

9. 県内における馬インフルエンザの発生事例

奈良県家畜保健衛生所 業務第1課

○油谷 奈美 恵美須裕子

要 約

秋田わか杉国体に出場した県内の馬3頭中2頭で、帰県後H3亜型の馬インフルエンザウイルス感染を確認した。赤血球凝集抑制試験(HI試験)によりH3亜型の抗体価、免疫応答の差が、感染の有無、症状の有無に関与していることが推察された。今回分離されたウイルスは、HA蛋白のシーケンス解析において、馬インフルエンザ2型フロリダ亜系統のグループに属するA/equine/Wisconsin/1/03(H3N8)と98%の相同性であった。

帰県後検疫区域に隔離し、飼養者の限定、一般の見学者の出入り禁止、給餌車両の立入制限等の防疫対策の徹底により、感染拡大を阻止できた。

1 はじめに

馬インフルエンザは、発熱、頻発する強い咳、鼻汁を特徴とする急性の呼吸器感染症で、飛沫感染により伝播し、著しく伝播力が強く届出伝染病に指定されている。国内では1971年～1972年にかけて流行後、発生はみられなかったが、2007年8月に36年ぶりの発生があり¹⁾、その後も全国各地で発生が確認されている。

今回、秋田わか杉国体に参加した県内の馬から、帰県後馬インフルエンザが発生したのでその概要を報告する。

2 発生概要

2007年10月5日～9日に予定されていた馬術競技は、馬インフルエンザ発生のため8日、9日の競技が中止になり、それにともない県内の参加馬3頭(No1, No2, No3)は9日に帰県後、みつえ高原牧場(検疫区域)に収容された。翌日に1頭の馬に発熱、鼻汁の排泄等の症状がみられたので病性鑑定を実施した(表1)。

表1 感染・症状の有無、ワクチン歴

	品種	年齢	性別	感染・症状の有無	ワクチン歴(2007年)
No1	中半血	14歳5ヶ月	セン	感染、鼻汁・発熱	2回(3月、9月)
No2	中半血	11歳11ヶ月	セン	不顕性感染	2回(3月、9月)
No3	KWPN	17歳5ヶ月	セン	なし	3回(5月、6月、9月)

3 本県の対応

10月6日に秋田県より、国体でインフルエンザが発生したという連絡を受け、

帰県後の検疫区域について協議した結果、飼養環境が整っており、馬の飼養がなく、近くに乗馬クラブのないみつえ高原牧場を検疫区域とした。

隔離期間中は飼養者を決め、他の馬に接触しないように徹底し、一般の見学者の出入りを禁止し、給餌車両の立入制限を行い感染拡大の防止に努めた。

馬インフルエンザまん延防止の基本方針（平成19年9月3日付19消安6606号）（以下、基本方針）に基づいて、17日、24日に陰性を確認後、解放とした。

4 材料および方法

（1）検査材料

10月10日、12日、17日、24日採材の鼻腔スワブおよび血清を材料とした。

（2）検査方法

① 臨床症状の観察および体温測定

帰県後の9日の夕方から24日まで、1日3回臨床症状を観察するとともに体温測定を行った。

② インフルエンザ簡易キット検査

市販のエスプライン インフルエンザA & B-N（以下、簡易キット）を用い、10月10日、12日、17日、24日の鼻腔スワブについて検査を実施した。

③ RT-PCR法

10月10日採材の鼻腔スワブ乳剤を用いて、基本方針に示されているプロトコールに従って、H3亜型に対するRT-PCRを実施した。

④ ウイルス分離検査

RT-PCRで陽性になった2頭の10月10日採材の鼻腔スワブ乳剤を、9～11日齢発育鶏卵の漿尿膜腔内に接種し、37℃で3日～4日間培養後、漿尿膜腔液を回収して4代継代した。4代目で回収した漿尿膜腔液を用い、HA試験、簡易キット、PCR検査を実施した。

⑤ 赤血球凝集抑制試験（HI試験）

HI試験は10月10日、12日、17日、24日採材の血清を用いて実施した。

抗原は市販の馬インフルエンザウイルスHA抗原のA/equine/Newmarket/1/77(H7N7)（以下、Newmarket株）、A/equine/Kentucky/1/81(H3N8)（以下、Kentucky株）、A/equine/La Plata/93(H3N8)（以下、La Plata株）、今回発育鶏卵接種により分離したウイルスを使用した。

被検血清は非特異的赤血球凝集抑制物質を除去するために、生理食塩水を用いて4倍希釈し、60度30分間加熱した。

⑥ シークエンス解析

RT-PCR産物のシークエンス解析を北海道システムサイエンス株式会社に依頼し、得られたシークエンスについて相同性検索を実施した。

5 結果

① 臨床症状の観察および体温測定

No1 で9日の収容時に鼻汁の排出がみられ、10日の朝39.3℃、昼39.7℃と発熱がみられた。また No2 で17日の朝39℃、昼39.6℃と発熱が認められた。

② インフルエンザ簡易キット検査

3頭の馬のうち (No1, No2, No3) 10日の簡易キット検査において No1 で陽性、12日の検査では No1, No2 で陽性、17日、24日の検査では全頭陰性であった(表2)。

表2 簡易キット検査結果

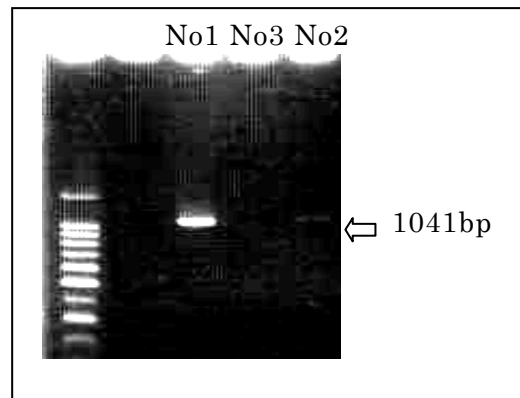
	10日	12日	17日	24日
No1	+	+	-	-
No2	-	+	-	-
No3	-	-	-	-

③ RT-PCR 検査

No1, No2 で1041bpの遺伝子の増幅が認められ、H3亜型の馬インフルエンザ感染をした(図1)。

④ ウイルス分離検査

4代目に回収した No1 の漿尿膜腔液において、HA価4倍、簡易キット陽性、PCR 検査陽性となり、H3亜型の馬インフルエンザウイルスを分離した。



⑤ 赤血球凝集抑制試験 (HI 試験)

No1 では Newmarket 株の抗体価は、10日～24日で128倍と変化がみられなかった。Kentucky 株、分離株の抗体価は、10日～17日に32倍、24日に64倍と2倍の上昇が認められた。La Plata 株の抗体価は、10日～17日に128倍、24日に256倍と2倍の上昇が認められた(図2)。

No2 では Newmarket 株の抗体価は、10日～24日で512倍と変化がみられなかった。Kentucky 株、La Plata 株の抗体価は、10日～12日に128倍、24日に1024倍と8倍の上昇が認められた。分離株の抗体価は、10日～12日に32倍、24日に256倍と8倍の上昇が認められた (図3)。

No3 で10日～24日において、Newmarket 株の抗体価は512倍、Kentucky 株、分離株の抗体価は64倍、La Plata 株の抗体価は256倍と全ての株で変化がみられなかった (図4)。

図1 RT-PCR 結果

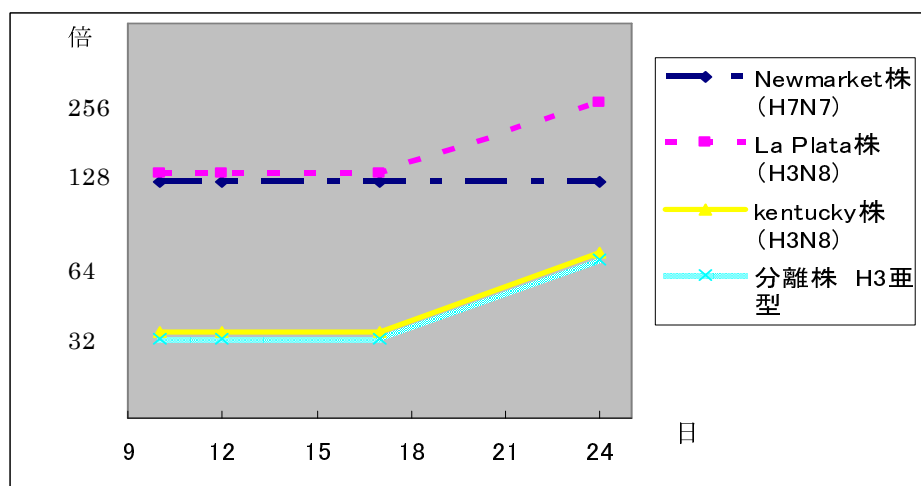


図2 No1 HI 抗体価

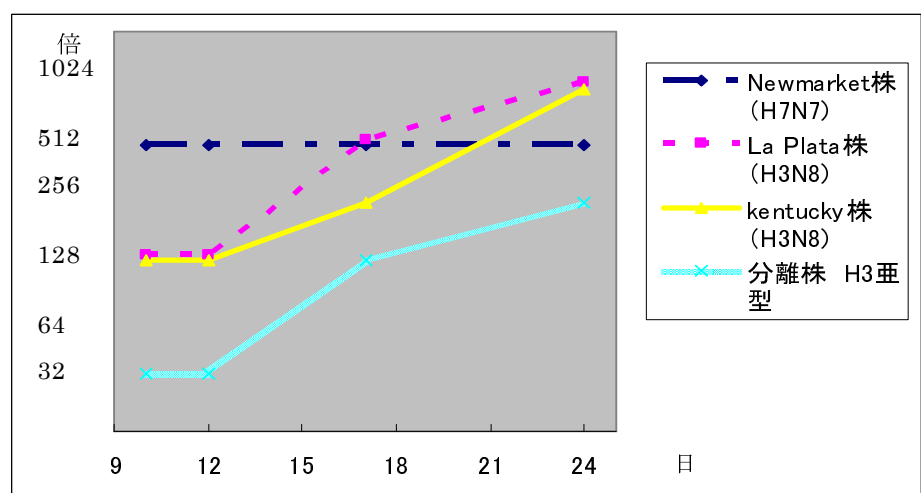


図3 No2 HI 抗体価

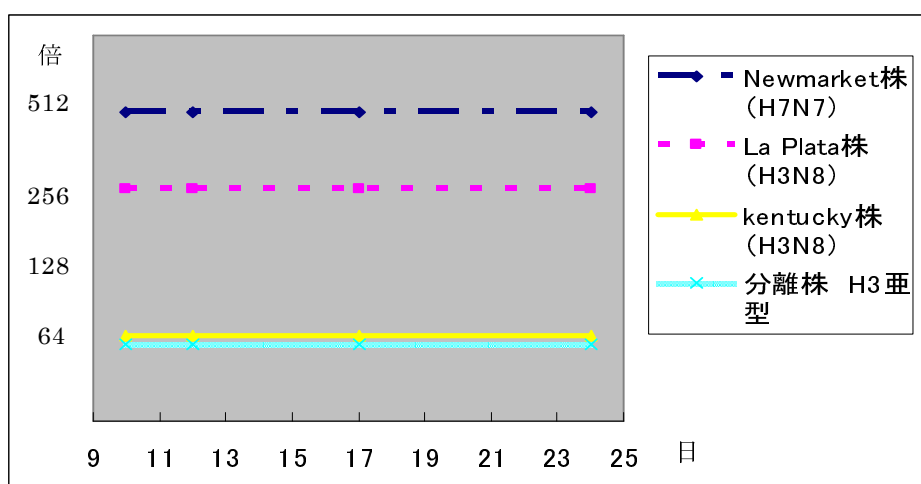


図4 No3 HI 抗体価

⑥ シークエンス解析

HA 蛋白のシークエンス解析において相同性検索を実施したところ、馬インフルエンザ 2 型フロリダ亜系統のグループに属する A/equine/Wisconsin/1/03(H3N8) と 98% の相同性であった。

6 まとめおよび考察

今回の事例は本県における初めての馬インフルエンザ発生で、国体出場馬 3 頭中 2 頭で帰県後、H3 亜型の馬インフルエンザウイルス感染が確認された。

感染馬 2 頭で、No1 にのみ発熱、鼻汁の症状が認められた。No2 において 17 日の朝～昼にかけて発熱が認められたが、感染から 1 週間経過しており、インフルエンザとは別の要因によると考えた。

H3 亜型の Kentucky 株、La Plata 株、分離株の HI 抗体価に関しては、全ての株で No2 で No1 より免疫応答が早く起こり、感染から 2 週間で 4 倍以上の有意な上昇を認めたことより、症状の有無に免疫応答の差が関与していると推察した。また、感染がみられなかった No3 の馬では、他の 2 頭より分離株、La Plata 株の HI 抗体価が 2 倍高かったことが、感染の有無に関与していると推察した。

また、2007 年におけるワクチン接種回数は、No1, 2 の馬は 3 月、9 月の 2 回、No3 の馬は 5 月、6 月、9 月の 3 回であり、3 回接種した No3 の馬で H3 亜型の Kentucky 株、La Plata 株、分離株の全ての株で 64 倍以上の HI 抗体価を保有していた。

これらの結果から、体調、輸送ストレスに対する耐性に加えて、免疫応答の差、H3 亜型の抗体価、過去のワクチン歴も感染の有無、症状の有無に関与していることが推察された。

今回の事例以降、県内では馬インフルエンザは発生しておらず、帰県後検疫区域に隔離し、飼養者の限定、一般の見学者の出入り禁止、給餌車両の立入制限等の防疫対策の徹底により、感染拡大を阻止できたと考えた。

参考文献

- 1) 清水 悠紀臣：動物の感染症、近代出版（2002）