

10 過去6年にわたる野生イノシシの豚熱サーベイランス成績の総括

県中央家畜保健衛生所

小笠原悠、稲葉浩子、湯澤裕史

はじめに

近年、豚熱は国内の養豚農場に甚大な被害をもたらしてきたが、豚熱ウイルス(CSFV)は感染した野生のイノシシが豚への主な感染源であることが知られており¹⁾、野生イノシシにおける豚熱の流行は養豚農場の発生リスクに直結する重要なリスクファクターとなる。そのため、当県ではイノシシの感染状況を探るため、発見された死亡イノシシにおける検査に加え、R1年度から狩猟で捕獲されたイノシシの血液を用いたサーベイランスを実施してきた。そこで、これまで蓄積されたデータや検体を活用し、地域的な特徴や流行動態を把握することで、今後の動向を予測し、より有効な対応方針の策定につなげるため、過去6年間の野生イノシシの検査成績を解析したので、その概要を報告する。

材料及び方法

1 サーベイランス成績の解析

材料には、R1～R6年度までに捕獲されたイノシシ計2,836頭分(年度内訳 R1:145頭、R2:444頭、R3:422頭、R4:569頭、R5:677頭、R6.11月末:579頭)及び通報を受けて回収した死亡イノシシ計297頭分(年度内訳 R1:28頭、R2:39頭、R3:75頭、R4:58頭、R5:38頭、R6.11月末:59頭)の豚熱検査成績を用いた。なお、検査項目としては遺伝子検査として、One Step RT-PCR Kit(キアゲン)を用いて Vilček らの報告²⁾に従って RT-PCR、もしくは CSFV/ASFV Direct RT-qPCR Mix & Primer/Pro

be(with ROX Reference Dye)(TaKaRa)を用いてリアルタイム PCR を実施し、抗体検査として豚熱エライザキット II(ニッポン・ジーン)を用いて ELISA 検査を実施した。

得られた結果については、PCR 陽性の個体を感染個体、PCR 陰性かつ ELISA 陽性の個体を免疫獲得個体、それ以外の個体を感染していない個体として、地図上にプロットし、県北・県央・県南地域ごとの流行状況を評価した。

また、各地域ごとの感染状況の推移を評価するため、捕獲イノシシのデータについて PCR 陽性個体の割合を感染率、PCR 陰性かつ ELISA 陽性個体の割合を免疫獲得率としてそれぞれ算出し、グラフ化した。なお、市町ごとの成績の評価においては、一部の市町で検査数が少なかったため、年間検査頭数が概ね30頭以上である市町に絞って評価した。

2 シークエンス解析

材料には、R2～R6年度までに豚熱 PCR 陽性となった捕獲イノシシもしくは死亡イノシシ69検体(年度内訳 R2:5検体、R3:38検体、R4:12検体、R5:6検体、R6:8検体)と県内で豚熱が発生した6農場分の豚6検体の計75検体を用いた。RNAの抽出は QIAamp Viral RNA Mini Kit(キアゲン)を用い、One Step RT-PCR Kit(キアゲン)を用い、Postel らの報告³⁾に従って E2 領域の遺伝子を増幅した。得られた PCR 産物は、QIAquick PCR Purification Kit(キアゲン)で精製した後、BigDye™ Terminator v3.1 Cycle Sequencing Kit(Thermo

Fisher Scientific)によりサイクルシーケンシング反応を行った。反応産物を BigDye XT terminator™ Purification Kit(Thermo Fisher Scientific)を用いて余剰標識 dNTPs を除去後、SeqStudio genetic analyzer(Thermo Fisher Scientific)で分析し、塩基配列を決定した。決定した塩基配列は、フリーソフトの MEGA7(<https://www.megasoftware.net/>)を用いて多重整列し、668bp の塩基配列について変異の有無を比較した。

R2 年度に県北地域で検出された県内初検出株を基準株とし、解析した株のうち共通の変異を認めた株を異なる系統と定義し、その中でも更に共通の変異を認めた株は、その系統が進化した株として地図上に県北・県央地域、県南地域と分けて、時系列にプロットした。

結果

1 サーベイランス成績の解析

(1) 県内における各年度の豚熱流行状況(図 1)

R1 年度は県内全域で感染個体及び免疫獲得個体は確認されなかったが、R2 年度には県北部から感染が確認され始め、捕獲イノシシの感染率は 4.6%(65 頭中 3 頭)まで上昇した。なお、県央地域にも一部感染が拡大し、その感染率は 0.6%(176 頭中 1 頭)と微増した。R3 年度には県北・県央地域での捕獲イノシシの感染率はそれぞれ 19.0%(84 頭中 16 頭)・9.6%(136 頭中 13 頭)と最多となり、県北地域の養豚農場での発生が 3 例確認された。また、県南地域でも感染が確認され始めた。R4 年度には県北・県央地域の捕獲イノシシの感染率はどちらも 3.1%(130 頭中 4 頭)と、流行は若干落ち着くも、県北地域で農場での発生が 1

例あり、県南地域での捕獲イノシシの感染率が 4.9%(309 頭中 15 頭)と最も高くなった。R5 年度には県北・県央・県南地域の捕獲イノシシの感染率はそれぞれ 2.0%(153 頭中 3 頭)・1.2%(167 頭中 2 頭)・0.0%(357 頭中 0 頭)と、県内全域で流行は小康状態となるも、県南地域の養豚農場での発生が 1 例あった。R6 年度には県南地域での感染個体は死亡イノシシも含め 1 例も確認されなくなったが、県北の捕獲イノシシの感染率は 4.9%(162 頭中 8 頭)と上昇し、県央地域の捕獲イノシシの感染率は 0.0%(158 頭中 0 頭)であるものの、死亡イノシシで感染個体が散見され、県東側での感染が再び増加傾向にあった。

(2) 市町ごとの捕獲イノシシの検査成績

県北地域の免疫獲得率は、A 町では R4 年度に 40.6%(32 頭中 13 頭)に到達後、上昇が鈍化し、B 市では 44.4%(27 頭中 12 頭)、C 市では 39.6%(48 頭中 19 頭)とそれぞれ 40%程度に到達後に下降する傾向が認められたが、いずれの市町も R6 年度に感染率が再度上昇していた(図 2)。

県央地域の免疫獲得率は、R4 年度に D 市、E 市、F 町ではそれぞれ、52.4%(21 頭中 11 頭)、51.6%(31 頭中 16 頭)、61.5%(13 頭中 8 頭)と約 50-60%まで上昇した後、下降傾向にあり、D 市、E 市については R5 年度にそれぞれ 34.5%(29 頭中 10 頭)、28.6%(42 頭中 12 頭)と 40%を下回った後、R6 年度に再度上昇した(図 3)。

県南地域の免疫獲得率は、R3~R4 年度に G 市、H 市、I 市でそれぞれ 69.3%(179 頭中 124 頭)、36.2%(69 頭中 25 頭)、44.4%(9 頭中 4 頭)まで到達した後、大幅な下降を続け、R6 年度には 2~13%と著しく低い値まで下がった。また、R5 年度以降、感染は終息傾向にあるこ

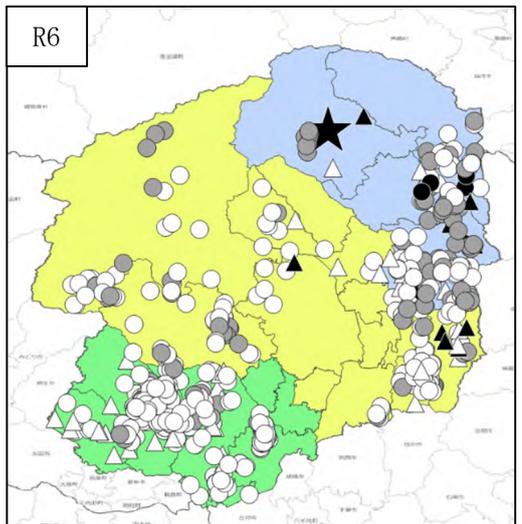
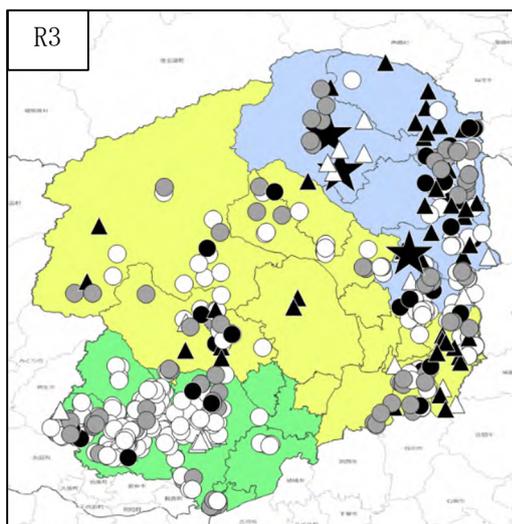
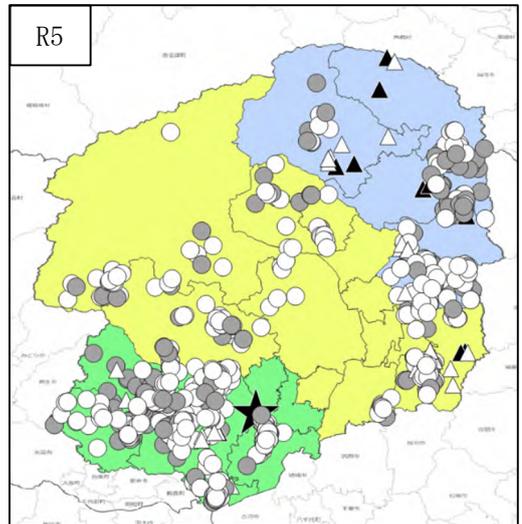
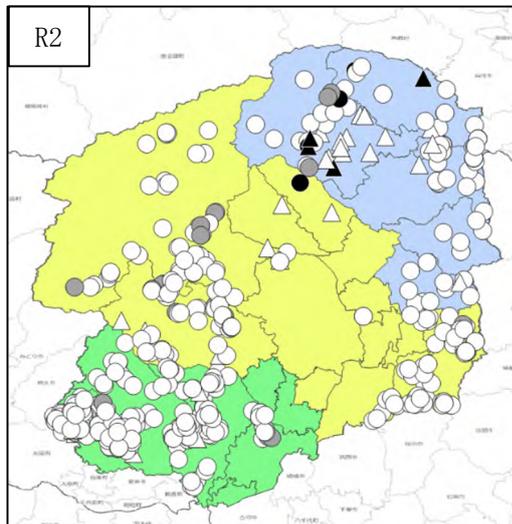
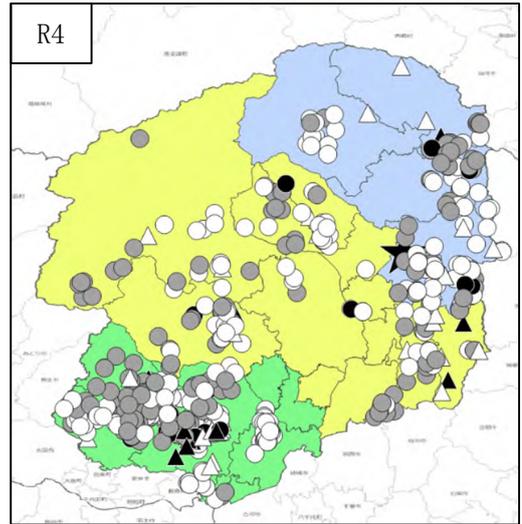
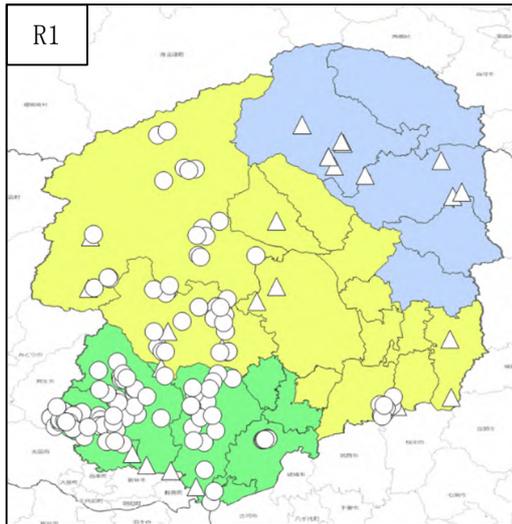


図1 県内における年度ごとの豚熱流行状況(アイコンの内訳は、丸：捕獲イノシシ、三角：死亡イノシシ、星印：発生農場とし、黒：感染個体、灰色：免疫獲得個体、白：感染していない個体と区別した。)

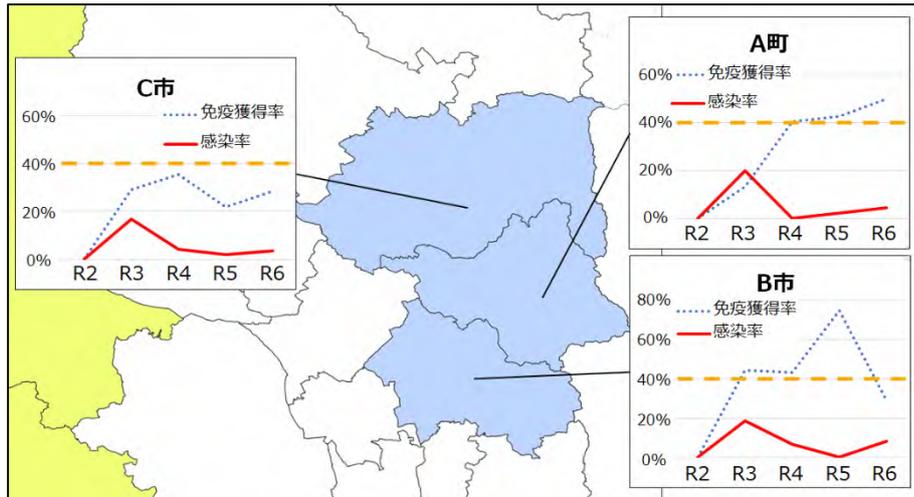


図2 県北地域の市町ごとの捕獲イノシシの検査成績

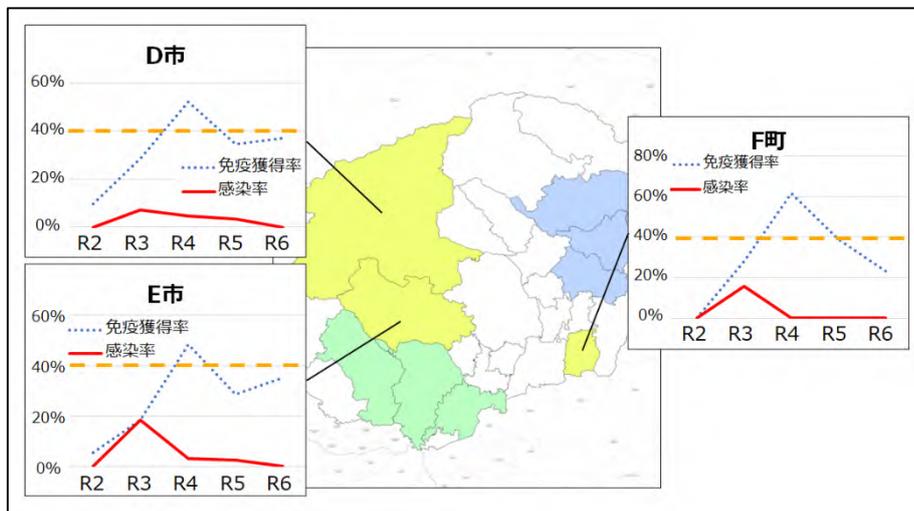


図3 県央地域の市町ごとの捕獲イノシシの検査成績

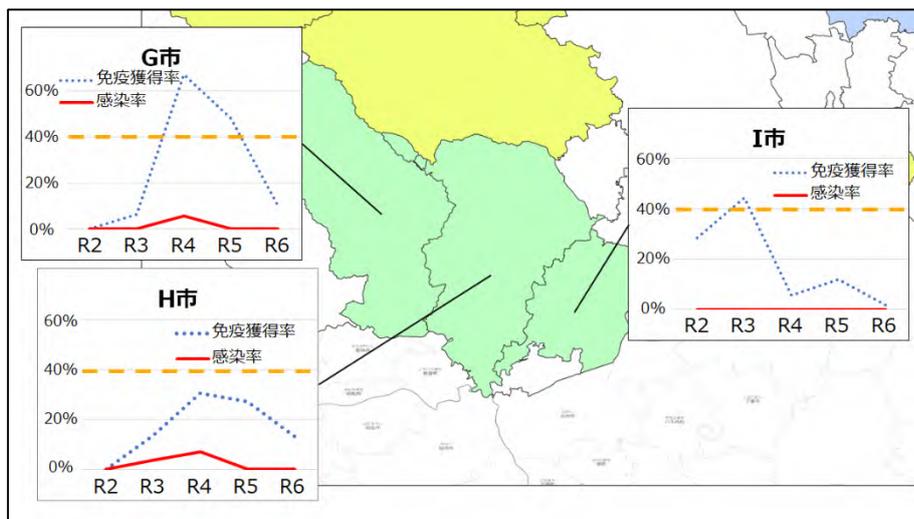


図4 県南地域の市町ごとの捕獲イノシシの検査成績

とが確認された(図4)。

2 シーケンス解析

(1) 県北・県央地域の検出株(図5)

県北部で検出された CSFV は県央、県東側に複数の系統に分かれながら南下していった形跡が認められ、E 系統の様に県南東部から新たに拡大した系統も確認された。また、発生農場 1~4,6 例目から検出した株については、基準株からそれぞれ異なる箇所にて 0~1 塩基の変異が認められたが、A~G 系統に共通の変異は確認されなかった。

(2) 県南地域の検出株(図6)

県西部で検出された株を由来とした系統が変異しながら東に拡大していることが確認された。県南地域で検出されたのはこの系統のみであったことから、県南地域では、県北・県央地域とは異なる単一系統による流行であったことが確認された。また、県南地域にある発生農場 5 例目から検出した株は、県南地域の系統とは異なり、基準株から 2 塩基の変異が認められた。

まとめ及び考察

県北・県央地域では、県北及び県南東部から感染が拡大していたことが確認され、免疫獲得率が概ね 40%程度を下回ると再流行を起こす傾向があり、これは欧州委員会のガイドライン⁴⁾の指標とも一致する結果となった。また、現在も複数の系統に分かれて小流行を繰り返していた。県南地域は、県西側で検出したウイルスを由来とする単一系統による流行であり、流行後、免疫獲得率が急激に低下する推移をたどっていた。現状は終息状態にあるが、免疫獲得率は 2-13%と極めて低いため、今後、新たにウイルスが侵入すれば大流行を起こすリスクが高い状況にあると考えら

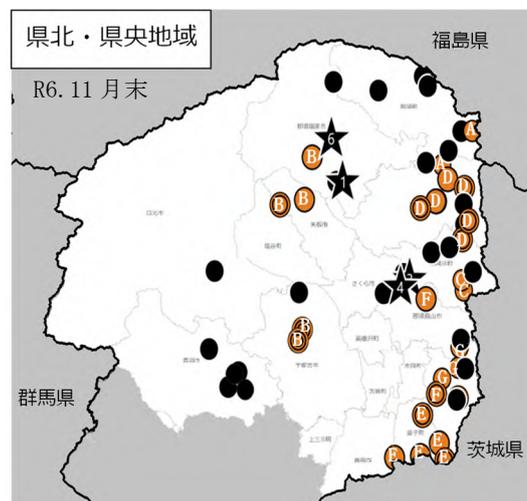
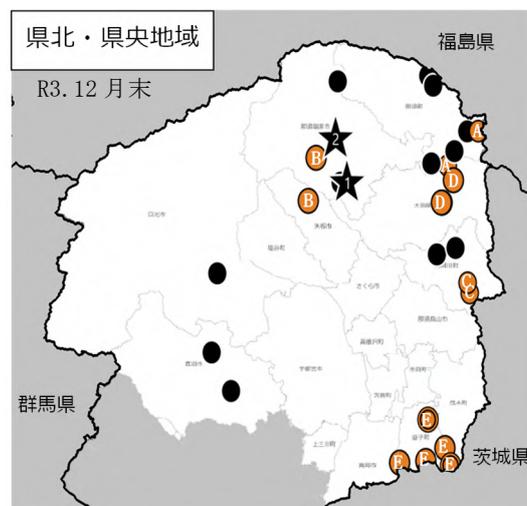
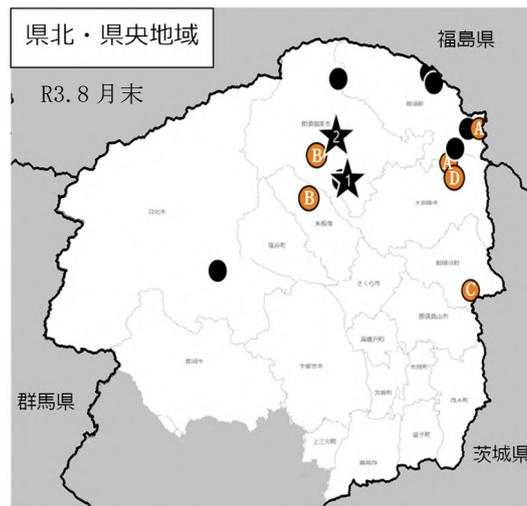


図5 県北・県央地域で検出された CSFV の系統(基準株を黒丸、系統分けされた株にはアルファベットを付記し、そこから変異した株は枠線を増やして表記)

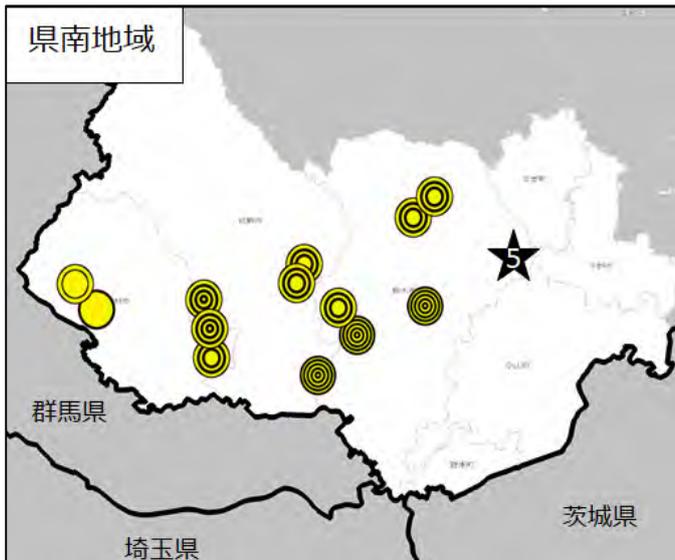


図6 県南地域で検出されたCSFVの系統

れた。

今回、地域ごとに流行の傾向が異なる結果となったが、これは地理的な要因によるものと考えられた。イノシシは比較的標高の低い里山を好むことが指摘されており5)、当県では県の西から北にかけて標高の高い山が続いているのに対し、東側はイノシシが好む低山が広がっている。過去に報告されたイノシシの生息分布6)を当県の地図に重ねた際に、県の東側には県境をまたいで広範囲にイノシシが多数生息しているのが確認できる(図7)。このことにより、県東部では地域内の一部で流行が終息しても、流行が継続している周辺からウイルスが流入することで、感染が終息しにくく、小流行を繰り返しやすい状況となっていると考えられた。

一方、県南地域は、イノシシの個体数は多いものの、図7の丸で示したように、ウイルスの侵入経路となるような他の地域と連続した生息域が狭く、閉鎖的な環境にあることが示唆された。このため、一度流行が経過すれば感染は終息しやすく、ウイルスも流入しにくい状況にあると考えられた。

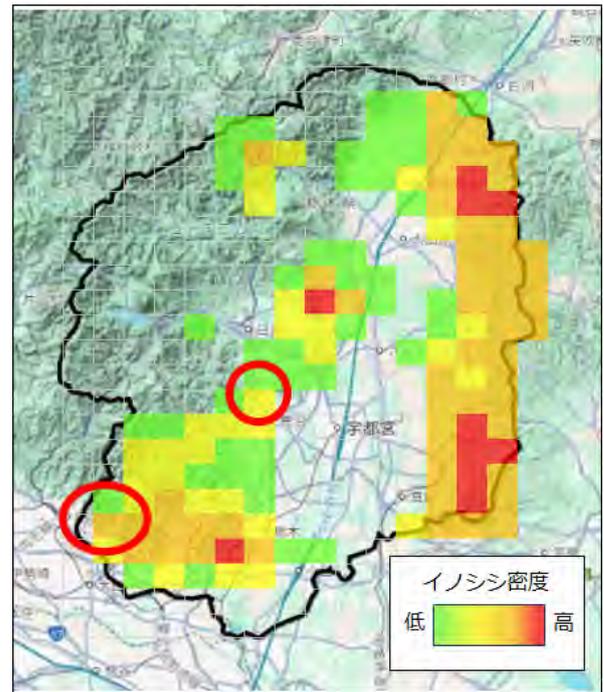


図7 令和4年度イノシシ生息分布(栃木県イノシシ管理計画の図より一部改変)

また、発生農場から検出された株の解析では、県北地域の1~4、6例目については基準株から0~1塩基のみの変異であったことから、周辺のイノシシからCSFVが侵入し、農場内で変異したものと考えられたが、県南地域の5例目については、基準株から2塩基の変異があり、さらに県南地域の系統とは異なっていたことから、周辺のイノシシとは別の経路で侵入したことが疑われる結果となった。今後の野生イノシシ対策として、経口ワクチンについては、県北・県央地域では、イノシシの分布状況からウイルスの流入を完全に防ぐことは困難であると考えられたことから、当面は免疫獲得率40%以上を目指して散布を継続し、大規模な流行を防止することが重要と考えられた。一方、県南地域については、免疫獲得率が低い状況にあることから、ウイルスの侵入経路になり得る地域について散布回数を増やすなど、導火線に火をつけないようなワクチン戦略が重要であると考えられた。

また、サーベイランスについては、県北・県中央地域については、一部、検査数が少ない市町もあったことから、養豚農場の密集地帯で検査数を増やし、適切な評価を進めていくことが重要であり、県南地域については、経口ワクチンと同様、侵入経路になり得る地域でのサーベイランスに注力することで、流行の兆候を早期につかむことが重要であると考えられた。

今後も、データを活用し、地域ごとのリスクを評価しながら、豚熱の発生予防に繋げていきたい。

引用文献

- 1) Yoko H et al., Prev Vet Med, 175 (2019)
- 2) Vilček Š et al., Arch Virol, 136(1994)
- 3) Postel et al., Vet Res, 43(2012)
- 4) EUROPEAN COMMISSION: Guidelines on surveillance/monitoring, control and eradication of classical swine fever in wild boar, (https://food.ec.europa.eu/document/download/9e66619a-ade5-4b3b-9b8d-2d9c8cc8c64c_en)
- 5) 岩手県: 令和 4 年度イノシシ生息域等調査(GPS)業務委託報告書(https://www.pref.iwate.jp/_res/projects/default_project/_page_/001/069/747/r4inoshishihoukokusyo.pdf)
- 6) 栃木県: 栃木県イノシシ管理計画(五期計画), (<https://www.pref.tochigi.lg.jp/d04/eco/shizenkankyoushizen/documents/r6-5inoshishikeikaku.pdf>)