

資料

豚流行性下痢 (PED) 発生農場における鶏卵抗体含有混合飼料の PED に対する症状軽減効果

相馬 順一

(JA 全農家畜衛生研究所)

Soma J. (2022). Effect of chicken egg yolk antibody in farms with an outbreak of Porcine Epidemic Diarrhea
Proc. Jpn. Pig Vet. Soc. 79, 40-44.

キーワード：豚流行性下痢 (PED)、鶏卵抗体、混合飼料

はじめに

豚流行性下痢 (Porcine Epidemic Diarrhea : PED) は、コロナウイルス科アルファコロナウイルス属の豚流行性下痢ウイルス (PEDV) により引き起こされる豚の急性伝染病である。発症豚には水様性下痢や嘔吐が認められ、脱水により死亡することもある^{1,8)}。

PED には日齢抵抗性があり、日齢の高い豚に PEDV が感染しても症状は軽度あるいは無症状であるが、若齢の豚に PEDV が感染すると症状が重篤化するとされている。特に7-10日齢以下の豚に PEDV が感染した場合、致死率は時に100%に達すると報告されている⁷⁾。

国内における PED の発生は、1980年代前半より散発的に報告されている。1990年代より大規模な発生が相次ぎ、特に1996年には約8万頭が発症し、そのうち哺乳豚を中心に4万頭の死亡が報告されている。その後も散発的に発生が報告されたが2006年に1件の発生が報告されて以降、2013年までは発生が報告されていなかった。2013年10月に7年ぶりに国内で PED の発生が確認され、以降急速に広がり、日本国内全域で発生が報告された⁶⁾。2013年10月1日から2014年8月31日までの間に38道県817農場で発生、122万頭が発症、37万頭が死亡した⁴⁾。以後も毎年35農場以上で発生が確認されている³⁾。2013年以後、国内で報告されている PEDV は、遺伝的に2013年以降に北米で流行した株と近縁であり、それ以前に国内で報告されていた PEDV とは遺伝的に異なることが明らかになっている⁶⁾。

PED の対策資材として、生ワクチンが市販されている。生ワクチンは、妊娠中の母豚に接種することで、母豚の血中の中和抗体価を上昇させる。それにより乳汁 (初乳、常乳) 中に含まれる中和抗体価を高め、哺

乳豚が PEDV に感染した場合も母豚由来の抗体により症状を軽減することが実験的に証明されている⁷⁾。一方で、PED は哺乳豚の活力低下による吸乳量の低下や母豚の泌乳量低下を引き起こすことが知られている。これらにより期待する効果が得られないことがある⁷⁾。

以上を踏まえ、我々は乳汁によらずに PEDV に対する中和抗体を付与することが PED 対策において有用であると考え、鶏卵に含まれる抗体、すなわち鶏卵抗体に着目した。鶏卵抗体は、血液中の抗体が鶏卵中に移行したものであり、IgY と呼ばれている。採卵鶏に目的とする病原体を免疫することで、目的の病原体に対する高力価の中和抗体を含む鶏卵を継続的かつ大量に得ることが可能という利点がある⁹⁾。また、中和抗体を含んだ鶏卵を乾燥粉末にすることで種々の原材料と混合可能となる。また梅田ら⁹⁾は、近年流行している PEDV を用いた鶏卵抗体を作製、中和抗体価の上昇を確認しているが、PED 発生農場における有効性評価試験は実施していない。

今回、PEDV に対する鶏卵抗体を含む混合飼料の試験品を PED 発生農場の哺乳豚へ給与することにより生残率が向上する可能性が示唆された事例を報告する。

材料及び方法

抗 PEDV 鶏卵抗体及び混合飼料の試験品の作製

鶏卵抗体の作製は、国内の養鶏場にて行った。鶏卵抗体の作製に用いる抗原には、2014年に PED 発生農場において下痢を呈し死亡した哺乳豚から分離した PEDV ZK-CHR 株を用いた¹⁰⁾。株化細胞を用いて培養した PEDV ZK-CHR 株を不活化し、オイルアジュバントと混合したものを採卵鶏に注射して免疫した。免疫した鶏からの鶏卵を回収し、洗卵後に割卵し、ホモジナイズしたものを、乾燥粉末化した。全卵からポリエチレングリコールを用いて抽出した鶏卵抗体液の中和抗体価は64倍以上であった。粉末化した鶏卵と、油脂

及び乳化剤などを混和、乳化することでペースト状の混合飼料の試験品（以下、試験品）を作製し、アルミ製の袋に充填した（図1）。なお、これらの試験品の作製は2020年に実施した。

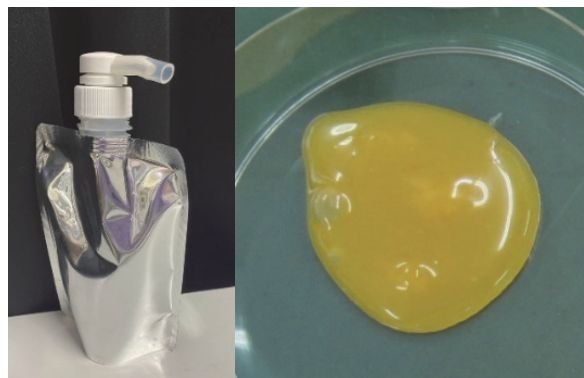


図1 試験品の外観および内容物の形状

試験農場及び試験の概要

A 農場

A 農場では2021年3月から4月に試験を実施した。A 農場は母豚250頭飼養の一貫経営農場で、2020年にも PED が発生しており、母豚への PED ワクチン接種は実施していなかった。PED の発生は2021年に下痢を呈した哺乳豚から採取した糞便サンプルからのリアルタイム PCR による特異遺伝子の検出により確認した。試験は PED による下痢を確認した2日後から開始した。

試験品は哺乳豚に経口給与した。給与開始日齢が試験品の有効性に与える影響について評価を行うため、給与開始日齢は0日齢、1日齢、3日齢とした。最も有効性があると見込み、0日齢に給与を開始する分娩腹を多く設定した。給与は朝と夕方の1日2回、0日齢及び1日齢に給与を開始した分娩腹では8日間連続、3日齢に給与を開始した分娩腹では5日間連続で給与を行った。0日齢に給与を開始する分娩腹では、哺乳豚が PEDV に感染する前に試験品を給与できるが、1日齢に給与を開始した分娩腹では、哺乳豚が試験品給与までに PEDV に感染・発症することが想定された。このような状況で給与期間を短縮すると有効性の低下が危惧されたことから有効性低下が起きぬように、給与期間を7日間に短縮せず8日間とした。朝の給与時に水様便を呈している哺乳豚が1頭以上認められた場合には、当該分娩腹の哺乳豚は下痢を発症しているとした。妊娠舎で下痢を認める母豚もいたことから、試験に用いた母豚は妊娠舎で PEDV に感染しているも

のと考えられた。1日齢、3日齢から給与を開始した分娩腹は、給与開始時点に下痢を呈していた。0日齢の哺乳豚に給与を行う場合には初乳を与えた後に給与を開始した。非給与区とした母豚由来の哺乳豚には、試験品を給与しなかった。試験は離乳時に終了した（表1）。

表1 A 農場における試験の概要

給与開始日齢 (日齢)	母豚数 (頭)	子豚頭数 (頭)	平均給与期間 (日)
0	12	146	8
1	2	24	8
3	5	63	5
非給与	4	49	—

B 農場

B 農場では2021年3月から4月に試験を実施した。B 農場は母豚270頭飼養の一貫経営農場で、2020年にも PED が発生しており、母豚への PED ワクチン接種は実施していなかった。PED の発生は2021年に下痢を呈した哺乳豚から採取した糞便サンプルからのリアルタイム PCR による特異遺伝子の検出により確認した。分娩室で哺乳豚が PED による下痢を確認した日に試験を開始した。試験品は哺乳豚に経口給与した。給与開始日齢は哺乳豚の下痢を確認した日からとした。朝と夕方の1日2回、2～5日間連続で給与を行った。毎日、農場主が哺乳豚の下痢等の臨床観察を行い、下痢症状の認められなくなった時点で給与を中止した。当農場では農場主との協議を行い、哺乳豚で下痢を発症したすべての分娩腹に試験品を給与することで試験品が群全体に及ぼす効果を確認するために非給与区を設定しないこととした。試験は21日齢時に終了した。給与開始日齢が0～6日齢の間でばらついたため、給与開始日齢が試作品の有効性に与える影響を明確にするため各区4腹以上となるように、給与開始日齢が早い順に同一区に設定した（表2）。

表2 B 農場における試験の概要

給与開始日齢 (日齢)	母豚数 (頭)	子豚頭数 (頭)	平均給与期間 (日)
0	14	161	4.2
1	4	49	4
2～3	6	69	4.8
4～6	6	81	4.5

哺乳豚への試験品の給与は、ポンプを用いて個体ごとに経口給与した。ポンプは吐出し口の直径が5 mmであり、1回押下すると混合飼料約3 gを吐出するものを用いた。哺乳豚の混合飼料の給与量は、1回あたり約3 gとした。

(1) 平均生残率

(2) 下痢発症率 (A 農場のみ)

(3) 平均日增体量

(4) 母豚及び哺乳豚の直腸スワブからの PEDV 遺伝子の検出

(5) 統計解析

生残率、日増体量はクラスカル・ウォリス検定を行った後にダン検定により2群間の検定を行った。下痢発症率はフィッシャーの正確検定を行った。A農場では各試験区と非給与区の比較を、B農場では各試験区間の比較を行った。A農場の日増体量は、試験終了時に哺乳豚が生残していた分娩腹が少なく、統計解析に必

A 農場と B 農場の 0 日齢から試験品の給与を開始した分娩腹で比較を行った。生残率、日増体量及び下痢発症期間の比較をマン・ホイットニーの U 検定により行った。下痢発症期間の算出は、A 農場においては、哺乳豚が全頭死亡した分娩腹と下痢を 1 度も発症しなかった分娩腹は除外した。B 農場においては試験品給与期間を下痢発症期間とした。

A 農場

[illegible]

図2 A農場における給与開始日齢別の子豚の生残率
点は分娩腹ごとの生残率、バーは平均生残率を示す

平均日増体量は0日齢からの給与を開始した分娩腹では192g/日、3日齢から給与を開始した分娩腹では132g/日であった。非給与区及び1日齢から給与を開

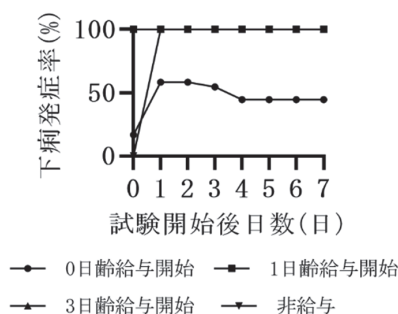


図3 A農場における下痢発症率

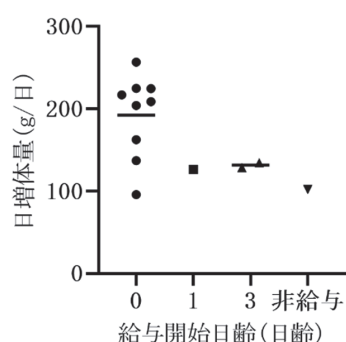


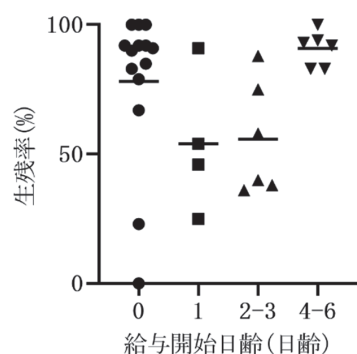
図4 A農場における給与開始日齢別の日増体量

始した分娩腹では、哺乳豚が生残した分娩腹が1腹ずつであり、平均日増体量を算出できなかった。(図4)。

採取した直腸スワブすべてから PEDV 特異的遺伝子が検出された。

B農場

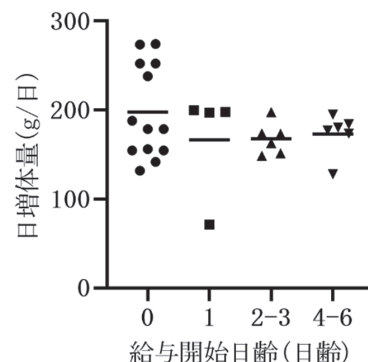
平均生残率は、0日齢から給与を開始した分娩腹では78.1%、1日齢から給与を開始した分娩腹では54.0%、2-3日齢に給与を開始した分娩腹では55.8%であった。また4-6日齢に給与を開始した分娩腹では90.9%と、哺乳豚の死亡はほとんど認められなかった(図5)。統計解析を実施したところ、すべて

図5 B農場における給与開始日齢別の生残率
点は分娩腹ごとの生残率、バーは平均生残率を示す。

の試験区間で有意な差は認められなかった。

平均日増体量は、0日齢から給与を開始した分娩腹では198g/日、1日齢から給与を開始した分娩腹では167g/日、2-3日齢から給与を開始した分娩腹では168g/日、4-6日齢から給与を開始した分娩腹では173.2g/日であった(図6)。統計解析を実施したところ、すべての試験区間で有意な差は認められなかった。

採取した直腸スワブすべてから PEDV 特異的遺伝子が検出された。

図6 B農場における給与開始日齢別の日増体量
点は分娩腹ごとの日増体量、バーは平均日増体量を示す。

A農場とB農場の成績の比較

0日齢から試験品の給与を始めた分娩腹における下痢発症期間は、A農場に比べてB農場で有意に短かった($p=0.004$)。その他、生残率、日増体量に有意な差は認められなかった。

考察とまとめ

A農場では、非給与区に比べて0日齢から給与をした分娩腹で、統計学的に有意な差は認められなかったが、平均生残率は63.5%、下痢発症率は試験開始1日後以降は44-58%であった。また、B農場においても統計学的に有意な差は認められなかったが、1日齢に給与を開始した分娩腹では生残率は55.8%、平均日増体量は167g/日であったのに対し、0日齢に給与を開始した分娩腹で平均生残率は78.1%、平均日増体量は198g/日であった。本研究ではPEDを発症していた分娩腹に限りがあったため、統計学的解析を実施するために十分な数の分娩腹を供することができなかった。試験品の有効性を明らかにするためにはより試験を行う分娩腹の数を増やす必要があると考えられた。

A農場において0日齢から給与を開始した場合でも哺乳豚が全頭死亡した分娩腹が3腹あった。この3腹

は近接する豚房で飼養されていた。そのうち1腹と隣接する妊娠豚が重度の下痢を呈した状態で分娩室に導入された。この重度の下痢を呈した妊娠豚が娩出した哺乳豚が重度感染し、さらに PEDV 量を増幅したことにより、上述の3腹では、鶏卵抗体の給与の前に、哺乳豚が PEDV に重度に感染したことが、死亡につながったものと考えられた。それを裏付けるように、A 農場のこの3腹以外のすべての分娩腹では分娩当日に下痢を呈することはなかったが、この3腹は分娩当日から水様性下痢を呈している哺乳豚が認められた。

Kweon ら²⁾は、乳汁を介して効果を発揮する生ワクチンの効果検証を行い、PEDV の攻撃量が少なければ有効、多ければ無効であったことを報告している。鶏卵抗体と生ワクチンの作用機序は同様であると考えられ、感染するウイルス量と鶏卵抗体量の比率が、鶏卵抗体の有効性に影響を与える要因であると考えられる。以上より、環境中の PEDV が多い場合には、鶏卵抗体の給与と並行して飼養環境の洗浄・消毒を実施し、ウイルス曝露量を減らすための飼養管理が重要であると考えられた^{5,6)}。また、鶏卵抗体は母豚から乳汁を介して接種する乳汁抗体とは異なり、給与量を人為的にコントロールすることが可能である。ウイルス曝露量が多い場合においては、鶏卵抗体であれば給与量を増量することにより、哺乳豚の死亡を防ぐ可能性が考えられた。

B 農場においては、4 - 6 日齢から給与を開始した分娩腹の平均生残率は90.9%であった。これらの豚は3日齢以降に下痢を発症しており、PED の日齢抵抗性による影響があると考えられた。

0 日齢から試験品の給与を開始した分娩腹の発症期間は、A 農場よりも B 農場で短かった。分娩室での PED 発生後、B 農場ではすぐに試験品を給与し始めたが、A 農場では試験品の給与まで2日を要した。また、A 農場では重度の下痢を呈した妊娠豚が分娩室に導入されていることを確認している。これらのことから発生から給与開始までの期間、妊娠豚等を介した分娩室への PEDV の持ち込みにより分娩室内の PEDV 感染が拡大しウイルス濃度が高くなることで、鶏卵抗体の効果が弱まる可能性があると考えられた。

今回、PEDV を対象として、野外農場における鶏卵抗体含有混合飼料が有用である可能性が示された。本混合飼料の有用性について明らかにするためにはさらなる PED 発生農場における検討が必要である。

利益相反状態の有無

著者は開示すべき利益相反はない。

引用文献

- 1) Jung K, et al. (2020) Porcine epidemic diarrhea virus (PEDV): An update on etiology, transmission, pathogenesis, and prevention and control. *Virus Res*, 286: 198045.
- 2) Kweon, et al. (1999) Derivation of attenuated porcine epidemic diarrhea virus (PEDV) as vaccine candidate. *Vaccine*, 17: 2546-2553.
- 3) 農林水産省 (2021) 豚流行性下痢 (PED) のシーズンごとの発生農場数の推移. <https://www.maff.go.jp/j/syouan/douei/ped/attach/pdf/ped-299.pdf> (2021年9月24日閲覧)
- 4) 農林水産省 消費・安全局動物衛生課 (2014) 豚流行性下痢 (PED) の発生状況 平成25年シーズン (H25.10.1-H26.8.31). <https://www.maff.go.jp/j/syouan/douei/ped/attach/pdf/ped-184.pdf> (2021年11月11日閲覧)
- 5) 農林水産省 (2014) 豚流行性下痢 (PED) 防疫マニュアル https://www.maff.go.jp/j/syouan/douei/ped/pdf/ped_manual_main.pdf (2021年11月11日閲覧)
- 6) 宮崎綾子ら (2014) 豚流行性下痢 (PED) の現状と学術的知見. *豚病会報*, 64: 15-24.
- 7) 佐藤哲朗 (2016) 生ワクチンを利用した豚流行性下痢対策の現状と今後の展望. *All about Swine*, 49: 13-21.
- 8) Song, et al. (2012) Porcine epidemic diarrhoea virus: a comprehensive review of molecular epidemiology, diagnosis, and vaccines. *Virus Genes*, 44: 167-175.
- 9) 梅田浩二ら (2019) 鶏卵黄免疫グロブリン抗体を用いた豚流行性下痢に対する受動免疫賦与. *豚病会報*, 73: 25-31.
- 10) Yamamoto R, et al. (2015) Isolation and experimental inoculation of an S INDEL strain of porcine epidemic diarrhea virus in Japan. *Res Vet Sci*, 103: 103-106.