

目 次

I 業務の概要

1	沿 革	1
2	所 在 地	1
3	施 設	1
4	組 織 機 構	2
5	業 務 内 容	2
6	職員事務分掌	2
7	主 要 備 品	3
8	家畜衛生技術研修実施状況	5
9	病性鑑定事業成績	6
10	牛海綿状脳症（B S E）サーベイランス検査成績	7
11	高病原性鳥インフルエンザモニタリング検査成績	8
12	家畜伝染病抗体等調査事業成績	8
13	畜産物安全性向上対策事業成績	10
14	ビタミン依頼検査	11
15	試験研究課題	12
16	職員発表題目一覧	14

II 調査研究成績

1	過去 14 年間に摘発された牛ウイルス性下痢ウイルス持続感染牛の傾向及び 分離ウイルスの遺伝学的解析	17
2	県内で発生した豚熱の病理組織学的考察	26
3	県内養豚農場における豚サーコウイルス浸潤状況調査	32

I 業務の概要

1 沿革

昭和24年7月

栃木県家畜衛生試験所及び宇都宮家畜保健所（後に衛生所）を宇都宮市塙田町に設置

昭和26年3月

宇都宮家畜保健衛生所と栃木県家畜衛生試験所を合併、中央家畜保健衛生所と改称

昭和39年4月

中央家畜保健衛生所の新築移転に伴い、宇都宮市戸祭に家畜衛生研究所を併設

昭和45年4月

宇都宮（昭和41年に中央から改称）家畜保健衛生所の新築移転により単独公所となる。

昭和46年2月及び昭和48年3月

ウイルス部門の病性鑑定施設及び生化学部門の病性鑑定施設を整備

昭和51年4月

組織機構の改編により、微生物部と病理部の2部制となる。

平成11年1月12日

宇都宮市平出工業団地内に新築移転（宇都宮家畜保健衛生所と同一建物内）

平成12年4月1日

農務部の組織改編により、県央家畜保健衛生所家畜衛生研究部となる。

令和2年3月

県央家畜保健衛生所構内に野生いのしし検査棟を設置

2 所在地

〒321-0905 栃木県宇都宮市平出工業団地6-8

TEL 028-689-1274 FAX 028-689-1279

利用交通機関

(1) JR岡本駅（JR宇都宮線）下車

ア 徒歩：15分

イ 関東バス：JR宇都宮駅 行き（3分）三菱製鋼 下車 徒歩5分

(2) JR宇都宮駅下車

ア 関東バス：JR岡本駅 行き（11分）三菱製鋼 下車 徒歩5分

3 施設

敷地面積 5,483.0㎡

建物 本館 1,842.0㎡

《内訳》1階 977.0㎡

2階 775.0㎡（家畜衛生研究部）

《家畜衛生研究部内訳》ウイルス検査室 102.3㎡

細胞培養室 28.1㎡

病理検査室 90.0㎡

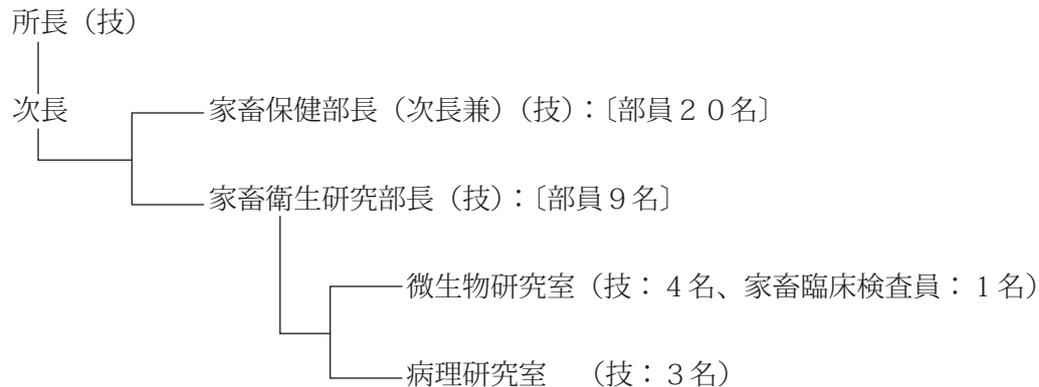
生化学検査室 120.0㎡

免疫遺伝検査室 41.7㎡

付属建物 実験動物舎 50.0㎡

野生いのしし検査棟 55.0㎡

4 組織機構



5 業務内容

- (1) 精密病性鑑定に関すること
- (2) 試験研究に関すること
- (3) 家畜伝染病抗体等調査に関すること
- (4) 牛海綿状脳症（B S E）サーベイランス検査に関すること
- (5) 家畜衛生対策事業に関すること
- (6) 技術指導（研修等）に関すること
- (7) その他家畜衛生に関する調査・研究に関すること

6 職員事務分掌

所 長 福田 修
 次 長 萩原 厚子
 部 長 山口 修

令和3年4月1日現在

室名・職名	氏 名	分 掌 事 務
微生物研究室 主任 研究員 主 任 主 任 主 任 家畜臨床検査員	米山 州二 齊藤かおり 小笠原 悠 加藤貴誉湖 船生 幸枝	1 精密病性鑑定に関すること 2 ウイルス学的・細菌学的検査及びその調査研究に関すること 3 免疫学的・血清学的検査及びその調査研究に関すること 4 牛海綿状脳症（B S E）サーベイランス検査に関すること 5 畜産物の安全性確保に係る調査研究に関すること 6 防疫課が行う試験及び検査の技術的指導に関すること
病理研究室 主任 研究員 技 師 技 師	平野 佳世 関野 惣介 土合 理美	1 精密病性鑑定に関すること 2 疫学的な調査研究に関すること 3 病理学的検査及びその調査研究に関すること 4 生化学的検査及びその調査研究に関すること 5 調査研究の企画調整及び成果の普及に関すること

7 主要備品

品名	規格	数量
落射式蛍光顕微鏡	オリンパス AX-70	1
〃	オリンパス BX-53 / U-HGLGPS	1
遺伝子情報解析診断システム	バイオラット XAチラー解析システム	1
PCR装置	Applied Biosystems Gene Amp PCR System9700	1
〃	Applied Biosystems 2720 サーマルサイクラー	1
〃	Applied Biosystems SimpliAmp	4
リアルタイムPCR装置	Applied Biosystems 7500	1
〃	タカラバイオThermalCyclerDiceRealtimeSystemTP800	1
〃	Quantstudio5 リアルタイムPCRシステム	1
インビトロフルオロメーター(核酸濃度測定装置)	Qubit 2.0 Fluorometer	1
アルミブロック恒温槽	DTU-IB	3
〃	TAITEC DTU-1BN	2
ハイブリダイゼーションオープン	MHS-301	1
ハンドシェーカー	SHK-COCK	1
真空乾燥機	エッペンドルフ コンセントレーター 5301	1
プレート洗浄機	バイオラッド モデル1575	1
〃	バイオラッド ImmunoWash1575	1
マイクロプレートインキュベーター	イワキ MPI-100	1
倒立型システム顕微鏡	オリンパス IX-70-PM	1
倒立型顕微鏡	オリンパス CK	1
〃	ニコンMF A20100	1
〃	オリンパス CK40	1
顕微鏡画像撮影装置	デジタルカメラ:フジHC-300Z, パソコン:NEC MATENX	1
〃	デジタルカメラ:フジHC-2500, パソコン:富士通FMV	1
〃	カメラ:オリンパスDP74, パソコン:eizo, hp	1
〃	オリンパス DP74	1
回転培養装置	ヒラサワ HDR-12-T	2
超低温冷蔵庫	サンヨー MDF-792AT	1
〃	サンヨー MDF-493AT	1
超低温フリーザー	パナソニック MDF-374-PJ	1
〃	PHC MDF-DC200V-PJ	1
〃	サーモフィッシャー RDE60086FD	1
メディカルフリーザー	サンヨー MDF-U536D	1
〃	PHC MDF-MU339H	1
〃	日本フリーザー D-271HC	1
メディカル冷蔵庫	パナソニック MPR-414F-PJ	1
小型冷蔵ショーケース	SSB-C1	1
高速冷却遠心機	トミー RX-200	1
超高速遠心分離機	ベックマン 70EAS型	1
多用途小型冷却遠心機	CF7D2	1

品名	規格	数量
微量高速冷却遠心機	日立 CF15RN	2
冷却遠心機	トミー LX-120	1
CO ₂ インキュベーター	池本理化 10-0212	1
〃	サンヨー MCO-185	1
〃	Panasonic MCO-170AICUVH-PJ	1
フラン器(鶏)	昭和フランキ PP-03 / PP-05	2
オートクレーブ	MCB3032S	1
〃	トミーSD-321	1
〃	TOMY LSX-500	1
カラムクロマトグラフ	CONSEPLC100-01	1
電子天秤	Mettler AB104-S	1
超音波破碎器	タイテック VP-30S	1
安全キャビネット	日立 SCV1905EC	1
〃	日立 SCV1904EC	2
〃	日立 SCV1304EC	2
〃	日立 SCV-100 8EC2A2	1
クリーンベンチ	日立 PCV1305BNG	1
〃	日立 PCV1915BNG	1
乾熱滅菌器	ヤマト SH600	1
低温インキュベーター	ヤマト IL600	1
高速破碎機	安井器械 Multi-Beads shocker	1
蒸留水製造装置	アドバンテック アクエリアスRFD342NA	1
〃	ADVANTEC RFD343 NC	1
超純水製造装置	ミリポアMili-Q Advantage	1
生物顕微鏡	ニコン ECLIPSE E600	1
〃	オリンパス BX53	1
超広視野生物顕微鏡	オリンパス BX-50-54	1
顕微鏡用デジカメシステム	キャノン MN NY-X5 スーパーシステム	1
凍結切片作製装置	ライカ CM1100	1
〃	ライカ CM1520	1
ロータリーマイクロトーム	カールツァイス HM360	1
滑走式マイクロトーム	リトラトーム REM-710・SUF240W	1
密閉式自動固定包埋器	サクラTissue-Tek VIP 5 ジュニア	1
プレパラート自動染色装置	白井松器械 HISTAINER TSC-120W	1
原子吸光光度計	日立 Z-5000	1
高速液体クロマトグラフ	日立 L-7000シリーズ	1
〃	日立 Chromaster5000シリーズ	1
分光光度計	日本分光 V-550	1
ロータリーエバポレーターシステム	EYELA N-3N(×2)、DPE2100、CA-1110ほか	1
吹付式試験管濃縮装置	EYELA MGS-2100 / MG2200	2
マッフル炉	ISUZU AT-SI3	1

品名	規格	数量
ケルダール窒素分解装置	KJ-SEX	1
PHメーター	HORIBA LAQUA F-71	1
暗視野顕微鏡	OLYMPUS BX51	1
自動核酸抽出装置	キアゲン QIAcubePREMIUM	1
蛍光分光光度計	日立ハイテクノロジーズ F-2700	1
ゲル泳動装置	アトー社 AE-6125	1
冷却水循環装置	EYELA CA-1114	1
マイクロプレートリーダー	コロナ電気 SH-1300	2
乾熱滅菌器	ヤマトSK801	1
ジェット式洗浄機	Miele PG8583	1
紫外線ゲル撮影・分析装置	バイオラッド Gel Doc Ez Imager	2
プレパラート自動封入機	白井松器械 RCM-900-II	1
パラフィン包埋ブロック作製装置	サクラTissue-Tek TEC6 エンベディング・モジュール	1
〃	サクラTissue-Tek TECプラス クライオ・コンソール	1
薬用冷蔵ショーケース	PHC MPR-514R-PJ	1
冷凍機付きインキュベーター	PHC MIR-154S-PJ	1
卓上小型遠心機	himac CT15RE	1
卓上多本架遠心機	TOMY LCX-200	1
12チャンネルピペット	サーモサイエンティフィック FINNPIPETTE F1	1
薬用保冷庫	PHC MPR-N450FH-PJ	1
全自動製氷機	ホシザキ FM-120K	1
殺菌線消毒ロッカー	ナビス AS1-G	1
DNAシークエンサー	Applied Biosystems Seqstudio Genetic Analyzer	1
分注ワークステーション	ニチリョー ニチマー トCUBE	1
超音波ピペット洗浄器	アイワ医科工業 FU-106CR	1
マルチシェイカー	EYELA MMS-3020	1

8 家畜衛生技術研修実施状況

名称	実施時期	受講者	講師	内容
令和3年度 病性鑑定担当者 打合せ会議	R3. 10.11	畜産振興課職員 県央・県南・県北 家畜保健衛生所職員 16名	当部職員	病性鑑定の迅速・的確化のための 留意点等（web開催）
栃木県慢性疾病 診断技術（PCR） 研修	R3. 7.1 7.5 7.8	県央・県南・県北 家畜保健衛生所職員 6名	当部職員	遺伝子検査（PCR）の方法（実習）
新型コロナウイルス 感染症による緊急事 態に向けた病性鑑定 研修	R3. 7.29 8.10 8.12	県南・県北 家畜保健衛生所職員 4名	当部職員	豚熱および鳥インフルエンザの検 査法、連絡調整、資料作成および 検体送付の流れ（実習）
令和3年度細菌 学的検査基礎 研修	R3. 11.30 12.1	県央・県南・県北 家畜保健衛生所職員 3名	当部職員	基本的な細菌学的検査の方法（実 習）

9 病性鑑定事業成績

(1) 依頼者内訳

依頼者区分 畜種	民間 獣医師	飼養者	農協等 団体	市町村	県機関	その他	計
乳用牛	35	15	3	0	6	0	59
	137	62	3	0	16	0	218
肉用牛	29	24	0	0	3	0	56
	74	110	0	0	5	0	189
馬	0	0	0	0	0	0	0
	0	0	0	0	0	0	0
豚	1	12	0	0	4	0	17
	25	173	0	0	64	0	262
めん羊 山羊	2	8	0	0	0	0	10
	2	48	0	0	0	0	50
鶏	4	14	0	0	0	0	18
	14	58	0	0	0	0	72
その他	1	0	0	0	0	0	1
	1	0	0	0	0	0	1
計	72	73	3	0	13	0	161
	253	451	3	0	85	0	792

上段：件数、下段：頭羽数

件数は依頼された回数、頭羽数は実頭羽数

同時に異なる目的（動機）を持って依頼された病性鑑定にあたっては、それぞれ1件とした。

(2) 項目別実施状況

区分		ウイルス	細菌	病理	生化学	寄生虫	その他	計
乳用牛	件数	37	3	28	1	0	0	69
	頭数	188	3	38	5	0	0	234
肉用牛	件数	39	9	22	5	0	0	75
	頭数	168	20	25	25	0	0	238
馬	件数	0	0	0	0	0	0	0
	頭数	0	0	0	0	0	0	0
豚	件数	17	8	16	0	0	0	41
	頭数	262	18	40	0	0	0	320
めん羊 山羊	件数	3	0	8	0	0	0	11
	頭数	43	0	8	0	0	0	51
鶏	件数	7	1	18	0	3	0	29
	羽数	29	3	71	0	12	0	115
その他	件数	1	0	1	0	0	0	2
	頭羽数	1	0	1	0	0	0	2
計	件数	104	21	93	6	3	0	227
	頭羽数	691	44	183	30	12	0	960

※細菌の頭羽数は菌株を含む

(3) 処理状況

区 分		全取扱数 A+C	施設内処理				他への検査依頼			
			処理数	A/ (A+C)	診断実績	B/ (A+C)	処理数	C/ (A+C)	診断実績	D/ (A+C)
			A	(%)	B	(%)	C	(%)	D	(%)
乳用牛	件数	59	59	100.0	23	39.0	0	0.0	0	0.0
	頭数	218	218	100.0	47	21.6	0	0.0	0	0.0
肉用牛	件数	56	56	100.0	17	30.4	0	0.0	0	0.0
	頭数	189	189	100.0	38	20.1	0	0.0	0	0.0
馬	件数	0	0	0.0	0	0.0	0	0.0	0	0.0
	頭数	0	0	0.0	0	0.0	0	0.0	0	0.0
豚	件数	17	14	82.4	13	76.5	3	17.6	3	17.6
	頭数	262	252	96.2	252	96.2	10	3.8	10	3.8
めん羊 山羊	件数	10	10	100.0	4	40.0	0	0.0	0	0.0
	頭数	50	50	100.0	4	8.0	0	0.0	0	0.0
鶏	件数	18	17	94.4	16	88.9	1	5.6	1	5.6
	羽数	72	70	97.2	60	83.3	2	2.8	2	2.8
その他	件数	1	1	100.0	1	100.0	0	0.0	0	0.0
	頭羽数	1	1	100.0	1	100.0	0	0.0	0	0.0
計	件数	161	157	97.5	74	46.0	4	2.5	4	2.5
	頭羽数	792	780	98.5	402	50.8	12	1.5	12	1.5

10 牛海綿状脳症（BSE）サーベイランス検査成績

家保名	検 査 受 入 頭 数							検 査 成 績		
	96か月齢 以上 死亡牛	48～95か 月齢の起 立不能牛	BSE疑似 患畜・ 関連牛	ヨーネ病 患畜牛	と畜場牛 (拒否・ 死亡等)	平成8年 生まれ牛	その他	陽性 頭数	陰性 頭数	
県 央	137	130	0	0	4	0	0	3	0	135
県 南	33	33	0	0	0	0	0	0	0	31
県 北	355	344	0	0	10	0	0	1	0	353
合 計	525	507	0	0	14	0	0	4	0	519

11 高病原性鳥インフルエンザモニタリング検査成績

「高病原性鳥インフルエンザ及び低病原性鳥インフルエンザに関する特定家畜伝染病防疫指針」に基づき、発生予察のためのモニタリング検査を実施

(1) 定点モニタリング検査

家保名	市 町	検査戸数	検査羽数 (10羽/月)	ウイルス分離検査 (スワブ)		抗体検査 血清※	検査成績 (羽数)	
				気管	クロアカ		陽性	陰性
県央	鹿沼市	1	110	110	110	2	0	110
	日光市	1	110	110	110		0	110
	高根沢町	1	120	120	120		0	120
県南	栃木市	2	240	240	240	1	0	240
	佐野市	1	120	120	120		0	120
県北	那須塩原市	2	110	110	110	3	0	110
	那須烏山市	2	100	100	100		0	100
	那須町	1	100	100	100		0	100
合計	8	11	1,010	1,010	1,010	6	0	1,010

※血清は、各家保が行うスクリーニング検査で、抗体陽性を示した検体の精密検査

(2) 強化モニタリング検査（家きん 100 羽以上飼養する農場の抗体検査）

家畜伝染病予防法第 5 条第 1 項に基づき、各家保が行う強化モニタリングの ELISA 検査で、抗体陽性を示した検体の精密検査を実施。本年度は精密検査の実施なし。

12 家畜伝染病抗体等調査事業成績

(1) 各種抗体等調査

検査疾病名（検査方法）		検査戸数	検査頭数	陽性戸数	陽性頭数
牛ウイルス性下痢〔BVD〕	ウイルス分離	54	469	26	34
	遺伝子検査（PCR法）※1	554	11,274	29	37
	抗体調査（中和試験）	31	292	26	274
豚熱〔CSF〕	抗体検査（中和試験）	157	2,906	157	2,699
豚流行性下痢〔PED〕	抗体検査（中和試験）	18	180	7	15
豚伝染性胃腸炎〔TGE〕	抗体検査（中和試験）	18	180	7	38

※1 県外預託に係る依頼検査を含む

(2) 牛のアルボウイルス感染症サーベイランス

家畜伝染病予防法第5条第1項に基づき、県内20戸（14市町）の未越夏牛等について経時的に採血を行い、アカバネ病の流行状況調査（中和試験）を実施。また、ブルータングは、同検体を用いて家畜防疫対策要綱の別記1「監視伝染病のサーベイランス対策指針」2の（2）に基づく地域サーベイランスとして遺伝子検査（RT-PCR法）を実施

家保名	実施地区	疾病名	アカバネ病：陽性頭数／検査頭数 ブルータング：陽性戸数／検査戸数			
			R3年6月	8月	9月	11月
県央	宇都宮市 鹿沼市 日光市 さくら市 塩谷町	アカバネ病	3 / 28	0 / 28	0 / 28	0 / 25
		ブルータング	0 / 6	0 / 6	1 / 8	5 / 8
県南	栃木市 佐野市 下野市	アカバネ病	0 / 9	0 / 9	0 / 9	0 / 9
		ブルータング	0 / 0	0 / 0	0 / 3	0 / 3
県北	大田原市 那須塩原市 那須烏山市 那須町 那珂川町	アカバネ病	5 / 27	1 / 26	0 / 26	0 / 26
		ブルータング	0 / 1	0 / 1	1 / 9	3 / 9
合計		アカバネ病	8 / 64	1 / 63	0 / 63	0 / 60
		ブルータング	0 / 7	0 / 7	2 / 20	8 / 20

(3) 野生いのししの調査成績

「豚熱に関する特定家畜伝染病防疫指針」及び「アフリカ豚熱に関する特定家畜伝染病防疫指針」に基づき、県内で死亡又は捕獲された野生いのししにおける豚熱及びアフリカ豚熱の感染状況を調査

() 内は死亡いのしし

捕獲（発見）市町	豚熱〔CSF〕				アフリカ豚熱〔ASF〕	
	遺伝子検査（PCR法）		抗体検査（ELISA法）		遺伝子検査（PCR法）	
	検査頭数	陽性頭数	検査頭数	陽性頭数	検査頭数	陽性頭数
宇都宮市、足利市、栃木市、佐野市、鹿沼市、日光市、小山市、真岡市、大田原市、矢板市、那須塩原市、さくら市、那須烏山市、下野市、益子町、茂木町、市貝町、野木町、塩谷町、那須町、那珂川町	490 (72)	85 (51)	468 (46)	114 (17)	497 (75)	0 (0)

13 畜産物安全性向上対策事業成績

ア 動物用医薬品危機管理対策

薬剤耐性菌の発現状況調査

県内分離株の薬剤感受性成績 (Sal：サルモネラ、SA：黄色ブドウ球菌)

薬剤名	菌種	阻止円の判定基準(mm)			耐性率(%)※1	
		感受性	中間	耐性	栃木県	参考：全国※2 令和元年度
					Sal 3株	Sal 142株
				SA 10株	SA 182株	
アンピシリン	サルモネラ	≥17	14-16	≤13	33.3	49.3
ベンジルペニシリン	黄色ブドウ球菌	≥29	—	≤28	20.0	23.6
セファゾリン	サルモネラ	≥23	20-22	≤19	0.0	16.9
	黄色ブドウ球菌	—	—	—	—	—
セフトキシム	サルモネラ	≥26	23-25	≤22	0.0	0.7
セフォキシチン	黄色ブドウ球菌	≥22	—	≤21	0.0	—
ストレプトマイシン	サルモネラ	≥15	12-14	≤11	66.7	63.4
	黄色ブドウ球菌	—	—	—	—	9.3
ゲンタマイシン	サルモネラ	≥15	13-14	≤12	0.0	7.7
	黄色ブドウ球菌				0.0	1.6
カナマイシン	サルモネラ	≥18	14-17	≤13	33.3	19.7
エリスロマイシン	黄色ブドウ球菌	≥23	14-22	≤13	30.0	15.9
アジスロマイシン	黄色ブドウ球菌	≥18	14-17	≤13	0.0	17.0
テトラサイクリン	サルモネラ	≥15	12-14	≤11	66.7	52.1
	黄色ブドウ球菌	≥19	15-18	≤14	0.0	20.3
ナリジクス酸	サルモネラ	≥19	14-18	≤13	0.0	17.6
シプロフロキサシン	サルモネラ	≥31	21-30	≤20	33.3	3.5
	黄色ブドウ球菌	≥21	16-20	≤15	20.0	2.2
クロラムフェニコール	サルモネラ	≥18	13-17	≤12	0.0	16.2
	黄色ブドウ球菌				0.0	9.3
ST合剤	サルモネラ	≥16	11-15	≤10	0.0	27.5
	黄色ブドウ球菌				0.0	—
コリスチン	サルモネラ	—	—	—	—	7.0

※1 判定基準が中間及び耐性の株を含む

※2 微量液体希釈法による検査成績

14 ビタミン依頼検査

検査項目	依頼所属名	区分	検査頭数 (延べ)
ビタミンA ビタミンE β-カロチン	県央家畜保健衛生所	繁殖牛 肥育牛	109
	県南家畜保健衛生所	肥育牛	19
	県北家畜保健衛生所	繁殖牛 肥育牛	384
計			512

15 試験研究課題

(1) PRRS 清浄化に向けた免疫能判定法の開発と県内流行株の遺伝的情報の解析 (R 3～5 年度)

目的： 豚繁殖・呼吸障害症候群 (PRRS) は流産や呼吸器病を引き起こすウイルス性疾病であり、養豚経営に大きな経済被害を及ぼす。また、PRRSV は感染力が強く、遺伝的多様性に富み (抗原性が多様)、その病態や免疫に不明な点が多いことから、清浄化を困難なものとしている。感染農場での対策として、ワクチン接種等による豚群免疫の安定化が図られているが、従来の抗体検査は農場流行株に対する免疫能を反映したものか不明である。更に、PRRSV は抗原性が多様であることから、各農場で流行している PRRSV 株の特徴を遺伝学的に把握することが重要である。そこで、本研究では豚群の免疫能を定量的に判定可能な検査系の確立を目指し、県内全域で流行している PRRSV 株の遺伝的情報を蓄積、解析することで、県内 PRRS 清浄化対策の一助とする。

内容： 新たな抗体検査系に供するため、豚の生体 1 頭から初代培養細胞を作製した。作製した細胞を用い、計 5 農場 20 頭分の血液検体から PRRSV の分離を試み、計 4 株の分離に成功した。PRRSV の遺伝学的解析では、計 33 農場 60 検体について分子系統樹解析によりウイルス株のクラスター分類を行った。解析の結果、7 検体がクラスター I、34 検体がクラスター II、11 検体がクラスター III、8 検体がクラスター IV に分類され、県内ではワクチン由来を含むクラスター II の株が主流であることが判明した。今後は、ウイルス株の分離を継続し、初代培養細胞と農場分離株を用いて新たな抗体検査の試験条件を検証するとともに、県内流行株の解析を進めることで遺伝的情報を蓄積していく。

(2) 子豚における豚熱ウイルス抗体の空白期間短縮を目指したワクチン接種方法の確立

(R 3～4 年度)

目的： 令和 3 (2021) 年 1 月以降、本県を含めた 7 県 10 農場で豚熱が発生、いずれもワクチン接種農場の子豚における発症であった。この主たる原因は、母豚からの移行抗体とワクチン抗体が置き換わるまでの「空白期間」にある群にウイルスが侵入したものと考えられ、現場からはこの「空白期間」を短縮させるワクチン接種方法の確立を求める声大きい。本研究では、移行抗体が与えるワクチン接種への影響を詳細に分析し、従来の子豚へのワクチン接種 (50 日齢) に対して早期接種及び抗体検査を踏まえた追加接種 (2 回接種) が空白期間短縮に有効かを検証する。

内容： 繁殖母豚 25 頭について、抗豚熱ウイルス (CSFV) 中和抗体価を測定。中和抗体が高力価 (512～1,024 倍) 4 頭と低力価 (32 倍) 1 頭の計 5 頭の母豚を選定し、その産子 (計 63 頭) をそれぞれ CSFV 生ワクチンの単回接種群と追加接種群に分類した。単回接種群 (28 頭) では、ワクチン接種時の移行抗体価と接種後の液性免疫の応答性は負の相関を示し、CSFV 生ワクチンは移行抗体の影響を受けることを再確認した。移行抗体価 16 倍以下の 20 頭中 16 頭 (80%) の子豚が接種 90 日後までに抗体上昇 (4～128 倍以上) した。しかし、移行抗体価 32～64 倍の子豚では明瞭な抗体上昇は見られず、移行抗体の影響で液性免疫の誘導が弱まると推測された。追加接種群 (35 頭) では、追加接種時の抗体価 16 倍以下の子豚で追加接種 70 日後までに抗体上昇を認めたのは 35 頭中 21 頭 (60%) となり、追加接種が液性免疫を惹起しているかの判断には更なる検証が必要である。

(3) 家畜の呼吸器系疾病に関する細菌学的研究 (R 元～3年度)

目的： マイコプラズマ・ボビス (Mb) は、主に子牛に肺炎、中耳炎等を引き起こす病原細菌である。Mb は、感染力が強く農場内に急速にまん延しうるため、迅速診断は必須であるが、現行では分離培養により定性的に行われているため、判定までに時間を要する。また、検査材料 (鼻腔スワブ) の培養のみでは、健康保菌牛と肺炎発症牛の区別がつかず、正確に病態を反映することが困難である。そこで、迅速かつ定量的に Mb の検査が可能なりアルタイム PCR の定量解析系を確立し、定量値 (菌数) をもって、肺炎発症の指標となるか検証する。

内容： 飼養牛の鼻腔スワブ (41 農場 130 検体) 並びに解剖牛の鼻腔スワブ及び肺 (各 137 検体) を用いて検証を行った。分離培養と qPCR 成績の比較では、qPCR は分離培養より感度が高いと判明した。農場で採取した検体の検証により、qPCR の陽性率が 50% 以上の農場では、遺伝子量 10^5 以上の検体が必ず存在していた。解剖牛の検体を用いた検証では、Mb による肺炎を呈した 13 頭は、病変なしの 11 頭より鼻腔スワブの平均遺伝子量が有意に高く、 10^6 以上の場合、高い確率で Mb による肺炎を呈していた。また、鼻腔スワブの遺伝子量 10^6 の 1 頭を経時的に観察した結果、Mb による肺炎を発症して死亡した。以上から、鼻腔スワブの遺伝子量が 10^5 以上の牛が存在する農場では Mb が広範に浸潤し、 10^6 以上の牛は肺炎を発症している可能性が高いと推測された。分離培養には 3～8 日を要するが、qPCR の判定時間は約 2 時間半であり、qPCR は迅速に病態を把握する手法として有用と思われた。

(4) 牛呼吸器病症候群 (BRDC) 原因菌に対する経時的な薬剤感受性調査と試験マニュアルの作成 (R 3～5年度)

目的： BRDC は、複数のウイルスや細菌が関与する飼養農家にとって経済的損失の大きな疾病である。BRDC 対策には早期治療が必須で、治療効果の高い抗菌性物質を選択することが薬剤耐性菌の発生を防ぐためにも重要である。しかし、ヒト由来細菌に比べ、BRDC 由来細菌の薬剤耐性動向の情報は乏しく実状は不明な点が多い。そこで、県内で過去 15～30 年間に分離された BRDC 原因菌 (*Pasteurella multocida*, *Mannheimia haemolytica*, *Histophilus somni*, *Mycoplasma bovis*) の薬剤耐性動向等の経時的な推移を調査し、科学的根拠に基づいた適正な抗菌性物質の利用を促すことで、薬剤耐性菌の発現抑制並びに BRDC 被害の軽減を図る。

内容： 2008～2021年に分離された *M. haemolytica* 52 株について、微量液体希釈法による薬剤感受性試験及び薬剤耐性遺伝子の保有状況調査を実施した。薬剤感受性試験における耐性率はアンピシリン (ABPC) 11.5%、セファゾリン (CEZ) 1.9%、ストレプトマイシン (SM) 34.6%、カナマイシン (KM) 11.5%、オキシテトラサイクリン (OTC) 9.6%、ナリジクス酸 (NA) 46.2%、チアンフェニコール (TP) 5.8% であり、タイロシン、チルミコシンには耐性が認められなかった。1992～2007年との比較では、6～7 薬剤耐性株が出現し、新たに CEZ 耐性株も認められた。また、NA の耐性率が大幅に上昇した。更に、ABPC、SM、KM、OTC 及び TP 耐性に関する遺伝子については、SM を除き、耐性傾向と遺伝子保有状況は概ね一致した。菌株間の形質伝播に関与する遺伝子 (ICE 関連遺伝子) は 6 株が保有し、いずれも 3～7 薬剤に対する多剤耐性株であった。したがって、薬剤耐性のない菌株が形質伝播により多剤耐性を獲得する危険性があることが示唆された。

(5) 豚大腸菌症の診断に有用な採材部位の比較検討 (R 2～4年度)

目的： 豚大腸菌症は、病原性大腸菌により下痢を呈する疾病であり、新生豚では死亡率が高く、離乳豚では死亡率は低いものの回復後も発育が遅延するため経済的被害が大きい。診断は、

細菌学的検査が中心となるが、大腸菌は常在菌であり、腸管は死後変化の影響を受けやすい部位であるため、菌量での判断や病理組織検査での診断が困難である。また、病理検査材料や小腸内容物の詳細な採材部位が限定されていないため、一律な診断指標がない。そこで、病原性大腸菌の関与が疑われる死亡豚等を用いて病理組織検査及び細菌学的検査を実施し、効率的かつ適切に診断可能な採材部位を検討し診断精度向上を図るとともに、農場へのより適切な指導へとつなげる。

内容： 病性鑑定に供した豚6頭について、腸管5か所（十二指腸、空腸上部、空腸下部、回腸及び結腸）の腸内容物を採取し、細菌学的検査（細菌培養試験、毒素検査及び定着因子の検査）及び同部位の病理組織学的検査を実施した。部位毎に大腸菌群数を測定したところ、十二指腸から回腸にかけて菌数が多い傾向がみられ、病原性大腸菌（β溶血性を示す大腸菌）は空腸下部及び回腸で多く、令和2年度の結果と同様の傾向を示した。また、各部位から分離された50菌株について、遺伝子検査により毒素因子（LT、ST及びStx2e）及び定着因子（F18、F4、F5、F6、F41及びeae）の保有状況を検査した結果、Stx2e（30/50株）、F18（30/50株）であり、その他因子は保有していなかった。病理組織学的検査では、いずれも豚大腸菌症との診断には至らなかった。今後は症例数を重ねて検証するとともに、過去に豚大腸菌症と診断された検体、原因の特定に至らなかった離乳豚の下痢及び突然死の検体を用いて、大腸菌に対する免疫組織化学的検査を実施し、比較検討を行う。

16 職員発表題目一覧

発表題目	発表者	発表学会・雑誌等
<i>Mycoplasma bovis</i> の迅速診断と定量分析を目的としたリアルタイムPCR法の検証	加藤 貴誉湖	令和3年度関東・東京合同地区獣医師大会・三学会
ホルスタイン種雌子牛預託農場における体表温センサを用いた導入後の発熱検知とBRDCの原因との関連	安西 真奈美	日本獣医師会雑誌 第75巻 P. e1-e8

II 調查研究成績

1 過去14年間に摘発された牛ウイルス性下痢ウイルス持続感染牛の傾向及び分離ウイルスの遺伝学的解析

県中央家畜保健衛生所

齊藤 かおり、小笠原 悠、米山 州二

はじめに

牛ウイルス性下痢ウイルス（BVDV）は、フラビウイルス科ペスチウイルス属に属し、遺伝的な差異からBVDV1及びBVDV2に分かれている。BVDV1は少なくとも21亜型（1a～1u）、BVDV2は4亜型（2a～2d）が確認されているが¹⁾、日本では1a、1b、2a亜型が主に流行していると考えられている²⁾。BVDVは遺伝子型及び遺伝子亜型間で抗原性状が異なることが報告されており^{3、4)}、流行株の遺伝子亜型の把握はワクチン接種等の適切な疾病対策を講じる上で重要である。

BVDVは牛に一過性の下痢、呼吸器症状及び繁殖障害といった様々な病態を引き起こす⁵⁾。また、胎齢100日前後にBVDVに感染した場合、胎子がBVDVに対して免疫寛容となり、一生ウイルスを排泄し続ける持続感染（PI）牛として出生することが知られている⁶⁾。このPI牛は農場における重要な感染源となるため、BVDV清浄化のためにはPI牛の早期摘発とう汰が必須である。農林水産省から示された「牛ウイルス性下痢・粘膜病に関する防疫対策ガイドライン（以下、ガイドライン）」⁷⁾においても、都道府県は農場における定期的な検査によるPI牛の摘発及び自主的とう汰、必要に応じた予防接種指導等の対策を推進するとされており、本県においてもPI牛を摘発するための取組を展開してきた。具体的には、全ての品種・年齢を対象とした発育不良牛等の病性鑑定やPI牛発生農場等における清浄性確認検査に加え、2003年からは乳用子牛を対象に、県内公共牧場への預託牛全頭の検査（県内預託牛検査）、2016年からは一部の県外牧場への預託牛検査（県外預託牛検査）、2019年からは定期検査

残余血を活用して、乳用育成牛から搾乳牛及び繁殖和牛を対象とした浸潤状況調査を実施し、多数のPI牛を摘発してきた。

そこで、これらの取組の成果と今後の展望を考察するため、過去14年間に摘発したPI牛の傾向分析と分離BVDVの遺伝学的解析を実施したので、概要を報告する。

材料及び方法

1 PI牛の傾向分析

2008年3月から2021年8月に病性鑑定、清浄性確認検査及び県内預託牛検査等で摘発されたPI牛（疑い事例含む）137頭について、（1）発生農場の概要、（2）個体の概要、（3）摘発頭数の推移、（4）摘発検査の区分、（5）PI牛産出母牛の感染場所を調査した。PI牛及び母牛の個体情報については、（独）家畜改良センターの「牛の個体識別情報検索サービス」を利用し、母牛のBVDV感染時の月齢及び感染場所は、PI牛の生年月日及び母牛の移動歴等から推定した。

2 分離BVDVの遺伝学的解析

2008年から2021年8月までに摘発されたPI牛及び急性感染例からMDBK-SY細胞を用いて分離したBVDV132株を用いた。

RNAの抽出はMagExtractor -Viral RNA-（東洋紡（株）、東京）を、RT-PCRはTakara PrimeScript OneStep RT-PCR kit ver.2（タカラバイオ（株）、滋賀）及びOne Step RT-PCR Kit（株）キアゲン、東京）を用い、5'UTR領域（260bp）はVilčekら⁸⁾、エンペロープ糖蛋白（E2）領域（660bp）はTajima⁹⁾の報告に準じて遺伝子を増幅した。

得られたPCR産物を、QIAquick PCR

Purification Kit（株）キアゲン、東京）で精製した後、BigDye™ Terminator v3.1 Cycle Sequencing Kit（Thermo Fisher Scientific（株）、東京）によりサイクルシーケンス反応を行った。反応産物をBigDye XTerminator™ Purification Kit（Thermo Fisher Scientific（株）、東京）を用いて余剰標識dNTPsを除去後、SeqStudio genetic analyzer（Thermo Fisher Scientific（株）、東京）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、既知の株とともにMaximum Likelihood法により分子系統樹を作成した。系統樹の信頼性を得るため、ブートストラップ解析は1,000回実施した。塩基配列における相同性解析は、フリーソフトのBioEdit（<https://bioedit.software.informer.com/7.2/>）を用いて実施した。

結果

1 PI牛の傾向分析

（1）発生農場の概要：PI牛発生農場数は52農場であり、経営形態別では酪農が38農場（73.1%）、乳肉複合が8農場（15.4%）、和牛繁殖が5農場（9.6%）、和牛一貫が1農場（1.9%）であり、酪農経営が最も多かった。飼養頭数別内訳は表1のとおりであった。

表1 発生農場の経営形態、飼養頭数内訳

経営形態\頭数	<30	30-99	100-199	200-299	300-999	1000≤	計(%)
酪農	4	16	8	7	1	2	38 (73.1)
乳肉複合	0	2	2	0	0	4	8 (15.4)
和牛繁殖	2	3	0	0	0	0	5 (9.6)
肉牛一貫	0	0	0	0	1	0	1 (1.9)
計	6	21	10	7	2	6	52

（2）個体の概要：摘発されたPI牛137頭の品種内訳はホルスタイン種60頭（43.8%）、乳用種5頭（3.6%）、黒毛和種43頭（31.4%）、交雑種21頭（15.3%）、不明8頭（5.8%）であった。摘発月齢は2か月齢以下が70頭（51.1%）、3～11か月齢が40頭（29.2%）、12～23か月齢が12頭（8.8%）、24か月齢以上が15頭（10.9%）であった（表2）。

表2 PI牛の品種、月齢内訳

品種\月齢	≤2	3-11	12-23	24≤	計(%)
ホルスタイン種	12	28	8	12	60 (43.8)
乳用種	0	2	3	0	5 (3.6)
黒毛和種	32	8	1	2	43 (31.4)
交雑種	20	0	0	1	21 (15.3)
不明	6	2	0	0	8 (5.8)
計(%)	70 (51.1)	40 (29.2)	12 (8.8)	15 (10.9)	137

（3）摘発頭数の推移：摘発数は2018年まで（2013年を除く）年4～11頭で推移したが、2019年に30頭、2020年に26頭と急増した（表3）。2013年は本県酪農経営が利用している県外預託牧場でPI牛が摘発されたことを受け、預託牛や同居牛の清浄性確認検査を実施したことで一過性に摘発数が16頭となった。また、2019年から大規模農場における清浄性確認検査が開始され、若齢のPI牛が多数摘発されたことにより、摘発数が増加した。

（4）摘発検査の区分：摘発した検査の内訳は、病性鑑定18頭（13.1%）、清浄性確認検査95頭（69.3%）、浸潤状況調査4頭（2.9%）、県内預託牛検査20頭（14.6%）、県外預託牛検査0頭であった（表3）。病性鑑定は2018年以降、預託牛検査では2019年以降に摘発例がなく、近年は清浄性確認検査と浸潤状況調査のみでの摘発であった。

表3 PI牛摘発検査別頭数

検査\年	08	09	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	総計	
計	11	4	4	8	4	16	5	6	4	6	4	30	26	9	137	
検査内訳	病性鑑定	3	0	1	2	2	4	2	2	1	1	0	0	0	18	
	県内預託牛検査	4	4	1	2	2	2	1	0	1	2	1	0	0	20	
	県外預託牛検査											0	0	0	0	
	清浄性確認検査	4	0	2	4	0	10	2	4	2	3	3	28	24	9	95
浸潤状況調査													2	2	0	4

（5）PI牛産出母牛の感染場所：母牛の感染場所は、県内農場（続発含む）が79頭（57.7%）と最も多く、次いで県外導入元が46頭（33.6%）となり、うち、直近3年間（2018～2020年）で43頭を占めた（図1）。県外預託先での感染は一過性に2013年及び2015年に計8頭（5.8%）認められ、県内預託先での感染は2008年の1頭（0.7%）のみであった。

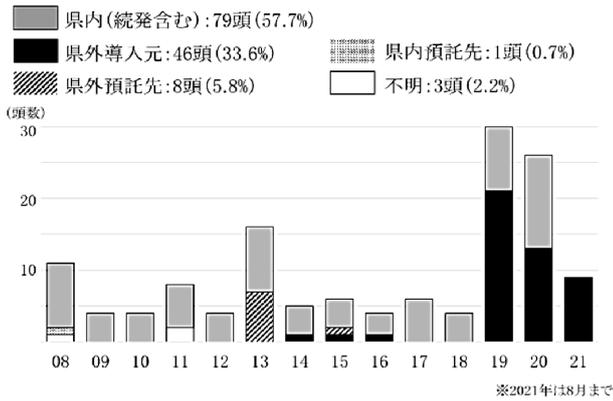


図1 PI牛産出母牛の感染場所

2 分離BVDVの遺伝学的解析

供試132株の5'UTR領域の分子系統樹解析では、遺伝子型は1a、1b、1c、2aの4種に分類された(図2)。同一農場由来かつ塩基配列の相同性99%以上の株を除く59株の内訳は、1a型が12株(20.3%)、1b型が34株(57.6%)、1c型が4株(6.8%)、2a型が9株(15.3%)となり、1b型が優勢であった(図3)。また、1b型はほぼ全ての年で分離され時期に偏りはなかったが、1c型は直近6年間では確認されなかった。1a及び2a型は14年間を通じて散発的に認められ、時期に偏りはなかった。

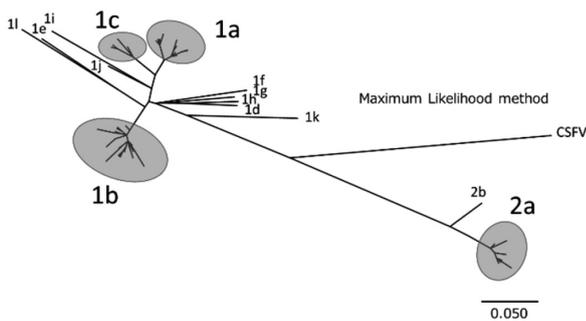


図2 5'UTR領域の分子系統樹解析

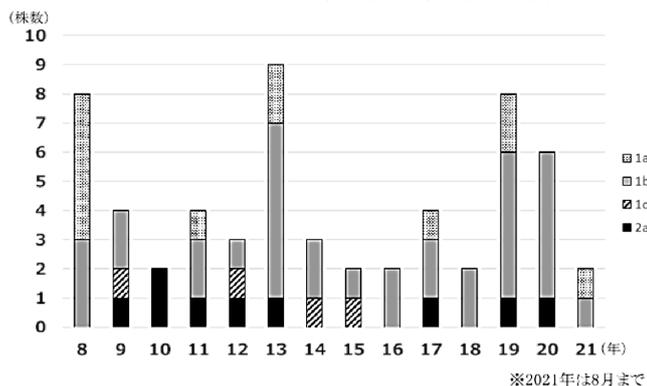


図3 分離年別遺伝子型数

E2領域を解析したBVDVは117株であり、同遺伝子型株間の相同性解析結果は表4のとおりであった。

表4 相同性解析結果

遺伝子型	株数	相同性解析結果
1a	33	82.7~100%
1b	57	84.9~100%
1c	8	82.0~100%
2a	19	95.7~100%

E2領域の分子系統樹解析の結果を図4~7に示した。1a型株は2013年までに検出された株を主とするクラスターと、2014年以降の検出株で形成されるクラスターの2つに分類された(図4)。1b型株は、全年代の株から形成されたクラスターと、2019年~2020年の同一農場由来株によるクラスターの2つに分類された(図5)。1c型は解析株数が少ないものの、2009~2012年の株からなるクラスターと2014年以降の株のクラスターの2つに分類された(図6)。2a型では全ての検出株が単独のクラスターを形成した(図7)。

E2領域の解析では、農場間伝播の可能性を探るため、他農場由来かつ塩基配列の相同性99%以上のBVDVを調査したところ、1a型で1種2株、1b型で2種5株が該当した。各株を検出した牛について、所在地、生年月日、当該牛及び母牛の移動歴を調査したところ、それぞれ、当該牛及び母牛の疫学的関連は認められなかった(成績は示さない)。また、1a型の2株については、生ワクチン株(No.12株)との塩基配列の相同性が99.8~100%と極めて近縁であった。

まとめ及び考察

PI牛は酪農経営の、ホルスタイン種で多く摘発されているが、これは早期から乳用子牛を対象とした県内預託牛検査等が開始され、酪農経営での検査の機会が多かったためと考えられた。また、ホルスタイン種では、他の品種と比較し摘発月齢のばらつきが大きくなっていた。これは、若齢牛のPI牛が確認された農場の全頭

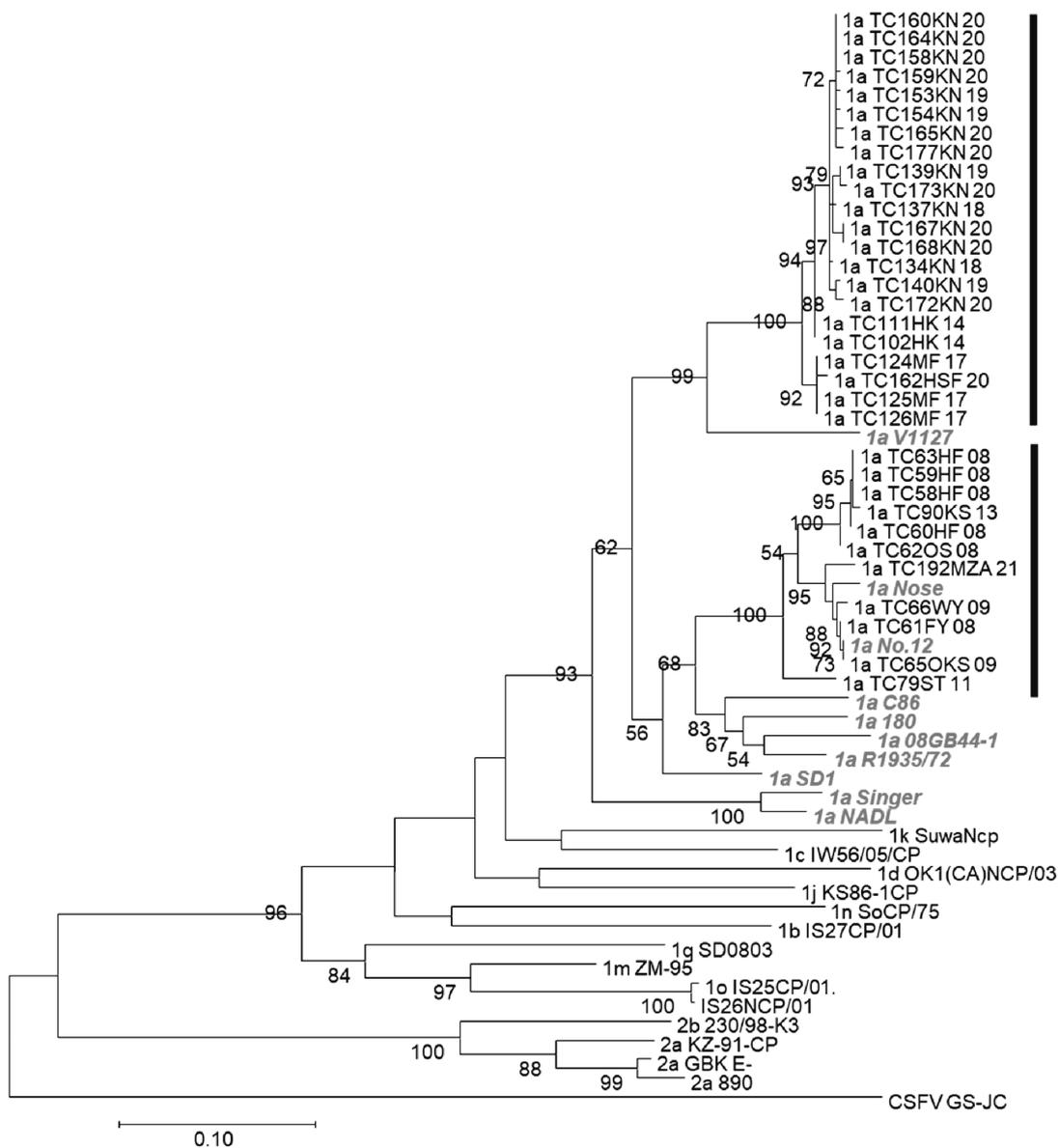


図4 E2領域の分子系統樹解析 (1a亜型)

* 本県で分離された株については、「遺伝子亜型 通し番号 農場名 分離年」で株名を示した。

* 斜め字は標題亜型の参照株を示す

(以下、図5~7まで同様)

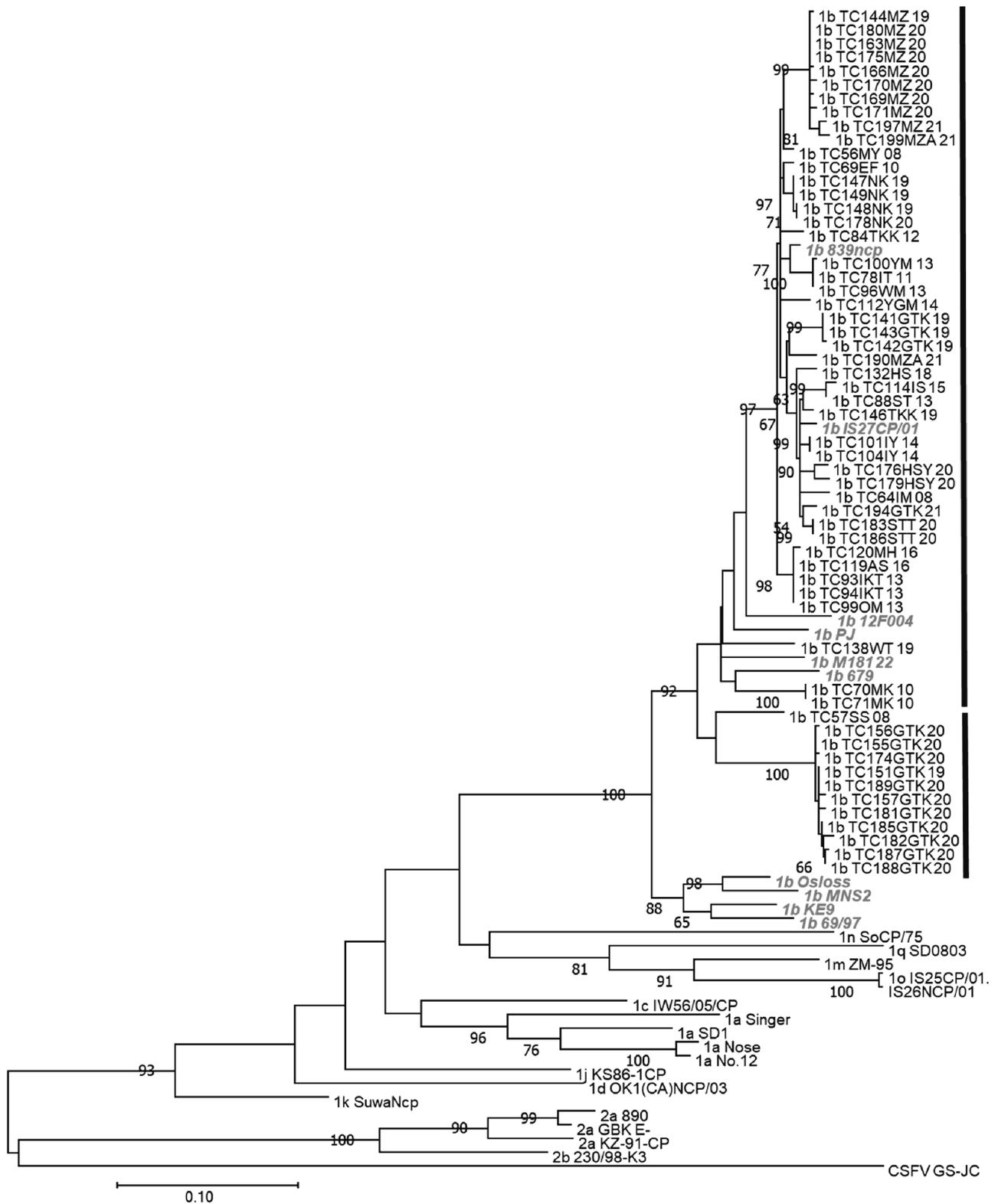


図5 E2領域の分子系統樹解析 (1b亜型)

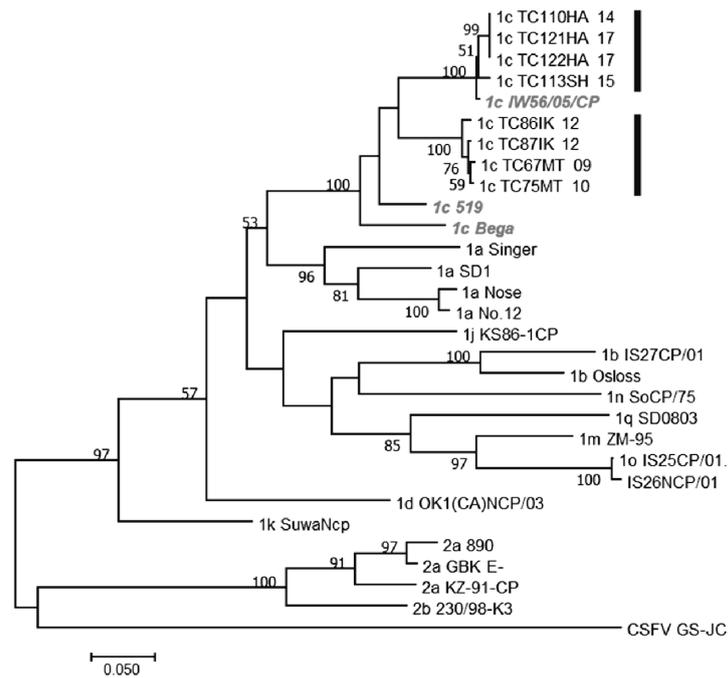


図6 E2領域の分子系統樹解析 (1c型)

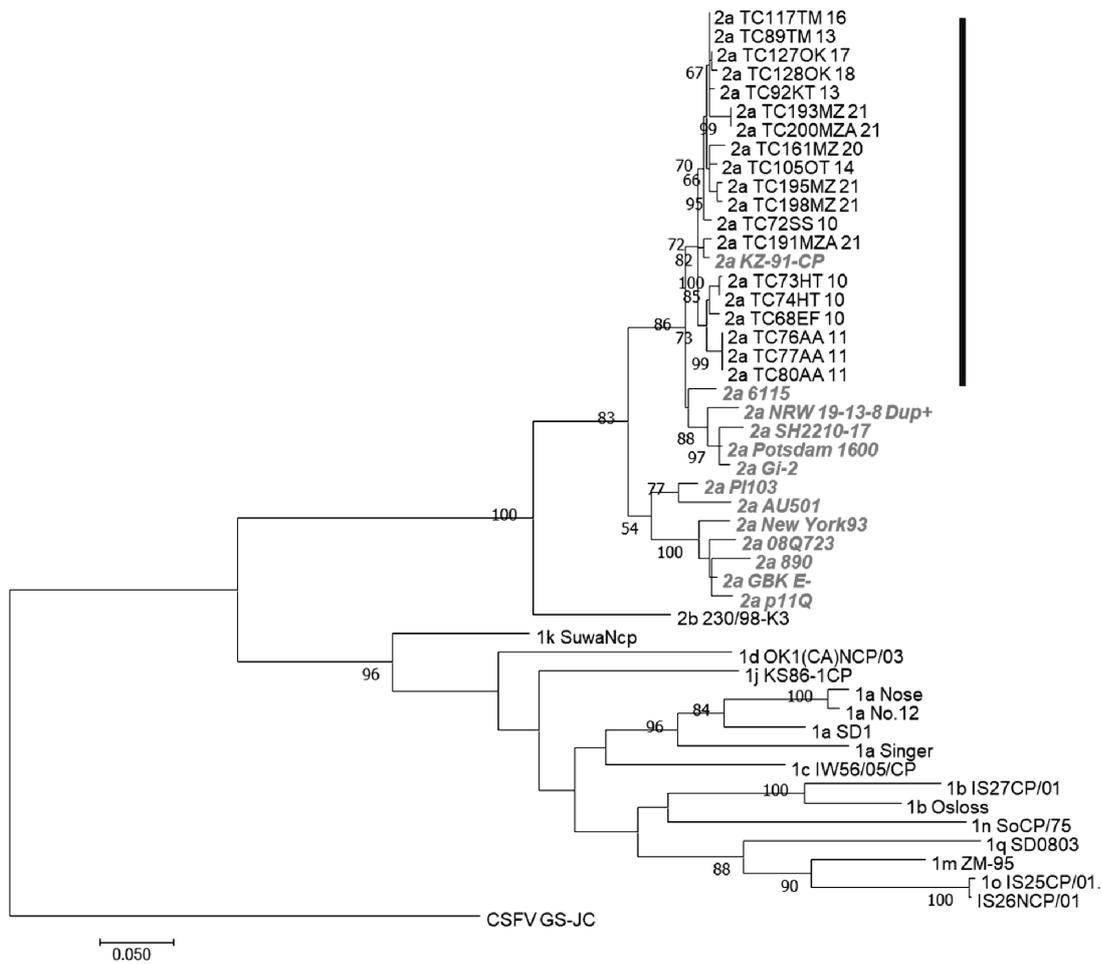


図7 E2領域の分子系統樹解析 (2a型)

検査により、母牛等がPI牛として摘発される例も散見されたことが一因と考えられた。

摘発されたPI牛のうち、2か月齢以下が51.1%と半数を占めており、早期のPI牛摘発により農場内での感染拡大防止に寄与できていると考えられた。一方で、24か月齢以上での摘発も10.9%となっており、成牛がPI牛として摘発される事例も多いことが明らかになった。PI牛において発育不良は高率に認められる症状であり、免疫応答能が低いため二次感染や日和見感染による下痢症等を発症しやすく、治療には低反応性であるものの、一部は無症状のまま成長する個体も認められる⁵⁾。本調査においても、無症状で搾乳牛や繁殖雌牛として飼養されている例があり、新たなPI牛を生み出している可能性が改めて示されたため、今後も成牛を対象とした浸潤状況調査を継続することが重要と考えられた。

摘発検査の区分別では、過去にPI牛が断続的に認められていた病性鑑定や県内預託牛検査における摘発数は減少傾向で、近年は摘発されない状況となっている。したがって、本県ではBVDV検査を長年、多岐に渡り実施した結果として、県内の流行状況が緩和されている可能性がある。

本県では、乳用搾乳牛49頭以下の農家が酪農経営の66.2%、99頭以下が88.1%を占めている（令和3年）¹⁰⁾。一方、PI牛摘発農場は、飼養頭数200頭以上の酪農経営農家が26.3%と、大規模農場が多い傾向であった。大規模農場では、自家育成牛が中心となる小規模農家に比べ、牛を県外等から導入する機会が多いため、PI牛や急性感染牛を導入することで農場内にBVDVがまん延し、PI牛発生につながりやすいものと考えられた。さらに、PI牛の母牛の感染場所を調査したところ、特に近年では県外からBVDVに感染した妊娠牛を導入し、PI牛が出生するリスクが高まっていることが示唆された。牛の移動はBVDVまん延のリスク要因として大きいことが報告されている^{11、12)}。県外導入牛や預託牛は、当該牛が農場で飼養される時点の

検査では、その胎子がBVDVに感染しているかどうかは判断できず、分娩後に検査するまで産子がPI牛であるか診断できない。妊娠牛の導入農場においては、PI牛の発生リスクが高いことを周知し、PI牛発生に備えた飼養牛へのワクチン接種や、発育不良牛等の早期病性鑑定といった対策を強く指導することが重要と考えられた。また、PI牛が摘発された農場においては、ガイドラインに沿って新生子牛等の検査を確実に実施するとともに、疫学的に関連があるPI牛が複数摘発された場合、導入元や預託先へ情報提供し対策を依頼することが、牛群の更なるウイルス汚染を防ぐために重要であると考えられた。他県においても、県外預託牛によるBVD発生が報告¹³⁾されているように、BVDVは牛の移動とPI牛の発生が清浄化に向けての障害となることから、県や農場単独の取組だけではなく、全国的な対策も必要と考えられる。

分離ウイルス株の遺伝学的解析について、塩基配列の保存性が高く、様々なBVDV検出に有効とされる¹⁴⁾ 5'UTR領域の分子系統樹解析では、分離ウイルス株は1a、1b、1c、2aの4遺伝子亜型に分類され、本県における1989年から2007年の調査¹⁵⁾と同様の結果であった。しかし、遺伝子亜型別の内訳は、以前の調査と比較して、1a亜型が33.3%から20.3%、1c亜型が17.5%から6.8%と減少傾向であり、1b亜型が42.9%から57.6%、2a亜型が6.3%から15.2%と増加しており、本県内で流行するBVDV遺伝子亜型の傾向が変化していることが示唆された。分離ウイルスの遺伝子亜型は1bが優勢であり、これは他県における報告^{2、4、11、16、17)}と一致した。また、近年、他県では2a亜型が増加傾向であると報告^{4、16、17)}されている。県外からの導入牛がPI牛発生の大きな要因と考えられる本県でも、今後はさらに流行ウイルスの遺伝子亜型の傾向が変動するものと推定され、調査を継続することが重要と考えられた。

BVDVのE2領域はBVDV遺伝子領域の中では最も変化に富んだ部位であり、疫学的解析に有用との報告がある¹³⁾。本県において、岩根

ら¹⁵⁾が1989年から2007年にかけて分離したBVDVのE2領域を解析した結果、公共牧場を介したBVDV伝播の可能性を報告している。今回の調査では、E2領域の解析でPI牛間の疫学的関連は認められず、県内公共牧場での感染や県内農場間でのまん延の可能性は低いと推測された。近年は預託牛検査やワクチン接種等の対策の徹底により県内公共牧場の清浄性が担保されているため、PI牛の発生源となる機会が低減しているものと考えられた。なお、今回の調査では、生ワクチン株と極めて近縁で、妊娠牛へのワクチンの不適切な接種により発生した可能性を含む例が1a亜型で2株認められた。この2株は2008年及び2009年に検出した株であり、他県においても同時期に同様のワクチンの不適切使用によるPI牛発生が報告されている¹⁹⁾。近年においては生ワクチンの近縁株は認められず、本県ではワクチンの適切な使用方法が周知されていると考えられた。

さらに、今回の調査において、E2領域の分析の結果、1a、1b、1c亜型は少なくとも2つのクラスターに分類され、遺伝的多様性が高まりつつあることが示された。Abeら⁴⁾は、北海道では2006年から2014年に分離された株が、1a、1b亜型でそれぞれ5つのクラスター、2a亜型で2つのクラスターに分類されたと報告している。本県分離株について、E2領域の塩基配列をBLAST検索したところ、Abeらが報告した株と近縁な株も認められ、比較した場合に本県分離株も1aは4つ、1bは3つのクラスターに細分類される可能性がある。

また、Abeら⁴⁾は、同じ遺伝子亜型であっても、クラスターが異なると交差反応性が低下すると報告している。現在、国内においては、1a及び2a亜型の単味もしくは混合生ワクチン、1aもしくは1b亜型と2a亜型の混合の不活化ワクチンが販売されており²⁰⁾、各農家での発生状況や県内の流行状況により効果的な遺伝子亜型を考慮してワクチンを選択している。前述のとおり、今後、本県でも流行ウイルスの遺伝子亜型の傾向は変化する可能性があり、ワクチン選択

には注意が必要となるが、更に遺伝子亜型内での遺伝学的な多様性の高まりにより、既存ワクチン効果に影響が出る可能性も否定できない。

本県でのPI牛の発生要因は県内流行から県外導入に変遷しつつあると推測され、これは従来からのPI牛摘発にかかる取組の成果と考えられた。しかし、今後、県外妊娠牛の導入等により、BVDVの流行遺伝子亜型の変化や遺伝的多様性の高まりが予測される。今後も、県内農場における積極的なサーベイランス体制の維持・継続、妊娠牛の導入農場における指導、摘発PI牛や分離ウイルス株の情報の解析、県内流行株の遺伝学的情報の蓄積、既存ワクチンへの影響の検証等を実施し、現場の指導にフィードバックすることで、県内清浄化対策を進めていきたい。

引用文献

- 1) Yeşilbağ K et al. *Viruses*.26 9 128 (2017)
- 2) 亀山健一郎 他 動衛研研究報告 118 19-22 (2012)
- 3) Ridpath J. F. et al. *J Vet Diagn Invest* 22:184-191 (2010)
- 4) Abe Y et al. *J Vet Med Sci.* 78 (1) 61-70 (2016)
- 5) 田島誉士 日獣会誌 65 111-117 (2012)
- 6) 明石博臣 他 動物の感染症 第4版 89-90 (2019)
- 7) 農林水産省 牛ウイルス性下痢・粘膜病に関する防疫対策ガイドライン Available from https://www.maff.go.jp/j/syouan/douei/pdf/bvd_md_gl.pdf
- 8) Vilček S et al. *Arch Viro*l.136 309-323 (1994)
- 9) Tajima M et al. *Virus Res.* 76 31-42 (2001)
- 10) 畜産統計調査 令和3年 Available from <https://www.maff.go.jp/j/tokei/kouhyou/tikusan/>
- 11) Hirose S et al. *Pathogens* 10 922 (2021)

- 12) 安富一郎 他 獣医疫学雑誌8 (2)
77-83 (2004)
- 13) 増田恒幸 他 日獣会誌 70 575- 579
(2017)
- 14) Becher P et al. *J.Gen Virol.*78 1357-1366
(1997)
- 15) 岩根浄子 他 日獣会誌 62 371-375
(2009)
- 16) Matsuno K et al. *J. Vet. Med. Sci.*69 (5)
515-520 (2007)
- 17) 福成和博 他 岩獣会報 47 8-12 (2021)
- 18) 林みち子 他 日獣会誌 58 741-745(2005)
- 19) 福富豊子 他 日獣会誌 61 693-698
(2008)
- 20) 中央畜産会 牛ウイルス性下痢・粘膜病
(2017) .Available from http://jlia.lin.gr.jp/eiseis/pdf/standard/virus_usi0406.pdf

2 県内で発生した豚熱の病理組織学的考察

県央家畜保健衛生所
土合理美、平野佳世

はじめに

豚熱は、フラビウイルス科ペスチウイルス属の豚熱ウイルス（CSFV）の感染によって起こる、豚及びイノシシの感染症である。2018年に国内で26年ぶりの野外感染が報告されてから、2022年1月までに16県76事例が継続的に発生しており¹⁾、本県においても2021年4月に2農場で野外感染が確認された。

現在流行しているCSFVは、過去の流行株と比較して病原性が低いため、感染してから死亡するまでに要する日数が長く、実験感染例では死亡する個体は少ない^{2),3)}。また、臨床症状にも乏しいため、農場にウイルスが侵入してから、本病を疑って通報が行われるまでに時差を生じる例が多数報告されている。

今回、県内2農場において発生した豚熱について、病理組織学的検査を実施し、発生状況について考察したので、その概要を報告する。

農場概要及び発生の経緯

発生農場は、繁殖豚約770頭を飼養する総飼養頭数約5,800頭の一貫経営農場（A農場）と、繁殖豚約1,200頭を飼養する総飼養頭数約22,000頭の一貫経営農場（B農場）であり、両農場とも豚熱ワクチン接種の開始から1年程度が経過していた。

A農場では、2021年4月9日に管轄家畜保健衛生所が豚熱ワクチン接種を実施した後、同月12日に離乳豚8頭が死亡したため、細菌感染症を疑い抗生物質による治療を開始した。しかし、その後も1日あたり10頭以上の死亡が続いた上に、同じ畜舎や隣接する離乳豚舎、発生豚舎から豚を移動させた子豚舎でも同様の症状が認められ、治療の効果が得られなかったことから、

同月16日に家畜保健衛生所に通報し、病性鑑定を実施した。なお、同農場での平時の死亡数は3～4頭であった。

B農場では、豚熱ワクチン接種は1週間に1度の頻度で実施されていた。2021年4月2日に離乳豚15頭が死亡したため、細菌性肺炎を疑い治療を開始し、一度は症状が落ちついた。その後、死亡や活力低下を示す豚が増加し、同月15日には30頭の死亡が確認されたが、豚繁殖呼吸障害症候群（PRRS）の発生や豚の移動、投薬の影響を疑って通報には至らなかった。しかし、翌16日にも同豚舎での死亡が継続したため、家畜保健衛生所に通報し、病性鑑定を実施した。なお、同農場での平時の死亡数は2頭ほどであった。

農場からの通報を受けて実施した病性鑑定では、A農場では離乳豚6頭、B農場では4頭の病理解剖を実施し、それぞれ同居豚15頭の血液を検査に供した。なお、採材時の体温測定では、A農場では全頭、B農場では17頭中9頭で40℃以上の発熱が認められ、両農場に共通して豚房内でのパイルアップが確認された。

採材した各検体について、定法に基づき血液検査及びウイルス学的検査を実施した結果、血液検査では、A農場の14頭中11頭、B農場の15頭中12頭で白血球数の減少（1万個/mm³以下）を認めた。また、A農場の15頭中8頭、B農場の17頭中10頭で好中球の核の左方移動を認めた。

ウイルス学的検査では、遺伝子検査において、検査した全検体でCSFV特異遺伝子が検出され、（国研）農業・食品産業技術総合研究機構動物衛生研究部門での精密検査の結果、豚熱と診断された。一方、抗体検査では、ワクチン未

接種群のA農場6頭及びB農場4頭から移行抗体が検出された。

材料及び方法

病性鑑定によりCSFVの感染が確認された2農場10頭の解剖豚を用いて、病理組織学的検査を実施した(表1)。なお、検査に供した豚は両農場とも60日齢前後の離乳豚であった。

表1 解剖豚詳細

解剖豚	状態	ワクチン抗体検査	
		接種歴	結果
A農場	1	生存	4月9日 NT
	2	死亡	3月12日 NT
	3		4月9日 NT
	4	生存	— 0.001
	5		— 0.134
	6	死亡	— NT
B農場	1	生存	— 0.015
	2		— 0.006
	3		— 0.005
	4	死亡	4月9日 0.041

1 病理組織学的検査

主要臓器を20%中性緩衝ホルマリン液で固定し、定法に従いパラフィン包埋後、切片を作製し、ヘマトキシリン・エオジン(HE)染色を実施した。

2 免疫組織化学的検査(IHC)

各個体の脾臓、腎臓及びリンパ節を用いて、マウス抗CSFVモノクローナル抗体(CVL)を用いてIHCを実施した。また、肺、腎臓及びリンパ節については、マウス抗PRRSウイルス(PRRSV)モノクローナル抗体(RTI)及びウサギ抗豚サーコウイルス2型(PCV2)豚血清(農研機構動物衛生研究部門)を用いてIHCを実施した。

結果

1 剖検所見(表2)

外貌では耳介及び四肢末端のチアノーゼ、皮下の点状出血が認められた(図1)。

10頭中9頭で、脾臓のうっ血及び腫大が認め

られ(図2)、そのうち3頭で辺縁における出血性梗塞が確認された(図3)。また、7頭の腎臓でびまん性に重度の点状出血がみられた(図4)。扁桃、体表リンパ節及び腸間膜リンパ節は全頭で腫大して暗赤色を呈し、一部で出血が認められた(図5)。腸間膜の点状出血は6頭で、膀胱の点状出血は2頭で確認された。また、6頭で肺が暗赤色を呈し、退縮不全が認められた。

表2 剖検所見まとめ

部位	剖検所見	A農場						B農場			
		1	2	3	4	5	6	1	2	3	4
皮下	点状出血	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
扁桃	暗赤色化	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
脾臓	腫大	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
	辺縁部出血	-	+	-	+	-	-	-	-	-	+
腎臓	点状出血	-	+	-	-	+	+	+	+	+	+
腹水	貯留	+	+	-	-	-	+	-	-	+	-
腸間膜	点状出血	+	-	+	+	-	+	+	+	-	-
	リンパ節 腫大	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
体表リンパ節	腫大	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
その他	肺 暗赤色化	+	+	-	+	-	+	+	-	-	+
	膀胱 点状出血	-	-	-	-	-	+	-	+	-	-



図1 豚A-6 外貌

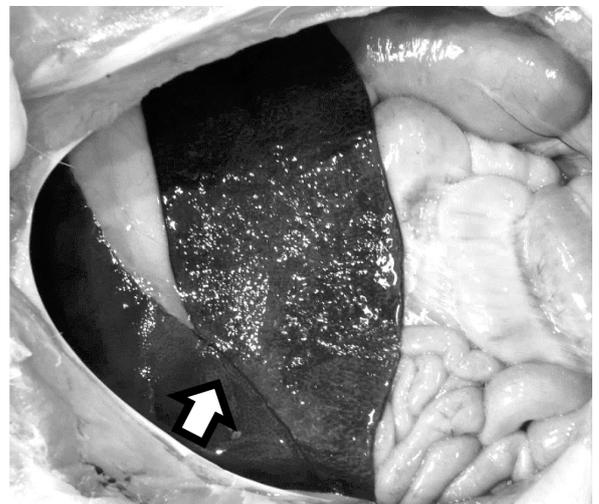


図2 豚B-3 脾臓

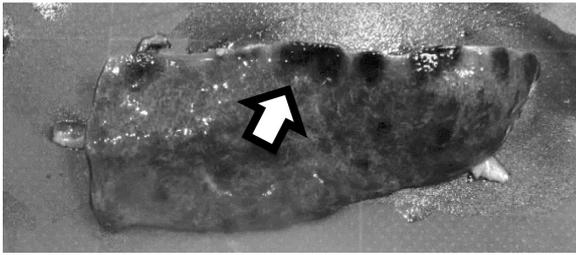


図3 豚A-4 脾臓



図4 豚A-6 腎臓



図5 豚B-1 体表リンパ節

2 病理組織学的検査 (表3)

全頭に共通して、腎臓及び肝臓の血管周囲に軽度から中等度のリンパ球及びマクロファージの浸潤が確認された(図6)。同様の炎症細胞浸潤が腎臓の間質や、脳及び心臓の血管周囲でも散見された(図7)。脾臓では明瞭なリンパ濾胞はほとんど認められず、正常組織が血液で置換され、濾胞壊死が散見された(図8)。また、各リンパ節でもびまん性のリンパ球減少及び血液吸収像が確認され(図9)、大腸ではパイエル板の濾胞壊死が認められた。

その他に、5頭(A農場3頭、B農場2頭)で化

膿性気管支肺炎がみられた(図10)。また、同様に5頭で大腸における粘膜上皮へのバラネチジウムの侵入像が確認された(図11)。

表3 病理組織学的検査結果

部位	組織所見	A農場						B農場			
		1	2	3	4	5	6	1	2	3	4
肝臓	小葉間結合組織の炎症細胞浸潤	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
脾臓	リンパ球減少 濾胞壊死	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
腎臓	間質の炎症細胞浸潤 出血	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
心臓	小血管周囲への炎症細胞浸潤	+	+	+	-	-	+	NT	NT	-	+
肺	化膿性炎	+	-	-	-	+	+	+	-	-	+
腸管	パイエル板 リンパ濾胞壊死 大腸 バラネチジウム侵入	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+
膀胱	炎症細胞浸潤 出血	+	+	+	-	+	+	+	+	NT	+
その他	リンパ節 脳 脳管性細胞浸潤	+	+	+	+	+	+	NT	NT	NT	NT
		NT	NT	NT	NT	NT	NT	+	+	-	+

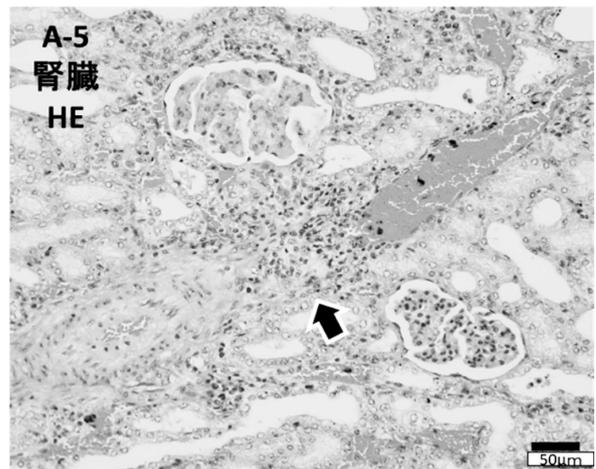


図6 豚A-5 腎臓 (HE染色)

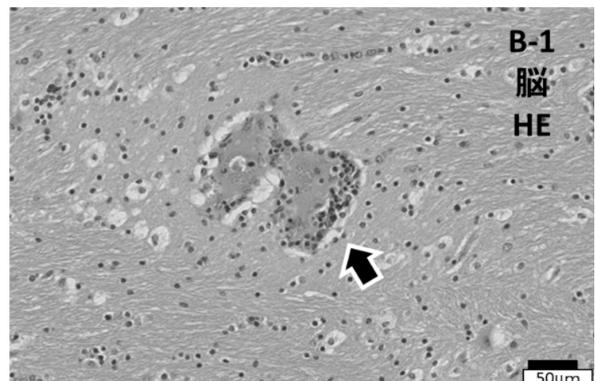


図7 豚B-1 脳 (HE染色)



図8 豚A-5 脾臓 (HE染色)



図9 豚A-5 鼠径リンパ節 (HE染色)

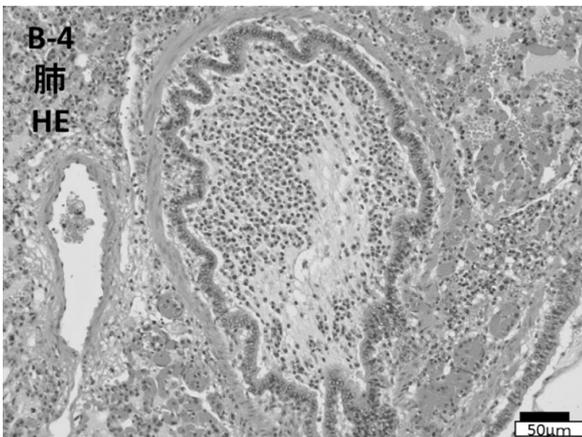


図10 豚B-4 肺 (HE染色)

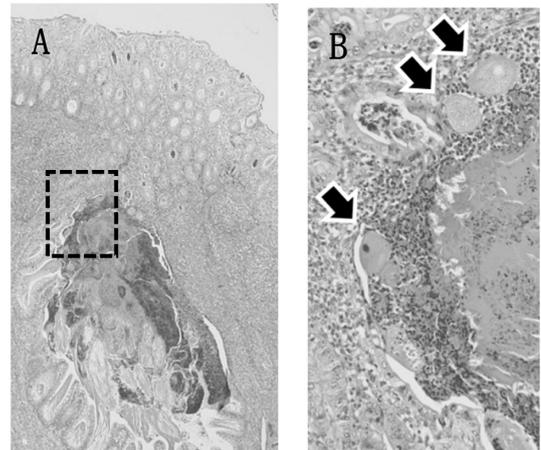


図11 豚A-4 腸管

A：(HE染色×50) B：(HE染色×200)

3 免疫組織化学的検査

検査を実施した全検体の脾臓及びリンパ節の炎症細胞及び腎臓の遠位尿細管上皮細胞の細胞質内に、CSFVに対する陽性反応が確認された(図12)。

PRRSVはA農場2頭、B農場1頭の肺で、マクロファージの細胞質内に陽性反応がわずかに確認された。PCV2については検査を実施した全検体で陰性だった。

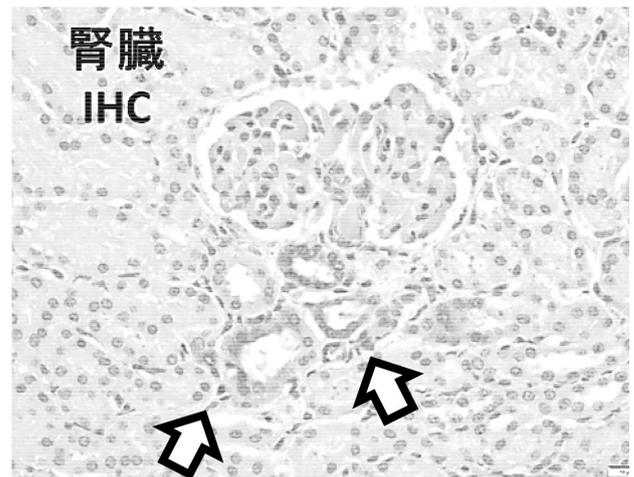


図12 豚A-5 腎臓 (IHC×400)

まとめ及び考察

今回、県内の養豚場2農場で病性鑑定を実施し、ウイルス学的検査により豚熱と診断された。剖検時には多くの豚で皮膚のチアノーゼ及び点状出血、脾臓の腫大、腎臓の点状出血、体

表及び腸間膜リンパ節の腫大等の所見が確認され、病理組織学的検査では脾臓のうっ血、リンパ球減少及び濾胞壊死、リンパ節におけるリンパ球減少、腎臓や脳等の諸臓器におけるリンパ球及びマクロファージの浸潤等の所見が認められた。

2018年から国内で発生しているCSFVはサブジェノタイプ2.1dに分類され、過去に国内で流行したCSFVよりも病原性が低く、国内や海外での中等度毒性株の実験感染では、CSFVの単独感染による死亡率は低いと報告されている。実験感染例では、発熱、白血球数の減少、活力低下、食欲不振、皮膚の紫斑、結膜炎、下痢、パイルアップ等の臨床症状を呈するが、症状を示した豚のほとんどはその後回復したと報告されている²⁾³⁾。また、病理組織学的所見では、リンパ組織におけるリンパ球の減少やマクロファージの増加、血管内皮細胞の壊死、脾臓における髓外造血、結腸の潰瘍といった所見が報告されている³⁾。今回、病性鑑定を実施した2農場で確認された剖検及び病理組織学的所見の多くはこれらの報告と一致し、豚熱の特徴所見であったと考えられた。なお、病理解剖及び病理組織学的検査において、A農場及びB農場、豚熱ワクチン接種歴の有無、生存豚及び死亡豚で、病変形成の程度に著明な差は認められなかった。

CSFVの検出は扁桃で最も早く、中等度毒性株では感染後4日頃からウイルスが分離され、IHCでも陽性反応が確認される。脾臓では、5日頃からIHCの陽性反応がみられるようになり、腎臓では、感染後7日頃からウイルスが分離され、10日にはIHCで陽性反応が確認される⁴⁾⁵⁾。加えて、中等度毒性株では、ウイルス分離が陽性になる前にIHCで陽性反応がみられた報告もある⁵⁾。また、抗体価は感染後14日程度が経過してから上昇すると報告されている⁴⁾⁵⁾⁶⁾。今回の事例では、腎臓の尿細管上皮でIHCの陽性反応が確認された一方で、抗体価の上昇が認められなかったことから、2農場の解

剖豚は共にCSFVに感染後1週間以上が経過していたものと考えられた。

また、CSFVは、豚に感染するとまず扁桃の陰窩上皮細胞で増殖し、その後、樹状細胞やマクロファージに感染し、リンパ流を介してリンパ組織、骨髄、血管内皮細胞で増殖し、ウイルス血症を起こして全身臓器で増殖するとされている。CSFVに感染した樹状細胞は多量のIFN- α を分泌するため、リンパ球のアポトーシスが起これ、リンパ組織におけるリンパ球の減少がみられる。加えて、CSFVの感染により骨髄では顆粒球系細胞の産生が抑制される⁷⁾⁸⁾。これらの結果、CSFVに感染した豚では免疫が抑制され、他の病原体の二次感染が起これやすくなると言われている⁹⁾。今回の2農場においても、病理組織学的検査を実施した半数の豚において細菌性肺炎やPRRSVの感染、大腸バランジウム症が確認されており、CSFVに加えて農場に常在する病原体が二次感染を起こすことにより、CSFV中等度毒性株の実験感染例よりも死亡する個体が増加したことが示唆された。加えて、今回の事例ではいずれの農場でも細菌性肺炎やPRRS等の疾病を疑って治療を実施しており、農場内に常在し、過去に発生経験のある疾病の臨床症状の方がCSFVの示す弱い臨床症状よりも目につきやすいため、家畜保健衛生所への通報の遅れに繋がりがやすい状況であったと考えられた。

個々の農場によって常在疾病や飼養環境が異なるため、CSFVが農場へ侵入した際の臨床症状や死亡率は一律ではない可能性がある。豚熱の迅速な摘発のためには、このような現在のCSFV流行株の特徴を、飼養者及び関係者に周知することが重要である。加えて、それぞれの農場内の常在疾病を把握した上で、急な死亡数の増加等の異常がみられた際には、豚熱の可能性を除外せずに通報が行われるよう指導し、迅速に病性鑑定を実施する必要がある。

参考文献

- 1) 農林水産省ホームページ「豚熱 国内の発生状況」
- 2) 農研機構 動物衛生研究部門ホームページ
プレスリリース「(研究成果) 2018年分離株を用いた豚コレラウイルスの感染試験」
- 3) Kameyama K et al.: Experimental infection of pigs with a classical swine fever virus isolated in Japan for the first time in 26 years, *The Journal of Veterinary Medical Science*, 81 (9) , 1277-1284 (2019)
- 4) Mulas JM et al.: Immunohistochemical detection of hog cholera viral glycoprotein 55 in paraffin-embedded tissues, *J Vet Diagn Invest.*, 9, 10-16 (1997)
- 5) Narita M et al.: Comparative immunohistopathology in pigs infected with highly virulent or less virulent strains of hog cholera virus, *Vet Pathol.*, 37, 402-408 (2000)
- 6) Belak K et al.: Comparative studies on the pathogenicity and tissue distribution of three virulence variants of classical swine fever virus, two field isolates and one vaccine strain, with special regard to immunohistochemical investigations, *Acta Veterinaria Scandinavica*, 50:34, 1-13 (2008)
- 7) 農研機構 動物衛生研究部門ホームページ
「豚熱 (CSF) の解説と参考資料」
- 8) 迫田義博: 豚熱 (Classical Swine Fever: CSF) のすべて, *北獣会誌*, 64, 285-293 (2020)
- 9) 山田学: 令和2年度病性鑑定病理部門研修
講演資料 (2020)
- 10) 杉江建之介ら: CSF野外感染症例における病理組織学的考察, 第60回愛知県家畜保健衛生業績発表会集録 (2019)
- 11) 松本裕治ら: 県内で発生した豚熱2例目における病理組織学的考察, 埼玉県調査研究

成績報告書 (家畜保健衛生業績発表集録)
第62報 (2020)

3 県内養豚農場における豚サーコウイルス浸潤状況調査

県中央家畜保健衛生所

小笠原 悠、齊藤 かおり、米山 州二

はじめに

豚サーコウイルス2型(PCV2)は免疫抑制を起こし、豚の呼吸器病等の病態を増悪させるウイルス疾病として、国内の養豚農場に広く浸潤している¹⁾。その遺伝学的特徴から複数の遺伝子型が報告されており、国内においてはPCV2a、PCV2b、PCV2d、PCV2eの4つの遺伝子型が検出されている。また、近年では豚サーコウイルス3型(PCV3)の存在も報告されるようになり、遡り調査では少なくとも2007年には国内へ侵入していたことが確認されている²⁾。PCV3はPCV2と同様、複数の遺伝子型が存在し、国内ではPCV3a1、PCV3a2、PCV3b1、PCV3b2の4つの型が報告されている。その病原性については未解明な部分も多くあるが、ワクチンはなく、その動向が注視されているウイルスである。

PCVは多くの養豚農場に事故率の増加や発育不良など、経済的損害をもたらしていると推測されるが、本県における浸潤状況に関する知見は乏しく、その動態は不明であった。そこで今回、健康豚の血液検体を基に県内全域におけるPCV2及びPCV3の浸潤状況を調査し、その遺伝子型の分布を明らかにするとともに、PCV2またはPCV3が検出された農場については過去の検体についても遡及的調査を実施することにより浸潤株の経時的な変遷状況に関する知見が得られたのでその概要を報告する。

材料及び方法

1 浸潤状況調査

2020年度に計52農場で実施した肥育豚ステージ採血検体1,444頭分について、血清を各ステージごとにプールした後、PCV2については平島らに

よる報告³⁾に準じて、PCV3についてはKuらによる報告⁴⁾に準じて各ORF2領域の遺伝子を検出した。PCV2またはPCV3特異遺伝子が検出された検体については、当所のシーケンサーを用い、同領域についてダイレクトシーケンス法により遺伝子配列を決定した。得られた遺伝子配列を基に分子系統樹解析を実施し、遺伝子型を決定するとともに、市町ごとの検出状況、日齢ごとの陽性率、母豚へのPCV2ワクチン接種の有無との相関性も検証した。母豚へのワクチン接種の有無についての検証においては、52農場中3農場について、ワクチンの接種状況が不明であったため、検証から除外した。なお、母豚へのワクチン接種の有無における農場陽性率の比較においては、フィッシャーの正確確率検定を用いた。

また、作成した系統樹において、近縁の株間については、農場の地理的分布や導入元等、疫学的な関連についても検証した。

2 遡及的調査

浸潤状況調査にてPCV2またはPCV3遺伝子が検出された農場について、2015～2018年度の肥育豚血清計25農場478頭分を材料とし、浸潤状況調査と同様にPCV2及びPCV3の検出、系統樹解析による遺伝子型別判定を実施した。

なお、浸潤状況調査及び遡及的調査に用いた検体はいずれも-30℃にて冷凍保存されていたが、遡及的調査に用いた2018年度以前の過去検体については56℃30分の非働化处理済みの検体を用いた。

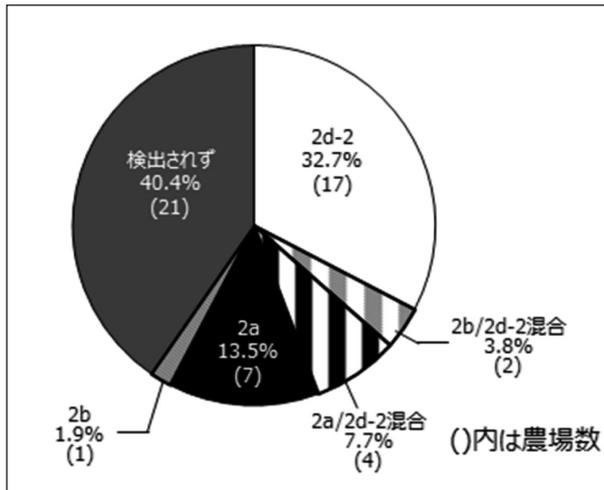


図1 PCV2の各遺伝子型の割合

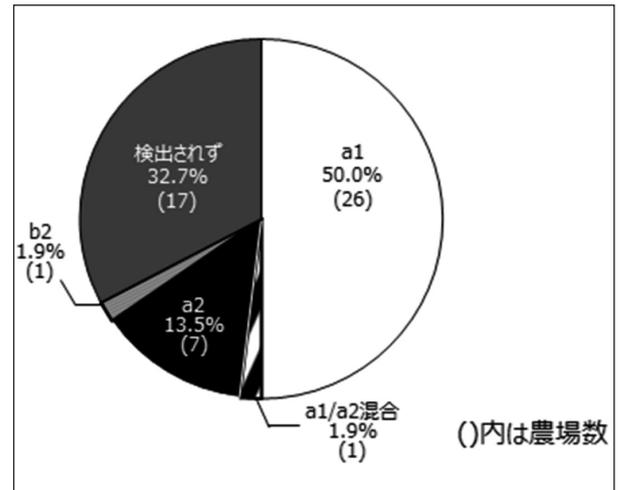


図2 PCV3の各遺伝子型の割合

結果

1 浸潤状況調査

(1) 検出された遺伝子型の割合

PCV2については52農場中31農場から特異遺伝子が検出され、検出された遺伝子型の内訳は、PCV2d-2が最も多く17農場 (32.7%)、次いでPCV2aが7農場 (13.5%)、PCV2bが1農場 (1.9%)、PCV2bとPCV2d-2どちらも検出されたのが2農場 (3.8%)、PCV2aとPCV2dどちらも検出されたのが4農場 (7.7%) となった (図1)。

PCV3については52農場中35農場から特異遺伝子が検出され、検出された遺伝子型の内訳は、PCV3a1が最も多く26農場 (50.0%)、次いでPCV3a2が7農場 (13.5%)、PCV3b2が1農場 (1.9%)、PCV3a1とPCV3a2どちらも検出されたのが1農場 (1.9%) となった (図2)。

(2) 市町ごとの遺伝子型の検出状況

市町ごとの検出状況については、PCV2は10市町から、PCV3は14市町から検出された。検出された農場については、遺伝子型ごとに異なるアイコンを用い、市町単位で地図上にプロットしたところ、図3,4に示すとおりになった。PCV2、PCV3どちらも農場の地理的な分布に関わらず、様々な遺伝子型が広く混在する結果となった。

(3) 日齢ごとの陽性率

日齢ごとのPCV2陽性率は、30日齢未満のステージでは3.2% (1/31農場)、30日齢以上60日齢

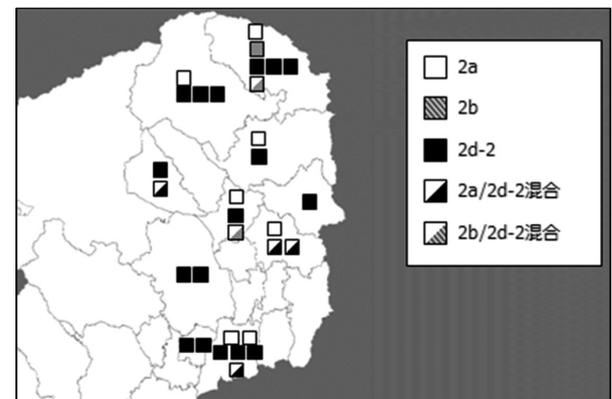


図3 PCV2の市町ごとの各遺伝子型分布

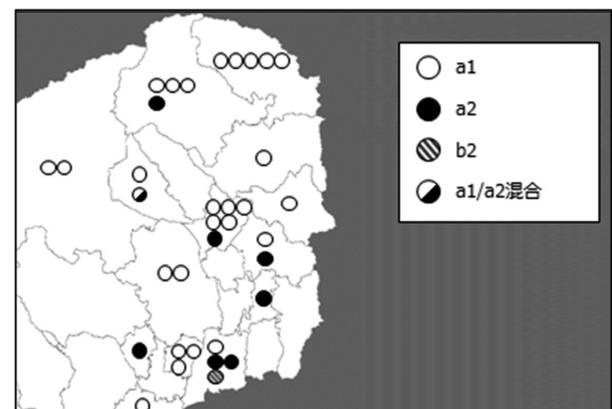


図4 PCV3の市町ごとの各遺伝子型分布

未満では23.5% (8/34農場)、60日齢以上90日齢未満で31.8% (14/44農場)、90日齢以上120日齢未満で38.6% (17/44農場)、120日齢以上150日齢未満で38.1% (16/42農場)、150日齢以上で33.3% (6/18農場) と、30日齢未満の陽性率のみ著しく

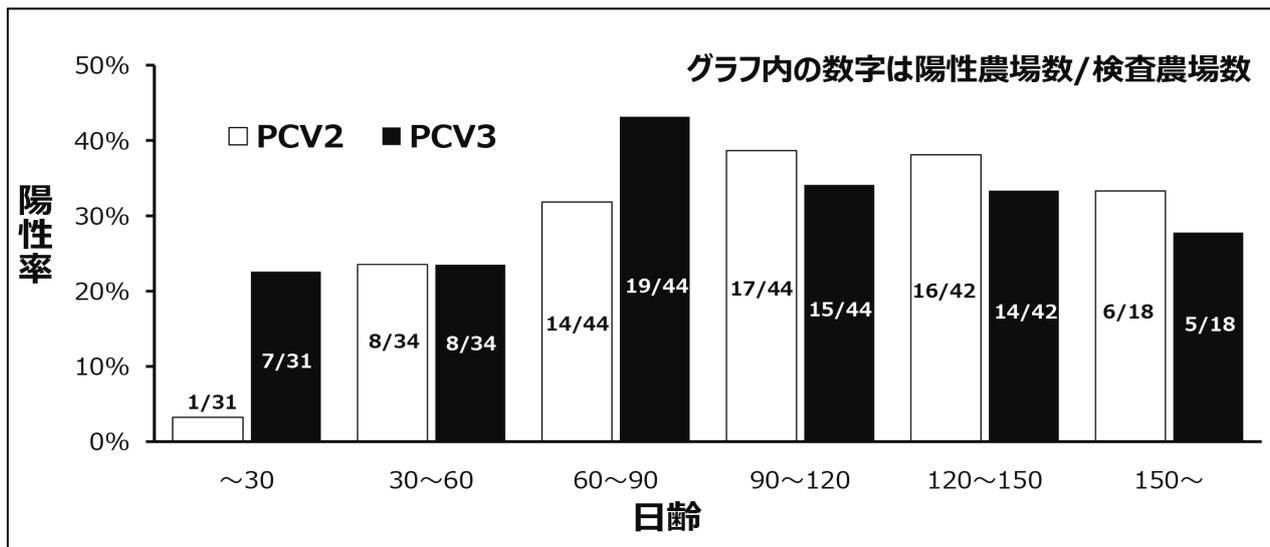


図5 日齢ごとのPCV2及びPCV3陽性率

低い結果となった。同様にPCV3の陽性率は、30日齢未満のステージでは22.6% (7/31農場)、30日齢以上60日齢未満では23.5% (8/34農場)、60日齢以上90日齢未満で43.2% (19/44農場)、90日齢以上120日齢未満で34.1% (15/44農場)、120日齢以上150日齢未満で33.3% (14/42農場)、150日齢以上で27.8% (5/18農場) となり、30日齢未満においても他のステージと同程度の陽性率となった (図6)。

(4) 母豚ワクチン接種の有無

母豚へのPCV2ワクチン接種の有無によるPCV2陽性率の比較は図5に示すとおり、接種を実施している農場では12.5% (1/8農場) だったのに対し、接種を実施していない農場では68.3% (28/41農場) と有意に高かった (p=0.0053)。

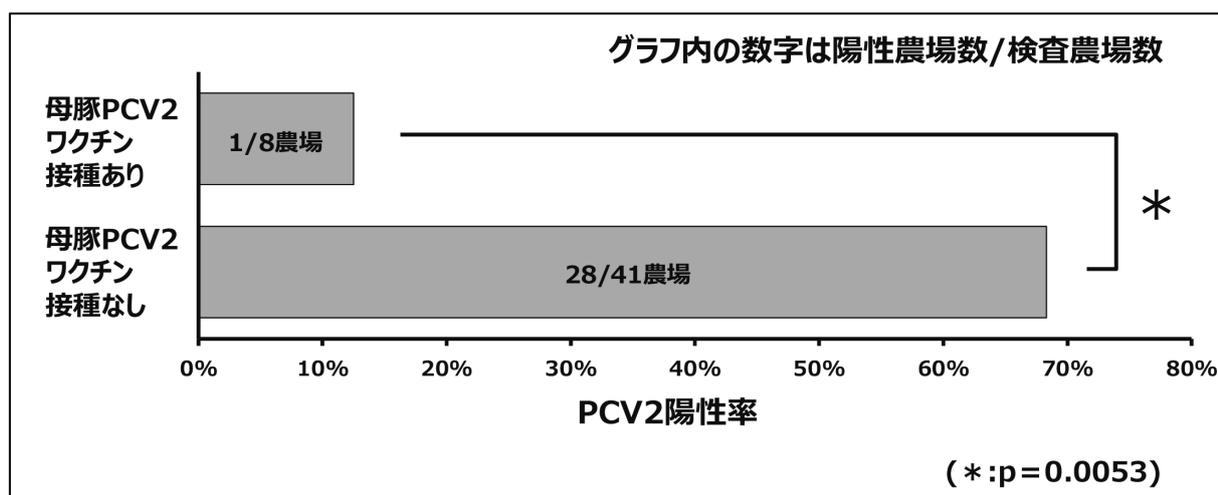
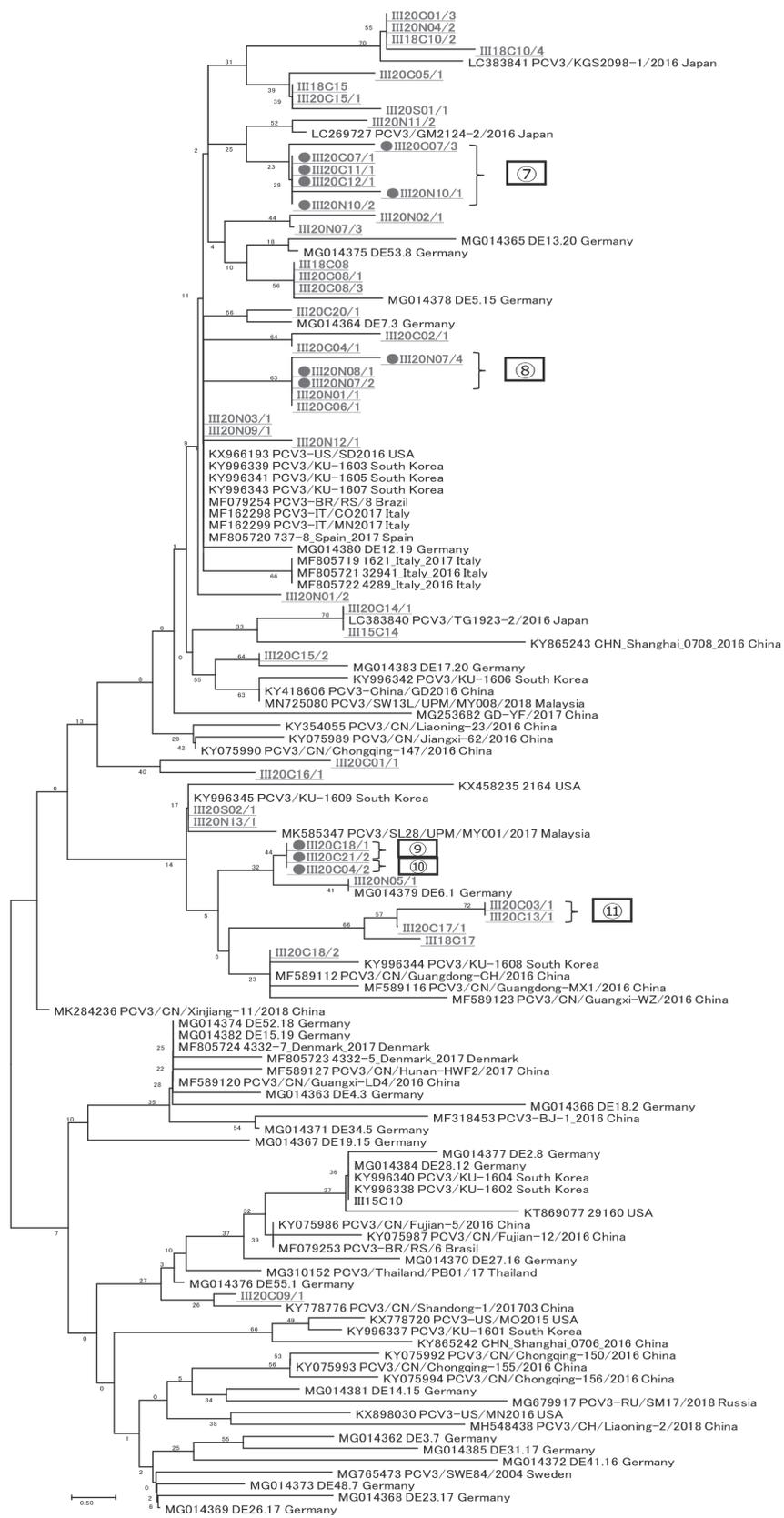


図6 母豚PCV2ワクチン接種の有無とPCV2陽性率



図7 PCV2ORF2領域の塩基配列に基づく近接結合法を用いた分子系統樹
 本調査で検出した株を下線太字で示し、疫学的関連が認められた株を●で記した。



a1

a2

b2

b1

図8 PCV3ORF2領域の塩基配列に基づく近接結合法を用いた分子系統樹
 本調査で検出した株を下線太字で示し、疫学的関連が認められた株を●で記した。

(5) 近縁株が検出された農場の疫学的関連

検出されたPCV2及びPCV3のORF2領域の遺伝子配列を基に作成された系統樹(図7、8)において、同クラスター内で農場の疫学的関連が認められたものを①～⑪で示した。PCV2系統樹の①のC02農場、C04農場、⑩のC04農場とC21農場はいずれも繁殖母豚の導入元が同一の農場であった。②のC01農場とC15農場については、C15農場の繁殖豚の育成農場がC01農場と直線距離で約2km程度と近距離に位置していた。③のC07農場、C12農場、N11農場、④のN03農場、N16農場、N17農場、⑤のC18農場、N05農場、N18農場、N19農場、⑦のC07農場、C11農場、C12農場、N10農場、⑧のN07農場、N08農場、⑪のC03農場とC13農場はいずれもそれぞれ系列農場であり、豚の行き来があった。⑥のC16農場とC21農場は直線距離で約2km、⑨のC18農場とC21農場は直線距離で約3km程度と近距離に位置していた。

2 遡及的調査

PCV2においては、浸潤状況調査で陽性となり過去検体が保存されていた16農場のうち4農場の過去検体からPCV2遺伝子が検出された。その遺伝子型の変遷状況は表1に示すとおりであり、C04農場は、2017年検体においてPCV2aのみの検出であったが、2020年検体においてはPCV2aとPCV2d-2のどちらも検出された。C02農場は、2015年検体においてPCV2eが検出、2020年検体ではPCV2d-2が検出された。C15農場は、2015年検体においてPCV2bが検出、2020年検体ではPCV2d-2が検出された。C07農場は、2018年検体から2020年検体まで変わらずPCV2d-2が検出された。

PCV3においては、PCV2と同様にして21農場のうち5農場の過去検体からPCV3遺伝子が検出された。その遺伝子型の変遷状況は表2に示すとおりであり、C10農場は、2015年検体においてPCV3b2が検出、2018年以降の検体ではPCV3a1が検出された。C14農場では2015年検体から、C15農場とC08農場では2018年検体からPCV3a1が検出さ

れ、2020年検体でも変わらずPCV3a1が検出された。C17農場では2018年検体から2020年検体まで変わらずPCV3b1が検出された。

	2015	2016	2017	2018	2020
C10農場	b2	陰性	陰性	a1	a1
C14農場	a1	陰性	陰性	陰性	a1
C15農場	陰性	検体なし	検体なし	a1	a1
C08農場	検体なし	検体なし	検体なし	a1	a1
C17農場	陰性	検体なし	検体なし	b1	b1

*他のPCV3陽性農場(16農場)の過去検体からはPCV3検出されず

表1 PCV2における遺伝子型の変遷

	2015	2016	2017	2018	2020
C04農場	検体なし	検体なし	2a	陰性	2a/2d-2
C02農場	2e	検体なし	検体なし	検体なし	2d-2
C15農場	2b	検体なし	検体なし	陰性	2d-2
C07農場	検体なし	検体なし	検体なし	2d-2	2d-2

*他のPCV2陽性農場(12農場)の過去検体からはPCV2検出されず

表2 PCV3における遺伝子型の変遷

考察

本調査から、本県においてはPCV2d-2が最も優勢な遺伝子型であり、過去からの変遷状況から、他の遺伝子型から置換するように浸潤していったことが示唆された。これはPCV2d-2が他の遺伝子型より生体内での増殖能力が高く、より豚に適した型であるという既報⁵⁾の内容とも一致する結果となった。また、PCV2eについては、既報より、2016年神奈川県での検出が国内最古とされてきたが⁶⁾、本調査により2015年時点にはすでに県内に存在していたことが明らかとなった。しかし、国内におけるPCV2eの検出例は少なく、本調査においてもPCV2d-2に置換していたことから、PCV2eの生体内での増殖性や伝染性は低い型であることが推測された。

PCV3においても、PCV3a1が最も優勢な結果となり、1農場においてPCV3b2からPCV3a1に浸潤株が置換した形跡が認められたことから、PCV2d-2と同様にPCV3a1が他の遺伝子型より

生体に適応した性質を有していることが示唆された。

なお、浸潤状況調査で陽性となった農場の過去検体における検出率が低かったが、これは浸潤状況調査で用いた2020年検体と異なり、遡及的調査で用いた過去検体は採血日齢が限定的であり、幅広いステージを調査できていなかったことに加え、検体を非働化処理していたことで核酸が劣化していたことが要因であると推測した。

母豚へのPCV2ワクチン接種農場ではPCV2陽性率が有意に低かったことから、ワクチンにより母豚の免疫レベルが高く維持され、農場内でのPCV2の動態をより強く抑制できていることが考えられた。

また、日齢ごとの比較では30日齢以下での若齢豚でのPCV2陽性率が低かったことから、PCV2においては野外株の曝露のみでなく、子豚や母豚でのワクチン接種により、母豚の免疫レベルが高くなり、子豚を防御できるだけの移行抗体を付与できていることが示唆された。一方で、ワクチンの存在しないPCV3においては、野外株の曝露のみによる免疫獲得しかいないため、子豚を防御できるだけの免疫が付与できず、全ステージ通して同様な陽性率になったと考えられた。

同クラスター内での疫学的調査から、同一系列農場であったケースや、導入元が同一であるなど、生体を介した侵入が農場間伝播の主たる要因であり、農場の地理的な立地が近く、車両等を介した機械的な伝播も一部生じていることが示唆された。一方で、同一の株が検出された農場間においても疫学的な関連が認められないケースもあり、感染経路が不明な点も残っている。

本調査により、数年間という比較的短い期間でも農場外から新しいウイルス株の侵入が散発していたことが明らかとなり、防疫の観点からも、今後流行株の推移を追うことで、感染経路の特定を進めていく必要があると考える。また、依然としてPCV2は広く浸潤、伝播しており、ワクチンの有効性が認められたことから、今後も適切なPCV2ワクチン接種を継続していく必要がある。

謝辞

本調査におけるPCV2及びPCV3の分子系統樹の作成や多大なる御助言を賜りました国立研究開発法人農業・食品産業技術総合研究機構動物衛生研究部門の高木道浩先生に深謝します。

引用文献

- 1) 川嶌ら.動衛研研究報告.109:9-16 (2003)
- 2) 藤岡ら.平成29年度鹿児島県家畜保健衛生業績発表会 (2017)
- 3) 平島ら.日獣会誌.72:339-343 (2019)
- 4) X.Ku et al.*Transbound Emerg Dis*.64:703-708 (2017)
- 5) T.Opriessnig et al.*J Gen Virol*.95:2495-2503 (2014)
- 6) 小池ら.日獣会誌.72:481-486 (2019)