# 平成 29 年度戦略的監視·診断体制整備推進事業 野生動物監視体制整備事業報告書

平成 30 年 3 月 19 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、野生動物における家畜の伝染性疾病の浸潤状況を知る必要がある。また、家畜群における伝染性疾病の清浄化を維持・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・把握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した。

#### 2. 内容

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する。本事業ではシカ、イノシシ及び野鳥(水きん類及びハト)について、下記の疾病を対象に調査を行った。

- (1) シカ(血液及び糞便)
  - ア、結核病
  - イ、ヨーネ病
  - ウ、ブルセラ病
- (2) イノシシ(血液)
  - ア、ブルセラ病
  - イ、オーエスキー病(AD)
  - ウ、豚繁殖・呼吸障害症候群(PRRS)
  - エ、豚丹毒
  - 才、豚流行性下痢(PED)
- (3) 野鳥(水きん類及びハト)(糞便)
  - ア、ニューカッスル病 (ND)

# Ⅱ シカの調査について

#### 1. 方法

# (1)検査材料の収集

昨年度調査と合わせて2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、今年度は23都道府県に各県25検体を上限とし収集を依頼した。ただし、北海道においては、シカの捕獲数(環境省データ)が多いこと、対象面積が広いことから、道内を振興局単位で分割し、シカの捕獲数が多く畜産業が盛んな振興局の管内からより多くの検体を集めることとした。昨年度と同様、大日本猟友会を通じて各県の猟友会に依頼し、8月下旬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。検査材料の収集にあたっては、昨年

度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、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℃で保存した。その後、結核病及びヨーネ病の糞便中抗原の検出並びにブルセラ病の血中抗体の検出を目的に、動衛研においてそれぞれ次の方法で検査を行った。

#### ア、結核病

結核病に対する抗原検査は、糞便を材料とした培養検査を行い、分離コロニーについて遺伝子検査により結核菌群の同定を行った。

#### イ、ヨーネ病

ョ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。遺伝子検出検査においては、牛ョ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、リアルタイム PCR により遺伝子の検出を行った(リアルタイム PCR 試薬は「GeneAce RL qPCR Mix」を使用。ターゲット遺伝子は IS900)。培養検査は、遺伝子検出検査で陽性となった検体について行った。

#### ウ、ブルセラ病

ブルセラ病に対する抗体検査は、牛ブルセラ病の抗体検査に準じて、急速凝集反応試験によりスクリーニングを行い、スクリーニング陽性検体について補体結合反応(CF)試験により確認を行った。なお、スクリーニングにおいては、抗原:血清=1:1で凝集が±判定以上を示した検体について、抗原:血清=2:1で再度試験を行い、凝集を示す検体をスクリーニング陽性とした。

## (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) 検査されたシカの概要

平成29年度は409頭のシカから採材を行い、そのうち、糞便又は血液検体の得られなかったものを除くと、結核病及びヨーネ病の検査に用いた検査材料(糞便)は406検体、ブルセラ病の検査に用いた検査材料(血液)は、407検体であった。検体数県別の採材頭数及び検体数の内訳を表1に示した。

採材頭数は、平成 28 年の 473 頭と合わせて、合計 882 頭となった。この882頭につ 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月及び11月 で約6割が採材されていた 【図2】。8~9月に採取され た検体は、有害駆除など狩猟 以外の名目で捕獲された個体 と考えられた。捕獲から検体 の採取までの日数について は、検体のうちほぼ全て(876 検体)が、1日以内であった。 採材されたシカの性別は、 535 頭 (60.7%) がオス、340 頭(38.5%)がメス、7頭は不 明であった。捕獲方法の内訳

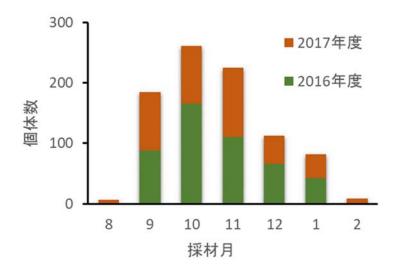
は、猟銃が約5割、くくりわなが約4割、箱わなが約1割であった【図3】。捕獲方法は、

【表1】シカ採材頭数及び検体数の概要

		28年度		29年度				
県名	採材頭数			採材頭数				
	休何與奴	糞便検体数	血液検体数	休例與奴	糞便検体数	血液検体数		
北海道	43	43	42	49	49	49		
青森県	4	4	4	0	0	0		
岩手県	25	25	25	0	0	0		
宮城県	0	0	0	25	25	25		
秋田県	0	0	0	1	1	1		
栃木県	17	13	17	0	0	0		
群馬県	0	0	0	25	25	25		
埼玉県	0	0	0	23	23	23		
千葉県	0	0	0	22	22	22		
神奈川県	24	24	24	0	0	0		
新潟県	0	0	0	6	6	6		
富山県	6	6	6	0	0	0		
石川県	0	0	0	10	8	8		
山梨県	25	25	25	0	0	0		
長野県	25	25	24	0	0	0		
岐阜県	0	0	0	25	25	25		
静岡県	0	0	0	25	25	25		
愛知県	0	0	0	24	24	24		
三重県	25	25	25	0	0	0		
滋賀県	20	20	20	0	0	0		
京都府	0	0	0	19	19	19		
大阪府	25	25	25	0	0	0		
兵庫県	25	25	25	0	0	0		
和歌山県	23	23	23	0	0	0		
鳥取県	0	0	0	16	16	16		
島根県	25	25	25	0	0	0		
岡山県	0	0	0	24	24	24		
広島県	25	25	25	0	0	0		
山口県	0	0	0	22	22	22		
徳島県	16	16	15	0	0	0		
香川県	0	0	0	25	24	25		
愛媛県	25	25	25	0	0	0		
高知県	25	25	23	0	0	0		
福岡県	20	20	20	0	0	0		
長崎県	25	25	25	0	0	0		
熊本県	0	0	0	18	18	18		
大分県	0	0	0	25	25	25		
宮崎県	25	25	25	0	0	0		
鹿児島県	0	0	0	25	25	25		
合計	473	469	468	409	406	407		

猟期との関係から捕獲された月によって異なり、 $8\sim10$  月には罠による捕獲が多く、11 月以降は猟銃による捕獲が増加した【図4】。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 3.97 歳、メスの平均が 2.72 歳 とメスで有意に低かった(Wilcox test による P 値:<0.001)【図 5 】。推定体重については、オスの 平均が 59.4 kg、メスの平均が 41.4 kgとメスで有意に低かった(Wilcox test による P 値:<0.001) 【図 6 】。ただし、捕獲されたシカの年齢及び体重は、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。

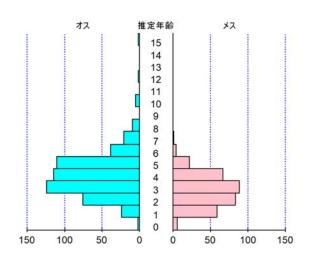


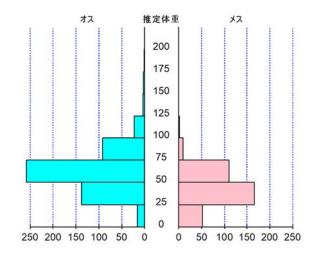
【図2】シカ検体の採材



【図3】シカ捕獲方法

【図4】採材月別のシカ捕獲方法

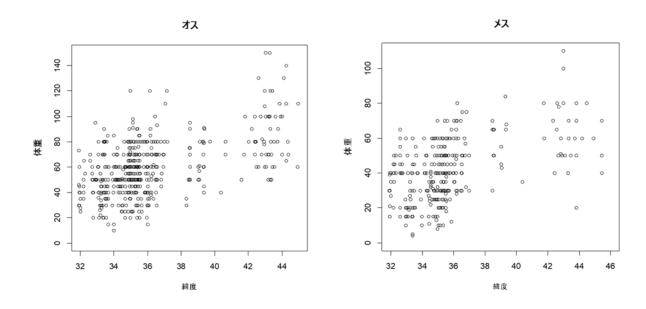




【図5】シカの性別と推定年齢

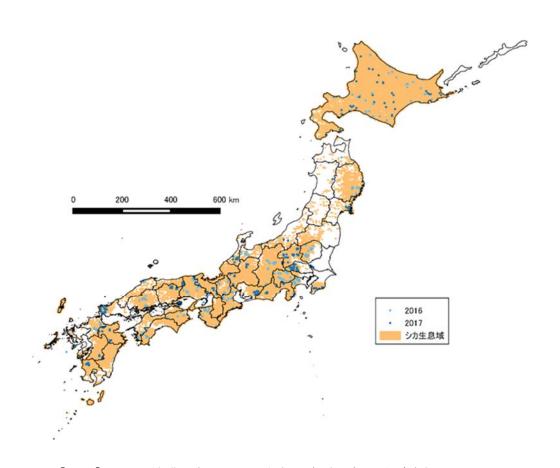
【図6】シカの性別と推定体重

恒温動物は寒冷地域に生息する個体ほど体重が大きくなると考えられている(ベルクマンの法則) ことから、シカが捕獲された地点の緯度と推定体重の関係を検討した。推定体重を従属変数、捕獲地 点の緯度、性別、捕獲方法、捕獲月を説明変数とする多変量モデルで検討したところ、緯度と性別が 有意であることが示され、捕獲されたシカの体重は緯度の高い場所で捕獲された個体ほど増大する と考えられた【図7】。

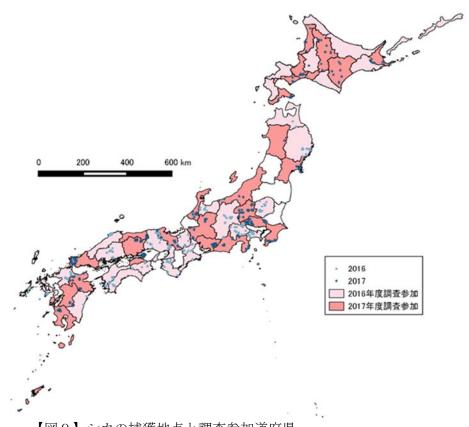


【図7】シカ雌雄別の捕獲地点緯度と推定体重

調査票から得られたシカの捕獲地点をプロットした地図を図8及び図9に示した。図8では、環境省のデータに基づく、シカの国内生息地域と捕獲地との関係を示しており、全国のシカの生息地から幅広く採材されていることが分かる。図9では、昨年度及び今年度の調査対象地域と捕獲地点の関係を示している。今年度、調査対象とした23都道府県のうち、福島県、茨城県、福井県及び奈良県の4県では検体が収集されなかったため、実際に調査を行ったのは19道府県となっている。



【図8】シカの捕獲地点とシカの生息地域(平成26年度版)



【図9】シカの捕獲地点と調査参加道府県 \*北海道は振興局別

#### (2) 結核病の検査結果

昨年度採材した 469 検体については、培養検査の結果、55 検体から抗酸菌の発育を認めたものの、 結核菌群ではなかった。このことから、469 検体いずれも結核菌陰性と判定した。今年度採材した 406 検体については、培養検査中であり、今後、分離できたコロニーについて遺伝子検査により結核菌群 の同定を行う。

#### (3) ヨーネ病の検査結果

昨年度採材した 469 検体のうち、遺伝子検査 (スクリーニング) により陽性となった 6 検体について培養検査を行ったところ、いずれの検体においてもヨーネ菌は分離されなかった。このことから、469 検体いずれもヨーネ菌陰性と判定した。今年度採材した 406 検体については、遺伝子検査 (スクリーニング) により、9 検体が陽性となった。今後、これらの検体についてヨーネ菌であるかを確認するための培養検査を行う。

# (4) ブルセラ病の検査結果

ブルセラ病については、今年度と昨年度を合わせた875検体のすべてについて急速凝集反応陰性であった。

#### 3. 考察

ブルセラ病の急速凝集反応では、昨年度及び今年度のすべての検体が陰性であった。よって、今回 の調査では、ブルセラ病が日本のシカに浸潤していると考えられる結果は得られなかった。

結核病及びヨーネ病については、昨年度採材分については、すべて陰性であることを確認し、今年 度採材分については、引き続き検査を行っている。

#### Ⅲ イノシシの調査について

#### 1. 方法

#### (1) 検査材料の収集

平成 26-27 年度調査と同様、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、平成 26-27 年度調査で未調査であった 11 都府県を選定して調査を依頼した。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、ブルセラ病、AD、PRRS、豚丹毒及びPEDの血中抗体濃度を測定することを目的に、動衛研においてそれぞれ次の方法で検査を行った。

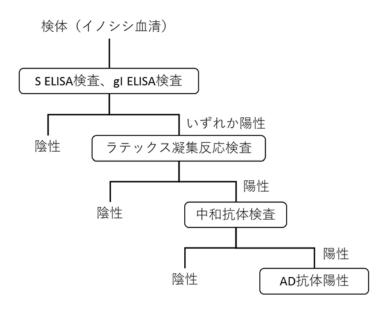
#### ア、ブルセラ病

ブルセラ病に対する抗体検査は、牛ブルセラ病の抗体検査に準じて、急速凝集反応試験によりスクリーニングを行い、スクリーニング陽性検体については補体結合反応(CF)試験により確認を行った。なお、スクリーニングにおいては、抗原:血清=1:1で凝集が±判定以上を示した検体について、抗原:血清=2:1で再度試験を行い、凝集を示す検体をスクリーニング陽性とした。

# イ、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 10】。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)および 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。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。

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 10】AD 検査の流れ

## ウ、PRRS

PRRS ウイルスの抗体検査には、IDEXX 社製の PRRS X3 エリーザキットを用いて検出した。

## 工、豚丹毒

豚丹毒の抗体検査は、菌の主要防御抗原である SpaA 蛋白に対する血中抗体を ELISA 法により検出した。本法はリコンビナント SpaA 蛋白を抗原としてプレートに固定化し、それに結合した血中の IgG 抗体を検出する。本法の特徴として、生菌発育凝集反応 (GA 法) 等の他の検査法に比べて非特異反応が極めて少ないため、本菌に対する感染防御抗体を的確に検出できる。

## 才、PED

PED ウイルスの抗体検査は、ELISA 検査及び中和抗体検査を用いて行った。最初に、全ての検体について、PED ウイルスに対する血中抗体を ELISA 法により検出した。本法は PED ウイルス感染細胞溶解物を抗原としてプレートに固定化し、それに結合した血中抗体を検出する。測定値の閾値については、実験感染豚血清及び野外血清を用いて暫定的に 0.4 と決定し、この値を超えたものを ELISA 陽性と判定した。ELISA で陽性になった検体及び ELISA 判定不能であった検体について、中和抗体検査を行い、中和抗体価が 10 倍以上のものを PED 抗体陽性と判定した。

## (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 析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  $\mathbf{R}$ 、採材地点に関する地理情報解析には  $\mathbf{QGIS}$  を用いた。

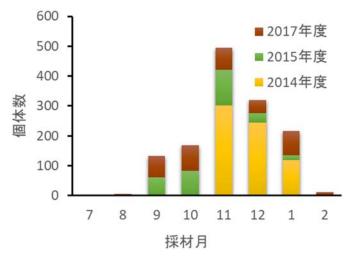
## 2. 結果

## (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 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、平成 26 年 度に集めたものが 698 検体、平成 27 年度に集めたも のが 312 検体、平成 29 年度に集めたものが 372 検体 で合計 1,382 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 11】。また、今年度は昨年度より早く調査が開始されたため、7月以降から検体の採取が開始されていた。捕獲から検体の採取までの日数については、これらの検体のうち96%(1,328 検体)で、捕獲から1日以内に採材されていた。

採材されたイノシシの性別は、772 頭(55.9%)がオス、579 頭(41.9%)がメス、不明が31 頭であった。採材時の捕獲方法は、くくりわな、箱わな、猟銃がそれぞれほぼ同じ割合であった【図12】。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、7~10 月には罠による捕獲が多く、11 月以降は猟銃による捕獲が増加した【図13】。イノシシの性別については、採材された月や捕獲方法による違いは認められなかった。



【図 11】イノシシ検体の採材月

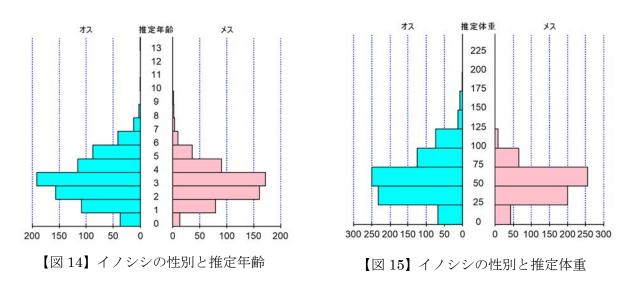
【表2】イノシシ検体数の概要

【表2】イノシン検体数の概要									
県名	26年度	27年度	29年度	合計					
宮城県	0	0	39	39					
福島県	0	0	32	32					
茨城県	0	0	40	40					
栃木県	0	2	29	31					
群馬県	0	45	0	45					
埼玉県	0	0	37	37					
千葉県	0	0	34	34					
神奈川県	0	0	36	36					
新潟県	25	0	0	25					
富山県	17	0	0	17					
石川県	0	0	34	34					
福井県	6	0	0	6					
山梨県	24	0	0	24					
長野県	16	0	0	16					
岐阜県	38	0	0	38					
静岡県	24	38	0	62					
愛知県	24	0	0	24					
三重県	27	49	0	76					
滋賀県	20	0	0	20					
京都府	16	0	0	16					
大阪府	0	0	50	50					
兵庫県	20	0	0	20					
奈良県	28	0	0	28					
和歌山県	17	0	0	17					
鳥取県	24	0	0	24					
島根県	21	43	0	64					
岡山県	19	50	0	69					
広島県	33	0	0	33					
山口県	25	0	0	25					
徳島県	26	35	0	61					
香川県	35	0	1	36					
愛媛県	15	0	0	15					
高知県	22	0	0	22					
福岡県	19	0	0	19					
佐賀県	23	0	0	23					
長崎県	25	50	0	75					
熊本県	0	0	40	40					
大分県	16	0	0	16					
宮崎県	29	0	0	29					
鹿児島県	36	0	0	36					
沖縄県	28	0	0	28					
合計	698	312	372	1,382					

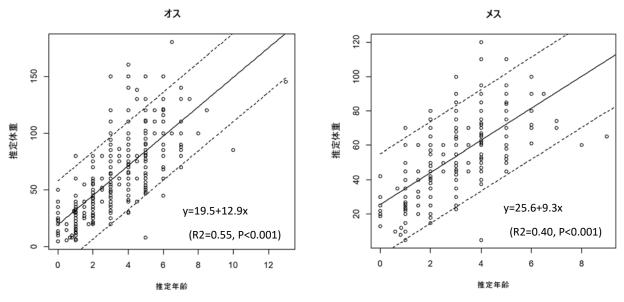


【図 12】イノシシ捕獲方法

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3.02歳、メスの平均が2.76歳で 有意に低かった (Wilcox test による P値: < 0.01) 【図 14】。また、推定体重を比較したところ、オ スの平均が 59.1 kg、メスの平均が 51.5 kgで有意に低かった (Wilcox test による P値: <0.001) 【図 15】。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。

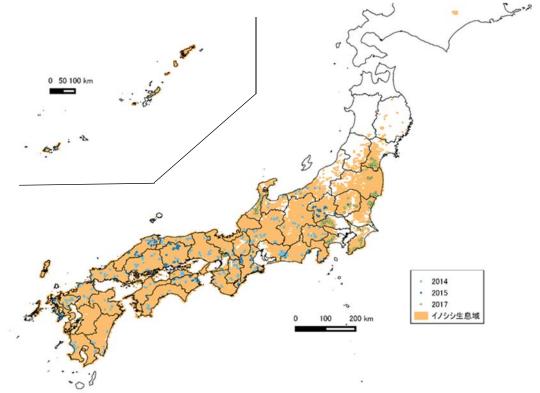


イノシシの体重は性別によって異なることに加え、成長するに応じて増大しており、一次回帰直線 で1歳あたりの増体量を推定したところ、オスで12.9 kg (95%信頼区間:12.1-13.8 kg)、メスで9.3 kg (8.4-10.3 kg) であった【図 16、図 17】。

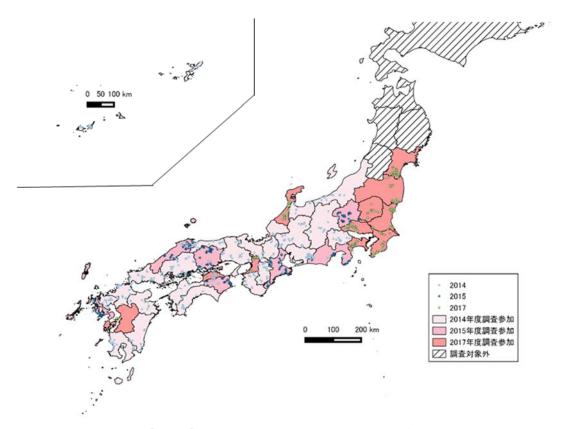


【図 16】イノシシ推定体重と推定年齢(オス) 【図 17】イノシシ推定体重と推定年齢(メス)

調査票から得られたイノシシの捕獲地の情報をプロットした地図を図 18 及び図 19 に示した。図 18 では、環境省のデータに基づく、イノシシの国内生息地域と捕獲地との関係を示しており、今年度までの調査において、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採材されている。図 19 では、今年度までの調査対象地域と捕獲地点の関係を示している。



【図 18】イノシシの捕獲地点とイノシシの生息地域(平成 26 年度版)



【図 19】イノシシの捕獲地点と調査参加道府県

#### (2) ブルセラ病の検査結果

ブルセラ病については、今年度採材した 372 検体について検査を行い、すべての検体について急速凝集反応陰性であった。

## (3) AD の検査結果

AD については、今年度採材した 372 検体について ELISA 検査(スクリーニング)を実施し、172 検体が S ELISA で陽性、3 検体が gI ELISA で陽性、うち 2 検体は S ELISA と gI ELISA の両方で 陽性であった。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行い、AD ウイルスの感染抗体であるかを確認する。

# (4) PRRS の検査結果

PRRS については、今年度採材した 372 検体について検査を行った結果、このうち 2 検体が ELISA 陽性となった。これにより、今年度までの全 1,382 検体中の陽性検体数は 10 検体(0.7%)となった【表 3 】。 1 県においてのみ 2 検体で陽性となったが、それ以外は県内で 1 検体のみの検出であること、陽性検体の ELISA 値が比較的低いこと(カットオフ値 0.4 に対し、0.48-0.82)から、これらの陽性反応は全て非特異的な反応であることが強く疑われた。

## (5) 豚丹毒の検査結果

豚丹毒については、今年度採材した 372 検体のうち、検体の状態などから 1 検体が検査対象外となり、また、平成 26-27 年度調査では 9 検体が検査対象外であったことから、今年度までの全 1,382 検体のうち、検査結果が得られたのは 1,372 検体となった。豚丹毒の SpaA 蛋白を抗原とする ELISA 検査を行った結果、今年度までに調査を行った 41 府県の全てで高い陽性率が認められ、平均陽性率は 0.956 (0.944-0.966) であった【表 4】。 3 府県(陽性率 0.806、0.813、0.857) の陽性率は、平均より有意に低かったが、他の県では有意な差は認められなかった。イノシシ間で豚丹毒が定着していることが疑われたことから、推定年齢と抗体陽性率との関係について検討したところ、年齢と陽性率との間に有意な関係は認められず【図 20】、かなり若齢の段階で高度に感染していると推定された。

# (6) PED の検査結果

PED については、今年度までの 1,382 検体の全てについて PED 抗体陰性であった。

【表 3】PRRS ELISA 検査結果

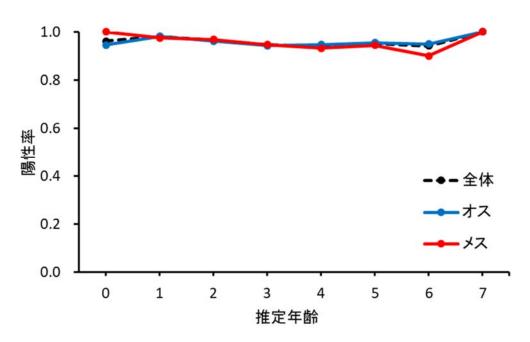
	検査数		50 Lt +	陽性率959	%信頼区間	平均との差の有意確率	
県名		陽性数	陽性率	下限	上限	P値	P<0.05
宮城県	39	0	0.000	0.000	0.090	1.000	
福島県	32	0	0.000	0.000	0.109	1.000	
茨城県	40	0	0.000	0.000	0.088	1.000	
栃木県	31	0	0.000	0.000	0.112	1.000	
群馬県	45	0	0.000	0.000	0.079	1.000	
埼玉県	37	0	0.000	0.000	0.095	1.000	
千葉県	34	0	0.000	0.000	0.103	1.000	
神奈川県	36	2	0.056	0.007	0.187	0.028	*
新潟県	25	0	0.000	0.000	0.137	1.000	
富山県	17	0	0.000	0.000	0.195	1.000	
石川県	34	0	0.000	0.000	0.103	1.000	
福井県	6	0	0.000	0.000	0.459	1.000	
山梨県	24	1	0.042	0.001	0.211	0.160	
長野県	16	0	0.000	0.000	0.206	1.000	
岐阜県	38	0	0.000	0.000	0.093	1.000	
静岡県	62	0	0.000	0.000	0.058	1.000	
愛知県	24	0	0.000	0.000	0.142	1.000	
三重県	76	1	0.013	0.000	0.071	0.424	
滋賀県	20	0	0.000	0.000	0.168	1.000	
京都府	16	0	0.000	0.000	0.206	1.000	
大阪府	50	0	0.000	0.000	0.071	1.000	
兵庫県	20	0	0.000	0.000	0.168	1.000	
奈良県	28	1	0.036	0.001	0.183	0.184	
和歌山県	17	1	0.059	0.001	0.287	0.116	
鳥取県	24	0	0.000	0.000	0.142	1.000	
島根県	64	0	0.000	0.000	0.056	1.000	
岡山県	69	0	0.000	0.000	0.052	1.000	
広島県	33	0	0.000	0.000	0.106	1.000	
山口県	25	0	0.000	0.000	0.137	1.000	
徳島県	61	0	0.000	0.000	0.059	1.000	
香川県	36	1	0.028	0.001	0.145	0.230	
愛媛県	15	0	0.000	0.000	0.218	1.000	
高知県	22	1	0.045	0.001	0.228	0.148	
福岡県	19	0	0.000	0.000	0.176	1.000	
佐賀県	23	1	0.043	0.001	0.219	0.154	
長崎県	75	1	0.013	0.000	0.072	0.420	
熊本県	40	0	0.000	0.000	0.088	1.000	
大分県	16	0	0.000	0.000	0.206	1.000	
宮崎県	29	0	0.000	0.000	0.119	1.000	
鹿児島県	36	0	0.000	0.000	0.097	1.000	
沖縄県	28	0	0.000	0.000	0.123	1.000	
合計	1,382	10	0.007	0.003	0.013		

<sup>※</sup>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。

【表4】豚丹毒 ELISA 検査結果

	検査数	陽性数	陽性率	陽性率959	%信頼区間	平均との差の有意確率	
県名				下限	上限	P値	P<0.05
宮城県	39	39	1.000	0.910	1.000	0.417	
福島県	32	31	0.969	0.838	0.999	1.000	
茨城県	40	40	1.000	0.912	1.000	0.421	
栃木県	31	25	0.806	0.625	0.925	0.002	*
群馬県	45	44	0.978	0.882	0.999	0.723	
埼玉県	37	35	0.946	0.818	0.993	0.677	
千葉県	34	32	0.941	0.803	0.993	0.660	
神奈川県	35	35	1.000	0.900	1.000	0.405	
新潟県	24	24	1.000	0.858	1.000	0.625	
富山県	17	16	0.941	0.713	0.999	0.532	
石川県	34	34	1.000	0.897	1.000	0.404	
福井県	6	6	1.000	0.541	1.000	1.000	
山梨県	23	22	0.957	0.781	0.999	1.000	
長野県	16	16	1.000	0.794	1.000	1.000	
岐阜県	37	34	0.919	0.781	0.983	0.219	
静岡県	62	60	0.968	0.888	0.996	1.000	
愛知県	23	23	1.000	0.852	1.000	0.624	
三重県	76	74	0.974	0.908	0.997	0.775	
滋賀県	20	19	0.950	0.751	0.999	0.591	
京都府	16	13	0.813	0.544	0.960	0.031	*
大阪府	50	48	0.960	0.863	0.995	1.000	
兵庫県	20	20	1.000	0.832	1.000	1.000	
奈良県	27	27	1.000	0.872	1.000	0.631	
和歌山県	16	15	0.938	0.698	0.998	0.511	
鳥取県	24	24	1.000	0.858	1.000	0.625	
島根県	63	58	0.921	0.824	0.974	0.201	
岡山県	69	68	0.986	0.922	1.000	0.374	
広島県	33	33	1.000	0.894	1.000	0.403	
山口県	25	23	0.920	0.740	0.990	0.299	
徳島県	61	60	0.984	0.912	1.000	0.525	
香川県	35	30	0.857	0.697	0.952	0.017	*
愛媛県	15	13	0.867	0.595	0.983	0.138	
高知県	22	21	0.955	0.772	0.999	1.000	
福岡県	19	17	0.895	0.669	0.987	0.201	
佐賀県	23	23	1.000	0.852	1.000	0.624	
長崎県	75	73	0.973	0.907	0.997	0.774	
熊本県	40	39	0.975	0.868	0.999	1.000	
大分県	16	16	1.000	0.794	1.000	1.000	
宮崎県	29	26	0.897	0.726	0.978	0.132	
鹿児島県	36	32	0.889	0.739	0.969	0.071	
沖縄県	27	24	0.889	0.708	0.976	0.112	
合計	1,372	1,312	0.956	0.944	0.966		

※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 20】イノシシ推定年齢と豚丹毒 ELISA 陽性率との関係

## 3. 考察

# (1) ブルセラ病について

ブルセラ病の急速凝集反応ではすべての検体が陰性であった。よって、本事業の結果からは、 ブルセラ病が日本のイノシシに浸潤していると考えられる結果は得られなかった。

# (2) AD について

27年度の調査では三重県、奈良県、和歌山県及び宮崎県の検体で陽性が認められたが、今年度 採材分については、検査継続中の2検体を除いて陰性であった。陽性検体の摘発状況に、地域的 な集中が認められたことから、今後、これらの地域を中心に監視を継続する必要があると考えら れた。

## (3) PRRS について

PRRS の ELISA 検査では、9 県の 10 検体が陽性になった。ELISA 検査では一定の割合で非特異反応が起こりうること、陽性検体が一地域に集中していないこと、陽性検体の S/P 値が比較的低かったことから、これらの反応は非特異反応によるものと考えられた。よって、本事業の結果からは PRRS が日本のイノシシに浸潤していると考えられる結果は得られなかった。

## (4) 豚丹毒について

豚丹毒について、主要な防御抗原である SpaA 蛋白に対する血中抗体を検出する ELISA 法を用いて検査を行った。その結果、41 府県の全てでほとんどの検体が陽性となり、全検体中の陽性率

は 0.96 となった。また、イノシシの推定年齢にかかわらず陽性率が高かったことから、かなり若齢の段階から、高い確率で豚丹毒に感染していると推定された。国内のイノシシにおける豚丹毒抗体の保有状況については、今田ら(J. Clin. Mic., 2003, 41(11), 5015-21)が 2 つの県から採取された 104 頭分の血清を検査し、ほとんど全ての検体が高い抗体価を有していたと報告している。一方、海外における報告は多くないが、スペインで 5%(Vicente et al., J. Wild. Dis, 2002, 38(3), 649-52)、イタリアで 15%(Boadella et al., Trans. Emerg. Dis., 2012, 59(5), 395-404)などと報告されており、日本における高い感染率の背景にある感染機序などについて、今後明らかにする必要がある。豚丹毒に感染したイノシシは、扁桃などに生涯にわたって菌を保有し、ストレスなどによって日和見的に排菌する可能性があることから、イノシシの生息地域にある養豚場では、イノシシからの感染防止を徹底する必要がある。

#### (5) PED について

PED の抗体検査ではすべての検体が陰性であった。よって、本事業の結果からは、PED が日本のイノシシに浸潤していると考えられる結果は得られなかった。

#### Ⅳ 野鳥(水きん類及びハト)の調査について

## 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、SPF 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)。水きん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 5 、6 】。なお、採取状況や天候によっては、必ずしも検体を採材できない場合もありうる。

# イ、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。

# (2) 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。

## 2. 成果

# (1) 成果の内容

ア、ハト糞便からの分離状況

2017 年 7 月から 2018 年 3 月までの期間中、全国 15 県から 86 検体が送付された【表 5 】。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

2017 年 10 月から 2018 年 2 月までの期間中、全国 16 県から 136 検体が送付された【表 6 】。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 5 】 野鳥におけるニューカッスル病ウイルス保有状況調査件数 (ハト)

				採材時期						
都道府県名	2017.7	2017.8	2017.9	2017.10	2017.11	2017.12	2018.1	2018.2	2018.3	計
茨城						3	3			6
栃木					3			3		6
群馬				3						3
埼玉			3					3		6
石川	3			3						6
福井		3					3			6
新潟			3					2		5
山梨					3			3		6
大阪						3		3		6
和歌山					3			3		6
岡山			3				3			6
香川						3			3	6
福岡						3		3		6
佐賀					3			3		6
鹿児島							3	3		6
計	3	3	9	6	12	12	12	26	3	86

【表6】野鳥におけるニューカッスル病ウイルス保有状況調査件数(水きん)

			採材時期				
	2017.10	2017.11	2017.12	2018.1	2018.2	2018.3	計
岩手		3	3	3			9
山形	3	1					4
福島	3	3		3			9
茨城			3	3	3		9
栃木	3		3		3		9
<b>千葉</b>	4	4		4			12
山梨		3	3		3		9
静岡		3	3	3			9
京都						3	3
大阪			3	3	3		9
和歌山			3		3		6
島根	3	3		3			9
山口			3	3			6
香川	3	3		3			9
福岡	3		3		3		9
宮﨑			5	5	5		15
計	22	23	32	33	23	3	136