

農林水産省動物検疫所

Animal Quarantine Service

調 査 研 究

業 績 集 Vol.7

令和4年度版



はじめに

平素より、農林水産省動物検疫所の業務にご理解とご協力をいただき誠にありがとうございます。ここに調査研究業績集Vol. 7をお届けします。

新型コロナウイルス感染症に対する水際規制の大幅緩和により、国内各地の国際線運航が急速に回復し、我が国への入国者が急増しています。一方、有効な治療法やワクチンがないアフリカ豚熱のアジア近隣諸国へのまん延やインドネシアでの口蹄疫の発生など、海外における家畜衛生の状況は悪化の一途をたどり、家畜伝染病の侵入が我が国の畜産業の大きな脅威となっています。

動物検疫所では、このような水際防疫に係る厳しい環境変化に対応するため、①各空海港における運航再開等を捉えた効果的な広報キャンペーンの実施、②急増する入国者に対応した家畜防疫官・補助員の効果的な人員配置の検討、③140頭体制となった検疫探知犬の有効な活用方策の検討、④迅速かつ厳格に検査対応できる個々の家畜防疫官の資質の向上など、多くの取組を精力的に進めています。これらの取組に当たっては、各課題に関する現状の把握に加え、今後見込まれる情勢分析などに必要なデータ・情報を用いて、動物検疫所が保有する人的資源及び予算の活用方策の有効性を分析し、講じるべき効果的な対応方策の構築やその効果の検証に向けています。

また、これらの取組と併せて、加熱によるタンパク質変性を利用した輸入肉の加熱履歴確認検査や、遺伝子検査を活用した畜産物の動物種鑑別、また、携帯品として持ち込まれた肉類のアフリカ豚熱・高病原性鳥インフルエンザ等病原体の遺伝子保有調査など、科学的根拠に基づく効果的な検疫対応を進めています。

今回の調査研究業績集においても、検査室で活用する精密検査手法の開発のみならず、動物検疫の現場で得られるデータを整理・分析して取組方策を方向付けていく事案なども掲載しています。本業績集をご覧になり、日々刻々と変化する情勢に対し、動物検疫所職員が的確に対応する姿勢や取組を感じていただければ幸いです。また、生産者、家畜衛生担当者、国内外の研究機関をはじめ関係の皆さまの参考となり、連携の契機になることを祈念いたします。

動物検疫所は今後とも職員一人ひとりが高い水際防疫に対する意識のもとで、日々の業務の中で常により効果的な対応を模索するなど、職員の総力を結集し知恵と工夫を凝らして、与えられた水際防疫の役割をしっかりと果たしてまいる所存ですので、関係の皆さまの助言・連携協力をお願いいたします。

令和5年3月
農林水産省動物検疫所

凡 例

動物検疫所の業務及び調査研究における令和4年度の業績のうち、下記3点のいずれかに該当し、広く家畜衛生関係者に情報提供すべきと考えられるものを収録した。

- 1) 動物検疫業務の改善見直し等の取組のうち、動物検疫所の業務について理解を深めるもの
- 2) 水際防疫と国内防疫の連携につながるもの
- 3) 国内防疫を担う家畜保健衛生所の検査業務の参考となるもの

目 次

1. 技能実習生及び留学生に向けた効果的な広報への取組	1
2. 狂犬病検査に関する研修会の開催報告	3
3. 赤外線サーモグラフィを用いた肥育用素牛・素馬のスクリーニング的 体温測定 of 検証	5
4. カナダ産肥育用素馬における馬インフルエンザ摘発事例	7
5. MPSP領域のType特異的PCR法による <i>Theileria orientalis</i> の遺伝子型別	9
6. 遺伝子検査による畜産物の鳥種鑑別法の検討	11
7. 携帯品として持ち込まれた非加熱偶蹄類肉等のウイルス汚染状況調査	13
8. 東京2020オリンピック・パラリンピック大会馬術競技馬の輸出入検疫対応	15
9. ブルータング寒天ゲル内沈降反応用抗原の作製	17
10. 輸入畜産物の外装汚染モデル作製（第2報）	19

【参考資料】

令和4年度動物検疫所業績発表会 発表演題	23
主な外部発表業績（令和4年度）	25

※ご意見・ご質問は動物検疫所HPよりお願いいたします。
<http://www.maff.go.jp/aqs/job/request.html>

要 約

動物検疫制度に係る広報活動をより効果的なものとするため、技能実習生及び留学生を対象として、動物検疫制度の認知度と広報方法に関するアンケートを実施した。その結果、肉製品を持ち込む経路によって動物検疫制度の認知度には差があり、認知の“きっかけ”も異なっていたことから、伝えたい内容に応じた広報方法の選択が重要であることが分かった。

背景と目的

動物検疫所では、動物検疫制度を広く知ってもらうため、広報活動を行っている。門司支所では、2021年度、これまでの広報方法を検証し、今後の方針に反映することを目的として、技能実習生及び留学生を対象としたアンケートを実施した。

取組の内容

門司支所管内に所在する監理団体及び留学先を通じて協力を依頼し、技能実習生157人、留学生593人の計750人から回答を得た。アンケート項目は、海外からの肉の持込制限に関する認知度を測るための2項目、認知のきっかけとなり得る12項目を設定し（表1）、回答方法はSemantic Differential（SD）法^注とした。回答者が内容を理解しないまま回答していると考えられる回答等を分析対象から除外し、有効回答と判断できた440件について、直接確率検定、重回帰分析等の統計学的手法を用いて分析を行った。

その結果、「肉の持込制限」について「知っている」と回答した人は約84%、「国際郵便による肉の持込制限」について「知っている」と回答した人は約62%であり（図1）、両者の認知には有意差が認められた（ $P<0.01$ ）。また、認知のきっかけとなり得る12項目について、変数減少法を用いた重回帰分析を行い、影響度（ t 値）を比較したところ、「母国で聞いた」、「探知犬を知っている」、「罰金があることを知っている」、「送出機関から聞いた」の4項目は肉製品の持込み経路によらず共通していたが、「SNSで見た」は、「肉の持込制限」の認知のみに、「日本滞在中に聞いた」は、「国際郵便による肉の持込制限」の認知のみに影響がある、という結果となった（図2、図3）。

注）Semantic Differential（SD）法：反対の意味をもつ形容詞を両端に配置し、どれに当てはまるかを多段階で回答してもらう方法。

今後の方針

1. 母国側での情報発信

「肉の持込制限」と「国際郵便による肉の持込制限」の両方の認知に影響力があつた、「母国で聞いた」と「送出機関から聞いた」の2項目は、母国側での周知が有効であることを示している。今後関係各所等の協力を得つつ、母国側で情報に触れる機会を増やす取組が重要である。

2. 目的に応じた広報方法の選択

「肉の持込制限」と「国際郵便による肉の持込制限」の認知には有意差があり、肉の持込みに制限があることを知っている、国際郵便でも同様に制限があるという認識にはつながっていないと推測された。また、それぞれの認知に影響を与えるきっかけにも違いがあつたことから、伝えたい内容ごとに広報を展開し、使用方法も使い分けていく必要がある。当所では今回の結果を踏まえて、「肉の持込制限」の周知には、これまでのSNS発信に加え、より認知のされやすい探知犬や罰金を題材として取り入れ、定期的に監理団体及び留学先等へ配信している。また、「国際郵便による肉の持込制限」の周知には、効果が期待できる「日本滞在中の広報力」に着目し、出入国在留管理庁に協力を依頼する等、新たな取組を始めている。

今後も、対象を広げてアンケートを実施する等、対象と目的に応じた効果的な広報について検討を続けていきたい。

具体的データ

表1 アンケート項目

認知度(2項目)	● 肉の持込制限 ● 国際郵便による肉の持込制限
認知の「きっかけ」となりうる項目(12項目)	○ 母国で聞いた ○ 母国の食べ物の持込意欲*1 ○ SNSで見た ○ 探知犬を知っている ○ 罰金があることを知っている ○ 動物検疫所を知っている ○ ポスター・イベントを見た ○ 送出国機関から聞いた*2 ○ 受入機関から聞いた ○ 日本滞在中に聞いた ○ 実習生・留学生同士で話した ○ 母国の家族が知っている

*1: 食べ物の持込意欲があれば、持込制限について事前に確認することを想定して設定

*2: 技能実習生の場合は「送出国機関」、留学生の場合は「母国の留学支援機関」として質問

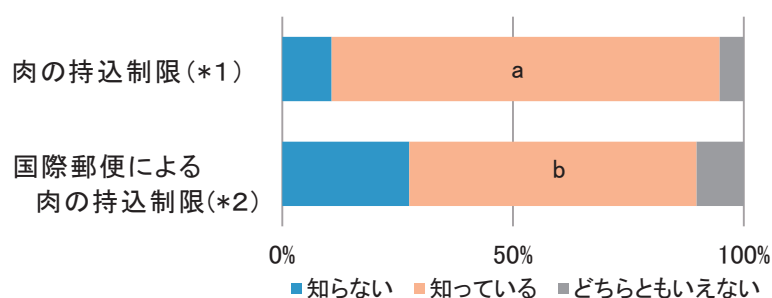


図1 肉の持込制限に関する認知度

*1: 知らない: 19 人、知っている: 154 人

*2: 知らない: 42 人、知っている: 131 人

a-b 間で有意差あり($P < 0.01$)

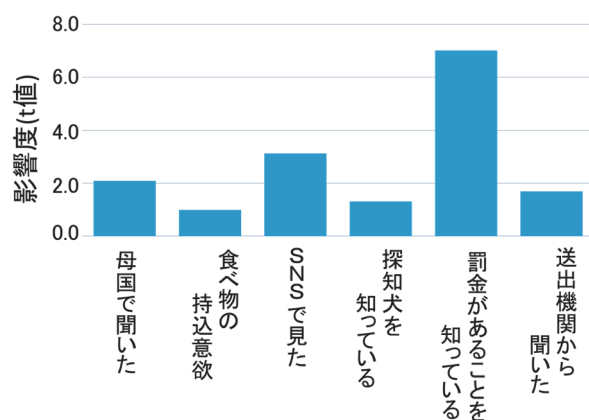


図2 「肉の持込制限」の認知に影響を与える項目

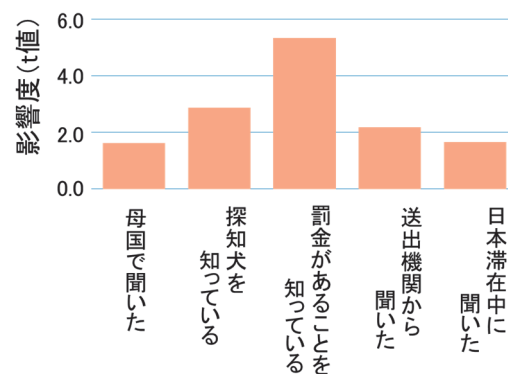


図3 「国際郵便による肉の持込制限」の認知に影響を与える項目

n=140 重相関係数: 0.77
自由度調整済み決定係数: 0.58
有意F < 0.001

n=140 重相関係数: 0.72
自由度調整済み決定係数: 0.50
有意F < 0.001

要 約

狂犬病の検査技術を習得している動物検疫所の職員は減少傾向にあるといったリスク管理上の課題が生じている。このため、検査技術習得を目的として、千葉県との協力を得て、狂犬病検査のための採材方法及び精密検査に関する技術研修を開催した。次年度以降は、日本国内で多発する高病原性鳥インフルエンザ等の防疫作業実施に重要となる防護服の適切な着脱を研修内容に盛り込むとともに、研修内容を更に発展させて、検査技術の維持及び向上に努める。

背景と目的

狂犬病は1958年以降、人の輸入症例を除き日本では発生が確認されていない人獣共通感染症であるが、発症するとほぼ100%死亡する疾病である。このため、動物検疫所では輸入される犬や猫などが狂犬病にかかっているおそれがないかについて、書類審査及び臨床検査を実施しているが、これに加え、海外からコンテナ等に迷入して到着する犬や猫（以下「迷入動物」という。）についても検査を実施している。迷入動物は、日本へ入国する際に課せられる個体識別、臨床検査、ワクチン接種等の処置がなされておらず、狂犬病に感染している可能性のある野良猫がその多くを占めている。近年、迷入動物の数が年に二桁を超えており（図1）、これらは狂犬病の侵入リスクの増大につながる。一方、新型コロナウイルス感染症の感染拡大により技術研修が開催できず、狂犬病の診断技術を習得した職員減少の懸念が生じていた。そこで、千葉県の協力を得て、狂犬病検査に関する研修会を2日間の日程で開催し、当所職員の技術習得を図るとともに、千葉県の衛生担当者の検査技術向上に資することができた。

取組の内容

1. 剖検及び精密検査材料の採取

当課が作成した動画を用いて剖検の手技を確認した（図2）後、防護服を着用して解剖室へ移動し、剖検及び精密検査のための採材を実施した（図3）。

2. 精密検査

本研修では、狂犬病ウイルスの遺伝子を検出するRT-PCR及び狂犬病ウイルス抗原が染色されて独特の蛍光を発する直接蛍光抗体法（以下「FA」という。）を実施した。検査に使用する試薬の調製は主催者が行い、受講者はそれ以外のRNAの抽出（図4-1）、泳動及び染色を実施し、RT-PCR反応時間中にFAを実施した（図4-2）。

3. 意見交換

本研修の受講者を対象に、より研修が有意義なものとなるよう意見交換を行った。動画を観ることで剖検のシミュレーションができるとの意見を受け、動物検疫所職員の誰もがいつでも動画で学べる環境を整えた。

今後の方針

水際対策を担当する家畜防疫官として、必要となる検査技術並びに知識の維持及び向上のため、継続的な研修会の開催に取り組んでいきたい。また、精密検査の研修内容を見直して効率化を図るとともに、国内で発生した高病原性鳥インフルエンザや豚熱等の防疫作業にも共通する、病原体による汚染防止のために不可欠な防護服の適切な着脱に関する研修の時間を新たに設け、受講者の知識及び技術を習得する機会を増やしていきたい。

具体的データ

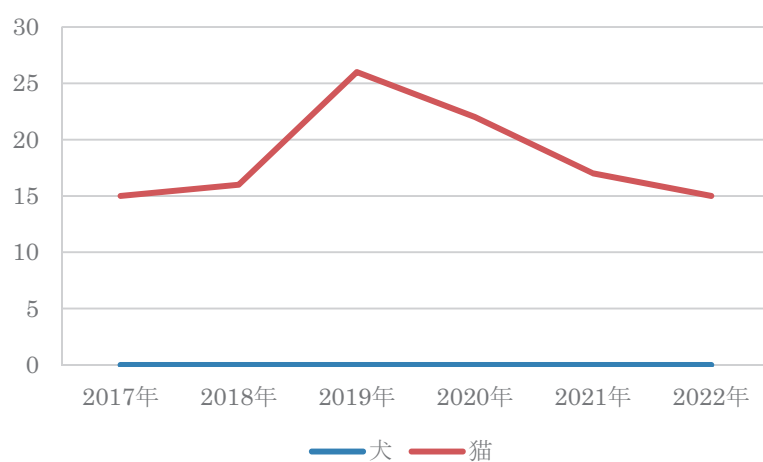


図1 迷入動物頭数推移



図2 講義風景



図3 検体の採材

会議室で当課が作成した解剖の動画を用いて、手技を説明した。



図4-1 RT-PCRのための遺伝子抽出風景



図4-2 FAの染色風景

要 約

輸入動物の直腸温度による体温測定に代わる方法として、赤外線サーモグラフィ（IRT）カメラを用いた体温測定の可能性を検討した。その結果、IRT測定値から発熱牛は100%、発熱馬は85%の感度でIRTカメラによって高温と判別された。微熱馬を見逃す可能性や環境要因による影響を考慮する必要があるが、多頭数入検時においてIRTカメラの動物へのスクリーニング的活用は有用だと考えられた。

背景と目的

近年、IRTカメラの小型化、高性能化が進み、人や各種動物に対する検証や産業動物医療分野における実用例が報告されている。輸入動物における体温測定は伝染病の徴候の早期察知と体調管理を行う上で重要な情報であることから、原則として毎日全頭の直腸温度を測定している。一方で、肥育用素馬（重種馬）など人に慣れていない動物の直腸温度を測定する場合は非常に大きな危険を伴い、作業負担が大きい。そこで、直腸温度による体温測定に代わる方法として、IRTカメラを用いた体温測定の可能性を検討した。

取組の内容

1. IRTカメラの選定及び直腸温度とIRT測定値との比較

メーカーや基本性能が異なる4機種のIRTカメラを用いて、2020年7月以降に輸入検疫を行った素牛、一部機種では素牛及び素馬で体温測定群を設定し、IRT測定値と直腸温度を比較した（図1）。測定部位は、被毛の密度や環境温度の変化に影響されにくいとされる眼瞼周囲部とした。4機種のうち3機種についてはIRT測定値と直腸温度との間に一定の相関性が認められたものの、相関係数は低値であったためIRT測定値から直腸温度を推定することは困難であると考えられた。次に3機種うち1機種を用いて、IRT高温群（周辺個体と比べ眼瞼周囲部の温度上昇が認められた個体）とその他の群の直腸温度を比較したところ、直腸温度が発熱基準値以上だった個体は全てIRT高温群に含まれ、スクリーニング的体温測定のツールとして当該機種を用いることは可能であると考えられた。

2. 実用化に向けた検証と健康管理への応用

1で選定された機種を用いて、素牛及び素馬別に年間を通じた体温測定の実証、環境や被毛の長さの違いによる体表温度への影響の検討をした（図2、3）。素牛（4ロット）は、発熱牛（39.5℃以上）はIRT高温群として全て抽出されたが、非発熱牛の一部がIRT高温群として抽出された（感度100%、特異度95%）。特に、直腸温度が40℃以上の個体は確実にIRT高温群として判別可能であった。素馬（12ロット）では、発熱馬（39.0℃以上）は、ほぼ全てがIRT高温群として抽出されたが、非発熱馬の一部がIRT高温群として抽出された（感度85%、特異度90%）。夏季の発熱馬は眼瞼周囲だけでなく、顔・体全体が高温になる傾向があったが、冬季は眼瞼周囲部のみ変化することが多かった。また、運動、パドック（屋外）管理、水冷等の環境要因は、IRT測定に悪影響を与える結果であった。さらに、健康管理への応用として、個別管理個体に対して随時IRT測定を行い、観察像と臨床症状との関連を調査したところ、四肢の腫れや眼瞼の外傷など熱感を伴う異状では、IRTカメラによる判別が可能なものがあった。

今後の方針

IRTカメラの動物へのスクリーニング的活用は、外気温に応じた温度レンジの設定やIRT高温群の抽出判断などの習熟が必要だが、発熱個体はほぼIRT高温群として抽出されたことから、多頭数入検時において有用と考えられた。特に素馬では、危険な作業を減らし、ロット全体の発熱傾向を短時間で容易に把握できることから、スクリーニング法として実用化された場合のメリットは大きい。今後も発熱個体のデータ蓄積等、実用化を視野に検証を継続する。

具体的データ



図1 素馬の直腸体温測定(写真左)とIRT を使ったスクリーニング測定の様子(写真右)

IRT測定は馬房に鋼管を入れての保定が不要で、1人でも安全に短時間で実施できる。

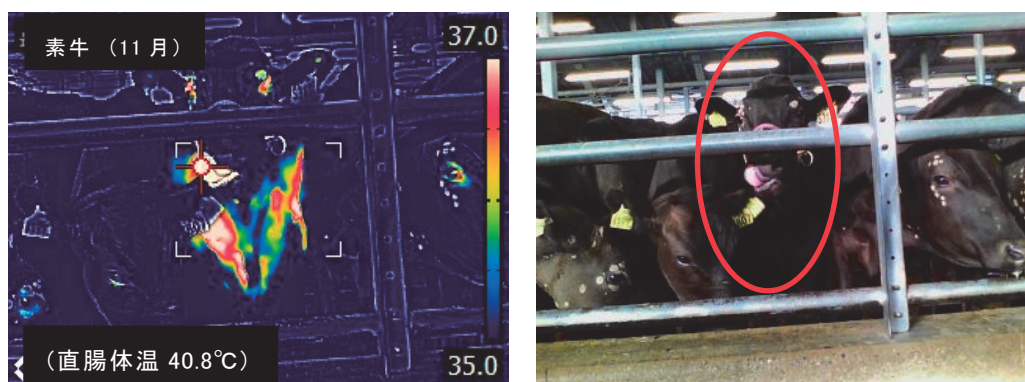


図2 牛の場合のIRT 観察像

発熱がある牛(赤印)はIRTで周囲の牛より高体温に観察された。

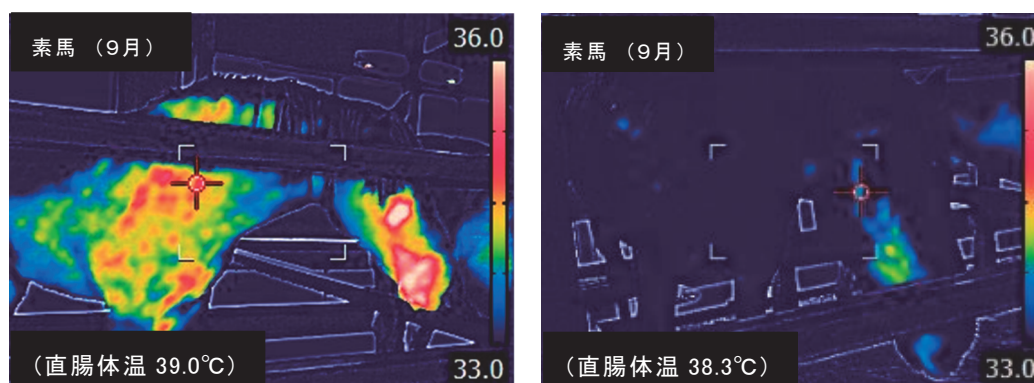


図3 馬の場合のIRT 観察像(左:IRT(+)発熱馬、右:IRT(-)非発熱馬)

夏季の発熱馬はIRTで顔や体全体が高温に観察され、判別が容易であった。

要 約

2022年3月に入検したカナダ産肥育用素馬99頭において、検疫2日目に実施した遺伝子検査で38頭が馬インフルエンザ（EI）陽性となった。その後、検疫7日目に21頭、検疫9日目に22頭が新規陽性となり、感染の拡大が確認された。当該ロットは係留を延長して馬群全体が陰性になるまで7日間隔で遺伝子検査を実施し、EIの病原体を拡散するおそれがないと判断した馬から順次解放した。輸入者には、当該事例の発生要因等に係る科学的考察について情報提供し、それを踏まえた再発防止策を提案した。

背景と目的

EIは馬の急性呼吸器感染症で、現在、日本は清浄国であるが、カナダは常在国である。輸入検疫では、肥育用素馬全頭の鼻腔スワブを材料とした遺伝子検査を実施しており、今回のロットでEIを摘発したことから、分離ウイルスのHA1遺伝子領域の分子系統樹解析、当該馬群の分離ウイルスに対するHI抗体価の保有状況調査を実施した。得られた結果については、輸入者へ情報提供を行い、再発防止策を提案した。

取組の内容

1. EI陽性馬摘発を受けて7日間隔で遺伝子検査を実施し、検疫24日目には1頭の陽性馬を除く全頭の陰転を確認し、検疫37日目までに全ての馬の陰性を確認した。EIに係る対応方針及び専門家の助言を踏まえ、遺伝子検査及び臨床観察の結果から、感染から回復又は感染していないと判断した馬から順次解放した（図1）。本ロットの臨床症状としては、検疫3日目から膿性鼻汁を呈する馬が散見され、その後、膿性鼻汁や発咳等の呼吸器症状を呈する馬が増加したが、全体的に軽度であり、検疫期間を通じて発熱はなかった。
2. 呼吸器症状を呈した馬の鼻腔スワブを採取し、発育鶏卵の尿膜腔内接種法によるウイルス分離を行い、分離ウイルスのHA及びNA遺伝子の塩基配列を解析したところ、H3N8亜型であった。さらにHA1遺伝子領域の塩基配列の分子系統樹を作成したところ、アメリカ系統フロリダ亜系統clade 1に属することが判明した（図2）。なお、本株のHA及びNA遺伝子の塩基配列は日本遺伝子データベースに登録した（株名：A/equine/Yokohama/aq1/2022）。
3. また、分離ウイルスのHA1アミノ酸配列を、国内ワクチン株、OIE推奨ワクチン株及び近年分離された株と比較したところ、複数箇所でアミノ酸変異が認められた。
4. 全頭の検疫2日目血清及び陽性馬68頭の検疫16日目血清を用いてHI試験を実施した。抗原には国内ワクチン株（Ibaraki株（アメリカ系統フロリダ亜系統clade 1）及びYokohama株（アメリカ系統フロリダ亜系統clade 2））並びに分離株を用いた。検疫2日目の幾何平均抗体価はIbaraki株11.8、Yokohama株12.2、分離株30.9と低値であったが、検疫16日目には3株いずれに対しても抗体価は有意に上昇した（図3）。また、国内ワクチン株と分離株で免疫交差能が認められた。

今後の方針

1. 分離ウイルスが近年の北米流行株と同一系統であり、検疫2日目には全畜舎で遺伝子検査陽性馬が確認されたことから、輸出直前に当該馬群へ感染し、検疫期間中に群全体に広がった可能性が示唆された。また、当該馬群は、輸出国でEIワクチン接種が実施されていたものの、群としての免疫レベルが低く、感染防御が不十分であったと考えられた。EI対策においては適切なワクチン接種による群としての免疫賦与が重要であることを輸入者へ説明するとともに発生要因等に係る科学的考察を情報提供し、輸入者からはワクチン接種時期を日本到着時に近づける等の対応を検討する旨の回答があった。今後もワクチン接種の重要性を指導し、引き続き水際対策を徹底する。

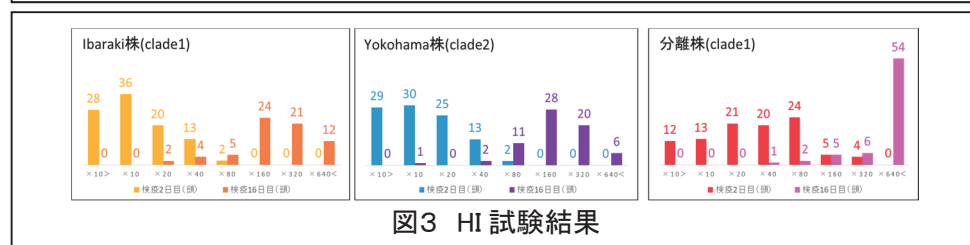
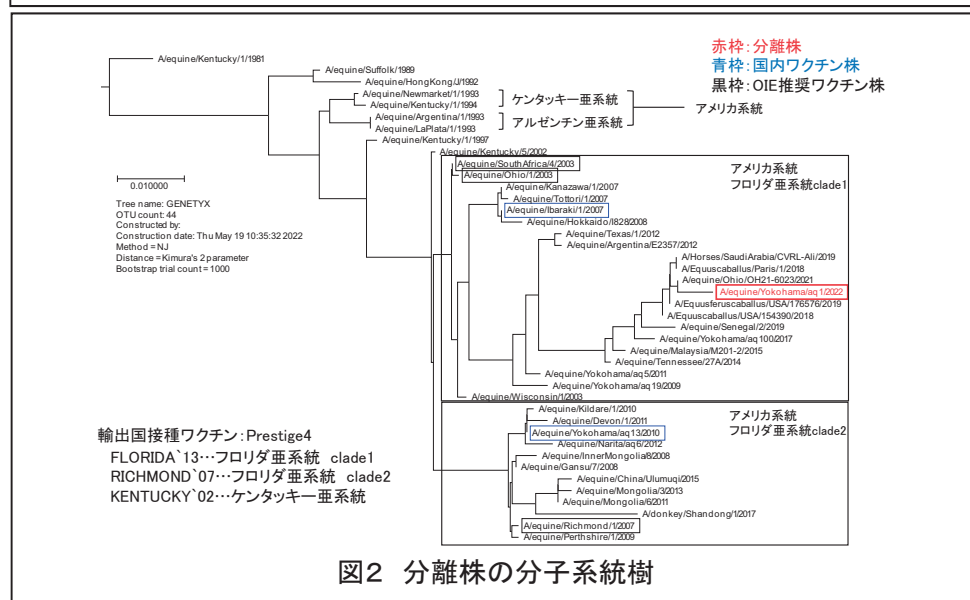
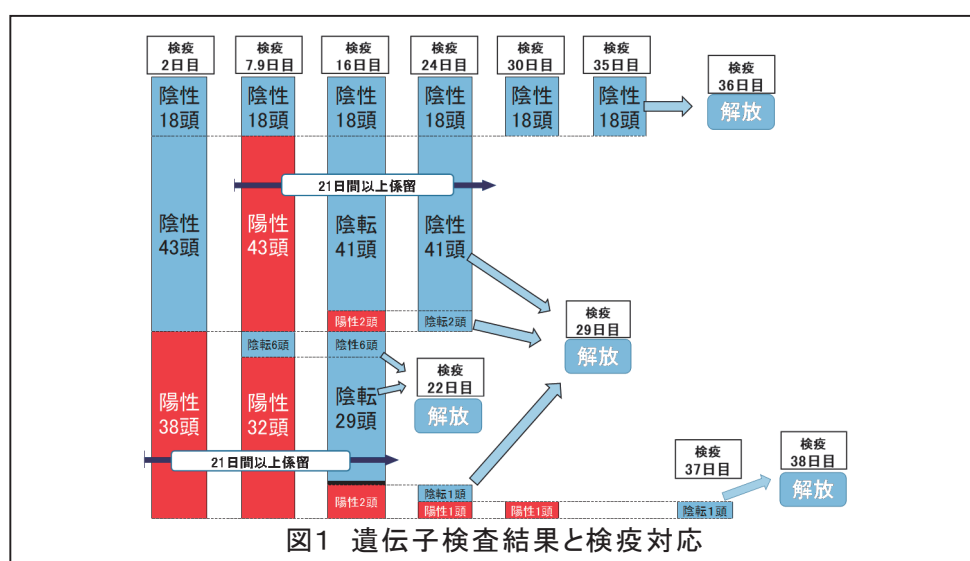
2. A型インフルエンザウイルスは、HAを構成するアミノ酸配列に変異が生じると抗原変異が起こり、ワクチンの効果が十分に発揮されない可能性がある。分離株は他の株と比較し、アミノ酸配列に変異が認められた部分がかったものの、国内ワクチン株との免疫交差能を有しており、国内ワクチンは本分離株に対しての有効な防御能を有していると考えられた。

参考文献

公益社団法人中央畜産会（2022）：馬の感染症第5版

公益社団法人中央畜産会（2019）：馬インフルエンザ第4版

具体的データ



要 約

豪州産輸入牛について、*T. orientalis* のMPSP領域のType特異的PCR法（Type 1～5の型に分類）による遺伝子型別を実施したところ、検体の約7割が複数の型で陽性となった。陽性となった型はいずれも日本で報告のある型だが、病原性が強いとされるType 2の陽性率が最も高かった。さらに、原虫の寄生スコアが高くなるにつれ、他の遺伝子型と比べてType 2の陽性率が高値となった。

背景と目的

T. orientalis は小型ピロプラズマ症の病原体である。本症は監視伝染病ではないものの、放牧や分娩ストレスによって感染牛が貧血や発熱などを起こすことが知られており、畜産現場における生産性低下の一因となる。当課では2019年度に、豪州産肥育用牛及び乳用繁殖用牛の血液を材料として、*T. orientalis* の主要ピロプラズマ表面タンパク質（MPSP）をターゲットとした分子系統樹解析を実施したが、125検体のうち106検体で塩基配列の決定が困難であった。この原因として、複数の遺伝子型の原虫株が重複感染していた可能性が考えられたため、重複感染においても型別が可能なMPSP領域のType特異的型別PCR法を用いて、豪州産輸入牛における*T. orientalis* の遺伝子型別を実施し、疫学的な考察を行った。

取組の内容

2019年3月から2022年2月に豪州から輸入された肥育用牛及び乳用繁殖用牛のうち、血液塗抹鏡検で原虫寄生が確認された117頭の血液を供試材料とし、血液からDNAを抽出して遺伝子型別を行った。この結果、117検体中83検体が複数の型で陽性、18検体が単一の型で陽性、16検体がいずれの型でも陰性となり（図1左）、病原性が強いとされるType 2の陽性率が最も高値であった（図1右）。生産州別に見ると、NSW州、QLD州ではType 1～3、5、WA州ではType 2、5が陽性、用途別では、肥育用牛でType 1～3、5、乳用繁殖用牛でType 1～3が陽性となり、いずれにおいてもType 2の陽性率が最も高値であった（図2）。また、血液塗抹鏡検での寄生スコアが高くなるにつれて、他の遺伝子型に比べてType 2の陽性率が高値となった（図3）。なお、係留期間中の血液検査で貧血が認められた9頭の遺伝子型に明らかな傾向は見られなかった。

考 察

今回の型別PCR法による調査で、約7割の血液検体が複数の遺伝子型で陽性であることが確認できたことから、2019年度調査において塩基配列が決定できなかった原因が、重複感染によるものであった可能性が改めて示唆された。なお、いずれの型でも陰性であった検体は、プライマーの不一致、Type 1～5以外の型の株による感染等の理由が考えられた。用途や生産州の違いによらず、病原性が強いとされるType 2の陽性率が最も高値であったが、貧血と遺伝子型との関係性は見られず、宿主の抵抗性の関与が大きいと考えられた。*T. orientalis* の各遺伝子型は重複感染することが知られており、他のTypeによる交差免疫反応は起こらないとされていることから、他の型の感染を防ぐためにも不顕性感染している牛の移動や放牧中の他群との合流には注意が必要であると思われる。

参考文献

農林水産省動物検疫所 調査研究業績集Vol.5 令和元年度版

Yokoyama, N. *et al.* (2011): Genotypic diversity of *Theileria orientalis* detected from cattle grazing in Kumamoto and Okinawa prefectures of Japan. *J. Vet. Med. Sci.* 73, 305-312

具体的データ

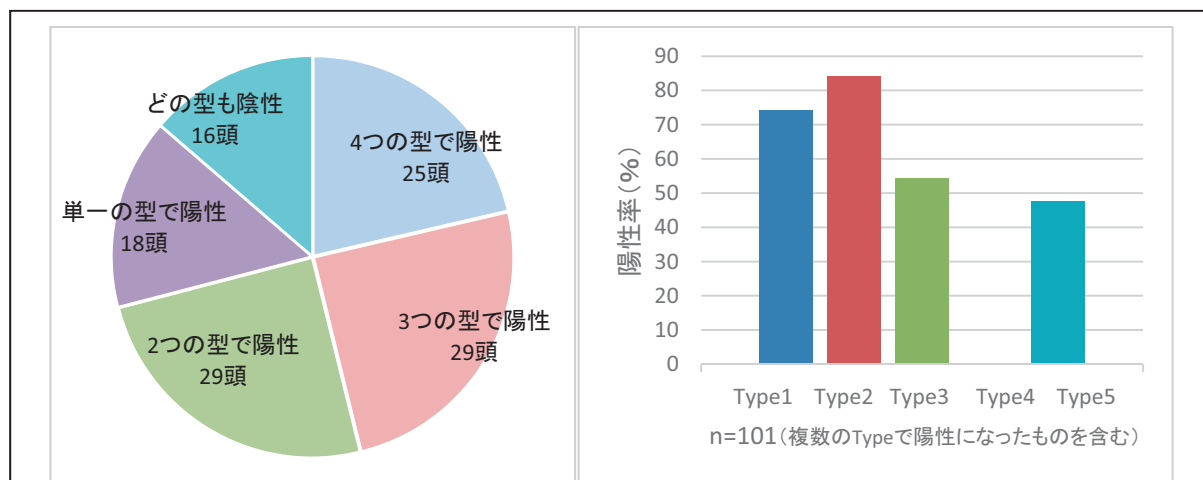


図1 型別 PCR の結果(左)と Type 別陽性率(右)

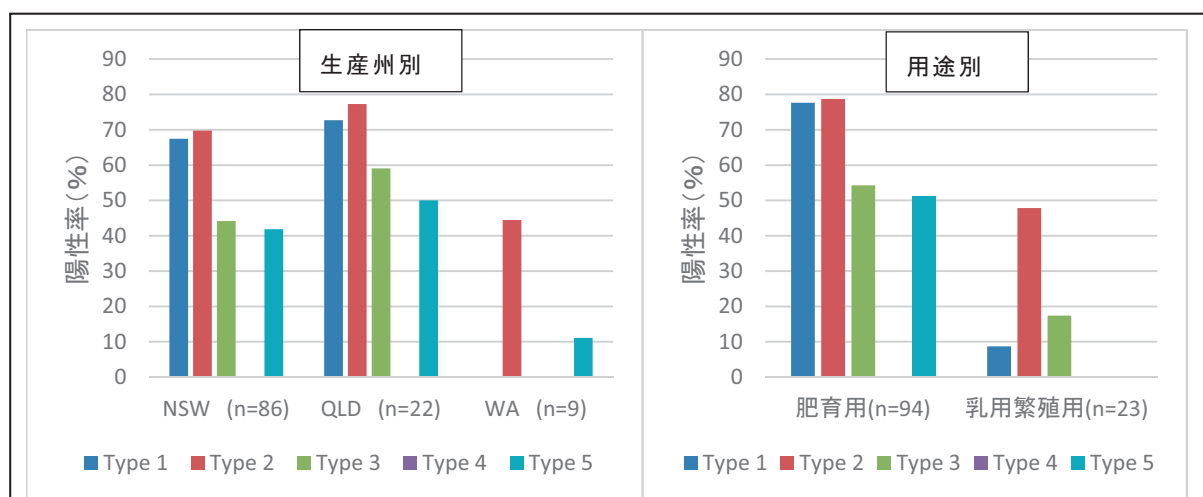


図2 生産州別と用途別の Type 別陽性率

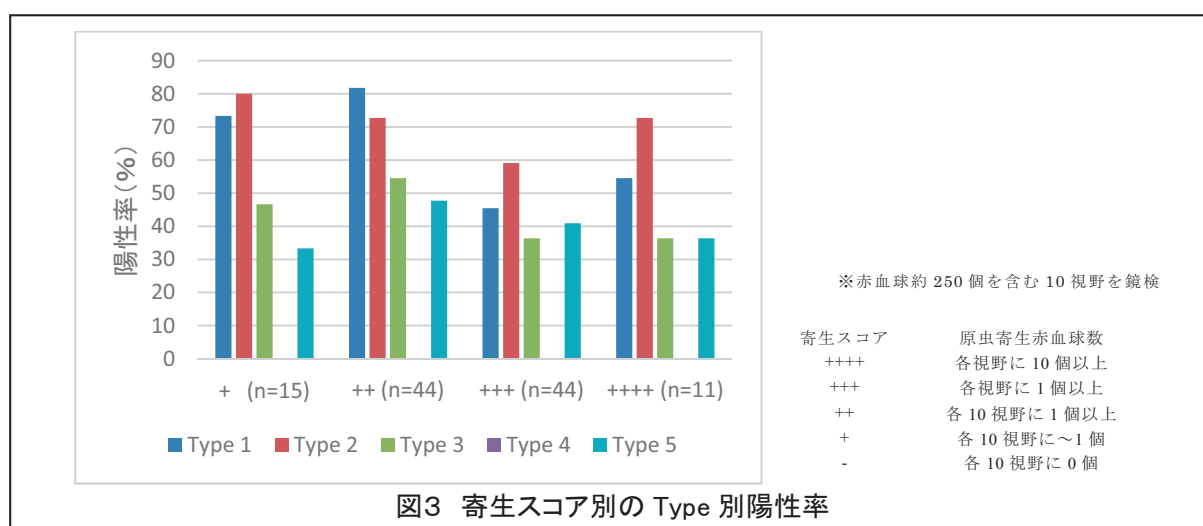


図3 寄生スコア別の Type 別陽性率

要 約

海外から違法に持ち込まれた畜産物に対する検疫強化に伴い、畜産物の動物種を鑑別できる検査法を確立する必要がある。これまで整備した検査法では多くの動物種を鑑別可能であるが、動物検疫対象の家きんに属する複数の鳥種のうち、鶏以外の鳥種は十分な検証が行われていない。このため、10種の家きん生鮮肉を用いて鑑別の可否を検証したところ、既存の検査法では鑑別困難な鳥種が確認された。一方、新たにDNA Barcodingを用いた方法を試みたところ、検証した全検体の鑑別が可能であり、卵材料の鑑別も可能な有用な検査法であることが確認された。

背景と目的

動物検疫所では海外から違法に持ち込まれた畜産物の検疫を強化しており、持ち込まれた畜産物が動物検疫対象の動物種（以下「指定検疫物」）に由来することを科学的に確認することが必要な場合がある。現在、既報^{1, 2)}をそれぞれ当所の状況に合わせて改良したコンベンショナルPCR（以下「コンベ法」）及びリアルタイムPCR（以下「リアルタイム法」）の2法（以下合わせて「現行法」）により牛、豚、鶏を始めとする多くの指定検疫物が鑑別可能である。一方、指定検疫物である家きんには、鶏のほかにくずら、きじ、だちょう、ほろほろ鳥、七面鳥、あひる、がちょう等（以下「動検対象鳥種」）が含まれるが、鶏以外の動検対象鳥種については十分な検証が行われていない。そこで、鶏以外の動検対象鳥種について、現行法及び新たに検討中のDNA Barcodingを用いた方法（以下「Barcoding法」）による鑑別の可否を検証した。

取組の内容

1. 現行法の検証

動検対象鳥種9種（鶏、鴨、合鴨、七面鳥、うずら、がちょう、だちょう、きじ、ほろほろ鳥）に、動検対象鳥種でないが食肉として流通しているはとを加えた計10種の市販生鮮肉から抽出した核酸を検体として、現行法での鑑別の可否を検証した。鶏を検出する系で検証を行ったところ、コンベ法ではがちょうとはとを除く8種（図1）で陽性となり、リアルタイム法では鶏とほろほろ鳥の2種で陽性（図2）となった。コンベ法で陽性となった8種は、さらに塩基配列の解析を行うことで鳥種の鑑別は可能であったが、現行法のみで鑑別を完結できないことが確認された。

2. Barcoding法の検証

Barcoding法は、PCRで得られた特定領域の塩基配列を既知の遺伝子データベースと照合して種を同定する手法である。複数鳥種に共通する塩基配列に対応するユニバーサルプライマーを用いてPCRを行い、得られた増幅産物から特定領域の塩基配列を決定し、データベースと照合³⁾する。1.の検証で使用した10種の検体を用いて鑑別の可否を検証した。その結果、検証した全ての検体で特定領域が増幅され（図3）、その塩基配列の解析により、全検体で正しい鳥種を鑑別可能であった。

3. 卵検体での検証

鶏卵、あひる卵、あひる発育卵、がちょう卵の各構成成分（卵白、卵黄、卵殻膜、からざ、胚）から抽出した核酸を検体として、コンベ法及びBarcoding法で鑑別の可否を検証した。その結果、コンベ法では鶏卵の卵黄のみでわずかに遺伝子が増幅された（図4左）が、Barcoding法では全ての家きん卵の各構成成分で特定領域が増幅された（図4右）。さらに、両試験で得られた増幅産物の塩基配列を解析したところ、全検体で正しい鳥種を鑑別可能であった。

今後の方針

Barcoding法では今回検証した全ての家きんを鑑別可能であった。一方で、複数鳥種が混合された製品、加熱済製品及び加工調整品等への適応可否については未検証のため、今後さらなる検証を行っていく。

参考文献

- 1) 松永孝光、柴田清弘、山田順一、新村裕 (1999) : マルチプレックスPCR法による食肉及び食肉製品の肉種鑑別、日本食品化学工学会誌、第46巻、第3号、P.187~194
- 2) Tanabe, S., Hase, M., Yano, T., Sato, M., Fujimura, T., Akiyama, H.(2007) : A Real-time Quantitative PCR Detection Method for Pork, Chicken, Beef, Mutton, and Horseflesh in Foods. *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, 71, 70683-1-5
- 3) Erika S Tavares and Allan J Baker(2008) : Single mitochondrial gene barcodes reliably identify sister-species in diverse clades of birds. *BMC Evolutionary Biology*, 8:81, 1-14

具体的データ

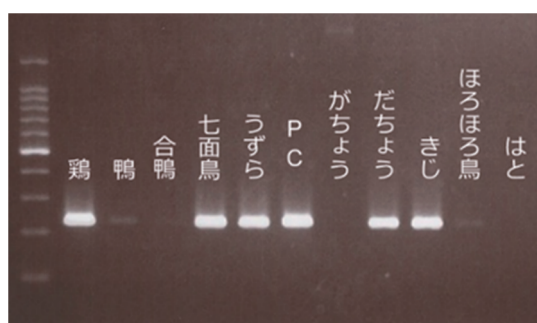


図1 コンベ法の増幅産物の電気泳動像
(PC:陽性コントロール 227bp)

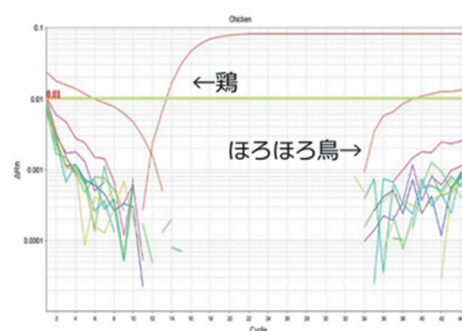


図2 リアルタイム法の増幅曲線

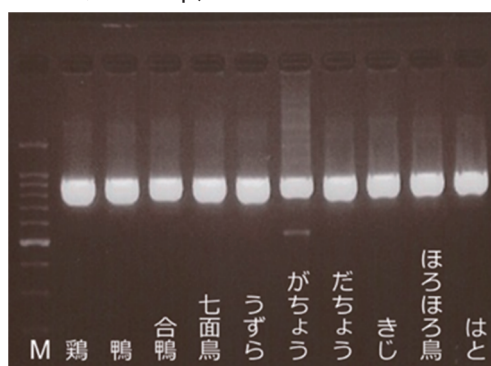


図3 Barcoding法でのPCR増幅産物の電気泳動像(生鮮肉)
(M:100bpラダーマーカー、陽性検体:978bp付近に遺伝子増幅を認めた検体)

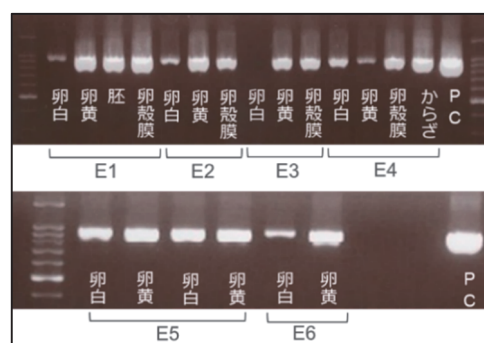
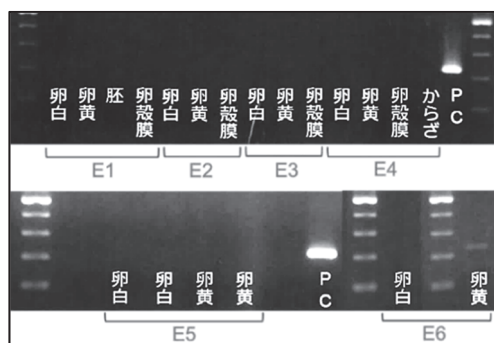


図4 卵検体の増幅産物の電気泳動像 左:コンベ法 右:Barcoding法
(PC:陽性コントロール 左:227bp 右:978bp)
(E1 及び E2:あひる、E3、E4 及び E5:がちょう、E6:鶏)

要 約

国内空海港に携帯品として持ち込まれた非加熱偶蹄類肉及びその加工品（肉）を対象として、2020年1月～2022年3月の期間にアフリカ豚熱ウイルス（ASFV）、豚熱ウイルス（CSFV）、口蹄疫ウイルス（FMDV）の遺伝子検査を実施した結果、5検体からASFV遺伝子が検出され、うち2検体については感染性を有するASFVが分離された。また、近年、海外で報告されているASFV変異株を検出する手法を作出し調査したが、変異株は検出されなかった。

背景と目的

旅客手荷物として我が国に持ち込まれ国内の空海港で放棄された肉等を対象としたウイルス汚染状況調査を2016年に開始し、ASFV、CSFV、FMDVを対象に調査を継続している。

また、近年、海外においてASFVの変異株が報告されており、2020年には中国においてASFVの弱毒変異株が複数報告された¹⁾。このような変異株に感染した場合、異常豚の発見が遅れるため家畜防疫上大きな問題になることが示唆されている。さらに、中国やベトナムでは、DNAの反復配列（Tandem Repeat Sequences: TRS）領域の繰返し回数が従来（3回繰返し）とは異なる株も報告されている^{2) 3)}。しかし、報告されている変異株の検出手法は分離・培養したASFVを用いるものであり、肉等に含まれるウイルス遺伝子の検出には非特異反応が多く不向きである。そこで、これらの変異株による汚染実態を把握する目的で、PCR及び塩基配列解析に使用するプライマーを設計し、検体中の変異株の有無を調査した。

取組の内容

1. ウイルス汚染状況調査：各空海港での動物検疫所における携帯品検査の結果、輸入不可のため放棄され、2020年1月～2022年3月の期間に当課へ送付された非加熱偶蹄類肉等を対象に、ASFV、CSFV又はFMDVの遺伝子検査を実施した（表1）。ASFV遺伝子陽性となった検体のうち一部は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にウイルス分離を依頼した。ウイルス分離に供さず当課で保存している検体については、P72遺伝子領域415bpの塩基配列解析を実施した（図1）。
2. ASFV弱毒変異株の検出：弱毒変異株で変異がみられる可能性がある箇所（EP402R遺伝子領域：43～67番目塩基欠失と131、178、242又は301番目塩基置換）を増幅部位に含むプライマーを設計し、PCRで増幅後、塩基配列解析を行った（図2、表2）。
3. TRS領域の解析：ASFVのI73R遺伝子とI329L遺伝子の間に位置するTRS領域を対象にPCRで増幅後、塩基配列解析を実施し、配列の繰返し回数を調べた。既報⁴⁾のプライマーでPCR増幅すると非特異反応が多く生じたため、PCRプライマーを新たに設計しPCR増幅後、塩基配列解析を実施した（図2、表2）。

今後の方針

2020年以降、新型コロナウイルス感染症の影響による入国旅客数の著減等により調査検体数は大幅に減少したが、今回の調査でも23検体中5件のASFV遺伝子陽性事例と2件のASFV分離陽性事例が確認された。海外で報告されているような変異株は、これまでのところ我が国の水際では検出されていないが、今後も引き続きこれらの手法を活用し、ウイルス汚染状況の実態を調査していきたい。

参考文献

- 1) Sun, E., *et al.* (2021) : *Sci China Life Sci* 64
- 2) Lin Li *et al.* (2019) : *Transbound Emerg Dis.* 2019 May;66(3):1395-1398
- 3) Van Tam Nguyen, *et al.* (2022) : *Arch Virol.* 2022 Apr;167(4):1137-1140
- 4) Gallardo C. *et al.* (2014) : *Emerg Infect Dis.* 2014 Sep; 20(9):1544-1547

具体的データ

表1 検体内訳と由来国

		韓国	中国	フィリピン	モンゴル	タイ	インドネシア	ベトナム	ロシア	チニジア	ウクライナ	パキスタン	イラク	ミャンマー	ガーナ	トルコ
ASFV	豚	4	3	8			2	3	1		2					
CSFV	豚		4	8		1	2		1							
FMDV	豚	7	4			3			1							
	牛	15			1	1							1	1	1	1
	山羊		3		5					3						
	山羊										1					

※ ASFVは5検体（ベトナム3、フィリピン2）遺伝子陽性。うちフィリピン2検体はウイルス分離陽性
CSFV、FMDVは全検体遺伝子陰性

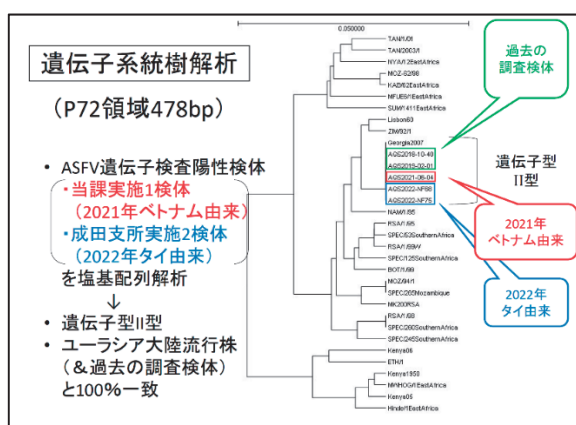


図1 遺伝子系統樹解析

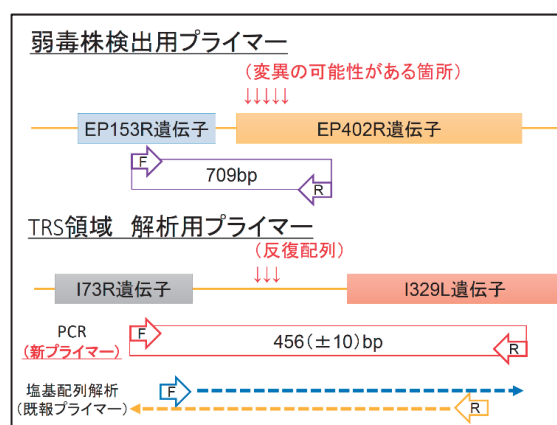


図2 プライマー結合部位模式図

表2 弱毒株検出及びTRS領域解析結果

年-月-受付 No.	由来国	品名	弱毒変異	TRS 繰り返し回数
2019-04-08	中国	豚鶏ソーセージ	無	3
2019-04-12	中国	豚ソーセージ	無	3
2019-04-21	中国	豚ソーセージ	無	3
2019-05-10	中国	豚ソーセージ	無	3
2019-06-16	中国	鶏豚ソーセージ	無	3
2019-06-26	中国	豚ジャーキー	無	3
2019-07-08	ベトナム	豚ソーセージ	無	3
2019-08-06	中国	鶏豚ソーセージ	(未実施)	3
2019-08-24	中国	豚鶏ソーセージ	無	3
2019-09-08	中国	豚肉入り月餅	無	3
2019-10-01	カンボジア	豚ソーセージ	無	3
2019-10-05	ベトナム	練りもの	無	3
2019-11-21	中国	チャーシュー	無	3
2020-02-14	ベトナム	豚ソーセージ	無	3
2021-06-04	ベトナム	豚ソーセージ	無	3
2022-成田	タイ	豚ハム	無	3
2022-成田	タイ	豚ソーセージ	無	3

※ いずれも変異は検出されなかった。

要 約

2021年に開催された東京2020オリンピック・パラリンピック大会（以下「大会」という。）では、馬術競技4種目が行われ、50の国と地域から324頭の競技馬が輸入された。動物検疫所では、競技馬の輸出入検疫を迅速かつ効果的に実施するため、関係各所と事前調整を行い、検疫対応方針を定めた。実際の輸出入検疫においては、関係各所と連携し、突発的な事態の発生にも適切に対応し、大会は無事終了した。

概 要

1. 東京オリンピック・パラリンピック競技大会組織委員会が関係機関と調整し、近年の国際的な馬術大会の検疫対応に準じ、Bubble to Bubble Conceptを適用した（図）。競技場である馬事公苑及び海の森公園とその周辺5 kmを、日本初のEquine Disease Free Zone：特定の馬の疾病が発生していない地域（以下「EDFZ」という。）としてOIEに宣言し、EDFZ内でのみ競技馬を移動させた。EDFZでは、馬ピロプラズマ症を媒介するダニ（以下「媒介ダニ」という。）の対策として、2016～2021年度（開催年度）まで、媒介ダニの生息調査と駆除、清浄性確認検査等を実施し、媒介ダニの清浄性を確保した。また、迅速かつ効果的な検疫を可能にするため、2019年に家畜伝染病予防法施行規則の一部改正を行い、輸出入検疫の係留検査期間を1日以内に短縮可能とした。さらに、馬事公苑の厩舎、隔離厩舎等を、農林水産大臣の指定する検査場所（以下「指定検査場所」という。）とした。
2. 馬術競技は4種目（表）が行われ、50の国と地域から324頭の競技馬が輸入された。馬の到着時の書類審査を迅速化するため、輸出者から事前に提供された輸出検査証明書の情報をあらかじめ確認しておいた。また、空港での臨機検査は当所職員が実施し、輸出検査証明書の原本についても確認した。臨機検査において馬に異常が認められないことを確認した上で、空港から指定検査場所までの輸送を許可した。指定検査場所での到着時検査は、国際馬術連盟獣医師（以下「FEI獣医師」という。）が実施した。到着時検査は、マイクロチップの読取り、臨床症状の確認、体温測定を実施し、体温が38.5度以上の馬については発熱馬として対応した。FEI獣医師から異常を認めない旨報告を受けた馬については、速やかに輸入検疫証明書を交付した。324頭のうち8頭の馬は、到着時検査での体温が38.5度以上であったため、馬インフルエンザ簡易検査及び馬鼻肺炎LAMP検査を実施し、当日中に陰性を確認した後、輸入検疫証明書を交付した。
3. 大会期間中、輸入後に貧血及び発熱が認められた1頭で、馬ピロプラズマ症が摘発された。当該馬は直ちに隔離され、競技への出場を停止した。当該馬の適切な隔離、また、EDFZ内は媒介ダニの清浄性が確保されていたことから、他の馬への感染リスクはないと判断された。なお、輸入検疫終了後の摘発であることから、国内発生事例としてOIE宛て通報が行われた。
4. 輸出検査については、FEI獣医師が指定検査場所において出発前12時間以内に臨床検査を行い、馬に異常がないことを確認した。馬ピロプラズマ症陽性馬については、当所職員が臨床検査を実施し、疾病をひろげるおそれがないことを確認の上、輸出検疫証明書を交付した。馬ピロプラズマ症の摘発に伴い、各輸出国に向けた追加証明書の作成等、輸出検疫証明書交付に付随する事務作業は煩雑となったものの、競技中の事故により安楽殺された1頭を除く323頭に対して輸出検疫証明書を交付し、全頭が問題なく出国した。
5. 大会で得られた知見や経験は、2026年に日本での開催が予定されているアジア競技大会等の大規模な国際馬術競技の対応に役立つと考えられる。

具体的データ

表 競技の概要と輸入頭数

大会及び競技種目		日程	競技会場	輸入頭数
オリンピック	馬場馬術	7月24～28日	馬事公苑	73頭
	総合馬術	7月30日～8月2日	馬事公苑 (馬場馬術、障害馬術) 海の森公園 (クロスカントリー)	80頭
	障害馬術	8月3～4日	馬事公苑	93頭
パラリンピック	馬術	8月26～30日	馬事公苑	78頭

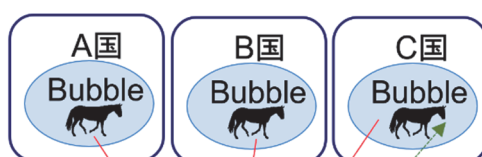
Bubble

・・・衛生レベルが高く、他集団との交流がない疾病清浄エリア。
家畜衛生条件で衛生レベルが担保されている。



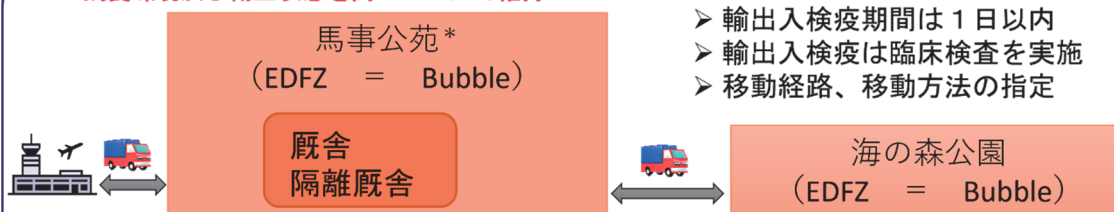
競技馬

・・・衛生ステータスが高く、疾病リスクは限りなく低い。
各国のBubbleで飼養されている旨を輸出国当局が証明。



※ 日本（東京）から輸出国への帰国時
→ 「無病証明」 + 「他集団との非接触」を証明

Bubble内の馬について、日本滞在中の
飼養環境及び衛生状態を高いレベルで維持



* 厩舎及び隔離厩舎等を指定検査場所とし、輸出入検査を実施

EDFZ内での馬ピロプラズマ症媒介ダニ対策（2016～2021年度）

- ・ ダニの生息調査
- ・ ダニの駆除
- ・ 清浄性確認検査等

媒介ダニの清浄性を確保

出場馬はEDFZ内のみに滞在

- 輸出入検査期間は1日以内
- 輸出入検査は臨床検査を実施
- 移動経路、移動方法の指定

図 Bubble to Bubble Conceptの概念図

衛生ステータスの高い馬のみを、衛生レベルの高いBubble内でのみ移動させることで、検査を簡便化でき、馬の迅速な国際移動が可能となる。

要 約

ブルータング（BT）の寒天ゲル内沈降反応（AGID）用抗原を自家作製し、作製した抗原はBTウイルス感染抗体を検出できることを確認した。

背景と目的

BTは、レオウイルス（*Reoviridae*）科、オルビウイルス（*Orbivirus*）属に属するBTウイルスの感染によって起こるめん羊、山羊等の反すう動物の熱性疾病であり、監視伝染病に指定されている。BTのAGIDで使用する抗原は、2008年に国内生産が終了しており、現在では、海外製のAGID診断キットが入手可能であるが、予告なく販売が中止されることがあるため、抗原の確保が課題となっている。この問題に対処するため、AGID用抗原を自家作製し、あわせて、輸出入検査で使用するため検証試験を行った。

取組の内容

1. 抗原の作製

BTウイルス血清型 5 型をHmLu細胞で増殖させたウイルス培養液2.3Lから約20mL（約3,200検体分）の抗原を回収した。抗原はBTウイルス遺伝子検出PCRで陽性を示した。

2. 作製した抗原の検証試験

作製した抗原について以下の検証試験を行った。AGIDに使用するゲルは、0.01Mトリス-塩酸緩衝液（pH7.2）に塩化ナトリウムを8.5%、Agar Nobleを0.8%となるよう加えて作製し、6 ウェルの細胞培養プレートの各ウェルに3.5mLずつ分注して固化後、直径 5 mm及び間隔 3 mmの穴を開けた。抗原、抗血清あるいは被検血清を50～60 μ L穴に入れ、湿潤箱内で23℃、48～96時間反応させた。

（1）力価試験

抗原とNVSL製指示陽性血清（PS）の穴間の中央に最も明瞭な沈降線を形成したのは、2 倍希釈した抗原であった。この結果から、作製した抗原の使用至適濃度は 2 倍希釈とした（図 1）。

（2）同定試験

抗原はOIE標準参照血清（強陽性）に対して標準沈降線と融合する明瞭な沈降線を形成し、OIE標準参照血清（弱陽性）に対しては標準沈降線の末端が内反した。OIE標準参照血清（陰性）に対しては沈降線を形成しなかった（図 2）。

（3）特異性試験

抗BT牛血清及び抗イバラキ病牛血清は標準沈降線と融合する沈降線を形成した。抗アカバネ病牛血清は沈降線を形成しなかった（図 3）。

（4）野外血清との反応性

1995年に米国から輸入されたBT-AGID陽性牛群 2 ロットについて、輸入検疫で実施したAGIDで陽性の70検体は全て陽性と判定され、陰性であった38検体のうち 1 検体が弱陽性（※）と判定された（表）。ニュージーランドから輸入されたBT-AGID陰性めん山羊群37検体は全て陰性と判定された。当時のAGIDの結果と相違が生じた要因として、抗原及び被検血清の添加量を通常の50 μ Lから今回は60 μ Lに増量したことにより感度が押し上げられた可能性、ゲル組成の違いによる沈降線の見え方の違い等が考えられた。

※当該検体は特異性の高い試験である競合ELISAで陰性と判定された。また、当該群からはBTウイルス及び流行性出血病（EHD）ウイルスが分離されていることから、今回のBT-AGID陽性結果は、BTウイルスの感染抗体ではなくEHDウイルスの感染抗体を検出した可能性が考えられた。なお、当該群は当該個体を含め全頭がとう汰されている。

今後の方針

OIE標準参照血清を用いた同定試験の結果から、作製した抗原は、BTウイルス感染抗体を検出できることを確認した。一方、BT-AGIDの特性として、1つの血清型から作製した抗原がBTウイルス全27血清型に対する抗体を広く検出できる反面、*Orbivirus* 属に属し、EHDウイルスに分類されるイバラキウイルス等の同属のウイルスに交差反応を示す、すなわち、AGIDではそれらの感染抗体を区別できないとされている。今後、海外製品の供給停止に備えてAGID用抗原の自家作製体制を維持するとともに、AGIDでは交差反応が起こり得ることを踏まえ、OIEで推奨されている特異性の高い競合ELISAを組み合わせることで確定診断を行う。

具体的データ



図1 力価試験

抗原と陽性指示血清(PS)の穴間の中央に最も明瞭な沈降線を形成したのは、2倍希釈した抗原だった。



図2 同定試験

抗原(Ag)は OIE 標準参照血清(強陽性)に対して標準沈降線と融合する明瞭な沈降線を形成し、OIE 標準参照血清(弱陽性)に対しては標準沈降線の末端が内反した。OIE 標準参照血清(陰性)に対しては沈降線を形成しなかった。



図3 特異性試験

抗ブルータング牛血清及び抗イバラキ病牛血清は標準沈降線と融合する沈降線を形成した。抗アカバネ病牛血清は沈降線を形成しなかった。

表 野外血清との反応性

BT-AGID 陽性牛群		過去の検査結果		
		陽性	陰性	計
作製した抗原を用いた検査結果	陽性	70	1	71
	陰性	0	37	37
	計	70	38	108

要 約

輸入畜産物の容器包装（外装）が口蹄疫ウイルス（FMDV）により汚染された状況を想定した試験モデルを作出し、ウイルスの残存期間の検証を行った。ウイルスの感染力は短期間で消失するが、遺伝子は長期間検出された。

背景と目的

当課では、輸入畜産物の外装に対する消毒基準の見直しに向けた検討に資するため、病原体等に汚染された外装を模した試験系（外装汚染モデル）を作出し、汚染の検出方法や病原体の存続期間について検討を行ってきた。これまで3つの指標（動物種特異遺伝子、大腸菌、鳥インフルエンザウイルス（AIV））を用いた調査を実施している¹⁾。本調査では第2報として、FMDVにより汚染された外装でのウイルス残存状況を類推するために、FMDVと同属でありFMDVの代替モデルとして使用される馬鼻炎Aウイルス（ERAV）を用いて、同ウイルスの感染性の持続期間と遺伝子の検出期間について調査した。

取組の内容

1. 検体調製：ERAV培養上清をPBSで希釈してウイルス液とした。滅菌ガーゼをウイルス液で濡らし、2時間程度乾燥させた（ガーゼ1枚当たりのウイルス量がそれぞれ 10^5 、 10^4 、 10^3 、 10^2 TCID₅₀となるよう調製）。ガーゼを遮光し室温に置き、0日後（乾燥直後）、1、2、3、4、7、14、21、28、43、60、80、101日後に回収した。回収したガーゼを1mLのPBS中で振とう後10分間静置、再度振とうしてからPBSを回収し検体とした。同時に、陽性対照としてウイルス液 10^5 TCID₅₀/100 μ Lを1.5mLチューブに密閉・遮光して室温及び4℃で検体と同期間保存後回収し、ガーゼ由来の検体と希釈倍数を合わせるためPBSで10倍希釈した。
2. 遺伝子検出検査：rRT-PCRにて検体中のERAVの遺伝子量を測定し、陽性対照（4℃、0日保存）の遺伝子量を 10^5 として相対値で表した（図）。最もウイルス量の少ない 10^2 TCID₅₀の検体は43日後以降ウイルス遺伝子が検出されなくなったが、それよりウイルス量の多い検体は、日数の経過とともに遺伝子量が減少する傾向がみられたものの、101日後でもウイルス遺伝子は検出された。陽性対照は日数が経過しても遺伝子量はほとんど変わらなかった。
3. ウイルス分離：検体にVero(Ky-5)細胞浮遊液を添加し、37℃、5%炭酸ガス培養器で4～11日間培養した。培養後の細胞の細胞変性効果（CPE）を観察しウイルス力価を測定した。 10^5 では7日後、 10^4 では1日後を除く4日後までウイルスが分離され、以降は分離されなかった（表）。それよりも少ないウイルス量（ 10^3 、 10^2 ）では全ての経過日数でウイルスは分離されなかった。一方、陽性対照では28日後までウイルスが分離された（28日後までの検体についてウイルス分離を実施）（表）。

今後の方針

FMDVのモデルとしてERAVを用いて検出手法の検証を行い、外装に付着したウイルスの感染性の持続期間と遺伝子の検出期間について明らかにした。感染力は短期間で失われる一方で、遺伝子は長期間にわたって検出されることが分かった。本データは外装汚染及び消毒方法を評価する基礎データとして活用できると考えている。

参考文献

- 1) 農林水産省動物検疫所 調査研究業績集Vol. 4 平成30年度版

具体的データ

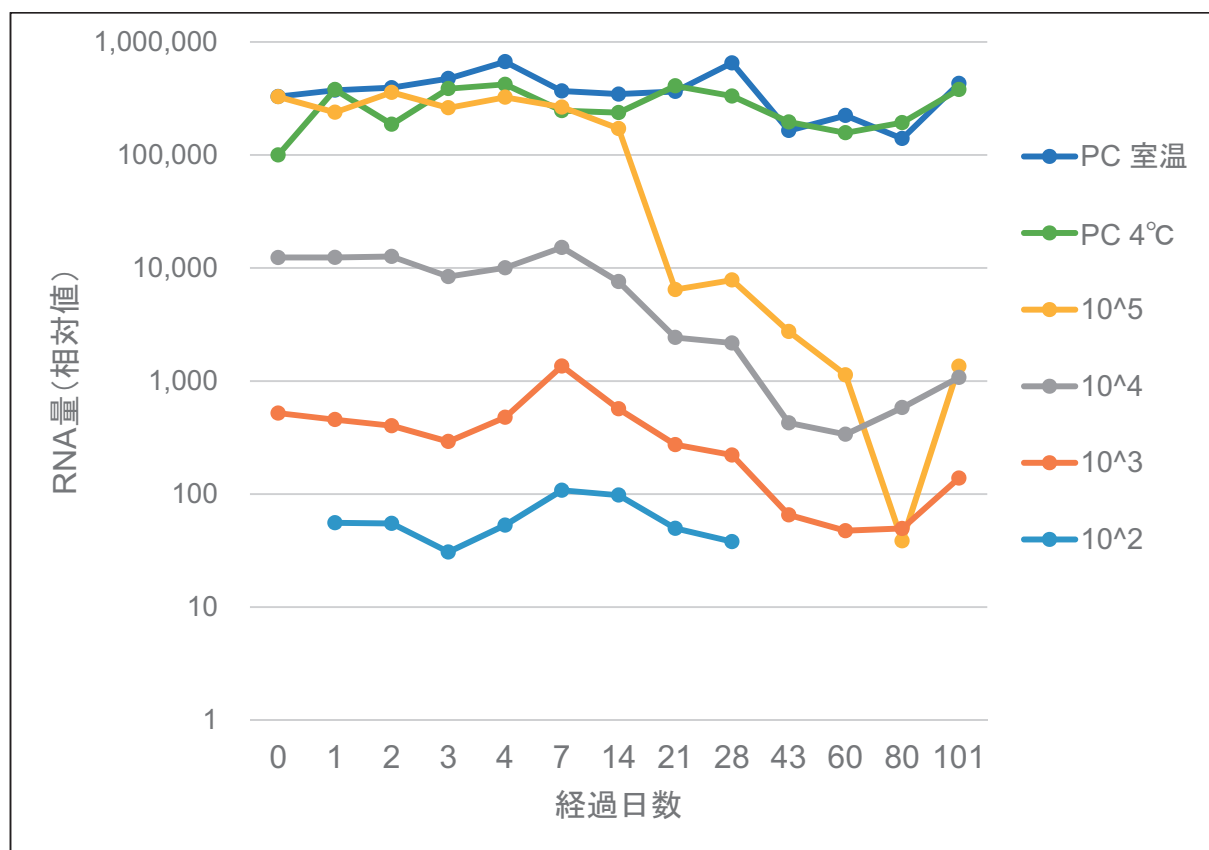


図 rRT-PCR結果

表 ウイルス分離結果

経過日数	ウイルス量				PC (室温)	PC (4°C)
	10 ⁵	10 ⁴	10 ³	10 ²		
0	2.75	1	—	—	2.75	2.5
1	2.5	—	—	—	3	1.75
2	2.5	0.75	—	—	3.25	2.75
3	2.25	1.8	—	—	3.25	2.25
4	2.5	1.25	—	—	3.25	2.25
7	1	—	—	—	2.75	2.25
14	—	—	—	—	0.75	0.75
21	—	—	—	—	3	2
28	—	—	—	—	2.75	1

※「—」は分離陰性

(単位: Log₁₀TCID₅₀/50μL)

参 考 資 料

令和 4 年度動物検疫所業績発表会 発表演題

<第一部門：各所での検査業務の現状及び改善事例の報告>

- | | |
|-------------------------------------|-------------|
| 1 在留外国人向け広報への取組～制度の認知度及び広報手段に関する調査～ | 門司支所検疫第3課 |
| 2 沖縄支所管内における新たな広報展開の取組 | 沖縄支所那覇空港出張所 |
| 3 成田支所における能動的口頭質問への取組について | 成田支所旅具検疫第1課 |
| 4 携帯品検査における警察との連携強化について | 羽田空港支所検疫第1課 |
| 5 羽田空港支所における業務改善の取組について | 羽田空港支所検疫第1課 |
| 6 成田支所における検疫探知犬運用戦略計画について | 成田支所旅具検疫第2課 |
| 7 川崎東郵便局における国際郵便物の検査強化対応について | 川崎出張所 |
| 8 中部空港支所における外国来郵便物の動物検疫の徹底と広報について | 中部空港支所検疫課 |
| 9 特定地域宛てに送付された郵便物の検査強化事例について | 中部空港支所検疫課 |
| 10 国際スピード郵便を利用した家畜伝染病予防法違反者逮捕事例 | 関西空港支所検疫第1課 |
| 11 外国郵便物の全量捕捉に向けた取組及び検査実績に基づいた広報活動 | 沖縄支所検疫課 |
| 12 ITを活用した畜産物の現物検査の試行について | 検疫部畜産物検疫課 |
| 13 所内病理組織診断基礎講座の開講 | 検疫部動物検疫課 |
| 14 狂犬病検査に関する研修会の開催報告 | 成田支所動物検疫第2課 |
| 15 月齢に疑義のあった犬等の輸入事例 | 成田支所貨物検査課 |
| 16 検疫期間中の豚増殖性腸炎発生事例と防止対策 | 成田支所動物検疫第1課 |

<第二部門：検査診断事例及び技術改善のための調査研究報告>

- | | |
|--|----------------|
| 1 赤外線サーモカメラを用いた肥育用素牛・素馬のスクリーニングの体温測定の実証（第2報） | 門司支所検疫第2課 |
| 2 成田支所における輸入初生ひなのリモート検査導入に向けた検討 | 成田支所旅具検疫第2課 |
| 3 輸入初生ひなにおける鶏大腸菌症及び搬出制限区域内での検疫対応事例について | 検疫部動物検疫課 |
| 4 輸入初生ひなのサルモネラLAMP法における抽出方法の検討 | 門司支所検疫第2課 |
| 5 トキソプラズマ症（ <i>Toxoplasma gondii</i> ）の遺伝子検出検査の実証（第2報） | 精密検査部病理・理化学検査課 |
| 6 馬ヘルペスウイルス1型抗体保有状況調査のためのIFA導入の検討 | 成田支所動物検疫第1課 |
| 7 カナダ産肥育用素馬における馬インフルエンザ摘発事例 | 門司支所検疫第2課 |
| 8 MPSP領域を用いた <i>Theileria orientalis</i> の遺伝子解析 | 門司支所検疫第2課 |
| 9 遺伝子検査による畜産物の鳥種鑑別法の検討 | 精密検査部海外病検査課 |
| 10 携帯品として持ち込まれた非加熱偶蹄類肉等のウイルス汚染状況調査（第4報） | 精密検査部病理・理化学検査課 |
| 11 コロナ禍における携帯品及び郵便物検査で摘発した畜産物の加熱実態調査について | 関西空港支所検疫第1課 |
| 12 たん白質量測定による畜肉の加熱確認法の検証について | 精密検査部病理・理化学検査課 |

13	毛類、加工畜産物における畜種鑑別マルチプレックスPCRの適用	神戸支所検疫課
14	携帯品検査における強化された防疫官権限の活用状況について	精密検査部危険度分析課
15	成田支所における中国からのアフリカ豚熱の侵入等に係るリスク分析	成田支所旅具検疫第2課
16	国際郵便物の単純無作為抽出検査について	関西空港支所検疫第1課
17	地域別在留外国人数と不合格品包有国際郵便物の関連性の分析	精密検査部危険度分析課

<特別演題>

1	サルの取扱い等に関する技術研修受講報告ー保定、採材、観察方法ー	門司支所検疫第2課
2	サルの取扱い等に関する技術研修受講報告ーサルの代表的疾病と輸入サルの死亡事例報告ー	成田支所動物検疫第2課
3	動物衛生研究部門における研修報告（高病原性鳥インフルエンザ）	精密検査部海外病検査課
4	動物衛生研究部門における研修報告（アフリカ豚熱等）	検疫部動物検疫課

<第三部門：誌上発表>

1	2020オリンピック・パラリンピック東京大会の馬術競技のための馬の輸出入検疫対応	検疫部動物検疫課
2	ブルータングのゲル内沈降反応試験用抗原の作製	精密検査部微生物検査課
3	蛍光指紋による畜肉の加熱確認方法の検討	精密検査部病理・理化学検査課
4	輸入畜産物の外装汚染モデル作製（第2報）	精密検査部病理・理化学検査課

主な外部発表業績（令和４年度）

令和４年度調査研究等外部発表の概要

演 題 名	学会・雑誌名
豪州産肥育用牛由来 <i>Histophilus somni</i> の主要外膜蛋白質遺伝子解析及び薬剤感受性試験	第165回日本獣医学会学術集会
遺伝子検査による畜産物の鳥種鑑別法の検討	第63回全国家畜保健衛生業績発表会 日本家畜衛生学会第96回大会
国際郵便を利用した家畜伝染病予防法違反者の逮捕事例	第63回全国家畜保健衛生業績発表会
豚の腎臓にみられたB細胞性リンパ球性白血病	令和４年度家畜衛生研修会（病理部門）
豪州産輸入牛に見られた <i>Theileria orientalis</i> の遺伝子解析	令和４年度家畜衛生研修会（細菌部門）
カナダから輸入された肥育用馬の馬インフルエンザ摘発事例	令和４年度家畜衛生研修会（ウイルス部門）
牛の <i>Histophilus somni</i> による多病巣性化膿性心筋炎	第227回つくば病理談話会
農林水産大臣指定検査場所における豪州産乳用繁殖牛のヨーネ病検疫対応	第77回九州・山口病性鑑定協議会
牛のヒストフィルス・ソムニ感染症（肺炎型）	第26回九州・山口・沖縄病理事例研修会
馬の輸出入検疫状況	令和４年度馬防疫検討会「馬感染症研究会」

主な外部発表の要旨

豪州産肥育用牛由来 *Histophilus somni* の主要外膜蛋白質遺伝子解析及び薬剤感受性試験 第165回日本獣医学会学術集会（2022.9.6-8）

Histophilus somni は牛に肺炎、髄膜炎、繁殖障害といった多様な疾病を引き起こす。国内分離株については、これらの病型の一部と主要外膜蛋白質（MOMP）遺伝子の遺伝子型が関連しており、また、呼吸器病由来株における薬剤耐性化傾向のあることが分かっている。本研究では、2010年から2021年に輸入された豪州産肥育用牛の検査期間中に分離された *H. somni* 23株のMOMP遺伝子領域の塩基配列を決定し、国内外の分離株とともに分子系統樹解析を実施した。また、微量液体希釈法により15種類の抗菌剤に対する薬剤感受性試験を実施するとともに、PCR法により関連する14種類の薬剤耐性遺伝子の検索を行った。供試菌株は4つの遺伝子クレード（Ⅰa、Ⅱ、Ⅲ、Ⅳ）に分類され、クレードⅠaが14株と最も多く、髄膜炎発症牛から分離された5株は全てクレードⅠaに分類された。国内では髄膜炎由来株の大半がクレードⅠaに分類されており、豪州由来株も同様な傾向を示した。薬剤感受性試験では、スルファモノメトキシンのMICが高い株がみられたものの、その他の薬剤に対しては全ての供試菌株が感受性を示した。また、いくつかの耐性遺伝子を保有している株が存在したが、耐性形質とは必ずしも一致しなかった。本調査においては、由来牛の病型にかかわらず明らかな耐性化傾向を示す菌株は認められず、豪州からの肥育用牛について本菌の耐性菌の問題は見出されなかった。

農林水産大臣指定検査場所における豪州産乳用繁殖牛のヨーネ病検疫対応 第77回九州・山口病性鑑定協議会（2022.6.30-7.1）

2021年5月に動物検疫所門司支所太刀浦検疫場で輸入検査を行った豪州産乳用繁殖牛338頭のヨーネ病遺伝子検査において、定量陽性牛1頭を摘発した。当該牛は自衛殺処分、同一生産農場由来の牛7頭については、輸入者が用途を変更せず乳用繁殖牛として飼養する意向を示したことから、仕向先農場の一部を農林水産大臣の指定する検査場所として指定し、3か月間係留検査を延長した。指定に当たっては管轄する都道府県との事前調整に加え、隔離施設等のハード面及び検査場所責任者の指示事項遵守等のソフト面の要件を満たしている必要があるため、現地調査を行い、当該農場が要件を充足していることを確認した。6月に当該牛群を太刀浦検疫場から検査場所へ送致、延長期間中に全頭2回の遺伝子検査を実施し陰性を確認、臨床的に異常を認めなかったことから9月に輸入検疫証明書を交付した。各都道府県へは引き続き同様な事案発生時における御協力をお願いしたい。

牛のヒストフィルス・ソムニ感染症（肺炎型） 第26回九州・山口・沖縄病理事例研修会（2022.8.25-26）

2021年6月に動物検疫所門司支所新門司検疫場で輸入検査を実施した1,168頭中の1頭が、検疫2日目から起立不能となり、両後肢の硬直、努力性かつ不規則呼吸を呈し検疫4日目早朝にへい死した。剖検時の肉眼所見では、胸腔内に黄色透明な胸水の重度貯留と多量の絨毛状線維素析を認めた。肺全体に充うっ血が見られ、右肺全域と胸膜は重度に癒着、右肺前葉は線維化し硬度を増していた。心臓は心膜と癒着し、心膜腔内に血様心嚢水が重度に貯留していた。肝臓は全域に退色及び黄色化を呈していた。組織学的所見では、肺の広範囲に及ぶ凝固壊死巣と壊死巣周囲の好中球、マクロファージ及びリンパ球の重度な層状浸潤と線維芽細胞浸潤を認めた。肺胞領域では線維素析出及び多数の細菌塊を伴う好中球主体の重度な炎症細胞浸潤が見られた。小葉間結合組織は水腫性に重度に肥厚し、リンパ管が拡張していた。抗 *Histophilus somni* 家兔血清を用いた免疫染色では、肺の細菌塊に一致し陽性反応を呈した。病原検索では、肺、胸水、心嚢水及び肝臓から *Mycoplasma bovis*、肺、胸水及び心嚢水から *H. somni*、肝臓から *Mannheimia haemolytica* の各特異遺伝子が検出された。また、細菌分離では胸水から *M. bovis* 及び *H. somni*、肺から *H. somni* が分離された。以上より、組織診断名は牛の *H. somni* が関与した壊死性化膿性線維索性肺炎、疾病診断名は牛のヒストフィルス・ソムニ感染症（肺炎型）とした。

2023年7 月発行

編集・発行 **農林水産省動物検疫所**

横浜市磯子区原町11-1

電話 045-751-5921

[http : //www.maff.go.jp/aqs/](http://www.maff.go.jp/aqs/)