

【短 報】 野生動物

宗谷管内におけるエゾシカの病原体保有状況調査

藤吉 聡^{1)*} 尾宇江康啓¹⁾

1) 北海道宗谷家畜保健衛生所 (〒098-5738 枝幸郡浜頓別町緑ヶ丘8-3)

*現所属: JA全農ET研究所

要 約

宗谷管内では放牧酪農を実施する農場が多くある一方で、エゾシカによる畜産被害は増加傾向にあり、放牧酪農への影響を確認するため、エゾシカの病原体の保有状況調査を実施した。エゾシカ93頭から鼻汁90検体、糞便34検体、血清47検体を採取した。細菌学的検査として呼吸器病原細菌、マイコプラズマとサルモネラの分離およびヨーネ菌のリアルタイムポリメラーゼ連鎖反応 (polymerase chain reaction: PCR) を実施した。寄生虫学的検査として内部寄生虫卵の検出を実施した。ウイルス学的検査としてウイルス分離と、牛疾病に關与するウイルスについてPCRによるウイルス遺伝子検索と血清抗体検査を実施した。細菌学的検査はすべて陰性であった。寄生虫学的検査では線虫卵、コクシジウムオーシスト、肝蛭卵を確認した。ウイルス学的検査ではウイルス分離とPCRでは陰性であったが、血清抗体は牛RSウイルス、牛パラインフルエンザウイルス3型、牛コロナウイルス、牛トロウイルス、アカバネ病ウイルスが陽性であった。本調査では牛とエゾシカとの伝播状況は明らかにすることはできなかったが、内部寄生虫卵、一部ウイルス抗体を検出していることから、今後も定期的な調査と、農場での侵入防止対策の継続が重要であると考えられた。

キーワード: エゾシカ、放牧酪農、病原体保有状況調査

-----北獣会誌 61, 144~147 (2017)

北海道におけるエゾシカの推定生息状況は、平成12年に34万頭であったが、年々生息数を増やし平成22年には66万頭と10年間で約2倍に増加した。平成22年~26年は北海道庁がエゾシカの緊急対策期間と設定し、捕獲数を増加するなどの対策を講じ、平成27年には47万頭まで減少したが、平成12年と比べ依然生息数は多い状況である (図1)。

平成27年度の野生鳥獣 (海獣類を除く) による農林水産業被害状況は約46.7億円であり^[1]、その約80%がエゾシカによると推測されている。畜産に關係する作物被害では、牧草が52.8%、デントコーンが4.8%、飼料・配合飼料・サイレージが2.7%であり、約60%が酪農など畜産關係への被害となっている (図2)。また、牧草や飼料・配合飼料・サイレージが被害に含まれていることから、エゾシカが農場内に侵入している状況が推察さ

れる。

宗谷管内 (以下: 管内) においてもエゾシカによる農林業被害額は、平成3年の100万円から平成27年には2,500万円と増加しており、管内においてもエゾシカの

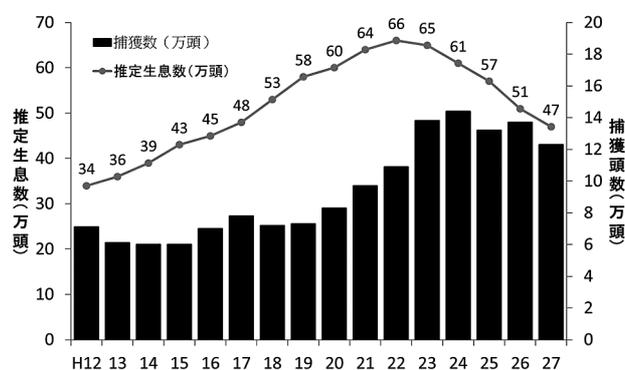


図1. 北海道でのエゾシカの生息状況

連絡担当者: 尾宇江康啓 北海道宗谷家畜保健衛生所

〒098-5738 枝幸郡浜頓別町緑ヶ丘8-3

TEL: 01634-2-2106 FAX: 01634-2-4340 E-mail: one.yasuhiro@pref.hokkaido.lg.jp

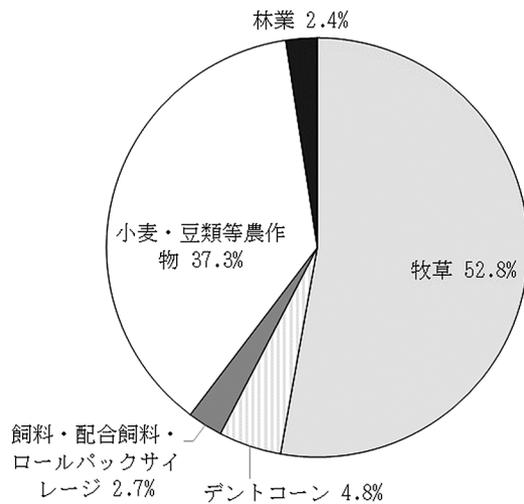


図2. エゾシカの農林業被害内訳 (平成27年)

生息数は増加傾向にあり、また、管内には放牧酪農を実施する農場が多くあるため、管内の牛はエゾシカに接する可能性が十分高い状況にあることが伺われる。

さらに、平成17～19年に釧路管内で捕獲されたエゾシカの病原体保有状況調査^[2]はなされているものの、管内のエゾシカが牛に病原性を有する病原体を保有しているかを調査した報告は確認できず、管内において牛とエゾシカとの間で病原体の伝染が起きているかが不明な状況である。また、エゾシカの病原体保有状況を知ることが農場での病原体侵入防止対策を講じる上で重要な情報であると考えられる。そこで、管内におけるエゾシカにおいて牛に伝染する病原体の保有状況調査を行ったので、その概要を報告する。

材料および方法

1. 材料

平成28年4月～8月に管内で狩猟により殺処分されたエゾシカ93頭から鼻腔スワブ90検体、糞便34検体、血清47検体を採材した。

2. 細菌学的検査

(1) 呼吸器病原細菌検査

鼻腔スワブ90検体について羊血液寒天培地とDHL寒天培地（日水製薬、東京）を用いて、35℃で1～2日間5%CO₂存在下で培養した。有意菌が分離された場合はアピストレップ20（シスメックス・ビオメリュー、東京）等の同定キットにより菌種を決定した。

(2) マイコプラズマ検査

鼻腔スワブ90検体についてハイフリック液体培地を用いて37℃で7日間培養後、培地の色調変化を認めた検体についてはハイフリック平板培地に液体培地を接種し、

37℃で7日間培養を実施した。平板培地上でマイコプラズマに特徴的なコロニーを認めた検体については、コロニーからDNAを抽出後、16Sリボソームの遺伝子解析を実施し、菌種を決定した。

(3) サルモネラ検査

糞便34検体について緩衝ペプトン水で37℃、1日間増菌を実施し、ハーナ・テトラチオン酸塩培地（栄研化学、東京）で37℃、1日間増菌を実施後、白糖加SS寒天培地（日水製薬、東京）およびESサルモネラ寒天培地Ⅱ（栄研化学、東京）で1日間培養を実施した。

(4) ヨーネ菌遺伝子検査

糞便34検体からヨースピンver2（ファスマック、神奈川）を用いてDNAを抽出し、ヨージェン・KS（共立製薬、東京）を用いてリアルタイムポリメラーゼ連鎖反応（polymerase chain reaction：PCR）を実施した。

3. 寄生虫学的検査

糞便32検体についてウイスコンシン法変法および沈殿法を実施し、内部寄生虫卵の検出を実施した。

4. ウイルス学的検査

(1) ウイルス分離

鼻腔スワブ90検体、糞便34検体、血清47検体についてMDBK細胞、Vero細胞、HmLu1細胞、HRT18G細胞、HRT18愛知細胞を用いて35℃で5日間、5%CO₂存在下の培養を2代目まで実施した。培養細胞については、IBRV、BRSV、BPIV3の中和試験にはMDBK細胞、BVDV1型および2型の中和試験にはMDBK-SY細胞、BCoVの中和試験にはHRT18G細胞、BToVの中和試験にはHRT18愛知細胞、AKVの中和試験にはHmLu1細胞を用いた。

(2) ウイルス遺伝子検査

鼻腔スワブ90検体、糞便34検体、血清47検体からDNAおよびRNAを抽出し、DNAについては、牛伝染性鼻気管炎ウイルス（IBRV）（鼻汁）^[3]、牛アデノウイルス（BAV）（鼻汁・糞便）^[4]、牛白血病ウイルス（BLV）（鼻汁・血清）^[5]のPCR法を実施した。RNAについては、ペスチウイルス（鼻汁・血清）^[6]、牛RSウイルス（BRSV）（鼻汁）^[7]、牛パラインフルエンザウイルス3型（BPIV3）（鼻汁）^[8]、牛コロナウイルス（BCoV）（鼻汁・糞便）^[9]、牛トロウイルス（BToV）（鼻汁・糞便）^[10]、シンプ群ウイルス（SimV）（鼻汁・血清）^[11]のRT-PCR法を実施した。

(3) ウイルス抗体検査

IBRV、牛ウイルス性下痢ウイルス（BVDV）1型および2型、BRSV、BPIV3、BCoV、BToV、アカバネ病

ウイルス（AKV）を抗原とした中和試験を実施した。中和試験はマイクロプレート法により、血清を56℃で30分間非働化後2倍階段希釈し、各希釈液0.05 mlに200 TCID₅₀に調整した各ウイルス液を等量加えて35℃で1時間感作（IBRVのみ18時間感作）後、培養細胞を各ウェルに0.1 ml加え、5%炭酸ガス存在下で35℃5日間培養して細胞変性効果（CPE）の出現を観察した。CPEを抑制した血清の最高希釈倍数の逆数を中和抗体価とし、中和抗体価2倍以上（IBRVのみ1倍以上）を抗体陽性とした。

BLVは牛白血病抗体アッセイキット（日生研、東京）を用いて抗体検査を実施した。

結 果

1. 細菌学的検査

(1) 呼吸器病原因細菌検査

2検体から *Streptococcus equinus*、1検体から *Streptococcus* 属菌を分離したが、牛の呼吸器病起因細菌は分離されなかった。

(2) マイコプラズマ検査

1検体から *Acholeplasma laidlawii* を分離したが、牛の呼吸器病起因となるマイコプラズマは分離されなかった。

(3) サルモネラ検査

サルモネラ分離は全検体陰性であった。

(4) ヨーネ菌遺伝子検査

ヨーネ菌のリアルタイムPCRは全検体陰性であった。

2. 寄生虫学的検査

25検体（78.1%）から線虫卵、9検体（28.1%）からコクシジウムオーシスト、12検体（37.5%）から肝蛭卵が検出された。

3. ウイルス学的検査

(1) ウイルス分離

ウイルス分離は全検体陰性であった。

(2) ウイルス遺伝子検索

各ウイルス遺伝子の検出は全検体陰性であった。

(3) ウイルス抗体検査

IBRV、BVDV 1型および2型、BLVは全検体陰性であった。BRSV、BPIV3、BCoV、BToV、AKVはそれぞれ9、6、1、38、15検体が抗体陽性で、幾何平均抗体価はそれぞれ1.40倍、1.13倍、1.03倍、19.38倍、1.45倍であった（表1）。

考察とまとめ

今回の調査ではヨーネ菌やサルモネラなど監視伝染病に係る病原体は検出されなかった。

寄生虫学的検査では、一般線虫卵、コクシジウムオーシスト、肝蛭卵が検出された。今回検出した一般線虫卵は、牛から検出される一般線虫卵と形態に差異はなく、エゾシカから牛へ伝播する可能性も考えられた。一方で、今回検出したコクシジウムオーシストは、牛に対し病原性のある *Eimeria zuernii* や *Eimeria bovis* と形態が異なったことから牛への影響は少ないものと考えられた。また、肝蛭卵の陽性率は37.5%であったが、過去に報告がある平成24年の十勝地方14.2%^[12]、日高地方9.5%^[13]に比べると高い陽性率であった。牛では、平成28年4月～9月までにニチロ畜産名寄工場と畜された生後12カ月齢以上の肉専用種および去勢雄以外の牛での肝蛭陽性率は、宗谷管内で2.6%、その他の地域で0.6%と、管内の牛において高い陽性率となっていた。このことからエゾシカにおいても牛においても肝蛭伝播の可能性は他地域より高いと考えられ、肝蛭の感染様式から、感染リスクの高い沢地をもつ放牧地では、沢地の草や沢地で収穫された草を牛に食べさせないように注意が必要であると考えられた。

ウイルス学的検査では、BRSV、BPIV3、BCoV、BToV、AKVは抗体が検出されたものの、これらのウイルス自体がエゾシカに感染していたのか、これらウイルスと抗原的に交差する別のウイルスがエゾシカに感染していたのかはウイルス分離が陰性であったため不明であった。BToVの抗体陽性率および幾何平均抗体価が高値を示したが、トロウイルス属のウイルスは宿主特異性が高いこ

表1. ウイルス抗体検査成績

	抗体価（検体数）										陽性率	幾何平均抗体価
	< 2	2	4	8	16	32	64	128	256 ≤			
BRSV	38	2	1	5	1	0	0	0	0	0	19%	1.40
BPIV3	41	4	2	0	0	0	0	0	0	0	13%	1.13
BCoV	46	0	1	0	0	0	0	0	0	0	2%	1.03
BToV	9	1	6	2	5	6	8	5	5	5	81%	19.38

とから、エゾシカ群内にBToVが浸潤しているというより、シカ属に特異的に感染する未知のトロウイルスがエゾシカ群内に浸潤している可能性が考えられた。AKVは牛において流産や異常産を起こすウイルスであり、平成22～23年に北海道を含む北日本で発生し、それ以降は北日本での発生はしていない。今回AKV抗体が検出されたが、AKVと抗原的に交差する異なるウイルスの抗体を検出したものと考えられた。

今回の調査からは、管内における農場での防疫上重要な病原体がエゾシカから牛へ伝播している事実は確認できなかった。しかし、ウイルスの特定はできなかったもののウイルス抗体や寄生虫卵やオーシストがエゾシカから検出されたこと、また、海外でアフリカ豚コレラや狂犬病が野生動物に侵入した事例の様に、病原体が野生動物であるエゾシカに侵入すると、コントロールが困難となることが危惧されるため、飼料の管理を徹底するなど、放牧地を含む衛生管理区域内へエゾシカが侵入しないような対策を徹底し、牛や農場からエゾシカへ、または、エゾシカから牛や農場へ病原体の伝播が起らないようにすることが重要であると考えられた。また、定期的な調査を実施することで、エゾシカの病原体の保有状況をモニタリングすることも防疫上重要であると考えられた。

引用文献

- [1] 北海道環境生活部環境局エゾシカ対策課：野生鳥獣被害調査結果（平成27年度分確定値）（2017）、（オンライン）、<http://www.pref.hokkaido.lg.jp/ks/skn/27higai01.pdf>（2017.4.3）
- [2] 横井佳寿美、稲原一幸、岡崎ひづる、附田孝一、千徳幸子、小林亜由実：エゾシカの疾病状況調査、北獣会誌、53、535-538（2009）
- [3] Vilcek S: Detection of the bovine herpesvirus-1 (BHV-1) genome by PCR, *J Virol Method*, 41, 245-248 (1994)
- [4] Motes MC, Clemente-Casares P, Hundesa A, Martín M, Girones R: Detection of bovine and porcine adenoviruses for tracing the source of fecal contamination, *Appl Environ Microbiol*, 70, 1448-1454 (2004)
- [5] Licursi M, Inoshima Y, Wu D, Yokoyama T, González ET, Sentsui H: Provirus variants of bovine leukemia virus in naturally infected cattle from Argentina and Japan, *Virus Res*, 86, 101-110 (2002)
- [6] Vilcek S, Herring AJ, Herring JA, Nettleton PF, Lowings JP, Paton DJ: Pestiviruses isolated from pigs, cattle and sheep can be allocated into at least three genogroups using polymerase chain reaction and restriction endonuclease analysis, *Arch Virol*, 136, 309-323 (1994)
- [7] Vilcek S, Elvander M, Ballagi-Pordany A, Belak S: Development of nested PCR assays for detection of bovine respiratory syncytial virus in clinical samples, *J Clin Microbiol*, 32, 2225-2231 (1994)
- [8] 尾宇江康啓、榊原道子、成田雅子、佐藤雄太、菅野徹：北海道における牛パラインフルエンザウイルス3型の分子疫学的解析と迅速診断法の検討、日獣会誌、70（印刷中）、（2017）
- [9] Tsunemitsu H, Smith DR, Saif LJ: Experimental inoculation of adult dairy cows with bovine coronavirus and detection of coronavirus in feces by RT-PCR, *Arch Virol*, 144, 167-175 (1999)
- [10] Smits SL, Lavazza A, Matiz K, Horzinek MC, Koopmans MP, Groot RJ: Phylogenetic and evolutionary relationships among torovirus field variants: Evidence for multiple intertypic recombination events, *J Virol*, 77, 9567-9577 (2003)
- [11] 福富豊子、吉田和生、津田知幸、奥田宏健、多田幸四郎、萱原佳美：牛から分離された新しいブニヤウイルス属シンプ群ウイルスの性状と浸潤状況、日獣会誌、54、358-362（2001）
- [12] 尾針由真、押田龍夫：北海道十勝地方のエゾシカ（*Cervus nippon yesoensis*）における日本産カンテツ（*Fasciola* sp.）の寄生状況調査、日本野生動物医学学会誌、18、115-120（2013）
- [13] 森 昇子、三觜 慶、鈴木瑞穂、萩原克郎、浅川満彦：北海道日高地方におけるエゾシカ（*Cervus nippon yesoensis*）の内部寄生虫相および道内エゾシカ寄生日本産肝蛭（*Fasciola* sp.）の分布域について、北獣会誌、58、44-47（2014）