

令和2年3月27日

安全な農林水産物安定供給のためのレギュラトリーサイエンス研究委託事業
研究成果報告書

課題番号：2904

アルボウイルス感染症の発生予察手法の開発

研 究 期 間：平成29年度～令和元年度（3年間）

研究総括者名：山本 健久

試験研究機関名：国立研究開発法人農業・食品産技術総合機構

1 研究目的

牛のアルボウイルス感染症は蚊やヌカカといった節足動物によって媒介される疾病であり、妊娠牛の流産・死産や子牛の先天性異常を引き起こすアカバネ病、アイノウイルス感染症、チュウザン病や、突発的な高熱と呼吸器症状を引き起こすイバラキ病や牛流行熱などが含まれる。これらの疾病は、その発生状況を把握し、これに応じた対策を実施する必要があるため、家畜伝染病予防法の監視伝染病に指定され、発生時の通報が義務づけられている。

アルボウイルス感染症は節足動物を介して伝播することから、その発生や感染拡大は媒介する節足動物の活動の影響を受けやすい。そのため、近年の地球温暖化による気候変動や国際的な物流の増大・広域化は、媒介節足動物の生息域の拡大を生じ、アルボウイルス感染症の発生リスクの増大につながるものが懸念されている。高緯度地域に位置するヨーロッパでは、これまで家畜のアルボウイルス感染症はあまり注目されていなかったが、2005年にブルータング、2011年にシュマレンベルクウイルス感染症の大規模な流行が発生し、牛のみならず、山羊や羊などヨーロッパの主要畜産業に大きな打撃を与えた。このことは、アルボウイルス感染症のリスクの脅威がまさに現実のものになったことを示している。

日本においても、ウイルスを保有した媒介節足動物が海外の流行地域から国内に侵入する可能性が指摘されており、実際、アルボウイルス感染症の1つであるアカバネ病は毎年のように発生を繰り返し、異常産などの発生は畜産経営に大きな影響を及ぼしている。一方、近年は、これまでとは異なるアルボウイルス感染症の発生も確認されており、アルボウイルス感染症の対策が難しくなっている。例えば、アカバネウイルスは従来、主に妊娠牛に感染して異常産の原因となると考えられていたが、2006年と2011年には、生後感染による子牛の脳脊髄炎の大流行が発生した。また、2015年には九州以北では24年ぶりとなる牛流行熱の発生が鹿児島県で確認されたほか、流行性出血病ウイルス（EHDV）のうち、イバラキウイルス（血清型2）とは異なる血清型のEHDV（血清型6及び7）が西日本で2015年以降、発症牛から度々検出されている。さらに、シャモンダウイルス、サシュペリウイルスなど新たなアルボウイルスの侵入も確認され、これらのウイルスが異常産の原因となっている可能性が示唆されている。

このように、日本はウイルスを保有した媒介節足動物が周辺地域から侵入してくるリスクに常に晒されており、国内での発生状況を監視し、ワクチン接種などの対策を適切に行わなければ、アルボウイルス感染症の大規模な流行が起こるおそれがある。そのため、農林水産省と都道府県は、牛のアルボウイルス感染症の全国的な流行状況を監視する取り組みを長年にわたって行ってきた。この発生予察調査は、媒介節足動物の活動が活発となる6月～11月に、おとり牛（媒介節足動物が活動する夏を経験していない新生子牛、または抗体陰性牛）の抗体検査を継続的に行うことにより、国内に侵入したアルボウイルスを早期に察知することを目的としている。毎年、全国で約

3,000 頭のおとり牛を対象に、様々なアルボウイルス感染症について、計 4 回の抗体検査が行われている。しかしながら、現在の方法では、おとり牛の採材・検査の実施から結果の報告までに時間を要するため、調査結果をリアルタイムに活用できないことに加え、調査結果をどのように解析し、対策に活用するかが明確になっていないなどの問題がある。また、上述したように、従来とは異なる病態を示すアルボウイルスや現在調査対象となっていない新たなウイルスの侵入にも備える必要がある。

このように、アルボウイルス感染症対策の充実を図るためには、より効果的・効率的な発生予察調査体制の構築が急務となっている。そのためには、調査対象となるおとり牛の条件や抗体調査の実施計画など発生予察調査全体の枠組みについて検討するとともに、調査で用いられる検査手法の精度の向上やより効率的な検査手法の導入について検討する必要がある。また、調査の結果からアルボウイルスの侵入を早期に察知し、対策に反映するためには、都道府県が実施した発生予察調査のデータを速やかに収集して分析し、生産現場に還元する仕組みを構築する必要がある。

そこで、本研究では、アルボウイルス感染症のより効果的・効率的な監視システムを構築するため、現行の問題点を踏まえた上でアルボウイルス感染症の発生予察調査手法について検討するとともに、調査結果を有効に活用するため、調査データを体系的に収集・分析・還元することが可能なシステムの構築を行う。発生予察調査手法の検討やデータシステムの構築等に当たっては、これらを実施・活用する農林水産省や都道府県等の関係者の意見を聴きながら、現場での実効性を確保できるよう留意して研究を進める。

2 研究内容

(1) 研究課題

1) 中課題 1：アルボウイルス感染症の発生予察調査体制の検討

・小課題 1：発生予察調査の実施状況の調査

都道府県における発生予察調査の実施実態と実施上の問題点を把握するため、以下の項目に関する調査を行う。

- ①発生予察調査の実施状況（発生予察調査を行う際の調査対象農場及びおとり牛の選定手順、検査スケジュールの決定方法等）
- ②調査データの取り扱い（家畜保健衛生所及び県庁レベルでのデータの記録・保管・集計方法、県庁から農林水産省への報告、生産者への情報還元等）
- ③検査室検査の実施状況（検査の実施体制、検査の実施時期、検査の優先度、検体の取り扱い、培養細胞の維持管理等）

また、発生予察調査体制の検討の参考とするため、海外で実施されている牛アルボウイルス感染症の発生予察について、対象としている疾病と発生状況、採材・検査方法、データの還元方法等について公表データを中心に調査・分析を行う。

・小課題 2：発生予察調査で用いる検査手法の検証

現行の発生予察調査では、おとり牛の抗体検査を中和試験で行っている。中和試験は、手技が煩雑であること、感染性を保持したウイルスを使用すること、結果の判定までに日数を要すること、培養細胞の維持管理が必要なことなど欠点がある。また、検体や培養細胞の状態、あるいは検査担当者の手技によっては、検査結果が安定しないことも見受けられる。現場レベルでより効果的・効率的にアルボウイルスの感染を摘発するためには、より簡便で精度の高い検査法の導入について検討する必要があることから、PCR 法など簡便で迅速な検査手法の現場レベルでの応用可能性について検証する。

・小課題 3：発生予察調査手法の検討

小課題 1 及び 2 で得られた情報や過去の発生状況と発生予察調査の結果に加え、アルボウイルス感染症の病態、ウイルス学的性状、媒介節足動物の生態、近隣国での発生状況及び疾病の伝播に関する疫学的特徴などに関する科学的知見を踏まえた上で、効果的・効率的な発生予察調査手法を検討し、提案する。この際、調査手法の具体的内容について、都道府県と農林水産省消費・安全局動物衛生課（以下、「動物衛生課」）の担当者からの意見を聞きながら検討を進める。

2) 中課題 2：アルボウイルス感染症の発生予察調査データの収集・分析・還元システムの開発

現行の発生予察調査のデータは、動物衛生課が定めた様式に基づいて、各都道府県から動物衛生課に報告されている。動衛研では、この調査結果をとりまとめ、疾病ごとに抗体の陽転時期を示した地図をホームページで公表している（「おとり牛を用いたアカバネ病等の抗体調査」<http://www.naro.affrc.go.jp/niah/arbo/index.html>）。

しかしながら、現在の検査の実施から結果のとりまとめまでには、農場での採材、家畜保健衛生所における検査、県庁における結果のとりまとめ、動物衛生課へのファイル送信、動物衛生課での全国の結果のとりまとめ、動衛研での抗体陽転状況に関する分析といった複雑な過程が必要となっており、例え新たな流行が起こっても、地域的な陽転状況を把握するまでには相当の時間を要する。また、報告に用いられる様式は定められているものの、独自の変更が加えられている場合があることに加え、畜種などの記載方法が統一されていないなど、実際の記載内容は都道府県によって異なっている。このため、報告されたデータを分析するためには、各都道府県から提出されたデータを改めて確認し、修正する必要がある、解析までに多くの手間と労力を要している。さらに、おとり牛の抗体陽転の有無の判定は、母牛からの移行抗体やワクチン接種の有無を確認する必要があること、検査のタイミングによっては抗体価の上昇が顕著ではなく、周辺地域や複数回の検査結果を踏まえて判断

する必要があることなど、効率的な分析が困難となっている。

こうした状況を改善して、発生予察調査の結果からアルボウイルスの侵入を早期に察知し、それを対策に活かすためには、発生予察調査データを収集・分析し、それを生産現場に還元するという一連の流れが速やかに行われることが必要である。そのためには、データの収集・分析から還元までを一貫して扱うことができる、体系的な情報統合システムが必要となる。そこで、本研究では、調査データの収集・分析・還元を速やかに行うことが可能となるよう、クラウド型のデータベースシステムを開発する。当該システムは、インターネット上のサーバーに設置するクラウド型のデータベースシステムとすることで、報告様式の統一、ペーパーレス化及び報告のワンストップ化を実現する。都道府県と動物衛生課で共有するサーバーで調査データを一元管理することにより、両者間でリアルタイムに情報を共有することができる。さらに、過去のデータに基づいて、おとり牛の抗体価や月齢、母牛の抗体の有無及び検査時期等を考慮して、地域における抗体陽転の有無を自動的に判定するアルゴリズムを作成する。このアルゴリズムをシステムに応用することで、データベースに登録された報告データから、地域の陽転状況をリアルタイムに自動判定し表示する機能を実装する。この際、分析結果の共有と普及を容易にするため、分析結果を地図や図表を用いて自動的に視覚化する機能を追加する。

システムの開発においては、原則として **Java** などの **Web** ベースの開発言語を使用し、利用者が特定のソフトウェアをインストールすることなくウェブブラウザのみで利用できるよう配慮する。また、システムに必要な開発言語やソフトウェアは原則としてオープンソースのものを利用することとし、運用・維持にあたってコストを生じないようにする。また、システムの利用が都道府県及び動物衛生課の事務の負担とならないよう、ファイルごとデータを一括送信する機能などを実装する。

(2) 年次計画

項目	平成 2 9 年度	平成 3 0 年度	令和元年度
1. アルボウイルス感染症の発生 予察体制の検討	国内外における発生予察調査の実施状況の調査 (動物衛生研究部門)		
(1) 発生予察調査の実施状況の 調査	←→		
(2) 発生予察調査で用いる検査 手法の検証	←→		
(3) 発生予察調査手法の検討	←→		
2. アルボウイルス感染症の発生 予察調査データの収集・分析・ 還元システムの開発※	発生予察調査データの収集・分析・還元システムの開発 (動物衛生研究部門)		
所要経費	8,000 千円	2,825 千円	2,851 千円

※当初計画では平成 29~令和元年度までの 3 年計画であったが、基本的な機能を備えたシステムの開発が終了し、都道府県による利用を早期に開始するため、本課題は 29 年度で完了した。

(3) 実施体制

項目	担当研究機関	研究担当者	エフォート (%)
研究総括者		山本 健久	10
1. アルボウイルス感染症の発生 予察調査体制の検討	動物衛生研究部門	○ 早山 陽子	30
(1) 発生予察調査の実施状況の 調査	前出 前出 動物衛生研究部門	△ 早山 陽子 山本 健久 村井 清和 (H29年4月 ~H29年10月)	前出 前出 10
	動物衛生研究部門	清水 友美子	5
	動物衛生研究部門	村 藤 義 訓 (H30年4月~)	5
	動物衛生研究部門	筒井 俊之	1
(2) 発生予察調査で用いる検査 手法の検証	動物衛生研究部門 動物衛生研究部門	△ 梁瀬 徹 白藤 浩明	10 10
(3) 発生予察調査手法の検討	前出 前出 前出	△ 早山 陽子 山本 健久 村井 清和 (H29年4月 ~H29年10月)	前出 前出 前出
	前出 前出 前出	清水 友美子 村 藤 義 訓 (H30年4月~)	前出 前出
		筒井 俊之	前出
2. アルボウイルス感染症の発生 予察調査データの収集・分析・ 還元システムの開発	前出 前出	○ 山本 健久 早山 陽子	前出 前出

研究担当者欄について、中課題担当者には○、小課題担当者には△を付すこと。

3 研究推進会議の開催状況

別紙の(1)のとおり。

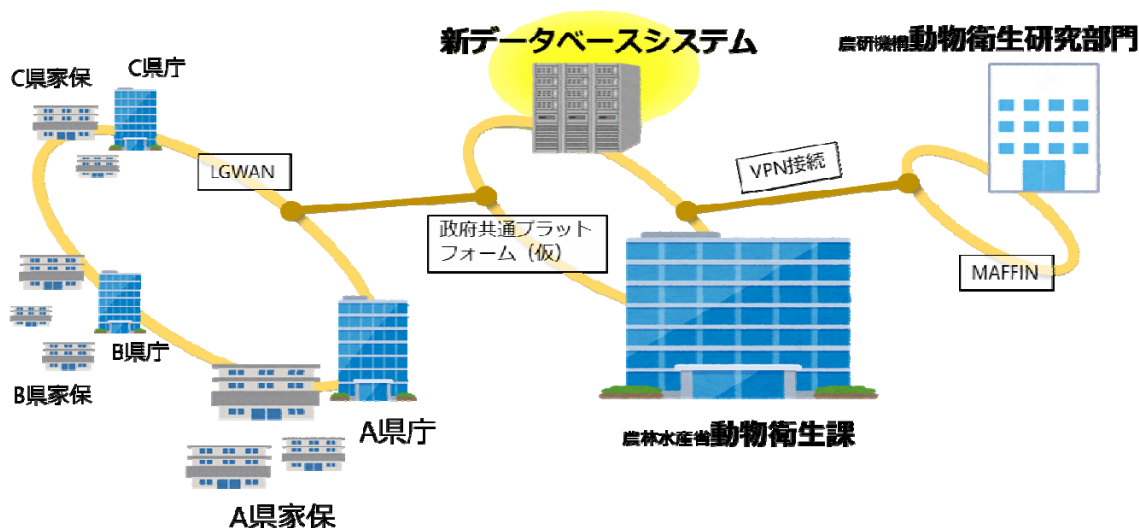
4 研究成果の概要

(1) 主要な成果

ア 成果の内容（別紙の（2）参照）

（ア）アルボウイルスサーベイランス報告システムの開発

現在、農林水産省と都道府県との間で実施されている、アルボウイルスサーベイランスの結果をインターネット経由で収集し、自動的に集計を行うシステムを開発した（図 1）。システムはクラウド技術に応用しており、インターネット上のサーバーに開発したシステムを置くことで、利用者は Google Chrome などのブラウザのみを使用して、データの入力、参照、アップロード、ダウンロードが可能である（図 2）。システムは、現行の発生予察調査の報告内容を前提に開発されており、農林水産省が設置するサーバー上にシステムを置くことで、システムを改変することなく直ちに稼働させることが可能である（p26-28）。（平成 29 年度）



※システムの設置はインターネット上のサーバーでも可

図 1 アルボウイルスサーベイランス報告システムの概念図

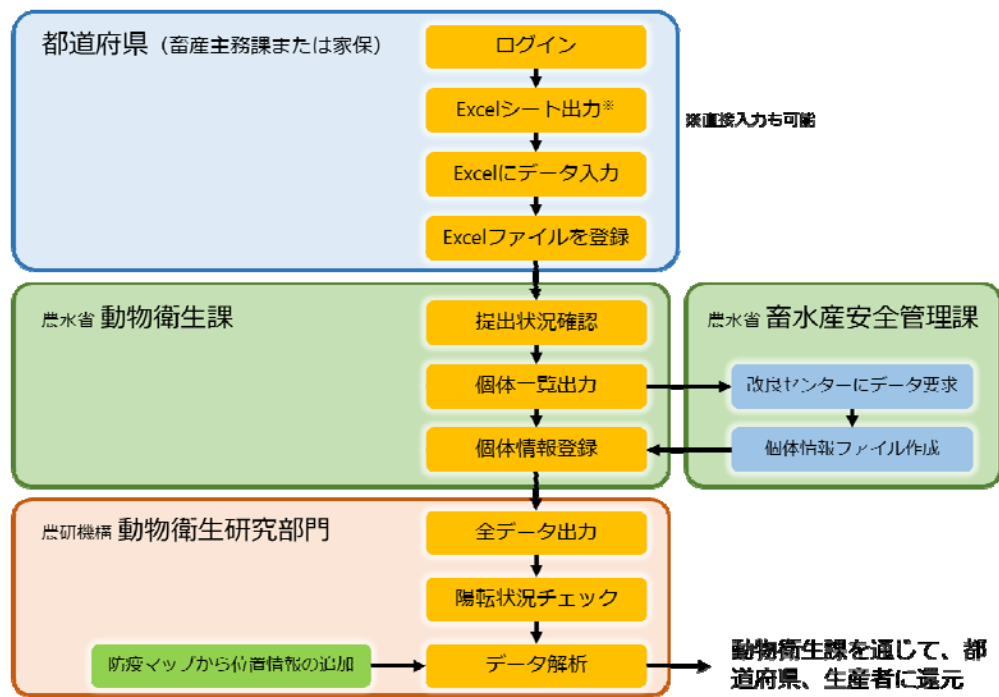


図2 アルボウイルスサーベイランス報告システムを用いた業務の概要

(イ) 今後のアルボウイルスサーベイランスの方向性に関する提案書の提出

現行の発生予察対象疾病（アカバネ病、アイノウイルス感染症、チュウザン病、牛流行熱、イバラキ病）について、近年の発生状況、抗体陽転状況、及びワクチン接種状況のデータを用いて論点整理を行い、小課題1と小課題2で得られた研究成果を踏まえて、今後の効果的・効率的なアルボウイルスサーベイランスの提案を作成し、提出した。提案の主な項目は以下のおとりである（p22-25、別添資料2）。（令和元年度）

【対象疾病】 - アカバネ病、アイノウイルス感染症、及びチュウザン病を対象とする。 - イバラキ病と牛流行熱は、おとり牛を用いた血清サーベイランスから外す。 主な理由 イバラキ病と牛流行熱は、潜伏期間が短く、症状による摘発が可能。 イバラキ病は発生頻度が、牛流行熱は抗体陽転頻度が低い。 【対象地域】 - アカバネ病は、従来どおり全国規模で実施。 - アイノウイルス感染症及びチュウザン病は、近畿以西を対象に実施。 主な理由 アカバネ病は、広い範囲で発生及び抗体陽転が確認されている。 アイノウイルス感染症とチュウザン病は、発生と抗体陽転が近畿以西に限られている。 【調査頻度】 - 現状維持（夏季に4回） 主な理由 アンケート調査の結果から、調査頻度を増やすことは、現場での負担が非常に大きい。 現行の調査頻度であっても、報告が滞りなく行われれば、速やかな注意喚起は可能。 【サンプルサイズ】 - 各都道府県で最低50～60頭（1農家当たり2～3頭） 主な理由 現行で指定されている県当たり50頭のサンプルサイズは、県内の有病率が15%以上であれば、信頼度95%以上の確率で摘発できる精度であり、必ずしも低いサーベイランス精度ではない。 アンケート調査の結果から、サンプルサイズを増やすことは、現場での負担が非常に大きい。 【その他】 「重点モニタリングサイト」の設置 主な理由 ウイルスの侵入が早い九州・沖縄地域にアルボウイルスの調査を重点的に行うための重点モニタリングサイトを設置することで、アルボウイルスの早期侵入の監視を効率的に行う。

イ 成果の活用（別紙の（２）参照）

（ア）アルボウイルスサーベイランス報告システムの開発

開発したシステムは、アルボウイルス感染症以外の家畜伝染病にも対応できるよう拡張することとし、2018年度から開始された農林水産省の委託プロジェクト研究において開発を進めている。当該研究により、2021年度には、都道府県LGWANと直接接続する中央政府ネットワーク上のサーバーに設置し、運用を開始する予定となっており、現在、農林水産省との間でサーバーの設置方法を検討している。

（イ）今後のアルボウイルスサーベイランスの方向性に関する提案書の提出

アルボウイルスサーベイランスの変更等については、今後、農林水産省において、結核病やブルセラ病などの家畜疾病サーベイランスの計画立案と併せて検討されることになる。アルボウイルスサーベイランスの効果的・効率的な実施に向けて、農林水産省や都道府県の支援を引き続き行う。

(2) 各研究課題の成果

ア 中課題 1 (アルボウイルス感染症の発生予察調査体制の検討) の研究成果

(ア) 工程管理及び成果目標

工程表
① 国内及び海外における発生予察調査の実施状況を把握する。(小課題 1 関連) (平成 29~30 年度)
② PCR 及びリアルタイム PCR を用いて、血液材料からアルボウイルスの遺伝子の検出の可否を検討するとともに、おとり牛での遺伝子及び抗体の検出時期の比較を行う。(小課題 2 関連)(平成 29~令和元年度)
↓
③ ①と②で得られた情報及びアルボウイルス感染症に関する科学的知見を踏まえた上で、効果的・効率的な発生予察調査手法を検討し、提案する。(小課題 3 関連)(平成 30~令和元年度)
成果目標：農林水産省及び都道府県において活用されることを念頭に、適切な検査手法を含む新たな発生予察調査手法について、報告書に取りまとめる。

(イ) 各工程の進捗状況及び成果

【工程表の①】

国内における発生予察調査の実施状況について

発生予察調査の実施実態と実施上の問題点を把握するため、発生予察調査の実施状況、調査データの取り扱い、検査の実施状況等について、県の担当者に聞き取り調査を行った(5 県：東北 A 県、関東 B 県、近畿 C 県、中国 D 県、九州 E 県)。調査結果の要点は以下のとおりである。

- ・発生予察調査の対象農場については、いずれの県においても、家畜保健衛生所が地域に偏りがないように対象農場を選んでいった。対象農場は、毎年同じ農場を選んでいくところが多かった。農場選定の問題点として、牛の少ない地域では農場を選びにくいこと、子牛を預託に出す農場が多くなり、定期的な検査の協力が得られる農場が少なくなっていること、農家にとってはメリットが少ない検査なので、協力を得づらいことなどがあった。
- ・検査の実施については、いずれの県においても、病性鑑定課で計画的に行われていた。ほとんどの県において、年度当初に予め設定した検査予定日の数日以内に検査に着手していた。検査を実施する上での問題点として、中和試験で使うウイルスを他県から分与してもらったことがあったこと、細胞の維持管理が大変なこと、担当者が替わると結果が安定しない場合があることなどがあった。
- ・異常産のワクチン接種については、A 県と B 県ではアカバネ病の単味生ワクチン、C 県と D 県では 3 種混合不活化ワクチン、C 県の一部と D 県では 4 種混合不活化

ワクチンを使用していた。いずれの県においても、自衛防疫団体（自衛防）が中心となってワクチン接種を行っており、ワクチン接種実績に関する情報も自衛防が保有していた。県と自衛防とのワクチン接種実績に関する情報共有の状況は、県によって差があった。

- ・発生予察データの情報提供については、いずれの県においても、平時には、調査対象農場に検査結果を回答するに留まっているが、抗体陽転の兆候があった際には、牛農場への注意喚起と関係者への情報提供を行っていた。
- ・発生予察調査とは別に、E 県では、地域レベルの抗体保有状況調査を実施していた。また、C 県、D 県及び E 県では、ウイルスの浸潤状況に応じて、ピートンウイルスなど発生予察調査の対象ではないウイルスの抗体調査も実施していた。

各都道府県で実施されているアルボウイルス感染症の発生予察調査について、その実施状況や実施上の問題点、及び発生予察調査の見直しに向けての課題を把握するため、全国の都道府県を対象にしたアンケート調査を実施した。調査結果の要点は以下のとおりである。調査結果の報告書は別添資料 1 で提出する。（平成 30 年度）

発生予察調査の実施状況について

- ・おとり牛の対象農場は、多くの都道府県が、「地域内で地理的に均等になるように選ぶ」と「これまでに協力が得られている農場を選ぶ」を選考の基準としていた。
- ・調査対象農場を増やすことが難しい理由については、「自家育成農場が少ないため」や「農家の協力が得られないため」、あるいは、「農家の高齢化」や「離島を含むため」といった、おとり牛の調査に適した農場を選定することの難しさを挙げた内容が多かった。
- ・調査頻度を増やすことが難しい理由については、「農場の協力が得られない」という回答が多かった一方で、「採材に要する負担が大きいため」と「検査に要する負担が大きいため」という行政側の負担を挙げたところが多かった。

発生予察調査の報告及び検査の実施状況について

- ・検査実施から農水省への報告までは、概ね 3 週間要していた。家保や県庁の段階で報告に時間を要していたところが散見された。
- ・サーベイランス通知には記載されていないが、抗体陽転時や疾病発生時に備えて、抗原検査用に血液材料を採取しておくことについては、西日本を中心に認知されていた。

発生予察調査の必要性について

- ・サーベイランスの負担は、採材や中和試験に対する負担はあるものの、「対象農家

の選定」が一番の課題であるとの回答が多かった。

- ・サーベイランスの必要性については、多くの都道府県が万が一の発生を想定すると必要と捉えていた。また、サーベイランスは、ワクチン接種の推進や注意喚起にも役立つとの考えだった。
- ・現在の対象疾病以外では、ピートンウイルスに関する必要性が最も高く、特に、九州・沖縄地方での関心が高かった。ブルータングについては、過去に発生があった関東地方での関心が高かった。

牛の流産発生時の検査実施状況について

- ・2017年度の牛の病性鑑定数は、中央値で263頭（範囲：6頭－122,178頭）であり、このうち流産等を主訴としたものは、13頭（0頭－80頭）だった。
- ・流産等の病性鑑定があった場合、アカバネ病、アイノウイルス感染症、及びチュウザン病については、多くの都道府県が病原学的検査と血清学的検査を実施していた。その他、牛ウイルス性下痢・粘膜病とブルセラ病、サルモネラ症、大腸菌症については、検査を実施する割合が高かった。

牛の流産発生時の調査項目と発生件数の把握について

- ・病性鑑定を実施した流産事例では、「流産胎子の体形異常」、「流産胎子の品種」、「母牛の月齢」、「母牛の品種」、及び「母牛の耳標番号」については、ほとんどの都道府県が「把握している」と回答していた。一方、「流産胎子の中枢神経異常」、「母牛の過去の流産歴」、及び「他農場からの導入牛の有無」については、「把握している」と回答した割合が他の項目よりもやや低かった。
- ・牛の流産等の発生件数は、ほとんどの県が「把握していない」と回答していた。流産等の発生件数を把握しているところは4県のみであり、NOSAIなどの関係機関から報告を受けていたり、県で独自に集計したりしていた。把握していない理由としては、流産等があっても農家や獣医師からかならずしも報告があるとは限らないことやNOSAIなどの関係機関から流産等の発生に関する報告を受けていないためということが挙げられた。

海外における発生予察調査の実施状況について

海外における発生予察調査の実施状況について、オーストラリアにおける状況を調査した。要点は以下のとおりである。

- ・オーストラリアでは、反芻動物のアルボウイルスとその媒介昆虫（ヌカカ）の分布を監視するため、全国的なアルボウイルス監視プログラム（National Arbovirus Monitoring Program, NAMP）を実施している。現行の監視プログラムは1993

年から始まり、Animal Health Australia による運営のもと、牛・羊・山羊の生産者団体、輸出産業、州政府及び連邦政府が共同で参加している。監視プログラムの目的は、1) 市場アクセス (牛・羊・山羊の生体及びこれらの受精卵等の遺伝資源の輸出促進)、2) ブルータングの早期警戒 (国内でまだ確認されていない血清型のブルータングウイルスと媒介昆虫の侵入を早期に摘発)、3) リスク管理 (国内で常在化しているアルボウイルス及び媒介昆虫の分布状況の変化を把握) の 3 つを掲げている。

- ・監視プログラムの対象疾病は、ブルータング、アカバネ病及び牛流行熱である。
- ・サーベイランスの種類は、1) おとり牛を対象とした血清モニタリング、2) おとり牛以外の牛を対象とした血清調査、3) ヌカカの捕獲調査を組み合わせ実施している。
- ・おとり牛のモニタリング農場は、全 6 州と北部準州 (Northern Territory, NT) に、アルボウイルスの分布を把握できるように配置されている。モニタリング農場数はオーストラリア全体で約 90 戸で、90~180 頭 (1 農場あたり、1~2 頭) のおとり牛を検査している。採材頻度は、アルボウイルスの感染の起こりやすさに応じて地域によって異なる。「アルボウイルスの感染が起こりやすい地域」では、夏~冬の初めにかけて、毎月 1 回の採材を行う。「アルボウイルスの感染が起こりにくい地域」では、感染していないことを確認するため、夏の初めと媒介昆虫の活動時期の終わりに採材を行う。検査方法は、アカバネ病と牛流行熱の血清検査では中和試験を行う。ブルータングでは、抗体検出用の競合エライザを使用する。
- ・おとり牛以外の牛を対象とした血清調査は、おとり牛の血清モニタリングを補完する目的で、定期的に実施されており、調査戸数は約 30 戸である。
- ・ヌカカの捕獲調査は、モニタリング農場の近く、又は、ヌカカが好む生息域にある農場で実施し、調査対象農場は約 85 ヲ所である。調査では、農場にライトトラップを 2 晩以上設置する。調査期間は、北部では 1 年中、中部では 12 月~5 月、南部では 12 月~3 月で、調査期間中に毎月 1 回の捕獲を行う。捕獲されたヌカカは 70%エタノールに保存し、種類の分類と捕獲数の計測を行う。
- ・おとり牛等の血清検査のデータとヌカカの捕獲調査のデータは、オンラインのデータベース (NAMP Info) に登録される。このデータベースには、国レベルのデータベースであり、検査結果とモニタリングの場所が登録される。ウェブユーザーインターフェースを基調としており、データの提出やダウンロードが可能なほか、データの分析や地図の作成も可能である。
- ・監視プログラムの結果は、NAMP Info の情報を分析し、NAMP 年次報告として取りまとめられ、NAMP のウェブページに掲載される (<https://www.animalhealthaustralia.com.au/what-we-do/disease-surveillance/national-arbovirus-monitoring-program/>)。

- ・NAMP では、牛・羊・山羊の生産者団体、輸出産業、州政府及び連邦政府の代表者と研究者（昆虫学、疫学及びウイルス学）を交えて、検討会を毎年開催する。検討会では、モニタリングの結果が報告され、ウイルスの種類やヌカカの分布状況を考慮して、モニタリング農場の場所と頻度の見直しが行われる。
(平成 29 年度)

海外における発生予察調査の実施状況について、欧州における状況を調査した。欧州では、2006-2007 年のブルータングの流行を受け、EU は、「ブルータングのコントロール、モニタリング、サーベイランス及び感受性動物の移動制限に関する EU 規則 (EC No 1266/2007)」を制定した。本規則には、ブルータングに関するモニタリングとサーベイランスのプログラムが定められている。本規則に記載されているサーベイランスプログラムの要点を以下に記す。

- ・モニタリング及びサーベイランスの基準となる地域単位は、 $45 \times 45 \text{ km}$ (約 $2,000 \text{ km}^2$) のグリットとする (ただし、固有の環境条件に基づき妥当な地域サイズを決められる場合は、この限りではない)。
- ・能動的サーベイランスは、おとり牛の血清学的／病原学的モニタリング、牛の血清学的／病原学的調査、又は、リスク評価に基づくターゲットモニタリング又はサーベイランスのうち、いずれか 1 つ又はこれらを組み合わせて行う。
- ・ブルータングウイルスの侵入を摘発するためのモニタリングとサーベイランスでは、サンプルサイズは、疫学的に関連のある地域において、ターゲット集団の既知のリスクに基づいて、適切に設定された有病率 (design prevalence) を 95% の信頼度に基づき摘発できるように計算されなければならない。もし、設定すべき有病率の科学的根拠がなければ、20% の有病率を摘発できるサンプルサイズを計算する。
- ・ブルータングウイルスの特定の血清型が存在しないことを証明するためのモニタリングとサーベイランスでは、サンプルサイズは、5% の有病率を 95% の信頼度で摘発できるサイズとする。
- ・ベクターが活動しない期間を明らかにするためのモニタリングとサーベイランス (ベクターサーベイランス) は、ベクターの個体群動態を明らかにするため、吸引型トラップを用いた定点観測からなるプログラムで実施する。サーベイランスは、ベクターの活動が始まる 1 ヶ月前からベクターの活動が終わるまでの期間は、少なくとも週 1 回の頻度で行う。サーベイランスには、紫外線を発する光源を有した吸引型ライトトラップを用い、既存のプロトコールに従って一晩設置して、ヌカカの採集を行う。

(平成 30 年度)

欧州におけるブルータングのサーベイランスに関し、フランスにおけるサンプルサイズの設定方法について更に調査した。

- ・2013-15年の清浄期間中のサーベイランスでは、EU規則に則り、20%の有病率を摘発できるサンプルサイズを設定した。具体的には、ワクチン未接種の2歳以下の牛を対象に、県当たり15頭（3農場×5頭）で血清サーベイランスを実施した。このサンプルサイズについて、農場の抽出率と同一農場からのサンプリングの影響（クラスタリング）を考慮して、サーベイランスの精度を検証したところ、県レベルの有病率が41-47%の時に95%以上の信頼度で摘発できるサンプルサイズであった。
- ・2015年にブルータングの再発を受け、2016年からは新たなサーベイランスを実施した。このサーベイランスでは、2%の有病率を摘発できるサンプルサイズを設定し、県当たり180頭（9農場×20頭）の抗体陰性牛を無作為で抽出した。農場の抽出率と同一農場からのサンプリングの影響（クラスタリング）を考慮して、サーベイランスの精度を検証したところ、県レベルの有病率が20.8-25.8%の時に95%以上の信頼度で摘発できるサンプルサイズであった。
- ・さらに農場の抽出基準として、次の項目を挙げていた：1）ブルータングのワクチン接種を行っていない家畜であること；2）標高1,000m以下に位置する農場であること；3）牧草地のある農場であること；4）感受性動物（牛、羊、山羊）を飼養する農場に囲まれている農場を優先的に選ぶこと；5）飼養規模の大きい農場を優先的に選ぶこと。

（平成30年度）

【工程表の②】

おとり牛からのアルボウイルスの検出感度を比較するため、現行の検査で用いられているハムスター由来の培養細胞（BHK-21及びHmLu-1）に加えて、蚊由来の培養細胞（C6/36）を用いて、血球及び血漿からウイルス分離を試みた。その結果、2016年に採取した血液材料から、C6/36細胞で流行性出血病ウイルス（EHDV）血清型7が分離された。BHK-21及びHmLu-1細胞ではウイルスが分離されなかったことから、蚊由来培養細胞の同ウイルスへの感受性の高さが確認された。（平成29年度）

おとり牛の血球及び血漿から、自動核酸抽出装置により核酸を精製し、EHDV血清型7特異的RT-PCRにより、ウイルス遺伝子の検出を試みた。その結果、血球から1ヵ月以上にわたり、ウイルスの遺伝子が検出された。ウイルス遺伝子の検出時期は、ウイルス中和試験による抗体陽転時期や、ウイルス分離時期よりも早かった。また、RT-PCRはウイルス分離よりも、感度が高いことが確認された（表1）。一方、血漿からはウイルス遺伝子が検出されなかったことから、核酸抽出やRT-PCRの反

応条件の検討が必要と考えられた（平成 29 年度）。

八重山地域で過去に採取された血液についても同様に、BHK-21、HmLu-1 及び C6/36 細胞によるウイルス分離効率を比較したところ、C6/36 細胞を用いた場合、より多くのオルビウイルスが分離された（平成 30 年度）。

表 1 おとり牛からの流行性出血病ウイルス（EHDV）の分離・検出（2016 年）

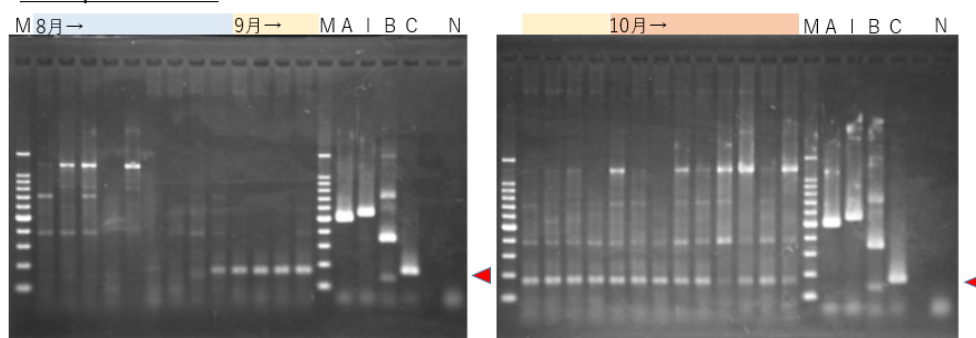
	ウイルス分離						ウイルス中和試験		RT-PCR	
	No.1097			No.1104			No.1097	No.1097	No.1097	No.1104
	HL	BHK	C6/36	HL	BHK	C6/36				
10/4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
10/7	-	-	-	-	-	-			-	-
10/11	-	-	-	-	-	-			-	-
10/14	-	-	-	-	-	-			-	-
10/18	-	-	-	-	-	-			-	-
10/21	-	-	-	-	-	-			-	-
10/25	-	-	-	-	-	-			-	-
10/28	-	-	-	-	-	-			-	-
11/1	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+
11/4	-	-	+	-	-	-			+	+
11/8	-	-	+	-	-	-			+	+
11/11	-	-	-	-	-	-			+	+
11/15	-	-	+	-	-	-			+	+
11/18	-	-	-	-	-	-			+	+
11/22	-	-	+	-	-	+			+	+
11/25	-	-	+	-	-	-			+	+
11/29	-	-	-	-	-	-			+	+
12/2	-	-	-	-	-	-			+	+
12/5	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+

2018 年 8～9 月にかけて、牛の異常産との関連が強く疑われるディアギュラウイルス（DAGV。レオウイルス科オルビウイルス属パリアムウイルス群）の侵入が九州地域にみられた。九州研究拠点のおとり牛 2 頭からも同ウイルスが分離されたことから、血液材料からのウイルス遺伝子の検出法の検証、ならびにその期間について検討を行った。BHK-21 を用いた洗浄血球からのウイルス分離では、1～2 週間、分離陽性であった。一方、おとり牛から採材した EDTA 加血から自動核酸抽出装置で精製した核酸（DNA/RNA）を用いて、それぞれのアルボウイルスのグループを検出するマルチプレックス RT-PCR を行ったところ、パリアムウイルス群特異的プライマーを標的とする領域の増幅が、2 ヶ月以上にわたり認められた。DAGV 特異的なプライマーセットを用いた RT-PCR ではおとり牛 1 頭において、検出感度の減少（検出期間、1 ヶ月弱）がみられた（表 2）。2016 年と 2018 年の結果から、オルビウイルスが感染した牛では、血液材料からウイルス遺伝子が長期間検出されることから、遺伝子検出によるモニタリングが可能であることが示唆された。EDTA 加血から抽出した核酸では、標的とする領域の増幅以外に、非特異的な増幅が認められた（図 3）。非特異的な増幅は検査結果を判定する際に支障となるため、今後、非特異的増幅を低減させる条件を検討する必要がある（平成 30 年度）。

表 2 おとり牛からのディアギュラウイルス (DAGV) の分離・検出 (2018 年)

	ウイルス分離				中和試験				遺伝子検出			
	No.1105		No.1106		No.1105		No.1106		No.1105		No.1106	
	HL	BHK	HL	BHK	CHUV	DAGV	CHUV	DAGV	Multiplex	DAGV	Multiplex	DAGV
8/2	-	-	-	-	<2	<2	<2	<2	-	-	-	-
8/7	-	-	-	-					-	-	-	-
8/10	-	-	-	-					-	-	-	-
8/14	-	-	-	-					-	-	-	-
8/17	-	-	-	-					-	-	-	-
8/21	-	-	-	-					-	-	-	-
8/24	-	+	-	-					+	-	-	-
8/28	-	-	-	-					+	+	-	-
8/31	-	+	-	+					+	+	+	+
9/4	-	-	-	-	<2	16	<2	4	+	+	+	+
9/7	-	-	-	+					+	+	+	-
9/11	-	-	-	+					+	+	+	+
9/14	-	-	-	-					+	+	+	+
9/18	-	-	-	-					+	+	+	+
9/21	-	-	-	-					+	-	+	+
9/25	-	-	-	-					+	-	+	+
9/28	-	-	-	-					-	-	+	+
10/2	-	-	-	-	256	>4096	256	2048	+	-	+	+
10/5	-	-	-	-					+	-	+	+
10/9	-	-	-	-					+	-	+	+
10/12	-	-	-	-					+	-	+	+
10/16	-	-	-	-					+	-	+	+
10/19	-	-	-	-					+	-	+	-
10/23	-	-	-	-					+	-	+	+
10/26	-	-	-	-					+	-	+	+
10/30	-	-	-	-					-	-	+	+

Multiplex RT-PCR



DAGV-specific RT-PCR

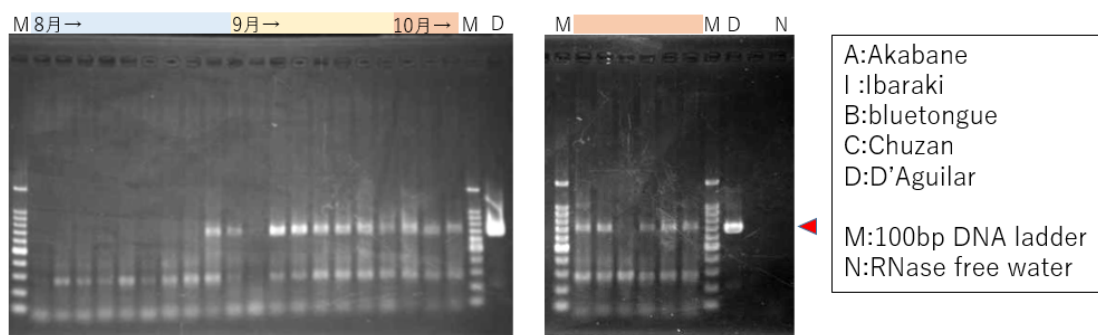


図 3 おとり牛 (No.1106 ; 表 2 参照) からのディアギュラウイルス遺伝子の検出 (電気泳動像) 矢頭 (赤) はパリアムウイルス群 (上) 及びディアギュラウイルス (下) の特異的増幅産物の位置を示す。

2019 年 9 月に採取されたおとり牛の血漿から、HmLu-1 細胞で 1 株、血球から C6/36 細胞で 2 株のウイルスが分離された（表 3）。HmLu-1 で分離されたウイルスは、グループ特異的マルチプレックス RT-PCR により、旧シンプ血清群ウイルス陽性となり、更にウイルス特異的 RT-PCR によりサシュペリウイルス（SATV）と同定された。一方、C6/36 細胞で分離されたウイルスは、既報の RT-PCR によっては同定が出来なかったことから、新規ウイルスの可能性が否定できず、今後、更なる解析を行う予定である（令和元年度）。

遺伝子検出では、SATV が分離された血漿と、同日、同一個体から採取された EDTA 加血から抽出された RNA が、グループ特異的およびウイルス特異的 RT-PCR により、それぞれ旧シンプ血清群ウイルス、および SATV 陽性となった（図 4）。しかし、ウイルス分離、RT-PCR 陽性となったのは 1 回のみであり、SATV のウイルス血症期間が短く、検出機会が限られていることが確認された（表 3）。

2019 年秋に九州南部で EHDV-7 の検出が報告されたことから、拠点内のおとり牛についても EHDV-7 に特異的なプライマーを用いた RT-PCR による遺伝子の検出を行ったところ、8 月 23 日～11 月 29 日の間に採取された EDTA 加血で陽性であった（表 3）。しかしながら、グループ特異的マルチプレックス RT-PCR では、EHDV の遺伝子は検出されなかったことから、ターゲットとなる分節ゲノム 3 のプライマー結合部位に変異が生じていることが推察された。同様の現象は、2016 年の EHDV-7 国内分離株でも認められたことから、今後、マルチプレックス RT-PCR に用いられている EHDV グループ特異的なプライマーの配列を見直す必要があると考えられた（令和元年度）。

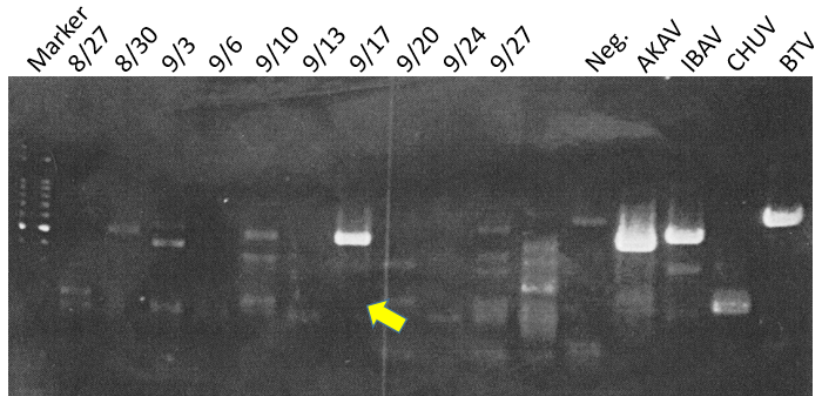
これまで、九州研究拠点に配置したおとり牛から採取した血液材料を用いて、ウイルス分離、遺伝子検出、ウイルス中和試験を行ってきた結果から、ウイルスの種類によって適した検出法が異なることが、改めて確認された。DAGV や EHDV といったオルビウイルスでは、赤血球に付着して中和抗体による補足を免れるため、ウイルス血症が長期化し、その間、当該ウイルスの遺伝子を検出することができた。一方、ウイルス分離では、使用する細胞の感受性の違いなどによる分離効率の低さなどから、遺伝子検出ほど感度が高くないことが判明した。一方、オルソブニヤウイルスに属する SATV では、ウイルス血症が短いことから、遺伝子検出およびウイルス分離が可能な期間が短く、採血間隔が開いた場合、見逃す可能性が高いと考えられた。抗体検査では、2016 年、2019 年にイバラキウイルスを用いた中和試験で抗体の陽転を確認されたが、これはイバラキウイルスと EHDV-7 の血清学的交差性が原因であると考えられた。2018 年に DAGV が検出された際にも、血清学的な交差性により、おとり牛でチュウザンウイルスに対する抗体陽転がみられたことから、中和試験によっては近縁のウイルス（血清型の違い）を判別することが困難であることは明白である。このような場合は、ウイルス特異的 RT-PCR による血清型

の同定が有効であると考えられる。しかしながら、既報のプライマーで検出できないような国内新規のアルボウイルスの検出には、ウイルス分離を用いたモニタリングを行わなければならない。以上のことから、臨床症状による摘発が比較的容易な牛流行熱以外では、ウイルスの特徴によって、検出法を使い分けることを考慮する必要がある（図 5）。

表 3 おとり牛からのサシユペリウイルス（SATV）と流行性出血病ウイルス（EHDV）の分離・検出（2019 年）

	ウイルス分離						中和試験				RT-PCR			
	No.1103			No.1107			No.1103		No.1107		No.1103		No.1107	
	HL	BHK	C6/36	HL	BHK	C6/36	IBAV	SATV	IBAV	SATV	Multi	EHDV-7	Multi	EHDV-7
8/2	—	—	—	—	—	—	<2	<2	<2	<2	—	—	—	—
8/5	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
8/9	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
8/13	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
8/16	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
8/20	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
8/23	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	+	—	—
8/27	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	+	—	—
8/30	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	+	—	—
9/3	—	—	—	—	—	—	256	16	<2	<2	—	+	—	+
9/6	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	+	—	+
9/10	—	—	—	—	—	—	—	64	—	—	—	+	—	+
9/13	—	—	—	—	—	—	—	64	—	—	—	+	—	+
9/17	—	—	+	+	—	—	—	—	—	—	—	+	+	+
9/20	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	+	—	+
9/24	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	+	—	+
9/27	—	—	—	—	—	+	—	—	—	—	—	+	—	+
10/1	—	—	—	—	—	—	256 [±]	64	256 [±]	128	—	+	—	+
10/4	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
10/8	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	+	—	—
10/11	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	+	—	—
10/15	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	+	—	—
10/18	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	+	—	—
10/22	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	+	—	—
10/25	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	+	—	—
10/29	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	+	—	—
11/1	—	—	—	—	—	—	256	32	256 [±]	128	—	+	—	—

Multiplex RT-PCR



SATV-specific RT-PCR

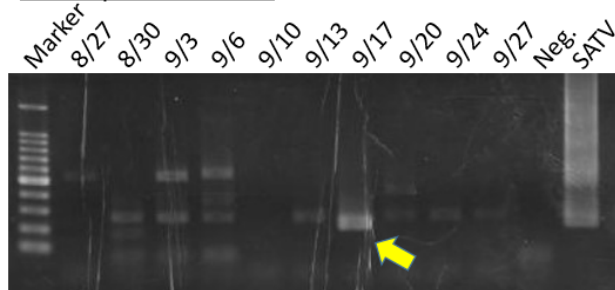


図 4 おとり牛 (No.1107 ; 表 3 参照) からのサシュペリウイルス (SATV) 遺伝子の検出 (電気泳動像) 矢頭 (黄) は旧シンプ血清群 (上) 及び SATV (下) の特異的増幅産物の位置を示す。

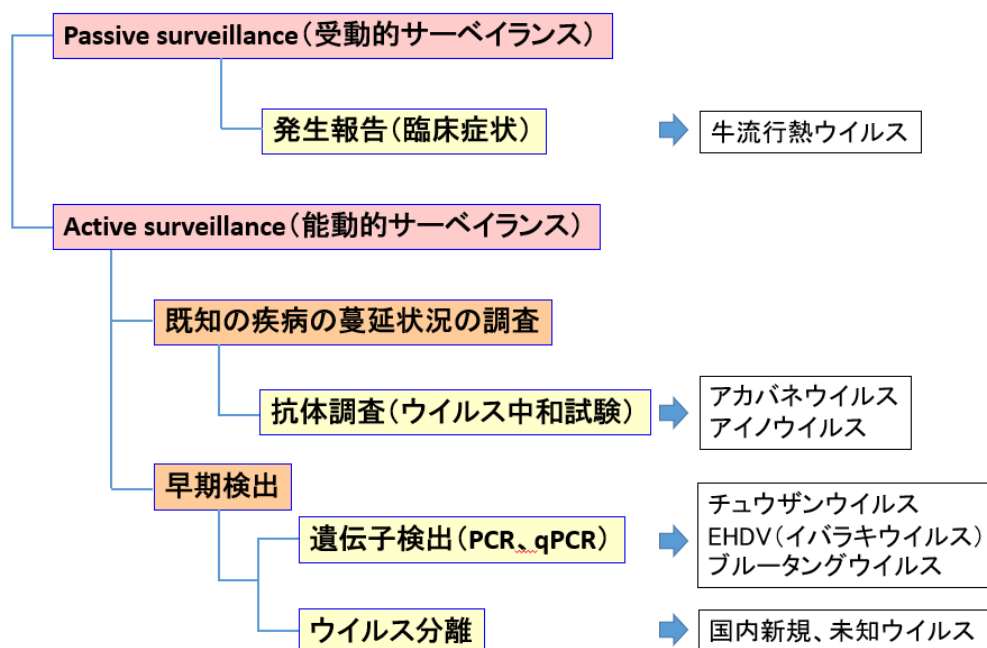


図 5 各種アルボウイルスのサーベイランスに用いる検出手法

【工程表の③】

効果的・効率的な発生予察手法の提案に向けて、現行のアルボウイルスサーベイランス対象疾病（アカバネ病、アイノウイルス感染症、チュウザン病、牛流行熱、イバラキ病）について、近年の発生状況、抗体陽転状況、及びワクチン接種状況のデータを用いて、論点整理を行った（表 4、図 6）。その結果、アルボウイルスサーベイランスの意義と目的を明確にすること、ウイルスの侵入頻度や侵入地域に応じてサーベイランスの強度を変えること、適切に設定された有病率をもとにサンプルサイズを設定する必要があることなどについて検討を行った。

また、九州・沖縄、本州の一部では、アルボウイルスの侵入が早期に、かつ頻繁に認められることから、アルボウイルスの早期侵入を監視することを目的として、これらの地域に重点モニタリングサイトを設置することの実行可能性について、一部の県を対象にヒアリング調査を実施した。（平成 30 年度）

表 4 アルボウイルスの侵入状況

疾病の分布状況	アカバネ病	アイノウイルス感染症	チュウザン病	イバラキ病	牛流行熱
(1) 抗体陽転状況 2000~2017 年	陽転回数が最も多い。東北から九州・沖縄にかけて広範囲で陽転。九州と西日本では陽転回数が多い。近年(2015~2017 年)は、九州・沖縄及び山口県で陽転。	九州・沖縄と西日本で陽転。北九州(福岡県、佐賀県、長崎県、熊本県)と山口県で陽転回数が多い。2017 年は 5 年ぶりに陽転を確認(沖縄県)。	九州・沖縄、四国及び岡山県で陽転。直近の陽転は、2014 年(長崎県と熊本県)。	九州・沖縄と西日本、埼玉県、栃木県で陽転。長崎県と熊本県で陽転回数が多い。また、2016 年の抗体陽転は EHDV7 型によるものであり、九州と西日本で抗体陽転を確認。	陽転は、山形県(2001 年)と熊本県(2003 年)でそれぞれ 1 回のみ。
(2) 発生状況 2000~2017 年	発生回数が最も多い。胎児感染型は、北海道、東北・北陸・関東の一部、西日本及び九州・沖縄の広い範囲で発生。発生回数は、九州と西日本で多い。近年は三重県(2016 年)と沖縄県(2015 年)で発生。生後感染型の発生は、九州と西日本に限局。直近の発生は、2013 年(福岡県、宮崎県、鹿児島県)。	発生は九州と西日本に限局。発生戸数は、兵庫県、岡山県及び福岡県で多い。直近の発生は、2003 年の福岡県 2 戸と佐賀県 1 戸。	発生は、熊本県、鹿児島県及び沖縄県のみ。直近の発生は、2007 年の沖縄県 2 戸。	発生は、鹿児島県(2012 年 2 戸)と沖縄県(2000 年 2 戸)のみ。また、2015 年は、EHDV6 型の発生を兵庫県で確認。	発生は、鹿児島県と沖縄県のみ。鹿児島県の発生は 2015 年であり、これは、沖縄県以外では 27 年ぶりとなる発生。
(3) 侵入頻度 (陽転又は発生の頻度)	高い(18 回/18 年)	やや高い(11 回/18 年)	やや高い(8 回/18 年)	やや高い(15 回/18 年) 発生頻度低い(2 回/18 年)	中等度(6 回/18 年) 陽転頻度低い(2 回/18 年)

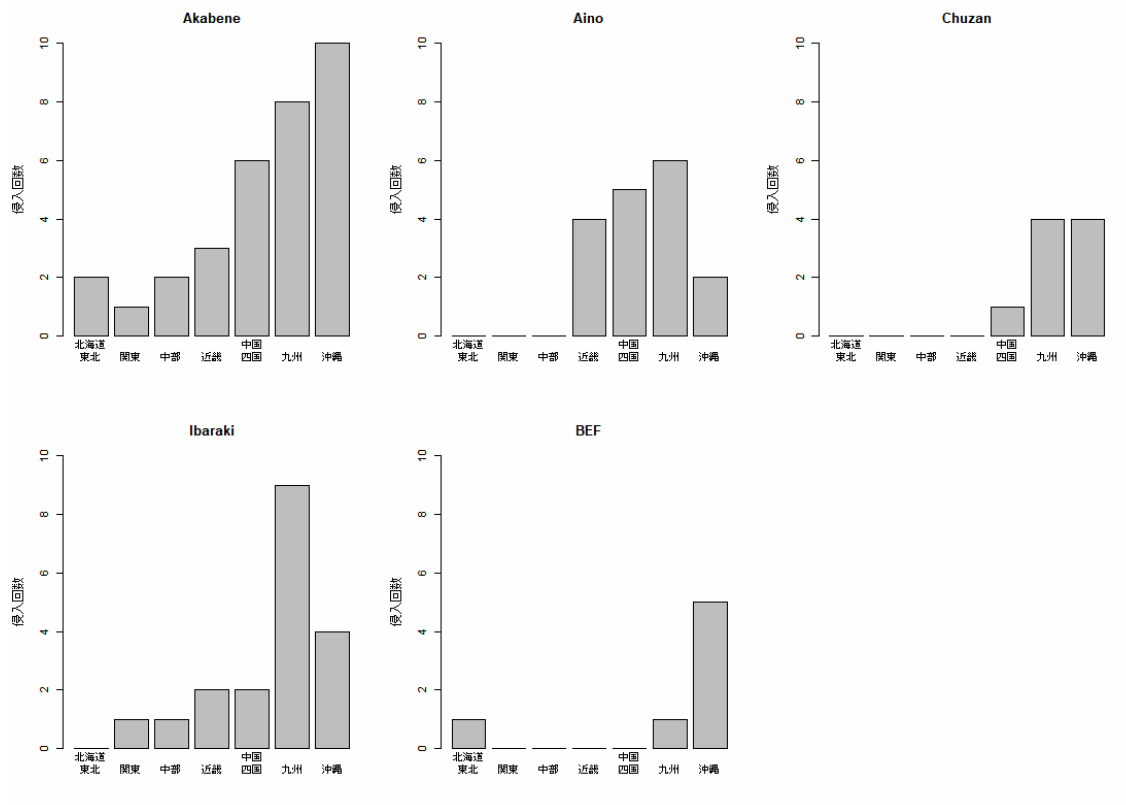


図 6 アルボウイルスの侵入頻度(2000-2017 年に陽転又は発生があった回数を地域別に集計)

現行の発生予察対象疾病（アカバネ病、アイノウイルス感染症、チュウザン病、牛流行熱、イバラキ病）について、近年の発生状況、抗体陽転状況、及びワクチン接種状況のデータを用いて論点整理を行い、小課題 1 と小課題 2 で得られた研究成果も踏まえて、今後の効果的・効率的なアルボウイルスサーベイランスの提案を作成し、提出した（別添資料 2）。主な提案項目は以下のとおりである。（令和元年度）

1. おとり牛を用いた血清サーベイランスについて

<対象疾病>

提案

- ・ アカバネ病、アイノウイルス感染症、及びチュウザン病を対象とする。
- ・ イバラキ病と牛流行熱は、おとり牛を用いた血清サーベイランスから外す。

理由

- ・ イバラキ病と牛流行熱は、潜伏期間が短く、症状による摘発が可能であり、抗体陽転よりも臨床症状による摘発の方が早い。
- ・ イバラキ病は発生頻度が、牛流行熱は抗体陽転頻度が低く、おとり牛の血清サーベイランスに労力をかける必要性が低い。
- ・ EHDV の他の血清型がイバラキ病様の疾病に関与するため、イバラキウイルスだけの中和試験では検出や判別が困難。
- ・ アカバネ病、アイノウイルス感染症及びチュウザン病は、感染から異常産を呈するまでの期間が長く、ウイルスの侵入を早期に察知するためには、血清サーベイランスが必要。

<対象地域>

提案

- ・ アカバネ病は、従来どおり全国規模で実施。
- ・ アイノウイルス感染症及びチュウザン病は、近畿地方以西を対象に実施。

理由

- ・ アカバネ病は、疾病の発生及び抗体陽転が広範囲で確認されている。
- ・ アイノウイルス感染症とチュウザン病は、疾病の発生と抗体陽転が九州・沖縄～近畿地方に限られていることから、今まで発生・陽転があった近畿地方以西を対象とする。

<調査頻度>

- ・ 現行の採材回数・採材時期（夏季に 4 回）を維持

理由

- ・ 採材回数を増やせば、ウイルスの侵入を早期に察知する効率性が改善されることが期

待される。しかしながら、2018 年度に実施した全国アンケート調査では、多くの都道府県（40/47, 80%）が調査頻度を増やすことは難しいと回答しており、採材回数の増加は現場での負担が大きくなると思慮される。

- ・また、現行の採材回数・採材時期であっても、「検査～報告～情報共有」という一連の流れが滞りなく行われれば、速やかな情報共有は可能と思われる。

＜サンプルサイズ＞

提案

- ・ 各都道府県で最低 50～60 頭（1 農家当たり 2～3 頭）のサンプルサイズを維持。

理由

- ・ 現在実施されている県当たり 50 頭のサンプルサイズは、必ずしも低いサーベイランス精度ではなく、アルボウイルスの侵入をある程度の精度で摘発できる設定である。
- ・ 各県で実際に行われているサンプルサイズを踏まえると、アルボウイルスの侵入が頻繁な、九州・沖縄地域と中国地方については、概ね 5～10%程度の低い有病率でも摘発できるサンプルサイズが得られている。

2. 重点モニタリングサイトについて

- ・ アルボウイルスの侵入を監視するため、ウイルスの侵入が早い九州・沖縄地域にアルボウイルスの調査を重点的に行う農場（重点モニタリングサイト）を設置する。
- ・ 重点モニタリングサイトでは、おとり牛の血液サンプルを用いた、抗体検査（中和試験）と抗原検査を行う。抗原検査には、EHDV 群、BTV 群、パリアムウイルス群と旧シンプ血清群のウイルスを群特異的に検出できるマルチプレックス PCR を用いる。マルチプレックス PCR で陽性となった場合、血清型特異的 RT-PCR やウイルス分離を試みる。

3. その他の検討項目

その他の検討項目として、パッシブサーベイランスの周知の徹底、検査・報告・情報共有の速やかな実施、サーベイランス対象疾病の追加・削減への柔軟な対応、アルボウイルス侵入時・疾病発生時の疫学調査の必要性について提案した。

（ウ）成果目標に対する達成状況

成果目標を達成できた。

イ 中課題 2（アルボウイルス感染症の発生予察調査データの収集・分析・還元システムの開発）の研究成果

(ア) 工程管理及び成果目標

工程表
① 現在行われているアルボウイルス感染症の発生予察調査の報告様式に基づき、インターネット経由で結果を報告するシステムを構築する。(平成 29 年度) ② 国や都道府県の意見を踏まえて、①のシステムを改良し、データの集計機能や陽転状況の推定に必要なデータを出力する機能を追加する。また、過去の検査データに基づき、抗体陽転を判定するアルゴリズムを検討する。(平成 30 年度：実施年度を繰り上げ。陽転判定アルゴリズムは、簡便なものを実装。) ↓ ③ ②で改良されたシステムについて、中課題 1 の小課題 3 の検討状況を反映するとともに、国や都道府県の意見を踏まえて、利便性の向上を図る。また、自動的に抗体陽転を判定し、結果を出力する機能を追加する。(平成 31 年度) (開発したシステムの社会実装を優先するため 29 年度で本中課題を終了)
成果目標：アルボウイルス感染症の発生予察調査について、データの収集・分析・還元までを迅速かつ省力的に行うことができるシステムが構築される。

(イ) 各工程の進捗状況及び成果

【工程表の①及び②】

現在、電子メールを用いて手作業で行われているアルボウイルス感染症の発生予察調査の結果の報告・集計をインターネット上で効率的に行うシステムを開発した。開発したシステムの特徴として、次の点が挙げられる。

- ・インターネット上のサーバーにプログラムとデータベースを置き、利用者がインターネット経由で接続して利用するクラウド方式を採用している。このため、報告に当たって、電子メールの送受信は不要で、登録・修正したデータはリアルタイムでデータベースに反映される。また、利用に当たっては、利用者側は特別なソフトウェアを用意する必要がなく、Microsoft Edge や Google Chrome などのインターネットブラウザのみで利用できる。
- ・システムの開発には、広く利用されているオープンソースのプログラミング言語やデータベースソフトを利用しており、開発段階に加えて、将来的なシステムの維持・管理においても低コストで高いメンテナンス性を維持できる。
- ・システムの安全性を確保するとともに、ユーザーに応じたアクセス権を付与するため、ユーザーはユーザー名とパスワードに加えて、アクセスコードを入力してシステムにログオンすることになっている。アクセスコードは定期的に変更することとしており、人事異動などによって配置が代わった担当者がシステムにアクセスできないようにしている。

- ・現在のサーベイランスでは、同じ農場、個体に対して複数の疾病についての検査が実施されるが、従来の入力様式では、全ての疾病について、それぞれ農場情報や個体情報を入力する必要があった。新システムでは、リレーショナル・データベースの機能を活用して、いずれの疾病からでも同じ農場、個体情報を参照するなど、入力項目を階層化することで、入力作業を効率化することにより、データの不整合を回避している。
- ・データの入力や保存は、**Microsoft Excel** のファイル形式で、一括して行うことができるようになっている。また、未入力状態でファイルを保存することで、データ入力に用いる様式ファイルとして使用できるようになっている。
- ・個別のデータシートと、集計データシートがシステム内で関連づけられており、個別のデータを入力するたびに、農場別、都道府県別、全国全体のデータが集計される。
- ・入力作業を軽減するため、農場の位置情報としては、家畜防疫マップシステムの ID を入力すれば、緯度・経度情報の入力を不要としている。同様に、牛の個体識別番号を入力することにより、個体の畜種や生年月日の入力を不要としている。これらは、システムを管理する農林水産省や動衛研が、全国分を一括して入力できるようになっている。
- ・入力データについては、高度な統計ソフトウェアや GIS ソフトウェアを用いて解析することを前提としており、これらのソフトウェアに入力するために必要なデータを一括して出力できるようになっている。
- ・個体別の抗体陽転の有無を、当該牛のワクチン接種歴や検査の陽転履歴から簡易判定するアルゴリズムを備えており、この結果から、陽転農場や陽転県をそれぞれ出力できるようになっている。

上記の機能を踏まえて、システム内のデータシートは、機能別に構造化されており、利用者の権限（都道府県権限、管理者権限）に応じて、アクセスできるデータが制限されている（図 7）。

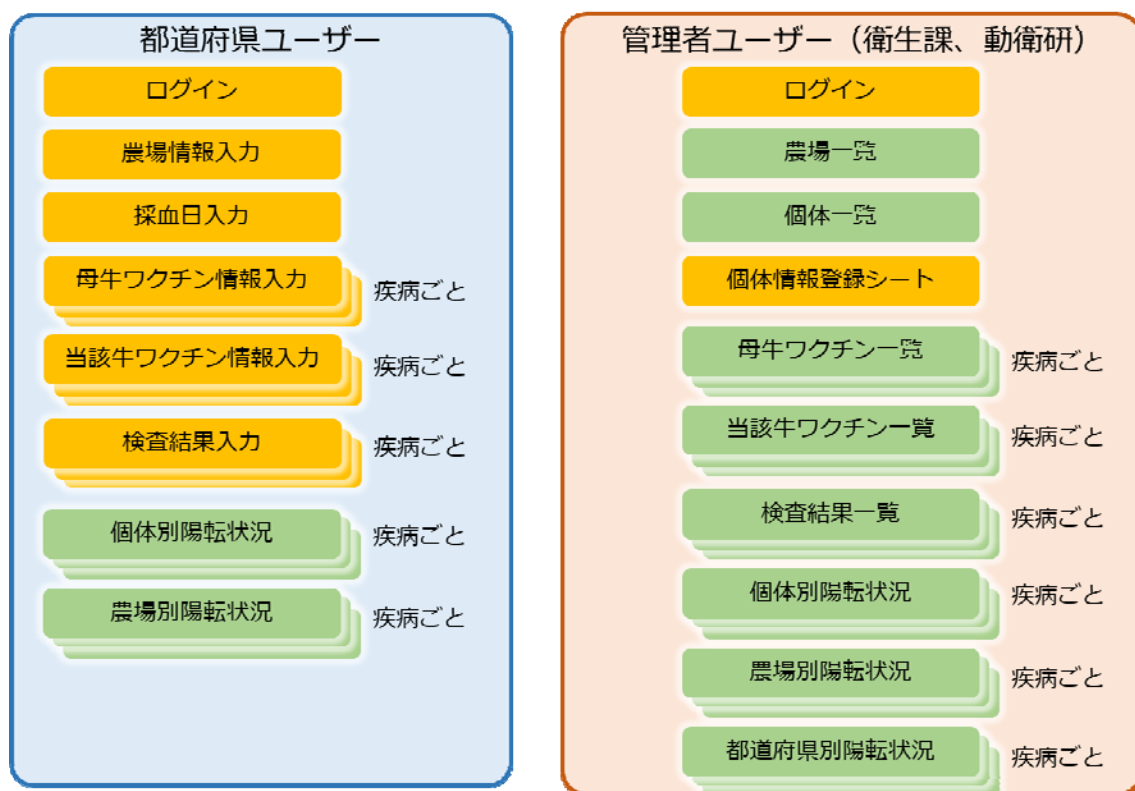


図7 システムのデータシートの構成

(ウ) 成果目標に対する達成状況
成果目標を達成できた。

5 研究成果の発表（主要な論文、取得した（申請中）の特許等を記述）

別紙の（3）～（8）のとおり。

6 目的の達成に当たっての現時点での問題点等

農林水産省及び都道府県で活用されることを念頭に、適切な検査手法を含む今後のアルボウイルスサーベイランスの方向性について提案書を取りまとめた。また、アルボウイルスサーベイランスでのデータの収集・分析・還元までを迅速かつ省力的に行うことができるシステムを構築した。以上より、当初予定していた目標をすべて達成した。

なお、本事業で開発したサーベイランスのデータシステムは、アルボウイルスサーベイランスに加え、結核病やブルセラ病などその他の家畜疾病サーベイランスでも活用できるようにシステムを拡張しているところであり、2021年度の運用化に向けて開発を進めている（農林水産省・安全な農畜水産物安定供給のための包括的レギュラトリーサイエンス研究推進委託事業「家畜の伝染病の国内侵入と野生動物由来リスクの管理技術の開発」）。