

農林水産省動物検疫所 *Animal Quarantine Service*

調 査 研 究

業 績 集

Vol.3

平成29年度版



はじめに

平素より、農林水産省動物検疫所の業務の遂行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.3 をお届けします。

動物検疫所は検査指導機関として、畜産業の下支え、公衆衛生の向上などのため、外国から輸入される生きた動物や畜産物を検査し、海外悪性伝染病の侵入を防いでいます。

近年、所内に検査指導部門を設置し、4つの検査室でISO17025の認定を受けるなど検査の信頼性の確保に努めています。今日、新たな検査方法が次々に開発されていますが、慎重なる検証の上、簡便で検査精度の高い検査方法については、積極的かつ早急に導入しなければなりません。

また、輸入検査、消毒などの動物検疫措置については、輸入動畜産物を介した悪性動物疾病の侵入リスクの程度を評価しつつ、科学的な根拠を持ってその適正化、重点化、効率化を図っています。

輸入禁止、消毒などの検疫措置の妥当性を検証するため、持ち込みが禁止されている畜産物を検査したところ、生鮮の家さん肉から高病原性の鳥インフルエンザウイルスが検出されました。これらの結果を受けて、分離ウイルスについての性状分析を行うとともに、どの地域から持ち込まれる携帯品のリスクが高いかなどについて評価し、この結果を基に外国政府や航空会社に対し禁止品の持ち出し防止につき強く要請しています。その他、空海港に設置されている靴底消毒マットの効果検証なども行っています。

一方、輸入者のご協力や関係機関と連携により、監視伝染病ではないものの外国で流行している疾病や薬剤耐性菌の保有状況についても調査研究の対象として取り組んでいます。

こうした調査研究、所謂レギュラトリーサイエンスは、検査指導機関にとって必要不可欠であり、その重要性は益々増すばかりです。

なお、動物検疫所で分離した鳥インフルエンザなどの病原体は、国内外の研究機関からの分与の引き合いも多く、世界的な疾病発生状況の分析や国内外でのワクチンの効果測定に使用されるなど、我々の活動が様々な分野で生かされています。

今回の調査研究業績集が、生産者、関係者の方々の参考となり、さらには動物検疫業務への理解の向上と連携の契機となることを祈念しています。

平成 30 年 8 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平成 29 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 関西空港支所における関係機関と連携した広報活動	1
2 水際防疫対応の合理化に向けた取組	3
3 中国産加熱処理鶏肉について得られた SDS - PAGE 泳動像	5
4 乳製品の検疫対応と加熱状況確認検査	7
5 小反芻獣疫（PPR）の検査診断技術導入	9
6 豪州産牛におけるヨーネ病摘発事例とその対応	11
7 豪州産牛から分離されたヨーネ菌の VNTR 型別及び陽性牛の病変分布	13
8 カナダ産肥育用素馬から分離された腺疫菌の SeM 遺伝子領域の分子系統樹解析	15
9 携帯品未加熱家さん肉等から分離した鳥インフルエンザウイルスの性状解析（続報）	17
10 鳥インフルエンザウイルス（H9N2 亜型）の初生ひなへの感染試験	19
11 カナダ産肥育用馬における馬インフルエンザ摘発事例	21
12 動物検疫所において分離された牛ウイルス性下痢ウイルスの分子系統樹解析	23
13 移動式レンダリング装置の設置・運営訓練と動物検疫所の対応	25
14 輸入豚における MRSA 保有状況調査	27
15 輸入初生ひなにおける薬剤耐性大腸菌保有状況調査	29

【参考資料】

平成 29 年度動物検疫所業績発表会 発表演題	33
主な外部発表業績（平成 29 年度）	35

関西空港支所における関係機関と連携した広報活動

【担当】 関西空港支所・検疫第1課 【連絡先】 電話 072-455-1956

要 約

関西国際空港ではアジア各国からの就航便数の増加に伴い、旅客数も増加してきており、携帯品を介した動物疾病の侵入防止のため、入国者（訪日外国人）に対して動物検疫制度を周知する必要性が一層高まっている。そのため、空港運営会社と連携したキャンペーンや SNS の活用、在住外国人に対する近隣自治体への広報協力要請、海外旅行者に対する案内の旅行代理店への協力依頼等の活動を行った。関係機関と連携し、積極的な働きかけを行うことで、動物検疫について多角的な広報活動を展開することができた。

背景と目的

関西国際空港では LCC を中心にアジアからの就航便数が増加しており、旅客の数も急増している。このような中で、中国、韓国、台湾、東南アジアから輸入禁止品である肉製品などを大量に持ち込む旅客が後を絶たないことから、携帯品を介した動物疾病の侵入防止のため、動物検疫制度を周知する必要性が一層高まっている。従来から空港内へのポスター掲示やインフォメーションボードを活用した周知活動、空港内外の各種イベントへの参加等による広報活動を行っているが、更に効果を上げるため、関係機関への積極的な働きかけを行った。

取組の内容

1. 空港運営会社との連携

2017 年夏季広報キャンペーンでは、当所公式キャラクターの「クンくん」と空港運営会社である関西エアポート株式会社公式キャラクターの「そらやん」がコラボし、多くの旅客の関心を集めた（図 1）。また、当日の様子が同社公式 Twitter で拡散され（図 2）、その後、同社の協力により広報用として作成された動物検疫業務を紹介する動画が、国際線の全到着ターンテーブルに設置されているモニターで放映されたほか（図 3）、同社公式 Facebook でも公開された。

2. 近隣自治体との協力

最近、特にベトナムからの輸入禁止肉製品等の持込みが多いため、ベトナム人が多く住む大阪府八尾市を訪問し、ベトナム人会の活動拠点でのポスター掲示やパンフレット設置を依頼した。このことを契機に、同市から外国人市民向けに配布している多言語情報誌へ日・英・越・中の4か国語での動物検疫に関する記事が掲載されたほか（図 4）、動物検疫所が空港内で口頭質問業務に使用しているベトナム語パネルに加筆・修正される等、積極的な協力が得られた。

3. 旅行代理店との協力

関西国際空港近隣の大手旅行代理店の2店舗を通じて、海外旅行者へ広報用リーフレットが配布された。今後さらなる協力店の拡大を図りたい。

今後の方針

関係機関と連携して多角的に広報活動を進めていくことで、より効果的に動物検疫制度についての理解を深めてもらえるものと期待されることから、今後も既存の活動にとらわれることなく、新たな方法での広報活動に取り組んでいきたい。

具体的データ



図 1 広報キャンペーンの様子



図 2 Twitter の投稿記事



図 3 モニターでの放映の様子

Về việc đem đồ từ nước khác vào nước Nhật Dịch bệnh trầm trọng của các loài động vật đang lây lan tại nhiều khu vực và nhiều nước trên thế giới. Bệnh lở mồm long móng hoặc dịch cúm gia cầm nếu lây lan ở Nhật thì không chỉ riêng nhà nông mà còn gây thiệt hại to lớn về kinh tế cho tất cả mọi người trong khu vực. Vi thể mà, Luật pháp của Nhật Bản cấm mang vào nước này các loại trứng (trừ trứng đã luộc chín), các thực phẩm chế biến từ thịt (thực phẩm được điều chế như các loại chả (ba-mu), các loại xúc xích, bánh bao (bột) nhân thịt, bánh nếp (gao) nhân thịt v.v... và kể cả những thực phẩm được chế biến tại nhà) từ nhiều khu vực và hầu hết các nước kể cả Việt Nam. Trong trường hợp vi phạm có khi phải nộp tiền phạt. Xin cộng đồng chúng ta chú ý không nên mang các loại trứng và các loại thực phẩm chế biến từ thịt vào nước Nhật. Sở kiểm dịch số 1 - Chi nhánh kiểm dịch Phi trường Kansai Điện thoại 072-455-1956 Trang nhà (web) Sở kiểm dịch động vật : http://www.maff.go.jp/aqs/languages/info.html	海外からの持ち込みについて 世界の多くの国や地域で動物の深刻な病気が流行しています。口蹄疫や鳥インフルエンザ等について、日本で流行してしまうと農家だけでなく、地域のみならずにも経済的に大きなダメージをあたえます。 そのため、日本の法律ではペット等を含めほとんどの国や地域から肉製品（ハム、ソーセージや肉まん、マツタケなどの加工品やて家庭で調理したものを含みます）や卵類（ゆで卵は除きます）などを持ち込むことを禁止しています。違反した場合は罰金を払わなければならないことがあります。 海外から肉製品や卵類を持って来ないよう注意してください。（動物検疫所関西空港支所検疫第1課） 072-455-1956 動物検疫所ホームページ : http://www.maff.go.jp/aqs/languages/info.html 
--	--

図 4 ベトナム語版情報誌の一部抜粋

要 約

水際防疫の合理化に向けた取組として到着便や畜産物を持ち込む可能性のある旅客の特徴を調査し、海外悪性伝染病の侵入リスクに応じた対応の優先順位付けについて検討を試みた。高リスク国や高リスク旅客について、一定の傾向が確認されたことから、対象便や対象旅客の選定等を戦略的に行うことで、合理的な対応による検疫強化が期待できる。

背景と目的

空港における水際防疫においては、近隣諸国における海外悪性伝染病の継続的な発生等を踏まえ、検疫探知犬の増頭や活動時間の拡大等により対応強化を図ってきたところである。訪日外国人旅客が急増し、海外悪性伝染病の侵入リスクがさらに高まっているなか、検疫探知犬等を限られた人員で効果的に活用することが求められている。そこで、到着便や旅客の特徴を調査し、リスクに応じた対応の優先順位付けについて検討を試みた（図1）。

取組の内容

1. 2016年1～12月に、不合格品を5Kg以上所持していた旅客（以下「大口持込者」という。）が利用した便を調査した上で、1便当たりの大口持込者の割合（以下「大口率」という。）を算定し、大口率の高い搭載国（以下「高リスク国」という。）の傾向を調査した。また、上位の高リスク国については就航便別に大口率の傾向を調査した。
2. 2017年1～3月に、不合格品を所持している外国人旅客の訪日目的と外観的特徴（容姿や荷物の状況）を調査（表）し、訪日目的と不合格品所持者の関連性について国別の傾向を分析し、併せて外観的特徴から訪日目的を推定することの可否も検討した。
3. 大口率に関する高リスク国は、フィリピン、ベトナム、タイ、中国であった（図2）。また、外資系の航空会社で大口率が高値となる傾向及び検疫探知犬の活動時間外においても大口率が高値となる便の存在が確認された。
4. フィリピンについては、「親族・知人訪問」又は「日本在住」を訪日目的とする旅客で、外観的特徴として、「年齢層30～40代の女性で荷物2～4個を所持（カート利用）」は不合格品を所持しやすい傾向にあると考えられた。
5. ベトナムについては、「留学」、「研修」又は「日本在住」を訪日目的とする旅客で、外観的特徴として、「年齢層10～20代」は不合格品を所持しやすい傾向にあると考えられた。

今後の方針

1. 今般の分析結果を活用し、対象便や対象旅客の選定等を戦略的に行うことにより、合理的な水際防疫の強化を図っていくとともに、定期的に傾向を把握し、調査方法を検討していきたい。
2. 水際防疫の強化においては、検疫探知犬の活動を効果的に行うため、活動時間帯を広げるなど柔軟な推進体制の検討も併せて行っていきたい。

具体的データ

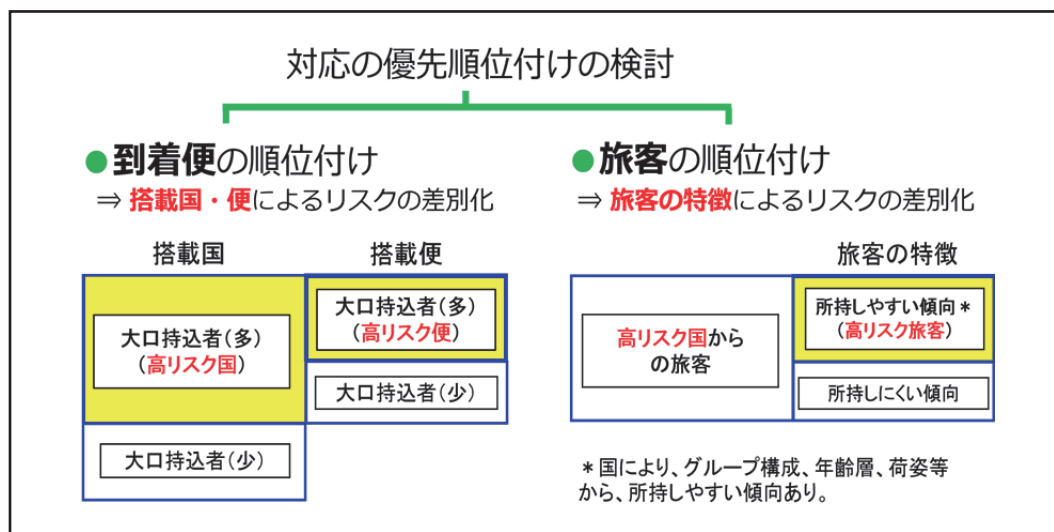


図1 合理化の方向性

表 調査項目

グループ構成	年齢層	荷物総数	荷物の種類	訪日目的
☐ 単独 (男性) ☐ 単独 (女性) ☐ 家族・夫婦 ☐ 友人	☐ 10～20代 ☐ 30～40代 ☐ 50代以上	☐ 1個 ☐ 2～4個 ☐ 5個以上	☐ カート利用 ☐ 段ボール所持 ☐ 発泡スチロール所持	☐ 観光 ☐ 仕事 ☐ 留学 ☐ 研修 ☐ 家族訪問 ☐ 友人訪問 ☐ 日本在住

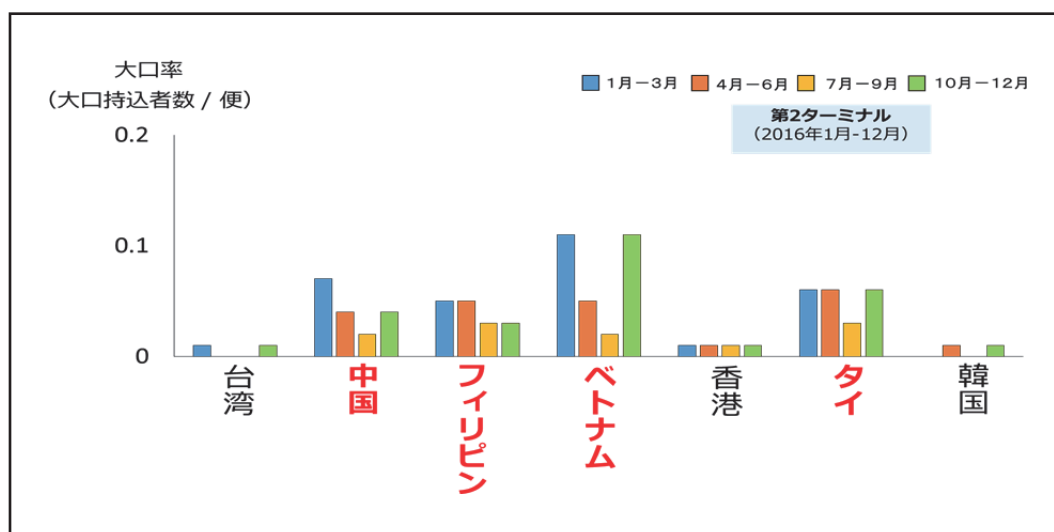


図2 搭載国別の大口率

要 約

横浜港に輸入された中国産加熱処理鶏肉（唐揚げ）について SDS-PAGE（ポリアクリルアミドゲル電気泳動法）を用いた加熱状況確認試験（以下「SDS-PAGE」という。）を実施したところ、農林水産大臣が定める加熱処理基準（中心温度 70℃以上 1 分間以上等）に満たない疑い例が認められた。輸入者の協力のもと、原材料の一部、加熱温度・時間を変更して製造されたサンプルを入手し供試した結果、調味液等が未使用で加熱処理された鶏肉は全て加熱十分、調味液等が使用された後に加熱処理された鶏肉は全て加熱不十分という結果になった。加熱処理肉の製造工程は多彩であり、原材料及び製品の製造工程によっては、SDS-PAGE では加熱処理状況が正しく判定できないものがあることが示唆された。

背景と目的

動物検疫所では加熱処理を条件に輸入される畜肉類について、モニタリング検査を実施している。検査方法は、検査申請のあった加熱処理肉の乳剤と、同一検体を再加熱した乳剤について SDS-PAGE を行い、たん白質泳動像を比較することにより、加熱状況の判定を行っている。原料が肉だけの加熱処理検体については判定が可能であることが確認されており、調理肉についても広く活用されている。今般、ある輸入者が輸入した味付け加工された加熱処理鶏肉の検査を実施したところ、解凍後の目視検査では加熱十分と判定されたが、SDS-PAGE では加熱不十分と判定された検体があった。当該結果を輸入者へ伝えたところ、原因を究明したいとの要望があり、輸入者及び現地加熱処理施設の協力により、原材料の一部、加熱温度・時間を変えて製造した製品サンプルが輸入され、これらについて SDS-PAGE を実施して加熱処理状況を比較した。

取組の内容

1. 当該唐揚げは、衣と肉の分離がしにくかったが、肉のみの部分、肉と衣の混合部分（肉＋衣）、衣だけの部分をそれぞれ採取し、SDS-PAGE を実施した。その結果、衣は加熱十分、肉及び肉＋衣は加熱不十分と判定された。当該唐揚げが加熱不十分と判定されたことについて、衣は関与していないことが確認された。
2. 輸入者等の協力のもとで、原材料の一部、加熱温度・時間を変えて現地加熱処理施設で製造後、輸入されたサンプルを用いて SDS-PAGE を実施した。サンプルとして輸入されたものは、通常輸入されている製品と同じ原材料（表 1）のもの（A）、A から一部の植物性原材料を除いたもの（B）、調味液及び衣液を使用しない肉のみ（C）で、それぞれ 80℃ 2、3、4、5、15 分間、85℃ 2 分間、90℃ 2 分間の加熱処理がなされていた。これらの肉について SDS-PAGE を実施した結果、調味液及び衣液を使用した A 及び B は全ての検体が加熱不十分と判定された。C の肉のみは全ての検体が加熱十分と判定された（表 2、図）。このことから、当該唐揚げは、再加熱前後の泳動像の差では加熱状況を正しく判定できないことが明らかとなった。
3. 調味液及び衣液単体については 2 回の加熱で泳動像に変化がないことを確認した。検体 A 及び B は製造時に真空状態で調味液を浸透させており、調味液及び衣液に含まれる成分が加熱前の肉のたん白質に変化を生じさせ、再加熱することによって変化しやすいたん白質に変わったことが推察された。

今後の方針

最近の食肉加工技術の発展によって様々な加工処理を施した加熱処理肉が輸入されてきている。今回の事例を踏まえて、SDS-PAGE による判定基準を再考し、その他の検査方法との併用や、新たな加熱状況確認試験の開発について検討していくことが望まれる。

具体的データ

表1 中国産加熱処理鶏肉（唐揚げ）の原材料及び製造工程

<原材料>

鶏胸肉（53%）	
調味液（16%）	保水材 タピオカ澱粉 塩 コーンスターチ 醤油 大豆、小麦、塩、エタノール、水 おろし生姜 塩 おろしニンニク 砂糖 たん白加水分解物 白ごま 水
衣液（26%）	馬鈴薯澱粉 バターミックス 小麦粉、パン粉、ブドウ糖、 ショートニング、大豆たん白、 香辛料、炭酸水素ナトリウム、 塩、パプリカ色素、L-グルタミン酸ナトリウム 醤油 大豆、小麦、塩、エタノール、水 水
揚げ油（5%）	大豆油

<製造工程>

鶏胸肉	
↓	
タンプリング	調味液浸漬、真空 40 分
↓	
衣液付け	
↓	
静置	0-5℃、8-10 時間
↓	
フライ	170℃ 1 分間
↓	
スチーム	80℃ 2 分間保持
↓	
冷却	室温、5-10 分間保持
↓	
急速凍結	-35℃以下、45 分間
↓	
梱包	
↓	
保管	-18℃以下

表2 原材料、加熱方法を変更して製造したサンプルの SDS-PAGE 加熱状況判定

加熱処理温度	80℃					85℃	90℃
加熱処理時間	2 分	3 分	4 分	5 分	15 分	2 分	2 分
A 通常	×	×	×	×	×	×	×
B 植物抜き	×	×	×	×	×	×	×
C 肉のみ	○	○	○	○	○	○	○

通常：調味液、衣液を使用し通常の製造工程で製造されたもの。植物抜き：植物性原料（タピオカ、コーンスターチ、おろし生姜、おろしニンニク、白ごま）を除いた調味液を用いて製造されたもの。×：泳動像に変化あり、加熱不十分と判定。○：泳動像に変化なし、加熱十分と判定。

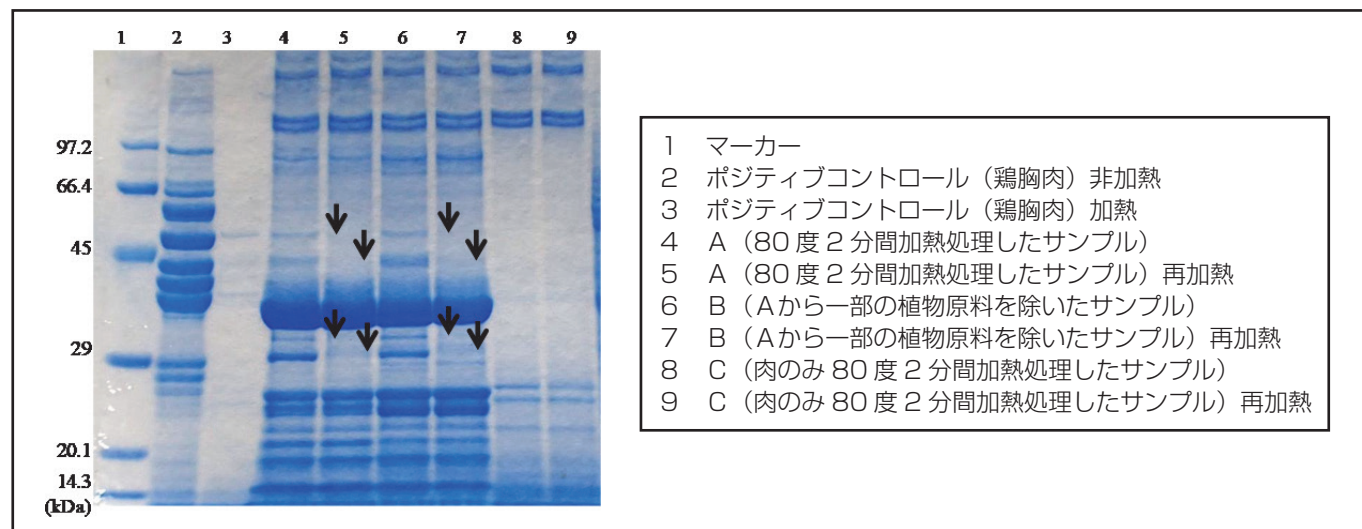


図 原材料の一部、加熱温度・時間を変えて製造されたサンプルの再加熱前後の SDS-PAGE 泳動像

【担当】 精密検査部・病理・理化学検査課、企画管理部・企画調整課

【連絡先】 電話 045-751-5947、045-751-5923

要 約

2016年10月31日付けで家畜伝染病予防法施行規則の一部が改正され、2017年11月1日から乳製品の動物検疫を開始した。乳製品の検疫対応ではリスクに応じた検査方法を導入し、また、家畜衛生条件に基づく加熱処理の実施状況を確認する精密検査体制を整備した。

背景と目的

我が国では、農林水産業の輸出力強化戦略に基づき国を挙げて畜産物の輸出促進に取り組んでおり、各国と戦略的な検疫協議を進めるため、国際基準や諸外国と同等水準の検疫体制の構築が不可欠となっている。また、アジアで乳業の発展が見られる等、今後、口蹄疫非清浄地域を含む多様な国で生産された乳製品の我が国への輸出増加が見込まれ、口蹄疫等の侵入リスクが一層高まることが予想される。こうした状況を踏まえ、動物衛生課を事務局とするリスク評価チームによるリスク評価の結果を受け、乳製品を動物検疫の対象に追加することとなったことから、動物検疫所では、乳製品の流通事情を考慮しつつ、適切な検査を合理的かつ円滑に実施する方法に加え、家畜衛生条件に基づく加熱処理の実施状況を確認する精密検査方法の導入について検討を行った。

取組の内容

1. 乳製品の輸出入状況、流通事情等を把握するため関係者と意見交換を行うとともに、説明会を複数回開催。乳製品の具体的な対象範囲は、リスク評価結果に基づき決定。侵入リスク及び暴露リスクに応じた検疫対応として、偶蹄類動物の飼料用乳製品を重点的に検査しつつ、口蹄疫非清浄地域由来のものを中心に加熱状況確認等のモニタリング検査を行うこととした。
2. 現物の加熱状況を確認するため、乳成分のうち72℃ 15秒程度で失活するAlkaline phosphatase (ALP) を指標物質に選定。ALP活性測定法として、ALPの酵素反応により生成された物質の蛍光強度を測定する検査法を採用し、各種乳製品で加熱履歴確認を試みた。
3. 牛、めん羊、山羊の生乳及びこれらを段階的に加熱したもの(57～72℃ 15秒)のALP活性を測定した結果、いずれも65℃程度の加熱で活性が大幅に下がり、72℃ 15秒で失活することを確認した(図1)。
4. 生乳と加熱殺菌乳から試作した乳製品や市販乳製品でALP活性を測定。材料を懸濁液にすることで、様々な乳製品でも原料乳の未加熱・加熱を判別可能であった(図2)。カビタイプのチーズでは、カビ由来と推測されるALP活性が確認された(図3)。

今後の方針

1. 今後、1年間の検査状況を踏まえて、検疫体制を再検討する。
2. ALPは微生物も生成するとされているため、微生物由来のALP活性を識別する方法を検討する。

具体的データ

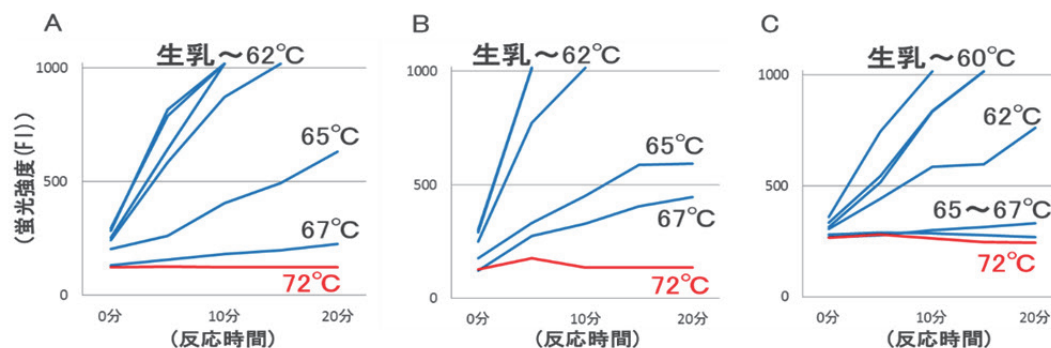


図1 加熱による ALP 活性値の変化

A：牛生乳（10 倍希釈）、B：めん羊生乳（10 倍希釈）、C：山羊生乳（希釈無し）

酵素反応の基質は 4-methylumbelliferyl phosphate を使用し、20 分後の活性値を測定した。

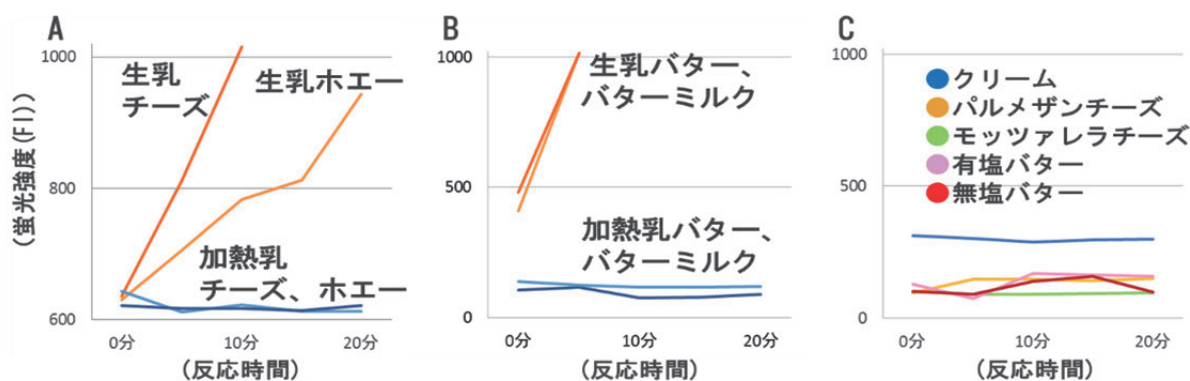


図2 乳製品における ALP 活性値

A：試作チーズ及びチーズホエー、B：試作バター及びバターミルク、C：市販乳製品

チーズ及びバターは、Tris HCl buffer に懸濁して乳剤を作製し供試した。

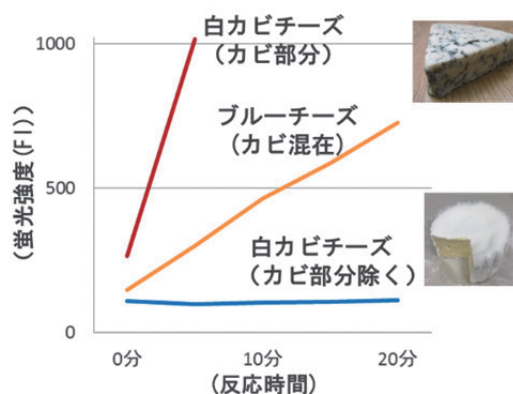


図3 カビタイプの市販チーズにおける ALP 活性値

要 約

PPR の検査診断体制を整備するため、OIE リファレンスラボラトリーであるイギリスのパーブライght研究所にて研修を受講した。

背景と目的

PPR は、山羊・めん羊などの小反芻獣家畜に感染して、発熱、口腔・鼻腔の糜爛潰瘍、鼻汁、流涙、流涎、結膜炎を呈する（図1）。感染中期には下痢を呈し、細菌の二次感染により肺炎を併発する個体も多い。致死率は90%以上と高く、OIE やFAO は2030年までにPPRを撲滅することを目標として、ワクチンキャンペーン等を実施している。本病は、ブルータング（BT）等類似症状を示す疾病があることから臨床症状のみで診断はできず、診断機関での確定診断が重要である。PPR はアフリカ、中東、アジア諸国で発生が認められ、近年では中国やモンゴル等の東アジア地域にも流行が及ぶが、日本では過去に発生がなく、国内での診断体制が充実しているとはいえない。このため、当所での検査診断体制整備を目的とし、イギリスのパーブライght研究所において「越境性疾病研修」を受講することとした。

取組の内容

1. PPR の診断について OIE マニュアルでは遺伝子検査、ウイルス分離、ELISA、中和試験等が推奨されている。本研修では、PPR の概要についてのセミナー講習、遺伝子検査やウイルス分離の実技講習をバイオセーフティレベル3の検査室で実施した。
2. 遺伝子検査の実技講習では、パーブライght研究所での病性鑑定手順に基づき PPR と BT について類症鑑別を行った。ブラインド検体、PPR ウイルス（PPRV）陽性対照、BT ウイルス（BTV）陽性対照を検体として、PPRV 及び BTV のリアルタイム RT-PCR を実施した（図2）。
3. ウイルス分離の実技講習では、PPRV に高感受性の Vero Dog SLAM 細胞を用い、脾臓及び血液からのウイルス分離を実施した。接種後4～5日で合胞体を形成する細胞変性効果（CPE）が認められた（図3）。
4. その他の検査法として、パーブライght研究所から販売されている野外での診断が可能な迅速抗原検出キット（図4）について説明を受けた。

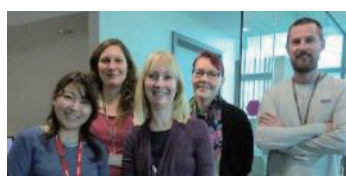
今後の方針

当所での検査診断を可能にするため、遺伝子検査、ウイルス分離、ELISA について導入する。

パーブライght研究所（The Pirbright Institute）

パーブライght研究所は英国サリー州に位置し、家畜のウイルス性疾病に関する国際的な研究機関である。OIE、FAO 等から小反芻獣疫、口蹄疫を含む10疾病のリファレンスラボラトリーに指定され、各国から検体の受入、途上国への診断技術普及や助言を行っている。

外観



研究所のスタッフと
（左が筆者）

具体的データ



図1 PPRの臨床症状

1 活力低下、2 結膜充血と流涙、3 鼻腔粘膜の傷害と鼻汁、
4 口腔粘膜の糜爛、5 口唇の壊死と流涎、6 下痢

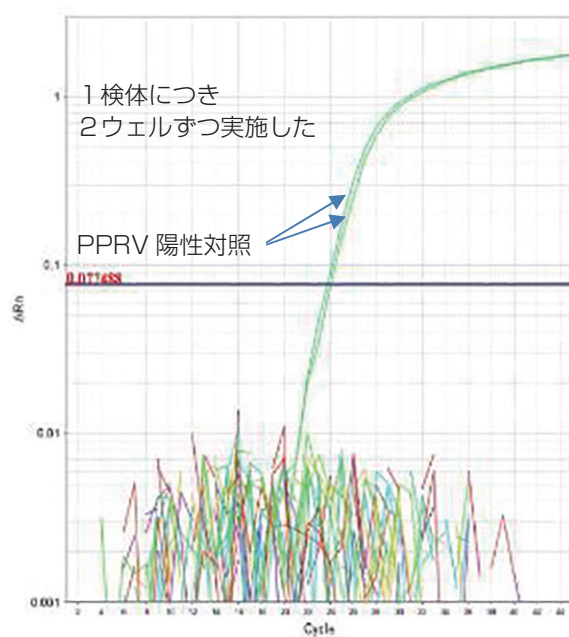


図2 PPRV リアルタイム RT-PCR 結果

PPRV 陽性対照のみが、プライマー及びプローブと特異的に反応し、陽性となった。

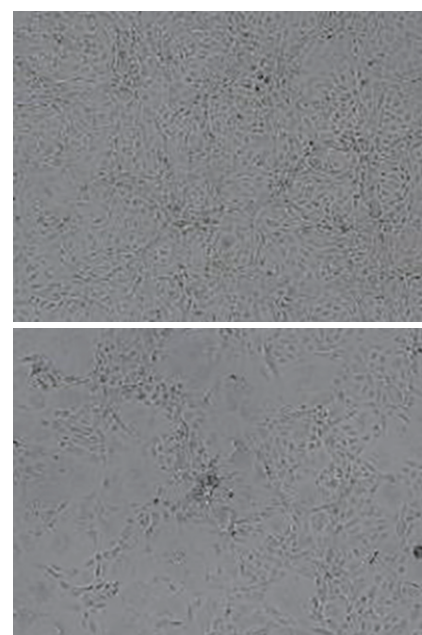


図3 VDS 細胞

上：陰性対照
下：PPRV による CPE
(細胞が融合し合胞体を形成する)

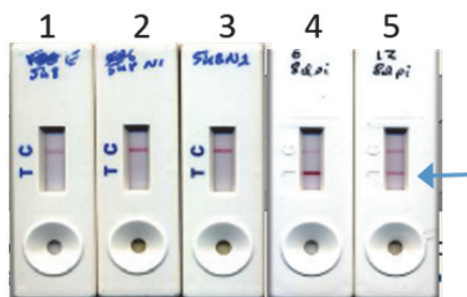


図4 PPRV 検出迅速抗原検出キット

C に発色を認めると検査成立、T に発色を認めると PPRV 陽性。20 分程度での診断が可能。

1 ～ 3：BTV 感染個体材料。C にのみ発色を認め、PPRV は陰性。

4 ～ 5：PPRV 実験感染 8 日目材料。C 及び T に発色を認め PPRV 陽性。

要 約

2017年度、当課では豪州産牛におけるヨーネ病摘発事例が相次いだ。各摘発事例とも国内へのヨーネ病侵入リスク及び国内牛への暴露リスクを考慮した検疫対応方針に基づき検査を実施した。また、輸入者に対して清浄農場からの選畜を指導したことにより、その後の摘発頭数は大幅に減少している。今後とも都道府県、輸入者、仕向先農場等、関係者とのリスクコミュニケーションを図りつつ、ヨーネ病の侵入防止に努めていく。

背景と目的

2016年5月、神戸支所で輸入検疫を実施した豪州産乳用繁殖用牛におけるヨーネ病多頭数摘発事例を受けて、豪州産牛の輸入一時停止措置が採られたが、その後の豪州側の原因究明及び再発防止策は妥当と判断され、同年8月、当該措置は解除された。以降、2017年12月までに門司支所では乳用繁殖用牛5ロット1,577頭、肥育用牛12ロット14,136頭が入検し、乳用繁殖用牛を中心としてヨーネ病の摘発が相次いだことから、検疫対応方針に基づく的確な対応の実施、検疫終了後に送致される都道府県との意志統一に取り組むこととした。

取組の内容

1. 各摘発事例の概要を表に示す。2017年4月に輸入された乳用繁殖用牛の事例1では、ヨーネ病遺伝子検査（定量リアルタイムPCR）により定量陽性21頭、定性陽性25頭が摘発された。豪州では州ごとにヨーネ病の発生状況が大きく異なっていることが知られており、事例1では、摘発個体の9割がヨーネ病有病率の高い地域（ヴィクトリア州）で生産された個体であった（図1）。輸入者に対しては、輸出国内の清浄地域を中心に、清浄性を確認した農場から選畜するよう指導を行った。事例2では当該指導に沿った選畜により、事例3では輸入者独自の従来からの取組により摘発頭数は大幅に減少した。
2. 2017年11月以降の豪州産繁殖用牛のヨーネ病検査対応を図2に示す。乳用繁殖用牛のヨーネ病摘発時の検疫対応は、国内外の状況に鑑み随時見直されてきたが、定量陽性牛及び定性陽性牛は輸入者に自衛殺処分を助言することとしている。また、それらの陽性牛と同一生産農場に由来する個体については、若齢時には比較的感受性が高く、感染後の潜伏期間が長いというヨーネ病の特徴を考慮し、自衛殺処分若しくはと場直行牛又は肥育用牛への用途変更を輸入者に助言してきたが、事例3以降、検疫期間中及び解放後の再検査等を条件に、乳用繁殖用として解放するための新たな対応方針が示された。実際の事例では輸入者の意向により、事例1、2では肥育用への用途変更、事例3では乳用繁殖用として解放することとなった。いずれの事例においても、仕向先農場を所管する都道府県へ事前に情報提供を行い、受入体制を確認した上で解放した。
3. 事例4は肥育用牛の事例で、検査の結果、定量陽性6頭が摘発された。肥育用牛の検疫対応として、陽性牛を除いた牛群については、仕向先農場において肥育用以外の用途の牛と同居することなく、他の農場に移動せずにと畜されることを輸入者に確認した上で解放することとした。さらに解放後には、仕向先農場の一つにおいて飼養状況確認調査を実施した。本調査は情報収集の目的で実施したものであったが、仕向先農場や管轄家畜保健衛生所との意見交換を通じて、相互理解を深めるとともに、仕向先農場での防疫的な飼養管理についてのフォローアップにつながった。

今後の方針

本病の侵入リスク低減の観点から、丁寧に輸入者への指導を実施していく必要があると考えられた。本年度の事例を通じて、動物検疫所と輸入者（仕向先農場）及び都道府県の間でリスクコミュニケーションを図ることが、本病の暴露リスク低減に当たって重要なポイントとなることが再認識された。今後とも関係者と連携を取りつつ、円滑な輸入検疫の実施に努めていく所存である。

具体的データ

表 摘発事例 1～4 の概要

	事例1	事例2	事例3	事例4
用 途	乳用繁殖用	乳用繁殖用	乳用繁殖用	肥育用
輸入時期	2017.4	2017.7	2017.9	2017.4
頭 数	300	303	328	1,077
生 産 州	VIC, NSW, SA, WA	NSW, SA, WA	NSW	VIC 含む 5 州
摘発頭数	46 (定量陽性 21 頭)	9 (定量陽性 2 頭)	2 (全て定性陽性)	6 (全て定量陽性)

※ VIC (ヴィクトリア州)、NSW (ニューサウスウェールズ州)、SA (南オーストラリア州)、WA (西オーストラリア州)

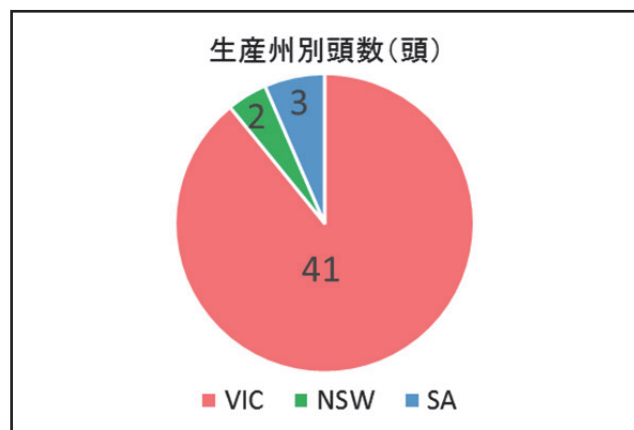


図1 事例1における摘発牛の生産州別頭数

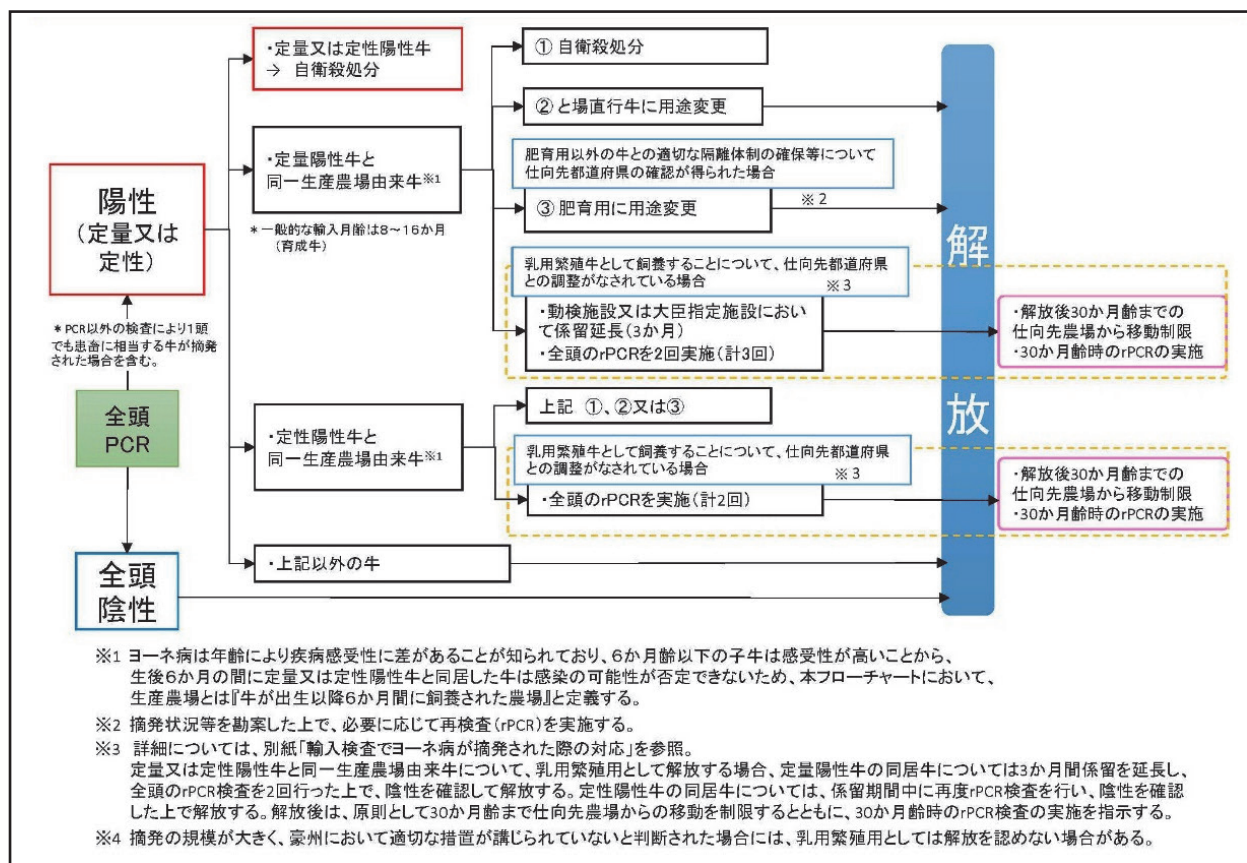


図2 豪州産繁殖用牛のヨーネ病検査に係るフローチャート (2018年3月現在)

【担当】 門司支所・検疫第2課 【連絡先】 電話 093-481-7335

要 約

門司支所で分離されたヨーネ菌について、分子疫学解析法の一つである縦列反復配列多型（VNTR）型別を実施した結果、豪州産牛分離株と国内分離株では VNTR 型が大きく異なることが明らかとなった。また、糞便のヨーネ病定量リアルタイム PCR（qPCR）陽性牛について、ヨーネ病検査マニュアルに基づく採材部位のリアルタイム PCR（rPCR）、菌分離及び病理組織学的検査を実施したところ、個体によっては 1 部位のみで検査陽性となり、本マニュアルに従った採材の重要性が再認識された。

背景と目的

VNTR 型別は、国単位のような広い地域で収集された菌株間の比較において優れた解析能力を有する。今回、豪州産牛から分離されたヨーネ菌について VNTR 型別を実施し、農研機構 動物衛生研究部門において実施された国内分離株との VNTR 型の比較を行った。また、2017 年に qPCR 陽性となり剖検を実施したロット A～D の遺伝子検査陽性牛 23 頭（定量陽性 14 頭、定性陽性 9 頭）の病理組織学的検査を実施し、その病変分布について検証した。

取組の内容

- 今回 VNTR 型別を実施した 33 株（2007～2017 年分離）では Map13 が 25 株（75.8%）、過去に VNTR 型別した豪州産牛分離株 59 株（1997～2016 年分離）では Map-13 が 38 株（64.4%）となり、合計 92 株中 63 株（68.5%）が Map-13 となり、豪州産牛の生産農場では Map-13 が広く分布していることが推測された。一方、国内分離株 382 株（2007～2015 年分離）では Map-2 が 210 株（55.0%）と最も多く、豪州産牛とは VNTR 型が大きく異なっていた（図）。
- 剖検を実施した遺伝子検査陽性牛のうち、病理組織学的検査及び臓器 rPCR で陽性となったのはロット A 及び B の定量陽性牛に限定され、さらに、臓器菌分離で陽性となったのはロット A の牛のみであった。また、乳用繁殖用育成牛全頭について実施している糞便の菌分離において、糞便の qPCR は陰性であったものの、陽性となった個体が 2 頭（ロット A）いた（表 1）。

さらに、ロット A 及び B の定量陽性牛の検査結果の詳細では、臓器の rPCR 及び菌分離で陽性となった臓器部位は、回腸部腸間膜リンパ節が最も多く、病理組織学的検査で抗酸菌を認めた部位は回盲部より 1 m 上の回腸が最も多かった。個体によっては、8 か所の採材部位（表 2 欄外）のうち、1 部位のみで rPCR、病理組織学的検査、菌分離のいずれかが陽性となった（表 2）。

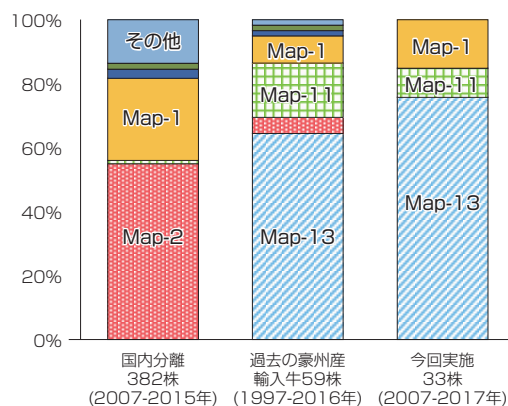


図 VNTR 型別結果

考察及び今後の方針

- 豪州産牛分離株と国内分離株の VNTR 型は大きく異なり、豪州産牛由来のヨーネ菌は国内に浸潤している可能性が低いと推測された。VNTR 型別は我が国の動物検疫の機能を確認するツールの一つとして有用であり、今後も本法を用いて、モニタリングを実施していく予定である。
- 定量陽性牛の摘発頭数が多いロットほど剖検後の各検査で陽性となる傾向が示され、さらに、本病の摘発には今回実施した複数の検査法の組合せが有効であると思われる。
- 個体によっては、ヨーネ病検査マニュアルの採材部位のうち 1 部位のみで検査陽性（臓器 rPCR 又は病理組織学的検査）を示したことから、本マニュアルに記載されている複数部位の採材の重要性が再認識された。

具体的データ

表1 ヨーネ病各検査結果

検疫ロット	ロットA			ロットB			ロットC			ロットD		
用途	乳用繁殖用育成牛			肥育用素牛			乳用繁殖用育成牛			乳用繁殖用育成牛		
輸入頭数	300 頭			1,077 頭			301 頭			328 頭		
糞便 qPCR*	定量 陽性	定性 陽性	陰性	定量 陽性	定性 陽性	陰性	定量 陽性	定性 陽性	陰性	定量 陽性	定性 陽性	陰性
	20	26	254	6	0	抽出 56	2	7	292	0	2	326
糞便菌分離 *	8/20	5/26	2/254	/	/	/	0/2	0/7	0/292	0/0	2/2	0/326
剖検頭数	6	0	0	6	0	0	2	7	0	0	2	0
病理組織 *#	5/6	/	/	3/6	/	/	0/2	0/7	/	/	0/2	/
臓器 rPCR*	3/6	/	/	4/6	/	/	0/2	0/7	/	/	0/2	/
臓器菌分離 *	3/6	/	/	0/4	/	/	/	/	/	/	/	/

* 数字は各検査の陽性頭数（○/○は陽性頭数 / 検査頭数）。# 病理組織学的検査は抗酸菌又は多核巨細胞が確認された場合を陽性とした。

定量陽性：糞便 qPCR で 0.001pg/25μL 以上、定性陽性：糞便 qPCR 陽性だが 0.001pg/25μL 未満

表2 ロットA 及び B の陽性結果詳細

ロット	用途	月齢	個体 番号	糞便 qPCR 遺伝子量 (pg/25uL)	臓器 rPCR の 陽性部位	病理組織学的検査で 抗酸菌を認めた部位	糞便菌分離結果 (分離菌の VNTR 型)	臓器菌分離結果 (分離菌の VNTR 型)
A	乳用繁殖用育成牛	10 14 ヶ月齢	a	0.0077	⑤, ⑦	①, ②, ③, ④	+ (Map-1, 13)	⑦+ (Map-1, 13) ⑧+ (Map-1)
			b	0.0044	⑦	④, ⑤	-	⑦+ (Map-13)
			c	0.0094	-	③, ④, ⑤	-	/
			d	0.0116	①, ⑦	②, ③, ④	+ (Map-13)	⑦+ (Map-13)
			e	0.0155	-	①	-	/
			f	0.0071	-	-	-	/
B	肥育用素牛	8 12 ヶ月齢	g	0.0013	⑦	②	/	-
			h	0.0013	①	①	/	-
			i	0.0123	⑤, ⑦	/	/	-
			j	0.0118	⑦	-	/	-
			k	0.0031	-	/	/	/
			l	0.0049	-	⑥多核細胞を認めた	/	/

臓器 rPCR 及び病理組織学的検査を実施した臓器：回盲部より① 10cm、② 30cm、③ 50cm、④ 1m 上の回腸、⑤空腸、⑥回盲リンパ節、⑦回腸部腸間膜リンパ節、⑧空腸部腸間膜リンパ節

【担当】 門司支所・検疫第2課 【連絡先】 電話 093-481-7335

要 約

カナダより輸入された肥育用素馬から分離された腺疫菌について、カナダ国内における本菌の疫学的知見を得ることを目的として、SeM 遺伝子領域の分子系統樹解析を実施した。分離株間及び国内外の分離株との比較により、特定の輸出者の馬群から複数年に渡って遺伝子学的に近縁な腺疫菌が分離されていることが明らかとなった。

背景と目的

腺疫は腺疫菌 (*Streptococcus equi* subsp. *equi*) によって起こる馬科動物特有の感染症で、発熱、膿性鼻汁の漏出及び下顎リンパ節の腫脹から自潰・排膿を主徴とする(図1)。本病は監視伝染病ではないものの伝染力が強く、世界的にも馬の国際移動に伴う発症、伝播の観点から重要視されている疾病である。腺疫菌はSeMと呼ばれる膜たん白質を持ち、このたん白質をコードする遺伝子領域を利用した分子系統樹解析が、国内外の発生事例における疫学解析に用いられている。

輸入検疫を実施したカナダ産肥育用素馬では、これまでいくつかの馬群で腺疫菌が分離されているが、監視伝染病ではないことも踏まえ、仕向先の都道府県等へ事前に情報提供等を行い解放している。今回、前述のSeM 遺伝子領域の分子系統樹解析を実施し、動物検疫所の分離株間及び国内外の分離株との比較を行い、カナダ国内における腺疫菌の疫学的知見を得ることを目的として本調査を実施した。また、近年のOne Healthの取組に関連して、輸入肥育用素馬からの分離株の薬剤耐性の獲得状況を調査するため薬剤感受性試験を実施した。

取組の内容

1. 2010年から2017年に門司支所管内で輸入検疫を実施したカナダ産肥育用素馬より分離された腺疫菌12株のDNAを抽出し、SeM 遺伝子領域を増幅し、ダイレクトシーケンシング法により塩基配列を決定した。得られた塩基配列について、既知の国内外の腺疫菌株の塩基配列とともに分子系統樹解析を実施した(図2)。
2. 分子系統樹解析の結果、供試菌株は輸出者ごとに異なるクラスターを形成する傾向が見られ、いずれの株も過去の国内分離株のクラスターとは異なっていた。
3. 特定の輸出者の馬群において、複数年にわたり遺伝子学的に近縁な腺疫菌が分離されたことから、当該輸出者の生産農場においては、腺疫菌が長期間にわたって維持されている可能性が示唆された。
4. 海外で分離される腺疫菌は主にムコイド型のコロニーを形成するとされているが、供試菌株は全てマット型であった(図3)。
5. 薬剤感受性試験の結果、腺疫菌に有効とされるβラクタム系抗菌薬(アンピシリン、セセファゾリン、セフォタキシム)に対する耐性は認められなかった。

今後の方針

本調査を継続し、疫学的知見、分離菌の薬剤耐性の獲得状況等の関連情報を蓄積し、輸入者、仕向先都道府県等に対して情報提供を行い、引き続き円滑な防疫対応に資する。

具体的データ



図1 輸入検疫中に腺疫を発症した馬（左：下顎リンパ節の腫脹，右：落下膿性鼻汁）

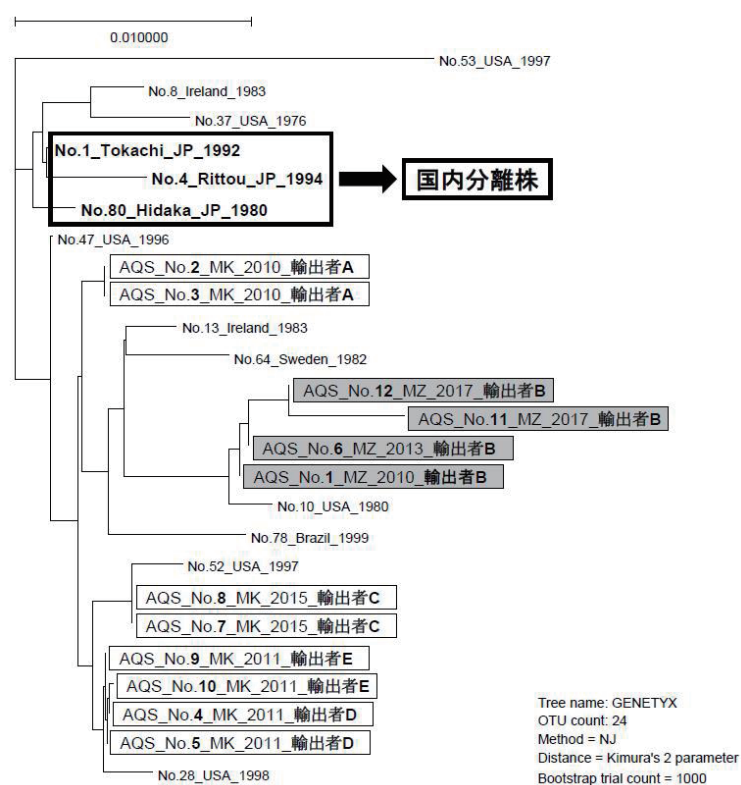


図2 SeM 遺伝子領域の分子系統樹



図3 供試菌株のマット型コロニー
(5% 羊血液寒天培地，好気条件下 48 時間培養)

要 約

旅客携帯品として持ち込まれた未加熱家きん肉等から高病原性及び低病原性 H7N9 亜型鳥インフルエンザウイルスが分離され、遺伝子解析の結果、2016 年以降に中国で報告がある H7N9 亜型株と近縁であった。鶏とあひるへの接種試験から、2013 年出現当時の株と比較し、分離株の鶏における増殖性は高く、鶏での循環による順化の進行が示唆された。高病原性株を接種したあひるでは症状を示さないまま骨格筋や主要臓器からウイルスが回収されており、未加熱家きん肉等の持ち込みには引き続き注意する必要がある。

背景と目的

携帯品で持ち込まれた未加熱家きん肉等（肉、臓器等を含む）を対象とした鳥インフルエンザウイルス（AIV）汚染状況調査を 2015 年度から開始し、これまで高病原性株を含む H1、H5、H9 亜型 AIV が分離され、携帯品による AIV 侵入リスクについて報告した。汚染畜産物等の持ち込み防止には、水際における監視と注意喚起が重要であり、本調査による AIV 分離事例はこうした水際検疫の科学的根拠として活用されている。本報告では 2016 年度以降の継続調査で中国便旅客により持ち込まれた家きん肉等から分離した低病原性及び高病原性 H7N9 亜型株の遺伝子解析、鶏とあひるを用いた病原性解析の概要を報告する。

取組の内容

1. 2016 年 5 月から 2017 年 12 月までに空海港に持ち込まれた家きん肉等 162 検体を対象にウイルス分離を実施したところ、中国で搭載されたバリケン肉等（肉、臓器等を含む）から H7N9 亜型が 3 株、中国とベトナムで搭載された鶏肉等（肉、臓器等を含む）から H9N2 亜型が 3 株分離された（表 1）。
2. HA 遺伝子の系統樹解析の結果、A/duck/Japan/AQ-HE28-3/2016 (Dk/HE28-3) (H7N9) は 2016 年以降中国で報告がある低病原性株と近縁であり、A/duck/Japan/AQ-HE29-22/2017 (Dk/HE29-22) (H7N9) 及び A/duck/Japan/AQ-HE29-52/2017 (H7N9) は 2017 年以降中国で報告がある高病原性株と近縁であった（図 1）。
3. Dk/HE29-22 (H7N9) について、6 週齢の鶏 10 羽を用いて OIE マニュアルに基づく静脈内病原性試験を実施したところ、静脈内病原性指数（IVPI）は 2.88 となり、高病原性の指標となる 1.2 より大きい値を示した。
4. Dk/HE28-3 及び Dk/HE29-22 について 4 週齢の鶏及びあひる各 8 羽を用いて経鼻接種試験を実施し、各 4 羽について 3 日目の組織中のウイルス量を測定したところ、Dk/HE29-22 は鶏及びあひるの主要臓器からウイルスが回収され、Dk/HE28-3 と比較して高い増殖性が示唆された（表 2）。
5. 残りの各 4 羽について 14 日間の臨床観察を行ったところ、Dk/HE29-22 を接種した鶏は 3 日目に全羽が死亡したが、他の鶏及びあひるは 14 日間症状を示さずに生残した（図 2）。Dk/HE29-22 を接種したあひるでは、症状を示さないまま主要臓器や骨格筋中にウイルスを保持していることが示された。
6. H7N9 亜型が出現した 2013 年の株（A/Anhui/1/2013）を用いた既報の試験結果と比較し、Dk/HE28-3 及び Dk/HE29-22 は鶏での増殖性が増していたことから、これまでの高病原性化の流れのとおり、低病原性 H7N9 亜型株は鶏で感染を繰り返すことで、徐々に鶏に順化し、2017 年以降の高病原性株の出現を引き起こしたものと考えられた。

今後の方針

1. 今後も継続して汚染状況をモニタリングし、汚染畜産物を保有する高リスク者の分析、旅客への広報、探知犬業務、関係機関への不正持ち込み防止要請等に活用する。
2. ウイルスの分離情報を公開し、分離ウイルスは公衆衛生及び家畜衛生分野の関係研究機関へ分与することにより、検査体制整備やワクチン評価等への効果的な活用 に寄与。

具体的データ

表1 分離された鳥インフルエンザウイルス

最終搭載地域	家きん種	株名	HA蛋白開裂部位配列
福州 (中国)	<i>Cairina moschata</i>	A/duck/Japan/AQ-HE28-3/2016 (H7N9)	PEIPKGR-GLF
南京 (中国)	<i>Gallus gallus</i>	A/chicken/Japan/AQ-HE28-28/2016 (H9N2)	PSRSSR-GLF
ホーチミン (ベトナム)	<i>Gallus gallus</i>	A/chicken/Japan/AQ-HE28-50/2016 (H9N2)	PSRSSR-GLF
ハノイ (ベトナム)	<i>Gallus gallus</i>	A/chicken/Japan/AQ-HE28-57/2016 (H9N2)	PSRSSR-GLF
福州 (中国)	<i>Cairina moschata</i>	A/duck/Japan/AQ-HE29-22/2017 (H7N9)	PEVPKRKRTAR-GLF
福州 (中国)	<i>Cairina moschata</i>	A/duck/Japan/AQ-HE29-52/2017 (H7N9)	PEVPKRKRTAR-GLF

表2 組織中のウイルスカ価

家きん種	ウイルス	スワブ(log EID ₅₀ /ml)		血液 (log EID ₅₀ /ml)	組織 (log EID ₅₀ /g)				
		気管	クロアカ		脳	気管	肺	腎臓	直腸
鶏	Dk/HE28-3 (H7N9)	6.3	-	-	-	6.8	6.8	-	≤2.0
		5.0	-	-	-	4.3	-	-	≤2.0
		4.5	-	-	-	3.0	2.8	-	≤2.0
		5.0	-	-	-	5.0	4.8	3.0	5.3
	Dk/HE29-22 (H7N9)	4.5	3.5	NT	6.8	7.5	7.8	6.3	4.5
		5.8	4.5	NT	6.5	5.5	6.5	9.8	8.5
		6.3	3.8	NT	7.3	7.8	7.3	7.5	6.5
		5.8	4.8	NT	7.3	7.5	7.5	7.5	6.8
あひる	Dk/HE28-3 (H7N9)	≤0.8	-	-	-	≤2.0	≤2.0	-	-
		-	-	-	-	-	-	-	-
		-	-	-	-	-	-	-	-
		≤0.8	-	-	-	-	≤2.0	-	-
	Dk/HE29-22 (H7N9)	-	-	-	-	≤1.8	-	-	≤1.8
		-	-	-	-	-	-	-	-
		3.0	≤1.0	2.7	≤2.0	3.8	7.7	5.0	4.5
		-	-	-	-	-	≤2.3	5.0	-

∴: <0.8 (スワブ及び血液)、<1.8 (組織)、NT:未実施

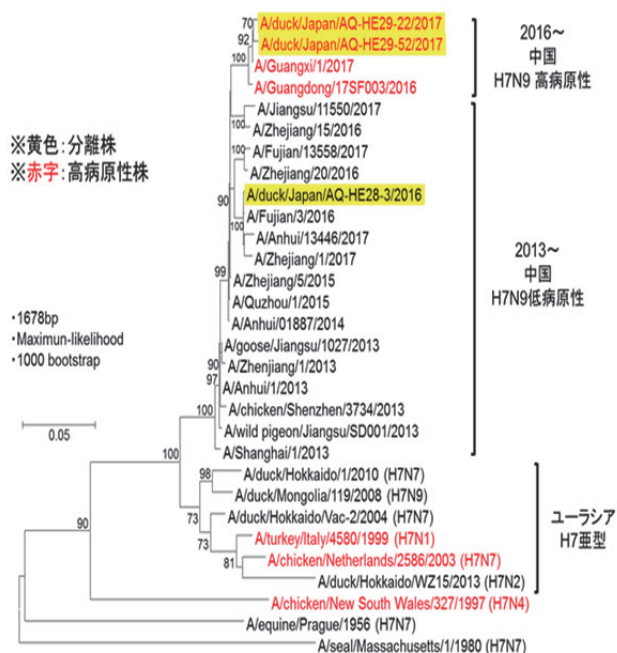


図1 H7N9 亜型株 HA 遺伝子系統樹

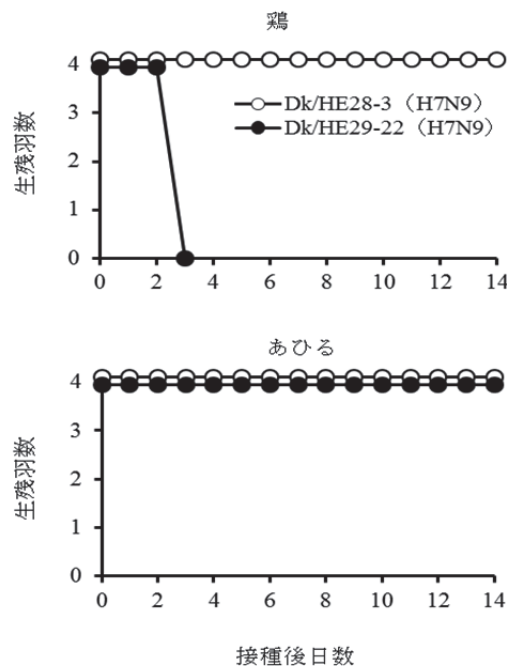


図2 鶏とあひる 14 日間生残羽数

要 約

輸入検疫体制の検証のため、鳥インフルエンザウイルス（AIV）を用いた鶏初生ひなへの同居感染試験を実施し、鶏初生ひなが病原性の低いAIVに感染した際の臨床症状、ウイルス排泄期間、群内への伝播等を調査した。結果、供試株は同一群内へ迅速に伝播し、初生ひなは症状を示さないまま成鶏と同等以上にウイルスを排泄することが示唆され、同様の野外株に感染した鶏初生ひな群は、現行の検疫対応で摘発可能であると推察された。

背景と目的

輸入される家きんの大部分は鶏の初生ひなであり、全てのロットを対象としてAIVの遺伝子検査を実施している。検査材料には、検疫第4～6日目までの主に死亡ひなから採材した気管スワブ、クロアカスワブを用いているが、初生ひなが病原性の低いAIVに感染した際の臨床症状やウイルス排泄等に関する報告はない。このため、効果的な初生ひなのAIV検査体制の検証に資する目的で、病原性の低いAIVを用いた鶏初生ひなの同居接種試験を実施し、臨床症状、ウイルス排泄量・排泄期間、群内への拡がりについて調査した。

取組の内容

1. 中国からの航空旅客が放棄した家きん肉から分離したA/duck/Japan/AQ-HE5/2015 (Dk/HE5) (H9N2) 及び A/duck/Japan/AQ-HE14/2015 (Ck/HE14) (H9N2) の各ウイルス株について、1日齢の鶏初生ひな各10羽（1群）を供した。10⁶EID₅₀に調整したウイルス液を各群の1羽に経鼻接種し、接種後1日目に残りの未接種ひな（同居ひな1～9）と同居させ、同居後8日目まで毎日口腔及びクロアカスワブの採材、体重測定を行った。
2. 各スワブ材料はPBS（－）に浸漬し、遠心後の上清を-80℃で保存した後、MDCK細胞を用いたTCID₅₀によりスワブ中のウイルス力価を測定した。臨床観察最終日に採血、剖検、組織学的検査を行い、HI試験により血清中のHI抗体価を測定した。
3. 各群の臨床観察、剖検、組織所見では、Dk/HE5の接種群の同居ひな1において、増体の低下（図）、腸壁の菲薄化、組織学的検査で腸粘膜下組織の水腫及び絨毛の萎縮が認められ、同居ひな3において同居後3日目以降汚れが認められた。同居ひな1は増体低下と同時期にクロアカスワブから継続的にウイルスが回収され、腸絨毛の発達不良による増体の低下と腸管へのウイルス感染が示唆された。その他、同居後5日目に事故死した個体を含め、明確な臨床症状を示す個体は認められなかった。
4. 各試験群における同居ひなの口腔スワブからは、いずれの群も同居後1日目から半数以上の個体からウイルスが回収され、同居後2日目から6日目まで全羽からウイルスが回収された（表1）。一方、クロアカスワブでは、口腔スワブと比較してウイルス回収期間は短く、回収羽数も少なかった（表2）。
5. Dk/HE5株試験同居ひな及びCk/HE14株試験同居ひなの同居後3日目の口腔スワブ中の幾何平均ウイルス量はそれぞれ10^{2.3} TCID₅₀/ml、10^{2.9} TCID₅₀/mlであり、4週齢の鶏における接種後3日目の口腔スワブ中幾何平均ウイルス量*と同等以上の力価を示した。
6. 各試験群における同居後8日目のHI抗体価は64～256倍以上を示した（表3）。
7. 輸入初生ひなが供試株に感染した場合、主に口腔スワブから成鶏と同等以上の力価のウイルスを継続的に排泄し、明確な症状を示さずに群内へ迅速に伝播することが示唆され、現行の採材時期は供試株と同様の野外株の検出には適当であると考えられた。

今後の方針

由来の異なるAIV株で試験を行い、効果的な検疫体制について検証する。

具体的データ

表1 鶏初生ひな口腔スワブからのウイルス回収量 (logTCID₅₀/ml)

		同居後日数								
		0	1	2	3	4	5	6	7	8
接種ひな		3.7	3.8	2.8	3.1	2.3	≤ 0.9	—	—	—
Dk/HE5	同居ひな	1	1.9	2.9	2.6	3.3	2.2	≤ 1.7	≤ 1.1	—
	2	1.8	3.3	3.4	3.7	1.9	2.6	—	—	—
	3	—	2.4	2.1	2.2	2.9	2.3	1.8	—	—
	4	—	2.2	2.7	2.8	3.6	3.3	—	—	—
	5	≤ 1.4	2.9	2.4	1.9	2.3	≤ 1.1	—	—	—
	6	≤ 0.9	2.2	2.2	2.6	2.2	3.1	—	—	—
	7	1.9	3.1	2.1	2.3	3.3	1.9	≤ 0.9	—	—
	8	≤ 0.9	2.7	1.9	2.1	1.9	≤ 1.3	—	—	—
	9	—	≤ 0.9	≤ 1.7	≤ 1.3	≤ 1.3	2.4	—	—	—
接種ひな		3.9	3.4	4.3	3.4	3.3	2.2	≤ 1.1	—	—
Ck/HE14	同居ひな	1	≤ 1.1	3.3	2.6	2.3	1.9	≤ 1.4	—	—
	2	2.6	2.9	2.2	3.2	2.6	≤ 1.6	—	—	—
	3	—	2.8	3.4	3.4	3.3	≤ 1.7	—	—	—
	4	2.1	≤ 1.4	2.8	2.2	3.1	2.6	≤ 0.9	—	—
	5	2.2	2.8	3.6	3.9	3.4	≤ 1.4	≤ 1.2	≤ 0.9	—
	6	≤ 1.7	2.8	3.4	3.2	2.9	2.3	—	—	—
	7	3.3	3.3	3.2	2.3	3.4	≤ 1.6	—	—	—
	8	2.9	2.9	2.6	2.4	1.8	事故死	事故死	事故死	—
	9	1.9	2.8	2.4	2.9	3.7	2.7	≤ 0.9	—	—

— : < 0.8

表2 鶏初生ひなクロアカスワブからのウイルス回収量 (logTCID₅₀/ml)

		同居後日数								
		0	1	2	3	4	5	6	7	8
接種ひな		—	—	—	—	—	—	—	—	—
Dk/HE5	同居ひな	1	—	—	—	2.7	2.1	≤ 0.9	2.1	—
	2	—	—	—	1.8	—	—	—	—	—
	3	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	4	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	5	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	6	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	7	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	8	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	9	—	—	—	—	—	—	—	—	—
接種ひな		—	—	—	—	—	—	—	—	—
Ck/HE14	同居ひな	1	—	—	—	—	—	—	—	—
	2	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	3	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	4	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	5	—	—	—	—	—	2.8	3.4	—	—
	6	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	7	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	8	—	—	—	—	—	—	事故死	事故死	事故死
	9	—	—	—	—	—	—	—	—	—

— : < 0.8

表3 HI 抗体価 (同居後8日目)

		接種ひな	≥ 256
Dk/HE5	同居ひな	1	≥ 256
		2	≥ 256
		3	≥ 256
		4	≥ 256
		5	≥ 256
		6	64
		7	≥ 256
		8	≥ 256
		9	≥ 256
		接種ひな	≥ 256
Ck/HE14	同居ひな	1	≥ 256
		2	≥ 256
		3	128
		4	128
		5	≥ 256
		6	64
		7	≥ 256
		8	2^+
		9	64

† : 同居後5日目 (事故死個体)

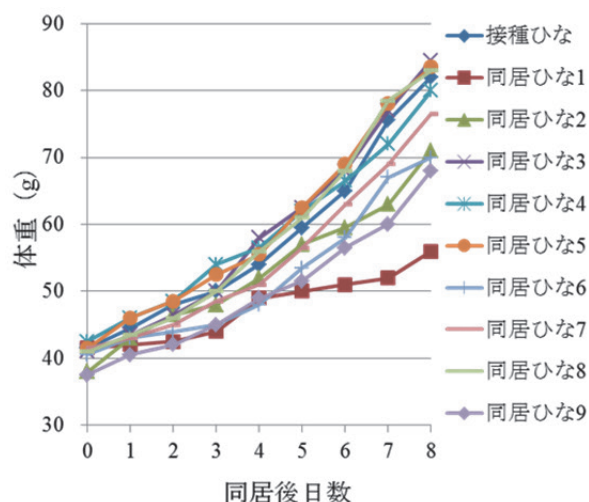


図 体重の推移 (Dk/HE5 接種群)

* Shibata A, Hiono T, Fukuhara H, Sumiyoshi R, Ohkawara A, Matsuno K, Okamatsu M, Osaka H, Sakoda Y, 2018. Isolation and characterization of avian influenza viruses from raw poultry products illegally imported to Japan by international flight passengers. Transbound Emerg Dis 65, 465-475.

【担当】 門司支所・検疫第2課 【連絡先】 電話 093-481-7335

要 約

検疫1日目の全114頭の迅速抗原検査で1頭が馬インフルエンザ（EI）陽性となり、その後急速に感染が拡大し、検疫7日目に全110頭が迅速抗原検査又は遺伝子検査陽性となった。係留を延長し、検疫21日目の遺伝子検査で全109頭の陰性及び新たに臨床症状を呈する馬がいらないことから、EIをひろげるおそれがないと判断し解放した。当該事例の発生要因等に係る科学的考察について輸入者へ説明し、それを踏まえた具体的な再発防止策が輸入者より提案された。

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。動物検疫所では、輸入肥育用馬全頭に対してEI検査を実施している。今回、鼻腔スワブに対する迅速抗原検査及び遺伝子検査によってEIを摘発し、分離ウイルスのHA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。最終的に再発防止を目的とし、得られた結果については輸入者へ情報提供を行った。

取組の内容

1. 収容日から鼻汁を呈する馬が複数頭見られ、臨床症状を呈した馬については迅速抗原検査及び遺伝子検査を随時実施し、陽性馬は他の馬から分離飼育した。検疫4日目には陽性馬が半数を超えたため、陽性を確認していない馬について順次検査を実施していき、検疫7日目に全頭の陽性を確認した（図1、図2）。
2. 係留期間中に死亡した5頭については、剖検所見、剖検時に採取した気管スワブの遺伝子検査、免疫組織化学を含む病理組織学的検査結果等からEIの関与が疑われた。
3. 分離株はフロリダ亜系統 clade 1 に属し、近年の北米分離株と近縁であった（図3）。
4. 検疫1日目及び8日目の血清の分離ウイルスに対するHI試験の結果、幾何平均抗体価（GMT）は低値で、免疫レベルの指標とされる40倍抗体保有率も低値であったが、検疫21日目では感染抗体の上昇が見られた（図4）。

考察及び今後の方針

1. 潜伏期間と分離ウイルスが近年の北米分離株と近縁であったことを考慮し、当該馬群へのウイルス感染は日本到着前の数日間であった可能性が示唆された。当該馬群については輸出国で2回のEIワクチン接種が実施されていたものの、日本到着時の群としての免疫レベルは不十分で、検疫前半に急速に感染が拡大したものと考えられた。
2. 摘発後の輸入者からの聞き取りにより、出国検疫施設は預託も受けている生産農場中に位置し、出国検疫中の馬とそれ以外の馬の防疫的な区分が不十分であった可能性が示唆されたため、防疫的区分の徹底を指導した。
3. 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付与が重要であること、免疫レベルの確認のためにはHI試験が有用であることを輸入者へ説明し、理解が得られた。その後、輸入者から日本到着前に3回のワクチン接種及びHI試験による抗体価検査の実施案が提出された。今後、動物検疫所としてもワクチン接種による抗体上昇の状況を確認するため、輸入馬の抗体保有状況調査を予定している。

具体的データ

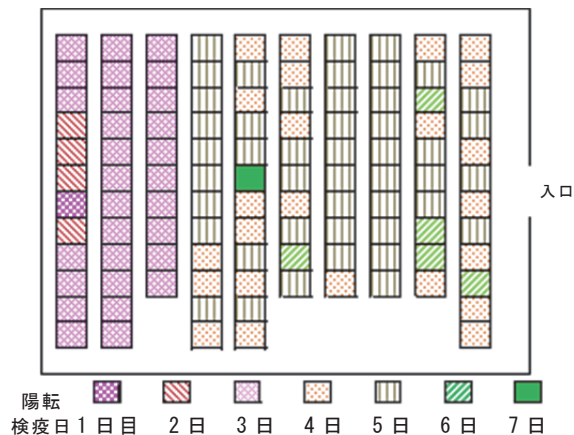


図1 検査7日目の検査畜舎のEIV陽性馬の収容状況

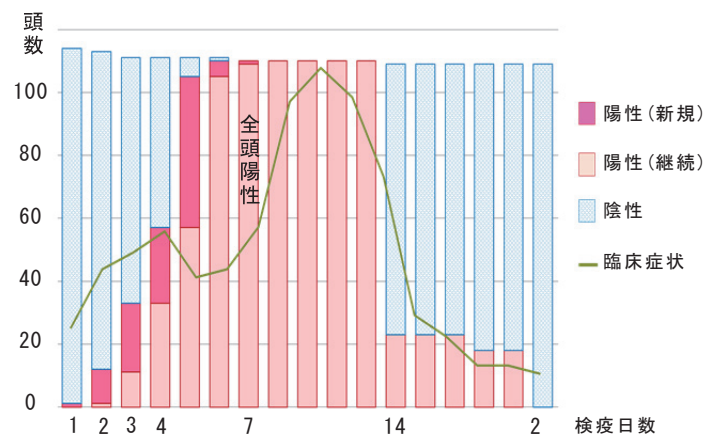


図2 EIV陽性頭数と臨床症状の推移

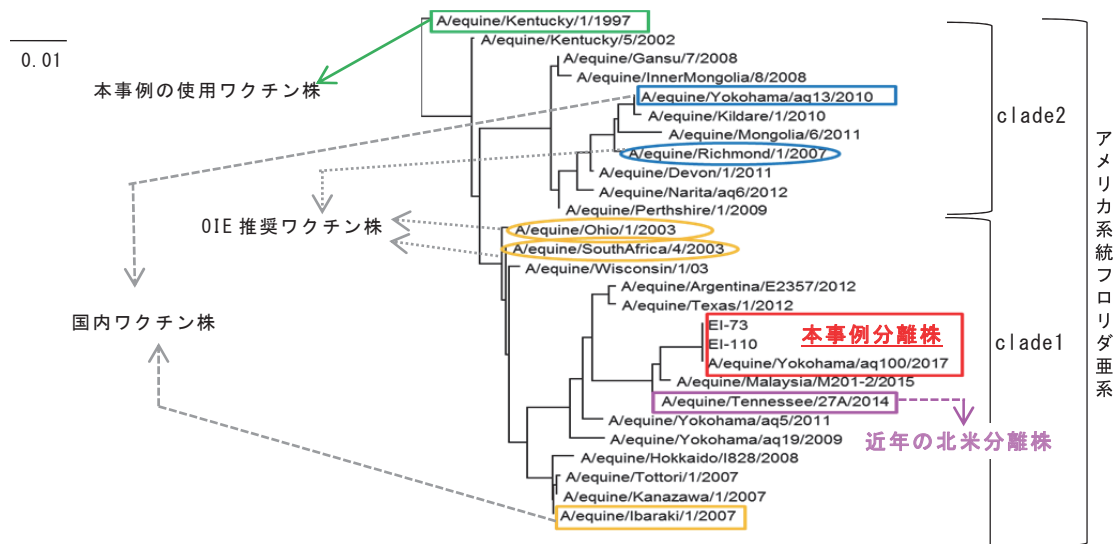
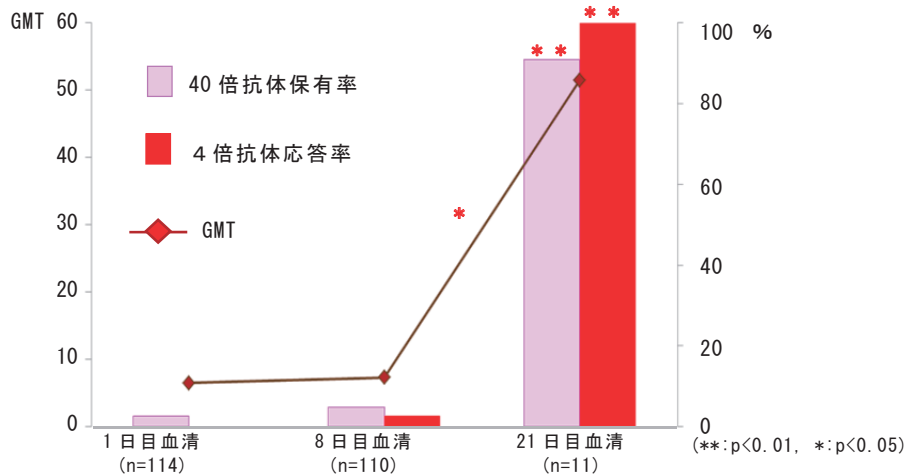


図3 分離株の分子系統樹



40倍抗体保有率: 分離株に対するHI抗体価が40倍以上の馬の割合。4倍抗体応答率: 1日目血清におけるHI抗体価から4倍以上抗体価が上昇した馬の割合。GMT: 幾何平均抗体価

図4 分離株を用いたHI試験結果

【担当】 門司支所・検疫第2課 【連絡先】 電話 093-481-7335

要 約

2017年2月に輸入された豪州産肥育用素牛で牛ウイルス性下痢ウイルス（BVDV）感染牛が摘発された。分離された BVDV は分子系統樹解析の結果、BVDV-1a 及び 1c 亜型に分類され、動物検疫所（以下、当所）で過去に分離された豪州由来株と同様に、豪州国内の BVDV 流行状況を反映しているものと思われた。

背景と目的

BVDV の遺伝子型は 1 型、2 型及び 3 型（HoBi 株様ウイルス）に大別され、1 型及び 2 型はさらに複数の亜型に分類される。BVDV は遺伝子型に加え、遺伝子亜型間でも抗原性に差があることが知られており、遺伝子亜型の決定は適切な疾病予防策を講じる上で重要であるとともに、疫学的にも有用な知見となり得る。

当所では過去にも輸入牛等から BVDV が分離される事例が散見され、1991 年～2005 年に分離された株については分子系統樹解析を行い、結果を公表している¹⁾。今般、2017 年2月に門司支所新門司検疫場にて検査を実施した豪州産肥育用素牛から BVDV が分離されたため、当所の過去の分離株とともにウイルス遺伝子の分子系統樹解析を行った。

取組の内容

1. 1991 年から 2017 年までに当所で分離された BVDV 53 株（2016 年までの分離株 44 株、2017 年分離株 9 株）について、Mahony らの方法²⁾に従い 5'-UTR 領域の RT-PCR を実施し、増幅産物のシーケンス解析後、近隣結合法による分子系統樹解析を実施した。
2. 分子系統樹解析の結果は図のとおり。2016 年までの分離株は、BVDV-1a 亜型 6 株、BVDV-1b 亜型 6 株、BVDV-1c 亜型 26 株、BVDV-1o 亜型 1 株及び BVDV-2a 亜型 5 株に分類され、2017 年の豪州産牛由来株は BVDV-1a 亜型 1 株、BVDV-1c 亜型 8 株に分類された。
3. 分離株を由来牛の輸出国別に分類すると、現在は輸入が停止されているカナダ及びアメリカ産牛では、BVDV-1a 亜型、BVDV-1b 亜型及び BVDV-2a 亜型が分離されているが、豪州産牛では、2017 年の分離株を含めこれまでに BVDV-1a 亜型及び BVDV-1c 亜型以外の株は分離されていない。
4. 豪州産牛の輸入需要は当面継続すると見込まれるが、当所においてこれまで豪州産牛から分離された BVDV 株の亜型は、既報^{2,3)}の豪州国内での流行亜型と一致しており、豪州では現在も広く BVDV-1c 亜型が分布し、一部の農場では BVDV-1a 亜型が存在していることが示唆された。

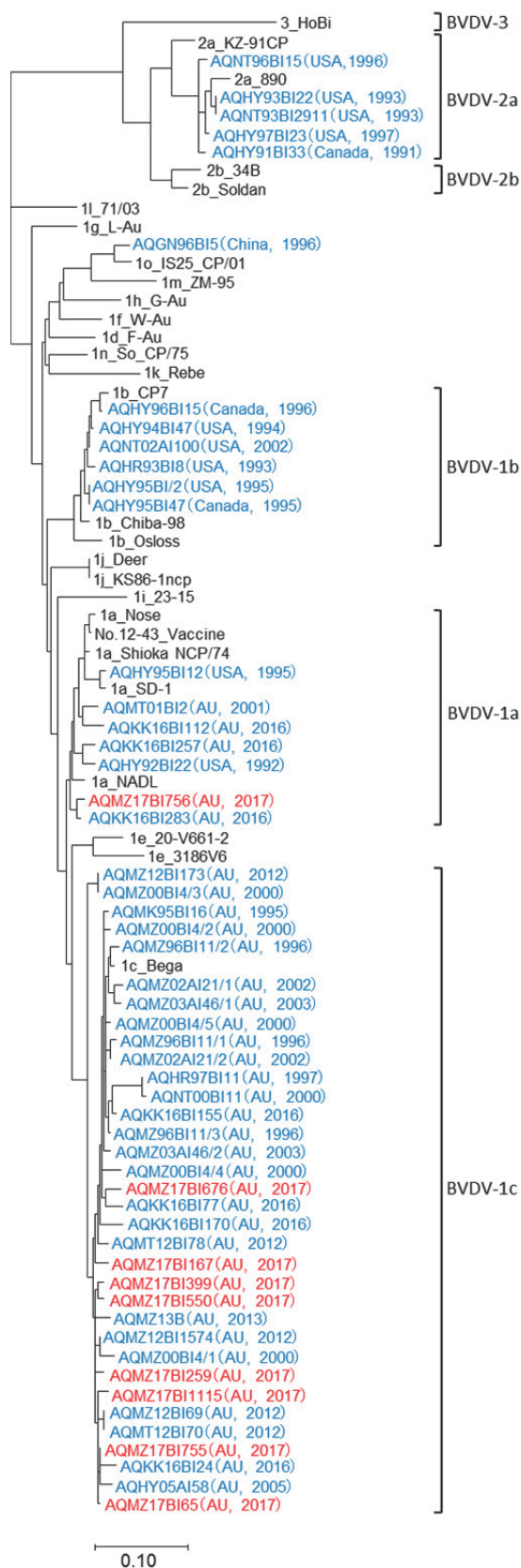
今後の方針

我が国では繁殖雌牛を中心に牛ウイルス性下痢・粘膜病（BVD-MD）の清浄化への取組がなされていることから、輸入検疫においても的確な対応を行う。また、分離ウイルスについては、これまでと同様に詳細な解析を実施し情報を集積するとともに、BVD-MD コントロールの一助となるよう関係機関に発信することとしたい。

その他

- 1) Yamamoto T, Kozasa T, Aoki H, Sekiguchi H, Morino S, Nakamura S, 2008. Genomic analyses of bovine viral diarrhea viruses isolated from cattle imported into Japan between 1991 and 2005. *Vet. Microbiol.* 127, 386-391.
- 2) Mahony TJ, McCarthy FM, Gravel JL, Corney B, Young PL and Vilcek S, 2005. Genetic analysis of bovine viral diarrhea viruses from Australia. *Vet. Microbiol.* 106, 1-6.
- 3) Ridpath JF, Fulton RW, Kirkland PD, Neill JD, 2010. Prevalence and antigenic differences observed between *Bovine viral diarrhea virus* subgenotypes isolated from cattle in Australia and feedlots in the southwestern United States. *J. Vet. Diagn. Invest.* 22, 184-191.

具体的データ



AQ から始まる株は動物検疫所分離株。
2017 年の分離株を赤文字で示す。
() 内は分離株由来牛の輸出国 (AU: オーストラリア) 及び分離年。

図 BVDV 分離株の分子系統樹

【担当】 中部空港支所・名古屋出張所、企画管理部・危機管理課

【連絡先】 電話 052-651-0334、045-751-5955

要 約

動物検疫所では、口蹄疫等の家畜伝染病発生時に、都道府県において牛、豚の埋却処理が困難な場合に備え、移動式レンダリング装置（以下「装置」という。）を中部空港支所名古屋出張所野跡検疫場に保管している。2017年10月、静岡県等が主催した防疫演習で、装置の輸送、設置・運營業者（以下「運營業者」という。）との連絡調整、装置の稼働、生成物の処理が実際に行われ、装置使用に係る問題点が洗い出された。この機会に動物検疫所においても装置の搬出入、輸送及び保管に係る課題の検討を行ったので報告する。なお、当該演習の概要については、家畜衛生週報 No.3478（2017.11.13）号を参照されたい。

背景と目的

口蹄疫等の家畜伝染病発生時には、迅速な患畜及び疑似患畜のと殺、その死体の処理等が極めて重要であり、都道府県においては埋却地の確保状況の把握に努めているところである。一方で、静岡県では地下水位が高い、岩盤等により埋却地の確保が困難な場合も想定されたため、実践的な装置の設置・運営訓練を開催することとなった。装置の稼働に当たっては、動物検疫所からの迅速な搬出対応が重要であるため、併せてその課題の整理・検討も行った。

取組の内容

1. 装置は、破碎ユニット、殺菌ユニット、製品サイロ及び加熱ユニットからなり（図1）、殺処分した家畜の死体を破碎・加熱処理（80℃、5分以上）して口蹄疫等の病原体を殺滅する。1時間当たりの処理重量は5～7t、24時間稼働すると牛（650kg）で180頭、豚（60kg）で2,000頭の処理が可能である。
2. 装置の設置・運営訓練は、運營業者の協力の下、表のスケジュールにより実施された。動物検疫所における装置の搬出入は、運營業者の助言を仰ぎ輸送業者が実施したが、作業時間は3時間30分を要した（図2）。
3. 装置の運転は、平成24年の導入後初めてとなるため、運營業者の要望で稼働訓練の前日に試験運転日を設けた。試験運転の実施により、訓練当日は予定どおりの時間帯で訓練を行うことができた。
4. 課題として明らかになったのは、①運營業者が遠方に所在するため、到着を待つと搬出作業開始が遅延したこと、②25tトレーラーの特殊車両通行許可書の取得に時間を要したこと、③装置の導入後、定期点検は毎年実施していたものの、4つのユニットを接続した稼働試験は初めてであったため、装置の調整に時間を要したことの3点で、装置の迅速な設置と稼働のため改善を要することが分かった。

今後の方針

1. 装置の搬出を迅速に行うため、運營業者及び輸送業者とともに搬出作業の手順と安全確保のために重要なポイントの確認を行い、運營業者が不在であっても関係者が密に連絡を取り搬出作業ができる体制を整えた（対応済）。
2. 特殊車両通行許可書取得が速やかに行われるよう、農林水産省と国土交通省との間で調整を行う（対応中）。
3. 装置の定期点検については、少なくとも3年に1回程度、全ユニットを接続した上で稼働確認を行う点検を実施できるよう、関係部署と調整を行う。
4. 今回の訓練で得た情報を元に、動物検疫所防疫資材管理要領等の見直しを行う。

具体的データ

表 設置・運営訓練のスケジュール

10/14 (土)・15 (日)	装置の搬出・輸送
10/16 (月)	静岡県で装置の荷卸し、組立
10/17 (火)	試験運転
10/18 (水)	稼働訓練、洗浄消毒、装置の解体
10/19 (木)	装置の解体、積み込み
10/20 (金)	装置の搬入

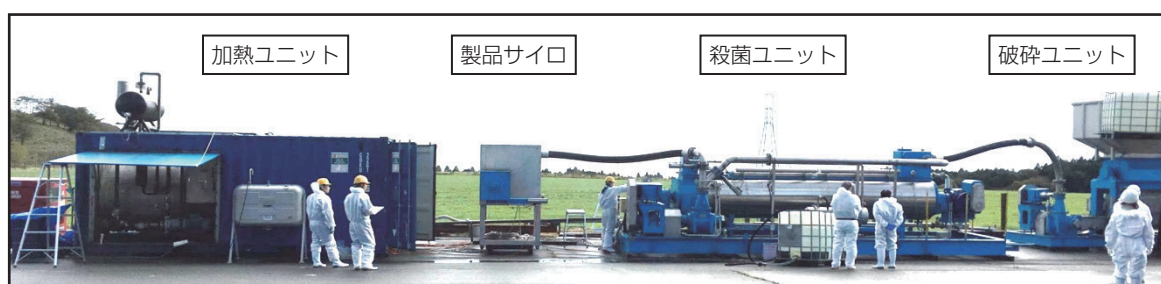


図1 装置の全体写真と構成



図2 搬出状況

a. ラフタークレーン、b. チルローラ使用、c. 殺菌ユニットの庫外搬出、d. 殺菌ユニット積み込み、e. 破碎ユニット、加熱ユニットを積載、f. 製品サイロ、投入ホッパー等を積載

【担当】 精密検査部・微生物検査課 【連絡先】 電話 045-751-5943

要 約

2016 から 2017 年度に我が国へ輸入された豚 32 ロットを対象に、メチシリン耐性黄色ブドウ球菌 (MRSA) 保有状況調査を実施した。32 ロット中 11 ロットから MRSA を 73 株分離し、このうち 17 株 (1 ～ 2 株 / ロット) について Multilocus Sequence Typing (MLST) 解析を実施したところ、全ての株が欧米で広く分布している家畜関連型 MRSA である ST398 型に分類された。

背景と目的

MRSA は主に院内感染の原因菌として人の医療分野で重要視されているが、近年、欧米で飼育されている豚から相次いで分離されており、これらの多くはゲノムタイピングの一手法である Multi Locus Sequence Typing (MLST) によって ST398 型に分類され、家畜関連型 MRSA と呼ばれている。一方、国内豚については、MRSA ST221 型、ST97 型、ST5 型の分離報告はあるが、ST398 型の浸潤状況は明らかになっていない。我が国は欧米諸国から定期的に繁殖用豚を輸入しており、輸入豚の MRSA 保有実態の把握を目的とし、昨年度より継続的に調査を実施している。

取組の内容

1. 6 か国からの輸入豚 32 ロットを対象に 1 ロット当たり 3 ～ 15 頭、計 261 頭から鼻腔スワブを採材し、調査に供した。選択培地を用いて分離した黄色ブドウ球菌 (図) のうち、mecA 遺伝子検出 PCR 陽性及び 1 濃度ディスク拡散法でセフォキシチン耐性を確認した株を MRSA と確定した。
2. 32 ロット中 11 ロットから MRSA を 73 株分離した (表 1)。
3. 分離した MRSA 73 株のうち 17 株 (1 ～ 2 株 / ロット) について MLST 解析を実施したところ、全ての株が ST398 型に分類された。
4. MRSA ST398 型と決定された全 17 株のうち 12 株について、微量液体希釈法を用いて 7 薬剤 (アンピシリン : ABPC、ストレプトマイシン : SM、ゲンタマイシン : GM、エリスロマイシン : EM、テトラサイクリン : TC、クロラムフェニコール : CP、シプロフロキサシン : CPMX) に対する薬剤感受性を調べた結果、全 12 株が ABPC、TC 耐性で一部の株は SM、EM に耐性であった。CPMX、GM、CP 耐性株はなかった (表 2)。
5. 豚への高濃度の酸化亜鉛投与と MRSA 出現との関連が一部で指摘されていることから、亜鉛耐性に関する cztC 遺伝子の保有について PCR を用いて調べたところ、cztC 遺伝子は調査した全 12 株から検出された。

今後の方針

1. 輸入者等関連業者へ情報提供を行い、MRSA への感染防止対策等を促す。
2. 薬剤耐性対策アクションプランの関係各機関へ情報提供を行い、今後も国内の動向調査と協調しながら、引き続き調査を継続する。

具体的データ



図 クロモアガー MRSA スクリーン
培地上の MRSA（藤色コロニー）

表1 MRSA 調査実施状況

輸出国	A	B	C	D	E	F	計
陽性ロット/検査ロット数	8/ 9	0/ 2	0/ 10	3/ 8	0/ 1	0/ 2	11/ 32
陽性頭数/検査頭数	53/70	0/16	0/79	17/75	0/10	0/11	70/261
分離株数	56	0	0	17	0	0	73
MLST実施株数	13			4			17
微量液体希釈法実施株数	10			2			12

表2 分離株の薬剤耐性保有状況

株No.	国	ABPC	TC	SM	GM	EM	CP	CPFX
1	A	32	64	>128	0.5	0.5	8	0.5
7		32	32	>128	0.25	0.5	8	0.25
8	D	32	64	16	0.25	0.5	8	0.5
14		32	64	16	0.5	1	16	0.12
15	A	32	32	8	0.5	>128	16	0.5
21		64	128	16	0.5	0.5	8	0.25
22		32	64	>128	0.5	0.5	8	0.5
29		64	64	8	0.5	>128	8	0.5
30		64	64	>128	1	0.5	8	0.5
37		64	128	>128	0.5	0.5	8	0.5
38		32	64	8	0.5	0.25	8	0.5
44		32	32	16	0.5	0.5	8	0.5
BP		0.5	16	64	16	8	32	4

注) 検査は CLSI 基準に準拠した微量液体希釈法により実施。
BP は各薬剤のブレイクポイント値、色付き箇所は耐性を示す。

要 約

2016 から 2017 年度に我が国へ輸入された鶏の初生ひなのうち 54 ロット（A ～ E 国産）を対象に、薬剤耐性大腸菌の保有状況調査を、また 2017 年度の 19 ロット（A ～ D 国産）を対象に、検疫期間中における大腸菌の耐性率の変化について調査を実施した。薬剤耐性大腸菌の保有状況調査では、A 国産初生ひなから、人医療でも極めて重要な抗菌薬である第三世代セファロスポリン系薬剤を含む多剤耐性大腸菌が高率に分離された。検疫期間を経過した時点での耐性率の変化については、有意な変化は認められなかった。

背景と目的

近年、薬剤耐性菌が公衆衛生上、さらには経済的にも世界で大きな問題となってきたことを受け、2015 年 WHO 総会においてグローバル・アクション・プランが採択され、加盟各国はナショナル・アクション・プランの策定を義務付けられた。これにより日本でも、2016 年に薬剤耐性アクションプランが策定され、今後、分野横断的に薬剤耐性対策に乗り出す方針が打ち出された。この枠組みにおいて、畜産分野では動向調査等を強化する旨の文言が盛り込まれた。このような国内外の情勢を踏まえ、当所では輸入家畜における薬剤耐性菌の実態把握を目的とし、2016 年度より輸入家畜の薬剤耐性菌保有動向調査を実施している。

取組の内容

1. 薬剤耐性大腸菌の保有状況調査

2016 から 2017 年度に我が国へ輸入された鶏の初生ひな 54 ロット（A ～ E 国産）の糞便（到着時に採材）から分離した大腸菌 136 株について、微量液体希釈法を用いて 12 薬剤の耐性保有状況を調査した（表 1、表 2）。その結果、A 国産肉用鶏初生ひなから、第三世代セファロスポリン系薬剤の CTX を含む多剤耐性大腸菌（3 系統以上の薬剤に耐性）が高率に分離された（表 3、表 4）。A 国産肉用鶏初生ひなは、全て同系列の農場から輸出されており、今回の調査結果は、農場の飼養状況や抗菌薬使用状況が反映されていたものと推察された。CTX を含む多剤耐性菌については、 β -ラクタム系抗菌薬を広範囲に分解することができる酵素を持つ、Extended-spectrum β -lactamase（ESBL）産生菌の可能性があると考えられた。

一方、B 国産肉用鶏初生ひなの薬剤耐性率は比較的低い傾向にあった。B 国産肉用鶏初生ひなについては、2 系列の農場から輸出されており、いずれも比較的抗菌薬投与がコントロールされた農場であることが推察された。

2. 検疫期間中における大腸菌の耐性率変化

2017 年度の 19 ロット（A ～ D 国産）について、到着時及び最終検査時にそれぞれ採材した糞便から計 90 株の大腸菌を分離し、その耐性率の変化についてカイ 2 乗検定により解析を行った結果、有意な変化は認められなかった（P 値 = 0.1799）。

抗菌薬を使用しない検疫期間中での薬剤耐性率低下を期待したが、検疫期間程度では薬剤耐性率は低下しないことが示唆された。

今後の方針

1. A 国及び B 国産肉用鶏初生ひな以外についても検査株数を増やし、さらなる調査を行う。
2. 輸入者等関連業者へ情報提供を行い、多剤耐性菌への感染防止対策等を促す。
3. 薬剤耐性対策アクションプランの関係各機関へ情報提供を行い、今後も国内の動向調査と協調しながら、引き続き輸入家畜についても調査を継続する。

具体的データ

表1 微量液体希釈法の使用薬剤及びブレイクポイント (BP)

略号	抗菌薬名	系統	BP (μg/ml)
ABPC	アンピシリン	βラクタム系(ペニシリン系)	32
CEZ	セファゾリン	第一世代セファロスポリン系	32
CTX	セフォタキシム	第三世代セファロスポリン系	4
SM	ストレプトマイシン	アミノグリシド系	32
GM	ゲンタマイシン		16
KM	カナマイシン		64
TC	テトラサイクリン	テトサライクリン系	16
NA	ナリジクス酸	キノロン系	32
CPFX	シプロフロキサシン	フルオロキノロン系	4
CL	コリスチン	ポリペプチド系	16
CP	クロラムフェニコール	クロラムフェニコール系	32
TMP	トリメトプリム	ST合剤	16

注) BP：動物由来薬剤耐性モニタリング (JVARM) で採用されている設定値を採用。

表2 大腸菌の薬剤耐性率 (%)

	検査株数	耐性株数	ABPC	CEZ	CTX	SM	GM	KM	TC	NA	CPFX	CL	CP	TMP
全体	136	67	39.0	24.3	22.8	30.9	25.7	1.5	35.3	6.6	0.0	0.0	1.5	4.4
A国	65	51	63.1	50.8	47.7	55.4	53.8	1.5	56.9	7.7	0.0	0.0	3.1	3.1
B国	49	6	10.2	0.0	0.0	4.1	0.0	2.0	6.1	0.0	0.0	0.0	0.0	2.0
C国	12	6	16.7	0.0	0.0	16.7	0.0	0.0	41.7	16.7	0.0	0.0	0.0	8.3
D国	8	3	25.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	12.5	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
E国	2	1	50.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	50.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0

注) 耐性率 (%) = (各薬剤の耐性株数 / 検査株数) × 100

検査株数 (A国：肉用由来 54 株、採卵用由来 11 株、B国及びD国：全て肉用由来、C国：肉用由来 8 株、採卵用由来 4 株、E国：全て採卵用由来)

表3 A 国産用途別薬剤耐性率 (%)

	検査 株数	耐性 株数	ABPC	CEZ	CTX	SM	GM	KM	TC	NA	CPFX	CL	CP	TMP
肉用	54	46	74.1	61.1	57.4	63.0	64.8	1.9	61.1	9.3	0.0	0.0	3.7	3.7
採卵用	11	5	9.1	0.0	0.0	18.2	0.0	0.0	36.4	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0

注) 耐性率 (%) = (各薬剤の耐性株数 / 検査株数) × 100

肉用由来の耐性株 46 株中 36 株が多剤耐性菌であり、うち 31 株が CTX を含む多剤耐性菌。

表4 A 国産肉用由来大腸菌の多剤耐性パターン (%)

ABPC CEZ CTX SM GM TC	ABPC CEZ CTX GM	ABPC CEZ CTX SM GM TC NA	ABPC CEZ CTX CP	ABPC SM GM TC	ABPC CEZ CTX SM NA TMP	ABPC CEZ SM GM TC	ABPC SM NA TMP	ABPC SM GM	SM KM NA TMP
42.6	4.1	2.7			1.4				

注) 多剤耐性パターン (%) = (各パターンの株数 / 検査株数) × 100

参 考 資 料

平成 29 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 6 頭体制における効果的な探知活動の実施	成田支所旅具検疫第 2 課
2 効率的な探知活動に向けた試み	羽田空港支所検疫課
3 中部国際空港における効果的な探知活動への取組みについて	中部空港支所検疫課
4 鹿児島空港における検疫探知犬の広報活動について	門司支所鹿児島空港出張所
5 関西空港支所における検疫探知犬を活用した広報活動（第 2 報）	関西空港支所検疫第 1 課
6 北海道・東北支所における広報活動について	北海道・東北支所検疫課
7 関西空港支所における他機関と連携した広報活動	関西空港支所検疫第 1 課
8 空港における広報活動の検証	精密検査部危険度分析課
9 水際防疫対応の合理化に向けた取組みについて	成田支所旅具検疫第 2 課
10 成田支所における乳製品の輸入検査について	成田支所貨物検査課
11 対馬における水際検疫の強化について	門司支所博多出張所
12 輸入者等の協力のもとに製造された中国産加熱処理鶏肉の SDS-PAGE について	検疫部畜産物検疫課
13 含気レトルトペットフードの無菌試験陽性事例と今後の検疫対応について	羽田空港支所東京出張所
14 境港における車両消毒の見直しについて	神戸支所岡山空港出張所
15 輸入畜産物のリスクを考慮した消毒方法の検討	精密検査部危険度分析課
16 移動式レンダリング装置の管理と搬出入について	中部空港支所名古屋出張所
17 在日米国陸軍動物病院沖縄支部との意見交換について	沖縄支所那覇空港出張所
18 小樽港における豚の不正輸入事案について	北海道・東北支所検疫課

<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 輸入初生ひなにおける薬剤耐性大腸菌保有状況調査	精密検査部微生物検査課
2 輸入豚における MRSA 保有状況調査	精密検査部微生物検査課
3 NZ 産輸入初生ひなから分離されたサルモネラ菌の性状について	検疫部動物検疫課
4 うさぎの <i>Pasteurella multocida</i> A : 11 による化膿性壊死性胸膜肺炎	成田支所動物検疫第 1 課
5 豪州産牛におけるヨーネ病摘発事例とその対応	門司支所検疫第 2 課
6 豪州産牛から分離されたヨーネ菌の VNTR 型別及び陽性個体の病変分布	門司支所検疫第 2 課
7 MGIT 培地を用いたヨーネ菌の糞便培養について	神戸支所検疫課
8 カナダ産肥育用素馬から分離された腺疫菌の SeM 遺伝子領域の分子系統樹解析	門司支所検疫第 2 課

9 輸入初生ひなの係留検査中の事故・損耗原因の調査（第2報）	精密検査部病理・理化学検査課
10 携帯品として持ち込まれた未加熱家きん肉等から分離された鳥インフルエンザウイルスの性状解析（平成28-29年度）	精密検査部海外病検査課
11 鳥インフルエンザウイルス（H9N2亜型）の初生ひなへの感染試験	精密検査部海外病検査課
12 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
13 カナダ産肥育用馬の馬インフルエンザ摘発事例～ウイルス分離及び抗体検査～	精密検査部微生物検査課
14 米国産競走用馬における馬鼻肺炎の摘発事例について	北海道・東北支所胆振分室
15 豪州産肥育用素牛におけるBVDV PI牛の摘発とウイルス遺伝子の分子系統樹解析	門司支所検疫第2課
16 BVDV PI牛に対する1c遺伝子亜型プローブを用いた <i>in situ</i> hybridization 法の検証	門司支所検疫第2課
17 BRDC病原体の網羅的遺伝子検出法の導入に係る検証	門司支所検疫第2課
18 肉製品の加熱確認法の検討	精密検査部病理・理化学検査課
19 輸入豚の損耗防止のためのストレス因子測定	精密検査部病理・理化学検査課
20 家畜生体の家畜衛生条件の制定・見直しの推進に向けた提案	精密検査部危険度分析課

<特別演題>

1 海外出張報告（FAO-APHCA/OIEのブルセラ・結核病の予防に関する地域ワークショップについて）	門司支所検疫第2課
2 第23回OIE・東南アジア及び中国における口蹄疫防疫（SEACFMD）会議への参加報告	神戸支所検疫課
3 海外出張報告（豪州におけるヨーネ病検査体制確認のための現地調査）	門司支所検疫第2課
4 英国パーブライト研究所における越境性疾病研修受講報告	精密検査部微生物検査課

<第三部門：ポスター及び誌上発表>

1 <i>Anaplasma marginale</i> 及び馬インフルエンザウイルスに対する免疫染色の検討	門司支所検疫第2課
2 携帯品で持ち込まれた非加熱肉等のモニタリング調査実施状況（第2報）	精密検査部危険度分析課
3 輸入豚由来腸内細菌におけるコリスチン耐性プラスミド遺伝子（ <i>mcr-1</i> ）保有状況調査	精密検査部微生物検査課
4 セネカバレーウイルスの免疫血清作製と中和試験系の整備（第1報）	精密検査部微生物検査課

主な外部発表業績（平成 29 年度）

平成 29 年度調査研究等外部発表の概要

演 題 名	学会・雑誌名
家畜生体の輸入リスクとリスクコミュニケーションについて	家畜衛生学会雑誌（2017）, 43(2), 60-61.
豪州における牛白血病及びヨーネ病の発生状況並びに豪州産牛の輸入に伴う疾病侵入リスクの低減	家畜診療（2017）, 64(12), 709-713.
・動物検疫所沖縄支所における留学生及びふれあい牧場を対象とした広報活動について ・輸入動物にみられたヨーネ病および馬ピロプラズマ病摘発事例	第 58 回全国家畜保健衛生業績発表会
乳・乳製品の加熱履歴確認方法の検討	日本畜産学会第 123 回大会
ホッキョクグツネの <i>Staphylococcus pseudintermedius</i> による化膿性腎炎	臨床獣医 2017 年 7 月号
実験用サルに見られた <i>Klebsiella pneumoniae</i> による化膿性髄膜炎	第 4 回日本獣医病理学専門家協会（JCVP）学術集会
Three cases of <i>Escherichia coli</i> meningitis in chicks imported to Japan (日本に輸入された鶏幼雛に見られた大腸菌による髄膜炎の 3 症例)	Avian Diseases Vol.61 p.135-138, 2017
BVDV PI 牛に対する 1 c 遺伝子型型プローブを用いた <i>in situ</i> hybridization 法の検証	第 5 回 JCVP 学術集会
輸入肥育用馬で摘発された馬インフルエンザ	平成 29 年度日本獣医師会学術学会年次大会（大分）
Isolation and characterization of avian influenza viruses from raw poultry products illegally imported to Japan by international flight passengers	Transboundary and Emerging Diseases(2018), 65(2), 465-475.
海外から持ち込まれた未加熱家きん肉等から分離された鳥インフルエンザウイルスの性状解析	第 31 回 インフルエンザ研究者交流の会シンポジウム (平成 29 年 6 月 8 日)
Survey of contamination with transboundary animal diseases viruses in livestock meat products illegally imported by flight passengers	2nd Scientific Meeting on foot-and-mouth disease between Regional Reference Laboratory for Foot and Mouth Disease in Southeast Asia and Exotic Disease Research Station, National Institute of Animal Health, NARO (平成 30 年 2 月 15 日)
定量 PCR を用いた輸入豚のサーコウイルス 2 型遺伝子量調査	日本獣医師会雑誌（2018）, 71, 135-139.

主な外部発表の要旨

家畜生体の輸入リスクとリスクコミュニケーションについて

家畜衛生学会雑誌 (2017), 43(2), 60-61.

家畜生体の輸入に伴うリスクを最小限とするために、輸入家畜が国内農場に到達するまでに三段階のリスク低減措置を経ている。まずは、二国間で取り決めた家畜衛生条件に基づく輸出国における健康畜の選査過程、次に動物検疫所での係留中の隔離観察や精密検査、さらに、都道府県の指導のもとで行われる着地検査である。これら一連のリスク低減過程で行う管理措置の選択の背景では、輸入リスク評価が行われており、輸出国の疾病発生状況や各疾病の特性等を考慮したリスク評価結果から、管理措置の必要性が示される。このたび動物検疫所では輸入時検査において精密検査対象とする疾病の選別手順を明確化した。また、疾病摘発時には、関係者間で精密検査結果を共有し、また、仕向先の飼養衛生管理状況も考慮した上で、水際と国内防疫が一体となってリスクの十分低減された家畜を輸入していくよう、都道府県や輸入者との間でリスクの相互理解を十分はかった上で検疫対応に努めていく。

Three cases of *Escherichia coli* meningitis in chicks imported to Japan (日本に輸入された鶏幼雛に見られた大腸菌による髄膜炎の3症例)

Avian Diseases (2017), 61, 135-138.

日本に輸入された鶏幼雛で検疫期間中に3症例の大腸菌症の発生が見られた。3症例はそれぞれ異なる国から輸入された幼雛で、互いに疫学的な関連は見られなかった。各発生群で数羽を病理学的、細菌学的検査に供した。3症例全てに共通する特徴的な組織所見として重度な細菌性髄膜炎が見られた。また、細菌塊を伴う心膜炎、肝被膜炎及び卵黄囊炎が見られ、病変部の菌塊は免疫組織化学的に大腸菌に対して陽性反応を示した。各症例の臓器材料から大腸菌が分離され、その内2つの分離株はO18及びO161に血清型別されたが、いずれも日本で優勢な血清型とは異なっていた。これらのことから、日本では一般的でない血清型の鶏病原性大腸菌が、感染した幼雛を介して海外から持ち込まれる可能性が示唆され、幼雛で組織学的に髄膜炎が見られた場合、類症鑑別に大腸菌症を含める必要があると考えられた。

Isolation and characterization of avian influenza viruses from raw poultry products illegally imported to Japan by international flight passengers (国際旅客により持ち込まれた未加熱家禽肉等から分離された鳥インフルエンザウイルスの性状解析)

Transboundary and Emerging Diseases (2018), 65(2), 465-475.

近年、海外から手荷物により不正に持ち込まれる畜産物の数は増加しており、汚染畜産物を介した病原体の侵入が懸念される。国際旅客により持ち込まれた未加熱家禽肉等を対象にウイルス分離による汚染状況調査を実施したところ、鶏肉及びあひる肉製品から高病原性株(H5N1亜型、H5N6亜型)を含む鳥インフルエンザウイルスが分離された。分離株はいずれも近年中国の家きんで報告される株と近縁であり、H5N1亜型、H5N6亜型分離株のHA遺伝子はクレード2.3.2.1c、クレード2.3.4.4にそれぞれ分類された。H5亜型分離株を鶏とあひるへ接種したところ、骨格筋を含む主要臓器からウイルスが回収され、鶏は3日以内に死亡したが、あひるでは症状を示さないまま生残した。汚染家禽肉を介したウイルスの拡散防止には、水際検疫だけでなく、感染家きんの摘発淘汰が重要となる。

定量PCRを用いた輸入豚のサーコウイルス2型遺伝子量調査

日本獣医師会雑誌 (2018), 71, 135-139.

2013年に特定の農場から輸入され、豚サーコウイルス2型(PCV2)感染が疑われた豚112頭について、リアルタイムPCR法により血清中PCV2遺伝子量を測定し、豚サーコウイルス関連疾病(PCVAD)のリスクを評価した。これらの豚全頭は、輸出国でPCV2ワクチンが接種されていたが、輸出のおよそ1ヶ月前に様々な週齢(4~11週齢)で接種されており、効果が得られているか不明であった。結果、112頭中84頭でPCV2遺伝子の増幅を認め、陽性豚の遺伝子量は $10^3 \sim 10^8$ copies/ml、幾何平均遺伝子量は 6.0×10^4 copies/mlであった。当該農場からは血中PCV2遺伝子量が高くなる10~15週齢頃の豚の輸入が多く認められたものの、全体としてPCVADのリスクは抑制されていることが推察された。

2018年9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/)