

### 3 豚インフルエンザ発生事例及び管内浸潤状況調査

県北家畜保健衛生所

劔持麻衣、米山州二、赤間俊輔

県央家畜保健衛生所

小笠原悠

#### はじめに

豚インフルエンザ (SI) は A 型インフルエンザウイルス (IAV-S) 感染に起因する発熱、発咳等の症状を示す急性呼吸器疾患であるが、不顕性感染例も多数認められる。また、本病は伝播性が高いものの致死率は低いことが特徴である。一方、感染豚の肥育効率低下による農場の経済的損失は大きいものと報告されているが<sup>1)</sup>、家畜伝染病予防法では監視伝染病に指定されておらず、国内における発生事例や浸潤状況に関する報告は少なく、不明な点が多い<sup>2)</sup>。

令和 5 年 4 月、肥育豚を飼養する管内の養豚場において、SI 症例の病性鑑定と、発生を受けて実施した管内全域における過去 3 年間の IAV-S 浸潤状況調査を実施したところ、知見が得られたのでその概要を報告する。

#### 発生状況

発生農場は、LW 種及び W 種の肥育豚約 7,000 頭を飼養する肥育農場である (図 1)。県外の系列 2 農場から、令和 4 年春まで 70 日齢、以降は 25 日齢の離乳豚を導入していた。IAV-S ワクチンは、導入元農場を含め未接種であった。農場の導入豚は離乳舎にて 90 日齢まで飼養され、次の子豚舎へ移動していた。

令和 5 年 3 月下旬、離乳舎 3 の約 60 日齢の豚群において、元気消失、前肢又は後肢麻痺等の神経症状を呈する豚が散見された。アモ

キシリン等の抗生剤投与により一時回復するも、4 月初旬には発咳を呈する豚が増加し、死亡頭数が 1 日あたり 1 頭程度と通常時の 3 倍程度に上昇した。4 月 11 日には発咳等の症状が豚舎全体に拡大し、管理獣医師から病性鑑定依頼があった。

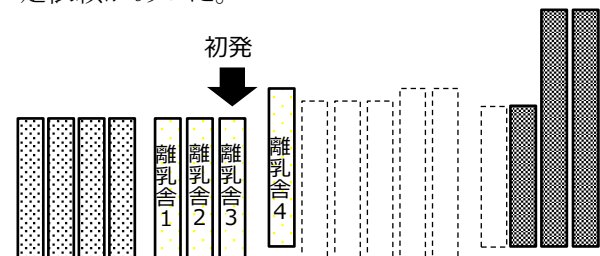


図 1 農場見取り図

#### 材料及び方法

##### 1 病性鑑定

##### (1) 臨床症状

令和 5 年 4 月 11 日、家保立入り時には検査対象豚 12 頭中 9 頭で体温 40℃以上の発熱が認められ、豚舎内のほとんどの豚で、深く激しい咳が特徴的な臨床症状として確認された。また、人が近づくと警戒して立ち上がる動作はみせるものの、すぐにへたり込んでしまう症状が、離乳舎 3 の豚舎全体の豚房で認められた。

##### (2) 病理解剖

豚 3 頭 (51-81 日齢、離乳舎 3) を鑑定殺し、検査に供した。

##### (3) ウイルス学的検査

解剖豚の臓器及び血清並びに同居豚 12 頭

(65-81日齢、離乳舎3)の血清について検査を実施し、肺3検体についてはIAV-S分離に広く用いられるMardin-Darby canine kidney (MDCK)細胞<sup>2)</sup>、全検体をCPK細胞に接種し、ウイルス分離を試みた。また、CSF、ASF、PRRS、PCV2及びIAV-S各種ウイルスについて、それぞれに特異的な遺伝子を標的としたPCR法を実施した。さらに、分離されたIAV-Sの遺伝子解析として、全ゲノム配列を決定し、HA及びNA遺伝子の分子系統樹解析をMaximum likelihood methodにより実施した。得られた全8分節の塩基配列について、BLAST検索を行った。

抗体検査は、発生農場にて令和3~5年度に採取した血清129検体について赤血球凝集抑制試験(以下、HI法)を行った。なお、豚血清の非特異反応除去は、RDE(Ⅱ)(デンカ生研、東京)で処理後、モルモット血球で感作させることで実施した。抗原は本症例の分離株(H1N2亜型)を、血球は1%モルモット血球を用い、HI価10倍以上を陽性判定とした。

#### (4) 細菌学的検査

主要臓器(肝臓、脾臓、腎臓、心臓、肺及び脳)を用いて、定法に従い5%羊血液寒天培地(37℃、5%CO<sub>2</sub>)、DHL寒天培地(37℃好気)にて24時間培養した。加えて、肺については、チョコレート寒天培地にて18-48時間培養した。

#### (5) 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後、定法に従いパラフィンブロックを作成し、ヘマトキシリン・エオジン(HE)染色、また抗原検出としてA型インフルエンザ抗体を用いた免疫染色を実施した。

## 2 浸潤状況調査

令和3~5年度に採取した5市町29農場388検体の肥育豚血清について、1と同様の手法でHI法を実施した。

## 検査結果

### 1 病性鑑定

#### (1) 病理解剖

3頭に共通して肝変化や退縮不全などの肺炎病変(円印部分)が確認された(図2)。

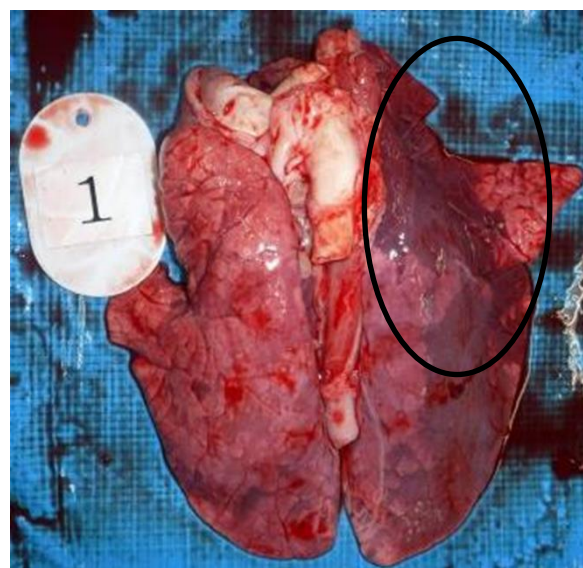


図2 肺

なお、その他の臓器について、著変は認められなかった。

#### (2) ウイルス学的検査

肺乳剤を接種したMDCK細胞ではいずれも2代継代後にCPEが確認され、培養上清のPCR法により、CPE因子はH1亜型のIAV-Sと判定された(図3)。

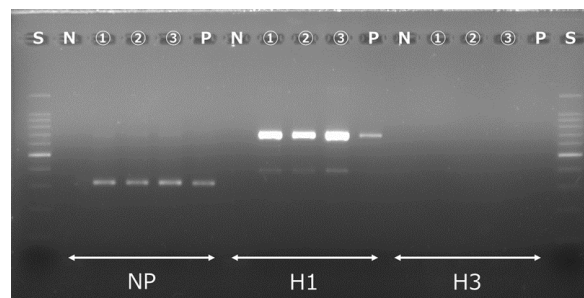


図3 MDCK細胞培養上清のPCR泳動像

なお、全検体を接種した CPK 細胞で CPE は認められず、CSFV、ASFV、PRRSV 及び PCV2 を標的とした PCR 法ではいずれの検体からも特異遺伝子は検出されなかった。

分離 IAV-S の遺伝学的解析について、得られた塩基配列を用いて分子系統樹解析を実施したところ、当該ウイルスは、日本固有の古

典的系統の HA 遺伝子である H1、ヒトの初期香港型の NA 遺伝子である N2 を保有する H1N2 亜型ウイルスと判明した (図 4 及び図 5)。

また、全 8 分節の塩基配列について BLAST 検索を実施したところ、内部構造タンパクをコードする 6 遺伝子 (PB1、PB2、PA、NS、M 及び NP) は、全て 2009 年にパンデミックを起こした A/H1N1pdm09 由来と判明した (表 1)。

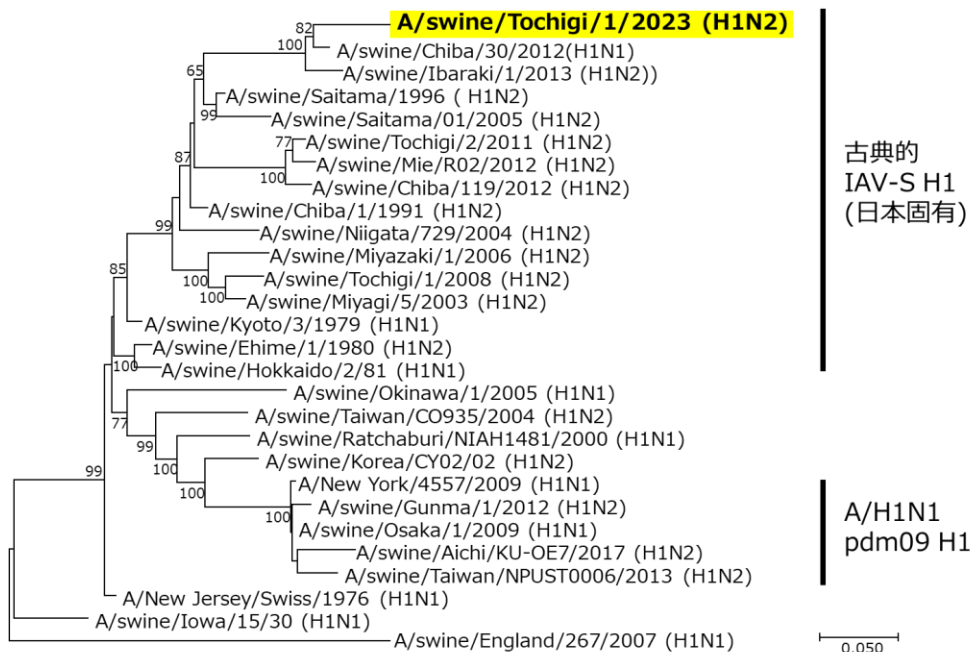


図 4 分子系統樹解析 (H1 : HA 遺伝子)

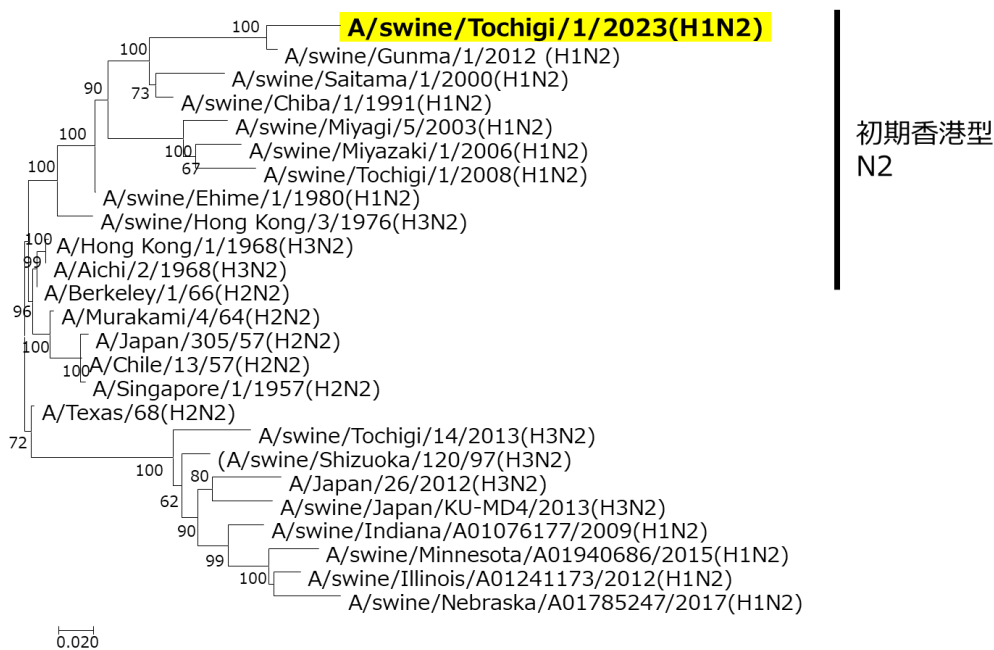


図 5 分子系統樹解析 (N2 : NA 遺伝子)

表1 BLAST 検索結果

分節	株名	一致率	由来
HA	A/swine/Chiba/30/2012(H1N1)	94%	古典的IAV-S (日本固有)
NA	A/swine/Gunma/1/2012 (H1N2)	95%	H3N2 (初期香港型)
PB1	A/Santa Cruz/12541/2009(H1N1)	96%	A/H1N1pdm09
PB2	A/Moscow/IIV01/2009(H1N1)	96%	A/H1N1pdm09
PA	A/swine/Taiwan/CH-1204/2009(H1N1)	96%	A/H1N1pdm09
NS	A/Lyon/969/2009(H1N1)	97%	A/H1N1pdm09
M	A/Singapore/GP4353/2010(H1N1)	97%	A/H1N1pdm09
NP	A/Finland/799N/2010(H1N1)	97%	A/H1N1pdm09

発生農場での HI 法の陽性率は、令和 3~5 年  
度にそれぞれ 13% (4/30 頭)、95% (41/43 頭)  
、84% (47/56 頭) となり、HI 価の幾何平均値  
は、6.6 倍、51.8 倍、38.5 倍と推移した (図 6  
 )。

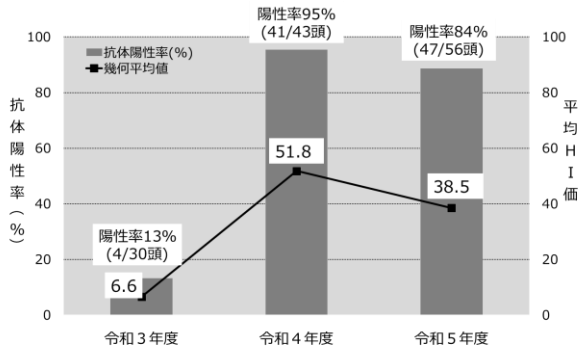


図6 発生農場の抗体検査 (IAV-S) 結果

### (3) 細菌学的検査

いずれの臓器からも、有意菌は検出されな  
かった。

### (4) 病理組織学的検査

3 頭に共通して肺の HE 染色像では、肺胞の  
間質が肥厚しており (図 7)、間質性肺炎が認  
められた。

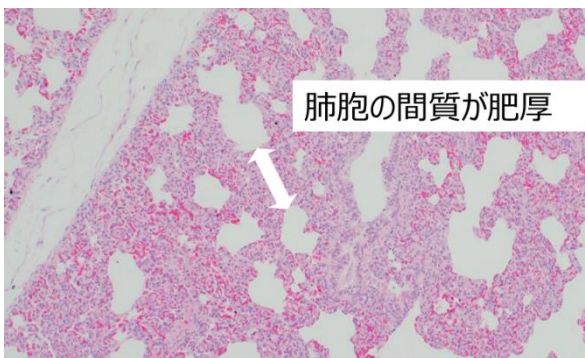


図7 肺 HE 染色 弱拡大

また、A 型インフルエンザ抗体を用いた免疫  
染色を実施したところ、細気管支上皮細胞内  
に陽性反応が確認された (図 8)。

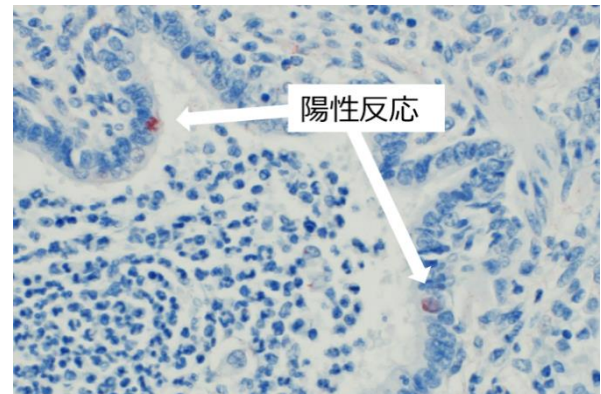


図8 細気管支上皮 免疫染色 強拡大

## 2 浸潤状況調査

抗体陽性農場は、令和 3 年度では 3 市町で認  
められ、農場陽性率は那須町で 80%と高く、  
他の 2 市 (大田原市、那須塩原市) は 30%程  
度であった。令和 4 年度は抗体陽性農場が那須  
烏山市を除く 4 市町に拡大し、令和 3 年で陽性  
となった 3 市町も農場陽性率が上昇した。令和  
5 年度では管内全域 (5 市町) で抗体陽性農場  
が確認され、令和 3 年度から陽性を示した 3 市  
町では前年より低下したものの、継続して高  
い陽性率となった (図 9)。

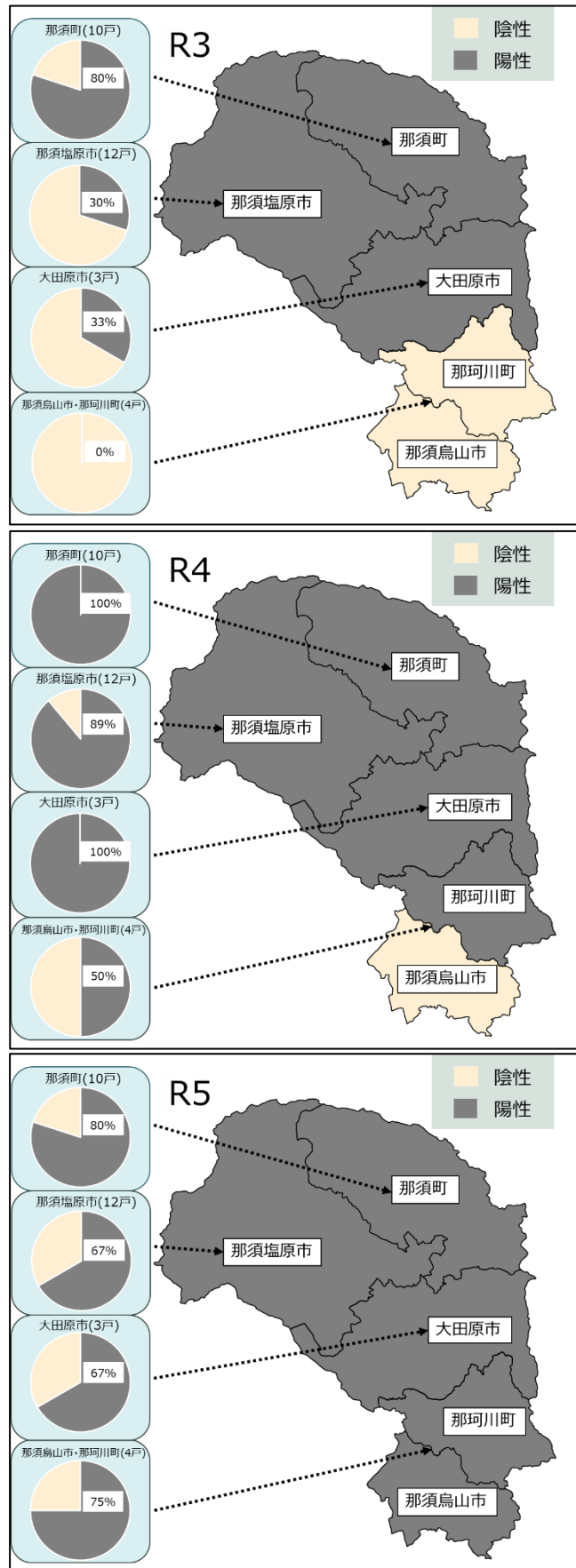


図9 市町浸潤状況、農場陽性率

管内全域の農場陽性率は 46% (12/26 戸)、87% (20/23 戸)、72% (21/29 戸) (図 10) と推移した。

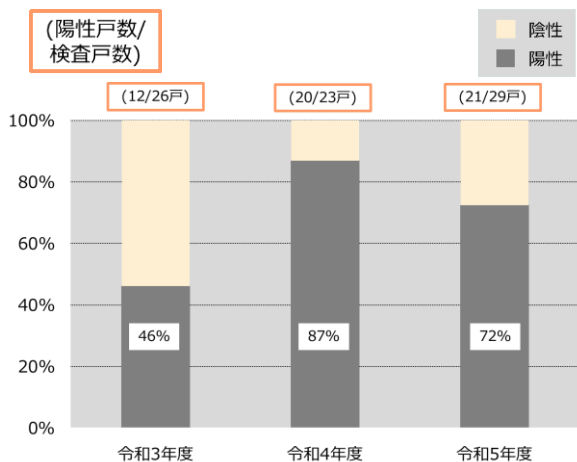


図 10 管内全域の農場陽性率

また、個体陽性率は 32% (41/129 頭)、75% (86/114 頭)、62% (90/145 頭) と推移した。各年度の HI 価の幾何平均値は、9.4 倍、31.2 倍、19.0 倍と推移した (図 11)。

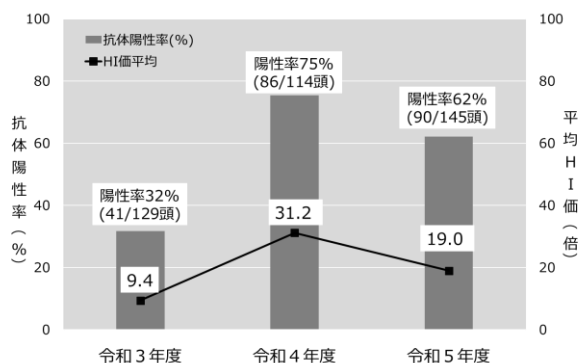


図 11 管内全域の個体陽性率

3 年連続で検査を実施した 21 農場を対象に、各農場の浸潤状況の推移を調査した結果を図 12 に示した。3 年連続して抗体陽性となった農場は 8 戸で、調査期間中、抗体陰性を維持した農場は 1 戸のみであった。なお、3 年連続で抗体陽性となった 8 戸はいずれも飼養頭数 5,000 頭以上の大規模農場であった。

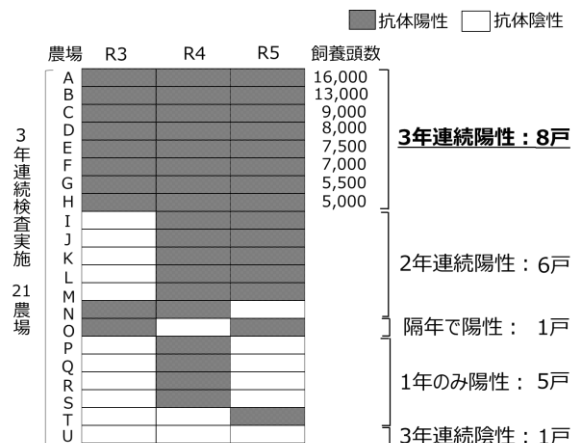


図 12 各農場の浸潤状況推移

### まとめ及び考察

病性鑑定の結果、解剖豚の肺 3 検体から H1N2 亜型の IAV-S が分離され、PRRS 等そのほかの病原体は検出されなかった。したがって、本症例を発熱及び発咳を伴う SI の単独感染例と診断した。ただし、発生豚舎ではレンサ球菌症を疑う後肢麻痺等の神経症状を呈する豚も見られたことから、検出はされなかったものの他疾病との重複感染による影響も否定できない。なお、発生農場では病性鑑定以降、他の離乳舎 3 棟でも症状が確認され、完全終息まで約 1 か月半を要していることから、本疾病の伝播力の高さが裏付けられた。

また、当該農場の過去 3 年間の血清を用いた抗体検査の結果から、前年の令和 4 年から今回の分離株と同じ系統と思われる H1 遺伝子を保有した IAV-S の流行が確認された。当該農場では令和 4 年の 4 月から導入日齢を 25 日齢に早めており、初めて冬期に若齢豚を飼養したこと、発生時期の日較差が 20℃程度あり寒暖差が大きい時期であったこと等の影響が疑われるが、今回の被害拡大の要因は特定できなかった。

管内浸潤状況調査では、令和 3 年度から令和 4 年度にかけて農場陽性率、個体陽性率ともに

急激に上昇した。このことから、発生農場と同様、令和4年度以降、管内全体においても古典的系統の H1 遺伝子を保有した IAV-S が広範に流行したことが判明した。

峯ら<sup>3)</sup>による2015年から2023年にかけて1道14県で行われた調査では、国内 IAV-S の HA 遺伝子は大きく3つの系統 (1A.1 Classical swine H1、A/H1N1pdm09 H1、ヒト季節型 H3) に分類された<sup>3)</sup>。1A.1 Classical swine H1、いわゆる古典的系統の H1 遺伝子は、1970年代に H1N1 亜型ウイルスとして国内に侵入し、1980年代以降は NA 遺伝子がヒトの香港型ウイルスに置き換わった H1N2 亜型ウイルスとして進化を続けてきた。その後、ヒトでパンデミックを起こした A/H1N1pdm09 とのリアソータンにより、HA 及び NA 遺伝子を除く内部遺伝子が全て置換された H1N2 亜型ウイルスとして進化を遂げた。峯らの調査においても関東地方を中心に古典的系統の H1 遺伝子を保有した IAV-S が浸潤していることが報告されており、管内で確認された広範な流行を裏付けている。

ヨーロッパの多くの豚群では、抗体を持たない若齢豚や導入豚などに IAV-S が継続的に不顕性感染しているものと考えられており、IAV-S が侵入した農場では定期的に急性呼吸器病が発生する傾向があると推察されている<sup>4)</sup>。今回の調査で、3年連続で抗体陽性を示した8戸の農場は全て飼養頭数5,000頭以上の大規模農場であり、これらの農場ではウイルスが常在している可能性が考えられた。一般的に、大規模農場では豚の導入や移動が頻繁にあるため、IAV-S 浸潤状況に影響していると疑われ、ウイルス侵入防止には導入豚の隔離徹底が重要と思われた。

本疾病の動態を把握するには感染抗体の検出が不可欠で、本ウイルスの抗体検査法とし

て HI 法及び ELISA 法などが一般的に知られている<sup>1, 2)</sup>。我が国において、豚群における IAV-S の浸潤状況調査ないし抗体保有状況調査には主に HI 法が用いられてきた<sup>5, 6, 7)</sup>。その地域の豚群に流行している亜型、もしくは侵入が危惧される亜型の特定が可能であれば、HI 法はその HA 亜型の特異性の高さから有用な手法と考えられる。一方、サーベイランス時のスクリーニング法としては、手技が簡便かつ H1 以外の亜型ウイルス抗体など A 型インフルエンザウイルス抗体を幅広く検出可能な ELISA法が適していると思われた。今後は H3 亜型等の複数の抗原を用いた HI 法及び ELISA 法の成績を比較検討することで、サーベイランス時の ELISA 法の有用性を評価しつつ、地域の浸潤状況をより正確に把握し、養豚農家の生産性向上に寄与していきたい。

#### 謝辞

分離 IAV-S の全ゲノムシーケンスを実施していただき、塩基配列の提供にも快く応じてくださいました、農業・食品産業技術総合研究機構動物衛生研究部門 人獣共通感染症研究領域 新興ウイルスグループの峯淳貴先生に深謝します。

#### 参考文献

- 1) Olsen, C.W. et al. 2006. Diseases of Swine, 9th ed. (Straw, B.E. et al eds), Blackwell Publishing, Ames.
- 2) OIE. Swine Influenza. Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals 2008. Chapter 2.8.8 Accessed 15-Jan-2010. Available from [http://www.oie.int/eng/normes/mmanual/2008/pdf/2.08.08\\_SWINE\\_INFLUENZA.pdf](http://www.oie.int/eng/normes/mmanual/2008/pdf/2.08.08_SWINE_INFLUENZA.pdf)

- 3) 峯. 2023. 日獣会誌. 76: 448-452
- 4) Brown, I.H. 2000. *Vet. Microbiol.* **74**: 24-46
- 5) 江藤正信ほか. 1979. 日獣会誌. 32: 21-25
- 6) Goto, H. et al. 1992. *J. Vet. Med. Sci.* **54**: 235-241
- 7) Katsuda, K. et al. 1995. *J. Vet. Med. Sci.* **57**: 773-775