

第5章 分離された豚コレラウイルスの性状分析

ウイルス学的及び血清学的検査は、豚コレラ診断マニュアル（衛生管理課長通知）に従い実施した。ウイルス学的検査については、動物衛生研究所において検査結果の再確認を行うとともに、分離ウイルスの性状確認のための病性鑑定を実施した。今般の一連の事例に関係するウイルス学的検査及び血清学的検査に用いた材料はそれぞれ表5-1のとおりである。

表5-1 各事例の検査豚と供試材料

事例	検査豚		供試材料			
	採材日	豚	扁桃	脾臓	腎臓	血清
1	H16. 3. 18	後期肥育豚 鑑定殺10頭	○	○	○	○
2	H16. 7. 20	20～40日齢離乳豚 鑑定殺4頭	○	○	○	○
	H16. 7. 21	20～40日齢離乳豚 鑑定殺5頭	○	○	○	○
3	H16. 8. 2	140～150日齢肥育豚(発症) 死亡豚3頭, 鑑定殺4頭	○	○	○	○
4	H16. 8. 25	母豚(発症) 死亡豚1頭	○	○	○	○
	H16. 8. 26	母豚(発症) 死亡豚2頭	○	○	○	○
	H16. 8. 27	母豚(発症) 鑑定殺5頭	○	○	○	○
5	H16. 9. 15	母豚(発症) 死亡豚1頭	○	○	○	○
	H16. 9. 27	3～5週齢豚 鑑定殺13頭	○	○	○	○
	H16. 9. 28	3～4週齢豚 鑑定殺5頭	○	○	○	○

1 ウイルス学的検査

1. 1 組織凍結切片による豚コレラウイルスの検出

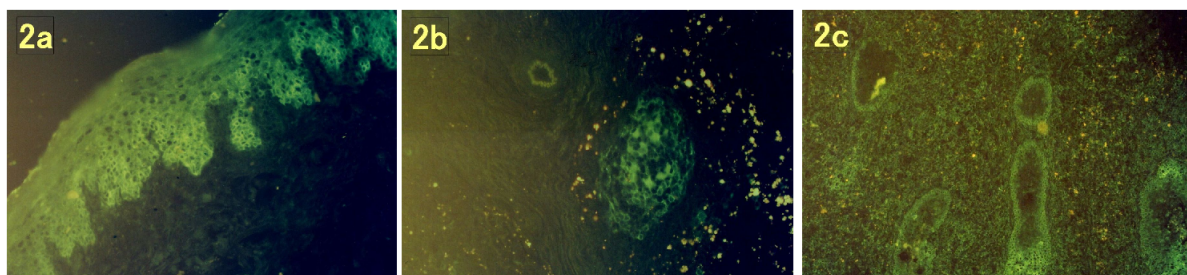
豚コレラの診断マニュアルにしたがってFAを実施した。すなわち、扁桃組織について、n-ヘキササンで急速凍結した後、クリオスタットで6 μmの凍結切片を作製し、定法に従い京都微研”豚コレラFA”で染色した後、蛍光顕微鏡下で蛍光抗原の有無を観察した。

1. 1. 1 第1事例

10頭すべてについて蛍光を認めなかった。

1. 1. 2 第2事例

9頭すべてについて陰窩上皮に蛍光が検出されたが、個体によっては陰窩以外の口腔側重層扁平上皮の深層部全体(写真5-1. 2a)やその一部(写真5-1. 2d)、あるいは濾胞中心部(写真5-1. 2b)にも蛍光が認められた。中には組織全体に蛍光が認められたものもあった(写真2c)。



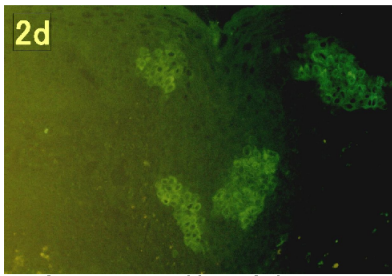


写真5-1 第2事例における扁桃凍結切片の蛍光抗体法

1. 1. 3 第3事例

7頭のうち6頭(86%)で蛍光が検出され、特に1頭については典型的な蛍光像がみられた(写真5-2. 3d)。5頭については陰窩上皮の一部に非常に弱い蛍光抗原が認められたのみであった(写真5-2. 3a, 3b, 3c)。

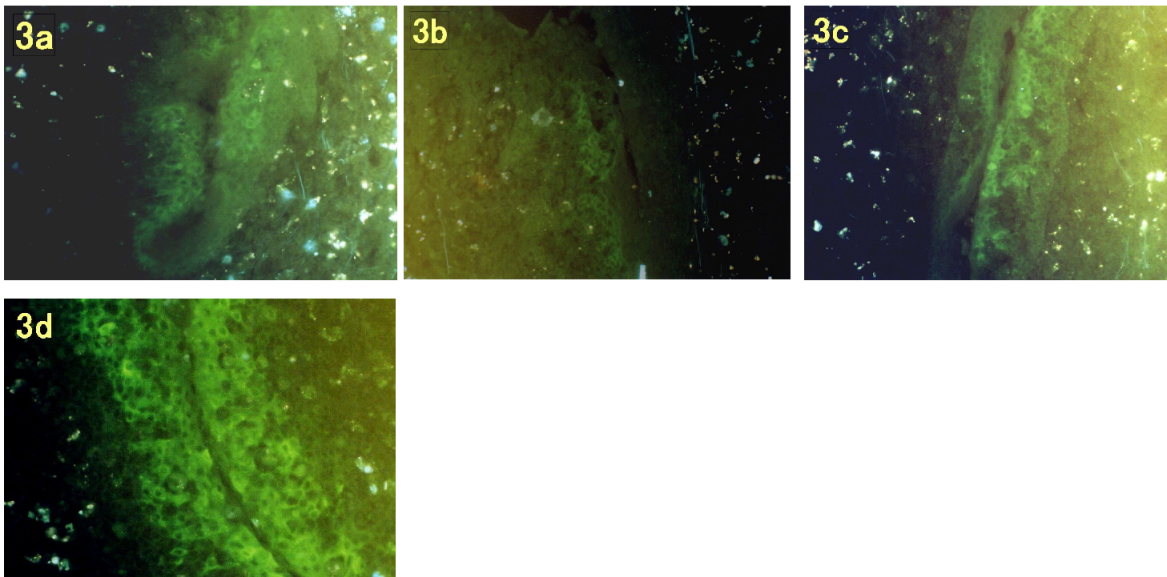


写真5-2 第3事例における扁桃凍結切片の蛍光抗体法

1. 1. 4 第4事例

3頭のうち2頭(67%)で陰窩上皮のごく一部に非常に弱い蛍光抗原が認められた(写真5-3. 4a, 4b)。

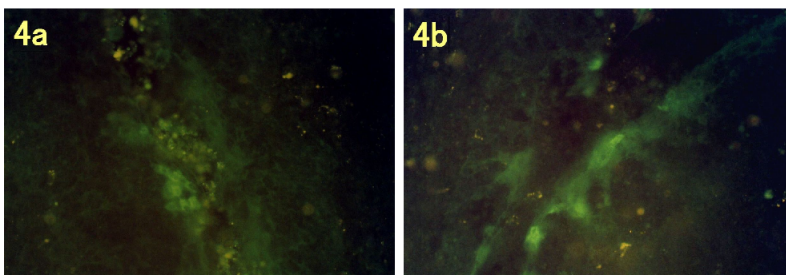


写真5-3 第4事例における扁桃凍結切片の蛍光抗体法

1. 1. 5 第5事例

母豚1頭について微弱ながらも陰窩上皮の一部及びろ胞の一部に蛍光抗原が認められた。

また、追加検査として実施した発症母豚の子豚を含む周辺の子豚13頭すべてについて強い蛍光が観察されたが、典型的な蛍光像を示す個体(写真5-4. 5h)はむしろ少なく、陰窩上皮及び口腔側重層扁平上皮の深層部(写真5-4. 5a, 5c)や濾胞の中心部(写真5-4. 5b), 組織全体(写真5-4. 5e, 5f)、あるいは扁桃近傍の唾液腺(写真5-4. 5g)等に蛍光がみられた。

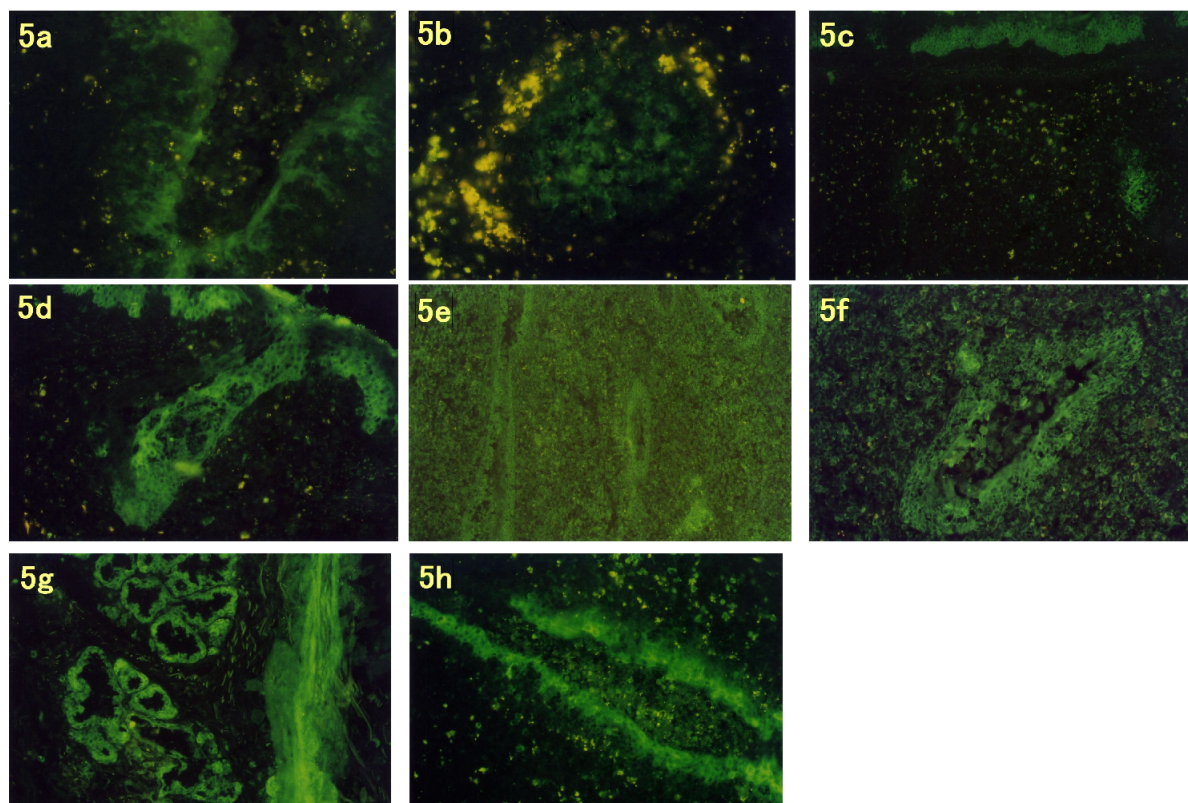


写真5-4 第5事例における扁桃凍結切片の蛍光抗体法

1. 1. 6 非特異的反応

死亡豚の豚コレラ検査において3例の蛍光抗体法で非特異と思われる反応が認められた(写真5-5. 6a, 6b)。ウイルス分離, RT-PCR 共に陰性であり, HE 染色にて鏡検した結果, 炎症性細胞が各細胞間に浸潤しており, 解剖所見からも細菌感染が非常に強く疑われる事例であった。

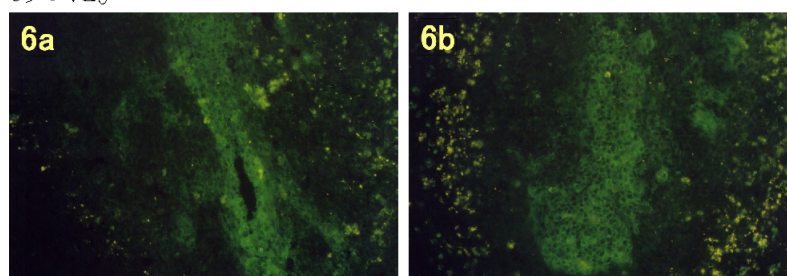


写真5-5 扁桃凍結切片の蛍光抗体法における非特異例

1. 2 ウイルス分離による豚コレラウイルスの検出

扁桃, 脾臓, 腎臓については10%乳剤を作製し, 血清とともに豚腎由来株化 CPK 細胞にそれぞれ接種した。豚コレラウイルスは増殖しても細胞変性効果 (CPE) を示さないため, 分離の確認には京都微研”豚コレラ FA”を用い FA を行った。また, ウイルス分離・同定

作業の一助とするため、豚コレラウイルスを含めペスチウイルスを検出可能な非翻訳領域のRT-PCR も行った。

第1事例から第5事例の事例毎に少なくとも1個体からはウイルスが分離された（写真5-6, 写真5-7, 写真5-8, 表5-2）。

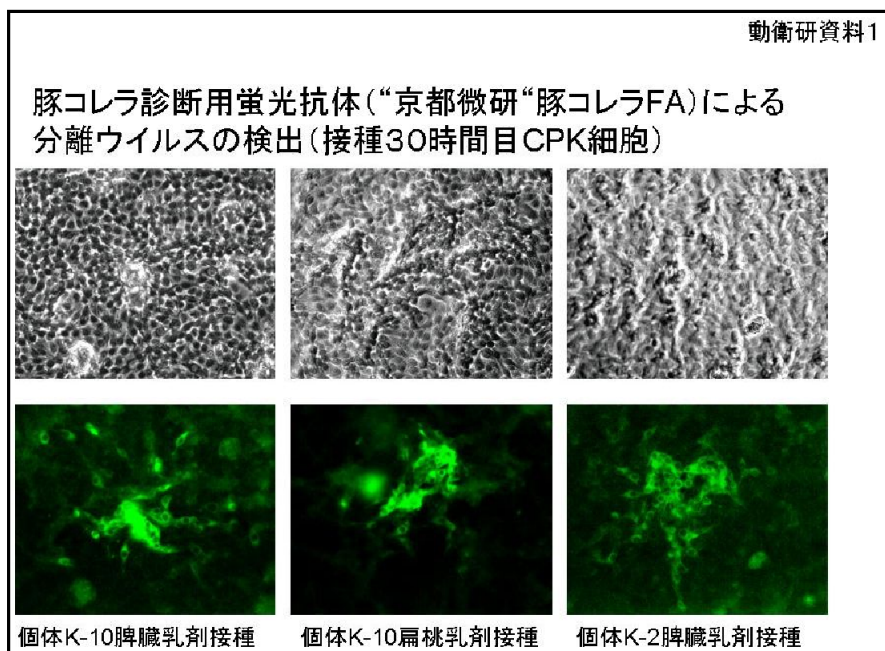


写真5-6 第11回豚コレラ撲滅技術検討会資料（平成16年3月22日）

表5-2 ウイルス分離及び RT-PCR検査成績

(動衛研)

事例	扁桃		脾臓		腎臓		血清		備考
	分離	PCR	分離	PCR	分離	PCR	分離	PCR	
1	2/10	8/10	2/10	8/10	2/10	8/10	—	—	血清は他の材料とは別個体。
2	4/4	4/4	4/4	—	—	—	—	—	
3	2/2	—	2/2	—	4/4	—	2/2	—	
4	—	—	—	—	—	—	—	—	
5	—	—	—	—	—	—	—	—	

(鹿児島中央家保)

事例	扁桃		脾臓		腎臓		血清		備考
	分離	PCR	分離	PCR	分離	PCR	分離	PCR	
1	1/10	6/10	1/10	6/10	—	—	1/5	2/5	血清は他の材料とは別個体。
2	2/4	4/4	2/4	4/4	—	—	—	—	
3	2/2	2/2	2/2	2/2	—	—	—	—	
4	2/4	2/4	2/4	2/4	—	—	—	—	
5	1/1	1/1	1/1	1/1	—	—	1/1	1/1	

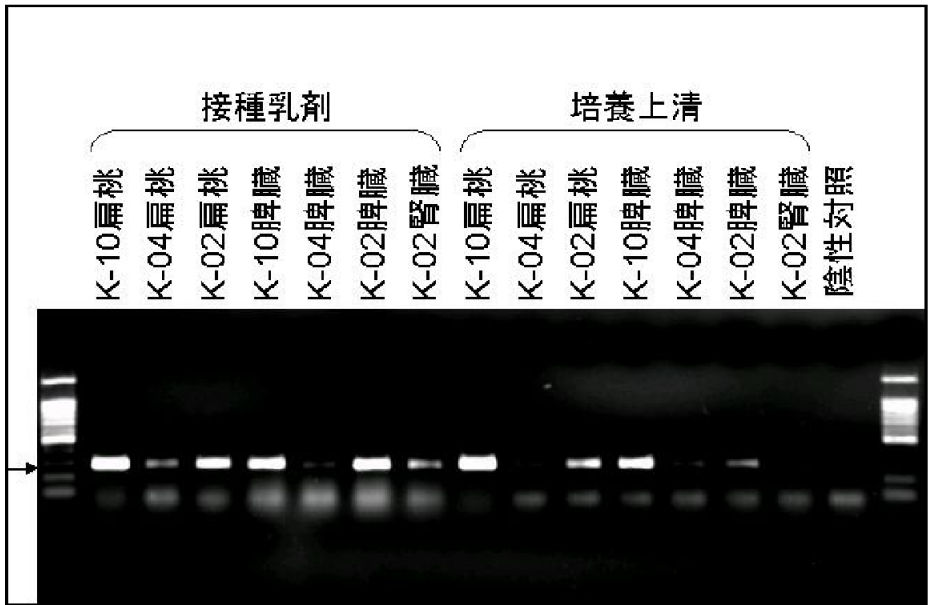
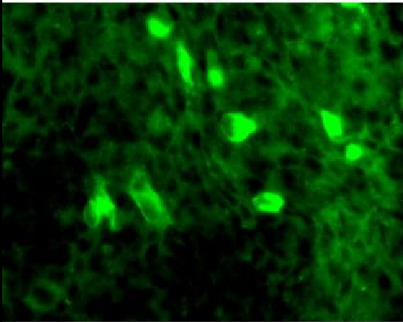


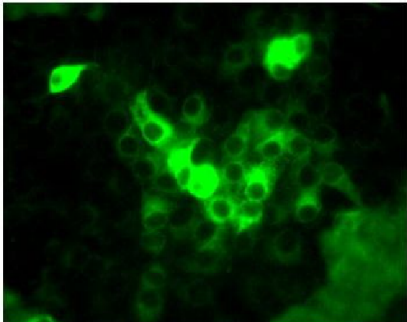
写真5-7 第1事例の RT-PCR (動衛研)

豚コレラウイルス分離結果(接種約16時間時点) 動衛研資料2

個体#	扁桃	脾臓	血清
KG1	+	+	/
KG2	-	-	/
KG3	/	/	-
KG4	/	/	+



KG1扁桃乳剤接種CPK細胞



KG4血清接種CPK細胞

写真5-8 第13回豚コレラ撲滅技術検討会資料 (平成16年8月4日)

1. 3 モノクローナル抗体による分離ウイルスの抗原性解析 (動衛研)

分離ウイルスは、京都微研”豚コレラ FA”を用いた FA で反応するものの、他のペスチウイルスに対して交差反応することが知られているために、豚コレラのみの特異的に反応するモノクローナル抗体 (A301) を用いた FA で確認した。さらに、国内ワクチン株である GPE

株とそれ以外の豚コレラウイルスと識別できるモノクローナル抗体（G101）を用いた蛍光抗体法も合わせて実施した。モノクローナル抗体（G101）は GPE⁻ マイナス株の親株である ALD 株とも反応せず GPE⁻ 株にのみ特異的に反応するモノクローナル抗体である。分離ウイルスは豚コレラウイルスのみに特異的に反応するモノクローナル抗体（A301）とは反応したが、G101とは反応せず、分離ウイルスが GPE⁻ 株と異なることが明らかにされた（写真5-9）。

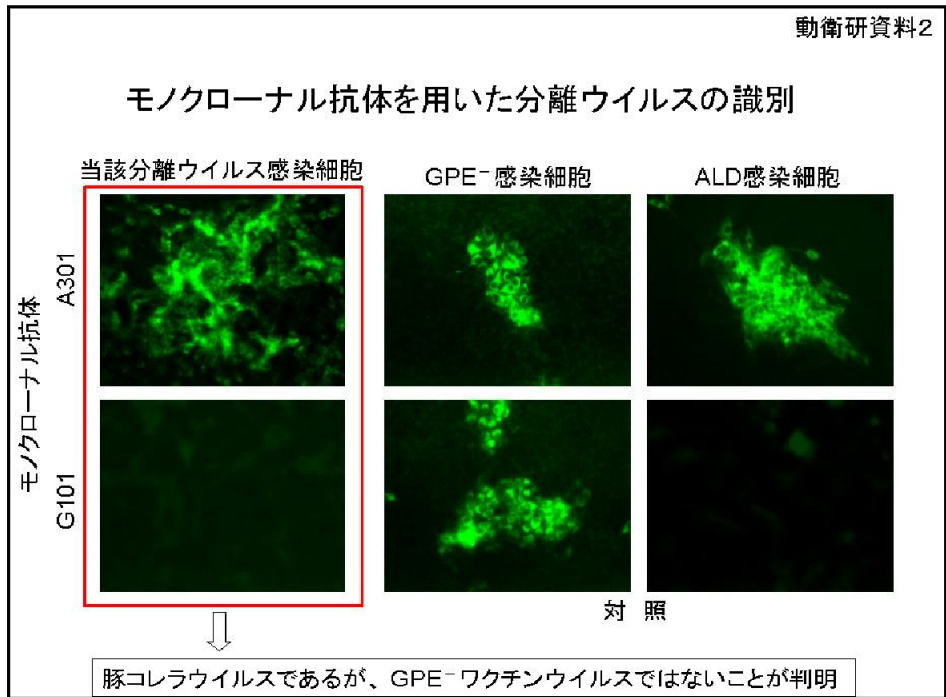


写真5-9 第11回豚コレラ撲滅技術検討会資料（平成16年3月22日）

1. 4 分離ウイルスの生物学的マーカー試験（動衛研）

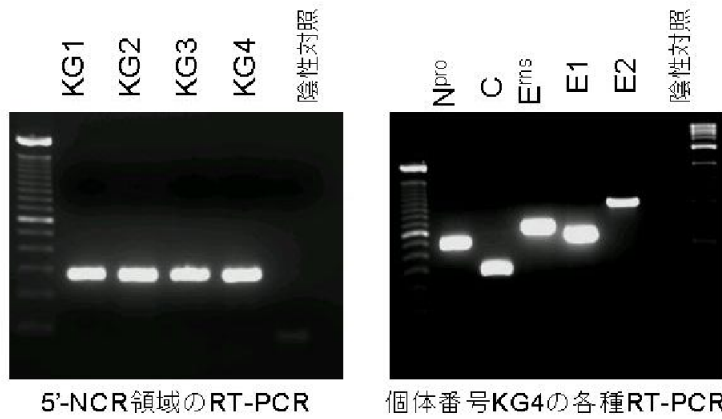
分離ウイルスが、国内で使用されているワクチンウイルスとの差違を調べるために、GPE⁻株のワクチン製造用ウイルスで実施されているEマーカー試験を実施した。ただし、EマーカーはEND法ではなく、水胞性口炎ウイルス(以下、VSVという。)の増殖干渉試験によって調べた結果、分離ウイルスは水胞性口炎ウイルス(VSV)の増殖を干渉することが明らかとなった。

1. 5 分離ウイルスの遺伝子学的解析（動衛研）

豚コレラウイルス及び BVD ウイルス等ペスチウイルスを検出できる RT-PCR (5'-NTR 領域：242bp) を実施した。さらに RT-PCR によって増幅された遺伝子産物はシーケンサーによりダイレクトシーケンシングし、その遺伝子の配列情報に基づき相同性分析を行った。また、第1事例の分離ウイルスについて、N^{pro}、C、E^{ms}、E1、E2の5蛋白質遺伝子領域に対しても RT-PCR を実施し（写真5-10）、増幅された遺伝子産物はシーケンサーによりダイレクトシーケンシングし、その遺伝子の配列情報に基づき系統樹解析及び相同性解析を行った(図5-1)。

扁桃乳剤のRT-PCRの結果と遺伝子解析

動衛研資料



3月事例のウイルス株とGPE一株の差違

解析領域(サイズ)	塩基置換	アミノ酸置換
5'-NCR (242 bp)	1	—
N ^{pro} (463 bp)	2	1 (99.4%)
C (256 bp)	0	0 (100.0%)
E ^{ms} (640 bp)	11	6 (97.2%)
E1 (544 bp)	2	1 (99.4%)
E2 (1053 bp)	12	6 (98.3%)

写真5-10 第12回豚コレラ撲滅技術検討会資料 (平成16年7月22日)

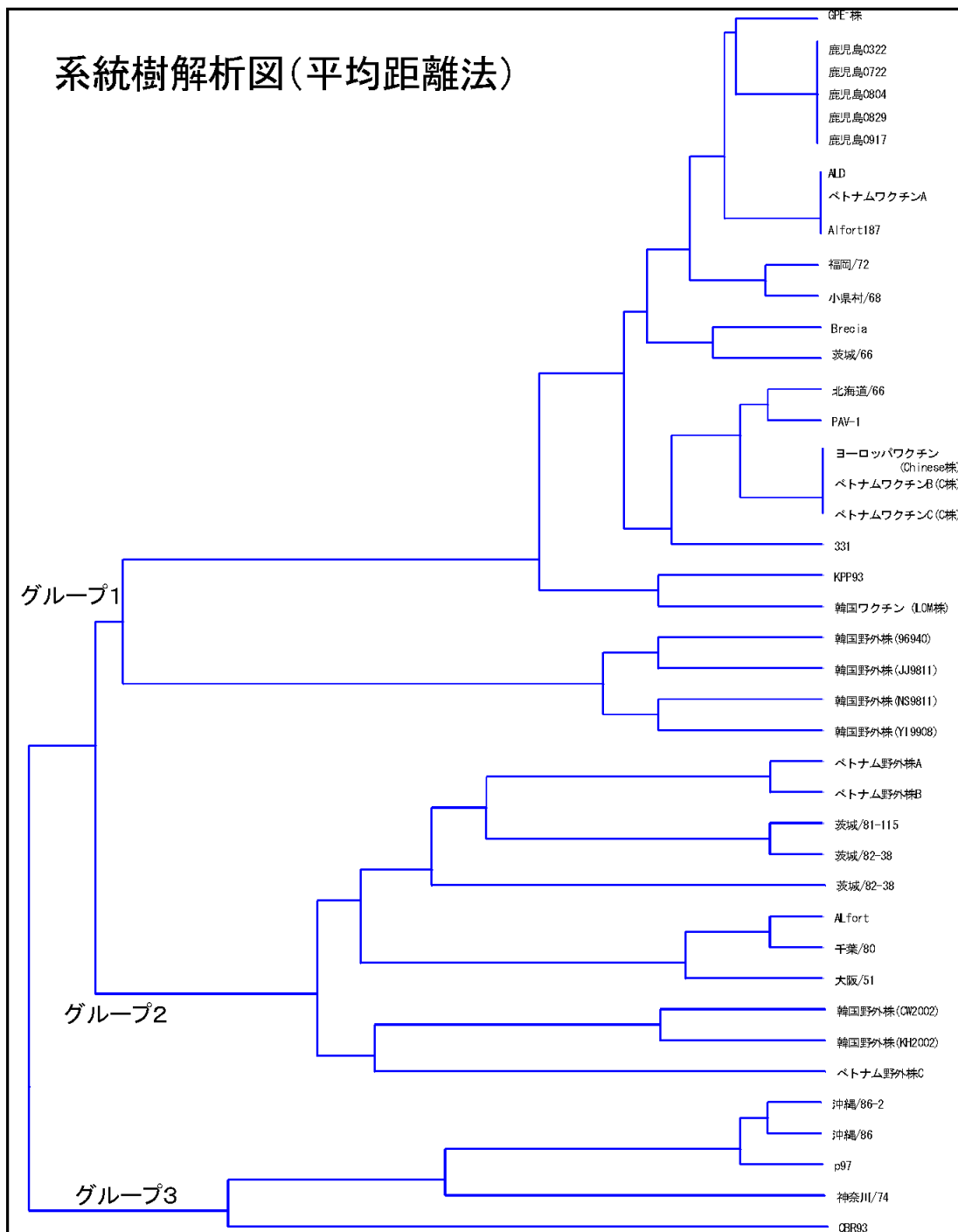


図5-1 5' 非翻訳領域における系統樹解析 (動衛研)

第1事例で分離されたウイルスの、5'-NTR 領域あるいは N^{pro} , C , E^{ns} , $E1$, $E2$ の5蛋白質遺伝子領域の塩基配列に基づき行った系統樹解析及び相同性解析の結果、過去に日本国内で分離された株 (Kanagawa/74株, Hokkaido/66株など20株), 海外で使用されているワクチン株 (LPC 株あるいは Chinese 株, その由来ワクチン4株, LOM 株) 及び野外流行株 (韓国野外6株, ベトナム野外15株, Alfort 株など高病原性株10株) との遺伝学的距離は遠く, また, 相同性もきわめて低かった。しかしながら, 分離ウイルスと最も相同性が高かったウイルス株は GPE 株であった。

第2～5事例で分離されたウイルスは、第1事例で分離されたウイルスの RT-PCR (5'-NTR 領域) 産物の塩基配列 (GPE⁻株と1塩基置換がある。) と100%一致した。

1. 6 分離ウイルスの性状 (動衛研)

識別モノクローナル抗体を用いた解析により、今回分離されたウイルスが豚コレラウイルスであること、また、その抗原性状は GPE⁻株と異なる部分を有していることが明らかとなった。一方、分離ウイルスの遺伝子解析の結果、第1～5事例で分離された豚コレラウイルスはすべて同一の由来に起因するものと考えられ、過去に日本国内で分離された株、海外で使用されているワクチン株及び野外流行株との類似性は低く、GPE⁻株に類似していた。

1. 7 血清学的検査

1. 7. 1 中和試験

中和試験には豚コレラウイルス (GPE⁻株) 及び CPK-NS 細胞を用いた。血清は56°C, 30min. 非働化した後、検査に供した。

抗体陽性率等から農場へウイルスが侵入してからの期間が比較的長いと思われる第1事例と第2事例及び比較的短い第3事例、加えて原因が特定されていない第2事例の付属事例での中和抗体価の分布を比較した (図5-2)。

第1事例の検査豚54頭 (すべて肥育豚) の中和抗体価分布におけるピークは128倍～256倍であり、最高値は1,024倍であった。また、2倍未満の頭数は6頭であり全体の11.1%であった。

第2事例の検査豚42頭 (母豚20頭, 肥育豚15頭, 離乳豚3頭, 哺乳豚4頭,) の中和抗体価分布におけるピークは2,048倍であり、最高値は4,096倍であった。2倍未満は6頭 (14.3%) であった。

第3事例の検査豚87頭 (すべて肥育豚) の中和抗体価分布におけるピークは128倍であり、最大値も128倍であった。2倍未満は73頭 (83.9%) であった。

第2事例付属事例の陽性豚舎の60頭 (すべて肥育豚) の中和抗体価分布におけるピークは2,048倍であり、最大値は8,192倍であった。

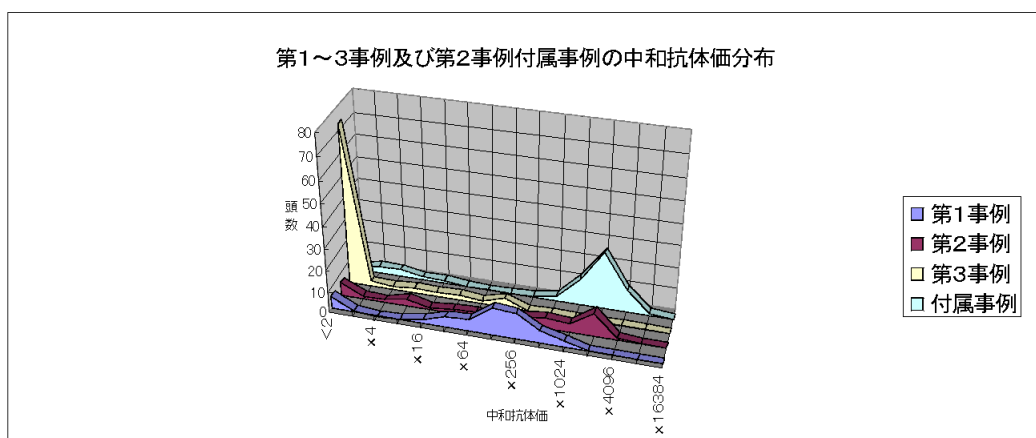


図5-2 第1～3事例及び第2事例付属事例の中和抗体価分布

1. 7. 2 ELISA検査

今回の豚コレラウイルスの感染事例 (第1～3事例: 183頭) における ELISA における S/P 比と中和抗体価との相関は図5-3のとおりであった。

第5事例の農場において、発生日から13日後に、分娩舎の豚について193頭 (子豚178頭, 母豚10頭, 種豚5頭) の採材を行い、ELISA 検査及び血清からのウイルス分離と RT-PCR を

行った。その結果、発症母豚のいた豚房に隣接する3豚房35頭に ELISA 陽性及び疑陽性の子豚が14頭存在し、その豚房の9頭で豚コレラウイルスが分離された。また、その周囲の4豚房の6頭の血清から豚コレラウイルスが分離された (ELISA 陰性)。ウイルスの分離された15頭の血清について RT-PCR を実施した結果、うち6頭が陽性であった。

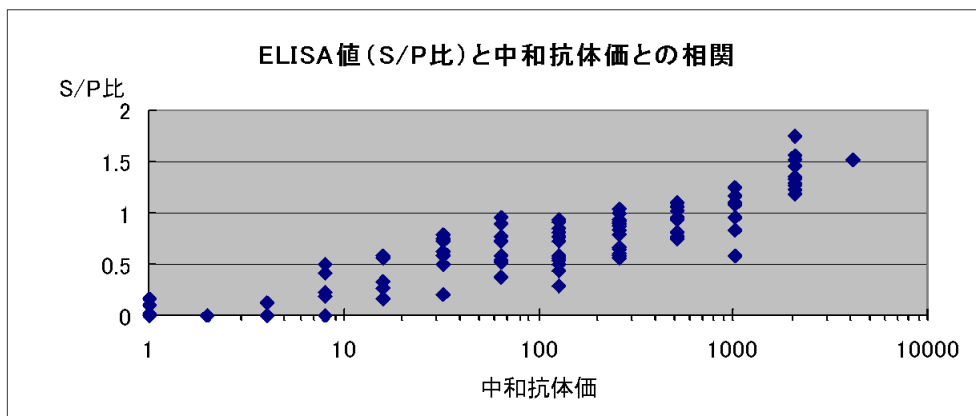


図5-3 ELISA値(S/P比)と中和抗体価との相関

1. 8 考察

扁桃の蛍光抗体法の結果から、母豚や肥育後期豚等の日齢の高い個体の場合、扁桃の陰窩上皮に特異蛍光が認められない例やその一部しか反応しない例、非常に反応が弱い例があったのに対し、哺乳豚等日齢の低い個体の場合、扁桃の陰窩上皮だけでなく、口腔側重層扁平上皮深層、あるいは扁桃組織の全体やその一部に強い蛍光反応が認められ、感染日齢により差が認められた。また、若齢豚の中には扁桃に隣接する唾液腺の細胞にも反応の認められる個体があり、豚の日齢が若いほど唾液等に多量のウイルスを排出することが予想された。ウイルスが農場に侵入してからの経過がもっとも長い(3~4ヶ月)と推察される第2事例の中和試験の結果から、農場内でのウイルス蔓延後の抗体価分布のピークは2,048倍前後と考えられた。また、原因が特定できなかった第2事例付属事例において最大抗体価は8,182倍と高かったが、抗体価分布のピークは2,048倍前後であり、検査豚のステージが違うため一概には言えないが、第2事例とほぼ同じ分布であると考えられた。

ELISA における S/P 比と中和抗体価は、良く相関していた。しかし、中和抗体価8倍以下の血清において ELISA 抗体陰性となる個体や、逆に中和抗体価が2倍未満であるのに関わらず ELISA 抗体陽性となる個体も存在し、注意が必要であると考えられた。

第5事例の追加検査において、発生農場内の子豚間でウイルスの伝搬が認められ、抗体陽性豚やその周囲の子豚にウイルス血症の個体が存在しており、抗体上昇に先立ってウイルス血症になることが推察された。また、ウイルス分離陽性豚15頭のうち9頭において RT-PCR で検出できなかったことから、血清からのウイルス分離が感染豚摘発に最も有用な手段であることが示唆された。

1. 9 まとめ

今回の初発事例において扁桃等から豚コレラウイルスが分離され、このウイルスは日本で承認されているワクチン株である GPE-株とは異なるものであることが判明した。また、その後の発生事例全てにおいて同一のウイルスが確認された。

今回分離されたウイルスの解析結果から、各事例の分離株は非常に相同性が高く、それぞれの発生事例は同一のウイルスによると考えられた。

2 ウイルスが分離された豚の病理学的所見

一連の豚コレラ疑似患畜確認事例において、ウイルス学および血清学的診断とともに病理学的検索が行われた。

第1事例は、肥育豚であったが、管轄の食肉衛生検査所から出荷豚の異常の通報に基づき、3月17日に実施した豚コレラウイルス抗体検査で、44頭中40頭が陽性を示したことから、18日に10頭の肥育豚が病性鑑定に供された。これら10頭のうち2頭がウイルス分離陽性であった。

表5-3 母豚の臨床、病理所見

検査項目	所見	第4事例	第5事例	
		8頭	1頭	
臨床症状	食欲不振	○	○	
	元気消失		○	
	流産		○	
	急死	○	○	
	体表に赤色斑点	○		
	出血傾向	○		
解剖検査	膀胱粘膜に軽度の出血	1		
	心耳に出血	1		
	大腸粘膜に出血斑	1		
	リンパ節の腫大	1		
	腎臓の点状出血		1	
	脾臓の出血		1	
	心外膜、内膜の出血		1	
	大腸粘膜の軽度な出血		1	
組織検査	脾臓に出血	2		
	扁桃陰窩に膿瘍	3		
	扁桃に壊死	2		
	リンパ節のリンパ球減数	1	1	
	脾臓のリンパ球減数	2	1	
	大脳に囲管性細胞浸潤	4	1	
	腎臓の間質に出血	2	1	
	細気管支、肺胞腔内に好中球浸潤、線維素析出	1		
	肺の充うっ血	2		
	心外膜に出血	2		
	小腸、大腸の粘膜固有層下部から粘膜下組織にかけての出血、壊死	1		
	ウイルス検査	FA陽性	2	1
		ELISA陽性	*5	*1
RT-PCR陽性		5	1	
ウイルス分離陽性		2	1	

注) *うち1頭疑陽性

第2事例は、7月20日に、母豚の食欲不振、流産、急死や子豚の下痢、発育不良、急死等がみられたことから4頭の子豚が病性鑑定に供され、さらに21日にも5頭の子豚が病性鑑定された。これらの子豚については9頭ともFA陽性であった。

第3事例は、8月2日、肥育豚に肺炎症状がみられ、死亡率の増加を示したことから、念のため豚コレラに関する病性鑑定が実施され、病性鑑定に供された2頭がFA陽性であった。

第4事例は、8月24日、母豚1頭に体表の暗赤色斑、腹部のチアノーゼを示し死亡したため、病性鑑定が行われた。この母豚についての抗体検査は疑陽性であった。さらに、26

日に死亡母豚2頭と哺乳豚2頭が病性鑑定され、このうち母豚1頭がFA陽性であった。さらに、27日、5頭の母豚が病性鑑定され、うち1頭がFA陽性、3頭がRT-PCRで陽性であった。

第5事例は、9月15日、母豚1頭が急死したため直ちに病性鑑定が行われ、FA陽性が確認された。また追加的に実施された病性鑑定においては、子豚(22日齢から45日齢)の17頭と発育不良の肥育豚1頭が病性鑑定され、FAにおいて子豚の12頭が陽性を示した。

以上のとおり、今回の一連の事例において病性鑑定が行われた豚について病理学的な検索を行った。検索した頭数は、母豚が9頭、肥育豚18頭及び子豚が28頭であった。以下、各ステージ毎にその特徴を記載する。

2. 1 母豚の病理学的所見

母豚の剖検頭数は、第4事例8頭および第5事例1頭の計9頭であった。

母豚のウイルス学的検査結果は、第4事例ではFA陽性2例、ELISA陽性5例(うち1頭疑陽性)、RT-PCR陽性5例、ウイルスはFA陽性の2例から分離された。第5事例では、FA陽性、ELISA疑陽性、RT-PCR陽性、ウイルス分離陽性であった。

2. 1. 1 臨床所見

第4事例では、症状として食欲不振、急死がみられ、体表に赤色斑散在、内臓漿膜面に出血傾向を示す例もみられた。

第5事例では、症状として食欲不振、元気消失がみられ、流産を起し、急死する例がみられた。

2. 1. 2 解剖学的所見

第4事例の外貌では、体表に暗赤色斑(写真5-11)、舌および扁桃に潰瘍が認められた。剖検所見としては、1例に膀胱粘膜に軽度の出血、心耳に出血、大腸漿膜に出血斑、リンパ節の腫大(写真5-12)がみられた。

第5事例では外貌所見に著変はなかったが、剖検所見では、腎臓の点状出血(写真5-13)、脾臓の出血、心外膜内膜の出血、下顎・鼠経リンパ節の充出血を伴う腫大、大腸粘膜の軽度な出血がみられた。

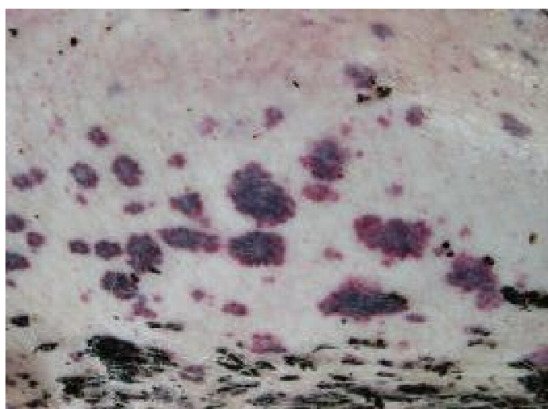


写真5-11 第4事例：死亡豚体表暗赤色斑



写真5-12 第4事例：腸間膜リンパ節の腫大



写真5-13

第5事例：腎臓の点状出血

2. 1. 3 組織学的所見

第4事例では、脾臓に出血（写真5-14）（2例）、扁桃の陰窩に膿瘍（3例）、扁桃のろ胞に壊死（2例）、リンパ節ろ胞のリンパ球減数（写真5-15）（1例）、脾臓のリンパ球の減数（2例）、大脳に囲管性細胞浸潤（4例）、腎臓の間質に出血（2例）、細気管支、肺胞腔内に好中球浸潤、線維素析出（1例）、肺の充うっ血（2例）、心外膜に出血（2例）、小腸・大腸の粘膜固有層下部から粘膜下組織にかけての出血、壊死（1例）が認められた。

第5事例では、大脳から延髄に囲管性細胞浸潤（写真5-16）がみられ、脾臓のろ胞の減少、リンパ球の減数、リンパ節の壊死（写真5-17）、腎臓の間質に出血が観察された。

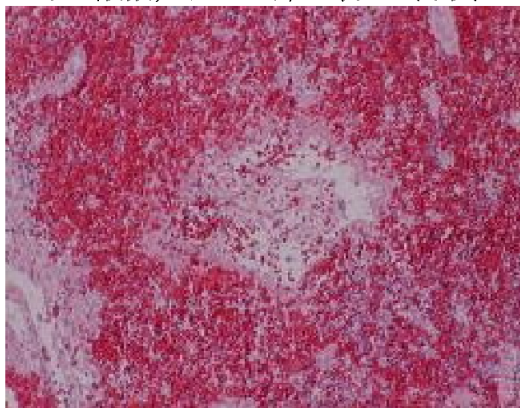


写真5-14

第4事例：脾臓の出血

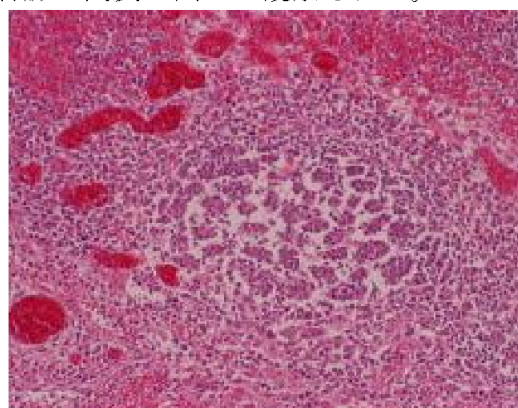


写真5-15

第4事例：リンパ節のリンパ球減数

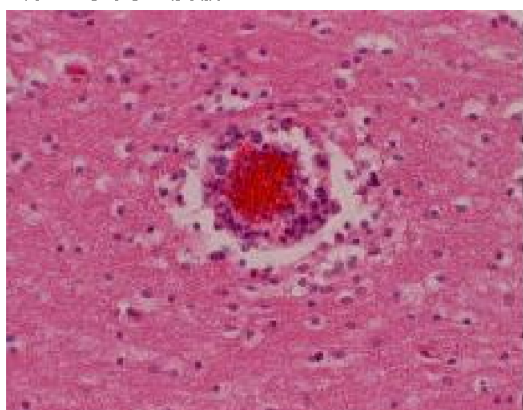


写真5-16

第5事例：大脳の囲管性細胞浸潤

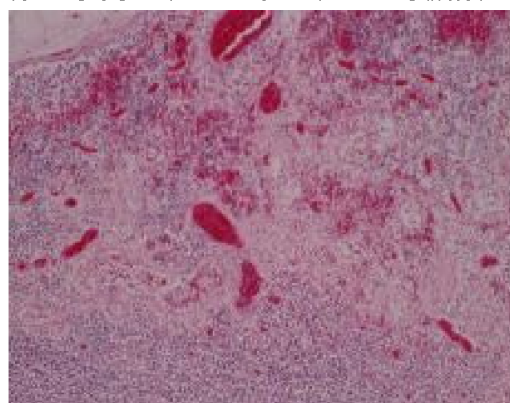


写真5-17

第5事例：リンパ節の壊死

2. 2 肥育豚の病理学的所見

肥育豚の剖検頭数は、第1事例10頭および第3事例7頭であった。

肥育豚のウイルス学的検査結果は、第1事例ではFA全頭陰性、ELISA陽性7例、RT-PCR陽性6頭、ウイルス分離陽性2例であった。

第3事例では、FA陽性6頭、ELISA陽性2頭、RT-PCR陽性3例、ウイルス分離陽性2例であった。

表5-4 肥育豚の臨床、病理所見

検査項目	所見	第1事例	第3事例
		10頭	7頭
臨床症状	食欲不振, 元気消失		○
	肺炎		○
	発育不良		
	死亡		○
解剖検査	肝臓に出血斑が散在	1	
	肺の癒着	6	
	小腸粘膜の充出血	10	1
	リンパ節の腫大		4
	胸膜肺炎		2
	SEP様肺炎		2
	腎臓の点状出血		2
	脾臓の出血		1
組織検査	細気管支, 肺胞腔内に好中球浸潤	2	*2
	脾臓の軽度なリンパ球減数	2	
	大脳~延髄に囲管性細胞浸潤を散見	**4	2
	脾臓のろ胞減少, リンパ球減数		2
	くも膜下腔に軽度な出血		
	腎臓の間質に出血		2
	リンパ節のリンパ球減数		2
ウイルス検査	FA陽性		6
	ELISA陽性	7	2
	RT-PCR陽性	6	3
	ウイルス分離陽性	2	2

注) *組織所見は2頭

**囲管性細胞浸潤はごくわずか

2. 2. 1 臨床所見

第1事例では、剖検した10頭にすべてにおいて、臨床的な異常は認められなかった。第3事例では、食欲不振, 元気消失, 発咳などの肺炎症状がみめられた。

2. 2. 2 解剖学的所見

第1事例の外貌では、すべてに著変は認められなかった。剖検所見においては、肝臓に出血斑(1例), 肺の癒着(6例), 小腸粘膜の充出血(写真5-18)(10例)が認められた。第3事例でも外貌では著変は認められなかったが、剖検所見では、リンパ節の充出血を伴う腫大(写真5-19)(4例), 胸膜肺炎(2例), SEP様肺炎(写真5-20)(2例), 腎臓の点状出血(2例), 脾臓の出血(1例), 小腸粘膜の充出血(1例)が認められた。

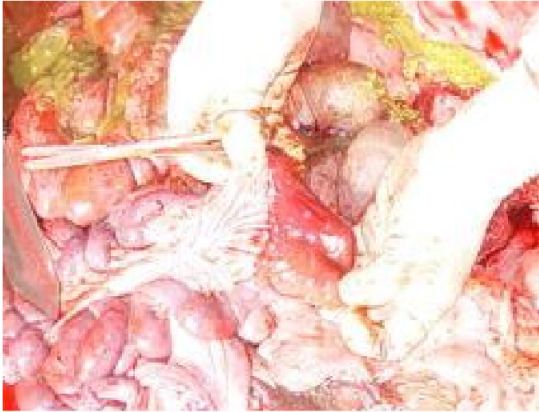


写真5-18
第1事例：腸粘膜の充血



写真5-19
第3事例：体表リンパ節の充血を伴う腫大



写真5-20
第3事例：肺炎

2. 2. 3 組織学的所見

第1事例においては、細気管支、肺胞腔内に好中球、リンパ球の浸潤、貯留2例、脾臓の軽度なリンパ球の減数（写真5-21）（2例）、大脳に囲管性細胞浸潤（写真5-22）（4例）が見られた。

第3事例においては、大脳から延髄、脊髄に囲管性細胞浸潤（写真5-23）（2例）、細気管支周囲、細気管支腔内に炎症性細胞の浸潤、脾臓のろ胞減少、リンパ球の減数、腎臓の間質に出血（写真5-24）、リンパ節のろ胞減少、リンパ球の減数が全例に観察された。

2. 3 子豚の病理学的所見

第2事例で20~40日齢9頭、第4事例で約20日齢2頭、第5事例で22~45日齢17頭について検査を行った。子豚のウイルス学的検査結果は、第2事例でFA 全頭陽性、ELISA 全頭陰性、RT-PCR 陽性8例、ウイルス分離陽性2例であった。

第4事例では、FA 全頭陰性、ELISA 全頭陰性、RT-PCR 陽性1例、ウイルス分離全頭陰性であった。第5事例では、FA 陽性12例、ELISA 全頭陰性であった。

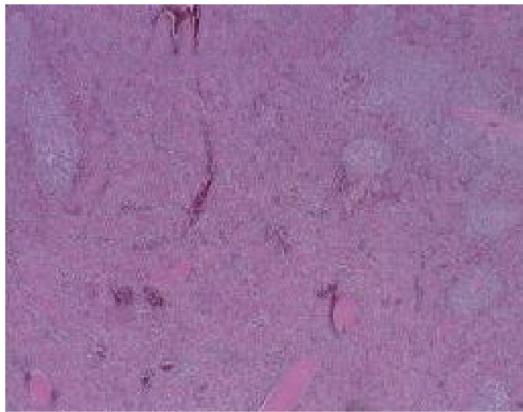


写真5-21
第1事例：脾臓の軽度なリンパ球減数

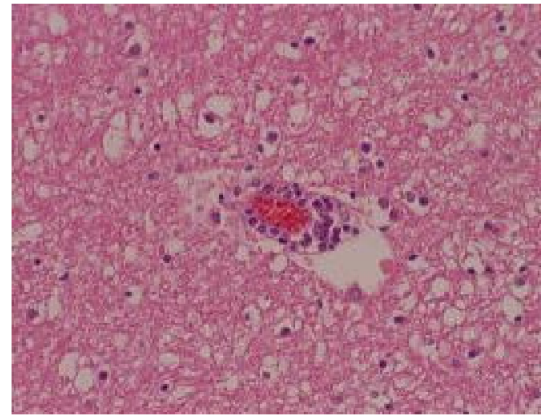


写真5-22
第1事例：大脳の血管性細胞浸潤

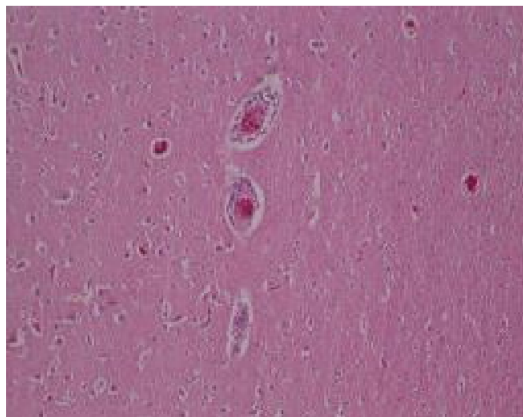


写真5-23
第3事例：大脳の血管性細胞浸潤

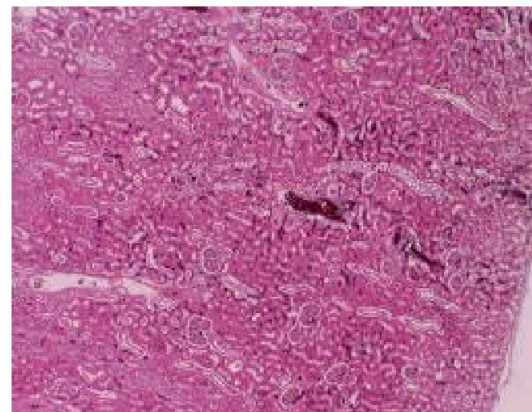


写真5-24
第3事例：腎臓の間質に出血

2. 3. 1 臨床所見

第2事例および第5事例では下痢，発育不良，急死が認められ，第4事例では下痢に加え体表の赤色斑，死亡率の増加が認められた。

2. 3. 2 解剖学的所見

第2事例では，外貌には著変は認めなかったが，剖検において腎臓の点状出血（写真5-25）（8例），脾臓の出血性梗塞（写真5-26）（4例），結腸部腸間膜の水腫（写真5-27）（4例），リンパ節の充出血を伴う腫大（写真5-28）（3例）が観察された。第4事例では，外貌所見において体表に赤色斑が認められた。剖検所見では腎臓の点状出血（1例）が認められた。第5事例では，外貌に著変は認められなかったが剖検所見では，脾臓の出血性梗塞（2例）および腎臓の点状出血（写真5-30）（7例），膀胱粘膜の点状出血（写真5-31）（2例），リンパ節の充出血を伴う腫大（写真5-32）（6例），結腸腸間膜の水腫（3例），心内膜の点状出血（1例），大腸に出血（写真5-33）（1例）が観察された。

表 5-5 子豚の臨床, 病理所見

検査項目	所見	第2事例	第4事例	第5事例
		9頭	2頭	17頭
臨床症状	下痢	○	○	○
	発育不良	○		
	急死	○		
	体表に赤色斑点		○	
	死亡率増加	○	○	○
解剖所見	腎臓の点状出血	8	1	7
	脾臓の出血性梗塞	4		2
	結腸腸間膜の水腫	4		3
	リンパ節の腫大	3		6
	膀胱粘膜の点状出血			2
	心内膜の点状出血			1
組織検査	大脳～延髄に囲管性細胞浸潤を散見	7		10
	脾臓のリンパ球減数	6		6
	リンパ球の壊死	1		1
	腎臓の間質に出血	7		9
	細気管支, 肺胞腔内に好中球浸潤	2		
	肺胞壁の肥厚	2		17
	心の筋間, 内膜に出血			5
リンパ節のリンパ球減数			3	
ウイルス検査	FA陽性	9		12
	ELISA陽性			
	RT-PCR陽性	8	1	NT
	ウイルス分離陽性	*2		NT

注) *4頭実施



写真 5-25
第2事例：腎臓の点状出血



写真 5-26
第2事例：脾臓の出血性梗塞

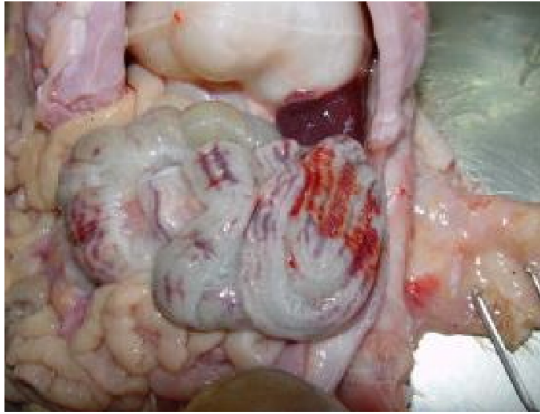


写真5-27
第2事例：結腸部腸間膜の水腫



写真5-28
第2事例：腸間膜リンパ節



写真5-29
第5事例：剖検豚



写真5-30
第5事例：腎臓の点状出血，脾臓の出血



写真5-31
第5事例：膀胱粘膜の点状出血



写真5-32
第5事例：体表リンパ節の充出血を伴う腫大



写真5-33
第5事例：大腸の出血

2. 3. 3 組織学的所見

第2事例では、大脳から延髄に囲管性細胞浸潤（写真5-34, 35）（7例）、脾臓のリンパ球の出血と壊死（写真5-36）（6例）、リンパ球の壊死（写真5-37）（1例）、腎臓の間質に出血（7例）、肺胞腔内・細気管支腔内に好中球浸潤、小葉間結合組織における水腫（2例）肺胞壁の肥厚（3例）が認められた。第5事例では、大脳から小脳に囲管性細胞浸潤（10例）脾臓のリンパ球減数（6例）腎臓の間質に出血（9例）心の筋間、内膜に出血（5例）肺胞壁の肥厚（17例）リンパ節のリンパ球減数（3例）リンパ節に壊死（1例）が観察された。なお第4事例では、著変は認められなかった。

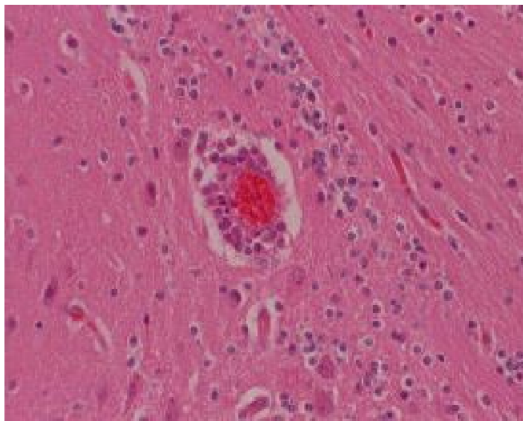


写真5-34
第2事例：大脳の囲管性細胞浸潤

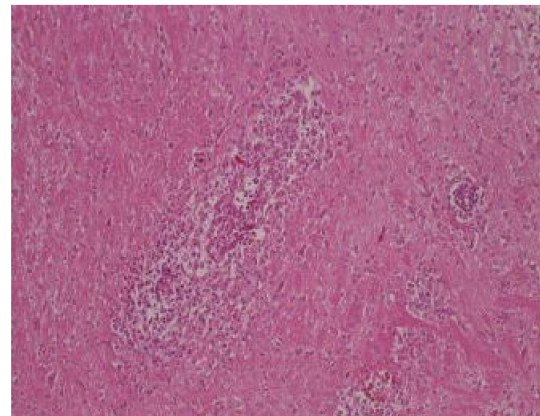


写真5-35
第2事例：大脳の囲管性細胞浸潤

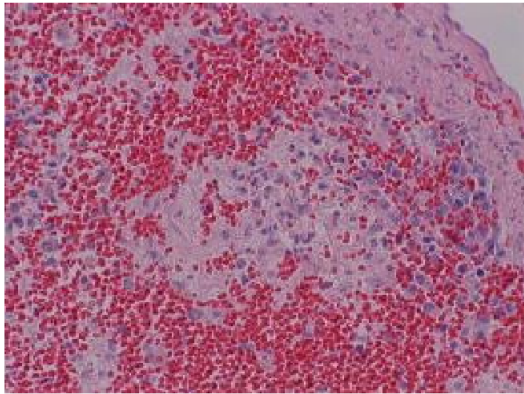


写真 5-36
第 2 事例：脾臓のリンパ球の出血と
壊死

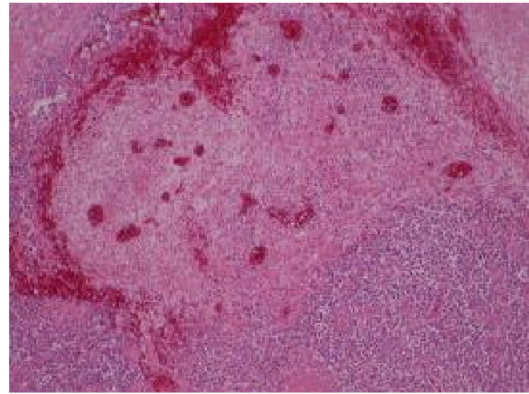


写真 5-37
第 2 事例：リンパ節の壊死

2. 4 考察

2. 4. 1 母豚

症状としては、食欲不振、流産、急死が共通してみられた。剖検においては、2頭に出血病変がみられた以外には著変は認められなかった。組織所見では、数頭に囲管性細胞浸潤、リンパ球減数が観察された。また、FA 陽性、ウイルス分離陽性となった個体は、いずれも急死または死亡したものであった。これらの例では、囲管性細胞浸潤などの組織所見は観察されなかった。また、臨床症状および外貌所見ともに著変のみられなかった個体に、ELISA 陽性のものもあり、これらの例では組織学的に囲管性細胞浸潤が観察された。これらのことから、母豚に感染した場合、妊娠、分娩などのストレスまたは他の複合的な要因によって急性経過をたどるものや、不顕性に経過する個体が存在することが考えられた。第4事例でみられた体表の暗赤色斑や内臓の出血斑も、血管内皮細胞に親和性のある豚コレラウイルス感染の特徴所見にかかわるものと考えられた。

2. 4. 2 肥育豚

第1事例の剖検豚10頭すべてに、臨床症状は認められなかったが、ウイルス分離陽性の2頭に脾臓のリンパ球の軽度な減数が観察された。また、ELISA 陽性豚にはごくわずかに囲管性細胞浸潤が観察された。FA は全頭陰性であるものの ELISA 陽性豚が存在することから、剖検豚は感染からある程度時間が経過しているものと思われ、臨床症状なども認められなかったことから死亡に至った個体は少なかったと思われた。第3事例の7頭には、解剖所見で体表リンパ節の腫大、腎臓の点状出血が観察され、組織所見では、囲管性細胞浸潤、リンパ球減数、腎臓間質に出血が観察された。ELISA 陽性豚が存在し、FA が6頭陽性であることから、感染から比較的早い時期と考えられた。稟告で死亡率が増加していることから症状は急性の経過をとったものが多かったと思われた。

これらのことから、肥育豚では、感染時に症状は急性～不顕性の様々な症状がみられた。臨床的な症状および病理学的な所見がほとんどみられないことから、第1事例の10頭は不顕性感染と考えられ、第3事例の7頭においては症状や剖検所見、組織所見から急性型に近いと考えられた。また、第1事例では食肉衛生検査所で発育不良豚の内臓所見に第3事例と同様、全身のリンパ節の腫大や腎臓の出血が観察されていることから、症状の差には免疫力の低下、その他病原体の感染、日齢または、ウイルスの暴露量なども関係しているものと考えられた。

2. 4. 3 子豚

第2事例の9頭および第5事例の子豚には、臨床症状で、下痢、死亡増加がみられ、剖検

所見では腎臓の点状出血，脾臓の出血性梗塞，リンパ節腫大，結腸腸間膜の水腫が観察された。組織所見では血管性細胞浸潤，リンパ系組織におけるリンパ球減数および壊死，腎臓の間質に出血が観察された。FA はほぼ全頭陽性であり，ELISA は全頭陰性であったことから感染初期の段階であると思われた。剖検した子豚は，感染してから急性の経過をたどったと考えられ，感染していた母豚では妊娠・分娩のストレスのためにウイルスの排泄量が多く，または同居感染子豚からのウイルス排泄量が多かったため，ウイルスの暴露量が多く初期段階から症状が重く出たものと考えられた。

以上のことから母豚・肥育豚に感染した場合，発症に至るには免疫力やストレス，感染以前に持っていた病原体や感染時のウイルスの暴露量などが関係すると考えられ，その状態により感染しても症状が現れず不顕性感染で経過していく個体が多いと考えられた。また，肥育豚では慢性豚コレラに類似する経過（死亡～発育不良）を経るものもあると考えられた。従って，弱毒性の豚コレラウイルスの感染を想定した場合，特に母豚，肥育豚で不顕性の経過をとりやすいものがあることから，清浄性確認検査は発熱等その前兆と思われる臨床症状に留意して進めるべきであると思われた。

子豚の場合，症状は感染後急性に経過し，ウイルスの排泄量も多いため感染源になると考えられ，剖検所見，組織所見などで典型的な所見を示す例が多いと考えられた。そのため，常に下痢，死亡の発生状況を把握し早期発見，早期届出に努めることが重要であると思われた。