

令和元年度 第1回徳島県動物由来感染症対策検討会

【司会 安全衛生課 鎌田】

ただいまから、令和元年度第1回徳島県動物由来感染症対策検討会を開催いたします。
開会にあたりまして、安全衛生課山本課長からご挨拶申し上げます。

【安全衛生課 山本課長】

～あいさつ～

【司会 安全衛生課 鎌田】

それでは委員と顧問の先生方をご紹介します。

～委員紹介～

本日はオブザーバーとして、今夜の動物由来感染症対策セミナーの講師をしていただき、フィリピンからお越しくださいました、獣医学博士のMIRANDA, MARY ELIZABETH GUTIERREZ先生をお迎えしています。

続きまして事務局の安全衛生課と、健康づくり課感染症・疾病対策室です。部会として、畜産振興課、保健所、保健製薬環境センター、動物愛護管理センター、食肉衛生検査所の担当者が出席しております。

それでは議事に移ります。ここからの進行は馬原委員長にお願いいたします。

【馬原委員長】

馬原です。よろしくお願いたします。

Ms.Miranda, welcome to Tokushima. Thank you for join us.

【ミランダ先生】

Thank you very much.

【馬原委員長】

We are expecting your special lecture in this evening.

【ミランダ先生】

Yes.

【馬原委員長】

まず日本の現状について、ここ数日の間にヒアリが日本にも定着したという話題です。

【安全衛生課 真鍋係長】

ヒアリについて国内の発生状況について、主管の環境首都課に確認した内容を報告します。ヒアリは本来、南米中部に生息しているものですが、2017年に日本で初めて確認されております。飛行機や船の貨物に紛れてアメリカや中国、台湾、オーストラリアなどに拡散されています。定着を防ぐことができているのはニュージーランドのみと言われております。

日本国内の発生は、これまで14都道府県で確認されていまして、いずれも大きい港、主に中国のコンテナや積み荷、モニタリングのトラップで確認されています。徳島県から近いところでは、広島、岡山、大阪、兵庫で確認されております。四国での確認は今のところありません。報道によると、東京湾の青海埠頭というところで50匹以上の女王アリが確認されたということです。これまでの発見と異なりますのは、巣の中で成長したとみられる繁殖可能な女王アリが50匹以上ということで、すでに別の場所に拡散した恐れ、定着した可能性が非常に高いということで報道されております。ヒアリに刺される被害としても、家畜が刺される被害ですとか、農作物の食害、それから電気設備に集まるということで、それがショートしたりというような被害もあります。

特徴としては、土で大きな蟻塚を作るところです。それを棒などでつつくと、攻撃性が強いので集団でわっと出てきて襲いかかるということです。お尻に毒があり、刺されます。見分け方は赤っぽくてつやつやしており、2.5ミリから6ミリのばらばらの大きさのアリが混じっているのが特徴だそうです。

発見した場合、市町村役場が窓口になります。県のホームページ等でも注意喚起はしています。刺された場合の対策について健康づくり課から簡単をお願いします。

【健康づくり課 岩田係長】

厚生労働省からも10月17日付で「ヒアリに刺された場合の注意事項について」という文章が発出されたところ。環境首都課のホームページにも掲載していますが、基本的には、刺されると、大変強い痛みと水泡を形成することが多いです。刺された場合は20～30分程度安静にし、変化がないかを気を付けるということなのですが、体質によってはアナフィラキシーショックがあるので、よく体調を見て、異変があった場合は、すぐに救急車を要請して病院を受診してください、と健康に関するご相談があった場合には説明しております。

【馬原委員長】

続いて豚コレラです。大きな問題となっています。県から簡単をお願いします。

【畜産振興課 山本主任】

日本における豚コレラの状況について、情報提供します。昨年9月、岐阜県において26年ぶりに日本国内で発生して、その後現在まで、6つの県の農場で発生が確認されています。岐阜、愛知、三重、福井、長野、埼玉の6県です。これまで関わったブタの頭数は14万6千頭を超えている状態です。

この感染拡大に大きく関わっていると考えられます野生イノシシについてなんですが、先程の6つの県以外に、石川、富山、群馬、静岡、滋賀の5つの県で感染が確認されています。

新聞等でご存知の方もいらっしゃるかと思いますが、6つの県で本日からワクチン投与が始まっておりまして、残る5つの県につきましても準備が整い次第、ワクチン接種を行っていくという状況です。

なお、豚コレラは人間には感染及び発症しません。

【馬原委員長】

本県でも対策は考えているということですね。

【畜産振興課 山本主任】

そうです。防疫対策をしっかり整えて、本県はもちろんのこと、四国内にも発生、侵入させないように四国各県連携して対策を行っているところです。

空港や海港でも、情報提供を行い、連携をとっているところです。

【馬原委員長】

問題は子豚の移動でしょうね。例えば徳島県の豚は、県内で育っているのでしょうか。

【畜産振興課 山本主任】

親豚は他県から導入をしているものもあります。今のところ静岡県で野生イノシシの感染が確認されておりますが、養豚施設からは遠く、豚あるいは野生イノシシで感染が見つかった県からの導入はないという状況です。

【馬原委員長】

よろしくをお願いします。ここからは、ヒトの話題に移りたいと思います。

SFTSについて、公式発表では致死率が14.7%ですが、その後亡くなった方をフォローしていくと27%です。今の時代にはなかなか、非常に高いものとなっています。

徳島県では34人の感染が確認されており、8人が亡くなっております。致死率は23.5%と非常に高いです。SFTSは今年になって既に81例あります。過去最高だった17年度を超える勢いです。日本紅斑熱についても、200例を超える症例があって、そのうち、茨城県、滋賀県においては初発です。それから静岡県、広島県、滋賀県、愛媛県、熊本県、茨城県で死亡例が報告されております。

私は「この病気は治る病気です」と言っております。医師の責任だと思っております。SFTSについては、アピガンが効くことが動物実験で分かっています。臨床的な検査もある程度進んでいて、ほぼデータも出そろい、厚生省に申請をあげているところです。要するに早く見つけて、医療機関を受診されることが死亡率を下げることになります。他の有効な薬剤については、今のところはまだ文献上だけというところです。

そのことを共通認識とした上で、リサーチもしっかりしていく必要があると思っております。

それでは本日の議題に入ります。狂犬病については、2004年当検討会が始まった時から、井上先生に来ていただいて、このコミュニティのほか、机上訓練や調査を行っております。日本では最も進んでいる協議ではないかと思えます。今回、いい検査の結果が出ているということですので説明してもらいます。

【司会 安全衛生課 鎌田】

①「狂犬病ウイルスモニタリング検査イムノクロマトキットによる簡易検査について」動物愛護管理センターから報告いたします。

【動物管理センター 矢野課長】

今回、狂犬病ウイルスモニタリング検査にイムノクロマトキットを用いた簡易検査をいたしましたので、中間報告させていただきます。

検査の経緯について、2013年、台湾において野生動物、イタチアナグマでの狂犬病の流行がありました。これを受けまして、国内における野生動物モニタリング調査の必要性が叫ばれるとともに、徳島県でも平成25年から野生動物を含めた狂犬病ウイルスのモニタリング調査を実施しております。国でも平成25年に同じように全国の自治体の担当者を集めまして、技術研修会を開催するなどして、検査を実施できる自治体から始めていくと形で、年々検査を実施している自治体を拡大しつつあると伺っております。

今回の検査の目的ですが、より簡便な検査方法の構築、それから台湾式簡易検査の実践による検証です。この調査を国立感染症研究所の働きかけによりまして、徳島県だけではなくて、協力ができる島根県等との合同研究も行っております。イムノクロマトキットを使用した簡易検査の実施と検証ということで、検査方法につきましては、昨年台湾のウェイ先生が持ってきてくださったんですが、こういった簡易キットを使います。台湾で実際に使用されている簡易キットを日本で検査できるかを実証しました。

中身を開けますと、簡単なキットになっていまして、この中にカード、スポイト、綿棒、バッファがワンセットになっています。説明書ではスワブを使って検査するようになっていんですが、台湾のウェイ先生のお話によると、直接脳を採って検査したほうが100%に近い確率で結果が得られるとお伺いしましたので、徳島県でも脳を検体としてこの簡易キットを使っております。

検査方法です。まず、脳を綿棒で採材して、キットに添付されているバッファで脳乳剤を作成します。数分間静置した後、上澄み液を数滴このカードに滴下します。ここに滴下する窓があるんですが、ここに2~4滴、滴下する。10分から15分後の判定ということで、線が出てきます。1本なら陰性の線になり、陽性の場合、もう1本線が出ます。確認のために動物愛護管理センターでも使用しております狂犬病ワクチンの添加試験を行いました。京都微研のワクチンで、通常イヌやネコへの使用方法としては1ミリリットルを、皮下もしくは筋肉注射します。このワクチンを使いまして、バッファにワクチンを添加して検査を実施しました。左がバッファのみの場合です。下に線が出ておりますので陰性です。次にワクチンを5マイクロ添加したのも、これはうっすら線が出ています。同じように2マイクロ、1マイクロと、本当にわずかな量なんですけれども、添加してもこういった線が出たということで、かなり感度の高いキットであるということが確認できました。

このネコについては、人を咬んだことがあって、安楽死の注射をして注射を打った処分後にすぐ冷凍して解剖して検体に用いました。脳が融解していますがこれは死後半日以上経ったものを冷凍して解凍したためです。井上先生のご助言で、検体の状態や条件を変えながら検査しました。先程のネコ2匹の検査では、一番左が正常な検体です。両方陰性が確認できました。次にその脳乳剤にワクチンを添加した結果です。脳乳剤にワクチンを添加しても、同じように、かなりの感度で全てポジティブという結果が出ています。5マイクロ、2マイクロ、1マイクロのワクチンを加えた全てについて陽性のラインが確認できました。

それから、異なる動物種と異なる検体状況での検査結果について、まず、愛護センターに負傷しているイヌがいるということで、通報があって収容しましたところ、後弓反張の神経症状や遊泳運動がありました。目立った外傷はなかったんですが、感染症を疑い、注射による致死処分を行いました。この時、獣医大学の学生がインターンシップで愛護センターに来ており、一緒にこの簡易キットを使って脳の採材、検査をしました。脳の状態は良好で、検査結果についても簡易キットで陰性を確認しております。

次にネコです。負傷動物ということで搬入されたネコですが、当初から回転運動、この回転運動というのもローリングというか、横回転、ごろごろ転げ回るような回転をしておりました。生体所見としては左目を損傷、肛門出血、やや消瘦、衰弱していました。このネコも注射による致死処分を行いまして、一旦冷凍して4日後に解凍して検査を行いました。

次にタヌキです。ロードキル、路上死のタヌキを検体として用いました。このタヌキについては頭蓋骨を骨

折してありまして、おそらく交通事故と思われます。冷凍して2日後に検体として使っております。脳の状態については脳が一部損傷していましたが、狂犬病の検査で使うのは脳以外の部分を使いますので、特に問題ありませんでした。

次にイタチです。イタチも路上死のイタチで、目立った外傷はありませんでした。冷凍して4日後に検体として検査しております。脳の状態を見てみますと、融解しておりましたので、路上死後しばらく経っていたことが推測されました。

【馬原委員長】

イヌとネコの原因疾患については調べましたか。干渉がなかったかどうか。

【動物愛護管理センター 矢野課長】

イヌはおそらく破傷風とか神経症状を呈する疾患かと思われますが、調べてはいいです。ネコはおそらく交通事故にあったものだと思います。こういったいろんな動物と様々な状況で検査を行っており、全て結果はクリアに出ています。先程のタヌキは、保健製薬環境センターで蛍光抗体法とRT-PCRを検査しましたが、少し非特異反応が出たという報告がありまして、左側がポジティブコントロールでこういう星屑のような光が出るのが陽性なんですけど、紛らわしい、光っている部分が出ていました。原因について、今保健製薬環境センターで継続して原因を確認をしているところですが、PCRでは陰性というのを確認しておりますし、事前の簡易キットについても陰性でした。

このタヌキは頭蓋骨の欠損があり、交通事故死と推測はされ、脳が一部損傷してました。これも何か関連があるのかもしれませんが。今回の中間報告のまとめとして、実際使って、検体量が少しで済むので、例えば脳が一部しか採れないとか、融解していても検査が可能ということが確認できました。

それから簡便で、獣医の学生でも迅速に結果がでるとというような利点がありました。また、非常に安価で、保管も室温で1年半以上可能です。

今回狂犬病ワクチンを添加した疑似陽性の試験をして、感度が良好であったということ、それからイヌだけではなくて異なる動物にも対応できているという結果が得られましたので、継続して検査と検証を実施し、野生動物の簡便なモニタリング検査方法として確立できれば、全国の自治体でも取り入れられやすいものになると期待しております。

【井上顧問】

この中国製のキットには唾液を調べる方法が記載されていますが実際的な方法ではありません。診断成績の評価に難点がありますので確実な検査を行うために脳を直接使ってください。

唾液のスワブでスクリーニングはできますが、唾液中にウイルスが出ている時期が常に100%ではないので、唾液中にウイルスが出てない場合は、陰性となります。人の検査は生前診断を行いますので、脳を採材するわけにいかず、唾液で行います。唾液中にウイルスが出るまで、もしくは人が亡くなるまで検査を継続して確定に行います。動物で行う場合には、例えば人が咬まれた時には、動物が死ぬまで待つのか、すぐ直接脳を調べて暴露後のワクチン接種をするのかどうかを判断する必要がありますので、咬傷加害動物の検査にはスワブではなく脳による確実な方法を推奨します。

【大島委員】

日本のコウモリを捕まえることは難しいでしょうか。

【井上顧問】

可能です。環境省もしくは自治体の環境部局にコウモリの捕獲許可の申請を提出します。ただし、捕獲数には制限があり、毎年更新する必要があります。

【大島委員】

コウモリを一番捕食するのは何か、食べてうつるかどうか分からないですけども、例えばイタチを効率よく調べれば何か分かるのでは。

【井上顧問】

面白いですね。アメリカではコウモリで狂犬病が流行していますね。かつてはコウモリのウイルス株は陸生

の動物は全く報告がなかったんですが、30年間、調査をしていくと、コウモリのウイルスが陸生のスカンクなどに感染、発症して、定着して増えていくことが数年前に報告されています。もし日本のコウモリがウイルスを持っていて、チャンスがあって長いスパンで出ていけば、陸生の動物にアダプトしたウイルスが定着して広がっていくという可能性もあります。

ただし、非常に時間がかかるものです。昔にあったものが定着していてもおかしくなくて、それは多分台湾のようなケースがどこかで見つかるかもしれないということです。台湾で流行しているコウモリ種は日本のコウモリ種と同じなので、十分あり得るということですね。台湾で10年間調査をしてようやく10年目に陽性を見つけた。それ以降検査をしていて、毎回見つけるわけではなくて、非常に感度が低いです。

【馬原委員長】

日本は清浄国ですよ。一番モニターするべきところはどこですか。

【井上顧問】

イヌとネコが最も重要な人への加害リスク動物となります。これらペット動物の適正飼育がなされている場合には、やはり野生動物、キツネとかアライグマ、あとマンガースが、海外で狂犬病の流行が報告されている動物種として重要です。また、直接の接触機会は非常に少ないと考えられますが、コウモリもモニタリングが必要であると思います。狂犬病に限らず、コウモリと接触するチャンスの多い生活様式ではリスクが高くなります。

【馬原委員長】

海外のコウモリについて何かありましたらお願いします。

【井上顧問】

アメリカCDCはコウモリの調査をおこなってウイルスを分離しています。アジアの多くの国では狂犬病ウイルスに近いウイルスに対する抗体を持っているコウモリが沢山いるみたいですが、ウイルスは見つかっていません。

狂犬病ウイルスはリッサウイルス属に含まれていて、コウモリ由来のリッサウイルスのほとんどが狂犬病ウイルスに遺伝子が近いウイルスです。オーストラリアのリッサウイルスは世界中で報告されているリッサウイルスの中でも狂犬病ウイルスにより近い遺伝子を持っていますが、コウモリからは狂犬病ウイルスと同じウイルスは分離されていません。

コウモリの調査で陽性個体を見つけるためにはたくさんのコウモリを調べなければなりません、アジアでは血清中に抗体が陽性になったという報告があります。コウモリについてはまずヘンドラ、ニパ、リッサウイルスなどをリスクとして念頭に置いて考えておくといいと思います。

また、ミンダナオ島ではコウモリからヘンドラ、ニパに近いウイルスがウマから見つかっています。

【馬原委員長】

コウモリは飛び回るものですから、イヌ、ネコを十分にモニターしておけば、何かがあった時はそこから追跡できますね。

【三谷委員】

ワクチンで陽性が出ていましたが、ワクチンを打った経験がある犬からは陽性は出ないんですか。

【動物愛護管理センター 矢野課長】

愛護センターでも、10年近く前に、センターに収容されるイヌで、検疫に耐えられる抗体価を持っているイヌがどのぐらいいるか検査をしたことはあります。

【三谷委員】

ワクチンで、さっき陽性のラインが出ていたのですが、ワクチンは不活化ですよ。

【井上顧問】

検査ではウイルスのタンパクを検出するので、血清中の抗体は検出できません。

【藤野委員】

リッサとクロスで陽性はでるのですか。

【井上顧問】

リッサウイルス属には様々なタイプがありますが、遺伝子型が近いウイルスは反応性がクロスします。オーストラリアのリッサウイルスは検査で陽性となります。

【藤野委員】

病気としては狭義の狂犬病と違うのですか。

【井上顧問】

現在は、リッサウイルスによる感染症も狂犬病と呼称されています。疾病の経過と症状、発症後の重篤さは同じと考えられてはいますが、私たちが良く知っている犬などの陸生食肉目で流行している狂犬病の原因ウイルスによる感染症と違って患者さんの数とか症例数が非常に少なく、狂犬病と全く同じかは本当のところはまだ不明な部分があります。動物実験等による感染では、感受性が少し違います。

狂犬病ウイルス以外のリッサウイルスによる狂犬病も臨床で神経症状とか、興奮とか全く同じような経過を辿るため、検査をして遺伝子を特定すれば判断できます。

愛護センターで、引き取りをして健康状態を確認する中で、このキットを使ったモニタリング経験はありますか。

【動物愛護管理センター 矢野課長】

ありません。

【井上顧問】

フィリピンでは愛護センターのようなところにイヌを集めて、狂犬病のモニタリングを考えています。これと同じような簡易キットを使って行いますが、将来使いたいですか、とミランダ先生から質問がありました。

【動物愛護管理センター 矢野課長】

死亡個体ですか。

【井上顧問】

そうです。人に危害を及ぼしていない個体について陰性確認みたいなことは可能であるかと思えます。

【動物愛護管理センター 矢野課長】

興味深いですね。

【井上顧問】

ミランダ先生から、是非フィリピンに来て一緒に実験を手伝っていただきたい、とのことです。

また、フィリピンでイヌと人々の関係を体験して欲しいと言っています。是非チャンスがあれば。

【動物愛護管理センター 矢野課長】

ありがとうございます。

【馬原委員長】

次に、「令和元年度人畜共通感染症調査委託事業について」よろしくお願いします。

【安全衛生課 真鍋係長】

今年度人畜共通感染症について、委託業務として実施することになりましたので、報告します。委託先は顧問の藤田先生が所長を務められております馬原アカリ医学研究所にお願いしております。

調査対象は、県が依頼する人畜共通感染症の感染が疑われる動物で、人畜共通感染症の抗体の調査をしてい

ただきます。調査項目は、日本紅斑熱、発疹熱、ツツガムシ病、SFTS、野兔病、ブルセラ症等となっております。

当該事業については、徳島県獣医師会にも周知しており、動物病院等でこれらの感染症が疑われる動物を診察された場合は、動物病院からの検体も県を通じて調査をお願いすることとしております。その他愛護センター等で保護された動物の検体についても同様に調査をしていただく予定となっております。

まだ委託をしたところで、調査の結果が出ておりません。次回の検討会ではある程度、調査の結果についてご報告できるかと思います。

【馬原委員長】

獣医師の先生方の依頼先はどこですか。

【安全衛生課 真鍋係長】

県庁または最寄りの保健所等、県の機関にご連絡いただくようになっています。

【馬原委員長】

では次にデング熱の蚊媒介感染症について、よろしくをお願いします。

【司会 安全衛生課 鎌田】

議題2その他としまして、「デング熱等の蚊媒介感染症対策についての研究」について、保健製薬環境センターから情報提供いたします。

【保健製薬環境センター 川上係長】

保健製薬環境センターで平成29年度から30年度にかけて、蚊媒介感染症対策について調査研究を行った内容について報告します。

まず研究背景で、近年地球温暖化により、蚊の生息域が拡大していること、またグローバル化やインバウンドの増加に伴い、蚊媒介感染症の流行が拡大し、感染リスクが増加しています。近年の発生状況を見ると、日本では2014年に約70年ぶりとなるデング熱の国内感染例が発生し、海外では2015年度にブラジルを含む中南米地域でジカウイルス感染症が大流行しました。

厚労省検疫所FORTHのホームページでは、現在、デング熱がパキスタンで流行中であること、デング熱以外のチクングニア熱、ジカウイルス感染症についてもリスクのある国が掲載されており、依然としてこれらの感染リスクは高いものになっています。

今回の研究ではデング熱、チクングニア熱、ジカウイルス感染症の3つの蚊媒介感染症を対象としました。発熱、発疹など症状が類似しており、臨床症状だけで判別することが難しく、3つは鑑別疾患として挙げられています。流行地域も共通しており、ウイルスはネッタイシマカやヒトスジシマカによって媒介されます。ネッタイシマカは日本に常在していませんが、ヒトスジシマカは北海道を除く国内のほとんどの地域で生息しています。感染症法で、診断後直ちに届け出が必要とされる4類感染症に指定され、疑われる臨床検体は地方衛生研究所で検査を行います。このような背景を踏まえて、蚊媒介感染症に対する対策が強化されており、今後再流行することが懸念されており、国内感染のリスクが高いこれら3つの感染症について、重点的な対策が必要とされています。

対策として、2015年厚生労働省から蚊媒介感染症に関する特定感染症予防指針が出されました。この中で県は行動計画の整備、平常時におけるリスク地点の蚊の密度調査、また患者検体の確保や病原体の遺伝子調査の解析など、発生動向の強化について示されています。

また国立感染症研究所からはデング熱、チクングニア熱等、蚊媒介感染症の対応、対策の手引きが出されました。これには蚊の密度調査の方法と具体的な内容が示されています。これを受けて徳島県でも2016年徳島県蚊媒介感染症対策行動計画が策定されました。県は平常時対策として、蚊の生息調査を実施すること、当センターは病原体の同定、解析等の検査を担当することが明記され、蚊媒介感染症の発生予防と蔓延防止に取り組んでいます。

以上のことから、感染症例の迅速な把握、平常時の予防対策を行うことで、徳島県における蚊媒介感染症対策に役立てることを目標とし、研究を行いました。研究内容は、1点目に検査に関する検討です。3つの感染症は、鑑別疾患であるため、同時検査の必要性が高く、検査の効率化、迅速化について検討することにより、感染症例の迅速な把握につなげます。また、国内感染例が発生した際に必要となる遺伝子解析検査を整備しま

す。2点目として、媒介蚊からのウイルス保有検査の方法の確立を目指します。蚊の生息調査、ウイルス保有検査を実施することで、平常時からリスク地点の評価や、発生時の迅速な対応、効果的な蚊の駆除に役立ちます。

検討内容です。まず検査の効率化、迅速化について。検査は血液、尿などの検体を前処理し、遺伝子を抽出、リアルタイムPCRを用いて遺伝子検査を行います。ウイルスは1～4型の血清型を持つデング、単血清型のチクングニアとジカの計6種類を対象とします。3つの感染症それぞれに感染研の検査マニュアルがありますが、特に遺伝子検査の過程における反応試薬や濃度、条件は様々です。今回の遺伝子検査に用いる反応液の組成は、スライドに示す表の通りです。従来法との変更点を示していますが、この変更案で従来法との比較検討を行いました。

検討結果です。まず各ウイルスの標準コントロールについて、希釈系列を作成し、二重測定を行いました。検量線の直線性は、相関係数に反映されます。0.98から1の範囲が望ましいとされる相関係数が、全てのウイルスで満たされており、良好な直線性が得られています。

次に検出感度の比較を行いました。全てのウイルスにおいて、検出限界は従来方法と同等以上で、良好な検出感度が得られました。

検査の効率化、迅速化の検討についてのまとめです。今回の検討により、検査の効率化を図り検出感度も従来法と同等以上でした。機械にかける反応時間が短縮できたことで、検査は迅速化でき、検体搬入から2時間程度と、当センターで実施している遺伝子検査の中で最も速い検査が可能になっています。また検討内容について再現性をとり、検査の信頼性、有効性が確保されたため、平成29年8月に検査標準作業書を制定し、以降の行政依頼検体に対応しています。

次に遺伝子解析検査についてです。昨年遺伝子解析装置、DNAシーケンサーが導入され、当センターでの遺伝子解析検査が可能になりました。この機械は、遺伝子配列情報を把握することができます。先程までの遺伝子検査は通常検査、この遺伝子解析検査は追加検査という位置づけになります。陽性症例が発生した場合、例えば国内感染例が発生したとか、蚊の生息調査で捕集された蚊が陽性になった時には、追加検査として遺伝子解析検査を行います。非常に稀ですが、有事の際には必要となる検査になります。陽性コントロールを用いて遺伝子解析まで行ったところ、塩基配列は正しく解析されており、遺伝子解析検査についても整備することができました。

次に媒介蚊のウイルス保有検査に移ります。調査の流れについてです。まず蚊の生息調査を行います。蚊を捕集し、媒介蚊であるヒトスジシマカとそれ以外の蚊を分類します。ヒトスジシマカはさらにオス・メスに分けて血を吸うメスを検体として冷凍保存します。その後、前処理、遺伝子抽出、遺伝子検査を行います。

まず、蚊の生息調査についてです。調査場所は県内の公園等、3施設で行いました。大勢が集まるイベントがあるなど、ウイルスの流入機会が高い場所、また頻回に訪れたり、長時間滞在する人がいる感受性者の曝露機会が高いと考えられる場所を選んでいきます。各施設ごとに蚊の潜み場所となる茂みや下草のある場所の近くを3地点ずつ選び、計9地点で調査を行いました。調査期間はヒトスジシマカの活動時期を含む5月～10月まで、月2回、雨風が強くない日に実施しました。

調査方法は2種類です。人囮法は、文字通り人が囮になって蚊を捕まえる方法です。1カ所に8分間1人が立ち、吸血のために飛んでくる蚊を網で捕集します。またCO2トラップ法は、24時間ドライアイス1.5キロを保冷容器に入れて捕集器の脇に吊るし、ドライアイスから発生する二酸化炭素に寄ってきた蚊をファンで吸い取って網に捕まえるという方法です。この調査の一部は、定点モニタリング調査を行っていた県健康づくり課と共同で行いました。

生息調査結果です。こちらのグラフは人囮法とトラップ法で捕集されたすべての蚊の合計です。こちらのグラフは各施設ごとのヒトスジシマカ、メスの捕集数を示しています。こちらがヒトスジシマカ、メスの捕集割合を示しています。捕集割合はCO2トラップ法と比較して、人囮法が高く、捕集効率は人囮法が高いことが確認できました。2年間生息調査を実施して、2つの方法についてまとめています。感染症研究所の手引きから抜粋した内容は黒で、今回の調査を振り返っての経験談を緑で示しています。人囮法の場合、天候、特に風の影響を強く受けました。雨ではない日に実施しましたが、体で感じる位の風があると、蚊の捕集数が少ない傾向にありました。また、ヒトスジシマカは朝や夕方を中心とした日中に活動するため、今回の研究では午前中早くに調査を行いました。またCO2トラップ法では雨除け板が付いているため、小雨で風の少ない日であれば捕集が可能でした。手引きではCO2トラップ法は人囮法に比べて捕集数が少ないと記載とされていますが、今回の調査結果には当てはまらず、捕集総数はCO2トラップ法が多い結果となりました。ですが、調査をするにあたってドライアイス、乾電池の消費、捕集器のメンテナンスで、モーターの修理が定期的に必要な為、コストと手間がかかる調査であることが分かりました。これらの結果を踏まえて継続的に行う蚊の生息調査方法としては、

人囮法が有効であると考えています。

蚊の生息調査のまとめです。2年間に渡って県内の公園等、3施設で蚊の生息調査を実施しました。調査方法としては人囮法が効率的でした。人囮法の捕集方法を今回検討した結果、蚊の捕集数が向上し、県の定点モニタリング調査の強化につながったと考えています。

次に、捕集した蚊がウイルスを持っているのかどうか、保有検査の検討を行いました。検査の流れは人の場合と同様ですが、前処理方法が煩雑になります。ここでまず、蚊の前処理方法について検討しました。手順はスライドの通りです。蚊のモニタリングについて、標準的な方法がないため、ビーズ、電動ホモジナイザー、ペッスルを用いる方法を検討しました。前処理した検体から遺伝子を抽出し、スライドに示す反応液、反応条件で遺伝子増幅を行いました。

電気泳動の結果、遺伝子産物はペッスルがやや少なく、ビーズと電動ホモジナイザーが同等の収量でした。この結果から、蚊の前処理には個人差の影響が少なく、短時間で多検体を処理できるビーズを用いる方法が有効でした。また、結果は前後しますが、捕集した蚊は目視で分類するため、ヒトスジシマカがきちんと分類できているかどうか確認するためにDNAバーコーディングを行いました。DNAバーコーディングとは、遺伝子配列により種を同定する手法のことです。ヒトスジシマカと思われる蚊の遺伝子産物をダイレクトシーケンス、ブラストによる相同性検索を行った結果、ヒトスジシマカであることが確認され、正しく分類できていることを確認しております。

最後にウイルス保有調査結果です。捕集日、9つの地点別に30匹の検体とし、前処理遺伝子抽出を行います。3つの施設ごとに遺伝子抽出物の一部を等量混合してグループ化し、遺伝子検査を行います。もしウイルスが検出された場合には、地点ごとに再検査を行うことで場所の特定ができます。また、平時の調査としては検体数を少なくできることで、検査の効率化、時間短縮、コストを抑えることができます。今回の調査で調査対象となるヒトスジシマカ、メス計858匹について遺伝子検査を行った結果、6種類のウイルスは検出されていません。

媒介蚊のウイルス保有検査のまとめです。今回の検討により、媒介蚊からのウイルスの検査方法を確立しました。前処理にはビーズを用いる方法が有効であり、検体のグループ化により、効率的な検査が行えました。また2年間で捕集した媒介蚊858匹についてウイルス検査を行った結果、ウイルスは検出されていません。この調査からウイルスが検出されることは非常に稀ですが、平時から調査手法の技術を獲得し、リスク地点を評価、ウイルス検査体制を整えておくことで、発生時に迅速な対応がとれるものと考えています。

このほか、感染症情報センターのホームページによる情報還元、情報提供を行っています。蚊媒介感染症は海外で罹らない持ち込まないことが最大の予防策となるため、今後も継続的にホームページ上で情報提供を行っていきます。

全体のまとめです。研究成果として、①検査方法を検討し、検査の効率化、迅速化につながりました。検査マニュアルを整備して行政依頼検体に適用し、早期診断に寄与しています。②追加検査となる遺伝子解析検査についても整備し、国内感染発生時に対応可能となりました。③2年間の蚊の生息調査を行いました。前処理方法について検討し、媒介蚊からのウイルス検査方法を確立しました。今回の調査ではウイルスは検出されていません。④年報による研究報告。今後もホームページを通じて蚊媒介感染症に関する情報提供を継続し、感染症の発生予防、蔓延防止につなげていきたいと考えています。

【馬原委員長】

徳島県でも検査が確立されているということ、大変頼もしいことだと思います。温度、湿度によって蚊の出現頻度が違うんですね。まず、人はどうやったら予防できるのかだと思います。蚊に刺されないためにはどうすればいいか、しっかりと県民にアピールしてほしいです。また、それを裏付けることが大事ですから、その裏付け調査として場所、時間帯など、具体的に示していけたらいいですね。

あと、ヒトスジシマカはどのような場所で、発生が多いのでしょうか。

【保健製薬環境センター 川上係長】

小さめのたまり水です。

【馬原委員長】

そうですね。木の幹とかとかそんな所ですね。

【保健製薬環境センター 川上係長】

そうなんです。大きな池よりは、植木鉢の返しの部分とか、ほんの小さな水たまりです。

【馬原委員長】

やはり、皆さん意外だと思います。それから予防方法ですね。ジカ熱の時に、どう守ったらいいかというのはどこかのホームページに出ていますかね。そういうことも含めて示したら、このデータが生きてくると思います。

それから、日本でもデング熱が発生している所はありますか。

【保健製薬環境センター 川上係長】

沖縄と長野です。

【馬原委員長】

外国に行っていない人が感染したということは、帰ってきた人が蚊に刺されて、その蚊が他の人に感染を拡げているわけですから、ある程度定着に近い形ですよ。それを早くにモニターすることが大事です。

日本では、デング熱は定着しているんですか。

【保健製薬環境センター 川上係長】

まだ定着はしていないはずですよ。

【馬原委員長】

そうですね。一時的には流行しましたが抑えられたということで、徳島でもやらないといけません。

【保健製薬環境センター 川上係長】

リスクの高い期間にはそういったことも考えないといけません。

【馬原委員長】

徳島県は安全だよというのを、科学的に裏付けられた証拠とともにアピールしたいですね。

【岡部委員】

人囿法というのが蚊を捕集する方法で公開されていましたが、これは全国的にこれが一般的に使われている方法なんですか。

【保健製薬環境センター 川上係長】

そうです。

【岡部委員】

人を囿にするということは、やはり刺される可能性があるんで、リスクがゼロではない。逆に自動化してできるだけ、例えば、体臭とか温度とか色々あると思うので、人を囿にしなくても、採集できるような方法はないのかなと気になります。

【馬原委員長】

そうですね。ドライアイスはどうですか。

【保健製薬環境センター 川上係長】

人を吸血する蚊が二酸化炭素に反応して寄ってくるということですので、それでドライアイスによる吸引材を併用してのトラップを試しました。今回ヒトスジシマカだけを目的としてましたが、ドライアイスを設置すると、それ以外のアカイエカとか、違う蚊もいっぱい寄ってきましたので、今回のこの3つの感染症で媒介するヒトスジシマカだけを効率的に採るとしたら、人囿法のほうがすぐに集められます。

【司会 安全衛生課 鎌田】

最後に、議題2「その他」としまして9月8日に開催されました「令和元年度獣医学術四国地区学会」で発

表しました「投薬治療による薬剤耐性菌の出現が疑われたブタ敗血症の一例」について食肉衛生検査所から情報提供をお願いします。

【食肉衛生検査所 都築次長】

今回報告させていただく内容は、感染症から少し外れてしまいますが、高知県で行われました獣医学術四国地区学会におきまして、賞をいただきました。審査員の講評の中で、このような問題点が獣医学領域だけではなく、医学領域の先生方にも議論してもらう必要があるのではないかと意見をいただいております。先日も大阪府大東市の病院において、多剤耐性アシネトバクターによる院内感染で多くの方が死亡されたという報道がありましたが、今回報告させていただく内容は、体調不良のブタに対する治療過程において、不適切な抗生物質投与を行った結果、原因と思われる菌に対しまして、新たな薬剤耐性を付与した可能性があるという内容になります。

医師の先生方は既にご存知のことかもしれませんが、薬剤耐性菌の発現ということは人だけにおける問題ではなく、動物の治療においても非常に憂慮すべき問題であると考え、今回、発表者から情報提供させていただきます。

【食肉衛生検査所 増井主事】

まず最初に、人医療・獣医療において薬剤耐性は重要な問題です。2016年の国際会議では医師と獣医師は人と動物の医療において重要な抗菌剤の責任ある使用のため、協力関係を強化することが決められました。

現在我が国でも、医師・獣医師が連携して様々なシンポジウムが開催されており、本日の動物由来感染症対策検討会も医師と獣医師が話し合う大事な場であると感じています。

まず資料の1枚目をご覧ください。

これは厚生労働省が作成した薬剤耐性ワンヘルス動向調査のイメージ図です。薬剤耐性対策でもワンヘルスアプローチが必要とされており、本調査では人と動物、食品、環境に関する各サーベイランスのデータに基づき、総合的な分析、評価を実施し、抗菌薬使用量や耐性物の公表、耐性菌の拡散の早期発見、水平伝播の存在の把握を図っています。人の分野においては、人の抗菌薬使用量、入院患者での耐性菌や医療関連感染症、耐性菌による感染症のデータが集められており、動物の分野では家畜用、食用動物への抗菌剤使用量、畜産動物糞便中の耐性菌、食品中における耐性菌、愛玩動物における耐性菌を調べており、また環境中においては水系や土壌における耐性菌などについて調査しています。

ワンヘルス動向調査年次報告により、薬剤耐性アクションプランの成果資料を評価しています。

そして、本検討会の結論は、耐性菌を増加、拡散させないためには薬剤の適正使用が必要であるとされています。

2枚目の資料ですが、このグラフは2017年都道府県別の抗菌薬販売量を示しており、1位の石川県に次いで徳島県は全国2位となっています。2016年では徳島県が1位でした。全国的に見ても徳島県が抗菌薬の販売量が多いことが分かります。次の資料ですが、上の表は日本における抗菌薬使用量を示しています。人用と動物用の抗菌薬使用量は、2013～2016年にかけて増加にあります。下の円グラフは2016年の各分野における抗菌薬使用量の割合を示しています。これを見ますと、動物用と飼料添加物だけで59%と、半分以上を占めており、獣医療での抗菌薬使用量の多さがうかがえます。

抗菌薬の使用量と耐性菌の出現率は正の相関を示すと言われており、薬剤の適正使用が求められるほか、これらの現状は重く受け止めなければならない問題であると考えられます。本日はこの場をお借りして、と畜場で敗血症を罹患したブタにおいて、薬剤の不適切な使用によって耐性菌が出現したと思われる一例を報告させていただきます。

抗生物質は人の医療、畜水産業、小動物医療の様々な分野で使用されています。その一方で、各分野での薬剤耐性菌の増加が問題視されています。そして耐性菌は各分野において個々に出現するだけでなく、食品や環境、衛生昆虫を介して薬剤耐性菌が伝播、拡散することから、それぞれの分野を越え、連携して対策に取り組むワンヘルスアプローチを行う必要があります。このまま対策を講じなければ、2050年には世界の薬剤耐性に起因する死亡者数がガンを抜いて1千万人近くに上るとされています。わが国では薬剤耐性対策として薬剤耐性ワンヘルス動向調査検討会が毎年開催されています。この検討会では、耐性菌を増加・拡散させないために、薬剤の適正使用が必要と提言されています。

このような状況下において、と畜場で敗血症を罹患したブタにおいて、薬剤の不適切な使用によって耐性菌が出現したと思われる一例を報告します。

ここでと畜検査の流れについて説明します。ブタがと畜場に搬入された後、生体検査を行い、と畜解体を内

臓検査、枝肉検査を経て、と畜検査を合格すれば、検印が押され、市場にお肉が出荷、流通します。内臓検査、枝肉検査にて、肉眼では判断のつかない場合、精密検査を行います。今回、内臓検査にて疣贅性心内膜炎、心臓の弁のところに細菌の塊が見られ、他の臓器の所見も含め、肉眼では判断のつかない敗血症疑いとして精密検査を行いました。精密検査の内容は、微生物検査と投薬治療における抗生物質の残留が疑われるため、補助検査として残留抗生物質の簡易検査を行いました。

材料と方法です。当該農場のブタは、疣心型敗血症疑いで保留となったため、まず微生物検査が行われました。次に残留抗生物質の検査として、LC/MSにて薬剤の同定、計量を行いました。最後に薬剤の感受性試験を農場Aで分離された菌と同一菌種、農場B・Cについても行いました。農場B・Cについてですが、農場Aと同一と畜場に搬入された疣心型敗血症で保留となった別農家のブタです。農場B・Cからは抗生物質は検出されていません。

調べた薬剤は、残留していたマルボフロキサシンを含む全14薬剤です。当該農家の微生物検査の結果、菌は心臓・肝臓・脾臓から分離され、いずれもStreptococcus dysgalactiae subsp. equisimilis, SDSEでした。当初では、敗血症疑いの検体に対して残抗簡易検査を行っており、このように菌が臓器からも分離されているにもかかわらず、腎臓と筋肉で残抗が陽性でした。

ここで、残留していた抗生物質の同定、計量のためにLC/MSを行いました。残留抗生物質はマルボフロキサシンと同定されました。そして脾臓以外の各臓器の濃度は基準値の6倍を超えていました。マルボフロキサシンが感染する臓器から細菌が検出されたことから、分離菌はマルボフロキサシンに対する耐性菌である可能性が出てきました。

そこで、マルボフロキサシンが残留していた当該農家と残留していない農場B・Cにおいて、薬剤の感受性を調べました。農場Aの結果の一部をスライドで示します。菌を塗った培地上に、薬剤を含んだディスクを置き、培養後、阻止円の大きさを見ています。調べた全14用薬剤の感受性の結果を表で示します。マルボフロキサシンが残留していた農場Aは、残留していない農場B・Cと比較して、耐性傾向が見られました。農場Aにおけるマルボフロキサシンの阻止円の大きさは、耐性に極めて近い値となっています。他の薬剤の結果を見ると、農場Aの菌はマルボフロキサシンを含めた9薬剤に対して耐性または中間を示しました。マルボフロキサシンによって他8薬剤の耐性が生まれたとは考えにくく、元々8薬剤に耐性を示していたがマルボフロキサシンを投与したことにより、マルボフロキサシンの耐性が付加された可能性があります。耐性を示した薬剤の中身は、SDSEに対する人の治療薬であるクリンダマイシンも含まれていました。

考察です。農場Aにおいてマルボフロキサシン濃度が基準値の6倍以上だったが、菌が生存し、マルボフロキサシンに対して耐性傾向が見られました。農家への聞き取り調査により、マルボフロキサシンは第2選択薬だが、第1選択として使用していたこと、単回投与であったことからマルボフロキサシンの不適切な使用が認められたこと、農場Aは外部からブタを納入していないこと、また、県内のと畜場に搬入されたブタ、農場B・C由来の菌はマルボフロキサシンに対して感受性を示したことから、これらにより投薬治療により当該豚、体内において耐性菌が選択的に増殖した可能性が考えられます。今回敗血症の原因菌であったSDSEは人にも感染し、化膿性疾患や髄膜炎、蜂窩織炎など重篤な症状を引き起こし、死亡例も報告されています。農場Aの菌は元々クリンダマイシン、SDSEに対する人の治療薬を含む8薬剤に耐性を示す菌に、マルボフロキサシンの不適切使用によりマルボフロキサシンに対する耐性がさらに付加され、9薬剤に対する耐性菌が生まれたと考えられます。そのことから、薬剤不適切使用時に、人医療に影響を及ぼす耐性菌に農場でさらに耐性を付加してしまい、各分野に影響を及ぼす可能性が示されました。このような事態を避けるために、本県では食肉衛生検査所・家畜保健衛生所・農家でスライドで示すような連携をとっています。我々食肉衛生検査所には陽性事例が出た場合には農家への調査依頼を行っています。他にも残抗モニタリング検査の実施、食検日よりなどで啓発を行っています。特に農家に対しては投薬歴・病歴の申告を徹底するように指導していますが、その結果、休薬期間を厳守するという薬剤の適正使用への意識が高まっています。そして本日の検討会のように獣医療分野だけではなく、人医療分野とも情報共有をすることにより、ワンヘルスアプローチにつなげていくことが重要だと考えられます。

最後になりましたが、今回は農場Aの当該ブタは枝肉・内臓ともに廃棄しており、それ以外の農場のブタは、農家への聞き取り調査により、獣医師が出した指示書があり、1頭のみ投薬であったことから枝肉・内臓ともに流通させています。ご静聴ありがとうございます。

【馬原委員長】

これだけの抗生物質を全部測るのは大変なことだと思いますし、非常に意義のあることだと思います。ご努力に敬意を表します。

【岡部委員】

我々医師も自分で自分の首を絞めているというのがありますが、ただ、大きい病院では、抗生物質の使用が制限されておりますし、逆に感染性腸炎とか上気道炎等で抗生物質を使用しないことで、治療報酬が発生するような、厚生労働省の施策がありまして、薬剤師の方から、抗生物質の使用量が今年に入って激減しているという話も聞いておりますので、将来的にはもう少し改善されると思います。人間も動物も同じ地球に住んでいるので、耐性菌については、神経を使って、本当に必要な人にだけに使うように、共通認識を深めていかなければならないと思っております。特に今回のこのデータは非常に有用であると思っておりますので、広報させていただきたいと思っております。

【馬原委員長】

劣悪な環境で飼われているとかはありませんか。環境面からのアプローチはどうですか。

【食肉衛生検査所 都築次長】

劣悪な環境であるとは考えにくいと思います。

【大島委員】

マルボフロキサシンの投与は1回だけなんですか。

【食肉衛生検査所 都築次長】

年末から正月にかけて調子が悪くなり、治療を開始したものの、治療を途中でやめてしまっていました。と畜場に出荷するために、正月休みの間延命のため注射をし、と畜検査で見つかったようです。指示書通りに投薬を行っていませんでした。

飼料添加物は更に問題があって、バケツで散布するとも聞いていますので、これから耐性菌という観点からは、飼料添加物も含めて、動物側でも考えていかなければならないと思っております。

【大島委員】

小動物は抗生物質に頼らざるを得ないところもありますので、これを機に気をつけていきたいと思っております。

【藤野委員】

子供は本当にウイルス感染が非常に多いので、今までだったら、保護者が熱が出たら抗生剤が欲しいと言われてきましたが、十分に説明したら理解をしてくれる人が増えてきて、やりやすくなってきています。ただご老人とか入退院を繰り返している人は耐性を持っている方というのがかなり多く、本当に難しいです。

畜産分野での薬剤の適正使用というのはマニュアルなどがありますか。

【畜産振興課 山本主任】

第1選択薬や第2選択薬とかはきちんと定められています。

【三谷委員】

小動物では恐らくありませんね。第1選択薬・第2選択薬というのはなく、犬猫の皮膚科の時に抗生剤を使うことが多く、耐性菌の問題がでることがすごく増えてきて、最近皮膚科の勉強会では、その地域で第1選択薬を小動物領域で決めたほうがいいのではと言われております。

各病院、色々抗生物質を使って、耐性菌が地域で出るとどうにもならない事例があると聞きます。

【岡部委員】

この症例ではキノロン系という、どちらかというと強めのお薬を使っている。それも途中で放棄したような状態というのは耐性ができやすい、耐性菌を発生しやすいような環境になったんだろうと思われそうですが、逆に言うとう臨床の間でも同じような可能性があるのでは、認識と理解というのが非常に大切だと思います。

【馬原委員長】

動物の場合は餌がある。餌の中にも抗生物質が入っているというところが大きな違いかなと思っております。

【藤野委員】

なぜ飼料の中にそんな大量の抗生剤投与があるのですか。

【畜産振興課 山本主任】

おそらくこれまでの経験で、この比率で入れておくと育ちがいいという知識経験の積み重ねで餌が選ばれて生き残ってきたものだと思います。

【食肉衛生検査所 都築次長】

流行の肺炎だったり胃腸炎だったり、病気が分かっている、ワクチンがあれば打つのですが、ワクチンがないものに対しては、先に飼料添加剤として投与するのだと思われます。ニワトリやブタは頭数が多いので、1頭ずつワクチンを打つ手間よりは、最初から予防した方が良いという考えもあるのかもしれませんが。

【藤野委員】

それが本当に有効かどうかのデータというのは、今までの経験則的なものですね。

【安全衛生課 山本課長】

抗生物質を与えると腸内細菌叢が改善されて、増体率が良くなるというのが昔よく言われていました。

【食肉衛生検査所 都築次長】

休業期間を守らなければならないので生後何日まではこの添加物をあげて、次またこの添加剤をあげてください、出荷する何日前までには必ず切ってくださいというところがマニュアルなっているもので、そこに問題があるのかもしれませんが。

【馬原委員長】

動物の場合は餌からの場合もあるので、人間の側も考慮に入れなければいけないですね。

また、H5N1インフルエンザは、ワクチンができたので、世界における動物の発生が激減しています。

それでは議事を終了します。

【司会 安全衛生課 鎌田】

馬原委員長、議事の進行ありがとうございました。

閉会にあたりまして、健康づくり課感染症・疾病対策室からご挨拶を申し上げます。

【健康づくり課 感染症・疾病対策室長（代理）岩田係長】

～あいさつ～

【司会 安全衛生課 鎌田】

これもちまして令和元年度第1回徳島県動物由来感染症対策検討会を閉会します。ご討議ありがとうございました。