

令和 2 年度戰略的監視・診斷體制整備推進委託事業
（家畜伝染病診斷體制強化・整備）
（ 4 ） 野生動物感染症監視體制整備

令和 3 年 3 月 18 日

（国）農業・食品産業技術総合研究機構

動物衛生研究部門

I 事業の目的と内容

1. 目的

家畜における伝染性疾病的発生・まん延を防止するためには、家畜群への伝染性疾病的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。家畜群への疾病的侵入の監視においては、野生動物が家畜への疾病的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的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的清浄化を維持・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的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的浸潤状況の調査

捕獲された野生動物等から検査材料を採取し、家畜の伝染性疾病的感染状況を検査するとともに、得られた結果から、野生動物での疾病的感染状況を評価する。本事業ではシカ、イノシシ及び野鳥（水鳥及びハト）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、アカバネ病

（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（水きん類及びハト）（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的浸潤状況の調査

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、牛のヨーネ病的発生が多く、シカの生息頭数も多い北海道については道内全域を調

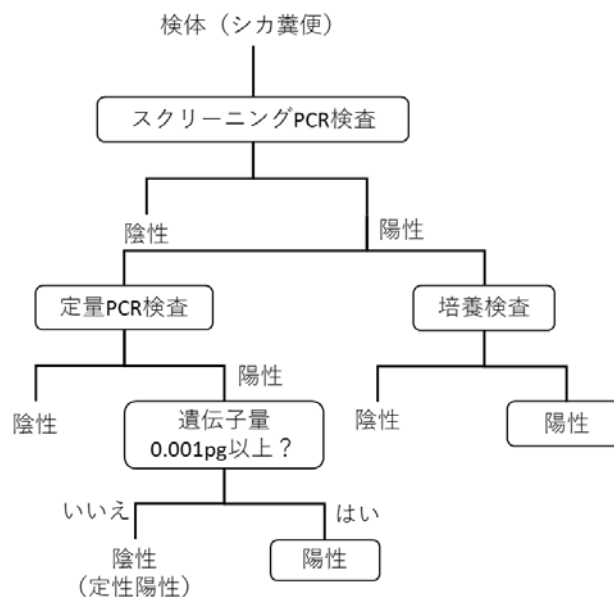
査できるように調査対象地域を選定し、今年度は、12 府県及び北海道 14 振興局において各 10 検体を上限とし合計 200 検体を採材することを目標として調査を実施した。調査に当たっては、全国調査を実施した平成 28–29 年度と同様、大日本猟友会を通じて各道府県の猟友会に依頼し、9 月以降に捕殺されたシカについて、検査材料（血液及び糞便）を採取し、冷蔵便にて収集した。検査材料の収集は、昨年度までと同様の調査票を用いて、捕獲日時、場所、捕獲方法、シカの推定年齢及び推定体重等についての情報を収集した。

（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、糞便中のヨーネ菌抗原の検出を目的に、動衛研においてそれぞれ次の方法で検査を行った。

ア、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。定量 PCR か培養検査のいずれかで陽性となった場合に、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】 悪性カタル熱ウイルス（OvHV-2）に対する抗体検査

ウ、アカバネ病

アカバネ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、適切な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 30 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

県別、年度別の検体数の内訳を表1及び表2に示した。検査材料は、検査に不適であったものを除くと、今年度は10道府県203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195検体、悪性カタル熱及びアカバネ病の検査に用いた検査材料（血液）は、203検体であった（アカバネ病については平成29年度から令和元年度の採材検体についても検査を実施）。

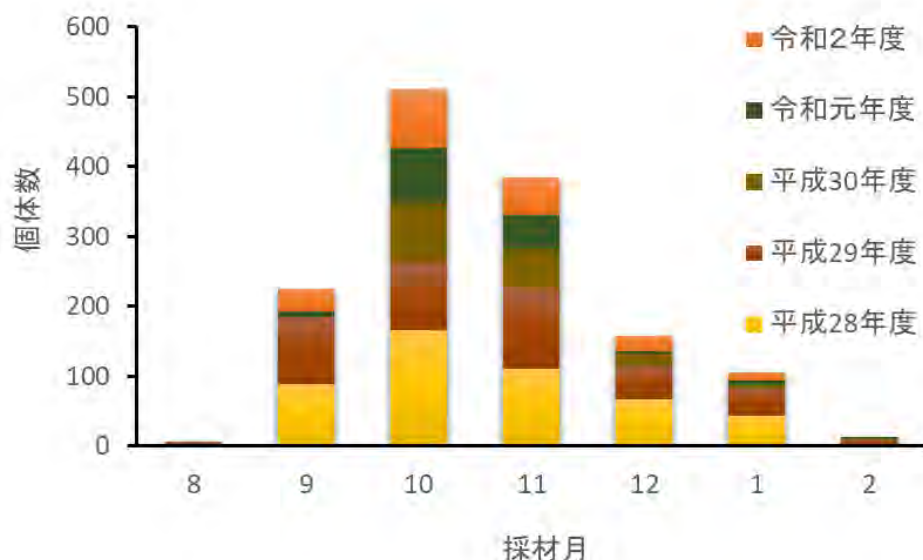
検査材料が採材された月ごとに採材頭数を算出したところ、検査の依頼が毎年度後半であることと、シカの狩猟期間が10月又は11月以降（地域によって異なる）であることから、10月と11月に約6割が採材されていた【図3】。

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、捕獲日不明の1検体を除き全ての検体について捕獲当日中に採材されていた。

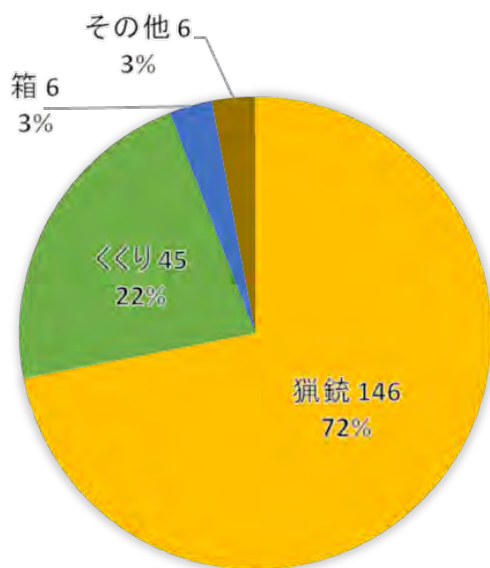
今年度採材されたシカの性別は、127頭（62.6%）がオス、70頭（34.5%）がメス、6頭は不明であった。捕獲方法の内訳は、猟銃が約7割、くくりわなが約2割、箱わな及びその他が1割未満であった【図4】。捕獲方法は、猟期との関係から捕獲された月によって異なり、9月及び1月はわなによる捕獲が多く、10-12月は猟銃による捕獲が増加した。【図5】。採材された月や捕獲方法について、シカの性別による違いは認められなかった。

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3.58歳、メスの平均が3.43歳であり雌雄の差はなかった（Wilcoxon test によるP値：0.71）【図6】。推定体重については、オスの平均が75.9kg、メスの平均が46.6kgとメスで有意に低かった（Wilcoxon test によるP値：<0.01）

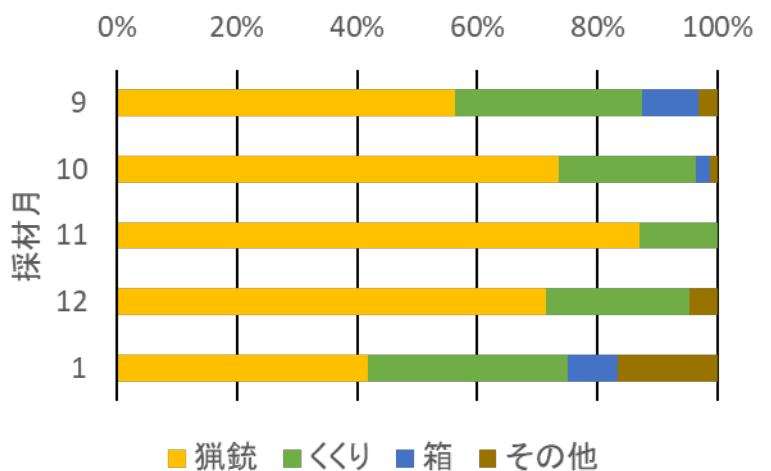
【図7】。ただし、捕獲されたシカの年齢と体重は、多くの場合捕獲者の目測による推定値であるため必ずしも正確な値とは言えないことに注意が必要である。



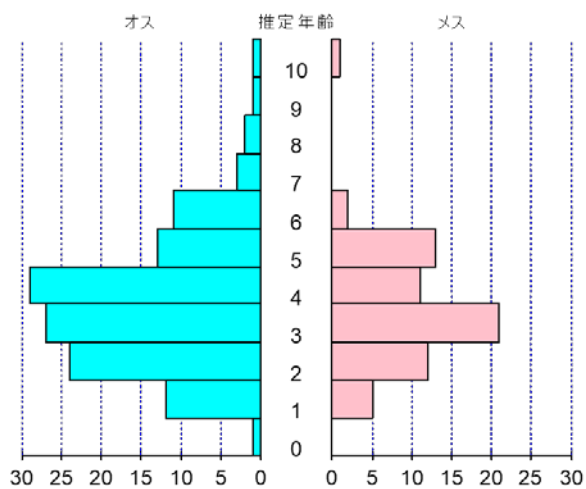
【図3】 シカ検体の採材月



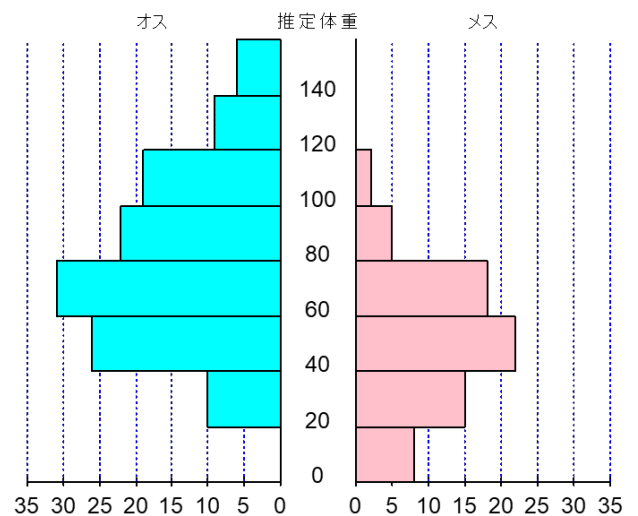
【図 4】シカ捕獲方法（令和 2 年度）



【図 5】採材月別のシカ捕獲方法（令和 2 年度）



【図 6】シカの性別と推定年齢（令和 2 年度）



【図 7】シカの性別と推定体重（令和 2 年度）

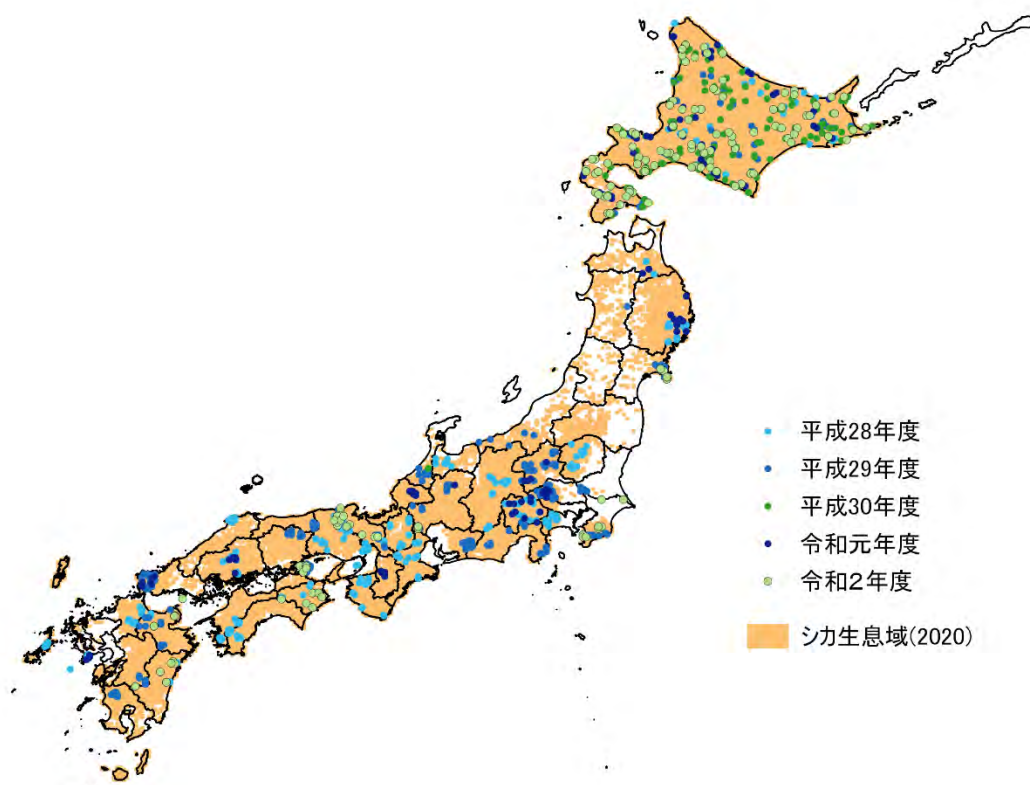
(2) ヨーネ病の検査結果

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 1,383 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 13 検体、定量陽性と判定された検体は 4 検体あった。また、平成 28 年度から令和元年度にかけて採材した 1,188 検体のうち、培養検査陽性となった検体は 2 検体あり、この 2 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 195 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 12 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。調査票から得

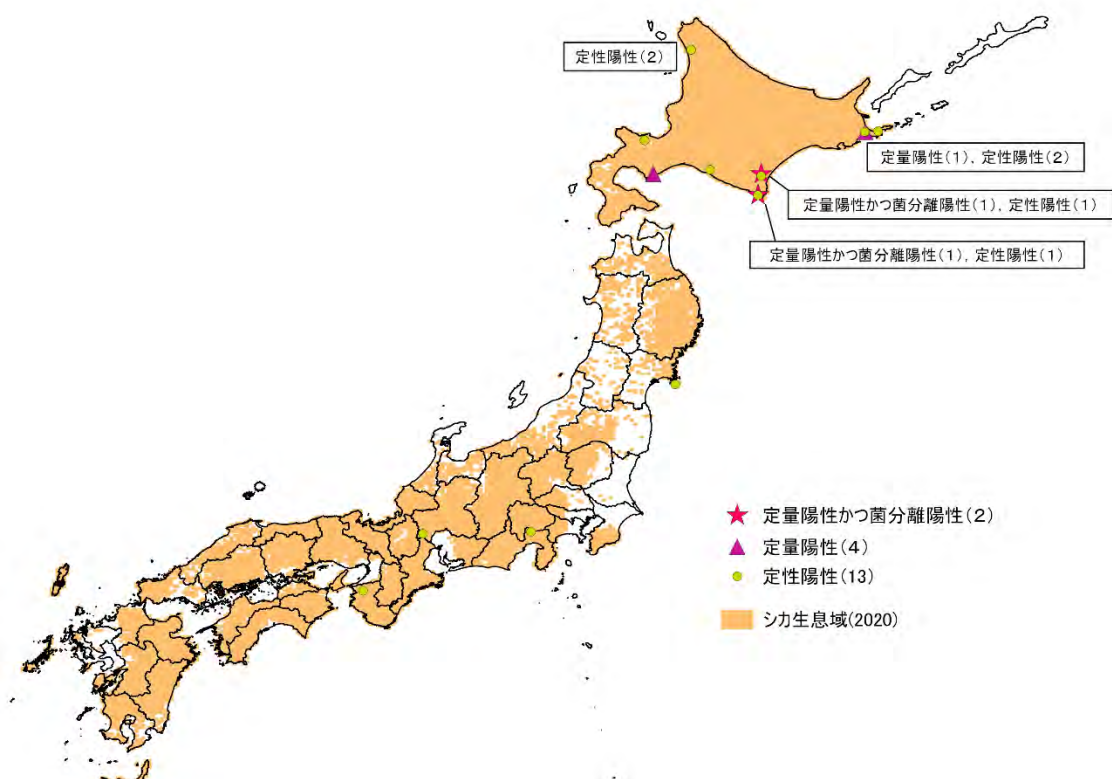
られたシカの捕獲地点とヨーネ病検査結果をそれぞれ図8及び図9に示した。

【表1】シカ検体数（糞便）及びヨーネ病検査結果の概要

県名	H28年度	H29年度	H30年度	R1年度	R2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	429	9	4	2
青森県	4	0	0	3	0	7	0	0	0
岩手県	25	0	0	10	0	35	0	0	0
宮城県	0	25	0	0	10	35	1	0	0
秋田県	0	1	0	0	0	1	0	0	0
栃木県	13	0	0	0	0	13	0	0	0
群馬県	0	25	0	10	0	35	0	0	0
埼玉県	0	23	0	10	0	33	0	0	0
千葉県	0	22	0	0	10	32	0	0	0
神奈川県	24	0	0	0	0	24	0	0	0
新潟県	0	6	0	0	0	6	0	0	0
富山県	6	0	0	0	0	6	0	0	0
石川県	0	8	1	0	0	9	0	0	0
福井県	0	0	0	10	0	10	0	0	0
山梨県	25	0	0	10	0	35	0	0	0
長野県	25	0	0	0	0	25	0	0	0
岐阜県	0	25	0	0	10	35	1	0	0
静岡県	0	25	0	0	0	25	1	0	0
愛知県	0	24	0	0	0	24	0	0	0
三重県	25	0	0	0	0	25	0	0	0
滋賀県	20	0	0	0	0	20	0	0	0
京都府	0	19	0	0	10	29	0	0	0
大阪府	25	0	0	0	0	25	0	0	0
兵庫県	25	0	0	0	9	34	0	0	0
奈良県	0	0	0	10	0	10	0	0	0
和歌山県	23	0	0	0	0	23	1	0	0
鳥取県	0	16	0	0	0	16	0	0	0
島根県	25	0	0	0	0	25	0	0	0
岡山県	0	24	0	0	0	24	0	0	0
広島県	25	0	0	8	0	33	0	0	0
山口県	0	22	0	8	0	30	0	0	0
徳島県	16	0	0	0	9	25	0	0	0
香川県	0	24	0	0	10	34	0	0	0
愛媛県	25	0	0	0	0	25	0	0	0
高知県	25	0	0	0	0	25	0	0	0
福岡県	20	0	0	0	0	20	0	0	0
長崎県	25	0	0	10	0	35	0	0	0
熊本県	0	18	0	0	0	18	0	0	0
大分県	0	25	0	0	4	29	0	0	0
宮崎県	25	0	0	0	9	34	0	0	0
鹿児島県	0	25	0	0	0	25	0	0	0
合計	469	406	169	144	195	1,383	13	4	2



【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）



【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

今年度採材されたシカ血清 203 検体について悪性カタル熱の検査を行ったところ、1 検体（宮崎県）で ELISA 抗体検査陽性であり、ほか 202 検体は陰性であった。

(4) アカバネ病の検査結果

平成 29 年度から今年度にかけて採材された血清 924 検体についてアカバネ病の検査を行ったところ、平成 29 年度の 3 検体（山口県、大分県、鹿児島県）、平成 30 年度の 2 検体（北海道）、令和元年度の 1 検体（山口県）及び今年度の 7 検体（北海道、岐阜県、兵庫県、香川県、宮崎県）で抗体陽性であった【表 3、図 10】。

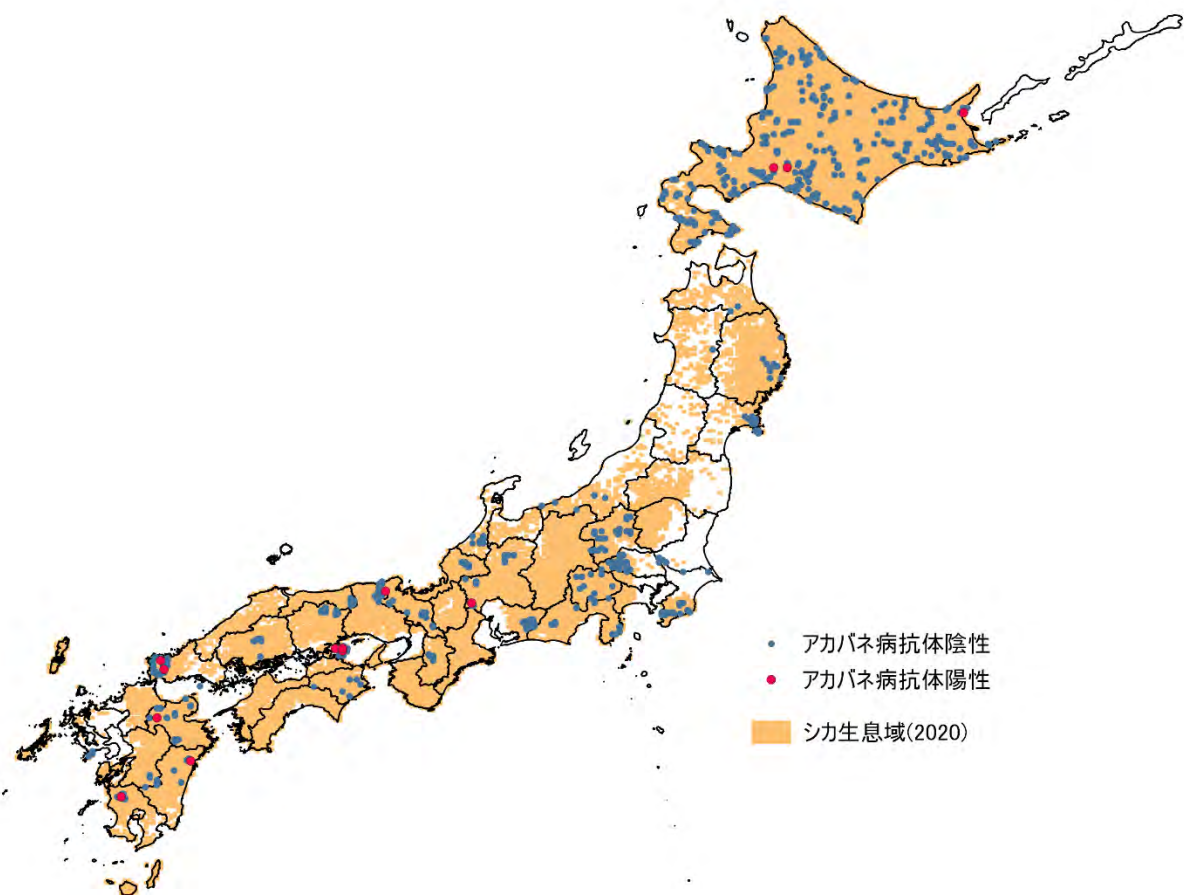
【表 2】シカ検体数（血清）の概要

県名	H28年度	H29年度	H30年度	R1年度	R2年度	合計
北海道	43	49	167	55	114	428
青森県	4	0	0	3	0	7
岩手県	25	0	0	10	0	35
宮城県	0	25	0	0	10	35
秋田県	0	1	0	0	0	1
栃木県	17	0	0	0	0	17
群馬県	0	25	0	10	0	35
埼玉県	0	23	0	10	0	33
千葉県	0	22	0	0	10	32
神奈川県	24	0	0	0	0	24
新潟県	0	6	0	0	0	6
富山県	6	0	0	0	0	6
石川県	0	8	1	0	0	9
福井県	0	0	0	10	0	10
山梨県	25	0	0	10	0	35
長野県	24	0	0	0	0	24
岐阜県	0	25	0	1	10	36
静岡県	0	25	0	0	0	25
愛知県	0	24	0	0	0	24
三重県	25	0	0	0	0	25
滋賀県	20	0	0	0	0	20
京都府	0	19	0	0	10	29
大阪府	25	0	0	0	0	25
兵庫県	25	0	0	0	10	35
奈良県	0	0	0	10	0	10
和歌山県	23	0	0	0	0	23
鳥取県	0	16	0	0	0	16
島根県	25	0	0	0	0	25
岡山県	0	24	0	0	0	24
広島県	25	0	0	10	0	35
山口県	0	22	0	8	0	30
徳島県	15	0	0	0	9	24
香川県	0	25	0	0	10	35
愛媛県	25	0	0	0	0	25
高知県	23	0	0	0	0	23
福岡県	20	0	0	0	0	20
長崎県	25	0	0	10	0	35
熊本県	0	18	0	0	0	18
大分県	0	24	0	0	10	34
宮崎県	25	0	0	0	10	35
鹿児島県	0	25	0	0	0	25
合計	469	406	168	147	203	1,393

【表3】アカバネ病検査結果（平成29年度-令和2年度採材分）

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	385	3	0.008	0.002	0.023	0.388	
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	0	0.000	0.000	0.100	1.000	
秋田県	1	0	0.000	0.000	0.975	1.000	
群馬県	25	0	0.000	0.000	0.137	1.000	
埼玉県	33	0	0.000	0.000	0.106	1.000	
千葉県	32	0	0.000	0.000	0.109	1.000	
新潟県	6	0	0.000	0.000	0.459	1.000	
石川県	9	0	0.000	0.000	0.336	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	1	0.022	0.001	0.115	0.479	
静岡県	25	0	0.000	0.000	0.137	1.000	
愛知県	24	0	0.000	0.000	0.142	1.000	
京都府	29	0	0.000	0.000	0.119	1.000	
兵庫県	10	1	0.100	0.003	0.445	0.132	
奈良県	10	0	0.000	0.000	0.308	1.000	
鳥取県	16	0	0.000	0.000	0.206	1.000	
岡山県	24	0	0.000	0.000	0.142	1.000	
広島県	10	0	0.000	0.000	0.308	1.000	
山口県	30	2	0.067	0.008	0.221	0.066	
徳島県	9	0	0.000	0.000	0.336	1.000	
香川県	35	3	0.086	0.018	0.231	0.013	*
長崎県	10	0	0.000	0.000	0.308	1.000	
熊本県	18	0	0.000	0.000	0.185	1.000	
大分県	34	1	0.029	0.001	0.153	0.382	
宮崎県	10	1	0.100	0.003	0.445	0.132	
鹿児島県	25	1	0.040	0.001	0.204	0.298	
合計	924	13	0.014	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。



【図 10】 アカバネ病検査陽性検体の地理的分布

3. 考察

ヨーネ病については、平成 29 年度、平成 30 年度及び今年度の検査材料のうち、北海道の 4 検体から原因菌の遺伝子が検出され、そのうちの 2 検体から菌分離がなされている（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病に感染している可能性が示唆されている。また、遺伝子検査の結果、北海道、宮城県、岐阜県、静岡県及び和歌山県の計 13 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については、1998 年から 2007 年までに、6 症例が報告されているが、これまで野生シカにおける悪性カタル熱の浸潤状況は調査されていない。今回の調査で、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いことから、今回の結果からは、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。OvHV-2 は他のヘルペスウイルスと同様に、宿主に潜伏感染することから、国内における詳細な浸潤状況を把握するためには、複数年にわたり広範囲に検査を継続することが必要である。

アカバネ病については、牛群における浸潤状況については、おとり牛を用いたサーベイランスの結果から、近年のアカバネウイルスの浸潤は平成 27 年に九州地方と山口県で、令和元年に九州、四国、

中国、近畿、中部地方と千葉県で認められている（動衛研「おとり牛を用いたアカバネ病等の抗体調査」）。野生シカでの抗体陽性は、北海道の陽性検体を除き、おとり牛での結果と同様の地域で認められており、野生環境下のシカでもアカバネウイルスの感染が生じていると考えられた。北海道の陽性検体については、北日本でのアカバネ病の発生は平成 23 年度以降認められていないため、抗原的に交差する異なるウイルスに対する抗体を検出したか、それ以外の要因による非特異反応である可能性もあり、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、国内で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。今年度は東北・関東地方を中心に、過去に野生イノシシでオーエスキー病抗体陽性の検出された近畿地方及び九州地方の府県も含めて合計 8 府県に調査を依頼した。ただし、東北・近畿の各府県においては、野生イノシシにおける豚熱(CSF)の発生地域拡大に伴い CSF 検査のための調査捕獲が優先されたため、本事業の調査のための採材は 10 月までとなった。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

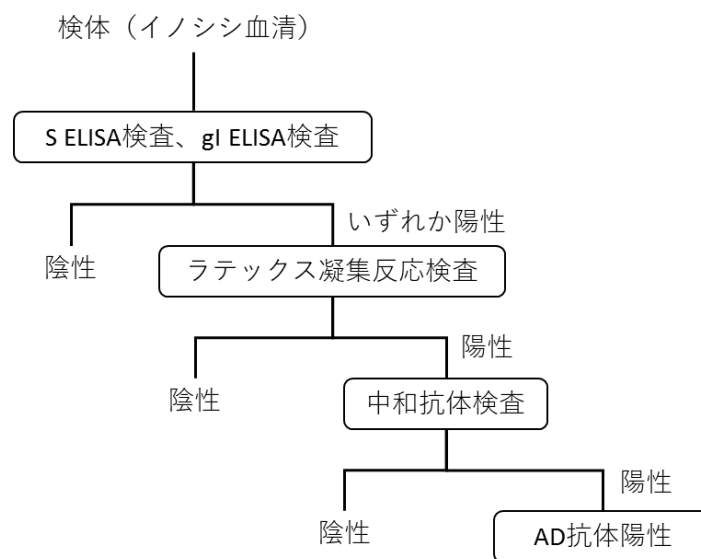
送付された材料は、動衛研で血清分離後、検査の実施まで-20℃で冷凍保存した。その後、AD 及びトキソプラズマ症の血中抗体測定を行うことを目的に、動衛研においてそれぞれ次の方法で検査を行った。

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。以下の表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、それぞれ適切な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247検体で、昨年度までのものを合わせると合計2,128検体であった。

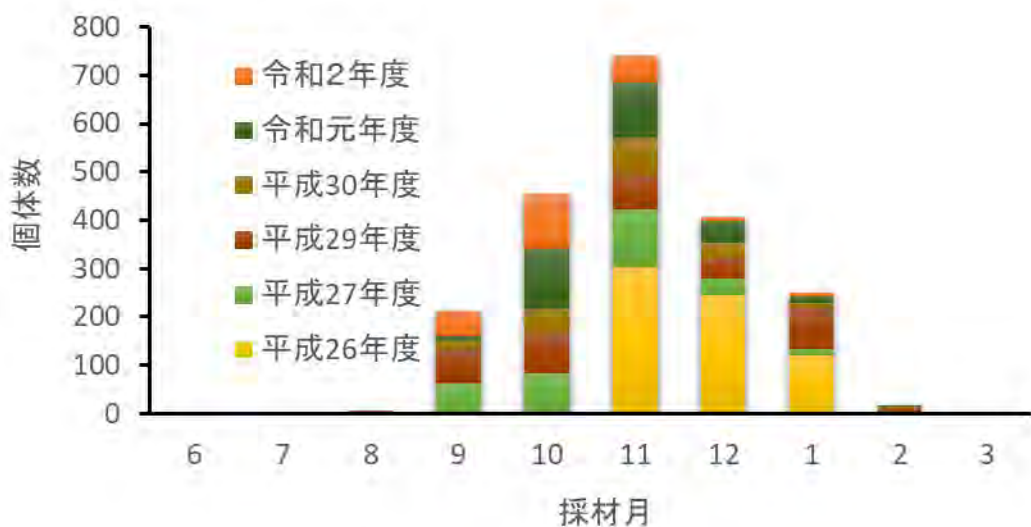
検査材料が採材された月ごとに採材頭数を算出したところ、検査の依頼が毎年度後半であることと、多くの地域で狩猟期間が11月以降となっていることから、約4割が11月に採材されている【図12】。

捕獲から検体の採取までの日数については、今年度採材された検体のうち、捕獲日または検体採取日不明の5検体を除き全ての検体について捕獲当日中に採材されていた。

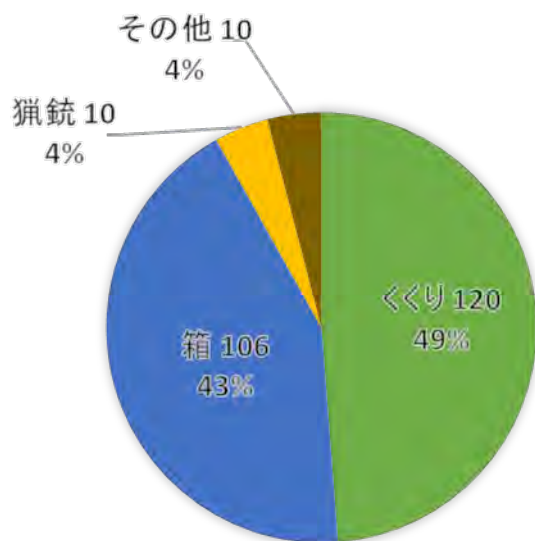
今年度採材されたイノシシの性別は、123頭(49.8%)がオス、121頭(49.0%)がメス、不明が3頭であった。採材時の捕獲方法は、くくりわな及び箱わなで全体の約9割を占め、残りは猟銃及びその他による捕獲であった【図13】。捕獲方法は、いずれの月もわなによる捕獲割合が約9割以上を占めていた【図14】。採材された月や捕獲方法について、イノシシの性別による違いは認められなかった。

【表5】イノシシ検体数の概要

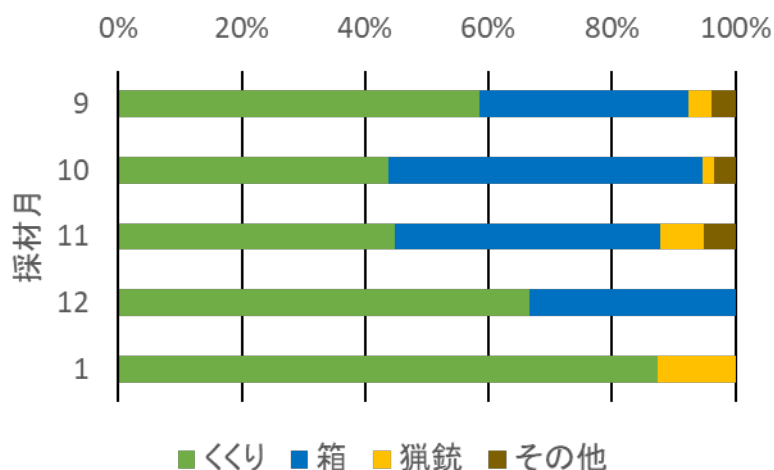
県名	H26年度	H27年度	H29年度	H30年度	R1年度	R2年度	合計
宮城県	0	0	39	0	0	19	58
福島県	0	0	32	0	0	38	70
茨城県	0	0	40	0	0	39	79
栃木県	0	3	29	2	0	31	65
群馬県	0	45	0	0	0	0	45
埼玉県	0	0	37	0	0	0	37
千葉県	0	0	34	0	0	40	74
神奈川県	0	0	36	0	0	37	73
新潟県	26	0	0	0	0	0	26
富山県	17	0	0	0	0	0	17
石川県	0	0	34	0	0	0	34
福井県	6	0	0	0	0	0	6
山梨県	24	0	0	0	0	0	24
長野県	16	0	0	0	0	0	16
岐阜県	38	0	0	5	0	0	43
静岡県	24	41	0	0	0	0	65
愛知県	24	0	0	0	0	0	24
三重県	27	49	0	40	0	0	116
滋賀県	20	0	0	0	0	0	20
京都府	16	0	0	0	38	0	54
大阪府	0	0	50	0	0	3	53
兵庫県	20	0	0	0	35	0	55
奈良県	28	0	0	32	40	0	100
和歌山県	17	0	0	31	39	0	87
鳥取県	25	0	0	0	0	0	25
島根県	21	43	0	0	0	0	64
岡山県	19	50	0	0	0	0	69
広島県	33	0	0	0	0	0	33
山口県	25	0	0	0	0	0	25
徳島県	26	35	0	0	0	0	61
香川県	35	0	1	2	2	0	40
愛媛県	15	0	0	0	0	0	15
高知県	22	0	0	0	0	0	22
福岡県	19	0	0	0	0	40	59
佐賀県	23	0	0	0	0	0	23
長崎県	25	50	0	0	0	0	75
熊本県	0	0	40	0	40	0	80
大分県	16	0	0	35	32	0	83
宮崎県	29	0	0	40	40	0	109
鹿児島県	36	0	0	0	40	0	76
沖縄県	28	0	0	0	0	0	28
合計	700	316	372	187	306	247	2,128



【図 12】 イノシシ検体の採材月

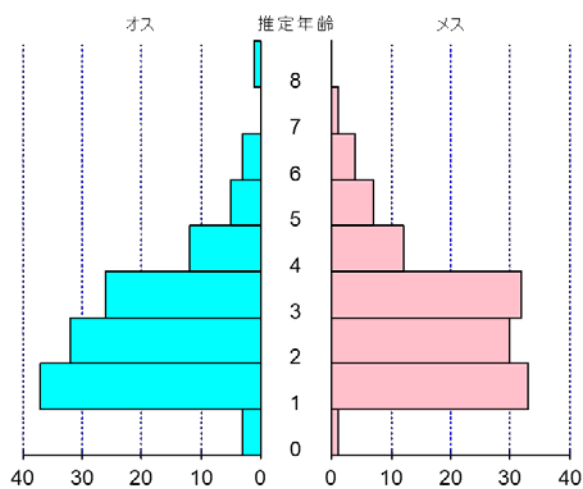


【図 13】 イノシシ捕獲方法（令和 2 年度）

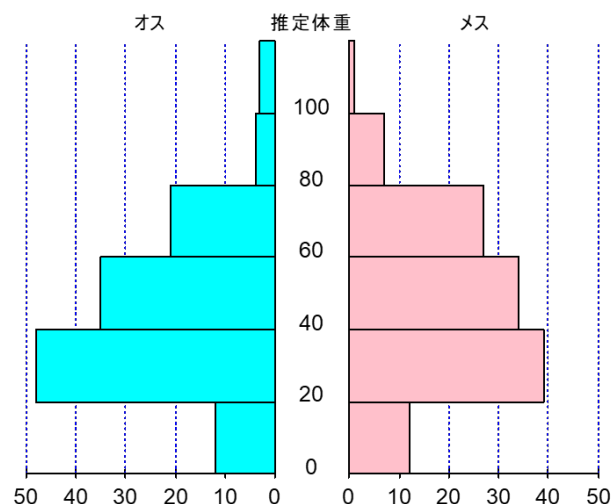


【図 14】 採材月別のイノシシ捕獲方法（令和 2 年度）

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 2.34 歳、メスの平均が 2.53 歳で有意差はなかった（Wilcoxon test による P 値：0.26）【図 15】。また、推定体重を比較したところ、オスの平均が 40.8 kg、メスの平均が 42.8 kg で有意差はなかった（Wilcoxon test による P 値：0.37）【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。

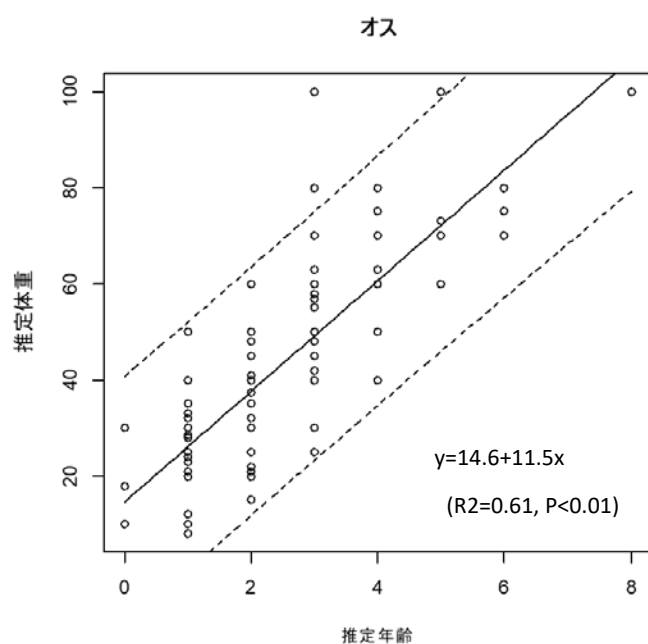


【図 15】イノシシの性別と推定年齢

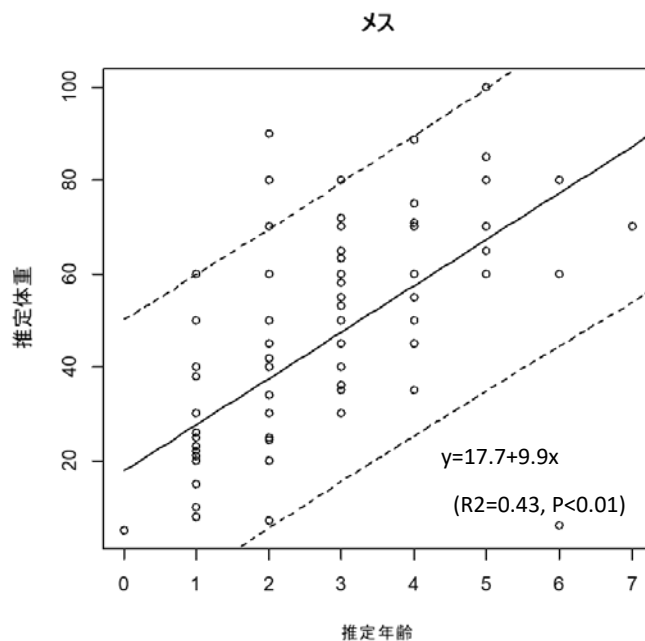


【図 16】イノシシの性別と推定体重

イノシシの体重は性別によって異なることに加え、成長するに応じて増大しており、一次回帰直線で1年あたりの増体量を推定したところ、今年度捕獲されたイノシシについては、オスで 11.5 kg (95%信頼区間：9.8–13.2 kg)、メスで 9.9 kg (7.8–12.0 kg) であった【図 17、図 18】。

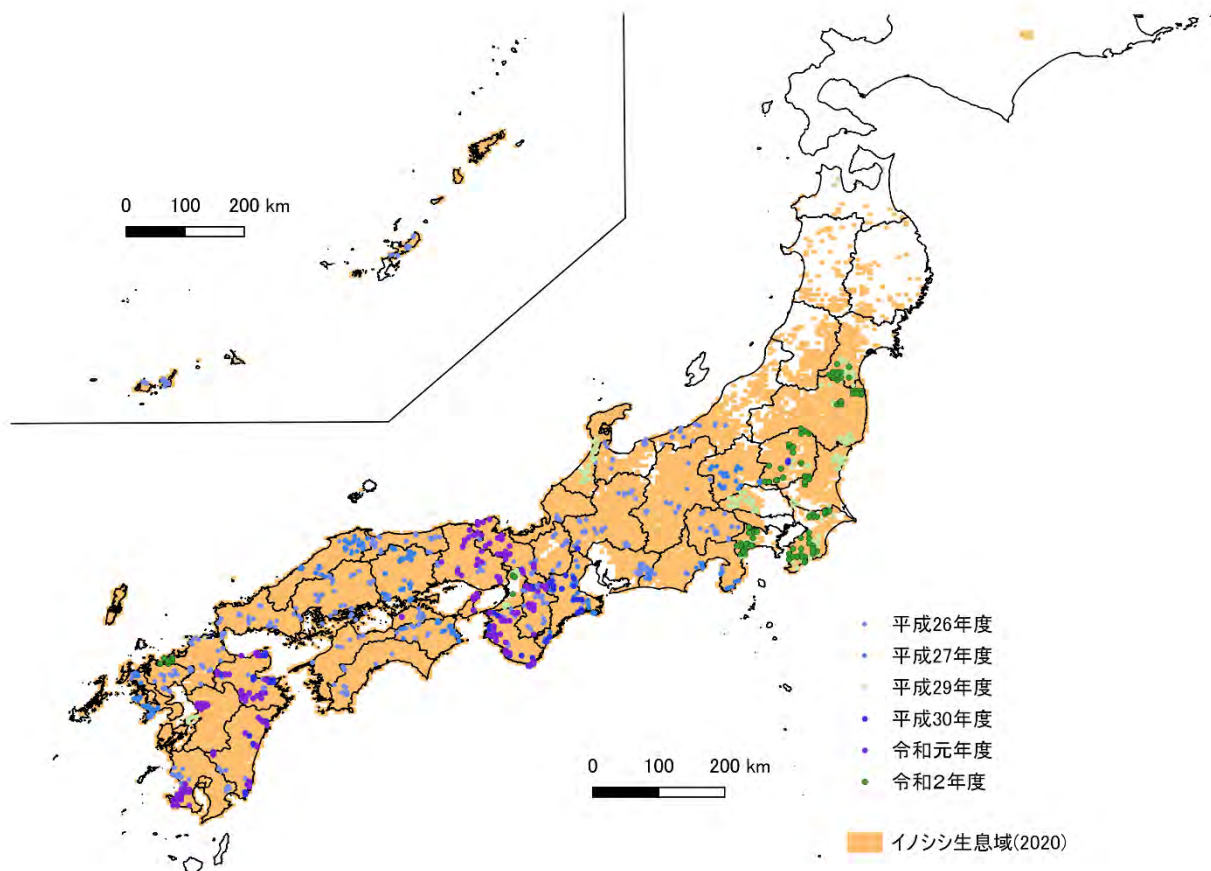


【図 17】イノシシ推定体重と推定年齢(オス)



【図 18】イノシシ推定体重と推定年齢(メス)

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 19 に示した。



【図 19】 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

平成 26 年度から平成 29 年度までの 3 年間でおおよそ全国を対象として調査を行い、平成 30 年度及び令和元年度には、3 年間の調査で陽性検体が確認されるなど追加調査が必要と考えられた地域（近畿地方及び九州地方）を中心に調査を行った。令和元年度に採材した 306 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 127 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 5 検体（奈良県、大分県及び宮崎県）であった【表 6】。

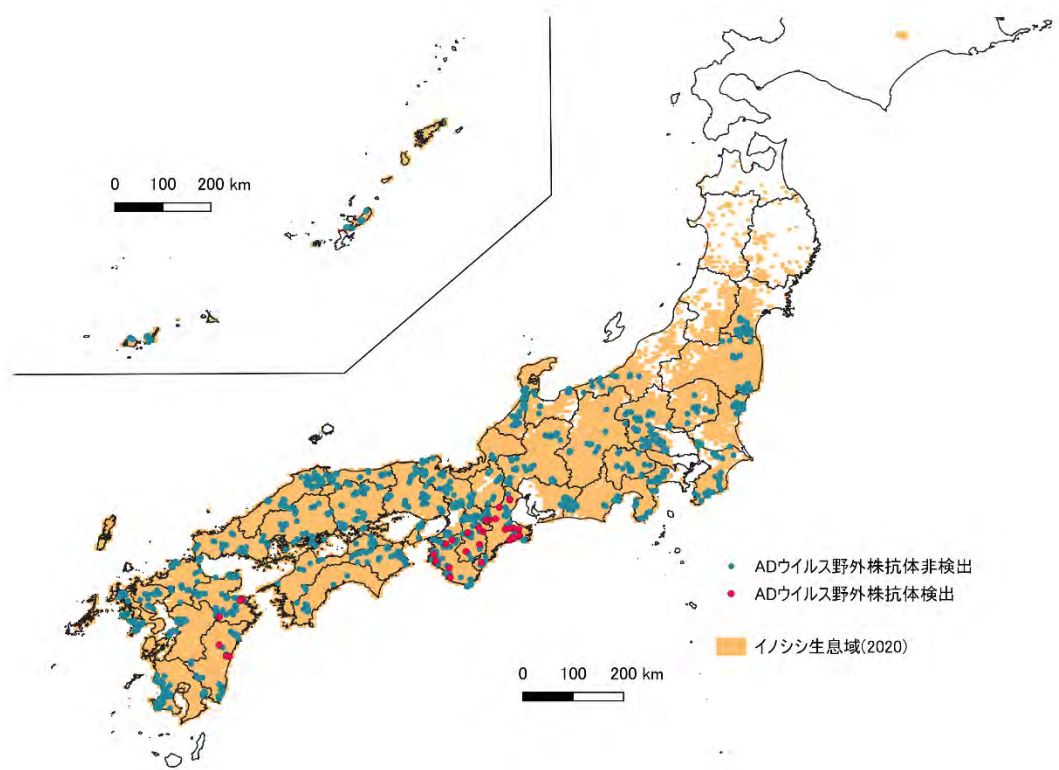
【表 6】都道府県別 AD ウイルス野外株抗体検査結果（令和元年度採材分）

県名	検査数	野外株抗体 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
京都府	38	0	0.000	0.000	0.093	1.000	
兵庫県	35	0	0.000	0.000	0.100	1.000	
奈良県	40	1	0.025	0.001	0.132	0.483	
和歌山県	39	0	0.000	0.000	0.090	1.000	
香川県	2	0	0.000	0.000	0.842	1.000	
熊本県	40	0	0.000	0.000	0.088	1.000	
大分県	32	1	0.031	0.001	0.162	0.410	
宮崎県	40	3	0.075	0.016	0.204	0.028	*
鹿児島県	40	0	0.000	0.000	0.088	1.000	
合計	306	5	0.016	0.005	0.038		

※割合の信頼区間の推定と、全検体の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 20】に示した。

今年度に採材した 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 59 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 20】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247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、130検体であり、全体の抗体陽性率（95%信頼区間）は52.6%（46.2–59.0）となった。府県ごとにみると29.0%から73.7%まで分布しており、参画8府県中3県で8府県の平均と比べて有意な差が認められた【表7】。過年度含む6年分の当事業の結果を比較すると、抗体陽性率は平成26年度が平成27及び今年度より有意に低く（いずれも $P<0.01$ ）、今年度は平成27年度以外のいずれの年度よりも有意に高かった（対平成26、27、29、30及び令和元年度でそれぞれ $P<0.01$ 、 $P=1$ 、 $P=0.01$ 、 $P<0.01$ 及び $P<0.01$ ）【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、及び今年度を第2クールとしたところ（第2クールについては、今年度までで19府県の参加にとどまっていることに注意）、クールごとの抗体陽性率は、全体として第2クールでわずかながら有意に高くなった（ $P=0.04$ ）。また、いずれのクールでも東北・関東地域は甲信越・中部地域及び近畿・中国地域よりも抗体陽性率が有意に高かった（第1クール及び第2クールの対甲信越・中部地域及び近畿・中国地域いずれも $P<0.01$ ）。ただし、地域別のクール間の比較では、いずれの地域にも有意な変動は認められなかった（東北・関東地域、甲信越・中部地域、近畿・中国地域、四国地域、及び九州・沖縄地域の $P=0.42$ 、 0.50 、 0.93 、 1 及び 0.27 ）【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（ $P<0.01$ ）【表10】、性差は認められず（ $P=0.53$ ）【表11】、これらの傾向は昨年度に過去5年度分のデータから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21】に示した。

【表7】 抗トキソプラズマ原虫抗体検査結果（令和2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	$P<0.05$
宮城県	19	12	7	0.632	0.384	0.837	0.492	
福島県	38	28	10	0.737	0.569	0.866	0.009	*
茨城県	39	21	18	0.538	0.372	0.699	1.000	
栃木県	31	9	22	0.290	0.142	0.480	0.011	*
千葉県	40	12	28	0.300	0.166	0.465	0.004	*
神奈川県	37	21	16	0.568	0.395	0.729	0.627	
大阪府	3	1	2	0.333	0.094	0.992	1.000	
福岡県	40	26	14	0.650	0.483	0.794	0.153	
総計	247	130	117	0.526	0.462	0.590		

※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
合計	800	1,328	2,128	0.376

全体のカイ二乗検定 P<0.01

【表 9】 地域別抗トキソプラズマ原虫抗体検査結果

	第 1 クール				第 2 クール				地域別
	陽性数	陰性数	合計	陽性率	陽性数	陰性数	合計	陽性率	P
東北・関東	137	158	295	0.464	104	102	206	0.505	0.42
甲信越・中部	100	226	326	0.307	11	34	45	0.244	0.50
近畿・中国	118	250	368	0.321	68	149	217	0.313	0.93
四国	43	91	134	0.321	1	3	4	0.250	1
九州・沖縄	102	164	266	0.383	116	151	267	0.434	0.27
合計	500	889	1389	0.360	300	439	739	0.406	0.04

第 1 クール内全体のカイ二乗検定 P<0.01 第 2 クール内全体のカイ二乗検定 P<0.01

【表 10】 年齢層別抗トキソプラズマ原虫抗体検査結果（令和 2 年度分）

	陽性数	陰性数	合計	陽性率
1 歳未満	1	3	4	0.250
満 1 歳	27	43	70	0.386
2 歳以上	100	66	166	0.602
合計	128	112	240	0.533

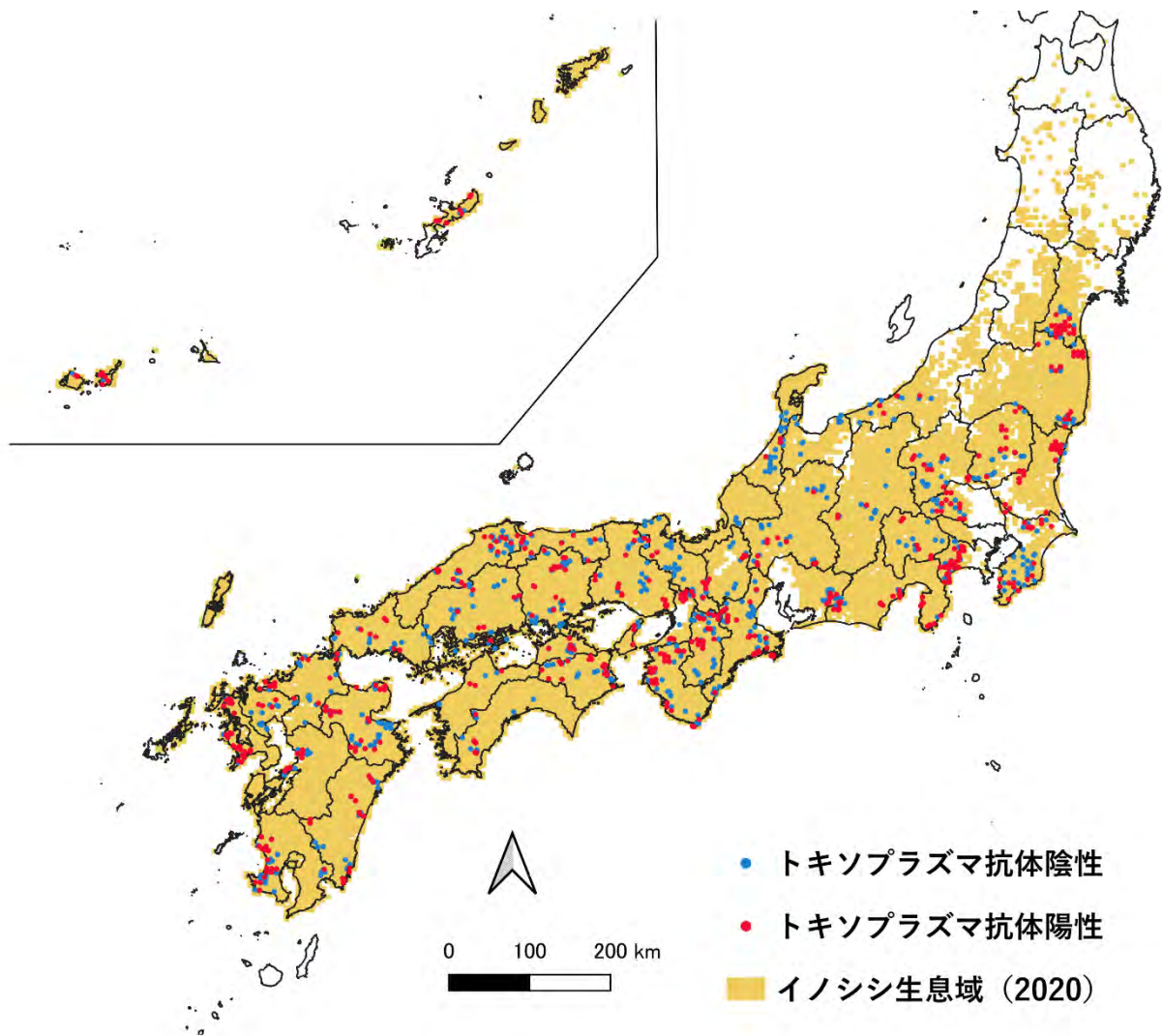
*年齢が判明した個体のみ

1 歳以下と 2 歳以上をまとめたカイ二乗検定 P<0.01

【表 11】 性別抗トキソプラズマ原虫抗体検査結果（令和 2 年度分）

	陽性数	陰性数	合計	陽性率
オス	68	55	123	0.553
メス	61	60	121	0.504
合計	129	115	244	0.529

*性別が判明した個体のみ。カイ二乗検定 P=0.53



【図 21】 平成 26 年度から令和 2 年度の当事業で得られた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

(1) AD について

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、これらの地域及びその周辺地域を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た。このことから、これらの地域のイノシシ群内において ADV が定着していることが考えられる。今後も、近畿地方及び九州地方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。また、今年度採材を行った関東地方については、継続検査の結果が得られ次第、浸潤状況の評価を行う。

(2) トキソプラズマ症について

平成 29 年度までの第 1 クールと平成 30 年度以降の第 2 クールの地域ごとの比較から、*Toxoplasma gondii* の地域内で感染状況は大きな変動はしていないことが示唆された。クールごとの全体の抗体陽性率の比較では、第 2 クールでわずかながら増加したという結果も得られたが、第 2 クールに参加している府県は、第 1 クールに参加した 41 府県のうち 19 府県にとどまっており、特に陽性率が高い傾向が認められた東北・関東の各県が多いことが影響している可能性もある。今後、残りの県における検体収集を強化することで、地域ごとの陽性率の動向の検証が可能になると思われた。

今年度の検査結果では、加齢に伴って抗体陽性率が高まること、性別による差がないといった、昨年度までと同様の傾向が認められており、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。

図 21 に示すように、我が国の野生イノシシにトキソプラズマが広く浸潤していることが改めて確認された。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するとともに、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． 計画

（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、野鳥糞便からのニューカッスル病ウイルス分離

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する。採材した糞便は動物衛生研究部門に送付し、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。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年２回採材する（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回実施する【表１２、１３】。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。

イ、分離ウイルスの同定及び培養

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。

（２）分離されたニューカッスル病ウイルスの性状解析

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。

２． 成果

（１）成果の内容

ア、ハト糞便からの分離状況

２０２０年７月から２０２１年２月までの期間中、全国７県から３８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、水きん糞便からの分離状況

２０２０年１０月から２０２１年２月までの期間中、全国１４県から８９検体が送付された【表１３】。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。

（２）成果の活用

今年度収集したサンプルから病原性ニューカッスル病ウイルスは分離されなかった。しかし、海外ではニューカッスル病の発生が散発していることから、ウイルス侵入の可能性は否定できない。今後も継続的な野鳥のサーベイランスや養鶏場におけるワクチンを中心とした防疫対策が必要と考えられる。

【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（ハト）

都道府県名	採材時期							計	採材場所
	2020/7	2020/8	2020/10	2020/11	2020/12	2021/1	2021/2		
埼玉			3					3	上尾市富士見親水公園
静岡			3	3				6	伊豆市湯ヶ島
福井	3					3		6	福井市
大阪					2		3	5	堺市中区土塔 菰池
和歌山					3		3	6	和歌山城公園
福岡						3	3	6	福岡市西区愛宕町2丁目7-1
大分	3	3						6	海門寺公園
計	6	3	6	3	5	6	9	38	

【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（水きん）

都道府県名	採材時期					計	採材場所
	2020/10	2020/11	2020/12	2021/1	2021/2		
福島		3		3		6	福島市岡部阿武隈川
茨城		3	3	3	3	12	ひたちなか市 名平洞（11,12月）、水戸市大塚池（1,2月）
栃木		3				3	大田原市羽田沼
埼玉		3	3			6	久喜菖蒲公園
千葉	2					2	東金ダム・長柄ダム
神奈川		3				3	富岡並木ふなたまり公園
山梨			3		6	9	河口湖
静岡			3	3	3	9	浜松市猪鼻湖畔
大阪				3	3	6	堺市中区土塔町菰池
島根		3	3	3		9	松江西市尾町 縁結び大橋周辺中洲
香川	3				3	6	高松市春日町新川河口付近
福岡			3			3	北九州市小倉南区大字曾根 曾根干潟
大分			3	3		6	小野鶴閑 大分川
宮崎			3	3	3	9	日南市広渡川（12,1月）、宮崎市大淀川（2月）
計	5	18	24	21	21	89	

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

ア 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検証するために、令和元年度に引き続き、以下の検査を実施し分析を行った。本年度に兵庫県で、また昨年度に北海道で採材されたシカ脳合計 100 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'-AGCTGTGGATCCTCATCATGCCCCCCTTTGGTAATAAG-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。

イ 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（50 検体）、北海道（61 検体）合計 111 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。