

資料 3

清浄国復帰後の馬インフルエンザの防疫対応
について

- 国内関係資料 2 P
- 検疫関係資料 14 P

馬インフルエンザに係る今後の防疫対応について

【経緯】

2007年8月、日本において馬インフルエンザが36年ぶりに発生し、33都道府県2,512頭（疑症含む）の報告があったが、防疫措置の結果、2009年7月1日、清浄国に復帰（7月2日付け書簡により、この旨OIEに通報）。

【講じた措置】

（1）国内

「馬インフルエンザのまん延防止の基本方針」に基づき、以下の措置を実施

- 検査陽性馬が確認された場合の消毒、隔離・移動制限等
- 本病の早期発見・早期診断体制の確保
- 飼養衛生管理基準に準じた衛生管理、予防接種等
- 施設間の馬の移出入の原則禁止

（2）検疫

- 輸入馬全頭についてスクリーニング検査を実施
- スクリーニング検査陽性馬についてウイルスの遺伝子検出を実施
- 遺伝子検査陽性馬についてウイルス分離を実施

【今後の対応】

（1）国内

繋養施設における防疫措置や馬の移出入条件を定めた「馬インフルエンザの発生予防対応方針」に基づく防疫対応

（2）検疫

前述の本病発生時に講じた措置（検査）を継続

(仮訳)

農林水産省
消費・安全局
動物衛生課

日本
東京都千代田区霞ヶ関1-2-1
電話：+81-3-3502-8295
FAX：+81-3-3502-3385
2009年7月2日

国際獣疫事務局
事務局長
ベルナール・バラ博士

Re: 日本の馬インフルエンザ清浄化に係る通報

ベルナール・バラ博士

上記の件について通報させて頂く。

2007年8月、日本において馬インフルエンザが36年ぶり（前回の流行は1971～72年）に発生し、47中33都道府県において疑症を含め2,512頭の報告があった。最終報告は2008年7月1日に北海道においてなされ、防疫措置の結果、それ以降、全国で発生報告はない。

日本は、これまで12ヶ月間にOIE陸生コードの第1.4章に沿ったサーベイランスを実施した。

日本は、陸生動物衛生コードの第12.7.3章に基づいた馬インフルエンザの清浄ステータスに復帰したことを宣言する。

最後に、この宣言を、通常通り週報に掲載していただけるようお願いする。

事前の協力に感謝する。

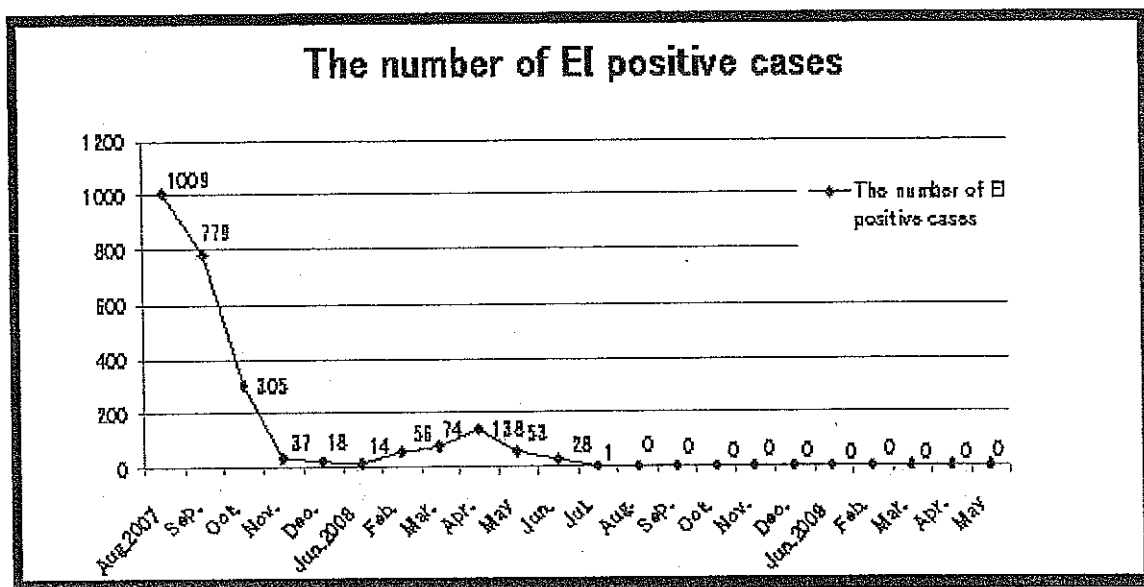
日本
農林水産省
動物衛生課
首席獣医官
川島俊郎

(別添)

馬インフルエンザ清浄国復帰

2007年8月、日本において馬インフルエンザが36年ぶり（前回の流行は1971～72年）に発生し、47中33都道府県において疑症を含め2512頭の報告があった。最終報告は2008年7月1日に北海道においてなされ、後述する防疫措置の結果、以降全国的にこれまで発生報告はない。

日本は、これまで12ヶ月間に、OIE 陸生コードの第1.4章に沿ったサーベイランスを実施した。



日本は、2009年7月1日より、陸生動物衛生コードの第12.7.3章に基づき、馬インフルエンザの清浄ステータスに復帰したことを宣言する。

1. 馬インフルエンザに対する基本方針

1972年以來となる馬インフルエンザの発生を受けて、馬インフルエンザについての基本方針が専門家や利害関係者との会議の後に適用され、全ての47都道府県と関係団体に通知された。

対策は下記の通り。

(1) 基本対策

1) 陽性馬が確認された際の措置

- ア 検査陽性馬が確認された場合、施設等を含めた消毒を実施。
- イ 検査陽性馬は、隔離の措置又は移動制限を実施。
- ウ 検査陽性馬との同居歴などから本病への感染が疑われる馬について検査を実施。

2) 施設間の馬の移出入の禁止

検査陽性馬が確認されている施設等とそれ以外の施設における馬の移出入は、原則として行わないこととする。やむを得ず施設間の馬の移出入を行う場合には、原則として当該施設において、本病に係る清浄区域等、検疫区域等及び汚染区域等を厳格に設定した上で実施。

3) 早期発見・早期診断体制の確保

毎日、臨床検査を実施し、本病が疑われる場合は速やかに検査を行い、陽性が確認された時は、管轄する都道府県家畜保健衛生所へ速やかに連絡。

4) 衛生管理対策の徹底

法で定める飼養衛生管理基準に準じて馬の飼養衛生管理を行う。飼養馬に対する予防接種を励行。

(2) 馬の移出入条件については下記にしたがい行う。

1) 定義

① 清浄区域等とは、次の条件を満たした区域又は厩舎をいう。

- ア 発熱等の臨床症状を示した馬については、すべて獣医師による検査により陰性が確認されていること。
- イ 統計学的に95%の信頼度で、区域等ごとに母集団における1%の感染馬を摘発できる検査頭数により少なくとも3日目及び7日目の2回の検査により陰性が確認されていること。
- ウ 検査陽性馬については、陽性となった後14日間以上経過し、簡易検査で陰性が確認されなければ清浄区域等に移動させないこと。
- エ アからウまでの確認がなされていない馬群との接触がないこと。

② 検疫区域等とは、移出又は移入馬の検疫を行う区域であり、高リスク馬と低リスク馬等が同居する可能性を踏まえて同居感染を防止するための対策が講じられている区域又は厩舎をいう。

③ 隔離区域等とは、陽性が確認された馬の隔離飼育を行う区域であり、他馬と

の接触がなく、出入り口の消毒や人の出入り制限等の本ウイルスの伝播を防止するための対策が講じられている区域又は厩舎をいう。

2) 他の施設に馬を移出する場合

① 検査陽性馬が確認されている施設からの移出

i) 移出元における対応

- ア 7日間の経過観察を行い臨床症状の異常がないことが確認された馬について、検査で陰性を確認し、馬体を消毒した上で、検疫区域等へ収容すること。
- イ 検疫区域等において7日間（ウイルスの潜伏期間及び排泄期間を考慮した期間）の獣医師による臨床検査を行い、異常がなく、かつ、移出日に検査を行い、陰性が確認された馬のみを移出すること。
- ウ 移出時には施設、厩舎の出入り口においてヒトの手指・衣服・靴底、馬の蹄、馬運車、馬具等の消毒を実施すること。

ii) 移出先における対応

- ア 移入馬は検疫区域等に収容すること。
- イ 移入馬は検疫区域等において7日間の臨床観察並びに移入後3日目及び7日目に獣医師による検査を行い、陰性が確認された馬のみを解放すること。

iii) 移出元又は移出先において検疫中に異常が確認された場合の対応

- ア 移出元及び移出先の施設の検疫区域等の臨床検査において、発熱等の臨床症状が確認された場合には、直ちに獣医師による検査を行うこと。
- イ また、検査において、陽性が確認された場合には、本病のまん延を防止するため、当該馬及び検疫区域等において当該検査陽性馬と同居していた馬を速やかに施設内の隔離区域等に隔離すること。
- ウ イにより隔離された馬については、14日間の経過観察を行い、臨床症状に異常がないことを確認するとともに、観察後7日目及び14日目の獣医師による検査において陰性が確認された馬のみを移出又は解放すること。

② 検査陽性馬が確認されていない施設からの移出

i) 移出元における対応

検査陽性馬が確認されていない施設（施設全体が（1）の①の清浄区域等に該当するものをいう。）においては、本病が流行している状況にかんがみ、

当面の間、移出に当たり以下により防疫対策を実施すること。

- ア 移出前7日間の経過観察を行い、臨床症状の異常がないことを確認すること。
- イ 移出日に検査を行い、陰性が確認された馬のみを移出すること。
- ウ 移出時には施設、厩舎の出入口において人の手指・衣服・靴底、馬の蹄、馬運車、馬具等の消毒を実施すること。

ii) 移出先における対応

- ア 移入馬は検疫区域等に収容すること。
- イ 移入馬は検疫区域等において7日間の臨床観察並びに移入後3日目及び7日目に獣医師による検査を行い、陰性が確認された馬のみを解放すること。

iii) 移出先において検疫中に異常が確認された場合の対応

- 2) の①のiii) と同じ対応をとること。

2. サーベイランス

(1) 受動サーベイランス

馬インフルエンザは、家畜伝染病予防法により届出伝染病に指定されており、馬インフルエンザにかかっている又は疑いがあることを発見した獣医師は、遅滞なく届けることとされている。

(2) 能動サーベイランス (ターゲットサーベイランス)

今般の発生を受け、農林水産省は、本病のまん延を防止するため「馬インフルエンザまん延防止の基本方針 (以下、「基本方針」という。)」を2007年9月に策定し、以下の馬について能動サーベイランスを2008年7月から実施している。

- ・ 競馬場への入厩時の検査
- ・ 競馬場からの退厩時の検査
- ・ 競走馬以外の移動前の検査
- ・ セール参加前の検査
- ・ 乗馬大会、耐久競争への参加前の検査
- ・ 輸入馬の着地検査中の検査

(3) 診断

疫学調査 (①集団的に発生、②周辺に本病の発生があった、③最近、馬を移動・

導入した、④発生施設との関連がある)又は臨床検査(①発咳(初期乾性のち湿性)、②鼻汁漏出、③発熱、④元気消失、食欲不振)にて感染が疑われる馬について、馬インフルエンザウィルスを検出できることが確認されているA型インフルエンザ診断用キット(エスプライン インフルエンザA&B-N、ダイレクチジェンFlu A+B、Binax Now、クイック Ex-Flu、プロラストFlu)を使用して、迅速検査を実施し、この結果で防疫対応を開始するかどうか判断する。確定診断には、RT-PCR法による遺伝子検査を実施する。

(4) 検査頭数、検査実施地域

昨年7月以降本年5月までに全国において総計65861頭検査したが、すべて陰性であった。検査の内訳は、延べ競走馬52646頭、乗馬13084頭、その他(肥育用、農耕用)131頭となっている(表1)。

(単位：頭数)

	受動サーベイランス	能動サーベイランス	合計
競走馬	1060	51586	52646
乗馬	628	12456	13084
その他	28	103	131
合計	1716	64145	65861

表1 サーベイランス(2008年7月~2009年5月)における検査頭数(全て陰性)

写

21消安第3815号
平成21年7月15日

都道府県畜産主務部長 殿

農林水産省消費・安全局
動物衛生課長

馬インフルエンザの発生予防対応方針の策定について

馬インフルエンザについては、平成19年8月に我が国で36年ぶりに発生しましたが、関係者の御尽力により、平成20年7月1日以降の発生がなく、本年7月1日をもって清浄国に復帰したところです。これにより、今後の防疫体制として、別添のとおり「馬インフルエンザの発生予防対応方針」を策定し、防疫対応を進めていくこととしますので、貴都道府県においては管内の馬飼養者等関係者に周知するとともに、本病の防疫対応に遺漏なきようお願いいたします。

なお、本病発生時には、引き続き「馬インフルエンザのまん延防止の基本方針」(平成19年9月3日付け動物衛生課長通知)による防疫対応を行うことといたします。

「馬インフルエンザの発生予防対応方針」

1 馬の繋養施設における防疫措置

本病の防疫対策に万全の措置を図るため、(1)及び(2)に掲げる事項を実施すること。

(1) 衛生管理対策の徹底

家畜伝染病予防法(昭和26年法律第166号)第12条の3に定める飼養衛生管理基準に準じて馬の飼養衛生管理を行い、飼養馬に対する予防接種を励行し、本病の発生予防に努めること。

また、競馬場等の集団飼育施設においては家畜防疫対策要綱(平成11年4月12日付け11畜A第467号)別記6により、衛生措置を講ずること。

(2) 早期発見・早期診断体制の確保

ア 所有者又は管理者が、発熱、呼吸器症状等、本病を疑う臨床症状を確認した時は、ただちに獣医師に連絡すること。

イ 獣医師は、本病が疑われる場合は速やかにウイルス確認のための検査(迅速抗原検査又はRT-PCR検査。以下「検査」という。)を行い、陽性が確認された時は、管轄する都道府県家畜保健衛生所へ速やかに連絡すること。

なお、臨床症状を呈していない馬についても必要に応じて検査を実施するよう努めること。

2 馬の移出入条件

(1) 移出元における対応

ア 予防接種が適切に行われていること、又は移出時の検査結果が陰性であること。

イ 移出前に本病を疑う臨床症状を認めないこと。

(2) 移出先における対応

ア 予防接種が適切に行われている旨確認すること、又は移出時の検査結果が陰性である旨確認すること。

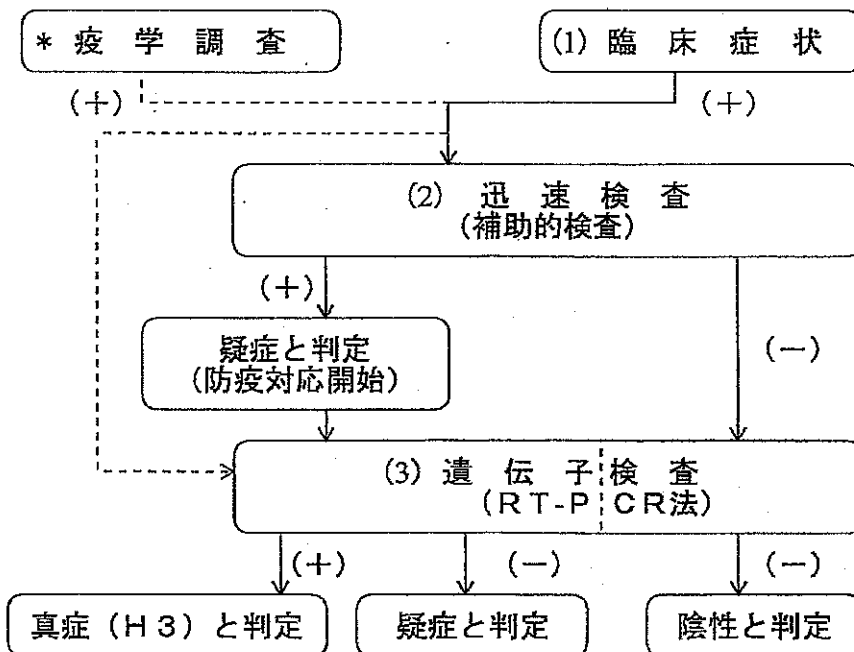
イ 移入時に本病を疑う臨床症状を認めないこと。

3 その他留意事項

都道府県及び関係機関は、講習会等により関係者に対し、本病発生予防及び万一発生した場合の防疫対応等に関する対応の啓発に努めること。

馬インフルエンザ診断チャート（暫定版）

所有者又は管理者



- ※1 検査は家畜保健衛生所等で実施。
- ※2 検査手技等に関する問い合わせ先はJRA総研栃木支所。
- ※3 疑症であり、遺伝子検査で陰性となったものは、ウイルス分離の実施等について農林水産省動物衛生課と協議を行うこと。
- ※4 真症が確認された施設内におけるその後の検査は、迅速診断のみで実施してもよい。

(1) 臨床症状

- ① 発咳（初期乾性のち湿性）
- ② 鼻汁漏出
- ③ 発熱
- ④ 元気消失、食欲不振

(2) 迅速検査(補助的検査)

馬インフルエンザウイルスを検出できることが確認されているA型インフルエンザ診断用キット（市販品）を使用。

(3) 遺伝子検査

別紙要領に基づき実施。

* 疫学調査

- ① 集団的に発生（伝播力が強い）
 - ② 周辺に本病の発生があった
 - ③ 最近、馬を移動・導入した
 - ④ 発生施設との関連がある
- ※1 本病は年間を通じて流行
 - ※2 予防注射を受けていても感染・発生

(別 紙)

馬インフルエンザウイルスのRT-PCR法プロトコール

JRAで実施している馬インフルエンザウイルスのRT-PCRのプロトコールは以下のとおりです。こちらを参考に各家畜保健衛生所での検査を実施願います。

1 サンプルング

JMS綿棒(大)を鼻腔背鼻道粘膜に1分間押し当てる。その綿棒を2.5mlの乳糖ゲンタマイシンブイヨン培地(0.005%硫酸ゲンタマイシン加)【※1】にストレプトマイシン10mg/ml及びペニシリン10000単位/mlを加え、 Na_2HPO_4 (0.1M)でpHを7.2~7.4に調整したものに浸漬し、よく攪拌する。懸濁液を回収し、 $\times 5000$ で5分遠心し、その上清140 μ lから、QIAamp Viral RNA Mini KitでRNA【※2】を抽出する。

2 プライマー

プライマーの設定は以下のとおり。

Forward : AGCAAAGCAGGGGATATTTCTG

Reverse : GCTATTGCTCCAAAGATTC

プライマー濃度は、0.4 μ M (QIAGENのOne step RT-PCR kit【※2】で実施)。

3 サイクル条件

$\times 1$
50°C 30min
95°C 15min
 $\times 35$
94°C 15sec
50°C 30sec
70°C 60sec
 $\times 1$
72°C 5min
 $\times 1$
4°C forever

4 2%アガロースゲルで電気泳動し、陽性検体で増幅されるバンドのサイズは1041bpです。

※1 ニススイより市販。イーグルMEM、PBS等でも代用可能と考えるが、他の検査への利用等を考慮すると、血清無添加であるもの、抗生物質が添加されているものが望ましい。

※2 JRAで実際に使用しているキットを例としてあげたものであり、各家畜保健衛生所において現在使用しているキットを使用して差し支えない。

(参考文献)

Description of the outbreak of equine influenza (H3N8) in the United Kingdom in 2003, during which recently vaccinated horses in Newmarket developed respiratory disease.

Vet Rec. 2006 Feb 11;158(6):185-92.

(参考)

飼養衛生管理基準(家畜伝染病予防法施行規則第21条)

- 1 畜舎及び器具の清掃又は消毒を定期的に行うとともに、家畜及び作業衣、作業靴等を清潔に保つこと。
- 2 畜舎に出入りする場合には、手指、作業衣、作業靴等について、家畜の伝染性疾病の病原体がひろがるのを防止するために必要な消毒その他の措置をとること。
- 3 飼料及び水に家畜及びねずみ、野鳥等の野生動物の排せつ物等が混入しないよう努めること。
- 4 他の農場等から家畜を導入する場合には、当該家畜を導入することにより家畜の伝染性疾病の病原体がひろがるのを防止するため、当該家畜に異常がないことを確認するまでの間他の家畜と接触させないようにすること。
- 5 他の農場等に立ち入った者がみだりに畜舎に立ち入らないようにするとともに、他の農場等に立ち入った車両が農場に出入りする場合には、当該車両の消毒に努めること。
- 6 畜舎の屋根又は壁面に破損がある場合には、遅滞なく修繕を行うとともに、窓、出入口等の開口部にネットその他の設備を設けることにより、ねずみ、野鳥等の野生動物及びはえ、蚊等の害虫の侵入の防止に努め、必要に応じて駆除すること。
- 7 家畜を他の農場等に出荷する場合には、当該家畜が移動することにより家畜の伝染性疾病の病原体がひろがるのを防止するため、当該家畜の健康状態を確認すること。
- 8 家畜の異常をできるだけ早期に発見することができるよう、家畜の健康管理に努め、異常が認められた場合その他必要な場合には、獣医師の診療を受け、又は指導を求めること。
- 9 家畜の健康に悪影響を及ぼすような過密な状態で家畜を飼養しないこと。
- 10 家畜の伝染性疾病の発生の予防に関する知識の習得に努めること。

馬インフルエンザワクチンの状況

- 現在、日本で使用されているワクチン株

H7N7 Newmarket/1/77*

H3N8 Avesta/93

H3N8 Laplata/93

* 今秋より、Newmarket/1/77 に代えて、H3N8 Ibaraki/1/07 株を
組み入れたワクチンを使用予定

- 馬インフルエンザワクチンの製造量

100,000 ドーズ/年

- 若齢馬及び牝馬に対する任意プログラム

(日本軽種馬協会後援)

平成21年7月24日

輸入検疫における馬インフルエンザに対する検査対応について

1 これまでの対応(発生前)

- (1) 家畜衛生条件において、輸出国において一定期間、本病が確認されていない農場で飼養されていたこと及びワクチン接種を要求。
- (2) 輸入検査において、本病を疑う臨床症状が確認された場合、ウィルス検査を含む精密検査を実施。
- (3) ワクチン接種時期等から追加接種が必要と認められる馬については、早期の追加接種を指導。

2 これまでの対応(発生後)

平成19年8月の馬インフルエンザの発生を受け、以下のとおり段階的に輸入馬に対する検疫の強化を図った。

(1)平成19年9月3日

- ① 我が国に輸入される馬(興行用、肉用を除く)全頭について、臨床症状の有無にかかわらず、インフルエンザウィルス抗原検出用試薬によるスクリーニング検査を行い、陽性の場合、RT-PCR法によるウィルス遺伝子の検出を行う。RT-PCR法陽性の場合、ウィルス分離を行う。
- ② 肉用、興行用の馬については、臨床的または疫学的に必要と認められた場合、検査を実施する。

(2)平成19年10月24日

興行用の馬全頭についても、臨床症状の有無にかかわらず、(1)、①の検査を行う。

(3)平成20年11月1日

肉用の馬全頭についても、臨床症状の有無にかかわらず、(1)、①の検査を行う。

3 今後の対応

当面の間、海外から輸入される馬全頭について、2、(1)、①の検査を継続する。

平成19年9月3日
発出日より1年有効
企画調整課

事務連絡

本所各課長
本所管内出張所長
各支所検疫課長 } 殿

企画連絡室企画調整課長

馬インフルエンザ発生に伴う輸入検疫の強化について

輸入馬のインフルエンザについては、これまでも臨床的または疫学的に必要と認められた場合に、検査を実施してきたところですが、国内における馬インフルエンザ発生に伴い、輸入馬の当該疾病に係る検疫を強化することとし、当面の間、下記のとおり実施するので対応をよろしくお願いします（別表参照）。

記

1. 検査の強化

我が国に輸入される馬についてはインフルエンザワクチン接種を義務づけている現状から感染があっても必ずしも明確な症状を示さないことから症状の有無にかかわらず、全頭を対象として鼻腔スワブ材料からインフルエンザウイルス抗原検出用試薬（エスプライン インフルエンザA&B-N 富士レビオ株式会社）によるスクリーニングを各係留施設にて実施し、陽性の場合、精密検査部病理理化学検査課においてRT-PCR法による馬インフルエンザウイルス遺伝子の検出を実施する。RT-PCR法陽性の場合、さらに発育鶏卵接種によるウイルス分離を行う。なお、肉用、興行用の馬の対応にあつては臨床的または疫学的に必要と認められた場合について検査を実施する。

2. 後採血の実施

我が国に輸入される馬（肉用、興行用を除く）全頭について、後採血を実施し「輸出入動物から採取した血清の保存について」（昭和52年11月5日 52動検甲第1341号）に基づき保存する。

別表

輸入馬のインフルエンザ検疫対応について※

用途	係留期間	対象	類症鑑別として留意すべき疾病	後採血の実施
競走用	10日※※	全頭	EVA、ERV、腺疫等	実施
繁殖用	10～21日	全頭	EVA、ERV、腺疫等	実施
乗用	10日	全頭	EVA、ERV、腺疫等	実施
肉用、興行用	10日	臨床的又は疫学的に必要と認められたもの	EVA、ERV、腺疫等	必要に応じて実施

※ 検査方法：鼻腔スワブ材料を用いたスクリーニング(簡易診断キット)
陽性の場合、RT-PCR法によるウイルス遺伝子検出
PCR陽性の場合、発育鶏卵接種によるウイルス分離

※※係留期間が5日まで短縮されるものを含む。

馬の鼻汁スワブ採取法 (ウイルス採材)

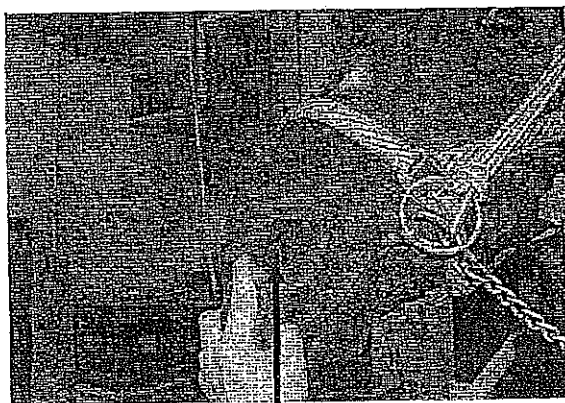
平成19年8月21日

軽種馬防疫協議会

鼻汁スワブ採取法

- 1、保定をする。必要に応じて、鼻捻子使用。
- 2、綿棒を培地に浸す。
- 3、鼻道の奥に綿棒を挿入。
- 4、粘膜に押し付けて鼻汁を吸い取る。
鼻孔入り口の部分には触れないように注意。(図1)
可能ならば、1分間押し付ける。(図2)
- 5、培地に綿棒を入れ、柄を折りふたをする。

図1



この部分は非常に汚いので、触れないように注意！

図2

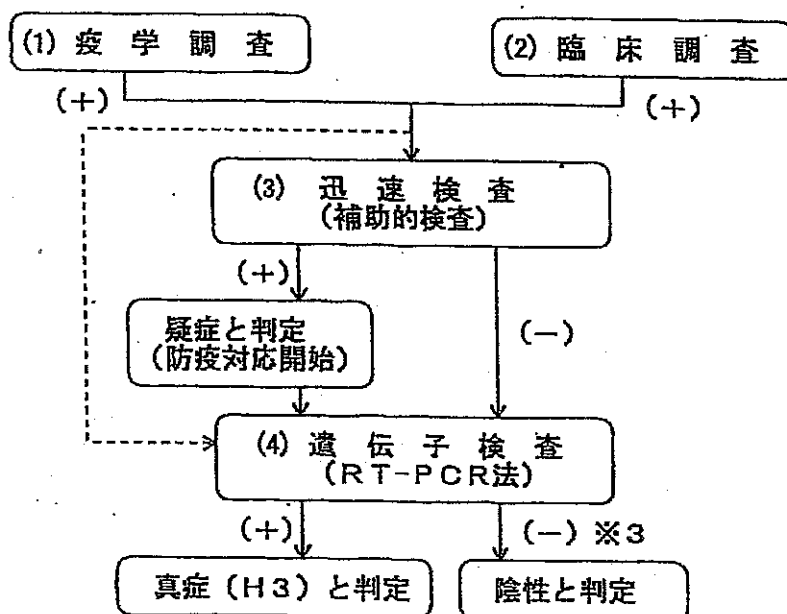


鼻道の奥に綿棒を挿入し、鼻汁を吸い取る。

※ JRA で数種の市販迅速キットを調査した結果では、馬インフルエンザに対してエスプライン (富士レピオ社製) が感度・特異性共に優れていた。
(キットによっては、馬のウイルスをほとんど検出できないものもあった。)

馬インフルエンザ（H3亜型）検査チャート（暫定版）

今般の発生を受けて、馬インフルエンザ（H3亜型）を想定した検査を効率的に進めるための当分の間の措置として、以下により本病の診断を実施する。



※1 検査は家畜保健衛生所で実施。

※2 検査手技等に関する問い合わせ先はJRA総研栃木支所。

※3 疑症であり、遺伝子検査で陰性となったものは、ウイルス分離の実施等について農林水産省動物衛生課と協議を行うこと。

(1) 疫学調査

- ① 集団的に発生（伝播力が強い）
- ② 周辺に本病の発生があった
- ③ 最近、馬を移動・導入した
- ④ 日本中央競馬会関連施設との関連がある

※1 本病は年間を通じて流行します。

※2 予防注射を受けていても発生することがあります。

(2) 臨床調査

- ① 発咳（初期乾性のち湿性）
- ② 鼻汁漏出
- ③ 発熱
- ④ 一般症状の悪化
- ⑤ 羞明及び流涙
- ⑥ 頸部リンパ節の腫脹

(3) 迅速検査（補助的検査）

A型インフルエンザ診断用キット（市販品）を使用。

(4) 遺伝子検査

別紙要領に基づき実施。

(5) 疫学調査

疫学調査用として（2）臨床検査及び（3）迅速検査が陽性の馬については、血清、鼻腔スワブ等を採取・保管すること。

(別 紙)

馬インフルエンザウイルスのRT-PCR法プロトコール

JRAで実施している馬インフルエンザウイルスのRT-PCRのプロトコールは以下のとおりです。こちらを参考に各家畜保健衛生所での検査を実施願います。

1 サンプルング

JMS綿棒(大)を鼻腔背鼻道粘膜に1分間押し当てる。その綿棒を2.5mlの乳糖ゲンタマイシンブイヨン培地(0.005%硫酸ゲンタマイシン加)【※1】にストレプトマイシン10mg/ml及びペニシリン10000単位/mlを加え、 Na_2HPO_4 (0.1M)でpHを7.2~7.4に調整したものに浸漬し、よく攪拌する。懸濁液を回収し、 $\times 5000$ で5分遠心し、その上清140 μ lから、QIAamp Viral RNA Mini KitでRNA【※2】を抽出する。

2 プライマー

プライマーの設定は以下のとおり。

Forward : AGCAAAAGCAGGGGATATTTCTG

Reverse : GCTATTGCTCCAAAGATTC

プライマー濃度は、0.4 μ M (QIAGENのOne step RT-PCR kit【※2】で実施)。

3 サイクル条件

$\times 1$

50°C 30min

95°C 15min

$\times 35$

94°C 15sec

50°C 30sec

70°C 60sec

$\times 1$

72°C 5min

$\times 1$

4°C forever

4 2%アガロースゲルで電気泳動し、陽性検体で増幅されるバンドのサイズは1041bpです。

※1 ニススイより市販。イーグルMEM、PBS等でも代用可能と考えるが、他の検査への利用等を考慮すると、血清無添加であるもの、抗生物質が添加されているものが望ましいとのこと。

※2 JRAで実際に使用しているキットを例としてあげたものであり、各家畜保健衛生所において現在使用しているキットを使用して差し支えないとのこと。

(参考文献)

Description of the outbreak of equine influenza (H3N8) in the United Kingdom in 2003, during which recently vaccinated horses in Newmarket developed respiratory disease.

Vet Rec. 2006 Feb 11;158(6):185-92.

事務連絡
有効期限発出日より1年
平成19年10月24日

本所各課長
本所管内出張所長
各支所検疫課長 殿

企画連絡室企画調整課長

馬インフルエンザ発生に伴う輸入検疫の強化について（その2）

国内における馬インフルエンザの発生に伴い、平成19年9月3日付け企画調整課長事務連絡「馬インフルエンザ発生に伴う輸入検疫の強化について」により、輸入馬の当該疾病に係る検疫を強化したところですが、輸入後の国内移動の頻度・隔離状況に基づき暴露・蔓延リスクを評価し、当面の間、下記のとおり実施することとしましたのでご対応をお願いします（下線部が変更点）。

記

1. 検査の強化

我が国に輸入される馬についてはインフルエンザワクチン接種を義務づけている現状から感染があっても必ずしも明確な症状を示さないことから症状の有無にかかわらず、全頭を対象として鼻腔スワブ材料からインフルエンザウイルス抗原検出用試薬（エスプライン インフルエンザA&B-N 富士レビオ株式会社）によるスクリーニングを各係留施設にて実施し、陽性の場合、精密検査部病理・理化学検査課においてRT-PCR法による馬インフルエンザウイルス遺伝子の検出を実施する。RT-PCR法陽性の場合、さらに発育鶏卵接種によるウイルス分離を行う。

なお、肥育用素馬、と畜場直行馬の対応にあつては臨床的または疫学的に必要と認められた場合について検査を実施する。

2. 後採血の実施

我が国に輸入される馬（肥育用素馬、と畜場直行馬を除く。）全頭について、後採血を実施し「輸出入動物から採取した血清の保存について」（昭和52年11月5日 52動検甲第1341号）に基づき保存する。

※ 興行用馬については、原則として検査の強化、後採血の実施を行うこととするが、疫学的に必要ないと判断された場合には、省略することもできる。

平成20年10月21日
発出日より1年有効
企画調整課

事務連絡

本所各課長
本所管内出張所長 殿
各支所検疫課長

企画連絡室企画調整課長

馬インフルエンザに係る輸入検疫の強化について

昨年の我が国における馬インフルエンザの発生に伴い、平成19年10月24日付け企画調整課長事務連絡（馬インフルエンザ発生に伴う輸入検疫の強化（その2））により、肥育用素馬及びと畜直行馬を除く輸入馬について、インフルエンザウイルス抗原検出用試薬によるスクリーニング検査、後採血の実施等を行っているところです。

当該疾病については、本年も発生が見られており、引き続き輸入検査の強化を図るものとして、下記により対応するようお願いします。

記

1 検査の強化

(1) 我が国に輸入される馬について、全頭を対象として鼻腔スワブ材料からインフルエンザウイルス抗原検出用試薬（エスプライン インフルエンザA&B-N 富士レビオ株式会社）によるスクリーニング検査を、各係留施設において実施する。

なお、これまでスクリーニング検査を実施していなかった肥育用素馬及びと畜場直行馬については、本年11月1日から実施することとする。

(2) (1) の検査の結果、陽性であった場合には、精密検査部病理・理化学検査課においてRT-PCR法による馬インフルエンザウイルス遺伝子の検出を実施する。

また、RT-PCR法陽性の場合には、さらに発育鶏卵接種によるウイルス分離を行う。

2 後採血の実施

我が国に輸入される馬について、全頭を対象として後採血を実施（肥育用素馬及びと畜場直行馬については、必要に応じて実施）し、「輸出入動物から採取した血清の保存について」（昭和52年11月5日付け55動検甲第1341号）に基づき保管する。