2021年1月15日

拡大豚熱疫学調査チーム

第14回拡大豚熱疫学調査チーム検討会の結果概要

今回の検討会では、令和2年12月25日及び29日に山形県と三重県でそれぞれ確認された60例目、61例目の豚熱発生事例について、現時点で判明している事実関係をもとにして農場へのウイルス侵入要因等を検討した。また、令和2年9月26日に群馬県で確認された59例目の豚熱発生事例については、10月7日に開催された第13回拡大豚熱疫学調査チーム検討会において検討、その結果を公表したところだが、今般、分離ウイルスの遺伝子学的性状解析等の結果が判明したことから、その結果も踏まえ、ウイルスの侵入要因の検討を行った。概要は以下のとおり。

1. 発生事例に関する調査結果及び考察

これまでに得られた検査結果や疫学調査結果等から、各発生事例のウイルスの侵入時期、農場及び豚舎へのウイルスの侵入要因について推定し、比較的可能性の高いものを記載した。

【60例目】

(1) 農場概要

所在地：山形県鶴岡市

飼養状況：肥育農場（飼養頭数：1,250頭）

発生日：2020年12月25日

(2) 農場見取図

(3) 経緯

2020年

9月11日 山形県を豚熱ワクチン接種推奨地域に設定

9月29日 県内農場の初回ワクチン接種開始

12月3日 当該農場での初回ワクチン接種

(この際、と畜場への出荷の20日前までワクチン接種が認められていないため、出荷が近い豚(飼養豚の5分の2程度)は、接種が行われなかった。)

ワクチンを接種した家畜保健衛生所職員によると、飼養豚に特段の異状なし

12月4日 ワクチン未接種群で2頭死亡

12月9～14日 ワクチン未接種群を中心に1日当たり2～5頭死亡。この頃、強風で発生豚舎の上部の外壁の一部が破損(発生2日前に修繕するまで寒気が流入)していたため、管理人は寒冷による事故と判断。この間、本社には死亡頭数を報告

12月15日 隣接する複数の豚房で7頭の死亡が確認されたため、管理人は異状を認識

12月18日 16頭の死亡を確認

本社社員が来場し、肺炎を疑い、当該豚群に抗生剤を投与

12月24日 抗生剤投与後も死亡頭数が増加(12月19～24日までの死亡頭数は6～22頭)したため、管理獣医師から家畜保健衛生所に通報

12月25日 病性鑑定の結果、PCRとELISAで陽性
農研機構動物衛生研究部門での検査の結果、患畜と判定

12月26日 殺処分完了(総殺処分頭数は1,250頭)

12月29日 防疫措置完了

(4) 検査結果

病性鑑定（12月24日採材）

	PCR検査 (陽性数/検査数)	陽性率	ELISA検査 (陽性数/検査数)	陽性率	WBC10,000個/μl未満 (陽性数/検査数)	割合	PCR(-)ELISA(+) 頭数
肥育舎 2	3 / 12	25.0%	12 / 12	100.0%	0 / 8	0.0%	9

※12検体中2検体は検体不適のためWBC測定不能。また、2検体は死亡豚のため採血できず。
※PCR陽性3検体中2検体は死亡豚の臓器。

殺処分前検査（12月25日採材）

	PCR検査 (陽性数/検査頭数)	陽性率	ELISA検査 (陽性数/検査頭数)	陽性率	WBC10,000個/μl未満 (陽性数/検査頭数)	割合	PCR(-)ELISA(+) 頭数
肥育舎 1	2 / 20	10.0%	6 / 20	30.0%	1 / 20	5.0%	5
肥育舎 2	0 / 20	0.0%	20 / 20	100.0%	1 / 18	5.6%	20

※2検体は検体不適のためWBC測定不能。

環境材料	3 / 50	6.0%
------	--------	------

殺処分前検査のワクチン接種の有無による検査結果

	PCR検査 (陽性数/検査数)	陽性率	ELISA検査 (陽性数/検査数)	陽性率	WBC10,000個/μl未満 (陽性数/検査数)	割合	PCR(-)ELISA(+) 頭数
未接種	2 / 30	6.7%	17 / 30	56.7%	1 / 28	3.6%	16
12月3日接種	0 / 10	0.0%	9 / 10	90.0%	1 / 10	10.0%	9

※2検体は検体不適のためWBC測定不能。

(5) ウイルスの侵入時期

ワクチン接種農場では、抗体を検出するELISA検査の結果について、検出された抗体が、感染することで生産された可能性、ワクチン接種によって生産された可能性及びワクチン接種歴のある母豚からの移行抗体である可能性が考えられる。また、国内で流行している豚熱ウイルスについては、感染後直ちに死亡することはまれで、感染から2週間以上経過するとELISA検査で抗体が確認されるが、その後のPCR検査が陰転する時期や再び症状が悪化して死亡する可能性といった経過についてはよく分かっていない。このため、感染農場で死亡豚の増加が認められた場合でも、その全てが豚熱ウイルスの感染によるものではない可能性もある。したがって、本農場における死亡豚の発生が全て豚熱ウイルスへの感染によるものとは断定できないが、仮に、死亡の主な原因が豚熱ウイルスの感染によるものであったと考えれば、以下のように解釈できる。

- ① 病性鑑定の結果、死亡豚2頭はいずれもELISA陽性、PCR陽性であった一方で、この2頭の同居豚5頭ずつを検査した結果、10頭全てでELISA陽性、9頭でPCR陰性であったこと、これらの全ての豚はワクチン未接種であったことから、感染から

少なくとも1か月以上を経過しており、かつ、死亡したことには豚熱ウイルスが関与している可能性があること

- ② 当該農場では12月3日に最初のワクチン接種を実施しているが、発生豚舎のワクチン接種豚房でも死亡豚の増加が認められており、ワクチン接種前か、ワクチンが有効な抗体価を発現する前にはワクチン接種豚房でも感染拡大していたと考えられること
- ③ 発生豚舎のワクチン接種豚とワクチン非接種豚で比較すると、ワクチン接種豚で死亡率が低いことから、野外株の感染による影響がワクチンによって減弱された可能性があり、したがって、ワクチン接種群での感染拡大が進んだのは、ワクチン接種による抗体の発現と同じ頃であった可能性があること
- ④ 発生後に実施された同居豚の血液検査の結果、発生豚舎については、ワクチン接種豚5頭と非接種豚15頭の全てがELISA陽性でPCR陽性の個体はいなかったことから、当該豚舎では高度にウイルスが浸潤しており、かつ、多くの豚が感染してから相当の時間が経過していると考えられること

から、当該農場へのウイルスの侵入は、12月上旬までには起こったと考えられるが、侵入からどの程度の期間が経過しているかを推定することは困難である。

(6) 農場への侵入要因

- ① 導入元農場では感染が確認されていないこと、肥育素豚の導入順は豚舎に依存しないにもかかわらず、死亡豚の増加が「肥育舎2」のみで起こっていることから、ウイルスの侵入は導入元の繁殖農場ではなく、当該農場で起こったと考えられること
- ② 当該農場での感染確認の2日前に、約80km離れた新潟県との県境で感染イノシシが確認されている一方、この確認地点と発生農場との間では、イノシシの捕獲調査が十分に行われておらず、農場近隣での感染状況が不明であること
- ③ 農場には防護柵等は設置されていないものの、農場周囲でイノシシの被害の報告はなく、飼養管理者も農場内でイノシシを見たことはないとしていること、一方で、農場から1km以内には山地が迫っており、近隣にイノシシが生息していることは否定できないこと
- ④ 農場に車両が入場する際は車両消毒ゲートで消毒が行われていたが、ゲートの高さやノズルの数が不十分と考えられ、また、動力噴霧器による消毒は行われていなかったこと
- ⑤ 敷料として使用していた糞殻は屋外に保管されていたが、開口部に防鳥ネット等は設置されていなかったため、調査時にはスズメの飛来が多く確認され、糞殻にも大量の糞が確認されたこと、さらに、カラスの飛来や他の野生動物による汚染も想定されること
- ⑥ ウイルスの侵入時期を考慮すると、発生の約2週間前に起こったとされる発生豚舎上部の外壁の破損は、侵入要因と関係があるとは考えにくいこと

から、近隣の感染野生イノシシ由来のウイルスが、車両又は野生動物の出入りを介して、農場に侵入した可能性がある。

(7) 豚舎への侵入要因

- ① 従業員が豚舎に入る際には、踏み込み消毒を実施していたが、長靴の交換は行っておらず、敷料の交換等のため、従業員が豚房内に入る機会がたびたびあったこと
- ② 野生動物によって汚染された可能性がある敷料が、頻繁に豚舎内に搬入されていたこと
- ③ 豚舎では、日中は入り口を開放しており、野鳥が侵入する可能性があったことから、人や野生動物の出入り又は野生動物に汚染された敷料を介して、ウイルスが豚舎内に侵入した可能性がある。

(8) 豚舎内での感染拡大要因

当該農場では12月3日にワクチン接種が実施されたが、と畜場への出荷直前の豚はワクチンの使用が認められていないため、これらの豚については接種が行われなかった。この結果、当該農場は肥育豚のみを飼養する農場であったことから、農場の3割以上の豚房が未接種となり、特に発生豚舎では約6割の豚房で未接種となった。ワクチンの接種前にはすでに感染が起こっていたと考えられるが、農場内で急速に感染拡大したことは、多くの豚がワクチン未接種であったためと考えられる。

【61 例目】

(1) 農場概要

所在地：三重県伊賀市

飼養状況：一貫農場（飼養頭数：7,026頭）

発生日：2020年12月29日

(2) 農場見取図

(3) 経緯

2019年

10月15日 三重県を豚熱ワクチン接種推奨地域に設定

10月25日 県内農場の初回ワクチン接種開始

10月31日 当該農場での初回ワクチン接種

(以降継続的に接種を行っており、2020年7月以降は50~60日齢の豚を対象に毎週接種を実施)

2020年 分娩舎及び離乳育成舎の一部の豚で活力低下を確認。離乳育成舎(13号

12月26日 舎)で3頭、肉豚舎(7号舎)で3頭、肉豚舎(21号舎)で1頭死亡

12月27日 分娩舎(2号舎)で15頭、離乳育成舎(13号舎)で10頭、肉豚舎(7号舎)で3頭死亡

12月28日 分娩舎(2号舎)で20頭、離乳育成舎(13号舎)で9頭、肉豚舎(7号舎)で3頭死亡。2日連続で死亡頭数が多く確認されたことを異状と感じ、家畜保健衛生所に通報。病性鑑定の結果、PCRとELISAで陽性。

12月29日 農研機構動物衛生研究部門での検査の結果、患畜と判定

2021年

1月3日 殺処分完了(総殺処分頭数は7,026頭。)

1月7日 防疫措置完了

(4) 検査結果

病性鑑定 (12月28日採材)

		PCR検査 (陽性数/検査数)	陽性率	ELISA検査 (陽性数/検査数)	陽性率	WBC10,000個/μl未満 (陽性数/検査数)	割合	PCR(-)ELISA(+) 頭数
⑬	13号舎 (離乳育成舎)	14 / 14	100.0%	5 / 11	45.5%	4 / 11	36.4%	0

※14検体中3検体は死亡豚のため採血できず。
※PCR陽性10検体中3検体は死亡豚の臓器。

殺処分前検査 (12月29日採材)

	同居豚	PCR検査 (陽性数/検査頭数)	陽性率	ELISA検査 (陽性数/検査頭数)	陽性率	WBC10,000個/μl未満 (陽性数/検査頭数)	割合	PCR(-)ELISA(+) 頭数
㉓	23号舎 (分娩)	3 / 10	30.0%	10 / 10	100.0%	0 / 9	0.0%	7
①	1号舎 (ストール)	0 / 10	0.0%	10 / 10	100.0%	0 / 10	0.0%	10
②	2号舎 (離乳子豚舎及び分娩)	2 / 10	20.0%	10 / 10	100.0%	0 / 7	0.0%	8
③	3号舎 (離乳子豚舎及び分娩)	2 / 10	20.0%	9 / 10	90.0%	0 / 7	0.0%	8
④	4号舎 (分娩)	0 / 10	0.0%	10 / 10	100.0%	0 / 10	0.0%	10
⑤	5号舎 (分娩)	0 / 10	0.0%	10 / 10	100.0%	0 / 10	0.0%	10
⑥	6号舎 (肉豚舎)	0 / 10	0.0%	10 / 10	100.0%	0 / 9	0.0%	10
⑦	7号舎 (肉豚舎)	3 / 10	30.0%	9 / 10	90.0%	2 / 9	22.2%	7
⑧	8号舎 (肉豚舎)	1 / 10	10.0%	10 / 10	100.0%	0 / 9	0.0%	9
⑨	9号舎 (肉豚舎)	1 / 10	10.0%	7 / 10	70.0%	0 / 9	0.0%	7
⑩	10号舎 (肉豚舎)	0 / 10	0.0%	6 / 10	60.0%	0 / 9	0.0%	6
⑪	11号舎 (肉豚舎)	0 / 10	0.0%	8 / 10	80.0%	0 / 10	0.0%	8
⑫	12号舎 (母豚舎)	0 / 10	0.0%	10 / 10	100.0%	0 / 10	0.0%	10
⑬	13号舎 (離乳育成舎)	7 / 10	70.0%	7 / 10	70.0%	3 / 10	30.0%	3
⑭	14号舎 (種豚舎)	0 / 10	0.0%	9 / 10	90.0%	3 / 10	30.0%	9
⑮	15号舎 (ストール舎)	0 / 10	0.0%	10 / 10	100.0%	0 / 10	0.0%	10
⑯	16号舎 (肉豚舎)	0 / 10	0.0%	9 / 10	90.0%	0 / 10	0.0%	9
⑰	17号舎 (肉豚舎)	0 / 10	0.0%	7 / 10	70.0%	1 / 10	10.0%	7
⑱	18号舎 (種豚舎)	0 / 10	0.0%	9 / 10	90.0%	0 / 10	0.0%	9
⑲	19号舎 (肉豚舎)	0 / 10	0.0%	6 / 10	60.0%	0 / 10	0.0%	6
⑳	20号舎 (肉豚舎)	0 / 10	0.0%	8 / 10	80.0%	0 / 10	0.0%	8
㉑	21号舎 (肉豚舎)	3 / 10	30.0%	9 / 10	90.0%	0 / 10	0.0%	7
㉒	22号舎 (肉豚舎)	0 / 10	0.0%	10 / 10	100.0%	0 / 10	0.0%	10

※230検体中18検体は検体不適のためWBC測定不能。

環境材料	8 / 70	11.4%
------	--------	-------

殺処分前検査のワクチン接種の有無による検査結果

	PCR検査 (陽性数/検査数)	陽性率	ELISA検査 (陽性数/検査数)	陽性率	WBC10,000個/μl未満 (陽性数/検査数)	割合	PCR(-)ELISA(+) 頭数
ワクチン未接種	14 / 29	48.3%	25 / 29	86.2%	3 / 23	13.0%	15
ワクチン接種	8 / 201	4.0%	178 / 201	88.6%	6 / 195	3.1%	173

※230検体中18検体は検体不適のためWBC測定不能。

(5) ウイルスの侵入時期

ワクチン接種農場では、抗体を検出する ELISA 検査の結果について、検出された抗体が、感染することで生産された可能性、ワクチン接種によって生産された可能性及びワクチン接種歴のある母豚からの移行抗体である可能性が考えられる。このため、本事例のようにワクチン接種から十分な時間が経過した一貫経営農場（本事例でワクチン接種の開始から 1 年以上を経過）では、離乳豚を除くほとんどの豚がワクチン抗体を有していると考えられる一方、感染後時間が経過することにより抗体を有している個体もいると考えられることから、血液検査の結果から農場の感染状況を評価することは困難である。

- ① 病性鑑定が実施された離乳育成舎は、農場の中で唯一、ワクチン接種時期の離乳豚を飼養しており、常に半数程度の豚がワクチン未接種であった。病性鑑定においても、ワクチン未接種の死亡豚 3 頭で感染が確認され、これらの豚の同居豚と隣接豚房の豚（いずれもワクチン未接種）を検査したところ、11 頭全てで PCR 陽性、7 頭で ELISA 陽性又は疑陽性、4 頭で ELISA 陰性となり、この豚舎では新たな感染が起こっていると考えられたこと
- ② 殺処分前に全ての豚舎から 10 頭ずつ血液検査を行ったところ、病性鑑定が実施された離乳育成舎から豚が移動する肥育前期の肉豚舎 4 舎のうち 3 舎で PCR 陽性の豚が認められた一方、それらの豚が移動する肥育後期の肉豚舎では、8 舎のうち 1 舎のみで PCR 陽性の豚 3 頭が確認されたことから、感染が肥育後期の豚に広く浸潤するほどには時間が経過していない可能性が高いこと
- ③ ②で述べた肥育前期及び後期の肉豚舎で飼養する豚(70~140 日齢)のワクチン接種は 50~60 日齢で実施しており、PCR 陽性となった多くの豚において、ELISA 値は高くないことから、ワクチン接種後に感染した可能性が考えられたことから、当該農場では、ウイルスの侵入から 90 日以上は経過していない可能性が高いと考えられるが、侵入からどの程度の期間が経過しているかを推定することは困難である。

(6) 農場への侵入要因

- ① 当該農場周辺では野生イノシシが多数確認されており、10 月には農場から約 300m 離れた地点で、感染野生イノシシが確認されていたこと
- ② 衛生管理区域の周辺にはワイヤーメッシュ柵が設置されており、車両の出入りの際を除いて、入り口の柵も閉じられていたことから、イノシシが農場内に入ることはなかったと考えられること
- ③ 農場に車両が入場する際は、動力噴霧器による消毒が行われていたこと
- ④ 農場内では、ネコ、カラス等の野生動物が確認されていたことから、近隣の感染野生イノシシ由来のウイルスが、野生動物の出入りを介して農場に侵入した可能性がある。

(7) 豚舎への侵入要因

- ① 農場のピッグフローと、PCR 陽性豚の配置を考慮すると、最初の感染は分娩舎又は離乳育成舎の離乳豚で起こった可能性が高いと考えられること
 - ② 従業員は分娩舎では長靴の交換と踏み込み消毒を行っていたが、病性鑑定が行われた離乳育成舎と肥育前期の肉豚舎では踏み込み消毒のみを行っており、肥育後期の肉豚舎では、消石灰帯による踏み込み消毒にとどまっていたこと
 - ③ 離乳豚が分娩舎から離乳育成舎に移動する際には、屋外の通路を歩かせる必要があったが、通路に消石灰を散布した上で通過させていたこと
 - ④ 分娩舎の一部には野鳥等の侵入が可能な開口部があったこと
- から、人や野生動物の出入りを介して、又は豚を歩かせて豚舎間を移動させる際に、ウイルスが豚舎内に侵入した可能性がある。

【59 例目：群馬県高崎市】

(1) 分離ウイルスの遺伝子学的性状解析

59 例目（群馬県高崎市）を含む農場発生事例及び本州の野生イノシシ感染事例 116 例から得られた豚熱ウイルスの遺伝子について、全ゲノム解析（約 12,000 塩基）を行ったところ、いずれの株も、これまでに国内で確認された株から派生した株と考えられた（別紙参照）。このことは、これまでの解析結果と同様、すべての国内分離株が、国外から侵入した単一の株から派生したことを示しており、新たに海外から侵入・感染した可能性はないと考えられた。また、群馬県の 59 例目の発生農場から得られたウイルスは、群馬県内で見つかった感染野生イノシシから得られたウイルスと近縁と考えられたことから、59 例目の農場は周辺の野生イノシシ由来のウイルスから感染したと考えられた。

(2) 繁殖豚の中和抗体価

全体として、繁殖豚の中和抗体価を確認したところ、全体として、著しく高い抗体価を示す母豚の割合は低かったことから、前回の疫学調査チーム検討会の結果概要で示した、離乳豚のワクチン接種時期には移行抗体が消失し、最初に下痢・死亡が認められた飼育箱で最初に感染が起こっていたという仮説と矛盾しないと考えられた。

(以上)

国内で分離された豚熱ウイルスの全ゲノム情報を用いた遺伝子系統樹

比較対象とした中国分離株（2017年）

1. 方法

(1) 使用データ

- 日本分離株 183株
- 農場由来株 67株 (59例目まで (関連農場を含む))
- イノシシ由来株 116株
- 中国由来参照株 1株

(2) 遺伝子解析

- 日本分離株については、ウイルス分離の後、Ion PGMを用いて遺伝子全長の配列を決定
- MAFFTでアライメントを行い、11,779塩基 (3,926アミノ酸) を解析に利用
- MEGA Xで最尤系統樹を作成
- 中国株に対する塩基変異の共有状況に基づいて、全ての株を7段階 (1層~7層) で50グループに分類
- 第4層のグループで色分けした (地図も同じ) (色の種類が多すぎると識別できないため)

2. 結果

- 群馬県で確認された59例目の農場由来株 (←) は群馬県内で見付かった感染野生イノシシ由来株 (←) と同じグループ (Gr. 18) に分類された。同じグループには他に、埼玉県、茨城県及び神奈川県野生イノシシ由来株も含まれていた。(系統樹の株名の表記の例)

● Case_46_Saitama_Honjo_191011[1-2-5-18: Gr 18]

3. 考察

- 59例目の農場は周辺の野生イノシシ由来のウイルスから感染したと考えられた。

59例目の株名が「Case_59_t」となっているのは、ウイルス分離せず扁桃 (tonsil) から直接採材したため。今後分離ウイルスを用いて再解析する。

(株名の例) **Case_59[18]**

農場：Case
 イノシシ：WB
 事例番号

第7層でのグループ番号

- ・分離地点の色分けは、系統樹と同じく第4層のグループ分けに基づく
- ・赤矢印は59例目、オレンジ矢印は59例目と同じグループの群馬県のイノシシ分離株を示す（一部地点は重複）
- ・黄色い縁取りは最も最近追加された9株を示す