

令和4年4月13日

令和3年度 共同研究報告書

研究代表者： 井上 智

1. 研究課題名	日本語表記：宮崎県、宮崎市および宮崎大学の官学が連携した狂犬病及び犬猫由来の人と産業動物共通寄生虫病の監視体制の確立 英語表記：Development of government-academia collaborative MOS (Monitoring and Surveillance) System for rabies and canine/feline derived parasitic zoonoses in human and livestock －With cooperation among Miyazaki prefecture, Miyazaki city and University of Miyazaki－		
2. 研究期間	令和3年4月1日～令和4年3月31日		
3. 共同研究者	氏名	機関・所属部署名	職名
	井上 智	国立感染症研究所 獣医科学部 第二室	室長
	堀田 明豊	国立感染症研究所 獣医科学部 第三室	主任研究官
	森嶋 康之	国立感染症研究所 寄生動物部	主任研究官
	野中 成晃	北海道大学大学院 獣医学研究院 病原制御学分野 寄生虫学教室	教授
	常盤 俊大	日本獣医生命科学大学 獣医学科 獣医寄生虫学研究室	講師
	井上 健	佐賀県健康福祉部食肉衛生検査所	検査第2担当 技師
	野口 章	国立感染症研究所 獣医科学部 第二室	主任研究官
	伊藤(高山) 睦代	国立感染症研究所 ウイルス第一部 第三室	室長
	朴 天鎬	北里大学 獣医学部 獣医学科 獣医病理学研究室	准教授
	小林 進太郎	北海道大学大学院 獣医学研究院 獣医学部門衛生学分野 公衆衛生学教室	准教授
	好井 健太郎	長崎大学感染症共同研究拠点	教授
	有川 玄樹	宮崎県福祉保健部 みやざき動物愛護センター	主査
	大山 貴史	宮崎市保健所 保健衛生課 動物愛護センター	主査
	三澤 尚明	産業動物防疫リサーチセンター 感染症研究・検査部門	教授
	山田 健太郎	宮崎大学 農学部 獣医学科 獣医公衆衛生学研究室	准教授
	吉田 彩子	産業動物防疫リサーチセンター 感染症研究・検査部門	教授

	入江 隆夫	宮崎大学 農学部 獣医学科 獣医寄生虫病学研究室	准教授
	兼子 千穂	宮崎大学 産業動物防疫リサーチセンター 人獣共通感染症教育・研究プログラム	助教

5. 共同研究の目的

宮崎県と宮崎大学は、包括連携協定の中で連携して感染症防疫に取り組むこととしており、強固で機能的な感染症監視体制を構築・維持する基盤が整っている。本共同研究では、この基盤を利用し、**One Health** の概念に基づく部局横断的な感染症監視体制構築の手段として、放浪犬猫がレズルボアとなりうる感染症の監視体制の確立により産業動物衛生および公衆衛生向上へ寄与するモデルを提案し、取り組んできた。特に、鶏肉や牛肉の生食文化がある宮崎県では、犬回虫または猫回虫が寄生した牛や鶏の生肝や生肉の喫食を介した人のトキソカラ症や、感染家畜の加熱不十分な食肉の喫食を介した人のトキソプラズマ症について、食品媒介感染症としての重要性が再認識されている。また、監視体制構築が急がれる感染症として多包虫症と狂犬病が挙げられる。多包虫症については、宮崎県における定着は報告されていないが、本州において感染拡大が危惧されている。加えて、狂犬病に関しては、公衆衛生上重要な感染症であるにもかかわらず、各自治体における診断体制が十分に確立されていないという課題がある。本共同研究では、これらの課題を解決するべく、持続的な監視を可能とする診断技術の普及および診断体制の整備のために、宮崎県と宮崎大学の包括連携協定を基に、PDCA (Plan-Do-Check-Act) サイクルを取り入れた機能的で持続可能な感染症監視体制を構築することを目指し研究を遂行した。

本共同研究では、平成 30 年度よりこの取り組みを継続しており、成果をあげてきた。まず、上述の宮崎県で課題となる寄生虫（犬回虫、猫回虫、トキソプラズマ、多包条虫）の放浪犬猫におけるモニタリングのために、みやざき動物愛護センターにおいて収容犬猫の糞便検査を継続しており、データを蓄積している。加えて、九州沖縄地区狂犬病診断研修会にあわせて、殺処分となる放浪犬を用いた狂犬病モニタリングのための確定診断を実施した。さらに、野生動物についても交通事故死（ロードキル）個体および有害捕獲個体を用いた狂犬病モニタリングのための脳組織の採材とスタンプ標本の作製および狂犬病検査を継続している。加えて、九州沖縄地区の公衆衛生獣医師を対象として寄生虫診断研修会（平成 30 年度）および狂犬病診断研修会（平成 25 年度以降毎年開催）を開催し診断技術の確立と普及に寄与した。令和 2 年度は新型コロナウイルス感染症流行のため当初予定した計画の実行が困難であった面もあるが、狂犬病診断研修会は Zoom を利用した遠隔配信を行うなど、状況に合わせた継続的な活動を展開した。さらに、感染症の先回り制御のためには野生動物における新規病原体の探索とそのリスク評価が必須であり、本共同研究では昨年度から貴重な野生動物検体を利用した新規病原体の検索と同定を継続してきた。本共同研究が掲げる PDCA サイクルを取り入れた機能的で持続可能な感染症監視体制の構築のためには、C (Check) および A (Action) の遂行が肝心となる。そのため、本研究では、これまで実施してきたモニタリング検査の継続に加え、構築された監視体制の評価と見直しを行い、今後の長期的なモニタリング継続を視野に入れた持続可能な監視体制を構築することを目的とした。

5. 研究内容・成果

本共同研究では、PDCA サイクルを取り入れた機能的で持続可能な感染症監視体制の構築を達成するために、以下の内容を実施した。

I. これまでの実施内容を振り返り、さらなる Check (点検) を行う

昨年度実施した内容について、PDCA サイクルの C (点検) および Action (改善) ~Plan (計画) のステップを遂行した。さらに、これまで進められてきた宮崎県による「宮崎県 狂犬病対策マニュアル」が完成したことを受け、本マニュアルに基づいた関係機関の連絡体制確認を視野に入れた関係者顔合わせの意見交換会の開催を検討した。

II. Action (改善) ~Plan (計画)

昨年度から継続し、放浪犬猫がレズルボアとなりうる産業動物衛生上および公衆衛生上重要な感染症を対象とした感染症監視体制構築のための計画に沿って、以下の項目を実施した。その際、前段の Check (点検) 作業の結果得られた評価に基づき、見直しが必要な点について改善を行っ

た。

i みやざき動物愛護センターにおける搬入犬猫の糞便検査の実施（犬猫由来寄生虫）

本研究では、犬回虫・猫回虫（犬・猫）、トキソプラズマ（猫）、多包虫症（犬）に焦点を当て、これらの寄生虫診断のためにみやざき動物愛護センターにて放浪犬猫の収容時糞便検査（食塩浮遊法／シヨ糖浮遊法）を実施することとした。昨年度から引き続き、犬および猫回虫卵（犬・猫）については、みやざき動物愛護センターでの糞便検査を確定診断とし、トキソプラズマ（猫）、多包条虫（犬）が疑われるオーシストまたは虫卵が検出された場合は、宮崎大学で確定診断を実施することとした。上記虫卵またはオーシストが検出された個体については、みやざき動物愛護センターの指針に則り、適切な駆虫薬投与等の処置を行うこととした。

ii 殺処分対象犬猫および交通事故死野生動物からの採材（狂犬病）

本研究では、宮崎県において殺処分対象となった犬猫を用いた狂犬病を対象としたモニタリング検査を実施した。狂犬病検査のマニュアルに則り、また、宮崎県の犬猫における狂犬病対応マニュアルを参照し、宮崎大学内の適切なバイオセーフティー環境の元、犬および猫の脳出しを行うこととした。さらに、本研究では、宮崎県において保護後に死亡した野生動物個体およびロードキル個体を用いた脳材料の採取を実施した。

iii 犬猫由来寄生虫についての確定診断と狂犬病を対象とした検査の実施

みやざき動物愛護センターで実施する糞便検査にて、トキソプラズマ（猫）および多包条虫（犬）が疑われた場合は宮崎大学で確定診断を行うこととしたが、疑わしいオーシストおよび虫卵が検出された検体は認められなかった。狂犬病（犬・猫・野生動物）については、昨年度に引き続き脳スタンプ標本を作製し、直接蛍光抗体法およびRT-PCRによる狂犬病検査を実施することとした。本研究で得られた野生動物狂犬病モニタリング検査結果は、宮崎県より厚生労働省へ報告される。

iv 野生動物が保有する新規病原体の探索・リスク評価

野生動物が保有する病原体については未知のものも多く、新規人獣共通感染症の先回り制御のためには地域の野生動物における病原体の探索、保有状況・病原性・毒性の評価・モニタリングが重要である。野生動物における病原体の探索と同定、保有状況・病原性の評価等を実施した。

III. Do（実行）

I.および II.を通し、見直し・改善ののち打ち立てた計画に基づき、宮崎市、宮崎県および宮崎大学の共同で以下の通り実施した。

【犬猫の狂犬病対応マニュアルにもとづく連携体制の確認】

宮崎県における犬猫の狂犬病対応マニュアルが完成したことを受けて、次なるステップとして有事の際にマニュアルに沿った対応フローが実際に機能するか、関係機関との連携体制の確認が必要となる。そのため、宮崎県福祉保健部衛生管理課（有川氏〔後任：関谷氏・弓削氏〕）、宮崎県動物愛護センター、宮崎県獣医師会、宮崎大学・産業動物防疫リサーチセンター（吉田氏、三澤氏、山田氏、兼子氏）および国立感染症研究所（井上氏）を交え、今後の連携体制の確認を視野に入れた意見交換会を2021年12月14日に宮崎県庁にて開催した。この会の中で、今後の課題を共有し引き続き連携して研修会等の普及啓発活動に取り組んでいくことが確認された。

【みやざき動物愛護センターにおける搬入犬猫の糞便検査の実施について】

昨年度に引き続き、飽和食塩水浮遊法およびシヨ糖遠心浮遊法による収容時糞便検査を継続した。令和3年度 飽和食塩水浮遊法による糞便検査検体数は302検体（動物種別内訳：犬45検体、猫257検体）であった。うち、陽性検体数については、犬および猫回虫卵（犬・猫）について26検体（犬1検体、猫25検体）、猫でのトキソプラズマオーシスト検出数0検体、犬における条虫卵（テニア科条虫以外）検出数5検体であった。シヨ糖遠心浮遊法による検査数は、468検体（動物種別内訳：犬130検体、猫338検体）であった。うち、陽性検体数については、犬および猫回虫卵（犬・猫）について18検体（犬9検体、猫9検体）、猫でのトキソプラズマオーシスト検出数0検体、犬における条虫卵（テニア科条虫以外）検出数1検体であった。（大山氏、有

川氏〔後任：関谷氏・弓削氏〕）。

【殺処分対象犬猫および野生動物における狂犬病モニタリングについて】

本年度はコロナ禍で培ったオンライン配信のスキルを活かし、ハイブリッド式の狂犬病診断研修会（座学・病理解剖・総合討論）を開催した。宮崎県内からの参加者および宮崎大学の学生については現地参加可能とし、宮崎県以外の九州沖縄地区の参加者はウェブ参加とした。加えて、オンラインによりブロックの壁を取り払った研修会が可能となることから今年度は全国ブロックへも対象を拡大し、自治体所属の公衆衛生獣医師にあつて希望する者はだれでも参加できるようにした（後述）。病理解剖実習については、附属動物病院の大動物手術室で、宮崎県において殺処分となった犬3頭について、脳出しを行い、うち標本に適した1頭について脳スタンプの作製・検査を行った（陰性確認・報告済み）。

野生動物における狂犬病モニタリングについては、有害捕獲およびロードキルの野生動物を収集した。2021年5月～2021年12月にかけて、タヌキ4頭（有害捕獲3頭、ロードキル1頭）、アナグマ5頭（有害捕獲3頭、ロードキル2頭）、キツネ1頭（ロードキル）の計10頭（有害捕獲6頭、ロードキル4頭）を収集した。うち、ロードキル2頭（アナグマ2頭中1頭、キツネ1頭）について脳組織の収集を試み、狂犬病検査に供することのできる材料を採取した。アナグマ3頭（有害捕獲2頭、ロードキル1頭）、タヌキ1頭（ロードキル）については、次年度以降の狂犬病診断研修会の研修材料として頭部を冷凍庫に保管した（兼子氏、入江氏、山田氏、三澤氏、吉田氏）。

【狂犬病診断研修会の実施について】

第9回九州・沖縄地区 狂犬病診断研修会（全国ウェブ配信）を2022年1月24-25日に現地参加とZoomによる遠隔配信を組み合わせたハイブリッド形式にて実施した。本年度はコロナ禍で培ったオンライン配信スキルを活かし宮崎県内の参加者のみ現地参加を受け付け、宮崎県以外の九州沖縄地区の参加者はウェブ参加とした。また、全国ブロックへ参加対象を拡大し、より一層の普及啓発に力を入れた。1日目に座学・病理解剖実習（現地／オンライン）、2日目に総合討論（オンライン）を行った。講師である井上氏、堀田氏、伊藤氏（以上、国立感染症研究所）および本学の山田氏、兼子氏が講義・実習・総合討論を担当した。また、本研修会の実務的バックアップとして、狂犬病研修に係る検査器具・試薬等の準備・事前検証を国立感染症研究所の野口氏が担当した。本研修会には、全国から201名のオンライン参加（全国ブロック172名、九州沖縄26名、宮崎県3名）と宮崎県から23名（うち学生20名）の現地参加があった。ウェブアンケートでは、座学・病理解剖実習・総合討論のハイブリッド形式の開催について高い評価を得た（回答数92名）。アンケート回答に基づく参加者の所属内訳は、保健所40%、食肉衛生検査所5%、本庁19%、衛生研究所10%、愛護センター26%であった。実施の意義やプログラム内容の評価について、すべての項目で70%以上の参加者が6段階評価のうち5または6（良い）の評価をつけた。参加者からは、「今後も同様の研修を続けていただき、ぜひ他のブロックの自治体にも参加の機会を与えてほしい。動物愛護管理行政担当者としては、大変有意義な講義及び実習だったと感じている」、「コロナが終息した後も、毎年でなくてもいいので、できればこの狂犬病研修会の全国規模でのWeb会議を定期的に開催してほしい」、「今回の研修では、狂犬病についてしっかり学ぶことができ、自分の自治体の狂犬病対策について今一度考えさせられ、有意義な研修会でしたので、今後も継続していただきたいと思います」、「大変勉強になりました。全国へWEB参加の枠を広げていただきありがとうございます」、「ワールドカフェ方式はネット環境に左右されるものの、ふだん交流のない職員や学生などと意見交換ができてとてもよかったです。一見突飛な発想でも取り入れるべき案が見つかる」、「日頃の狂犬病予防業務では、狂犬病が疑われる事態がまずないために、発生時の細かいマニュアルの整備、脳出しの実践などは後回しになっていましたが、この研修会を受講して、もし疑い事例が出た時にいかに迅速に対応できるかはやはり平時の準備にかかっていると実感いたしました。今後の業務に活かしていきたいと考えます」等の意見・評価を得た。これらの結果より、本研修会についての全国規模での高いニーズが伺えた。一方、ハイブリッド形式の場合、オンラインまたは現地のみで開催よりも運営・進行に予期せぬトラブルが発生しやすく、昨年度のオンライン配信のみの研修会より進行が遅くなるこ

とがあった。アンケートでは、こうした点についても今後に生かす改善点が寄せられたので、将来に活かしたいと考える。

一方、寄生虫診断研修会については、H30年度に本共同研究の一環として開催実績（講師担当：森嶋氏、野中氏、常盤氏、吉田氏）があるものの、新型コロナウイルス感染症流行下での遠隔研修会をまずは狂犬病にフォーカスして充実化のために、本年度は実施しなかった。また、R1年度以降に寄生虫に関するオンサイトでの打ち合わせや研修会を想定し、佐賀県・井上〔健〕氏にも共同研究を依頼したが、新型コロナウイルス感染症拡大のために実現が困難となった。

【野生動物における新規病原体の検索】

本研究では、幅広い専門分野の研究者が共同で取り組むため、貴重な野生動物検体を有効利用して相乗的に新たな知見を生み出すことが可能となる。本年度も搬入される野生動物について病原体の検索を継続した（兼子氏、入江氏、山田氏、三澤氏、吉田氏、朴氏）。本年度、検査した限りでは野生動物から新規病原体は検出されなかったが、再興人獣共通感染症である肺吸虫について、宮崎県内の野生動物における感染状況について論文発表した（Ishida, Kaneko, Irie, Maruyama, Tokuda, and Yoshida et al. 2022）。

Check（点検）および Action（改善）

本共同研究は本年度で終了するが、これまでの宮崎県、宮崎大学をはじめとした官学が連携して取り組んできた狂犬病をはじめとした感染症の監視体制構築と普及啓発については、引き続き CADIC の地域の感染症防疫を担う教育・研究機関としての役割継続が望まれる。今後も宮崎県担当者との協議・調整しながら、本県における感染症監視の継続が期待される。

※ 必要に応じて、枠を広げて記載してください。

6. 成果となる論文・学会発表等

Ishida M, **Kaneko C**, **Irie T**, Maruyama Y, Tokuda A, **Yoshida A**. 2022. Sporadic endemicity of zoonotic *Paragonimus* in raccoon dogs and Japanese badgers from Miyazaki Prefecture, Japan. *J. Vet. Med. Sci.* 84, 454–456. <https://doi.org/10.1292/jvms.21-0573>

※アジアの狂犬病に関する様々な研究・事例を集めた図書「**Rabies Control and Prevention in Asia**」

（2022年度秋～冬出版予定）へ、本共同研究が官学連携で取り組んだワールドカフェ形式のディスカッションを通じた狂犬病診断体制構築のための自治体獣医師の意識改革について、記事を寄稿予定である（pending revision; 兼子氏、好井氏、小林氏、有川氏、堀田氏、三澤氏、井上氏）。

7. 産業動物防疫リサーチセンターへ訪問した回数

	氏名	職名等	国籍	訪問回数・合計日数	訪問時期
(例)	井上 智	主任研究官	日本	1回・3日 (本共同研究費とは別で、2022年1月に狂犬病診断研修課のために来学)	12月

8. 利用した設備・施設等 ※必要に応じ様式の追加・削除可。

施設

室名	動物種	飼育数	期間
BSL 3 施設			
獣医棟 P 2 動物実験室			
教育棟 P 2 動物実験室			

設備・機器類

(I) 獣医棟 3 階

部屋名	機器名	使用した延日数	
P 2 実験室	V301	フローサイトメーター (ライテクノロジー・スジャパン)	
		マイクロプレートリーダー (BioRad)	
		マイクロプレート洗浄装置 (Thermo WellWash)	
		NanoDrop 分光光度計 (Thermo ND-1000)	
		冷却遠心機 (KUBOTA 7780)	
		冷却遠心機 (Thermo)	1
		卓上型冷却遠心機 (HITACHI)	
		安全キャビネット (AIRTEC)	1
		ハイブリオープン (タイテック)	
		オートクレーブ (平山製作所 HG-50)	
		自動核酸抽出装置 (magLead 12gC)	
	V304	ヒートブロック (アステック)	
		安全キャビネット (AIRTEC)	
		卓上遠心機 (HITACHI)	
		MALDI Biotyper (BRUKER)	
	V308	アイソレーター (マウス/ラット用) (Tokiwa T-BCC-Micro-M25)	
		安全キャビネット (AIRTEC)	
		オートクレーブ (トミー精工、LSX-700)	
	V310	アイソレーター (マウス/ラット用) (Tokiwa T-BCC-Micro-M25)	
		オートクレーブ (HIRAYAMA HV-110)	
		安全キャビネット (AIRTEC)	
	V313	安全キャビネット (AIRTEC)	
	V314	デジタルカメラ付蛍光顕微鏡 (OLYMPUS DP74-SET-A)	
		CO ₂ インキュベーター (ASTECC SCI-165D/APC)	
		倒立位相差顕微鏡 (OLYMPUS CKX41)	
		安全キャビネット (AIRTEC)	
		オートクレーブ (平山製作所 HG-50)	
		卓上遠心機 (KUBOTA 5520)	
	V319	卓上冷却遠心機 (Eppendorf 5415R)	
		CO ₂ インキュベーター (Thermo F370)	
安全キャビネット (AIRTEC)			
倒立蛍光顕微鏡 (KEYENCE BZ-9000)			

遺伝子実験室	V323	位相差顕微鏡 (OLYMPUS CK2)	
		超遠心機 (HITACHI CP80WX)	
		安全キャビネット (AIRTEC)	
		スイングローター付遠心機 (HIRASAWA TE-HER)	
		インキュベーター (SANYO MIR-153)	
		卓上冷却遠心機 (Eppendorf 5415R)	
		紫外・可視分光光度計 (GE Healthcare GeneQuant100)	
	ヒートブロック (アステック)		
	V303	ゲル・メンブラン撮影装置 (BioRad)	
		PCR装置 (BioRad, Applied Biosystems)	
		多標識測定用プレートリーダー (ワラック社)	
		リアルタイム濁度測定装置 (テラメックス LoopampEXIA)	
		リアルタイムPCR装置 (ABI, Quant Studio 3)	
		デジタルPCR (日本バイオラッド)	
V306	卓上遠心機 (HITACHI CT6E)		
	卓上冷却遠心機 (HITACHI CT15RE)		
V307	細菌検査用ホモジナイザー (オルガノ EXNIZER400)		
	シーケンサー (ABI3130, SeqStudio)		
試薬調製室	V305	pHメーター (HORIBA)	
		デシケーター (ASONE)	
病理標本作製室	V316	パラフィン包埋ブロック作製装置 (SAKURA)	
		手動回転式マイクロトーム (Leica MR2235)	
		密閉式自動固定包埋装置 (SAKURA)	
		卓上型ドラフト (明光メディカル)	
洗浄室	V318	超純水製造装置 (Milli-Q Advantage)	
		オートクレーブ (TOMY SX-500)	
		全自動洗浄機 (Miele PG858)	
滅菌室	V322	オートクレーブ (TOMY、平山製作所)	
		高純水製造装置 (Merck)	
		全自動血球計数器 (日本光電工業)	
微生物保存室	V324	液体窒素保存容器 (太陽日酸株, アステック)	
		超低温槽 (Thermo REVC0 TSX400G)	

(II) 獣医寄生虫病学研究

部屋名	機器名	使用した延日数
獣医寄生虫病学研究室	H212 核酸抽出自動化装置 (QIAcubr)	

(III) 産業動物教育研究センター

部屋名	機器名	使用した延日数
大中動物検査実験室	大中動物検査実験室	1
	全身麻酔装置	
	埋込式回転診療台	
中動物陽圧実験室	手術台、无影灯 (2機)、麻酔装置、生体情報モニター、X線投下装置 (Cアーム)	

	一式	
MRI 室	3T MRI、MRI 用生体情報モニター、MRI 用麻酔装置一式	
	MRI オペレーター	
P2 検査実験室	アイソレーター	
	安全キャビネット	
	オートクレーブ	
器具・薬品庫	ウサギ飼育用ケージ	
滅菌リネン庫	高圧蒸気滅菌装置	
	カートリッジ式酸化エチレンガス滅菌器	
動物飼育	動物飼育費	
	飼育管理員	

その他の装置・データ等

分類	名称	使用した延日数
データベース		
バイオリソース		
データ・文献		
装置		