

令和 4 年度戰略的監視・診斷体制整備推進委託
事業報告書
(4) 野生動物感染症監視体制整備

国立研究開発法人

農業・食品産業技術総合研究機構 動物衛生研究部門

令和5年3月

I 事業の目的と内容

1. 目的

家畜における伝染性疾患の発生・まん延を防止するためには、家畜群への伝染性疾患の侵入を監視するとともに、家畜群に疾患が侵入した場合に早期に摘発できる検査体制を整備することが重要である。家畜群への疾患の侵入の監視においては、野生動物が家畜への疾患の侵入ルートの一つとして指摘されていること、わが国家畜群では清浄化を達成したと考えられる疾患でも、野生動物内で維持されている可能性があること等から、野生動物における家畜の伝染性疾患の浸潤状況を把握する必要がある。また、家畜群における伝染性疾患の清浄化対策を維持・推進するためには、野生動物における発生状況を日常的に監視することも重要である。このため、本事業では、いくつかの野生動物種を対象に、重要と考えられる家畜伝染病の浸潤状況を調査するとともに、野生動物を対象とした検査体制整備のための取組を行った。

2. 内容

2-1. 野生動物における家畜伝染病の浸潤状況の調査

捕獲された野生動物等から検査材料を採取し、家畜の伝染性疾患の感染状況を検査するとともに、得られた結果から、野生動物での疾患の感染状況を評価した。本事業ではシカ、イノシシ及び野鳥（水禽類及びハト）について、下記の疾患を対象に調査を行った。

(1) シカ（糞便及び血液）

ア、ヨーネ病

イ、牛伝染性鼻気管炎（IBR）

(2) イノシシ（血液）

ア、オーエスキー病（AD）

イ、トキソプラズマ症

(3) 野鳥（水禽類及びハト）（糞便）

ア、ニューカッスル病（ND）

2-2. 野生のシカにおける鹿慢性消耗病（CWD）の検査体制の整備

鹿慢性消耗病（CWD）の検査において、我が国で用いられている牛海綿状脳症（BSE）のELISA検査キットが使用可能かどうかについて昨年度に引き続き検証を行った。また、野生のシカのプリオン蛋白質遺伝子におけるアミノ酸多型を明らかにする目的で、プリオン蛋白質遺伝子の遺伝子型を調べた。

II 野生動物における家畜伝染病の浸潤状況の調査

II-1. シカの調査

1. 方法

(1) 検査材料の収集

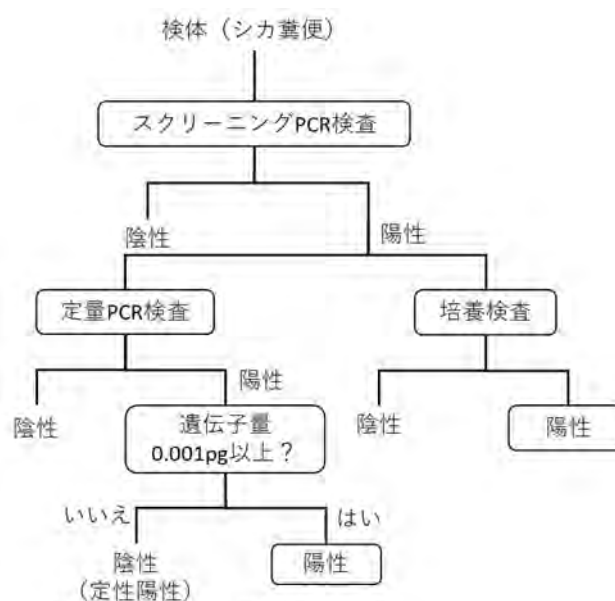
令和元年度から令和4年度までの4年間で、沖縄県を除くすべての都道府県を調査できるように調査対象都道府県を選定した。特に、牛のヨーネ病の発生が多く、シカの生息頭数も多い北海道を中心に今年度は合計150検体を採材することを目標として調査を実施した。調査に当たっては、大日本猟友会を通じて各道府県の猟友会に依頼し、9月以降に捕殺されたシカについて、検査材料（血液及び糞便）を採取し、冷蔵便にて収集した。検査材料の収集は、昨年度までと同様の調査票を用いて、捕獲日時、場所、捕獲方法、シカの推定年齢及び推定体重等についての情報を収集した。

（2）検査の実施

送付された材料のうち血液については、農研機構動物衛生研究部門（動衛研）で血清分離後、検査の実施まで-20℃で冷凍保存した。また、糞便については-80℃で冷凍保存した。その後、動衛研においてそれぞれの疾病を対象に、次の検査を行った。

ア、ヨーネ病

ヨーネ病に対する抗原検査は、遺伝子検出検査及び培養検査により行った【図1】。遺伝子検出検査においては、牛ヨーネ病の抗原検査法に準じて、シカ糞便からDNA抽出キット「ヨーネ・ピュアスピン」を用いてDNAを抽出し、スクリーニングPCRにより遺伝子の検出を行った。スクリーニングPCRとして、リアルタイムPCR試薬は「GeneAce RL qPCR Mix」と「ヨーネプライマーセットRL」（ターゲット遺伝子IS900）を使用した。スクリーニングPCRで陽性となった検体については、定量PCR（リアルタイムPCR試薬は「QuantiTect SYBR Green PCR kit」とターゲット遺伝子をIS900とするプライマーセットを使用）で検査するとともに、培養検査を行った。定量PCRにおいては、検体中のヨーネ菌遺伝子がDNA濃度0.001 pg / well以上である場合を陽性（定量陽性）、遺伝子が検出されたがDNA濃度がこれより低い場合を陰性（定性陽性）と判定した。



【図1】ヨーネ病検査の流れ

イ、牛伝染性鼻気管炎

平成 29 年から令和 2 年の期間に収集された野生シカ血清 927 検体について、中和試験による牛伝染性鼻気管炎ウイルス（IBRV）抗体検査を実施した。具体的には、非働化した被検血清を IBRV 758 株と等量混合して 37℃で 60 分間中和反応を行い、MDBK 細胞をシートさせたプレート上で吸着反応を行った上で培養して IBRV 感染による CPE を阻止したウェルを抗体価 2 倍以上で陽性と判定した。なお、接種翌日に細胞を観察し、その時点で細胞傷害が認められたウェルは被検血清の腐敗や細菌汚染による判定不能と判断した。

（3）データの解析

捕獲地点の位置データは、調査票に緯度・経度が小数点以下 3 桁以上まで記載されているものについては記載値をそのまま、ハンターマップのメッシュ番号が記載された検体については番号に該当するメッシュの重心座標の緯度・経度に変換した。位置情報が住所としてのみ記載されている検体については、ジオコーディングソフトを用いて緯度・経度情報に変換した。この際、「・・・山中」等記述があいまいであったために市町村レベルまでしか特定できなかった検体については、当該市町村の重心座標の緯度・経度をあてはめた。

検査データについては、今年度に採材した結果に加えて、平成 28 年度から令和 3 年度に採材した材料の検査結果についても併せて検討した。統計解析には R、採材地点に関する地理情報解析には QGIS を用いた。

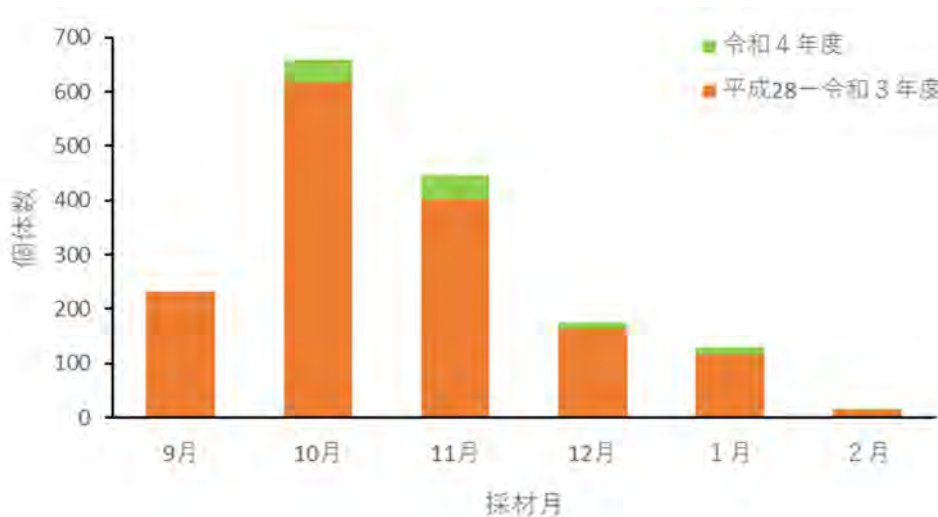
2. 結果

(1) 検査されたシカの概要

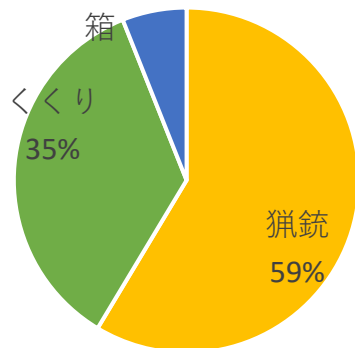
今年度は9道県117頭のシカから集めた糞便材料をヨーネ病の検査に用いた。牛伝染性鼻気管炎については平成29年度から令和2年度に採材した血清材料927検体について検査を実施した。県別の糞便材料の内訳は表1、血清材料の内訳は表2のとおりとなっている。

今年度について、検査材料が採材された月ごとに採材頭数を算出したところ、シカの狩猟期間が10月又は11月以降（地域によって異なる）であることから、例年と同様、多くが10月と11月に採材されていた【図2】。

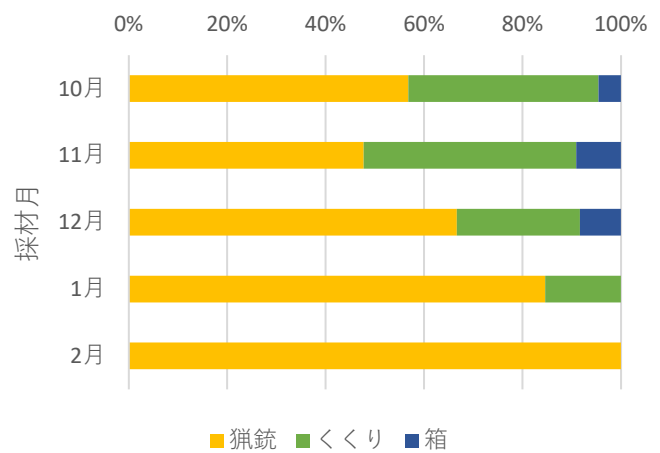
今年度採材されたシカの性別は、79頭（67.5%）がオス、35頭（30.0%）がメス、3頭は不明であった。捕獲方法の内訳は、猟銃が約6割、くくりわなが4割弱、箱わなが1割未満であった【図3】。捕獲方法は、12月以降の冬季には猟銃による捕獲割合が高かった【図4】。



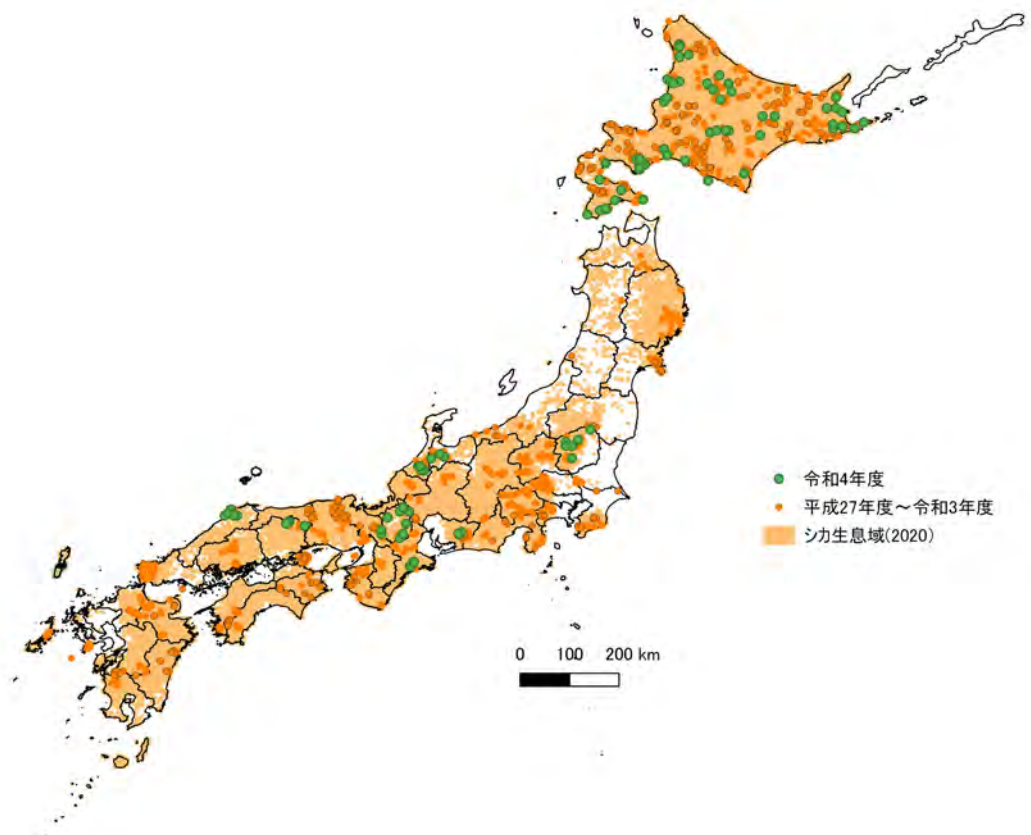
【図2】シカ検体の採材月



【図3】シカ捕獲方法（令和4年度）



【図4】採材月別のシカ捕獲方法（令和4年度）



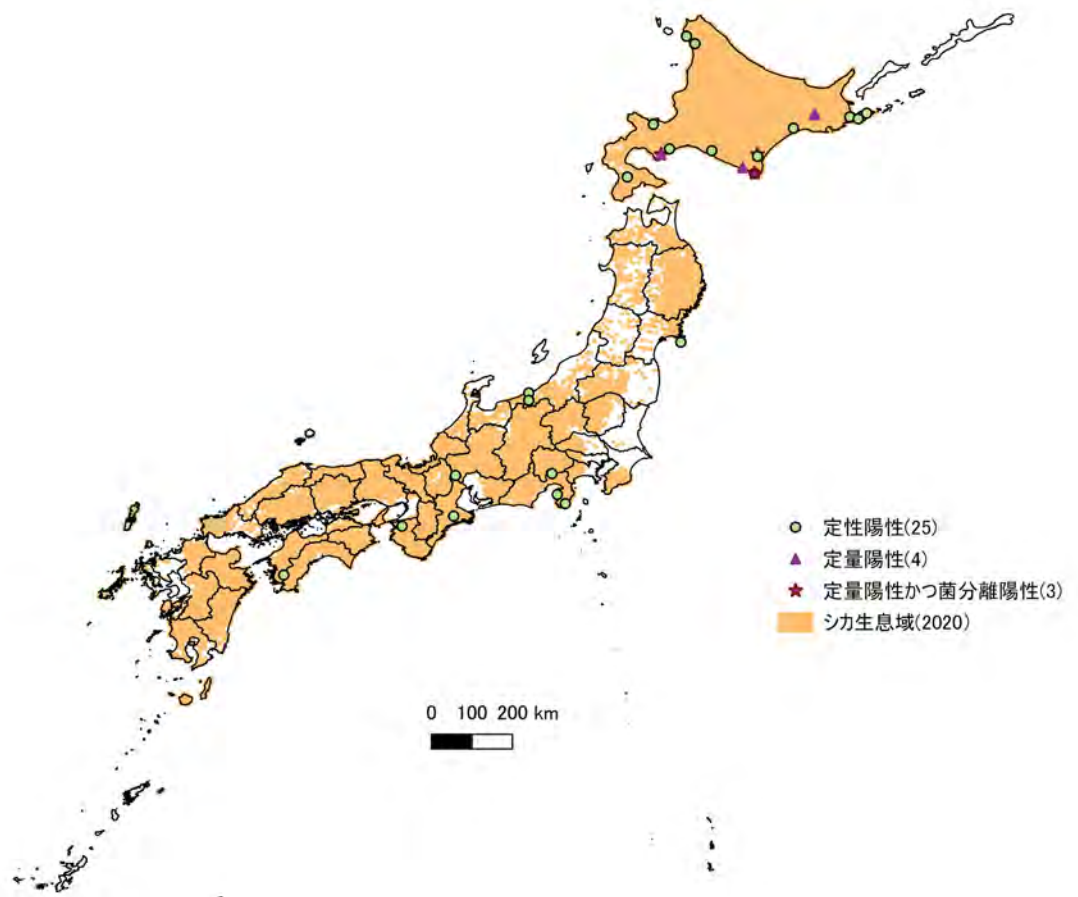
【図5】シカ捕獲地点（シカ生息域は環境省のデータに基づく）

【表１】シカ検体数（糞便）及びヨーネ病検査結果

県名	採材数								ヨーネ病検査結果(H28-R4計)		
	H28年度	H29年度	H30年度	R1年度	R2年度	R3年度	R4年度	合計	定量PCR		培養陽性
									定性陽性	定量陽性	
北海道	43	49	168	55	114	63	61	553	15	7	3
青森県	4	0	0	3	0	0	0	7	0	0	0
岩手県	25	0	0	10	0	0	0	35	0	0	0
宮城県	0	25	0	0	10	0	0	35	1	0	0
秋田県	0	1	0	0	0	0	0	1	0	0	0
栃木県	13	0	0	0	0	10	8	31	0	0	0
群馬県	0	25	0	10	0	0	0	35	0	0	0
埼玉県	0	23	0	10	0	0	0	33	0	0	0
千葉県	0	22	0	0	10	0	0	32	0	0	0
神奈川県	24	0	0	0	0	10	0	34	0	0	0
新潟県	0	6	0	0	0	4	0	10	2	0	0
富山県	6	0	0	0	0	0	4	10	0	0	0
石川県	0	8	1	0	0	0	7	16	0	0	0
福井県	0	0	0	10	0	0	0	10	0	0	0
山梨県	25	0	0	10	0	0	0	35	0	0	0
長野県	25	0	0	0	0	0	0	25	0	0	0
岐阜県	0	25	0	0	10	0	0	35	1	0	0
静岡県	0	25	0	0	0	9	0	34	3	0	0
愛知県	0	24	0	0	0	7	3	34	0	0	0
三重県	25	0	0	0	0	0	10	35	1	0	0
滋賀県	20	0	0	0	0	0	9	29	0	0	0
京都府	0	19	0	0	10	0	0	29	0	0	0
大阪府	25	0	0	0	0	0	0	25	0	0	0
兵庫県	25	0	0	0	9	0	0	34	0	0	0
奈良県	0	0	0	10	0	0	0	10	0	0	0
和歌山県	23	0	0	0	0	6	0	29	1	0	0
鳥取県	0	16	0	0	0	10	0	26	0	0	0
島根県	25	0	0	0	0	0	9	34	0	0	0
岡山県	0	24	0	0	0	0	6	30	0	0	0
広島県	25	0	0	8	0	0	0	33	0	0	0
山口県	0	22	0	8	0	0	0	30	0	0	0
徳島県	16	0	0	0	9	0	0	25	0	0	0
香川県	0	24	0	0	10	0	0	34	0	0	0
愛媛県	25	0	0	0	0	10	0	35	0	0	0
高知県	25	0	0	0	0	9	0	34	1	0	0
福岡県	20	0	0	0	0	0	0	20	0	0	0
長崎県	25	0	0	10	0	0	0	35	0	0	0
熊本県	0	18	0	0	0	10	0	28	0	0	0
大分県	0	25	0	0	4	0	0	29	0	0	0
宮崎県	25	0	0	0	9	0	0	34	0	0	0
鹿児島県	0	25	0	0	0	0	0	25	0	0	0
合計	469	406	169	144	195	148	117	1,648	25	7	3

(2) ヨーネ病の検査結果

平成 28 年度から今年度にかけての、都道府県別の検査件数とその結果を【表 1】に示した。平成 28 年度から今年度にかけて採材した 1,648 検体のうち、定量 PCR 検査の結果、定性陽性と判定された検体は 25 検体、定量陽性と判定された検体は 7 検体あった。また、平成 28 年度から令和 3 年度にかけて採材した 1,531 検体のうち、培養検査陽性となった検体は 3 検体あり、この 3 検体はいずれも定量陽性と判定された検体であった。今年度採材した 117 検体については、スクリーニング PCR で陽性となった検体が 6 検体あり、定量 PCR により 1 検体が定量陽性、3 検体が定性陽性と判定された。これらの 6 検体についての培養検査は現在実施中である。いずれかの検査で陽性となった地点を【図 6】に示した。



【図 6】 ヨーネ病検査陽性検体の分布（平成 28 年度～令和 4 年度）

(3) 牛伝染性鼻気管炎の検査結果

平成 29 年から令和 2 年度に 26 都道府県から収集されたシカ血清 927 検体について中和試験による IBRV の抗体検査を実施したところ、平成 29 年度に 1 検体（静岡県）、令和 2 年度に 4 検体（北海道 1 検体、千葉県 1 検体、大分県 2 検体）が陽性であった【表 2】。8 検体は検体の不適等により判定不能となった。陽性検体は平成 29 年度と令和 2 年度のみで認められたが、いずれの県でもまとまった頭数の陽性事例は認められておらず、非特異反応の可能性も考慮すると、野生シカにおける牛伝染性鼻気管炎の流行があったか否かについては本結果からは判断できなかった。

【表 2】
野生シカにおける IBRV の
抗体検査結果

県名	H29年度		H30年度		R1年度		R2年度	
	検査数	陽性	検査数	陽性	検査数	陽性	検査数	陽性
北海道	49		169		55		114	1
青森県					3			
岩手県					10			
宮城県	25						10	
秋田県	1							
群馬県	25				10			
埼玉県	23				10			
千葉県	22						10	1
新潟県	6							
石川県	8		1					
福井県					10			
山梨県					10			
岐阜県	25				1		10	
静岡県	25	1						
愛知県	24							
京都府	19						10	
兵庫県							10	
奈良県					10			
鳥取県	16							
岡山県	24							
広島県					10			
山口県	22				8			
徳島県							9	
香川県	25						10	
長崎県					10			
熊本県	18							
大分県	25						10	2
宮崎県							10	
鹿児島県	25							
合計	407	1	170	0	147	0	203	4

3. 考察

ヨーネ病については、今年度は北海道の1検体で定量陽性レベルの遺伝子が検出され、3検体で定量陽性判定に至らない量のヨーネ菌遺伝子が検出(定性陽性)された。平成28年度以降今年度までに、北海道の7検体から定量陽性レベルの遺伝子が検出され、そのうちの3検体から菌分離されている(今年度の1検体は培養検査中)ことから、野生シカの一部がヨーネ菌に感染している可能性が示唆された。また、北海道、宮城県、新潟県、岐阜県、三重県、静岡県、和歌山県及び高知県の計25検体について定性陽性となっており、これらの個体についても感染していた可能性があり、引き続き、本菌の浸潤状況や程度について調査を行う必要があるものと思われる。

野生のシカにおけるIBRVの抗体検査については、平成3年から平成5年[1]、平成23年から平成24年[2]及び平成26年[3]に収集した検体に関する調査報告があり、それぞれ137検体、52検体及び47検体のシカ血清を用いて調査を行い、IBRVの抗体陽性率はそれぞれ1%、0%、0%であったことが報告されている。今回の我々の調査では5頭の陽性個体が認められたが、その陽性率は0.54%(5/929)であり、過去の報告と照らし合わせても同程度の陽性率であると考えられる。しかしながら、これらの結果は非特異的な反応によるものである可能性が否定できず、国内の鹿におけるIBRVの浸潤状況を示すものであるかは判断できない。

[1] Imada et al., Jpn. J. Zoo Wildl. Med. 1:42-44.

https://www.jstage.jst.go.jp/article/jjzwm/1/1/1_KJ00001517783/pdf/-char/en

[2] 青木ら、モダンメディア 61 巻 6 号 2015

https://www.eiken.co.jp/uploads/modern_media/literature/MM1506_04.pdf

[3] 藤吉ら、北獣会誌 61、144～147、2017

http://www.hokkaido-juishikai.jp/wp/wp-content/uploads/2017/08/1705_02.pdf

Ⅱ－2. イノシシの調査

1. 方法

(1) 検査材料の収集

今年度は、検査対象県の家畜保健衛生所に対し、豚熱検査のために収集した野生イノシシ血清の一部の提供を依頼することにより、本事業用の検体を収集した。今年度は、36都府県からの血液材料を収集した。検査材料の収集にあたっては、捕獲日時、場所、捕獲方法、成長区分(幼獣または成獣)、体長及び推定体重等についての情報を収集した。なお、これらの検体はすべて、豚熱の遺伝子検査で陰性であることが確認されたものである。

(2) 検査の実施

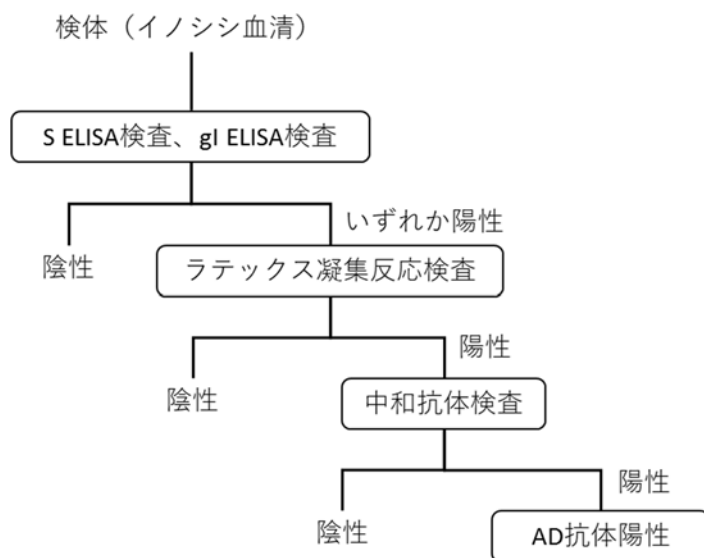
送付された材料は、検査の実施まで-20℃で冷凍保存した。その後、ADウイルス及びトキソプラズマ症の血中抗体測定を行うことを目的に、動衛研においてそれぞれ次の方法で検査を行った。

ア、AD

AD ウイルスに対する抗体検査は、ELISA 検査、ラテックス凝集反応検査及び中和抗体検査を用いて行った【図 7】。最初に、全ての検体について IDEXX 社製の ADV(S) エリーザキット (S ELISA) 及び ADV(gI) エリーザキット (gI ELISA) を用いて検査し、S ELISA については測定値が 0.4 以上のもの、gI ELISA については測定値が 0.6 以下のものをそれぞれ陽性と判定した。なお、S ELISA は、AD ウイルスの変異にかかわらず幅広く AD ウイルスによる抗体を検出することができるが、gI ELISA はウイルス表面糖蛋白質 gI に対する抗体を検出することから、一般的な野外ウイルス株に対しては陽性を、gI 遺伝子が欠損したワクチン株などに対しては陰性を示す。【表 3】に被検血清に対する各 ELISA の反応と判定を示した。S ELISA と gI ELISA のいずれかで陽性となった検体について、ラテックス凝集反応検査を行い、40 倍希釈以上で凝集反応が認められた検体を陽性と判定した。さらに、ラテックス凝集反応検査による陽性検体について中和抗体検査を行い、中和抗体価が 2 倍以上のものを AD ウイルス抗体陽性と判定した。

【表 3】 ELISA 検査の結果と判定の考え方

血 清	S ELISA	gI ELISA
未感染	陰性	陰性
gI 欠損株以外の AD ウイルス株	陽性	陽性
gI 遺伝子が欠損したワクチン株などの AD ウイルス株	陽性	陰性



【図 7】 AD 検査の流れ

イ、トキソプラズマ症

抗 *T. gondii* 抗体スクリーニング検査キット（『Porcine Toxoplasma Ab』Kit：ニットーボーメディカル）を用いて検査を行った。

（３）データの解析

調査票に基づくイノシシの年齢等の情報と各疾病の陽性率等について、それぞれ統計手法を用いて解析した。捕獲地点の位置データは、調査票に緯度・経度が小数点以下３桁以上まで記載されているものについては記載値をそのまま、ハンターマップのメッシュ番号が記載された検体については番号に該当するメッシュの重心座標の緯度・経度に変換した。位置情報が住所としてのみに記載されている検体については、ジオコーディングソフトを用いて緯度・経度情報に変換した。この際、「・・・山中」等記述があいまいであったために市町村レベルまでしか特定できなかった検体については、当該市町村の重心座標の緯度・経度をあてはめた。統計解析には R、採材地点に関する地理情報解析には QGIS を用いた。

２．結果

（１）検査されたイノシシの概要

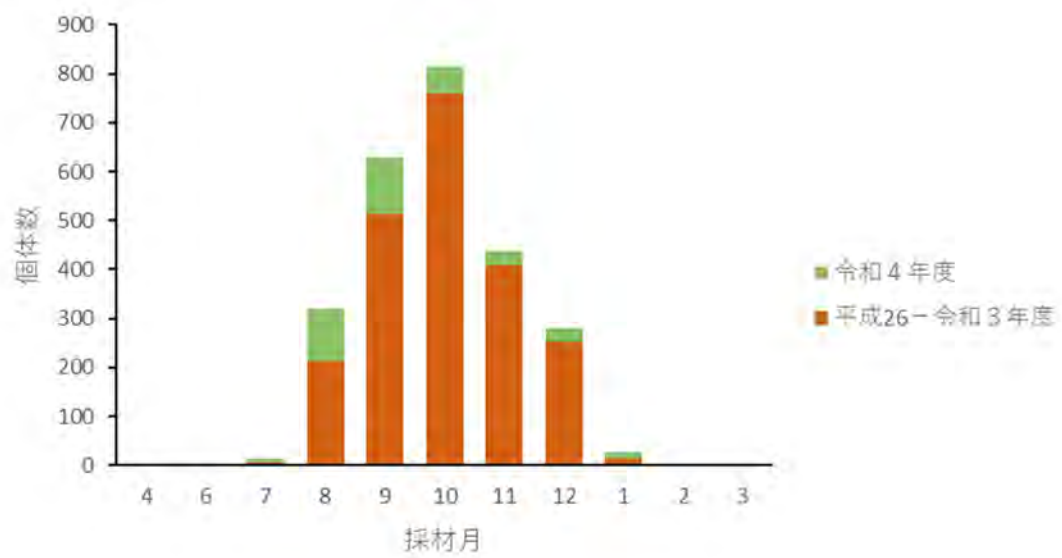
県別、年度別の検体数の内訳を【表４】に示した。検査材料は、検査に不適であったものを除くと、今年度に集めたものが 358 検体で、昨年度までのものを合わせると合計 2,566 検体であった。

今年度について、検査材料が採材された月ごとに採材頭数を集計したところ、８月、９月の採材が多かった【図８】。昨年度までは、夏に猟友会に対して検体の提供依頼を行ってから採材が行なわれたため、年度後半の採材が多かったが、今年度は家畜保健衛生所が豚熱検査のために収集している血清の余剰分の提供を依頼したことから、依頼時点で既に検体が収集されているなどにより速やかな検体提供が可能だったと考えられる。

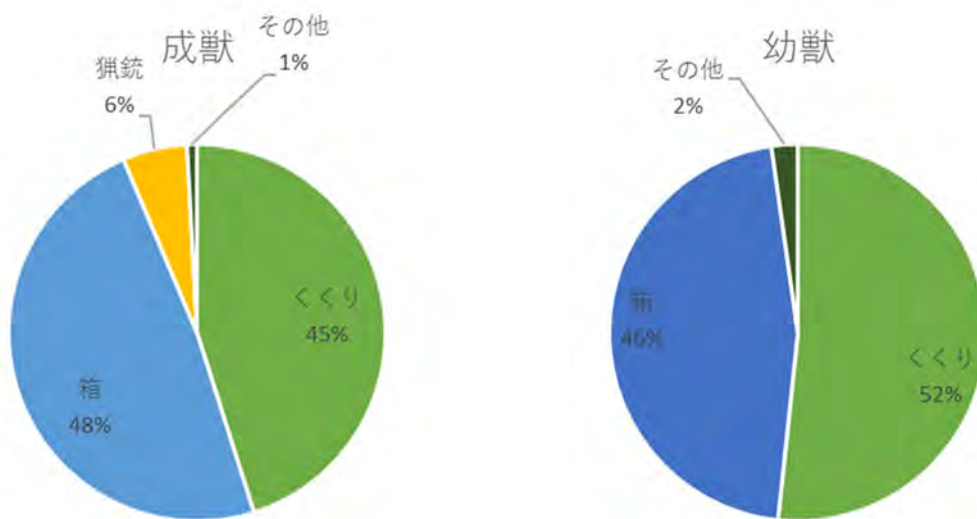
今年度採材されたイノシシの性別は、194 頭（54.2%）がオス、152 頭（42.5%）がメス、12 頭が性別不明であった。また、成獣が 247 頭（70.0%）、幼獣が 95 頭（26.5%）、不明が 16 頭だった。

採材時の捕獲方法は、くくり罠と箱わなが 9 割以上だったが、成獣の一部は猟銃で捕獲されていた【図 9、図 10】。また、捕獲個体の幼獣・成獣別の体長と体重の関係を【図 11】に示した。いずれも、成獣・幼獣の判定は捕獲者又は採材者が目視で行なっており、実際の年齢が正確に反映されていない可能性もあることに留意が必要である。

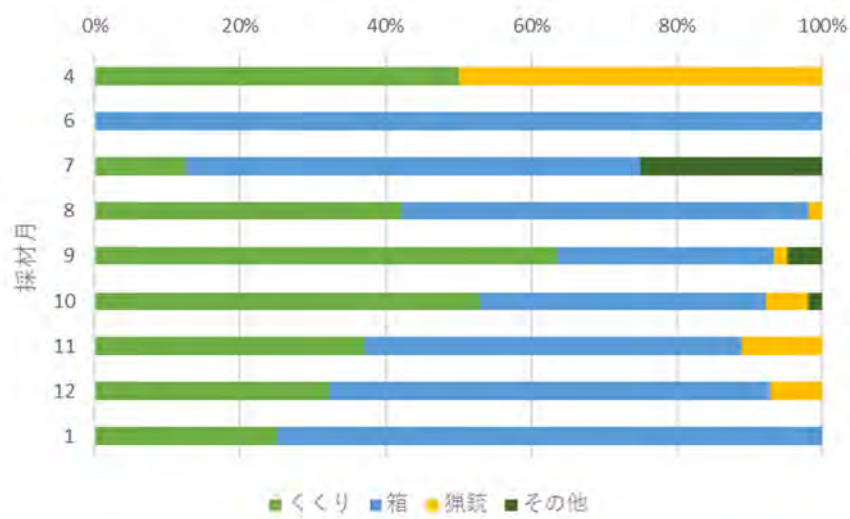
今年度までの採材場所を【図 12】に、県毎の採材数を【表 4】に示した。



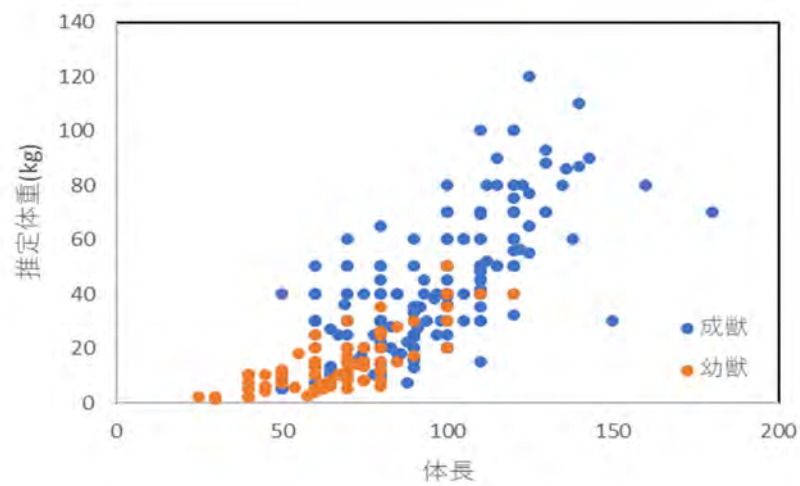
【図8】イノシシ検体の採材月



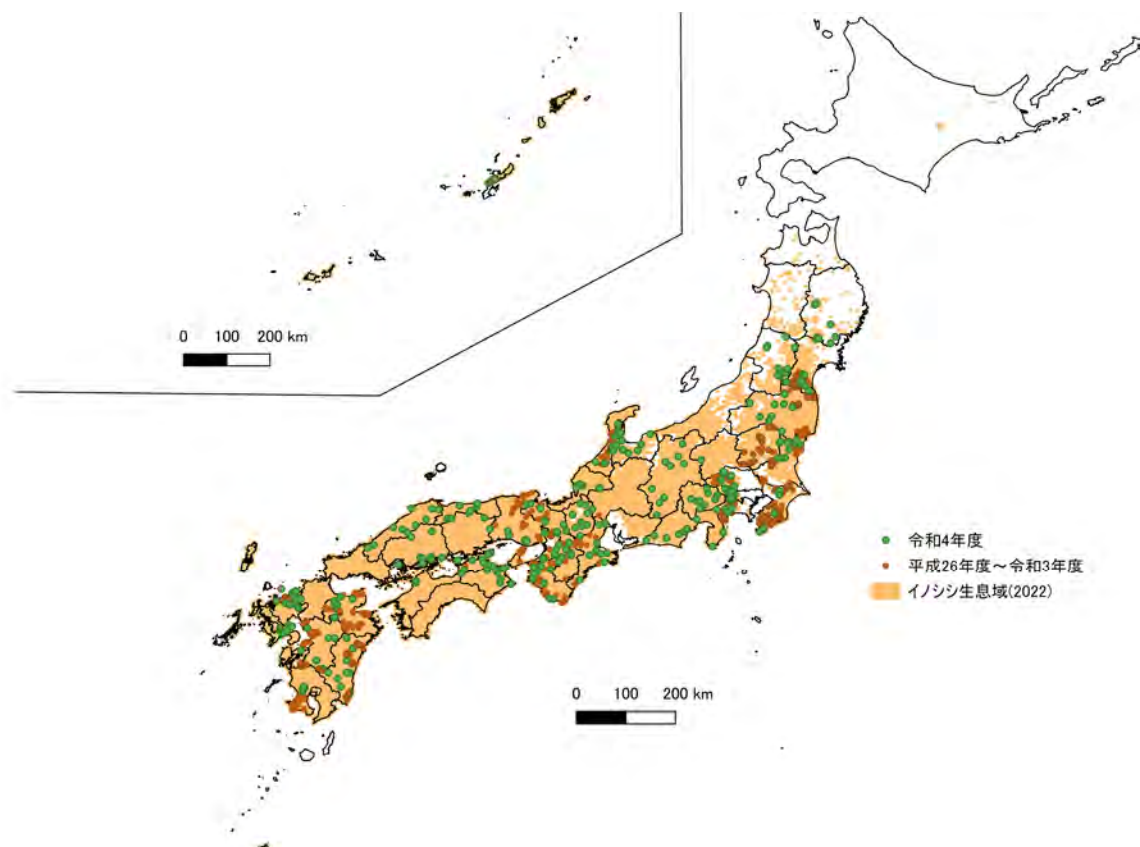
【図9】イノシシの捕獲方法（令和4年度）



【図 10】 採材月別のイノシシ捕獲方法（令和 4 年）



【図 11】 捕獲イノシシの体長と体重の分布（令和 4 年度）



【図 12】 イノシシの捕獲地点（イノシシ生息域は環境省のデータに基づく）

【表４】イノシシ検体数

県名	H26年度	H27年度	H29年度	H30年度	R1年度	R2年度	R3年度	R4年度	合計
岩手県	0	0	0	0	0	0	0	10	10
宮城県	0	0	39	0	0	19	0	10	68
山形県	0	0	0	0	0	0	0	10	10
福島県	0	0	32	0	0	38	0	10	80
茨城県	0	0	40	0	0	39	0	10	89
栃木県	0	3	29	2	0	31	0	0	65
群馬県	0	45	0	0	0	0	0	0	45
埼玉県	0	0	37	0	0	0	0	10	47
千葉県	0	0	34	0	0	40	0	10	84
東京都	0	0	0	0	0	0	0	10	10
神奈川県	0	0	36	0	0	37	0	10	83
新潟県	26	0	0	0	0	0	0	0	26
富山県	17	0	0	0	0	0	0	10	27
石川県	0	0	34	0	0	0	0	10	44
福井県	6	0	0	0	0	0	0	10	16
山梨県	24	0	0	0	0	0	0	10	34
長野県	16	0	0	0	0	0	0	10	26
岐阜県	38	0	0	5	0	0	0	0	43
静岡県	24	41	0	0	0	0	0	10	75
愛知県	24	0	0	0	0	0	0	0	24
三重県	27	49	0	40	0	0	0	10	126
滋賀県	20	0	0	0	0	0	0	10	30
京都府	16	0	0	0	38	0	0	10	64
大阪府	0	0	50	0	0	3	0	10	63
兵庫県	20	0	0	0	35	0	0	9	64
奈良県	28	0	0	32	40	0	0	10	110
和歌山県	17	0	0	31	39	0	0	10	97
鳥取県	25	0	0	0	0	0	0	10	35
島根県	21	43	0	0	0	0	0	10	74
岡山県	19	50	0	0	0	0	0	0	69
広島県	33	0	0	0	0	0	0	10	43
山口県	25	0	0	0	0	0	0	0	25
徳島県	26	35	0	0	0	0	0	10	71
香川県	35	0	1	2	2	0	0	10	50
愛媛県	15	0	0	0	0	0	0	10	25
高知県	22	0	0	0	0	0	0	0	22
福岡県	19	0	0	0	0	40	20	10	89
佐賀県	23	0	0	0	0	0	0	10	33
長崎県	25	50	0	0	0	0	0	10	85
熊本県	0	0	40	0	40	0	20	10	110
大分県	16	0	0	35	32	0	20	10	113
宮崎県	29	0	0	40	40	0	20	10	139
鹿児島県	36	0	0	0	40	0	0	9	85
沖縄県	28	0	0	0	0	0	0	10	38
合計	700	316	372	187	306	247	80	358	2,566

(2) AD の検査結果

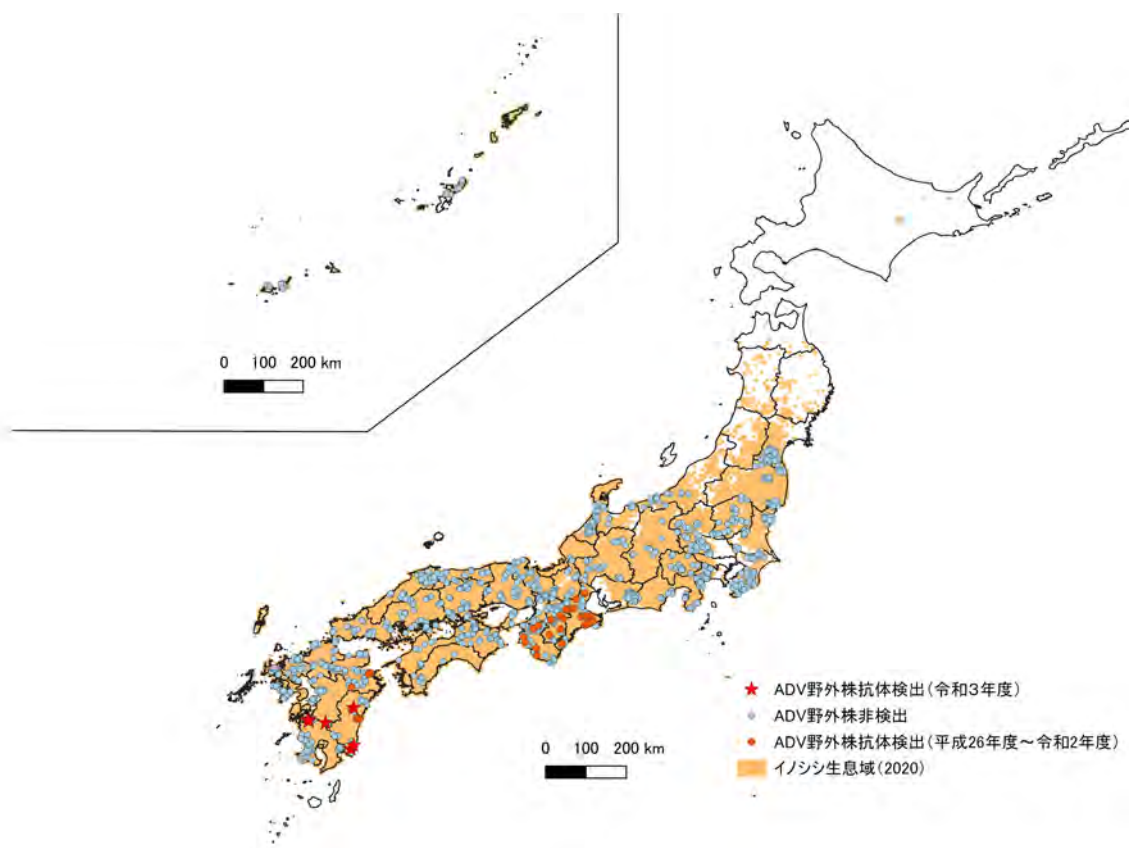
令和3年度に収集された80検体については、いずれかのELISA検査で陽性であったものが31検体あった。これらのうち最終的にS ELISA、gI ELISA、ラテックス凝集反応検査、中和抗体検査のすべてで陽性となり、野外株に対する抗体陽性と判定された検体は7検体となった【表5】。

県名	検査数	野外抗体陽性数	陽性率	陽性率95%信頼区間		平均との差の有意確率	
				下限	上限	P値	P<0.05
福岡県	20	0	0.000	0.000	0.168	1.000	
大分県	20	0	0.000	0.000	0.168	1.000	
熊本県	20	3	0.150	0.032	0.379	0.422	
宮崎県	20	4	0.200	0.057	0.437	0.092	
合計	80	7	0.088	0.036	0.172		

*割合の信頼区間の推定と、調査県平均との差の検定は二項検定による。

【表5】都道府県別ADウイルス野外株抗体検査結果（令和3年度採材分）

平成26年度から令和3年度までの調査によりADウイルス野外株に対する抗体が認められたイノシシの捕獲地点を【図13】に示した。



【図13】ADウイルス野外株に対する抗体を保有するイノシシの捕獲地点

令和4年度に36都府県から送付された358検体については、いずれかのELISA検査で陽性であ

ったものが 110 検体あった。今後、これらの検体についてラテックス凝集反応検査及び中和抗体検査を実施する。

(3) トキソプラズマ症の検査結果

過年度の本事業において、トキソプラズマ症の検査はThermoFisher社の「PrioCHECK Toxoplasma Ab porcine」を用いて実施してきたが、当該製品の製造は現状中止されていることが明らかになった。そのため、今年度は先に示した別の検査キットを用いている。なお、いずれのキットもエライザ検査である。

令和4年度に収集された全358検体を検査に供したところ、陽性となったのは42検体であった。全体の抗体陽性率（95%信頼区間）は11.7%（8.6–15.5%）であり、この値は過年度まで結果を合算した陽性率低かった【表6】。今年度は東北地方から九州・沖縄地方にわたる36都府県から10検体ずつ（ただし、兵庫県と鹿児島県は9検体）が収集されている。そのうち27県において少なくとも1頭の抗体陽性が確認され、大阪府の5頭が最多であった【表7】。一方、地方間の比較では抗体陽性率に統計学的な有意差は認められなかった【表8】。

個体情報として、成長区分についての情報が得られた342頭については、幼獣と成獣の抗体陽性率に統計学的な有意差は認められなかった（【表9】、 $P=1$ ）。また性別に関する情報が得られた347頭については、雌雄間で抗体陽性率に統計学的な有意差は認められず、過年度と同等の結果となった（【表10】、 $P=0.252$ ）。

平成26年度から今年度までの7年度分の調査で得られた陽性個体および陰性個体の捕獲地点を【図14】に示した。

【表6】 年度別抗トキソプラズマ原虫抗体検査結果

	陽性数	陰性数	合計	陽性率
平成 26 年度	216	485	701	0.308
平成 27 年度	141	175	316	0.446
平成 29 年度	143	229	372	0.384
平成 30 年度	61	126	187	0.326
令和元年度	109	196	305	0.357
令和 2 年度	130	117	247	0.526
令和 3 年度	29	49	78	0.372
令和 4 年度*	42	316	358	0.117
合計	871	1,693	2,564	0.340

*令和3年度までと異なる検査キットを用いている

令和3年度までの検査結果の合算値に基づく陽性率と今年度の陽性率

は有意差あり（フィッシャーの正確確率 $P<0.01$ ）

【表 7】 都府県別の抗トキソプラズマ原虫抗体検査結果（令和 4 年度分）

県名	検査数	陽性数	陽性率	陽性率の95%信頼区間		平均との差の有意確率	
				下限	上限	P値	P<0.05
岩手県	10	2	0.200	0.025	0.556	0.331	
宮城県	10	1	0.100	0.003	0.445	1.000	
山形県	10	1	0.100	0.003	0.445	1.000	
福島県	10	2	0.200	0.025	0.556	0.331	
茨城県	10	2	0.200	0.025	0.556	0.331	
埼玉県	10	0	0.000	0.000	0.000	0.618	
千葉県	10	1	0.100	0.003	0.445	1.000	
東京都	10	0	0.000	0.000	0.000	0.618	
神奈川県	10	1	0.100	0.003	0.445	1.000	
富山県	10	0	0.000	0.000	0.000	0.618	
石川県	10	0	0.000	0.000	0.000	0.618	
福井県	10	1	0.100	0.003	0.445	1.000	
山梨県	10	0	0.000	0.000	0.000	0.618	
長野県	10	1	0.100	0.003	0.445	1.000	
静岡県	10	1	0.100	0.003	0.445	1.000	
三重県	10	1	0.100	0.003	0.445	1.000	
滋賀県	10	2	0.200	0.025	0.556	0.331	
京都府	10	1	0.100	0.003	0.445	1.000	
大阪府	10	5	0.500	0.187	0.813	0.003	*
兵庫県	9	1	0.111	0.003	0.482	1.000	
奈良県	10	1	0.100	0.003	0.445	1.000	
和歌山県	10	0	0.000	0.000	0.000	0.618	
鳥取県	10	3	0.300	0.067	0.652	0.103	
島根県	10	1	0.100	0.003	0.445	1.000	
広島県	10	1	0.100	0.003	0.445	1.000	
徳島県	10	0	0.000	0.000	0.000	0.618	
香川県	10	1	0.100	0.003	0.445	1.000	
愛媛県	10	1	0.100	0.003	0.445	1.000	
福岡県	10	3	0.300	0.067	0.652	0.103	
佐賀県	10	1	0.100	0.003	0.445	1.000	
長崎県	10	2	0.200	0.025	0.556	0.331	
熊本県	10	1	0.100	0.003	0.445	1.000	
大分県	10	0	0.000	0.000	0.000	0.618	
宮崎県	10	0	0.000	0.000	0.000	0.618	
鹿児島県	9	1	0.111	0.003	0.482	1.000	
沖縄県	10	3	0.300	0.067	0.652	0.103	
合計	358	42	0.117	0.086	0.155		

*割合の信頼区間の推定と、調査県平均との差の検定は二項検定による。

【表 8】 地方別の抗トキソプラズマ原虫抗体検査結果

	検査数	陽性数	陽性率	陽性率の 95%信頼区間		平均との差の有意確率	
				下限	上限	P 値	P<0.05
東北	40	6	0.150	0.057	0.298	0.463	
関東	50	4	0.080	0.022	0.192	0.515	
甲信越・中部	30	2	0.067	0.008	0.221	0.572	
北陸	30	1	0.033	0.001	0.172	0.250	
近畿	69	11	0.159	0.082	0.267	0.262	
中国	30	5	0.167	0.056	0.347	0.390	
四国	30	2	0.067	0.008	0.221	0.572	
九州・沖縄	79	11	0.139	0.072	0.235	0.487	
合計	358	42	0.117	0.086	0.155		

*割合の信頼区間の推定と、調査県平均との差の検定は二項検定による。

【表 9】 成長区分別の抗トキソプラズマ原虫抗体検査結果（令和 4 年度分）

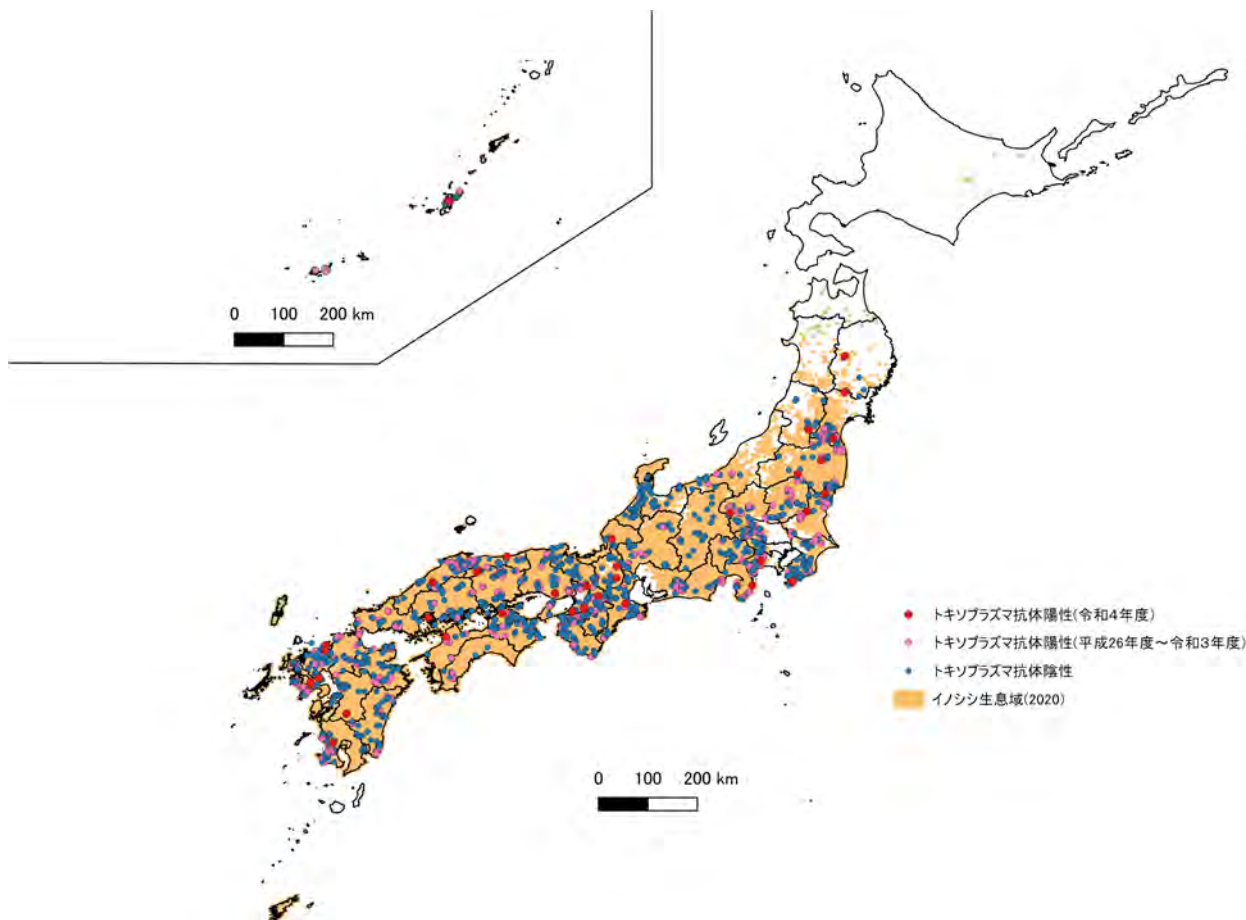
	陽性数	陰性数	合計	陽性率
幼獣	11	84	95	0.116
成獣	30	217	247	0.121
合計	41	301	342	0.120

フィッシャーの正確確率 P=1

【表 10】 性別ごとの抗トキソプラズマ原虫抗体検査結果（令和 4 年度分）

	陽性数	陰性数	合計	陽性率
オス	20	174	194	0.103
メス	22	131	153	0.144
合計	42	305	347	0.121

フィッシャーの正確確率 P=0.252



【図14】平成26年度から令和4年度の抗トキソプラズマ抗体陽性個体と陰性個体の捕獲地点

3. 考察

ADについては、令和3年度は、過去にADウイルス野外株に対する抗体が認められたイノシシの捕獲県である宮崎県と大分県に加え、熊本県と福岡県を調査した。この結果、令和元年度の調査に引き続き、宮崎県と大分県でADウイルス抗体陽性イノシシが確認された。このことから、これらの地域のイノシシ群内においてADウイルスが定着していることが考えられたが、周辺地域への拡大は認められなかった。今後も、これらの地域と周辺地域で継続した調査を行い、感染イノシシの分布拡大の可能性を監視していく必要があると考えられる。

トキソプラズマ症については、今年度は過年度までに比べて低い抗体陽性率が得られた。ただし、野生イノシシにおけるトキソプラズマ原虫の浸潤状況が昨年度から急激に変化したとは考えにくく、この結果は今年度の検査キットの変更の影響を反映した可能性が高いと思われる。したがって、今年度は県別あるいは地域別の抗体陽性率の経年変化については評価しないこととした。

一方、抗体陽性検体は地方間の偏りなく確認された。このことは、今年度推定された全体の抗体陽性率は低いものの、我が国の野生イノシシが抗トキソプラズマ抗体を広い範囲で保有していることを示している。

過年度は、加齢に伴い抗体陽性率が高くなっていたが、今年度は成長区分間および雌雄間に抗体陽性率の差は認められなかった。これは今年度の抗体陽性個体の少なさが影響している可能性がある、今後もデータを蓄積していく必要がある。

これまでの検査結果は、全国的にトキソプラズマ原虫が浸潤している可能性が高いことを示していると思われる。今年度は、県あたりの検体数が過年度に比べて少なかったことから、引き続き本症の野生イノシシ間のまん延状況を監視していくことが重要と考えられる。また、野生イノシシ肉を喫食した人への感染や養豚場をはじめとする家畜への伝播等についても注意が必要と考えられる。

Ⅱ－３． 野鳥の調査

１． 方法

（１） 野鳥におけるニューカッスル病ウイルス（トリパラミクソウイルス１型）保有状況の調査 ア、野鳥糞便の採材と検体送付

各都道府県家畜保健衛生所を中心にニューカッスル病ウイルスの検査を目的とした採材を実施し、採材した糞便は動衛研に送付した。採材にあたっては、５羽分の糞便を１本の試験管に採材し１検体とした。ハト糞便については原則的に年２回採材したが、場所によっては採取状況や天候によって必ずしも採材できない場合もあった。水禽糞便については渡り鳥が飛来する１０月以降２月まで２ないし３回実施した。水禽糞便においても採取状況や天候、または高病原性鳥インフルエンザ発生への対応等により、採材できない場合もあった。

イ、ウイルスの分離培養

送付された検体は、精製した後に鶏発育鶏卵に接種して培養後、尿腔液を回収して赤血球凝集試験（HA試験）を実施した。試験の結果に関わらず、尿腔液は新しい発育鶏卵に継代接種し、回収液は１代目同様にHA試験を実施した。いずれかの試験結果でウイルスの増殖を疑う赤血球の凝集が認められた場合には、回収液をウイルス液として遺伝子解析を行った。

（２） 分離されたニューカッスル病ウイルスの性状解析

ウイルス液から抽出した遺伝子を用い、トリパラミクソウイルス遺伝子を増幅するPCRを実施した。PCRでトリパラミクソウイルスに特異的な増幅産物が得られた場合には、増幅された遺伝子と既知のニューカッスル病ウイルス及びその他血清型のトリパラミクソウイルスの遺伝子を用いた分子系統解析により本ウイルスの遺伝学的特徴を明らかにするとともに、病原性に深く関与しているとされるF蛋白開裂部位の遺伝子解析を実施した。

２． 結果

（１） 検査の結果

ア、ハト糞便からの分離状況

令和４年９月から令和５年２月までの期間中、全国１１県から６３検体が送付された【表１１】。これらの検体からニューカッスル病ウイルスは分離されなかった。

イ、水禽糞便からの分離状況

令和4年10月から令和5年2月までの期間中、全国11県から68検体が送付された【表12】。これらの検体からニューカッスル病のウイルスは分離されなかった。

(2) 考察

今年度収集したハト及び水禽の糞便からは病原性ニューカッスル病ウイルスは分離されなかったが、別の血清型である非病原性の鳥パラミクソウイルスは分離されている。また、近隣国ではニューカッスル病が散発していることから、今後我が国にニューカッスル病ウイルスが侵入するリスクは否定できない。今後も継続的なサーベイランス及びワクチンを中心とした防疫対策が必要と考えられる。

【表11】 野鳥におけるニューカッスル病ウイルス保有状況調査の検体数(ハト)

都道府県 名	採材時期						計	採材場所
	2022/9	2022/10	2022/11	2022/12	2023/1	2023/2		
福井県	3				3		6	福井市
長野県	3		3				6	松本市波田
大分県		3				3	6	別府市
静岡県		3					3	伊豆市湯ヶ島
福岡県		3				3	6	福岡市西区愛宕2丁目7-1
石川県			3	3			6	白山市中新保町
和歌山県			3			3	6	和歌山城公園
大阪府				3		3	6	堺市中区土塔町、菰池
佐賀県					3	3	6	佐賀市
香川県					3	3	6	丸亀市
鹿児島県					3	3	6	鹿児島市山下町
計	6	9	9	6	12	21	63	

【表 12】 野鳥におけるニューカッスル病ウイルス保有状況調査の検体数(水禽)

都道府県 名	採材時期					計	採材場所
	2022/10	2022/11	2022/12	2023/1	2023/2		
千葉県	2	3				5	東金ダム・長柄ダム
静岡県		3				3	浜松市、猪鼻湖畔
神奈川県		3				3	富岡並木ふなだまり公園
栃木県		3				3	大田原市、羽田沼
埼玉県		3	3			6	久喜、菖蒲公園
福島県		3		3	3	9	福島市、あぶくま親水公園
島根県		3	3	3		9	松江市西尾町、大橋川
宮崎県			3	3	3	9	日南市、広渡川
福岡県			3			3	北九州市小倉南区大字曾根、曾根干潟
大阪府			3	3	3	9	堺市中区土塔町、菰池
山梨県			3	3	3	9	河口湖
計	2	21	18	15	12	68	

Ⅲ 野生のシカにおける鹿慢性消耗病（CWD）の検査体制の整備

（１）鹿慢性消耗病（CWD）の検査方法の検討

鹿慢性消耗病（CWD）の検査において、我が国で用いられている牛海綿状脳症（以下「BSE」という。）の ELISA キット（製造販売業者：株式会社ニッピ、製品名：BSE 検査キットⅡ及び ELISA 試薬・前処理器材セット）が使用可能かどうかを引き続き検証するために、以下の検査を実施し分析を行った。

本年度に兵庫県で採材されたシカ脳合計 33 検体から、KAPA Express Extract（KAPA BIOSYSTEMS）を用いて DNA を抽出後、

−8F（5′-TCTAGCTGTCATATGAAGAAGCGACCAAAACCTGG-3′）

788R（5′-AGCTGTGGATCCTCATCATGCCCCCTTTGGTAATAAG-3′）

のプライマーセットを用いて、シカプリオン蛋白質遺伝子の遺伝子型を決定した。その結果、ニホンジカプリオン蛋白質遺伝子配列（アクセッション番号 MK103018）と 100%一致し、ELISA キットで用いられている抗体の抗原決定基も含め、アミノ酸置換を伴う遺伝子多型は認められなかった。

（２）検査の実施

今年度の事業で収集した野生シカの延髄（兵庫県（50 検体）、北海道（30 検体）合計 80 検体）に対して、ELISA キットを用いて検査を行った。その結果、全ての検体の ELISA の値はカットオフ値を下回り、陰性と判定された。また、同じ検体についてウエスタンブロット法を用いて検査を行ったが、異常プリオン蛋白質特有のシグナルは検出されず、全ての検体は陰性と判定された。なお、北海道の検体に関しては、採材、ELISA、ウエスタンブロット検査は、再委託先の北海道大学が行った。