

閲覧注意：スライド2枚目に腐敗死体の写真があります。

資料 1 – 2

第10回野生イノシシ豚熱対策検討会資料（令和6年12月24日）

野生イノシシ死亡個体の耳介検査の現状

農林水産省 消費・安全局
動物衛生課
野生動物対策班

野生いのししの豚熱ウイルス遺伝子検出検査に係るこれまでの経緯

■ 現状と課題

- 豚熱発生前まで十分に検査されていたとは言えない、野生いのししの豚熱・アフリカ豚熱の検査に各都府県の家畜保健衛生所の業務リソースが奪われている。
- 野生いのししの死体検査は極めて重要であるが、腐敗・発蛆死体の剖検は、交差汚染リスクに加え、対応者の衛生リスクが高く、精神的負担及び作業量も極めて大きい。
- 2023年11月より、野生いのししの死亡個体を対象とした「耳介の利用を可」とするも（留意事項改正）、原則として剖検・扁桃等の内臓の検査が必要で、耳介のみの検査は、腐敗、損壊等により採取困難・検査不適の場合に限定されている（担当者判断）。また、コンベンショナルPCRでの検査の場合は、内部対象遺伝子での検査成立確認ができないため、耳介のみの検査では、陰性判断ができないとしている。

【死体検査の現状】

確認の上、検査不適と判断



水路から回収し検査実施



検査実施



検査実施



死亡個体の剖検は交差汚染リスク **高**
対応者の衛生リスク及び精神的負担 **大**

写真提供：栃木県

野生いのししの豚熱ウイルス遺伝子検出検査に係るこれまでの経緯

■ 解決策

より簡便な検査手法・検体採取法の導入

検査・採材の外部委託体制の整備

■ これまでのタイムライン

- 2018.9.14 野生いのしし死亡個体の豚熱サーベイランス開始
- 2020.3.5 野生いのしし豚熱検査におけるリアルタイムPCR法導入
- 2021.10.1 野生いのししアフリカ豚熱検査におけるリアルタイムPCR法導入
- 2021.11.1 豚熱及びアフリカ豚熱の同時診断が可能となるリアルタイムPCR試薬の発売
- 2021.11.22 外部検査機関へ委託する場合の基本的な考え方について整理
- 2022.3.31 野生いのししの豚熱検査における野外株とワクチン株の識別検査法の導入
- (2022.7.20 近畿ブロック家畜衛生業績発表会での兵庫県からの死亡個体での耳介を用いた検査の提案)
- 2023.3.22 野外株とワクチン株の識別検査試薬の発売
- 2023.4.3 ジビエ利用の手引きの改訂（ジビエ流通用のサーベイランス外での検査の実施）
- 2023.6.27 リアルタイムPCRの前処理方法の試薬の発売
- 2023.7.21 都道府県へ外部検査機関の情報提供
- 2023.11.15 野生いのししの死亡個体を対象とした耳介検体の検査適用（留意事項改正）
- 2023.3.22 死亡個体での耳介のみ検査適用の可否のための秋冬の検証結果の報告
- 2024.10.18 組織片を用いたリアルタイムPCR 用の簡易核酸抽出試薬の販売
- 2024.10.28 組織片を用いたリアルタイムPCR 用の簡易核酸抽出試薬に関する情報提供

春から夏（令和6年4月から10月）の検査結果を用いて耳介検査について分析を行った。

野生いのししの死亡個体の豚熱検査の状況について

- 耳介を用いた検査の導入前後について、同時期の死体検査実績を比較した。
(耳介を用いた検査の導入：2023年11月)

	死体検査	捕獲
2023年4～10月	359	19114
2024年4～10月	544	21952

フィッシャーの正確確率検定： $p < 0.001$ で有意

バイアス*の可能性のある県を除いた試算

	死体検査	捕獲
2023年4～10月	270	16658
2024年4～10月	330	18171

フィッシャーの正確確率検定： $p < 0.05$ で有意

* 死亡個体の検査数に、イノシシ群への侵入直後の感染死急増による影響が考えられる以下の県。
佐賀県（2024/6）、愛媛県（2024/6）、青森県（2024/8）、岡山県（2024/2）。

- 耳介を用いた検査を導入し、これまで検査不適だった個体についても検査が実施可能となった2024年は、2023年同時期と比較し、死体検査数が有意に増加している。

耳介利用の導入により、死体検査の強化につながった可能性。

野生いのししの死亡個体の耳介を用いた豚熱検査の状況について

- 令和6年4月から10月にかけて、耳介を検査した死亡した野生いのしし271個体のうち、耳介で陽性となったのは71検体であった（10月27日集計時点）。

表：耳介と他の検体の検査結果

	陽性	陰性	計
耳介＋扁桃	36 (1検体：扁桃陰性)	104	140
耳介のみ	35	96	131
計	71	200	271

※サーベイランスシステムに登録された検体のうちリアルタイムPCR検査実施検体のみ

- 耳介を検査した死亡271個体中、131個体が耳介のみの検査（全体の48%）。
- 耳介に対して扁桃の検出感度は同等（耳介：100%、扁桃：97.2%）。
- 耳介のみの検査としても、検出感度に有意な変化はない（フィッシャーの正確確率検定）。

- ◆ 耳介は他の検体での検査と同等以上の検出感度。
- ◆ 耳介のみの検査としても、感度に影響はない。
- ◆ 春～夏は、耳介の方が腐敗による影響を受けにくいと考えられた。実際、耳介検査のみの割合が高く、腐敗個体の検査に有効活用されたと考えられた。

耳介と扁桃で検査を行った豚熱陽性個体について

■ 対象個体

【秋から冬】

令和5年11月から令和6年2月に死亡いのししの耳介と扁桃のリアルタイムRT-PCRにおいて豚熱陽性を確認した23個体

(内訳：栃木県2件、長野県5件、兵庫県1件、鳥取県1件、香川県13件、高知県10件)

【春から夏】

令和6年4月から10月に死亡いのししの耳介と扁桃のリアルタイムRT-PCRで豚熱陽性を確認した個体のうち、Ct値のデータがサーベイランスシステムに登録されている17個体

(内訳：青森県1件、岩手県3件、茨城県4件、愛知県5件、鳥取県2件、岡山県2件)

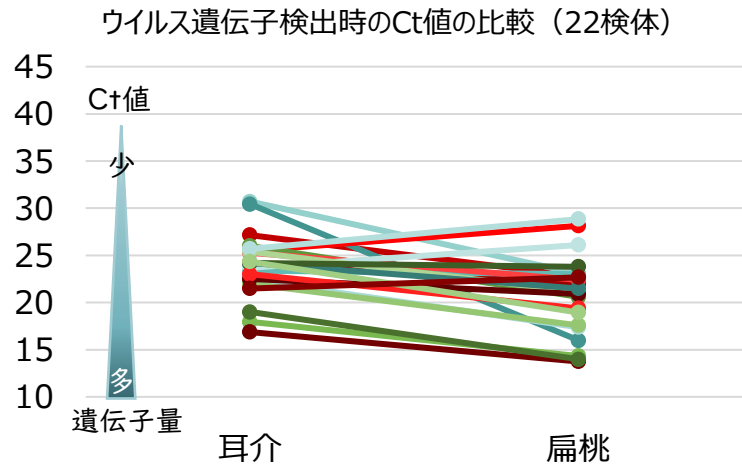
■ 検査手法について

Direct RT-qPCR Mix& Primer/Probe(Takara)によるリアルタイムPCR法

耳介と扁桃で検査を行った豚熱陽性個体について

秋～冬
(令和5年11月～令和6年2月)

	耳介	扁桃
陽性	22	22
陰性	0	0



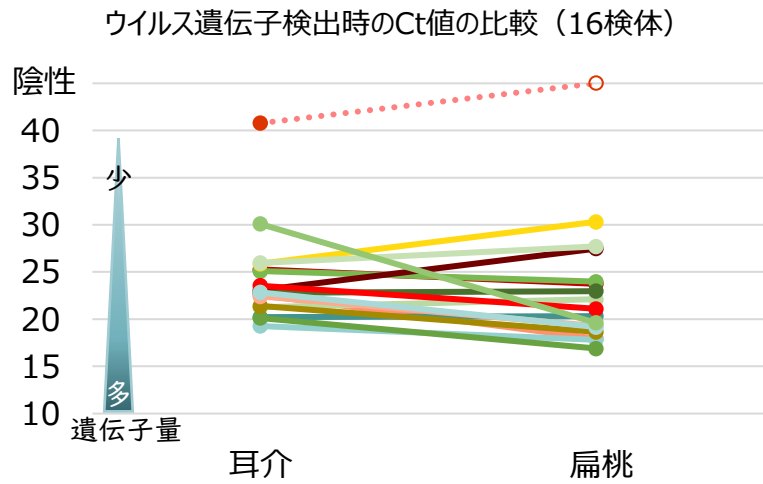
秋・冬

	N	Mean	SD
耳介	22	23.88	3.29
扁桃	22	20.84	4.08
差	22	3.04	3.76
$t(15) = 3.7051$, 有意差あり ($p < 0.01$)			

扁桃の方が有意差に低い、その差は3.3以内。

春～夏
(令和6年4月～令和6年10月)

	耳介	扁桃
陽性	17	16
陰性	0	1



春・夏 ※耳介のみで検出された個体は除外して検証

	N	Mean	SD
耳介	16	23.23	2.65
扁桃	16	21.82	3.84
差	16	1.42	3.49
$t(15) = 1.5758$, 有意差なし ($p > 0.1$)			

検体間で有意差はない。

＜方法＞
Shapiro-Wilkの検定により正規性を、F検定で等分散を確認後、対応のあるt検定を実施。

- ・耳片は扁桃と同等以上の検出感度である（耳片：100%、扁桃：97.2%）。
- ・秋冬では、扁桃の方が測定感度が有意に高いが、その平均値の差は10¹を超えず差は小さい。十分なウイルス増幅・全身感染が推定される「感染死亡イノシシ」でのウイルス遺伝子検出系においては、この測定値の差をもって、扁桃を含む内臓を検体とする積極的な理由は見いだせない。

まとめ

- 死体の検査数は、2024年春夏は2023年の春夏から有意に増加（初発生・確認等の影響を考慮しても有意）。死亡野生イノシシの検査において耳介検体の利用を可能としたことで、これまで腐敗・発蛆による状態不良から検査されていなかった個体についても、検査がされるようになった可能性が考えられる。
- 扁桃検体では検出できなかった場合においても、耳介検体ではウイルス遺伝子を検出できた事例が見られた。このように、特に検体が腐敗・発蛆しているような場合では、（そもそも扁桃等が腐敗・発蛆により検査不適な場合が多いことも考慮し）耳介検査は有用と考えられる。
- 冬季の調査結果と比較して夏季に検査された扁桃検体ではCt値が高くなる傾向がみられた。これは扁桃の方が耳介より気温の上昇による腐敗・発蛆の影響を受けやすいためであると考えられる。

・動衛研での実験室内試験での検証
・ASFウイルスの検出は、耳介からも豚熱と同様に可能であり、腐敗検体でも検出感度は一致。

- 
- 死亡個体を剖検した結果で得られるメリットと作業負担が見合っていないことは明らかな。
 - 死体検査では、耳介のみの検査を可能としてよいのではないか。

1 捕獲検体においても耳介による検査の適用の可能性。

- 現在、捕獲した野生いのししの検査に耳介を用いることはできないが、耳介検査による採材の省力化を求める声もある。
- 耳介を捕獲証拠品として採用している場合は、その活用も考えらえる。
- ただし、死亡した野生いのししは、捕獲された野生いのししに比べ検体中の遺伝子量が多いことから、耳介検査によるウイルス遺伝子の検出も十分に可能だと考えられるが、一方で捕獲した野生いのししは感染ステージが様々で、ウイルス遺伝子量が少ない個体も存在している可能性に留意が必要。

2 捕獲個体での高Ct値の解釈

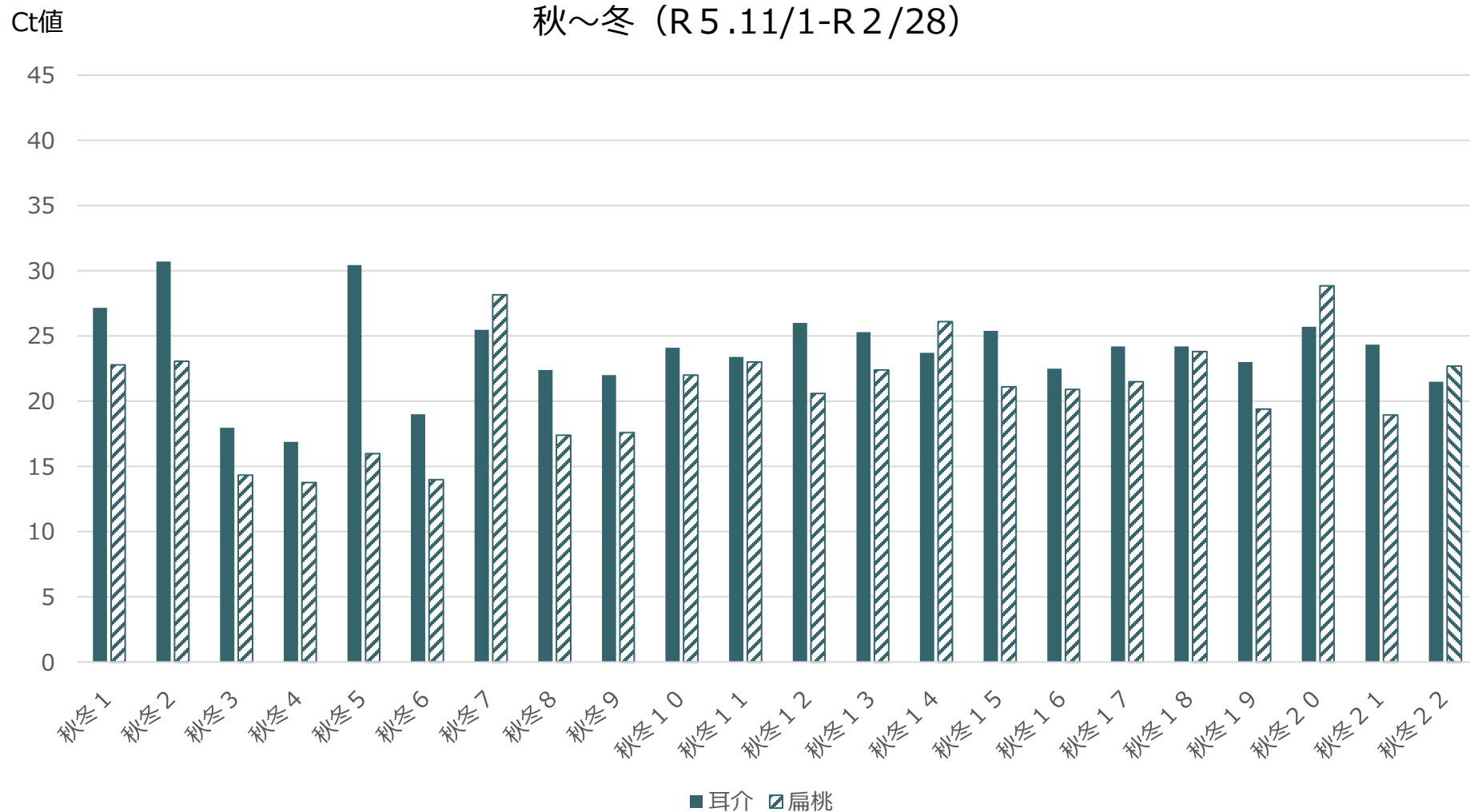
- 検査の高感度化が進み、コンベンショナルPCR・RFLPで陰性・配列決定が不可となる個体での陽性事例が増加。
- このような個体についての感染リスクにおける解釈が必要。

■ 引き続き、高精度で効率的なサーベイランスに向け、サーベイランスの結果の分析及び研究による情報収集を継続し、対策に反映させていく必要がある。

いのししの死体の回収・検査体制を確保し、処理に対応いただいている皆様に感謝申し上げます

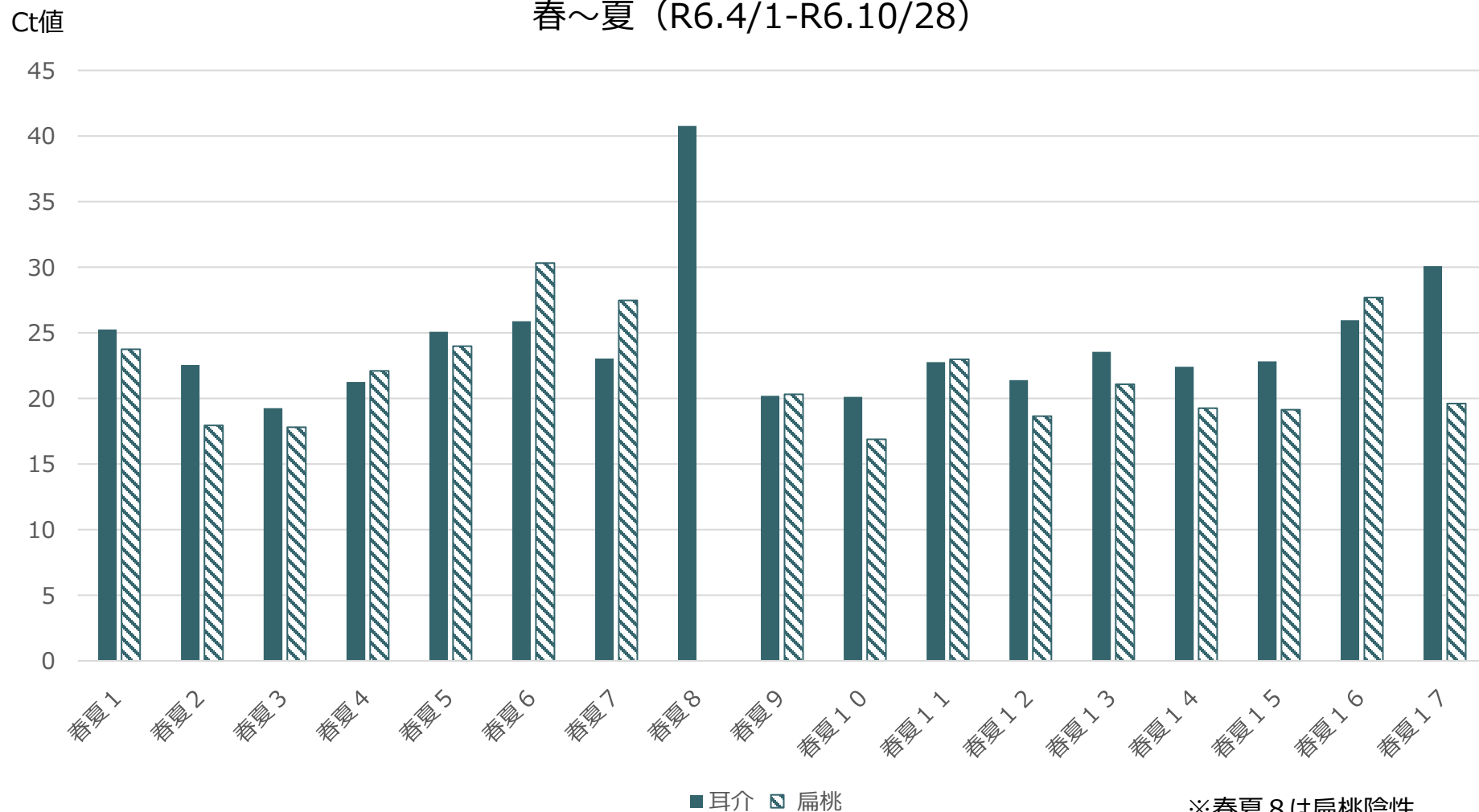
ウイルス遺伝子検出時のCt値の比較（耳介vs扁桃）

秋～冬（R 5.11/1-R 2/28）



ウイルス遺伝子検出時のCt値の比較（耳介vs扁桃）

春～夏（R6.4/1-R6.10/28）



※春夏8は扁桃陰性