

令和3年度戦略的監視・診断体制整備推進委託

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4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病の発生・まん延を防止するためには、家畜群への伝染性疾病の侵入を監視するとともに、家畜群に疾病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。家畜群への疾病の侵入の監視においては、野生動物が家畜への疾病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病でも、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病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病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、家畜の伝染性疾病の感染状況を検査するとともに、得られた結果から、野生動物での疾病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、下記の疾病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、悪性カタル熱
- ウ、イバラキ病

##### (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、牛海綿状脳症（BSE）の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、捕獲されたシカから検査材料を採取し、検証された検査法を用いて検査を行った。

## 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につい

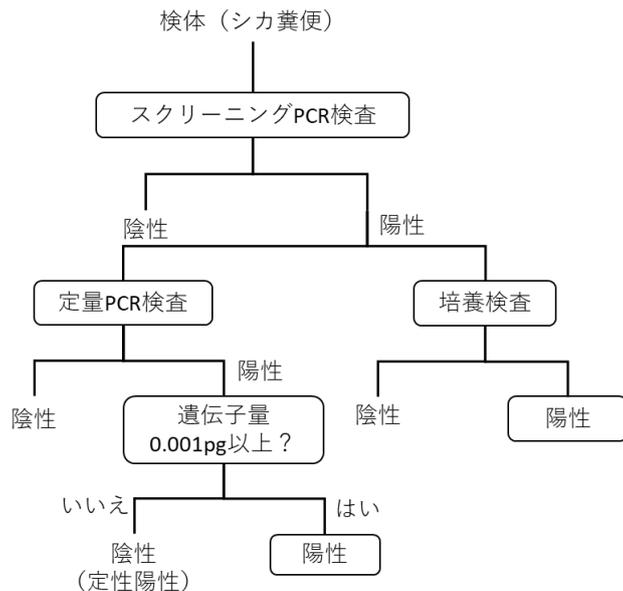
ては道内全域を調査できるように調査対象地域を選定してきており、今年度は、12 府県及び北海道 7 振興局において各 10 検体を上限とし合計 100 検体を採材することを目標として調査を実施した。調査に当たっては、全国調査を実施した平成 28–29 年度と同様、大日本猟友会を通じて各道府県の猟友会に依頼し、9 月以降に捕殺されたシカについて、検査材料（血液及び糞便）を採取し、冷蔵便にて収集した。検査材料の収集は、昨年度までと同様の調査票を用いて、捕獲日時、場所、捕獲方法、シカの推定年齢及び推定体重等についての情報を収集した。

(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

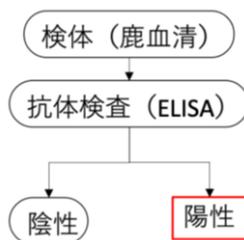
ヨーネ病に対する抗原検査は、遺伝子検出検査及び培養検査により行った【図 1】。遺伝子検出検査においては、牛ヨーネ病の抗原検査法に準じて、シカ糞便から DNA 抽出キット「ヨーネ・ピュアスピ」を用いて DNA を抽出し、スクリーニング PCR により遺伝子の検出を行った。スクリーニング PCR として、リアルタイム PCR 試薬は「GeneAce RL qPCR Mix」と「ヨーネプライマーセット RL」（ターゲット遺伝子 *IS900*）を使用した。スクリーニング PCR で陽性となった検体については、定量 PCR（リアルタイム PCR 試薬は「QuantiTect SYBR Green PCR 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、悪性カタル熱

シカの血液材料（血清）を用いて、悪性カタル熱の原因ウイルスであるヒツジガンマヘルペスウイルス 2 型（OvHV-2）に対する抗体検査を実施した。抗体検査は、OvHV-2 の表面ウイルス蛋白質（Ov8）を well にコートした ELISA プレートで実施した（図 2）。



【図 2】 悪性カタル熱ウイルス（OvHV-2）に対する抗体検査

#### ウ、イバラキ病

イバラキ病に対する抗体検査は、血清について、中和試験を行った。抗体価 8 倍以上を抗体陽性と判定した。

#### (3) データの解析

調査票に基づくシカの推定体重等の情報について、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 2 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

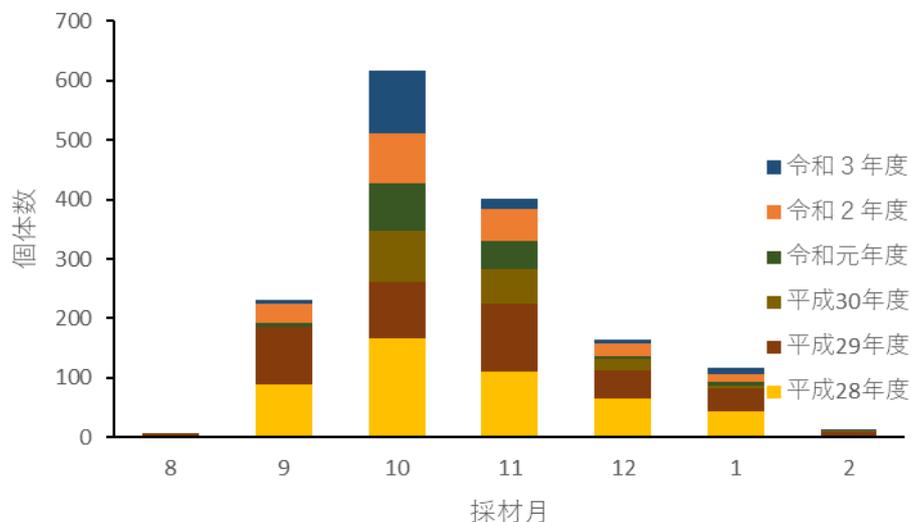
検査に不適であったものを除くと、今年度は12道府県149頭のシカから検査材料を集め、そのうち、ヨーネ病の検査に用いた検査材料（糞便）は148検体、悪性カタル熱及びイバラキ病の検査に用いた検査材料（血液）は、それぞれ149検体及び148検体であった。これらの検体に加えて、悪性カタル熱については平成29年度から令和元年度に採材した723検体、イバラキ病については平成29年度から令和2年度に採材した756検体についても検査を実施した。県別、年度別の糞便材料及び血清の内訳は表1及び表2のとおり。

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、検査の依頼が毎年度後半であることと、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、10月と11月に約8割が採材されていた【図3】。

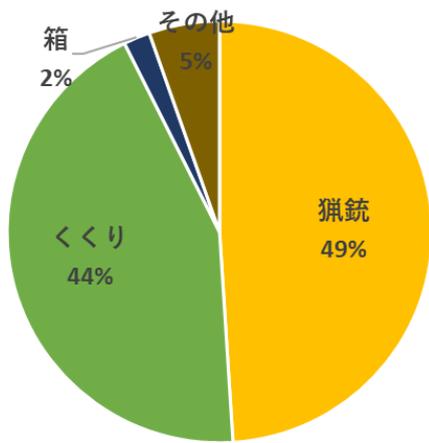
捕獲から検体の採取までの日数については、今年度採材された検体については、捕獲日翌日に採材された2検体を除く全ての検体について、捕獲当日中に採材されていた。

今年度採材されたシカの性別は、93頭（62.4%）がオス、53頭（35.6%）がメス、3頭は不明であった。捕獲方法の内訳は、猟銃が約5割、くくりわなが約4割、箱わな及びその他が1割未満であった【図4】。捕獲方法は、猟期との関係から捕獲された月によって異なり、11月以降は猟銃による捕獲が増加した。【図5】。採材された月や捕獲方法について、シカの性別による違いは認められなかった。

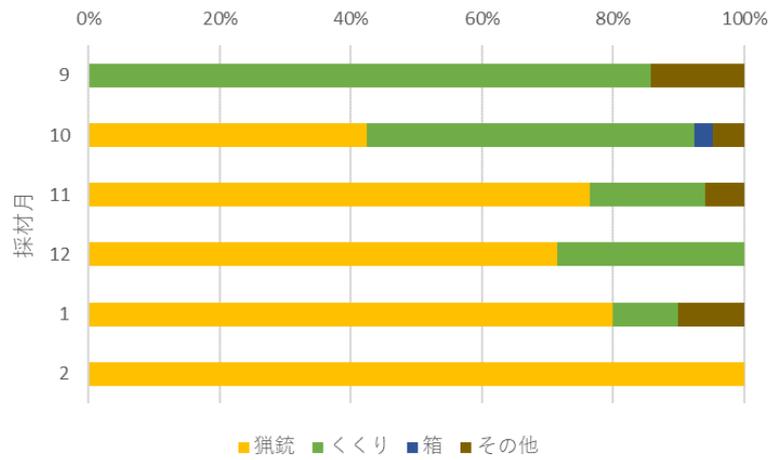
捕獲されたシカの推定年齢を雌雄で比較したところ、オスの平均が3.92歳、メスの平均が2.80歳でありメスで有意に低かった（Wilcoxon testによるP値<0.01）【図6】。推定体重については、オスの平均が70.3kg、メスの平均が45.2kgとメスで有意に低かった（Wilcoxon testによるP値:<0.01）【図7】。ただし、捕獲されたシカの年齢と体重は、多くの場合捕獲者の目測による推定値であるため、必ずしも正確な値とは言えないことに注意が必要である。調査票から得られたシカの捕獲地点を図8に示した。



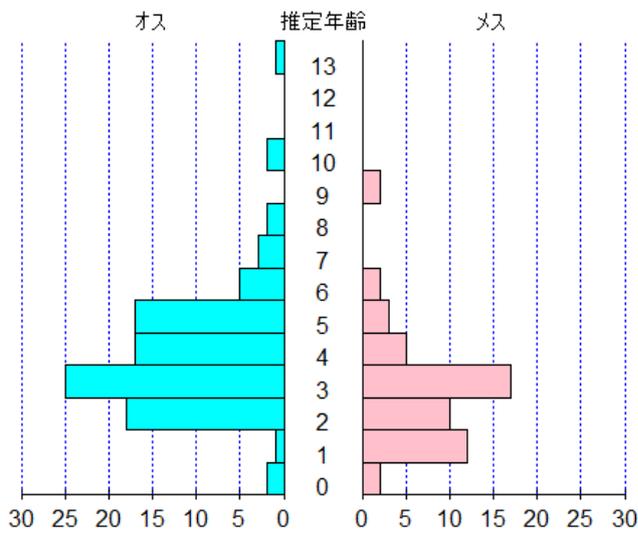
【図3】シカ検体の採材月（令和3年度）



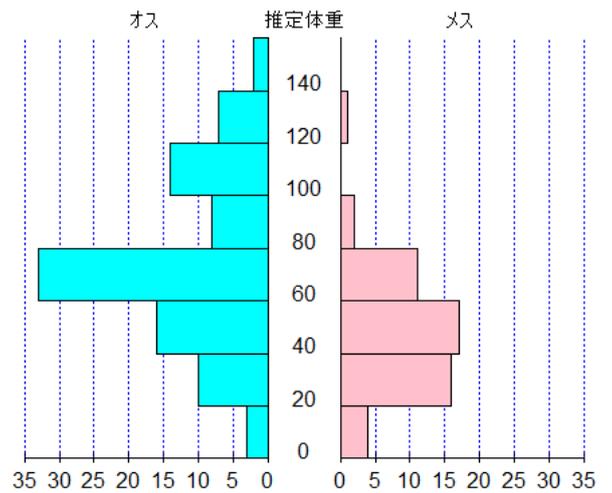
【図4】シカ捕獲方法（令和3年度）



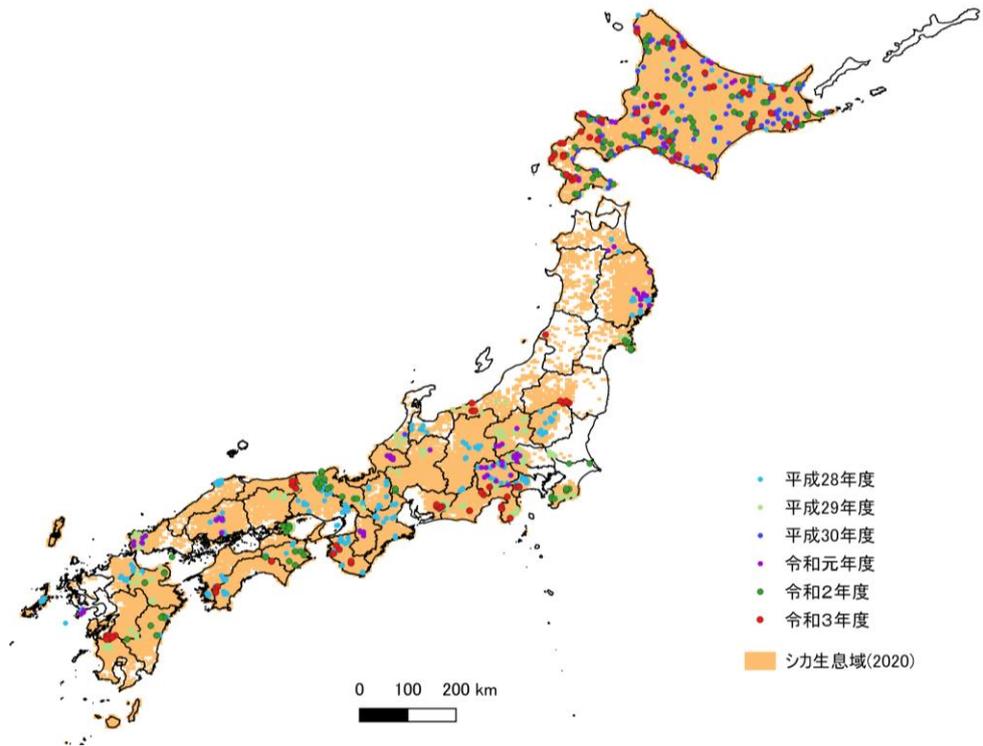
【図5】採材月別のシカ捕獲方法（令和3年度）



【図6】シカの性別と推定年齢（令和3年度）



【図7】シカの性別と推定体重（令和3年度）



【図8】シカの捕獲地点とシカの生息地域（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

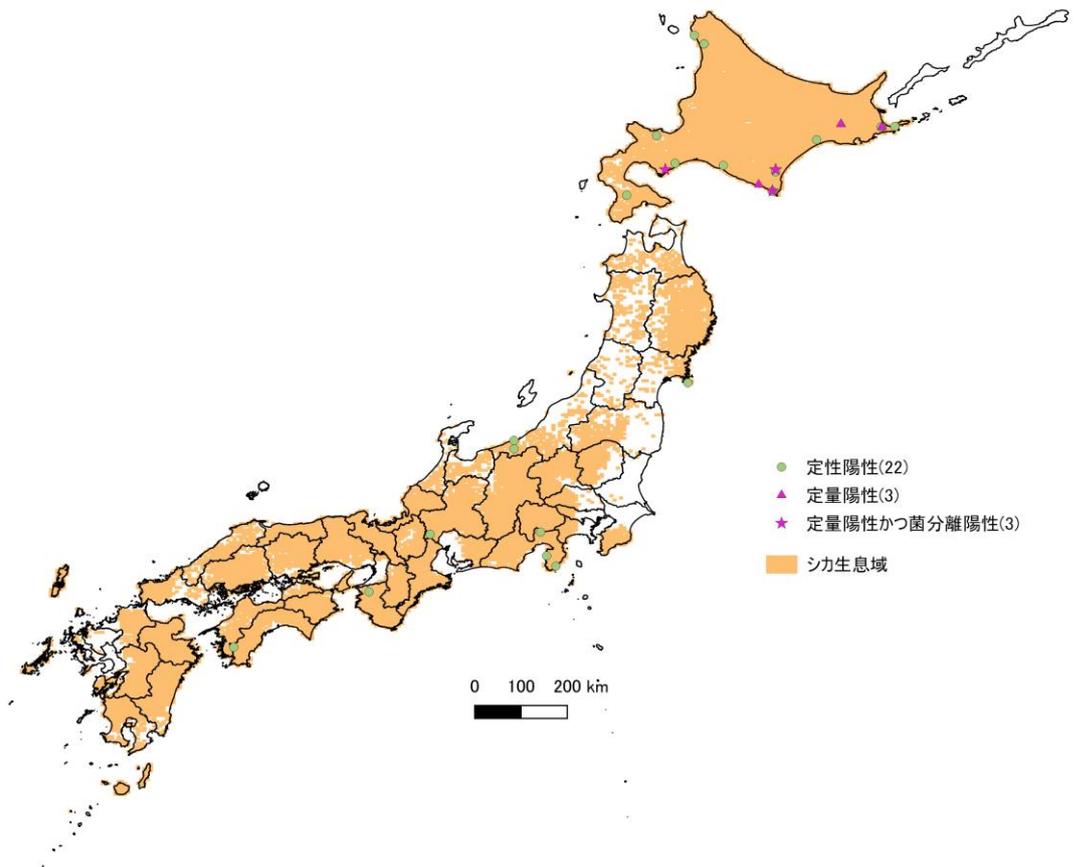
県名	H28年度	H29年度	H30年度	R1年度	R2年度	R3年度	合計	定量PCR結果		培養陽性
								定性陽性	定量陽性	
北海道	43	49	168	55	114	63	492	13	6	3
青森県	4	0	0	3	0	0	7	0	0	0
岩手県	25	0	0	10	0	0	35	0	0	0
宮城県	0	25	0	0	10	0	35	1	0	0
秋田県	0	1	0	0	0	0	1	0	0	0
栃木県	13	0	0	0	0	10	23	0	0	0
群馬県	0	25	0	10	0	0	35	0	0	0
埼玉県	0	23	0	10	0	0	33	0	0	0
千葉県	0	22	0	0	10	0	32	0	0	0
神奈川県	24	0	0	0	0	10	34	0	0	0
新潟県	0	6	0	0	0	4	10	2	0	0
富山県	6	0	0	0	0	0	6	0	0	0
石川県	0	8	1	0	0	0	9	0	0	0
福井県	0	0	0	10	0	0	10	0	0	0
山梨県	25	0	0	10	0	0	35	0	0	0
長野県	25	0	0	0	0	0	25	0	0	0
岐阜県	0	25	0	0	10	0	35	1	0	0
静岡県	0	25	0	0	0	9	34	3	0	0
愛知県	0	24	0	0	0	7	31	0	0	0
三重県	25	0	0	0	0	0	25	0	0	0
滋賀県	20	0	0	0	0	0	20	0	0	0
京都府	0	19	0	0	10	0	29	0	0	0
大阪府	25	0	0	0	0	0	25	0	0	0
兵庫県	25	0	0	0	9	0	34	0	0	0
奈良県	0	0	0	10	0	0	10	0	0	0
和歌山県	23	0	0	0	0	6	29	1	0	0
鳥取県	0	16	0	0	0	10	26	0	0	0
島根県	25	0	0	0	0	0	25	0	0	0
岡山県	0	24	0	0	0	0	24	0	0	0
広島県	25	0	0	8	0	0	33	0	0	0
山口県	0	22	0	8	0	0	30	0	0	0
徳島県	16	0	0	0	9	0	25	0	0	0
香川県	0	24	0	0	10	0	34	0	0	0
愛媛県	25	0	0	0	0	10	35	0	0	0
高知県	25	0	0	0	0	9	34	1	0	0
福岡県	20	0	0	0	0	0	20	0	0	0
長崎県	25	0	0	10	0	0	35	0	0	0
熊本県	0	18	0	0	0	10	28	0	0	0
大分県	0	25	0	0	4	0	29	0	0	0
宮崎県	25	0	0	0	9	0	34	0	0	0
鹿児島県	0	25	0	0	0	0	25	0	0	0
合計	469	406	169	144	195	148	1,531	22	6	3

【表2】シカ検体数（血清）

県名	H28年度	H29年度	H30年度	R1年度	R2年度	R3年度	合計
北海道	43	49	169	55	114	64	494
青森県	4	0	0	3	0	0	7
岩手県	25	0	0	10	0	0	35
宮城県	0	25	0	0	10	0	35
秋田県	0	1	0	0	0	0	1
栃木県	17	0	0	0	0	10	27
群馬県	0	25	0	10	0	0	35
埼玉県	0	23	0	10	0	0	33
千葉県	0	22	0	0	10	0	32
神奈川県	24	0	0	0	0	10	34
新潟県	0	6	0	0	0	4	10
富山県	6	0	0	0	0	0	6
石川県	0	8	1	0	0	0	9
福井県	0	0	0	10	0	0	10
山梨県	25	0	0	10	0	0	35
長野県	24	0	0	0	0	0	24
岐阜県	0	25	0	1	10	0	36
静岡県	0	25	0	0	0	9	34
愛知県	0	24	0	0	0	7	31
三重県	25	0	0	0	0	0	25
滋賀県	20	0	0	0	0	0	20
京都府	0	19	0	0	10	0	29
大阪府	25	0	0	0	0	0	25
兵庫県	25	0	0	0	10	0	35
奈良県	0	0	0	10	0	0	10
和歌山県	23	0	0	0	0	6	29
鳥取県	0	16	0	0	0	10	26
島根県	25	0	0	0	0	0	25
岡山県	0	24	0	0	0	0	24
広島県	25	0	0	10	0	0	35
山口県	0	22	0	8	0	0	30
徳島県	15	0	0	0	9	0	24
香川県	0	25	0	0	10	0	35
愛媛県	25	0	0	0	0	10	35
高知県	23	0	0	0	0	9	32
福岡県	20	0	0	0	0	0	20
長崎県	25	0	0	10	0	0	35
熊本県	0	18	0	0	0	10	28
大分県	0	24	0	0	10	0	34
宮崎県	25	0	0	0	10	0	35
鹿児島県	0	25	0	0	0	0	25
合計	469	406	170	147	203	149	1,544

## (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 1,531 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 22 検体、定量陽性と判定された検体は 6 検体あった。また、平成 28 年度から令和 2 年度にかけて採材した 1,383 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 148 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 19 検体あり、これらの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 9 に示した。



【図 9】 ヨーネ病検査陽性検体の地理的分布

## (3) 悪性カタル熱の検査結果

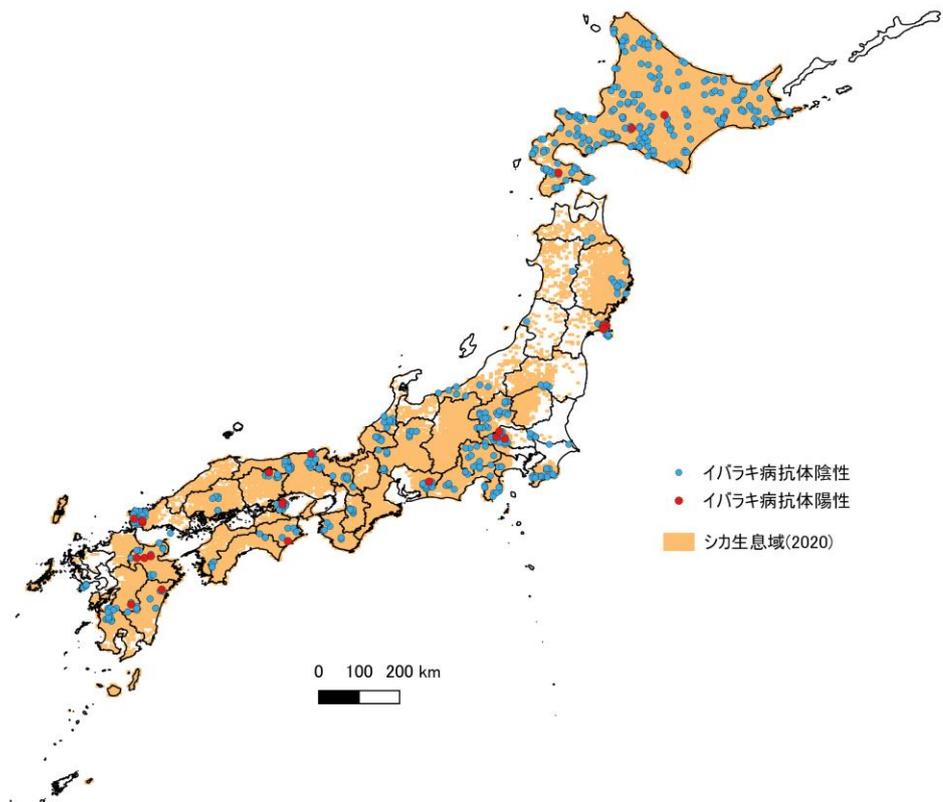
平成 29 年から令和元年度に 26 都道府県から収集されたシカ血清 723 検体について悪性カタル熱の検査を実施したところ、平成 29 年度は 14 検体（埼玉県、千葉県、岐阜県、京都府、岡山県、大分県、熊本県：各 1 検体、鳥取県、山口県：各 2 検体、鹿児島県：3 検体）、平成 30 年度は 6 検体（北海道）、令和元年は 3 検体（福井県：2 検体、奈良県：1 検体）が ELISA 検査陽性であった。なお、令和 2 年度分については昨年度事業で実施済みである（1 検体（宮崎県）で ELISA 検査陽性）。また、令和 3 年度は 12 都道府県から採材した 145 検体について検査を行ない、1 検体（愛知県）で ELISA 検査陽性であった。【表 3】

【表3】悪性カタル熱ウイルス（OvHV-2）に対する抗体検査結果

県名	H29年度		H30年度		R1年度		R2年度		R3年度	
	検査数	陽性	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	6	55		114		61	
山形県									1	
青森県					3					
岩手県					10					
宮城県	25						10			
秋田県	1									
福島県									10	
群馬県	25				10					
埼玉県	23	1			10					
千葉県	22	1					10			
神奈川県									10	
新潟県	6								3	
石川県	8		1							
福井県					10	2				
山梨県					10					
岐阜県	25	1			1		10			
静岡県	25								9	
愛知県	24								6	1
京都府	19	1					10			
兵庫県							10			
奈良県					10	1				
和歌山県									6	
鳥取県	16	2							10	
岡山県	24	1								
広島県					10					
山口県	22	2			8					
徳島県							9			
香川県	25						10			
愛媛県									10	
高知県									9	
長崎県					10					
熊本県	18	1							10	
大分県	24	1					10			
宮崎県							10	1		
鹿児島県	25	3								
合計	406	14	170	6	147	3	203	1	145	1

#### (4) イバラキ病の検査結果

平成 29 年度及び令和元年度から今年度にかけて採材された血清 904 検体についてイバラキ病の検査を行ったところ、平成 29 年度の 16 検体（宮城県、埼玉県、愛知県、京都府、岡山県、山口県、香川県、大分県、熊本県）、令和元年度の 2 検体（北海道）及び令和 2 年度の 5 検体（北海道、香川県、徳島県、大分県、宮崎県）で抗体陽性であった【表 4、図 10】。



【図 10】イバラキ病検査陽性検体の地理的分布

【表4】 イバラキ病検査結果

県名	検査数	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
北海道	282	3	0.011	0.002	0.031	0.130	
青森県	3	0	0.000	0.000	0.708	1.000	
岩手県	10	0	0.000	0.000	0.308	1.000	
宮城県	35	3	0.086	0.018	0.231	0.059	
秋田県	1	0	0.000	0.000	0.975	1.000	
福島県	10	0	0.000	0.000	0.308	1.000	
群馬県	25	0	0.000	0.000	0.137	1.000	
埼玉県	33	3	0.091	0.019	0.243	0.051	
千葉県	32	0	0.000	0.000	0.109	1.000	
神奈川県	10	0	0.000	0.000	0.308	1.000	
新潟県	9	0	0.000	0.000	0.336	1.000	
石川県	8	0	0.000	0.000	0.369	1.000	
福井県	10	0	0.000	0.000	0.308	1.000	
山梨県	10	0	0.000	0.000	0.308	1.000	
岐阜県	46	0	0.000	0.000	0.077	0.633	
静岡県	34	0	0.000	0.000	0.103	1.000	
愛知県	31	1	0.032	0.001	0.167	0.550	
京都府	29	1	0.034	0.001	0.178	0.526	
兵庫県	10	0	0.000	0.000	0.308	1.000	
奈良県	10	0	0.000	0.000	0.308	1.000	
和歌山県	6	0	0.000	0.000	0.459	1.000	
鳥取県	26	0	0.000	0.000	0.132	1.000	
岡山県	24	1	0.042	0.001	0.211	0.461	
広島県	10	0	0.000	0.000	0.308	1.000	
山口県	30	3	0.100	0.021	0.265	0.040	*
徳島県	9	1	0.111	0.003	0.482	0.207	
香川県	35	2	0.057	0.007	0.192	0.223	
愛媛県	10	0	0.000	0.000	0.308	1.000	
高知県	9	0	0.000	0.000	0.336	1.000	
長崎県	10	0	0.000	0.000	0.308	1.000	
熊本県	28	1	0.036	0.001	0.183	0.514	
大分県	34	3	0.088	0.019	0.237	0.055	
宮崎県	10	1	0.100	0.003	0.445	0.227	
鹿児島県	25	0	0.000	0.000	0.137	1.000	
合計	904	23	0.025	0.008	0.024		

※割合の信頼区間の推定と、全国平均との差の検定は二項検定による。

### 3. 考察

ヨーネ病については、平成 29 年度、平成 30 年度、令和 2 年度及び今年度に、北海道の 6 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 2 検体は培養検査中）ことから、野生シカの一部がヨーネ病に感染している可能性が示唆された。また、遺伝子検査の結果、北海道、宮城県、新潟県、岐阜県、静岡県、和歌山県及び高知県の計 22 検体について、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、これらの個体についても感染していた可能性がある。今回の結果は、各年度の限られた件数の検査結果に基づくものであることから、浸潤の程度及び状況については、今後、さらに調査を行う必要があるものと思われる。

OvHV-2 に起因する羊随伴型悪性カタル熱を呈したシカなどについて、1998 年から 2007 年までに、6 症例が報告されている。これまで野生鹿を対象に悪性カタル熱の浸潤状況は調査されておらず、令和 2 年度抗体調査では、陽性となったのは 1 検体のみであること、ELISA 検査では非特異反応による陽性の可能性が否定できなかった。今回の調査で、散発的に ELISA 抗体陽性例が認められた。しかし、本結果では OvHV-2 への特異反応であることを立証できず、国内の野生シカに OvHV-2 が浸潤していると結論することはできなかった。今後、OvHV-2 の ELISA 検査方法の改良が必要である。

イバラキ病については、牛飼養農場で実施されている、おとり牛を用いたサーベイランスの結果によると、平成 28 年に九州、中国、四国、近畿地方、平成 30 年に京都府、令和元年に九州地方と兵庫県、京都府、令和 2 年に九州地方で浸潤が認められている（動衛研「おとり牛を用いたアカバネ病等の抗体調査」）。なお、これらには、疫学的にイバラキウイルスと血清学的に交差性をもつ流行性出血病ウイルス血清型 7 型の感染が含まれる可能性が示唆されている。野生シカでの抗体陽性は、おとり牛での陽性が認められた地域に加え、埼玉県、宮城県、北海道で認められ、野生環境下のシカでイバラキウイルスを含む流行性出血病ウイルスの感染が起きている可能性が考えられた。埼玉県、宮城県、北海道の陽性検体については、2019 年に福島県においてウシで流行性出血病ウイルス血清型 7 による疾病の発生がみられていることなどから、これらの地域にもこのウイルスの浸潤があった可能性も考えられるが、血清学的に交差性をもつ異なるウイルスに対する抗体を検出した可能性や、被検血清の状態などに伴う非特異的の反応によるものが含まれる可能性もあり、さらに調査を行う必要がある。野生シカの感染が、吸血昆虫を介して国内家畜へのウイルスの感染拡大に関与する可能性もあるため、伝播経路として注意する必要があると考えられた。

## II-2. イノシシの調査

### 1. 方法

#### (1) 検査材料の収集

平成 26 年度から令和元年度までの調査と同様、大日本猟友会を通じて各県の猟友会に依頼して、捕殺されたイノシシから検査材料（血液）を採取し、冷蔵便にて収集した。本州における野生イノシシにおける豚熱発生地域拡大への対応を考慮し、今年度は、九州地方の各県に調査を依頼した。検査材料の収集にあたっては、昨年度と同じ調査票を用いて、捕獲日時、場所、捕獲方法、イノシシ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

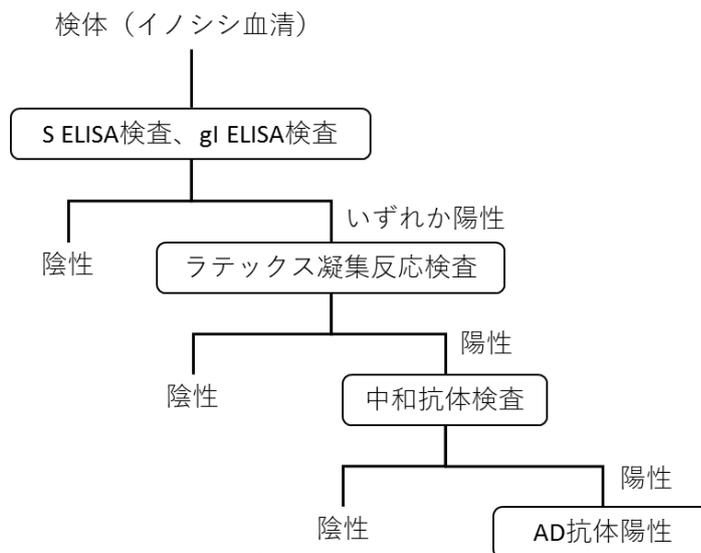
送付された材料は、動衛研で血清分離後、検査の実施まで-20℃で冷凍保存した。その後、AD 及びトキソプラズマ症の血中抗体測定を行うことを目的に、動衛研においてそれぞれ次の方法で検査を行った。

ア、AD

AD 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 11】。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 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 4 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 抗体陽性と判定した。

【表 4】 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 11】 AD 検査の流れ

## イ、トキソプラズマ症

抗 *T. gondii* 抗体検出エライザキット (PrioCHECK Toxoplasma Ab porcine) 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。

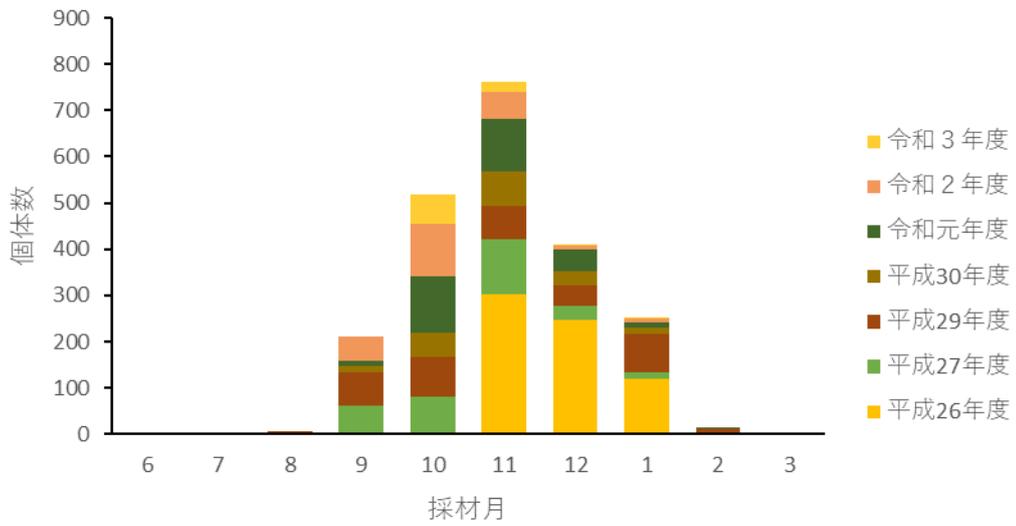
## 2. 結果

### (1) 検査されたイノシシの概要

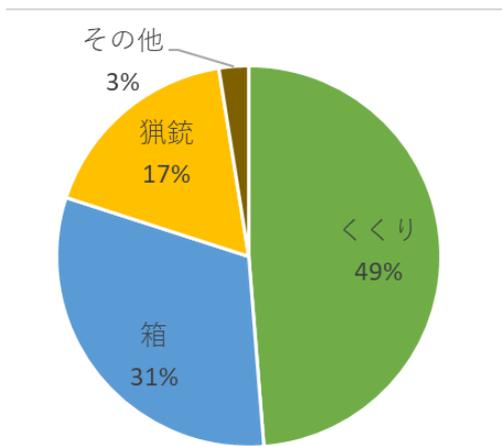
県別、年度別の検体数の内訳を表5に示した。検査材料は、検査に不適であったものを除くと、今年度に集めたものが80検体で、昨年度までのものを合わせると合計2,208検体であった。

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算出したところ、検査の依頼が毎年度後半であることから約6割が10月及び11月に採材されている【図12】。捕獲から検体の採取までの日数については、今年度採材された全ての検体について捕獲当日中に採材されていた。

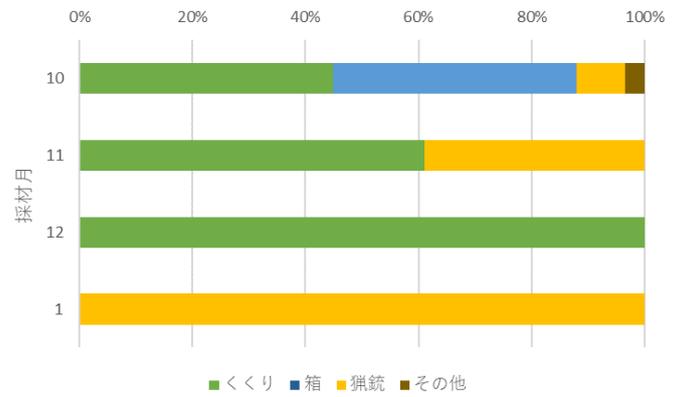
今年度採材されたイノシシの性別は、51頭(63.8%)がオス、29頭(36.2%)がメスであった。採材時の捕獲方法は、くくりわな及び箱わなで全体の約8割を占め、残りは猟銃及びその他による捕獲であった【図13、図14】採材された月や捕獲方法について、イノシシの性別による違いは認められなかった。



【図 12】 イノシシ検体の採材月



【図 13】 イノシシ捕獲方法（令和 3 年度）

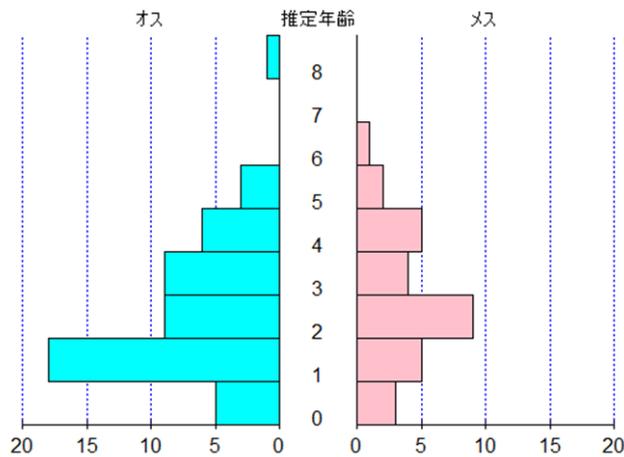


【図 14】 採材月別のイノシシ捕獲方法（令和 3 年度）

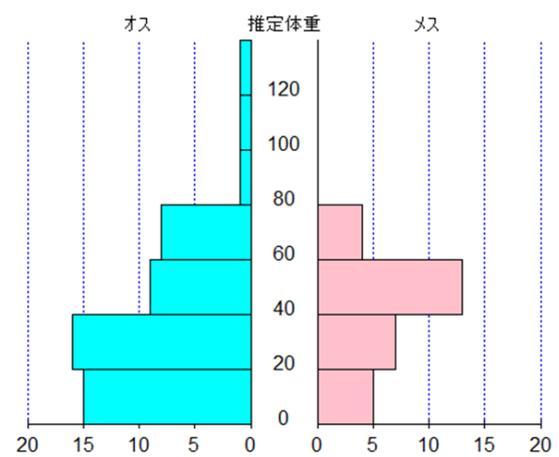
【表5】イノシシ検体数

県名	H26年度	H27年度	H29年度	H30年度	R1年度	R2年度	R3年度	合計
宮城県	0	0	39	0	0	19	0	58
福島県	0	0	32	0	0	38	0	70
茨城県	0	0	40	0	0	39	0	79
栃木県	0	3	29	2	0	31	0	65
群馬県	0	45	0	0	0	0	0	45
埼玉県	0	0	37	0	0	0	0	37
千葉県	0	0	34	0	0	40	0	74
神奈川県	0	0	36	0	0	37	0	73
新潟県	26	0	0	0	0	0	0	26
富山県	17	0	0	0	0	0	0	17
石川県	0	0	34	0	0	0	0	34
福井県	6	0	0	0	0	0	0	6
山梨県	24	0	0	0	0	0	0	24
長野県	16	0	0	0	0	0	0	16
岐阜県	38	0	0	5	0	0	0	43
静岡県	24	41	0	0	0	0	0	65
愛知県	24	0	0	0	0	0	0	24
三重県	27	49	0	40	0	0	0	116
滋賀県	20	0	0	0	0	0	0	20
京都府	16	0	0	0	38	0	0	54
大阪府	0	0	50	0	0	3	0	53
兵庫県	20	0	0	0	35	0	0	55
奈良県	28	0	0	32	40	0	0	100
和歌山県	17	0	0	31	39	0	0	87
鳥取県	25	0	0	0	0	0	0	25
島根県	21	43	0	0	0	0	0	64
岡山県	19	50	0	0	0	0	0	69
広島県	33	0	0	0	0	0	0	33
山口県	25	0	0	0	0	0	0	25
徳島県	26	35	0	0	0	0	0	61
香川県	35	0	1	2	2	0	0	40
愛媛県	15	0	0	0	0	0	0	15
高知県	22	0	0	0	0	0	0	22
福岡県	19	0	0	0	0	40	20	79
佐賀県	23	0	0	0	0	0	0	23
長崎県	25	50	0	0	0	0	0	75
熊本県	0	0	40	0	40	0	20	100
大分県	16	0	0	35	32	0	20	103
宮崎県	29	0	0	40	40	0	20	129
鹿児島県	36	0	0	0	40	0	0	76
沖縄県	28	0	0	0	0	0	0	28
合計	700	316	372	187	306	247	80	2,208

今年度捕獲されたイノシシの推定年齢を比較したところ、オスの平均が 2.16 歳、メスの平均が 2.45 歳で有意差はなかった (Wilcox test による P 値=0.32) 【図 15】。また、推定体重を比較したところ、オスの平均が 35.5 kg、メスの平均が 38.3 kg で有意差はなかった (Wilcox test による P 値=0.25) 【図 16】。ただし、捕獲されたイノシシの年齢及び体重は、多くの場合捕獲者の目測による推定値であるため必ずしも正確な値とは言えないことに注意が必要である。

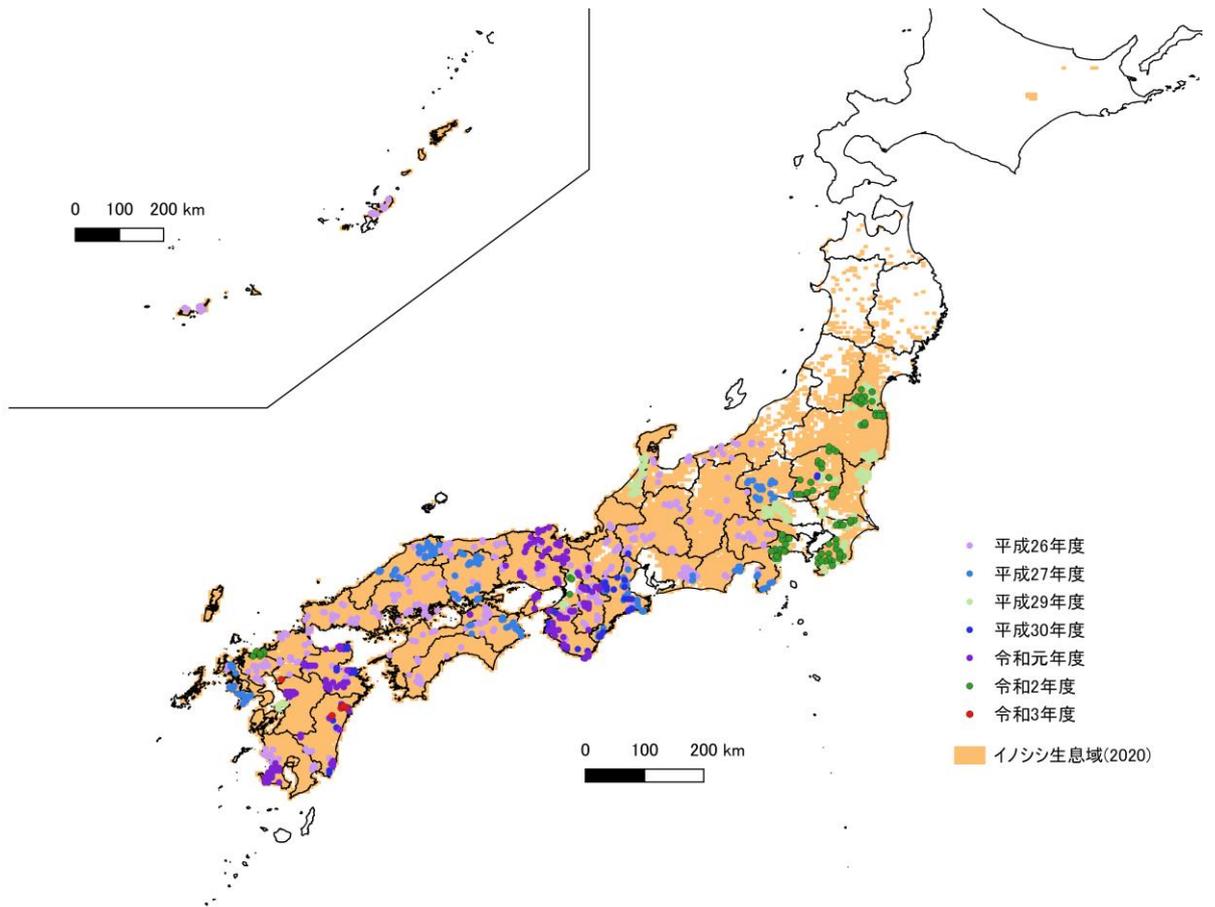


【図 15】 イノシシの性別と推定年齢



【図 16】 イノシシの性別と推定体重

調査票から得られたイノシシの捕獲地点の情報をプロットした地図を図 17 に示した。



【図 17】 イノシシの捕獲地点とイノシシの生息地域（イノシシ生息域は環境省のデータに基づく）

## (2) AD の検査結果

令和 2 年度に収集された 247 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 58 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認められなかった【表 6】。

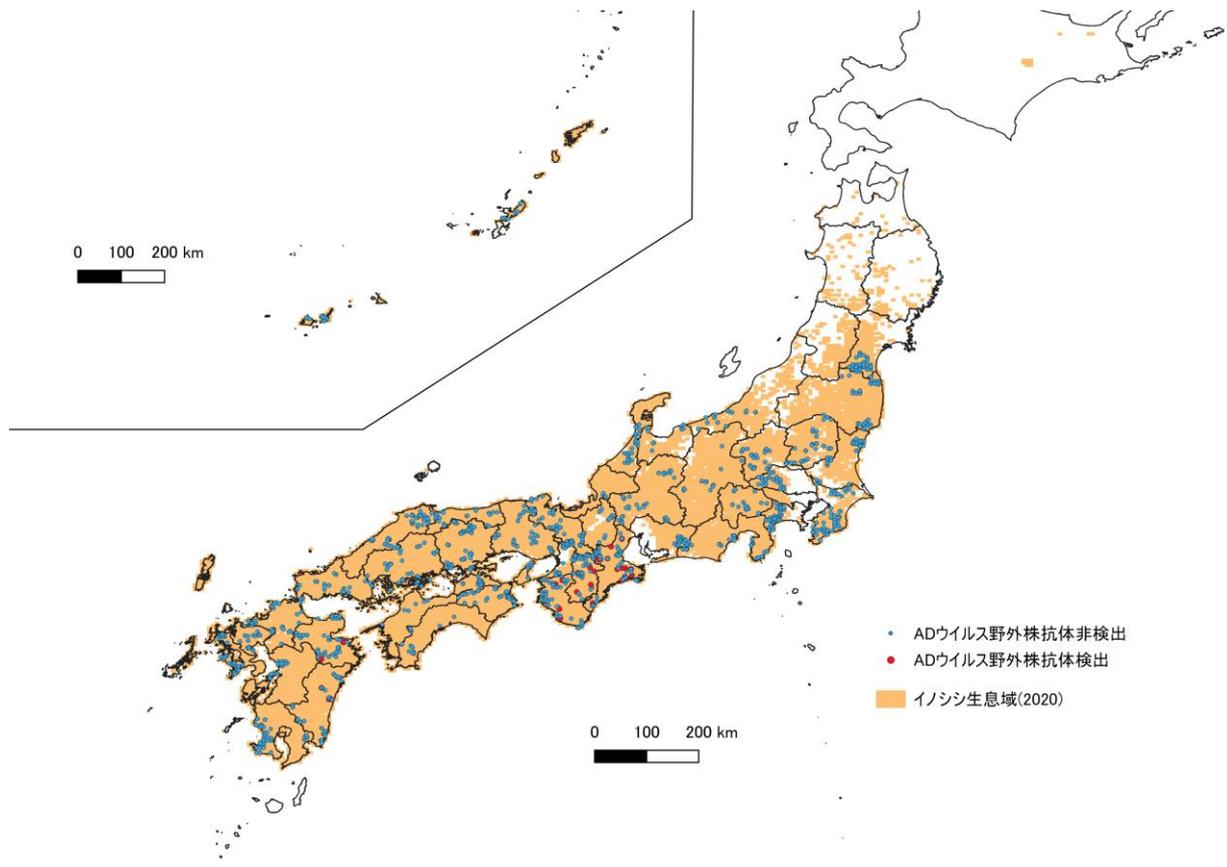
【表6】都道府県別 AD ウイルス野外株抗体検査結果（令和2年度採材分）

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
宮城県	19	0	0.000	0.000	0.176	1.000	
福島県	38	0	0.000	0.000	0.093	1.000	
茨城県	39	0	0.000	0.000	0.090	1.000	
栃木県	31	0	0.000	0.000	0.112	1.000	
千葉県	40	0	0.000	0.000	0.088	1.000	
神奈川県	37	0	0.000	0.000	0.095	1.000	
大阪府	3	0	0.000	0.000	0.708	1.000	
福岡県	40	0	0.000	0.000	0.088	1.000	
合計	247	0	0.000	0.000	0.015		

\* 割合の信頼区間の推定と、全国平均との差の検定は二項検定による。

平成26年度から令和元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18】に示した。

令和3年度は100検体以上の採材を目標としていたところ、新型コロナの影響で狩猟活動が十分にできず80検体の採材となったが、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が捕獲された宮崎県、大分県からの検体は採材されたことから、事業実施の目的としては十分な量が得られたと判断された。この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。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。



【図 18】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とイノシシの生息域

### (3) トキソプラズマ症の検査結果

今年度に採材された検体のうち、検査可能であった血清は78検体であった。このうちエライザ検査で陽性となったのは、29検体であり、全体の抗体陽性率（95%信頼区間）は37.2%（26.5–48.9）となった。今年は九州4県の調査であり、抗体陽性率は県ごとにみると30.0%から47.4%まで分布していたが、各県の抗体陽性率と4県の平均陽性率に有意な差は見られなかった（いずれも $P>0.05$ ）【表7】。過年度の当事業の結果も含め、抗体陽性率は平成26年度の30.8%から令和2年度の52.6%まで幅が認められている（ $P<0.001$ ）【表8】。なお、これまで当事業に参画したことがある41府県は、平成26、27及び29年度で少なくとも1回参加している。そこでこれら3年度分を第1クールとし、平成30年、令和元年、令和2年及び今年度を第2クールとし、九州沖縄地方の抗体陽性率を比較したところ、クール間で有意な差は認められなかった（ $P=0.36$ ）。【表9】。満2歳以上の個体の陽性率は1歳以下の個体より有意に高かったが（1歳未満、満1歳、満2歳以上でそれぞれ14.3、13.0および52.1%、 $P=0.002$ ）【表10】、性差は認められず（ $P=0.47$ ）【表11】、これらの傾向は過年度に得られた結果と同等であった。

平成26年度から今年度までの6年度分の調査で得られた陽性個体及び陰性個体の捕獲地点を【図19】に示した。

【表 7】 抗トキソプラズマ原虫抗体検査結果（令和 3 年度分）

県名	検査数	陽性数	陰性数	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	8	12	0.400	0.191	0.639	0.819	
熊本県	20	6	14	0.300	0.119	0.543	0.646	
大分県	19	6	13	0.316	0.126	0.566	0.813	
宮崎県	19	9	10	0.474	0.244	0.711	0.354	
総計	78	29	49	0.372	0.265	0.489		

※割合の信頼区間推定と、全検体の平均との差は二項検定による。

【表 8】 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
合計	800	1,328	2,128	0.376

全体のカイ二乗検定 P<0.001

【表 9】 九州沖縄地方におけるクールごとの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
第 1 クール（平成 26, 27, 29 年度）	102	164	266	0.383
第 2 クール（平成 30, 令和元、2 年度）	145	200	345	0.420
合計	247	364	611	0.404

カイ二乗検定 P=0.36

【表 10】 年齢層別抗トキソプラズマ原虫抗体検査結果（令和 3 年度分）

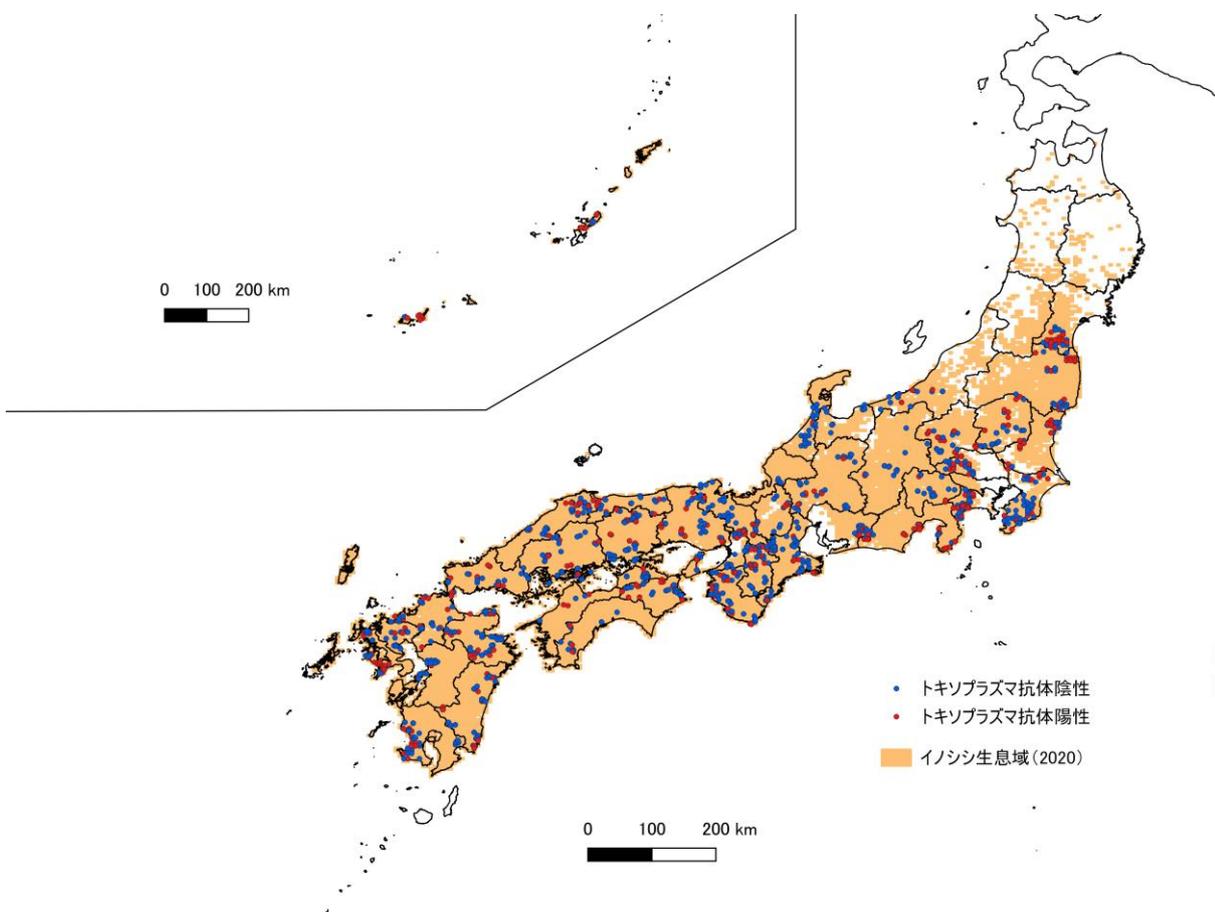
	陽性数	陰性数	合計	陽性率
1 歳未満	1	6	7	14.3%
満 1 歳	3	20	23	13.0%
2 歳以上	25	23	48	52.1%
合計	29	49	78	37.2%

フィッシャーの正確確率検定 P=0.002

【表 11】 性別抗トキソプラズマ原虫抗体検査結果（令和 3 年度分）

	陽性数	陰性数	合計	陽性率
オス	17	33	50	34.0%
メス	12	16	28	42.9
合計	29	49	78	37.2%

カイ二乗検定 P=0.47



【図 19】 平成 26 年度から令和 3 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と野生イノシシの生息域

### 3. 考察

ADについては、令和2年度は、これまでADウイルス野外株抗体非検出であった地域の一部を調査したが、野外株に対する抗体を保有するイノシシは確認されなかった。平成26年度から平成29年度の調査で、近畿地方及び九州地方において野外株に対する抗体を保有するイノシシが確認され、これらの地域も対象に実施した平成30年度及び令和元年度の調査でも、同様の傾向が確認されている。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る。今後も、これらの地域での感染の動向を監視するとともに、これらの地域の周辺地域においても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。

トキソプラズマ病については、今年度、九州の4県から収集された検体のうち、40%弱の検体が抗トキソプラズマ原虫抗体陽性を示した。昨年度は第1クールと第2クールで地域ごとの抗体陽性率に変動がないことを示したが、今年度、新たに九州4県を追加し九州沖縄地方の比較をしたところ、同様の結果となった。今後、その他の地方における第2クール未実施県の検体収集を強化し、国内地域ごとの感染状況のモニタリングを継続していくことが重要である。

年齢別では加齢に伴って抗体陽性率が高まること、また性別では抗体陽性率に差がないといった傾向は、昨年度までの結果と同等であり、雌雄を問わず、幅広い年齢で感染の可能性があることが示された。また、昨年度までの結果と同様、図19に示すように、我が国の野生イノシシ生息域には抗トキソプラズマ抗体陽性イノシシが広く浸潤していることが確認された。トキソプラズマは人獣共通感染症であり、いのしし肉の喫食により人が感染する可能性もあるため、引き続き、トキソプラズマ症の野生イノシシ間のまん延状況を監視し、喫食を介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検証する必要がある。

## 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によって必ずしも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、本ウイルスの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。この遺伝子解析結果を既知のニューカッスル病ウイルスやワクチン株と比較し、野鳥が保有するウイルスの遺伝学的特徴を明らかにした。

### 2. 成果

#### (1) 成果の内容

##### ア、ハト糞便からの分離状況

令和年8月から令和4年2月までの期間中、全国14県から84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3年10月から令和4年2月までの期間中、全国15県から119検体が送付された【表13】。これらのうち、令和4年1月に福島県で採材された水禽由来糞便から1株の血球凝集性ウイルスが分離された。この検体はPCRによる塩基配列の解析からニューカッスル病ウイルスと同定された。このウイルスのF蛋白開裂部位のアミノ酸配列(113番目から117番目)を推定した結果、KQGR-Lで非病原性株（弱毒型）の配列であった。またF遺伝子を用いた分子系統解析の結果、Class IIの系統に属していた。

#### (2) 成果の活用

今年度収集したハト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、水禽の糞便から、病原性ニューカッスル病ウイルスに分類されるClass IIの低病原性ニューカッスル病ウイルスが分離された（図20）。この結果は、国内の家さんが野鳥から病原性のニューカッスル病に

感染する可能性があることを示しており、今後も継続的なサーベイランスにより、ウイルスの侵入状況を把握するとともに、ワクチンを中心とした防疫対策が必要であることが示唆された。

【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(ハト)

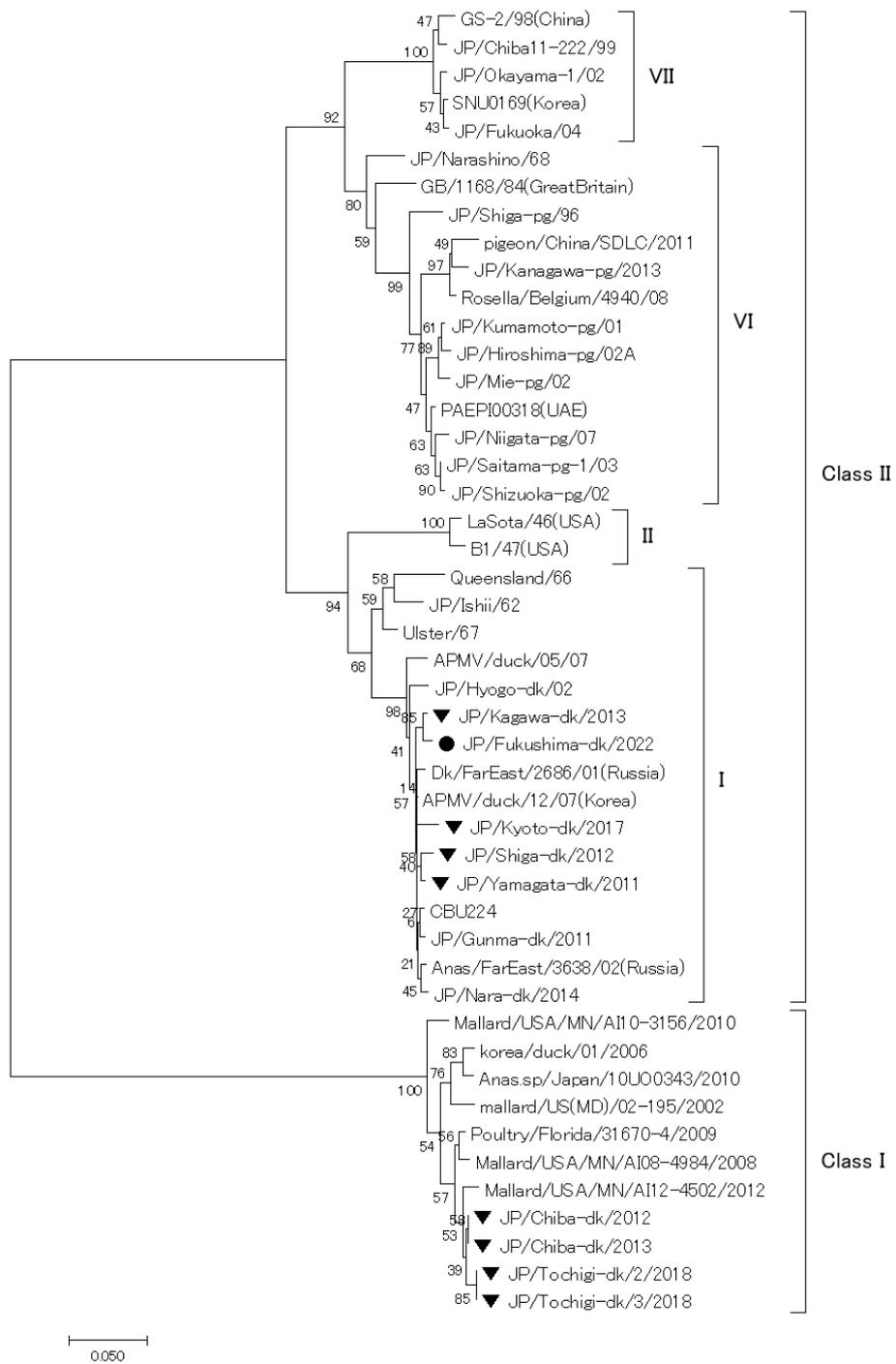
都道府県名	採材時期							計	採材場所
	2021/8	2021/9	2021/10	2021/11	2021/12	2022/1	2022/2		
石川県	3		3					6	金沢市八田町
福井県		3				3		6	福井市西下野町 16-4
長野県		3	3	3				9	松本市
大分県			3		3			6	海門寺公園
静岡県			3	3				6	伊豆市湯ヶ島
埼玉県			3				3	6	上尾市富士見 2-12-7
香川県				3			3	6	丸亀市
和歌山県				3			3	6	和歌山城公園
山梨県				3			3	6	甲府市遊亀公園
大阪府					3		3	6	堺市中区土塔町菰池
福岡県					3			3	福岡市西区愛宕 2丁目 7-1
鹿児島県					3		3	6	鹿児島市山下町
熊本県						3	3	6	熊本市中央区
佐賀県						3	3	6	佐賀市
計	3	6	15	15	12	9	24	84	

※ いずれの検体からもニューカッスル病ウイルスは検出されなかった。

【表 13】 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						計	採材場所
	2021/10	2021/11	2021/12	2022/1	2022/2		
千葉県	3	4	3			10	東金ダム・長柄ダム
山梨県		3	3			6	河口湖
島根県		3	3	3		9	松江市西尾町、縁結び大橋
埼玉県		3	3			6	久喜菖蒲公園
神奈川県		5				5	富岡並木ふなだまり公園
栃木県		3				3	大田原市羽田沼
福島県		5	3	3*		11	福島市あぶくま親水公園
香川県		3		3		6	高松市春日町新川河口付近
茨城県			9	9	6	24	那珂市、ひたちなか市、水戸市
大分県			3	3	3	9	小野鶴
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
大阪府			3	3	3	9	堺市中区土塔町菰池
静岡県			3	3	3	9	浜松市猪鼻湖畔
岩手県				3			盛岡市
計	3	29	39	33	18	119	

※ 1 検体から低病原性ニューカッスル病ウイルスが分離された。



【図 20】 F 遺伝子を用いた分子系統樹

今回分離された株は●で示した。以前の調査で分離されたウイルスは▼で示した。わが国の家禽由来病原性株の多くは Class II Genotype VII、ハト由来病原性株の多くは Class II Genotype VI に属する。主要なワクチン株 (B1) は Class II Genotype II に属する。

### 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・前処理解器材セット）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 50 検体から、GenElute Mammalian Genomic DNA Miniprep Kits（シグマ）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、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鹿の延髄〔兵庫県（70 検体）、北海道（30 検体）合計 100 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、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。