

【短報】

沖縄県で発生した豚熱の病性鑑定の概要

渡嘉敷 美波¹⁾ 石井幸子¹⁾ 高木和香子²⁾

1)家畜衛生試験場 2)畜産課

【はじめに】

2020 年 1 月、沖縄県で豚熱 (CSF) が 33 年ぶりに発生し (図 1)、当該で疾病診断のための検査を実施したので、その概要について報告する。

発生概要

2020年1月、本県で豚熱が33年ぶりに発生

【初発農場概要】

所在地：沖縄県うるま市

通報日：2020年1月6日

飼養形態：肥育農場（飼養頭数：422頭）

稟告：12月20日以降で肥育豚が50頭死亡

【続発農場概要】

	通報日	飼養形態	備 考
2例目	1/8	一貫	1例目に隣接
3例目	1/8	一貫	発生状況確認検査で摘発
4例目	1/14	肥育	異常豚通報
5例目	2/1	肥育	異常豚通報
6例目	2/24	肥育	異常豚通報
7例目	3/10	肥育	6例目に隣接

図 1 発生概要

【材料と方法】

防疫指針に基づき、異常豚通報時の病性鑑定、発生農場疫学調査、発生状況／清浄性確認検査、疫学関連監視、制限区域出荷豚検査、野生イノシシ調査において、その目的に応じ延べ7,541検体、環境材料448検体を定法に従って実施した(図2)。

材料

I 材料（2020年1月～4月）

目的	検査内容	検体数
異常豚通報時の病性鑑定	血球数測定、PCR、ELISA、FA	893
殺処分前検査	血球数測定、PCR、ELISA	753
発生農場疫学調査・ 疫学関連監視	血球数測定、PCR、ELISA	680
発生状況検査	血球数測定、PCR、ELISA	2721
清浄性確認検査	血球数測定、PCR、ELISA	2006
制限区域出荷豚検査	PCR	454
野生イノシシ調査	PCR	34

図2 材料 検査目的と検査内容

1. 検査体制: 検体は農場から当场へ直接搬入され、車両消毒、検体受取、検体処理、各種検査は担当専

従で行い、バイオセキュリティを考慮した動線の確保を徹底した(図3、図4)。

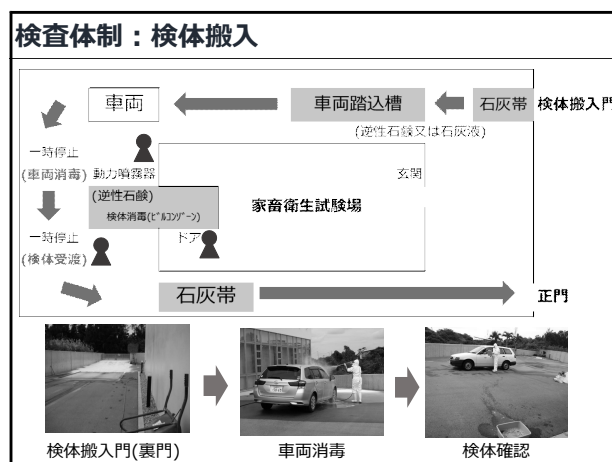


図3 検査体制 検体搬入

検査体制：検体受け取り→検体処理

バイオセキュリティを考慮した動線の確保を徹底

- ①検体消毒→②検査棟内→③検体確認→④検体処理へ
- 受取～検査容器消毒、検体管理・処理、各検査（PCR、血球数測定、FA、ELISA）について専任とした

※特にPCR検査従事者は検体処理を行わない

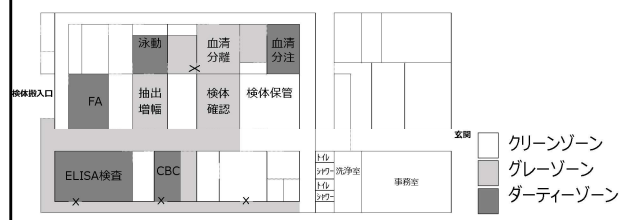


図4 検査体制 検体受け取りと検体処理

2. 血球数測定: EDTA 加血液を用い実施(白血球 (WBC) 1 万個/ μ l 以下を陽性)。
3. 遺伝子検査: 血清、臓器(扁桃、脾、腎)、環境材料を用い遺伝子抽出、ペスチウイルス RT-PCR、RFLP 解析 (*Bgl*Ⅰ、*Pst*Ⅰ)、アフリカ豚熱 (ASFV) PCR を実施。
4. 蛍光抗体法 (FA): 扁桃を用い実施。
5. 抗体検査: 非働化血清を用い CSF-ELISA を実施。
2. 遺伝子解析(動衛研実施): 5' UTR 領域 (150 bp) について実施。

材料と方法

II 方法

- 血球数測定**：EDTA加血液
全自動血球計数器、**白血球(WBC)1万個/μl以下を陽性**
- 遺伝子検査**：血清、臓器(扁桃、脾、腎)、環境材料
 - ①ペスチウイルスRT-PCR
 - ②RFLP解析(*Bgl*1、*Pst*1)
 - ③アフリカ豚熱(ASFV)PCR
- 蛍光抗体法(FA)**：扁桃
豚コレラ診断用蛍光抗体／京都微研
- 抗体検査**：非働化血清
豚コレラエライザキット／ニッポンジーン
- 遺伝子解析(動衛研実施)**：発生農場由来株
5'UTR領域(150 bp)

図5 検査方法

●2例目

農場概要

飼養形態	一貫
飼養頭数	874頭

経緯

12月下旬
死亡頭数が増加
1月7日
1例目陽性による病性鑑定
→陽性
1月8日
疑似患畜確定

陽性数／検査数(陽性率)

※ELISAは疑陽性を含む

- 血球数測定**
 - 病性鑑定 5/22(22.7%)
 - 殺処分前 NT
- CSF-PCR**
 - 病性鑑定 血清 6/45(13.3%)
 - 臓器 9/9 (100%)
 - 殺処分前 NT
- FA** 0/1 (0%)
- CSF-ELISA**
 - 病性鑑定 3/31(9.7%)
 - 殺処分前 NT

1例目と比較すると検査陽性率は低い

図7 病性鑑定結果 2例目

【結果】

各発生農場の病性鑑定結果(病鑑受付日、飼養形態、摘発頭数／検査頭数)は、1例目(1月6日、肥育、6／10)、2例目(1月8日、一貫、6／45)、3例目(1月8日、一貫、8／51)、4例目(1月14日、肥育、5／15)、5例目(2月1日、肥育、25／31)、6例目(2月24日、肥育、7／30)、7例目(3月10日、肥育、10／60)であった。発生農場7戸の陽性率は、異常豚病性鑑定でWBC数0～53.8%、血清PCR15.7～80.6%、臓器PCR16.7～100%、FA0～100%、ELISA3.9～53.3%、発生農場疫学調査で血清PCR6.1～85%、環境PCR0～26%、ELISA0～30%であった(図6～12)。

●3例目

農場概要

飼養形態	一貫
飼養頭数	3,012頭

経緯

1月8日
1例目発生状況確認検査
→陽性
1月9日
病性鑑定
1月10日
疑似患畜確定

陽性数／検査数(陽性率)

※ELISAは疑陽性を含む

- 血球数測定**
 - 病性鑑定 10/45(22.2%)
 - 殺処分前 0/26 (0%)
- CSF-PCR**
 - 病性鑑定 血清 8/51(15.7%)
 - 臓器 9/9 (100%)
 - 殺処分前 2/33(6.1%)
- FA** 3/3(100%)
- CSF-ELISA**
 - 病性鑑定 2/51(3.9%)
 - 殺処分前 0/36(0%)

一部の離乳豚房と分娩舎のみで陽性

図8 病性鑑定結果 3例目

結果：病性鑑定

●1例目

農場概要

飼養形態	肥育
飼養頭数	422頭

経緯

11月下旬
食欲不振・死亡頭数が増加
12月20日
抗生物質による治療開始
1月6日
家保へ通報
1月8日
疑似患畜確定

陽性数／検査数(陽性率)

※ELISAは疑陽性を含む

- 血球数測定**
 - 病性鑑定 1/10(10%)
 - 殺処分前 8/40(20%)
- CSF-PCR**
 - 病性鑑定 血清 6/10(60%)
 - 臓器 1/1 (100%)
 - 殺処分前 68/80(85%)
 - 環境材料 13/50(26%)
- FA** 1/1(100%)
- CSF-ELISA**
 - 病性鑑定 5/10(50%)
 - 殺処分前 24/80(30%)

通報の遅れによる高い農場内浸潤率

図6 病性鑑定結果 1例目

●4例目

農場概要

飼養形態	肥育
飼養頭数	1,717頭

経緯

1月8日
1例目発生状況確認検査
→陰性
1月14日
異常豚通報(起立不能)
1月15日
疑似患畜確定

陽性数／検査数(陽性率)

※ELISAは疑陽性を含む

- 血球数測定**
 - 病性鑑定 3/13(23.1%)
 - 殺処分前 8/40(20%)
- CSF-PCR**
 - 病性鑑定 血清 5/15(33.3%)
 - 臓器 5/6 (83.3%)
 - 殺処分前 15/50(30%)
- FA** 2/2(100%)
- CSF-ELISA**
 - 病性鑑定 8/15(53.3%)
 - 殺処分前 5/50(10%)

全豚舎で陽性

図9 病性鑑定結果 4例目

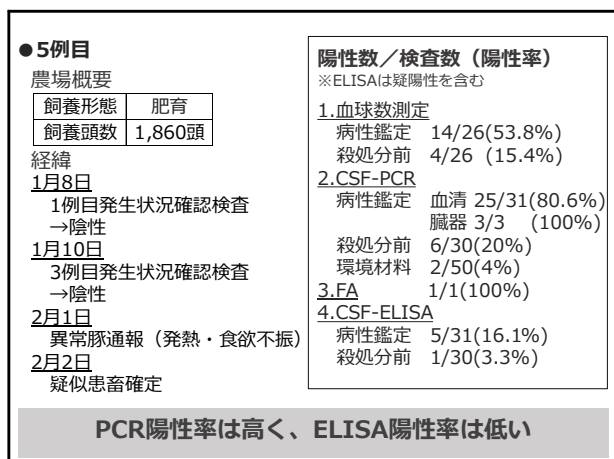


図 10 病性鑑定結果 5 例目

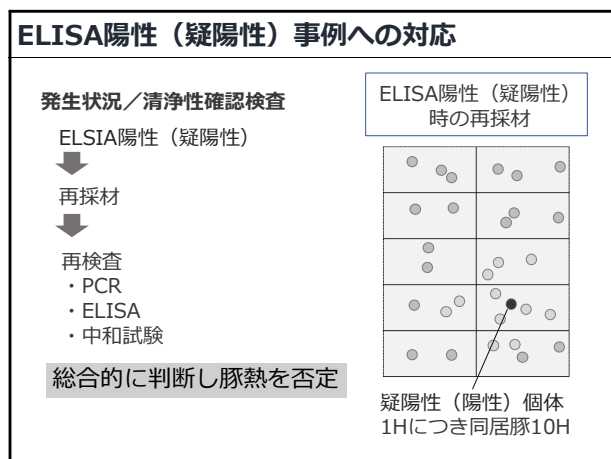


図 13 ELISA 陽性(疑陽性)事例への対応

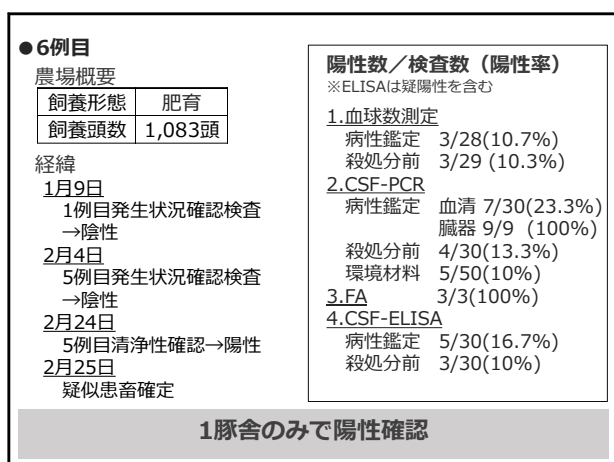


図 11 病性鑑定結果 6 例目

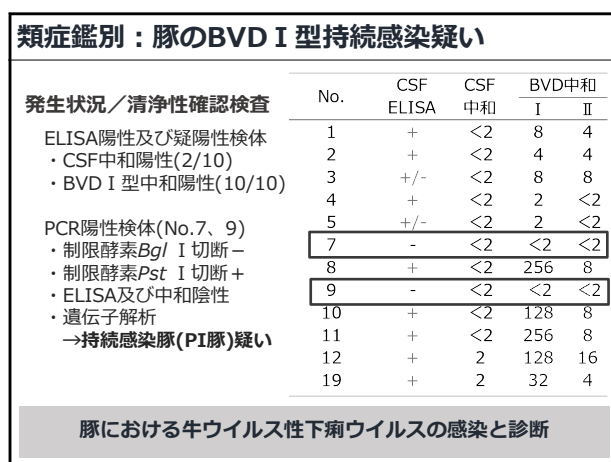


図 14 豚の BVD I 型持続感染疑い

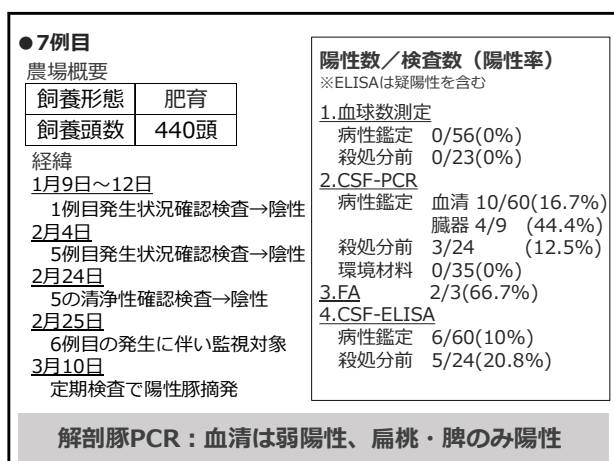


図 12 病性鑑定結果 7 例目

発生状況／清浄性確認検査では、一部農場で PCR、ELISA で陽性または疑陽性が確認されたが、再検査で総合的に判断し豚熱を否定した(図 13)。うち 1 戸で牛ウイルス性下痢 (BVD) I 型持続感染豚が摘発された事例があった(図 14)。

出荷豚とイノシシは全て PCR 陰性を確認した。また、遺伝子解析の結果、沖縄分離株は 2019 年の岐阜県野生イノシシ分離株と近縁であった(図 15)。

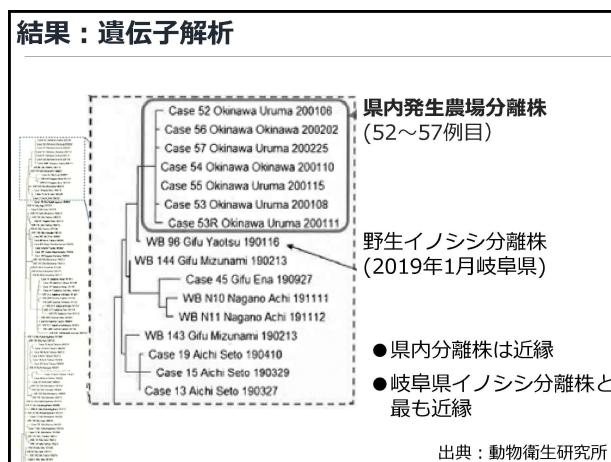


図 15 遺伝性解析結果

【まとめと考察】

一貫農場では肥育農場と比較して検査陽性率が低かったことから、侵入時期や飼養形態等が関与して農場内ウイルス浸潤状況は様々であり、確認検査において、農場全体からサンプリングする重要性が示された。発生農場のうち 6 戸では各検査において明瞭な陽性反応を示したが、重点監視定期検査で摘発された 7 例目の解剖豚 PCR のうち 1 頭で血清弱陽性、扁桃・脾臓陽性となり、疑似患畜の確定には解剖豚の臓器 PCR が必要であることが分かった(図 16)。

まとめと考察①

- 一貫農場では比較的検査陽性率が低い
→飼養形態によるウイルス浸潤状況の違いがある
→農場全体からサンプリングし検査することが重要
- 発生農場のうち6戸では各検査において明瞭な陽性反応
- 7例目の解剖豚PCRのうち1頭で血清弱陽性、扁桃・脾臓陽性
→疑似患畜確定には解剖豚の臓器PCRが必要

図 16 まとめと考察①

発生状況／清浄性確認検査では、ELISA 検査において陽性、疑陽性の非特異反応がしばしば確認された。一部農場で CSF と交差する BVD 感染豚が病性鑑定の妨げとなったことから、検査結果を総合的に判断することの重要性を再認識した。また、制限区域内出荷豚と野生イノシシは全て PCR 陰性であり、発生期間中の野生イノシシへの感染はなく、本県のウイルス侵入はうるま市と沖縄市に局限していたと示唆された。今回の検査においては、バイオセキュリティを考慮した検査体制の整備によりウイルスの施設内汚染防止が図られ、迅速かつ的確な診断に繋がった(図 17)。

病性鑑定：まとめと考察②

- ELISA検査の非特異反応（陽性・疑陽性）
- 豚熱のPCR及びELISA検査はBVDと交差
→検査結果を総合的に判断することが重要
- 制限区域出荷豚検査454頭は全てPCR陰性
- 野生イノシシ検査34頭は全てPCR陰性
→野生イノシシへの感染なし
→ウイルス侵入はうるま市・沖縄市に局限
- バイオセキュリティを考慮した動線と作業を徹底
→良好な検査体制を構築できた

図 17 まとめと考察②