

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

調 査 研 究

業 績 集 Vol.4

平成30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御理解と御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.4をお届けします。

昨年、国内での豚コレラの26年ぶりの発生、中国を始め近隣国でのアフリカ豚コレラの発生・急速な拡大など動物検疫をめぐる情勢はたいへん厳しいものとなっています。動物検疫所では、アフリカ豚コレラなど越境性動物疾病を我が国に侵入させないため、家畜防疫官の増員、検疫探知犬の増頭、罰則の適用の厳格化、SNSなどを通じた事前型広報の強化など様々な水際対策の強化に職員が一丸となって取り組んでいるところです。

国の検査指導機関である動物検疫所は、所内に品質管理部門を設置し、検査の信頼性確保の向上に努め、新たに1つの検査室でISO/IEC17025を取得し5つの検査室で認定を受けるなど内部及び外部精度管理などに取り組んでいます。

また、我々が拠り所とする法律、指針、要項要領が、必ずしも科学的根拠に基づいたものとは限りません。リスクアナリシスの枠組みから考えれば、リスク管理機関として、関係機関の御協力をいただきながら、我々の検疫措置、リスク管理措置が適切か、最新の科学的な知見に照らして問題のないものか、さらには効率的かなどを常にモニタリングする必要があります。

我々が輸入を禁止している生肉やソーセージなどに本当に病原体が潜んでいるのか、空海港に設置している靴底消毒マットの効果があるのかなど、こうした検証は我々の防疫措置の科学的な裏付けとなる大切な取組です。

こうした調査研究の取組により、例えば、持込みが禁止されている鶏肉等から高病原性鳥インフルエンザウイルスが検出されました。本年1月には、違法に持ち込まれた豚肉製品から生きたアフリカ豚コレラウイルスが検出され、世界でも珍しい事例となりました。

鳥インフルエンザウイルスに限らず、分離されたウイルスは国内のワクチンの元株や、ワクチンの効果及び検査の検証に使用されるなど、我々の成果が国内外の家畜衛生や公衆衛生など広い分野で役立っているものもあります。さらに喜ばしいことは、こうした調査研究の中から平成30年度日本獣医師会獣医学術奨励賞をいただきました。

一方、輸入者の御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、いわゆるレギュラトリーサイエンスは、今後も益々重要になると考えています。今回の調査研究業績集が、生産者、家畜衛生担当者、国内外の研究機関を始め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いたします。

令和元年11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30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. ゴルフシューズを介した口蹄疫ウイルスの国内侵入リスク評価	1
2. 輸入畜産物の外装汚染モデル作製	3
3. 肉製品の加熱確認方法（カタラーゼ試験）の検討	5
4. 携帯品として持ち込まれた豚肉等のアフリカ豚コレラウイルス汚染状況調査	7
5. 携帯品非加熱家畜産物から分離された鳥インフルエンザウイルスの性状解析（続報）	9
6. 携帯品として持ち込まれた非加熱肉等のモニタリング調査実施状況	11
7. セネカバレーウイルス（SVV）中和試験の整備	13
8. 輸入肥育用素馬における馬インフルエンザ（EI）に対するワクチン効果の検証	15
9. 豪州産肥育用素牛における <i>Anaplasma marginale</i> 摘発事例	17
10. 輸入初生ひなから分離された多剤耐性大腸菌について	19
11. 輸入動物における薬剤耐性菌保有状況調査（2018年度）	21
12. 輸入カニクイザルにおける結核の集団発生事例 （平成30年度日本獣医師会獣医学術学会年次大会 獣医学術奨励賞受賞）	23
13. 春節期間中における旅客携帯品に対する動物検疫の強化について （取組と効果）	25

【参考資料】

平成30年度動物検疫所業績発表会 発表演題	29
主な外部発表業績（平成30年度）	31

要 約

ゴルフシューズを介して口蹄疫ウイルス（FMDV）が国内へ侵入するリスクを調査するため、3つのモデル実験を実施した。モデル実験ではFMDVの代替として馬鼻炎Aウイルス（ERAV）を使用した。実験の結果、日照環境下ではERAVは1日で感染性を失うこと、汚染糞便が靴底に付着した場合でも30分程度の乾燥によってERAVは速やかに死滅することを確認した。以上より、ゴルフシューズを介したFMDVの国内侵入リスクは極めて低いと推定される。本結果を基に、旅具検査での効率的な消毒法の検討を進めたい。

背景と目的

海外から入国する旅客の携帯品（服飾品を含む）は、家畜の伝染性疾病の病原体侵入リスクの一つと考えられ、空港において靴底消毒等の様々な水際対策を実施中である。今回、入国者が持ち込むゴルフシューズに着目し、ゴルフシューズを介してFMDVが国内へ侵入するリスクを調査するため、以下3つのモデル実験を実施した。モデル実験ではFMDVの代替としてERAVを使用した。FMDVとERAVは同程度の酸感受性を示す。

取組の内容

- 実験1：口蹄疫発生国のゴルフ場を想定し、日照環境下における糞便中のFMDVの生存日数を調査した。豚糞便をPBSで希釈してERAV培養液と等量混合し、ERAV入り豚糞便液を作製後、1.5ml容チューブに分注し、実験室内で太陽光の当たる窓際に0～14日間静置した。静置後0～4、7、14日目に遺伝子検査とウイルス力価を測定したところ、時間経過で遺伝子量は大きく低下し、静置後1日でウイルスは死滅した（表1）。
- 実験2：発生国より帰国中のシューズバック内を想定し、室温・暗所下における靴底に付着した糞便中のFMDVの生存日数を調査した。実験1で使用したERAV入り豚糞便液を、靴底に見立てたゴム板へ塗布して乾燥させ、室温・暗所下で0～3日間静置。24時間ごとにゴム板をPBSに浸漬し、PBSの遠心上清を回収して遺伝子検査とウイルス力価を測定した。結果、実験期間中にゴム板から回収できる遺伝子量に大きな変化はなく、静置直後（0日目）でウイルスは既に死滅していた（表2）。
- 実験3：国内ゴルフ場を想定し、汚染糞便の付着した靴底で二次汚染された日照環境下地面におけるFMDVの生存日数を調査した。ゴム板にERAV入り豚糞便液を塗布して乾燥させた後、ゴム板を湿潤ガーゼの上に敷いた土に押し当て、糞便が付着した靴底が地面を踏む動作を再現し、実験室内で太陽光の当たる窓際に0～4日間静置した。24時間ごとに土を回収してPBSに浸漬し、その遠心上清で遺伝子検査を実施したところ、実験期間中に回収したいずれの検体でも遺伝子は検出されなかった。

今後の方針

今回実施した3つのモデル実験の結果から、以下の知見が得られた。

- 実験1：ゴルフ場にFMDVに感染した野生動物の糞便が排泄された場合でも、熱や紫外線に暴露される日照環境下では、排泄後1日でFMDVは感染性を失う可能性が高く、落下糞便が感染源となる可能性は非常に低い。なお、FMDVは酸感受性であるが、今回は糞便pHについて検証していない。
- 実験2、3：汚染された糞便が靴底に付着した場合でも、30分程度の乾燥によってFMDVは速やかに死滅すると推定。旅客が持ち込むゴルフシューズに付着したFMDVが感染性を有した状態で日本に持ち込まれる可能性は極めて低い。したがって、靴底に付着した糞便が国内ゴルフ場に脱落しても、土壌を介して野生動物等へ伝搬するリスクは非常に低い。

以上より、ゴルフシューズを介したFMDVの国内侵入リスクは極めて低いと推定される。旅具検査でのゴルフシューズの消毒は、乾燥していないドロドロの糞や土等が付着して極度に汚れている場合はリスクが高いものとして消毒を徹底する等、効率的な実施を検討したい。

具体的データ

表 1 実験1の結果

	0日目	1日後	2日後	3日後	4日後	7日後	14日後
遺伝子量	100%	48.7%	19.8%	10.0%	0%	0%	0%
ウイルス力価 (TCID ₅₀ /50μl)	10 ^{2.5}	<10 ^{-0.5}					

表 2 実験2の結果

	0日目	1日後	2日後	3日後
遺伝子量	100%	74.3%	38.3%	57.8%
ウイルス力価 (TCID ₅₀ /50μl)	<10 ^{-0.5}			

表 1、2は静置日数ごとの検体中の遺伝子量（※1）とウイルス力価（※2）を記載。

- ※1 遺伝子量は0日目を100%とし、静置後の遺伝子量を0日目と比較した割合で表記。
リアルタイムPCRのCt値は理論上、遺伝子量が2倍になると1.0減少する。表の遺伝子量は0日目のCt値と静置後1～4、7、14日目のCt値との差を取り、遺伝子量の減少率から概算した値。
- ※2 実験に使用したERAV培養液のウイルス力価は10⁴TCID₅₀/50μlであり、2倍希釈（等量混合）後の力価は理論上10^{3.7}TCID₅₀/50μlとなる。しかしながら、実際には0日目でウイルス力価は10^{2.5}TCID₅₀/50μl（理論値の1/16量）にまで減っており、糞便液と混和した直後からERAの死滅が始まったと推測される。

要 約

畜産物の消毒に関して科学的根拠に基づくリスク学的見直しが検討されている。外装消毒のリスク学的見直しに資するため、3つの外装汚染モデルを作製し、汚染指標の検討を実施した。その結果、血液・肉・大腸菌・鳥インフルエンザウイルス（AIV）は輸入畜産物の外装の汚染指標になることが示唆された。

背景と目的

毛、羽毛、皮等の消毒は輸入畜産物の消毒基準（56動検甲第902号）に基づき実施されているが、施行後30年以上が経過しており、科学的根拠に基づくリスク学的見直しが検討されている。そこで、当課では外装消毒のリスク学的見直しに資するため、3つの外装汚染モデルを作製し、汚染指標の検出方法を検討した。また、汚染指標として適した期間検出できるかどうかを確認するために、塗布乾燥した汚染指標の検出日数を調査した。

材料と方法

1. モデルⅠ：動物による汚染のモデル（汚染指標：血液・肉）
家畜（牛・豚・鶏）の血液及び肉汁希釈物を滅菌ガーゼに塗布し、明所と暗所に静置した。約14日間隔で70日目までガーゼを回収し、PBS浸漬後にDNAの抽出、動物種鑑別PCRを実施して、動物種特異遺伝子の検出を試みた。
2. モデルⅡ：糞便による汚染のモデル（汚染指標：大腸菌）
大腸菌培養液を滅菌ガーゼに塗布し、暗所に静置した。約7日間隔で107日目までガーゼを回収し、チオグリコレート培地に接種を行い、35℃48時間の培養を実施した。
3. モデルⅢ：病原体による汚染のモデル（汚染指標：AIV）
AIV感染発育鶏卵の乳剤を滅菌ガーゼに塗布し、暗所に静置した。塗布0～4日目までガーゼを回収し、PBS浸漬後に遠心上清を発育鶏卵3個に接種し、35℃48時間以上の培養によるウイルス分離を試みた。ウイルスの生存性は赤血球凝集試験で確認した。AIV遺伝子検出は、約7日間隔で70日目までガーゼを回収し、PBS浸漬後にRNAの抽出、rRT-PCRを実施した。

結果と考察

1. モデルⅠ：家畜の動物種特異遺伝子は、血液で暗所静置の場合、全ての動物種で14日目まで検出された。肉汁では、豚・鶏で暗所静置の場合70日目まで検出された（表1）。
2. モデルⅡ：大腸菌は、99日目まで菌分離陽性となった。
3. モデルⅢ：AIVは、塗布2日目まで分離され、遺伝子は70日目まで検出された（表2）。

3つのモデル実験より、血液・肉・糞便・AIVは輸入畜産物の外装の汚染指標になることが示唆された。輸入検査時にこれらの指標を検出することにより、暗所であるコンテナ内の貨物外装の汚染有無を確認することが可能と判断した。

今後の方針

今後、口蹄疫ウイルス（FMDV）のモデルとして使われる馬鼻炎Aウイルスを用いて病原体による汚染のモデル実験を行うことで、現在は検疫対象ではない飼料原料等のFMDV遺伝子を指標としたFMDV汚染の確認に応用できる。さらに、馬鼻炎Aウイルスを用いたモデル実験を実施して乾燥状態でのウイルス生存日数を把握することができれば、飼料原料等を介したFMDVの侵入リスクを評価する基礎データとしても活用可能と考える。

具体的データ

表1 動物種特異遺伝子の検出日数

		明所					
塗布乳剤	動物種	0day	14day	28day	42day	56day	70day
血液	牛	+	—	—	NT	NT	NT
	豚	+	—	—	NT	NT	NT
	鶏	+	—	—	NT	NT	NT
肉汁	牛	±	—	±	—	NT	NT
	豚	+	+	+	±	±	—
	鶏	+	+	+	+	+	+

		暗所					
塗布乳剤	動物種	0day	14day	28day	42day	56day	70day
血液	牛	+	+	±	—	NT	NT
	豚	+	+	+	—	NT	NT
	鶏	+	±	—	—	NT	NT
肉汁	牛	±	—	—	NT	NT	NT
	豚	+	±	+	±	±	±
	鶏	+	+	+	+	+	+

+ : バンドが明瞭なもの ± : バンドがわずかに認められるもの
 — : バンドがみえないもの NT : 実施せず

表2 AIV感染発育鶏卵乳剤塗布ガーゼのウイルス分離及び遺伝子検出結果

塗布ガーゼ	0day	1day	2day	3day	4day
rRT-PCR(CT値)	13.9357	13.6162	15.8415	20.8727	17.5661
ウイルス分離(1代目)	NT	× 64 >	× 64 >	× 1	× 1 <
(2代目)	NT	NT	NT	× 1 <	× 1 <
判定	NT	+	+	—	—

塗布ガーゼ	21day	30day	35day	42day	70day
rRT-PCR(CT値)	26.0618	24.846	23.3934	25.18	27.5223
ウイルス分離(1代目)	NT				
(2代目)					
判定					

+ : 1代目及び2代目でウイルス分離ができたもの
 — : 2代目までウイルス分離ができなかったもの
 NT : 実施せず

要 約

肉製品の加熱確認検査は、SDS-ポリアクリルアミドゲル電気泳動（以下SDS-PAGE）を採用しているが、手順が煩雑で判定までに長時間を要する。本研究では酵素の一種であるカタラーゼに着目し、手順が簡便かつ短時間で判定が可能な加熱確認方法を検討した。

背景と目的

家畜の悪性伝染病の発生地域から肉製品を輸入する場合には、農林水産大臣が指定した施設において、ウイルスを不活化するための70℃ 1分間以上等の加熱処理を行うことが求められている。動物検疫所の輸入検査ではSDS-PAGEにより加熱履歴を確認しているが、検査手順が煩雑で判定までに長時間を要する。一方、カタラーゼ試験は多くの生物に広く存在している熱により失活する酵素カタラーゼを検出する方法で、検体に過酸化水素を滴下し、泡の発生の有無を目視で判定する短時間で簡便な方法であることから、本試験が加熱履歴の検査に利用可能か検討した。

取組の内容

- 市販されている牛、豚、鶏肉から作製した乳剤上清を用いて以下の検討を行った。
 - 3畜種、53検体について1分間加熱した際のカタラーゼ失活温度を各種検体で複数回調べた（表1）。肝臓を除き、畜種ごとに部位や検体間で顕著な差はなかった。
 - （1）の温度より低温で長時間加熱した際の活性を確認し、図1の基準で判定した（表2）。低温、長時間の加熱でカタラーゼが失活することを確認した。
 - カタラーゼは、凍結融解により失活するといわれていることから、凍結融解の影響を確認するため、3、5、10回凍結融解した検体を調べた（表3）。カタラーゼの失活はなかった。
- 海外からの輸入品及び不合格品を用いてカタラーゼ試験を実施した。
 - 輸入加熱処理肉等を供試し99%の検体で陰性を確認した。
 - 生肉を含む様々な畜産物が含まれている動物検疫不合格品（旅客放棄携帯品）を供試し、カタラーゼ陽性となった検体を70℃ 1分間加熱したところ、97%の検体でカタラーゼ陰性となった。

今後の方針

カタラーゼ試験は、70℃ 1分間の加熱を正確に判断できる検査方法ではなかったが、カタラーゼ陽性である場合には加熱不十分の可能性が高いことが示唆された。今後、より簡単な方法として乳剤ではなく、切り分けた肉片を用いた場合に検査が可能かを検証する予定である。

具体的データ

表1 検体ごとのカタラーゼ失活温度（℃）

動物種	産地 (国)	検体部位 種類	第1検体	第2検体	第3検体	まとめ
牛	日本	ホホ	70-71	68	70-71	68-71
		モモ	65	64	64-66	64-66
		心臓	66-67	67-68		66-68
		カタ	65-68	67-69		65-69
	アメリカ	モモ	65-67	65-66		65-67
豚	日本	カタ	70	67-68		67-70
		心臓	73-74	69-70	68-69	68-74
		ヒレ	67-69	67-68	67-68	67-69
		ロース	68-71	67-68	67-68	67-71
		バラ	68-70	68-69	67-69	67-70
		カタ	67-69	68	67-68	67-69
	アメリカ	モモ	67	66-67		66-67
		ロース	67-69			67-69
		バラ	67-69			67-69
	カナダ	ロース	67-68			67-68
		バラ	68-69			68-69
鶏	日本	心臓	71-72	70-71	69-70	69-72
		肝臓	82-86	83	82-84	82-86
		モモ	70-71	70-71	70-71	70-71
		ムネ	71	71	70-71	70-71
		ササミ	70-71	70-72	70-71	70-72
	ブラジル	モモ	70-71	70-71	70-72	70-72

失活温度：同一検体について3回以上検査を行い、標記の温度内での失活を確認した。

第1～3検体：同一産地及び部位に対して、個体間での検証を行うため、できるだけ同じ部位を2回以上購入して比較した。

まとめ：第1～第3検体の失活温度を合計した。

検体の作成方法：肉と滅菌蒸留水を等量混合し、遠心分離上清をフィルター濾過した。

表2 低温長時間加熱でのカタラーゼ活性

検体	失活温度 (℃)	加熱温度 (℃)	検査回数	加熱時間（分）									
				1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
牛モモ	65-67	56	1回目	++	++	+	+	+	+	+	+	+	+
			2回目	++	++	++	++	++	++	+	+	+	+
		61	1回目	+	+	±	±	±	±	-	-	-	-
			2回目	+	+	+	±	±	±	±	-	-	-
豚モモ	66-67	57	1回目	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++
			2回目	++	++	++	++	++	++	++	++	++	+
		62	1回目	++	+	±	±	±	±	-	-	-	-
			2回目	++	+	±	±	±	±	±	±	-	-
鶏モモ	70-72	60	1回目	++	+	+	+	+	+	+	+	±	±
			2回目	++	++	++	++	+	+	+	+	+	+
		65	1回目	++	+	+	+	+	±	±	±	±	-
			2回目	++	++	+	+	+	+	+	±	±	±

失活温度より約5℃、10℃低い温度で1～10分間加熱した。同一検体を用いて2回ずつ検査を行った。

表3 凍結融解後のカタラーゼ活性

		凍結融解回数		
		3	5	10
牛	モモ	+	++	+
豚	心臓	+++	+++	+++
	ヒレ	++	++	+++
鶏	心臓	++	++	++
	モモ	++	+	+

泡の量	記号	泡の量	記号
	+++		±
	++		— (泡0～5)
	+		

図1 判定基準

発生した泡の量に応じて判定記号を利用した。

【担当】 精密検査部・病理・理化学検査課 【連絡先】 電話 045-751-5947

要 約

2016年9月から2019年3月31日までに、12か国・1地域（表1）から持ち込まれた豚肉及びその加工品（豚肉等）403検体についてアフリカ豚コレラウイルス（ASFV）の遺伝子検査を実施したところ、中国及びベトナムから日本に持ち込まれた豚肉等16検体についてASFV遺伝子が検出（図1）され、うち中国から持ち込まれた2検体から感染性を有するASFVが分離された。今後も調査を継続し、調査結果を積極的に公表することで、ASFVの国内侵入に対する危機意識の共有を図る。

背景と目的

アフリカ豚コレラ（ASF）は豚やいのししが発症し、発熱や全身の出血性病変を特徴とする致死率の高い伝染病である。ASFの発生はアフリカ諸国に局限していたが、2007年にコーカサス地方及びロシアに侵入し、以降、東欧各国で発生が続き、2018年8月には中国で発生が報告された。その後、モンゴル、ベトナム、カンボジアと感染が拡大しており、我が国への侵入も強く懸念される。我が国へのASFV侵入リスクについて評価するため、旅客の手荷物として持ち込まれた豚肉等について、ASFV汚染状況調査を実施した。

取組の内容

2016年9月から2019年3月31日までに、12か国・1地域（表1）から持ち込まれた豚肉等403検体について、以下の1～3の方法で実施した。

1. 遺伝子検査：検体2gをPBSで5倍希釈乳剤とし、市販キットを用いてDNAを抽出後、PCR又はリアルタイムPCRを実施した。
2. シークエンス解析：ASFV遺伝子が検出された検体について、ダイレクトシークエンス法による塩基配列解析を実施し、既報の塩基配列情報と比較した。
3. ウイルス分離：ASFV遺伝子が検出された検体について、動物衛生研究部門越境性感染症研究領域海外病ユニットに依頼し、ウイルス分離を実施した。

調査の結果、2018年10月以降に中国及びベトナムから日本に持ち込まれた豚肉等16検体についてASFVの遺伝子を検出した（図1）。塩基配列解析の結果、いずれもVP72領域205bpの比較で2018年中国分離株と100%の相同性を示した。うち、中国から持ち込まれた2検体で感染性を有するASFVが分離された。

今後の方針

2018年10月以降、旅客の携帯品豚肉等から継続的にASFV遺伝子が検出されている。中国から持ち込まれた豚肉ソーセージからは、家畜に感染性を有するASFVが分離されており、ASFVの国内侵入リスクは非常に高まっている。今後も本調査を継続的に実施し、広く国民に対しASFVの侵入に対する危機意識の共有を図る。

具体的データ

表1 豚肉等持込由来国・地域

アジア										ヨーロッパ			合計
CN	VN	KR	PH	TW	TH	MM	MY	MN	SG	RU	PL	LT	
273	43	26	14	10	7	3	1	1	1	16	4	4	403

表は持込由来国・地域別の遺伝子検査実施検体数を表記。国コードは以下のとおり。

CN：中国、VN：ベトナム、KR：韓国、PH：フィリピン、TW：台湾、TH：タイ、
MM：ミャンマー、MY：マレーシア、MN：モンゴル、SG：シンガポール、RU：ロシア、
PL：ポーランド、LT：リトアニア

※ 調査開始当初、対象国を絞らずに生肉を中心として1か月あたり10件の検査を実施していたが、2018年に中国でASFの発生が確認されて以降、加工の程度に拘わらず中国から持ち込まれた肉等を中心に、1週間あたり10件の検査を実施した。その後、東アジアにおけるASF発生拡大に併せて調査対象国を拡げた。

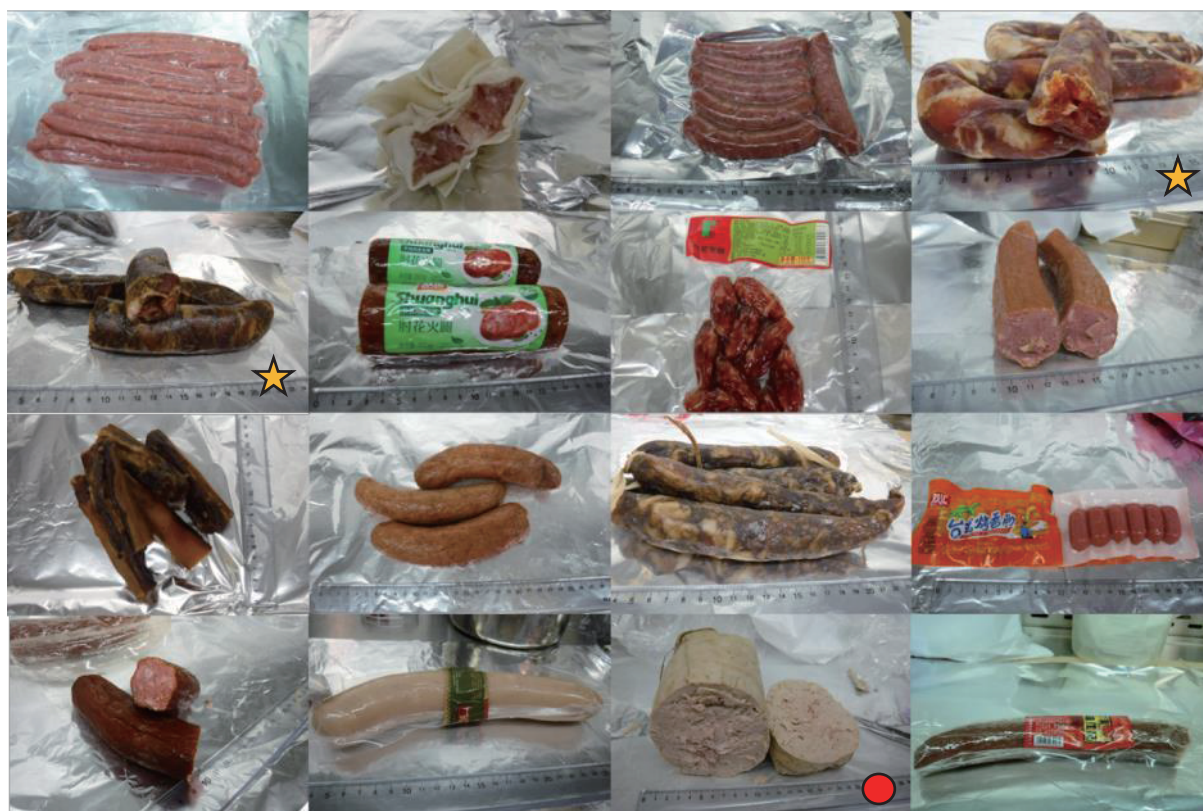


図1 ASFV遺伝子検出検体写真

写真は2016年9月から2019年3月31日までに回収し、ASFVの遺伝子検査の結果陽性となった16検体。全てVP72領域205bpの比較で2018年中国分離株と100%の相同性。

※ 写真右下に星印があるものはウイルス分離陽性検体

※ 写真右下に丸印があるものはVNから持ち込まれた検体（その他は全てCN）

要 約

2018年3月に中国旅客携帯品として持ち込まれた非加熱家きん畜産物からH7N3亜型高病原性鳥インフルエンザウイルス（HPAIV）が分離され、遺伝子解析から中国H7N9亜型HPAIVとHxN3亜型鳥インフルエンザウイルス（AIV）の遺伝子再集合により生じた株であることが示唆された。交差HI試験から、抗原性は中国H7N9亜型低病原性鳥インフルエンザウイルス（LPAIV）と異なり、中国H7N9亜型HPAIVと比較的近いことが示唆された。鶏に対する病原性はこれまでの中国H7N9亜型HPAIVより高いことが示唆された。

背景と目的

全国の空海港に携帯品として持ち込まれた非加熱家きん畜産物を対象に2015年度よりAIV汚染状況調査を実施し、2018年2月までに中国、ベトナム、台湾から持ち込まれた家きん畜産物からHPAIVを含む16株のAIVが分離されている。本調査は空海港における家畜防疫官による旅客への口頭質問や検疫探知犬活動の対象便の絞り込み等の検疫業務の効率化に寄与し、旅客への注意喚起や関係機関と連携した水際対策を実施する際の重要な科学的根拠となる。また、分離株は現行の診断法やワクチンの評価・改良に利用されている。本報告では継続調査における分離状況と中国旅客により持ち込まれた畜産物から分離されたH7N3亜型HPAIVの性状解析の概要について報告する。

取組の内容

1. 2018年3月から2019年3月までに空海港に持ち込まれた家きん畜産物102検体を対象にウイルス分離を実施し、中国から携帯品で持ち込まれたバリケン産物2検体からH7N3亜型1株、H5N6亜型1株（解析継続中）、ベトナムから携帯品で持ち込まれた鶏産物1検体からH5N2亜型1株、H9N2亜型1株が分離された（表1）。
2. 遺伝子系統解析から、H7N3亜型分離株（Dk/HE30-1）（accession no. LC416563-70）のHA遺伝子は、中国Yangtze River Delta（YRD）系統中国H7N9亜型HPAIVのクレードに分類され（図1）、NA遺伝子は中国家きん等で報告されているHxN3亜型株のクレードに分類された（図2）。Dk/HE30-1は中国H7N9亜型株とHxN3亜型株の遺伝子再集合により生じた株であることが示唆された。
3. Dk/HE30-1のHA蛋白開裂部位のアミノ酸配列では、これまでに中国H7N9亜型HPAIVで報告されるモチーフPEVPRKRTAR/GLFとは異なり、下線部アミノ酸のリシン（K）がアルギニン（R）に変異していた。
4. A/mallard/Netherlands/12/2000（H7N3）（野鳥由来H7N3亜型株）、A/Anhui/1/2013（H7N9）（中国H7N9亜型LPAIV代表株）、A/Guangdong/17SF003/2016（H7N9）（中国H7N9亜型HPAIV代表株）のフェレット免疫血清を用いた交差HI試験から、Dk/HE-30-1の抗原性は野鳥由来H7N3亜型株やYRD系統H7N9亜型LPAIVとは異なり、YRD系統H7N9亜型HPAIVと抗原性が比較的近いことが示唆された（表2）。
5. 6週齢の鶏10羽を用いたDk/HE-30-1の静脈内接種試験では、24時間以内に9羽が死亡し、残り1羽も48時間以内に死亡した。OIEマニュアルに基づく静脈内接種病原性指数（IVPI）は2.99となり、2017年に本調査で分離した中国H7N9亜型HPAIV（Dk/HE29-22）のIVPI（2.88）と比較し、鶏に対する病原性が高いことが示唆された。
6. これまでの調査でH7N9亜型HPAIVはあひるに対しては病原性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から、Dk/HE30-1が分離されたバリケンについても、感染後無症状のまま経過し、と殺された可能性がある。こうした症状を示さない家きん類を由来とする畜産物の取扱いには特に注意を払う必要がある。

今後の方針

1. 今後も畜産物の汚染状況調査を継続し、汚染畜産物を保有する高リスク者の分析、旅客への注意喚起、探知犬業務、関係機関への不正持込み防止要請等に活用する。
2. 分離ウイルスは公衆衛生及び家畜衛生分野等の関係研究機関へ分与を行うことで、検査体制整備やワクチン評価等への効果的な活用を図る。

具体的データ

表1 分離されたAIV

搭載地域	家きん種	株名
蘭州/上海 (中国)	<i>Cairina moschata</i>	A/duck/Japan/AQ-HE30-1/2018 (H7N3)
福州 (中国)	<i>Cairina moschata</i>	A/muscovy duck/Japan/AQ-HE30-77/2018 (H5N6)
ハノイ (ベトナム)	<i>Gallus gallus</i>	A/chicken/Japan/AQ-HE30-35C1/2018 (H5N2) A/chicken/Japan/AQ-HE30-35C2/2018 (H9N2)

表2 H7亜型ウイルス交差HI試験

株名	系統	免疫血清		
		Ma/NL12	Anhui1	GD17SF003
A/mallard/Netherlands/12/2000 (H7N3)	-	320	40	320
A/Anhui/1/2013 (H7N9)	-	160	160	160
A/Guangdong/17SF003/2016 (H7N9)	YRD HPAI	20	10	160
A/duck/Japan/AQ-HE28-3/2016 (H7N9)	YRD	80	160	640
A/duck/Japan/AQ-HE29-22/2017 (H7N9)	YRD HPAI	20	20	160
A/duck/Japan/AQ-HE29-52/2017 (H7N9)	YRD HPAI	20	20	160
A/duck/Japan/AQ-HE30-1/2018 (H7N3)	YRD HPAI	10	<10	40

下線部はホモ抗体価

H7HA 遺伝子

※ 黄色: Dk/HE30-1
※ 赤字: 高病原性株

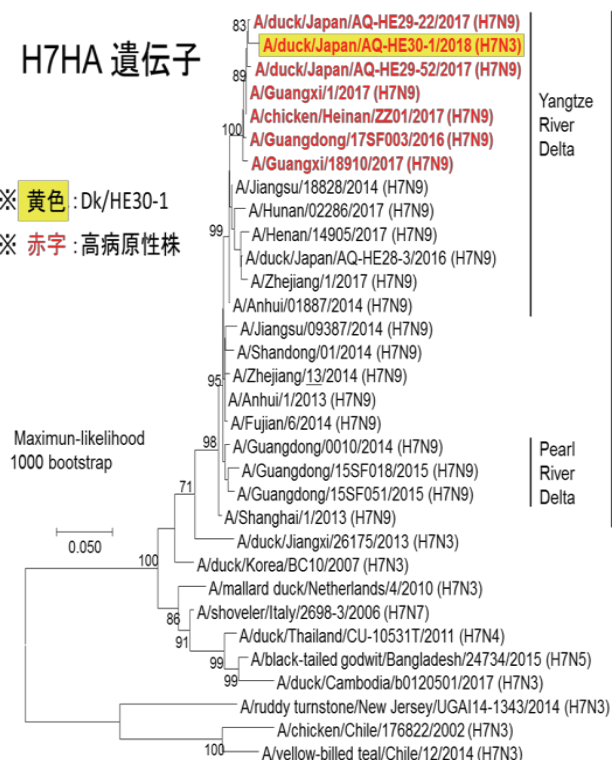


図1 H7HA遺伝子系統樹

N3NA 遺伝子

※ 黄色: Dk/HE30-1
※ 赤字: 高病原性株

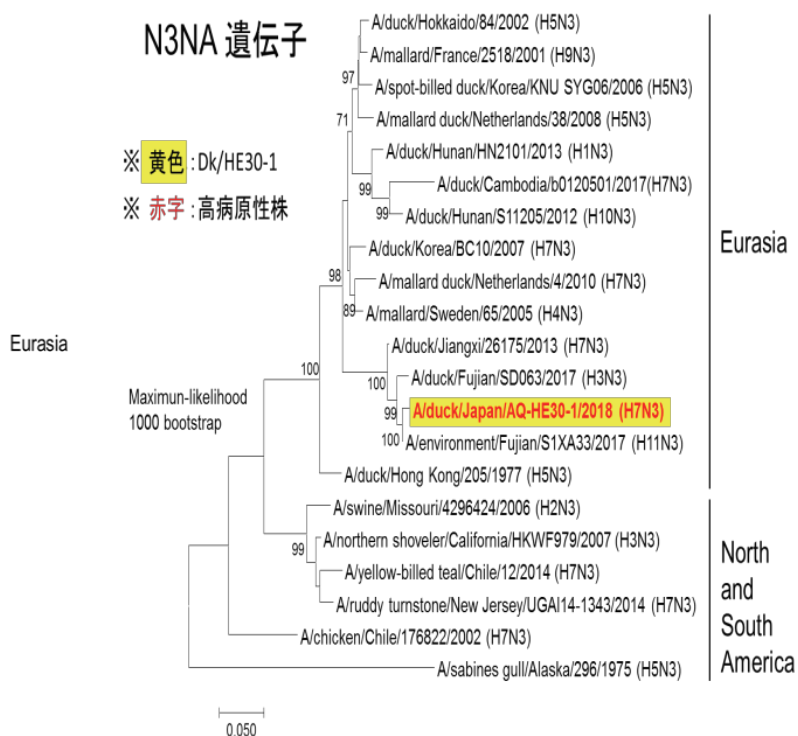


図2 N3NA遺伝子系統樹

要 約

旅客の手荷物として持ち込まれた非加熱肉等を検体とし、精密検査を実施したところ、アフリカ豚コレラ（ASF）、鳥インフルエンザ（AI）のウイルスが分離された。また、ウイルスは分離されないものの、ASFウイルスの遺伝子断片が検出されたものがあった。これらの入手先の多くは中国であり、中国国内のスーパーでの購入（豚肉等）、裏庭での飼養（鶏肉等）によるものが多くを占めていた。

背景と目的

旅客の手荷物として持ち込まれる非加熱肉等について、口蹄疫（FMD）、ASF、AI等の越境性動物疾病のウイルス汚染状況を把握し、関係各者への積極的な広報活動に活用するとともに、検体に付随する情報（製品情報、所有者情報等）を分析し、より効果的な旅客の手荷物検査体制を検討することを目的として、当該調査を行っている。

材料と方法

2017年4月から2019年3月31日までに旅客の手荷物として持ち込まれた非加熱肉等を対象に、精密検査と検体に付随する情報収集を行った。精密検査として、偶蹄類肉等はPCRを実施し、陽性時には動物衛生研究部門越境性感染症研究領域海外病ユニットにウイルス分離を依頼、また、鶏肉等は発育鶏卵接種によりウイルス分離を実施し、陽性時には亜型の特定等の性状確認を行った。さらに、検体に付随する情報として、仕出国、入手先、入国目的等を収集し、その状況を分析した。

結果

1. 偶蹄類肉等は375検体の精密検査を実施し、中国及びベトナムの豚肉等16検体からASFV遺伝子が検出され、うち2検体でウイルスが分離された*¹。
2. 鶏肉等は182検体の精密検査を実施し、中国及びベトナムの鶏肉等7検体からAIウイルスが分離された。
3. 1によりウイルス分離又は遺伝子が検出された16検体の仕出国の内訳は、中国15検体、ベトナム1検体であった。入手先の情報が得られた10検体のうち、中国国内のスーパーで購入したものが9検体であった（表1）。
4. 2によりウイルスが検出された7検体の仕出国の内訳は、中国4検体、台湾2検体、ベトナム1検体であった。入手先の情報が得られた3検体は全て裏庭での飼養に由来するものであった（表2）。
5. 調査の結果は、訪日旅客への広報や関係機関への協力等に活用されている（図1）。

*¹ 携帯品として持ち込まれた豚肉等のアフリカ豚コレラウイルス汚染状況調査（本業績集p.7-p.8）参照

考察

我が国への侵入を特に警戒しているASFについては、中国国内の市販品からも検出されていることから、ASF発生国からの訪日旅客に対する水際対策の徹底が必要である。また、これらの情報を訪日旅客や畜産関係者に広く共有することで、危機意識の共有を図り、肉等の持込み防止や越境性動物疾病の発生防止に繋げることが重要である。

具体的データ

表1 豚肉等の陽性検体に係る付随情報

品目	仕出国	搭載地	検出ウイルス 特異遺伝子	国籍	入国目的	入手経路
ソーセージ	中国	北京	ASFV	日本以外	不明	不明
豚肉製品	中国	上海	ASFV	日本以外	日本在住	贈答
ソーセージ	中国	大連	ASFV	日本以外	不明	不明
ソーセージ	中国	上海	ASFV*2	日本以外	研修	スーパー
ソーセージ	中国	青島	ASFV*2	日本以外	日本在住	スーパー
ソーセージ	中国	瀋陽	ASFV	日本以外	日本在住	スーパー
ソーセージ	中国	上海	ASFV	日本以外	日本在住	不明
ソーセージ	中国	延吉	ASFV	日本以外	知人訪問	スーパー
豚肉（燻製）	中国	北京	ASFV	日本以外	日本在住	不明
ソーセージ	中国	青島	ASFV	日本以外	不明	スーパー
ソーセージ	中国	青島	ASFV	日本以外	不明	不明
ソーセージ	中国	杭州	ASFV	日本以外	観光	スーパー
ソーセージ	上海	岡山	ASFV	日本以外	日本在住	スーパー
ソーセージ	中国	瀋陽	ASFV	日本以外	知人訪問	スーパー
豚肉製品	ベトナム	ハノイ	ASFV	日本以外	不明	不明
ソーセージ	中国	上海	ASFV	日本以外	観光	スーパー

*2 ウイルス分離陽性事例

表2 鶏肉等の陽性検体に係る付随情報

品目	仕出国	搭載地	分離ウ イルス	国籍	入国目的	入手経路
あひる肉	中国	福州	AIV	日本以外	知人訪問	自家飼養
あひる肉	中国	福州	AIV	日本以外	日本在住	自家飼養
あひる肉	中国	上海	AIV	日本以外	日本在住	不明
あひる肉	台湾	台北	AIV	日本以外	不明	不明
鶏肉	台湾	台北	AIV	日本以外	日本在住	不明
鶏肉	ベトナム	ハノイ	AIV	日本以外	不明	不明
あひる肉	中国	福州	AIV	日本以外	知人訪問	自家飼養

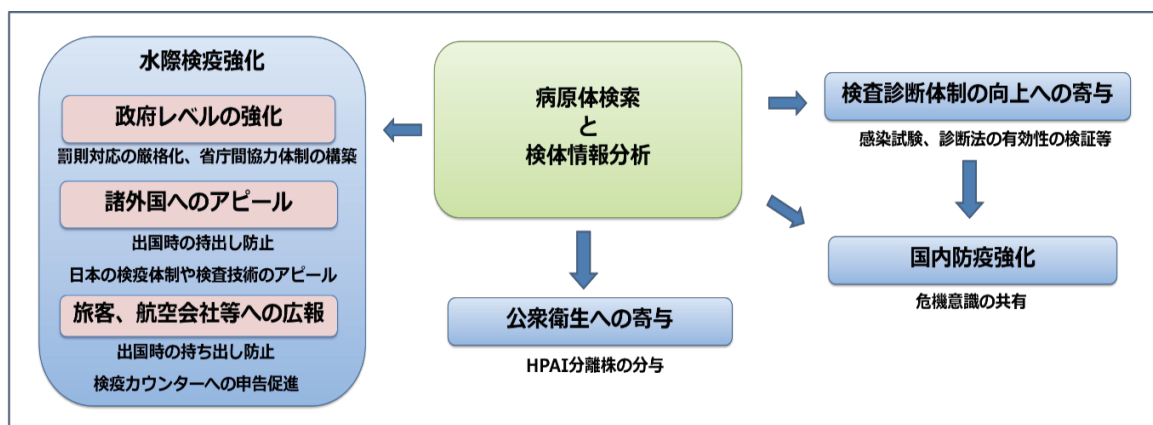


図1 調査結果の活用

要 約

SVVの中和試験を整備した。中和試験に必要なSVV参照陽性血清（PS）は市販品がないため、ウサギに不活化したSVV（不活化抗原）を接種して免疫血清を作製し、検証を行った。併せて、不活化抗原作製手順及び免疫血清作製の基礎手順を検討した。

背景と目的

SVVは血清型が単一で口蹄疫ウイルス（FMDV）と同じピコルナウイルス科に属し、豚に感染し、鼻鏡、口腔及び蹄冠部に水疱を形成する。豚では当初、北米及びブラジルで報告され、現在は中国やタイでも確認されており、口蹄疫等の水疱性疾患と類似の症状を示すため、類症鑑別上、重要な疾患として近年注目されている。

取組の内容

1. 中和試験の整備：SVVはATCCよりSVV/PTA-5343株を導入した。豚血清を検体とするため、細胞毒性を考慮し、豚由来細胞のうち株化豚精細胞（ST）を選択した。中和試験のプロトコルは農研機構動物衛生研究部門（動衛研）のFMDV中和試験を参考に作成した（図1）。
2. 不活化抗原の作製：中和試験で使用するSTへの細胞毒性を抑えるため、豚細胞ではないVero細胞ky-5で抗原を作製した。SVV増殖後の上清を2%binary ethylenimine（BEI）で不活化し、100Kアミコンを用いて濃縮した。不活化の確認後、不活化抗原として使用した（図2）。
3. 免疫血清の作製：不活化抗原の筋肉内投与（i.m.）で基礎免疫したウサギ3羽（A、B、C）を用い、追加免疫の接種経路及び接種量を検証し、静脈内投与（i.v.）を選択した（図3）。更に、基礎免疫済みのウサギAを用いてi.v.後の免疫血清回収時期を検討した。i.v.後5～14日に採材した血清の中和抗体（NA）価は接種後5日目が最も高かった（図4）。基礎免疫済みのウサギにi.v.で追加免疫し、接種後5日目に全血清を回収した。
4. 免疫血清の検証：回収した血清のSVV中和試験のNA価は幾何平均1：608～1：724で、口蹄疫、豚水疱病及び水疱性口炎中和試験では1：2未満であった。また、他の複数のSVV株を用いたSVV中和試験でも、1：362～1：512と十分なNA価を示したことから、SVV中和試験のPSとして使用可能と判断した。

今後の方針

SVV中和試験の整備により、輸入豚群のスクリーニング検査や抗体保有調査、SVV感染豚摘発時の抗体価測定等が可能となった。また、今回整備した不活化抗原及び免疫血清の作製手順は、検査試薬の自作や検証に応用可能と考えている。

具体的データ

【材料】

細胞	ST
ウイルス	SVV/PK-15-2
希釈液 細胞浮遊液	EMEM (L-Glutamine/2mM、 Sodium Pyruvate/1mM、非必須 アミノ酸/1%) 10%FBS、 1%重曹 (7.5%NaHCO ₃)

【手順】

- 1 被検血清 150μL を 56°C 30 分非働化する
- 2 非働化済み被検血清を 2 倍段階希釈する
- 3 各希釈血清 50μL とウイルス液 50μL を 96well 平底プレートで混和する
(各希釈段階 2well ずつ実施)
- 4 37°C、5%CO₂ 下で 60 分感作させる
- 5 10⁵～10⁶ 個/mL の細胞浮遊液 100μL/well を添加する
- 6 37°C、5%CO₂ 下で 3 日間培養し、CPE を観察する

【判定】

CPE を抑制した well を抗体陽性とし、Spearman-Kärber 法により NA 価を算出する

図1 SVV中和試験プロトコル
動衛研のFMDV中和試験を参考とした。

Vero 細胞 ky-5 で SVV を 2 代以上増殖
培養上清を回収 (10⁷TCID₅₀/100μL)

- ↓ 4°C、3000rpm、15 分遠心分離
- 2%binary ethylenimine (BEI) を 1:10 添加
- ↓ 室温、24 時間攪拌 (不活化処理)
- 20%チオ硫酸ナトリウムを 1:10 添加
- ↓ 室温、20 分攪拌 (不活化停止処理)
- 100K アミコンに回収
- ↓ 4°C、3000rpm、20 分遠心 (限外ろ過濃縮)
- 上清回収 (約 500 倍に濃縮)
- ↓
- シートさせた ST に接種
- ↓ 37°C、5%CO₂ で 3 日間培養
- CPE が出現しないことを確認
(不活化の確認)

不活化抗原

図2 不活化抗原作製手順

NA価

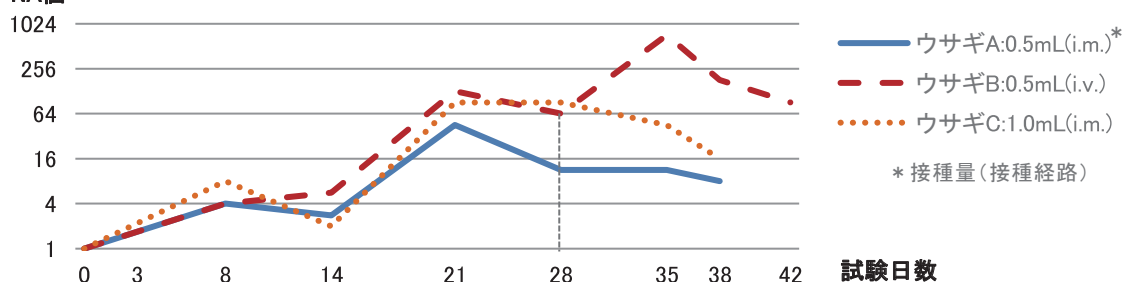


図3 ウサギA、B、CのNA価の推移

28日目で追加免疫を実施した。追加免疫後、i.v.を実施したBで最高 1:724のNA価を示し、i.m.を実施したA及びCではNA価が上昇しなかった。

NA価

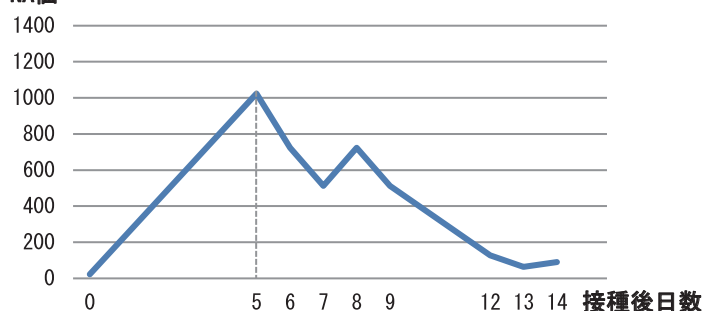


図4 ウサギAのi.v.後のNA価の推移
基礎免疫済みのAに0.5mLの不活化抗原をi.v.し、接種後5～14日でNA価を測定した。NA価は接種後5日目が最も高かった。

【担当】 精密検査部・微生物検査課、門司支所・検疫第2課 【連絡先】 電話 045-751-5943、093-481-7335

要 約

2017年度の輸入肥育用素馬における2度のEI摘発を受け、家畜衛生条件として求めているEIワクチンの効果検証を実施した。その結果、個体レベルの有効抗体価の獲得に寄与する要因は年齢及び最終ワクチン接種日から輸入検査材料採取までの日数であることが推測されたが、群レベルの比較ではその他要因の関与も示唆されたことから、ワクチン接種歴など、更なる情報を活用した分析が必要と考えられた。

背景と目的

肥育用素馬の輸出国であるカナダ及びフランスに対し、日本は家畜衛生条件でEIワクチン接種を求めている。しかし、2017年度にカナダ産馬で2度EIが摘発された際には、いずれも同一ロット内で多くの馬が感染防御に十分なワクチン抗体価を有していなかった。これを受け、ワクチン接種状況及び輸入時の抗体保有状況を調査し、群レベルで有効な抗体価が維持されているかの確認（実態調査）及び有効な抗体価の保有に寄与する要因の解析（要因解析）を実施した。

取組の内容

1. 【実態調査】2018年4～11月に入検した肥育用素馬26ロット2,781頭（カナダ産22ロット2,391頭、フランス産4ロット390頭）の日本到着後初回採材血清を用いて、赤血球凝集抑制（HI）試験を実施し、HI抗体価を測定した。主に輸入されるカナダ産馬で、75%以上の個体が有効抗体価を保有していたロットは41%（9ロット）だった。
2. 【要因解析（個体）】輸入者・仕出農場・輸出馬（年齢、性別）及びワクチン（種類、接種回数、接種方法、最終ワクチン接種日から輸入検査材料採取までの日数）を、発症防御に有効なHI抗体価（1:40以上）の獲得に影響を与える要因とした。探索的解析の結果、カナダ産・フランス産ともに、輸入者・仕出農場・輸出馬の年齢及び採材までの日数に一定の傾向が見られた（図1、2、表）。有意な要因となっている可能性のある年齢及び採材までの日数に対し統計学的検定を実施した結果、低い年齢層の有効抗体価保有率及び抗体価が有意に低かったが、採材の20日以内でワクチン接種された個体の有効抗体価保有率及び抗体価が有意に高く、年齢別に比較しても同様の傾向であった（図3）。
3. 【要因解析（群）】個体の抗体価獲得に影響を与えていると考えられた採材までの日数で比較した結果、同日数で採材したロット間でも抗体価獲得率に高低がある例もあり、他の要因の関与が示唆された。
4. 本検証では、直近のワクチン接種歴しか得られていないことからワクチンの接種回数については評価できず、群として比較した場合においても、上記以外の要因が抗体価獲得率に関与している可能性が否定できなかったため、輸出馬群の飼養状況、EIワクチン接種履歴等を詳細に収集した上で更なる分析を実施していくことが必要と考えられた。
5. なお、ワクチン接種方法の検討や輸出国での事前検査の実施など、輸入者の自主的な協力のもとで改善が図られている。

今後の方針

本調査結果を肥育用素馬が入検する検疫場や輸入者に情報提供するとともに、引き続き輸入者の協力のもと情報を収集し、ワクチン効果の検証結果を踏まえ、ワクチンの最適な接種方法を指導することとしたい。

具体的データ

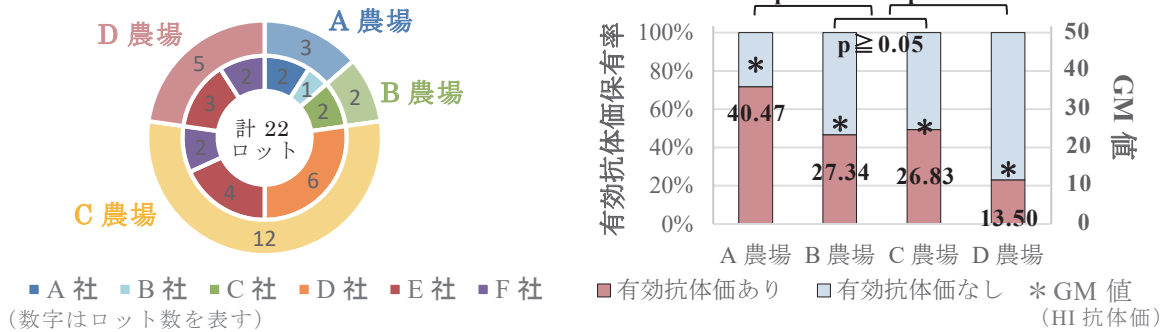


図2 農場における馬の有効抗体価保有率及びGM値

注：カナダ産馬は4農場から輸入されており、各農場由来馬の有効抗体価保有率及び抗体価にはA農場とB・C農場間、B・C農場とD農場間で有意差がみられた。

表 カナダ産ロットの農場データ

	輸出直前のワクチン接種方法			
仕出農場	種類	回数	採材までの日数(d)	輸出馬の年齢 (1歳の割合(%))
A 農場	Fluvac	2 回	11	1～14 歳(3.8)
B 農場	Fluvac 4	2 回	30	1～17 歳(0.9)
C 農場	Fluvac・Calvenza	2～3 回	10～108	1～15 歳(68.7)
D 農場	Fluvac	単回	22～32	1～8 歳(66.2)

注：輸出検査証明書に記載されているデータを示したもの。農場により、輸出馬に占める1歳齢馬の割合及び採材までの日数に特徴がみられた。

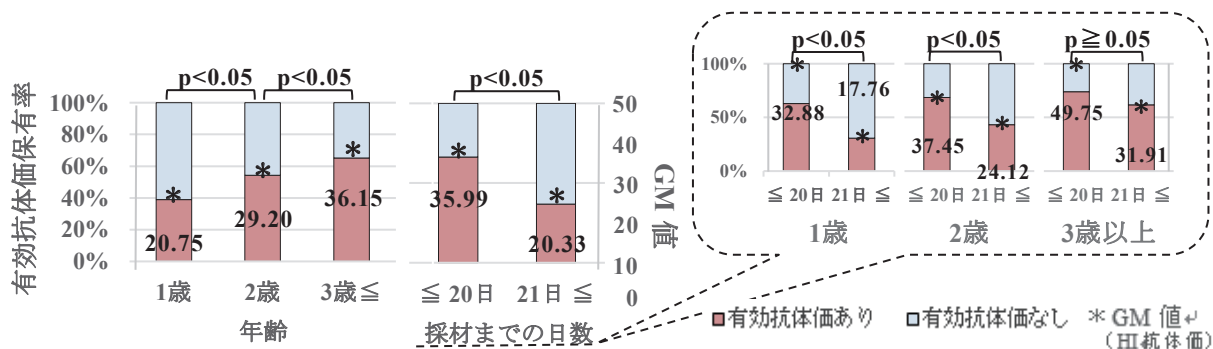


図3 年齢及び採材までの日数に対する有効抗体価保有率

要 約

門司支所新門司検疫場で係留検査を実施した豪州産肥育用素牛について、*Anaplasma marginale* (Am) の遺伝子検査で陽性牛1頭を摘発した。当該牛は末梢血の血液塗抹標本の鏡検でAmは確認されなかったものの、抗体検査(CF)で陽性であった。さらに臓器の遺伝子検査及び免疫染色で陽性であった。豪州において本病の発生がないとされる地域で生産、飼育された牛群から、輸入検疫において本病が摘発された事例であった。

背景と目的

Amは主にダニによって媒介され、牛、鹿等の赤血球に感染し、本病は日本では家畜伝染病に指定されている。現在、我が国は本病の清浄国であるが、豪州においては一部地域で発生が確認されている。動物検疫所ではリスク分析の手法を用いて、実施する検査項目を決定しており、肥育用牛については抽出により本病の遺伝子検査を実施している。今回、無作為に抽出した220頭の末梢血に対する遺伝子検査で、Am陽性牛が1頭摘発された。

取組の内容

1. 摘発牛はAmの遺伝子検査で陽性が確認されたため、他の牛から隔離後、外部寄生虫駆除薬をプアオン法により投与し、経日的に採血を実施した。摘発牛から経日的に採取した全ての血液及び脾臓からAmの特異遺伝子が検出された(表)。検出遺伝子の塩基配列解析において、データベース上のAm登録株と高い相同性を示すことが確認された。前後血清ともCF試験は陽性であり、脾臓に対する免疫組織化学では、赤血球内でAmに対する陽性反応が確認された(図1)。一方、血液塗抹標本の鏡検でAmは確認されず、血液検査値及び臨床所見に異常は認められなかった。
2. 本病の遺伝子検査陽性を受け、摘発牛以外の全頭の遺伝子検査を実施し、陰性であったこと及び血液塗抹標本の鏡検で陰性で、検疫期間中本病に関係する臨床症状を示さなかったことから、外部寄生虫駆除薬をプアオン法により投与した上で解放した。

考察及び今後の方針

1. Amが若齢牛に感染した場合、不顕性キャリアとなる傾向がある。本事例の摘発牛も若齢であったことから感染耐過し、血液塗抹標本の鏡検ではAmは確認されず、血液検査値及び臨床所見に異常は認められなかったものと考えられた。Amの発生がないとされる地域に由来する牛群から本病が摘発された原因は、人的要因等によって偶発・限局的に媒介ダニが非発生地域に持ち込まれた、あるいは、直近の豪州によるサーベイランスが媒介ダニの生息域の変化を捉えられていなかった可能性が考えられた(図2)。
2. 本事例について、豪州政府に情報提供するとともに、豪州における生産州ごとのAm発生状況を考慮し、遺伝子検査を実施する対象牛の抽出方法等について再検討している。

具体的データ

表 摘発牛の各種検査結果

採血日	rPCR	nestedPCR	塩基配列解析	CF	塗抹鏡検	血球計算
検疫 2 日目	+	+	高い相同性	×20	—	正常値
検疫 6 日目	+	NT	NT	NT	—	正常値
検疫 10 日目	+	NT	NT	NT	—	正常値
検疫 14 日目	+	NT	NT	NT	—	正常値
検疫 16 日目	+※	+	NT	×40	—	正常値

＋：陽性 ー：陰性 NT:未検査

※血液及び脾臓乳剤

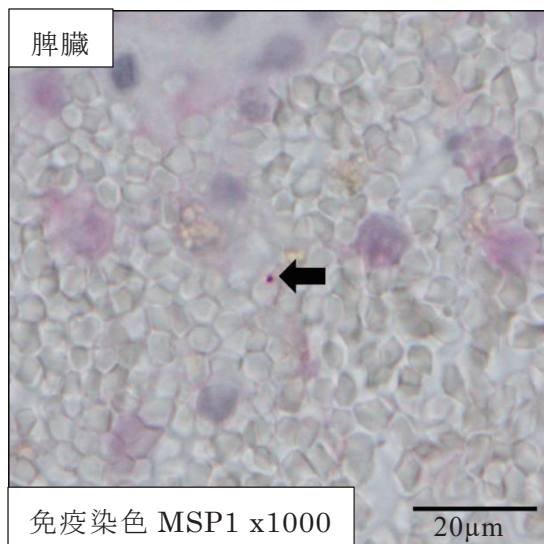


図1 脾臓の免疫染色
(矢印：赤血球内陽性反応)



図2 クイーンズランド州における
アナプラズマ病の地域区分
※本事例の生産農場は本病発生地域との境界
周辺に所在

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

要 約

2016～2017年度に我が国へ輸入された鶏の初生ひなのうち69ロット（A～F国産）を対象に、薬剤耐性大腸菌の保有状況調査を実施した結果、A国産初生ひなから、人医療で極めて重要な抗菌薬である第3世代セファロスポリン系薬剤に耐性を示すAmpC型 β ラクタマーゼ産生性の多剤耐性大腸菌が高率に分離された。

背景と目的

薬剤耐性菌に対する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。その調査の一つとして実施している輸入初生ひなにおける薬剤耐性大腸菌保有状況調査において、第3世代セファロスポリン系薬剤に耐性を示す多剤耐性大腸菌が分離された。第3世代セファロスポリン系薬剤は、人医療で極めて重要な抗菌薬であり、我が国の薬剤耐性対策アクションプランには、動物分野（牛、豚、鶏）の成果目標として耐性率軽減が挙げられていることから、本分離株について、さらなる検証のため鑑別試験を行った。

取組の内容

1. 薬剤感受性試験

2016～2017年度に我が国へ輸入された鶏初生ひな69ロット（A～F国産）の糞便から分離した大腸菌164株について、微量液体希釈法を用いて12抗菌薬の耐性保有状況を調査した（表1）。その結果、35株が第3世代セファロスポリン系薬剤のCTXを含む複数の薬剤に耐性を示し、34株がA国産肉用、1株がA国産採卵用由来であった（表2、3）。

2. CTX耐性を含む多剤耐性菌の鑑別試験

分離された35株について、AmpC/ESBL鑑別ディスク（関東化学）を用いて β ラクタマーゼタイプの鑑別を行った結果、35株全てがAmpC型 β ラクタマーゼ産生菌であった。さらに、PCR法を用いてAmpC型 β ラクタマーゼ産生をコードする代表的な耐性遺伝子であるCITの検出を行った結果、肉用初生ひな由来の34株でCITが検出された。AmpC型 β ラクタマーゼ産生遺伝子は、プラスミド上の複数の薬剤耐性遺伝子と同時に伝達されることが多く、 β ラクタム系薬以外の抗菌薬に対しても耐性を示すという多くの報告がある。このようにプラスミド上に耐性遺伝子が存在すると、細菌の接合により、菌種を越えて、耐性遺伝子がすばやく伝達されるため問題となる。

今後の方針

1. 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。
2. 本分離株の耐性遺伝子について、さらなる検証を行う。

具体的データ

表1 微量液体希釈法の使用抗菌薬

略号	抗菌薬名	系統	BP ^{注)} (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1世代セファロsporin系	32
CTX	セフトキシム	第3世代セファロsporin系	4
SM	ストレプトマイシン	アミノグリコシド系	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) ブレイクポイント (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した。BP以上の株を、耐性ありとした。

表2 多剤耐性大腸菌の国別分離状況 (多剤耐性株数/分離株数)

輸出国	A	B	C	D	E	F
2016 年度	28/41	1/41		0/4	0/2	
2017 年度	15/35	1/17	2/12	0/4	0/4	2/4
合計	43/76	2/58	2/12	0/8	0/6	2/4

表3 多剤耐性パターン (株数)

薬剤名 輸出国 用途		ABPC	ABPC	ABPC	ABPC	ABPC	ABPC	ABPC	ABPC	ABPC	ABPC	ABPC	ABPC
		CEZ	CEZ	CEZ	CEZ	CEZ	SM	CEZ	SM	SM	SM	SM	SM
		CTX	CTX	CTX	CTX	CTX	GM	SM	NA	TC	TC	KM	TMP
		SM	GM	SM	CP	TC	TC	GM	TMP		TMP	TC	
		GM		GM				TC					
		TC		TC									
A	肉用	27	3	3	1	0	2	2	2	1	1	0	0
	採卵用	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
B (肉用)		0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0
C (肉用)		0	0	0	0	0	0	0	0	2	0	0	0
F (採卵用)		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2

要 約

2018年度に我が国へ輸入された豚のうち14ロット（A～F国）を対象にメチシリン耐性黄色ブドウ球菌（MRSA）保有状況を、鶏初生ひなのうち21ロット（G～I国）を対象に薬剤耐性大腸菌保有状況を調査した。豚では、3か国のロットからMRSA（ST398型）がそれぞれ分離された。鶏初生ひなでは、G国のロットから第3世代セファロスポリン系薬剤を含む複数の薬剤に耐性を示す多剤耐性大腸菌が分離された。

背景と目的

薬剤耐性菌が世界で大きな問題となってきた中、我が国では、2016年に薬剤耐性対策アクションプランを策定し、分野横断的に薬剤耐性対策を実施しており、その一環として、国内の家畜や犬猫等の愛玩動物については動物由来薬剤耐性モニタリング（JVARM）により薬剤耐性菌保有状況調査が定期的に行われている。しかし、輸入家畜については、これまで定期的な調査が行われておらず、一方で、輸入家畜が耐性菌を国内に持ち込んでいる可能性を示唆する報告もあり、輸入家畜の薬剤耐性動向調査も重要な課題の一つであると考えている。以上のことから、輸入家畜による国内への影響を調査するため、当所においても2016年度より輸入家畜の薬剤耐性動向調査を行っている。なお、2017年度までの調査結果については、2017年度版本誌で報告済である。

取組の内容

1. 輸入豚におけるMRSA保有状況調査

2018年度に輸入された繁殖用豚のうち14ロット（A～F国）を調査対象とした。係留期間中に採材した鼻腔スワブ（6～8頭/ロット）を材料とし調査を行った結果、3か国、4ロットから計15株のMRSAが分離された。さらに15株中4株でMulti Locus Sequence Typing（MLST）解析を実施した結果、いずれもST398型に分類された（表1）。

2. 輸入初生ひなにおける薬剤耐性大腸菌保有状況調査

2018年度に輸入された鶏初生ひなのうち21ロット（G国産肉用10、G国産採卵用2、H国産肉用7、I国産採卵用2）を調査対象とした。空港到着時に採材した糞便を材料として分離した37株について、微量液体希釈法により12抗菌薬に対する薬剤耐性保有状況を調査した（「輸入初生ひなから分離された多剤耐性大腸菌について」の表1参照）。調査の結果、5株が第3世代セファロスポリン系薬剤のCTXを含む複数の薬剤に耐性を示し、全てがG国産肉用初生ひな由来であったが（表2、3）、過去2年の結果と比較すると、多くの抗菌薬で耐性率の低下が認められた（図1）。

今後の方針

1. 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。
2. 輸入者等関連業者に対して、薬剤耐性菌について啓発するとともに、本調査結果を輸出国飼養農場あるいは仕向先農場での抗菌薬慎重使用の一助として活用する。

具体的データ

表1 MRSA分離状況

輸出国	A	B	C	D	E	F
陽性ロット/ロット数	2/3	1/4	1/1	0/4	0/1	0/1
陽性頭数/検査頭数	11/24	3/30	1/8	0/32	0/6	0/6
分離株数	11	3	1			
MLST 実施株数	2	1	1			

表2 国別薬剤耐性率 (%) 注)

輸出国	分離株数	耐性株数	ABPC	CEZ	CTX	SM	GM	KM	TC	NA	CPFX	CL	CP	TMP
G (肉用)	18	12	44.4	27.8	27.8	27.8	44.4	0.0	50.0	5.6	0.0	0.0	0.0	0.0
G (採卵用)	4	1	25.0	0.0	0.0	0.0	25.0	25.0	25.0	0.0	0.0	0.0	0.0	25.0
H (肉用)	11	1	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	9.1	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
I (採卵用)	4	0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0

注) 耐性率 (%) = (耐性株数 / 分離株数) × 100

表3 多剤耐性パターン (株数)

輸出国	用途	薬剤			
		ABPC	CEZ	CTX	SM
G	肉用	3	2	2	0
	採卵用	0	0	0	1

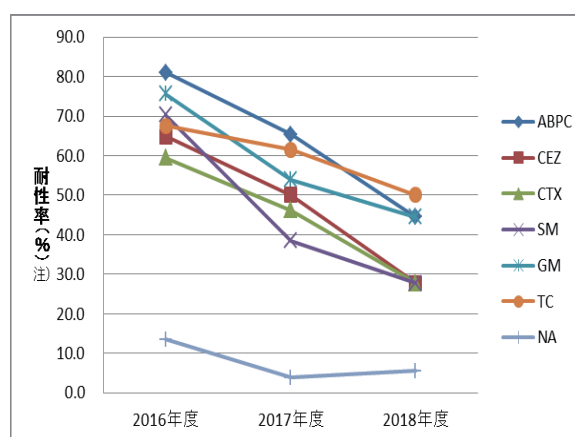


図1 G国産肉用初生ひなの耐性率の変化

注) 耐性率 (%) = (耐性株数 / 分離株数) × 100

【担当】 成田支所動物検疫第2課、企画管理部企画調整課 【連絡先】 電話 0476-32-6658、045-751-5923

要 約

平成26年4月7日、日本に輸入され、動物検疫所において検疫を実施したカニクイザル全32頭にツベルクリン反応（以下、ツ反という。）検査を実施したところ、9頭が陽性又は疑陽性と判定された。結核を疑う臨床症状は認めなかったが、病理組織学的に肺、縦隔リンパ節等の臓器で抗酸菌を伴う結節性病変が認められ、細菌学的にこれらの臓器から*Mycobacterium tuberculosis*（結核菌）が分離された。

背景

動物検疫所では、感染症の予防及び感染症の患者に対する医療に関する法律（以下「感染症法」という）に基づき、エボラ出血熱及びマールブルグ病を対象としたサルの輸入検疫を実施。結核は輸入検疫の対象疾病ではないが、サルの品質管理上重要な疾病であるため、輸入者が自主検査として輸入検疫期間中にツ反検査を実施。

材料及び方法

1. ツ反検査：全32頭に対して、ツベルクリン液（化学及血清療法研究所（当時））0.1mlを4月7日（初回検査）及び21日（再検査）に接種し、接種72時間後に結果を判定。
2. 病理解剖検査：全32頭を安楽死後、ツ反陽性又は疑陽性と判定した9頭について病理解剖を実施し、全身諸臓器及び気管拭い液を採取。
3. 病理組織学的検査：10%中性緩衝ホルマリン溶液で固定、パラフィン包埋後、ヘマトキシリン・エオジン染色及びチール・ネールゼン（ZN）染色を実施。
4. 抗酸菌培養検査：病変を認めた臓器53検体及び気管拭い液9検体（合計62検体）を1%小川培地及びMGIT培地で培養後、dnaJ領域のPCR及びcfp32、RD9、RD12のMultiplex PCRにより結核菌を同定。

結果

1. ツ反検査：初回検査で8頭、再検査では、初回検査で陰性であった1頭を含む5頭（合計9頭；個体番号①～⑨）をツ反陽性又は疑陽性と判定（表1）。
2. 病理解剖：9頭のうち④、⑤を除く7頭の肺、縦隔リンパ節、横隔膜（胸腔面）、脾臓、肝臓、腎臓に白色結節を確認（表1）。
3. 病理組織学的検査：9頭のうち⑤を除く8頭の肺、縦隔リンパ節、横隔膜、脾臓、腸間膜リンパ節に、結節性病変を多中心性に確認。病変のZN染色では、個体番号⑦の縦隔リンパ節で、マクロファージの細胞質内に少数の抗酸菌を確認（表1）。
4. 抗酸菌培養検査：小川培地では培養21日目以降に62検体中4頭（①、③、⑦、⑨）に由来する5検体で、MGIT培地では培養14日目以降に62検体中4頭（①～③、⑧）に由来する11検体で陽性を確認（表1）。分離菌はPCRにより結核菌と同定（図1）。

考察

検査の結果、9頭を結核と診断。サル類の結核は感染症法に基づく検疫対象疾病ではないが、輸入者と連携して輸入期間中にツ反検査を実施することより、輸入サル類を介した結核の侵入を防ぐ必要があることを再認識した。

具体的データ

表1 ツ反検査、病理学的検査及び細菌学的検査結果

個 体 番 号	ツ反検査※ ¹		病理解剖検査	病理組織学的検査■※ ² 及び細菌学的検査●▲※ ³							
	初回 検査	再 検査	白色結節が認めら れた臓器	気管	肺	縦隔 リンパ節	心臓	横隔膜	脾臓	肝臓	腸間膜 リンパ節
①	±	—	肺		■●▲	■●▲	▲		▲		■
②	±	—	肝臓,腎臓,脾臓			■	▲				
③	+	±	脾臓		▲	■●▲			▲		
④	±	—	—						■		■
⑤	—	+	—								
⑥	±	±	肺			■					
⑦	+	+	肺,縦隔リンパ節, 脾臓		■	■●					
⑧	±	—	肺,縦隔リンパ節, 横隔膜,肝臓,脾臓		■▲	■▲		■▲	■▲		
⑨	+	+	肺	●	■						

※¹ ツ反検査結果は、陽性を+、擬陽性を±、陰性を—と示す。

※² 病理組織学的検査の結果、結核病変を認めた検体を■で示す。

※³ 細菌学的検査の結果、結核菌が小川培地で分離された検体を●、
MGIT培地で分離された検体を▲で示す。

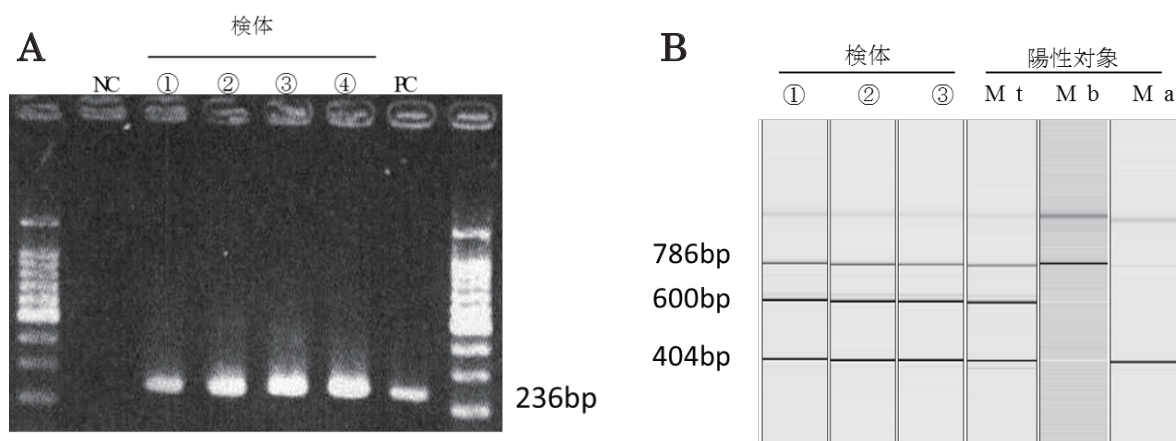


図1 結核菌の同定

表の検体①～④は個体番号を示す。

A dnaJ領域をターゲットとしたPCRにより236bpに特異的なバンドを検出。

B Multiplex PCRにより、cfp32領域（786bp）、RD9領域（600bp）及びRD12領域（404bp）全てに特異的なバンドを検出。（陽性対象；Mt=*Mycobacterium tuberculosis*、Mb=*Mycobacterium bovis*、Ma=*Mycobacterium africanum*）

【担当】 企画管理部企画調整課 【連絡先】 電話 045-751-5923

要 約

2018年8月、中国におけるアフリカ豚コレラの発生以降、旅客携帯品等の輸入検査を強化。春節期（2月）にあわせて更なる水際対応を強化することとし、検疫探知犬の増頭、家畜防疫官の携帯品検査への重点配置等による輸入検査の強化、海外報道機関や旅客向け情報配信等による広報活動を実施。アフリカ豚コレラの発生はアジア圏内に拡大していることから、今後も様々な方法により我が国への畜産物の持込防止の取組みを継続する必要がある。

背景と目的

2018年8月、中国においてアジアで初めてのアフリカ豚コレラの発生以降、中国からの旅客携帯品等の輸入検査を強化した。旅客携帯品により持ち込まれた肉製品のモニタリング検査で、中国のソーセージなどからアフリカ豚コレラウイルスの遺伝子が相次いで検出されるなど、本病ウイルスの我が国への侵入リスクが高まっていることから、中国の春節期（2月）に合わせて水際対応を強化する取組を行った。

取組の内容

1. 中国からの旅客携帯品に対する検査体制の強化

中国から到着する旅客携帯品の検査体制を強化するため、以下を実施した。

- ①本所及び各支所の管理職、港等で輸出入貨物畜産物の検査や、生きた動物の検査を担当する職員など延べ約290名の家畜防疫官を携帯品検査に動員。
- ②検疫探知犬4頭を緊急に導入し、携帯品の探知活動を行う検疫探知犬を31頭に増頭（国際郵便局用の検疫探知犬2頭を含め、全国合計33頭体制（2019年2月時点））。
- ③家畜防疫官が行う旅客への口頭質問に、中国語の通訳を採用。また、携帯型の翻訳機も導入し（2～3月に全国合計52台）、従来の多言語パネル等に加えて音声でも対応。

2. 国内外の旅客及び報道機関向けの広報活動

海外から旅客が日本に畜産物を持って来る前の段階で、日本への持込みができないことを周知する取組（事前型広報）として、海外への出国・海外からの入国が多くなる夏休み、冬休み、年末年始等の水際検疫強化期間には、農林水産省公式twitterやfacebookで注意喚起のお知らせを発信している。春節が始まる2月4日から28日までの平日（18日間）には、海外から畜産物の持込みが規制されていることを中心にtwitterに記事を投稿し、最も反響の大きかった記事の表示回数は5万回を超えた（図2）。

また、初めて海外の報道機関やSNSへ情報を掲載する取組を行うこととし、中国内の報道機関向けに「入国時の手荷物検査を強化していること」、「畜産物を不正に持ち込んだ者には罰則が課せられること」等の記事を中国語及び英語で配信した（図3）ところ、中国内約90社の報道機関ウェブサイトの記事として掲載された。更に、在中国日本大使館の協力により、同館の公式SNS（微博）に中国語のPR動画等を掲載し、その掲載記事は100万回以上閲覧、動画再生回数は38万回を超えた。

その他、海外に出国する旅客等への直接的な情報周知の活動として、中国から国際旅客便、定期フェリー、国際クルーズ船等が到着する空港又は海港を中心に1月下旬から3月にかけて、延べ70回の広報キャンペーンを開催し、日本語・英語・中国語のリーフレット等を配付した（図4）。これらのキャンペーンには都道府県の畜産担当部局や（一社）日本養豚協会の方々も参加したほか、新聞・テレビニュース等で多く報道された。

これらの広報活動により、2月の動物検疫所webページ閲覧数は、海外から肉製品などをお土産で持ち帰ることを案内する日本語ページは前月比1.4倍（約2.1万回）に増加、同内容を中国語で案内するページの閲覧数は前月比約15倍（約6,000回）となった。

3. 中国からの旅客携帯品の検査実績

1ヶ月間、旅客の携帯品検査強化と併せて海外から旅客が日本に畜産物を持ってこないよう事前型広報活動に取り組んだ結果、2月に中国から携帯品で持ち込まれ検査不合格となった畜産物は3,942件（約3トン）（速報値）となった（表2）。

不合格品の合計件数は検疫強化により、不合格品件数は前年同月比約114%と増加したが、合計重量は前

取組の内容

年同月比74%と減少していた。1件あたりの重量では、0.5kg未満の不合格品件数が前年同月より約1,000件増加した一方、3kg以上の不合格品は約半数に減少しており、多量の不合格品を所持している事例が減少していた（表3）。

（注意）件数は、輸入検査不合格となった品目分類（例：冷凍豚肉、冷凍鶏肉、ソーセージ等）による件数であり、持込者人数とは異なる。

考察

アジアにおけるアフリカ豚コレラは、1月にはモンゴル、2月にはベトナム、2月以降にはカンボジア、香港でも確認され、周辺国へ拡大している。このような状況を踏まえ、3月以降も2月に緊急導入した検疫探知犬4頭や、携帯翻訳機・中国語通訳も引き続き活用している。さらに、4月22日からは携帯品等により検査不合格品を所持していた者への対応の厳格化を開始したところである。

ベトナムでのアフリカ豚コレラ発生について、ベトナム地域報道機関向けの情報発信、検査不合格品の所持者への対応厳格化開始についての海外報道機関向け情報配信を行っており、さらに今後も、機会を捉えて海外向けの情報発信を積極的に行うことを検討している。

また、アジア地域におけるアフリカ豚コレラの発生拡大状況も踏まえ、検疫探知犬の更なる増頭や地方空港へ配置も行うこととしている。

今後も継続的に検査件数等の変動を確認し、より効果的な対応を検証していく必要がある。

具体的データ

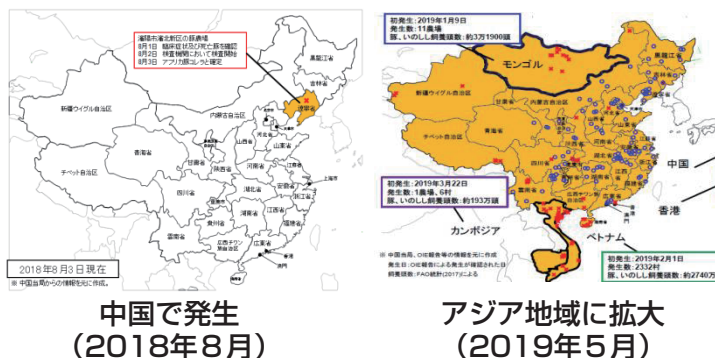
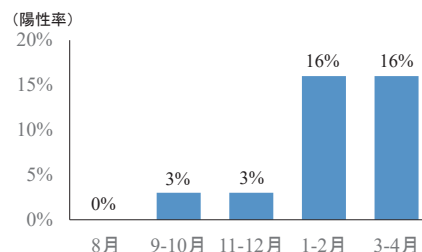


図1 アジア地域のアフリカ豚コレラ発生状況

表1 アフリカ豚コレラ遺伝子検出事例
(2019年4月時点) (動物検疫所調べ)



中国等アジア地域のASF発生国から
携帯品で持ち込まれた不合格品の
ASFウイルスrPCR検査陽性率



図2 twitter記事 (一例)



図3 海外向けニュース配信
(中国語)



図4 旅客向けの多言語
リーフレット

表2 中国から携帯品で持ち込まれた
輸入検査不合格件数・重量 (月別)
(動物検疫所調べ (速報値))

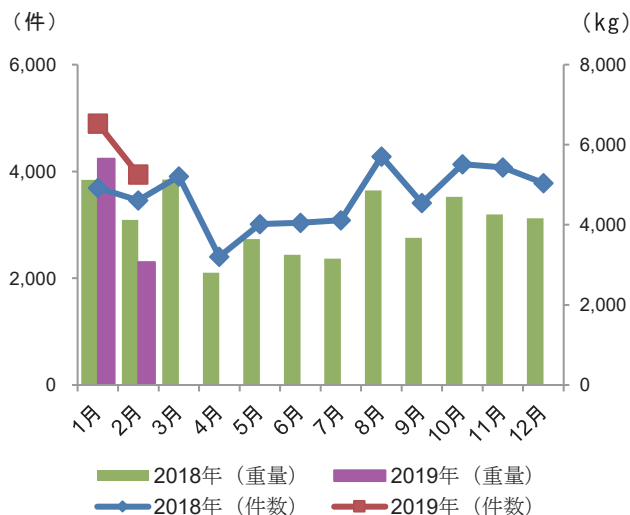


表3 2月に中国から携帯品で持ち込まれた
輸入検査不合格品1件当たりの重量別件数比較
(動物検疫所調べ (速報値))

		2018年2月	2019年2月
不合格品総件数		3,459件	3,942件 (前年比 114%)
重量別内訳	0.5kg未満	1,424件	2,153件
	0.5-3kg未満	1,685件	1,620件
	3-5kg未満	202件	108件
	5kg以上	148件	61件
不合格品総重量		4,121kg	3,065kg (前年比 74%)

参 考 資 料

平成 30 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 地方空港における検疫探知活動及び北海道・東北支所における事前対応型広報活動（第2報）について | 北海道・東北支所検疫課 |
| 2 中部空港支所における検疫探知犬の活動拡充について | 中部空港支所検疫課 |
| 3 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3報） | 関西空港支所検疫第1課 |
| 4 検疫探知犬の地方空港派遣について | 門司支所検疫第1課 |
| 5 中国での ASF 発生拡大に伴う効率的かつ効果的な探知活動による水際対策の強化 | 成田支所旅具検疫第1課 |
| 6 探知犬の効率的な活用について～所内ハンドラー養成によるマルチハンドリング～ | 羽田空港支所検疫課 |
| 7 臭気センサを用いたターゲットの臭気比較及び検疫探知犬の探知力 | 北海道・東北支所検疫課 |
| 8 国際郵便物に係る仕向先調査及び結果を踏まえた効果的検疫対応の検討について | 門司支所福岡空港出張所 |
| 9 東京都と連携した取組について | 羽田空港支所東京出張所 |
| 10 対馬における水際検疫対応の強化について（続報） | 門司支所博多出張所 |
| 11 沖縄県と連携した石垣島における広報活動及びその他の県との連携について | 沖縄支所検疫課 |
| 12 モニタリング検査を活用した偶蹄類の飼料用以外の乳製品の計画的検査について | 成田支所貨物検査課 |
| 13 神戸支所における乳製品の輸入検査について | 神戸支所検疫課 |
| 14 発育あひる卵（バロット）の加熱による変化の検証と今後の検査対応 | 成田支所旅具検疫第2課 |
| 15 キツネ及びスカンクにおける自己管理事例 | 成田支所動物検疫第2課 |
| 16 成田支所における犬猫の輸出手続き窓口の一元化について | 成田支所旅具検疫第2課 |
| 17 平成 30 年台風 21 号における関西空港支所の被害と復旧 | 関西空港支所検疫第1課 |
| 18 平成 30 年北海道胆振東部地震の影響と非常時の対策について | 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 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 | 門司支所鹿児島空港出張所 |
| 2 輸入肥育用素馬における馬インフルエンザに対するワクチン効果の検証 | 精密検査部微生物検査課 |
| 3 欧州産輸入馬における馬鼻肺炎摘発事例について | 成田支所動物検疫第1課 |
| 4 腺疫の遺伝子検出検査法（Multiplex real-time PCR 法）の検証 | 門司支所検疫第2課 |
| 5 豪州産繁殖牛におけるヨーネ病患畜摘発事例とその対応 | 神戸支所大阪出張所 |
| 6 豪州産肥育用素牛における <i>Anaplasma marginale</i> 摘発事例 | 門司支所検疫第2課 |
| 7 牛のピロプラズマ病（ <i>Theileria parva</i> , <i>T. annulata</i> ）の遺伝子検出検査の検証 | 門司支所検疫第2課 |
| 8 輸入牛から分離された <i>Mycoplasma bovis</i> の薬剤感受性試験 | 門司支所検疫第2課 |

9 セネカバレーウイルス中和試験系の整備（第2報）	精密検査部微生物検査課
10 輸入初生ひなから分離された多剤耐性大腸菌について	精密検査部微生物検査課
11 輸入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（第2報）	精密検査部危険度分析課
12 肉製品の加熱確認方法（カタラーゼ試験）の検討	精密検査部病理・理化学検査課
13 携帯品家さん畜産物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30年度）	精密検査部海外病検査課
14 携帯品で持ち込まれた非加熱偶蹄類肉等の病原体汚染状況調査（第2報）	精密検査部病理・理化学検査課

＜特別演題＞

1 第14回国際ヨーネ病学会について	神戸支所検疫課
--------------------	---------

＜第三部門：ポスター及び誌上発表＞

1 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3報）	精密検査部危険度分析課
2 輸入動物における薬剤耐性菌保有状況調査（2018年度）	精密検査部微生物検査課
3 SDS-PAGEによる畜肉の加熱確認法の検証	精密検査部病理・理化学検査課
4 ゴルフシューズを介した口蹄疫ウイルスの国内侵入リスク評価	精密検査部病理・理化学検査課
5 輸入畜産物の外装汚染モデル作製	精密検査部病理・理化学検査課

主な外部発表業績（平成 30 年度）

平成 30 年度調査研究等外部発表の概要

演 題 名	学会・雑誌名
SDS-PAGE を用いた中国産加熱処理鶏肉の加熱状況確認	日本家畜衛生学会第 88 回研究会 2018.7.7
Outbreak Situation and Domestic / Border Control Measures of Major Vector Borne Disease in Japan	OIE Regional Workshop on Vector Borne Disease in the Asia-Pacific Region 2018.9.11
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の性状解析	第 161 回日本獣医学会学術集会 2018.9.11-13
輸入肥育用馬における腺疫の発生事例と分離菌の分子系統樹解析	第 161 回日本獣医学会学術集会 2018.9.11-13
輸入肥育用馬における馬インフルエンザの発生と死亡馬の病理学的検索	第 161 回日本獣医学会学術集会 2018.9.11-13
豪州産輸入牛におけるヨーネ病摘発状況及び VNTR 型別による分子疫学解析	第 59 回全国家畜保健衛生業績発表会 2018.9.26-27
携帯品家きん畜産物の汚染状況調査と H9N2 亜型鳥インフルエンザウイルスの鶏感染試験	第 59 回全国家畜保健衛生業績発表会 2018.9.26-27
欧州産輸入馬における馬鼻肺炎摘発事例について	平成 30 年度家畜衛生研修会 2018.10（病性鑑定：ウイルス部門）
輸入初生ひなにおける薬剤耐性大腸菌保有状況調査	平成 30 年度家畜衛生研修会 2018.10（病性鑑定：細菌部門）
鶏幼雛の <i>Pseudomonas aeruginosa</i> による線維素性組織球性心外膜炎及び組織球性心筋炎	平成 30 年度家畜衛生研修会 2018.10（病性鑑定：病理部門）
Systemic <i>Staphylococcus pseudintermedius</i> infection in an arctic fox (<i>Vulpes lagopus</i>) with severe multifocal suppurative meningoencephalitis and nephritis.	日本獣医学会学術誌 (2018), 8, 1219-1222
A Japanese trial to monitor the methicillin-resistant <i>Staphylococcus aureus</i> (MRSA) in imported swine during the quarantine period.	Journal of Global Antimicrobial Resistance (2018), 14, 182-184
輸入カニクイザルにおける結核症の集団発生事例	日本獣医師会雑誌 (2018), 71(7), 369-375
Genetic analysis of novel reassortant H7N3 highly pathogenic avian influenza virus isolated from poultry meat product brought by flight passenger in Japan.	The Journal of Veterinary Medical Science (2019), 81(3), 444-448

主な外部発表の要旨

輸入肥育用馬における腺疫の発生と分離菌の分子系統樹解析

第 161 回日本獣医学会学術集会 (2018.9.11-13)

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あり、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。平成 29 年、動物検疫所門司支所新門司検疫場で検疫を実施したカナダ産の肥育用馬において、多頭数の腺疫の発生が確認され、発症馬から腺疫菌が分離された。分離した腺疫菌 12 株 (9 馬群) を用いて、新鮮培養菌から DNA を抽出し、既報に従い SeM 遺伝子領域を増幅、ダイレクトシーケンス法により塩基配列を決定した。得られた配列と既報の国内及び海外分離株の配列を用い分子系統樹解析を実施したところ、いずれの菌株も過去の国内分離株とは異なるクラスターに属していた。また、特定の馬群において、遺伝子学的に近縁な菌株が複数年にわたり分離されたことから、当該農場において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。

輸入肥育用馬における馬インフルエンザの発生と死亡馬の病理学的検索

第 161 回日本獣医学会学術集会 (2018.9.11-13)

馬群は平成 29 年 3 月に北九州空港に到着し、同日収容されたカナダ産の肥育用馬 114 頭で、年齢は 1～12 歳齢であった。収容日から鼻汁を呈する個体が散見され、その内の 1 頭が翌日に実施した迅速抗原検査及び遺伝子検査で陽性となった。直ちに他の馬から隔離したものの、検疫 7 日目に全頭が陽性となり、馬インフルエンザ (EI) の発生から終息までの間に計 5 頭が死亡した。検疫前半に死亡した 4 頭では、剖検時、肺で充うっ血が広範囲に見られ、その他臓器に異常は見られなかった。病理組織学的検査では、肺で中等度から重度な充うっ血及び軽度な出血が広範囲に見られ、肺胞腔内には漿液の貯留を認めた。また、葉及び区域気管支で中等度な粘膜上皮細胞の壊死及び脱落が広範囲に見られ、腔内への粘液貯留が顕著であった。抗 A 型インフルエンザ Matrix 蛋白抗体を用いた免疫組織化学 (IHC) では、それらの気管支の粘膜上皮細胞及び腔内の貯留物で陽性反応が認められた。一方、検疫後半に死亡した 1 頭については、肺から *Streptococcus equi* subsp. *zooepidemicus* が分離され、化膿性壊死性気管支肺炎・胸膜炎と診断した。

豪州産輸入牛におけるヨーネ病摘発状況及び VNTR 型別による分子疫学解析

第 59 回国家畜保健衛生業績発表会 (2018.9.26-27)

1. 豪州産輸入牛における近年のヨーネ病摘発及び検疫対応について

2016 年 5 月、神戸支所で輸入検疫を実施した豪州産乳用育成牛の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。その後、同年 8 月当該措置は解除されたものの、輸入再開当初の乳用育成牛を中心としてヨーネ病の摘発が相次いだ。こうした状況を受け、輸入者に対して再度豪州国内におけるヨーネ病の発生状況について情報提供するとともに、豪州国内の清浄地域、清浄農場からの選畜を指導した。

2. VNTR 型別による分子疫学解析

ヨーネ菌の分子疫学解析法の一つとして、VNTR (Variable Number of Tandem Repeats) 型別が報告されている。今回、2017 年の門司支所における分離株及び過去の動物検疫所分離株について VNTR 型別を実施したところ、Map-13 が 63 株 (68.5%)、Map-11 が 13 株 (14.1%)、Map-1 が 10 株 (10.9%)、Map-2 が 3 株 (3.3%)、Map-3 及び Map-8 が各 1 株 (各 1.1%)、既存の命名表に該当しないものが 1 株であった。特に、2017 年に分離された 23 株については、Map-13 が 19 株、Map-1 が 3 株、Map-11 が 1 株となり、豪州国内には Map-13 が広く分布していることが示唆された。

A Japanese trial to monitor the methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) in imported swine during the quarantine period.

Journal of Global Antimicrobial Resistance (2018), 14, 182-184

家畜関連 MRSA は世界各国で広く報告されている。輸入豚における MRSA の保有状況を調べるため、日本の輸入検疫期間中に 125 頭 (由来: 輸出国 5 カ国、15 ロット) の鼻腔スワブについて検査したところ、41 頭、32.8% (由来: 輸出国 2 カ国、6 ロット) から MRSA が分離された。12 株 (1 ロットあたり 2 株) についてさらに解析を実施し、全ての分離株が MLST 法によって ST398 型と型別され、*czrC* 遺伝子を保有しており、アンピシリン、テトラサイクリンに耐性であった。一部エリスロマイシンやストレプトマイシンに耐性を持つ株もあったが、シプロフロキサシン、ゲンタマイシン、クロラムフェニコール耐性はみられなかった。

本調査は、検疫期間中における輸入動物の MRSA 保有状況を調べた日本で初めての取り組みである。輸入動物を調査し結果をフィードバックすることは、AMR 対策のワンヘルス・アプローチとして重要である。

2019年11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/)