家畜衛生週報
ANIMAL HYGIENE WEEKLY

No.3927　農林水産省消費･安全局 畜水産安全管理課、動物衛生課　2026. 11. 2

・ウクライナからの家きん肉等の輸入一時停止措置の解除について…… 337

・茨城県における豚熱の患畜の確認（国内108例目）及び
「農林水産省豚熱・アフリカ豚熱防疫対策本部」の持ち回り開催について…… 338

・第66回全国家畜保健衛生業績発表会演題（東京都）…… 339

☆ウクライナからの家きん肉等の輸入一時停止措置の解除について

（令和８年10月16日付けプレスリリース）

農林水産省は、今般、ウクライナにおける鳥インフルエンザの清浄性を確認したことから、本日、ウクライナからの家きん肉等の輸入一時停止措置を解除しました。

１．経緯

ウクライナの家きん飼養施設において、高病原性鳥インフルエンザの発生が確認されたことから、令和３年10月以降、同国からの家きん肉等について輸入を一時停止していました。

（参考）生きた家きんについては、二国間の輸入条件が設定されておらず、従前より輸入できません。

２．対応

今般、ウクライナ家畜衛生当局から我が国に提供された鳥インフルエンザの防疫措置等の情報により、同国の家きんにおける同病の清浄性を確認しました。このため、本日付で当該輸入一時停止措置（※）を解除しました。

※発生国又は地域から生きた家きん、家きん肉等、家きん卵等の輸入を停止するのは、我が国で飼養されている生きた家きんがウイルスに感染することを防止するためであり、食品衛生のためではありません。

（参考）ウクライナからの家きん肉等の輸入実績

	2019年	2020年	2021年
家きん肉（トン）	-	-	16
（日本の総輸入量）	（1,092,944）	（1,021,239）	（1,093,288）
家きんの卵（トン）	-	-	-
（日本の総輸入量）	（25,843）	（23,218）	（28,539）

出典：財務省「貿易統計」

これまでの家きん肉等の輸入一時停止措置の状況等については、次のページより確認いただけます。

動物検疫所：生きた家きん・家きん肉等の輸入を一時停止している国：動物検疫所

☆茨城県における豚熱の患畜の確認（国内108例目）及び「農林水産省豚熱・アフリカ豚熱防疫対策本部」の持ち回り開催について
（令和８年10月16日付けプレスリリース）

本日、茨城県かすみがうら市の養豚農場において家畜伝染病である豚熱の患畜が確認されたことを受け、農林水産省は「農林水産省豚熱・アフリカ豚熱防疫対策本部」を開催し、今後の対応方針について決定しました。

現場及び周辺地域にも本病のウイルスが存在する可能性があり、人や車両を介して本病のまん延を引き起こすおそれがあります。現場及び周辺地域での取材は、厳に慎むよう御協力をお願いいたします。

１．発生農場の概要

所 在 地：茨城県かすみがうら市
飼養状況：約2,800頭

２．経緯

（１） 令和８年10月15日（木曜日）、茨城県は、かすみがうら市の農場において異状が見られると通報があったため、当該農場に立ち入り、検査を実施しました。
（２） 茨城県の検査により豚熱の疑いが生じたため、農研機構動物衛生研究部門（注）で精密検査を実施したところ、10月16日（金曜日）、豚熱の患畜であることが判明しました。

（注）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：国内唯一の動物衛生に関する研究機関

３．今後の対応

「豚熱に関する特定家畜伝染病防疫指針」等に基づき、次の措置について万全を期します。
（１） 当該農場の飼養豚の殺処分及び焼埋却等の必要な防疫措置を迅速かつ的確に実施します。
（２） 感染経路等の究明のため、国の疫学調査チームを派遣します。
（３） 本病の早期発見及び早期通報の徹底を図ります。
（４） 関係府省と十分連携を図るとともに、生産者、消費者、流通業者等への正確な情報の提供に努めます。
（５） 農場の消毒や野生動物の農場への侵入防止等の飼養衛生管理基準の遵守に関する指導を徹底します。
（６） 飼養豚への適時・適切なワクチン接種を徹底します。

４．農林水産省豚熱・アフリカ豚熱防疫対策本部

日時：令和８年10月16日（金曜日）（持ち回り開催）

５．その他

（１） 豚熱は、豚、イノシシの病気であり、人に感染することはありません。
（２） 現場での取材は、本病のまん延を引き起こすおそれがあること、農家の方のプライバシーを害するおそれがあることなどから厳に慎むよう御協力をお願いいたします。
特に、ヘリコプターやドローンを使用しての取材は防疫作業の妨げとなるため、厳に慎むようお願いいたします。
（３） 今後とも、迅速で正確な情報提供に努めますので、生産者等の関係者や消費者は根拠のない噂などにより混乱することがないよう、御協力をお願いいたします。

☆第66回全国家畜保健衛生業績発表会演題（東京都）

簡易抽出法を用いた、高感度かつ多検体処理可能な牛伝染性リンパ腫遺伝子検査法の検討

○八町　慶史

緒言

牛伝染性リンパ腫（EBL）の原因病原体であるBovine leukemia virus（BLV）は、牛のＢ細胞に感染し、牛のゲノムDNAにランダムに組み込まれ（プロウイルス化）、生涯維持される。BLV感染牛からBLV陰性牛への伝播には水平伝播と直接伝播があり、主に水平伝播により農場内に感染が拡大するとみられている。なかでも、吸血アブによる機械的伝播を防ぐことが重要となるため[1-3]、農場内でBLV陽性牛を正確に把握し、BLV陽性牛を固めて配置し、BLV陰性牛と物理的な距離を置くことが効果的である[4-5]。

当所ではEBL清浄化対策に関心の高い農家向けにBLV検査を実施しており、BLV陰性牛に対しては定期的な抗体検査及び遺伝子検査によりBLV感染状況の把握に努めている。遺伝子検査は、国内メーカーから販売されている定量qPCR試薬が高価であることも鑑み、コストを低く抑えられる定性PCR検査のうち、env領域を標的としたnested PCR法[6]を実施しているが、nested PCR法は溶血処理→核酸抽出→1stPCR→2ndPCR→電気泳動と工程が多いため作業時間を要し、クロスコンタミネーションのリスクもある。また、PCR法を実施するにあたり、市販の抽出キットを用いて白血球よりDNAを抽出しているが、検体数が多くなるほど作業時間及びコストを要する。そこで、遺伝子検査を簡略化し作業効率を向上させることを目的としてnested PCR法をqPCR法に、市販キットを用いた核酸抽出法をアルカリ熱抽出法に変更し、検出感度は維持できるのか、作業時間及びコストを削減できるのかを検証した。

実験方法

1　PCR法の検討

既報[7]において高感度であると報告のあったpol領域を標的としたqPCR法（UK法）[8]を選択した。UK法のプライマー・プローブ配列は表１のとおり。

１）UK法のプライマー・プローブ配列とBLVゲノム配列の比較

GenBankに登録されているBLVゲノムのうち、日本で検出された451検体のpol領域の塩基配列を抽出し、UK法のプライマー・プローブ配列と同一の領域を検索した。方法は、MAFFT（version 7）にて塩基配列をマルチプルアライメントし、Jalviewにて配列の一致度を求めた。

また、都内に浸潤しているBLVゲノムと比較するため、当所でBLV陽性と判定した13頭からUK法のプライマー・プローブ配列と同一の領域をダイレクトシーケンスにより決定した。方法は、既報[9]のLP-4 gag-F/LP-4 pol-Rプライマーを用いてlong PCRを実施し、Fw 2152-2172 5'-AAATTTTAGTTGACACTTCCG- 3'/Rv 2678-266 5'- CGTCTATGAGGTTGGAGT- 3'（this study）プライマーを用いてPCR産物からシーケンスを実施し、UK法のプライマー・プローブ配列を含む塩基配列を決定した。MAFFT（version 7）にて塩基配列をマルチプルアライメントし、Jalviewにて配列を確認した。

表１　UK法のプライマー・プローブ配列

Fw, 2321–2340	5'-CCTCAATTCCCTTTAAACTA-3'
Rv, 2421–2440	5'-GTACCGGGAAGACTGGATTA-3' 5'-TAATCCAGTCTTCCCGGTAC-3'（逆向き相補鎖）
Probe, 2341–2360	5'-FAM-GAACGCCTCCAGGCCCTTCA-BHQ-3'

2）UK法とnested PCR法の検出感度の比較

材料は、BLVコピー数が既知のDNA4検体とした。方法は、各検体を16, 8, 4, 2, 1コピー/2μlに段階希釈し、UK法及びnested PCR法を実施した。PCR条件について、UK法はDNA2μlを鋳型として、Hot Start TTx（DNA）Kit（東洋紡）で50サイクルとし、nested PCR法はDNA2μlを鋳型とし、SapphireAmp® Fast PCR Master Mix（タカラバイオ）で、1stPCRを35サイクル、2ndPCRを35サイクルとした。試行回数は各コピー数を10回反復測定した。コピー数ごとに陽性数を求め、目的変数を陽性もしくは陰性、説明変数１をUK法もしくはnested PCR法、説明変数２をコピー数としてロジスティック回帰分析を実施した。また、コピー数ごとのCt値を明らかにした。

2　アルカリ熱抽出法とキット核酸抽出法（従来法）の検出限界の比較

材料は、BLV陽性牛24頭の全血を塩化アンモニウムで溶血処理した白血球とした。方法は、白血球を80μlのDWで懸濁し、アルカリ熱抽出法に16.2μl（20%）、従来法に63.8μl（80%）分注し、図１の手順で実施した。従来法ではQIAGEN DNeasy Blood & Tissue Kit（キアゲン社）を用いて核酸抽出した。仮に白血球数を10,000個とした場合、アルカリ熱抽出法では、終2,000個/20μl=100個/μlの白血球DNAからなる抽出液となり、従来法では、終8,000個/100μl=80個/μlの白血球DNAからなる抽出液となる。両抽出法から得た抽出液を鋳型にUK法を実施しCt値を求めた。対応のあるt検定を実施し両抽出法を比較するとともに、両抽出法のCt値の差（Δ Ct=アルカリ熱抽出法Ct-従来法Ct）を求め、Bland-Altman plotで示した。

3　作業時間及びコストの比較

今まで当所で実施していたnested PCR法と、UK法とアルカリ熱抽出法を組み合わせた改良法について、10検体実施する場合にかかる作業時間及びコストを求めた。

結果

1　PCR法の検討

1）UK法のプライマー・プローブ配列とBLVゲノム配列の比較

GenBankに登録されているBLVゲノムと、UK法のforward、probe、逆向き相補鎖のreverse配列の一致度は図２のとおりである。一致度が最も低い箇所はreverse配列５’側から19,20番目98.4%であった。

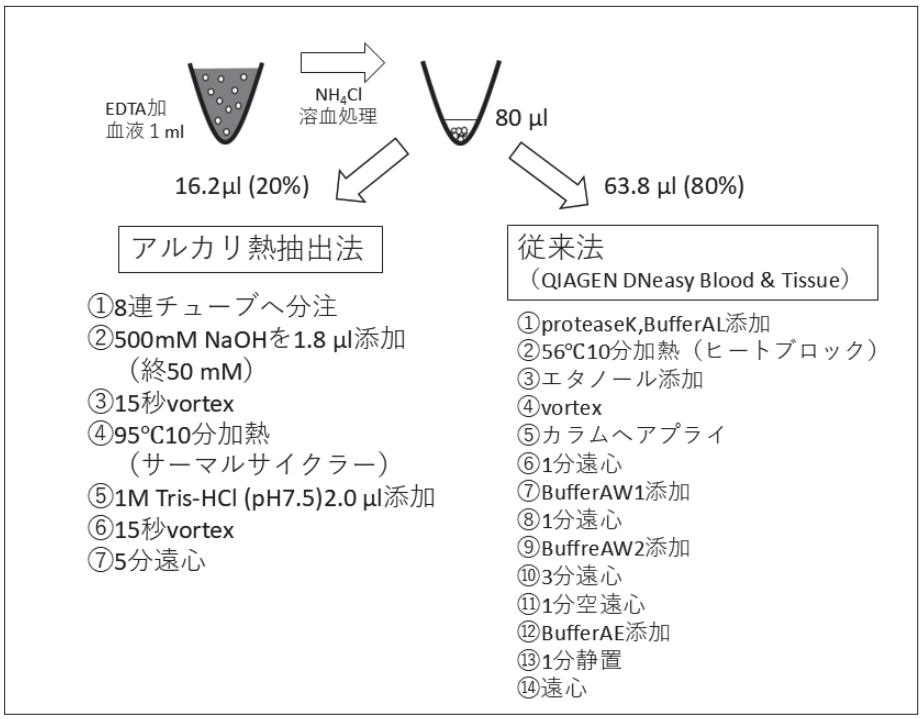


図１　アルカリ熱抽出法と従来法の作業工程

当所でBLV陽性と判定した13頭のBLVゲノムと、UK法のforward、probe、逆向き相補鎖のreverse配列の一致度は図３のとおりである。１頭でprobe配列５’側から２番目にA→Gを認めた。

２）UK法とnested PCR法の検出限界の比較

UK法におけるコピー数ごとのCt値及びUK法とnested PCR法のコピー数ごとの陽性数は表２のとおりである。ロジスティック回帰分析では、UK法はnested PCR法と比較してPCRの結果が陽性となるオッズに有意差を認めなかった（オッズ1.87、95%CI:0.52-6.75、p=0.34）。

２　アルカリ熱抽出法とキット核酸抽出法（従来法）の検出感度の比較

対応のあるt検定では、アルカリ熱抽出法と従来法のCt値に有意差は認めなかった（p=0.08）。Bland–Altman解析の結果、ΔCtの平均差（bias）は0.40であり、95%一致限界は −1.68～2.48であった（図４）。

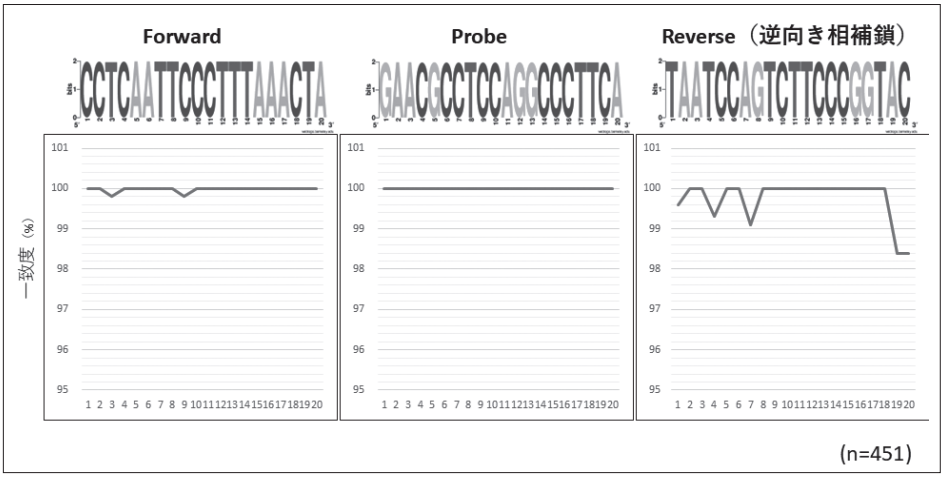


図２　GenBank登録配列との比較

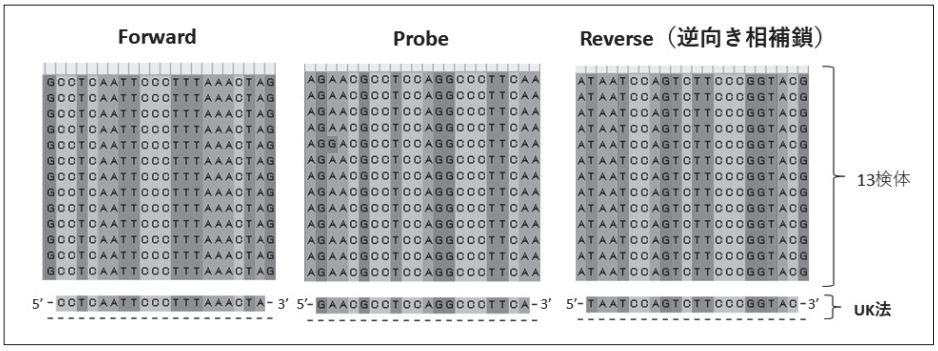


図３　BLV陽性検体との比較

表２　UK法とnested PCR法の検出限界の比較

	UK法		nested PCR法
	Ct値（平均±SD）	陽性数/試行数	陽性数/試行数
16コピー	36.71±0.81	**10/10**	**10/10**
8コピー	37.81±0.65	**9/10**	**10/10**
4コピー	38.84±0.95	**6/10**	**6/10**
2コピー	40.03±1.79	**5/10**	**1/10**

3　作業時間及びコストの比較

結果は図５のとおりである。作業時間について、nested PCR法では溶血処理後、核酸抽出、1stPCR、2ndPCR、電気泳動を実施し240分程度要し、改良法では溶血処理後、アルカリ熱抽出、qPCRを実施し110分程度要した。コストについて、nested PCR法では１検体当たり700円程度要し、改良法では１検体当たり135円程度要した。

考察

GenBankに登録されているBLVゲノムと、UK法のプライマー・プローブ配列の一致度は全体的に高く、両者の配列はほぼ同等であったと判断できる。また、逆向き相補鎖のreverse配列５’側から19番目に６％の割合でミスマッチは認めたが、これは元のreverse配列に直すと、５’側から２番目のミスマッチなる。５’側のミスマッチは比較的許容されるため、今回認めたミスマッチがPCRの感度に与える影響は低いと考えられる。当所でBLV陽性と判定した13頭のBLVゲノムと、UK法のプライマー・プローブ配列の一致度はほぼ100％で、両者の配列はほぼ同等であったと判断できる。プローブはミスマッチが増えるほどにTm値が低下し検出感度は低下するが、今回プローブ内に認めたミスマッチは１か所のみで、PCRの感度に与える影響は低いと考えられる。

UK法とnested PCR法の検出限界の比較では、コピー数ごとの陽性数はほぼ同等の結果となり、ロジスティック回帰分析では有意差は認めなかったため、同等の検出感度であることが示唆された。

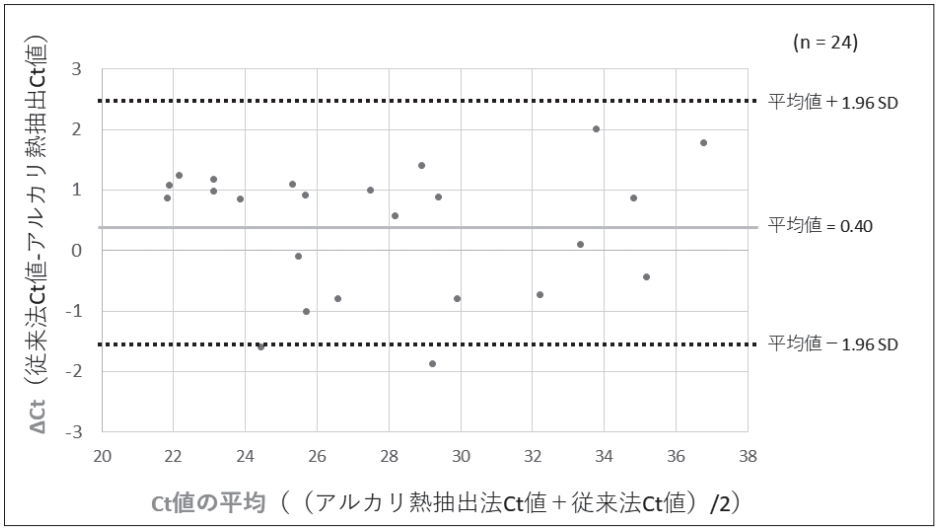


図４　Bland-Altman plot

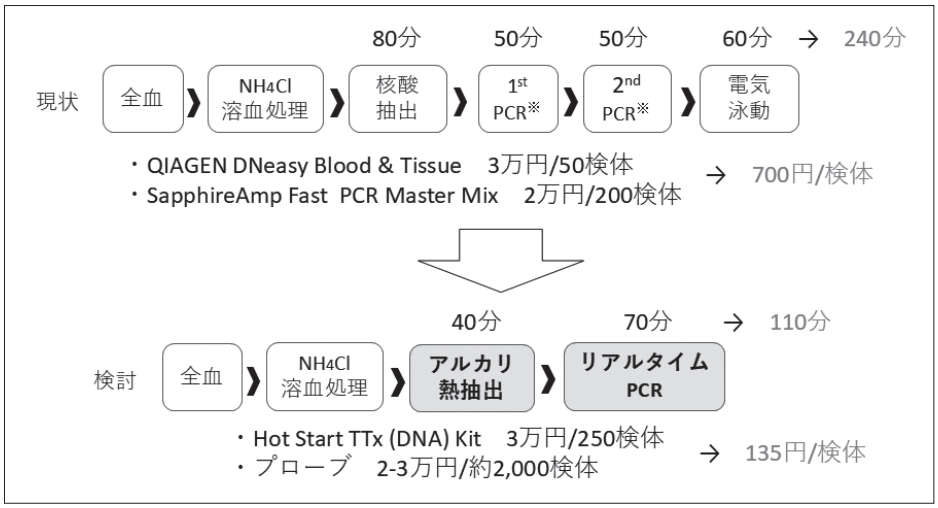


図５　作業時間とコストの比較

アルカリ熱抽出法と従来法の検出感度の比較では、対応のあるｔ検定及びBland-Altman解析によって有意差や系統的な誤差を認めず、両抽出法で概ね良好な一致を示した。アルカリ熱抽出法でも高水準の検出感度は維持された理由として、既報[10-13]のアルカリ熱抽出法ではサンプルが10倍程度希釈される量の25-50mM NaOHを添加していたが、今回500mM NaOHを少量使用することに変更しサンプルの希釈を1.25倍程度に抑えたことが、検出感度の向上に寄与したと考えられる。

作業時間及びコストの比較では、作業時間は240分から110分に短縮された。これはnested PCR法からqPCR法に切り替えたことで、PCR反応が１回で済むこと、電気泳動が不要であることに加え、アルカリ熱抽出は従来法よりも作業工程が少ないことが要因と考えられる。また、今回検証したアルカリ熱抽出法は既報と一部工程を変更しており、既報では1.5mlチューブに一定量のNaOHを加え、ヒートブロックで加熱をするが、今回検証したアルカリ熱抽出法では、８連チューブに高濃度少量のNaOHを加え、サーマルサイクラーで加熱をした。このことにより８連ピペットを使用し多検体処理することが容易になり、作業効率が向上したことが要因と考えられる。コストは１検体あたり700円から135円に削減した。これは、市販の核酸抽出キットが不要となったことが要因と考えられる。

まとめ

BLV遺伝子検査の作業効率向上を目的としてnested PCR法をUK法によるqPCR法に変更するため、UK法のプライマー・プローブ配列とBLVゲノム配列を比較し、ほぼ同等であることを確認した。また、nested PCR法とUK法の検出限界を比較し、有意差は認めなかった。次に、市販キットを用いた核酸抽出法（従来法）をアルカリ熱抽出法に変更するため検出感度を比較し、有意差は認めず、ΔCtの平均差は0.4であった。以上より、nested PCR法をUK法に、従来法をアルカリ熱抽出法に変更しても、従来の定性PCR法と同程度の検出感度は維持できると判断した。また、作業時間及びコストも大幅に削減でき、日々の検査業務の負担軽減に大きく寄与する可能性が示唆された。今後は、本法を用いてEBL対策のための検査を実施するとともに、UK法とアルカリ熱抽出法を組み合わせた場合の検出限界を明らかにしていく。

引用文献

１）村上賢二：EBLの病因と感染伝播様式，畜産技術，6（2017）

２）Bech-Nielsen S, Piper CE, Ferrer JF：Natural mode of transmission of the bovine leukemia virus: role of bloodsucking insects, American journal of veterinary research, 39, 1089-1092（1978）

３）農林水産省：牛白血病に関する衛生対策ガイドライン，（2015）

４）松田敬一，佐藤真由美，大橋さやか，遠藤祥子，村松良永，小井田有美，鈴木一教松田敬一ら：臨床現場での牛白血病清浄化対策と問題点，家畜感染症学会誌，7（2018）

５）芳賀 聡：放牧地における牛伝染性リンパ腫 ウイルス（BLV）感染拡大を防ぐ，畜産技術，9（2022）

６）Fechner H, Blankenstein P, Looman AC, Elwert, Geue L, Albrecht C, Kurg A, Beier D, Marquardt O, Ebner D：Provirus variants of the bovine leukemia virus and their relation to the serological status of naturally infected cattle, Virology, 237, 261h269（1997）

７）J. P. Jaworski, A. Pluta, M. Rola-Łuszczak, S. L. McGowan, C. Finnegan, K. Heenemann, H. A. Carignano, I. Alvarez, K. Murakami, L. Willems, T. W. Vahlenkamp, K. G. Trono, B. Choudhury, J. Kuzmakc：Interlaboratory Comparison of Six Real-Time PCR Assays for Detection of Bovine Leukemia Virus Proviral DNA, Journal of Clinical Microbiology, 56（７）, e00304-18（2018）

８）Rola-Łuszczak M, Finnegan C, Olech M, Choudhury B, Kuzmak J：Development of an improved real time PCR for the detection of bovine leukaemia provirus nucleic acid and its use in the clarification of inconclusive serological test results, Journal of Virological

Methods, 189, 258 –264（2013）
9）Meripet Polat Yamanaka, Susumu Saito, Yukiko Hara, Ryosuke Matsuura, Shin-nosuke Takeshima, Kazuyoshi Hosomichi, Yasunobu Matsumoto, Rika A. Furuta, Masami Takei, Yoko Aida : No evidence of bovine leukemia virus proviral DNA and antibodies in human specimens from Japan, Retrovirology, 19（7）,（2022）
10）羽入さち子，佐藤圭介，小野里洋行，桐生直哉，福留静，會田恒彦，樋口良平：簡便に多検体処理が可能な 牛伝染性リンパ腫ウイルス比較定量方法の検討，令和２年度新潟県家畜保健衛生業績発表会
11）大竹祥紘，米山州二，中村真弓，井上恭一：牛白血病ウイルス遺伝子検査における DNA 抽出法の比較検証，平成29年度家畜衛生研究部年報
12）吉田加寿子，柳沼幸，伊藤岩夫：PCR 法による食品中の腸管出血性大腸菌 O157 の VT 遺伝子検出の基礎的検討，福島県衛生研究所年報 No.25,（2007）
13）東洋紡社（株），KOD One® PCR Master Mix 取扱説明書

通　信

約２年ぶりに国内でランピースキン病の発生が確認されました。本病については、７月に改正家畜伝染病予防法が施行され、家畜伝染病に格上げされたところであり、恒久的に殺処分や移動制限等の措置が法的根拠をもって行えるようになりました。今回も、同法に基づき、疑似患畜の殺処分や移動制限等が行われています。ただし、こうした措置が可能となれば、必ずまん延が防げるわけではありません。想定通りの結果となるかは、異状を早く検知し、措置が早く開始され、円滑に進められるかもポイントです。これまでの他疾病の疫学調査では、農場内ルールを作っていたものの、一部の関係者の理解不足等により実際に十分機能していないと考えられる事例も認められていますが、当然、ルールと実際の現場の行動がマッチして初めて十分な効果を生みます。

これまでのさまざまな経験の蓄積により、関係者の対応能力は着実に向上していると感じられます。しかしながら、役割分担の変化や外国人技能実習生等の活用拡大など、現場環境は変化を続けています。こうした状況を踏まえ、関係者の対応レベルの高位平準化を一層進め、ルールをうまく生かしていく観点も重要であると考えられます。

毎週月曜日発行

家　畜　衛　生　週　報

編集・発行：農林水産省消費・安全局
畜水産安全管理課、動物衛生課
☎03（3502）8111　内線 4581
〒100－8950　東京都千代田区霞が関１－２－１