平成 24 年度

馬防疫検討会「馬感染症研究会」

技術部会・研究部会

講 演 要 旨 集

会期：平成 24 年 10 月 1 日（月）～10 月 5 日（金）

平成 24 年 10 月 1 日（月）～10 月 4 日（木）　―技術部会
平成 24 年 10 月 5 日（金）　―研究部会

会場：JRA 競走馬総合研究所栃木支所

平成 24 年度

馬防疫検討会「馬感染症研究会」

技術部会

講 演 要 旨 集

会期：平成 24 年 10 月 1 日（月）～10 月 4 日（木）

技術部会　目次

1.　プログラム　・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・技―1

2.　開会挨拶　・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・技―3

3.　わが国における馬の防疫体制

1）馬の防疫と馬防疫検討会の役割　・・・・・・・・・・・・・・・・・技―4

2）軽種馬の防疫と JRA の役割　・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・技―10

3）馬の防疫に関する各都道府県の現状　・・・・・・・・・・・・・技―14

４．　技術部会出席者名簿　・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・技―29

１．プログラム

平成 24 年度　馬防疫検討会「馬感染症研究会・技術部会」

主催：農林水産省／動物衛生研究所／日本中央競馬会(JRA)／中央畜産会
開催日：平成 24 年 10 月 1 日（月）～10 月 4 日（木）
開催場所：JRA 競走馬総合研究所栃木支所

10 月 1 日（月）

［ 場所：事務棟会議室 ］

進行：奥　河寿臣（JRA 馬事部防疫課）

１．開会挨拶 ･･･ 9：50～10：00
　　大倉達洋（農林水産省消費・安全局動物衛生課）
２．主催者紹介 ･･･ 10：00～10：10
３．わが国における馬の防疫体制
　　座長：山川　睦（動物衛生研究所）
　1）馬の防疫と馬防疫検討会の役割 ･････････････････････････････ 10：10～10：25
　　大倉達洋（農林水産省消費・安全局動物衛生課）
　2）　軽種馬の防疫と JRA の役割 ･････････････････････････････ 10：25～10：40
　　太田　稔（JRA 馬事部防疫課）
　　―　休憩　― ･･････････････････････ 10：40～10：50

　3）馬の防疫に関する各都道府県の現状 ･････････････････････････ 10：50～12：15
　　参加都道府県代表者

［ 場所：健康馬厩舎枠場 ］

４．保定法／個体識別法／検体採取法（実習）･････････････････････ 13：00～16：00
　　講師：小平和道（JRA 馬事部防疫課）、辻村行司、上野孝範、村中雅則、丹羽秀和
　　根本　学、坂内　天、木下優太（JRA 総研栃木支所）
５．栃木支所施設案内 ･･･ 16：00～17：00
　　案内：杉浦健夫（JRA 総研栃木支所）

10 月 2 日（火）

［ 場所：研究棟研修実験室］

６．ウイルス感染症の血清学的診断法―１（実習）･････････････････ 9：00～12：00
　　講師：辻村行司、根本　学、坂内　天（JRA 総研栃木支所）
７．ウイルス感染症の血清学的診断法―２（実習）･････････････････ 13：00～17：00
　　講師：辻村行司、根本　学、坂内　天（JRA 総研栃木支所）

10 月 3 日（水）

［ 場所：研究棟セミナー室 ］

８．細菌感染症（講義）・・・ 9：00～10：00

講師：針生和久、丹羽秀和、木下優太（JRA 総研栃木支所）

［ 場所：研究棟研修実験室 ］

９．細菌感染症（実習）・・・ 10：00～12：00

講師：針生和久、丹羽秀和、木下優太（JRA 総研栃木支所）

［ 場所：病理検査棟 ］

10．病理診断法（実習）・・・ 13：00～17：00

講師：片山芳也、上野孝範、村中雅則（JRA 総研栃木支所）

10 月 4 日（木）

［ 場所：研修実験室 ］

11．細菌感染症（実習）・・・ 9：00～10：00

講師：針生和久、丹羽秀和、木下優太（JRA 総研栃木支所）

［ 場所：研究棟セミナー室 ］

12．細菌感染症（講義）・・・ 10：10～11：00

講師：針生和久、丹羽秀和、木下優太（JRA 総研栃木支所）

13．原虫感染症（講義）・・・ 11：10～12：10

講師：片山芳也（JRA 総研栃木支所）

14．寄生虫症（講義）・・ 13：00～13：50

講師：村中雅則（JRA 総研栃木支所）

15．ウイルス感染症―１（講義）・・・ 14：00～14：50

講師：近藤高志（JRA 総研栃木支所）

16．ウイルス感染症―２（講義）・・・ 15：00～15：50

講師：山中隆史（JRA 総研栃木支所）

17．意見交換 ・・ 16：00～17：00

司会：奥　河寿臣（JRA 馬事部防疫課）

18．閉会挨拶

内山孝志（JRA 総研栃木支所）

２．開会挨拶

農林水産省消費・安全局動物衛生課課長補佐
大倉達洋

平成 24 年馬防疫検討会「馬感染症研究会・技術部会」の開催にあたり、一言御挨拶申し上げます。

本日御参集の皆様におかれましては、日頃より、馬の感染症対策及び家畜衛生の向上に御尽力いただいておりますことに、深く感謝申し上げます。

さて、最近の家畜衛生をめぐる状況としましては、昨年４月に家畜伝染病予防法が改正され、昨年 10 月の完全施行から本日でちょうど 1 年目を迎えたところです。この法改正については、平成 22 年の宮崎県での口蹄疫の発生と、それに続く全国 9 県 24 農場で確認された高病原性鳥インフルエンザの発生を踏まえたものとなっており、特に、家畜伝染病の発生の予防、早期発見・通報、迅速な初動対応に重点をおいた改正内容となっております。

この中で、農場における発生予防対策として、畜種ごとに飼養衛生管理基準が詳細に設定され、従来は飼養衛生管理基準の対象外であった馬についても、今般、衛生管理区域の設定や入場者・車両の消毒をはじめとする基準が設けられました。本日御参集の皆様も家畜防疫員として日頃より飼養衛生管理基準の遵守状況の確認のための立ち入り検査など大変ご苦労されていることと思いますが、引き続き農場への指導に御協力をいただきますよう、併せてお願い申し上げます。

最近の馬の感染症に関する話題としては、昨年３月及び４月、宮崎県の在来種由来の馬において、我が国で 18 年ぶりとなる馬伝染性貧血の感染が報告されました。本件については、海外から新たに侵入したものではなく、国内の在来馬群で長期にわたって維持されていたと考えられるものであり、的確なサーベイランス等によって、本病の清浄性の確認を継続する考えです。また、海外からの疾病侵入防止の徹底は引き続き重要な課題であり、水際の対策と国内における発生に備えた体制整備はますます重要性を増していくものと考えております。

このような中、馬感染症の防疫体制の確立と試験研究の推進を図ることを目的とした本研究会の取組は極めて重要なものであり、本日御参集の皆様方におかれましては、馬の感染症対策における基幹的な獣医師として、防疫の推進に御活躍いただくことに対する要請はまことに大きいと考えております。本技術部会は本日より４日間にわたり開催されることになりますが、皆様にとって実り多きものとなることを期待するとともに、皆様の今後の益々の御活躍を祈念いたしまして、挨拶とさせていただきます。

3. わが国における馬の防疫体制

１）馬の防疫と馬防疫検討会の役割

農林水産省消費・安全局　動物衛生課

大倉達洋

馬防疫検討会の設立趣旨

最近における軽種馬、肉用馬等の輸入の増加、交通手段の発達等による輸送期間の短縮と輸送先の多元化、及び競走馬や乗馬を中心とした国際交流の活発化等を背景として伝染性疾病の侵入の機会は増加してきている。

また、一方において、馬飼養の主体が農用馬から競走馬へと変化してきており、更に、今後一層の馬伝染性疾病の効果的、効率的防疫措置も求められる状況の中で、馬伝染性疾病の防疫推進のよりどころとなる試験研究体制については、一部機関に依存せざるを得ない状況となっているのが現状である。

このような情勢の下で、馬伝染性疾病の防疫については他畜種と同様、動物検疫を中心とした輸入検疫の徹底と都道府県等における診断技術の向上を図るとともに、国及び民間機関における新しい疾病についての診断技術の確立とワクチン、診断薬等の防疫資材の開発、実用化を並行的に推進していくことが重要となっている。

馬伝染性疾病についての防疫及び診断については、基本的には法に基づき国及び都道府県が行う国家防疫による対応を推進するものの、馬伝染性疾病における中央競馬会の試験・研究体制の充実、成果の蓄積という現状を踏まえ、中央競馬会関係機関との試験研究に係わる分野調整の合意及び協力体制の一層に緊密化を図り、その充実と一層の推進を行うことが求められている。

このため、馬関係疾病の防疫と診断等につき国及び中央競馬会関係者間において今後の効果的、効率的な進め方につき検討を重ねてきたところであるが、今般、国及び中央競馬会の馬防疫関係者による検討会を設置して、防疫・診断及び試験研究についてより積極的に意見交換と意見の調整を行い、我が国の馬産振興に資するものとする。

「馬防疫検討会」運営規程

平成元年 10 月 25 日　設定
平成 14 年 5 月 23 日　改正
平成 15 年 7 月 18 日　改正
平成 15 年 10 月 1 日　改正
平成 19 年 3 月 13 日　改正

１．名　　称：　馬防疫検討会とする。

２．目　　的：　最近における馬の輸入・国内の飼養動向、国際交流及び伝染性疾病の発生状況並びに国内試験研究体制の実情を踏まえ、防疫、診断、試験研究等について農林水産省、独立行政法人　農業・食品産業技術総合研究機構　動物衛生研究所および日本中央競馬会の馬関係担当部局・機関の意見交換、調整等を図り、今後の馬防疫対応のより一層の充実と推進を図ることを目的とする。

３．座　　長：　会議の座長は農林水産省 消費・安全局動物衛生課が担当する。

４．事　務　局：　事務局は日本中央競馬会馬事部防疫課とする。

５．構 成 機 関：　１）農林水産省　動物衛生課、畜水産安全管理課、競馬監督課、動物検疫所、動物医薬品検査所

２）独立行政法人　農業・食品産業技術総合研究機構　動物衛生研究所

３）日本中央競馬会　馬事部、競走馬総合研究所

６．運　　営：　会議は本会議、専門会議とする。

イ）本会議は、馬防疫の基本的事項について検討することとし、必要の都度座長が招集し開催するものとする。

ロ）専門会議は、本会議において必要と認めた時及び座長が必要と認めた時に、その都度構成機関以外の学識経験者の参画も得て開催し、専門事項に係る情報交換、検討及び本会議への提言を行う。尚、必要により、本会議での承認を得た上で、別途実施規則を設定することが出来る。

馬インフルエンザワクチン専門会議実施規則

１．検討項目：馬インフルエンザワクチンに含まれるウイルス株の変更に関する専門事項（株変更の必要性、株の選定等）。

２．会議の開催：構成機関からの提案等により座長が必要と認めた場合に召集する。

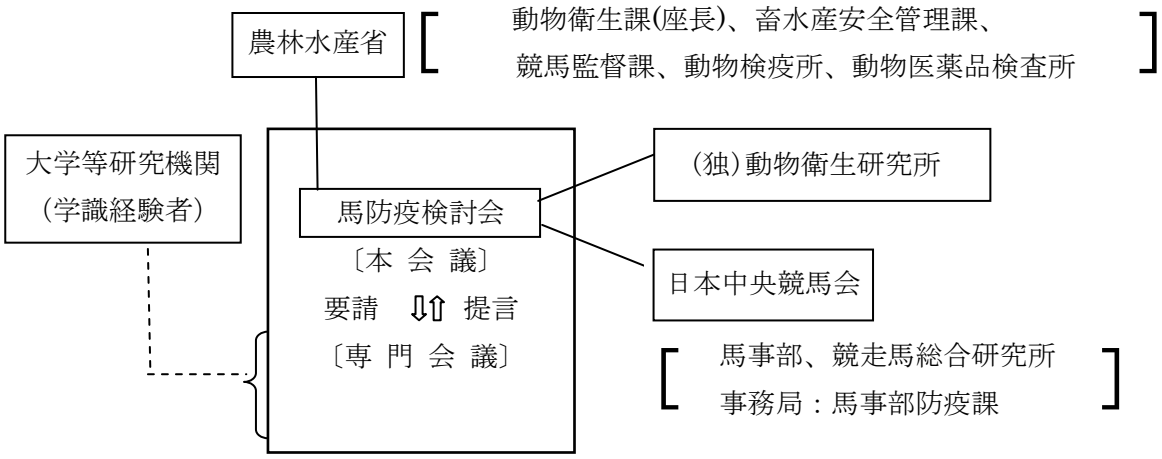
３．専門委員の選出：構成機関および学識経験者の中から、構成機関からの助言を踏まえ座長が選出する。

４．結論の取り扱い：座長へ報告する。併せてその内容を構成機関に通知する。

５．本会議への報告：会議の開催および結論とその取り扱いについては、それぞれ直近に開催された本会議において報告する。

＜馬防疫検討会の構成及び運営＞

平成元年 10 月 25 日　設定
平成 14 年 5 月 23 日　改正
平成 15 年 7 月 18 日　改正
平成 15 年 10 月 1 日　改正
平成 19 年 3 月 13 日　改正



馬関係疾病講習会の開催

① 家畜衛生講習会等への講師の派遣 ……JRA 栃木支所等

② 基幹的獣医師の養成

「馬感染症研究会」 ……JRA 栃木支所

「馬疾病研究会」 ……JRA 競馬学校

新しい疾病についての診断技術の確立

ワクチン・診断液等防疫資材の開発、実用化

馬伝染性疾病の病性鑑定に関する役割分担

① 監視伝染病……基本的に動物衛生研究所

② 監視伝染病以外の伝染病……主として JRA 栃木支所

（ただし、学術研究機関指定対象疾病の病性鑑定に伴う検査依頼については、栃木支所でも対応することが出来る。）

〔目　的〕　馬関係疾病の防疫、診断、試験研究等について、意見交換、調整等を図り、今後の馬防疫のより一層の充実と推進を図る

〔本会議〕　馬防疫の基本的事項について検討

〔専門会議〕　専門事項に係わる情報交換、検討

「馬防疫検討会」専門会議の成果

平成24年10月　馬事部防疫課

	専門会議名	期間（回数）	目的・検討内容	成果（会議終了後の行政対応も含む）
1	馬ﾊﾟﾗﾁﾌｽ病 の診断	平成元年11月30日～ 平成2年12月12日～ （3回）	① 市販凝集（O）抗原を用いた試験管凝集反応の診断的意義と類属反応の検討 ② 診断基準の確立	① 市販凝集（O）抗原を用いた試験管凝集反応の診断的意義を確認 ② 診断基準を設定し、陽性血清の供給体制を確保 ③ 試験管凝集反応手技を使用書に記載
2	馬ｳｲﾙｽ性動脈炎 の診断	平成2年2月8日～ 平成3年2月18日 （2回）	① 診断法の検討と診断基準の確立 ② ﾜｸﾁﾝ接種馬の輸入条件の検討	① 血清学的検査は中和試験（補体添加法）、病原学的検査はｳｲﾙｽ分離試験（血液と鼻汁、または尿）とし、必要に応じ交配試験を実施 ② 検査対象輸入馬は、肥育用を含めた全輸入馬 ③ ﾜｸﾁﾝ接種種牡馬に対する、輸出国における血清学的検査の強化と試験的交配による保毒否定試験の義務付け
3	馬伝染性子宮炎 の診断	平成3年8月1日～ 平成5年3月10日 （3回）	① 間接血球凝集反応の診断的意義の検討と、診断基準の確立 ② 活用法および清浄化対策	① 間接血球凝集反応の補助診断法としての意義を確認し、診断基準を設定 ② 繁殖シーズン中の動向調査における活用法を策定
4	馬ﾋﾟﾛﾌﾟﾗｽﾞﾏ病 の診断	平成5年9月29日～ 平成7年2月2日 （4回）	① 試作診断液の標準化 ② 診断法の検討と診断基準の確立ならびに疫学調査	① 米国由来診断液と同等の品質を確認し、供給体制を確保 ② 米国法とOIE法の診断基準を設定 ③ 平成6年度の疫学調査により、ﾊﾞﾍﾞｼｱ・ｶﾊﾞﾘおよびｴｸｲ陽性馬の国内における存在を否定
5	馬ｲﾝﾌﾙｴﾝｻﾞ のﾜｸﾁﾝ	平成7年5月24日～ 平成7年9月28日 （2回）	① 最近の流行株の抗原変異を検討 ② ﾜｸﾁﾝ株の変更を検討 ③ 改良ﾜｸﾁﾝのｳｲﾙｽ株の選定	① ﾜｸﾁﾝ株の変更の必要性を確認 ② A/Equ/Laplata/93を新ﾜｸﾁﾝ株に選定 ③ A/Equ/Newmarket/1/77(H7N7), A/Equ/Kentukcky/1/81(H3N8), A/Equ/Laplata/93(H3N8)の新しい組み合わせが決定
6	馬ｳｲﾙｽ性動脈炎 の診断	平成8年9月18日～ 平成9年9月9日 （3回）	① EVAのｷｬﾘｱｰ摘発法である交配試験の代替法として、精液からのｳｲﾙｽ分離について検討	① ｳｲﾙｽ分離法の各種条件設定と検出感度および特異性等を確認 ② OIE法によるｳｲﾙｽ分離法とPCR法を比較検討し検出限界を決定 ③ 細胞毒性の除去法の確立 ④ 交配試験の代替法としてのｳｲﾙｽ分離の有効性を確認
7	馬ｳｲﾙｽ性動脈炎 のELISA診断	平成10年3月19日～ 平成12年1月21日 （3回）	① 輸入検疫時のｽｸﾘｰﾆﾝｸﾞ法としてのELISA診断について検討	① 発現蛋白を用いたELISA診断の検査方法の確立 ② 発現蛋白のうちGLおよびN蛋白を融合させたものをELISA診断に用いる抗原として設定 ③ ｽｸﾘｰﾆﾝｸﾞとしての有効性を確認
8	馬伝染性子宮炎 のPCR診断法	平成10年11月26日～ 平成12年3月27日 （3回）	① 従来法に比べ検出率の高い検査方法としてPCR診断法を検討	① 既法に比べ検出感度に優れ、その有効性を確認 ② 高い再現性を有することを確認
9	馬ｲﾝﾌﾙｴﾝｻﾞ のﾜｸﾁﾝ	平成12年12月21日～ 平成13年12月7日 （2回）	① 最近の流行株の抗原変異を検討 ② ﾜｸﾁﾝ株の変更を検討 ③ 改良ﾜｸﾁﾝのｳｲﾙｽ株の選定	① ﾜｸﾁﾝ株の変更（欧州株導入）の必要性を確認 ② A/Equ/Avesta/93を新ﾜｸﾁﾝ株に選定 ③ A/Equ/Newmarket/1/77(H7N7), A/Equ/La　Plata/93(H3N8), A/Equ/Avesta/93(H3N8)の新しい組み合わせが決定
10	馬ﾋﾟﾛﾌﾟﾗｽﾞﾏ病 抗体測定用 ｴﾗｲｻﾞｷｯﾄ	平成14年11月6日～ 平成16年11月1日 （3回）	① 我が国で開発された複数のELISA法の比較評価 ② 輸入検疫時のスクリーニング検査法としてのELISA法の評価	① B.equiのEMA-2 ELISAとB.caballiのP48 ELISAおよび各変法は、優れた抗体検査法であることを確認 ② 上記の各ELISAは、輸入検疫におけるCFもしくはIFAのｽｸﾘｰﾆﾝｸﾞ検査法に用いることが可能と評価 ③ 動物検疫所において、上記の各ELISAをスクリーニング検査に導入するための野外試験の実施が決定
11	馬ｳｲﾙｽ性動脈炎 の中和試験法	平成17年2月1日～ 平成18年12月19日 （2回）	① 国内検査機関における検査法の統一 ② 細胞毒性を示す血清の処理法の検討	① OIE法による同一の検査法により国内の各検査機関で同等の成績が得られることを確認 ② 現行の英国由来RK-13細胞と新たに輸入した米国由来RK-13細胞のいずれを用いても同じ成績が得られることを確認 ③ 細胞毒性を示す血清に対する処理方法を確立
12	馬ｲﾝﾌﾙｴﾝｻﾞ のﾜｸﾁﾝ	平成19年5月10日～ 平成20年7月1日 （2回）	① 最近の流行株の抗原変異を検討 ② ﾜｸﾁﾝ株の変更（国内分離株も含めたﾌﾛﾘﾀﾞ亜系統株導入）を検討 ③ 改良ﾜｸﾁﾝのｳｲﾙｽ株の選定	① ﾜｸﾁﾝ株の変更（ﾌﾛﾘﾀﾞ亜系統株導入）の必要性を確認 ② A/Equ/Ibaraki/1/07を新ﾜｸﾁﾝ株に選定 ③ A/Equ/Ibaraki/1/07(H3N8), A/Equ/La　Plata/93(H3N8), A/Equ/Avesta/93(H3N8))の新しい組み合わせが決定
13	馬ｲﾝﾌﾙｴﾝｻﾞ対策	平成19年8月31日～ 平成21年9月2日 （4回）	① 馬インフルエンザの発生状況と防疫対策を検討 ② 分離ウイルスの遺伝的性状の確認 ③ 今後のサーベイランスについて検討 ④ 今回の馬インフルエンザ発生の総括	① 農林水産省「馬インフルエンザのまん延防止の基本方針」並びに軽種馬防疫協議会「馬インフルエンザの発生に伴う施設間の移動について」の承認 ② 現状として鎮静化していることが確認され、今後は防疫課と動物衛生課で取りまとめ方法に関する骨子を作成する予定 ③ 2009年7月1日の馬インフルエンザ国内清浄化宣言を受け、今回の発生に関する総括を行った。
14	馬伝染性疾病 清浄度評価① （馬伝染性子宮炎）	平成20年3月19日～ 平成22年3月4日 （3回）	① 馬伝染性子宮炎の清浄度評価について検討 ② 馬伝染性子宮炎清浄化確認事業と本事業終了後についての検討 ③ 馬伝染性子宮炎の国内清浄化を確認・清浄化後の防疫体制の構築	① 清浄性を確認するためには現行の活動（清浄化推進事業）をあと3年間継続する必要がある ② この3年間で検査結果を検証するとともに、その後の体制についても併せて検討する予定 ③ 馬伝染性子宮炎は国内では清浄化されたものと判断され、清浄化後の防疫体制の構築について検討した。
15	馬伝染性疾病 清浄度評価② （馬伝染性貧血）	未開催	① 馬伝染性貧血の清浄度評価について検討	家畜伝染病予防法に基づく検査結果とともに、競走馬以外の馬を対象に実施する飼養実態に関するアンケート調査の結果等を踏まえ、本病の清浄度を評価するとともに、その後の体制について併せて検討する予定

馬伝染性疾病清浄度評価専門会議（馬伝染性貧血）について

【専門委員（敬称略）】

中島英男　　元農林水産省 家畜衛生試験場　場長
守野　繁　　農林水産省 動物検疫所 微生物検査課　課長
　　※現 動物検疫所 沖縄支所長
衛藤真理子　農林水産省 動物医薬品検査所 ｳｲﾙｽ製剤検査室　室長
　　※現 動物検疫所 検疫部動物検疫課検疫専門員
筒井俊之　　（独）動物衛生研究所 疫学研究ﾁｰﾑ 上席研究員
　　※現 動物衛生研究所　ウイルス・疫学研究領域　領域長補佐（疫学）
村上賢二　　（独）動物衛生研究所 ｳｲﾙｽ病研究ﾁｰﾑ 上席研究員
　　※現 岩手大学 産業動物実地疫学研究室 教授
杉浦健夫　　日本中央競馬会競走馬総合研究所 栃木支所
明石博臣　　東京大学大学院 農学生命科学研究科 獣医微生物学研究室　教授
　　※現 東京大学大学院 農学生命科学研究科 獣医学専攻 特任教授
松岡鎮雄　　北海道農政部 食の安全推進局 畜産振興課　主査
　　※現 北海道宗谷家畜保健衛生所 指導課長

【背景と経緯】

馬伝染性貧血は、吸血昆虫の媒介による機械的伝播、あるいは汚染注射器や生物学的製剤を介した人為的感染等によって伝播し、ウマ科の動物に回帰熱と貧血を起こす感染症である。本症は致死的な疾病であり、有効な治療法もないことから、馬産業に大きな損害をもたらす伝染病として、家畜伝染病（法定伝染病）に指定されている。

馬伝染性貧血は、世界各国で今なお発生が認められ、清浄国として認知されている国はほとんどない。昨年はヨーロッパのアイルランドやドイツで集団発生が報告されており、その原因として血液製剤のウイルス汚染が疑われている。一方、我が国では古くより発生が続発してきたものの、寒天ゲル内沈降反応による血清診断法が確立されて以降は急速に減少し、1984 年以降は、1993 年に 1 牧場で例外的に摘発例があったことを除いては発生がない。なお、この間は、法令下での検査に加え、競馬場等での自主検査も広く実施されている。

【検討内容】

本症の特性、家畜伝染病予防法施行規則第 9 条に基づく検査や競馬場等で実施されている自衛検査等の結果について、我が国における馬伝染性貧血の清浄度を評価し、今後の防疫施策に資する。

２）軽種馬の防疫と JRA の役割

JRA 馬事部防疫課
太田　稔

Ⅰ．JRA 施設における通常の防疫業務

ｉ）予防接種および定期検査

JRA では在厩馬に対し、馬インフルエンザ（5 月・11 月）、日本脳炎（5 月・6 月）、ゲタウイルス感染症（5 月）、破傷風（11 月）および馬鼻肺炎（2 歳 12 月・3 歳 1 月・2 月）ワクチンの一斉接種を実施している。一斉接種後に入厩する馬で、当該年度の予防接種が完了していない馬については、入厩検疫時に接種している。

平成 23 年度の接種延頭数は、馬インフルエンザ 9,354 頭、日本脳炎 15,962 頭、ゲタウイルス感染症 13,716 頭、破傷風 3,513 頭および馬鼻肺炎 9,502 頭であった。

また、5 月と 11 月の一斉接種に合わせて、家伝法 5 条に基づく定期検査（馬伝染性貧血検査）を実施している。

平成 23 年度の検査延頭数は、栗東 4,156 頭、美浦 4,166 頭であった。

競走馬のワクチンプログラム

		1歳				2歳				3歳					4歳以上		
		1~3月		5月	秋	5~6月		秋	12月	1月	2月	5~6月		秋	5~6月		秋
標準	馬ｲﾝﾌﾙｴﾝｻﾞ	●	●	◎	○	○		○				○		○	○		○
	日本脳炎	●	●	○		●	●					●	●		●	●	
	破傷風	●	●	(○)		○						○			○		
JRA	馬ｲﾝﾌﾙｴﾝｻﾞ	●	●	◎	○	○		○				○		○	○		○
	日本脳炎	●	●	○		●	●					●	●		●	●	
	破傷風	●	●	(○)		○								○			○
	ｹﾞﾀｳｲﾙｽ感染症											●	●		○		
	馬鼻肺炎								△	△	△						

● 基礎免疫　◎ 初回補強接種　○ 補強接種
３種混合　日脳・ゲタ混合

ⅱ）入厩検疫

JRA では施設外から入厩するすべての馬に対し、入厩検疫を実施している。
平成 23 年度の検疫延頭数は、栗東 10,773 頭、美浦 11,817 頭であった。

入厩検疫における検査項目

１．書類検査・・・健康手帳に記載されている検査歴および予防接種歴等のチェック
２．個体鑑別・・・マイクロチップ・馬体特徴
３．臨床検査・・・体温測定・聴診等（一定の間隔をおいて２回）および歩様検査
４．その他検査（必要に応じて）
　１）血液検査（血液一般・血液生化学）
　２）馬ｲﾝﾌﾙｴﾝｻﾞ検査（ｲﾝﾌﾙｴﾝｻﾞ迅速診断用ｷｯﾄ）
　３）馬伝染性貧血検査（寒天ゲル内沈降反応）
　　①　競走馬登録を行う場合
　　②　入厩日の前年１月１日以降の陰性証明がない場合

馬インフルエンザ予防接種入厩要件

１．新入厩馬（本会施設に初めて入厩する馬）は以下の条件を満たしておくこと

　１）基礎免疫として２週間以上２ヶ月以内の間隔で２回接種が実施されていること。
　２）基礎免疫完了後４週間以上７ヶ月以内に補強接種（初回補強接種）が実施されていること。その後すべての補強接種は１年を越えない間隔で実施されていること。
　３）入厩前２週間から７ヶ月の期間に補強接種が実施されていること。

２．再入厩馬（新入厩馬以外の馬；再登録馬を含む）は以下の条件を満たしておくこと。
　１）前回の入厩以降、すべての補強接種は１年を越えない間隔で実施されていること。
　２）入厩前２週間から７ヶ月の期間に補強接種が実施されていること。

ⅲ）環境衛生対策

トレーニング・センターおよび競馬場では、定期的に厩舎消毒（ﾊﾟｺﾏ）、衛生害虫駆除（ｽﾐﾁｵﾝ･ﾃﾞﾐﾘﾝなど）、蚊駆除（電気蚊取器）、鼠駆除などの防疫作業を実施している。
また、構内の出入口には車両消毒用マットを設置するほか、馬運車も定期的に消毒している。

ⅳ）国際交流競走および海外遠征に伴う防疫業務
現役の競走馬が調教しながら輸出入検疫を受けられるよう、以下の施設が通年で農林

水産大臣の輸出入検査場所指定を受けている。これらの施設では、動物検疫所の指示のもと、JRA 獣医師が輸出入検疫業務の一部を行っている。

輸入検査場所 ･･･ 競馬学校 および 三木ホースランドパーク
輸入検査場所 ･･･ 栗東・美浦トレーニング・センター および
福島・新潟・中山・東京・中京・京都・阪神競馬場

Ⅱ．その他の防疫業務

ⅰ）競走馬総合研究所栃木支所における研究業務

わが国で唯一の馬感染症の研究所として､馬感染症の調査研究･疫学監視･病性鑑定、生物製剤等の製品開発の推進、防疫対策の支援などを行っている。
また、学術教育機関として研修の受け入れ、国内外の大学や研究機関との共同研究、研究情報の交換、国際会議等への委員の参加なども行っている。

ⅱ）国内外における伝染病関連情報の収集

農林水産省 消費・安全局 動物衛生課、国際獣疫事務局（OIE)、英国のアニマルヘルストラスト（AHT）の International Collating Center、米国のケンタッキー大学の Gluck Equine Research Center などから、国内外の伝染病関連情報を収集している。

ⅲ）「軽種馬防疫協議会」の運営

【設立目的】
軽種馬の自衛防疫について､関係団体が一元的に協議して具体的対策を確立するとともに、その実施に必要な措置等の推進を図ることを目的としている。昭和 46 年の日本における馬インフルエンザの大流行が背景となり、昭和 47 年に設立された。
【構成】
農林水産省、動物衛生研究所、JRA、地方競馬全国協会、日本軽種馬協会、日本馬術連盟、他軽種馬に関係する団体で構成される。事務局は、JRA 馬事部防疫課が担当している。
【主な業務内容】
1） 軽種馬の自衛防疫に関わる事項（予防接種要領や入厩要件）についての協議
2)「馬の予防接種要領」の周知徹底
3)（社）中央畜産会発行の「馬の健康手帳」の監修
4） 国内外の防疫に関する情報の収集・広報
「軽防協ニュース」･「軽防協ニュース速報」の作成・配布
「Equine Disease Quarterly」の作成・配布
「感染症テキスト」の作成・配布
ホームページの管理・更新⇒ www.keibokyo.com

軽種馬防疫協議会が定める「馬の予防接種要領」

１．馬インフルエンザ
初年度は使用説明書に基づいて２回接種（基礎免疫）し、以降半年に１回（春季・秋季）の補強接種を実施すること。
※ 予防接種間隔が１年を越えた場合は、再度基礎免疫から実施すること。

２．日本脳炎
使用説明書に基づき、その年の流行期前の５月～６月に２回接種すること。
※ 5～6 月に接種が完了していない場合でも、必ず 10 月末までに接種すること。

３．破傷風
初年度は使用説明書に基づいて２回接種（基礎免疫）し、翌年度からは年１回の補強接種を実施すること。
※ 前年度の接種歴がない場合は、再度基礎免疫から実施すること。

ⅳ）防疫関連事業に対する助成（平成 24 年度）

・育成馬等予防接種推進事業【中央畜産会】
競馬場入厩前の育成馬（1～2 歳）および生産地の繁殖牝馬（軽種＆重種）に対し、日本脳炎、破傷風、および馬ｲﾝﾌﾙｴﾝｻﾞﾜｸﾁﾝ接種費用の一部を助成。

・馬伝染性子宮炎蔓延防止対策事業 ＆ 侵入防止対策事業【日本軽種馬協会】
有症状繁殖牝馬（蔓延防止）および国内繁殖初供用牝馬（侵入防止）に対し、馬伝染性子宮炎の PCR 検査に係る費用の一部を助成。

・馬インフルエンザ及び馬鼻肺炎ワクチン接種推進事業【家畜衛生対策推進協議会】
競走馬以外の乗用馬及び農用馬に対し、馬ｲﾝﾌﾙｴﾝｻﾞﾜｸﾁﾝ接種費用の一部を助成。
軽種馬の繁殖牝馬に対し、馬鼻肺炎ﾜｸﾁﾝ（流産予防）接種費用の一部を助成。

・馬飼養衛生管理特別対策事業【中央畜産会】
競走馬以外の馬の飼養衛生管理体制を総合的な整備を図る。

３）馬の防疫に関する各都道府県の現状

（１）馬の防疫に関する北海道胆振管内の現状

北海道胆振家畜保健衛生所
藤井誠一

１　飼養状況（H24 年２月現在）

市町名	軽種		重種		在来種		小格馬		その他		計	
	戸	頭数	戸	頭	戸	頭	戸	頭数	戸	頭	戸数	頭数
豊浦町	2	48	4	7	1	1	1	1	1	2	9	59
洞爺湖	1	67	1	1	0	0	3	6	1	9	6	83
壮瞥町	0	0	3	8	0	0	2	11	0	0	5	19
白老町	6	158	2	16	3	28	9	34	5	21	25	257
安平町	12	1,940	4	10	1	5	6	13	0	0	23	1,968
厚真町	3	69	2	9	0	0	9	39	1	2	15	119
むかわ	26	450	11	28	3	4	16	70	0	0	56	552
伊達市	5	49	1	3	5	8	8	12	2	3	21	75
登別市	4	124	6	11	4	14	10	31	2	16	26	196
苫小牧	3	50	1	1	1	1	6	10	1	7	12	69
室蘭市	0	0	1	1	0	0	2	5	0	0	3	6
計	62	2,955	36	95	18	61	72	232	13	60	155	3,403

２　防疫実績（平成 23 年度）

（１）予防事業（法５条）：馬伝染性貧血　1,877 頭（うち種雄馬 64 頭）

（２）輸入馬の着地検査：77 頭（競走用：35,　繁殖用：40,　乗用：２）

＊検査項目は馬ウイルス性動脈炎抗体価（動物検疫所に依頼しすべて陰性を確認）

（３）馬伝染性子宮炎蔓延防止対策事業および馬伝染性子宮炎侵入防止対策事業：　255 頭

３　感染症の発生状況（平成 22～23 年度）

・馬鼻肺炎（流産型）；平成 22 年２月～12 月に５戸 13 頭で流産が発生。

・馬鼻肺炎（神経型）；平成 22 年２月～5 月に２戸８頭で神経型が発生。

・ロドコッカス・エクイ感染症：１戸１頭、子馬の肺および結腸リンパ節から分離。

４　馬の病性鑑定（平成 23 年度）

検査目的	検査材料	検体数	主な検査結果
流産原因調査	流産胎子	1	原因不明
下痢原因調査	水様下痢便	1	*Clostridium clostridioforme* 分離 病原遺伝子保有大腸菌 分離
馬伝染性子宮炎検査	生殖器ｽﾜﾌﾞ	1	陰性（事業開始前に実施した検査）
馬鼻肺炎抗体検査(ERV-CF)	血清	2	すべて陰性
細菌検索	関節液 生殖器ｽﾜﾌﾞ 気管粘液ｽﾜﾌﾞ	7	１頭の気管粘液ｽﾜﾌﾞより *Streptococcus zooepidemicus* 分離
馬ﾊﾟﾗﾁﾌｽ	血清	94	すべて陰性
馬伝染性貧血	血清	106	すべて陰性
	計	212	

（話題提供）

結腸捻転手術後の馬の下痢便から分離されたクロストリジウム属菌及び病原遺伝子保有大腸菌について

北海道胆振家畜保健衛生所
藤井誠一

【はじめに】馬において腸炎の原因となるグラム陽性偏性嫌気性有芽胞菌の *Clostridium difficile* は、海外のみならず近年では国内でも分離事例があり、致死性の高い急性下痢を起こす細菌であることが知られている。今回、結腸捻転手術後に疝痛症状及び下痢がみられた繁殖牝馬の下痢便を供試して糞便検査を実施したところ、*Clostridium difficile* は分離されなかったが、他のクロストリジウム属菌及び病原遺伝子を保有した大腸菌が分離されたため、成績を報告する。

【症例の概要】平成 23 年 8 月、症例馬（サラブレッド、雌、14 歳）は疝痛症状を呈したため診療施設で超音波検査を実施したところ、結腸壁の肥厚が確認され結腸捻転と診断された。腸粘膜の色は暗赤色を呈していた。術後は絶飲絶食で持続補液を継続したが、手術翌日より水様性の下痢を呈した。ＮＳＡＩＤｓにて改善する間欠的な疝痛症状が続き、疼痛増悪、全身状態悪化し、症状改善がみられず安楽殺実施となった。

【細菌分離成績】下痢便を供して細菌分離を行った結果、嫌気培養で *Clostridium clostridioforme* が分離された。また、好気培養で非溶血性の大腸菌群が分離された（6.0×10^{7} cfu/g）。なお、サルモネラは陰性であった。*Clostridium clostridioforme* は薬剤感受性試験の結果、複数の薬剤に耐性を示した。分離された大腸菌６株を供してＰＣＲによる病原遺伝子検索を行った結果、ＬＴ、Ｆ５、eae の遺伝子を保有する菌株がみとめられた。

表１　*Clostridium clostridioforme* 薬剤感受性試験結果

	PC	CEZ	GM	ERFX	ST	AMK	AZM	RA
阻止円（mm）	6	6	6	6	6	6	18	22
判定	R	R	R	R	R	R	S	S

表２　大腸菌病原遺伝子検索

	毒素				線毛抗原					付着因子
菌株№	Stx1	Stx2	LT	ST	F4	F5	F6	F17	F18	eae
1	−	−	+	−	−	+	−	−	−	−
2	−	−	+	−	−	+	−	−	−	−
3	−	−	−	−	−	−	−	−	−	+
4	−	−	−	−	−	+	−	−	−	−
5	−	−	−	−	−	+	−	−	−	−
6	−	−	+	−	−	+	−	−	−	+

【考察】分離された *Clostridium clostridioforme* は、畜産分野ではさほど耳にしないものの、ヒトの術後創部感染や術後腹膜炎で高率に分離されるとの報告があり重要な嫌気性菌と考えられた。また、複数の病原遺伝子を保有した非溶血性大腸菌が分離された。因果関係は明らかではないが、これらの細菌が各種症状に関与した可能性があることから、術後にみられる状態悪化の要因として注意する必要があると考えられた。

（2）馬の防疫に関する北海道日高家畜保健衛生所管内の現状

北海道日高家畜保健衛生所
山本敦子

1　馬の飼養状況

町名	重種		軽種		ポニー		北海道和種		その他		計	
	戸数	頭数	戸数	頭数	戸数	頭数	戸数	頭数	戸数	頭数	戸数	頭数
日高町	12	62	194	5815	25	86	7	17	27	77	265	6057
平取町	4	26	30	620	11	34	1	1	5	8	51	689
新冠町	1	1	141	3608	15	38	4	5	24	57	185	3709
新ひだか町	13	68	263	5136	22	50	5	99	7	22	310	5375
浦河町	4	20	203	4998	19	44	8	8	30	67	264	5137
様似町	0	0	26	300	3	6	2	4	1	1	32	311
えりも町	1	16	5	92	6	14	2	4	2	10	16	136
計	35	193	862	20569	101	272	29	138	96	242	1123	21414
前年度	35	207	872	20467	105	318	38	154	126	232	1281	21696

※　家畜伝染病予防法第 12 条の４に基づく定期報告の数字（前年度はH23.10.1、今年度はH24.2.1 時点）

2　馬の防疫実績（平成 23 年度）

（1）　予防事業：馬伝染性貧血検査(法５条)5,364 頭、馬鼻肺炎検査(発生牧場の抗体検査)175 頭

（2）　輸入馬の着地検査(法 51 条)：120 頭

（種雄馬：2 頭、繁殖雌馬：44 頭、競走用：74 頭)

※検査項目：馬伝染性貧血、馬パラチフス、馬鼻肺炎、馬インフルエンザ、馬ウイルス性動脈炎

3　馬感染症発生状況（平成 24 年９月時点）

（1）　馬鼻肺炎流産型：平成 23 年 12 月～24 年５月(今年の繁殖シーズン)に 23 戸 34 頭で流産・生後直死が発生し、うち 19 戸は単発例、4 戸は継続発生例。(前年の繁殖シーズン：9 戸 15 頭、単発５戸、継続発生４戸)

神経型：平成 21 年 11 月から発生なし

（2）　ロドコッカス・エクイ感染症：当所病性鑑定において、平成 24 年度は３戸３頭（平成 23 年度：３戸３頭）発生。すべて死亡した当歳馬の臓器・膿瘍からの分離。典型的な化膿性肺炎が１例、非典型例として、肺や腰背部の皮下、胸最長筋から大腰筋内に膿瘍があり、腰髄の化膿性髄膜炎を呈したものが１例、肺炎や腸炎はなかったが大腿部の骨格筋が壊死し、股関節炎を呈した症例が１例あった。

（3）　葉状条虫症：平成 24 年度は２戸２頭死亡例が発生。疝痛や発熱症状があり、盲腸に葉状条虫が多数寄生し、回盲部は腫脹・狭窄・重責していた。

4　馬の病性鑑定（平成 23 年度）

材料	検定目的	H23									H24			計
		4 月	5 月	6 月	7 月	8 月	9 月	10 月	11 月	12 月	1 月	2 月	3 月	
血清	伝貧	231	43	17	46	144	99	38	97	46	16	17	126	920
	馬ﾊﾟﾗﾁﾌｽ	227	17	3	23	116	73	11	36	40	27	46	54	673
	ERV-CF	35	20	11	4	9	20	24	36	43	42	61	68	373
血清/鼻腔ｽﾜﾌﾞ等	馬ｲﾝﾌﾙｴﾝｻﾞ	0	1	7	0	0	0	0	0	1	0	0	0	9
糞便	糞便検査	2	1	31	13	22	47	24	8	26	26	11	0	211
陰核ｽﾜﾌﾞ等	ＣＥＭ	2	7	2	0	0	1	0	0	0	0	0	0	12
流産胎子	流産原因	19	5	1	0	2	7	8	18	33	23	34	31	181
死体	生後直死	8	6	1	0	0	0	0	0	1	0	4	6	26
	死亡原因	6	6	3	2	0	3	1	5	1	0	4	6	37

5　CEM 清浄性維持・監視のためのサーベイランス（平成 23 年度）

有症状馬　19 頭、繁殖初供用馬　920 頭、種牡馬　347 頭。(全頭陰性)

（馬感染症の話題提供－２）

日高管内における馬鼻肺炎多発要因の疫学的考察

北海道日高家畜保健衛生所
山本敦子

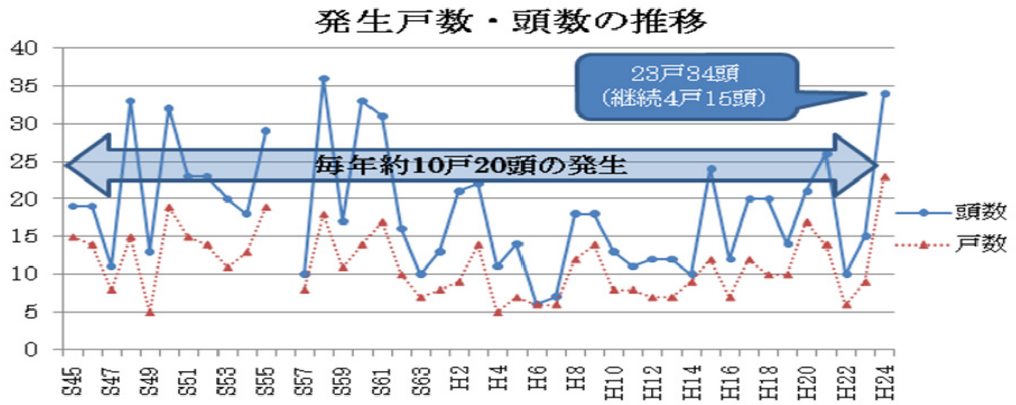
【はじめに】馬鼻肺炎による流産・生後直死は、主にウマヘルペスウイルス１（以下、ＥＨＶ１）の感染により発生し、発生牧場では子馬を失うだけでなく、まん延防止のための移動自粛措置による種付け中止など軽種馬生産において大きな経済的損失となる。日高管内では毎年約 10 戸 20 頭の発生があったが、平成 23 年 12 月から平成 24 年５月（以下、H24 繁殖シーズン）は 23 戸 34 頭の大発生となった。この多発要因について、発生牧場での衛生管理状況、分離ウイルスの解析等の疫学的考察を行ったので、その概要を報告する。

【発生の概要】H24 繁殖シーズンの発生戸数は、昭和 41 年の初発生以来、過去最多。発生は２月から４月に集中（89%（29/34））。発生日齢は胎齢 254 日から生後１日齢、中でも胎齢 300 日から 329 日で多く 50%（17/34）を占めた。継続発生牧場は４戸でその発生頭数は 44%（15/34）に達した。Ｘ地区では５戸 13 頭と発生が集中し、同地区のＡ牧場では８頭の継続発生があった。

【材料および方法】分娩時期の気象データを解析、発生牧場 23 戸の衛生管理状況の聞き取り、流産胎子等 34 頭の肺から分離されたＥＨＶ１の遺伝子解析を行った。また、発症馬と同居馬 153 頭についてＥＨＶ１抗体検査を実施。

【結果】H24 繁殖シーズンは１～２月の平均最低気温が例年より１～２℃低く、２～４月の新規発生戸数は 78%（18/23）を占めた。発生牧場のワクチン接種率は、単独発生 68%（13/19）、継続発生 75%（３/４）で管内接種率 65%と大差なし。発生の集中したＸ地区は、繁殖馬と育成馬の分離飼養が困難な中小規模の繁殖牧場が密集し、隣接する３牧場で続発があった。分離されたＥＨＶ１は、地理的分布に関連する 68 番遺伝子マーカーにおける分類で５グループに分類され、Ｘ地区は８割が同一グループで新たな株の流行は認めなかった。継続発生があったＡ牧場では、繁殖厩舎に育成馬が飼養されていた他、妊娠馬全 10 頭の分娩予定日が１カ月以内に集中し、さらに初発馬の胎齢が 10 カ月と流産好発月齢だった。抗体検査では、初発馬（18 頭）の補体結合反応及び中和試験での抗体価に変動はなく、継続発生馬（９頭）は中和試験及びＥＬＩＳＡで流産後に上昇傾向を示した。

【まとめ及び考察】今回の多発要因として、寒冷ストレスによる管内全域での発生増加、牧場密集地域での水平伝播、牧場内流行による継続発生が考えられた。また、継続発生により妊娠馬の 80%が流産したＡ牧場の疫学から、大きな被害を防ぐためには分娩予定日を分散することも有効と思われる。本病はワクチンのみでの発症予防は困難で、寒冷対策等の日常的な飼養衛生管理による予防、発生時の隔離・消毒の徹底でのまん延防止が必要である。今後も発生状況の解析を継続し効果的な防疫対策を講じたい。



（３）馬の防疫に関する北海道渡島管内の現状

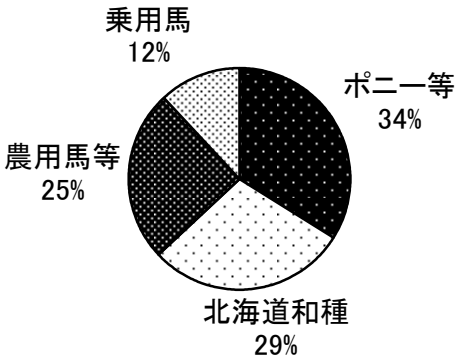
北海道渡島家畜保健衛生所
髙山雄司

１　馬の飼養状況（平成２３年１０月）

（１）戸数及び頭数

	函館市	北斗市	松前町	知内町	七飯町	森町	八雲町	長万部町	計
戸数	４４	１６	４	３	２０	１４	１７	２	１２０
頭数	３５３	６３	１３	９	６２	１４５	５１	３	６９９

（２）飼養区分割合



２　馬の防疫実績（平成２３年度）

（１）馬伝染性貧血検査

	函館市	北斗市	七飯町	森町	八雲町	長万部町	計	備考
頭数	４２	7	4	7	４０	3	１０３	全頭陰性

（２）馬パラチフス検査

	函館市	北斗市	森町	八雲町	計	備考
頭数	３８	2	１４	4	５８	全頭陰性

３　その他の家畜伝染病・届け出伝染病の発生状況（平成２３年度）

なし

４　病性鑑定（平成２３年度）

実績なし

（４）馬の防疫に関する青森県の現状

青森県青森家畜保健衛生所
林　敏展

１　飼養状況（平成 24 年 2 月 1 日現在）

	家保										県計	
	青森		八戸		十和田		むつ		つがる			
	戸数	頭数	戸数	頭数	戸数	頭数	戸数	頭数	戸数	頭数	戸数	頭数
軽種	3	19	22	174	20	172	3	25	4	20	52	410
その他	10	38	28	92	57	458	16	193	36	767	147	1,548
計	13	57	50	266	77	630	19	218	40	787	199	1,958

２　検査状況

（１）家畜伝染病予防法に基づく検査状況(平成２３年度)　　(単位：頭)

	家保名					計
	青森	八戸	十和田	むつ	つがる	
馬伝染性貧血検査	32	268	373	43	40	756
馬パラチフス	0	108	93	29	0	230
馬伝染性子宮炎	0	101	74	16	0	191

（２）輸入馬の着地検査状況

送致年月日	件数	種類(用途)	頭数			仕向先	出国地
			雌	去勢	計		
平成 21 年度	3	馬（肥育）	340	0	340	五所川原市	カナダ
平成 22 年度	3	馬（肥育）	305	37	342	五所川原市	カナダ
平成 23 年度	2	馬（肥育）	160	68	228	五所川原市	カナダ
平成 24 年度(8 月末)	1	馬（肥育）	71	43	114	五所川原市	カナダ

３　馬感染症発生状況

平成 22 年度　１戸１頭で馬鼻肺炎

平成 23 年度　なし

４　馬の病性鑑定事例

年　　月	症状等	診　　断
平成 22 年 4 月	流産１頭	馬鼻肺炎（ウイルス学的検査、病理学的検査）
平成 22 年 4 月	流産１頭	循環障害（ウイルス学的検査、病理学的検査）
平成 23 年 4 月	流産１頭	循環障害（ウイルス学的検査、病理学的検査）

（５）馬の防疫に関する山形県の現状

山形県中央家畜保健衛生所
高野儀之

１　馬の飼養状況（平成 23 年度）

地域	戸数	飼養頭数					
		軽種	中間種	重種	小格馬	在来種	計
村山	11	63	6	2	13	1	85
最上	5	8	8	0	13	0	29
置賜	14	46	3	0	26	1	76
庄内	12	1	6	9	27	5	48
計	42	118	23	11	79	7	238

２　馬の防疫実績

（１）家畜伝染病予防法に基づく検査

馬伝染性貧血

年度	村山	最上	置賜	庄内	計
H22	55	14	14	14	97
H23	64	17	17	14	112

（２）輸入馬の着地検査（平成 23 年度）

村山	最上	置賜	庄内	計
3	0	0	0	3

（３）依頼による検査（平成 23 年度）

	村山	最上	置賜	庄内	計
馬インフルエンザ	0	0	0	0	0

（４）馬飼養衛生管理特別対策事業　馬飼養衛生管理技術講習会

「馬の冬期間における飼養衛生管理と疾病について」

日本中央競馬会　競走馬総合研究所　馬事部防疫課　曽根佑氏

日時　平成 23 年 12 月 13 日

３　馬感染症の発生状況および馬の病性鑑定（平成 23 年度）

特になし

（６）馬の防疫に関する群馬県の現状

群馬県家畜衛生研究所
阿部有希子

１　馬の飼養状況（平成 23 年度）

	中部	西部	吾妻	利根沼田	東部	計
戸数	21	5	20	4	22	72
頭数	284	63	88	29	70	534

２　馬の防疫実績（平成 23 年度）

（１）馬伝染性貧血検査

	中部	西部	吾妻	利根沼田	東部	計
頭数	255	50	45	12	22	384

（２）馬パラチフス検査

実績なし

（３）馬伝染性子宮炎検査

実績なし

（４）輸入馬の着地検査

	中部	西部	吾妻	利根沼田	東部	計
頭数				3		3

３　馬感染症の発生状況（平成 23 年度）

なし

４　馬の病性鑑定（平成 22～23 年度）

病性鑑定日	依頼内容等	診断
H22.12.17	死亡の原因究明	空腸中部の腸捻転を疑う
H23.1.17	死亡の原因究明	胃破裂。回腸腸間膜裂孔嵌頓ヘルニア
H23.6.18	疝痛の原因究明	不明。回腸腸間膜赤色、回腸動脈膨化
H23.7.8	死亡の原因究明	不明。肺水腫。耳下の黒色腫
H23.8.22	骨折の確認	左上腕骨完全斜骨折

（７）馬の防疫に関する埼玉県の現状

埼玉県中央家畜保健衛生所
荒井理恵

１　馬の飼養状況（平成２４年２月１日現在）

家保名	戸数	飼養頭数				
		競走馬	乗用・観光用	肥育馬	その他	合計
中央	28	423	331	0	56	810
川越	36	11	434	0	21	466
熊谷	29	0	153	0	34	187
県計	93	434	918	0	111	1,463

２　馬の防疫実績（平成２３年度）

（１）馬伝染性貧血検査・馬パラチフス検査

家保名	馬伝染性貧血		馬パラチフス	
	戸数	頭数	戸数	頭数
中央	38	838	0	0
川越	27	421	1	1
熊谷	23	146	0	0
県計	88	1,405	1	1

（２）輸入馬の着地検査

家保名	戸数	頭数
中央	1	3
川越	0	0
熊谷	3	5
県計	4	8

３　馬感染症の発生状況
平成２２～２３年度　なし

４　馬の病性鑑定
平成２２～２３年度　なし

（８）馬の防疫に関する東京都の現状

東京都家畜保健衛生所
三宅結子

１　馬の飼養状況（平成２４年定期の報告）

	大規模	小規模	左記以外	計
戸数	１	９	４３	５３
頭数	６６３	９	７５３	１，４２５

２　馬の防疫実績（平成２２～２３年度）

（１）馬伝染性貧血検査

年度	頭数
２２	１，３１１
２３	１，３００

（２）馬パラチフス検査

年度	頭数
２２	１
２３	１

（３）輸入馬の着地検査

年度	回数	頭数
２２	１２	１７
２３	１０	１４

（４）馬の輸出入場所指定に伴う現地状況調査

年度	回数
２２	１
２３	２

３　馬感染症の発生状況（平成２２～２３年度）

なし

４　馬の病性鑑定（平成２２～２３年度）

なし

（９）馬の防疫に関する石川県の現状

石川県南部家畜保健衛生所
井出久浩

１　馬の飼養頭数

	地域(家保名)		計
	南部	北部	
戸数	7	3	10
頭数	560	8	568

平成 23 年度末(H24.2.1)現在

２　馬の防疫実績(平成 23 年度実績)

（単位：頭）

	地域(家保名)		計
	南部	北部	
馬伝染性貧血検査	122	0	122

３　馬感染症発生状況
平成 22 年度～平成 23 年度　発生なし

４　馬の病性鑑定事例
平成 22 年度　なし
平成 23 年度　なし

(10)馬の防疫に関する佐賀県の状況

佐賀県中部家畜保健衛生所
松尾研太

1　馬の飼養状況（平成 24 年 2 月 1 日現在）

	競馬場（厩舎）	肥育農場	乗馬クラブ	観光牧場	学校	その他	計
戸数	29	5	6	1	1	7	49
頭数	499	259	43	17	3	12	833

2　馬の防疫実績

1）馬伝染性貧血検査

家畜伝染病予防法第５条に基づく馬伝染性貧血検査

年度	検査頭数	内訳		
		競走馬	乗用馬	その他
H21	526	499	16	11
H22	548	512	20	16
H23	514	476	21	17

2）輸入馬着地検査

年度	輸入戸数	輸入回数	導入頭数
H21	1	7	112
H22	2	7	104
H23	2	5	42

3　馬感染症の発生状況

発生なし

4　馬の病性鑑定

年度	病性鑑定件数	内訳	
		血液生化学検査	ウイルス検査
H21	0	0	0
H22	3	3	0
H23	6	5	1

(11)馬の防疫に関する熊本県の現状

熊本県阿蘇家畜保健衛生所
齋藤靖正

1　馬の飼養状況（平成２３年度）

	中央	城北	阿蘇	城南	天草	計
戸数	１８	１８	４６	１	２	８５
頭数	２９４６	１８７３	８３５	４	５	５６６３

2　馬の防疫実績（平成２３年度）

（１）馬伝染性貧血検査

	中央	城北	阿蘇	城南	天草	計
頭数	６１	２９７	２６６	１１	４	６３９

（２）馬パラチフス検査

	中央	城北	阿蘇	城南	天草	計
頭数	１８	１０	１７１	０	０	１９９

（３）馬伝染性子宮炎検査

	中央	城北	阿蘇	城南	天草	計
頭数	０	０	９	０	０	９

（４）輸入馬の着地検査

	中央	城北	阿蘇	城南	天草	計
実戸数(のべ戸数)	5(28)	1(11)	3(7)	0	0	9(46)
実頭数	1,460	764	318	0	0	2,542

3　馬感染症の発生状況（平成２３年度）

平成 23 年度は、県内で馬の監視伝染病の発生は無し。

4　馬の病性鑑定（平成２３年度）

別紙参照

（別紙）平成 23 年度馬の病性鑑定実施状況
■熊本県合計　5 例（城北家保 2 例、阿蘇家保 3 例）

【城北家保】
●No.1 及び No.2
依頼理由：2 例（H24.1.31、H24.3.12）とも同一農場で、軽種馬（サラブレッド）の流産の原因究明
結　　果：1 例目－壊死性脾炎による胎子死（原因は不明）
2 例目－誤嚥性肺炎、滲出性気管支炎（原因は不明）

【阿蘇家保】
●No.1
依頼理由：疝痛による種牡馬（ブルトン）の死亡
結　　果：剖検（腹腔内の観察のみ）で腸捻転と診断。焼却炉での焼却ができないため、閉腹して化製場へ搬送し化製処理。
●No.2
依頼理由：種牡馬（重種）の急死
結　　果：剖検（腹腔内の観察のみ）で腸管内容物の通過障害によるショック、循環障害を起こしたものと診断。焼却炉での焼却ができないため、閉腹して化製場へ搬送し化製処理。
●No.3
依頼理由：繁殖牝馬（ペルシュロン）の血液検査
内　　容：産褥性蹄葉炎を起こした馬の血液生化学検査を実施。

(12)馬の防疫に関する宮崎県の現状

宮崎県宮崎家畜保健衛生所
野村真知子

1　馬の飼養状況（平成 24 年度 7 月現在）

（単位：頭）

家保名（地域）	戸数	飼養頭数				
		競走馬	乗用・観光用	農用・肥育用	その他(※1)	合計
宮崎（県央）	16	130	71	5	9	215
都城（県西）	27	68	21	164	9	262
延岡（県北）	1	0	3	0	0	3
県計	44	198	95	169	18	480

※1 愛玩、乗馬用子馬など

2　馬の防疫実績(平成 23 年度実績)

（単位：頭）

	家保名(地域)			計
	宮崎(県央)	都城（県西）	延岡（県北）	
馬伝染性貧血検査	431	100	0	531
馬パラチフス	31	38	0	69
馬伝染性子宮炎	14	7	0	21

3　馬感染症発生状況および病性鑑定事例

なし

４．技術部会出席者名簿（順不同：35 名）

１．農林水産省　消費・安全局　動物衛生課

大倉達洋

２．(独)農業・食品産業技術総合研究機構　動物衛生研究所

山川　睦

３．家畜保健衛生所

北海道胆振家畜保健衛生所	藤井誠一
北海道日高家畜保健衛生所	山本敦子
北海道渡島家畜保健衛生所	髙山雄司
青森県青森家畜保健衛生所	林 敏展
山形県中央家畜保健衛生所	高野儀之
群馬県家畜衛生研究所	阿部有希子
埼玉県中央家畜保健衛生所	荒井理恵
東京都家畜保健衛生所	三宅結子
石川県南部家畜保健衛生所	井出久浩
佐賀県中部家畜保健衛生所	松尾研太
宮崎県宮崎家畜保健衛生所	野村真知子

４．　農林水産省　動物検疫所

稲垣麻由子、浅倉将人

５．　（社）中央畜産会

原田博文

６．　（特）日本中央競馬会

奥　河寿臣、大田　稔、小平和道、菊地拓也

７．　（特）日本中央競馬会　競走馬総合研究所　栃木支所

内山孝志、松村富夫、針生和久、成田正一
片山芳也、上野孝範、村中雅則、丹羽秀和
木下優太、近藤高志、山中隆史、辻村行司
根本　学、坂内　天、杉浦健夫

平成 24 年度

馬防疫検討会「馬感染症研究会」

研究部会

講　演　要　旨

平成 24 年 10 月 5 日（金）

研究部会　目次

１．　プログラル・・研―1

２．　開会挨拶・・・研―3

３．　特別講演

Clostridium difficile 感染症について・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・研―7

４．　一般講演

１）日本産ヌカカのアフリカ馬疫ウイルス媒介能に関する解析・・・・・・・・・・研―9

２）ウマコロナウイルス感染症の血清学的診断法の実用化の検討と
高感度遺伝子診断法の開発・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・研―16

３）ニューモシスチス肺炎の病理組織学的検討ならびに遺伝学的解析・・・・研―18

４）ウマヘルペスウイルス５型感染と多結節性肺線維症・・・・・・・・・・・・・・・・研―21

５．　共同研究実施概要

１）感染症の新規診断法開発のための分子生物学的基礎研究―馬パラ
チフス菌の全ゲノム塩基配列の決定―・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・研―25

２）感染症の新規診断法開発のための分子生物学的基礎研究―レーザー
マイクロダイゼクション法を用いた馬感染症の病理学的診断法の
検討―・・・研―27

６．　感染症に関する情報交換

１）国内外における馬の伝染病の発生状況・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・研―30

２）馬の輸出入検疫状況・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・研―31

３）馬用の生物学的製剤の検定状況および動物用インフルエンザワクチン
国内製造用株選定委員会の議事概要・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・研―35

７．　研究部会出席者名簿・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・研―38

1.　プログラム

平成24年度　馬防疫検討会「馬感染症研究会・研究部会」

主催：農林水産省／動物衛生研究所／日本中央競馬会／社団法人中央畜産会
開催日時：平成24年10月5日（金）午前10時ー午後3時20分
開催場所:JRA競走馬総合研究所栃木支所

進行：松村富夫（JRA競走馬総合研究所栃木支所）

１．開会挨拶 ……10：00～10：10
濵岡隆文（動物衛生研究所）
水野豊香（JRA総括監）

２．特別講演
司会：坂本研一（動物衛生研究所）
*Clostridium difficile*感染症について…… 10：10～11：20
加藤はる（国立感染症研究所細菌第二部）

３．一般講演
座長：山川　睦（動物衛生研究所）
１）日本産ヌカカのアフリカ馬疫ウイルス媒介能に関する解析…… 11：20～11：45
大橋誠一（動物衛生研究所）

２）ウマコロナウイルス感染症の血清学的診断法の実用化の検討と高感度遺伝子診断法の開発…… 11：45～12：10
小西美佐子（動物衛生研究所）

― 昼食 ― ……12：10～13：00

座長：針生和久（JRA競走馬総合研究所栃木支所）
３）ニューモシスチス肺炎の病理組織学的検討ならびに遺伝学的解析 ……13：00～13：25
上野孝範（JRA競走馬総合研究所栃木支所）

座長：近藤高志（JRA競走馬総合研究所栃木支所）
４）ウマヘルペスウイルス5型感染と多結節性肺線維症 ……13：25～13：50
辻村行司（JRA競走馬総合研究所栃木支所）

４．共同研究実施概要……13：50～14：20

座長：山川　睦（動物衛生研究所）

１）感染症の新規診断法開発のための分子生物学的基礎研究　―　馬パラチフス菌の全ゲノム塩基配列の決定　―

秋庭正人（動物衛生研究所）

２）感染症の新規診断法開発のための分子生物学的基礎研究―　レーザーマイクロダイゼクション法を用いた馬感染症の病理学的診断法の検討　―

播谷　亮（動物衛生研究所）

―　休憩　―　……14：20～14：30

５．感染症に関する情報交換

座長：松村富夫（JRA 競走馬総合研究所栃木支所）

１）国内外における馬の伝染病の発生状況 ……14：30～14：50

太田　稔（JRA 馬事部防疫課）

２）馬の輸出入検疫状況 ……14：50～15：00

中尾哲也（農林水産省動物検疫所）

３）馬用の生物学的製剤の検定状況および動物用インフルエンザワクチン国内製造用株選定委員会の議事概要……15：00～15：15

蒲生慎一郎（農林水産省動物医薬品検査所）

６．　閉会挨拶　……15：15～15：20

内山孝志（JRA 競走馬総合研究所栃木支所長）

２．開会挨拶

１）平成 24 年度馬防疫検討会「馬感染症研究会･研究部会」開会挨拶

(独）農業･食品産業技術総合研究機構
動物衛生研究所　所長　濵岡隆文
（代理：坂本研一研究領域長）

平成 24 年度馬防疫検討会「馬感染症研究会･研究部会」の開催にあたり、主催者の一員といたしまして一言ご挨拶を申し上げます。本日ご参集の皆様におかれましては、わが国の馬感染症防疫に関しましてそれぞれの場において一方ならぬご尽力をいただいておりますこと、先ずもって敬意を表しますと共に御礼申し上げる次第でございます。

さて、馬産を取り巻く情勢は国内の経済状況等を反映して大変厳しいものがあり、そうした状況を打破すべく関係各位がそれぞれに大変な努力をされていると認識しております。こうした中で、他の畜産分野と同様に交流･物流の国際化に伴う疾病の侵入リスクの増大などを背景とし、現状に即した適切な疾病防除･防疫が求められております。馬の感染性疾病を巡る国内情勢は、平成 19 年の馬インフルエンザ、昨年の在来馬群における馬伝染性貧血の発生などのようなトピック的な事案については平静を保った一年であったのではないかと考えております。わが国の畜産は口蹄疫の浸入を許し、30 万頭の牛・豚、2350 億円の経済被害を被った教訓から、昨年の家畜伝染病予防法改正に際して畜産現場のバイオセキュリティー強化を図るために具体的に家畜飼養者が遵守すべき飼養衛生管理基準が改正されました。この管理基準は牛、豚、鶏といった畜種毎の構成となっており、馬編では馬飼養農場を対象に判りやすく衛生管理基準が設定されています。そして、生産者用のパンフレット版の前文には『「発生の予防」は地域ぐるみでの対応がより効果を上げる』と書かれております。このことは研究部会にご参集の皆様には釈迦に説法の類で大変恐縮ですが、「地域ぐるみ」はまさにその通りでございます。加えて養豚、養鶏、馬産といった産業ぐるみで取り組むことがより効果的、或いは必須であると読み替えていただくことも大変重要であろうと思っております。馬生産者が共通の意識で取り組み、それを我々獣医衛生サービスが支えるという構図が合理的であり、一つの目指すべき「美しい形」ではないでしょうか。

わが国の厳しい経済、財政状況を背景に、馬防疫に関わる獣医衛生サービスを構成する国や地方公共団体、特殊法人、独立行政法人、共済組合等の各セクターはそれぞれに厳しい運営を強いられておりおますが、だからこそ今までにも増して役割分担を明確にし、それぞれの立場で責任を果たしつつ連携をしていくことが重要では無いかと考えております。そして、この馬防疫検討会・馬感染症研究会をそれぞれの連携を密にし、力を統合していくための「場」としていきたいと考えているところでございます。

また、この研究部会は、いつ、どこで、何が起きても適切な対応を求めれれる我々動物衛生に関わる獣医技術者が常に自身の科学的な基盤を磨き、最新情報を共有して、生

産者から信頼される獣医衛生サービスを提供できる技術者集団でいるために、我々自身で守り育てていかなければならない部会であると考えております。本日は、国立感染症研究所の加藤はる先生にClostridium difficile感染症に関する特別講演をお願いしております他、一般演題、JRA・動衛研の共同研究実施概要、感染症に関する情報交換として国内外の伝染病発生状況、輸出入検疫状況、生物学的製剤の検定状況の紹介などが予定されております。馬防疫に携わる関係者の皆様がこれら最新の情報を共有することで、わが国の馬防疫に関する技術レベルの向上を図るということが本日の研究部会の目標だと考えておりますので活発な討議を期待しております。

最後に、本日の研究部会開催にご尽力いただいたJRA競走馬総合研究所栃木支所の関係者の皆様に感謝申し上げますと共に、本日の研究部会を実りあるものとしていただくようご参集の皆様にお願いをいたしまして、ご挨拶とさせていただきます。

２）平成 24 年度馬防疫検討会「馬感染症研究会･研究部会」開会挨拶

日本中央競馬会　総括監
水野豊香

皆様おはようございます。ＪＲＡ総括監の水野でございます。「馬感染症研究会・研究部会」の開会にあたり、一言ご挨拶申し上げます。

本日は大変お忙しい中、多くの皆様方のご出席を賜り、心より感謝申し上げます。また、特別講演をお願いしました国立感染症研究所の加藤先生、ならびに一般講演をいただきます諸先生方に対し、この場をお借りして御礼申し上げます。

さて、国内におけるウマ伝染病の発生状況ですが、本年も生産地で馬鼻肺炎による流産が報告されました。また、2 月末から 3 月にかけて、帯広のばんえい競馬においてコロナウイルスによる発熱および下痢の流行が確認され、多数の出走取消馬が出るなど競馬開催に影響を及ぼしました。さらに、3 月には動物検疫所において輸入乗用馬で馬インフルエンザが摘発されました。一方、海外に目を向けますと、現在、ドイツの競馬場における馬伝染性貧血の発生が大きな話題となっており、競馬開催の中止および移動制限などで競馬の施行に重大な影響を与えております。また、米国ではウエストナイルウイルス感染症が、1999 年の発生以来、最大規模の猛威を振るっております。10 月 2 日現在、死者 163 人を含む約 4000 人の感染が確認されています。ウマにおいても 10 月 1 日現在、昨年の 87 頭を大幅に上回る 364 頭の感染が確認されています。その他、オーストラリアでのヘンドラウイルス、アメリカでの水胞性口炎、フランスでの馬インフルエンザ等の発生も報告されております。これらの状況を踏まえますと、我が国の競馬を安定して施行していくうえで、馬防疫の重要性は明らかであり、ＪＲＡといたしましても、今後も必要な対策を講じていきたいと考えています。

一方、国内で発生が認められますが、有効な予防および治療法が確立されていない感染症に対する調査研究も重要であり、本日は「クロストリジウム・ディフィシル感染症について」と題しまして、国立感染症研究所の加藤先生からご講演を頂戴いたします。本感染症は、ヒトにおいて抗菌薬の使用に伴う下痢症として、また院内感染の原因の 1 つとして知られております。ウマにおいても致死的な出血性腸炎を特徴とする X 大腸炎との関連性が強く示唆されている細菌感染症であり、有効な予防および治療法の確立が期待されています。講演を通じて本感染症に関する知識が深まり、今後の馬医療へ還元されることを願っております。

話は変わりますが、競馬産業を取り巻く環境は、引き続き大変厳しい状況が続いております。現在も売り上げの回復を図る各種施策を実施するとともに、各事業の存廃を含めた総見直しを行っています。事業規模の縮小は回避できないところですが、競馬の主役はやはり馬です。適切な健康管理のもと競馬の安定的な施行が何より重要であり、馬の健康を下支えしている研究業務が、企業利益の根幹を成していることに疑いの余地はありません。したがって、われわれは最新の知見を含めた研究成果が披露される本研究部会を極めて有意義な行事の一つとして位置づけております。今後も、本研究部会が馬感染症の防あつ・研究の推進を図る場、さらには関係者の情報交換の場として発展することを願っております。

最後になりますが、皆様方の活発な御討論を頂戴し、本研究会が実り多きものになることを祈念いたしまして、私の挨拶とさせていただきます。

3. 特別講演

Clostridium difficile 感染症について

国立感染症研究所 細菌第二部
加藤はる

Clostridium difficile について

Clostridium difficile は、偏性嫌気性グラム陽性桿菌で、酸素の存在下では増殖しないが、芽胞のかたちでは、酸素や乾燥、及び、アルコール等の消毒薬に耐性であり、医療環境等に長期間生存し続ける。本菌の産生する毒素には、toxin A、toxin B および binary toxin が知られ、toxin A と toxin B は本菌の病原性に大きな役割を果たしていると考えられている。Toxin A 陽性 toxin B 陽性株および toxin A 陰性 toxin B 陽性株が下痢症・腸炎の原因となるとされるが、非常に最近、toxin A 陽性 toxin B 陰性株の臨床分離がフランスから報告され、詳細な検討が待たれている。Binary toxin は、臨床的意義は明確ではないものの、欧米で高病原性株(hypervirulent strain) として問題となっている PCR ribotype 027 株(BI/NAP1/027)や PCR ribotype 078 株が産生することで注目されている。

ヒトにおける *Clostridium difficile* 感染症 (CDI)

Clostridium difficile 感染症 (CDI)は、ヒトでは抗菌薬関連下痢症・腸炎（抗菌薬などにより腸内フローラが撹乱された際に発症する下痢症・腸炎）の主要な原因菌として知られる。消化管に偽膜形成が認められれば、細菌学的検査を行わなくても CDI と診断されるが、偽膜形成の認められない CDI 症例は多いため、診断には細菌学的検査が必要である。軽度の下痢症状から、イレウスや消化管穿孔を伴う劇症腸炎まで症状に幅があることが、本感染症の特徴である。また、治療により回復しても再発する症例が少なくなく、繰り返し再発する症例では治療に難渋する。一方、*Clostridium difficile* は、医療関連感染の重要な原因菌のひとつである。本菌は、芽胞を形成すること、糞便とともに排泄され医療スタッフの手指を含む医療環境を汚染しやすいこと、排泄ケアが必要な高齢者において発症することが多いこと等から、感染管理は容易ではない。

Clostridium difficile 感染症の疫学

PCR ribotype 027 (BI/NAP1/027) 株は、2000 年以降の北米およびヨーロッパの一部の国々で *C. difficile* 感染症(CDI)症例数の増加に伴って、劇的に分離率が増加したタイプである。本株は toxin A 陽性 toxin B 陽性 binary toxin 陽性で、toxin A 及び toxin B の過剰産生や高い芽胞系性能が報告されたが、大陸をまたがって流行している原因はそれだけでは説明できないようである。日本では本株による散発例は認められるものの、現在のところアウトブレイク事例の報告はない。PCR ribotype 027 株と同様に binary toxin 陽性で、話題となっている菌株に PCR ribotype 078 株がある。本株は以前よりブタやウシなどの動物における CDI で問題となり、市販の食肉からの分離も報告されてきたが、最近ではオランダや英国等でヒトにおける感染症で話題となっている。ただし、食中毒としての CDI のエビデンスは報告されていない。日本では、ヒトでは toxin A 陽性 toxin B 陽性 binary toxin 陰性の PCR ribotype smz 株、および toxin A 陰性 toxin B 陽性 binary toxin 陰性の PCR ribotype trf 株が、優勢株・流行株となっている医療機関が多い。動物では、PCR ribotype 078 株に

よる馬の感染症例の報告があるものの、他の動物では解析検討が始まったところである。

CDI の細菌学的検査

細菌学的検査としては、酵素抗体(EIA)法による糞便検体中毒素検出、グルタメートデヒドロゲナーゼ (GDH)検出、*C. difficile* 分離培養検査が、日本では保険適応となっている。米国では糞便検体から毒素遺伝子検出がルーチンに使用されており、早晩日本にも導入されると考えられる。市販の EIA 法による毒素検出キットは感度が低く、感度を補うために GDH 検出を組み合わせたキットも使用されている。*C. difficile* 分離培養は、選択培地の使用と嫌気培養が可能であれば、技術的に難しい検査ではないが、分離された *C. difficile* 菌株が毒素非産生株である可能性に留意する必要がある。細菌学的検査の依頼と検体採取は、臨床的に CDI が疑われた時点でなされるべきで、治療経過のチェックや個室隔離の解除目的で行う意義はない。

CDI の治療

CDI の治療は、まず誘因となっていると考えられる抗菌薬を中止あるいは変更する。症状が軽快しなければバンコマイシンあるいはメトロニダゾール内服を開始する。バンコマイシンもメトロニダゾールも腸内フローラを撹乱することから、狭域スペクトラムの抗菌薬が開発され導入されつつある。繰り返す再発には、（家族などの）健常人の糞便の移植や、毒素に対するモノクロナール抗体が有効であったとの報告がある。劇症腸炎では、結腸全摘出などの緊急手術により救命率があがるものの、外科手術に踏み切るかどうかの判断は難しい。結腸を摘出せず、回腸ストマから結腸を洗浄しバンコマイシンをストマから注入点滴する治療法も報告されている。

CDI の感染予防

CDI の感染予防には、宿主側のリスクファクターの軽減と、感染経路の遮断がある。宿主側のリスクファクターの軽減は、医療機関全体で「抗菌薬適正使用」を考えることが有効である。さらに、ワクチン接種も臨床応用が考えられている。感染経路の遮断は、*C. difficile* が芽胞の状態ではアルコールが無効なので、手指衛生は流水と石けんによる手洗いが基本である。CDI と診断されれば、標準予防策から接触予防策に切り替え、特に（オムツ交換などの）排泄ケアにおいて、使い捨て手袋と使い捨てガウンの着脱を処置ごとに行うことに留意する。医療環境の清拭と医療機器および環境の消毒では、まず、施設内の清掃が適切に行われているか（清掃しやすい環境になっているか、清掃担当者の教育が充分行われているか）評価することが必要かと思われる。CDI 症例退室後に、病室を蒸気化過酸化水素 (hyper peroxide vapor)使用による除染効果についても報告されている。

４．一般講演

１）日本産ヌカカのアフリカ馬疫ウイルス媒介能に関する解析

農業・食品産業技術総合研究機構動物衛生研究所
国際重要伝染病研究領域　大橋誠一、小野里洋行
温暖地疾病研究領域　　梁瀬　徹

背景・目的

アフリカ馬疫はベクターによって媒介される馬の海外悪性伝染病である。最近のアフリカ馬疫の発生はサハラ以南のアフリカ大陸に限定されているが、過去にはスペインや中東地域でも発生している。アフリカ馬疫ウイルス（AHSV）を媒介する主要な媒介昆虫である *Culicoides imicola*（*C.imicola*）はアフリカから東南アジアの亜熱帯地域に広く分布している。近年、流行地域の拡大やこれまで流行していなかったウイルスが侵入するなど、世界的にアルボウイルスの流行が活発化している。また、国際的な物流の高速化によって、これまで以上にわが国への海外悪性伝染病の侵入リスクが増大してきている。

これまで日本でのアフリカ馬疫の発生はないが、国内にはアルボウイルスを媒介する可能性のあるヌカカは多種分布しており、AHSV の増殖性について検討することは重要であると考えられる。本課題では迅速検査にも対応可能な AHSV の高感度検出法の検討をするとともに､国内に分布するヌカカの AHSV の媒介能について解析を行い、AHSV が侵入した場合の伝播の可能性や流行予測に資する基礎的知見を得ることを目的とする。

1. 高感度検出法の開発

【材料・方法】

１） 供試ウイルス

AHSV 強毒株血清型 1～9 およびワクチン株血清型 1～8 型を使用した。

２） プライマーおよびプローブの設計

全ての血清型のウイルスを検出可能なプライマー・プローブを作製するため、遺伝子データベースを利用して血清型間で高度に保存されている第 5 分節についてアライメントを取り、適切な領域を検索した。検索結果をもとに PrimerPlus（アプライドバイオシステムズ）を用いてプライマーおよびプローブを設計した。プローブには 5’末端に FAM、3’末端に TAMRA を修飾した（表１）。

表1　アフリカ馬疫ウイルス血清群特異的プライマーとプローブ

プライマー	配列 (5’-3’)	Tm
Forward primer	GGTGATGGGCAGTGGGATAC	59℃
Reverse primer	CATCCGTTAACCAATAAACAATCAA	58℃
TaqMan probe	FAM-CCGATGTTTCACCAATCAATGGCTCTGTTA-TAMRA	70℃

３） RNA の抽出

ウイルス RNA の抽出はウイルス培養上清から High Pure Viral RNA Kit（ロシュ・ダイアグノスティックス）を用いて行った。

４） リアルタイム RT-PCR

リアルタイム RT-PCR は TaqMan RNA-to-Ct 1-Step Kit（アプライドバイオバイオシステムズ）を用いた。抽出した RNA とプライマーを混合し、95℃で 5 分熱処理後、急冷した。その後、プローブ、dNTP、酵素等を含んだマスターミックス液を加えた。逆転写を 48℃、15 分、熱変性 95℃、10 分、さらに 95℃、15 秒、60℃、1 分を 45 サイクル行った。

５） 特異性および検出感度の検討

特異性の検討にはAHSV強毒株9株、ワクチン株8株および陰性対照としてBTVを用いた。検出感度の検討は 10 倍階段希釈したワクチン株 8 株を用いた。

６） 実験感染馬血液による検出感度の比較

AHSV 血清型 4 型を静脈内接種したミニチュアホース 2 頭（#1 は 10^4 $TCID_{50}$, #2 は 10^6 $TCID_{50}$, 接種）から接種後 0～6 日目まで毎日ヘパリンで凝固防止した血液を採取し、使用時まで-80℃に保存した。ウイルス分離は単層に培養した Vero 細胞に血液を接種し、37℃で 1 時間吸着させた。接種液を除き、培地で 1 回洗浄してから維持培地を加え、37℃で培養し、7 日間細胞変性効果（CPE）の出現を観察した。ウイルス RNA の抽出は PBS で 2 倍に希釈した血液から上記の方法で実施し、RT-PCR に用いた

【結果】

１）検出感度および特異性の検討

第 5 分節をターゲットにしたプライマー/プローブセットを用いて AHSV 強毒株 9 株、ワクチン株 8 株および BTV の検出を試みたところ、BTV を除く全ての AHSV 株を検出することが出来た。血清型間で検出感度にバラツキがなく、増幅効率も等しかった（図１）。

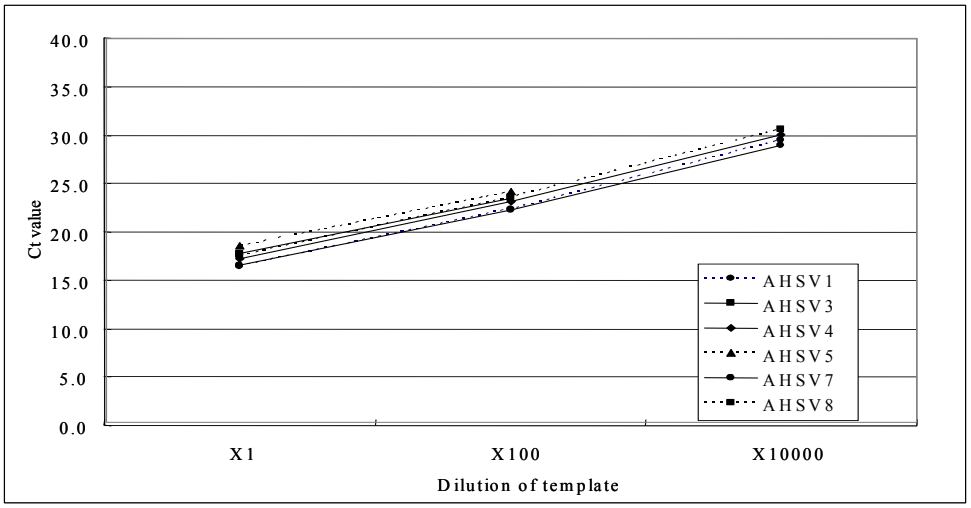


図１ 血清型間の検出感度の比較

２）実験感染馬血液を用いた検出感度の比較

リアルタイム RT-PCR 法を用いて感染馬血液中のウイルスの検出および定量を試みた。どちらの馬の血液からも接種後 2 日目からウイルス遺伝子が検出され、それ以降 6 日目までウイルス血症は続き、そのウイルス量は増加した。また、血中のウイルス量は接種した量に応じた差が認められた。さらに、ウイルス分離、RT-PCR 法およびリアルタイム RT-PCR 法の検出感度について比較を行ったところ、リアルタイム RT-PCR 法は RT-PCR 法よりも 2～3 日、ウイルス分離では 2～4 日早く検出可能で、迅速検査法としての有用性が示された（表 2)。

表 2 Real-time RT-PCR, Conventional RT-PCR およびウイルス分離の比較

検出法	個体	接種後日数						
		0	1	2	3	4	5	6
Real-time RT-PCR	#1	-*	-	+	+	+	+	+
	#2	-	-	+	+	+	+	+
RT-PCR	#1	-	-	-	-	-	+	+
	#2	-	-	-	-	+	+	+
ウイルス分離	#1	-	-	-	-	-	-	+
	#2	-	-	-	-	+	+	+

＊+:陽性; −:陰性

2. ヌカカの分子生物学的解析

【材料・方法】

１） ヌカカのリボゾーム RNA ITS 領域の増幅と遺伝学的解析

ヌカカの種および地域系統による遺伝学的差異を比較するため、リボゾーム RNA 遺伝子の Inter transcribed spacer (ITS)領域の増幅を試みた。野外から採集したヌカカを形態学的に分類後、ヌカカ 1 個体ずつから DNeasy Blood & Tissue Kit(Qiagen) により DNA を抽出した。ITS 領域の増幅には ITS 5 5’-GGAAGTAAAAGTCGTAACAAGG-3’, ITS28TC 5’-TGCTTAAATTTCAGGGGGT-3’を用いた。PCR は Platinum Taq DNA Polymerase High Fidelity（Invitrogen）を使用し、94℃で 30 秒加熱後、94℃、30 秒、54℃、30 秒、68℃、90 秒で 35 サイクル実施した。PCR 産物はアガロースゲル電気泳動でサイズを確認後、ダイレクトシークエンスを実施した。また、得られた塩基配列データおよび遺伝子データベースを利用し、分子系統樹解析を行った。

【結果】

１） PCR 法による ITS 領域の増幅とヌカカの遺伝学的解析

1 個体のヌカカから抽出した DNA を鋳型に ITS 領域の増幅を試みたところ、およそ 800bp の単一のバンドがそれぞれ確認された。いくつかの報告によるとヌカカのリボゾーム RNA ITS 領域の大きさはおよそ 700～1000bp の多様性が見られるが、今回はいずれの個体においてもほぼ同一の大きさであった。また、精製した PCR 産物をダイレクトシークエンスし、既存のシーククエンスデータとともに解析をすると、AHSV のベクターと考えられる *C. imicola* と日本国内で見られる *C.maculatus*（ミヤマヌカカ）が近縁であることがわかった（図 2)。

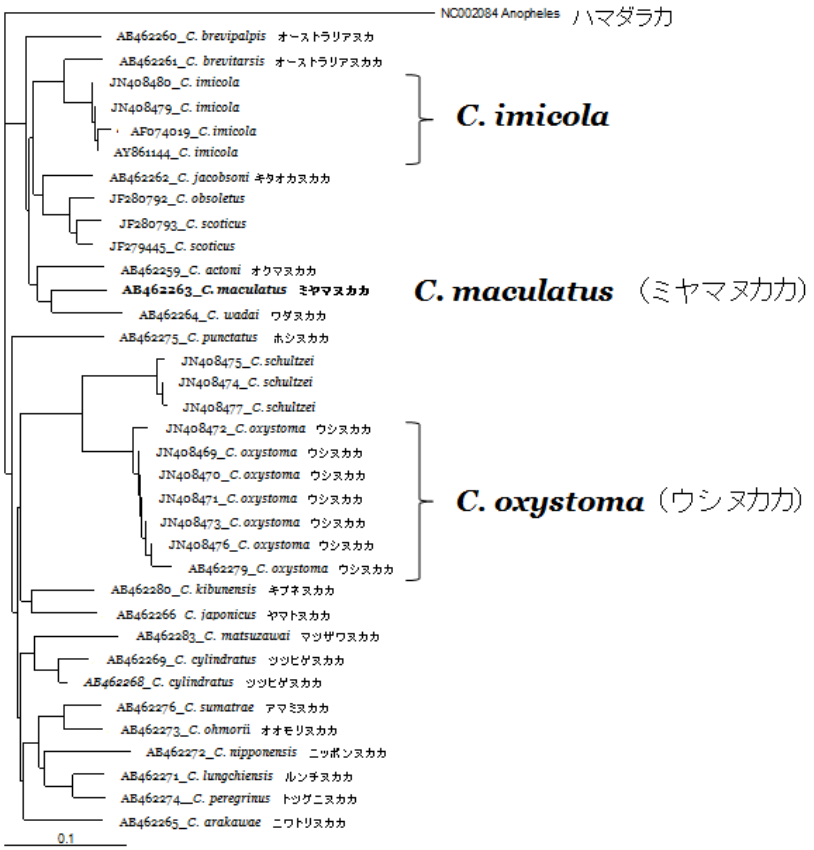


図 2 ヌカカ ITS 領域による分子系統樹解析

3. ヌカカの実験室内吸血法による感染実験と吸血ヌカカのウイルス学的解析

【材料・方法】

1）供試ウイルス

ヌカカへの接種ウイルスには AHSV ワクチン株血清型 4 型（AHSV-4）を使用した。

2）人工吸血法によるヌカカの実験感染

ヌカカは牛舎内にライトトラップを設置し、採集した。採集したヌカカは吸血させるまでショ糖溶液を与え、25℃で飼育した。人工吸血には 2 重構造のガラス製専用器具を用いた。吸血用の材料はウシ脱線血でウイルス培養液を 10 倍に希釈したものを用いた。人工吸血用器具の底部を伸展させたパラフィルムで閉じ、内層にはウイルスを含んだウシ脱線血を入れ、外層には 37℃の温水を循環させて血液を保温した。ヌカカを入れた容器の上部に人工吸血用器具を設置し、室温で 1 時間放置した。人工吸血終了後、吸血したヌカカのみを採集し、その後ショ糖溶液を与え、7 日間 25℃で飼育した。飼育後、羽根の紋様を基準に種別を行い、ウイルス分離を実施するまで-80℃に保存した。また、接種材料である AHSV-4 を混合したウシ脱線血の感染価は Vero 細胞を用いたマイクロタイター法により測定し

た。

３）実験感染ヌカカからのウイルス分離

7 日間飼育したヌカカに 10μg/ml のゲンタマイシンを加えたイーグル MEM を 1 個体当たり 0.5ml ずつ加えて乳剤を作製した。この乳剤をゲンタマイシン入りのイーグル MEM で 10 倍階段希釈し､96 穴プレートに培養した Vero 細胞に接種し、1 個体当たりの感染価を測定した。5 日間培養後、CPE を示さなかった培養は凍結融解を実施し、新しい Vero 細胞に接種した。分離されたウイルスは抗 AHSV-4 ウサギ免疫血清を用いた間接蛍光抗体法により同定を行った。

４）実験感染ヌカカからのウイルス遺伝子の検出

ウイルス遺伝子の検出は種類および実験ごとに 14 ロットに分けて行い、1 ロット当たり 1～11 個体となるように調製した。上記ヌカカ乳剤からの RNA の抽出は TRIzol LS Reagent（Invitorogen）を用いて行った。リアルタイム RT-PCR 法によるウイルス遺伝子の検出は前述の方法によって行った。

【結果】

１）人工吸血法によるヌカカの実験感染

室温で 1 時間吸血後、ヌカカ全体の約 10%の個体で吸血が確認された(図 3)。吸血時間を 90 分から 2 時間に延長させた場合も吸血率の向上は認められなかったため、1 時間で行うこととした。最終的に 5 回の試行により計 86 個体を得た。その内訳は *C.oxystoma*（ウシヌカカ）30 個体、*C. maculatus*（ミヤマヌカカ） 29 個体、*C.punctatus*（ホシヌカカ）18 個体、および *C. arakawae*（ニワトリヌカカ）9 個体であった。

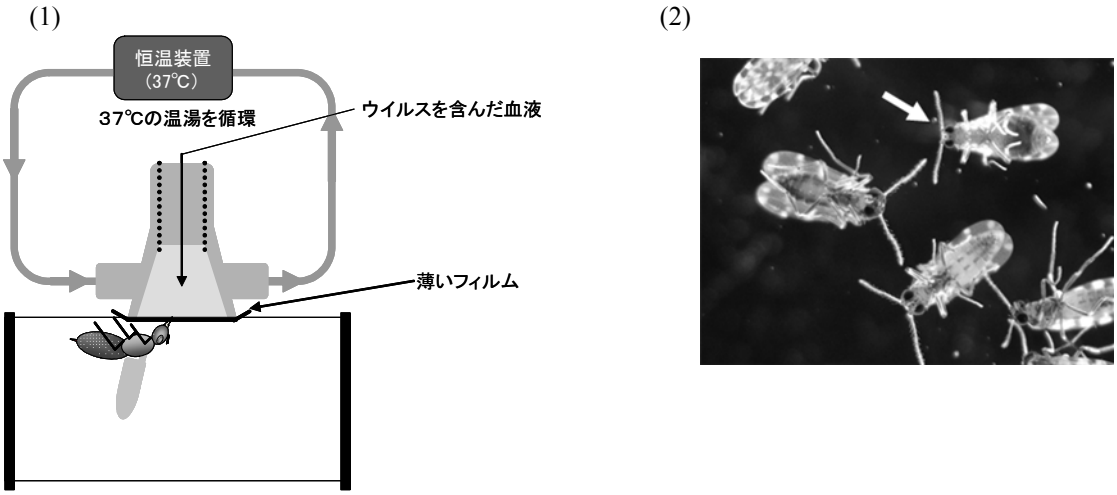


図 3 人工吸血装置(1)と吸血ヌカカ(矢印)(2)

２）実験感染ヌカカからのウイルス遺伝子の検出

各試行で種類ごとに分けた 14 ロットから抽出した RNA を鋳型にウイルス遺伝子の検出を試みた。ウシヌカカでは 5 ロット全てからウイルス遺伝子が検出された。ミヤマヌカカ、 ホシヌカカでは 3 ロット中 2 ロットでウイルス遺伝子が検出された。また、ニワトリヌカカからは 3 ロット全てからウイルス遺伝子は検出さ

れなかった。ウイルス遺伝子が検出された 3 種のヌカカの中で最も遺伝子量が多かったのはウシヌカカであった（図 4）。

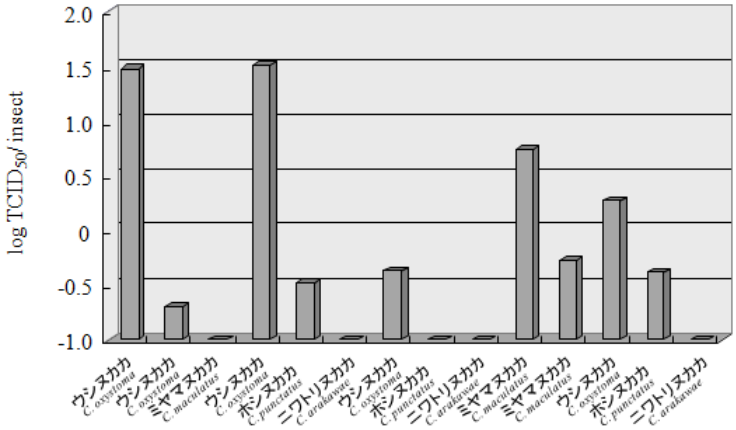


図 4 ヌカカ乳剤中の AHSV-4 遺伝子の検出

３）実験感染ヌカカからのウイルス分離

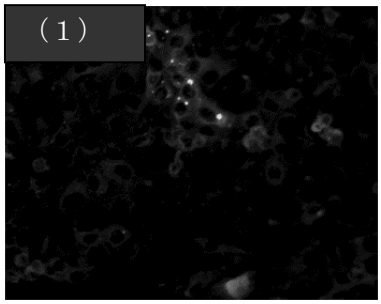
個体別に作製した乳剤をそれぞれ 10 倍階段希釈し、Vero 細胞に接種した。分離 1 代目では 5 日目までにウシヌカカ由来の乳剤 3 検体で明瞭な CPE が観察され、それぞれ 1 個体当たり $10^{2.45}$～$10^{2.7}$ $TCID_{50}$ のウイルスが分離された（表 3）。凍結融解した 1 代目を接種した分離 2 代目では新たにウシヌカカ 1 検体、ミヤマヌカカ 3 検体、およびホシヌカカ 2 検体の計 5 検体で CPE が観察された（表 4）。分離された 8 株は抗 AHSV-4 ウサギ血清を用いた間接蛍光抗体法により感染 Vero 細胞の細胞質内に均一あるいは顆粒状の特異蛍光が観察され AHSV-4 と同定された（図 5）。この結果、各ヌカカにおけるウイルス保有率はウシヌカカ 13.3%、ミヤマヌカカ 10.3%、およびホシヌカカ 5.6%であった（表 4）。ウシヌカカは供試した 4 種のヌカカの中で保有率、個体当たりの感染価が最も高かった。

表 3 ヌカカ 1 匹当たりのウイルス感染価

供試ヌカカ	log $TCID_{50}$/匹
ウシヌカカ#1	2.45
ウシヌカカ#2	2.70
ウシヌカカ#3	2.70
平均	2.63

表 4 吸血ヌカカからのウイルス分離結果

供試ヌカカ	供試数	分離 1 代目	分離 2 代目	ウイルス保有率
ウシヌカカ	30	3	1	13.3 %
ミヤマヌカカ	29	0	2	6.9 %
ホシヌカカ	18	0	1	5.6 %
ニワトリヌカカ	9	0	0	0 %
合計	86	3	5	9.3 %



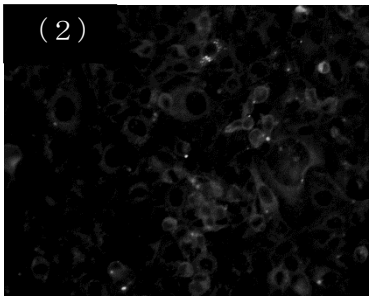


図 5 分離ウイルスの同定
(1)接種ウイルス、(2)ヌカカから分離されたウイルス

【まとめ】

日本産ヌカカにおける AHSV の増殖性について解析した。

ヌカカの分子生物学的解析からアフリカ大陸で AHSV の主要なベクターと考えられている *C.imicola* と日本国内に生息しているミヤマヌカカは近縁であることが明らかとなった。一方、ヌカカへの感染実験におけるウイルスの保有率および 1 個体当たりのウイルス量はミヤマヌカカよりもウシヌカカのほうが高かった。このことは媒介昆虫の形態学的・遺伝学的近縁性とウイルス増殖の許容度は関連性が小さいことが示唆された。

G.J.Venter らが南アフリカの野外で採取した *C.imicola* を使った同様の経口感染実験ではヌカカ 1 匹当たり $10^{0.7}$-$10^{4.2}$ $TCID_{50}$ のウイルスを保持していたと報告している。馬の最小有効感染量およびヌカカの伝播に必要なウイルス量は明らかではないが、今回の実験結果からウシヌカカと *C.imicola* では 1 個体当たりの保持しているウイルス量がおよそ 100 倍程度の差があり、ウシヌカカが AHSV を媒介する可能性は大きくないと考えられた。

２）ウマコロナウイルス感染症の血清学的診断法の実用化の検討と高感度遺伝子診断法の開発

動物衛生研究所　ウイルス・疫学研究領域
小西美佐子

【背景と目的】

1970 年代よりウマコロナウイルス（ECoV）と仔馬の下痢症との関連性については言及されていたが、ECoV は分離が困難なため、その病原性や浸潤状況など不明な点が多い。わが国では、北海道のばんえい競馬場において 2004 年、2009 年および 2012 年と立て続けに ECoV 感染症が集団発生し、2004 年には ECoV 遺伝子が、2009 年と 2012 年には日本初となる ECoV が相次いで分離された。いずれの年においても 600 頭前後の在厩馬の 2～3 割が発症し、食欲不振、40℃前後の発熱と下痢（一部）を呈した。加療により平均 2～4 日で治癒するものの、毎回集団発生するため治療費や出走取り消しによる損失など、関係者に与える経済的被害は少なくない。そこで我々は、ECoV 防疫対策の一助とするため、ECoV 感染症の診断法として、抗体検出 ELISA 法と、リアルタイム PCR を用いた遺伝子検出法の開発を試みた。

【結果の概要】

１．抗体検出 ELISA 法の開発

抗 ECoV 抗体の検出法として、間接 ELISA 法の開発を試みた。ECoV のヌクレオカプシド(NP)の大腸菌発現組換え蛋白質（rECoVNP pET28a）を抗原とし、ECoV 実験感染馬血　清を陽性血清として ELISA 法の条件検討を行った。また、開発した ELISA 法の精度を検証するため、野外馬血清 300 検体について、ELISA、中和試験（NT）、間接蛍光抗体法（IFA）およびウエスタンブロット法（WB）を実施し、各検査法の精度を比較した。

WB の結果をもとに各検査法の精度を比較した結果、開発した ELISA 法は NT ならびに IFA よりも感度、特異性に優れ、WB の検査結果との一致度も高かった（表 1）。

表 1　WB を元にした各検査法の感度、特異度および一致度（κ係数）

検査法*		WB +	WB −	感度（%）	特異度（%）	κ係数†
ELISA	+	161	23	91.5	81.5	0.74
	−	15	101			
NT	+	152	30	86.4	75.8	0.63
	−	24	94			
IFA	+	141	18	80.1	85.5	0.64
	−	35	106			

*+=陽性； −=陰性

† κ係数；κ>0.75：高い一致度、0.40<κ≤0.75：中程度の一致度、κ<0.40：低い一致度

2. ECoV 遺伝子検出のためのリアルタイム PCR 法の開発

ECoV および牛コロナウイルス（BCoV）の NP をコードする N 遺伝子を標的としたプライマーセット（F1、F2 および R）を設計し、リアルタイム PCR（SYBR 法）による ECoV 遺伝子検出を試みた。陽性コントロールとして ECoV（NC99 株、Tokachi’09 株）および BCoV（Mebus 株、掛川株）の RNA を用い、条件検討を行った。その結果、設計したプライマーセットを用いたマルチプレックス PCR において、ECoV および BCoV 遺伝子の増幅産物は異なる融解温度を示し、両ウイルスを容易に判別できた（EcoV: 82-9-83.3℃、BCoV: 85.3-85.6℃）。また、同増幅産物を電気泳動で確認したところ、全て予測されたサイズであった（EcoV: 85bp、BCoV: 192bp）。（図 1）。

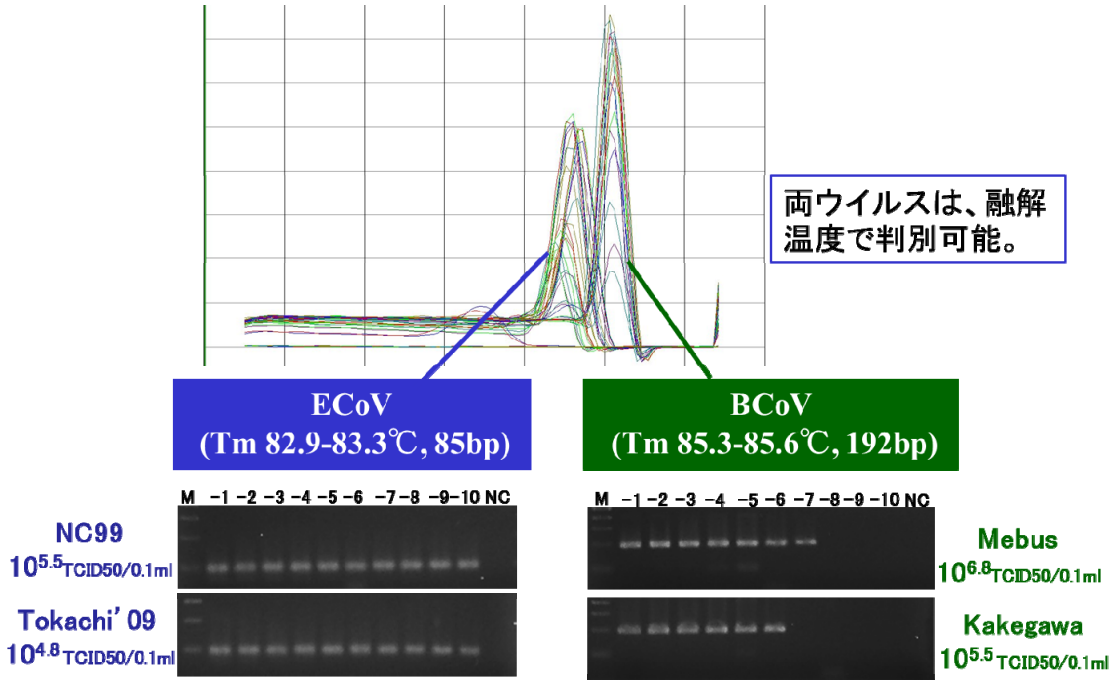


図 1　リアルタイム PCR における増幅産物の融解温度と泳動像

N：ECoV NC99 株、T：ECoV Tokachi’09 株、M：BCoV Mebus 株、K：BCoV 掛川株

レーン M：分子量マーカー、数字はウイルス希釈濃度を表わす（1.E0～1.E-10*）

【まとめ】

今回開発した ELISA 法およびリアルタイム PCR 法は、いずれも標的とする抗体やウイルス遺伝子を特異的に検出することが可能であり、従来の検査法に比べて診断に要する時　間を大幅に短縮できることが示された。今後これらの検査法を現場での診断に活用するとともに、疫学調査を実施することにより、わが国で発生した ECoV 感染症について有用な知見が得られると考える。

３）ニューモシスチス肺炎の病理学的検討ならびに遺伝学的解析

JRA 競走馬総合研究所　栃木支所　微生物研究室

上野孝範

Pneumocystis carinii は、子嚢菌門古生子嚢菌鋼に属する真菌であり、SCID マウスやサーコウイルス２型感染豚など免疫機能の低下した動物に日和見感染し肺炎を引き起こすことが知られている。馬におけるニューモシスチス肺炎に関する報告は生後半年までの子馬に多く、成馬の発症報告は殆ど見られない。今回、競走馬ならびに子馬における *P. carinii* 感染例に遭遇し、病理学的検討並びに遺伝学的解析を実施したのでその概要を報告する。

【競走馬における発症例】

症例は、サラブレッド、雄、３歳。本会調教施設にてトレーニングを実施していたが、体温上昇（39.0 ℃）を主訴とし競走馬診療所を受診した。初診時検査において肺雑音ならびに末梢血中白血球数の上昇から呼吸器感染症が疑われたため、抗菌薬による治療を開始するも症状は改善されず、加療開始より３週間後に呼吸器症状の重篤化のため安楽死された。生前の胸部Ｘ線検査では肺全葉にびまん性の不透過像（図１）が観察されたものの、気管支肺胞洗浄液（blonchoalveolar lavage fluid, BALF）検査では細胞数および構成細胞比に異常を認めず、病原性細菌も分離されなかった。病理解剖において肺は含気に乏しく重量を増し、小葉構造が不明瞭な淡褐色充実性の領域が全葉に散在していた。組織学的検索において肉眼的に肺実質が充実性であった領域では、膠原線維の増生による肺胞中隔の顕著な増生が観察された（図２）。また肺胞では、マクロファージの顕著な浸潤、Ⅱ型肺胞上皮細胞の腫大、および肺胞腔の狭小化が認められた（図３）。病原体検索のためにグロコット染色（真菌染色）を実施したところ、酵母様構造物（直径 3-5 μm）が肺胞内壁や肺胞腔に多数確認され、生前採取した BALF の塗抹標本においても同様の構造物が観察された（図４）。

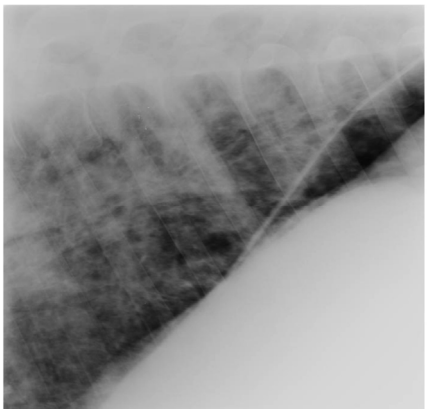


図１：胸部Ｘ線像（左側像）

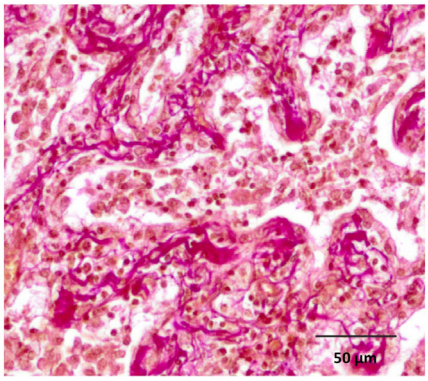


図２：肺胞中隔における膠原線維増生（ワンギーソン染色）

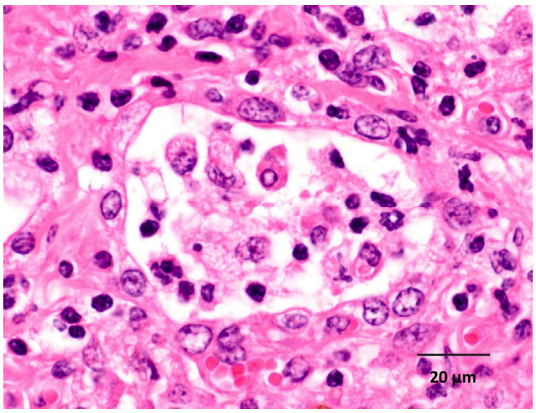


図３：肺胞腔へのマクロファージ浸潤
および肺胞上皮細胞の腫大
（HE 染色）

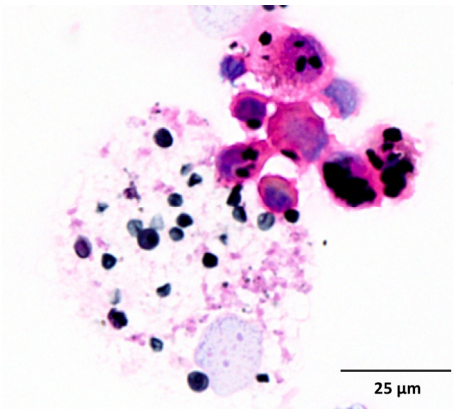


図４：BALF 塗抹標本における
酵母様真菌
（グロコット・HE 重染色）

【子馬における発症例】

症例はサラブレッド、雌、74 日齢。体温上昇（39.0℃）、呼吸数増加を主訴とし獣医師を受診、呼吸器感染症を疑い抗菌薬による治療を開始したが 4 日後に死亡した。病理解剖において肺は全域が赤褐色充実性に変化し（肝変化）、含気部を両前葉に残すのみであった。また各肺葉切断面からの漿液・泡沫の流出といった肺水腫を示唆する所見は認められなかった。肺の組織所見では肺胞腔における好酸性泡状物の貯留が特徴的であり（図５）、顕著な充うっ血、肺胞中隔へのリンパ球・形質細胞・マクロファージの重度浸潤も認められた。肺胞腔への細胞浸潤およびⅡ型肺胞上皮細胞の腫大は軽度であった。病原体検索のためにグロコット染色を実施したところ、肺胞腔に酵母様構造物（直径 3-5 µm）が多数確認され、肺胞によっては数十以上の集塊を成す箇所も観察された（図６）。

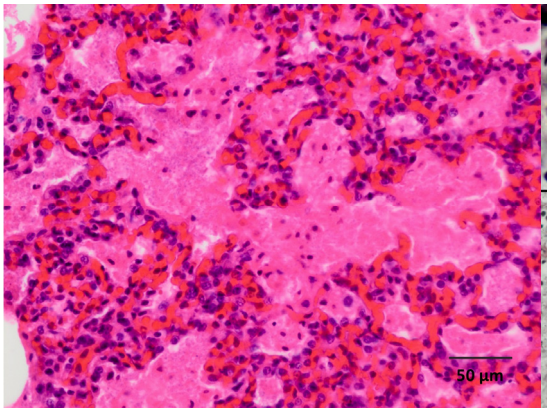


図５：肺胞腔における好酸性泡状物
（HE 染色）

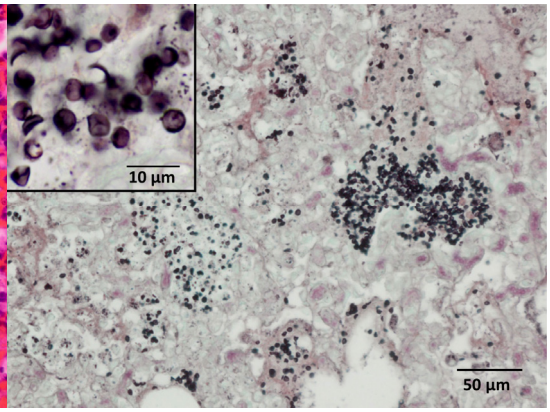


図６：肺胞腔に見られた酵母様真菌
（グロコット染色）

【分子生物学的検査所見】

肺組織乳剤およびBALF（競走馬例のみ）から抽出した遺伝子を用いたPCR検査において、いずれの検体からも *P. carinii* 特異遺伝子が検出された。また、Pneumocystis 属は由来動物により宿主特異性が高いことが知られているため、競走馬例のBALFを用い18S rRNA遺伝子の塩基配列を用いた分子系統解析も実施した。得られた結果をヒトおよび動物由来の Pneumocystis 属と比較したところ、競走馬例に感染していた *P. carinii* は、比較した他動物由来のPneumocystis属と分類学的位置が類似することが示された（図７）。

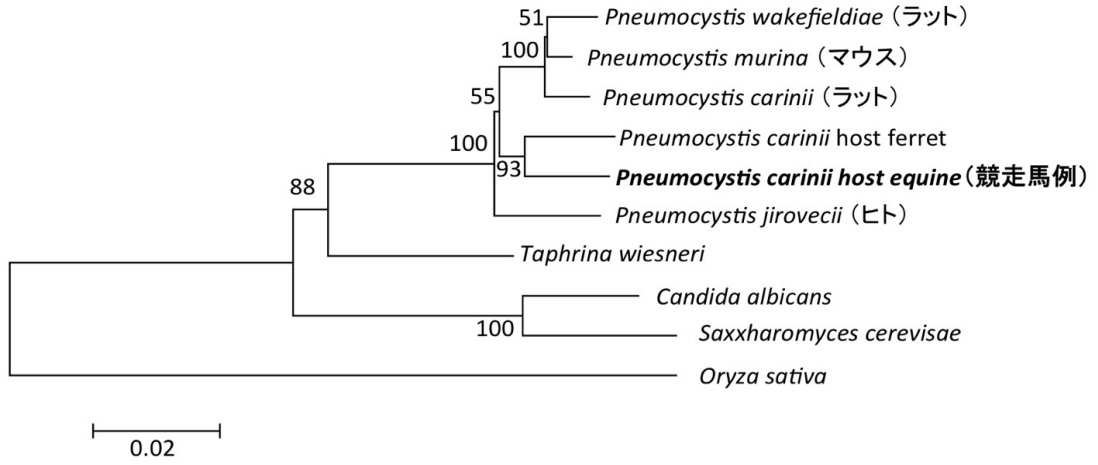


図７：18s rRNA 系統樹解析

【まとめ】

今回競走馬および子馬で経験したニューモシスチス肺炎は、体温上昇、呼吸数増加などの症状、さらに呼吸器感染症を疑い投与した抗菌薬に反応しない等の臨床所見の類似が見られた。

病理組織学的に、いずれも *P. carinii* 感染を伴う重度の間質性肺炎を発症していたことが明らかとなったが、2 例の病変には組織学的に相違が見られ、子馬例では急性の呼吸不全を示唆する所見が、競走馬例では肺胞中隔の線維化に代表される慢性病変が認められた。成馬におけるニューモシスチス肺炎の発症報告はわずかであり、今回の競走馬例は貴重な症例であると考えられた。一方子馬例は、既報と同様の臨床症状・病理所見を示しており、本例は子馬におけるニューモシスチス肺炎の典型例であると考えられた。また *P. carinii* は分離培養法が未確立であることから、抗菌薬非反応性肺炎の鑑別診断には気管支肺胞洗浄液を用いた細胞診や PCR 検査による *P. carinii* 感染の確認が必要であると考えられた。

４）ウマヘルペスウイルス５型感染と多結節性肺線維症

JRA 競走馬総合研究所　栃木支所　分子生物研究室
辻村行司

馬多結節性肺線維症（EMPF）は、多数の線維性結節性病変を伴う間質性肺炎で、病変部にウマヘルペスウイルス５型（EHV-5）を検出するものと定義されている[1)]。現在までのところ、EHV-5 が EMPF 発症の直接あるいは間接的な原因となっているかどうか不明であるが、何らかの関連が疑われている。当初、米国でのみ症例が報告されていたが、その後はヨーロッパでも発生が認められている[2)]。日本国内では昨年、千葉県で乗馬の EMPF 症例が報告された。本講演では、同症例を参考にして、EMPF の病理学的特徴を紹介するとともに、現行の生前診断法および治療法の有用性を検討し、今後研究が必要な課題を明らかにしたい。

【ウマヘルペスウイルス】

これまでに、5 種類のヘルペスウイルスがウマ（*Equus caballus*）から分離されている[3)]。これらのうち、α ヘルペスウイルス亜科に属する、EHV-1、3 および 4 はウマに様々な疾患を引き起こすが、γ ヘルペスウイルス亜科に属する EHV-2 と EHV-5 の病原性は現時点で不明である[4)]。その理由は、両ウイルスが大半のウマに潜伏感染し、健常馬からも高率に分離されることにある。ただし、EHV-2 は、当歳馬の上・下気道疾患、角結膜炎、慢性濾胞性咽頭炎や、成馬での poor performance syndrome との関連が疑われている。一方、EHV-5 は存在が確認されたのが比較的最近で、EHV-2 と比べると研究が進められていなかったが、近年、EMPF との関連が疑われている。

【EMPF の病理学的特徴（千葉県の症例）】

［症例の概要］症例は、サラブレッド乗馬（騸、23 歳）で、2011 年 7 月 3 日に、発熱、頻呼吸、頻脈、脱水、血圧低下、起立困難等の症状のため獣医師の診察を受けた。その後、継続して治療が行われたが、予後不良のため、2011 年 7 月 21 日に安楽死処置され、千葉県中央家畜保健衛生所で病理解剖が行われた。

［検査所見］両側肺が退縮不全で、表面および割面において小豆から空豆大の境界不明瞭で硬結感のある白色結節が多発していた（図 1、2）。結節病変の組織学的検索では、間質への炎症性細胞の浸潤ならびに膠原線維の増生、また、肺胞では上皮細胞の過形成、内腔へのマクロファージおよび好中球の高度の浸潤が認められた（図 3、4）。肺胞内のマクロファージの一部には、ヘルペスウイルスで特徴的なハローの明瞭な核内封入体が確認され（図 5：矢印）、*in situ* hybridization を行ったところ、核内封入体に EHV-5 gH 遺伝子に対する陽性反応が検出された（図 6：矢印）。さらに、併せて実施された肺の微生物学的検査で、細菌培養陰性、ならびに EHV-5 の PCR 検査・ウイルス分離陽性の成績も得られたことから、本症は EMPF と診断された。

図1．肺

図2．肺（割面）

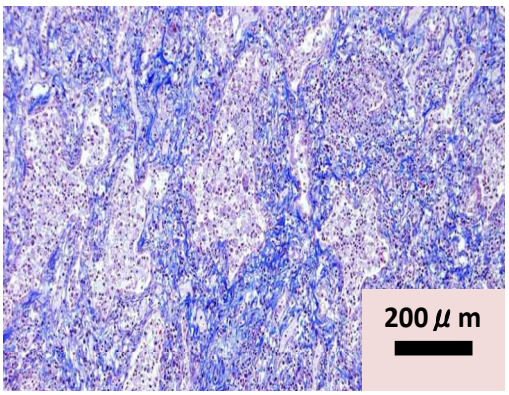


図3．肺（マッソントリクローム染色）

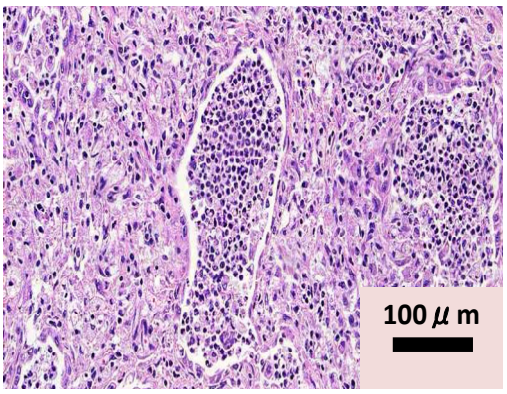


図4．肺（HE染色）

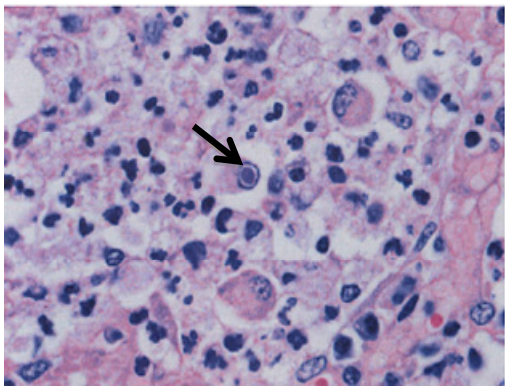


図5．肺（HE染色）
矢印：核内封入体

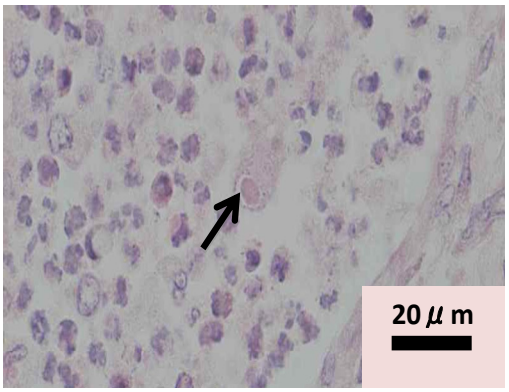


図6．肺（*in situ hybridization*）
矢印：EHV-5 gH遺伝子に対する陽性反応

写真提供：千葉県中央家畜保健保健衛生所

【現行の生前診断法および治療法】

［生前診断法］臨床症状や血液検査成績、さらに画像診断成績（胸部レントゲン・エコー検査）から、他の肺炎との鑑別を行うことは困難である。そこで、確定診断のために、肺バイオプシー検査が行われる[5)]。得られた材料の病理組織検査で、炎症性細胞の浸潤を伴う間質での膠原線維増生、肺胞上皮細胞の過形成および肺胞腔への好中球とマクロファージの浸潤等が確認され、一部のマクロファージに核内封入体を認める場合がある。また、より非侵襲的な方法としては、気管支肺胞洗浄液（BALF）の検査も有用と考えられ、細胞診で核内封入体を持つマクロファージを認める場合がある。さらに、バイオプシー材料あるいはBALFについて、細菌・真菌培養検査で陰性を確認し、PCR検査でEHV-5遺伝子が検出されることで、EMPFと診断される。

［治療法］大半の症例が予後不良とされるが、これまでに報告のあった治癒例では、ステロイド系あるいは非ステロイド系の抗炎症薬と、抗ヘルペスウイルス薬の投与が、長期間行われていた[5,6)]。ただし、これらの投薬に関しては、ステロイド剤の長期投与による副作用の問題や、抗ヘルペスウイルス薬のEHV-5に対する効果が証明されていないことについて、今後検討する必要がある。

【現状の課題】

日本国内での本症の発生リスクを評価するために、国内馬群におけるEHV-5の浸潤状況を調査する必要がある。次に、生前診断で有用とされるPCR検査法であるが、潜伏感染ウイルスを検出する可能性がある。したがって、定量的なPCR法で決定したウイルス量を指標として、潜伏感染と活動性の感染を区別する診断基準の設定が必要と考えられる。治療に関しては、抗ヘルペスウイルス薬の投与量を決定するため、*in vitro*におけるEHV-5の同薬に対する感受性を明らかにする必要がある。最後に、最も重要な課題は、EHV-5のEMPF発症への直接あるいは間接的関与を証明することであり、そのためには、潜伏感染ウイルスの活性化にかかわる要因の探索や、EHV-5感染に対する宿主の免疫反応の解析等を行う必要がある。

【謝辞】

本講演にあたり、千葉県内でのEMPF症例に関する貴重な情報および病理写真のご提供をいただいた千葉県中央家畜保健衛生所　木下智秀先生、関口真樹先生、大坪岳彦先生、ならびに椎名動物病院　椎名紀夫先生に深謝申し上げる。

【参考文献】

1) Williams, K. J. *et al.* (2007): Vet. Pathol. 44, 849-862.

2) Dunkel, B. (2012): Equine Vet. Educ. 24, 200-205.

3) Allen, G. P. *et al.* (2004): *In*: Infectious Diseases of Livestock, pp. 829-859.

4) Allen, G. P. and Murray, M. J. (2004): *In*: Infectious Diseases of Livestock, pp. 860-867.

5) Wong, D. M. *et al.* (2008): J. Am. Vet. Med. Assoc. 232, 898-905.

6) Schwarz et al. (2012): Equine Vet. Educ. doi: 10.1111/j.2042-3292.2012.00425.x

５．共同研究実施概要

１）感染症の新規診断法開発のための分子生物学的基礎研究―馬パラチフス菌の全ゲノム塩基配列の決定―

独立行政法人　農業・食品産業技術総合研究機構
動物衛生研究所　細菌・寄生虫研究領域
秋庭正人、楠本正博、岩田剛敏
JRA 競走馬総合研究所　栃木支所　微生物研究室
丹羽秀和，木下優太，針生和久

【背景と目的】

馬パラチフスは *Salmonella* Abortusequi（SA）を原因菌とし、妊娠後期の流産を主徴とする馬の伝染病で、家畜伝染病予防法では届出伝染病に指定されている。わが国における発生頭数は 2006 年以降、10 頭以下で推移していることや、海外での発生報告がほとんどないことなどから、馬パラチフスは SA 感染馬の摘発・淘汰で撲滅可能な段階にあると考えている。事実、我々は国内外で分離された SA を pulsed-field gel electrophoresis や fluorescent amplified fragment length polymorphism といった手法で解析したところ、国内株は全て同一のパターンを示し、国外株とは区別できることを以前、報告した。

SA は糞便からの排菌がない状態で馬に保菌される場合が多いことや、生化学的性状に他のサルモネラと異なる部分があるので、糞便等からの菌分離が困難である。したがって、摘発・淘汰を進めるためには感度と特異度に優れた血清診断法が必要となる。わが国では馬パラチフス急速診断用菌液が市販されており、これを用いた凝集反応により馬パラチフス感染の有無が検査されている。本法は SA の表面 LPS 抗原、すなわち O4 抗原に対する抗体を検出するもので、血清型 Typhimurium や Agona といった他の O4 群サルモネラ感染と区別することができない。また、国内で分離される SA はクローナリティーの高い集団であり、国内で馬パラチフスが発生した場合、既存の分子疫学的解析手法を用いて感染ルートを特定することができないといった問題もある。

これらの診断および疫学解析上の問題点を解決するため、SA 特異的遺伝子を検出する PCR、SA 特異的抗原を検出する血清診断法、ゲノム上に散在する一塩基多型（SNVs）を利用した型別法等の開発等が必要である。しかしながら、SA の全ゲノム塩基配列は未だ明らかにされておらず、これらの技術開発を行うための障害となっている。そこで、本研究では複数菌株の SA 全ゲノム塩基配列を決定し、上記の技術開発に資することを目的とする。

【材料と方法】

1979 年から 2008 年の間に国内外で分離された SA 12 株をイルミナ社の次世代シークエンサーによる全ゲノム塩基配列解析に供した。得られたドラフトデータからコアゲノム配列中の一塩基多型を抽出し系統解析を行うことで、リファレンスとすべき血清型を選択した。また、供試菌のうち 1 株を制限酵素 NcoI を用いた全ゲノムマッピング解析に供した。リファレンスゲノム配列と全ゲノムマッピング解析データを利用してアッセンブルを行い、コンティグを作成した。配列の途切れたカ所、すなわちギャップは PCR 増幅産物のキャピラリーシークエンサーにより解析した。

【結果と考察】

コアゲノムの SNVs を利用した系統解析の結果、SA はヒナ白痢の原因菌である血清型 Gallinarum (SG) と近縁であることが明らかとなった。そこで、SG の全ゲノム塩基配列をリファレンスとし、全ゲノムマッピングの結果と共にコンティグを整理したところ、内部に 130 カ所のギャップを含む、12 の super contig にまとめることができた。super contig 間のギャップを含め、合計 142 カ所のギャップを埋める作業に着手した。PCR 増幅産物のキャピラリーシークエンサーによる解析により、現在、super contig 内ギャップが残り 2 カ所 (gap 97、gap 124)、super contig 間ギャップが残り 6 カ所となっている (図 1)。なお、8 カ所残っている gap のうち、4 カ所は rRNA オペロンをコードする領域であることが分かっており、7 カ所存在すると推定される rRNA オペロンの位置は特定できた (図 1)。rRNA オペロンには相同配列と非相同配列が混在しているので、全て PCR で増幅し、配列を決定する予定である。

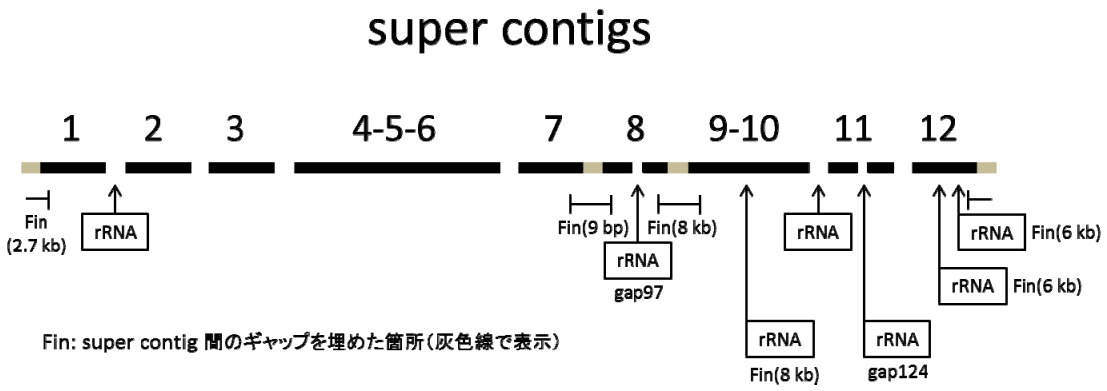


図 1．残されたギャップと rRNA オペロンの位置

【共同研究者】

国立感染症研究所　病原体ゲノム解析研究センター

関塚剛史、黒田誠

佐賀県中部家畜保健衛生所

三好洋嗣

２）感染症の新規診断法開発のための分子生物学的基礎研究―レーザーマイクロダイセクション法を用いた馬感染症の病理学的診断法の検討―

独立行政法人　農業・食品産業技術総合研究機構
動物衛生研究所　病態研究領域
播谷　亮
温暖地疾病研究領域
木村久美子
動物疾病対策センター
小林秀樹
ウイルス・疫学研究領域
小西美佐子
JRA 競走馬総合研究所　栃木支所　微生物研究室
片山芳也、上野孝範、村中雅則、針生和久

【背景と目的】

近年、分子生物学の急速な発展により、病原体の遺伝子情報が多く蓄積され、病原体の同定が容易になっている。この分子生物学的解析法と病理学的検査法を融合させたレーザーマイクロダイセクション法（LMD 法）が、最近、開発実用化された。LMD 法では、病理組織切片を光学顕微鏡で観察しつつ、目的とする細胞領域や病原体の周囲をレーザービームで切り抜き、マイクロチューブに回収することが可能である。そして、この微少な切片組織から遺伝子を抽出して、PCR で病原体の遺伝子を増幅し、さらにこの PCR 産物の塩基配列を解読、機知の遺伝子情報と比較して病原体の同定が可能となる。

本研究の目的は、レーザーマイクロダイセクション（LMD）法を馬感染症の病理学的診断に応用するための基礎的技術を確立することにある。

【材料と方法】

今年度は以下の４点について検討した。

１）　数社の LMD 装置についての性能の比較検討

ライカ LMD6000 とカールツァイス PALM MicroBeam について、組織細胞の回収精度と使い勝手を検討した。

２）　馬ヘルペスウイルス感染培養細胞を用いた LMD 法の検討

馬ヘルペスウイルス 1 感染細胞の Cell block を作製、10％中性緩衝ホルマリンならびに 10%ホルマリンアルコール液で固定、パラフィン包埋切片作成後、

レーザーマイクロダイセクションを実施した。

3） Rodococcus equi と Salmonella Abortusequi 注入組織を用いた LMD 法の検討

Rodococcus equi と Salmonella Abortusequi 注入した正常馬の肝臓を、10%中性緩衝ホルマリンならびに 10%ホルマリンアルコール液で固定、パラフィン包埋切片作成後、レーザーマイクロダイセクションを実施した。

4） 馬の感染性疾病組織の収集

JRA 競走馬総合研究所栃木支所微生物研究室の生産地疾病調査に同行し、馬の感染性疾病組織を収集した。

【結果と考察】

1） 数社の LMD 装置についての性能の比較検討

2） ライカ LMD6000 とカールツァイス PALM MicroBeam の組織細胞回収精度と使い勝手には差がないことが明らかになった。また、LMD 法では、レーザー強度、絞り及び速度の調整が肝要であることが再認識された。

2） 馬ヘルペスウイルス感染培養細胞を用いた LMD 法の検討

馬ヘルペスウイルス 1 感染細胞 10 個、100 個、1,000 個および 10,000 個をパラフィン切片から採取可能であることが明らかになった（図）。今後、組織からの遺伝子抽出、遺伝子の検出および遺伝子量の計量を実施する。

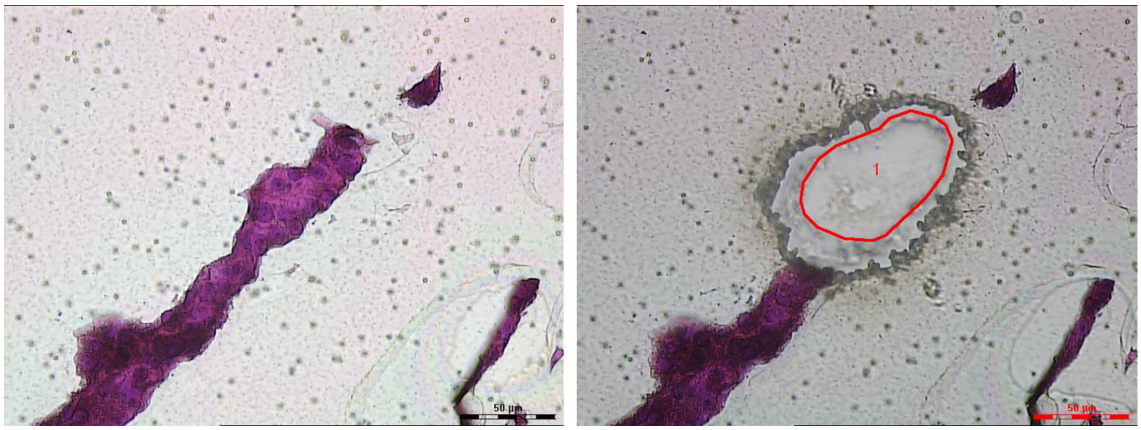


図　馬ヘルペスウイルス 1 感染細胞約 10 個を LMD 法により採取。

３） Rodococcus equi と Salmonella Abortusequi 注入組織を用いた LMD 法の検討

Rodococcus equi と Salmonella Abortusequi 100 個、1,000 個、10,000 個および 100,000 個をパラフィン切片から採取可能であることが明らかになった。今後、組織からの遺伝子抽出、遺伝子の検出および遺伝子量の計量を実施する。

４） 馬の感染性疾病組織の収集

JRA 競走馬総合研究所栃木支所微生物研究室の生産地疾病調査に同行し、馬の感染性疾病組織を収集した。その結果、馬疾病 23 組織を収集、10％中性緩衝ホルマリンまたは10%ホルマリンアルコール液で固定､パラフィン包埋した。

【共同研究者】

愛媛県家畜病性鑑定所

稲垣明子

６．感染症に関する情報交換

１）国内外における馬の伝染病の発生状況

JRA 馬事部防疫課
太田　稔

１．国内における伝染病発生状況

過去 10 年間の日本国内における伝染病発生状況

	馬伝染性貧血	日本脳炎	破傷風	馬ﾊﾟﾗﾁﾌｽ	馬鼻肺炎（流産）	馬ｲﾝﾌﾙｴﾝｻﾞ	馬伝染性子宮炎
2002	0	0	3	0	10	0	4
2003	0	1	4	1	25	0	2
2004	0	0	10	9	16	0	1
2005	0	0	4	11	23	0	1
2006	0	0	5	2	26	0	0
2007	0	0	3	2	21	1061	0
2008	0	0	3	10	23	183	0
2009	0	0	6	2	27	0	0
2010	0	0	0	0	44	0	0
2011	2	0	1	0	14	0	0

２．2011 年　海外における伝染病発生状況

- 馬ｲﾝﾌﾙｴﾝｻﾞ　ｱﾒﾘｶ・欧州各国・中国などで散発的に発生。
  ﾓﾝｺﾞﾙで 103 件 74,608 頭の大規模な発生があり、40 頭が死亡。
- 馬ﾍﾙﾍﾟｽｳｲﾙｽ感染症　ｱﾒﾘｶ・欧州各国・ｱﾙｾﾞﾝﾁﾝ・ﾁﾘ・ﾄﾙｺ・南ｱﾌﾘｶなど。
- 馬伝染性子宮炎　ｱﾒﾘｶ 1 頭・ﾄﾞｲﾂ 7 頭・ﾌﾗﾝｽ 2 頭・ｽｳｪｰﾃﾞﾝ 1 頭・南ｱﾌﾘｶ 3 頭など。
- 馬伝染性貧血　ｱﾒﾘｶ 82 頭・ｲﾀﾘｱ・ﾄﾞｲﾂ・ｷﾞﾘｼｬなど。
- 馬ﾋﾟﾛﾌﾟﾗｽﾞﾏ病　ﾌﾗﾝｽ・ｲﾀﾘｱ・ｽﾍﾟｲﾝ・UAE・南ｱﾌﾘｶなどでは風土病。
- 馬ｳｲﾙｽ性動脈炎　ｱﾒﾘｶ 9 頭・ｱｲﾙﾗﾝﾄﾞ 17 頭・ﾌﾗﾝｽ 6 頭・ﾄﾞｲﾂ 2 頭・ｽｳｪｰﾃﾞﾝ 3 頭。
- ｳｴｽﾄﾅｲﾙｳｲﾙｽ感染症　ｱﾒﾘｶ 87 頭・ｲﾀﾘｱ 234 頭・ｽﾍﾟｲﾝ 12 頭など。ｷﾞﾘｼｬでも発生。
- 水胞性口炎　報告なし。
- ｱﾌﾘｶ馬疫　南ｱﾌﾘｶでは風土病。
- 狂犬病　ｱﾙｾﾞﾝﾁﾝ 5 頭。
- ﾍﾝﾄﾞﾗｳｲﾙｽ感染症　ｵｰｽﾄﾗﾘｱ 23 頭。

（International Collating Center, OIE などからの情報）

２）　馬の輸出入検疫状況

農林水産省動物検疫所
中尾哲也

１．　過去５年間（平成 19 年～23 年）の輸出入検疫状況

我が国への馬の輸入頭数は平成 11 年以降、毎年 4,000 頭を上回り、平成 18 年には 6,000 頭を上回っていたが、平成 23 年は 3,710 頭(対前年比 70.1%)と 13 年ぶりに 4,000 頭を下回った。

用途別にみると、繁殖用が 94 頭(75.8%)、競走用が 186 頭(112.7%)、乗用が 183 頭(81.7%)、肥育用が 3,247 頭(67.9%)であり競走用以外減少している。特に肥育用の減少数が大きく、全体の減少の主な要因となっているが、それでも全輸入頭数の 9 割近くを占めている。と畜場直行用は平成 18 年に 85 頭輸入された以後、輸入の実績はない。

仕出国別の過去５年間の輸入頭数の合計では、繁殖用はアメリカ 334 頭に次いでカナダ 236 頭、イギリス 199 頭となっているが、カナダは重種馬であり、軽種馬はアメリカ、イギリスがほとんどとなっている。競走用もアメリカ 567 頭に次いでイギリス 114 頭となっており、乗用はベルギー471 頭、オーストラリア 148 頭、ドイツ 140 頭の順となっている。また、肥育用馬は平成 16 年までアメリカから輸入されていたが、平成 17 年以降はカナダからのみ輸入されている（表１参照）。

平成 23 年の輸出頭数は、141 頭(対前年比 83.4%)と前年に比較すると大幅に減少している（表２参照）。仕向国別では、中国 43 頭(48.3%)、韓国 26 頭(288.9%)、シンガポール 19 頭(146.2%)、イギリス 16 頭(800.0%)、香港 12 頭(100.0%)等となっている。中国向けは東日本大震災と原発事故の影響を受け半減したものの、平成 22 年に続き最多となっている。

表1　用途別・仕出国別輸入頭数（平成19年～23年）　　単位：頭数

用　途	仕出国	年別輸入頭数					
		平成	平成20年	平成21年	平成22年	平成23年年	合　計
繁殖	アメリカ	83	84	45	81	41	334
	イギリス	24	64	59	27	25	199
	カナダ	181	55	0	0	0	236
	オーストラリア	30	8	5	3	8	54
	アイルランド	1	1	0	1	0	3
	フランス	3	0	0	9	8	20
	その他の国	1	0	0	3	12	16
	小　計	323	212	109	124	94	862
乗用	ベルギー	71	96	93	121	90	471
	オーストラリア	35	32	35	23	23	148
	アメリカ	13	10	22	23	17	85
	ドイツ	14	21	33	37	35	140
	ニュージーラン	11	2	5	5	13	36
	フランス	1	2	3	8	4	18
	その他の国	3	0	0	7	1	11
	小　計	148	163	191	224	183	909
競走	アメリカ	139	120	83	105	120	567
	イギリス	36	30	14	14	20	114
	オーストラリア	15	22	15	10	14	76
	アイルランド	0	0	0	2	1	3
	香港	7	9	5	8	9	38
	フランス	3	5	4	14	16	42
	ｱﾗﾌﾞ首長国連	7	4	5	4	4	24
	その他の国	7	9	7	8	2	33
	小　計	214	199	133	165	186	897
肥育	カナダ	5,302	4,101	4,013	4,781	3,247	21,444
	アメリカ	0	0	0	0	0	0
	小　計	5,302	4,101	4,013	4,781	3,247	21,444
直行用	カナダ	0	0	0	0	0	0
	小　計	0	0	0	0	0	0
その他	フランス	0	0	36	0	0	36
	ドイツ	0	0	0	0	0	0
	アメリカ	0	13	0	0	0	13
	その他の国	0	0	0	0	0	0
	小　計	0	13	36	0	0	49
合　計		5,987	4,688	4,482	5,294	3,710	24,161

表2　用途別輸出頭数(平成19年～23年)　　単位：頭数

用　途	年別輸出頭数					
	平成19年	平成20年	平成21年	平成22年	平成23年	合　計
繁殖	41	38	10	66	46	201
乗用	4	0	16	52	40	112
競走	73	81	53	51	54	312
肥育	0	0	0	0	0	0
その他	0	0	36	0	1	37
合　計	118	119	115	169	141	662

２．疾病の摘発状況

平成 23 年には、家畜伝染病ではアメリカ産競走用馬 1 頭が馬ピロプラズマ病（バベシア・カバリ）の血清学的検査（CF 及び IFA）で、疑似患畜として摘発され自衛殺処分となっている。届出伝染病では馬パラチフスの血清学的検査（試験管凝集反応）によって 9 頭が摘発され、4 頭の肥育用（カナダ産）が自衛殺処分、1 頭の繁殖用（アメリカ産）及び 4 頭の乗用（ドイツ及びニュージーランド産）が再検査で陰性を確認し解放となっている。また、ドイツ産乗用馬 1 頭が馬ウイルス性動脈の血清学的検査（中和試験）で摘発され、自衛殺処分となっている。さらに、カナダ産肥育用馬 1 ロットで 14 頭が馬インフルエンザで摘発され、係留中死亡した 2 頭を除く 12 頭が再検査で陰性を確認され解放となっている（表 3 参照）。

表3　過去5年の輸出入馬疾病摘発状況　　単位：頭数

	平成19年	平成20年	平成21年	平成22年	平成23年	合　計
馬ピロプラズマ病	－	－	1	－	1	2
馬伝染性貧血	－	－	－	－	－	－
馬パラチフス	5	5	7	1	9	27
馬ウイルス性動脈炎	1	111	2	－	1	115
馬鼻肺炎	1	33	－	－	－	34
馬インフルエンザ	－	－	14	7	14	35

３．馬の検疫を巡る最近の話題

馬インフルエンザ摘発事例

動物検疫所における馬インフルエンザ検査対応については、平成 19 年の国内発生に伴い、同年 9 月から肥育用馬を除く輸入馬について入検時に迅速抗原検査(以下「簡易検査」)を実施し、陽性であった場合には RT-PCR を実施しており、平成 20 年 11 月からは、肥育用馬についても全頭実施していた。さらに平成 21 年 11 月からは、簡易検査と RT-PCR の双方を入検時に行っている（ただし、肥育用馬は簡易検査が全頭陰性の場合は RT-PCR を省略している）。その他、本病を疑う症状を認めた場合にも簡易検査及び RT-PCR を実施している。

平成 21 年にカナダ産肥育用馬で 3 件、22 年には欧州産乗用馬で 1 件摘発されているが、23 年は 12 月に鹿児島空港出張所で係留検査を行ったカナダ産肥育用馬 89 頭で摘発された。当該馬群は検疫 1 日目に全頭に行われた簡易検査で 11 頭が陽性となり、翌日、臨床症状を示した 7 頭に行った簡易検査でも 3 頭が陽性となった。また、これら 14 頭からは r RT-PCR で A 型インフルエンザ特異遺伝子が検出された。14 頭を隔離した後、全頭について 7 日間隔で 2 回簡易検査及び r RT-PCR を行ったところ 1 回目の r RT-PCR では 14 頭中 10 頭が弱陽性、1 頭が陽性となったものの、2 回目の検査で全頭の陰性が確認できたため、馬インフルエンザウイルスをひろげるおそれはないものと判断し、検疫 17 日目に解放した。なお、摘発された 14 頭中の 2 頭が係留中に肺炎で死亡したため解放頭数は 87 頭となった。また、14 頭の摘発馬について発育鶏卵接種によりウイルス分離を行ったところ 8 頭からウイルスが分離され、その後の解析で H3N8 亜型フロリダ亜系統 Clade 1 に属することが判明した。分離株を用いて検疫 1 日目及び 15 日目の HI 抗体価を測定したところ、摘発馬を含む 43 頭で有意な上昇が認められ、馬群全体の GM 値は 1 日目が 12．7 倍、15 日目は 48.8 倍と上昇していた。このことから馬群内でのカナダ出発直前の流行が推察された。また、日本到着一ヶ月前に全頭にワクチン接種が行われていたにもかかわらず、40 倍以上の抗体価の個体は 16 頭と少なく、馬群として十分な感染防御能を保有していなかった。今後もカナダからは大量の肥育用馬の輸入が行われることが予想され、今回と同様な免疫状態の馬群の輸入も少なくないと思われるため、日本到着後の検査が重要であり、さらなる検査体制の整備が望まれるところである。

３）馬用の生物学的製剤の検定状況および動物用インフルエンザワクチン国内製造用株選定委員会の議事概要

農林水産省動物医薬品検査所
蒲生恒一郎

平成 19～23 年度の５年間に動物医薬品検査所が実施した馬用生物学的製剤の検定状況および本年４月に開催された動物用インフルエンザワクチン国内製造用株選定委員会の概要について、紹介する。

１．馬用生物学的製剤の検定状況

（１）馬用ワクチンの国家検定状況

平成19～23年度の５年間における馬用ワクチンの国家検定のロット数の推移を表１に示した。検定申請があったワクチンは、馬インフルエンザ不活化ワクチン、馬鼻肺炎不活化ワクチン、馬ロタウイルス感染症不活化ワクチン、日本脳炎・ゲタウイルス感染症混合不活化ワクチン、馬インフルエンザ・日本脳炎・破傷風混合不活化ワクチン、破傷風トキソイド、および馬ウイルス性動脈炎不活化ワクチンの７製剤である。各製剤ともに検定申請ロット数に大きな変動は無かった。

なお、シードロットシステムにより承認された馬用ワクチンは無い（平成 24 年 9 月 6 日現在）。

表１　馬用ワクチンの国家検定ロット数

製剤名	H19	H20	H21	H22	H23
馬インフルエンザ	5	4	4	2	3
馬鼻肺炎	2	3	1	2	2
馬ロタウイルス感染症	1	1	1	1	1
日脳・ゲタウイルス感染症	1	1	0	1	1
馬インフルエンザ・日脳・破傷風	2	3	3	3	2
破傷風トキソイド	1	0	1	1	1
馬ウイルス性動脈炎	1	1	1	1	1

平成 21 から 23 年度に国家検定に合格した製剤別数量（dose）を表２に示した。検定合格数量も大きな変動は無かった。

表２　馬用ワクチンの国家検定合格数量（dose）

製剤名	H21	H22	H23
馬インフルエンザ	88,922	60,098	66,296
馬鼻肺炎	14,437	32,378	31,348
馬ロタウイルス感染症	9,600	6,925	11,740
日脳・ゲタウイルス感染症	0	25,900	11,340
馬インフルエンザ・日脳・破傷風	63,455	64,497	48,557
破傷風トキソイド	4,440	4,184	4,124
馬ウイルス性動脈炎	3,025	3,025	3,025

（２） 馬用診断液および血清の国家検定ロット数

平成19～23年度の馬用診断液及び血清の国家検定ロット数の推移を表３に示した。

表３　馬用診断液および血清の国家検定ロット数

製剤名	H19	H20	H21	H22	H23
馬伝染性貧血診断用抗原	2	3	2	2	1
馬伝染性貧血酵素抗体反応キット	1	1	0	0	0
馬パラチフス診断用菌液	1	1	1	1	1
破傷風抗毒素	1	1	0	1	1

２．動物用インフルエンザワクチン国内製造用株選定委員会の概要

（１） 設立の趣旨および経緯

動物用インフルエンザワクチン国内製造用株の定期的な見直しおよび製造用株の選定を行い、野外流行株に有効なインフルエンザワクチンを確保するため、平成22年９月に動物医薬品検査所内に設置された。

（２） 国内製造用株変更・株選定の手順

① 株変更の要否の決定

・畜水産安全管理課長が動物医薬品検査所長（所長）に製造用株の変更の要否及び選定を依頼

・所長は株選定委員会を開催し、株変更の必要性を検討

② ワクチン候補株の作製

・研究機関等にワクチン候補株の作製を依頼

③ ワクチン候補株の製造用株としての適性確認

・所長は民間団体等へ製造用株としての適性試験の実施を依頼

・所長は株選定委員会を開催し、ワクチン候補株の製造用株としての適性を検討

・所長は製造用株を畜水産安全管理課長へ報告

④ ワクチン株の決定と配布

・畜水産安全管理課長は製造用株決定を通知

・所長は製造用株を製造所社へ配布

（３） 本年４月 26 日に開催された同委員会の概要

OIE（国際獣疫事務局）はワクチンの製造用株として H3N8 亜型フロリダ亜系統のクレード１およびクレード２を推奨している。日本のワクチン製造用株のうち、イバラキ株はクレード１に属している。また、別の製造用株のラプラタ株はクレード２と抗原性状が近いとの研究報告があることから、「現行ワクチン株を変更する必要はない。」との結論となった。

７．研究部会出席者名簿（順不同：62 名）

１．国立感染症研究所　細菌第二部
　加藤はる

２．（独）農業・食品産業技術総合研究機構　動物衛生研究所
　坂本研一
　山川　睦
　小西美佐子
　播谷　亮
　秋庭正人
　大橋誠一
　早川　潤　　北海道上川家畜保健衛生所
　名部美琴　　兵庫県姫路家畜保健衛生所
　森　将臣　　熊本県中央家畜保健衛生所

３．農林水産省　動物検疫所
　中尾哲也
　尾坂優之
　柴田明弘
　稲垣麻由子
　浅倉将人

４．農林水産省　動物医薬品検査所
　蒲生慎一郎

５．技術部会参加者
　藤井誠一　　北海道胆振家畜保健衛生所
　山本敦子　　北海道日高家畜保健衛生所
　髙山雄司　　北海道渡島家畜保健衛生所
　林　敏展　　青森県青森家畜保健衛生所
　高野儀之　　山形県中央家畜保健衛生所
　阿部有希子　群馬県家畜衛生研究所
　荒井理恵　　埼玉県中央家畜保健衛生所
　三宅結子　　東京都家畜保健衛生所
　井出久浩　　石川県南部家畜保健衛生所
　松尾研太　　佐賀県中部家畜保健衛生所
　野村真知子　宮崎県宮崎家畜保健衛生所

６．千葉県中央家畜保健衛生所
　木下智秀

７．（財）日本生物科学研究所
　大森崇司

８．化学及血清療法研究所
山崎憲一
八木　翼

９．（社）日本軽種馬協会
江口貞男

１０．（社）中央畜産会
守永美夫
原田博文

１１．（特）日本中央競馬会
水野豊香
朝井　洋
中西　有
吉成公伸
奥　河寿臣
太田　稔
小平和道
菊地拓也
石川裕博
黒田泰輔
立野大樹

１２．（特）日本中央競馬会　競走馬総合研究所
安斉　了
田嶋義男

１３．（特）日本中央競馬会　競走馬総合研究所　栃木支所
内山孝志
松村富夫
針生和久
成田正一
片山芳也
上野孝範
村中雅則
丹羽秀和
木下優太
近藤高志
山中隆史
辻村行司
根本　学
坂内　天
杉浦健夫

あとがき

本年の馬防疫検討会「馬感染症研究会」は、10 月 1 日（月）から 10 月 5 日（金）にかけて、例年どおり 5 日間の日程でＪＲＡ競走馬総合研究所栃木支所において開催されました。農林水産省消費・安全局動物衛生課、農林水産省動物検疫所、農林水産省動物医薬品検査所、農業・食品産業技術総合研究機構動物衛生研究所、社団法人中央畜産会衛生指導部、ＪＲＡ馬事部防疫課および競走馬総合研究所栃木支所の関係者にご協力をいただき、滞りなく実施することができました。

『技術部会』の開催は、今回で 23 回目になり、11 名の家畜保健衛生所職員ならびに 2 名の動物検疫所職員が参加しました。技術部会では 4 日間という限られた日数の中でできる限り有効な研修を実施したいという意図から、例年通りかなりハードな内容のプログラムを組みましたが、参加者の皆様には熱心に受講していただきました。事務局としましては、参加された皆様方のご意見を参考に研修内容の充実に努め、この研修をより馬の防疫に役立つものにしていこうと考えていますので、今後ともご協力ならびにご支援の程よろしくお願い致します。

『研究部会』は、その前身である『研究懇談会』での 6 回を含めて通算で 29 回目となりました。発表演題は合計で 10 題であり、出席者は 62 名でした。今回の特別講演は、国立感染症研究所の加藤はる先生に「*Clostridium difficile* 感染症について」の演題で講演をお願いしました。*Clostridium difficile* 感染症は、手術直後の馬でしばしば発生する、致命的ないわゆるＸ大腸炎の原因菌として、近年注目を浴びています。本講演では、ヒトにおける下痢症や腸炎の発生機序、診断法、予防法、治療法について、詳細な解説がなされました。今年の研究部会には、これまでにはなかったことですが、トレセンの若手獣医師も参加しており、講演中のみならず、終了後にも活発な質疑応答がなされており、関心の深さがうかがえました。

さて、今回も『技術部会』ならびに『研究部会』において、報告および講演をしていただきました先生方から発表内容をまとめていただき、この講演要旨集を編集しました。原稿を執筆していただきました先生方には心からお礼を申し上げます。本冊子が、今後の馬の防疫に役立つことを希望します。

編集者
小平和道、杉浦健夫、原田博文、松村富夫　（50 音順）

馬飼養衛生管理特別対策事業

日本中央競馬会助成事業
地方競馬益金助成事業

社団法人中央畜産会

〒101-0021
東京都千代田区外神田 2-16-2　第 2 ディーアイシービル 9F
TEL 03-6206-0832　FAX 03-3256-9311