

平成 27 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 27 年 10 月 19 日（月）～10 月 23 日（金）

〔平成 27 年 10 月 19 日（月）～10 月 22 日（木）— 技術部会〕
〔平成 27 年 10 月 23 日（金）— 研究部会〕

会場：JRA 競走馬総合研究所栃木支所

平成 27 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 27 年 10 月 19 日（月）～10 月 22 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 — 11
 - 3) 馬の防疫に関する各都道府県の現状技 — 15
4. 技術部会出席者名簿技 — 33

1. プログラム

平成 27 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／日本中央競馬会 (JRA)／公益社団法人中央畜産会

開 催 日：平成 27 年 10 月 19 日 (月) ～10 月 22 日 (木)

開催場所：JRA 競走馬総合研究所栃木支所

10 月 19 日 (月)

[場所：事務棟大会議室]

進行：松田 芳和 (JRA 馬事部防疫課)

1. 開会挨拶 9 : 50～10 : 00
加茂前 清尚 (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 (動物衛生研究所)
 - 1) 馬の防疫と馬防疫検討会の役割 10 : 10～10 : 25
加茂前 清尚 (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
立野 大樹 (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

[場所：健康馬厩舎柵場]

4. 保定法／個体識別法／検体採取法 (実習) 13 : 00～16 : 00
講師：東樹 宏太 (JRA 馬事部防疫課)、辻村 行司、上野 孝範、丹羽 秀和、
坂内 天、木下 優太、越智 章仁 (JRA 総研栃木支所)
5. 栃木支所施設案内 16 : 00～17 : 00
案内：蘆原 永敏 (JRA 総研栃木支所)

10 月 20 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、坂内 天 (JRA 総研栃木支所)

[場所：事務棟中会議室]

7. 細菌感染症－1（講義）…………… 13：00～14：00
講師：丹羽 秀和、木下 優太（JRA 総研栃木支所）

[場所：第2研究棟理化学実験室]

8. 細菌感染症の検査法－1（実習）…………… 14：00～16：20
講師：丹羽 秀和、木下 優太（JRA 総研栃木支所）

[場所：事務棟大会議室]

9. 病理解剖法（講義）…………… 16：30～17：00
講師：上野 孝範（JRA 総研栃木支所）

10月21日（水）

[場所：第2研究棟理化学実験室]

10. ウイルス感染症の血清学的診断法－2（実習）…………… 9：00～12：00
講師：辻村 行司、坂内 天（JRA 総研栃木支所）

[場所：病理検査棟]

11. 病理解剖法（実習）…………… 13：00～15：50
講師：上野 孝範、越智 章仁、片山 芳也（JRA 総研栃木支所）

[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）…………… 16：00～17：00
講師：丹羽 秀和、木下 優太（JRA 総研栃木支所）

10月22日（木）

[場所：事務棟大会議室]

13. 細菌感染症－2（講義）…………… 9：00～10：20
講師：丹羽 秀和、木下 優太（JRA 総研栃木支所）

14. 原虫感染症（講義）…………… 10：30～12：00
講師：片山 芳也（JRA 総研栃木支所）

15. 寄生虫症（講義）…………… 13：00～13：50
講師：越智 章仁（JRA 総研栃木支所）

16. 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）

17. 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）

18. 意見交換 …………… 16：00～17：00
司会：松田 芳和（JRA 馬事部防疫課）

19. 閉会挨拶
和田 信也（JRA 総研）

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
家畜衛生専門官
加茂前 清尚

平成 27 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。

農林水産省では、本年 3 月に農政に係る中長期方針である「食料・農業・農村基本計画」及び馬の「家畜改良増殖目標」を定めたところですが、衛生管理水準の向上はその健全な発展に欠かせないものであることから、その両方において、家畜伝染病予防法で定められている飼養衛生管理基準の遵守の徹底を盛り込んだところです。

我々といたしましても、関係者の皆様とより一層の連携を深め、飼養衛生管理基準に沿った飼養管理の定着について、推進していくこととしております。

近年の家畜衛生をめぐる状況としましては、皆様のご尽力の結果、幸い、我が国では、馬インフルエンザを始め重大な馬疾病の流行は確認されておりません。しかしながら、海外に目を向けますと本年 1 月下旬、ドイツでは 1955 年以來となる鼻疽の発生が確認されました。本発生を受け、我が国は同国から輸出される馬の輸入を一時停止するなどの措置を講じたところです。また、5 月には韓国で、同国内では初めてとなる馬伝染性子宮炎の発生が確認されてい

ます。他方、国際獣疫事務局（OIE）においては、オリンピック・パラリンピックや国際馬術競技会等の開催に伴う馬の移動の円滑化のために、本年 5 月に開催された第 83 回 OIE 総会において、高度な衛生状態にある馬群に関する OIE コードが採択されたところであり、今後、更に国際的な馬の移動が活発化していくこととなると考えられます。また、我が国の競走馬が海外の舞台で活躍する機会が増え、競馬法の改正により、遠征馬の海外レースの勝馬投票券が購入できるようになり、海外競馬への関心も更に高まることが想定されます。

これらのことから、水際措置や国内の防疫措置の的確な実施がより一層重要になってくるものと認識しております。

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るとともに、本日ご参集の皆様方におかれましては、馬感染症対策における指導的な役割を担われる獣医師として、防疫の推進にご活躍いただく機会はずますます増えていくものと考えております。今回の技術部会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、皆様の今後の活躍を祈念致しまして私の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

加茂前 清尚

【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

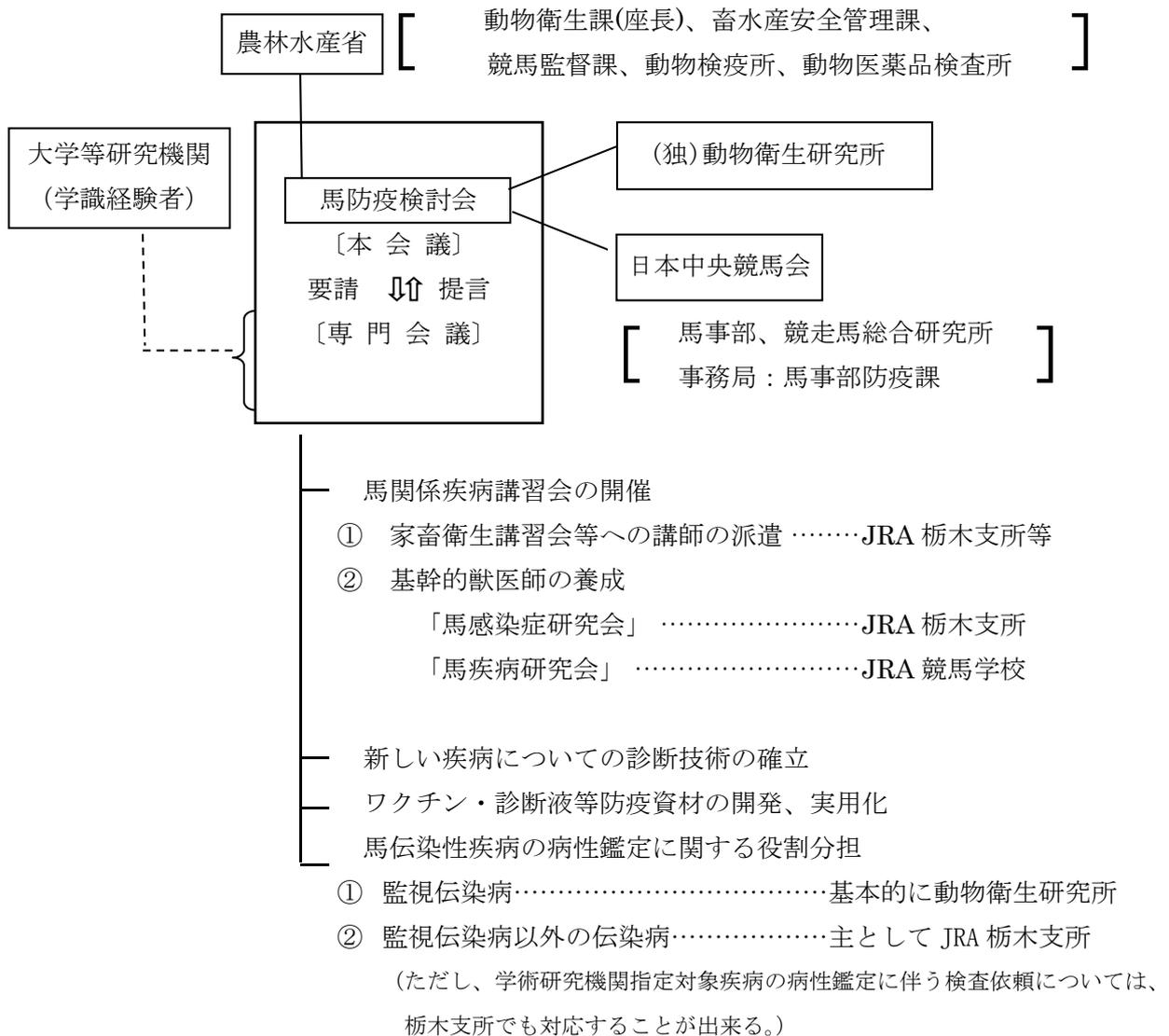
平成 19 年 3 月 13 日 改正

平成 26 年 2 月 4 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



- [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27年3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 馬パラチフスの診断	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 馬ヒロブラスマ病の診断	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・カ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 ^サ 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 馬インフルエンザ ^サ 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 馬ヒロブラス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 ^サ 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ダ ^サ 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(フロダ ^サ 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 ^サ 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 ^サ 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 ^サ 発生時の総括	① 農林水産省「馬インフルエンザ ^サ 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 ^サ 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 ^サ 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)	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 馬パラチフスの診断法	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 TAT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る方法として有用であることを確認。

「馬パラチフス診断法に関する専門会議設立の目的と背景」

【背景と経緯】

馬パラチフスは、馬に流産や多発性膿瘍を引き起こす感染力の強い疾病であり、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。本病の診断には病原学的検査と血清学的検査が用いられるが、病原学的検査による保菌馬の摘発は困難なため、動物検疫や種畜検査では主に血清学的検査が実施されている。

試験管凝集反応法（TAT）は、多くの検査機関で使用されている血清学的検査法であるが、実施に必要な手間が多く、多検体を一度に処理するには限界がある。これに対し、マイクロ凝集反応法（MAT）は、中野ら（1986）によって検討された方法であり、96 穴のマイクロプレート上の 1 ウェルが TAT で用いる試験管 1 本として使用できることから、作業の省力化やコストなどの点においてメリットがある。そこで、平成 22 年以降、動物検疫所と JRA 競走馬総合研究所栃木支所との共同研究により MAT の改良ならびに TAT との整合性について検討が重ねられ、すでに一定のデータが蓄積されている。

一方、同じく中野らは、血清の 2ME 処理により凝集反応に特有の非特異的反応を低減させることが出来ると報告している。上記の共同研究では、2ME と同じ作用を有し、毒性の低いジチオスレイトール（DTT）を試薬に用いた MAT（DTT-MAT）についても検討している。

しかしながら、これらの研究成果を輸入検疫や種畜検査あるいは家畜保健衛生所での病性鑑定に取り入れるためには、専門家によるその検討と評価が必要と考えられる。

【目的】

- ① MAT の評価および馬パラチフス血清学的検査法としての確立
- ② DTT-MAT の評価

【検討の内容】

- ① これまでの MAT に関する検討データの専門的な評価を受けるとともに、必要に応じて追加試験を行い、MAT の馬パラチフス血清学的検査法としてのプロトコールや診断基準の標準化を行う。
- ② DTT-MAT について専門的な評価を受けるとともに、必要に応じて追加試験を行い、その診断上の価値について見解をまとめる。

「専門会議の開催日程と出席者」

【開催日程】

第一回専門会議：平成26年6月11日（水）

第二回専門会議：平成27年2月23日（月）

【専門委員】

- 高井 伸二 北里大学 獣医学部 獣医衛生学研究室 教授
加藤 一典 北海道日高家畜保健衛生所長
秋庭 正人 (独)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 主任研究員
國保 健浩 (独)農業・食品産業技術総合研究機構 動物衛生研究所
動物疾病対策センター 生物学的製剤製造グループ 製造科長
安齊 了 日本中央競馬会 競走馬総合研究所長（第1回）
日本中央競馬会 馬事部長（第2回）
丹羽 秀和 日本中央競馬会 競走馬総合研究所 栃木支所 微生物研究室 主査

【オブザーバー】

- 武久 智之 農林水産省 消費・安全局 動物衛生課 課長補佐（防疫業務班）
中尾 哲也 農林水産省 動物検疫所 精密検査部 微生物検査課長
木原 博文 農林水産省 動物検疫所 精密検査部 微生物検査課
永井 英貴 農林水産省 動物医薬品検査所 検査第1部 総括上席研究官
※高橋 弘康 北海道十勝家畜保健衛生所 病性鑑定課 主査

【事務局】

- 井上 真 日本中央競馬会 馬事担当理事
奥 河寿臣 日本中央競馬会 馬事部長補佐
松田 芳和 日本中央競馬会 馬事部 防疫課長
栗本慎二郎 日本中央競馬会 馬事部 防疫課課長補佐
南 卓人 日本中央競馬会 馬事部 防疫課係長
※東樹 宏太 日本中央競馬会 馬事部 防疫課係長

※は第2回会議からの参加

「総括（最終評価と提言）」

平成26年6月から平成27年2月に至る間に馬防疫検討会・馬パラチフスの診断法に関する専門会議を開催し、マイクロ凝集反応法（MAT）の評価と馬パラチフスの診断法としての確立ならびに DTT-MAT の評価を行った結果、以下の結論を得た。

- 1) MAT は試験管凝集反応法（TAT）と同等の成績が得られる方法であり、TAT の代替法として使用できる方法と考えられる。
- 2) MAT の標準作業手順書を作成した。
- 3) DTT-MAT は、TAT や MAT と併用することで、これらの検査において検出された抗体が感染抗体であるかどうかを裏付ける方法として有用であると考えられた。また、発生農場における感染状況の把握や保菌リスクの高い馬の選定、サーベイランス等における潜在的な感染リスク馬の摘発に有効な手段であると考えられる。
- 4) 今後、MAT の幅広い活用のために、①診断用医薬品（「馬パラチルス急速診断用菌液」）の使用説明書、②種畜検査執務要領の改定等について検討を行っていくべきである。

2) 軽種馬の防疫と JRA の役割

JRA 馬事部防疫課
立野 大樹

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26年度の接種延頭数は、馬インフルエンザ11,218頭、日本脳炎16,973頭、ゲタウイルス感染症14,083頭、破傷風4,058頭および馬鼻肺炎9,483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26年度の検査延頭数は、栗東4,157頭、美浦3,988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	馬インフルエンザ	●	●	◎	○		○				○		○		○
	日本脳炎	●	●	○	●	●					●	●	●	●	
	破傷風	●	●	(○)	○						○		○		
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							△	△	△					

●	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 26 年度の検疫延頭数は、栗東 11,659 頭、美浦 13,037 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）衛生害虫駆除（スチオン・デミリンなど）、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
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、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。

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27年度）

1. 馬伝染性疾病防疫推進対策事業【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ザワクチン接種費用の一部を助成。

○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。

○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。

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。

4. 馬インフルエンザ等防疫強化特別対策事業 - 在来馬等馬伝染性貧血清浄化推進事業【中央畜産会】

○馬伝染性貧血の清浄性が確認されていない在来馬群に対して、清浄化を推進する事業。

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家畜保健衛生所管内の現状

北海道日高家畜保健衛生所
原田 健弘

1. 馬の飼養状況

町名	軽種馬		重種		北海道和種		ポニー		その他	
	戸数	頭数	戸数	頭数	戸数	頭数	戸数	頭数	戸数	頭数
日高町	179	5,683	7	14	2	2	16	98	19	48
平取町	16	487	1	3	1	1	6	28	5	9
新冠町	123	3,222	1	1	4	4	10	29	26	63
新ひだか町	160	3,198	8	28	5	5	12	36	9	107
浦河町	147	3,130	4	7	4	4	16	40	22	48
様似町	24	330		0		0	3	8	3	4
えりも町	4	35	1	1	1	4	5	7	1	3
計	653	16,085	22	54	17	20	68	246	85	282
前年度計	813	18,936	31	137	31	130	104	283	97	218

※家畜伝染病予防法第12条の4に基づく定期報告の数字 H27. 2. 1時点(前年度計はH26. 2. 1)

2. 馬の防疫実績 (平成26年度)

- (1) 予防事業：馬伝染性貧血検査(法5条)5,963頭、馬鼻肺炎検査(発生牧場の抗体検査)142頭
- (2) 輸入馬の着地検査(法51条)：122頭(種雄馬：2頭、繁殖雌馬：70頭、競走用：49頭、乗用：1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. 馬感染症の発生状況 (平成27年9月30日時点)

- (1) 馬鼻肺炎流産型：平成27年1月～27年5月(今年の分娩シーズン)に18戸33頭で流産・生後直死が発生し、うち11戸は単発例、7戸は継続発生例。

(前年の分娩シーズン：16戸53頭、単発7戸、継続発生9戸)

馬鼻肺炎神経型：平成26年1月に1頭発生後、発生なし

*H18.3：1頭、H19.3：1頭、H21.11：1頭

- (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27年度は8戸8頭発生(平成26年度：5戸5頭)。全ての症例で肺や腸間膜リンパ節に膿瘍を形成していた。
- (3) ローソニア・イントラセルラリス感染症：疑い事例11頭のうち4頭で遺伝子陽性
- (4) アクチノバチルス・エクイ感染症：平成27年度は生後直死48件中11頭

(平成26年度は31件中3頭)

4. 馬の病性鑑定 (平成26年度)

検定目的	H26										H27			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		
伝貧	93	42	60	43	93	59	111	55	25	97	9	113	800	
馬パラチフス	14	7	28	34	86	43	2	12	21	22	15	11	295	
ERV-CF	5	2	1	2	4	11	17	28	35	17	16	18	156	
流産原因	11	7	1	0	0	6	15	21	35	41	29	23	189	
生後直死原因	7	2	0	0	0	0	0	0	0	5	7	11	32	
死亡原因	5	1	7	5	3	1	2	1	1	3	4	1	34	
下痢原因	1	5	14	5	2	1	3	1	1	2	2	1	38	
寄生虫検査	55	71	87	58	100	23	80	11	73	137	59	108	862	
その他	23	17	28	14	6	9	6	34	5	9	12	34	197	
小計	214	154	226	161	294	153	236	163	196	333	153	320	2,283	

5. CEM 清浄性維持・監視のためのサーベイランス (平成26年度)

有症状馬 306頭、繁殖初供用馬 975頭、種牡馬 350頭。(全頭陰性)

(情報提供)

○過去 10 年にわたる軽種馬の流産原因検査成績について

北海道日高家畜保健衛生所 原田 健弘

【はじめに】

軽種馬生産の安定経営のためには、毎年健康な子馬を生産することが重要である。近年の日高管内における軽種馬繁殖成績の調査では、受胎が確認された繁殖雌馬の流産等による胎子損耗率は 8.7%と報告されている。そこで今回、当所に搬入された流産胎子の病性鑑定結果をもとに、過去 10 年間の流産の実態を調査し、過去に当所で報告した平成 8 年度から平成 12 年度の流産胎子 919 検体の調査結果と比較、検討した。

【調査対象及び調査方法】

平成 16 年度から平成 25 年度までの 10 年間、延べ 2,002 検体を調査対象とした。集計は、感染性流産をウイルス性、細菌性及び真菌性に、非感染性流産を臍帯の捻転や異常による胎子の循環障害（以下、循環障害）、多胎、奇形、胎盤異常及びその他（肝臓の裂開や難産等）に分類した。

【検査成績】

感染性流産は 357 検体 (17.8%)、非感染性流産は 504 検体 (25.2%)、原因不明は 1,141 検体 (57.0%) だった。感染性流産の内訳は、ウイルス性が 53.2%、細菌性が 40.6%、真菌性が 6.2% だった。ウイルス性の原因は、全て馬ヘルペスウイルス 1 型（以下、EHV 1）だった。細菌性の原因では、*Streptococcus equi* subsp. *zooepidemicus* (29.0%) と *Escherichia coli* (22.8%) が上位 2 種を占めていた。馬パラチフス菌による流産は、平成 19 年度のみ確認された。非感染性流産の内訳は、循環障害 346 検体 (68.7%)、双胎 123 検体 (24.4%)、胎盤異常 12 検体 (2.4%)、奇形 16 検体 (3.2%)、その他 7 検体 (1.4%) であり、非感染性流産の中では循環障害が最も多かった。

【過去の調査との比較】

今回の調査では感染性流産の割合は低かった（過去 22.5%、今回 17.8%）。感染性流産を比較すると、ここ 10 年でウイルス性の割合は高かった（過去 6.5%、今回 9.5%）。その一方で、細菌性（過去 11.0%、今回 7.2%）及び真菌性（過去 4.9%、今回 1.1%）の割合は低かった。

【まとめ】

感染性流産の割合は過去よりも低く、特に真菌性は少なくなり、飼養衛生の改善によるものと推察した。しかし、環境由来菌による流産が約半数を占めていたため、衛生管理の向上に加え妊娠馬の適切な管理が予防につながると考えられた。EHV 1 による流産割合が過去に比べて高い原因については今後検討する予定であるが、EHV 1 の流産のまん延防止のためには、ワクチン接種や飼養衛生管理の徹底による予防や発生時の初動防疫が重要と考える。なお馬パラチフス菌による流産は、適切且つ迅速な対策によりまん延せず現在に至っている。また、海外では馬ウイルス性動脈炎などの発生があり、管内への侵入が危惧されており、今後も関係機関の協力を得ながら継続的に流産原因を調査し、迅速な防疫措置につなげる必要があると考える。

(2) 馬の防疫に関する北海道十勝管内の状況

北海道十勝家畜保健衛生所
八木 梓

1. 馬の飼養状況 (平成 26 年 2 月 1 日現在)

市町村	重種		軽種		ポニー種		北海道和種		その他		合計	
	戸数	頭数	戸数	頭数	戸数	頭数	戸数	頭数	戸数	頭数	実戸数	頭数
音更町	15	175	6	35	5	16	2	12	2	2	23	240
士幌町	3	9	0	0	4	17	1	5	1	1	9	32
上士幌町	6	25	1	1	7	13	1	4	0	0	13	43
鹿追町	1	2	3	16	10	22	1	3	5	43	16	86
新得町	2	4	4	22	8	11	5	27	1	1	15	65
清水町	3	98	5	59	6	19	3	30	3	36	11	242
芽室町	2	2	3	3	5	17	1	80	6	32	11	129
中札内村	3	4	3	15	8	29	1	1	0	0	11	41
更別村	1	8	0	0	3	8	0	0	0	0	3	16
大樹町	9	54	1	1	8	17	2	4	4	39	20	115
広尾町	0	0	2	2	6	30	3	4	3	16	8	46
幕別町	4	6	6	16	8	49	0	0	3	20	17	91
池田町	11	45	1	9	1	6	0	0	0	0	13	60
豊頃町	5	23	0	0	2	32	0	0	0	0	6	55
本別町	12	71	0	0	7	23	0	0	0	0	15	94
足寄町	24	180	1	2	4	5	2	2	0	0	27	189
陸別町	9	73	0	0	3	32	3	5	0	0	11	110
浦幌町	13	69	0	0	7	18	0	0	0	0	19	87
帯広市	6	637	4	26	13	42	5	69	3	10	23	784
合計	129	1485	40	207	115	406	30	246	31	200	271	2,525

2. 防疫実績 (平成 26 年度)

(1) 予防事業 (法 5 条) : 馬伝染性貧血検査 実績なし

(参考 : 平成 24 年度 175 戸 1,087 頭)

(2) 輸入馬の着地検査 : 1 頭 (乗用馬)

※検査項目は馬伝染性貧血陰性

3. 馬感染症の発生状況 (平成 26 年度) : 発生なし

4. 馬の病性鑑定 (平成 26 年度)

検査目的	検査頭数	主な検査結果 : () 内は頭数
疾病原因	6	伝染性疾病を疑う所見なし
異常産原因	8	臍帯捻転 (1)
馬パラチフス発生農場の検査	125	抗体陽性 (3)、抗体疑陽性 (23)
馬パラチフス (健康検査)	230	全検体陰性
馬伝染性貧血 (健康検査)	252	全検体陰性

(情報提供)

○新生馬でみられた *Klebsiella pneumoniae* による急性化膿性壊死性肺炎

北海道十勝家畜保健衛生所
八木 梓

【はじめに】

K. pneumoniae は、腸内細菌科に属するグラム陰性通性嫌気性桿菌で、厚い莢膜を持ち、人や動物の腸内や環境中に広く存在する。血清型 1・2・5 型は、雄馬の陰茎・包皮・尿道・尿道腺・精液に感染、交配により雌馬に感染し、不妊症を起こす。また、出生直後感染では子馬に敗血症や肺炎、下痢を起こすと報告されている。

十勝管内一農場の新生馬において *K. pneumoniae* による化膿性壊死性肺炎が発生したので、概要を報告する。

【概要】

発生農場は日本輓系種を 2 頭飼養しており、本馬は平成 27 年 4 月 16 日、要手介助により出生した。出生時より呼吸促迫を認めたが、哺乳意欲、活力は正常であった。呼吸器症状改善のため、17 日より管理獣医師がペニシリン、セファゾリン、エンロフロキサシンを投与したが改善はみられなかった。その後当該馬は 21 日夜中に 40℃ 以上の発熱を認め急死したため、22 日、死亡原因検索のため当所へ搬入された。

【病性鑑定成績】

1 病理解剖学的検査：

雄、体長 120 cm、体重約 50 kg。赤黄色透明胸水の軽度増量、心のう水の重度増量、腹水の中程度増量を確認した。肺は退縮不全で全葉に渡り斑状を呈し、弾性・硬度が増加しており、肺付属リンパ節の腫大はみられなかった。腎臓は融解し、腎盤拡張および尿貯留がみられた。その他臓器に著変はみられなかった。

2 ウイルス学的検査：肺・胸腺の馬ヘルペスウイルス 1 型・4 型遺伝子陰性であった。

3 細菌学的検査：肺・肝臓・脾臓・腸間膜リンパ節から *K. pneumoniae* を分離した。薬剤感受性試験の結果では、治療に使用した薬剤のうちペニシリンに耐性、セファゾリン、エンロフロキサシンに感受性を示した。その他の検査は馬パラチフス抗体陰性、腸内容からのサルモネラ分離陰性であった。

4 病理組織学的検査：肺では全葉性に肺胞内に滲出液が貯留し、好中球・マクロファージが重度に浸潤していた。肺胞壁は上皮細胞が空胞化、水腫性に肥厚し好中球が軽度に浸潤しており、特に炎症の強い部位では肺胞壁の壊死、硝子膜の形成がみられた。また、肺胞腔内には角化上皮が多数みられた。

【まとめ・考察】

死亡原因は *K. pneumoniae* による急性化膿性壊死性肺炎と考える。ただし、発熱前に感受性のあるセファゾリンおよびエンロフロキサシンを 4 日間連日投与していたにも関わらず発症した点に疑問が残る。

新生時より呼吸速迫であったのは、肺胞腔内の角化上皮は胎生期に羊水中に浮遊していたものを、出生時（難産）に吸引し出生直後の呼吸器症状に関与していた可能性があるかと推察した。



写真1：右肺後葉剖面。

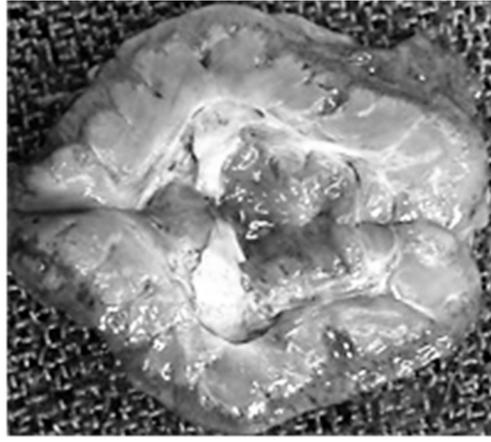


写真2：腎臓剖面。腎盤の拡張がみられる。

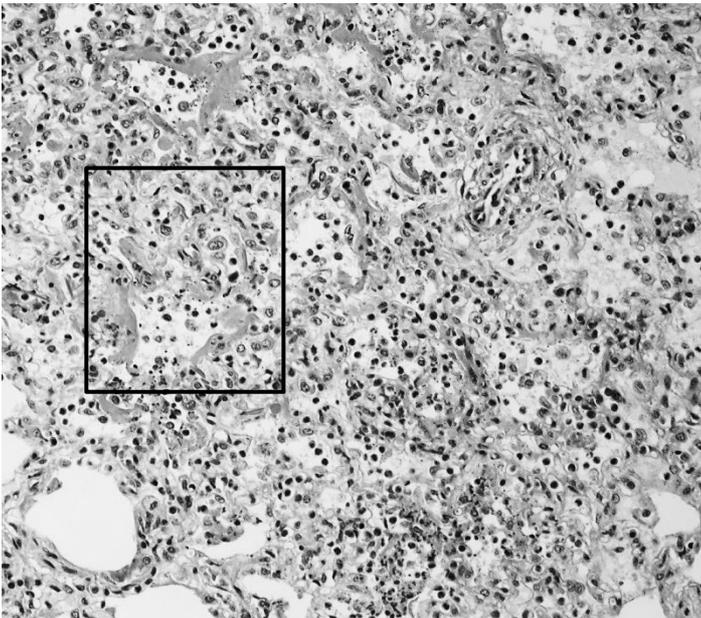


写真3（左）：化膿性壊死性肺炎。硝子膜の形成、肺胞腔内の炎症細胞浸潤がみられる。

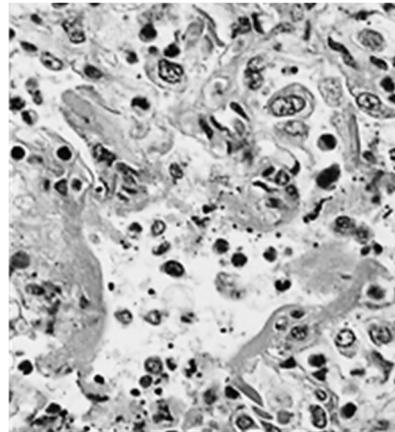


写真4（右）：写真3囲み部の拡大像。

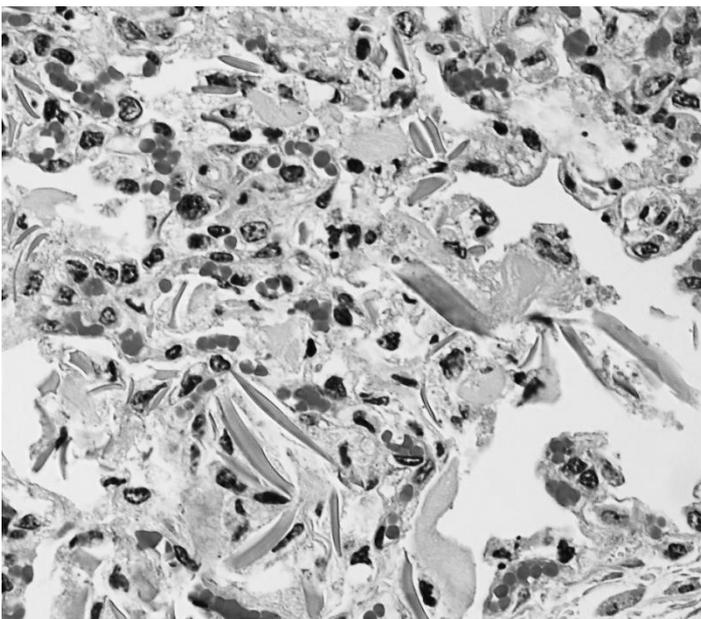


写真5：肺胞腔内の角化上皮。

(3) 馬の防疫に関する岩手県の現状

岩手県県北家畜保健衛生所
大竹 良祐

1 馬の飼養状況（平成 27 年 3 月）

家保名	種雄		農用		小格		乗用		その他		軽種		競走		合計	
	戸	頭	戸	頭	戸	頭	戸	頭	戸	頭	戸	頭	戸	頭	戸	頭
県北	1	1	10	24	17	29	1	3	4	7	1	4	0	0	34	68
中央	6	6	40	91	52	103	8	72	8	27	1	1	13	236	128	536
県南	1	5	13	17	47	117	48	170	16	28	13	135	28	470	166	942
合計	8	12	63	132	116	249	57	245	28	62	15	140	41	706	328	1546

2 馬の防疫実績（平成 26 年度）

家畜伝染病予防法に基づく検査（馬伝染性貧血）

年度	県北家保	中央家保	県南家保	合計
H26	66	506	924	1496

3 馬感染症の発生状況

馬媮疹	H13年～H14年	H13年：雄馬 1 頭、雌馬 8 頭。 H14年：雄馬 1 頭、雌馬 10 頭。
馬鼻肺炎による流産	H20年～H21年	H20：8 頭。 H21年：1 頭。
馬パラチフス	H20年	6 頭
ロドコッカス・エクイ感染症	H21年	1 頭

4 馬の病性鑑定（平成 26 年度）

	検査件数	検査頭数
馬パラチフス	36	234
血液生化学検査	8	16
馬伝染性貧血	3	34
胃潰瘍	1	1
流産	3	5
破傷風	1	1
結腸の穿孔	1	1

(4) 馬の防疫に関する茨城県の現状

茨城県県南家畜保健衛生所
新海 桐子

1 馬の飼養状況（平成26年度）

	県北	鹿行	県南	県西	計
戸数	31	12	105	23	171
頭数	230	160	4,150	140	4,680

2 馬の防疫実績（平成26年度）

(1) 馬伝染性貧血検査

	県北	鹿行	県南	県西	計
頭数	179	64	4,182	143	4,568

(2) 馬パラチフス検査

	県北	鹿行	県南	県西	計
頭数	5	0	1	0	6

(3) 馬伝染性子宮炎検査

	県北	鹿行	県南	県西	計
頭数	5	0	0	0	5

(4) 輸入馬着地検査

	県北	鹿行	県南	県西	計
実戸数（のべ戸数）	0	2	9（10）	2	13（14）
実頭数	0	2	11	2	15

3 馬感染症発生状況（平成25～26年度）

なし

4 馬の病性鑑定事例（平成25～26年度）

なし

(5) 馬の防疫に関する栃木県の現状

栃木県県央家畜保健衛生所
安西 真奈美

1 馬の飼養状況（平成27年2月定期報告）

家保名	競走馬		乗馬クラブ		愛玩		その他 (展示・教育 など)		合計	
	戸数	頭数	戸数	頭数	戸数	頭数	戸数	頭数	戸数	頭数
県北	5	77	11	137	8	9	8	103	32	326
県央	1	32	12	226	11	20	5	24	29	302
県南	1	1	8	205	5	9	1	22	15	237
合計	7	110	31	568	24	38	14	149	76	865

2 馬の防疫実績（平成26年度）

(1) 馬伝染性貧血

	県北	県央	県南	合計
頭数	356	297	219	872

(2) 馬パラチフス

	県北	県央	県南	合計
頭数	0	3	0	3

(3) 輸入馬の着地検査

	県北	県央	県南	合計
頭数	3	1	8	12

(6) 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
佐藤 隆裕

1 馬の飼養状況（平成27年9月現在）

	競走馬	乗馬	愛玩用等	合計
件数（件）	31	77	56	164
頭数（頭）	1,716	1,292	176	3,184

2 馬の防疫実績（平成26年度）

	件数（件）	頭数（頭）
着地検査	31	46
馬伝染性貧血検査	186	2,666

3 馬感染症の発生状況（平成26年度）

発生なし

4 馬の病性鑑定（平成26年度）

(1) 病性鑑定依頼数

依頼件数（件）	のべ頭数（頭）
11	26

(2) 病性鑑定詳細

依頼月	内容	結果
H26.5	馬子宮炎検査	陰性
H26.6	馬子宮炎検査	陰性
H26.8	腺疫検査	陰性
H26.9	起立不能原因究明	右大腿骨頭骨折
H26.10	ゲタウイルス検査	6頭中2頭が抗体上昇
H26.10	腺疫検査	陰性
H27.1	馬子宮炎検査	陰性
H27.1	死因究明	盲腸穿孔
H27.3	馬子宮炎検査	陰性
H27.3	死産原因究明	原因不明、感染症の関与なし
H27.3	馬子宮炎検査	陰性

(7) 馬の防疫に関する神奈川県状況

神奈川県湘南家畜保健衛生所
森村 裕之

1 馬の飼養状況 (平成 27 年 2 月 1 日現在)

		県央家保	湘南家保	県合計
5 頭未満	戸	26	9	35
	頭数	51	10	61
5～9 頭	戸	7	7	14
	頭数	59	39	98
10～19 頭	戸	10	6	16
	頭数	147	87	234
20～39 頭	戸	13	6	19
	頭数	352	153	505
40 頭以上	戸	4	2	6
	頭数	670	141	811

合計 90戸 1709頭

2 馬の防疫実績 (平成 26 年度)

(1) 馬伝染性貧血検査

家保名	頭数
県央	1 2 3 9
湘南	3 8 6
県計	1 6 2 5

(2) 輸入馬の着地検査

家保名	頭数
県央	2 3
湘南	4
県計	2 7

3 馬感染症の発生状況 (平成 26 年度)

なし

4 馬の病性鑑定 (平成 26 年度)

なし

(8) 馬の防疫に関する山梨県の現状

山梨県東部家畜保健衛生所
坂本 安由美

1 馬の飼養状況（平成27年8月20日現在）

	東部		西部		県全体	
	戸数	頭数	戸数	頭数	戸数	頭数
乗用馬	25	158	42	331	67	489
肥育馬	2	7	3	51	5	58
合計	27	165	45	382	72	547

2 馬の防疫実績（平成26年度）

馬伝染性貧血検査：すべて陰性

	東部		西部		県全体	
	戸数	頭数	戸数	頭数	戸数	頭数
計	24	141	42	333	66	474

3 馬感染症の発生状況（平成26年度）

なし

4 馬の病性鑑定（平成26～27年度）

病性鑑定日	依頼内容	診断
H26.8.11	疝痛の原因究明	急性膣炎による可能性
H27.7.1	死亡原因の究明	原因不明（感染症の関与否定）

(9) 馬の防疫に関する新潟県の現状

新潟県中央家畜保健衛生所
和食 雄一

1 馬の飼養状況（平成 27 年 2 月 1 日現在）

地域	競馬場		乗馬クラブ		教育施設		観光施設		肥育		愛玩		合計	
	戸数	頭数	戸数	頭数	戸数	頭数	戸数	頭数	戸数	頭数	戸数	頭数	戸数	頭数
下越			1	8	1	1	4	22	1	13	1	2	8	46
中央	1	14	2	30	1	6					5	8	9	58
中越			1	9			2	11			3	3	6	23
上越											3	6	3	6
佐渡											3	4	3	4
合計	1	14	4	47	2	7	6	33	1	13	15	23	29	137

2 馬の防疫実績（平成 26 年度）

○馬伝染性貧血検査

	下越	中央	中越	上越	佐渡	合計
頭数	3	52	0	0	0	55

3 馬感染症の発生状況（平成 26 年度）

なし

4 馬の病性鑑定（平成 26 年度）

なし

(10) 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
渡戸 英里

1 馬の飼養状況（平成27年2月1日現在）

	戸数	頭数	備考
西部	48	920	※弥富トレーニングセンター520頭
中央	33	328	※ホースファームエルミオーレ豊田・三河高原 80頭 ※イクタトレーニングファーム 50頭
東部	14	65	
県計	95	1313	

2 馬の防疫実績（平成26年度）

(1) 家畜伝染病予防法に基づく検査

馬伝染性貧血検査

	西部	中央	東部	県計
頭数	831	242	25	1098

※平成27年度から5年に1度の検査となるため、今年度からは平成26年度の5分の1の実績になると推測される。

(2) 輸入馬の着地検査

	西部	中央	東部	県計
頭数	10	0	0	10

3 馬感染症の発生状況（平成26年度）

なし

4 馬の病性鑑定（平成26年度～平成27年度9月）

病性鑑定日	依頼内容	診断
H27.8.17	死亡の原因究明	胃穿孔による腹膜炎

(11) 馬の防疫に関する岐阜県の現状

岐阜県中央家畜保健衛生所 高度病性鑑定センター
野崎恵子

1 馬の飼養状況（平成 27 年 2 月 1 日現在）

	競走馬	乗用・観光用	肥育馬	その他	計
戸数	3	29	1	40	73
頭数	489	209	57	74	829

（岐阜県農政部畜産課 家畜・家きん頭羽数調査結果より）

2 馬の防疫実績（平成 25～26 年度）

(1) 馬伝染性貧血検査

年度	頭数
25	919
26	659

(2) 馬パラチフス検査

年度	頭数
25	2
26	2

(3) 輸入馬の着地検査

平成 24 年度以降、実績なし

3 馬感染症の発生状況（平成 25～26 年度）

なし

4 馬の病性鑑定（平成 25 年 4 月～平成 27 年 9 月）

病性鑑定日	依頼内容等	診断
H26. 3. 20	削瘦・起立難渋を呈した乗用馬の病因検索	盲腸の重度の拡張及び臀部筋肉の慢性炎症
H26. 10. 27	馬インフルエンザの RT-PCR 及びウイルス分離	全て陰性（馬インフルエンザを否定）
H27. 3. 23	ミニチュアホースの死亡原因究明	結腸の穿孔及び内容物漏出に起因する腹膜炎を伴った、腸結石による腸閉塞
H27. 4. 24	乗用馬の死亡原因究明	腸結石による消化管穿孔及び穿孔部位からの消化管内容物の漏出による腹膜炎
H27. 5. 18	乗用馬の死亡原因究明	大結腸捻転及び腸穿孔

(12) 馬の防疫に関する京都府の現状

山城家畜保健衛生所
石森 裕

1 馬の飼養状況（平成27年2月1日現在）

地域	頭数	主な飼養地
京都・山城	421	京都市、八幡市、宇治田原町、 宇治市、城陽市 等
南丹	46	京丹波町、亀岡市、南丹市
中丹	20	綾部市、福知山市、舞鶴市
丹後	5	京丹後市
計	492	11市4町1村

2 馬の防疫実績（平成26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	349	13（※）
南丹	53	0
中丹	20	0
丹後	5	0
計	427	13

※祭礼（時代祭等）出場馬が対象

3 馬感染症の発生状況（平成26年度）

なし

4 馬の病性鑑定（平成26年度）

実績なし

(13) 馬の防疫に関する広島県の現状

広島県西部家畜保健衛生所
兼廣 愛美

1 馬の飼養状況（平成 27 年 2 月 1 日現在）

区分	飼養戸数	飼養頭数
競走馬	0	0
乗馬クラブ（観光）	43	278
学校	2	14
その他	0	0
計	45	292

2 馬の防疫実績（平成 26 年度）

(1) 家畜伝染病予防法第 5 条に基づく馬伝染性貧血検査の実績
平成 26 年度検査延べ頭数 289 頭

(2) 平成 26 年度伝染病予防事業の立ち入り検査実績

検査項目	検査方法（頭）	結果
馬伝染性貧血	臨床検査（879）	全頭異常なし
馬インフルエンザ	臨床検査（879）	全頭異常なし
馬日本脳炎	臨床検査（879）	全頭異常なし

3 馬感染症の発生状況（平成 26 年度）

なし

4 馬の病性鑑定（平成 26 年度）

なし

(14) 馬の防疫に関する福岡県の現状

福岡県両筑家畜保健衛生所
江崎 健二郎

1 馬の飼養状況（平成27年2月1日現在）

	中央		北部		両筑		筑後		計	
	戸数	頭数	戸数	頭数	戸数	頭数	戸数	頭数	戸数	頭数
肥育馬	—	—	—	—	4	910	3	175	7	1,085
乗用馬	13	275	12	74	3	15	—	—	28	364
その他	3	7	1	1	1	15	—	—	5	23
合計	16	282	13	75	8	940	3	175	40	1,472

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25年度	204	35	9	15	263
平成26年度	153	47	4	13	217

(2) 輸入馬の着地検査

用途	肥育	乗用	計
平成25年度	687	2	689
平成26年度	876	3	879

3 馬感染症の発生状況

該当なし

4 馬の病性鑑定

品 種	小格馬	軽種	計
平成25年度	2	5	7
平成26年度	2	2	4

主な稟告：元気消失、食欲不振、歩様異常、鼻汁漏出、削瘦

(15) 馬の防疫に関する鹿児島県の現状

鹿児島県曾於家畜保健衛生所
別府 成

1 馬の飼養状況（平成27年2月1日現在）

	飼養 戸数	飼 養 頭 数				
		小計	農用馬	軽種馬	乗用馬	その他
鹿児島中央	30	111	21	5	42	43
熊毛支所	0	4	0	0	0	4
大島支所	6	13	0	0	1	12
徳之島支所	1	2	0	0	0	2
南薩	7	27	1	9	11	6
北薩	5	70	0	0	15	55
始良	20	191	0	9	32	150
曾於	9	53	0	45	7	1
肝属	11	113	11	94	0	8
計	89	584	33	162	108	281

2 馬の防疫実績（平成26年度）

	中央	南薩	北薩	始良	曾於	肝属
馬伝染性貧血	18	60	0	31	19	144
馬パラチフス	2	0	0	2	0	22
馬伝染性子宮炎	0	0	0	2	7	0
馬インフルエンザ	5	6	0	0	0	0

3 馬感染症の発生状況（平成26年度）

馬鼻肺炎（1戸3頭）

4 馬の病性鑑定（平成26年度）

馬鼻肺炎（1戸3頭）

4. 技術部会出席者名簿（順不同：37名）

1. 農林水産省 消費・安全局 動物衛生課

加茂前 清尚

2. (独) 農業・食品産業技術総合研究機構 動物衛生研究所

秋庭 正人

3. 農林水産省 動物検疫所

北海道出張所胆振分室

松野 望実

成田支所動物検疫第1課

久保 顕志

門司支所鹿児島空港出張所

清水 万里江

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

原田 健弘

北海道日高家畜保健衛生所

八木 梓

岩手県北家畜保健衛生所

大竹 良祐

茨城県南家畜保健衛生所

新海 桐子

栃木県中央家畜保健衛生所

安西 真奈美

千葉県中央家畜保健衛生所

佐藤 隆裕

神奈川県湘南家畜保健衛生所

森村 裕之

山梨県東部家畜保健衛生所

坂本 安由美

新潟県中央家畜保健衛生所

和食 雄一

愛知県西部家畜保健衛生所

渡戸 英里

岐阜県中央家畜保健衛生所

野崎 恵子

京都県山城家畜保健衛生所

石森 裕

広島県西部家畜保健衛生所

兼廣 愛美

福岡県両筑家畜保健衛生所

江崎 健二郎

鹿児島県曾於家畜保健衛生

所別府 成

5. 中央畜産会

原田 博文

6. (特) 日本中央競馬会

馬事部防疫課

松田 芳和、立野 大樹、東樹 宏太、青木 基記

競走馬総合研究所 栃木支所

和田 信也、森 誠一郎、蘆原 永敏、片山 芳也、

上野 孝範、丹羽 秀和、木下 優太、越智 章仁

近藤 高志、山中 隆史、辻村 行司、坂内 天

平成 27 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 27 年 10 月 23 日（金）

研究部会 目次

1. プログラム	研 — 1
2. 開会挨拶	研 — 3
3. 特別講演	
重症血小板減少症候群ウイルスの最新の知見	研 — 6
4. 一般講演	
1) 抗サルモネラモノクローラル抗体を用いたサルモネラ検出法の検討	研 — 10
2) 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	研 — 13
3) JRA 施設におけるゲタウイルス感染症の発生について	研 — 15
4) 競走馬における <i>Clostridium difficile</i> 感染症	研 — 18
5. 共同研究実施概要	
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	研 — 19
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 — 22
2) 馬の輸出入検疫状況	研 — 23
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 — 28
7. 研究部会出席者名簿	研 — 31

1. プログラム

平成 27 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（JRA）／公益社団法人 中央畜産会

開催日時：平成 27 年 10 月 23 日（金）午前 10 時 — 午後 3 時 20 分

開催場所：JRA 競走馬総合研究所栃木支所

進行：蘆原 永敏（JRA 競走馬総合研究所栃木支所）

1. 開会挨拶……………10：00—10：10

津田 知幸（動物衛生研究所）

井上 真（JRA 馬事担当理事）

2. 特別講演

座長：近藤 高志（JRA 競走馬総合研究所栃木支所）

重症血小板減少症候群ウイルスの最新の知見……………10：10—11：20

前田 健（山口大学）

3. 一般講演

座長：秋庭 正人（動物衛生研究所）

1) 抗サルモネラモノクローナル抗体を用いた

サルモネラ検出法の検討 …………… 11：20—11：45

江口 正浩（動物衛生研究所）

2) 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1 ……………11：45—12：10

播谷 亮（動物衛生研究所）

— 昼食 —

座長：近藤 高志（JRA 競走馬総合研究所栃木支所）

3) JRA施設におけるゲタウイルス感染症の発生について……………13：00—13：25

坂内 天（JRA 競走馬総合研究所栃木支所）

座長：片山 芳也（JRA 競走馬総合研究所栃木支所）

4) 競走馬における*Clostridium difficile* 感染症 ……………13：25—13：50

上野 孝範（JRA競走馬総合研究所栃木支所）

4. 共同研究実施概要

座長：坂本 研一（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……………13：50—14：20
秋庭 正人（動物衛生研究所）
播谷 亮（動物衛生研究所）

— 休憩 —

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
立野 大樹（JRA 馬事部防疫課）
 - 2) 馬の輸出入検疫状況……………14：45—15：00
草刈 恵（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
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
和田 信也（JRA 競走馬総合研究所次長）

2. 開会挨拶

農研機構 動物衛生研究所
所長 津田知幸

「平成 27 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。

本日はお忙しい中、多くの皆様のご出席を賜り、心より感謝申し上げます。また、皆様におかれましては、日頃よりわが国の馬感染症防疫にご尽力いただいておりますことに、敬意を表しますと共にお礼申し上げます。

さて、昨今の馬の伝染病の発生状況を見ますと、国内では昨年 9 月に 36 年ぶりに馬ゲタウイルス感染症の発生が起こっています。この発生については、この研究部会で報告が行われることになっているようですが、その他には国内では大きな問題となるような伝染病の発生はなく、おおむね平穏に推移しています。一方、海外では本年はドイツにおける鼻疽の発生、米国の水疱性口炎、韓国での馬伝染性子宮炎、そしてマレーシアにおける馬インフルエンザの発生などが報告されています。国内外の競走馬が参加する国際交流競走が活発になるにつれて、こうした感染症のわが国への侵入が懸念される場所ですが、海外との積極的な交流は避けては通れないことから、国際的な情報収集に努めると同時に伝染病のわが国への侵入防止にはこれまで以上に注意を払う必要があると思います。

一昨年の 10 月に 7 年ぶりに発生した豚流行性下痢は昨年の 8 月までに 38 道県で 41 万頭に及ぶ被害をもたらしましたが、昨年秋以降は発生も徐々に沈静化しつつあります。PED については昨年 10 月に防疫マニュアルが発表されましたが、これは届出伝染病としては初めてで、その内容は行政機関、農家、畜産関係者が留意すべき防疫対策を整理し、飼養衛生管理基準の遵守やワクチンの適正使用を基本としたものです。すなわち、自衛防疫を中心とした防疫の要点を整理したものといえるものです。

過去に重大な被害をもたらしていた主な重要家畜伝染病が征圧された今、残された疾病の防疫には生産者自らが行う自衛防疫の重要度が高まっています。馬の伝染病におきましても、軽防協からの「競馬場等の入厩条件および衛生に関する指針」等の見直しが行われておりますが、疾病の状況に応じた自衛防疫の取り組みをより一層強化して頂きたいと思います。特に、ここにお集まりの皆さん方は、馬感染症を含む動物疾病のリスク管理と危機管理に必須の存在であり、その役割は重大であります。

この研究部会は、昨日までの技術部会と合わせて、防疫に関わる国や地方公共団体、団体、及び法人等に所属する者が、最新の疾病事情、防疫、診断そして試験研究等々の最新情報を共有する場であります。皆さんにおかれましても、この会で提供いただく最新の研究情報や防疫実施情報を共有しつつ相互理解を深めていただいて、より充実して

獣医衛生サービスの提供に努めて頂きたいと思います。

本日の研究会では、特別講演として山口大学の前田健教授より、新しい人獣共通感染症ともいえる、「重症血小板減少症候群ウイルスについての最新の知見」を紹介して頂きます。また、一般講演ではサルモネラ、レーザーマイクロダイゼクション法の病理診断への応用、馬のゲタウイルス感染症の事例、およびクロストリジウム感染に関する最新の話をお話し頂きます。共同研究の概要発表や馬の伝染病防疫に関する情勢報告もまた予定されております。いずれも、皆さんにとって有用な情報であると思いますので、是非とも活発な御議論をお願いいたします。

最後になりましたが、研究部会の開催にご尽力頂きました JRA 競走馬総合研究所栃木支所の関係者の皆様に感謝するとともに、本日の研究会が実りあるものになりますことを願ひまして、ご挨拶といたします。

日本中央競馬会馬事担当理事
井上 真

平成 27 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山口大学の前田先生、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、昨年引き続き美浦トレーニング・センターにおいてゲタウイルス感染症の発生が確認されております。媒介昆虫である蚊に対する防虫駆除対策も徹底したことから、幸いにも競馬開催に直結するような影響はございませんでしたが、改めて伝染病に対する防疫の重要性を認識したところであります。

海外に目を向けますと、米国では昨年からの水胞性口炎の大規模な流行が継続しております。マレーシアでは馬インフルエンザの発生を受け、競馬開催が中止されております。このような疾病に対して清浄国である日本への侵入を防ぐためにも、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。

また海外伝染病に関連し、2020 年の東京オリンピック・パラリンピックの馬術競技におきましては、馬ピロプラズマ病の抗体陽性馬も来日する可能性があると聞いております。

その防疫を考える上では、媒介昆虫の駆除や衛生対策といったバイオセキュリティの強化が非常に重要である事は言うまでもありません。本日「重症血小板減少症候群ウイルスの最新の知見」と題しまして、山口大学の前田先生よりご講演を頂戴いたします。生物媒介性疾患の最新の知見を得ることは、大変有意義なものと考えております。どうぞよろしく願いいたします。

さて、身内の話で恐縮ですが、本年度の本会の売上金は、競馬サークル皆様のご尽力をもちまして、幸いにも現在時点で前年をやや上回るものとなっております。しかしながら、競馬産業を取り巻く環境は、依然として厳しい状況と考えております。そのような中で何より重要なことは、本会事業の根幹をなす競走馬が適切に健康管理され、競馬が安定的に施行されることとあります。その健康管理に寄与する研究業務もまた非常に重要であります。したがって、馬に関わる関係者が全国から集まり、最新の知見を含めた研究成果が披露される本研究部会は、極めて有意義なものと考えております。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

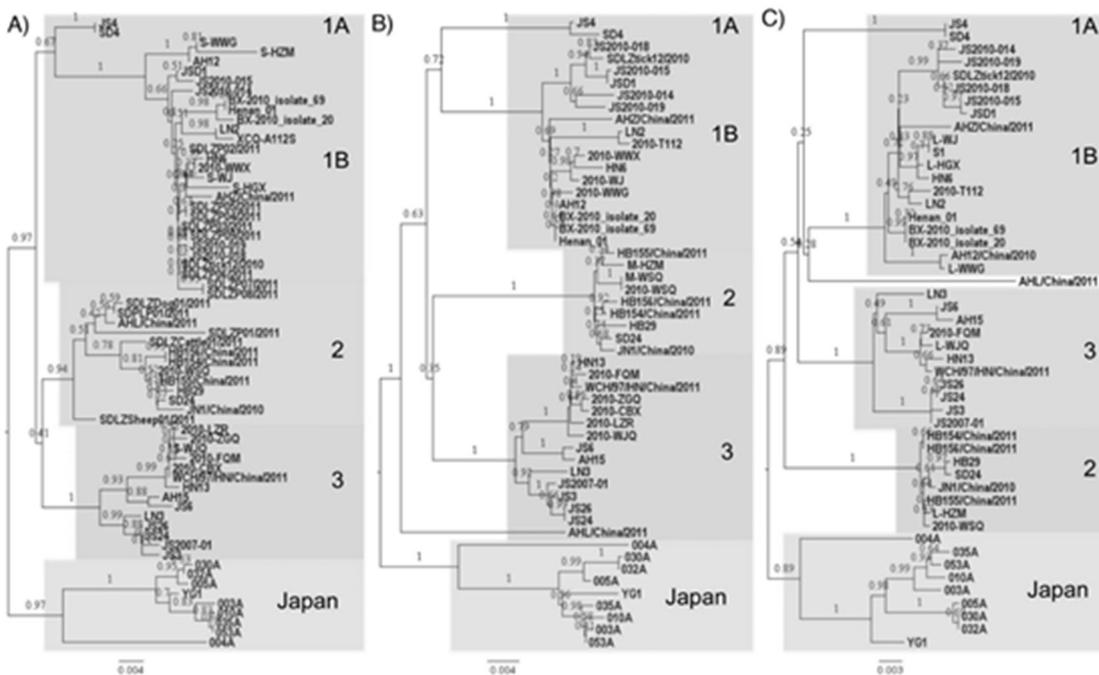
重症熱性血小板減少症候群ウイルスの最新の知見

山口大学共同獣医学部
前田 健

1. はじめに

2012 年末に重症熱性血小板減少症候群ウイルス (SFTSV) を分離する機会を得た。その後の 3 年近くで多くの調査研究結果がでてきた。それらの結果を紹介し、SFTSV について考察したい。

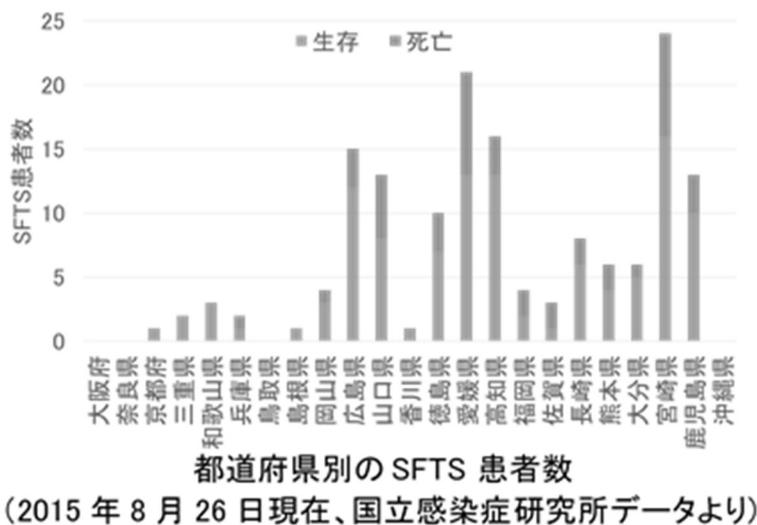
2012 年末にウイルス分離に成功し、2013 年 1 月末に厚生労働省より発表され、2013 年 3 月には感染症法 4 類感染症に指定された。2013 年 1 月に発表される以前の検体を調べた結果、2005 年には長崎県で患者が発生していたことが判明した。更に、2012 年以前に検出されたウイルスの遺伝子を解析した結果、2012 年以前に分離された国内分離株は中国で分離されている株と、遺伝的に異なることが判明した (下図)。



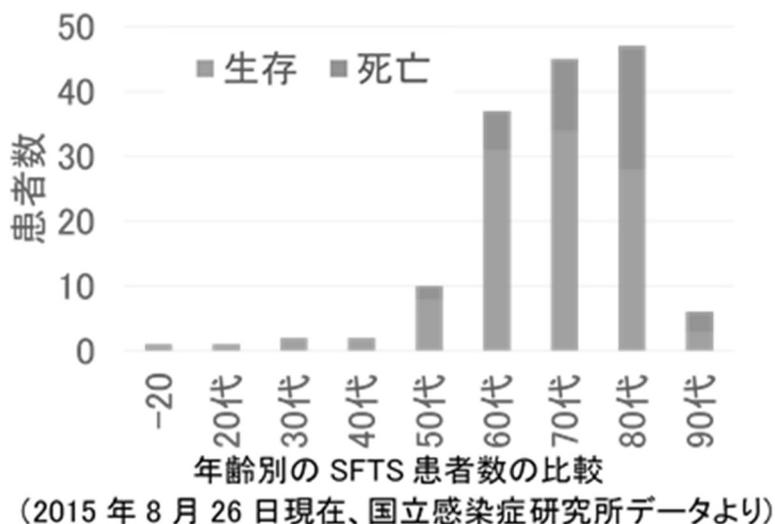
2012 年以前の患者より分離された SFTSV の系統解析

これらのことは、2005 年以前より国内に SFTSV が存在しており、原因不明であった疾患の一部が SFTSV 感染によるものであった、ことを意味している。

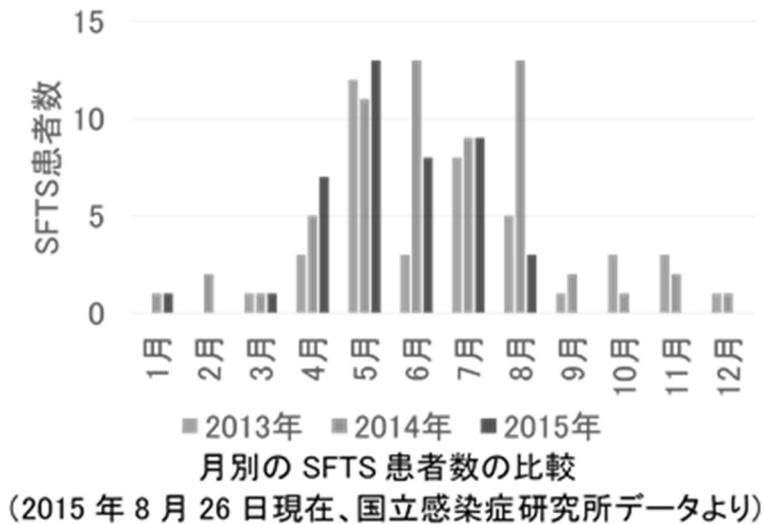
次に、2013年以降国内での報告に目を向けると、都道府県別での発生は西日本に限られている。2015年は、福岡県、香川県、三重県、京都府、石川県（未公表）でも新規患者が報告されている。発生は宮崎県、愛媛県で多く、死亡率も高い傾向にある。



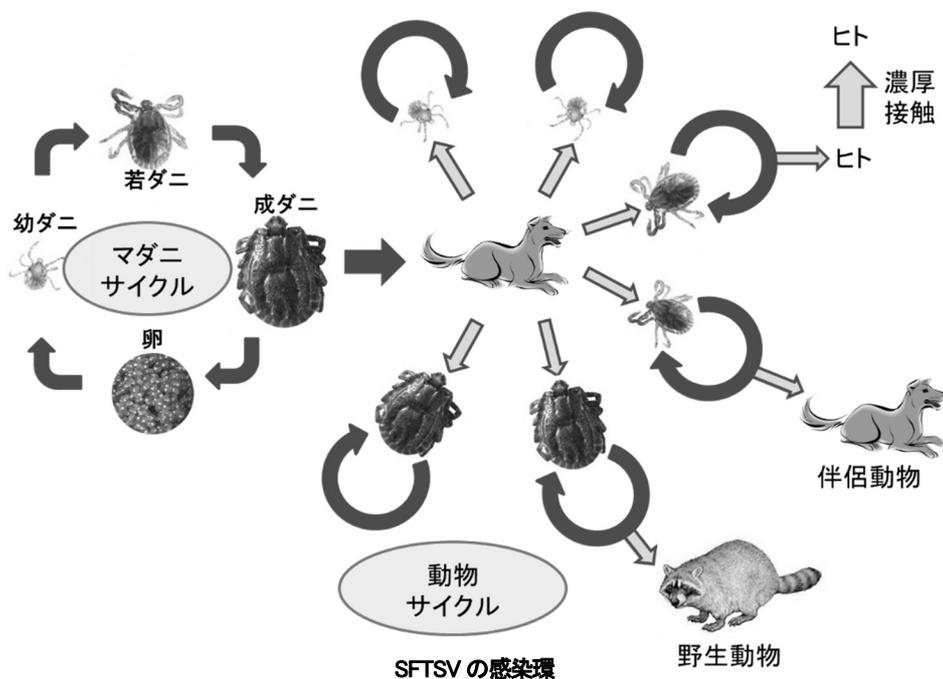
SFTS患者を年代別に分けると、5歳での患者の発生の報告があるものの、50歳代以上の患者が多いのが特徴で、死亡例も50歳代から認められている。50歳代以上の方にリスクが高い疾患であることが判明した。これは中国での報告と一致している。



SFTS患者の発生を月別に分けると、一年中発生があるものの、4月以降患者が増加し、5月から8月にかけて患者が多く、その後減少する傾向が毎年認められる。このことは、ダニの発生と一致しており、ダニによる媒介が証明されていると考えている。



最後に、SFTSV の感染環を紹介する。我々はダニのライフサイクルの全てで SFTSV が維持されることの証明に成功した。SFTSV がダニで維持されており、全てのステージのダニが、吸血の際に SFTSV を動物に伝播可能であると考えられる (ダニサイクル)。更には、多くの動物がウイルス血症を示していることが確認された。このことは、感染した動物に吸血中であるすべてのダニがウイルスを獲得できることを意味している (動物サイクル)。更に、患者の排泄物および体液と濃厚接触したヒトへの感染も証明されている (ヒト→ヒト感染)。以上が、主な SFTSV の感染感と言われている。



SFTSV はマダニにより維持されるマダニサイクルと感染動物の血を吸血してダニが感染する動物サイクルが存在する。更に、患者との濃厚接触によりヒト→ヒト感染も報告されている。

以上のことから、

1. SFTSVは昔から存在しており、原因不明の疾患の一部が解明されただけである。
 2. 西日本の感染症で、東日本にはない。
 3. ダニの刺咬に気をつければよい。
- と考えられる。

本当でしょうか？我々の研究成果から、これらの考察とは異なる考えを紹介し、皆様に考えていただければ幸いです。

4. 一般講演

1) 抗サルモネラモノクローナル抗体を用いたサルモネラ検出法の検討

農研機構 動物衛生研究所

江口正浩

サルモネラは家畜、ヒトなどの腸管に感染し、食中毒を起こす人獣共通感染症の一つである。畜産業におけるサルモネラ症の発生は経済的損失が極めて大きいため、家畜・家きんに対する衛生対策は特に重要視されている。

我々は、新規のサルモネラの検出法および血清型別法の開発を目的とし、サルモネラ 04 抗原に対するモノクローナル抗体 (414B) を作製した (図 1)。本研究では、作製したモノクローナル抗体を利用した競合エライザ法の開発と *Salmonella enterica* serovar Typhimurium (*S. Typhimurium*) に対する凝集反応試験を実施した。



図 1 抗サルモネラ 04 モノクローナル抗体の特異性。異なるリポ多糖 (LPS) を固相化し、開発した抗サルモネラ 04 モノクローナル抗体を用いたサンドイッチ法エライザを実施した。

ST (*S. Typhimurium*:04 群), SC (*S. Choleraesuis*:07 群), SD (*S. Dublin*: 09 群), SE (*S. Enteritidis*:09 群)。

1. モノクローナル抗体（414B）を用いた抗サルモネラ 04 抗体検出用競合エライザ法の開発

現在、使用されているサルモネラ抗体の検出はエライザ法が一般的であるが、各動物種に対する 2 次抗体の準備が必要となり煩雑である。そこで、本研究では、様々な家畜・家きんの抗体検査を一つの検査で行う、新しい検査方法の開発を試みた。

我々は、作製したサルモネラ 04 抗原に対するモノクローナル抗体（414B）を用いた競合エライザ法を開発した。我々が開発した競合エライザ法は、ウシ、ウマ、ブタ、ニワトリの血清において、*S. Typhimurium* の感染の有無が検出可能であることがわかった（図. 2）。我々が開発した抗サルモネラ 04 抗体検出用競合エライザ法は家畜の生産農場や動物病院の他、動物園などで使用が期待できると考えている。

また、サルモネラは、各種の哺乳動物、鳥類の他、爬虫類や両生類に感染することから、標識 2 次抗体が存在しない哺乳動物の他、爬虫類や両生類などにも使用が期待できる。

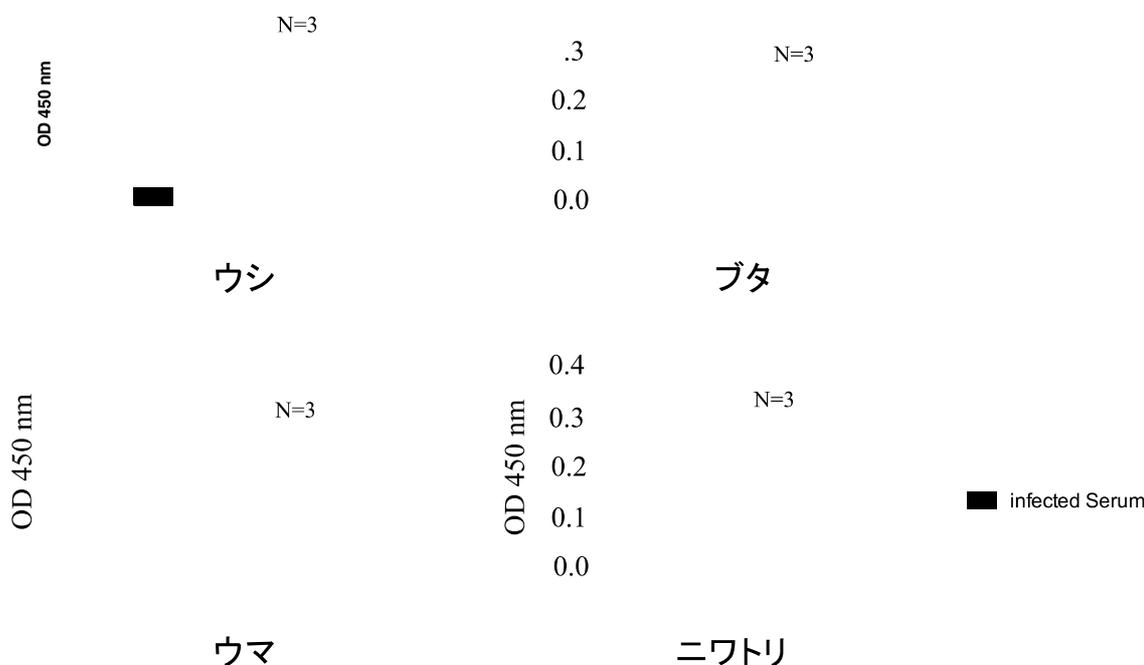


図 2 本検出法を用いた各種動物のサルモネラ感染抗体の検出本モノクローナル抗体 (2 μ g/ml, 1 μ g/ml) を用いてウシ、ブタ、ウマ、ニワトリの血清と競合エライザを実施した。

2. 野外分離株 (*S. Typhimurium*) におけるモノクローナル抗体 (414B) を利用した凝集反応試験

サルモネラ属菌は、2,600 以上の血清型に分類され、血清型別は、菌体表面にある O 抗原と H 抗原の抗原性の相違により分類される。*S. Typhimurium* には、O5 抗原保有株 (O5+ : 1,4,5,12:i:1,2) と O5 抗原を欠いた Copenhagenn 型 (O5- : 1,4,12:i:1,2) がある。我々は、モノクローナル抗体 (414B) を用いて O5+ 株および O5- 株に対する O4 抗原における凝集反応試験を行った。興味深いことに、O4 抗原の抗体価は、O5- 株の方が O5+ 株よりも 20 倍以上高いことが明らかとなった (図. 3)。一方、O1 及び O12 の抗体価は変化なかった。以上の結果から、O5 抗原の有無により、O4 抗原に対する抗体反応が異なることが示唆された。また、モノクローナル抗体 (414B) を利用した凝集反応試験から *S. Typhimurium* の O5 抗原の有無を判定することが可能であることが示唆された。

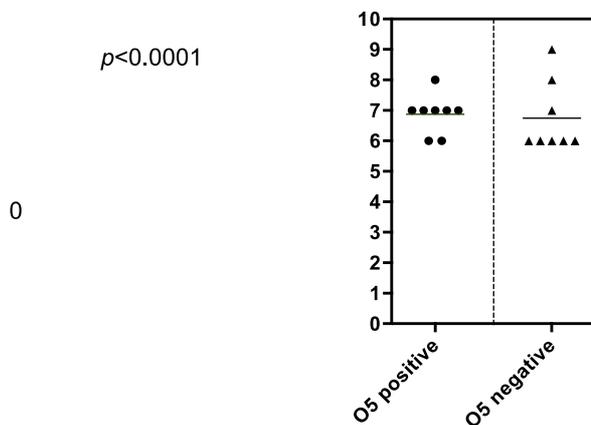


図3 野外分離株サルモネラ (*S. Typhimurium*) に対する凝集反応試験 O5 抗原陽性および陰性の *S. Typhimurium* (各 8 株) を用いて O4, O1, O12 に対する凝集反応試験を実施した。

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の馬感染症の病理学的診断法への応用—

国立研究開発法人 農業・食品産業技術総合研究機構

動物衛生研究所 病態研究領域

播谷 亮、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 栃木支所 微生物研究室

片山芳也、上野孝範、越智章仁

【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、この微少な組織切片から遺伝子を抽出して、目的とする遺伝子領域を PCR 法で増幅し、その塩基配列を解読することによって、既知の遺伝子情報と比較が可能となる。

前年度までに、LMD 法を馬感染症の病理学的病原診断に応用するための基礎的技術を概ね確立した。本研究の目的は、野外の馬感染症例の病理学的診断への LMD 法応用の可能性を検証することにある。

【材料と方法】

1. 馬のグラム陽性菌の関与を疑う壊死性出血性大腸炎症例に関する検討

グラム陽性菌の関与を疑う壊死性出血性大腸炎 3 症例の大腸のホルマリン固定パラフィン包埋切片（10 μ m、3 枚）及び 4 μ m 厚のパラフィン切片から LMD により採取したグラム陽性菌塊から DNA を抽出し、細菌 16SrDNA 共通領域（約 800bp）を PCR により増幅後、シーケンシングし、BLAST 検索を行った。また、肝臓の 4 μ m 厚のパラフィン切片から LMD により採取したグラム陽性菌塊から抽出した DNA について、上記領域に加え 16S rRNA の V1-V2 領域および V6 領域をターゲットとして PCR を実施した。なお、試料のホルマリン固定の期間は 1~2 週間であった。

2. 馬の真菌性胎盤炎症例に関する検討

真菌性胎盤炎 6 症例のホルマリン固定パラフィン包埋切片から LMD により採取した真菌塊から DNA を抽出し、28S rRNA の D1/D2 領域をターゲットとした PCR を実施した。なお、試料のホルマリン固定の期間は 1~2 カ月間であった。

【結果と考察】

1. 馬のグラム陽性菌の関与を疑う壊死性出血性大腸炎症例に関する検討

大腸のパラフィン切片から抽出した DNA をテンプレートとし細菌 16SrDNA 共通領域の増幅を試みたが、3 例中等度 2 例で増幅が得られなかった。一方、大腸のパラフィン切片から LMD により採取したグラム陽性菌塊の DNA からは全例で増幅が得られた。全例の増幅産物の塩基配列は *Salmonella enterica* subsp. *enterica* と一致した。LMD で採取したグラム陽性菌塊に *Salmonella* が含まれており、グラム陽性菌より優勢に *Salmonella* の DNA が抽出されたものと考ええる。そこで、大腸と比較しグラム陰性菌が少なくグラム陽性菌が巣状に密集して観察された肝臓から LMD によりグラム陽性菌を採取し、DNA を抽出、細菌 16SrDNA 共通領域の増幅を試みた。その結果、増幅産物は得られたが、その塩基配列は *Sphingomonas* sp. (グラム陰性、院内感染菌種) と一致し、相同性を有する菌にグラム陽性菌は含まれていなかった。今後、16S rRNA の V1-V2 領域および V6 領域をターゲットとした PCR について検討する。また、ホルマリン固定されたグラム陽性菌からの DNA 抽出方法について検討する必要があると考える。

2. 馬の真菌性胎盤炎症例に関する検討

胎盤のパラフィン切片から LMD により採取した真菌塊からは、増幅が得られなかった。1 カ月以上のホルマリン固定によりターゲット DNA の断片化が起きたかもしれない。今後、パラフィン切片 (10 μ m、3 枚) から抽出した DNA をテンプレートとして PCR を試みる。また、ホルマリン固定期間の短い試料、あるいは DNA の断片化が起きにくい固定液で固定された試料を用いて検討する必要があると考える。

3) JRA 施設における 2014 年のゲタウイルス感染症の発生について

坂内 天・根本 学・辻村行司・
山中隆史・近藤高志 (JRA 総研栃木)

【背景と目的】

ゲタウイルスは蚊によって媒介され、感染馬に発熱、発疹、四肢の浮腫を起こす。1978 年の美浦トレーニング・センター（トレセン）での流行を受けてワクチンが開発され、ワクチン接種馬では 30 年以上流行が見られなかった。しかし、2014 年、美浦トレセンでゲタウイルスが再び流行し、9 月 15 日～10 月 25 日の間に発熱した 64 頭のうち 33 頭で感染が確認された。本研究では、美浦トレセンにおける 2014 年のゲタウイルス感染症の流行要因を明らかにするため、1)流行株とワクチン株の比較、2)トレセンのワクチン接種体制、3)周辺牧場での流行状況、の 3 点に着目して検証を行った。

【材料と方法】

2014 年に分離されたウイルス株 (14-I-605) とワクチン株 (MI-110) から、限界希釈により各 2 クローンずつを得て、シーケンス解析を行った。両株を実験馬 2 頭ずつに接種し、臨床症状の観察および全血からウイルス RNA の検出を行った。ウイルス接種から 2 週間後の血清を用いて、両株に対する交叉中和試験を行った。2014 年 9 月 15 日時点の美浦トレセン在厩馬および罹患馬のゲタウイルスワクチン接種歴を調査し、ワクチン接種回数ごとの有病率を求めた。2010 年、2013 年、2014 年の 6 月～10 月の各月に、茨城県および千葉県内の牧場から美浦トレセンに入厩した 2 歳馬の血清について、ゲタウイルス中和試験を行い、入厩した月ごとに抗体陽性率を求めた。

【結果】

14-I-605 株クローンのゲノムシーケンスは、RNA では 98.5%以上、アミノ酸では 99.5%以上の相同性を有していた (表 1)。14-I-605 株と MI-110 株を接種された馬は、4 頭全て 38.6℃以上の発熱を 1～2 日間示した (表 2)。ウイルス血症は 4 頭全てにおいて 7～11 日間認められ、両群で顕著な差は認められなかった (表 2)。14-I-605 株と MI-110 株に対する抗血清は、両方のウイルスに対してほぼ同等の中和抗体価を有していた (表 3)。2014 年の流行における罹患馬 33 頭のうち、20 頭 (60.6%) が 2 歳馬であった。2 歳馬のうち、ワクチンを 1 回しか接種されていない馬の有病率は 14.1%で、2 回以上接種された馬の 1.3%と比べ、10 倍以上高かった (表 4)。茨城県・千葉県内の周辺牧場から美浦トレセンへ入厩した馬のゲタウイルス抗体陽性率は、2014 年 6 月～8 月の入厩馬では 4.0%以下だったが、9 月は 13.0%、10 月は 42.9%であった (図 1)。一方、対照の 2010 年と 2013 年の入厩馬では、抗体陽性率は 2.0%以下であった (図 1)。

【考察】

2014 年流行株の抗原性は、ワクチン株から大きく変化しておらず、ウイルスの変異が流行の直接的な原因となった可能性は低いと考えられた。トレセン内にワクチンの基礎接種が未完了で発症リスクが高い馬がいたことは、流行の間接的な要因と考えられ、これは、現在のワクチン接種体制のもとで従来からあった潜在的なリス

クと考えられた。また、2014 年は例年とは異なり、美浦トレセンと馬の出入りがある茨城県・千葉県内の周辺牧場でゲタウイルスが蔓延していたことが明らかになった。以上をまとめると、2014 年は地域内で循環するウイルス量が多かったため、ワクチン接種馬でも発症を抑えきれず、ワクチン未完了馬を中心に流行が起きたと考えられた。

表 1 14-I-605 株と MI-110 株のゲノムシーケンスの相同性

	RNA	アミノ酸
ゲノム全域	98.6%	-
構造蛋白質領域	98.7%	99.8%
非構造蛋白質領域	98.5%	99.5%

表 2 14-I-605 株又は MI-110 株を接種した馬の発熱およびウイルス血症

ウイルス株	馬番号	発熱 (dpi)	ウイルス血症
14-I-605	1	39.4°C(2), 39.0°C(3)	1-7 dpi
	2	38.9°C(2)	1-11 dpi
MI-110	3	38.7°C(2)	1-8 and 11 dpi
	4	38.7°C(2), 38.6°C(3)	1-7 and 11 dpi

dpi, days post inoculation.

表 3 14-I-605 株と MI-110 株の免疫血清を用いた交叉中和試験

接種した ウイルス株	馬番号	中和試験で用いたウイルス株			
		14-I-605		MI-110	
		0 dpi	14 dpi	0 dpi	14 dpi
14-I-605	1	<4	256	<4	512
	2	<4	512	<4	1024
MI-110	3	<4	256	<4	512
	4	<4	256	<4	512

dpi, days post inoculation.

表 4 ゲタウイルスワクチン接種回数ごとの有病率

年齢	ゲタウイルスワクチン接種回数		合計
	1 回	2 回以上	
2 歳	14.1% (10/71 頭)	1.3% (10/787 頭)	2.3% (20/858 頭)
3 歳以上	-	1.2% (13/1092 頭)	1.2% (13/1092 頭)

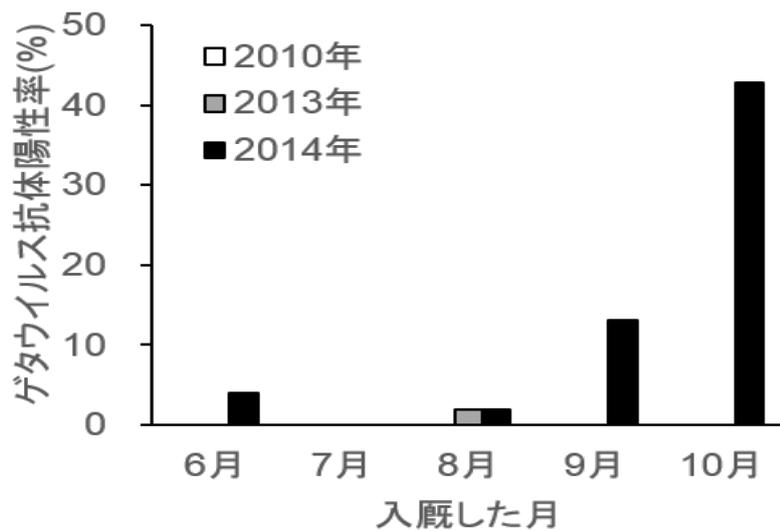


図1 茨城県・千葉県から美浦トレセンへ入厩した馬のゲタウイルス抗体陽性率

4) 競走馬における *Clostridium difficile* 感染症

JRA 競走馬総合研究所栃木支所
上野孝範・丹羽秀和・木下優太・片山芳也

Clostridium difficile は、芽胞形成性のグラム陽性偏性嫌気性細菌であり、ヒトにおいては抗菌薬関連下痢症の原因菌の 1 つとして知られている。下痢症の原因となる腸管粘膜上皮傷害は、*C. difficile* 保菌者への抗菌薬投与による正常腸内細菌叢の攪乱、これに続く *C. difficile* の異常増殖ならびに外毒素の産生によって引き起こされる。*C. difficile* はウマにおいても重度下痢症の原因となり、これまでに JRA 総研栃木支所で実施した病性鑑定において、競走馬の下痢症例のうち 22 例の糞便から *C. difficile* が分離されている。近年、競走馬診療にも *C. difficile* 菌体抗原および外毒素を検出する迅速診断法が導入され、*C. difficile* に著効を示す抗菌薬による治療が試みられているが、病態進行の速さから全症例の救命には至っていない。

C. difficile 腸炎発症馬の病理解剖では、病変は主として盲腸および結腸に認められる。粘膜面は暗赤色ないし灰緑色を呈し、灰白色ないし淡緑黄色の偽膜が表面を覆う箇所も観察される。腸壁は全体に肥厚し、断面では粘膜下の水腫や出血が観察される。盲結腸における腸内容の性状は、濃緑色水様もしくは泥状であり、粘膜面に出血がある場合は赤色調を帯びる。

組織学的には、壊死性腸炎あるいは出血性壊死性腸炎の病態を呈し、主要な病変として、びらんないし潰瘍を伴った粘膜の壊死、粘膜固有層や粘膜下織の中小血管における硝子血栓の形成、粘膜固有層や粘膜下織における水腫・出血が挙げられる。壊死した粘膜表面には、浸潤細胞、細胞屑、および食物残渣を含む線維素塊が付着し、粘膜固有層および粘膜下織浅層には、好中球を主体とした細胞浸潤も観察される。菌分離あるいは検査キットによって腸内容中に *C. difficile* の存在が確認された症例においても、粘膜壊死領域に同菌と類似の形状を有すグラム陽性桿菌の集塊を見ることは少ない。また、粘膜バリアの破綻を原因としたエンドトキシンショックや DIC に伴う病変も諸臓器に認められる。

過去において、ウマにおける原因不明の致死的な甚急性の下痢症は「X大腸炎」として一括されてきたが、これまでにその多くが *C. difficile* をはじめ *S. almonella* sp. や *Clostridium perfringens*などを起原因菌とした感染症であることが明らかになっている。本会の臨床現場では、*Salmonella* sp. や *C. perfringens*による腸炎に遭遇することは稀であり、重篤な感染性腸炎の発症予防および治療を行う上で、*C. difficile* 腸炎に対する取り組みが中心的な課題となっている。今回の発表では、我々が経験した競走馬における *C. difficile* 腸炎症例について病理所見とともに臨床事項および分離菌の詳細を供覧する。

5. 共同研究実施概要

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

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
動物衛生研究所 細菌・寄生虫研究領域
秋庭正人

【背景と目的】

現状は摘発・淘汰を効果的に進めることで、届出伝染病である馬パラチフスの撲滅を達成することが可能な段階にある。そのためには感度と特異度に優れた診断法の開発が必須と考え、その基礎データとするため、前3年のプロジェクトでは、これまで明らかにされていなかった馬パラチフス菌 (*Salmonella Abortusequi*) の完全長ゲノム塩基配列を決定し、その特徴を明らかにしてきた。今年度からの3年間では、前3年間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。今年度は新規血清診断法の開発を目的とした基礎的検討と新規迅速同定法の開発を行った。

【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

目標とすべきは同じ04群サルモネラである *S. Typhimurium* (ST) と *S. Abortusequi* (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. 新規 SA 迅速同定法の開発

前3年間の検討で見出した 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。

【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ST9株のうち5株が05陽性、4株は05陰性であった。SAは05陰性なので、馬由来STの多くが05陽性であれば、05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05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ている。

2. 新規SA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、SA310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。

【今後の展望】

前3年に完全長全ゲノム塩基配列を決定した1株に加えて24株のSAのドラフトゲノムデータを取得した。これらの成績からコアゲノム一塩基多型(SNPs)を抽出して系統解析を行ったところ、国内株は国外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。2つの遺伝的系統は保有SNPsのパターンにより、さらに詳細に型別することが可能である。次年度はSNPsを検出することでSA国内株を7つの遺伝子型に分ける mismatch amplification mutation assay (MAMA)-PCRの系を構築し、野外分離株の遺伝子型別を試みる予定である。

【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

JRA 競走馬総合研究所 栃木支所 微生物研究室

国立研究開発法人農業・食品産業技術総合研究機構 動物衛生研究所

細菌・寄生虫研究領域

関塚剛史、黒田誠

丹羽秀和、木下優太、片山芳也

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を用いた馬感染症の病理学的診断法の検討

動物衛生研究所

播谷 亮、木村久美子、小林秀樹、小西美佐子

1. 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病原体等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。この組織片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、既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、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。

2. 方法

- (1) 組織の回収方法が異なるライカ LMD6000（正立型）とカールツァイス PALM MicroBeam（倒立型）について比較した。
- (2) 馬ヘルペスウイルス 1（EHV-1）感染培養細胞の Cell block を作製、10%中性緩衝ホルマリン（ホルマリン）、10%ホルマリンアルコール（ホルマリンアルコール）およびメタカンで、1日間、1週間、1カ月間および1年間固定後常法に従いパラフィン包埋し、4 μ mの厚さの切片を作製した。切片1枚あるいはLMD法により採取した感染培養細胞から市販キットを使用してDNAを抽出し、PCR法により EHV-1 gC 領域 DNA（649bp）の増幅を試みた。
- (3) *Salmonella* Abortusequi、*Rodococcus equi* 浮遊液をそれぞれ注入した正常馬の肝臓を、上記と同様に固定、パラフィン包埋し、4 μ mの厚さの切片を作製した。切片1枚あるいはLMD法により採取した細菌塊から上記と同様にDNAを抽出し、PCR法により菌種の同定に必要なサイズの細菌 16SrDNA 共通領域（約 800bp）の増幅を試みた。

3. 結果

- (1) 両機を比較した結果、組織の回収精度と取り扱い易さに差は無かった。
- (2) EHV-1 感染細胞の切片1枚（ $10^3 \sim 10^4$ の細胞を含む）から抽出したDNAを用いてPCR法を実施した結果、ホルマリンおよびホルマリンアルコールでは1ヶ月間、メタカンでは1年間固定まで EHV-1 特異遺伝子断片の増幅が確認された。LMD法により採取した 10^3 個の細胞からは、ホルマリンで1週間、ホルマリンアルコールで1日間、メタカンで1ヶ月間固定まで、遺伝子断片が検出された。さらに、ホルマリン固定1日間の試料で、10個の細胞から遺伝子断片の増幅ができた。
- (3) *S. Abortusequi*、*R. equi* 注入組織の切片1枚（ $10^7 \sim 10^8$ の細菌を含む）から抽出したDNAを用いてPCR法により細菌 16SrDNA 共通領域の増幅を試みた結果、いずれの固定条件でも遺伝子断片を増幅できた。LMD法により採取した約 10^7 個の菌体からは、ホルマリン固定では1日間（*S. Abortusequi*）ないし1週間（*R. equi*）、ホルマリンアルコールでは1日間、メタカン固定では1ヶ月間まで、遺伝子断片が増幅できた。さらに、採取菌数を減らして検討した結果、ホルマリン固定1日間で 10^5 、メタカン固定1週間で 10^3 の菌体から遺伝子断片が増幅された。

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
立野 大樹

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	馬パルフィ	馬鼻肺炎(流産)	馬インフルエンザ	馬伝染性子宮炎
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	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

(頭)

2. 近年の海外における伝染病発生状況 (2014~15)

- 馬インフルエンザ^a アメリカ・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・欧州各国・アルゼンチン・オーストラリアなど。
- 馬伝染性子宮炎 アメリカ・フランス・ドイツ・南アフリカ・韓国など。
- 馬伝染性貧血 アメリカ・カナダ・ブラジル・ドイツ・フランスなど。
- 馬ピロプラズマ病 フランス・スペイン・スイス・アラブ首長国連邦・南アフリカでは風土病。
アメリカ・スイスでも発生。
- 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・スイス・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・トルコ・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
草刈 恵

1. 輸出入検疫状況（平成 22 年～26 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 頭を下回ったものの、平成 26 年は 5,377 頭(対前年比 146.1%)と増加している。肥育用の大幅な増加が、全体の増加の主な要因となっており、全輸入頭数の 92 パーセントを占めている。

平成 26 年の輸入状況をみると、用途別では、繁殖用が 109 頭(83.8%)、競走用が 174 頭(129.9%)、乗用が 170 頭(73.0%)、肥育用が 4,924 頭(154.8%)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 137 頭、次いでベルギーが 84 頭、イギリス 76 頭、オーストラリアが 35 頭と続いている。肥育用馬は、カナダからのみの輸入となっている。

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 年は 150 頭(170.5%)と増加している（表-2 参照）。仕向国は、韓国が大幅に増加して 20 頭、アメリカ 11 頭、フランス 7 頭、イギリス 4 頭とアジア地域が主体となっている。

2. 伝染性疾病の摘発状況

平成 26 年には、イギリス産繁殖用馬 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（ELISA、CF 並びに IFA）で、疑似患者として摘発され、返送されている。

そのほか、馬パラチフスは、ほぼ毎年摘発されている。平成 26 年は、8 頭摘発されたが、このうち 2 頭は、経過血清を検査した結果、陰性となり解放されており、残り 6 頭は、輸入者の希望により自衛殺処分となった。また、馬インフルエンザは、平成 21 年以降 4 年連続摘発されていたが、平成 26 年の摘発はなかった。

3. 輸入馬における馬インフルエンザ抗体保有状況調査

動物検疫所では、輸入条件で定められている馬インフルエンザワクチンの効果を検証することを目的とし、平成 18 年より馬インフルエンザの抗体保有状況および輸出国におけるワクチンの接種状況を調査している。平成 26 年に輸入された馬の抗体保有状況は次のとおり。

(1) 用途別抗体保有状況

ア. 競走・乗用・繁殖用馬

用途別に HI 抗体価の分布図を作成すると、競走馬は抗体価の認められない個体 (<1:10) の割合が 46%(60 頭)と多く、抗体価の高い個体の割合は少ない傾向にあった。一方、繁殖・乗用馬では、抗体価の高い個体の割合が多かった（図 1）。抗体価の認められない個体 (<1:10) もそれぞれ 9%(10 頭)、4%(7 頭)認められた。

馬インフルエンザワクチンは、若齢馬での免疫原性が低く十分な免疫を獲得するためには頻回のワクチン接種が必要となる。適正なワクチンプログラムに基づき、ワクチン接種されているにも関わらず、このような結果になった原因は、輸入時点の年齢が 1～2 才と若いことにあるものと考えられる。

表-1 用途別・仕出国別輸入頭数(平成22年~26年)

単位：頭数

用途	仕出国	年別輸入頭数				
		平成22年	平成23年	平成24年	平成25年	平成26年
繁殖	アメリカ	81	41	37	54	42
	イギリス	27	25	37	54	53
	カナダ	0	0	0	0	3
	オーストラリア	3	8	1	8	7
	アイルランド	1	0	1	0	0
	フランス	9	8	6	8	4
	その他の国	3	12	0	6	0
	小計		124	94	82	130
乗用	ベルギー	121	90	140	145	84
	オーストラリア	23	23	23	31	15
	アメリカ	23	17	25	22	9
	ドイツ	37	35	41	28	46
	ニュージーランド	5	13	0	6	3
	フランス	8	4	1	0	5
	その他の国	7	1	5	1	8
	小計		224	183	235	233
競走	アメリカ	105	120	100	76	86
	イギリス	14	20	21	18	23
	オーストラリア	10	14	10	8	13
	アイルランド	2	1	2	2	1
	香港	8	9	10	6	15
	フランス	14	16	4	11	18
	アラブ首長国連邦	4	4	7	6	9
	その他の国	8	2	3	7	9
小計		165	186	157	134	174
肥育	カナダ	4,781	3,247	2,480	3,181	4,924
	アメリカ	0	0	0	0	0
	小計	4,781	3,247	2,480	3,181	4,924
その他	スイス	0	0	0	3	0
	小計	0	0	0	3	0
合計		5,294	3,710	2,954	3,681	5,377

表－2 用途別輸出頭数(平成22年～26年)

単位：頭数

用途	年別輸出頭数				
	平成22年	平成23年	平成24年	平成25年	平成26年
繁殖	66	46	48	32	32
乗用	52	40	23	6	14
競走	51	54	52	50	104
肥育	0	0	0	0	0
その他	0	1	0	0	0
合計	169	141	123	88	150

表－3 過去5年の輸入馬疾病摘発状況

単位：頭数

	平成22年	平成23年	平成24年	平成25年	平成26年	合計
馬伝染性子宮炎	-	-	1	-	-	1
馬ピロプラズマ病	-	1	1	-	1	3
馬インフルエンザ	7	14	6	-	-	27
馬ウイルス性動脈炎	-	1	-	-	-	1
馬鼻肺炎	-	-	2	-	-	2
馬パラチフス	1	8	9	13	8	39

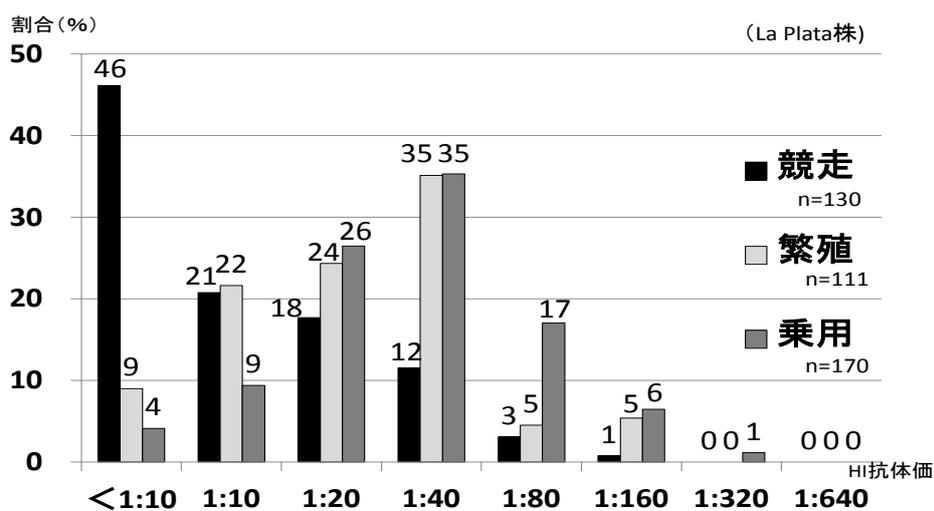


図1 H26年用途別HI抗体価分布(肥育を除く)

イ. 肥育用馬

カナダの肥育用馬輸出者は、平成23年から変わらずIからVの5社となっている。このうちIおよびIVでは、幾何学平均抗体価が特に低く、ほぼ抗体価の認められない状態となっている（表4）。

輸入者の聞き取りによれば、特に抗体価の低いIVでは、他社とは異なり、輸出に合わせて接種しているのではなく、まとめて5～6百頭接種されたものが順次輸出しているとのことであった。

接種されているワクチンは全て不活化ワクチンであり、一般的に不活化ワクチンは抗体産生能力が低く、獲得した抗体の保持期間が短いと考えられている。このため、輸入時に有効な免疫を付与するためには、ワクチンを可能な限り輸出直前に、intervalの方法で2回接種してることが望ましいと考えられた。

これらの結果については、日本家畜輸出入協議会（JLTA）を通じて、輸入社に情報提供している。

表4 平成26年カナダ産肥育用馬の輸出社別幾何平均抗体価(GM値)

肥育用

輸出社	輸入頭数	GM値			輸入社	飼養農場	生産州 (注)1	ワクチン		
		アメリカ系統株	フロリダ亜系統株					接種方法 (注)2	種類 (注)3	接種日
			Clade1	Clade2						
I	661	9.92	11.53	12.89	ア、ウ、ケ	C	b	③	船積み前3～6週間	
II	2,463	23.45	29.70	36.66	ア、イ、ケ	B AB	i		船積み前7～11日	
III	402	32.04	39.63	52.78	エ、カ	D	i	①	船積み前2～3週間	
IV	1,164	5.13	5.15	5.23	ク、ケ	F MB	b		4～6ロットまとめて	
V	274	23.84	35.47	37.84	コ	A AB	i	②	船積み前1ヶ月	

(注1)AB:アルバータ州、MB:マニトバ州

(注2)ワクチン接種方法i(interval):輸出国において出国検疫前1年以内に4週から6週間隔で2回E1ワクチン接種、b(booster):輸出国において出国検疫前1年以内に補強注射1回のみE1ワクチン接種

(注3)ワクチンの種類①:Fluvac Innovator

②:Encevac TC-4

③:Calvenza-03 EIV/EHV またはFluvac Innovator4

4. 監視伝染病の検査体制整備

動物検疫所では、馬の監視伝染病について、表5の検査を実施できる体制を整備している。今後、検査・診断できる疾病を計画的に増やしていくこととしているので、これらの技術を活かし、国内防疫にも協力していきたいと考えている。

表5 検査体制整備状況 (H27.10 現在)

監視伝染病(家畜伝染病)		監視伝染病(届出伝染病)	
伝染性疾患の名称	検査法	伝染性疾患の名称	検査法
日本脳炎	RT-PCR HI	類鼻疽	培養
ウエストナイル熱	RT-PCR [※]	破傷風	培養
狂犬病	FA RT-PCR FAVN ウイルス分離	トリパノソーマ病	血液塗抹標本検査 CF(顕微鏡のみ)
水胞性口炎	RT-PCR 中和試験 ウイルス分離	馬インフルエンザ	迅速抗原検査 RT-PCR ウイルス分離 HI
炭疽	培養 PCR	馬ウイルス性動脈炎	RT-PCR ウイルス分離 中和試験
ピロプラズマ病	血液塗抹標本検査 競合ELISA IFA PCR	馬鼻肺炎	LAMP、PCR 培養 CF 中和試験
鼻疽	PCR、rPCR 培養 CF	馬痘	電子顕微鏡
馬伝染性貧血	AGID RT-PCR [※] rRT-PCR [※]	馬伝染性子宮炎	培養 PCR
アフリカ馬疫	RT-PCR	馬パラチフス	試験管凝集反応 培養
		仮性皮炎	直接鏡検 培養

※今年度中に整備予定

3) 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

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 22～26 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 26 年度は合計 8 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(H22～H26)

製剤名	H22	H23	H24	H25	H26
馬インフルエンザ	2	3	3	3	3
馬鼻肺炎（不活化）（シード）	2	2	2	3	3
馬鼻肺炎（生）	—	—	—	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	2	3	3	3
破傷風トキソイド（シード）	1	1	1	2	2
馬ウイルス性動脈炎	1	1	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	H22	H23	H24	H25	H26
馬インフルエンザ	60,098	66,296	57,616	45,718	50,182
馬鼻肺炎（不活化）（シード）	32,378	31,348	29,028	16,540	36,013
馬鼻肺炎（生）	—	—	—	12,155	12,000
馬ロタウイルス感染症（シード）	6,945	11,740	6,850	9,470	7,650
日脳・ゲタウイルス感染症（シード）	25,900	11,340	24,990	17,570	17,390
馬インフルエンザ・日本脳炎・破傷風トキソイド	39,380	48,557	50,671	48,598	57,736
破傷風トキソイド（シード）	4,184	4,124	3,984	3,348	4,516
馬ウイルス性動脈炎	3,025	3,025	3,030	0	3,030

(2) 馬用診断液及び血清の製造状況

平成 22～26 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	H22	H23	H24	H25	H26
馬伝染性貧血診断用抗原	2	1	1	1	1
馬パラチフス診断用菌液	1	1	0	2	1
破傷風抗毒素	1	1	1	1	0
	(25, 420)	(21, 510)	(10, 420)	(22, 060)	

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 27 年 7 月 21 日に第 6 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。

(1) 馬インフルエンザワクチン製造用株の変更の必要性について

本年開催された OIE 馬インフルエンザ専門家会議によると、昨年はいままでと同様、米国で分離されたウイルスはフロリダ亜系統クレード 1 (Fc1)、欧州で分離されたウイルスはフロリダ亜系統クレード 2 (Fc2) に分類され、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。

日本のワクチン製造用株のうち、A/equine/Ibaraki/1/07 (H3N8) は Fc1 に属している。また、A/equine/Yokohama/aq13/2010 (H3N8) は Fc2 に属している。

以上のことから、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、「昨年ワクチン製造用株として追加指定された A/equine/Yokohama/aq13/2010 (H3N8) 及び A/equine/Ibaraki/1/07 (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。

(2) 馬インフルエンザワクチンの製造用株の変遷(参考)

平成 26 年 9 月 25 日付け農林水産省消費・安全局長通知により、H3N8 亜型フロリダ亜系統クレード 1 の Ibaraki/07 株とクレード 2 の Yokohama/10 株の組み合わせが「馬インフルエンザ不活化ワクチン」及び「馬インフルエンザ不活化・日本脳炎不活化・破傷風トキソイド混合(アジュバント加)ワクチン」の製造用株として追加されている。

表4 馬インフルエンザワクチンの製造用株の変遷

承認年	製造用株
1972～1973	A/equine/Prague/56 (H7N7) A/equine/Miami/63 (H3N8) A/equine/Tokyo/2/71 (H3N8)
1985	A/equine/Newmarket/77 (H7N7) A/equine/Kentucky/1/1/81 (H3N8) A/equine/Tokyo/2/71 (H3N8)
1996	A/equine/Newmarket/77 (H7N7) A/equine/Kentucky/1/1/81 (H3N8) A/equine/La Plata/93 (H3N8) (アメリカ)
2003	A/equine/Newmarket/77 (H7N7) A/equine/Avesta/93 (H3N8) (ヨーロッパ) A/equine/La Plata/93 (H3N8) (アメリカ)
2009	A/equine/Ibaraki/1/07 (H3N8) (フロリダ 亜系統クレード 1) A/equine/Avesta/93 (H3N8) (ヨーロッパ) A/equine/La Plata/93 (H3N8) (アメリカ)
2014	A/equine/Ibaraki/1/07 (H3N8) (フロリダ 亜系統クレード 1) A/equine/Yokohama/aq13/1/10 (H3N8) (フロリダ 亜系統クレード 2)

注：製造用株の指定は、太字。2009年以降。

7. 研究部会出席者名簿（順不同：65名）

1. 山口大学
前田 健
2. （一財）日本生物化学研究所
大森 崇司
永野 哲司
3. （独）農業・食品産業技術総合研究機構 動物衛生研究所
津田 知幸
坂本 研一
秋庭 正人
播谷 亮
木村 久美子
江口 正浩
増子朋美（長期研修生）
吉田 恵美
猿山 由美
原 由香
彦田 夕季
4. 農林水産省 動物検疫所
草刈 恵
下久保 奈津美
細野 靖人
田中 信行
5. 農林水産省 動物医薬品検査所
大石 弘司
6. 技術部会参加者
北海道胆振家畜保健衛生所 原田 健弘
北海道十勝家畜保健衛生所 八木 梓
岩手県北家畜保健衛生所 大竹 良祐
茨城県南家畜保健衛生所 新海 桐子
栃木県中央家畜保健衛生所 安西 真奈美
千葉県中央家畜保健衛生所 佐藤 隆裕
神奈川県湘南家畜保健衛生所 森村 裕之
山梨県東部家畜保健衛生所 坂本 安由美
新潟県中央家畜保健衛生所 和食 雄一
愛知県西部家畜保健衛生所 渡戸 英里
岐阜県中央家畜保健衛生所 野崎 恵子
京都県山城家畜保健衛生所 石森 裕
広島県西部家畜保健衛生所 兼廣 愛美
福岡県両筑家畜保健衛生所 江崎 健二郎

鹿児島県曾於家畜保健衛生所	別府 成
動物検疫所北海道出張所胆振分室	松野 望実
動物検疫所成田支所動物検疫第1課	久保 顕志
動物検疫所門司支所鹿児島空港出張所	清水 万里江

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

守永 美夫

原田 博文

10. (特) 日本中央競馬会

馬事部

井上 真

山野辺 啓

奥 河寿臣

伊藤 幹

松田 芳和

立野 大樹

東樹 宏太

青木 基記

美浦トレーニング・センター

眞下 聖吾

栗東トレーニング・センター

村中 雅則

競走馬総合研究所

松村 富夫

太田 稔

競走馬総合研究所栃木支所

和田 信也

森 誠一郎

蘆原 永敏

片山 芳也

上野 孝範

丹羽 秀和

木下 優太

越智 章仁

近藤 高志

山中 隆史

辻村 行司

坂内 天

あとがき

本年の馬防疫検討会「馬感染症研究会」は、10月19日（月）から10月23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26回目になり、15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32回目となりました。発表演題は合計で9題であり、出席者は65名でした。今回の特別講演は、山口大学の前田健教授に「重症血小板減少症候群ウイルスの最新の知見」と題して講演をお願いしました。講演では2012年に分離された重症熱性血小板減少症候群ウイルスに関する調査研究成績についてお話していただきました。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

蘆原永敏、東樹宏太、原田博文（50音順）