

宮城県の豚熱 2 事例の白血球数減少を主体とした血液性状の動態

仙台家畜保健衛生所
塩原綾早, 高野泰司

はじめに

豚熱に関する特定家畜伝染病防疫指針³⁾(以下、防疫指針)では、特定症状として、耳翼・下腹部・四肢等に紫斑、40℃以上の発熱、元気消失、食欲減退、便秘、下痢、結膜炎、歩行困難、後躯麻痺、痙攣、削瘦、被毛粗剛、異常産、皮下出血、皮膚紅斑、天然孔からの出血・血便、複数の豚の突然死等がみられるとされ、血液検査所見では、同一の畜房内で白血球数 10,000 個/ μ l 未満への減少、または好中球の核の左方移動が示されている。

今回、令和 3 年 12 月に本県で発生した豚熱 2 事例において、白血球数減少や好中球の核の左方移動等の血液性状の動態について調査したので報告する。

発生農場概要

1 例目は、飼養頭数約 9,700 頭の肥育農場であり、令和 3 年 12 月 11 日に 3 豚舎中 1 豚舎(肥育豚舎、約 2,200 頭を飼養)で発生した。病性鑑定(以下、病鑑)で 10 頭、疫学調査(以下、疫学)で 81 頭、計 91 頭の豚熱の遺伝子検査(以下 PCR)を実施したところ、病鑑の 4 頭は陽性、疫学は全頭陰性で、陽性率は 4.4%であった。当該農場では豚熱ワクチンを 44~51 日齢時に接種しており、陽性豚 4 頭は 84 日齢で、ワクチン接種後 33 日であった。陽性豚は肥育豚舎の 1 区画(1/4 区画)に分布しており、症状として発熱、耳翼の紫斑、削瘦がみられた。

2 例目は、飼養頭数約 7,000 頭の一貫農場であり、令和 3 年 12 月 25 日に 12 豚舎中 1 豚舎(離乳豚舎、約 2,300 頭飼養)で発生した。病鑑で 10

頭、疫学で 264 頭、計 274 頭の豚熱 PCR を実施したところ、病鑑の 9 頭、疫学の 51 頭が陽性で、陽性率は 21.9%であった。当該農場では豚熱ワクチンを 48~60 日齢時に接種しており、陽性豚 60 頭は 46~78 日齢で、ワクチン接種前~接種後 16 日であった。陽性豚は離乳豚舎の複数の区画(10/16 区画)に分布しており、症状として発熱、咳、下痢、パイルアップがみられた。

材料及び方法

1. 2 事例の白血球数の動態

1) 材料: 2 事例の病鑑及び疫学で PCR を実施した豚の EDTA 加血液を用いた。

1 例目は 91 検体(病鑑 10 検体、疫学 81 検体)で、うち PCR 陰性は 87 検体(病鑑 6 検体、疫学 81 検体)、陽性 4 検体(病鑑 4 検体)であった。検査した豚の日齢は 22~112 日齢で、陽性 4 頭は 84 日齢であった。

2 例目は計 274 検体(病鑑 10 検体、疫学 264 検体)で、うち PCR 陰性 214 検体(病鑑 1 検体、疫学 213 検体)、陽性 60 検体(病鑑 9 検体、疫学 51 検体)であった。検査した豚の日齢は 24~1,705 日齢で、陽性 60 頭は 46~78 日齢であった。

2) 方法: EDTA 加血液を全自動血球計数器(日本光電工業株式会社、MEK-6550)により測定し、2 事例の白血球数の平均値・中央値・分布を PCR 陰性群と陽性群に分けて調査した。

また、2 事例間の PCR 陰性群同士、PCR 陽性群同士の白血球数を Mann-Whitney の U 検定で比較し、 $p < 0.05$ で有意差ありとした。データ解析には統計ソフト EZR を用いた(以下の解析も同じ)。

2. 血球数(白血球数・赤血球数・血小板数)の動態

1)材料:2事例のPCR陽性豚は離乳後～肥育前期に集中していたため、1.で調査した検体から30～85日齢の豚を抽出したEDTA加血液193検体(PCR陰性129検体,陽性64検体)を白血球数の動態調査に用いた。赤血球数と血小板数については、検査不能であった一部検体を除いた183検体(PCR陰性123検体,陽性60検体)を用いた。

2)方法:白血球数・赤血球数・血小板数を全自動血球計数器により測定し、PCR陰性群と陽性群に分けてMann-WhitneyのU検定で比較を行い、 $p < 0.05$ で有意差ありとした。また、各血球数のReceiver Operating Characteristic Curve(以下、ROC曲線)より、PCR陽性判別能力の指標となるarea under the curve(以下、AUC)及びPCR陰性と陽性を分けるカットオフ値を求めた。

3. 白血球の各分画の動態

1)材料:1例目のEDTA加血液10検体(PCR陰性6検体,陽性4検体)と2例目の6検体(PCR陰性1検体,陽性5検体)の合計16検体(PCR陰性7検体,陽性9検体)を用いた。

PCR陰性群の7検体の白血球数は $22,957 \pm 4,740$ 個/ μl (平均値 \pm 標準偏差,以下同じ)で、全検体が防疫指針記載の基準値である10,000個/ μl 以上であった。陽性群の9検体の白血球数は $5,767 \pm 2,949$ 個/ μl で、うち8検体は10,000個/ μl 未満、1検体は10,000個/ μl 以上(11,700個/ μl)であった。

2)方法:血液塗抹標本をメイギムザまたは簡易ギムザ染色(メルク株式会社,Hemacolor血液塗抹簡易迅速染色)し、白血球百分比と白血球の各分画の実数を測定した。PCR陰性群と陽性群の白血球の比率と実数の中央値をMann-WhitneyのU検定で比較し、 $p < 0.05$ を有意差ありとした。

また、白血球数10,000個/ μl 以上のPCR陰性群(7検体)及びPCR陽性群(1検体)を比較した。

結果

1. 2事例の白血球数の動態

PCR陰性群と陽性群それぞれの白血球数の平均値と中央値を表1に示した。

白血球数の中央値はそれぞれ、1例目の陰性群18,600個/ μl ,陽性群3,455個/ μl に対し、2例目の陰性群17,804個/ μl ,陽性群9,050個/ μl となり、2事例とも白血球数は陰性群よりも陽性群が低値であった。

PCR陰性群と陽性群の各白血球数の分布を図1に示した。2事例間の陰性群の白血球数の比較では有意差は認められなかった($p \geq 0.05$)。陽性群では1例目は全検体5,000個/ μl 以下に対し、2例目は2,400～32,400個/ μl と幅広く分布し、白血球数10,000個/ μl 以上は24検体存在しており、2例目の陽性群の白血球数は1例目より有意に高かった($p < 0.01$)。

表1 2事例のPCR陰性群と陽性群の白血球数の平均値と中央値

	1例目		2例目	
	平均値 \pm SD	中央値	平均値 \pm SD	中央値
PCR陰性群	$18,578 \pm 5,163$	18,600 (n=87)	$17,805 \pm 5,046$	17,804 (n=214)
PCR陽性群	$3,673 \pm 738$	3,455 (n=4)	$10,238 \pm 5,383$	9,050 (n=60)

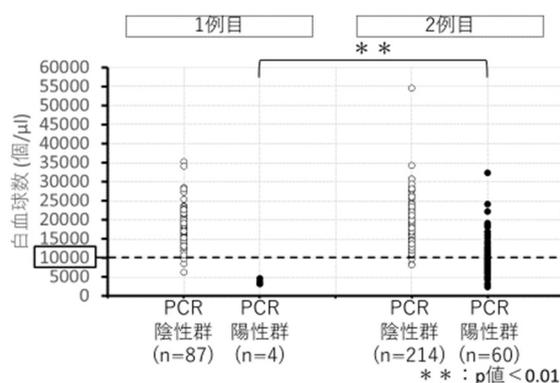


図1 2事例の白血球数の分布

2. 血球数(白血球数・赤血球数・血小板数)の動態

30～85 日齢の豚の各血球数を PCR 陰性群と陽性群に分けて中央値を比較した結果、白血球数は PCR 陰性群 18,200 個/ μl 、陽性群 8,550 個/ μl 、赤血球数は陰性群 637×10^4 個/ μl 、陽性群 593×10^4 個/ μl 、血小板数は陰性群 37.3×10^4 個/ μl 、陽性群 18.3×10^4 個/ μl で、全血球数において PCR 陽性群で有意な減少 ($p < 0.01$) が認められた。

ROC 曲線による解析の結果を表 2 に示した。各血球の AUC は白血球 0.882、赤血球 0.698、血小板 0.757 であった。PCR 陽性と陰性を判別するカットオフ値は、白血球数 12,800 個/ μl 、赤血球数 631×10^4 個/ μl 、血小板数 30.4×10^4 個/ μl であった。

表 2 白血球数・赤血球数・血小板数の AUC とカットオフ値

	AUC (精度)	カットオフ値 (PCR -/+ の基準)
白血球	0.882	12,800 個/ μl
赤血球	0.698	631×10^4 個/ μl
血小板	0.757	30.4×10^4 個/ μl

3. 白血球の各分画の動態

PCR 陰性群と陽性群の白血球の比率と実数の中央値を比較した結果を表 3 に示した。

表 3 PCR 陰性群と陽性群の白血球の比率と実数 (中央値)

	比率 (%) の中央値			実数 (個/ μl) の中央値		
	PCR 陰性群 n=7	PCR 陽性群 n=9	p 値	PCR 陰性群 n=7	PCR 陽性群 n=9	p 値
単球	0.5	0.0		274	16	
好塩基球	0.0	0.0		0	0	
好酸球	3.0	0.0	**	68	0	**
リンパ球	61.0	66.0		15,209	3,091	**
好中球全体(※)	35.0	31.5		6,912	1,474	**
好中球						
骨髓球	0.0	2.5	**	0	140	**
後骨髓球	0.5	8.0	**	96	441	*
桿状核球	9.0	14.0		1,728	440	
分葉核球	26.5	4.0	**	5,088	204	**

* : p 値 < 0.05, ** : p 値 < 0.01

※中央値のため、好中球の各分画の和は好中球全体と等しくならない

比率では、PCR 陽性群で好酸球は有意に減少

($p < 0.01$)したが、リンパ球と好中球全体は陰性群との有意な差は見られなかった ($p \geq 0.05$)。しかし好中球を分類したところ、陽性群において、幼弱な好中球である骨髓球と後骨髓球は有意に増加し ($p < 0.01$)、一方で分葉核球は有意に減少した ($p < 0.01$)。分葉核球が好中球に占める割合が 50%未満となり、好中球の変性性左方移動(幼弱な好中球の割合が分葉核球の割合よりも増加)が認められた。

実数においては、PCR 陽性群で好酸球数、リンパ球数、好中球数の有意な減少 ($p < 0.01$) が認められた。また、好中球を分類したところ、骨髓球数の有意な増加 ($p < 0.01$)、後骨髓球数の有意な増加 ($p < 0.05$)、分葉核球数の有意な減少 ($p < 0.01$) が見られ、好中球の変性性左方移動が認められた。

PCR 陽性で白血球数 10,000 個/ μl 以上の 1 検体の白血球の比率と実数を表 4 に示した。表 3 の陰性群と比較すると、当該 1 検体は比率では幼弱な好中球の増加(後骨髓球 14%、桿状核球 18%)と分葉核球の減少(16.5%)がみられ、好中球の変性性左方移動が確認された。実数では、当該 1 検体の好中球全体の数は 5,734 個/ μl で、陰性群と同程度であったが、リンパ球数は 5,792 個/ μl と、陰性群と比べて大きく減少していた。

表 4 PCR 陽性で白血球数 10,000 個/ μl 以上を示した検体の白血球の比率と実数

	PCR+, 白血球数 10,000 個/ μl 以上 (n=1)	
	比率 (%)	実数 (個/ μl)
単球	0.0	0
好塩基球	0.0	0
好酸球	1.5	176
リンパ球	49.5	5,792
好中球全体	49.0	5,734
好中球		
骨髓球	0.5	59
後骨髓球	14.0	1,638
桿状核球	18.0	2,106
分葉核球	16.5	1,931

まとめ及び考察

2 事例とも豚熱 PCR 陰性群と比較し豚熱 PCR 陽性群で白血球数が減少していた。しかし、2 例目の PCR 陽性群は、1 例目と比べて白血球数の中央値は有意に高く、また、PCR 陽性率が高く、複数の区画に分布していたことから、2 例目は感染拡大の途中であり、白血球数減少がなかった個体は感染直後と推察された。

PCR 陽性群では全血球数(白血球数・赤血球数・血小板数)の減少が認められ、川本ら¹⁾の報告と一致した。また、ROC 曲線による解析の結果、白血球と血小板の AUC は、実用的な精度とされる 0.7 以上であった。特に白血球は 0.882 と、最も 1 に近い値で、PCR 陽性の目安としては白血球数が特に有用であると考えられた。

本調査では白血球数のカットオフ値は 12,800 個/ μ l で、防疫指針記載の基準値である 10,000 個/ μ l 以上であった。小松ら²⁾はカットオフ値を 11,700 個/ μ l と報告しており、同様に 10,000 個/ μ l 以上であったことから、白血球数が 10,000 個/ μ l 以上でも豚熱感染の可能性があり、複数頭の検査が重要と考えられた。

白血球の各分画の動態では、比率と実数で共通して PCR 陽性群での好中球の変性性左方移動が確認された。またリンパ球と好中球については、比率では PCR 陰性群と陽性群で有意差は見られなかったものの、実数では PCR 陽性群で有意な減少が認められた。PCR 陽性群で見られた、好中球の変性性左方移動、好中球数、リンパ球数の減少は Susa ら⁴⁾の報告と一致した。PCR 陽性で、白血球数 11,700 個/ μ l の検体でも好中球の変性性左方移動とリンパ球数減少が確認された。よって、豚熱感染後の血液動態としては好中球の変性性左方移動とリンパ球数の減少が先行して起こり、その後好中球数が低下することで、豚熱の特定症状である白血球数の著しい減少が起こる可能性

が示唆された。

したがって、豚熱の診断では白血球数減少は有力な指標であるが、感染初期等の白血球数が基準値(10,000 個/ μ l)以上の状態では白血球百分比の所見が重要であると考えられた。

今後は本病の血液動態について本県の初動立入検査時に活かせるように若手職員に向けた研修等で啓蒙していきたい。

引用文献

- 1)川本尚未, 小松徹也:豚熱感染豚における血液成分の変動の調査. 令和2年度(第61回)愛知県畜産技術業績発表会集録.(令和3年3月15日), <https://www.pref.aichi.jp/uploaded/attachment/371013.pdf>
- 2)小松徹也, 杉江建之介:CSF 診断における白血球測定の有用性の検討と課題. 令和元年度(第60回)愛知県畜産技術業績発表会集録.(令和2年3月31日), <https://www.pref.aichi.jp/uploaded/attachment/326834.pdf>
- 3)農林水産省 消費・安全局:豚熱に関する特定家畜伝染病防疫指針 令和2年7月1日農林水産大臣公表(一部変更:令和4年12月23日). 公益社団法人中央畜産会, 東京(2020).
- 4) Susa M., Konig M., Saalmuller A., Reddehase M. J., and Thiel H.: Pathogenesis of Classical Swine Fever: B-Lymphocyte Deficiency Caused by Hog Cholera Virus. *Journal of Virology*. 66, 1171-1175(1992).