

県内豚ウイルス疾病 2 症例の遺伝子学的解析

香川県東部家畜保健衛生所

○中津弥乃梨、上村圭一

背景・目的

豚流行性下痢 (PED) は、平成 25 年の全国的発生以降、現在まで断続的に発生しており、県内では令和 4 年 12 月、養豚場 A で PED ウイルス (PEDV) が 8 年ぶりに検出された。一方、豚繁殖・呼吸障害症候群 (PRRS) は国内で平成 20 年に PRRS ウイルス (PRRSV) Cluster IV が検出されて以降、四国や東日本に拡大しており、県内では令和 6 年 12 月、養豚場 B で 2 年ぶりに検出された。この 2 症例のウイルスの遺伝子学的解析を実施したので報告する。

農場概要

養豚場 A：肥育豚 1500 頭飼養の肥育農場で、令和 4 年 12 月、平均死亡頭数が 3.4 頭/日のところ 24 日以降に死亡頭数 5~11 頭/日と増加し累計 95 頭になった。併せて 16~18 日に下痢軟便が 770 頭に増加したことから、28 日に立ち入り検査を実施した。なお、当該農場は PED ワクチン未接種である。

養豚場 B：母豚 600 頭飼養の一貫経営農場で、平成 29 年までに Cluster II、30 年以降に Cluster IV の PRRSV の侵入が確認されている。当該農場で母豚で令和 6 年 11 月下旬以降、離乳豚で 12 月以降に死亡頭数が増加したため、12 月 11~18 日にかけて病性鑑定を実施した。ワクチンは PRRS 未接種、サーコウイルス 2 型 (PCV2) は 21 日齢及び繁殖候補豚に接種している。

材料・方法

養豚場 A: 死亡豚 1 頭 (扁桃、主要 5 臓器、リンパ節、腸管内容物)、同居豚糞便 5 検体、同居豚血清・血液 10 検体を用い、ウイルス学的検査 (PCR (豚熱ウイルス、アフリカ豚熱ウイルス、PEDV、伝染性胃腸炎ウイルス、PRRSV、豚インフルエンザウイルス、デルタコロナウイルス、A/B/C 群ロタウイルス))、細菌学的検査 (分離、サルモネラ検査、PCR (マイコプラズマ))、血液検査を実施した。病理組織学的検査は死後変化高度のため検査不適となった。

養豚場 B: 離乳豚 9 頭・母豚 1 頭 (扁桃、主要 5 臓器、リンパ節等)、同居豚血清・血液が哺乳豚、母豚各 10 検体で、ウイルス学的検査 (PCR (豚熱ウイルス、

アフリカ豚熱ウイルス、PRRSV、PCV2 及び 3 型 (PCV3)、豚インフルエンザウイルス)、細菌学的検査(分離、PCR (マイコプラズマ))、血液検査、病理組織学的検査を実施した。

結果

養豚場 A : ウイルス検査では、PCR 検査の結果、死亡豚の空腸及び結腸内容物、並びに同居豚糞便全検体から PEDV を検出した。他のウイルスは不検出であった。細菌検査では死亡豚の扁桃、肝臓、脾臓、腎臓、心臓から豚丹毒菌が分離された。

PCR で PEDV を検出した死亡豚空腸内容物、同居豚糞便 3 検体を用いて PEDV S1 領域 611bp を標的としたシーケンス解析を実施した。各検体の塩基配列は 100%一致し、ワクチン株の相同性は 96-P4C6 : 93.45%、P-5V : 96.72%であった。さらに詳細に解析するため、死亡豚空腸・結腸内容物、同居豚糞便 2 検体を用いて S1 領域全長を標的としたシーケンス解析を動衛研に依頼した (図 1.)。検出ウイルスを含む系統樹の拡大像を図 2. で示す。検出ウイルスは平成 27 年以降のウイルスと同じ分岐に属しており、検出ウイルスと最も近縁な株は令和 4 年の韓国株 99.37%であった。国内株で最も近縁な株は 26 年の青森株 98.69%であり、平成 25 年シーズン初発の沖縄株と 26 年の香川株は 98.60%であった。なお、今回の解析に使用した国内最新株は平成 28 年であることに留意する必要がある。

図 1. PEDV S1 領域 2221bp 分子系統樹

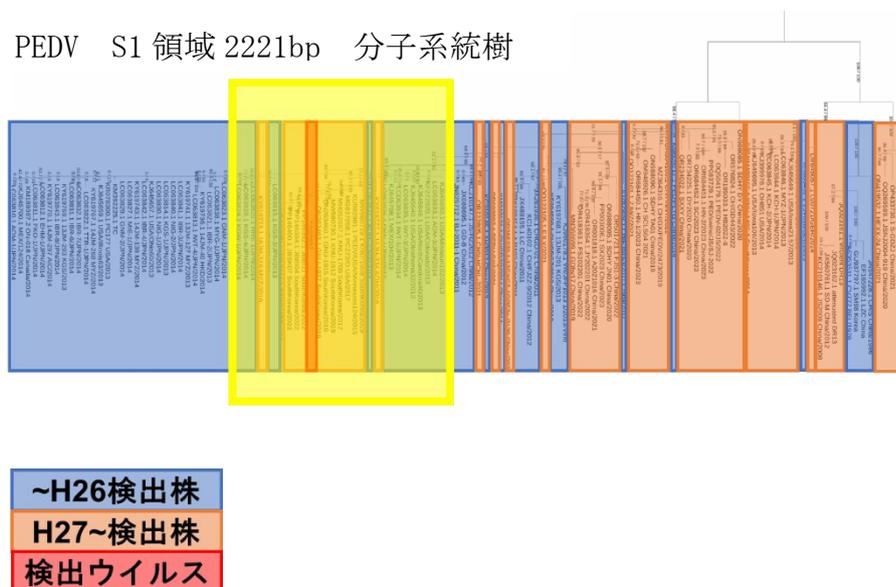


図 3. 同居豚血液検査（一部）

同居豚	体温	白血球数(/ μ L)
哺乳豚1	41.85	5,820
哺乳豚2	38.53	11,040
哺乳豚3	40.57	8,780
哺乳豚4	40.77	9,480
哺乳豚5	39.73	16,850
哺乳豚6	38.35	18,600
哺乳豚7	34.52	10,710
哺乳豚8	38.50	8,500
哺乳豚9	40.10	2,320
哺乳豚10	35.22	13,060
母豚1	38.63	20,010
母豚2	37.20	26,340
母豚3	40.74	11,080
母豚4	38.50	18,320
母豚5	39.03	24,360

図 4. ウイルス・細菌検査（一部）

材料	豚No.	ウイルス検査(PCR)			細菌検査(分離)		
		PRRSV	PCV2	PCV3			
病性 鑑定豚 (鑑定殺 /死亡)	離乳豚	1	+	-	-	NT	
		2	+	-	-	NT	
		3	+	-	-	NT	
		4	+	-	-	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> <i>Proteus mirabilis</i>	
		5	+	-	-	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	
		6	+	-	-	<i>Streptococcus gallolyticus</i> <i>ssp pasteurianus</i> <i>Trueperella pyogenes</i>	
		7	+	-	-	-	
		8	+	-	-	<i>Streptococcus equinus</i>	
		9	+	-	-	-	
	母豚	1	+	+	+	-	
	同居豚 血清	離乳豚	1~10	+(10/10)	-	+(1/10)	NT
	母豚	11~20	+(6/10)	-	+(5/10)	NT	

PRRSV 検出検体のうち、哺乳豚 2 頭、母豚 1 頭の扁桃、及び同居豚（哺乳豚 1 頭、母豚 1 頭）の血清を用いて、オープンリーディングフレーム 5 (ORF5) 遺伝子を標的としたシーケンス解析を実施し、分子系統樹を作成した。検出ウイルスは 2 種類あり、いずれも Cluster IV に分類され、ワクチン株とも区別された（図 5.）。Cluster IV の拡大図を図 6. に示す。Cluster IV を検出した H30 以降の県内ウイルスは、農場ごとではなく年代別のグループに分岐する傾向にある。養豚場 B は、平成 30、令和 1 及び令和 2~6 年と分岐しており、令和 2~6 年を拡大すると（図 7.）、令和 2 年から 4 年へ 2 検体、4 年の 2 検体からそれぞれ 6 年の各 2 検体に分岐している。このことから、検出ウイルスは、当該農場で過去に検出されたウイルスから経時的に変化していることが示唆された。

さらに、検出ウイルスと当該農場の過去のウイルスとの相同性を調べた（図 8.）。検出ウイルス同士の相同性は 95.21% だった。R6-1 は初期のウイルスと近縁である一方、R6-2 は初期よりも令和 4 年のウイルスと比較的近縁であった。このことから、検出ウイルスは農場内の過去のウイルスと比べ、塩基配列が変異していることが示唆された。

図 5. PRRSV ORF5 遺伝子
分子系統樹

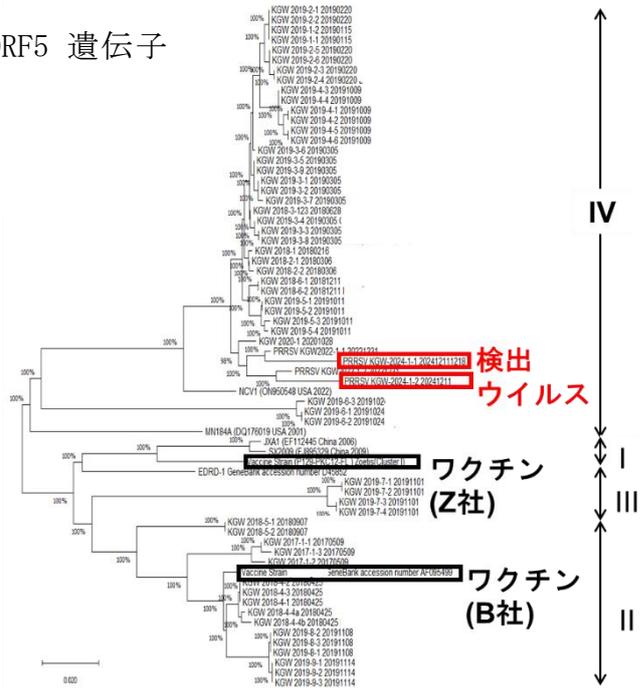


図 6. PRRSV ORF5 遺伝子
分子系統樹 Cluster IV 拡大図

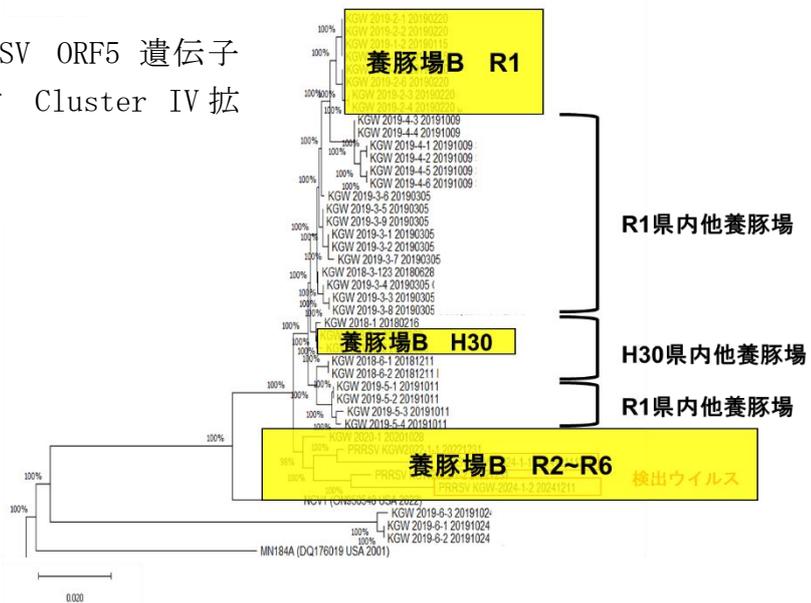


図 7. PRRSV ORF5 遺伝子 分子系統樹
Cluster IV 養豚場 B R2~6 拡大図



図 8. PRRSV ORF5 遺伝子
R6 年検出ウイルスと同農場過去検出検体との類似性解析

検出ウイルスとの相同性(%)

塩基配列相同性(%)		R6-1	R6-2
養豚場B	R6-1	/	95.21
	R6-2	95.21	/
	R4-1	97.68	95.87
	R4-2	97.18	97.18
	R2	98.15	94.72
	R1	99.50~100	94.88~95.21
	H30	98.84~99.00	95.53~95.70

過去検出
ウイルス

考察

養豚場 A では、死亡豚から PEDV と豚丹毒菌、同居豚の糞便から PEDV が検出されたことから、本症例は PED と豚丹毒と診断された。遺伝子解析の結果、この検出ウイルスは、国内検出株では平成 26 年香川株より同年青森株と近縁であった。最も近縁な株は令和 4 年韓国株で、国内株は平成 28 年までのデータを比較していることから、平成 28 年以降近年流行株が農場に侵入したことが示唆された。なお、当該農場は PED 発生後に農場消毒を指導したところ、その後の PED 再発は確認されなかった。

養豚場 B では、発熱及び白血球減少を認めたが、CSFV は陰性であり、PRRSV が検出された。このことから、豚熱以外でもこれら症状の可能性を留意する必要がある。また、PRRSV が離乳豚全頭、母豚の 64%で検出されたことから、ウイルスは母豚舎農場内にまん延していることが示唆された。一方で、サーコ 2 型と 3 型

は一部の離乳豚及び母豚で検出であった。また、病理組織学的検査で間質性肺炎がみとめられた。このことから、本症例は PRRSV と診断した。本症例では 2 種類のウイルスが検出され、それぞれ令和 4 年検出ウイルスから分岐していた。また、平成 30 年以降の当該農場ウイルスと近縁だが、塩基配列の変異が認められた。このことから、平成 30 年に侵入のウイルスが経時的に変化している可能性がある。

今回、県内検出の PEDV 及び PRRSV の遺伝子学的解析を実施した。養豚場 A は外部からのウイルス侵入による発生だが、消毒後の PED の発生はなかった。一方養豚場 B では、農場内でのウイルス循環に起因する PRRS 再発が示唆された。ウイルスの特徴や農場のシステム・環境により、対策方法は様々なので、農場毎の疾病対策が重要だと考えられた。

謝辞

PEDV の遺伝子学的解析を実施していただいた、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動物感染症研究領域ウイルスグループ 須田遊人先生に深謝いたします。