

## 資料

## 千葉県養豚密集地域で2018年に再流行した豚流行性下痢の要因調査

三浦良彰<sup>1)</sup>、畑中ちひろ<sup>1)</sup>、岩間亮祐<sup>2)</sup>、青木ふき乃<sup>2)</sup><sup>1)</sup>千葉県中央家畜保健衛生所、<sup>2)</sup>千葉県北部家畜保健衛生所

Miura, Y., Hatanaka, C., Iwama, R., Aoki, F. (2021). Factor investigation of re-epidemic porcine epidemic diarrhea in high farm density areas in Chiba prefecture in 2018

*Proc. Jpn. Pig Vet. Soc.* 77, 1-6.

キーワード：豚流行性下痢 (PED)、中和試験、アンケート調査

## はじめに

豚流行性下痢 (PED) はコロナウイルス科アルファコロナウイルス属 PED ウイルス (PEDV) による豚の急性下痢を主徴とする伝染病である。哺乳豚では嘔吐や黄色水様性の下痢、母豚は嘔吐、食滞、泌乳減少または停止、肥育豚は黄色または灰白色水様性の下痢を呈す<sup>8)</sup>。哺乳豚は重篤化しやすく死亡率は100%に達するが、日齢が進むにしたがって発症しない豚もいる<sup>3)</sup>。肥育豚は発症してもその症状は軽度ではあるが下痢便中のウイルス量は哺乳豚とほとんど差がないほど多く<sup>1,7)</sup>、肥育豚群での発生は感染拡大の要因になると考えられる。

PEDV は S 遺伝子の系統樹解析により、少なくとも Group I と Group II の 2 つの遺伝子グループに分類される。国内では1994年から1996年にかけて Group I に分類される株が流行し、その後は散発的な発生を経てほぼ沈静化していった。国外においては、2010年以降、中国で Group II a に分類される株が流行すると、2013年には米国で初めて PEDV (Group II b, 北米型) による大規模な流行が起こった<sup>10)</sup>。日本においても同時期の2013年10月に北米型による PED が発生し、2014年 8 月までに38都道府県817戸の発生が報告され (以降、2013年10月から2014年 8 月を2013年シーズンと記し、他の年は9月から8月を1シーズンとする)、大きな経済的被害をもたらした<sup>9)</sup>。千葉県においては、2014年 3 月を初発として8月までに計111件の発生があった。その後の発生は2014年シーズンでは41件、2015年シーズンは20件、2016年シーズンは16件、さらに2017年シーズンは9件まで減少していった。しかし、2018年シーズンに再び発生は増加し、2018年12月から

翌年 8 月までに98件と初発の2013年シーズンと変わらない発生件数となった。なお98件中83件は、県内養豚場の54.6%が集中する養豚密集地域の4市町 (A、B、C及びD) での発生であった。

今回著者らは、再度流行した原因を検証するため、発生の多かった養豚密集地域4市町を対象に、1) 前回流行した2013年シーズンとの発生状況の比較、2) 2018年シーズン流行前の繁殖豚及び肥育豚の PEDV 抗体保有状況を調査するとともに、3) PEDV の遺伝子解析を実施した。また、PED 蔓延の要因を分析するため、4) 養豚密集地域を対象としたアンケート調査、及び2018年シーズンに発生した全農場への聞き取り調査を行った。

## 1. 材料及び方法

## 1) 発生状況の比較

2013年シーズンと2018年シーズンの発生状況を比較するために、4市町について発生頭数、哺乳豚致命率、ワクチン接種の有無、症状消失までの日数を比較した。哺乳豚の致命率は、徴求報告で得られた哺乳豚死亡頭数÷哺乳豚発症頭数、症状消失日は PED と診断された日 (発生日) から徴求報告で症状がなくなり再発しなくなった日とし、Mann-Whitney 検定を行った。徴求報告は発生日から症状消失8週間後の清浄復帰まで、母豚・肥育豚 (90日齢以上)・離乳豚・哺乳豚ごとの死亡頭数・発症頭数を週1回農場ごとに報告してもらった<sup>4)</sup>。

## 2) 2018年シーズン再流行前の PEDV 抗体保有状況

2018年シーズン再流行前の繁殖豚の抗体保有状況、及び発生の少なかった2017年シーズン前と2018年シーズン前の肥育豚の抗体保有状況を調査するために、PEDV に対する中和試験を行った。

繁殖豚については、ワクチン未接種の2農場、未経産から7産の23頭について2017年シーズン夏期に採材を行い検査した。2農場のPED発生歴は1農場が2013年シーズンに発生し、もう1農場は未発生であった。

肥育豚については1年以上PEDが発生していない農場を対象に検査した。検体は2016年シーズン及び2017年シーズンの5月から6月にと畜場で採材した血清を供試し、それぞれ20農場50頭、計40農場100頭とした。肥育豚検査農場の飼養形態は2016年シーズンが一貫農場10農場及び肥育農場10農場、2017年シーズンが一貫農場11農場及び肥育農場9農場であった。

中和試験はPEDV NK94P6Tr(-)株及びVero KY-5細胞を用い、常法に従い測定した<sup>9)</sup>。繁殖豚は中和抗体価256倍まで、肥育豚は16倍まで測定し抗体の有無を確認した。

### 3) 遺伝子解析

2013年シーズン株と比較し2018年シーズン株に変化がないか明らかにするために、2013年シーズンの養豚密集地域のPED発症豚の糞便からダイレクトに抽出した遺伝子18検体、及び同様に抽出した2018年シーズン発症豚由来遺伝子25検体についてPEDV特異遺伝子を増幅させ、そのS1遺伝子領域約1,500塩基対を解析し比較した<sup>2)</sup>。

### 4) 再流行直前の状況についてのアンケート調査及び発生農場の聞き取り調査

農場間のPED感染拡大要因や発生農場と非発生農場における対策の違いを検証するために、アンケート調査並びに発生農場についての聞き取り調査を行った。

アンケート調査は、養豚密集地域の全ての農場を対象に2019年11月に郵送による回答形式で行った。2018年シーズン再流行前の状況を対象とし、発生農場では

表1 アンケート内容

カテゴリー	項目	内容
1 基礎情報	主要道路との隣接	農場が主要道路と隣接しているか
	隣接農場との距離	半径500m以内に農場があるか
	器材の共有	発生農場との共有があったか
	獣害対策	防護柵・ネズミ対策・防鳥ネット設置の有無
2 農場内の衛生対策	長靴の交換	豚舎ごとに長靴を交換しているか
	踏み消毒槽の交換	毎日・数日おき・1週間以上・汚れたら
	衣類の交換	豚舎ごとに交換しているか
	衣類の交換・消毒	豚舎ごとに交換・消毒しているか
	豚舎の消毒	毎日・週1回・月1回
	豚集荷後の消毒	あり・なし
	出荷台の消毒	あり・なし
	出荷台の位置	豚舎から30m以上離れているか
	出荷通路の消毒	移動前後に通路を消毒しているか
	移動経路の消毒	あり・なし
3 農場への車両の出入り	1カ月の出入り台数	回数
	消毒設備の設置	あり・なし
4 出荷方法	と畜場	県内4か所のと畜場(E・F・G・H)から選択
	出荷回数	月何回出荷しているか
	出荷車両	自家トラック・委託
	出荷車両の消毒	あり・なし
5 排泄物の処理方法	堆肥場の共同利用	あり・なし
	浄化槽の共同利用	あり・なし
	運搬トラックの消毒	共同利用の場合、退場時の消毒の有無
	圃場と農場の距離	農場から何メートル離れているか
	発生後の散布の有無	あり・なし
6 死亡畜の処理	回収業者	県内4業者(I・J・K・L)から選択
	死亡畜の保管	①農場内・農場外 ②袋詰めの有無 ③コンテナの有無
	回収ポイントの利用	あり・なし
	回収ポイント利用の場合場所	県内4か所のポイント(M・N・O・P)から選択
	回収ポイント利用後の消毒	あり・なし
	発生直前の利用の有無	あり・なし

発生前の2週間、非発生農場は同一市町内で初めて発生した日以前の2週間の調査対象期間とした<sup>5)</sup>。調査項目は①農場基礎情報 ②農場内の衛生対策 ③農場への車両の出入り ④出荷方法 ⑤排泄物の処理方法 ⑥死亡畜の処理の6項目とした。項目及びその内容を表1に示した。アンケート結果は発生農場と未発生農場に分けて集計し、 $\chi^2$ 検定において有意な関連がみられた項目に関して、Microsoft Excelを用いてオッズ比及び95%信頼区間を算出した。聞き取り調査では2018年シーズンに発生した全農場を調査対象としワクチン接種、もしくは症状低減のために野外株に強制的に感染させる馴致を発生直後に実施したか聞き取りを行った。聞き取った内容から、それぞれにおける哺乳豚致命率及び症状消失までの日数をワクチン未接種農場もしくは馴致未実施農場のそれと比較した。なお、哺乳豚致命率及び症状消失日の算出方法及び比較検定方法は、項目「1.1 発生状況の比較」で示した方法に準じた。

## 2. 成績

### 1) 発生状況の比較

養豚密集地域4市町には調査時218農場が存在した。各シーズンの発生数及び発生率を表2に示した。2013年シーズンの発生率については2013年シーズンの農場数が不明であったため、2018年シーズンの農場数を分母として算出した。2018年シーズンに発生した83農場のうち63農場は2013年シーズンにも発生経験があり、2018年シーズンに初めて発生した農場は12農場であった(残り8農場は2014から2017年シーズンに発生)。発生率は2013年シーズンでは市町Aが最も高く2018年シーズンは市町Cが高かった、一方で市町Bは両シーズンで最も低かった。発生率は両シーズンとも市町A、C及びDでは45%以上であったのに対し、市町Bは20%未満であった。

発生頭数は、2013年シーズンが123,296頭、2018年シーズンは99,272頭で、1件当たりの平均発生頭数はそれぞれ1,354.9頭及び、1,196.0頭であった。哺乳豚の

致命率は2013年シーズンの27.9%に対し、2018年シーズンは21.2%であった。症状消失までの日数は2013年シーズンが中央値44.0日(第1四分位数36.0日及び第3四分位数50.0日)、2018年シーズンは中央値23.5日(第1四分位数12.0日及び第3四分位数36.0日)で2018年シーズンが優位に短かった(t値=0.01)。発生農場のうちワクチン接種を行っていた農場は、2013年シーズン91農場中29農場であったのに対し、2018年シーズンは83農場中46農場と増加していた。

### 2) PEDV 抗体保有状況

繁殖豚の抗体保有率は73.9%(17/23頭)で抗体価は2倍から64倍であった。発生歴のある農場は58.3%(7/12頭)が抗体を保有し、未発生農場においても90.9%(10/11頭)で抗体が検出された。

肥育豚の農場抗体保有率は、2016年シーズン90%(18/20農場)、2017年シーズン85%(17/20農場)であった。一方で個体抗体保有率は2016年シーズン76%(76/100頭)、2017年シーズン39%(39/100頭)であった。農場の飼養形態で差は認められなかった。

### 3) 遺伝子解析

2013年シーズンのPED発症豚材料から検出されたPEDV特異遺伝子18検体については、17検体が北米型で、1検体がINDELs型の遺伝子配列であった。2018年シーズンの検体は全て北米型の遺伝子配列であった。2013年シーズンと2018年シーズンに流行した北米型株間の相同性は塩基配列で98.2~99.2%、アミノ酸配列で96.2~99.2%であった。

### 4) アンケート・聞き取り調査

再流行直前の状況についてのアンケート調査では、 $\chi^2$ 検定の結果、31項目中12項目で発生と未発生の関連が認められた(表3)。

なお、養豚密集地域4市町の218農場中106農場から回答を得(回収率48.6%)、そのうちの2018年シーズン

表2 養豚密集地域4市町の発生状況比較

市町	農場数	2013年シーズン		2018年シーズン	
		発生数	発生率(%)	発生数	発生率(%)
A	85	49	57.6	40	47.1
B	65	10	15.4	6	9.2
C	26	13	50.0	16	61.5
D	42	19	45.2	21	50.0
4市町合計	218	91	41.7	83	38.1
県内合計	399	111	27.8	98	24.6

表3 PED発生に関連項目

項目		農場数	発生農場数	発生率(%)	p値*	オッズ比	95%信頼区間	
1 基礎情報	500m以内の農場の有無	あり	68	37	54.4	0.00	7.56	2.16 ~ 26.04
		なし	22	3	13.6			
2 農場内の衛生	ネズミ対策の有無	あり	71	37	52.1	0.01	3.14	1.31 ~ 7.54
		なし	35	9	25.7			
	防鳥ネットの有無	あり	42	25	59.5	0.01	3.01	1.35 ~ 6.71
なし	64	21	32.8					
3 車両の出入り	車両の出入り回数	中央値以上	29	19	65.5	0.01	3.66	1.51 ~ 8.84
		中央値以下	79	27	34.2			
4 出荷について	と畜場Eへ出荷	あり	66	34	51.5	0.04	2.39	1.05 ~ 5.45
		なし	39	12	30.8			
	出荷業者での出荷	あり	53	28	52.8	0.00	0.25	0.09 ~ 0.67
なし	32	7	21.9					
5 排泄物処理	共同堆肥場の利用	あり	14	8	21.9	0.02	4.27	1.23 ~ 14.82
		なし	42	10	23.8			
	共同浄化槽の利用	あり	4	3	75.0	0.01	10.00	1.27 ~ 75.27
		なし	53	15	28.3			
	農場に他農場の圃場が隣接	あり	23	11	47.8	0.04	3.40	1.08 ~ 10.72
なし	33	7	21.2					
6 死亡畜について	回収業者Lの利用	あり	43	28	65.1	0.00	3.94	1.71 ~ 9.08
		なし	56	18	32.1			
	集積ポイントOの利用	あり	6	5	83.3	0.04	9.17	1.06 ~ 70.93
		なし	17	6	35.3			
		発生直前に集積ポイントを利用	あり	14	9			
なし	9	2	22.2					

\*p値&lt;0.05を関連ありとする

表4 発生農場における聞き取り調査成績

	農場数	致命率(%)	t値*	症状消失日数			t値*	
				中央値	第1四分位数	第3四分位数		
ワクチン	接種	47	40.5	0.37	24.0	17.0	41.0	0.36
	未接種	36	50.1		27.0	18.0	40.0	
馴致	実施	36	43.9	0.11	29.0	22.0	48.5	0.02
	未実施	47	48.8		21.0	13.0	32.0	

\*t値&lt;0.05を有意差ありとする

発生農場は83農場中46農場(回収率55.4%)、未発生農場は135農場中60農場(回収率44.4%)であった。

県内発生農場全てからの聞き取り調査では、発生農場の56.6%(47/83農場)がワクチンを接種し、43.3%(36/83農場)が馴致を行っていた。ワクチンもしくは馴致を実施したか否かで平均致命率に有意な差はなかった。症状消失までの日数はワクチン接種の有無で有意差はなかった。一方で、症状消失までの日数は馴致実施有で中央値29.0日(第1四分位数22.0日及び第3四分位数48.5日)、実施無で中央値21.0日(第1四分位数13.0日及び第3四分位数32.0日)と発生直後の馴致実施の有無で有意に延長した(表4)。

### 3. 考察

2013年シーズンと2018年シーズンで養豚密集地域4市町の発生状況は同等であった。今回、発生農場のうち71農場が再発生であり、2013年シーズンからの5年間で複数回発生している農場も存在した。複数回発生

している農場と他の農場に飼養形態等の差は見られず、原因は分からなかった。また、市町A・C・Dと市町Bで発生率に差があった。これは市町A・B・Cの市境付近に特に農場が密集しており、その密集地域で感染が広まった一方、市町Bは他の市町との境以外にも広く市内に農場が点在しており、市境の農場のみでの発生にとどまり発生率が低くなったと考えられた。このことからPEDの流行には密集度相等の地理的要因が関与していると考えられ、後述のアンケート調査からも同様の結果が得られた。症状消失までの日数は2018年シーズンで短縮していたが、これは過去に感染経験がある豚が存在すること、飼養者の対応が早くなったこと等が理由として考えられた。哺乳豚致命率に差があったことについては、2018年シーズンの発生は飼養頭数が多い農場の方が症状消失までの日数が長い傾向にあり、致命率を押し上げた可能性があるが、詳細はわからなかった。

著者らは当初、今回の流行は2013年シーズンから時

間が経過し、免疫を持っていない若い繁殖豚が増えたために起きたのではないかと考えていた。しかし、1農場だけの成績ではあるが、PED 発生歴やワクチン使用歴のない農場の繁殖豚群で、高い抗体保有率であった。終息から1年以上経過した農場の肥育豚も抗体を保有していた。これは発生が認められなかった農場でも PEDV に感染していたことを示し、発生が少なかったシーズンでも潜在的に多くの農場に PEDV が浸潤していたことを示唆するものである。このことから養豚密集地域に PEDV が常在化していることが考えられる。また、2018年シーズンは近隣県での PED の流行がなく、県内に豚を頻繁に導入する県での発生がなかったことから、常在化した PEDV による再流行と推察された。しかしながら、個体抗体保有率は2016年シーズンに比較し、2017年シーズンは半数近く減少していた。これは2017年シーズンの発生数が少なく、地域的に PEDV が蔓延せず、新たな PED の発生源となるウイルスが農場外から侵入していなかったためと考えられる。個体抗体保有率の減少、すなわち農場の免疫状態の低下が再流行につながった可能性も考えられ、今後継続して抗体保有状況の推移をモニタリングしていく必要があると考える。

PEDV 遺伝子の中で比較的変異が起りやすいとされている S1 遺伝子で、2018年シーズン株と2013年シーズン株は98%以上の相同性であった。他県の代表株との相同性も同様であったことから（データ未記載）、2018年シーズンも2013年以降日本で発生している北米型による再発であったと考えられる。

アンケート調査の解析について、本来であれば単変量解析において有意であった項目を同一モデルに含めて多変量解析を行うが、今回多変量解析を行うことができなかったため、単変量解析の結果から考察を行った。基礎情報から、半径500m 以内に農場がないことで、発生が少なくなった。これは発生状況の比較で示唆された PED の流行には密集度相等の地理的要因が関与していることを補完すると考えられる。獣害対策の3項目は、ネズミ対策と防鳥ネット設置の2項目が関連項目となったが、対策実施農場の方が発生率が高かった。獣害対策の実施が何らかの関与を及ぼしていた可能性も考えられるが、その関連性は不明である。と畜場については、と畜場Eが関連項目となったが、本場は県内最大のと畜場であり多くの農場が利用していることからと畜場の利用状況について回答数を増やし、再調査する必要がある。肥育豚の出荷車両につい

ては、出荷業者を利用することが関連項目となった。これは、出荷業者によっては、複数の農場の出荷を請け負い、1日に複数回と畜場に入るため、と考えられた。圃場については、農場周囲に他の農場の圃場がある場合が関連項目となった。しかし、その圃場の使用者が不明である場合が多くみられたことから、圃場の使用状況の詳細を調査する必要がある。死亡畜の処理については、回収業者Lが関連項目となったが、Lは回答のあった発生農場の60.8%が利用しており、より詳細な回収業者の利用状況を調べる必要がある。関連項目となった死亡畜の集積ポイントOは、回収用のコンテナを常時設置している他のポイントと違い、回収日のみ利用可能で多くの農場が同時に集まるため感染リスクが高くなったと考えられた。しかし、車両消毒の項目では関連が見出されなかったことから、消毒方法や消毒時間等のより詳細な調査が必要と考えられた。

聞き取り調査から、ワクチンの使用では哺乳豚致死率及び症状消失までの日数に有意差は無かった。今回、ワクチン接種については、発生前の使用の有無しか聞き取っておらず、ワクチンを接種していた期間や接種回数といった具体的な接種状況を確認しておらず、今後接種方法等についても聞き取る必要がある。また、馴致の実施は症状の消失を遅くする可能性が示唆されたが、本調査では馴致の具体的な実施時期及び馴致の手法を調査していないため、更なる調査が必要である。

#### おわりに

抗体検査及び遺伝子解析の結果から、今回の PED の流行は PEDV の変異等によるものでなく、県内養豚密集地域に2013年シーズン以降 PEDV が常在し、常在化した PEDV により引き起こされたことが推察された。しかし、地域全体としては常在化によるウイルスの暴露を受けており、免疫保有状況であったことが考えられる。ところが2018年シーズンの再流行は初発時と変わらない発生状況であった。今後も再々度の流行が危惧されることから、アンケート調査で示された関連項目について対策を講じるとともに、より詳細に分析を進める。また、再流行の直前に個体の抗体保有率が減少していたことから、継続して抗体の保有状況を確認していく予定である。

#### 利益相反状態の有無

すべての著書は開示すべき利益相反はない。

## 引用文献

- 1) Lin CM, et al. (2015) Experimental infection of a US spike-insertion deletion porcine epidemic diarrhea virus in conventional nursing piglets and cross-protection to the original US PEDV infection. *Vet Res*, 46: 134.
- 2) Masuda T, et al. (2015) New porcine epidemic diarrhoea virus variant with a large deletion in the spike gene identified in domestic pigs. *Arch Virol*, 160: 2565-2568.
- 3) 宮崎綾子ら (2015) 豚流行性下痢 (PED). *日獣会誌*, 68 : 89 - 92.
- 4) 農林水産省 豚流行性下痢 (PED) 防疫マニュアル (2014) [https://www.aff.go.jp/j/syouan/douei/ped/pdf/ped\\_manual\\_set.pdf](https://www.aff.go.jp/j/syouan/douei/ped/pdf/ped_manual_set.pdf) (2020年10月4日閲覧)
- 5) 佐々木羊介ら (2016) 豚流行性下痢の感染拡大に関連するリスク要因の疫学調査. *豚病会報*, 67 : 12 - 17
- 6) Sasaki Y, et al. (2019) Assessment of the economic impact of porcine epidemic diarrhea (PED) epidemic in the southern Kyushu, Japan. *J Vet Epidemiol*, 23: 53-62.
- 7) 島田英明 (2018) PEDV の排泄量比較からみえること. *KM バイオロジクス株式会社豚用製剤関連情報誌*, 52
- 8) 末吉益雄 (2015) 2014年パンデミックと化した豚流行性下痢 (PED) . *家畜診療*, 61 : 395 - 406.
- 9) 宇佐美佳秀ら (1998) 栃木県における豚流行性下痢ウイルス抗体保有状況. *日獣会誌*, 51 : 656 - 658.
- 10) Vlasova AN, et al. (2014) Distinct characteristics and complex evolution of PEDV strains, North America, May 2013-February 2014. *Emerg Infect Dis*, 20: 1620-1628.