## 資 料

### 豚流行性下痢発生農場における感染抗体及びワクチン抗体消長調査

村山修吾<sup>1)</sup>、會田恒彦<sup>2)</sup>、渡邉章子<sup>1)</sup> ( <sup>1)</sup>新潟県中央家畜保健衛生所、<sup>2)</sup>新潟県農林水産部畜産課) Murayama, S., Aita, T. and Watanabe, S. (2015). A long term follow-up study of vaccine- or infection-induced virus neutralization antibody in farms with or without PED outbreak *Proc. Jpn. Pig Vet. Soc.* 66, 5-10.

キーワード:豚流行性下痢、感染抗体、ワクチン抗体

#### はじめに

平成26年4月から新潟県内において29件の豚流行性 下痢(PED)が発生し、新潟県のほぼ中央に位置し、 6市1町1村を管轄する当所管内でも12農場で発生が あった。これまで野外における PED ウイルスの感染 動態を詳細に調査した報告は国内になく、本ウイルス の感染動態は PED 防疫上重要な情報である。また、管 内の農場でも発生に備えてワクチン接種に対する要望 が高まったものの、全国的な PED の発生を受けワクチ ンの供給体制が管理され、その入手に大きな制約がか かったことから、飼養する全母豚に本ワクチンを接種 するにはイレギュラーなワクチンプログラムを組まざ るを得ない状況であった。そのような状況の下、イレ ギュラーなワクチンプログラムでも免疫を賦与できる のか、あるいは発生後いつから抗体価が低下しワクチ ン接種を開始すべきかなど、現場では多くの疑問が生 じていた。そこで、PED発生農場と未発生農場を含む 複数の農場の協力を得て、同一個体で定期的な採血を 行い、中和試験で感染抗体及びワクチン抗体の消長を 調査するとともに、ワクチネーションプログラムの検 証を実施したので報告する。

### 1. 発生農場における感染抗体消長調査

### 1-1 調査の概要

調査農場は PED 発生 2 農場 (A、B) で、A 農場 (母豚150頭規模の一貫経営農場) は平成26年 5 月 1 日 に、B 農場 (母豚100頭規模の一貫経営) は平成26年 4 月29日に、どちらも分娩舎で発生した。 2 農場とも初発時に分娩舎で授乳中であった母豚とストール舎の母豚を無作為に選定し、同一個体を 2 週間隔で採血した。なお、初回採血は発症から 4 週間後に実施し、初回と 2 回目の間隔だけは 3 週間であった。調査期間は次回

分娩までの最長で初発時から5カ月間とし、A農場8頭、B農場2頭の計10頭について全ての採血終了後、血清を中和試験に供した。なお、A農場の8頭中6頭は発症から18週(約4カ月)前後にPEDワクチン接種が開始された。

### 1-2 調査成績

調査期間中にワクチン接種されなかった発症母豚4 頭では、感染抗体は調査終了後、すなわち発症から21 週(5カ月)後まで4倍から32倍の抗体価が検出された(図1)。調査期間中にワクチン接種した発症母豚6 頭では、発症から9週(約2カ月)前後に感染抗体価は16倍から128倍まで上昇してピークとなったが、その後、感染抗体価は緩やかに低下し、発症から17週目の抗体価は2倍から16倍であった。発症から18週前後にワクチンを接種したところ、抗体価は接種後約3週間で64倍から512倍と発症後のピーク時の抗体価と同程度まで上昇した(図2)。さらにワクチン接種をした5頭は発症から7カ月(ワクチン接種から3カ月)を経過した時点で64倍から128倍の高い抗体価を保有していた。

## 2. 発生農場におけるワクチン抗体消長調査 2-1 新潟県における PED ワクチン供給状況

新潟県における PED ワクチンの供給は平成26年5月から開始され、毎月の供給量は購入希望農場の当該月分娩予定頭数のみであった。本ワクチンは生ワクチンであることから一度溶解すると保存が利かないために速やかに使用する必要があり、用法どおりの使用によりワクチンロスがかなり発生し、ワクチン接種にかかるコストが高くなっていた。一方、追加購入も困難であったことに加えて月毎に供給されるワクチンのメーカーが異なり、メーカー毎に接種間隔等の用法が異なることも農場主が本ワクチン接種に苦慮し、ワク

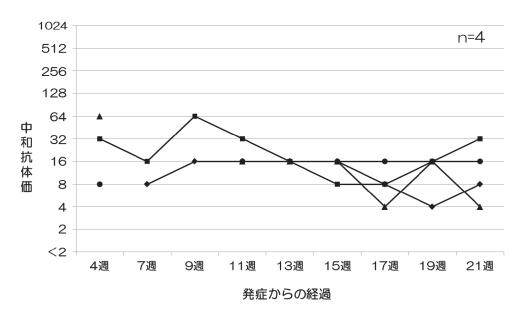


図1 A農場における発症後の中和抗体価の推移

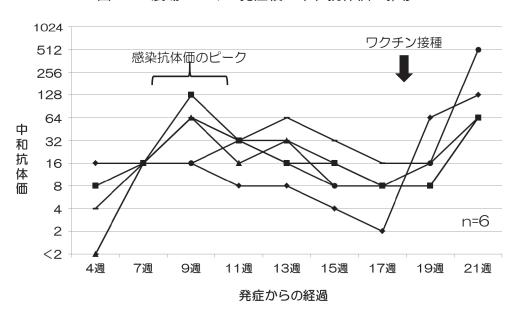


図2 B農場における発症後の中和抗体価の推移

チン効果に不安を抱く結果となった。以上のことから、2回目接種時期が用法にある接種時期から外れる事例や初回接種時と2回目接種時のメーカーが異なる事例など、イレギュラーなワクチン接種をする事例が増えるとともに、そのような事例においてもワクチン接種により抗体が誘導できるかの確認が求められた。

## 2-2 調査の概要

感染抗体調査と同じ2農場でA農場6頭、B農場10頭の計16頭の母豚を無作為に選抜し、初回採血は1回目のワクチン接種日として、分娩1カ月前から分娩1~2カ月後までの最長で3カ月間、同一個体を2週間

隔で採血し中和試験を実施した。

ワクチン接種は、限られた数量のワクチンで必要となる母豚全頭に接種することを目的とし、2回目接種を分娩予定日の $12\sim21$ 日前とした。接種間隔はN社ワクチンでは通常 $4\sim8$ 週のところ2週以上、K社ワクチンでは通常3週のところを $3\sim4$ 週として実施した。なお、1回目と2回目が異なるメーカーのワクチンであっても2回接種するよう指導した。

## 2-3 調査成績

A 農場の使用ワクチンは N 社のみで、調査対象母豚 へのワクチン接種は 1 回目が分娩 4 ~ 5 週前、 1 回目

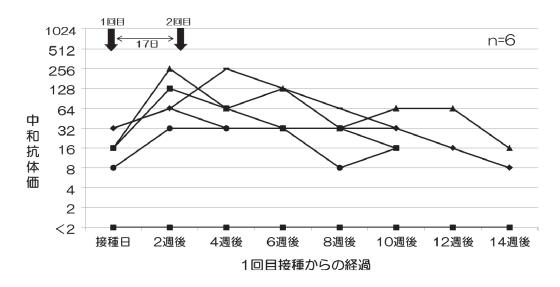


図3 A農場におけるワクチン接種後の抗体価の推移

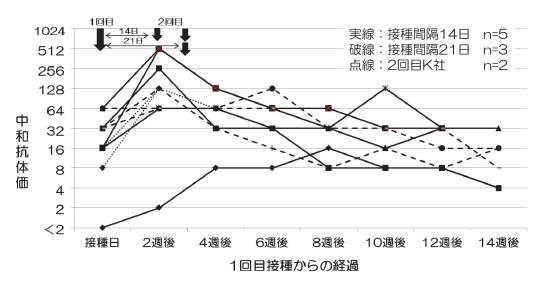


図4 B農場におけるワクチン接種後の抗体価の推移

と2回目の接種間隔は17日であり、2回目と実際の分娩までの間隔は11~21日間であった。ワクチン接種の結果、1回目接種後に6頭中5頭で2倍から16倍の抗体価上昇が認められた。一方、2回目接種後に抗体価がさらに上昇したのは6頭中1頭のみであった(図3)。なお、1頭は調査期間を通じて抗体上昇は認められなかった。

B 農場では、1回目は全頭 N 社のワクチンが接種され、2回目のワクチンは10頭中 2 頭が K 社のワクチン、残る 8 頭には N 社ワクチンが接種された。初回接種は分娩  $4 \sim 6$  週前、1回目と 2回目の接種間隔は14日と21日の 2 パターンであり、2回目と実際の分娩までの間隔は A 農場と同様11~21日間であった。その結果、1回目接種後に10頭中 9 頭で 2 倍から32倍の抗体

価上昇が認められ、2回目接種でさらに上昇したものが1頭確認された。また、1回目接種では上昇せず2回目接種で上昇したものが1頭であり、B農場では抗体価が上昇しない豚は確認されなかった。なお、1回目と2回目の接種間隔に違いによる抗体価の明確な差は認められなかった(図4)。

# 3. 未発生農場におけるワクチン抗体消長調査 3-1 調査の概要

PED 未発生農場である C 農場は、母豚150頭規模の一貫経営農場で、ワクチン供給が開始された平成26年5月当初からワクチン接種を開始し、その用法は、1回目と2回目の間隔は概ね用法どおりとし、2回目と分娩までは14~24日と幅があった。調査は15頭で実施

し、うち5頭は1回目接種時、2回目接種時、分娩時、離乳時の計4回採血を行い、ワクチンは全てN社ワクチンをした。他の10頭は2回目接種時、分娩時、離乳時、分娩2カ月後の計4回採血を実施し、うち3頭は2回ともK社のワクチンを接種、7頭は1回目にK社、2回目にN社のワクチンを接種した。

## 3-2 調査成績

N社のワクチンのみ接種した5頭では、発生農場の 母豚に接種した場合と比較して抗体価が最大で8倍と 低く、1回目接種で抗体価上昇が確認された豚は2頭、 2回目接種で抗体価上昇が認められた豚は2頭、残る 1頭では抗体価上昇が認められなかった。5頭中3頭 は離乳時まで抗体が検出され、2回目接種が実際の分 娩19~24日前でもワクチン接種による抗体上昇が確認 された(図5)。

K社のワクチンを使用した群では、1回目接種は分娩6週前であり、接種間隔は3週間、2回目と実際の分娩までは14~20日であった。2回ともK社のワクチンを接種した3頭ではいずれも抗体価上昇は認められなかった。しかし、1回目がK社、2回目がN社のワクチンを接種した7頭のうち、1頭で1回目接種により4倍の抗体価が認められ、2回目接種によりさらに4頭で2倍から32倍の抗体価が確認された。なお、1回目接種で抗体が確認された1頭では2回目接種により4倍から32倍へ抗体価が上昇した。抗体価が上昇した5頭中4頭の離乳時における抗体価は2倍から4倍であり、うち2頭においては分娩後2カ月後まで4倍と16倍と低いながらも抗体価が維持されていた。なお、K社とN社のワクチンを併用した7頭中2頭で抗

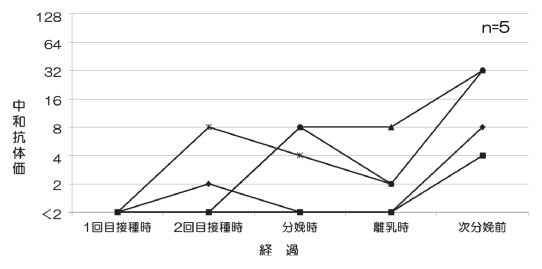


図5 C農場におけるワクチン接種後の抗体価の推移(N社ワクチン接種豚)

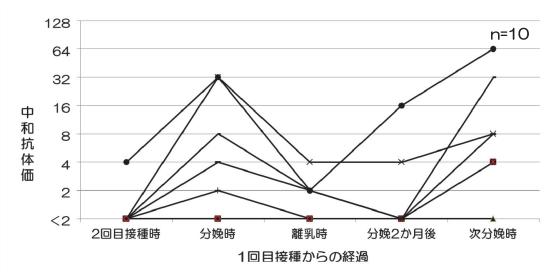


図 6 C農場におけるワクチン接種後の抗体価の推移(K社ワクチン接種豚)

体価上昇が認められなかった(図6)。

### 3-3 次回分娩時における追加調査

感染抗体を持たない未発生農場では、ワクチン開始 後の初回分娩時で高い抗体上昇が認められなかったことから、3-1ワクチン抗体消長調査で調査した母豚 のうち、N社のワクチンのみ接種した5頭中4頭、およびK社のワクチンのみ接種した3頭中2頭、K社と N社のワクチンを併用した母豚7頭中5頭の計11頭について次回分娩時にワクチン接種を実施し、抗体価の推移を追加調査した。採血は前調査の最終採血(離乳時または分娩2カ月後)から約13週後と次回分娩前の2回目ワクチン接種前後に一斉に行い、中和試験を実施した。なお、次回分娩前に接種したワクチンは供給の都合で全てN社ワクチンであった。

調査の結果、11頭中10頭で追加接種により4倍から32倍の抗体上昇が認められ、抗体価は最大64倍まで上昇した。しかしながら、前調査で抗体上昇がみられなかった母豚2頭中1頭では、追加接種によっても抗体上昇が認められなかった(図5、6)。

## 4. 血清と乳汁抗体の比較・消長調査

## 4-1 調査の概要

ワクチンも含め PED の発症防御は、乳汁中の IgA が主役となるが、家畜保健衛生所で IgA を測定することは困難である。 IgG は初乳中に多く含まれ分娩後時間の経過とともにその濃度が低下するものの、常乳になると IgA が最も多く含まれるようになり、常乳中に含まれる IgA の影響は離乳まで続いていることから 1)、血清中および乳汁中の中和抗体価を比較することで、間接的に発症防御効果を推定できると考えられる。そこで、本調査では、A、B、C の 3 農場において計22頭で分娩時と離乳時に血清とともに乳汁も採取し、血清中と乳汁中の中和抗体価を比較した。

### 4-2 調査成績

PED 発生農場である A および B 農場では、分娩時 および離乳時の血清中抗体価はそれぞれ 8 倍から256 倍および 8 倍から128倍と高く維持されていた。また、乳汁中においても、離乳時に抗体価が 2 倍以下であった B 農場の 2 頭を除き、全頭で分娩時において32倍から256倍以上、離乳時においても16倍から256倍以上と高い中和抗体価が維持されていた。

一方、未発生農場でワクチン接種を実施していたC

農場では、分娩時において血清中抗体は8頭中5頭でしか検出されず、抗体価も2倍から32倍と低めであったが、乳汁中抗体価は2倍から64倍の力価で全頭において検出された。しかしながら、離乳時には乳汁中抗体価は全頭で2倍以下となり、血清中抗体も8頭中3頭でのみ検出され、その抗体価も2倍から4倍と低いものであった(表1)。

表 1 A、BおよびC農場における分娩時および 離乳時の血清中および乳汁中中和抗体価

農場	分娩時		離乳時	
	血清	乳汁	血清	乳汁
A	8 16 32	128 128	16 32 8	64 128
	32 64	≧256 ≧256 ≧256	32 32	16 64 128
	128 256	≧256 ≧256	64 64	≧256 ≧256
В	8 16 16 32 64 64 128	32 64 ≧256 128 ≧256 ≧256 ≧256	16 16 16 8 32 128 32	<2 32 <2 32 128 128 128
С	128 <2 <2 <2 2 4 8 32 32	2 8 4 16 16 64 64	32 <2 <2 <2 <2 <2 <2 <2 <2 <4	(2 (2 (2 (2 (2 (2 (2 (2 (2 (2 (2 (2 (2 (

### 考察およびまとめ

本調査により、PED発生農場において野外感染抗体は少なくとも5カ月間持続することが確認され、次回分娩前のワクチン接種により抗体価を上昇させることが可能であることが確認された。当初、発生農場に対して、ワクチン接種は発生から3カ月後の分娩から開始するよう提案していたが、今回の成績からワクチン接種の開始は、発生から4カ月後でも十分間に合うと推察された。しかしながら、ある一定程度の割合で発症から5カ月間抗体上昇を認めない個体も存在することから、ワクチン接種の開始にあたっては事前にモニタリング検査を実施し、母豚群の抗体保有状況を確認することも必要と考えられた。

発生農場での1回目接種時のワクチンテイクは良好であり、ワクチン接種により抗体価の上昇がほとんどの個体で確認された。しかし、2回目接種では抗体上昇しない個体が多数認められたことから、2回目ワク

チン接種のタイミングで高い抗体価を保有する個体ではワクチンブレイクが起きていたと考えられる。なお、我々の試験の結果からワクチンブレイクする抗体価は64倍以上と推察された。さらに、ワクチン接種で抗体上昇が認められた個体を追跡すると、発症から7カ月を経過した時点でも64倍から128倍の抗体価を保有していた。これらのことからワクチンの用法どおり2回接種が原則であるものの、ワクチンブレイクを考慮して分娩2~3週前の1回接種でも十分な乳汁免疫を子豚に賦与できる可能性が考えられた。また、用法で1回目接種と2回目接種の間隔を長く空けることが、高い抗体価を持続させるために有効なワクチンプログラムとなる可能性がある。

逆に感染抗体を持たない未発生農場では、ワクチンを用法とおり2回接種しても発生農場で認められた程の抗体上昇が認められなかった。しかし、追加調査により次産時にも継続してワクチン接種を実施することで抗体を上昇させることができることが示唆された。これらの結果から、ワクチン接種の回数が増えるほど抗体の上昇が期待できることから、万が一の発生に備えてワクチン接種を継続し抗体価を維持することが重要と考えられる。

ワクチン供給事情により、推奨された用法よりも接種間隔が長くなったり、接種時期が早まったり、また二社のワクチンを併用するなど、イレギュラーなワクチンプログラムを組まざるを得なかったが、生産者に提案したワクチンプログラムを検証すると、接種間隔に多少幅を持たせても問題は認められず、2回目接種が分娩3週前でも抗体誘導に大きな影響は認められなかった。さらに、異なるメーカーのワクチンを使用してもその効果に大きな差は認められなかった。しかし、接種プログラムが複雑になることも踏まえ、やはり同一社のワクチンの接種が推奨される。

今回の調査で K 社ワクチンを接種した場合、全国的に家畜保健衛生所で実施されている中和試験では抗体が検出されない事例が認められた。これは K 社のワクチン株が中和抗体産生能の低い弱毒株という特性によるものであり、ワクチンの有効性を否定するものではない。実際、我々の調査においても、分娩時の血清中で中和抗体が検出されなくても分娩時の乳汁に中和抗体が検出されていることから、乳汁免疫による子豚の発症低減効果は得られるものと考えられる。 K 社のワクチンを使用している農場でワクチンテイク状況等を確認する場合、生産者に誤解を与えないようその成

績の判断と解釈には十分留意する必要がある。

最後に分娩時および離乳時の血清と乳汁における中和抗体価の比較により、発生農場の母豚由来の乳汁中には血清中よりも高い抗体価が確認され、それが離乳時まで持続することが確認された。また、PED未発生のワクチン接種農場において、ワクチン接種母豚の分娩時乳汁中に中和抗体が検出されることが確認された。これらのことから、しっかりとワクチンを接種し、母豚に泌乳させ、子豚に十分な乳汁を摂取させることがPEDの発症および損耗低減に重要であると再認識できた。

今回得られた成績は生産者に還元、情報提供しワクチン接種に対する理解を求めると共に、PEDの発生に備えバイオセキュリティーの強化と新たな発生防止対策の指導を継続している。幸い当所管内ではワクチン接種開始後に新たなPEDの発生はなく、ワクチン接種農場におけるPED発生時のワクチン効果の検証や抗体消長を調査することはできなかったが、それらの情報については他県からの報告を待ちたい。

### 参考文献

1) 石川弘道ら (2009) 初乳を極める、p14-23、アニマルメディア社、東京.