

8 管内全酪農場に対する牛ウイルス性下痢対策の取組

西部家畜保健衛生所

○森田 知香、森 麻子

要 約

平成 29 年 4 月、管内 1 酪農場で牛ウイルス性下痢ウイルス (BVDV) の持続感染 (PI) 疑い牛が摘発された。これを受け、管内酪農場 73 戸に対し BVDV の検査を行った結果、令和 2 年度までに PI 牛を 6 戸から 18 頭摘発した。そこで、管内酪農場における BVDV の対策を検討するため、摘発農場の①追跡調査及び②聞き取り調査を行った。①は、疑い事例を含む 7 戸の同居牛、新生子牛及び導入牛の抗原検査と、6 戸の同居牛の抗体検査、PI 牛 19 頭の母牛疫学調査を実施した。②は、令和 2 年度、管内全酪農場 58 戸に BVD 対策や要望等について聞き取った。①の結果、1,883 頭中 PI 牛 16 頭、急性感染 15 頭を摘発した。ワクチン未接種の 5 戸で I 及び II 型の抗体保有率は約 8 割以上だった。母牛疫学調査の結果、PI 牛の感染経路は母牛の急性感染による胎内感染 (以下、胎内感染) 14 頭、PI 牛産子 2 頭、導入 3 頭だった。②の結果、BVD の認知度や対策実施率は低いことが判明した一方、検査体制の充実や淘汰の補償に対する要望が認められた。本調査の結果、ワクチン接種、導入牛の陰性確認や隔離が有効と考えられ、管理獣医師や農協と協力し、地域ぐるみの対策が必要と思われた。

はじめに

平成 29 年 4 月、管内 1 酪農場で、牛ウイルス性下痢ウイルス (BVDV) の持続感染 (PI) 疑い牛が摘発された。これを受け、同年度から令和 2 年度にかけて、管内全酪農場 73 戸に対し、疾病の啓発とともに、浸潤状況調査として、PI 牛摘発のため、バルク乳 64 検体及び飼養牛 2,973 頭について BVDV 検査を実施した。

検査により、飼養牛又は出荷産子で PI 牛が摘発された酪農場 (発生農場) については、摘発時の同居牛、PI 牛淘汰後 10 か月間の新生子牛と導入牛の BVDV 検査を実施し、期間中、合わせて 6 戸 18 頭の PI 牛を摘発した。

約 10 か月間の清浄化対策の後、全ての発生農場で清浄化を確認し、その維持と地域の BVD 対策の推進を目的に、発生農場の BVDV 検査及び PI 牛の母牛疫学調査 (追跡調査) から、発生要因を明確化し、対策を指導した。しかし、対策があまり進まなかったため、BVD 対策状況等の聞き取り調査から、農場の実態を把握し、課題を洗い出すことで、今後の対策を検討したので報告する。

材料と方法

1) 追跡調査

平成 29 年 4 月から令和 3 年 3 月まで、疑い事例を含めた PI 牛 19 頭の発生農場 A~G7 戸に

対し、BVDV 検査及び母牛疫学調査を実施した。

a. BVDV 検査

発生農場のまん延状況を調べるため、抗原検査及び抗体検査を実施した。

ア. 抗原検査

「牛ウイルス性下痢・粘膜病に関するガイドライン」[1]に基づき、発生農場 7 戸の PI 牛摘発時の同居牛 963 頭と、PI 牛淘汰後 10 か月間、新生子牛 593 頭及び帰牧牛を含めた導入牛 316 頭について、採血を実施した。採血した後、H-27F (株式会社コクサン) で 3000rpm10 分遠心分離後、血清を採取した。血清は、IDEXX BVDVAg エリザキット (アイデックスラボトリーズ (株)) を用いた ELISA 法又は遺伝子検査法 (RT-cPCR) [3]により抗原検査を実施した。いずれかの抗原検査で陽性であった牛は、3 週間後に再度血清を採取、遺伝子検査を実施し、2 回とも陽性であった個体を PI 牛として摘発した。

イ. 抗体検査

平成 30 年、それまでの発生農場 6 戸の、PI 牛摘発時同居牛 774 頭について中和試験を実施した[3]。

b. 母牛疫学調査

PI 牛の発生要因を究明するため、PI 牛 19 頭の母牛を対象に、牛の個体識別情報検索サ

ービスや畜主からの聞き取りにより、生年月日、生産農場、ワクチン接種歴、移動歴、BVDV検査結果について調査した。

2) 聞き取り調査

対策を進める上での課題を洗い出すため、令和2年度、4月時点の管内全酪農場58戸に対し、巡回時に聞き取り調査を実施した。

調査項目は、BVDについての認識、BVD対策の実施状況、対策に対する要望、主な飼養衛生管理基準の遵守状況とした。

結果

1) 追跡調査

抗原検査により、同居牛6頭と新生子牛10頭の16頭が新たにPI牛として摘発され、急性感染牛も15頭認められた(表1)。

表1 抗原検査結果

| | 同居牛 | 新生子牛 | 導入牛 |
|-------|-----|------|-----|
| 検査頭数 | 963 | 593 | 316 |
| PI牛 | 6 | 10 | 0 |
| 急性感染牛 | 4 | 5 | 6 |

摘発されたPI牛19頭の感染経路は、母牛疫学調査の結果、胎内感染14頭、PI牛の導入3頭、PI牛の産子2頭だった。胎内感染の内訳は、預託先での感染2頭、農場内での感染12頭であり、農場内での胎内感染が最も多かった。

農場別に、PI牛の初発感染経路と続発の状況を整理すると、PI牛を導入したD、E、G農場では、垂直又は水平感染によるPI牛の続発が認められた。いずれも飼養頭数は多く、飼養形態はフリーストールやフリーバーンだった(表2)。

また、抗体検査を実施した6戸は、いずれもワクチン未接種だったが、同居牛は、各農場で摘発されたPI牛と同じ遺伝型の抗体だけでなく、異なる型の抗体も保有していた。6戸中5戸で、抗体保有率はI型、II型共におおそ8割を超えていた(図1)。

表2 農場別発生状況

| 農場 | 飼養頭数 | 初発感染経路 | 続発頭数 | | 飼養形態 |
|----|------|--------|------|------|------|
| | | | 胎内感染 | PI産子 | |
| A | 67 | 胎内感染 | 0 | 0 | フリー |
| B | 23 | 胎内感染 | 0 | 0 | つなぎ |
| C | 100 | 不明 | 3 | 0 | つなぎ |
| D | 229 | PI導入 | 2 | 0 | フリー |
| E | 134 | PI導入 | 1 | 1 | フリー |
| F | 242 | 胎内感染 | 0 | 0 | フリー |
| G | 168 | PI導入 | 8 | 1 | フリー |

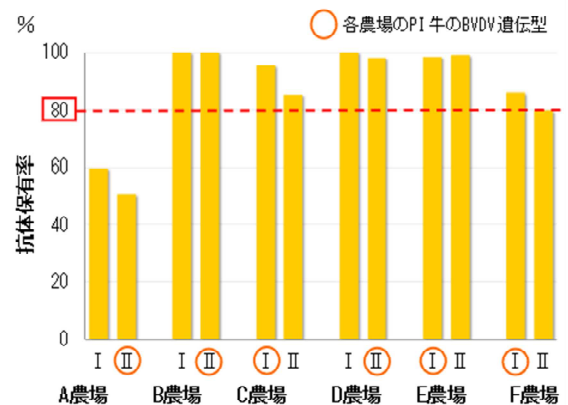


図1 同居牛の抗体保有状況

PI牛の淘汰や、淘汰後10か月間の新生子牛又は導入牛検査等の清浄化対策は、全ての発生農場において当所主導で実施した。一方で、農場主体の清浄性維持のための対策として、3戸がワクチン接種を開始したが、陰性牛の導入や定期的なスクリーニング検査等対策が進まなかった。

2) 聞き取り調査

BVDを認知している農場は58戸中39戸(67.2%)であり、BVDの症状の中でPI牛の産出を問題としたのは23戸(39.7%)だった(図2)。

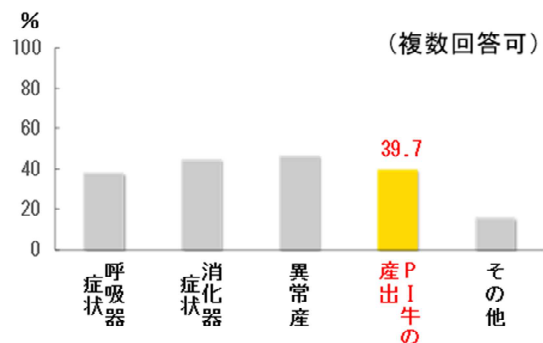


図2 BVDで問題となる症状の認知状況

BVD対策として、ワクチン接種10戸(17.2%)、BVDV陰性牛の導入2戸(3.4%)が実施しており、ワクチン接種10戸のうち3戸は発生農場だった。対策を何もしていない農場は41戸(70.7%)だった。BVDを認知していない農場19戸のうち18戸(94.7%)が対策を実施していなかった。BVDを認知した上で対策を実施していない農場は39戸中23戸(59.0%)で、その理由として、「発生がなく必要性を感じない」が19戸(82.6%)で最も多かった。発生農場においても2戸で費用対効果、1戸で経済的理由により対策の実施に至らなかった。

BVD対策における農場の要望として、PI牛淘汰の補償5戸(8.6%)、導入牛や新生子牛の検査、バルク乳検査等、希望者が適宜受けられる検査体制12戸(20.7%)が挙げられた(図3)。

また、BVDに限らず、一般的な飼養衛生管理の遵守状況を、発生農場と非発生農場で比較すると、12項目中9項目で、発生農場に比べ非発生農場の遵守率が高い傾向が認められた(図4)。

考 察

追跡調査により、同居牛や新生子牛のPI牛や急性感染牛を摘発し、PI牛の感染経路は胎内感染が最多であった。同居牛はI型II型共に高い抗体保有率であったことから、PI牛によるBVDVの農場内のまん延と過去の流行が確認され、まん延防止対策として、ワクチン接種が有効と思われた。PI牛の導入事例3例では、農場内でPI牛が続発したこと、導入牛の急性感染事例が確認されたことから、侵入防止対策として、導入牛の陰性確認や隔離等の衛生管理が重要と思われた。

聞き取り調査の結果、BVDの認知は約7割、PI牛産出への問題視はさらに低く、認知していない農場の多くで対策を実施せず、ワクチン接種率は17.2%にとどまったことから、正しい知識の普及が対策の実施につながると考えられた。また、発生農場では、費用面で対策に難色を示したこと、管内農場には、希望者が検査を適宜受けられるよう検査体制の充実への要望があったことから、ワクチンや検査の費用、採材や送付等手間への補助も、対策を促進する可能性がある。

また、飼養衛生管理の遵守率は、非発生農場と比較して、12項目中9項目で、発生農場の方が低かった。発生農場の方が遵守率が高かった3項目は、PI牛摘発を受けて対応した結果と考えられ、それまでは12項目全てで遵守率が低かったと推測された。導入牛や体調不良牛の隔離、人や物の消毒、適切な密度での飼養がなされていれば、発生農場での被害が抑えられた可能性もあり、改めて飼養衛生管理の大切さがうかがえた。

対策が進んでいる地域では、県と管理獣医師や農協が一体となって対策を実施しており[2]、本県においても、管理獣医師、農協と協力し地域ぐるみで対策をサポートする必要がある(図5)。

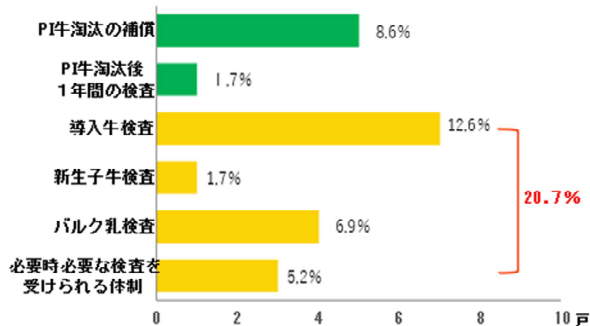


図3 BVD対策への要望

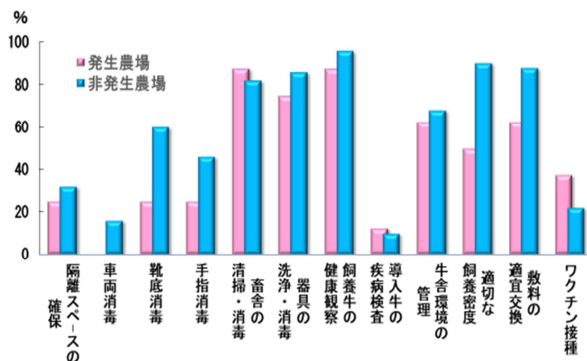


図4 衛生管理遵守状況

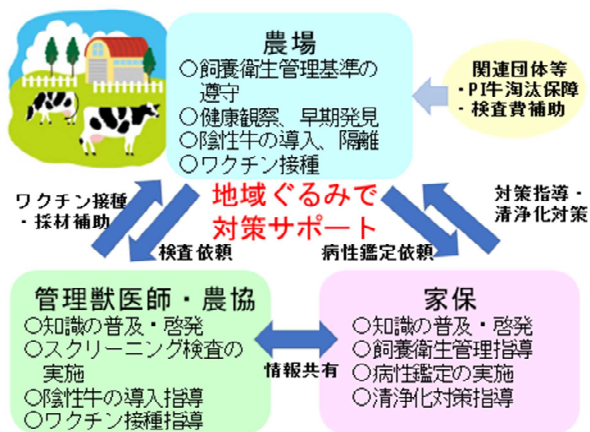


図5 地域ぐるみのサポート体制

本調査により、PI牛によるBVDVの農場内のまん延や牛の導入に伴うリスクが確認された。対策には、ワクチン接種や導入牛の陰性確認、衛生管理の遵守が有効だが、対策実施農場は少なく、正しい知識の普及と対策へのサポート体制の整備が必要となる。今後、管理獣医師や農協と協力し、対策指導及びサポート体制の構築を目指すと共に、衛生管理の指導を継続していく。

参考文献

[1]農林水産省消費・安全局：牛ウイルス性下痢・粘膜病に関する防疫対策ガイドライン（2016）
 [2]斎野仁：日獣会誌、66、791-796（2013）
 [3]斉藤妙子：第60回静岡県家畜保健衛生業績発表会集録、26-30（2018）

9 管内養豚場におけるヒストグラムを用いた豚熱 S/P 値の視覚化と農場指導への活用

中部家畜保健衛生所

○梶原 一洋、橘川 学

要 約

2019年10月に県内で野生イノシシの豚熱陽性が確認され、11月中に全飼養豚への豚熱ワクチン初回接種が完了した。豚熱 ELISA 検査の S/P 値（以下、S/P 値）は中和抗体価と関連し、ヒストグラムにすることで推定される抗体価について視覚的に把握することができる[2]。6ヵ月毎に実施している免疫付与状況等確認検査（以下、確認検査）結果の抗体推移をヒストグラムで確認すると共に、国内の豚熱発生時の疫学調査の分析結果、他県の接種適期推定システム（以下、推定システム）を活用し、豚熱ワクチン接種日齢を変更する農場指導を実施した。ヒストグラムによる繁殖豚の抗体推移を確認したところ、2019年12月に実施した1回目の確認検査では低い値で分布していたが、2020年6月に実施した2回目で上昇後、3回目と4回目の検査では大きな変動は認められなかった。管内1農場について、推定システムを利用したところ、2021年3月には30から40日齢、同年6月には40から50日齢が接種推奨日齢と示された。また、国内での豚熱発生状況は、2020年9月に牛豚等疾病小委員会からワクチン接種推奨日齢が50日齢以降と示された後、離乳後のワクチン未接種豚での発生が多く認められた。当初、管内全ての養豚場の豚熱ワクチン接種日齢は30から57日齢で、4週に1回の頻度でワクチン接種を行っていたが、2020年4月に30から50日齢、2020年10月に45から65日齢、2021年2月に42から55日齢、2021年4月からは35から48日齢に変更した。ヒストグラムを使用することで抗体分布及び推移を把握でき、接種日齢変更について、養豚場へ視覚的に説明できた。今後のワクチン接種日齢変更については、豚熱の国内での発生状況等を踏まえた上で、ヒストグラム及び推定システムの活用が有効であると考えられた。

はじめに

中部家畜保健衛生所管内には、11の養豚場（一貫経営5農場、子豚出荷5農場、肥育1農場）がある。S/P値は中和抗体価と関連し【 $\text{Log}_2(\text{中和抗体価})=7.98(\text{S/P値})+0.895R^2=0.86$ 】、ヒストグラムにすることで推定される抗体価について視覚的に把握することができる[2]。このことは、養豚場への説明や、抗体価の推移を確認するのに有用である。確認検査結果の抗体推移をヒストグラムで確認すると共に、全国の豚熱発生時の疫学調査による分析結果、推定システムを活用し、豚熱ワクチン接種日齢を変更する農場指導を実施した。

材料と方法

1) ヒストグラムによる繁殖豚の抗体推移

2019年12月から6ヵ月毎に2021年6月ま

で計4回の確認検査を行い、管内11農場の繁殖豚及び肥育豚で、豚熱 ELISA 検査（JNC株式会社）を実施した。そのうち、一貫経営養豚場5戸（AからE農場）の繁殖豚について、2019年12月（豚熱ワクチン初回接種から1ヵ月後）に30頭、2020年6月に50頭、2020年12月に50頭、2021年6月に110頭のS/P値を用いて検査回毎にヒストグラムを作成し、その抗体分布の推移について調査した。

2) 推定システム

推定システムによる分析をA農場（2021年3月及び6月：繁殖豚、各30頭）について他県に依頼した。

3) ヒストグラムによるA農場とB～E農場との繁殖豚の抗体分布の比較

確認検査結果のうち、2020年12月及び2021年6月採血群のA農場の繁殖豚のS/P値について、B～E農場の繁殖豚のS/P値から作成し

たヒストグラムと比較した。

成績

1) ヒストグラムによる繁殖豚の抗体推移

S/P 値は、2019 年 12 月には 0.03 から 0.86 に分布し、中央値が 0.36、2020 年 6 月は 0.14 から 1.33 に分布し中央値が 0.97、2020 年 12 月には 0.01 から 1.23 に分布し中央値が 0.84、2021 年 6 月は 0.01 から 1.46 に分布し中央値が 0.93 となった (図 1)。

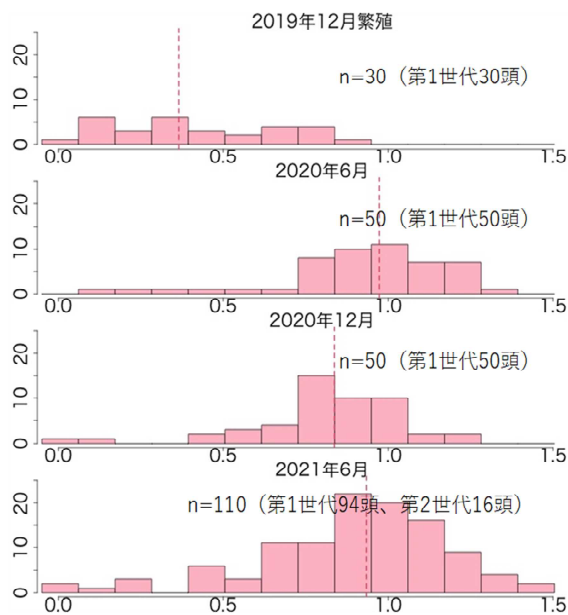


図 1 繁殖豚の抗体分布推移

2) 推定システム

2021 年 3 月には母豚群の抗体分布が平均 S/P 値が 0.778 で中程度の分布でばらつきが少なく 30 から 40 日齢が接種推奨日齢と示された。同年 6 月には平均 S/P 値が 0.964 で高く分布しており、40 から 50 日齢が接種推奨日齢と示された。

3) ヒストグラムによる A 農場と B~E 農場との繁殖豚の抗体の比較

A 農場の繁殖豚の抗体分布は 2020 年 12 月及び 2021 年 6 月採血群共に、他農場と比較し若干高い傾向を示した (図 2、3)。

これらの調査を受け、管内すべての農場の豚熱ワクチン接種日齢を、30 から 57 日齢から、2020 年 4 月に 30 から 50 日齢、2020 年 10 月に 45 から 65 日齢、2021 年 2 月に 42 から 55 日齢、2021 年 4 月からは 35 から 48 日齢に変更した (表 1)。

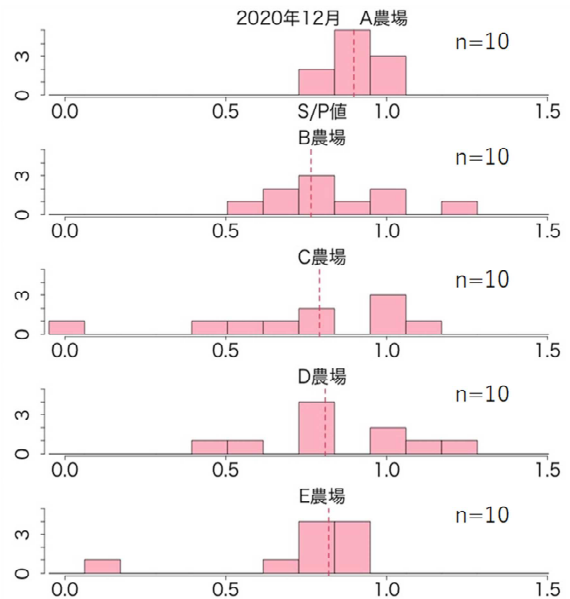


図 2 A 農場と B~E 農場の繁殖豚の抗体比較 (2020 年 12 月)

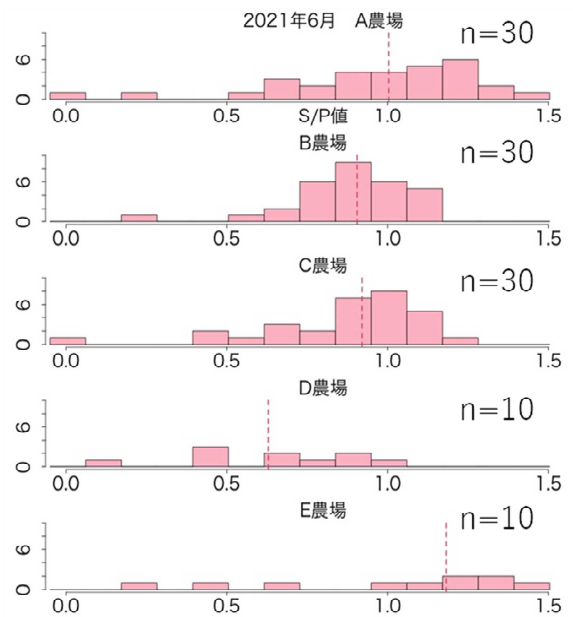


図 3 A 農場と B~E 農場の繁殖豚の抗体比較 (2021 年 6 月)

表1 ワクチン接種日齢の推移

| 年月 | 接種日齢 | 接種間隔 | 免疫付与状況調査 | 発生事例 | 発生状況 | |
|----------|-------|------|----------|------|-----------------------------|---|
| 2019年10月 | | | | 2 | さまざまな日齢で発生 | |
| 11月 | | | | 3 | | |
| 12月 | 30-57 | 4W | ① | 1 | | |
| 2020年1月 | | | | 4 | | |
| 2月 | | | | 2 | | |
| 3月 | | | | 1 | | |
| 4月 | 30-50 | 3W | | | ほぼ全て離乳豚での発生、特にワクチン未接種豚が多く発症 | |
| 5月 | | | | | | |
| 6月 | | | | ② | | |
| 7月 | | | | | | |
| 8月 | | | | | | |
| 9月 | | | | 1 | | |
| 10月 | 45-65 | 3W | | | | |
| 11月 | | | | | | |
| 12月 | | | | ③ | | 2 |
| 2021年1月 | 42-55 | 2W | | 1 | | |
| 2月 | | | | | 1 | |
| 3月 | 35-48 | 2W | | 4 | | |
| 4月 | | | | | 1 | |
| 5月 | | | | ④ | | |
| 6月 | | | | | | |
| 7月 | | | | | 1 | |
| 8月 | | | | 2 | | |
| 9月 | | | | | | |
| 10月 | | | | 2 | | |

考 察

養豚場への説明は、ヒストグラムを用い、管内の繁殖豚の抗体推移と共に、養豚場毎の繁殖豚の抗体推移等について適宜実施した。養豚場には繁殖豚の抗体価の分布にばらつきがあることなどが、視覚的に説明でき、ワクチン接種日齢変更の際にも良好に同意を得られた。

ヒストグラムを用いた繁殖豚の抗体価の推移について、確認検査の1回目に抗体分布が低かった要因としては、初回のワクチン接種から1ヵ月程度であったため、抗体価が十分に上昇していなかったことが要因の一つと考えられた。今後、繁殖豚の更新が進み、抗体価が低下することも考えられるため、引き続き抗体推移については注視する必要がある。

ワクチン接種日齢は、接種開始当初は30から57日齢の4週間間隔で接種していたが、2020年4月には、発生リスクを軽減する為、30から50日齢の3週間間隔での接種に変更した。

2020年8月31日に実施された、牛豚等疾病小委員会配付資料及び2020年9月7日の農林水産省動物衛生課からの連絡において、50日齢から60日齢程度が接種推奨日齢と示されたことを受け、2020年10月に45から65日齢の3週間間隔での接種に変更した。

国内での豚熱発生状況を見ると、2020年9月以降ワクチン未接種豚での発生が多く認め

られた。この状況や、「1969年に、全国33都府県で実施した野外応用試験で、生後20日齢以上の875頭についてGP生ワクチン接種時の移行抗体価とワクチンのテイク率を調査した結果では、ワクチン接種時の移行抗体価が128倍以下の豚では、96%以上の豚がワクチンをテイクしていた」との報告や[1]、「移行抗体の影響で、ワクチンによる獲得免疫を示す抗体価が1~2倍という低いレベルにとどまる場合があるが、抗体価は持続し数ヵ月後に強毒ウイルス感染を受けてもほとんど症状を示さず耐過することが実験的に明らかにされている」との報告もあり[1]、移行抗体によるワクチンブレイクよりも、移行抗体が低くなる「免疫の空白期間」が危険と感じられる状況であった。そのため、ワクチン接種日齢を早める必要があると考え、2021年2月に42から55日齢の2週間間隔に変更した。更に接種日齢を早くすることも検討したが、根拠に乏しく接種日齢を早くできなかった。

2021年3月に実施した推定システムの結果により、A農場の接種推奨日齢が、30から40日齢と示された。また、2020年12月に実施した確認検査で、繁殖豚の抗体分布を比較したところ、A農場は他の農場と比較し若干高い傾向があった。そのため、A農場の接種推奨日齢が30から40日齢と示されたことで、他の農場はそれよりも早い時期が接種推奨日齢になると考えられた。この推定システム結果が接種日齢を早める根拠の一つとなり、2021年4月からはワクチン接種時期を35から48日齢の2週間間隔に変更した。30日齢からの接種にすることも考えたが、抗体価の高い繁殖豚がいることや、急激なワクチン接種日齢の変化を避けるために、35日齢からの接種とした。

同年6月には繁殖豚の平均S/P値が0.964で高く分布しており、40から50日齢が接種推奨日齢と示された。同時期に実施した4回目の確認検査でA農場の繁殖豚の抗体分布は他の農場よりも高い傾向があり、他の農場はAより早い時期が接種推奨日齢になると考えられた。一方、同一農場で、2021年3月には30から40日齢で、6月には40から50日齢が接種推奨日齢となっており、同一農場で3ヵ月の間に繁殖豚の抗体分布が高く推移したとは考えにくく、35から48日齢での接種日齢の変更はしなかった。

ワクチン接種間隔については、作業の関係から、接種する曜日の固定を希望する農場が10件中9件を占めており（肥育農場1件は管外で接種）、週間隔で実施している。一方、曜日の固定よりも、分娩日等による調整を希望する1件は、接種日齢は基準に合うよう接種間隔を変えてワクチン接種を実施している。

今後のワクチン接種日齢変更については、豚熱の全国での発生状況等を踏まえた上で、ヒストグラム及び推定システムの活用により、総合的に判断していく。

参考文献

- [1] 社団法人 全国家畜畜産物衛生指導協会
社団法人 畜産技術協会：豚コレラ防疫史、
豚コレラ防疫史編集委員会、105-107、悠
書館、東京都（2009）
- [2] 梶原一洋：第62回静岡県家畜保健衛生業
績発表会集録、35-38（2020）

10 静岡県における豚熱 ELISA の S/P 値を用いた豚熱ワクチン接種適期推定法の検討

中部家畜保健衛生所
○西島 典子

要 約

豚熱ワクチン接種による適切な免疫付与のためには、子豚の移行抗体を考慮して接種日齢を設定することが望ましい。子豚の移行抗体価は母豚の中和抗体価から推定できるが、中和試験は判定までに時間を要し、限られた施設でしか実施できない。他県の報告では、ELISA の S/P 値から中和抗体価に換算して接種適期を推定する数理モデルが作成されており、本県でも S/P 値から接種適期を推定する方法を検討した。推定法の基礎データとして用いるため、豚血清 814 検体について ELISA 及び CPK-NS 細胞による中和試験を実施した。ELISA の S/P 値と中和抗体価には強い正の相関が認められたが、溶血した検体では相関係数が低下する傾向が認められた。抗体検査結果の ROC 解析により、各抗体価のカットオフ値となる S/P 値を算出し、S/P 値から中和抗体価へ換算した。また、移行抗体価の半減期、発症防御可能な移行抗体価、ワクチン接種時の移行抗体価による抗体上昇率を Excel に設定し、接種適期推定表を作成した。推定表に母豚の S/P 値を入力すると、免疫付与率（ワクチン接種により抗体価が上昇する子豚群の割合）及び免疫維持率（移行抗体により発症防御可能な子豚群の割合）が子豚の日齢ごとに自動計算され、両者が共に 80%以上となる日齢が接種適期と推定された。本県独自の推定表の作成により、より簡便で迅速な接種適期推定が可能となったことから、現場家保での今後のワクチン接種適期推定に有効活用できると考えられた。

はじめに

令和元年 10 月、県内で野生イノシシの豚熱ウイルス感染が初めて確認されたため、同年 11 月より、全ての豚・イノシシ飼養者を対象に豚熱ワクチン接種が開始された。本県の豚熱ワクチン免疫付与状況確認検査では、初回検査（令和元年 12 月）の子豚の抗体陽性率は 99%であったが、2 回目検査（令和 2 年 6 月）では 87%、3 回目検査（令和 2 年 12 月）では 76%、4 回目検査（令和 3 年 6 月）では 78%であった。2 回目検査以降の子豚は、ワクチン接種後の母豚から出生しているため、子豚の移行抗体が抗体陽性率の低下に影響していると考えられている。

豚熱ワクチン接種による適切な免疫付与のためには、子豚の移行抗体を考慮して接種日齢を設定することが望ましい。新生子豚の移行抗体価は母豚の血中抗体価とほぼ同程度となるため、母豚の中和抗体価から子豚の移行抗体価を推定することが可能である[7]。しかし、中和試験は判定までに時間を要し、限ら

れた施設でしか実施できない。そのため、迅速かつ現場家保で実施可能である ELISA の S/P 値から中和抗体価を換算し、ワクチン接種適期を推定する必要がある。現在、他県にて母豚または子豚の S/P 値から接種適期を推定する数理モデルが作成されている[6]。現状では、この数理モデルの利用を他県に依頼しているが、より簡便で迅速な接種適期推定を現場家保で可能とするため、本県で行った抗体検査結果を基に S/P 値から接種適期を推定する方法を検討した。

材料と方法

1) 抗体検査

令和 2 年 6 月から令和 3 年 7 月に県内農場 22 戸（東部：2 戸、中部：7 戸、西部：13 戸）から採材された豚血清 814 検体を用いて、ELISA（豚熱エライザキットⅡ、JNC(株)または(株)ニッポンジーン）及び中和試験による抗体検査を実施した。中和試験は、CPK-NS 細胞とワクチン株である GPE⁻株を用いて血清

希釈法により実施した[9]。

2) 推定法の検討

a. S/P 値から中和抗体価への換算

抗体検査結果の ROC 解析により各抗体価のカットオフ値となる S/P 値を算出し、S/P 値から中和抗体価へ換算する基準値とした。

b. 子豚の移行抗体価の推定

母豚の中和抗体価と新生子豚の移行抗体価を同等とし、移行抗体価の半減期を 10.9 日とした[1]。小河らの報告を基に、移行抗体価を求める計算式を、移行抗体価 (2 の指数) = 母豚抗体価 (2 の指数) - 生後日数 / 10.9 とした[2]。

c. 子豚の免疫付与率及び免疫維持率の推定

ワクチン接種により抗体価が上昇する子豚群の割合を免疫付与率とし、ワクチン接種時の移行抗体価が 32 倍以下では 100%、64~512 倍では 50%、1024 倍以上では 0% の子豚で抗体価が上昇するとした[7]。また、移行抗体により発症防御可能な子豚群の割合を免疫維持率とし、発症防御可能な移行抗体価を 16 倍とした[7]。上記 a~c の計算条件を Excel に設定し、ワクチン接種適期推定表を作成した。

成績

1) 抗体検査

ELISA の結果は、陰性：101 頭 (12.4%)、疑陽性：47 頭 (5.8%)、陽性：666 頭 (81.8%) であった (表 1)。中和試験の結果は、陰性 (抗体価 2 倍未満)：63 頭 (7.7%)、陽性 (抗体価 2 倍以上)：751 頭 (92.3%) であった。

ELISA 判定ごとの中和抗体価の分布は、陰性：2 倍未満~256 倍 (中央値：2 倍未満)、疑陽性：2 倍未満~32 倍 (中央値：4 倍)、陽性：2 倍未満~4096 倍以上 (中央値：128 倍) であった。

表 1 抗体検査結果

| ELISA判定 | 頭数 | S/P値 | 中和抗体価 | |
|---------|-----------------|--------------------|----------------|-----------------|
| | | | <2倍 | ≥2倍 |
| 陰性 | 101頭 (12.4%) | -2.0630 ~0.0489 | 54頭 (53.5%) | 47頭 (46.5%) |
| 疑陽性 | 47頭 (5.8%) | 0.0502 ~0.0991 | 7頭 (14.9%) | 40頭 (85.1%) |
| 陽性 | 666頭 (81.8%) | 0.1001 ~2.1447 | 2頭 (0.3%) | 664頭 (99.7%) |

ELISA の S/P 値と中和抗体価の相関係数 (r) は 0.8652 であり、両者には強い正の相関が認められた (図 1)。

S/P 値と中和抗体価の相関係数を検体の溶血の有無で比較すると、通常の溶血していない 701 検体では 0.8905、溶血した 113 検体では 0.7667 となり、溶血した検体で相関係数が低くなる傾向が認められた (図 2 及び図 3)。また、ELISA 陰性であった 101 頭の中和抗体価を溶血の有無で比較すると、通常の検体 84 頭では、2 倍未満：48 頭、2 倍：25 頭、4 倍：11 頭で、全て 4 倍以下であった。一方、溶血した検体 17 頭では、2 倍未満：6 頭、2 倍：3 頭、8 倍：3 頭、16 倍：1 頭、32 倍：3 頭、256 倍：1 頭であり、通常の検体よりも結果にばらつきが認められた。

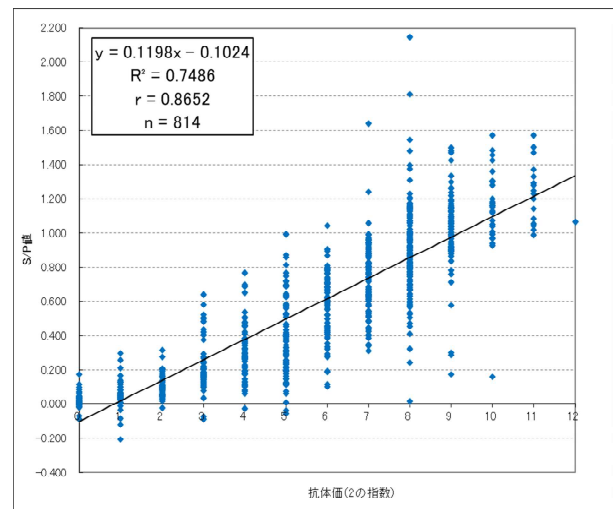


図 1 全検体の S/P 値と中和抗体価

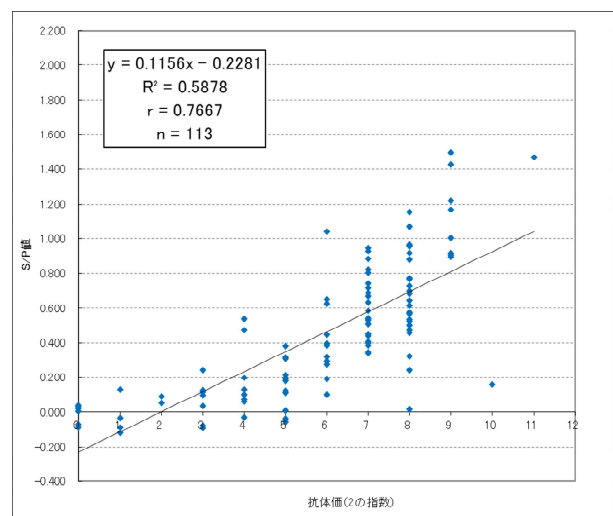


図 2 溶血した検体の S/P 値と中和抗体価

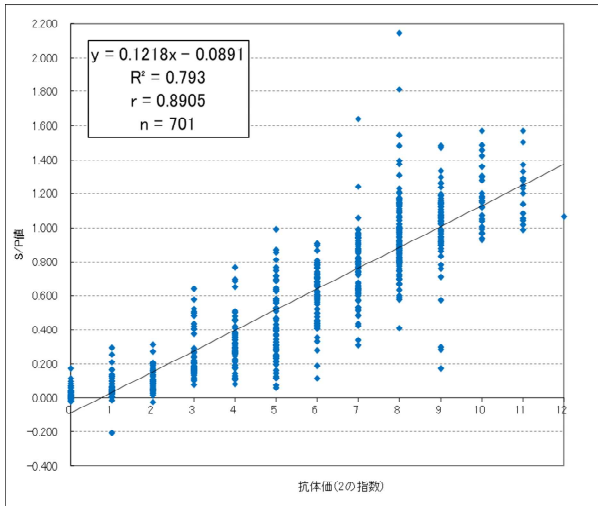


図3 通常の検体の S/P 値と中和抗体価

2) 推定法の検討

算出されたカットオフ値を基準に、S/P 値から中和抗体価へ換算した(表2)。計算の都合上、抗体価2倍未満は1倍として算出した。

表2 S/P 値から中和抗体価への換算

| S/P 値 | 推定抗体価 |
|-------------------|--------|
| 0.070 未満 | 1 倍 |
| 0.070 以上 0.116 未満 | 2 倍 |
| 0.116 以上 0.139 未満 | 4 倍 |
| 0.139 以上 0.219 未満 | 8 倍 |
| 0.219 以上 0.380 未満 | 16 倍 |
| 0.380 以上 0.584 未満 | 32 倍 |
| 0.584 以上 0.739 未満 | 64 倍 |
| 0.739 以上 0.803 未満 | 128 倍 |
| 0.803 以上 0.893 未満 | 256 倍 |
| 0.893 以上 0.925 未満 | 512 倍 |
| 0.925 以上 0.978 未満 | 1024 倍 |
| 0.978 以上 1.061 未満 | 2048 倍 |
| 1.061 以上 | 4096 倍 |

作成した推定表は、左側の赤枠空白セルに母豚30頭のS/P値を入力すると、S/P値から中和抗体価へ換算され、中央の表の計算と右側のグラフの作成が自動で行われるように設定した(図3)。中央の表では、子豚群の免疫付与率、免疫維持率、移行抗体価の幾何平均値(GM値)について、0日齢から100日齢まで5日齢ごとに計算される(図4)。グラフでは、0日齢から100日齢までの免疫付与率及び免疫維持率の推移が折れ線グラフで表示される(図5)。



図3 推定表入力例

| 子豚の日齢 | GM値の推移 | 免疫付与率 | 免疫維持率 |
|-------|--------|--------|--------|
| 0 | 315.2 | 38.3% | 100.0% |
| 5 | 229.3 | 38.3% | 100.0% |
| 10 | 166.9 | 38.3% | 100.0% |
| 15 | 121.4 | 53.3% | 100.0% |
| 20 | 88.3 | 53.3% | 100.0% |
| 25 | 64.3 | 60.0% | 93.3% |
| 30 | 46.8 | 60.0% | 93.3% |
| 35 | 34.0 | 83.3% | 80.0% |
| 40 | 24.8 | 83.3% | 80.0% |
| 45 | 18.0 | 88.3% | 33.3% |
| 50 | 13.1 | 88.3% | 33.3% |
| 55 | 9.5 | 100.0% | 23.3% |
| 60 | 6.9 | 100.0% | 23.3% |
| 65 | 5.1 | 100.0% | 23.3% |

図4 推定表中央の表(一部)

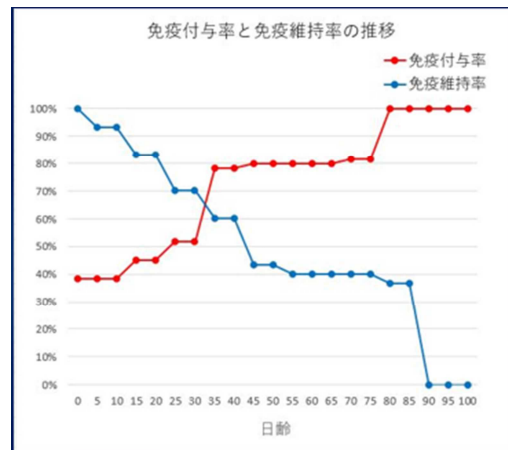


図5 免疫付与率と免疫維持率の推移

考 察

本県独自の推定表を作成できたことで、他県への依頼を行わずとも、現場家保で実施可能であるELISAのS/P値を用いた簡便で迅速な接種適期の推定が可能となった。このことから、現場家保で今後のワクチン接種適期を推定する際に有効活用できると考えられた。

また、溶血した検体については、S/P値と中和抗体価の相関係数が低くなる傾向が認められたため、検体の溶血が抗体検査の結果に影響を与える可能性が考えられた。接種適期推定の精度を保つためには、採血時に溶血さ

せないよう注意が必要であると考えられた。

一般的に、ワクチン接種の目標値は80%以上の集団免疫の形成であり、豚熱ワクチンも同様に、生後最も早い時期に豚群の80%以上に免疫を付与することを目的としてワクチンプログラムが設定されている[8]。そのため、推定表の免疫付与率と免疫維持率が共に80%以上となる日齢が接種適期として推定される。

しかし、母豚の抗体価の分布によっては80%以上となる両者の日齢にずれが生じるため、その場合は他の接種適期の目安も考慮する必要がある。接種適期の目安として、①免疫付与率、②免疫維持率、③移行抗体価のGM値、④免疫付与率と免疫維持率のグラフの交点の4点が挙げられる。①及び②は80%以上となる日齢、③は発症防御可能かつ高率に免疫付与されると考えられる16~32倍付近となる日齢が目安となる。④は免疫付与率と免疫維持率が等しく、両者のバランスを取った日齢となる。国内のワクチン接種農場における豚熱発生事例では、ワクチン接種前後の離乳豚での発生が多く、移行抗体が消失した離乳豚での発生リスクが高いと報告されている[3]。そのため、子豚群に免疫の空白期間が発生する前の接種が推奨されることから、現状では②の免疫維持率が80%以上である最大の日齢が接種適期として推定される。これらの推定結果と豚熱ワクチンの用法に従って接種日齢を設定することが必要である。

国内の豚熱初発農場から分離された豚熱ウイルスはJPN/1/2018株とされ、感染実験や遺伝子解析が行われている。JPN/1/2018株は、過去に国内で検出例がないGenotype 2のSubgenotype 2.1に分類され、中国またはその周辺国から侵入したウイルスであると推定された[3]。現在、国内でまん延している野外株はJPN/1/2018株と遺伝的に極めて類似しており、最初に国内に侵入したウイルスが感染・伝播して拡散していった可能性が高い[3]。また、豚に対する病原性については、強毒株であるALD-A76株よりも低く、中程度の病原性であると報告された[5]。

過去の感染実験で使用されたALD-A76株はGenotype 1に分類されており、病原性も現在の野外株とは異なるため、両者の抗原性が異なる可能性がある。そのため、ワクチン抗体に対する中和抗体価に差が生じる可能性があ

り、現在の野外株の発症防御可能な抗体価は、過去に報告されていた16倍とは異なる可能性が考えられる。現在の野外株について新しい報告があれば、推定表の設定を適宜変更していく。今後は、現場家保の意見や要望を取り入れつつ、推定表の形式や計算条件を修正し、より現場で使用しやすいように改善していきたい。

参考文献

- [1] 牛豚等疾病小委員会：第78回牛豚等疾病小委員会資料（2021）
- [2] 小河孝ほか：家畜衛試研究報告、第86号、1-7（1984）
- [3] 拡大豚熱疫学調査チーム：豚コレラの疫学調査に係る中間取りまとめ（2020）
- [4] 拡大豚熱疫学調査チーム：第15回拡大豚熱疫学調査チーム検討会資料（2021）
- [5] Kameyama, K et al.: J. Vet. Med. Sci., 81, 9, 1277-1284 (2019)
- [6] 桑田桂輔：令和3年度家畜衛生研修会事例報告抄録（病性鑑定・ウイルス部門）
- [7] 清水実嗣：日本豚病研究会報、No. 29、2-13（1996）
- [8] 清水悠紀臣：動衛研研究報告、第119号、1-9（2013）
- [9] 農林水産省：豚熱に関する特定家畜伝染病防疫指針別紙1「豚熱の診断マニュアル」

1 1 豚熱ワクチン接種農場におけるワクチン接種適期推定調査について

東部家畜保健衛生所
○鈴木 駿、小林 幸恵

要 約

令和元年 11 月以降、東部家畜保健衛生所（以下、当所）では生まれてくる子豚へのワクチン接種を継続しているが、肥育豚での抗体陽性率が豚熱に関する特定家畜伝染病防疫対策指針（以下、指針）での基準に満たない農場が全体の 4 分の 1 以上及ぶ状況が続いている。全国的にも母豚からの移行抗体の影響を考慮した適切なワクチン接種時期の検討は繰り返し行われているため、当所でも管内農場のワクチン接種による豚熱発生防止効果を高めることを目的に、抗体陽性率の低かった農場で接種適期を推定するための調査を実施した。調査を実施したうちの 1 農場では 40 及び 70 日齢の子豚での移行抗体価を基に接種条件を「立入りは 3 週間に 1 回、50 日齢以降」から「立入りは 2 週間に 1 回、60 日齢程度」へと調整を行った。結果として、肥育豚の抗体陽性率の向上につなげることができたが、ワクチン接種農場での豚熱発生が相次いでいる状況も踏まえると、抗体獲得率と早期に移行抗体が消失してしまうことによる免疫空白期間の短縮をできる限り両立した接種時期の検討は今後も継続していく必要がある。

はじめに

県内養豚場での豚熱ワクチンの一斉接種が行われた令和元年 11 月以降、当所では生まれてくる子豚へのワクチン接種を継続して行っている。また、指針に基づく免疫付与状況等確認検査（以下、確認検査）を 6 か月毎に実施しているが、令和 2 年 5 月から同年 6 月に行われた第 2 回の確認検査以降、検査を実施した農場の 4 分の 1 以上で肥育豚での抗体陽性率が基準となる 80% を下回り、追加接種を実施している状態が続いており（表 1）、母豚からの移行抗体の影響を踏まえた適切な時期での接種が求められている。今回、確認検査での抗体陽性率が低かった農場のうち 2 戸（A 及び B）で実施した接種適期推定の取組について報告する。

表 1 免疫付与状況等確認検査の結果

| 回次 | 期間 | 追加接種農場/全検査農場 |
|-------|----------------|--------------|
| 第 1 回 | 令和元年 12 月 | 8/40* |
| 第 2 回 | 令和 2 年 5～6 月 | 10/35 |
| 第 3 回 | 令和 2 年 11～12 月 | 20/34 |
| 第 4 回 | 令和 3 年 5～6 月 | 8/28 |

* 第 1 回では肥育豚よりも繁殖豚での成績が悪く、追加接種の対象は繁殖豚及びミニ豚であった。

方 法

1) 対象農場

令和 2 年 11 月から 12 月に実施した第 3 回確認検査における肥育豚の抗体陽性率が当所管内平均から 10% 以上上下回った 2 農場（A 及び B）を対象とした。

2) 検体の採材

令和 3 年 1 月～5 月に農場 A では母豚 3 頭とその産仔 28 頭から採血を行った。子豚からは 45、70、165 日齢のときに計 3 回採血を行った。母豚の採血は子豚の 1 回目と同日に実施した。子豚へのワクチン接種は 70 日齢での採血と同日に実施した。

農場 B では、令和 3 年 4 月～7 月に母豚 6 頭とそのうち 3 頭の産仔各 5 頭の計 21 頭から採血を行った。子豚からは 30、40、100 及び 140 日齢で採血を行い、母豚の採血は子豚の 2 回目と同日に実施した。子豚へのワクチン接種は 40 日齢での採血と同日に実施した。

3) 実施試験

分離した血清を用いて ELISA 法と中和試験を実施した。

結 果

農場 A では母豚 3 頭の中和抗体価は 32 倍から 64 倍であった。図 1 では子豚の日齢ごとで

の中和試験の結果を示しているが、45日齢で28頭中22頭(78.6%)が移行抗体による感染防御の目安とされる中和抗体価16倍を下回っていた。また、70日齢の時点では全頭で中和抗体価が4倍以下であった。また、165日齢でELISA法による抗体検査で陽性率は100%となった。

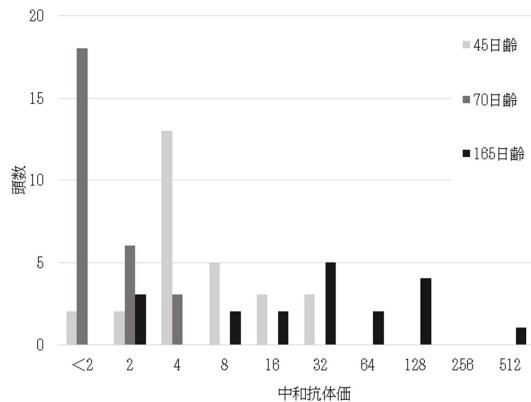


図1 農場Aの子豚の中和試験結果

農場Bでは、試験に供した母豚6頭の抗体価にばらつきが見られ、子豚の移行抗体価についても大きな違いが見られた。表2および表3にて農場Bの母豚と子豚の中和試験の結果をそれぞれ示している。高抗体価の母豚から産まれた子豚10頭では、うち8頭が40日齢での中和抗体価が16倍以上となっており、その後実施した140日齢でのELISA法で抗体陽性率は20%であった。一方で低抗体価の母豚から産まれた子豚5頭については40日齢での中和抗体価が全頭で4倍以下であり、140日齢でのELISA法で抗体陽性率は100%となった。

表2 農場Bの母豚6頭の中和試験結果

| 母豚 | 中和抗体価 |
|----|-------|
| A | 4 |
| B | 32 |
| C | 64 |
| D | 64 |
| E | 256 |
| F | 512 |

表3 農場Bの母豚3頭の産仔各5頭の中和試験結果

| 母豚 | 中和抗体価 | | | | |
|----|-------|------|-------|-------|----|
| | 30日齢 | 40日齢 | 100日齢 | 140日齢 | |
| C | ① | <2 | <2 | 16 | 32 |
| | ② | <2 | <2 | 32 | 16 |
| | ③ | 4 | 4 | 64 | 64 |
| | ④ | 8 | 4 | 16 | 32 |
| | ⑤ | 4 | 2 | 32 | 4 |
| D | ① | 128 | 16 | 2 | <2 |
| | ② | 64 | 8 | 4 | <2 |
| | ③ | 64 | 16 | 4 | <2 |
| | ④ | 32 | 8 | 8 | 8 |
| | ⑤ | 128 | 16 | 4 | <2 |
| F | ① | 128 | 64 | 4 | <2 |
| | ② | 64 | 16 | 2 | 2 |
| | ③ | 32 | 32 | 4 | <2 |
| | ④ | 32 | 16 | 2 | <2 |
| | ⑤ | 512 | 64 | 2 | <2 |

考察

試験の結果から農場Aでは当時実施していた50日齢での接種で十分に抗体が付与できると考えられた。しかし、同時期に実施した第4回の確認検査では50日齢で接種した他の肥育豚群の抗体陽性率が10%未満(11頭中1頭)であったこと、確認検査にて採材した母豚群30頭と比較して今回の試験に供した母豚3頭がいずれも農場内では低抗体価の個体であったことが判明し、適切な接種時期は50日より後ろである個体が多いと考えられた。ただし、70日齢では移行抗体による防御が失われている子豚がいることも結果から明らかであるため、農場への立入りを3週間に1回から、2週間に1回へと改め、60日齢前後で接種するように設定した。その結果、第5回確認検査では肥育豚の抗体陽性率は96.7%へと向上した。

農場Bでは調査に供した母豚6頭で抗体価に大きなばらつきが見られ、一律で接種時期を設定することは難しいと考えられた。管理頭数が少ないため、母豚ごとに接種時期を設定することを提案した。

本調査によって農場Aでは接種条件の見直しを行い、抗体陽性率の向上につながることができた。しかし、国内ではワクチン接種農場での豚熱発生が相次いでおり、その多くがワクチン接種前後の離乳豚での感染であることから、抗体獲得率と免疫空白期間の短縮を可能な限り両立できるように接種時期の検討を続けていく必要がある。今後も豚熱ワクチ

ンについての情報収集とともに、免疫付与状況等確認検査で得られたデータの活用方法についても検討を行い、管内での豚熱発生防止に貢献していきたい。