

## 別記様式第7号

学位論文審査の結果の要旨	
氏 名	Md Humayun KABIR
審査委員署名	主 査 石谷 哲也 副 査 村上 賢二 副 査 山田 慎二 副 査 オグライエン 悠木子 副 査 竹 野 一明
題 目	Molecular identification of Newcastle disease viruses and their control through vaccination and enhanced biosecurity (ニューカッスル病ウイルスの分子的識別とワクチン接種およびバイオセキュリティ強化による防除に関する研究)
審査結果の要旨 (1,000字程度)	
<p>鶏の感染症、特に鳥インフルエンザ (AI)、ニューカッスル病 (ND)、大腸菌症、サルモネラ症、鶏アデノウイルス (FAdV)、鳥レオウイルス (ARV) による疾病は伝染性が高く、養鶏産業に大きな損害を与えている。高病原性鳥インフルエンザ (HPAI) や ND は、その発生率や伝播速度から罹患率や死亡率が 100% に達し、家禽産業にとって疾病による動物の損失だけでなく、貿易制限や禁輸による厳しい経済的損失となる。</p> <p>そこで申請者は、ND 制御のため、ワクチン接種状況と ND 発生を調べ、耐熱性ワクチン候補株の作出、バイオセキュリティ強化のための消毒資材評価を実施した。</p> <p>第一章では、アフガニスタンの3つの養鶏場から得られた赤血球凝集素 (HA) 陽性ウイルスを逆転写ポリメラーゼ連鎖反応アッセイと塩基配列決定によって NDV と同定した。各農場から分離された3株について、融合 (F) タンパク質遺伝子の切断部位周辺の特徴を明らかにするために塩基配列を決定した。系統解析で示された3つの分離株の F 遺伝子の特徴から、分離株は強毒株で、クラス II サブジェノタイプ VII 1.1 に属し、中国の NDV 分離株と密接な関係にあることが示された。</p> <p>アフガニスタンのワクチン接種農場での ND 発生は、開発途上国でのワクチンの低温管理に問題点があると考えた。そこで、第二章では、耐熱性の ND ワクチン候補株をスクリーニングし、日本で水鳥から分離された非病原性株 NDV261 を培養細胞である Vero 細胞に順化させた NDV-Vero20 を得た。NDV-Vero20 は 37°C で 10 日間保管しても力価の低下がわずかであった。また、特定病原体フリー (SPF) 卵が入手しづらい開発途上国では、培養細胞でのワクチン製造が必要である。同株を鶏ひなに点眼・点鼻接種したところ、接種 7 日後までウイルスが口腔内に検出された。また、中和抗体価の上昇が認められた。以上、NDV-Vero20 株は、Vero 細胞順化耐熱性ワクチン候補株として有望と考えられた。</p>	

第三章では、バイオセキュリティ強化のため、逆性石鹼 (QAC) と食品添加物規格水酸化カルシウム (FdCa(OH)<sub>2</sub>) の混合液にメタノール含有不凍液 (AFA) を用いて -20℃ および 1℃ で、液相混和試験で検討した。混合液は、-20℃ では、AIV と NDV を 30 分以内に、FAdV と ARV を 5 秒以内に、SI と EC を 3 分以内にそれぞれ不活化した。AFA 単独では、ウイルスや細菌を不活性化しなかった。FdCa(OH)<sub>2</sub> に代えて消石灰を用いた場合、QAC との混合液は、AIV と NDV を 1℃ で 60 分後でも不活化できなかった。従って、特に冬季には FdCa(OH)<sub>2</sub> を添加した QAC を使用することが推奨される。

以上、ND 対策として、包括的に研究を行い、バングラデシュを含めた開発途上国の養鶏発展に貢献する博士論文・研究と考えられた。

#### 学位論文の基礎となる学術論文

題目 : Isolation, identification, and molecular characterization of Newcastle disease virus from field outbreaks in chickens in Afghanistan.

著者名 : Kabir, M. H., Hakim, H., Alizada, M. N., Hasan, M. A., Miyaoka, Y., Yamaguchi, M., Shoham, D. and Takehara, K.

学術雑誌名 : Avian Diseases

巻・号・頁・発行年 : 66・2・1-5・2022

題目 : Synergistic effects of quaternary ammonium compounds and food additive grade calcium hydroxide on microbicidal activities at low temperatures.

著者名 : Kabir, M. H., Miyaoka, Y., Hasan, M. A., Yamaguchi, M., Shoham, D., Murakami, H. and Takehara, K.

学術雑誌名 : The Journal of Veterinary Medical Sciences

巻・号・頁・発行年 : 83・12・1820-1825・2021

#### 既発表学術論文

題目 : Evaluation of virucidal quantitative carrier test towards bovine viruses for surface disinfectants while simulating practical usage on livestock farms.

著者名 : Hasan, M. A., Miyaoka, Y., Kabir, M. H., Kadota, C., Hakim, H., Shoham, D., Murakami, H. and Takehara K.

学術雑誌名 : Microorganisms

巻・号・頁・発行年 : 10・ - ・1320・2022

題目 : G and P genotype profiles of rotavirus A field strains circulating in a vaccinated bovine farm as parameters for assessing biosecurity level.

著者名 : Hasan, M. A., Kabir, M. H., Miyaoka, Y., Yamaguchi, M. and Takehara, K.

学術雑誌名 : The Journal of Veterinary Medical Sciences

巻・号・頁・発行年 : 84・7・3-5・2022

題目 : Rapid *in vitro* virucidal activity of slightly acidic hypochlorous acid water toward aerosolized coronavirus in simulated human-dispersed droplets.

著者名 : Miyaoka, Y., Yamaguchi, M., Kadota, C., Hasan, M. A., Kabir, M. H., Shoham, D., Murakami, H. and Takehara, K.

學術雜誌名：Virus Research

卷・号・頁・発行年：311・-・198701・2022

題目：Isolation and molecular characterization of fowl adenovirus and avian reovirus from breeder chickens in Japan in 2019-2021.

著者名：Yamaguchi, M., Miyaoka, Y., Hasan, M. A., Kabir, M. H., Shoham, D., Murakami, H. and Takehara, K.

學術雜誌名：The Journal of Veterinary Medical Sciences

卷・号・頁・発行年：84・2・238-243・2022

題目：Virucidal activity of slightly acidic hypochlorous acid water toward influenza virus and coronavirus with tests simulating practical usage.

著者名：Miyaoka, Y., Kabir, M. H., Hasan, M. A., Yamaguchi, M., Shoham, D., Murakami, H. and Takehara, K.

學術雜誌名：Virus Research

卷・号・頁・発行年：297・-・198383・2021

題目：Establishment and utilization of an evaluation system for virucidal activity of disinfectants against a coronavirus with apparent applicability to SARS-CoV-2

著者名：Miyaoka, Y., Kabir, M. H., Hasan, M. A., Yamaguchi, M., Shoham, D., Murakami, H. and Takehara, K.

學術雜誌名：The Journal of Veterinary Medical Sciences

卷・号・頁・発行年：83・1・48-58・2021

題目：Regression of viral pathogen indicators due to improvement of hygiene protocols on boots in a bovine farm.

著者名：Takahashi, S., Hasan, M. A., Itoh, M., Komura, M., Daio, C., Ono, M., Yamaguchi, M., Alam, M. S., Kabir, M. H., Miyaoka, Y., Shoham, D. and Takehara, K.

學術雜誌名：The Journal of Veterinary Medical Science

卷・号・頁・発行年：82・12・1793-1797・2020

題目：Bactericidal efficacies of food additive grade calcium hydroxide toward *Legionella pneumophila*.

著者名：Alam, M. S., Takahashi, S., Itoh, M., Komura, M., Kabir, M. H., Shoham, D., Sakai, K., Suzuki, M. and Takehara, K.

學術雜誌名：The Journal of Veterinary Medical Sciences

卷・号・頁・発行年：81・9・1318-1325・2019

## Summary of Graduation / Doctoral Thesis Assessment Results

Md Humayun KABIR

To control Newcastle disease (ND), the applicant investigated vaccination status and ND outbreaks, established a heat-resistant vaccine candidate strain, and evaluated disinfection materials to strengthen biosecurity.

In Chapter I, hemagglutination (HA)-positive viruses from three chicken farms in Afghanistan were identified as ND virus (NDV) by reverse transcription-polymerase chain reaction assay and sequencing. The fusion (F) protein genes of the three isolates shown in the phylogenetic analysis indicated that the isolates were highly virulent, belonged to class II subgenotype VII 1.1.

In Chapter 2, a heat-resistant ND vaccine candidate strain was screened and obtained Vero cell adapted virus, NDV-Vero20. The strain induced neutralizing antibodies in immunized chicks.

In Chapter 3, to strengthen biosecurity, a mixture of quaternary ammonium compound (QAC) and food additive grade calcium hydroxide ( $\text{FdCa}(\text{OH})_2$ ) with methanol-containing antifreeze was examined at  $-20^\circ\text{C}$  in suspension tests. The mixture inactivated NDV within 30 min at  $-20^\circ\text{C}$ . Therefore, it is recommended that QAC with  $\text{FdCa}(\text{OH})_2$  be used, especially in winter.

The above doctoral dissertation is considered to be a very significant contribution to the ND control.

All members of the Board of the Thesis Assessment Committee of TUAT unanimously approved this Doctoral Thesis (Doctor of Philosophy), for its numerous findings covered, contents and structure, and the number of published articles.