

12 一養豚場における豚流行性下痢ウイルスの侵入経路と哺乳豚の感染要因調査

中央家畜保健衛生所

井上 大輔・元村 泰彦・下條 憲吾・
松森 洋一・吉野 文彦・平井 良夫・
田中 英隆・向原 要一

豚流行性下痢(PED)はコロナウイルス科のPEDウイルス(PEDV)によって引き起こされる豚の急性伝染病である¹¹⁾。水溶性の下痢、嘔吐、脱水を特徴とし、わが国では届出伝染病に指定されている。すべての日齢の豚が発症しうるが、特に若齢豚で症状が重篤化しやすく、哺乳豚での死亡率は時に100%に達する^{11, 12)}。国内では昭和57年から散発的な発生が確認され、平成に入ってから大規模な発生が相次いだ。特に平成8年には9道県102戸で約8万頭が発症し、哺乳豚を中心に約4万頭の死亡が報告された⁹⁻¹²⁾。平成18年まで散発的に発生があったが、その後7年間確認されなかった。しかしながら、平成25年10月1日の沖縄県における発生を初発に、平成27年1月25日までに39道県、のべ905戸で発生(再発生を含む)約126万3千頭が発症、累計死亡頭数は約39万5千頭にのぼり、今もなお全国各地で発生が相次いでいる。

本県でも平成26年3月28日から平成27年1月14日にかけて、26例が発生し、約3万2千頭が発症、1万頭以上の豚が死亡した。しかしながら、ウイルスの侵入防止策や発生時の被害低減策について確実に効果が得られる対策法はまだ確立されておらず、この確立は本県の養豚産業を守るために緊急に取り組みねばならない重要な課題となっている。そこで、PEDの発生した一養豚場において調査を行ったところ、被害低減のために必要ないくつかの対策ポイントが明らかとなった。

1 材料及び方法

(1) ウイルス侵入経路調査

調査対象農場は、母豚155頭飼養規模の一貫経営農場で、開放豚舎が7棟あり、分娩舎ではオ

ールアウトが実施されていた。通報があった平成26年5月14日(発生日)に立ち入り、疫学情報の聞き取りを行うとともに、農場にある豚舎7棟のうち6棟(分娩舎A、分娩舎B、子豚舎、肥育舎、母豚舎A、母豚舎B)で、落下糞便を各棟5個ずつ採取した。残る1棟である離乳舎については、立ち入り時、豚舎内に30および60日齢の群があり、落下糞便を各群で5個ずつ採取した。それらの材料を棟あるいは群ごとにプールし、PEDVのRT-PCR⁸⁾を実施した。なお、落下糞便の採取にあたっては、採取場所が豚舎内で偏らないよう留意し、1豚房につき1個を採取した。また、分娩舎では母豚由来の落下糞便を採取した。

(2) 発生状況の分析

発生日から症状が消失した平成26年7月1日までの49日間に発症した豚群の日齢、発症頭数および死亡頭数を集計し、分析を行った。

(3) 哺乳豚の感染要因調査

発生21日目の6月4日、ウイルス侵入経路調査と同様に、豚舎7棟において落下糞便を各棟5個ずつ採取した。また、分娩舎2棟でそれぞれ2群ずつの母子を選定し、各群で哺乳豚および母豚の直腸スワブ、母豚の口腔、体表(腹部側面)、外陰部および乳房・乳頭のスワブ、分娩台の床面および保温箱の床面・壁面のスワブを1検体ずつ、各豚舎の通路床面および豚舎内壁のスワブを5検体ずつ採取し、PEDVのRT-PCR⁸⁾を実施した。また、分娩舎Bでスワブの採材対象とした母豚1頭の初乳を採取し、レンネット処理⁷⁾により分離した乳清を材料として、PEDVの中和試験を実施した。なお、調査時分娩舎A

は発生中、分娩舎 B は発生が認められる 5 日前であった。

2 成績

(1) ウイルス侵入経路調査

発生 5 日前の 5 月 9 日、分娩舎から離乳舎へ豚の移動があり、同日、飼料運搬車両の立ち入りがあった。この飼料業者は、他の発生農場にも配達していた。農場入場時の車両の消毒は、農場入口に設置していた手押し式噴霧器でなされていた。発生 3 日前の 5 月 11 日、分娩舎 2 棟でマイコプラズマワクチンの子豚への一斉接種が実施された。同日、離乳舎において、4 群 20 頭で散発的な嘔吐および下痢が発生し、抗生剤による治療が施されたところ、2 日後には症状が改善傾向となったため、畜主は豚大腸菌症を疑い、PED については疑っていなかった。しかしながら、5 月 13 日に分娩舎 B の 1 群で嘔吐および下痢が発生し、その翌日、同様の症状が 8 群 63 頭中 30 頭に拡大したため病性鑑定が実施され、PED と診断された。さらに 5 月 15 日には、分娩舎 A で 17 群 180 頭が発症した。その他疫学関連情報として、従業員の豚舎出入り時、長靴や衣服の交換はなされていなかった。また、5 月 7 ~ 9 日に豚の出荷があったが、と畜場において PED 発生農場との交差はなく、近隣農場においても PED の発生はなかった。なお、PED ワクチンは、発生前から終息に至るまで使用されていなかった。発生日の各豚舎における PEDV 遺伝子検出状況については表 - 1 のとおりで、分娩舎 2 棟と

離乳舎の 30 および 60 日齢の両群で遺伝子が検出された。

表 - 1 各豚舎の PEDV 遺伝子検出状況と 5 月 15 日までの発症状況 (5 月 14 日)

豚舎	遺伝子	発症状況
分娩舎 A	+	5 月 15 日嘔吐, 下痢
分娩舎 B	+	5 月 13 日嘔吐, 下痢
離乳舎 (30 日齢)	+	5 月 11 日嘔吐, 下痢
離乳舎 (60 日齢)	+	5 月 11 日嘔吐, 下痢
子豚舎	-	症状なし
肥育舎	-	症状なし
母豚舎 A	-	症状なし
母豚舎 B	-	症状なし

(2) 発生状況の分析

農場全体では、発生 1 週間ほどで全ステージの豚が発症した後、哺乳豚のみで発生が継続した (図 - 1)。死亡したのは哺乳豚のみで、49 日間で 209 頭が死亡した (図 - 2)。分娩舎 2 棟の発生状況を調べたところ、症状が消失するまで、どちらの分娩舎においても 1 群でも発症すると豚舎内のほぼ全群が発症していた (表 - 2)。分娩舎 A と比較して分娩舎 B の方が発生期間は短かったが、死亡率が高く、群の平均発症日齢が有意に低かった。哺乳豚全体の発症日齢を集計したところ、発症豚群の 36.2% が 1 ~ 2 日齢で発症していた (図 - 3)。哺乳豚群における群の発症日齢と死亡率を比較した結果、発症日齢が低い群ほど死亡率が高く、発症日齢と死亡率には高い負の相関が認められた (図 - 4)。

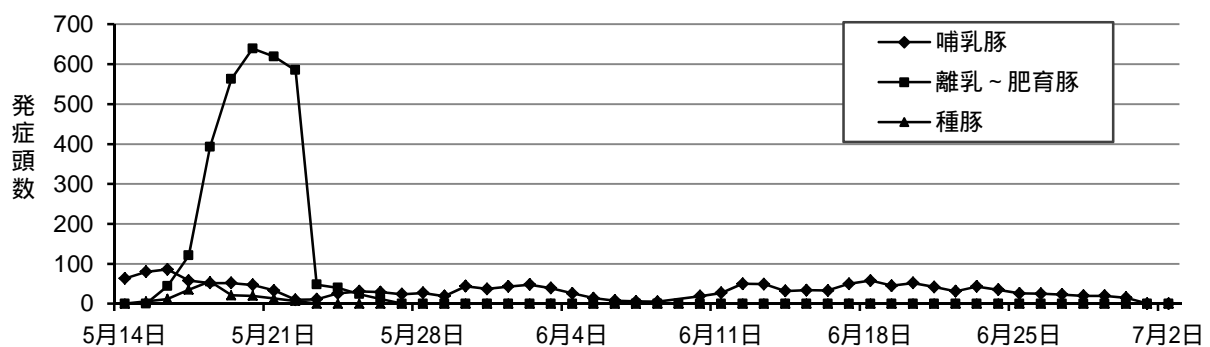


図 - 1 各ステージにおける発症頭数の推移

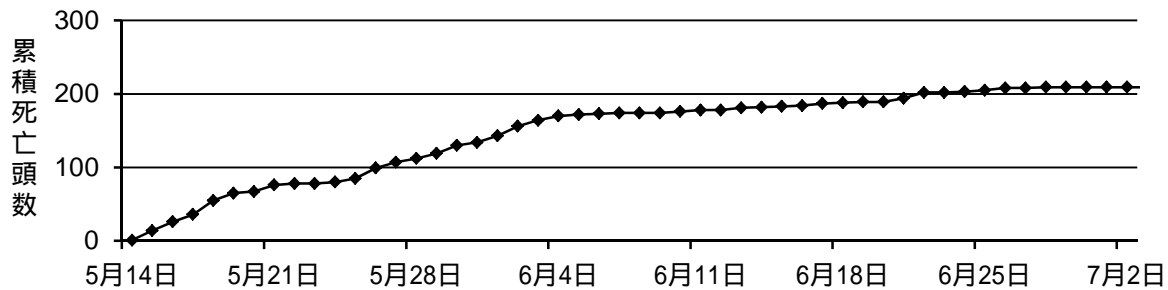


図 - 2 累積死亡頭数の推移

表 - 2 各分娩舎における発生状況および死亡状況

	分娩舎 A	分娩舎 B
発症開始月日	5月15日	5月14日
症状消失月日	7月1日	6月8日
症状消失までの発症率	94.6% (35/37 群)	100% (26/26 群)
発症豚死亡率	15.1% (50/331 頭)	78.3% (170/217 頭)
発症日齢 平均値 ± 標準偏差	13.6 ± 9.7*	4.0 ± 4.1*

* p<0.00001

また、産子がすべて死亡した群もあったが、これらはすべて4日齢までに発症した群に限られていた(図 - 5)。

(3) 哺乳豚の感染要因調査

調査時、発生から21日が経過していたが、分娩舎 A では6群で発生が認められ、発生の認められなかった16群のうち、13群は既に産子がすべて死亡した後であった。分娩舎 B では空舎後

に豚を入れ始めたばかりで、発生はなかったが、この調査の5日後から発生した。両分娩舎では、5月14日以降、動力噴霧器を用いた逆性石鹼による畜舎消毒が毎日行われていたほか、分娩舎における作業者の専従化等、分娩舎へのウイルス侵入防止対策が実施されていた。

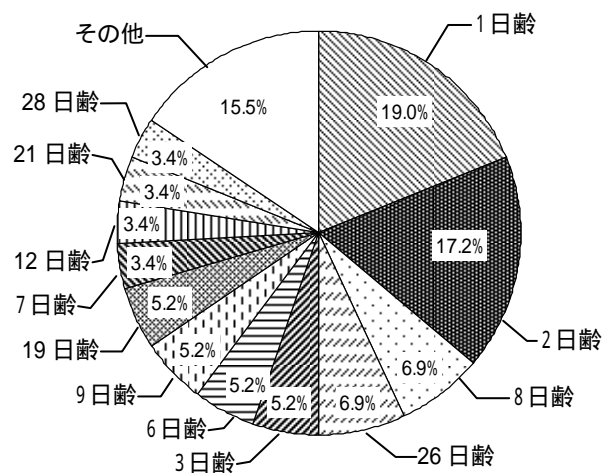


図 - 3 哺乳豚群の発症日齢 (n=58)

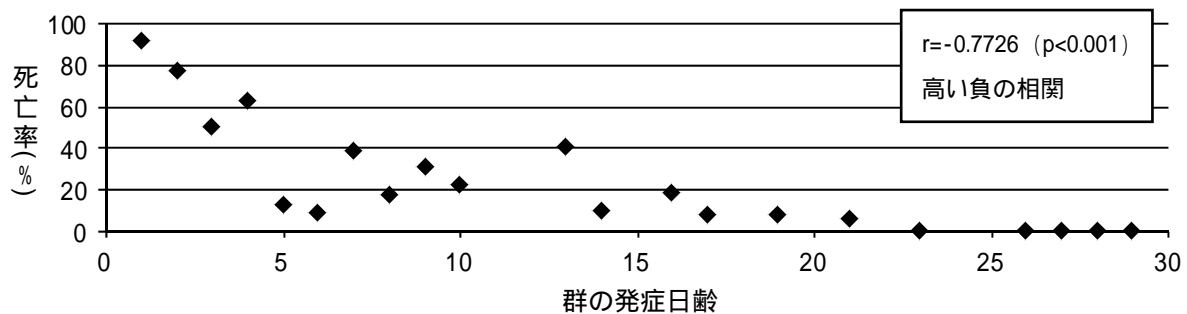


図 - 4 群の発症日齢と各日齢における総死亡率

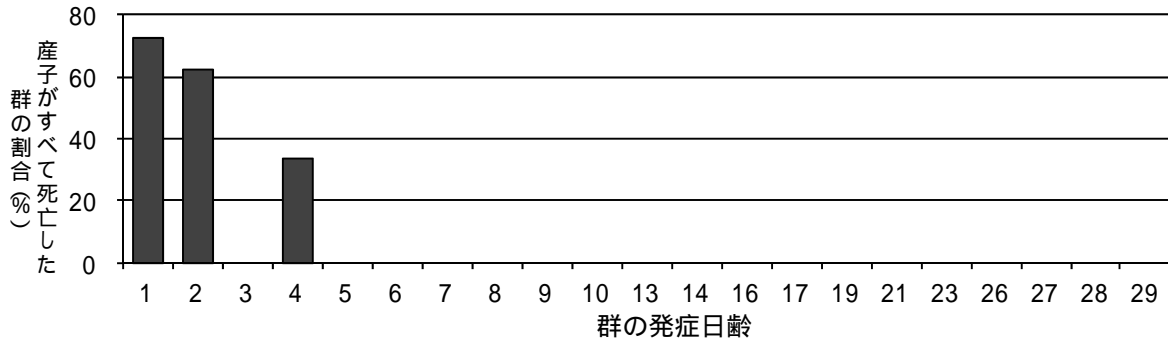


図 - 5 群の発症日齢と産子がすべて死亡した群の割合

各豚舎の落下糞便の検査の結果は表 - 3 のとおりで、発生中であった分娩舎 A のほか、分娩舎 B と 1 棟の母豚舎で遺伝子が検出された。分娩舎内の汚染状況については表 - 4 のとおりで、発生中の分娩舎 A では哺乳豚の直腸スワブと分娩台の多くの部位で遺伝子が検出された。

表 - 3 各豚舎の PEDV 遺伝子検出状況(6月4日)

豚舎	遺伝子	備考
分娩舎 A	+	発生中
分娩舎 B	+	非発生*
母豚舎 A	+	非発生
離乳舎	-	非発生
子豚舎	-	非発生
肥育舎	-	非発生
母豚舎 B	-	非発生

* 分娩舎 B では5日後(6月10日)から発生

表 - 4 分娩舎の PEDV 遺伝子検出状況(6月4日)

材料	分娩舎 A	分娩舎 B
分娩台環境		
哺乳豚直腸便	2/2*	0/2
分娩台床面	2/2	0/2
保温箱内床・壁	2/2	0/2
母豚体表	1/2	0/2
母豚外陰部	1/2	0/2
母豚乳房・乳頭	1/2	0/2
母豚直腸便	0/2	1/2
母豚唾液	0/2	0/2
豚舎環境		
落下便	1/1**	1/1**
豚舎通路	0/1**	0/1**
豚舎内壁	0/1**	0/1**

* 陽性数/検体数 ** 5検体を1プールとして検査

まだ死亡していない哺乳豚は他の豚の下痢便が全身体表に付着し(写真 - 1)、保温箱や分娩台のいたる所が下痢便で汚染されていた(写真 - 2)。一方、未発生の分娩舎 B でも1頭の母豚の直腸スワブから遺伝子が検出された。初乳の抗体検査では、1,024 倍の抗体が検出された。なお、この遺伝子が検出された母豚と初乳の抗体検査を実施した母豚は同個体で、分娩舎 B で最初に発症したのはその産子群であり、この群で死亡した豚はいなかった。



写真 - 1 他の豚の下痢便が全身に付着した哺乳豚

3 まとめおよび考察

発生日に実施した全豚舎の遺伝子検査では、発生のある分娩舎 B のほか、離乳舎の複数群と未発生の分娩舎 A でも遺伝子が検出された。このことから、発生前に離乳舎でみられた一過性の下痢は PED によるものであり、立ち入り時



写真 - 2 下痢便による保温箱内の汚染

既に離乳舎内でウイルスがまん延していたことが示唆された。未発生であった分娩舎 A では、この調査翌日から発生したことから、落下糞便の遺伝子検査により発生が確認される少なくとも 1 日前から豚舎へのウイルス侵入を察知可能であり、PED 発生にかかる疫学解明に有効な方法であることが示唆された。

今回の全国的な PED の発生を受けて農林水産省で実施された PED の疫学調査の結果、PED の感染拡大要因として、発生農場間での生体豚の移動、共通の出荷と畜場、堆肥処理施設、家畜運搬業者および飼料運搬業者の利用に伴う共通の車両の利用等が指摘されている⁶⁾。今回、聞き取り調査で得られた疫学情報と遺伝子検査成績から、当該農場におけるウイルス侵入および伝播経路を推測したところ、飼料業者の車両あるいは人が農場内にウイルスを持ち込んだ可能性が疑われ、同日に行われた豚の移動や他の作業に伴いウイルスが離乳舎に侵入、発症したが、PED を疑わないままワクチン接種作業等を行ったことで分娩舎へ伝播し、爆発的な発生へとつながった可能性が考えられた。本農場では手押し式噴霧器での車両消毒が行われていたが、大型車両の車両全体の消毒や、タイヤ溝やタイヤハウスにこびりついた泥等を落とすのは困難と考えられ、今後農場に入場する車両については動力噴霧器等を用いた徹底的な消毒が必要と考えられた。また、車外だけでなく、車内にウイルスが存在する可能性があり^{4, 6)}、乗降する人

についても長靴の履き替えや衣服の交換、車内の清掃および消毒を実施し、農場に立ち入る業者等がウイルスを持ち込むリスクを下げるのが重要である。また、万一農場内の敷地が汚染された場合であっても、豚舎にウイルスを持ち込まないように、平常時から豚舎、特に分娩舎入場時の従業員の長靴の交換を徹底し、可能であれば衣服の交換も実施するのが望ましい。

発生状況を分析したところ、発症はすべてのステージの豚で起こっていたが、PED による死亡は哺乳豚に集中していた。そこで、哺乳豚の発症日齢を調査したところ、発症豚の約 3 分の 1 が分娩後間もなく感染し、2 日齢までに発症していたことがわかった。分娩舎 2 棟で死亡率に差が認められたが、平均発症日齢が低い豚舎の方が死亡率が高く、哺乳豚全体でも発症日齢の若さと死亡率の高さは高い相関を示した。また、産子が全頭死亡したのは 4 日齢以下で発症した群に限られていた。これらのことから、PED による被害が大きくなる要因は、生後間もない哺乳豚の発症の多さとそれら新生豚の死亡率の高さにあると考えられた。すなわち、新生豚の感染あるいは発症を防ぐことができれば被害を小さくできるということであり、調査結果を見る限り、感染や発症を完全に防ぐことができなくとも、数日発症を遅らせるだけで確実に被害を低減可能と推察された。

そこで、哺乳豚の感染要因について調査を行った。当初、分娩舎のオールアウトを実施し、徹底した豚舎消毒と人によるウイルス持込み防止対策を行っていたにも関わらず、哺乳豚での発生が継続する原因が不明であったが、未発生の分娩舎 B において母豚の糞便から PEDV 遺伝子が検出され、この母豚の産子が豚舎内で最初に発症したことから、母豚の糞便が産子への感染源となった可能性が高いと考えられた。海外で実施された 4 週齢の豚を用いた PEDV の感染実験で、接種後 30 日以上が経過しても糞便や口腔液から PEDV 遺伝子が検出された個体があったことや^{1, 5)}、野外感染した母豚では、糞便だけでなく血清や乳汁からも遺伝子が検出されたことが報告されている²⁾。子豚を発症させるのに十分

なウイルス量を母豚が排泄する期間等については今後の検証が必要と思われるが、母豚におけるウイルス排泄が収まらない限り、その産子が発症する危険性があり、母豚のウイルス排泄期間の短縮が発生の早期終息のための重要なポイントと考えられた。この対策として、分娩舎における発生が認められた場合、馴致により早期にすべての母豚に強制的に感染させることで、母豚群における感染伝播の長期化を防止し、感染期間を短くする方法が考えられる。しかしながら、強毒株による馴致には様々なリスクがあり^{9, 11)}、実施についての慎重な判断と、実施する場合はしっかりと計画を立て、獣医師の管理下で行う必要がある。

一方、分娩舎 B でウイルスが検出された母豚の初乳には高力価の抗体が含有されており、この産子が5日後まで発症せず、死亡もなかったのは、この乳汁免疫の防御効果であることが考えられた。このことから、母豚における免疫状態が被害低減に重要と考えられ、発生前からワクチンにより基礎免疫を持たせておくことで、発生後の野外感染あるいは馴致により早期の強力な免疫が誘導され、哺乳豚への高力価の抗体を含有した初乳の給与、あるいは母豚体内でのウイルス血症期間や乳汁中へのウイルス排泄期間の短縮が期待される。ただし、多くの PED 発生事例で発症母豚の泌乳停止がみられ^{12, 13)}、免疫が誘導できても哺乳豚が母乳を摂取できない場合その効果は得られないうえ、哺乳豚の栄養失調や脱水、死亡につながるため、きめ細かい観察と介護が必要である。

発生中の分娩舎 A では、哺乳豚の直腸スワブと分娩台の多くの部位から遺伝子が検出された。このことから、発生があった分娩台周囲は、発症した哺乳豚の排出したウイルスにより重度に汚染されており、容易に水平感染が起こりうる状況にあると推察された。肉眼的にみられた同腹の哺乳豚や分娩台周囲の糞便による汚染状況と、感染豚の糞便を1億分の1に希釈しても時に感染が成立する³⁾ PEDV の感染力の強さを併せて考えると、おそらく、豚舎内で1頭でも発症した場合、同腹豚への感染拡大を防ぐのはほぼ不可

能であり、豚舎内で作業者が一人の場合、人や物を介した他群へのウイルス伝播を防止するのは困難と考えられた。発生状況の分析で、豚舎内で1群でも発生した場合、同豚舎内のほぼすべての豚群が発症していたのは、上記の推察を支持する成績と思われる。したがって、PED の終息のためには、発症豚のいない清浄な豚舎での分娩が必要であり、オールアウト後に徹底して消毒を行った豚舎に、人や物によるウイルス持込み防止対策を徹底したうえ、ウイルスを排泄していない母豚を入れることが終息のためのポイントと推察される。

本調査では、遺伝子検査を応用し、目に見えないウイルスの汚染状況を可視化し、そこに様々な分析を加え、科学的根拠に裏付けされた対策ポイントを示した。今回用いた落下糞便や環境スワブを材料とした調査法は、豚の保定や採血などの労力が必要なく簡便である上、リアルタイムにウイルスの動態を把握できるため、得られたデータを基に効率的に清浄化対策をすすめることができ、効果的である。また、生産者にとっても汚染状況や対策の意義を理解しやすいと考えられ、分娩舎のオールアウトができない場合や、従業員の専従化が徹底できない場合等、農場によって様々な状況があるが、農場内の状況を見ながら、家畜防疫員と生産者が一緒に対策方法を考えることで、困難な課題の克服に役立つと思われる。今回、一農場の調査により PED 被害低減に資する一定の知見が得られたが、複数農場の調査を実施することで PED 対策法の確立が期待でき、今後も調査を重ね、対策のさらなる充実を目指したい。

引用文献

- 1) Bower L. *et al.*: Utility of oral fluid sampling and testing for monitoring PEDV in herds, 2014 AASV Annual Meeting, 61-62 (2014)
- 2) 藤又千晶ら: 豚流行性下痢 (PED) 発症母豚の PED ウイルス血症, 初乳および口腔液を介した PED ウイルスの垂直および水平感染, 平成 26 年度獣医学術九州地区学会抄録, 64

(2014)

- 3) Goyal S.: Environmental stability of PEDV, University of Minnesota (2013)(http://www.cvm.umin.edu/sdec/prod/groups/cvm/@pub/@cvm/@sdec/documents/content/cvm_content_465075.pdf)
- 4) 鹿児島県. 第55回全国家畜保健衛生業績発表会 (2014)
- 5) Magstadt D. *et al.*: pathogenesis of porcine epidemic diarrhea virus in post weaned pigs, 2014 AASV Annual Meeting, 57-58 (2014)
- 6) 農林水産省: 豚流行性下痢 (PED) の疫学調査に係る中間取りまとめ, 1-31 (2014)
- 7) 小川秀治ら: 豚の初乳による抗体スクリーニング検査法の検討, 日本家畜臨床学会誌, 29, 1-5 (2006)
- 8) Park S.J. *et al.*: Cloning and further sequence analysis of the ORF3 gene of wild- and attenuated-type porcine epidemic diarrhea viruses, Virus Genes, 36, 95-104 (2008)
- 9) 末吉益雄: わが国における1990年代と2013-14年における豚流行性下痢の発生背景, 豚病会報, 65, 6-12 (2015)
- 10) 津田知幸: 豚流行性下痢 (PED) の診断と対策, 豚病会報, 31, 21-28 (1997)
- 11) 津田知幸: 豚流行性下痢, 豚病学, 柏崎守ら編, 第4版, 260-266, 近代出版, 東京 (1999)
- 12) 津田知幸: 豚流行性下痢 (PED) の病性と対策, 豚病会報, 65, 1-5 (2015)
- 13) 渡辺一夫ら: 千葉県北東部地域における豚流行性下痢 (PED) の発生状況, 豚病会報, 65, 34-40 (2015)