛	71	62	3	2	1	3
めん羊	101	98				3
山羊	40	27				13
豚	9	9				
計	221	196	3	2	1	13

反芻動物では、食欲不振、沈鬱、発熱、興奮、流涎、斜頸、平衡感覚失調、旋回運動、失明または眼の障害、嚥下困難、顔面麻痺などの症状がみられている。

米国では⁴¹、豚のリステリア症は比較的希な疾病であるが敗血症、髄膜炎、限局した内臓膿瘍、またはボックス様皮膚炎をおこすことが知られている。一方、例数は少ないが、わが国で発生した豚の症例はすべて脳炎である。また、馬は1例しか発見されていないが、脳炎を発症している。

なお、狂犬病の発生する地域の犬、猫、牛などの場合には、それとの類症鑑別が必要である^{41,42,143}。

2) 人

人で最も普通にみられる病型は髄膜炎である。わが国においても、髄膜炎は患者の約70%を占め、ついで敗血症または胎児敗血症性肉芽腫が多く発生している^{116,117,162}。米国でナチュラルチーズが原因となった事例では、多数の妊婦が感染し、死流産をおこしている⁹⁴。妊婦での感染あるいは成人における髄膜炎の場合、インフルエンザ様症状がしばしば先行することがある^{75,104,142}。また、希な事例ではあるが、牛の流産の処置をした獣医師^{104,123}牛の出産を介助した人¹⁵、あるいはめん羊の小屋を掃除した人¹¹⁶の皮膚感染例、実験室感染による結膜炎例¹⁴²などの症例も報告されている。

なお、単球増多症 (monocytosis) は兎など単胃の動物で見られるが、反芻動物では認められ

ず^{41,112}、人では必発の所見でない¹¹⁶。また、インフルエンザ様症状のみしか示さない軽症例あるいは前述したような胃腸炎型の感染の発生も示唆されている^{41,128,142}。

6. 年齢と転帰

わが国で発生した患畜の年齢分布はTable 13に示す通りである。家畜の場合は経済動物であるので若い動物が多いのは当然であるが、年齢の判明したものなかでは1~2才群が最も多く、ついで3~5才群、1才未満群であり、6才以上のものは少ない。

Table 13 リステリア症罹患畜の
年齢 (1948~1990)

動物種 例数	年 齢					不詳
	1歳未満	1歳~2歳	3歳~5歳	6歳~8歳	9歳以上	
牛	71	9	13	11	2	33
めん羊	101	14	12	17	6	51
山羊	40	2	17	12	1	8
豚	9	7	1			1
馬	1			1		
計	222	32	43	40	10	93

人では^{116,117}、約半数が新生児ないし乳幼児であり、リステリア症は周産期を中心に発生する感染症であることが指摘されている。同様な事実は米国^{14,16,17}、オランダ⁷⁵、スエーデン⁹¹でも知られている。英国¹⁰⁴⁻¹⁰⁶では、成人と小児群が66%を占め、妊娠(胎児)、新生児群は34%にとどまっている。

リステリア症罹患畜の転帰はTable 14に示す通りである。牛、めん羊では抗生物質の投与により治癒する例も多少あるが^{145,147}、多くは死なないしは予後不良として殺処分されている。その他の動物でも死または殺処分されている。Gray and Killinger⁴¹も、めん羊、山羊は急性経過で死亡することが多く、牛は慢性経過をとり、場合によっては回復することもあると述べている。

人の致命率は、成人で39.6%、新生児~乳幼児~小児のグループでは18.0%である¹¹⁷。なお、後者のグループでの死亡例には新生児の占める比率が高く、成人の死亡例では基礎疾患を有するものが多い^{116,117}。米国では、全体的な致命率は19.1%であり、中年以降、とくに高齢者の致命率が高いことが指摘されている¹⁷。最近における年間の死者

Table 14 リステリア症罹患畜の
転帰 (1948~1990)

動物種	例数	死亡	と殺	流産	治癒	不詳
牛	71	10	46	3	8	4
めん羊	101	57	12		10	22
山羊	40	12	5			23
豚	9	5	3			1
計	221	84	66	3	18	50

数は約450名と推定されている¹²⁸⁾。英国¹⁰⁴⁻¹⁰⁶⁾では、全体的な致命率は46%、周産期は50%、成人~小児は44%とされている。その他の国における致命率は、スウェーデン36.7%、フランス28.1%、ドイツ34.2%、カナダ34.1%、ハンガリー44.1%と報告されている⁹⁹⁾。このように、人、動物共に、リステリア症の発生件数はそれほど高いものではないが、発症した場合の致命率はかなり高い感染症といえる。わが国の家畜の場合、発症後ほぼ確実に死の転帰をとっている。家畜では、発見された時はすでに手遅れになっているために致命率が高いのか、それともリステリアに対する感受性の差によるものか検討する必要がある。なお、人でも基礎疾患を持つ患者の場合、あるいは治療の時期を失った場合は死亡することが多い。^{116,117)}

7. 患者、患畜由来株の血清型

患畜から分離された株の血清型は大部分が4b型(89.1%)であり、その他の血清型の検出された例は少ない (Table 15)。患者から分離された株の血清型は、4b型と1型もしくは1b型が主である^{116,162)}。めん羊の流産の原因として5型 (*L. ivanovii*) が注目されているが⁹⁸⁾、わが国では未だめん羊の5型感染例の発生は報告されていない。諸外国においても患者、患畜から分離される血清型は、主として4b型と1型 (1/2a, 1/2b) である^{14,16,75,91,104,128)}。わが国の患畜由来株では、1型の比率が著しく低い⁸²⁾、患畜由来株の60%は血清型別されていないのが実状であるので、1型の検出率あるいはその家畜にたいする病原性については今後の研究の発展を待った上で結論すべきであろう。

8. 保菌者

かなり以前から、*L. monocytogenes*が人、動物の大便などに保菌されていることが知られていた^{7,11,40,41,75,167)}。食品に起因する感染症^{55,75,171)}とする見方が強まったことが背景となって、世界各国

において家畜などにおける保菌調査が積極的に行われている。わが国での大便保菌調査は、旭ら¹¹⁾、椿ら¹⁶⁷⁾の調査が最初と思われるが、この時点での

Table 15 リステリア症例から分離された菌株の血清型 (1948~1990)

動物種	例数	血清型												
		1	1/2a	1/2b	1/2c	3	4a	4b	4ab	4c	4d	6	不詳	
牛	41			2	1			14	1				1	22
めん羊	38			3				13						22
山羊	17		2					4						11
豚	9							1						8
計	105		2	5	1			32	1				1	63
人*	629	25	15	188	7	5	1	366		1	2			19

*寺尾 (1990)¹⁶²⁾

分離培養技術は現在の方法にくらべて劣っていたため保菌率は一般に低く、人の0.51%、豚の2.8%、牛の0.75%からリステリア(病原性株を含む)が検出されるのみであった。最近の調査では、人の大便の1.3%、ならびに牛、豚、およびめん羊の盲腸内容から、それぞれ2.0%、0.7%、2.4%に*L. monocytogenes*が検出されている^{100,101)}。また、クマネズミ、ドブネズミにも保菌者の存在が確認されている。^{66,67)}

人の保菌検索は世界各国で行われているが、陽性率はまちまちで、わが国と同じレベルから91.6%までの幅がある。

大便を対象としたオランダの調査では、卵加工場の従業員の10.6~29.1%、と畜場関係者11.9~13.3%、研究室関係者の77.0%、事務所従業員61.5%、牛の6~15.3%に保菌者が見いだされている。⁷³⁻⁷⁵⁾

その他の動物における保菌者は、ハンガリー、ノルウェー、オランダで、豚、めん羊、鶏に存在することが証明されている^{44,75,87,95)}。ただし、わが国では、後述するように鶏肉の汚染はあるが、保菌鶏は未だ発見されていない。

9. 食品、飼料に起因するリステリア症

*L. monocytogenes*は、自然環境に広く分布しているので、汚染した食品、飼料に起因するSaprophytic zoonosis (自然環境に起因する人畜共通伝染病)として扱われてきた⁷⁵⁾。事実、家畜では品質不良の汚染サイレージ^{4,29,30,39,76,113,147,172)}が原因となった事例が発生している。一方、人では生乳の飲

用と関係のあることが古くから示唆されていた^{40,55,142}。わが国では食品が感染源となった症例は未だ報告されていないが、外国で殺菌乳³¹、ナチュラルチーズ^{94,104}、コールスロー¹³⁹、野菜サラダ⁵⁷、七面鳥の肉で作ったフランクフルトソーセージ⁸、調理しないで食べるホットドッグ、調理不十分の鶏肉が原因とされる事例^{128,140}が発生している。Table 16に示した以外に、クリーム（英国：患者11名）、ソフトチーズ（スイス：患者122名、死者33名）、鶏肉（英国：患者2名）、ミートパテ（英国：患者300名以上）などを原因食品とするリ

ステリア症の発生が知られている⁸⁷。WHOのワーキンググループは、最近発生した食品に起因するリステリア症のデータを検討し、これらの多くは通常の人畜共通伝染病の伝播様式に基づかない伝播（non-zoonotic means）、すなわち、食品の生産あるいは製造中におきた汚染による伝播と結論している¹⁷¹。米国での調査では、調理しないで食べるホットドッグ、調理不十分な汚染鶏肉の二者が人の感染源として重要で、全発生件数の約20%を占めることが指摘されている¹²⁸。しかしながら、残りの80%の原因は解決されていない。

Table 16 最近発生した食品に起因するリステリア症

発生国	年	原因食品	患者 (死者)	分離菌の血清型	報告者
カナダ マリタイム・ プロビンス	1981	コールスロー	41例 成人 7例(33%/髄膜炎例) 胎児・新生児 34例(27%/生産児)	人 コールスロー	4b 4b Schlech <i>et al.</i> (1983) ¹³⁹
米国 マサチューセッツ州	1983	殺菌牛乳	49例(14例) 成人 42例(12例) 胎児・新生児 7例(7例)	人	4b Fleming <i>et al.</i> (1985) ³¹
米国 カリフォルニア州	1986	ナチュラルチーズ (メキシコタイプ)	142例(48例) 妊婦または新生児 93例 (胎児20例, 新生児10例) 成人 49例(18例)	人 チーズ	4b 4b Linnan <i>et al.</i> (1988) ⁹⁴
米国 オクラホマ州	1988	ターキーフランク	1例	人 ターキーフランク	1/2a 1/2a Barnes <i>et al.</i> (1989) ⁸
英国	1985	ナチュラルチーズ (ブリー)	1例	人 チーズ	4b 4b McLauchlin (1987) ¹⁰⁴

10. 食品の汚染状況

食品に起因するリステリア症の発生が契機となって、各種の食品における汚染実態の調査が世界各国で行われ、食肉、食肉加工品、生乳、ナチュラルチーズ、魚介類などに汚染のあることが証明されている。

国産の牛肉の37.2%、豚肉の43.8%、鶏肉の44.1%に *L. monocytogenes* の汚染があることが報告されている^{84,101}。また、と畜場における諸機材、作業員の手指にも汚染があり¹⁰⁸、それらを介して汚染が拡大する可能性が示唆されている。外国では、牛肉の24~58%、豚肉の10~94.7%、子ヒツジ肉の16%、鶏肉の15~56%^{35,62,86,87,93,99,100}に汚染のあることが示されている。汚染菌量は、100個/g以下である^{84,87}。食肉あるいはと畜場環境、作業員の手

指から検出される主な血清型は1/2cであり、人、動物に病原性を有する1/2a, 1/2b, あるいは4bが検出されることもある。^{84,87,108}

食肉加工品の汚染は、諸外国でソーセージ、ハンバーガー、乾燥塩漬牛肉、調理鶏肉、ローストビーフ、ローストポーク、ミートパテなどに見られており、汚染率は5~56.7%の範囲である^{34,86,99,100}。なお、国産品の汚染についての報告はなされていない。⁸⁷

生乳では、国内では4%¹³⁷、外国では2.7~89.5%に *L. monocytogenes* の汚染が見られている^{33,52,86,87,96,99,100}。また、生乳スラッジからも *Listeria* sp.が検出されている⁸⁸。生乳を汚染する *L. monocytogenes* の菌量は少なくとも10個/ml以下とされている^{96,128}。英国では、希に、殺菌乳に汚染が見

られている⁴³⁾。また、生の全卵液⁹²⁾に低率であるが汚染があり、菌量は1~8個/mlと報告されている。

ナチュラルチーズの汚染は、いずれの国においてもソフトタイプに高率にみられている。わが国では、輸入ソフトチーズの6.1%から *L. monocytogenes* が分離されているが¹⁶⁰⁾、国産品に汚染は見られていない⁸⁷⁾。外国でもソフトまたはセミソフトタイプに汚染が見られ、汚染率は0.5~10.1%である^{43,99,100,126,161)}。汚染菌量は、 $<10^2 \sim 10^6$ 個/gの範囲である。^{86,87,126)}

魚介類、その加工品にも汚染があり^{18,48,86)}、人に対する感染源として注目されている。一方、野菜

に関しては、各種のものから検出したとする報告¹²⁸⁾と、全く検出されなかったとする報告¹²⁵⁾とがある。本菌の生態学的特徴よりすると、野菜など植物性食品にも分布していると見るべきであろう。

11. 殺菌とリステリア菌の熱抵抗性

殺菌乳が原因とされる事件が米国で発生したため³¹⁾、にわかには通常の牛乳殺菌、とくに高温短時間殺菌法（連続式高温短時間殺菌装置により72°C以上で15秒以上殺菌する方法、High Temperature Short Time Pasteurization, H. T. S. T.）で *L. monocytogenes* が死滅するか否かが問題となった。

Table 17 *L. monocytogenes*の熱抵抗性D₆₂

報 告 者	温度, 時間	検 体	成 績
Murray <i>et al.</i> (1926) ¹¹²⁾	58~59°C, 10~30分	ブイヨン	死滅
Asahi <i>et al.</i> (1953) ⁵⁾	60°C, 15分	ブイヨン	死滅
Bearn and Girard (1958) ⁹⁾	61.7°C, 35分	牛 乳	生残
	63°C, 10分	牛 乳	死滅
Donker-Voet (1962) ²³⁾	66.3°C, 15秒	牛 乳	死滅
Bradshaw <i>et al.</i> (1985) ¹²⁾ Seald tube法	D _{63.3}	牛 乳	19.9(13.4~28.4)秒
	D _{66.1}	牛 乳	7.3(6.2~10.1)秒
Donnelly and Briggs (1986) ²⁵⁾	D _{62.7}	牛 乳	≤60秒
Donnelly <i>et al.</i> (1987) ²⁰⁾ Tube法	62°C, 30分	牛 乳	生残
Bunning <i>et al.</i> (1988) ¹³⁾ Sealed tube法 ³⁾	D ₆₂	牛 乳	6~24秒
	D _{62.8}	牛乳由来白血球・ハンクス液	53.8秒

Table 18 *L. monocytogenes*の熱抵抗性D_{71.7}

報 告 者	温度, 時間	検 体	成 績
Bradshaw <i>et al.</i> (1985) ¹²⁾	D _{71.7}	牛 乳	0.9(0.8~1.1)秒
	D _{74.4}	牛 乳	0.7(0.5~0.9)秒
Doyle <i>et al.</i> (1987) ²⁷⁾	71.7~73.9°C, 16.4秒	牛 乳	生残
	76.4~77.8°C, 15.4秒	牛 乳	死滅
Bunning <i>et al.</i> (1988) ¹³⁾	D _{71.7}	牛乳由来白血球・ハンクス液	4.1秒
Crawford <i>et al.</i> (1989) ²⁰⁾	D _{71.7}	牛 乳	0.6±0.2秒 ~2.0±0.5秒

Table17~18に示すように、死滅とする報告と生残とするものがある。さらに、牛乳中の白血球など貪食細胞に取り込まれた *L. monocytogenes* は牛乳殺菌で死滅しないとする“仮説”³²⁾が出されたため非常に大きな混乱を生じた。しかしながら、牛乳の組成と本菌の熱抵抗性と

間に関係がなく²⁵⁾、細胞内、細胞外の本菌の熱抵抗性に差がないこと¹³⁾、さらに62°CにおけるD値(所定の温度で加熱した場合、菌数が1/10に減少するに要する時間)はもっとも長いもので53.8秒、72°Cにおけるそれは4.1秒であることが実証されている。このことは、62.8°C、30分保持する方法で殺

菌する場合には $10^{33.5}$ 個まで、 72.7°C で連続的に殺菌する場合には $10^{3.7}$ 個までの*L. monocytogenes*を殺滅することが可能である。¹⁹⁾したがって、低温保持式殺菌法 ($62\sim 65^{\circ}\text{C}$, 30分)、あるいは滅菌乳の生産が可能である超高温加熱法 ($120\sim 150^{\circ}\text{C}$, 1~3秒) の場合には安全性の問題は生じないものと考えられる。一方、米国などで採用されている高温短時間殺菌法の場合には、前述の通り、安全幅がやや狭いという問題がある。しかしながら、耐熱性試験における菌量は $10^3\sim 10^4$ 個/mlであり、通常の生乳(原料乳)の汚染菌量 (10^2 個/ml以下)より高濃度のものが用いられている。また、生乳における汚染率は低く、通常5%以下である。一方、加熱殺菌前に行われる生乳のクラリファイア処理、均質化処理は*L. monocytogenes*を取り込んだ貪食細胞の除去、あるいは同細胞の破壊 (*L. monocytogenes*の細胞外への放出)に役立ち、殺菌効果を高めることも期待できる。したがって、乳房炎乳 ($10^3\sim 10^4$ 個/ml²³⁾)のみを対象としたり、操作上の手違いが無い限り現行の牛乳殺菌方法で*L. monocytogenes*は殺滅されるものと判断される^{81,171)}。ただし、熱低抗性試験の際、温水に浸されない部分の試験管の内側に牛乳と共に付着した*L. monocytogenes*は設定された温度で殺滅されずに生残することがあることが示されている²⁶⁾。また、本菌は、温度、pHなどの条件によってはステンレススチールの表面に付着し⁵³⁾、有機物と共にステンレススチールの表面に固着した場合は殺菌剤の効果は弱まる¹⁰⁾。したがって、このようなことが起きやすいような条件下で生乳を扱ったり、乳製品の製造を行う場合には本菌の生残に対して十分注意する必要がある。

12. 食品における*L. monocytogenes*の動態

本菌は低温で増殖出来ること、ならびに一般的な抵抗性が強いので、チーズ、粉乳、食肉またはその加工品、野菜などで増殖したり、積極的に増殖しないまでも長期間それらに生残することが実験的に証明されている^{19,28,37,70,78,103,134,135,174)}。これに対し、と殺直後の枝肉の汚染率は高いが、一夜冷蔵保存すると著しく汚染率が低下することが報告されている¹⁰⁸⁾。その原因については明らかにされていない。

13. 感染、発症に関する菌側の条件

*Listeria*属のうち、人、動物に病原性を有するの

は主として*L. monocytogenes*である。人、動物の腸内容、大便、乳、食肉、卵、水産物、野菜、それらの加工品など各種の食品、動物飼料とくにサイレージ、土壌、河川水、下水、下水汚泥、海水など自然環境から*Listeria*属は高率に検出されるが³⁾、それらの多くは非病原性である*L. innocua*、その他の*Listeria* spp. である。また、*L. monocytogenes*が検出された場合でも、患者、患畜から分離される頻度の高い血清型である4b, 1/2a, 1/2b以外の血清型 (1/2c, 3) であることが少なくない。^{56,128)}

人で経口感染が成立するのに要する菌量についてはほとんど解明されていない¹²⁸⁾。米国で発生したメキシコタイプのチーズが感染源になった場合は $10^3\sim 10^4$ 個/gの*L. monocytogenes* 4b型が、七面鳥の肉で作ったフランクフルトソーセージの場合は1,100個/g以上の*L. monocytogenes* 1/2a型がそれぞれ検出されている。^{8,94,128)}

家畜、とくに牛、めん羊のリステリア症では、品質の悪い汚染サイレージが感染源になる場合のあることが指摘されている。この場合でも、患畜とそれに給与したサイレージから同一の血清型が検出されたということにとどまっている報告がほとんどである。3例の仔牛の感染源と推定された事例では、12,000個/g以上の*L. monocytogenes*が検出されている³⁰⁾。ただし、仔牛自体については、症状のみによってリステリア症と診断しているので、詰めが十分とはいえない面がある。

実験感染では、猿に経口投与して発症させるには 10^9 個の菌量を要している。マウスにおいても正常なものに感染させるには、免疫抑制剤を投与されたもの、あるいは幼若ものに比してはるかに多い菌量を要している。

自然例における感染菌量の情報が不足しているばかりでなく、*L. monocytogenes*は低温で増殖するので、上述した事例における成績が直ちに感染成立時の菌量とはいえない面があるが、食品あるいは飼料の摂取量を考慮すると、人では前記の量の10~100倍、家畜では1,000倍の菌量が経口的に侵入した結果発症している可能性がある。生乳、食肉など食品を汚染している菌量が概して低いこと、ならびに食品に分布する主な血清型を考慮すると、経口感染の成立には比較的多量の病原性血清型 (4b, 1/2a, 1/2b) の侵入と、宿主側の条件

の存在が必要と思われる。

13. 宿主側の条件—感染する可能性の高いグループ

人では、妊婦、新生児、乳幼児、高齢者、悪性腫瘍、アルコール中毒またはアルコール性肝硬変、糖尿病、心臓血管系疾患、AIDS、腎臓移植、あるいは免疫抑制剤の投与を受けて免疫活性の弱っている患者などは、リステリア症にかかる危険性が高いグループとみなされている^{14,16,49,75,91,104-106,151,171}。前述したように、最近の米国における全般的な感染率は100,000人あたり0.8人であるが、妊婦（生産児100,000人あたり）では12.4人、70才以上の高齢者では2.1人、AIDS患者では200人とハイリスクグループにおける感染率はかなり高率であることが明らかにされている。¹²⁸

前述した様な*L. monocytogenes*の自然界における分布よりすると、この様なグループを含めて、人、動物は*L. monocytogenes*の侵入をうける機会が多いと推定されるにもかかわらず、患者、患畜発生はさほど高いものではない。また、何等かの基礎疾患を持たない人や動物に突発することもある⁷⁵。したがって、本症の発病にはさらに未知の要因の参画が必要なものと思われる。

14. 消毒

24時間ブイオン培養菌の1mlを10mlの昇汞水(×1,000)、クレゾール石鹼液(×100)、ホルマリン水(×100)、70%アルコール、0.6%過酸化水素水に加えて室温に置いた場合、5分、ないし30分以内に死滅している⁵。より厳しい条件(1分以内に、コロニー数で1/1,000~1/10,000に減少することを最低の基準とする)で、14種類の薬剤の消毒効果を評価した報告では¹⁰、有機物(血清、2%脂肪乳)の存在した場合、ステンレススチールの表面を汚染した*Listeria*に対する殺菌効果は液体中に存在する場合のそれよりも劣ることが示されている。また、血清の存在下での表面汚染に対しては、ポピドンヨード、クロールヘキシジン・グルコン酸塩、グルタルアルデヒドが、液体中のそれに対しては2塩化イソシアヌール酸ソーダが、それぞれ有効であり、対象物によって適切な消毒剤を選択することが重要であることが強調されている。全卵液に*L. monocytogenes*の汚染があることはさきにふれたが、本菌は市販のアルカリ性の卵洗浄液中で生残することが実験的に示されている。⁹⁰

15. 治療

リステリア症の治療には、人の場合、アミノペンシリン系、テトラサイクリン、ゲンタミシン、エリスロマイシなどが有効で^{14,116}、2剤以上の併用で治療効果を上げている¹¹⁶。また、分離株もこれらの抗菌性物質に加えて、トブラマイシン、リファンピシンなどにも高い感受性をしめしているが、セファロスポリン系、ナリジクス酸にたいしては耐性である¹⁶²。早期に診断がつき、適切な抗菌性物質の投与が行なわれれば、治癒する可能性の高い疾患である¹¹⁶。ただし、感染防御能の低下を来す基礎疾患を有する症例では死亡する率が高い。家畜では治験例に乏しいが、テトラサイクリンなどの抗生物質が有効であるとする報告^{145,147}が見られる。家畜からの分離菌も、ペニシリン系、アミノグリコシド系、テトラサイクリン系、マクロライド系、クロラムフェニコールなどの抗生物質に感受性を示すので^{47,76,113,114,147}、人の場合とほぼ同様な抗菌性物質による治療の効果が期待できるものとする。現在までのところ本症の治療において、薬剤耐性はとくに問題になっていない。

16. 今後解決されるべき問題点

以上にリステリア症にまつわる諸問題について紹介した。

最近の諸報告によると、リステリア症の感染源は食品であるとする意見が強い。しかしながら、もし特定の食品、例えばナチュラルチーズが関わるとするならば、そのような食品を長年にわたって食べてきた民族には、それを食べれば中枢神経系の病気にかかるのか、妊婦は流産しやすいとかの言伝えがあってもよいのではなからうか。わが国に限ってみると、ナチュラルチーズが盛んに消費されるようになったのは最近の10年間である。リステリア症の発生頻度がそれに伴ってとくに増加したようすはなく、それ以前から現在とほぼ同じ程度に発生している。医療技術の進歩とともに、“Compromised host”が増えているが、そのような患者群で高率にリステリア症が発生しているようすも見られない(この面に関しては米国では高率と見ている¹²⁸。国内的には調査不十分)。食品に分布する*L. monocytogenes*の菌量はさほど高いものでなく、その血清型も人に病原性を示すものと異なることが多い。したがって、人や動物に病原

性を示す *L. monocytogenes* の性状についてより詳細な検討を加え、さらに、本菌の病原性に関わる菌側の因子についても解明を進める必要がある。また、感染しやすい集団があるようであるが、その母集団の大きさからすると、感染の成立をそれ

だけで説明出来ないのではなかろうか。したがって、単に食品の汚染のみに注目しないで、菌側、宿主側の因子について広範な調査研究を進める必要がある。

引用文献

- 1) 秋山 綽・伊佐山康郎・柴田重孝・海老洋一：千葉、長野両県で発生した山羊のリステリア症。家畜衛生研究報告, 54, 1~12, 1967.
- 2) Asahi, O. : Listeric Infection in Animals In Japan. *Proc. 2nd Symp. Listeric Infection*, Bozeman, Montana, 20~24, 1963.
- 3) 旭 興世：リステリア病。農林省家畜衛生試験場年報, 91~96, 1964.
- 4) 旭 興世：リステリア病一疫学調査。農林省家畜衛生試験場年報, 171~176, 1967.
- 5) Asahi, O., Hosoda, T., Akiyama, Y. and Ebi, Y. : Studies on Listeriosis in Domestic Animals. I. Listeriosis in Goats Found in Aomori Prefecture. *Government Experimental Station for Animal Hygiene*, 27, 289~300, 1953.
- 6) 旭 興世, 岡 基：めん羊リステリア脳炎の集団発生と感染経路について。日獣誌, 27, 356, 1965.
- 7) 旭 興世・椿 志郎・諏佐信行・宮野のり子・青井義隆・山分杜美子・吉原丘二子：リステリア病の疫学調査。I. 健康人糞便からのリステリア菌検出について。北里メディカルニュース, 218, 9~17, 1972.
- 8) Barnes, R., Archer, P., Stack, J. and Istre, G. R. : Listeriosis Associated with Consumption of Turkey Franks. *Morbidity and Mortality Weekly Report*, 38, 267~268, 1989.
- 9) Bearns, R. E. and Girard, K. F. : The Effect of Pasteurization on *Listeria monocytogenes*. *Can. J. Microbiol.*, 4, 55~61, 1958.
- 10) Best, M., Kennedy, M. E. and Coates, F. : Efficacy of a Variety of Disinfectants against *Listeria* spp. *Appl. Environ. Microbiol.*, 56, 377~380, 1990.
- 11) Bojsen-Møller, J. : Human Listeriosis . Diagnostic, Epidemiological and Clinical Studies. *Acta Pathol. Microbiol. Scand. B*, Suppl. 229, 13~155, 1972.
- 12) Bradshaw, J. G., Peeler, J.T., Corwin, J. J. Hunt, J. M., Tierney, J. T., Larkin, E. P. and Twedt, R. M. : Thermal Resistance of *Listeria monocytogenes* in Milk. *J. Food Protection*, 48, 743~745, 1985.
- 13) Bunning, V.K., Donnelly, C. W., Peeler, J. T., Briggs, E. H., Bradshaw, J. G., Crawford, R. G., Beliveau, C. M. and Tierney, J. T. : Thermal Inactivation of *Listeria monocytogenes* within Bovine Milk Phagocytes. *Appl. Environ. Microbiol.*, 54, 364~370, 1988.
- 14) Busch, L. A. : Human Listeriosis in the United States 1967~1969, from the Center for Disease Control. *J. Infect. Dis.*, 123, 328~332, 1971.
- 15) Cain, D. B. and McCann, V. L. : An Unusual Case of Cutaneous Listeriosis. *J. Clin. Microbiol.*, 23, 976~977, 1986.
- 16) Center for Disease Control : Listeriosis, 1970, Zoonoses Surveillance 1972.
- 17) Ciesielski, C. A., Hightower, A. W., Parsons, S. K. and Broome, C. V. : Listeriosis in the United States : 1980~1982. *Arch. Intern. Med.*, 148, 1416~1419, 1988.
- 18) Colburn, K. G., Kaysner, C. A., Abeyta, C. JR. and Wekell, M. M. : *Listeria* Species in a California Coast Estuarine Environment. *Appl. Environ. Microbiol.*, 56, 2007~2011, 1990.

- 19) Conner, D. E., Brackett, R. E. and Beuchat, L. R. : Effect of Temperature, Sodium Chloride, and pH on Growth of *Listeria monocytogenes* in Cabbage Juice. *Appl. Environ. Microbiol.*, 52, 59~63, 1986.
- 20) Crawford, R. G., Beliveau, C. M., Peeler, J. T., Donnelly, C. W. and Bunning, V. K. : Comparative Recovery of Uninjured and Heat-injured *Listeria monocytogenes* Cells from Bovine Milk. *Appl. Environ. Microbiol.*, 55, 1490~1494, 1989.
- 21) de Vries, J. und Strikwerda, R. : Ein Fall Klinischer Euter-Listeriose beim Rind. *Zentralbl. Bakteriol.*, Orig. 167, 229~232, 1957.
- 22) Donker-Voet, J. : A Serological Study of Some Strains of *Listeria monocytogenes* Isolated in Michigan. *Amer. J. Vet. Res.*, 20, 176~179, 1959.
- 23) Donker-Voet, J. : My View on the Epidemiology of *Listeria* Infections. *Proc. 2nd Symp. Listeric Infections*, Bozeman, Montana, 133~139, 1963.
- 24) Donker-Voet, J. : A Serological Study on Some Strains of *Listeria monocytogenes*. *Proc. 3rd Symp. Listeriosis*, Bilthoven, the Netherland, 133~140, 1966.
- 25) Donnelly, C. W. and Briggs, E. H. : Psychrotrophic Growth and Thermal Inactivation of *Listeria monocytogenes* as a Function of Milk Composition. *J. Food Protect.*, 49, 994~998, 1986.
- 26) Donnelly, C. W., Briggs, E. H. and Donnelly, L. S. : Comparison of Heat Resistance of *Listeria monocytogenes* in Milk Determined by Two Methods. *J. Food Protect.*, 50, 14~17, 1987.
- 27) Doyle, M. P., Glass, K. A., Beery, J. T., Garcia, G. A., Pollard, D. J. and Schultz, R. D. : Survival of *Listeria monocytogenes* in Milk during High-Temperature, Short-Time Pasteurization. *Appl. Environ. Microbiol.*, 53, 1433~1438, 1987.
- 28) Doyle, M. P., Meske, L. M. and Marth, E. H. : Survival of *Listeria monocytogenes* During the Manufacture and Storage of Nonfat Dry Milk. *J. Food Protect.*, 48, 740~742, 1985.
- 29) Fenlon, D. R. : Wild Birds and Silage as Reservoir of *Listeria* in the Agricultural Environment. *J. Appl. Bacteriol.*, 59, 537~543, 1985.
- 30) Fenlon, D. R. : Rapid Quantitative Assessment of the Distribution of *Listeria* in Silage Implicated in a Suspected Outbreak of Listeriosis in Calves. *Vet. Rec.*, 118, 240~242, 1986.
- 31) Fleming, D. W., Cochi, S. L., MacDonald, K. L., Brondum, J., Hayes, P. S., Pliakytis, B. D., Holmes, M. B., Audurier, A., Broome, C. V. and Reingold, A. L. : Pasteurized Milk as a Vehicle of Infection in an Outbreak of Listeriosis. *New Engl. J. Med.*, 312, 404~407, 1985.
- 32) 古谷 真, 佐々木英和, 新井伸雄, 繁在家民次郎, 花田岩雄, 附田彰二, 村木一二 : めん羊におけるリステリア症の発生例とマウスへの感染実験. 昭和56年度青森県家畜保健衛生所業績発表会記録, 113~119, 1981.
- 33) Garayzabal, J. F. F., Dominguez, L., Vazquez, J. A., Gomez-Lucia, E., Rodriguez, E. R. and Suarez, F. G. : Occurrence of *Listeria monocytogenes* in Raw Milk. *Vet. Rec.*, 120, 258~259, 1987.
- 34) Gilbert, R. J., Miller, K. L. and Roberts, D. : *Listeria monocytogenes* and Chilled Foods. *Lancet*, II, 383~384, 1989.
- 35) Gitter, M. : *Listeria monocytogenes* in Oven-ready Poultry. *Vet. Rec.*, 99, 336, 1976.
- 36) Gitter, M., Bradley, R. and Blampied, P. H. : *Listeria monocytogenes* Infection in Bovine Mastitis. *Vet. Rec.*, 107, 390~393, 1980.
- 37) Glass, K. A. and Doyle, M. P. : Fate of *Listeria monocytogenes* in Processed Meat Products during Refrigerated Storage. *Appl. Environ. Microbiol.*, 55, 1565~1569, 1989.

- 38) Goto, M. Itakura, C. and Eguchi, H. : Pathology of a Listeriosis-like Disease Characterized by Cerebro-spinal Meningitis in a Newborn Piglet. *Jpn. J. Vet. Sci.*, 34, 173~178, 1972.
- 39) Gray, M. L. : A Possible Link in the Relationship between Silage Feeding and Listeriosis. *J. Amer. Vet. Med. Assoc.*, 136~205~208, 1960.
- 40) Gray, M. L. : Epidemiological Aspects of Listeriosis. *Amer. J. Publ. Hlth.*, 53 554~563, 1963.
- 41) Gray, M. L. and Killinger, A. H. : *Listeria monocytogenes* and Listeric Infections. *Bacteriol. Rev.*, 30, 309~382, 1966.
- 42) Gray, M. L., Stafseth, H. J. and Thorp, F. : A Four-Year Study of Listeriosis in Michigan. *J. Amer. Vet. Med. Assoc.*, 188, 242~252, 1951.
- 43) Greenwood, M. H., Roberts, D. and Burden, P. : The Occurrence of *Listeria* Species in Milk and Dairy Products : A National Survey in England and Wales. *Intern. J. Food Microbiol.* 12, 197~206, 1991.
- 44) Grønsfjell, H. : Listeriosis in Sheep. *Listeria monocytogenes* Excretion and Immunological State in Healthy Sheep. *Acta Vet. Scand.*, 20, 168~179, 1979.
- 45) Grønsfjell, H. : Listeriosis in Sheep. *Listeria monocytogenes* Excretion and Immunological State in Sheep in Flocks with Clinical Listeriosis. *Acta Vet. Scand.*, 20, 417~428, 1979.
- 46) Groves, R. D. and Welshimer, H. J. : Separation of Pathogenic from Apathogenic *Listeria monocytogenes* by Three *in vitro* Reactions. *J. Clin. Microbiol.*, 5, 559~563, 1977.
- 47) 原文男, 上野八朗, 白石忠昭, 岡田雪男, 大福静雄 : *Listeria monocytogenes* による牛の死産例. 日獣会誌, 36, 205~209, 1983.
- 48) Hartemink, R. and Georgsson, F. : Incidence of *Listeria* Species in Seafood and Seafood Salads. *Intern. J. Food Microbiol.*, 12, 189~196, 1991.
- 49) Harvey, R. L. and Chandrasekar, P. H. : Chronic Meningitis Caused by *Listeria* in a Patient Infected with Human Immunodeficiency Virus. *J. Infect. Dis.*, 157, 1091, 1988.
- 50) 橋本久彦, 林 政次, ほか : 乳用牛に発生したリステリア症. 全国家保衛生業績抄録, 家畜衛生の進歩, 20, 69 1986.
- 51) 早坂成郎, 内村和也, 岩渕 功, 岡崎好子, 鈴木達郎, 金子 晋, 三輪律子, 下徳辺昭郎 : 子豚のリステリア症の1発生例. 千葉家衛研報, 13, 25~29, 1986.
- 52) Hayes, P. S., Feeley, J. C., Graves, L. M., Ajello, G. W. and Fleming, D. W. : Isolation of *Listeria monocytogenes* from Raw Milk. *Appl. Environ. Microbiol.*, 51,, 438~440, 1986.
- 53) Herald, P. J. and Zottola, E. A. : Attachment of *Listeria monocytogenes* to Stainless Steel Surface at Various Temperatures and pH Values. *J. Food Sci.*, 53,1549~1552, 1988.
- 54) Hirato, K., Shimizu, K., Ono, T., Satoh, G., Yawata, Y. and Nishihara, Y. : Bacteriological Observations on an Outbreak of Ovine Listeriosis in Sapporo. *Vet. Res.*, 1 191~201, 1954.
- 55) Hird, D. W. : Review of Evidence for Zoonotic Listeriosis. *J. Food Protect.*, 50, 429~433, 1987.
- 56) 広田浩二, 小泉俊二, 有本親史, 木村容子, 鈴木 要, 菊一三四二 : 牛リステリア脳炎の一症例. 日獣会誌, 29, 臨時増刊号, 190~191, 1976.
- 57) Ho, J. L., Shands, K. N., Friedland, G., Eckind, P. and Fraser, D. W. : An Outbreak of Type 4b *Listeria monocytogenes* Infection Involving Patients from Eight Boston Hospitals. *Arch. Intern. Med.*, 146, 520~524, 1986.
- 58) Hof, H. and Rocourt, J. : Is any Strain of *Listeria monocytogenes* detected in Food a Health Risk? *Intern. J. Food Microbiol.*, 16, 173~182, 1992.
- 59) 堀口隆男, 竹内健児, 伊藤孝二, 草刈直文, 溝辺一喜 : 乳牛のリステリア症に対する臨床学的考察. 日獣会誌, 31, 臨時増刊号, 22, 1977.

- 60) 細田哲哉, 旭 興正, 秋山 綽, 坪 正: 豚 *Listeria* 症の発生報告. 日獣会誌, 7, 493~497, 1954.
- 61) 兵庫 裕: 山羊に認められたリステリア症様疾患の一例. 日獣誌, 13, 362, 1951.
- 62) Ibrahim, A. and Mac Rae, I. C.: Incidence of *Aeromonas* and *Listeria* spp. in Red Meat and Milk Samples in Brisbane, Australia. *Intern. J. Food Microbiol.* 12, 263~270, 1991.
- 63) Iida, T., Kanzaki, M., Murayama, T., Inoue, S. and Kaneuchi, C.: Prevalence of *Listeria monocytogenes* in Intestinal Contents of Healthy Animals in Japan. *J. Vet. Med. Sci.*, 53, 873~875, 1991
- 64) 今村一也, 平島勝数, ほか: 乳用牛に見られたリステリア病. 全国家保衛生業績抄録, 家畜衛生の進歩, 18, 62, 1984.
- 65) 稲葉辰雄, 籠田勝基: めん羊におけるリステリア症の一例. 北海道獣医師会誌, 4, 140~142, 1960.
- 66) Inoue, S., Iida, T., Tanikawa, C., Maruyama, T. and Morita, C.: Isolation of *Listeria monocytogenes* from Roof Rats (*Rattus rattus*) in Buildings in Tokyo. *J. Vet. Med. Sci.*, 53, 521~522, 1991.
- 67) Inoue, S., Tanikawa, T., Kawaguchi, J., Iida, T. and Morita, C.: Prevalence of *Listeria* (spp.) in Wild Rats Captured in the Kanto Area of Japan. *J. Vet. Med. Sci.*, 54, 461~463, 1992.
- 68) 岩手県病性鑑定報告 (昭和39~53年): 乳牛に発生したリステリア症. 1, 81~82, 1979.
- 69) Jensen, R. and MacKey, D. R.: Listeriosis in Cattle and Sheep. *J. Amer. Vet. Med. Assoc.*, 114, 420~424, 1949.
- 70) Johnson, J. L., Doyle, M. P., Cassens, R. G. and Schoeni, J. L.: Fate of *Listeria monocytogenes* in Tissues of Experimentally Infected Cattle and in Hard Salami. *Appl. Environ. Microbiol.*, 54, 497~501, 1988.
- 71) Junttila, J. R. Niemerä, S. I. and Hirn, J.: Minimum Growth Temperature of *Listeria monocytogenes* and Non-hemolytic *Listeria*. *J. Appl. Bacteriol.*, 65, 321~327, 1988.
- 72) 家畜衛生週報 (農水省): リステリア症. 1709, 227; 1730, 407 (1982), 1768, 323 (1983), 1824, 356 (1984), 1858, 204; 1858, 207; 1866, 270 (1985), 1915, 266; 1920, 306 (1986), 1954, 174; 1957, 199; 1962, 238; 1967, 279; 1984, 14(1987), 1994, 92(1988), 2106, 180; 2112, 227; 2120, 294 (1990).
- 73) Kampelmacher, E. H. and Noorle Jansen, L. M. van: Isolation of *Listeria monocytogenes* from Faeces of Clinically Healthy Humans and Animals. *Zentralbl. Bakteriol.* I, Orig., 211, 353~359, 1969.
- 74) Kampelmacher, E. H. and Noorle Jansen, L. M. van: Further Studies on the Isolation of *L. monocytogenes* in Clinically Healthy Individuals. *Zentralbl. Bakteriol.* I, Orig., A 221, 70~77 1972.
- 75) Kampelmacher, E. H. and Noorle Jansen, L. M. van: Listeriosis in Humans and Animals in the Netherlands(1958~1977). *Zentralbl. Bakteriol.* I, Orig., A 246, 211~227, 1980.
- 76) 叶内恒雄, 小林正人, 鶴田 実, 蘇武秀名, 新関博夫, 早坂恭二: 乳用牛のリステリア症の発生と給与中のサイレージからのリステリア菌の分離. 日獣会誌, 40, 850-853, 1987.
- 77) 金子 晋, 鈴木達郎: 豚のリステリア症様疾病の発生例. 全国家保衛生業績抄録, 家畜衛生の進歩, 10, 26, 1972.
- 78) 加藤 博: *Listeria monocytogenes* のスキムミルク中における増殖について. 食品と微生物, 8, 131~134, 1991.

- 79) Kato, H. and Murakami, T. : Isolation *Listeria monocytogenes* from an *Oesterus ovis* Larva Harvested from a Sheep with Listeria Encephalitis. *Jpn. J. Vet. Sci.*, 24, 39~43, 1962.
- 80) 勝部泰次 : 食品に起因するリステリア症. 防菌防黴誌, 17, 455~462, 1989.
- 81) 勝部泰次, 丸山総一 : リステリア症と食品衛生. 食衛誌, 30, 479~490, 1989.
- 82) 勝部泰次, 丸山総一 : わが国の家畜におけるリステリア症, 1948~1990. 日獣会誌, 44, 681~689, 1991.
- 83) 小林保裕 : めん羊のリステリア症の1症例について. 全国食肉衛生検査所協議会第25回全国大会, 80~81, 1989.
- 84) 小久保弥太郎, 飯田 孝, 金子誠二, 丸山 務 : 各種食肉における *Listeria monocytogenes* の汚染実態. 第110回日本獣医学会, 1990.
- 85) 小久保弥太郎 : 食品を対象とした *Listeria monocytogenes* の検査法. 食品と微生物, 8, 1~11, 1991.
- 86) 小久保弥太郎 : *Listeria monocytogenes*, 潜在的有害細菌と食中毒. 食品と微生物, 9, 13~22, 1992.
- 87) 小久保弥太郎 : 畜産食品のリステリア汚染, 畜産食品の安全性をめぐる諸問題. 畜産の研究, 46, 168~174, 1992.
- 88) 小出朋子, 丸山総一, 勝部泰次 : 生乳スラッジからの *Listeria* の分離. 未発表, 1991.
- 89) 久米常夫, 佐々木昇, 附田政三 : 牛のリステリア症の1例. 日獣会誌, 12, 67~70, 1959.
- 90) Laird, J. M., Bartlett, F. M. and McKellar, R. C. : Survival of *Listeria monocytogenes* in Egg Washwater. *Intern. J. Food Microbiol.*, 12, 115~122, 1991.
- 91) Larsson, S. : Epidemiology of Listeriosis in Sweden 1958-1974. *Scand. J. Infect. Dis.*, 11, 47~54, 1979.
- 92) Leason, S. B. and Foegeding, P. M. : *Listeria* Species in Broken Raw Liquid Whole Egg. *J. Food Protect.* 52, 777~780, 1989.
- 93) Lewis, S. J. and Corry, E. L. : Survey of the Incidence of *Listeria monocytogenes* and Other *Listeria* spp. in Experimentally Irradiated and in Matched Unirradiated Raw Chicken. *Intern. J. Food Microbiol.*, 12, 257~262, 1991.
- 94) Linnan, M. J., Mascola, L. Dong Lou, X., Goulet, V., May, S., Salminen, C., Hird, D. W., Yonekura, L., Hayes, P., Weaver, R., Audurier, A., Plikaytis, B. D., Fannin, S. L., Kleks, A. and Broome, C. V. : Epidemic Listeriosis Associated with Mexican-Style Cheese. *New Engl. J. Med.*, 319, 823~828, 1988.
- 95) Løken, T., Aspøy, E. and Grønstedt, H. : *Listeria monocytogenes* Excretion and in a Humoral Immunity in Goats in a Herd with Outbreaks of Listeriosis and in a Healthy Herd. *Acta Vet. Scand.*, 23, 392~399, 1982.
- 96) Lovett, J., Francis, D. W. and Hunt, J. M. : *Listeria monocytogenes* in Raw Milk : Detection, Incidence, and Pathogenicity. *J. Food Protect.*, 50, 188~192, 1987.
- 97) Low, J. C. and Renton, C. P. : Septicemia, Encephalitis and Abortions in a Housed Flock of Sheep Caused by *Listeria monocytogenes* Type 1/2. *Vet. Rec.*, 116, 147~150, 1985.
- 98) MacLeod, N. S. M. and Watt, J. A. : *Listeria monocytogenes* Type 5 as a Cause of Abortion in Sheep. *Vet. Rec.*, 95, 365~367, 1974.
- 99) 丸山 務 : 食品衛生におけるリステリア菌. 食品と微生物, 6, 3~15, 1989.
- 100) 丸山 務 : 最近のリステリア菌に関する話題—特に食品衛生の立場から—. 感染症, 20, 36~40, 1990.
- 101) Maruyama, T. : Epidemiological Studies on the Occurrence of *Listeria* in the Feces of

- Domestic Animals and Meat in Japan, Emerging Food Safety Problem Resulting from Microbial Contamination. *Proc. 7th Intern. Symp. Toxic Microorganisms*, 313~319, 1991.
- 102) 増田十茂子, 岩谷美枝, 高吉実之, 中田 均, 三浦平吉, 大久保智, 木村豊彦, 小久保弥太郎, 丸山 務: 鮮魚介類の*Listeria*属菌ならびにその他細菌汚染の実態. 第61回日本食品衛生学会, 1991.
- 103) 松崎静枝, 片山 淳, 岡田雅裕, 遠藤隆二, 田中一成, 関屋健三, 柴田寛二: カマンベールチーズ製造時に殺菌乳又は加塩槽水をリステリア菌で人為的に汚染させた場合の中間製造及び製品中における本菌の消長. *食衛誌*, 32, 498~503, 1991.
- 104) McLauchlin, J.: A Review. *Listeria monocytogenes*, Recent Advances in the Taxonomy and Epidemiology of Listeriosis in Humans. *J. Appl. Bacteriol.*, 63, 1~11, 1987.
- 105) McLauchlin, J.: Human Listeriosis in Britain, 1967-85, a Summary of 722 Cases. 1. Listeriosis during Pregnancy and in the Newborne. *Epidemiol. Infect.*, 104, 181~189, 1990.
- 106) McLauchlin, J.: Human Listeriosis in Britain, 1967-85, a Summary of 722 Cases. 2. Listeriosis in non-pregnant Individuals, a Changing Pattern of Infection and Seasonal Incidence. *Epidemiol. Infect.*, 104, 191~201, 1990.
- 107) 三浦定夫, 大島寛一: 第3回獣医病理研修会記事. めん羊のリステリア症, *獣畜新報*, No.39, 272, 1965.
- 108) 水谷浩志, 飯田 孝, 丸山 務: 牛と豚の腸内容物および枝肉からの*Listeria monocytogenes*の分離. *日獣会誌*. 43, 602~605, 1990.
- 109) Moore, R. M. and Zehmer, R. B.: Listeriosis in the United States-1971, from the Center for Disease Control. *J. Infect. Dis.*, 127, 610~611, 1973.
- 110) 村上敏明: 家畜のリステリア症に関する研究. 第4報リステリア症の発生調査, *岩手大学農学部報*, 6, 253~268, 1962.
- 111) 村上敏明: 私信, 1991.
- 112) Murray, E. G. D., Webb, R. A. and Swann, M. B. R.: A Disease of Rabbits Characterised by a Large Mononuclear Leukocytosis, Caused by a Hitherto Undescribed Bacillus *Bacterium monocytogenes*. *J. Pathol. Bacteriol.*, 29, 407~439, 1926.
- 113) 中林 大, 荻野博明, 渡辺大成, 石田秀史, 鶴巻藤太郎, 神野一夫, 安原敏治: 乳用育成牛に発生したリステリア症とサイレージからのリステリア菌の分離. *新潟県家畜病性鑑定年報* (昭和61年度), 23~31, 1987.
- 114) 中村英樹, 吉田幸雄, 桐原陽子: *Listeria monocytogenes*による牛の流産例. *日獣会誌*, 38, 臨時増刊号, 185~186, 1985.
- 115) 仲村和典, 松田真紀代, ほか: 牛のリステリア症の発生例. *全国家保衛生業績抄録*, 家畜衛生の進歩, 20, 69, 1986.
- 116) 永井龍夫: わが国におけるヒトのリステリア症. *臨床病理*, 30, 364~370, 1982.
- 117) 永井龍夫: 金井興美編, *微生物検査必携*, 細菌・真菌検査, 第3版, G21~33, リステリア. *日本公衆衛生協会*, 東京, 1987.
- 118) Ödegaard, B., Grelland, R. and Henriksen, S. D.: A Case of Listeria-infection in Man, Transmitted from Sheep. *Acta. Med. Scand.*, 142, 231~238, 1952.
- 119) Ohshima, K., Miura, S., Numakunai, S. and Chihaya, Y.: A Case of Bovine Cerebral Listeriosis with Ocular Lesion. *Jpn. J. Vet. Sci.*, 36, 183~185, 1974.
- 120) 大月義則, 小林芳次: 乳牛に発生したリステリア症. *全国家保衛生業績抄録*, 家畜衛生の進歩, 9, 51, 1971.
- 121) 沖田和彦, 飯田八洲司, 品川秀雄, 富樫良男, 三田清成, 岸本政藤, 阿部修二: 乳牛のリステリア様症状を呈した2症例について, *日獣会誌*, 39, 臨時増刊号, 27, 1986.

- 122) Osebold, J. W., Kendrick, J. W. and Njoku-Obi, A : Cattle Abortion. *J. Amer. Vet. Med. Assoc.*, 137, 221~226, 1960.
- 123) Owen, C. R., Meis, A., Jackson, J. W. and Stoenner, H. G. : A Case of Primary Cutaneous Listeriosis. *New Engl. J. Med.*, 262, 1026~1028 1960.
- 124) Petran, R. L. and Zottola, E. A. : A Study of Factors Affecting Growth and Recovery of *Listeria monocytogenes* Scott A. *J. Food Sci.*, 54,458~460, 1989.
- 125) Petran, R. L., Zottola, E. A. and Gravani, R. B. : Incidence of *Listeria monocytogenes* in Market Samples of Frozen Vegetables. *J. Food.Sci.*, 53, 1238~1240, 1988.
- 126) Pini, P. N. and Gilbert, R. J. : The Occurrence in the U. K. of *Listeria* Species in Raw Chicken and Soft Cheese. *Intern. J. Food Microbiol.*, 6, 317~326, 1988.
- 127) Ralovich, B. : Listeriosis Research, Present Situation and Perspective, Akadémiai Kiadó., Budapest, 1984.
- 128) Recommendations by the National Advisory Committee on Microbiological Criteria for Foods : *Listeria monocytogenes*. *Intern. J. Food. Microbiol.*, 14, 185~246, 1991.
- 129) Reuter, R., Bowden, M. and Palmer, M. : Ovine Listeriosis in South Coastal Western Australia. *Austral. Vet. J.*, 66, 223~224, 1989.
- 130) Rocourt, J. and Grimont, P. A. D. : *Listeria welshimeri* sp. nov. and *Listeria seeligeri* sp. nov. *Intern. J. Syst. Bacteriol.*, 33, 866~869,1983.
- 131) Rocourt, J., Schrettenbrunner, A. and Seeliger, H. P. R. : Differentiation Biochimique des Groupes Génomiques *Listeria monocytogenes* (*Sensu lato*). *Ann. Microbiol.*, 134A, 65~71, 1983.
- 132) Rocourt, J., Wehmeyer, U., Cossart, P. and Stackebrandt, E. : Proposal to Retain *Listeria murrayi* and *Listeria grayi* in the Genus *Listeria*. *Intern. J. Syst. Bacteriol.*, 37, 298~300, 1987.
- 133) Rocourt, J., Wehmeyer, U. and Stackebrandt, E. : Transfer of *Listeria denitrificans* to a New Genus, *Jonesia* gen. nov., as *Jonesia denitrificans* comb. nov. *Inten. J. Syst. Bacteriol.*, 37, 266~270, 1987.
- 134) Ryser, E. T. and Marth, E. H. : Behavior of *Listeria monocytogenes* during Manufacture and Ripening of Cheddar Cheese. *J. Food Protect.*, 50, 7~13,1987.
- 135) Ryser, E. T., Marth, E. H. and Doyle, M. P. : Survival of *Listeria monocytogenes* during Manufacture and Storage of Cottage Cheese. *J. Food Protect.*, 48, 746~750, 1985
- 136) 斉藤文生, 長谷川正一, 管原静生, 小野寺正泰, 渡辺一博, 阿部真理子 : めん羊に発生したリステリア症. 日獣会誌, 39, 臨時増刊号, 222, 1986
- 137) 斉藤章暢, 徳丸雅一, 正木宏幸, 板屋民子, 青木敦子, : 生乳からの *Listeria monocytogenes* の検査法の比較と生乳における *Listeria* 汚染状況. 日獣会誌, 44, 378~383, 1991.
- 138) 沢谷広志, 大谷英彦, 松本弘明, 加藤雅美, 篠田光雄, 高橋 勉 : 山羊のリステリア症とみなされた一例. 日獣会誌, 27, 臨時増刊号, 686, 1974.
- 139) Schlech, W. F. III, Lavigne, P. M., Bortolussi, R. A., Allen, A. C., Haldane, E. V., Wort, A. J., Hightower, A. W., Johnson, S. E., King, S. H., Nicholls, E. S. and Broome, A. C. : Epidemic Listeriosis-Evidence for Transmission by Food. *New Engl. J. Med.*, 308, 203~206, 1983.
- 140) Schwartz, B., Ciesielski, C. A., Broome, C. V., Gaventa, S., Brown, G. R., Gellin, B. G., Hightower, A. W., Mascola, L. and the Listeriosis Study Group : Association of Sporadic Listeriosis with Consumption of Uncooked Hot Dogs and Undercooked Chicken. *Lancet*, II, 779~782, 1988.

- 141) Seaman, J. T., Carrigan, M. J., Cockram, F. A. and Carter, G. I. : An Outbreak of Listerial Myelitis in Sheep. *Austral. Vet. J.*, 67, 142~143, 1990.
- 142) Seeliger, H. P. R. : Listeriosis, Karger, S., Basel-New York, 1961.
- 143) Seeliger, H. P. R. : Apathogene Listerien : *L. innocua* sp. n. (Seeliger et Schoofs, 1977) *Zentralbl. Bakteriolog. Hyg., I. Abt. Orig. A* 249, 487~493, 1981.
- 144) Seeliger, H. P. R., Rocourt, J., Schrettenbrunner, A., Grimont, P. A. D. and Jones, D. : *Listeria ivanovii* sp. nov. *Intern. J. Syst. Bacteriol.*, 34, 336~337, 1984.
- 145) 芹川 慎, 草刈直仁, 扇 勉, 仙名和浩, 米道祐弥, 岸 昊司, 永井龍夫 : めん羊におけるリステリア症の集団発生. *日獣会誌*, 42, 781~785, 1989.
- 146) Sharp, M. W. : Bovine Mastitis and *Listeria monocytogenes*. *Vet. Rec.*, 122, 512~513, 1989.
- 147) 芝田英一, 中野良宣, 大岩 良, 石倉公昭, 岩間勝広, 五十嵐康博, 花ヶ前董, 木戸 実 : 北海道宗谷地区における乳牛のリステリア症の発生状況. *日獣会誌*, 31, 345~347, 1978.
- 148) 清水亀平次, 白幡敏一, 黒川俊男, 児玉宣弘, 永井龍夫 : *Listeria monocytogenes*による牛の流産例について. *日獣誌*, 28, 学会号, 465, 1966.
- 149) Sizmur, K. and Walker, C. W. : *Listeria* in Prepacked Salads. *Lancet*, I, 1167, 1988.
- 150) Smith, R. E., Reynolds, I. M. and Bennet, R. A. : *Listeria monocytogenes* and Abortion in a Cow. *J. Amer. Vet. Med. Assoc.*, 126, 106~110, 1955.
- 151) Stamm, A. M., Dismukes, W. E., Simmons, B. P., Cobbs, C. G., Elliott, A., Budrich, P. and Harmon, J. : Listeriosis in Renal Transplant Recipients. : Report of an Outbreak and Review of 102 Cases. *Rev. Infect. Dis.*, 4, 665~682, 1982.
- 152) Stuart, S. and Welshimer, H.J. : Taxonomic Reexamination of *Listeria Pirie* and Transfer of *Listeria grayi* and *Listeria murrayi* to a New Genus, *Murraya*. *Intern. J. Syst. Bacteriol.*, 24, 177~185, 1974.
- 153) 須川章夫, 宮入一雄 : めん羊に認められた化膿性脳炎 (Listeriosis?) の一例. *日獣会誌*, 4, 80~83, 1951.
- 154) 鈴木希伊, 林谷秀樹, 金子賢一, 濱崎伸一郎, 小川益男 : 渡り鳥を中心とした野鳥における *Listeria* 属菌の保有状況について. 第110回日本獣医学会, 1990.
- 155) 鈴木青磁, 寒河江勲, 大谷勝美, 大滝俊彦, 我孫子知恵子, 武田久子 : と畜検査においてみられた牛の2症例について. 全国食肉衛生検査所協議会微生物部会, 第8回研修会, 1988.
- 156) Swaminathan, B., Hayes P. S., Graves, L. M., Schuchat, A., Pinner, R. W., Wenger, J. D., Broome, C. V. and the *Listeria* Study Group : Epidemiology and Microbiology of Foodborne Listeriosis, Emerging Food Safety Problem Resulting from Microbial Contamination. *Proc. 7th Intern. Symp. Toxic Microorganisms*, 293~311, 1991.
- 157) 田淵英一, 秋山 綽, 細田哲哉 : Listeriosisとおもわれる馬の脳膜炎の一例について. 家衛試研究報告, 25, 83~90, 1952.
- 158) 田島正典 : 家畜における脳脊髄炎に関する病理学的研究. II. 山羊の *Listerellosis* 様疾患について. *日獣誌*, 12, 241~245, 1950.
- 159) 田島正典, 藤本 胖, 石黒正雄 : 家畜におけるリステリア症の第3例. *獣畜新報*, 56, 75~76, 1951.
- 160) 高木謙二, 矢崎廣久, 小倉 廣, 太田原美作雄 : *Listeria monocytogenes*の市販ナチュラルチーズからの検出. 第107回日本獣医学会, 1989.
- 161) Tham, W.A. and Danielsson-Tham, V.M.L. : *Listeria monocytogenes* Isolated from Soft Cheese. *Vet. Rec.*, 122, 539~540, 1988.
- 162) 寺尾通徳 : わが国におけるリステリア菌の分離状況. *感染症*, 20, 30~35, 1990.

- 163) 寺尾通徳, 本間ゆかり, 永井龍夫: 1988年中に認められたヒトのリステリア症. 第63回日本感染症学会, 1989.
- 164) 寺尾通徳, 本間ゆかり, 永井龍夫: 1989年中に認められたヒトのリステリア症. 第64回日本感染症学会, 1990.
- 165) 寺尾通徳, 石橋美也子: 1990年中に認められたヒトのリステリア症. 第65回日本感染症学会, 1991.
- 166) 富田正章, 中島良博, 末永美展, 正司 茂, 山県 宏: 豚のリステリア症例について. 日獣会誌: 35, 臨時増刊号, 170, 1982.
- 167) 椿 志郎, 大草 潔, 旭 興世: 健康牛糞便からのリステリア菌検出について. 第77回日本獣医学会, 1974.
- 168) 豊田元雄: 家畜ならびに人のリステリア病に関する研究, とくに茨城県における疫学的観察を中心として. 麻布獣医科大学研究報告, 2, 69~78, 1977.
- 169) 渡部剛史, 前田豊文, 岸本昌久, 赤木敬補: 乳牛に発生したリステリア症の1症例について. 日獣会誌, 36, 臨時増刊号, 56, 1983.
- 170) Weis, J. and Seeliger, H. P. R.: Incidence of *Listeria monocytogenes* in Nature. *Appl. Microbiol.*, 30, 20~32, 1975.
- 171) WHO Working Group: Foodborne Listeriosis. *WHO Bull.*, 66, 421~428, 1988.
- 172) Wilesmith, J. W. and Gitter, M.: Epidemiology of Ovine Listeriosis in Great Britain. *Vet. Rec.*, 119, 476~470, 1986.
- 173) 山川 徹, 真上次夫, 藤谷和寛: と畜検査において発見されたリステリア症様疾患牛の1例について. 日獣会誌, 27, 臨時増刊号, 678, 1974.
- 174) Youseff, A. E. and Marth E. H.: Behavior of *Listeria monocytogenes* during the Manufacture and Storage of Colby Cheese. *J. Food Protect.*, 51, 12~15, 1988.
- 175) 全国食肉衛生検査所協議会: リステリアに関するアンケート調査. 第25回全国大会, 1989. 「旭川食肉衛生検査所, 東藻琴食肉衛生検査所, 函館市食肉衛生検査所, 山形県内陸食肉衛生検査所, 紫波食肉衛生検査所, 仙北食肉衛生検査所, 新潟県食肉衛生検査所, 西播磨食肉衛生検査所, 岡山県食肉衛生検査所, 山口県生活衛生課, 熊本食肉衛生検査所」.

ヒトの腸炎患者から分離された *Salmonella typhimurium* のプラスミドプロフィールについて

富田正章・松崎静枝・片山 淳
遠藤隆二・宮村恵宣

〔受付：1992年8月20日〕

PLASMID PROFILES OF *SALMONELLA TYPHIMURIUM* ISOLATED FROM ENTERITIS.

Masaaki TOMITA, Shizue MATSUSAKI, Atsushi KATAYAMA
Ryuji ENDO and Shigenori MIYAMURA.

*Division of Biology, Yamaguchi Prefectural Research Institute of
Health, Yamaguchi City, Yamaguchi Prefecture, 753, Japan*

〔Received for publication : August 20, 1992〕

SUMMARY

A total of 107 *Salmonella typhimurium*, which were isolated from patients with enteritis between 1977 and 1990, were examined for the presence of plasmids. Out of the 107 isolates, 76 strains carried one or more plasmids. The plasmid profiles were divided into 38 patterns. Particularly, plasmid profile analysis was a useful tool for epidemiological investigation in the isolates, which showed a susceptible pattern to antibiotics or an identical resistance pattern to antibiotics. Out of the 39 isolates which carried large (larger than 40 kb) plasmids, 17 isolates showed resistance to antibiotics. In these 17 isolates, 4 strains carried the transferable plasmid by conjugation.

要 約

1977年から1990年の間にヒトの腸炎患者から分離された *S. typhimurium* 107株のプラスミド保有状況について調査を実施した。被験菌株107株中76株は種々の大きさのプラスミドを保有していた。プラスミド保有株のプラスミドプロフィールは38種類に分類できた。特に、薬剤感受性株や薬剤耐性が共通の菌株においてはプラスミドプロフィールによる分類は有効であることが確認された。プラスミドのうち40kb以上の大型のプラスミドは39菌株に認められ、このうち17株は薬剤耐性であった。薬剤耐性株のうち4株に伝達性Rプラスミドが検出された。

はじめに

サルモネラは人や動物に腸炎を主体とした症状をおこし、公衆衛生上あるいは経済上大きな問題となっている。サルモネラ感染症の疫学調査の手

段として血清型別、生物型別、薬剤感受性、プラスミドプロフィール、フェージ型別が用いられている。これらのうち、プラスミドプロフィールはヒトの集団腸炎発生事例における原因食品の決定^{2,8)}や動物の感染事例における疫学調査^{6,7)}に用い

られ、その精度は高く、有効な疫学マーカーとなることが報告されている。しかし、サルモネラの各血清型におけるプラスミドの保有率やプラスミドプロフィールについては不明な点が多い。

そこで、県内の下痢症患者から分離されたサルモネラのうち主要な血清型である *S. typhimurium* のプラスミド保有状況とプラスミドプロフィールについて調査を実施した。

材料と方法

菌株

1977年から1990年の間に発生したヒトの散発性下痢症患者及び集団腸炎事例の患者から分離された *S. typhimurium* 107株を用いた。なお、集団腸炎患者由来株は各事例から任意の1株を被験菌とした。これらの分離菌株は、ドルセットの卵培地で継代保存されたものを用いた。

プラスミドの分離

L培地4mlに被験菌を接種後、37°C、1夜培養後の菌液をKadoとLiuの方法⁹⁾によりプラスミド試料を調製した。プラスミド試料は0.7% agarose 1600 (和光純薬) でトリスホウ酸緩衝液 (pH 8.3) 中で10V/cm 2時間泳動後、エチジウムブロマイド (0.5μg/ml) で染色し、トランスイルミネーターを用い写真撮影を行った。プラスミドの分子量マーカーとしてはλ/Hind III digest (BRL)、山口大学医学部中沢晶子教授から分与されたプラスミド pTN2 (116Kb)、pMT300 (80kb)、RPS (60kb)、pSa (39kb) 及び *S. typhimurium* 2933由来の病原性プラスミド (100kb) を用いた。

薬剤感受性試験

細菌感受性試験用ディスペンサーオーディスク (Difco) を用い1濃度ディスク法により実施した。用いた薬剤ディスクはアンピシリンナトリウム (ABPC, 10μg)、セファゾリンナトリウム (CEZ, 30μg)、セファロチンナトリウム (CET, 30μg)、硫酸カナマイシン (KM, 30μg)、硫酸ゲンタマイシン (GM, 10μg)、硫酸ストレプトマイシン (SM, 10μg)、塩酸テトラサイクリン (TC, 30μg)、クロラムフェニコール (CP, 30μg)、硫酸コリスチン (CL, 10μg)、ホスホマイシン (FOM, 30μg)、ナリジクス酸 (NA, 30μg)、トリメトプリム・スルファメトキサゾール (ST, 1.25/23.75μg) である。

接合性Rプラスミドの検出

薬剤耐性を示した菌株をドナーとし、レシピエントとしては *E. coli* K12株由来 C600 (ナリジクス酸耐性) を用いた。ドナーとレシピエントをブレインハートインフュージョン液体培地で37°C、1夜培養後、各々の菌液0.2mlを3mlのブレインハートインフュージョン液体培地に混合し、37°C 1夜培養した。培養後の菌液をナリジクス酸 (25μg/ml) とドナーのもつ耐性薬剤の1つを添加した薬剤感受性試験用寒天培地 (日水製薬株) に塗抹しトランスコンジュガントを選択した。

結 果

被験菌株のプラスミドプロフィールはTable 1に示すとおりである。被験菌107株中76株 (71%) にプラスミドが検出され、このうち36株は2個以上のプラスミドを保有していた。プラスミドの検出された76株のプラスミドプロフィールは38種類に分類できた。その内9種類のプラスミドプロフィールは複数の菌株に認められた。その内訳は、115kbのプラスミド3株、100kb、47kb、1.5kbのプラスミド2株、100kbのプラスミド13株、71kbのプラスミド2株、40kbのプラスミド2株、4.6kbのプラスミド6株、2.8kb、2.3kbのプラスミド6株、2.8kb、2.3kb、1.0kbのプラスミド2株、2.3kbのプラスミド10株であった。一方、40kb以上の大型のプラスミドを有するものが39株に認められた。これら大型のプラスミドを保有する菌株の薬剤感受性はTable 1に示すとおりである。39株中17株に薬剤耐性が認められた。このうち、2剤以上の多剤耐性を示すものが14株に認められた。耐性薬剤の内訳は、ABPC14株、TC13株、SM9株、KM8株、CP10株、ST3株、NA1株であった。薬剤耐性の認められた17株のうちNA耐性の1株を除く16株のうち伝達性Rプラスミドの検出されたのは4株であった。伝達された薬剤耐性の内訳はTC2株、TC及びCP1株、ABPC1株であった。また、これらのトランスコンジュガントのプラスミドのサイズはドナーの持つプラスミドのサイズと一致していた。(Fig. 1)。

また、薬剤耐性のパターンは同一であっても、プラスミドプロフィールの異なる菌株が認められた。

Table 1. Plasmid and drug resistance patterns of *S. typhimurium* isolates.

Size(kb) of plasmid detected	Number of strains	Drug resistance	Transferred drug resistance	Strain
125 ^{a)} 40 4.6 1.9	1	TC SM ABPC	TC	ST30
125 ^{a)} 100 2.3	1	TC CP	TC CP	ST35
115 ^{a)} 100	1	TC	TC	ST8
115 1.4 1.2	1	TC CP ABPC KM ST		
115	1	TC CP ABPC KM		
115	1	TC CP ABPC KM ST		
115	1	SM ABPC		
100 93 2.8 2.3	1	Sensitive		
100 47 1.5	2	Sensitive		
100 71	1	Sensitive		
100 4.6 2.8 2.1	1	Sensitive		
100 4.6 2.8	1	TC SM ABPC KM		
100 4.6 1.5	1	SM CP ABPC		
100 4.6 1.4	1	Sensitive		
100 2.8 2.3	1	TC SM ABPC KM		
100 2.1	1	Sensitive		
100 1.0	1	TC SM ABPC CP KM		
100	1	ABPC		
100 ^{a)} 3.4 2.3	1	ABPC	ABPC	ST87
100	9	Sensitive		
100	1	TC CP NA		
100	2	TC CP ABPC SM KM		
93 7.5	1	TC CP ABPC SM ST		
71 4.6 2.8 2.3 1.4	1	Sensitive		
71	2	Sensitive		
40 6.0 4.6	1	Sensitive		
40	2	Sensitive		
7.5 4.6	1			
6.6 4.6 2.8 2.3 1.0	1			
5.4	1			
5.0 2.8 1.9	1			
4.6 2.8 2.3	1			
4.6 2.8 2.3 1.0	1			
4.6 2.8	1			
4.6	6			
2.8 2.3 1.0	2			
2.8 2.3	6			
2.8 1.5	1			
2.8	1			
2.3 2.1	1			
2.3 1.4 1.2 1.0	1			
2.3	10			
2.1	1			
1.0	1			
plasmid-free	31			

a) Size of conjugative R plasmid.

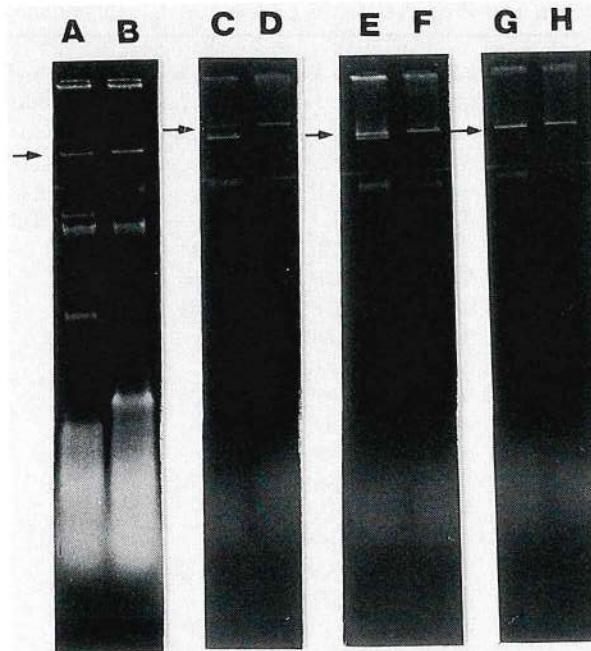


Fig. 1. Agarose gel electrophoresis of plasmid DNA from *S. typhimurium* and transconjugant. Arrow indicates the transferable plasmid. Lane A : strain ST30, Lane B : transconjugant with strain ST30, Lane C : strain ST35, Lane D : transconjugant with strain ST35, Lane E : strain ST 8, Lane F : transconjugant with strain ST 8, Lane G : strain ST87, Lane H : transconjugant with strain ST87.

考 察

サルモネラ感染症の疫学調査として、血清型別、生物型別、ファージ型別、プラスミドプロファイル、薬剤感受性が用いられている。これらのうち、プラスミドプロファイルはファージ型別とともにその特異性が高く評価され、プラスミドプロファイルにより汚染源が決定された事例がいくつか報告されている^{2,6)}。しかし、各血清型におけるプラスミドの保有率やプラスミドプロファイルについては不明点が多い。そこで、サルモネラの主要な血清型である *S. typhimurium* のプラスミド保有状況とプラスミドプロファイルについて調査を実施した。

被験菌107株中76株(71%)に種々の大きさのプラスミドが検出されたが、分離された年によるプラスミドプロファイルの特徴は認められなかった(データ省略)。プラスミド保有菌株では薬剤感受

性や薬剤耐性が同一のパターンを示す菌株であっても、多くのもはそのプラスミドプロファイルが異なっていることから、*S. typhimurium* においてはプラスミドプロファイルが疫学調査の手段として有効であることが確認された。しかし、プラスミドを保有しない菌株が被験菌107株中31株に認められることや、異なる薬剤耐性を示す菌株でも同一のプラスミドプロファイルが認められること、さらには由来の異なる菌株であっても共通のプラスミドプロファイルが認められたことからプラスミドプロファイル単独での疫学調査では不十分な事例もあると考えられる。

S. typhimurium では本血清型に特異的な病原性に関与するプラスミドが確認されている³⁾。今回の分離菌株中、この病原性プラスミドと同一サイズのプラスミドを有する菌株が27株に認められた。そのうちの11株は薬剤耐性であったが16株は薬剤感受性であった。Brownら¹⁾はヒト由来の65株中37

株 (59.9%) に検出しており、一方、堀内ら⁴⁾はヒトの腸炎患者由来の55株中17株に同一サイズのプラスミドを検出している。このような差が地域性、あるいは菌株の由来によるものかは不明である。大型プラスミドを保有する39菌株中4株に伝達性Rプラスミドが認められた。これらのうち2剤以上の薬剤性が伝達されたのは1株のみであった。Nakamuraら⁶⁾はウシ由来の*S. typhimurium*で高

頻度に多剤性の伝達性Rプラスミドを検出している。Nakamuraらの報告は動物由来株ではあるが、今後ヒトの分離株においても増加が予測され、さらに調査していく必要があると考える。

謝辞

本稿を終えるに当たり、プラスミドを分与いただいた山口大学医学部微生物学教室 中澤晶子教授に深謝します。

REFERENCES

- 1) Brown, D. J., D. S. Munro, and D. J. Platt. : Recognition of the cryptic plasmid, pSLT, by restriction fingerprinting and a study of its incidence in Scottish salmonella isolates. *J. Hyg.*, 97 : 193~197, 1986.
- 2) Fantasia, M., N. Ricci, A. Manuppella, A. Martini, E. Filetici, and T. Laurelli. : Phage type and DNA plasmid profile of *Salmonella typhimurium* isolates in the area of Isernia, Italy. *Epidemiol. Infect.*, 105 : 317~323, 1990.
- 3) Helmuth, R., R. Stephan, C. Bunge, B. Hoog, A. Steinbeck, and E. Bulling. : Epidemiology of virulence-associated plasmids and outer membrane protein patterns within seven common *Salmonella* serotypes, *Infect. Immun.*, 48 : 175~182, 1985.
- 4) 堀内三吉, 後藤延一, 中谷林太郎, 伊藤 武, 高橋正樹, 大橋 誠 : ヒト由来*Salmonella typhimurium*, *S. enteritidis*, *S. braenderup*のプラスミドと薬剤耐性. *感染症学雑誌*, 61 : 167~177, 1987.
- 5) Kado, C. I., and S. T. Liu. : Rapid procedure for detection and isolation of large and small plasmids. *J. Bacteriol.*, 145 : 1365~1373, 1981.
- 6) Nakamura, M., S. Sato, T. Ohya, S. Suzuki, and S. Ikeda. : Plasmid profile analysis in epidemiological studies of animal *Salmonella typhimurium* infection in Japan. *J. Clin. Microbiol.*, 23 : 360~365, 1986.
- 7) 大沼 裕, 溝井 茂, 石山敏郎, 本間洲二. : 最近発生している乳用雄子牛の*Salmonella typhimurium* 感染症のプラスミドプロファイルによる疫学的検討. *日本獣医師会雑誌*, 41 : 561~564, 1988.
- 8) Threlfall, E. J., M. J. A. Frost, L. R. Ward, and B. Rowe. : Plasmid profile typing can be used to subdivide phage-type 49 of *Salmonella typhimurium* in outbreak investigations. *Epidemiol. Infect.*, 104 : 243~251, 1990.

dBASEを基にしたパソコンソフトによる 犬糸状虫症駆虫薬投与記録の管理

比留木 武 雄*1・福田 好 博*2

[受付：1992年8月20日]

PERSONAL COMPUTER AIDED DATA CONTROL OF THE ANTHELMINTICS (MILBEMYCIN D) TO THE DOG.

Takeo HIRUKI

*Department of Microbiology and Immunology, Shimane Medical University,
Izumo City, Shimane Prefecture, 693 Japan.*

Yoshihiro FUKUDA

Fukuda Veterinary Hospital, Yamaguchi City, Yamaguchi Prefecture, 753 Japan

[Received for Publication : August 20. 1992]

SUMMARY

Canine dirofilariasis (CD) is one of the most prevailing diseases of dogs. The method to prevent the disease is to eradicate the microfilariae of the etiological agent (nematodes) by the administration of canine dirofilariasis anthelmintics (CDA) such as milbemycin D (MD), ivermectin and diethylcalbamazine during the seasons of mosquito in the dog. Prednisolone (P) is preadministered to it together with MD. As all the healthy dogs are the subjects of the administration of CDA (about 1000 to 2000 cases in a pet clinic), the prescription fee for the medicine of CD occupies more than 1/3 of the annual income of a pet clinic. However, the work related to the administration of CDA enormously consumes the doctor's time and labor. For example, all of the breeders require a letter informing the beginning of administration of CDA. A parcel of MD and/or P must be sent to each breeder if he wants to have it mailed. The administration or mailing of CDA must be performed so that the period periodicity of about one month may be kept during the execution. Calculation of the income and making a clinical record every time are also troublesome.

To solve above mentioned problems, the authors designed a Canine Dirofilariasis Control (CDC) program using dBASE III Plus Ver.2.0 as a computer language. This paper shows the contents of CDC program, the explication of the function and the manual to tell how to use the CDC program.

* 1 島根医科大学微生物・免疫学教室

* 2 福田獣医科医院

結 論

*Dirofilaria immitis*によって起こされる犬の糸状虫症は、主として蚊によって媒介される寄生虫疾患であり、一般の開業獣医師の取り扱う疾患の中で最も症例の多いものの一つである。日本では野外における成犬の感染率は30~50%であることが知られている^{20,39}。犬糸状虫症 (*Canine Dirofilariasis*: CD) を予防するために、今日行われているのは、*Milbemycin D* (MD) (発売元: 三共株式会社)^{10,11 and 27}、*Ivermectin* (発売元: 大日本製薬株式会社、商品名はカルドメック錠)^{3,22,29 and 37}、*Diethylcabamazine*^{7,22}などの犬糸状虫駆虫薬 (*Canine Dirofilaria Anthelmintics*: CDA) を媒介昆虫である蚊の繁殖期と繁殖の終わった後二ヶ月 (6月から11月まで) の間に投与して、*Microfilariae* (MF) を撲滅する方法がとられている。ショックが予想される場合には、*Prednisolone* (P)¹¹を投与する。対象となるのは成犬であり、それだけに開業獣医師の主要な収入源の一つ (年収の三分の一以上) となっているが、このCDA投与には犬の他の疾患以上の繁雑さが伴う。次のような問題点が気付かれる。

(1) 対象犬が成犬の全てであるため、CDA投与の開始を知らせる案内状の宛名書が相当数 (一開業獣医師あたり、千から二千件) になるため、その住所録の参照と書き出しは相当に手間がかかる。

(2) 畜主の中にはCDAの郵送を希望する者と郵送を希望しない者を毎月毎に把握しておく必要がある。郵送を希望する畜主へのCDAの郵送は数が多いので、現実的には数群に分けてなさなくては対応が出来ないが、月毎にある群から別の群へ移動する者もあるし、郵送群から非郵送群へ移る者もある。これらの情報は常に管理した上で、郵送する薬を入れた封書の上に宛名が書かれなくてはならない。

(3) 犬は個体毎にPの投与が必要か否かが管理されてなくてはならない。

(4) CDA投与に際しては、個体別に記録 (犬の性別、年齢、体重、血液検査や糞便検査の結果や特異体質、その他の病気、過去の病歴など) を、いちいちカルテで参照しなくてはならない。

(5) 体重に変化がある毎にCDAの投与量計算をなさなくてはならない。

(6) 入金の状態を投与毎に把握するためには、面倒な計算が必要になる。

これらの情報管理をパソコンを用いて行えば、労力と時間を大幅に節約することになる³⁵。現在、市販の獣医科病院の情報管理のソフトとしてはTable 1に掲げるものが認められる^{9,24 and 25}。このような市販のソフトによるデータベース (DB) 管理は、概して、そのデータベースはその市販ソフトに制約され、別の目的でそのDBのみを他のソフトで利用しようとしても、プロはともかく、一般の利用者は、再入力する以外には利用の方法がない。我々は一旦入力したDBを永久資産として今後作成するソフトの上でも利用したいので、dBASE III PLUS Ver.2.0J (dBASE)³⁸を使用して、独自に「犬の糸状虫症の管理」(*Canine Dirofilariasis Control*: CDC) をするためのパソコンソフトを開発することにした。ここに報告するのは、CDAとしてMD¹¹を投与する場合について作成した“CDC program”の内容と機能、パソコンの操作法などである。

Table 1 動物病院情報管理市販パッケージ

	DEVICE	OS	MN	LAN	PP	BC	MC	MAKER	PRICE(Y)
ホロニック	PC9801	MS-DOS						第一システム	700,000
動物君	PC-9801	MS-DOS						笑一システム	200,000
VETRAN	PC9801	MS-DOS	○					エヌデーデー	900,000
動物病院 顧客管理	PC9801	MS-DOS						フェウチャー インナゴヤ	400,000
AHCS PLUS	PC9801	MS-DOS		○	○			ベンチャー システム	1,150,000
AHMICS	PC9801 EMR J3100 M	MS-DOS	○	○			○	ユーザック システム	1,000,000
SAHMICS	PC9801 J3100	MS-DOS				○		ジェーエム シー 医科研	700,000
VINE SYSTEM	PC9801	MS-DOS		○		○	○	アイテム	2,000,000 TO 3,800,000
CAMON 動物 病院システム	SUPER- BAN50							シーエーシー	800,000
猫の手	PC9801	MS-DOS						木戸	300,000

(注) MN: MS-NETWORKS, PP: PAGE-PRINTER, BC: BAR CODE, MC: MAGNETIC CARD

ハードとソフトの構成

ハードについて：

- NEC - PC - 9801VMII：パソコン本体
- NEC - PC - KD854：ディスプレイ
- NEC - PC - PR201F：プリンター
- NEC - PC - PR201 - 25：プリンター用ピンフィーダー
- Caravelle. L：40MBハードディスク

ソフトについて：

- OS：MS - DOS Ver. 3.3B
- RDBソフト：dBASEIIIPLUS（：dBASE）
Ver. 2.0J

プリンタ制御用ソフト：

- VFU. COM（改頁改行ソフト）
- LMARGIN. COM（印字打出位置設定ソフト）

タックフォーム用の用紙：日本電子フィールドサービス（株）のEF - 5199

作成したプログラム内容と操作法

OSとしてのMS-DOS（マイクロソフト社）を用い、RDBソフトとしてdBASEの簡易言語（アシュトンテート社）を使って、バッチファイル、アセンブリ言語等で補助的なプログラムを作成して、MD投与犬のカルテ管理を可能とするCDC Systemを構築した。DBはTable 2に掲げたフィールド変数（Variables of the Field（VOF））の定義に従って各々のRecord（RD）が入力され、CDC92. DBFとして保管されている。このCDCの後の“92”は、このData Base File（DBF）が1992年用のDBFとして作成されたものであることを意味する。年度別に作成されたDBFの保存は過去何年かにわたっての特定のField（FLD）の参照を可能にする（例：過去5年間の病歴）。Table 3にはCDC Systemを構築する全プログラムを示した。

Table 2 CDC92. DBFの構造

番号	フィールド	型式	幅	小数	備考
1	CODE	数値型	4		
2	昨年度番号	数値型	4		
3	カルテ番号	数値型	4		
4	フリカナ	文字型	20		
5	畜主	文字型	20		

6	TEL	文字型	12		
7	ZIP	文字型	6		
8	敬称	文字型	4		
9	自宅住所	文字型	50		
10	初回来診日	日付型	8		
11	初診時体重	数値型	5		
12	犬の名前	文字型	10		
13	犬の性別	文字型	2		
14	犬の誕生日	文字型	9		
15	犬の種類	文字型	3		
16	犬の年齢	数値型	2		
17	犬の性格	文字型	1		
18	来院年数	数値型	2		
19	郵送希望	論理型	1		
20	郵送群	文字型	1		
21	PRED	論理型	1		ブレドニゾロン
22	PRE_DOSE	数値型	5	1	ブレゾロ投与量
23	MI	論理型	1		ミルバマイシンD
24	MI_DOSE	数値型	4	2	ミルバ投与量
25	DOSAGE_NUM	数値型	1	0	投与回数
26	掛払希望	論理型	1		
27	転出	論理型	1		
28	粗品	文字型	10		
29	血液検査日	日付型	8		
30	B_RESULT	文字型	20		血液検査結果
31	FECES_DATE	日付型	8		糞便検査日
32	F_RESULT	文字型	20		糞便検査結果
33	他の病気	文字型	20		
34	特異体質	文字型	20		
35	外科的処置	文字型	20		
36	処置年月日	日付型	8		
37	MAIL_REQ 1	論理型	1		一回目郵送希望
38	MAIL_DATE 1	日付型	8		一回目郵送日
39	FST_DATE	日付型	8		一回目来院日
40	FST_BW	数値型	5	1	一回目測定体重
41	FST_FEE	数値型	4		一回目料金
42	FST_TAX	数値型	3		一回目税金
43	FST_PAIED	論理型	1		一回目支払い
44	FST_INCOME	数値型	5		一回目入金額
45	FST_P_DATE	日付型	8		一回目支払日
46	MAIL_REQ 2	論理型	1		二回目郵送希望
47	MAIL_DATE 2	日付型	8		二回目郵送日
48	SND_DATE	日付型	8		二回目来院日
49	SND_BW	数値型	5	1	二回目測定体重

50	SND_FEE	数値型	4	二回目料金	71	FTH_INCOME	数値型	5	四回目入金額
51	SND_TAX	数値型	3	二回目消費税	72	FTH_P_DATE	日付型	8	四回目入金日
52	SND_PAIED	論理型	1	二回目支払い	73	MAIL_REQ 5	論理型	1	五回目郵送希望
53	SND_INCOME	数値型	5	二回目入金額	74	MAIL_DATE 5	日付型	8	五回目郵送日
54	SND_P_DATE	日付型	8	二回目入金日	75	FIV_DATE	日付型	8	五回目来院日
55	MAIL_REQ 3	論理型	1	三回目郵送希望	76	FIV_BW	数値型	5	1 五回目測定体重
56	MAIL_DATE 3	日付型	8	三回目郵送日	77	FIV_FEE	数値型	4	五回目料金
57	THD_DATE	日付型	8	三回目来院日	78	FIV_TAX	数値型	3	五回目消費税
58	THD_BW	数値型	5	1 三回目測定体重	79	FIV_PAIED	論理型	1	五回目支払い
59	THD_FEE	数値型	4	三回目料金	80	FIV_INCOME	数値型	5	五回目入金額
60	THD_TAX	数値型	3	三回目消費税	81	FIV_P_DATE	日付型	8	五回目入会日
61	THD_PAIED	論理型	1	三回目支払い	82	MAIL_REQ 6	論理型	1	六回目郵送希望
62	THD_INCOME	数値型	5	三回目入金額	83	MAIL_DATE 6	日付型	8	六回目郵送日
63	THD_P_DATE	日付型	8	三回目入金日	84	SIX_DATE	日付型	8	六回目来院日
64	MAIL_REQ 4	論理型	1	四回目郵送希望	85	SIX_BW	数値型	5	1 六回目測定体重
65	MAIL_DATE 4	日付型	8	四回目郵送日	86	SIX_FEE	数値型	4	六回目入金額
66	FTH_DATE	日付型	8	四回目来院日	87	SIX_TAX	数値型	3	六回目消費税
67	FTH_BW	数値型	5	1 四回目測定体重	88	SIX_PAIED	論理型	1	六回目支払い
68	FTH_FEE	数値型	4	四回目料金	89	SIX_INCOME	数値型	5	六回目入金額
69	FTH_TAX	数値型	3	四回目消費税	90	SIX_P_DATE	日付型	8	六回目支払い
70	FTH_PAIED	論理型	1	四回目支払い					

Table 3 CDCシステムを構成する全プログラム

骨格プログラム	表示プログラム	FEP補助プログラム	印刷プログラム
CDC.PRG	GAMEN1.PRG	ATOK.BIN	MGSET.PRG
SUBPRO.PRG	GAMEN2.PRG	KANJI.PRG	EF519900.PRG
IMAGE.FMT	GAME3.PRG	SUUJI.PRG	PFORM1.PRG
CMENU.PRG	GAMEN4.PRG		PFORM2.PRG
PMENU.PRG	GAMEN5.PRG		PFORM3.PRG
DISHIS.PRG	GEMEN6.PRG		PFORM4.PRG
MGSORT.PRG	GAMEN 7.PRG		PFORM5.PRG
	GEMEN8.PRG		PFORM6.PRG
	GEMEN9.PRG		PFORM7.PRG
	GEMEN10.PRG		PFORM8.PRG
	GEMEN11.PRG		VFU.COM
			LMARGIN.COM
メッセージプログラム	補助プログラム	インデックス	データベース
MESSAGE1.PRG	RET.COM	COD1IND.NDX	CDC88.DBF
MESSAGE2.PRG	WAIT.PRG	COD2IND.NDX	CDC89.DBF
MESSAGE4.PRG	FUKA.PRG	COD3IND.NDX	CDC90.DBF
MESSAGE5.PRG	ZIPSET.PRG	COD4IND.NDX	CDC91.DBF
MESSAGE6.PRG		COD5IND.NDX	CDC92.DBF

MESSAGE7.PRG
MESSAGE8.PRG
MESSAGE9.PRG

CDCIND.NDX MAILO.DBF
MGA.DBF
(MGA1 to MGA6)
MGB.DBF
(MGB1 to MGB6)
MGC.DBF
(MGC1 to MGC6)

Fig. 1-1に掲げるように、dBASEはパソコンのスイッチを入れるとAUTOEXEC.BATとCONFIG.SYS及びCONFIG.DBに設定された動作環境のもとで自動的に立ち上がる。この環境設定の中の一つにプリンターの改頁行数を設定するVFU.COM¹⁴⁾とプリンターの左端打ち出し位置を決定するLMARGIN.COM^{12,23)}などのPrinting Assistant Programs (PAP) も含まれる。PAPは封書の宛名書の為の連続用紙であるTFに検索された畜主の住所氏名等を印刷するためには不可欠である。

なお、DB入力の際、予め次の入力文字の種類が判明している場合には、マニュアルによらず、dBASEの中から入力文字の種類変更をするFront End Processor Programs (ATOK.BIN, SUUJI.PRG and KANJI.PRG) を作成して利用した。^{1,16,17and34)}

Fig. 1-1, 1-2, 1-3, 1-4, 1-5及び1-6にCDC programのflow chartsを示す。

Fig. 1-1 CDCのフローチャート

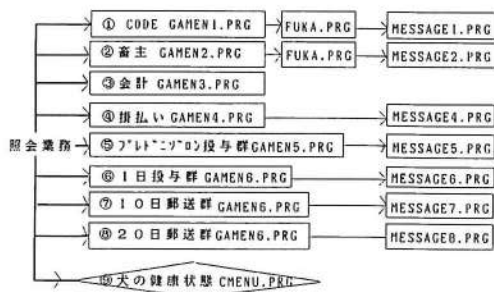
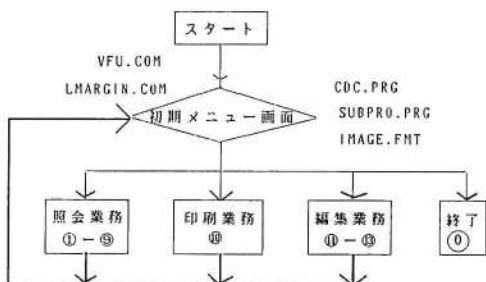


Fig. 1-2 CDCのフローチャート

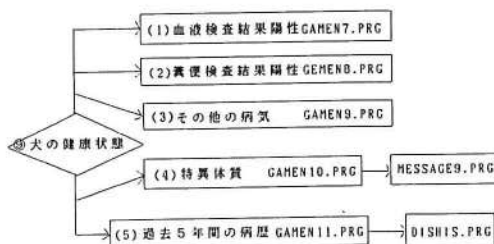


Fig. 1-3 CDCのフローチャート

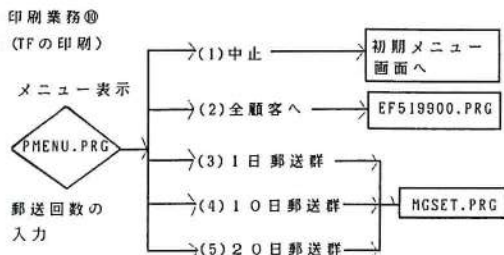


Fig. 1-4 CDCのフローチャート

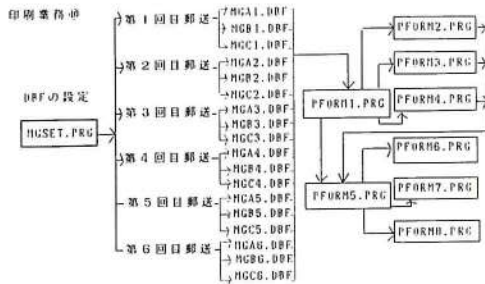


Fig. 1-5 CDCのフローチャート

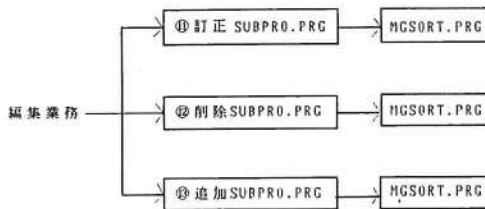


Fig. 1-6 CDCのフローチャート

立ちあげ直後に前述のようにプリンターの改頁行数や打ち出し位置などの設定が終わって、CDC.PRG (Table 4) やSUBPRO.PRG (Table 5) 及びIMAGE.FMT (Table 6) の作動結果として「初期メニュー画面」(First Menu Panel: FMP) がディスプレイ (画面) 上に示される。

Table 4 CDC.PRG

```

1: SET TALK OFF
2: SET CONFIRM ON
3: SET DELETE ON
4: * ファイルオープン
5: CLEAR
6: SET DATE AMERICAN
7: PUBLIC TODAY
8: USE A : ¥DBASE¥CDC¥CDC92.DBF
9: GOTO TOP
10: TODAY=DATE( )
11: SET INDEX TO CDCIND.NDX
12: SET INDEX TO MAILGIND.NDX
13: SET PROCEDURE TO SUBPRO.PRG
14: STORE 00 TO BRANCH
15: STORE 0000 TO DETECT
16: STORE O TO SCORE
17: DO WHILE .T.

```

```

18: SET PATH TO A : ¥DBASE¥CDC¥ATOK
19: DO SUUJI
20: CLEAR
21: DO MENU
22: DO CHOICE WITH BRANCH
23: DO CASE
24: * CODE DETECTION
25: CASE BRANCH=1
26: USE A : ¥DBASE¥CDC¥CDC92.DBF
27: DO SUB1
28: USE
29: * BREEDER DETECTION
30: CASE BRANCH=2
31: USE A : ¥DBASE¥CDC¥CDC92.DBF
32: DO SUB2
33: USE
34: * CALICULATION
35: CASE BRANCH=3
36: USE A : ¥DBASE¥CDC¥CDC92.DBF
37: DO SUB3
38: USE
39: * DETECTION OF THE DEPTOR
40: CASE BRANCH=4
41: USE A : ¥DBASE¥CDC¥CDC92.DBF
42: DO SUB4
43: USE
44: * DETECTION OF THE GROUP
ADMINISTERED WITH
FREDONISOLE
45: CASE BRANCH=5
46: USE A : ¥DBASE¥CDC¥CDC92.DBF
47: DO SUB5
48: USE
49: * DETECTION OF 1ST EVERY
MONTH MAILING GROUP
50: CASE BRANCH=6
51: USE A : ¥DBASE¥CDC¥CDC92.DBF
52: DO SUB6
53: USE
54: * DETECTION OF 10TH EVERY
MONTH MAILING GROUP
55: CASE BRANCH=7
56: USE A : ¥DBASE¥CDC¥CDC92.DBF
57: DO SUB7

```


58 :	USE	80 :	CASE BRANCH=12
59 : *	DETECTION OF 20TH EVERY MONTH MAILING GROUP	81 :	USE A : ¥DBASE¥CDC¥CDC92,DBF
60 :	CASE BRANCH=8	82 :	DO SUB12
61 :	USE A : ¥DBASE¥CDC¥CDC92,DBF	83 :	USE
62 :	DO SUB8	84 : *	APPEND
63 :	USE	85 :	CASE BRANCH=13
64 : *	DETECTION OF THE DOG WITH THE OTHER DISEASE(S)	86 :	USE A : ¥DBASE¥CDC¥CDC92,DBF
65 :	CASE BRANCH=9	87 :	DO SUB13
66 :	USE A : ¥DBASE¥CDC¥CDC92,DBF	88 :	USE
67 :	DO SUB9	89 : *	FINISH OS モード
68 :	USE	90 :	SET CONFIRM ON
69 : *	PRINTING	91 :	CASE BRANCH=0
70 :	CASE BRANCH=10	92 :	EXIT
71 :	USE A : ¥DBASE¥CDC¥CDC92,DBF	93 :	OTHERWISH
72 :	DO SUB10	94 :	DO ERR
73 :	USE	95 :	LOOP
74 : *	CORRECT	96 :	ENDCASE
75 :	CASE BRANCH=11	97 :	ENDDO
76 :	USE A : ¥DBASE¥CDC¥CDC92,DBF	98 :	USE
77 :	DO SUB11	99 :	CLOSE PROCEDURE
78 :	USE	100 :	SET TALK ON
79 : *	DELETE	101 :	SET CURSOR ON
		102 :	CANCEL

Table 5 SUBPRO.PRG

```

1 : SET TARK OFF
2 : SET ESCAPE ON
3 : SET DEVICE TO SCREEN
4 : * MENU ROUTINE
5 : PROCEDURE MENU
6 : SET COLOR TO G,G*,G
7 : @2,12 SAY " *****"
8 : @3,12 SAY "*"
9 : TET COLOR TO R,R,R
10 : @3,18 SAY "The Canine Dirofilariasis Control System"
11 : SET COLOR TO
12 : SET COLOR TO G,*G,G
13 : @3,64 SAY "*"
14 : @4,12 SAY " *****"
15 : SET COLOR TO
16 : SET COLOR TO W,W,W
17 : @5,12 SAY "* ★ 照会 *
```

```

18: @6,12 SAY "*"   コード番号……………1   ★ 印刷……………10 "*"
19: @7,12 SAY "*"   畜主……………2   ★ 訂正……………11 "*"
20: @8,12 SAY "*"   会計総括……………3   ★ 訂正……………11 "*"
21: @9,12 SAY "*"   掛 払……………4   ★ 訂正……………11 "*"
22: @10,12 SAY "*"  コード番号……………5   ★ 削除……………12 "*"
23: @11,12 SAY "*"  送付 1日郵送……………6   ★ 削除……………12 "*"
24: @12,12 SAY "*"   10日郵送……………7   ★ 追加……………13 "*"
25: @13,12 SAY "*"   20日郵送……………8   ★ 追加……………13 "*"
26: @14,12 SAY "*"  犬の健康状態……………1   ★ 終了……………0  "*"
27: @15,12 SAY "*"
28: SET COLOR TO
29: SET COLOR TO G,*G,G
30: @16,12 SAY "*****"
31: SET COLOR TO
32: RETURN
33: * CHOICE ROUTINE
34: PROCEDURE CHOICE
35: SET PATH TO A: ¥DBASE¥CDC¥ATOK
36: DO SUUJI
37: PARAMETERS SEL_NUM
38: @19,15 SAY "WHICH NUMBER ?"
39: @19,30 SAY "-----"
40: @19,61 GET SEL_NUM PICTURE "99"
41: READ
42: RETURN
43: * CODE DETECTION
44: PROCEDURE SUB1
45: SET PATH TO A: ¥DBASE¥CDC¥ATOK
46: DO SUUJI
47: DETECT=0
48: @20,15 SAY "CODE NUMBER ?"
49: @20,30 GET "DETECT PICTURE "9999"
50: READ
51: IF DETECT=0
52: RETURN
53: ENDIF
54: LOCATE FOR CODE=DETECT
55: SET PPTH TO A: ¥DBASE¥CDC¥GAMAN
56: DO GAMENI
57: RETURN
58: * BREEDER DETECTION
59: PROCEDURE SUB2
60: GOTO TOP
61: SET PATH TO A: ¥DBASE¥CDC¥ATOK

```

```
62 : DO KANJI
63 : SET EXACT OFF
64 : STORE " " TO BRDR
65 : @ 20, 15 SAY "畜主=" GET BRDR
66 : READ
67 : SET FILTER TO 畜主=RTRIM(LTRIM (BRDR)) .OR. RTRIM(LTRIM (BRDR))$畜主
68 : LOCATE FOR 畜主=RTRIM(LTRIM(BRDR)) .OR. RTRIM(LTRIM))$畜主
69 : SET PATH TO A : ¥DBASE¥CDC¥GAMEN
70 : DO GAMEN2
71 : SET PATH TO A : ¥DBASE¥CDC¥MESSAGE
72 : DO MESSAGE2
73 : RETURN
74 : * CALCULATION
75 : PROCEDURE SUB3
76 : SET PATH TO A : ¥DBASE¥CDC¥GAMEN
77 : DO GAMEN3
78 : RETURN
79 : * DETECTION OF THE DEPTOR
80 : PROCEDURE SUB4
81 : GOTO TOP
82 : SET FILTER TO 掛払希望
83 : LOCATE FOR 掛払希望
84 : SET PATH TO A : ¥DBASE¥CDC¥GAMEN
85 : DO GAMEN4
86 : SET PATH TO A : ¥DBASE¥CDC¥MESSAGE
87 : DO MESSAGE4
88 : RETURN
89 : * FIRST TIME PREDONISOLONE DOSAGE
90 : PROCEDURE SUB5
91 : SET PATH TO A : ¥DBASE¥CDC¥GAMEN
92 : DO GAMEN5
93 : RETURN
94 : * DETECTION OF 1ST DAY EVERY MONTH MAILING GROUP
95 : PROCEDURE SUB6
96 : GOTO TOP
97 : SET PATH TO A : ¥DBASE¥CDC¥GAMEN
98 : SET FILTER TO 郵送希望 .AND. 郵送群="A"
99 : LOCATE FOR 郵送希望 .AND. 郵送群="A"
100 : SET PATH TO A : ¥DBASE¥CDC¥GAMEN
103 : DO MESSAGE6
104 : RETURN
105 : * DETECTION OF 10TH DAY EVERY MONTH MAILING GROUP
106 : PROCEDURE SUB7
107 : GOTO TOP
```

```
108 : SET PATH TO A : ¥DBASE¥CDC¥GAMEN
109 : SET FILTER FOR 郵送希望 .AND. 郵送群="B"
110 : LOCATE FOR 郵送希望 .AND. 郵送群="B"
111 : SET PATH TO A : ¥DBASE¥CDC¥GAMEN
112 : DO GAMEN6
113 : SET PATH TO A : ¥DBASE¥CDC¥MESSAGE
114 : DO MESSAGE7
115 : RETURN
116 : * DETECTION OF 20TH DAY EVERY MONTH MAILING GROUP
117 : PROCEDURE SUB8
118 : GOTO TOP
119 : SET PATH TO A : ¥DBASE¥CDC¥GAMEN
120 : SET FILTER TO 郵送希望 .AND. 郵送群="C"
121 : LOCATE FOR 郵送希望 .AND. 郵送群="C"
122 : SET PATH TO A : ¥DBASE¥CDC¥GAMEN
123 : DO GAMEN6
124 : SET PATH TO A : ¥DBASE¥CDC¥MASSAGE
125 : DO MESSAGE8
126 : RETURN
127 : * DETECTION OF THE DOG WITH THE OTHER DISEASES
128 : PROCEDURE SUB9
129 : DO CMENU
130 : RETURN
131 : * PRINTING ROUTINE
132 : PROCEDURE SUB10
133 : DO PMENU
134 : RETURN
135 : * CORRECT ROUTINE
136 : PROCEDURE SUB11
137 : GOTO TOP
138 : SET CURSOR ON
139 : @21,15 SAY "CODE NUMBER OF THE RECORD"
140 : @21,41 GET DETECT PICTURE "9999"
141 : READ
142 : LOCATE FOR CODE=DETECT
143 : DO WHILE .T.
144 : SET FORMAT TO IMAGE. FMT
145 : EDIT
146 : DO FUKA
147 : SET FORMAT TO IMAGE. FMT
148 : EDIT
149 : SET CURSOR OFF
150 : WAIT ""
151 : EXIT
```

```
152 : ENDDO
153 : DO MGSORT
154 : SET CURSOR ON
155 : RETURN
156 : * DELETE
157 : PROCEDURE SUB12
158 : @21,15 SAY "CODE NUMBER OF THE RECORD"
159 : @21,41 GET DETECT PICTURE "99999"
160 : READ
161 : LOCATE FOR CODE=DETECT
162 : DO WHILE .NOT. EOF( )
163 : CLEAR
164 : ANS="Y"
165 : @ 5, 15 SAY "MAY I DELETE IT ? (Y/N)"
166 : @ 5, 40 GET ANS
167 : READ
168 : DO WHILE .T.
169 : IF ANS="Y"
170 : DELETE
171 : EXIT
172 : ELSE
173 : EXIT
174 : ENDIF
175 : ENDDO
176 : DO MGSORT
177 : RETURN
178 : ENDDO
179 : * APPEND ROUTINE
180 : PROCEDURE SUB13
181 : GOTO BOTTOM
182 : SET FORMAT TO IMAGE.FMT
183 : DO IMAGE.FMT
184 : SET CARRY ON
185 : ON ESCAPE RETURN
186 : APPEND
187 : CURSOR OFF
188 : WAIT ""
189 : SET CURSOR ON
190 : SET CARRY OFF
191 : DO MGSORT
192 : RETURN
193 : * ERROR ROUTINE
194 : PROCEDURE ERR
195 : CLEAR
```

```

196: ? CHR(7)
197: N=0
198: DO WHILE N<3
199: ? CHR(7)
200: SET COLOR TO R,RI,R
201: SET CURSOR OFF
202: @5,15 SAY "ENTER CORRECT NUMBER, AGAIN !"
203: SET COLOR TO
204: N=N+1
205: ENDDO
206: SET CURSOR ON
207: RETURN

```

Table 6 IMAGE. FMT

1: CLEAR	30: @ 3, 50 SAY "掛払希望"
2: SET DELETE ON	31: @ 3, 59 GET 掛払希望
3: SET COLOR TO R*	32: @ 3, 62 SAY "転出"
4: @ 1, 25 SAY "フィラリア症駆虫薬投与 犬の管理"	33: @ 3, 67 GET 転出
5: SET COLOR TO	34: SET COLOR TO W, W, W
6: @ 1, 60 SAY DATE()	35: @ 4, 1 SAY "フリガナ"
7: SET COLOR TO R, R, R	36: SET COLOR TO
8: @ 3, 1 SAY "CODE"	37: SET COLOR TO W, W, W
9: SET COLOR TO	38: @ 4, \$ SAY "["
10: SET COLOR TO W, W, W	39: @ 4, \$ GET フリカナ
11: @ 3, 5 GET CODE	40: @ 4, \$ SAY "]"
12: SET COLOR TO	41: SET COLOR TO
13: SET COLOR TO G, G, G	42: @ 5, 1 SAY "畜主"
14: @ 3, 12 SAY "昨年度番号"	43: SET COLOR TO W
15: SET COLOR TO	44: @ 5, 10 GET 畜主
16: SET COLOR TO R, R, R	45: SET COLOR TO
17: @ 3, 23 SAY "ミ-"	46: SET COLOR TO W, W, W
18: SET COLOR TO	47: @ 5, 27 GET 敬称
19: SET COLOR TO W, W, W	48: SET COLOR TO
20: @ 3, 25 GET 昨年度番号	49: @ 5, 32 SAY "TEL"
21: SET COLOR TO	50: SET COLOR TO R, R, R
22: SET COLOR TO GR, GR, GR	51: @ 5, 35 GET TEL
23: @ 3, 31 SAY "カルテ番号"	52: SET COLOR TO
24: SET COLOR TO	53: @ 6, 1 SAY "〒"
25: SET COLOR TO W, W, W	54: SET COLOR TO G, G, G
26: @ 3, 42 SAY "C-"	55: @ 6, 3 GET ZIP
27: SET COLOR TO W, W, W	56: SET COLOR TO
28: @ 3, 44 GET カルテ番号	57: SET COLOR TO GR
29: SET COLOR TO	58: @ 6, 10 GET 自宅住所
	59: SET COLOR TO
	60: @ 7, 1 SAY "犬の名前 ["

- 61: SET COLOR TO W, WI, W
62: @ 7, \$ GET 犬の名前
63: SET COLOR TO
64: @ 7, \$ SAY "]"
65: @ 7, \$+1 SAY "犬の性別"
66: SET COLOR TO W, WI, W
67: @ 7, \$ GET 犬の性別
68: SET COLOR TO
69: @ 7, \$+1 SAY "犬の種類"
70: SET COLOR TO W, WI, W
71: @ 7, \$ GET 犬の種類
72: SET COLOR TO
73: @ 7, \$+1 SAY "犬の年齢"
74: SET COLOR TO W, WI, W
75: @ 7, \$ GET 犬の年齢
76: SET COLOR TO
77: @ 7, \$+1 SAY "犬の性格"
78: SET COLOR TO W, WI, W
79: @ 7, \$ GET 犬の性格
80: SET COLOR TO
81: @ 8, 1 SAY "特異体質"
82: SET COLOR TO W, WI, W
83: @ 8, \$ GET 特異体質
84: SET COLOR TO
85: @ 8, \$+3 SAY "その他の病気"
86: SET COLOR TO W, WI, W
87: @ 8, \$ GET 他の病気
88: SET COLOR TO
89: @ 9, 1 SAY "犬の誕生日"
90: SET COLOR TO W, WI, W
91: @ 9, \$ GET 犬の誕生日
92: SET COLOR TO
93: @ 9, \$+3 SAY "本年度初診日"
94: SET COLOR TO W, WI, W
95: @ 9, \$ GET 初回来診日
96: SET COLOR TO
97: @ 9, \$+3 SAY "初診時体重"
98: SET COLOR TO W, WI, W
99: @ 9, \$ GET 初診時体重
100: SET COLOR TO
101: @ 10, 1 SAY "血液検査実施日"
102: @ 10, 15 GET 血液検査日
103: @ 10, 23 SAY "結果"
104: @ 10, 27 GET B_RESULT
105: @ 11, 1 SAY "糞便検査実施日"
106: @ 11, 15 GET FECES_DATE
107: @ 11, 23 SAY "結果"
108: @ 11, 27 GET F_RESULT
109: @ 12, 1 SAY "外科的処置"
110: SET COLOR TO W, WI, W
111: @ 12, \$ GET 外科的処置
112: SET COLOR TO
113: @ 12, \$+3 SAY "処置日"
114: SET COLOR TO W, WI, W
115: @ 12, \$ GET 処置年月日
116: SET COLOR TO
117: @ 13, 1 SAY "来院年数"
118: @ 13, \$ GET 来院年数
119: @ 13, \$+1 SAY "郵送"
120: @ 13, \$ GEO 郵送希望
121: @ 13, \$+1 SAY "郵送群"
122: @ 13, \$+1 GET 郵送群
123: SET COLOR TO R, R, R
124: @ 13, \$+1 SAY "P"
125: SET COLOR TO
126: SET COLOR TO W, WI, W
127: @ 13, \$ GET PRED
128: SET COLOR TO
129: SET COLOR TO R, R, R
130: @ 13, \$+1 SAY "内服量 ["
131: SET COLOR TO
132: SET COLOR TO W, WI, W
133: @ 13, \$ GET PRE_DOSE
134: SET COLOR TO
135: SET COLOR TO R, R, R
136: @ 13, \$ SAY "]" mg"
137: SET COLOR TO
138: SET COLOR TO G, G, G
139: @ 13, \$+1 SAY "MI"
140: SET COLOR TO
141: SET COLOR TO W, WI, W
142: @ 13, \$ GET MI
143: SET COLOR TO
144: SET COLOR TO G, G, G
145: @ 13, \$+1 SAY "内服量 ["
146: SET COLOR TO
147: SET COLOR TO W, WI, W
148: @ 13, \$ GET MI_DOSE

149 : SET COLOR TO
 150 : SET COLOR TO G, G, G
 151 : @ 13, \$ SAY "]" g"
 152 : SET COLOR TO
 153 : @ 13, \$+1 SAY "投与回数"
 154 : SET COLOR TOR, RI, R
 155 : @ 13, \$ GET DOSAGE_NUM
 156 : SET COLOR TO
 157 : @ 14, 1 SAY
 "—————投薬の実施—————"
 158 : SET COLOR TO W, WI, W
 159 : @ 15, 12 SAY "来院日"
 160 : @ 15, 21 SAY "M_R"
 161 : @ 15, 25 SAY "郵送日"
 162 : @ 15, 34 SAY "体重"
 163 : @ 15, 41 SAY "料金"
 164 : @ 15, 47 SAY "TAX"
 165 : @ 15, 52 SAY "入金"
 166 : @ 15, 58 SAY "未入"
 167 : @ 15, 63 SAY "入金日"
 168 : @ 16, 1 SAY "第一回来院"
 169 : @ 16, 12 GET FST_DATE
 170 : @ 16, 22 GET MAIL_REQ1
 171 : @ 16, 25 GET MAIL_DATE1
 172 : @ 16, 34 GET FST_BW
 173 : @ 16, 41 GET FST_FEE
 174 : @ 16, 47 GET FST_TAX
 175 : @ 16, 52 GET FST_INCOME
 176 : @ 16, 60 GET FST_PAIED
 177 : @ 16, 63 GET FST_P_DATE
 178 : @ 17, 1 SAY "第二回来院"
 179 : @ 17, 12 GET SND_DATE
 180 : @ 17, 22 GET MAIL_REQ2
 181 : @ 17, 25 GET MAIL_DATE2
 182 : @ 17, 34 GET SND_BW
 183 : @ 17, 41 GET SND_FEE
 184 : @ 17, 47 GET SND_TAX
 185 : @ 17, 52 GET SND_INCOME
 186 : @ 17, 60 GET SND_PAIED
 187 : @ 17, 63 GET SND_P_DATE
 188 : @ 18, 1 SAY "第三回来院"
 189 : @ 18, 12 GET THD_DATE
 190 : @ 18, 22 GET MAIL_REQ3
 191 : @ 18, 25 GET MAIL_DATE3
 192 : @ 18, 34 GET THD_BW
 193 : @ 18, 41 GET THD_FEE
 194 : @ 18, 47 GET THD_TAX
 195 : @ 18, 52 GET THD_INCOME
 196 : @ 18, 60 GET THD_PAIED
 197 : @ 18, 63 GET THD_P_DATE
 198 : @ 19, 1 SAY "第四回来院"
 199 : @ 19, 12 GET FTH_DATE
 200 : @ 19, 22 GET MAIL_REQ3
 201 : @ 19, 25 GET MAIL_DATE3
 202 : @ 19, 34 GET FTH_BW
 203 : @ 19, 41 GET FTH_FEE
 204 : @ 19, 47 GET FTH_TAX
 205 : @ 19, 52 GET FTH_INCOME
 206 : @ 19, 60 GET FTH_PAIED
 207 : @ 19, 63 GET FTH_P_DATE
 208 : @ 20, 1 SAY "第五回来院"
 209 : @ 20, 12 GET FIV_DATE
 210 : @ 20, 22 GET MAIL_REQ3
 211 : @ 20, 25 GET MAIL_DATE3
 212 : @ 20, 34 GET FIV_BW
 213 : @ 20, 41 GET FIV_FEE
 214 : @ 20, 47 GET FIV_TAX
 215 : @ 20, 52 GET FIV_INCOME
 216 : @ 20, 60 GET FIV_PAIED
 217 : @ 20, 63 GET FIV_P_DATE
 218 : @ 21, 1 SAY "第六回来院"
 219 : @ 21, 12 GET SIX_DATE
 220 : @ 21, 22 GET MAIL_REQ3
 221 : @ 21, 25 GET MAIL_DATE3
 222 : @ 21, 34 GET SIX_BW
 223 : @ 21, 41 GET SIX_FEE
 224 : @ 21, 47 GET SIX_TAX
 225 : @ 21, 52 GET SIX_INCOME
 226 : @ 21, 60 GET SIX_PAIED
 227 : @ 21, 63 GET SIX_P_DATE
 228 : @ 22, 58 SAY "粗品"
 230 : SET COLOR TO
 231 : RETURN

Fig. 2 は画面上に示されたFMPである。このFMPでは①から⑬までの番号が選択される。即ち①から⑨までの番号を選んだ場合には、内容的には“照会業務”であり、⑩が選ばれた場合には“印刷業務”であり、⑪から⑬が選ばれた場合には編集業務が、そして⑭が選ばれると、CDC programは終了して、dBASEの“dot prompt”に戻る(Fig. 1-1)。更に、照会業務に属する番号を選択した場合に照会される内容をFig. 1-2に示す。即ち①を選択した場合には、GAMEN1.PR

の指令のとおり、USERの指示したコード番号をもつRDが検出され、IMAGE.FMT(Table. 6)に規定されたVOFの配置どおりに画面上に示される。Fig. 3はIMAGE.FMTによって提示されたあるRDのVOF配置である。FMPの①と②の番号を選んで検出される画面上のRDには、現在までの料金の総計、入金総計や売掛金の総計がGAMEN1.PR

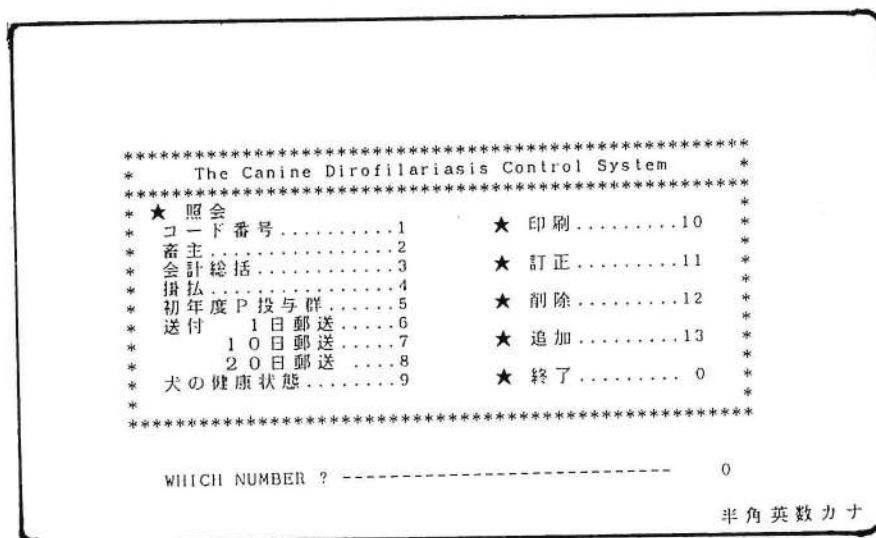


Fig. 2 初期メニュー画面 (FMP)

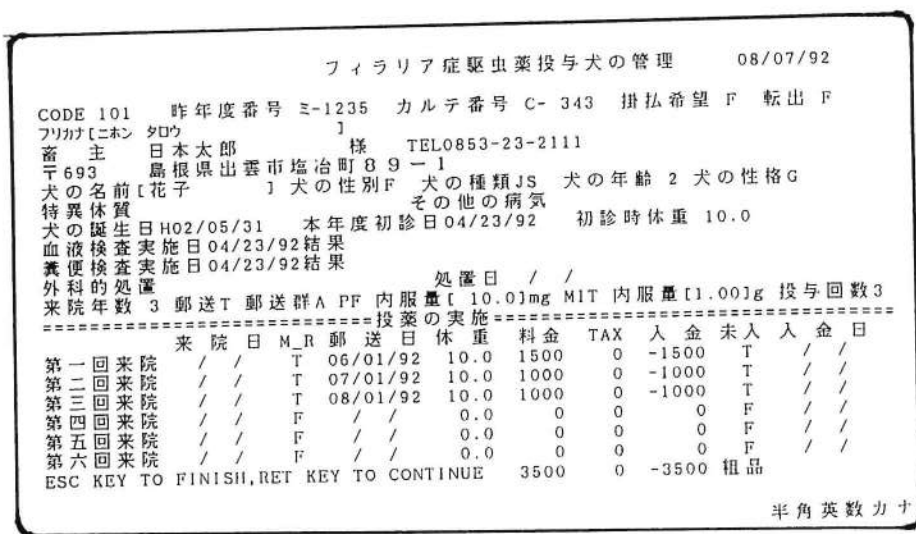


Fig. 3 この画面は編集画面 (EP) であると同時にレコードの照会画面でもある

Table. 7 GAMEN2. PRG

```

1 : DO WHILE .T.
2 : ON ESCAPE EXIT
3 : IF 畜主< >RTRIM(LTRIM (BRDR)) .OR. .NOT. 畜主< >RTRIM(LTRIM(BRDR)) $ 畜主
4 : EXIT
5 : ENDIF
6 : SET FORMAT TO IMAGE.FMT
7 : DO IMAGE.FMT
8 : DO FUKA
9 : Z= FST_FEE+SND_FEE+THD_FEE+FTH_FEE+FIV_FEE+SIX_FEE
10 : X= FST_TAX+SND_TAX+THD_TAX+FTH_TAX+FIV_TAX+SIX_TAX
11 : Y=
12 : FST_INCOME+SND_INCOME+THD_INCOME+FTH_INCOME+FIV_INCOME+SIX_INCOME
13 : @ 22, 40 GET Z PICTURE "#####"
14 : @ 22, 46 GET X PICTURE "#####"
15 : @ 22, 51 GET Y PICTURE "#####"
16 : SET COLOR TO R, R, R
17 : @2, 1 SAY "ESC KEY TO FINISH, RET KEY TO CONTINUE"
18 : SET PATH TO A : ¥DBASE¥CDC¥ATOK
19 : DO SUUJI
20 : SET COLOR TO
21 : SET CURSOR OFF
22 : WAIT ""
23 : CONTINUE
24 : ENDDO
25 : SET FORMAT TO
26 : SET PATH TO A : ¥DBASE¥CDC¥ATOK
27 : DO SUUTI
28 : SET CURSOR ON
29 : RETURN

```

Table. 8 FUKA. PRG

<pre> 1 : SET TALK OFF 2 : *PREDONISOLONEの (PD) とMILBE- MYCIN D (MD) の投与量の計算 3 : PD=0 4 : MID=0 5 : DO CASE 6 : CASE SIX_BW< >0 7 : PD=SIX_BW 8 : MID=ROUND(SIX_BW*0.1, 3) 9 : REPLACE PRE_DOSE WITH PD 10 : REPLACE MI_DOSE WITH MID 11 : RETURN 12 : CASE FIV_BW< >0 13 : PD=FIV_BW 14 : MID=ROUND(FIV_BW*0.1, 3) 15 : REPLACE PRE_DOSE WITH PD 16 : REPLACE MI_DOSE WITH MID 17 : RETURN 18 : CASE FTH_BW< >0 19 : PD=FTH_BW </pre>	<pre> 20 : MID=ROUND(FTH_BW*0.1, 3) 21 : REPLACE PRE_DOSE WITH PD 22 : REPLACE MI_DOSE WITH MID 23 : RETURN 24 : CASE THD_BW< >0 25 : PD=THD_BW 26 : MID=ROUND(THD_BW*0.1, 3) 27 : REPLACE PRE_DOSE WITH PD 28 : REPLACE MI_DOSE WITH MID 29 : RETURN 30 : CASE SND_BW< >0 31 : PD=SND_BW 32 : MID=ROUND(SND_BW*0.1, 3) 33 : REPLACE PRE_DOSE WITH PD 34 : REPLACE MI_DOSE WITH MID 35 : RETURN 36 : CASE FST_BW< >0 37 : PD=FST_BW 38 : MID=ROUND(FST_BW*0.1, 3) 39 : REPLACE PRE_DOSE WITH PD 40 : REPLACE MI_DOSE WITH MID </pre>
--	--

41:	RETURN	46:	REPLACE MI_DOSE WITH MID
42:	CASE 初診時体重 > 0	47:	RETURN
43:	PD=初診時体重	48:	OTHERWISE
44:	MID=ROUND(初診時体重*0.1,3)	49:	RETURN
45:	REPLACE PRE_DOSE WITH PD	50:	ENDCASE

<<<<ダイレクトメール印刷>>>>

今回は何回目の郵送ですか 1

タック紙には日本電気フィールドサービス(株)の
E F - 5 1 9 9 を使用して下さい。

準備が出来たら、リターン・キーを押して下さい。

半角英数カナ

Fig. 4 印刷⑩を FMP で選択すると、郵送回数が問われ、それを入力すると、使用する特定のタックフォーム (TF) が指定される

次のどの番号を選びますか? 0

(0) 中止する。

(1) 案内状の宛名をタック紙へ印刷

(2) 1日郵送群の宛名をタック紙へ印刷

(3) 10日郵送群の宛名をタック紙へ印刷

(4) 20日郵送群の宛名をタック紙へ印刷

半角英数カナ

Fig. 5 印刷メニュー画面 (PMP)

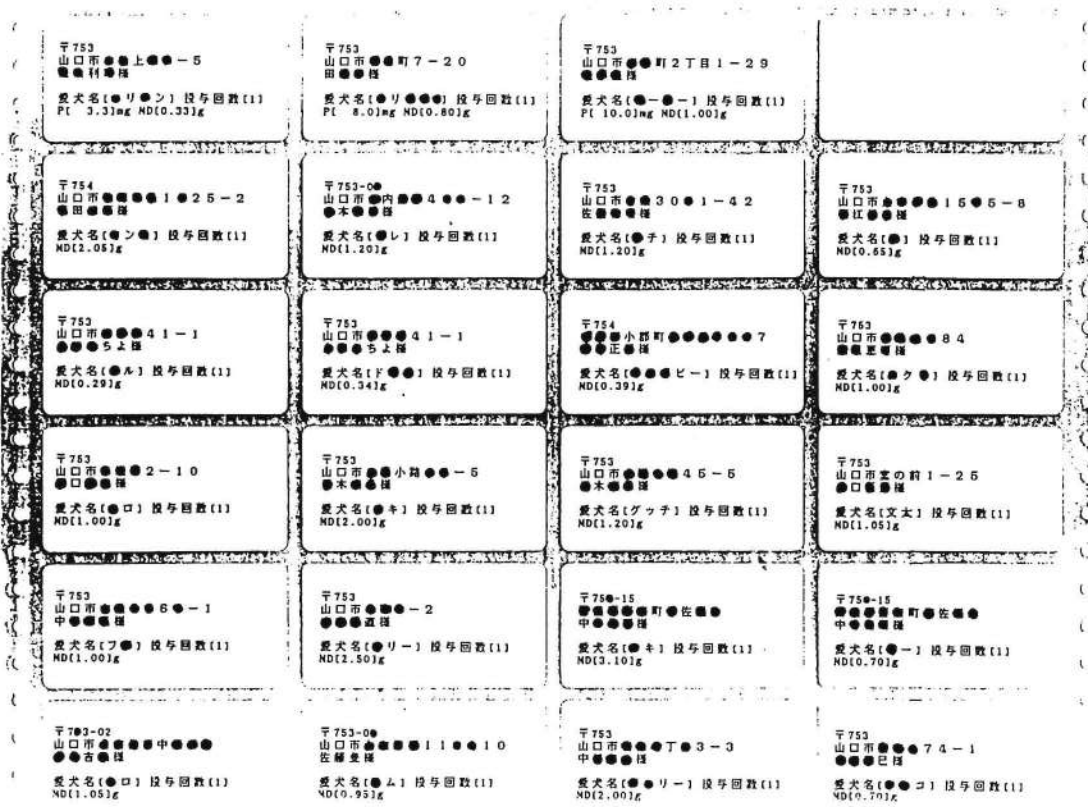


Fig. 6 印刷されたフォーマット・プログラムによって印刷された四連のタック・フォームの写真

また FUKA.PRG (Table. 8) の指令により、P の投与量 (mg) と MD の投与量 (g) が最新の体重測定値をもとに、自動的に計算され画面に提示される。②を選んだ場合は畜主の姓を名前で該当する RD を検出できる。③を選んだ場合は GAMEN3.PRG の命令で今年度の現在までの CDA 投与犬の頭数、料金の合計、売掛金の合計及び実収入が示される。④を選んだ場合は GAMEN4.PRG の指令のとおり掛払いを希望する畜主 (患者) の RD が検出される。⑤を選んだ場合は GAMEN5.PRG によって P を投与している患者の RD を検出表示する。⑥、⑦及び⑧は SUBPRO.PRG と GAMEN6.PRG によって、それぞれ、毎月1日に CDA を送付するグループ、10日に送付するグループ及び20日に送付するグループの RD を検出、表示する (Fig. 1-2)。⑨を選択した場合には、CMENU.PRG の指令で

画面に五つの項目を表示させ、USER にその項目につけられた番号を選択させ、それぞれの“曾孫プログラム”に分岐させる。即ち、(1)を選択した場合には血液検査の結果 MF陽性の患者の RD を GAMEN7.PRG の働きで検出表示させる。(2)を選択した場合には糞便検査の結果、寄生虫虫卵陽性の患者の RD を GAMEN8.PRG の働きで検出する。(3)を選択した場合は、犬糸状虫症以外の病気をもつ患者の RD を GAMEN9.PRG の働きで検出表示させる。(4)を選んだ場合は特異体質の患者の RD を GAMEN10.PRG の働きで検出表示させる。(5)を選んだ場合には指定されたコード番号をもつ患者の過去五年間の RD が、DBF (CDC88.DBF, CDC89.DBF, CDC90.DBF, CDC91.DBF and CDC92.DBF) と Index Files (IF) (COD1IND.NDX, COD2IND.NDX, COD3IND.NDX, COD4IND.NDX and COD5

IND.NDX)を用いて、GAMEN11.PRG と DISHIS.PRG のプログラムによって、検出、表示される (Fig. 1-3). 何も選択しないでリターン・キー (RK) のみを押した場合は FMP にそのまま復帰する。FMP の⑩ (Fig. 1-1) (Fig. 2) を選んだ場合にはまず、今年何回目の郵送であるかとの質問がなされる。何れの郵送群においても6月の郵送を1回目として、11月の6回目までの郵送がなされる。各月毎に郵送群を設定するようにしたのは、各月毎に郵送を希望したもので、来院したり、郵送を希望しなかったもので、突然、旅行の都合などで郵送を希望することがままあるためである。そして何回目の郵送であるかが入力されると続いて、使用する特定のTFである日本フィールドサービス(株)製の“EF-5199”を使用するように注意が促される (Fig. 4参照)。そして RK が押されたら印刷メニュー画面 (Print Menu Panel : PMP) が表示される (Fig. 1-4) (Fig. 5)。この PMP の (0) を選択した場合は TF の印刷を中止して FMP に復帰する。PMP の (1) を選択した場合には全畜主 (全患者) への駆虫薬キャンペーンのための TF 印刷が EF519900.PRG によってなされる。この場合転出したことの判明している畜主は自動的に除外される。ここまでの指令が PMENU.PRG によってなされる。PMP の (2) (3) 及び (4) を選択した場合は、MGSET.PRG によって、再度印刷を実施するかどうか確認を求められ、印刷の意志が確認された場合には、郵送回数に応じて、18個の DBF (MGA1.DBF, MGA2.DBF, MGA3.DBF, MGA4.DBF, MGA5.DBF, MGA6.DBF, MGB1.DBF, MGB2.DBF, MGB3.DBF, MGB4.DBF, MGB5.DBF, MGB6.DBF, MGC1.DBF, MGC2.DBF, MGC3.DBF, MGC4.DBF, MGC5.DBF, MGC6.DBF) のうち、どの DBF を使うかが自動的に選択され、PFORM1.PRG から PFORM8.PRG までの8個の PF を自動的に選択して TF 印刷がなされる (Fig. 1-4 及び 1-5 参照) (Table. 9 から Table. 11 参照)。Fig. 6 には PMP の (2) を選択した場合に日本電気フィールドサービス(株)の TF に印刷された1日郵送群に属する畜主への宛名が実際に印刷されたものを示す。

Table, 9 PMENU.PRG

1:	SET TALK OFF
2:	PRIVATE MGDBF
3:	PRIVATE M_TIMES
4:	STORE 0 TO M_TIMES
5:	PRIVATE MZ
6:	STORE “ ” TO MZ
7:	CLEAR
8:	@ 2, 18 SAY “<< << <<ダイレクトメール印刷>> >> >>”
9:	@ 4, 12 SAY “今回は何回目の郵送ですか”
10:	@ \$, \$+1 GET M_TIMES PICTURE “9”
11:	READ
12:	@ 7, 12 SAY “タック紙には日本電気フィールドサービス(株)の”
13:	@ 8, 12 SAY “EF-5 1 9 9 を使用して下さい。”
14:	@ 10, 12 SAY “準備が出来たら、リターンキーを押して下さい”
15:	SET CURSOR OFF
16:	WAIT “ ”
17:	SET CURSOR ON
18:	CLEAR
19:	STORE 0 TO KOTAE
20:	@ 7, 15 SAY “次の番号を選びますか?”
21:	@ 9, 20 SAY “(0) 中止する。”
22:	@ 11, 20 SAY “(1) 案内状を宛名のタック紙へ印刷”
23:	@ 13, 20 SAY “(2) 1日郵送群の宛名をタック紙へ印刷”
24:	@ 15, 20 SAY “(3) 10日郵送群の宛名をタック紙へ印刷”
25:	@ 17, 20 SAY “(4) 20日郵送群の宛名をタック紙へ印刷”
26:	@ 7, 42 GET KOTAE PICTURE “9”
27:	READ
28:	CLEAR
29:	DO CASE
30:	CASE KOTAE = 0
31:	RETURN
32:	CASE KOTAE = 1
33:	SET PATH TO A : ¥DBASE

```

        ¥CDC¥INSATU
34 :    DO EF519900
35 :    RETURN
36 :    CASE KOTAE = 2
37 :        MZ=STR (M_TIMES, 1, 0)
38 :        STORE "MGA&MZ" TO MGDBF
39 :        SET PATH TO A : ¥DBASE
        ¥CDC¥INSATU
40 :    DO MGSET
41 :    RETURN
42 :    CASE KOTAE = 3
43 :        STORE "MGB&MZ" TO MGDBF
44 :        CLEAR
45 :        SET PATH TO A : ¥DBASE
        ¥CDC¥INSATU
46 :    DO MGSET
47 :    RETURN
48 :    CASE KOTAE = 4
49 :        ALPHAB= "C"
50 :        STORE "BGC&MZ" TO MGDBF
51 :        SET PATH TO A : ¥DBASE
        ¥CDC¥INSATU
52 :    DO MGSET
53 :    RETURN
54 :    OTHERWISE
55 :        RETURN
56 :    ENDCASE

```

Table. 10 MGSET, PRG

```

1 : SET TALK OFF
2 : SET ECHO OFF
3 : SET CONFIRM ON
4 : SET EXACT OFF
5 : PRIVATE BAN, RT
6 : STORE "Y" TO REPLY
7 : SET DEVICE TO SCREEN
8 : @ 3, 10 SAY "日本電気フィールドサー
    ビスのタックフォーム"
9 : @ 4, 10 SAY "EF-5199を使って下さい"
10 : @ 6, 10 SAY "印刷をしても構いません
    か? (Y/N)"
11 : @ $, $+2 GET REPLY PICTURE "X"
12 : READ

```

```

13 : CLEAR
14 : DO CASE
15 :     CASE REPLY= "Y" .OR. "y" $REPLY
16 :         BAN= 0
17 :         RT= 0
18 :         USE A : ¥DBASE¥CDC¥DBF¥&
            MGDBF
19 :         GOTO BOTTOM
20 :         BAN=RECNO( )
21 :         RT=MOD(BAN, 4)
22 :         GOTO TOP
23 :         SET FILTER TO PRED
24 :         LOCATE FOR PRED
25 :         SET DEVICE TO PRINT
26 :         DO WHILE .NOT. EOF( )
27 :             DO PFORM1
28 :             CONTINUE
29 :         ENDDO
30 :         USE A : ¥DBASE¥CDC¥DBF¥&
            MGDBF
31 :         BAN= 0
32 :         RT= 0
33 :         GOTO BOTTOM
34 :         BAN=RECNO( )
35 :         RT=MOD(BAN, 4)
36 :         USE A : ¥DBASE¥CDC¥DBF¥&
            MGDBF
37 :         GOTO TOP
38 :         SET FILTER TO .NOT. PRED
39 :         LOCATE FOR .NOT. PRED
40 :         SET DEVICE TO PRINT
41 :         DO WHILE .NOT. EOF( )
42 :             DO PFORM5
43 :             CONTINUE
44 :             ENDDO
45 :         CASE REPLY= "N" .OR., "n" $REPLY
46 :             RETURN TO MASTER
47 :         ENDCASE
48 :         SET DEVICE TO SCREEN
49 :         SET FILTER TO
50 :         SET CONFIRM OFF
51 :         SET PATH TO ¥DBASE¥CDC¥ATOK
52 :         DO SUUJI
53 :         RETURN

```

Table. 11 PFORM1. PRG

1:	SKIP+3	39:	@ \$, \$ SAY CHR(13)
2:	IF .NOT. EOF()	40:	SKIP
3:	SKIP-3	41:	@ \$, \$+106 SAY LTRIM(RTRIM (畜主))+敬称
4:	@ \$, \$ SAY CHR(10)	42:	@ \$, \$ SAY CHR(13)
5:	@ \$, \$ SAY CHR(13)	43:	@ \$, \$+1 SAY CHR(10)
6:	@ \$, \$ SAY “〒”+ZIP	44:	SKIP-3
7:	@ \$, \$ SAY CHR(13)	45:	@ \$, \$ SAY “愛犬名 [”
8:	SKIP	46:	@ \$, \$ SAY LTRIM(RTRIM(犬の 名前))
9:	@ \$, \$+36 SAY “〒”+ZIP	47:	@ \$, \$ SAY “]”
10:	@ \$, \$ SAY CHR(13)	48:	@ \$, \$+1 SAY “投与回数 [”
11:	SKIP	49:	@ \$, \$ SAY DOSAGE_NUM
11:	@ \$, \$+71 SAY “〒”+ZIP	50:	@ \$, \$ SAY “]”
13:	@ \$, \$ SAY CHR(13)	51:	@ \$, \$ SAY CHR(13)
14:	SKIP	52:	SKIP
15:	@ \$, \$+106 SAY “〒”+ZIP	53:	@ \$, \$+36 SAY “愛犬名 [”
16:	@ \$, \$ SAY CHR(13)	54:	@ \$, \$ SAY LTRIM(RTRIM(犬の 名前))
17:	@ \$, \$ SAY CHR(10)	55:	@ \$, \$ SAY “]”
18:	SKIP-3	56:	@ \$, \$+1 SAY “投与回数 [”
19:	@ \$, \$ SAY RTRIM(自宅住所)	57:	@ \$, \$ SAY DOSAGE_NUM
20:	@ \$, \$ SAY CHR(13)	58:	@ \$, \$ SAY “]”
21:	SKIP	59:	@ \$, \$ SAY CHR(13)
22:	@ \$, \$+36 SAY RTRIM(自宅住所)	60:	SKIP
23:	@ \$, \$ SAY CHR(13)	61:	@ \$, \$+71 SAY “愛犬名 [”
24:	SKIP	62:	@ \$, \$ SAY LTRIM(RTRIM(犬の 名前))
25:	@ \$, \$+71 SAY RTRIM(自宅住所)	63:	@ \$, \$ SAY “]”
26:	@ \$, \$ SAY CHR(13)	64:	@ \$, \$+1 SAY “投与回数 [”
27:	SKIP	65:	@ \$, \$ SAY DOSAGE_NUM
28:	@ \$, \$+106 SAY RTRIM(自宅住 所)	66:	@ \$, \$ SAY “]”
29:	@ \$, \$ SAY CHR(13)	67:	@ \$, \$ SAY CHR(13)
30:	@ \$, \$ SAY CHR(10)	68:	SKIP
31:	SKIP-3	69:	@ \$, \$+106 SAY “愛犬名 [”
32:	@ \$, \$ SAY LTRIM(RTRIM(畜主))+ 敬称	70:	@ \$, \$ SAY LTRIM(RTRIM(犬の 名前))
33:	@ \$, \$ SAY CHR(13)	71:	@ \$, \$ SAY “]”
34:	SKIP	72:	@ \$, \$+1 SAY “投与回数 [”
35:	@ \$, \$+36 SAY LTRIM(RTRIM (畜主))+敬称	73:	@ \$, \$ SAY DOSAGE_NUM
36:	@ \$, \$ SAY CHR(13)	74:	@ \$, \$ SAY “]”
37:	SKIP	75:	@ \$, \$ SAY CHR(13)
38:	@ \$, \$+71 SAY LTRIM(RTRIM (畜主))+敬称	76:	@ \$, \$ SAY CHR(10)
		77:	SKIP-3

```

78: @ $ , $ SAY "P ["
79: @ $ , $ SAY PRE_DOSE
80: @ $ , $ SAY "]" mg"
81: @ $ , $+1 SAY "MD ["
82: @ $ , $ SAY DOSAGE_NUM
83: @ $ , $ SAY "]" g"
84: @ $ , $ SAY CHR(13)
85: SKIP
86: @ $ , $+36 SAY "P ["
87: @ $ , $ SAY PRE_DOSE
88: @ $ , $ SAY "]" mg"
89: @ $ , $+1 SAY "MD ["
90: @ $ , $ SAY DOSAGE_NUM
91: @ $ , $ SAY "]" g"
92: @ $ , $ SAY CHR(13)
93: SKIP
94: @ $ , $+71 SAY "P ["
95: @ $ , $ SAY PRE_DOSE
96: @ $ , $ SAY "]" mg"
97: @ $ , $+1 SAY "MD ["
98: @ $ , $ SAY DOSAGE_NUM
99: @ $ , $ SAY "]" g"
100: @ $ , $ SAY CHR(13)
101: SKIP
102: @ $ , $+106 SAY "P ["
103: @ $ , $ SAY PRE_DOSE
104: @ $ , $ SAY "]" mg"
105: @ $ , $+1 SAY "MD ["
106: @ $ , $ SAY DOSAGE_NUM
107: @ $ , $ SAY "]" g"
108: @ $ , $ SAY CHR(13)
109: @ $+4, $ SAY CHR(10)
110: ELSE
111: GOTO BOTTOM
112: DO CASE
113:     CASE RT=3
114:         SKIP-2
115:         DO PFORM2
116:     CASE RT=2
117:         SKIP-1
118:         DO PFORM3
119:     CASE RT=1
120:         DO PFORM4
121: ENDCASE

```

```
122: ENDIF
```

畜主の氏名の下段には犬の名前と MD 投与回数
が、更に下の段には P の投与量 (mg) と MD の
投与量 (g) が印刷される。P の投与が必要のない
場合には、MD の投与量のみが示される。更に該
当するカルテが一段に四列存在する TF の途中
で、存在しなくなった場合には、自動改行するよ
うにプログラムされている。これは該当する RD
が一段四列の TF の途中で無くなった場合にも
TF に印刷し続けるのを防止するためである。こ
のため一段三列のために P を投与する場合のプ
ログラム (PFORM2.PRG) と P を投与しない
場合のプログラム (PFOMR6.PRG) を作成した。
同様に一段二列のためのプログラムとして
PFORM3.PRG と PFORM7.PRG を、一段一列の
ために PFORM4.PRG と PFORM8.PRG をそ
れぞれ作成した。なお、このプログラムの利用者
のパソコンの操作の手助けをする為に、
MESSAGE1.PRG から MESSAGE8.PRG ま
でのファイルを作成して自動的に作動するように設
定した (Table. 3) (Fig. 1-2 及び 1-
3)²⁰⁾。これらは指示された仕事の終了を告げ、同
時に FMP へ戻る為にエスケープ・キー (EK)
を押すよう指示する Procedure Files (PF) であ
る。この指示通りの実施するならばスタートの状
態に復帰する。

FMP の①、②及び③を選んだ場合には、VOF
の配置が IMAGE.FMT によって規定される編
集画面 (Editing Panel: EP) (Fig. 3 参照) を
利用してなされる。訂正や追加のとき画面上の“内
服量”と表示された部分は常に空欄としておいて
も、体重が測定され入力される度にその新しい体
重に基づいた MD と P の投与量が自動的に計算
され該当する欄が埋められる。この自動的な薬の
量の算定と画面表示を指令するのが FUKA.PRG
(Fig. 1-2) である。置き換えられた投与量は
訂正あるいは追加が終わった後で“CTRL”キーと
“W”キーを同時に押すと画面が更新されて、薬
の投与薬が EP 上に参照される。この画面から FMP
に戻るには、“CTRL”キーと“W”キーを同時に
二度続けて押す。この後で、訂正、追加あるいは
削除された内容に従って、自動的に 1、10及び20

日郵送群の為の DBF (MGA, DEF, MGB, DEF and MGC, DEF) に変更を加えるのが, MGSORT, PRG (Fig. 1-5) である。FMP の © を選んだ場合は CDC, PRG がキャンセルされて dBASE の DOT PROMPT に戻る。

CDC92, DBF へのレコード (RD) の追加の要領

CDC の DBF の構造は定義された VOF の集合によって成り立っている (Table. 2) ので、それぞれの RD は DBF の構造を維持するように、追加、削除の編集作業がなされなくては折角のプログラムを活用することが出来なくなる。そこで、ここに定義された VOF の内容と DB 追加の要領について述べて置きたい。Fig. 3 のような EP によって、訂正、追加及び削除の編集作業が行われる。まず、この EP の一番上には“フィラリア症駆虫薬投与犬の管理”という赤い文字による点滅表示がなされており、その右側に日付がパソコンの TIMER と連動して示されている。その下の段の左端には“CODE”と示されているが、これは患者個体に与えられた“1”から始まる4桁の整数値である。その右側に示された“昨年度番号”は、亦、4桁の整数値であり、これは同一の個体が昨年度に与えられた“CDA 投与の為の犬の管理台帳”での番号である。この昨年度番号はこの管理が完全にパソコンでなされるようになれば、不要となる性質のものである。更にその右側には帳簿参照上の都合で設けた“カルテ番号”がある。これは、患畜個体の永久保存番号であり、“CODE”とは異なり年度毎に変更してはならない。変更しないことで、その個体の過去の累積データ（例えば病歴等）を参照できる。その右側の“掛払希望”は文字通り、掛払いを希望した場合に“T” (True) と記入する。希望されない場合は“F” (FALSE) を記入する。

その右側の“転出”は治療半ば、あるいは終了した後で転出したことの判明した場合に、同じく、“T”を記入し、そうでない場合、“F”を記入する。原因不明で連絡がとれなくなった場合も当然、“転出”は“T”である。その下の行の“フリカナ”は畜主の名前のフリカナであり、半角文字のカタカナで10文字以内のフリカナをつける。姓と名前の間には半角一字分の空白を置く。その下の行の“畜主”の後には畜主の姓と名前を倍角漢字10文字以内で入力する。なお、その右側には“敬称”

の“様”も入力して置く。更にその右側の“TEL”の後に電話番号を半角数字12文字以内で入力する。これはハイフンも1文字として“0839-24-5589”のごとく記入する。その下の行の左端の“〒”には郵便番号を“853”とか“753-02”のようにハイフンも1文字分として6文字以内で記入する。その右端には倍角25文字以内で畜主の自宅住所を入力する。その下の行、左端の犬の名前には倍角10文字以内で犬の名前を入力する。犬の名前は割にカタカナのものが多く、その場合は倍角のカタカナで表示する。その右側の“犬の性別”は半角2文字分のスペースが設けられているが、雄の場合は“M” (MALE)、雌の場合は“F” (FEMALE) と記入して置く。半角二文字分を設けたのは“♂”や“♀”の記号が半角2文字に相当するからである。入力時には記号の入力は面倒であるが、時間があれば、随時、これらの記号に変換したほうが読みやすい。その右側の“犬の種類”には半角英数字で犬の種類を表現する。その右側の“犬の年齢”は半角2文字分を入力される。前年度より引き続いて患者の場合は前年度の年齢に、“+1”をすることで対処できるので、いちいち個別別に入力の必要はない。この場合はdBASEの“REPLACE”コマンドを利用して、

● ¥DBASE ¥ CDC ¥ CDC93, DBF

● GOTO TOP

● REPLACE ALL 犬の年齢 WITH 犬の年齢+1のようにすれば簡単に全レコードの+1された犬の年齢に置き変わる。その右側に設けられた“犬”の性質は獣医師にとっては極めて重要な情報である。“犛猛な” (FIRCE) の“F”が“穏和な” (GENTLE) の“G”が入力される。その下の行の右側の“特異体質”には薬剤アレルギーなどについて倍角10文字以内で記入される。その右側の“その他の病気”には同じく倍角10文字以内で、フィラリア症以外の病気がある場合に入力される。その下の行の右端の“犬の誕生日”は本来の日付型変数とするべきであるが、昭和と平成を西暦に換算するプログラムを未だ作成していないので、半角9文字として、“犬の誕生日”のみを文字変数として定義して、9文字の先頭に平成なら“H”を昭和なら“S”をいれて入力して置くことにした。その右側の“本年度初診日”はフィラリア予防薬の投与と関係がなくても、正真正銘の初めて

の今年の来院日をアメリカ型の日付型式 (dBASEの規定) で “04/23/91” のような半角 8 文字で記入する。その右側には、この時測定された “血液検査実施日” には “本年度初診日” と同様の血液検査実施日を記入する。この右側の “結果” には血液中の MF の感染の程度が “+1” から “+3” の grade で示される。MF 陽性の場合には、この欄の最初に必ず、 “+” を入力することを忘れてはならない。この “+” を検出するようにプログラムは設定してある。その下の行の右端の “糞便検査実施日” も同様に日付を入力する。その右側の “結果” には糞便検査結果が入力される。この場合にもまた、寄生虫虫卵の検査結果が、その虫の種類が何であれ、まず、陽性であれば “+” を入力する。その下の行の “外科的処置” はどのような疾患で外科的処置を受けたのかを倍角 10 文字以内で入力する。その右側の “処置年月日” には外科的処置を実施した日付を入力する。その下の行の来院年数はこれまで何年間継続的に本院に通院しているかを半角 2 文字以内で記入する。これも前年度から引き続いての顧客の場合は個別に入力する必要はない。その右側の “郵送” は郵送を希望するかどうかを “T” か “F” かの半角 1 文字分を入力する。この記入によって畜主への郵送が必要であるか否かをプログラムが判別する。その右側の “郵送群” には半角 1 文字分で毎月 1 日に犬糸状虫駆虫薬を郵送するグループには “A” を 10 日に郵送するグループには “B” を 20 日に郵送するグループには “C” を入力する。その右側の “P” には P を投与する必要があるかないかを、 “T” か “F” の半角 1 文字分を入力する。その右側の内服量には P の投与の如何に拘らず、体重を基にプログラムによって自動入力されるので、入力の必要はない。その右側の “MI” には、MD を投与する場合は、ここに “T” を、MF の感染が重度であるなどの理由で投与を見合わせる場合は、 “F” をここに入力する。その右側の “内服量” もまた、犬の体重さえ入力されてあればプログラムによって自動的に入力表示される。投与回数には来院して投与した場合も、郵送した場合もここを書き換える。ここもまた、先の例と同じく、 “REPLACE” コマンドで一括変換できる。例えば、郵送が終わったら

- USE ¥DBASE¥CDC¥DBF¥MGA. DBF
- REPLACE ALL DOSAGE_NUM WITH

DOSAGE_NUM+1 とする。その下の行には “投薬の実施” として、タイトルが示されている。これは駆虫薬の約一ヶ月毎の投与を管理し、更に入金をパソコン管理するために作成された一覧表である。縦の項目に “第一回来院” から “第六回来院” までの項目が設けられ、横の項目に “来院日”, “M_R”, “郵送日”, “体重”, “料金”, “TAX”, “入金”, “未入” 及び “入金日” 等の項目が設けられている (Fig. 3 参照)。即ち、 “来院日” のカラムには上から順に第一回来院から第六回来院までの来院日が記入出来る。その右側のカラムの “M_R” は “MAIL_REQUEST” の略であり、畜主のなかには、周期的に郵便を希望するものがあり、これに対応するために、この項目が設けられた。即ち、右端の第一回来院” が表示された行で、 “M_R” を “T” と入力するならば、この畜主は何かの事情で第一回来院せず、駆虫薬の投与を希望したということである。 “体重” は第一回来院から第六回来院までのその都度測定し入力出来るように百の位までの三桁と小数点第一位までの数値で入力する。料金はその都度請求した金額を千までの四桁の整数で入力する。消費税にあたる “TAX” は徴収する場合は三桁までの整数が記される。 “入金” には、第一回来院から第六回来院まで、その都度入金があれば四桁の整数で記入される。 “未入” は入金されていない場合に “T” と入力される。入金されたならば、 “F” が入力される。入金された場合はその日付が “入金日” に入力される。第六回来院の下の行には第一回来院から第六回来院 (あるいは郵送) までの料金の合計が、追加、訂正、削除の編集業務が終了した後に表示される。 “TAX” や “入金” にもそれぞれの合計が示される。 “粗品” には、畜主の愛顧に対する感謝の印として進呈された物品名が入力される。 “ESC KEY TO FINISH, RET KEY TO CONTINUE” は只今表示している画面をクリアする方法を示したものである。

考 察

この CDC System は臨床のカルテ管理、畜主の住所管理、会計管理、類別された DB の TF への印刷管理を総合したものである。その data は画面一枚分の EP (Fig. 3) にコンパクトにまとめられており、獣医師は必要な情報を、画面を一瞥するだ

けて得ることが出来る。また、CDAの郵送を希望する畜主への封書の宛名書きも、印刷の項目を選択し、画面上に現れた指示に従い、簡単な入力をおこなうだけで、何の苦労もなく印刷が出来る。DBの上に記録された郵送群（毎月の1日、10日或は20日）と印刷時に入力されるCDAの投与回数に合致する畜主全部の郵便番号、住所、畜主名及び敬称などが個別にTFに印刷される。更に各々のTFには、その犬の名前と、Pを投与する場合にはPとMDの一回分の投与量が、Pを投与しない場合にはMDだけの投与量が印刷される。これにより、従来帳簿をいちいち参照して、なされていた仕事が、単にパソコンの上での簡単な操作で短時間のうちに処理される。TFへの印刷は、OS（MS-DOS）の上でのみ一頁の長さ（VFU.COM¹⁴⁾）や左側打ち出し位置（LMARGIN.COM¹⁵⁾）が設定できる。だが、異なるTFを使用する場合は、いちいち、dBASEの上からOSに戻って設定しなくてはならないので、今回は一番印刷効率の良い11×14 inchesの一枚に横4枚縦6枚都合24枚のTFの印刷が可能でEF-5199（日本電気フィールドサービス社製）への印刷を可能とするプログラムのみを紹介した。如何なるサイズのTFにも対応するプログラムを作成したければ、Table 9、10及び11を参考にすれば、USERが各自で作成できるであろう。投与するMDとPの薬の量については、記入された最新の体重をもとに自動的に算出するようにプログラムした（Table 8）。Pの投与を決定するには、犬の血液検査や糞便検査の結果やその他の病気や特異体質などのFLDの参照が役立つ。また、郵便番号の記入については、ZIPSET.PRGをこのシステムの中に加えてある（Table 3参照）のでこれを使えば入力しなくても、住所さえ記入されていれば、山口県内の場合のみ一括して自動入力となされる。更に、CDA開始後の任意の時期にそれまでの入金状態を把握出来る機能があるので病院の経

営の参考となるであろう。

このCDC programがdBASEで組まれているためDBを永久資産として有効利用出来るだけでなく、DB量が増える程、また、Application（AP）数が増加すればする程、市販ソフトと比べると、消費メモリーの量が節約出来るというメリットを有している。それ故、利用者が自主的にDBを作成し、将来には、膨大なDBを自ら構築し、管理することを想定する場合には、dBASEでプログラムを組むことは極めて理にかなっている。なお、dBASEは世界中で販売されているので機種依存性は少ない。それ故、このCDC programはどの機種でもその機種にあったdBASEを準備すれば起動することが出来る。尚、dBASEの魅力は誰にもやさしい簡易言語の使用によってプログラムが記載してあるため、誰でも、その使い方を修得すれば、簡単にプログラムを作成したり改良したりすることが出来る¹⁵⁾。このCDC programはdBASE付属の機能である“Program Generator”などを全く使用せず、純粋に簡易言語のみで作成したので、却って柔軟性のあるプログラムとなっている。

このCDC programを使用することによって、開業獣医師は業務終了後夜半まで帳簿の整理に追われることもなくなるのであるから、業務時間内に入力する努力だけはして欲しい¹³⁾。

CDは犬だけでなく猫、狸、狐、オットセイ、アザラシ等にも感染する³⁹⁾。ヒトにも感染することが知られており、肺^{5,6,19,21,28,32,38 and 39)}、皮下組織^{18 and 31)}、腹腔内³³⁾、眼球内^{4 and 31)}等にも寄生が認められている。犬と同じく、稀に心臓の右心室や下腔静脈にも成虫の寄生が報告されている³⁶⁾。人もCDの終宿主たりうる可能性を示したものとして注目されている。近年、Zoonosisとして、ヒトにおける報告例が急増しているの、犬におけるCDAの効率的な投与は、間接的にはヒトへの感染の機会を減らすものと評価される。

文 献

- 1) 浅沼亮：dBASE II で ATOK の入力モード自動切り替えを。 *The Basic*, No.55 : 52~56, 1987.
- 2) バインス情報センター著：dBASE II バイブル活用テクニックと強力ユーティリティ、技術評論社、初版第9刷、1986.
- 3) Cambell, W. C., Fisher, M. H. Stapley, E. O., Albers-Schonberg, G. and Jacob, T. A., : Ivermectin : A potent new antiparasitic agent. *Science* 221 : 823~828, 1983.
- 4) Chaaboun, M., Sallami, R., Salid, M. B., Rachiid, M. S. B. and Romdane, k. : Conjunctival

- dirofilariasis : About 1 case in the Kairouan (Tunisia) *Asea. Arch. Inst. Pasteur Tunis* 67 (1/2) : 5~10, 1990.
- 5) Ciffer, F. : Human pulmonary dirofilariasis. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 31 (2) : 302~308, 1982.
 - 6) Dashiell, G. F. : A case of dirofilariasis involving the lung. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 10 : 37~38, 1961.
 - 7) Desowitz, R. S., Palumbo, N. E., Perri, S. F. and Sylvester, M. S. : Inhibition of the adverse reaction to diethylcarbamazine in *Dirofilaria immitis*-infected dogs by Iodoxamideethyl. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 31 (2) : 309~312, 1982.
 - 8) 動物病院経営情報管理システム (パソコン・ソフト) の紹介 CAP/JULY, pp33~35, 1991.
 - 9) Faust, E. C. Human infection with species of *Dirofilaria*. *Ztschr. Tropenmed. u. Parasitol.*, 8 : 59~68, 1957.
 - 10) Fukase, T., In, T., Chinone, S. and Akihama, S. : Anthelmintic efficacy of Milbemycin D against *Toxicara cati* and *Ancylostoma tubaeforme* in domestic cats. *J. Vet. Med. Sci.*, 53 (5), 817~822, 1991.
 - 11) 原山明, 岡田卓也, 坂本雅史, 関貴, 大野薫, 高井節子, 永田健二, 本田操, 田坂那安 : 犬糸状虫症に対するミルベマイシン D 投与の安全性について. 獣医畜産新報, No791 : 49~52, 1987.
 - 12) 比留木武雄 : 用紙サイズに応じてレフトマージンを設定する. *The Basic*, No72, 142~148, 1989.
 - 13) 久繁哲徳 : コンピューターは医療に貢献しているか 1. 医療情報システムのテクノロジー・アセスメント, 医療とコンピューター, 5 (1) : 2~10, 1992.
 - 14) 加藤信幸 : MS - DOS 上でプリンタ制御コマンドをつくる. *Oh!* 16, February, 102~112, 1986.
 - 15) 河田文雄+ヒューデックオフィス : dBASEIIIアプリケーションプログラム集, 啓学出版. 初版第1刷, 1986.
 - 16) 小高輝真 : ATOK の制御技術をマスターしよう. *The Basic* No48, 24~32, 1987.
 - 17) 小高輝真 : ATOK の制御技術をマスターしよう. (追補版). *The Basic* No55, 47~48, 1987.
 - 18) Lenth, V. T. J. : Cutaneous filarial infection in human beings. *J. A. M. A.*, 173 : 1124, 1960.
 - 19) Levinson, E. D., Ziter, R. M. H. Jr., and Westcott, J. L., : Pulmonary lesions due to *Dirofilaria immitis* (dog heartworm). *Radiology*, 131 : 305~307, 1979.
 - 20) Makiya, K. : Infection rate of *Dirofilaria immitis* among kept dog in Kitakyushu City. *Jpn. J. Parasitol.*, 39 (1), 86~87, 1990.
 - 21) Merrill, J. R., Otis, J., Logan, W. D. and Davis, M. B. The dog heart worm (*Dirofilaria immitis*) : An epidemic pending or in progress? *J. A. M. A.*, 243 (10) : 1066~1068, 1980.
 - 22) 中井正博 : 犬糸状虫マイクロフィラリア寄生犬にイベルメクチンとジエチカルバマジンとを投与してみられる副作用の比較. 日本獣医師会雑誌, 42 (6) : 402~407, 1988.
 - 23) NEC Corporation : PC-PR201F 日本語シリアルプリンター *USERS' MANUAL*, 1986.
 - 24) 日本電気株式会社編 : 業種パッケージ, 動物病院 In : アプリケーション情報, 1990夏号, p22.
 - 25) 日本電気株式会社編 : 業種パッケージ, 動物病院 In : アプリケーション情報, 1992春夏号, p29.
 - 26) 日本アシュトンテート株式会社 : dBASEIII plus ユーザーズマニュアル, リファレンス編, 第6刷, 1989.
 - 27) 野田周作 : 大阪地区におけるミルベマイシン D による野外での犬糸状虫症の予防効果, 4年間の成績について小動物臨床, 8 (1) : 96~97, 1989.
 - 28) 大鶴正満, 白木公, 監物実, 柿崎善明 : 線虫類の幼, 成虫が組織内に迷入した数例. 寄生虫学雑誌, 23 (3) : 106~115, 1974
 - 29) Prod'hon, J., Boussinesq, M., Fobi, G., Prud' hom, J. M., Enyong, P., Lafleur, C. and Quillevere,

- D. : Use of ivermectin against onchocerciasis : Result of a mass campaign in North Cameroon. *Bull. WHO* 69 (4) : 443~450, 1991.
- 30) 酒井雄二郎, 葛井真作, 阿部友作 : dBASE ってなに? In : dBASE PLUS ハンディ・マニュアル, pp20~29, ナツメ社, 1988.
- 31) Sam, W. M. and Beck, J. W. Subcutaneous filarial infection *Arch. Dermat.*, 79 : 294~297, 1959.
- 32) Suzumiya, J. and Nawa, Y. : Three cases of pulmonary dirofilariasis found in Miyazaki prefecture. *Jpn J. Parasitol.*, 39 (1) : 67~71, 1990.
- 33) Tada, I., Sakaguchi, Y. and Eto, K. : *Dirofilaria* in the abdominal cavity of a man in Japan. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 28 (6) : 988~990, 1979.
- 34) 鷹野獵場 : 骨までしゃぶろう ATOK 5 *The Basic* No46, 18~24, 1987.
- 35) 高橋俊一 : コンピューターを経営にいかす. Part 1. 動物病院におけるコンピューター管理の実態 Cap/July, p31~32, 1991.
- 36) Takeuchi, T., Asami, K., Kobayashi, S., Masuda, M., Tanabe, M., Miura, S., Asakawa, M., and Murai, T. : *Dirofilaria immitis* infection in man : Report of a case of the infection in heart and inferior vena cava from man. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 30 (5) : 966~969, 1981,
- 37) Whiteworth, J. A. A., Gilbert, C. E., Mabey, D. M. and Taylor, D. W. : Effect of repeated doses of ivermectin on ocular onchocerciasis : Community-based trial in Sierra Leone. *Lancet* 338 (8775) : 1100~1103, 1991.
- 38) 吉村裕之 : ヒト犬糸状虫症とその免疫診断. *臨床外科*, 43 (11) : 1675~1979, 1988.
- 39) 吉村裕之 : 日本におけるフィラリア(糸状虫)症の現状とヒト犬糸状虫症の増加. *最新医学*, 44(4) : 815~826, 1988.

APPLICATION OF ET IN U. S. DAIRY INDUSTRY

Heidi YAMAMOTO

Pres, Colorado Agriculture Services 11480 N. Cherokee Street, Unit I Denver, Colorado 80234 USA

[Received for publication : August 30, 1992]

Some say embryo transfer (ET) started out a richman's hobby, but as more ET companies operate, the cost of ET came down and became affordable to many people. Thus, many people flushed cows, but not everyone had good donor cattle to justify the cost. In Canada, Denmark, the United States, and other countries, more than 50% of dairy bulls that go into progeny testing programs are the offspring of ET technology. In the United States, 70% or more of dairy bulls at major AI centers are results of ET. In the U. S., one out of every 440 dairy calves born was an ET calf. This figure changes to one out of every 21 calves if they are counted in registered dairy cattle population. Therefore, it is not just a rich man's game anymore, but rather it is a very important tool to compete and survive in the dairy industry.

American Embryo Transfer Association (AETA) now has 340 members which includes, individuals who are ET involved part-time, to a large ET company that has many veterinarians and supporting personnels to do all types of ET related work. Sampling of a few different type of ET business were selected for the sake of discussion, but an emphasis should be made that the sampling cover only a small segment of the U. S. ET industry, and many other commercial application do exist.

(1) In 1987, after working for a major ET company for 5 years, Dr. Richard Whitaker moved to Maine and started his own ET company, New England Genetics (NEG). NEG has grown to include two full-time veterinarians, three embryologists, and other supporting staff. This is a full service embryo transfer organization operating throughout the northeastern United States and the Maritime provinces of Canada. 98% of their work is on the farm services which include non-surgical recovery, cryopreservation, bisection, and a non-surgical transfer, as well as ultrasonic pregnancy diagnosis and ultrasonic fetal sex determination. They are involved in export market, and shipped out about 1,500 embryos overseas in 1991. They offer training and/or technical assistance for embryo transfer teams worldwide.

NEG is not involved in cloning because they feel that the market is very limited at this stage. IVF, however, is a future consideration for them, but not an immediate concern due to its limited commercial application. For farmers, ultrasound sexing offers money saving of \$100-200 per recipient, according to their calculation.

(2) In a small town of the state of Pennsylvania sits one of the most successful ET companies in the dairy industry. Em Tran, Inc., is a complete embryo transfer services

company. Their services include : onfarm flushing, transfer into Em Tran recipients or client recipients on the farm, embryo freezing, splitting, in house boarding of donor animals, reproductive consultation and infertility analysis, genetic testing, embryo export services, training of ET technicians, etc. About 5,000 embryos are exported annually which is probably 50% of their embryos collection annually. One of the unique aspects of their operation is that of donor housing program for foreign buyers. Out of the 300 head donor barn, about half belong to foreign buyers.

The standard fee schedule is as follows : Donor flushing is \$125 if boarded at Em Tran, \$250 for one superovulated donor, and \$350 for two or more on the same day. Donor boarding : \$4 per day for dry cows or cows milking 50 pounds or less, \$1 per day if cows milk more than 50 pounds. Pregnancy : Transfer basis (no pregnancy guarantee)-\$150/non-surgical, \$200/surgical transfer, due on the day work is performed. Em Tran recipients-\$1,500 each due at 90 days of pregnancy, client recipients-\$300/non-surgical, \$400/surgical pregnancy. Pregnancy guarantee : pregnancies are guaranteed up to 180 days. Em Tran recipients coming open between 90-180 days will be credited at \$650 each, with the client retaining ownership of the recipients. Client-owned recipients coming open between 90-180 days will be credited for full pregnancy fee. Embryo freezing : \$100/embryo billed at time of freezing. Total refund is made if any embryos are not transferable quality upon thawing. Freezing fee will be credited toward transfer or pregnancy fee when the embryos are thawed by Em Tran. Embryo splitting : No charge. IVF : With ultrasound guided oocyte retrieval, \$50 per retrieval. All recipients \$1,750 each due at 90 days of pregnancy. Travel : Air travel charged at \$1.10 per mile, car travel charged at \$0.30 per mile. These charges are more or less standard. A large contract fee is negotiable.

(3) There is a company in the middle of California specializing in embryo collection only on their own dairy farm and export. They have full time veterinarian, embryologist, and other assistants to collect embryos everyday. The owner of the company has a dairy farm which feeds about 7,000 head of Holstein, and milks up to 3,500 head of cows. He has been very active in Holstein export worldwide for many years. Dr. Ken Halbach, who worked for a commercial ET company, now collects embryos on the farm. An embryologist, Mark LaRue processed more than 5,000 embryos a year for the last 4-5 years. Two thirds of that number are frozen for export marketing. Some are transferred to recipient cattle and sold. A lot of embryos are being exported to Brazil, Mexico, and Europe.

The export market has decreased somewhat in the last several months, but presently remains stable. AI stations continue to buy genetics from very elite, high index cows of the breed (s). The decline in this market can be attributed to the flux in world milk markets, quota uncertainties, and oversupply. The selection criteria for international buyers of frozen embryos varies from country to country, but strong cow families, high countries, Holland for example, concentrate on high production indexes and shorter generation time for genetic advancement. They select mostly from virgin heifers sired by popular AI Bulls crossed with " hot "new bulls. This approach can be risky since the donor hasn't yet " proven "

herself, and the popularity of certain bulls often change from one proof to the next. Other countries, such as Germany, temper this risk by selecting from strong cow families that also have high index. They prefer to select from outstanding first and second calf donors with classification scores and tangible production figures. Still other countries select for production and type only, with little consideration for index. The price of frozen embryos depends on quality of the genetics it carries. Some can be sold up to \$5,000 each, but the majority are marketed between \$100 and \$2,000 each. The U. S. market is geared towards : A) Bull production, and B) Live cattle sales. Live cattle is by far the biggest and healthiest of all donor markets. This investment, however, represents a slower, but sound return. High index, well known cow families with offspring sired by current popular AI Bulls are the most marketable.

(4) At the Arizona Dairy, the entire herd of milking cows' (5,000 head) annual average milk production is a little over 10,000 Kg per year, the cows being milked 3 times a day. Over 8,000 head of young stocks, bulls, and steers for beef will add up to about 14,000 head (all are Holstein cattle). This dairy farm is not unique because of its size, nor their set up of producing electrical energy with manure by use of methane digesters. Their uniqueness is the use of ET to improve milk production of the herd. They do not sell embryos in the U. S., they do not export embryos. Their goal is to get a genetic lift on their own farm. The Arizona Dairy initiated the ET program in November of 1984. Cows from the top 8% of the herd are being used as donors and the lower two thirds of the replacement heifers serve as recipients.

According to Ross Tappan, an embryologist and assistant manager of the farm (his father is the manager and co-owner of the dairy), the genetic lift was only 682 Kg above herdmates in 1987 when the first ET heifer joined the milking herd. It became 900 Kg, and then 1,500 Kg this year. These changes were due to the adaptation of a more strict donor selection standard in recent years. Donor cows are selected on dollar index value. In the first year, they flushed anything positive, then the minimum index was raised to \$50, then to \$100, and today it is \$140. They flush 35-40 cow a month during September to June, and expect to transfer close to 2,000 embryos this year. June-August is simply too hot in Arizona for donor cattle to give good results. Donor cows are flushed only once, at about 55 days postcalving. Because of the large number of heifers coming into natural heat everyday, they usually have plenty of recipients anytime and there is no need to synchronize recipients. Usually they don't need to freeze embryos. Every year, their ET technique has made progress. For the 1991-92 year they are getting about 7 transferable embryos per flush. With #1 embryos, their pregnancy rate is 60-70%, now. Ross's records indicates the cost of semen, FSH, and everything added up to \$157/ET heifer last year. The income over feed cost gives ET a \$200 advantage over herdmates per lactation at \$12 per 100 pounds for milk and \$5.73 per 100 pound feed cost. Ross can sell high quality ET bull calves to dairies around him for clean-up bulls, and of course, ET genetics are passed on to the next generation without any extra cost. He does not pay for technical services on ET because he does most of this himself. Another low cost advantage in their

ET application. Ross hopes when the sexing program becomes more efficient, it will give him more control of the ET program. Within a few years, we'll find out what happens to this cow herd.

米国の乳業における受精卵（胚）移植の現況

ハイジ山本（コロラド農業コンサルタント）

〔受付：1992年8月30日〕

胚移植（ET）は、金持ちの遊びだという人もいるが、ETの会社がふえるにつれコストも下り、一層ひろく利用されるようになってきており、カナダ、デンマーク、米国などで検定をうける乳牛の雄の50%以上がETで産まれたものである。米国の主要な人工授精センターの乳牛の雄の70%以上がET産である。米国では乳牛の仔牛の440頭に1頭はET産であり、登録牛だけで言えば21頭に1頭がET産である。米国のET協会（AETA）の会員は340名である。次にET会社の例を少し紹介する。

（1）ニューイングランドジェネティクス（NEG）

獣医師2名、技術者3名、支援スタッフからなる。1987年創立。1991年に約1500の受精卵（胚）を輸出した。

（2）Em Tran Inc

ペンシルバニア州の小さい町にある。

年間約1万の胚を採り、そのうち約5000を輸出している。200頭のドナーのうち半分は、海外の飼主のものである。

（3）Ken Halbach牧場

カリフォルニア中部にある牧場で7000頭のホルスタインを飼い3500頭から搾乳している。年間約5000の受精卵を採り、その2/3は凍結してブラジル、メキシコ、ヨーロッパへ輸出している。

（4）アリゾナ乳業

5000頭の乳牛から搾乳（1日3回）し、平均年間乳量は10000kg程度。1984年の11月からETをはじめ、上位8%の牛をドナーとして用い、下位2/3の雌牛をレシピアンとして用いている。9月から6月の間に毎月35～40頭から採卵し、今年2000近いETを行う。技術改良がすすみ、1991～92では1回に7卵がとれ、最高の胚では妊娠率が60～70%である。ET1回当りの精液、FSHその他の費用は157ドルである。雄雌の産み分けができるようになればもっと有利にETが行えると期待されている。

PROBLEMS OF DAIRY HERD HEALTH IN INDONESIA

Subronto PRODJOHARJONO*

*College of Veterinary Medicine, Gadjah Mada University,
Yogyakarta, Indonesia.*

[Received for publication : August 30, 1992]

Current protein consumption derived from farm animals in Indonesia is still below the national target of 5g/cap/day. Of more than 160 million people, only 30.1 million (18%) consumed more than 4.5g animal protein, 131.01million (75%) less than 4.5g daily, and approximately 6.5 million (4%) consumed no animal protein in their daily diet (National Census, 1987). Compared with other ASEAN countries, Indonesia ranked the lowest in the average animal protein consumption (Table 1).

Efforts to improve the quality of human food by introducing milk was initiated about 5 decades ago. A national campaign through available channels has been carried out, with the school children as the prime target. A motto : Four — healthy, Five — perfect, was introduced to draw attention to the importance of milk as part of daily menu (Four : rice, meat/egg, vegetable and fruit. Five : milk).

Effort to fulfill the need of milk through the development of dairy husbandry was started by the importation of 1000 heads of cattle from the Netherlands in the 1960s. Serious attention was given in the 1970s by importing more than 106,000 cattle from Australia, New Zealand, and the USA in the period of 1975~1988. Ratio of milk produced domestically to the imported changed drastically from 1 : 20 in the 1970s to 1 : 1.2 in the last years of the 1980s. The total population of dairy cattle nowadays is about 300,000 head ; 90% are concentrated in the populous island of Java. Total milk production now reaches about 350,000 tons annually. Only very few cattle (8.9%) are in the hands of sizeable dairy farm industries raising more than 100 cattle. The majority of cattle (91%) are raised by small holders with not more than 10 cattle in their barns.

The increase of milk production nationally was made possible by simultaneous efforts, i. e. improvement in farm management, including quality feeding, reproduction, reduction of calf and cow mortality, suppression of diseases, and very importantly, importation of new cattle. The last import of cattle was done in 1988, and new importation of dairy cattle will not be granted by the government. Indirectly, production of milk is also dependent on the price of milk in the market. The farmers who own only a very small amount of land of 0.25~0.5 Ha per family, will be very selective, whether they will grow forage for their cattle or grow a quick yielding agricultural crop, such as rice, fruits, vegetables, or flowers. This will evidently lead to an instability in the existence of dairy farms in a certain village. Table 2 depicts a decrease in number of cattle raised in a district where a decrease in number of cattle raised in a district where a village cooperative unit is very active in organizing farmers to produce milk. Due to the decrease in the cattle population, the milk delivered to the milk processing plant has also declined sharply. Milk

* Professor and Dean.

processed daily in the largest milk processing plant in East Java (Nestle Company) from 1984 through 1992, shows that sharp decrease i. e. from 247 tons in 1989 to 231 tons in 1991.

Herd Health Problems

1. Feeding. The biggest problem in dairy management in a village is inadequacy of quality and quantity of feeding. The shortage of forage is always faced during the dry season. Technology of preservation of forage is not always practiced, presumably because the amount of the forage in excess does not warrant its preservation. Good quality feeding plays the biggest role in the performance of animals. Instead of 4500~5400 kg milk produced per lactation, as expected, the current average is only 2500~3500 kg.

No special attention has been paid to calf feeding and it causes slow growth and weakness. Calf mortality reaches 15~20% before the weaning age. Colostrum and milk is not always given sufficiently and the milk replacer is considered too expensive for the small holders. Concentrates for calves are not available on the market.

2. Replacement. Calf raising needs very serious attention, since it will dictate the future of dairy farms in a certain area. There is no calf producing business found in Indonesia as in the other developing countries. Replacement needs special planning from the decision makers which is now still lacking. Table 3 shows the imbalance of population found in a village cooperative unit, producing about 6~7 tons of milk daily.

Calves raised in the hands of inexperienced farmers receive only very little attention in their feeding, sanitation, and the prevention of calf diseases. Calves are usually housed in the same barn with the older animals. It is estimated that annual calf replacement for the country reaches about 10,000 heads, a number impossible to be reached for the time being. The future embryo plant in Cipelang, west Java, is aimed to produce good high quality offspring to be raised by well established dairy farms.

3. Reproduction. Problems in reproduction management is consistently found elsewhere throughout the country. Heifers reaching maturity for breeding vary widely, with inconsistent body weight at the first breeding. Such things as calving interval of about 20 months, conception rate at first insemination of 32%, rate of repeat breeders of 28%, with service to conception ratio of 3~4, show the overall problem in reproduction. Low efficiency caused by anestrus ranks the highest evidence on every farm. Metritis and other organic diseases are associated with the daily sanitary condition of the farm.

Many farmers are still unable to identify the signs of heat of their animals. Even when they recognize it, usually they do not report promptly to the inseminator. Many inseminators work only one or two inseminations per day. Generally, in Java, transportation is not considered a very serious problem. One inseminator is usually employed in a cooperative with 1000~1500 heads of cattle.

A close examination of the reproductive problems in a cooperative unit showed hormonal hypofunction (50.8%), persistent corpus luteum (20%), cystic ovaries (7%), and endometritis (11%). The retention of placenta reached 32.5%, mostly due to the poor condition at calving time.

4. Diseases. Usually in a village with about 2000 cattle, 1 veterinarian, 2 paramedics, and 1 inseminator are employed. Disease encountered in most village units show a consistent profile. They consist of digestive problems (indigestion, diarrhea, helminthiasis, malnutrition), mastitis (clinical and subclinical), reproductive problems (see above), skin and lameness, and respiratory and metabolic diseases.

Though infectious diseases are found in dairy cattle, they are not as serious as those in beef cattle. Anthrax, which broke out in 1990 in a large dairy complex in Central Java, is now in full control. Foot and mouth disease, which broke out between 1983~1984 but has never been reported since then was declared eradicated in 1990. Brucellosis, which is sporadically reported in dairy cattle, is considered a minor threat. Viral diseases (BVD, IBR, MCF) have not been reported. It is true that the viral diseases are found in Indonesia, but they mostly affect drought cattle. Likewise, surra and hemorrhagic septicemia are found almost epizootically in beef cattle. These findings, except for anthrax and hemorrhagic septicemia in certain areas, lead to a policy in which almost no immunization programme shall be carried out for dairy cattle.

5. Recording. Effort to generate and maintain a recording system on the farm level always ends with failure. Imported cattle, which have been reported to possess a complete record prior to importation, do not have a follow-up record. A simple recording system should be developed, which farmers and field workers are able to fill out properly. This effort needs rigorous training for all levels of personnel who are involved in the dairy cattle business.

Table 1. Protein Consumption in ASEAN Countries in 1987
(grams / cap / day)

No	Country	Meat	Egg	Milk	Total
1.	Brunei D.	10.74	2.93	P.m.	13.67
2.	Indonesia	1.74	0.74	0.34	2.82
3.	Malaysia	9.66	3.52	0.21	13.39
4.	Philippine	5.17	1.33	0.06	6.56
5.	Singapore	20.40	2.01	0.28	22.69
6.	Thailand	7.14	1.11	0.15	8.04
	Japan	11.36	6.34	5.30	23.50

Source : Dir. Gen Animal Husbandry, 1990

Table 2. Population of Cattle, Milk Production Batu Village Cooperative Unit
1985 ~ 1991

Year	Milk production (tons / day)	No. cattle	No. lactating cows
1985	17.6	3661	1758
1986	18.5	3854	1851
1987	17.5	4047	1944
1988	19.8	4678	2474
1989	24.6	4563	2403
1990	18.6	4184	2057
1991	17.8	3654	2023

Source : Batu Village Cooperative Unit, 1992

Table 3. Composition of Dairy Cattle DAU Village Cooperative Unit 1990

Total Population	:	1454	(=100%)
Male calf	:	173	(= 12%)
Female calf	:	214	(= 15%)
Heifer pregnant	:	180	(= 12%)
Heifer not pregnant	:	91	(= 6%)
Cows	:	799	(= 55%)
Lactating	:	611	(= 42%)
Lactating pregnant	:	287	(= 20%)
Lactating not pregnant	:	324	(= 22%)
Dry — pregnant	:	169	(= 12%)
Dry — not pregnant	:	20	(= 1%)

Source : DAU Village Cooperative Unit, 1991

インドネシアの乳牛の衛生問題

スプロント・プロジョハリヨノ* (ガジャマダ大学獣医学部)

[受付: 1992年 8月30日]

インドネシアでの動物蛋白消費量は目標としている 5 g / 1人 / 1日よりも低い。1億6千万の国民のうち4.5 g以上消費しているのは18%で4.5 g以下は7.5%、全く動物蛋白をとらない人々が4%いる。これはASEAN諸国の中で最下位である。(Table. 1)

小学生を対象に牛乳をのむことが奨励され、まず1960年代にオランダから1,000頭の乳牛を輸入し、1970年代にはオーストリアから106,000頭輸入された。今日では約30万頭の乳牛がおり大部分はジャワ島にいる。牛乳生産量は年間35万トンである。乳牛の91%は10頭以下を飼育する農家で飼われている。

しかし1988年に最後の輸入をして以来、政府が許可をしていない。表2には乳牛の減少を示し、東ジャワのネスル社における牛乳の処理量も減少している。

乾草の不足が最大の問題で、乳量は2,500~3,500kg/頭にとどまっている。離乳前の仔牛の死亡率は15~20%に達している。

西ジャワのCipelangにおいて将来受精卵工場を計画している。

第1回目の受精率は32%で2回目以降は28%で、問題は日常の衛生状況にある。

多くの農民は発情が見分けられないし、見つけても人工授精士にすみやかに報告しないので、授精士は1日に1~2回施すのみである。大体1,000~1,500頭当り1人の授精士をやとっている。

通常2,000頭規模の村で獣医師1名、補助者2名、人工授精士1名位である。

肉牛に較べると乳牛の感染症は軽微である。中央ジャワで1990に発生した炭疽 (anthrax) は克服したし、1983~1984年に発生した口蹄疫も1990年に完全に抑えられた。ブルセラは大した脅威となっていない。BVD, IBR, MCFは乳牛では報告されていない。

血統書の記録がなかなか守られず、輸入した牛の記録も失われがちで、より簡易な記録方法をつくって教育をすすめるべきではない。

* 獣医学部長・教授

TWIN CALVES FOR COMMERCIAL BEEF PRODUCTION IN AUSTRALIA

J. F. Wilkins and D. W. Hennessy, NSW Agriculture, Agricultural Research
and Advisory Station, Grafton, 2460, Australia.
L. J. Cummins, Department of Food and Agriculture, Pastoral and Veterinary
Institute, Hamilton, 3300, Australia.
M.A Hillard, CSIRO, Division of Animal Production, Armidale,
2350, Australia.

[Received for publication : August 20, 1992]

SUMMARY

Increasing reproductive rate by induced twinning offers large gains in efficiency of production in beef breeding herds, provided the extra demands on nutrition and management are met. Increasing twinning rate by genetic selection is a very slow process and current embryo transfer techniques using either recovered or *in vitro* prepared embryos are expensive. Twin induction must be low cost to be economic for beef production in Australia. We expect that the anti-inhibin vaccination procedure presently being developed to stimulate a controlled increase in ovulation rate will be the most applicable method for our conditions. To properly assess the profitability of twinning for our beef production we need to examine the inputs required to achieve increased calf output. We have therefore generated twin producing cows for these experiments using supplemental embryo transfers while awaiting a successful outcome from the vaccination procedure. Results are reported from two sites (Grafton and Hamilton) for the superovulation, embryo recovery and transfer operations and subsequent rates of pregnancy and twinning. Data on emrgyo survival are reported for the Grafton site.

Superovulation and embryo recovery was carried out on a total of 443 donor cows using several commercial preparations of superovulatory drugs. These were given as twice daily injections over 4 days in declining dose regimes, as well as testing some experimental schedules. The unadjusted mean responses for different drugs ranged from 6.7 to 10.9 *corporaluted* palpated, with 2.0 to 7.4 usable embryos recovered per donor cow. However, when data were examined using maximun likelihood analysis, the differences between treatments were smaller than suggested by the raw data. Supplemental embryo transfers were given to recipient cows 7 days after artificial insemination or natural mating. The proportions of transferred cows that conceived or calved (total of 1180 transfers over 3years' matings) were 66 and 63% at the two sites, with 58 and 52% of the pregnant cows producing twing. There was no significant difference in the success rates of fresh and frozen embryos, and we found double transfers to be as successful as single transfers. We have monitored embryo survival using ultrasound imaging at stages of approximately 30~35, 45~50, 70~80 and 90~100 days gestation and the levels of wastage observed at these stages are reported. The failure of 20~30% of cows to become pregnant is due in part to a lack of fertilization,

but largely to early embryo loss. Twin conception rates in pregnant cows of 50~60% indicate considerable scope to improve embryo survival over the pregnancy recognition/early implantation stages. The extent of embryo loss from 45 days to full term was quite variable and we found that approximately 8% of single and 15% of twin bearing cows suffered some wastage in this period. (The figure for single bearing cows may be as high as 18%).

Efficiency of production in commercial beef herds can be substantially improved by increasing reproductive rate, because of the high energy cost of maintenance of the breeding cow. We therefore aim to induce twin births in 30~50% of the herd to increase the output of weaned calves. However, induction of twins must be low cost to achieve economic returns for beef production in Australia, because of the low value of calves compared to other countries. Considerable genetic progress in increasing ovulation rate has been achieved in some herds but the rate of gain is slow due to the low heritability of around 0.06 (Gregory et al., 1990). Genetic selection may be a worthwhile long term strategy, but increasing twinning rate by stimulation of the ovary or by the use of embryo transfer techniques provides more immediate gains in reproductive performance (Piper and Bindos, 1990). We expect that the anti - inhibin vaccination procedure presently being developed to stimulate a controlled increase in ovulation rate (by its effect on Follicle Stimulating Hormone) will be the most applicable method to increase reproductive rate in Australian beef herds. Whatever method is chosen, the success of induced twinning will depend on adequate nutrition and management through pregnancy and lactation. Some of these aspects are discussed at this symposium (Hennessy and Wilkins, 1992). We have used conventional embryo transfer techniques to supply twin bearing cows for nutrition and management experiments, and this paper presents results in relation to the recovery and transfer operations and subsequent embryo survival.

Superovulation and embryo recovery

Superovulation and non - surgical embryo recovery was carried out on a total of 443 donor cows using several commercial preparations of superovulatory drugs. These were given as twice daily injections over 4 days in declining dose regimes as recommended. Some experimental regimes using fixed, rather than declining, doses were also tested. The work was done at two sites using once - calved Hereford heifers at Grafton, New South Wales (lat. 29°42'S) and non - parous Hereford heifers at Hamilton, Victoria (lat. 37°45'S). The results are shown in Table 1.

The unadjusted mean responses for different drugs ranged from 6.7 to 10.9 *corpora lutea* palpated, with 2.0 to 7.4 usable embryos recovered per donor cow. However, when the Grafton data were examined, using maximum likelihood analysis, the adjusted means for number of usable embryos were 4.0, 4.3, 5.2 and 2.7 for FSH - P, Folltropin - V, Embryos and the experimental treatments respectively, indicating that the real differences between successful treatments may not be very large.

Table 1 Superovulation and embryo recovery data for cows flushed at two sites (unadjusted mean responses per donor).

(Site) Treatment ¹	No. of flushes	Corpora lutea	Usable embryos ²	Degenerate embryos	Unfertilized ova
(Grafton)					
FSH - P	94	7.8	3.0	1.0	2.3
Folltropin - V	61	9.3	5.7	1.6	1.8
Embryo - S	16	9.3	7.4	1.6	2.4
Experimental	30	6.7	2.0	1.3	2.0
(Hamilton)					
FSH - P	104	8.7	3.4	1.3	2.5
Folltropin - V	61	10.9	3.5	0.9	2.6
Embryo - S	40	9.0	4.0	1.2	2.3
Experimental	37	9.0	2.3	1.0	3.3

1. FSH - P (Heriot, Aust.) ; Folltropin - V (Vetrepharm, A/Asia) ; Embryo - S (Embryo Plus, Aust.); Experimental - drugs used with non - standard dosing scheduls ; 2. Embryos suitable for transfer or freezing.

Embryo transfer

Embryos collected from the above recovery operations were used for supplementary transfers which were given to recipient cows (parous - Hereford X Angus or Hereford X Fresian) 7 days after artificial insemination or natural service. Supplemental embryos were transferred either fresh on the same day of collection, chilled and transferred the next day or thawed from frozen storage, collected some months previously. The cows' ovaries were palpated to determine the side of ovulation and suitability of the recipient for transfer and the embryo was placed into uterine horn contralateral to the ovulation. There were no significant differences in the success rates of freshly collected, chilled or frozen/thawed embryos. The proportions of transferred cows that calved or conceived (total of 1180 transfers over 3 years matings) were 66 and 63% at the Grafton and Hamilton sites respectively, with 58 and 52% of the pregnant cows producing twins. Thus there was considerable wastage of transferred embryos despite successful recognition of pregnancy.

Previous reports on the survival of unilaterally situated embryos have shown conflicting results (Sreenan and Diskin, 1989). We routinely transfer supplementary embryos to the contralateral horn of previously inseminated cows to insure against any detrimental effects. However, in a small experiment we compared the success of transferring two embryos into the one horn ipsilateral to the ovulation, in cows not previously inseminated, with the standard procedure. (Thus all cows had the potential to establish twin pregnancy). The results, shown in Table 2, agree with the conclusion of Sreenan and Diskin (1989) that the confinement of two embryos to one uterine horn did not depress pregnancy rate or early embryo survival. (All cows maintained these embryos to 100 days but calving data are not yet available). If two embryos can be deposited into the tract in a single operation, without any decrease in success, then the procedure for double transfers is greatly simplified. The results therefore suggested that the pregnancy and litter size rates of double transfer

were no less than those of supplementary transfers. The relative costs of these procedures may vary considerably ; thus the lower cost alternative can be chosen without compromising results.

Table 2 Pregnancy and litter size rates for cows given single (supplementary) or double embryo transfers.

Treatment group	No. of cows with 0, 1 or 2 embryos at 45 days gestation			Pregnancy rate (%)	Twins ¹ (%)
	0	1	2		
Single transfer	7	7	11	72	61
Double transfer	9	9	18	75	67

¹ Proportion of cows with twins amongst those pregnant.

Embryo survival

We have collected data to describe the relative reproductive performance of twin and single bearing cows within our production experiments. Cows were examined with ultrasound imaging at approximately 30~35 days gestation to diagnose pregnancy and at approximately 45~50, 70~80 and 90~100 days to observe litter size and thereby monitor embryo survival. These results are summarised in Table 3.

Table 3 Patterns of embryo loss in single and twin bearing cows observed at Grafton over 3 years.

Litter size ¹	Year mated	Nos of cows ²	Propn.(%) lost days 30 - 45 ³	Propn.(%) embryos lost ⁴		
				45 - 75	75 - 100	100 - term
Single	1989	60		5.0	1.7	1.7
	1990	62		4.8	0	3.2
	1991	70		5.7	5.7	NA
	All years	192		5.2	2.6	2.5
Twin	1989	69		2.2	5.8	5.1
	1990	88		1.1	1.7	10.8
	1991	112		0.4	1.8	NA
	All years	269		1.1	2.8	8.3
All cows	1989	93	8.6 [#]			
	1990	157	3.2			
	1991	200	8.0			
	All years	450	6.4			

¹ Litter size as determined at 45 days ; ² Total cows diagnosed pregnant at 30 days or cows diagnosed with singles or twins at 45 day ; ³ Total loss of pregnancy (litter size unknown at 30 days) ; ⁴ Embryos lost as a proportion of those present at 45 days ; NA - calving data not available ; # 6.5% lost days 38 - 49

The rate of loss of pregnancy between days 30 and 45 (6.4%) was similar to that reported by Beal et al. (1992) of 6.5% from 25 to 45 days. Comparative rates of loss for single and twin embryos showed a higher rate among singles between days 45 and 75, but more twins

were lost from day 100 to term. There was large variation in rates of loss at different stages of gestation between litter size and between years.

In addition to the loss of embryos observed from 30 days onwards, failure of 20 - 30% of cows to become pregnant is largely due to early embryo loss, and partly to a lack of fertilisation. Twin conception rates in pregnant cows of 50 - 60% indicate considerable scope to improve embryo survival over the pregnancy recognition/early implantation stages. The extent of embryo loss from 45 days to full term was quite variable and we found that up to 8% of single (18% if the period 38~49 days is included), and 15% of twin bearing cows suffered some wastage in this period.

REFERENCES

- 1) Beal, W. E., Perry, R. C. and Corah, L. R. (1992). The use of ultrasound in monitoring reproductive physiology of beef cattle. *J. Anim. Sci.* 70 : 924~929.
- 2) Gregory, K. E., Ecternkamp, S. E., Dickerson, G. E., Cundiff, V. V., Koch, R. M. and Van Vleck, L. D. (1990). Twinning in cattle : I. Foundation animals and genetic and environmental effects on twinning rate. *J. Anim. Sci.* 68 : 1867~1876.
- 3) Hennessy, D. W. and Wilkings, J. F. (1992). Physiology and management of twinning herds in Australia. (These proceedings).
- 4) Piper, L. R. and Bindon, B. M. (1990). Genetic and non - genetic approaches to increasing prolificacy in beef cattle. *Proc. Aust. Assoc. Anim. Breed. Genetics.* 8 : 381~388.
- 5) Sreenan, J. M. and Diskin, M. G. (1989). Effect of a unilateral or bilateral twin embryo distribution on twinning and embryo survival in the cow. *J. Reprod. Fert.* 87 : 657~664.

オーストラリアの肉牛生産のための双仔生産について

J. F. ウイルキンス, D. W. ヘネシー

(ニューサウスウェールズ農業省農業研究及び農業指導場, オーストラリア)

[受付: 1992年8月20日]

肉牛の生産のエネルギーコストが高いため繁殖率を上げることによって効率を良くしなければならない。オーストラリアでは仔牛価格が低いので、双仔を生産するにも安価でなければならない。遺伝的選抜も長期的戦略としてはよいが、胚移植による方がより速かな増産がはかれる。(Piper and Bindon 1990)。我々は抗インヒビンワクチンがFSHに作用して排卵率を高めることが一つの方法であると考えている。

過排卵処置によって443の牛から胚を採った。グラフトンでは一産のヘレフォードを、ハミルトンでは未産のヘレフォードを用いた。

過排卵の方法によるこの二つの場所での成績を表1に示す。

人工授精や自然交配の7日後に排卵側でない子宮角に胚移植をした。採卵したばかりのもの、冷蔵したもの、冷凍解凍したもので有意差はなかった。3ケ年で計1180例の胚移植をし、妊娠率はグラフトンで66%、ハミルトンで63%であった。そのうち双仔を産んだのはグラフトンで58%でハミルトンで

は52%だった。

表2に示すように、一つの子宮角に二つの胚をいれても妊娠や初期発生を抑制することはない。一操作で二つの胚が移植できて、成功率が下らないならば、操作は非常に簡単になる。追加移植に較べて二つの胚を移植しても見劣りしないことが示されている。

表3は超音波で妊娠鑑定をし、45～50、70～80、90～100日で仔の大きさを測定したもので、双仔と単仔の損失を比較した。30～45日の損失は6.4%で、45～75日では単仔の方が損失が高く、100日～出産まででは双仔の方が損失が多かった。

妊娠牛の50～60%で双子ができていたので、妊娠確認、初期移植期の生存率を高めると展望がひらける。妊娠45日から出産までの損失は単仔で8%（38～49日を含めると18%になる）、双仔で15%になっている。

EMBRYO TRANSFER IN HORSES

Norihiko OGURI

*Laboratory of Horse Production, Obihiro University of Agriculture and Veterinary
Medicine, Obihiro 080, Japan*

[Received for publication : August 20. 1992]

There are not many investigations of equine embryo transfer, but the procedures for embryo recovery and transfer in horses are relatively simple. In our early experiments with mares, 45% of embryos were recovered nonsurgically from the ipsilateral uterine horn (Oguri & Tsutsumi, 1972). By changing the flushing to the whole uterus, the embryo recovery rate was improved to 90%. Fifteen embryos were transferred to the uteri of fifteen recipient mares, bypassing the cervix. Six mares (40%) conceived, and four delivered one foal each (Oguri & Tsutsumi, 1974). Reciprocal interspecies transfer of embryos between horses and donkeys has been successful (Allen & Rowson, 1972). Five of seven embryos were successfully transferred nonsurgically through the cervix (Allen & Rowson, 1975). Yamamoto *et al.* (1982) reported the first successful birth of a foal from a frozen embryo stored at -196°C. Allen & Pashen (1984) reported the first production of identical twin foals by a micromanipulation of early cleavage stage embryos.

1. SUPEROVULATION IN MARES

Induction of superovulation is one of the most important techniques in embryo transfer. The first successful induction of multiple ovulations in mares was reported by Douglas *et al.* (1974). Attempts to achieve multiple ovulation in mares have been successful only with equine pituitary extracts (Woods & Ginther, 1982, Squires *et al.*, 1986). A recent study indicated that the application of FSH can increase the rate of double ovulation in treated mares if the treatment is initiated on day 6 after ovulation (Sirois *et al.*, 1992). At that time, the follicle destined to ovulate during the next estrus period has not yet been decided. Decision of the ovulating follicle does not occur until a follicle develops to 25mm in diameter (Pierson & Ginther, 1990).

2. TUBAL TRANSPORT OF EQUINE EMBRYOS AND EARLY EMBRYONIC DEVELOPMENT IN MARES

There are few reports on embryo transport and early development in the oviducts in mares. Our observation made clear the outline of the transport of the developing oviductal equine embryos. The situations of unfertilized eggs and other materials, which were initially reported by van Niekerk & Gerneke (1966), (retained in the equine oviduct) were also investigated.

Six Anglo-Arab mares were used. After the mating, rectal palpations were carried out at intervals of fifteen minutes on the verge of an expected ovulation. The ovary in which ovulation had recently occurred and the oviduct on the same side were removed by surgery while some mares were slaughtered at the scheduled time after ovulation. The

oviducts were opened longitudinally with eye scissors in physiological saline under a dissecting microscope.

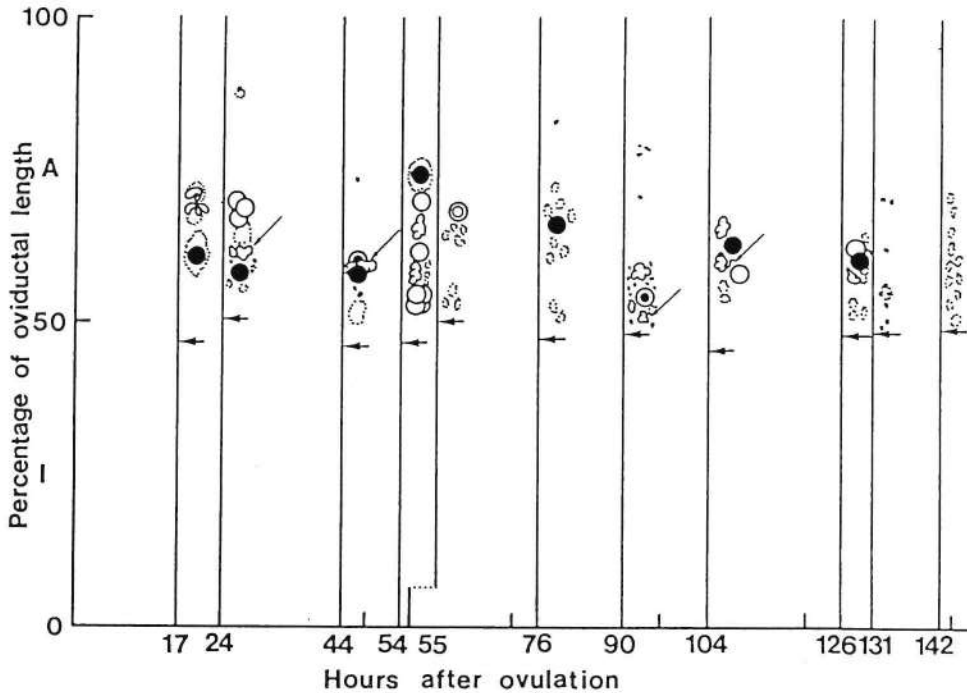


Fig. 1. Locations of materials in 11 oviducts examined between 17 and 142 hours after ovulation. 0, uterine end of the oviduct; 100, ovarian end of the oviduct; A, ampulla; I, isthmus; ←, ampullary-isthmic junction; ●, fertilized egg or embryo; ⊙, abnormal cleavage egg; ○, fresh unfertilized egg; ○, old unfertilized egg; ☁, large gelatinous mass; •, small globular gelatinous body; ⊙, transparent jelly mass with some cells; /, mass connected with the oviductal mucosa.

Situations of recently ovulated eggs and other retained materials in 11 oviducts that were examined from 17 to 142 hours after ovulation are summarized in Fig. 1, in which a ratio is expressed in 100 units for the oviductal length. All of the materials in the oviductal lumens were located in the ampulla, but nothing was found in the isthmus. After rapidly descending into the latter half of the ampulla, the embryos remain there by 126 hours after ovulation more than 109 hours and develop from the mono-cell to the morula stage. In the light of the complete recovery of fresh eggs in 9 oviducts 17 to 126 hours after ovulation, the absence of embryos in 131 and 142 hours oviducts strongly suggests that those embryos had already entered the uterus. Embryos are rapidly transported through the isthmus, and arrive at the uterus in the early blastocyst between 126 and 144 hours after ovulation. A recent study indicated that oviductal transport time of the equine embryo is from 130 to 142 hours after ovulation (Freeman *et al.*, 1991). The equine oviduct has a physiological characteristic that differentiates embryos from unfertilized eggs, and then passes the former and traps the latter.

3. EMBRYO RECOVERY

Uterine flushings were carried out for embryo recovery from donor mares 5 to 10 days after ovulation. We used a modification of the three-way-valve-system apparatus for the cow designed by Rowson & Dowling (1949). In the single-horn flushing, the flushing apparatus was inserted into the uterine horn through the cervix on the side of the last ovulation, until the balloon was lodged in the basal portion of the uterine horn by the operator's hand, through the rectal wall. Then the balloon was inflated with air to block the entrance to the lumen. The procedure of the infusion and the recovery of the flushing medium was repeated several times, with a total of 1,500 ml of fluid used. In the wholeuterus flushing, the inflated balloon of the apparatus was placed just inside the internal os of the cervix, in order to prevent the apparatus from slipping out as well as to block leakage of the flushing medium. Infusion of the uterus was repeated two or three times during each uterine irrigation, using a total of 1,500 ml of fluid.

A total of 217 nonsurgical uterine flushings were performed 5 to 10 days after ovulation. While 28 embryos (44%) were obtained 6 to 10 days after ovulation in singlehorn flushing, 126 embryos (88%) were recovered in whole-uterus flushing ($P < 0.001$). However, no embryo was recovered 5 days after ovulation by flushing the whole uterus in 10 mares. On the contrary, eight embryos (53%) were recovered 5 days after ovulation from 15 mares when sham embryo transfer to the uterus had been performed through the cervix 1 or 2 days before uterine flushing.

A higher recovery rate (126/144 ; 88%) was achieved in our study, similar to our previously reported results (18/20 ; 90%) (Oguri & Tsutsumi, 1974). Such a high recovery rate may be due to our method of full infusion of the entire uterus with a large quantity of fluid, in contrast to the method of continuous flow with a smaller amount of fluid.

4. EMBRYO TRANSFER

Two nonsurgical embryo transfer methods were examined. In one method, an embryo was transferred to the uterine horn of the recipient mare, bypassing the cervix. In the other method, an embryo was deposited into the uterine horn through the cervix of the

Table 1. Results of nonsurgical transfer of equine embryos 6, 7 and 8 days after ovulation in donors

Synchrony between donor and recipient	No. of transfers	No. of pregnant recipients	Conception rate (%)
- 2	8	5	63
- 1 *	17	9	53
0	27	11	41
+ 1 **	21	8	38
+ 2	6	0	0

* Recipient ovulated one day after the donor

** Recipient ovulated one day prior to the donor

recipient mare. Eighteen embryos out of 40 (45%) transferred bypassing the cervix and 15 of 33 (45%) transferred through the cervix developed further after transfer. Seventynine embryos were transferred nonsurgically to 79 recipient mares, of which 33 became pregnant (Table 1).

5. SYNCHRONIZATION OF OVULATION

The degree of synchronization between donor and recipient was a range of -2 days to +1 day with no indication of the limitation on success due to this amount of a synchronization on minus side (Table 1). In the surgical transfers of 257 equine embryos, conception rates of 83%, 68%, 67%, 68%, 71%, 39%, 0% and 0% were obtained when the degree of synchrony between donor and recipient mares was, -3, -2, -1, 0, +1, +2, +3 and +4 days respectively. (McKinnon, 1988). It is possible to synchronize the ovarian cycles of all mares with the prostaglandin. Double injections of the prostaglandin, given 14 days apart to a group of randomly cycling mares, resulted in over 90% of the mares displaying estrus by 6 days after the second injection (day 20) and about 75% of the mares ovulating between days 20 and 24 (Palmer & Jousset, 1975).

REFERENCES

- 1) Allen, W. R. & Pashen, R. L. (1984) Production of monozygotic (identical) horse twins by embryo micromanipulation. *J. Reprod. Fert.* 71, 607~613.
- 2) Allen, W. R. & Rowson, L. E. A. (1972) Transfer of ova between horses and donkeys. *Proc. 7th Int. Congr. Anim. Reprod. & A. I.*, Munich, p. 484.
- 3) Allen, W. R. & Rowson, L. E. A. (1975) Surgical and non-surgical egg transfer in horses. *J. Reprod. Fert.*, Suppl. 23, 525~530.
- 4) Douglas, R. H., Nuti, L. & Ginther, O. J. (1974) Induction of ovulation and multiple ovulation in seasonally-anovulatory mares with equine pituitary fractions. *Theriogenology* 2, 133.
- 5) Freeman, D. A., Weber, J. A. Geary, R. T. & Woods, G. L. (1991) Time of embryo transport through the mare oviduct. *Theriogenology* 36, 823~830.
- 6) McKinnon, A. O., Squires, E. L. & Voss, J. L. (1988) Factors affecting equine embryo transfer pregnancy rates. *Proc. 11th Int. Cong. Anim. Reprod. & A. I.*, 177~179.
- 7) Oguri, N. & Tsutsumi, Y. (1972) Non-surgical recovery of equine eggs, and an attempt at non-surgical egg transfer in horses. *J. Reprod. Fert.* 31, 187~195
- 8) Oguri, N. & Tsutsumi, Y. (1974) Non-surgical egg transfer in mares. *Reprod. Fert.* 41, 313~320.
- 9) Palmer, E. & Jousset, B. (1975) Synchronization of oestrus in mares with a prostaglandin analogue and HCG. *J. Reprod. Fert.*, Suppl. 23, 269~274.
- 10) Pierson, R. A. & Ginther, O. J. (1990) Ovarian follicular response of mares to an equine pituitary extract after suppression of follicular development. *Anim. Reprod. Sci.* 22, 131~144.
- 11) Rowson, L. E. & Dowling, D. F. (1949) An apparatus for the extraction of fertilised

- eggs from the living cow. *Vet. Res.* 61, 191.
- 12) Sirois, J., Kimmich, T. L. & Fortune, J. E. (1992) FSH injections early in the cycle induce double ovulations in mares. *Theriogenology* 37, 300, (Abstr.)
 - 13) Squires, E. L., Garcia, R. H., Ginther, O. J., Voss, J. L. & Seidel, G. E., Jr. (1986) Comparison of equine pituitary extract and follicle stimulating hormone for superovulating mares. *Theriogenology* 26, 661~670.
 - 14) van Niekerk, C. H. & Gerneke, W. H. (1966) Persistence and parthenogenetic cleavage of tubal ova in the mare. *Onderstepoort J. Vet. Res.* 31, 195~231.
 - 15) Woods, G. L. & Ginther, O. J. (1982) Ovarian response, pregnancy rate, and incidence of multiple fetuses in mares treated with an equine pituitary extract. *J. Reprod. Fert., Suppl.* 32, 415~421.
 - 16) Yamamoto, Y., Oguri, N., Tsutsumi, Y. & Hachinohe, Y. (1982) Experiments in the freezing and storage of equine embryos. *J. Reprod. Fert., Suppl.* 32, 399~403.

馬の胚移植

小栗紀彦 (帯広畜産大学総合馬学講座)

[受付: 1992年8月20日]

馬の胚移植 (受精卵移植) についての報告例は少い。我々の観察結果によると、馬胚は卵管膨大部の後半に109時間以上とどまり1細胞期卵から桑実胚まで発育する。その後短時間で卵管峽部を通過し、排卵後126~144時間に子宮に達する。排卵側子宮角を灌流する方法では胚の回収率は45%であったが子宮全体を灌流する方法に代えると回収率は90%と改善された。

排卵後6, 7, 8日に採取した79の胚を79頭の雌馬に移植した結果、33頭(42%)が受胎した。

THE ROLE OF EMBRYO TRANSFER AND CYTOGENETICS IN THE EXPLOITATION OF SHEEP GENETIC RESOURCES

IN NIPPON (JAPAN)*

Takao KASHIWABARA**

2-2-25, Kitashinjyuku, Shinjyuku, Tokyo, 169 Japan

[Received for publication : August 20, 1992]

The diversity of living organisms has been created during evolution by genetic mechanisms in combination with natural selective forces of the environment. More attention has been focussed on the regional and global levels of animal genetic resources in recent years, in view of the increasing international shipment of livestock, semen and embryos. Animal genetic resources are a part of the biodiversity of the planet to be protected, as shown in the declaration of RIO Earth Summit 1992.

The large genetic variability within the few domestic animal species is being threatened through breed substitution and crossbreeding, as a result of the increasing intensification of animal production, with increasing pressure on farm land to supply the world's growing population with food. During the last fifty years the application of genetic principles, combined with new knowledge on the physiology of reproduction, has revolutionized animal - breeding practices. The advent of new knowledge of the molecular structure of DNA and the location of genes on chromosomes is now making possible the future use of genetic engineering and recombinant DNA technology in animal breeding.

The ultimate subject of animal genetic resources must be molecular level, as the gene and chromosome homologies in different species have been already investigated (Stranzinger, 1990). The application of genome analysis in animal breeding is now attempted by analyzing the genome on every level of genetic expression (Geldermann and Ellendorff, 1990).

SHEEP GENETIC RESOURCES : Sheep population showed the highest growth rate of the livestock resources in the world during the last half century. Especially the sheep numbers of all the developing countries steadily increased as compared to that of all the developed countries in these three decades. Sixty percent or more of the agricultural land of the world is non - arable (FAO) and therefore is not capable of producing crops with present technology and in the present forms of land use. The same land, however, permits pastoral agriculture using the grazing animals to convert the natural vegetation into products useful to man. The semiarid area is more suitable for the management of sheep, goats and camels rather than for that of cattle. The driest area may be suitable for wild game and economic exploiters of the environment. The most widely and uniformly distributed the world are cattle and sheep. The flocking instinct of sheep may have made

* Key Lecture invited in the International Symposium of Biotchnology on Animal Reproduction at the URUMUQI Scientific Hall, Xinjing, China. 31 July~3 August, 1992.

** Prof. of Emeritus, Animal Breeding, Faculty of Agriculture, Ibaraki University.

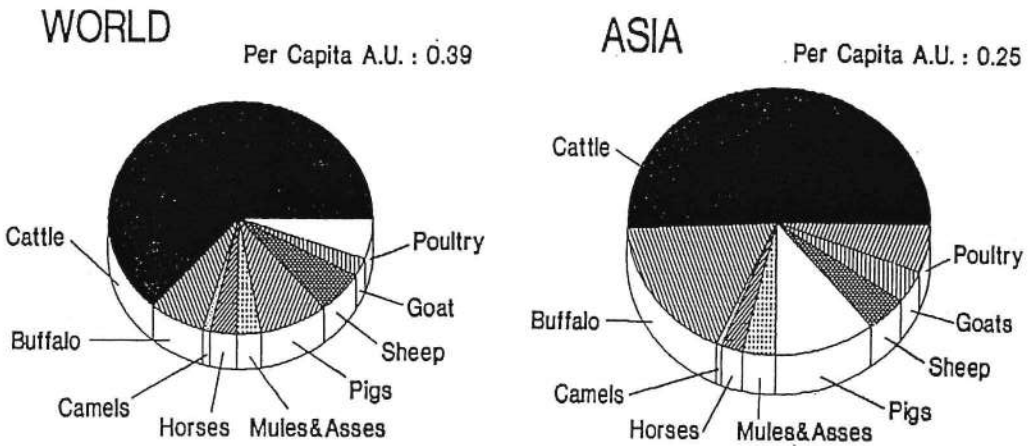


Fig. 1 Composition of Animals (ratio by animal units)

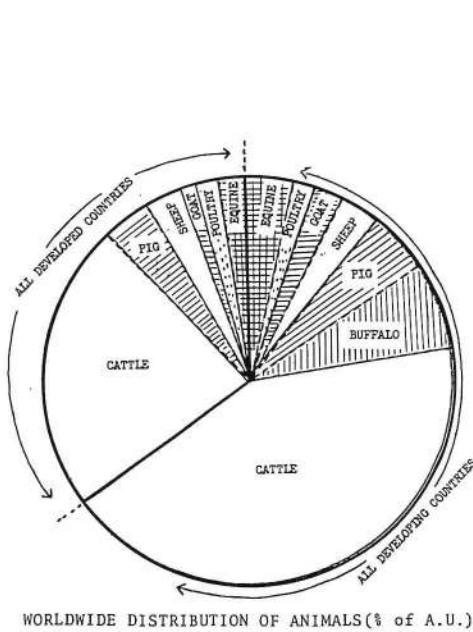


Fig. 2 Animal Distribution between Developing region and Developed area

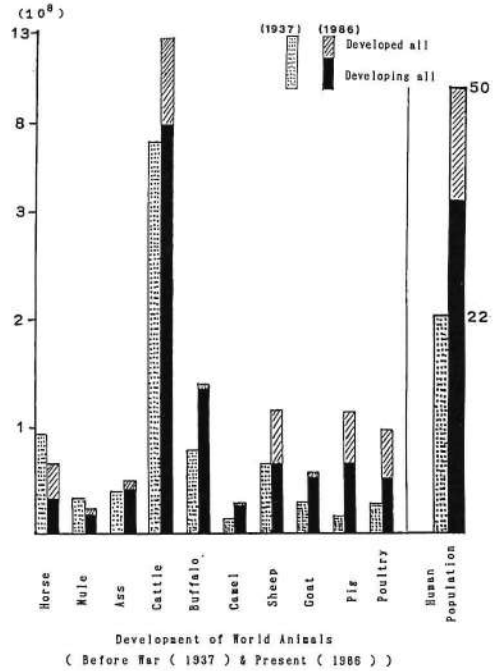


Fig. 3 Growth of Livestock in the World (1937 ~ 1986)

Fig. 1~3 Produced by Kashiwabara based on FAO yearbook (1989)

them easier for early humans to domesticate and control. In the past sheep were maintained in the tropical, dry and mountainous regions of Africa and Asia mainly for the production of meat. The first domesticated sheep were kept mainly as milking animals, as they still are today in some parts of the world. After the arrival of the Romans on the British Isles

over 2,000 years ago, Romano - British partnership seems to have succeeded in the development of their pastoral skill and the breeding characteristics of their domestic livestock.

It is likely that the process of selective breeding began after their domestication. It is also likely that wool was used as the chief indicator or basis, to select breeding stock. Fleeced sheep, which have evolved in the deserts, such as the fat - tail, are common in many warm climates. Most of the sheep which have evolved in cold climates have a very high level of fleece insulation - even on legs and faces. It aids heat conservation in cold weather, but presents heat - loss problems in hot weather.

About 1,200 million sheep of nearly 1,000 different breeds are scattered around the globe, with their big concentrations in Australia, USSR, China, New Zealand and India (FAO, 1990 and Mason, 1989). Continental sheep growth rate is the highest in Europe during followed by the decade, Oceania, South America, Africa and Asia in this order. The highest national sheep population growth rate during 1980 - 1990 is seen in Spain (60%), the United Kingdom (30%), Italy (25%), Australia (23%) and India (20%) in this order. In general, the number of sheep tends to increase, but their rate of increase is not as high as that of human population. If their contribution to mankind is to be maintained, they must be made more productive through breeding or management.

However, only *the hair - type sheep*, such as the Tabasco (Cuba and Mexico), Barbados Black - Belly or Burg (Sudan) sheep, may be observed in humid as well as arid sub - tropical zones of the world. They exhibit high tolerance or possess natural resistance to internal parasites (at the Univ. Farm, Ibaraki Univ. Japan).

KASHIWABARA Sheep Research Project was started in 1985 in order to exploit local animal resources in the rural development of Japan. The first target was Barbados Blackbelly sheep (1985 - 86) and the second St. Croix sheep (1990 - 91). St. Croix sheep were imported from the USA based on the US - Japan Co - Work ET Experiment Project (1990 - '91). This long distance aerial transport (across the Pacific Ocean) of fertilized sheep ova was successfully achieved thanks to the kind guidance of Dr. W. C. Foote, Prof. Emeritus, Utah State Univ. USA on our International Project, the interest of Dr. T. Sawasaki, Associate Prof. and many other staff members of Stock Farm, University of Tokyo, Japan. Transporting from the USA to Japan took about thirty hours after recovery on December 4, 1990, at Utah State Univ. USA. On 28th April, 1991, two lambs (a male and a female) of St. Croix were born by the implantation of fresh embryos in Stock Farm, University of Tokyo. The St. Croix sheep produced in Japan showed steady growth under the routine work of the Stock Farm, Univ. of Tokyo as seen in Fig. 5 ~ 7. and the female stock is now also pregnant.

THE St. CROIX BREED : Based on the description of the St. Croix Sheep Breeders Association. (Int. sheep & Goat Ass. 1983). The St. Croix breed of sheep imported from US Virgin Islands to Northern Utah in 1975 is unique among breeds in North America. It has several characteristics which distinguish it from the others, such as appearance, production capabilities, management flexibility, and adaptation, as follows : 1. The St. Croix are *hair sheep*. They shed their winter coat of hair and fine downy fiber each spring. They never need shearing. 2. They are *all white*, attractive sheep of moderate size. They are gentle and easy to handle. Both sexes are *hornless*. The rams are active breeders and ewes

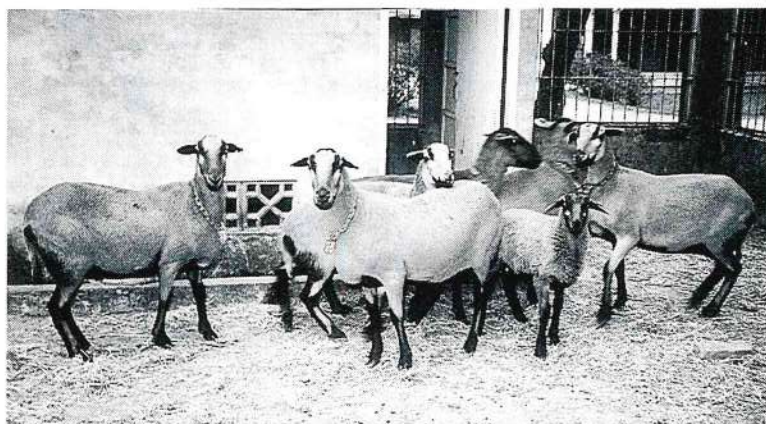


Fig. 4 Barbados Blackbelly sheep imported from Taiwan

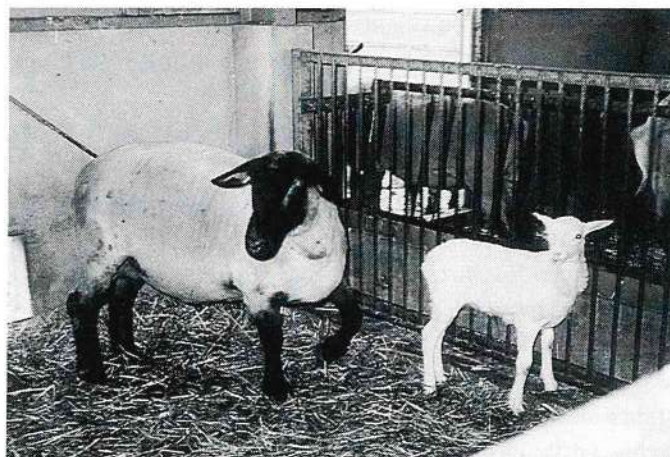


Fig. 5 New born St. Croix sheep from imported Embryo from USA to Japan, April 28,91.

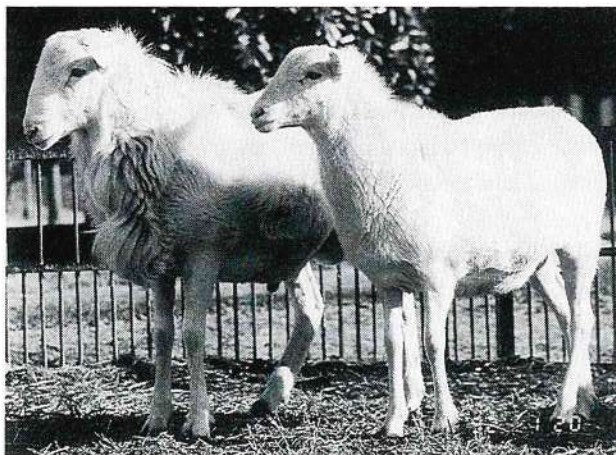


Fig. 6 St. Croix (Male and Female) Stock Farm, University of Tokyo, Iwama, Ibaraki-ken

have good mothering abilities. 3. The main products are *meat and skin*. Lambs grow at moderate rates to finish *without excessive fat*. 4. Both sexes of the St. Croix are sexually *precocious*. The males reach puberty as early as four months and the females breed to lamb at one year of age. 5. The breed is *prolific*. The average number of lambs born per ewe at one year of age is approximately 1.5 and in the next years lambing is 2.0 or greater. Ewes produce single, twin, and triplet lambs with occasional quadruplets but most of the lambs are born as *twins*. 6. The ewes have the ability to *breed throughout most of the year* in latitudes away from the equator, and also the ability to rebreed within a few weeks after lambing. So the St. Croix can conveniently produce three lambings in two years with the increased prolificacy at each lambing, as mentioned above. 7. The St. Croix are native to tropical conditions but have adapted very well to the environment of many regions of the USA and Mexico.

EMBRYO TRANSFER : Embryo transfer has added a new dimension to animal reproduction and breeding during the last three decades. Especially AI & MOET has had a major impact on animal genetic strategies to improve the rate of increasing numerical size of small populations, interna-

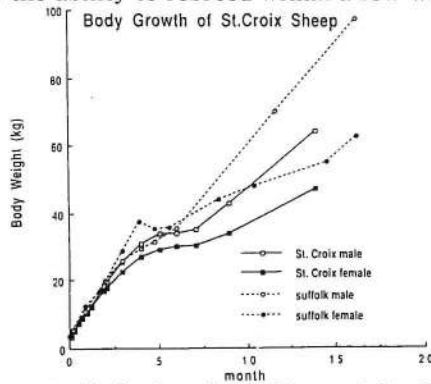


Fig. 7 Body Growth of Sheep at the Stock Farm University of Tokyo (1991 ~ 92) by Dr. Sawasaki

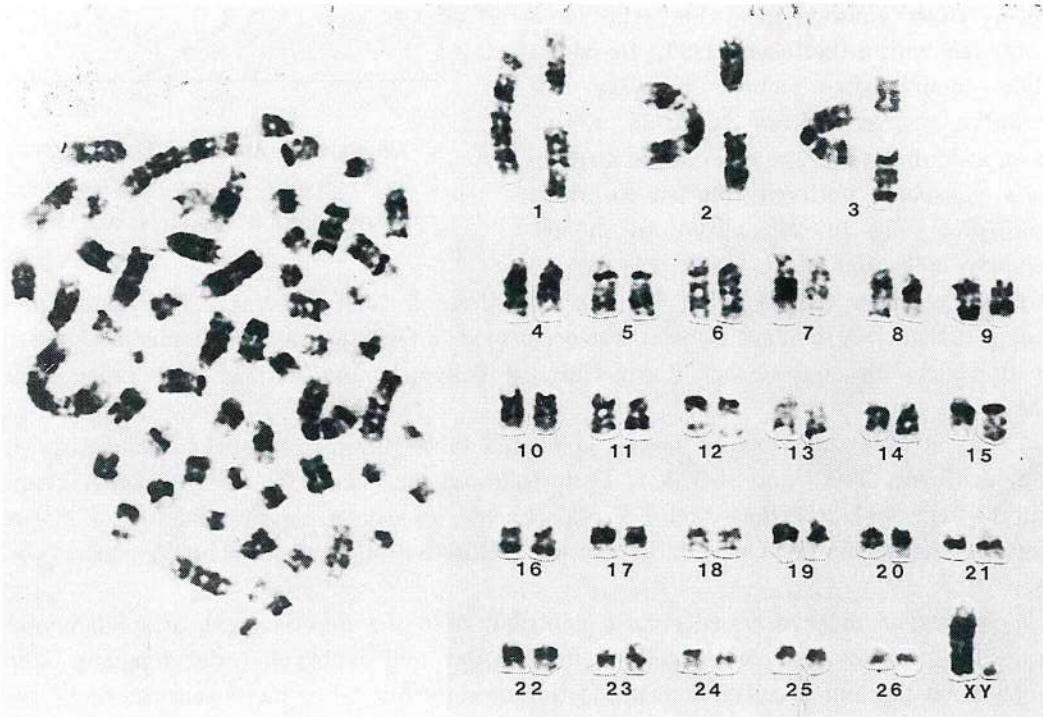


Fig. 8 G - Banding of Hybrid (Barbados Male x Shiba goat Female) by Dr. Mori

tional movement of stocks and conservation of rare genotypes with the development of animal biotechnology. Land (1982) suggests that, in most cases, embryo transfer would result in 10% or less improvement of selection response. Nicholas & Smith (1983) estimate that embryo transfer could be used to improve the rate of annual genetic change by about 30 %, with much of the improvement due to increasing the probability of obtaining sons of high performing cows.

First successful egg transfer of large species was performed in sheep and goat, 1932 (Warwick & Berry 1949). The long distance export of sheep eggs was accomplished in 1961. The ligated oviducts of live rabbits were sent from England (Cambridge) to South Africa. This method was extended to cattle later. The first international shipment by car also succeeded in deep frozen sheep embryos by using liquid nitrogen (Willadsen & Tishner, 1978). The importation of genetic material in the form of embryos is innately safer than the importation of post - natal animals. Prof. Call (Utah Univ. Team Leader) was concerned with a transport equipment of embryo, as sheep fresh embryo must be kept in a container with a thermostat (38°C) for about thirty hours after embryo recovery. All embryos recovered from St. Croix uterine horn at 5~6 days of age and culture medium is a phosphate buffered solution to which antibiotics and 10–20% serum are added. Embryo collection of St. Croix was carried out on December 4, 1990 at the International Sheep & Goat Institute, Utah State Univ. Logan, Utha, USA. Embryo transfer was performed on December 5, 1990, immediately after it arrived by air at the Stock Farm, Univ. of Tokyo, Iwama, Ibaraki - ken, Japan from the USA.

The Stock Farm, Univ. of Tokyo, is located about 70 km from International Airport, Narita, Japan. The Univ. of Tokyo Team followed the instruction of Utah Univ. Team on the technical procedure and ET oxperiments, especially synchronization of estrus between the donors (St. Croix, USA) and recipients (Suffolk, Japan) including superovulation.

Studies on embryo transfer have contributed to the improvement of fundamental knowledge on control of ovulation, fertilization and embryonic development. The application to commercial animal production is more related to increasing the scope for genetic improvement, either by increasing selection differential or by facilitating rapid gene migration, rather than to general reproductive performance. The goal of improving

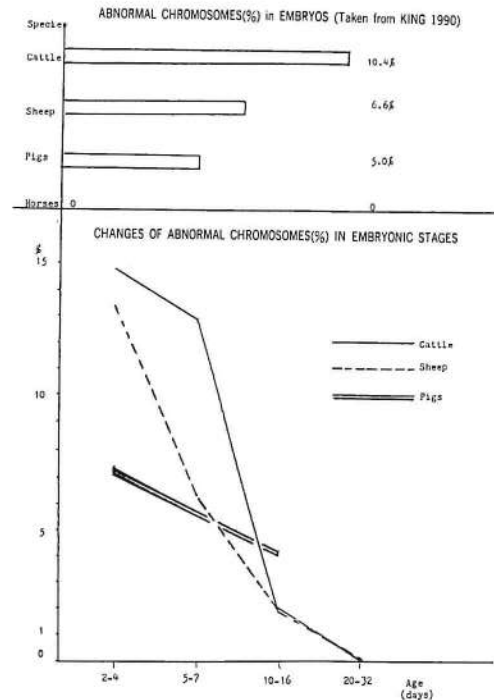


Fig. 9 Changes of Abnormal Chromosomes in Embryonic Stages (calculated by Kashiwabara from King's data 1990)

biological and economic efficiency of animal production (Dickerson, 1970) may be achieved by crossing existing flocks with other breeds or strains which are already superior in reproduction rate.

CYTOGENETICS : Cytogenetics is in the domain of animal biotechnology including AI, ET, biochemical genetics and molecular genetics. Cytogenetics is really a crossbred science. Many countries have adopted a policy whereby all imported breeding stock or males at AI centers must be cytogenetically screened. Chromosome aberrations do affect reproduction and production in livestock.

Every species of animal has its own karyotype, and karyotype seems to be something that indicates animal genetic background. Chromosomal variations often lead to congenital and metabolic diseases. The number and morphology of chromosomes are generally specific. Cytogenetic evidence suggests that the caprids (sheep & goats) evolve from a common ancestor with a $2n=60$ karyotype. Although goats (*Capra*) retained the primitive $2n=60$ karyotype, sheep (*Ovis*) underwent a sequential reduction in the number of chromosomes by means of acrocentric translocation. The usual number of chromosomes for domestic sheep (*Ovis aries*) is 54 ($2n$), although some breeds contain numbers varying from 52 ~ 58. Wild sheep with 54 chromosomes have three pair of sub-metacentrics and 23 pairs of acrocentric autosomes plus a pair of sex chromosomes (female : two large acrocentric X's, and male : one large acrocentric X and small biarmed Y). The metacentric have been formed by the fusion of two acrocentric chromosomes which accounts for the decreased chromosome number according to the Robertsonian theory. The cytogenetic investigations *Blackbelly & St. Croix* in our projects revealed the same figures of Corriedale & Suffolk, but not those of goats (Saanen & Shiba).

Conception occurs from crosses of male sheep and female goats, but fetuses are lost by the sixth or seventh week of gestation. The chromosome number in these hybrid fetuses is 57 : the pair of sex chromosomes and 23 pair of acrocentric from goats, two each of the acrocentric pair with one member of the metacentric from sheep to complete the total chromatin material and arrangement. One live sheep-goat hybrid was born and it was fertile (Bunch et al, 1976). The homology between sheep metacentric and goat acrocentric elements confirms a Robertsonian variation. The close homology in G-banding patterns between these related species indicates that the banding patterns are evolutionarily conservative and may be a useful guide in assessing interspecific relationships. The chromosome analyses of Barbados sheep, Saanen goat and hybrid (Barbados male sheep X Shiba female goat) were tried by Banding techniques (Mori et al 1989 ~ 91) : The longest sheep metacentric is made up by centric of goat chromosomes 1 and 3. The second longest sheep metacentric is made up from centric fusion of goat chromosome 2 and 8. The third sheep metacentric is made up from centric fusion of goat chromosome 5 and 11.

The X chromosome of hair sheep (Barbados) can be identified with a reasonable degree of confidence in wool sheep (Corriedale), as it can be with G-banded chromosomes. The Shiba goat females were bred to a Barbados sheep ram and hybrid embryos were recovered at the 31st day of pregnancy by artificial abortion using PGF2. It revealed the same results as those of Dr. Bunch : Total chromosome number is 57 - three metacentrics, 53 acrocentrics and a small Y chromosome. Banding methodology is useful for molecular cytogenetics, as the differences of chromosomal DNA are distinguished by stain subdivision

as follows : C - banding for highly repetitive DNA sequences ; Q - banding or G - banding for A - T rich regions ; R - banding for G - C rich regions (Gustavsson, 1980).

Abnormal chromosomes in embryonic stages : Embryos with unbalanced karyotypes were observed in many works, but almost no embryos with aneuploid karyotypes are observed in Fig. 9 after days 20. However, spontaneously occurring aneuploid embryos at days 2 ~ 4 seem to suggest early loss of aneuploid embryos. In sheep the wastage has been estimated to be 20~30% of all fertilized ova (Edey, 1969). In early embryos of the domestic sheep, the incidence of chromosomal abnormalities is only about 6% (Long & Williams, 1982). Chromosome abnormalities responsible for embryonic mortality fall into almost the abnormality of gametogenesis. Aneuploidy involving the autosomal complement is rare in sheep (Bunch, 1978). Cytogenetics of embryonic development is a matter of biotechnology in the future. In sheep, Robertsonian translocations seem to have no deleterious effect upon fertility (Bruere & Chapman, 1974).

REFERENCES

- Brem, G. & H.-G. Wagner (1991) : Transgenic livestock. *World Animal Rev.* No.67
- Bunch, T. D., W. C. Foote & J. J. Spillet (1976) : Translocations of acrocentric chromosomes and their implications in the evolution of sheep (*Ovis*). *Cytogenet. Cell Genet.* 17 : 122 ~ 136.
- Bunch, T. D. (1978) : Fundamental karyotype in domestic and wild species of sheep. *J. Hered.* 69 : 77 ~ 80.
- Bunch, T. D. Foote, W. C. and Spillet, J. J. (1976) : Sheep - goat hybrid Karyotypes. *Theriogenology* 6 : 379~385.
- Bruere, A. N. and Chapman, H. M. (1974) : Double translocation heterozygosity and normal fertility in domestic sheep. *Cytogenet. Cell Genet.*, 13 : 342~351
- Di Berardino, D., H. Hayes, R. Fries & S. Long (1989) : International System for Cytogenetic Nomenclature of Domestic Animals. *Cytogenet. Cell Genet.* 53 : 65 ~ 79.
- Dickerson, G. E. (1970) : Efficiency of animal production *J. Anim. Sci.*, 30 : 849~859.
- Edey, T. N. (1969) : Prenatal mortality in sheep : a review. *Anim. Breed. Abstr.* 37 : 43 ~ 58.
- FAO ANIMAL PRODUCTION & HEALTH PAPER No.24 Rome (1981) : Animal Genetic Resources, conservation and management.
- FAO ANIMAL PRODUCTION & HEALTH PAPER No.66 Rome (1987) : Animal Genetic Resources, strategies for improved use and conservation.
- FAO YEARBOOK PRODUCTION vol. 43, (1989) : P.241~251
- Coop, I. E. (1982) : Sheep and Goat Production. *World Animal Science C 1. P.* 1~80
- Ford, C. E., D. L. Pollock & I. Gustavsson (1980) : Proceedings of the First International Conference for the Standardisation of Banded Karyotypes of Domestic Animals. *Hereditas* 92 : 145 ~ 162.
- Geldermann, H. & F. Ellendorff (1990) : Genome Analysis in Domestic Animals. P. 291~323. Texts applied for Kashiwabara's lectures' Slide figures (at Urumuqi 1992). VCM, Weinheim, New York, Basel, Cambridge.
- Gustavsson, I. (1980) : Banding techniques in chromosome analysis of domestic animals.

Adv. Vet. Sci. Comp. Med., 24 : 245~290.

Hunter, G. L., Bishop, G. P., Adam S. C. E. and Rowson L. E. A. (1962) : Successful long distance aerial transport of fertilized sheep ova. *J. Reprod. Fert.*, 3 : 33~40.

King, W. A. (1990) : Chromosome Abnormalities and Pregnancy Failure in Domestic Animals. *Adv. Vet. Sci. Comp. Med.*, 34 : 229~250.

International Embryo Transfer Society (1987) : Manual of the International Embryo Transfer Society. I E T S, Champaign, IL 61820 USA.

International Sheep & Goat Institute (1983) : Small Ruminant Production Short Courses : Reproduction and Genetics. Utah State Univ., Logan, Utah, USA. P.281~289

Land, R. B., Morris B. A., Baxter, G., Fordjee and Forster J. (1982) : The improvement of sheep fecundity by treatment with antisera to gonadal steroids. *J. Reprod. Fert.*, 66 : 625~635.

Long, S. E. and Williams, C. V. (1982) : A comparison of the chromosome complement of inner cellmass and trophoblast cells in day-10 pig embryos. *J. Reprod. Fert.*, 66 : 645~648.

Mcfeely, R. A. (1990) : Domestic Animal Cytogenetics. *Adv. Vet. Sci. & Comp. Med.* 34: 229~250.

Moore, N. W. (1992) : Egg Transfer in the Sheep and Goat. Mammalian Egg Transfer (Ed. Adams) CRC Press.

Mori, H., Kosugiyama, M., Shoda, Y. and Kashiwabara, T. (1992) : Annual Meeting (1992 Spring) Japanese Society of Zoo technical science, Hiroshima

Nicholas, F. W. and Smith, C. (1983) : Increased rates of genetic change in dairy cattle by embryo transfer and splitting. *Anim. Prod.*, 36 : 341~353.

Short, R. V. (1976) : The Origin of Species. Reproduction in Mammals. Vol 6. The Evolution of Reproduction (P. 110 ~ 148).

Stranzinger, G. F. (1990) : Genome Analysis in Domestic Animals P. 115~134. ed. by Geldermann & Ellendorff VCH, Weinheim. New York.

Warwick, B. L. and Berry, R. O (1949) : Intergeneric and intraspecific embryo transfers in sheep and goat. *J. Hereditary* 40 : 297~303.

Willadsen, S. M. and Tischner, M. (1978) : Successful long distance transport by car of sheep embryos stored in liquid nitrogen. *Bull. Aced. Poland Sci. Biol.*, 26 : 725~726.

(ACKNOWLEDGEMENTS)

I have to express my hearty thanks to all staff associated in the Kashiwabara International Sheep Research Project (1985~1991) especially to the following contributors :

- A. Y. Y. Sung, Dept. Animal Husbandry, National Taiwan Univ. & all staff of Taiwan Livestock Res. Inst, Taiwan Provincial Gov., & Executive Yuan
- B. Warren C. Foote, J. W. Call, Alma Maciulis, T. D. Bunch, Dept. Animal Dairy & Vet. Sci. Utah State University, Logan, Utah, USA.
- C. T. Sawasaki, K. Matsui, H. Motimaru, H. Suzuki, Y. Mori, H. Nagashima, M. Takahashi, Faculty of Agriculture, University of Tokyo
- D. K. Osaki, A. Kikkawa, H. Mori, Faculty of Agriculture, Ibaraki Univ.

Thanks are also extended to Prof. Dr. Makita, Dean, Faculty of Agriculture, Yamaguchi University, Japan.

空輸された輸入受精卵による胚の羊移植による新羊資源の開発

柏原孝夫* (茨城大学農学部)

〔受付：1992年8月20日〕

1985年より新羊資源開発の研究プロジェクトを組み、第一目標はバルバドス ブラックベリー羊であった(1985～1986)、第二目標は日米ET実験計画(1990～1991)によって空輸したSt. Croix羊の受精卵を用いて行った。ユタ州立大学名誉教授のDr. W. C. Footeの指導と、東京大学附属牧場の沢崎助教授他スタッフの協力によって1991年4月28日に雄と雌の2頭の小羊が産まれた。受精卵は1990年12月4日にユタ州立大学で採卵した約30時間後(12月5日に東大附属牧場で移植)のものであった。現在東京大学附属牧場で生育中である(Fig. 5～7)。

チームリーダーのユタ州立大学Call教授は30時間の輸送中に羊の新鮮胚を38°Cに保っておく必要があるのでその移送装置を考案した。

ドナー(St. Croix)とレシピアン(サフォーク)の性周期の同期化など技術的な問題もユタ州立大学チームの指示に従った。

〔謝 辞〕

当論文は1992年7月31日～8月3日新疆ウイグル自治区ウルムチで開催された、中国畜牧獣医学会動物繁殖研究会・中国新疆畜牧科学院および山口大学共催「家畜繁殖バイオテクノロジー国際シンポジウム」に牧田学部長の招請で行った基調講演であり、山口大学牧田農学部長に対し改めて此処に感謝申し上げる。

* 茨城大学農学部名誉教授 (〒169 東京都新宿区北新宿2-5-25)

山口獣医学雑誌 投稿規定

1. 山口獣医学雑誌（以下、雑誌という）に関する原稿の取り扱い、この規定に拠る。
2. 原稿は2部〔正本1部、コピー1部（ゼロックス、リコピー等々）〕を学会事務局あて送付する。
3. 原稿は、編集委員において審査し、原則として、受付順に登載する。
4. 審査の結果、採用と認められた原稿は、雑誌の印刷発刊後においても、原則として著者へ返却しない。
5. 審査の結果、不採用と認められた原稿は、原則として、受付3か月以内に返却する。但しこの場合、不採用の理由を明らかにする義務を負わない。
6. 原稿は、原則として、刷り上がり6ページ（1ページ約2,000字）以内とし、当学会所定の原稿用紙（22字×44行）に記述する。原稿用紙は、申し出があれば、無償で分与する。
なお、制限紙数には、論文表題、著者名、所属機関名、図表、文献、写真など一切を含む。抄録は和文・欧文のいずれにおいても、制限紙数に含まれる。制限紙数を超過した分およびカラー写真については、原則として、著者実費負担とする。
7. 和文原稿は、現代かなづかい、平仮名、横書き、楷書で記述し、欧文抄録は刷り上がり1ページ以内とする。欧文（英文または独文）原稿は、厚手のタイプライター用紙にダブルスペースでタイプライティングするとともに、別に簡潔に要約した日本文抄録（刷り上がり1ページ以内）を添付する。
8. 図表並びに写真は、まとめて原稿の最後につけ、論文中に、それらを置く位置を明確に指定する。写真は原則として「手札判」以上の大きさとし、番号をつける場合は直接写真に記入せず台紙に位置と番号を記入する。必要に応じて、天地左右を指定する。
9. カラー写真をトリミングする場合はコピー（ゼロックス等々、白黒で可）について記入指定する。
10. 凸版の原図（図版、体温表など）は、必ず、墨汁、黒インキなどで青色方眼紙または白紙に明記する。凸版原図および写真の送付にあたっては、折・汚損に留意し、台紙に仮付し、その表面を硫酸紙、セロファン紙などで覆う。
11. 引用文献は、直接、本文に引用したものに限り、著者名、論文表題、登載誌、巻（号）、始頁～終頁、西暦年を明記し、原則としてアルファベット順に配列し、番号をつけ、下記の様式で記載する。特に句読点に注意し、イタリック字体は赤線のアンダーラインで指定する。

例 雑誌

和文： 5) 松本正弘・中村一夫：人および動物血液中の日本脳炎ウイルス中和抗体の分布と推移について。熱帯医学，15（6）：272～285。1975。

英文： 18) Lawrence J. E. and Clark, D. H. : The Lysis of Leptospire by Antiserum. Amer. J. of Trop. Med. Hyg., 24（2）：250～260。1975。

単行本

和文： 7) 山村雄一・石坂公成：免疫化学概論，2版：15～18。朝倉書店，東京，1973。

英文： 15) Smith, H. A., Jones, T. C. and Hunt, R. D. : Veterinary Pathology. 4th ed. Lea & Febiger Pub., Philadelphia. U.S.A. 1972。

12. 外国人名、地名などは、原語のまま記述し、数字は算用数字、度量衡はメートル法に拠る。
13. 印刷の校正は編集委員が行う。但し、初校は著者が行うものとし、この場合、原則として、内容の訂正は認めない。
14. 別刷は、100部まで無償で贈呈する。それ以上の部数については、著者実費負担とする。必要部数については、初校（著者校正）のとき、原稿の右上端に朱書すること。

山口県獣医師会学会規則

- 第1条 学会は、山口県獣医師会定款第2条及び第3条の目的を達するため、学術研究業績発表事業を行い、山口県獣医学会と称する。
- 第2条 学会長は山口県獣医師会会長とする。
- 第3条 会の公正円滑な運営を図るために学会運営委員会を設置する。
- 第4条 運営委員は16名以内とし、理事会に諮り会長これを委嘱し、任期は2か年とする。
- 第5条 学会は年1回以上開催する。
- 第6条 学会は機関誌「山口獣医学雑誌」を年1回以上発刊し、会員及び関係機関に配布、寄贈及び交換を行うものとする。
- 第7条 機関誌の編集は、別に定める「山口獣医学雑誌編集内規」による。
- 第8条 規則に定めない事項は運営委員会においてこれを決定する。
- 第9条 規則の改廃については理事会の議決を要する。

付 則

この規則は昭和54年（1979年）10月13日から実施する。

山口獣医学雑誌編集内規

- 第1条 雑誌は、原則として毎年8月に定期刊行する。
- 第2条 編集は獣医学、医学、生物学、公衆衛生学及び関連領域の総説、原著、短報、資料等で、会員の寄稿原稿及び学会の依頼原稿について行う。
- 第3条 学会長は、編集委員若干名を委嘱し、委員会を設置する。
- 第4条 学会長は、学会事務局に、発刊、配布、寄贈、交換、広告取得等の事務を担当させる。
- 第5条 委員の任期は2年とする。ただし再任を妨げない。
- 第6条 編集委員会
- (1) 委員会は、会長が必要に応じて招集する。
 - (2) 委員長は、委員の互選による。
 - (3) 委員会は、寄稿原稿の採否について審査する。
 - (4) 委員会は、発行部数を決定する。
- 第7条 内規に定めない事項は、編集委員会において決定する。
- 第8条 内規の改廃については、編集委員会及び学会運営委員会において決定する。

付 則

この内規は、昭和54年（1979年）10月13日から実施する。

山口県獣医師会関係事業および刊行物

事業概要

獣医学術の発達普及と獣医業務の公正円滑な発展を図り、地域社会の畜産と公衆衛生の発達に寄与するとともに、獣医業医療倫理に基づく獣医師の学識、技術、教養、品性、等々の向上を図るための諸種の事業を行う。

学会・講習会・研修会

山口県獣医学会

1962年第1回開催、毎年1回開催、1992年現在第31回学会を終了。

榎村 浩博士記念賞

1967年、榎村博士から寄贈された芳志を基金として設定された。この記念賞は、山口県獣医学会における優秀研究発表者へ授与される。

講習会・研修会

臨床（大動物、小動物、鶏病）、公衆衛生等々の講習、研修会を県獣医師会、中国地区連合獣医師会、日本獣医師会、山口県、農林水産省、厚生省、等々の単独開催、共催、後援によって年5～6回実施。

刊行物

山口県獣医師会会報

1961年6月創刊、毎月1回発行、現在（1992年11月）第378号を発刊。会報、公文、広報、雑報、随筆、消息等々を登載、県内会員および全国都道府県獣医師会へ配布。

山口獣医学雑誌 The Yamaguchi Journal of Veterinary Medicine

1974年1月創刊、毎年1回発行、現在（1992年11月）第19号を発刊。邦文、英文、独文の総説、原著、等々、論文を登載。山口県獣医学会の機関誌として内外の学術誌と交換。

ACKNOWLEDGEMENT

The Yamaguchi Prefectural Association of Veterinary Medicine appreciates the services of Mr. & Mrs. Masaharu Ano for proofreading the manuscripts in English.

謝 辞

山口獣医学雑誌に登載される英文論文は、阿野政晴並びに阿野メリアン両先生御夫妻の御校閲を賜りました。山口県獣医学会として深甚な謝意を呈上申し上げます。

山口獣医学雑誌	第19号	1992年
The Yamaguchi Journal of Veterinary Medicine	No. 19	1992
1992年11月25日印刷	1992年11月30日発行	

山口県獣医学会

学会事務局 山口県獣医師会館内
山口県吉敷郡小郡町下郷東蔵敷3-1080-3
郵便番号 754 電話 小郡 (08397) 2-1174番

印刷所 コロニー印刷 山口県防府市台道長沢 522番地
電話 防府 (0835) 32-0069番

(毎年1回発行)

THE YAMAGUCHI JOURNAL OF VETERINARY MEDICINE

No. 19 NOVEMBER 1992

CONTENTS

REVIEW

Listeria monocytogenes and Listeriosis.

Yasuji KATSUBE and Souichi MARUYAMA 1~24

ARTICLES

Plasmid Profiles of *Salmonella typhimurium* isolated from Enteritis.

Masaaki TOMITA, Shizue MATSUSAKI, Atsushi KATAYAM,

Ryuji ENDO and Shigenori MIYAMURA25~30

Personal Computer Aided Data Control of the Administration of the Anthelmintics (Milbemycin D) to the Dog.

Takeo HIRUKI and Yoshihiro FUKUDA31~58

Application of ET in U. S. Dairy Industry.

Heidi YAMAMOTO59~62

Problems of Dairy Herd Health in Indonesia.

Subronto PRODJOHARJONO63~66

Twin Calves for Commercial Beef Production in Australia.

J. F. WILKINS, D. W. HENNESSY,

L. T. CUMMINS and M. A. HILLAARD67~72

Embryo Transfer in Horses.

Norihiko OGURI73~78

The Role of Embryo Transfer and Cytogenetics in the Exploitation of Sheep Genetic Resources in Nippon (Japan).

Takao KASHIWABARA79~88

ADDENDA

Rules of Contribution to the Official Journal.89

Rule of the Association.90

Bylaw for the Arrangement of the Official Journal.90

Outline of the Enterprises and the Publications (*colophon page*)