

9 埼玉県内の牛における D 型インフルエンザウイルス浸潤状況調査

中央家畜保健衛生所

○村田 拓馬・小泉 舜史郎

1 はじめに

D 型インフルエンザウイルス (FluD) は、2013 年に米国で初めて分離が報告され、経済的損害の大きい牛呼吸器病症候群 (BRDC) 発症への関与が示唆される病原体である¹⁾。近年の調査から、FluD が国内の牛群に浸潤していることが既報により知られている^{2,3,4,5)}が、本県における浸潤状況は不明である。そこで、本県の牛における FluD の抗体及び抗原保有状況を調査したので結果を報告する。

2 材料と方法

(1) 抗体保有状況調査

ア 材料

令和 2 又は 3 年度「牛のアルボウイルス感染症サーベイランス」で採取した牛の残余血清延べ 567 検体 (145 頭分) を使用した (表 1)。血清は延べ 47 農場 (実 30 農場) において、初回採取時に 2~7 か月齢であった健常牛から経時的 (令和 2 又は 3 年度の 6、8、9、11 月) に採取した。

表 1 抗体保有状況調査の材料

	令和2年度	令和3年度	計
頭数	74	71	145
延べ検体数	293	274	567
農場数	23	24	47(30)

() 内は実戸数

イ 抗体検査

牛血清中の抗 FluD 抗体について調べるため、赤血球凝集抑制反応試験 (HI 試験) を実施した。採取した検体は「World Health Organization Manual on Animal Influenza Diagnosis and Surveillance」に準じて処理を行った⁶⁾。検体は RDE (Ⅱ) 「生研」(デンカ株式会社) を加え、37℃で一夜 (18~20 時間) 処理した後、56℃で 30 分加温した。検体を室温まで冷却してから生理食塩水で希釈した。非特異的血球凝集が認められた検体については洗浄鶏血球を加え、混和しながら 4℃で 1 時間インキュベートし、1200rpm で 10 分遠心し上清を回収した。非特異的血球凝集がなくなるまで鶏血球による処理を繰り返した後、試験に供した。HI 価が 40 倍以上を示

した検体を抗体陽性と判定した。また、調査期間に HI 価が 4 倍以上上昇したものを抗体陽転と判定した。

(2) 抗原保有状況調査

ア 材料

平成 28～令和 3 年度に呼吸器症状を主訴として病性鑑定を実施した牛の肺又は鼻腔スワブ乳剤 29 事例 90 検体を用いた。

イ 遺伝子検査 (RT-PCR 法)

High Pure Viral RNA Kit 又は High Pure Viral Nucleic Acid Kit (ロシュ・ダイアグノスティックス) の用法に従い、乳剤から核酸を抽出した。抽出した核酸は既報に従い⁷⁾ RT-PCR 法を実施した。

3 結果

(1) 抗体保有状況調査

HI 試験では、調査期間の少なくとも一時点で抗体陽性となった個体が延べ 13 農場 (実 11 農場) 22 頭認められた (図 1)。抗体陽性牛が存在する農場 (陽性農場) は県内に 3 つある家畜保健衛生所全ての管轄地域に存在した (図 2)。

次に各年度の月毎の HI 価の割合の推移を調べた (図 3)。HI 価 10 倍以上の牛の各月の割合は、令和 2 年度では 23% (6 月)、9.6% (8 月)、5.5% (9 月)、6.8% (11 月) であり、令和 3 年度では 23.9%、17.4%、9.0%、34.3%であった。

次に、HI 価減少の度合いについて評価をするため、HI 価の減少のしかたにより群分けし、評価を行った (図 4)。6 月に HI 価 10 倍以上でその後減少した牛 (+~+++群) が延べ 13 農場 (実 10 農場) 22 頭認められた (図 5)。

また、月齢による FluD 抗体陽性率の違いを調べるため、採材時月齢が 2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12 か月齢の 11 群に分けて評価を行った (図 6)。陽性頭数の割合はそれぞれ 15%、3.7%、4.6%、1.4%、2.6%、3.4%、2.5%、2.9%、8.5%、4.0%、30.0%であった。

次に、抗体陽転について評価を行った (図 7)。抗体陽転牛が延べ 6 農場 (実 6 農場) 10 頭認められた。

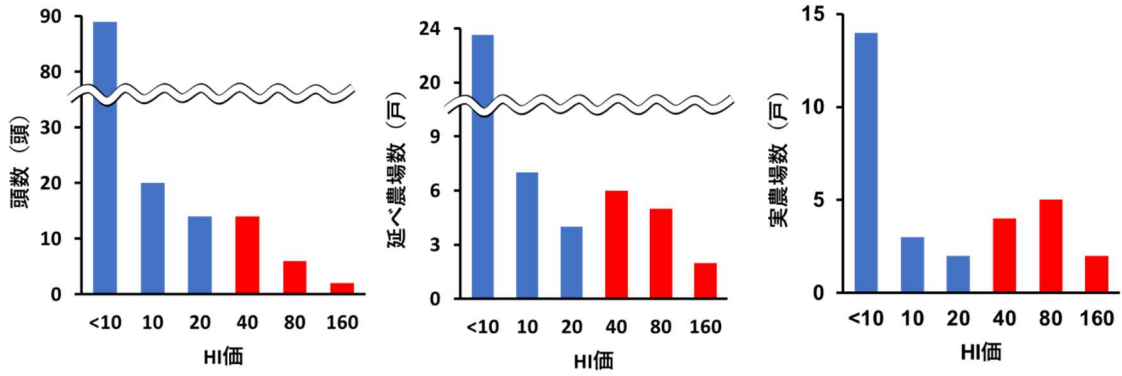


図1 調査期間中の最高HI値ごとの頭数及び農場数

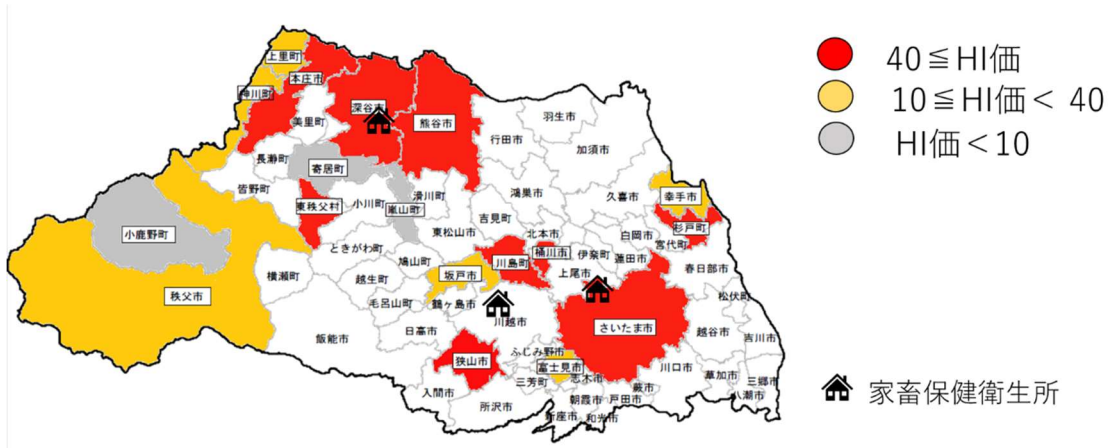


図2 各市町村で認められたHI値の最高値

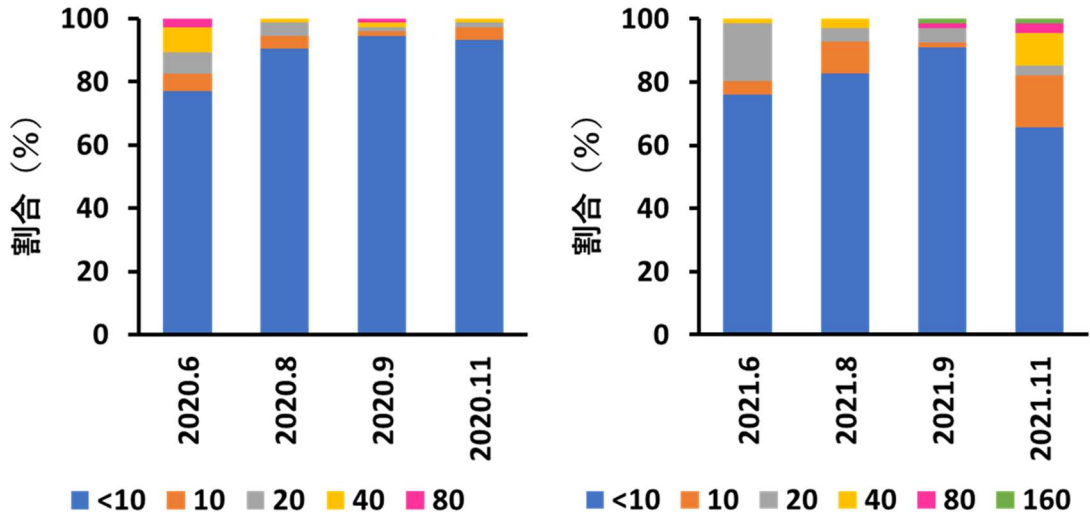


図3 月毎のHI値の割合の推移

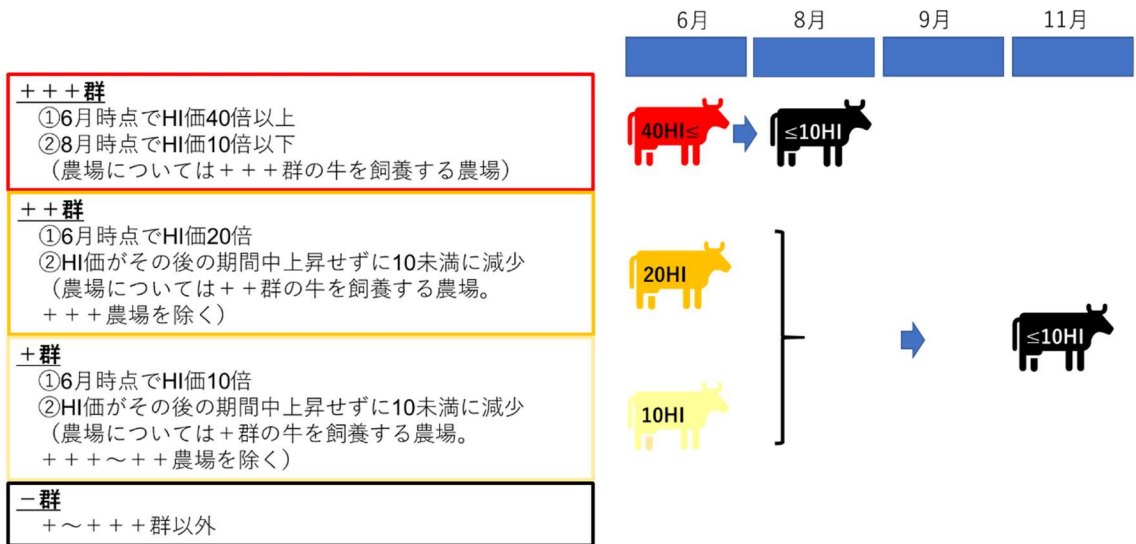


図 4 HI 価減少度合いによる群分け

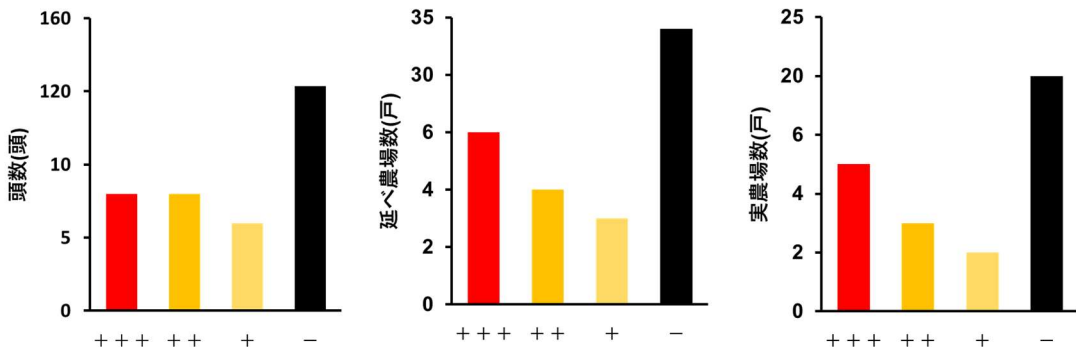


図 5 HI 価減少度合いの評価

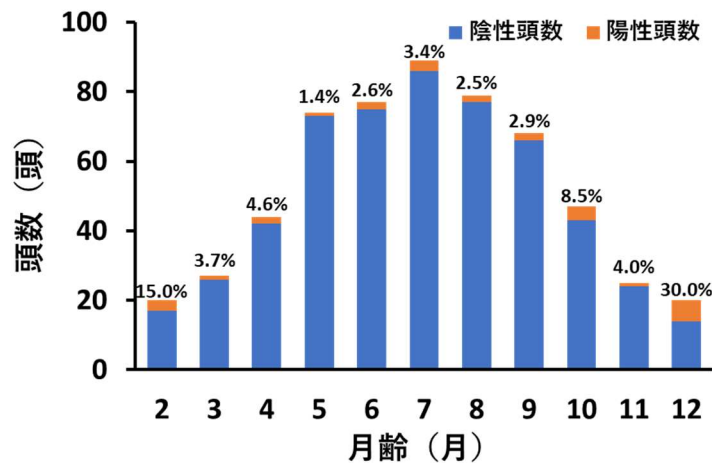


図 6 月齢による抗体陽性率の違い

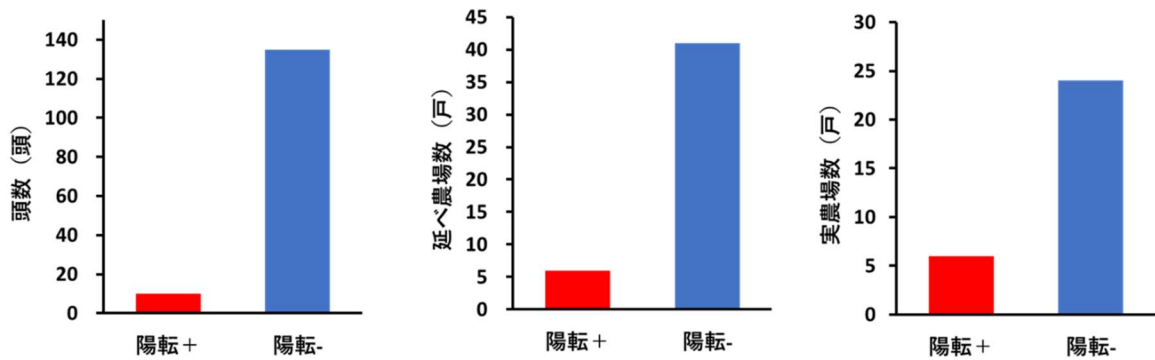


図 7 抗体陽転についての評価

(2) 抗原保有状況調査

RT-PCR 法では全検体で F1uD 特異的遺伝子は検出されなかった (表 2)。

表 2 RT-PCR 検査成績

年度	検査事例数	検査検体数	陽性数
平成28年度	4	12	0
平成29年度	10	25	0
平成30年度	5	20	0
令和1年度	3	5	0
令和2年度	2	16	0
令和3年度	5	12	0

4 まとめと考察

抗体保有状況調査では、抗体陽性牛が 15.2%、陽性農場は 36.7%存在することが判明した。また陽性農場は一地域に局在せず、県内広域に分布していたことから、本県において F1uD が広く浸潤していることが判明した。また、HI 価が 6 月から漸減した牛が全体の 15.2%認められた。6 月時点での調査牛の月齢が 2~7 か月齢であったことから移行抗体の保有が疑われ、母牛やその同居牛についても同等以上の割合で抗体を保有していると推察された。月齢による抗体陽性率は 2 か月齢 (15.0%) から徐々に減少し、5 か月齢 (1.4%) で最低となった。これは移行抗体の減少に起因するものと考えられた。さらに、今回の調査では抗体陽性率は 10 か月齢 (8.5%) から増加し始め、12 か月齢 (30.0%) で最大となった。抗体陽性率の増加については、抗体の陽転により 10 か月齢以降の月齢で抗体陽性率が増加したと考えられた。また、抗体陽転する個体が 10 頭 (6.9%)、陽転農場が実 6 戸 (20.0%) 認められたことから県内における F1uD の流行が疑われた。

抗原保有状況調査では、F1uD 特異的遺伝子は検出されなかったが、本県の流行株と他県の株が分子系統学的に離れている可能性が考えられた。そのため、他の PCR 系におい

ても試験を実施してみる必要がある。

引き続き、遺伝子の検出と流行株の分離を目指し、基礎データを蓄積していくことで、衛生対策の一助としていきたい。

5 引用文献

- 1) Mitra N *et al.* : Metagenomic characterization of the virome associated with bovine respiratory disease in feedlot cattle identified novel viruses and suggests an etiologic role for influenza D virus. J Gen Virol. 2016 Aug; 97 (8) : 1771-1784.
- 2) Murakami S *et al.* : Influenza D Virus Infection in Herd of Cattle, Japan. Emerg Infect Dis. 2016 Aug; 22 (8) : 1517-1519
- 3) Horimoto T *et al.* : Nationwide Distribution of Bovine Influenza D Virus Infection in Japan. PLoS One. 2016; 11 (9) : e0163828.
- 4) Nakatsu S *et al.* : Influenza C and D Viruses Package Eight Organized Ribonucleoprotein Complexes. J Virol. 2018 Mar 15; 92 (6) : e02084-17.
- 5) Murakami S *et al.* : Influenza D Virus of New Phylogenetic Lineage, Japan. Emerg Infect Dis. 2020 Jan; 26 (1) : 168-171
- 6) WHO : WHO Manual on Animal Influenza Diagnosis and Surveillance. World Health Organization. 2002.
- 7) 早川ら : 北海道内で初めて呼吸器病発症牛から分離された D 型インフルエンザウイルス 令和元年度北海道家畜衛生業績発表集録. 2019