

平成 29 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 29 年 10 月 16 日（月）～10 月 20 日（金）

〔平成 29 年 10 月 16 日（月）～10 月 19 日（木）— 技術部会〕
〔平成 29 年 10 月 20 日（金）— 研究部会〕

会場：日本中央競馬会競走馬総合研究所

平成 29 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 29 年 10 月 16 日（月）～10 月 19 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	—	8
	3) 馬の防疫に関する各都道府県の現状	技	—	12
4.	技術部会出席者名簿	技	—	25

1. プログラム

平成 29 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／農研機構 動物衛生研究部門／日本中央競馬会(JRA)
／公益社団法人 中央畜産会

開 催 日：平成 29 年 10 月 16 日（月）～10 月 19 日（木）

開催場所：JRA 競走馬総合研究所

10 月 16 日（月）

[場所：事務棟大会議室]

進行：額田 紀雄（JRA 馬事部防疫課）

1. 開会挨拶 9 : 50～10 : 00
菊池 栄作（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：秋庭 正人（動物衛生研究部門）
 - 1) 馬の防疫と馬防疫検討会の役割 10 : 10～10 : 25
菊池 栄作（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
岡野 篤（JRA 馬事部防疫課）

— 休憩 —

- 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

— 昼食 —

[場所：事務棟大会議室]

4. 総研施設案内 13 : 00～14 : 00
案内：成田 正一（JRA 総研・企画）

[場所：第 2 研究棟理化学実験室、第 2 第 3 厩舎]

5. 保定法／個体識別法／検体採取法（実習） 14 : 00～17 : 00
講師：前田 達哉（JRA 馬事部防疫課）、辻村 行司、根本 学、坂内 天（JRA 総研・分子）、上野 孝範、丹羽 秀和、越智 章仁、内田 英里（JRA 総研・微生物）

10月17日(火)

[場所：第2研究棟理化学実験室]

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・分子)
7. 病理解剖法 (講義) …………… 13:00~13:30
講師：上野 孝範 (JRA 総研・微生物)

[場所：病理検査棟]

8. 病理解剖法 (実習) …………… 13:30~17:00
講師：上野 孝範、越智 章仁、片山 芳也 (JRA 総研・微生物)

10月18日(水)

[場所：第2研究棟理化学実験室]

9. 細菌感染症—1 (講義) …………… 9:00~10:00
講師：丹羽 秀和、内田 英里 (JRA 総研・微生物)
10. 細菌感染症の検査法—1 (実習) …………… 10:00~12:00
講師：丹羽 秀和、内田 英里 (JRA 総研・微生物)
11. 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・分子)

10月19日(木)

[場所：第2研究棟理化学実験室]

12. 細菌感染症の検査法—2 (実習) …………… 9:00~10:00
講師：丹羽 秀和、内田 英里 (JRA 総研・微生物)
13. 細菌感染症—2 (講義) …………… 10:10~11:00
講師：丹羽 秀和、内田 英里 (JRA 総研・微生物)
14. 原虫感染症 (講義) …………… 11:10~12:00
講師：片山 芳也 (JRA 総研・微生物)
15. 寄生虫症 (講義) …………… 13:00~13:50
講師：越智 章仁 (JRA 総研・微生物)
16. ウイルス感染症—1 (講義) …………… 14:00~14:50
講師：山中 隆史 (JRA 総研・分子)
17. ウイルス感染症—2 (講義) …………… 15:00~15:50
講師：山中 隆史 (JRA 総研・分子)

[場所：事務棟大会議室]

18. 意見交換・閉会挨拶 …………… 16:00~17:00
司会：額田 紀雄 (JRA 馬事部防疫課)

2. 開会挨拶

農林水産省消費・安全局動物衛生課防疫業務班
課長補佐
菊池 栄作

平素から家畜疾病の防疫にご尽力いただきまして感謝申し上げます。平成 29 年度馬防疫検討会「馬感染症研究会・技術部会」の開催にあたり、一言ご挨拶させていただきます。

海外では馬伝染性貧血をはじめとした馬産振興に大きな影響を与える疾病が発生している状況において、交通手段の発達による輸送先の多元化および競走馬・乗馬等の国際交流の活発化といった背景により、年間約 4,000 頭の馬が輸入されており、伝染性疾病の侵入機会は増加しています。

馬伝染性疾病の防疫は、他の畜種と同様に動物検疫の徹底と、都道府県等が行う診断技術の向上、新たな診断技術の確立、ワクチン及び診断薬等の防疫資材の開発を推進することが重要となります。馬伝染性疾病に対するより効果的かつ効率的な防疫措置が求められている中、馬伝染性疾病まん延防止の拠り所となる試験・研究体制については、中央競馬会等の一部の機関に依存せざるを得ない状況です。このような状況の中、馬伝染性疾病に関する防疫及び診療等について、国および中央競馬会の関係者の中で検討を重ね、国と中央競馬会の馬防疫関係者による、馬の防疫診断及び試験・研究について積極的な意見交換と調整を行い、わが国の馬産振興に資するものとして、平成元年に本検討会が設置されました。

主要国において発生している多くの馬伝染性疾病について、我が国は清浄化を達成または長期間発生がない状況です。これは、中央競馬会、動物衛生研究部門、都道府県、動物検疫所等の関係者の皆様が連携して精力的に取り組んだ結果であり、改めて関係者の皆様に御礼申し上げます。

また、2020 年のオリンピック・パラリンピックの開催に向けた準備を、関係者の皆様と推進しております。

本日は、馬防疫に科学的知見をもって直接携わる関係者の皆様がお集まりになっており、今後の馬の防疫対応のより一層の充実と推進に寄与することができるよう、活発な意見交換がなされることを祈念しております。また、特に都道府県担当者におかれましては、本研修で得た知見及び経験を持ち帰り、都道府県の状況を踏まえた対応に生かして頂きますよう、お願いいたします。

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
菊池 栄作

【馬防疫検討会の設立趣旨】

軽種馬及び肉用馬等の輸入増加、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、競走馬及び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いる。

一方、馬飼養の主体が農用馬から競走馬へと変化しており、今後一層の馬伝染性疾病の効果的且つ効率的な防疫措置が求められる状況の中、馬伝染性疾病の防疫のよりどころとなる試験研究体制は、近年、一部の機関に依存せざるを得ない状況となっている。

このような状況下、馬伝染性疾病の防疫は他畜種と同様、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対する診断技術の確立と、ワクチン・診断薬等の防疫資材の開発及び実用化を並行して推進することが重要である。

馬伝染性疾病に関する防疫及び診断は、基本的には法に基づき国及び都道府県が行う防疫対応を推進し、他方、馬伝染性疾病に関する中央競馬会の試験・研究体制の充実、係る成果の蓄積を踏まえ、中央競馬会関係機関との試験研究に係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、馬関係疾病の防疫及び診断等につき、国及び中央競馬会関係者間において今後の効果的且つ効率的な進め方について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。

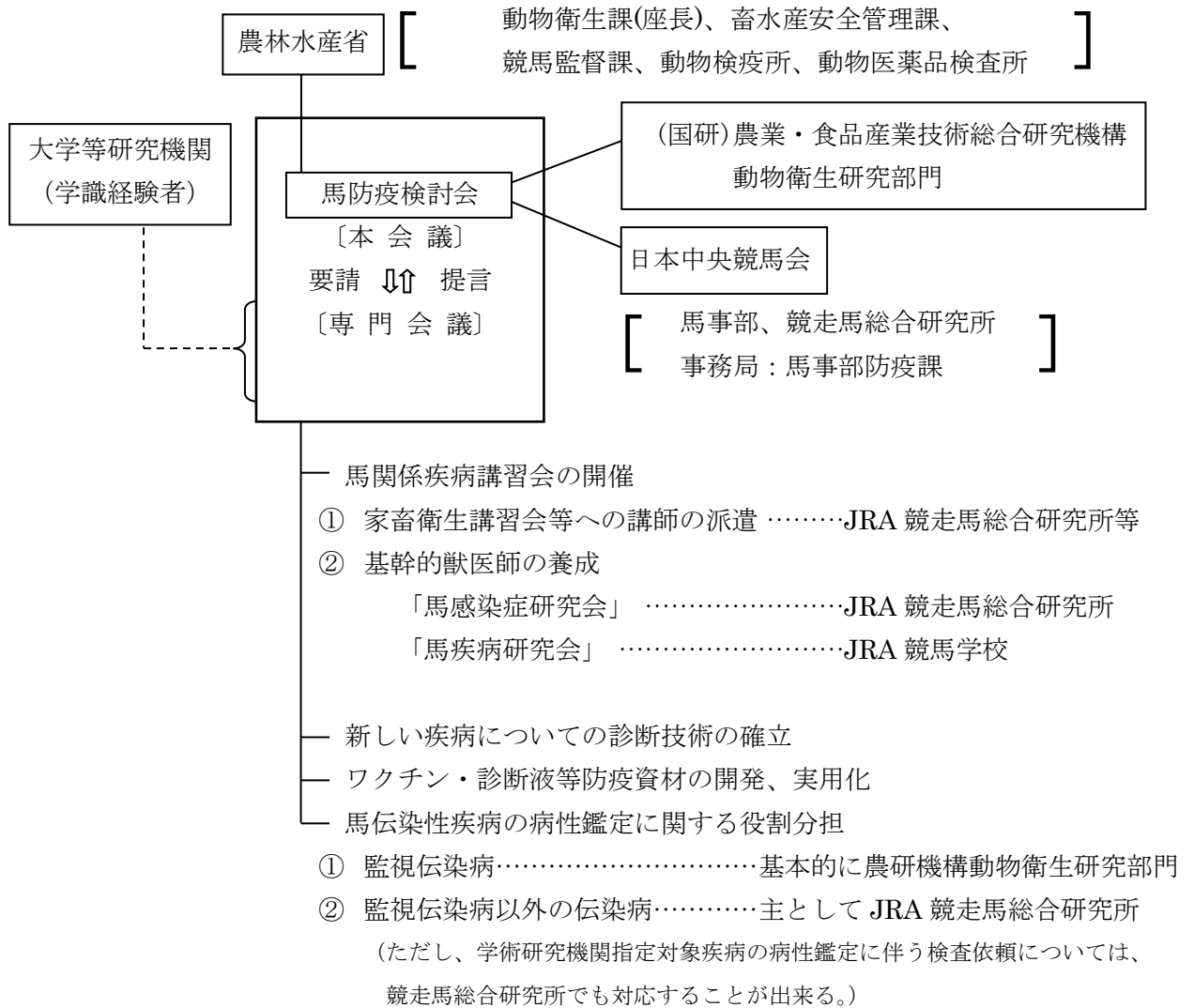
「馬防疫検討会」運営規程

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
平成26年2月4日 改正
平成28年1月1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、国立研究開発法人 農業・食品産業技術総合研究機構 動物衛生研究部門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) 国立研究開発法人 農業・食品産業技術総合研究機構
動物衛生研究部門
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
 平成 28 年 1 月 1 日 改正



- [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

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 馬バラチフス病の診断	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 馬ヒロプラズマ病の診断	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、パペシア・ハリおよびエイ陽性馬の国内における存在を否定
5 馬インフルエンザ ^a 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/Kentucky/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-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グ法としての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 スクリーニング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 馬インフルエンザ ^a 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 馬ヒロプラズマ病抗体測定用エライザキット	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のスクリーニング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 馬インフルエンザ ^a 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ダ亜系統株導入)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(フロリダ亜系統株導入)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 馬インフルエンザ ^a 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)	平成25年1月21日～平成25年11月7日(2回)	① 馬伝染性貧血の清浄度評価について検討 ② 競走馬をはじめとする種々の馬群の今後の監視体制について検討	① 競走馬・乗用馬などの馬群における清浄性は確認されたが、在来馬の一部などについては清浄性の確認に至らなかった ② 競走馬をはじめとする各馬群に対する今後の検査指針が確認された ③ わが国への輸入馬に対する侵入防止策の必要性が確認された
16 馬バラチフスの診断法	平成26年6月11日～平成27年2月23日(2回)	① マイコ凝集反応法(MAT)のプロトコルおよび診断基準の標準化 ② DTT-MATについて専門的に評価	① マイコ凝集反応法は試験管凝集反応法(TAT)の代替法として使用できることを確認。MAT法の標準作業手順書を作成。 ② MAT法及びMAT法で検出された抗体が感染抗体であることを裏付けける方法として有用であることを確認。
17 馬伝染性疾病清浄度評価③(馬伝染性貧血)	平成25年11月8日～平成29年5月10日(1回)	① 「在来馬等馬伝染性貧血清浄性確認事業」の調査結果および全国の検査状況を加味し、わが国の馬群における疫学状況を再評価	① EIA感染馬が存在する可能性は非常に低いと評価され、馬伝染性貧血は清浄化されたと考えるのが妥当という結論に至った ② 日本への輸入馬に関しては、十分な間隔を置いた着地検査中等にEIA検査を実施することが望ましい

2) 軽種馬の防疫と JRA の役割

JRA 馬事部防疫課
岡野 篤

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3月）のワクチン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28年度の接種延頭数は、馬インフルエンザ8,330頭、日本脳炎15,707頭、ゲタウイルス感染症13,504頭、破傷風3,095頭および馬鼻肺炎7,129頭であった。

また、5月と11月の一斉接種に合わせて、全在厩馬の採血（栗東4,033頭、美浦3,942頭）を実施している。併せて、栗東349頭・美浦351頭を対象に家伝法5条に基づく定期検査（馬伝染性貧血検査）を受検した（5月）。

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	5~8月	秋	12月~3月	5~6月	秋	5~6月	秋	
標準	馬インフルエンザ	●	●	◎	○	○			○		○	○	○
	日本脳炎	●	●	○	●	●			●	●	●	●	●
	破傷風	●	●	(○)	○				○		○		
	ゲタウイルス感染症					●	●			○		○	
JRA	馬インフルエンザ	●	●	◎	○	○			○		○	○	○
	日本脳炎	●	●	○	●	●			●	●	●	●	●
	破傷風	●	●	(○)	○						○		○
	ゲタウイルス感染症					●	●		○		○		
	馬鼻肺炎（生）							△	△				



育成馬等予防接種推進事業

●	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 28 年度の検疫延頭数は、栗東 13,146 頭、美浦 13,730 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) 馬インフルエンザ検査（インフルエンザ迅速診断用キット）
 - 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 5 年前の属する年度開始の 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（パコマ・アストップ）、衛生害虫駆除（スチオン・デミソなど）、蚊駆除（電子蚊取器等）、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
輸出検査場所 …… 栗東・美浦トレーニング・センター および
中山・東京・中京・京都・阪神競馬場

II. その他の防疫業務

i) 競走馬総合研究所における研究業務

わが国で唯一の馬の研究所として、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

1. 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。

2. 構成

農林水産省、農研機構 動物衛生研究部門、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。

3. 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) (公社) 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

初回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

初回は使用説明書に基づいて2回接種（基礎免疫）し、翌年からは年1回の補強接種を実施すること。

※ 前年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

JRAの利益剰余金の一部を活用して特別振興事業を実施。特振事業における畜産振興事業は、国の畜産振興政策を補完し、畜産振興に直接的・間接的に資するための事業を民間事業主体等から公募し助成。

※以下、馬防疫関連のみ抜粋（平成29年度）

1. 馬伝染性疾病防疫推進対策事業【中央畜産会】

○育成馬等予防接種推進事業

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ザワクチン接種費用の一部を助成。

○馬ワクチン接種等推進事業

競走馬以外の乗用馬及び農用馬に対し、馬インフルエンザワクチン接種費用の一部を助成。また、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。

2. 馬伝染性子宮炎自衛防疫事業【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。

3. 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ため、各種講習会等を実施。

4. 乗用馬防疫推進事業【全国乗馬倶楽部振興協会】

○乗馬クラブ等で飼養されている乗用馬に対しワクチン（日本脳炎、破傷風、馬インフルエンザ）の接種、馬伝染性貧血の検査を行う。

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日高管内の現状

北海道日高家畜保健衛生所
宮澤 国男

1. 馬の飼養状況

町名	軽種馬		重種		その他		合計	
	戸数	頭数	戸数	頭数	戸数	頭数	戸数	頭数
日高町	175	5,716	6	16	40	158	221	5,890
平取町	14	412	2	8	12	37	28	457
新冠町	128	3,506	2	4	33	80	163	3,590
浦河町	186	4,515	3	10	40	132	229	4,657
様似町	24	330	0	0	4	9	28	339
えりも町	2	2	0	0	5	11	7	13
新ひだか町	234	4,548	12	33	26	85	272	4,666
合計	763	19,029	25	71	160	512	948	19,612

※家畜伝染病予防法第12条の4に基づく定期報告の数字 H29.2.1時点 (合計戸数は延戸数)

2. 馬の防疫実績 (平成28年度)

(1) 馬伝染性貧血検査(法5条) : 273戸 4,778頭

(2) 輸入馬の着地検査(法51条) : 124頭 (種雄馬3頭、繁殖雌58頭、競走62頭、乗用1頭)

※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を検査

3. 馬感染症の発生状況 (平成29年9月30日時点)

(1) 馬鼻肺炎

流産型 : 平成28-29年分娩シーズン (H28年11月~29年5月) 15戸 26頭で流産・生後直死が発生し、うち8戸は単発例、7戸は継続発生例。

神経型 : 発生なし

(H18.3 : 1頭、H19.3 : 1頭、H21.11 : 1頭、H26.1 : 1頭)

(2) ロドコッカス・エクイ感染症

死亡原因 : 10戸 11頭

呼吸器病原因 : 15戸 29頭 (気管洗浄液)

その他 : 膿瘍穿刺液等で2戸 2頭

(3) ローソニア・イントラセルラリス感染症 : 疑い事例 28頭のうち7頭で遺伝子陽性

4. 馬の病性鑑定 (平成28年度)

検査目的	平成28年										平成29年			合計
	4月	5月	6月	7月	8月	9月	10月	11月	12月	1月	2月	3月		
EIA	135	28	17	63	102	58	39	112	59	31	41	48	733	
馬パラ	1	5		58	100	53			28	14	4	4	267	
ERV-CF	3	1		6	5	6	51	14	7	12	15	7	127	
流産	12	2		1	1	7	12	16	30	48	35	20	184	
生後直死	9	12								3	7	13	44	
死亡	5	7	14	6	2	4	2	1	2		2	6	51	
下痢		5	11	2	1	11	6	3		1	1		41	
寄生虫	91	99	81	66	145	25	123	29	78	58	85	66	946	
その他	8	3	30	31	75	107	97	10	7	8	8	57	441	
計	264	162	153	233	431	271	330	185	211	175	198	221	2,834	

5. CEM 清浄性維持・監視のためのサーベイランス (平成28年度)

有症状馬 297頭、繁殖初供用馬 979頭、種牡馬 357頭 (全頭陰性)

【情報提供】

死亡馬にみられた馬アデノウイルス 2 型感染を疑う壊死性偽膜性小腸炎

北海道日高家畜保健衛生所

1. 検査馬 サラブレッド種、平成 29 年 3 月 12 生まれ、雌

2. 経過

当該馬は、平成 29 年 7 月 7 日に死亡し、担当獣医師により原因究明のため当所に搬入された。

3. 病性鑑定成績

(1) 病理解剖学的検査成績

外景：腹部膨満が著しい。

内景：腹腔には食渣、線維素を混じた黄褐色混濁した腹水が大量に貯留し、各臓器の包、漿膜面には線維素の付着が認められた。胃では、ヒダ状縁沿いの無腺部粘膜に出血、潰瘍が認められ、直径 2 cm 大の穿孔が 1 カ所認められた。小腸は筋層が水腫性に肥厚し、粘膜には線維素付着、偽膜形成が認められた。内容物は赤色で粘液状ないしは水様性であった。腸間膜リンパ節は腫大していた。小腸、盲腸及び結腸には回虫の寄生が認められた。

(2) 病理組織学的検査成績

小腸では、粘膜固有層に好中球浸潤がみられた。絨毛が脱落し、出血、線維素の析出を伴い偽膜を形成していた。また、この部分の粘膜上皮細胞には好塩基性の核内封入体がみられた。粘膜下組織は肥厚し、リンパ球や好酸球の浸潤がみられた。胃では、無線部にびらんや好中球浸潤がみられた。小腸や胃の漿膜には線維素の析出や好中球浸潤がみられた。その他の臓器では、副腎、リンパ節、肺に出血がみられた。

抗馬アデノウイルス 1 型及び 2 型免疫血清を用いた免疫組織化学染色では、核内封入体に一致して抗馬アデノウイルス 2 型血清の陽性反応が観察された。

(3) 細菌学的検査成績

五大臓器、小腸内容物について検索。肺、肝臓、脾臓、腎臓及び小腸内用物より、*Streptococcus equi* subsp. *zooepidemicus* を分離
サルモネラ属菌分離 陰性

(4) ウイルス学的検査成績

ロタウイルス抗原 陰性（イムノクロマト法）
パラフィン切片からの遺伝子検出
馬アデノウイルス 1 型及び 2 型遺伝子は検出されなかった

4. 考察

当該馬の死亡原因は、胃穿孔及び腹膜炎と考えられた。また、腸管には壊死性偽膜性小腸炎がみられ、原因として馬アデノウイルス 2 型感染が疑われた。

(2) 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
風間 知里

1. 馬の飼養状況（平成 29 年 2 月 1 日現在）

市町	軽種馬		重種馬		その他		合計	
	戸数	頭数	戸数	頭数	戸数	頭数	実戸数	頭数
室蘭市	0	0	1	3	2	3	2	6
苫小牧市	7	983	1	8	7	31	8	1,022
登別市	6	73	3	7	12	38	14	118
伊達市	7	61	1	1	10	19	14	81
豊浦町	2	22	2	4	2	3	4	29
壮瞥町	0	0	1	1	2	10	3	11
白老町	9	172	3	3	18	64	18	239
厚真町	5	103	1	4	9	54	13	161
洞爺湖町	2	103	0	0	2	11	3	114
安平町	22	2,257	3	20	9	39	24	2,316
むかわ町	31	349	6	11	13	54	37	414
合計	91	4,123	22	62	86	326	140	4,511

2. 馬の防疫実績（平成 28 年度）

- (1) 馬伝染性貧血検査（法 5 条）：40 戸 3,094 頭
- (2) 輸入馬の着地検査（法 51 条）：85 頭（繁殖牝 52 頭、競走用 32 頭、乗用 1 頭）

3. 馬感染症の発生状況

- (1) 馬鼻肺炎（流産型）
平成 28-29 年分娩シーズン（H28 年 10 月～平成 29 年 5 月）2 戸 2 頭発生
- (2) ロドコッカス・エクイ感染症：1 戸 1 頭発生（H28 年 3 月 30 日）

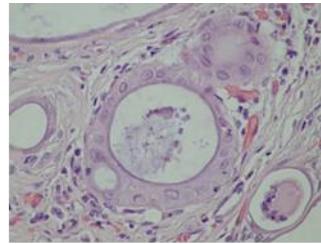
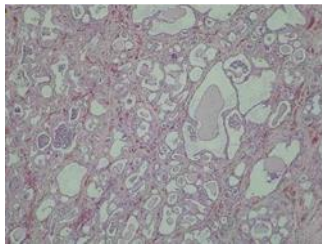
4. 馬の病性鑑定（平成 29 年度は 9 月 30 日まで）

検査目的	平成 27 年度		平成 28 年度		平成 29 年度	
	戸数	頭数	戸数	頭数	戸数	頭数
馬伝染性貧血	44	243	32	200	14	60
馬パラチフス	16	60	17	62	11	49
馬鼻肺炎	1	1	6	11	1	1
異常産原因	8	8	2	2	1	1
その他	3	3	3	21	1	1

5. CEM 清浄性維持・監視のためのサーベイランス（平成 28 年度）
有症状馬 3 頭、繁殖初供用馬 123 頭、種牡馬 87 頭

【情報提供（平成 27 年 11 月）】

妊娠馬が悪露漏出やエコー所見による子宮胎盤厚（CTUP）の肥厚等を呈し、妊娠 264 日目で流産。病性鑑定を実施したところ、胎盤は著しく肥厚し、透明でやや粘稠性のある液体を容れた嚢胞を多数認められた。組織学的には、上皮性細胞の管状及び乳頭状増殖を認め、大小様々な腺様構造及び嚢胞を形成しており、嚢胞性腺腫様過形成（壊死性胎盤炎による流産）と診断した。胎盤及び胎子の細菌検査は有意菌陰性で、原因の特定には至らなかった。



(3) 馬の防疫に関する栃木県の現状

栃木県県南家畜保健衛生所
牧 誉大

1. 馬の飼養状況（平成 29 年 2 月 1 日現在）

家保	県北	県央	県南	計
戸数	36	29	14	79
頭数	375	323	293	991

2. 馬の検査実績（平成 28 年度）

(1) 馬伝染性貧血検査

家保	県北	県央	県南	計
頭数	50	62	85	197

(2) 馬パラチフス

家保	県北
頭数	1

(3) 馬伝染性子宮炎

家保	県北
頭数	2

(4) 輸入馬の着地検査

家保	県北	県央	県南	計
頭数	1	1	14	16

3. 馬感染症の発生状況

平成 20 年	馬インフルエンザ	5 頭
---------	----------	-----

4. 馬の病性鑑定（平成 28 年度）

なし

(4) 馬の防疫に関する千葉県の実況

千葉県中央家畜保健衛生所
島田 圭悟

1. 馬の飼養状況（平成29年2月1日現在）

	競走馬	乗馬	愛玩用等	合計
件数（件）	31	83	63	177
頭数（頭）	1553	1391	186	3130

2. 馬の防疫実績（平成28年度）

	件数（件）	頭数（頭）
着地検査	20	49
馬伝染性貧血検査	621	621

3. 馬感染症の発生状況（平成28年度）

発生なし

4. 馬の病性鑑定（平成28年度）

(1) 病性鑑定依頼数

依頼件数（件）	のべ頭数（頭）
5	6

(2) 病性鑑定詳細

依頼月日	内容	結果
H27.5.11	馬伝染性子宮炎検査	陰性
H27.5.19	腺疫検査	陰性
H27.6.24	馬伝染性子宮炎検査	陰性
H27.10.19	腺疫検査	陰性
H27.11.1	腺疫検査	陰性

(5) 馬の防疫に関する新潟県の現状

新潟県下越家畜保健衛生所
金子 文恵

1. 馬の飼養状況（平成 29 年 2 月 1 日現在）

	中央	下越	中越	上越	佐渡	計
戸数	9	10	5	3	3	30
頭数	60	37	18	7	3	125

2. 馬の防疫実績（平成 28 年度）

- ・家畜伝染病予防法に基づく検査
馬伝染性貧血検査：1 戸 9 頭（下越）全て陰性

3. 馬感染症の発生状況（平成 28 年度）

特になし

4. 馬の病性鑑定（平成 28 年度）

特になし

(6) 馬の防疫に関する愛知県の現状

愛知県西部家畜保健衛生所 尾張支所
奥田 真未

1. 馬の飼養状況 (平成 29 年 2 月 1 日現在)

	西部	中央	東部	計
戸数 (件)	52	31	15	98
頭数 (頭)	954	302	61	1317

2. 馬の防疫実績 (平成 28 年度)

(1) 馬伝染性貧血

	西部	中央	東部	計
頭数 (頭)	206	23	6	235

(2) 輸入馬着地検査

	西部	中央	東部	計
頭数 (頭)	6	0	0	6

3. 馬感染症の発生状況 (平成 28~29 年度)

なし

4. 馬の病性鑑定 (平成 28~29 年度)

なし

(7) 馬の防疫に関する京都府の現状

京都府中丹家畜保健衛生所
久保田 直樹

1. 馬の飼養状況（平成 29 年 2 月 1 日現在）

	山城	南丹	中丹	丹後	計
戸数	24	9	8	2	43
頭数	431	43	20	7	501

2. 馬の防疫実績（平成 28 年度）

地域	馬伝染性貧血検査	馬インフルエンザ検査
京都・山城	30	0
南丹	8	0
中丹	2	0
丹後	4	0
計	44	0

3. 馬感染症の発生状況（平成 28 年度）

なし

4. 馬の病性鑑定（平成 28 年度）

実績なし

(8) 馬の防疫に関する広島県の現状

広島県北部家畜保健衛生所
数面 麻子

1. 馬の飼養状況 (平成 29 年 2 月 1 日現在)

家保	乗用馬・その他	
	戸数	頭数
西部	23	223
東部	13	55
北部	6	11
計	42	289

2. 馬の防疫実績 (平成 28 年度)

(1) 馬伝染性貧血

	西部	東部	北部	合計
頭数	44	17	—	61

(2) 輸入馬着地検査

	西部
頭数	1

3. 馬感染症の発生状況 (平成 28 年度)

なし

4. 馬の病性鑑定 (平成 28 年度)

3 件 3 頭

	実施月	症状	検査内容	結果
西部	5	下痢	血液検査	不明
西部	9	体表の浮腫	血液検査	蛋白質合成不全
東部	9	疝痛	血液検査, 細菌検査	不明

(9) 馬の防疫に関する山口県の現状

山口県中部家畜保健衛生所
鳴重 寿人

1. 馬の飼養状況（平成29年2月1日現在）

家保	競走馬		乗馬		肥育		その他		合計	
	戸数	頭数	戸数	頭数	戸数	戸数	頭数	戸数	頭数	戸数
東部	0	0	2	15	0	0	3	22	5	37
中部	0	0	3	75	0	0	9	23	12	98
西部	0	0	1	9	0	0	6	20	7	29
北部	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
合計	0	0	6	99	0	0	18	65	24	164

2. 馬の防疫実績（平成28年度）

(1) 馬伝染性貧血 13頭すべて陰性

家保	東部	中部	西部	北部	計
検査頭数	7	3	3	0	13

(2) 輸入馬着地検査

なし

3. 馬感染症の発生状況（平成28年度）

なし

4. 馬の病性鑑定（平成28年度）

なし

(10) 馬の防疫に関する福岡県の現状

福岡県北部家畜保健衛生所
大山 慶

1. 馬の飼養状況（平成 29 年 2 月 1 日現在）

	中央管内		北部管内		両筑管内		筑後管内		県計	
	戸数	頭数	戸数	頭数	戸数	頭数	戸数	頭数	戸数	頭数
肥育馬	1	2	—	—	3	740	2	77	6	819
乗用馬	14	266	17	79	4	35	—	—	35	380
総計	15	268	17	79	7	775	2	77	41	1,199

2. 馬の防疫実績

(1) 馬伝染性貧血検査

	中央	北部	両筑	筑後	計
平成 26 年度	153	47	4	13	217
平成 27 年度	82	16	1	9	108

(2) 輸入馬の着地検査

	平成 26 年度	平成 27 年度
件数	14	14
頭数	764	795

3. 馬感染症の発生状況（平成 28 年度）

なし

4. 馬の病性鑑定（平成 27 年度）

民間獣医師から起立不能、軟便を呈するポニーについて検査依頼。糞便から寄生虫卵は認めず、血液検査で肝臓、腎臓の機能低下を認めた。

(11) 馬の防疫に関する鹿児島県の現状

鹿児島県肝属家畜保健衛生所
馬籠 麻美

1. 馬の飼養状況（平成29年2月1日現在）

単位：頭数

家保	農用馬	軽種馬	乗用馬	その他
中央	12	8	55	43
南薩	0	1	12	30
北薩	0	0	27	54
始良	0	11	39	149
曾於	0	48	5	12
肝属	0	97	2	16
合計	12	165	140	304

2. 馬の防疫実績（平成28年度）

検査項目	検査頭数
馬疾病立入検査（臨床検査）	605
馬伝染性貧血検査	246
馬インフルエンザ	5
馬伝染性子宮炎	7
馬パラチフス病	26
輸入馬着地検査	5

3. 馬感染症の発生状況（平成28年～29年度）

平成28, 29年度：発生なし

（平成27年3月23日 馬鼻肺炎1戸3頭が発生）

4. 馬の病性鑑定（平成28年～29年度）

病性鑑定日	依頼内容	診断名
H29.4.11	流産の原因究明	胎盤炎による流産を疑う

4. 技術部会出席者名簿（順不同：38名）

1. 農林水産省 消費・安全局 動物衛生課

菊池 栄作

2. (独) 農業・食品産業技術総合研究機構 動物衛生研究部門

秋庭 正人

3. 農林水産省 動物検疫所

動物検疫所北海道・東北支所胆振分室

黒田 正爾

成田支所動物検疫第1課

鈴木 祐子

門司支所検疫第2課

中原 祐輔

4. 農林水産部・家畜保健衛生所

北海道日高家畜保健衛生所

宮澤 国男

北海道胆振家畜保健衛生所

風間 知里

栃木県南家畜保健衛生所

牧 誉大

千葉県中央家畜保健衛生所

島田 圭悟

新潟県下越家畜保健衛生所

金子 文恵

愛知県西部家畜保健衛生所尾張支所

奥田 真未

京都府中丹家畜保健衛生所

久保田 直樹

広島県北部家畜保健衛生所

数面 麻子

山口県中部家畜保健衛生所

鳴重 寿人

福岡県北部家畜保健衛生所

大山 慶

鹿児島県肝属家畜保健衛生所

馬籠 麻美

5. (公社) 中央畜産会

原田 博文

6. (特) 日本中央競馬会

馬事部防疫課

額田 紀雄、岡野 篤、
前田 達哉、大塚 佑

競走馬総合研究所

田嶋 義男、針生 和久、
松村 富夫、近藤 高志、
成田 正一、太田 稔、
徳重 裕貴、片山 芳也、
上野 孝範、丹羽 秀和、
越智 章仁、内田 英里、
古角 博、山中 隆史、
辻村 行司、根本 学、
坂内 天

平成 29 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 29 年 10 月 20 日（金）

研究部会 目次

1. プログラム	研 — 1
2. 開会挨拶	研 — 3
3. 一般講演	
1) カンピロバクターのペプチドグリカン修飾酵素に関する研究	研 — 6
2) 口蹄疫の発生動向と簡易診断キットの開発について	研 — 8
3) 馬新しい馬インフルエンザワクチンの欧州流行変異 (A144V) 株に 対するワクチン効果の向上	研 — 10
4) 軽競走馬における Methicillin-resistant Staphylococcus aureus (MRSA) 感染症の発生状況	研 — 16
4. 特別講演	
新興感染症 — インフルエンザならびにエボラ出血熱 —	研 — 18
5. 共同研究実施概要	
1) 馬パラチフス菌の全ゲノム情報を利用した各種検査法の開発	研 — 19
2) レーザーマイクロダイセクション法の馬感染症病理学的診断法への応用	研 — 22
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 — 25
2) 馬の輸出入検疫状況	研 — 26
3) 馬用の生物学的製剤の製造状況について	研 — 33
7. 研究部会出席者名簿	研 — 35

1. プログラム

平成 29 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／農研機構 動物衛生研究部門／日本中央競馬会（JRA）
／公益社団法人 中央畜産会

開催日時：平成 29 年 10 月 20 日（金）午前 10 時—午後 3 時 20 分

開催場所：JRA 競走馬総合研究所

進行：成田 正一（JRA 競走馬総合研究所）

1. 開会挨拶……………10：00—10：10

坂本 研一（動物衛生研究部門長）

木村 一人（JRA 馬事担当理事）

2. 一般講演

座長：秋庭 正人（動物衛生研究部門）

1) カンピロバクターのペプチドグリカン修飾酵素に関する研究

～鶏腸管定着阻害剤の開発に向けて～……………10：10—10：35

岩田 剛敏（動物衛生研究部門）

2) 口蹄疫の発生動向と簡易診断キットの開発について……………10：35—11：00

森岡 一樹（動物衛生研究部門）

座長：古角 博（JRA 競走馬総合研究所）

3) 新しい馬インフルエンザワクチンの欧州流行変異（A144V）株に対する

ワクチン効果の向上……………11：00—11：25

山中 隆史（JRA 競走馬総合研究所）

座長：片山 芳也（JRA 競走馬総合研究所）

4) 競走馬におけるMethicillin-resistant Staphylococcus aureus（MRSA）

感染症の発生状況……………11：25—11：50

丹羽 秀和（JRA 競走馬総合研究所）

— 昼食 —

3. 特別講演

座長：山中 隆史（JRA 競走馬総合研究所）

新興感染症－インフルエンザならびにエボラ出血熱－……………12：50－13：50

河岡 義裕（東京大学医科学研究所、ウィスコンシン大学）

— 休憩 —

4. 共同研究実施概要……………14：00－14：30

座長：山川 睦（動物衛生研究部門）

1) 馬パラチフス菌の全ゲノム情報を利用した各種検査法の開発

秋庭 正人（動物衛生研究部門）

2) レーザーマイクロダイセクション法の馬感染症病理学的診断法への応用

木村 久美子（動物衛生研究部門）

5. 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……………14：30－14：45

岡野 篤（JRA 馬事部防疫課）

2) 馬の輸出入検疫状況……………14：45－15：00

日比 浩之（農林水産省 動物検疫所）

3) 馬用の生物学的製剤の製造状況について……………15：00－15：15

大石 弘司（農林水産省 動物医薬品検査所）

6. 閉会挨拶……………15：15－15：20

田嶋 義男（JRA 競走馬総合研究所）

2. 開会挨拶

農研機構 動物衛生研究部門
部門長 坂本研一

「平成29年度 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。

昨シーズンは、鳥インフルエンザが国内で9道県12事例発生し、167万羽の家禽を殺処分しました。野鳥においても全国で218事例が確認されました。

昨シーズンは、日本のどこで発生が起きても不思議ではないほど、日本中で鳥インフルエンザウイルス H5N6 型の濃度が高まっていたこととなります。

皆さまにおかれましても、発生県のみならず、発生のなかった県でもこの防疫対応に追われたことと思います。ご苦労様でした。日本では皆さまの努力により、12事例すべてが単発、個別の発生であり。隣国韓国のような農家から農家への面での発生とはなっていません。これは、まさしく皆さまの迅速な対応が功を奏した結果であるといえます。

しかしながら、今シーズンもまた、だんだんと寒くなってきました。新たなシーズンの到来の時期に入りました。

鳥インフルエンザの疫学調査チームの発表では、今期も引き続き警戒すべき状況にあることが示されています。心の準備も含めまして、発生があることを前提に鳥インフルエンザについてはご準備頂ければと思います。

また、農家への指導につきましても、飼養衛生管理基準の遵守の徹底が重要であり、農家に対して何度も繰り返して情報の提供や注意喚起を引き続きよろしく申し上げます。

昨シーズン、茨城県では野鳥で多く発生が確認されましたが、家禽での発生はありませんでした。これは、茨城県側から農家に向けて再三の注意喚起を行った賜と言えます。

さて、馬の方に話題を変えますが、このように家禽では昨年度は大きな発生がありましたが、馬においては、2008年以降インフルエンザの発生はありません。

すでに、ご存じのように、馬ではインフルエンザのワクチンが使用されています。また、馬はインフルエンザにおいて一般的には終末感染動物で馬から他の種への感染はありませんし、水禽類からの馬への感染も通常はありません。

昨年12月に京都競馬場の飼育している白鳥がインフルエンザに感染して、話題となりましたが、これは馬への感染が問題ではなく、多くの人が集まる競馬場での発生であったということで問題視されました。これに対しても迅速な防疫対応が実施されて、すみやかに対処されています。

海外に目を向けますと、鳥インフルエンザの他、口蹄疫やアフリカ豚コレラなどの越境性疾病が引き続き発生し続けています。海外からの的確な情報の収集や近隣諸国と共同研究を通じた連携により、発生を事前に予防する共に、発生した際には迅速な防疫が求められます。

OIE では馬術競技等の国際化に伴い、馬感染症の国際的な清浄化に関わる取り決めが進められています。

このような中、昨年から海外で開催される競馬に日本馬が出走するレースに限り国内でも参加することが可能となり、より一層の国際化が感じられるようになりました。

本研究会に参加されている皆さまにおかれましても、このような国際的な状況の中で馬の感染症に関する対応を行っていることを認識していただき、本研究会をなお一層盛り上げて頂きたいと思います。

最後に、ご参集の皆さまの本研究会への積極的な参加をお願いしまして、私の挨拶とさせていただきます。

日本中央競馬会馬事担当理事
木村 一人

平成 29 年度馬防疫検討会「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東京大学医科学研究所の河岡先生、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、5 月に開催された馬防疫検討会第 3 回馬伝染性貧血清浄度評価専門会議では、国内における伝染性貧血清浄化が確認された、との結論に至りました。この結果は、家畜保健衛生所や動物検疫所による検査体制など、馬防疫に携わって来られた方々の輝かしい功績によるものと認識しております。また、伝染性貧血清浄化の背景には本病に対する診断法の確立も密接に関係しており、まさに本研究会の研究結果が奏功する好例と言えます。したがって、馬の防疫に関わる関係者が一同に会し、最新の知見を含めた研究成果が披露される本研究会は、極めて有意義なものと考えております。

一方、海外に目を向けますと、伝染性貧血は欧米をはじめとした先進国でも未だ発生が続いている状況であります。さらに、本年 3 月にはカナダ産肥育用馬の輸入検疫において、100 頭を超える馬インフルエンザの摘発があったと聞いております。こちらも動物検疫所をはじめ関係者の方々の迅速なご対応により、国内への侵入を阻止することができました。

昨今、海外のレースに出走する日本の競走馬が増加していることや 2020 東京オリンピック・パラリンピックに向けて、馬の国際間移動はますます活発になっていくものと思われれます。それに伴い、先ほど申し上げたような海外伝染病の侵入リスクについても懸念されるところです。したがって、引き続き強固な防疫体制の維持に努める必要がございます。今後とも皆様のご支援とご協力を賜りたく、この場をお借りして、お願い申し上げます。

最後になりましたが、本研究部会が馬感染症の防あつ・研究の推進を図る場、さらには情報交換の場として発展す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. 一般講演

1) カンピロバクターのペプチドグリカン修飾酵素に関する研究 ～鶏腸管定着阻害剤の開発に向けて～

国立研究開発法人農業・食品産業技術総合研究機構
動物衛生研究部門 細菌・寄生虫研究領域
岩田 剛敏

Campylobacter jejuni は我が国で最も重要な食中毒起因菌の1つである。カンピロバクター食中毒の主要な原因食品としては鶏肉が疑われており、養鶏場において *C. jejuni* が鶏腸管内に高率に保菌されていることが、本食中毒が頻発している根本的な原因となっている。*C. jejuni* は動物への感染時と動物腸管外環境では異なる形態をとることが知られており、感染時にはらせん形を呈して活発な運動性を示し、環境中では空気中の酸素等のストレスを受けて球状化する。この形態変化が *C. jejuni* の感染環の維持に重要な役割を果たしていることが示唆されている。

菌形態の維持・変化に中心的な役割を果たしているのが細胞壁構成成分であるペプチドグリカン (PG) で、PG はN-アセチルムラミン酸 (MurNAc) とN-アセチルグルコサミン (GlcNAc) の繰り返しからなるグリカン鎖を、ペプチド鎖が架橋する形で構成されている。*C. jejuni* はPG のO-アセチル化酵素である Peptidoglycan acetyltransferase A (PatA) およびB (PatB) を有している (図1)。O-アセチル化を含むPGの二次修飾は、グラム陽性菌では菌の増殖や形態の維持・変化に重要であり、菌を取り巻く環境により発現が制御されていることが報告されているがグラム陰性菌ではほとんど報告がなく、PGのO-アセチル化がどのような意味を持つのかはこれまで不明であった。

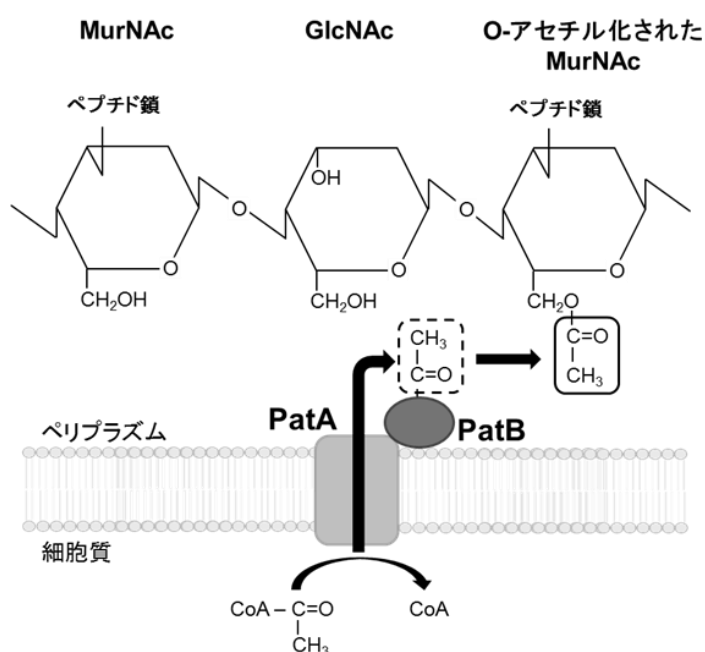


図1. ペプチドグリカンO-アセチル化の模式図

そこで我々は、*C. jejuni* の PatA、PatB の機能および生物学的意義を明らかにすることを目的として、それらの欠損株をそれぞれ作出し、様々な性状を親株と比較した。その結果、欠損株の O-アセチル化レベルは親株と比べて有意に低下していた。また、欠損株は親株と比較してライソザイムへの抵抗性が低下し、マクロファージに貪食されやすく、細胞内での生残性が低下していた。さらに、欠損株は電子顕微鏡像での形態変化を認めなかったが、運動性やバイオフィーム形成能が低下し、鶏腸管定着性が大きく減弱することを確認した (図2)。*C. jejuni* ではその運動性がバイオフィーム形成能や鶏腸管定着性に影響することが知られており、鞭毛を回転させるモーター蛋白 (MotA および MotB) のうち、MotB が PG と結合して細胞壁に固定されていることが報告されていることから、PatA、PatB 欠損株では PG の構造に変化が生じ、MotB の機能に影響することで運動性が減弱し、ひいては腸管定着性が低下する可能性が示唆された。

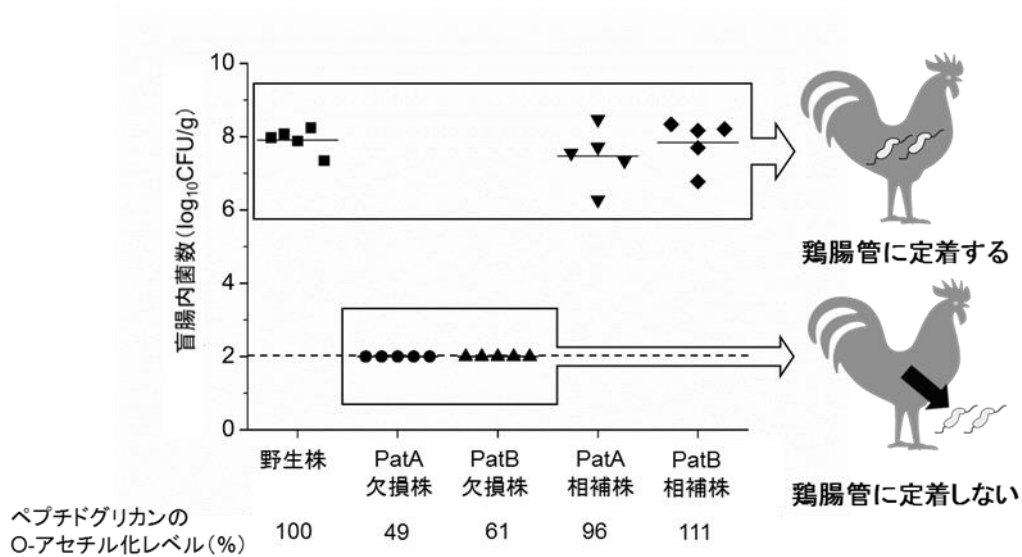


図2. ペプチドグリカン O-アセチル化酵素欠損株の鶏腸管定着性

SPF鶏ヒナに感染後2週目の盲腸内菌数
破線は検出限界を示す

PG は細菌に特有の構造物であるため、 β -ラクタム剤、バンコマイシン、ホスホマイシン等、これを標的とする抗菌薬系統がすでに広く実用化されている。近年、*C. jejuni* では O-アセチル化酵素以外の PG 合成・修飾酵素についても研究が進んでおり、その欠損株の多くは鶏腸管に定着できないことが明らかとなってきている。これらの酵素は新しいカンピロバクター定着阻害剤開発の標的として利用できる可能性がある。

2) 口蹄疫の発生動向と簡易診断キットの開発について

農研機構 動物衛生研究部門 越境性感染症研究領域

海外病ユニット (海外病研究拠点)

森岡 一樹

【口蹄疫】

口蹄疫は牛、水牛、豚、山羊、緬羊等の偶蹄目の家畜および野生動物を含めた多くの動物種で感染が報告されている。原因ウイルスはアフトウイルス科 (*Aphthovirus*) ピコルナウイルス属 (*Picornaviridae*) の口蹄疫ウイルスである。口蹄疫ウイルスには互いにワクチンの効かない0、A、C、Asia1、South African territory (SAT)1、SAT2、SAT3 の7種類の血清型がある。

特徴的病変は鼻および口周辺の粘膜、口腔内の口唇部、歯齦および舌部、蹄冠部および乳頭周辺部における水疱、糜爛、潰瘍であり、発熱、食欲不振、跛行などの症状を示す。感染した家畜は摂食障害や歩行困難による発育障害あるいは泌乳障害により、経済的価値を失う。水胞性口炎 (馬、牛、豚)、豚水胞病 (豚) およびセネカウイルスA (豚) と臨床症状が酷似している。幼齢動物の場合は心筋における変性壊死病変、いわゆる虎斑心を呈して死亡するケースが多い。病変部の水疱液の中には大量のウイルスが含まれ、これが破れて周囲を汚染する他、唾液、鼻汁、糞便、乳汁等からも排出される。主に感染動物、汚染畜産物、人および車輛を介して伝播し、エアロゾルによる空気伝播も起こる。口蹄疫ウイルスの地域分布 (pool) が世界中で7つに分けられているが、近年の口蹄疫の発生動向として、短期間でpoolの垣根を超えて発生の広がるLong-distance “trans-pool” movementsが目立つ、また既存のワクチンとのマッチングが低いトポタイプの流行も報告されており、注意が必要である。

【診断系の開発および実用化】

動衛研海外病研究拠点では2000年以降、口蹄疫ウイルスに対するモノクローナル抗体 (MAb) の作出に着手し、口蹄疫ウイルス7血清型を共通に反応するMAbおよび口蹄疫ウイルス全7血清型の各々と特異的に反応するMAbの樹立に成功しており、これらのMAbを活用した迅速抗原検出法および血清型別法の開発に取り組んでいる。本講演で紹介する簡易診断キットについては、銀増感技術を応用したイムノクロマト法の高感度化技術およびイムノクロマトキットの製品化実績を有する民間企業2社との協同研究により実施されている。銀増感技術を応用したイムノクロマト法の高感度化技術は、従来、銀増感反応の制御および自動判定を行う専用装置を必要としていたが、本技術の口蹄疫発生現場での使用を考えた際、バイオセキュリティーの面から消毒薬を用いた除染が必要となるため、専用装置を必要としない銀増感装置レスデバイスの開発を行った (図1)。開発した簡易診断キットは、国内での感染実験材料を用いた評価および海外の口蹄疫発生国において野外の臨床検体を用いた実証試験を実施している (図2)。

本簡易診断キットは、国内における発生現場での一次診断の一つとして活用される。また、将来的には国土の広大な国や実験室や交通のインフラが十分に整っていない国において特別な装置を必要とせず現場で診断ができる方法であることから、周辺の口蹄疫発生国・常在国においては大いに活用され、アジア諸国の口蹄疫の清浄化に少しでも貢献できれば、延いては我が国への口蹄疫侵入リスクの低減につながるものと期待される。

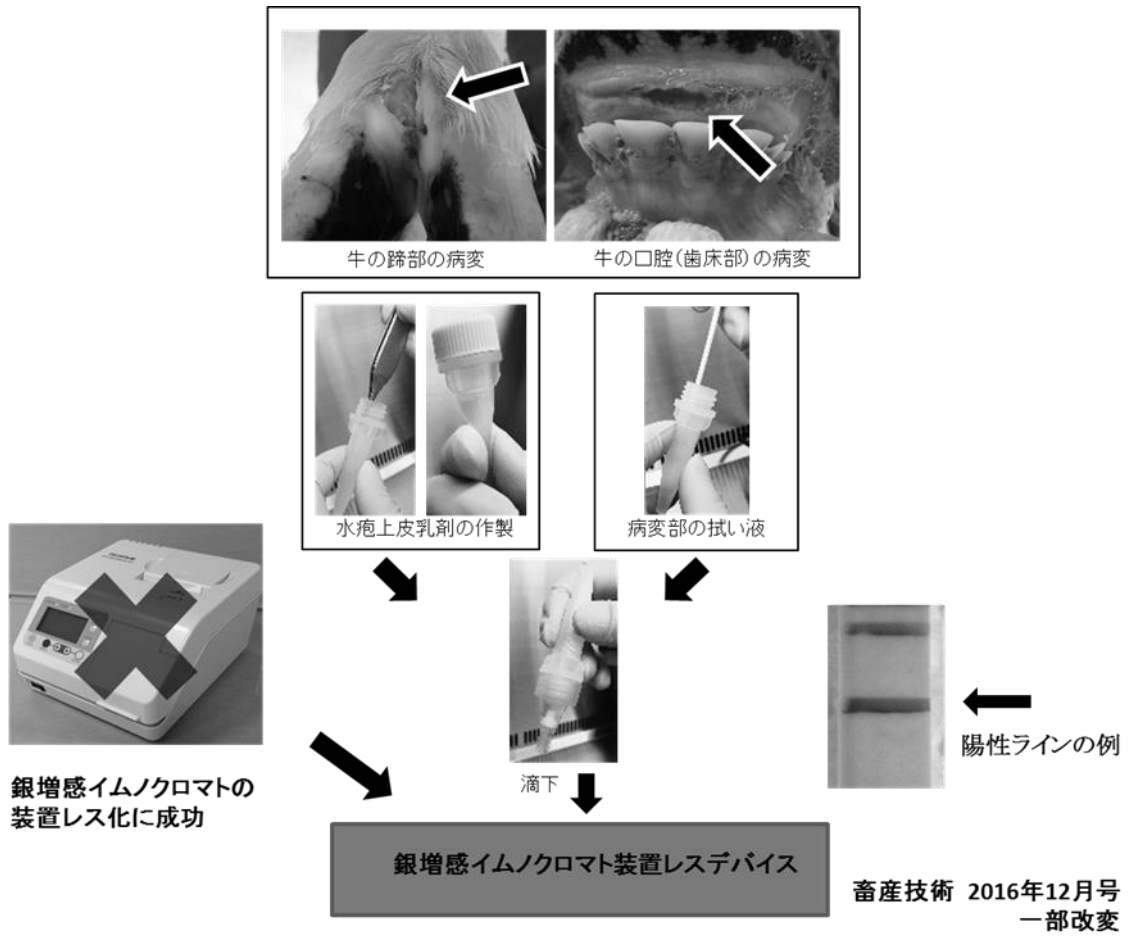


図1. 開発中のキットの概要



図2. モンゴル国におけるキットの検証および普及活動の様子

3) 新しい馬インフルエンザワクチンの欧州流行変異 (A144V) 株に対する ワクチン効果の向上

山中隆史, 根本学, 坂内天, 辻村行司, 近藤高志, 松村富夫, 古角博
(JRA 総研)

馬インフルエンザ (EI) は EI ウイルス (H3N8) の感染により引き起こされる急性呼吸器疾患である。EI ウイルスは伝染性が非常に強いため、いったん、馬群への侵入を許すと、大きな被害をもたらす。これまで、EI に対する有効な予防法として、不活化ワクチンの接種が行われてきた。しかしながら、EI ウイルスは、他の A 型インフルエンザウイルスと同様に、抗原性が頻繁に変化するため、ワクチンに含める不活化ウイルスの株組成を定期的に見直す必要がある。

日本では 2016 年秋より、アメリカ系統フロリダ亜系統クレード 2 (Florida sublineage Clade2, Fc2) に分類される A/equine/Yokohama/aq13/2010 (Y10) が加わった新しい EI ワクチンの使用が開始された。この結果、日本の EI ワクチンは Fc1 および Fc2 の両方を含むこととなり、国際獣疫事務局 (OIE) の推奨する株組成に準拠することとなった。この OIE の推奨は、2007 年以降、欧州での EI の流行のほとんどが Fc2 株によるものであったことに基づき、すでに推奨されていた北米で流行している Fc1 株に 2010 年にさらに加えられたものである。2011 年ごろまでの Fc2 株は、遺伝学的に遠縁であったにも関わらず、当時の日本製ワクチンに含まれていた A/equine/La Plata/93 (LP93, アルゼンチン亜系統) の抗血清は、良好な Fc2 株との交差血球凝集抑制 (HI) 反応を示していた [1]。しかしながら、2011 年になり、欧州の中でも英国やアイルランドでは、ヘマグルチニン (HA) 蛋白質の 144 番目のアミノ酸であるアラニンがバリンに変異 (A144V) した株が出現し、2012 年以降はそれらの国の分離株のすべてが同変異をもつに至った [2]。同変異部位は、H3 ウイルスの抗原性状を変化させると予測される部位 (Site A) に位置し、当時のワクチンによる予防効果に変化を生じさせていることが予測された。本発表は、A144V をもつウイルス株を含むさまざまな Fc2 株の抗原性状を解析するとともに、A144V をもつ A/equine/Carlow/2011 (CL11) による馬体への攻撃試験をとおして、新しい EI ワクチンの Fc2 株に対する防御効果の向上について検討した結果に関するものである。

【材料と方法】

1. 遺伝子系統樹解析

H3N8 の EI ウイルス 32 株のヘマグルチニン遺伝子 800 塩基 (46-845 番目) について、近隣接合法により系統樹を MEGA7.0 により描出した。

2. ウイルス中和 (VN) 試験および HI 試験

免疫血清を作製する目的で、LP93 あるいは Y10 [$10^{8.3} \sim 10^{8.4}$ 50% egg infectious dose (EID₅₀)/馬] を EI ワクチンの接種歴を有さない 1 頭のサラブレッド (1 歳, 牡) に超音波吸入器で接種し、14 日後に血清を採取した。それらの免疫血清は、トリプシン-熱 (56°C 30 分) - 過ヨウ素酸カリウム処理を行い、グリセリンを加えることにより余剰な過ヨウ素酸カリウムを吸収させたあと、リン酸緩衝液 (pH: 7.2, PBS) により、元血清の 8 倍希釈となるよう調整した。それらの処理血清の 2 倍階段希釈列をトリプトースリン酸ブイオン (最終濃度 0.6%)、ペニシリン (最終濃度 500 unit/ml)、ストレプトマイシン (最終濃度 500 µg/ml) およびアンホテリシン B (最終濃度 1.25 µg/ml) を加えた PBS により作製し、各希釈血清に等量の $10^{3.7} \sim 10^{4.3}$ EID₅₀/200 µl に調整した各 EI ウイルス株を加えて、インキュベーションした (34°C 1 時間)。つぎに、各希釈血清およびウイルスの混合液を 5 個の

10日齢の発育鶏卵に200 μ lずつ接種し、34 $^{\circ}$ Cにて3晩培養した。培養後は、各接種発育鶏卵のしょう尿液に対し0.5%鶏血球による血球凝集(HA)試験を行った。各希釈血清とウイルスの混合液を接種した5個の発育鶏卵のうち3個以上でHA反応が陰性(<2HA unit/50 μ l)であった血清の最高希釈倍数の逆数をVN抗体価とした。HI試験は、VN試験と同様の処理血清に対して既報に基づいて実施し、HI抗体価を測定した[1]。

3. 馬体攻撃試験

EIワクチン接種歴がなくEIウイルスへの中和抗体陰性(<8)をあらかじめ確認した10頭の1歳馬を、無作為に5頭ずつY10群およびLP93群の2つに分け、抗原として不活化されたY10株あるいはLP93株のみを含む試作ワクチン(抗原量:400 chicken cell agglutination/dose)を、群名のとおり、各群に4週間隔で2回接種した。次に、すべての馬に対して、2回目の接種2週間後(各群2頭)ないし4週間後(各群3頭)に、医療用超音波吸入器を用いてCL11($10^{9.4}$ EID₅₀/馬)を噴霧することにより攻撃した。また、攻撃日には、すべての供試馬からVNおよびHI抗体価を測定する目的で血清を採取した。その後は14日間、すべての供試馬の臨床観察を記録するとともに、鼻咽頭スワブを採取し、ウイルスの分離および定量に供した。

【結果および考察】

LP93株はアメリカ系統アルゼンチン亜系統に分類され、今回のワクチン株の変更により、ユーラシア系統のA/equine/Avesta/1993とともにワクチンから取り除かれたものである(図1)。Y10株は、日本の動物検疫所においてベルギーからの輸入馬から分離されたものであり[3]、Fc2に分類され、かつ144番目のアミノ酸はアラニンのままである。Y10株は、CL11およびA/equine/Richmond/1/2007とともに、発育鶏卵での増殖性、継代時の抗原性状の安定性およびマウスでの免疫原性などのワクチン製造用としての適性の検討の結果、新ワクチンに取り入れられた[4]。

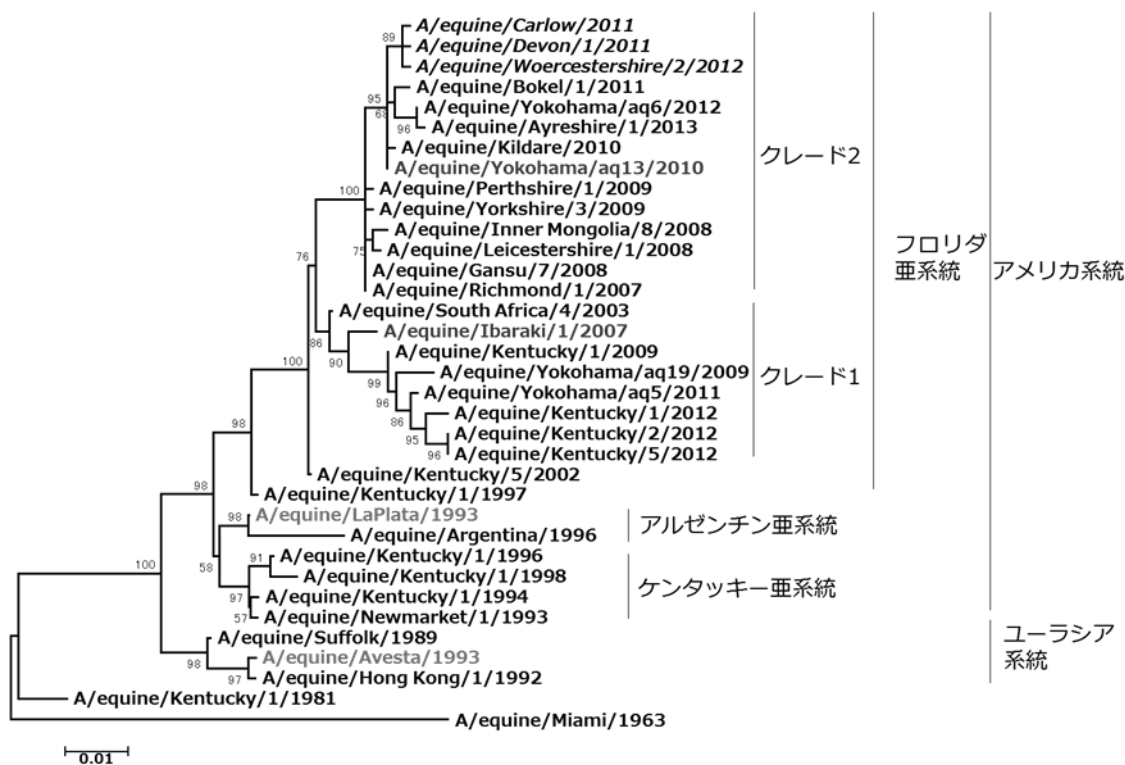


図1 EIウイルス(H3N8)のヘマグルチニン遺伝子の系統樹(800塩基(46-845番)、近隣接合法)。分岐部の数字は、ブートストラップ値を示す(n=500)。旧ワクチンに含まれていて、今回のワクチン株変更により取り除かれた株は赤字で示した。新ワクチンに含まれている株は、赤字で示した。また、A144Vの変異をもつ株は、イタリックで示した。

表 1 に馬免疫血清を用いた各ウイルス株に対する交差 HI および VN 試験の結果を示す。A144V の変異をもつ Fc2 株 (CL11, A/equine/Devon/1/2011 および A/equine/Worcestershire/1/2012) に対する LP93 に対する免疫血清の HI 抗体価は、LP93 や A144V の変異がない Fc2 株 (A/equine/Richmond/1/2007, Y10 および A/equine/Ayrshire/1/2013) に対する HI 抗体価 (512) と比較して、1/2~1/4 倍低下していた (128~256)。また、同じ免疫血清を用いて、VN 抗体価についても同様に比較したところ、1/8~1/10 倍もの低下がみられた (512→51~64)。一方、新しいワクチンに含まれることとなった Y10 株に対する免疫血清は、A144V の変異の有無にかかわらず、Y10 に対する HI 抗体価 (256) あるいは VN 抗体価 (256) と 1/2 倍以内の差異 (128~256) をもって幅広く Fc2 に属する株と交差中和反応を示した。以上のことから、新しい EI ワクチンは、LP93 株から Y10 株へ切り替えられたことにより、A144V の変異をもつ Fc2 株へのワクチン効果の向上が期待された。

表1 実験感染により作製したLP93およびY10に対する免疫馬血清の交差ウイルス中和(VN)および血球凝集抑制(HI)試験

ウイルス/抗原	亜系統・クレード	LP93免疫血清		Y10免疫血清	
		HI	VN	HI	VN
LP93	アルゼンチン	<u>512</u>	<u>512</u>	128	32
A/equine/Richmond/1/2007	クレード2	512	512	256	256
Y10	クレード2	256	512	<u>256</u>	<u>256</u>
A/equine/Ayrshire/1/2013	クレード2	256	323	256	161
CL11	クレード2*	128	64	256	128
A/equine/Devon/1/2011	クレード2*	128	64	256	256
A/equine/Worcestershire/1/2012	クレード2*	128	51	256	256

*: A144V変異有, VN: ウイルス中和抗体価, HI: 血球凝集抑制抗体価

次に、実馬において、A144V の変異をもつ Fc2 株 (CL11) へのワクチン効果の向上を実証するため、攻撃試験を実施した。表 2 に、各馬の攻撃日における HI 抗体価と VN 抗体価、およびそれらの各群 (Y10 群および LP93 群) の幾何平均 (GM) 値をまとめた。Y10 群の 5 番馬は、HI 抗体および VN 抗体ともに、ワクチン株である Y10 に対してさえも、検出限界 (8) を超えなかったことから、5 番馬はサラブレッドに一定の割合で存在するとされるプアレスポンドであると考えられた [5]。そこで、表 2 には 5 番馬を除いた GM 値も括弧内に示した。Y10 群の攻撃株 (CL11) に対する GM HI 抗体価は 27.9 (5 番を除いた場合: 45.3) および GM VN 抗体価は 48.5 (5 番を除いた場合: 90.5) であった。LP93 群の CL11 に対する GM HI 抗体価は 24.3 および GM VN 抗体価は 10.6 であった。以上の攻撃日における GM HI 抗体価には、5 番馬を取り除いても両群間に有意差はなかったが (対数変換後対応のない t 検定: $p=0.303$)、両群の GM VN 抗体価間には有意差が認められた (対数変換後対応のない t 検定: $p=0.002$)。図 2 は、両群の平均直腸温の攻撃後の推移を示す。Y10 群の平均直腸温は、攻撃日から観察終了までのうち、5 日間 (攻撃 2, 3, 5, 6 および 7 日後)、LP93 群よりも有意に低かった (繰り返しのある Two-way ANOVA および Fisher の LSD 検定, $p=0.011$ から 0.046)。また、発熱を $\geq 38.5^{\circ}\text{C}$ の直腸温と定義した場合、Y10 群の平均発熱期間は 0.4 日であった。一方、LP93 群の平均発熱期間は 3.0 日であり、両群間には有意差が認められた (対応のない t 検定, $p=0.023$)。なお、本抄録には示していないが、発熱以外の咳嗽および鼻漏など EI の典型的症状として知られる臨床症状についても、Y10 群では

表2 攻撃日における各馬のHIおよびVN抗体価

群	馬	HI抗体価			VN抗体価		
		抗原			指示ウイルス		
		Y10	LP93	CL11	Y10	LP93	CL11
Y10	1	64	64	128	256	256	128
	2	32	32	64	64	64	64
	3	32	16	16	128	64	64
	4	64	32	32	256	128	128
	5	<8	<8	<8	<8	<8	<8
	GM値	27.9 (45.3)	21.1 (32.0)	27.9 (45.3)	73.5 (152.2)	55.7 (107.6)	48.5 (90.5)
LP93	6	64	64	64	128	256	16
	7	32	32	32	64	128	8
	8	64	64	32	256	256	32
	9	32	32	16	128	128	8
	10	16	16	8	64	128	<8
	GM値	36.8	36.8	24.3	111.4	168.9	10.6

GM: 幾何平均, 括弧内はプアレスポonderと考えられた5番を除いた場合のGM値

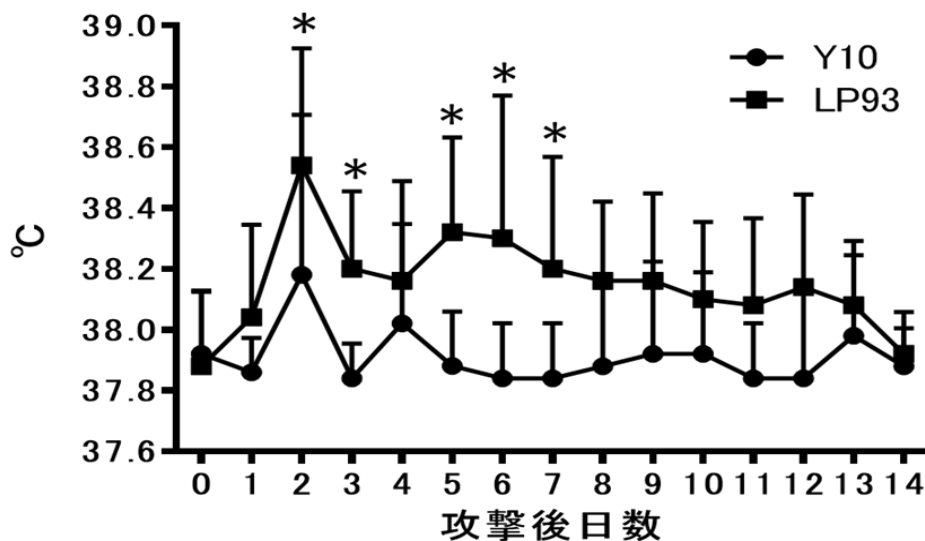


図2 攻撃後における各群の平均直腸温(+標準偏差)の推移

LP93 群に比較して軽度であった。表 3 には、各馬から経時的に得た鼻咽頭スワブからのウイルス分離・定量の結果を示す。攻撃日から観察終了までを通じて、Y10 群の 2 頭の馬 (2 番および 3 番) からは、まったくウイルスが分離されなかった。一方、LP93 群では、すべての馬からウイルスが分離された。Y10 群と LP93 群の平均ウイルス分離期間 (それぞれ、1.8 日および 3.0 日) に、有意差は認められなかった (対応のない t 検定, $p=0.294$)。しかし、プアレスポonderと考えられる 5 番馬を除いて、両群の平均ウイルス分離期間の差を同様に検定したところ、有意差が検出された ($p=0.046$) であった。以上の両群間における発熱の程度や期間の差は、Y10 ワクチンが LP93 ワクチンに比較して、馬体に対してより高い攻撃ウイルス (CL11) に対する交差 VN 抗体を誘導していたことを反映していると考えられた。また、この交差 VN 抗体価の差は、交差 HI 抗体価では認められなかったこ

とから、VN 試験のほうが HI 試験よりも高いウイルス特異性を有していることが示唆された。

以上のことから、EI ワクチンに含まれていた LP93 が取り除かれ、Y10 が新しく付け加えられたことにより、近年、英国およびアイルランドで支配的に流行している Fc2 に属する A144V 変異株に対する予防効果が向上することが、宿主である馬において実証された。以上の内容は、参考文献の [6] および [7] に公表されている。

表3 攻撃後に採取した鼻咽頭スワブからのウイルス分離・定量 ($\log_{10}EID_{50}/200\mu l$)

攻撃後 日数	Y10群					LP93群				
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
1	-	-	-	1.5	1.5	≤0.7	-	2.5	1.5	1.7
2	-	-	-	≤1.0	≤1.3	-	3.5	-	1.7	1.7
3	-	-	-	-	2.5	-	≤0.7	-	-	≤0.7
4	-	-	-	-	1.5	-	≤0.7	-	≤1.0	≤0.7
5	-	-	-	-	≤1.3	-	2.0	-	-	-
6	2.7	-	-	-	-	≤0.7	-	-	-	-
7	≤0.7	-	-	-	-	≤1.0	-	-	-	-
8	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
9	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
10	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
11	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
12	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
13	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
14	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

-: 陰性 ($<0.7EID_{50}/200\mu l$)

【謝辞】

本研究を遂行するにあたり、各 EI ウイルスを分与してくださいましたアイリッシュエクワインセンター (CL11)、農林水産省 動物検疫所 (Y10) およびアニマルヘルストラスト (A/equine/Richmond/1/2007, A/equine/Ayrshire/1/2013, A/equine/Devon/1/2011 および A/equine/Worcestershire/1/2012) に深謝いたします。また、試作ワクチンを作製および分与してくださいました一般財団法人 化血研に深謝いたします。

【参考文献】

- [1] Yamanaka, T., Bannai, H., Nemoto, M., Tsujimura, K., Kondo, T. and Matsumura, T. (2011) Antibody responses induced by Japanese whole inactivated vaccines against equine influenza virus (H3N8) belonging to Florida sublineage clade2. *J Vet Med Sci* 73, 483-485.
- [2] Rash, A., Morton, R., Woodward, A., Maes, O., McCauley, J., Bryant, N. and Elton, D. (2017) Evolution and divergence of H3N8 equine influenza viruses circulating in the United Kingdom from 2013 to 2015. *Pathogens* 6.
- [3] Motoshima, M., Okamatsu, M., Asakura, S., Kuribayashi, S., Sengee, S., Batchuluun, D., Ito, M., Maeda, Y., Eto, M., Sakoda, Y., Sodnomdarjaa, R. and Kida, H. (2011) Antigenic and genetic analysis of H3N8 influenza viruses isolated from horses in Japan and Mongolia, and imported from Canada and Belgium during 2007-2010. *Arch Virol* 156, 1379-1385.

- [4] Gamoh, K. and Nakamura, S. (2017) Update of inactivated equine influenza vaccine strain in Japan. *J Vet Med Sci* 79, 649-653.
- [5] Newton, J.R., Townsend, H.G., Wood, J.L., Sinclair, R., Hannant, D. and Mumford, J.A. (2000) Immunity to equine influenza: relationship of vaccine-induced antibody in young Thoroughbred racehorses to protection against field infection with influenza A/equine-2 viruses (H3N8). *Equine Vet J* 32, 65-74.
- [6] Yamanaka, T., Cullinane, A., Gildea, S., Bannai, H., Nemoto, M., Tsujimura, K., Kondo, T. and Matsumura, T. (2015) The potential impact of a single amino-acid substitution on the efficacy of equine influenza vaccines. *Equine Vet J* 47, 456-462.
- [7] Yamanaka, T., Nemoto, M., Bannai, H., Tsujimura, K., Kondo, T., Matsumura, T., Gildea, S. and Cullinane, A. (2016) Assessment of antigenic difference of equine influenza virus strains by challenge study in horses. *Influenza Other Respir Viruses* 10, 536-539.

4) 競走馬における Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) 感染症の発生状況

JRA 競走馬総合研究所
丹羽秀和, 黒田泰輔

Methicillin-resistant Staphylococcus aureus (MRSA) は、ヒト医療において医療関連感染を起こす最も代表的な細菌の一つであり、MRSA の多くはメチシリンだけでなく他の抗菌薬にも耐性を示す多剤耐性菌である。近年、MRSA は医療環境だけでなく、市中や獣医領域へも拡散しており、それらは新たな感染源として危惧されている。馬医療においても MRSA 感染症に関する報告は増加しており、MRSA を保菌していた馬医療従事者が感染源となり、家畜病院内で馬の MRSA 感染症のアウトブレイクが発生したケースも報告されている。国内の馬における MRSA による感染は、生産地の子宮炎の原因菌として 1989 年～1991 年に報告されて以降、しばらく発生は認められなかった。しかし、2009 年以降、JRA 所属競走馬において、しばしば発生が確認されるようになってきている。そこで、本発表では、競走馬における近年の MRSA 感染症の発生状況の概要と分離株の性状について示すとともに、馬医療従事者および馬群における MRSA の保菌状況とその分子疫学的関連性について報告する。

JRA 施設内では 2009 年から 2016 年に 21 例の MRSA 感染症が確認された (図 1)。角膜炎症例が最も多く (10 例)、その他にも手術部位感染 (5 例)、静脈炎やフレグモーネなどの症例からも MRSA が分離されている (表 1)。これらの株についてメチシリン耐性遺伝子を運ぶ染色体カセットである SCCmec の多様性に基いて型別を行ったところ、Type II が 19 株を占め、残りの 2 株がそれぞれ Type I および Type IV であった。薬剤感受性試験の結果、Type II 株はイミペネムやフルオロキノロンをはじめとした多種の薬剤に対して耐性を示す一方、Type I または Type IV 株は、比較的多くの薬剤に感受性を示した (表 2)。Type II 株についてパルスフィールドゲル電気泳動法 (PFGE) を用いて遺伝的関連性を検討したところ、株間のバンドの差は 4 本以内であり、これらの株は同一のクローンまたは近縁な株であることが明らかとなった。

MRSA 感染症の感染経路を推測するために、JRA 内の 2 つのトレーニング施設内の診療施設で業務を行う馬医療従事者 (2011 年, 2013 年) およびトレーニング施設内で繋養されている現役競走馬 (2011 年) の鼻腔内における MRSA の保菌状況を調査した。その結果、臨床獣医師の保菌率は 27.2% (28/103) である一方、同じ診療施設で執務する事務職員 (0/16) や競走馬 (0/600) からは MRSA は検出されなかった。2011 年に臨床獣医師から分離された 12 株中 7 株が SCCmec 型別において Type II、5 株が Type IV であった。そこで MRSA 感染症の大部分を占める Type II 株に注目し、臨床獣医師由来 7 株と馬由来株 19 株の計 26 株を PFGE によって比較したところ、21 株 (臨床獣医師由来 6 株および馬由来 15 株) は同一パターンを示し、残りの 5 株についても主要なクローンとのバンドの差は 4 本以内であった (図 2)。この結果から、臨床獣医師および MRSA 感染馬から分離された Type II 株は互いに同一または近縁な株であることが示され、当該診療施設内で MRSA が馬—獣医師間を伝播していた可能性が推察された。

本研究から、現在の日本の競走馬群での MRSA の蔓延は認めないものの、JRA 内の診療施設での臨床獣医師および入院馬においては MRSA の保菌または感染が確認されるとともに、両者の間に MRSA が伝播した可能性が示された。ヒトにおいて適切な手指の消毒をはじめとした衛生対策は、病院内において感染症や医療関係者の保菌を防止でき

ることが報告されている。当該馬医療施設では院内感染対策が開始され、MRSA 感染症の発生数は減少したものの、現在でも発症を完全に防止するには至っていない。今後も継続的な MRSA 感染症のモニタリングや馬医療従事者における手指衛生はじめとした感染防止対策の徹底が必要と考えられる。

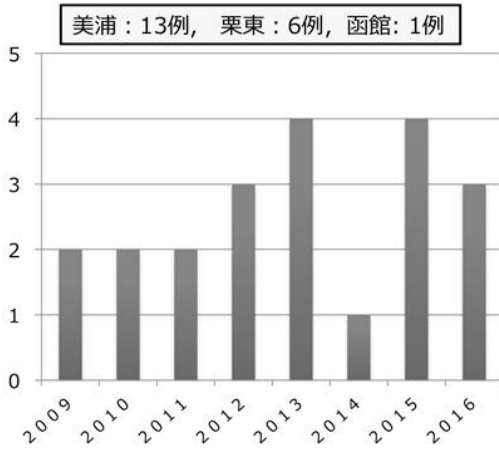


図1. MRSA感染症の発生数の推移

表1. MRSA感染症の内訳

疾患	発生数
角膜炎	10
手術部位感染	5
静脈炎	1
フレグモーネ	1
骨髄炎	1
蹄感染	1
創傷感染	1
注射部位感染	1

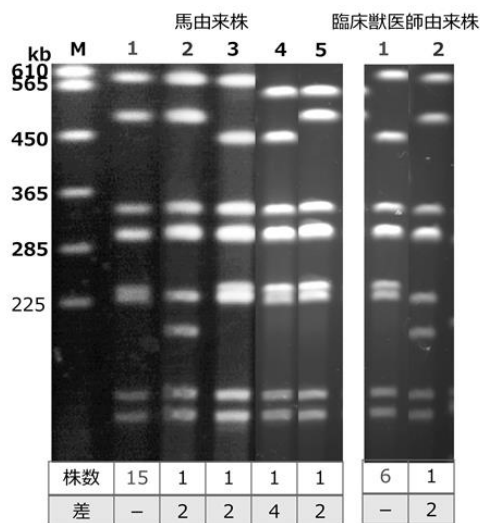


図2. 馬および臨床獣医師由来SCCmec type II株のPFGE型

表2. 馬由来MRSA21株のSCCmec型、薬剤感受性、毒素遺伝子

SCCmec型	Type II (n=19)	Type I (n=1)	Type IV (n=1)
セファロチン	R	S	I
イミペネム	R (一部S)	S	S
クロラムフェニコール	S	R	S
ホスホマイシン	R	S	S
ゲンタマイシン	R	R	R
トブラマイシン	R	R	R
ミノサイクリン	R	S	S
オフロキサシン	R	R	S
ST合剤	S	S	S
バンコマイシン	S	S	S

S, 感受性; I, 中間; R, 耐性

産生毒素	SEC (18/19)	ND	SEC
	TSST (19/19)		

ND: 検出されず

4. 特別講演

新興感染症 - インフルエンザならびにエボラ出血熱 -

東京大学医科学研究所、ウイスコンシン大学 河岡義裕

インフルエンザウイルスは、毎年、冬に流行し乳幼児や高齢者において死亡の原因となるとともに、数十年に一度新たなウイルスが出現し世界的な大流行(パンデミック)を起こします。私達は、インフルエンザウイルスを人工合成する遺伝子操作系(リバーズ・ジェネティクス)を開発しました。この技術は、米国で用いられているインフルエンザの生ワクチンならびに高病原性 H5N1 ワクチンの作製に使われています。この技術を用いてパンデミックウイルス出現のメカニズムについて研究を行っています。インフルエンザのコントロールにはワクチンと抗インフルエンザ薬が用いられます。しかし、ワクチンの有効性には限界があり、インフルエンザ薬も効果は高いものの、耐性ウイルスの出現が懸念されます。そこで私達は、新規抗インフルエンザ薬ならびにワクチンの開発を目指して研究を行っています。

一方、2013 年の暮れに、西アフリカにおいてエボラウイルスの流行が始まりました。これまでに3万人以上の感染が報告されています。私達の研究グループでは、これまでエボラウイルスの基礎研究ならびにワクチンの開発を行ってきました。また、昨年末より、シエラレオネで研究活動を開始しました。

本講演では、現在私達の研究グループで行っているインフルエンザ並びにエボラウイルスの研究について御紹介させていただきます。

5. 共同研究概要

1) 馬パラチフス菌の全ゲノム情報を利用した各種検査法の開発

国立研究開発法人農業・食品産業技術総合研究機構
動物衛生研究部門 細菌・寄生虫研究領域
秋庭正人

【背景と目的】

馬パラチフスは *Salmonella* Abortusequi (SA) を起因菌とし、妊娠中～後期の流産を主徴とする伝染病で、家畜伝染病予防法における届出伝染病に指定されている。SA は馬以外の動物からほとんど分離されないこと、国内における馬パラチフスの過去 18 年の発生頭数は年間 11 頭以下であること、国内の野外分離株は PFGE や FAFLP といった既存の遺伝子型別法で識別不能であることなどから、SA は国内で維持されており、海外からの侵入の可能性は低く、摘発淘汰を進めることで清浄化達成が可能な段階にあると考えられる。

摘発淘汰を効果的に進めるためには感度と特異度に優れた診断法の開発が必須である。その基礎データを得るために平成 24～26 年度に実施した前プロジェクトでは、参照株として国内で 1987 年に分離された L-2508 株の完全長ゲノム塩基配列を決定し、その特徴を明らかにするとともに、国内外で分離された 24 株のドラフトゲノム塩基配列を取得し、計 25 株のデータを用いて全ゲノム系統解析を行った。平成 27 年度からの 3 年間では、前プロジェクトの成果を基に馬パラチフス菌の新規診断・型別法を開発することを目的とした。

【材料と方法】

1. 新規血清診断法の開発を目標とした基礎的検討

目標は同じ 04 群サルモネラである *S. Typhimurium* (ST) と SA の感染を区別できる新しい血清診断法の開発である。ST と SA の比較において、ST が保有し、SA が保有しない 7 つの遺伝子、STM0277 (*sciL*)、STM2232 (*oafA*)、STM2600 (*gipA*)、STM1668 (*zirT*)、STM1669 (*zirS*)、STM1670 (*zirU*)、STM2137 (*sseK2*) と SA が保有し、ST が保有しない遺伝子、SAE_C47270 (制限修飾系関連) を大腸菌にクローニングし、組換え蛋白を作出した。それら蛋白と SA 及び ST 感染馬血清の反応性をウエスタンブロット法により確認した。また LPS 中の 05 抗原の有無に基づいた血清診断法開発の可能性を探るため、馬由来 ST 9 株における 05 抗原の保有状況を市販の抗 05 単因子血清を用いたスライド凝集反応で確認した。

2. SA の迅速同定法の開発

前 3 年間のプロジェクトで見出した SA 特異的な遺伝子領域に含まれる SAE_C47260 遺伝子とサルモネラ属特異的な *invA* 遺伝子を同時に増幅するマルチプレックス PCR の系を構築し、SA 野外分離 310 株、SA 以外のサルモネラ 117 血清型に属する 117 株、及び非サルモネラ 12 株を用いて感度と特異度を評価した。

3. SA の遺伝子型別法の開発

前 3 年間のプロジェクトにおいて SA 25 株の全ゲノム塩基配列から 1316 の一塩基多型 (single nucleotide polymorphism, SNP) を抽出し、これらを繋いだ疑似塩基配列を用いて系統解析を行った。系統樹の分岐群から遺

伝子型を確定し、それらを区別できる SNP を選択した。個々の SNP を検出する allele-specific (AS)-PCR 系を確立し、複数の AS-PCR の組み合わせで遺伝子型別を行う系を構築した。上記 25 株を含む 310 株の SA 野外分離株について、構築した新規遺伝子型別法を適用することで、その有用性を検証した。

【結果と考察】

1. 新規血清診断法の開発を目標とした基礎的検討

クローニングした 8 つの蛋白と ST 及び SA 感染馬血清の反応性を確認したところ、ZirT と血清の反応性を確認できたが、両血清とも反応し、ST と SA の感染を区別することは難しいと考えられた。SA では *zirT* と *zirS* が偽遺伝子化しており、発現しないと予想されるが、ゲノムの他の場所に類似の配列のあることが確認されており、そういった遺伝子に由来する蛋白が反応の特異性を阻害している可能性が考えられた。両血清と反応しなかった他の蛋白については菌における発現、提示が十分でない、または宿主の免疫応答が弱いなどの可能性が考えられた。したがって血清診断に利用可能な蛋白は今のところ同定していない。

一方、スライド凝集反応の結果、馬由来 ST 9 株のうち 5 株が O5 陽性、4 株は O5 陰性であった。SA は O5 陰性なので、馬由来 ST の多くが O5 陽性であれば、O5 抗原に対する抗体の有無を競合 ELISA で検出する方法を検討する価値があると思われる。しかしながら、今回の検討で半数近くが O5 陰性であることが確認されたので、本法を検討する価値は低いと考えられる。

2. SA の迅速同定法の開発

野外分離株等を用いて構築した迅速同定法の特異性を確認したところ、SA 310 株は全て陽性、非 SA サルモネラ 117 株は全て陰性、非サルモネラ 12 株も全て陰性の結果が得られ、感度、特異度とも 100% の優れた方法を確立することができた。SA はクエン酸を利用せず硫化水素非産生性と、通常のサルモネラと生化学的性状が異なることから誤同定される危険性が高い。通常の分離培養で得られたコロニーを本法に供することで、迅速かつ正確に SA を同定することが可能となった。

3. SA の遺伝子型別法の開発

前 3 年間のプロジェクトにおいて国内外で分離された SA 野外分離 25 株の全ゲノム系統解析を行ったところ、国内 22 株は国外 3 株との間に大きな遺伝的距離があること、国内株は大きく 2 つの遺伝的系統に分かれることが明らかとなった。国内株の系統 I には分離年不明の 1 株と 1980～1998 年に分離された 6 株の計 7 株が、系統 2 には 1979～2008 年に分離された 15 株が含まれていた (図)。系統 I の株は互いに 20 SNP 以内、系統 II の株は互いに 7 SNP 以内の相違が認められた。作成した系統樹から系統 I を a～d の 4 つのサブグループに、系統 II を 3 つのサブグループに区分することが可能であった (図)。

国外株を 1 つのグループ (out group, OG) とし、国内株の 7 つのサブグループと合わせて 8 つの遺伝子型に区分した。7 つの SNP の有無を調べることで、これらの遺伝子型を識別することが可能であった。そこで、これらの SNP を検出する 7 つの AS-PCR の系を確立し、この組み合わせにより 310 株の野外分離株の遺伝子型別を実施したところ、全ての供試菌株をいずれかの遺伝子型に型別することができた。国内株の系統 I には 1950～2014 年に分離された 58 株が、系統 II には 1950～2008 年に分離された 245 株が含まれていた。国外 7 株は OG と型別された (表)。

型別法の識別力を比較するための指標であるシンプソンの D 値は本法で 0.542 と算出された。これは、SA 310 株の中からランダムに 2 株を選んだとき、異なる型に型別される確率が 54.2%であることを意味している。なお、PFGE や FAFLP では染色体による識別は不可能なので、D 値は 0 となる。本法は感染源や感染ルートを特定するための菌株解析に利用可能と考えられた。

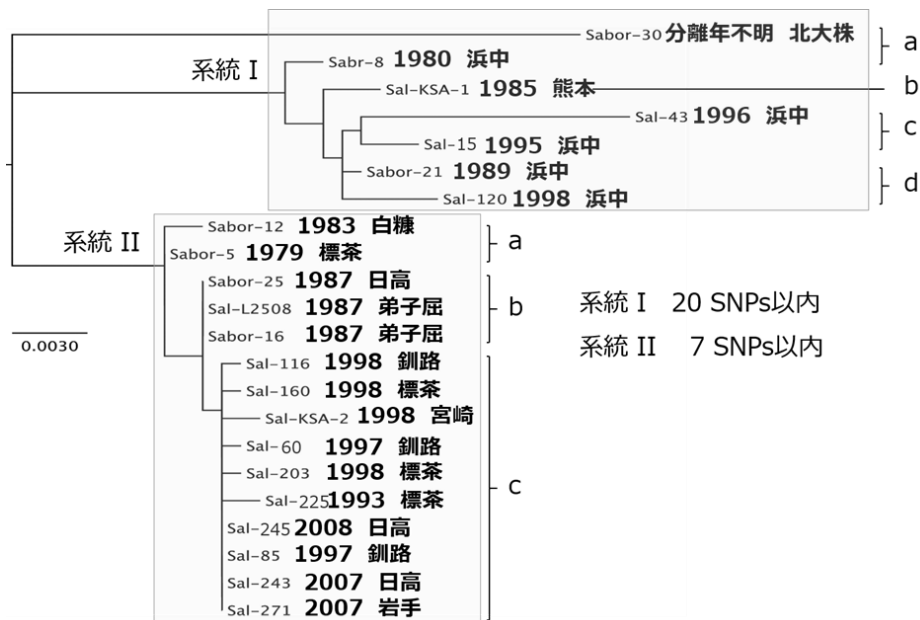


図 SA 国内分離株の遺伝的系統

表 SA310株の遺伝子型別結果

系統	亜系統	株数	分離期間
OG*		7	不明
I	a	11	1950-1980
	b	5	1981-1988
	c	13	1995-1996
	d	29	1995-2014
II	a	11	1950-1999
	b	29	1987-2008
	c	205	1996-2008

*OG: out group (国外株)

【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

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、片山芳也

国立研究開発法人農業・食品産業技術総合研究機構 動物衛生研究部門

細菌・寄生虫研究領域

岩田剛敏、楠本正博

2) レーザーマイクロダイセクション法の馬感染症の病理学的診断法への応用 (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)

国立研究開発法人 農業・食品産業技術総合研究機構
動物衛生研究部門 病態研究領域
木村久美子

生物学的製剤製造グループ
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 微生物研究室
片山芳也、上野孝範、越智章仁

【背景と目的】

馬感染症の病性鑑定では、原因となっている病原体を明らかにするために病原学的検査と病理学的検査が実施される。病理学的検査では疾病特異的な組織像および病原体を確認するが、病原体の特定が困難な症例は多い。免疫組織化学的技術の発展・普及により、多くの病原体について組織標本における同定が可能になった。しかし、この技術は病原体ごとに特異抗体が必要であること、近縁種との交叉反応による詳細な同定が困難な症例があること等の問題点も残されている。

近年、分子生物学の発展に伴って多数の病原体の遺伝子情報が蓄積され、病理標本を用いた遺伝子解析による病原体の同定も可能となってきた。さらに、顕微鏡観察によって特定領域を切り出し、遺伝子を抽出して解析するレーザーマイクロダイセクション法 (LMD 法) が開発され、その有用性も多く報告されている。本研究では、LMD 法を馬感染症野外症例の病理学的診断に応用し、病性鑑定における病理組織学的検査精度の向上に資することを目的とする。

本年度は、細菌感染症、ウイルス感染症および真菌感染症に関して、以下の通り検討を行った。

【材料と方法】

1) 実験感染モデルを用いた細菌感染症に関する検討

3 週齢の ICR および C57BL/6CrSlc に *Rhodococcus equi* 10^{10} CFU (0.1mL) を腹腔内投与し、発症時に剖検した。五大臓器 (肝、脾、腎、心、肺) および脳を採取し、10%中性緩衝ホルマリンあるいはメタカン (メタノール:クロロホルム:酢酸 = 6:3:1) 固定液で 24 時間固定後にパラフィン包埋し、4 μ m 厚に薄切した切片を LMD 専用のフォイルに貼り付け、トルイジンブルー単染色ないしグラム染色を実施した。LMD による菌塊のみの切り出し、実体顕微鏡下での肝臓あるいは脾臓のみの切り出しを実施し、DNA 抽出を行った。DNA 抽出キットには QIAamp DNA Micro kit (QIAGEN)、ChargeSwitch gDNA Tissue kit (Invitrogen)、NucleoSpin Tissue XS kit (MACHERY-NAGEL) を用いた。また、キットによる DNA 抽出前の lysozyme, mutanolysin による消化処理についても検討を行った。抽出した DNA は細菌 16S rDNA 共通領域をプライマー (ユニバーサルプライマー) とする 2 種類の PCR (産物約 800bp、約 170bp) を行い、増幅産物についてシーケンス解析した。

2) 野外細菌感染症例を用いた検討

グラム陽性菌の関与が疑われた出血性壊死性大腸炎 3 例および *Actinobacillus equuli* 感染症 2 例(いずれもホルマリン固定)について、LMD による菌塊のみの切り出し、実体顕微鏡下での病変部のみの切り出しを実施し、DNA 抽出を行った。DNA 抽出キットには QIAamp DNA Micro kit (QIAGEN)、NucleoSpin Tissue XS kit (MACHEREY-NAGEL) を用い、グラム陽性菌感染症例では lysozyme, mutanolysin による消化処理についても検討を行った。抽出した DNA は上記同様 2 種類の PCR を行い、増幅産物についてシーケンス解析した。

3) ウイルス感染症に関する検討

馬鼻肺炎感染症例 30 検体の肺および胸腺のホルマリン固定パラフィン包埋切片を用いて、抗 EHV-1 抗体を用いた免疫組織化学的染色を実施し、陽性反応の強さを 6 段階(-~4+)評価した。これらの検体から免疫組織化学的反応強度が異なる肺 7 検体および胸腺 5 検体を選択した。肺は細気管支、胸腺は皮随境界領域を LMD 法により切り出し、QIAamp DNA Micro kit (QIAGEN)を用いて DNA 抽出した。また胸腺については実体顕微鏡下で全領域を切り出し、同様に DNA 抽出を行った。G 蛋白質領域(649bp)を PCR で増幅し、免疫組織化学的染色の結果と比較した。

4) 真菌感染症に関する検討

馬喉嚢真菌症例のホルマリン固定パラフィン包埋切片から LMD 法を用いて真菌菌糸のみを切り出し、QIAamp DNA Micro kit (QIAGEN)を用いて DNA 抽出を行った。また 4 μ m 厚のパラフィン切片から QIAamp DNA FFPE Tissue kit(QIAGEN)を用いて DNA を行った。これらの抽出 DNA をアスペルギルス特異的プライマー、ITS 領域、D1/D2 領域に対するユニバーサルプライマーを用いて PCR を行い、増幅された遺伝子についてシーケンス解析を実施した。

【結果と考察】

1) 実験感染モデルを用いた細菌感染症に関する検討

R. equi 感染マウスを用いた検索では、メタカン固定した材料を用いた場合には *Rhodococcus* sp. 遺伝子が検出されたが、ホルマリン固定材料からは *Acinetobacter* sp. 遺伝子が検出された(図 1)。

ホルマリン固定材料を用いた検索において、昨年度に実施した *S. Abortusequi* 感染マウスと同様の方法では病原体遺伝子の解析(*R. equi* 遺伝子の検出)はできなかった。DNA 抽出キット、lysozyme および mutanolysin 消化、PCR による増幅サイズの短縮による改善は認められなかった。

メタカン固定材料では、ホルマリン固定材料に比べて回収 DNA 量は多く、シーケンス解析においても良好な結果が得られた。しかし、ホルマリン固定材料と同様に、lysozyme および mutanolysin 消化、PCR による増幅サイズがシーケンス解析に及ぼす影響はほとんどみられなかった。

これらの結果より、LMD 法による病原遺伝子の解析には固定液の影響が大きいと考えられた。

2) 野外細菌感染症例を用いた検討

野外例を用いた検討では、グラム陽性菌の関与が疑われた出血性壊死性大腸炎 3 例および *Actinobacillus*

equuli 感染症 2 例において、ユニバーサルプライマーによる遺伝子の増幅がみられた。それらのシーケンス解析では、増幅サイズが 170bp の産物 1 例から *Streptococcus* sp. が検出されたが、その他の症例 (PCR 増幅産物) からは *Herbaspillum huttense*, *Acinetobacter* sp. などが検出され、病理組織像から想定される細菌とは異なっていた。

実験動物の結果同様に、LMD 法による病原遺伝子の解析には固定液の影響が大きいと考えられた。また、パラフィン包埋ブロック作製過程における各試薬を介したコンタミネーション等、種々の要因が影響すると考えられた。LMD 法を病性鑑定に用いるためにはこれらの状況を考慮し、病理組織学的検査と併せて慎重に検討する必要があると考えられた。

3) ウイルス感染症に関する検討

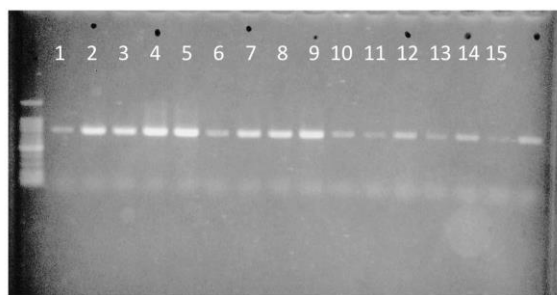
馬鼻肺炎野外例の肺について LMD 法による病原体遺伝子増幅を検討した結果、免疫組織化学的検査結果と LMD 法による検出率に相関性がみられた。

一方、胸腺では免疫組織化学的検査結果と LMD 法による検出率は完全には一致しなかった。胸腺の組織学的特徴の結果、LMD 法を用いても多数のリンパ球が混入するためと考えられた (図 2)。

4) 真菌感染症に関する検討

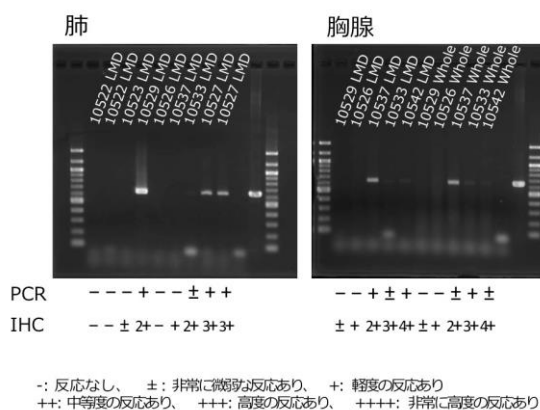
喉嚢真菌症例を用いた検索では、菌種特異的プライマーおよびユニバーサルプライマーを用いた病原体遺伝子の増幅に成功した。しかし、増幅された遺伝子のシーケンス解析の結果、LMD 法により採材したサンプルでは、*Penicillium* 属菌が検出された。なお、検索症例は免疫組織化学的検査でいずれも抗 *Aspergillus* 抗体に陽性を呈している。このように、検出された真菌と免疫組織化学的検査結果が一致しないため、慎重な検討が必要であると考えられた。

図 1 *Rhodococcus equi* 感染マウス
病理切片からの病原体遺伝子検索



1-5: *R. equi* 感染 C57BL/6CrSlc マウス/メタカン固定
6-9: *R. equi* 感染 ICR マウス/メタカン固定
10-15: *R. equi* 感染 ICR マウス/10% 中性緩衝ホルマリン固定
2, 5, 7, 9, 11, 13, 15: Lysozyme, mutanolysin による消化処理あり
1-3, 6-7, 10-11: LMD 法による切り出し
4-5, 8-9, 12-15: 実体顕微鏡下での切り出し

図 2 馬鼻肺炎野外例病理切片からの
病原体遺伝子検索



【共同研究者】

北海道日高家畜保健衛生所

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
岡野 篤

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	馬パッチ	馬鼻肺炎(流産)	馬インフルエンザ	馬伝染性子宮炎
2007	0	0	3	2	21	1061	0
2008	0	0	3	10	23	183	0
2009	0	0	4	2	27	0	0
2010	0	0	0	0	44	0	0
2011	2	0	1	0	14	0	0
2012	0	0	1	1	33	0	0
2013	0	0	0	0	35	0	0
2014	0	0	4	4	53	0	0
2015	0	0	1	0	42	0	0
2016	0	0	1	0	59	0	0

(頭)

2. 近年の海外における伝染病発生状況 (2015~17)

- 馬インフルエンザ アメリカ・カナダ・欧州各国などで散発的に発生。
- 馬ヘルペスウイルス感染症 アメリカ・カナダ・欧州各国など。
- 馬伝染性子宮炎 フランス・ドイツ・ベルギー・オランダ・南アフリカ・韓国など。
- 馬伝染性貧血 アメリカ・カナダ・ドイツ・オランダ・スペイン・スイスなど。
- 馬ピロプラズマ病 フランス・スペイン・アラブ首長国連邦・南アフリカでは風土病。アメリカ・イギリスでも発生。
- 馬ウイルス性動脈炎 アメリカ・カナダ・フランス・イタリア・ドイツ・オーストラリアなど。
- ウエストナイルウイルス感染症 アメリカ・イタリア・カナダ・スペイン・フランスで発生。
- 東部馬脳炎 (EEE) アメリカ・カナダで発生。
- アフリカ馬疫 南アフリカでは風土病。
- ヘンドラウイルス感染症 オーストラリアで発生。
- 水胞性口炎 アメリカ・メキシコで発生。
- 鼻疽 ブラジル・ドイツ・インドで発生。

(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
日比 浩之

1. 輸出入検疫状況（平成 24 年～28 年）

我が国への馬の輸入頭数は平成 11 年以降 4,000 頭を上回り、平成 18 年には 6,423 頭と最多となったが、その後は減少傾向が続き、平成 24 年には 2,954 頭となり 3,000 頭を下回った。その後の輸入頭数は回復傾向であり、平成 28 年には 4,016 頭が輸入された。全体の増加の主な要因は、肥育用の大幅な増加であり、平成 28 年においても全輸入頭数の約 87%を占めている。

平成 28 年の輸入頭数をみると、用途別では、繁殖用が 115 頭、競走用が 191 頭、乗用が 222 頭、肥育用が 3,488 頭であった。

また、仕出国別では、肥育用以外はアメリカが最多で 151 頭、次いでイギリスが 90 頭、ベルギー 87 頭、ドイツが 53 頭と続いている。肥育用馬においては、フランス産馬 148 頭が輸入検疫を受けたが馬ピロプラズマ病が摘発され全頭処分となったため、カナダからのみの輸入となっている（表-1）。

一方、近年、輸出頭数は百数十頭で推移している。平成 25 年には 88 頭となり減少したが、平成 26 年から平成 28 年にかけては 150 頭以上輸出されている（表-2）。

※ 平成 28 年は速報値。

2. 伝染性疾病の摘発状況

平成 28 年は、フランス産肥育用馬 20 頭で *Babesia. caballi* 及び *Theileria. equi* による馬ピロプラズマ病が摘発された。検査で陽性になった 20 頭及び同居馬については疾病を広げる恐れが否定できないことから、輸入者の意向のもと全頭自衛殺された。馬インフルエンザは、ベルギー産乗用馬で摘発された。遺伝子検査は陽性であったが、ウイルスは分離されず、係留期間中にウイルス排泄がないことを確認し、解放した。

そのほか、馬パラチフスはほぼ毎年摘発があり、平成 28 年はフランス産肥育用馬及びカナダ産肥育用馬で計 5 頭を摘発し、うち 4 頭が自衛殺された。残りのカナダ産肥育用馬 1 頭については初回検査で試験管凝集反応検査疑陽性となったが、再検査で抗体価の上昇が認められなかったことに加え、検疫期間中の臨床検査で異常が確認されなかったこと等を踏まえ、解放した（表-3）。

表-1 用途別・仕出国別輸入頭数(平成24年~28年)

単位：頭数

用途	仕出国	平成24年	平成25年	平成26年	平成27年	平成28年
繁殖	アメリカ	37	54	42	43	47
	イギリス	37	54	53	33	40
	カナダ	0	0	3	14	0
	オーストラリア	1	8	7	8	9
	アイルランド	1	0	0	0	0
	フランス	6	8	4	25	8
	その他の国	0	6	0	10	11
	小計	82	130	109	133	115
乗用	ベルギー	140	145	84	148	87
	オーストラリア	23	31	15	19	21
	アメリカ	25	22	9	19	21
	ドイツ	41	28	46	6	51
	ニュージーランド	0	6	3	2	6
	フランス	1	0	5	1	2
	その他の国	5	1	8	19	34
	小計	235	233	170	214	222
競走	アメリカ	100	76	86	100	83
	イギリス	21	18	23	23	48
	オーストラリア	10	8	13	13	11
	アイルランド	2	2	1	0	0
	香港	10	6	15	14	19
	フランス	4	11	18	7	5
	アラブ首長国連邦	7	6	9	7	9
	その他の国	3	7	9	9	16
	小計	157	134	174	173	191
肥育	カナダ	2,480	3,181	4,924	4,362	3,488
	アメリカ	0	0	0	0	0
	小計	2,480	3,181	4,924	4,362	3,488
その他	スイス	0	3	0	0	0
	小計	0	3	0	0	0
	合計	2,954	3,681	5,377	4,882	4,016

表-2 用途別輸出頭数(平成24年~28年)

単位：頭数

	平成24年	平成25年	平成26年	平成27年	平成28年
繁殖	48	32	32	61	37
乗用	23	6	14	7	14
競走	52	50	104	94	95
肥育	0	0	0	0	0
その他	0	0	0	37	6
合計	123	88	150	199	152

表-3 過去5年の輸入馬疾病摘発状況

単位：頭数

	平成24年	平成25年	平成26年	平成27年	平成28年	合計
馬伝染性子宮炎	1	-	-	-	-	1
馬ピロプラズマ病	1	-	1	-	20	22
馬インフルエンザ	6	-	-	-	1	7
馬鼻肺炎	2	-	-	2	-	4
馬パラチフス	9	13	8	5	5	40
合計	19	13	9	7	26	74

3. 染性疾病の摘発事例：カナダ産肥育用馬における馬インフルエンザの摘発

カナダから日本向けに輸出される肥育用馬は、輸出前に7日間以上の係留検査を受け、馬インフルエンザに関しては、輸出前3か月間発生がない農場由来であること及び出国検疫開始前1年以内に馬インフルエンザワクチンを4~6週間隔で2回若しくはブースターワクチンとして1回接種されていることが義務づけられている。さらに、日本到着後、動物検疫所において10日間の係留検査を実施し、馬インフルエンザの検査を行い、陰性を確認した上で解放している。今回、平成29年3月に輸入されたカナダ産肥育用馬で馬インフルエンザが摘発されたので、分離ウイルスと当該馬群のHI抗体価に関する知見と合わせ、その概要を報告する。

(1) 馬インフルエンザとは

馬インフルエンザウイルス(*Orthomyxoviridae, Influenzavirus A*)の感染によって起きる急性の呼吸器感染症で、家畜伝染病予防法において届出伝染病に指定されている。H3N8亜型とH7N7亜型があり、H3N8亜型が近年世界的に流行しており、H7N7亜型については現在では馬から消滅したと考えられている。H3N8亜型は北米でフロリダ亜系統Clade1の株が、欧州諸国でフロリダ亜系統Clade2の株が流行している。潜伏期は短く、1~3日間であり、40℃前後の高熱、頻発する強い咳及び呼吸困難を認める。

(2) 輸入馬群の概要

平成29年3月22日、フランスからの肥育用馬として門司支所新門司検疫場に114頭が収容された。当該馬群は、馬インフルエンザについて輸入前のカナダにおける臨床検査で異常を認めなかった。また、輸入前に不活化ワクチンを4週間隔で2回接種されている(図-1)。輸入馬に通常実施する検査として、検疫初日(3月23日)に採材された鼻腔スワブを用いて、クイックチェイサーによる簡易試験(以下、簡易試験)を行った

結果 1 頭が陽性となり、遺伝子検査においても陽性を示した。検疫初日から鼻汁を漏出する個体が確認され、検疫 2 日目以降も増加した。症状を呈した個体について実施した簡易試験及び遺伝子検査で検疫 7 日目(3 月 29 日)までに全頭で陽性が確認された。係留期間を延長し、検疫 21 日目(4 月 12 日)に行ったリアルタイム RT-PCR になったことから、感染を広げる恐れがなくなったと判断し、検疫 22 日目(4 月 13 日)に係留期間中に死亡した 5 頭を除く 109 頭に輸入検疫証明書を発行した。

(3) ウイルス分離

抗原検査陽性個体の鼻腔スワブを用いて、発育鶏卵の尿膜腔内接種法によるウイルス分離を行い、2 代目に回収したウイルス液は HA 価 $\times 2 \sim \times 16$ を示した。さらに分離された株の HA 遺伝子系統樹解析の結果、分離株は北米で流行するフロリダ亜系統 Clade 1 に属する株であることを確認した(図-2)。

(4) 抗体検査

HI 試験による抗体検査により、①接種ワクチンの有効性、②分離株に対する抗体価の推移、③分離株と国内市販ワクチン株(Ibaraki07 株：フロリダ亜系統 Clade1、Yokohama 株：フロリダ亜系統 Clade2)の交差反応性を確認した。

①接種ワクチンの有効性確認

検体に検疫 1 日目の血清を、抗原には分離株、Ibaraki07 株及び Yokohama2010 株を用いて HI 試験を行った。その結果、3 株ともに抗体価 1 : 10 未満の個体が全体の約 8 割を示した(図-3)。

②分離株に対する抗体価の推移

検体に検疫 1 日目、8 日目、21 日目の 3 点血清を、抗原に分離株を用いて HI 試験を行い、各採血日の血清の抗体価の幾何平均値(以下、GM 値)を算出した。その結果、検疫 1 日目、8 日目の血清で GM 値は 10 未満であったが、検疫 21 日目の血清では GM 値は 50 以上の値を示した(図-4)。

③分離株と国内市販ワクチン株の交差反応性

分離株の感染血清、Ibaraki07 株及び Yokohama2010 株の抗血清を検体に、分離株、Ibaraki07 株、Yokohama 株の 3 株を抗原として HI 試験を実施した。その結果、抗原として用いた Ibaraki07 株及び Yokohama2010 株と、分離株の感染血清、Ibaraki07 株及び Yokohama2010 株の抗血清は、同程度の抗体価を示した(表-4)。

(5) 総括

臨床症状が検疫 1 日目から観察され、同居馬に感染が急速に拡大したこと、馬インフルエンザの潜伏期間が 1~3 日間であることを考慮すると、感染は日本への輸入直前にカナダで成立したと考えられた。

分離株は北米で流行しているフロリダ亜系統 Clade1 に分類された。HI 試験により、当該馬群はワクチンによる抗体付与が十分ではなく、野外株の感染による明確な抗体上昇を起こしていたと推察された。交差反応性試験の結果から、分離株はある程度国内市販ワクチン株と血清学的に交差することが示唆された。

本事例では、輸入検疫時の的確な検査により国内への侵入を防ぐことができたものの、カナダで接種したワクチンの有効性については疑問が残った。過去の調査により輸入直前にワクチンを 2 回接種することは効果的であるとの報告があるが、今回の事例は同様の接種方法にも関わらず、ワクチン抗体価がほとんど上昇

しなかった。ワクチン抗体価が低かった明確な要因は不明であるが、本事例について輸出者に向けて情報提供を行い、輸出検査状況に合わせた事前協議を重ねることで疾病侵入のリスクを十分に下げ、日本への疾病侵入を防ぐ仕組みをより強固なものとしていきたいと考えている。

図-1 カナダでのワクチン接種日及び輸入検疫期間中の採血日

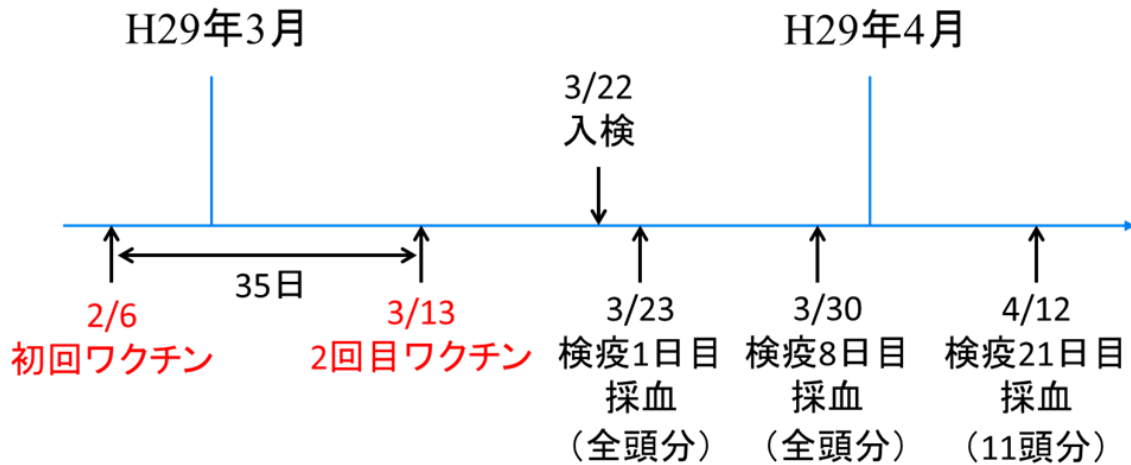


図-2 馬インフルエンザ HA 遺伝子系統樹解析 ※赤字は分離株

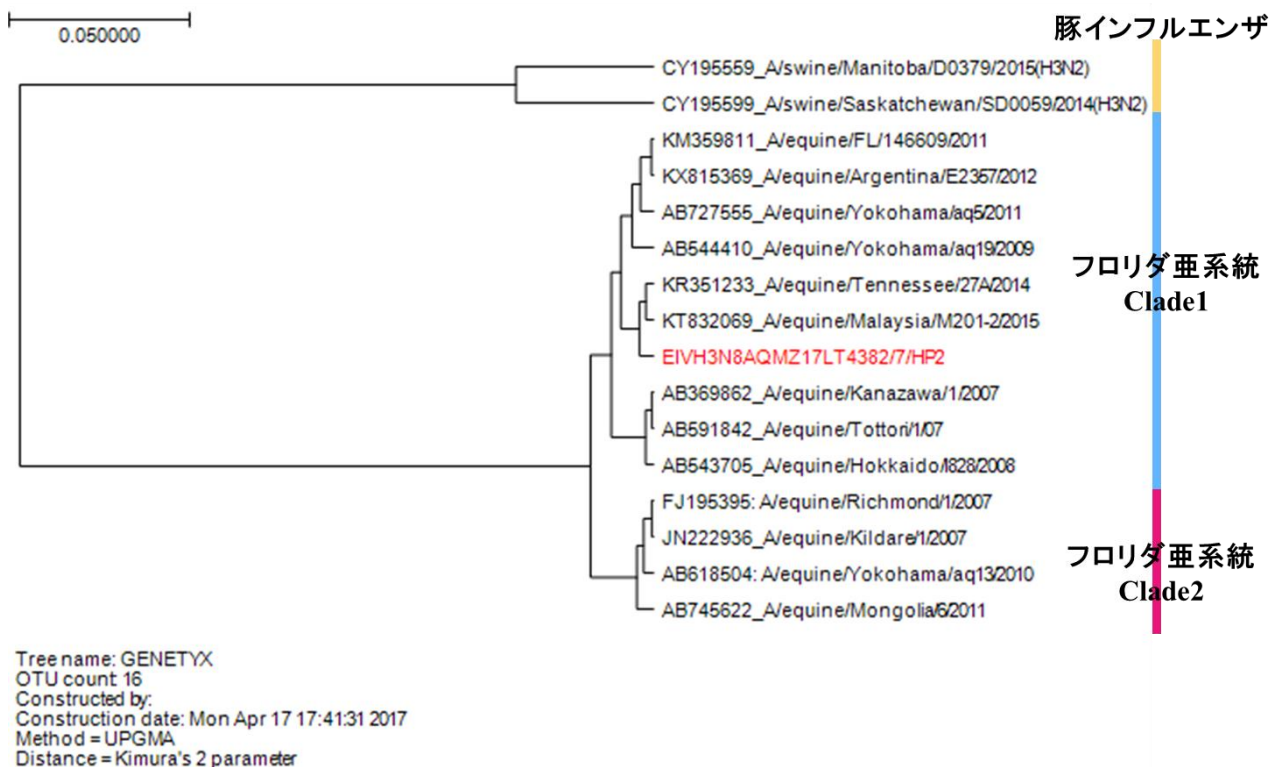


図-3 ①接種ワクチンの有効性確認

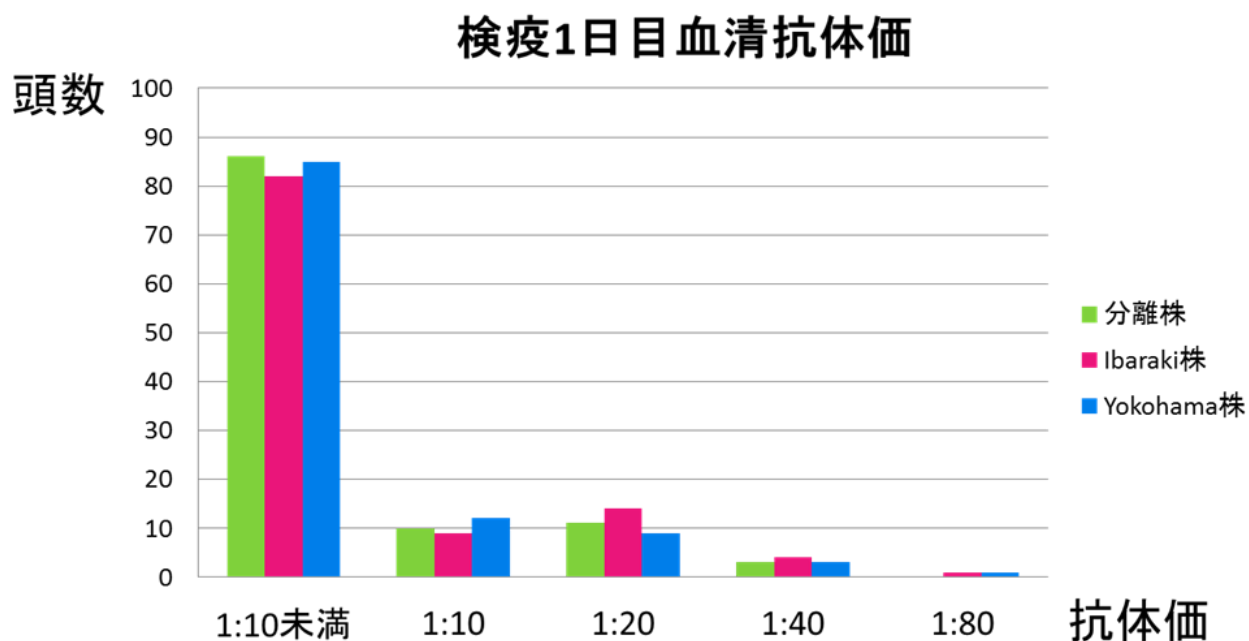


図-4 ②分離株に対する抗体価の推移

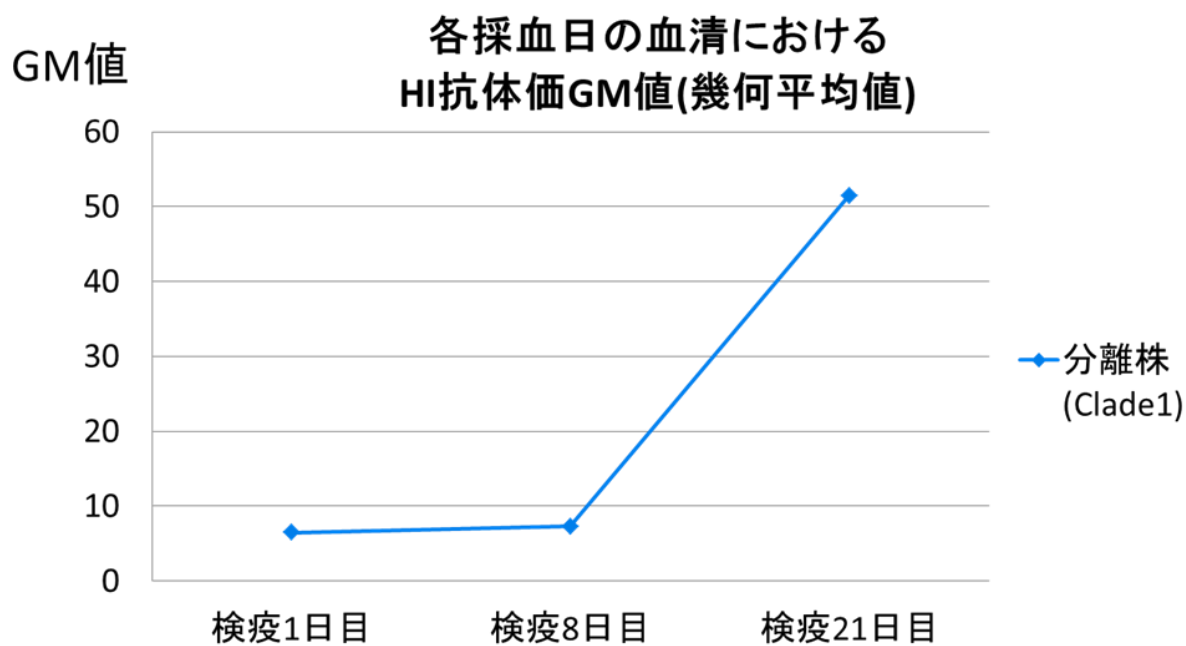


表-4 ③国内市販ワクチン株の交差反応性

	分離株 (Clade1)	Ibaraki株 (Clade1)	Yokohama株 (Clade2)
分離株 感染血清	1:320	1:160	1:160
Ibaraki株 抗血清	1:40	1:40	1:10
Yokohama株 抗血清	1:320	1:160	1:320

3) 馬用の生物学的製剤の製造状況について

(馬用の生物学的製剤の製造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
大石 弘司

1. 馬用生物学的製剤の製造状況

(1) 馬用ワクチンの製造状況

平成 24～28 年度の 5 年間の馬用ワクチンの製造ロット数の推移を表 1 に示した。平成 25 年から従前の不活化ワクチン 7 製剤に加えて、馬鼻肺炎生ワクチンが新たに製造されるようになり、承認を取得している製剤のうち平成 28 年度はすべての製剤が製造された。

なお、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、日脳・ゲタウイルス感染症混合不活化ワクチン及び破傷風トキソイドはシードロット製剤として承認されており、国家検定の対象外のものもある。

表 1 馬用ワクチンの製造ロット数 (H24～H28)

製剤名	H24	H25	H26	H27	H28
馬インフルエンザ	3	3	3	3	3
馬鼻肺炎 (不活化) (シード)	2	3	3	1	2
馬鼻肺炎 (生)	—	1	1	1	1
馬ロタウイルス感染症(シード)	1	1	1	1	1
日脳・ゲタウイルス感染症(シード)	1	1	1	1	1
馬インフルエンザ・日本脳炎・破傷風トキソイド	3	3	3	2	3
破傷風トキソイド(シード)	1	2	2	2	2
馬ウイルス性動脈炎	1	0	1	0	1

表 2 には、製造数量の推移をドース換算で示している。各ワクチンともおおむね安定した量の生産が行われている。

表 2 馬用ワクチンの製造数量 (単位：ドース)

製剤名	H24	H25	H26	H27	H28
馬インフルエンザ	66,296	57,616	45,718	50,182	61,610
馬鼻肺炎 (不活化) (シード)	29,028	16,540	36,013	14,267	24,104
馬鼻肺炎 (生)	—	12,155	12,000	10,955	11,665
馬ロタウイルス感染症(シード)	6,850	9,470	7,650	9,585	9,290
日脳・ゲタウイルス感染症(シード)	24,990	17,570	17,390	17,697	16,925
馬インフルエンザ・日本脳炎・破傷風トキソイド	50,671	48,598	57,736	36,964	52,702
破傷風トキソイド(シード)	3,984	3,348	4,516	4,220	3,512
馬ウイルス性動脈炎	3,030	0	3,030	0	3,445

(2) 馬用診断液及び血清の製造状況

平成 24～28 年度の 5 年間の馬用診断液及び血清の製造ロット数の推移を表 3 に示した。H26 年度に破傷風抗毒素の製造はなかったが、H27 年度に製造されている。

表 3 馬用診断液及び血清の製造ロット数（カッコ内は製造量：mL）

製剤名	H24	H25	H26	H27	H28
馬伝染性貧血診断用抗原	2 (1,075)	1 (971)	1 (863)	0 (0)	1 (981)
馬パラチフス診断用菌液	0 (0)	2 (4,030)	1 (2,080)	1 (3,530)	0 (0)
破傷風抗毒素	1 (10,420)	1 (22,060)	0 (0)	1 (22,000)	0 (0)

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議事概要

平成 29 年 8 月 17 日に第 9 回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（委員長：喜田 宏（北海道大学人獣共通感染症リサーチセンター統括））が開催された。馬インフルエンザワクチンに関する議事概要は以下の通りであった。

- ・OIE 馬インフルエンザ専門家会議によると、2016 年は
 - ①アイルランド、スウェーデン、英国、米国で H3N8 が分離された。
 - ②アイルランド、英国、米国分離株はフロリダ亜系統 Fc1 又は Fc2 に属していた。
- ・ワクチン製造用株として昨年同様 H3N8 亜型フロリダ亜系統 Fc1 及び Fc2 が推奨された。

【結論】

日本のワクチン製造用株は世界の流行株の抗原性状に近く、OIE の推奨にも合致していることから、世界の流行株に対して有効であると考えられ、「現行の製造用株

[A/equine/Yokohama/aq13/2010 \(H3N8\)](#) 及び

[A/equine/Ibaraki/1/2007 \(H3N8\)](#)

の組合せを現時点で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：79名）

1. 東京大学医科学研究所、ウィスコンシン大学
河岡 義裕

2. 農業・食品産業技術総合研究機構 動物衛生研究部門
坂本 研一
山川 睦
秋庭 正人
岩田 剛敏
森岡 一樹
木村 久美子
大橋 郁代（長期研修生）
谷口 綾香（長期研修生）
高安 真理子（長期研修生）
鈴木 太（長期研修生）
佐藤 福太郎（長期研修生）

3. 農林水産省 動物検疫所
平松 龍人
守野 繁
日比 浩之
室賀 紀彦
高橋 延之
遠藤 明仁
尾藤 麻希子
島本 真理
濱名 史絵
鈴木 瞳
東 俊英

4. 農林水産省 動物医薬品検査所
大石 弘司

5. 技術部会参加者
北海道日高家畜保健衛生所 宮澤 国男
北海道胆振家畜保健衛生所 風間 知里
栃木県南家畜保健衛生所 牧 誉大
千葉県中央家畜保健衛生所 島田 圭悟
新潟県下越家畜保健衛生所 金子 文恵
愛知県西部家畜保健衛生所尾張支所 奥田 真未
京都府中丹家畜保健衛生所 久保田 直樹
広島県北部家畜保健衛生所 数面 麻子
山口県中部家畜保健衛生所 鳴重 寿人
福岡県北部家畜保健衛生所 大山 慶
鹿児島県肝属家畜保健衛生所 馬籠 麻美
動物検疫所北海道・東北支所胆振分室 黒田 正爾

動物検疫所成田支所動物検疫第1課 鈴木 祐子
動物検疫所門司支所検疫第2課 大島 英美

6. (一財) 日本生物化学研究所
大森 崇司
7. (一財) 化学及血清療法研究所
山崎 憲一
8. (公社) 日本軽種馬協会
江口 貞男
9. (公社) 中央畜産会
関谷 順一
原田 博文
10. 日本中央競馬会
木村 一人

馬事部

山野辺 啓
伊藤 幹
松田 芳和
額田 紀雄
岡野 篤
前田 達哉
大塚 佑

美浦トレーニング・センター

関 一洋

栗東トレーニング・センター

神谷 高弘

競走馬総合研究所

田嶋 義男、針生 和久、松村 富夫、近藤 高志、成田 正一、太田 稔
徳重 裕貴、杉田 繁夫、片山 芳也、上野 孝範、丹羽 秀和、木下 優太
越智 章仁、内田 英里、古角 博、山中 隆史、辻村 行司、根本 学
坂内 天、高橋 敏之、大村 一、向井 和隆、高橋 佑治、笠嶋 快周
黒田 泰輔、田村 周久

あとがき

本年の馬防疫検討会「馬感染症研究会」は、10月16日（月）から10月20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28回目になり、11名の家畜保健衛生所職員ならびに3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するために、例年どお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34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79名でした。今回の特別講演は、東京大学医科学研究所とウィスコンシン大学マディソン校の河岡義裕教授に「新興感染症：最近の話題」と題して講演をお願いしました。アフリカ西部シオラレオネにおけるエボラウイルスに対するワークについて、まさに流行地における現場の状況や取り組みについて、自らの滞在経験を交えた臨場感のある内容をお話していただきました。また、インフルエンザウイルス研究の世界をリードする内容の一部についてもレクチャーしていただきました。限られた時間内ではありましたが、大変わかりやすく講演していただきました。ウイルスの専門家だけではなく、日常感染症に立ち向かう全ての獣医師にとって有益なものとなりました。講演中のみならず、終了後にも活発な質疑応答がなされ、関心の高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、報告および講演者に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方々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

成田正一、原田博文

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

公益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