

平成 26 年度戰略的監視・診斷體制整備推進事業

野生動物監視體制整備事業報告書

平成 27 年 3 月 13 日

農研機構・動物衛生研究所



|     |                                   |    |
|-----|-----------------------------------|----|
| I   | 事業の目的と内容.....                     | 1  |
| 1.  | 目的.....                           | 1  |
| 2.  | 内容.....                           | 1  |
|     | (1) 旋毛虫症：イノシシの舌 .....             | 1  |
|     | (2) ニューカッスル病：野鳥（水きん類）及びハトの糞便..... | 1  |
| II  | 旋毛虫症について.....                     | 1  |
| 1.  | 概要.....                           | 1  |
| 2.  | 検体.....                           | 1  |
| 3.  | 方法.....                           | 2  |
| 4.  | 結果.....                           | 2  |
| 5.  | 考察.....                           | 3  |
| 6.  | イノシシの感染状況の評価 .....                | 3  |
|     | (1) 捕獲状況について.....                 | 3  |
|     | (2) 感染状況の評価 .....                 | 7  |
| III | ニューカッスル病について .....                | 8  |
| 1.  | 概要.....                           | 8  |
| 2.  | 方法.....                           | 8  |
|     | (1) 材料採取 .....                    | 8  |
|     | (2) 分離ウイルスの同定および培養.....           | 8  |
|     | (3) 分離されたニューカッスル病ウイルスの性状解析 .....  | 8  |
| 3.  | 結果.....                           | 8  |
|     | (1) ハト糞便からの分離状況.....              | 8  |
|     | (2) 水きん類の糞便からの分離状況.....           | 9  |
| 4.  | 考察.....                           | 10 |

## I 事業の目的と内容

### 1. 目的

家畜の伝染性疾病の発生・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指摘される事例があること等から、野生動物から家畜群への伝染性疾病の侵入を監視し、また、家畜の伝染性疾病の清浄化を維持・推進するため、野生動物での発生状況を日常的に監視・把握する必要がある。

### 2. 内容

有害鳥獣として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発生状況を評価する。具体的な検査対象疾病と検査材料は以下のとおりである。

(1) 旋毛虫症：イノシシの舌

(2) ニューカッスル病：野鳥（水きん類）及びハトの糞便

## II 旋毛虫症について

### 1. 概要

旋毛虫（トリヒナ、*Trichinella* spp.）については、25年度のOIEコード（陸生動物衛生規約、Terrestrial Animal Health Code）の改正により、輸出農場の認定に当たりサーベイランスが求められることとなったため、今後、豚肉を輸出する際に相手国から野生動物の検査を求められる可能性がある。特にEUへの豚肉輸出においては、添付する食肉衛生証明書様式中に、「トリヒナに関する農場の定期試験とともに、野生動物のモニタリング計画が必要」と明記されており、本寄生虫の野生動物における感染状況の調査が必要となる可能性は低くない。そのため、本事業により本寄生虫に感染する可能性のある野生動物のうち、特に欧米において獣肉を介したヒトへの感染源として問題となっているイノシシについて感染状況に関する調査を行い、情報の蓄積と監視体制の整備を目指す。

### 2. 検体

調査対象都道府県については、「哺乳類分布調査報告書」（環境省自然環境局生物多様センター、平成16（2004）年3月）のイノシシ生息状況調査結果（pp.60-65）、および厚生労働省医薬食品局食品安全部監視安全課公表の「食品中の放射性物質の検査結果について（第880報）」等の情報、ならびに大日本猟友会及び都道府県猟友会（猟友会）等の協力を得て調査対象県を30府県に選抜した。検体は、各府県猟友会等の協力で有害鳥獣捕獲や狩

猟の目的で捕獲されたイノシシの舌より、定めた要領にしたがって動物衛生研究所（本所）に送付されたものを調査に供した。

### 3. 方法

各検体由来の舌組織を用い、OIE の Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals 2012 Chapter 2.1.16 「Trichinellosis」 (pp.305-313) に記載の人工消化法の手順に従って、旋毛虫の感染の有無を検査した。使用した肉量は、野生動物における推奨最低肉量（10g）の 1.5 倍にあたる 15g 程度とした。

### 4. 結果

送付された舌検体は全国 30 府県から計 1168 検体であった。採取時期は、2014 年 10 月 30 日から 2015 年 2 月 1 日であり、県によっては有害鳥獣駆除期の終盤から猟期にかけて、あるいは猟期の期間中に採取された検体であった。

これらの検体について人工消化法にて筋肉中の旋毛虫幼虫の感染検査を行ったところ、すべての検体で旋毛虫の感染は認められなかった。

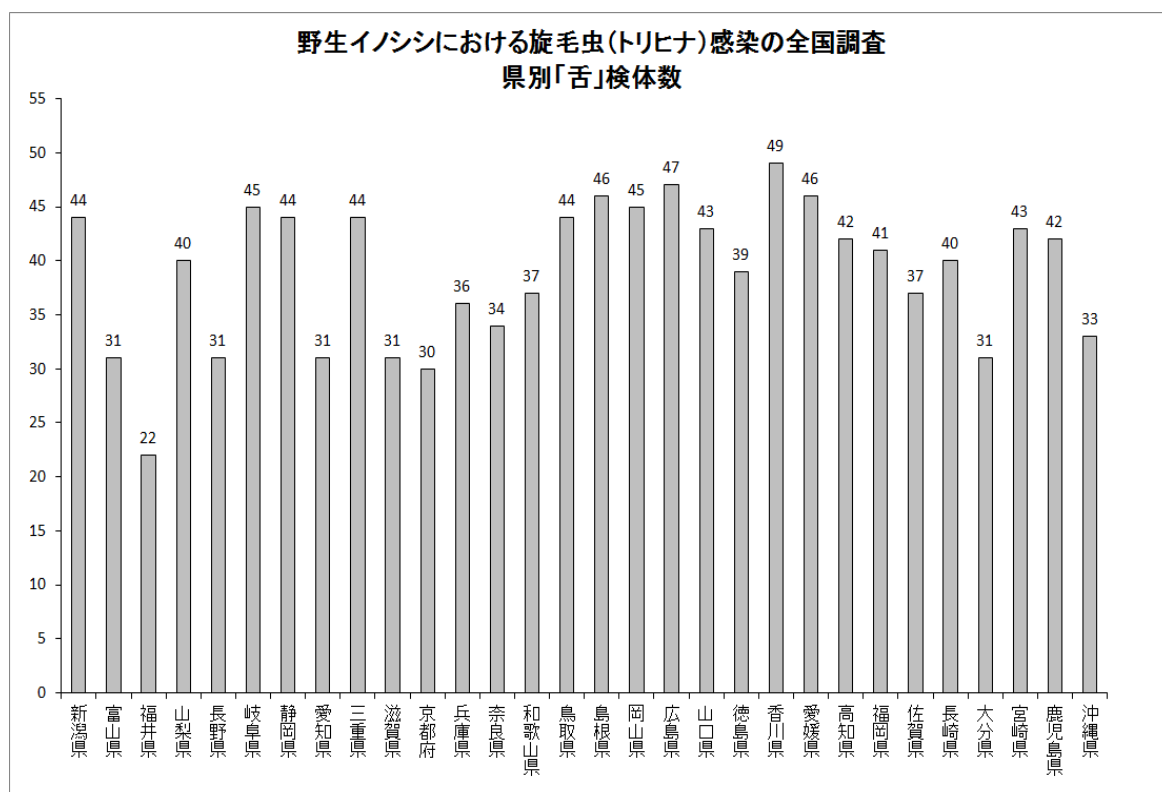


図 1 各県イノシシ「舌」検体数

## 5. 考察

今回の調査では、イノシシ 1168 検体すべてで、旋毛虫寄生は陰性であった。検査に使用した舌は、The International Commission on Trichinellosis が推奨する検査部位（横隔膜、前肢、舌）1において、適切な検査材料に含まれており、検査に供した舌組織（10g 強）を人工消化した場合の検出感度は、1g あたり 1 匹以上の幼虫が感染していれば検出できるサンプルサイズ（5g）[2] よりも高くなるため、今回調査したイノシシ個体は、旋毛虫感染は陰性（OIE の規定に基づく検出限界以下）であると判断された。

本邦においては、2007 年に野生動物における旋毛虫感染調査の一環で 41 頭のイノシシ舌（北海道、和歌山県、長崎県のいずれかの県由来）5g を用いた検査が行われたが、本事業検査結果と同様すべて陰性であったと報告されている<sup>3</sup>。一方、イノシシ以外の野生動物では、犬、ヒグマ、ツキノワグマ、アカギツネ、タヌキ、アライグマから旋毛虫が検出されている [4, 5, 6, 7, 8]。

旋毛虫の感染環を考慮すると、これらのイノシシ以外の野生動物等の肉をイノシシが捕食する必要があるが、本国のイノシシの食性調査によれば、イノシシは雑食性ではあるが、胃内容物における動物質の検出率は 30% 程度（その内訳は昆虫類、ミミズ、カエルなど）で、植物由来のもの（クズ、ヤマイモ、チガヤなどの根茎や各種の葉、果実、堅果など）を主体に食べていることが知られている [9]。また、季節別に食性が異なり、春はタケノコ、秋は堅果類や動物質、冬は植物の根や塊茎を食べる割合が増えるとされる [10]。今回の調査対象では、10 月末から年明けの 1 月末の猟期（冬季）を中心に捕獲されたイノシシが検体となっているため、冬期の餌が植物中心であることを考慮すると、この期間中に感染動物の肉質を摂食した可能性は低いと考えられる。

豚での筋肉内の旋毛虫生存期間は 15～24 ヶ月 [11] とされており、イノシシにおいても同等と仮定すると、今回の調査時点で検査されたイノシシ個体は、過去 1～2 年の間に旋毛虫に感染した可能性は低いものと考えられる。

以上のことを踏まえ、わが国のイノシシにおける旋毛虫浸潤の可能性は極めて低いものと考えられる。

## 6. イノシシの感染状況の評価

### （1）捕獲状況について

今回の調査において検体が採取されたイノシシについて、あらかじめ定めた調査票に基づき、捕獲されたイノシシの特徴や捕獲場所などの情報の提供を依頼した。ここではこれらイノシシの情報をとりまとめた。

捕獲方法は、猟銃による捕獲が 42% と最も多く、次いでくくりわな 32%、箱わな 25% が用いられていた（表 1）。イノシシの捕獲から検体採取までの日数については、93% の検体が捕獲した同じ日に検体が採取されており、最大でも 3 日以内には採取が行われていた（表 2）。

捕獲イノシシの性別は、オスが 647 頭、メスが 508 頭であり（記載なし 16 頭）、オス

が 56%とやや多くの割合を占めた。捕獲時の推定年齢はオス・メスともに 3 才が多く、次いで 2 才、4 才が多くを占め、雌雄で同様の傾向を示した（図 3）。オスの平均推定年齢は 3.2 才、メスは 2.8 才であった。

捕獲時の推定体重はオスで平均 65kg（範囲 10～180kg）、メスで平均 55kg（範囲 5～250kg）であった。オスとメスの推定体重の 25 パーセンタイル値はそれぞれ 45kg と 40kg であり、多くの個体は 40kg を超えていた。なお、沖縄で捕獲された 34 頭のイノシシは、平均推定年齢は 3.2 才であったが、平均推定体重は 36.4kg と小さかった。

表 1 イノシシの捕獲方法

| 方法   | 頭数  | 割合  |
|------|-----|-----|
| 猟銃   | 473 | 42% |
| くくり  | 356 | 32% |
| 箱    | 283 | 25% |
| その他  | 13  | 1%  |
| 記載なし |     | 46頭 |

表 2 捕獲から検体採取までの日数

| 日数   | 検体数  | 割合   |
|------|------|------|
| 0    | 1027 | 93%  |
| 1    | 61   | 6%   |
| 2    | 8    | 1%   |
| 3    | 5    | 0%   |
| 記載なし |      | 70検体 |

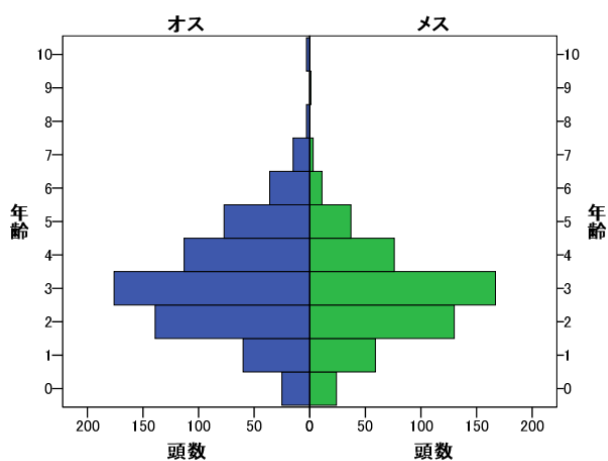


図 3 捕獲イノシシの雌雄別推定年齢分布

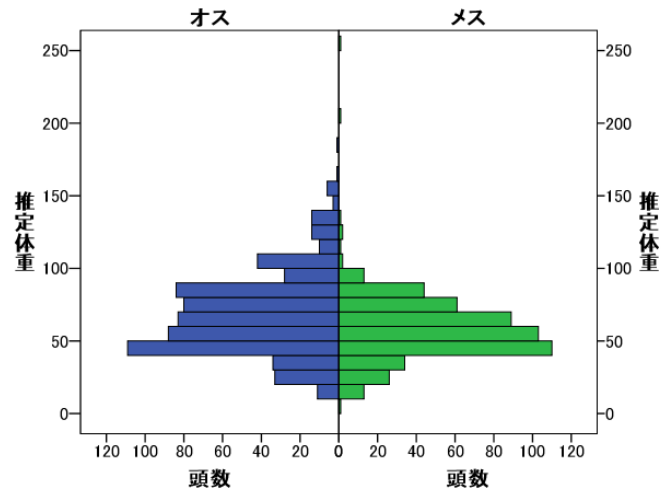


図4 捕獲イノシシの雌雄別推定体重の分布

得られた情報に基づいて検体を採取したイノシシの捕獲場所をプロットした地図を図5及び図6に示した。図中のオレンジ色は、環境省の自然環境保全基礎調査のデータ(<http://www.biodic.go.jp/biodiversity/activity/policy/map/map14/index.html>)に基づく、イノシシの国内生息地域を示している。これらの図から明らかなように、今回採取された1168検体は国内でイノシシが生息していると考えられる関東から西日本、九州、また、リュウキュウイノシシが分布する沖縄県まで広く網羅的にカバーしている。



図5 イノシシの捕獲場所と生息地域

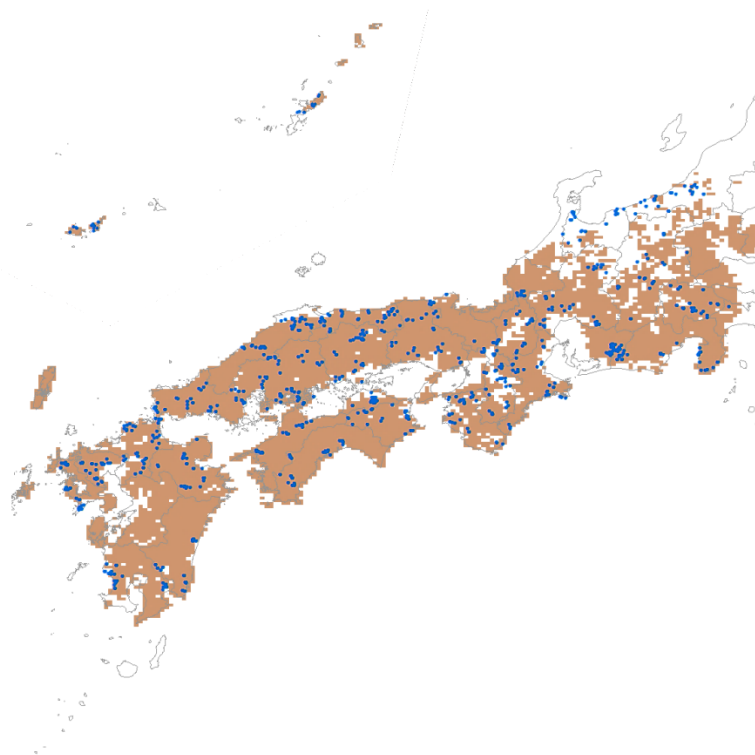


図6 イノシシの捕獲場所と生息地域（拡大図）

## (2) 感染状況の評価

今回の調査においては、全国のイノシシの分布地域を網羅的にカバーする地点で 1168 頭のイノシシから検体を採取し、旋毛虫症の検査を実施した結果、全て陰性であった。この結果を用いて、日本のイノシシ集団における旋毛虫症の有病率（全個体のうち旋毛虫症に感染している個体の割合）の推定を行った。

求める有病率を  $p$  とすると、 $n$  頭を検査して陽性になる頭数はポアソン分布  $\text{poisson}(np)$  に従うと仮定することができる。有病率が  $p$  の時に 1168 頭を検査して 0 頭が陽性になる確率は、ある  $p$  の値についての確からしさの指標（尤度、 $L$ ）であり、この値はポワソン分布の定義から、

$$L = \exp(-1168 * p)$$

で得ることができる。尤度は  $p$  が 0 の時に最大値 1（いくら検査をしても必ず陰性）をとり、0 から離れるにつれて次第に減少する。0 から少しずつ変化させて、ある  $p$  の値までの累積尤度が全体の尤度の 95% 未満になるような  $p$  の値を求めることにより、 $p$  の 95% 信頼区間が求められる。図 7 の灰色の範囲は累積尤度が 95% の範囲を示しており、このときの  $p$  の値は 0.0024 (0.24%) であった。したがって、今回の調査の結果からは、日本のイノシシにおける旋毛虫症の有病率の最も確からしい推定値は 0% で、その 95% 信頼区間の上限値は 0.24% であると推定された。

以上のことから、今回の調査結果から、日本のイノシシ群が旋毛虫症に感染している可能性は極めて低く、仮に感染があったとしてもその有病率は非常に低いと考えられた。

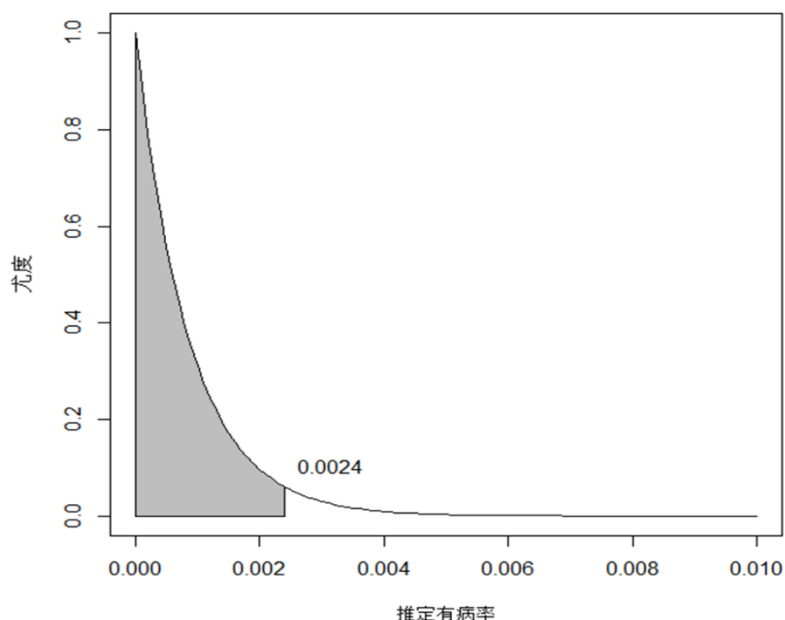


図 7 推定有病率の尤度分布

### Ⅲ ニューカッスル病について

#### 1. 概要

各都道府県の家畜保健衛生所による、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する。採材した糞便は動物衛生研究所に送付し、発育鶏卵を用いてニューカッスル病ウイルスを対象とした分離検査を実施する。

#### 2. 方法

##### (1) 材料採取

5羽分の糞便を1本の試験管に採材し1検体とする。ハト糞便については原則的に6, 8, 10, 12, 2月に採材する(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りうる)。水きん類の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回実施する。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りうる。

##### (2) 分離ウイルスの同定および培養

発育鶏卵で分離されたウイルスを、標準診断法である抗ニューカッスル病ウイルス免疫血清を用いた鶏赤血球凝集抑制試験(HI)にてニューカッスル病ウイルスと同定する。ニューカッスル病ウイルスと同定された検体は、以下の性状解析に用いるため発育鶏卵を用いて継代培養を実施する。

##### (3) 分離されたニューカッスル病ウイルスの性状解析

###### ア. 野鳥糞便からのニューカッスル病ウイルス分離

1で分離されたニューカッスル病ウイルスについて、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する。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する。

###### イ. 分離ニューカッスル病ウイルスの病原性検定

1で分離されたニューカッスル病ウイルスについて、国際獣疫事務局(OIE)が定める病原性ニューカッスル病ウイルスに該当するか検証するため国際基準に基づく病原性試験である1日齢ヒナ脳内接種試験(Intra Cerebral Pathogenicity Index: ICPI)を実施する。この病原性試験結果および上述の遺伝子解析結果から野鳥が保有するウイルスの疫学的特徴を明らかにする。

#### 3. 結果

##### (1) ハト糞便からの分離状況

2014年6月から2015年3月までの期間中、全国19県から242検体が送付された(表3)。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。

| 都道府県名 | 採材時期   |        |         |         |        | 計   |
|-------|--------|--------|---------|---------|--------|-----|
|       | 2014.6 | 2014.8 | 2014.10 | 2014.12 | 2015.2 |     |
| 山形    | 3      | 3      | 3       |         |        | 9   |
| 茨城    | 3      | 3      |         | 3       | 3      | 12  |
| 栃木    | 3      | 3      | 3       | 3       | 3      | 15  |
| 群馬    | 3      | 3      | 3       | 3       | 3      | 15  |
| 埼玉    | 3      | 3      | 3       | 3       | 3      | 15  |
| 福井    | 3      | 3      | 3       | 3       | 3      | 15  |
| 山梨    | 3      | 3      | 3       | 3       | 3      | 15  |
| 岐阜    | 3      | 3      | 3       | 3       | 3      | 15  |
| 静岡    | 3      | 3      | 3       | 3       | 3      | 15  |
| 三重    | 3      | 3      | 3       | 2       |        | 11  |
| 大阪    | 3      | 3      | 3       | 3       | 3      | 15  |
| 和歌山   | 2      | 2      | 2       | 3       | 3      | 12  |
| 岡山    | 3      | 3      | 3       |         |        | 9   |
| 香川    | 3      | 3      | 3       | 3       | 3      | 15  |
| 高知    | 3      | 3      |         | 3       | 3      | 12  |
| 福岡    | 3      | 3      | 3       | 3       | 3      | 15  |
| 佐賀    | 3      |        | 3       | 3       | 3      | 12  |
| 大分    |        | 3      |         |         |        | 3   |
| 鹿児島   |        | 3      | 3       | 3       | 3      | 12  |
| 計     | 50     | 53     | 47      | 47      | 45     | 242 |

表3 ハトにおけるニューカッスル病ウイルス保有状況調査

## (2) 水きん類の糞便からの分離状況

2014年10月から2015年3月までの期間中、全国21県から152検体が送付された(表4)。これらのうち、2014年11月に奈良県で採取されたカモ類由来糞便から1株のウイルスが分離された。

| 都道府県名 | 採材時期    |         |         |        |        | 計   |
|-------|---------|---------|---------|--------|--------|-----|
|       | 2014.10 | 2014.11 | 2014.12 | 2015.1 | 2015.2 |     |
| 岩手    | 3       | 3       |         | 3      |        | 9   |
| 山形    |         | 3       |         | 3      |        | 6   |
| 茨城    | 3       | 3       |         | 3      |        | 9   |
| 栃木    | 3       |         | 3       |        | 3      | 9   |
| 群馬    |         |         | 3       |        | 3      | 6   |
| 福井    |         | 3       |         | 3      |        | 6   |
| 山梨    |         | 3       |         | 3      |        | 6   |
| 岐阜    |         |         | 1       |        | 2      | 3   |
| 静岡    | 3       |         | 3       |        | 3      | 9   |
| 滋賀    | 3       |         | 4       |        | 4      | 11  |
| 京都    | 3       |         | 3       |        | 3      | 9   |
| 奈良    |         | 3       |         |        | 3      | 6   |
| 和歌山   |         |         | 3       |        | 3      | 6   |
| 島根    |         | 3       | 3       |        | 3      | 9   |
| 山口    |         | 3       |         | 3      |        | 6   |
| 香川    |         | 3       |         | 3      |        | 6   |
| 高知    |         | 3       |         | 3      |        | 6   |
| 福岡    | 3       |         | 3       |        | 3      | 9   |
| 佐賀    |         | 3       |         | 3      |        | 6   |
| 大分    |         | 3       | 3       |        | 3      | 9   |
| 鹿児島   |         |         | 3       |        | 3      | 6   |
| 計     | 21      | 36      | 32      | 27     | 36     | 152 |

表4 水きん類におけるニューカッスル病ウイルス保有状況調査

分離されたウイルス一株について、ニューカッスル病ウイルスの病原性検定の国際標準法である 1 日齢ヒナ脳内接種試験(ICPI)の結果、この株の ICPI 指数は 0.2 であり、非病原性株（弱毒型）と判定された。またその F 蛋白開裂部位のアミノ酸配列(113 番目から 117 番目)は KQGR-L で非病原性株（弱毒型）の配列であった。以上からこの株は遺伝学的性状・病原性検定から非病原性株（家畜伝染病予防法に基づく届け出伝染病である「低病原性ニューカッスル病」にあたる）と判定された。

また F 遺伝子を用いた分子系統解析の結果、Class II Genotype I の系統に属していた（図 8）。

#### 4. 考察

今回分離された低病原性ニューカッスル病ウイルスは、2011-12 年度の実施した RS 事業で分離された株と同様、Class II Genotype I の系統に属していた。この系統のウイルスは遺伝的にロシアや韓国、中国でも分離されている。OIE の情報によれば韓国ではニューカッスル病の発生は 2010 年半ばまで、ロシアでは 2014 年まで認められている。

今回分離されたウイルスは病原性的には非病原性ではあったが、このような国々で分離されたウイルスと、今回分離された株が遺伝的に近縁であることは、これらの国からのウイルス侵入の可能性を示すものと考えられる。

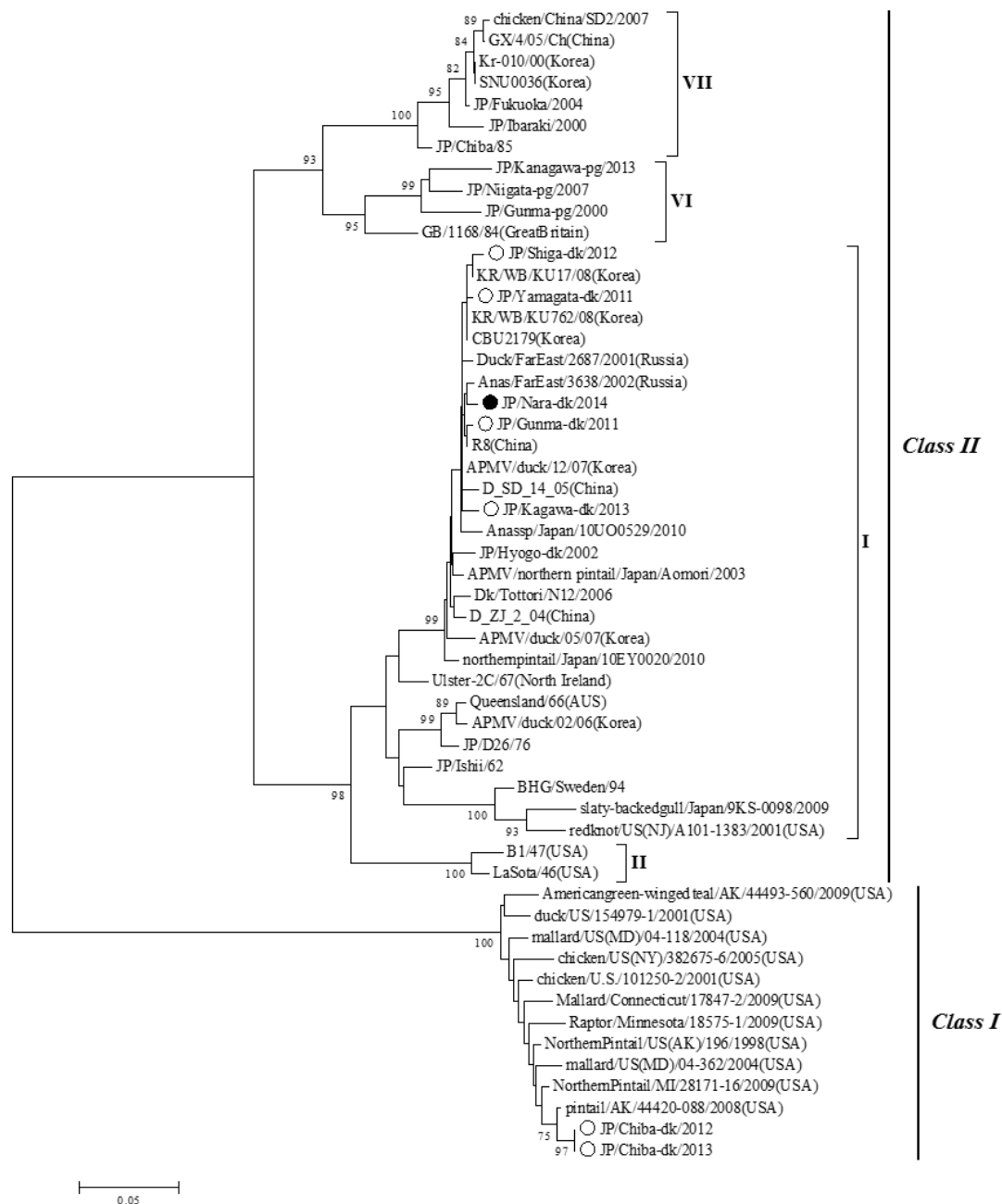


図8 F 遺伝子を用いた分子系統樹。今回分離された株は●で示した。○は 2011-12 年度に実施した RS 事業で分離された株を示す。わが国の最近の家禽から分離された病原性ウイルス株の多くは Class II Genotype VII、ハトから分離された病原性ウイルス株の多くは Class II Genotype VI に属する。主要なワクチン株 (B1) は Class II Genotype II に属する。

<引用文献>

- 1 International Commission on Trichinellosis (ICT), Recommendations for Quality Assurance in Digestion Testing Programs for Trichinella, ICT Quality Assurance Committee (appendix 1) Part 2, Essential quality assurance standards for Trichinella digestion assays;  
URL:[http://www.trichinellosis.org/uploads/Part\\_2\\_final\\_-\\_Digestion\\_assasy\\_final\\_7Feb2012.pdf](http://www.trichinellosis.org/uploads/Part_2_final_-_Digestion_assasy_final_7Feb2012.pdf)
- 2 OIE, Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals. 2012, Chapter 2.1.16, Trichinellosis, pp.305-313
- 3 Kobayashi et al., Epidemiology, histopathology, and muscle distribution of Trichinella T9 in feral raccoons (Procyon lotor) and wildlife of Japan. *Parasitol Res.* 2007; 100: 1287-1291
- 4 Kanai et al., Trichinella nativa and Trichinella T9 in Hokkaido island, Japan. *Parasitol Internatl.* 2006; 55: 313-315
- 5 Kudo et al., The first host record of trichinosis in a red fox, Vulpes vulpes japonica, from Aomori Prefecture, Northern Honshu, Japan. *J Vet Med Sci*, 2001; 63: 823-826
- 6 Saito and Yamaguchi. Trichinella spiralis in a raccoon dog, Nyctereutes procyonoides viverrinus, from Yamagata Prefecture, Honshu, Japan. *Jpn J Parasitol.* 1985; 34: 311-314
- 7 Yimam et al., First report of Trichinella nativa in red foxes (Vulpes vulpes schrencki) from Otaru City, Hokkaido, Japan. *Parasitol Int.* 2001; 50: 121-127.
- 8 Kobayashi et al., Epidemiology, histopathology, and muscle distribution of Trichinella T9 in feral raccoons (Procyon lotor) and wildlife of Japan. *Parasitol Res.* 2007; 100: 1287-1291
- 9 朝日稔、1976、イノシシ、「追われる「けもの」たち」(四手井綱英・川村俊蔵編)、築地書館、94-113p
- 10 小寺祐二・神崎伸夫、島根県石見地方におけるニホンイノシシの食性および栄養状態の季節的变化、野生生物保護、2001; 6(2): 109-117
- 11 板垣 博、大石 勇監修、2007、最新家畜寄生虫病学(今井壮一、板垣匡、藤崎幸蔵編)、朝倉書店、237-239p