

## 日本における92年ぶりの口蹄疫の発生と家畜衛生試験場の防疫対応

家畜衛生試験場口蹄疫対策本部<sup>1)</sup>

(平成13年8月22日 受付)

### Foot-and-mouth disease (FMD) outbreaks in 2000, Japan and the struggle against FMD in the National Institute of Animal Health

National Institute of Animal Health Task Force Team for the Eradication of FMD

2000年3月、わが国で92年ぶりに口蹄疫が発生し、畜産関係者を震撼させた。今回の発生は、2道県、4戸の農家にとどまったが、家畜衛生と防疫の重要性を世に知らしめる大いなる警鐘となった。本病の発生から終息に至るまで、行政機関をはじめとして、畜産関係者、獣医師、各種団体、研究機関等がそれぞれの立場から最善を尽くした。とくに、家畜衛生試験場は、口蹄疫の発生に際して、診断、抗体検査、疫学調査、各種対策委員会や現地における技術的アドバイスなど多方面にわたり、海外病研究部を中心に全場的な支援体制のもとで全力をあげてそれらに対応した。その結果、本病の発生は2000年6月9日をもって終息し、さらに、同年9月26日、国際獣疫事務局(OIE)によって「日本は口蹄疫に対する清浄国」として再び認定されることになった。これは、国、地方自治体をはじめ、獣医、畜産関係者が一丸となって、口蹄疫の防疫対応にすばやく取り組んだ結果にほかならない。

#### はじめに

2000年3月、わが国で92年ぶりに口蹄疫が発生し、畜産関係者を震撼させた。さいわい今回の発生は、表1に示したように、2道県、4戸の農家にとどまったが、家畜衛生と防疫の重要性を世に知らしめる大いなる警鐘となった。

本病の発生から終息に至るまで、行政機関をはじめとして、畜産関係者、獣医師、各種団体、研究機関等がそれぞれの立場から最善を尽くした。

家畜衛生試験場(以下、家畜衛試;現独立行政法人農業技術研究機構動物衛生研究所)は、口蹄疫の発生に際して、診断、抗体検査、疫学調査、各種対策委員会や現

地における技術的アドバイスなど多方面にわたり、海外病研究部を中心に全場的な支援体制のもとで全力をあげてそれらに対応した。

その結果、本病の発生は2000年6月9日をもって終息し、さらに、同年9月26日、国際獣疫事務局(OIE)によって「日本は口蹄疫に対する清浄国」として再び認定されることになった。

以下、92年ぶりの口蹄疫の発生に対する家畜衛試における防疫対応とその取り組みについて述べたい。

表1 日本における口蹄疫発生状況

発生日	発生場所	動物種	農場	飼養頭数
3月25日	宮城県宮崎市	牛:黒毛和種	A	10
4月3日	宮城県高岡町	牛:黒毛和種	B	9
4月9日	宮城県高岡町	牛:黒毛和種	C	16
5月11日	北海道本別町	牛:ホルスタイン種とF1種	D	705

1) 独立行政法人農業技術研究機構動物衛生研究所  
〒305-0856 茨城県つくば市観音台3-1-5

### 口蹄疫防圧のための組織態勢とその活動

#### 1. 海外病研究部における口蹄疫の防疫の役割と診断態勢

家畜衛試海外病研究部における口蹄疫、アフリカ豚コレラ等の海外病に対する研究と診断態勢の整備は、31年前に遡り1970年に始まった。とくに、1979年の本場のつくば移転時を契機にして、その移転跡地である小平市に、1982年、海外病研究部が海外病研究管理官と4研究室体制で発足した。1988年には、海外病にかかわる病原体の高度封じ込め施設（特殊実験棟）が完成し、研究に直接感染性病原体を扱うことが可能となった。

また、海外病研究部における研究基本計画は、「海外伝染病の侵入と蔓延防止技術の確立」を中心課題にすえ、「海外伝染病の病原体の特性解明」と「海外伝染病の診断、予防と伝播防止技術の開発」の2本柱で推進してきた。また、欧米の海外病研究機関や東南アジアの地域機関との連携強化に勤め、最新の疫学情報の収集と国際レベルの研究活動の維持を図ってきた。

とくに、口蹄疫、アフリカ豚コレラ等の疾病を直接疑う場合の診断態勢は、標準免疫血清やELISAキット、ウイルス分離に用いる組織培養細胞等を常備する形で、いつでも緊急事態に対応できる準備を整えてきた。

#### 2. 2000年3月、「口蹄疫を疑う疾病」の発生

海外病研究部においてこれまで、口蹄疫を疑う疾病について年間数例ずつの病性鑑定を実施してきたが、その結果はすべて陰性であった。

2000年3月21日、宮崎県より「口蹄疫を疑う疾病が発生」の第一報を受けると直ちに緊急病性鑑定業務を開始した。OIEの口蹄疫診断の標準法マニュアルに基づき、搬入された病性鑑定材料について、補体結合反応とELISA法による抗原検出および組織培養細胞と乳のみマウスを用いたウイルス分離試験を実施した。これらの検査結果はすべて陰性であったが、同時に実施したRT-PCRによる遺伝子断片の検出および血清における抗体検出ELISAが陽性反応を示した。

家畜衛試は、これらの病性鑑定成績をもって、OIEが定めた口蹄疫診断マニュアル（国際標準法）にしたがって、口蹄疫ウイルスによる感染と判断した。

さらに、これらの成績は、3月25日に開催された第1回口蹄疫中央防疫対策本部の防疫技術委員会に提出され、総合判定の結果、「口蹄疫疑似患畜の発生」として確認された。

#### 3. 家畜衛試「口蹄疫対策本部」の設置とその対応

図1に示すように、3月27日、場長を本部長に、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」が設置され、92年ぶりとなる口蹄疫の発生に際し、全場の総力をあげて対応することになった。日誌による活動の概要は、別添資料1-1に示した。

家畜衛試は、口蹄疫の防疫に関する技術的な支援を行

家畜衛生試験場口蹄疫対策本部（本部長：場長）

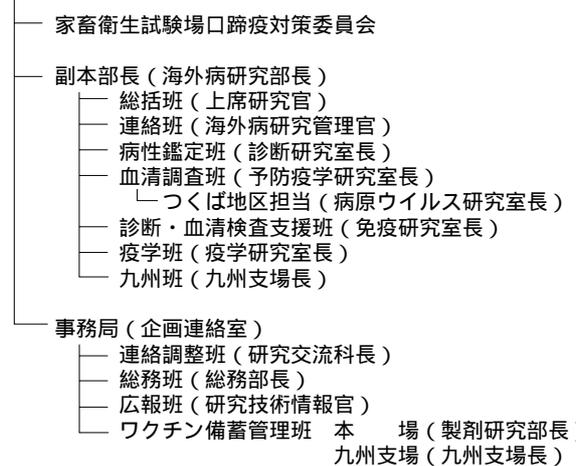


図1 家畜衛生試験場口蹄疫対策本部

うことができるわが国唯一の研究機関である。そのため求められる業務は、ウイルス学のおよび血清学的診断、抗体検査、各種委員会等における技術的アドバイス、検査材料の採取および防疫技術等に関わる現地指導、疫学調査とその解析等への協力、講演会や研究会を通じた啓蒙活動、関連情報のインターネットによる発信、緊急備蓄ワクチンの管理等が想定された。

このように業務が多岐にわたりがつ膨大になったことから、その効率的推進に全場的な意思統一と協力態勢が不可欠であった。全場的な問題は、本部長のもとに家畜衛試「口蹄疫対策委員会」でとりあげ、検討した。本委員会は、後述するように、全場の具体的な協力支援体制の確立に大きな役割を果たした。

副本部長の下には、総括班、連絡班、病性鑑定班、血清調査班、診断・血清検査支援班（以上海外病研究部）、さらに、本場（つくば）と九州支場に、疫学班と九州班が設置された。

各班の主な役割と活動は以下の通りであった。

##### 1) 血清調査班

診断・血清検査支援班の協力のもとに、それぞれ診断に関わる検査業務と清浄性の確認等を目的とした膨大な血清サンプルの抗体検査を実施した。

今回の口蹄疫は、発生状況等の疫学調査を進める中で、従来知られている口蹄疫に比べ、伝染力などの病勢が弱いことが明らかになった。そのために、発生地点周辺区域の偶蹄類家畜に対して、口蹄疫の臨床症状の確認による農場立ち入り検査だけでは、本病の広がりを十分確認できないことが想定された。

そのため、本病の確認調査は、臨床検査に加え血清による抗体検査を併用して行うこととなった。発生地点をとりまく半径50 kmの移動禁止地域内および疫学的に口蹄疫の伝播が疑われる農場に対する抗体検査は、ELISAと分離されたウイルスを用いた中和試験を一部併用で行った。

今回、口蹄疫の患畜もしくは疑似患畜が摘発された宮崎県と北海道は、わが国における農業の中で畜産の占める割合が大きい地域である。そのため、抗体検査を必要とする血清サンプルは膨大な数となった。5月20日までにその数は、52,894頭で約6万検体に達した（表2）。

表2 血清学的サーベイランス

県	地域	対象農場数	ELISA検査頭数
宮崎・熊本・鹿児島	移動禁止	3,619 <sup>1)</sup>	8,258
	搬出禁止	12,184 <sup>2)</sup>	17,873
	移動・搬出禁止以外	8,054	8,712
	疫学関連	2,704 <sup>3)</sup>	8,560
北海道	移動禁止	139 <sup>4)</sup>	3,506
	疫学関連	85 <sup>5)</sup>	2,211
その他		1,329	3,774
	合計	28,114	52,894

注：1) 口蹄疫発生地点から半径20km以内の農場

2) 口蹄疫発生地点から半径20km～50km以内の農場

3) 移動・搬出禁止地域から牛を導入した農場および輸入粗飼料利用農場

4) 口蹄疫発生地点から半径10km以内の農場

5) 口蹄疫発生農場飼養牛の導入元農場

なお、5月1日以降は海外病研究部で分離ウイルスの病原性確認（動物接種）試験を開始したことから、北海道関連の抗体検査は本場で実施し、その数は5,717サンプルであった。

以上のように、膨大な血清サンプルを限られた期間内に海外病研究部のみで検査することはたいへん困難であることから、家畜衛生本場をはじめ、動物検疫所（動検）および動物医薬品検査所（動薬検）に多くの緊急支援者を要請した。その人数はウイルス学的検査で延べ312名、抗体検査では867名にのぼった。

この他、家畜衛生は、口蹄疫の防疫活動にともなう様々な技術的支援が求められることも予想された。したがって、海外病研究部のみですべて対応することは困難

であり、全場的な支援体制をまず確立することが急務と考えられた。

## 2) 病性鑑定班

ウイルス分離、補体結合反応やELISA法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を担当した。また、6月1日までに流涎、発熱など口蹄疫を疑う症例31件に由来する約200サンプルについて病性鑑定を実施した。

## 3) 総括班と連絡班

上記業務の連絡調整と結果の取りまとめを担当した。

## 4) 疫学班

血清学的サーベイランスにおけるサンプリング法について検討するとともに、検査結果の解析等に重要な役割を果たした。また、現地における疫学調査や検査材料採取の技術指導等にも多くの職員を派遣し、その数は本場と支場合わせて13名であった。

## 5) 九州班

宮崎県の発生地が近かったため、現地へ直接の支援者派遣のほか、九州地域における啓蒙活動に大きく貢献した。活動の概要は、別添資料1-2に示した。

なお、3月27日時点では北海道における口蹄疫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。その後、北海道での本病発生に伴い、北海道支場は、4月10日、独自に対策委員会を組織し、緊急時の対応を検討するとともに、疫学調査の支援を目的にウイルス担当者2名を現地に派遣した。

## 6) 本場の事務局

連絡調整班、総務班、ワクチン備蓄班が協力して、行政部局や発生現地との連絡調整、技術支援および支援者に関わる連絡調整、予算関係業務、資・機材の調達、緊急輸入ワクチンの備蓄管理等の業務を実施した。

とくに、海外病研究部や行政部局、現地との連絡調整業務が膨大となり、日祝祭日の区別なく連日深夜まで作業が続いた。

また、今回、口蹄疫の発生は緊急事態のため、検査に要する資機材の購入、支援者派遣の旅費、休日勤務に関する調整など、総務部門に関わる課題も多く、これらについては総務班が大きな役割を果たした。とくに、小平総務分室の職員は、少ない人員にもかかわらず、深夜における検査材料の受領、昼夜を分かつため電話・ファクシミリ等の連絡、資・機材や派遣者等にかかわる事務や連絡調整等に支援の努力を惜しまなかった。

## 7) 広報班

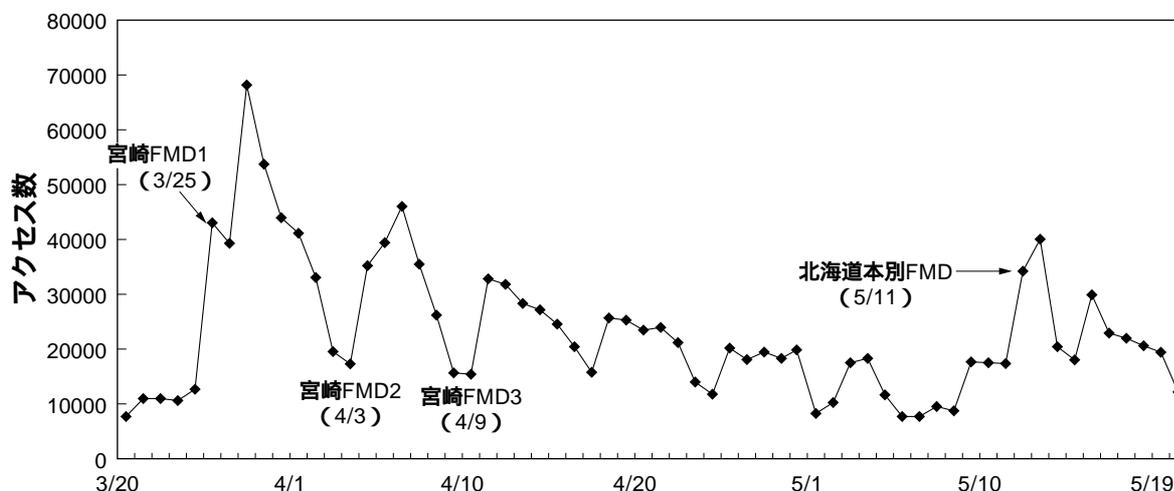


図2 口蹄疫の発生とアクセス数  
家畜衛生試験場ホームページ

家畜衛試のホームページを通じて口蹄疫疫学情報の発信に努め、国内外から多くのアクセスがあった。3月27日にはその数は合計68,000件に達した(図2)。

#### 8) 本部事務局

その日の検査結果や諸会議の報告を待って、疫学班や関係者からなる「技術検討会」を随時開催し、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。

#### 9) 本部長

家畜衛生試験場の最高責任者として、口蹄疫の発生から終息および清浄化宣言に至るまでの間、とくに、刻々と変わる情勢と防疫対応の節目において、場員への情勢報告、協力依頼そして感謝の意を表明し、場員の意識高揚とそれによる防疫活動に大きな効果があった(別添資料2-1,2-2を参照)。

### 4. 口蹄疫発生にかかわる海外病研究部の対応

海外病研究部における口蹄疫の病性鑑定と抗体検査等への対応は、家畜衛試の全場的支援に加えて、前述した動検、動薬検の他に、畜産局衛生課との連絡調整のために生物系特定産業技術研究推進機構(生研機構)からの支援も受けながら行われた。

#### 1) 動員態勢

別添資料3-1に、海外病研究部における3月24日から6月9日までの動員態勢を、また、同じく別添資料3-2に本場における北海道関連の抗体検査の動員態勢をまとめた。表中に記した印は、「 $\square$ 」:口蹄疫の抗原診断および抗体検査、「 $\triangle$ 」:口蹄疫抗体検査のための血清材料の整理・仕分け、「 $\diamond$ 」:口蹄疫診断に関わる連絡調整、「 $\circ$ 」:分離した

口蹄疫ウイルスによる動物接種試験」を表している。

3月24日から3月29日

口蹄疫発生に伴って、本病を疑う緊急病性鑑定業務の依頼が多くなった。海外病研究部の担当者のみでは、徹夜の作業による過労などによって業務に支障を来すことが考えられ、本場のウイルス担当研究者の支援を受けて対応した。

病性鑑定業務以外の担当者は、送付されてくる膨大な血清サンプルを間違えることなく管理するため、血清材料の整理・仕分けシステムを作成した。また、送付血清中には、口蹄疫感染が疑われるサンプルも含まれている可能性もあることから、海外病研究部の遺伝子工学実験室を一時改造し、血清材料整理・仕分け室として利用した。入り口でつなぎ作業服に着替え、踏み込み消毒槽を設置し、作業室内では手袋を必ず着用し、汚染を拡散しないよう十分に注意し作業を行った。

3月30日から4月28日

当初は、口蹄疫発生に伴う移動制限区域(発生地点を中心に半径20km圏)以外の地域からの血清が少数送付されてきたので、海外病研究部の人員だけでその整理・仕分けを行った。

しかし、その後、移動制限区域内の飼養牛血清に加えて、今回の口蹄疫の感染源として輸入粗繊維性飼料が疑われたことから、これを使用する全国の農場の飼養牛も調べることとなり、検査を要する血清サンプルは膨大な数となった。このため、海外病研究部の人員だけでは処理しきれず、本場、動検、動薬検からの全面的支援を受けて業務を行った。この業務は4月28日まで休みなく続けられた。

4月10日以降は、生研機構から1名が派遣され、海外病研究管理官とともに、海外病研究部と衛生課との連絡調整を行った。

5月1日から6月10日

5月1日からは分離した口蹄疫ウイルスの動物接種試験が開始された。口蹄疫を疑う緊急の病性鑑定や抗体検査も引き続き行われた。この時期は外部からの応援態勢でなく、海外病研究部の人員を中心に業務を実施した。ただし、5月の連休中は抗体検査をフル回転で行うため、本場および動検に対して若干名の人的支援を要請した。

連休の明けた5月9日以降の検査対象は、それまでに実施した抗体検査で陰性が確認されなかった農家のいわゆる再検査および再々検査を目的とした血清サンプルが主体となった。

その再々検査において、北海道のプロバング材料からRT-PCRで口蹄疫ウイルスの遺伝子断片が検出され、5月11日に北海道での口蹄疫疑似発生が公表された。その後、北海道の口蹄疫発生に関する抗体検査は本場で実施され、5月15日から5月25日までの11日間に、本場でも連日15～20名が検査業務に従事した。海外病研究部は、この検査で陰性が確認できなかった材料についてELISA法と中和試験による検査を行った。

その後、新たな口蹄疫発生は認められず、6月10日をもって北海道の警戒体制は解除された。

## 2) 動員数

海外病研究部における動員体制は、別添資料3-1に示したとおりである。

一日当たりの動員体制は、3月24日から4月2日までは、口蹄疫の病性鑑定業務が中心で10名未満の人で対応している。

しかし、4月3日から4月9日までは抗体検査が始まり、10～20名の人員が送付血清の仕分け整理業務も含め、抗体検査業務に携わった。

4月10日から4月28日までは、15～25名の人員で、抗体検査業務に取り組んだ。5月1日からは国内で分離された口蹄疫ウイルスの動物接種試験を開始し、隔離実験棟に入室する人数が制限されたことから、5月8日まで10～15名の人員が抗体検査業務に携わった。

5月9日からは海外病研究部の人員を主体に動物接種試験と抗体検査および診断業務に取り組み、概ね10名未満の人員で対応した。

以上のように、口蹄疫の診断に携わった人員は最大で25名、常時10名前後で業務を行なうことになった。

3月25日の口蹄疫発生から6月10日に全ての警戒体制が

解除されるまで、病性鑑定、ウイルス分離、抗体検査および動物接種試験と多くの業務をこなす中で、業務担当者としても最終的に口蹄疫を撲滅できたことにあらためて感嘆の意を隠せないことを特筆しておきたい。

## 口蹄疫の緊急病性鑑定

海外病研究部・診断研究室は、通常の研究業務を遂行しながらも平素から口蹄疫の緊急病性鑑定に対応する診断法などの準備を行ってきた。その概要は以下の通りである。

### 1) 補体結合反応

標準血清の海外からの導入、新鮮補体の購入と力価検定、溶血素の更新と力価の測定、羊赤血球採取用を入手するためにめん羊の通年飼育、その他必要な試薬類の更新。

### 2) 国際標準法のひとつである抗原検出ELISA法

試薬類の調整と高性能ELISA器機の購入、その術式の習熟訓練。

### 3) ウイルスの分離

各種培養細胞の維持、乳のみマウスを常備するための繁殖マウス群の通年飼育。

### 4) 新しい診断法の開発

RT-PCRの独自開発と本法に関する技術情報の入手および海外における実証試験の実施、口蹄疫ウイルスに対する特異抗体を検出するための抗体検出ELISAの習熟訓練。

### 5) その他

世界、特にアジア地域における口蹄疫発生状況の収集と情報解析、口蹄疫の共同研究を通じた海外の研究機関および研究者との情報の交換、口蹄疫に関する国際会議への出席と最新情報の入手など。また、研究領域では、口蹄疫ウイルス遺伝子の導入による新たな診断法の開発、遺伝子解析による診断に有効な領域の検索などを行ってきた。

以上の事柄に加えて、タイ国における30年を越える技術協力を通じた共同研究による口蹄疫関連情報の収集と診断技術の研鑽は、今回の発生に際して極めて効果的に活用された。

## 1. 特殊実験棟における実験室内診断

### 1) 病性鑑定材料の搬入までの経過

3月21日午後5時20分、宮崎家畜保健衛生所（宮崎家保）から「管内のA肉用牛肥育農家において、飼養牛10頭すべての口腔内および鼻鏡に痂皮および膿瘍を確認し

た。これから当該農家に出向き採材をしたい」との電話連絡があった。診断研究室からは「採材は海外悪性伝染病防疫要領に準じるが、運送用試薬類がない場合には緊急的にイーグルMEM培地でpHを調整したものに水疱上皮を浮遊させて持参すること、採材後に再度連絡をくれること、また周辺に畜産農家があるか否かを確認すること」などを指示した。

同日午後8時45分、宮崎家保から現地調査結果の連絡を受けた。それによれば「宮崎市富吉のA農家において2月29日に肥育のために導入した黒毛和種10頭に3月8日からかぜ様の症状が認められた」であった。臨床症状の詳細は、以下のようにまとめられた（別添資料3の写真1～4も参照）。

- ・上顎、舌および鼻腔内のび爛、膿瘍を確認（10頭中2頭）
- ・2頭の他は回復している。そのうち1頭は鼻腔より膿汁を排泄
- ・一部の牛に泡沫性流涎が認められる
- ・鼻鏡、蹄間部および乳房に水疱は確認されない
- ・跛行は認められない

さらに、夜間の観察であったことから、皮膚病変の採材ができず、血清以外は病変部の拭い液のみであった。一般に「口蹄疫の病性鑑定用の材料採取は、水疱上皮組織または水疱液を採材する」ことから、「拭い液は口蹄疫の病性鑑定材料として適切でない」ことを伝えた。また、「病変組織は1gを目途にできるだけ多く採材する」よう依頼した。さらに「1頭から十分採材ができない場合には、複数頭の病変を集める」ことも検討するよう指示した。

以上の指摘に対して「3月22日、翌朝になってから再度採材する」との回答を得た。翌日の採材は、病変組織からの採取が困難であったことから、牛にキシラジン麻酔を施し、病変組織を採材したとのことであった。

診断研究室は、3月21日に連絡を受け、翌22日に病性鑑定材料が届くまでの間、従来から実施してきた口蹄疫を疑う緊急病性鑑定の手順に従い、以下のような準備を進めた。また、この時から開始した一連の病性鑑定業務はすべて海外病特殊実験棟高度封じ込め施設内で実施された。

- ・口蹄疫ウイルス感受性細胞の培養
- ・補体結合反応用感作血球の調製
- ・抗原検出ELISAの試薬調製
- ・乳のみマウスの確保

3月22日午後、宮崎家保より血清9検体と口腔および

鼻腔病変からなる病性鑑定材料が海外病研究部に到着した。

## 2) ウイルス証明のための緊急病性鑑定

診断研究室は、直ちに国際標準法に則して、平素から準備していた口蹄疫の緊急病性鑑定の開始した。検査は以下の通りである。

- ・抗原検出ELISA
- ・補体結合反応
- ・RT-PCR
- ・組織培養細胞へ診断材料の接種
- ・乳のみマウスへ診断材料の接種

3月22日に実施した検査開始後8時間以内での診断結果では、抗原検出ELISA、補体結合反応はともに陰性であったが、RT-PCRで目的とする遺伝子（口蹄疫ウイルスに特異的な遺伝子領域）の増幅が認められた。しかし、RT-PCRで陽性対照に置いたPCRキット添付材料の本来検出されるべきバンドが確認されなかったため非特異反応の可能性も否定できなかった。

そのため、本法について、RNAの抽出、遺伝子増幅等の各段階に陰性対照を設け、さらに術者も複数にし、その検査も2回繰り返した。

その結果、PCRキット添付の陽性対照で適切なバンドが確認され、同時に検査材料にも口蹄疫に特異的な遺伝子領域の増幅が確認された。口蹄疫に対するRT-PCRを用いた診断では、その信頼度を確保するため独立した3ヶ所の領域を標的としているが、今回はそのいずれにおいても特異的な遺伝子の増幅が認められた。

このように、種々の検査法のうち、口蹄疫ウイルスに特異的な遺伝子の増幅がRT-PCRによる検査においてのみ認められ、検査材料中にウイルスの存在が否定できない結果となった。

## 3) 血清検査

翌23日の夜、宮崎県から持ち込まれた9頭の血清に対して抗体検出ELISAを実施した。このELISAは、以前からその術式の習得のための習熟訓練を行ってきており、判定までに2日間を要すること、また口蹄疫ウイルスの血清型によっては非特異反応を生じることがあるということが判明していた。

今回の検査は、過去に動物検疫所より搬入されたELISAキットを用いた。抗体検出ELISAキットが家畜衛生で独自に準備されてなかった理由は後で述べるが、動検と海外病研究部の従来からの密接な連携関係がこの緊急事態における対応を容易にした。

口蹄疫ウイルスは血清型が7種類ある。今回検出され

た抗原がどの型に属するかわからないので、保存キットに含まれる血清型すべてを用いて抗体検査を行った。翌日の3月24日、搬入された牛血清はすべて口蹄疫ウイルスのO型に対する抗体を持ち、それらが非特異反応でないことが判明した。

#### 4) その他のウイルス証明法

3月24日深夜、宮崎県から当該牛のプロバング材料4検体が届いた。しかし、これらのプロバング材料では、RT-PCRを含め上記の検査はすべて抗原検出が陰性であった。

さらに、3月25日の殺処分時に採取された拭い液や扁桃組織材料も同様にすべての抗原検査で陰性であった。

その後、材料を接種した培養細胞上清を3代継代したが、感受性細胞にはCPEなどの変化が認められず、また同一材料の乳のみマウスの腹腔内接種でも乳のみマウスに異常は観察されなかった。

## 2. 病性鑑定材料リストと診断結果

2000年3月～同年11月まで、海外病研究部で実施した口蹄疫を疑う病性鑑定の件数は38件で、プロバング材料を加えると約200検体を越えている。その多くが深夜便で海外病研究部に搬入されるため、病性鑑定の多くは夜を徹しての作業となった。口蹄疫の診断は緊急を要するものではあるが、7日間にもおよび連続勤務に加えてこの半年間で40日以上にわたる徹夜勤務は、肉体的な限界をはるかに超えていたと言わざるを得ない。

このような過剰労働は、いつなごき診断時における人為的なミスにも繋がりがかねないことから、今後は病性鑑定材料の受け入れ体制の確立にはより綿密な配慮が求められる。

別添資料5に、その一覧と診断結果を示した。緊急病性鑑定として搬入された材料は、宮崎県の最初の症例以外はすべて陰性の成績であった。なお後述するように、本稿では、宮崎A農場の症例を病性鑑定材料として扱い、宮崎BとC農場及び北海道D農場は疫学調査によって摘発できた症例として扱っているため、宮崎BとC農場及び北海道D農場は別添資料5の病性鑑定の一覧には含まれない。

## 3. プロバング材料からの口蹄疫ウイルスの分離

近年特定宿主域に親和性の高い口蹄疫ウイルスの流行がみられることから、ウイルス分離には、上述のように口蹄疫ウイルスに感受性のある数種類の組織培養細胞と乳のみマウスを用いて実施した。

最初に搬入された材料がRT-PCRで陽性を示したことから、口蹄疫ウイルスを分離することが最重要の課題とされ、精力的に分離を試みたが、病変部の材料、プロバング材料、殺処分時に採取された扁桃および舌組織のいずれからでも口蹄疫ウイルスの分離は成功しなかった。

当時は振り返ると、分離の可能性が最も高い材料は、A農家が飼養する第10号牛のプロバング材料ではないかと思われる。なぜなら、他の牛は抗体価が500～1000倍であるのに対して、当該牛は、それが90倍と低いため、ウイルス粒子が抗体に被覆されていない状態で病変部に存在する可能性があったからである。しかし、当該牛は麻酔を施したことで起立不能の状態に陥り、また、発生農場では畜主の心情も考慮する必要があって、実際にはプロバング材料の採取はできなかった。

また、3月24日深夜に持ち込まれたプロバング材料4検体も、現場においてドライアイスの入手が困難であったこと、採材してから輸送に時間がかかったことなどウイルスの分離には必ずしも適さない条件が重なり、これらの材料から口蹄疫ウイルスの分離はできなかった可能性もある。

RT-PCRで、口蹄疫ウイルスに特有のバンドが検出され、その本体である病原ウイルスを分離することができないという焦燥感と重圧は当事者にとってきわめて大きかった。しかし「少なくとも92年前から、日本で口蹄疫ウイルスの分離に成功した人間は誰もいないのだ」という開き直りの気持ちと「家畜衛試の名に懸けても分離する」という使命感で、引き続き不眠不休の努力を注ぐことになった。

その結果、4月11日、ついに初代牛腎臓(BK)培養細胞を用いて口蹄疫ウイルスの分離に成功した。それは、当初の病性鑑定材料からでなく、移動禁止地域内における抗体検査で陽性例が認められた農場の黒毛和種のプロバング材料からであった。このプロバング材料は、すでにRT-PCRで口蹄疫ウイルスに特有の遺伝子増幅が認められていたことから、口蹄疫ウイルスが分離できる可能性は十分存在していた。

口蹄疫ウイルスに限らずウイルス分離の成功の鍵は、分離しようとする新鮮な材料が適切な状態で管理・輸送され、素早い処理によって、ウイルスの不活化が起こらぬよう良好な状態に保たれること、また、感受性の高い組織培養細胞が準備されていることである。今回、口蹄疫ウイルスを分離できたのはこのような条件がすべて整っていたため、口蹄疫ウイルスに感受性の高い牛甲状腺初代培養(BThy)細胞やBK細胞は、本場や九州支



写真1 ウイルス培養上清からのRT-PCR法による口蹄疫ウイルス特異断片の増幅

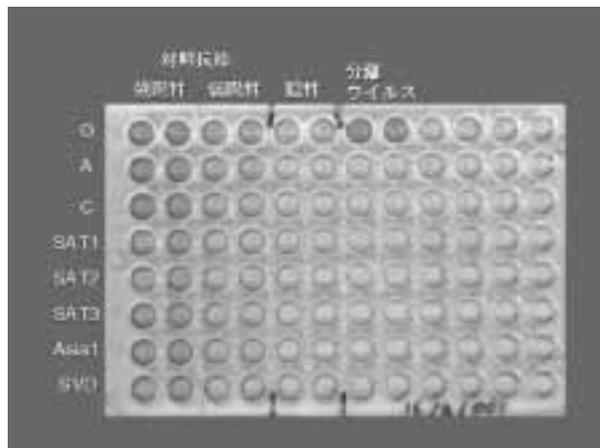


写真2 口蹄疫抗原検出ELISAによる口蹄疫ウイルスの同定：口蹄疫ウイルスはOタイプと同定された。

場，動検や北海道庁の協力を得て準備することができた。

最終的に，これらの組織培養細胞を用いてプロバング材料6検体中の2検体からウイルスが分離された。この分離には，感受性細胞の供給も含め，九州支場の臨床ウイルス研究室長，本場の病原ウイルス研究室長の助言に負うところが多い。また，このときに技術協力で培ったタイの口蹄疫センターにおける経験が非常に役立った。

材料の接種2日後，BK細胞において一部の細胞が培養液中に浮き上がる微弱な細胞変性効果（CPE）が認められた。しかし，CPEは，3日後に繊維芽細胞によって修復されそれ以上進行しなかった。口蹄疫ウイルスの分離・同定は，この2日目の培養上清1mlの一部を用いてRT-PCRと抗原検出ELISAで行った（写真1と2）。なお，この培養上清を継代することにより，明瞭なCPEを示すウイルスが分離されることとなった。

#### 4．一連の緊急病性鑑定に取り組む中での問題点

##### 1) 病性鑑定材料の搬入まで

実際に海外病研究部診断研究室としてこれらの病性鑑定を担当したところ，まず各都道府県から持ち込まれる鑑定材料の量とその送付方法にさまざまな問題点が見受けられた。結果として，今回発生した口蹄疫の性状や抗体検査の成績をあわせて判断することにより，国内での発生を逃すことはなかったが，今後の病性鑑定の適正化のため，以下にその問題点を記載する。

現行国際獣疫事務局の口蹄疫診断マニュアルによると，種々の実験室内診断に供するために，必要最小限の病変組織材料は1gを目途として採材することとなっている。しかし，搬入されたほとんどの材料は1g以下であった。

初発の宮崎の発生でも採材に困難を極めている。これは，今回の口蹄疫では水疱形成などの典型的な病変が認められなかったためである。このため，ある症例では，総量でも0.1g程度と極めて少量の場合も認められた。

さらに，採材者がせっかく苦勞して採取した病性鑑定材料にもかかわらず，保存方法や送付方法が間違っているため，病性鑑定材料として適さない場合も初期には見受けられた。例えば，水疱上皮や病変組織をpH 6.0以下のグリセリンPBS中に保存した場合や，水疱液をグリセリンPBS中に入れてしまうなどの間違いがあった。前者の場合は，低いpHのためウイルスが速やかに不活化され，後者の場合は，ウイルス分離を試みる際，高い浸透圧によってウイルス吸着時間内に培養細胞に対する障害が起こる。このようなことがないように衛生課を通じて注意喚起を行うとともに，必要のある場合には，病性鑑定担当者として再度採材を依頼した。

口蹄疫を疑う動物から病性鑑定材料の採取を行う場合，ウイルス飛散防止のため採材者と搬送者が異なることから，これらの材料はどの保存液に入れて搬送するかを事前に打ち合わせ，準備をすることが必要である。また，搬入時の温度条件についても同様のことが言える。プロバング材料を常温や冷蔵で搬送した場合は，分泌型抗体により材料中のウイルスが中和されてしまうので，必ず採材後直ちにドライアイスで凍結させ，ウイルスの中和を防ぐ必要がある。

今回の口蹄疫の発生例は，臨床症状として水疱が観察されなかったことから，現場において臨床症状だけで口蹄疫を疑うことは極めて困難であったと推測された。しかし，臨床現場における観察者は，口蹄疫には非典型的

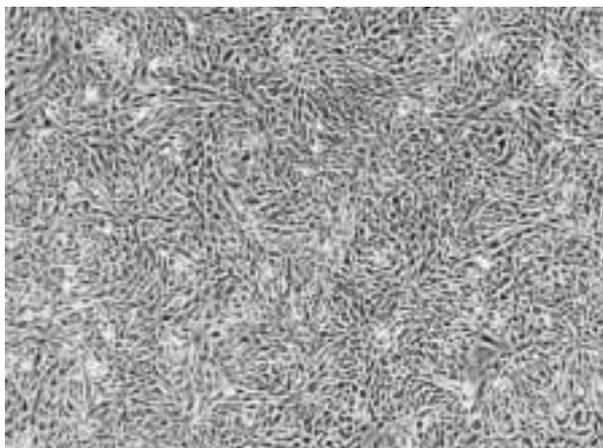


写真3 正常な牛腎 (BK) 培養細胞

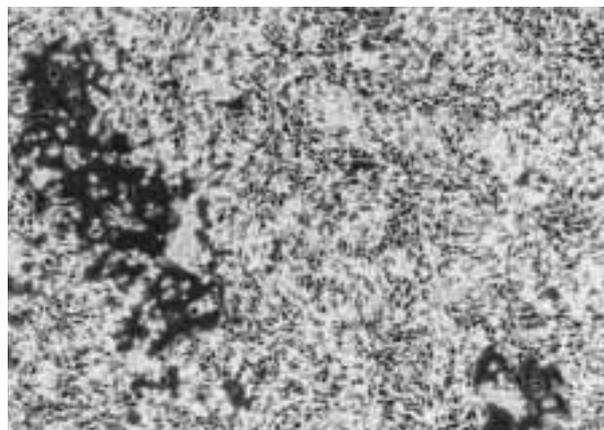


写真4 ウイルス2代継代後の感染牛腎(BK) 培養細胞

症状を示す場合もあることを認識しつつ、まず、感染症であるか否か、とくに臨床症状の広がり（例えば、流涎は群内に広がっているか、発熱や食欲不振は複数頭いるかなど）を見極める必要がある。

以上述べたように、口蹄疫を疑う動物から貴重な病性鑑定材料を採取しても、その採材方法や輸送方法を間違えては、実験室診断に用いることができない場合があることを常に念頭におくべきであろう。以下、それらの注意事項ならびにウイルス分離法について、別添資料6に簡潔に記載した。

## 2) 実験室内病性鑑定に際して

補体結合反応および抗原検出ELISAで、抗原が検出できなかった理由として、患畜の病変部には検出可能なウイルス量が存在しなかったためと考えられる。ウイルス証明としては、国際標準法である抗原検出ELISAや補体結合反応では陰性結果であったのに対して、RT-PCRでは口蹄疫に特異的な遺伝子の増幅が確認され、ウイルスの存在が否定できない結果が得られた。この遺伝子診断法は、国際的な研究情報交換や独自開発により開発されたものである。1999年、台湾の口蹄疫では在来牛が不顕性感染していた。この時、RT-PCRで口蹄疫ウイルス遺伝子が検出されたことから、アジア地域においてこのような口蹄疫ウイルス株の存在が示唆され、診断研究室においては本法を一診断法として早くから導入していた。このように、今後は世界の口蹄疫ウイルスの性状を踏まえた診断技術の開発が不可欠になる。

92年ぶりの口蹄疫発生であったことから、当初、いわゆる教科書的な固定観念に縛られた。つまり、口

蹄疫は「水疱を形成する疾病でその伝播力はきわめて強い」と考えていたが、今回日本で発生した口蹄疫はそのような口蹄疫ではなかった。ウイルスが広汎に伝播するウイルスでなかったことは「不幸中の幸い」であった。

移動禁止地域内の立ち入り調査および疫学的追跡調査に、臨床症状の確認だけでなく、抗体検査法を直ちに導入したことで、新たな口蹄疫の摘発が可能となった。今後も口蹄疫の病性について固定観念に捕らわれることなく、複数の診断技術の応用が必要である。

口蹄疫の病原体を扱う研究は、これまで日本では認められていなかった。口蹄疫に関する研究課題や海外病で実施される研究課題はすべて行政部局関係並びに外部学識経験者等の参加のもと海外病研究安全委員会によって安全面での検討を受けなければならない。

国内では、高度封じ込め実験施設を整備していたが、畜産業における口蹄疫などの疾病の重要性を鑑みて、行政的視点から実際に口蹄疫ウイルスを扱う研究は国として承認されてこなかった。そのため、ウイルスを直接扱う研究は、国外での共同研究、JICAの技術協力、実証試験などの形態をとりながら研究を進めてきた。地球規模の広がりをみせる新しいウイルスの出現に技術面でも適切に対処するため、今後とも海外の研究機関との連携協力を継続するとともに、将来的には標準的ウイルスの導入による防除技術の高度化を目指す研究を強化すべきだと考えられる。

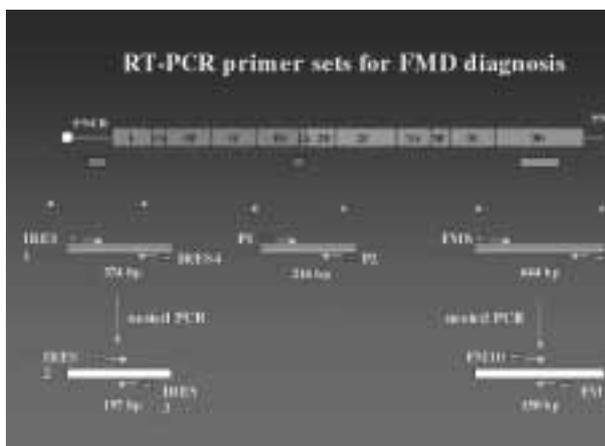


図3 口蹄疫の緊急病性鑑定のRT-PCRに用いた3組のプライマーの遺伝子上の位置とその大きさ

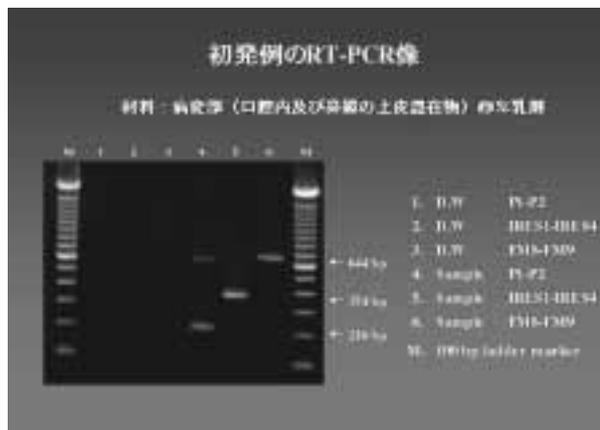


図4 RT-PCRで認められた口蹄疫ウイルスに特異的な遺伝子像

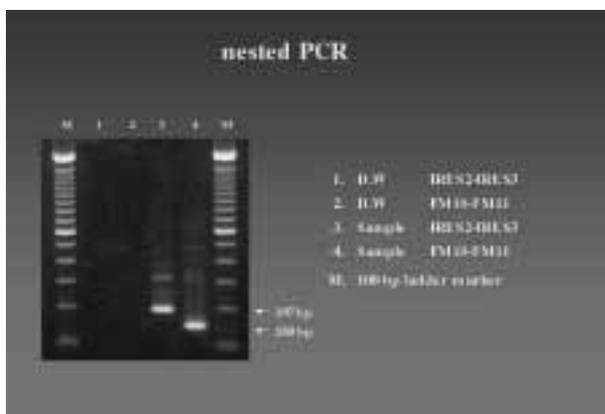


図5 Nested PCRによる口蹄疫ウイルスに特異的な遺伝子の確認

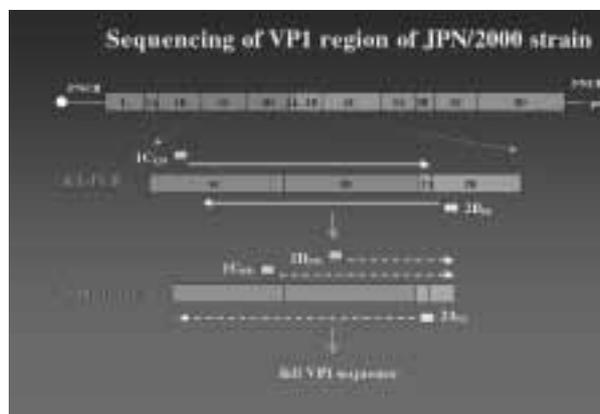


図6 口蹄疫ウイルスO型のVP1遺伝子領域における塩基配列の決定法

いずれにしても、わが国独自の行政的な制約もあった中で、92年ぶりの口蹄疫の防圧に技術面で大きく貢献できたことは、当事者ばかりでなく、これまでの関係者の苦労と努力の賜物と考える。

### 分離した口蹄疫ウイルスの性状

#### 1. 分離ウイルスの同定と生物学的性状

口蹄疫ウイルスが、黒毛和牛2頭のプロバング材料よりBK細胞を用いて分離された。同時に、BThy細胞を分離に用いた。材料接種2日後のBK細胞で微弱な細胞変性効果(CPE)が認められた。その培養上清を用いてRT-PCR(写真1)および抗原検出ELISA(写真2)で分離ウイルスの同定を実施した結果、Oタイプの口蹄疫ウイルスであることが判明した。

さらに、写真3と4に示すように、培養上清をBK細胞

に接種した結果、明瞭なCPEを確認した。BK細胞で3代継代したウイルスは、他の感受性株化細胞においても良好な増殖を示した。

当初ウイルス分離に際して明瞭なCPEが認められなかった理由は、プロバング材料中に含まれるウイルス量が極めて少ないか、もしくは産出されていた分泌型抗体によってウイルスが不活化されたために検出が不十分であったと考えられる。

また、口蹄疫ウイルス分離には、従来から、BThy細胞が最も感受性が高いと言われていたが、今回はBThy細胞よりBK細胞が本ウイルス株に感受性が高かった。いずれにしても、これによって、分離ウイルスを用いた中和試験法を新たな口蹄疫ウイルスの診断手段として利用することが可能となった。

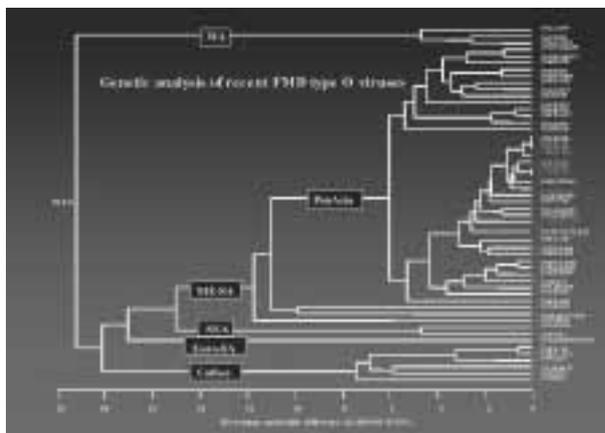


図7 口蹄疫ウイルスO型のVP1遺伝子領域の系統樹解析

## 2. 分離ウイルスの遺伝子性状

### 1) 口蹄疫のPCR診断

RT-PCRを用いた口蹄疫診断には3つのプライマーセットを用いた(図3)。IRESプライマーセットはウイルス遺伝子が株間で保存されている5'末端の非翻訳領域を増幅するようデザインされている。P1-P2プライマーセットは株間で遺伝子が保存されている2Aと抗原性状に最も影響することから株間での変異が激しい構造蛋白VP1をコードする1D間を増幅するようデザインされている。

この2つのプライマーセットはいずれも英国の家畜衛生研究所(サリー州, パープライト)が開発したもので、実験室内において全ての血清型のウイルス遺伝子を検出可能と報告されている。

さらに、3Dプライマーセットは、ウイルス遺伝子が株間で最も保存されているウイルスのRNAポリメラーゼをコードする3D領域を増幅するようデザインされている。このプライマーセットは診断研究室で開発され、わが国に侵入するおそれの高いIO, A, C及びAsia-1を検出するようデザインされている。また、感度をあげるためIRES及び3Dプライマーセットにはnested PCR用のプライマーもデザインされている。これらのプライマーは、1996年に海外実証試験により野外材料への応用が可能であることを確認したものである。

これら3つのプライマーセットを用い、宮崎のA農家由来の材料を用いてRT-PCRを行った。その結果、各プライマーセットを用いたレーンに特異的なバンドが確認された(図4)。さらに、IRES及び3DプライマーセットのPCR産物のnested PCRの結果、両プライマーセットを用いたレーンにも特異的なバンドが確認された(図

5)。また、RT-PCR産物の塩基配列を決定し、その配列が口蹄疫ウイルスに特異的であることを確認した。

以上の成績から、RT-PCRによる遺伝子診断で本材料は陽性と判定された。

### 2) 分離ウイルス株の遺伝子解析

わが国で分離されたウイルス株の遺伝子解析を行った。まず、構造蛋白VP1のシーケンシングを行った。VP1をコードするウイルス遺伝子1D全領域を含むようにデザインしたプライマーによりRT-PCRを行った。得られたPCR産物のダイレクトシーケンシングを行うことにより構造蛋白VP1の全塩基配列(639base)を決定した(図6)。

得られたVP1の全塩基配列のデータをかねてより共同研究を進めてきた英国の家畜衛生研究所に送り、彼らが所有する他の口蹄疫ウイルス株の遺伝子情報を用いた系統樹解析を実施した。

ウイルス株間の遺伝学的な近縁関係の究明は、国際的なウイルスの伝播経路を明らかにする重要な手法になっている。口蹄疫のワールドリファレンスラボラトリーである英国家畜衛生研究所は、世界各国から送られてくる分離ウイルス株を用いてウイルス遺伝子の相同性解析を実施している。通常、この解析には、Oタイプの場合、構造蛋白VP1の特定領域の171ベースが用いられている。

以上の遺伝子解析の結果、日本で分離されたウイルス株は、O/JPN/2000と命名され、この株はほぼ同時期に発生・分離された韓国(2000年3月)、モンゴル(2000年4月)およびロシア株(2000年4月)と近縁であることが判明した。また1999年、台湾で再発生した口蹄疫ウイルスの金門株および中国の株とも近縁であることが確認された(図7)。

以上の結果から、東アジアに発生した一連の口蹄疫ウイルスの起源は、90年代に入ってインドで出現したウイルスであることが示唆され、これが中東ならびに東南アジアへと派生し、ついには極東まで侵入したものと推測されている。

このことから、日本分離株が位置するグループは、遺伝学的な分類上のMiddle East/South Asia topotypeからさらに派生したPan Asia topotypeとして再分類された。

## 血清学的サーベイランス

宮崎県の口蹄疫の第1発生例は、先に述べたように飼養牛が弱いながらも口蹄疫の臨床症状を示し、病性鑑定材料の実験室内診断結果と疫学調査などにもとづいて口

蹄疫中央防疫対策本部で口蹄疫疑似患畜として確認された。続く3件の発生例は、第1発生地点を中心とする移動禁止区域および発生農家の疫学関連調査（口蹄疫が発生した原因調査）にもとづく臨床検査および血清学的サーベイランスを実施する中で、プロバングの採取も併用した結果、口蹄疫患畜または疑似患畜として摘発された。

### 1. 口蹄疫ウイルスに対するELISAによる抗体検査

先に述べたように、血清サーベイランスに用いた抗体検査法は、英国の家畜衛生研究所で作製された抗体検出ELISAを用いた。このELISAは、対象血清の動物種を選ばず、感度の高い方法であった。

宮崎県の第1発生例に関連した調査は、全国で27,890戸47,177頭の血清サンプルでELISA抗体検査を実施した。そのうち405戸が再検査の対象となり、さらに60戸が隔離検査プログラムにもとづいて検査を続行した（別添資料7と8を参照）。その結果、最終的に、宮崎県で2件、北海道で1件の口蹄疫が摘発された。

さらに、北海道に関連して224戸、5,717頭の血清サンプルのELISA抗体検査が行われた（別添資料9を参照）。口蹄疫が発生した農場は、いずれも複数の飼養牛が抗体陽性を示し、また、一定期間の後に採材した同一牛の血清は有意の抗体価の上昇を示した。

### 2. 抗体検出ELISA法の問題点

#### 1) ELISA抗体測定における「偽陽性」

このELISAは牛血清に対して約1%前後の非特異反応が認められた。全国規模の調査による膨大なサンプル数を検査したことから、陽性を示す血清の中に、いわゆる「偽陽性」(false positive)を示す血清が相当数含まれる結果となった。このため、「陽性」を示したサンプルは、複数回の検査を行った。また、再検査および隔離検査の場合は、一定期間おいた後に再度同一対象牛を採血し、そのサンプルに対して慎重な抗体検査を実施した。

#### 2) 「ヘパリン血」による抗体「陽性」反応

4月中頃、複数県の同一農家の血清サンプルについてELISA検査を何度行っても「非常に高い抗体価」を示すミステリアスな事例が出現した。

これらの血清サンプルについては疫学情報が乏しく、それが、口蹄疫ウイルスの感染によるものであると単純に断定できなかった。そこで、それらのサンプルについて当該県に詳細な調査を依頼したところ、共通していることはヘパリン採血管を用いて採血していることが判明した。

急遽健康な牛の血清および同一牛のヘパリン採血管を用いた血漿を九州支場から送ってもらい検査を実施した結果、ヘパリンそのものが原因であることが突き止められた。

また、本場において、場内で飼養している一般試験牛の同一個体の血清とヘパリン血漿でも同一の成績が得られることも確認した。同時にEDTAも調べられたが、こちらは問題がなかった。情報の乏しい検査材料を用いることの危険性を痛感した出来事となった。

#### 3) 非特異反応とバックグラウンドデータの重要性

92年ぶりの口蹄疫発生という緊急事態であったことおよび先に述べたように単に臨床症状だけから口蹄疫と判定しにくいことなどから、本来、非感染を証明し清浄化を確認するための抗体調査と疾病摘発のための追跡調査を同時に進めたため、発生地に混乱を招くとともに、検査担当者においては、今回、隔離検査室内で何万検体もの血清サンプルについてELISA検査を実施する結果となった。

とくに、ELISA法は、感度、特異性およびcut-off値の採用の仕方によって、常に非特異反応の存在を考えなくてはならない。今回、わずかでも非特異反応が疑われた場合は、複数回の検査を繰り返し実施した。検査結果を判定する時に、血清サンプルに対する疫学データが不十分な場合は、結果の解釈に対して十分な考察を行うことができず、また莫大な検査数によって肉体的・精神的に多大な苦痛を強いられることになった。

#### 4) 血清データは統一フォーマットが必要

各県から検査のため搬入される血清サンプルに付随してデータがついてくる。大多数の県は、表計算ソフトを用いて書き出された表であった。しかし、残念ながらその表は統一された書式でなく、各県毎に異なる独自のそれであった。

#### 5) その他、改善すべき問題点

限られた時間内に、大量の検査を実施する場合、例えば、スクリュウキャップ付の血清チューブは、1サンプルずつキャップを開き、96穴プレートにひとつずつ分注する手間は莫大なものであった。マルチチャンネルピペットが使用できるよう、96穴チューブなどに血清を分注しておくべきであろう。

さらに、全国からサンプルが集まるので、その仕分け上、サンプルの番号はたいへん重要となる。今回は各県から集まった番号のラベルの上に更に家畜衛生試験場で通し番号のラベルを貼り付けることとなった。また、血清整理番号の表示にも反省が残る。

この反省を踏まえて、各県毎に、県コード番号および家畜保健衛生所のコード番号を利用することによって、再検査および再々検査時の血清サンプルの抽出を効率よく進めることが可能であろう。

緊急事態とはいえ、血清サーベイランスを実施する場合は、調査の各項目を統一し、記録媒体やネットなどを共通して用いることでこの問題は無理なく解決できることであった。幸い、北海道の発生例における血清サーベイランスの場合は、以上のような轍を踏まず、統一したフォーマットの書式でデータ集計を行うことができた。

今回、このELISAを初めて大量の血清サンプルに適用したが、非常にすばらしい検査手法であることが確認できた反面、反応系の宿命とも言える非特異反応の問題点も依然残されているため、さらなる研究推進が必要なことが明らかになった。

### 分離した口蹄疫ウイルスによる動物接種実験

口蹄疫ウイルスが豚に感染するときわめて大量のウイルスを排泄し、大規模な流行を招来する。また、めん羊や山羊は感染しても明瞭な症状を示さない。このため、防疫が困難となる。したがって、効果的な防疫を図るために、国内分離ウイルスの各種家畜への病原性やウイルスの排泄動向を調べる必要が生じた。その結果、膨大な病性鑑定と抗体検査を行う一方で、並行して上記目的を達成するための動物接種試験を緊急に実施した。

### 1. 動物接種試験の概要

黒毛和種のプロバング材料から分離された口蹄疫ウイルス（O/JPN/2000）の病原性、感受性動物の体内における動態、伝播様式などの知見を得るため、牛（黒毛和種：2ヶ月齢、ホルスタイン種：3ヶ月齢）ならびに豚（ラージ・ホワイト種：2ヶ月齢）を用い、海外病研究部の隔離実験棟内で、以下に示すような感染実験を企画し、実施した。

牛（ホルスタイン種）1頭にウイルスを接種し、同種の牛1頭と同居させる

豚1頭にウイルスを接種し、豚2頭と同居させる

牛（黒毛和種）1頭にウイルスを接種し、同種の牛1頭と同居させる

牛（黒毛和種）1頭にウイルスを接種し、豚2頭と同居させる

4つの実験系を組み、およびの系では3週間、およびの系では2週間にわたって実験を行った。動物に対する接種法は、初代牛腎細胞で培養した10<sup>6.0-6.5</sup>TCID<sub>50</sub>

のウイルス液を、牛は舌皮内および皮下に、豚は右前肢の蹄球部に数箇所に分けて接種した。

接種後1日目（翌日）に同居を開始した。臨床観察は毎日行くとともに、定期的に血液（血漿、血清）、鼻汁拭い液、糞便、プロバング材料を採取し、さらに病変が認められた場合は病変部からも採材した。

これらの材料を用いてRT-PCRによるウイルス遺伝子の検出、組織培養細胞を用いたウイルス分離およびELISAと中和試験による抗体価の測定を行った。

### 2. 動物接種実験の結果

#### 1) 臨床症状

ホルスタイン牛の場合（の実験）、接種牛では一過性の発熱を認めた（接種後8日目）が、接種牛および同居牛ともに、口蹄疫特有の臨床症状は認められなかった。

一方、豚の場合（の実験）は、接種豚および同居豚はともに典型的な口蹄疫の臨床症状を示した。すなわち、接種豚は、接種後2日目から、また、同居豚2頭はそれぞれ同居後2日目と3日目から四肢蹄部（蹄球部、蹄冠部）に水疱が認められ、水疱の拡大に伴って著しい跛行が見られた。また、口腔内にも水疱や糜爛が観察された（別添資料10の写真5～8を参照）。

ホルスタイン種と同じ条件で行った黒毛和種の場合（の実験）は、野外発生例と同様、軽度の口蹄疫の臨床症状が再現された。また、豚の感染実験と同様に同居感染が成立し、接種牛・同居牛ともに口腔内（歯齦部、舌先端）や鼻腔内に糜爛・潰瘍が認められた（別添資料11の写真9～12を参照）。

しかし、四肢の蹄部には、肉眼で観察できるような水疱の形成はみられなかった。発症までの日数は、接種後5日目、同居後6日目と豚の実験例より遅くなる傾向があった。

ウイルス接種黒毛和種と豚2頭の同居の場合（の実験）は、牛は接種後4日目に前述したような臨床症状が認められたが、豚は発症しなかった。つまり、豚の間の感染と異なり、牛から豚への同居感染は認められなかった。

#### 2) ウイルスの体内動態および排泄

RT-PCR法によって、血漿からウイルス遺伝子の検出を試みたところ、ウイルス接種ホルスタイン種は接種後4日目から6日目にわたり検出されたが、その同居牛では検出されなかった。

一方、豚は、血漿からウイルス遺伝子の検出はホルスタイン種より早く、ウイルスを接種した翌日（接種後1

日目), また同居を開始した翌日(同居後1日目)に検出された。豚は, いずれも臨床症状を示す2日前(同居豚2頭)あるいは前日(接種豚, 同居豚1頭)から3日間にわたってウイルス遺伝子が検出された。

さらに, 鼻汁拭い液からウイルス遺伝子の検出を調べた結果, ウイルス接種ホルスタイン種の場合は, すべての実験で陰性であった。すなわち, 血漿中でウイルスは検出されるが, 鼻汁中には排泄されないことが判明した。同居牛における結果はすべて陰性であった。

ウイルス接種豚は, 接種した翌日に血漿中にウイルス遺伝子が認められ, 10日間にわたって検出された。同居豚は, 同居後2日目から4日間にわたって検出された。また, 接種豚から, 接種後2日目に組織培養細胞を用いてウイルスが分離された。

黒毛和種の血漿からは, 豚と同様, 接種後1日目にはウイルス遺伝子が検出され, 3日目から4日間にわたり検出された。接種牛No.1と同居させた黒毛和牛No.3はやや遅れて陽性となり, 同居後5日目と6日目の2日間のみ検出された。接種牛No.2と同居させた豚2頭の血漿からウイルス遺伝子は検出されなかった。

鼻汁拭い液の場合は, 血漿の場合とほぼ同様で, ウイルス接種黒毛和種から接種後1日目あるいは2日目にウイルス遺伝子が検出され, 弱い臨床症状を示した前日あるいは当日まで陽性を示した。同居の和牛は, 発症当日である同居後6日目のみ検出された。接種牛No.2と同居させた豚2頭の鼻汁拭い液からウイルス遺伝子は検出されなかった。

黒毛和種を用いた実験は, 以上のほかに同居牛についてプロバングおよび糞便材料, さらに病変部からウイルス遺伝子の検出を試みた。その結果, プロバング材料からウイルス遺伝子が検出されたが, 糞便材料からは検出されなかった。

### 3) 抗体応答と抗体価の推移

接種動物および同居動物の抗体応答と抗体価の推移を抗体検出ELISAキットおよび分離ウイルス(O/JPN/2000)を用いた中和試験(NT)によって調べた。

ホルスタイン種は, 接種後6日目頃にウイルス抗体価が陽転した(ELISA抗体価45倍, NT抗体価32倍以上)。同居牛はELISA抗体価が同居後1日目に陽転しているように見えたが, NTの成績ですべて陰性であることが確認された。

豚の場合, 接種豚および同居豚とも発症後2日目と3日目(接種後4日目と同居後5日目)にウイルス抗体価の陽

転が確認された。

黒毛和種は, 接種後4日目および同居後8日目に発症時期とほぼ一致して抗体価の陽転が確認された。ウイルス接種した黒毛和種と豚との同居試験の結果は, 接種牛で接種後4日目に抗体価の陽転が認められたが, その同居豚は2頭ともすべて抗体価は陰性であった。

### 3. 動物接種試験のまとめ

以上述べたように, 口蹄疫感受性動物を用いて実験感染による接種動物の臨床症状とウイルスの体内動態・排泄ならびに抗体応答などを調べた結果, ウイルスの接種および同居に関わらず, 臨床症状を示した動物(黒毛和種および豚)は, 当然の事ながらすべての検査項目において陽性であった。しかし, 臨床的に症状の発現がみられなかったウイルス接種ホルスタイン種は, 血中にウイルス遺伝子および抗体は確認されたが, 鼻汁へのウイルス排泄は認められなかった。

さらに, 感染実験の結果を要約し, わが国における今回の口蹄疫発生の野外状況をあわせて考察するならば, ホルスタイン種は口蹄疫に感染しても症状を示さず, 同居感染も成立しない。

豚は, 感染が成立すると典型的な口蹄疫の症状を示し, 同居感染も容易に成立する。

黒毛和牛は, 口腔・鼻腔に病変がみられるが, 水疱を認められない。また, 黒毛和種間の同居感染は成立するが, 牛から豚への同居感染は認められない。

豚における感染が成立するためには, 牛に比べて多量のウイルスが必要であることが従来から知られている。今回の感染実験で, 感染実験に用いた牛(黒毛和種およびホルスタイン種ともに)は, 豚の感染に必要なウイルス量を排泄していないことが推察された。また, わが国で分離された口蹄疫ウイルス(O/JPN/2000)は, 牛, とくにホルスタイン種に対して病原性が低く, その結果ウイルス伝播も起こりにくいことが示唆された。

実験感染の成績は, 今回の野外での口蹄疫の発生の状況を的確に反映していた。例えば, 宮崎県のA農家における黒毛和種での弱い臨床症状の発現と同居感染の成立(飼養牛10頭に感染が広まった)。さらに, 北海道の口蹄疫発生例で, 抗体陽性ならびにPCR陽性牛は, 臨床症状を示さなかったことなどがあげられる。また, 感染牛でのウイルス排泄量が少なかったことも幸いしている。すなわち, 野外におけるウイルス汚染地域が限局され, 感染の拡大が抑

えられたことから、とくに豚への感染がみられなかったことは不幸中の幸いであった。豚の実験感染における臨床症状の成績が示すように、もし、感染が養豚場に拡大した場合は、まさに台湾や英国の口蹄疫発生例の二の舞を演ずることになり、わが国の畜産はきわめて厳しい状況になったと推測される。

### あとがき

わが国における92年ぶりの口蹄疫の発生、終息そして清浄化宣言からすでに1年が経過しようとしている。日本は、幸いなことに発生後3ヶ月で「ワクチン非接種口蹄疫清浄国」という最高の清浄度を持つ国に再び復帰することができた。このことは、ひとえに国、地方自治体をはじめ、獣医、畜産関係者が一丸となって、口蹄疫の防疫対応にすばやく取り組んだ結果にほかならない。さらに、感染試験の成績に示したように、発生した口蹄疫ウイルスの伝播力が、近隣諸国のそれと比べ、弱かったことも幸いしたと言えよう。

一方、世界における口蹄疫の現状はどうなっているだろうか。2001年2月に発生した英国の口蹄疫の流行は、10月3日現在、2,030件の発生、約391万頭の家畜を殺処分する最悪のシナリオとなった。現在、終息の見通しなどをめぐり関係者の懸念が高まっている。この他、南米のウルグアイおよびアルゼンチンにおける口蹄疫の再発生も報告されている。

すでに述べたように、口蹄疫は、国内の畜産業のみならず、国際間の畜産物貿易に多大な被害を及ぼす国際重要家畜伝染病である。今回、英国の発生をみるならば、過去の発生の教訓はいかされず、むしろEU統合化の促進によって検疫障壁がなくなり、家畜の大量・広域輸送、

英国における行政改革による現場獣医師の不足などが重なり、その蔓延が助長されたと言わざるをえない。

このような状況のもとで、92年ぶりに本病の発生を経験したわが国において、現在、危険な状況は果たして十分に改善されたであろうか。昨年（2000年11月）、検疫条件を強化した家畜伝染病予防法が成立した。家畜伝染病予防法改正の参議院における付帯決議は「今般の口蹄疫の発生原因は口蹄疫汚染国からのわらである可能性が高いことから、わら等を介した海外からの口蹄疫の侵入防止策を強化するとともに、畜産物の安全性確保、資源の循環的利用の観点から、国産稲わらの飼料向け利用を促進すること」と述べている。

しかし、国内における飼料向け稲わらの年間需要量は約130万トン、国産稲わらの生産量は増産に取り組んだ2,000年が110万トン、差し引き20万トンは輸入に頼らざるをえない状況にある。昨年の口蹄疫の発生要因は、輸入した麦わらによる可能性が高いと疫学的に推定されている。

もし、そのような危険な状況が依然大きく変わらないのであれば、状況に対する正しい認識を深めるための啓蒙と教育活動、さらに口蹄疫の危機管理についての行動指針（改訂中の口蹄疫防疫対策要領）の内容をいっそう充実し、それらを広く普及して行く活動がますます重要と考えられる。本資料が、そのための一助となることを心から願っている。

最後に、口蹄疫対策本部を中心とした家畜衛生試験場の防疫対応、とくに海外病研究部の緊急野外調査の大いなる貢献に対して、農林水産大臣から2001年4月7日、表彰状がおくられたことを記したい（別添資料12）。

## Summary

### Foot-and-mouth disease (FMD) outbreaks in 2000, Japan and the struggle against FMD in the National Institute of Animal Health

National Institute of Animal Health Task Force Team for the Eradication of FMD

Four outbreaks of foot-and-mouth disease (FMD) occurred from March to May, 2000 in Miyazaki and Hokkaido Prefecture, Japan, the first cases for 92 years. The outbreaks of FMD shocked the animal health and livestock sectors into panic, but strongly warned that the animal health skills were very important in Japan. Almost all sectors including the Civil Service did their best for the eradication of the FMD. The National Institute of Animal Health also established a task force team immediately and concentrated on the eradication of FMD. As a result, the FMD was finished on June 9, 2000 and the OIE reauthorized Japan at once as a FMD free country on September 26, 2000. These facts showed that we had worked quickly and cooperatively for the eradication of FMD in the whole country.

## 別添資料

- 1-1 家畜衛生試験場口蹄疫対策本部の活動日誌
- 1-2 口蹄疫発生にかかわる九州支場の対応
- 2-1 口蹄疫発生に伴う，家畜衛生試験場長から全研究員への防疫活動の訴え（2000年3月30日）
- 2-2 口蹄疫清浄国に復帰して，家畜衛生試験場長から家畜防疫関係者への感謝表明（2000年9月27日）
- 3-1 海外病研究部における動員態勢（3月24日～6月9日）
- 3-2 本場における動員態勢（5月15日～5月25日）
- 4 黒毛和種で認められた口蹄疫の臨床症状（宮崎家畜保健衛生所原図）
  - 写真1 泡沫性の流涎
  - 写真2 舌辺縁部の上皮細胞の剥離
  - 写真3 鼻腔内のびらんと潰瘍
  - 写真4 歯齦部の潰瘍
- 5 口蹄疫を疑う病性鑑定の一覧（2000年3月～11月）
- 6 病性鑑定材料採取時の留意点
- 7 口蹄疫の血清疫学調査プログラム（宮崎関連）
- 8 農場隔離検査プログラム
- 9 口蹄疫の血清疫学調査プログラム（北海道関連）
- 10 日本で分離された口蹄疫ウイルス（O/JPN/2000）の接種試験で認められた豚の臨床症状（いずれもウイルス接種豚）
  - 写真5 蹄球部の水疱（ウイルス接種後2日目）
  - 写真6 蹄部の水疱と破裂した水疱（同接種後4日目）
  - 写真7 蹄部の水疱の修復（同接種後8日目）
  - 写真8 蹄部の水疱の修復進行（同接種後9日目以降）
- 11 日本で分離された口蹄疫ウイルス（O/JPN/2000）の接種試験で認められた黒毛和種の臨床症状（写真10は同居牛、他はいずれもウイルス接種牛）
  - 写真9 泡沫性の流涎（ウイルス接種後2日目以降）
  - 写真10 白化した舌上皮（舌上皮の実質からの剥離）
  - 写真11 下口唇内側のびらん
  - 写真12 鼻腔内の潰瘍
- 12 農林水産大臣表彰による表彰状（2001年4月7日）

## 別添資料 1 - 1

## 家畜衛生試験場口蹄疫対策本部の活動日誌

- 3月21日(火)
- 宮崎県より口蹄疫を疑う疾病発生第一報
- 3月22日(水)
- 宮崎県より検査材料が海外病研究部に到着
- 3月23日(木)
- 本場より1名を海外病研究部へ派遣(4月2日まで)
- 3月24日(金)
- 海外病研究部より1名を宮崎県へ派遣
  - 九州支場より2名を発生現場へ派遣(3月26日まで)
  - 本場より2名を海外病研究部へ派遣(3月25日まで)
- 3月25日(土)
- 第1回口蹄疫中央防疫対策本部防疫技術委員会(以下、中央防疫技術委員会)に場長他2名出席
  - 委員会は宮崎県の発生例を疑似患者と判定
  - 熊本県より緊急病性鑑定依頼
- 3月26日(日)
- 本場より2名を海外病研究部へ派遣(3月27日まで)
  - 疫学班は、九州班と連携し、血清学的サーベイランス(案)を作成
  - 広報班は、家畜衛試ホームページに「口蹄疫の疫学情報」サイトを開設
  - 宮崎県より新たな緊急病性鑑定依頼
- 3月27日(月)
- 家畜衛試口蹄疫対策本部を設置
  - 本場より2名を海外病研究部へ派遣(3月28日まで)
  - 第2回中央防疫技術委員会に場長他1名出席
  - 発生に至る経過および血清学的サーベイランス等について検討
  - 技術会議事務局へ家畜衛試の口蹄疫の防疫対応等について説明
  - 衛生課と情報管理について協議
  - 衛生課および家畜衛試(会計課)と血清学的サーベイランスに必要な資・機材、予算等の調整、折衝事務開始
  - 口蹄疫発生に関わる農林水産省緊急調査費の研究課題案提出
  - 第1回家畜衛試技術検討会
- 3月28日(火)
- 診断検査が多忙なため、動物医薬品検査所へRT-PCR産物の塩基配列の解読協力を依頼
  - 全職員を対象に海外病研究部に対する支援可能な技術分野、日時等の調査
  - 衛生課と情報管理について協議
  - 家畜衛試から発信する情報のあり方について海外病研究部へ連絡
  - 海外病研究部作成の「口蹄疫Q&A」を検討
- 3月29日(水)
- 動物医薬品検査所から塩基配列の解読結果の回答
  - 韓国における口蹄疫発生情報を入手
  - 場長、海外病研究部(激励)と動物医薬品検査所(協力依頼とお礼)に出張
  - 口蹄疫緊急輸入ワクチンの保存能力の調査
  - 技術会議局および畜産局と情報管理について協議
  - 総括班より抗体検査の支援者について計画的派遣を要請
- 3月30日(木)
- 畜産局と情報管理について協議
  - 総括班より具体的な支援派遣計画の要請
  - 動物医薬品検査所企画連絡室長に協力を依頼
  - 場長より全職員に状況報告と協力を依頼
  - 全職員に獣医学会期間中の協力支援を依頼
  - 抗体検査に必要な資・機材(抗原、冷蔵庫、洗浄機など)の購入、物品の異動(自動ワークステーション)、予算等の調整
  - 海外病研究部へ管理替え可能なELISA用ウォッシャーの確認を調査
  - 畜産局より場長の自民党口蹄疫対策本部の会議に出席を要請
- 3月31日(金)
- 九州支場より鹿児島県下の1農場へ病性鑑定の採材のため1名派遣
  - 「宮崎県下の飼養牛全頭から採血予定」との情報があるため、衛生課にマニュアルに沿った採血を実施するよう県に対する指導を要請。
  - 場長、自民党口蹄疫対策本部の会議へ出席
  - 動物検疫所に支援を要請(常時1~2名)
  - 4月3日~8日の海外病研究部支援計画(延べ32名)を作成
  - 第1回家畜衛試口蹄疫対策委員会、情勢報告と全場的支援要請、本場における抗体検査体

- 制の確立（組換え体ワクチン試作製造室を予定）とその準備など、病原ウイルス研究室長が担当
- 口蹄疫ウイルスO型抗体検出用ELISA抗原入手の手配
  - 口蹄疫ワクチン400万ドーズ緊急輸入の連絡（第1陣，4月8日に到着予定）  
動物検疫所，家畜衛試（製剤研究部，九州支場）等で保管予定
- 4月1日（土）
- 第2回家畜衛試技術検討会
  - 衛生課と疫学関連農家（初発農場と同一ロットの中国産麦わら使用農場など）の抗体検査について意見交換
- 4月3日（月）
- 研究部長会議で情勢報告と協力の依頼
  - 第3回中央防疫技術委員会に場長他2名出席  
VP1遺伝子の塩基配列の比較を完了した時点で口蹄疫は「真性」であるとの発表を行う  
血清学的サーベイランスのあり方  
本場における抗体検査の必要性などについて
  - 場長，本場における抗体検査体制の確立を指示
  - 第3回家畜衛試技術検討会  
本場における抗体検査体制の確立について
- 4月4日（火）
- 英国パーブライト研究所よりVP1遺伝子の解析結果の連絡
  - 動物検疫所に支援の依頼
  - 第4回家畜衛試技術検討会  
本場における抗体検査体制の確立について
  - 疫学班，データ整理用フォーマット（データベースの検討）
  - 衛生課より口蹄疫緊急輸入ワクチンの入荷予定（4月8日と17日）の連絡  
保管場所（製剤研究部，九州支場）の準備を依頼
  - 衛生課，初発例を口蹄疫「真性」と発表
- 4月5日（水）
- 疫学班，抗体検査結果の取りまとめ方法について検討
  - 本場における抗体検査体制確立のため，ELISA機器等の手配を開始
  - 広島県より緊急病性鑑定依頼
- 4月6日（木）
- 第5回家畜衛試技術検討会
  - 宮崎県より衛生課を通じ，県の技術検討会（4月8日）への専門家派遣を要請
- 4月7日（金）
- 宮崎県の技術検討会へ技術的・科学的問題に限ってアドバイスすることで，九州支場より2名を派遣
  - 疫学班，データ整理・分析の手順等について海外病研究部および衛生課と打ち合わせ
  - 口蹄疫緊急輸入ワクチンの受け入れ準備
  - プロバング採材の技術指導，器具などについて動物検疫所に協力を要請
  - 4月10日～15日の海外病研究部支援計画（延べ57名）を作成
  - 家畜衛試一般公開日におけるミニブタ，羊の搬入を中止，動物関係催し物の担当者は海外病支援者以外とすることを決定
- 4月8日（土）
- 口蹄疫緊急輸入ワクチンの第一陣が到着
  - 松原衛生課長から4月9日（日）に抗体検査を実施できるように要請
- 4月9日（日）
- 衛生課において，情報分析，プロバングテストなどの検査体制について協議（場長他3名出席）
  - 衛生課，プロバング採材技術の指導者派遣の要請，家畜衛試より2名，動物検疫所より1名派遣の予定
- 4月10日（月）
- プロバング採材技術指導のため，2名を宮崎県都城家畜保健衛生所へ派遣
  - 第6回家畜衛試技術検討会  
情勢分析，今後の検査のあり方，ワクチンの問題などについて
  - 衛生課，動物検疫所が保管している口蹄疫清浄国の牛血清についてELISAによる抗体検査を要請
  - 現在までの検査データ整理・支援者10名
  - 衛生課より，プロバング採材手技のビデオ撮影の協力依頼
  - 技術会議事務局に家畜衛試の口蹄疫防疫の対応状況を報告
  - 北海道支場，口蹄疫対策委員会を設置
- 4月11日（火）
- 研究部長会議において現状説明と協力要請
  - 第7回家畜衛試技術検討会  
情勢分析と今後の検査のあり方などについて
  - プロバング採材手技のビデオ撮影
  - 本場における抗体検査場所として組換え体動物実験施設を調査
  - 本場における抗体検査体制確立に向け検討
- 4月12日（水）

- ・ 第2回家畜衛生口蹄疫対策委員会  
本場における抗体検査体制の確立について
- ・ 場長，自民党の口蹄疫防疫対策会議へ出席
- ・ 本場における口蹄疫抗体検査について労働組合に説明
- 4月13日（木）
- ・ 第8回家畜衛生技術検討会  
情勢分析，場長の自民党の口蹄疫防疫対策会議出席報告などについて
- ・ 4月17日に場長より口蹄疫に関する全場説明会を開催することを全職員に通知
- ・ 疫学解析用データベース構築のため支援要請．支援者13名
- ・ 第9回家畜衛生技術検討会  
今後の検査予定とその優先順位，疫学的解析の促進などについて
- ・ 第10回家畜衛生技術検討会  
宮崎県派遣者の現地報告，ワクチン使用，摘発淘汰方式の問題点などについて
- 4月14日（金）
- ・ 4月16日～19日の海外病研究部支援計画（延べ38名）の作成
- ・ 現地アドバイザーについて衛生課と協議  
疫学調査の指導を目的に15日より1名を宮崎県へ派遣
- ・ 予算負担について衛生課と協議
- ・ 海外病研究部において技術検討会開催（熊谷，緒方，場長その他）
- ・ 谷津義男（総括農林水産政務次官），海外病研究部視察
- ・ 衛生課，防疫技術委員に大学教授の推薦を依頼
- ・ 病性鑑定班，宮崎県の第3発生例のプロバング材料より口蹄疫ウイルスの分離に成功
- 4月15日（土）
- ・ 宮崎県へアドバイザーとして1名を派遣
- ・ 第11回家畜衛生技術検討会
- ・ 第12回家畜衛生技術検討会  
今後の対応，特に分離ウイルスの性状，病原性の検討，抗体検査のあり方，英国家畜衛生研究所へのウイルスの送付など情勢分析と今後の対応などについて
- ・ 宮崎県における移動制限解除を1週間延期
- 4月16日（日）
- ・ 第4回中央防疫技術委員会（場長出席）
- 4月17日（月）
- ・ 第13回家畜衛生技術検討会  
第4回防疫技術委員会報告，今後の対応などについて
- ・ 場長による全場説明会を開催  
経過と現状，見通しを説明するとともに今までの協力に感謝し，今後の協力を要請
- ・ 緊急輸入口蹄疫ワクチンの搬入
- ・ 各支場長，放牧病研究官へ経過報告
- 4月18日（火）
- ・ 第5回中央防疫技術委員会（場長出席）
- ・ 4月20日～22日の海外病研究部支援計画（延べ24名）の作成
- ・ 九州支場より熊本県へプロバング採材の技術指導
- 4月19日（水）
- ・ 第14回家畜衛生技術検討会  
情勢分析と今後の対応などについて
- 4月20日（木）
- ・ 場長，自民党の口蹄疫防疫対策会議へ出席
- ・ 第3回家畜衛生試験場口蹄疫対策委員会  
本場で抗体検査を実施することとし，担当責任者と実施責任者を決定
- ・ 口蹄疫関連プロジェクト研究について技術会議事務局と協議
- 4月21日（金）
- ・ 4月20日～22日の海外病研究部支援計画（延べ23名）の作成
- ・ 第6回中央防疫技術委員会（場長他2名出席）
- 4月22日（土）
- ・ 海外病研究部において今後の抗体検査等の打ち合わせ
- 4月23日（日）
- ・ 本場の事務局でこれまでの問題と今後対応について協議
- ・ 宮崎県の移動制限地域，半径10 kmに縮小
- 4月24日（月）
- ・ 第15回家畜衛生技術検討会．  
4月21日の第6回中央技術検討委員会の報告，新しい防疫対策の検討について
- 4月25日（火）
- ・ 場議において，4月20日の第3回家畜衛生口蹄疫対策委員会の報告を行い，協力を要請
- ・ 講堂で，獣医学会，一般公開，「口蹄疫」支援に対する慰労会を開催
- 4月26日（水）
- ・ 4月27日～29日の海外病研究部支援計画（延べ6名）の作成
- 4月27日（木）
- ・ 場長，自民党口蹄疫防疫対策本部の会合に出席

- 4月28日（金）
- ・ 衛生課で、今後の抗体検査について話し合い（6名出席）
  - ・ 衛生課と現在までの対応経費、今後必要とする費用、支援者等について協議
  - ・ 5月1日～2日の海外病研究部支援計画（延べ3名）の作成
- 4月29日（土）
- ・ 技術会議事務局の鈴木開発官に今までの対応を報告（第2報）
- 5月1日（月）
- ・ 第16回家畜衛生技術検討会  
宮崎県への派遣者からの報告、4月28日の衛生課との話し合い結果について
  - ・ 海外病研究部において、分離口蹄疫ウイルスを用いた動物感染実験を開始
- 5月2日（火）
- ・ 5月3日～7日の海外病研究部支援計画（延べ15名）の作成
  - ・ 兵庫県より緊急病性鑑定の依頼
- 5月3日（水）
- ・ 第17回家畜衛生技術検討会  
北海道十勝の検査結果について検討
- 5月5日（金）
- ・ 衛生課長、海外病研究部を訪問（場長が同行）
- 5月9日（火）
- ・ 平成13年度総括要求ヒアリング、とくに「口蹄疫」について説明
- 5月11日（木）
- ・ 第7回中央防疫技術委員会（場長他2名出席）  
北海道十勝の病性鑑定例を疑似患畜と決定
  - ・ 宮崎、鹿児島県の両県が口蹄疫の安全宣言
  - ・ 「口蹄疫」検査関連予算について説明（技術会議総務課、整備課、連絡調整課、研究開発課および畜産局衛生課）
  - ・ 研究部長会議で現状の報告、北海道に関わる抗体検査体制について協議。疑似患畜発生農場の血清は海外病研究部、それ以外は本場で検査する。本場における検査態勢を円滑に進めるため、総合診断研究部長、ウイルス病研究部長、製剤研究部長からなる幹事会の設置を決定
  - ・ 北海道十勝の口蹄疫発生農場（5月9日採血）の抗体検査の結果を確認
- 5月12日（金）
- ・ 場長、自民党の農林部会に出席
  - ・ 本場における抗体検査協力依頼および協力可能調査
  - ・ 第18回家畜衛生技術検討会  
本場における抗体検査体制の確立（検査は5月15日から開始する予定）について
  - ・ 北海道関連の抗体検査に要する経費を技術会議総務課予算班に予算要求
  - ・ 鹿児島県より緊急病性鑑定の依頼
- 5月13日（土）
- ・ 衛生課と情報管理について協議
  - ・ 北海道関連の抗体検査の準備（5名）
  - ・ 衛生課、口蹄疫備蓄ワクチン10万ドーズを十勝家畜保健衛生所へ移送したいと要請、5月16日に移送の手配
  - ・ 衛生課、北海道へ疫学を中心としたアドバイザー派遣を要請、当面1週間の予定で九州支場から1名の派遣を決定（北海道支場より2名同行）
  - ・ 青森、高知、山形県より緊急病性鑑定の依頼
- 5月14日（日）
- ・ 第19回家畜衛生技術検討会  
今後の対応、とくにワクチン使用の問題点等についてフリートーク
- 5月15日（月）
- ・ 第20回家畜衛生技術検討会  
今後の対応、とくに全国的なサーベイランスのあり方等についてフリートーク
  - ・ 本場における抗体検査計画を作成（5月15日～21日、延べ119名）
- 5月16日（火）
- ・ 本場における北海道関連の抗体検査開始
- 5月17日（水）
- ・ 北海道釧路より緊急病性鑑定の依頼
  - ・ NHKテレビ「クローズアップ現代」から取材の打診。衛生課と協議のうえ受諾の方向
- 5月19日（金）
- ・ 衛生課と中和試験を組み合わせたサーベイランスについて協議
  - ・ 第20回家畜衛生技術検討会  
中和試験について検討、その実施にあたっては技術検討委員会における確認が必要
  - ・ 衛生課と情報管理について協議
- 5月23日（火）
- ・ NHKテレビ「クローズアップ現代」取材班と撮影について打ち合わせ
  - ・ 衛生課長に口蹄疫ウイルスの動物実験感染の結果につ

- いて報告
- 5月24日（水）
- ・ NHKが、海外病研究部を取材
  - ・ 衛生課の杉浦総括班長より動物感染実験の結果の取り扱いについて検討の申し入れあり
- 5月25日（木）
- ・ 衛生課において口蹄疫ウイルスの動物感染実験の結果について検討会（8名出席）
- 5月26日（金）
- ・ 場長、自民党農林部会に出席
- 5月30日（火）
- ・ 全国家畜衛生主任者会議
- 5月31日（水）
- ・ 技術会議事務局の地域振興課長と畜産局の衛生課長間で「口蹄疫」検査に要した経費の扱いについて協議
- 6月1日（木）
- ・ 技術会議事務局の総務課、地域振興課および整備課に口蹄疫の検査に要した経費について説明、その後衛生課と協議
- 6月2日（金）
- ・ 上記の扱いについて、技術会議事務局の総務課長と畜産局の畜政課長が来週協議の予定、事実関係（当日誌より）をふまえた想定問及び回答を準備（樋口会計課長）。
  - ・ 衛生課、全国的サーベイランスのあり方について検討を依頼
  - ・ 第21回家畜衛試技術検討会  
上記について検討
  - ・ 衛生課と上記について協議
- 6月6日（火）
- ・ 第8回中央防疫技術委員会（場長他2名出席）  
これまでの口蹄疫防疫対策の総括および国際獣疫事務局（OIE）総会などについて
  - ・ NHKの「クローズアップ現代」が口蹄疫について放映
- 6月9日（金）
- ・ 北海道における移動制限区域を解除
  - ・ 「口蹄疫」関係者に対する慰労会
- 6月13日（火）
- ・ 第22回家畜衛試技術検討会  
OIE総会における勧告文案の検討
  - ・ 衛生課、十勝家畜保健衛生所保管の口蹄疫備蓄ワクチンの北海道支場への移送の可否を照会、本場で管理することを決定
- 6月19日（月）
- ・ 技術会議事務局総務課と畜産局畜政課で「口蹄疫」検査に要した費用について協議、畜政課より官房予算課へ予算措置を要請
- 6月20日（火）～6月22日（木）
- ・ 東京においてOIE主催の東アジア口蹄疫緊急会議
- 6月27日（火）
- ・ 北海道十勝家畜保健衛生所の口蹄疫備蓄ワクチンが本場に到着
- 7月3日（月）
- ・ 畜産局長、海外病研究部を視察
- 7月4日（火）
- ・ 衛生課、口蹄疫清浄性確認の全国的サーベイランスを中止
  - ・ 本場における抗体検査要員の待機を解除
- 8月2日（水）
- ・ 鹿児島県より緊急病性鑑定依頼
- 8月3日（木）
- ・ 長野県より緊急病性鑑定依頼
- 8月30日（水）
- ・ 第9回中央防疫技術委員会に場長他2名出席  
疫学調査への協力について
- 8月31日（木）
- ・ 第23回家畜衛試技術検討会  
OIEに提出する報告書の検討
- 9月5日（火）～8日（金）
- ・ 欧州の口蹄疫技術委員会に家畜衛生試験場海外病研究部職員を派遣  
日本の口蹄疫発生について報告
- 9月26日（火）
- ・ OIE「口蹄疫及びその他の疾病委員会」において、日本は口蹄疫清浄国であることが再び承認された

## 別添資料1 - 2

## 口蹄疫発生にかかわる九州支場の対応

- 1) 1997年秋に、宮崎、鹿児島および熊本の3県合同による海外悪性伝染病（口蹄疫を想定）の防疫演習にかかわる技術指導を実施
- 日時：1997年9月4日～5日  
場所：宮崎県宮崎市  
九州支場職員（2名）を講義および実地演習のために派遣
- 参加者：宮崎県、鹿児島県、熊本県、大分県、福岡県、佐賀県、長崎県の県庁および家畜保健衛生所職員、市町村職員、畜産関係団体職員、農林水産省畜産局担当者、九州農政局担当者
- 参加者数：約200名
- 2) 今回の口蹄疫発生にかかわる対応
- 宮崎県
- ・ 3月24日～26日、宮崎市（1農場）に職員（2名）を派遣  
診断用試料採材等の技術指導および殺処分、埋却等の防疫措置の技術指導
  - ・ 4月8日、支場長、臨床ウイルス研究室長、宮崎県口蹄疫対策本部疫学検討会に出席
  - ・ 4月10日～12日、都城市（6農場）に職員（1名）を派遣  
プロバングテスト用試料の採取方法等の技術的指導
- 鹿児島県
- ・ 3月25日、支場長、鹿児島県口蹄疫緊急会議に出席
  - ・ 3月31日、職員（1名）を派遣  
診断用試料採取等の技術的指導
- 熊本県
- ・ 4月12日～13日、人吉市（1農場）に職員（1名）を派遣  
プロバングテスト用試料採取の技術指導
  - ・ 4月19日～20日、阿蘇郡（2農場）に職員（1名）を派遣  
プロバングテスト用試料採取の技術指導
- 北海道
- ・ 5月14日～19日、十勝支庁に職員1名を派遣  
疫学調査のアドバイザーとして技術指導
- 3) 口蹄疫ワクチンの備蓄  
九州支場の保冷库に口蹄疫ワクチン50万ドーズを備蓄
- 4) 口蹄疫ウイルス分離用試料のプロバングカップによる採取方法の技術指導  
4月14日、支場の飼養牛を用いて、実技の実習、鹿児島県中央家畜保健衛生所の職員6名
- 5) 各県、市町村および家畜共済組合等からの問い合わせに対する技術指導  
消毒薬の使用法等、口蹄疫の防疫に関する問い合わせ等が多数あった
- 6) 現地の最新情報等（臨床症状、疫学、防疫に必要な資材等）を本場および畜産局衛生課（口蹄疫中央防疫対策本部）に連絡
- 7) 現地における緊急対応が迅速にできるよう常時待機
- 8) 口蹄疫の終息後における対応
- ・ 6月29日～30日、臨床ウイルス研究室長、畜産局の事後現地疫学調査にかかわる検討会に出席
  - ・ 7月26日～28日、臨床ウイルス研究室長が宮崎市で事後現地疫学調査に参加、さらに宮崎家畜保健衛生所において「今回発生した口蹄疫」について講演
  - ・ 臨床ウイルス研究室長、第58回鹿児島県家畜疾病診断研究会で「わが国に発生した口蹄疫の特徴と防疫の問題点」について講演
  - ・ 臨床ウイルス研究室長、第4回九州・沖縄・山口病理事例検討会で「今回発生した口蹄疫」について講演
  - ・ 臨床ウイルス研究室長、宮崎県都城家畜保健衛生所で臨床獣医師及び養豚農家対象の「口蹄疫」講演会で講演
  - ・ 臨床ウイルス研究室長、宮崎県獣医師会主催の「口蹄疫」講演会で講演

別添資料 2 - 1

**家畜衛生試験場全研究員の皆様へのお願い**

大変残念なことです。今般宮崎県下で海外悪性伝染病である牛の口蹄疫を疑われる疑似患畜が発見され、家畜伝染病予防法の海外悪性伝染病防疫要領に基づいた防疫措置が発動され、現地では家畜保健衛生所を中心に不眠不休の防疫活動が続いています。そこで下記の点について皆様のご協力をお願いいたします。

1. 現地では疑似患畜発生農家から20 K 圏内を汚染地域、50 K 圏内を警戒地域と指定し、3週間（3月25日～4月15日）にわたる動物（牛、豚等偶蹄家畜）の移動制限がかかっています。この影響を受ける農家数及び家畜数は約15000戸、100万頭にものぼります。
2. 現地の関連農家にとっては、この処置による直接的な被害はもとより風評被害にも当然のことながらきわめて神経質になっています。また、近隣諸県はもとより、全国都道県に口蹄疫対策本部が設置され警戒態勢がとられていますが、風評等による誤った情報が流されて一部に情報の錯綜、混乱が生じています。
3. 今回の法律発動は家畜衛生試験場の診断結果に基づいてなされたものであります。したがって、最終的な終息宣言がだされるまで、技術的なことに関しては当事者が全責任を負わねばなりません。そのため、海外病研究部では現在も不眠不休で病性鑑定等の診断業務に対応しています。
4. 今週から来週にかけて数万件の血清（当面は牛血清）が上記の移動制限地域から海外病部に送られ、エライザによる抗体検査が実施されることになっています。しかし、海外病部だけではマンパワーが不足するため、つくば等からの応援が必要となっています。これまでもすでにつくばや動物検疫所のウイルス関係者が小平に応援に行ってもらっていますが、これからもう一層の協力をお願いいたします。
5. つくば組、支場組、動物検疫所組、動物医薬品組への具体的な応援要請は企画連絡室長がします。国家的な危機管理に貢献するため、全場員一丸となり皆様のご協力を重ねてお願いいたします。
6. 来週には獣医学会が開催されます。こちらのほうもそれなりにご協力をお願いします。なお、そのおりに大学関係者等から今回の口蹄疫に関するいろいろな質問がなされると思いますが、個人的な意見や噂等にはくれぐれも注意するようお願いいたします。情報公開を原則としていますが、それは衛生課で一元的に行っています。断片的な話がくっついてとんでもないストーリーになり、それによって混乱が生じることを恐れます。
7. いずれにせよ、海外病部に対しては精神的なものを含めて応援してやってください。これからの約2週間が勝負となるでしょう。

平成12年3月30日  
家畜衛生試験場長 寺門誠致

## 別添資料2 - 2

**家畜防疫関係者の皆さまへ  
再び口蹄疫清浄国に復帰して**

本年3月25日に宮崎県宮崎市の肉用牛飼育農家において、92年ぶりに口蹄疫の発生が確認されて以来、6月9日の北海道本別町を中心とする移動制限地域の解除まで、国、県、市町村、生産者、民間団体等の畜産関係者は本病との闘いで「震撼の76日間」を送ることとなりました。最終的には、1道1県、4農家での発生の確認と患畜22頭、疑似患畜718頭、合計740頭の殺処分、236,531戸にのぼる農家での臨床検査、52,894頭分の血清検査、輸入飼料を含めた疫源に関する疫学調査等が実施されました。

その間、農林水産省畜産局衛生課をはじめ全国の家畜防疫関係者は一致団結し、見えない敵との戦いに全力をつくしてきました。わが家畜衛生試験場でも不眠不休の海外病研究部を中心に全場的に対応してきましたが、その詳細は「家畜衛試ニュース」No.103に報告されているとおりです。

さて、ここで皆さんにうれしいニュースをお知らせいたします。それは6月9日の北海道での終息宣言から3ヶ月が経過したわけですが、その間新たな発生がなく、また今回の発生時には蔓延防止のためのワクチンを使いませんでした。そこで、畜産局衛生課は国際獣疫事務局（OIE）に対して日本における口蹄疫清浄化復帰を宣言し、日本時間の昨年（9月26日）OIEの口蹄疫委員会からもその認定をかちとることができたとのことです。発生以来半年といった短期間での清浄化が達成できました。これは世界的にみても快挙であり、オリンピックならさしずめ金メダルといえるでしょう。わが家畜衛生関係者にとって誇るべき防疫活動の結果を皆さんに報告し、喜びを分かち合いたいと思います。

ただよく考えてみると、今回の発生は伝染力の弱い口蹄疫ウイルスによるものでしたし、豚の世界に侵入しなかったことなど、かなりラッキーな事柄が重なっていたことも事実です。いっぽう、依然として世界的なグローバル化が進展するなかにあって、今後も新たにウイルスが再侵入してくる可能性は否定できません。家畜衛生試験場はもとより、家畜防疫関係者にとっては、どんな事態に対面してもその役割は「動物を守る、ヒトを守る」につきると思います。そのためには、常日頃から「準備する心」が求められています。今回の清浄化復帰を素直に喜ぶとともに、今後もそれを継続するためには、今回の経験をいろんな面から総括して発生予防に生かす必要があります。未先の防疫こそが、われわれ家畜衛生関係者にとっての本当の金メダルです。皆さんのいま一層の精進をお願いしたいと思います。

本当にご苦勞様でした。有り難うございます。

平成12年9月27日  
家畜衛生試験場長 寺門誠致







## 別添資料 3 - 2

## 本場における動員態勢（5月15日～5月25日）

	5月15日	5月16日	5月17日	5月18日	5月19日	5月20日	5月21日	5月22日	5月23日	5月24日	5月25日
加来 義浩											
横山 隆											
猪島 康雄											
村上 賢二											
清水 眞也											
真瀬 昌司											
山口 成夫											
今田 忠男											
宮本 亨											
勝田 賢											
坪井 孝益											
成田 卓美											
山田 学											
大橋 傳											
泉對 博											
郷司 典子											
塚本 健司											
照井 和哉											
田近 英樹											
石川 整											
高橋 雄治											
濱岡 隆文											
横溝 祐一											
磯部 尚											
高田 益宏											
後藤 義之											
湯浅 襄											
神尾 次彦											
大田 方人											
寺門 誠致											
松浦 勝美											
宮崎 茂											
藤澤 敏夫											
森 康行											
彦野 弘一											
松原 豊											
山本 孝史											
犬丸 茂樹											
内村 照彦											
村田 英雄											
小林 千穂											
島田 義成											
林 みち子											
浅野 明宏											
吉戸あすか											
池谷 優子											
夏秋須美子											
安藤 正視											
合計 48人	18人	27人	24人	18人	12人	15人	16人	20人	14人	8人	2人

口蹄疫の抗原診断および抗体検査に従事， 口蹄疫抗体検査のための血清材料の整理仕分け業務に従事。  
 網掛けは道県の病性鑑定研修生である。

## 別添資料4

## 黒毛和種で認められた口蹄疫の臨床症状（宮崎家畜保健衛生所原図）



写真1 泡沫性の流涎



写真2 舌辺縁部の上皮細胞の剥離



写真3 鼻腔内のびらんと潰瘍



写真4 歯齦部の潰瘍

## 別添資料5

## 口蹄疫を疑う病性鑑定の一覧（2000年3月～11月）

No	受付月日	道府県名	異常頭数	臨床症状	検査結果			
					抗原検出		抗体検出	
					ELISA	ウイルス分離	RT-PCR	ELISA
1	3.22	宮崎	10	流涎，口と鼻腔内のび爛，潰瘍	-	-	+	+
2	26	熊本	1	流涎，口腔内の発赤，舌の水疱	-	-	-	-
3	26	宮崎	3	鼻腔内の脂肪塊，潰瘍	-	-	-	-
4	27	鹿児島	1	流涎，口内炎，発熱	-	-	-	-
5	27	神奈川	1	発熱	-	-	-	-
6	4.5	広島	4	発熱，流涎，水疱	-	-	-	-
7	6	岐阜	1	口唇の膿疱性皮膚炎	-	-	-	-
8	13	宮崎	1	食欲不振，流涎	-	-	-	-
9	13	宮崎	1	発熱，流涎	-	-	-	-
10	13	宮崎	1	流涎	-	-	-	-
11	13	宮崎	1	流涎，上唇と舌下の発赤	-	-	-	-
12	14	京都	1	流涎	-	-	-	-
13	17	宮崎	2	水疱	-	-	-	-
14	18	京都	1	発熱，鼻腔内炎	-	-	-	-
15	18	山口	1	鼻鏡の水疱	-	-	-	-
16	18	沖縄	1	舌裏の水疱	-	-	-	-
17	24	青森	1	食欲不振，流涎	-	-	-	-
18	24	山形	1	鼻鏡の潰瘍	-	-	-	-
19	5.2	兵庫	2	鼻腔粘膜のび爛，潰瘍，水疱	-	-	-	-
20	2	熊本	1	流涎	-	-	-	-
21	2	熊本	1	流涎	-	-	-	-
22	8	福島	1	食欲不振，流涎	-	-	-	-
23	12	鹿児島	2	流涎，口腔内の潰瘍	-	-	-	-
24	12	山形	4	鼻腔内のび爛，潰瘍	-	-	-	-
25	13	青森	1	発熱，流涎	-	-	-	-
26	15	福島	1	舌と鼻腔内の潰瘍	-	-	-	-
27	16	神奈川	1	乳頭の痂皮形成	-	-	-	-
28	16	北海道	1	発熱，流涎，舌のび爛	-	-	-	-
29	16	群馬	1	蹄間部の腐爛	-	-	-	-
30	23	佐賀	1	舌の水疱	-	-	-	-
31	25	岩手	1	口内炎	-	-	-	-
32	25	群馬	2	発熱，鼻鏡の異物形成	-	-	-	-
33	6.22	群馬	1	口蓋と口角の発赤（山羊）	-	-	-	-
34	8.3	長野	1	流涎，口腔と舌の潰瘍	-	-	-	-
35	4	鹿児島	2	蹄間部のび爛，潰瘍	-	-	-	-
36	10.27	群馬	1	食欲不振，舌の赤色隆起物	-	-	-	-
37	11.1	鹿児島	1	食欲不振，下痢，流涎，口腔内の発赤，潰瘍	-	-	-	-
38	29	鹿児島	1	流涎，舌水疱，鼻腔内の水疱，潰瘍	-	-	-	-

注：宮崎B,宮崎Cおよび北海道Dの発生例は，関連疫学調査によって摘発された発生例であるため，当該一覧表には含まれない。

## 別添資料 6

## 病性鑑定材料採取時の留意点

## 水疱がある場合（4 冷蔵で搬送）

水疱上皮や病変組織は、1 g を目途に集め、搬送のためにグリセリンPBS（pH7.4）に浮遊させる。

水疱液も病性鑑定材料に利用できるもので、採材が可能であれば、注射器等を用い、血液が混入しないように注意して、採取する。MEM培地（pH7.4）またはPBS（1/25M，pH7.4）を用いる。

## 水疱がない場合（4 冷蔵で搬送）

水疱がない場合の病変組織（び爛組織など）は、採材後、グリセリンPBS（1/25M，pH7.4）に浮遊させる。

組織拭い液は、抗生物質、0.01M牛血清アルブミンならびに0.002%フェノールレッド加PBS（0.08M，pH7.4）に拭い液を入れて搬送する。本試薬の準備ができない場合に限って、緊急を要する場合にはMEM培地（pH7.4）またはPBS（1/25M，pH7.4）で代替できる。

## プロバング材料（冷凍で搬送）

プロバング材料は、抗生物質、0.01M牛血清アルブミンならびに0.002%フェノールレッド加PBS（0.08M，pH7.4）に入れて搬送する。この場合、2ml程度の溶液にプロバング材料を入れる。採材後は、分泌型抗体によるウイルスの中和（不活化）を避けるためドライアイス等で直ちに冷却する。

緊急を要する場合には、MEM培地（pH7.4）またはPBS（1/25M，pH7.4）にプロバング材料を加え、5 ml以上とし冷凍して直ちに搬送する。

## その他

口蹄疫ウイルスは、pHや温度によって不活化される恐れがある。さらに、分泌型の抗体によっても常に中和される。

採材量は十分に確保しなければならない。

## プロバング材料を用いた口蹄疫ウイルスの分離法

水疱上皮病変組織等は、10%乳剤にして感受性細胞に接種される。しかし、水疱が形成されない場合や症状が認められない場合にはプロバング材料が病性鑑定材料として重要となる。プロバング材料を用いた場合の病性鑑定およびウイルス分離法は以下の通り。

サンプル数、容量（ml）、搬送状態（4℃、-20℃、ドライアイス、液体窒素）を確認する。

溶解後、直ちに攪拌、遠心（2,000 rpm，10 min）して夾雑物を除く。

PCR材料として200 µl～400 µlを確保する。

ELISA材料として900 µl以上を確保する。

感受性細胞を用いたウイルス分離のため、残量に対して

10倍濃度の抗生物質を1/10量を添加する。

4℃にて10,000 rpm，10 minで遠心する。

その上清を0.45 µlフィルターで濾過する。

濾液（0.2～0.4ml）を下記の組織培養細胞へ接種する。

牛腎細胞，牛甲状腺細胞，

ハムスター腎株化細胞(BHK)，牛腎株化細胞

(MDBK)，

豚腎株化細胞 (IBRS-2)

37℃で回転培養する。

CPEの観察

別添資料7

口蹄疫の血清疫学調査プログラム（宮崎関連）

1 考え方

疑似患畜が牛であったことを踏まえ、牛を対象に実施する。その他の畜種については、臨床的な監視体制を強化する。異常が認められた場合は、至急畜産局衛生課あて連絡する。

2 材料採取

(1) 発生農場周辺1km以内

プログラム対象群

疑似患畜確認農場周辺1km以内のすべての群及び疑似患畜確認農場と獣医師、飼料輸送、家畜の導入・出荷などで密接な関係を持つすべての農場

採取家畜

各群10頭（飼養規模10頭未満の場合は全頭）

(2) 発生農場周辺1km以外で移動制限，搬出制限地域内

プログラム対象群

全群

採取家畜

飼養頭数に応じた以下の頭数を無作為抽出

飼養頭数	採取頭数
1頭～10頭	1頭
11頭～30頭	2頭
31頭～100頭	3頭
100頭～	5頭

(3) その他県の農場

プログラム対象群

- ・移動制限地域から肥育素牛を導入した地域のすべての群
- ・発生農家と同一の導入先をもつ輸入粗飼料を使用している群
- ・その他発生農場と疫学的に関連のあるすべての農家

採取家畜

(2)のと同様

## 別添資料 8

## 農場隔離検査プログラム

平成12年3月25日に発生した口蹄疫に対する防疫措置の一環として実施した血清疫学調査において口蹄疫の清浄農場と確定できなかった農場で飼養する家畜について、抗体検査、咽喉頭の粘液を用いたPCR検査（プロバング）を組み合わせ実施し、当該農場の清浄性を確認した。清浄性が確認されるまでの間、家畜伝染病予防法第14条第3項に基づき、当該農場において家畜を適切に隔離し、当該疾病のまん延を防止する。

## 対象農場

対象農場は、血清疫学調査の再検査における抗体検査の結果について以下の基準に従い判定し、家畜衛生試験場の助言を受けて農林水産省畜産局衛生課（以下、「衛生課」という）が指定した農場とする。

## （対象農場の判定基準）

全頭の抗体価が64倍未満又は、1頭のみ抗体価が64～128倍の農場及び抗体価が256倍以上のものが2頭いる農場以外の農場であって、抗体価の動向、導入歴、これまでの検査成績から感染の可能性が否定できないもの。

## ア．検査実施計画、材料送付計画の作成

地方・都道府県は、農場隔離検査プログラム（以下「プログラム」という）の材料採取・送付実施計画（以下「実施計画」）を作成し、衛生課宛送付した。送付を受けた衛生課は家畜衛生試験場と協議の上、必要に応じ計画の修正を地方・都道府県あて連絡する。

その際、プログラムの1回目の材料採取時期は、血清疫学調査における再検査（第2回抗体検査）の採血の日から1週間以上の間隔をおいて行われた。

家畜防疫員は1日1回以上、対象農場へ立入検査等により、以下の事項を確認した。

- a 隔離開始時の飼養動物の記録と照合し、家畜の隔離状況及び家畜の異常の有無を確認した。
- b 消毒措置が適切に行われていることを確認した。
- c 飼料、敷料、家畜管理用具、糞尿等の搬出がないことを確認した。その他、必要に応じて家畜の所有者（管理者を含む）に対し指導を行った。

## イ．材料採取と材料送付

地方・都道府県は材料採取計画に従って、血清疫学調査の再検査時に対象とした牛全頭を含め、飼養頭数規模に応じて以下の頭数を無作為抽出（再検査時対象牛）して採血を行うとともに、血清疫学調査の再検査に181倍以上の抗体価を示した牛についてはプロバング材料を採取することとした。

血清及びプロバング材料は、事前に家畜衛生試験場（海外病研究部）に送付材料の内容、到着予定時間を連絡の上、血清及びプロバング材料を家畜衛生試験場に送付した。

表 - 1 飼養規模と採血の実施頭数

飼養頭数	採血の実施頭数
～10頭	全頭
～20頭	15頭
～40頭	20頭
～100頭	25頭
101頭～	30頭

## （検査に基づく判定）

家畜衛生試験場は検査終了次第、検査の結果を衛生課に連絡し、衛生課は家畜衛生試験場の助言を受けつつ、以下の基準により清浄農場、検査継続農場、患畜・疑似患畜発生農場の判定を行い都道府県に連絡する。

## 判定基準

- a ～ の全てを満たす農場は清浄農場とする。  
抗体価64倍以上の牛が増加していない。  
3管以上の抗体価の上昇を示す牛がない。  
プロバングテストの結果が陰性。
- b ～ のいずれかに該当する農場は患畜・疑似患畜発生農場とする。  
抗体価181倍以上の牛が増加。  
3管以上の抗体価の上昇を示す牛がいる。  
プロバングテストの結果が陽性。

検査継続農場：上記のいずれにも該当していない農場

## ウ．検査継続農場の検査

地方・都道府県は10日間以上の間隔をおき，上記（2）に準じて材料採取・送付を行うこととする。家畜衛生試験場から，検査結果の連絡を受けた衛生課は家畜衛生試験場の助言を受けつつ，（3）の基準のイに該当しないものを清浄農場として，また（3）の基準のイに該当するものを患畜・疑似患畜発生農場として地方・都道府県に連絡する。

## 別添資料9

## 口蹄疫の血清疫学調査プログラム（北海道関連）

## 1 考え方

平成12年3月25日に発生した口蹄疫に対する防疫措置の一環として、これまで、移動制限地域（発生農場から50km圏内）の牛の飼養農場全戸を対象とした血清疫学調査を実施してきたところである。

しかしながら、これまでに実施された疫学調査の結果、現在我が国で発生している口蹄疫については 空気伝播の可能性は極めて低く、感染力も従来知られている口蹄疫に比べ低いと考えられること、 続発例は、初発の農場から半径3km以内の地域にある農場及び疫学関連農場に限られていること、 パープライト研究所の専門家によれば、周辺3km以内の農場及び疫学関連農場を対象とした血清学的調査及び10km以内の地域における臨床観察の実施が推奨されていることから、今後患者・疑似患者が新たに確認された場合には以下の通り疫学調査を実施することとする。

## 2 検査の概要

## (1) 血清検査

以下の農場を対象として、農場内の家畜の有病率を牛10%、豚20%と仮定し、統計学的に感染群を摘発できる頭数（【表1】参照）を無作為に抽出してELISA法による抗体検査を行う。

ア．摘発農場の周辺3kmの全農場（牛，豚）

イ．疫学的に関連のある全農場

摘発農場と獣医師，飼料輸送，家畜の導入・出荷等で関連のあるすべての農場を対象として実施する。

ウ．移動制限地域内の全ての牛飼養農場

## (2) 立入検査（臨床検査）

- ・移動制限地域内の牛飼養農場に対し，別添の「立入検査調査票」を利用し，徹底的な臨床検査を実施する。
- ・立入検査の実施にあたっては，想定される感染時期及び潜伏期間を考慮し，発症時期を見逃すことのないよう，有効な検査計画を立て，これに基づいて実施する。

【表1】農場の家畜飼養頭数と採血対象個体数との関係  
ア．牛飼養農場の場合

飼養頭数	採血の実施頭数
～15頭	全頭
～20頭	15頭
～40頭	20頭
～100頭	25頭
101頭～	30頭

## イ．豚飼養農場の場合

飼養頭数	採血の実施頭数
～14頭	全頭
14頭～	14頭

別添資料10

日本で分離された口蹄疫ウイルスO/JPN/2000の接種試験で認められた  
豚の臨床症状（いずれもウイルス接種豚）



写真5 蹄球部の水疱（ウイルス接種後2日目）



写真6 蹄部の水疱と破裂した水疱(同接種後4日目)



写真7 蹄部の水疱の修復（同接種後8日目）



写真8 蹄部の水疱の修復進行（同接種後9日目以降）

別添資料11

日本で分離された口蹄疫ウイルスO/JPN/2000の接種試験で認められた  
黒毛和種の臨床症状  
(写真10は同居牛，他はいずれもウイルス接種牛)



写真9 泡沫性の流涎（ウイルス接種後2日目以降）



写真10 白化した舌上皮（舌上皮の実質からの剥離）



写真11 下口唇内側のびらん



写真12 鼻腔内の潰瘍

別添資料12

### 農林水産大臣表彰による表彰状

