

海外病研究部長 難波功一

企画連絡室長 清水実嗣

口蹄疫の発生と家畜衛生試験場の対応

本年3月、わが国で92年ぶりに口蹄疫が発生し、関係者を震撼させた。幸いにも今回の発生は4戸の農家にとどまったが、家畜衛生の重要性を世に知らしめる大きな警鐘となった。終息に至るまでには、多くの関係者の懸命な防疫活動があり、家畜衛生試験場としても診断と抗体検査、疫学調査、各種委員会や現地における技術的アドバイスなど、海外病研究部を中心に全場的な支援体制のもとに全力で対応した。本文では発生の経過と家畜衛生試験場の対応、それらに関わる問題について述べる。

発生と診断の経過

宮崎県から牛に口蹄疫を疑う疾病が発生しているとの第一報が入ったのは、平成12年3月21日（火）の夕刻であった。その内容は、開業獣医師より「宮崎市の小規模な肉用牛飼養A農家で3月8日頃に発熱、食欲不振、発咳、鼻や口腔内にビランなど、口蹄疫を疑う症状を示す牛が発見され、同様な症状が同居牛に拡がっている」との届け出が宮崎家畜保健衛生所にあったというものである。しかし、口腔部や蹄部に水疱は観察されず、跛行も認められないとのことであった。そこで、速やかに診断用材料を海外病研究部へ送付するよう依頼した。診断材料は翌22日に採取され、同日午後2時に海外病研究部へ到着した。海外病研究部では、ただちに口蹄疫診断の標準法に基づいた抗原検出用の補体結合反応とエライザを開始し、午後8時に両検査とも終了した。結果はいずれも陰性であったが、同時に行っていたRT-PCRによるウイルス遺伝子断片の検出が同日の深夜、またエライザによる抗体検査では翌日に陽性の成績が得られた。日本では長期間口蹄疫が発生していないことから、診断には慎重を期する必要があるため、23日にはRT-PCRによる遺伝子断片の検出をさらに二度繰り返し実施した。結果はいずれも陽性であった。これらの成績は25日に開催された口蹄疫中央防疫対策本部防疫技術委員会で詳細に検討され、同農場の牛10頭を疑似患畜と診断した。わが国では

92年ぶりとなる口蹄疫の発生をうけ、翌26日には疑似患畜を殺処分するとともに、発生農家を中心に半径20km以内を移動制限地域、50km以内を搬出制限地域と設定し、域内の全農家について立ち入り調査と抗体検査を実施することになった。その結果、高岡町のB農家とC農家で抗体陽性牛が見つかり、それぞれ4月3日と9日に疑似患畜と診断、飼養牛の全頭（B農家9頭、C農家16頭）を殺処分した。これらの牛に臨床的異常は認められなかったが、聞き取り調査によりC農家の牛は以前に流涎等の症状を示したことが明らかにされている。

海外病研究部では、診断業務とともにA農家で陽性となったPCR産物の遺伝子解析を進め、英国のパーブライト研究所（口蹄疫の世界レファレンスセンター）に塩基配列データを送付、ウイルス型の分析を行った。その結果、4月4日に検出した遺伝子断片は最近アジア地域で流行しているO型ウイルスに近縁な新型ウイルスであることが判明し、O/JPN/2000株と命名された。この結果をまえ、疑似患畜とされていたA農場の10頭を患畜と診断した。さらに、4月14日には9日に殺処分したC農家の牛の検査材料から、A農家のウイルスと同様な遺伝子構造を有するウイルスが分離され、C農家の牛16頭のうち抗体陽性の10頭を患畜と診断した。口蹄疫ウイルスの分離に成功したことは、中和試験を可能にするなど以後の抗体検査に大きく貢献することとなった。

制限地域内の立ち入り検査と抗体検査は連日行われ、一戸ごとに清浄性を確認する作業が間断なく続行された。その結果に基づき、4月23日にはA農家から半径50km以内の搬出制限地域が解除されるとともに、移動制限地域はBおよびC農場を中心とした半径10km以内に変更となった。また、清浄性を確認するためにさらに詳細な検討を要する農家については、複数回にわたる抗体検査とプロバングテストを併用した「農場隔離検査プログラム」を開始することとした。4月26日には移動制限地域をC農場を中心とした半径10km以内に縮小、全地域で清浄性が確認され制限が解除されたのは5月11日であった。

一方、宮崎県の調査と並行して全国の疫学関連農家（宮崎県からの導入牛のいる農家、中国産輸入粗飼料を用いている農家など）について同様な調査が行われた。その結果、北海道本別町のD農場が農場隔離検査プログラムの対象となり、5月11日には抗体陽性牛2頭のプロバング材料からRT-PCRでO/JPN/2000株と同じ塩基配列を有する遺伝子断片を検出した。同農

場では2頭を患畜、同居牛703頭を疑似患畜とし、すべてを殺処分した。また、半径10km以内を移動制限地域に定め、域内の全飼養農家と疫学関連農家（導入元、販売先農場など）の調査を開始した。5月25日には全戸の立ち入り調査と抗体検査によって清浄性を確認し、移動制限が全面的に解除されたのは6月9日であった。

家畜衛生試験場口蹄疫対策本部の設置と対応

家畜衛生試験場では、海外病の診断については海外病研究部で常時対応しうる体制をとっていることから、第一報を受けた後も今まで同様に粛々と業務を進めた。これまでの例のように、診断結果が陰性であれば一件落着で済むのであるが、今回は3月22日深夜の段階でRT-PCR陽性の結果が得られている。もしも口蹄疫と診断されれば、様々な調査や検査、行政への技術的支援など、膨大な業務を分担することが予想される。そこで、3月25日の診断決定を受け、3月27日に場長を本部長、海外病研究部長を副本部長とする家畜衛生試験場口蹄疫対策本部を設置し、全場的な支援体制を確立した（図1）。なお、この段階では北海道における発生を想定していなかったため、北海道班を設置していない。しかし、北海道支場では独自に対策委員会を組織し、緊急時の対応を検討している。



海外病研究部では、副本部長の指揮、総括班と連絡班の調整のもとに、ほぼ24時間体制で業務を実施した。病性鑑定班はウイルス分離、補体結合反応やエライザによるウイルス抗原の検出、RT-PCRによるウイルス遺伝子の検出、遺伝子構造の解析、病原性を含む分離ウイルスの性状解析等のウイルス学的検査を担当し、5月19日までに流涎、発熱など口蹄疫を疑う症例31例に由来する約160サンプルについて検査を実施した。これらの中には、宮崎県ばかりでなく鹿児島県や広島県、兵庫県等からの材料も含まれる。検査結果は、前項に記載したものを除きすべて陰性であった。また、3月22日には沖縄県、26日には山形県から豚コレラの緊急病性鑑定依頼があり、この週はまさに戦場のおもむきであった。幸いにも豚コレラはいずれも陰性であったが、口蹄疫と豚コレラの発生が重なった場合のことを想像すると、背筋に寒いものを感じざるを得ない。3月29日からは制限地域内および疫学関連農家で採取した血清の抗体検査が始まった。抗体検査は診断・血清支援班の協力のもとに血清調査班が実施し、検査した血清は最終的に約6万検体と膨大なものとなった。抗体検査については次項

で述べる。

事務局では連絡調整班、総務班、ワクチン備蓄管理班が協力して、行政部局や現地との連絡調整、技術支援（者）に関わる連絡調整、予算、資機材等の調達、緊急輸入ワクチンの保管管理等の業務を実施した。特に行政部局や現地との連絡調整業務が膨大となり、日祭日の別なく連日遅くまで作業が続いた。検査に要した費用も高額となり、検査器具や薬品の購入、支援者の旅費等を合わせ、家畜衛生試験場が支出した金額は約7千万円に達する。広報班はホームページを通じた最新情報の提供に努めた。ホームページへのアクセスも平常の数倍に増加し、3月27日には6万8千件に達している。また、事務局ではその日の検査報告を待って、疫学班や防疫対策委員により検査結果の分析を行った。その結果をふまえ、今後の検査方針や防疫対策のあり方、行政へのアドバイス等について検討したが、議論が深夜に及ぶこともしばしばであった。

一方、畜産局衛生課より行政が開催する諸会議への協力、現地への専門家派遣等の要請が多数あり、家畜衛生試験場もそれらの要請に全面的に協力した。診断材料の採取、疫学調査の指導等のため、海外病研究部、本場、九州および北海道支場から現地（宮崎県、熊本県、北海道）へ派遣したウイルス研究者は延べ35名である。

抗体検査

口蹄疫の発生があった場合、流行の広がりや浸潤度の調査は立ち入り調査による臨床観察が一般的である。しかし、今回の発生では臨床症状が微弱なため、臨床検査による摘発が困難と推定された。このようなことから、制限地域内と疫学関連農家の調査は臨床検査に加え、抗体検査を併用することが決定され、家畜衛生試験場が抗体検査を担当することになった。宮崎県の移動制限地域と搬出制限地域内には肉牛、乳牛あわせて約1万6千戸、30万頭、また北海道の移動制限地域内には138戸、約2万頭が飼育されていることから、膨大なサンプルが予想され、しかも限られた制限期間内に検査を完了させなければならない、という大きな役割を担うこととなった。

抗体検査には英国パーブライツ研究所で開発したエライザキットを使用し、抗体価45倍以上を陽性とした。同キットは多量の抗体検査に適しているが、どのように優れた方法であって

も、多量のサンプルを検査する時には非特異反応が大きな問題となる。パーブライツ研究所のキッチン博士によれば、抗体陽性牛の見逃しを防止することを目的に、同キットの検出感度を高めていることから、非特異反応の出現頻度は1～5%という。また、検査対象が口蹄疫という重要疾病であることから、その診断には慎重を期さなければならない。したがって、抗体価45倍以上の血清については、抗体価を測定するとともに、再採血、場合によっては再々採血によって抗体価の変動等を勘案して診断することにした。結果として、抗体価45倍以上の血清は約1%であったが、宮崎県のB農家とC農家、北海道のD農場を除き、残りは非特異反応であった。検体が少ない場合には、非特異反応が1%の割合で発生しても大きな問題にはならない。しかし、今回のように数万検体を検査する場合には、採血ばかりでなく検査にも大きな負担となる。しかも、抗体の検出感度に関わるキット間のばらつきを是正するため、同一牛から複数回採取した血清は同時に再検査をしなければならない。以上のようなことから、検体数は当初の予想より大幅に増加し、最終的に検査を実施したのは52,894頭、約60,000サンプルであった。

このような多量のサンプルを限られた期間内に海外病研究部で検査することは困難なため、動物検疫所や動物医薬品検査所に応援を要請するとともに、本場の研究部、衛生検査科から多数の支援者を派遣した。その数は延べ229名に達する。抗体検査は日祭日なく進められ、5月25日までにすべての検査が完了した。このように短期間のうちに多数のサンプルの検査が完了したのは、関係者の献身的な努力による。ちなみに、先年発生があった台湾では、1万6千検体の検査に6ヶ月を要しており、それと比較していかに大変な作業であったかが理解されよう。なお、5月になると、海外病研究部では感染実験による病原性の検討など、分離ウイルスの性状解析が急務となったことから、北海道関連の抗体検査は本場のP3施設を活用して実施した。一方、抗体検査の進展にともない、本場では対策本部の疫学調査班を中心にデータの分析が始まった。そのためには膨大な検査データの入力作業が必要となり、研究部のみならず総務部、企画連絡室の多くの皆さんにも協力していただいた。

抗体検査の期間中には思わぬハプニングや様々なトラブルが発生したが、今思うと笑い話となるエピソードを一つ紹介する。4月20日の夜のことである。その日の抗体検査成績が打ち出されると、関係者のすべてが驚愕した。山形県や千葉県、岡山県等から送付されたサンプルの多くが強陽性を示したのである。しかも、陽性牛は同一農場に集中し、その中には5千

頭の肥育牛を飼育する農場も含まれる。当時は2万検体以上の検査を終了し、その結果から「発生は限られた地域に限局しているのではないか」と考えていただけに、関係者のショックにははかり知れないものがあった。「口蹄疫はすでに全国に広がってしまったのではないか」と、その夜は今後の対策について激論を交わしたものである。翌日、再検査を行っても結果は変わらない。そこで、県に陽性サンプルの由来調査を依頼したところ、ビタミンA欠乏症の検査時に採取したヘパリン血（血漿）を送ったかも知れないとの回答である。そこで、早速ヘパリンのエライザに及ぼす影響を検討した。その結果、4月24日にこの件は「ヘパリンを犯人」として落ち着いたが、過去数日間の関係者の心労は想像を絶するものであった。

以上のように、抗体検査で最大の問題になったのは非特異反応であった。そのため、最初のスクリーニングで45倍以上を示した血清については、再検査あるいは再々検査による抗体価の変動を観察するとともに、プロバングテストを併用して診断せざるを得なかった。このように抗体検査に苦労している担当者を勇気づけてくれたのは、4月14日に宮崎県のC農家で10日採取したプロバング材料からウイルスを分離したことである。C農家では4月2日には2頭が抗体陽性であったが、4月6日の検査では検査した10頭すべてが陽性となっており、最近流行のあったことが推測された。事実、遡り調査によって、同農家では3月20日頃に流涎等の症状を示す牛のいたことが明らかになっている。口蹄疫では回復後も咽喉頭部にウイルスの存在するが知られおり、C農家の牛のプロバング材料（咽喉頭拭い液）からウイルスの分離される可能性がある。しかし、すべての回復牛が常に咽喉頭部にウイルスを保有しているわけではなく、台湾の金門株の分離には60例に近い検査を要している。したがって、3件目のC農家で4月10日に採取したプロバング材料からのウイルス分離に成功したことは、まさに幸運というべきであろう。

ウイルス分離に成功したことは、新たな抗体検査法を可能とし、検査陣にとって強力な武器を手にしたことを意味する。海外病研究部では、直ちに分離ウイルスを株化細胞に馴化させ、10日後には中和試験の実施体制を確立した。その結果、エライザに中和試験を組み合わせることにより、診断精度を飛躍的に向上させることができた。他のウイルスと異なり、口蹄疫ウイルスの中和試験では、しばしば非特異反応の起こることが知られている。このような隘路も、「日本の牛血清の非特異的中和は8倍を越えない」というタイ国口蹄疫センター

における研究実績によって打開された。中和試験の実施は、北海道D農場の抗体陽性牛の決定に大いに役立つこととなった。

今後のサーベイランスをより確かなものにするため、海外病研究部では今回検査したエライザと中和試験の成績を詳細に比較分析した。これらの分析結果は、6月に東京で開催されたOIE口蹄疫東アジア緊急会議に出席した英国パーブライト研究所のキッチン博士から高く評価され、9月にブルガリアで開かれるヨーロッパ口蹄疫委員会で報告するようにとの要請を受けた。

今回の発生の問題

今回の発生で最大の問題は、原因ウイルスの病原性や伝播力が弱かったことである。B農家とC農家の発生では発熱や流涎等の臨床症状が観察されたものの、軽度で教科書に記載されているような典型的な水疱は認められていない。C農家とD農場では、口蹄疫を疑う症状はまったく報告されていない。また、制限地域内や疫学関連農家の抗体調査結果からも、伝播力の弱いことが推定される。そのため、防疫対策の基本となっている臨床症状の観察を主体とした従来の浸潤度調査が困難となり、抗体検査に重点を置いた調査法を採用せざるを得なかった。

抗体検査が一段落した5月1日からは、海外病研究部で分離ウイルスの病原性を確認する感染実験を開始した。実験にはホルスタイン種と黒毛和種の子牛および子豚を用いた。今まで得られた成績を要約すると以下の通りである。1.ホルスタイン種は顕著な症状を示さず、同居感染も成立しない。2.黒毛和種は流涎、鼻腔と口腔内にビラン等の症状を示し、同居感染が成立した。しかし、感染牛から豚への同居感染は認められない。3.豚は口蹄疫に特徴的な症状を示し、同居豚へ感染を拡大した。従来より、豚の感染には牛に比べ50~100倍のウイルスが必要といわれている。分離ウイルスに感染した豚は多量のウイルスを排出するが、感染牛は豚の感染に必要なウイルス量を排出しないことが推定される。これらの成績は、野外調査から推定された原因ウイルスの病原性、また養豚密集地帯の宮崎県で豚に発生が認められなかった事実等と符合する。

今回の発生から分離したO/JPN/2000株は、今年になって台湾、韓国、極東ロシア、モンゴル等で流行したウイルスとともに、汎アジア型に分類される。同タイプのウイルスは、1990年

にインドで最初に確認され、その後サウジアラビアやクエート、イエメン等の中東地域、ブータンやネパール、ベトナム、カンボジア、タイ等のアジア諸国で分離されている。ウイルスの起源や今後の防疫対策等を考えるうえで、これらウイルスの詳細な比較が重要となる。

第二の問題は感染源である。現在までに侵入経路として、稲藁や麦藁、羊草等の輸入粗飼料、中国からの黄砂等による空気伝播、輸入畜産物による伝播等が指摘されている。しかし、結論は得られていない。今までに250kmを越える空気伝播は知られておらず、中国大陸からの距離を勘案すると空気伝播は考え難い。また、口蹄疫ウイルスは乾燥で容易に不活化されるため、黄砂に付着したウイルスが日本到着時まで活性を保つ可能性はほとんどない。このように、現在のところ消去法によって輸入粗飼料が感染源候補として残されている。しかし、膨大な輸入粗飼料から直接ウイルスを分離することは技術的に困難であり、侵入経路については結論が得られていない。疫学調査による感染源の解明、また感染源として疑われている輸入粗飼料に関わるリスクアセスメントの確立が今後の重要課題となろう。

問題の第三は現地の防疫対策である。口蹄疫の防疫対策は、原因ウイルスの性状のみならず、畜産を取り巻く環境等を考慮して進める必要がある。企業化された大規模畜産では広範な伝播が起こりやすく、感染動物の摘発と淘汰が著しく困難となる。また、感染動物の摘発と淘汰にあたっては、労力的問題に加え、環境汚染といった新しい問題をも考慮しなければならない状況となっている。幸いにも今回の発生は4件の発生のみで終息したが、今後は大規模な流行を想定した防疫対策についても検討する必要がある。一方、口蹄疫の発生を契機として生産者の疾病に対する認識が変わり、以前に比べ家畜保健衛生所への通報がよく行われるようになったといわれる。疾病対策の基本は早期発見、早期診断にあることから、このような傾向はわが国の家畜衛生にとって望ましいことである。生産者や行政等の関係者すべてが一致協力するとともに、今回の経験を活かし、効率的かつ実地的な新たな防疫の仕組みを考えることが必要である。

おわりに

多くの関係者の努力により、6月9日をもって今回の発生は終息した。その後、口蹄疫を疑う症例の病性鑑定を数例実施したが、現在まですべて陰性で新たな発生は確認されてい

い。しかし、畜産物や家畜、飼料原料等の国際流通の増大、広域化、迅速化にともない、口蹄疫をはじめとする海外病が侵入する危険性がますます高まっている。中国では昨年より各地で口蹄疫が流行している模様であり、アセアン諸国では相変わらず発生が続いている。しかも、相手は千変万化の強敵である。これまで抗原変異が比較的少ないといわれたアジア1型ウイルスにも変異株の増加が報告されている。今回の発生は、予想もしない非定型的なあるいは変異型の海外病が侵入しうる可能性、またそれらに対する備えの重要性を如実に示した。今後は海外病研究の一層の推進を図るとともに、国内における監視と検査体制の整備、輸入検疫の強化など、今回の経験と教訓を活用し、より堅固の危機管理体制を確立することが大切である。

今回の発生では、行政をはじめ生産者、各種団体、獣医師、検査機関、試験研究機関等がそれぞれの立場で最善を尽くし、わが国を早期に清浄化へと導くことができた。今回の業績に対する評価は関係者全員に帰すべきものであるが、特記すべき功績を一つ指摘するとすれば、最初に口蹄疫を疑う症例を発見し、家畜保健衛生所に届け出た獣医師の慧眼をあげることができる。氏の発見と届け出がなければ、症状が軽微だけに誰も知らない間にじわじわと多くの地域に広がった可能性を否定できない。このことを思うと、今でも背筋に寒いものを感じる。

家畜衛生試験場においても、寝食を忘れ検査業務を実施した海外病研究部の職員、それを支えた小平分室の皆さん、さらに有形無形の支援をいただいた本支場の職員、このように多くの職員の協力があってこの難局を乗り越えることができた。全職員の皆さんに心から敬意を表するとともに深く感謝する。また、業務多忙のなか、ウイルス検査や抗体検査に応援をいただいた動物検疫所および動物医薬品検査所の皆さんに深く感謝申し上げます。

なお、感染実験の結果、分離ウイルスO/JPN/2000の性状等については、今秋の獣医学会をはじめ、関係専門雑誌で公表を予定している。詳細はそれらを参照して下さい。